

การทดสอบแบบจุดโดยใช้โซล-เจลเจือจอกโทที่แนนโทรลิน
สำหรับวัดปริมาณเชิงปริมาณของเหล็ก (II)

SOL-GEL DOPED O-PHENANTHROLINE SPOT TEST
FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF IRON (II)

นฤชิต ไชโรจน์
NARUCHID FAIROAD

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของงานศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2555

KMITL-2012-SC-M-012-016

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ชุดทดสอบแบบจุดโดยใช้โซล-เจลเจือออร์โทฟีแนนโทรีน
สำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของเหล็ก (II)

SOL-GEL DOPED O-PHENANTHROLINE SPOT TEST
FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF IRON (II)



T122991

นฤชิต ไพโรจน์

NARUCHID PAIROAD

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....122991
วันเดือนปี.....10 ต.ค. 2555



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2555

KMITL-2012-SC-M-012-016

**SOL-GEL DOPED O-PHENANTHROLINE SPOT TEST
FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF IRON (II)**

NARUCHID PAIROAD

**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
2012
KMITL-2012-SC-M-012-016**

COPYRIGHT 2012

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ชุดทดสอบแบบจุดโดยใช้โซล-เจลเจือออโทพีแนโนโทรสีนสำหรับการ
วิเคราะห์เชิงปริมาณของเหล็ก (II)
Sol-Gel Doped O-phenanthroline Spot Test for Quantitative
Determination of Iron (II)

นักศึกษา

นายณฤชิต ไพโรจน์

รหัสประจำตัว

52651102

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา

เคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
ดร.ณัฐวุฒิ	เชิงชั้น	
ดร.เสาวภาคย์	ธีราทรง	
ดร.งามเนตร	วรกิจเจริญชัย	
ดร.วิบูลย์	ประดิษฐ์เวียงคำ	

วัน / เดือน / ปี ที่สอบ 11 พฤษภาคม พ.ศ. 2555 เวลา 13.00 – 15.00 น.
สถานที่สอบ ณ ห้อง 316 ชั้น 3 อาคารปฏิบัติการใหม่



(รองศาสตราจารย์ ดร.ศุภณัฐ ธีระบริพัทธ์)
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

วันที่ 21 เดือน ๕ ปี พ.ศ. ๕๕

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ชุดทดสอบแบบจุดโดยใช้โซล-เจลเจือออโทฟิแนนโทรลินสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของเหล็ก (II)
นักศึกษา	นายณัฐชิต ไพโรจน์
รหัสประจำตัว	52651102
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เคมี
พ.ศ.	2555
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

บทคัดย่อ

ชุดทดสอบแบบจุดโดยใช้โซล-เจลเจือออโทฟิแนนโทรลินสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของเหล็ก (II) โดยใช้เครื่องสแกนเนอร์เป็นเครื่องมือตรวจวัด สามารถเตรียมได้โดยหยดสารละลายโซล-เจลเจือด้วยออโทฟิแนนโทรลินจำนวน 10.00 ไมโครลิตรลงบนกระดาษกรอง นำสารละลายตัวอย่างมาเติมด้วยสารละลายไฮดรอกไซด์ของโซล-เจล (NH₂OH.HCl) แล้วนำสารละลายผสมดังกล่าวจำนวน 10.00 ไมโครลิตรหยดลงบริเวณจุดทดสอบ จะเกิดสารเชิงซ้อนสีแดงส้มระหว่างไอออนเหล็ก (II) กับออโทฟิแนนโทรลิน จากนั้นตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงด้วยเครื่องสแกนเนอร์ ภาพสแกนที่ได้ในระบบดิจิทัลจะบันทึกเป็นค่าความเข้มแสงคือ แสงสีแดง แสงสีเขียวและแสงสีน้ำเงิน (RGB) ประมวลผลความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ สร้างกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความแตกต่างความเข้มแสง ซึ่งคำนวณจากสมการเชิงเส้นแบบยูคลิด (Euclidean Distance, ED) หรือระหว่างค่าการสะท้อนแสง (Reflectance) เทียบกับระดับความเข้มข้นของไอออนเหล็ก (II) ในช่วง 10.00 – 100.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้สมการเชิงเส้นตรงคือ $y = 0.00139x + 0.02860$, ($r^2 = 0.9971$) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 0.48 – 1.65 เปอร์เซ็นต์ วิธีที่ได้รับการพัฒนานี้นำมาทดสอบและประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณธาตุเหล็กในตัวอย่างเม็ดยาที่มีธาตุเหล็ก เปรียบเทียบความแม่นยำกับวิธีมาตรฐานอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมทรีโดยใช้ t-test พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($n = 5$; $t_{\text{คำนวณ}} = 2.24$ และ $t_{\text{ตาราง}} = 2.77$)

คำสำคัญ: โซล-เจล, จุดสี, ออโทฟิแนนโทรลิน, เหล็ก (II), การวิเคราะห์ความเข้มสี

Thesis Title	Sol-gel doped o-phenanthroline spot test for quantitative determination of iron (II)
Student	Naruchid Pairoad
Student ID	52651102
Degree	Master of Science
Program	Chemistry
Year	2012
Thesis Advisor	Wiboon Praditweangkum

Abstract

A simple colorimetric spot-test method for quantitative determination of Fe (II) utilizing a digital scanner has been developed. A 10.00 μL of sol-gel solution doped with orthophenanthroline was dropped on a filter paper. A sample was mixed together with hydroxylamine hydrochloride and 10.00 μL of this solution was applied on the reagent spot. The orange color of Fe (II) – phenanthroline complex on paper was recorded using a digital scanner. The images were digitized, and the red (R), green (G), and blue (B) values were investigated. Calibration curve was obtained by plotting Euclidean Distance (ED) or reflectance against the concentration of Fe (II) solution from 10.00 to 100.00 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The linear equation; $y = 0.00139x + 0.02860$, ($r^2 = 0.9971$) and 0.48 – 1.65 % relative standard deviation were obtained. The method was successfully applied for analysis of iron in tablets. The t-test between the proposed and AAS method was showed no significant difference at 95% confidence level ($n = 5$; $t_{\text{calculated}} = 2.24$ and $t_{\text{tabulated}} = 2.77$).

Keywords: Sol-gel, Spot-test, Ortho-phenanthroline, Iron (II), Colorimetric method

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงด้วยดีต้องขอขอบพระคุณ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ซึ่งกรุณาเสียสละเวลาอันมีค่าให้คำปรึกษา คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ ข้อคิดเห็น ตลอดจนพิจารณาตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ของการจัดทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จ ลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ ดร.ณัฐฉิ เจริญชั้น ประธานกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรงและดร.งามเนตร วรกิจเจริญชัย กรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณา ตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ พร้อมทั้งให้ข้อเสนอแนะและข้อคิดเห็นในการทำวิทยานิพนธ์

ขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ของสาขาวิชาเคมีทุกท่าน ที่อนุเคราะห์อุปกรณ์ สารเคมีและ ห้องปฏิบัติการในการวิจัยทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

สุดท้ายขอขอบพระคุณบิดา มารดาและครูอาจารย์ ให้ความรัก ให้การศึกษาและให้กำลังใจ แก่ผู้วิจัยตลอดมา สำหรับประโยชน์และคุณค่าอันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอบแต่ผู้มี พระคุณทุกท่าน

นฤชิต ไพโรจน์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VIII
สารบัญรูป	X
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 กระบวนการ โชล-เจต	3
2.1.1 ปฏิกริยาไฮโดรไลซิส.....	5
2.1.2 ปฏิกริยาควบแน่น	6
2.2 การเกิดสารเชิงซ้อนที่มีสีระหว่างออร์โทฟีแนนโทลีนกับไอออนเหล็ก (II).....	7
2.3 กฎการดูดกลืนแสงของสารละลาย.....	8
2.4 ชุดทดสอบภาคสนาม.....	10
2.5 ระบบสี.....	11
2.5.1 RGB.....	11
2.5.2 CMYK	11
2.6 หลักการทำงานของกล้องดิจิทัล.....	12
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	14
2.7.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการวิเคราะห์หาปริมาณ ไอออนเหล็ก.....	14
2.7.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับชุดทดสอบและการรายงานผลการตรวจวัด.....	14
บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย	15
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์.....	15
3.1.1 สารเคมี.....	15
3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	15

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	16
3.3 วิธีดำเนินการทดลอง.....	18
3.3.1 ศึกษาลักษณะและรูปร่างชุดทดสอบบนกระดาษ	18
3.3.1.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน	19
3.3.1.2 การเตรียมสารละลายโซล-เจดเจือด้วยอโทพีแนน โทรีลิน	19
3.3.1.3 ชุดทดสอบบนกระดาษแบบสี่เหลี่ยม	19
3.3.1.4 ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด	19
3.3.2 ศึกษาระบบสำหรับชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด	19
3.3.2.1 ระบบโซล-เจดเจือด้วยอโทพีแนน โทรีลิน	19
3.3.2.2 ระบบอโทพีแนน โทรีลินละลายในตัวทำละลาย เอทานอลปราศจากน้ำ	20
3.3.3 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอโทพีแนน โทรีลินในระบบ โซล-เจด เพื่อสร้างชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดสำหรับ ตรวจวัดปริมาณ ไอออนเหล็ก (II)	21
3.3.4 ศึกษาอุปกรณ์และ โปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบ บนกระดาษแบบจุด.....	21
3.3.4.1 ศึกษาอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบ บนกระดาษแบบจุด	21
3.3.4.1.1 กล้องถ่ายภาพดิจิทัล	21
3.3.4.1.2 เครื่องสแกนเนอร์	21
3.3.4.2 ศึกษาโปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบ บนกระดาษแบบจุด	21
3.3.4.2.1 Adobe Photoshop CS2™	21
3.3.4.2.2 Image J™	21
3.3.4.3 ศึกษาความละเอียดที่เหมาะสมสำหรับการสแกนภาพ	22
3.3.5 คุณลักษณะทางกายภาพของพื้นผิวกระดาษสำหรับชุดทดสอบบนกระดาษ	22
3.3.6 ศึกษาการรายงานผลค่าความเข้มแสง	22
3.3.6.1 ความแตกต่างความเข้มแสง.....	22
3.3.6.2 ค่าการสะท้อนแสง	22

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.7 ศึกษาช่วงใช้งานของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด	23
3.3.8 วิเคราะห์ตัวอย่างและเทียบผลกับวิธีมาตรฐาน	23
3.3.8.1 การวิเคราะห์ตัวอย่างเม็ดยาวิตามินที่มีธาตุเหล็ก	23
3.3.8.1.1 การเตรียมตัวอย่างเม็ดยาวิตามินที่มีธาตุเหล็ก	23
3.3.8.1.2 การเตรียมสารละลายเม็ดยาที่มีธาตุเหล็กสำหรับ ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด	23
3.3.8.1.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด	24
3.3.8.2 การเทียบผลกับวิธีมาตรฐาน	24
3.3.8.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน	24
3.3.8.2.2 การเตรียมตัวอย่างเม็ดยาวิตามินที่มีธาตุเหล็ก	25
3.3.8.2.3 การวัดค่าดูดกลืนแสง	25
3.3.9 ศึกษาอายุการใช้งานชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด	25
3.3.10 พัฒนาและปรับปรุงประสิทธิภาพชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด	26
3.3.10.1 ลดขั้นตอนและกระบวนการวิเคราะห์ตัวอย่างไอออนเหล็ก (II)	
3.3.10.1.1 ระบบชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบ โซล-เจลเจือ อโทพีแนนโทรีนและเติมชั้นตัวรีดิวซ์ลงบนชุดทดสอบ	26
3.3.10.1.2 ระบบสารละลายโซล-เจลเจืออโทพีแนนโทรีน ที่ผสมตัวรีดิวซ์	26
3.3.10.1.3 ทดสอบประสิทธิภาพชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดที่พัฒนาขึ้น กับชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดรูปแบบเดิม	27
3.3.10.2 ปรับปรุงประสิทธิภาพของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดสำหรับ วิเคราะห์ตัวอย่างไอออนเหล็กผสมของ ไอออนเหล็ก (II) และเหล็ก (III)	27
3.3.10.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน	27
3.3.10.2.2 ทดสอบประสิทธิภาพชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดเพื่อ วิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กผสมของ ไอออนเหล็ก (II) และเหล็ก (III)	27

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล.....	29
4.1 การศึกษาลักษณะและรูปร่างชุดทดสอบบนกระดาศ.....	29
4.1.1 ชุดทดสอบบนกระดาศแบบสี่เหลี่ยม	29
4.1.2 ชุดทดสอบบนกระดาศแบบจุด	30
4.2 ศึกษาระบบสำหรับชุดทดสอบบนกระดาศแบบจุด	31
4.2.1 ระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนน โทรีน	31
4.2.2 ระบบอโทพีแนน โทรีนละลายในตัวทำละลายเอทานอลปราศจากน้ำ.....	31
4.3 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอโทพีแนน โทรีนในระบบโซล-เจล	32
4.4 ศึกษาอุปกรณ์และ โปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสี	33
4.4.1 ศึกษาอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบ บนกระดาศแบบจุด.....	33
4.4.2 ศึกษาโปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบ บนกระดาศแบบจุด.....	34
4.4.3 ศึกษาความละเอียดที่เหมาะสมสำหรับการสแกนภาพ	36
4.5 คุณลักษณะทางกายภาพของพื้นผิวกระดาศสำหรับชุดทดสอบบนกระดาศ.....	37
4.6 ศึกษาการรายงานผลค่าความเข้มแสง.....	40
4.7 ศึกษาช่วงใช้งานของชุดทดสอบบนกระดาศแบบจุด.....	42
4.8 วิเคราะห์ตัวอย่างและเทียบผลกับวิธีมาตรฐาน.....	43
4.9 ศึกษาอายุการใช้งานชุดทดสอบบนกระดาศแบบจุด.....	44
4.10 พัฒนาและปรับปรุงประสิทธิภาพชุดทดสอบบนกระดาศแบบจุด.....	45
4.10.1 ลดกระบวนการและขั้นตอนการวิเคราะห์ตัวอย่างไอออนเหล็ก (II).....	45
4.10.2 ปรับปรุงประสิทธิภาพของชุดทดสอบบนกระดาศแบบจุดสำหรับวิเคราะห์ ตัวอย่างไอออนเหล็กผสมของไอออนเหล็ก (II) และไอออนเหล็ก (III)	46
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	49
เอกสารอ้างอิง	51
ภาคผนวก	53

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 แสดงลิแกนด์ที่นิยมใช้เป็นสารตั้งต้น	4
ตารางที่ 4.1 ตารางค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานค่าความแตกต่างความเข้มแสงที่ความละเอียดต่างๆ กัน...	37
ตารางที่ 4.2 ตารางเทียบผลการทดลองระหว่างชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดและ วิธีมาตรฐานด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์.....	43
ตารางที่ 4.3 ตารางเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงค่าการสะท้อนแสงของชุดทดสอบบนกระดาษ แบบจุดที่เก็บไว้ใช้ในงานในวันที่ 0, 7, 15 และ 30 วัน	44
ตารางที่ 4.4 แสดงค่าการสะท้อนแสงชุดทดสอบบนกระดาษแบบชุดเดิมและชุดทดสอบบน กระดาษแบบจุดที่พัฒนาขึ้นใหม่ที่มีความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ต่างๆ กัน	45
ตารางที่ 4.5 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ทั้งหมดที่ได้จาก ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจ็ดด้วยอโทพีแนนโทรีน เข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) ที่มีตัวรีดิวซ์	47
ตารางที่ 4.6 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ที่ได้จากชุดทดสอบ บนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจ็ดด้วยอโทพีแนนโทรีน เข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) ที่ไม่มีตัวรีดิวซ์	47
ตารางที่ 4.7 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ที่ได้จากชุดทดสอบบน กระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจ็ดด้วยอโทพีแนนโทรีน เข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v)	48
ตารางที่ ข.1 ค่าความเข้มแสง ค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ของระบบสารละลายอโทพีแนนโทรีนละลายในตัวทำละลายเอทานอล ปราศจากน้ำเข้มข้นร้อยละ 0.50 (w/v) และระบบสารละลายโซล-เจลเจ็ดด้วย อโทพีแนนโทรีนเข้มข้นร้อยละ 0.20 (w/v)	54
ตารางที่ ข.2 ค่าความเข้มแสง ค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ของระบบสารละลายโซล-เจลเจ็ดด้วยอโทพีแนนโทรีนเข้มข้น ร้อยละ 0.40 (w/v) และระบบสารละลายโซล-เจลเจ็ดด้วย อโทพีแนนโทรีนเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v)	55
ตารางที่ ค.1 ค่าความเข้มแสง ค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เปรียบเทียบอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบ ระหว่างเครื่องสแกนเนอร์และกล้องถ่ายภาพดิจิทัล	56

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ ง.1 ค่าความเข้มแสง ค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เปรียบเทียบโปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบ จากภาพที่ได้จากกล้องถ่ายภาพดิจิทัลระหว่างโปรแกรม Image J™ และโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™.....	57
ตารางที่ จ.1 ค่าความเข้มแสง ค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เปรียบเทียบโปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบ จากภาพที่ได้จากเครื่องสแกนเนอร์ระหว่างโปรแกรม Image J™ และโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™.....	58
ตารางที่ ช.1 ค่าความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ค่าความแตกต่างความเข้มแสง ที่ความละเอียดในการสแกนต่างๆ กัน	60
ตารางที่ ซ.1 ค่าความเข้มแสง ค่าความแตกต่างความเข้มแสง ค่าการสะท้อนแสงและ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการรายงานผลค่าความเข้มแสง ในเทอมค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าการสะท้อนแสง	61
ตารางที่ ซ.2 แสดงการคำนวณค่าการสะท้อนแสงจากค่าความเข้มแสง.....	62
ตารางที่ ฉ.1 ค่าความเข้มแสง ค่าการสะท้อนแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของ ช่วงการใช้งานของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด	63
ตารางที่ ฎ.1 ตารางแสดงการคำนวณหาขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการวัด เชิงปริมาณของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือ อิมโฟฟิแนน โทโรลินเข้มข้นร้อยละ 0.60.....	64
ตารางที่ ฏ.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่ได้จากเครื่อง AAS สำหรับ คำนวณหาปริมาณธาตุเหล็กในวิตามินที่มีธาตุเหล็ก	67
ตารางที่ ฎ.2 ค่าความเข้มแสง ค่าการสะท้อนแสงที่ได้จากชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดสำหรับ คำนวณหาปริมาณธาตุเหล็กในวิตามินที่มีธาตุเหล็ก	68
ตารางที่ ฎ.1 ค่าความเข้มแสง ค่าการสะท้อนแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ของอายุการใช้งานชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด	69

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 ตัวอย่างเฟสไดอะแกรม 3 ภูมิภาคของเตตระเอทิลอโทซิลิเกต น้ำ และ 95% แอลกอฮอล์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	5
รูปที่ 2.2 ผลของค่า pH ต่ออัตราการละลายและเวลาในการเกิดเจล.....	6
รูปที่ 2.3 เทคนิคในการสังเคราะห์โดยวิธีโซล-เจล.....	7
รูปที่ 2.4 โครงสร้างของสารเชิงซ้อนของเหล็กกับอโทพีแนนโทรีน.....	7
รูปที่ 2.5 แผนภาพแสดงการดูดกลืนแสงของสารละลายในคิวเวตต์.....	8
รูปที่ 2.6 แสดงแผนภาพสีแบบ RGB.....	11
รูปที่ 2.7 แสดงแผนภาพสีแบบ CMYK.....	12
รูปที่ 2.8 แสดงแผนภาพการทำงานของกล้องดิจิทัล.....	12
รูปที่ 2.9 การเรียงของโฟโตไดโอดและแผ่นกรองแสงแบบ CFA.....	13
รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงสีชุดทดสอบบนกระดาษแบบสีเหลี่ยม.....	29
รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงสีชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด (ก) ระบบเอทานอลปราศจากน้ำ (ข) ระบบโซล-เจล.....	30
รูปที่ 4.3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสง.....	31
รูปที่ 4.4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสงเปรียบเทียบอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดความเข้มสี.....	33
รูปที่ 4.5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสงเปรียบเทียบการใช้โปรแกรมสำหรับตรวจวัดภาพที่ได้จากกล้องถ่ายภาพดิจิทัล.....	34
รูปที่ 4.6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสงเปรียบเทียบการใช้โปรแกรมสำหรับตรวจวัดภาพที่ได้จากเครื่องสแกนเนอร์.....	35
รูปที่ 4.7 ภาพถ่ายชุดทดสอบบนกระดาษบนกระดาษก่อนการเกิดปฏิกิริยาจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด.....	38
รูปที่ 4.8 ภาพถ่ายชุดทดสอบบนกระดาษบนกระดาษหลังการเกิดปฏิกิริยาจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด.....	39
รูปที่ 4.9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสง.....	41

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) กับค่าการสะท้อนแสง.....	41
รูปที่ 4.11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) กับค่าการสะท้อนแสงของช่วงใช้งาน 10 – 100 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	42
รูปที่ ก.1 หน้าต่างโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ และการสร้างกรอบสี่เหลี่ยม ขนาด 10.0 x 10.0 มิลลิเมตร เพื่อวัดค่าความเข้มแสง.....	53
รูปที่ ก.2 หน้าต่างแสดงค่าความแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน	53
รูปที่ ฉ.1 หน้าต่างโปรแกรม Image J™ และการเรียกหน้าต่างวัดค่าความเข้มแสง	59
รูปที่ ฎ.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) กับค่าการดูดกลืนแสง	66

บทที่ 1 22

บทนำ 24

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย 20

๑๖ จากการศึกษาค้นคว้าวิจัยข้อมูลของอุตสาหกรรมการค้าในปัจจุบัน พบว่า ชุดทดสอบที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายนั้น มีหลากหลายรูปแบบตามแต่ผู้พัฒนาและวิจัยได้ออกแบบขึ้น ตัวอย่างเช่น ชุดทดสอบแบบสารละลาย ชุดทดสอบบนฉับสเตรตชนิดต่างๆ เป็นต้น ซึ่งล้วนแล้วแต่มีความสามารถในการตรวจวัดกับสารตัวอย่างได้หลากหลายและแตกต่างกันออกไป ตามวัตถุประสงค์ของผู้พัฒนาตัวอย่างเช่น ซัลไฟต์ ไนเตรท ไนไตรท์ ฟอสเฟต เป็นต้น การใช้งานของชุดทดสอบนั้น บางครั้งสามารถวิเคราะห์ได้โดยตรงหรืออาจต้องมีการเตรียมตัวอย่าง บางครั้งพบว่าชุดทดสอบบางประเภทมีลักษณะการใช้งานที่ยุ่งยากและซับซ้อน การนำชุดทดสอบมาใช้ตรวจวัดสำหรับกรวิเคราะห์แบบภาคสนามอาจทำได้ลำบาก ชุดทดสอบที่จำหน่ายตามท้องตลาดทั่วไปโดยมหาวิทยาลัยหรือผู้ผลิตโดยตรงนั้น เป็นชุดทดสอบที่ออกแบบมาเพื่อตรวจวัดสารตัวอย่างในเชิงคุณภาพวิเคราะห์ โดยจะบอกได้เพียงว่ามีสารอันตรายหรือสารตัวอย่างประเภทนั้นๆ อยู่หรือไม่ ในบางกรณีอาจสามารถบอกได้ว่ามีสารนั้นๆ อยู่ประมาณเท่าใด แต่บอกได้เพียงช่วงความเข้มข้นหรือปริมาณกว้างๆ เท่านั้น โดยบอกออกมาในรูปแบบของแถบสี ไม่สามารถระบุเจาะจงลงไปได้ว่ามีความเข้มข้นหรือปริมาณอยู่เท่าใดอย่างชัดเจนได้

จากที่กล่าวมาข้างต้นนั้น ทำให้เกิดช่องว่างของชุดทดสอบ โดยสามารถนำมาพัฒนาและเติมเต็มช่องว่างทางการค้าได้ เพราะไม่มีชุดทดสอบที่สามารถระบุความเข้มข้นของสารตัวอย่างได้อย่างแม่นยำ สำหรับงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาชุดทดสอบภาคสนามโดยใช้ฉับสเตรตที่ไม่ซับซ้อน นั่นคือกระดาษกรอง โดยมีเป้าหมายของงานวิจัยคือพัฒนารูปแบบและทดสอบประสิทธิภาพชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับตรวจวัดในเชิงปริมาณวิเคราะห์ได้ โดยปฏิบัติที่เป็นที่รู้จักนั่นคือใช้รีเอเจนต์อโทฟีแนนโทรีนเพื่อตรวจวัดสารตัวอย่างไอออนเหล็ก (II) โดยจะเกิดเป็นสารเชิงซ้อนสีแดงส้มจากสารทั้งสองชนิด ซึ่งปฏิบัติดังกล่าวนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการตรวจวัดและวิเคราะห์ปริมาณไอออนเหล็ก (II) เนื่องจากรีเอเจนต์อโทฟีแนนโทรีนมีความจำเพาะต่อไอออนเหล็ก (II) เท่านั้น รวมทั้งมีตัวรบกวนการเกิดปฏิกิริยาน้อย

จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่า การเผยแพร่เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับชุดทดสอบบนฉับสเตรตชนิดต่างๆ นั้นมีน้อยมาก ดังนั้น การพัฒนาชุดทดสอบบนกระดาษของงานวิจัยนี้ จึงพัฒนาขึ้นโดยใช้องค์ความรู้ที่มีอยู่เดิม รวมทั้งศึกษาเพิ่มเติมจากงานวิจัยที่มีความเป็นไปได้ในการสร้างชุดทดสอบบนกระดาษ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาและพัฒนาชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไอออนเหล็ก

1.2.2 เพื่อนำชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดที่พัฒนาขึ้นมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีธาตุเหล็กในเชิงปริมาณวิเคราะห์

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาหลักการและระบบที่เหมาะสมและมีความเป็นไปได้สำหรับชุดทดสอบบนกระดาษ รวมทั้งพัฒนาชุดทดสอบบนกระดาษ ซึ่งส่วนสำคัญของชุดทดสอบบนกระดาษนั้นคือระบบที่ใช้สำหรับเจือสารทีเลดตั้งเอาเจนต์อโทพีแนนโทรลิน โดยเริ่มศึกษารูปแบบที่เหมาะสมในการสร้างชุดทดสอบบนกระดาษเพื่อใช้เป็นชุดทดสอบภาคสนามสำหรับใช้ตรวจวัดเชิงคุณภาพวิเคราะห์ จากนั้นจึงศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับเติมสารเจือลงในระบบที่ใช้สร้างชุดทดสอบบนกระดาษ ช่วงการใช้งานของชุดทดสอบ จากนั้นทดสอบความสามารถ ประสิทธิภาพและประเมินความแม่นยำของชุดทดสอบด้วยวิธีมาตรฐานอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมทรีและท้ายสุดพัฒนาชุดทดสอบดังกล่าวเพื่อให้สะดวกและรวดเร็วสำหรับการนำไปใช้เป็นชุดทดสอบภาคสนาม

ขั้นตอนการดำเนินการมีดังต่อไปนี้

1.3.1 สืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้อง

1.3.2 ศึกษาหลักการ ความเป็นไปได้และระบบที่ใช้ในการสร้างชุดทดสอบบนกระดาษ

1.3.3 ออกแบบชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับตรวจวัดในเชิงคุณภาพวิเคราะห์

1.3.4 ศึกษาระบบที่เหมาะสมในการสร้างชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

1.3.5 ศึกษาความสามารถและประสิทธิภาพของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดสำหรับตรวจวัดเชิงปริมาณวิเคราะห์

1.3.6 ประยุกต์ใช้กับตัวอย่างที่มีธาตุเหล็กเพื่อใช้ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดตรวจวัดในเชิงปริมาณวิเคราะห์และประเมินความแม่นยำของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดด้วยวิธีมาตรฐาน

1.3.7 ออกแบบชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด เพื่อเพิ่มความสะดวกและลดความซับซ้อน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดสำหรับตรวจวัดปริมาณเหล็กในตัวอย่างที่มีธาตุเหล็กและใช้เป็นชุดทดสอบภาคสนามในเชิงปริมาณวิเคราะห์ได้

1.4.2 เทคนิคและวิธีการในการสร้างชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด สำหรับเติมรีเอเจนต์อโทพีแนนโทรลินเพื่อเจือในระบบโซล-เจล รวมทั้งชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดที่ลดความซับซ้อนของกระบวนการวิเคราะห์ รวมทั้งยังสามารถนำมาใช้ตรวจวัดในเชิงปริมาณวิเคราะห์ได้

บทที่ 2

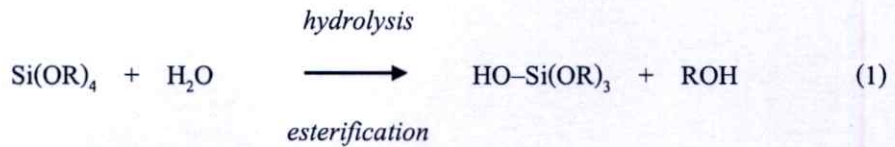
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กระบวนการโซล-เจล (sol-gel process) [1]

คอลลอยด์ (colloid) คือสารประกอบที่มีอนุภาคกระจายตัวอยู่ในวัฏภาคนั้นๆ โดยมีขนาดอนุภาคประมาณ 1-1000 นาโนเมตร ซึ่งแรงโน้มถ่วงของโลกมีผลน้อยมากต่ออนุภาคคอลลอยด์ โซล (sol) คืออนุภาคคอลลอยด์ของแข็งที่กระจายตัวอยู่ในวัฏภาคของเหลว แอโรซอล (aerosol) คืออนุภาคคอลลอยด์ที่กระจายตัวอยู่ในวัฏภาคของก๊าซ ในกรณีที่มีอนุภาคคอลลอยด์เป็นของเหลวจะเรียกว่า “หมอก” (fog) และในกรณีที่มีอนุภาคคอลลอยด์เป็นของแข็งจะเรียกว่า “ควัน” (smoke) และอิมัลชัน (emulsion) คืออนุภาคคอลลอยด์ของเหลวที่กระจายตัวอยู่ในวัฏภาคของเหลวอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งที่กล่าวมาข้างต้น สามารถนำมาสร้างเป็นพอลิเมอร์หรือชิ้นงานต่างๆ ได้เช่น ถ้าหากทำให้อนุภาคของโซลหนาแน่นขึ้น จะเปลี่ยนเป็นอนุภาคของเจล (gel) ซึ่งจะมีลักษณะเป็นของแข็งที่เกิดการเชื่อมโยงจนมีขนาดใหญ่ขึ้นซึ่งล้อมรอบอยู่ในวัฏภาคของเหลว

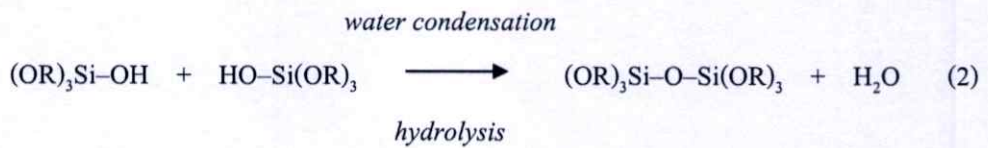
กระบวนการโซล-เจลประกอบด้วยสารตั้งต้น (precursor) ซึ่งเป็นอนุภาคคอลลอยด์ที่ประกอบด้วยธาตุโลหะ (metal) หรือธาตุกึ่งโลหะ (metalloid) ซึ่งล้อมรอบด้วยลิแกนด์ (ligand) ชนิดต่างๆ ตัวอย่างของสารตั้งต้นที่นิยมใช้โดยทั่วไปคือ อลูมิเนียมออกไซด์ (aluminum oxide) ที่มีเกลืออนินทรีย์ (inorganic salts) เป็นองค์ประกอบ เช่น $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ หรืออาจมีสารอินทรีย์ (organic) เป็นองค์ประกอบ เช่น $\text{Al}(\text{OC}_4\text{H}_9)_3$ ในส่วนของลิแกนด์นั้นสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มด้วยกัน ได้แก่ กลุ่มอัลคิล (alkyl) คือกลุ่มของโมเลกุลอัลเคน (alkane) ซึ่งไฮโดรเจนอะตอมหลุดออกไป 1 ตัว (โปรตอน) ตัวอย่างเช่น เมทิล (methyl; $\cdot\text{CH}_3$) หรือเอทิล (ethyl; $\cdot\text{C}_2\text{H}_5$) (โดยที่ \cdot หมายถึงอิเล็กตรอน; e^-) และกลุ่มอัลคอกซี (alkoxy) คือกลุ่มของโมเลกุลอัลคอกซิล (alkoxy) หรือแอลกอฮอล์ (alcohol) ที่โปรตอนหลุดออกไป 1 ตัว ตัวอย่างเช่น เมทอกซี (methoxy; $\cdot\text{OCH}_3$) หรือเอทอกซี ($\cdot\text{OC}_2\text{H}_5$) ตัวอย่างของลิแกนด์ที่นิยมใช้ แสดงดังตารางที่ 2.1

เมทัลอัลคอกไซด์ (metal alkoxide) มักเป็นสารตั้งต้นที่นิยมใช้ในการทดลองและศึกษาวิจัย ตัวอย่างเช่น เตตระเอทิลออร์โทซิลิเกต (tetraethyl orthosilicate; TEOS หรือ tetraethoxy silane), $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ เนื่องจากสามารถทำปฏิกิริยากับน้ำได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวนั้นจะเรียกว่า “ไฮโดรไลซิส” (hydrolysis) โดยสามารถแสดงได้ดังสมการ

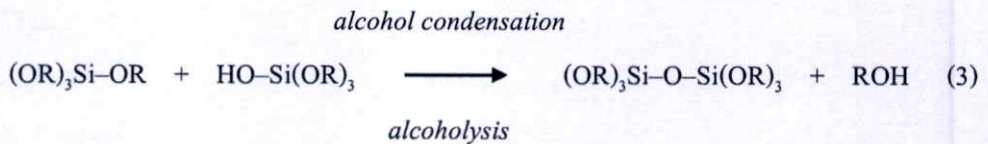


โดยที่ R คือ โปรตอนหรือลิแกนด์
ROH คือ แอลกอฮอล์

และเมื่อโมเลกุลที่ผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสแล้ว สามารถเกิดการเชื่อมโยงของโมเลกุลซึ่งเรียกว่า “ปฏิกิริยาควบแน่น” (*condensation reaction*)



หรือ



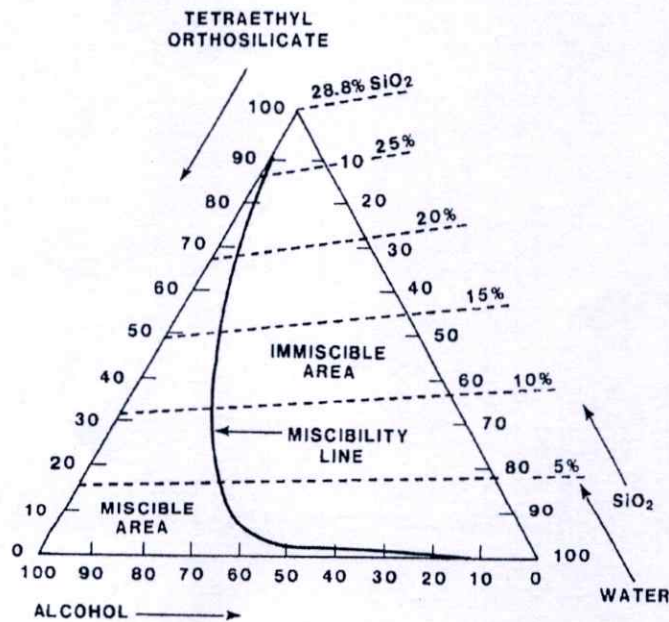
ตารางที่ 2.1 แสดงลิแกนด์ที่นิยมใช้เป็นสารตั้งต้น

Alkyl		Alkoxy	
methyl	•CH ₃	methoxy	•OCH ₃
ethyl	•C ₂ H ₅	ethoxy	•OC ₂ H ₅
n-propyl	•CH ₂ CH ₂ CH ₃	n-propoxy	•OCH ₂ CH ₂ CH ₃
iso-propyl	H ₃ C(•)HCH ₃	iso-propoxy	H ₃ C(•O)CHCH ₃
n-butyl	•CH ₂ (CH ₂) ₂ CH ₃	n-butoxy	•O(CH ₂) ₃ CH ₃
sec-butyl	H ₃ C(•C)HCH ₂ CH ₃	sec-butoxy	H ₃ C(•O)CHCH ₂ CH ₃
iso-butyl	•CH ₂ CH(CH ₃) ₂	iso-butoxy	•OCH ₂ CH(CH ₃) ₂
tert-butyl	•C(CH ₃) ₃	tert-butoxy	•OC(CH ₃) ₃

ปฏิกิริยาควบแน่นจะสร้างโมเลกุลขนาดเล็กออกมาเป็นผลพลอยได้ เช่น น้ำหรือแอลกอฮอล์ ซึ่งปฏิกิริยาควบแน่นนี้สามารถเกิดขึ้นได้อย่างต่อเนื่องเพื่อสร้างโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งเรียกปฏิกิริยาดังกล่าวว่า “พอลิเมอไรเซชัน” (*polymerization*)

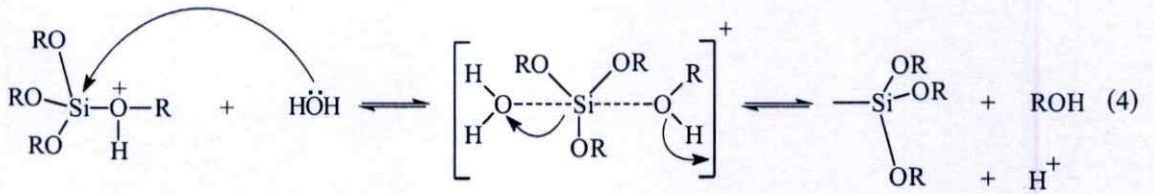
2.1.1 ปฏิกริยาไฮโดรไลซิส

ปฏิกริยาไฮโดรไลซิสสามารถเกิดขึ้นได้ โดยปราศจากการเติมตัวเร่งปฏิกริยา (catalyst) แต่ปฏิกริยาจะเกิดได้อย่างรวดเร็วและสมบูรณ์เมื่อมีการเติมตัวเร่งปฏิกริยา โดยตัวเร่งปฏิกริยานั้นโดยทั่วไปที่นิยมใช้คือ กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid; HCl) และแอมโมเนียม (ammonium; NH_4^+) ส่วนตัวเร่งปฏิกริยาชนิดอื่นๆ ได้แก่ กรดอะซิติก (acetic acid; CH_3COOH) โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (potassium hydroxide; KOH) หรือโพแทสเซียมฟลูออไรด์ (potassium fluoride; KF) เป็นต้น โดยความแรงและความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกริยากรดหรือเบส จะมีผลต่ออัตราเร็วและขอบเขตของปฏิกริยาไฮโดรไลซิส รวมทั้งอัตราส่วนของน้ำต่อซิลิกอน ($\text{H}_2\text{O}:\text{Si}$) มีผลต่อความสมบูรณ์ของการเกิดปฏิกริยา เนื่องจากน้ำและอัลคอกไซด์ไม่สามารถรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกันได้ (immiscible) จึงต้องเติมตัวทำละลาย (solvent) อื่นช่วย (homogenizing agent) เช่น แอลกอฮอล์ ให้เกิดการรวมตัวได้ดีขึ้น อย่างไรก็ตาม เจลสามารถเกิดขึ้นจากการผสมกันของน้ำและอัลคอกไซด์ได้โดยไม่ต้องเติมตัวทำละลายเพราะแอลกอฮอล์สามารถเกิดขึ้นได้จากผลพลอยได้ (by-product) ของปฏิกริยาไฮโดรไลซิสอยู่แล้ว ดังนั้น อัตราส่วนของน้ำต่อซิลิกอนนั้นมีอัตราส่วนที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 1 ถึง 50 และ ค่าความเข้มข้นของตัวเร่งปฏิกริยาที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 0.01 ถึง 7.0 โมลาร์ ซึ่งเป็นค่าที่นิยมใช้ในการศึกษาและสังเคราะห์จากกระบวนการโซล-เจล ตัวอย่างเฟสไดอะแกรม 3 ภูมิภาคของเตตระเอทิลออร์โทซิลิเกต น้ำ และ 95% แอลกอฮอล์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แสดงดังรูปที่ 2.1 และกลไกของการเกิดปฏิกริยาในสภาวะตัวเร่งกรดและเบส แสดงได้ดังต่อไปนี้

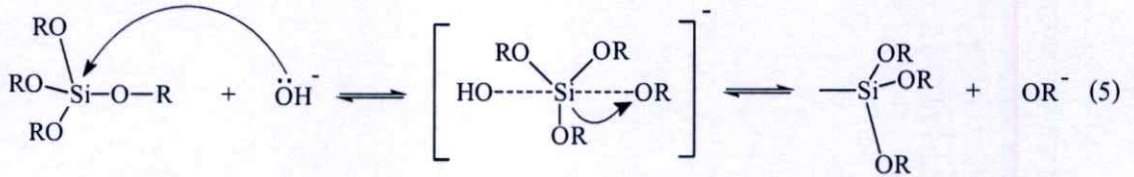


รูปที่ 2.1 ตัวอย่างเฟสไดอะแกรม 3 ภูมิภาคของเตตระเอทิลออร์โทซิลิเกต น้ำ และ 95% แอลกอฮอล์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

กลไกการเกิดปฏิกิริยาของตัวเร่งกรด; S_N2

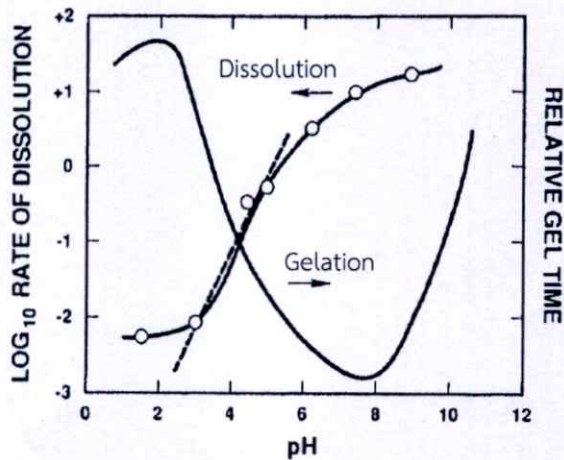


กลไกการเกิดปฏิกิริยาของตัวเร่งเบส; S_N2



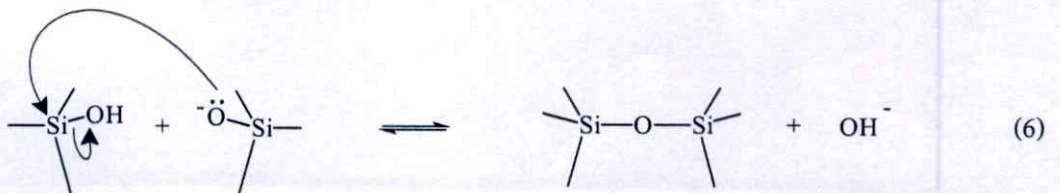
2.1.2 ปฏิกิริยาควบแน่น

ปฏิกิริยาควบแน่นเป็นการเชื่อมโยงโมเลกุลเล็กๆ ต่อกันให้ใหญ่ขึ้นด้วยพันธะซิลอกเซน (siloxane bonding) ในสภาวะเบสจะเกิดเป็นเจลได้เพิ่มขึ้น โดยปฏิกิริยาการควบแน่นจะเกิดอย่างต่อเนื่องที่ค่า pH 2 ถึง 8 การละลาย (dissolution) จะเพิ่มขึ้น ส่วนการแข็งตัว (gelation) จะไม่เกิดขึ้น และในช่วงค่า pH >8 การละลายจะลดลง ส่วนการแข็งตัวเป็นเจลจะเพิ่มขึ้น ผลของค่า pH ที่มีผลต่ออัตราการละลายและเวลาในการเกิดเจลแสดงในรูปที่ 2.2 และกลไกของการเกิดปฏิกิริยาควบแน่นแสดงได้ดังต่อไปนี้

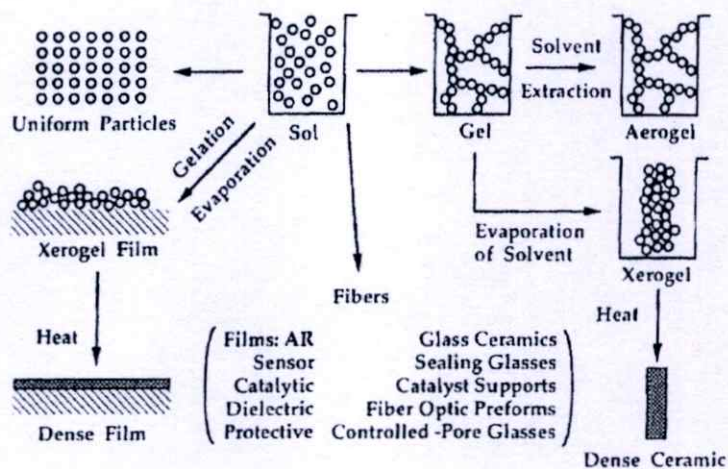


รูปที่ 2.2 ผลของค่า pH ต่ออัตราการละลายและเวลาในการเกิดเจล

กลไกการเกิดปฏิกิริยาควบแน่น



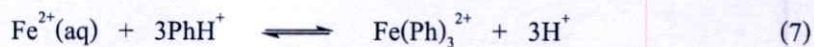
และเทคนิคในการสังเคราะห์โดยวิธีโซล-เจล แสดงในรูปที่ 2.3



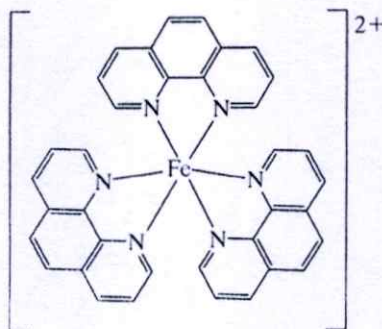
รูปที่ 2.3 เทคนิคในการสังเคราะห์โดยวิธีโซล-เจล

2.2 การเกิดสารเชิงซ้อนที่มีสีระหว่างอโทฟีแนนทรอลีนกับไอออนเหล็ก (II) [2]

ไอออนเหล็ก (II) รวมกับอโทฟีแนนทรอลีน (orthophenanthroline) จะให้สารที่มีสีแดงส้ม เป็นสารเชิงซ้อน ซึ่งสามารถแสดงการเกิดปฏิกิริยาได้ดังนี้



สูตรโครงสร้างของสารเชิงซ้อนเหล็ก (II) อโทฟีแนนทรอลีน เป็นดังนี้



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของสารเชิงซ้อนของเหล็กกับอโทฟีแนนทรอลีน

ค่าอัตราการเกิด (K_p) ของปฏิกิริยานี้มีค่าเท่ากับ 2.5×10^6 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากสมการค่า pH ของสารละลายมีผลกระทบต่อความคงตัว (stability) ของสารเชิงซ้อนนี้ โดยทั่วไป การเกิดสารเชิงซ้อนจะทำในสารละลาย pH ระหว่าง 2 ถึง 9 อย่างไม่ก็ดี โดยปกตินิยมใช้ที่ pH ประมาณ 3.5 เพื่อป้องกันการตกตะกอนของเกลือบางชนิดของเหล็ก เช่น เกลือฟอสเฟต

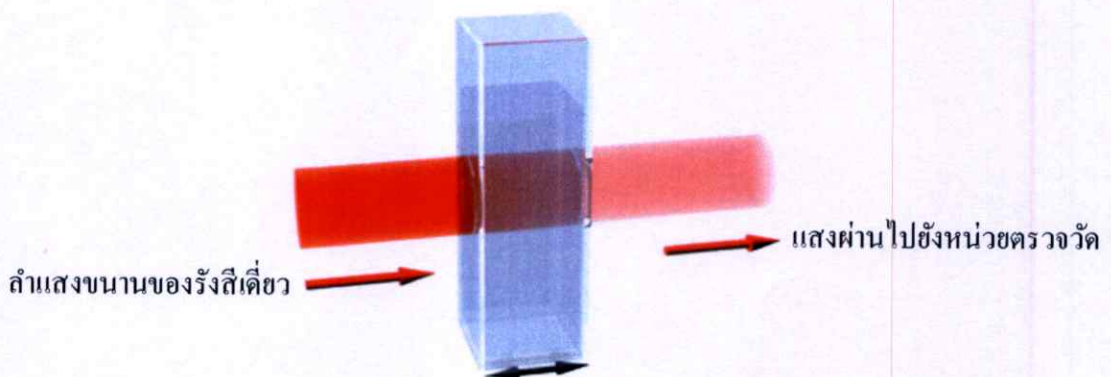
ในการทำให้เกิดสารเชิงซ้อนกับอโทฟีแนนโทรลิน จะต้องรีดิวซ์ไอออนเหล็กทั้งหมดในสารละลายให้เป็นไอออนเหล็ก (II) เสียก่อน โดยจะใช้ไฮดรอกไซด์อะมิโนไฮโดรคลอไรด์ (hydroxylamine hydrochloride) หรือไฮโดรควิโนน (hydroquinone) สีของสารเชิงซ้อนระหว่างไอออนเหล็ก (II) และอโทฟีแนนโทรลินจะอยู่ตัวเป็นระยะเวลานาน

แคทไอออนที่เป็นสารแทรกสอด (interference) ในการหาปริมาณของเหล็กด้วยวิธีนี้ สารละลายจะต้องไม่มีสี หรือไม่มีไอออนซิลเวอร์และบิสมัท จะทำให้เกิดตะกอนกับรีเอเจนต์ที่ใช้ ส่วนไอออนของแคดเมียม (II) พรอท (II) และสังกะสี (II) จะทำให้เกิดสารเชิงซ้อนกับรีเอเจนต์ที่ไม่มีสี ซึ่งจะทำให้สารละลายที่ได้มีสีจางลง โมลิบดีนัม ทังสแตน ทองแดง โคบอลต์ นิกเกิลและดีบุก อาจทำให้ผลการหาปริมาณคลาดเคลื่อน

การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนระหว่างไอออนเหล็ก (II) อโทฟีแนนโทรลิน จะวัดในช่วงความยาวคลื่น 508 นาโนเมตร โดยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

2.3 กฎการดูดกลืนแสงของสารละลาย (Bouguer's law และ Beer's law) [2]

เมื่อผ่านลำแสงเข้าไปในเซลล์ที่บรรจุสารละลาย จะเกิดการดูดกลืนแสงขึ้นเป็นบางส่วน และพลังงานของแสงก็จะสูญเสียให้แก่สารละลายไปเป็นบางส่วน ดังรูปที่ 2.5 พลังงานของแสงที่ถูกถ่ายเทให้แก่สาร ซึ่งแสงจะสามารถผ่านได้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับโครงสร้างของโมเลกุลของสารนั้นและขึ้นกับช่วงความยาวคลื่นของลำแสง



ความยาวของเซลล์ดูดกลืนแสงที่ลำแสงผ่าน (ความยาว l)

รูปที่ 2.5 แผนภาพแสดงการดูดกลืนแสงของสารละลายในคิวเวตต์ (cuvette)

ถ้ากำหนดให้ P_0 เป็นพลังงานของลำแสงที่ตกกระทบเซลล์ดูดกลืนแสง
 P เป็นพลังงานของลำแสงที่ออกจากเซลล์ดูดกลืนแสง

พลังงานของลำแสงเป็นปริมาณที่วัดโดยแสงตกกระทบกับโฟโตเซลล์ (photocell) ในหน่วยตรวจวัด (detector) อัตราส่วนระหว่างพลังงานของลำแสงที่ตกกระทบและพลังงานของลำแสงหลังผ่านเซลล์เรียกว่า “ทรานสมิตแตนซ์” (transmittance, T) โดยปกติจะแสดงในลักษณะร้อยละ (percent of transmittance)

$$T = \frac{P}{P_0} \quad (8)$$

ค่าของ \log ฐานสิบของ $\frac{1}{T}$ คือ ค่าแอบซอร์เบแนนซ์ (absorbance) แทนด้วย A

$$A = \log \frac{1}{T} = -\log T \quad (9)$$

ดังนั้น
$$A = \log \frac{P_0}{P} \quad (10)$$

ถ้ากำหนดให้ c เป็นความเข้มข้นของสารที่ดูดกลืนแสงในสารละลาย
 b เป็นความยาวของเซลล์ที่ลำแสงผ่าน (optical path length)

ตามกฎของ Bouguer
$$\log \frac{P_0}{P} = k_1 b \quad (11)$$

ตามกฎของเบียร์ (Beer's law)
$$\log \frac{P_0}{P} = k_2 c \quad (12)$$

k_1 เป็นค่าคงที่ซึ่งขึ้นกับชนิดของสารที่เป็นตัวดูดกลืนแสงในสารละลาย ช่วงคลื่นของแสงที่ผ่านและความเข้มข้นของสารที่เป็นตัวดูดกลืนแสง

k_2 เป็นค่าคงที่ซึ่งขึ้นกับชนิดของสารที่เป็นตัวดูดกลืนแสงในสารละลาย ช่วงคลื่นของแสงที่ผ่านและความยาวของเซลล์ที่ลำแสงผ่าน

จากกฎทั้งสองรวมกันจะได้ กฎการดูดกลืนแสงของสารในสารละลาย ดังนี้

$$\log \frac{P_0}{P} = kbc \quad (13)$$

$$A = kbc \quad (14)$$

ในกรณีที่ c มีหน่วยเป็นกรัมต่อลิตร k เรียกว่า “แอบซอร์บทิวิตี” (absorptivity หรือ extinction coefficient) แต่กรณีที่ c มีหน่วยเป็นโมลต่อลิตร k จะเรียกว่า “โมลาร์แอบซอร์บทิวิตี” (molar absorptivity, ϵ) และจะมีหน่วยเป็น โมล⁻¹ต่อเซนติเมตร⁻¹ ($1 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)

$$A = \epsilon bc \quad (15)$$

2.4 ชุดทดสอบภาคสนาม (on-site monitoring test kit)

ชุดทดสอบภาคสนาม โดยทั่วไปแล้วมีจุดประสงค์เพื่อใช้สำหรับการทดสอบหรือการวิเคราะห์สารที่ได้จากหน้างาน (on-site) หรือสายงานการผลิตในโรงงานอุตสาหกรรม ด้วยวิธีการวิเคราะห์ที่ไม่ยุ่งยากและให้ผลการวิเคราะห์รวดเร็ว จึงถือว่าเป็นจุดเด่นของชุดทดสอบ การนำชุดทดสอบภาคสนามมาใช้ สามารถนำมาทดสอบกับตัวอย่างที่มีจำนวนมากได้ รวมทั้งสามารถทดสอบได้ในสภาวะจริงของสารตัวอย่างนั้น เนื่องจากการนำตัวอย่างมาทดสอบยังห้องปฏิบัติการ อาจมีการปนเปื้อนหรือการสลายตัวของตัวอย่าง ก่อนที่ตัวอย่างจะส่งวิเคราะห์มายังห้องปฏิบัติการ ชุดทดสอบภาคสนามเหมาะสำหรับการคัดกรอง (screening) ตัวอย่างที่มีจำนวนมาก ก่อนนำส่งตัวอย่างเข้าสู่ห้องปฏิบัติการ แต่ชุดทดสอบภาคสนามสามารถทำได้เพียงการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (qualitative analysis) ไม่สามารถนำมาใช้วิเคราะห์ในเชิงปริมาณได้ (quantitative analysis) จึงทำให้เป็นข้อเสียของชุดทดสอบภาคสนาม

จุดเด่นของชุดทดสอบภาคสนาม [3]

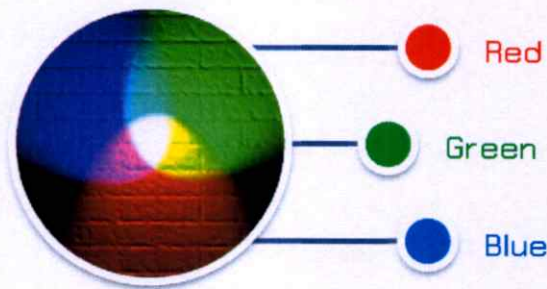
1. ใช้ได้ง่าย โดยผู้ใช้ไม่ต้องมีความเชี่ยวชาญด้านนั้นๆ โดยตรง กระบวนการทดสอบ จึงต้องไม่สลับซับซ้อนเกินไป
2. สามารถนำไปใช้ในสภาวะของภาคสนามที่เกี่ยวข้อง กระบวนการทดสอบ จึงต้องไม่ยุ่งยาก อาจสามารถใช้งานในสภาวะที่ต่างจากห้องปฏิบัติการได้ เช่น ไม่มีโต๊ะ ไม่มีไฟฟ้า ไม่มีน้ำ หรือ มีสภาวะอากาศแปรปรวน เป็นต้น
3. ใช้เวลาทดสอบน้อยเพราะเป็นการใช้ในภาคสนาม ซึ่งมักไม่สามารถรอผลการทดสอบที่ใช้เวลานานได้
4. น้ำยาและสารเคมีต่างๆ ที่ใช้ จะต้องมีความเสถียร เพื่อให้สามารถเก็บไว้ใช้เป็นเวลานาน
5. ราคาถูก เพราะการทดสอบภาคสนามมักจำเป็นต้องทำการทดสอบตัวอย่างจำนวนมาก
6. มีความไวและความเข้มข้นที่วัดได้เป็นไปตามที่ต้องการ
7. มีความถูกต้องแม่นยำ

2.5 ระบบสี (Color system) [4]

สี คำนิยามโดยปกติแล้วจะหมายถึงแม่สีทั้ง 3 สี แต่อย่างไรก็ตามการใช้สีกับงานกราฟิกหรือในงานสำหรับคอมพิวเตอร์จะมีรายละเอียดหลายประการ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของระบบสีซึ่งจะเกี่ยวข้องกับการแสดงผลของแสงที่แสดงบนจอคอมพิวเตอร์ โดยมีลักษณะการแสดงผลคือ ถ้าไม่มีการแสดงสีใดเลยบนจอภาพจะแสดงเป็น “สีดำ” หากสีทุกสีแสดงผลพร้อมกัน จะเห็นสีบนจอภาพ เป็น “สีขาว” ส่วนสีอื่นๆ เกิดจากการแสดงสีหลายๆ สี แต่มีค่าแตกต่างกัน สีที่ใช้ในงานด้านกราฟิกทั่วไป มีด้วยกันหลายระบบ แต่ระบบที่นิยมใช้ได้ด้วยกัน 2 ระบบ

2.5.1 RGB (Red-Green-Blue)

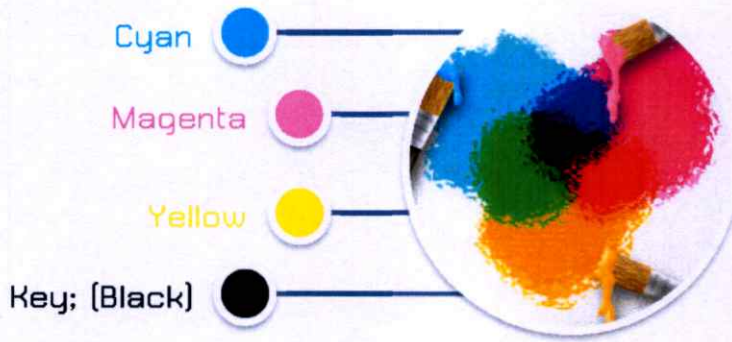
เป็นระบบสีที่ประกอบด้วยแม่สี 3 สี คือ สีแดง (Red) สีเขียว (Green) และสีน้ำเงิน (Blue) เมื่อนำสีมาผสมผสานกัน ซึ่งสีหนึ่งๆ จะมีค่าสีเท่ากับ 256 ระดับ (ตั้งแต่ 0 - 255) ทำให้เกิดสีต่างๆ บนจอคอมพิวเตอร์มากถึง 16.7 ล้านสี (256 x 256 x 256) ซึ่งใกล้เคียงกับสีที่ตาคนมองเห็นได้อย่างปกติที่ได้จากการผสมสีขึ้นอยู่กับความเข้มของสี โดยถ้าสีมีความเข้มมาก เมื่อนำมาผสมกันจะทำให้เกิดเป็นสีขาว จึงเรียกระบบสีนี้ว่า “การผสมสีแบบบวก” (additive) ซึ่งแผนภาพสีแบบ RGB แสดงดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 แสดงแผนภาพสีแบบ RGB

2.5.2 CMYK (Cyan-Magenta-Yellow-Key)

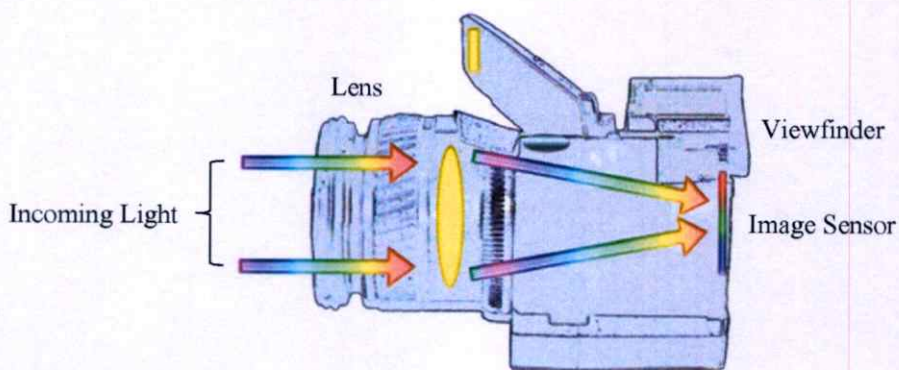
เป็นระบบสีที่ใช้กับระบบเครื่องพิมพ์ที่พิมพ์ออกทางกระดาษหรือวัสดุผิวเรียบอื่นๆ ซึ่งประกอบด้วยสีหลัก 4 สี คือ สีฟ้า (Cyan) สีม่วงแดง (Magenta) สีเหลือง (Yellow) และสีดำ (Black หรือ Key) เมื่อนำมาผสมกันจะเกิดสีเป็นสีดำ แต่จะไม่ดำสนิท เนื่องจากหมึกพิมพ์นั้นมีความไม่บริสุทธิ์จึงเป็น การผสมสีแบบลบ (Subtractive) หลักการเกิดสีของระบบนี้คือ หมึกสีหนึ่งจะดูดกลืนแสงจากสี หนึ่ง แล้วสะท้อนกลับออกมาเป็นสีต่างๆ เช่น สีฟ้าดูดกลืนแสงของสีม่วง แล้วสะท้อนออกมาเป็นสีน้ำเงิน ซึ่งจะสังเกตได้ว่าสีที่สะท้อนออกมาจะเป็นสีหลักของระบบ RGB การเกิดสีในระบบนี้จึงตรงข้ามกับการเกิดสีในระบบ RGB แผนภาพสีแบบ CMYK แสดงดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 แสดงแผนภาพสีแบบ CMYK

2.6 หลักการทำงานของกล้องถ่ายภาพดิจิทัล [5]

ส่วนประกอบของกล้องถ่ายภาพมีหลักการทำงานเช่นเดียวกับกล้องฟิล์ม 35 SLR หรือ 35 เรนจ์ไฟเดอร์ (range finder) ที่ใช้ฟิล์มในสมัยโบราณ เพียงแต่กล้องถ่ายภาพดิจิทัลนั้นไม่ต้องใช้ฟิล์มถ่ายภาพ กล้องถ่ายภาพดิจิทัลจะใช้อิมเมจเซนเซอร์ (image sensor) และหน่วยความจำหรือมีเดียสตอเรจ (media storage) แทนระบบเดิม ซึ่งส่วนประกอบหลักของกล้องถ่ายภาพดิจิทัลนั้นประกอบด้วยเลนส์ อิมเมจเซนเซอร์ ช่องมองภาพ ปุ่มกดชัตเตอร์ ปุ่มควบคุมหลักและจอแสดงผล เลนส์ทำหน้าที่รวมแสง โดยมีรูรับแสง (aperture) ซึ่งสามารถปรับขนาดให้แสงเข้ามากหรือน้อย และมีอิมเมจเซนเซอร์ทำหน้าที่จับภาพเมื่อแสงผ่านเลนส์และรูรับแสงจะกระทบเซนเซอร์ ซึ่งจะประมวลผลผ่านกระบวนการของการสร้างภาพเป็นไฟล์ดิจิทัลและส่งข้อมูลดิจิทัลนั้นไปไว้ที่หน่วยความจำของกล้อง ดังนั้น สามารถสรุปกระบวนการของกล้องถ่ายภาพดิจิทัลดังรูปที่ 2.8

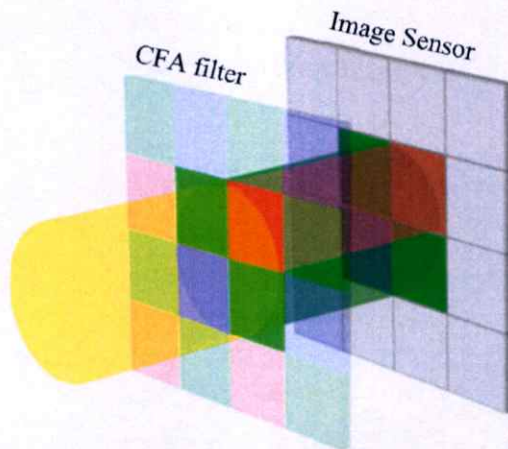


รูปที่ 2.8 แสดงแผนภาพการทำงานของกล้องดิจิทัล

หลักการของการเกิดภาพเป็นดังนี้ เมื่อแสงไปตกกระทบวัตถุที่จะถ่ายภาพ แสงจะสะท้อนเข้ามายังกล้องถ่ายภาพดิจิทัลผ่านเลนส์ ซึ่งเลนส์ทำหน้าที่รวมแสงและโฟกัสจุดชัด ไปยังอิมเมจเซนเซอร์แปลงแสงเป็นค่าทางไฟฟ้า ค่าทางไฟฟ้านี้คือสัญญาณภาพ ซึ่งจะส่งไปยังตัวประมวลผลให้กลายเป็นข้อมูลภาพดิจิทัล จากนั้นจะนำไปเก็บไว้ในหน่วยความจำของกล้อง

อิมเมจเซนเซอร์ ซึ่งถูกผลิตออกมาหลายแบบหลายชนิดมีรายละเอียดและได้รับการพัฒนาอย่างมาก ซึ่งเป็นเสมือนหัวใจของกล้อง เนื่องจากทำหน้าที่แทนฟิล์มหรือเป็นเซนเซอร์รับแสง (light sensor) แต่หลักการก็คือ การแปลงแสงให้เป็นกระแสไฟฟ้า จากนั้นผ่านแผงวงจรชุด ADC หรือที่เรียกว่า "A/D" (analogue digital converter) เพื่อแปลงกระแสไฟฟ้าชนิด analogue เป็นสัญญาณชนิดดิจิทัล ซึ่งภาพจะถูกเก็บอยู่ในรูปของไฟล์ดิจิทัลและถูกประมวลผลนำไปจัดในหน่วยความจำ ในปัจจุบันอิมเมจเซนเซอร์มีหลายชนิดด้วยกัน

CCD Sensor (charge coupled device) เป็นอิมเมจเซนเซอร์ที่ใช้กันในกล้องถ่ายภาพดิจิทัลในยุคแรกๆ หลักการของ CCD คือโฟโตไดโอด (photodiode) ที่อยู่บน CCD มีลักษณะเป็นตาราง (grid) โฟโตไดโอดทำงานโดยจับโฟตอน (photon) ของแสง แล้วแปลงออกมาเป็นค่าจุดพิกเซล (pixel) ของภาพ การเรียงของโฟโตไดโอดเป็นการเรียงตามหลักการผสมสีเรียกว่า "การจัดเรียงสีของ CFA" (color filter array) โดยที่โฟโตไดโอดจะบอกได้เพียงว่า แสงนั้นมีหรือสว่างและความเข้มแสงเท่านั้น ไม่สามารถแยกได้ว่าเป็นแสงสีใด แต่เพื่อให้กล้องบันทึกภาพเป็นสีได้ จึงต้องแยกสีต่างๆ ออกจากกัน โดยให้แสงแต่ละสีไปตกกระทบ CCD ที่แยกชุดกัน การใช้ตัวกรองแสงแยกเป็นสีๆ คือการใช้แผ่นกรองแสง (filter) สีต่างๆ วางซ้อนข้างหน้าแผง CCD ซึ่งคือการเรียงสีแบบ CFA ฟิลเตอร์สีที่นิยมใช้ทั่วไปในกล้องดิจิทัลระดับกลางและระดับล่างคือฟิลเตอร์ RGB โดยเมื่อแสงสีผ่านแผ่นกรองแสงกระทบ CCD ณ จุดใดๆ ก็จะทำให้สีตามแผ่นกรองแสง ณ จุดนั้นๆ และภาพแต่ละจุดนั้นหรือพิกเซล เมื่อนำมารวมกันกับพิกเซลสีอื่นๆ ก็จะทำให้เกิดภาพที่ปรากฏเหมือนจริงตามที่เลนส์รับแสงมา การเรียงของโฟโตไดโอดและแผ่นกรองแสงแบบ CFA แสดงดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 การเรียงของโฟโตไดโอดและแผ่นกรองแสงแบบ CFA

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.7.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการวิเคราะห์หาปริมาณของไอออนเหล็ก

จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมา พบว่ามีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณของไอออนเหล็ก ซึ่งเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัดเช่น เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี [2, 9, 13, 14, 15, 16] เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมทรี [10, 11, 13] เทคนิคอินดักทีฟพีลล์เพอร์พลาสมา-แมสสเปกโทรเมทรี [17] เทคนิคอิเล็กโตรโฟริซิส [18] และเทคนิคโวลแทมเมทรี [19] ซึ่งเทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมทรีอาศัยการทำปฏิกิริยาของคีเลตตั้งเเจนต์กับไอออนเหล็ก เพื่อให้เกิดสารเชิงซ้อนที่มีสี แล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เป็นเทคนิคที่ง่ายและนิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง สารที่สามารถทำปฏิกิริยากับไอออนเหล็กนั้นมีหลากหลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น ออโทพีแนนโทรีนสามารถทำปฏิกิริยากับไอออนเหล็ก ซึ่งถูกรีดิวซ์ให้อยู่ในรูปไอออนเหล็ก (II) ทั้งหมด แล้วเกิดเป็นสารเชิงซ้อนที่สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 508 นาโนเมตร [2]

2.7.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับชุดทดสอบและการรายงานผลการตรวจวัด

จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมา พบว่าการนำชุดทดสอบมาใช้ นั้น มักนิยมใช้ในการตรวจวัดในเชิงคุณภาพวิเคราะห์ แต่งานวิจัยบางส่วนก็พยายามที่จะพัฒนาเพื่อใช้ตรวจวัดในเชิงปริมาณวิเคราะห์ [1] ซึ่งสารตั้งต้นที่ใช้สร้างชุดทดสอบนั้นมีมากมายหลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น โชล-เจล [7, 8, 20, 21] เนื่องจากโชล-เจลสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มบางและยึดเกาะกับซับสเตรตได้ดี จึงมักมีการศึกษาการนำโชล-เจล มาเจือด้วยสารคีเลตตั้งเเจนต์ เมื่อรีเอเจนต์ทำปฏิกิริยากับไอออนของเหล็ก แล้วเกิดเป็นสารเชิงซ้อนที่มีสี ซึ่งจะต้องบันทึกผลความเข้มสีที่เกิดขึ้นและรายงานผลในรูปแบบผลลัพธ์ทางสมการคณิตศาสตร์หรือสมการระยะทางแบบยูคลิด (Euclidean distance) [20] แต่ก็มี การรายงานผลเป็นค่าการสะท้อนแสง [6] เพื่อให้เข้าใจได้ง่ายขึ้นในงานด้านเคมีวิเคราะห์

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

1. กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; A.R. grade – Fluka)
2. กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid; A.R. grade – Carlo erba)
3. โซเดียมซิเตรต (Sodium citrate; A.R. grade – Carlo erba)
4. เตตระเอทิลออร์โทซิลิเกต (Tetraethyl orthosilicate; A.R. grade – Acros organic)
5. ไตรตัน เอ็กซ์ 100 (Triton[®] X-100; A.R. grade – Fisher scientific)
6. น้ำปราศจากไอออน (Deionized water – Milli Q)
7. ออโทฟีแนนทโรวิน โมโนไฮเดรต (Orthophenanthroline monohydrate; A.R. grade – Carlo erba)
8. เอทานอลปราศจากน้ำ (Absolute ethanol; A.R. grade – Carlo erba)
9. แอมโมเนียมเฟอร์รัสซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต (Ammonium ferrous sulfate hexahydrate; A.R. grade – Ajax finechem)
10. ไฮดรอกซิลามีนไฮโดรคลอไรด์ (Hydroxylamine hydrochloride; A.R. grade – Carlo erba)

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Field Emission Scanning Electron Microscope: FE-SEM) ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ, TMEC
2. เครื่องเคลือบสารด้วยการระเหย (Thermal evaporator): Auto306, Edwards
3. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer): Jasco V-630
4. เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Atomic absorption spectrophotometer): AA680, Shimadzu
5. เครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH meter): Model type 827, Metrohm
6. เครื่องชั่งละเอียด 5 ตำแหน่ง (Analysis balance): Model type BP 210 D, Sartorius
7. เครื่องสแกนเนอร์ (HP all-in-one deskjet F735)

8. กล้องถ่ายภาพดิจิทัล (Sony Camera A-330)
9. กระดาษกรอง (Whatman No. 2)
10. เครื่องกวนแม่เหล็กพร้อมแท่งกวน (Magnetic stirrer): Model type 728, Ecochemie
11. เครื่องแก้ว (Glassware laboratory)
12. ช้อนตักสารสแตนเลส (Spatula stainless)
13. ตู้อบสารเคมี (Oven)
14. แท่งแม่เหล็กสำหรับกวนสาร (Magnetic bar)
15. ไมโครปิเปตขนาด 10.0 – 100.0 ไมโครลิตร (Micropipette): Model type PW100, Witeg
16. ไมโครปิเปตขนาด 0.50 – 10.00 ไมโครลิตร (Micropipette): Model type PW10, Witeg
17. เฟรมสกรีนสำหรับพิมพ์กระดาษกรอง
18. ยางซิลิโคน

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 ศึกษาลักษณะและรูปร่างชุดทดสอบบนกระดาษ

3.2.1.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

3.2.1.2 การเตรียมสารละลายโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนน โทรีน

3.2.1.3 ชุดทดสอบบนกระดาษแบบสี่เหลี่ยม (rectangular test)

3.2.1.4 ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด (spot test)

3.2.2 ศึกษากระบวนการสำหรับชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด (paper spot test)

3.2.2.1 ระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนน โทรีน (sol-gel system)

3.2.2.2 ระบบอโทพีแนน โทรีนละลายในตัวทำละลายเอทานอลปราศจากน้ำ

3.2.3 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอโทพีแนน โทรีนในระบบโซล-เจลสำหรับชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดสำหรับตรวจวัดปริมาณ ไอออนเหล็ก (II)

3.2.4 ศึกษาอุปกรณ์และโปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

3.2.4.1 ศึกษาอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบ

บนกระดาษแบบจุด

3.2.4.1.1 กล้องถ่ายภาพดิจิทัล (digital camera)

3.2.4.1.2 เครื่องสแกนเนอร์ (scanner)

3.2.4.2 ศึกษาโปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบ

บนกระดาษแบบจุด

- 3.2.4.2.1 Adobe Photoshop CS2™
- 3.2.4.2.2 Image J™
- 3.2.4.3 ศึกษาความละเอียดที่เหมาะสมสำหรับการสแกนภาพ
- 3.2.5 คุณลักษณะทางกายภาพของพื้นผิวกระดาษสำหรับชุดทดสอบบนกระดาษ
- 3.2.6 ศึกษาการรายงานผลค่าความเข้มแสง (light intensity)
 - 3.2.6.1 ความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance RGB)
 - 3.2.6.2 ค่าการสะท้อนแสง (reflectance RGB)
- 3.2.7 ศึกษาช่วงใช้งานของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด (working range)
- 3.2.8 วิเคราะห์ตัวอย่างและเทียบผลกับวิธีมาตรฐาน (validation)
 - 3.2.8.1 การวิเคราะห์ตัวอย่างเม็ดยวี่วิตามินที่มีธาตุเหล็ก
 - 3.2.8.1.1 การเตรียมตัวอย่างเม็ดยวี่วิตามินที่มีธาตุเหล็ก
 - 3.2.8.1.2 การเตรียมสารละลายเม็ดยวี่ที่มีธาตุเหล็กสำหรับชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด
 - 3.2.8.1.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด
 - 3.2.8.2 การเทียบผลกับวิธีมาตรฐาน (validation)
 - 3.2.8.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน
 - 3.2.8.2.2 การเตรียมตัวอย่างเม็ดยวี่วิตามินที่มีธาตุเหล็ก
 - 3.2.8.2.3 การวัดค่าดูดกลืนแสง
- 3.2.9 ศึกษาอายุการใช้งานชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด
- 3.2.10 พัฒนาและปรับปรุงประสิทธิภาพชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด
 - 3.2.10.1 ลดกระบวนการและขั้นตอนการวิเคราะห์ตัวอย่าง ไอออนเหล็ก (II)
 - 3.2.10.1.1 ระบบชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจืออโทพีแนน โทรีลินและเติมชั้นตัวรีดิวิซ์ลงบนชุดทดสอบ
 - 3.2.10.1.2 ระบบสารละลายโซล-เจลเจืออโทพีแนน โทรีลินที่ผสมตัวรีดิวิซ์
 - 3.2.10.1.3 ทดสอบประสิทธิภาพชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดที่พัฒนาขึ้นเทียบกับชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดรูปแบบเดิม
 - 3.2.10.2 ปรับปรุงประสิทธิภาพของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่าง ไอออนเหล็กผสมของ ไอออนเหล็ก (II) และ ไอออนเหล็ก (III)
 - 3.2.10.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน
 - 3.2.10.2.2 ทดสอบประสิทธิภาพชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดเพื่อวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็กผสมของ ไอออนเหล็ก (II) และ ไอออนเหล็ก (III)

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 ศึกษาลักษณะและรูปร่างชุดทดสอบบนกระดาษ

3.3.1.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

1) สารละลายโซเดียมซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 25.0 (w/v)

ชั่งโซเดียมซัลเฟตมา 25.0 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนเทใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากัน

2) สารละลายไฮดรอกไซด์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 10.0 (w/v)

ชั่งไฮดรอกไซด์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์มา 10.0 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายโซเดียมซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 25.0 (w/v) ลงในสารละลายไฮดรอกไซด์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์มีค่า pH เท่ากับ 4.5

3) สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 โมลาร์

ตวงสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 8.20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากัน

4) สารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งแอมโมเนียมเพอร์ซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต 7.0200 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 50 มิลลิลิตร จากนั้น เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1.00 มิลลิลิตร เทใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากัน

5) สารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) สำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน

เปิดสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 0.00, 1.00, 2.50, 5.00 และ 10.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายไฮดรอกไซด์ของโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 10.0 (w/v) จำนวน 1.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้น 0.00, 10.00, 25.00, 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

3.3.1.2 การเตรียมสารละลายโซล-เจลเจือด้วยอโทฟีแนนโทรลิน

ปีเปตสารละลายเตตระเอทิลอโทซิลิเกต 2.00 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นปีเปตสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 โมลาร์ 1.00 มิลลิลิตร เติมอโทฟีแนนโทรลิน 0.0100 กรัม ที่ละลายด้วยตัวทำละลายเอทานอลปราศจากน้ำ 2.00 มิลลิลิตร จากนั้นหยดไตรตันเอ็กซ์ 100[®] ลงในบีกเกอร์เดิม 7 หยด แล้วปั่นกวนสารละลายจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน (homogenous) ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง จะได้สารละลายโซล-เจลเจือด้วยอโทฟีแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.20 (w/v)

3.3.1.3 ชุดทดสอบบนกระดาษแบบสี่เหลี่ยม (rectangular test)

นำกระดาษกรองเบอร์ 2 ตัดให้ได้ขนาด 50.0 x 10.0 มิลลิเมตร จุ่มลงในสารละลายโซล-เจลเจือด้วยอโทฟีแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.20 (w/v) ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.1.2 ประมาณ 20.0 มิลลิเมตรเป็นเวลา 5 วินาที จากนั้นทิ้งเอาไว้ให้แห้งประมาณ 30 นาที

ทดสอบการเกิดสารเชิงซ้อนบนกระดาษ จุ่มชุดทดสอบบนกระดาษแบบสี่เหลี่ยม ลงบนสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้น 0.00, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00, 10.00, 20.00, 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทิ้งเอาไว้สักครู่ประมาณ 1 นาที บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบบนกระดาษแบบสี่เหลี่ยม

3.3.1.4 ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด (spot test)

หยดสารละลายโซล-เจลเจือด้วยอโทฟีแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.20 (w/v) ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.1.2 จำนวน 10.00 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรองเบอร์ 2 จากนั้นทิ้งเอาไว้ให้แห้งประมาณ 30 นาที

ทดสอบการเกิดสารเชิงซ้อนบนกระดาษ หยดสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้น 0.00, 10.00, 25.00, 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อลิตร 10.00 ไมโครลิตร ลงบนบริเวณหยดสารละลายโซล-เจลเอาไว้ ทิ้งเอาไว้สักครู่ประมาณ 1 นาที บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

3.3.2 ทดสอบระบบสำหรับชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด (paper spot test)

3.3.2.1 ระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทฟีแนนโทรลิน (sol-gel system)

การเตรียมชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทฟีแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.20 (w/v) เช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.2 จากนั้น เมื่อสารละลายเป็นเนื้อเดียวกันแล้ว นำมาหยดลงบนกระดาษกรองเบอร์ 2 จำนวน 10.00 ไมโครลิตร ทิ้งเอาไว้ให้แห้งประมาณ 30 นาที จะได้ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทฟีแนนโทรลิน

ทดสอบการเกิดสารเชิงซ้อนบนชุดทดสอบแบบจุด โดยหยดสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้น 0.00, 10.00, 25.00, 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 10.00 ไมโครลิตร ลงบนบริเวณหยดสารละลายโซล-เจล ที่งอไว้สักครู่ประมาณ 1 นาทีบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล จากนั้น นำภาพที่ได้มาบันทึกค่าความเข้มแสง (RGB) ด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ นำค่าความเข้มแสงดังกล่าว มาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มชั้นไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance; ED) [20] จากสมการทางคณิตศาสตร์หรือเรียกว่า “สมการเชิงเส้นแบบยุคลิด”

$$ED = \sqrt{(\Delta I_R)^2 + (\Delta I_G)^2 + (\Delta I_B)^2} \quad (1)$$

โดยที่ Δ	คือ ผลต่างของแสงที่จุด blank กับค่าความเข้มแสง ณ จุดที่เกิดปฏิกิริยากับเหล็กที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน
R	คือ ค่าความเข้มแสงสีแดง
G	คือ ค่าความเข้มแสงสีเขียว
B	คือ ค่าความเข้มแสงสีน้ำเงิน

หมายเหตุ แสงสีขาวจะประกอบด้วยแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน ซึ่งมีค่าความเข้มแสงสูงสุดเท่ากับ 255, 255, 255 (R, G, B) และแสงสีค่าจะค่าความเข้มแสงต่ำสุดเท่ากับ 0, 0, 0

3.3.2.2 ระบบอโทพีแนนโทรีนละลายในตัวทำละลายเอทานอลปราศจากน้ำ (absolute ethanol system)

การเตรียมชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบเอทานอลปราศจากน้ำ โดยชั่งอโทพีแนนโทรีน 0.0500 กรัม ละลายในตัวทำละลายเอทานอลปราศจากน้ำ 10.00 มิลลิลิตร แล้วปั่นจนสารละลายจนสารละลายรวมเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้สารละลายอโทพีแนนโทรีนเข้มข้นร้อยละ 0.50 (w/v) จากนั้น หยดลงบนกระดาษกรองเบอร์ 2 จำนวน 10.00 ไมโครลิตร ที่งอไว้ให้แห้งสักครู่ จะได้ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

ทดสอบการเกิดสารเชิงซ้อนบนชุดทดสอบแบบจุด โดยหยดสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้น 0.00, 10.00, 25.00, 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 10.00 ไมโครลิตรลงบนชุดทดสอบ ที่งอไว้สักครู่ประมาณ 1 นาที บันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล จากนั้น นำภาพที่ได้มาบันทึกค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ นำค่าความเข้มแสงแปลงเป็นค่าความแตกต่างความเข้มแสง แล้วพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มชั้นไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสงเช่นเดียวกับข้อ 3.3.2.1

3.3.3 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอโทพีแนนโทรลินในระบบโซล-เจลสำหรับชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดสำหรับตรวจวัดปริมาณไอออนเหล็ก (II)

เตรียมสารละลายโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลิน เช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.2 แต่เปลี่ยนปริมาณอโทพีแนนโทรลินที่ใช้เป็น 0.0200 และ 0.0300 กรัม จะได้สารละลายโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.40 (w/v) และ 0.60 (w/v) ตามลำดับ

3.3.4 ศึกษาอุปกรณ์และโปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

3.3.4.1 ศึกษาอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

3.3.4.1.1 กล้องถ่ายภาพดิจิทัล (digital camera)

นำชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดระบบโซล-เจลเจืออโทพีแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) ที่เกิดปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้น 0.00, 10.00, 25.00, 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ บันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัลด้วยความเร็วชัตเตอร์ (shutter speed) เท่ากับ 1/160 วินาทีและขนาดรูรับแสง (aperture) เท่ากับ F4.5 จากนั้นนำภาพที่ได้มาบันทึกค่าความเข้มแสง ด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ นำค่าความเข้มแสงแปลงเป็นค่าความแตกต่างความเข้มแสง แล้วพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสง

3.3.4.1.2 เครื่องสแกนเนอร์ (scanner)

ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.3.4.1.1 แต่เปลี่ยนอุปกรณ์ตรวจวัดค่าความเข้มแสงเป็นเครื่องสแกนเนอร์โดยใช้ความละเอียดการสแกนเท่ากับ 600 ppi (pixel per inch)

3.3.4.2 ศึกษาโปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

3.3.4.2.1 Adobe Photoshop CS2™

นำภาพที่บันทึกด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัลและเครื่องสแกนเนอร์จากข้อ 3.3.4.1 บันทึกค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ นำค่าความเข้มแสงดังกล่าวพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไอออนเหล็ก (II) กับค่าความแตกต่างความเข้มแสง

3.3.4.2.2 Image J™ [22]

ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.3.4.2.1 แต่เปลี่ยนโปรแกรมตรวจวัดเป็น Image J™

3.3.4.3 ศึกษาความละเอียดที่เหมาะสมสำหรับการสแกนภาพ

ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.3.4.1.2 แต่ปรับเปลี่ยนความละเอียดการสแกนภาพจากเครื่องสแกนเนอร์โดยใช้ความเท่ากับ 200, 600, 1200, 2400 และ 4800 ppi (pixel per inch)

3.3.5 คุณลักษณะทางกายภาพของพื้นผิวกระดาษสำหรับชุดทดสอบบนกระดาษ

นำชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจ็ดด้วยอโทพีแนนโทรตินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) และระบบอโทพีแนนโทรตินละลายในตัวทำละลายเอทานอลปราศจากน้ำเข้มข้นร้อยละ 0.50 (w/v) มาตัดให้ได้ขนาดประมาณ 5.0 x 5.0 มิลลิเมตร ทั้งก่อนการใช้ทดสอบและหลังการใช้ทดสอบ แล้วนำพื้นผิวดังกล่าวมาเคลือบทองด้วยเทคนิคการเคลือบ (sputtering) ณ ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ (TMEC) โดยใช้เวลาเคลือบทองประมาณ 1 นาที จะได้ชั้นเคลือบทองความหนา 0.0002 ไมครอน นำชิ้นงานที่ผ่านการเคลือบทองแล้ว มาถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 300 เท่า 1000 เท่า และ 5000 เท่า ตามลำดับ

3.3.6 ศึกษาการรายงานผลค่าความเข้มแสง (light intensity)

3.3.6.1 ความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance RGB)

นำค่าความเข้มแสงที่ได้จากข้อ 3.3.6 มาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มชั้นไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสงจากสมการ

$$ED = \sqrt{(\Delta I_R)^2 + (\Delta I_G)^2 + (\Delta I_B)^2}$$

3.3.6.2 การสะท้อนแสง (reflectance, RF)

นำค่าความเข้มแสงที่ได้จากข้อ 3.3.6 มาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มชั้นไอออนเหล็ก (II) กับค่าการสะท้อนแสงที่ได้จากสมการ [6]

$$\begin{aligned} RF_X &= -\log \frac{(I_X - I_{X,b})}{(I_{X,w} - I_{X,b})} \\ &= -\log \frac{(I_X)_c}{(I_{X,w})_c} = -\log R_X \end{aligned} \quad (2)$$

โดยที่	X	คือ แสงสีแดง แสงสีเขียว หรือ แสงสีน้ำเงิน
	I_X	คือ ความเข้มแสง X ณ จุดที่เกิดปฏิกิริยากับเหล็กที่ความเข้มข้นต่างๆ
	$I_{X,b}$	คือ ค่าความเข้มแสงสีดำ
	$I_{X,w}$	คือ ค่าความเข้มแสงสีขาว ณ จุด blank
	c	คือ ค่าความเข้มแสงที่แก้ไข
	R_X	คือ ค่าการสะท้อนแสง X

3.3.7 ศึกษาช่วงใช้งานของชุดทดสอบบนกระดาดแบบจุด (working range)

ปิเปตสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 0.00, 1.00, 2.50, 4.00, 5.00, 6.00, 7.50 และ 10.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายไฮดรอกไซด์อะมีนไฮโดรคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 10.0 (w/v) จำนวน 1.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน จะได้สารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้น 0.00, 10.00, 25.00, 40.00, 50.00, 60.00, 75.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

นำชุดทดสอบแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือออโทพีแนแนโทรลีนเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) มาหยดด้วยสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน จำนวน 10.00 ไมโครลิตร ลงบนจุดที่หยดสารละลายโซล-เจลเอาไว้ ทิ้งเอาไว้สักครู่ประมาณ 1 นาที บันทึกภาพด้วยเครื่องสแกนเนอร์ นำภาพที่ได้มาบันทึกค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Image J™ นำค่าความเข้มแสงแปลงเป็นค่าการสะท้อนแสง พลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไอออนเหล็ก (II) กับค่าการสะท้อนแสง

3.3.8 วิเคราะห์ตัวอย่างและเทียบผลกับวิธีมาตรฐาน (validation)

3.3.8.1 การวิเคราะห์ตัวอย่างเม็ดยาวิตามินที่มีธาตุเหล็ก

3.3.8.1.1 การเตรียมตัวอย่างเม็ดยาวิตามินที่มีธาตุเหล็ก

ชั่งน้ำหนักเม็ดยาตัวอย่างวิตามินที่มีธาตุเหล็ก 1 เม็ด อย่างละเอียดโดยมีเทคนิค 5 ตำแหน่ง ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 150 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6.00 โมลาร์ จำนวน 25.00 มิลลิลิตร ปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระดาษพิก้า นำไปต้มให้เดือดด้วยแท่นให้ความร้อนนาน 15 นาที เติมน้ำปราศจากไอออนลงไป 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 2 แยกสารละลายที่กรองใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ล้างตะกอนด้วยน้ำปราศจากไอออนที่ร้อนอีกเล็กน้อย แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากัน

3.3.8.1.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่างวิตามินที่มีธาตุเหล็กสำหรับชุดทดสอบบนกระดาดแบบจุด

ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 3.3.8.1.1 มา 25.00 มิลลิลิตร เติมสารละลายไฮดรอกไซด์อะมีนไฮโดรคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 10.0 (w/v) จำนวน 5.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนเขย่าให้เข้ากัน

3.3.8.1.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

นำสารละลายยาตัวอย่างที่ได้จากข้อ 3.3.9.1.2 จำนวน 10.00 ไมโครลิตร มาหยดลงบนชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือด้วยอพอโทพีแนนโทรีนเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) ที่งอเอาไว้สักครู่ประมาณ 1 นาที บันทึกภาพด้วยเครื่องสแกนเนอร์ นำภาพที่ได้มาบันทึกค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Image J™ นำค่าความเข้มแสงดังกล่าวมาแปลงเป็นค่าการสะท้อนแสง จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างวิตามินที่มีธาตุเหล็กจากกราฟมาตรฐานความเข้มแสงของไอออนเหล็ก (II) จากข้อ 3.3.7

3.3.8.2 การเทียบผลกับวิธีมาตรฐาน (validation)

3.3.8.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

1) สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6.00 โมลาร์

ตวงสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 492.70 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากัน

2) สารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งผงเหล็กมา 0.1000 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6.00 โมลาร์ จำนวน 1.00 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนแท่นให้ความร้อนจนผงเหล็กละลายหมด ถ่ายสารละลายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากัน

3) สารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) สำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน

ปิเปตสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) 100 มิลลิกรัมต่อลิตรในข้อ

2) มา 0.00, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00 และ 5.00 มิลลิลิตร ตามลำดับ ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50.00 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6.00 โมลาร์ 10.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายมาตรฐานเหล็กที่มีความเข้มข้น 0.00, 2.00, 4.00, 6.00, 8.00 และ 10.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

3.3.8.2.2 การเตรียมตัวอย่างเม็ดยาวิตามินที่มีธาตุเหล็ก [23]

1) การละลายเม็ดยาตัวอย่างวิตามินที่มีธาตุเหล็ก

ชั่งน้ำหนักเม็ดยาตัวอย่างวิตามินที่มีธาตุเหล็ก 1 เม็ด อย่างละเอียดโดยมีเทคนิค 5 ตำแหน่ง ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 150 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6.00 โมลาร์ จำนวน 25.00 มิลลิลิตร ปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา นำไปต้มให้เดือดด้วยแท่นให้ความร้อนนาน 15 นาที เติมน้ำปราศจากไอออนลงไป 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 2 แยกสารละลายที่กรองได้ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ล้างตะกอนด้วยน้ำปราศจากไอออนที่ร้อนอีกเล็กน้อย แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากัน

2) การเจือจางสารละลายตัวอย่างวิตามินที่มีธาตุเหล็ก

ปิเปตสารละลายตัวอย่างวิตามินที่มีธาตุเหล็กที่เตรียมจากข้อ 1) มา 5.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากัน

3.3.8.2.3 การวัดค่าดูดกลืนแสง

วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) รวมทั้งสารละลายตัวอย่างวิตามินที่มีธาตุเหล็กจากข้อ 2) ที่ความยาวคลื่น 248.3 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยวัดที่ตำแหน่งของความสูงของเตาที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด

3.3.9 ศึกษาอายุการใช้งานชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

นำชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบ โชล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรีนเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) ทดสอบการเกิดสารบนกระดาษ โดยหยดสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้น 50.00 มิลลิกรัมต่อลิตร 10.00 ไมโครลิตร ลงบนบริเวณจุดทดสอบที่หยดสารละลาย โชล-เจลเอาไว้ ทิ้งเอาไว้สักครู่ประมาณ 1 นาที บันทึกภาพด้วยเครื่องสแกนเนอร์ นำภาพที่ได้มาบันทึกค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Image J™ นำค่าความเข้มแสงดังกล่าวแปลงเป็นค่าการสะท้อนแสง พลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง ไอออนเหล็ก (II) กับค่าการสะท้อนแสงโดยทดสอบซ้ำๆ ในวันที่ 0, 7, 15 และ 30 วัน ตามลำดับ โดยใช้ชุดทดสอบที่เตรียมไว้ในวันเดียวกัน

3.3.10 พัฒนาและปรับปรุงประสิทธิภาพชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

3.3.10.1 ลดกระบวนการวิเคราะห์ตัวอย่างไอออนเหล็ก (II)

3.3.10.1.1 ระบบชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจืออโทพีแวนโทรลินและเติมชั้นตัวรีดิวซ์ลงบนชุดทดสอบ

หลังจากเตรียมชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบ โซล-เจลเจือด้วยอโทพีแวนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) หลังจากทิ้งเอาไว้ให้แห้งประมาณ 30 นาที นำมาหยดสารละลายไฮดรอกไซด์โครโคไรต์เข้มข้นร้อยละ 10.0 (w/v) จำนวน 10.00 ไมโครลิตร ลงบนจุดเดิมบนชุดทดสอบบนกระดาษ ทิ้งเอาไว้ให้แห้งอีก 30 นาที จะได้ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดที่ประกอบด้วยโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแวนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) และชั้นสารละลายไฮดรอกไซด์โครโคไรต์เข้มข้นร้อยละ 10.0 (w/v)

ทดสอบการเกิดสารประกอบบนกระดาษ โดยหยดสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้น 0.00, 10.00, 25.00, 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 10.00 ไมโครลิตร ลงบนบริเวณจุดทดสอบบนกระดาษที่หยดสารละลายโซล-เจลเอาไว้ ทิ้งเอาไว้สักครู่ประมาณ 1 นาที บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงสีชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

3.3.10.1.2 ระบบสารละลายโซล-เจลเจืออโทพีแวนโทรลินที่ผสมตัวรีดิวซ์

เตรียมสารละลายโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแวนโทรลินเช่นเดียวกับข้อ

3.3.1.2 แต่เปลี่ยนปริมาณอโทพีแวนโทรลินที่ใช้เป็น 0.0360 กรัม และเติมสารละลายไฮดรอกไซด์โครโคไรต์ร้อยละ 10.0 (w/v) จำนวน 1.00 มิลลิตร จากนั้นปั่นกวนสารละลายจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง จะได้สารละลายโซล-เจลเจืออโทพีแวนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) หยดสารละลายโซล-เจลที่เตรียมได้ 10.00 ไมโครลิตร ทิ้งเอาไว้ให้แห้งประมาณ 30 นาที

ทดสอบการเกิดสารเชิงซ้อนบนกระดาษ โดยหยดสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้น 0.00, 10.00, 25.00, 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 10.00 ไมโครลิตร ลงบนบริเวณจุดทดสอบบนกระดาษที่หยดสารละลายโซล-เจลเอาไว้ ทิ้งเอาไว้สักครู่ประมาณ 1 นาที บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงสีชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

3.3.10.1.3 ทดสอบประสิทธิภาพชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดที่

พัฒนาขึ้นเทียบกับชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดรูปแบบเดิม

บันทึกภาพชุดทดสอบบนกระดาษที่ได้จากข้อ 3.3.10.1.1 และ 3.3.10.1.2 ด้วยเครื่องสแกนเนอร์ นำภาพที่ได้มาบันทึกค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Image J™ นำค่าความเข้มแสงดังกล่าวแปลงเป็นค่าการสะท้อนแสง พล็อตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มชั้นไอออนเหล็ก (II) กับค่าการสะท้อนแสง แล้วนำมาเปรียบเทียบกับผลที่ได้จากชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษเดิม

3.3.10.2 ปรับปรุงประสิทธิภาพของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างไอออนเหล็กผสมของไอออนเหล็ก (II) และไอออนเหล็ก (III)

3.3.10.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

1) สารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กผสม

ชั่งแอมโมเนียมเพอร์สัลเฟตเฮกซะไฮเดรต 7.0200 กรัม และซิงค์เฟอร์ริก – คลอไรด์เฮกซะไฮเดรต 4.8340 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 50 มิลลิลิตร จากนั้น เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1.00 มิลลิลิตร เทใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กผสมระหว่างไอออนเหล็ก (II) เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตรและไอออนเหล็ก (III) เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

2) สารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กผสมสำหรับทดสอบประสิทธิภาพ

ปิเปตสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กผสม ที่เตรียมจากข้อ 1) มา 0.00, 1.00, 2.00, 4.00 และ 5.00 มิลลิลิตร ตามลำดับ ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมซิติเรตเข้มข้นร้อยละ 25.0 (w/v) จำนวน 5.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายมาตรฐานเหล็กผสมที่ประกอบด้วยไอออนเหล็ก (II) และไอออนเหล็ก (III) ที่มีความเข้มข้น 0.00, 10.00, 20.00, 40.00 และ 50.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแต่ละไอออนนั้นๆ ตามลำดับ

3.3.10.2.2 ทดสอบประสิทธิภาพการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานผสม

ไอออนเหล็ก (II) และไอออนเหล็ก (III)

ทดสอบการเกิดสารเชิงซ้อนบนกระดาษ โดยหยดสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็กผสม ที่ความเข้มข้น 0.00, 10.00, 20.00, 40.00 และ 50.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแต่ละไอออนนั้นๆ จำนวน 10.00 ไมโครลิตร ลงบนชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดจำนวนสองจุด ประกอบด้วย จุดที่หนึ่งเป็นชุดทดสอบในระบบ โชล-เจลเจือออโทฟีแนนโทรีน ใช้สำหรับวิเคราะห์ไอออนเหล็ก (II) และจุดที่สองเป็นชุดทดสอบในระบบ โชล-เจลเจือออโทฟีแนนโทรีน และเคลือบด้วยชั้นของตัวรีดิซ์ ใช้สำหรับวิเคราะห์ไอออนเหล็กทั้งหมดในรูปของไอออนเหล็ก (II) หยดทิ้งไว้ประมาณ 1 นาที บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงสีชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดของจุดทั้งสอง บันทึกภาพด้วยเครื่องสแกนเนอร์ นำภาพที่ได้มาบันทึกค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Image J™ นำค่าความเข้มแสงดังกล่าวแปลงเป็นค่าการสะท้อนแสง มาคำนวณหาความเข้มข้นของไอออนเหล็ก (II) จากกราฟมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) จากข้อ 3.3.6 จากนั้นนำค่าความเข้มข้นของไอออนเหล็กทั้งหมดในรูปไอออนเหล็ก (II) ที่ได้จากจุดที่สอง ลบด้วยค่าความเข้มข้นของไอออนเหล็ก (II) ที่ได้จากจุดที่หนึ่ง จะได้ค่าความเข้มข้นของไอออนเหล็ก (III)

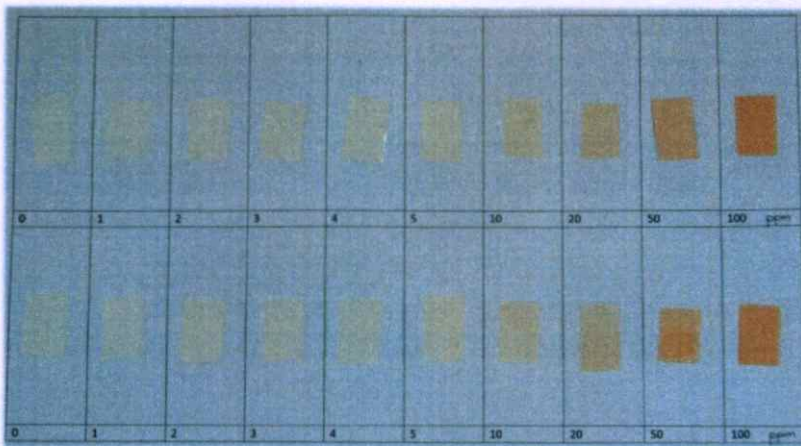
บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ศึกษาลักษณะและรูปร่างชุดทดสอบบนกระดาษ

4.1.1 ชุดทดสอบบนกระดาษแบบสี่เหลี่ยม

นำกระดาษกรองเบอร์ 2 ขนาด 50.0 x 10.0 มิลลิเมตร จุ่มลงในสารละลายโซล-เจลเจือด้วย ออโทพีแนนโทรีน จากนั้นรอกกระดาษกรองที่จุ่มด้วยสารละลายโซล-เจลเอาไว้ให้แห้งประมาณ 30 นาที พบว่าบริเวณพื้นผิวของกระดาษกรองที่ผ่านการจุ่มสารละลายโซล-เจลเป็นระยะทาง 20.0 มิลลิเมตร แต่สารละลายโซล-เจลบางส่วนสามารถแพร่ผ่านเลยระยะทางที่กำหนดไว้ไปได้ประมาณ 5.0 มิลลิเมตรและบริเวณโดยรอบของกระดาษกรอง จะพบสารละลายโซล-เจลที่เหลือจากการดูดซับบนกระดาษกรองอยู่บางส่วน จากนั้นนำชุดทดสอบบนกระดาษมาทดสอบการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนบนกระดาษของไอออนเหล็ก (II) กับออโทพีแนนโทรีน บันทึกผลการเปลี่ยนสีของชุดทดสอบบนกระดาษแบบสี่เหลี่ยมด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล

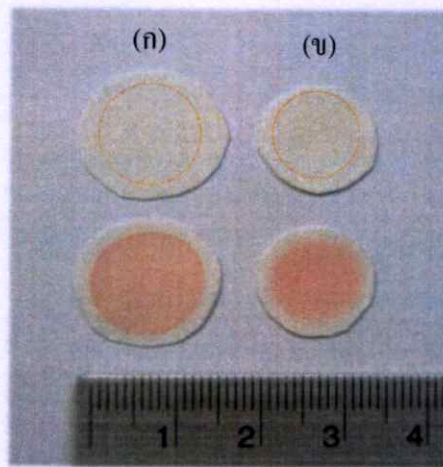


รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงสีชุดทดสอบบนกระดาษแบบสี่เหลี่ยม

เมื่อนำชุดทดสอบบนกระดาษแบบสี่เหลี่ยม มาจุ่มลงในสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ได้ผลการทดลอง แสดงดังรูปที่ 4.1 พบว่า ชุดทดสอบบนกระดาษแบบสี่เหลี่ยมนั้นเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงส้มของไอออนเหล็ก (II) กับออโทพีแนนโทรีนบนกระดาษและมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มสีเป็นไปตามความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) โดยเมื่อปริมาณสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) เพิ่มขึ้นในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มสีของสารเชิงซ้อนดังกล่าวจะมีสีเข้มขึ้นตามลำดับ

4.1.2 ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

นำกระดาษกรองเบอร์ 2 มาหยดด้วยสารละลายไฮดรอกไซด์ด้วยอโทพีแนนโทรีน 10.00 ไมโครลิตร จากนั้นทิ้งกระดาษกรองที่หยดด้วยสารละลายไฮดรอกไซด์เอาไว้ให้แห้งประมาณ 30 นาที พบว่า บริเวณพื้นผิวของกระดาษกรองที่หยดด้วยสารละลายไฮดรอกไซด์นั้น สามารถดูดซับสารละลายไฮดรอกไซด์เอาไว้ได้ทั้งหมด โดยมีการแพร่และดูดซับบนกระดาษกรองเป็นวงกลมในทุกทิศทางอย่างสมมาตร บริเวณที่สารละลายไฮดรอกไซด์สามารถเคลื่อนที่แพร่ผ่านไปจนถึงมีลักษณะเป็นวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10.0 มิลลิเมตรและสามารถมองเห็นขอบเขตของหยดสารละลายไฮดรอกไซด์ที่แพร่ผ่านไป แล้วทดสอบการเกิดสารเชิงซ้อนบนกระดาษของไอออนเหล็ก (II) กับอโทพีแนนโทรีน บันทึกการเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบบนกระดาษด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัลแสดงดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงสีชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด
(ก) ระบบเอทานอลปราศจากน้ำ (ข) ระบบไฮดรอกไซด์

จากรูปที่ 4.2 นำชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด มาหยดด้วยสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน 10.00 ไมโครลิตร พบว่า ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดเกิดสารเชิงซ้อนสีแดงส้มของไอออนเหล็ก (II) กับอโทพีแนนโทรีนบนกระดาษ โดยจะมีการแพร่ของสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) เป็นวงกลมในทุกทิศทางอย่างสมมาตรเช่นเดียวกัน แต่สารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) นั้น จะไม่สามารถแพร่ผ่านไปได้มากกว่าขอบเขตของหยดสารละลายไฮดรอกไซด์ที่หยดเอาไว้บนกระดาษกรองไปได้ รวมทั้งมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มสีเป็นไปตามความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) โดยเมื่อปริมาณสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) เพิ่มขึ้น ความเข้มสีของสารเชิงซ้อนดังกล่าวจะมีสีที่เข้มขึ้นไปตามลำดับ ดังนั้น ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดนั้นสามารถควบคุมการแพร่สารละลายไฮดรอกไซด์ได้ดีกว่าชุดทดสอบบนกระดาษแบบสีเหลี่ยม เนื่องจากชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดสามารถควบคุมปริมาณสารละลายไฮดรอกไซด์ที่หยดลงบนกระดาษ จึงสามารถจำกัดขอบเขตของการแพร่ของไฮดรอกไซด์

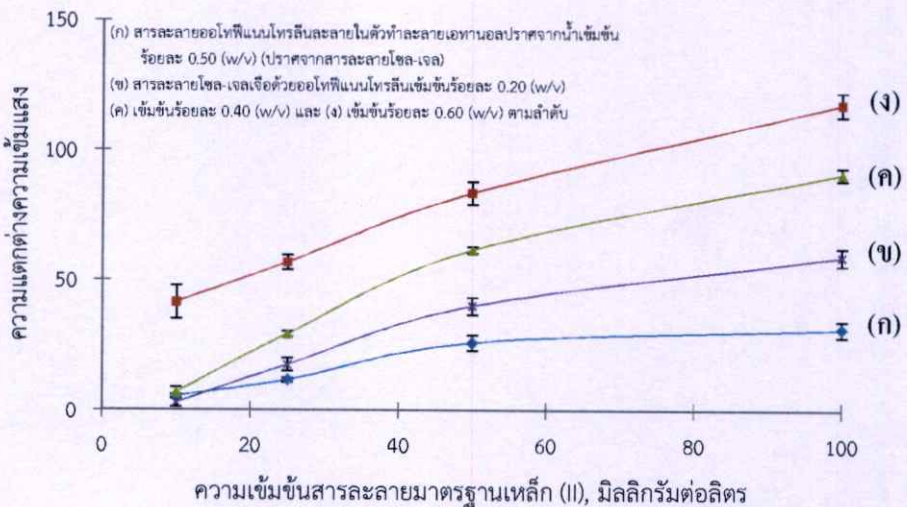
4.2 ศึกษากระบวนการสำหรับชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

4.2.1 ระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลิน

ทดสอบโดยเตรียมสารละลายโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลิน เช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.2 ซึ่งจะได้สารละลายโซล-เจลเจืออโทพีแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.20 (w/v) จากนั้นนำมาทดสอบการเกิดสารเชิงซ้อนบนกระดาษ หยดสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน จากนั้นบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงสีของสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล แล้วนำภาพดังกล่าวมาบันทึกค่าความเข้มแสง (RGB) ด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ ซึ่งแสดงวิธีการตรวจวัดค่าความเข้มแสงไว้ในภาคผนวก ก. จากนั้นนำมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสงจากสมการเชิงเส้นแบบยูคลิด (Euclidean distance) ซึ่งผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.3 (เส้นกราฟ ข.)

4.2.2 ระบบอโทพีแนนโทรลินละลายในตัวทำละลายเอทานอลปราศจากน้ำ

ทดสอบโดยการเตรียมสารละลายในระบบเอทานอลปราศจากน้ำ โดยจะชั่งอโทพีแนนโทรลินน้ำหนัก 0.0500 กรัม ละลายในตัวทำละลายเอทานอลปราศจากน้ำ 10.00 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้สารละลายอโทพีแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.50 (w/v) จากนั้นหยดด้วยสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน จากนั้นบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงสีของสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัลและบันทึกค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ และคำนวณค่าความแตกต่างความเข้มแสง เช่นเดียวกับข้อ 4.2.1 ซึ่งผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.3 (เส้นกราฟ ก.)



รูปที่ 4.3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสง (ภาคผนวก ข.)

4.3 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอโทพีแนนโทรลินในระบบโซล-เจล

ทดสอบโดยเตรียมสารละลายโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลิน เช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.2 แต่เปลี่ยนปริมาณอโทพีแนนโทรลินที่ใช้เป็น 0.0200 และ 0.0300 กรัม จะได้สารละลายโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.40 (w/v) และ 0.60 (w/v) ตามลำดับ หยดสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน บันทึกผลเช่นเดียวกับข้อ 4.2.1 ผลการทดลองที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.3 (เส้นกราฟ ก. และเส้นกราฟ ง. ตามลำดับ)

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสง จะพบว่าสารละลายอโทพีแนนโทรลินในระบบเอทานอลปราศจากน้ำเข้มข้นร้อยละ 0.50 (w/v) จะให้ค่าความแตกต่างความเข้มแสงต่ำที่สุด ส่วนระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.20 (w/v), 0.40 (w/v) และ 0.60 (w/v) ตามลำดับ จะให้ค่าความแตกต่างความเข้มแสงที่สูงขึ้นไปเรื่อยๆ ตามระดับความเข้มข้นของอโทพีแนนโทรลินที่เพิ่มขึ้น

ในระบบเอทานอลปราศจากน้ำ เมื่อนำสารละลายดังกล่าวมาหยดลงบนกระดาษกรองจำนวน 10.00 ไมโครลิตร พบว่าสารละลายในระบบนี้สามารถแพร่ผ่านและดูดซับบนกระดาษกรอง โดยสารละลายในระบบเอทานอลปราศจากน้ำนี้ สามารถพาอโทพีแนนโทรลินให้เคลื่อนที่ไปได้และทำให้เกิดรูวงกลมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 12.0 มิลลิเมตร โดยไม่สามารถเห็นขอบเขตของการแพร่ผ่านของสารละลายได้อย่างชัดเจน รวมทั้งไม่สามารถควบคุมทิศทางการแพร่ของสารละลายได้อย่างดีนัก ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.2 (ข) เมื่อทดสอบการเกิดสารเชิงซ้อนพบว่าสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) สามารถแพร่ผ่านกระดาษกรองในบริเวณจุดทดสอบได้อย่างอิสระ รวมทั้งสามารถเคลื่อนที่ไปได้เกินกว่าขอบเขตวงกลมของจุดทดสอบ

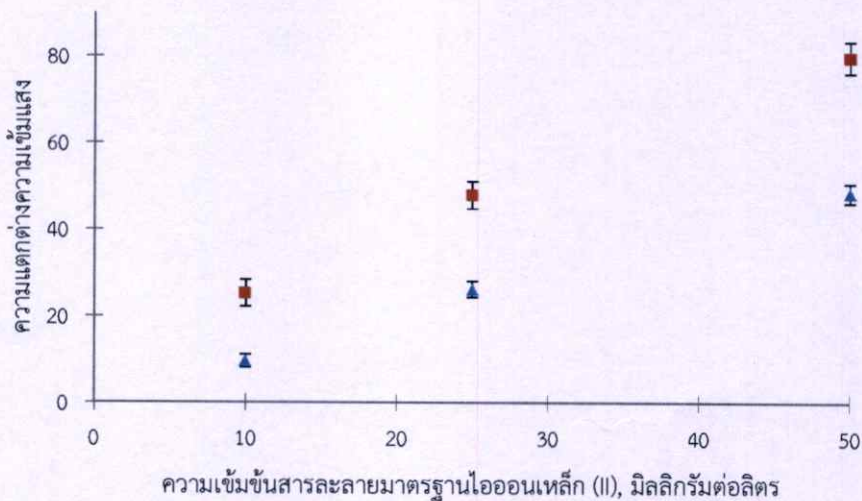
สำหรับจุดทดสอบบนกระดาษระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลิน จุดทดสอบจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10.0 มิลลิเมตรและสามารถมองเห็นขอบเขตของโซล-เจลที่หยดเอาไว้เมื่อหยดสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) เมื่อทดสอบการเกิดสารเชิงซ้อนจะพบว่าสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) สามารถแพร่ผ่านกระดาษกรองได้เท่ากับขอบเขตของจุดทดสอบในลักษณะวงกลมอย่างสมมาตร แต่ไม่เกินกว่าขอบเขตของจุดทดสอบในระบบโซล-เจลไปได้ ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.2 (ก) ดังนั้นจุดทดสอบในระบบเอทานอลปราศจากน้ำ ถึงแม้ว่าจะใช้ความเข้มข้นของอโทพีแนนโทรลินร้อยละ 0.50 (w/v) ซึ่งมากกว่าระบบโซล-เจลที่เจืออโทพีแนนโทรลินเข้มข้นเพียงร้อยละ 0.20 (w/v) อยู่ประมาณ 2 เท่า แต่ให้ผลค่าความแตกต่างความเข้มแสงต่ำกว่า เนื่องจากระบบเอทานอลปราศจากน้ำ ไม่สามารถควบคุมการแพร่ผ่านของสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ได้ รวมทั้งจุดทดสอบบนกระดาษนั้นมีขนาดใหญ่กว่า ถึงแม้ว่าจะใช้สารละลายสำหรับหยดลงบนกระดาษกรองในปริมาณที่เท่ากัน จึงทำให้ค่าความแตกต่างความเข้มแสงที่ได้นั้นมีค่าต่ำกว่าจุดทดสอบบนกระดาษในระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลิน

ดังนั้น ชุดทดสอบบนกระดาษในระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรีนเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) ซึ่งให้ค่าความแตกต่างความเข้มแสงสูงสุด จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบ โซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรีน

4.4 ศึกษาอุปกรณ์และโปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบ

4.4.1 ศึกษาอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

ศึกษาอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรีนเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) นำชุดทดสอบดังกล่าวมาหยดด้วยสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้น 0.00, 10.00, 25.00 และ 50.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากนั้นบันทึกภาพความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดด้วยอุปกรณ์ตรวจวัด โดยจะศึกษาระหว่างกล้องถ่ายภาพดิจิทัลและเครื่องสแกนเนอร์ แล้วบันทึกค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ นำค่าความเข้มแสงที่ได้มาคำนวณค่าความแตกต่างความเข้มแสง (ภาคผนวก ค.) จากนั้นนำมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสงเปรียบเทียบอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดความเข้มสี ซึ่งได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.4

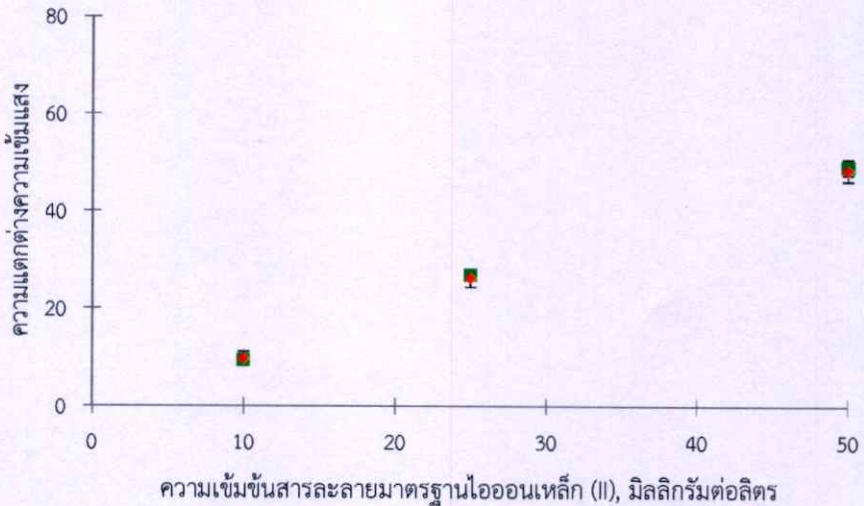


รูปที่ 4.4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสงเปรียบเทียบอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดความเข้มสี (■) เครื่องสแกนเนอร์ และ (▲) กล้องถ่ายภาพดิจิทัล

จากรูปที่ 4.4 แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสงเปรียบเทียบอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดความเข้มสีที่ได้จากเครื่องสแกนเนอร์ พบว่าสมการเชิงเส้นตรงคือ $y = 1.3516x + 12.6998$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9979 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ในช่วง 4.55 – 12.15 เปอร์เซ็นต์ ส่วนจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสงที่ได้จากกล้องถ่ายภาพดิจิทัลนั้นจะพบว่าสมการเชิงเส้นตรงคือ $y = 0.9594x + 0.9243$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9964 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 1.59 – 15.26 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่าค่าแตกต่างความเข้มแสงที่ได้จากเครื่องสแกนเนอร์นั้นสูงกว่าค่าความแตกต่างความเข้มแสงที่ได้จากกล้องถ่ายภาพดิจิทัล

4.4.2 ศึกษาโปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

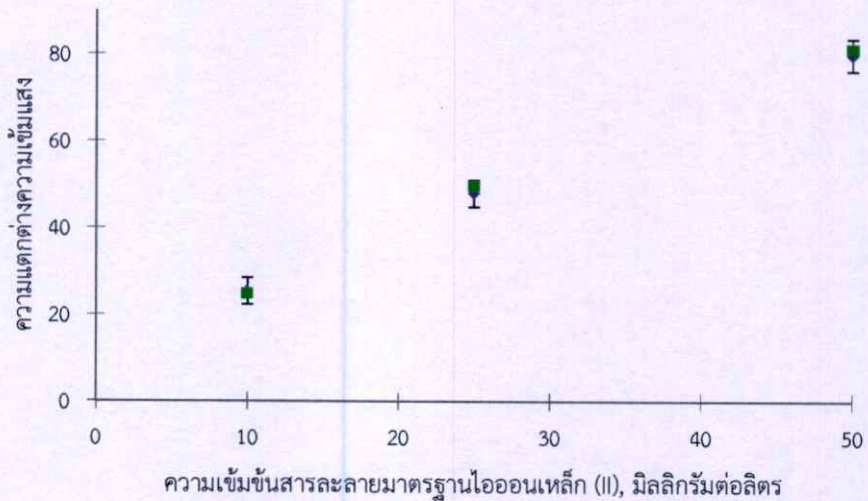
ศึกษาโปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือด้วยอ็อกซิโทฟีนแนม โทโรลีนเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) โดยนำภาพที่ได้จากอุปกรณ์ตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในข้อ 3.3.4.1 จากนั้นตรวจวัดค่าความเข้มแสงโดยศึกษาโปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มแสงเปรียบเทียบระหว่างโปรแกรม Image J™ และ Adobe Photoshop CS2™ นำค่าความเข้มแสงที่ได้มาคำนวณค่าความแตกต่างความเข้มแสง (ภาคผนวก ง.) จากนั้นพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสง ได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสงเปรียบเทียบการใช้โปรแกรมสำหรับตรวจวัดภาพที่ได้จากกล้องถ่ายภาพดิจิทัล

(■) โปรแกรม Image J™ และ (◆) โปรแกรม Adobe Photoshop CS2™

เมื่อนำภาพของจุดสีบนชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดที่ได้จากกล้องถ่ายภาพดิจิทัลมาตรวจวัดค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Image J™ แล้วคำนวณค่าความแตกต่างความเข้มแสง จากนั้นพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสงดังรูปที่ 4.5 จะได้สมการเชิงเส้นตรงคือ $y = 0.7053x + 7.1585$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9721 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 1.19 – 2.26 เปอร์เซ็นต์ การตรวจวัดค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ จะได้สมการเชิงเส้นตรงคือ $y = 0.9594x + 0.9243$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9964 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 1.59 – 15.26 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากกราฟความสัมพันธ์ดังกล่าว จะพบว่าค่าเบี่ยงเบนเบนมาตรฐานสัมพัทธ์จากค่าความแตกต่างความเข้มแสงที่ได้จากโปรแกรม Image J™ จะมีค่าต่ำกว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่ได้จากโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ อย่างชัดเจน



รูปที่ 4.6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสงเปรียบเทียบการใช้โปรแกรม สำหรับตรวจวัดภาพที่ได้จากเครื่องสแกนเนอร์

(■) โปรแกรม Image J™ และ (◆) โปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ (ภาคผนวก จ.)

จากนั้นนำภาพของจุดสีบนชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดที่ได้จากเครื่องสแกนเนอร์ มาตรวจวัดค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Image J™ แล้วนำมาคำนวณค่าความแตกต่างความเข้มแสง จากนั้นพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสงแสดงดังรูปที่ 4.6 จะได้สมการเชิงเส้นตรงคือ $y = 1.3932x + 12.3490$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9941 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 1.39 – 3.16 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการตรวจวัดค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ จากกราฟจะได้สมการเชิงเส้นตรงคือ $y = 1.3516x + 12.6998$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9979 และได้ค่าเบี่ยงเบน

มาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 4.55 – 12.15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากกราฟความสัมพันธ์ พบว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์จากค่าความแตกต่างความเข้มแสงที่ได้จากโปรแกรม Image J™ จะมีค่าต่ำกว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่ได้จากโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ อย่างชัดเจน

ซึ่งจากผลที่ได้จากรูปที่ 4.5 และ 4.6 นั้นให้ผลเช่นเดียวกันคือ โปรแกรม Image J™ จะให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ต่ำกว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากค่าความแตกต่างความเข้มแสงที่ได้จากโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ เนื่องจากโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ นั้นจะตรวจวัดค่าความเข้มแสงเพียง 5 จุดเท่านั้น ส่วนโปรแกรม Image J™ นั้นเป็นการตรวจวัดค่าความเข้มแสงโดยการเฉลี่ยพื้นที่นั้นๆ ที่เลือกไว้ ซึ่งแสดงวิธีการตรวจวัดค่าความเข้มแสงในภาคผนวก ฉ. ทำให้จำนวนข้อมูลที่ตรวจวัดได้มีมากกว่าการตรวจวัดด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™

จากข้อสรุปข้างต้น การตรวจวัดค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ ภาพที่ได้จากเครื่องสแกนเนอร์นั้นมีค่าความเข้มแสงสูงกว่าภาพที่ได้จากกล้องถ่ายภาพ ค่าความเข้มแสงที่ได้จากกล้องถ่ายภาพดิจิทัลนั้นมีค่าต่ำเนื่องจากการควบคุมสภาวะของแสงในการถ่ายภาพนั้น ก่อนข้างควบคุมได้ยากกว่า ถึงแม้ว่าจะควบคุมความเร็วชัตเตอร์และรูรับแสงให้คงที่ก็ตาม สำหรับเครื่องสแกนเนอร์นั้นเป็นการถ่ายภาพในระบบปิด มีแหล่งแสงที่สามารถควบคุมความสม่ำเสมอของแสงได้ ทำให้ค่าความเข้มแสงที่ได้มีค่าสูงกว่ากล้องถ่ายภาพดิจิทัล ส่วนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์จากค่าความแสงของเครื่องสแกนเนอร์สูงกวานั้น อาจเป็นเพราะความละเอียด (resolution) ของระบบการสแกนภาพ แต่ก็สามารถลดค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ดังกล่าวให้ต่ำลงได้โดยใช้โปรแกรม Image J™ จะเป็นการบันทึกค่าความเข้มแสงทั้งหมดของรูปภาพ ทำให้จำนวนข้อมูลที่ได้นั้นมีความถูกต้องของข้อมูลสูงกว่าโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ จึงช่วยลดค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ค่าความเข้มแสงได้ ดังนั้นจากข้อมูลที่กล่าวมาทั้งหมดในข้อ 4.4 สามารถสรุปได้ว่า อุปกรณ์ที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดคือเครื่องสแกนเนอร์และโปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มแสงที่เหมาะสมคือ Image J™

4.4.3 ศึกษาความละเอียดที่เหมาะสมสำหรับการสแกนภาพ

ศึกษาความละเอียดที่เหมาะสมสำหรับการสแกนภาพ โดยนำชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือออกโทพีแนนโทโรลีนเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) ที่เกิดปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้น 0.00, 10.00, 25.00, 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากข้อ 3.3.4.1.1 ตรวจวัดค่าความเข้มแสงด้วยเครื่องสแกนเนอร์โดยใช้ความละเอียดของการสแกนภาพเท่ากับ 200 ppi, 600 ppi, 1200 ppi, 2400ppi และ 4800 ppi ซึ่งจะติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ค่าความแตกต่างความเข้มแสงจากการคำนวณค่าความเข้มแสงที่ได้ตรวจวัดจาก โปรแกรม Image J™ (ภาคผนวก ข.) ซึ่งผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ตารางค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ค่าความแตกต่างความเข้มแสงที่ความละเอียดในการสแกนต่างๆ กัน

ความละเอียดการสแกนภาพ (ppi)	ช่วงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
200	1.06 – 5.74
600	0.62 – 1.74
1200	1.15 – 5.18
2400	N.D.*
4800	N.D.*

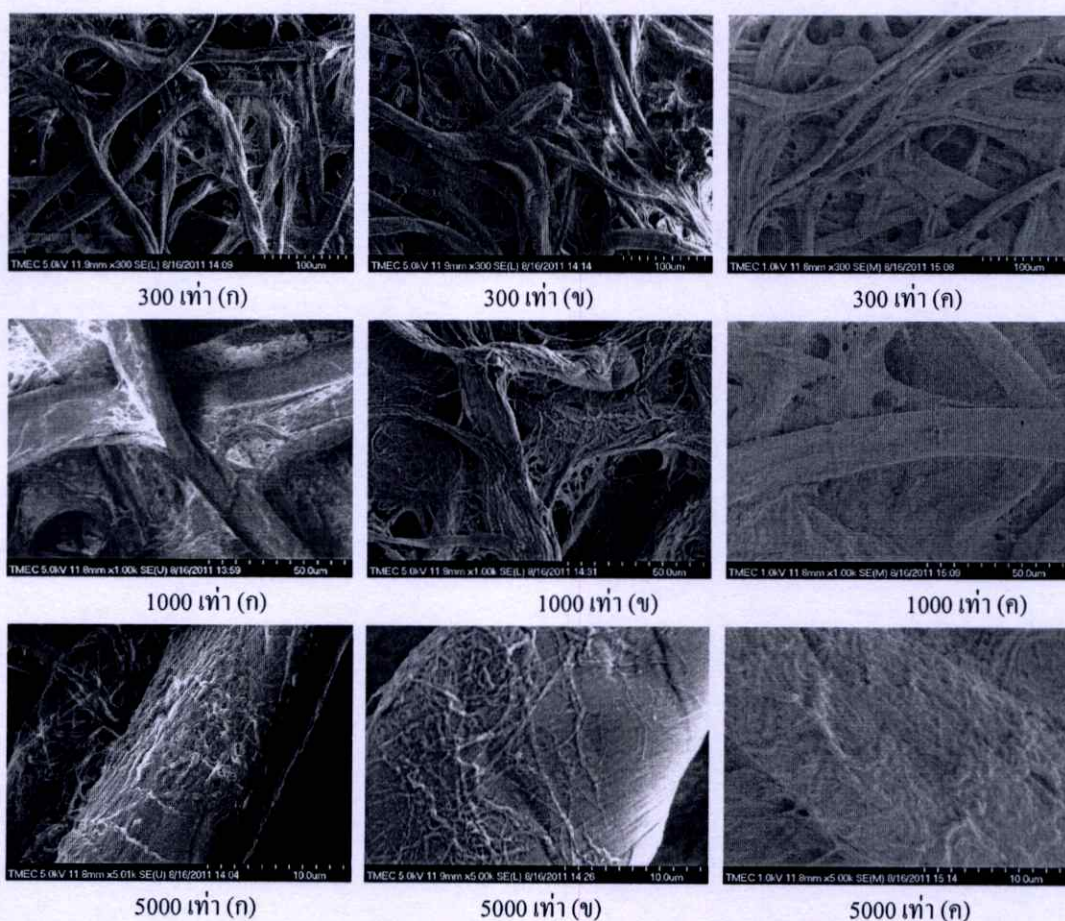
หมายเหตุ *N.D. หมายถึงไม่สามารถตรวจวัดได้

จากข้อมูลคังตารางที่ 4.1 จะพบว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ค่าความแตกต่างความเข้มแสงนั้นจะมีค่าต่ำสุดที่ความละเอียดในการสแกนเท่ากับ 600 ppi ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการเลือกใช้สำหรับการทดลองนี้ ส่วนที่ความละเอียดในการสแกนเท่ากับ 200 ppi นั้นภาพที่ได้มีความละเอียดต่ำจึงทำให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ค่าความแตกต่างความเข้มแสงนั้นสูงกว่าที่ความละเอียดในการสแกนเท่ากับ 600 ppi สำหรับความละเอียดในการสแกนเท่ากับ 1200 ppi นั้นควรมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ค่าความแตกต่างความเข้มแสงต่ำลง แต่ผลที่ได้พบว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่ได้นั้นมีค่าสูงขึ้นอย่างชัดเจนเนื่องจาก เมื่อเพิ่มความละเอียดในการสแกนภาพขึ้น ภาพที่ได้จากการสแกนมีความละเอียดสูงขึ้น เช่นเดียวกับภาพที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์ซึ่งทำให้ภาพที่ได้มองออกมาแล้วเห็นถึงเส้นใยของกระดาษกรอง ซึ่งบริเวณผิวด้านในเส้นใยจะมีสีจางกว่าบริเวณผิวน้ำของกระดาษกรองทำให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์นั้นสูงขึ้นอย่างชัดเจน ส่วนที่ความละเอียดในการสแกนเท่ากับ 2400 และ 4800 ppi นั้นภาพมีขนาดใหญ่เกินกว่าความสามารถของโปรแกรม Image J™ จะโหลดรูปภาพเพื่อตรวจวัดความเข้มแสงและคำนวณค่าความแตกต่างความเข้มแสงได้

4.5 ศึกษาคุณลักษณะทางกายภาพของพื้นผิวกระดาษสำหรับชุดทดสอบ

นำชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) และระบบอโทพีแนนโทรินละลายในตัวทำละลายเอทานอลปราศจากน้ำเข้มข้นร้อยละ 0.50 (w/v) ศึกษาพื้นผิวกระดาษกรองสำหรับเตรียมชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดรวมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด ทั้งก่อนการเกิดปฏิกิริยาและหลังการเกิดปฏิกิริยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดด้วยกำลังขยาย 300 เท่า 1000 เท่า และ 5000 เท่า ตามลำดับ

จากรูปที่ 4.7 และ 4.8 แสดงภาพที่ถ่ายได้จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดระหว่างก่อนและหลังการเกิดปฏิกิริยา ตามลำดับ ซึ่งจากภาพที่ 4.7 (ก) คือภาพของกระดาษกรองที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการใดๆ เลย เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับภาพของกระดาษกรองที่ผ่านกระบวนการเตรียมชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบเอทานอลปราศจากน้ำ (ข) และระบบโซล-เจล (ค) พบว่า กระดาษกรองในระบบโซล-เจลนั้น มีการเปลี่ยนแปลงบริเวณพื้นผิวของกระดาษกรอง ในลักษณะที่เส้นใยของกระดาษกรองมีการพอกพูนของสารบนกระดาษกรองทำให้เส้นใยมีความหนามากขึ้น โดยน่าจะเป็นสารละลายโซล-เจลเจือด้วยออกโทพีแนนโทรลินที่สามารถตรึงหรือเคลือบอยู่บนพื้นผิวกระดาษกรองได้ ส่วนในระบบเอทานอลปราศจากน้ำนั้น ไม่พบการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวของกระดาษกรองใดๆ ที่สามารถสังเกตได้อย่างชัดเจน



รูปที่ 4.7 ภาพถ่ายชุดทดสอบบนกระดาษบนกระดาษก่อนการเกิดปฏิกิริยา

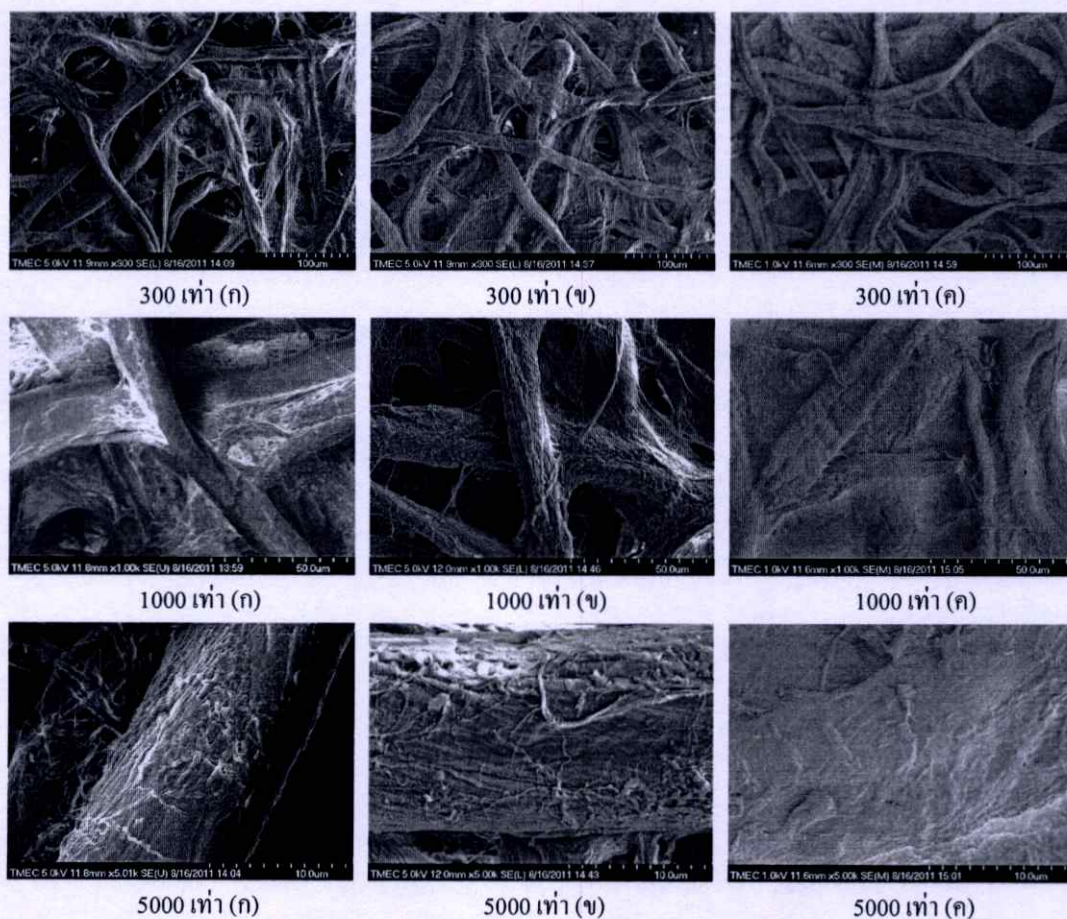
จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

(ก) กระดาษกรองเบอร์ 2 บริเวณที่ไม่ผ่านกระบวนการใดๆ

(ข) ระบบออกโทพีแนนโทรลินละลายในตัวทำละลายเอทานอลปราศจากน้ำเข้มข้นร้อยละ 0.50 (w/v)

(ค) ระบบโซล-เจลเจือด้วยออกโทพีแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v)

จากนั้นเมื่อนำชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดที่ใช้ทดสอบการเกิดสารเชิงซ้อนสีส้มแดง แล้วนั้น ซึ่งแสดงดังรูปที่ 4.8 พบว่า พื้นผิวของกระดาษกรอง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ ที่สามารถสังเกตได้อย่างชัดเจน นั่นแสดงให้เห็นว่า กระดาษกรองที่ผ่านการทดสอบหรือการใช้งานนั้น ไม่ได้เกิดมีการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวของกระดาษกรอง เพียงแต่มีการเปลี่ยนแปลงสีหรือเกิดสารเชิงซ้อนของไอออนเหล็ก (II) กับออร์โทฟอสเฟตแทนเท่านั้น สำหรับระบบ โซล-เจลนั้นจะบ่งบอกถึงความสามารถของสารละลายโซล-เจลที่สามารถตรึงอยู่บนกระดาษกรองในขอบเขตที่สามารถกำหนดได้ จึงเหมาะสำหรับการใช้เตรียมชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด



รูปที่ 4.8 ภาพถ่ายชุดทดสอบบนกระดาษบนกระดาษหลังการเกิดปฏิกิริยา

จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

(ก) กระดาษกรองเบอร์ 2 บริเวณที่ไม่ผ่านกระบวนการใดๆ

(ข) ระบบออร์โทฟอสเฟตแทนทรินละลายในตัวทำละลายเอทานอลปราศจากน้ำเข้มข้น ร้อยละ 0.50 (w/v)

(ค) ระบบโซล-เจลเจือด้วยออร์โทฟอสเฟตแทนทรินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v)

ด้วยข้อจำกัดของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดนั้น ซึ่งเหมาะสำหรับการศึกษาพื้นผิวที่สามารถนำไฟฟ้าได้ดี ดังนั้นชิ้นงานที่จะนำมาศึกษาพื้นผิวดังกล่าวด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดจะต้องผ่านการเตรียมตัวอย่าง โดยนำชิ้นงานมาเคลือบทองด้วยเทคนิคการเคลือบ (sputtering) ซึ่งเมื่อศึกษาพื้นผิวของกระดาษด้วยกำลังขยายที่มากขึ้นหรือกำลังขยายมากกว่า 5000 เท่าจะพบว่ามีประจุสะสมของอิเล็กตรอน (charge) บนพื้นผิวของกระดาษกรอง ไม่สามารถผ่านไปยังอุปกรณ์อื่นได้ ทำให้ภาพถ่ายที่กำลังขยายสูงๆ เห็นเป็นเพียงภาพขาวหรือภาพเบลอลๆ เท่านั้น ทำให้ไม่สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงของพื้นผิวกระดาษกรองได้อย่างชัดเจน

4.6 ศึกษาการรายงานผลค่าความเข้มแสง

จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้นนั้น เป็นการรายงานผลค่าความเข้มแสงของจุดสี่บนชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในเทอมของความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance) ทางคณิตศาสตร์นั้นรู้จักกันในชื่อ “สมการเชิงเส้นแบบยูคลิด” ซึ่งแสดงดังสมการที่ (1) ในงานวิจัยทางเคมีวิเคราะห์ ยังไม่ได้รับความนิยมนำมาใช้ในการรายงานผลในเทอมความแตกต่างความเข้มแสง

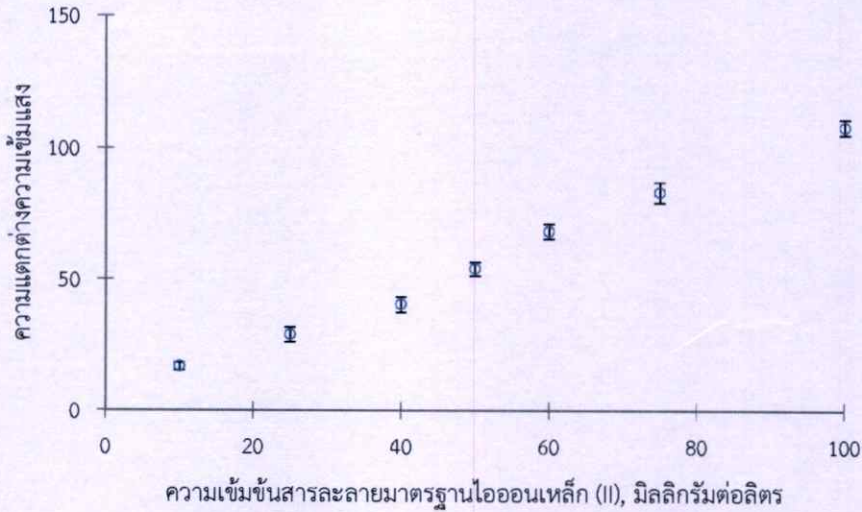
$$ED = \sqrt{(\Delta I_R)^2 + (\Delta I_G)^2 + (\Delta I_B)^2} \quad (1)$$

โดยที่ Δ	คือ ผลต่างของแสงที่จุด blank กับค่าความเข้มแสง ณ จุดที่เกิดปฏิกิริยากับเหล็กที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน		
R	คือ ค่าความเข้มแสงสีแดง	G	คือ ค่าความเข้มแสงสีเขียว
B	คือ ค่าความเข้มแสงสีน้ำเงิน		

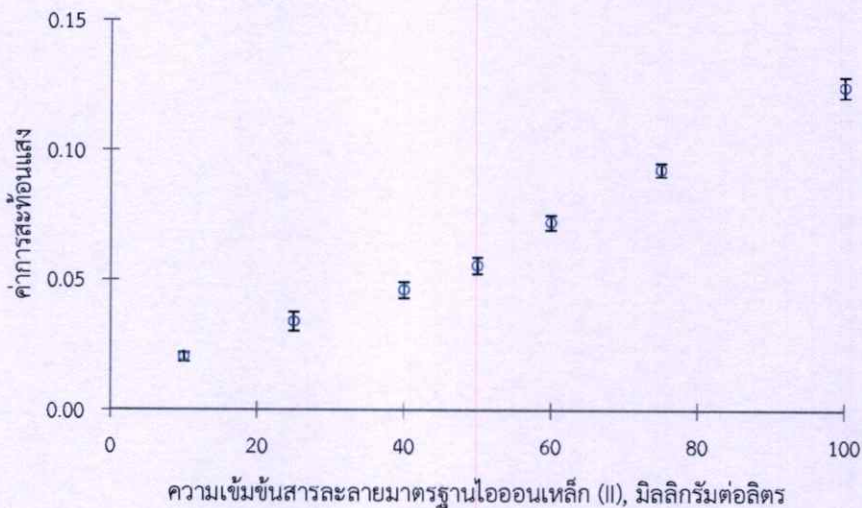
จึงต้องหาสมการมาอธิบายในเชิงเคมีวิเคราะห์นั่นคือ ค่าการสะท้อนแสง[6] (reflectance) ซึ่งแสดงดังสมการที่ (2) ซึ่งสมการที่ใช้นั้นมีความคล้ายคลึงกับสมการค่าการดูดกลืนแสง จึงมีบางงานวิจัยนำค่าการสะท้อนแสงจากสมการที่ (2) มาอธิบายค่าทางคณิตศาสตร์แทนค่าความแตกต่างความเข้มแสงเพื่อให้สอดคล้องกับความเข้าใจในทางเคมีวิเคราะห์ได้

$$\begin{aligned} RF_X &= -\log \frac{(I_X - I_{X,b})}{(I_{X,w} - I_{X,b})} \\ &= -\log \frac{(I_X)_c}{(I_{X,w})_c} = -\log R_X \end{aligned} \quad (2)$$

โดยที่ X	คือ แสงสีแดง แสงสีเขียว หรือ แสงสีน้ำเงิน		
I_X	คือ ความเข้มแสง X ณ จุดที่เกิดปฏิกิริยากับเหล็กที่ความเข้มข้นต่างๆ		
$I_{X,b}$	คือ ค่าความเข้มแสงสีดำ	$I_{X,w}$	คือ ค่าความเข้มแสงสีขาว
c	คือ ค่าความเข้มแสงที่แก้ไข	RF_X	คือ ค่าการสะท้อนแสง X



รูปที่ 4.9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) กับความแตกต่างความเข้มแสง (ภาคผนวก ข.)

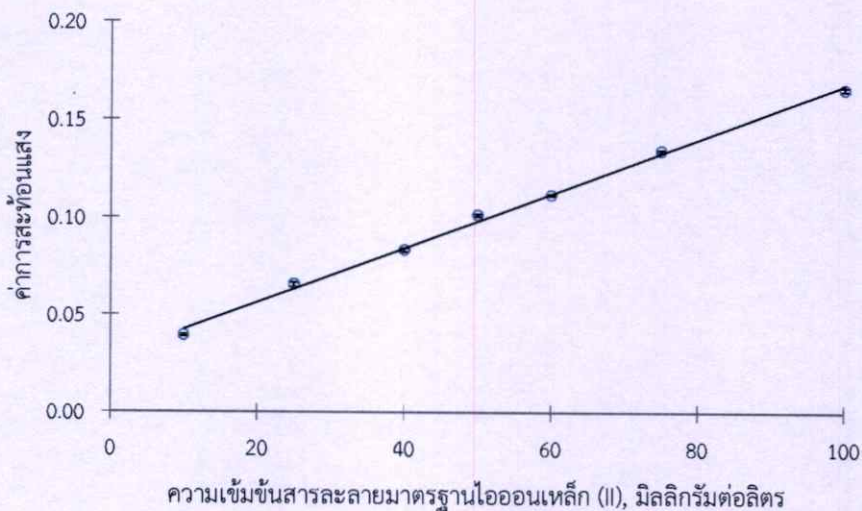


รูปที่ 4.10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) กับค่าการสะท้อนแสง (ภาคผนวก ข.)

จากรูปที่ 4.9 จากกราฟความสัมพันธ์ จะได้สมการเชิงเส้นตรงคือ $y = 1.0422x + 3.3713$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9933 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 2.73 – 9.84 เปอร์เซ็นต์ และจากรูปที่ 4.10 จากกราฟความสัมพันธ์จะได้สมการเชิงเส้นตรงคือ $y = 0.00107x + 0.00639$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9923 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 3.06 – 10.60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากทั้งสองรูปจะพบว่าเป็นการเปลี่ยนการรายงานผลจากความแตกต่างความเข้มแสงเป็นค่าการสะท้อนแสง ซึ่งจากกราฟพบว่าความเป็นเส้นตรงของกราฟเปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงสามารถนำมาใช้อภิปรายผลการทดลองได้ดีขึ้น

4.7 ศึกษาช่วงใช้งานของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

นำชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบ โซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) มาทดสอบการเกิดสารเชิงซ้อนของไอออนเหล็ก (II) กับอโทพีแนนโทรลินด้วยสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน เพื่อนำมาศึกษาช่วงการใช้งานชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบ โซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลิน จากนั้นบันทึกภาพของสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงส้มด้วยเครื่องสแกนเนอร์ จากนั้นบันทึกค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Image J™ พบว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของค่าความเข้มแสงที่จุด blank (บริเวณจุดทดสอบในระบบ โซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลินที่ด้วยหยดสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้น 0.00 มิลลิกรัมต่อลิตร) คำนวณค่าการสะท้อนแสงแล้วนำมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) กับค่าการสะท้อนแสง ซึ่งได้ผลการทดลองและการคำนวณ (ภาคผนวก ฉ.) แสดงดังรูปที่ 4.11



รูปที่ 4.11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) กับค่าการสะท้อนแสงของช่วงใช้งาน 10 – 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากรูปที่ 4.11 กราฟความสัมพันธ์จะได้สมการเชิงเส้นตรงเท่ากับ $y = 0.00139x + 0.02860$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9971 และได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 0.49 – 1.65 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากกราฟความสัมพันธ์สามารถนำมาคำนวณหาขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection, LOD) และคำนวณขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ) ได้เท่ากับ 2.38 มิลลิกรัมต่อลิตรและ 7.95 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งแสดงวิธีการคำนวณดังภาคผนวก ฉ.

4.8 วิเคราะห์ตัวอย่างและเทียบผลกับวิธีมาตรฐาน

การทดสอบความถูกต้องของวิธีเพื่อเทียบมาตรฐานผลการทดลองที่ได้จากชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือออโทฟิแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) นั้น สามารถใช้เป็นชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณ ศึกษาจากการวิเคราะห์หาปริมาณของเหล็กในตัวอย่างวิตามินที่มีธาตุเหล็กเป็นส่วนประกอบ นำมาผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่าง จากนั้นทดสอบการวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดและเทียบผลที่ได้กับวิธีมาตรฐานซึ่งตรวจวัดด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็นตัวอย่างวิตามินที่มีธาตุเหล็กอยู่ในรูปของเฟอร์รัสซัลเฟต (ferrous sulphate) หรืออยู่ในรูปไอออนเหล็ก (II) ซึ่งจากการทดลองได้ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ตารางการเทียบผลการทดลองระหว่างชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดและวิธีมาตรฐานด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (ภาคผนวก ก.)

ตัวอย่างหมายเลข	ปริมาณธาตุเหล็กที่ตรวจพบ (มิลลิกรัมต่อกรัมของเม็ดยา)	
	วิธีมาตรฐาน AAS	ชุดทดสอบบนกระดาษ
1	165.41±5.06	166.91±4.44
2	81.68±2.27	81.84±3.91
3	186.79±4.29	188.54±7.35
4	202.11±3.16	201.34±3.34
5	212.83±7.19	211.85±8.16

จากตารางที่ 4.2 พบว่าปริมาณธาตุเหล็กที่พบในวิตามินนั้น จากเทคนิคการวิเคราะห์ความเข้มของจุดสีบนกระดาษ (ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด) และเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมทรีนั้น มีปริมาณธาตุเหล็กที่พบในหน่วยมิลลิกรัมต่อเม็ด ใกล้เคียงกัน เมื่อนำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์เปรียบเทียบกันทางสถิติ พบว่าเมื่อทดสอบด้วย t-test แสดงให้เห็นว่าผลวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กที่ได้จากทั้งสองเทคนิคนั้น ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (จำนวนข้อมูล $n = 5$, $t_{\text{คำนวณ}} = 0.34$ และ $t_{\text{ตาราง}} = 3.18$)

4.9 ศึกษาอายุการใช้งานชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

ศึกษาอายุการใช้งานชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด นำชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือออโทพีแนทโวลินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) มาทดสอบการเกิดสารเชิงซ้อนของไอออนเหล็ก (II) กับออโทพีแนทโวลินความเข้มข้น 50.00 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นบันทึกค่าความเข้มแสงและคำนวณค่าการสะท้อนแสง เพื่อทดสอบความคงที่ที่ได้ของค่าการสะท้อนแสงจากชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดที่เตรียมในวันเดียวกัน แต่นำมาใช้ในวันที่แตกต่างกันคือหลังจากเตรียมชุดทดสอบ วันที่ 0, วันที่ 7, วันที่ 15 และวันที่ 30

ตารางที่ 4.3 ตารางเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงค่าการสะท้อนแสงของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดที่เก็บไว้ใช้งานในวันที่ 0, 7, 15 และ 30 วัน (ภาคผนวก ก.)

วันที่เก็บไว้	ค่าการสะท้อนแสง	ค่าความคลาดเคลื่อน (%)
0	0.0910±0.0025	0.0000
7	0.0901±0.0052	1.0101
15	0.0898±0.0026	1.2794
30	0.0870±0.0014	4.6332

จากตารางที่ 4.3 พบว่า ค่าความเข้มแสงของวันที่ 0, 7, 15 และ 30 วัน เมื่อนำมาคำนวณค่าการสะท้อนแสงจะได้เท่ากับ 0.0910, 0.0901, 0.0898 และ 0.0870 ตามลำดับ เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนของค่าการสะท้อนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเทียบกับค่าการสะท้อนแสงของวันที่ 0 จะได้เปอร์เซ็นต์ค่าความคลาดเคลื่อนเป็นดังนี้ 0.0000, 1.0101, 1.2794 และ 4.6332 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้สามารถสรุปได้ว่า ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดที่เตรียมได้นั้น การเก็บรักษาชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือออโทพีแนทโวลินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) ดังกล่าว เมื่อเก็บไว้นานขึ้นแนวโน้มของค่าการสะท้อนแสงที่ได้จากชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดนั้นลดลงไปเรื่อยๆ โดยที่เมื่อวันที่เก็บไว้มากกว่า 30 วัน จากแนวโน้มที่ได้ในตารางที่ 4.3 นั้นคาดว่าเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนจะมากกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือออโทพีแนทโวลินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) จะมีอายุการใช้งานสำหรับใช้วิเคราะห์ปริมาณ ไอออนเหล็กประมาณ 30 วัน

4.10 พัฒนาและปรับปรุงประสิทธิภาพชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด

4.10.1 ลดกระบวนการและขั้นตอนการวิเคราะห์ตัวอย่างไอออนเหล็ก (II)

การเตรียมชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือออโทพีแนนโทรินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็ก (II) ในตัวอย่างนั้น จำเป็นจะต้องเตรียมสารละลายให้อยู่ในสถานะที่มีสารละลายบัฟเฟอร์ค่า pH เท่ากับ 4.5 และเติมตัวรีดิวซ์สำหรับรีดิวซ์ไอออนเหล็กในสารละลายตัวอย่างให้อยู่ในรูปไอออนเหล็ก (II) ทั้งหมดก่อนการวิเคราะห์

การลดกระบวนการและขั้นตอนการวิเคราะห์นั้น สามารถทำได้โดยผสมตัวรีดิวซ์ลงในชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือด้วยออโทพีแนนโทรินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) ซึ่งจากการทดลองพบว่า เมื่อเตรียมสารละลายโซล-เจลเจือออโทพีแนนโทรินที่ผสมรีดิวซ์ลงไป ในกระบวนการเตรียมสารละลายสำหรับหยดลงบนกระดาษกรอง พบว่าเมื่อผสมสารละลายทั้งหมดแล้ว สารละลายทั้งหมดไม่สามารถผสมเข้ากันเป็นเนื้อเดียวกันได้ เนื่องจากปริมาณสารละลายทั้งหมดนั้น มีตัวทำละลายน้ำในองค์ประกอบมากเกินไป ทำให้แอลกอฮอล์ (TEOS) ซึ่งไม่สามารถผสมกับน้ำได้เป็นเนื้อเดียวกัน แต่สามารถเติมสารละลายอิมัลซิไฟเออร์ นั่นคือ แอลกอฮอล์ แต่ด้วยองค์ประกอบของน้ำที่มีมากเกินไป ทำให้สารละลายทั้งหมดไม่สามารถรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกันได้ สำหรับอีกกระบวนการหนึ่งคือผสมตัวรีดิวซ์ลงในชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดเดิมที่เตรียมแล้ว โดยนำชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือด้วยออโทพีแนนโทรินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) ที่เตรียมแล้วนั้น จากนั้นหยดตัวรีดิวซ์ที่ผสมสารละลายบัฟเฟอร์ 10.00 ไมโครลิตรลงบนจุดทดสอบเดิม เพื่อเป็นชั้นของตัวรีดิวซ์ที่ผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ จากนั้นนำมาทดสอบการเกิดสารเชิงซ้อนกับสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่าง และพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ความเข้มสีของเชิงซ้อนดังกล่าวจะมีสีที่เข้มขึ้นไปตามลำดับ

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าการสะท้อนแสงของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดเดิมและชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดที่พัฒนาขึ้นใหม่ที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ต่างๆ กัน

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าการสะท้อนแสง	
	ชุดทดสอบเดิม	ชุดทดสอบใหม่
10.00	0.0395±0.0005	0.0433±0.0007
25.00	0.0656±0.0011	0.0630±0.0014
50.00	0.1013±0.0006	0.1007±0.0017
100.00	0.1657±0.0009	0.1664±0.0021

จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพของชุดทดสอบดังกล่าวที่พัฒนาขึ้นใหม่เทียบกับชุดทดสอบเดิมที่มีกระบวนการเตรียมตัวอย่างมากกว่า โดยทดสอบดูค่าความเข้มแสงที่ได้ จากการบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกนเนอร์และวิเคราะห์ความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Image J™ พบว่า ค่าการสะท้อนแสงที่ได้นั้นมีค่าใกล้เคียงกับชุดทดสอบเดิม แสดงให้เห็นว่าชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นนั้น สามารถลดกระบวนการเตรียมตัวอย่าง แต่ยังคงให้ค่าความเข้มแสงเท่าเดิม และเมื่อนำมาคำนวณค่าการสะท้อนแสงจากชุดทดสอบทั้งสองรูปแบบนั้น พบว่าค่าการสะท้อนแสงที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งแสดงผลการคำนวณค่าการสะท้อนแสงดังตารางที่ 4.4

4.10.2 ปรับปรุงประสิทธิภาพของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างไอออนเหล็กผสมของไอออนเหล็ก (II) และไอออนเหล็ก (III)

จากข้อ 3.3.10.1 สามารถนำชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดมาปรับปรุงประสิทธิภาพของชุดทดสอบเพิ่มเติม เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างไอออนเหล็กสองสปีชีส์ ซึ่งจะประกอบด้วยไอออนเหล็ก (II) และไอออนเหล็ก (III) ได้ จากแนวคิดการลดกระบวนการเตรียมตัวอย่าง โดยนำสารละลายตัวอย่างมาวิเคราะห์โดยตรง เมื่อนำชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนทโทรลีนเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) เดิมที่ไม่มีการเติมตัวรีดิวซ์ จะนำมาใช้สำหรับวิเคราะห์ไอออนเหล็ก (II) ในสารละลายและนำชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนทโทรลีนเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) ที่เติมตัวรีดิวซ์และบัฟเฟอร์ นำมาใช้สำหรับวิเคราะห์ไอออนเหล็กทั้งหมดในรูปแบบไอออนเหล็ก (II) ดังนั้นถ้านำค่าการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กผสมทั้งหมดในรูปแบบไอออนเหล็ก (II) ลบด้วยค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ก็จะได้ปริมาณความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (III) ที่อยู่ในสารละลาย

จากตารางที่ 4.5 จะแสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กผสมของไอออนเหล็ก (II) และไอออนเหล็ก (III) โดยวิเคราะห์ในรูปแบบไอออนเหล็ก (II) ทั้งหมด แล้วเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่คำนวณได้จากการเตรียมสารละลายเข้มข้น 10.00, 25.00, 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยประกอบด้วยไอออนเหล็ก (II) และไอออนเหล็ก (III) ในอัตราส่วน 1:1 ดังแสดงในข้อ 3.3.10.2.1 พบว่าค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กที่คำนวณได้มีค่าใกล้เคียงกับค่าความเป็นจริง และเมื่อนำผลการทดลองที่ได้นั้นนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบกันทางสถิติ t-test แสดงให้เห็นว่าผลการวิเคราะห์ปริมาณไอออนเหล็ก (II) ที่ได้จากชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดและจากการคำนวณนั้น ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (จำนวนข้อมูล $n = 4$, $t_{\text{คำนวณ}} = 0.55$ และ $t_{\text{ตาราง}} = 3.18$)

ตารางที่ 4.5 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ทั้งหมดที่คำนวณได้จากชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบ โชล-เจลเจือด้วยอโทพีแนน โทรีลินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) ที่มีตัวรีดิวซ์

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กผสม ที่คำนวณจากการเตรียมสารละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ที่คำนวณจากชุด ทดสอบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ไอออนเหล็ก (II)	ไอออนเหล็ก (III)	ไอออนเหล็กรวม*	
5.00	5.00	10.00	10.57±0.56
12.50	12.50	25.00	24.73±0.99
25.00	25.00	50.00	51.87±1.24
50.00	50.00	100.00	99.13±1.58

หมายเหตุ * คือ ค่าความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กที่คำนวณได้จากการเตรียมสารละลายมาตรฐานใช้สำหรับเป็นค่าอ้างอิง

ตารางที่ 4.6 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ที่คำนวณได้จากชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบ โชล-เจลเจือด้วยอโทพีแนน โทรีลินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) ที่ไม่มีตัวรีดิวซ์

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กผสม ที่คำนวณจากการเตรียมสารละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ที่คำนวณจากชุด ทดสอบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ไอออนเหล็ก (II)*	ไอออนเหล็ก (III)	ไอออนเหล็กรวม	
5.00	5.00	10.00	4.85±0.36
12.50	12.50	25.00	13.19±0.97
25.00	25.00	50.00	26.77±1.05
50.00	50.00	100.00	52.17±1.36

หมายเหตุ * คือ ค่าความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กที่คำนวณได้จากการเตรียมสารละลายมาตรฐานใช้สำหรับเป็นค่าอ้างอิง

จากตารางที่ 4.6 จะแสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กผสมของไอออนเหล็ก (II) และไอออนเหล็ก (III) โดยจะวิเคราะห์ไอออนเหล็ก (II) ได้เพียงแค่อิออนเดียวไม่สามารถวิเคราะห์ไอออนเหล็ก (III) ได้ เนื่องจากอโทพีแนน โทรีลินมีความจำเพาะในการเกิดสารเชิงซ้อนสีแดงส้มกับไอออนเหล็ก (II) เท่านั้น รวมทั้งไม่มีตัวรีดิวซ์ไอออนเหล็ก (III) ให้อยู่ใน

รูปไอออนเหล็ก (II) ซึ่งเมื่อคำนวณความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) เท่านั้น ในสารละลายผสมไอออนเหล็ก ที่คำนวณได้จากการเตรียมสารละลายจะให้ความเข้มข้นเท่ากับ 5.00, 12.50, 25.00 และ 50.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากตารางพบว่าค่าใกล้เคียงกับค่าความเป็นจริง และเมื่อนำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์มาเปรียบเทียบกันทางสถิติ t-test แสดงให้เห็นว่าผลการวิเคราะห์ปริมาณไอออนเหล็ก (II) ที่ได้จากชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดและที่ได้จากการคำนวณนั้น ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (จำนวนข้อมูล $n = 4$, $t_{คำนวณ} = 2.13$ และ $t_{ตาราง} = 3.18$)

จากตารางที่ 4.5 และ 4.6 ถ้านำค่าจากการวิเคราะห์และคำนวณความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอออนผสมเหล็กทั้งหมดจากตารางที่ 4.5 ลบด้วยค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) เท่านั้น จากตารางที่ 4.6 จะได้ค่าปริมาณความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (III) ที่อยู่ในสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กผสม ซึ่งแสดงดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 แสดงความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) ที่ได้จากชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือด้วยออกโทฟีแนน โทโรลีนเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v)

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กผสม ที่คำนวณจากการเตรียมสารละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ที่คำนวณจากชุด ทดสอบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ไอออนเหล็ก (II)	ไอออนเหล็ก (III)*	ไอออนเหล็กรวม	
5.00	5.00	10.00	5.73±0.69
12.50	12.50	25.00	11.53±1.34
25.00	25.00	50.00	25.10±1.76
50.00	50.00	100.00	46.51±1.97

หมายเหตุ * คือ ค่าความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กที่คำนวณได้จากการเตรียมสารละลายมาตรฐานใช้สำหรับเป็นค่าอ้างอิง

ซึ่งจากผลการทดลองที่ได้ พบว่าชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดที่ปรับปรุงประสิทธิภาพของชุดทดสอบ โดยเติมตัวรีดิวซ์และบัฟเฟอร์นั้น สามารถนำมาประยุกต์สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างไอออนเหล็กผสมสองสปีชีส์ระหว่างไอออนเหล็ก (II) และไอออนเหล็ก (III) ได้ รวมทั้งสามารถนำมคำนวณหาปริมาณไอออนเหล็กในเชิงปริมาณได้อย่างถูกต้องและค่าใกล้เคียงกับความเป็นจริง ดังนั้นชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือด้วยออกโทฟีแนน โทโรลีนที่พัฒนาขึ้นนั้นสามารถนำมาใช้สำหรับตรวจวัดปริมาณไอออนเหล็กได้ในเชิงปริมาณวิเคราะห์

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

การวิเคราะห์ความเข้มของจุดสีบนกระดาษสำหรับตรวจวัดไอออนเหล็ก (II) โดยใช้โซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลินนั้น ได้ออกแบบระบบสำหรับสร้างชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด เพื่อด้วยเทคนิคใหม่นั้นคือ ระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลิน โดยที่อโทพีแนนโทรลิน เป็นทีเลคตติ้งเอเจนต์ที่จำเพาะต่อไอออนเหล็ก (II) เท่านั้น โดยจะเกิดสารเชิงซ้อนที่มีสีแดงส้มของ ไอออนเหล็ก (II) กับอโทพีแนนโทรลินและทำการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้นแล้ว นำมาคำนวณสีที่เปลี่ยนแปลง เพื่อคำนวณปริมาณ ไอออนเหล็ก (II) ที่พบ

ระบบที่ศึกษานั้น พบว่า ระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลิน ที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 0.60 (w/v) นั้น จะให้ค่าความเข้มแสงที่ได้จากการตรวจวัดสารเชิงซ้อนที่มีสีด้วยอุปกรณ์ ตรวจวัดและบันทึกค่าด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ จากการศึกษาพบว่า อุปกรณ์ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดความเข้มสีคือ เครื่องสแกนเนอร์ เนื่องจากให้ค่าความเข้มแสงสูงสุด เพราะในระบบ เครื่องสแกนเนอร์เป็นระบบถ่ายภาพในระบบปิด ที่สามารถควบคุมแหล่งแสงได้อย่างชัดเจน ทำให้ค่าความเข้มแสงที่ได้สูงกว่าระบบอื่นๆ ส่วน โปรแกรมที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัดค่าความเข้มแสงคือ โปรแกรม Image J™ เนื่องจากการเก็บข้อมูลของค่าความเข้มแสงจากโปรแกรมนี้ จะสามารถเก็บข้อมูลค่าความเข้มแสงได้มากกว่า รวมทั้งลดข้อผิดพลาดของผู้ทดลองเองที่จะเลือกค่า ความเข้มแสงผิดค่า เพราะ โปรแกรมจะเลือกข้อมูลค่าความเข้มแสงจากพื้นที่ของภาพโดยผู้ทดลอง ซึ่งจะลดข้อผิดพลาดจากการเลือกข้อมูลเฉพาะจุดได้ อีกทั้งสามารถลดค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ข้อมูลได้ เพราะจำนวนข้อมูลค่าความเข้มแสงที่มาก ทำให้ลดความผิดพลาดจากการเลือกตัวแทน ของข้อมูลได้อีกด้วย

การหาปริมาณ ไอออนเหล็ก (II) นั้น สามารถทำได้โดยสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งช่วงความ เป็นเส้นที่ได้ทดสอบนั้นอยู่ในช่วง 10 – 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และจากสภาวะที่เหมาะสมของระบบ ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด ทำให้ได้ลักษณะเด่นของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบ ระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทรลินดังต่อไปนี้ ค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 2.38 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 7.95 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับความ เทียงของวิธีประเมินจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 0.48 – 1.65 เปอร์เซ็นต์และการเทียบ มาตรฐานของวิธีกับวิธีมาตรฐาน โดยใช้เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ พบว่ามีค่าใกล้เคียงกันมาก และเมื่อทดสอบด้วยเครื่องทางสถิติพบว่าค่าที่ได้ ไม่แตกต่างกันอย่างมี นัยสำคัญ ดังนั้นชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบระบบโซล-เจลเจือด้วยอโทพีแนนโทร – ลินสามารถนำมาใช้สำหรับตรวจวัดปริมาณ ไอออนเหล็ก (II) ในเชิงปริมาณวิเคราะห์ได้

จากนั้น ศึกษาความเป็นไปได้ของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด เพื่อเพิ่มเติมสารเคมีลงในชุดทดสอบเพิ่มเติม เพื่อลดกระบวนการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบ เนื่องจากการใช้ชุดทดสอบนั้นมีสิ่งหนึ่งที่ต้องพัฒนา นั่นคือ ความสะดวก รวดเร็วและง่าย ในการใช้งาน ดังนั้นจึงศึกษาความเป็นไปได้ พบว่า สามารถเติมสารเคมีอื่นลงไปได้นั่นคือ ตัวรีดิคซ์สำหรับรีดิคซ์เหล็กในสารละลายทั้งหมดให้อยู่ในรูปไอออนเหล็ก (II) และสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับควบคุมค่า pH ให้เหมาะสมในการเกิดสารเชิงซ้อน พบว่าชุดทดสอบบนกระดาษที่เติมสารเหล่านี้ลงไปนั้น จะให้ความสะดวกในการทดลองมากขึ้น แต่ยังไม่ให้ผลการทดลองเช่นเดิม

ซึ่งในการศึกษาวิจัยได้มุ่งเน้นวิธีการและพัฒนาระบบสำหรับสร้างชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดและออกแบบระบบที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัดความเข้มข้นและบันทึกค่าความเข้มข้น ดังนั้นการแต่งเติมสารเคมีชนิดอื่นๆ ลงไปนั้น ยังจำเป็นต้องได้รับการศึกษาวิจัยเพิ่มเติม ในแง่ของอายุการใช้งานของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดที่ศึกษาขึ้นใหม่ เพราะการแต่งเติมตัวรีดิคซ์หรือสารละลายบัฟเฟอร์นั้นลงในชุดทดสอบเดิม อาจเกิดการสลายตัวเนื่องจากการเก็บไว้เป็นระยะเวลาอันได้ รวมทั้งจากการศึกษาไม่สามารถผสมตัวรีดิคซ์และบัฟเฟอร์ ลงในกระบวนการเตรียมสารละลายโซล-เจลได้ จึงอาจจำเป็นต้องศึกษาอัตราส่วนของน้ำ แอลกอฮอล์และแอลกอฮอล์ที่ใช้ โดยศึกษาจากเฟสไดอะแกรม 3 ภูมิภาค แต่อย่างไรก็ตาม ชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบระบบโซล-เจลเจือด้วยออกโทพีแนนโทโรลีนเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) นั้น ได้ทดสอบความสามารถและประสิทธิภาพหลากหลายรูปแบบ รวมทั้งได้ศึกษาความเหมาะสมของความเข้มข้นออกโทพีแนนโทโรลีนและอื่นๆ ซึ่งหากจะนำชุดทดสอบที่แต่งเติมสารเคมีอื่นจึงเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติม แต่อย่างไรก็ตาม ก็ได้ศึกษาความเป็นไปได้ของชุดทดสอบเดิมและชุดทดสอบที่แต่งเติมตัวรีดิคซ์และบัฟเฟอร์เพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์ปริมาณไอออนเหล็กสองสปีชีส์ได้ ซึ่งจากการคำนวณพบว่าค่าความเข้มข้นของไอออนเหล็กที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กผสมที่ใช้ทดสอบ ทำให้มีความเป็นไปได้ที่จะนำชุดทดสอบนี้ไปใช้สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างไอออนเหล็กผสมได้

เอกสารอ้างอิง

- [1] C.J. Brinker and G.W. Scherer, 1990. Sol-Gel Science the Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing, United Kingdom Edition, Academic Press INC.
- [2] รศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาล, 2550. ปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ 1, คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [3] ชุดทดสอบ [Online]. Available: <http://www.sc.mahidol.ac.th/tha/research/webtestkit/advance.htm>; Search: 8 February 2011.
- [4] ระบบสี [Online]. Available: <http://www.punyisa.com/photoshop/graphic/graphic4.html>; Search: 8 February 2011.
- [5] ความเข้าใจเบื้องต้นเกี่ยวกับกล้องดิจิทัล [Online]. Available: <http://pioneer.chula.ac.th/~schutcha/TEXTon/04.pdf>; Search: 8 February 2011.
- [6] M. Kompany-Zareh, M. Mansourian and F. Ravaee, 2002. "Simple method for colorimetric spot-test quantitative analysis of Fe (III) using a computer controlled hand-scanner" *Analytica Chimica Acta*, 471, 97-104.
- [7] P.C.A. Jeronimo, A.N. Araujo and M.C.B.S.M. Montenegro, 2007 "Optical sensors and biosensors based on sol-gel films" *Talanta*, 72, 13-27.
- [8] B.D. MacCraith, C.M. McDonagh, G. O'Keeffe, A.K. McEvoy, T. Butler and F.R. Sheridan, 1995. "Sol-gel coatings for optical chemical sensors and biosensors" *Sensors and Actuator B*, 29, 51-57.
- [9] A.M.G. Rodriguez, A.G. Torres, J.M.C. Pavon and C.B. Ojeda, 1998. "Simultaneous determination of iron, cobalt, nickel and copper by UV-visible spectrophotometry with multivariate calibration" *Talanta*, 47, 463-470.
- [10] F. Shakerian, S. Dadfarnia, A.M. Shabani and M. Rohani, 2008. "MultiSimplex optimization of on-line sorbent preconcentration and determination of iron by FI-AAS and microcolumn of immobilized ferron" *Talanta*, 77, 551-555.
- [11] J.M. Anzano and P. Gonzalez, 2000. "Determination of iron and copper in peanuts by flame atomic absorption spectrometry using acid digestion" *Microchemical Journal*, 64, 141-145.
- [12] K. Tasev, I. Karadjova, S. Arpadjan, J. Cvetkovic and T. Stafilov, 2006. "Liquid-liquid extraction and column solid phase extraction procedures for iron species determination in wines" *Food Control*, 17, 484-488.

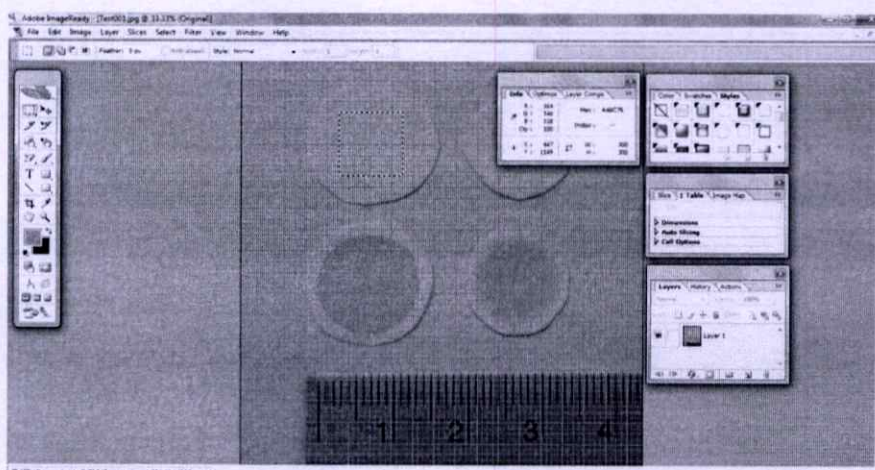
- [13] A.B. Tabrizi, 2010. "Development of a dispersive liquid-liquid microextraction method for iron speciation and determination in different water samples" *Journal of Hazardous Materials*, 183, 688-693.
- [14] A.S. Amin and A.A. Gouda, 2008. "Utility of solid-phase spectrophotometry for determination of dissolved iron (II) and iron (III) using 2,3-dichloro-6-(3-carboxy-2-hydroxy-1-naphthylazo)quinoxaline" *Talanta*, 76, 1241-1245.
- [15] D.A. Weeks and K.W. Bruland, 2002. "Improved method for shipboard determination of iron in seawater by flow injection analysis" *Analytica Chimica Acta*, 453, 21-32.
- [16] L. Durukan, C.A. Sahin, C.A. 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.
- [17] S. Kozono and H. Haraguchi, 2003. "Determination of trace iron in indium phosphide wafer by on-line matrix separation and inductively coupled plasma mass spectrometry" *Analytica Chimica Acta*, 482, 189-196.
- [18] S. Schaffer, P. Gareil, C. Dezael and D. Richard, 1996. "Direct determination of iron (II), Iron (III) and total iron as UV-absorbing complexes by capillary electrophoresis" *Journal of Chromatography A*, 740, 151-157.
- [19] A. Komersova, M. Bartos, K. Kalcher and K. Yytras, 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.
- [20] 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 diphenylcarbazine" *Talanta*, 84, 913-917.
- [21] N.A. Yusof, W.A. Rahman and W.A. Kadir, 2009. "Optical test strip for trace Hg (II) based on doped sol-gel film" *Spectrochimica Acta Part A*, 72, 32-35.
- [22] ImageJ [Online]. Available: <http://en.wikipedia.org/wiki/ImageJ>; Search: 22 August 2010.
- [23] รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล, 2550. ปฏิบัติการการประยุกต์ใช้เครื่องมือเคมีวิเคราะห์, คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ภาคผนวก ก.

การบันทึกค่าความเข้มแสงจากโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™

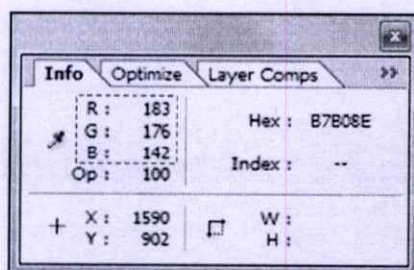
ขั้นตอนและวิธีการใช้โปรแกรม

1. เปิดโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ จากนั้นกด CTRL+O เพื่อเปิดรูปภาพที่ต้องการ
2. กด CTRL+' เพื่อเรียกตาราง (grid) ออกมา ใช้สำหรับกำหนดพื้นที่ในการวิเคราะห์ค่าความเข้มแสงของภาพ
3. คลิกเมาส์ซ้ายเพื่อสร้างกรอบสี่เหลี่ยมขนาด 10.0 x 10.0 มิลลิเมตร ดังรูปที่ ก.1



รูปที่ ก.1 หน้าต่างโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™ และการสร้างกรอบสี่เหลี่ยมขนาด 10.0 x 10.0 มิลลิเมตร เพื่อวัดค่าความเข้มแสง

4. ซึ่ถูกรของเมาส์ไปยังจุดที่ต้องการวัดค่าความเข้มแสง โดยค่าที่ได้จะแสดงออกมาเป็นค่าแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน (RGB) ดังรูปที่ ก.2 ซึ่งจะเลือกวัดค่าความเข้มแสงทั้งหมด 5 จุดคือมุมของกรอบสี่เหลี่ยมที่ลากไว้ทั้ง 4 มุมและจุดกึ่งกลางของกรอบสี่เหลี่ยม บันทึกค่า แสง RGB และนำมาคำนวณค่าความแตกต่างความเข้มแสงหรือค่าการสะท้อนแสงได้



รูปที่ ก.2 หน้าต่างแสงค่าความแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน

ภาคผนวก ข.

แสดงการคำนวณค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อ้างอิงจากรูปที่ 4.3 หน้า 32

ตารางที่ ข.1 ค่าความเข้มแสง ค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของระบบสารละลายไอพีแวน ไทโรลีนละลายในตัวทำละลายเอทานอลปราศจากน้ำเข้มข้นร้อยละ 0.50 (w/v) และระบบสารละลายไอโซล-เจลดิวคัลไอพีแวน ไทโรลีนเข้มข้นร้อยละ 0.20 (w/v)

ความเข้มข้นสารละลาย มาตรฐานไอออนหนัก (II) , มิลลิกรัมต่อลิตร	ระบบไอพีแวน ไทโรลีนละลายในตัวทำละลายเอทานอล ปราศจากน้ำเข้มข้นร้อยละ 0.50 (w/v)				ระบบไอโซล-เจลดิวคัลไอพีแวน ไทโรลีน เข้มข้นร้อยละ 0.20 (w/v)					
	ค่าความเข้มแสง			ED	%RSD	ค่าความเข้มแสง			ED	%RSD
	แดง	เขียว	น้ำเงิน			แดง	เขียว	น้ำเงิน		
0.00	216.36±0.49	233.32±0.46	224.68±0.61	*	-	200.04±2.82	221.88±1.85	212.44±2.01	*	-
10.00	218.60±0.76	232.12±0.33	220.00±0.37	5.46±0.74	13.59	201.64±2.61	222.56±1.65	211.96±0.48	2.84±1.51	52.96
25.00	221.40±1.22	229.16±0.52	215.04±0.93	11.76±0.86	7.33	203.20±2.21	221.96±1.16	195.40±1.80	17.56±2.48	14.13
50.00	225.16±0.33	223.40±0.86	202.32±2.66	26.04±2.94	11.29	208.64±1.99	203.68±2.09	178.00±2.21	40.06±3.24	8.09
100.00	225.68±0.89	220.88±1.35	197.56±2.56	31.28±3.09	9.89	210.24±1.49	192.16±1.19	162.64±1.58	58.94±3.37	5.71

หมายเหตุ * คือ จุดที่ค่าความเข้มแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน กำหนดให้เป็นสัญญาณของ blank ดังนั้น ณ จุดนี้จึงไม่มีค่าความแตกต่างความเข้มแสง โดยที่ ED คือ ค่าความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance) และ %RSD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ตารางที่ ข.2 ค่าความเข้มแสง ค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของระบบสารละลายไซคลอเจลเจ็ดด้วยอโทพีแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.40 (w/v) และระบบสารละลายไซคลอเจลเจ็ดด้วยอโทพีแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v)

ความเข้มข้นสารละลาย มาตรฐานไอออนเท็กซ์ (II) , มิลลิกรัมต่อลิตร	ระบบไซคลอเจลเจ็ดด้วยอโทพีแนนโทรลิน เข้มข้นร้อยละ 0.40 (w/v)					ระบบไซคลอเจลเจ็ดด้วยอโทพีแนนโทรลิน เข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v)				
	ค่าความเข้มแสง			ED	%RSD	ค่าความเข้มแสง			ED	%RSD
	แดง	เขียว	น้ำเงิน			แดง	เขียว	น้ำเงิน		
0.00	182.16±2.48	212.56±2.39	205.44±3.01	*	-	190.56±3.24	214.96±0.97	204.52±2.78	*	-
10.00	184.16±2.11	209.72±2.16	199.84±1.64	6.84±2.065	30.19	170.08±1.01	190.56±1.57	178.00±2.06	6.43±6.43	15.49
25.00	185.76±2.36	197.92±3.31	180.40±2.93	29.27±1.01	3.45	176.48±1.65	182.20±1.77	160.44±2.94	56.78±2.77	4.87
50.00	190.08±2.37	181.28±1.86	153.04±2.43	61.55±1.34	2.18	180.24±1.82	167.16±1.79	137.12±2.98	83.36±4.49	5.39
100.00	191.40±1.46	166.04±1.44	128.04±2.26	90.81±2.48	2.74	182.04±1.56	150.56±1.19	106.72±2.66	117.47±4.61	3.92

หมายเหตุ * คือ จุดที่ค่าความเข้มแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน กำหนดให้เป็นสัญญาณของ blank ดังนั้น ณ จุดนี้จึงไม่มีค่าความแตกต่างความเข้มแสง โดยที่ ED คือ ค่าความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance) และ %RSD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ภาคผนวก ก.

แสดงการคำนวณความเข้มแสง ค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อ้างอิงจากรูปที่ 4.4 หน้า 33

ตารางที่ ค.1 ค่าความเข้มแสง ค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เปรียบเทียบอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบระหว่างเครื่องสแกนเนอร์และกล้องถ่ายภาพดิจิทัล

ความเข้มขั้นสารละลาย มาตรฐานไอออนเทลิท (II) , มิติกริมต์อติตร	เครื่องสแกนเนอร์					กล้องถ่ายภาพดิจิทัล				
	ค่าความเข้มแสง			ED	%RSD	ค่าความเข้มแสง			ED	%RSD
	แดง	เขียว	น้ำเงิน			แดง	เขียว	น้ำเงิน		
0.00	254.52±0.33	252.32±1.64	250.92±1.25	*	-	223.08±0.54	230.44±0.56	231.04±0.86	*	-
10.00	254.20±0.76	234.52±1.51	232.92±1.86	25.33±3.08	12.15	224.00±1.20	225.40±0.91	222.92±0.96	9.69±1.48	15.26
25.00	252.92±0.79	217.64±2.46	217.92±2.09	47.91±3.12	6.51	224.28±1.86	216.00±1.03	209.24±0.83	26.24±1.83	6.96
50.00	253.00±0.68	194.68±2.13	175.28±0.89	79.75±3.63	4.55	225.88±0.79	204.56±1.63	190.24±1.18	48.39±2.26	4.68

หมายเหตุ * คือ จุดที่ค่าความเข้มแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน กำหนดให้เป็นสัญญาณของ blank ดังนั้น ณ จุดนี้จึงไม่มีค่าความแตกต่างความเข้มแสง โดยที่ ED คือค่าความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance) และ %RSD คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ภาคผนวก ง.

แสดงการคำนวณค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อ้างอิงจากรูปที่ 4.5 หน้า 34

ตารางที่ ง.1 ค่าความเข้มแสง ค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เปรียบเทียบโปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบ จากภาพที่ได้จากกล้องถ่ายภาพดิจิทัลระหว่างโปรแกรม Image J™ และโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™

ความเข้มสีสารละลาย มาตรฐานไอออนหลัก (II) , มิติกริมต่อลิตร	โปรแกรม Image J™				โปรแกรม Adobe Photoshop CS2™					
	ค่าความเข้มแสง			ED	%RSD	ค่าความเข้มแสง			ED	%RSD
	แดง	เขียว	น้ำเงิน			แดง	เขียว	น้ำเงิน		
0.00	222.98±0.76	230.59±0.42	231.37±0.54	*	-	223.08±0.54	230.44±0.56	231.04±0.86	*	-
10.00	224.10±1.20	224.60±0.89	224.40±0.75	9.45±0.68	3.97	224.00±1.20	225.40±0.91	222.92±0.96	9.69±1.48	15.26
25.00	224.60±1.41	215.70±0.48	209.1±0.55	26.88±1.07	3.33	224.28±1.86	216.00±1.03	209.24±0.83	26.24±1.83	6.96
50.00	225.20±1.61	204.20±0.94	190.00±1.25	49.17±1.64	0.71	225.88±0.79	204.56±1.63	190.24±1.18	48.39±2.26	4.68

หมายเหตุ * คือ จุดที่ค่าความเข้มแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน กำหนดให้เป็นสัญญาณของ blank ดังนั้น ณ จุดนี้จึงไม่มีค่าความแตกต่างความเข้มแสง โดยที่ ED คือ ค่าความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance) และ %RSD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ภาคผนวก จ.

แสดงการคำนวณค่าความเข้มแสง ค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อ้างอิงจากรูปที่ 4.6 หน้า 35

ตารางที่ จ.1 ค่าความเข้มแสง ค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เปรียบเทียบ โปรแกรมสำหรับตรวจวัดความเข้มสีของจุดสีบนชุดทดสอบ จากภาพที่ได้จากเครื่องสแกนเนอร์ระหว่างโปรแกรม Image J™ และโปรแกรม Adobe Photoshop CS2™

ความเข้มสีสารละลาย มาตรฐานไอออนหลัก (II) , มิลลิกรัมต่อลิตร	โปรแกรม Image J™				โปรแกรม Adobe Photoshop CS2™					
	ค่าความเข้มแสง			ED	%RSD	ค่าความเข้มแสง			ED	%RSD
	แดง	เขียว	น้ำเงิน			แดง	เขียว	น้ำเงิน		
0.00	254.21±0.06	251.08±0.74	249.92±0.55	*	-	254.52±0.33	252.32±1.64	250.92±1.25	*	-
10.00	253.61±0.05	234.03±0.23	232.02±0.14	24.73±0.78	3.16	254.20±0.76	234.52±1.51	232.92±1.86	25.33±3.08	12.15
25.00	252.03±0.21	215.45±1.09	215.39±0.90	49.66±1.01	2.04	252.92±0.79	217.64±2.46	217.92±2.09	47.91±3.12	6.51
50.00	251.62±0.16	193.05±0.93	193.36±0.88	81.08±1.13	1.39	253.00±0.68	194.68±2.13	175.28±0.89	79.75±3.63	4.55

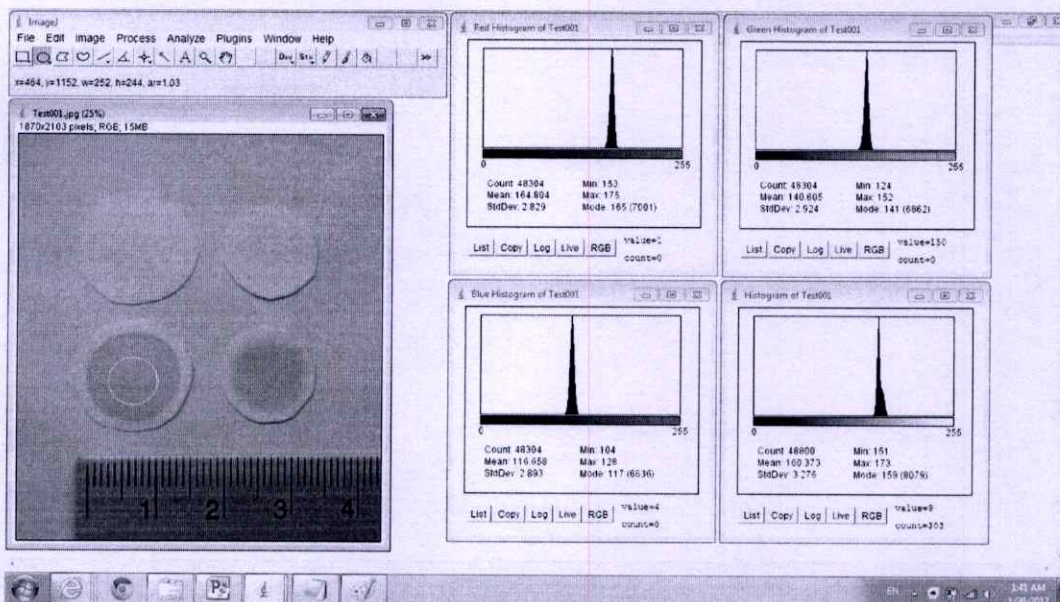
หมายเหตุ * คือ จุดที่ค่าความเข้มแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน กำหนดให้เป็นสัญญาณของ blank ดังนั้น ณ จุดนี้จึงไม่มีค่าความแตกต่างความเข้มแสง โดยที่ ED คือ ค่าความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance) และ %RSD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ภาคผนวก ฉ.

การบันทึกค่าความเข้มแสงจากโปรแกรม Image J™

ขั้นตอนและวิธีการใช้โปรแกรม

1. ลงโปรแกรม Image J™ โดยสามารถโหลดได้จาก <http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html> และลงโปรแกรมตามขั้นตอน
2. เปิดโปรแกรม Image J™ จากนั้นกด CTRL+O เพื่อเปิดรูปภาพที่ต้องการ
3. คลิกเมาส์ซ้ายที่กรอบของภาพที่เรียกออกมา กด CTRL+H เพื่อเรียกหน้าต่างวัดค่าความเข้มแสง (histogram) ออกมา โดยกรอบหน้าต่างที่ได้จะมีชื่อว่า Histogram of ชื่อภาพ จากนั้นกด RGB เพื่อเลือกแสงสีที่ต้องการจะวัดค่าความเข้มแสง นั่นคือสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน จากนั้นกด LIVE ในทุกๆ หน้าต่าง จะได้ชื่อกรอบหน้าต่างใหม่ว่า **แสงสี (Red, Green และ Blue) Histogram of ชื่อภาพ**



รูปที่ ฉ.1 หน้าต่าง โปรแกรม Image J™ และการเรียกหน้าต่างวัดค่าความเข้มแสง

4. คลิกเมาส์ซ้ายค้างซ้ายเพื่อสร้างวงกลมขึ้นมา โดยกำหนดขนาดที่แน่นอน โดยดูจากค่าจำนวนนับ (count) ในหน้าต่าง histogram เพื่อวัดค่าความเข้มแสงโดยจะวัดเป็นพื้นที่ที่กำหนดไว้
5. เลือกบริเวณที่ต้องการวัดค่าความเข้มแสง โดยคลิกเมาส์ซ้ายค้างเพื่อลากวงกลมในข้อ 4 ค่าความเข้มแสงที่วัดได้จะแสดงในหน้าต่าง histogram ของแสงสีนั้นๆ ในบรรทัด Mean และแสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าความเข้มแสงในพื้นที่นั้นในบรรทัด StdDev บันทึกค่าแสง RGB และนำมาคำนวณค่าความแตกต่างความเข้มแสงหรือค่าการสะท้อนแสงได้

ภาคผนวก ข.

แสดงการค่าความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อ้างอิงจากตารางที่ 4.1 หน้า 37

ตารางที่ ข.1 ค่าความเข้มแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ค่าความเข้มแสงที่ความละเอียดในการสแกนต่างๆ กัน

ความเข้มข้นสารละลาย มาตรฐานไอออนหลัก (II) , มิลลิกรัมต่อลิตร	ค่าความเข้มแสงที่ความละเอียดการสแกนภาพ 200 ppi				
	แดง	เขียว	น้ำเงิน	ED	%RSD
0.00	249.16±5.25	237.71±6.06	235.25±6.27	*	-
10.00	241.75±8.23	210.49±8.47	212.31±8.57	36.37±0.73	1.99
25.00	240.79±7.56	193.33±7.57	193.27±7.56	61.72±3.54	5.74
50.00	237.69±8.68	168.26±8.91	169.73±9.04	96.17±1.51	1.57
100.00	236.98±8.15	138.72±8.35	138.21±8.41	139.16±1.48	1.06
ความเข้มข้นสารละลาย มาตรฐานไอออนหลัก (II) , มิลลิกรัมต่อลิตร	ค่าความเข้มแสงที่ความละเอียดการสแกนภาพ 600 ppi				
	แดง	เขียว	น้ำเงิน	ED	%RSD
0.00	249.12±3.49	237.73±3.59	235.58±3.17	*	-
10.00	241.88±4.29	210.46±3.94	212.29±4.28	36.59±0.23	0.62
25.00	240.79±3.77	193.61±3.82	195.89±3.52	59.93±0.77	1.29
50.00	238.10±4.50	168.69±6.63	170.29±4.52	95.66±1.66	1.74
100.00	236.86±1.30	138.41±4.39	138.96±4.46	139.11±1.31	0.94
ความเข้มข้นสารละลาย มาตรฐานไอออนหลัก (II) , มิลลิกรัมต่อลิตร	ค่าความเข้มแสงที่ความละเอียดการสแกนภาพ 1200 ppi				
	แดง	เขียว	น้ำเงิน	ED	%RSD
0.00	248.22±6.69	237.73±8.44	235.26±8.39	*	-
10.00	240.58±12.99	209.75±14.64	210.89±14.43	37.96±1.35	3.54
25.00	239.72±13.56	192.97±15.08	194.79±14.78	60.99±1.45	2.37
50.00	237.93±14.53	168.41±16.52	169.82±16.24	95.93±4.97	5.18
100.00	236.22±18.26	138.05±20.19	139.14±19.94	139.03±1.60	1.15

โดยที่ * คือ จุดที่ค่าความเข้มแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน กำหนดให้เป็นสัญญาณของ blank ดังนั้น ณ จุดนี้จึงไม่มีค่าความแตกต่างความเข้มแสง

%RSD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์, ED คือ ค่าความแตกต่างความเข้มแสง ppi คือ ความละเอียดการสแกนในหน่วย pixel per inch

ภาคผนวก ข.

แสดงการคำนวณค่าความเข้มแสง ค่าความแตกต่างความเข้มแสง ค่าการสะท้อนแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อ้างอิงจากรูปที่ 4.9 และ 4.10 หน้า 40 และ 41

ตารางที่ ข.1 ค่าความเข้มแสง ค่าความแตกต่างความเข้มแสง ค่าการสะท้อนแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการรายงานผลค่าความเข้มแสงในทอม
ค่าความแตกต่างความเข้มแสงและค่าการสะท้อนแสง

ความเข้มขึ้นสารละลาย มาตรฐานไอออนหลัก (II) , มิลลิกรัมต่อลิตร	ค่าความแตกต่างความเข้มแสง						ค่าการสะท้อนแสง	
	ค่าความเข้มแสง			ED	%RSD	Reflectance	%RSD	
	แดง	เขียว	น้ำเงิน					
0.00	188.04±1.66	214.96±0.97	204.52±2.78	*	-	*	-	
10.00	180.08±1.01	203.48±2.95	196.00±1.24	16.79±1.44	8.59	0.0205±0.0018	8.78	
25.00	180.24±1.82	200.28±1.55	181.00±2.74	28.95±2.85	9.84	0.0342±0.0036	10.60	
40.00	182.04±1.56	192.20±1.77	171.80±1.24	40.37±2.92	7.22	0.0463±0.0031	6.78	
50.00	190.56±3.24	184.20±1.36	160.44±2.94	53.96±2.57	4.76	0.0551±0.0028	5.17	
60.00	191.48±1.60	177.16±1.79	148.00±1.10	68.12±2.86	4.21	0.0704±0.0029	4.07	
75.00	192.80±0.95	166.52±1.51	137.40±2.82	82.94±3.90	4.70	0.0875±0.0040	4.55	
100.00	195.72±1.58	153.24±3.66	116.72±2.66	107.67±2.94	2.73	0.1155±0.0035	3.06	

หมายเหตุ * คือ จุดที่ค่าความเข้มแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน กำหนดให้เป็นสัญญาณของ blank ดังนั้น ณ จุดนี้จึงไม่มีค่าความแตกต่างความเข้มแสง โดยที่ ED คือ ค่าความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance) และ %RSD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ตารางที่ ข.2 แสดงการคำนวณค่าการสะท้อนแสง (Reflectance) จากค่าความเข้มแสง

ความเข้มชั้นสารละลาย มาตรฐานไอออนเหล็ก (II) , มิลลิกรัมต่อลิตร	ค่าความเข้มแสง (I_x)					$(I_x)/(I_{x,w})$			- log I_x			$\Sigma (-\log I_x) / 3$ (Reflectance)	%RSD	
	แดง (I_R)	เขียว (I_G)	น้ำเงิน (I_B)	$(I_x)/(I_{x,w})$			$(I_R)/(I_{R,w})$	$(I_G)/(I_{G,w})$	$(I_B)/(I_{B,w})$	$(I_C)/(I_{C,w})$	$(I_B)/(I_{B,w})$			
				$(I_R)/(I_{R,w})$	$(I_G)/(I_{G,w})$	$(I_B)/(I_{B,w})$								
0.00 (I_w)	188.04±1.66	214.96±0.97	204.52±2.78	1.0000	1.0000	1.0000	-	-	-	-	-	-	*	-
10.00	180.08±1.01	203.48±2.95	196.00±1.24	0.9577	0.9466	0.9585	0.0188	0.0239	0.0185	0.0185	0.0185	0.0185	0.0205±0.0018	8.78
25.00	180.24±1.82	200.28±1.55	181.00±2.74	0.9586	0.9317	0.8851	0.0184	0.0307	0.0531	0.0531	0.0531	0.0531	0.0342±0.0036	10.60
40.00	182.04±1.56	192.20±1.77	171.80±1.24	0.9681	0.8941	0.8402	0.0141	0.0486	0.0757	0.0757	0.0757	0.0757	0.0463±0.0031	6.78
50.00	190.56±3.24	184.20±1.36	160.44±2.94	1.0135	0.8569	0.7845	-0.0057	0.0671	0.1055	0.1055	0.1055	0.1055	0.0551±0.0028	5.17
60.00	191.48±1.60	177.16±1.79	148.00±1.10	1.0183	0.8242	0.7238	-0.0079	0.0840	0.1405	0.1405	0.1405	0.1405	0.0704±0.0029	4.07
75.00	192.80±0.95	166.52±1.51	137.40±2.82	1.0135	0.7747	0.6719	-0.0057	0.1109	0.1728	0.1728	0.1728	0.1728	0.0875±0.0040	4.55
100.00	195.72±1.58	153.24±3.66	116.72±2.66	1.0409	0.7128	0.5708	-0.0174	0.1471	0.2437	0.2437	0.2437	0.2437	0.1155±0.0035	3.06

หมายเหตุ * คือ จุดที่ค่าความเข้มแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน กำหนดให้เป็นสัญญาณของ blank ดังนั้น ณ จุดนี้จึงไม่มีค่าการสะท้อนแสง

โดยที่ R, G, B คือ แสงสีแดง แสงสีเขียว และแสงสีน้ำเงิน ตามลำดับ

I_x คือ ค่าความเข้มแสง X ณ จุดที่เกิดปฏิกิริยากับเหล็กที่ความเข้มข้นต่างๆ

$I_{x,w}$ คือ ค่าความเข้มแสงสีขาว ณ จุด blank

%RSD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ภาคผนวก ฉ.

แสดงการคำนวณเข้มแสง ค่าการสะท้อนแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อ้างอิงจากรูปที่ 4.11 หน้า 42

ตารางที่ ฉ.1 ค่าความเข้มแสง ค่าการสะท้อนแสงและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของช่วงการใช้งานของชุดทดสอบบนกระดาษแบบเบจุด

ความเข้มชั้นสารละลาย มาตรฐานไอออนเหล็ก (II) , มิลลิกรัมต่อลิตร	ค่าความเข้มแสง						Reflectance	%RSD
	แดง	%RSD	เขียว	%RSD	น้ำเงิน	%RSD		
0.00	248.79±0.32	0.13	237.73±0.01	0.01	235.32±0.14	0.06	*	-
10.00	240.11±0.33	0.14	209.49±0.44	0.21	210.65±0.95	0.45	0.0395±0.0005	1.35
25.00	238.73±0.39	0.17	192.11±0.55	0.28	192.91±0.73	0.38	0.0656±0.0011	1.65
40.00	238.00±0.44	0.18	181.82±1.09	0.60	180.96±0.89	0.49	0.0832±0.0010	1.24
50.00	237.12±0.34	0.14	170.55±0.66	0.39	170.98±0.34	0.19	0.1012±0.0007	0.67
60.00	237.13±0.31	0.13	164.84±0.42	0.25	164.76±0.32	0.19	0.1116±0.0005	0.49
75.00	236.50±0.40	0.17	152.49±0.43	0.28	152.42±0.66	0.43	0.1341±0.0007	0.53
100.00	235.69±0.36	0.15	137.43±0.55	0.40	136.81±0.59	0.43	0.1657±0.0009	0.59

หมายเหตุ * คือ จุดที่ค่าความเข้มแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน กำหนดให้เป็นสัญญาณของ blank ดังนั้น ณ จุดนี้จึงไม่มีค่าการสะท้อนแสง โดยที่ Reflectance คือ ค่าการสะท้อนแสง %RSD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ซึ่งจากตารางพบว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าความเข้มแสงของ blank อยู่ในช่วง 0.01 – 0.13 เปอร์เซ็นต์

ภาคผนวก ญ.

การคำนวณขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ)

ศึกษาขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือออโทไฟแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.60 จากข้อที่ 4.6 ศึกษาช่วงใช้งานของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด โดยจากรูปที่ 4.11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II) กับค่าการสะท้อนแสง พบว่าได้สมการเชิงเส้นตรงและสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ $y = 0.00139x + 0.02860$ และ $R^2 = 0.9971$ ตามลำดับ

จากสมการเชิงเส้นสามารถคำนวณหาขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณได้ โดยค่าในการคำนวณแสดงดังตาราง ค.1

ตารางที่ ญ.1 ตารางแสดงการคำนวณหาขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือออโทไฟแนนโทรลินเข้มข้นร้อยละ 0.60

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (II), มิลลิกรัมต่อลิตร	y_i	\hat{y}	$y_i - \hat{y}$	$(y_i - \hat{y})^2$
10.00	0.0394	0.0425	-0.0030	0.000009134
25.00	0.0655	0.06335	0.0022	0.000005006
40.00	0.0892	0.0842	-0.0009	0.000000875
50.00	0.1012	0.0981	0.0031	0.000010084
60.00	0.1115	0.1120	-0.0004	0.000000199
75.00	0.1341	0.1328	0.0012	0.000001570
100.00	0.1656	0.1676	-0.0019	0.000003677

โดยที่ y_i คือ ค่าสัญญาณที่อ่านได้จากเครื่องมือตรวจวัด

\hat{y} คือ ค่าสัญญาณที่ควรเป็น โดยคำนวณจากสมการเชิงเส้น

จากตารางที่ ญ.1 เมื่อได้ค่าผลรวมของผลต่างของค่าสัญญาณที่อ่านได้จากเครื่องมือตรวจวัดและค่าสัญญาณที่ควรเป็นยกกำลังสอง นำค่าผลรวมดังกล่าวมาคำนวณหา $S_{y/x}$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y})^2}{(n - 2)}}$$

จากสมการสามารถคำนวณค่า $S_{y/x}$ เท่ากับ 0.0011 ซึ่งสามารถคำนวณขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณได้ จากสมการ

$$LOD = y_{intercept} + 3S_{y/x}$$

$$LOQ = y_{intercept} + 10S_{y/x}$$

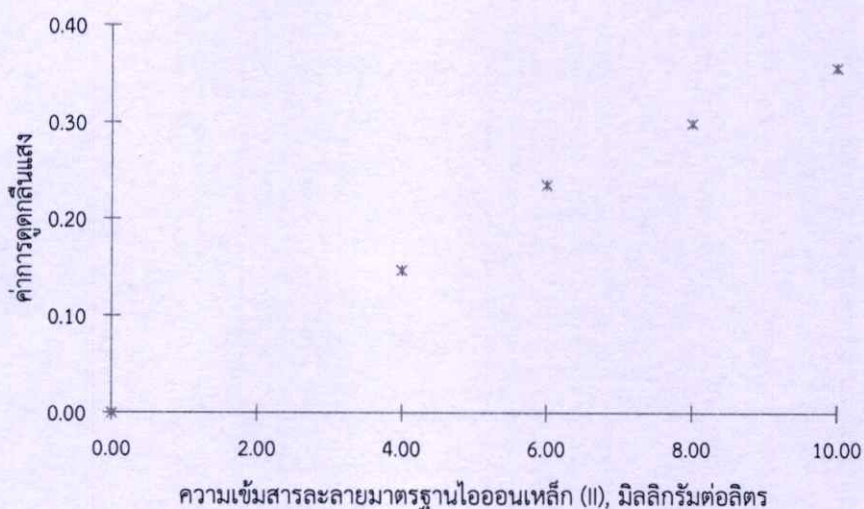
จากสมการคำนวณค่า LOD และ LOQ ได้เท่ากับ 0.0319 และ 0.0396 เมื่อนำค่าดังกล่าวที่ได้แทนค่ากลับค่า y ในสมการเชิงเส้นจะได้ว่าขีดจำกัดของการตรวจพบเท่ากับ 2.3856 มิลลิกรัมต่อลิตรและขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 7.9520 มิลลิกรัมต่อลิตร

ภาคผนวก ฎ.

การวิเคราะห์ตัวอย่างและเทียบผลกับวิธีมาตรฐาน AAS อ้างอิงหน้า 43

สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ด้วยวิธีมาตรฐาน AAS

นำสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) ความเข้มข้น 0.00, 4.00, 6.00, 8.00 และ 10.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.8.2.1 แล้วมาวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ที่ความยาวคลื่น 248.3 นาโนเมตรด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) กับค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งได้ผลการทดลองดังรูปที่ ฎ.1



รูปที่ ฎ.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ไอออนเหล็ก (II) กับค่าการดูดกลืนแสง

จากกราฟความสัมพันธ์ดังรูปที่ ฎ.1 พบว่าสมการเชิงเส้นตรงคือ $y = 0.0362x + 0.0047$ และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9957

จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างวิตามินที่มีธาตุเหล็ก ที่ผ่านกระบวนการเตรียมสารละลาย ตัวอย่างจากข้อ 3.3.8.1.1 จากนั้นเจือจางสารละลายตัวอย่างดังกล่าว 10 เท่า แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งผลที่ได้จากการทดลองแสดงดังตารางที่ ฎ.1

ตารางที่ ฎ.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่ได้จากเครื่อง AAS สำหรับคำนวณหาปริมาณที่มีธาตุเหล็ก

ตัวอย่างที่	น้ำหนักมัลติยา ตัวอย่าง (กรัม)	ค่าการดูดกลืนแสง	%RSD	ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่ เจือจาง 10 เท่า (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณธาตุเหล็กที่พบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณธาตุเหล็กที่พบ (มิลลิกรัมต่อกรัมมัลติยา)	%RSD
1	0.49244	0.3004±0.0079	2.65	8.1453	81.45±2.49	165.41±5.06	3.06
2	1.20929	0.3198±0.0087	2.73	9.8772	98.77±2.74	81.68±2.27	2.78
3	0.52731	0.3552±0.0072	2.04	9.8498	98.49±2.27	186.79±4.29	2.30
4	0.49062	0.3570±0.0049	1.37	9.9159	99.15±1.55	202.11±3.16	1.56
5	0.51054	0.3868±0.0115	2.97	10.8660	108.66±3.38	212.83±7.19	3.38

และนำสารละลายตัวอย่างที่มีวิตามินที่มีธาตุเหล็ก หลังจากผ่านกระบวนการเตรียมสารละลายตัวอย่างจากข้อ 3.3.8.1.1 จากนั้นเจือจางสารละลายตัวอย่าง
ดังกล่าว 2 เท่า เพื่อนำมาใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กในตัวอย่างวิตามินด้วยชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดในระบบโซล-เจลเจือด้วยออกโทพีแนน ไทโรลีน
เข้มข้นร้อยละ 0.60 (w/v) แล้วบันทึกการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้นด้วยเครื่องสแกนเนอร์ นำภาพที่ได้มาบันทึกค่าความเข้มแสงด้วยโปรแกรม Image J™ นำค่าความเข้ม
แสงดังกล่าวมาคำนวณหาความเข้มของธาตุเหล็กที่มีอยู่ในสารละลายตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานที่ได้จากรูปที่ 4.10 ซึ่งจากการพล็อตความสัมพันธ์ระหว่างค่าการ
สะท้อนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโอออนเหล็ก (III) ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสมการเชิงเส้นตรงคือ $y = 0.00107x + 0.00639$ และค่า
สัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9923 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 3.06 – 10.60 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นรายงานผลปริมาณธาตุเหล็กที่พบในวิตามินที่มี
ธาตุเหล็กในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของมัลติยาตัวอย่าง

ตารางที่ ๑.2 ค่าความเข้มแสง ค่าการสะท้อนแสงที่ได้จากชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุดสำหรับคำนวณหาปริมาณธาตุเหล็กในวิตามินที่มีธาตุเหล็ก

ตัวอย่างที่	น้ำหนักเม็ดยา ตัวอย่าง (กรัม)	ค่าความเข้มแสง		RF	คำนวณกลับจาก การเจือจาง 2 เท่า	%RSD	ปริมาณธาตุเหล็กที่พบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณธาตุเหล็กที่พบ (มิลลิกรัมต่อกรัมเม็ดยา)	%RSD
		แดง	เขียว						
Blank	-	188.04±1.66	214.96±0.97	*	-	-	-	-	-
1	0.49244	180.20±1.04	194.84±0.82	0.0457	0.0943±0.0023	2.47	82.19±2.18	166.91±4.44	2.66
2	1.20929	179.84±1.48	195.82±0.50	0.0564	0.1123±0.0051	4.51	98.96±4.73	81.84±3.91	4.78
3	0.52731	182.00±0.62	192.64±0.54	0.0569	0.1128±0.0041	3.68	99.42±3.88	188.54±7.35	3.89
4	0.49062	192.04±2.13	184.20±1.36	0.0559	0.1121±0.0018	1.57	98.78±1.64	201.34±3.34	1.66
5	0.51054	176.36±0.74	194.12±0.52	0.0618	0.1221±0.0045	3.65	108.16±4.17	211.85±8.16	3.85

หมายเหตุ * คือ จุดที่ค่าความเข้มแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน กำหนดให้เป็นสัญญาณของ blank ดังนั้น ณ จุดนี้จึงไม่มีค่าการสะท้อนแสง โดยที่ RF คือ ค่าการสะท้อนแสง

%RSD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

การคำนวณปริมาณธาตุเหล็กที่พบในวิตามินที่มีธาตุเหล็กในหน่วยมิลลิกรัมต่อเม็ดยาตัวอย่าง

ปริมาณธาตุเหล็กที่พบ (มิลลิกรัมต่อกรัมเม็ดยา) เท่ากับ ปริมาณธาตุเหล็กที่พบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

น้ำหนักเม็ดยาตัวอย่าง

ภาคผนวก ฎ.

แสดงการคำนวณเข้มแสง ค่าการสะท้อนแสงและค่าเทียบมาตรฐานสัมพันธ์อ้างอิงจากตารางที่ 4.3 หน้า 44

ตารางที่ ฎ.1 ค่าความเข้มแสง ค่าการสะท้อนแสงและค่าเทียบมาตรฐานสัมพันธ์ของอายุการใช้งานชุดทดสอบบนกระดาษแบบเบจุด

วันที่เก็บไว้ : ความเข้มข้นไอออนเหล็ก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าความเข้มแสง			Reflectance	%RSD	%Change
	แดง	เขียว	น้ำเงิน			
0 : 0.00	223.08±0.54	230.44±0.56	231.04±0.86	*	-	-
0 : 50.00	224.00±1.20	188.32±0.23	150.12±0.79	0.0910±0.0025	2.75	0.0000
7 : 50.00	224.28±1.85	188.36±0.29	150.88±3.55	0.0901±0.0052	5.73	1.0101
15 : 50.00	225.20±1.49	188.36±0.57	150.48±0.67	0.0898±0.0026	2.87	1.2794
30 : 50.00	225.88±0.79	188.36±0.26	153.04±0.49	0.0870±0.0014	1.56	4.6332

หมายเหตุ * คือ จุดที่ค่าความเข้มแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน กำหนดให้เป็นสัญญาณของ blank ดังนั้น ณ จุดนี้จึงไม่มีค่าการสะท้อนแสง

โดยที่ Reflectance คือ ค่าการสะท้อนแสง

%RSD คือ ค่าเทียบมาตรฐานสัมพันธ์

%Change คือ ค่าความคลาดเคลื่อน

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ – นามสกุล	นายณฤชิต ไพโรจน์
วันเดือนปีเกิด	31 ตุลาคม 2529
ที่อยู่	25 หมู่ที่ 7 ตำบลถ้ำกระต่ายทอง อำเภอพรานกระต่าย จังหวัดกำแพงเพชร รหัสไปรษณีย์ 62110 โทรศัพท์ 081-284-3323
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2548 – 2551 วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ความชำนาญเฉพาะด้าน	1). การวิเคราะห์ทางความร้อนด้วยเทคนิคดีพีเพอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริมิเตอร์ 2). การวิเคราะห์หาเอกลักษณ์ของสารด้วยเทคนิคฟูเรียร์-ทรานฟอร์ม อินฟราเรดสเปกโทรสโกปี 3). เครื่องมือวิเคราะห์ด้านสเปกโทรโฟโตเมทรี 4). เทคนิคการวิเคราะห์โพลีโรกราฟฟี 5). เทคนิคการวิเคราะห์ขนาดอนุภาค
ประสบการณ์การทำงานและผลงานด้านงานวิจัย	
พ.ศ. 2551	โครงการพิเศษเรื่อง “การเตรียมชั้นฟิล์มบางของซิลิกาจากแกลบข้าว” (PREPARATION OF THIN FILM OF SILICA FROM RICE HUSK)
พ.ศ. 2554	นำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วทท.) ครั้งที่ 37 ในหัวข้อเรื่อง “COLORIMETRIC SPOT-TEST ON PAPER FOR DETERMINATION OF IRON (II) USING SOL-GEL DOPED WITH ORTHOPHENANTHROLINE” และได้รับรางวัล “OUTSTANDING POSTER PRESENTATION AWARD” IN ANALYTICAL CHEMISTRY & ANALYTICAL TECHNOLOGY SESSION ณ โรงแรมเซ็นทาราแกรนด์และบางกอกคอนเวนชันเซ็นเตอร์ เซ็นทรัลเวิลด์ กรุงเทพฯ

FIRST ANNOUNCEMENT



การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 37 (จทท37)

THE 37th CONGRESS on SCIENCE and TECHNOLOGY of THAILAND (STT37)

*Creative Sciences
for Creating the Future*

*วิทยาศาสตร์สร้างสรรค์
เพื่อสรรค์สร้างอนาคต*

October 10 - 12, 2011
Mantara Grand & Bangkok Convention Centre
Central World, Bangkok, Thailand

10 - 12 ตุลาคม 2554
ณ โรงแรมเซ็นทาราแกรนด์
และบางกอกคอนเวนชันเซ็นเตอร์
เซ็นทรัลเวิลด์ กรุงเทพฯ
www.scisoc.or.th/stt37
www.sc.mahidol.ac.th/stt37

Organized by :
The Science Society of Thailand under the Patronage of His Majesty the King
in association with the Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok Thailand

COLORIMETRIC SPOT-TEST ON PAPER FOR DETERMINATION OF IRON(II) USING SOL-GEL DOPED WITH ORTHOPHENANTHROLINE

Naruchid Pairoad,^{1,*} Wiboon Praditweangkum,¹

¹Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

*e-mail: nicinium@gmail.com

Abstract : A simple colorimetric spot-test method for determination of Fe(II) utilizing a digital camera has been developed. A 10.0 μL of sol-gel solution doped with orthophenanthroline was dropped on a filter paper. A sample was mixed together with hydroxylamine hydrochloride and 10.0 μL of this solution was applied on the reagent spot. The orange color of Fe(II)-phenanthroline complex on paper was recorded using a digital camera. The images were digitized, and the red (R), green (G), and blue (B) values were investigated. Calibration curve was obtained by plotting Euclidean Distance (ED) or absorbance against the concentration of Fe(II) solution from 10 to 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The linear equation; $y = 0.00103x + 0.00639$ and 3.05-10.60% relative standard deviation were obtained. The method was successfully applied for analysis of iron in tablets. The t-test between the proposed and AAS method was showed no significant difference at 95% confidence level ($n = 5$; $t_{\text{calculated}} = 2.24$ and $t_{\text{tabulated}} = 2.77$).

Introduction:

Qualitative detection is the main intention of spot-test analysis. However quantitative spot-test analysis also can be purposed but it is not very usual because of the difficult in handling very small samples with accuracy and precision. Another factor that discourages research in quantitative spot-test analysis is related to the existence of several instrumental analytical techniques, mainly chromatography, that provide good qualitative and quantitative results while handling small quantities¹. Nevertheless, in some cases, when operational simplicity and low cost are needed, the semi-quantitative or quantitative spot-test on paper becomes very attractive because low volume of reagent and sample is required; it is inexpensive, portable and easy to use.

The sol-gel process is being increasingly used for the development of optical sensors and biosensors. This is due to a number of advantages, principal among which are the ease of fabrication and the design flexibility of the process. Sol-gel derived silica glass is prepared from hydrolysis and condensation polymerization of the appropriate silicon alkoxide solution, followed by a temperature programme which controls the densification process^{2, 3}. The process parameters can be selected to produce a microporous glass, which can act as a support matrix for analyte-sensitive reagents that are added to the precursor solution⁴. The reagent molecules are encapsulated in the nanometer-scale cage-like structure that grows around them, but smaller analyte molecules can still permeate the interconnected pores.

Iron in pharmaceutical preparations may be provided in the form of ferrous sulphate, gluconate or ferrate salts. The active ingredients are normally held in a matrix which must be destroyed by oxidation with concentrated nitric acid or hydrochloric acid, before the iron can be accurately determined⁵. Several techniques, such as spectrophotometry⁶, atomic absorption spectrometry^{7, 8}, liquid/liquid extraction^{9, 10}, solid-phase spectrophotometry¹¹, flow injection analysis^{12, 13}, inductively coupled plasma-mass spectrometry¹⁴, capillary electrophoresis¹⁵ and cathodic stripping voltammetry¹⁶ have been reported for the determination of iron or its species. These methods are well used to determine trace iron ions; however, they are inconvenient for on-site monitoring.

Therefore, it could be interesting to develop a procedure for quantitative spot-test on paper for determination of iron(II). Quantitative analysis in this study is based on formation of reagent spot on paper using sol-gel doped with orthophenanthroline. The color intensity of spots on paper is considered to carry out the analysis using a digital camera.

Methodology:

Chemicals and materials: Analytical grade chemicals were used as received without further purification. Deionized water was purified by Milli-Q apparatus and used throughout. Tetraethyl orthosilicate (TEOS) was obtained from Acros Organics. Triton X-100 was purchased from Fisher Scientific. Absolute ethanol, citric acid, hydrochloric acid, hydroxylamine hydrochloride (NH₂OH.HCl), orthophenanthroline (phen) and sulphuric acid were obtained from Carlo Erba. Ammonium ferrous sulfate hexahydrate ((NH₄)₂Fe(SO₄)₂·6H₂O) was purchased from Ajax Finechem. Filter paper (No. 2, 125 mm. diameter) was obtained from Whatman. A Digital camera used was a Sony Alpha (Thailand).

A 100 mg.L⁻¹ Fe(II) stock solution was prepared by dissolving 0.7020 g of (NH₄)₂Fe(SO₄)₂·6H₂O, adding 1.0 mL of conc. H₂SO₄ and diluting to 1000 mL with deionized water. The 25% w/v sodium citrate solution was prepared by dissolving 25.0 g of sodium citrate and diluting to 100 mL with deionized water. The 10% w/v NH₂OH.HCl solution was prepared by dissolving 10.0 g of NH₂OH.HCl in 100 mL deionized water and pH was adjusted to 4.5 with 25% w/v sodium citrate solution.

Preparation of sol-gel doped with phen and spotted on filter paper: A solution of sol-gel doped with phen was prepared by together mixing 2.0 mL of TEOS and 1.0 mL of 0.10 M HCl, then 2.0 mL of absolute ethanol was slowly introduced into the resulting solutions, 7 drops of Triton X-100 was added and (0.010, 0.020 or 0.030 g) of phen was finally mixed. This sol-gel solution was stirred for 1 hour. The concentration of phen in this sol-gel solution was 0.20, 0.40 or 0.60% w/v, respectively. The reagent spot was prepared by dropping 10.0 µL of this sol-gel doped with phen on a filter paper and allowing setting in the air.

A solution of 0.5% w/v phen in ethanol was arranged by dissolving 0.0500 g of phen in 10 mL of absolute ethanol. The reagent spot of this solution (without sol-gel) on a filter paper was also prepared as described above.

Procedure for spot-test on paper: The (10, 25, 50 and 100 mg.L⁻¹) Fe(II) working solutions were obtained by appropriate volume measuring of the Fe(II) stock solution, adding 1.0 mL of 10% w/v of NH₂OH.HCl (pH 4.5) and diluting to 25.0 mL with deionized water. A 10.0 µL of this working solution was applied on the reagent spot and orange color of Fe(II)-phen complex was developed.

Data processing: For all sensing experiments, imaging of the spot colors was performed using a digital camera. The image was interpreted from the center point and 4 corner points of a 1.0×1.0 cm. square using Adobe Photoshop™ CS2 software. The RGB color works on the basic principle that each color is a composition of the colors red, green and blue. Difference maps were obtained by taking the differences of the average intensity of RGB (I_R, I_G and I_B) values from the blank spot. The colorimetric response was expressed using the Euclidean distance (ED), which could be defined by the following formula¹⁷:

$$ED = \sqrt{(\Delta I_R)^2 + (\Delta I_G)^2 + (\Delta I_B)^2} \quad (1)$$

Results and Discussions:

Sol-gel doped with phen spotted on filter paper: Figure 1 shows spacing of reagent spot (1a and 1b) and color intensity on filter paper after applying 10.0 μL of sample solution (1c and 1d). Using ethanol as solvent, diameter of reagent spot is larger than using immobilized reagent in sol-gel solution. Ethanol is low viscosity than sol-gel solution so reagent can be easily absorbed and diffused on paper. Other while phen can be immobilized in sol-gel and consistently spacing on paper. After 10.0 μL of sample solution was applied, orange color was developed and higher intensity of color was appeared on round border of the spot with ethanol as solvent. While equal spacing of orange color was developed on the spot applying with phen in sol-gel. TEOS sol-gel can be used to control the spacing and dispersion of reagent in the spot.

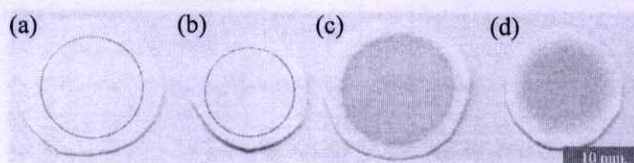


Figure 1. Reagent spot applied without (a) and with sol-gel (b); Spot-test on filter paper without (c) and with sol-gel (d)

Effect of phen concentration: As shown in Figure 2, Euclidean Distance increased with the concentration of phen in sol-gel solution. Formation of Fe(II)-phen complex increasing with concentration of phen in sol-gel solution. The lowest signal was obtained when 0.50% w/v phen was prepared only in ethanol (without sol-gel). Phen, only in ethanol, can penetrate together with ethanol on filter paper and be accumulated at the edge of the circle. Higher Euclidean Distance can be obtained when 0.20% w/v reagent in sol-gel was applied on filter paper rather than that 0.50% w/v reagent in ethanol (without sol-gel) was used. Phen can be uniformly immobilized in microporous glass structure of TEOS sol-gel.

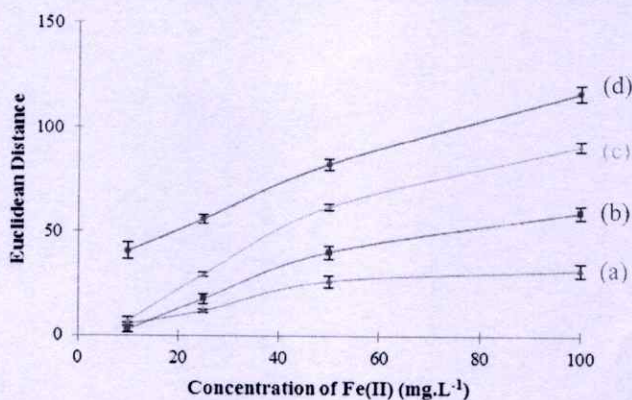


Figure 2. Effect of phen concentration; (a) 0.50% w/v of phen in absolute ethanol (without sol-gel), (b) 0.20% w/v of phen in sol-gel, (c) 0.40% w/v of phen in sol-gel and (d) 0.60% w/v of phen in sol-gel

Calibration curve: The 0.60% w/v phen in TEOS sol-gel was chosen and 10.0 μL of this reagent was applied as reagent spot on a filter paper. A 10.0 μL of Fe(II) working solution was tested on the reagent spot. The color of tested spots as visual detection was recorded by a digital camera as illustrated in Figure 3. The intensity of spot color was changed from blank spot (without Fe(II)) to orange color spot with different concentration of Fe(II); 10, 25, 50 and 100 mg.L^{-1} , respectively, was evaluated and plotting between intensity

of light (I_R , I_G and I_B) and concentration of Fe(II) solution was illustrated in Figure 4. The I_R rather constant with increasing of Fe(II) concentration while I_G and I_B were decreased. The calibration curve as shown in Figure 5(a) can be arranged by the relationship between concentration of Fe(II) solution and Euclidean Distance. M.Kompany-Zareh et al.¹ presented the intensity value (I) can be converted to absorbance (A) by this equation, $A_x = -\log [(I_x - I_{x,b}) / (I_{x,w} - I_{x,b})] = -\log [(I_x)_c / (I_{x,w})_c] = -\log R_x$. A relationship between concentration and absorbance can be also plotted as a calibration curve as illustrated in Figure 5(b). The linear range was demonstrated for Fe(II) in the range 10-100 mg.L⁻¹ with $r^2 = 0.9923$. The limit of detection (LOD) and the limit of quantitation (LOQ) were 8.78 mg.L⁻¹ and 29.27 mg.L⁻¹, respectively. The relative standard deviation of absorbance value evaluated from an intra-spot (within spot in calibration curve) and inter-spot (between spot in calibration curve) were 4.53-16.29% and 3.05-10.60%, respectively.

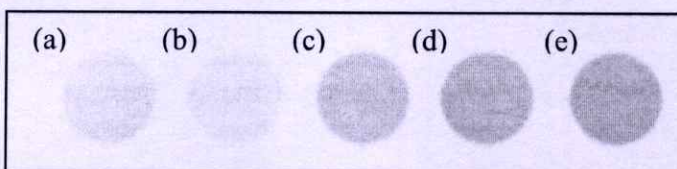


Figure 3. The color of tested spots using 0.60% w/v phen in TEOS sol-gel applied on paper: (a) Blank, (b) 10 mg.L⁻¹, (c) 25 mg.L⁻¹, (d) 50 mg.L⁻¹ and (e) 100 mg.L⁻¹

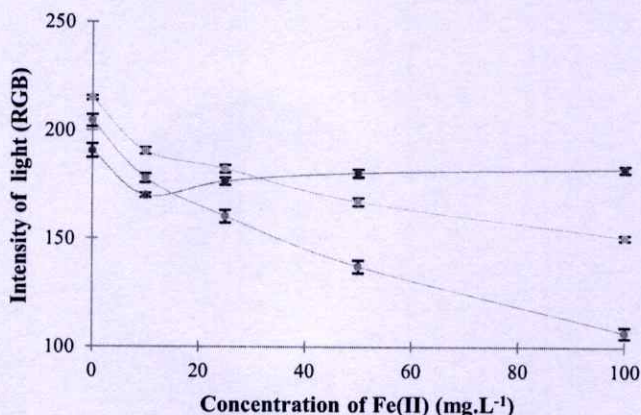


Figure 4. The relationship between intensity of light and concentration of Fe(II)

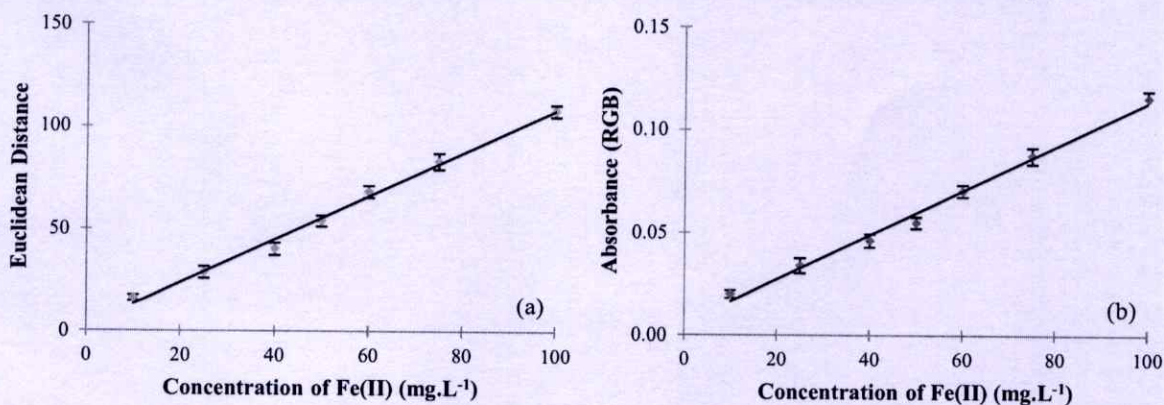


Figure 5. The calibration curve plotted from relationship between concentration of Fe(II) and ED (a) or absorbance (b)

Application of the developed method: The spot-test on paper using sol-gel doped phen can be used as the iron(II) sensing. The proposed simple method seems also applied for analysis of iron in vitamin tablets and compared with the AAS method⁵. The results obtained were summarized in Table 1. The paired t-test was applied to examine whether the method differ significantly at 95% confidence level. The *t* calculated value was 2.24. The *t* critical value at 95% confidence level (n=5) was 2.77. There was no significant difference at 95% confidence level between this developed method and AAS method. The standard deviation (SD) 3.23-6.33 can be represented as precision of the spot-test method. This precision was not so good. The sampling of a point for data processing should be considered. The overall average of the intensity of light (R, G and B) for a spot by ImageJ™ programme¹⁸ may be better than this one.

Table 1. The analysis of vitamin tablets comparing the proposed method with the standard atomic absorption spectrophotometric method

Sample No.	Iron found (mg.L ⁻¹)	
	AAS method	Spot-test method
Sample 1	81.45±2.48	79.56±4.72
Sample 2	98.77±2.74	99.82±4.73
Sample 3	98.39±2.15	96.79±4.97
Sample 4	99.15±1.55	96.18±2.48
Sample 5	108.66±3.38	104.89±4.08

Conclusion:

The colorimetric spot-test on paper using sol-gel doped with phen was developed for determination of Fe(II). Phen can be immobilized in micro glass-structure of TEOS sol-gel spot-test on filter paper. The dispersion of reagent in a spot on filter paper can be controlled by TEOS sol-gel solution. It could be considered that this method is inexpensive and portable detection.

References:

1. Kompany-Zareh M., Mansourian M., Ravaee F., *Analytica Chimica Acta* **2002**, 471, 97-104.
2. Jeronimo P.C.A., Araujo A.N., Montenegro M.C.B.S.M., *Talanta* **2007**, 72, 13-27.
3. MacCraith B.D., McDonagh C.M., O'Keefe G., McEvoy A.K., Butler T., Sheridan F.R., *Sensors and Actuator B* **1995**, 29, 51-57.
4. MacCraith B.D., *Sensors and Actuator* **1993**, 11, 29-34.
5. Bassett J., Denney R.C., Jeffery G.H., Mendham J., *Vogel's Textbook of Quantitative Inorganic Analysis 4th. Edition*, Longman's Publ., **1988**, 742-743.
6. Rodriguez A.M.G., Torres A.G., Pavon J.M.C., Ojeda C.B., *Talanta* **1998**, 47, 463-470.
7. Shakerian F., Dadfarnia, S., Shabani A.M., Rohani M., *Talanta* **2008**, 77, 551-555.
8. Anzano J.M., Gonzalez P., *Microchemical Journal* **2000**, 64, 141-145.
9. Tasev K., Karadjova I., Arpadjan S., Cvetkovic J., Stafilov T., *Food Control* **2006**, 17, 484-488.
10. Tabrizi A.B., *Journal of Hazardous Materials* **2010**, 183, 688-693.
11. Amin A.S., Gouda A.A., *Talanta* **2008**, 76, 1241-1245.
12. Weeks D.A., Bruland K.W., *Analytica Chimica Acta* **2002**, 453, 21-32.
13. Durukan L., Sahin C.A., Satiroglu C.A., Bektas S., *Microchemical Journal* **2011**, 99, 159-163.

14. Kozono S., Haraguchi H., *Analytica Chemica Acta* **2003**, 482, 189-196.
15. Schaffer S., Gareil P., Dezael C., Richard D., *J. Chromatogr. A* **1996**, 740, 151-157.
16. Komersova A., Bartos M., Kalcher K., Yytras K., *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1998**, 16, 1373-1379.
17. FenG L., Zhang Y., Wen L., Shen Z., Guan Y., *Talanta* **2011**, 84, 913-917.
18. Wikipedia, the free encyclopedia. **ImageJ** [Online]. Available : <http://en.wikipedia.org/wiki/ImageJ> ; Search : August, 22 2010.

Acknowledgements: This research was supported by Department of Chemistry, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang.

Keywords: Sol-gel, Spot-test, *Ortho*-phenanthroline, Iron(II), Colorimetric method

Outstanding Poster Presentation

in Analytical Chemistry & Analytical Technology Session

has been awarded to

Naruchid Pairoad

Poster Title:

'Colorimetric Spot-test on Paper for Determination of Iron(II) using Sol-gel Doped with Orthophenanthroline'

The 37th Congress on Science and Technology of Thailand
'Creative Sciences for Creating the Future'

Centara Grand & Bangkok Convention Centre at Central World,
Bangkok, Thailand
October 10 - 12, 2011



Assoc. Prof. Dr. Orawon Chailapakul

Chair of Analytical Chemistry & Analytical Technology session

 **Metrohm**
Siam Ltd.



MAHIDOL
UNIVERSITY
Wisdom of the Land