

การพัฒนากระดาษทดสอบที่ตรึงอโทฟีแนนโทโรลีนด้วยกระบวนการโซล-เจล

สำหรับวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก

**Development of Paper Test Kit Doped Orthophenanthroline by Sol-Gel Process
for Determination of Iron**

ฉันทพัฑฒ วงษัฒ (Chantas Wongdee)* ดร.วฒญลัษัฒ ปรดษัฒจู้เวมยงค้ (Dr.Wiboon Praditweangkum)**

บทคัดย่อ

งานวฒจยนี้ได้พัฒนาชุดทดสอบบนกระดาษสำหรับวฒเคราะห์หาปรมยลเหล็ก ทำการเติมอโทฟีแนนโทโรลนเป็นส่วนผสมในสารละลายโซล-เจล แล้วใช้ไมโครพมเป็ดหยดสารละลายนี้ 10 ไมโครลตรลงบนกระดาษกรอง ตัดแผ่นกระดาษกรองนี้เป็นรูปวงกลมตามรอยขอบของสารละลายโซล-เจลได้เป็นกระดาษทดสอบ สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบปรมยลเหล็กคือทำการแช่แผ่นกระดาษทดสอบในสารละลายผสมระหว่างสารละลายเหล็กกับสารละลายไฮดรอกซลลามมโนไฮดรอกลอไรด์ที่ปรับ pH เป็น 4.5 ปริมาตรในช่วง 0.10-0.40 มลลตร เป็นเวลา 15 นาที จะเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก (II) กับอโทฟีแนนโทโรลนเป็นสีส้มบนกระดาษทดสอบ นำไปสแกนรูปสีด้วยเครื่องสแกน ตั้งค่าความละเอียดในการสแกนเท่ากับ 600 จุดต่อตารางนิ้ว และค่าความสว่างของหลอดไฟเท่ากับ -50 ค้ำนวณหาค่าความแตกต่างความเข้มแสงด้วยโปรแกรม ImageJกระดาษทดสอบนี้สามารถตรวจวัดความเข้มข้้นของสารละลายเหล็กได้ถึงระดับ 0.20 มลลตรต่อลตร

ABSTRACT

The paper test kit for determination of iron is developed. Orthophenanthroline is added as aningradient in sol-gel solution. Each 10 μ L of this solution is pipetted and dropped on a filter paper. This paper is cut as a circle around the edge of sol-gel and can be used as iron test paper. The optimum condition for iron testing is operated by soaking a test paper in mixing solution of iron and hydroxylaminehydrochloride adjusted pH = 4.5, volumes range from 0.10 mL to 0.40 and reaction time for 15 minutes. The orange color of Fe(II)-orthophenanthroline complex is developed on test paper. This paper strip is scanned by a scanner as a color picture at 600 dpi resolution and -50 brightness. The Euclidean distance is calculated by using the ImageJ program. This developed test paper can be used to detect iron concentration down to 0.20 mg/L.

คำสำคัญ: ชุดทดสอบบนกระดาษ เหล็ก เครื่องสแกน

Key Words: Paper test kit, Iron, Scanner

* นักศกษา หลกสูตรวฒศาสตรมหาบัฒจก สาขาวิชาเคมี คณะวฒยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมีคณะวฒยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทนำ

เหล็กที่พบในหินและดินอยู่ในรูปสินแร่ที่ไม่ละลายน้ำ โดยที่ในดินมีแบคทีเรียสามารถย่อยสารอินทรีย์แล้วได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งละลายน้ำได้กรดคาร์บอนิก เมื่อกรดคาร์บอนิกไหลผ่านสินแร่เหล็กจะละลายเหล็กให้อยู่ในรูปเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) ถ้าเป็นสภาวะที่ขาดออกซิเจน แบคทีเรียในชั้นดินที่มีสารอินทรีย์อยู่สามารถเปลี่ยนเหล็กเฟอร์ริก (Fe_2O_3) เป็นเหล็กเฟอร์รัส (FeO) ซึ่งถูกละลายด้วยกรดคาร์บอนิกเข้าสู่แหล่งน้ำได้เช่นกัน ถ้าในแหล่งน้ำมีปริมาณเหล็กเกิน 1 – 2 ppm จะมีรสหวานปนขม และขุ่น ไม่น่าเอาไปบริโภค นอกจากนี้เมื่อนำมาทำการอุปโภค เช่น ชักผ้าก็จะเกิดรอยด่างบนเสื้อผ้าและคราบสนิม (ปราโมช เรียวชาญ, 2552) จากผลเสียเรื่องรสชาติของน้ำและความขุ่นของเฟอร์รัสไอออนที่ละลายในน้ำมากเกินไป ทำให้มีการควบคุมคุณภาพของไอออนเหล็กที่เจือปนในน้ำเพื่อให้ชาวบ้านได้ใช้น้ำที่สะอาดทั้งเรื่องสี กลิ่น รส และความปลอดภัยในน้ำดื่ม

การตรวจสอบไอออนเหล็กที่ละลายในน้ำทำได้หลายวิธี เช่น การวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี (Devi VSA, Reddy VK, 2012) วิธีอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโทรเมทรี (Durukan I et al., 2011) วิธีการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว-ของเหลว (Peng Bet al., 2015) วิธีโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส (Huang Y-N et al., 2012) วิธีอินดิคทีฟลิคัมเปิ้ลพลาสมา-แมสสเปกโทรเมทรี (Fundu A, Mustofa S, 2010) วิธีคาพิลลารีอิเล็กโทรโฟริซิส (Nowak P et al., 2013) เป็นต้น วิธีการวิเคราะห์เหล่านี้ส่วนใหญ่จะใช้เครื่องมือที่มีราคาแพงและมีวิธีการใช้งานที่ยุ่งยาก ต้องอาศัยความชำนาญในการปฏิบัติงาน วิธีที่นิยมใช้มากที่สุดคือวิธี UV-VIS สเปกโทรโฟโตเมทรี เป็นวิธีที่วัดค่าได้สะดวก รวดเร็ว เครื่องมือใช้งานง่าย มีอยู่ในห้องปฏิบัติการทั่วไปอยู่แล้ว

การวิเคราะห์เหล็กในตัวอย่างน้ำโดยทั่วไปมีขั้นตอนการเก็บตัวอย่างใส่ลงในขวดพลาสติก แล้วนำส่งไปให้ทางห้องปฏิบัติการตรวจวัด ซึ่งทำให้เสียเวลา

และเสียค่าใช้จ่าย นฤชิต (2555) ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างน้ำที่สามารถวิเคราะห์บริเวณหน้างานได้ โดยใช้วิธีทดสอบแบบจุด (Spot test) บนกระดาษ ซึ่งเตรียมจุดรีเอเจนต์ด้วยกระบวนการโซล-เจลเป็นการตรึงอโทฟีแนนโทรลีนอยู่ในโซล-เจลเมื่อผสมสารละลายเหล็กกับไฮดรอกซิลามีนไฮโดรคลอไรด์ ในภาวะ pH = 4.5 เหล็ก (III) ที่มีในสารละลายจะเปลี่ยนเป็นเหล็ก (II) จากนั้นหยดลงบนจุดรีเอเจนต์จะเกิดสารเชิงซ้อนสีส้ม ระหว่างเหล็ก (II) กับอโทฟีแนนโทรลีน (Ph) ดังนี้ $Fe^{2+} + 3PhH^+ \rightarrow Fe(Ph)_3^{2+} + 3H^+$ แล้วทำการสแกนรูปจุดสีด้วยเครื่องสแกน และใช้โปรแกรมวิเคราะห์ความเข้มของสี ซึ่งเป็นการทดสอบและตรวจวัดที่ทำได้ง่าย โดยที่วิธีนี้มีขีดจำกัดของการตรวจวัดเพียง 7.95 มิลลิกรัมต่อลิตร ในงานวิจัยนี้จะพัฒนาต่อยอดชุดทดสอบบนกระดาษให้สามารถตรวจวัดเหล็กในปริมาณที่ต่ำลงไปได้อีกโดยทำการตรึงอโทฟีแนนโทรลีนไว้บนแผ่นกระดาษทดสอบด้วยกระบวนการโซล-เจลแล้วนำไปแช่ในสารละลายที่ต้องการหาปริมาณเหล็ก ตรวจวัดความเข้มจุดสีโดยการสแกนรูปภาพและคำนวณค่า Euclidean distance

วัตถุประสงค์การวิจัย

พัฒนาชุดทดสอบแบบกระดาษโดยการตรึงรีเอเจนต์ไว้บนกระดาษด้วยวิธีโซล-เจล และนำไปตรวจวิเคราะห์เหล็กปริมาณต่ำในช่วง 0.2 – 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิธีการวิจัย

สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมีที่ใช้เป็น Analytical Grade เตตระเอทิลอโทซิลิเกต (Tetraethylorthosilicate, $Si(OC_2H_5)_4$) และ Triton[®]X-100 มาจากบริษัท Aldrich Chemical Company ออโทฟีแนนโทรลีน (Orthophenanthroline, $C_{12}H_8N_2$) เอทานอลปราศจากน้ำ ไฮดรอกซิลามีนไฮโดรคลอไรด์ (hydroxylamine hydrochloride,

NH₂OH·HCl) กรดไฮโดรคลอริก และกรดซัลฟิวริก มาจากบริษัท Carlo Erba เฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต (ferrous sulfate heptahydrate, FeSO₄·7 H₂O) มาจากบริษัท Chemex โซเดียมซิเตรตไดไฮเดรต (Sodium citrate dihydrate, HOC(COONa)(CH₂COONa)₂·2H₂O) มาจากบริษัท SAFC ใช้น้ำปราศจากไอออนในการทดลอง กระจายกรองเบอร์ 2 เส้นผ่านศูนย์กลาง 125 มิลลิเมตร ของบริษัท Whatman เครื่องสแกนของบริษัท Canon รุ่น LiDE 210 โปรแกรม ImageJ (The National Institutes of Health by an employee of the Federal Government, USA, 2004)

การเตรียมสารละลายโซเดียมซิเตรตเข้มข้นร้อยละ 25.0%w/v

ชั่งโซเดียมซิเตรตไดไฮเดรต 25.0 กรัม ละลายและปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำปราศจากไอออน

การเตรียมสารละลายไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 10%w/v

ชั่งไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์ 10.0 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 100 mL แล้วปรับ pH ให้เท่ากับ 4.5 ด้วยสารละลายโซเดียมซิเตรตเข้มข้นร้อยละ 25.0%w/v

การเตรียมสารละลายมาตรฐานเหล็ก (II) เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งเฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต 4.9782 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 50 mL เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นลงไป 1.00 mL คนให้เข้ากัน แล้วเทใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

การเตรียมสารละลายมาตรฐานเหล็ก (II) เข้มข้น 0.20, 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

เปิดสารละลายมาตรฐานเหล็ก (II) เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 20, 50 และ 100 ไมโครลิตรใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL แล้วเติมสารละลายไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 10 %w/v ลงไป 1.00 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลาย

มาตรฐานเหล็ก (II) ความเข้มข้น 0.20, 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิธีเตรียมสารละลายโซล-เจล เจือด้วยออปติ

แนนโทรลีนเข้มข้นร้อยละ 0.2 %w/v

ชั่งออปติแนนโทรลีน 0.0100 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 25 mL ละลายด้วยเอทานอลปราศจากน้ำ 2 mL เติมสารละลายเตตระเอทิลออปติลิเกด 2 mL และเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 M 1 mL จากนั้นเติม Triton[®]X-100 7 หยด แล้วปั่นจนให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกันเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

การเตรียมจูดรีเอเจนต์บนกระดาษทดสอบ

เปิดสารละลายโซล-เจลเจือด้วยออปติแนนโทรลีนเข้มข้นร้อยละ 0.2%w/v ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรองเบอร์ 2 ทิ้งไว้ให้แห้ง ตัดแผ่นกระดาษทดสอบเป็นรูปร่างกลมตามรอยขอบของสารละลายโซล-เจล

วิธีการทดลองเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเหล็ก (II) โดยใช้ micropore

นำแผ่นกระดาษทดสอบรูปร่างกลมที่ทำกรหยจูดรีเอเจนต์ไว้แล้ว ใส่ลงในอุปกรณ์ micropore คูดสารละลายมาตรฐานเหล็ก (II) เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 mL เข้าสู่หลอดฉีดยา แล้วประกบเข้ากับอุปกรณ์ micropore กดกระบอกลูกสูบเพื่อดันให้สารละลายไหลผ่าน micropore จนหมด นำแผ่นกระดาษทดสอบออกมาทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นนำแผ่นกระดาษทดสอบไปสแกนรูปสี่ด้วยเครื่องสแกนโดยตั้งค่าความละเอียดในการสแกนที่ 600 dpi แล้วใช้โปรแกรม ImageJ ตรวจสอบค่าความเข้มแสง (RGB) และนำไปคำนวณหาค่าความแตกต่างความเข้มแสงแสดงในรูปค่า Euclidean Distance (ED) จากสมการเชิงเส้นแบบยูคลิดดังสมการต่อไปนี้

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

Δ คือ ผลต่างของแสงที่จุด blank กับค่าความเข้มแสง ณ จุดที่เกิดปฏิกิริยากับเหล็กที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

I_R คือ ค่าความเข้มแสงสีแดง

I_G คือ ค่าความเข้มแสงสีเขียว

I_B คือ ค่าความเข้มแสงสีน้ำเงิน

วิธีการทดลองเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเหล็ก (II) โดยการแช่

นำแผ่นกระดาษทดสอบรูปวงกลมที่ทำกรวยหอยดริเอเจนต์ไว้แล้วหย่อนลงในถาดหลุมทดลอง จากนั้นเปิดสารละลายมาตรฐานเหล็ก (II) เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุมทดลอง แช่ทิ้ง 1 นาที จากนั้นก็บดแผ่นกระดาษทดสอบรูปวงกลมขึ้นมา ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนำไปสแกนและคำนวณค่า ED (ใช้น้ำปราศจากไอออนเป็น blank)

วิธีการทดลองเพื่อศึกษาผลของค่าความสว่างที่ใช้ในการสแกนรูปสี่ของกระดาษทดสอบ

ใช้แผ่นกระดาษทดสอบรูปวงกลมที่ผ่านการทดลองแช่ในสารละลาย Fe(II) เข้มข้น 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลาในการแช่ 30 นาที นำมาสแกนรูปสี่ด้วยเครื่องสแกนที่ค่าความสว่างในช่วง 0 ถึง -50 และคำนวณค่า ED

วิธีการทดลองเพื่อศึกษาผลของปริมาตรสารละลาย Fe(II) และเวลาที่ใช้ในการแช่แผ่นกระดาษทดสอบ

นำแผ่นกระดาษทดสอบรูปวงกลมที่ทำกรวยหอยดริเอเจนต์ไว้แล้วหย่อนลงในถาดหลุมทดลอง แต่ละหลุม จากนั้นเปิดสารละลายมาตรฐานเหล็ก (II) แต่ละความเข้มข้น 0.20, 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ละปริมาตร 100, 200, 300 และ 400 ไมโครลิตร ใส่ลงในแต่ละหลุมทดลอง แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 1, 5, 10, 15, 20 และ 30 นาที จากนั้นก็บดแผ่นกระดาษทดสอบรูปวงกลม

ขึ้นมา ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนำไปสแกนและคำนวณค่า ED (ใช้น้ำปราศจากไอออนเป็น blank)

ผลการวิจัย

การทดลองเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย

เหล็ก (II) บนกระดาษทดสอบแบบจุด

เมื่อทำการทดลองในเบื้องต้นเพื่อศึกษาวิธีการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเหล็ก (II) ด้วยวิธีการที่ต่างกัน พบว่าได้ผลการทดลองเปรียบเทียบแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่า Euclidean distance ที่ได้จากการทดลองเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเหล็ก (II) ด้วยวิธีการต่างกัน

การทดลองครั้งที่	วิธีการทดลองเพิ่มความเข้มข้น	
	สารละลายผ่าน Micropore ^a	แช่กระดาษทดสอบในสารละลาย ^b
ค่า Euclidean distance		
1	10.337	1.434
2	1.829	1.581
3	12.139	2.075
ค่าเฉลี่ย	8.102	1.697
SD	5.507	0.336
%RSD	67.97	19.80

หมายเหตุ ความเข้มข้นสารละลาย Fe(II) ที่ใช้ทดลองคือ 2^a และ 1^b มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ, ความสว่างที่ใช้ในการสแกนเป็น -50

ผลของค่าความสว่างที่ใช้ในการสแกนรูปสี่ของกระดาษทดสอบ

การทดลองปรับค่าความสว่างของแสงจากหลอด backlight ที่ใช้ในการสแกน เพื่อให้รูปที่สแกนให้เห็นสีส้มของสารเชิงซ้อนชัดเจนขึ้น โดยทดลองปรับค่าความสว่างในช่วงสเกล 0 ถึง -50 ให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่า Euclidean distance ที่ได้จากการทดลอง ปรับค่าความสว่างของเครื่องสแกน (สารละลาย Fe(II) เข้มข้น 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลาในการแช่ 30 นาที)

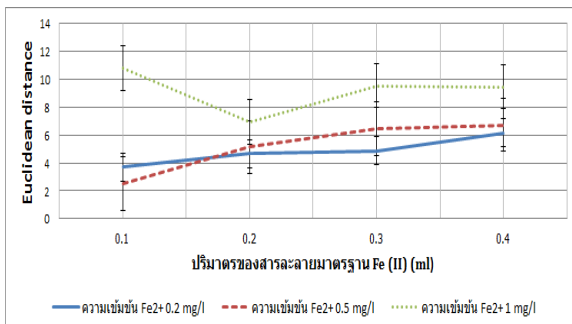
ค่าความสว่าง	ปริมาณสารละลาย Fe(II) ที่ใช้แช่				SD
	0.10	0.20	0.30	0.40	
	mL	mL	mL	mL	
	ค่า Euclidean distance				
0	0.074	0.022	0.099	0.096	0.036
-10	0.577	0.572	0.579	0.805	0.114
-20	0.655	0.661	4.043	4.046	1.955
-30	0.549	0.984	4.893	4.831	2.371
-40	2.748	2.739	5.350	5.345	1.504
-50	6.257	6.235	6.236	6.243	0.010

ผลของปริมาณสารละลาย Fe(II) และเวลาที่ใช้ในการแช่แผ่นกระดาษทดสอบ

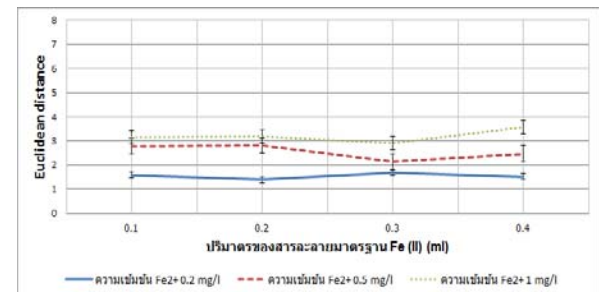
เมื่อทดลองแช่แผ่นกระดาษทดสอบในสารละลายมาตรฐาน Fe(II) ที่ปริมาณต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ 0.10 ถึง 0.40 มิลลิกรัม เป็นเวลา 1 นาที พบว่าให้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 1

การทดลองแช่แผ่นกระดาษทดสอบเป็นเวลาต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ 1 นาที ถึง 30 นาที ให้ผลการทดลองดังรูปที่ 2 และรูปที่ 3

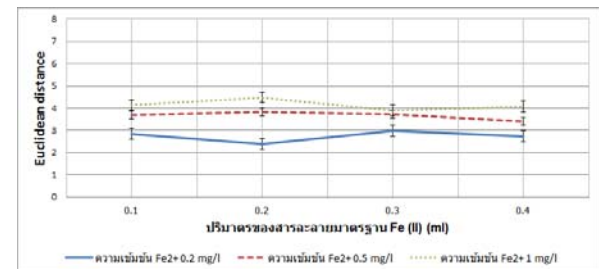
(ก)



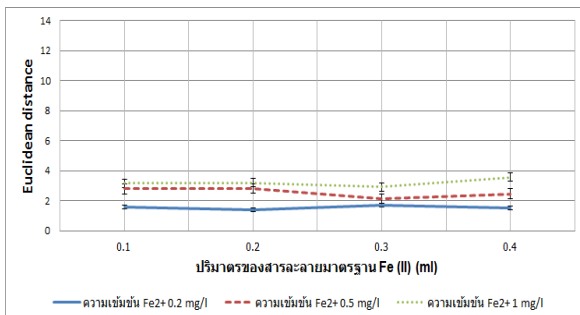
(ข)



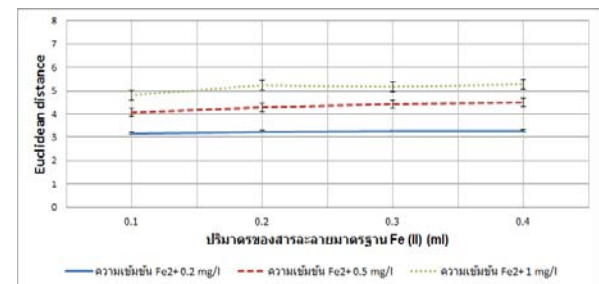
(จ)



(ข)

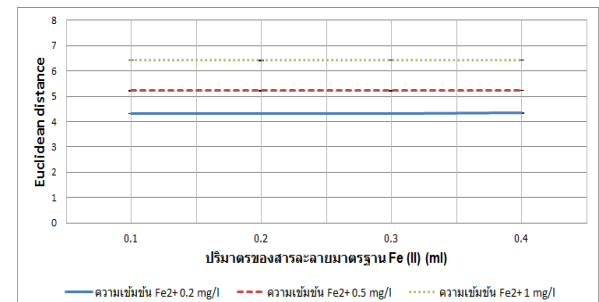


(ค)

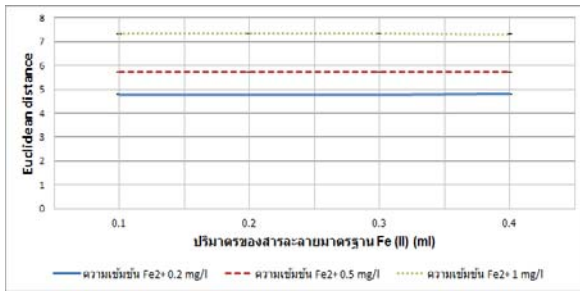


รูปที่ 1 กราฟแสดงค่า Euclidean distance เมื่อทดลองแช่แผ่นกระดาษทดสอบในสารละลาย Fe(II) ที่มีปริมาณต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำกระดาษทดสอบออกมา (ก) วางบนพื้นโต๊ะห้องปฏิบัติการ (ข) วางบนขอบปากภาชนะหลุม

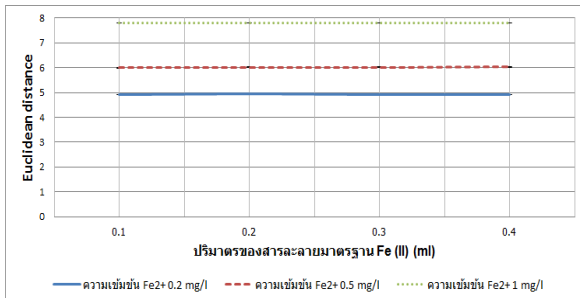
(ง)



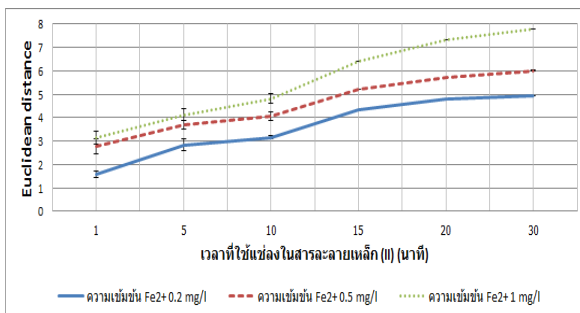
(จ)



(ข)



รูปที่ 2 กราฟแสดงค่า Euclidean distance เมื่อทดลองแช่แผ่นกระดาษทดสอบในสารละลาย Fe(II) ที่มีปริมาณต่าง ๆ กัน และตั้งแต่วเวลา (ก) 1 นาที, (ข) 5 นาที, (ค) 10 นาที, (ง) 15 นาที, (จ) 20 นาที และ (ฉ) 30 นาที



รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า ED กับเวลาที่ใช้ในการแช่แผ่นกระดาษทดสอบในสารละลาย Fe(II) ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

นฤชิต (2555) ได้พัฒนาการตรวจวัดเหล็กในเม็ดยาด้วยชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษที่เตรียมจูดรีเอเจนต์ด้วยวิธีโซล-เจล ซึ่งมีความสะดวกในการทดลอง และสามารถวิเคราะห์ผลได้รวดเร็ว โดยที่ชุดทดสอบนี้มีความไวสูงที่สุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณเท่ากับ 7.95

มิลลิกรัมต่อลิตร ในงานวิจัยนี้ต้องการปรับปรุงชุดทดสอบดังกล่าวให้สามารถตรวจวัดปริมาณเหล็กในตัวอย่งน้ำดื่มที่มีการควบคุมคุณภาพตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค ตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 332 (พ.ศ. 2521) ที่มีเกณฑ์อนุ โลมให้มึปริมาณเหล็กได้สูงสุดไม่เกิน 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากผลการทดลองในตารางที่ 1 พบว่าเมื่อทดลองเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย Fe(II) ด้วยวิธีให้สารละลายผ่านอุปกรณ์ micropore ให้ค่า %RSD สูง แสดงว่าผลการทดลองในแต่ละครั้งมีการเบี่ยงเบนจากค่าเฉลี่ยมาก โดยที่การดูดสารละลายมาตรฐานไว้ในหลอดนิตยาแล้วฉีดผ่านแผ่นกระดาษทดสอบที่บรรจุไว้ใน micropore แต่ละครั้งจะใช้เวลาในการฉีดผ่านไปไม่เท่ากัน บางช่วงกระบอกถูกดูดทำให้ต้องออกแรงกดมากและสารละลายผ่านเร็วเกินไปไม่สามารถควบคุมอัตราการไหลให้คงที่ได้ ส่งผลให้สารละลาย Fe(II) ที่กักอยู่ใน micropore ใช้เวลาไม่เท่ากันในการเกิดปฏิกิริยากับอ้อโทพีแนนโทรลีน โดยที่การเกิดสารเชิงซ้อนนี้ต้องใช้เวลาระยะหนึ่งจึงจะเกิดปฏิกิริยาได้สมบูรณ์ ถ้าไม่สามารถควบคุมเวลาในการผ่าน micropore ให้เท่ากันได้ก็จะส่งผลถึงความเข้มข้นจุดทดสอบที่ได้แต่ละครั้งมีความแตกต่างกันไป วิธีการต่อมาได้ทดลองแช่กระดาษทดสอบในสารละลายมาตรฐาน Fe(II) เป็นเวลา 1 นาที เพื่อให้มีเวลาสำหรับปฏิกิริยาการเกิดสารเชิงซ้อน พบว่าค่า ED ที่ได้จากการทดลองแต่ละครั้งมีความเบี่ยงเบนน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีให้สารละลายผ่าน micropore โดยการทดลองด้วยการแช่กระดาษทดสอบซึ่งใช้สารละลายเหล็กความเข้มข้นต่ำกว่า (1 mg/l) สามารถให้ค่าความเบี่ยงเบนน้อยกว่าวิธีให้สารละลายผ่าน micropore ที่ใช้สารละลายเหล็กความเข้มข้นสูงกว่า (2 mg/l) จึงเลือกวิธีการแช่กระดาษทดสอบในสารละลายมาตรฐาน Fe(II) เพื่อทำการทดลองต่อไป

ในขั้นตอนการแสดกนรูปจุดสีของกระดาษทดสอบเพื่อนำไปประมวลผล ได้ทำการทดลองปรับค่า

ความสว่างของแสงจากหลอด backlight ที่ใช้ในการสแกน เพื่อให้รูปที่สแกนได้เห็นสีส้มของสารเชิงซ้อนชัดเจนขึ้น โดยทดลองปรับค่าความสว่างในช่วงสเกล 0 ถึง -50 ให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 2 ความสว่างของแสงที่ใช้ในการสแกนแสดงถึงความสว่างของแสงจากหลอด backlight ที่ใช้ในเครื่องสแกน โดยค่าความสว่างเป็น 0 คือ ความสว่างของแสงจากหลอด backlight ที่ไม่มีการลดความสว่างลง จากผลการทดลองในตารางที่ 2 จะเห็นว่าที่ค่าความสว่างเป็น 0 นั้น ค่า ED ที่คำนวณได้มีค่าน้อยใกล้เคียงกับค่า blank ในขณะที่การสังเกตด้วยตาเปล่าสามารถแยกแยะความแตกต่างจาก blank ได้ดีกว่านี้ แสดงว่าแสงสว่างจากหลอด backlight สว่างมากเกินไปทำให้รูปที่สแกนได้แสดงความเข้มของสีส้มไม่ชัดเจน เมื่อปรับลดค่าความสว่างลงเรื่อย ๆ จนถึงค่าความสว่าง -50 จะทำให้รูปที่สแกนได้แสดงความเข้มสีส้มชัดเจนขึ้นและสามารถคำนวณค่า ED ได้ละเอียดมากขึ้น เมื่อค่าความสว่างลดลงมากกว่าค่า -50 เป็นต้นไป รูปภาพที่สแกนได้จะค่อย ๆ มีดลงเป็นสีเทา ค่ำซึ่งไม่สามารถมองเห็นสีส้มได้อีก จึงเลือกใช้ค่าความสว่างที่ -50 ในการสแกนรูปสีของกระดาษทดสอบ

สำหรับผลการทดลองในรูปที่ 1 แสดงให้เห็นว่าหลังจากการแช่แผ่นกระดาษทดสอบเป็นเวลา 1 นาทีแล้วนำขึ้นมาวางทิ้งไว้ให้แห้งบนพื้นโต๊ะห้องปฏิบัติการที่ไม่สะอาดนัก อาจมีการปนเปื้อนของสารเคมีที่มีผลกระทบต่อการศึกษาเชิงซ้อน ส่งผลให้ค่า ED ที่ได้มีการเบี่ยงเบนอย่างมาก แต่เมื่อนำแผ่นกระดาษทดสอบขึ้นมาวางทิ้งไว้ให้แห้งบนขอบปากภาชนะที่สะอาด ค่า ED ที่ได้จะเบี่ยงเบน น้อยมาก ดังนั้นต้องให้ความสำคัญระมัดระวังในเรื่องความสะอาดของบริเวณที่จะวางแผ่นกระดาษทดสอบเพื่อทิ้งไว้ให้แห้งด้วย

ในการทดลองแช่แผ่นกระดาษทดสอบเป็นเวลาต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ 1 นาที ถึง 30 นาที ให้ผลการทดลองดังรูปที่ 2 และรูปที่ 3 เมื่อแช่แผ่นกระดาษทดสอบเป็นเวลา 1, 5 และ 10 นาที จะให้ค่า ED ของแต่ละจุดที่ทดลองมีความเบี่ยงเบนมากกว่าแช่แผ่นกระดาษทดสอบเป็นเวลา 15, 20 และ 30 นาที ดังนั้นการใช้เวลา

ในการแช่แผ่นกระดาษทดสอบที่นานขึ้น มีผลทำให้ค่า ED มีความเบี่ยงเบนลดลง และพบว่าการแช่ในช่วงเวลา 15, 20 และ 30 นาที ให้ความแตกต่างของเส้นกราฟในแต่ละความเข้มข้นอย่างชัดเจนและกราฟมีลักษณะเหมือนกัน และพบอีกว่าเมื่อเวลาที่ใช้ในการแช่นานขึ้น ค่า ED จะมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย แสดงให้เห็นว่าต้องใช้ระยะเวลาช่วงหนึ่งในเกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์ระหว่าง Fe(II) กับออร์โทโทไฟแนทโทโรลีนเพื่อเกิดเป็นสารเชิงซ้อนที่มีสีส้มบนแผ่นกระดาษทดสอบ ในการทดลองนี้จึงเลือกใช้เวลาในการแช่ 15 นาที เพื่อให้การวิเคราะห์มีความรวดเร็ว แต่ยังคงผลการทดลองที่แยกแยะความแตกต่างของความเข้มข้นของเหล็ก (II) (0.2, 0.5 และ 1 mg/L) ไว้ได้ ส่วนปริมาณของสารละลายมาตรฐาน Fe(II) ที่ใช้ในการแช่แผ่นกระดาษทดสอบนั้นพบว่าในแต่ละความเข้มข้นของสารละลาย Fe(II) ที่ใช้ทดลองเมื่อใช้ปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วง 0.10 ถึง 0.40 มิลลิกรัม ค่า ED ที่ได้มีค่าคงที่ แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณไม่ได้เป็นการเพิ่มปริมาณของ Fe(II) ที่จะทำปฏิกิริยาเกิดเป็นสารเชิงซ้อนบนแผ่นกระดาษทดสอบ การเพิ่มขึ้นของค่า ED จะแปรผันตามความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Fe(II) ไม่ขึ้นกับปริมาณของสารละลายที่ใช้ในการแช่แผ่นกระดาษทดสอบ

สภาวะการทดลองเหมาะสมที่ได้จากงานวิจัยนี้สำหรับชุดทดสอบบนกระดาษเพื่อตรวจวัดปริมาณเหล็ก จะทำการเตรียมแผ่นทดสอบโดยการตรึงออร์โทโทไฟแนทโทโรลีนด้วยวิธี โซล-เจลไว้บนกระดาษกรอง หลังจากผสมสารละลายมาตรฐาน Fe(II) กับสารละลายไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์ที่ปรับ pH เป็น 4.5 เข้าด้วยกันแล้วนำแผ่นกระดาษทดสอบแช่ในสารละลายผสมปริมาณในช่วง 0.10 ถึง 0.40 มิลลิกรัม เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้เกิดสารเชิงซ้อนเป็นสีส้มบนกระดาษทดสอบ ทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นนำไปสแกนรูปสีด้วยเครื่องสแกนซึ่งตั้งค่าความสว่างที่ -50 แล้วคำนวณค่า ED จากสภาวะเหมาะสมที่ทดลองได้นี้ สามารถตรวจวัดความเข้มข้นของ Fe(II) ได้ถึงระดับ 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร ใกล้เคียงกับค่าต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยวิธีมาตรฐาน

ASTM D 1068 (American Society for Testing and Materials, 2003) ซึ่งเป็นวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรีที่ใช้ ออโทพีแนมโทโรลีนเป็นรีเอเจนต์ ซึ่งเหมาะกับการ วิเคราะห์ เหล็ก (II) ในช่วง 0.4 – 1.0 mg/L เมื่อ เปรียบเทียบกันพบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถใช้งานได้ สะดวกกว่า, ใช้เครื่องมือที่ง่ายต่อการตรวจวัดผลการ ทดลอง และใช้รีเอเจนต์กับสารตัวอย่างปริมาณน้อยกว่า วิธีมาตรฐาน วิธีพัฒนาขึ้นนี้มีความเป็นไปได้ที่จะนำไป ประยุกต์ใช้ในการควบคุมคุณภาพน้ำดื่ม โดยทำการ ทดลองในเชิงคุณภาพถึงปริมาณวิเคราะห์ แล้วสามารถ ระบุได้ว่ามีปริมาณเหล็กเกินกว่าค่าอนุโลมที่ 0.50 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือไม่ ซึ่งจะได้ดำเนินการทดลองใน ลำดับถัดไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่สนับสนุนค่าใช้จ่ายในการทำงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

นฤชิต ไพโรจน์. ชุดทดสอบแบบจุดโดยใช้โซล-เจลเจือ ออโทพีแนมโทโรลีนสำหรับการวิเคราะห์เชิง ปริมาณของเหล็ก (II) [วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี]. กรุงเทพฯ: คณะวิทยาศาสตร์สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง; 2555.

ปราโมช เชื้อชวชาญ. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพฉบับที่ 3 [จุลสาร]. กรุงเทพมหานคร: สภาวิชาชีพ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี; 2552.

Durukan I, Şahin AÇ, Şatiroğlu N, Bektaş S. Deter mination of iron and copper in food samples by flow injection cloud point extraction flame atomic absorption spectrometry. *Microchem ical Journal* 2011; 99(1): 159-163.

Funda A, Mustofa S. Separation, preconcentration and inductively coupled plasma-mass spectrometric (ICP-MS) determination of thorium(IV), Tita- Nium(IV), iron(II), lead(II) and chromium(III) on 2-nitroso-1-naphthol impregnated MCI GEL CHP20P resin. *Journal of Hazardous Materials* 2010; 173(1-3): 669-674.

Devi VSA, Reddy VK. Spectrophotometric determina- tion of iron(II) and cobalt(II) by direct, derivative, and simultaneous methods using 2- hydroxy-1-naphthaldehyde-p-hydroxy-benzoic- hydrazone. *International Journal of Analytical Chemistry* 2012; 2012: 26-50.

Nowak P, Śpiewak K, Brindell M, Woźniakiewicz M, Stochel G, et al.. Separation of iron-saturated of transferrin and lactoferrin via capillary electro- phoresis performed in Fused-silica and neutral capillaries. *Journal of Chromatography A* 2013; 1321: 127-132.

Huang Y-N, Yuan D-X, Dai M-H, Liu Y-X. Reverse flow injection analysis method for catalytic spectrophotometric determination of iron in estuarine and coastal water: A comparison with normal flow injection analysis. *Talanta* 2012; 93: 86-93.

Peng B, Shen Y-N, Gao Z-T, Zhou M, Ma Y-J. Determination of total iron in water and foods by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with microvolume UV-VIS Spectro photometry. *Food Chemistry* 2015; 176: 288- 293.

The National Institutes of Health by an employee of the Federal Government. ImageJ [online] 2004 [cited 17 July 2013]. Available from: [http:// imagej.nih.gov/ij/index.html](http://imagej.nih.gov/ij/index.html).

American Society for Testing and Materials. Certificate

by Authority of the United States of America

Legally Binding Document. Washington: The

Executive Director Office of the Federal

Register: 2003.