

ชุดทดสอบแบบจุดโดยใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นสารช่วยยึดติด
สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเฟอร์รัสไอออน

SPOT TEST KIT USING POLY (VINYL ALCOHOL) AS ADHESIVE
FOR DETERMINATION OF FERROUS ION



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของงานที่ศึกษาค้นคว้าโดยคุณปริญญาตรีวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2556

KMUTL-2013-SC-M-012_028

ชุดทดสอบแบบจุดโดยใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นสารช่วยยึดติด

สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเฟอร์รัสไอออน

SPOT TEST KIT USING POLY(VINYL ALCOHOL) AS ADHESIVE

FOR DETERMINATION OF FERROUS ION



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2556

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในห้องเรียนเท่านั้น อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
KMITL-2013-SC-M-012-028
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**SPOT TEST KIT USING POLY(VINYL ALCOHOL) AS ADHESIVE
FOR DETERMINATION OF FERROUS ION**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN CHEMISTRY
FACULTY OF SCIENCE**

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2013

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2013

FACULTY OF SCIENCE

เอกสาร KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG นี้ใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ชุตทดสอบแบบจุดโดยใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นสารช่วยยึดติดสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเฟอร์รัสไอออน
 Spot Test Kit Using Poly(Vinyl Alcohol) as Adhesive for Determination of Ferrous ion

นักศึกษา นางสาวจิตพร โพธิ์ปัญญาศักดิ์

รหัสประจำตัว 53650903

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา เคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
ดร.ณัฐวุฒิ	เชิงชั้น	
ดร.เสาวภาคย์	ธีราทรง	
ดร.จรรยา	จันทร์สมบูรณ์	
ดร.วิบูลย์	ประดิษฐ์เวียงคำ	

วัน / เดือน / ปี ที่สอบ 23 พฤษภาคม พ.ศ. 2556 เวลา 09.30 – 11.30 น.
 สถานที่สอบ ณ ห้อง 316 ชั้น 3 อาคารปฏิบัติการใหม่

คณะวิทยาศาสตร์รับรองแล้ว

 (รองศาสตราจารย์ ดร.คชณัฐ ฐนะบริวัฒน์)
 คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

วันที่ 29 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 56

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ชุดทดสอบแบบจุดโดยใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นสารช่วยยึดติดสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเฟอร์รัสไอออน
นักศึกษา	น.ส.จิตพร โพธิ์ปัญญาศักดิ์
รหัสประจำตัว	53650903
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เคมีวิเคราะห์
พ.ศ.	2556
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาชุดทดสอบแบบจุดสำหรับหาปริมาณเฟอร์รัสไอออนโดยใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นสารช่วยยึดติดบนซับสเตรท 2 ชนิด คือ กระดาษกรองและแผ่นกระจกปิดสไลด์ จูตรีเอเจนต์เตรียมได้โดยหยดสารละลายออร์โธโทรีนโทรีนเข้มข้น 0.05% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร บนกระดาษกรองหรือสารละลายออร์โธโทรีนเข้มข้น 0.07% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตรบนแผ่นกระจกปิดสไลด์ หยดสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนหรือสารละลายตัวอย่างที่อยู่ในสารละลายไฮดรอกไซด์-ไฮลามีนไฮดรอกไซด์ pH 3.5 ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตรลงบนจุดรีเอเจนต์ นำกระดาษกรองไปบันทึกภาพของจุดสีส้มแดงที่เกิดจากสารเชิงซ้อนระหว่างเฟอร์รัสไอออนกับออร์โธโทรีนด้วยเครื่องสแกน ใช้โปรแกรม Image J™ เพื่อหาความเข้มสีและคำนวณค่า Euclidean Distance ส่วนแผ่นกระจกปิดสไลด์นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ พบว่าชุดทดสอบทั้ง 2 มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้น 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณเหล็กในตัวอย่างวิตามิน โดยเปรียบเทียบกับเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี ทดสอบด้วยค่าสถิติ t พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อทดสอบกับชุดทดสอบบนกระดาษกรอง ($t_{stat} = 0.53, t_{crit} = 2.57, n=6$) และไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 90% เมื่อทดสอบกับชุดทดสอบบนแผ่นกระจกปิดสไลด์ ($t_{stat} = 2.96, t_{crit} = 4.03, n=6$)

เอกสารสำคัญ: ชุดทดสอบแบบจุด, พอลิไวนิลแอลกอฮอล์, เฟอร์รัสไอออน, ออร์โธโทรีน

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Spot Test Kit using Poly(Vinyl Alcohol) as Adhesive for Determination of Ferrous Ion
Student	Jittaporn Popanyasak
Student ID	53650903
Degree	Master of Science
Program	Analytical Chemistry
Year	2013
Thesis Advisor	Dr. Wiboon Praditweangkum

ABSTRACT

The spot test kit using poly(vinyl alcohol) as adhesive applied on two substrates; filter paper and cover slide, has been developed for determination of ferrous ion. The reagent spot can be prepared by dropping 10.0 μL of 0.05% *o*-phenanthroline in 3% poly(vinyl alcohol) solution on filter paper or dropping 10.0 μL of 0.07% *o*-phenanthroline in 3% poly(vinyl alcohol) solution on cover slide. A 10.0 μL of standard solution of ferrous ion or sample solution prepared in solution of hydroxylamine hydrochloride pH 3.5 is dropped on a reagent spot. The reddish-orange colored spot of ferrous ion-*o*-phenanthroline complex on filter paper can be recorded by a scanner. Image JTM program is used to analyse intensity of the recorded image and Euclidean Distance is calculated. The absorbance at wavelength 510 nm of colored spot on cover slide is detected by using a spectrophotometer. The calibration curve of ferrous ion for both substrates is linear over the range 1-10 mg/L. The developed method is applied for determination of iron in vitamin tablets. The paired *t*-test showed that the results from spot test kit on filter paper is not significant different to spectrophotometry method at 95% confidence level ($t_{stat} = 0.53$ and $t_{crit} = 2.57$, $n = 6$) and the results from spot test kit on cover slide is not significant different to spectrophotometry method at 90% confidence level. ($t_{stat} = 2.96$ and $t_{crit} = 4.03$, $n = 6$).

Keywords : spot test kit, poly (vinyl alcohol), ferrous ion, *o*-phenanthroline

เอกละเอียด... นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้จัดทำขึ้น เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโท สาขาวิชาเคมี แขนงวิชาเคมีวิเคราะห์ โดยมุ่งศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อการพัฒนาชุดทดสอบแบบจุดสำหรับวิเคราะห์เฟอร์รัสไอออนเชิงปริมาณได้

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้สละเวลาให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ และให้คำปรึกษา ดร.ณัฐวุฒิ เจริงชั้น ดร. เสาวภาคย์ ชีราทรง และดร.จรรยา จันทร์สมบูรณ์ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำแนะนำ ตรวจสอบ แก้ไขข้อบกพร่อง จนวิทยานิพนธ์เสร็จสมบูรณ์ จึงขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ ด้วย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ อาคารวิทยุเก่า ชั้น 5 ทุกท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือใน ทุก ๆ เรื่อง ไม่ว่าจะเป็นสารเคมี อุปกรณ์ตลอดจนเครื่องมือวิเคราะห์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทำวิจัย สำหรับประโยชน์และคุณค่าอันพึงมีที่ได้จากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ขอมอบให้แก่ บิดา มารดา อาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

จิตพร โพธิ์ปัญญาศักดิ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	IX
สารบัญรูป	X
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 พอลิไวนิลแอลกอฮอล์.....	4
2.1.1 การสังเคราะห์พอลิไวนิลแอลกอฮอล์.....	4
2.1.2 ลักษณะเฉพาะของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์	5
2.1.3 ประโยชน์ของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์.....	6
2.2 ชุดทดสอบภาคสนาม	6
2.3 หลักการของเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี	7
2.3.1 กฎการดูดกลืนแสงของสารละลาย	8
2.4 การเกิดสารเชิงซ้อนที่มีสีของเฟอร์รัสไอออนกับออร์โธโทรีแนนโทรีน	9
2.5 ระเบียบสี	10
2.6 เครื่องสแกน	12

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.6.1 หลักการ.....	12
2.6.2 ประเภทของเครื่องสแกน.....	13
2.6.3 ส่วนประกอบของเครื่องสแกน.....	14
2.6.4 ภาพจากการสแกน.....	14
2.7 Euclidean Distance.....	14
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	16
2.8.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณเหล็ก.....	16
2.8.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับชุดทดสอบ.....	20
บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย.....	22
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	22
3.1.1 สารเคมี.....	22
3.1.2 อุปกรณ์.....	22
3.2 การเตรียมสารละลาย.....	23
3.3 วิธีดำเนินการทดลอง.....	24
3.3.1 กระดาษกรองเป็นชั้นสเตรท.....	24
3.3.1.1 ศึกษาผลจากความเข้มข้นของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์.....	24
3.3.1.2 ศึกษาผลจากความเข้มข้นของอโรโซฟีแนนโทรลีน.....	24
3.3.1.3 ศึกษาความละเอียดของเครื่องสแกนในการสแกนภาพ.....	25
3.3.1.4 ศึกษาการเตรียมจูดรีเอเจนต์ด้วยสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ เจืออโรโซฟีแนนโทรลีน.....	25
3.3.1.5 ศึกษาผลจากความเข้มข้นของโซเดียมเตตระโบเรตในสารละลาย พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจืออโรโซฟีแนนโทรลีน.....	26
3.3.1.6 ศึกษาผลจากความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกไซด์ลามีนไฮโดร คลอไรด์.....	26
3.3.2 แผ่นกระจกปิดสไลด์เป็นชั้นสเตรท.....	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3.2.1 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และ ออโรฟิแนนโทรลีน	27
3.3.2.2 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมสำหรับการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดย เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี	27
3.3.2.3 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกไซลามีนไฮโดรคลอ ไรด์	27
3.3.2.4 ศึกษาการเตรียมจุดรีเอเจนต์ด้วยสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ เจือออโรฟิแนนโทรลีน	28
3.3.3 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์	28
3.3.3.1 ความเป็นเส้นตรง (Linearity)	28
3.3.3.2 ความเที่ยง (Precision)	29
3.3.3.3 ความแม่นยำ (Accuracy)	30
3.3.3.4 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection)	31
3.3.3.5 ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation)	31
3.3.4 การหาปริมาณหลักในตัวอย่างวิตามิน	31
3.3.4.1 การเตรียมสารละลายตัวอย่างวิตามิน	31
3.3.4.2 การเจือจางสารละลายตัวอย่าง	31
3.3.4.3 การหาปริมาณหลัก	32
3.3.4.3.1 การใช้กระดาษกรองเป็นชั้นสเตอร์ท	32
3.3.4.3.2 การใช้แผ่นกระจกปิดสไลด์เป็นชั้นสเตอร์ท	32
3.3.4.3.3 การใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี	32
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	34
4.1 กระดาษกรองเป็นชั้นสเตอร์ท	34
4.1.1 ผลจากความเข้มข้นของสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์	34
4.1.2 ผลจากความเข้มข้นของออโรฟิแนนโทรลีน	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.1.3 ผลของความละเอียดของเครื่องสแกนในการสแกนภาพ	35
4.1.4 ผลจากการเตรียมจู้รีเอเจนต์ด้วยสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออโร ไฟแนนโทรลีน	36
4.1.5 ผลจากความเข้มข้นของโซเดียมเตตระโบเรตในสารละลายพอลิไวนิล แอลกอฮอล์เจือออโรไฟแนนโทรลีน	37
4.1.6 ผลจากความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์	38
4.2 แผ่นกระจกปิดสไลด์เป็นชั้นสเตรท	39
4.2.1 ผลจากความเข้มข้นของสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และออโรไฟแนน โทรลีน	39
4.2.2 ผลของเวลาที่เหมาะสม โดยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี	40
4.2.3 ผลจากความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์	41
4.2.4 ผลจากปริมาตรของสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออโรไฟแนนโท รลีน	42
4.3 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์	43
4.3.1 กระจายการเป็นชั้นสเตรท	43
4.3.1.1 ความเป็นเส้นตรง	43
4.3.1.2 ความเที่ยง	44
4.3.1.3 ความแม่นยำ	45
4.3.1.4 ขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิง ปริมาณ	46
4.3.2 แผ่นกระจกปิดสไลด์เป็นชั้นสเตรท	47
4.3.2.1 ความเป็นเส้นตรง	47
4.3.2.2 ความเที่ยง	48
4.3.2.3 ความแม่นยำ	49

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3.2.4 ซีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ	49
4.4 การหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างวิตามิน	50
4.4.1 การใช้กระดาษกรองเป็นซับสเตรท	50
4.4.2 การใช้แผ่นกระจกปิดสไลด์เป็นซับสเตรท	50
4.4.3 การใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี	51
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	54
เอกสารอ้างอิง	56
ภาคผนวก	58



สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แสดงงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณเหล็กด้วยเทคนิคต่าง ๆ	19
ตารางที่ 4.1 แสดงสภาวะที่เหมาะสมของชุดทดสอบบนกระดาษกรองและแผ่นกระดาษปิดสไลด์ สำหรับการหาปริมาณเฟอร์รัสไอออน	43
ตารางที่ 4.2 แสดงค่า Euclidean Distance ของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนที่ความเข้มข้น ต่าง ๆ	44
ตารางที่ 4.3 แสดงค่า Euclidean Distance ของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร	45
ตารางที่ 4.4 แสดงค่าร้อยละการกลับคืน	46
ตารางที่ 4.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนที่ความเข้มข้น ต่าง ๆ	47
ตารางที่ 4.6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร	48
ตารางที่ 4.7 แสดงค่าร้อยละการกลับคืน	49
ตารางที่ 4.8 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนที่ความเข้มข้น ต่าง ๆ	51
ตารางที่ 4.9 แสดงปริมาณเหล็กในตัวอย่างวิตามิน โดยใช้ชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ กรองและแผ่นกระดาษปิดสไลด์ และเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี	52
ตารางที่ ข.1 แสดงค่าความเข้มของสีแต่ละสี ค่า Euclidean Distance (ED) และส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)	60
ตารางที่ ค.1 แสดงค่า y_i , \hat{y}_i และ $(y_i - \hat{y}_i)^2$ ในการคำนวณขีดจำกัดของการตรวจพบและ ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณของชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษกรอง	61
ตารางที่ ค.2 แสดงค่า y_i , \hat{y}_i และ $(y_i - \hat{y}_i)^2$ ในการคำนวณขีดจำกัดของการตรวจพบและ ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณของชุดทดสอบแบบจุดบนแผ่นกระดาษปิดสไลด์	62

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 แสดงสูตรโครงสร้างของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์	4
รูปที่ 2.2 แสดงปฏิกิริยาสaponification ของการสังเคราะห์พอลิไวนิลแอลกอฮอล์	4
รูปที่ 2.3 แสดงการดูดกลืนแสงของสารละลาย.....	8
รูปที่ 2.4 แสดง โครงสร้างของสารเชิงซ้อนระหว่างเฟอร์รัสไอออนกับอโรโอฟีแนนโทรลีน	10
รูปที่ 2.5 แสดงระบบสี RGB	11
รูปที่ 2.6 แสดงระบบสี CMYK.....	12
รูปที่ 2.7 แสดงแผนภาพการทำงานของเครื่องสแกน	13
รูปที่ 2.8 แสดงประเภทของเครื่องสแกน	13
รูปที่ 4.1 แสดงขนาดของจุดเมื่อใช้ (1) เอทานอลปราศจากน้ำ, (2) พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 1%, (3) พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% และ (4) พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 5% เจืออโรโอฟีแนนโทรลีน	34
รูปที่ 4.2 แสดงผลจากความเข้มข้นของอโรโอฟีแนนโทรลีน	35
รูปที่ 4.3 แสดงผลจากความละเอียดของเครื่องสแกนในการสแกนภาพ.....	35
รูปที่ 4.4 (1) แสดงขนาดของจุดสีของสารเชิงซ้อนระหว่างเฟอร์รัสไอออนกับอโรโอฟีแนนโทรลีนที่ใช้สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจืออโรโอฟีแนนโทรลีนปริมาตร (A) 10.0 ไมโครลิตร และ (B) 5.0 ไมโครลิตร เป็นจุดของรีเอเจนต์.....	36
รูปที่ 4.4 (2) แสดงผลจากปริมาตรของสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจืออโรโอฟีแนนโทรลีนที่ส่งผลต่อค่า Euclidean Distance	37
รูปที่ 4.5 แสดงปฏิกิริยา di-diol ระหว่างพอลิไวนิลแอลกอฮอล์กับบอแรกซ์	37
รูปที่ 4.6 แสดงผลจากความเข้มข้นของโซเดียมเตตระโบเรต.....	38
รูปที่ 4.7 แสดงผลจากความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกไซด์ลามีนไฮโดรคลอไรด์	39
รูปที่ 4.8 แสดงผลจากความเข้มข้นของอโรโอฟีแนนโทรลีน	40
รูปที่ 4.9 แสดงแสดงความเข้มของจุดสีของสารเชิงซ้อนระหว่างเฟอร์รัสไอออนกับอโรโอฟีแนนโทรลีนที่ใช้สารละลายอโรโอฟีแนนโทรลีนเข้มข้น 0.07% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% เป็นจุดรีเอเจนต์.....	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ X อ่างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.10 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนที่เวลาต่างๆ	44
รูปที่ 4.11 แสดงผลจากความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกไซด์โครมไอโคโรคลอไรด์	42
รูปที่ 4.12 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเมื่อใช้สารละลายพอลิ ไวนิลแอลกอฮอล์เจือออ โซฟิแนน โทรีนปริมาตร 5.0 และ 10.0 ไมโครลิตร	42
รูปที่ 4.13 แสดงกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่า Euclidean Distance กับความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐาน	44
รูปที่ 4.14 แสดงกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน	47
รูปที่ 4.15 แสดงกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน	51
รูปที่ ก.1 แสดงหน้าต่างของโปรแกรม Image J TM ในการหาค่าความเข้มข้นของสี	59

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

เนื่องจากปัจจุบันเทคโนโลยีได้เจริญก้าวหน้าอย่างมาก มนุษย์จึงได้นำเทคโนโลยีเหล่านั้นมาพัฒนาให้เกิดสิ่งอำนวยความสะดวกมากมาย โดยเฉพาะในด้านวิทยาศาสตร์ได้มีเครื่องมือวิเคราะห์ที่ทันสมัยมากมายที่จะช่วยให้ผู้ทำการวิจัยมีความสะดวก สบายมากยิ่งขึ้น แต่เครื่องมือส่วนใหญ่มีขนาดใหญ่ ทำให้การเคลื่อนย้ายเป็นไปอย่างยากลำบาก ไม่สะดวกที่จะนำไปใช้งานในภาคสนามได้ อีกทั้งราคาและตลอดจนค่าใช้จ่ายต่าง ๆ ในการบำรุงรักษาสูง นอกจากนี้แล้ว การทำการวิเคราะห์ครั้งหนึ่ง ๆ อาจต้องใช้สารเคมี ตัวทำละลาย หรือรีเอเจนต์ในการเตรียมตัวอย่างและสารละลายในปริมาณมาก ทำให้ของเสีย (waste) ที่เกิดจากการวิเคราะห์แต่ละครั้งมีปริมาณสูง ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

ชุดทดสอบ หรือ “test kit” ถูกนำมาใช้และได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อช่วยคัดกรอง (screening) และประเมินการวิเคราะห์เบื้องต้นก่อนนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ จุดเด่นของชุดทดสอบ คือ มีขนาดเล็ก พกพาสะดวก จึงสามารถวิเคราะห์ที่หน้างานหรือภาคสนามได้อย่างสะดวกและรวดเร็ว โดยตัวอย่างนั้นอาจไม่จำเป็นต้องผ่านการเตรียมตัวอย่างหรือเติมสารเคมีอื่น ๆ เพื่อป้องกันปฏิกิริยาต่าง ๆ ที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการขนส่งตัวอย่างไปยังห้องปฏิบัติการ ซึ่งจะช่วยลดปริมาณสารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนการเก็บรักษาตัวอย่างลงได้ ปัจจุบันได้มีบริษัทและหน่วยงานราชการหลายแห่งได้พัฒนาชุดทดสอบออกมาจำหน่ายมากมายทั้งที่เป็นน้ำยาเคมีหรือในรูปของ test strip เช่น ชุดทดสอบบอแรกซ์ ฟอรัมาลิน จุลินทรีย์ในอาหาร ชุดทดสอบความกระด้างของน้ำ ชุดทดสอบแอมโมเนีย และชุดทดสอบปรอทแอมโมเนียในเครื่องสำอาง เป็นต้น ส่วนใหญ่แล้วชุดทดสอบจะสังเกตผลโดยการเปรียบเทียบกับความเข้มของแถบสี ซึ่งให้ผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพหรือกึ่งเชิงปริมาณเท่านั้น ไม่สามารถบอกได้อย่างแม่นยำว่ามีปริมาณสารที่ต้องการวิเคราะห์ (analyte) อยู่เท่าใดในตัวอย่าง จึงเป็นข้อเสียของชุดทดสอบ

พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Poly (vinyl alcohol), PVA) เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ชนิดหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ โดยเฉพาะทางด้านการแพทย์ เพราะพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ไม่มีเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พืชม สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ จึงถูกนำมาเตรียมเป็นแผ่นไฮโดรเจลปิดแผล เนื้อเยื่อเทียม เป็นต้น นอกจากนี้ยังนำไปประยุกต์ใช้ทางการเกษตร และทางด้านวัสดุวิศวกรรมได้อีกด้วย

งานวิจัยนี้ได้นำพอลิไวนิลแอลกอฮอล์มาประยุกต์ใช้พัฒนาชุดทดสอบเพื่อหาปริมาณธาตุเหล็กในตัวอย่างวิตามิน โดยใช้กระดาษกรองหรือแผ่นกระดาษปิดสไลด์เป็นชั้นสเตรท และอาศัยหลักการเกิดเป็นสารเชิงซ้อนระหว่างเฟอร์รัสไอออนกับออร์โธโทไฟเฟนโทโรลีน โดยเจือออร์โธโทไฟเฟนโทโรลีนในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์แล้วหยดสารละลายนี้ลงบนชั้นสเตรท พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ทำหน้าที่เป็นสารช่วยยึดติด (adhesive) ทำให้รีเอเจนต์ถูกตรึงไว้บนชั้นสเตรท การตรวจวัดจุดสีบนกระดาษกรองใช้เครื่องสแกนและใช้โปรแกรม Image J™ ในการประมวลผล ส่วนการตรวจวัดจุดสีบนแผ่นกระดาษปิดสไลด์ใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ในการประมวลผล

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาและพัฒนาชุดทดสอบแบบจุด โดยใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นสารช่วยยึดติด สำหรับวิเคราะห์หาเฟอร์รัสไอออนเชิงปริมาณ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นสารช่วยยึดติดในชุดทดสอบแบบจุดเพื่อวิเคราะห์หาเฟอร์รัสไอออนในเชิงปริมาณ โดยมีขอบเขตของงานวิจัยดังนี้

1.1 ชั้นสเตรทที่ใช้ทดลอง ได้แก่ กระดาษกรองและแผ่นกระดาษปิดสไลด์

1.2 สารยึดติดที่ใช้ในการทดลอง คือ พอลิไวนิลแอลกอฮอล์

1.3 ศึกษาสัดส่วนการผสมรีเอเจนต์ต่าง ๆ กับสารยึดติด และลักษณะการยึดติดบนชั้นสเตรท

2. ศึกษาความเหมาะสมของการใช้เครื่องสแกนสำหรับตรวจวัดจุดสีบนกระดาษและการใช้โปรแกรม Image J™ ในการประมวลผล ส่วนการตรวจวัดจุดสีบนแผ่นกระดาษปิดสไลด์ใช้เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

3. ศึกษาคุณลักษณะของชุดทดสอบโดยใช้ข้อมูลทางสถิติ ได้แก่ ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสนใจ ขีดจำกัดของการตรวจพบ ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ ความแม่นยำ และความเที่ยง

4. ประยุกต์ใช้ชุดทดสอบแบบจุดที่พัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุเหล็กในตัวอย่างวิตามิน โดยเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานซึ่งใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี

1.4 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

1. ศึกษาและค้นคว้าข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
2. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของชุดทดสอบ
3. ประมวลผลความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้น โดยใช้ข้อมูลทางสถิติ
4. นำชุดทดสอบที่พัฒนาได้ไปประยุกต์ใช้หาปริมาณธาตุเหล็กในตัวอย่างวิตามิน
5. ทดสอบความถูกต้องของวิธีการหาปริมาณธาตุเหล็กในตัวอย่างวิตามิน โดยเปรียบเทียบวิธีที่พัฒนาขึ้นกับเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

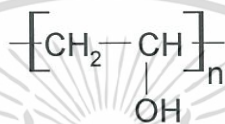
1. ได้ชุดทดสอบแบบจุดที่ใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นสารช่วยยึดติดรีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์เฟอร์รัสไอออนที่ให้ผลการวิเคราะห์เชิงปริมาณได้
2. ชุดทดสอบแบบจุดที่พัฒนาขึ้นสามารถทำให้ปริมาณการใช้รีเอเจนต์และสารเคมีต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในการเกิดปฏิกิริยา ตลอดจนปริมาณสารตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ลดลงได้มาก

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Poly(vinyl alcohol); PVA) [1-2]

พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) เป็นเทอร์โมพลาสติกชนิดหนึ่งประกอบไปด้วยมอนอเมอร์ คือ ไวนิลแอลกอฮอล์ (vinyl alcohol monomer) ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังนี้



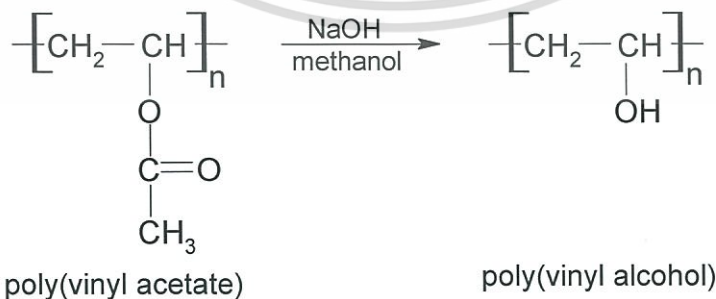
poly(vinyl alcohol)

รูปที่ 2.1 แสดงสูตร โครงสร้างของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์

จะเห็นว่า โครงสร้างของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) เกาะอยู่ในทุกๆ มอนอเมอร์ จึงทำให้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์สามารถดูดซึมน้ำ ละลายได้บางส่วนในน้ำเย็นและละลายได้ดีในน้ำร้อน

2.1.1 การสังเคราะห์พอลิไวนิลแอลกอฮอล์

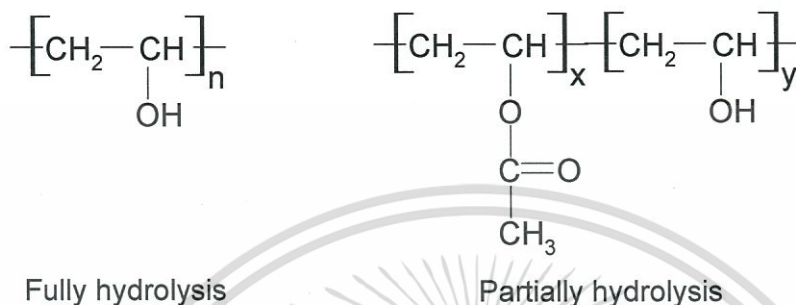
พอลิไวนิลแอลกอฮอล์สามารถสังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของพอลิไวนิลแอซิเตต (Polyvinyl acetate; PVAc) ในสภาวะกรดหรือเบส ซึ่งถ้าสังเคราะห์ในสภาวะเบส เรียกว่าปฏิกิริยาสปอนนิฟิเคชัน (saponification) ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นดังนี้



รูปที่ 2.2 แสดงปฏิกิริยาสปอนนิฟิเคชันของการสังเคราะห์พอลิไวนิลแอลกอฮอล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของพอลิไวนิลเอซิติเตต สามารถกำหนดปริมาณไฮโดรไลซิสได้ คือ พอลิไวนิลแอลกอฮอล์มีทั้งที่เป็นพอลิไวนิลแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (Fully hydrolysis) และพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่ยังมีพอลิไวนิลเอซิติเตตผสมอยู่ (Partially hydrolysis)



2.1.2 ลักษณะเฉพาะของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์

2.1.2.1 ลักษณะทั่วไปของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์

พอลิไวนิลแอลกอฮอล์มีลักษณะเป็นผงหรือเม็ดสีขาว ไม่มีกลิ่นและรส ละลายได้ในน้ำ ละลายได้เล็กน้อยในเอทานอล แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วนใหญ่แล้ว สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 5% จะมี pH อยู่ในช่วง 5.0-6.5 มีจุดหลอมเหลว 180-190 องศาเซลเซียส (องศาการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส 86-89%)

2.1.2.2 ผลขององศาการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชัน (มวลโมเลกุล) และองศาการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

เมื่อองศาการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันเพิ่มขึ้น พอลิเมอร์จะมีความหนืดสูง ทนต่อแรงดึงได้สูงกว่าพอลิเมอร์ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ ถ้าพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่มีองศาการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (degree of hydrolysis) มากจะมีค่าความทนทานต่อแรงดึงสูงขึ้น ทำให้ทนทานต่อการฉีกขาดได้มากกว่าพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่มีองศาการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสต่ำ

2.1.2.3 สมบัติอื่นๆ

2.1.2.3.1 สมบัติการละลายน้ำ

พอลิไวนิลแอลกอฮอล์สามารถละลายน้ำได้ดี และขึ้นอยู่กับองศาการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันและองศาการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่มีองศาการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันต่ำจะละลายน้ำได้ง่ายกว่าพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่มีองศาการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันสูง นอกจากนี้ค่าการละลาย (solubility) ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ใช้ โดยที่อุณหภูมิสูงจะมีค่าการละลายสูงกว่าที่อุณหภูมิต่ำ

2.1.2.3.2 ค่าแรงดึงผิว

สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์มีความสามารถในการลดแรงดึงผิวของน้ำและยังสามารถรักษาความเสถียรของคอลลอยด์ได้อีกด้วย

2.2.1.4 ค่าการยึดติด

พอลิไวนิลแอลกอฮอล์มีความสามารถในการยึดติดสูง เมื่อเปรียบเทียบกับพอลิเมอรัชนิดอื่น ๆ ความสามารถในการยึดติดจะมีค่ามากเมื่อมีองศาการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันและองศาการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสสูง และใช้ตัวกลางที่มีขี้วในการยึดเกาะ

2.1.3 ประโยชน์ของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์

1. สามารถย่อยสลายได้โดยความร้อน พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่ไม่ได้มีการเติมสารเติมแต่งสามารถย่อยสลายได้ที่อุณหภูมิประมาณ 150 องศาเซลเซียส
2. สามารถใช้เตรียมฟิล์มไฮโดรเจลที่มีความสามารถดูดซับน้ำได้มาก โดยทำการเชื่อมโยงพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ด้วยแสงที่มีพลังงานสูง เช่น รังสีแกมมา รังสียูวี เป็นต้น หรือใช้สารเคมีในการเชื่อมโยง ไฮโดรเจลที่มีการเชื่อมโยงจะมีความแข็งแรง คงทน ไม่ละลายน้ำ ส่วนมากจะใช้ไฮโดรเจลในทางการแพทย์ เช่น แผ่นปิดแผล เนื้อเยื่อเทียม เป็นต้น นอกจากนี้ยังใช้ในการเกษตรได้อีกด้วย
3. สามารถใช้ในการทำเป็นวัสดุยึดติด (adhesive material) โดยอาศัยหลักการทางความร้อนและความสามารถในการหลอมเหลวของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์
4. สามารถใช้ในการผลิตยา โดยใช้เป็นตัวประสาน (binder) หรือตัวควบคุมการปลดปล่อยยา (drug releasing)

2.2 ชุดทดสอบภาคสนาม [3-4]

โดยส่วนใหญ่แล้วหลักการของชุดทดสอบจะเป็นหลักการเปรียบเทียบสี (Color comparison) ซึ่งเป็นวิธีที่มีค่าใช้จ่ายไม่สูง ใช้งานง่าย และให้ผลที่ค่อนข้างถูกต้อง

หลักการของการเปรียบเทียบสี คือ การวัดความแตกต่างของความเข้มสีระหว่างสาร

ตัวอย่างกับสีมาตรฐาน โดยอาศัยหลักกฎของเบียร์ (Beer's Law) ที่ว่า หากสารที่ต้องการตรวจวัดมีเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณมากขึ้น ก็จะทำให้สีที่เกิดเข้มขึ้นซึ่งจะส่งผลให้มีการดูดกลืนแสงมากขึ้นตามไปด้วย วิธีเปรียบเทียบสีนี้สามารถเปรียบเทียบสีที่เกิดขึ้นได้ทั้งจากการมองหรือใช้อิเล็กทรอนิกส์แปลงค่าออกมา

โดยทั่วไปแล้วจุดประสงค์ของการใช้ชุดทดสอบ คือ เพื่อใช้สำหรับการทดสอบหรือการวิเคราะห์สารที่ได้ในภาคสนามอย่างง่ายและรวดเร็ว เนื่องจากการทดสอบที่ทำในห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องมีการเก็บตัวอย่างและอาจจะต้องเติมสารคงตัว (preservative) จึงไม่ใช้การทดสอบในสภาวะจริง ชุดทดสอบส่วนใหญ่จึงมีไว้สำหรับการคัดกรอง (screening) ตัวอย่างที่มีจำนวนมาก ชุดทดสอบจึงสามารถวิเคราะห์ได้เพียงเชิงคุณภาพ (Qualitative analysis) หรือกึ่งคุณภาพ (Semi-quantitative) เท่านั้น

จุดเด่นของชุดทดสอบ

1. ใช้งานง่าย โดยผู้ใช้ไม่ต้องมีความเชี่ยวชาญด้านนั้น ๆ โดยตรง กระบวนการทดสอบจึงต้องไม่สลับซับซ้อนเกินไป
 2. สามารถนำไปใช้ในสภาวะของภาคสนามที่เกี่ยวข้อง กระบวนการทดสอบจึงต้องไม่ยุ่งยาก อาจสามารถใช้งานในสภาวะที่ต่างจากห้องปฏิบัติการได้
 3. ใช้เวลาทดสอบน้อย เพราะเป็นการใช้ในภาคสนามซึ่งมักไม่สามารถรอผลการทดสอบที่ใช้เวลานานได้
 4. น้ำยาและสารเคมีต่าง ๆ ที่ใช้มีความเสถียร สามารถเก็บไว้ใช้เป็นเวลานานได้
 5. ราคาถูก เพราะการทดสอบภาคสนามมักจะทำการทดสอบตัวอย่างจำนวนมาก
- จุดด้อยของชุดทดสอบ
1. ความถูกต้องแม่นยำน้อยกว่าวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
 2. ความไวน้อยกว่าวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ
 3. ใช้ทดสอบกับตัวอย่างที่มีความสลับซับซ้อนไม่มากนัก

2.3 หลักการของเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี [5]

การวิเคราะห์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารที่มีสี แต่เดิมเป็นเทคนิคที่ใช้การเปรียบเทียบความเข้มของสารที่มีองค์ประกอบเป็นสารที่ต้องการทราบปริมาณในสารละลายกับสีของสารละลายที่ประกอบด้วยสารที่ทราบความเข้ม ซึ่งต่อมาพบว่าถ้าผ่านแสงที่มีความยาวคลื่นในช่วงของแสงอินฟราเรด (infrared) แสงวิสิเบิล (visible light) หรือในช่วงของแสง

เอกซัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet) เข้าไปในสารละลาย พบว่าแสงจะถูกดูดกลืน ณ ที่ช่วงความยาวของคาร์บอน

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คลื่นที่ค่าบางค่า ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่ละลายอยู่ในสารละลายนั้น การวัดค่าการดูดกลืนแสงสามารถทำได้โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า แอปซอร์บชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (absorption spectrophotometer) เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรีสามารถแบ่งตามความยาวคลื่นของแสงที่เกี่ยวข้องได้ ดังนี้

1. อินฟราเรดสเปกโทรโฟโตเมทรี (Infrared spectrophotometry) เป็นเทคนิคเกี่ยวกับการดูดกลืนแสงที่อยู่ในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 1 ถึง 15 ไมโครเมตร

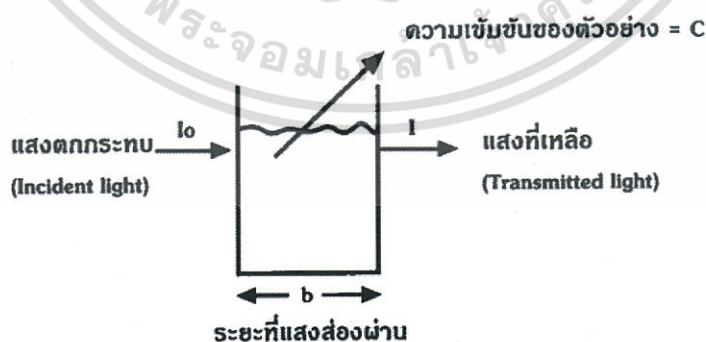
2. วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี (Visible spectrophotometry) เป็นเทคนิคเกี่ยวกับการดูดกลืนแสงที่อยู่ในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 380 ถึง 780 นาโนเมตร

3. อัลตราไวโอเลตสเปกโทรโฟโตเมทรี (Ultraviolet spectrophotometry) เป็นเทคนิคเกี่ยวกับการดูดกลืนแสงที่อยู่ในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 200 ถึง 380 นาโนเมตร

การดูดกลืนแสงที่อยู่ในช่วงอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลจะมีประโยชน์ในการวิเคราะห์สารอินทรีย์ (organic compound) สารเชิงซ้อน (complex compound) หรือสารอนินทรีย์ (inorganic compound) ทั้งที่มีสีและไม่มีสี โดยอาจทำการวิเคราะห์ที่อยู่ในรูปของธาตุหรือโมเลกุลก็ได้

2.3.1 กฎการดูดกลืนแสงของสารละลาย (Bouguer's law และ Beer's law)

เมื่อผ่านลำแสงเข้าไปในเซลล์ที่บรรจุสารละลายจะเกิดการดูดกลืนขึ้นเป็นบางส่วนและพลังงานของแสงก็จะสูญเสียให้แก่สารละลายไปบางส่วน ดังรูปที่ 2.3 พลังงานของแสงที่ถูกถ่ายเทให้แก่สารจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับโครงสร้างโมเลกุลของสารนั้นและขึ้นอยู่กับช่วงคลื่นของลำแสงที่ผ่านด้วย



รูปที่ 2.3 แสดงการดูดกลืนแสงของสารละลาย [5]

ถ้ากำหนดให้ I_0 เป็นพลังงานของลำแสงที่ตกกระทบเซลล์ใส่สารละลาย

I เป็นพลังงานของลำแสงที่ออกจากเซลล์ใส่สารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พลังงานของลำแสงเป็นปริมาณที่วัดได้โดยให้แสงตกกระทบกับโฟโตเซลล์ (photocell) ในหน่วยตรวจวัด อัตราส่วนระหว่างพลังงานของลำแสงที่ตกกระทบและพลังงานของลำแสงหลังจากผ่านเซลล์ เรียกว่า ทรานสมิตแตนซ์ (transmittance, T) จะบอกในลักษณะของร้อยละ (percent of transmittance)

$$T = \frac{I}{I_0}$$

ค่าลอการิทึมของ $\frac{1}{T}$ คือ ค่าแอบซอร์เบแนนซ์ (absorbance) แทนด้วย A

$$A = \log \frac{1}{T} = -\log T$$

ดังนั้น

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

ถ้ากำหนดให้ c คือ ความเข้มข้นของสารที่ดูดกลืนแสงในสารละลาย

b คือ ความยาวของเซลล์ที่ลำแสงผ่าน (optical path length)

ตามกฎของ Bouguer $\log \frac{I_0}{I} = k_1 b$

ตามกฎของเบียร์ (Beer's law) $\log \frac{I_0}{I} = k_2 c$

k_1 เป็นค่าคงที่ซึ่งขึ้นกับชนิดของสารที่เป็นตัวดูดกลืนแสงในสารละลาย ช่วงคลื่นของแสงที่ผ่านและความเข้มข้นของสารที่เป็นตัวดูดกลืนแสง

k_2 เป็นค่าคงที่ซึ่งขึ้นกับชนิดของสารที่เป็นตัวดูดกลืนแสงในสารละลาย ช่วงคลื่นของแสงที่ผ่านและความยาวของเซลล์ที่ลำแสงผ่าน

จากกฎทั้งสองรวมกันจะได้กฎการดูดกลืนแสงของสารในสารละลาย ดังนี้

$$\log \frac{I_0}{I} = kbc$$

$$A = kbc$$

ถ้า c มีหน่วยเป็น กรัมต่อลิตร k เรียกว่า แอบซอร์บิวิตี (absorptivity หรือ extinction coefficient) แต่ถ้า c มีหน่วยเป็น โมลต่อลิตร k เรียกว่า โมลาร์แอบซอร์บิวิตี (molar absorptivity, ϵ) และจะมีหน่วยเป็น ลิตร โมล⁻¹ ซม.⁻¹ ($1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ที่ช่วงคลื่นกำหนดให้

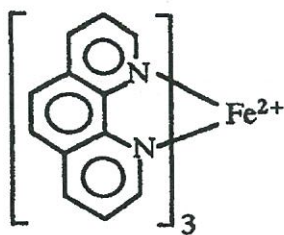
$$A = \epsilon bc$$

2.4 การเกิดสารเชิงซ้อนที่มีสีของเฟอร์รัสไอออนกับออร์โธฟีแนนทรอลีน [5]

เฟอร์รัสไอออนหรือเหล็ก (II) เมื่อทำปฏิกิริยากับออร์โธฟีแนนทรอลีน (orthophenanthroline) จะให้สารเชิงซ้อนที่มีสีส้ม ซึ่งสามารถแสดงปฏิกิริยาได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับ $\text{Fe}^{2+}(\text{aq}) + 3\text{PhH} \longrightarrow \text{Fe}(\text{Ph})_3^{2+} + 3\text{H}^+$ นี้ให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรโครงสร้างของสารเชิงซ้อนระหว่างเฟอร์รัสไอออนกับออร์โธโรฟีแนนโทรีน เป็นดังนี้



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของสารเชิงซ้อนระหว่างเฟอร์รัสไอออนกับออร์โธโรฟีแนนโทรีน

ค่า K_f ของปฏิกิริยานี้มีค่าเท่ากับ 2.5×10^6 ที่ 25 องศาเซลเซียส จากสมการค่า pH ของสารละลายมีผลกระทบต่ออายุตัวของสารเชิงซ้อนนี้ โดยทั่วไปแล้วการเกิดสารเชิงซ้อนนี้จะทำในสารละลาย pH 2 ถึง 9 แต่อย่างไรก็ดีเรามักจะทำที่ pH ประมาณ 3.5 เพื่อป้องกันการตกตะกอนของเกลือบางชนิดของเหล็ก เช่น เกลือฟอสเฟต การควบคุม pH ของสารละลายไม่จำเป็นต้องแน่นอน แต่ให้มีค่าประมาณ 3.5

ในการทำให้เหล็กเกิดสารเชิงซ้อนกับออร์โธโรฟีแนนโทรีนจะต้องรีดิวส์เหล็กทั้งหมดในสารละลายให้เป็นเหล็ก (II) ก่อน โดยใช้ไฮโดรควิโนน (hydroquinone) หรือไฮดรอกไซลามีน-ไฮโดรคลอไรด์ (hydroxylamine hydrochloride) สีของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างเฟอร์รัสไอออนกับออร์โธโรฟีแนนโทรีนจะอยู่ตัวเป็นเวลานาน

การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนของเหล็กกับออร์โธโรฟีแนนโทรีนนั้นจะทำการวัดที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2.5 ระบบสี (Color system)[6]

สี โดยปกติแล้วจะนึกถึงแม่สี 3 สี แต่การใช้สีกับงานกราฟิกในคอมพิวเตอร์จะเกี่ยวข้องกับ การแสดงผลแสงที่แสดงบนหน้าจอคอมพิวเตอร์ โดยมีลักษณะการแสดงผล คือ ถ้าไม่แสดงผลสีใดเลยบนจอภาพจะแสดงเป็นสีดำ แต่หากสีทุกสีแสดงผลพร้อมกัน จะเห็นสีบนจอภาพเป็นสีขาว สีที่ใช้ในงานด้านกราฟิกแบ่งออกเป็นหลายระบบด้วยกัน แต่ที่นิยมใช้ส่วนใหญ่มี 2 ระบบ คือ

ระบบสี RGB

ระบบสี RGB นี้เป็นรูปแบบของสีที่เกิดจากการผสมแม่สีทั้ง 3 สี คือ สีแดง (Red) สีเขียว (Green) และสีน้ำเงิน (Blue) สีในรูปแบบนี้จึงนิยมใช้ในการแสดงผลออกทางหน้าจอคอมพิวเตอร์

หน้าจอโทรทัศน์ หรืออุปกรณ์ที่ใช้การกำเนิดสีโดยใช้แสงเป็นหลัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีในระบบ RGB นี้สามารถสร้างให้เกิดสีได้จำนวนมากที่สุดใกล้เคียงกับสีที่ตาสามารถมองเห็นได้ แต่มีข้อเสียตรงที่จำนวนสีทั้งหมดที่สร้างขึ้นมาในระบบนี้จะมีเพียงบางส่วนเท่านั้นที่สามารถพิมพ์ออกทางงานพิมพ์จริงได้ เนื่องจากสีบางสีไม่สามารถสร้างขึ้นมาได้จริงๆ โดยใช้หมึกพิมพ์

การกำหนดค่าสีของแม่สีแต่ละสีจะมีค่าได้ตั้งแต่ 0 คือ ไม่มีแสงสีดังกล่าวเลย ไปจนถึง 255 คือ มีแสงสีนั้นประกอบอยู่ทั้งหมด ในกรณีที่แสงทุกสีมาผสมกัน จะทำให้เกิดแสงสีขาวขึ้นมาในทางกลับกัน ถ้าไม่มีแสงสีใดเลย หรือมีน้อยมากจะทำให้เกิดสีดำ จึงเรียกระบบสีนี้ว่า การผสมสีแบบเติมเต็ม (Additive)



รูปที่ 2.5 แสดงระบบสี RGB [6]

ระบบสี CMYK

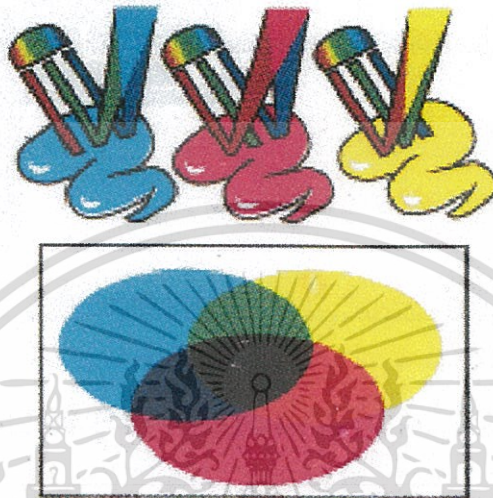
ระบบสี CMYK นั้นมีรูปแบบการผสมสีโดยใช้แม่สีทางวัตถุ หรือแม่สีที่เป็นหมึกพิมพ์จริง ๆ จึงเป็นระบบสีที่ใช้กับเครื่องพิมพ์ ประกอบด้วย สีฟ้าอมเขียว (Cyan) สีแดงอมม่วง (Magenta) สีเหลือง (Yellow) และสีดำ (Key หรือ Black)

แม่สีดังกล่าวเกิดจากการดูดกลืนแสงของวัตถุแล้วสะท้อนสีที่ไม่สามารถดูดกลืนได้ออกมา เช่น สีฟ้าเกิดจากการที่แสงสีแดงถูกดูดกลืนไว้โดยหมึกสีฟ้า แล้วสะท้อนแสงสีน้ำเงินและเขียวออกมา จึงผสมกันเป็นสีฟ้า ซึ่งสีที่สะท้อนออกมาจะเป็นสีหลักของระบบสี RGB สำหรับสีดำเป็นสีที่จะเข้ามาผสมเพื่อให้ได้ความเข้มของสีต่าง ๆ เนื่องจากแม่สีทั้ง 3 เมื่อนำมาผสมกันอย่างเท่า ๆ กันแล้วไม่สามารถทำให้เกิดเป็นสีดำจริง ๆ ได้ จึงเรียกระบบสีแบบนี้ว่า การผสมสีแบบหักลบ (Subtractive)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีในระบบนี้ไม่สามารถแสดงสีได้ทุกสีที่มีอยู่ตามธรรมชาติ แต่เป็นสีที่สามารถพิมพ์ออกมาได้จริง ๆ ด้วยหมึกพิมพ์ที่มีอยู่ในโหมด CMYK เท่านั้น

การกำหนดค่าสีในระบบนี้จะมีหน่วยวัดเป็นเปอร์เซ็นต์ความเข้มของแต่ละสีตั้งแต่ 0-100% ถ้ามีค่าน้อย ๆ สีก็จะมีแสงสว่างมาก และเมื่อมีค่ามาก สีก็จะมีแสงเข้มหรือความมืดมาก



รูปที่ 2.6 แสดงระบบสี CMYK [6]

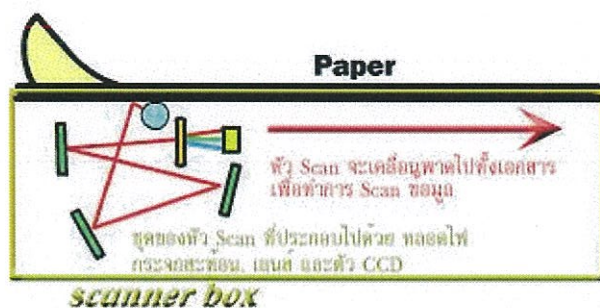
2.6 เครื่องสแกน (Scanner) [7-8]

เครื่องสแกน เป็นอุปกรณ์ต่อเชื่อมกับคอมพิวเตอร์ ทำหน้าที่กวาดจับภาพ ตัวอักษร หรือ สัญลักษณ์ใด ๆ ที่อ่าน โดยช่องอ่านของเครื่อง และเก็บไว้ในรูปแบบของไฟล์รูปภาพหรือไฟล์อักษร โดยการใช้โปรแกรมจดจำตัวอักษรที่เรียกว่า โปรแกรม OCR (Optical character recognition) ซึ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการจัดเก็บเอกสาร แต่ส่วนใหญ่แล้วจะจัดเก็บไว้ในรูปแบบของไฟล์รูปภาพ จึงเรียกอุปกรณ์นี้ว่า อิมเมจสแกนเนอร์ (Image scanner) ซึ่งสามารถจัดเก็บและบันทึกไว้ในคอมพิวเตอร์ นอกจากนี้ยังสามารถนำส่งออกไปเป็นแฟกซ์ได้อีกด้วย

2.6.1 หลักการ

การทำงานของเครื่องสแกนอาศัยหลักการสะท้อนแสง โดยเมื่อวางภาพหรือเอกสารใด ๆ ลงไปในเครื่องสแกน เครื่องสแกนจะทำการฉายแสงไปกระทบกับวัตถุแล้วสะท้อนไปตกบนตัวรับแสงที่สะดวก ข้อมูลในแถวนั้น ๆ ก็จะถูกแปลงเป็นจุดเล็ก ๆ ในรูปของสัญญาณดิจิทัลแล้วเก็บไว้ในหน่วยความจำ เมื่อแหล่งกำเนิดแสงและตัวรับแสงเลื่อนไปยังภาพแถวต่อไป สัญญาณที่ได้จากแถวต่อมาก็จะถูกส่งต่อเนื่องกันไปจนสุดภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



หลอดไฟ จะทำการส่องสว่างวัตถุ เพื่อให้แสงตกกระทบมายัง กระจก
ชั้นที่ 1 ซึ่งจะทำการสะท้อนแสงไปยังชั้นที่ 2 และ 3 เพื่อให้เกิดการ
รวมแสงเกิดขึ้น แล้วจึงสะท้อนผ่านเลนส์ เพื่อกระจายแสงไปยัง
ตัวรับภาพ หรือ CCD เพื่อทำการประมวลผลต่อไป

- Light
- Mirrors
- Lens
- Light Path

รูปที่ 2.7 แสดงแผนภาพการทำงานของเครื่องสแกน [7]

2.6.2 ประเภทของเครื่องสแกน

เครื่องสแกนแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ

1. Hand-held scanner มีขนาดเล็กสามารถเก็บภาพขนาดเล็ก ๆ ที่ไม่ต้องการความละเอียดมากได้ เช่น โลโก้ ตายเซ็นต์ เป็นต้น
2. Sheet-fed scanner เป็นเครื่องสแกนที่มีขนาดใหญ่กว่า hand-held scanner โดยมีหลักการคล้ายกับการทำงานของเครื่องแฟกซ์ คือ ดึงกระดาษขึ้นมาสแกนทีละแผ่น แต่ถ้าต้องการสแกนภาพจากหนังสือที่เป็นเล่มจะต้องฉีกกระดาษออกมาทีละแผ่นทำให้ไม่สะดวกในการสแกนคุณภาพที่ได้จากเครื่องสแกนประเภทนี้อยู่ในระดับปานกลาง
3. Flatbed scanner ลักษณะของเครื่องสแกนประเภทนี้คือ จะมีแผ่นกระจกใสไว้สำหรับวางภาพที่จะสแกนเหมือนเครื่องถ่ายภาพเอกสาร คุณภาพของงานที่ได้จากการสแกนจะดีกว่า 2 ประเภทข้างต้น



Hand-held scanner



Sheet-fed scanner



Flatbed scanner

รูปที่ 2.8 แสดงประเภทของเครื่องสแกน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.3 ส่วนประกอบของเครื่องสแกน

- แผ่นปิด (Document cover) เป็นส่วนที่มีความสำคัญ เพราะใช้สำหรับป้องกันแสงจากภายนอกที่อาจเข้าไปรบกวนในขณะที่เครื่องสแกนทำงานได้ ดังนั้นเมื่อสแกนภาพทุกครั้งต้องปิดแผ่นปิดเสมอ แต่บางครั้งอาจถอดออกได้หากเอกสารที่นำมาสแกนมีความหนาและสามารถปิดกระจกวางได้สนิท

- แผ่นกระจก (Document table) เป็นที่สำหรับวางภาพหรือเอกสารที่ต้องการนำมาสแกน

- คาร์เรียด (Carriage) เป็นส่วนที่สำคัญที่สุดสำหรับการสแกนภาพ ประกอบด้วยตัวตรวจจับแสง (Optical sensor) และแหล่งกำเนิดแสง (หลอดฟลูออเรสเซนต์)

- แผงหน้าปัทม์ควบคุม ใช้สำหรับกำหนดและควบคุมการทำงานของเครื่องสแกน เช่น ความละเอียด ความสว่าง สัดส่วนและขนาดของภาพ เป็นต้น

2.6.4 ภาพจากการสแกน

ภาพบนคอมพิวเตอร์หรือกราฟิกราคอมพิวเตอร์จะอยู่ในรูปแบบดิจิทัลคอมพิวเตอร์จะแทนส่วนเล็กๆ ๆ ของภาพว่า พิกเซล (pixel) แต่ละพิกเซลจะมีลักษณะเป็นรูปสี่เหลี่ยมที่เก็บข้อมูลของสี โดยถูกกำหนดตำแหน่งไว้บนเส้นกริดของแนวแกน x และ y คอมพิวเตอร์จะบันทึกค่าความเข้มและค่าสีของพิกเซลด้วยจำนวน 1 บิตหรือหลาย ๆ บิต จำนวนของพิกเซลจะเป็นตัวแสดงถึงความละเอียด ถ้ามีจำนวนบิตต่อพิกเซลมาก สีที่ได้ก็จะมากขึ้น และถ้าใช้ความละเอียดในการสแกนภาพมากจะทำให้ภาพที่ได้มีความละเอียดมาก

สำหรับรูปแบบของการเก็บข้อมูลของภาพมีหลายระบบ เช่น 1 บิต 8 บิต และ 24 บิต ถ้าเป็นข้อมูลแบบ 1 บิต จะใช้สำหรับเก็บข้อมูลต่อพิกเซล 2 ระดับ คือ 1 และ 0 ซึ่งจะแสดงสีได้เฉพาะขาว-ดำ แต่ถ้าเป็น 8 บิต จะใช้ความแตกต่างของสีถึง 256 ระดับ สำหรับระบบ 24 บิตจะให้ภาพที่มีสีที่ใกล้เคียงความจริงมากที่สุด เรียกว่า Photo-realistic โดยจะแบ่ง 24 บิต ออกเป็น 3 ส่วน คือ แดง เขียว และน้ำเงิน ส่วนละ 8 บิต เมื่อรวมทั้ง 3 ส่วนเข้ากันแล้ว จะสามารถแสดงสีได้ถึง 16.7 ล้านสี

2.7 Euclidean Distance [9]

Euclidean distance เป็นค่าระยะทางระหว่างจุดสองจุด ซึ่งมีคำนิยามดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Euclidean Distance ระหว่างจุด $P(p_1, p_2, \dots, p_n)$ และ $Q(q_1, q_2, \dots, q_n)$ ใน Euclidean n-space คือ

$$\sqrt{(p_1 - q_1)^2 + (p_2 - q_2)^2 + \dots + (p_n - q_n)^2} = \sqrt{\sum_{i=1}^n (p_i - q_i)^2}$$

one-dimension distance

สำหรับระยะห่างใน 1 มิติระหว่าง 2 จุด $P = (p_x)$ และ $Q = (q_x)$ จะได้ระยะทางเป็น

$$\sqrt{(p_x - q_x)^2}$$

Two-dimension distance

สำหรับระยะห่างใน 2 มิติระหว่าง 2 จุด $P = (p_x, p_y)$ และ $Q = (q_x, q_y)$ จะได้ระยะทางเป็น

$$\sqrt{(p_x - q_x)^2 + (p_y - q_y)^2}$$

Three-dimension distance

สำหรับระยะห่างใน 3 มิติระหว่าง 2 จุด $P = (p_x, p_y, p_z)$ และ $Q = (q_x, q_y, q_z)$ จะได้ระยะทางเป็น

$$\sqrt{(p_x - q_x)^2 + (p_y - q_y)^2 + (p_z - q_z)^2}$$

N-dimension distance

สำหรับระยะห่างใน N มิติระหว่าง 2 จุด $P = (p_1, p_2, p_3, \dots, p_n)$ และ $Q = (q_1, q_2, q_3, \dots, q_n)$ จะได้ระยะทางเป็น

$$\sqrt{(p_1 - q_1)^2 + (p_2 - q_2)^2 + \dots + (p_n - q_n)^2}$$

ในงานวิจัยนี้จะใช้ Euclidean Distance 3 มิติ เพื่อคำนวณค่าความแตกต่างของความเข้มสีของสีแดง (Red) สีเขียว (Green) และสีน้ำเงิน (Blue) โดยใช้สูตรดังนี้ [10]

$$\text{Euclidean Distance} = \sqrt{(\Delta R)^2 + (\Delta G)^2 + (\Delta B)^2}$$

เมื่อ Δ คือ ผลต่างของความเข้มสีของจุดแบลงค์กับความเข้มสีของจุดที่เกิดสารเชิงซ้อนสีส้มระหว่างเฟอร์รัสไอออนกับอซิฟิแนนโทเรติน

R คือ ความเข้มสีของสีแดง

G คือ ความเข้มสีของสีเขียว

B คือ ความเข้มสีของสีน้ำเงิน

โดยที่ แสงสีขาวจะประกอบด้วยแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน ซึ่งมีค่าความเข้มสีสูงสุดเท่ากับ 255, 255 และ 255 (R, G และ B) และแสงสีดำมีค่าความเข้มสีต่ำสุดเท่ากับ 0, 0 และ 0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.8.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณเหล็ก

จากการศึกษา พบว่ามีงานวิจัยมากมายที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณเหล็กโดยใช้เทคนิคต่าง ๆ ดังนี้

N. Demirhan และ F.T. Elmali [11] ตรวจวัดปริมาณเฟอร์รัสไอออนในสารละลายที่มีไอออนของ Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Al^{3+} , Ca^{2+} และ Mg^{2+} โดยอาศัยการเกิดสารเชิงซ้อนของเฟอร์รัสไอออนกับ 5-nitro-6-amino-1,10-phenanthroline (NAF) ด้วยอัตราส่วนโมล 1 ต่อ 3 ภายใต้สภาวะกรด (pH 4) และวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนที่ 210 นาที่ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร พบว่าไอออนของ Co^{2+} , Ni^{2+} และ Cu^{2+} ครอบคลุมการวิเคราะห์ ส่วนไอออนของ Zn^{2+} , Mn^{2+} , Al^{3+} และ Ca^{2+} ครอบคลุมการวิเคราะห์น้อย และ Mg^{2+} ไม่ครอบคลุมการวิเคราะห์ ซึ่งจะกำจัดไอออนที่ครอบคลุมการหาปริมาณเฟอร์รัสไอออน โดยการเติมสารกำบัง วิธีนี้ มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.1-4.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จุดต่ำสุดของการตรวจพบเท่ากับ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

D.J. Garole [12] ได้ทำการหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างยา โดยใช้เทคนิคยูวีสเปกโทรโฟโตเมทรี วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ซึ่งวิธีนี้มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้น 1-10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

A.S. Amin และ A.A. Gouda Alaa [13] ได้ทำการหาปริมาณเฟอร์รัสไอออน (Fe(II)) และเฟอร์ริกไอออน (Fe(III)) ในตัวอย่างน้ำโดยใช้ solid-phase spectrophotometry (SPS) ซึ่งเป็นการรวมขั้นตอนของการเพิ่มความเข้มข้นและการตรวจวัดไว้ด้วยกัน โดยให้เฟอร์รัสไอออนเกิดสารเชิงซ้อนกับ 2,3-dichloro-6-(3-carboxy-2-hydroxy-1-naphthylazo)quinoxaline (DCHNAQ) ที่อยู่บนสไตรีนไดไวนิลเบนซีนแอนไอออนเอ็กเซนเจอร์ซิน และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 743 และ 830 นาโนเมตร สำหรับเฟอร์ริกไอออนนั้นจะต้องทำการรีดิวส์เป็นเฟอร์รัสไอออนก่อน โดยใช้ไฮดรอกไซด์ลามินไฮโดรคลอไรด์ ซึ่งพบว่าวิธีนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรง 1-20 ไมโครกรัมต่อลิตร ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 1.65% (n=10) มีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจพบและการตรวจวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 280 และ 950 นาโนกรัมต่อลิตร

B.T. Ahad [14] ได้ทำการหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างน้ำ โดยใช้การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบ DLLME มีคลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดเหล็กจากตัวอย่างน้ำ จากนั้นทำการหาปริมาณเหล็กโดยอาศัยการเกิดสารเชิงซ้อนของเฟอร์รัสไอออนกับอโรโทฟิแนม

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถนำออกจำหน่าย หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต หากมีข้อผิดพลาดประการใด ขออภัยเป็นอย่างสูง และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพลีเมอร์และวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร พบว่าวิธีนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.025-1.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม มีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจพบเท่ากับ 7.50 ไมโครกรัมต่อลิตร มีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 1.2% (n=5) และค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery) เท่ากับ 90-108%

Y. Udman และคณะ [15] ได้ทำการหาปริมาณเฟอร์ริกไอออน (Fe(III)) ในตัวอย่างยาโดยใช้เทคนิคโพลีเจกชัน (flow injection) และใช้ซาลิไซเลตที่ได้จากแอสไพรินเป็นรีเอเจนต์ วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนสีแดงของเฟอร์ริกไอออนกับซาลิไซเลตที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร พบว่าวิธีนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรง 1-20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจพบเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 1.4-5.4% (n=3)

Z.O. Tesfaldet และคณะ [16] ได้ทำการหาปริมาณเฟอร์รัสไอออน (Fe(II)) ในตัวอย่างวิตามิน โดยใช้เทคนิค SIA (sequential injection analysis) ซึ่งอาศัยการเกิดสารเชิงซ้อนของเฟอร์รัสไอออนกับ 1,10-phenanthroline และทำวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนที่ความยาวคลื่น 512 นาโนเมตร พบว่าวิธีนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรง 0.25-5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจพบเท่ากับ 18 ไมโครกรัมต่อลิตร และสามารถทำการวิเคราะห์ตัวอย่างได้ 40 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

A. Komersova และคณะ [17] ได้ทำการหาปริมาณเหล็กในกรดอะมิโนไอโซพาทาลิก โดยใช้เทคนิคโวลแทมเมตรี สามารถทำได้โดยเจือจางตัวอย่างในกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 โมลาร์ แล้วปรับ pH ให้ได้ pH 4-5 หลังจากเติมอิตีทีเอ และใช้ carbon paste เป็นอิเล็กโทรดในการวัดกระแสไฟฟ้าของสารละลายตัวอย่าง พบว่าวิธีนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรง 3×10^{-7} - 5×10^{-5} โมลต่อลิตร และมีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจพบเท่ากับ 3×10^{-7} โมลต่อลิตร

W.H. Mahmoud [18] ได้หาปริมาณเฟอร์รัสไอออน (Fe(II)) ในตัวอย่างยาโดยใช้เทคนิคโพเทนชิอเมตรีและโพเทนชิอโทตรีเมตรี ใช้พีวีซีเมมเบรนเป็นเซ็นเซอร์สำหรับตัวตรวจวัด โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาของเฟอร์รัสไอออนกับ 2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) พบว่า วิธีนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรง 5×10^{-7} - 10^{-2} โมลาร์

I. Durukan และคณะ [19] ได้หาปริมาณเหล็กและทองแดงในตัวอย่างอาหาร โดยใช้การสกัดแบบ FI-CPE (flow injection-cloud point extraction) เพื่อเพิ่มความเข้มข้นของเหล็กในตัวอย่างและทำการหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างโดยใช้เทคนิคฟลอมอะตอมมิคแอบซอร์บ

ชั้นสเปกโทรเมทรี (FAAS) ใช้ Triton X-114 เป็นสารลดแรงตึงผิวและเอริโอโครมไซยานีนอาร์ เป็นสารคีเลต ซึ่งพบว่าวิธีนี้มีขีดจำกัดต่ำของการตรวจพบเหล็กเท่ากับ 0.33 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.57 นาโนกรัมต่อลิตรสำหรับทองแดง และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณเหล็ก เท่ากับ 1.10 นาโนกรัมต่อลิตรและ 1.90 นาโนกรัมต่อลิตรสำหรับทองแดง มีความเป็นเส้นตรง ในช่วง 1.5-25 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรและ 1.0-35 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรสำหรับการหาปริมาณเหล็ก และทองแดงตามลำดับ

E. Canfranc และคณะ [20] หาปริมาณเหล็กและ โมลิบดีนัมในตัวอย่างอาหารเสริม โดยใช้เทคนิคเฟลมอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโทรเมทรี (FAAS) หลังจากย่อยตัวอย่างที่ อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียสแล้ว พบว่าวิธีนี้มีความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.50-4.00 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับเหล็กและ 1.00-6.00 มิลลิกรัมต่อลิตรสำหรับ โมลิบดีนัม มีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจพบ สำหรับเหล็กและ โมลิบดีนัมเท่ากับ 126 ไมโครกรัมต่อกรัมและ 129 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ มีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณสำหรับเหล็กเท่ากับ 420 ไมโครกรัมต่อลิตรและ 433 ไมโครกรัมต่อลิตรสำหรับ โมลิบดีนัม

P.C. Aleixo และคณะ [21] ทำการหาปริมาณเหล็กและซีลีเนียมในตัวอย่างนมวัวโดย ใช้เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโทรเมทรี โดยเจือจางตัวอย่างด้วยสารละลายเอมีนตติยภูมิ (10% v/v CFA-C) จากนั้นทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค AAS โดยใช้ graphite furnace ในกระบวนการ ทำให้กลายเป็นอะตอม ซึ่งวิธีนี้มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.61-1.17 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 2.1 แสดงงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณเหล็กด้วยเทคนิคต่าง ๆ

เทคนิค	ตัวอย่าง	ช่วงความเป็นเส้นตรง	ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์	เอกสารอ้างอิง
UV-Vis Spectrophotometry	Solution	0.1-4 µg/mL	0.1 µg/mL	[11]
	Tablet	1-10 µg/mL	-	[12]
	Water	1-20 µg/L	280 ng/L	[13]
	Water	0.025-1.0 µg/mL	7.5 µg/L	[14]
Flow injection analysis (FIA)	Pharmaceutical preparation	1-20 mg/L	0.5 mg/L	[15]
Sequential injection analysis (SIA)	Multi-vitamin preparation	0.25-5 mg/L	18 µg/L	[16]
Differential-pulse cathodic stripping voltammetry	Aminoisophthalic acid	3×10^{-7} - 5×10^{-5} mol/L	3×10^{-7} mol/L	[17]
Potentiometry และ Potentiometric titrimetry	Pharmaceutical	5×10^{-7} - 10^{-2} mol/L	-	[18]
Flame atomic absorption spectrophotometry	Food	1.5-25 ng/mL	0.33 ng/mL	[19]
	Dietetic preparation	0.5-4 mg/L	126 µg/g	[20]
	Bovine milk	0.61-1.17 mg/L	-	[21]

2.8.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับชุดทดสอบ

จากการศึกษางานวิจัยต่าง ๆ พบว่าการนำชุดทดสอบมาใช้ นั้น ส่วนใหญ่แล้วจะเป็น การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Qualitative analysis) แต่ก็มียงานวิจัยที่นำชุดทดสอบมาใช้วิเคราะห์ในเชิง ปริมาณ (Quantitative analysis) คือ

นฤชิต ไพโรจน์ [22] ได้พัฒนาชุดทดสอบสำหรับหาปริมาณเหล็กขึ้น โดยใช้โซล-เจล เจือออโรฟิแนนโทรลีน และใช้สแกนเนอร์เป็นเครื่องตรวจวัด จากนั้นใช้โปรแกรม Image JTM ในการ หาค่าความเข้มสี (สีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน) คำนวณความแตกต่างของความเข้มสีจากสมการเชิงเส้นแบบ ยูคลิด (Euclidean Distance, ED) ซึ่งวิธีนี้สามารถหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างวิตามินได้ในช่วงความ เข้มขึ้น 10-100 มิลลิกรัมต่อลิตร

พิมพ์พิมล อเนกธีรกุลและคณะ [23] ได้ทำการวิเคราะห์พาราไนโตรฟินอลด้วยการ สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายพอลิไดอะเซทิลีนเวลิเคิลซึ่งเป็นพอลิเมอร์ชนิดหนึ่งที่สามารถ เปลี่ยนสีได้จากสีน้ำเงินเป็นสีแดงเมื่อได้รับการกระตุ้นจากสิ่งเร้าหรือสารเคมีบางชนิด สารละลายพอลิ ไดอะเซทิลีนเวลิเคิลจะมีสีน้ำเงินเข้มและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 635 นาโนเมตร และสารละลาย เปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่อเกิดสารเชิงซ้อนกับแอลฟาไซโคลเดกซ์ทริน แต่จะถูกยับยั้งการเปลี่ยนสีเมื่อมี สารละลายพาราไนโตรฟินอลและสามารถทำการตรวจวัดได้โดยวิธีวิทีเบิลสเปกโทรเมทรี พบว่าวิธีนี้มี ช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.5–1.75 มิลลิโมลาร์

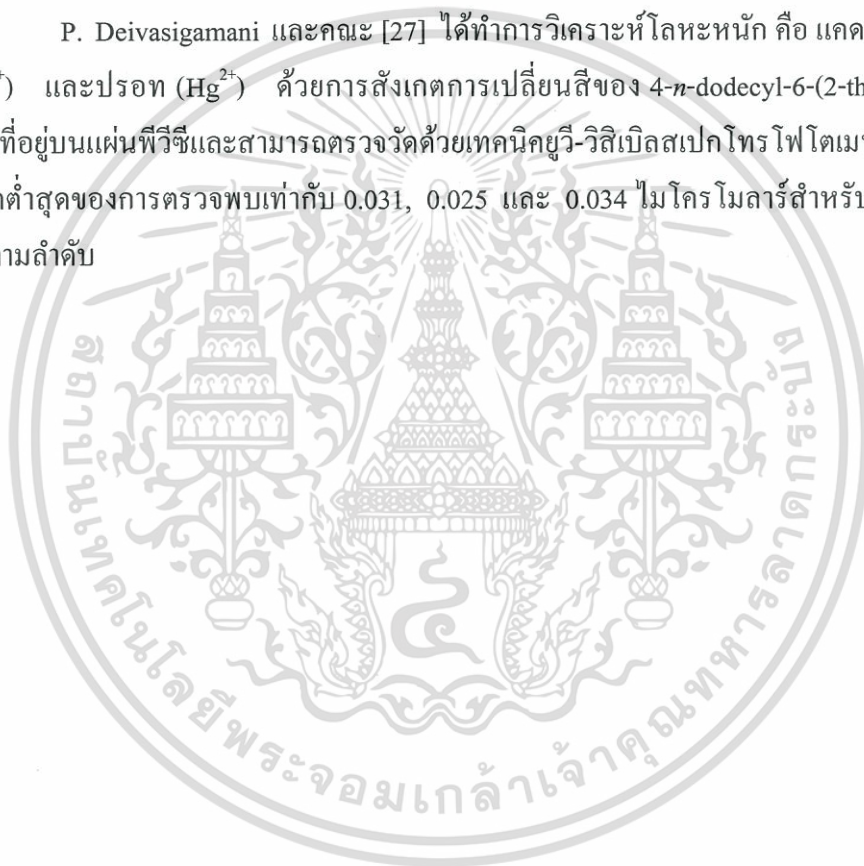
รุ่งนภา คงสังข์ [24] ได้ทำการตรวจวัดตะกั่ว (II) ในสารละลายน้ำด้วยตาเปล่าโดยใช้ ซิลิกาเจลที่เคลือบด้วย 1-(2-ไพริดีลเอโซ)-2-แนพทอล (Si-PAN) สีของ Si-PAN หลังจากสกัดตะกั่ว (II) จะแตกต่างจากสี Si-PAN เริ่มต้น โดยเปลี่ยนจากสีส้มเป็นสีชมพู พบว่าวิธีนี้มีขีดจำกัดต่ำสุดของการ ตรวจพบเท่ากับ 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังพบว่า Si-PAN มีความเลือกจำเพาะต่อตะกั่ว (II) เมื่อ เทียบกับไอออนโซเดียม ไอออนโพแทสเซียม ไอออนแมกนีเซียม และไอออนแคลเซียม เนื่องจากไม่ พบการเปลี่ยนสีของ Si-PAN เมื่อมีไอออนดังกล่าว โดยเซ็นเซอร์นี้สามารถตรวจวัดตะกั่ว(II) ด้วยตา เปล่าได้ 12 สัปดาห์

H. Matsunaga และคณะ [25] ได้ทำการตรวจวัดอะซีนิก (V) ในสารละลายน้ำด้วยการ สังเกตการเปลี่ยนสีของ molybdenum- β -hydroxypropyl-di(β -hydroxyethyl) amine เรซิน หรือ Mo-resin เมื่อทำการผ่านสารละลายที่มีอะซีนิกบน Mo-resin ภายใต้สภาวะกรด อะซีนิกจะถูกดูดซับอยู่บน เรซินนี้ และเรซินจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองอ่อนเป็นสีน้ำเงินอมเขียวซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของอะซีนิก

ที่มีอยู่ในสารละลายภายใน 20 นาทีด้วยความร้อน 40 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการหาปริมาณโดยใช้เทคนิค ICP-AES พบว่าวิธีนี้มีขีดต่ำสุดของการตรวจพบเท่ากับ 1×10^{-6} โมลาร์

C. Thoedtoon และคณะ [26] ได้ทำการวิเคราะห์สารประกอบอะโรมาติกด้วยการสังเกตการเปลี่ยนสีของพอลิไดอะเซทิลีนที่เตรียมเป็นแผ่นฟิล์ม โดยใช้เทคนิคการเตรียมฟิล์มแต่ละชั้นโดยฟิล์มพอลิไดอะเซทิลีนที่เตรียมสามารถเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเป็นสีแดงได้เมื่อทดสอบกับสารละลายแอลฟาไซโคลเด็คซ์ตริน (α -CD) และการเปลี่ยนสีจะถูกยับยั้งได้ด้วยสารประกอบอะโรมาติก เช่น พาราไนโตรฟินอล, เบนโซอิกแอซิด และ 2,4 ไดคลอโรฟินอกซีแอซิดิกแอซิด เป็นต้น

P. Deivasigamani และคณะ [27] ได้ทำการวิเคราะห์โลหะหนัก คือ แคดเมียม (Cd^{2+}) ตะกั่ว (Pb^{2+}) และปรอท (Hg^{2+}) ด้วยการสังเกตการเปลี่ยนสีของ 4-*n*-dodecyl-6-(2-thiazolylazo)-resorcinol ที่อยู่บนแผ่นพีวีซีและสามารถตรวจวัดด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี พบว่าวิธีนี้มีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจพบเท่ากับ 0.031, 0.025 และ 0.034 ไมโครโมลาร์สำหรับ Cd^{2+} , Pb^{2+} และ Hg^{2+} ตามลำดับ



บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo erba ประเทศอิตาลี
2. โซเดียมซิงโครเรท เกรดวิเคราะห์ บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศอังกฤษ
3. โซเดียมเตตระโบเรต ($Na_2B_4O_7$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Ajax finechem ประเทศออสเตรเลีย
3. น้ำปราศจากไอออน (Deionized water)
4. พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) มวลโมเลกุล 13,000-23,000 อนุภาคของไฮโดรไลซิส 87-89% บริษัท Sigma-Aldrich
5. ออโรฟิแนนโทรีน โมโนไฮเดรต ($C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo erba ประเทศอิตาลี
6. เอทานอลปราศจากน้ำ (Absolute ethanol) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo erba ประเทศอิตาลี
7. แอมโมเนียมเฟอร์รัสซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต ($(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Ajax finechem ประเทศออสเตรเลีย
8. ไฮดรอกซิลามีนไฮโดรคลอไรด์ ($NH_2OH \cdot HCl$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo erba ประเทศอิตาลี

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. กระดาษกรอง (Whatman No.2) บริษัท Whatman ประเทศอังกฤษ
2. เครื่องชั่งความละเอียด 4 ตำแหน่ง (Analysis balance) รุ่น TE214S, Sartorius
3. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) รุ่น Model type 827 ยี่ห้อ, Metrohm
4. เครื่องกวนสารพร้อมแท่งแม่เหล็ก
5. เตาให้ความร้อน
6. เครื่องสแกน (Cannon LiDE 110)
7. เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible spectrophotometer) รุ่น

UV-1800 บริษัท Shimadzu รับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ไมโครปิเปตขนาด 10.0 – 100.0 ไมโครลิตร

9. แผ่นกระจกปิดสไลด์ (Cover slide) บริษัท Menzel gräser

3.2 การเตรียมสารละลาย

3.2.1 สารละลายโซเดียมซเตรทเข้มข้นร้อยละ 25 โดยมวลต่อปริมาตร

ชั่งโซเดียมซเตรทมา 25.0 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน ถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดบอกริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.2.2 สารละลายไฮดรอกไซด์โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร pH 4.5

ชั่งไฮดรอกไซด์โซเดียมไฮดรอกไซด์ 10.0 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 100.0 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH ให้ได้ 4.5 ด้วยสารละลายโซเดียมซเตรทเข้มข้นร้อยละ 25 โดยมวลต่อปริมาตร

3.2.3 สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งแอมโมเนียมเฟอร์รัสซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต 0.7020 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 50.0 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1.0 มิลลิลิตร จากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ถึงขีดบอกริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.2.4 สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน

ปิเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรมา 0.00, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00 และ 2.50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมสารละลายไฮดรอกไซด์โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร pH 4.5 ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ถึงขีดบอกริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

3.2.5 สารละลายออร์โทโทรีนเข้มข้น 0.05% ในเอทานอลปราศจากน้ำ

ชั่งออร์โทโทรีนโมโนไฮเดรต 0.005 กรัม ละลายด้วยเอทานอลปราศจากน้ำ 10.0 มิลลิลิตร จะได้สารละลายออร์โทโทรีนเข้มข้น 0.05% ในเอทานอลปราศจากน้ำ

3.2.6 สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 1, 3 และ 5%

ละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 0.1, 0.3 และ 0.5 กรัม ในน้ำปราศจากไอออนที่ร้อน ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร กวนสารละลายจนเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 1, 3 และ 5% ตามลำดับ

3.2.7 สารละลายออร์โทโทรีนเข้มข้น 0.009, 0.01, 0.03, 0.05, 0.07, 0.09 และ 0.12% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 1, 3 และ 5%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายอโรฟีนแนนโทรลินโมโนไฮเดรต 0.0009, 0.001, 0.003, 0.005, 0.007, 0.009 และ 0.012 กรัม ตามลำดับ เพิ่มลงในขั้นตอนการเตรียมสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 1, 3 และ 5% ในข้อ 3.2.6 จากนั้นกวนสารละลายให้เข้ากัน จะได้สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจืออโรฟีนแนนโทรลินเข้มข้น 0.009, 0.01, 0.03, 0.05, 0.07, 0.09 และ 0.12% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 1, 3 และ 5% ตามลำดับ

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาโดยใช้ชั้นสเตรท 2 ชนิด คือ กระดาษกรอง (filter paper) และ แผ่นกระจกปิดสไลด์ (cover slide)

3.3.1. กระดาษกรองเป็นชั้นสเตรท

3.3.1.1 ศึกษาผลจากความเข้มข้นของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์

1. ปิเปิดสารละลายอโรฟีนแนนโทรลินเข้มข้น 0.05% ในเอทานอลปราศจากน้ำ ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรองแล้วทิ้งไว้ให้แห้ง
2. ปิเปิดสารละลายอโรฟีนแนนโทรลินเข้มข้น 0.05% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 1, 3 และ 5% อย่างละปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรองแล้วทิ้งไว้ให้แห้ง
3. ปิเปิดสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนจุดรีเอเจนต์ที่เตรียมได้ในข้อ 1 และ 2 แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง
4. ทำการหาความเข้มของจุดสีที่เกิดปฏิกิริยาแล้วในข้อ 3 โดยนำกระดาษกรองที่มีจุดสีไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน
5. เปรียบเทียบลักษณะของจุดสีที่บันทึกได้

3.3.1.2 ศึกษาผลจากความเข้มข้นของอโรฟีนแนนโทรลิน

1. ปิเปิดสารละลายอโรฟีนแนนโทรลินเข้มข้น 0.009, 0.01, 0.03 และ 0.05% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 1, 3 และ 5% อย่างละปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรองแล้วทิ้งไว้ให้แห้ง
2. ปิเปิดสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนจุดของรีเอเจนต์ที่เตรียมไว้ในข้อ 1 แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง
3. ทำการหาความเข้มของจุดสีที่เกิดปฏิกิริยาแล้วในข้อ 2 โดยนำกระดาษกรองที่มีจุดสีไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน
4. นำภาพที่สแกนได้มาหาค่าความเข้มสี (RGB) โดยใช้โปรแกรม Image J™ คำนวณค่า Euclidean Distance (ED) จากสมการเชิงเส้นแบบยูคลิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ใช้เฉพาะการวิจัยเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$ED = \sqrt{(\Delta R)^2 + (\Delta G)^2 + (\Delta B)^2}$$

เมื่อ Δ คือ ผลต่างของความเข้มสีของจุดแบลงค์กับความเข้มสีของจุดที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มของเฟอร์รัสไอออนกับออร์โธโทโรซีน

R คือ ความเข้มสีของสีแดง

G คือ ความเข้มสีของสีเขียว

B คือ ความเข้มสีของสีน้ำเงิน

โดยที่ แสงสีขาวจะประกอบด้วยแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน ซึ่งมีค่าความเข้มสีสูงสุดเท่ากับ 255, 255 และ 255 (R, G และ B) และแสงสีดำมีค่าความเข้มสีต่ำสุดเท่ากับ 0, 0 และ 0

5. สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า Euclidean Distance (ED) กับความเข้มขึ้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน

3.3.1.3 ศึกษาความละเอียดของเครื่องสแกนในการสแกนภาพ

1. ปิเปตสารละลายออร์โธโทโรซีนเข้มข้น 0.05% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรองแล้วทิ้งไว้ให้แห้ง
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนจุดรีเอเจนต์ที่เตรียมได้ในข้อ 1 แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง
3. ทำการหาความเข้มของจุดสีที่เกิดปฏิกิริยาแล้วในข้อ 2 โดยนำกระดาษกรองที่มีจุดสีไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน โดยใช้ความละเอียดของเครื่องสแกน 100, 200, 400 และ 600 dpi (dot per inch)
4. เปรียบเทียบผลที่ได้จากการบันทึกภาพที่ความละเอียดต่าง ๆ

3.3.1.4 ศึกษาการเตรียมจุดรีเอเจนต์ด้วยสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออร์โธโทโรซีน

ทำการศึกษานำหนักของสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออร์โธโทโรซีน คือ

3.3.1.4.1 ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร จำนวน 1 หยด

1. ปิเปตสารละลายออร์โธโทโรซีนเข้มข้น 0.05% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรองแล้วทิ้งไว้ให้แห้ง
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนจุดรีเอเจนต์ที่เตรียมได้ในข้อ 1 แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง
3. ทำการหาความเข้มของจุดสีที่เกิดปฏิกิริยาแล้ว โดยทำเช่นเดียวกับ

หัวข้อ 3.3.1.2 ข้อ 3-5

3.3.1.4.2 ปริมาตร 5.0 ไมโครลิตร จำนวน 2 หยด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับอาจารย์ใช้ภายในห้องเรียนเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ปิเปตสารละลายเจือออโรฟิแวนโทลินเข้มข้น 0.05% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% ปริมาตร 5.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรอง ทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นหยดสารละลายนี้ซ้ำอีก 5.0 ไมโครลิตร แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง

2. ทดสอบชุดทดสอบที่เตรียมได้โดยทำเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.3.1.4.1 ข้อ 3 โดยหยดสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5.0 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วหยดสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนนั้นซ้ำอีก 5.0 ไมโครลิตร

3.3.1.5 ศึกษาผลจากความเข้มข้นของโซเดียมเตตระโบเรตในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออโรฟิแวนโทลิน

1. ละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 0.30 กรัม ในน้ำปราศจากไอออนที่ร้อน ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร

2. เติมโซเดียมเตตระโบเรต 0.007, 0.008, 0.01 และ 0.02 กรัม กวนสารละลายให้เข้ากัน

3. เติมออโรฟิแวนโทลิน โมโนไฮเดรต 0.005 กรัม แล้วกวนสารละลายอีก 30 นาที จะได้ความเข้มข้นของโซเดียมเตตระโบเรตในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออโรฟิแวนโทลิน 0.07, 0.08, 0.10, และ 0.20% ตามลำดับ จากนั้นนำสารละลายที่ได้มา 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรอง แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง

4. ทดสอบชุดทดสอบที่เตรียมได้โดยทำเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.3.1.1 ข้อ 3

3.3.1.6 ศึกษาผลจากความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์

1. ทำการเจือจางความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์ลงจากความเข้มข้นเดิม 0.7, 0.6, 0.5, 10, 100 และ 1000 เท่า

2. ปรับ pH ให้ได้ 4.5 ด้วยสารละลายโซเดียมซิติเรทเข้มข้นร้อยละ 25 โดยมวลต่อปริมาตร จะได้สารละลายไฮดรอกซีลามีนเข้มข้นร้อยละ 7, 6, 5, 1, 0.1 และ 0.01 โดยมวลต่อปริมาตร ตามลำดับ

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 2.50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จำนวน 6 ขวด เติมสารละลายไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 7, 6, 5, 1, 0.1 และ 0.01 โดยมวลต่อปริมาตรลงไป 1.0 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

4. ปิเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนในข้อ 3 ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนชุดทดสอบ แล้วทำการทดลองเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.3.1.1 ข้อ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2. แผ่นกระจกปิดสไลด์เป็นชั้นสเตรท

3.3.2.1 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และอโรพีแนนโทรลิน

1. ปีเปตสารละลายอโรพีแนนโทรลินเข้มข้น 0.009, 0.01, 0.03, 0.05, 0.07, 0.09 และ 0.12% ในสารละลายอโรพีแนนโทรลินเข้มข้น 1, 3 และ 5% ตามลำดับ ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่นกระจกปิดสไลด์แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2. ปีเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนจุดรีเอเจนต์

3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

3.3.2.2 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมสำหรับการวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี

1. ปีเปตสารละลายอโรพีแนนโทรลินเข้มข้น 0.07% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% ปริมาตร 10.0 มิลลิตรลงบนแผ่นกระจกปิดสไลด์ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2. ปีเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 10.0 ไมโครลิตรลงบนจุดรีเอเจนต์

3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ทุก ๆ 5 นาที เป็นเวลา 30 นาที

3.3.2.3 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกไซด์ลามีนไฮโดรคลอไรด์

1. ทำการเจือจางความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกไซด์ลามีนไฮโดรคลอไรด์ลงจากความเข้มข้นเดิม 0.7, 0.6, 0.5, 10, 100 และ 1000 เท่า

2. ปรับ pH ให้ได้ 4.5 ด้วยสารละลายโซเดียมซิเตรทเข้มข้นร้อยละ 25 โดยมวลต่อปริมาตร จะได้สารละลายไฮดรอกไซด์ลามีนเข้มข้นร้อยละ 7, 6, 5, 1, 0.1 และ 0.01 โดยมวลต่อปริมาตร ตามลำดับ

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปีเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 2.50 มิลลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิตร จำนวน 6 ขวด เติมสารละลายไฮดรอกไซด์ลามีนไฮโดรคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 7, 6, 5, 1, 0.1 และ 0.01 โดยมวลต่อปริมาตรลงไป 1.0 มิลลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

4. ปีเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนในข้อ 3 ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนชุดทดสอบ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2.4 ศึกษาการเตรียมจู้รีเอเจนต์ด้วยสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออโรไฟีนานโทรลิน

ทำการศึกษาการเตรียมจู้รีเอเจนต์ด้วยสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออโรไฟีนานโทรลิน คือ

3.3.2.4.1 ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร จำนวน 1 หยอด

1. ปิเปตสารละลายออโรไฟีนานโทรลินเข้มข้น 0.07% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่นกระจกปิดสไลด์ นำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนจู้รีเอเจนต์

3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

3.3.2.4.2 ปริมาตร 5.0 ไมโครลิตร จำนวน 2 หยอด

1. ปิเปตสารละลายออโรไฟีนานโทรลินเข้มข้น 0.07% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% ปริมาตร 5.0 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่นกระจกปิดสไลด์ นำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นหยดสารละลายนี้ซ้ำอีก 5.0 ไมโครลิตร แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2. ทดสอบชุดทดสอบที่เตรียมได้โดยทำเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.3.2.4.1 ข้อ 2 และ 3 โดยหยดสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน ปริมาตร 5.0 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วหยดสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนซ้ำอีก 5.0 ไมโครลิตร

3.3.3. การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

ศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โดยใช้สภาวะที่เหมาะสม คือ ใช้สารละลายออโรไฟีนานโทรลินเข้มข้น 0.05% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร เมื่อใช้กระดาษกรองเป็นชั้นเสตรท และใช้สารละลายออโรไฟีนานโทรลินเข้มข้น 0.07% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร เมื่อใช้แผ่นกระจกปิดสไลด์เป็นชั้นเสตรท

3.3.3.1 ความเป็นเส้นตรง (Linearity)

การทดสอบความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์สามารถทำได้โดย

1. กระดาษกรองเป็นชั้นเสตรท

1.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนชุดทดสอบ

1.2 นำชุดทดสอบไปสแกนที่ความละเอียด 600 dpi และใช้โปรแกรม Image J™

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการวัดความเข้มข้นของแต่ละสี (สีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน) ของจุดแบลงค์และจุดสารเชิงซ้อนของเฟอร์รัสไอออนกับอโรฟีแนนโทโรลีน ทำซ้ำ 5 ครั้ง

1.3 คำนวณค่า Euclidean Distance (ED) และสร้างกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่า Euclidean Distance (ED) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน จากนั้นหาค่าสัมประสิทธิ์การตัดล้นใจ (Determination coefficient, r^2)

2. แผ่นกระจกปิดสไลด์เป็นสับสเตรท

2.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนชุดทดสอบ แล้วทิ้งไว้ 10 นาที

2.2 นำชุดทดสอบไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ทำซ้ำ 5 ครั้ง

2.3 สร้างกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน และหาค่าสัมประสิทธิ์การตัดล้นใจ (Determination coefficient, r^2)

3.3.3.2 ความเที่ยง (Precision)

ความเที่ยงเป็นคุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์ที่แสดงถึงความใกล้เคียงกันของผลการวิเคราะห์ซ้ำ (repeatability) ภายใต้สภาวะที่กำหนด การระบุความเที่ยงจะระบุในรูปของสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (relative standard deviation: RSD) ซึ่งเป็นค่าที่แสดงความคลาดเคลื่อนของวิธีที่เกิดขึ้น นิยมแสดงเป็นค่าร้อยละ

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

เมื่อ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)

\bar{x} คือ ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ (mean)

การประเมินความเที่ยงทำได้โดยเปรียบเทียบกับค่าที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation และ HORRAT

Horwitz equation

$$\%RSD_r = 0.66 \times 2^{1-0.5 \log C} = 0.66 \times 2C^{-0.1505}$$

โดย C เป็น concentration ratio (ไม่มีหน่วย)

HORRAT equation

$$HORRAT = \frac{RSD_{obs}}{RSD_{expected}}$$

โดย RSD_{obs} คือ ค่าที่คำนวณได้จากผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

RSD_{expected} คือ ค่าที่คำนวณจาก Horwitz's equation

การประเมินความเที่ยงสามารถทำได้โดย

1. ใช้กระดาษกรองเป็นชั้นสเตรท

1.1 ปีเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนชุดทดสอบ แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นนำไปสแกนและคำนวณค่า Euclidean Distance ทำซ้ำ 10 ครั้ง

1.2 คำนวณหา %RSD

2. ใช้แผ่นกระจกปิดสไลด์เป็นชั้นสเตรท

2.1 ปีเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนชุดทดสอบ แล้วทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที

2.2 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

2.3 ทำซ้ำ 10 ครั้ง แล้วคำนวณค่า %RSD

3.3.3 ความแม่นยำ (Accuracy)

ความแม่นยำของวิธีสามารถแสดงได้ด้วยค่า trueness หรือเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ (%recovery) ซึ่งสามารถคำนวณได้โดย

$$\% \text{ recovery} = \frac{(C1 - C2)}{C3} \times 100$$

เมื่อ C1 คือ ความเข้มข้นของสารที่สนใจ (analyte) ในตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน

C2 คือ ความเข้มข้นของสารที่สนใจ (analyte) ในตัวอย่าง

C3 คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เดิมสามารถทำได้โดย

1. ใช้กระดาษกรองเป็นชั้นสเตรท

1.1 เตรียมสารละลายตัวอย่างและสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนให้มีความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.2 ปีเปตสารละลายในข้อ 1.1 ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนชุดทดสอบ ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนำไปสแกน

1.3 คำนวณ %recovery

2. ใช้แผ่นกระจกปิดสไลด์เป็นชั้นสเตรท

2.1 เตรียมสารละลายตัวอย่างและสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนให้มีความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.2 ปีเปตสารละลายในข้อ 2.1 ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนชุดทดสอบ แล้วทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที

เอกสารนี้จัดทำขึ้นเพื่อสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

2.4 คำนวณ %recovery

3.3.3.4 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD)

สามารถหาได้จากกราฟมาตรฐาน โดยใช้สูตร

$$LOD = y_B + 3S_B$$

เมื่อ y_B คือ จุดตัดแกน y ที่ได้จากการสมการเส้นตรง $y = mx + c$

S_B คือ ค่าความคลาดเคลื่อนในแนวแกน y (Random error in y -direction) หาได้จากสูตร

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

เมื่อ y_i คือ ค่าจริงที่ได้จากเครื่องมือ

\hat{y}_i คือ ค่าที่ได้จากการแทนค่า x ลงในสมการเส้นตรง

3.3.3.5 ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

สามารถหาได้จากกราฟมาตรฐาน โดยใช้สูตร

$$LOQ = y_B + 10S_B$$

เมื่อ y_B คือ จุดตัดแกน y ที่ได้จากการสมการเส้นตรง $y = mx + c$

S_B คือ ค่าความคลาดเคลื่อนในแนวแกน y (Random error in y -direction)

3.3.4. การหาปริมาณหลักในตัวอย่างวิตามิน

3.3.4.1 การเตรียมสารละลายตัวอย่างวิตามิน [28]

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างวิตามิน 1 เม็ด แล้วใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลาร์ ปริมาตร 25.0 มิลลิลิตร ปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระดาษฟิวส์ แล้วนำไปต้มให้เดือดเป็นเวลา 15 นาทีในตู้ดูดควัน
3. เติมน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร กวนสารละลายให้เข้ากัน กรองสารละลายผ่านกระดาษกรอง ล้างตะกอนด้วยน้ำปราศจากไอออนที่ร้อนเล็กน้อย เก็บสารละลายที่ได้จากการกรองในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.3.4.2 การเจือจางสารละลายตัวอย่าง

1. เปิดสารละลายตัวอย่างในข้อ 3.3.4.1 ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร ใส่ลงใน

เอกสารนี้จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.3.4.3 การหาปริมาณหลัก

3.3.4.3.1 การใช้กระดาษกรองเป็นซับสเตรท

1. ปิเปตสารละลายออกซิฟิแนนโทลีนเข้มข้น 0.05% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรอง ที่งไว้ให้แห้ง

2. ปิเปตสารละลายตัวอย่างในข้อ 3.3.4.2 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร

3. เติมสารละลายไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ถึงขีดบอกปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

4. ปิเปตสารละลายตัวอย่างในข้อ 3 ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนจุดของสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออกซิฟิแนนโทลีน แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง

5. นำชุดทดสอบไปสแกนที่ความละเอียด 600 dpi วัดค่าความเข้มสีโดยใช้โปรแกรม Image J™ และคำนวณค่า Euclidean Distance (ED) ทำซ้ำ 5 ครั้ง

6. คำนวณหาปริมาณหลักในตัวอย่างวิตามิน ในหน่วยมิลลิกรัมต่อเม็ด (mg/tablet)

3.3.4.3.2 การใช้แผ่นกระดาษปิดสไลด์เป็นซับสเตรท

1. ปิเปตสารละลายออกซิฟิแนนโทลีนเข้มข้น 0.07% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่นกระดาษปิดสไลด์ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2. ปิเปตสารละลายตัวอย่างในข้อ 3.3.4.2 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมสารละลายไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 7 โดยมวลต่อปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3. ปิเปตสารละลายตัวอย่างในข้อ 3 ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร หยดลงบนชุดทดสอบ แล้วทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที

3. วัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ทำซ้ำ 5 ครั้ง

4. คำนวณหาปริมาณหลักในตัวอย่างวิตามิน ในหน่วยมิลลิกรัมต่อเม็ด (mg/tablet)

3.3.4.3.3 การใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี

1. การสร้างกราฟมาตรฐาน

1.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปริมาตร 0.0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิตร โยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 เติมสารละลายไฮดรอกไซด์โพแทสเซียมไฮโดรคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร

1.3 เติมสารละลายออร์โทโทรีน ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

1.4 นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน

2. การหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างวิตามิน

2.1 ปิ่ตสารละลายตัวอย่างในข้อ 3.3.4.2 ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

2.2 เติมสารละลายไฮดรอกไซด์โพแทสเซียมไฮโดรคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร pH 4.5 ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร

2.3 เติมสารละลายออร์โทโทรีน ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.4 นำสารละลายตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร และหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างวิตามินในหน่วยมิลลิกรัมต่อเม็ด (mg/tablet)

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหาปริมาณเหล็ก โดยใช้ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นบนชั้นสเตรท 2 ชนิด คือ กระดาษกรองและแผ่นกระจกปิดสไลด์ ซึ่งได้ผลดังนี้

4.1 กระดาษกรองเป็นชั้นสเตรท

4.1.1 ผลจากความเข้มข้นของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์

จากการศึกษาความเข้มข้นของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 1, 3 และ 5% พบว่าเมื่อความเข้มข้นของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์มากขึ้นจะทำให้ขนาดของจุด (reagent spot) เล็กลง เนื่องจากสารละลายมีความหนืดมากขึ้น สารละลายจึงแพร่บนกระดาษกรองได้น้อยลง และพบว่าเมื่อใช้เอทานอลปราศจากน้ำเป็นตัวทำละลาย ขนาดของจุดมีขนาดใหญ่ที่สุด เป็นเพราะเอทานอลปราศจากน้ำมีความหนืดต่ำ ระบายง่ายทำให้แพร่บนกระดาษกรองอย่างรวดเร็ว ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.1

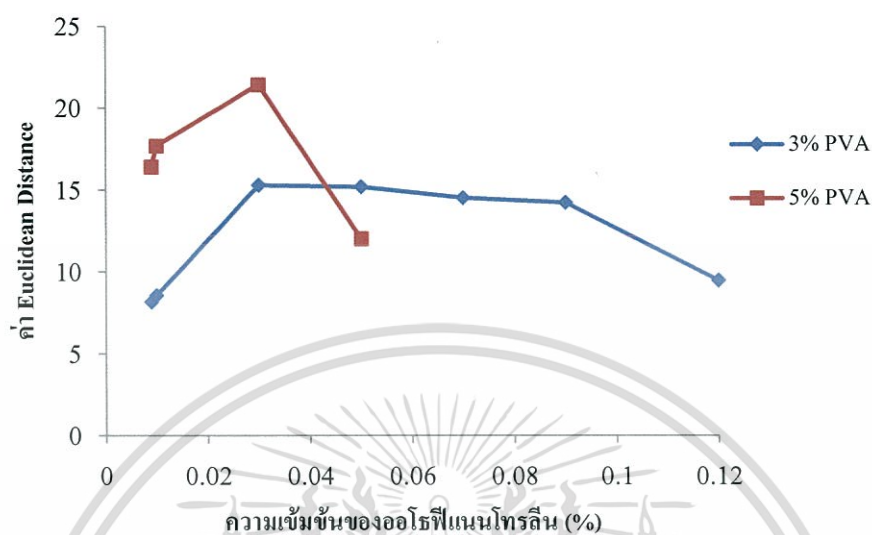


รูปที่ 4.1 แสดงขนาดของจุดเมื่อใช้ (a) เอทานอลปราศจากน้ำ, (b) พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 1%, (c) พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% และ (d) พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 5% เจือออโรฟีแนนโทรลีน

4.1.2 ผลจากความเข้มข้นของออโรฟีแนนโทรลีน

จากการศึกษาความเข้มข้นของออโรฟีแนนโทรลีน 0.009, 0.01, 0.03, 0.05, 0.09 และ 0.12% พบว่า เมื่อความเข้มข้นของออโรฟีแนนโทรลีนเพิ่มขึ้นทำให้ค่า Euclidean Distance (ED) เพิ่มขึ้นและจะค่อยๆ ลดลง เมื่อใช้สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% แต่ถ้าใช้สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 5% เมื่อความเข้มข้นของออโรฟีแนนโทรลีนเพิ่มขึ้น ทำให้ค่า Euclidean Distance เพิ่มขึ้นจนถึงความเข้มข้นที่ 0.03% เนื่องจากสารละลายมีความหนืดมากขึ้นทำให้ออโรฟีแนน

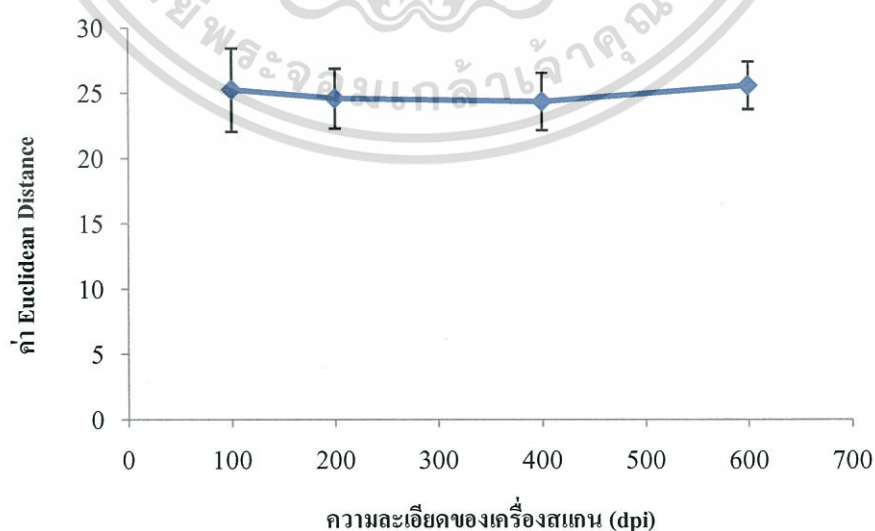
โพลีเมอร์ละลายได้น้อยลงจึงทำให้ค่า Euclidean Distance ลดลง จึงเลือกใช้สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% เจือออโรฟิแนม โพลีเมอร์เข้มข้น 0.05% เป็นสารละลายรีเอเจนต์



รูปที่ 4.2 แสดงผลจากความเข้มข้นของออโรฟิแนมโพลีเมอร์

4.1.3 ผลของความละเอียดของเครื่องสแกนในการสแกนภาพ

จากการศึกษาความละเอียดของเครื่องสแกนที่ 100, 200, 400 และ 600 dpi (dot per inch) พบว่า เมื่อใช้ความละเอียดในการสแกนมากขึ้นจะทำให้ภาพที่ได้จากการสแกนมีความคมชัดมากขึ้น ทำให้ผลให้ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ลดลง ดังรูปที่ 4.3 ดังนั้นจึงเลือกใช้ความละเอียดของเครื่องสแกน 600 dpi



รูปที่ 4.3 แสดงผลจากความละเอียดของเครื่องสแกนในการสแกนภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

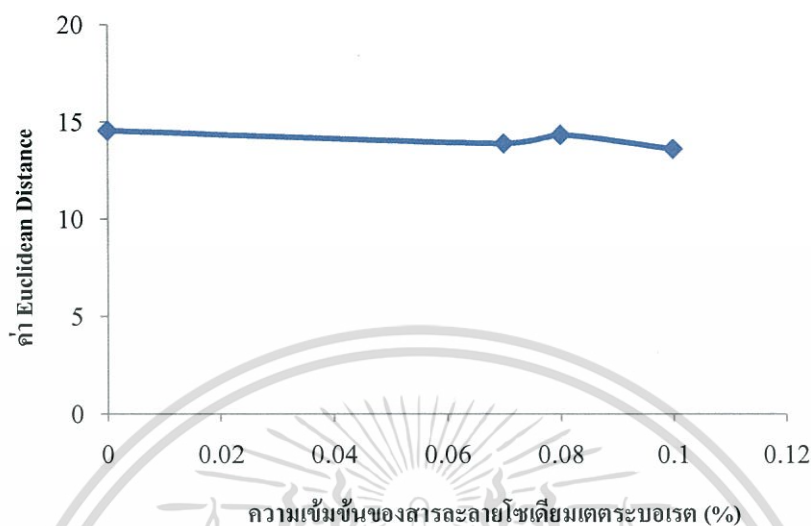
4.1.4 ผลจากการเตรียมจุดรีเอเจนต์ด้วยสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออโรฟิแนนโทรลิน

จากการศึกษาการเตรียมจุดรีเอเจนต์ด้วยสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออโรฟิแนนโทรลินใน 2 ลักษณะ คือ การเตรียมโดยใช้ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร จำนวน 1 หยด และ 5.0 ไมโครลิตร จำนวน 2 หยด พบว่าเมื่อเตรียมจุดรีเอเจนต์ด้วยสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออโรฟิแนนโทรลินปริมาตร 5.0 ไมโครลิตร จำนวน 2 หยด จะมีค่า Euclidean Distance มากกว่าการเตรียมด้วยสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออโรฟิแนนโทรลินปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร 1 หยด เป็นเพราะการเตรียมด้วยปริมาตร 5.0 ไมโครลิตรนั้น ทำให้จุดของรีเอเจนต์มีขนาดเล็กกว่าการเตรียมด้วยปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร เป็นผลให้สีของสารเชิงซ้อนระหว่างเฟอร์รัสไอออนกับออโรฟิแนนโทรลินเข้มขึ้น แต่จะใช้เวลาในการเตรียมชุดทดสอบมากขึ้นและมีค่าความคลาดเคลื่อนหรือส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมากกว่าการใช้ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร จึงเลือกใช้สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออโรฟิแนนโทรลินปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.4 (1) และ (2)



รูปที่ 4.4 (1) แสดงขนาดของจุดสีของสารเชิงซ้อนระหว่างเฟอร์รัสไอออนกับออโรฟิแนนโทรลินที่เตรียมด้วยสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออโรฟิแนนโทรลินปริมาตร (A) 10.0 ไมโครลิตร และ (B) 5.0 ไมโครลิตร เป็นจุดของรีเอเจนต์

ซึ่งจะทำการศึกษาความเข้มข้นของโซเดียมเตรโบเรต 0.07, 0.08 และ 0.10% ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 แสดงผลจากความเข้มข้นของ โซเดียมเตรโบเรต

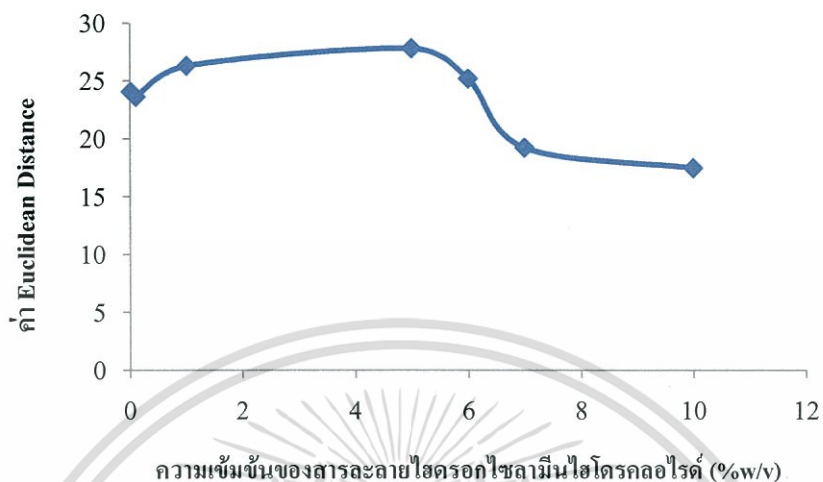
จากรูปที่ 4.6 พบว่า ความเข้มข้นของ โซเดียมเตรโบเรตเพิ่มขึ้นก็ไม่ได้ทำให้ค่า Euclidean Distance เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการที่ไม่ได้เติมโซเดียมเตรโบเรตดังที่ได้ตั้งสมมติฐานไว้ และถ้าความเข้มข้นของ โซเดียมเตรโบเรตมากกว่า 0.2% สารละลายจะมีความหนืดมากขึ้น ทำให้จุดของรีเอเจนต์จะมีลักษณะเป็นฟิล์มแข็ง เมื่อหยดสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนลงบนจุดของรีเอเจนต์ สารละลายจะซึมออกนอกจุดของรีเอเจนต์ ดังนั้นจึงไม่จำเป็นต้องมีการก่อกวนกับโซเดียมเตรโบเรต

4.1.6 ผลจากความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกไซด์ของโซเดียมไฮโดรคลอไรด์

จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกไซด์ของโซเดียมไฮโดรคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.01, 0.1, 1, 5, 6, 7 และ 10 โดยมวลต่อปริมาตร พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกไซด์ของโซเดียมไฮโดรคลอไรด์เพิ่มขึ้นทำให้ค่า Euclidean Distance เพิ่มขึ้นจนถึงความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตร และค่า Euclidean Distance ลดลง

เมื่อนำสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนที่มีสารละลายไฮดรอกไซด์ของโซเดียมไฮโดรคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.01-7 โดยมวลต่อปริมาตร หยดลงบนชุดทดสอบ พบว่าสีของสารเชิงซ้อนระหว่างเฟอร์รัสไอออนกับออร์โธฟอสเฟตไม่สม่ำเสมอทั่วทั้งจุดและ

สารละลายมีค่า pH ไม่เหมาะสมต่อการหาปริมาณเฟอร์รัสไอออน ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.7 ดังนั้นจึงเลือกใช้ไฮดรอกไซด์อะมิโนไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร



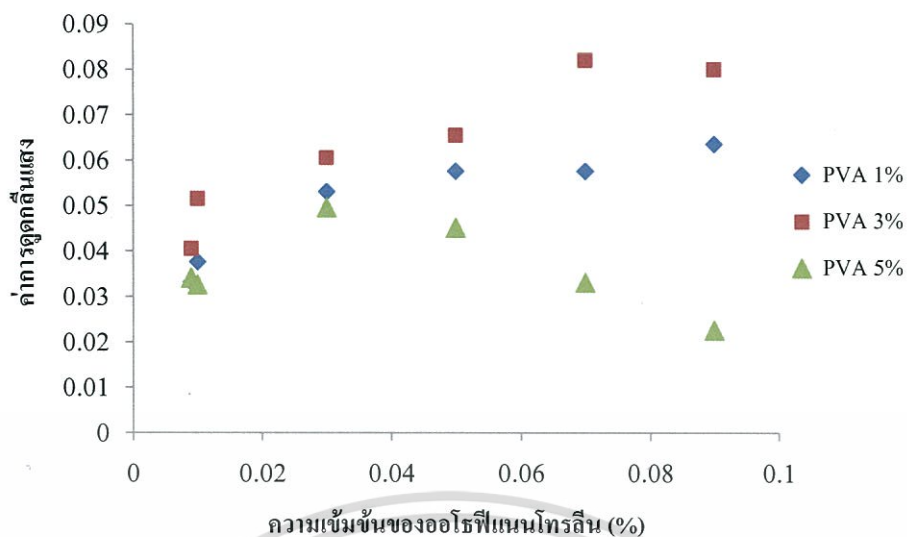
รูปที่ 4.7 แสดงผลจากความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกไซด์อะมิโนไฮดรอกไซด์

4.2 แผ่นกระจกปิดสไลด์เป็นขั้วสเตรท

4.2.1 ผลจากความเข้มข้นของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และอโรฟีแนนโทรลิน

จากการศึกษาความเข้มข้นของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 1, 3 และ 5% และอโรฟีแนนโทรลินเข้มข้น 0.009, 0.01, 0.03, 0.05, 0.07, 0.09 และ 0.12% พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เพิ่มมากขึ้น ทำให้สารละลายยังคงรูปเป็นหยดอยู่ได้โดยไม่ไหลเนื่องจากเกิดแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์กับโมเลกุลของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลาย แต่ถ้าความเข้มข้นของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นจะทำให้อโรฟีแนนโทรลินละลายได้น้อยลง ดังรูปที่ 4.8 พบว่า เมื่อใช้สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 1% ค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของอโรฟีแนนโทรลิน แสดงว่าอโรฟีแนนโทรลินยังคงสามารถละลายได้ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ แต่ถ้าการดูดกลืนน้อยกว่าการใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% และถ้าใช้สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 5% นั้น ค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นจนถึงความเข้มข้นของอโรฟีแนนโทรลิน 0.03% และจะลดลง นั่นแสดงว่าอโรฟีแนนโทรลินละลายได้น้อยลง ดังนั้นจึงเลือกใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% เจืออโรฟีแนนโทรลินเข้มข้น 0.07% เป็นสารละลายรีเอเจนต์ และรูปที่ 4.9 แสดงความเข้มของจุดสีเมื่อหยดสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ลงบนชุดทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



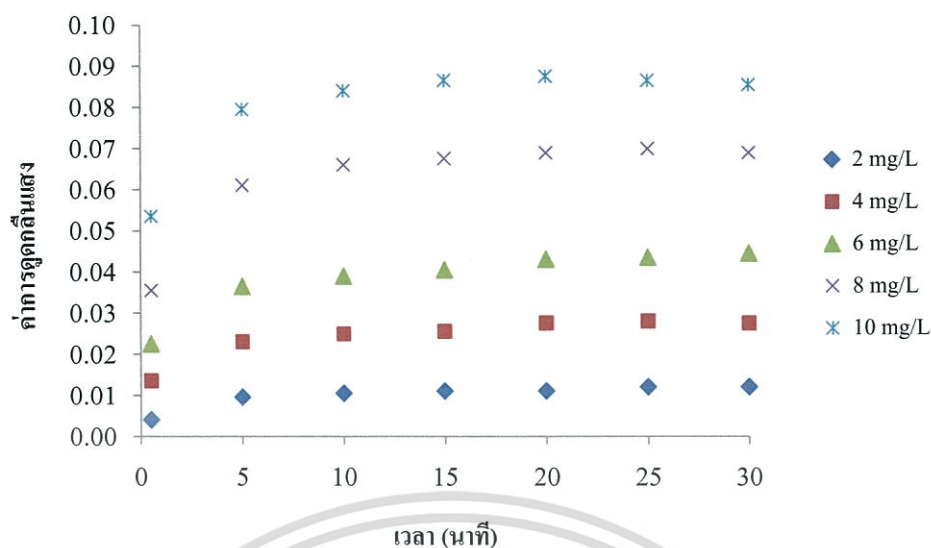
รูปที่ 4.8 แสดงผลจากความเข้มข้นของอโรฟิแนนโทรลิน



รูปที่ 4.9 แสดงความเข้มของจุดสีของสารเชิงซ้อนระหว่างเฟอร์รัสไอออนกับอโรฟิแนนโทรลินที่ใช้สารละลายอโรฟิแนนโทรลินเข้มข้น 0.07% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% เป็นจูดรีเอเจนต์

4.2.2 ผลของเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์โดยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี

จากการศึกษาเวลาที่เหมาะสมโดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนทุก ๆ 5 นาทีเป็นเวลา 30 นาที โดยใช้สารละลายอโรฟิแนนโทรลินเข้มข้น 0.07% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% เป็นสารละลายรีเอเจนต์ ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.9

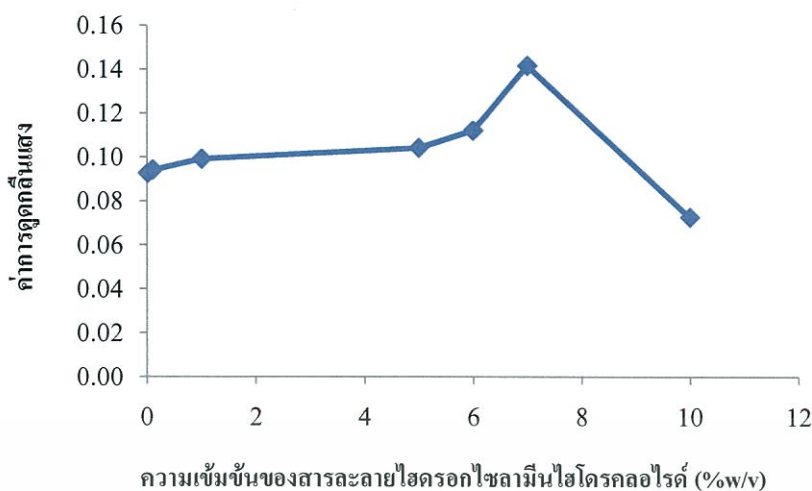


รูปที่ 4.10 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนที่เวลาต่างๆ

จากรูปที่ 4.10 พบว่า ที่เวลา 0.5-5 นาที ค่าการดูดกลืนเพิ่มขึ้นและหลังจาก 5 นาที ค่าการดูดกลืนแสงจะมีค่าคงที่ จึงเลือกวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่เวลา 10 นาที

4.2.3 ผลของสารละลายไฮดรอกไซด์อะลูมิเนียมไฮดรอกไซด์

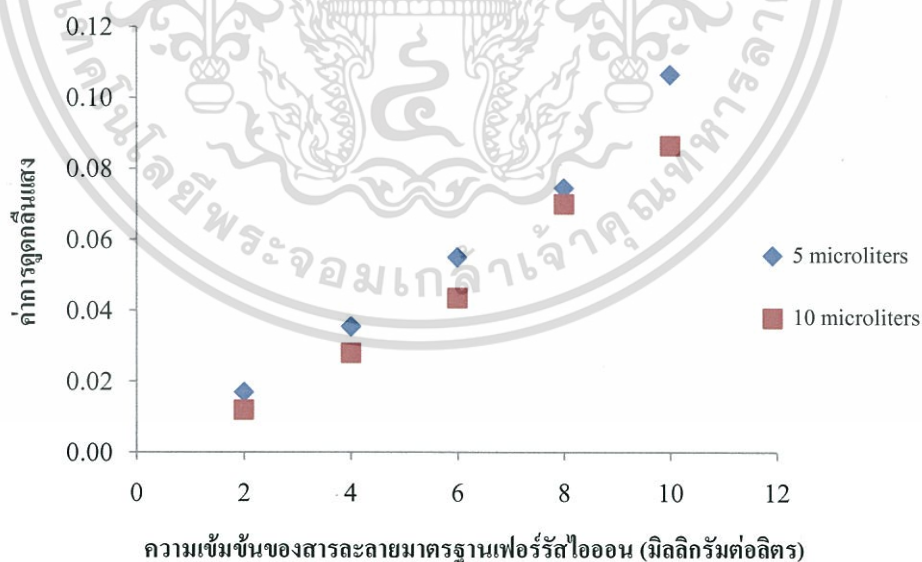
จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกไซด์อะลูมิเนียมเข้มข้นร้อยละ 0.01, 0.1, 1, 5, 6, 7 และ 10 โดยมวลต่อปริมาตร พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกไซด์อะลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้นทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นจนถึงความเข้มข้นร้อยละ 7 โดยมวลต่อปริมาตร เมื่อใช้สารละลายไฮดรอกไซด์อะลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นมากกว่าร้อยละ 7 โดยมวลต่อปริมาตรอาจจะทำให้มีปริมาณของไฮดรอกไซด์อะลูมิเนียมไฮดรอกไซด์มากเกินไปบนพื้นผิวของจุดทดสอบเป็นการบดบังการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเฟอร์รัสไอออนกับออร์โธโทปิกและทำให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลง จึงเลือกใช้สารละลายไฮดรอกไซด์อะลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 7 โดยมวลต่อปริมาตร ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 แสดงผลจากความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกไซด์โซเดียมไฮดรอกไซด์

4.2.4 ผลจากการเตรียมจุนรีเอเจนต์ด้วยสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออโรฟีนานโทโรลิน

จากการศึกษาการเตรียมจุนรีเอเจนต์ด้วยสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออโรฟีนานโทโรลิน 2 ลักษณะ คือ ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร จำนวน 1 หยก และปริมาตร 5.0 ไมโครลิตร จำนวน 2 หยก ผลที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.12 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเมื่อใช้สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เจือออโรฟีนานโทโรลินปริมาตร 5.0 และ 10.0 ไมโครลิตร

จากรูปที่ 4.12 พบว่า ค่าการคูดกลืนแสงเมื่อใช้สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ เจือออโซฟีแนนโทรีนปริมาณ 5.0 และ 10.0 ไมโครลิตร มีค่าใกล้เคียงกัน ในการทดลองนี้จึง เลือกใช้ปริมาณ 10.0 ไมโครลิตร

จากการศึกษาสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมสำหรับการหาปริมาณเฟอร์รัสไอออน โดยใช้ชุดทดสอบบนกระดาษกรองและบนแผ่นกระจกปิดสไลด์สามารถสรุปสภาวะที่เหมาะสมได้ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงสภาวะที่เหมาะสมของชุดทดสอบบนกระดาษกรองและแผ่นกระจกปิดสไลด์ สำหรับการหาปริมาณเฟอร์รัสไอออน

สภาวะ	ชุดทดสอบบนกระดาษกรอง	ชุดทดสอบบนแผ่นกระจกปิดสไลด์
1. สารละลายรีเอเจนต์	สารละลายออโซฟีแนนโทรีนเข้มข้น 0.05% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3%	สารละลายออโซฟีแนนโทรีนเข้มข้น 0.07% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3%
2. ความเข้มข้นของสารละลายไฮดรอกไซด์-มินไฮโดรคลอไรด์	ร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร	ร้อยละ 7 โดยมวลต่อปริมาตร
3. ปริมาตรของสารละลายรีเอเจนต์	10 ไมโครลิตร	10 ไมโครลิตร
3. ความละเอียดของเครื่องสแกน	600 dpi	-
4. เวลา	-	10 นาที

4.3 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

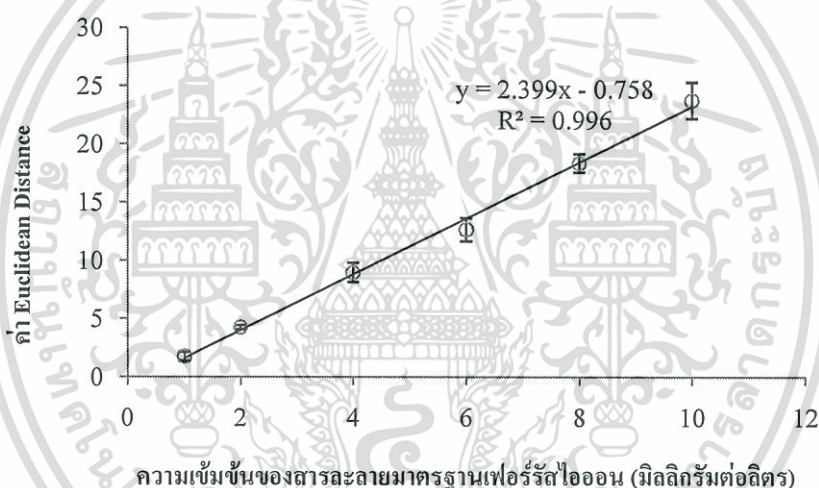
4.3.1 กระดาษกรองเป็นขั้นสเตรท

4.3.1.1 ความเป็นเส้นตรง (Linearity)

เมื่อนำค่า Euclidean Distance (แกน Y) และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน (แกน X) มาสร้างกราฟมาตรฐานทำให้สามารถหาความเป็นเส้นตรงได้ดังผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.13

ตารางที่ 4.2 แสดงค่า Euclidean Distance ของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ($n=5$)

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่า Euclidean Distance
1	1.78 ± 0.37
2	4.27 ± 0.17
4	8.99 ± 0.84
6	12.67 ± 0.99
8	18.36 ± 0.79
10	23.75 ± 1.56



รูปที่ 4.13 แสดงกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่า Euclidean Distance กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

จากรูปที่ 4.13 พบว่า มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีสมการเชิงเส้นถดถอย คือ $y = 2.3992x - 0.7589$ และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (r^2) เท่ากับ 0.9963

4.3.1.2 ความเที่ยง (precision)

ทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมดังที่ได้กล่าวมา จำนวน 10 ครั้ง และคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ซึ่ง

นิยมแสดงเป็นร้อยละหรือ %RSD โดยใช้ Horwitz's equation และ HORRAT equation เพื่อประเมินความเที่ยง ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงค่า Euclidean Distance ของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (n=10)

ครั้งที่	ค่า Euclidean Distance
1	23.168
2	26.178
3	23.705
4	22.921
5	24.365
6	21.739
7	26.388
8	25.631
9	24.719
10	23.121
ค่าเฉลี่ย	24.164
SD	1.49
%RSD _{obs}	6.16
%RSD _{expected}	7.38
HORRAT	0.83

เมื่อเปรียบเทียบค่า %RSD ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จากการคำนวณ พบว่ามีค่า HORRAT เท่ากับ 0.83 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 2 ตามเกณฑ์ที่ AOAC ได้กำหนดไว้ [30] ดังนั้นชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นมีความเที่ยงที่ยอมรับได้

4.3.1.3 ความแม่นยำ (accuracy)

สามารถประเมินได้โดยทำการหาค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery) โดยทำการเติมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนลงในตัวอย่างวิตามินให้มีความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำการหาปริมาณเฟอร์รัสไอออนในสารละลายตัวอย่างและสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน แล้วคำนวณค่า %recovery ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery)

ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นของสารละลาย เฟอร์รัสไอออนที่เติม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นของเฟอร์รัส ไอออนที่วิเคราะห์ได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละการกลับคืน (%recovery)
1	0	2.88	-
	4	6.34	86.56 ± 3.53
2	0	2.92	-
	4	6.54	90.70 ± 6.03
3	0	3.04	-
	4	6.38	83.39 ± 3.29
4	0	2.26	-
	4	5.56	82.34 ± 4.43
5	0	2.70	-
	4	6.49	94.92 ± 4.29
6	0	1.84	-
	4	5.32	86.88 ± 6.30

จากตารางที่ 4.4 พบว่ามีค่า %recovery อยู่ในช่วง 82-95% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ AOAC ได้กำหนดไว้ คือ 80-110% [30] แสดงว่าวิธีนี้มีความเที่ยงที่ยอมรับได้

4.3.1.4 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection: LOD) และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation: LOQ)

ขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) สามารถคำนวณได้จาก

$$LOD = y_B + 3S_B$$

และ

$$LOQ = y_B + 10S_B$$

โดยใช้กราฟมาตรฐานในช่วงความเข้มข้น 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจากการคำนวณ พบว่า วิธีนี้มีขีดจำกัดของการตรวจพบเฟอร์รัสไอออนเท่ากับ 0.96 หรือ 0.72 มิลลิกรัมต่อลิตร และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 4.96 หรือ 2.38 มิลลิกรัมต่อลิตร

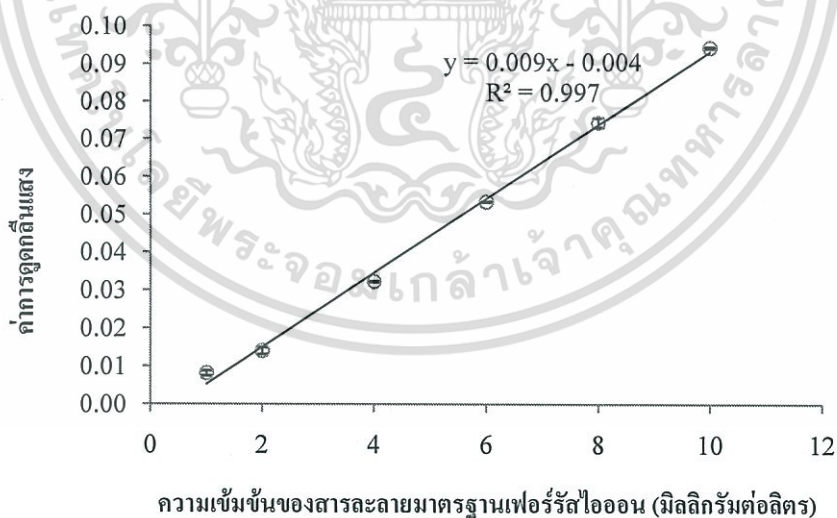
4.3.2 แผ่นกระจกปิดสไลด์เป็นซัพสเตรท

4.3.2.1 ความเป็นเส้นตรง (Linearity)

เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสง (แกน Y) และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน (แกน X) มาสร้างกราฟมาตรฐานทำให้สามารถหาความเป็นเส้นตรงได้ดังผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.14

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนที่ความเข้มข้นต่างๆ (n=5)

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง
1	0.008 ± 0.001
2	0.014 ± 0.001
4	0.032 ± 0.000
6	0.053 ± 0.000
8	0.074 ± 0.001
10	0.094 ± 0.000



รูปที่ 4.14 แสดงกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน

จากรูปที่ 4.14 พบว่า มีความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่นเดียวกัน มีสมการเชิงเส้นถดถอย คือ $y = 0.0098x - 0.0044$ และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดกันใจ (r^2) เท่ากับ 0.9971

4.3.2.2 ความเที่ยง (Precision)

นำชุดทดสอบบนแผ่นกระจกปีคสโกลด์ที่พัฒนาขึ้นมาใช้วิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน
เฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการทดลองซ้ำ 10 ครั้ง ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.6
ตารางที่ 4.6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 10 มิลลิกรัม
ต่อลิตร 3 (n=10)

ครั้งที่	ค่าการดูดกลืนแสง
1	0.094
2	0.095
3	0.093
4	0.095
5	0.094
6	0.096
7	0.095
8	0.097
9	0.096
10	0.093
ค่าเฉลี่ย	0.094
SD	0.002
%RSD _{obs}	1.88
%RSD _{expected}	7.51
HORRAT	0.25

เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงทั้ง 10 ครั้งมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่า %RSD จากนั้นทำการเปรียบเทียบค่า %RSD ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation จะได้ค่า HORRAT เท่ากับ 0.25 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 2 ตามเกณฑ์ที่ AOAC ได้กำหนดไว้ [30] ดังนั้นวิธีนี้มีความเที่ยงที่สามารถยอมรับได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2.3 ความแม่นยำ (Accuracy)

สามารถประเมินได้โดยทำการหาค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery) โดยทำการเติมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนลงในตัวอย่างวิตามินให้มีความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำการหาปริมาณเฟอร์รัสไอออนในสารละลายตัวอย่างและสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนโดยใช้ชุดทดสอบบนแผ่นกระดาษปิศาจไลต์ จากนั้นคำนวณค่า %recovery ดังแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 แสดงค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery)

ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์รัสไอออนที่เติม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นของเฟอร์รัสไอออนที่วิเคราะห์ได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละการกลับคืน (%recovery)
1	0	2.31	-
	4	5.61	82.5 ± 2.21
2	0	2.40	-
	4	5.78	84.46 ± 2.88
3	0	2.74	-
	4	6.19	86.07 ± 5.54
4	0	2.38	-
	4	6.01	90.92 ± 5.10
5	0	2.74	-
	4	6.64	97.65 ± 4.07
6	0	1.90	-
	4	5.18	81.86 ± 1.92

จากตารางที่ 4.7 พบว่า มีค่า %recovery อยู่ในช่วง 81-98% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ AOAC ได้กำหนดไว้ คือ 80-110% [30] แสดงว่าวิธีนี้มีความเที่ยงที่ยอมรับได้

4.3.2.4 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection: LOD) และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation: LOQ)

ขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) สามารถ

หาได้จากกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลาย มาตรฐานเฟอร์รัสไอออนในช่วงความเข้มข้น 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยคำนวณเช่นเดียวกับข้อ 4.3.1.4 ซึ่งจากการคำนวณ พบว่ามีขีดจำกัดของการตรวจพบเฟอร์รัสไอออนเท่ากับ 0.002 หรือ 0.64 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 0.017 หรือ 2.17 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.4 การหาปริมาณเหล็กไอออนในตัวอย่างวิตามิน

ทำการหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างวิตามินจำนวน 6 ตัวอย่าง (6 ยี่ห้อ) โดยใช้ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นบนกระดาษกรองและแผ่นกระดาษปิดสไลด์เป็นซับสเตรท ซึ่งมีพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นสารช่วยยึดติดรีเอเจนต์ และทำการเปรียบเทียบผลที่ได้กับเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน

4.4.1 การใช้กระดาษกรองเป็นซับสเตรท

การหาปริมาณเฟอร์รัสไอออนในสารละลายตัวอย่างวิตามิน โดยใช้ชุดทดสอบบนกระดาษกรอง ซึ่งมีสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% เจือออโรฟีแนนโทรีนเข้มข้น 0.05% ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร เป็นสารละลายรีเอเจนต์ พบว่าเมื่อทำการหยดสารละลายตัวอย่างที่เจือจางแล้วปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร ลงบนจุดของรีเอเจนต์จะปรากฏสีส้มแดงของสารเชิงซ้อนระหว่างเฟอร์รัสไอออนที่มีอยู่ในตัวอย่าง ทั้งไว้ให้แห้ง จากนั้นนำชุดทดสอบไปสแกน ใช้โปรแกรม Image J™ ในการหาค่าความเข้มสีของสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน และคำนวณค่าความแตกต่างของความเข้มสีแต่ละสีของจุดแบลงค์กับจุดที่เกิดสารเชิงซ้อนโดยใช้สมการเชิงเส้นแบบยูคลิด ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.9

4.4.2 การใช้แผ่นกระดาษปิดสไลด์เป็นซับสเตรท

การหาปริมาณเฟอร์รัสไอออนในตัวอย่างวิตามิน โดยใช้ชุดทดสอบบนแผ่นกระดาษปิดสไลด์ ซึ่งใช้สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% เจือออโรฟีแนนโทรีนเข้มข้น 0.07% ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร เป็นสารละลายรีเอเจนต์นั้น เมื่อทำการหยดสารละลายตัวอย่างที่เจือจางแล้วปริมาตร 10.0 ไมโครลิตรลงบนจุดของรีเอเจนต์ ทั้งไว้ประมาณ 10 นาที สีส้มแดงของสารเชิงซ้อนระหว่างเฟอร์รัสไอออนกับออโรฟีแนนโทรีนจะค่อย ๆ ปรากฏขึ้น จากนั้นนำชุดทดสอบไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.9

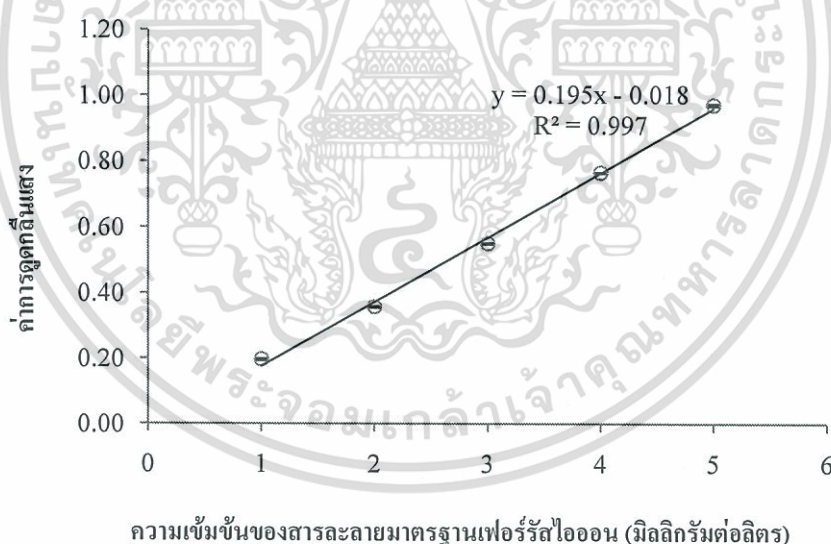
4.4.3 การใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี

1. การสร้างกราฟมาตรฐาน

ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.15

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง
1	0.197 ± 0.003
2	0.358 ± 0.002
3	0.551 ± 0.001
4	0.766 ± 0.001
5	0.971 ± 0.003



รูปที่ 4.15 แสดงกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน

จากกราฟมาตรฐานสามารถหาความเป็นเส้นตรงได้ คือ มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร สมการเชิงเส้นถดถอย คือ $y = 0.1956x - 0.018$ และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (r^2) เท่ากับ 0.9973

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างวิตามิน

การหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างวิตามินจำนวน 6 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานนั้น สามารถทำได้โดยนำสารละลายมาตรฐานที่เจือจางแล้วมา 10.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายไฮดรอกไซด์อะมีนไฮโดรคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร เติมสารละลายออร์โธฟีแนโนโทรลีนปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกริมาตร จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรเช่นเดียวกัน

ปริมาณเหล็กในตัวอย่างวิตามินที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบแบบจุดและเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี แสดงดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 แสดงปริมาณเหล็กในตัวอย่างวิตามิน โดยใช้ชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษกรองและแผ่นกระดาษปิดสไลด์ และเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี (n=5)

ตัวอย่างที่	ปริมาณเหล็กในตัวอย่างวิตามิน (มิลลิกรัมต่อเม็ด)		
	ชุดทดสอบแบบจุด		เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี
	กระดาษกรอง	แผ่นกระดาษปิดสไลด์	
1	51.23 ± 0.62	41.63 ± 0.65	43.56 ± 0.08
2	76.78 ± 3.06	63.14 ± 0.60	72.91 ± 0.12
3	71.68 ± 2.13	64.62 ± 1.27	77.23 ± 0.57
4	39.96 ± 3.61	41.98 ± 2.42	46.06 ± 0.24
5	63.50 ± 3.15	64.43 ± 0.91	70.70 ± 0.23
6	32.57 ± 1.53	33.62 ± 0.88	33.15 ± 0.15

เมื่อนำผลที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้น คือ ชุดทดสอบจุดบนกระดาษกรองและแผ่นกระดาษปิดสไลด์ เปรียบเทียบกับผลที่ได้จากเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี โดยใช้วิธีทางสถิติ คือ paired *t*-test เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของผลที่ได้จากชุดทดสอบบนกระดาษกรองกับเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี พบว่าวิธีทั้ง 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($t_{\text{stat}} = 0.53$, $t_{\text{crit}} = 2.57$, $n=6$) และเปรียบเทียบผลที่ได้จากชุดทดสอบบนกระดาษกรองกับเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี พบว่าวิธีทั้ง 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 90% ($t_{\text{stat}} = 2.96$, $t_{\text{crit}} = 4.03$, $n=6$) นอกจากนี้ได้เปรียบเทียบผลที่ได้จากชุดทดสอบบน

กระดาษกรองกับบนแผ่นกระจกปิดสไลด์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($t_{stat} = 1.64$, $t_{crit} = 2.57$, $n=6$) เมื่อใช้ ANOVA Test เพื่อเปรียบเทียบความแปรปรวนของทั้ง 3 วิธี พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($F = 0.086$, $F_{crit} = 3.682$)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาสภาวะต่าง ๆ ในการพัฒนาชุดทดสอบแบบจุดโดยใช้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ เป็นสารช่วยยึดติดบนชั้นสเตรท 2 ชนิด คือ กระดาษกรอง (filter paper) และแผ่นกระจกปิดสไลด์ (cover slide) ให้เหมาะสมสำหรับการหาปริมาณเฟอร์รัสไอออน พบว่าการเตรียมจุดรีเอเจนต์ด้วย สารละลายอโรโซโทปีแนทโรตีนเข้มข้น 0.05% ในสารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 3% ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร บนกระดาษกรองและใช้สารละลายไฮดรอกไซด์ลามีนไฮโดรคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 10 โดยมีผลต่อปริมาณเป็นตัววัดที่มีความเหมาะสมต่อการหาปริมาณเฟอร์รัส ไอออน การใช้ความละเอียดของเครื่องสแกนในการสแกนภาพ 600 dpi ทำให้ค่าความคลาดเคลื่อน หรือค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานลดลงได้ จึงใช้ความละเอียดนี้ในการบันทึกภาพจุดสีที่เกิดจากสาร เจริงซ้อนของเฟอร์รัสไอออนกับอโรโซโทปีแนทโรตีนและใช้โปรแกรม Image J™ ในการหาความ เข้มสีของสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน จากนั้นนำไปคำนวณค่า Euclidean Distance สร้างกราฟ มาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่า Euclidean Distance กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน เฟอร์รัสไอออน พบว่ามีความเป็นเส้นตรงในช่วง 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ มีขีดต่ำสุดของ การตรวจพบเท่ากับ 0.72 มิลลิกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 2.38 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 6.16% (n=10) และค่าร้อยละการ กลับคืน (%recovery) เท่ากับ 82-95% สำหรับการใส่กระจกปิดแผ่นสไลด์เป็นชั้นสเตรทนั้น พบว่า การเตรียมจุดรีเอเจนต์ด้วยสารละลายอโรโซโทปีแนทโรตีนเข้มข้น 0.07% ในสารละลายพอลิไวนิล แอลกอฮอล์เข้มข้น 3% ปริมาตร 10.0 ไมโครลิตร ในการเตรียมจุดรีเอเจนต์ ใช้สารละลายไฮดรอกไซด์ลามีนไฮโดรคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 7 โดยมีผลต่อปริมาณเป็นตัววัด และทำการวัดค่าการ ดูดกลืนแสงที่เวลา 10 นาที มีความเหมาะสมต่อการหาปริมาณเฟอร์รัสไอออน ซึ่งภายใต้สภาวะ ดังกล่าวทำให้ชุดทดสอบบนแผ่นกระจกปิดสไลด์มีคุณลักษณะเด่น คือ มีความเป็นเส้นตรงในช่วง 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตรเช่นเดียวกัน ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจพบเท่ากับ 0.64 มิลลิกรัมต่อลิตร ขีดจำกัด ของการตรวจวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 2.17 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 1.88% (n=10) และค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery) เท่ากับ 81-98% เมื่อนำชุดทดสอบที่

ตัวอย่างวิตามินและเปรียบเทียบกับเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีโดยใช้ paired *t*-test พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($t_{\text{stat}} = 0.53$, $t_{\text{crit}} = 2.57$, $n=6$) เมื่อใช้ชุดทดสอบบนกระดาษกรองและพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 90% ($t_{\text{stat}} = 2.96$, $t_{\text{crit}} = 4.03$, $n=6$) เมื่อใช้ชุดทดสอบบนแผ่นกระจกปิดสไลด์ นอกจากนี้ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นยังมีข้อดีกว่าเทคนิคอื่นๆ คือ ใช้งานง่าย สะดวก ใช้ปริมาณสารเคมีและรีเอเจนต์น้อย และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเนื่องจากพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่เลือกใช้เป็นสารช่วยยึดติดนั้นสามารถย่อยสลายได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการศึกษาพอลิเมอร์อื่นๆ ที่มีสมบัติเป็นสารช่วยยึดติดได้
2. ควรปรับปรุงสมบัติของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์โดยอาจจะใช้สารเคมีหรือรังสีเพื่อให้พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ละลายน้ำได้น้อยลงและดูดซับน้ำได้มากขึ้น
3. ควรพัฒนาชุดทดสอบในรูปแบบอื่นๆ เช่น test strip เพื่อให้ใช้งานได้ง่ายยิ่งขึ้น
4. นำชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างอื่นๆ เช่น ตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- [1] Polyvinyl alcohol [Online]. Available: http://en.wikipedia.org/wiki/Polyvinyl_alcohol
- [2] ภาณุพงศ์ ภูทะวัง. 2547. “การศึกษาผลของเซรีซินชนิดต่างๆ ที่มีต่อสมบัติของฟิล์มไฮโดรเจลพอลิไวนิลแอลกอฮอล์”. ปรินญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. หน้า 12-18
- [3] กรมควบคุมมลพิษ. คู่มือการตรวจสอบคุณภาพสิ่งแวดล้อมอย่างง่าย [Online]. Available: www.pcd.go.th/count/waterdl.cfm?FileName=inspect_water.pdf
- [4] ชุดทดสอบ [Online]. Available: http://www.sc.mahidol.ac.th/tha/research/webtestkit/when_front.htm
- [5] รศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาล, 2553. ปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ 1 (พิมพ์ครั้งที่ 2). คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [6] ระบบสี [Online]. Available: <http://www.punyisa.com/photoshop/graphic/graphic4.html>
- [7] สแกนเนอร์ [Online]. Available: <http://www.prakan.ac.th/Link-Data/web-it/data/web%20dream/scanner.htm>
- [8] สแกนเนอร์ [Online]. Available: <http://blog.eduzones.com/banny/2799>
- [9] Euclidean Distance [Online]. Available: http://en.wikipedia.org/wiki/Euclidean_distance
- [10] L. Feng, Y. Zhang, L. Wen, Z. Shen and Y. Guan, 2011. “Colorimetric determination of copper(II) ions by filtration on sol-gel membrane doped with diphenylcarbazide”. *Talanta*, 84, 913-917.
- [11] N. Demirhan and F.T. Elmali, 2003. “Spectrophotometric determination of iron(II) with 5-nitro-6-amino-1,10-phenanthroline”. *Turk Journal of chemistry*, 27, 315-321.
- [12] D.J. Garrole, 2012. “Application of UV spectrophotometric method for estimation of iron in tablet dosage form”. *International Journal of PharmTech Research*, 4, 309-310.
- [13] B.T. Ahad, 2010. “Development of a dispersive liquid-liquid microextraction method for iron speciation and determination in different water sample”. *Journal of Hazardous Materials*, 183, 688-693.
- [14] A.S. Amin and A.A. Gouda, 2008. “Unity of solid-phase spectrophotometry for

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- determination of dissolved iron(II) and iron(III) using 2,3-dichloro-6-(3-carboxy-2-hydroxy-1-naphthylazo)quinoxaline. *Talanta*, 76, 1241-1245.
- [15] Y. Udman, J. Jakmunee, S. Jayasavati, G.D. Christian, R.E. Synovec and K. Grudpan, 2004. "Cost-effective flow injection spectrophotometric assay of iron content in pharmaceutical preparations using salicylate reagent". *Talanta*, 64, 1237-1240.
- [16] Z.O. Tesfaldet, J.F. van Staden and R.I. Stefan, 2004. "Sequential injection spectrophotometric determination of iron as Fe(II) in multi-vitamin preparations using 1,10-phenanthroline as complexing agent". *Talanta*, 64, 1189-1195.
- [17] A. Komersova, M. Barto, K. Kalcher and K. Vytras, 1998. "Trace iron determination in aminoisophthalic acid using differential-pulse cathodic stripping voltammetry at carbon paste electrodes". *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 16, 1373-1379.
- [18] W.H. Mahmoud, 2001. "Iron ion-selective electrodes for direct potentiometry and potentiometric titrimetry in pharmaceuticals". *Analytica Chimica Acta*, 436, 199-206.
- [19] I. Durukan, C.A. Sahin, N. Satioglu and S. Bektas, 2011. "Determination of iron and copper in food samples by flow injection cloud point extraction flame atomic absorption spectrometry". *Microchemical Journal*, 99, 159-163.
- [20] E. Canfranc, A. Abarca, I. Sierra and M.L. Marina, 2001. "Determination of iron and molybdenum in a dietetic preparation by flame AAS after dry ashing". *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 25, 103-108.
- [21] P.C. Aleixo and J.A. Nobrega, 2003. "Direct determination of iron and selenium in bovine milk by graphite furnace atomic absorption spectrometry". *Food Chemistry*, 83, 457-462.
- [22] นฤชิต ไพโรจน์, 2555. "ชุดทดสอบแบบจุดโดยใช้ไซล-เจลเจือออโรฟีแนนโทรีนสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของเหล็ก (II)". วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาเคมีวิเคราะห์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [23] พิมพ์พิมพ์ อเนกธีรกุล มงคล สุขวัฒนาสินธิ์ และอภิชาติ อิมย์. "การตรวจวัดพาราไนโตรฟินอลด้วยการสังเกตการเปลี่ยนสีของสารละลายพอลิอะเซทิลีนเวสิเคิลและวิธีสเปกโตรเมตรี". วารสารศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [24] รุ่งนภา คงสังข์, 2553. "การตรวจวัดตะกั่ว(II) ในสารละลายน้ำด้วยตาเปล่าโดยใช้ซิลิกาเจลที่

เคลือบด้วย 1-(2-ไพริดีลเอโซ)-2-เนพทอล”. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

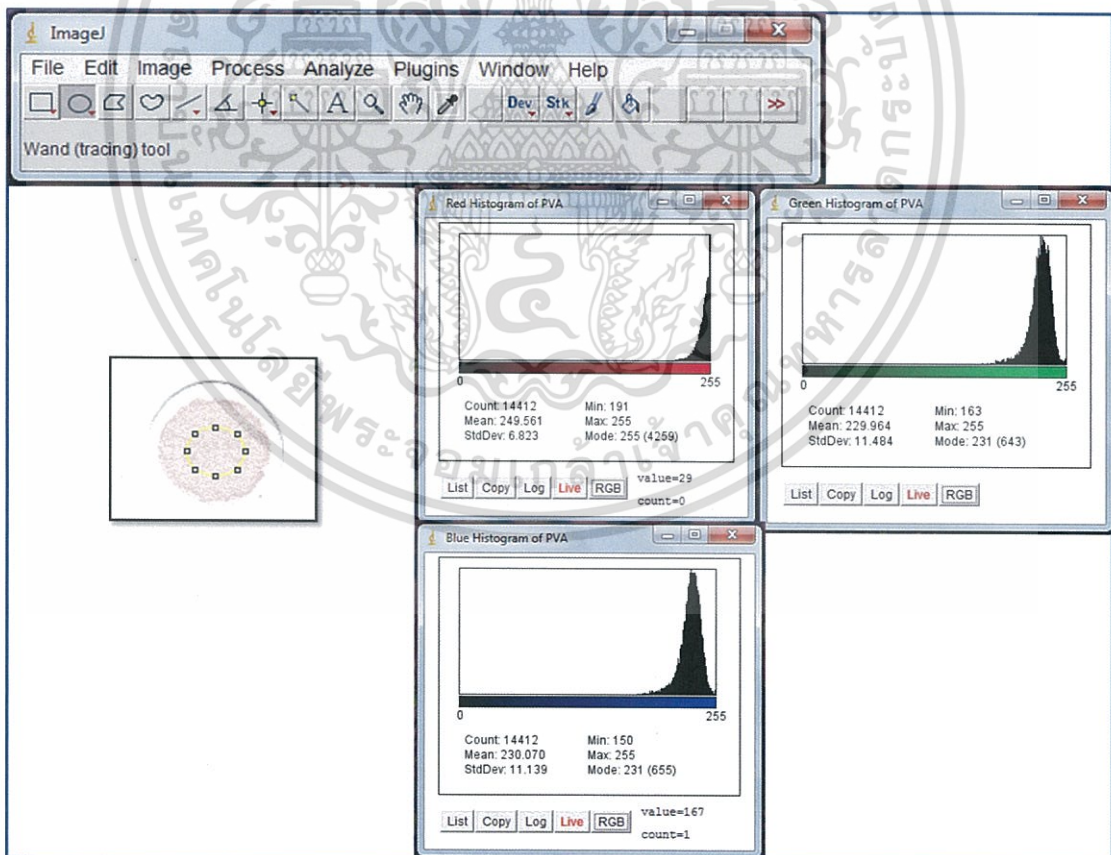
- [25] H. Matsunaga, C. Kanno and T.M. Suzuki, 2005. “Naked-eye detection of trace arsenic(V) in aqueous media using molybdenum-loaded chelating resin having β -hydroxypropyl-di(β -hydroxyethyl)amino moiety”. *Talanta*, 66, 1287-1293.
- [26] T. Champaiboon, G. Tumcharernb, A. Potisatityuenyong, S. Wacharasindhuc and M. Sukwattanasinitt, 2009. “A polydiacetylene multilayer film for naked eye detection of aromatic compounds”. *Sensors and Actuators B*, 139, 532-537.
- [27] P. Deivasigamani, N. Hiroshi and M. Hideyuki, 2007. “Naked eye sensor on polyvinyl chloride platform of chromo-ionophore molecular assemblies: A smart way for the colorimetric sensing of toxic metal ions”. *Analytica Chimica Acta*, 601, 108-117.
- [28] รศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์, 2549. ปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ (พิมพ์ครั้งที่ 3). คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [29] H.L. Lin, Y.F. Liu, T.L. Yu, W.H. Liu and S.P. Rwei, 2005. “Light scattering and viscoelasticity study of poly(vinyl alcohol)-borax aqueous solutions and gels”. *Polymer*, 46, 5541-5549.
- [30] ทิพวรรณ นิ่งน้อย, 2549. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

ภาคผนวก ก.

การใช้โปรแกรม Image JTM ในการหาความเข้มสี

ขั้นตอนและวิธีการใช้โปรแกรม

1. ติดตั้งโปรแกรมโดยดาวน์โหลดจากเว็บไซต์ <http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html>
2. เปิดโปรแกรม Image JTM จากนั้นเปิดไฟล์รูปภาพที่ต้องการ
3. คลิกที่ Analyze บนแถบเมนู จากนั้นเลือก Histogram จะปรากฏหน้าต่าง Histogram จากนั้น กด LIVE
4. คลิกที่รูปร่างกลมบนแถบเมนู แล้วสร้างรูปร่างกลมขึ้นมาบนรูป โดยกำหนดพื้นที่ที่แน่นอน โดยดูจากค่าจำนวนนับ (Count) ที่หน้าต่าง Histogram
5. คลิกที่ RGB บนหน้าต่าง Histogram เพื่อหาความเข้มของสีแต่ละสี คือ สีแดง (Red) สีเขียว (Green) และน้ำเงิน (Blue) โดยดูที่ค่าเฉลี่ย (mean)



รูปที่ ก.1 แสดงหน้าต่างของโปรแกรม Image JTM ในการหาค่าความเข้มของสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การคำนวณค่า Euclidean Distance ของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

(หน้า 44)

จากสมการเชิงเส้นแบบยูคลิด

$$ED = \sqrt{(\Delta R)^2 + (\Delta G)^2 + (\Delta B)^2}$$

ตารางที่ ข.1 แสดงค่าความเข้มของสีแต่ละสี ค่า Euclidean Distance (ED) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)

ความเข้มข้นของสารละลาย มาตรฐานเฟอร์รัสไอออน (mg/L)	ความเข้มสี			ค่า ED	%RSD
	แดง	เขียว	น้ำเงิน		
0	253.34±0.17	253.22±0.18	251.96±0.24	-	-
1	253.38±0.13	252.03±0.27	250.65±0.25	1.78±0.37	7.47
2	253.21±0.09	250.15±0.14	249.01±0.11	4.27±0.17	3.99
4	253.22±0.28	246.79±0.62	246.01±0.56	8.99±0.84	7.31
6	253.00±0.26	243.73±0.77	243.58±0.63	12.67±0.99	7.87
8	252.39±0.34	239.62±0.58	239.67±0.53	18.36±0.79	4.33
10	252.09±0.51	235.79±1.15	235.88±1.02	23.75±1.56	6.56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

การคำนวณขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection: LOD) และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation: LOQ) (หน้า 46 และ 50)

ขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) สามารถคำนวณโดยใช้สูตร

$$LOD = y_B + 3S_B$$

และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$LOQ = y_B + 10S_B$$

เมื่อ y_B คือ จุดตัดแกน y ที่ได้จากการสมการเส้นตรง $y = mx + c$

S_B คือ ค่าความคลาดเคลื่อนในแนวแกน y (Random error in y -direction) หาได้จากสูตร

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

1. ชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษกรอง

จากกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่า Euclidean Distance กับความเข้มข้นของสารละลายกับมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนจะได้สมการเส้นตรง คือ $y = 2.3992x - 0.7589$

ตารางที่ ก.1 แสดงค่า y_i , \hat{y}_i และ $(y_i - \hat{y}_i)^2$ ในการคำนวณขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณของชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษกรอง

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน (mg/L)	y_i	\hat{y}_i	$y_i - \hat{y}_i$	$(y_i - \hat{y}_i)^2$
1	1.78	1.64	0.14	0.0196
2	4.27	4.04	0.23	0.0529
4	8.99	8.84	0.15	0.0225
6	12.67	13.64	-0.97	0.9409
8	18.36	18.43	-0.07	0.0049
10	23.75	23.23	0.52	0.2704
			รวม	1.3112
			S_B	0.57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แทนค่า $y_b = -0.7589$ และ $S_b = 0.57$ ในสมการจะได้ ค่า LOD เท่ากับ 0.96 หรือ 0.72 มิลลิกรัมต่อลิตร และ LOQ เท่ากับ 4.96 หรือ 2.38 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. ชุดทดสอบแบบจุดบนแผ่นกระจกปิดสไลด์

จากกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างค่า Euclidean Distance กับความเข้มข้นของสารละลายกับมาตรฐานเฟอร์รัสไอออนจะได้สมการเส้นตรง คือ $y = 0.0098x - 0.0044$

ตารางที่ ค.2 แสดงค่า y_i , \hat{y}_i และ $(y_i - \hat{y}_i)^2$ แสดงค่า y_i , \hat{y}_i และ $(y_i - \hat{y}_i)^2$ ในการคำนวณขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณของชุดทดสอบแบบจุดบนแผ่นกระจกปิดสไลด์

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสไอออน (mg/L)	y_i	\hat{y}_i	$y_i - \hat{y}_i$	$(y_i - \hat{y}_i)^2$
1	0.008	0.005	0.003	9×10^{-6}
2	0.014	0.015	-0.001	1×10^{-6}
4	0.032	0.035	-0.003	9×10^{-6}
6	0.053	0.054	-0.001	1×10^{-6}
8	0.074	0.074	0.000	-
10	0.094	0.094	0.000	-
			รวม	2×10^{-5}
			S_b	2.13×10^{-3}

แทนค่า $y_b = -0.0044$ และ $S_b = 2.13 \times 10^{-3}$ ในสมการจะได้ ค่า LOD เท่ากับ 0.002 หรือ 0.64 มิลลิกรัม และ LOQ เท่ากับ 0.017 หรือ 2.17 มิลลิกรัมต่อลิตร

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวจิตพร โพธิ์ปัญญาศักดิ์
วัน เดือน ปีเกิด	27 มกราคม 2530
ที่อยู่	99/232 ซ. 16 ก หมู่บ้านนักกีฬาแหลมทอง ถ. กรุงเทพมหานคร เขตสะพานสูง กทม.10250
ประวัติการศึกษา	2551 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์การทำงานและผลงานวิจัย	
พ.ศ.2555	นำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 38 (วทท 38) ในหัวข้อ “Spot test kits for colorimetric determination of iron(II) ions using poly(vinyl) alcohol hydrogel doped orthophenanthroline”

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้