



โครงการ

## การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การตรวจวัดสารหนูโดยใช้อุปกรณ์ฐานกระดาษควบคู่กับการตรวจวัดเชิงสี  
Detection of Arsenic Using Paper-Based Device Coupled with  
Colorimetric Detection

ชื่อนิสิต นางสาวรณมล ปล้องมาก

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2558

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การตรวจวัดสารหนูโดยใช้อุปกรณ์ฐานกระดาษควบคู่กับการตรวจวัดเชิงสี

Detection of Arsenic Using Paper-Based Device Coupled with Colorimetric

Detection

โดย

นางสาวรภมล ปล้องมาก

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2558

เรื่อง การตรวจวัดสารหนูโดยใช้อุปกรณ์ฐานกระดาษควบคู่กับการตรวจวัดเชิงสี

โดย นางสาวรภมล ปลั่งมาก

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

.....  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชาดา จุอนวัฒน์กุล)

.....  
(ศาสตราจารย์ ดร.อรรณ ชัยลภากุล)

.....  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนิษฐา พุดหอม)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

.....  
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่..... เดือน..... พ.ศ. 2559

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ



ดีมาก



ดี



พอใช้

ชื่อโครงการ การตรวจวัดสารหนูโดยใช้อุปกรณ์ฐานกระตาศควบคู่กับการตรวจวัดเชิงสี

ชื่อนิสิตโครงการ นางสาวรณมล ปลั่งมวก เลขประจำตัว 553 31457 23

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ศาสตราจารย์ ดร.อรรธรณ ชัยลภากุล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558

### บทคัดย่อ

อุปกรณ์ฐานกระตาศควบคู่กับการตรวจวัดเชิงสีได้ถูกพัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารหนู ลวดลายซีฟิ่งบนกระตาศได้ถูกออกแบบมาเพื่อสร้างรูปแบบระบบของไหลจุลภาคซึ่งประกอบด้วย 4 ส่วน (1) บริเวณหยดสารตัวอย่าง (2) ส่วนปรับภาวะให้เหมาะสม (3) ส่วนกักเก็บรีเอเจนต์ (4) ส่วนตรวจวัดเชิงสี เมื่อหยดสารละลายตัวอย่างลงบนบริเวณหยดสารตัวอย่าง สารละลายดังกล่าวจะเคลื่อนที่บนอุปกรณ์ผ่านแรงดึงแคพิลลารี เข้าสู่ส่วนปรับภาวะให้เหมาะสมซึ่งตัวออกซิไดส์ในบริเวณนี้จะปรับภาวะของสารหนูให้เป็นอาร์เซเนต (As(V)) ต่อมาอาร์เซเนตจะทำปฏิกิริยากับกรดแอสคอร์บิกและแอมโมเนียมโมลิบเดตเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินเข้มในบริเวณส่วนตรวจวัดเชิงสี บันทึกภาพอุปกรณ์ด้วยกล้องดิจิทัลในกล่องควบคุมแสงเพื่อให้ภาวะของแสงคงที่ตลอดการทดลอง และวัดความเข้มสีของสารประกอบเชิงซ้อนด้วยโปรแกรม imageJ ได้มีการศึกษาการหาภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยาเชิงสี ได้แก่ ความเข้มข้นของรีเอเจนต์และเวลาในการเกิดปฏิกิริยา ผลการทดลองที่ได้พบว่าได้กราฟมาตรฐานที่มีความเป็นเส้นตรง ในช่วงความเข้มข้น 50 ถึง 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ 0.991 ซีดจำกัดของการตรวจวัด (S/N=3) เท่ากับ 1.22 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (S/N=8) เท่ากับ 1.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อุปกรณ์นี้ประสบความสำเร็จในการหาปริมาณสารหนูในตัวอย่างข้าวหอมมะลิและข้าวไรซ์เบอร์รี่

คำสำคัญ: อุปกรณ์ฐานกระตาศ, วิธีตรวจวัดโดยการเทียบสี, สารหนู

Title : Detection of Arsenic Using Paper-Based Device Coupled with Colorimetric Detection

Student name : Miss Worakamon Plongmak ID 553 31457 23

Advisor name : Prof. Dr. Orawon Chailapakul

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2015

### Abstract

Paper-based analytical device coupled with colorimetric determination of total arsenic (As) has been developed. Wax pattern was designed to create microfluidic platform on cellulose paper, consisting of 4 parts: (i) sample reservoir, (ii) pretreatment zone, (iii) reagent zone, and (iv) detection zone. After dropping testing solution onto the sample reservoir, solution flowed through hydrophilic area via capillary force. On the pretreatment zone, oxidizing agent was used to change all As species to form As(V) in order to perform total As determination. Then, As(V) reacted with colorimetric agents comprising of ascorbic acid and ammonium molybdate to produce dark blue complex on the detection zone. The device was photographed by digital camera in light control box for controlling light condition. The intensity of color product was measured with imageJ program. Various colorimetric conditions such as reagent concentration and reaction time were investigated. Linear calibration curve was found in the concentration range of 50-1000  $\mu\text{g/mL}$  with a correlation coefficient of 0.991. The limit of detection (LOD,  $S/N=3$ ) and the limit of quantitation (LOQ,  $S/N=8$ ) of arsenic were 1.22 and 1.95  $\mu\text{g/mL}$  respectively. Finally, the proposed device was successfully applied to detect As in the rice samples.

Keyword: paper-based device, colorimetric method, arsenic

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.อรรวรรณ ชัยลภากุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่ได้ให้ความรู้ คำปรึกษา ข้อคิดเห็น และข้อเสนอแนะต่างๆ ทำให้ผู้วิจัยได้นำข้อมูลเหล่านี้มาดำเนินงานและแก้ปัญหาต่างๆ รวมทั้งยังได้เรียนรู้เครื่องมือและเทคนิคใหม่ๆ ที่ไม่เคยเรียนในหลักสูตร

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชาติ จุณวัฒน์กุล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชนิษฐา พุดหอม ซึ่งเป็นคณะกรรมการในการสอบปากเปล่าของโครงการนี้

ขอขอบพระคุณ ดร. ภูมิรัตน์ รัตนรัตน์ ที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาในการทำโครงการ

ขอขอบพระคุณ พี่ๆ สมาชิกทุกคนในหน่วยปฏิบัติการวิจัยเชิงเคมีไฟฟ้าและแสง ที่เป็นกำลังใจและได้ให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัยและงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้มอบทุนโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ เพื่อเป็นค่าใช้จ่ายในการจัดทำโครงการนี้

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่และเพื่อนๆ ทุกคน ที่มีส่วนช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการปฏิบัติงานมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณครอบครัวของผู้วิจัยที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจตลอดการทำงานวิจัย ให้สามารถผ่านอุปสรรคต่างๆ ได้ จนสำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# สารบัญ

|                                                               | หน้า |
|---------------------------------------------------------------|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย                                               | ค    |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ                                            | ง    |
| กิตติกรรมประกาศ                                               | จ    |
| สารบัญตาราง                                                   | ฉ    |
| สารบัญรูป                                                     | ฐ    |
| บทที่ 1 บทนำ                                                  |      |
| 1.1 บทนำ                                                      | 1    |
| 1.2 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา                            | 1    |
| 1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง                                     | 3    |
| 1.4 วัตถุประสงค์ของโครงการ                                    | 5    |
| 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ                                 | 6    |
| บทที่ 2 ทฤษฎี                                                 |      |
| 2.1 เทคนิคการตรวจวัดโดยการเทียบสี (colorimetric method)       | 7    |
| 2.2 โปรแกรม imageJ                                            | 8    |
| 2.3 การเกิดปฏิกิริยาของสารหนูที่ทำให้เกิดสี (color reaction)  | 8    |
| 2.4 อุปกรณ์ฐานกระดาษ (paper-based device)                     | 9    |
| 2.5 เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy) | 10   |

สารบัญ (ต่อ)

|                                                                                                                           | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 2.6 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจวัด (method validation)                                                                | 12   |
| 2.6.1 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection, LOD) และ<br>ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ) | 12   |
| 2.6.2 ความแม่นยำ (accuracy)                                                                                               | 13   |
| 2.6.3 ความเที่ยง (precision)                                                                                              | 14   |
| 2.6.4 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity and range)                                                                       | 15   |
| 2.6.5 ความจำเพาะ (selectivity)                                                                                            | 15   |
| <br>บทที่ 3 การทดลอง                                                                                                      |      |
| 3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์                                                                                                  | 16   |
| 3.1.1 อุปกรณ์เตรียมกระดาษ                                                                                                 | 16   |
| 3.1.2 อุปกรณ์เตรียมสารเคมี                                                                                                | 17   |
| 3.1.3 อุปกรณ์ตรวจวัด                                                                                                      | 18   |
| 3.2 สารเคมี                                                                                                               | 18   |
| 3.3 การเตรียมสารละลาย                                                                                                     | 20   |
| 3.3.1 สารละลาย 2% 4% 6% 8% และ 10% polydiallyldimethyl-<br>ammonium chloride (PDDA)                                       | 20   |
| 3.3.2 สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50<br>มิลลิโมลต่อลิตร                                         | 20   |



## สารบัญ (ต่อ)

|                                                                                                                       | หน้า |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 3.3.3 สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 200 400 600 800 และ 1000 มิลลิโมลต่อลิตร                                       | 21   |
| 3.3.4 สารละลายโซเดียมอาร์ซีไนต์ ( $\text{NaAsO}_2$ ) ความเข้มข้น 50 100 150 250 500 750 และ 1000 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร | 22   |
| 3.3.5 สารละลายไอออนทั้งหมด 12 ชนิด                                                                                    | 23   |
| 3.3.6 การเตรียมสารละลายเพื่อศึกษาการเกิดปฏิกิริยาเชิงซ้อนของสารหนูด้วยเทคนิค ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี                | 24   |
| 3.3.7 การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อตรวจวัดสารหนูในข้าว                                                               | 25   |
| 3.3.8 การเตรียมสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลต่อลิตร                                                | 25   |
| 3.4 การเตรียมอุปกรณ์ฐานกระดาษ                                                                                         | 26   |
| 3.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม imageJ                                                                           | 27   |
| 3.6 ขั้นตอนการตรวจวัด                                                                                                 | 30   |
| 3.6.1 ลำดับการหยดสารและการถ่ายภาพ                                                                                     | 30   |
| 3.6.2 การทดสอบหาความเข้มข้นของ polydiallyldimethylammonium chloride (PDDA) ที่เหมาะสม                                 | 31   |
| 3.6.3 การทดสอบหาความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตที่เหมาะสม                                                    | 31   |
| 3.6.4 การทดสอบหาความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิกที่เหมาะสม                                                         | 32   |
| 3.6.5 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงจากกราฟมาตรฐาน ชีตจำกัดการตรวจวัด และชิตจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ                    | 32   |

## สารบัญ (ต่อ)

|                                                                                        | หน้า |
|----------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 3.6.6 การศึกษาการเกิดสารเชิงซ้อนของสารหนูด้วยเทคนิค<br>ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี       | 33   |
| 3.6.7 การศึกษาความเที่ยงในการตรวจวัด                                                   | 34   |
| 3.6.8 การศึกษาตัวรบกวนในการตรวจวัด                                                     | 34   |
| 3.6.9 การศึกษาความจำเพาะในการตรวจวัด                                                   | 36   |
| 3.6.10 การศึกษาความแม่นยำในการตรวจวัด                                                  | 37   |
| <br>บทที่ 4 ผลการทดลอง                                                                 |      |
| 4.1 การออกแบบอุปกรณ์ฐานกระดาษ                                                          | 38   |
| 4.2 การทดสอบหาความเข้มข้นของ polydiallyldimethylammonium chloride<br>(PDDA) ที่เหมาะสม | 39   |
| 4.3 การทดสอบหาความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตที่เหมาะสม                       | 41   |
| 4.4 การทดสอบหาความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิกที่เหมาะสม                            | 42   |
| 4.5 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจวัด                                                 | 44   |
| 4.5.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน                                                              | 44   |
| 4.5.2 ขีดจำกัดของการตรวจวัด และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ                         | 45   |
| 4.5.3 การศึกษาการเกิดสารเชิงซ้อนของสารหนูด้วยเทคนิค<br>ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี       | 46   |
| 4.5.4 ความเที่ยง                                                                       | 48   |

สารบัญ (ต่อ)

|                        | หน้า |
|------------------------|------|
| 4.5.5 ตัวยุทธ          | 50   |
| 4.5.6 ความจำเป็น       | 51   |
| 4.5.7 ความเข้มแข็ง     | 52   |
| บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง | 59   |
| เอกสารอ้างอิง          | 60   |
| ประวัติผู้วิจัย        | 64   |



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญตาราง

|              | หน้า                                                                                                       |    |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ตารางที่ 2.1 | เปอร์เซ็นต์การกลับคืนของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน                                                | 14 |
| ตารางที่ 2.2 | ตารางแสดงระดับความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างกัน                                      | 15 |
| ตารางที่ 3.1 | ปริมาณสารละลายที่ใช้เตรียม 2% 4% 6% และ 8%<br>polydiallyldimethylammonium chloride                         | 20 |
| ตารางที่ 3.2 | ปริมาณที่ใช้เตรียมสารละลายแอมโมเนียมโพลีเบคเตดความเข้มข้น 10 20 30<br>40 และ 50 มิลลิโมลต่อลิตร            | 21 |
| ตารางที่ 3.3 | ปริมาณที่ใช้เตรียมสารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 200 400 600<br>และ 800 มิลลิโมลต่อลิตร                  | 21 |
| ตารางที่ 3.4 | ปริมาณที่ใช้เตรียมสารละลายโซเดียมอาร์ซีไนต์ความเข้มข้น 50 100 150 250<br>500 และ 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร | 22 |
| ตารางที่ 3.5 | ปริมาณที่ใช้เตรียมสารละลายของไอออนต่างๆ ทั้งหมด 12 ชนิด                                                    | 23 |
| ตารางที่ 3.6 | สารละลายไอออนทั้งหมด 12 ชนิด ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน                                                      | 35 |
| ตารางที่ 4.1 | สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ความเข้มข้นของ<br>polydiallyldimethylammonium chloride แตกต่างกัน             | 39 |
| ตารางที่ 4.2 | สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ความเข้มข้นของสารละลาย<br>แอมโมเนียมโพลีเบคเตดแตกต่างกัน                      | 41 |
| ตารางที่ 4.3 | สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ความเข้มข้นของสารละลาย<br>กรดแอสคอร์บิกแตกต่างกัน                             | 42 |
| ตารางที่ 4.4 | สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน                                                         | 44 |

สารบัญตาราง (ต่อ)

|                                                                                                                                         | หน้า |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ตารางที่ 4.5                                                                                                                            | 49   |
| ค่าความเข้มข้นของสารหนูที่ความเข้มข้น 100 250 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร                                                            |      |
| ตารางที่ 4.6                                                                                                                            | 50   |
| ค่าความเข้มข้นของไอออนต่างๆ ที่ส่งผลกระทบต่อ การตรวจวัดสารหนู                                                                           |      |
| ตารางที่ 4.7                                                                                                                            | 53   |
| ค่าความเข้มข้นเฉลี่ย และความเข้มข้นของสารหนูที่เติมลงในสารละลาย ตัวอย่างข้าวหอมมะลิชนิดที่ 1                                            |      |
| ตารางที่ 4.8                                                                                                                            | 54   |
| ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนของการตรวจวัดสารหนูในตัวอย่างข้าวหอมมะลิชนิดที่ 1 ที่เติมสารหนูความเข้มข้น 50 150 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร |      |
| ตารางที่ 4.9                                                                                                                            | 55   |
| ค่าความเข้มข้นเฉลี่ยและความเข้มข้นของสารหนูที่เติมลงในสารละลาย ตัวอย่างข้าวไรซ์เบอร์รี่                                                 |      |
| ตารางที่ 4.10                                                                                                                           | 56   |
| ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนของการตรวจวัดสารหนูตัวอย่างในข้าวไรซ์เบอร์รี่ ที่เติมสารหนูความเข้มข้น 50 150 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร     |      |
| ตารางที่ 4.11                                                                                                                           | 57   |
| ค่าความเข้มข้นเฉลี่ย และความเข้มข้นของสารหนูที่เติมลงในสารละลาย ตัวอย่างข้าวหอมมะลิชนิดที่ 2                                            |      |
| ตารางที่ 4.12                                                                                                                           | 58   |
| ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนของการตรวจวัดสารหนูในตัวอย่างข้าวหอมมะลิชนิดที่ 2 ที่เติมสารหนูความเข้มข้น 50 150 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร |      |

## สารบัญรูป

|                                                                                                            | หน้า |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| รูปที่ 2.1                                                                                                 | 7    |
| การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของอนุภาคฐานกระดาศเมื่อทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน |      |
| รูปที่ 2.2                                                                                                 | 8    |
| โปรแกรม imageJ                                                                                             |      |
| รูปที่ 2.3                                                                                                 | 10   |
| ตัวอย่างอนุภาคฐานกระดาศ                                                                                    |      |
| รูปที่ 3.1                                                                                                 | 16   |
| เครื่องพิมพ์ชนิดซีฟี่ง ยี่ห้อ Xerox                                                                        |      |
| รูปที่ 3.2                                                                                                 | 17   |
| อุปกรณ์ในการเตรียมสารเคมี                                                                                  |      |
| รูปที่ 3.3                                                                                                 | 18   |
| กล่องควบคุมแสง                                                                                             |      |
| รูปที่ 3.4                                                                                                 | 26   |
| การออกแบบอนุภาคฐานกระดาศ                                                                                   |      |
| รูปที่ 3.5                                                                                                 | 26   |
| ขั้นตอนการเตรียมอนุภาคฐานกระดาศ                                                                            |      |
| รูปที่ 4.1                                                                                                 | 39   |
| สมการการเกิดสามประกอบเชิงซ้อนของสารหนูกับสโรละลายกรดแอสคอร์บิกและสโรละลายแอมโมเนียมโพลิเบต                 |      |
| รูปที่ 4.2                                                                                                 | 39   |
| รูปแบบอนุภาคฐานกระดาศ                                                                                      |      |
| รูปที่ 4.3                                                                                                 | 39   |
| โครงสร้างของ polydiallyldimethylammonium chloride (PDDA)                                                   |      |
| รูปที่ 4.4                                                                                                 | 40   |
| กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับความเข้มข้นของ polydiallyldimethylammonium chloride      |      |
| รูปที่ 4.5                                                                                                 | 41   |
| กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับความเข้มข้นของสโรละลายแอมโมเนียมโพลิเบต                  |      |
| รูปที่ 4.6                                                                                                 | 43   |
| กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับความเข้มข้นของสโรละลายกรดแอสคอร์บิก                      |      |

## สารบัญรูป (ต่อ)

|             | หน้า                                                                                                |    |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| รูปที่ 4.7  | กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับ<br>ค่าลอการิทึมของความเข้มข้นของสารหนู    | 44 |
| รูปที่ 4.8  | การดูดกลืนแสงของสารหนูที่ความเข้มข้น 0 และ 10 ไมโครกรัมต่อ<br>มิลลิลิตร ที่เวลา 10 นาที             | 46 |
| รูปที่ 4.9  | การดูดกลืนแสงของสารหนูที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร<br>ที่เวลาเริ่มต้น 5 นาที และ 10 นาที | 47 |
| รูปที่ 4.10 | ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารหนูกับจำนวนช่องในการวัด                                      | 48 |
| รูปที่ 4.11 | กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเฉลี่ยกับไอออนแต่ละชนิด                                       | 51 |
| รูปที่ 4.12 | กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับ<br>ค่าลอการิทึมของความเข้มข้นของสารหนู    | 52 |
| รูปที่ 4.13 | กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับ<br>ค่าลอการิทึมของความเข้มข้นของสารหนู    | 55 |
| รูปที่ 4.14 | กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับ<br>ค่าลอการิทึมของความเข้มข้นของสารหนู    | 57 |

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 บทนำ

ในปัจจุบันการพัฒนาอุปกรณ์ทดสอบและวิธีวิเคราะห์สารที่ให้การวิเคราะห์ได้อย่างสะดวก รวดเร็ว นำไปใช้ได้จริงในภาคสนาม และมีความแม่นยำได้รับความสนใจมากยิ่งขึ้น โดยอุปกรณ์ฐานกระดาษ (paper-based device) เป็นอุปกรณ์หนึ่งที่น่าสนใจเนื่องจากผลิตจากกระดาษ ซึ่งมีราคาถูก มีน้ำหนักเบา หาซื้อได้ง่าย เป็นอุปกรณ์ที่ไม่ซับซ้อน นำไปใช้ได้จริงในภาคสนาม การสร้างรูปแบบอุปกรณ์ฐานกระดาษก็ทำได้ง่ายโดยใช้โปรแกรม powerpoint และใช้แว็กซ์หรือซีฟี่เป็นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) เพื่อป้องกันการไหลออกนอกบริเวณที่ไม่ต้องการ โดยสารละลายจะเคลื่อนที่ไปตามช่องการไหลของกระดาษด้วยแรงแคพิลลารี และเนื่องจากการทดสอบด้วยอุปกรณ์ฐานกระดาษนี้ อาศัยการวัดความเข้มของสี (colorimetry) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาเคมีระหว่างสารที่ต้องการวิเคราะห์ (analyte) กับสารที่ใช้เป็นตัวทำปฏิกิริยาหรือรีเอเจนต์ (reagent) แล้ววัดการเปลี่ยนแปลงความเข้มของสีจากผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้กล้องดิจิทัลบันทึกภาพ ดังนั้นจึงต้องมีกล่องควบคุมแสงเพื่อใช้สำหรับถ่ายภาพเนื่องจากสถานะของแสงจะมีผลต่อความเข้มของสีที่เกิดขึ้น และวิเคราะห์ผลโดยใช้โปรแกรม imageJ เพื่อให้ได้ผลที่ถูกต้องและแม่นยำ

#### 1.2 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สารหนู (arsenic) เป็นโลหะหนักชนิดหนึ่งที่เป็นพิษต่อร่างกายสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ 3 ทางคือ การบริโภค การหายใจ และการสัมผัสทางผิวหนัง มักปนเปื้อนอยู่ในผัก ผลไม้ น้ำดื่ม ข้าว และดิน เป็นต้น โดยจากการวิเคราะห์ชนิดของสารหนูในข้าว<sup>1</sup> พบว่า ชนิดของสารหนูที่พบมากในข้าวคือ สารหนูอนินทรีย์ในรูปของ  $As^{3+}$  และ  $As^{5+}$  และยังพบ dimethylarsenic acid (DMA) และ monomethylarsonate (MMA) อีกด้วย ผลของความเป็นพิษของสารหนู<sup>2</sup> ต่อกลไกระดับเซลล์มี 5 แบบคือ ทำให้เซลล์ตาย เปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการทำงานของเซลล์ เป็นตัวการทำให้เกิดมะเร็ง เป็นตัวการทำให้เกิดความผิดปกติทางพันธุกรรม และทำลายต่อโครโมโซมซึ่งเป็นปัจจัยทางพันธุกรรม



จากข้อมูลความเป็นพิษของสารหนูข้างต้น คณะกรรมการโคเด็กซ์ สาขาสารปนเปื้อน<sup>3</sup> (codex committee on contaminants in foods: CCCF) ได้กำหนดค่าปริมาณปนเปื้อนสูงสุด (maximum level: ML) ของสารหนูอนินทรีย์ในข้าว โดยกำหนดให้ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ppm) ดังนั้นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ รวมถึงการพัฒนาอุปกรณ์ทดสอบ เพื่อหาปริมาณสารหนูในการตรวจสอบการปนเปื้อนของสารหนูในข้าวจึงเป็นประโยชน์เป็นอย่างสูง ส่งผลให้ลดอัตราการเจ็บป่วยของประชาชนผู้ได้รับผลกระทบ รวมถึงลดค่าใช้จ่ายอันไม่พึงประสงค์จากการรับสารหนูเข้าสู่ร่างกายโดยไม่รู้ตัวอีกด้วย

ในปัจจุบันวิธีมาตรฐานสำหรับการหาปริมาณสารหนุนั้น มีหลายวิธี เช่น อินดักทีฟพลาสมา-แมสสเปกโตรเมตรี (inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS))<sup>4</sup> อะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรสโกปี (atomic absorption spectrometry (AAS))<sup>5</sup> และยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปี (UV-visible spectrophotometry)<sup>6</sup> เป็นต้น แต่อุปกรณ์เหล่านี้มีขนาดใหญ่ ไม่สามารถนำไปใช้ในภาคสนามได้ ใช้ปริมาณสารตัวอย่างและสารเคมีมาก และมีราคาแพง การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดสารหนูที่มีราคาถูกและสามารถพกพาได้จึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก โดยอุปกรณ์ฐานกระดาษเป็นอุปกรณ์ที่ผลิตจากกระดาษ ซึ่งมีราคาถูก มีน้ำหนักเบา และหาซื้อได้ง่าย เป็นอุปกรณ์ที่ไม่ซับซ้อน นำไปใช้ได้จริงในภาคสนาม และผู้ใช้ไม่ต้องชำนาญพิเศษ ในปี 2008 Martinez และคณะ<sup>7,8</sup> ได้พัฒนาอุปกรณ์ของไหลจุลภาคจากวัสดุกระดาษ (paper-based microfluidic devices) ซึ่งอุปกรณ์นี้สามารถตรวจวัดกลูโคสและโปรตีนได้ภายในเวลาเดียวกันและพบว่าใช้สารปริมาณน้อยและราคาไม่แพง การทดสอบด้วยอุปกรณ์ฐานกระดาษนี้ อาศัยการวัดความเข้มของสี (colorimetry)<sup>9</sup> ของปฏิกิริยาเคมีระหว่างสารที่ต้องการวิเคราะห์ (analyte) กับสารที่ใช้เป็นตัวทำปฏิกิริยา (reagent) ซึ่งต้องให้ผลิตภัณฑ์เป็นสารที่ให้สี แล้ววัดการเปลี่ยนแปลงความเข้มของสีจากผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ซึ่งความเข้มของสีที่เปลี่ยนไปจากปฏิกิริยาจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสาร ทำให้เราทราบปริมาณของสารที่ต้องการวัดได้

สำหรับการพัฒนาอุปกรณ์ทดสอบและวิธีการตรวจวัดใช้อุปกรณ์เพิ่มเติมในการวิเคราะห์ผลคือ กล้องดิจิทัลร่วมกับโปรแกรม imageJ ตรวจวัดความเข้มของสีที่เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาของสาร ดังนั้นจึงต้องมีกล้องควบคุมแสงเพื่อให้การถ่ายภาพแต่ละครั้งมีแสงที่คงที่เพื่อลดความคลาดเคลื่อนที่อาจเกิดขึ้นจากสภาพแวดล้อม ทำให้ตรวจวัดปริมาณสารได้อย่างแม่นยำ และด้วยเทคนิคการวัดความเข้มของสี อุปกรณ์นี้จะใช้ปริมาณสารที่น้อยกว่าและประหยัดค่าใช้จ่ายเมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคเดิม และสามารถนำไปใช้ในภาคสนามสำหรับตรวจวัดสารตัวอย่างจริงได้อีกด้วย

### 1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี 1996 Farrell และคณะ<sup>10</sup> ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดสารหนูในตัวอย่างดินด้วยวิธีโพล์วอินเจ็กชันอะนาไลซิส โดยใช้สารตัวอย่างปริมาตร 300 ไมโครลิตร ซึ่งวิธีโพล์วอินเจ็กชันอะนาไลซิสนี้ใช้สารปริมาณน้อย มีความถูกต้องและแม่นยำสูง สามารถตรวจวัดสารหนูได้ต่ำที่สุด 10 ไมโครกรัมต่อลิตร

ในปี 1997 Le และคณะ<sup>11</sup> ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดสารประกอบของสารหนูโดยใช้ไอออนแพร์-โครมาโทกราฟีด้วยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรเมตรีและแมสสเปกโทรเมตรี สามารถแยกสารหนูได้ทั้งที่เป็นประจุบวก ประจุลบ และเป็นกลาง โดยใช้เวลาเพียง 12 นาที ซึ่งในการแยกจะใช้เทคนิค ICP-MS ร่วมด้วยสำหรับแยกองค์ประกอบของธาตุ โดยวิธีนี้ใช้ทดสอบตัวอย่างจริงคือปัสสาวะมนุษย์

ในปี 2000 Vilano และคณะ<sup>12</sup> ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดสารประกอบของสารหนูจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ อาร์เซไนต์ (arsenite), อาร์เซเนต (arsenate), โมโนเมทิลอาร์โซเนต (monomethylarsonate (MMA)), ไดเมทิลอาร์เซเนต (dimethylarsinate (DMA)), อาร์เซโนโคลีน (arsenocholine (AsChol)) และ อาร์เซโนบีทาอิน (arsenobetaine (AsBet)) ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีและอะตอมมิกฟลูออเรสเซนซ์ โดยใช้รังสียูวีและรีดิทซ์โลหะให้เป็นสารประกอบไฮไดรด์ในสภาพแก๊ส ซึ่งวิธีนี้มีขีดจำกัดในการตรวจวัดต่ำกว่า 4 ไมโครกรัมต่อลิตร

ในปี 2004 Dhar และคณะ<sup>6</sup> ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดสารหนูในน้ำบาดาล โดยให้ As(III) และ As(V) ที่ไม่ดูดกลืนรังสีอินฟราเรดมาทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียมโมลิบเดต (ammonium molybdate) จะได้สารประกอบเชิงซ้อน As(V)-molybdate ที่ดูดกลืนรังสีอินฟราเรด ณ ค่าความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนสูงที่สุดเท่ากับ 880 นาโนเมตรได้ แต่สารประกอบเชิงซ้อนของ As(III)-molybdate ไม่ดูดกลืนรังสีอินฟราเรด ส่วนตัวรบกวนคือฟอสเฟต ซึ่งทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียมโมลิบเดตได้สารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถดูดกลืนรังสีอินฟราเรดได้เช่นกัน ดังนั้นการหาปริมาณสารหนูโดยปราศจากการรบกวนของฟอสเฟต สามารถทำได้จากการทดลอง 2 ชุด คือ ชุดที่ 1 ออกซิไดส์ As(III) ให้เป็น As(V) แล้วทำปฏิกิริยากับโมลิบเดต แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง จะได้ค่าการดูดกลืนแสงที่เป็นผลรวมมาจากฟอสเฟตและ As(V)-molybdate ชุดที่ 2 รีดิทซ์

As(V) ให้เป็น As(III) แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง จะได้ค่าการดูดกลืนแสงที่มาจากฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว ปริมาณสารหนูทั้งหมดจะหาได้จากผลต่างของค่าการดูดกลืนแสงทั้งสองค่า

ในปี 2005 Matsunaga และคณะ<sup>13</sup> ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดสารหนูในสารละลายตัวอย่าง โดยใช้ โมลิบดีนัม (molybdenum-loaded) บนคีเลตติงเรซินซึ่งมีปีตา-ไฮดรอกซีโพรพิล-ได-ปีตา-ไฮดรอกซีเอทิล อะมิโน ( $\beta$ -hydroxypropyl-di( $\beta$ -hydroxyethyl)amino) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับอาร์เซนิก(V) เกิดเป็นเฮเทอโรพอลิแอซิด ทำให้เรซินมีสีเขียวอมฟ้าเมื่อมีตัวรีดิวซ์ภายใต้สภาวะกรด ความเข้มข้นของเรซินจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของอาร์เซนิก (V) ในสารละลาย โดยสีนี้เกิดขึ้นในเวลา 20 นาที เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส วิธีการนี้จึงเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพในการตรวจวัด

ในปี 2008 Martinez และคณะ<sup>14</sup> ได้เสนอวิธีการตรวจวัดโดยใช้อุปกรณ์ฐานกระดาษควบคู่กับกล้องถ่ายภาพจากโทรศัพท์ หรือเครื่องสแกนเนอร์แบบพกพาเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสี โดยการวิเคราะห์จะแสดงค่าเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับความเข้มข้นของกราฟมาตรฐาน วิธีการใช้ในการตรวจวัดสารหลายชนิดพร้อมกัน โดยใช้สำหรับวิเคราะห์ทางชีวภาพเชิงปริมาณ และแลกเปลี่ยนผลลัพธ์ของการตรวจวัดแบบดิจิทัลกับแพทย์ การตรวจวัดโดยใช้อุปกรณ์ฐานกระดาษนี้ถือว่าเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว มีประโยชน์อย่างมากในการระบุสาเหตุของการเกิดโรคของคนไข้ในพื้นที่ห่างไกล และยากต่อการเข้าถึงของแพทย์

ในปี 2008 Li และคณะ<sup>15</sup> ได้เสนอวิธีการพิมพ์บนอุปกรณ์ฐานกระดาษ ซึ่งใช้ Alkyl ketene dimer (AKD) เป็นพื้นผิวของกระดาษในส่วนไฮโดรโฟบิก และบริเวณที่ต้องการหดยาสารเป็นแบบไฮโดรฟิลิก ใช้เยื่อหุ้มเซลล์เพื่อป้องกันการไหลของสาร วิธีการนี้มีรูปแบบการใช้งานที่ไม่ซับซ้อน มีประสิทธิภาพในการไหลของสาร การใช้เยื่อหุ้มเซลล์นี้มีประโยชน์อย่างมากในการออกแบบตัวกีดขวาง วิธีการนี้จึงช่วยพัฒนาอุปกรณ์ฐานกระดาษให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

ในปี 2010 Li และคณะ<sup>16</sup> ได้เสนอวิธีการประดิษฐ์อุปกรณ์ฐานกระดาษโดยการพิมพ์แบบหัวหมึก โดยจะศึกษาการซึมผ่านของน้ำในร่องพิมพ์ที่พื้นผิวของกระดาษแบบไฮโดรโฟบิกด้วยไม้บรรทัด กล้องวิดีโอ และนาฬิกาจับเวลา จากนั้นจะสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับระยะทางการซึมของน้ำ โดยกราฟที่ได้มีลักษณะเป็นเส้นตรง นอกจากนี้ยังตรวจสอบการวิเคราะห์เชิงปริมาณ และการเกิดสีของปฏิกิริยา โดยวิเคราะห์ความเข้มสีได้จากโปรแกรม adobe photoshop จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีกับความเข้มข้นของสาร ซึ่งก็จะสามารถหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานได้

ในปี 2015 Huang และคณะ<sup>17</sup> ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดสารหนูในน้ำบาดาล โดยใช้การเปลี่ยนสีของไบโอเซนเซอร์ของแบคทีเรีย สีจะเปลี่ยนจากสีฟ้าอ่อนเป็นสีฟ้าเข้มขึ้นเมื่อมีความเข้มข้นของสารหนูมากขึ้น ซึ่งสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าหรือวัดจากสเปกโตรมิเตอร์ สามารถบอกปริมาณของสารหนูได้ที่ช่วงความเข้มข้น 10-500 ไมโครกรัมต่อลิตร กระบวนการนี้จะใช้เวลาตรวจวัด 3 ชั่วโมง โดยไบโอเซนเซอร์นี้สามารถใช้ได้ 9 วัน หากจัดเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งวิธีนี้มีประสิทธิภาพและราคาไม่แพง

ในปี 2015 Shrivastava และคณะ<sup>18</sup> ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดสารหนูในน้ำ โดยใช้การเปลี่ยนสีของอนุภาคทองคำนาโน (gold nanoparticles) จากสีชมพูเป็นสีฟ้าซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโลคัลไลซ์เซอร์เฟซพลาสมอนเรโซแนนซ์ (localized surface plasmon resonance, LSPR) ของอนุภาคทองคำนาโน โดยสารละลายต้องมีพีเอช 5 และใช้ความเข้มข้นของอนุภาคทองคำนาโน 25 ไมโครโมลาร์ ใช้ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยา 5 นาที วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย มีความจำเพาะ สามารถตรวจวัดสารหนูได้ต่ำที่สุด 2 ไมโครกรัมต่อลิตร

#### 1.4 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. พัฒนาวิธีการตรวจวัดสารหนูโดยใช้อุปกรณ์ฐานกระดาษควบคู่กับวิธีการตรวจวัดเชิงสี
2. นำอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ได้ไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างจริง เช่น ข้าว

### 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้อุปกรณ์ฐานกระดาษชนิดใหม่เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดสารหนู
2. ได้ข้อมูลปริมาณสารหนูหลายค่าและมีความเที่ยง จากการหดยดสารละลายตัวอย่างเพียงครั้งเดียว



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

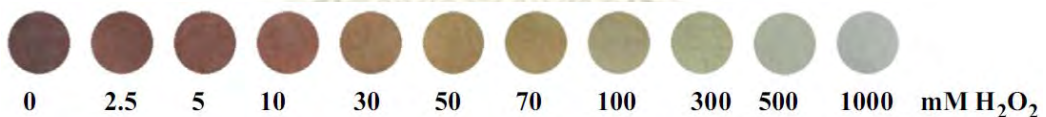
## บทที่ 2

### ทฤษฎี

#### 2.1 เทคนิคการตรวจวัดโดยการเทียบสี (colorimetric method)<sup>19</sup>

วิธีตรวจวัดโดยการเทียบสีเป็นวิธีการวิเคราะห์โดยให้สารที่ต้องการวิเคราะห์ (analyte) เกิดปฏิกิริยาเคมีกับสารที่ใช้เป็นตัวทำปฏิกิริยาหรือรีเอเจนต์ (reagent) ซึ่งเป็นสารที่ก่อให้เกิดสี แล้ววัดการเปลี่ยนแปลงความเข้มของสีจากผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ซึ่งความเข้มของสีที่เปลี่ยนไปจากปฏิกิริยาจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน วิธีการนี้เป็นวิธีที่นำมาใช้กันอย่างกว้างขวางทั้งในการตรวจวัดสารประกอบอินทรีย์และอนินทรีย์ เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และราคาถูก

ตัวอย่างการตรวจวัดโดยการเทียบสี<sup>20</sup> เช่น การตรวจหาปริมาณของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ โดยการทำปฏิกิริยากับ siloxane 3-aminopropyltriethoxysilane (APTMS) และ glutaraldehyde (GA) ที่อยู่บนอุปกรณ์ฐานกระดาษ โดยสารประกอบเชิงซ้อนของ APTMS-GA จะเป็นสีแดงอิฐ แต่เมื่อทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะทำให้ความเข้มสีเปลี่ยนไปตามความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดังรูปที่ 2.1

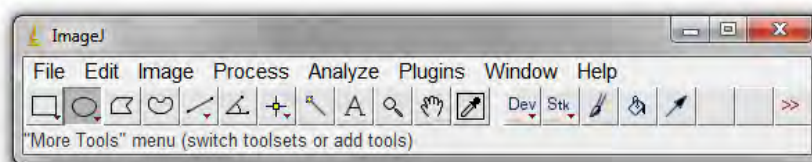


รูปที่ 2.1 การเปลี่ยนแปลงความเข้มสีของอุปกรณ์ฐานกระดาษเมื่อทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

## 2.2 โปรแกรม imageJ<sup>21</sup>

โปรแกรม imageJ คือ โปรแกรมที่ใช้วิเคราะห์ขนาดของวัตถุบนภาพถ่าย เป็นโปรแกรมที่สร้างขึ้นจากสถาบันวิจัย National Institute of Mental Health (NIMH) ประเทศสหรัฐอเมริกา มีประโยชน์อย่างมากในงานวิจัยที่ต้องการหาระยะหรือพื้นที่ของวัตถุบนภาพถ่ายจากกล้องถ่ายภาพหรือกล้องจุลทรรศน์ เช่น กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope (SEM))

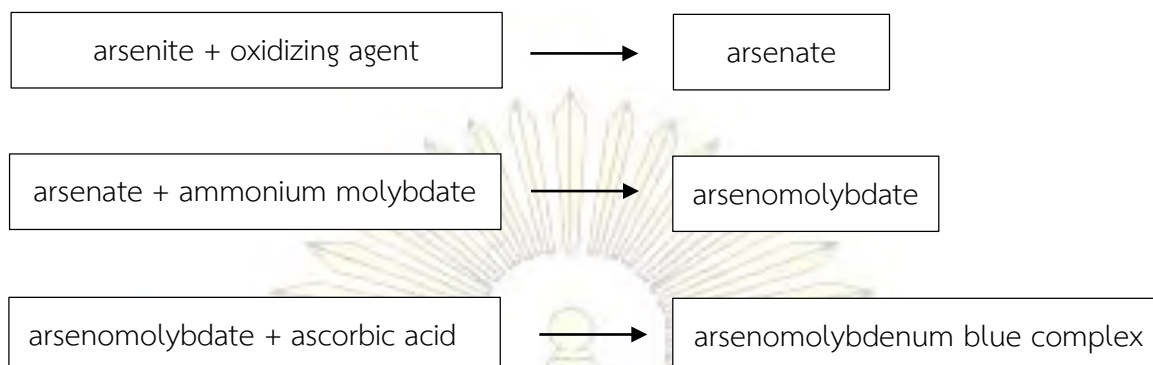
โปรแกรมนี้ทำงานโดยใช้คำสั่ง image, process และคำสั่งอื่นๆ บันทึกไฟล์ในรูปแบบ 8-bit, 16-bit, 32-bit และ RGB color โดยไฟล์ต้องบันทึกเป็นไฟล์ TIFF, GIF, JPEG, BMP, DICOM, FITS หรือ RAW โปรแกรมนี้สามารถวิเคราะห์ภาพหลายๆ ภาพได้ในเวลาเดียวกัน สามารถกำหนด scale, rotate, flips ภาพได้ ซูมภาพได้ และสามารถคำนวณพื้นที่และสัดส่วนของพื้นที่ของวัตถุบนภาพได้ โดยค่าที่ได้นำไปแสดงในรูปแบบของแผนภูมิแท่ง กราฟ หรือจัดทำค่าต่างๆ ในรูปของสถิติ



รูปที่ 2.2 โปรแกรม imageJ

## 2.3 การเกิดปฏิกิริยาของสารหนูที่ทำให้เกิดสี (color reaction)<sup>22</sup>

ตัวทำปฏิกิริยาที่ให้สีส่วนมากเป็นสารอินทรีย์ ซึ่งสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารที่สนใจได้โดยเกิดพันธะโคออร์ดิเนตโควาเลนต์ เนื่องจากโครงสร้างของสารอินทรีย์แต่ละชนิด มีความจำเพาะและสามารถตอบสนองต่อสาร เคมีชนิดอื่นได้ ดังนั้นในการเกิดปฏิกิริยาอาจทำให้สารเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีได้ การเกิดปฏิกิริยาของสารหนูกับตัวทำปฏิกิริยาซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดสี (color reagent) ซึ่งในที่นี้คือสารละลายกรดแอสคอร์บิกและสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต ให้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีน้ำเงิน หากสารละลายมีความเข้มข้นของสารหนูมากก็จะมีสีเข้มขึ้น โดยเกิดปฏิกิริยาดังนี้<sup>23</sup>



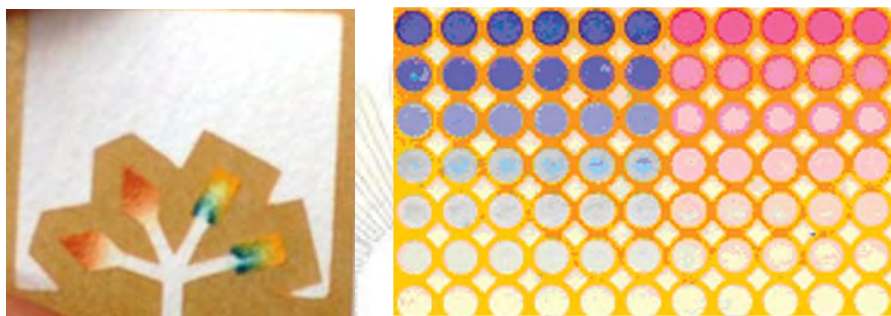
## 2.4 อุปกรณ์ฐานกระดาษ (paper-based device)<sup>24,25</sup>

อุปกรณ์ฐานกระดาษเป็นอุปกรณ์ที่ใช้ตรวจวัดปริมาณสารที่สนใจบนกระดาษ โดยจะออกแบบเป็นสองบริเวณคือ บริเวณที่ชอบน้ำและบริเวณที่ไม่ชอบน้ำ ซึ่งบริเวณที่ชอบน้ำจะมีการไหลของสารตัวอย่างด้วยแรงแคพิลลารี ส่วนในบริเวณที่ไม่ชอบน้ำจะประยุกต์ใช้วัสดุที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) เช่น ซีนีฟหรือแว็กซ์ ในการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ โดยจุดเริ่มต้นของการพัฒนาเทคนิคการตรวจวัดโดยใช้อุปกรณ์ฐานกระดาษนี้ เริ่มจากความต้องการอุปกรณ์ในทางการแพทย์ที่จะช่วยวินิจฉัยและติดตามผลการรักษาโรคที่มีความสะดวก รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพ

เนื่องจากการตรวจวัดและวินิจฉัยโรคในห้องปฏิบัติการโดยทั่วไปนั้นมีหลายขั้นตอน ทำให้ใช้เวลาในการตรวจวัดนาน เครื่องมือและน้ำยาที่ใช้ในการวิเคราะห์มีราคาแพง ทำให้ต้นทุนในการตรวจวัดสูง หรือบางครั้งการตรวจวัดบางชนิดสามารถทำได้เฉพาะโรงพยาบาลขนาดใหญ่เท่านั้น ข้อจำกัดเหล่านี้ส่งผลให้เทคโนโลยีทางการแพทย์ไม่สามารถเข้าถึงชนบทที่อยู่ห่างไกลความเจริญได้ หรือบางครั้งผู้ที่มีฐานะทางเศรษฐกิจดีเท่านั้นที่สามารถตรวจวัดได้ ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาการตรวจวัดโดยใช้อุปกรณ์ฐานกระดาษ โดยอาศัยการออกแบบกระดาษเป็นบริเวณที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ จากนั้นทำให้สารตัวอย่างที่ชอบน้ำไหลด้วยแรงแคพิลลารี และเกิดปฏิกิริยากับน้ำยาที่ตรึงอยู่บนกระดาษ

การพัฒนาเทคนิคการตรวจวัดโดยใช้อุปกรณ์ฐานกระดาษไม่เพียงแต่มีส่วนช่วยในการวินิจฉัยโรคทางการแพทย์เท่านั้น แต่ยังสามารถตรวจวัดสิ่งต่างๆ ได้มากมายเช่น การตรวจวัดโลหะหนักจากแหล่งน้ำ<sup>26</sup> การตรวจวัดโลหะหนักจากอาหาร<sup>27</sup> การตรวจวัดสารเคมีที่อยู่ในฝุ่นผง<sup>28</sup> เป็นต้น โดยอุปกรณ์ฐานกระดาษที่พัฒนาขึ้นมีขนาดเล็ก น้ำหนักเบา สามารถพกพาได้สะดวก มีราคาถูก สามารถนำไปใช้ได้จริงในภาคสนาม ใช้งานง่ายและมีประสิทธิภาพ ซึ่งอุปกรณ์นี้สามารถนำไปพัฒนาและประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดสารต่างๆ ได้อีกมากมาย





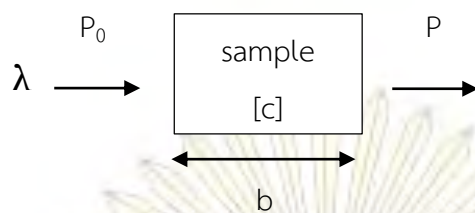
รูปที่ 2.3 ตัวอย่างอุปกรณ์ฐานกระต๊าก

## 2.5 เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-visible spectroscopy)<sup>29</sup>

ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี ใช้หลักการดูดกลืนแสงหรือรังสีที่อยู่ในช่วง ultraviolet และ visible เมื่อลำรังสีต่อเนื่อง (continuous beam of radiation) ผ่านเข้าไปในวัตถุโปร่งแสงจะพบว่า แสงบางส่วนถูกดูดกลืน บางส่วนสะท้อน บางส่วนกระเจิง และบางส่วนส่งผ่าน ถ้าแสงที่ส่งผ่านมานั้นผ่านเข้าเครื่องกระจายแสง จะเห็นว่าสเปกตรัมหายไปส่วนหนึ่ง เรียกว่า absorption spectrum พลังงานที่ดูดกลืนไปนั้นจะทำให้โมเลกุลหรืออะตอมเปลี่ยนระดับพลังงานจากสถานะพื้น (ground state) ไปยังสถานะกระตุ้น (excited state)

การวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคนี้สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งคุณภาพและปริมาณ โดยความยาวคลื่นของแสงที่ถูกดูดกลืนจะสามารถระบุชนิดของสารได้ ในขณะที่ปริมาณการดูดกลืนแสงจะสามารถบอกปริมาณของสารได้ โดยส่วนมากสารที่นำมาวัดโดยเทคนิคนี้จะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน และสารอนินทรีย์

หลักในการหาปริมาณสารกับการวัดปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนด้วยสารตัวอย่าง สามารถทำได้โดยให้ลำแสงผ่านเข้าไปในสารตัวอย่างแล้ววัดปริมาณของแสงที่ส่งผ่านออกมา โดยเปรียบเทียบกับแสงที่ส่งผ่านออกมาเมื่อไม่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ (blank solution)



$$\%T = \frac{P}{P_0} \times 100$$

$$A = -\log \%T$$

$$\text{Beer's Law } A = \epsilon bc$$

โดยที่  $\lambda$  = ความยาวคลื่นของ monochromator (cm)

$P_0$  = กำลังของรังสีตกกระทบ ( $\text{erg.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )

$P$  = กำลังของรังสีที่ส่งผ่านออกมา ( $\text{erg.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$ )

$T$  = ความส่งผ่าน (transmittance)

$A$  = ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance)

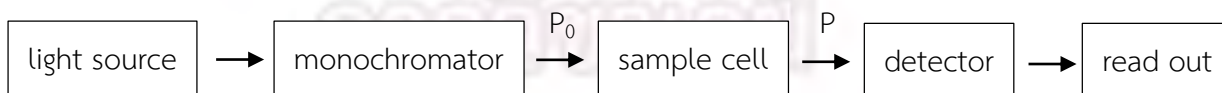
$\epsilon$  = ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง ( $\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ )

$b$  = ความกว้างของคิวเวตต์ (cm)

$C$  = ความเข้มข้น (mol/L)

หรือกล่าวได้ว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มข้น

ส่วนประกอบของเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี



1. แหล่งกำเนิดแสง (light source) จะต้องให้ลำแสงที่มีกำลังเพียงพอที่จะวัดได้ เพื่อให้การแผ่รังสีคงที่ตลอดเวลาในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ตัวแยกแสง (monochromator) ทำหน้าที่แยกแสงให้มีความยาวคลื่นเดียวอาจใช้ฟิลเตอร์ (filter) หรือเกรตติง (grating)
3. เซลล์บรรจุตัวอย่าง (sample cell) หรือคิวเวตต์ (cuvette) มีลักษณะโปร่งใส โปร่งแสง และมีความยาวที่แสงผ่าน (pathlength, b) คงที่แน่นอน
4. ตัวตรวจวัดสัญญาณ (detector) นิยมใช้ photomultiplier tube หรือ diode array วัดแสงที่ออกมาจากสารละลาย

ปัจจุบันได้มีการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดด้วยเทคนิคนี้ที่สามารถพกพาได้เพื่อนำไปใช้ในภาคสนาม โดยระบบในการตรวจวัดแบบใหม่นี้จะถูกต้อง รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพ โดยได้มีการนำมาประยุกต์ใช้งานที่หลากหลาย เช่น การวิเคราะห์แป้ง โปรตีน และไขมันในอาหาร การวิเคราะห์ความหนาของกระดาษพอยล์ การระบุชนิดของพลาสติก การวิเคราะห์ความชื้นและสีในการผลิตกระดาษ ฯลฯ

## 2.6 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจวัด (method validation)<sup>30</sup>

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจวัด เป็นวิธีการเพื่อพิสูจน์วิธีที่ทดสอบว่ามีความเหมาะสมที่จะนำไปใช้ตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการใช้งานหรือไม่ โดยการตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะของวิธีทดสอบ เช่น การตรวจสอบความเที่ยง ความแม่นยำ ขีดจำกัดในการตรวจวัด ขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณ ความจำเพาะ ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง เป็นต้น

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจวัดจะครอบคลุมถึงสมบัติของวิธีตรวจวัด ดังนี้

### 2.6.1 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection, LOD) และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ)

ขีดจำกัดของการตรวจวัด หมายถึง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่สามารถตรวจวัดได้

ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ หมายถึง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่สามารถหาปริมาณ หรือรายงานผลโดยมีความแม่นยำ และความเที่ยงที่ยอมรับได้

ขีดจำกัดของการตรวจวัด และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณหาได้โดยการวัด blank ของสารตัวอย่าง (sample blank) อย่างน้อย 7 ซ้ำ และนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่า SD

$$\text{ขีดจำกัดของการตรวจวัด} \quad \text{คำนวณได้จากสูตร} \quad \text{LOD} = \frac{3 \times \text{SD}}{\text{slope}}$$

$$\text{ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ} \quad \text{คำนวณได้จากสูตร} \quad \text{LOQ} = \frac{10 \times \text{SD}}{\text{slope}}$$

SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ blank

slope คือ ค่าความชันจากกราฟมาตรฐาน

## 2.6.2 ความแม่นยำ (accuracy)

ความแม่นยำ เป็นค่าแสดงความใกล้เคียงระหว่างผลการตรวจวัดและค่าจริงหรือค่าอ้างอิงที่ยอมรับ หากผลการตรวจวัดที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับค่าจริงหรือค่าอ้างอิงที่ยอมรับมาก แสดงว่าการวิเคราะห์นั้นมีความแม่นยำสูง (high accuracy) แต่ถ้าค่าที่ตรวจวัดได้ห่างไกลจากค่าจริง แสดงว่าการวิเคราะห์นั้นมีความแม่นยำน้อย (low accuracy)

การหาความแม่นยำทำได้โดยหาค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) การทดสอบทำโดยการเติมสารมาตรฐานของสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่ปริมาณเล็กน้อยลงในตัวอย่าง (spike/fortified sample) แล้วตรวจวัดและคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืน โดยการหาค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนจะทำ 3 ระดับความเข้มข้น และอย่างน้อยความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การกลับคืน} = \frac{(\text{ค่าจากตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน}) - (\text{ค่าจากตัวอย่างที่ไม่เติม}) \times 100}{(\text{ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม})}$$

ตารางที่ 2.1 เปอร์เซ็นต์การกลับคืนของสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน<sup>31</sup>

| ความเข้มข้น | ช่วงเปอร์เซ็นต์การกลับคืนที่ยอมรับได้ |
|-------------|---------------------------------------|
| 100%        | 98-101                                |
| 10%         | 95-102                                |
| 1%          | 92-105                                |
| 0.1%        | 90-108                                |
| 0.01%       | 85-110                                |
| 10 ppm      | 80-115                                |
| 1 ppm       | 75-120                                |
| 10 ppb      | 70-125                                |

### 2.6.3 ความเที่ยง (precision)<sup>32</sup>

ความเที่ยง หมายถึง คุณลักษณะที่แสดงความสามารถในการทดสอบของการวิเคราะห์ซ้ำกันหลายๆ ครั้ง แล้วให้ผลการทดสอบใกล้เคียงกัน ความแตกต่างของผลการตรวจวัดที่ได้มักแสดงในรูปของค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) หรือค่าความแปรปรวน (variance,  $s^2$ ) หรือสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation, CV) หรือค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) แต่อย่างไรก็ตาม ความเที่ยงไม่ได้บอกถึงความแม่นยำของผลการทดสอบ แต่บ่งบอกว่าการทดสอบนั้นมีความสม่ำเสมอ เที่ยงตรงในระดับใดเมื่อมีการทดสอบซ้ำ ซึ่งความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์ที่นิยมทดสอบวิธีหนึ่งได้แก่ repeatability

repeatability หมายถึง ความเที่ยงที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำๆ ในภาวะเดิมทั้งหมด ได้แก่ เครื่องมือ สารเคมี วิธีทดสอบ ผู้ทดสอบ และห้องปฏิบัติการเดียวกัน

การหาระดับความเที่ยงโดยหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD)

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

RSD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation)

SD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)

$\bar{X}$  = ค่าเฉลี่ยของผลการตรวจวัด

ตารางที่ 2.2 ระดับความเที่ยงที่ยอมรับได้ของวิธีวิเคราะห์ตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

| ระดับความเข้มข้น                | ระดับความเที่ยงที่ยอมรับได้ (%RSD) |         |       |
|---------------------------------|------------------------------------|---------|-------|
|                                 | สูง                                | ปานกลาง | ต่ำ   |
| Trace analysis (ระดับ ppm)      | 0.1-1                              | 1-10    | 10-35 |
| Ultra-trace analysis (ppb, ppt) | 1-10                               | 10-35   | >35   |
| มากกว่า ppm                     | 0.01-0.1                           | 0.1-1   | 1-10  |

#### 2.6.4 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linearity and range)

ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงหรือช่วงความเป็นเส้นตรง แสดงความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่ทำให้ผลการวิเคราะห์เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด หรือช่วงความเข้มข้นของสารที่จะวัดตั้งแต่ความเข้มข้นต่ำสุดถึงความเข้มข้นสูงสุดที่วัดแล้วมีความแม่นยำ ความเที่ยง และความเป็นเส้นตรง อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ตามข้อกำหนด

#### 2.6.5 ความจำเพาะ (selectivity)

ความจำเพาะ แสดงความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่จะวิเคราะห์เฉพาะสารที่ต้องการวิเคราะห์เท่านั้น การศึกษาความจำเพาะของวิธีการวิเคราะห์ทำได้โดยการเติมสารลงในสารตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ แล้วตรวจสอบว่าสารเหล่านั้นมีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์หรือไม่ และทำให้การตรวจวัด หรือการหาปริมาณสารที่ต้องการทราบผิดไป (มากขึ้น หรือน้อยลง) หรือไม่

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### บทที่ 3

#### การทดลอง

### 3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

#### 3.1.1 อุปกรณ์เตรียมกระดาษ

- กระดาษกรอง (filter paper Whatman no.1)
- เครื่องพิมพ์ชนิดซีฟี่ง ยี่ห้อ Xerox
- นาฬิกาจับเวลา
- ปีกเกอร์ขนาดกลาง
- เครื่องให้ความร้อน (hot plate)
- เทปกาว
- คีม (forceps)



รูปที่ 3.1 เครื่องพิมพ์ชนิดซีฟี่ง ยี่ห้อ Xerox

### 3.1.2 อุปกรณ์เตรียมสารเคมี

- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น Classic
- ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 2, 20, 200, 1000 และ 5000 ไมโครลิตร
- หลอดไมโครเซ็นทริฟิวจ์ (microcentrifuge tube) ขนาด 500, 1000 และ 2000 ไมโครลิตร
- ไมโครปิเปตทิป (micropipette tip) ขนาด 10, 200, 1000 และ 5000 ไมโครลิตร
- เครื่องเขย่าสาร (vortex mixer) รุ่น VTX-3000L
- ซ้อนตักสาร
- ปีกเกอร์ขนาด 10 มิลลิลิตร
- ปีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
- เครื่องทำความสะอาดด้วยแรงสั่น (sonicator) รุ่น IL 60061
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) รุ่น E 100 H ยี่ห้อ Elmasonic
- ขวดกำหนดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
- ครกบดสาร
- เครื่องให้ความร้อน (hot plate)



รูปที่ 3.2 อุปกรณ์ในการเตรียมสารเคมี

(a) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) และ (b) เครื่องทำความสะอาดด้วยแรงสั่น (sonicator)



### 3.1.3 อุปกรณ์ตรวจวัด

- อุปกรณ์ฐานกระดาษ
- กล่องควบคุมแสง
- กล้องดิจิทัล Canon รุ่น EOS 1000D
- คอมพิวเตอร์พร้อมโปรแกรม imageJ
- นาฬิกาจับเวลา



รูปที่ 3.3 กล่องควบคุมแสง

### 3.2 สารเคมี

- polydiallyldimethylammonium chloride (PDDA)
- แอมโมเนียมโมลิบเดต ((NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>)
- กรดแอสคอร์บิก (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>)
- โซเดียมอาร์เซไนต์ (NaAsO<sub>2</sub>)
- โซเดียมไทโอซัลเฟต (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)
- กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
- เมทานอล (CH<sub>3</sub>OH)
- กรดไนตริก (HNO<sub>3</sub>)

- น้ำ (milliQ water)
- โพแทสเซียมซัลเฟต ( $K_2SO_4$ )
- โซเดียมซัลเฟต ( $Na_2SO_4$ )
- แมกนีเซียมซัลเฟต ( $MgSO_4$ )
- แคลเซียมไนเตรดเทตระไฮเดรต ( $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ )
- แบเรียมแอสซีเตต ( $Ba(C_2H_3O_2)_2$ )
- คอปเปอร์(II)ซัลเฟต ( $CuSO_4$ )
- ซิงค์ไนเตรด ( $Zn(NO_3)_2$ )
- โคบอลต์(II)ซัลเฟต ( $CoSO_4$ )
- โพแทสเซียมไดโครเมต ( $K_2Cr_2O_7$ )
- ไฮร์ออน(II)ซัลเฟต เฮปตะไฮเดรต ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ )
- เลด(II)ไนเตรด ( $Pb(NO_3)_2$ )
- แคดเมียม(II)ซัลเฟต ออกตะไฮเดรต ( $CdSO_4 \cdot 8H_2O$ )

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 3.3 การเตรียมสารละลาย

#### 3.3.1 สารละลาย polydiallyldimethylammonium chloride (PDDA) ความเข้มข้น 2% 4% 6% 8% และ 10% v/v ปริมาตร 500 ไมโครลิตร

ปิเปต polydiallyldimethylammonium chloride ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำปริมาตร 1800 ไมโครลิตร จะได้ 10% polydiallyldimethylammonium chloride จากนั้นปิเปตสารละลายที่ได้ ผสมกับน้ำ เพื่อเตรียมสารละลาย polydiallyldimethylammonium chloride ความเข้มข้น 2% 4% 6% และ 8% ดังแสดงในตารางที่ 3.1

**ตารางที่ 3.1** ปริมาตรสารละลายที่ใช้เตรียม 2% 4% 6% และ 8% polydiallyldimethylammonium chloride โดยมีปริมาตรสุดท้าย 500 ไมโครลิตร

| ความเข้มข้นของสารละลาย PDDA (% PDDA) | ปริมาตร 10% PDDA (ไมโครลิตร) | ปริมาตรน้ำ (ไมโครลิตร) |
|--------------------------------------|------------------------------|------------------------|
| 2                                    | 100                          | 400                    |
| 4                                    | 200                          | 300                    |
| 6                                    | 300                          | 200                    |
| 8                                    | 400                          | 100                    |

#### 3.3.2 สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร

ชั่งแอมโมเนียมโมลิบเดต 0.2472 กรัม ละลายในน้ำจรมีปริมาตรเป็น 2000 ไมโครลิตร จะได้ สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 100 มิลลิโมลต่อลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายที่ได้ผสมกับน้ำ เพื่อเตรียมสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 มิลลิโมลต่อลิตร ดังแสดงใน ตารางที่ 3.2

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.2 ปริมาตรที่ใช้เตรียมสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50

มิลลิโมลต่อลิตร โดยมีปริมาตรสุดท้าย 1000 ไมโครลิตร

| ความเข้มข้นของสารละลาย<br>แอมโมเนียมโมลิบเดต<br>(มิลลิโมลต่อลิตร) | ปริมาตรสารละลายแอมโมเนียมโมลิบ<br>เดตความเข้มข้น 100 มิลลิโมลต่อลิตร<br>(ไมโครลิตร) | ปริมาตรน้ำ<br>(ไมโครลิตร) |
|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 10                                                                | 100                                                                                 | 900                       |
| 20                                                                | 200                                                                                 | 800                       |
| 30                                                                | 300                                                                                 | 700                       |
| 40                                                                | 400                                                                                 | 600                       |
| 50                                                                | 500                                                                                 | 500                       |

3.3.3 สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 200 400 600 800 และ 1000 มิลลิโมลต่อลิตร  
ปริมาตร 500 ไมโครลิตร

ซึ่งกรดแอสคอร์บิก 0.3522 กรัม ละลายในน้ำจนมีปริมาตรเป็น 2000 ไมโครลิตร จะได้สารละลาย  
กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 1000 มิลลิโมลต่อลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายที่ได้ผสมกับน้ำ เพื่อเตรียม  
สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 200 400 600 และ 800 มิลลิโมลต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ปริมาตรที่ใช้เตรียมสารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 200 400 600 และ 800 มิลลิโมล  
ต่อลิตร โดยมีปริมาตรสุดท้าย 500 ไมโครลิตร

| ความเข้มข้นสารละลายกรด<br>แอสคอร์บิก(มิลลิโมลต่อลิตร) | ปริมาตรสารละลายกรดแอสคอร์บิก<br>ความเข้มข้น 1000 มิลลิโมลต่อลิตร<br>(ไมโครลิตร) | ปริมาตรน้ำ<br>(ไมโครลิตร) |
|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| 200                                                   | 100                                                                             | 400                       |
| 400                                                   | 200                                                                             | 300                       |
| 600                                                   | 300                                                                             | 200                       |
| 800                                                   | 400                                                                             | 100                       |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 3.3.4 สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ ( $\text{NaAsO}_2$ ) ความเข้มข้น 50 100 150 250 500 750 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 500 ไมโครลิตร

ซั่งโซเดียมอาร์เซไนต์ 0.0020 กรัม ละลายในน้ำจนมีปริมาตรเป็น 2000 ไมโครลิตร จะได้โซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นไปเตรียมน้ำที่เตรียมได้ผสมกับน้ำ เพื่อเตรียมน้ำสารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 50 100 150 250 500 และ 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 3.4

**ตารางที่ 3.4** ปริมาตรที่ใช้เตรียมน้ำสารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 50 100 150 250 500 และ 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีปริมาตรสุดท้าย 500 ไมโครลิตร

| ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) | ปริมาตรของโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ไมโครลิตร) | ปริมาตรน้ำ (ไมโครลิตร) |
|-----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| 50                                                              | 25                                                                            | 475                    |
| 100                                                             | 50                                                                            | 450                    |
| 150                                                             | 75                                                                            | 425                    |
| 250                                                             | 175                                                                           | 325                    |
| 500                                                             | 250                                                                           | 250                    |
| 750                                                             | 375                                                                           | 125                    |

### 3.3.5 สารละลายไอออนอื่นๆ ทั้งหมด 12 ชนิด ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เพื่อนำไปทดสอบความจำเพาะและตัวรบกวนของวิธีวิเคราะห์

เตรียมสารละลายไอออนต่างๆ ให้มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยถ้าสารนั้นเป็นของแข็งให้ชั่ง 0.0020 กรัม แล้วละลายในน้ำจนมีปริมาตรเป็น 2000 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปเจือจางตามความเข้มข้นที่ต้องการ หากเป็นสารละลายก็สามารถนำไปเจือจางได้เลย โดยมีวิธีการเตรียมดังแสดงในตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 ปริมาตรที่ใช้เตรียมสารละลายของไอออนต่างๆ ทั้งหมด 12 ชนิด

| ชื่อสาร                                                        | ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ (ไมโครลิตร) | ปริมาตรน้ำ (ไมโครลิตร) | ความเข้มข้นของสารละลายไอออน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) |
|----------------------------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------|-----------------------------------------------------|
| K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                                 | 100                                  | 400                    | 200                                                 |
|                                                                | 200                                  | 300                    | 400                                                 |
| Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                                | 100                                  | 400                    | 200                                                 |
|                                                                | 200                                  | 300                    | 400                                                 |
| MgSO <sub>4</sub>                                              | 100                                  | 400                    | 200                                                 |
|                                                                | 200                                  | 300                    | 400                                                 |
| Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O           | 100                                  | 400                    | 200                                                 |
|                                                                | 200                                  | 300                    | 400                                                 |
| Ba(C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> | 100                                  | 400                    | 200                                                 |
|                                                                | 200                                  | 300                    | 400                                                 |
| CuSO <sub>4</sub>                                              | 100                                  | 400                    | 200                                                 |
|                                                                | 200                                  | 300                    | 400                                                 |
|                                                                | 300                                  | 200                    | 600                                                 |
| Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                              | 100                                  | 400                    | 200                                                 |
|                                                                | 200                                  | 300                    | 400                                                 |
| CoSO <sub>4</sub>                                              | 50                                   | 450                    | 100                                                 |
|                                                                | 100                                  | 400                    | 200                                                 |
| K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>                  | 100                                  | 400                    | 200                                                 |
|                                                                | 200                                  | 300                    | 400                                                 |
| FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O                           | 50                                   | 450                    | 100                                                 |

|                                      |     |     |      |
|--------------------------------------|-----|-----|------|
|                                      | 100 | 400 | 200  |
| Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>    | 100 | 400 | 200  |
|                                      | 200 | 300 | 400  |
|                                      | 300 | 200 | 600  |
| CdSO <sub>4</sub> ·8H <sub>2</sub> O | 100 | 400 | 200  |
|                                      | 200 | 300 | 400  |
|                                      | 300 | 200 | 600  |
| NaAsO <sub>2</sub>                   | 100 | 400 | 200  |
|                                      | -   | 500 | 1000 |

### 3.3.6 การเตรียมสารละลายเพื่อศึกษาการเกิดปฏิกิริยาเชิงซ้อนของสารหนูด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

1. สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 613 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
  - ชั่งกรดแอสคอร์บิก 5.3982 กรัม ละลายในน้ำจืดมีปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร
2. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 24 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
  - ชั่งแอมโมเนียมโมลิบเดต 1.4830 กรัม ละลายในน้ำจืดมีปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร
3. สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
  - ชั่งโซเดียมอาร์เซไนต์ 0.0025 กรัม ในขวดกำหนดปริมาตร 25 มิลลิลิตร เติมน้ำจืดถึง

ขีดกำหนดปริมาตร (ได้สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

- ปิเปตสารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มา 5

มิลลิลิตร ใส่ในขวดกำหนดปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำจืดถึงขีดกำหนดปริมาตร (ได้สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

### 3.3.7 การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อตรวจวัดสารหนูในข้าว

1. ตัวทำละลายที่ใช้คือ น้ำ : เมทานอล อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร ที่มี 1% กรดไนตริก
2. บดข้าว จากนั้นใส่ในบีกเกอร์ละ 1 กรัม จำนวน 4 บีกเกอร์และทดลองดังนี้
  - บีกเกอร์ที่ 1 : ข้าว 1 กรัม และเติมตัวทำละลายปริมาตร 10 มิลลิลิตร
  - บีกเกอร์ที่ 2 : ข้าว 1 กรัม ผสมกับสารหนูความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเติมตัวทำละลาย 5 มิลลิลิตร
  - บีกเกอร์ที่ 3 : ข้าว 1 กรัม ผสมกับสารหนูความเข้มข้น 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเติมตัวทำละลาย 5 มิลลิลิตร
  - บีกเกอร์ที่ 4 : ข้าว 1 กรัม ผสมกับสารหนูความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเติมตัวทำละลาย 5 มิลลิลิตร
3. นำไปสั่นด้วยแรงสั่น (sonicate) 30 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) 5 นาที
4. นำส่วนที่เป็นสารละลายใส่ไปต้มจนแห้ง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมน้ำจนครบ 10 มิลลิลิตร
5. สารละลายที่ได้คือส่วนที่นำไปทดสอบหาสารหนู โดยหยดบนอุปกรณ์ฐานกระดาศบริเวณ sample reservoir

### 3.3.8 การเตรียมสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร

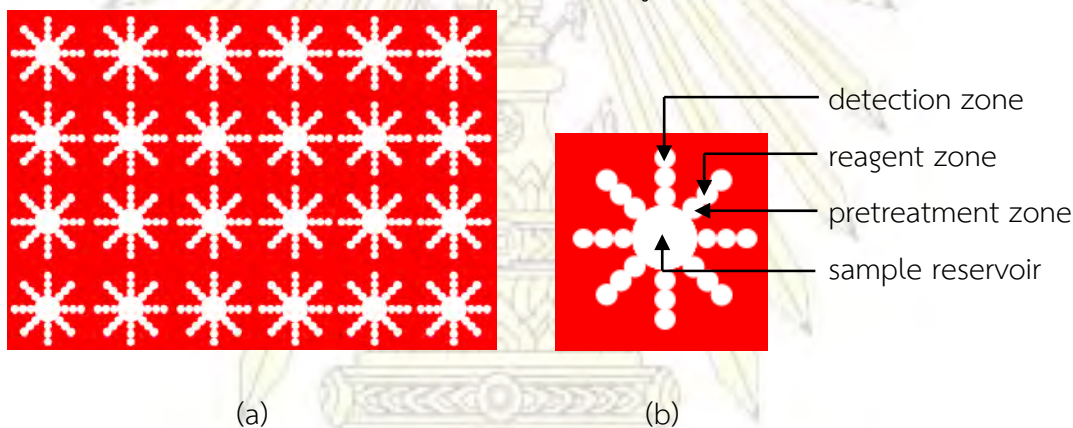
ชั่งโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.0049 กรัม ละลายในน้ำจรมีปริมาตรเป็น 2000 ไมโครลิตร จะได้สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 10 มิลลิโมลต่อลิตร จากนั้นปีเปิดสารละลายที่ได้ปริมาตร 200 ไมโครลิตรผสมกับน้ำ 800 ไมโครลิตร จะได้สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลต่อลิตร

ภาควิชาเคมี  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



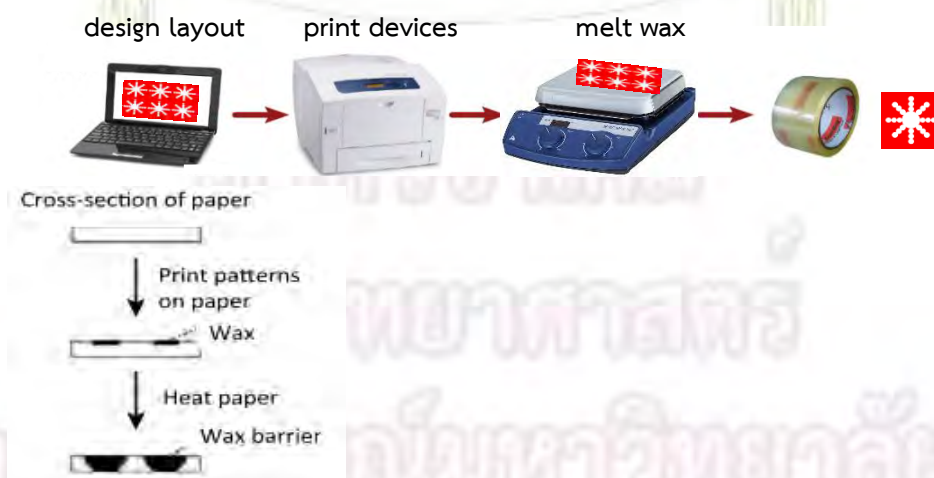
### 3.4 การเตรียมอุปกรณ์ฐานกระดาษ

1. ออกแบบรูปแบบอุปกรณ์ฐานกระดาษด้วยโปรแกรม powerpoint โดยกำหนดให้ใช้ส่วนที่ไม่ได้หยุดสารเป็นสีแดง แสดงดังรูปที่ 3.4
2. นำแบบไปพิมพ์ลงบนกระดาษกรอง (filter paper Whatman no.1) ด้วยเครื่องพิมพ์ชนิดสีผงแล้วตัดตามแบบที่กำหนดไว้
3. นำอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ได้ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 175 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 วินาที เพื่อให้สีผงละลายเข้าสู่เส้นใยกระดาษ
4. ติดเทปกาวบริเวณด้านหลังของกระดาษให้แน่น แสดงดังรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.4 การออกแบบอุปกรณ์ฐานกระดาษ

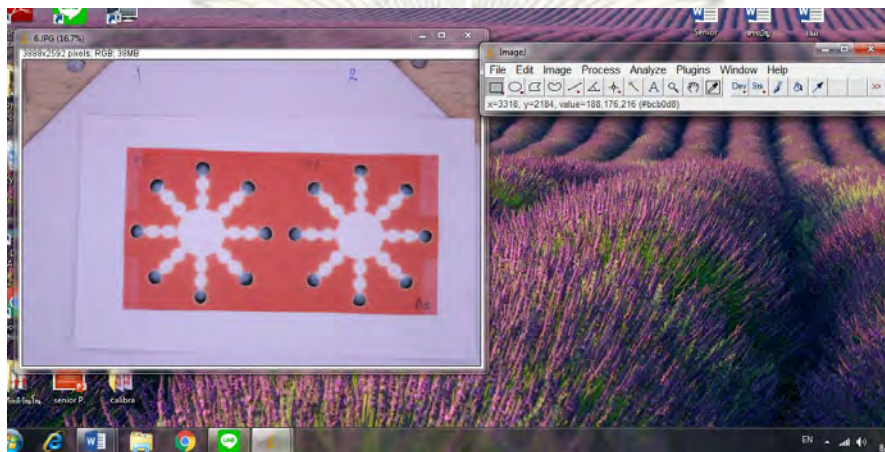
(a) รูปแบบอุปกรณ์ฐานกระดาษ (b) ชื่อเรียกแต่ละช่องของอุปกรณ์ฐานกระดาษ



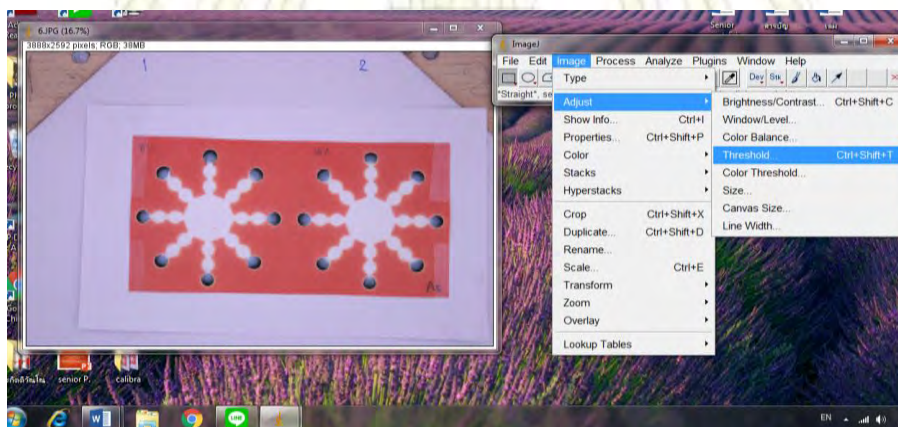
รูปที่ 3.5 ขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์ฐานกระดาษ

### 3.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม imageJ

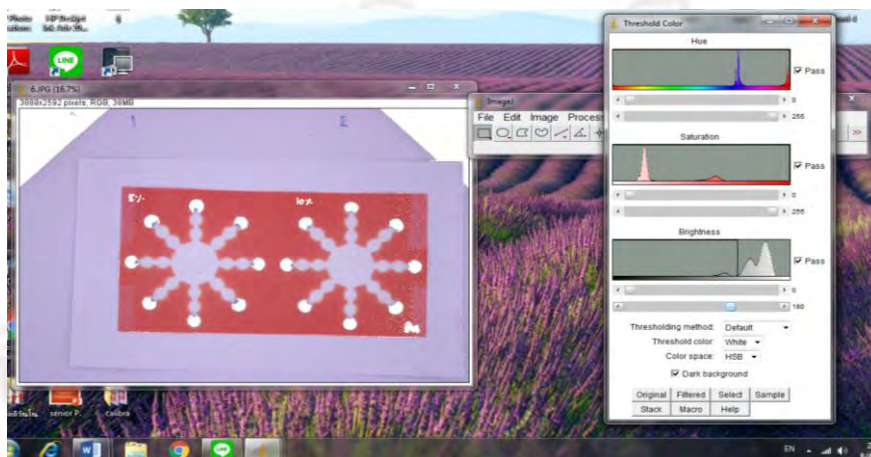
1. เปิดโปรแกรม imageJ จากนั้นเลือกรูปถ่ายที่ถ่ายจากโปรแกรม EOS Utility โดยเลือกคำสั่ง File แล้วคลิก open



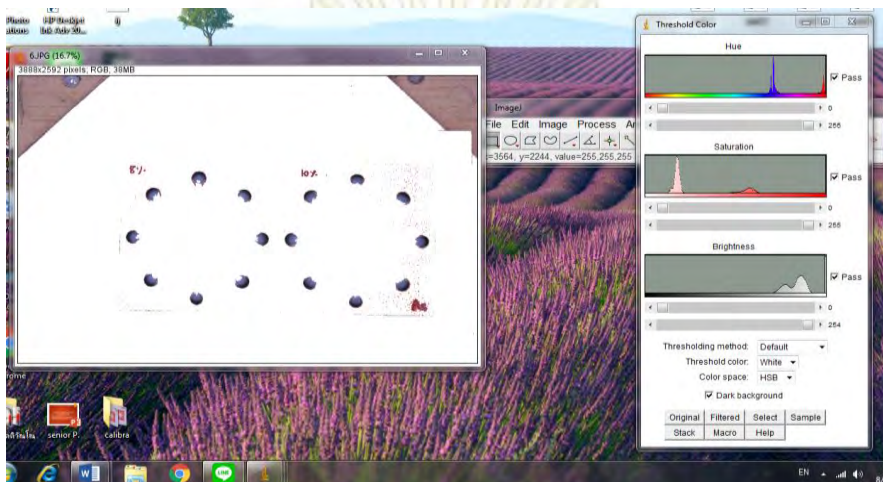
2. จากนั้นคลิก Image → adjust → Threshold



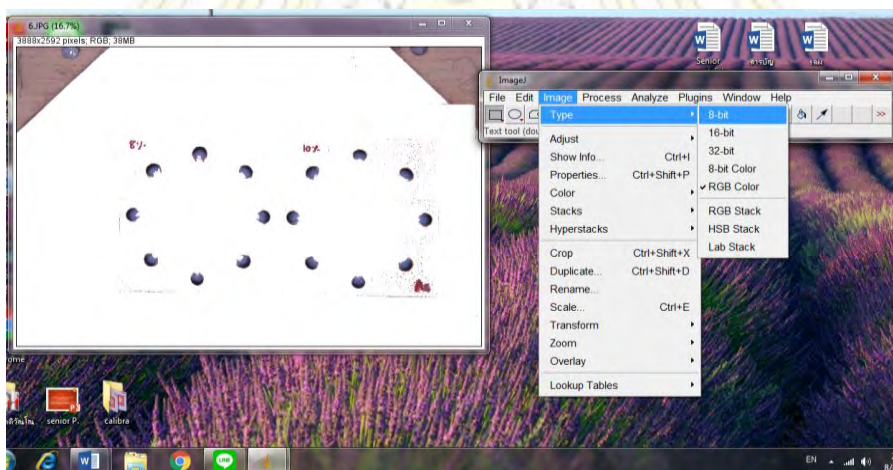
3. ปรับ Brightness เป็น 0 และ 180 และปรับ Threshold color เป็น white แล้วปิดหน้าต่าง Threshold Color



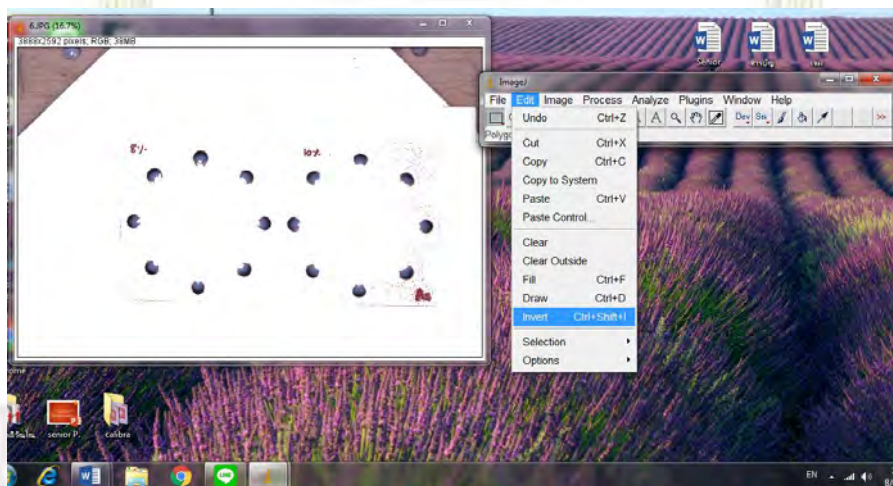
4. จากนั้นคลิก Image → adjust → Threshold แล้วปรับ Brightness เป็น 0 และ 254 แล้วปิดหน้าต่าง Threshold Color



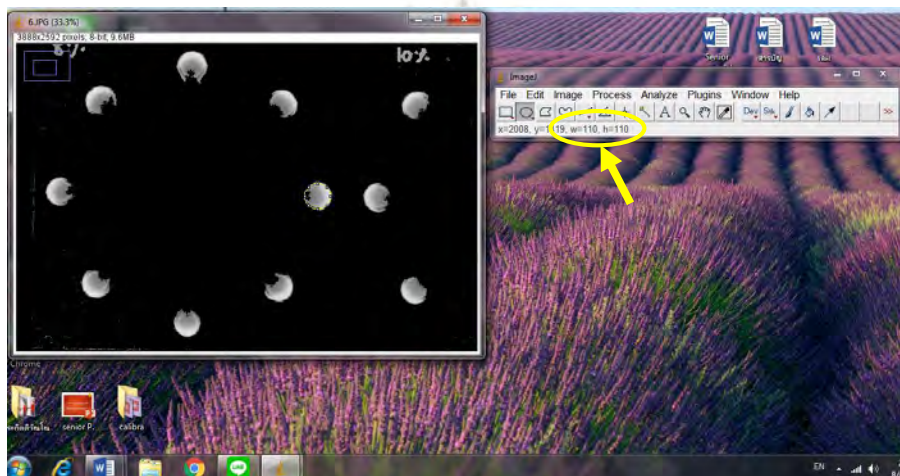
5. คลิก Image → Type → 8-bit



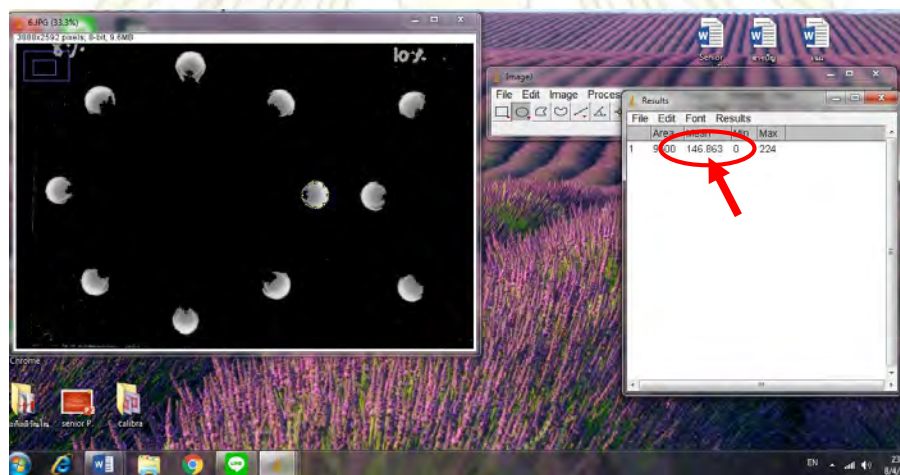
6. คลิก Edit → Invert



7. วัดค่าความเข้มสีโดยคลิกรูปวงกลมและกำหนดวงกลมให้กว้าง 110 และยาว 110 ดังรูป



8. กดปุ่ม “M” จะได้ค่าความเข้มสีในแต่ละช่อง



### 3.6 ขั้นตอนการตรวจวัด

#### 3.6.1 ลำดับการหยดสารและการถ่ายภาพ

ในการตรวจวัดความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์จะใช้ปริมาณสารและลำดับการหยดสารในแต่ละช่องดังนี้

1. บริเวณ detection zone : หยดสารละลาย polydiallyldimethylammonium chloride (PDDA) ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร และสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตปริมาตร 0.25 ไมโครลิตร จำนวนสองครั้ง
2. บริเวณ reagent zone : หยดสารละลายกรดแอสคอร์บิกปริมาตร 0.25 ไมโครลิตร จำนวนสองครั้ง
3. บริเวณ pretreatment zone : หยดสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตปริมาตร 0.25 ไมโครลิตร จำนวนสองครั้ง
4. บริเวณ sample reservoir : หยดสารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ หรือสารละลายไอออน หรือสารละลายตัวอย่างข้าว ปริมาตร 75 ไมโครลิตร

จากนั้นรอให้สารละลายแห้งเป็นเวลา 45 นาที นำไปถ่ายภาพด้วยกล้องดิจิทัลในกล่องควบคุมแสงโดยใช้โปรแกรม EOS Utility ช่วยในการถ่ายภาพจากเครื่องคอมพิวเตอร์ โดยกำหนดค่าต่างๆ ของกล้องดิจิทัล ดังนี้

shutter speed 1/25

f/no f/5.6

ISO 800

white balance white fluorescent

file format JPEG

จากนั้นนำภาพที่ถ่ายด้วยกล้องดิจิทัลไปหาค่าความเข้มข้นด้วยโปรแกรม imageJ

### 3.6.2 การทดสอบหาความเข้มข้นของ polydiallyldimethylammonium chloride (PDDA) ที่เหมาะสม

สารที่ใช้ในการทดสอบหาความเข้มข้นของ polydiallyldimethylammonium chloride (PDDA) ที่เหมาะสมมีดังนี้

1. สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 30 มิลลิโมลต่อลิตร
3. สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 600 มิลลิโมลต่อลิตร
4. สารละลาย polydiallyldimethylammonium chloride ความเข้มข้น 2% 4% 6% 8% และ 10%

จากนั้นนำค่าความเข้มข้นที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นกับความเข้มข้นของ polydiallyldimethylammonium chloride (PDDA) เพื่อหาความเข้มข้นของ polydiallyldimethylammonium chloride (PDDA) ที่เหมาะสม

### 3.6.3 การทดสอบหาความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตที่เหมาะสม

สารที่ใช้ในการทดสอบหาความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตที่เหมาะสมมีดังนี้

1. สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 600 มิลลิโมลต่อลิตร
3. สารละลาย polydiallyldimethylammonium chloride ความเข้มข้น 8%
4. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 มิลลิโมลต่อลิตร

จากนั้นนำค่าความเข้มข้นที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นกับความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตที่เหมาะสม

คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 3.6.4 การทดสอบหาความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิกที่เหมาะสม

สารที่ใช้ในการทดสอบหาความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิกที่เหมาะสมมีดังนี้

1. สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. สารละลาย polydiallyldimethylammonium chloride ความเข้มข้น 8%
3. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 30 มิลลิโมลต่อลิตร
4. สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 200 400 600 800 และ 1000 มิลลิโมลต่อลิตร

จากนั้นนำค่าความเข้มข้นที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิก เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิกที่เหมาะสม

### 3.6.5 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงจากกราฟมาตรฐาน ขีดจำกัดการตรวจวัด และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ

สารที่ใช้ในการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงจากกราฟมาตรฐาน ขีดจำกัดการตรวจวัด และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณมีดังนี้

1. สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 50 100 150 250 500 750 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. สารละลาย polydiallyldimethylammonium chloride ความเข้มข้น 8%
3. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 30 มิลลิโมลต่อลิตร
4. สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 600 มิลลิโมลต่อลิตร
5. สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 2 มิลลิโมลต่อลิตร

จากนั้นนำค่าความเข้มข้นที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ เพื่อหาช่วงความเป็นเส้นตรงจากกราฟมาตรฐาน ขีดจำกัดการตรวจวัด และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ โดยคำนวณได้จากสมการ

$$\text{LOD} = \frac{3 \times \text{SD}}{\text{slope}} \quad \text{LOQ} = \frac{10 \times \text{SD}}{\text{slope}}$$

### 3.6.6 การศึกษาการเกิดสารเชิงซ้อนของสารหนูด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

สารที่ใช้ในการทดสอบมีดังนี้

1. สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 613 มิลลิโมลต่อลิตร
3. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 24 มิลลิโมลต่อลิตร

โดยมีลำดับการวัดดังนี้

#### กราฟที่ 1

1. ใช้น้ำเป็น blank solution นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 ถึง 1000 นาโนเมตร ที่เวลา 10 นาที
2. ผสมสารละลายกรดแอสคอร์บิกและสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตอย่างละ 0.5 มิลลิลิตร น้ำ 1 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 ถึง 1000 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่เวลา 10 นาที
3. สร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) และความยาวคลื่น (wavelength)

#### กราฟที่ 2

1. ผสมสารละลายกรดแอสคอร์บิกและสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตในอัตราส่วน 1:1 เพื่อเป็น blank solution จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 ถึง 1000 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์
2. ผสมสารละลายกรดแอสคอร์บิกและสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตอย่างละ 0.5 มิลลิลิตร น้ำ 1 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 ถึง 1000 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่เวลาเริ่มต้น 5 นาที และ 10 นาที
3. สร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) และความยาวคลื่น (wavelength)



### 3.6.7 การศึกษาความเที่ยงในการตรวจวัด

สารที่ใช้ในการทดสอบความเที่ยงในการตรวจวัดมีดังนี้

1. สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 100 250 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. สารละลาย polydiallyldimethylammonium chloride ความเข้มข้น 8%
3. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 30 มิลลิโมลต่อลิตร
4. สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 600 มิลลิโมลต่อลิตร
5. สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 2 มิลลิโมลต่อลิตร

จากนั้นนำค่าความเข้มข้นที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับจำนวนช่องที่หยดลงบนอุปกรณ์ฐานกระดาษทั้งหมดแปดช่อง เพื่อหาความเที่ยงในการตรวจวัด โดยการคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ได้จากสมการ

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

### 3.6.8 การศึกษาตัวรบกวนในการตรวจวัด

สารที่ใช้ในการทดสอบตัวรบกวนในการตรวจวัดมีดังนี้

1. สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. สารละลาย polydiallyldimethylammonium chloride ความเข้มข้น 8%
3. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 30 มิลลิโมลต่อลิตร
4. สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 600 มิลลิโมลต่อลิตร
5. สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 2 มิลลิโมลต่อลิตร
6. สารละลายไอออน ทั้งหมด 12 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 3.6

คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.6 สารละลายไอออนทั้งหมด 12 ชนิด ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

| ชื่อสาร                  | ความเข้มข้น<br>(ไมโครโมลต่อลิตร) |
|--------------------------|----------------------------------|
| $K_2SO_4$                | 200                              |
|                          | 400                              |
| $Na_2SO_4$               | 200                              |
|                          | 400                              |
| $MgSO_4$                 | 200                              |
|                          | 400                              |
| $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ | 200                              |
|                          | 400                              |
| $Ba(C_2H_3O_2)_2$        | 200                              |
|                          | 400                              |
| $CuSO_4$                 | 200                              |
|                          | 400                              |
|                          | 600                              |
| $Zn(NO_3)_2$             | 200                              |
|                          | 400                              |
| $CoSO_4$                 | 100                              |
|                          | 200                              |
| $K_2Cr_2O_7$             | 200                              |
|                          | 400                              |
| $FeSO_4 \cdot 7H_2O$     | 100                              |
|                          | 200                              |
| $Pb(NO_3)_2$             | 200                              |
|                          | 400                              |
|                          | 600                              |
| $CdSO_4 \cdot 8H_2O$     | 200                              |
|                          | 400                              |
|                          | 600                              |

จากนั้นนำค่าความเข้มข้นที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับไอออนแต่ละชนิด และสร้างตารางเปรียบเทียบระหว่างไอออนกับความเข้มข้นของสาร เพื่อหาความเข้มข้นของไอออนที่รบกวนการตรวจวัด

### 3.6.9 การศึกษาความจำเพาะในการตรวจวัด

สารที่ใช้ในการทดสอบความจำเพาะในการตรวจวัดมีดังนี้

1. สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. สารละลาย polydiallyldimethylammonium chloride ความเข้มข้น 8%
3. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 30 มิลลิโมลต่อลิตร
4. สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 600 มิลลิโมลต่อลิตร
5. สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 2 มิลลิโมลต่อลิตร
6. สารละลายไอออนทั้งหมด 12 ชนิด ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้แก่
  - โพแทสเซียมซัลเฟต ( $K_2SO_4$ )
  - โซเดียมซัลเฟต ( $Na_2SO_4$ )
  - แมกนีเซียมซัลเฟต ( $MgSO_4$ )
  - แคลเซียมไนเตรตเทตระไฮเดรต ( $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ )
  - แบเรียมแอสซีเตต ( $Ba(C_2H_3O_2)_2$ )
  - คอปเปอร์(II)ซัลเฟต ( $CuSO_4$ )
  - ซิงค์ไนเตรต ( $Zn(NO_3)_2$ )
  - โคบอลต์(II)ซัลเฟต ( $CoSO_4$ )
  - โพแทสเซียมไดโครเมต ( $K_2Cr_2O_7$ )
  - ไอร์ออน(II)ซัลเฟต เฮปตะไฮเดรต ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ )
  - เลด(II)ไนเตรต ( $Pb(NO_3)_2$ )

- แคดเมียม(II)ซัลเฟต ออกตะไฮเดรต ( $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ )

จากนั้นนำค่าความเข้มข้นที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับไอออนแต่ละชนิดเพื่อหาความจำเพาะในการตรวจวัด

### 3.6.10 ศึกษาความแม่นยำในการตรวจวัด

สารที่ใช้ในการทดสอบความแม่นยำในการตรวจวัดมีดังนี้

หาช่วงความเป็นเส้นตรงจากกราฟมาตรฐาน

1. สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 50 150 500 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. สารละลาย polydiallyldimethylammonium chloride ความเข้มข้น 8%
3. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 30 มิลลิโมลต่อลิตร
4. สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 600 มิลลิโมลต่อลิตร
5. สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 2 มิลลิโมลต่อลิตร

จากนั้นนำค่าความเข้มข้นที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ เพื่อหาความเป็นเส้นตรงจากกราฟมาตรฐาน

หาปริมาณสารหนูจากตัวอย่างข้าว

1. สารละลายตัวอย่างข้าวที่เติมสารหนูความเข้มข้น 0 50 150 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. สารละลาย polydiallyldimethylammonium chloride ความเข้มข้น 8%
3. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้น 30 มิลลิโมลต่อลิตร
4. สารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 600 มิลลิโมลต่อลิตร
5. สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 2 มิลลิโมลต่อลิตร

จากนั้นนำค่าความเข้มข้นที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับความเข้มข้นของสารหนู และคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าอนเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) ได้จากสมการ

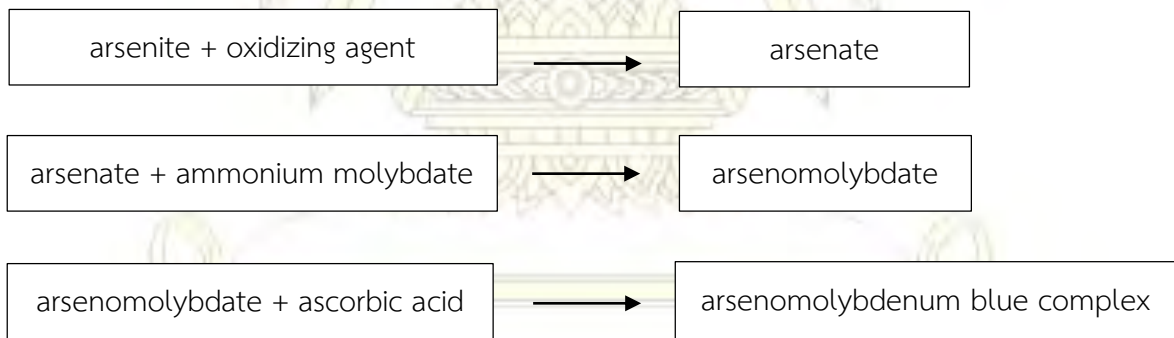
$$\text{เปอร์เซ็นต์การกลับคืน} = \frac{(\text{ค่าจากตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน}) - (\text{ค่าจากตัวอย่างที่ไม่เติม}) \times 100}{(\text{ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม})}$$

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

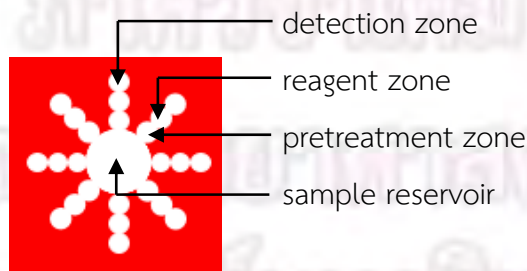
#### 4.1 การออกแบบอุปกรณ์ฐานกระดาษ

จากการทดลองได้ออกแบบอุปกรณ์ฐานกระดาษและกำหนดชื่อเรียกในแต่ละช่องดังแสดงในรูปที่ 4.2 ในการตรวจวัดจะหยดสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานอาร์เซนไนต์ ในบริเวณ sample reservoir หยดสารละลายของตัวออกซิไดส์ (โซเดียมไทโอซัลเฟต) ในบริเวณ pretreatment zone เพื่อทำหน้าที่ปรับสถานะของสารหนูให้เป็นอาร์เซนเตต(As(V)) ต่อมาอาร์เซนเตตจะทำปฏิกิริยากับกรดแอสคอร์บิกและแอมโมเนียมโมลิบเดตที่หยดในบริเวณ reagent zone และ detection zone ตามลำดับ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินเข้มในบริเวณส่วนตรวจวัดเชิงสี ดังรูปที่ 4.1 โดยมีสารละลาย polydiallyldimethylammonium chloride (PDDA) ใน detection zone ช่วยในการตรึงสาร ทำให้สีที่เกิดขึ้นมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ



รูปที่ 4.1 สมการการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของสารหนูกับสารละลายกรดแอสคอร์บิกและสารละลาย

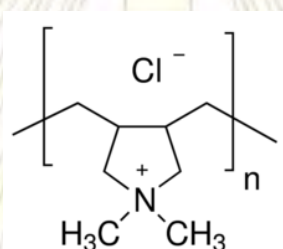
แอมโมเนียมโมลิบเดต



รูปที่ 4.2 รูปแบบอุปกรณ์ฐานกระดาษ

## 4.2 การทดสอบหาความเข้มข้นของ polydiallyldimethylammonium chloride (PDDA) ที่เหมาะสม

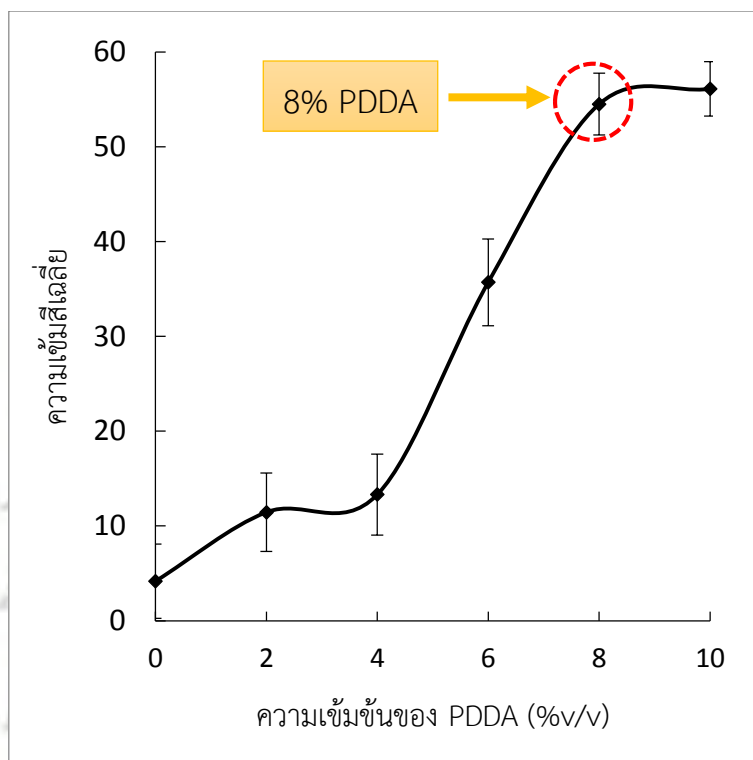
เนื่องจาก polydiallyldimethylammonium ion (PDDA) มีประจุบวก แสดงดังรูปที่ 4.3 จึงช่วยในการตรึงสารประกอบเชิงซ้อน reduced arsenomolybdenum blue ที่มีประจุลบ ผ่านอันตรกิริยาแบบ electrostatic interaction ดังนั้นหากใช้ polydiallyldimethylammonium chloride สีที่เกิดบนอุปกรณ์ฐานกระดาษจะกระจายได้อย่างทั่วถึงและชัดเจนมากขึ้น จากการทดลองใช้ polydiallyldimethylammonium chloride ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันในช่วง 0 - 10% v/v พบว่า สีที่เกิดขึ้นเป็นดังแสดงในตารางที่ 4.1



รูปที่ 4.3 โครงสร้างของ polydiallyldimethylammonium chloride (PDDA)

ตารางที่ 4.1 สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ความเข้มข้นของ polydiallyldimethylammonium chloride แตกต่างกัน

| ความเข้มข้นของ PDDA (%v/v) | 0% | 2% | 4% | 6% | 8% | 10% |
|----------------------------|----|----|----|----|----|-----|
| ความเข้มสีของผลิตภัณฑ์     |    |    |    |    |    |     |








รูปที่ 4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ polydiallyldimethylammonium chloride

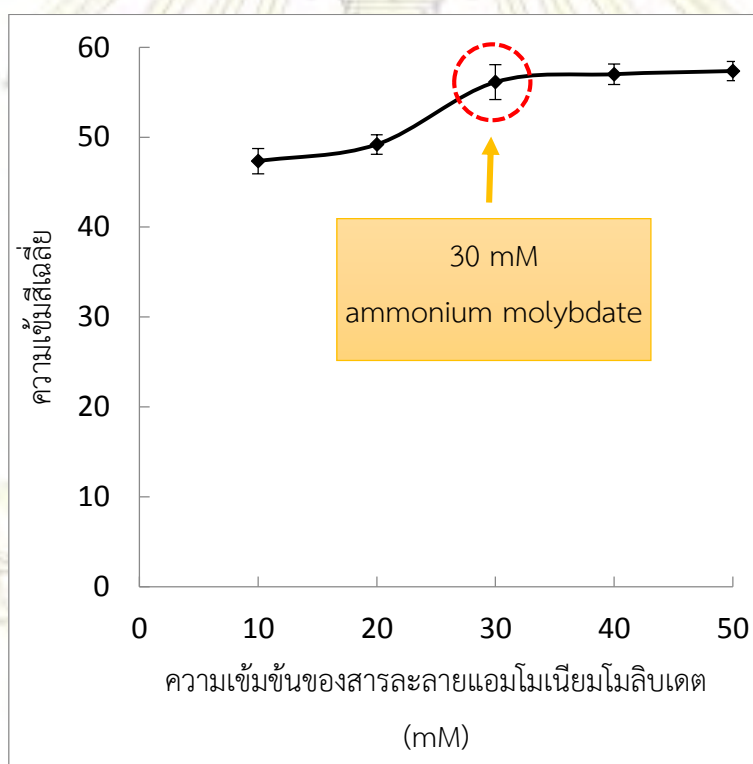
จากรูปที่ 4.4 เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นเมื่อใช้ polydiallyldimethylammonium chloride ที่ความเข้มข้น 0% 2% 4% 6% 8% และ 10% พบว่าค่าความเข้มข้นจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ PDDA เพิ่มขึ้นและจะเริ่มคงที่เมื่อ polydiallyldimethylammonium chloride มีความเข้มข้น 8% ขึ้นไป เนื่องจากเมื่อความเข้มข้นของ polydiallyldimethylammonium chloride ต่ำกว่า 8% อาจมีความเข้มข้นไม่เพียงพอกับ As(V) เมื่อความเข้มข้นของ polydiallyldimethylammonium chloride เพิ่มขึ้นจึงช่วยตรึงสารประกอบเชิงซ้อน reduced arsenomolybdenum blue ได้ดีขึ้น แต่ความเข้มข้นที่ตั้งแต่สารละลาย PDDA มีความเข้มข้น 8% แสดงว่ามีสารละลาย PDDA ปริมาณมากเกินพอแล้ว ดังนั้นในการทดลองจึงเลือกใช้ polydiallyldimethylammonium chloride ที่ความเข้มข้น 8% เป็นภาวะที่เหมาะสม

### 4.3 การทดสอบหาความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตที่เหมาะสม

เนื่องจากสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตเป็นตัวทำปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสี (color reagent) ดังนั้นจึงต้องหาค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดเพื่อให้เกิดความเข้มสีสูงที่สุด จากการทดลองใช้สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันในช่วง 10 - 50 มิลลิโมลต่อลิตร สีที่เกิดขึ้นแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมโมลิบเดตแตกต่างกัน

| ความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต (mM) | 10                                                                                | 20                                                                                | 30                                                                                 | 40                                                                                  | 50                                                                                  |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| ความเข้มสีของผลิตภัณฑ์                        |  |  |  |  |  |



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีเฉลี่ยกับความเข้มข้นของ

สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต

จากรูปที่ 4.5 เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของแอมโมเนียมโมลิบเดตที่ความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 มิลลิโมลต่อลิตร พบว่าค่าความเข้มสีเฉลี่ยจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียมโมลิบเดตเพิ่มขึ้น และเริ่มคงที่เมื่อแอมโมเนียมโมลิบเดตมีความเข้มข้น 30 มิลลิโมลต่อลิตรขึ้นไป เนื่องจากเมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียมโมลิบเดตต่ำกว่า 30 มิลลิโมลต่อลิตร อาจมีปริมาณแอมโมเนียมโมลิบเดตไม่เพียงพอให้กับ As(V)






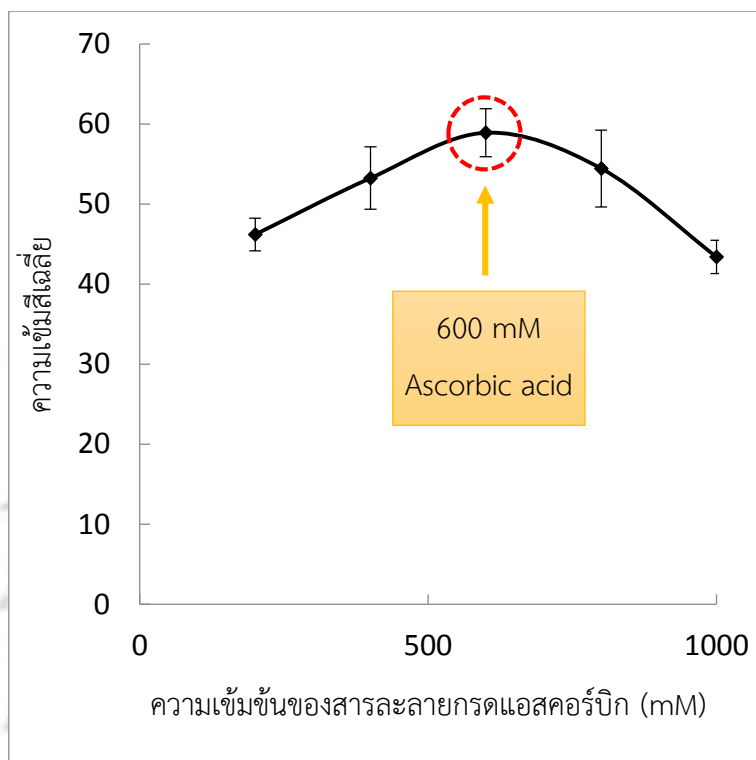
เมื่อเติมแอมโมเนียมโมลิบเดตเพิ่มขึ้นจึงเกิดสารประกอบเชิงซ้อนได้เพิ่มขึ้น แต่ความเข้มข้นที่ตั้งแต่ 30 มิลลิโมลต่อลิตร แสดงว่าแอมโมเนียมโมลิบเดตมีปริมาณมากเกินไปแล้ว ดังนั้นในการทดลองจึงเลือกใช้แอมโมเนียมโมลิบเดตที่มีความเข้มข้น 30 มิลลิโมลต่อลิตรเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสม

#### 4.4 การทดสอบหาความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิกที่เหมาะสม

เนื่องจากสารละลายกรดแอสคอร์บิกเป็นตัวทำปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสี (color reagent) ดังนั้นจึงต้องหาค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดเพื่อให้เกิดความเข้มข้นสูงสุด จากการทดลองใช้สารละลายกรดแอสคอร์บิกที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันในช่วง 200 - 1000 มิลลิโมลต่อลิตร สีที่เกิดขึ้นแสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิกแตกต่างกัน

| ความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิก (mM) | 200                                                                                | 400                                                                                | 600                                                                                 | 800                                                                                  | 1000                                                                                 |
|------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| ความเข้มสีของผลิตภัณฑ์                   |  |  |  |  |  |



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารละลาย

กรดแอสคอร์บิก

จากรูปที่ 4.6 เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 200 400 600 800 และ 1000 มิลลิโมลต่อลิตร พบว่าค่าความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจนถึงที่ความเข้มข้น 600 มิลลิโมลต่อลิตร และเริ่มลดลงหลังจากความเข้มข้น 600 มิลลิโมลต่อลิตร ดังนั้นในการทดลองจึงเลือกใช้กรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 600 มิลลิโมลต่อลิตรเนื่องจากให้ค่าความเข้มข้นสูงสุด

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์









จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

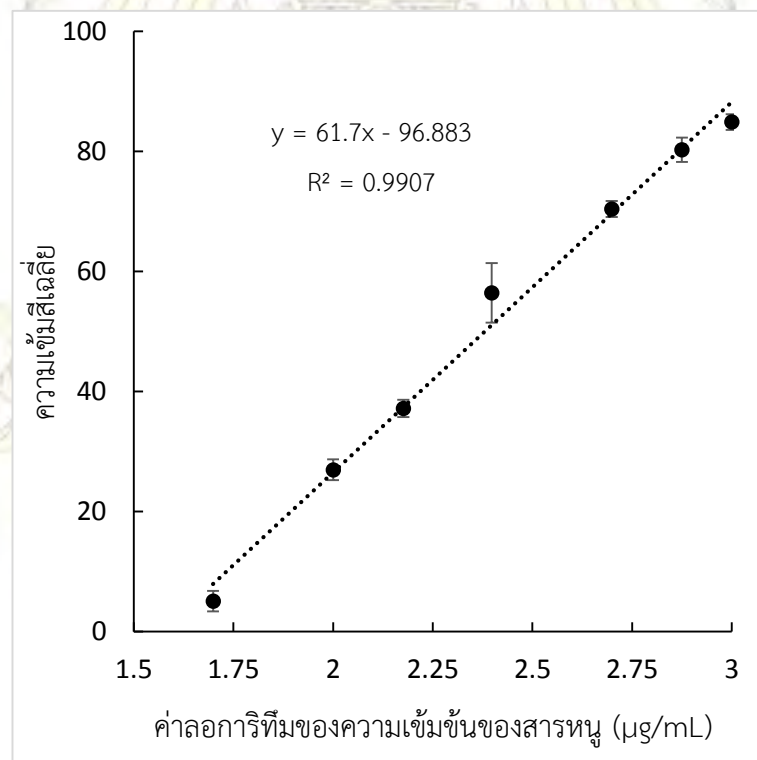
## 4.5 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจวัด

### 4.5.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

เมื่อได้ภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดสารหนูด้วยเทคนิคการตรวจวัดเชิงสี จึงทดสอบหาช่วงความเป็นเส้นตรงโดยการสร้างกราฟมาตรฐานของสารหนูที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 50-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยความเข้มสีที่เกิดขึ้นที่ความเข้มข้นแตกต่างกันแสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 สีของสารบนอุปกรณ์ฐานกระดาษที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

| ความเข้มข้นของสารหนู ( $\mu\text{g/mL}$ ) | 0                                                                                 | 50                                                                                | 150                                                                               | 200                                                                               | 250                                                                                | 500                                                                                 | 750                                                                                 | 1000                                                                                |
|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| ความเข้มสีของผลิตภัณฑ์                    |  |  |  |  |  |  |  |  |



รูปที่ 4.7 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีเฉลี่ยกับ

ค่าลอการิทึมของความเข้มข้นของสารหนู

จากรูปที่ 4.7 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารหนู มีสมการเส้นตรงเป็น  $y = 61.7x - 96.883$  และค่า  $R^2 = 0.9907$  ในช่วงความเข้มข้น 50 ถึง 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นการตรวจวัดนี้จึงมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ 50 ถึง 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อ  $y =$  ความเข้มข้น

$x =$  ค่าลอการิทึมของความเข้มข้นของสารหนู (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

#### 4.5.2 ขีดจำกัดของการตรวจวัด และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ

จากกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารหนู มีสมการเป็น  $y = 61.7x - 96.883$

ความชันของกราฟมาตรฐาน = 61.7 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 1.79

$$\text{หาค่า LOD จากสูตร } \text{LOD} = \frac{3 \times \text{SD}}{\text{slope}} \text{ ----- (1)}$$

แทนค่าความชันและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานลงในสมการ (1) จะได้

$$\text{LOD} = \frac{3 \times 1.79}{61.7} = 0.087 \text{ (ค่าที่ได้เป็น log ความเข้มข้น)}$$

ดังนั้นความเข้มข้นของสารหนูต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ คือ  $10^{0.087} = 1.22$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

$$\text{หาค่า LOQ จากสูตร } \text{LOQ} = \frac{10 \times \text{SD}}{\text{slope}} \text{ ----- (2)}$$

แทนค่าความชันและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานลงในสมการ (2) จะได้

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times 1.79}{61.7} = 0.29 \text{ (ค่าที่ได้เป็น log ความเข้มข้น)}$$

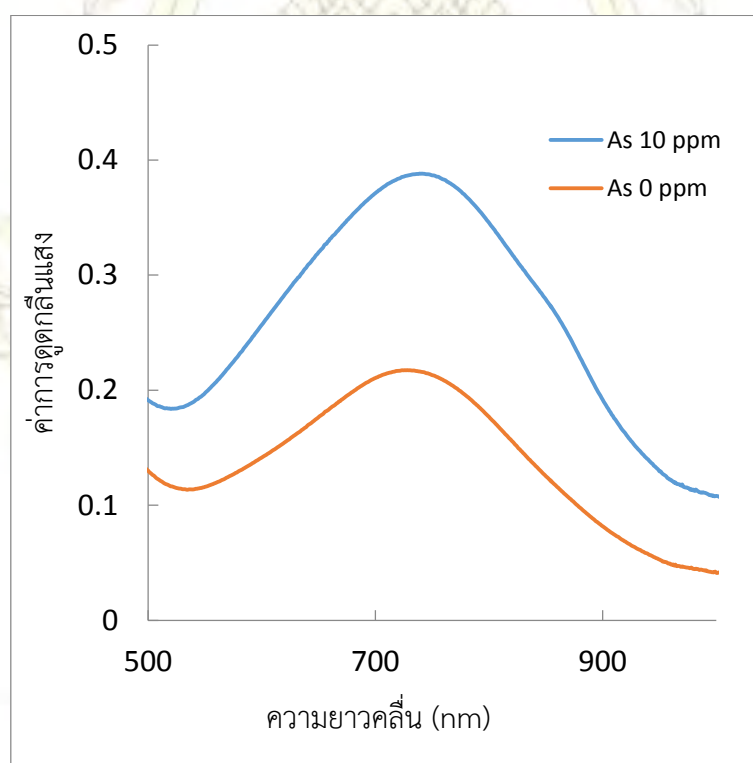
ดังนั้นความเข้มข้นของสารหนูต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดและรายงานผลเป็นที่ยอมรับได้ คือ

$$10^{0.29} = 1.95 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร}$$

#### 4.5.3 การศึกษาการเกิดสารเชิงซ้อนของสารหนูด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

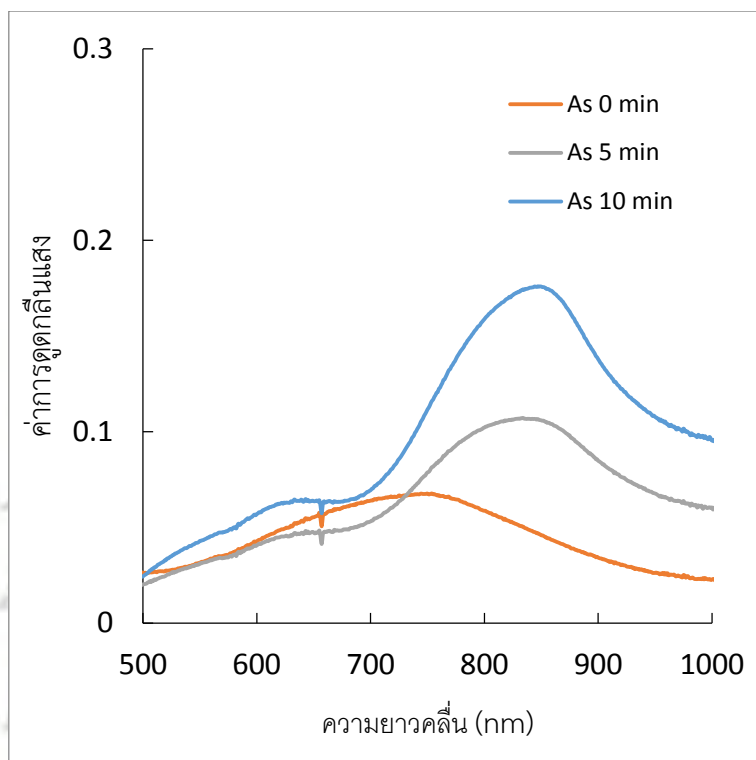
ทดสอบสมบัติทางกายภาพและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารเชิงซ้อนของสารหนู โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนของสารหนูในช่วงความยาวคลื่น 500 ถึง 1000 นาโนเมตร โดยใช้ blank solution คือน้ำ เปรียบเทียบกับสารเชิงซ้อนที่ได้จากสารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 10 นาที จากรูปที่ 4.8 พบว่ามีพีคสูงชันที่ความยาวคลื่นประมาณ 850 นาโนเมตร เมื่อมีสารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานก่อนหน้านี้ว่า สารประกอบเชิงซ้อน reduced arsenomolybdenum จะมีค่าความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ตำแหน่งเดียวกันนี้

จากนั้นทำการทดลองโดยเปรียบเทียบระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบเชิงซ้อนของสารหนู โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนของสารหนูในช่วงความยาวคลื่น 500 ถึง 1000 นาโนเมตร โดยใช้ blank solution คือสารละลายผสมของสารละลายกรดแอสคอร์บิกกับสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต เปรียบเทียบกับสารเชิงซ้อนที่ได้จากสารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากรูปที่ 4.9 แสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา จะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของสารหนูมากขึ้น ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นประมาณ 850 นาโนเมตร สูงมากขึ้น



รูปที่ 4.8 การดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนของสารหนูที่ความเข้มข้น

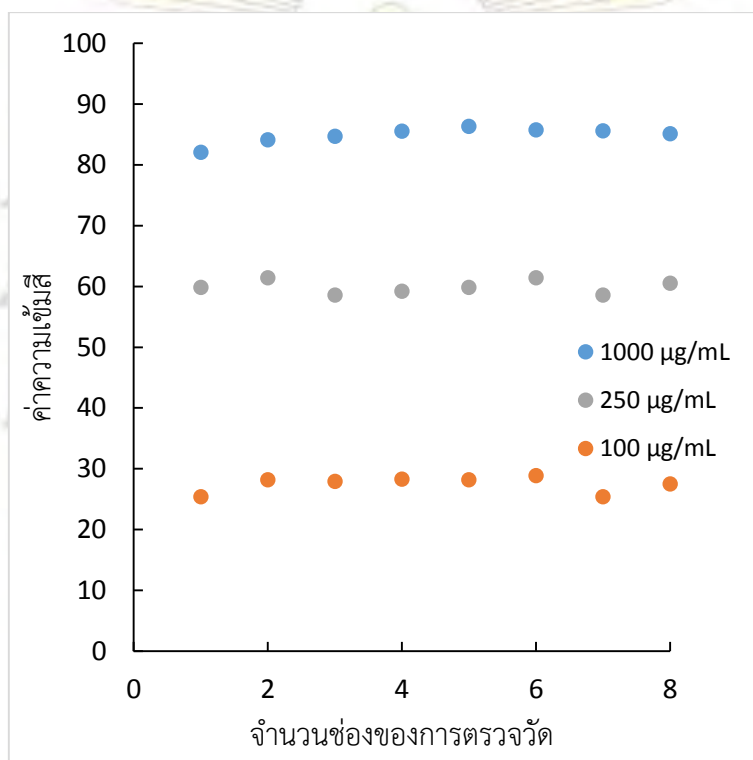
0 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 10 นาที



รูปที่ 4.9 การดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนของสารหนูที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร  
ที่เวลาเริ่มต้น 5 นาที และ 10 นาที

#### 4.5.4 ความเที่ยง

การทดสอบความเที่ยงของการทดลองทำโดยตรวจวัดค่าความเข้มข้นของสารหนูที่ความเข้มข้น 100 250 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ซึ่งวัดความเข้มข้นของสารหนูความเข้มข้นละ 8 ค่า ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4.10 และตารางที่ 4.5 ดังนี้



รูปที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารประกอบเชิงซ้อนของสารหนูกับจำนวนช่องในการวัด

ตารางที่ 4.5 ค่าความเข้มข้นของสารหนูที่ความเข้มข้น 100 250 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

| ครั้งที่                           | ความเข้มข้นของสารหนู<br>( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) | 100<br>( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) | 250<br>( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) | 1000<br>( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) |
|------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| 1                                  |                                                     | 25.365                             | 59.808                             | 82.074                              |
| 2                                  |                                                     | 28.160                             | 61.382                             | 84.117                              |
| 3                                  |                                                     | 27.922                             | 58.562                             | 84.705                              |
| 4                                  |                                                     | 28.289                             | 59.218                             | 85.521                              |
| 5                                  |                                                     | 28.160                             | 59.808                             | 86.325                              |
| 6                                  |                                                     | 28.860                             | 61.382                             | 85.761                              |
| 7                                  |                                                     | 25.365                             | 58.562                             | 85.586                              |
| 8                                  |                                                     | 27.477                             | 60.503                             | 85.104                              |
| ค่าเฉลี่ย (average)                |                                                     | 27.450                             | 59.903                             | 84.899                              |
| ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)           |                                                     | 1.34                               | 1.12                               | 1.33                                |
| ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) |                                                     | 4.89                               | 1.87                               | 1.56                                |

จากรูปที่ 4.10 และตารางที่ 4.5 แสดงค่าความเข้มข้นของสารประกอบเชิงซ้อนของสารหนูที่ความเข้มข้น 100 250 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยความเข้มข้นของสารหนูแต่ละความเข้มข้นจะตรวจวัดทั้งหมด 8 ครั้ง พบว่าให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 4.89 1.87 และ 1.56% ตามลำดับ

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



#### 4.5.5 ตัวรบกวน

จากการทดสอบผลของไอออนชนิดต่างๆ ทั้งหมด 12 ชนิด ได้แก่  $\text{Cu}^{2+}$   $\text{Pb}^{2+}$   $\text{Cd}^{2+}$   $\text{K}^+$   $\text{Na}^+$   $\text{Mg}^{2+}$   $\text{Ca}^{2+}$   $\text{Ba}^{2+}$   $\text{Zn}^{2+}$   $\text{Cr}^{6+}$   $\text{Co}^{2+}$  และ  $\text{Fe}^{2+}$  เมื่อทดสอบโดยใช้ความเข้มข้นของสารหนู 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.6

ขีดจำกัดของความเข้มข้นของไอออนต่างๆ ที่ส่งผลกระทบต่อการตรวจวัดสารหนู แสดงในรูปของค่าความเข้มข้น โดยหากมีความเข้มข้นของไอออนเกินกว่าที่แสดงดังตาราง จะส่งผลให้ค่าความเข้มข้นมีค่ามากกว่าหรือน้อยกว่า 5% เมื่อเทียบกับความเข้มข้นของสารหนูที่ไม่มีตัวรบกวน

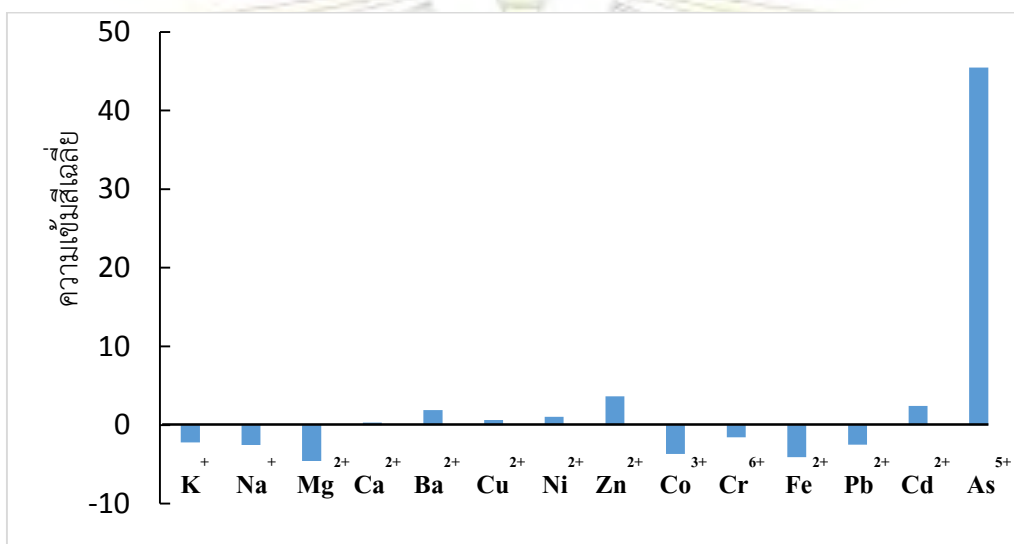
**ตารางที่ 4.6** ค่าความเข้มข้นของไอออนต่างๆ ที่ส่งผลกระทบต่อการตรวจวัดสารหนู โดยใช้ความเข้มข้นของสารหนู 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

| ไอออนชนิดต่างๆ                                                                                                  | ความเข้มข้นที่รบกวน ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) | อัตราส่วนที่รบกวน |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------|
| $\text{Cu}^{2+}$ $\text{Pb}^{2+}$ $\text{Cd}^{2+}$                                                              | 600                                             | 3                 |
| $\text{K}^+$ $\text{Na}^+$ $\text{Mg}^{2+}$ $\text{Ca}^{2+}$ $\text{Ba}^{2+}$ $\text{Zn}^{2+}$ $\text{Cr}^{6+}$ | 400                                             | 2                 |
| $\text{Co}^{2+}$ $\text{Fe}^{2+}$                                                                               | 200                                             | 1                 |

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

#### 4.5.6 ความจำเพาะ

จากการทดสอบความจำเพาะของสารพบว่า เมื่อทดสอบโดยใช้ความเข้มข้นของสารหนู 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นของไอออนชนิดอื่นๆ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าการตรวจวัดสารหนูด้วยเทคนิคนี้มีความจำเพาะต่อสารหนู เนื่องจากเมื่อดูรูปที่ 4.11 จะพบว่า ค่าความเข้มสีเฉลี่ยของไอออนชนิดอื่นๆ แตกต่างจากค่าความเข้มสีเฉลี่ยของสารหนูอย่างชัดเจน



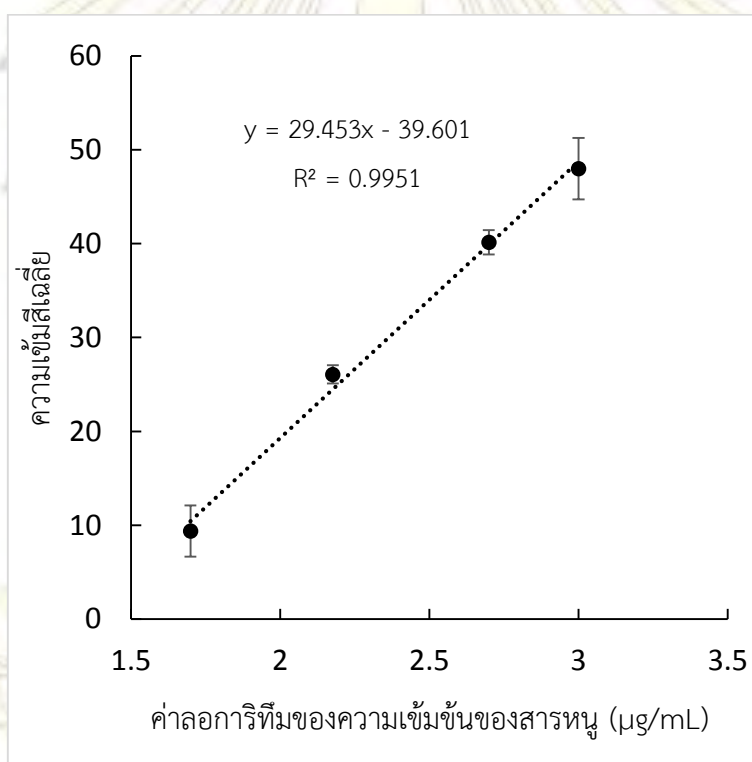
รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีเฉลี่ยกับไอออนแต่ละชนิด

#### 4.5.7 ความแม่นยำ

ความแม่นยำของการตรวจวัดหาได้โดยการสร้างกราฟมาตรฐานของสารหนูที่ความเข้มข้น 50 150 500 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นวัดความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างซ้ำที่เติมสารหนู (spiked sample) ที่ความเข้มข้น 50 150 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

งานวิจัยนี้ตรวจสอบความแม่นยำของวิธีตรวจวัดโดยการตรวจวัดสารหนูในตัวอย่างซ้ำทั้งหมด 3 ชนิด ดังต่อไปนี้

##### ตัวอย่างข้าวหอมมะลิชนิดที่ 1



รูปที่ 4.12 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับ

ค่าลอการิทึมของความเข้มข้นของสารหนู

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.7 ค่าความเข้มข้นเฉลี่ย และความเข้มข้นของสารหนูที่เติมลงในสารละลายตัวอย่างข้าวหอมมะลิชนิดที่ 1

| ความเข้มข้นของสารหนูที่เติม<br>(ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) | 50     | 150    | 500    |
|--------------------------------------------------------|--------|--------|--------|
| ความเข้มข้นเฉลี่ย                                      | 10.732 | 24.655 | 39.882 |
| ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)                               | 1.07   | 4.92   | 4.93   |
| ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)                     | 9.93   | 19.94  | 12.36  |
| ค่า log ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)            | 1.71   | 2.18   | 2.70   |
| ค่าความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)                 | 51.16  | 151.93 | 499.61 |

#### 4.5.7.1 การคำนวณหาความเข้มข้นของสารหนูในตัวอย่างข้าว

จากกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเฉลี่ยกับความเข้มข้นของสารหนู

ได้สมการ  $y = 29.453x - 39.601$

แทนค่าความเข้มข้นเฉลี่ยจะได้  $x = \frac{10.732 + 39.601}{29.453} = 1.17$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ดังนั้นความเข้มข้นของสารหนูในตัวอย่างข้าวที่เติมสารหนูความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ  $10^{1.17} = 51.16$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4.5.7.2 การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) ของการตรวจวัดสารหนูในตัวอย่างข้าวที่เติมสารหนูความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จากสูตร เปอร์เซ็นต์การกลับคืน =  $\frac{(\text{ค่าจากตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน}) - (\text{ค่าจากตัวอย่างที่ไม่เติม}) \times 100}{(\text{ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม})}$

$$\text{เปอร์เซ็นต์การกลับคืน} = \frac{51.16 - 0}{50} \times 100 = 102.32$$

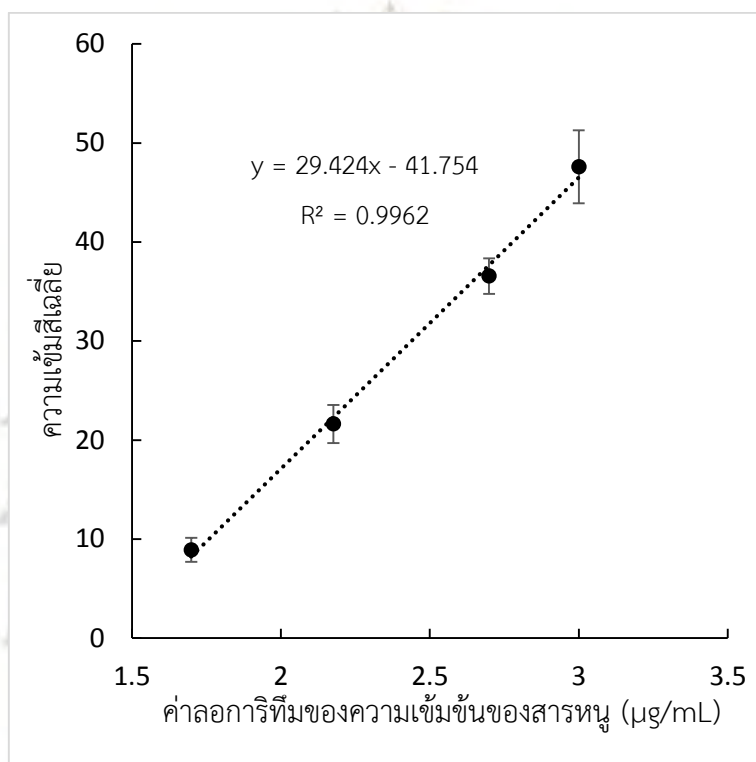
ตารางที่ 4.8 ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนของการตรวจวัดสารหนูในตัวอย่างข้าวหอมมะลิชนิดที่ 1 ที่เติมสารหนู ความเข้มข้น 50 150 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

| ความเข้มข้นที่เติม (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) | 50     | 150    | 500   |
|--------------------------------------------|--------|--------|-------|
| เปอร์เซ็นต์การกลับคืน                      | 102.32 | 101.28 | 99.92 |

จากตารางที่ 4.8 จะเห็นว่าสารหนูที่เติมลงในสารตัวอย่างข้าวที่ความเข้มข้น 50 150 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนที่ 102.31 101.28 และ 99.92 ซึ่งสามารถยอมรับได้ตามมาตรฐานของศูนย์ความรู้วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (Science and Technology Knowledge Center)

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ตัวอย่างข้าวไรซ์เบอร์รี่



รูปที่ 4.13 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีเฉลี่ยกับ  
ค่าลอการิทึมของความเข้มข้นของสารหนู

ตารางที่ 4.9 ค่าความเข้มสีเฉลี่ยและความเข้มข้นของสารหนูที่เติมลงในสารละลายตัวอย่าง  
ข้าวไรซ์เบอร์รี่

|                                             |       |        |        |
|---------------------------------------------|-------|--------|--------|
| ความเข้มข้นที่เติม (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)  | 50    | 150    | 500    |
| ความเข้มสีเฉลี่ย                            | 8.838 | 22.660 | 37.933 |
| ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)                    | 1.16  | 2.36   | 2.48   |
| ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)          | 13.12 | 10.43  | 6.55   |
| ค่า log ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) | 1.72  | 2.19   | 2.71   |
| ค่าความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)      | 52.41 | 154.59 | 510.78 |

#### 4.5.7.3 การคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารหนูในตัวอย่างข้าว

จากกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นที่เฉลี่ยกับความเข้มข้นของสารหนู

ได้สมการ  $y = 29.424x - 41.754$

$$\text{แทนค่าความเข้มข้นเฉลี่ยจะได้ } x = \frac{8.838 + 41.754}{29.424} = 1.72 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม}$$

ดังนั้นความเข้มข้นของสารหนูในตัวอย่างข้าวที่เติมสารหนูความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม เท่ากับ  $10^{1.72} = 52.41$  ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม

#### 4.5.7.4 การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) ของการตรวจวัดสารหนูในตัวอย่างข้าวที่เติมสารหนูความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม

$$\text{จากสูตรเปอร์เซ็นต์การกลับคืน} = \frac{(\text{ค่าจากตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน}) - (\text{ค่าจากตัวอย่างที่ไม่เติม}) \times 100}{(\text{ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม})}$$

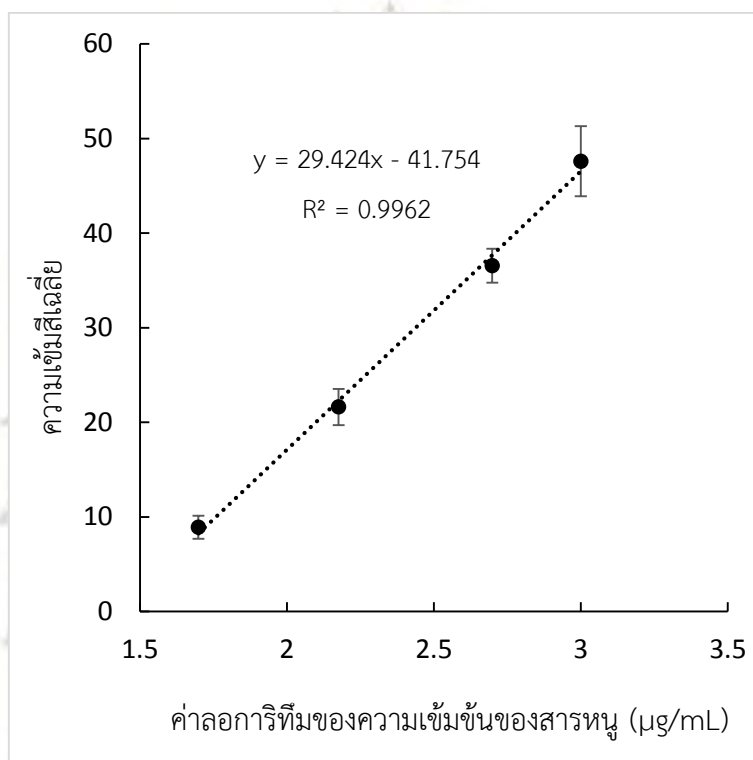
$$\text{เปอร์เซ็นต์การกลับคืน} = \frac{52.41 - 0}{50} \times 100 = 104.82$$

**ตารางที่ 4.10** ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนของการตรวจวัดสารหนูในตัวอย่างข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่เติมสารหนูความเข้มข้น 50 150 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม

| ความเข้มข้นที่เติม (ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม) | 50     | 150    | 500    |
|--------------------------------------------|--------|--------|--------|
| เปอร์เซ็นต์การกลับคืน                      | 104.82 | 103.06 | 102.16 |

จากตารางที่ 4.10 จะเห็นว่าสารหนูที่เติมลงในสารตัวอย่างข้าวที่ความเข้มข้น 50 150 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนที่ 104.82 103.06 และ 102.16 ซึ่งสามารถยอมรับได้ตามมาตรฐานของศูนย์ความรู้วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (Science and Technology Knowledge Center)

## ตัวอย่างข้าวหอมมะลิชนิดที่ 2



รูปที่ 4.14 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความชื้นที่เสียดสีกับ

ค่าลอการิทึมของความเข้มข้นของสารหนู

ตารางที่ 4.11 ค่าความชื้นที่เสียดสี และความเข้มข้นของสารหนูที่เติมลงในสารละลายตัวอย่างข้าวหอมมะลิชนิดที่ 2

| ความเข้มข้นที่เติม (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)  | 50    | 150    | 500    |
|---------------------------------------------|-------|--------|--------|
| ความชื้นที่เสียดสี                          | 8.441 | 22.568 | 37.332 |
| ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)                    | 1.18  | 1.62   | 1.58   |
| ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)          | 13.98 | 7.17   | 4.25   |
| ค่า log ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) | 1.71  | 2.19   | 2.69   |
| ค่าความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)      | 50.81 | 153.48 | 487.32 |



#### 4.5.7.5 การคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารหนูในตัวอย่างข้าว

จากกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นที่เฉลี่ยกับความเข้มข้นของสารหนู

ได้สมการ  $y = 29.424x - 41.754$

แทนค่าความเข้มข้นเฉลี่ยจะได้  $x = \frac{8.44088+41.754}{29.424} = 1.71$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ดังนั้นความเข้มข้นของสารหนูในตัวอย่างข้าวที่เติมสารหนูความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ  $10^{1.71} = 50.81$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

#### 4.5.7.6 การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) ของการตรวจวัดสารหนูในตัวอย่างข้าวที่เติมสารหนูความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จากสูตร เปอร์เซ็นต์การกลับคืน =  $\frac{(\text{ค่าจากตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน}) - (\text{ค่าจากตัวอย่างที่ไม่เติม}) \times 100}{(\text{ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม})}$

$$\text{เปอร์เซ็นต์การกลับคืน} = \frac{50.81 - 0}{50} \times 100 = 101.61$$

ตารางที่ 4.12 ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนของการตรวจวัดสารหนูตัวอย่างข้าวหอมมะลิชนิดที่ 2 ที่เติมสารหนูความเข้มข้น 50 150 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

| ความเข้มข้นที่เติม (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) | 50     | 150    | 500   |
|--------------------------------------------|--------|--------|-------|
| เปอร์เซ็นต์การกลับคืน                      | 101.61 | 102.32 | 97.46 |

จากตารางที่ 4.12 จะเห็นว่าสารหนูที่เติมลงในสารตัวอย่างข้าวที่ความเข้มข้น 50 150 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนที่ 101.61 102.32 และ 97.46 ซึ่งสามารถยอมรับได้ตามมาตรฐานของศูนย์ความรู้วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (Science and Technology Knowledge Center)

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

จากการตรวจวัดสารหนูโดยใช้อุปกรณ์ฐานกระดาษควบคู่กับการตรวจวัดเชิงสี สามารถตรวจวัดสารหนูได้ โดยวิธีตรวจวัดนี้ใช้อุปกรณ์ที่ใช้งานได้ง่าย สะดวก เป็นอุปกรณ์ที่มีราคาถูก และพกพาได้ นำไปใช้ได้จริงในภาคสนาม โดยเมื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจวัดได้กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารหนูมาตรฐานและค่าความเข้มสีเฉลี่ยในช่วงความเข้มข้น 50 ถึง 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้สมการเส้นตรง  $y = 61.7x - 96.883$  มีค่า  $R^2 = 0.991$  มีความเที่ยงที่มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ระหว่าง 1.56 ถึง 4.89 ในช่วงความเข้มข้น 100 ถึง 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าความแม่นยำที่ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) อยู่ระหว่าง 97.46 ถึง 104.82 ในช่วงความเข้มข้น 50 ถึง 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีขีดจำกัดของการตรวจวัด และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณของสารหนูอยู่ที่ 1.22 และ 1.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถนำไปใช้ในการหาปริมาณสารหนูในตัวอย่างข้าวหอมมะลิและข้าวไรซ์เบอร์รี่ได้จริง โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานสากล

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### เอกสารอ้างอิง

1. “การปนเปื้อนสารหนูในข้าวและผลิตภัณฑ์จากข้าว”. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก <http://www.etm.sc.mahidol.ac.th/a25.shtml> (accessed Feb 25, 2016)
2. “สารหนูอันตรายที่ซ่อนอยู่ในน้ำบาดาล.”. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก <http://www.gotoknow.org/posts/329400> (accessed Feb 25, 2016)
3. “European Union comments for the CODEX COMMITTEE ON CONTAMINANTS IN FOOD”. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก [http://ec.europa.eu/food/safety/docs/codex\\_cccf\\_10\\_agenda\\_item\\_05.pdf](http://ec.europa.eu/food/safety/docs/codex_cccf_10_agenda_item_05.pdf) (accessed Feb 25, 2016)
4. Khan, N.; Ryu, Y. K.; Choi, Y. J.; Nho, Y. E.; Habte, G.; Kim, H. M.; Park, S. K.; Kim, S. K. Determination of Toxic Heavy Metals and Speciation of Arsenic in Seaweeds from South Korea. *Food Chem.* **2015**, *169*, 464-470.
5. Shamsipur, M.; Fattahi, N.; Assadi, Y.; Sadeghi, M.; Shafari, K. Speciation of As(III) and As(V) in Water Samples by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry after Solid Phase Extraction Combined with Dispersive Liquid-liquid Microextraction Based On the Solidification of Floating Organic Drop. *Talanta.* **2014**, *130*, 26-32.
6. Dhar, R. K.; Zheng. Y.; Rubenstone, J.; Van, G. A Rapid Colorimetric Method for Measuring Arsenic Concentrations in Groundwater. *Anal Chim Acta.* **2004**, *526*, 203-209.
7. Martin, A. W.; Phillips, S. T.; Wiley, B. J.; Gupta, M.; Whitesides, G. M. A Rapid Method for Prototyping Paper-based Microfluidic Devices. *Lab Chip.* **2008**, *8*, 2146-2150.
8. Martin, W. A.; Phillips, S. T.; Carrilho, E.; Thomas, S. W.; Sindi, H.; Whitesides, G. M. Simple Telemedicine for Developing Regions: Camera Phones and Paper-based Microfluidic Devices for Real-time, Off-site Diagnosis. *Anal Chem.* **2008**, *80*, 3699-3707.
9. “COLORIMETRIC ANALYSIS.”. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก [http://www.academia.edu/2112381/COLORIMETRIC\\_ANALYSIS](http://www.academia.edu/2112381/COLORIMETRIC_ANALYSIS) (accessed Feb 27, 2015).

10. Farrell, J. R.; Iles, P. J.; Yuan, Y. J. Determination of Arsenic by Hydride Generation Gas Diffusion Flow Injection Analysis with Electrochemical Detection. *Anal Chim Acta*. **1996**, *334*, 193-197.
11. Le, X. C.; Ma, M. Speciation of Arsenic Compounds by Using Ion-pair Chromatography with Atomic Spectrometry and Mass Spectrometry Detection. *Chromatography A*. **1997**, *764*, 55-64.
12. Vilano, M.; Padro, A.; Rubio, R. Coupled Techniques Based on Liquid Chromatography and Atomic Fluorescence Detection for Arsenic Speciation. *Anal Chim Acta*. **2000**, *411*, 71-79.
13. Matsunaga, H.; Kanno, C.; Suzuki, T. M. Naked-Eye Detection of Trace Arsenic(V) in Aqueous Media using Molybdenum-Loaded Chelating Resin having  $\beta$ -Hydroxypropyl-di( $\beta$ -Hydroxyethyl) Amino Moiety. *Talanta*. **2005**, *66*, 1287-1293.
14. Martin, A. W.; Phillips, S. T.; Carrilho, E.; Thomas III, S. W.; Sindi, H.; Whitesides, G. M. Simple Telemedicine for Developing Regions: Camera Phones and Paper-Based Microfluidic Devices for Real-Time, Off-Site Diagnosis. *Anal Chem*. **2008**, *80*, 3699-3707
15. Li, X.; Tian, J.; Nguyen, T.; Shen, W. Paper-Based Microfluidic Devices by Plasma Treatment. *Anal Chem*. **2008**, *80*, 6928-6934.
16. Li, X.; Tian, J.; Garnier, G.; Shen, W. Fabrication of Paper-Based Microfluidic Sensors by Printing. *Biointerfaces*. **2010**, *76*, 564-570.
17. Huang, C. W.; Wei, C. C.; Liao, V. H. C. A Low Cost Color-Based Bacterial Biosensor for Measuring Arsenic in Groundwater. *Chemosphere*. **2015**, *141*, 44-49.
18. Shrivastava, K.; Shankar, R.; Dewangan, K. Gold Nanoparticles as a Localized Surface Plasmon Resonance Based Chemical Sensor for On-Site Colorimetric Detection of Arsenic in Water Samples. *Sensors Actuat B-Chem*. **2015**, *220*, 1376-1383.
19. Peng, J.; Ling, J.; Zhang, X. Q.; Zhang, L. Y.; Cao, Q. E.; Ding, Z. T. A Rapid, Sensitive and Selective Colorimetric Method for Detection of Ascorbic Acid. *Sensors and Actuat B-Chem*. **2015**, *221*, 708-716.
20. Zhou, M.; Yang, M.; Zhou, F. Paper Based Colorimetric Biosensing Platform Utilizing Cross-Linked Siloxane as Probe. *Biosens Bioelectron*. **2014**, *55*, 39-43.

21. ComDigest. ImageJ. <http://comdigest.blogspot.com/2015/10/imagej.html> (accessed April 2, 2016)
22. Stevens, H. M. The Use of a Colour Reagent for the Detection and Estimation of Benzodiazepines and their Benzophenone Derivatives. *Forensic Sci Soc.* **1978**, *18*, 69-73.
23. Pandurangappa, M.; Venkataramanappa. Y. Nitrite/Nitrate Speciation through Arsenomolybdenum Blue Complex at Trace Level: Application to Biological and Environmental Samples. *Anal Methods.* **2011**, *3*, 1838-1844.
24. Martinez, A. W.; Phillips, S. T.; Whitesides, G. M. Diagnostics for the Developing World: Microfluidic Paper-Based Analytical Devices. *Anal Chem.* **2010**, *82*, 3-10.
25. “การพัฒนาอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษสำหรับการตรวจวัดสารบ่งชี้ทางชีวภาพจากเลือด”. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก [http://www.trf.or.th/index.php?option=com\\_content&view=article&id=6700:2015-07-24-12-07-47&catid=333:2557&Itemid=433](http://www.trf.or.th/index.php?option=com_content&view=article&id=6700:2015-07-24-12-07-47&catid=333:2557&Itemid=433) (accessed March 31, 2016).
26. Zhang, M.; Ge, L.; Ge, S.; Yan, M.; Yu, J.; Huang, J.; Liu, S. Three-Dimensional Paper-Based Electrochemiluminescence Device for Simultaneous Detection of  $Pb^{2+}$  and  $Hg^{2+}$  Based on Potential-Control Technique. *Biosens Bioelectron.* **2013**, *41*, 544-550.
27. Zhang, Y.; Zuo, P.; Ye, B. C. A Low-Cost and Simple Paper-Based Microfluidic Device for Simultaneous Multiplex Determination of Different Types of Chemical Contaminants in Food. *Biosens Bioelectron.* **2015**, *68*, 14-19.
28. Alkasir, R. S. J.; Rossner, A.; Andreescu, S. Portable Colorimetric Paper-Based Biosensing Device for the Assessment of Bisphenol A in Indoor Dust. *Environ Sci Technol.* **2015**, *49(16)*, 9889-9897.
29. Ojeda, C. B.; Rojas, F. S.; Process Analytical Chemistry: Applications of Ultraviolet/Visible Spectrometry in Environmental Analysis: An Overview. *Appl Spectrosc Rev.* **2009**, *44*, 245-265.
30. “การประเมินความน่าเชื่อถือของข้อมูลวิเคราะห์ (Evaluation of the reliability of analytical data)” [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก <http://www.slideshare.net/woravith/rmutp-analchem-datatreatment> (accessed April 4, 2016).

31. เสาวณีย์ กาญจนชุมพล สำนักงานวิจัย วิชาการและนวัตกรรม คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดีและคณะ. การประเมินวิธีการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ (Evaluation Method for Laboratory Work) [http://old.nimt.or.th/nimt/upload/contentfile/attach-lab\\_article-516-443.pdf](http://old.nimt.or.th/nimt/upload/contentfile/attach-lab_article-516-443.pdf). (accessed March 26, 2016)



ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ประวัติผู้วิจัย

นางสาวรอมล ปล้องมาก เกิดเมื่อวันที่ 2 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2536 ที่จังหวัด สิงห์บุรี สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนนครสวรรค์ จังหวัด นครสวรรค์ เมื่อปีการศึกษา 2555 เคยได้รับรางวัลนักเรียน เรียนดี เมื่อ พ.ศ. 2552 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2555 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 145 หมู่ที่ 5 ตำบล บางซุด อำเภอ สรรคบุรี จังหวัด ชัยนาท รหัสไปรษณีย์ 17140 อีเมล butter\_nw@hotmail.com

ภาควิชาเคมี  
คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย