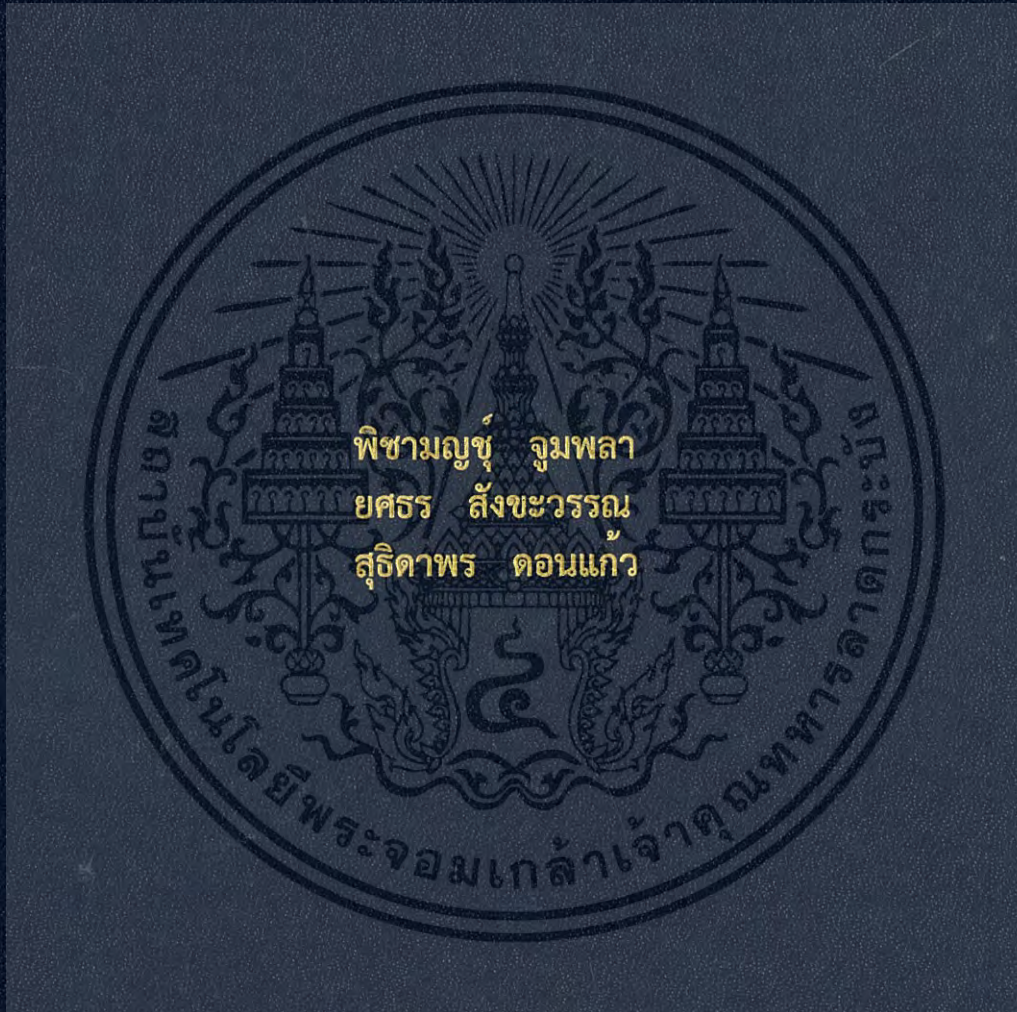


ชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับหาปริมาณไอโอดेट  
MICROFLUIDIC PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE FOR  
IODATE DETECTION



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2560

ชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับหาปริมาณไอโอดेट  
MICROFLUIDIC PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE FOR  
IODATE DETECTION



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)  
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

MICROFLUIDIC PAPER-BASED ANALYTICAL DEVICE FOR  
IODATE DETECTION



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR  
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ ชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับหาปริมาณไอโอดेट  
Microfluidic Paper-Based Analytical Device for Iodate

ชื่อนักศึกษา นางสาวพิชามญช์ จุมพลา รหัสนักศึกษา 57050476  
นางสาวยศธร สังขวรรณ รหัสนักศึกษา 57050490  
นางสาวสุธิตาพร ดอนแก้ว รหัสนักศึกษา 57050539

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2560

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. เสาวภาคย์ อีราทรง

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้  
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต  
(เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร. ณัฐวุฒิ เขิงชั้น กรรมการ	
ผศ.ดร. เสาวภาคย์ อีราทรง กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	ชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับหาปริมาณไอโอเดต		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพิชามณูชู่ จุมพลา	รหัสนักศึกษา	57050476
	นางสาวยศธร สังขะวรรณ	รหัสนักศึกษา	57050490
	นางสาวสุธิดาพร ดอนแก้ว	รหัสนักศึกษา	57050539
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต		
ภาควิชา	เคมี		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2560		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เสาวภาคย์ ธีราทรง		

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาอุปกรณ์ชุดทดสอบบนกระดาษ ( $\mu$ PADs) สำหรับหาปริมาณไอโอเดต ด้วยเทคนิคการประทับตรา (Stamping) มีการสร้างช่องทางการไหลแบบหลุมด้วยหมึกที่ไม่ชอบน้ำลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร โดยอาศัยปฏิกิริยาการรีดักชันของไอโอเดตด้วยไฮดรอกซีลามีนเกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์ไนไตรท์และไอโอดีน จากนั้นไนไตรท์ที่ได้ไปทำปฏิกิริยากับ Griess reagent เกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์สีชมพู แล้วทำการถ่ายภาพด้วยกล้องจากโทรศัพท์มือถือ และนำไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม ImageJ จากการวิเคราะห์ค่าความเข้มสี ( $\Delta I$ ) จะพบว่าความเข้มสีจะแปรผันตามความเข้มข้นของไอโอเดต โดยให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์ไอโอเดตตั้งแต่ 100-700 ppm ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวิเคราะห์ (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 10 ppm และ 35 ppm ตามลำดับ ชุดทดสอบบนกระดาษที่ได้พัฒนาขึ้นนี้มีลักษณะเด่นคือ ขั้นตอนการทดลองที่ง่ายไม่ซับซ้อน ให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่รวดเร็ว

คำสำคัญ:  $\mu$ PADs, ไอโอเดต, ไนไตรท์, Griess reagent

<b>Title</b>	Microfluidic paper-based analytical device for iodate detection		
<b>Student</b>	Miss. Pichamon Joompala	No. 57050476	
	Miss. Yossatorn Sangkawan	No. 57050490	
	Miss. Suthidapon Donkaew	No. 57050539	
<b>Degree</b>	Bachelor		
<b>Department</b>	Chemistry		
<b>Faculty</b>	Science		
<b>University</b>	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang		
<b>Academic Year</b>	2018		
<b>Advisor</b>	Asst. Prof. Dr. Sawapak Teerasong		

### Abstract

A microfluidic paper-based analytical device ( $\mu$ PADs) for the determination of iodate was developed by using stamping techniques. A waterproof ink which is hydrophobic to water was stamped on the filter paper (whatman no. 1) in order to create a reaction well. The reaction well has 8 mm diameter. The reaction involves reduction of iodate with hydroxylamine to generate nitrate and iodine products. Subsequently, nitrate reacts with Griess reagent, yielding pink – colored azo product. A photograph of developed color was taken by a mobile phone and color analysis was performed by using the Image J program. As results intensity of azo product is proportional to the concentration of iodate. The linear range of calibration was 100 - 700 ppm. The limit of detection (LOD) is 10.70 ppm. The limit of quantitative (LOQ) is 35.67. The developed  $\mu$ PADs provides easy, fast and economical analysis.

Keyword:  $\mu$ PADs, iodate, nitrite, Griess reagent

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ด้วยได้รับความกรุณาจาก อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง อาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาในทุกๆ ขั้นตอนของการทำวิทยานิพนธ์นี้อย่างใกล้ชิด ซึ่งผู้เขียนต้องขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้แก่ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐวุฒิ เจริญชัย และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับชุดทดสอบบนกระดาษ รวมถึงแนวทางในการจัดทำรูปเล่มวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องและเรียบร้อย

ขอขอบพระคุณหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สำหรับอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณเพื่อนร่วมหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยช่วยเหลือซึ่งกันและกันเสมอมา

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณบิดา มารดา ครอบครัว และเพื่อนๆ ที่สนับสนุนและให้กำลังใจผู้เขียน ด้วยดีเสมอมา

พิชามณูชु์ จุมพลา  
ยศธร สังขวรรณ  
สุธิตาพร ดอนแก้ว

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ซ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 ไอโอเดต.....	5
2.1.1 แหล่งอาหารที่พบไอโอดีน.....	6
2.1.2 สถานะการขาดไอโอดีนในประเทศไทย.....	6
2.1.3 ปริมาณไอโอดีนที่ควรได้รับในแต่ละช่วงวัย.....	8
2.2 อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษ ( $\mu$ PADs).....	9
2.2.1 การสร้าง $\mu$ PADs.....	11
2.2.2 เทคนิคการตรวจวัดที่ประยุกต์กับ $\mu$ PADs.....	14
2.2.3 การประยุกต์ใช้ $\mu$ PADs ในงานทางเคมีวิเคราะห์.....	15
2.3 การใช้งานโปรแกรม ImageJ.....	17
2.3.1 วิธีการประมวลผลแบบ Color channels.....	17
2.3.2 วิธีการประมวลผลแบบ Histogram.....	20
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	23
2.4.1 งานวิจัยที่ใช้หาปริมาณไอโอเดต.....	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.1	การไทเทรต.....	23
2.4.1.2	เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Ion Chromatography) .....	23
2.4.1.3	เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry) .....	24
2.4.1.4	เทคนิคการไหล (Flow based techniques) .....	25
2.4.1.5	เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (Electrochemical techniques) .....	27
2.4.2	งานวิจัยที่ใช้ $\mu$ PADs วิเคราะห์หาไอโอเดต .....	27
2.5	งานวิจัยนี้.....	29
<b>บทที่ 3</b>	<b>วิธีการดำเนินงานวิจัย.....</b>	<b>31</b>
3.1	สารเคมีและอุปกรณ์ .....	31
3.2	การเตรียมสารละลาย .....	33
3.3	การสร้าง $\mu$ PADs.....	34
3.4	การถ่ายภาพ $\mu$ PADs.....	35
3.5	วิธีดำเนินการทดลอง.....	35
3.5.1	การศึกษาปริมาตรการหยดสารที่เหมาะสม.....	35
3.5.2	การศึกษารูปแบบการเตรียมรีเอเจนต์ที่ใช้การทำปฏิกิริยา .....	36
3.5.3	การศึกษาชนิดของกรดที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent .....	37
3.5.4	การศึกษาความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent.....	37
3.5.5	การศึกษาความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent .	38
3.5.6	การศึกษาความเข้มข้นของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent .....	38
3.5.7	การศึกษาความเข้มข้นของซัลฟานิลาไมด์ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent .....	39
3.5.8	การศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับไฮดรอกซีลามีน .....	40
3.5.9	การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของไฮดรอกซีลามีน .....	40
3.5.10	การศึกษาเวลาในการทำปฏิกิริยาของไอโอเดตกับไฮดรอกซีลามีน .....	41
3.5.11	การศึกษาเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารผลิตภัณฑ์ไนโตรท์กับ Griess reagent.....	41
3.5.12	การวิเคราะห์ค่าสี RGB.....	42
3.6	การประเมินคุณลักษณะของวิธี.....	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.1 ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน.....	42
3.6.2 ความเที่ยง (Precision) .....	43
3.6.3 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD).....	43
3.6.4 ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)..	44
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....</b>	<b>45</b>
4.1 ปฏิกริยาที่ใช้ตรวจวัดไอโอเดต .....	45
4.2 ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอโอเดต .....	45
4.2.1 ผลการศึกษาปริมาณสารที่หยดเหมาะสม .....	45
4.2.2 ผลการศึกษารูปแบบการเตรียมรีเอเจนต์ .....	47
4.2.3 ผลชนิดของกรดที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent .....	48
4.2.4 ผลความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent .....	49
4.2.5 ผลความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent.....	50
4.2.6 ผลความเข้มข้นของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent.....	51
4.2.7 ผลความเข้มข้นของซัลฟานิลไมด์ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent .....	52
4.2.8 ผลการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับไฮดรอกซีลามีน.....	53
4.2.9 ผลความเข้มข้นที่เหมาะสมของไฮดรอกซีลามีน .....	54
4.2.10 ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาของไอโอเดตกับไฮดรอกซีลามีน .....	55
4.2.11 ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารผลิตภัณฑ์ไนโตรท์กับ Griess reagent.....	56
4.2.12 ผลการวิเคราะห์ค่า RGB .....	57
4.3 ผลการประเมินคุณลักษณะของวิธี .....	60
4.3.1 ช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์.....	60
4.3.2 ความเที่ยง (Precision) .....	60
4.3.3 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวิเคราะห์ (Limit of detection, LOD).....	62
4.3.4 ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ).....	62
<b>บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ .....</b>	<b>64</b>
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	64
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	65
<b>เอกสารอ้างอิง .....</b>	<b>66</b>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณไอโอดีนที่ควรได้รับในแต่ละวัย .....	8
ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาตรที่หยดสารลงบนชุดทดสอบบนกระดาษ และลักษณะการกระแพร่ .....	46
ตารางที่ 4.2 แสดงสภาวะที่ศึกษาในงานวิจัยหาปริมาณไอโอดेट ด้วยชุดทดสอบบนกระดาษ .....	59
ตารางที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเฉลี่ย (SD) ของค่าความเข้มข้น (ΔI) ของสารละลายไอโอดेटที่ความเข้มข้น 100-700 ppm .....	61



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 (ก) แสดงแหล่งอาหารในธรรมชาติที่พบไอโอดีน และ	
(ข) แสดงแหล่งอาหารที่เสริมไอโอดีน .....	6
รูปที่ 2.2 ลักษณะคนปกติและผู้ที่เป็นโรคคอพอก.....	8
รูปที่ 2.3 (ก) แสดงผลตายของ $\mu$ PADs แบบช่องการไหลด้านข้าง	
(ข) แสดงผลตายของ $\mu$ PADs แบบหลุม .....	10
รูปที่ 2.4 แสดงอุปกรณ์ห้องปฏิบัติการบนกระดาษประกอบด้วยบริเวณตรวจวัดทางไฟฟ้าเคมี	
และบริเวณตรวจวัดสี .....	11
รูปที่ 2.5 แสดงเชื้อโรค E.coli 0157:H7, L. monocytogenes และ	
Salmonella Typhimurium ตามลำดับที่ตอบสนองกับแอนิเมซิมและ	
เกิดสีที่เวลาต่างกัน .....	12
รูปที่ 2.6 แสดงความเข้มข้นที่เปลี่ยนไปเมื่อเงินนาโนทำปฏิกิริยากับ	
ปรอท(II)ที่ความเข้มข้นต่างๆ .....	13
รูปที่ 2.7 $\mu$ PADs ที่สร้างจากตราประทับโลหะที่มีความกว้าง 45 mm.....	14
รูปที่ 2.8 แสดงชุดทดสอบบนกระดาษที่มีการเคลือบรีเอเจนต์ไว้ในแต่ละบริเวณ	
ประกอบด้วยบริเวณตรวจวัดพีเอช 4 จุดและบริเวณตรวจวัดไนไตรท์ 3 จุด .....	15
รูปที่ 2.9 แสดงชุดทดสอบบนกระดาษซึ่งประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำ (main channel),	
บริเวณที่สารเคลื่อนที่ (branched channel), บริเวณที่เคลือบด้วยรีเอเจนต์	
(uptake zone), บริเวณที่เกิดปฏิกิริยา (testing zone) ซึ่งบริเวณเหล่านี้จะ	
ถูกล้อมรอบด้วยส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (wax barrier).....	16
รูปที่ 2.10 แสดงชุดทดสอบบนกระดาษในรูปแบบ 2 มิติ ซึ่งประกอบด้วย	
RC = บริเวณที่เกิดการรีดักชัน, TC = บริเวณที่สารเกิดการเคลื่อนที่และ	
DZ = บริเวณตรวจวัด.....	17
รูปที่ 2.11 โปรแกรม ImageJ.....	17
รูปที่ 2.12 ตัวอย่างภาพที่ต้องการวิเคราะห์.....	18
รูปที่ 2.13 การเลือกพารามิเตอร์ Channels.....	18
รูปที่ 2.14 การเลือกพารามิเตอร์ RGB.....	19

รูปที่ 2.15	เลือกพื้นที่ในภาพส่วนที่ต้องการวิเคราะห์.....	19
รูปที่ 2.16	Results ที่ได้จากการวิเคราะห์ .....	20
รูปที่ 2.17	โปรแกรม ImageJ.....	20
รูปที่ 2.18	ตัวอย่างภาพที่ต้องการวิเคราะห์.....	21
รูปที่ 2.19	เลือกพื้นที่ในภาพส่วนที่ต้องการวิเคราะห์.....	21
รูปที่ 2.20	การวิเคราะห์ภาพและการแสดงผล .....	22
รูปที่ 2.21	แสดงการเลือกพารามิเตอร์ RGB ของสีเขียวมาใช้ในการวิเคราะห์ผล .....	22
รูป 2.22	แสดงระบบ Flow injection ประกอบด้วย P= peristaltic pump, S= sample injection valve, SV= selection valve, RC= reaction coil, D= detector, W= waste, R1= molybdate solution 0.003 M buffered at pH 3.5, R2= buffer solution pH 3.5 and R3= iodide solution 0.1 M .....	25
รูป 2.23	แสดงระบบ Reversed-flow injection เมื่อ P= peristaltic pump, L1= mixing coil 0.8mm x 10cm, L2= reaction coil 0.8mm x 60cm, V= sampling valve 150 µl, D= detector, W= waste .....	26
รูป 2.24	แสดงระบบ Flow injection ในการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีน ซึ่ง H= ไฮดรอกซีลามีน, S=สารตัวอย่าง, C= ตัวยา, R <sub>1</sub> = ซัลฟานิลไมด์ และ R <sub>2</sub> = NED .....	26
รูปที่ 2.25	รูปแบบของชุดทดสอบเพื่อทดสอบการไทเทรตแบบไอโอดเมทรี .....	28
รูปที่ 2.26	(ก) แสดงขนาดของ loading zone (ข) ลักษณะของสารตัวอย่างเมื่อหยดลงไปบนชุดทดสอบสำหรับ ทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ .....	29
รูปที่ 2.27	µPADs ที่ออกแบบให้มีลักษณะเป็นหลุมกลมที่ใช้ในงานวิจัย .....	29
รูปที่ 3.1	(ก) แสดงอุปกรณ์ที่ใช้ในการสร้าง µPADs (ข) แสดงลวดลายบน µPADs ที่สร้างขึ้น .....	34
รูปที่ 3.2	แสดงอุปกรณ์ในการถ่ายภาพ µPADs .....	35

รูปที่ 4.1 (ก) แสดงสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในหลอดทดลองเมื่อนำสารละลายแบลนด์ ไปทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซีลามีนและ Griess reagent	
(ข) แสดงสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในหลอดทดลองเมื่อนำสารละลายมาตรฐานไอโอเดตไปทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซีลามีนและ Griess reagent.....	45
รูปที่ 4.2 (ก) สีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอเดตกับสารละลายไฮดรอกซีลามีนที่เตรียมรวมกับ Griess reagent	
(ข) สีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอเดตกับสารละลายไฮดรอกซีลามีนที่เตรียมแยกกับ Griess reagent .....	47
รูปที่ 4.3 ผลของค่าความเข้มข้น ( $\Delta$ ) ของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้ Griess reagent ที่ละลายด้วยกรดซิตริก กรดไฮโดรคลอริกและกรดฟอสฟอริก กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอโอเดต .....	49
รูปที่ 4.4 ผลของความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent ต่อความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 300 ppm.....	50
รูปที่ 4.5 ผลของความเข้มข้นเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent ต่อความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 500 ppm.....	51
รูปที่ 4.6 ผลของค่าความเข้มข้น ( $\Delta$ ) ของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอโอเดต เมื่อมีความเข้มข้นของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent เป็น 0.01, 0.02, 0.03 และ 0.04 M.....	52
รูปที่ 4.7 ผลของความเข้มข้นซัลฟานิลาไมด์ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent ต่อความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 300 ppm.....	53
รูปที่ 4.8 ผลของค่าความเข้มข้น ( $\Delta$ ) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอโอเดตที่มีการละลายไฮดรอกซีลามีนด้วยน้ำปราศจากไอออนและกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M.....	54
รูปที่ 4.9 ผลความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามีนที่ใช้ในการทำปฏิกิริยารีดักชัน ที่ความเข้มข้นของไอโอเดต 200 และ 500 ppm.....	55

รูปที่ 4.10 แสดงการทำปฏิกิริยาของไอโอดेटที่ความเข้มข้น 700 ppm  
กับไฮดรอกซีลามีนที่เวลาต่างๆ กันตั้งแต่ 15-90 วินาที.....56

รูปที่ 4.11 ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารผลิตภัณฑ์ไนโตรท์กับ  
Griess reagent ที่ความเข้มข้นของสารละลายไอโอดेट 400 ppm.....57

รูปที่ 4.12 ผลของค่าความเข้มสี ( $\Delta I$ ) ที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอโอดेट  
เมื่อวิเคราะห์ค่าสีด้วย Red Green Blue และ Grey .....58

รูปที่ 4.13 ช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ ที่ความเข้มข้นไอโอดेट  
100-700 ppm.....60



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ไอโอดีน (Iodine) เป็นแร่ธาตุที่มีอยู่ในธรรมชาติและเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับมนุษย์ ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์หรือสร้างขึ้นเองได้ จำเป็นต้องได้รับจากอาหารหรือน้ำดื่มเท่านั้น โดยทั่วไปไอโอดีนจะมีอยู่ในอาหารทะเล เช่น ปลา กุ้ง และสาหร่ายทะเล เป็นต้น ซึ่งอาหารเหล่านี้มีราคาค่อนข้างสูงหรือบางพื้นที่อาจหาซื้อได้ยาก จึงต้องมีการเสริมไอโอดีนในอาหารทั่วไปเพื่อให้ประชาชนที่ไม่มีโอกาสได้รับประทานอาหารทะเลได้รับปริมาณไอโอดีนอย่างเหมาะสม

ไอโอดีนมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและระบบการทำงานของต่อมไทรอยด์ ในชีวิตประจำวันมนุษย์ควรได้รับปริมาณของไอโอดีนที่เหมาะสมต่อการดำเนินกิจกรรมต่างๆ ในแต่ละวัน หากร่างกายได้รับไอโอดีนในปริมาณที่มากเกินไปจะก่อให้เกิดภาวะฮอร์โมนไทรอยด์ทำงานเกินหรือภาวะไทรอยด์เป็นพิษ แต่ถ้าวร่างกายได้รับปริมาณไอโอดีนที่น้อยเกินไปจะทำให้เกิดภาวะขาดสารไอโอดีน (Iodine Deficiency, ID) ซึ่งเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในหญิงตั้งครรภ์และเด็กเล็ก เพราะเมื่อร่างกายได้รับสารไอโอดีนไม่เพียงพอต่อการสร้างไทรอยด์ฮอร์โมนจะทำให้เกิดความผิดปกติทั้งทางด้านการทำงานและพัฒนาการของร่างกายที่เรียกว่าโรคขาดสารไอโอดีน (Iodine deficiency disorder, IDD) ซึ่งได้แก่ อาการคอพอก ภาวะไทรอยด์ฮอร์โมนต่ำ

สำหรับในประเทศไทยได้มีการกำหนดปริมาณไอโอดีนที่อยู่ในรูปของเกลือ ซึ่งสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) กระทรวงสาธารณสุขได้ออกประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องเสริมสารไอโอดีน[1] ได้แก่ เกลือบริโภค น้ำปลา ผลิตภัณฑ์ปรุงรสที่ได้จากการย่อยโปรตีนของถั่วเหลือง และน้ำเกลือปรุงอาหาร ตามประกาศฯ ฉบับปรับปรุงลงวันที่ 16 มีนาคม พ.ศ. 2554 ระบุว่าเกลือบริโภคที่ใช้เป็นอาหารหรือใช้เป็นส่วนผสมหรือเป็นส่วนประกอบของอาหารต้องมีปริมาณไอโอดีนไม่น้อยกว่า 20 มิลลิกรัม และไม่เกิน 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ppm)

วิธีมาตรฐานสำหรับการหาปริมาณไอโอดีนในอาหารได้แก่ การไทเทรต[2] แต่วิธีนี้ต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์นานและมีความคลาดเคลื่อนจากผู้ทดลองได้สูง มีวิธีวิเคราะห์ต่างๆ ที่ถูกพัฒนาขึ้นสำหรับตรวจหาปริมาณไอโอดีนในอาหาร เช่น เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี[3-6], เทคนิคสเปกโทรโฟ

โตะเมตรรี[7-8], เทคนิคการไหล[9-11] และเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า[12-14] เป็นต้น ซึ่งเทคนิคเหล่านี้ต้องอาศัยเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีราคาแพง

อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษ (Microfluidic paper-based analytical devices,  $\mu$ PADs) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์รูปแบบใหม่ที่ได้กำลังได้รับความนิยมโดยทำการสร้างช่องทางการไหลของสารลงบนกระดาษ ซึ่ง  $\mu$ PADs ที่สร้างมาจากกระดาษเป็นวัสดุที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) จึงสร้างส่วนที่กั้นระหว่างช่องทางการไหลและกระดาษเป็นบริเวณที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) เพื่อควบคุมทิศทางการไหลของสารได้ เมื่อหยดน้ำลงบนกระดาษหรือจุ่มกระดาษลงในน้ำ น้ำจะซึมไปตามช่องทางการไหลที่ได้สร้างไว้ และสารที่ต้องการวิเคราะห์จะสามารถไหลไปยังบริเวณทดสอบบนกระดาษได้ ในปัจจุบันได้มีการนำ  $\mu$ PADs ไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ทางการแพทย์[15] การควบคุมคุณภาพอาหาร[16] และตรวจวัดทางด้านสิ่งแวดล้อม[17] เป็นต้น  $\mu$ PADs เป็นทางเลือกที่น่าสนใจเพราะข้อดีของอุปกรณ์นี้คือสามารถผลิตได้ง่าย ต้นทุนการผลิตต่ำ เนื่องจากวัสดุที่ใช้เป็นกระดาษ หาได้ง่าย และเป็นเครื่องมือแบบพกพาที่สามารถนำไปใช้ในนอกห้องปฏิบัติการหรือภาคสนามได้

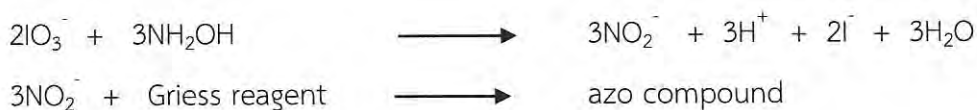
ปัจจุบัน  $\mu$ PADs ที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพน้ำและอาหารจะมีการพัฒนาพื้นผิวของกระดาษด้วยการออกแบบช่องทางการไหลของสารด้วยวิธีการต่างๆ [18-19] เช่น การตัดกระดาษ (Cutting) , การพิมพ์ด้วยแสง (Photolithography) , การสกัดด้วยการฉีดหมึก (Ink jet etching) , การปรับสภาพด้วยพลาสมา (Plasma treatment) , การพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (Wax printing) , การพิมพ์ด้วยน้ำหมึกฉีด (ink jet printing) , การพิมพ์สกรีน (Screen printing) , การปรับสภาพด้วยเลเซอร์ (Laser treatment) , การพิมพ์ด้วย PDMS (Polydimethyl-siloxane plotting) , การจุ่มด้วยขี้ผึ้ง (Wax dipping) , การพิมพ์แบบยืดหยุ่น (Flexography printing) และการประทับตรา (Stamping) เป็นต้น

Myers และคณะ[20] ได้พัฒนา  $\mu$ PADs เพื่อทดสอบการไทเทรตแบบไอโอดิเมตริก (Iodometric titration) สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเกลือเสริมไอโอดีน โดยแผ่นทดสอบนี้ได้เตรียมจากการพิมพ์ด้วยแว็กซ์ ประกอบด้วยกรอบสี่เหลี่ยม 12 รูป ซึ่งเป็นบริเวณสำหรับเกิดปฏิกิริยา ภายในบริเวณนั้นจะแบ่งออกเป็น 5 ส่วนและมีรีเอเจนต์ถูกเคลือบไว้ โดยแต่ละรีเอเจนต์จะถูกแยกออกจากกันด้วยแว็กซ์ เมื่อหยดสารตัวอย่างลงไปภายในบริเวณนี้จะเกิดเป็นสารละลายสีน้ำเงิน จากงานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดความเข้มข้นของไอโอดีนได้ตั้งแต่ 0.8-15 ppm แต่มีข้อจำกัดคือต้องมีการเขย่าชุดทดสอบนี้เพื่อให้สารตัวอย่างและรีเอเจนต์ทำปฏิกิริยากันจนเกิดสีและต้องมีการเตรียมรีเอเจนต์หลายตัว

สำหรับงานวิจัยนี้มีความสนใจที่จะสร้าง  $\mu$ PADs ด้วยเทคนิคการประทับตรา (Stamping) โดยการประทับด้วยหมึกที่ไม่ชอบน้ำลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อสร้างช่องทางการไหลของสารละลายบนกระดาษ สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีนในอาหาร โดยอาศัยปฏิกิริยาการรีดักชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของไอโอเดตด้วยไฮดรอกซิลามีนเกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์ไนโตรท์และไอโอไดด์ จากนั้นไนโตรท์ที่เกิดขึ้นทำปฏิกิริยาต่อกับ Griess reagent เกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์สีชมพูดังสมการด้านล่าง



โดยทำการหยดสารตัวอย่างและรีเอเจนต์ลงบน  $\mu\text{PADs}$  ที่เตรียมขึ้น จากนั้นถ่ายภาพสารผลิตภัณฑ์สีชมพูที่เกิดขึ้นบนกระดาษด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือแล้วนำไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม ImageJ ซึ่งความเข้มสีที่เกิดขึ้นจะแปรผันตรงตามความเข้มข้นของไอโอเดต ข้อดีของงานวิจัยนี้คือมีขั้นตอนการทดลองที่ง่ายไม่ซับซ้อน ใช้ปริมาณสารตัวอย่างในการวิเคราะห์น้อย และให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่รวดเร็ว

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 ศึกษา Griess reaction เพื่อใช้สำหรับตรวจวัดปริมาณไอโอเดต
- 1.2.2 สร้างอุปกรณ์  $\mu\text{PADs}$  โดยวิธีการประทับตราลงบนกระดาษ
- 1.2.3 พัฒนา  $\mu\text{PADs}$  ในการตรวจวัดปริมาณไอโอเดต
- 1.2.4 ศึกษาคุณลักษณะของ  $\mu\text{PADs}$  สำหรับตรวจวัดไอโอเดตที่ได้พัฒนาขึ้น และความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้หาไอโอเดตในอาหาร

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 ศึกษาปฏิกิริยาการออกซิเดชันของไอโอเดตด้วยไฮดรอกซิลามีน
- 1.3.2 ศึกษา Griess reaction เพื่อใช้ในการตรวจวัดไอโอเดต
- 1.3.3 สร้าง  $\mu\text{PADs}$  ด้วยวิธีการประทับตราโดยใช้น้ำหมึกที่ไม่ชอบน้ำมาประทับลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดปริมาณไอโอเดต
- 1.3.4 ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้  $\mu\text{PADs}$  ร่วมกับปฏิกิริยาออกซิเดชันและปฏิกิริยา Griess เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดปริมาณไอโอเดต
- 1.3.5 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการใช้  $\mu\text{PADs}$  เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดปริมาณไอโอเดต
- 1.3.6 ศึกษาคุณลักษณะที่เหมาะสมสำหรับการใช้  $\mu\text{PADs}$  เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดปริมาณไอโอเดต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.7 นำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้หาปริมาณไอโอดีนที่มีอยู่ในอาหารเสริมและในตัวอย่างน้ำดื่ม

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้  $\mu$ PADs ใช้สำหรับตรวจวัดปริมาณไอโอดีนในอาหาร โดยอุปกรณ์ตรวจวัดนี้ใช้ปริมาตรสารตัวอย่างน้อยในระดับไมโครลิตร มีความถูกต้อง และสามารถนำไปใช้นอกห้องปฏิบัติการเคมีได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ไอโอเดต [21]

ไอโอดีน ( $I_2$ ) เป็นธาตุที่ไม่ละลายน้ำ มีความจำเป็นสำหรับสิ่งมีชีวิต มีอยู่ทั่วไปตามธรรมชาติ พบใน หิน ดิน น้ำ น้ำทะเล อากาศ และสิ่งมีชีวิต มีปริมาณมากน้อยที่แตกต่างกัน อาหารทะเลจะมีไอโอดีนสูงกว่าแหล่งอื่น ในธรรมชาติมักพบในรูปเกลือ ไอโอเดต ( $IO_3^-$ ) และในรูปไอโอดด์ ( $I^-$ ) หรือเป็นสารประกอบอินทรีย์ในสิ่งมีชีวิต เช่น ในเลือด เนื้อเยื่อ นม เหงื่อ และปัสสาวะ ซึ่งไอโอดีนเป็นแร่ธาตุที่ร่างกายของเราไม่ต้องการมากนัก และเมื่อร่างกายได้รับไอโอดีนก็จะเปลี่ยนให้เป็นไอโอดด์ โดยร่างกายของเราจะมีไอโอดีนอยู่ประมาณ 25 มิลลิกรัม หรือคิดเป็นร้อยละ 0.0004 ของน้ำหนักตัว ซึ่งครึ่งหนึ่งจะถูกเก็บไว้ที่ไทรอยด์ อีกส่วนหนึ่งจะอยู่ตามกล้ามเนื้อส่วนต่างๆ ของร่างกาย ไม่ว่าจะเป็นผิวหนัง ขุมขน ต่อมไทรอยด์ ระบบทางเดินอาหาร และกระดูก ส่วนในกระแสเลือดจะมีไอโอดีนอยู่ค่อนข้างที่น้อยมาก

ไอโอดีนเป็นส่วนประกอบที่จำเป็นในการผลิตฮอร์โมนของต่อมไทรอยด์ ซึ่งต่อมไทรอยด์จำเป็นต้องใช้ไอโอดีนเพื่อสร้างฮอร์โมน ชื่อว่า “ไทรอกซิน” ซึ่งฮอร์โมนนี้มีบทบาทในการควบคุมเมตาบอลิซึมของร่างกาย เร่งการหายใจ ควบคุมการเผาผลาญสารอาหารต่างๆ ในร่างกาย จึงมีผลต่อพลังงานและอุณหภูมิของร่างกายอย่างมาก ที่สำคัญคือควบคุมการเจริญเติบโตของร่างกายที่จำเป็นต่อการเจริญและพัฒนาการของสมอง การทำงานของต่อมไทรอยด์มีผลต่อสภาพจิตใจ สภาพของผิวหนัง เล็บ และฟันของร่างกาย การดูดซึมน้ำตาลจากลำไส้เล็กทั้งหมดนี้จะทำงานอย่างมีประสิทธิภาพเมื่อการผลิตไทรอกซินเป็นไปตามปกติ การสังเคราะห์คอเลสเตอรอลถูกกระตุ้นโดยระดับของไทรอกซินจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและกระตุ้นอัตราการเผาผลาญไขมันในร่างกาย กระตุ้นให้หัวใจทำงานได้ดีขึ้น ช่วยให้ร่างกายผลิตพลังงานได้ตามปกติ เพิ่มการเคลื่อนย้ายแคลเซียมและฟอสฟอรัสจากกระดูก ช่วยในการขับถ่ายปัสสาวะและควบคุมการกระจายของน้ำตามอวัยวะต่างๆ กระตุ้นให้มีการหลั่งของน้ำนมมากขึ้น ควบคุมประสาทให้มีกำลังคล่องแคล่วและกระฉับกระเฉง

### 2.1.1 แหล่งอาหารที่พบไอโอดีน

แหล่งที่พบไอโอดีนในธรรมชาติ (รูปที่ 2.1 ก.) เช่น ปลาทะเล 100 กรัม มีสารไอโอดีนประมาณ 50 ไมโครกรัม สำหรับทะเล 100 กรัม มีสารไอโอดีนประมาณ 200 ไมโครกรัม เปลือกทะเล 5 กรัม มีไอโอดีน 10 - 25 ไมโครกรัม [22] ซึ่งไอโอดีนเป็นธาตุเคมีที่เกิดขึ้นเองในธรรมชาติแต่มีไม่สม่ำเสมอ และมีมากน้อยแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ ในภาคเหนือ ภาคอีสาน พบปริมาณไอโอดีนในธรรมชาติน้อยกว่าภาคกลาง ส่วนใหญ่พบมากในดินและน้ำแถบที่ราบลุ่มปากแม่น้ำและชายทะเล

แหล่งอาหารเสริมไอโอดีน (รูปที่ 2.1 ข.) เช่น เกลือเสริมไอโอดีน 5 กรัม มีไอโอดีน 150 - 250 ไมโครกรัม ปกติคนเราบริโภคเกลือประมาณวันละ 5 กรัม หรือ 1 ช้อนชา[23] ถ้าใช้เกลือเสริมไอโอดีนที่ได้มาตรฐานจะได้ไอโอดีนเพียงพอต่อความต้องการของร่างกายในแต่ละวัน น้ำดื่มเสริมไอโอดีนหรือการเสริมไอโอดีนในน้ำดื่ม เป็นมาตรการเสริมเพื่อใช้ในพื้นที่ที่มีปัญหาต่ำกว่าร้อยละ 5 โดยใช้สารละลายโพแทสเซียมไอโอดेट หยอดในน้ำดื่มของโรงเรียน หรือครัวเรือน ของพื้นที่ที่มีปัญหาโรคขาดสารไอโอดีน เมื่อดื่มวันละ 1 ลิตร จะได้รับสารไอโอดีนประมาณ 150 - 200 ไมโครกรัม[23] และในปัจจุบันบะหมี่กึ่งสำเร็จรูปทุกยี่ห้อ ได้เติมสารไอโอดีนในซองเครื่องปรุงรสที่บรรจุไว้ในซองของบะหมี่ โดยเติมในปริมาณ 50 ไมโครกรัม[23]



รูปที่ 2.1 (ก) แสดงแหล่งอาหารในธรรมชาติที่พบไอโอดีน (ข) แสดงแหล่งอาหารที่เสริมไอโอดีน

### 2.1.2 สถานะการขาดไอโอดีนในประเทศไทย

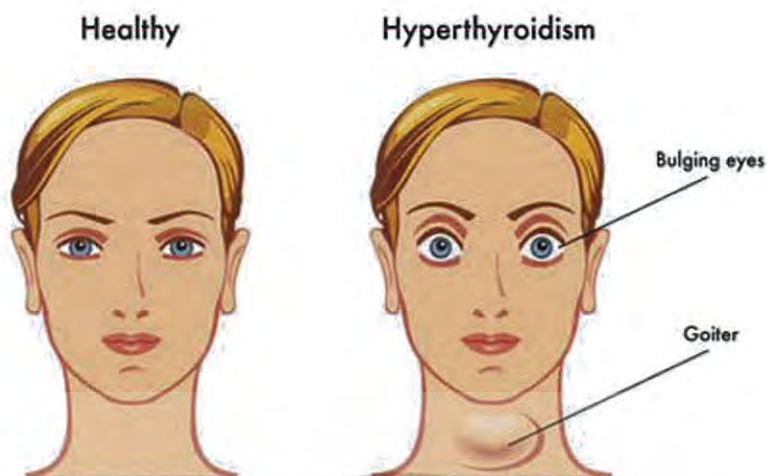
โรคขาดสารไอโอดีน หมายถึง ภาวะร่างกายที่ได้รับสารไอโอดีนไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกายเป็นประจำ ซึ่งมีผลต่อการสร้างไทรอยด์ฮอร์โมนทำให้เกิดการเสียสมดุลในการควบคุมการทำงานของต่อมไทรอยด์ ส่งผลกระทบต่อสุขภาพที่เรียกว่า ความผิดปกติของการขาดสารไอโอดีน (Iodine

Deficiency Disorder , IDD) คือ เกิดอาการคอพอก (Goiter), ภาวะไทรอยด์ฮอร์โมนต่ำ (Hypothyroidism), โรคเอ๋อ (Cretinism) ซึ่งทำให้ระดับสติปัญญาพัฒนาต่ำกว่าปกติและมีพัฒนาการทางร่างกายต่ำกว่าเกณฑ์ อาการแสดงของโรคขาดสารไอโอดีนนั้นขึ้นอยู่กับความรุนแรงของการขาดสารไอโอดีน และช่วงระยะเวลาของการขาดสารไอโอดีน

ภาวะไทรอยด์ฮอร์โมนต่ำ (Hypothyroidism) เป็นภาวะที่ร่างกายไม่มีไทรอยด์ฮอร์โมนเพียงพอเพียงกับความต้องการ ส่งผลให้มีเมแทบอลิซึมช้าผิดปกติ ซึ่งหากเกิดในผู้ใหญ่จะเรียกว่า มิกเซดีมา (Myxedema) โดยมีอาการที่มักแสดงให้เห็น ก็คือ มีความคิดค่อนข้างที่จะเฉื่อยชา มีอาการร่วงเหงาหาวนอน มีภาวะ Chronic Fatigue Syndrome (CFS) คือ อ่อนเพลียเรื้อรัง เหนื่อยง่าย ปวดกล้ามเนื้อ มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นถึงจะกินน้อย มีแห้งผากหยาบ ผมหร่วง ชี้นาว อาการต่างๆ เหล่านี้จะเกิดขึ้นอย่างค่อยเป็นค่อยไปและจะมีพัฒนาการทางเขาวุ่นปัญญาที่ค่อนข้างเชื่องช้าทางอีกด้วย ไม่เพียงเท่านั้นหากปล่อยไว้ไม่รักษาจะเป็นสาเหตุของภาวะแอลดีแอลคอเลสเตอรอลสูง ส่งผลให้มีโอกาสเสี่ยงที่จะเป็นโรคหัวใจตามมา จะมีปัญหาต่อพัฒนาการทางสมองและร่างกายในทารกแรกเกิด

หากในระยะตั้งครรภ์แม่บริโภคไอโอดีนน้อย หรือไม่พอเพียงแก่ความต้องการ โดยจะมีอาการปรากฏให้เห็นในหลายๆ แบบไม่ว่าจะเป็น หูหนวก เป็นใบ้ ตาเหล่ มิกกล้ามเนื้อหย่อนยานและอ่อนแอ ผิวหนังแห้ง รุปร่างสั้นเตี้ย ซึ่งก็เป็นเพราะกระดูกไม่ได้เจริญตามปกติ ซึ่งยังมีผลให้จิตใจขาดการพัฒนา โดยจะมีอาการเดินกระตุก หรือเกร็ง ระบบสืบพันธุ์ผิดปกติ ซึ่งหากทารกได้รับการแก้ไขในระยะแรก ก็จะช่วยร่างกายมีการเจริญเติบโตดีขึ้น รวมทั้งจิตใจก็อาจพัฒนาขึ้นเล็กน้อย แต่ก็ไม่สามารถทำให้ประสาทสมองส่วนกลางที่ถูกทำลายไปกลับมาดีอย่างเดิมได้อีก

ส่วนใหญ่ผู้ที่ขาดไอโอดีนจะทำให้เกิดโรคคอพอก (Simple Goiter) เนื่องจากต่อมไทรอยด์จะโตขึ้นจนสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนที่ช่วงคอ นั่นก็เป็นเพราะถูกได้รับการกระตุ้นจากฮอร์โมนไทโรโทรฟิน (Thyrotrophin หรือ Stimulating Hormone, TSH) ซึ่งเป็นฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองให้ทำงานมากขึ้น เพื่อที่จะดูดไอโอดีนที่อยู่ในเลือดให้ได้เยอะที่สุด และนำไปสร้างฮอร์โมนไทรอกซินแต่เนื่องจากไอโอดีนไม่พอจึงไม่สามารถที่จะสร้างได้ ส่งผลทำให้ต่อมไทรอยด์ที่บริเวณใต้คอโตขึ้น หรือมีอาการคอพอกนั่นเอง (รูปที่ 2.2) คนที่ต่อมไทรอยด์มีขนาดใหญ่มากจะไปกดหลอดลม ส่งผลให้ไอ สำลัก หายใจลำบาก และถ้าไปกดหลอดอาหารก็จะกลืนอาหารลำบากด้วยเช่นกัน



รูปที่ 2.2 ลักษณะคนปกติและผู้ที่เป็นโรคคอพอก

ในประเทศไทยพื้นที่ที่พบว่ามีความเสี่ยงสูงที่สุดคือทางภาคเหนือและภาคอีสาน เช่น เชียงใหม่ เชียงราย อุดรดิตต์ แพร่ ลำปาง อุบลราชธานี อุดรธานี โดยส่วนใหญ่แล้วจะเป็นผู้ที่อาศัยอยู่ในหมู่บ้านใกล้ภูเขา ที่ราบสูง ซึ่งมีความไม่สะดวกในการเดินทาง การขนส่ง และมีฐานะความเป็นอยู่ค่อนข้างยากจน จึงส่งผลให้เกิดการขาดสารอาหารจำพวกโปรตีน และไอโอดีน

### 2.1.3 ปริมาณไอโอดีนที่ควรได้รับในแต่ละช่วงวัย

ปริมาณไอโอดีนที่ควรได้รับในวัยต่างๆ แนะนำโดยองค์การอนามัยโลก [24]

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณไอโอดีนที่ควรได้รับในแต่ละวัย

อายุ	ปริมาณไอโอดีน/วัน ที่ควรได้รับ (ไมโครกรัม/วัน)
1-8 ปี	90
ผู้ชาย 9-13 ปี	120
14-มากกว่า 70 ปี	150
ผู้หญิง 9-13 ปี	120
14-มากกว่า 70 ปี	150
หญิงตั้งครรภ์	250

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2 อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ของไหลจุลภาคฐานกระดาษ ( $\mu$ PADs)

$\mu$ PADs เป็นอุปกรณ์การวิเคราะห์ที่มีการสร้างแนวทางการไหลของสารลงบนกระดาษ ซึ่งกระดาษเป็นวัสดุที่ชอบน้ำ เมื่อหยดน้ำลงบนกระดาษหรือจุ่มกระดาษลงในน้ำ น้ำจะซึมไปบนกระดาษทุกทิศทาง เมื่อทำการสร้างแนวกันไฮโดรโฟบิกซึ่งเป็นวัสดุที่ไม่ชอบน้ำลงบนกระดาษจะทำให้ควบคุมทิศทาง การซึมของน้ำหรือของไหลได้ สารที่ต้องการวิเคราะห์สามารถไหลไปยังบริเวณทดสอบบนกระดาษได้ตามต้องการ

กระดาษเป็นวัสดุพื้นฐานที่มีองค์ประกอบหลักเป็นเส้นใยธรรมชาติ ได้แก่ เซลลูโลส (cellulose) ได้มาจากพืชเป็นส่วนใหญ่ ผ่านกรรมวิธีการผลิตได้วัสดุที่มีลักษณะเป็นแผ่น ความหนาหรือบางขึ้นอยู่กับ การผลิตและลักษณะการใช้งาน คุณสมบัติที่โดดเด่นของกระดาษมีหลายประการ ได้แก่ สามารถดูดซับของเหลวได้ดี น้ำหนักเบา พกพาง่าย ความยืดหยุ่นสูง ราคาถูกนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ย่อยสลายได้ง่าย เนื่องจากเป็นวัสดุจากธรรมชาติ ภายหลังจากความต้องการในการใช้กระดาษมีเพิ่มมากขึ้นจึงมีการพัฒนา กลวิธีการผลิตและคุณสมบัติให้แตกต่างไปจากเดิมโดยมีการปรับเปลี่ยนหรือเพิ่มเติมหมู่ฟังก์ชันให้แก่พอลิเมอร์ของเซลลูโลสได้ผลิตภัณฑ์เป็นกระดาษหรือเยื่อเซลลูโลสชนิดใหม่ที่เหมาะสมกับการใช้งาน มีการนำกระดาษมาใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์หรือ  $\mu$ PADs โดยการสร้างแนวกันไฮโดรโฟบิกบนแผ่นกระดาษ เพื่อให้สารละลายไหลไปบนกระดาษตามช่องทางการไหลที่กำหนดไว้เพื่อทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ที่อยู่บนกระดาษ และสามารถตรวจวัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นได้

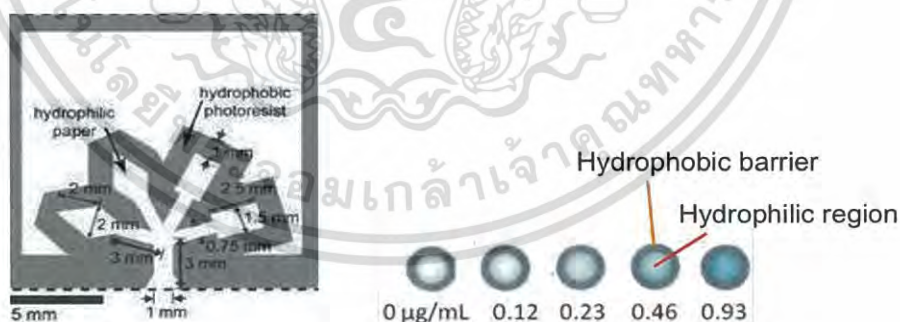
นักวิจัยได้มีการดัดแปลงน้ำหมึกเครื่องพิมพ์เพื่อให้มีสมบัติที่เหมาะสมคือ ไม่มีขั้วหรือมีความไม่ชอบน้ำและพิมพ์รูปแบบแนวการไหลของสารละลายลงบนกระดาษเพื่อใช้อุปกรณ์สำหรับตรวจวิเคราะห์ ตัวอย่าง โดยในปี ค.ศ. 1949 Muller และคณะ[25] ได้ศึกษาความจำเพาะในการผสมกันของเม็ดสีภายในช่องบนกระดาษ โดยทำการสร้างลายบนกระดาษด้วยพาราฟินเพื่อเพิ่มความเร็วในการแพร่ของสาร และการสร้างอุปกรณ์บนกระดาษมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ในปี ค.ศ. 2007 Martinez และคณะ [26] พัฒนาอุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษด้วยระบบของไหลจุลภาค ( $\mu$ PADs) ซึ่งระบบนี้จะใช้สารตัวอย่างปริมาณน้อย โดยมีการสร้างช่องไหลขนาดจุลภาคบนกระดาษ สารละลายจะไหลด้วยแรงคาปิลารี โดย  $\mu$ PADs สามารถสร้างได้ทั้งแบบ 2 มิติและ 3 มิติ ทำให้วิเคราะห์สารได้หลากหลาย

การดัดแปลงลักษณะทางกายภาพของเส้นใยเซลลูโลสเพื่อให้มีความไม่ชอบน้ำ เป็นการประดิษฐ์  $\mu$ PADs เพื่อให้เหมาะสมในการใช้งานสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การพิมพ์ด้วยแว็กซ์ การพิมพ์ด้วยน้ำหมึก การพิมพ์ด้วยแสง การพิมพ์สกรีน เพื่อสร้างแนวการไหลของสารละลาย เรียกรูปแบบกระดาษที่ถูกดัดแปลงในข้างต้นว่า กระดาษแบบหนึ่งมิติ (1-dimensional paper) การออกแบบ  $\mu$ PADs ไม่ได้สิ้นสุดแค่เพียงการสร้างแนวการไหลของสารละลายเท่านั้น มีการตัดกระดาษเป็นรูปแบบต่างๆ เพื่อให้เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับการใช้วิเคราะห์ตัวอย่าง รูปแบบที่ได้รับความนิยมมากที่สุดคือ รูปต้นไม้ โดยสารละลายตัวอย่างจะมีการแทรกซึมผ่านกระดาษส่วนที่เป็นรากไปตามกิ่งและไปยังส่วนที่เป็นใบซึ่งเป็นบริเวณสำหรับทดสอบ (test zone) มีรีเอเจนต์ถูกตรึงสำหรับตรวจวิเคราะห์สาร ผิวหน้าของกระดาษถูกเคลือบด้วยไวนิล (vinyl) และฟิล์มพลาสติกชนิดโพลีเอสเตอร์ (polyester) เพื่อป้องกันการระเหยของตัวอย่าง ความชื้น และปกป้องผิวหน้าของกระดาษจากการปนเปื้อน กลายเป็นอีกรูปแบบหนึ่งของกระดาษที่เรียกว่า กระดาษแบบสองมิติ (2-dimensional paper) สารละลายจะกระจายตัวในระนาบแกน X และแกน Y แตกต่างจากกระดาษแบบสามมิติ (3-dimensional paper) ที่เพิ่มการกระจายของสารละลายในระนาบแกน Z โดยใช้กระดาษแบบสองมิติที่มีการเคลือบผิววางทับซ้อนกันหลายชั้น ในระหว่างชั้นของกระดาษจะมีการสอดแถบป้องกันการไหลซึมของสารละลายไม่ให้ไหลปะปนกันโดยในส่วนของแถบป้องกันการไหลซึมจะมีรูขนาดเล็กให้สารละลายสามารถซึมผ่านจากแผ่นหนึ่งไปอีกแผ่นตามแนวการไหลที่มีการออกแบบให้แตกต่างกันในแต่ละแผ่น

รูปแบบลวดลายของอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษมีอยู่สองแบบ ได้แก่ (1) แบบช่องการไหลด้านข้าง (lateral flow) (รูปที่ 2.3 ก) ซึ่งสารตัวอย่างสามารถไหลไปบนแผ่นกระดาษในท่อการไหลด้วยแรงคาปิลารีเรียงตามเยื่อกระดาษไปยังบริเวณตรวจวัด (test zone) แล้วเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารตัวอย่างกับรีเอเจนต์ และ (2) แบบหลุม (well) วิเคราะห์ได้โดยการนำสารตัวอย่างผสมกับรีเอเจนต์หยดลงไปบริเวณที่ซอบน้ำของกระดาษ (รูปที่ 2.3 ข) การวิเคราะห์ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างสารตัวอย่างกับรีเอเจนต์สามารถทำได้โดยการถ่ายภาพ จากนั้นนำเข้าโปรแกรมประมวลผลภาพ (image) และวัดค่าความเข้มสี ซึ่งค่าความเข้มสีจะแปรผันตรงกับปริมาณสารที่มีอยู่ในตัวอย่าง



(ก)

(ข)

รูปที่ 2.3 แสดงลวดลายของ  $\mu$ PADs แบบช่องการไหล (ก) ด้านข้าง และ (ข) แบบหลุม

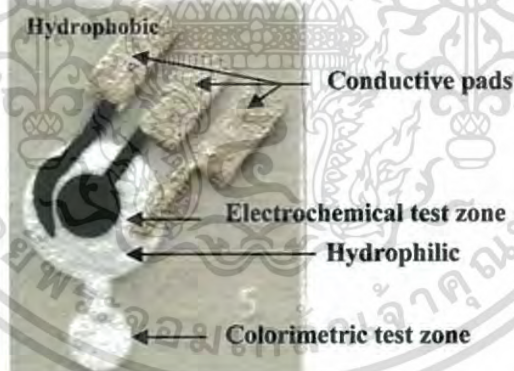
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2.1 การสร้าง $\mu$ PADs

### 2.2.1.1 การพิมพ์ด้วยแสง

มีการใช้แสงเพื่อประดิษฐ์  $\mu$ PADs ซึ่งบนแผ่นกระดาษจะมีการเคลือบสารไวแสง (Photoresist) จากนั้นนำไปอบเพื่อให้สารยึดติดกับผิวหน้าแล้วนำไปฉายด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต ผ่าน Photo mask ไปตกกระทบลงบนแผ่นเพื่อให้เกิดรูปแบบตามที่ต้องการและนำไปล้าง (Develop) เพื่อเอาส่วนของสารไวแสงออกไป

Apilux และคณะ[27] ได้นำห้องปฏิบัติการบนกระดาษ (lap-on-paper) ร่วมกับเทคนิคเคมีไฟฟ้าและการตรวจวัดสีมาวิเคราะห์ปริมาณทอง(III) เมื่อมีตัวรบกวนเป็นเหล็ก(III) ในขยะอุตสาหกรรม โดยมีการออกแบบกระดาษด้วยเทคนิคการพิมพ์ด้วยแสงคือกระดาษรองจะถูกเคลือบด้วยสารไวแสงแล้วนำไปฉายภายใต้แสงยูวี จากนั้นนำไปล้างด้วยไอโซโพรพานอล สำหรับการตรวจวัดด้วยเคมีไฟฟ้าจะศึกษาโวลแทมโมแกรมการรีดักชันของทอง(III) ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1-200 ppm และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดคือ 1 ppm แต่ในงานวิจัยนี้มีเหล็ก(III) เป็นตัวรบกวนจึงได้นำการตรวจวัดสีมาใช้ในการคัดกรอง ในบริเวณการตรวจวัดสีจะถูกเตรียมโดยการหยด 1-10 phenanthroline และ ascorbic ลงไปบน  $\mu$ PADs (รูปที่ 2.4 )



รูปที่ 2.4 แสดงอุปกรณ์ห้องปฏิบัติการบนกระดาษประกอบด้วยบริเวณตรวจวัดทางไฟฟ้าเคมีและบริเวณตรวจวัดสี

### 2.2.1.2 การพิมพ์ด้วยแว็กซ์

เป็นวิธีการที่ใช้ขั้นตอนน้อยที่สุด เหมาะสำหรับการผลิต  $\mu$ PADs จำนวนมากในรูปแบบเดียวกัน โดยมี 2 กระบวนการหลักคือ รูปแบบการพิมพ์แว็กซ์ลงไปบนพื้นผิวและการละลายแว็กซ์ เพื่อสร้างส่วนกั้นที่ไม่ชอบน้ำ ซึ่งการพิมพ์โดยตรงจากเครื่องพิมพ์แว็กซ์เป็นวิธีการที่สะดวกและมีประสิทธิภาพสูงสุด ข้อจำกัดของวิธีนี้คือต้องมีการให้ความร้อนเพิ่มเติม เครื่องพิมพ์และสวดลายที่ได้มีความละเอียดไม่สูงต้องมีการทาสีเพิ่มเติมด้วยปากกาที่บรอยพิมพ์เพื่อเพิ่มความละเอียดของสวดลาย

Jokerst และคณะ[28] ได้พัฒนา  $\mu$ PADs มาวิเคราะห์หา E.coli 0157:H7, Salmonella Typhimurium และ L. monocytogenes ซึ่งเป็นเชื้อโรคในตัวอย่างอาหาร โดยมีการออกแบบกระดาษแบบการพิมพ์แว็กซ์ สร้างวงกลมขนาด 7 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปให้ความร้อนเพื่อละลายแว็กซ์ลงในกระดาษเพื่อเป็นการสร้างแนวการไหลที่ไม่ชอบน้ำ(รูปที่ 2.5) ด้านข้างวงกลมจะมีการติดเทปใสไว้เพื่อเพิ่มการควบคุมการไหลและป้องกันการรั่วไหลในระหว่างการทดลอง สำหรับการตรวจวัด จะทำได้โดยการวัดการเปลี่ยนสีของเอนไซม์ที่ตอบสนองต่อเชื้อโรคชนิดนั้นๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจวัดมีการศึกษาเวลาในการเพาะเชื้อของเชื้อโรคแต่ละชนิด



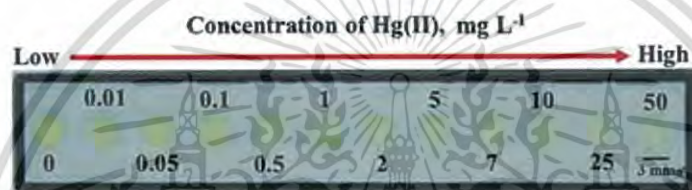
รูปที่ 2.5 แสดงเชื้อโรค E.coli 0157:H7, L. monocytogenes และ Salmonella Typhimurium ตามลำดับที่ตอบสนองกับเอนไซม์แล้วเกิดสีที่เวลาต่างกัน

### 2.2.1.3 การพิมพ์ด้วยหมึกฉีด

ระบบการพิมพ์นี้อาศัยการพิมพ์แบบหยด ช่วยหยดละอองหมึกลงบนกระดาษกรองเฉพาะที่จำเป็นเท่านั้น ทำให้การพิมพ์นี้มีความละเอียดและยืดหยุ่นที่ดี การพิมพ์แบบนี้สามารถขนส่งสารชีวโมเลกุลและรีเอเจนต์ไปตามช่องทางที่ออกแบบไว้ในการกำหนดช่องทางการออกแบบบนพื้นผิวของกระดาษ ซึ่งเส้นใยเซลลูโลสสามารถถูกปรับเปลี่ยนได้โดยการใช้สารที่ให้ความหนืด เช่น Alkenyl succinic anhydride (ASA), Alkyl ketene dimer (AKD) ซึ่งข้อจำกัดของเทคนิคนี้คือไม่เหมาะกับการสร้าง  $\mu$ PADs ในรูปแบบเดียวกันเป็นจำนวนมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Meelapsom และคณะ [29] ได้ศึกษาการวิเคราะห์สีตามรูปแบบ Red Green Blue (RGB) เพื่อหาปริมาณปรอท(II) โดยวัดสีที่เปลี่ยนไปจาก  $\mu$ PADs ที่ถูกสร้างขึ้นโดยใช้เทคนิคการพิมพ์ด้วยหมึกฉืด ซึ่งมีการดัดแปลงหมึกฉืดด้วยการนำ AKD ละลายใน n-heptane และใช้เป็นหมึกที่พิมพ์ลงบนกระดาษกรองเพื่อสร้างส่วนกันที่ไม่ชอบน้ำ จะมีการเคลือบผิวหน้าของ  $\mu$ PADs ด้วยเงินนาโนที่ไม่มีการดัดแปลง ซึ่งจะถูกออกซิไดซ์ด้วยปรอท(II) แล้วเกิดการสลายตัว ปฏิกริยานี้จะเกิดการเปลี่ยนสีจากเหลืองเข้มเป็นสีเหลืองอ่อน (รูปที่ 2.6) ความเข้มสีถูกตรวจพบโดยใช้อุปกรณ์ที่ประกอบด้วยกล้องดิจิตอลและกล่องไฟที่ประดิษฐ์เองที่ให้ความเข้มแสงคงที่ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้คือ 0.001 ppm



รูปที่ 2.6 แสดงความเข้มสีที่เปลี่ยนไปเมื่อเงินนาโนทำปฏิกริยากับปรอท(II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ

#### 2.2.1.4 การประทับตรา

Gracia และคณะ [30] วิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสด้วยการใช้  $\mu$ PADs ที่สร้างจากตราประทับโลหะที่มีความกว้าง 45 มิลลิเมตร (รูปที่ 2.7) มีวิธีการคือ นำกระดาษกรองไปจุ่มในพาราฟิน ปลอกให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้องจากนั้นทับด้วยกระดาษอีกชั้นหนึ่ง นำตราประทับโลหะไปให้ความร้อนแล้วกดทับลงบนกระดาษจะเกิดช่องทางการไหลขึ้นบนกระดาษที่ไม่มีการเคลือบด้วยพาราฟิน จากนั้นเคลือบเอนไซม์ลงบนผิวหน้าโดยกลูโคสออกซิเดส (Glucose oxidase, GOx) และ Horseradish Peroxidase (HRP) ถูกใช้เป็นเอนไซม์เพื่อกระตุ้นปฏิกริยาระหว่างกลูโคสและอินดิเคเตอร์ทำให้เกิดสี การเร่งปฏิกริยาของ glucose ด้วย GOx จะได้ผลิตภัณฑ์เป็น  $H_2O_2$  และ gluconic acid จากนั้น peroxidase จะไปเร่งปฏิกริยาของ  $H_2O_2$  กับอินดิเคเตอร์แล้วเกิดสีที่ตามองเห็นได้ โฟแทสเซียมไอโอไดด์ถูกใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในงานวิจัยนี้ และ HRP จะไปเร่งปฏิกริยาการออกซิเดชันของไอโอไดด์ไปเป็นไอโอดีนด้วย  $H_2O_2$  ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีไปเป็นสีน้ำตาล



รูปที่ 2.7  $\mu$ PADs ที่สร้างจากตราประทับโลหะที่มีความกว้าง 45 mm

## 2.2.2 เทคนิคการตรวจวัดที่ประยุกต์กับ $\mu$ PADs

### 2.2.2.1 ระบบตรวจวัดสี (colorimetric)

วิธีนี้ถูกนำไปใช้อย่างกว้างขวางเพราะเป็นวิธีที่ง่ายและสามารถมองเห็นการเปลี่ยนสีได้ด้วยตาเปล่า เช่น การวิเคราะห์หากลูโคสและโปรตีน ซึ่งทำการวัดเปรียบเทียบสีด้วยตาเปล่าหรือการใช้กล้องถ่ายรูปหรือเครื่องสแกนเนอร์ จากนั้นรูปจะถูกส่งไปยังคอมพิวเตอร์เพื่อวิเคราะห์ความเข้มของสี โดยใช้โปรแกรมในการวิเคราะห์ซึ่งง่ายในการแปลผลข้อมูลจากการทดลอง

### 2.2.2.2 ระบบเคมีไฟฟ้า (electrochemical)

วิธีนี้เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้า โดยเทคนิคนี้จะใช้ขั้วไฟฟ้าทั้งหมด 3 ชนิดในระบบ ได้แก่ ขั้วไฟฟ้าช่วย (Counter electrode) ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (Reference electrode) และขั้วไฟฟ้าใช้งาน (Working electrode) ซึ่งจะสร้างกระดาศโดยนำขั้วทั้ง 3 ชนิดไปเคลือบหรือติดไว้บนกระดาศ

### 2.2.2.3 ระบบเคมีลูมิเนสเซนซ์ (chemiluminescent)

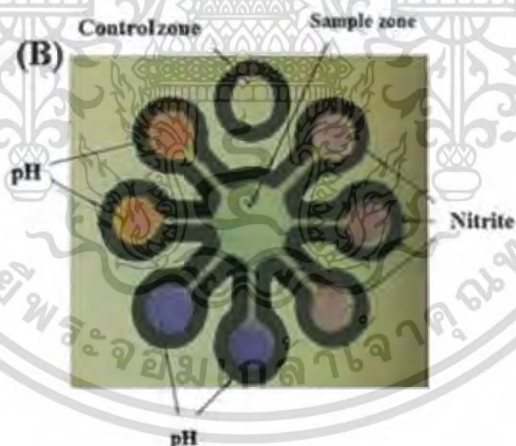
วิธีนี้เป็นการวัดพลังงานที่ปล่อยออกมาในรูปของแสงเมื่อเกิดปฏิกิริยาเคมีขึ้น โดยปฏิกิริยาเคมีจะกระตุ้นให้เกิดพลังงาน ซึ่งไปเหนี่ยวนำอิเล็กตรอนที่สถานะพื้นไปยังสถานะกระตุ้น และเมื่ออิเล็กตรอนตกกลับคืนสู่สถานะพื้นก็จะคายพลังงานออกมาในรูปของแสง

### 2.2.2.4 ระบบฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent)

วิธีนี้เป็นการวัดความเข้มของแสงที่ปลดปล่อยออกมาจากการดูดกลืนแสงหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าของสารที่วิเคราะห์ โดยโมเลกุลของสารที่วิเคราะห์ถูกกระตุ้นและเกิดการสั่นภายในโมเลกุลจากสภาวะพื้นไปสู่สภาวะกระตุ้น โมเลกุลที่อยู่ในขั้นนี้จะไม่เสถียร จึงมีการปลดปล่อยพลังงานและตกลงมาสู่สภาวะพื้นเกิดการคายพลังงานออกมา

### 2.2.3 การประยุกต์ใช้ $\mu$ PADs ในงานทางเคมีวิเคราะห์

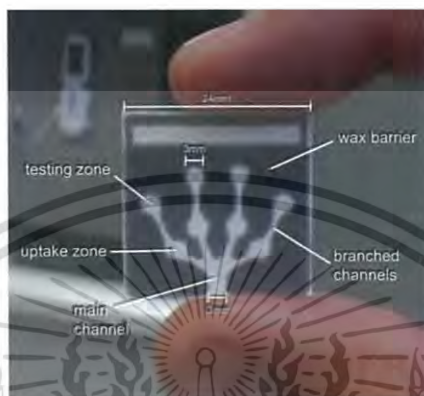
Ruiz และคณะ[31] พัฒนาการตรวจวัดปริมาณไนไตรท์ด้วยแอปพลิเคชันมือถือระบบแอนดรอยด์และวัดพีเอชด้วยการนำไปทำงานร่วมกับอุปกรณ์  $\mu$ PADs โดยจะมีพื้นที่ตรวจวัดทั้งหมด 7 จุด (รูปที่ 2.8) ประกอบด้วยบริเวณตรวจวัดพีเอชและบริเวณตรวจวัดไนไตรท์ ซึ่งบริเวณตรวจวัดไนไตรท์จะมี Griess Reagent เคลือบอยู่ เมื่อไนไตรท์ไหลไปทำปฏิกิริยากันจะเกิดสีชมพูขึ้น ในส่วนของบริเวณตรวจวัดพีเอชจะมีฟีนอลเรดและคลอโรฟีนอลเรดอยู่ การทดลองนี้จะควบคุมแสงด้วยการใช้แฟลชจากโทรศัพท์เป็นแหล่งกำเนิดแสง ภาพจะถูกถ่ายด้วยกล้องและถูกประมวลผลโดยใช้อัลกอริทึมสำหรับตรวจวัดบริเวณพื้นที่ที่เกิดปฏิกิริยา



รูปที่ 2.8 แสดงชุดทดสอบบนกระดาษที่มีการเคลือบรีเอเจนต์ไวโนแต่ละบริเวณ ประกอบด้วยบริเวณตรวจวัดพีเอช 4 จุดและบริเวณตรวจวัดไนไตรท์ 3 จุด

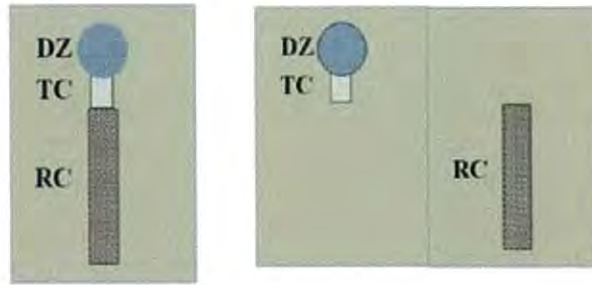
Bhakta และคณะ[32] พัฒนาชุดทดสอบบนกระดาษเพื่อหาปริมาณไนไตรท์ในน้ำลายซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ถึงโรคปริทันต์อักเสบ โดยสร้างชุดทดสอบด้วยการพิมพ์ด้วยเวกซ์ (รูปที่ 2.9) และอาศัยปฏิกิริยา

Griess ซึ่งชุดทดสอบนี้จะมีการควบคุมสถานะต่างๆ ให้มีความเหมาะสมที่สุดในการเกิดปฏิกิริยานี้ เช่น การเพิ่มความเข้มข้นจะใช้ 5%  $H_3PO$  แทนการใช้อะซิติกในการละลาย Griess reagent และยังสามารถเพิ่มอายุการเก็บรักษาได้อีกด้วย งานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดความเข้มข้นของไนโตรต์ 10 - 1000  $\mu M$  ซีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้คือ 10  $\mu M$



รูปที่ 2.9 แสดงชุดทดสอบบนกระดาษซึ่งประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำ (main channel), บริเวณที่สารเคลื่อนที่ (branched channel), บริเวณที่เคลือบด้วยรีเอเจนต์ (uptake zone), บริเวณที่เกิดปฏิกิริยา (testing zone) ซึ่งบริเวณเหล่านี้จะถูกล้อมรอบด้วยส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (wax barrier)

Jayawardane และคณะ[34] พัฒนาการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทและไนโตรต์ด้วยชุดทดสอบบนกระดาษ ซึ่งจะออกแบบให้มี 2 ส่วนคือ ส่วนที่ชอบน้ำและส่วนที่ไม่ชอบน้ำ โดยส่วนที่ชอบน้ำจะถูกเคลือบด้วยสังกะสีจะมีอยู่ 2 บริเวณคือ บริเวณที่เกิดการรีดักชัน (RC) ของไนเตรทให้เป็นไนโตรต์และบริเวณที่สารเคลื่อนที่ (TC) ส่วนที่ไม่ชอบน้ำจะมีการเคลือบด้วย Griess reagent (รูปที่ 2.10) เมื่อไนโตรต์เคลื่อนที่มายังบริเวณนี้ก็จะทำปฏิกิริยากันแล้วเกิดสีชมพูขึ้น เรียกบริเวณนี้ว่าบริเวณตรวจวัด (DZ) หลังจากนั้นก็นำกระดาษเข้าเครื่องสแกนแล้ววิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม ImageJ



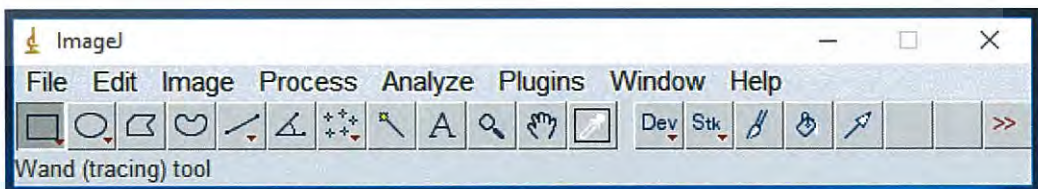
รูปที่ 2.10 แสดงชุดทดสอบบนกระดาดในแบบ 2 มิติ ซึ่งประกอบด้วย RC=บริเวณที่เกิดการรีดักชัน, TC=บริเวณที่สารเกิดการเคลื่อนที่และ DZ=บริเวณตรวจวัด

## 2.3 การใช้งานโปรแกรม ImageJ

ImageJ เป็นโปรแกรมที่ได้ถูกพัฒนาขึ้นจาก Wayne Rasband และ The National Institute of Health (NIH) ประเทศสหรัฐอเมริกา โปรแกรมนี้ถูกเขียนมาเพื่ออำนวยความสะดวกในการวิเคราะห์ข้อมูลจากรูปภาพ ตัวอย่างเช่น การนับจำนวนเซลล์ที่ได้จากภาพถ่าย การหาพื้นที่ของวัตถุ เป็นต้น โดยทำการวัดขนาดของอนุภาคที่ปรากฏในรูปภาพ เป็นโปรแกรมใช้สำหรับวิเคราะห์ภาพที่มีให้ดาวน์โหลดได้ฟรีและยังมีการเปิด source code ให้มีการพัฒนาอีกด้วย และปัจจุบันได้มีการนำมาใช้มากขึ้นในการวิเคราะห์ผลทางวิทยาศาสตร์ [34] โดยวิธีการใช้โปรแกรม ImageJ มี 2 วิธีการดังต่อไปนี้

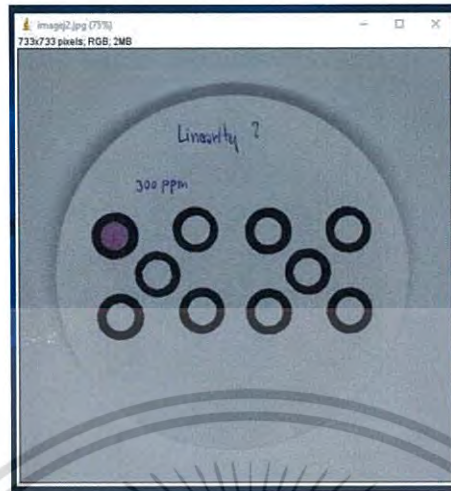
### 2.3.1 วิธีการประมวลผลแบบ Color channels

2.3.1.1 เปิดโปรแกรม ImageJ (รูปที่ 2.10) จากนั้นเปิดภาพที่ต้องการวิเคราะห์โดยไปที่ File > Open ตัวอย่างภาพที่ใช้วิเคราะห์ ดังแสดงในรูปที่ 2.12



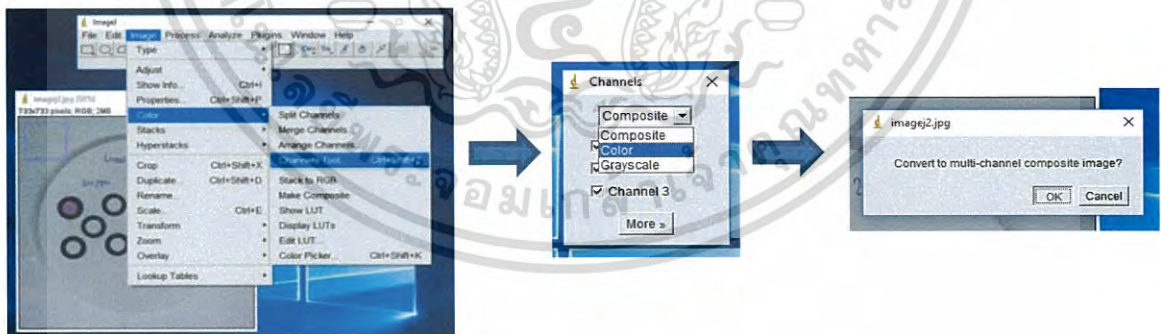
รูปที่ 2.11 โปรแกรม ImageJ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



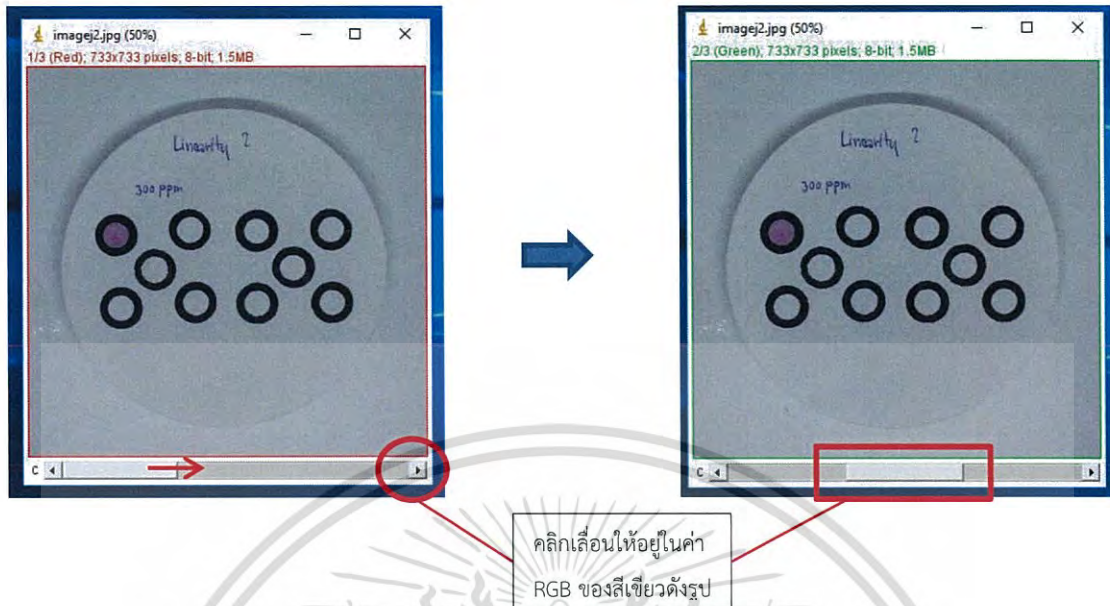
รูปที่ 2.12 ตัวอย่างภาพที่ต้องการวิเคราะห์

2.3.1.2 การกำหนดพารามิเตอร์ต่างๆที่ใช้ในการวิเคราะห์ภาพ โดยไปที่ Image > Color > Channels Tools คลิกเลือก Channels ให้เป็น Color แล้วกด OK (ดังรูปที่ 2.13) จากนั้นคลิกเลือกพารามิเตอร์ของสี (ค่า RGB) ที่จะใช้สำหรับนำไปวิเคราะห์ผล เช่น เลือกใช้ค่า RGB ของสีเขียว (Green) จะได้ภาพหลังการกำหนดพารามิเตอร์ (ดังรูปที่ 2.14)



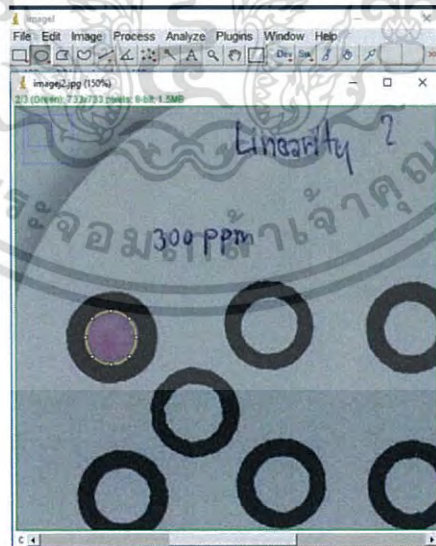
รูปที่ 2.13 การเลือกพารามิเตอร์ Channels

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.14 การเลือกพารามิเตอร์ RGB

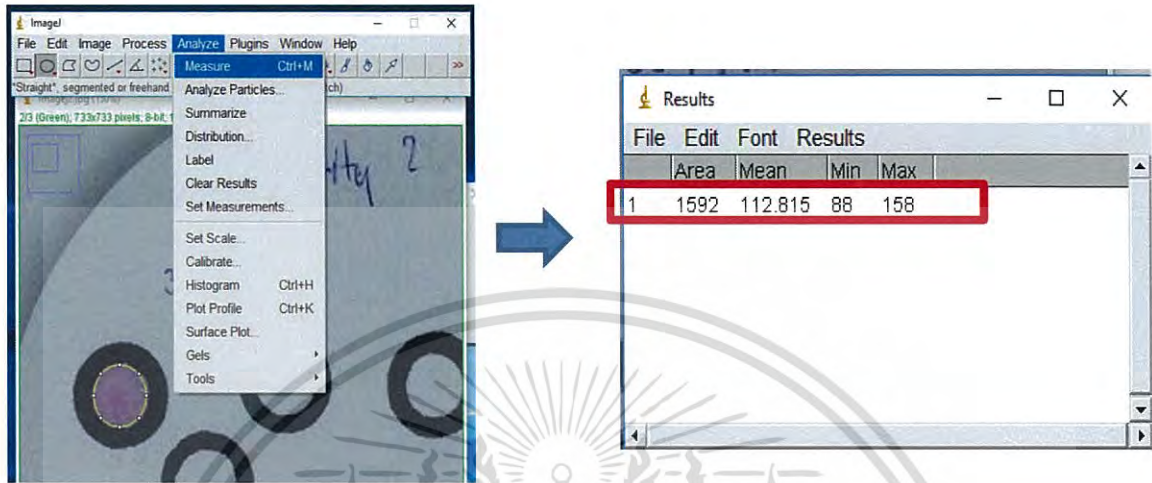
2.3.1.3 เลือกส่วนของภาพที่ต้องการวิเคราะห์ โดยใช้เครื่องมือ Magnifying glass  เพื่อขยายภาพและใช้เครื่องมือ Scrolling Tool  เพื่อเลื่อนภาพไปมา จากนั้นใช้เครื่องมือ Oval  คลิกลากเลือกเฉพาะส่วนที่ต้องการ (รูปที่ 2.15)



รูปที่ 2.15 เลือกพื้นที่ในภาพส่วนที่ต้องการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

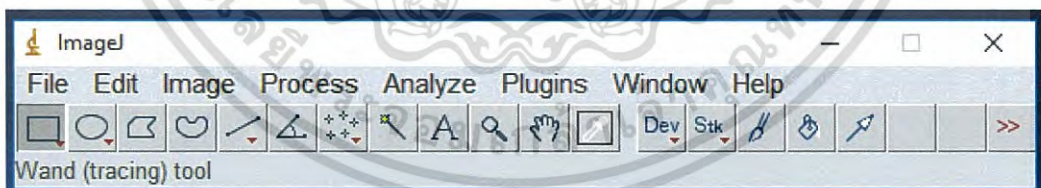
2.3.1.4 เลือกการวิเคราะห์ เมื่อคลิกลากพื้นที่ส่วนที่ต้องการได้แล้ว ทำการวิเคราะห์ภาพโดยไปที่ Analyze > Measure ก็จะได้ผลของข้อมูลทีวิเคราะห์ (รูปที่ 2.16)



รูปที่ 2.16 Results ที่ได้จากการวิเคราะห์

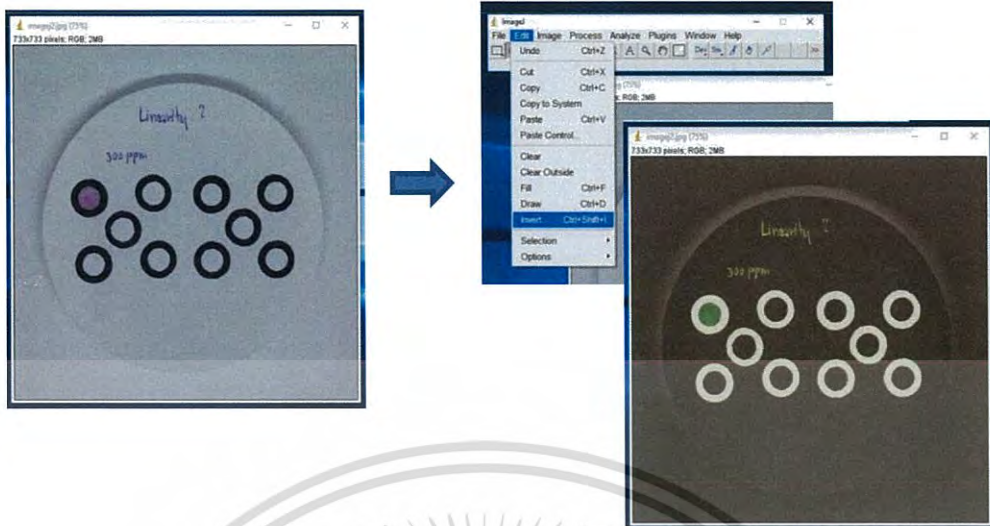
### 2.3.2 วิธีการประมวลผลแบบ Histogram

2.3.2.1 เปิดโปรแกรม ImageJ (ดังรูปที่ 2.17) จากนั้นเปิดภาพที่ต้องการวิเคราะห์โดยไปที่ File > Open จะได้ตัวอย่างภาพที่ใช้วิเคราะห์ เมื่อได้เปิดภาพมาแล้วให้ไปที่ Edit > Invert เพื่อเปลี่ยนสีของภาพ (รูปที่ 2.18)



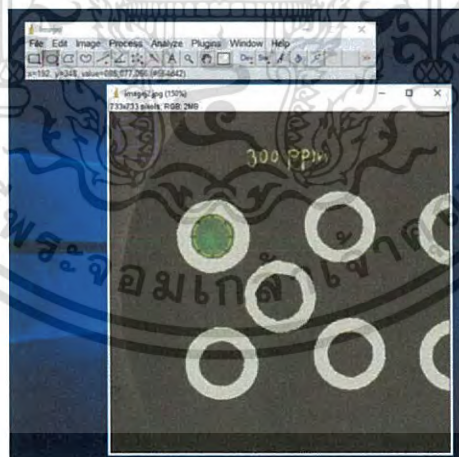
รูปที่ 2.17 โปรแกรม ImageJ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.18 ตัวอย่างภาพที่ต้องการวิเคราะห์

2.3.2.2 เลือกส่วนของภาพที่ต้องการวิเคราะห์ โดยใช้เครื่องมือ Magnifying glass เพื่อขยายภาพ และใช้เครื่องมือ Scrolling Tool เพื่อเลื่อนภาพไปมา จากนั้นใช้เครื่องมือ Oval คลิกลากเลือกเฉพาะส่วนที่ต้องการ (รูปที่ 2.19)



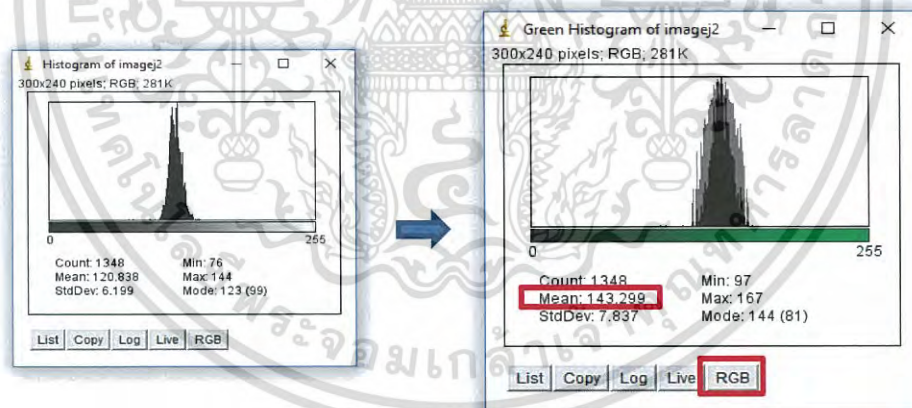
รูปที่ 2.19 เลือกพื้นที่ในภาพส่วนที่ต้องการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2.3 เลือกการวิเคราะห์ เมื่อคลิกลากพื้นที่ส่วนที่ต้องการแล้ว ทำการวิเคราะห์ภาพโดยไปที่ Analyze > Histogram จากนั้นโปรแกรมก็จะแสดงผลของภาพที่วิเคราะห์ (ดังรูปที่ 2.20) โดยวิธีที่สองนี้เป็นการแสดงผลของภาพที่วิเคราะห์ในรูปแบบ Histogram เช่น การเลือกพารามิเตอร์ RGB ของสีเขียว (Green) และนำค่าเฉลี่ย (Mean) มาใช้ในการวิเคราะห์ผล (แสดงดังรูปที่ 2.21)



รูปที่ 2.20 การวิเคราะห์ภาพและการแสดงผล



รูปที่ 2.21 แสดงการเลือกพารามิเตอร์ RGB ของสีเขียวมาใช้ในการวิเคราะห์ผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.4.1 งานวิจัยที่ใช้หาปริมาณไอโอดีน

#### 2.4.1.1 การไทเทรต[2]

วิธีมาตรฐานสำหรับตรวจวิเคราะห์ไอโอดีนในห้องปฏิบัติการเคมีด้วยวิธีการไทเทรตแบบไอโอดิเมตรี (Iodometric titration) หมายถึงการไทเทรตโดยทางอ้อม (Indirect titration) เป็นการไทเทรตสารละลายไอโอดีนที่เกิดจากปฏิกิริยาอื่นอีกทีหนึ่ง มีปฏิกิริยา 2 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกเป็นการรีดิวซ์ไอโอดีนให้อยู่ในรูปของไอโอดีนอิสระ (free iodine) โดยการนำไปทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟูริกและมีการเติมโพแทสเซียมไอโอไดด์เพื่อช่วยให้ไอโอดีนอิสระละลายน้ำได้ดีขึ้น ขั้นที่สองเป็นการหาปริมาณไอโอดีนโดยการนำไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตโดยใช้น้ำแข็งเป็นอินดิเคเตอร์ ไทเทรตไปจนได้สารละลายสีเหลืองอ่อนจึงหยดน้ำแข็งลงไปเพราะถ้าเติมเร็วไปจะทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไอโอดีนกับน้ำแข็ง เมื่อหยดน้ำแข็งลงไปจะเกิดเป็นสารละลายสีน้ำเงิน ที่จุดยุติจะได้สารละลายใสไม่มีสี เพราะไอโอดีนทำปฏิกิริยาพอดีกันกับโซเดียมไทโอซัลเฟต

ซึ่งเทคนิคนี้จะสามารถวัดผลได้แม่นยำและวัดปริมาณไอโอดีนได้ไม่จำกัด แต่ยังมีข้อจำกัดของเรื่องเวลาที่ใช้ในการทดสอบ มีหลายขั้นตอนการทดสอบ ต้องเก็บไอโอดีนอิสระไว้ในที่มีดเพราะถูกออกซิไดซ์ด้วยแสงกลายเป็นไอโอดีนได้และไม่เหมาะกับการนำไปใช้ภาคสนาม

#### 2.4.1.2 เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Ion Chromatography)

Kumar และคณะ[3] พัฒนาเทคนิค Anion exchange chromatography ร่วมกับเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า ในการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอดีนและซัลเฟต โดยในเทคนิคนี้ต้องมีการกำจัดตัวรบกวนที่มีอนุภาคขนาดใหญ่คือ คลอไรด์ (Cl<sup>-</sup>) ออกจากสารตัวอย่างด้วย Guard column ที่ภายในมีการบรรจุเรซินที่มีหมู่ฟังก์ชันเป็นซิลเวอร์ (Ag<sup>+</sup> form) ซึ่งมีความสามารถในการดักจับคลอไรด์ โบรมไนด์ (Br<sup>-</sup>) และไอโอไดด์ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของไอโอดีนและซัลเฟตในเทคนิคนี้เป็น 0.5 µg/mL และ 0.05 µg/mL ตามลำดับและสามารถวิเคราะห์ได้ในสารตัวอย่างที่เป็นเกลือ

Chen และคณะ[4] พัฒนาเทคนิค Ion chromatography ร่วมกับเทคนิค ICP-MS ในการหาปริมาณไอโอดีนและไอโอดีนในสาหร่ายทะเล โดยใช้สารละลาย 20 mM NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> ที่พีเอช 5.6 เป็นเฟสเคลื่อนที่และช่วยลดการสะสมของเกลือบน sampler cone และ skimmer cone บน ICP-MS ได้อีก

ด้วย งานวิจัยนี้ได้กราฟเส้นตรงที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 5.0-500  $\mu\text{g/L}$  ขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของไอโอเดตเป็น 1.5  $\mu\text{g/L}$  ของไอโอดีนเป็น 2.0  $\mu\text{g/L}$

Huang และคณะ[5] พัฒนาการหาปริมาณไอโอไดด์และไอโอเดตพร้อมกันในการวิเคราะห์เพียงครั้งเดียวด้วยคอลัมน์ที่ทำขึ้นเองจาก Polystyrene-divinyl benzene resin (PS-DVB) และใช้การสลับคอลัมน์ในเทคนิค Ion chromatography ซึ่งคอลัมน์ที่สังเคราะห์ขึ้นจะมี 2 ลักษณะคือมีความสามารถในการแลกเปลี่ยนแอนไอออนได้ดี (high-capacity anion-exchange column) และแลกเปลี่ยนแอนไอออนได้ไม่ดี (low-capacity anion exchange) โดยขึ้นกับปริมาณหมู่ Quaternary Ammonium ที่เกาะอยู่บน PS-DVB resin จะส่งผลให้คอลัมน์มีความสามารถในการยึดเกาะแอนไอออนไว้ได้ต่างกัน ต่อมา Huang และคณะ[6] ได้นำคอลัมน์ที่มีความสามารถในการแลกเปลี่ยนแอนไอออนได้ดี (high-capacity anion-exchange column) มาวิเคราะห์หาปริมาณไอโอเดตในเกลือ โดยคอลัมน์นี้มีความสามารถในการแยกไอโอเดตออกจากคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นสูงๆได้ ไอโอเดตจะถูกชะออกมาก่อนและตรวจวัดด้วย UV detection จะได้กราฟเส้นตรงที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1 - 10  $\text{mg/L}$  และขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้คือ 45.53  $\mu\text{g/L}$

#### 2.4.1.3 เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry)

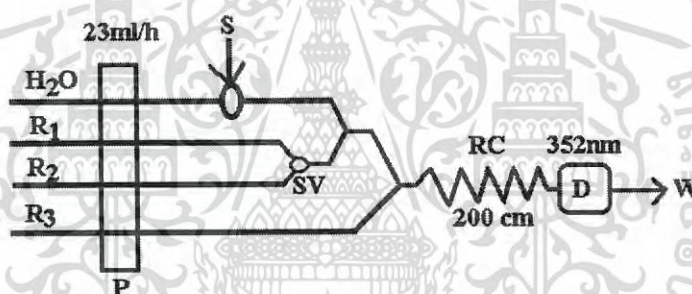
Pereira และคณะ[7] พัฒนาวิธีการหาปริมาณไอโอเดตในตัวอย่างน้ำธรรมชาติ โดยใช้เทคนิค Liquid-Phase Microextraction ร่วมกับ microwave UV-VIS spectrophotometer ซึ่งอาศัยปฏิกิริยาการรีดักชันของไอโอเดตให้กลายเป็นไอแล้วไปเกาะบน N,N-dimethylformamide ที่ติดอยู่บริเวณปลายเข็ม สำหรับสภาวะที่เหมาะสมในการทดลองมีดังนี้ คือ ปริมาณของ N,N-dimethylformamide ที่เกาะอยู่ปลายเข็มเป็น 2.5 ไมโครลิตร สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 10 มิลลิลิตร ปั่นกวน 1400 rpm เป็นเวลา 7 นาที จากนั้นเติมโพแทสเซียมไอโอเดต ( $\text{KIO}_3$ ) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดหาปริมาณไอโอเดตในงานวิจัยนี้คือ 1.1  $\mu\text{L/L}$

Filgueiras และคณะ[8] พัฒนาวิธีการสำหรับหาปริมาณไอโอเดตในตัวอย่างเกลือ โดยใช้เทคนิคอัลตราซาวด์ร่วมกับเทคนิค Liquid-Liquid Microextraction ซึ่งอาศัยการเกิดออกซิเดชันของไอโอไดด์จากปฏิกิริยาของไวสเลอร์ (Weisler's reaction) ทำให้สามารถหาปริมาณของไอโอไดด์ในเกลือได้ในระดับ ppm โดยการใช้การ sonicated ที่ความถี่สูง พร้อมกับการใช้คาร์บอนเตตระคลอไรด์ ( $\text{CCl}_4$ ) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันและเป็นสารสกัดให้ไอโอไดด์ อนุมูลของคลอรีนที่เกิดขึ้นเมื่อ

sonicated จะเกิดปฏิกิริยาได้ดีกับไอโอดีนเมื่อเกิดการรวมตัวกันจะกลายเป็นไอโอดีนซึ่งจะถูกสกัดได้ เป็นสารละลายสีม่วง และนำไปตรวจวัดด้วย microvolume UV-vis spectrophotometer

#### 2.4.1.4 เทคนิคการไหล (Flow based techniques)

Ensafi และคณะ[9] พัฒนาเทคนิค Sequential injection เพื่อหาปริมาณเพอร์ไอโอดेटและไอโอดेट โดยอาศัยไอโอดีนที่พีเอช 3.5 เป็นตัวทำปฏิกิริยาจะได้ไอโอดีนเป็นสารผลิตภัณฑ์ ระบบการไหลนี้ประกอบด้วย 3 ช่องทางการไหล (รูปที่ 2.22) มีน้ำเป็นตัวพาสารผสมของเพอร์ไอโอดेटและไอโอดेटให้ไหลไปตามท่อ จากนั้นจะไหลไปทำปฏิกิริยากับโมลิบเดตที่พีเอช 3.5 เมื่อไหลไปยังบริเวณตรวจวัดจะปรากฏเพียงพีคการดูดกลืนแสงของไอโอดेटเพราะโมลิบเดตไปดับขั้วอิทธิพลของเพอร์ไอโอดेट แต่ถ้าต้องการวัดสัญญาณของเพอร์ไอโอดेटให้นำไปทำปฏิกิริยากับไอโอดีนและบัพเฟอร์ที่พีเอช 3.5 ก่อน จึงจะปรากฏพีคการดูดกลืนแสงของเพอร์ไอโอดेटและไอโอดेटขึ้น

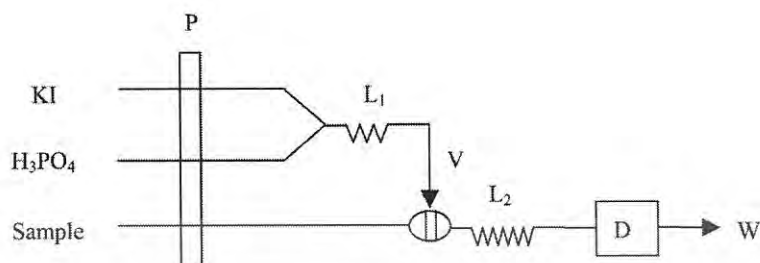


รูปที่ 2.22 แสดงระบบ Flow injection ประกอบด้วย P=peristaltic pump, S=sample injection valve, SV=selection valve, RC=reaction coil, D=detector, W=waste, R1=molybdate solution 0.003 M buffered at pH 3.5, R2=buffer solution pH 3.5 and R3=iodide solution 0.1 M

Xie และคณะ[10] อาศัย Reversed-flow injection ในการหาปริมาณไอโอดेटและไอโอดีนในเกลือ โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไอโอดेटด้วยไอโอดีนในกรดฟอสฟอริก ( $H_3PO_4$ ) เกิดผลิตภัณฑ์เป็นไตรไอโอดีน (tri-iodide) แล้วนำมาตรวจวัดด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 351 nm (รูปที่ 2.23) โดยที่ค่าการดูดกลืนแสงจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของไอโอดेटในสารตัวอย่าง

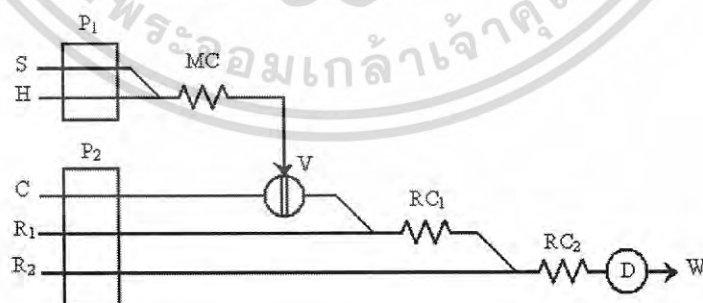
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะได้กราฟมาตรฐานที่ช่วงความเป็นเส้นตรงตั้งแต่ 0.02 - 3.0  $\mu\text{g/mL}$  ของไอโอไดต์ ซีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดอยู่ที่ 0.008  $\mu\text{g/mL}$



รูปที่ 2.23 แสดงระบบ Reversed-flow injection เมื่อ P=peristaltic pump, L1=mixing coil 0.8mm x 10cm, L2=reaction coil 0.8mm x 60cm, V=sampling valve 150  $\mu\text{L}$ , D=detector, W=waste

Shabani และคณะ[11] พัฒนาระบบ Flow injection สำหรับหาปริมาณไอโอเดต โดยอาศัยปฏิกิริยาการออกซิเดชันของไอโอเดต สารผลิตภัณฑ์จะเกิดสารละลายสีชมพูแล้วนำไปตรวจวัดด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ สำหรับระบบการไหลจะประกอบไปด้วยช่องการไหลของสารตัวอย่างไปทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซีลามีน และติดตามผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นคือไนไตรท์ แล้วทำปฏิกิริยากับซัลฟานิลาไมด์ และ N-(1-naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride (NED) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารละลายสีชมพู (รูปที่ 2.24) เมื่อนำไปตรวจวัดด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ จะได้กราฟมาตรฐานที่ช่วงความเป็นเส้นตรงตั้งแต่ 0.1 mg/L เทคนิคนี้ใช้วิเคราะห์หาปริมาณไอโอเดตในตัวอย่างที่เป็นเกลือ



รูปที่ 2.24 แสดงระบบ Flow injection ในการวิเคราะห์หาปริมาณไอโอเดต ซึ่ง H=ไฮดรอกซีลามีน, S=สารตัวอย่าง, C=ตัวพา, R<sub>1</sub>=ซัลฟานิลาไมด์ และ R<sub>2</sub>=NED

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 2.4.1.5 เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical techniques)

Huang และคณะ[12] พัฒนาวิธีการหาปริมาณไนไตรท์และไอโอเดตจากการปรับปรุงผิวหน้าของขั้ว GC (glassy carbon) ด้วยทองคำนาโน (AuNPs) บน poly(3-methylthiophene) (PM3T) ศึกษาลักษณะของขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงนี้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่มีกำลังขยายสูง (FE-SEM) พบว่าชั้นของ AuNPs/PM3T มีความสม่ำเสมอ มีพื้นที่ผิวขนาดใหญ่และมีคุณสมบัติที่ดีที่สามารถวิเคราะห์หาไนไตรท์ได้ในช่วงความเข้มข้น 10 - 1000 M ขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจหาได้คือ 2.3 M และไอโอเดตที่ 5 - 500 M ขีดจำกัดต่ำสุดคือ 1.4 M งานวิจัยนี้ถูกนำมาใช้วิเคราะห์หาไนไตรท์และไอโอเดตในตัวอย่างเกลือที่ให้ผลน่าพอใจ เพราะขั้วไฟฟ้า AuNPs/PM3T มีความเสถียรและใช้งานได้หลายครั้ง

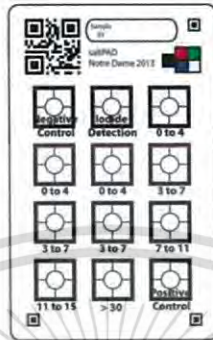
Guadagnini และคณะ[13] พัฒนาวิธีการหาปริมาณไนไตรท์และไอโอเดตในตัวอย่างน้ำแร่และเกลือ จากการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าด้วยปฏิกิริยารีดักชันของซิลเวอร์ไนเตรท ( $\text{AgNO}_3$ ) ซึ่งจะทำให้เกิดเป็นเงินนาโน (AgNPs) และไปเคลือบบนแผ่นกราไฟต์บริสุทธิ์ที่มีความยืดหยุ่นสูง มีการเติมแอมโมเนียลงในสารละลายเพื่อแก้ไขปัญหาในการดูดซับ  $\text{Ag}^+$  บนผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าที่จะทำให้เกิดสัญญาณของตัวรบกวนและป้องกันไม่ให้เกิดการวัดในตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของคลอไรด์สูง ข้อดีของการเลือกใช้ AgNPs คือมีคุณสมบัติในการเคลือบผิวขั้วไฟฟ้าได้ดี เช่น ทนความร้อน นำไฟฟ้า มีความทนทานต่อแบคทีเรียและตัวเร่งปฏิกิริยาอื่นๆ

Tabrizi และคณะ[14] ได้ปรับปรุงขั้วไฟฟ้า GC (glassy carbon) ด้วย copoly(diphenylamine 2:4 p-phenylenediamine) (copoly(DPA2:4PPA)) โดยการทำให้โพลีเมอร์ของ diphenylamine กับ p-phenylenediamine ในสารละลายกรดซัลฟูริก จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าขั้วไฟฟ้าที่มีการเคลือบด้วย (copoly(DPA2:4PPA)) จะมีความไวต่อการรีดักชันของไอโอเดต สามารถวิเคราะห์ได้ในช่วงความเข้มข้น 50-550  $\mu\text{M}$  และขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้คือ 0.8  $\mu\text{M}$  ข้อดีของเทคนิคนี้คือ มีความเสถียร ทำซ้ำได้ มีความเฉพาะเจาะจง และสามารถวิเคราะห์หาปริมาณไอโอเดตได้ในตัวอย่างปัสสาวะ

#### 2.4.2 งานวิจัยที่ใช้ $\mu\text{PADs}$ วิเคราะห์หาไอโอเดต

Myers และคณะ[20] ได้พัฒนาชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับการไทเทรตแบบไอโอดิเมทรี (Iodometric titration) โดยแผ่นทดสอบนี้ได้เตรียมจากการพิมพ์ด้วยเวกซ์ ประกอบด้วยกรอบสี่เหลี่ยม 12 รูป เรียกว่า loading zone ซึ่งเป็นบริเวณสำหรับเกิดปฏิกิริยา (รูปที่ 2.25) โดยเส้นขอบ

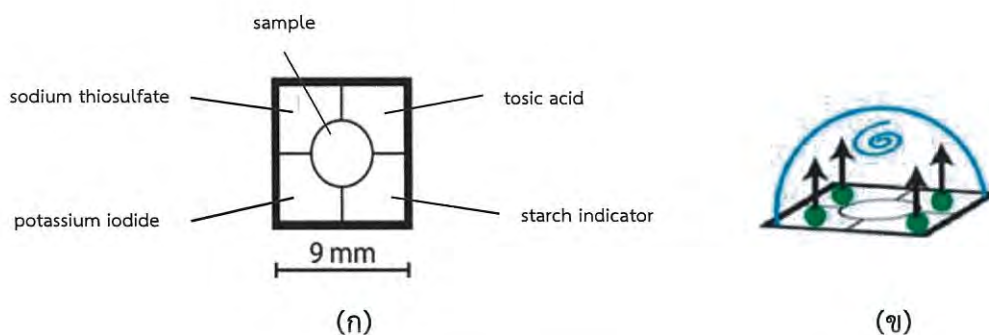
เป็นบริเวณที่ไม่ชอบน้ำ สามารถรองรับรีเอเจนต์ได้สูงสุด 5 ชนิด ใน loading zone และในแต่ละ loading zone ส่วนจะถูกเคลือบไว้ด้วยรีเอเจนต์ต่างชนิดกันโดยไม่มีการผสมเพราะจะถูกแยกออกจากกันด้วยแวกซ์



รูปที่ 2.25 รูปแบบของชุดทดสอบเพื่อทดสอบการไทเทรตแบบไอโอโดเมทรี

สำหรับ loading zone แต่ละส่วนจะถูกเคลือบไว้ด้วย sodium thiosulfate, potassium iodide, p-toluenesulfonic (toxic acid) และใช้น้ำแบ่งเป็นอินดิเคเตอร์ (รูปที่ 2.26 ก) เมื่อทำการหยดสารตัวอย่างลงไป สารตัวอย่างจะคลุ้มและถูกตรึงไว้บน loading zone ทำให้เกิดการละลายรีเอเจนต์ที่ถูกเคลือบไว้ (รูปที่ 2.26 ข) จากนั้นนำชุดทดสอบนี้ไปวางบนเครื่องเขย่าเพื่อให้สารตัวอย่างและรีเอเจนต์ทำปฏิกิริยากันเกิดเป็นสารละลายสีน้ำเงิน

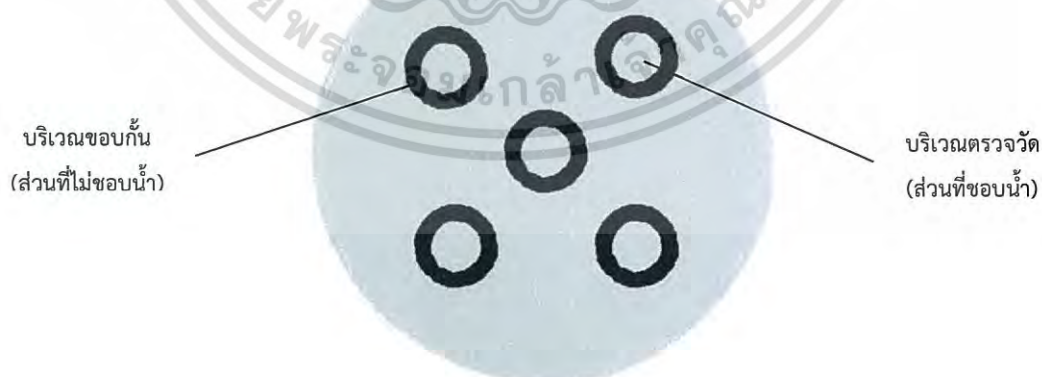
งานวิจัยนี้สามารถตรวจวัดความเข้มข้นของไอโอดีนได้ตั้งแต่ 0.8 - 15 ppm และเนื่องจากการไทเทรตแบบไอโอโดเมทรีโดยปกติสามารถเก็บรักษารีเอเจนต์ได้ไม่นานและรีเอเจนต์ที่ใช้มีหลายตัว ดังนั้นเทคนิคนี้รีเอเจนต์จะถูกเคลือบและทำให้แห้งบนแผ่นทดสอบเพื่อให้เวลาในการเก็บรักษารีเอเจนต์นานขึ้น แต่มีข้อจำกัดคือต้องมีการเขย่าให้สารตัวอย่างและรีเอเจนต์ทำปฏิกิริยากันจนเห็นสี ส่งผลให้มีขั้นตอนการทดลองที่ยุ่งยากและควบคุมการทดลองได้ยากอีกด้วย



รูปที่ 2.26 (ก) แสดงขนาดของ loading zone และ (ข) ลักษณะของสารตัวอย่างเมื่อหยดลงไปในชุดทดสอบสำหรับทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์

## 2.5 งานวิจัยนี้

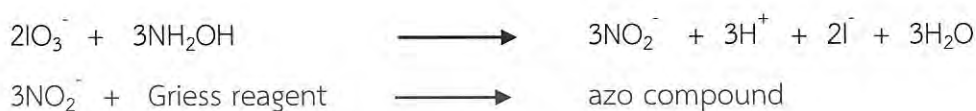
$\mu$ PADs ในงานวิจัยนี้ถูกออกแบบโดยใช้วิธีประทับด้วยน้ำหมึกที่ไม่ชอบน้ำบนกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 มีรูปแบบเป็นหลุมกลม มีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางเป็น 8 มิลลิเมตรและความหนาของเส้นขอบเป็น 1.5 มิลลิเมตร ทำการวิเคราะห์ได้โดยการหยดสารตัวอย่างกับรีเอเจนต์หยดลงไป ในบริเวณที่ชอบน้ำของกระดาษ โดยรีเอเจนต์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ ไฮดรอกซีลามีเนเพอร์ดีทิวซีไอโอเดต และ Griess reagent ซึ่งเป็นสารละลายผสมประกอบด้วย ซัลฟานิลาไมด์ และ NED ที่เตรียมในสารละลายกรด



รูปที่ 2.27  $\mu$ PADs ที่ออกแบบให้มีลักษณะเป็นหลุมกลมที่ใช้ในงานวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$\mu$ PADs เพื่อหาปริมาณไอโอดีตนี้อาศัยปฏิกิริยาการรีดักชันของไอโอดีตด้วยไฮดรอกซีลามีนกับ ไอโอดีตเกิดผลิตภัณฑ์คือ ไนไตรท์และไอโอดีตตั้งปฏิกิริยาด้านล่างนี้ จากนั้นไนไตรท์ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยาต่อกับ Griess Reagent ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่เกิดขึ้นเป็นสารประกอบเอโซ (azo compound) ซึ่งเป็นสารละลายสีชมพู จากนั้นจะทำการถ่ายภาพเพื่อนำไปวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม ImageJ



การวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม ImageJ จะแสดงผลออกมาเป็นค่าความเข้มสีที่โปรแกรมสามารถอ่านได้ ความเข้มสีที่เกิดขึ้นจะแปรตามความเข้มข้นของไอโอดีต ถ้าความเข้มข้นไอโอดีตมากจะส่งผลให้เกิดไนไตรท์มากจึงทำให้สีของผลิตภัณฑ์สุดท้ายเข้มไปด้วย ดังนั้นชุดทดสอบบนกระดาษนี้จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงปริมาณวิเคราะห์ได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### บทที่ 3

## วิธีการดำเนินงานวิจัย

### 3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

#### 3.1.1 สารเคมี

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

ใช้น้ำปราศจากไอออน (Deionized water – Mili Q) ที่ได้จากเครื่องผลิตน้ำบริสุทธิ์ (RO+Mixedbed, Treat Chemical, Thailand) ในการเตรียมสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

ไมโครปิเปต ขนาด 1 – 10 ไมโครลิตร  
100 – 1000 ไมโครลิตร  
1 – 5 มิลลิลิตร

ขวดวัดปริมาตร ขนาด 5 มิลลิลิตร  
10 มิลลิลิตร  
25 มิลลิลิตร  
50 มิลลิลิตร  
100 มิลลิลิตร

ปิเกตเจอร์ ขนาด 25 มิลลิลิตร  
50 มิลลิลิตร

หลอดทดลอง

แท่งแก้วคนสาร

ช้อนตักสาร

กระบอกตวง

กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

หมึกกันน้ำสีดำ ตราม้า

ตรายางสำหรับสร้าง µPADs

เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง บริษัท OHAUS, USA

สตูดิโอสำหรับถ่ายรูป ยี่ห้อ UDIOBOX

## 3.2 การเตรียมสารละลาย

### 3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไอโอเดต

เตรียมสารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 1000 ppm (stock standard solution) โดยการละลายโพแทสเซียมไอโอเดตหนัก 0.1231 กรัม ด้วยน้ำปราศจากไอออน ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

เตรียมสารละลายไอโอเดตที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยการปิเปตสารละลายมาตรฐานไอโอเดต 1000 ppm ปริมาตร 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร จะได้สารละลายไอโอเดตเข้มข้น 100, 200, 300, 400, 500, 600, และ 700 ppm ตามลำดับ

### 3.2.2 การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M

ปิเปตสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37% v/v) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

### 3.2.3 การเตรียมสารละลายไฮดรอกซีลามีเนอ 0.1 M

ละลายไฮดรอกซีลามีเนอหนัก 0.1737 กรัม ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.5 M ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M จนถึงขีดบอกปริมาตร

### 3.2.4 การเตรียมสารละลายเมทานอล 70 % v/v

ปิเปตสารละลายเมทานอล (99.99% v/v) ปริมาตร 70 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

*\*หลังจากเตรียมเสร็จเก็บในภาชนะที่ปิดสนิทเพื่อป้องกันการระเหย*

### 3.2.5 การเตรียมสารละลาย Griess reagent

1. ชั่งซัลฟานิลไมด์หนัก 0.2152 กรัม และ NED หนัก 0.0210 กรัม ในปิเปเจอร์และปิเปตสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37% v/v) ปริมาตร 207 ไมโครลิตร ลงไป

2. เติมนิเตรต 70% v/v ลงไปในบีกเกอร์เพื่อละลาย Griess reagent ที่ได้ชั่งไว้ และเทลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 5 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วยเมทานอล 70% v/v จนถึงขีดบอกปริมาตร

โดยสารละลาย Griess reagent ที่เตรียมขึ้นนี้มีความเข้มข้นสุดท้ายของซัลฟานิลไมด์เป็น 0.25 M และ NED 0.02 M กรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในละลาย Griess reagent มีความเข้มข้น 0.5 M

### 3.3 การสร้าง $\mu$ PADs

3.3.1 ออกแบบช่องทางการไหลของสารแบบหลุม โดยมึลักษณะเป็นวงกลมเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 mm และความหนาของเส้นขอบเป็น 1.5 mm จำนวน 5 วง มีระยะห่างของแต่ละหลุม 4 mm (รูปที่ 3.1 ข) ในโปรแกรม Microsoft PowerPoint หรือโปรแกรมอื่นๆ เช่น Microsoft Word, Paint, Photoshop

3.3.2 สร้างตรายางที่มีลวดลายตามที่ออกแบบ ก่อนเริ่มใช้งานนำตรายางไปแช่ด้วยหมึกที่กั้นน้ำ ในงานวิจัยนี้ใช้หมึกกั้นน้ำสีดำตราม้า (รูปที่ 3.1 ก)

3.3.3 นำตรายางนี้ไปประทับลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ทำการกดค้างไว้ประมาณ 3 – 5 วินาที เพื่อให้ช่องทางการไหลซึมทะลุผ่านไปจนถึงด้านหลังกระดาษกรองและป้องกันไม่ให้สารละลายซึมออกนอกแนวกัน



(ก)



(ข)

รูปที่ 3.1 (ก) แสดงอุปกรณ์ที่ใช้ในการสร้าง  $\mu$ PADs (ข) แสดงลวดลายบน  $\mu$ PADs ที่สร้างขึ้น

### 3.4 การถ่ายภาพ $\mu$ PADs

การถ่ายภาพชุดทดสอบจะใช้กล่องสตูดิโอยี่ห้อ UNIBOX ที่มีการควบคุมแสง เพื่อให้แสงกระจายเท่ากันทุกทิศทาง บริเวณด้านบนของกล่องจะมีช่องว่างที่เห็นด้านในของสตูดิโอซึ่งจะทำการวางอุปกรณ์ถ่ายภาพ ซึ่งในงานวิจัยนี้จะใช้กล้องจากโทรศัพท์มือถือ จากนั้นจะวาง  $\mu$ PADs ไว้บริเวณกึ่งกลางสตูดิโอที่มีการทำสัญลักษณ์ไว้และทำการหยดสารละลายไอโอเดตตามด้วยสารละลายไฮดรอกซีลามีนและ Griess reagent ปริมาตรอย่างละ 3 ไมโครลิตร เมื่อเกิดสีชมพูของสารผลิตภัณฑ์บน  $\mu$ PADs แล้วจะทำการถ่ายรูปและนำไปวิเคราะห์ความเข้มสีที่ได้ด้วยโปรแกรม ImageJ



รูปที่ 3.2 แสดงอุปกรณ์ในการถ่ายภาพ  $\mu$ PADs

### 3.5 วิธีดำเนินการทดลอง

#### 3.5.1 การศึกษาปริมาตรการหยดสารที่เหมาะสม

ปิเปตสีผสมอาหารสีแดงปริมาตร 1 ไมโครลิตร แล้วหยดลงไปบน  $\mu$ PADs เปลี่ยนปริมาตรเป็น 2, 3, 4 และ 5 ไมโครลิตร ตามลำดับ ถ่ายรูปลักษณะการกระจายของสารเพื่อหาปริมาตรที่หยดลงไปแล้วสารละลายเต็มวงพอดีและไม่กระจายออกนอกวง

#### 3.5.2 การศึกษารูปแบบการเตรียมรีเอเจนต์ที่ใช้การทำปฏิกิริยา

##### 3.5.2.1 การเตรียม Griess reagent ร่วมกับไฮดรอกซีลามีน

1. ชั่งไฮดรอกซีลามี้นหนัก 0.1737 กรัม ซัลฟานิลไมด์หนัก 0.4305 กรัม และ NED หนัก 0.1050 กรัม ลงในบีกเกอร์และปิเปตสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37% v/v) ปริมาตร 1.03 มิลลิลิตร ลงไป
2. เติมนีเมทานอล 70% v/v ลงไปในบีกเกอร์เพื่อละลายไฮดรอกซีลามี้นและ Griess reagent ที่ได้ชั่งไว้ เทลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วยเมทานอล 70% v/v จนถึงขีดบอกปริมาตร
3. ปิเปตสารละลายไอโอเดตเข้มข้น 100 ppm ใส่ในหลอดทดลองปริมาตร 300 ไมโครลิตร และหยดรีเอเจนต์ที่เตรียมไว้ลงในปริมาตร 300 ไมโครลิตร จากนั้นถ่ายภาพหลอดทดลองเพื่อเปรียบเทียบสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น
4. ทำการทดลองซ้ำในข้อ 3 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของไอโอเดตเป็น 0, 200, 300, 400, 500, 600 และ 700 ppm ตามลำดับ

#### 3.5.2.2 การเตรียม Griess reagent แยกกับไฮดรอกซีลามี้น

1. ชั่งไฮดรอกซีลามี้นหนัก 0.1737 กรัม ในบีกเกอร์และละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M
2. ชั่งซัลฟานิลไมด์หนัก 0.4305 กรัม และ NED หนัก 0.1050 กรัม ในบีกเกอร์ ปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37% v/v) ปริมาตร 1.03 มิลลิลิตร ลงไป
3. เติมนีเมทานอล 70% v/v ลงไปในบีกเกอร์เพื่อละลาย Griess reagent ที่ได้ชั่งไว้ เทลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตรและปรับปริมาตรด้วยเมทานอล 70% v/v จนถึงขีดบอกปริมาตร
4. ปิเปตสารละลายไอโอเดตเข้มข้น 100 ppm ใส่ในหลอดทดลองปริมาตร 300 ไมโครลิตร จากนั้นหยดสารละลายไฮดรอกซีลามี้นปริมาตร 150 ไมโครลิตร ตามด้วย Griess reagent 150 ไมโครลิตร จากนั้นถ่ายภาพหลอดทดลองเพื่อเปรียบเทียบสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น
5. ทำการทดลองซ้ำในข้อ 4 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของไอโอเดตเป็น 0, 200, 300, 400, 500, 600 และ 700 ppm ตามลำดับ

### 3.5.3 การศึกษาชนิดของกรดที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent

1. เตรียมสารละลาย Griess reagent ในปิ๊กเกอร์โดยการชั่งซัลฟานิลาไมด์หนัก 0.2152 กรัม และ NED หนัก 0.0210 กรัม และกรดซिटริกหนัก 0.6479 กรัม ละลายด้วยเมทานอล 70 % v/v ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันจะได้ความเข้มข้นของกรดซिटริกเป็น 0.5 M

2. ปิ่บเตตสารละลายไอโอเดเตตเข้มข้น 250 ppm ลงบน  $\mu$ PADs ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 วินาที หยดไฮดรอกซีลามีนและ Griess reagent ปริมาตรละ 3 ไมโครลิตร

3. ถ่ายรูปด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ หลังจากหยดรีเอเจนต์เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม Image J

4. ทำการทดลองซ้ำในข้อ 2 และ 3 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของไอโอเดเตตเป็น 0, 500 และ 1000 ppm ตามลำดับ

5. นำค่าความเข้มสีมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไอโอเดเตตกับความแตกต่างความเข้มสี ( $\Delta$ )

เปลี่ยนกรดที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent เป็นกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37%) ปริมาตร 207 ไมโครลิตร และกรดฟอสฟอริกเข้มข้นปริมาตร 153 ไมโครลิตร ตามลำดับซึ่งทำให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากันคือ 0.5 M จากนั้นทำการทดลองเหมือนข้างต้น

### 3.5.4 การศึกษาความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent

1. เตรียมสารละลาย Griess reagent โดยการชั่งซัลฟานิลาไมด์หนัก 0.2152 กรัม และ NED หนัก 0.0210 กรัม ปิ่บเตตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37% v/v) ปริมาตร 104 ไมโครลิตร ละลายด้วยเมทานอล 70 % v/v ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันจะได้ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกเป็น 0.25 M

2. ปิ่บเตตสารละลายไอโอเดเตตเข้มข้น 300 ppm ลงบน  $\mu$ PADs ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 วินาที หยดไฮดรอกซีลามีนและตามด้วย Griess reagent อย่างละ 3 ไมโครลิตร

3. ถ่ายรูปด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือหลังจากหยดรีเอเจนต์เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม Image J

4. ทำการทดลองซ้ำในข้อ 2 และ 3 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของไอโอเดเตตเป็น 0 ppm

5. นำค่าความเข้มสีมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไอโอเดตกับความแตกต่างความเข้มสี ( $\Delta I$ )

เปลี่ยนวิธีการเตรียมสารละลาย Griess reagent ในข้อ 1 โดยใช้ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37% v/v) เป็น 207 ไมโครลิตร และ 414 ไมโครลิตร จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของกรดไฮโดรคลอริกเป็น 0.5 M และ 1.0 M ตามลำดับ จากนั้นทำการทดลองเหมือนข้างต้น

### 3.5.5 การศึกษาความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent

1. เตรียมเมทานอลเข้มข้น 25 % v/v โดยการปิเปตจากขวดที่มีความเข้มข้นเมทานอล 99.99% v/v มา 25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน เมทานอลที่เตรียมได้จะนำไปใช้ในการละลาย Griess reagent ที่มีซัลฟานิลาไมด์หนัก 0.2152 กรัม และ NED หนัก 0.0210 กรัมและกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37%) ปริมาตร 104 ไมโครลิตร

2. ปิเปตสารละลายไอโอเดตเข้มข้น 500 ppm ลงบน  $\mu$ PADs ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 วินาที หยดไฮดรอกซีลามีนและตามด้วย Griess reagent อย่างละ 3 ไมโครลิตร

3. ถ่ายรูปด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือหลังจากหยดรีเอเจนต์ที่เวลา 1 นาที จากนั้นนำไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม Image J

4. ทำการทดลองซ้ำในข้อ 2 และ 3 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของไอโอเดตเป็น 0 ppm

5. นำค่าความเข้มสีมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไอโอเดตกับความแตกต่างความเข้มสี ( $\Delta I$ )

เปลี่ยนความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent เป็น 50, 70 และ 80 % v/v โดยเจือจางเมทานอลที่ 50, 70 และ 80 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นทำการทดลองเหมือนข้างต้น

### 3.5.6 การศึกษาความเข้มข้นของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent

1. เตรียมสารละลาย Griess reagent โดยการชั่งซัลฟานิลาไมด์หนัก 0.4305 กรัม และ NED หนัก 0.0525 กรัม ในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37%) ปริมาตร 1.03 มิลลิลิตร กับเมทานอล 70 % v/v ในขวดวัดปริมาตร 25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้ความเข้มข้นของ NED เป็น 0.01 M

2. ปิเปตสารละลายไอโอดेटเข้มข้น 100 ppm ลงบน  $\mu$ PADs ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 วินาที หยดไฮดรอกซีลามีนและตามด้วย Griess reagent อย่างละ 3 ไมโครลิตร

3. ถ่ายรูปด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือหลังจากหยดรีเอเจนต์เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม Image J

4. ทำการทดลองซ้ำในข้อ 2 และ 3 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นไอโอดेटเป็น 0, 200, 300, 400, 500, 600 และ 700 ppm ตามลำดับ

5. นำค่าความเข้มสีมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไอโอดेटกับความแตกต่างความเข้มสี ( $\Delta I$ )

เปลี่ยนความเข้มข้นของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent เป็น 0.02, 0.03 และ 0.04 M โดยชั่ง NED หนัก 0.1050, 0.1576 และ 0.2101 กรัม ตามลำดับ จากนั้นทำการทดลองเหมือนข้างต้น

### 3.5.7 การศึกษาความเข้มข้นของซัลฟานิลาไมด์ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent

1. เตรียมสารละลาย Griess reagent โดยการชั่ง NED หนัก 0.0210 กรัม และซัลฟานิลาไมด์หนัก 0.0430 กรัม ในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37% v/v) 207 ไมโครลิตร กับเมทานอล 70 % v/v ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันจะได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 0.05 M

2. ปิเปตสารละลายไอโอดेटเข้มข้น 300 ppm ลงบน  $\mu$ PADs ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 วินาที หยดไฮดรอกซีลามีนและตามด้วย Griess reagent อย่างละ 3 ไมโครลิตร

3. ถ่ายรูปด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือหลังจากหยดรีเอเจนต์เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม Image J

4. ทำการทดลองซ้ำในข้อ 2 และ 3 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของไอโอดेटเป็น 0 ppm

5. นำค่าความเข้มสีมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไอโอดेटกับความแตกต่างความเข้มสี ( $\Delta I$ )

เปลี่ยนความเข้มข้นของซัลฟานิลาไมด์เป็น 0.1, 0.2, 0.25 และ 0.5 M โดยการชั่งซัลฟานิลาไมด์มา 0.0861, 0.1722, 0.2152 และ 0.4305 กรัม ตามลำดับ จากนั้นทำการทดลองเหมือนข้างต้น

### 3.5.8 การศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับไฮดรอกซีลามีน

1. ชั่งไฮดรอกซีลามีนหนัก 0.1737 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร
2. ปิเปตสารละลายไอโอดีตเข้มข้น 100 ppm ลงบน  $\mu$ PADs ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 วินาที ตามด้วยไฮดรอกซีลามีนที่ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนและ Griess reagent อย่างละ 3 ไมโครลิตร
3. ถ่ายรูปด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือหลังจากหยดรีเอเจนต์เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม Image J
4. ทำการทดลองซ้ำในข้อ 2 และ 3 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นไอโอดีตเป็น 0, 250, 500 และ 700 ppm
5. นำค่าความเข้มสีมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไอโอดีตกับความแตกต่างความเข้มสี ( $\Delta I$ )

เปลี่ยนตัวทำละลายไฮดรอกซีลามีนเป็นกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M โดยการชั่งไฮดรอกซีลามีนหนัก 0.1737 กรัมและละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นทำการทดลองเหมือนข้างต้น

### 3.5.9 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของไฮดรอกซีลามีน

1. ชั่งไฮดรอกซีลามีนหนัก 0.0868 กรัม ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.5 M ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของไฮดรอกซีลามีนเป็น 0.05 M
2. ปิเปตสารละลายไอโอดีตเข้มข้น 200 ppm ลงบน  $\mu$ PADs ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 วินาที ตามด้วยไฮดรอกซีลามีนที่ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M และ Griess reagent อย่างละ 3 ไมโครลิตร
3. ถ่ายรูปด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือหลังจากหยดรีเอเจนต์เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม Image J
4. ทำการทดลองซ้ำในข้อ 2 และ 3 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของไอโอดีตเป็น 0 และ 500 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. นำค่าความเข้มข้นมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไอโอดีนกับความแตกต่างความเข้มสี ( $\Delta I$ )

เปลี่ยนความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามีเน่เป็น 0.1 M และ 0.15 M โดยการชั่งไฮดรอกซีลามีเน่มา 0.1737 กรัม และ 0.2605 กรัม ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M จากนั้นทำการทดลองเหมือนข้างต้น

### 3.5.10 การศึกษาเวลาในการทำปฏิกิริยาของไอโอดีนกับไฮดรอกซีลามีเน่

1. ปิเปตสารละลายไอโอดีนที่ความเข้มข้น 700 ppm มา 200 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง หยดไฮดรอกซีลามีเน่ลงไปอีก 200 ไมโครลิตร ปั่นให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 15 วินาที จากนั้นจึงหยด Griess reagent ลงไป

2. เปลี่ยนเวลาในการทำปฏิกิริยาของไอโอดีนกับไฮดรอกซีลามีเน่เป็น 30, 45, 60, 75 และ 90 วินาที จากนั้นทำการทดลองเหมือนกับข้างต้น

3. ถ่ายรูปผลในหลอดทดลองแต่ละหลอดเพื่อเปรียบเทียบสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เมื่อเวลาในการทำปฏิกิริยาแตกต่างกัน

### 3.5.11 การศึกษาเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารผลิตภัณฑ์ไนโตรกับ Griess reagent

1. ปิเปตสารละลายไอโอดีนที่ความเข้มข้น 400 ppm มา 3 ไมโครลิตร ลงบน  $\mu$ PADs ตั้งไว้เป็นเวลา 15 วินาที หยดสารละลายไฮดรอกซีลามีเน่ 3 ไมโครลิตร และปล่อยให้ทำปฏิกิริยากัน 15 วินาที จากนั้นจึงหยด Griess reagent ลงไปให้ทำปฏิกิริยากัน 10 วินาที แล้วถ่ายภาพ  $\mu$ PADs เพื่อนำไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม Image J รวมเวลาในการทำปฏิกิริยาทั้งหมดเป็น 40 วินาที

2. ทำการทดลองซ้ำในข้อ 1 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของไอโอดีนเป็น 0 ppm

3. นำค่าความเข้มข้นมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไอโอดีนกับความแตกต่างความเข้มสี ( $\Delta I$ )

เปลี่ยนเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารผลิตภัณฑ์ไนโตรกับ Griess reagent เป็น 15, 20, 25 และ 30 วินาที รวมเวลาในการทำปฏิกิริยาทั้งหมดเป็น 45, 50, 55 และ 60 วินาที ตามลำดับ จากนั้นทำการทดลองเหมือนข้างต้น

### 3.5.12 การวิเคราะห์ค่าสี RGB

1. ปิเปตสารละลายไอโอเดตเข้มข้น 100 ppm มา 3 ไมโครลิตร ลงบน  $\mu$ PAD ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 วินาที จากนั้นจึงหยด 0.1 M ไฮดรอกซีลามีน 3 ไมโครลิตร ปล่อยให้ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 15 วินาทีและหยด Griess reagent อีก 3 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากันนาน 20 วินาที แล้วทำการถ่ายภาพ  $\mu$ PAD รวมเวลาในการทำปฏิกิริยาทั้งหมดเป็น 50 วินาที ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

2. นำภาพถ่ายไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม Image J โดยเลือกกำหนดพารามิเตอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ภาพ โดยไปที่ Image > Color > Channels Tools คลิกเลือก Channels ให้เป็น Color จากนั้นคลิกเลือกพารามิเตอร์ของสี (ค่า RGB) ที่จะใช้สำหรับนำไปวิเคราะห์ผล ทำการวิเคราะห์ค่าสีทั้ง 3 สี คือสีแดง (Red) สีเขียว (Green) สีน้ำเงิน (Blue)

3. ทำการทดลองซ้ำในข้อ 1 และ 2 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของไอโอเดตเป็น 0, 200, 300, 400, 500, 600 และ 700 ppm

3. นำค่าความเข้มสีที่ได้มาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไอโอเดตกับความแตกต่างความเข้มสี ( $\Delta I$ )

## 3.6 การประเมินคุณลักษณะของวิธี

### 3.6.1 ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

1. ปิเปตสารละลายไอโอเดตเข้มข้น 100 ppm มา 3 ไมโครลิตร ลงบน  $\mu$ PAD ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 วินาที จากนั้นจึงหยด 0.1 M ไฮดรอกซีลามีน 3 ไมโครลิตร ปล่อยให้ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 15 วินาทีและหยด Griess reagent อีก 3 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากันนาน 20 วินาที ถ่ายรูปด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือ รวมเวลาในการทำปฏิกิริยาทั้งหมดเป็น 50 วินาที

2. นำภาพถ่ายไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม Image J โดยเลือกพารามิเตอร์ของสีในช่วงของสีเขียว

3. ทำการทดลองที่ความเข้มข้น 100 ppm ซ้ำ 2 ครั้ง

4. ทำการทดลองซ้ำในข้อ 1 และ 2 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นไอโอเดตเป็น 0, 200, 300, 400, 500, 600 และ 700 ppm แต่ละความเข้มข้นให้ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

5. นำค่าความเข้มสีที่ได้มาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไอโอเดตกับความแตกต่างความเข้มสี ( $\Delta I$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.6.2 ความเที่ยง (Precision)

ความเที่ยงเป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถของการวิเคราะห์ในการแสดงค่าเดิมเมื่อทำการวัดหลายๆ ครั้งหรือความสามารถในการแสดงซ้ำ (Repeatability) ภายใต้สภาวะที่กำหนด ระบุในรูปของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพันธ์ (Relative standard deviation, RSD) ซึ่งแสดงค่าความคาดเคลื่อนของวิธีที่เกิดขึ้น นิยมแสดงเป็นค่าร้อยละ

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

เมื่อ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD)

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

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

สามารถหาได้จากกราฟมาตรฐาน โดยใช้สูตร

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

เมื่อ  $Y_B$  คือ จุดตัดแกน  $y$  ที่ได้จากการสมการเส้นตรง regression ของกราฟมาตรฐาน

$S_B$  คือ ค่าคลาดเคลื่อนในแนวแกน  $y$

$Y_B$  หาได้จาก การแทนค่า  $x = 0$  ในสมการเส้นตรง

$S_B$  หาได้จาก

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

$y_i$  คือ ค่าจริงที่ได้จากเครื่อง

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

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

สามารถหาได้จากกราฟมาตรฐาน โดยใช้สูตร

$$LOQ = Y_B + 10S_B$$

เมื่อ  $Y_B$  คือ จุดตัดแกน  $y$  ที่ได้จากการเส้นตรง regression ของกราฟมาตรฐาน

$S_B$  คือ ค่าคลาดเคลื่อนในแนวแกน  $y$

$Y_B$  หาได้จาก การแทนค่า  $x = 0$  ในสมการเส้นตรง

$S_B$  หาได้จาก

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

$y_i$  คือ ค่าจริงที่ได้จากเครื่อง

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

การทดลองหาความเที่ยง, LOD และ LOQ

1. ปิเปตสารละลายไอโอเดตเข้มข้น 100 ppm มา 3 ไมโครลิตร ลงบน  $\mu$ PAD ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 วินาที จากนั้นจึงหยด 0.1 M ไฮดรอกซีลามีน 3 ไมโครลิตร บ่อยให้ทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 15 วินาทีและหยด Griess reagent อีก 3 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากันนาน 20 วินาที รวมเวลาในการทำปฏิกิริยาทั้งหมดเป็น 50 วินาที ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง
2. ถ่ายรูปด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือและนำไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม Image J โดยเลือกพารามิเตอร์ของสีในช่วงของสีเขียว
3. คำนวณหา %RSD , LOD และ LOD

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

#### 4.1 ปฏิบัติการที่ใช้ตรวจวัดไอโอเดต

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับหาปริมาณไอโอเดตด้วยปฏิบัติการรีดักชันของไอโอเดตด้วยไฮดรอกซีลามีน และทำปฏิกิริยากับ Griess reagent ได้สารผลิตภัณฑ์เป็นไนโตรที่ซึ่งเป็นสารสีชมพู (รูปที่ 4.1) ในบทนี้จะกล่าวถึงผลการวิจัยและอภิปรายผล การหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลองและการประเมินคุณลักษณะต่างๆ ของวิธี



รูปที่ 4.1 แสดงสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในหลอดทดลองเมื่อนำ (ก) สารละลายแบลงค์ และ (ข) สารละลายมาตรฐานไอโอเดต ไปทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซีลามีนและ Griess reagent






#### 4.2 ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดไอโอเดต

##### 4.2.1 ผลการศึกษาปริมาตรสารที่หยดเหมาะสม

นำกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่ได้ประทับแนวการไหลลงไปด้วยหมึกที่ไม่ชอบน้ำแล้วมาหยดด้วยสารละลายสีผสมอาหารสีแดงปริมาตรตั้งแต่ 1 - 5 ไมโครลิตร จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งแล้วถ่ายรูปด้วยกล้องจากโทรศัพท์มือถือ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1

ผลการทดลองพบว่าที่ปริมาตร 1 และ 2 ไมโครลิตร สารละลายสีแดงกระจายได้ไม่เต็มวง จึงได้เพิ่มปริมาตรสารที่หยดมากขึ้นเป็นปริมาตร 3, 4 และ 5 ไมโครลิตร ปรากฏว่าสารละลายสีแดงสามารถแพร่ได้ทั่วและเต็มบริเวณวงกลม โดยไม่ซึมล้นออกมานอกขอบหมึกแนวกันที่ได้ประทับตราไว้

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณสารละลายสีแดงและลักษณะการแพร่บนชุดทดสอบบนกระดาษซึ่งเป็นหลุมกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร

ปริมาณที่หยด	ลักษณะการแพร่
1	
2	
3	
4	
5	

ในงานวิจัยนี้จะนำ  $\mu$ PADs ที่พัฒนาขึ้นมาหาปริมาณไอโอเดตซึ่งจะต้องหยดสารละลายมาตรฐาน ไอโอเดต สารละลายไฮดรอกซีลามีเนและ Griess reagent (หยดสารละลายทั้งหมด 3 ครั้ง) โดยแต่ละสารละลายนี้จะต้องแพร่กระจายเต็มวงพอดีเพื่อให้สารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีสีที่สม่ำเสมอทั่วกันในบริเวณพื้นที่วงกลม

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกปริมาณที่เหมาะสมเพื่อใช้ทดสอบบน  $\mu$ PADs คือ 3 ไมโครลิตร ซึ่งสารละลายจะเต็มวงตั้งแต่ครั้งแรกที่หยด แพร่กระจายในวงกลมได้เต็มวงและปริมาณดังกล่าวจะไม่มีการกระจายออกนอกวง

#### 4.2.2 ผลการศึกษารูปแบบการเตรียมรีเอเจนต์

ทำการเปรียบเทียบผลของการเตรียมรีเอเจนต์แบบรวมและแยกต่อผลการตรวจวัดไอโอเดตการเตรียมรีเอเจนต์แบบรวม คือ การเตรียมสารละลายไฮดรอกซีลามีนผสมกับ Griess reagent โดยการชั่งไฮดรอกซีลามีน ซัลฟานิลไมด์และ NED รวมกันในปิกเกอร์ จากนั้นละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นและเมทานอล การเตรียมรีเอเจนต์แบบแยกทำได้โดยเตรียมไฮดรอกซีลามีนแยกกับ Griess reagent (ซัลฟานิลไมด์และ NED) ซึ่งมีการควบคุมความเข้มข้นของรีเอเจนต์ที่เตรียมขึ้นทั้ง 2 แบบให้มีค่าเท่ากัน

ทำการทดสอบโดยหยดสารละลายไอโอเดตเข้มข้น 0 – 700 ppm ในหลอดทดลองและตามด้วยรีเอเจนต์ที่เตรียมไว้ ถ่ายรูปหลอดทดลองเพื่อเปรียบเทียบสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น จากผลการทดลองพบว่าเมื่อนำสารละลายไอโอเดตไปทำปฏิกิริยากับไฮดรอกซีลามีนที่เตรียมรวมกับ Griess reagent สีของสารผลิตภัณฑ์ที่ไอโอเดตความเข้มข้นต่ำ (100 - 400 ppm) มีสีส้มแดง อาจเป็นเพราะไฮดรอกซีลามีนเป็นตัวรีดิวซ์ที่แรง ซึ่งสามารถไปรีดิวซ์ Griess reagent ก่อนที่จะไปรีดิวซ์ไอโอเดตจึงทำให้เกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์ตัวอื่น ส่วนสีของสารผลิตภัณฑ์ที่ความเข้มข้นไอโอเดตสูง มีสีชมพู (รูปที่ 4.2 ก) ในขณะที่ปฏิกิริยาระหว่างสารละลายไอโอเดตกับไฮดรอกซีลามีนที่เตรียมแยกกับ Griess reagent จะได้สารผลิตภัณฑ์สีชมพูทุกความเข้มข้นและสีที่ได้จะเข้มข้นตามความเข้มข้นของไอโอเดตซึ่งสีที่ได้เป็นไปตามสีผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ (รูปที่ 4.2 ข)

ในงานวิจัยนี้จึงเลือกรีเอเจนต์ที่เตรียมไฮดรอกซีลามีนแยกกับ Griess reagent เพื่อให้ได้สีของสารผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการ

#### (ก) เตรียมรีเอเจนต์แบบรวม



Blank 100 200 300 400 500 600 700 (ppm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## (ข) เตรียมรีเอเจนต์แบบแยก



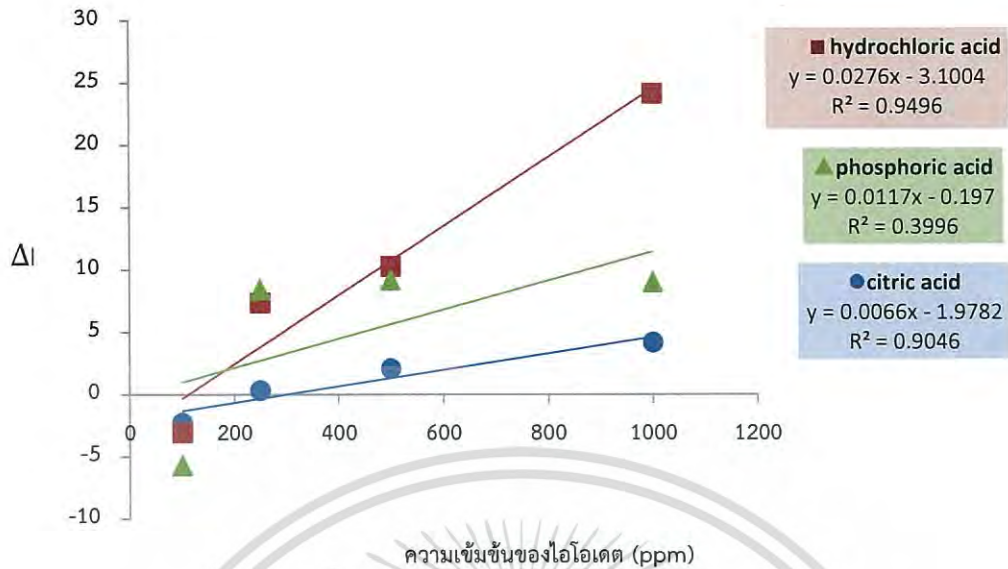
Blank 100 200 300 400 500 600 700 (ppm)

รูปที่ 4.2 สีของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอดีนกับ (ก) สารละลายไฮดรอกซีลามีที่เตรียมร่วมกับ Griess reagent และ (ข) สารละลายไฮดรอกซีลามีที่เตรียมแยกกับ Griess reagent

#### 4.2.3 ผลชนิดของกรดที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent

ทำการศึกษานิตของกรดที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent โดยใช้กรด 3 ชนิด ที่ความเข้มข้นเดียวกัน คือ 0.5 M ได้แก่ กรดซिटริก กรดไฮโดรคลอริก และกรดฟอสฟอริก โดยทำการละลายซัลฟานิลไมด์และ NED ด้วยกรดชนิดต่างๆ และปรับปริมาตรด้วยเมทานอลในขวดวัดปริมาตรทำการทดลองลงบน  $\mu$ PADs โดยการเปิดสารละลายไอโอดีนความเข้มข้น 0, 250, 500 และ 1000 ppm ลงในแต่ละหลุมและตามด้วยสารละลายไฮดรอกซีลามีปริมาตร 3 ไมโครลิตร จากนั้นจึงหยด Griess reagent ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ลงบน  $\mu$ PADs

เมื่อถ่ายภาพด้วยกล้องจากมือถือและนำไปวิเคราะห์ค่าสีจะเห็นค่าความเข้มสี ( $\Delta I$ ) ที่แตกต่างกัน โดย Griess reagent ที่ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกจะให้ความเข้มสีชัดที่สุดและให้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ดีที่สุด คือ  $R^2 = 0.9496$  ตามด้วยกรดซिटริกและกรดฟอสฟอริก ตามลำดับ (รูปที่ 4.3) ในงานวิจัยนี้จึงเลือกกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.5 M ในการเตรียม Griess reagent



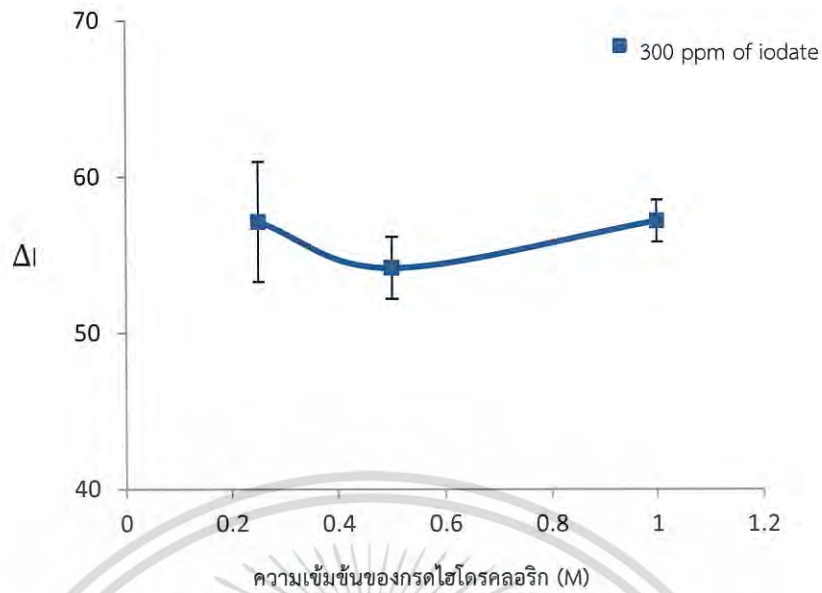
รูปที่ 4.3 ผลของค่าความเข้มสี ( $\Delta I$ ) ของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้ Griess reagent ที่ละลายด้วยกรดซิตริก กรดไฮโดรคลอริก และกรดฟอสฟอริก กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอโอดีน

$\Delta I$  คือ ผลต่างความเข้มสีระหว่างสารละลายมาตรฐานไอโอดีนกับสารละลายแปลงค์

#### 4.2.4 ผลความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent

ทำการทดลองหาความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent โดยทดลองที่ความเข้มข้น 0.25, 0.5 และ 1.0 M ทำการปิเปตสารละลายไอโอดีนที่ความเข้มข้น 300 ppm ลงบน  $\mu$ PADs ตามด้วยสารละลายไฮดรอกซีลามีน 3 ไมโครลิตร และ Griess reagent ที่เตรียมด้วยสารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ลงบน  $\mu$ PADs

จากผลการทดลองจะพบว่าค่าความเข้มสี ( $\Delta I$ ) ในแต่ละความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกให้ค่าที่ใกล้เคียงกันทั้ง 3 ความเข้มข้น (รูปที่ 4.4) ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้กรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้น 0.5 M ในการเตรียม Griess reagent

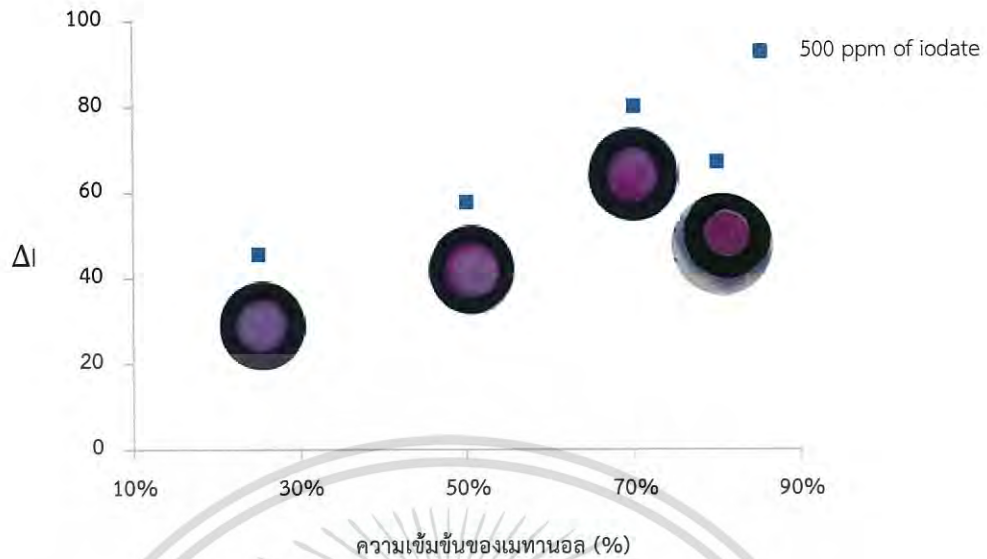


รูปที่ 4.4 ผลของความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent ต่อความเข้มสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอดेटเข้มข้น 300 ppm

#### 4.2.5 ผลความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent

เนื่องจากเมทานอลเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ จึงสามารถซึมผ่านขอบแก้วไนโตรโพลิกของหมึกไม่ชอบน้ำได้ ดังนั้นจึงต้องทดลองหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเมทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลาย Griess reagent โดยทดลองที่ความเข้มข้น 25%, 50%, 70% และ 80% v/v ทำการทดลองลงบน  $\mu$ PADs โดยปีเตอร์สารละลายไอโอดेटที่ความเข้มข้น 500 ppm จากนั้นหยดไฮดรอกซีลามี้น ปริมาตรละ 3 ไมโครลิตรและตามด้วย Griess reagent ที่ละลายด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ถ่ายรูปสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นด้วยกล้องมือถือและนำไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม Image J

ผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นเมทานอล 25% และ 50% จะให้ค่าความเข้มสี ( $\Delta I$ ) น้อยกว่าที่ความเข้มข้น 70% และ 80% (รูปที่ 4.5) อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้น 80% มีการแพร่ของสารละลายออกนอกวงเป็นบางครั้ง ในงานวิจัยนี้จึงเลือกความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent 70% เพื่อให้ได้ความเข้มสีของสารผลิตภัณฑ์สูงสุดและไม่มีการแพร่ซึมของสารละลายออกนอกหลุมวงกลม

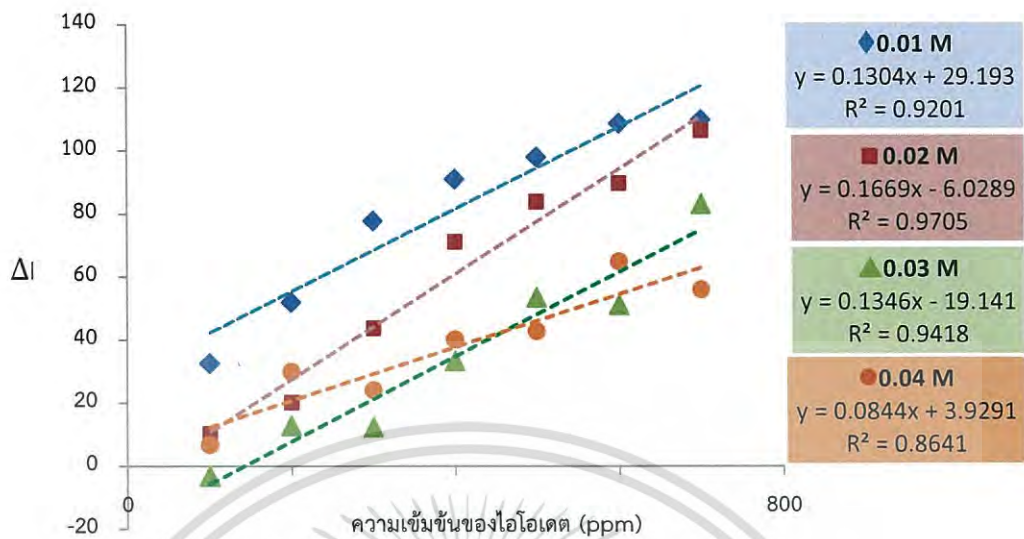


รูปที่ 4.5 ผลของความเข้มข้นเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent ต่อความเข้มสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 500 ppm

#### 4.2.6 ผลความเข้มข้นของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent

ทำการทดลองที่ความเข้มข้นของ NED เท่ากับ 0.01, 0.02, 0.03 และ 0.04 M จากนั้นทำการทดลองลงบน  $\mu$ PADs ปิเปตสารละลายไอโอเดตที่ความเข้มข้นต่างๆลงในแต่ละหลุม จึงหยดไฮดรอกซีลามีน ปริมาตร 3 ไมโครลิตรและตามด้วย Griess reagent ที่มี NED ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันลงไปบน  $\mu$ PADs ปริมาตร 3 ไมโครลิตร

เมื่อพิจารณากราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าความเข้มสี ( $\Delta I$ ) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอโอเดตที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าที่ความเข้มข้น NED เท่ากับ 0.01 และ 0.04 M ให้ sensitivity ที่ต่ำ แต่ที่ 0.02 และ 0.03 M ให้ sensitivity ที่ใกล้เคียงกัน แต่ที่ความเข้มข้น 0.02 M จะให้ค่าช่วงความเป็นเส้นตรงที่ดีที่สุด ( $R^2 = 0.9705$ ) (รูปที่ 4.6) ในงานวิจัยนี้จึงเลือกความเข้มข้นของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent เป็น 0.02 M

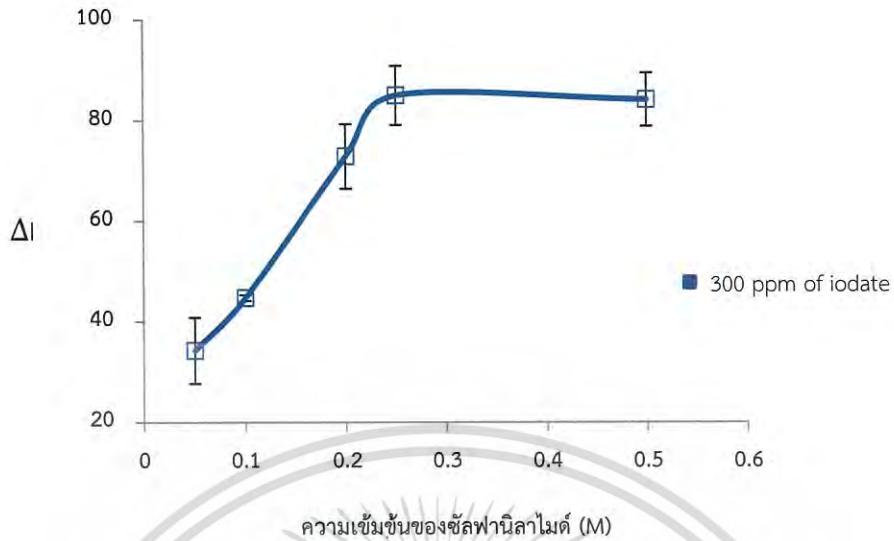


รูปที่ 4.6 ผลของค่าความเข้มสี ( $\Delta I$ ) ของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอโอเดต เมื่อมีความเข้มข้นของ NED ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent เป็น 0.01, 0.02, 0.03 และ 0.04 M

#### 4.2.7 ผลความเข้มข้นของซัลฟานิลไมด์ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent

ทำการศึกษาความเข้มข้นของซัลฟานิลไมด์ที่ 0.05, 0.1, 0.2, 0.25 และ 0.5 M ทำการทดลองลงบน  $\mu$ PADs ปิเปตสารละลายไอโอเดตที่ความเข้มข้น 300 ppm หยดไฮดรอกซีลามีน ปริมาตร 3 ไมโครลิตรและตามด้วย Griess reagent ที่มีซัลฟานิลไมด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ลงบน  $\mu$ PADs

ผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของซัลฟานิลไมด์ตั้งแต่ 0.05, 0.1, 0.2, และ 0.25 M จะให้ค่าความแตกต่างความเข้มสี ( $\Delta I$ ) ที่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของซัลฟานิลไมด์ แต่ที่ความเข้มข้น 0.5 M ให้ค่าความแตกต่างความเข้มสีไม่แตกต่างจากที่ความเข้มข้น 0.25 M (รูปที่ 4.7) ในงานวิจัยนี้จึงเลือกความเข้มข้นของซัลฟานิลไมด์ในการเตรียม Griess reagent ที่ 0.25 M

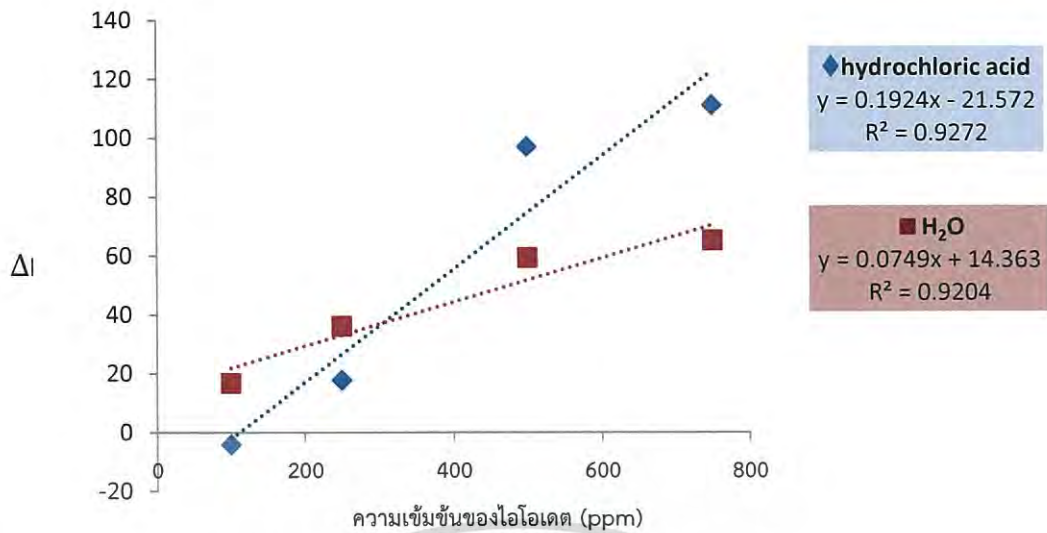


รูปที่ 4.7 ผลของความเข้มข้นซัลฟานิลาไมด์ที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent ต่อความเข้มสีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เมื่อใช้สารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 300 ppm

#### 4.2.8 ผลการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับไฮดรอกซีลามีเน

ทำการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการเตรียมไฮดรอกซีลามีเนที่ใช้ในปฏิกิริยารีดักชันกับไอโอเดต โดยเปรียบเทียบการเตรียมไฮดรอกซีลามีเนด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M และน้ำปราศจากไอออน นำไฮดรอกซีลามีเนที่ถูกเตรียมขึ้นทั้ง 2 แบบ ไปทำปฏิกิริยากับไอโอเดตบน  $\mu$ PADs ตามด้วยการหยด Griess reagent ลงบน  $\mu$ PADs จากนั้นถ่ายภาพความเข้มสีที่เกิดขึ้นด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือและนำไปวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม Image J

ผลการทดลองพบว่ากราฟมาตรฐานที่ได้จากการเตรียมสารละลายไฮดรอกซีลามีเนด้วยกรดไฮโดรคลอริกให้ค่าความชันที่สูงกว่าการเตรียมสารละลายไฮดรอกซีลามีเนในน้ำ (รูปที่ 4.8) ในงานวิจัยนี้จึงได้เลือกสารละลายไฮดรอกซีลามีเนที่ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกในการทำปฏิกิริยารีดักชันไอโอเดตให้เป็นไนไตรท์

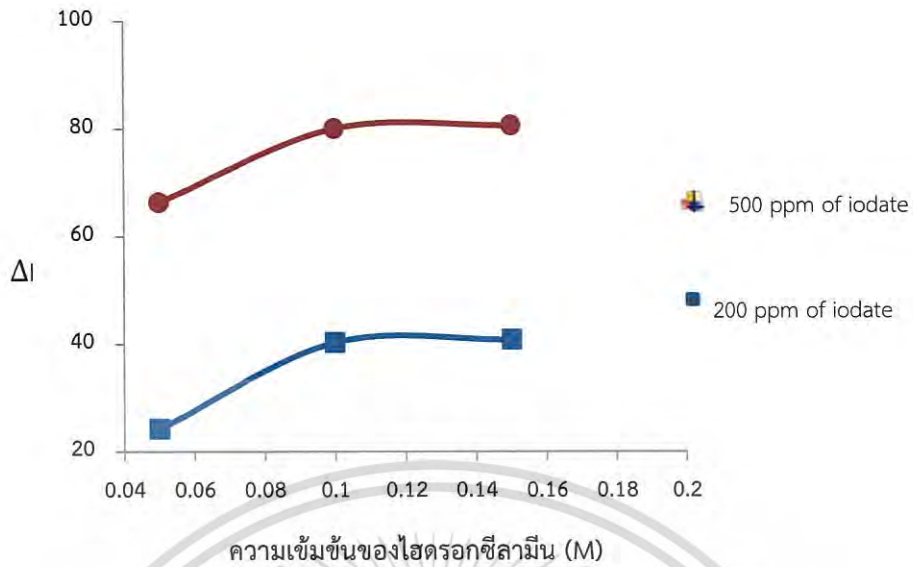


รูปที่ 4.8 ผลของค่าความเข้มสี ( $\Delta I$ ) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอโอดีน ที่มีการละลายไฮดรอกซีลามี้นด้วยน้ำปราศจากไอออนและกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M

#### 4.2.9 ผลความเข้มข้นที่เหมาะสมของไฮดรอกซีลามี้น

ทำการทดลองหาความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามี้นที่ใช้ในการทำปฏิกิริยารีดักชันกับไอโอดีน โดยทำการศึกษาไฮดรอกซีลามี้นที่ความเข้มข้น 0.05, 0.1 และ 0.15 M โดยทั้ง 3 ความเข้มข้นนี้เตรียมในตัวทำละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.5 M และทดสอบโดยการหยดสารละลายมาตรฐานไอโอดีน ความเข้มข้น 200 และ 500 ppm ลงบน  $\mu$ PADs แต่ละหลุม จากนั้นจึงหยดไฮดรอกซีลามี้นและตามด้วย Griess reagent บันทึกภาพผลที่เกิดขึ้นด้วยโทรศัพท์มือถือนำไปด้วยวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม ImageJ

เมื่อนำผลของภาพถ่ายมาวิเคราะห์ พบว่าไฮดรอกซีลามี้นที่ความเข้มข้น 0.05 M ให้ค่าความเข้มสี ( $\Delta I$ ) น้อยที่สุด และค่าความเข้มสีของการใช้ไฮดรอกซีลามี้นที่เข้มข้น 0.1 และ 0.15 M ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 4.9) ทั้งนี้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามี้นแล้วจะทำให้มีปริมาณไนโตรเจนเพิ่มขึ้นและสีของสารผลิตภัณฑ์ก็จะเข้มข้นด้วย ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามี้นที่ 0.1 M



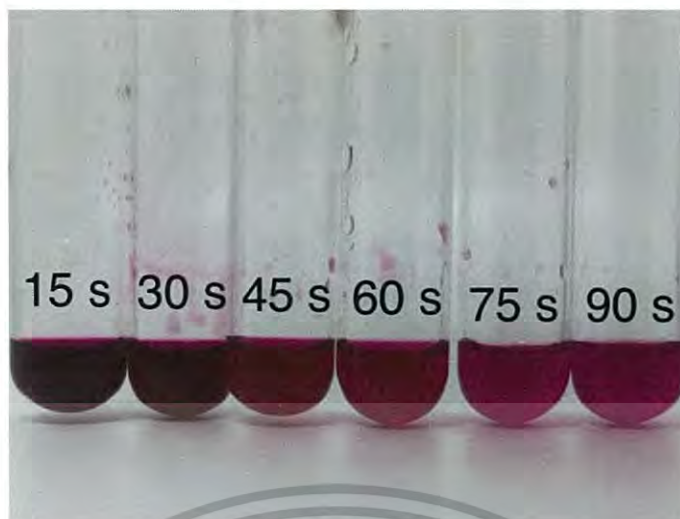
รูปที่ 4.9 ผลความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามีนที่ใช้ในการทำปฏิกิริยารีดอกซ์ ที่ความเข้มข้นของไอโอดेट 200 และ 500 ppm

#### 4.2.10 ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาของไอโอดेटกับไฮดรอกซีลามีน

ทำการศึกษเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไอโอดेटและไฮดรอกซีลามีนที่เวลาต่างๆ กันตั้งแต่ 15, 30, 45, 60, 75 และ 90 วินาที ทำการทดลองโดยการปิเปตสารละลายไอโอดेटที่ความเข้มข้น 700 ppm ลงไปในหลอดทดลองแต่ละหลอดตามด้วยไฮดรอกซีลามีนและปล่อยให้ทำปฏิกิริยากันที่เวลาต่างๆ ข้างต้น จากนั้นจึงหยด Griess reagent และถ่ายรูปผลการทดลองที่เกิดขึ้นในหลอด

พบว่าที่เวลาในการทำปฏิกิริยา 15 วินาที สีของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะให้สีที่เข้มที่สุดและเมื่อปล่อยให้ทำปฏิกิริยากันนานขึ้นสีที่ได้จะยิ่งจางลง ที่เวลา 90 วินาทีจะให้สีของสารผลิตภัณฑ์จางที่สุด (รูปที่ 4.10) ทั้งนี้เป็นเพราะถ้าใช้เวลาในการทำปฏิกิริยานานเกินไป สารผลิตภัณฑ์ไนโตรทจะไปทำปฏิกิริยาต่อกับไอโอดेटแล้วได้เป็นสารผลิตภัณฑ์ตัวอื่น เมื่อไปทำปฏิกิริยากับ Griess reagent จึงให้สีจาง

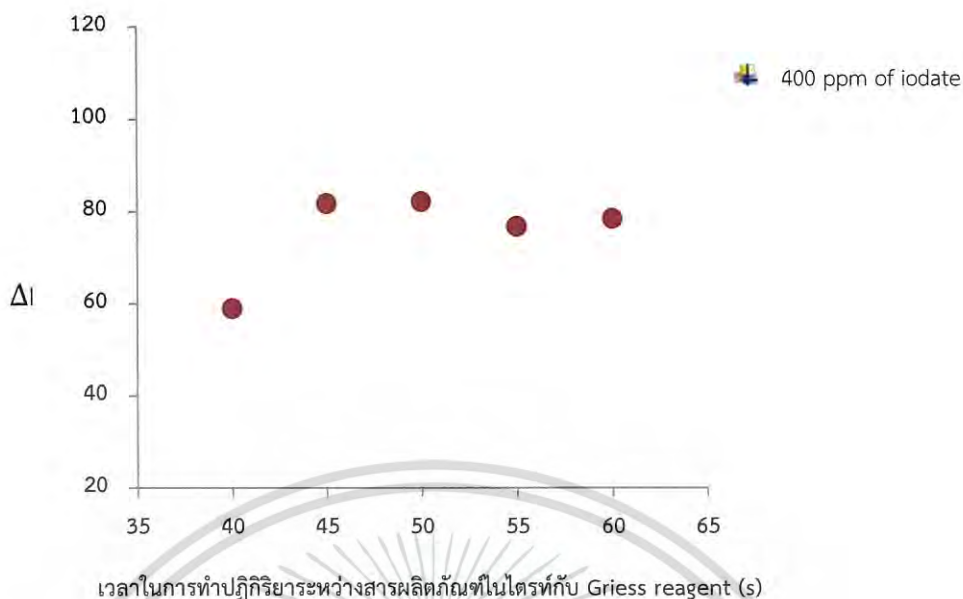
ในงานวิจัยจึงเลือกเวลาในการทำปฏิกิริยาของไอโอดेटกับไฮดรอกซีลามีนที่ 15 วินาที



รูปที่ 4.10 แสดงการทำปฏิกิริยาของไอโอเดตที่ความเข้มข้น 700 ppm กับไฮดรอกซีลามีนที่เวลาต่างๆ กันตั้งแต่ 15-90 วินาที

4.2.11 ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารผลิตภัณฑ์ไนไตรท์กับ Griess reagent ทำการทดลองหาเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาที่เวลาต่างๆ กัน ตั้งแต่ 40, 45, 50, 55 และ 60 วินาที (นับตั้งแต่หยดไอโอเดต) จากนั้นทำการทดลองลงบน  $\mu$ PADs ปิเปตสารละลายไอโอเดตที่ความเข้มข้น 400 ppm จากนั้นหยดไฮดรอกซีลามีนปล่อยให้ทำปฏิกิริยากันนาน 15 วินาที และตามด้วย Griess reagent ปริมาตร 3 ไมโครลิตร ถ่ายรูป  $\mu$ PADs นำไปวิเคราะห์ค่าสี

พบว่าเมื่อให้เวลาในการทำปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น เกิดสารผลิตภัณฑ์ไนไตรท์ขึ้น ค่าความเข้มสีสูงขึ้น (รูปที่ 4.11) อย่างไรก็ตามที่เวลา 45 วินาที ค่าความเข้มสีของสารผลิตภัณฑ์เริ่มคงที่ แสดงว่าปฏิกิริยาเริ่มเข้าสู่สมดุล ในงานวิจัยนี้จึงเลือกเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างไอโอเดตกับไฮดรอกซีลามีน และ Griess reagent ที่ 50 วินาทีจึงจะให้ค่าความเข้มสี ( $\Delta I$ ) มากที่สุด

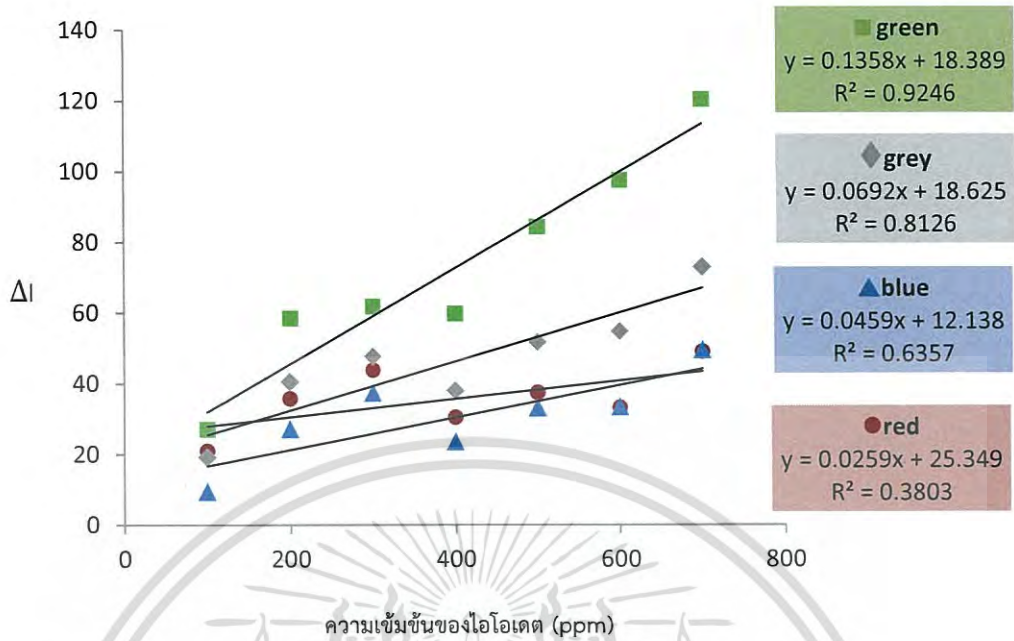


รูปที่ 4.11 ผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารผลิตภัณฑ์ไนไตรท์กับ Griess reagent ที่ความเข้มข้นของสารละลายไอโอเดต 400 ppm

#### 4.2.12 ผลการวิเคราะห์ค่า RGB

ทำการทดลองเลือกค่าสีที่จะนำไปใช้ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น โดยทดลองบน  $\mu$ PADs ปีเปตสารละลายไอโอเดตที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในแต่ละหลุม จากนั้นหยดไฮดรอกซีลามีน ปริมาตร 3 ไมโครลิตร บดปล่อยให้ทำปฏิกิริยากันนาน 15 วินาที จากนั้นตามด้วย Griess reagent ปริมาตรละ 3 ไมโครลิตร ถ่ายรูป  $\mu$ PADs ที่เวลา 50 วินาทีและนำไปวิเคราะห์ค่าสี โดยวิเคราะห์ที่ค่า Green (เขียว) Red (แดง) Blue (ฟ้า) และ Grey (ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยของค่า RGB)

เมื่อพิจารณารูปมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของค่าความเข้มข้น ( $\Delta I$ ) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอโอเดต พบว่า การวิเคราะห์ค่า Green ให้ค่าความชันและความเป็นเส้นตรงที่ดีที่สุด (รูปที่ 4.12) ในงานวิจัยนี้จึงได้เลือกค่าสีที่จะนำมาวิเคราะห์เป็นค่าสี Green



รูปที่ 4.12 ผลของค่าความเข้มสี ( $\Delta I$ ) ที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอโอดีน เมื่อวิเคราะห์ค่าสี ด้วย Red Green Blue และ Grey

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่กล่าวมาทั้งหมด สรุปได้ดังตาราง 4.2

ตารางที่ 4.2 สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณไอโอเดตด้วยชุดทดสอบบนกระดาษ

สภาวะที่ศึกษา	ช่วงที่ศึกษา	สภาวะที่เลือก
ปริมาตรสารละลายที่หยดลง $\mu$ PADs แต่ละครั้ง	1 – 5 ไมโครลิตร	3 ไมโครลิตร
รูปแบบการเตรียมรีเอเจนต์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา	เตรียมไฮดรอกซีลามีนแยก และรวมกับ Griess reagent	เตรียมไฮดรอกซีลามีนแยก กับ Griess reagent
ชนิดของกรดที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent	กรดซิตริก กรดไฮโดรคลอริก และ กรดฟอสฟอริก	กรดไฮโดรคลอริก
ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการเตรียม Griess reagent	0.1, 0.5 และ 1 M	0.5 M
ความเข้มข้นของเมทานอลที่ใช้ในการละลาย Griess reagent	25, 50, 70 และ 80%	70%
ความเข้มข้นของ NED ใน Griess reagent	0.01, 0.02, 0.03 และ 0.04 M	0.02 M
ความเข้มข้นของซัลฟานิลไมด์ ใน Griess reagent	0.1, 0.2, 0.25 และ 0.5 M	0.25 M
ตัวทำละลายที่เหมาะสมของไฮดรอกซีลามีน	น้ำและกรดไฮโดรคลอริก	กรดไฮโดรคลอริก
ความเข้มข้นของไฮดรอกซีลามีน	0.05, 0.1 และ 0.15 M	0.1 M
ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา ระหว่างไอโอเดตกับไฮดรอกซีลามีน	15 – 90 วินาที	15 วินาที
ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร ผลิตภัณฑ์ไนโตรกับ Griess reagent	40-60 วินาที	50 วินาที
ค่าสี RGB	Red, Green, Blue	Green

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3 ผลการประเมินคุณลักษณะของวิธี

#### 4.3.1 ช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์

ทำการทดลองหาช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์โดยทำการทดลองในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้ศึกษามาข้างต้น เมื่อนำค่าความเข้มข้นสีไปพลอตกับความเข้มข้นของไอโอเดตจะได้กราฟเส้นตรงที่ความเข้มข้นจะแปรผันตามความเข้มข้นของไอโอเดต เมื่อความเข้มข้นของไอโอเดตมากขึ้นสีจะถูกรีดิวซ์ด้วยไฮดรอกซีลามีน ไปเป็นไนไตรท์และไอโอไดด์ได้มากขึ้น สารผลิตภัณฑ์ไนไตรท์จะไปทำปฏิกิริยากับ Griess reagent ก็จะทำให้สีที่เข้ม จากผลการทดลองพบว่า มีช่วงความเป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์ไอโอเดตตั้งแต่ 100-700 ppm (รูปที่ 4.13)



รูปที่ 4.13 ช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ ที่ความเข้มข้นไอโอเดต 100-700 ppm

#### 4.3.2 ความเที่ยง (Precision)

การศึกษาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์สามารถพิจารณาได้จากส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation: RSD) ซึ่งได้จากการวัดค่าความเข้มข้นของสารละลายไอโอเดตเข้มข้น 100 ppm ที่ทำปฏิกิริยากับสารละลายไฮดรอกซีลามีน 0.1 M ปริมาตร 3 ไมโครลิตรและ Griess

reagent (ซัลฟานิลไมด์เข้มข้น 0.25 M และ NED เข้มข้น 0.02 M) ปริมาตรละ 3 ไมโครลิตร ลงบน  $\mu$ PADs จำนวน 3 ครั้ง ซึ่งได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเฉลี่ย (SD) ของค่าความแตกต่างความเข้มข้น ( $\Delta I$ ) ของสารละลายไอโอเดตที่ความเข้มข้น 100 - 700 ppm

ความเข้มข้นไอโอเดต (ppm)	ความเข้มข้น ( $\Delta I$ )				
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
100	27.90	26.90	27.57	27.45	0.5091
200	48.22	49.25	40.41	45.96	3.9446
300	59.867	41.87	46.38	49.38	7.6438
400	66.35	61.78	63.86	63.99	1.8698
500	49.04	71.82	82.15	67.67	13.8320
600	103.46	88.93	99.40	97.27	6.1227
700	123.04	114.44	123.56	120.35	4.1817

จากตารางเมื่อนำค่าความแตกต่างความเข้มข้น ( $\Delta I$ ) ที่ความเข้มข้น 100 ppm แทนค่าในสมการเพื่อคำนวณค่า %RSD ได้ผลดังนี้

$$\begin{aligned} \%RSD &= \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \\ &= \frac{0.5091}{27.45} \times 100 \\ \%RSD &= 1.8543 \end{aligned}$$

พบว่าค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของสารละลายมาตรฐานไอโอเดตที่ความเข้มข้น 100 ppm มีค่าเท่ากับ 1.8543 อย่างไรก็ตามจากรูปที่ 4.13 พบว่าบางครั้งการทดลองซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาจได้ค่า SD ที่ค่อนข้างสูง ทั้งนี้เนื่องจากความไม่ชำนาญของผู้ทดลองเพราะปริมาณสารที่ใช้้น้อยมาก ถึงระดับไม่โครลิตร ส่งผลให้เครื่องมือหรืออุปกรณ์การทดลองมีขนาดเล็กไปด้วย จึงต้องทำการทดลองด้วยความระมัดระวังมากขึ้นและการทดลองบางครั้งมีการแพร่ของสารละลายออกนอกวงเพราะ Griess reagent มีเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่สามารถซึมผ่านขอบกั้นไฮโดรโฟบิกได้ ถ้าสามารถกำจัดหรือลดปัญหาดังกล่าวได้จะทำให้ความเที่ยงของวิธีที่พัฒนาดีขึ้น

#### 4.3.3 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวิเคราะห์ (Limit of detection, LOD)

ผลการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวิเคราะห์ โดยทำการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างความเข้มสี ( $\Delta$ ) ของสารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 100 ppm จำนวน 3 ครั้ง แสดงผลตามตารางที่ 4.3 จะสามารถหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดได้ เมื่อแทนค่า SD ของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 100 ppm จากตารางที่ 4.3 ลงในสมการ

$$LOD = Y_B + 3S_B$$

$Y_B$  หาได้จาก การแทนค่า  $x = 0$  ในสมการ  $y = 0.1427x + 10.355$

$$Y_B = 10.355$$

$$S_B = 0.5091$$

$$\begin{aligned} \text{จะได้ } LOD &= 10.355 + 3(0.5091) \\ &= 11.8823 \end{aligned}$$

แทน  $y = 11.8823$  ลงในสมการเส้นตรง  $y = 0.1427x + 10.355$

$$\text{จะได้ } 11.8823 = 0.1427x + 10.355$$

$$x = 10.7028$$

ดังนั้นขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดไอโอเดตด้วยชุดทดสอบบนกระดาษ ( $\mu$ PADs) เท่ากับ 10.70 ppm

#### 4.3.4 ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

ผลการศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ โดยทำการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างความเข้มสีของสารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 100 ppm จำนวน 3 ครั้ง แสดงผลตามตารางที่

4.3 จะสามารถหาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณได้ เมื่อแทนค่า SD ของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไอโอเดตเข้มข้น 100 ppm จากตารางที่ 4.3 ลงในสมการ

$$LOQ = Y_B + 10S_B$$

$Y_B$  หาได้จาก การแทนค่า  $x = 0$  ในสมการ  $y = 0.1427x + 10.355$

$$Y_B = 10.355$$

$$S_B = 0.5091$$

$$\begin{aligned} \text{จะได้ } LOQ &= 10.355 + 10(0.5091) \\ &= 15.446 \end{aligned}$$

แทน  $y = 15.446$  ลงในสมการเส้นตรง  $y = 0.1427x + 10.355$

$$\text{จะได้ } 15.446 = 0.1427x + 10.355$$

$$x = 35.6762$$

ดังนั้นขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณไอโอเดตด้วยชุดทดสอบบนกระดาษ ( $\mu$ PADs) เท่ากับ 35.67 ppm

## สรุปผลและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้มีการพัฒนาชุดทดสอบบนกระดาษ ( $\mu$ PADs) เพื่อตรวจวัดหาปริมาณไอโอเดต ออกแบบโดยใช้ตราประทับและพิมพ์ด้วยหมึกที่ไม่ชอบน้ำลงบนกระดาษ Whatman เบอร์ 1 มีรูปแบบเป็นหลุมกลมไว้สำหรับหยดสารมาตรฐานไอโอเดต โดยอาศัยปฏิกิริยารีดักชันของไอโอเดตด้วยไฮดรอกซีลามีน เกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์ไนไตรท์และไอโอดีน จากนั้นไนไตรท์ที่เกิดขึ้นจะไปทำปฏิกิริยาต่อกับ Griess Reagent ที่หยดลงไป โดย Griess Reagent เกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์สีชมพู แล้วทำการถ่ายภาพจากกล้องมือถือ และนำไปวิเคราะห์ค่าสีด้วยโปรแกรม Image J

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหาปริมาณไอโอเดตด้วย  $\mu$ PADs พบว่าปริมาตรที่ใช้ในการทดลองแต่ละครั้งเท่ากับ  $3\mu\text{L}$  ทำการหยดสารละลายมาตรฐานไอโอเดตลงบนชุดทดสอบและทิ้งไว้เป็นเวลา 15 วินาที เพื่อให้สารละลายกระจายได้เต็มวงกลม จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยารีดักชันกับไฮดรอกซีลามีน  $0.1\text{ M}$  ที่ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริก  $0.5\text{ M}$  เป็นเวลา 15 วินาที เกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์ไนไตรท์ และนำไปทำปฏิกิริยาต่อกับ Griess Reagent เป็นเวลา 20 วินาที ซึ่ง Griess Reagent ประกอบด้วย ซัลฟานิลไมด์เข้มข้น  $0.25\text{ M}$  และ NED เข้มข้น  $0.02\text{ M}$  ในกรดไฮโดรคลอริก ( $37\% \text{ v/v}$ )  $0.5\text{ M}$  ละลายด้วยเมทานอล  $70\% \text{ v/v}$  และถ่ายรูปชุดทดสอบด้วยกล้องจากโทรศัพท์มือถือ นำภาพไปวิเคราะห์ค่าความแตกต่างความเข้มสี ( $\Delta I$ ) ด้วยโปรแกรม ImageJ ในช่วงค่าสีเขียว (Green)

ความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ไอโอเดตอยู่ในช่วงความเข้มข้น  $100 - 700\text{ ppm}$  สีของสารผลิตภัณฑ์ไนไตรท์ที่เกิดขึ้นนั้นจะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอโอเดต เมื่อพล็อตกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าความแตกต่างความเข้มสี ( $\Delta I$ ) กับความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอโอเดตจะได้สมการเส้นตรงเป็น  $y=0.1427X+10.355$  และ  $R^2 = 0.9368$  โดยมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ  $10.70\text{ ppm}$  และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ  $35.67\text{ ppm}$  อย่างไรก็ตามค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์หรือค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์ยังไม่ค่อยดี ทั้งนี้เนื่องจากความไม่ชำนาญของผู้ทดลองเพราะปริมาตรที่ใช้ในการทดลองน้อยมากในระดับไมโครลิตร จึงส่งผลให้เครื่องมือหรืออุปกรณ์ในการทดลองมีขนาดเล็กไปด้วย ถ้าสามารถกำจัดหรือลดปัญหาดังกล่าวได้ก็จะทำให้ความเที่ยงของการวิเคราะห์ดีขึ้น

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพิ่มเติม เพื่อให้ได้ความไว (Sensitivity) ในการวิเคราะห์สูงขึ้นและสามารถประยุกต์ใช้  $\mu$ PADs ในการหาไอโอดีนในอาหารได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- [1] Pompam Ly. 2560. ไอโอดีน คืออะไรและมีความสำคัญอย่างไร. [online]. เข้าถึงได้จาก : <https://healthgossip.co/what-is-iodine>. เข้าถึงเมื่อ 20 มี.ค. 2561.
- [2] หน่วยเคลื่อนที่เพื่อความปลอดภัยด้านอาหาร กองควบคุมอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและ ยา. 2552. “การตรวจวิเคราะห์ไอโอดีนโดยวิธีการไทเทรต (วิธีมาตรฐาน).”
- [3] S.D. Kumar, B. Maiti, P.K. Mathur. 2010. “Determination of iodate and sulphate in iodized common salt by ion chromatography with conductivity detection.” *Talanta*. 53 : 701-705.
- [4] ZuLiang Chen, Mallavarapu Megharaj, Ravendra Naidu. 2007. “Speciation of iodate and iodide in seawater by non-suppressed ion chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry.” *Talanta*. 72 : 1842-1846.
- [5] Zhounping Huang, Zuoyi Zhu, Qamar Subhani, Wenwu Yan, Weiqiang Guo. 2012. “Simultaneous determination of iodide and iodate in povidone iodine solution by ion chromatography with homemade and exchange capacity controllable columns and column-switching technique.” *Journal of Chromatography A*. 1251 : 154-159.
- [6] Zhounping Huang, Qamar Subhani, Wenwu Yan, Weiqiang Guo. 2013. “A single pump cycling-column-switching technique coupled with homemade high exchange capacity columns for the determination of iodate in iodized edible salt by ion chromatography with UV detection.” *Food Chemistry*. 139 : 144-148.
- [7] Francisco Pena-Pereira, Sonia Senra-Ferreiro, Isela Lavilla, Carlos Bendicho. 2010. “Determination of iodate in waters by cuvetless UV-vis micro-spectrophotometry after liquid-phase microextraction.” *Talanta*. 81 : 625-629.
- [8] A.V. Filgueiras, F. Pena-Pereira, V. Romero, I. Costas-Mora, C. Bendicho, I. Lavilla. 2017. “Simultaneous ultrasound-assisted iodide oxidation and liquid-liquid microextraction for rapid quality control of iodized salt by UV-vis micro-spectrophotometry.” *Microchemical Journal*. 133 : 577-582.

- [9] Ali A. Ensafi, M. Arab Chamjangali. 2003. "Sequential flow injection determination of iodate and periodate with spectrophotometric detection." *Spectrochimica Acta Part A*. 59 : 2897-2903.
- [10] Zhihai Xie, Jingchan Zhou. 2004. "Reversed flow injection spectrophotometric determination of iodate and iodide in table salt." *Talanta*. 63 : 339-343.
- [11] Ali Mohammad Haji Shabani, Peter S. Ellis, Ian D. McKelvie. 2011. "Spectrophotometric determination of iodate in iodised salt by flow injection analysis." *Food Chemistry*. 129 : 704-707.
- [12] Xue Huang, Yongxin Li, Yuanli Chen, Lun Wang. 2008. "Electrochemical determination of nitrite and iodate by use of gold nanoparticles/poly(3-methylthiophene) composites coated glassy carbon electrode." *Sensors and Actuators B*. 134 : 780-786.
- [13] Lorella Guadagnini, Domenica Tonelli. 2013. "Carbon electrodes unmodified and decorated with silver nanoparticles for the determination of nitrite, nitrate and iodate." *Sensors and Actuators B*. 188 : 806-814.
- [14] Mahmoud Amouzadeh Tabrizi, Leila Ebrahimi. 2014. "The electrochemical copolymerization of diphenylamine and p-phenylenediamine and its use as a modified electrode for amperometric determination of iodate." *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 724 : 8-14.
- [15] Mazhar Sher, Rachel Zhuang. 2017. "Paper-based analytical devices for clinical diagnosis: recent advances in the fabrication techniques and sensing mechanisms." *Expert Rev Mol Diagn*. 17(4) : 351-366.
- [16] Loir Shayne Alamo Busa. 2016. "Advances in Microfluidic Paper-Based Analytical Devices for Food and Water Analysis." *Micromachines*.
- [17] Yunyan Xia, Jin Si, Zhiyang Li. 2016. "Fabrication techniques for microfluidic paper-based analytical devices and their applications for biological testing: A review." *Biosensors and Bioelectronics*. 77 : 774-789.
- [18] ปวีณา เตือนฉาย และ วิจิตรา เตือนฉาย. 2014. "Paper-based Analytical Device." *Pathumwan Academic Journal*. Vol.4, No.10 : 37-47.

- [19] Tugcd Akyazi, Lourdes Basabe-Desmonts. 2018. "Review on microfluidic paper-based analytical devices towards commercialization." *Anlytical Chimica Acta*. 1001 : 1-17.
- [20] Nicholas M. Myers, Emalee N. Kernisan and Marya Liebermar. 2015. "Lab on Paper: Iodometric Titration on a Printed Card." *Anal. Chem.* 87 : 3764-3770.
- [21] รศ. ดร. วิไล เทียนรุ่งโรจน์ หนูนกัคดี. 2554. ไอโอดีนเท่าไรจึงพอดี?. [online]. เข้าถึงได้จาก : <https://scbcknowledge.wordpress.com/2011/08/06>. เข้าถึงเมื่อวันที่ 29 มี.ค. 2561.
- [22] Greenclinic. ไอโอดีน (Iodine). [online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.greenclinic.in.th/iodine.html>. เข้าถึงเมื่อวันที่ 29 มี.ค. 2561.
- [23] อาหารเสริมไอโอดีนชนิดต่างๆ. [online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/iodine/food.html>. เข้าถึงเมื่อวันที่ 30 มี.ค. 2561.
- [24] 2007. "Recommended Dietary Allowances for Iodine: World Health Organization." *United Nations Children's Fund & International Council of Iodine Deficiency Disorders*.
- [25] Nobelprize.org. The Nobel Prize in Chemistry 1952. [online]. เข้าถึงได้จาก : [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/1952/press.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1952/press.html). เข้าถึงเมื่อวันที่ 4 เม.ย. 2561.
- [26] Andres W. Martinez, Scott T. Phillips and George M. Whitesides. 2010. "Diagnostics for the Developing World : Microfluidic Paper-Based Analytical Devices." *Anal. Chem.* 82 : 3-10.
- [27] Amara Apilux, Wijitar Dungchai. 2010. "Lab-on-Paper with Dual Electrochemical/ Colorimetric Detection for Simultaneous Determination of Gold and Iron." *Anal. Chem.* 82 : 1727-1732.
- [28] Jana C. Jøkerst, Jaclyn A. Adkins. 2012. "Development of a Paper-Based Analytical Device for Colorimetric detection of select Foodborne Pathogens." *Anal. Chem.* 84 : 2900-2907.
- [29] Rattapol Meelapsom, Purim Jurajamrus. 2016. "Chromatic analysis by monitoring unmodified silver nanoparticles reduction on double layer microfluidic paper-based analytical devices for selective and sensitive determination of mercury (II)." *Talanta* 155 : 193-201.

- [30] Paulo de Tarso Garcia. "A handheld stamping process to fabricate microfluidic paper-based analytical devices with chemically modified surface for clinical assays." *The Royal Society of Chemistry*.
- [31] Nuria Lopez-Ruiz. 2014. "Smartphone-Based Simultaneous pH and Nitrite Colorimetric Determination for Paper Microfluidic Devices." *Anal. Chem.* 86 : 9554-9562.
- [32] Samir A. Bhakta, Rubiane Borba. 2014. "Determination of nitrite in saliva using microfluidic paper-based analytical devices." *Analytica Chimica Acta.* 809 : 117-122.
- [33] B. Manori Jayawardane. 2014. "Microfluidic Paper-Based Analytical Devices for the Determination of Nitrite and Nitrate." *Anal. Chem.* 86 : 7274-7279.
- [34] 2009. โปรแกรม imageJ มันคืออะไร. [online]. เข้าถึงได้จาก : <http://thai-imagej.blogspot.com/2009/12/imagej.html>. เข้าถึงเมื่อวันที่ 10 เม.ย. 2561.





งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
คำรับรองเล่มโครงการงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 13 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2564

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว พิชามณัฐ จุมพลา รหัสประจำตัว 57050476

นาย/นาง/นางสาว ยศธร สังฆวรรณ รหัสประจำตัว 57050490

นาย/นาง/นางสาว สุจิตาพร ดอนแก้ว รหัสประจำตัว 57050539

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา เคมี ภาควิชา เคมีอุตสาหกรรม

ขอรับรองว่าโครงการงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา เรื่อง

ชื่อภาษาไทย ชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับหาปริมาณไอโอดีน

ชื่อภาษาอังกฤษ Microfluidic paper-based analytical device for iodate detection

ปีการศึกษา 2560

เป็นผลงานวิจัยที่มีได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงการงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 0.87 % หรือโปรแกรม Turnitin %

ลงชื่อ พิชามณัฐ จุมพลา (น.ส. พิชามณัฐ จุมพลา) นักศึกษา  
ลงชื่อ ยศธร สังฆวรรณ (น.ส. ยศธร สังฆวรรณ) นักศึกษา  
ลงชื่อ สุจิตาพร ดอนแก้ว (น.ส. สุจิตาพร ดอนแก้ว) นักศึกษา

ข้าพเจ้า ผ. / รศ. / ผศ. / ดร. / อ. ๒๕๖๐.๓๐๘ อ.กมล งามงาม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา ได้ตรวจสอบโครงการงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ [ลายเซ็น] ลงชื่อ [ลายเซ็น] ลงชื่อ [ลายเซ็น]  
อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้