



รายงานฉบับสมบูรณ์
ประจำปี 2561
โครงการวิจัยที่ 3070-A100

เรื่อง การพัฒนาวิธีทดสอบสารหนูอนินทรีย์
ที่ปนเปื้อนในดิน พื้นที่เกษตรกรรม
ด้วยเซนเซอร์ตรวจวัดสีแบบกระดาษ

Development of analytical method for inorganic arsenic from
contaminated soil collected from agricultural areas utilizing a paper
based colorimetric sensor

หัวหน้าโครงการวิจัย
นรินทร์ ท้าวแก่นจันทร์
คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ได้รับทุนวิจัยสนับสนุนจากมูลนิธิโครงการหลวง
มีนาคม 2562



รายงานฉบับสมบูรณ์ ประจำปี 2561 โครงการวิจัยที่ 3070-A100

เรื่อง การพัฒนาวิธีทดสอบสารหนูอนินทรีย์
ที่ปนเปื้อนในดินพื้นที่เกษตรกรรม ด้วยเซนเซอร์ตรวจวัดสีแบบกระดาษ
Development of analytical method for inorganic arsenic from contaminated
soil collected from agricultural areas utilizing a paper based colorimetric
sensor

หัวหน้าโครงการวิจัย

ดร. นรินทร์ ท้าวแก่นจันทร์ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้
คณะวิจัย

ผศ.ดร.ศักดิ์ชัย เสถียรพิระกุล คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ผศ.ดร. รัชดาภรณ์ ปันทะรส คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ผศ.ดร. ปฏิภาณ สุทธิกุลบุตร คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้
นายมานิชย์ ถนอมวัฒน์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ได้รับทุนวิจัยสนับสนุนจากมูลนิธิโครงการหลวง
มีนาคม 2562

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง การพัฒนาวิธีทดสอบสารหนูอินทรีย์ ที่ปนเปื้อนในดิน พื้นที่เกษตรกรรม ด้วยเซนเซอร์ตรวจวัดสีแบบกระดาษ ได้สำเร็จลุล่วงโดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยมูลนิธิโครงการหลวงประจำปีงบประมาณ 2561 ผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาวิทยาการสมุนไพร คณะผลิตกรรมเกษตร สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ความอนุเคราะห์เรื่องสถานที่ และอำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์ สารเคมีตลอดการทดลอง และโครงการหลวงแม่โถ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องการเก็บตัวอย่างดิน เพื่อใช้ในการวิจัยครั้งนี้จนทำให้งานทดลองสำเร็จอย่างสมบูรณ์

ผู้วิจัย



บทคัดย่อ

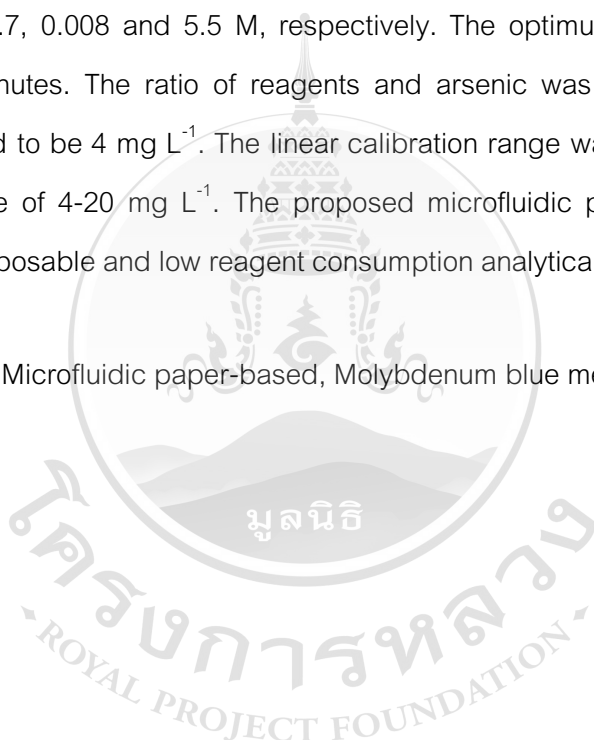
งานวิจัยชิ้นนี้ได้ทำการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาศ สำหรับการตรวจหาปริมาณสารหนู อุปกรณ์ถูกสร้างขึ้นจากการแผ่นกระดาศกรอง และทำการพิมพ์แบบสกรีนปริน เพื่อสร้างช่องในส่วนทำปฏิกิริยาด้วยสีน้ำมัน ในการตรวจวัดจะทำการตรวจวัดด้วยวิธีคลเลอริเมทรีโดยใช้สารละลายโมลิบดีนัมบลูเป็นรีเอเจนต์ โดยสีที่เกิดขึ้นจากสารประกอบอาร์ซีนีในโมลิบดีต ถูกแสดงด้วยเครื่องแสดกนเนอร์ และนำไปแปรผลต่อไป สภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัด เช่น ความเข้มข้นแอมโมเนียมโมลิบดีเตเตตระไฮเดรต กรดแอสคอร์บิค โพแทสเซียมแอนติโมนี (III) ออกไซด์ทาร์เทรต และกรดซัลฟิวริกนั้น พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.126 0.008 และ 5.5 โมลาร์ตามลำดับ ในส่วนของเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัดพบว่า ที่ 30 นาทีจะมีความเหมาะสมที่สุด นอกจากนี้อัตราส่วนในการเติมสารรีเอเจนต์และสารละลายมาตรฐานสารหนู (V) ที่เหมาะสมนั้นจะอยู่ที่อัตราส่วน 2:5 อุปกรณ์ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้จะมีค่าต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้น 4-20 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งช่วยให้อุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาศที่พัฒนาขึ้น มีราคาที่ถูก ลดปริมาณของสารเคมีและค่าใช้จ่ายที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนู

คำสำคัญ : สารหนู อุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาศ วิธีโมลิบดีนัมบลู

Abstract

This research was developed a microfluidic paper-based devices for detect an arsenic. Devices were prepared by screenprint method on chromatography paper to create hydrophilic channel using colour oil. The colorimetric analysis was performed by molybdenum blue method and the arsenomolybdate complex was observed with a digital scanner. The optimum conditions of measurement such as; concentrations of ammonium molybdate-4-hydrate, L-ascorbic acid, potassium antimony (III) oxide tartrate and sulfuric acid were 0.126, 0.7, 0.008 and 5.5 M, respectively. The optimum reaction time was observed at 30 minutes. The ratio of reagents and arsenic was 2:5 μL . The limit of detection was found to be 4 mg L^{-1} . The linear calibration range was observed over the concentration range of 4-20 mg L^{-1} . The proposed microfluidic paper-based devices create a cheap, disposable and low reagent consumption analytical technique.

Keywords: Arsenic, Microfluidic paper-based, Molybdenum blue method



สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	5
ทฤษฎีและแนวคิดที่เกี่ยวข้อง	6
กรรมวิธีทดลอง	19
ผลการวิจัย	30
สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ	50
เอกสารอ้างอิง	53



สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 ค่ามาตรฐานกำหนดปริมาณการตกค้าง (MRL) โลหะหนักในสิ่งแวดล้อม	2
ตาราง 2 วิธีการทดสอบสารหนูในตัวอย่างประเภทต่าง ๆ	10
ตาราง 3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	19
ตาราง 4 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	20
ตาราง 5 การศึกษาสภาวะความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย ที่ใช้ในการเตรียมรีเอเจนต์ผสม	26
ตาราง 6 สมการเส้นตรงของอัตราส่วนในการเตรียมรีเอเจนต์ : สารละลายมาตรฐานสารหนู (V)	33
ตาราง 7 สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ แอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรต	36
ตาราง 8 สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ กรดแอสคอร์บิก	38
ตาราง 9 สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ โพแทสเซียมแอนติโมนี (III) ออกไซด์ ทาร์เทรต	39
ตาราง 10 สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก	41
ตาราง 11 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง	42
ตาราง 12 การศึกษาการทำซ้ำ	45
ตาราง 13 การศึกษาความถูกต้อง (accuracy) ของวิธีตรวจสอบสารหนูด้วยอุปกรณ์ μ PADs	48
ตาราง 14 การเปรียบเทียบปริมาณสารหนูในตัวอย่างดินด้วยอุปกรณ์ μ PADs และเครื่อง ICP	48

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพ 1 สารประกอบของสารหนูที่พบในสิ่งแวดล้อม	7
ภาพ 2 Eh-pH diagram ของสารหนูที่อุณหภูมิ 25 °C ความดัน 1 บรรยากาศ	8
ภาพ 3 อาการเจ็บป่วยที่ได้รับสารหนู	8
ภาพ 4 ลักษณะตัวอย่างของเซนเซอร์กระดาษ	12
ภาพ 5 การออกแบบของเซนเซอร์แบบกระดาษที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ Tuberculosis	13
ภาพ 6 การออกแบบ เซนเซอร์แบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์วิตามินซี	14
ภาพ 7 การออกแบบ เซนเซอร์แบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ	14
ภาพ 8 การออกแบบ เซนเซอร์แบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์ฟอสเฟต	15
ภาพ 9 RGB color model	16
ภาพ 10 จุดเก็บตัวอย่าง จากมูลนิธิโครงการหลวง บ้านแม่โถ ตำบลแม่สลิ อำเภอฮอด จังหวัดแม่ฮ่องสอน	22
ภาพ 11 แผนผังการวิเคราะห์หาสารหนูด้วยเทคนิค μ PADs	24
ภาพ 12 วิธีการวัดค่า RGB โดยการใช้โปรแกรม Photoshop	24
ภาพ 13 การออกแบบ μ PADs	30
ภาพ 14 แผ่นจุลภาคแบบกระดาษ (μ PADs) ที่พิมพ์แอลคิลคีตีนไดเมอร์เวกซ์	31
ภาพ 15 แผ่นจุลภาคแบบกระดาษ (μ PADs) ที่พิมพ์สกรีนปริน	32
ภาพ 16 แผ่นจุลภาคแบบกระดาษ (μ PADs) ที่เลือกใช้ในการทดลอง	32
ภาพ 17 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนที่ใช้การเติมรีเอเจนต์ : สารละลายมาตรฐานสารหนู (V) กับสภาพไวของการวิเคราะห์	34
ภาพ 18 กราฟความสัมพันธ์ความเข้มข้นของแอมโมเนียมโมลิบเดตเตรไฮเดรต ใช้ในการเตรียมรีเอเจนต์ผสมกับสภาพไว	35
ภาพ 19 กราฟความสัมพันธ์ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกที่ใช้ในการเตรียม รีเอเจนต์ผสมกับสภาพไว	37
ภาพ 20 กราฟความสัมพันธ์ความเข้มข้นของโพแทสเซียมแอนติโมนี (III) ออกไซด์ ทาร์เทรตที่ใช้ในการเตรียมรีเอเจนต์ผสมกับสภาพไว	39
ภาพ 21 กราฟความสัมพันธ์ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการเตรียม รีเอเจนต์ผสมกับสภาพไว	40

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพ 22 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยากับสภาพไว	42
ภาพ 23 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายสารหนู (V) กับค่าความเข้มสี	43
ภาพ 24 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้น ของสารละลายสารหนู (V) ในช่วง 4 – 20 มิลลิกรัมต่อลิตร กับค่าความเข้มสี (Red)	43
ภาพ 25 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานสารหนู (III) กับค่าความเข้มสี (Red)	44
ภาพ 26 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่เก็บแผ่น μ PADs กับค่าความเข้มสี	46



บทที่ 1

บทนำ

การปนเปื้อนโลหะหนักในดินมักเกิดจากการใช้สารเคมีทางการเกษตร เช่น สารเคมีปราบศัตรูพืช ยาฆ่าหญ้า ยาฆ่าแมลง ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ และสารเติมแต่งดินประเภทต่างๆ อีกทั้งอาจมีการปนเปื้อนจากการปล่อยของเสียออกจากโรงงานอุตสาหกรรม หรือจากกิจกรรมเหมืองแร่ประเภทต่างๆ ในบางครั้งจึงอาจพบปัญหาในพื้นที่เกษตรกรรมจากการพัดพาตะกอนดินที่มีการปนเปื้อนของสารมลพิษ อาทิ สารเคมีทางการเกษตร ปุ๋ย หรือ โลหะหนัก การแช่ขังของน้ำในพื้นที่ต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งนาข้าวที่มีลักษณะเป็นที่ราบลุ่มต่ำและมีการแช่ขังของน้ำเป็นเวลานาน ทำยที่สุดสารมลพิษที่ติดมากับตะกอนดินจะตกตะกอนซึ่งก่อให้เกิดการปนเปื้อนในพื้นที่ และอาจเข้าสู่ระบบห่วงโซ่อาหารของมนุษย์ ซึ่งส่งผลกระทบต่อ การปนเปื้อนของโลหะหนักในอาหาร ที่เพาะปลูกในพื้นที่เกษตรกรรม ที่มีการปนเปื้อนก่อให้เกิดปัญหาด้านสุขภาพที่มีความรุนแรง และยากต่อการแก้ไข

ปัญหาการปนเปื้อนจากโลหะซึ่งเป็นธาตุในกลุ่มที่มีความถ่วงจำเพาะมากกว่า 4 ขึ้นไป และส่วนใหญ่เป็นธาตุที่อยู่ในกลุ่มโลหะทรานซิชันซึ่งเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต และเป็นสารที่คงตัว ไม่สามารถสลายตัวได้ด้วยกระบวนการทางธรรมชาติ จึงส่งผลต่อการเกษตรและสิ่งแวดล้อมอันได้แก่ ปรอท แคดเมียม ตะกั่ว และสารหนู เป็นต้น

สารหนูก็เป็นธาตุพิษอีกชนิดหนึ่งที่มีรายงานว่าพบการปนเปื้อนในประเทศไทย เช่น การปนเปื้อนของสารหนูในพื้นที่บริเวณเหมืองถ่านหินลิกไนต์ จังหวัดลำปาง มีการศึกษาพบว่าในพื้นที่เหมืองดังกล่าวมีสารหนูสะสมในตัวอย่างลิกไนต์สูงถึง 515 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สะสมในเถ้าลอยประมาณ 312 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสะสมในตะกอนตอนล่างของอ่างเก็บน้ำสูงถึง 5,213 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสะสมในบ่อน้ำเสียของเหมืองสูงประมาณ 325 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีการสะสมในดินเหนือชั้นแร่สูงถึง 889 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมซึ่งสูงกว่าระดับสารหนูในดินปกติ ที่มีค่าเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม [1] โดยในประเทศไทยได้มีการกำหนดค่ามาตรฐานกำหนดปริมาณการตกค้าง (MRL) ของโลหะหนักใน ดินและ น้ำ ดังแสดงในตาราง 1

ตาราง 1 ค่ามาตรฐานกำหนดปริมาณการตกค้าง (MRL) โลหะหนักในสิ่งแวดล้อม

สาร	ค่ามาตรฐานกำหนด (MRL)			
	ดิน* [2]	น้ำผิวดิน** [3]	น้ำใต้ดิน** [4]	น้ำ บริโภค** [5]
1. สารหนู (Arsenic)	3.9	0.01	0.01	0.05
2. แคดเมียมและสารประกอบ แคดเมียม (Cadmium and compounds)	37	0.05	0.003	0.005
3. โครเมียมชนิดเฮกซะวาเลนต์ (Hexavalent Chromium)	300	0.05	0.05	0.05
4.ปรอทและสารประกอบปรอท (Mercury and compounds)	23	0.002	0.001	0.002
5. ตะกั่ว	400	0.05	0.01	0.05

* หน่วย มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg kg^{-1})

** หน่วย มิลลิกรัมต่อลิตร (mg L^{-1})

สารหนู (arsenic) เป็นธาตุที่มีน้ำหนักโมเลกุล 74.9216 เลขอะตอมเท่ากับ 33 มีวาเลนซ์เท่ากับ 5, 3, 0 และ -3 สารหนูปกติจะมีสี่เหลี่ยมหรือสี่เหลี่ยมผืนผ้า สารหนูโดยปกติสามารถเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ได้ทางการหายใจ การดูดซึมของลำไส้ และผ่านผิวหนัง โดยอาการของการได้รับพิษขึ้นอยู่กับรูปแบบ และปริมาณของสารหนูที่ได้รับ โดยสารหนูปริมาณเพียง 130 มิลลิกรัม จะทำให้ลำไส้และตับถูกทำลาย การทำงานของระบบหัวใจผิดปกติและเสียชีวิตได้ ส่วนความเป็นพิษสารหนูแบบเรื้อรัง จะมีผลต่อดับ และไต ข้อมูลที่ได้จากสัตว์ทดลองแสดงให้เห็นว่าสารหนูวาเลนซ์ 3 มีพิษมากกว่าสารหนูวาเลนซ์ 5 และสารหนูในรูปของสารละลายจะมีพิษมากกว่าสารหนูที่ไม่ละลาย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารหนูในสารละลายถูกดูดซึมได้ดีกว่า อย่างไรก็ตาม ร่างกายสามารถขับสารหนูออกได้เองในเวลา 2-3 วัน เมื่อได้รับสารหนูปริมาณไม่มากนัก ปริมาณของสารหนูในร่างกายสามารถตรวจพบได้จากปริมาณของสารหนูที่พบได้ในเส้นผมและขน หากได้รับสารหนูเป็นเวลานาน อาการจะแสดงออกทางผิวหนัง จะเริ่มตั้งแต่เกิดอาการระคายเคือง กลายเป็นด้านหน้าผิวหนัง เม็ดสีที่ผิวเป็นสีดำเข้ม อาจพบเป็นรอยตกกระตามร่างกาย หรือที่ฝ่ามือจะเป็นจุดสีขาว ส่วนฝ่าเท้าจะเกิดจุดสีดำใหญ่เห็นได้ชัดเจนทั้งสองฝ่าเท้า จนกระทั่งถึงกลายเป็นมะเร็งที่ผิวหนังได้

สำหรับในประเทศไทย ได้มีรายงานการพบสารหนูในบ่อน้ำใช้บริโภค บริเวณอำเภออ่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช ในปี พ.ศ. 2530 และอำเภอบ้านนังสตาร์ จังหวัดยะลา สารหนูที่พบเป็นสารหนูที่ปนเปื้อนในดิน มีปริมาณตั้งแต่ 21-16,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม [6] สารหนูที่พบในอำเภออ่อนพิบูลย์ส่วนใหญ่อยู่ร่วมกับสายแร่ดีบุก โดยสารหนูจะอยู่ในรูปของ arsenopyrite (FeAsS) หรือในรูปอื่นที่มีซัลไฟด์เป็นองค์ประกอบ การแพร่กระจายของสารหนูในพื้นที่เกิดจากกิจกรรมการทำเหมืองแร่ดีบุก ทำให้สารหนูในรูปอาร์ซีนีไฟไรต์ ที่ปนอยู่กับสายแร่ถูกขุดออกมาด้วย ในกระบวนการแยกแร่ดีบุก อาร์ซีนีไฟไรต์ถูกแยกออกมากับหางแร่และทิ้งไว้ ทำให้เกิดการออกซิเดชันกับอากาศ และน้ำทำให้สารหนูที่อยู่ในแร่ แพร่กระจายออกมาสู่แหล่งน้ำ บริเวณที่จัดว่าอยู่ในกลุ่มความเสี่ยง ได้แก่ เหมืองแร่ถ่านหิน ดีบุก ทองคำ ตะกั่วและเงิน ที่เปิดทำเหมือง และไม่ได้มีการจัดการเหมืองแร่ที่ดี ไม่มีการจัดเก็บกากแร่ มีการปล่อยทิ้งไว้ให้สัมผัสกับน้ำ และอากาศ ซึ่งเร่งให้เกิดการสลายตัวของแร่ที่มีสารหนู และแพร่กระจายไปตามแหล่งน้ำต่างๆ ในปัจจุบันพบว่าตามแหล่งพื้นที่เกษตรกรรม มีการตรวจพบการปนเปื้อนสารหนูเพิ่มมากขึ้น อาจเป็นเพราะมีการใช้ยาฆ่าแมลง และยาปราบศัตรูพืชเพิ่มมากขึ้น หรือการใช้สารปรับปรุงดินบางชนิด ดังเช่นในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง และน่าน เป็นต้น

ด้วยเหตุนี้ในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมาจึงทำให้นักวิทยาศาสตร์คิดค้นวิธีการตรวจวิเคราะห์สารหนูที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม ในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ เช่นการทดสอบโดยใช้เทคนิค UV-Visible spectroscopy (UV-VIS) [7], Atomic Absorption spectrometry (AAS) [8] Hydride generation atomic fluorescence Spectrometry (HGAFS) [9], Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) [10] และ Inductively couple plasma mass spectrometry (ICP-MS) [11] เป็นต้น เนื่องจากเทคนิค UV-Visible spectroscopy เป็นเทคนิคที่ใช้เครื่องมือไม่แพง ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์แต่ละครั้งจะไม่ค่อยสูงมากเท่าไรนัก เมื่อเทียบกับเทคนิคชนิดอื่นๆ แต่ก็มีข้อเสียจะมีอยู่บ้างเช่น ไม่สามารถทำการแยกวิเคราะห์สารหนูที่อยู่ในรูปของวาเลนซีได้ ได้เมื่อเทียบกับเครื่องมือ HPLC-ICP-MS และค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Detection limit, LOD) ยังคงค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับเทคนิคอื่นๆ เช่นกัน เนื่องจากวิธีการทดสอบดังกล่าวต้องให้เครื่องมืออุปกรณ์ที่มีราคาแพง ระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจสอบนาน รวมถึงปริมาณสารเคมีที่ใช้มีปริมาณมาก และต้องใช้นักเคมีที่มีความชำนาญในการตรวจสอบ จึงทำให้ต้นทุนที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์มีราคาที่แพง และต้องทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเท่านั้น จึงทำให้การทดสอบแต่ละครั้งเสียค่าใช้จ่ายที่แพง ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จึงได้มีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ทางเคมีที่สะอาด (green analytical chemistry) หรือพัฒนาเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีราคาถูก ลด

ระยะเวลาในตรวจ ลดการใช้สารตัวอย่างและสารเคมีในปริมาณน้อย หรือสามารถใช้แล้วทิ้งเพื่อลดความยุ่งยากและค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ตัวอย่าง และสามารถพกพาได้เป็นต้น

ในปัจจุบันนักวิจัยมีความพยายามในการพัฒนา และสร้างอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัดให้เป็นอุปกรณ์วิเคราะห์แบบพกพาที่มีราคาไม่แพง จากวัสดุราคาถูกสามารถใช้แล้วทิ้งได้ เช่น กระดาษ ซึ่งเมื่อนำมาประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมกับเครื่องตรวจวัดที่มีสภาพไวสูง และมีความจำเพาะเจาะจงสูง อย่างเช่นการตรวจวัดด้วยสี (colorimetric analysis) [12-13] ตรวจวัดด้วยเคมีไฟฟ้า (electrochemical analysis) [14] การตรวจวัดการเรืองแสงด้วยปฏิกิริยาเคมี หรือการเหนี่ยวนำโดยอาศัยปฏิกิริยาทางไฟฟ้าเคมี ให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถตรวจวัดด้วยวิธีทางโฟโตเคมีลูมิเนสเซนซ์ (photo-chemiluminescence) [15-16] จะสามารถช่วยให้การวิเคราะห์ทดสอบทำได้มีประสิทธิภาพและรวดเร็ว มีสภาพไวของการวิเคราะห์สูง และมีขีดจำกัดของการตรวจวิเคราะห์ในระดับความเข้มข้นต่ำๆ ได้ดี จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้นจึงทำให้การประยุกต์ใช้ระบบปฏิบัติการขนาดเล็ก ได้รับความนิยมนอย่างสูงในวงการนักวิทยาศาสตร์ที่มีแนวทางการวิจัยพัฒนาเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีขนาดกะทัดรัด และมีราคาไม่สูงมากนัก

ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้ สนใจที่จะทำการพัฒนาการวิเคราะห์ด้วยเซนเซอร์ตรวจวัดสีด้วยกระดาษที่มีขนาดเล็ก ราคาถูกและสามารถใช้แล้วทิ้งได้ [17] จากการใช้วัสดุราคาถูกเช่นกระดาษกรอง เพื่อใช้เป็นการตรวจสอบหาอนุอินทรีย์แบบเบื้องต้น (screen test) หรือตรวจหาปริมาณสารอนุอินทรีย์ ที่อยู่ในรูปวเลนซี 3 และ 5 ร่วมด้วยการตรวจวัดสีที่เกิดจากปฏิกิริยาเคมีของสารหนูกับสารรีเอเจนต์ โดยใช้เครื่องสแกนภาพ และวัดค่าสีโดยใช้โปรแกรม Adobe Photoshop ทำให้สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารหนูที่ปนเปื้อนในดิน ในพื้นที่เกษตรกรรม โดยกระบวนการวิเคราะห์จะอาศัยการเปลี่ยนแปรสีโดยปฏิกิริยาเคมีที่เหมาะสม แล้ววัดค่าสัญญาณสีโดยใช้โปรแกรม Adobe Photoshop ซึ่งเป็นเครื่องมือง่ายๆ คาดว่าจะทำให้ลดการใช้อุปกรณ์ที่มีความจำเพาะ และมีราคาสูงที่ต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ รวมทั้งช่วยลดขั้นตอนของการวิเคราะห์ให้น้อยลง และสามารถพัฒนาต่อยอดสำหรับใช้เป็นอุปกรณ์ต้นแบบสำหรับงานตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารอนุอินทรีย์ที่ปนเปื้อนในดิน ในพื้นที่เกษตรกรรม ในภาคสนามต่อไป คาดว่าชุดตรวจที่พัฒนาขึ้นมา สามารถวิเคราะห์ปริมาณสารอนุอินทรีย์ได้ภายในขอบเขตของค่ามาตรฐานของสำนักงานอาหารและยาหรือองค์การอนามัยโลก เป็นที่ยอมรับในระดับมาตรฐานสากลได้

1.1 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สารหนูอินทรีย์ แบบเบื้องต้น (screen test) หรือวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูอินทรีย์ที่อยู่ในรูปวาเลนซี 3 และ 5 ในดินที่ปนเปื้อนบนพื้นที่เกษตรกรรม จากวัสดุราคาถูกสามารถใช้แล้วทิ้งได้เลยเช่นกระดาษกรอง โดยใช้การตรวจวัดสี (colorimetry) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาทางเคมี แล้วตรวจวัดค่าสีที่ได้จากภาพถ่ายโดยเครื่องสแกนภาพ

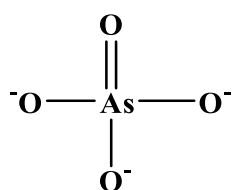


บทที่ 2

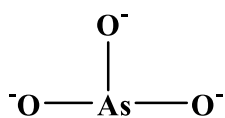
ทฤษฎีและแนวคิดที่เกี่ยวข้อง

การปนเปื้อนของสารหนูในสิ่งแวดล้อมเป็นปัญหาที่พบในหลายประเทศ เช่น แอฟริกา อาร์เจนตินา อินเดีย ซิลี โปแลนด์ บังคลาเทศ เนปาล จีน ญี่ปุ่น ไต้หวัน เวียดนาม รวมถึงในประเทศไทยด้วยเช่นกัน [18-23] ทำให้ประชาชนที่อาศัยอยู่ในบริเวณนั้นมีอาการทางผิวหนัง ผิวดำคล้ำ เป็นผื่นแดงและคัน เม็ดสีที่ผิวเป็นสีดำ จนอาจกลายเป็นมะเร็งผิวหนัง ซึ่งสารหนูมักมาจากการถลุงแร่ โดยเฉพาะเหมืองแร่ทองคำ เนื่องจากสายแร่ทองคำส่วนใหญ่มีสารหนูในรูปของแร่อาร์ซิโนไฟไรต์ เป็นส่วนประกอบถึง 46% [24] ทำให้สารหนูที่พบตกค้างในประเทศไทยมีสาเหตุสำคัญมาจากกองหางแร่จากเหมืองที่มีการชะล้างแพร่กระจายปนเปื้อนออกมาสู่ดิน และน้ำใต้ดิน [5] เช่น ในเขตพื้นที่ ต.ร่อนพิบูลย์ อ.ร่อนพิบูลย์ จ.นครศรีธรรมราช ที่ทำเหมืองแร่ดีบุก และเหมืองแร่ทองคำในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น อ.วังสะพุง จ.เลย จากการวิเคราะห์ตัวอย่างดินของศูนย์วิจัยน้ำบาดาล [25] บริเวณรอบพื้นที่โครงการแหล่งแร่ทองคำ พบว่าดินบริเวณดังกล่าวมีปริมาณสารหนูเกินมาตรฐานของสารหนูที่อนุญาตให้มีได้ในพื้นที่เกษตรกรรมที่กฎหมายไทยระบุไว้ คือ 3.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม [26]

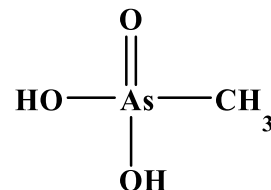
สารหนูที่พบมีอยู่ 2 รูปแบบ คือ สารหนูอินทรีย์ (Organic) และสารหนูอนินทรีย์ (Inorganic) ดังแสดงในภาพ 1 ซึ่งสารหนูในรูปแบบที่เป็นพิษมากที่สุดคือ สารหนูอนินทรีย์ ในธรรมชาติส่วนใหญ่สารหนูจะอยู่ในรูปของ As^{3+} และ As^{5+} โดยในสภาวะที่มีออกซิเจนสารหนูจะอยู่ในรูป As^{5+} ส่วนสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนสารหนูจะอยู่ในรูป As^{3+} สารประกอบของสารหนูสามารถละลายน้ำได้ดีที่มีค่า pH ต่ำ และตกตะกอนในช่วงที่มีค่า pH สูงขึ้น ซึ่งสารหนูจะอยู่ในรูปสารประกอบใดขึ้นอยู่กับค่า pH และค่า Eh ดังแสดงในภาพ 2 การเกิดปฏิกิริยาการตกตะกอนหรือการดูดซับของสารหนูภายใต้สภาวะของค่า pH และค่า Eh เป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมการเปลี่ยนแปลงทำให้สารหนูอยู่ในรูปแบบสารประกอบต่าง ๆ โดยในสภาวะที่มีค่า Eh สูง เป็นสภาวะที่มีออกซิเจนจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน สารหนู As^{5+} จะอยู่ในรูปของสารประกอบ H_3AsO_4 , $H_2AsO_4^-$, $HAso_4^{2-}$ และ AsO_4^{3-} ในน้ำที่ไม่มีออกซิเจนสารหนูจะเกิดปฏิกิริยารีดักชันพบอยู่ในรูปของสารประกอบ H_3AsO_3 , $H_2AsO_3^-$ และ $HAso_3^{2-}$ ภายใต้สภาวะค่า pH อยู่ในช่วง 4.0 – 8.5 และค่า Eh อยู่ในช่วง 0.5-0.75 โวลต์ สารหนูจะอยู่ในรูป H_3AsO_4 , $H_2AsO_4^-$, $HAso_4^{2-}$ และ AsO_4^{3-} .



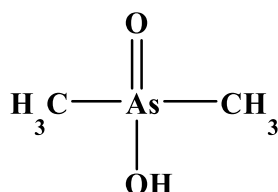
arsenate



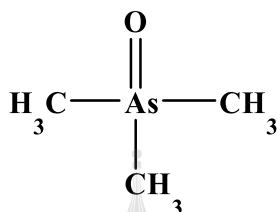
arsenitemethyl



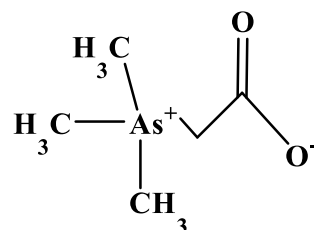
arsonic acid



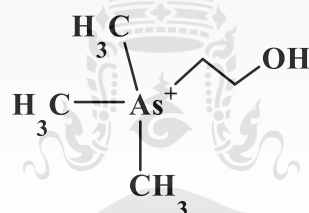
dimethylarsinic acid (DMA)



trimethylarsine oxide



arsenobetaine



arsenocholine

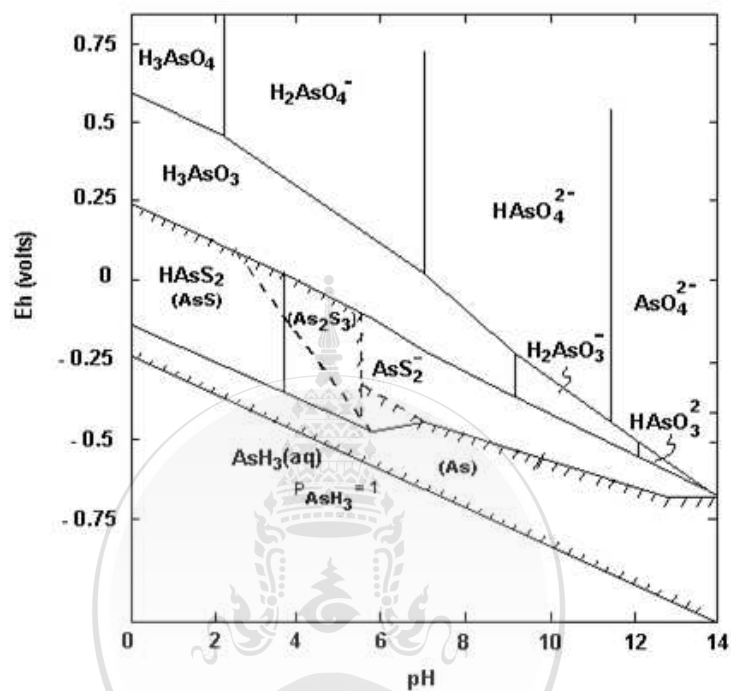
มูลนิธิ

ภาพ 1 สารประกอบของสารหนูที่พบในสิ่งแวดล้อม

2.1 ความเป็นพิษของสารหนู (Arsenic toxicity)

สหภาพยุโรปหรือ European Union ได้จัดสารหนูและสารประกอบของสารหนู เป็นสารพิษและสารที่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมภายใต้ข้อบังคับที่ 67/548/EEC ส่วน International Agency for Research on Cancer (IARC) ได้จัดสารหนูและสารประกอบของสารหนูอยู่ในกลุ่ม 1 สารก่อมะเร็ง ซึ่งได้แก่ arsenic trioxide, arsenic pentoxide และ arsenate salts [27] สำหรับ LD50 ของสารหนูเท่ากับ 145 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (โดยการกลืนกินในหนูทดลอง) [28] สารหนูสามารถเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ได้ทางการหายใจ การดูดซึมของลำไส้ และผ่านผิวหนัง ความเป็นพิษของสารหนูแบบรุนแรงเกิดขึ้นได้โดยการดูดซึมผ่านลำไส้ โดยจะมีอาการอย่างไร ขึ้นอยู่กับรูปแบบและปริมาณของสารหนูที่ร่างกายได้รับ สารหนูในระดับปริมาณเพียง 130 มิลลิกรัม จะทำให้ลำไส้และตับถูกทำลาย การทำงานของระบบ หัวใจผิดปกติและเสียชีวิตได้ ส่วนความเป็นพิษสารหนูแบบเรื้อรัง พบว่าเมื่อได้รับสารหนู ปริมาณ 1.4 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลาสามสัปดาห์ จะมีผลต่อ

ดับและได้ ข้อมูลที่ได้จากสัตว์ทดลองแสดงให้เห็นว่า สารหนูวาเลนซี 3 มีพิษมากกว่าสารหนูวาเลนซี 5 และสารหนูในรูปของสารละลายจะมีพิษมากกว่าสารหนูที่ไม่ละลาย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารหนูในสารละลายถูกดูดซึมได้ดีกว่า



ภาพ 2 Eh-pH diagram ของสารหนูที่อุณหภูมิ 25 °C ความดัน 1 บรรยากาศ

มูลนิธิ



Arsenic lesions on feet



Keratosis on hand

ภาพ 3 อาการเจ็บป่วยที่ได้รับสารหนู [29]

2.2 วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนู

ได้มีงานวิจัยหลายงานที่ได้ทำการวิเคราะห์สารหนูในตัวอย่างต่าง ๆ หลายชนิด เช่น ดิน น้ำ น้ำเสีย น้ำผลไม้ เป็นต้น โดยใช้เครื่องมือต่างๆ ได้แก่ Spectrophotometer [7], atomic absorption spectrometry (AAS) [30-32], atomic fluorescence spectrometry (AFS) [33-34], inductively coupled plasma - optical emission spectrometry (ICP-OES) [35], inductively coupled plasma - atomic fluorescence spectrometry (ICP-AFS) [36-37], inductively coupled plasma - mass spectrometry (ICP-MS) [38-39] หรือ voltammetry [40] เป็นต้น โดยวิธีที่มีการใช้ในการทดสอบได้สรุปไว้ในตารางที่ 2

เนื่องจากเทคนิค UV-Visible spectroscopy เป็นเทคนิคที่ใช้เครื่องมือไม่แพง ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์แต่ละครั้งจะไม่ค่อยสูงมากเท่าไรนัก เมื่อเทียบกับเทคนิคชนิดอื่น ๆ แต่ก็ยังมีข้อเสียคือ ไม่สามารถทำการแยกวิเคราะห์สารหนูที่อยู่ในรูปของวาเลนซีได้ ได้เมื่อเทียบกับเครื่องมือ HPLC-ICP-MS และค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Detection limit, LOD) ยังค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับเทคนิคอื่น ๆ เช่นกัน วิธีการทดสอบดังกล่าวต้องให้เครื่องมืออุปกรณ์ที่มีราคาแพง ระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจสอบนาน รวมถึงปริมาณสารเคมีที่ใช้มีปริมาณมาก และต้องใช้บุคลากรที่มีความชำนาญในการตรวจสอบ จึงทำให้ต้นทุนที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์มีราคาแพง และต้องทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเท่านั้น จึงทำให้การทดสอบแต่ละครั้งเสียค่าใช้จ่ายที่แพง ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จึงได้มีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ทางเคมีที่สะอาด (green analytical chemistry) หรือพัฒนาเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีราคาถูก ลดระยะเวลาในการตรวจ ลดการใช้สารตัวอย่าง และสารเคมีในปริมาณน้อย หรือสามารถใช้แล้วทิ้งเพื่อลดความยุ่งยากและค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ตัวอย่าง และสามารถพกพาได้ เป็นต้น

ตาราง 2 วิธีการทดสอบสารหนูในตัวอย่างประเภทต่าง ๆ

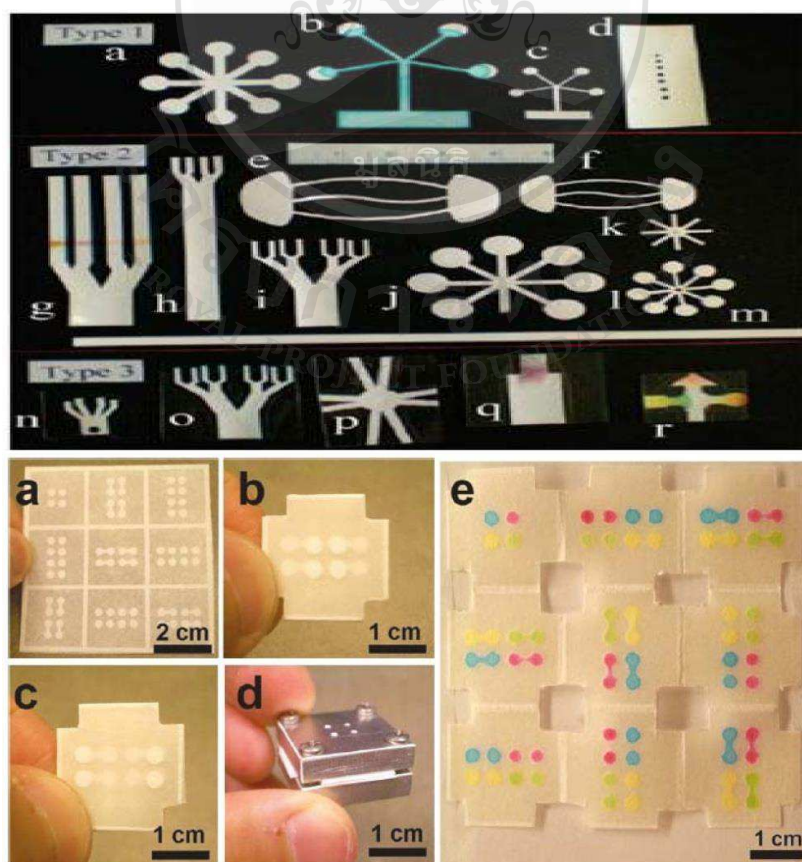
No.	Detection method	Species	Samples	Detection limit	Preconcentration/separation	Reference
1.	Spectrophotometer	As(III), As(V)	Water	-	-	[7]
2.	AAS-VGA	total arsenic	Tab water	-	-	[30]
3.	AAS-HG	total arsenic	Phosphate fertilizer	0.1 µg L ⁻¹	-	[32]
4.	AAS	total arsenic	Beer	1.6 µg L ⁻¹	-	[31]
5.	AFS-IC-HG	As(III)	Sulfide water	1-3 µg L ⁻¹	IonPac AS16 4×250mm	[34]
		As(V)				
6.	AFS	As(III)	Soil	0.006 µg g ⁻¹	-	[33]
		As(V)				
7.	Anodic Stripping Voltammetry	As(V)	Industrial waste	1.1 µg L ⁻¹	-	[40]
8.	ICP-OES-HG	As(III)	Fruit juice	0.66 µg L ⁻¹	-	[35]
		As(V)		0.65 µg L ⁻¹		
9.	ICP-AES-HG	As(III)	Water	0.70 µg L ⁻¹	-	[36]
10.	ICP-AES-HG	As(III)	herbicide, pesticide,	-	yeast-immobilized column	[37]
		As(V)	and cigarette	-		

ตารางที่ 2 (ต่อ)

No.	Detection method	Species	Samples	Detection limit	Preconcentration/separation	Reference
11	HPLC-IC-MS	As(III)	white wine	0.10 $\mu\text{g L}^{-1}$	Anion exchange: Hamilton PRP-X100	[39]
		As(V)		0.21 $\mu\text{g L}^{-1}$	(250 mm $\times$ 4.1, 10 μm)	
		DMA		0.12 $\mu\text{g L}^{-1}$		
		MMA		0.15 $\mu\text{g L}^{-1}$		
12	HPLC-IC-MS	As(III)	drinking water	0.03 $\mu\text{g L}^{-1}$	Anion exchange: Hamilton PRP-X100	[38]
		As(V)		0.06 $\mu\text{g L}^{-1}$	(250 mm $\times$ 4.1, 10 μm)	
		DMA		0.03 $\mu\text{g L}^{-1}$		
		MMA		0.06 $\mu\text{g L}^{-1}$		

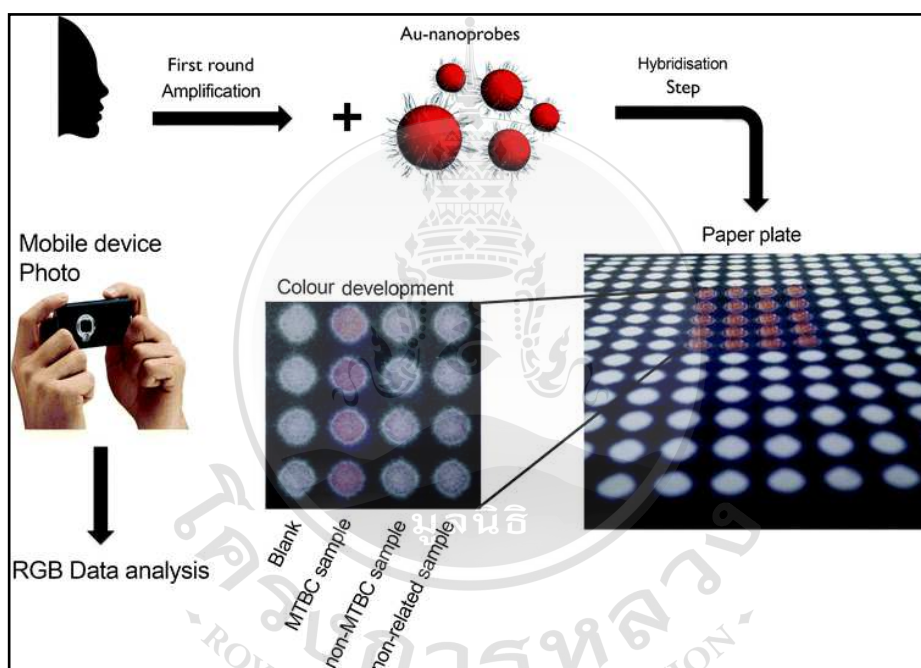


ดังนั้นในการวิจัยนี้จะพัฒนาเซนเซอร์ตรวจวัดสีด้วยกระดาษ เพื่อการตรวจเบื้องต้น (screen test) สารหนูอนินทรีย์ หรือวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูอนินทรีย์ ที่อยู่ในรูปวาเลนซ์ 3 และ 5 ในดินที่ปนเปื้อนบนพื้นที่เกษตรกรรม โดยใช้กระบวนการเปลี่ยนแปลงสี (colorimetry) ของสารหนูอนินทรีย์ ร่วมกับการตรวจวัดสีโดยใช้เครื่องสแกนภาพ และโปรแกรม Adobe Photoshop โดยทำการศึกษาในตัวอย่างดิน ที่พบการปนเปื้อนสารหนู จากแหล่งเกษตรกรรม ของพื้นที่โครงการหลวง ในจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งเซนเซอร์ตรวจวัดสีด้วยกระดาษที่พัฒนาขึ้น จะเป็นระบบปฏิบัติการขนาดเล็กที่ผลิตจากกระดาษ เพื่อให้สามารถใช้ในการตรวจวัดได้ง่าย รวดเร็ว และประหยัด สารเคมีที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา และสามารถใช้แล้วทิ้งได้ ซึ่งปัจจุบันพบว่าการใช้งานแพร่หลายขึ้นอย่างมาก เนื่องจากเซลล์ลูโลสไฟเบอร์ในกระดาษ ทำหน้าที่เป็นช่องทางในการไหลของสารละลายที่มีตัวทำละลายเป็นน้ำ (hydrophilic pathway) โดยอาศัยแรงตึงผิวในการขับเคลื่อนสารละลาย การออกแบบและผลิตช่องทางเดิน (channel) สำหรับการออกแบบและสร้างเซนเซอร์แบบกระดาษสามารถสร้างได้หลายเทคนิค ได้แก่ เทคนิค photolithography [41-42] inject printing [43] plasma treatment [44-45] paper cutting [46-47] และ wax printing [48-49] เป็นต้น ลักษณะตัวอย่างของเซนเซอร์กระดาษมีได้หลายรูปแบบดังแสดงในภาพ 4



ภาพ 4 ลักษณะตัวอย่างของเซนเซอร์กระดาษ[50-51]

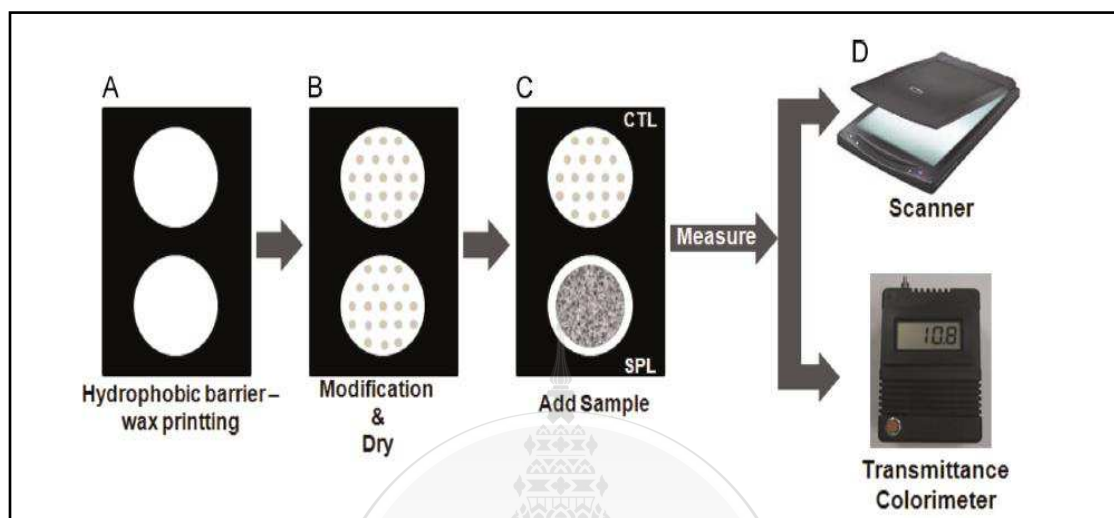
โดยงานวิจัยนี้ สนใจจะใช้เทคนิคการพิมพ์อย่างง่าย โดยใช้เครื่องพิมพ์อิงค์เจ็ต โดยอาศัยหมึกพิมพ์ที่ทำจากวัสดุที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic material) มาทำการพิมพ์บนกระดาษกรองโดยใช้หลอดลายที่ออกแบบด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ทั่วไป เช่นงานวิจัยของ Nie และคณะ [52] ที่ใช้หมึกพิมพ์ชนิดที่เป็น wax มาพิมพ์บนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อใช้เป็นช่องทางสำหรับการวิเคราะห์ กลูโคส และงานวิจัยของ Veigas และคณะ [53] ใช้ wax มาพิมพ์บนกระดาษ รวมด้วยทองคำนาโน เมื่อสาร Tuberculosis (TB) ทำปฏิกิริยากับทองคำนาโนที่เติมลงไปบนจุดที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาก็จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีขึ้นทำให้สามารถตรวจสอบหาสาร Tuberculosis (TB) ได้ ดังแสดงในภาพ 5



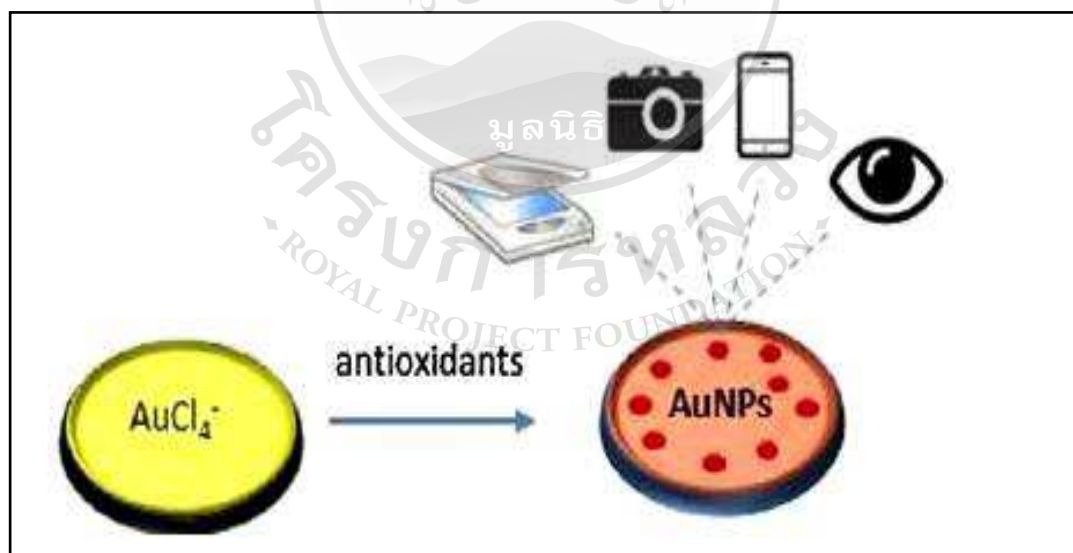
ภาพ 5 การออกแบบของเซนเซอร์แบบกระดาษที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ Tuberculosis[53]

จากงานวิจัยของ Ferreira และคณะ [54]. ใช้หมึกพิมพ์ชนิดที่เป็น wax มาพิมพ์บนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 รวมด้วยเงินนาโน เมื่อวิตามินในตัวอย่างทำปฏิกิริยากับทองคำนาโนที่เติมลงไปบนจุดที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาก็จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีขึ้น นำค่าที่ได้ไปอ่านค่าสีที่เปลี่ยนแปลงด้วยเครื่องสแกนเนอร์ ก็จะทำให้สามารถตรวจสอบหาปริมาณวิตามินซีได้ดังแสดงในรูป 6 เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Choleva และคณะ [55] ได้ทำการวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระ โดยทำการหยดทองคำนาโนลงบนจุดที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาที่ผ่านการพิมพ์ด้วย wax บนกระดาษกรอง หลังจากนั้นเมื่อสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างถูกหยดลงไปก็จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสี นำค่าที่ได้

ไปอ่านค่าสีที่เปลี่ยนแปลงด้วยเครื่องสแกนเนอร์ ก็จะทำให้สามารถตรวจสอบหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างได้ดังแสดงในภาพ 7

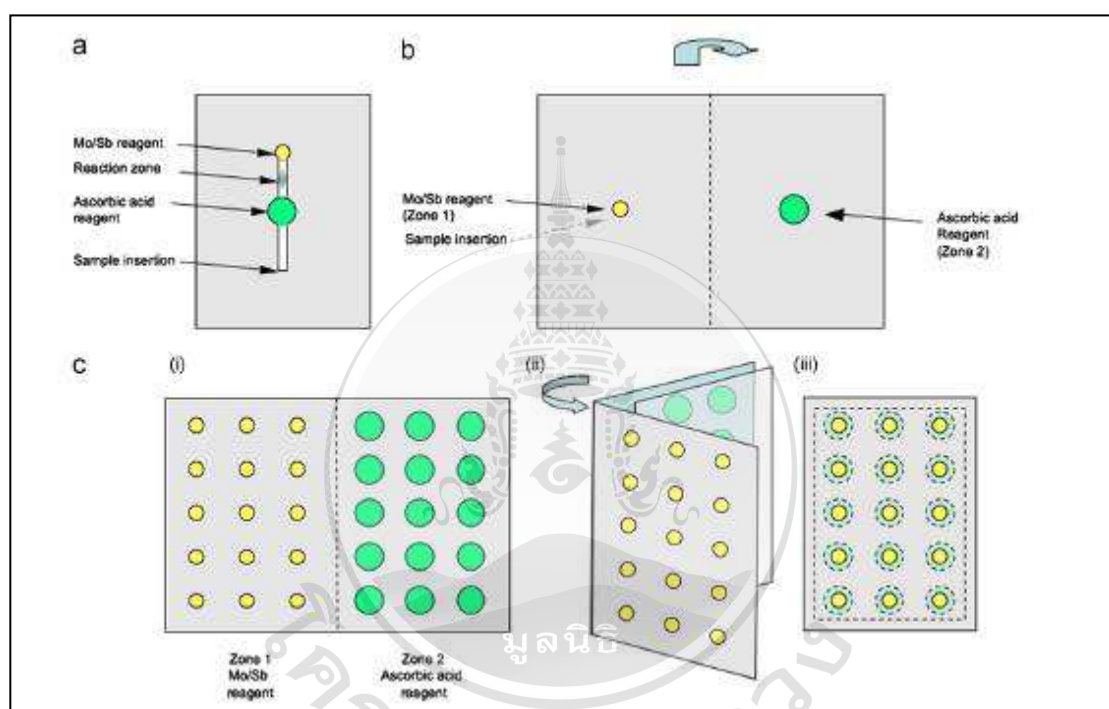


ภาพ 6 การออกแบบ เซนเซอร์แบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์วิตามินซี [54]



ภาพ 7 การออกแบบ เซนเซอร์แบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ[55]

Jayawardan และคณะ [56] ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตในตัวอย่างน้ำผิวดิน และตะกอนผิวน้ำ โดยใช้เซนเซอร์ตรวจวัดสีด้วยกระดาษที่ได้ทำการพัฒนาขึ้นมา ดังแสดงในรูปที่ 8 เมื่อฟอสเฟตในตัวอย่างทำปฏิกิริยากับ molybdate/antimonyl tartrate ที่เติมลงไปบนจุดที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาก็จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีขึ้น นำค่าที่ได้ไปอ่านค่าสีที่เปลี่ยนแปลงด้วยเครื่องสแกนเนอร์ ก็จะทำให้สามารถตรวจสอบหาปริมาณสารฟอสเฟตได้



ภาพ 8 การออกแบบ เซนเซอร์แบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์ฟอสเฟต[56]

เนื่องจากการการเกิดเปลี่ยนแปลงสีของปฏิกิริยาทางเคมีของสารหนูอนินทรีย์กับสารรีเอเจนต์บางชนิด จะอาศัยปฏิกิริยาเคมีที่มีความจำเพาะของรีเอเจนต์กับสารหนูอนินทรีย์ ในสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงสีเกิดขึ้น และปฏิกิริยาดังกล่าวเกิดขึ้นบนเซลล์ลูโลสไฟเบอร์ในกระดาษ ทำหน้าที่เป็นช่องทางในการไหลของสารละลาย และสามารถตรวจวัดด้วยเครื่องมืออย่างง่าย ๆ เช่นสังเกตด้วยการเปลี่ยนแปลงสี (screen test) หรือสามารถตรวจหาปริมาณโดยใช้เครื่องสแกนภาพ หลังจากนั้นจึงนำข้อมูลภาพถ่ายที่ได้มาแปลผลโดยดูจากปริมาณค่าสีจากภาพถ่ายที่ได้ ด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop และเมื่อทำการอ่านค่าสีที่เกิดขึ้นเทียบกับสารมาตรฐาน จะทำให้การวิเคราะห์ทดสอบทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวดเร็ว และมีค่าใช้จ่ายที่ต่ำลง

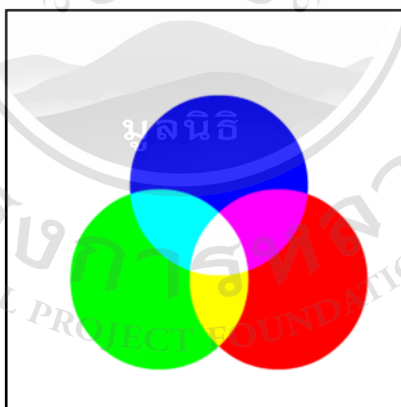
2.3 การตรวจพิสูจน์ค่า RGB

RGB [57-58] เป็นวิธีการตรวจวัดโดยการเปรียบเทียบสี (Colorimetric detection) ได้ถูกอ้างอิงจากแม่สีแสงดวงอาทิตย์ ค้นพบโดย เซอร์ ไอแซค นิวตัน (ทฤษฎีของแสงในอากาศ) เป็นระบบสีที่ประกอบด้วยแม่สี 3 สี คือ สีแดง (Red) เขียว (Green) และน้ำเงิน (Blue) ในสัดส่วนความเข้มชั้นที่แตกต่างกัน โดย RGB จะใช้ค่าความเข้มชั้นของแม่สีทั้ง 3 มาผสมกัน ซึ่งสีหนึ่งๆจะมีค่า 255 ระดับ (ตั้งแต่ 0-255) ดังนั้นเมื่อนำมาผสมด้วยสัดส่วนต่างๆกันก็จะให้จำนวนสีได้ทั้งหมดประมาณ 16.7 ล้านสี ($255 \times 255 \times 255$) ซึ่งให้สีเดียวกับสีที่ตาเรามองเห็นได้โดยปกติ และจุดที่สีทั้งสามรวมกันจะกลายเป็นสีขาว นิยมเรียกการผสมสีแบบนี้ว่าแบบ “Additive” หรือการผสมสีแบบบวก ซึ่งเป็นการผสมสีชั้นที่ 1 หรือถ้านำเอา Red Green Blue มาผสมครั้งละ 2 สี ก็จะทำให้เกิดสีใหม่ คือ

Blue + Green = Cyan

Blue + Red = Magenta

Red + Green = Yellow



ภาพ 9 RGB color model

ระบบสี RGB เป็นระบบสีของแสง ซึ่งเกิดจากการหักเหของแสงผ่านแท่งแก้วปริซึม จะเกิดแถบสีที่เรียกว่า แสงขาว (Spectrum) ซึ่งแยกสีตามการมองเห็นได้ 7 สี คือ แดง แสด เหลือง เขียว น้ำเงิน คราม และม่วง ซึ่งเป็นพลังงานอยู่ในรูปของรังสี ที่มีช่วงคลื่นที่สายตามองเห็นได้ แสงสีม่วงมีความถี่คลื่นสูงที่สุด คลื่นแสงที่มีความถี่สูงกว่าแสงสีม่วง เรียกว่า อัลตราไวโอเล็ต (Ultra violet) และคลื่นแสงสีแดงมีความถี่คลื่นต่ำที่สุด คลื่นแสงที่ต่ำกว่าคลื่นแสงสีแดงเรียกว่า อินฟราเรด

(Infrared) คลื่นแสงที่มีความถี่สูงกว่าสีม่วงและสีแดงนั้น สายตามนุษย์ไม่สามารถรับได้ สีทั้งหมดเกิดจากแสงสีทั้ง 3 สี คือ สีแดง สีนํ้าเงิน และสีเขียว ทั้ง 3 สีถือว่าเป็นแม่สีของแสง ถ้าฉายแสงสีทั้งหมดรวมกันจะได้แสงสีขาว จากคุณสมบัติของแสงนี้ได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ทั่วไป เช่น ใช้ในการฉายภาพยนตร์ บันทึกภาพวิดีโอภาพโทรทัศน์ สร้างภาพเพื่อนำเสนอทางจอคอมพิวเตอร์ และการจัดแสงสีในการแสดง เป็นต้น

ในงานวิจัยจะใช้ค่า RGB ในการวัดสีในตัวอย่าง เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์หาตัวอย่างที่สนใจ ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การสแกน การถ่ายภาพจากโทรศัพท์มือถือ และใช้กล้องถ่ายรูป เป็นต้น โดยในงานวิจัยนี้จะเลือกใช้วิธีการสแกนด้วยเครื่องดิจิทัล สแกนเนอร์ ที่ใช้ในสำนักงานทั่วไป

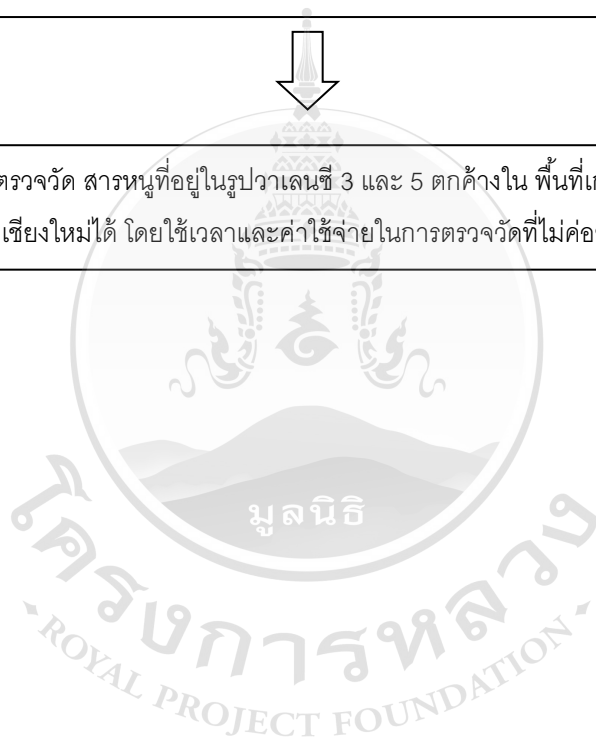
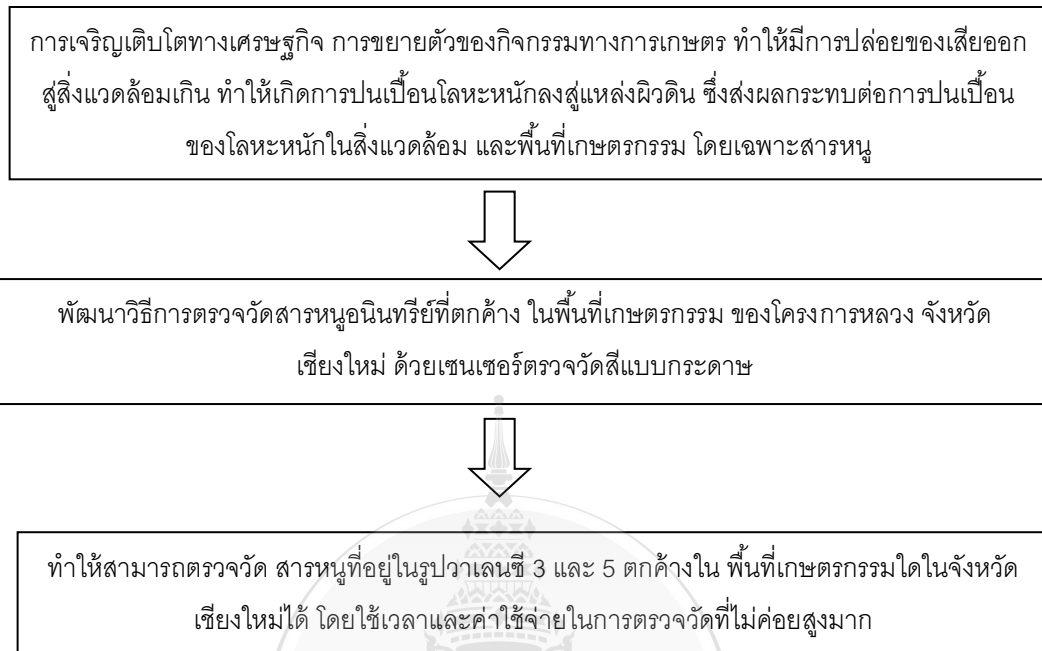
ดังนั้นหากนำเซนเซอร์ตรวจวัดสีด้วยกระดาษที่พัฒนาขึ้นมาตรวจวิเคราะห์สารหนูอนินทรีย์จะทำให้กระบวนการตรวจวัดสารหนูอนินทรีย์ที่พัฒนาขึ้นมาได้ เป็นวิธีที่ใช้สารเคมีน้อย ราคาไม่สูง และใช้เวลาวิเคราะห์ที่สั้น คาดว่าจะช่วยทำให้เกิดผลดีต่อห้องปฏิบัติการที่เฝ้าระวังตรวจสอบคุณภาพของดินได้เป็นอย่างมาก เนื่องจากสามารถวิเคราะห์หาปริมาณสารสารหนูอนินทรีย์ได้รวมทั้งช่วยประหยัดทั้งเวลาและค่าใช้จ่ายที่ใช้ในการวิเคราะห์ และมีความรวดเร็ว สามารถวิเคราะห์ได้หลาย ๆ ตัวอย่างในเวลาเพียงอันสั้น ซึ่งอาจนำไปสู่การสร้างเครื่องมือตรวจวัดภาคสนามที่มีความเหมาะสมสำหรับใช้ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างดินได้เป็นอย่างดี

มูลนิธิ

2.4 ขอบเขตการวิจัย

พัฒนาวิธีการตรวจวัดสารหนูอนินทรีย์เบื้องต้น (screen test) หรือตรวจหาปริมาณสารหนูอนินทรีย์ที่อยู่ในรูปวาเลนซ์ 3 และ 5 ในดินที่พบการปนเปื้อนสารหนู โดยใช้การตรวจวัดสี (colorimetry) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาทางเคมีของสารหนูอนินทรีย์ บนกระดาษกรอง และวัดค่าสีด้วยเครื่องสแกนภาพ และ โปรแกรม Adobe Photoshop หรือโปรแกรมอ่านค่าสีชนิดอื่น ๆ

2.5 กรอบแนวคิดในการวิจัย



บทที่ 3

กรรมวิธีทดลอง

ในการศึกษาการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษสำหรับตรวจวัดหาสารหนู ใช้สารเคมีและอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

3.1 สารเคมี

ตาราง 3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ลำดับ	ชื่อสารเคมี	สูตรโมเลกุล	ความบริสุทธิ์ (%)	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
1	AKD wax	-	90.0	-	China
2	Ammonium molybdate tetrahydrate	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	81.4	J.T. Baker	USA
3	L-ascorbic acid	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$	99.0	AJAX chemicals	Australia
4	n-heptane	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$	95.0	Fisher Chemicals	UK
5	Nitric acid	HNO_3	65.0	Merck	Germany
6	Potassium antimony(III) oxide tartrate trihydrate	$\text{K}_2\text{Sb}_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	99.0	Sigma-Aldrich	USA
7	Potassium iodide	KI	99.0	Labscan	Ireland
8	Potassium permanganate	KMnO_4	99.0	AJAX	Australia
9	Oil diluents 6032	-	-	Chaiyaboon	Thailand
10	Sodium arsenate	$\text{HAsNaO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	99.5	Sigma-Aldrich	USA
11	Sodium arsenite	AsNaO_2	99.5	Kemaus	Australia
12	Sulfuric acid	H_2SO_4	99.5	Merck	Germany
13	Yellow color GPY347	-	-	Chaiyaboon	Thailand

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

ตาราง 4 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ลำดับ	เครื่องมือและอุปกรณ์	บริษัทผู้ผลิต	รุ่น	ประเทศ
1	กระดาษโครมาโทกราฟี	GE-Healthcare	-	UK
2	เครื่องพิมพ์/สแกนดิจิทัล	Canon	E510	Japan
3	เครื่องพิมพ์หมึกชนิด	Canon	ip2700	Japan
4.	กระดาษกรอง เบอร์ 5	Impact Enterprise		Germany
5.	เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์	Hitachi	U-2900	Japan
6	เครื่องชั่งวิเคราะห์ 4 ตำแหน่ง	Mettler Toledo	AB204-S	Switzerland
7	เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส	Metrohm	827pH lab	Switzerland

3.3 การเตรียมมาตรฐาน และสารละลาย

3.3.1 การเตรียมสารละลายแอลคิลคีนไดเมอร์เพื่อใช้ในการสร้าง μ PADs

ละลายแอลคิลคีนไดเมอร์ในตัวทำละลาย *n*-heptane จนอิ่มตัว จากนั้นทิ้งไว้ให้สารแอลคิลคีนไดเมอร์ที่ไม่ละลายตกตะกอน แล้วนำสารละลายส่วนใสด้านบนถ่ายเก็บไว้ในขวดดูแลนเพื่อนำไปใช้ในการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ

3.3.2 การเตรียมสารละลายสีเพื่อใช้ในการสร้าง μ PADs

ละลายสีน้ำมัน กับน้ำมันชนิดผสมหมึก ในอัตราส่วน 3 ต่อ 1 ผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำไปใช้ในการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ ด้วยเทคนิคการพิมพ์สกรีน (screen printing)

3.3.3 การเตรียมสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรต เข้มข้น 0.126

โมลาร์

ชั่งแอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรต 3.8929 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดปริมาตร

3.3.4 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมแอนติโมนี (III) ออกไซด์ทาร์เทรต เข้มข้น 0.008 โมลาร์

ชั่งโพแทสเซียมแอนติโมนี(III)ออกไซด์ทาร์เทรต 0.0668 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดปริมาตร

3.3.5 การเตรียมสารละลายกรดแอสคอร์บิก เข้มข้น 0.7 โมลาร์

ชั่งกรดแอสคอร์บิก 3.0800 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดปริมาตร แล้วเก็บไว้ในที่มืด

3.3.6 การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 5.5 โมลาร์

ปิเปตสารละลายกรดซัลฟิวริก ปริมาตร 7.56 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ที่มีน้ำปราศจากไอออนอยู่เล็กน้อย และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดปริมาตร

3.3.7 การเตรียมรีเอเจนต์ผสม

ปิเปตสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรต (ข้อ 3.3.2) สารละลายโพแทสเซียมแอนติโมนี(III)ออกไซด์ทาร์เทรต (ข้อ 3.3.3) สารละลายกรดแอสคอร์บิก (ข้อ 3.3.4) และสารละลายกรดซัลฟิวริก (ข้อ 3.3.5) ปริมาตร 1.5, 0.5, 3 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ใส่ลงในปิเปเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วเก็บไว้ในที่มืด

3.3.8 การเตรียมสารละลายโซเดียมอาร์เซเนต เข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งโซเดียมอาร์เซเนต 0.20x กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดปริมาตร

3.4 การเก็บและเตรียมตัวอย่างดิน

3.4.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างดินจากมูลนิธิโครงการหลวง บ้านแม่โถ ตำบลแม่สลิ อำเภอสอด จังหวัดแม่ฮ่องสอน โดยเก็บตัวอย่างดินทั้งหมด 5 แปลง เก็บแปลงละ 6 จุด จากนั้นนำตัวอย่างดินมาผึ่งลมให้แห้ง แล้วนำบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร เก็บไว้ในถุงพลาสติกเพื่อร่อนไปวิเคราะห์



Sample 01



Sample 02



Sample 03



Sample 04



Sample 05

ภาพ 10 จุดเก็บตัวอย่าง จากมูลนิธิโครงการหลวง บ้านแม่โถ ตำบลแม่สลิ อำเภอสอด จังหวัด
แม่ฮ่องสอน

3.4.2 การสกัดตัวอย่าง (untreat)

การเตรียมตัวอย่างดินจะใช้วิธีการสกัดด้วย sonicate โดยชั่งตัวอย่างดิน 0.3 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำปราศจากไอออนลงไป 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป sonicate เป็นเวลา 30 นาที จนครบเวลานำไปหั่นเหียงเพื่อให้ตกตะกอน กรองสารละลายที่ได้ลงในขวดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนถึงขีดด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.4.3 สารสกัด oxidize

ปิเปตสารละลายตัวอย่าง ที่สกัดได้ จากข้อ 3.4.2 มา 10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติม 1 mM KMnO_4 1 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค μPADs ที่พัฒนาขึ้นต่อไป

3.3.3 สารสกัด reduce

ปิเปตสารละลายตัวอย่าง ที่สกัดได้ จากข้อ 3.4.2 มา 10 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติม 50 % KI 1 มิลลิลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค μPADs ที่พัฒนาขึ้นต่อไป

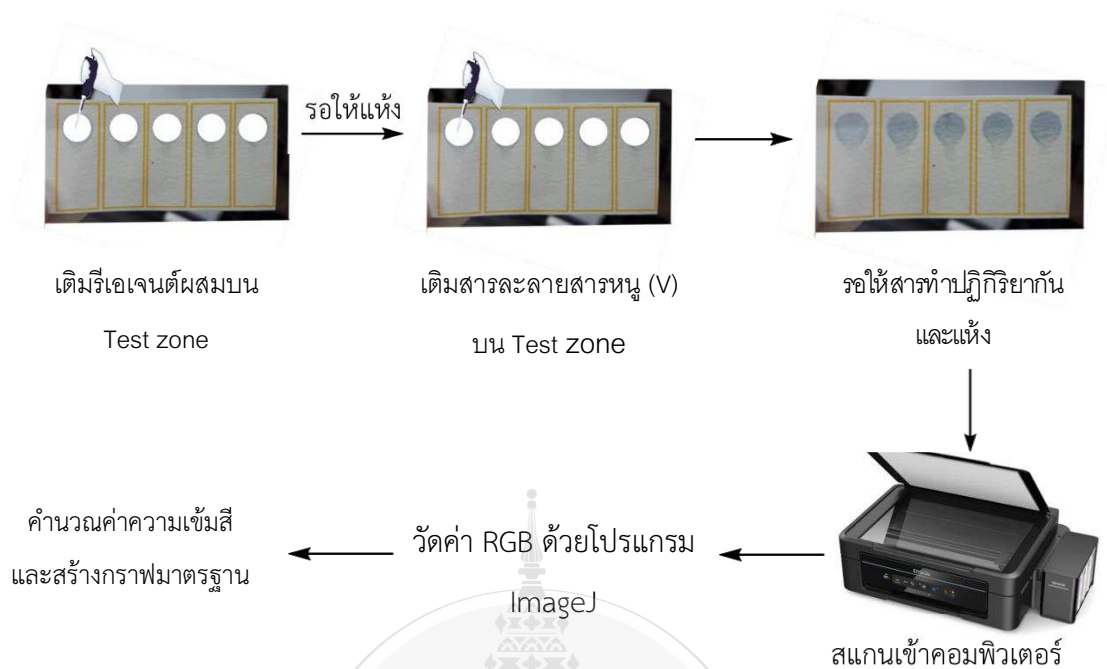
3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเตรียมแผ่นอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ (μPADs) ด้วยเทคนิคการพิมพ์สกรีน (screen printing)

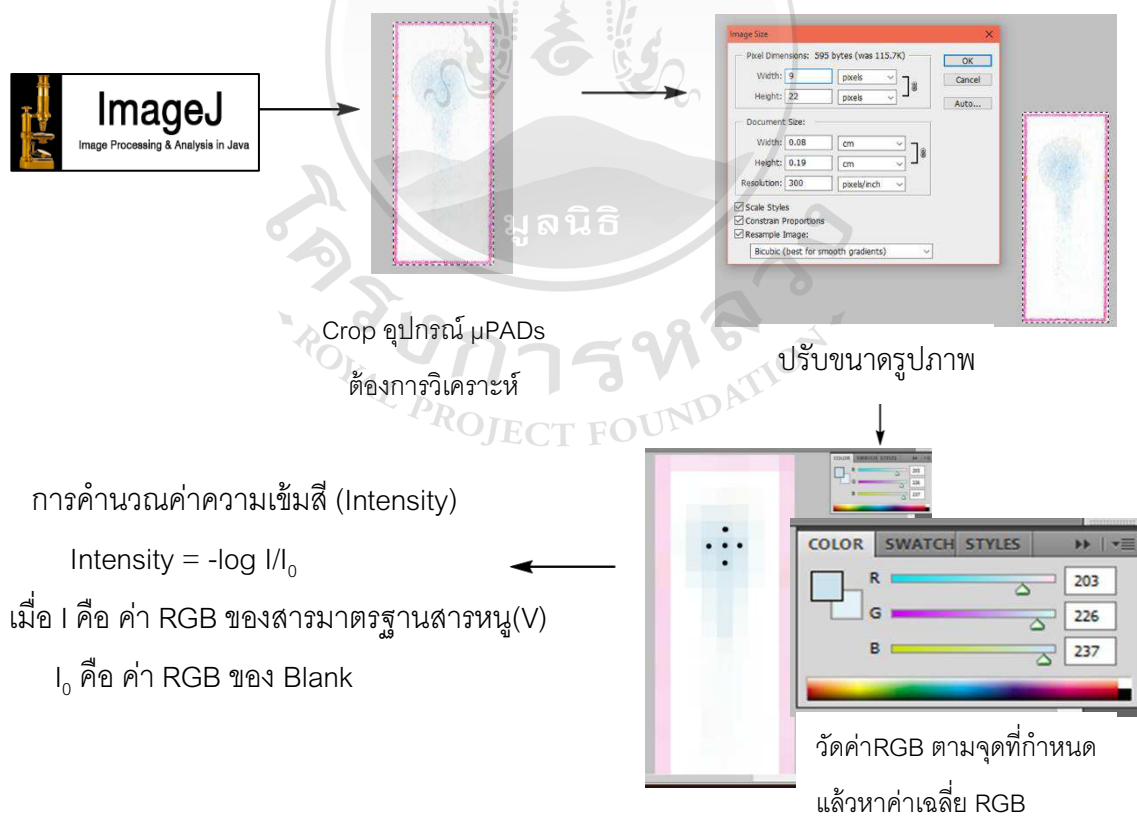
ทำการออกแบบลวดลายของช่องทางการไหลด้วยโปรแกรม Microsoft Word จากนั้นนำไปสร้างเป็นแบบบล็อกปรินสกรีน นำกระดาษโครมาโตกราฟีมาตัดให้ขนาด 21x 30 เซนติเมตร วางบล็อกสกรีนปรินมาวางทับบนกระดาษโครมาโตกราฟี นำสารละลายสี (ข้อ 3.3.2) เทลงบนบล็อกปรินสกรีน แล้วทำการปาดสีให้ทั่วแผ่นบล็อก หลังจากนั้นยกบล็อกออก แล้วทิ้งให้กระดาษโครมาโตกราฟีให้แห้ง

3.5.2 การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ

ในงานวิจัยนี้จะทำการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษสำหรับการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารหนู โดยอ้างอิงมาจากงานวิจัยของ Jayawardin และคณะ[56] ที่ศึกษาการเตรียมอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ และวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตในน้ำโดยใช้วิธีทำให้เกิดสีด้วยโมลิบดีนัมบลู ซึ่งงานวิจัยนี้จะทำการประยุกต์นำเอาวิธีในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูดินตัวอย่าง โดยวิธีในการวิเคราะห์จะแสดงดังแผนผังการวิเคราะห์แสดงภาพที่ 11



ภาพ 11 แผนผังการวิเคราะห์หาสารหนูด้วยเทคนิค μ PADs



ภาพ 12 วิธีการวัดค่า RGB โดยการใช้โปรแกรม ImageJ

3.5.2.1 การศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของรีเอเจนต์และสารหนู (V)

ในการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเตรียมรีเอเจนต์และสารหนูนั้น ลำดับแรก จะทำการทดสอบ test zone ของอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ สามารถจุปริมาณ สารเคมีได้ปริมาตรกี่ไมโครลิตร ซึ่งพบว่าอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษสามารถจุ ปริมาณสารเคมีได้ทั้งสิ้น 7 ไมโครลิตร จากนั้นจะทำการเปรียบเทียบอัตราส่วนในการเติมสารเคมี อยู่ 5 อัตราส่วนได้แก่ 1:6, 2:5, 3:4, 4:3 และ 5:2 ไมโครลิตร โดยจะทำการศึกษาอัตราส่วน 1:6 ไมโครลิตรก่อน โดยทำการเติมรีเอเจนต์ปริมาตร 1 ไมโครลิตรลงบน Test zone รอให้แห้ง แล้วทำ การเติมสารละลายมาตรฐานสารหนู (V) ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ตามลำดับ เพื่อทำการวิเคราะห์หาค่า RGB ดังภาพ 11 และ 12 ทำการ วิเคราะห์แบบเดิมแต่เปลี่ยนอัตราส่วนในการหยดเป็น 2:5, 3:4, 4:3 และ 5:2 ตามลำดับ และ คำนวณหาค่า Intensity

$$\text{จาก Intensity} = -\log I/I_0$$

เมื่อ

I คือ ค่าความเข้มของสี R, G และ B

I_0 คือ ค่าความเข้มของสี Blank ของ R, G และ B

นำค่า Intensity ที่คำนวณได้มาพล็อตกราฟกับความเข้มของสารมาตรฐาน สารหนู เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน หาความชัน และค่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ แล้วทำการ เปรียบเทียบว่าเวลาใดที่ให้ผลในการตรวจวัดที่ดีที่สุด (พิจารณาว่า sensitivity (ความชัน) และ R^2)

3.5.2.2 การศึกษาหาความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ในการเตรียมรีเอเจนต์ผสม

สารละลายที่ใช้ในการเตรียมรีเอเจนต์ผสมประกอบไปด้วย แอมโมเนียมโมลิบเดต เดทตระไฮเดรต กรดแอสคอร์บิก โพแทสเซียมแอนติโมนี (III) ออกไซด์ทาร์เทรต และกรดซัลฟิวริก ซึ่งจะทำการศึกษหาสภาวะความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายทั้ง 4 ชนิด โดยจะทำการ ควบคุมและเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายต่าง ๆ ดังตาราง 5 โดยในการวิเคราะห์จะ ทำการวิเคราะห์ตามแผนผัง ดังภาพ 11 และ 12 ปริมาตรที่ใช้สำหรับการหยดรีเอเจนต์และสารละลาย มาตรฐานสารหนู (V) จะใช้ที่สภาวะเหมาะสม (ข้อ 3.5.2.1) โดยศึกษาในช่วงความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตัวอย่างการศึกษาสภาวะความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรต จะทำการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรตที่ใช้ในการเตรียมรีเอเจนต์ผสม คือ 0.042, 0.084, 0.126, 0.168 และ 0.210 โมลาร์ และควบคุมความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมแอนติโมนี (III) ออกไซด์ทาร์เทรตไตรไฮเดรต สารละลายกรดแอสคอร์บิก และสารละลายกรดซัลฟิวริกไว้ที่ 0.006, 0.5 และ 6.6 โมลต่อลิตร ตามลำดับ ทำการวิเคราะห์ดังภาพที่ 11 แล้วทำการเปรียบเทียบค่าว่าสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรตความเข้มข้นใดที่ให้ผลในการตรวจวัดที่ดีที่สุด (พิจารณาค่า sensitivity (ความชัน) และ R^2) และใช้วิธีนี้ในการหาสภาวะความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดแอสคอร์บิก โพแทสเซียมแอนติโมนี (III) ออกไซด์ทาร์เทรต และกรดซัลฟิวริก โดยทำการควบคุมและเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นดังตาราง 5

ตาราง 5 การศึกษาสภาวะความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายที่ใช้ในการเตรียมรีเอเจนต์ผสม

สภาวะที่ศึกษา	ตัวแปรควบคุม	ตัวแปรอิสระ
1. ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Ammonium molybdate-4-hydrate	ความเข้มข้นของ - L-ascorbic acid 0.5 M - Potassium antimony(III) oxide tartrate 0.006 M - Sulfuric acid 6.6 M	ความเข้มข้นของ Ammonium molybdate-4-hydrate 0.042, 0.084, 0.126, 0.168 และ 0.210 M
2. ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ L-ascorbic acid	ความเข้มข้นของ - Ammonium molybdate-4-hydrate (สภาวะเหมาะสม) - Potassium antimony(III) oxide tartrate 0.006 M - Sulfuric acid 6.6 M	ความเข้มข้นของ L-ascorbic acid 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 0.9 M
3. ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Potassium antimony(III) oxide tartrate	ความเข้มข้นของ - Ammonium molybdate-4-hydrate (สภาวะเหมาะสม) - L-ascorbic acid (สภาวะเหมาะสม) - Sulfuric acid 6.6 M	ความเข้มข้นของ Potassium antimony(III) oxide tartrate 0.002, 0.004, 0.006, 0.008 และ 0.010 M
4. ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Sulfuric acid	ความเข้มข้นของ - Ammonium molybdate-4-hydrate (สภาวะเหมาะสม) - L-ascorbic acid (สภาวะเหมาะสม) - Potassium antimony(III) oxide tartrate (สภาวะเหมาะสม)	ความเข้มข้นของ Sulfuric acid 5, 5.5, 6, 6.5 และ 7 M

3.5.2.3 การศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัด

ทำการเติมรีเอเจนต์ผสมที่สภาวะเหมาะสม (ข้อ 3.5.2.2) ปริมาตรที่สภาวะเหมาะสม (ข้อ 3.5.2.1) ลงบน Test zone รอให้แห้ง แล้วทำการเติมสารละลายมาตรฐานสารหนู (V) ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงบน Test zone ตามลำดับ จากนั้นรอให้สารทำปฏิกิริยากันและแห้ง แล้วทำการสแกนด้วยเครื่องพิมพ์/สแกนเข้าสู่คอมพิวเตอร์ที่เวลา 0 นาที (หลังจากแห้งทันที) และเมื่อเวลาผ่านไป 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที ตามลำดับ และวัดค่า RGB ด้วยโปรแกรม ImageJ นำค่า RGB ที่ได้มาคำนวณเป็นค่า Intensity แล้วนำไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า Intensity กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานสารหนู (V) ของแต่ละนาที แล้วทำการเปรียบเทียบว่าเวลาใดที่ให้ผลในการตรวจวัดที่ดีที่สุด โดยพิจารณา ค่า sensitivity (ความชัน) และ R^2

2.5.3 การศึกษาคุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์

3.5.3.1 การศึกษาหาขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD)

เมื่อได้สภาวะการทดลองที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สารหนู (V) จากข้อ 3.5.2. แล้ว จึงได้ทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานสารหนู (V) ที่เตรียมขึ้นที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อหาค่าความเข้มข้น เพื่อนำไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานสารหนู (V) สังเกตการเปลี่ยนแปลงสี เพื่อหาปริมาณสารละลายสารหนู (V) ที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดระบบของไหลจุลภาคแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น โดยเทียบกับพื้นหลังจากการวิเคราะห์สัญญาณของ blank

3.5.3.2 การศึกษาความเสถียรของแผ่น μ PADs

ทำการเตรียมแผ่น μ PADs โดยทำการเติมรีเอเจนต์ผสมลงบน Test zone ทั้งหมด 4 ชุด รอให้แห้งแล้วเก็บแผ่น μ PADs แต่ละชุดไว้ในสถานที่ต่างกัน ได้แก่ ในร่ม ตากแดด ตู้อุ่น และโถดูดความชื้น ในแต่ละวันนำ μ PADs ที่เก็บไว้ในแต่ละสถานที่มาทำการวิเคราะห์ด้วยสารละลายมาตรฐานสารหนู (V) ที่ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อสังเกตค่าความเข้มข้นที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละวัน และดูว่าอุปกรณ์ตรวจวัดเสถียรที่สภาวะใด โดยใช้สภาวะการทดลองที่เหมาะสม ข้อ 3.5.2

3.5.3.3 การศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรง

ทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานสารหนู (V) ที่เตรียมขึ้นที่ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้สภาวะการทดลองที่เหมาะสม ข้อ 3.5.2 เพื่อหาค่าความเข้มข้น แล้วนำไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานสารหนู (V) เพื่อหาช่วงความเป็นเส้นตรงของอุปกรณ์ตรวจวัดระบบของไหลจุลภาคแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น

3.5.3.4 การศึกษาผลของการทำซ้ำ (Repeatability)

ในการวิเคราะห์จะใช้สารละลายมาตรฐานสารหนู (V) ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลองตามแผนผัง ดังภาพ 11 โดยใช้สภาวะที่เหมาะสม ข้อ 2.5.2 ทำทั้งหมด 12 ซ้ำ เมื่อได้ค่าความเข้มข้นเรียบร้อยแล้วจึงนำค่ามาคำนวณหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เพื่อดูความแม่นยำของอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ

3.5.4 การศึกษาหาปริมาณสารหนูในตัวอย่างจริงด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ (μ PADs) เปรียบเทียบด้วยเทคนิค Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP)

3.5.4.1 การทดสอบด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ (μ PADs)

นำสารละลายตัวอย่างจากข้อ 3.4.2-3.4.4 มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนู (V) โดยใช้สภาวะการทดลองที่เหมาะสม ข้อ 3.5.2 โดยเทียบค่าความเข้มข้นของตัวอย่างกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น หลังจากนั้นจึงนำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ มาคำนวณหาปริมาณสารหนูในรูปวาเลนซี 3 และ 5 ดังสูตร

$$\begin{aligned} \text{As(III)} &= \text{As}_{\text{oxidized}} - \text{As}_{\text{untreated}} \\ \text{As(V)} &= \text{As}_{\text{untreated}} - \text{As}_{\text{reduced}} \\ \text{Total As} &= \text{As}_{\text{oxidized}} - \text{As}_{\text{reduced}} \end{aligned}$$

เมื่อ

$\text{As}_{\text{oxidized}}$ คือ สารละลายตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการ oxidize
 $\text{As}_{\text{reduced}}$ คือ สารละลายตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการ reduce
 $\text{As}_{\text{untreated}}$ คือ สารละลายตัวอย่างที่ไม่ผ่านกระบวนการ oxidize และ reduce

3.5.4.2 การทดสอบด้วยเทคนิค ICP

ชั่งตัวอย่างดิน 0.5 g เติม แล้วนำตัวอย่างไปสกัดกรด HCl เข้มข้น 10 โมลาร์ ด้วยวิธี [59] หลังจากนั้นนำสารละลายกรดตัวอย่างที่สกัดได้ ทำการปรับปริมาตรเป็น 25 mL ด้วย HCl เข้มข้น 10 โมลาร์ นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณ สารหนูรวมด้วย เครื่อง ICP



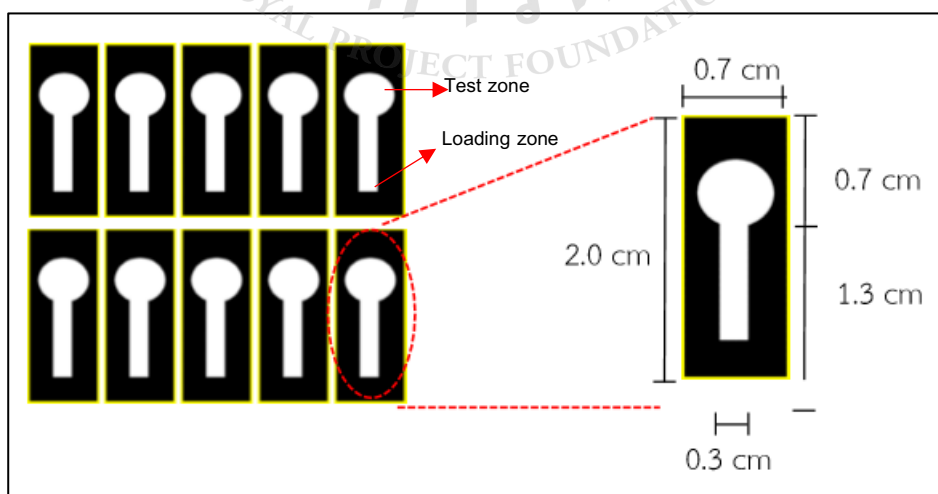
บทที่ 4

ผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ (Microfluidic paper-based analytical device; μ PADs) สำหรับการตรวจหาปริมาณสารหนูในสิ่งแวดล้อม ด้วยวิธีคัลเลอริเมตรีโดยใช้สารละลายโมลิบดีนัมบลูเป็นรีเอเจนต์ในการตรวจวัด อุปกรณ์ที่สร้างขึ้นจากการแผ่นกระดาษกรอง และทำการพิมพ์แบบสกรีนปรินท์ เพื่อทำการสร้างช่องส่วนในการทำปฏิกิริยาของอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ ซึ่งทำให้ทำให้ลดปริมาณของสารเคมี และค่าใช้จ่ายที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนู อีกทั้งยังสามารถนำไปใช้สำหรับการวิเคราะห์ในภาคสนามได้อีกด้วย

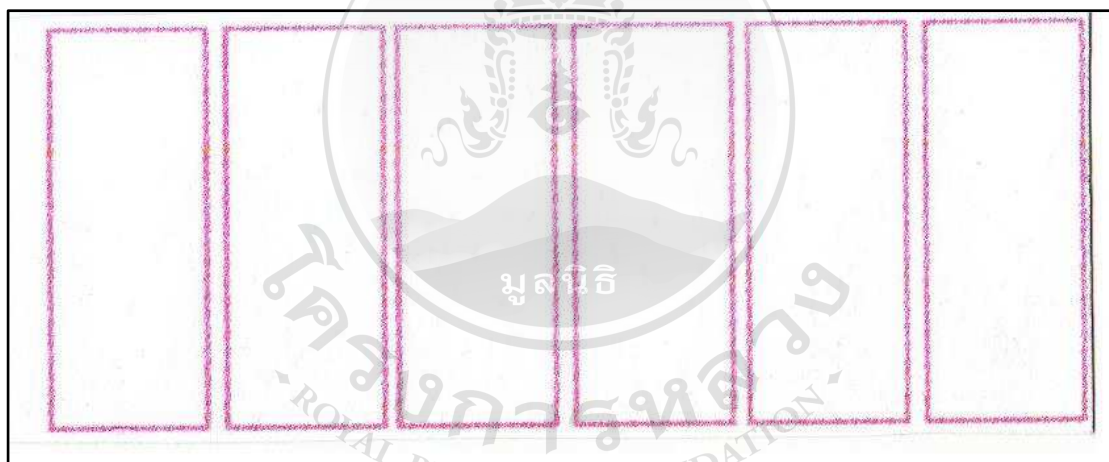
4.1 การออกแบบรูปแบบของอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ (μ PADs) สำหรับการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารหนู

ในการออกแบบรูปแบบของอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ สามารถทำได้โดยการใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft word เพื่อสร้างลวดลายของช่องทางการไหลบนกระดาษ โดยอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษที่สร้างขึ้นมีขนาด 2.0×0.7 เซนติเมตร ซึ่งรูปแบบของอุปกรณ์แสดงดังภาพ 13 โดยมี Test zone ไว้สำหรับสารละลาย reagent ทำปฏิกิริยากับสารหนู(V) และ ส่วน Loading zone ไว้สำหรับเพื่อหยดสารละลายมาตรฐาน และสารละลายตัวอย่าง



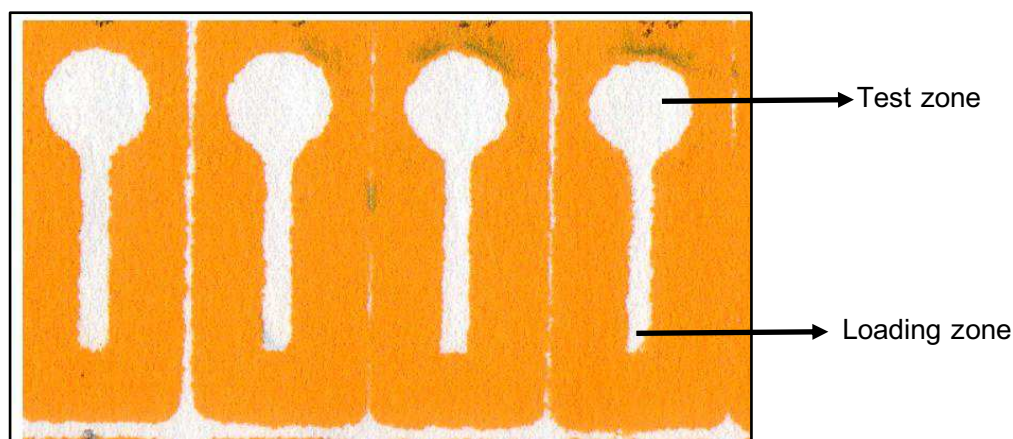
ภาพ 13 การออกแบบ μ PADs

หลังจากนั้นทำการพิมพ์แอลคิลคีตีนไดเมอร์แวกซ์ ลงบนแผ่นแบบกระดาษโดยใช้เครื่องพิมพ์แบบฉีดหมึกที่พัฒนา เพื่อให้ได้ตามรูปแบบที่ได้ออกแบบไว้ ดังภาพ 13 แต่จากการที่ได้ลงมือพิมพ์แอลคิลคีตีนไดเมอร์แวกซ์ลงบนแผ่นกระดาษจริง (ภาพที่ 14) จะเห็นว่าตัวแอลคิลคีตีนไดเมอร์แวกซ์ไม่มีสี เมื่อทำการพิมพ์ลงบนแผ่นกระดาษจริง ในส่วนของ Test zone และ Loading zone ไม่สามารถมองเห็นช่องทางได้ชัดเจน จึงทำให้มีความลำบากในการเติมสารลงไป ดังนั้นจึงได้มีการทดลองโดยทำการเติมสีลงไปผสมกับแอลคิลคีตีนไดเมอร์แวกซ์ เพื่อให้เมื่อทำการพิมพ์ลงบนแผ่นกระดาษจะทำให้สามารถมองเห็นช่องทางสำหรับการเติมสารได้ชัดเจนขึ้น แต่จากการทดลองที่ได้กลับพบว่าเมื่อนำสีเติมลงไปในแวกซ์ จะไม่สามารถผสมเข้ากับแอลคิลคีตีนไดเมอร์แวกซ์เป็นเนื้อเดียวกันได้ ทำให้เกิดการตกตะกอนเลยทำให้เมื่อนำไปเติมลงในตลับหมึก จะทำให้เกิดการอุดตันของสีในช่องพ่นน้ำหมึก และไม่สามารถทำการพิมพ์แอลคิลคีตีนไดเมอร์แวกซ์ลงบนแผ่นแบบกระดาษได้ในที่สุด



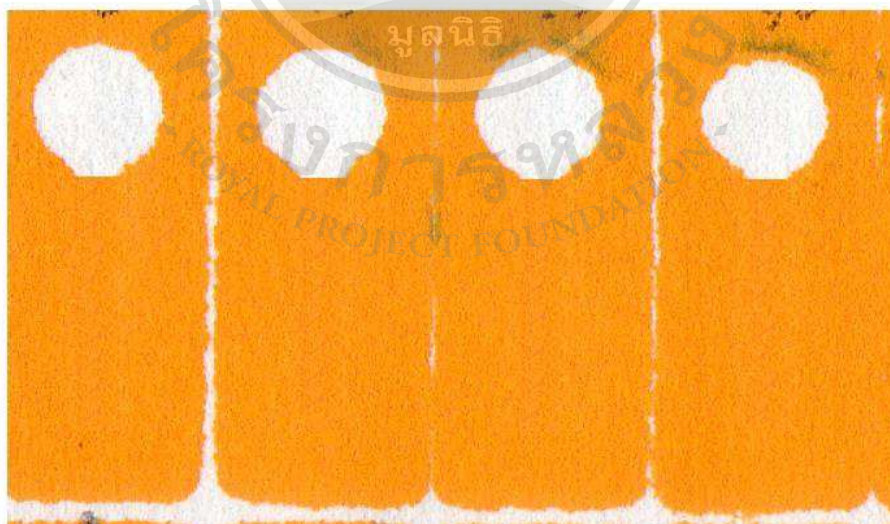
ภาพ 14 แผ่นจุลภาคแบบกระดาษ (μ PADs) ที่พิมพ์แอลคิลคีตีนไดเมอร์แวกซ์

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการเปลี่ยนวิธีการพิมพ์ โดยอาศัยหลักการพิมพ์แบบสกรีนปรินต์ โดยเมื่อทำการผสมสีกับน้ำมันแล้ว หลังจากนั้นจึงเทสีที่ได้ลงบนบล็อกที่ออกแบบไว้ จากการทดลองพบว่าสามารถเห็น Test zone และ Loading zone ได้ชัดเจนกว่า และไม่พบปัญหาการตกตะกอนของสี ดังขั้นตอน เพราะฉะนั้นงานวิจัยในครั้งนี้จึงได้ทำการเลือกวิธีพิมพ์แบบสกรีนปรินต์ เพื่อใช้เป็นวิธีในการพิมพ์แบบอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ (μ PADs) ตามที่ได้ออกแบบไว้



ภาพ 15 แผ่นจุลภาคแบบกระดาษ (μPADs) ที่พิมพ์สกรีนปริน

สำหรับรูปแบบของอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษที่ได้ทำการออกแบบในครั้งแรก (ภาพ 15) ในส่วนของ Loading zone นั้นเพื่อให้สารตัวอย่างเคลื่อนไหลขึ้นไปทำปฏิกิริยากับสารละลายรีเอเจนต์บน Test zone และอีกเหตุผลหนึ่งก็เพื่อต้องการให้เป็นการช่วยดูดซับสิ่งปนเปื้อนที่มีขนาดโมเลกุลขนาดใหญ่ แต่จากการทดลองในเบื้องต้น พบว่าไม่สามารถช่วยได้ ดังนั้นในส่วนของรูปแบบที่ได้เลือกใช้ คือให้ทำการหยดสารละลายรีเอเจนต์ และสารละลายตัวอย่างบน Test zone โดยตรง ดังแสดงในภาพที่ 16



ภาพ 16 แผ่นจุลภาคแบบกระดาษ (μPADs) ที่เลือกใช้ในงานทดลอง

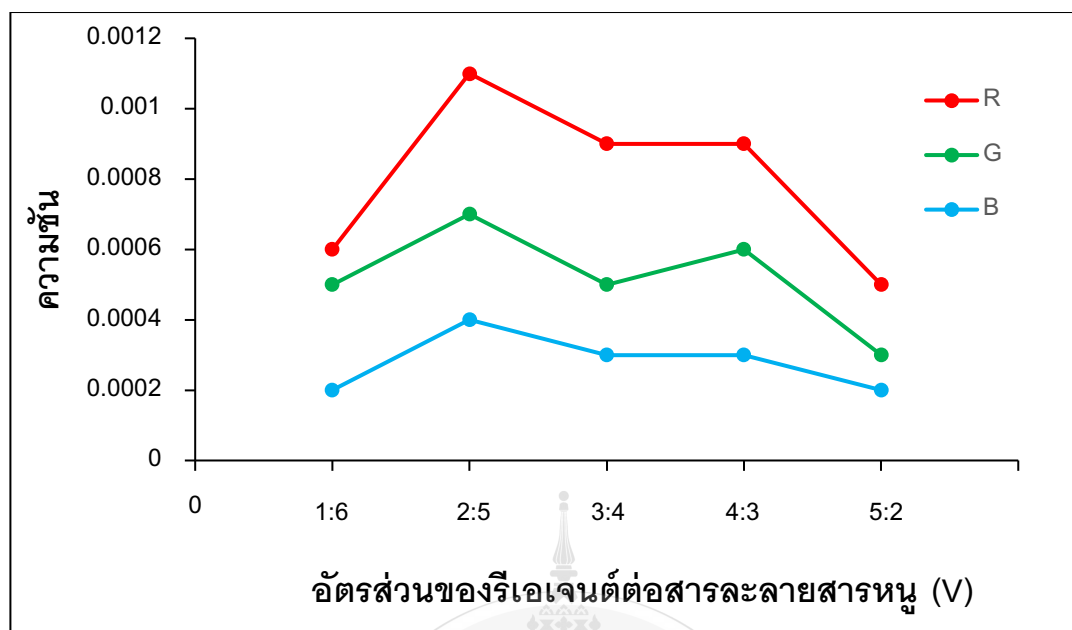
4.2 การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดระบบของไหลจุลภาคแบบกระดาษ

4.2.1 ผลการศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของรีเอเจนต์และสารหนู (V)

ในการศึกษาอัตราส่วนในการเติมสารรีเอเจนต์และสารละลายมาตรฐานสารหนู (V) ลงไปในอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษที่ได้สร้างขึ้น ซึ่งสามารถจุสารเคมีได้สูงสุด 7 ไมโครลิตร โดยได้ทำการศึกษาอยู่ 5 อัตราส่วน ได้แก่ 1:6 , 2:5, 3:4, 4:3 และ 5:2 ไมโครลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์หาสารหนูด้วยวิธีโพลีไดนิคัมบลูด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ เพื่อพิจารณาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการตรวจวัดที่จะทำให้ประสิทธิภาพในการตรวจวัดได้สูงสุด ผลแสดงดังตาราง 6 และ ภาพ 17

ตาราง 6 สมการเส้นตรงของอัตราส่วนในการเติมรีเอเจนต์ : สารละลายมาตรฐานสารหนู (V)

อัตราส่วนระหว่าง รีเอเจนต์ : สารละลาย สารหนู (V) (μL)	สมการเส้นตรง		
	R	G	B
1:6	$0.0006x + 0.0556$	$0.0005x + 0.0237$	$0.0002x + 0.0075$
	($R^2=0.4143$)	($R^2=0.4477$)	($R^2=0.4012$)
2:5	$0.0011x + 0.0320$	$0.0007x + 0.0133$	$0.0004x + 0.0061$
	($R^2=0.9618$)	($R^2=0.9534$)	($R^2=0.9406$)
3:4	$0.0009x + 0.0383$	$0.0005x + 0.0227$	$0.0003x + 0.0157$
	($R^2=0.8402$)	($R^2=0.7588$)	($R^2=0.7356$)
4:3	$0.0009x + 0.0231$	$0.0006x + 0.0059$	$0.0003x + 0.0070$
	($R^2=0.7960$)	($R^2=0.8011$)	($R^2=0.8091$)
5:2	$0.0005x + 0.0417$	$0.0003x + 0.0168$	$0.0002x + 0.0082$
	($R^2=0.7895$)	($R^2=0.8301$)	($R^2=0.8983$)



ภาพ 17 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนที่ใช้การเติมรีเอเจนต์ : สารละลายมาตรฐานสารหนู (V) กับสภาพไวของการวิเคราะห์

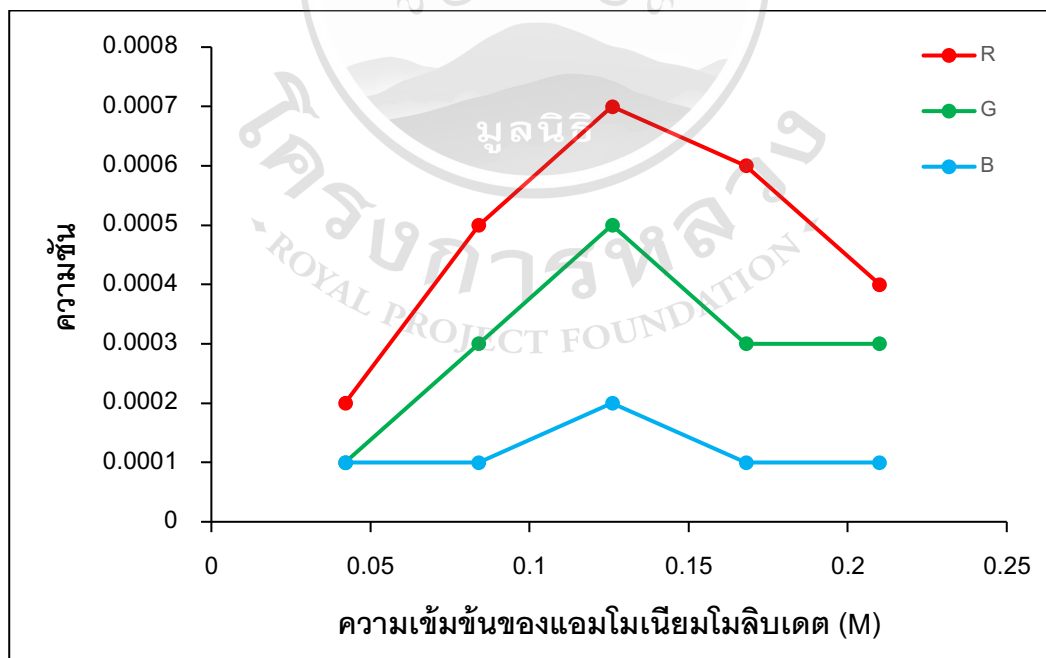
จากภาพ 17 และ ตาราง 6 จะเห็นว่า อัตราส่วนในการเติมสารที่ 2:5 ไม่โครลิตร จะให้สภาพไว (Sensitivity) และค่าความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ซึ่งพิจารณาได้จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ที่ดีที่สุด เมื่อเทียบกับอัตราส่วนอื่น ในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้อัตราส่วนในการเติมสารรีเอเจนต์ : สารละลายมาตรฐานสารหนู (V) ที่ 2:5 ไม่โครลิตร ในการศึกษาขั้นต่อไป

4.2.2 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ในการเตรียมรีเอเจนต์ผสม

ในการศึกษาหาความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ในการเตรียมรีเอเจนต์ผสม ได้แก่ แอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรต กรดแอสคอร์บิก โพแทสเซียมแอนติโมนี (III) ออกไซด์ทาร์เทรต และกรดซัลฟิวริก โดยทำการเปลี่ยนแปลงตัวแปรที่ต้องการหาสภาวะที่เหมาะสม และควบคุมสภาวะอื่นให้คงที่

4.2.2.1 การศึกษาหาความเข้มข้นสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรต

เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของความเข้มข้นสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรต ซึ่งเป็นสารละลายหนึ่งในรีเอเจนต์ผสมสำหรับการทดลองด้วยอุปกรณ์ μ PADs ได้กำหนดความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรต เท่ากับ 0.042, 0.084, 0.126, 0.168 และ 0.210 โมลาร์ เพื่อให้เข้าทำปฏิกิริยากับสารหนู (V) ลงบนอุปกรณ์ PADs นำไปสแกนเพื่อหาค่า RGB ในแต่ละความเข้มข้นที่ได้กำหนด และสร้างกราฟหาความชัน เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ โดยผลการทดลองที่หาได้แสดงผลดังภาพ 18



ภาพ 18 กราฟความสัมพันธ์ความเข้มข้นของแอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรตที่ใช้ในการเตรียมรีเอเจนต์ผสมกับสภาพไว

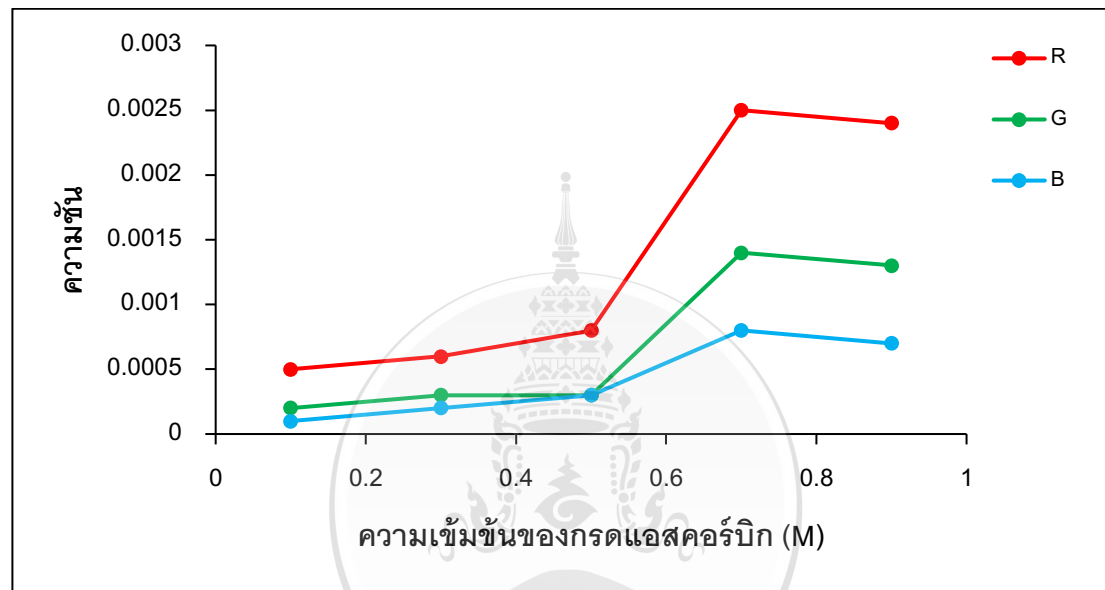
ตาราง 7 สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรต

ความเข้มข้นของแอมโมเนียม โมลิบเดตเตตระไฮเดรต (โมลต่อลิตร)	สมการเส้นตรง		
	R	G	B
0.042	$0.0003x + 0.0095$ ($R^2=0.8057$)	$0.0001x + 0.0032$ ($R^2=0.4886$)	$0.0001x + 0.0032$ ($R^2=0.1909$)
0.084	$0.0005x + 0.0157$ ($R^2=0.8345$)	$0.0003x + 0.0077$ ($R^2=0.7801$)	$0.0001x + 0.0024$ ($R^2=0.7443$)
0.126	$0.0007x + 0.0028$ ($R^2=0.9404$)	$0.0005x + 0.0128$ ($R^2=0.9415$)	$0.0002x + 0.0062$ ($R^2=0.9003$)
0.168	$0.0006x + 0.0345$ ($R^2=0.8564$)	$0.0003x + 0.0248$ ($R^2=0.7555$)	$0.0001x + 0.0122$ ($R^2=0.4244$)
0.210	$0.0003x + 0.0095$ ($R^2=0.8057$)	$0.0001x + 0.0032$ ($R^2=0.4886$)	$0.0001x + 0.0032$ ($R^2=0.1909$)

จากภาพ 18 จะเห็นได้ว่าค่าความเข้มข้นที่ 0.126 โมลาร์ ของสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรต เป็นค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทดลองด้วยอุปกรณ์ μ PADs เนื่องจากให้ค่าความชันที่สูงกว่าความเข้มข้นที่อื่น ๆ แสดงว่าความเข้มข้นดังกล่าว ให้ความเข้มของสีที่วัดได้ชัดเจนที่สุด และให้กราฟมาตรฐานที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ที่ดี ดังแสดงในตาราง 7

4.2.2.2 การศึกษาหาความเข้มข้นสารละลายกรดแอสคอร์บิก

การศึกษานี้หาสภาวะที่เหมาะสมของความเข้มข้นสารละลายกรดแอสคอร์บิก โดยกำหนดความเข้มข้น 0.10 - 0.90 โมลาร์ เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ที่สามารถให้การสังเกตที่ชัดเจน ค่าความชันและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ของกราฟมาตรฐานที่ดีที่สุด แสดงผลดังภาพ 19



ภาพ 19 กราฟความสัมพันธ์ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกที่ใช้ในการเตรียมรีเอเจนต์ผสมกับสภาพ

จากภาพ 19 จะเห็นได้ว่าค่าความเข้มข้นที่ 0.70 โมลาร์ ของสารละลายกรดแอสคอร์บิก เป็นค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทดลองด้วยอุปกรณ์ μ PADs เนื่องจากให้ค่าความชันที่สูง แสดงว่าความเข้มข้นดังกล่าว ให้ความเข้มของสีที่วัดได้ชัดเจนที่สุด และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ของกราฟมาตรฐานที่ดีที่สุด ดังตาราง 8

ตาราง 8 สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก

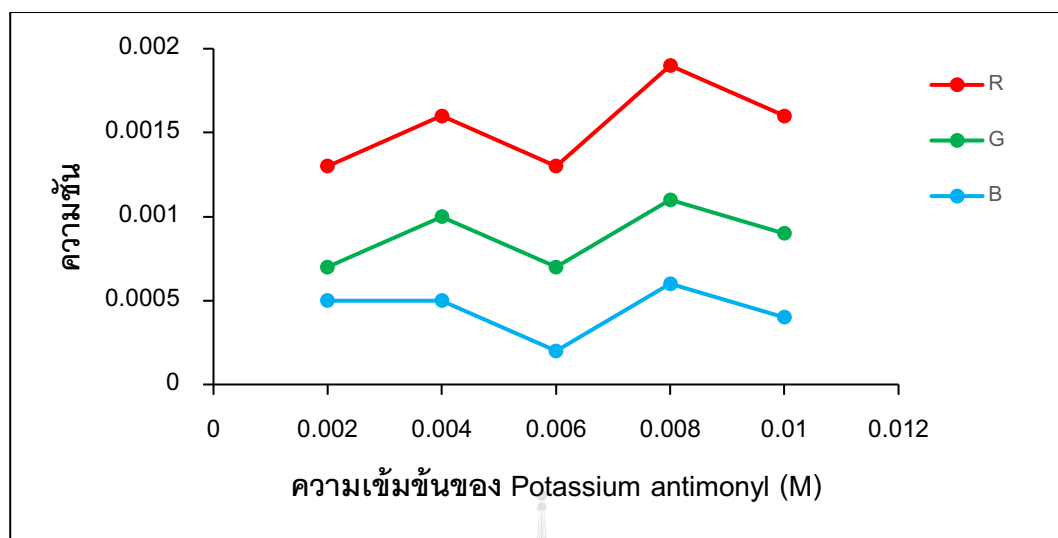
ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก มิลลิโมลต่อลิตร	สมการเส้นตรง		
	R	G	B
0.10	$0.0005x + 0.0187$ ($R^2=0.8278$)	$0.0002x + 0.0082$ ($R^2=0.6476$)	$0.0001x + 0.0043$ ($R^2=0.5856$)
0.30	$0.0006x + 0.0279$ ($R^2=0.7785$)	$0.0003x + 0.0148$ ($R^2=0.8671$)	$0.0002x + 0.0088$ ($R^2=0.6234$)
0.50	$0.0008x + 0.0382$ ($R^2=0.7150$)	$0.0003x + 0.0263$ ($R^2=0.5472$)	$0.0003x + 0.0143$ ($R^2=0.6796$)
0.70	$0.0025x + 0.0575$ ($R^2=0.9331$)	$0.0014x + 0.0575$ ($R^2=0.9331$)	$0.0008x + 0.0169$ ($R^2=0.9177$)
0.90	$0.0024x + 0.0378$ ($R^2=0.8978$)	$0.0013x + 0.0245$ ($R^2=0.8727$)	$0.0007x + 0.0163$ ($R^2=0.8389$)

4.2.2.3 การศึกษาหาความเข้มข้นสารละลายโพแทสเซียมแอนติ

โมนี (III) ออกไซด์ทาร์เทรต

การศึกษานี้หาสภาวะที่เหมาะสมของความเข้มข้นสารละลายโพแทสเซียมแอนติโมนี (III) ออกไซด์ทาร์เทรต ในช่วงความเข้มข้น 0.002 – 0.010 โมลาร์ ซึ่งทำปฏิกิริยากับสารหนูลงบนอุปกรณ์ μ PADs นำไปสแกนเพื่อหาค่า RGB ในแต่ละความเข้มข้น และสร้างกราฟมาตรฐานหาความเข้มข้น แสดงผลดังภาพ 20

จากภาพ 20 จะเห็นได้ว่าค่าความเข้มข้นที่ 0.008 โมลาร์ ของสารละลายโพแทสเซียมแอนติโมนี (III) ออกไซด์ทาร์เทรต เป็นค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทดลองด้วยอุปกรณ์ μ PADs เนื่องจากให้ค่าความเข้มข้นที่สูงที่สุด ให้ความเข้มของสีที่วัดได้ชัดเจน และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ของกราฟมาตรฐานที่ดีที่สุด ดังตาราง 9



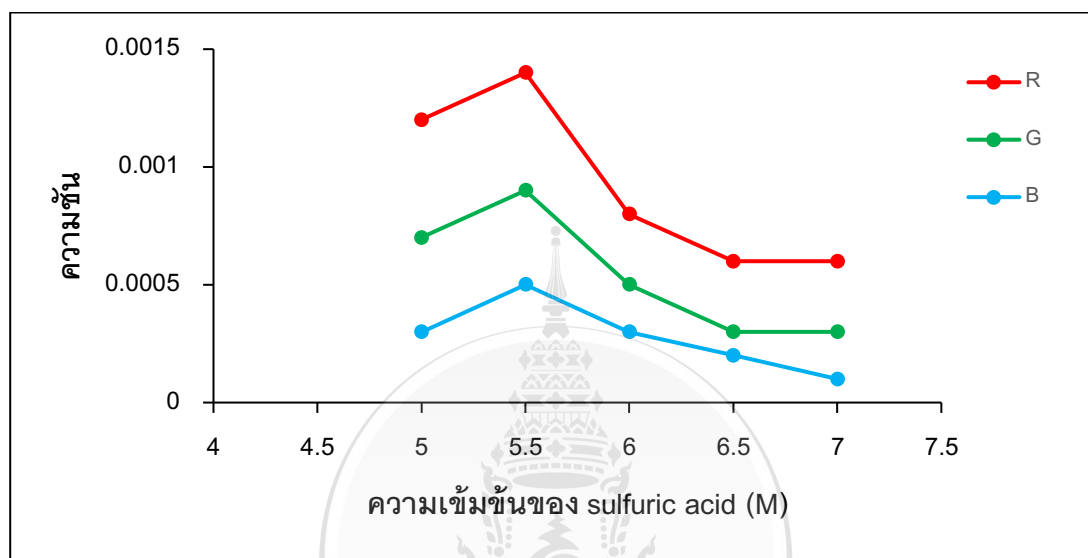
ภาพ 20 กราฟความสัมพันธ์ความเข้มข้นของโพแทสเซียมแอนติโมนี (III) ออกไซด์ ทาร์เทรตที่ใช้ในการเตรียมรีเอเจนต์ผสมกับสภาพไว

ตาราง 9 สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของโพแทสเซียมแอนติโมนี (III) ออกไซด์ ทาร์เทรต

ความเข้มข้นของสาร โพแทสเซียมแอนติโมนี (III) ออกไซด์ทาร์เทรต (โมลาร์)	สมการเส้นตรง		
	R	G	B
0.002	$0.0013x + 0.0807$ ($R^2 = 0.7204$)	$0.0007x + 0.0618$ ($R^2 = 0.5372$)	$0.0005x + 0.02$ ($R^2 = 0.6621$)
0.004	$0.0016x + 0.1005$ ($R^2 = 0.6911$)	$0.001x + 0.0557$ ($R^2 = 0.6022$)	$0.0005x + 0.03$ ($R^2 = 0.4526$)
0.006	$0.0014x + 0.1131$ ($R^2 = 0.891$)	$0.0018x + 0.0398$ ($R^2 = 0.7557$)	$0.0006x + 0.0278$ ($R^2 = 0.691$)
0.008	$0.002x + 0.0918$ ($R^2 = 0.8168$)	$0.0011x + 0.047$ ($R^2 = 0.8294$)	$0.0006x + 0.0205$ ($R^2 = 0.7123$)
0.010	$0.0016x + 0.1451$ ($R^2 = 0.4779$)	$0.0009x + 0.0812$ ($R^2 = 0.4695$)	$0.0004x + 0.0453$ ($R^2 = 0.3088$)

4.2.2.4 การศึกษาหาความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟิวริก

เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดของสารละลายกรดซัลฟิวริก โดยการสร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้นกับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารละลายกรดซัลฟิวริก ในช่วงความเข้มข้นที่ 5.0 – 7.0 โมลาร์ แสดงผลดังภาพ 21



ภาพ 21 กราฟความสัมพันธ์ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการเตรียมรีเอเจนต์ผสมกับสภาพไว

จากภาพ 21 จะพบว่าค่าความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก ที่ 5.5 โมลาร์ เป็นค่าความเข้มข้นที่ให้ค่าความเข้มข้นที่ให้ค่าความเข้มข้นของสีที่วัดได้ชัดเจน และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ที่ดีที่สุด ดังนั้นความเข้มข้นนี้เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทดลองด้วยอุปกรณ์ PADs แสดงดังตาราง 10

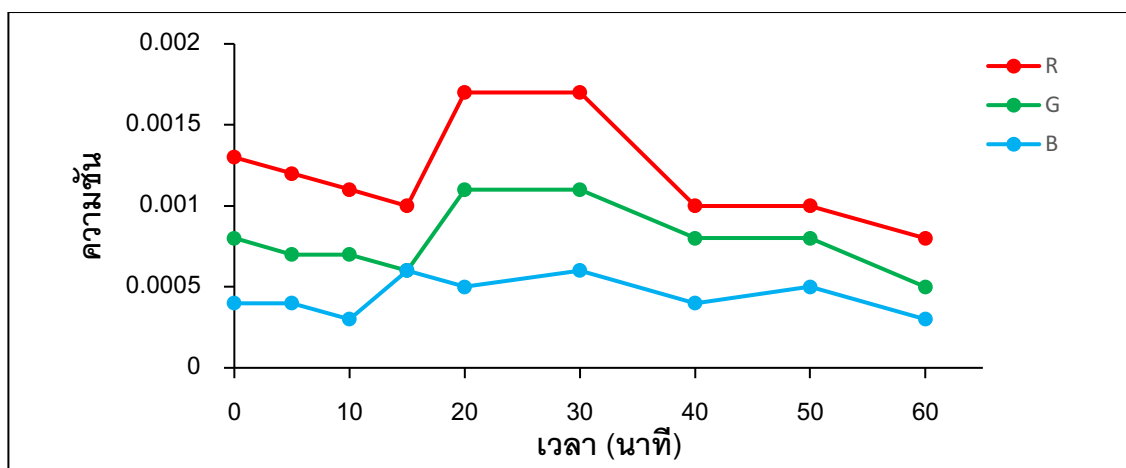
ตาราง 10 สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเมื่อเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก

ความเข้มข้นของกรด ซัลฟิวริก (โมลต่อลิตร)	สมการเส้นตรง		
	R	G	B
5	$0.0012x + 0.0119$ ($R^2=0.9773$)	$0.0007x + 0.0050$ ($R^2=0.9450$)	$0.0003x + 0.0065$ ($R^2=0.8868$)
5.5	$0.0014x + 0.0072$ ($R^2=0.9979$)	$0.0009x + 0.0002$ ($R^2=0.9906$)	$0.0005x - 9E-05$ ($R^2=0.9817$)
6	$0.0008x + 0.0267$ ($R^2=0.9815$)	$0.0005x + 0.0131$ ($R^2=0.9561$)	$0.0003x + 0.0077$ ($R^2=0.7960$)
6.5	$0.0006x + 0.0236$ ($R^2=0.7932$)	$0.0003x + 0.0139$ ($R^2=0.8170$)	$0.0002x + 0.0094$ ($R^2=0.8045$)
7	$0.0006x + 0.0317$ ($R^2=0.7496$)	$0.0003x + 0.0231$ ($R^2=0.6092$)	$0.0001x + 0.0160$ ($R^2=0.7833$)

4.2.2.5 การศึกษาเวลาในการทำปฏิกิริยา และการเปลี่ยนแปลงสี

เนื่องจากการทำปฏิกิริยาของแอมโมเนียมโมลิบเดตจะต้องใช้ระยะเวลาประมาณ 30 นาทีเพื่อใช้วิธีสเปกโทรสโกปีด้วยวิธีโมลิบดีนัมบลู ในการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัดด้วยอุปกรณ์ μ PADs โดยการวัดความเข้มสีของอุปกรณ์ μ PADs หลังจากหยดสารรีเอเจนต์ผสมกับสารละลายสารหนู(V) ตั้งแต่ 0 นาที (หลังจากอุปกรณ์ μ PADs แห้งทันที) จนถึง 60 นาที เพื่อศึกษาเวลาในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม และความเข้มของสี RGB ที่ดีที่สุด

จากภาพ 22 จะเห็นว่าที่เวลา 0 นาที ถึง 15 นาที สภาพไวของการจะไม่มีค่าแตกต่างกันมากนัก แต่เมื่อถึงเวลา 30 นาที จะมีค่าสภาพไวที่สูงที่สุด หลังจากนั้นค่าจะลดลง จึงเลือกใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาที่ 30 นาที ในการศึกษาขั้นต่อไป และจากการศึกษาที่ผ่านมาข้างต้นยังพบว่าค่าสีที่ให้ผลการตรวจวัดที่ดีคือค่า R (Red) โดยจะให้ค่าสภาพไวที่สูง ค่าความเป็นเส้นตรง และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ที่ดีกว่าค่า G (Green) และ B (Blue) ดังนั้นจึงเลือกใช้ค่า R ในการศึกษาคุณลักษณะเฉพาะของวิธีการวิเคราะห์อื่น ๆ ต่อไป



ภาพ 22 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยากับสภาพไฟ

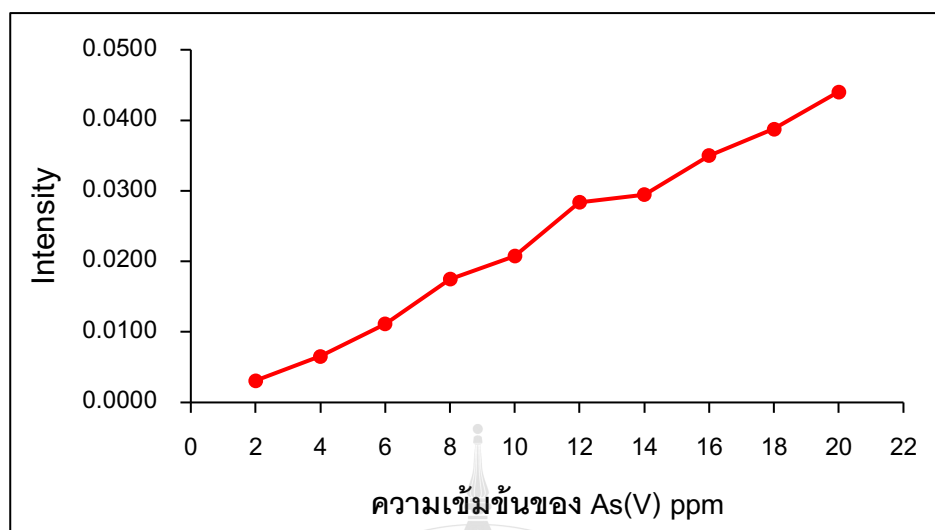
4.2.3 คุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์

4.2.3.1 ผลการศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์

ในการทดลองได้ทำการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ โดยใช้สารละลายมาตรฐานสารหนู (V) ในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 2 – 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มาทดสอบโดยใช้อุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น ผลแสดงดังตาราง 11 และภาพ 23

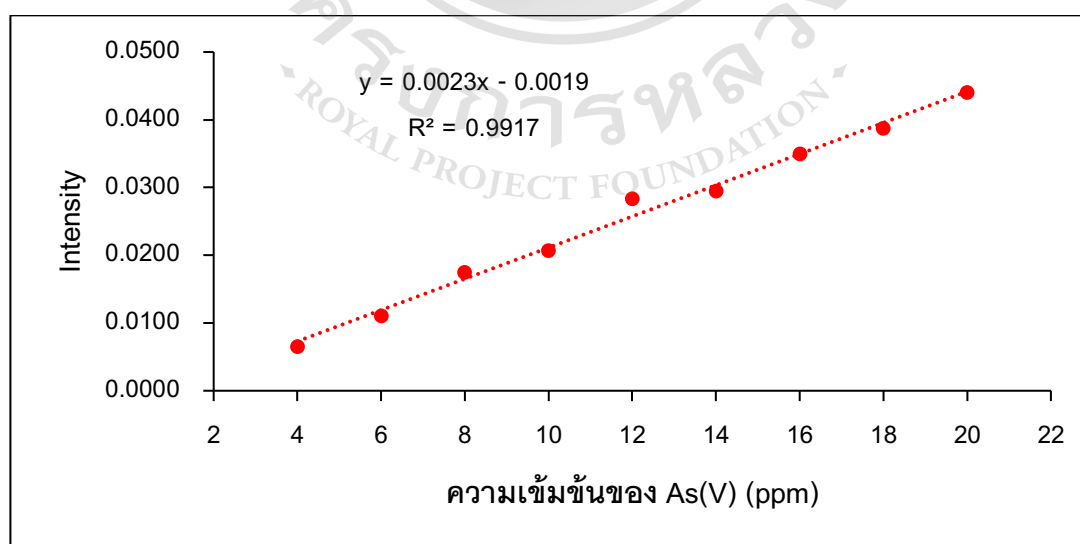
ตาราง 11 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง

ความเข้มข้นของ สารละลายสารหนู (V) (มิลลิกรัมต่อลิตร)	Intensity		
	R	G	B
2	0.0031	0.0000	0.0027
4	0.0066	0.0007	0.0017
6	0.0111	0.0028	0.0021
8	0.0175	0.0069	0.0052
10	0.0207	0.0066	0.0048
12	0.0284	0.0090	0.0069
14	0.0295	0.0094	0.0069
16	0.0350	0.0154	0.0104
18	0.0388	0.0111	0.0076
20	0.0440	0.0087	0.0059
Blank	0.0000	0.0000	0.0000



ภาพ 23 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายสารหนู (V) กับค่าความเข้มสี

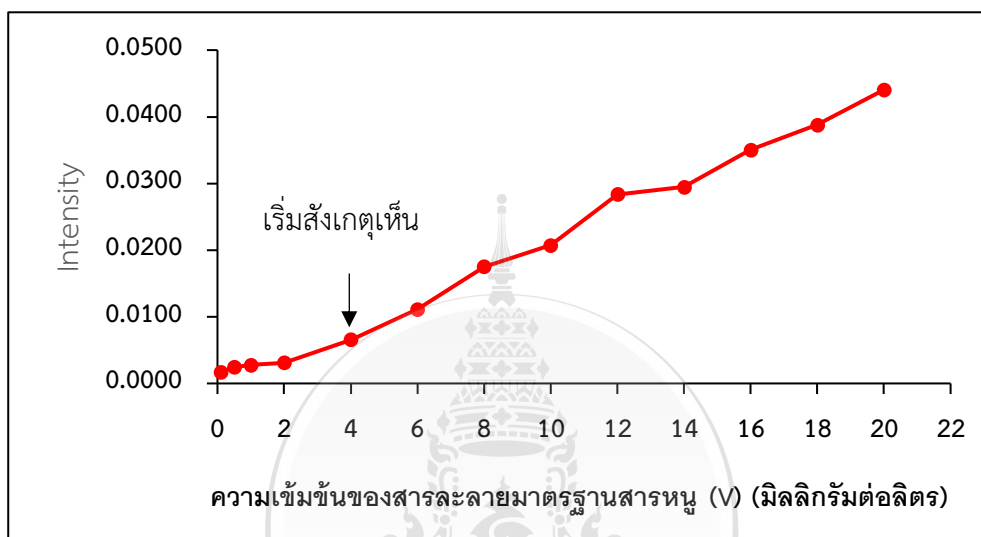
จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นจะอยู่ในช่วงความเข้มข้น 4 – 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนความเข้มข้นอื่น ๆ จะมีลักษณะไม่เป็นไปตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ต ดังนั้นจึงนำความเข้มข้นของสารละลายสารหนู (V) ในช่วงความเข้มข้น 4 – 20 มิลลิกรัมต่อลิตร มาสร้างเป็นกราฟมาตรฐานดังภาพ 24



ภาพ 24 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารละลายสารหนู (V) ในช่วง 4 – 20 มิลลิกรัมต่อลิตร กับค่าความเข้มสี (Red)

4.2.3.2 ผลการศึกษาหาขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD)

การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวัดการปนเปื้อนของสารหนูที่มีอยู่ในธรรมชาติ ซึ่งมักจะพบในความเข้มข้นต่ำ ๆ จึงต้องศึกษาว่าอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นนี้ สามารถตรวจวัดได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดเท่าใด โดยนำมาทดสอบกับสารมาตรฐานสารหนู (V) ที่มีความเข้มข้นต่ำๆ ซึ่งผลการวิเคราะห์แสดงดังภาพ 25



ภาพ 25 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานสารหนู (III) กับค่าความเข้มสี (Red)

จากภาพ 25 จะเห็นว่าสารละลายสารหนู (V) ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อนำมาทำปฏิกิริยากับโมลิบดีนัมบลูเอเจนต์อย่างชัดเจน จึงไม่สามารถตรวจหาสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่ความเข้มข้นดังกล่าวได้ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเริ่มสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสีซึ่งแม้ว่าไม่ค่อยชัดเจน แต่ก็พอจะสามารถวิเคราะห์หาปริมาณสารที่ต้องการได้ และเมื่อความเข้มข้นของสารละลายสารหนู (V) เพิ่มขึ้น ค่าความเข้มสีก็จะเพิ่มขึ้นตามลำดับ ดังนั้นอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นมานี้มีขีดจำกัดของการตรวจวัดจะอยู่ที่ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.2.3.3 การศึกษาผลของการทำซ้ำ (Repeatability)

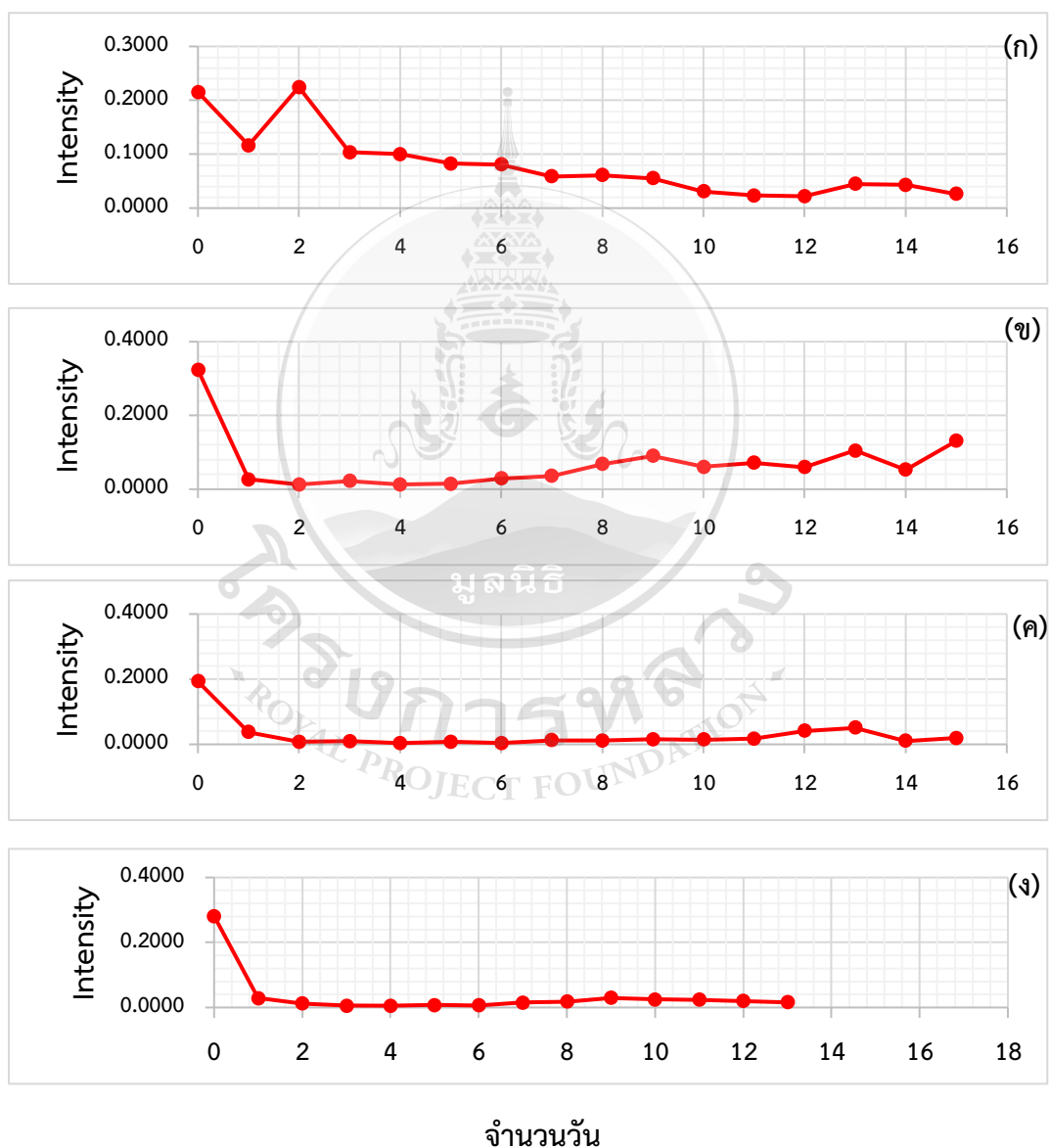
ในการทดลองการหาความสามารถในการทำซ้ำของการตรวจวัดสารละลายสารหนู (V) โดยใช้สารละลายสารหนู (V) ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการทดสอบ จำนวน 12 ซ้ำ โดยใช้รีเอเจนต์ ปริมาตรในการการหยด และเวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสม ที่ได้ศึกษามาในข้างต้น แล้วทำการคำนวณหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D) ของค่า R G และ B ซึ่งในงานวิจัยจะพิจารณาค่า R เป็นหลัก เนื่องจากเป็นค่าที่ให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีที่สุด พบว่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า R มีค่าเท่ากับ 0.0082 และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (%RSD) ของค่า R มีค่าเท่ากับ 9.84 ซึ่งค่า %RSD ที่วัดได้มีค่าไม่เกิน 10% ถือว่าเป็นค่าที่ยอมรับได้[60]

ตาราง 12 การศึกษาการทำซ้ำ

จำนวนครั้ง	Intensity		
	R	G	B
1	0.0854	0.0363	0.0122
2	0.0733	0.0340	0.0140
3	0.0742	0.0337	0.0112
4	0.0862	0.0340	0.0126
5	0.0845	0.0404	0.0108
6	0.0973	0.0378	0.0129
7	0.0883	0.0378	0.0122
8	0.0905	0.0397	0.0119
9	0.0713	0.0263	0.0140
10	0.0791	0.0329	0.0112
11	0.0900	0.0385	0.0129
12	0.0758	0.0311	0.0098
ค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$)	0.0830	0.0352	0.0121
ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D)	0.0082	0.0040	0.0013
ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)	9.84	11.48	10.49

4.2.3.4 ผลการศึกษาความเสถียรของแผ่น μ PADs

การศึกษาถึงเสถียรภาพของแผ่นอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ จะทำการศึกษาโดยการหยดรีเอเจนต์ลงบน μ PADs แล้วนำไปเก็บไว้ในสถานที่ต่างกันได้แก่ ตู้เย็น โถดูดความชื้น ในร่ม และตากแดด แล้วในแต่ละวันนำ μ PADs ออกมาหดยดสารละลายมาตรฐาน สารหนู (V) ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อดูสถานที่ที่เหมาะสมในการเก็บรักษา μ PADs ให้สามารถใช้งานได้นานที่สุด โดยจะพิจารณาจากค่าความเข้มสีในแต่ละวัน ผลแสดงดังภาพ 26



ภาพ 26 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนวันที่เก็บแผ่น μ PADs กับค่าความเข้มสี ((ก) ตู้เย็น (ข)

โถดูดความชื้น (ค) ในร่ม (ง) ตากแดด)

จากภาพ 26 เมื่อพิจารณาจากความเข้มข้นของแผ่น μ PADs ที่เก็บไว้ในทุกสถานที่พบว่า อุปกรณ์ตรวจวัดจะมีค่าความเข้มข้นลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อผ่านไปเพียงหนึ่งวัน ยกเว้น การเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นว่าอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษที่ทำการหยดโมลิบดีนัมบลูรีเอเจนต์ทิ้งไว้จะไม่สามารถทำการวิเคราะห์ได้เมื่อทิ้งไว้เกิน 1 วัน ไม่ว่าจะเก็บไว้ในสถานที่ใด เนื่องจากในโมลิบดีนัมบลูรีเอเจนต์มีกรดแอสคอร์บิกเป็นองค์ประกอบอยู่ ซึ่งกรดแอสคอร์บิกจะไวต่อแสง ส่งผลให้เกิดการสลายตัวและเสื่อมสภาพของโมลิบดีนัมบลูรีเอเจนต์ [56] ดังนั้นสำหรับวิธีการแก้ไขในการวิเคราะห์แต่ละครั้งจะต้องทำการหยดสารละลายรีเอเจนต์ลงบน Test zone ทุกครั้งก่อนการทดสอบวิเคราะห์

4.3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูในตัวอย่างน้ำและดิน

ในการวิเคราะห์สารหนู ในตัวอย่างดินที่ทำการสุ่มเก็บจากแปลงปลูกพืชของเกษตรกรในพื้นที่มูลนิธิโครงการหลวง บ้านแม่โถ ตำบลแม่สลิ อำเภอสอด จังหวัดแม่ฮ่องสอน จำนวน 5 ตัวอย่างนั้น ในการรายงานผลการตรวจวิเคราะห์นั้น จะต้องรายงานทั้งในรูปสารหนูวาเลนซ์ 3 และ 5 แต่จากแผ่น μ PADs ที่ทำการพัฒนาขึ้นมานั้น จะสามารถทำการตรวจวิเคราะห์ได้เฉพาะสารหนูวาเลนซ์ 5 เท่านั้น ดังนั้นจึงต้องทำการ oxidize และ reduce [61] สารหนูที่พบในตัวอย่างดินก่อนนำมาวิเคราะห์ด้วยแผ่น μ PADs หลังจากนั้นจึงนำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ มาคำนวณหาปริมาณสารหนูในรูปวาเลนซ์ 3 และ 5 ดังสูตร

$$\text{As(III)} = \text{As}_{\text{oxidized}} - \text{As}_{\text{untreated}}$$

$$\text{As(V)} = \text{As}_{\text{untreated}} - \text{As}_{\text{reduced}}$$

$$\text{Total As} = \text{As}_{\text{oxidized}} - \text{As}_{\text{reduced}}$$

เมื่อ

$\text{As}_{\text{oxidized}}$ คือ สารละลายตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการ oxidize

$\text{As}_{\text{reduced}}$ คือ สารละลายตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการ reduce

$\text{As}_{\text{untreated}}$ คือ สารละลายตัวอย่างที่ไม่ผ่านกระบวนการ oxidize และ reduce

ตาราง 13 การศึกษาความถูกต้อง (accuracy) ของวิธีตรวจวัดสารหนูด้วยอุปกรณ์ μ PADs

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารหนูที่ตรวจพบ (ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม)								
	add			found			% recovery		
	Total	As(III)	As(V)	Total As	As(III)	As(V)	Total As	As(III)	As(V)
As									
Spike 1	30	15	15	41.24 $\pm$ 2.23	20.40 $\pm$ 7.43	21.21 $\pm$ 3.57	137.48 $\pm$ 7.42	133.57 $\pm$ 31.52	141.39 $\pm$ 23.81
Spike 2	50	25	25	55.91 $\pm$ 4.46	34.37 $\pm$ 6.33	21.55 $\pm$ 2.87	111.82 $\pm$ 8.91	137.46 $\pm$ 25.32	86.18 $\pm$ 8.91
Spike 3	75	35	35	66.35 $\pm$ 0.36	36.02 $\pm$ 7.36	30.33 $\pm$ 7.50	94.79 $\pm$ 0.51	102.93 $\pm$ 21.02	86.65 $\pm$ 21.41

ND = not detected, LOD (μ PADs) = 4 mg L⁻¹

ในการศึกษาความถูกต้อง (accuracy) ของวิธีตรวจวัดสารหนูด้วยอุปกรณ์ μ PADs นั้น ได้ทำการเติมสารมาตรฐานสารหนู (III) และสารหนู (V) ลงไปในตัวอย่างดินสังเคราะห์ ที่ระดับความเข้มข้น 30-75 μ g ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ พบว่าเมื่อทำการวิเคราะห์สารหนูในรูป สารหนูรวม สารหนู (III) และสารหนู (V) ได้ค่า % recovery มากกว่า 80% ทั้งสามระดับความเข้มข้น ดังแสดงในตาราง 13

สำหรับการทดสอบหาปริมาณสารหนูในตัวอย่างดินจำนวน 5 ตัวอย่าง จากแปลงปลูกพืชของเกษตรกรในพื้นที่มูลนิธิโครงการหลวง บ้านแม่โถ ตำบลแม่สลิ อำเภอสอด จังหวัดแม่ฮ่องสอน ด้วยวิธีคลื่นเลเซอร์โดยใช้อุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ (μ PADs) ที่พัฒนาขึ้น เทียบกับ ผลการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP ผลการทดลองแสดงดังตาราง 14

ตาราง 14 การเปรียบเทียบปริมาณสารหนูในตัวอย่างดินด้วยอุปกรณ์ μ PADs และเครื่อง ICP

ตัวอย่าง ดิน	ความเข้มข้นของสารหนูที่ตรวจพบ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)		
	μ PADs		
	Total As	As(III)	As(V)
Sample 1	nd	nd	nd
Sample 2	48.20 $\pm$ 0.10	48.20 $\pm$ 0.10	nd
Sample 3	nd	nd	nd
Sample 4	nd	nd	nd
Sample 5	nd	nd	nd

nd = not detected, LOD (μ PADs) = 4 mg L⁻¹, 40 mg/kg , LOD(ICP)= 6.5 mg/kg

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูในตัวอย่างน้ำบน μ PADs พบว่าสามารถทำการตรวจวิเคราะห์ และรายงานผลการตรวจได้เพียง 1 ตัวอย่าง คือตัวอย่าง ที่ 2 โดยตรวจพบสารหนูรวม เท่ากับ 48.20 mg/kg และสารหนูวาเลนซี 5 มีค่าเท่ากับ 48.20 mg/kg ส่วนสารหนูวาเลนซี 3 ไม่สามารถทำการตรวจวัดได้ ส่วนตัวอย่างอื่น ๆ ไม่สามารถทำการตรวจวัดได้เช่นกัน เนื่องจากมีค่าต่ำกว่า จุดต่ำสุดของกระบวนการวิเคราะห์ (LOD) เมื่อนำผลการวิเคราะห์ไปเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ที่ได้ด้วยเครื่อง ICP นั้นจะพบว่า ตรวจพบสารหนูรวม อยู่ในช่วง 9-80 mg/kg

ทั้งนี้จากผลการวิเคราะห์สารหนูของทั้ง μ PADs และ ICP เมื่อนำมาเปรียบเทียบกันแล้ว จะเห็นได้ว่า ปริมาณสารหนูที่ตรวจพบในการวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธี มีค่าแตกต่างกัน อาจเป็นด้วยจากการรบกวนของฟอสเฟตและซิลิเกต ที่สามารถทำปฏิกิริยากับโมลิบดีนัมบลูรีเอเจนต์แล้วให้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินได้เช่นเดียวกับสารหนู จึงทำให้เกิดการรบกวนในวิธีที่ได้ทำการพัฒนาขึ้นมา อีกเหตุผลหนึ่งประการหนึ่งที่คาดว่าจะจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ผลการวิเคราะห์ของ μ PADs มีความคลาดเคลื่อน เนื่องจากในกระบวนการเตรียมตัวอย่าง จะต้องทำให้สารหนูในตัวอย่างอยู่ในรูป 5 และ 3 ทั้งหมด โดยผ่านกระบวนการ oxidize และ reduce เสียก่อน หลังจากนั้นจึงค่อยนำผลการวิเคราะห์มาหักลบกัน จึงจะได้ผลการวิเคราะห์สารหนูที่อยู่ในรูป 3+ และ 5+ จากกระบวนการเตรียมตัวอย่างอาจมีหลายขั้นตอน มีความซับซ้อน จึงทำให้เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลการวิเคราะห์เกิดความผิดพลาดลงไป

จากผลการวิเคราะห์สารหนูในตัวอย่างดินจำนวน 5 ตัวอย่าง จากแปลงปลูกพืชของเกษตรกรในพื้นที่มูลนิธิโครงการหลวง บ้านแม่โถ ตำบลแม่สลิ อำเภอสอด จังหวัดแม่ฮ่องสอน ด้วยเครื่อง ICP นั้น จะเห็นได้ว่า ทั้ง 5 ตัวอย่างนั้นที่มีปริมาณสารหนูที่เกินเกณฑ์มาตรฐาน โดยเกณฑ์มาตรฐานปริมาณสารหนูในดินพื้นที่เกษตรกรรม ของกรมควบคุมมลพิษ กำหนดไว้ไม่ควรเกิน 3.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม [26] ดังนั้นในพื้นที่ดังกล่าวอาจต้องมีการจัดการบำบัดสารหนูก่อน โดยอาจมีการปลูกพืชเพื่อใช้ในการดูดซับสารหนูออกไป หรืออาจจะต้องทำการแก้ไขโดยการเพาะปลูกพืชโดยเพาะปลูกในถุงที่ใช้ดินปลูกจากแหล่งอื่นทดแทน เป็นต้น

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

จากการศึกษา และพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ เพื่อทำการตรวจวิเคราะห์สารหนู โดยสรุปมีข้อดีในเรื่องของการลดปริมาณการใช้สารเคมี เมื่อเทียบกับเทคนิค UV-Visible spectroscopy หรือเทคนิคอื่นๆ ซึ่งจะมีการใช้สารเคมีในหน่วยมิลลิลิตร แต่ในอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษจะใช้สารเคมีในหน่วยของไมโครลิตร ซึ่งถือว่าเป็นปริมาณที่น้อยมาก ทำให้ของเสียที่เกิดจากการใช้สารเคมีจึงมีปริมาณน้อยตามไปด้วย อีกทั้งยังสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพ และเชิงปริมาณ มีราคาถูก รวดเร็ว โดยในการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูจะอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารหนู(V) กับโมลิบดีนัมบลูรีเอเจนต์ ซึ่งจะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน

ในการทดลองได้ทำการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับอุปกรณ์ตรวจวัดระบบของไหลจุลภาคแบบกระดาษ เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูในดิน สามารถสรุปได้ดังตาราง 15 และพารามิเตอร์ต่าง ๆ สามารถสรุปได้ดังตาราง 16

ตาราง 15 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับ μ PADs

ลำดับ	สภาวะ	ค่าที่เหมาะสม
1	อัตราส่วนในการเติมรีเอเจนต์ : สารละลายสารหนู (V)	2:5 ไมโครลิตร
2	ความเข้มข้นของแอมโมเนียมโมลิบดีเตตระไฮเดรต	0.126 มิลลิโมลต่อลิตร
3	ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก	0.7 มิลลิโมลต่อลิตร
4	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมแอนติโมนี (III) ออกไซด์ ทาร์เทรต	0.008 มิลลิโมลต่อลิตร
5	ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก	5.5 มิลลิโมลต่อลิตร
6	เวลาในการทำปฏิกิริยา	30 นาที

ตาราง 16 พารามิเตอร์ต่าง ๆ ของ μ PADs

ลำดับ	สภาวะ	ค่าที่เหมาะสม
1	ขีดจำกัดในการตรวจวัด	4 มิลลิกรัมต่อลิตร
2	สถานที่เก็บ μ PADs ที่เสถียรที่สุด	-
3	ช่วงความเป็นเส้นตรง	4 – 20 มิลลิกรัมต่อลิตร
4	การทำซ้ำ	9.84% (R) 11.48% (G) 10.49% (B)

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูในตัวอย่างดิน โดยใช้อุปกรณ์ μ PADs พบว่าตรวจพบสารหนูเพียง 1 ตัวอย่าง และเมื่อเทียบผลการวิเคราะห์กับเครื่องมือ ICP พบว่าปริมาณสารหนูมีค่าไม่เท่ากัน โดยมีค่าที่ตรวจพบมีค่าเกินมาตรฐานที่กำหนด

สาเหตุที่ทำให้ผลการวิเคราะห์โดยใช้อุปกรณ์ μ PADs ที่พัฒนาขึ้นมีความผิดพลาด อาจเป็นผลมาจากการรบกวนของฟอสเฟตและซิลิเกต ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับโมลิบดีนัมบลูรีเอเจนต์แล้วให้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ที่สามารถรบกวนผลในการวิเคราะห์ได้ และกระบวนการเตรียมตัวอย่างค่อนข้างซับซ้อน และนอกเหนือจากนี้แล้วอุปกรณ์ μ PADs ที่พัฒนาขึ้น มีค่าต่ำสุดของการตรวจวิเคราะห์ที่ยังสูงเกินกว่าเกณฑ์มาตรฐานของสารหนูกำหนด จึงเป็นสาเหตุให้มีเพียงแค่ 1 ตัวอย่างที่รายงานผลได้ ซึ่งจะจากต้องมีการพัฒนาต่อไปเพื่อให้สามารถทำการตรวจวัดสารหนูได้ทั้งในรูป 3+ และ 5 +

ทั้งนี้ในเบื้องต้นจากผลการทดลองที่ได้จะเห็นได้ว่าสามารถพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษที่สารมาตรฐานตรวจวิเคราะห์สารหนู (V) โดยมีข้อดีในเรื่องของการลดปริมาณการใช้สารเคมี ประหยัดค่าใช้จ่าย เมื่อเทียบกับเทคนิค ICP หรือเทคนิคอื่นๆ และสามารถนำข้อมูลจากการวิจัยในครั้งนี้ไปพัฒนาต่อยอดเพื่อพัฒนาเป็นชุดตรวจสอบสารหนูต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1. อาจจะต้องทำการพัฒนารูปแบบของอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาศ ให้สามารถทำการวิเคราะห์สารหนูได้ทั้ง 3+ และ 5+ ในคราวเดียวกันโดยอาจอาศัยความจำเพาะของปฏิกิริยาของสารหนูแต่ละวาเลนซ์ โดยจะช่วยทำให้ลดขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ซึ่งอาจจะไม่จำเป็นต้องผ่านกระบวนการ oxidize และ reduce ซึ่งจะช่วยทำให้ประหยัดเวลาในการเตรียมตัวอย่างได้ และนอกจากนี้อาจจะสามารถนำชุดตรวจไปตรวจที่ภาคสนามได้
2. อาจจะต้องทำการพัฒนาให้อุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาศ มีค่าต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) ที่ต่ำกว่ามาตรฐานกำหนด ทั้งนี้อาจจะต้องทำการเปลี่ยนวิธีการอ่านผล โดยอาจใช้เทคนิคเคมีไฟฟ้าเข้ามาช่วย หรืออาจจะต้องมีการเติมสารบางชนิดที่ช่วยทำให้ค่าต่ำสุดของการตรวจวัดได้ต่ำลง เช่นอนุภาคนาโน หรือคอมตั้มดอท เป็นต้น
3. สำหรับสารละลายรีเอเจนต์ผสมที่ใช้ทำปฏิกิริยากับสารหนูนั้น ควรเก็บไว้ในที่มืดและใช้ภายใน 1 ชั่วโมง เนื่องจากไนรีเอเจนต์ผสมมีกรดแอสคอร์บิกเป็นองค์ประกอบ ซึ่งกรดแอสคอร์บิกจะไวต่อแสง ส่งผลให้เกิดการสลายตัวและเสื่อมสภาพของโมลิบดีนัมบลูรีเอเจนต์
4. ในการสแกนแผ่น μ PADs เมื่อต้องการนำไปวัดค่า RGB ควรใช้เครื่องสแกนเครื่องเดียวกันตลอดการทำการทดลอง เพื่อลดความคลาดเคลื่อนของสี
5. แนวทางในการแก้ไขปัญหาสารปนเปื้อนในการวิเคราะห์ นั้นอาจทำได้โดยการกำจัดไอออนรบกวนโดยใช้วิธีแลกเปลี่ยนประจุ (Ion exchange) ก่อนนำสารตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดที่พัฒนาขึ้น

เอกสารอ้างอิง

[1] Worachart Wisawapipat, Remediation technologies of heavy metal contaminated soils using phosphate materials, Khon kaen Agricultural Journal, 2012, 40: 373-378.

[2] กรมควบคุมมลพิษ. มาตรฐานคุณภาพดิน, กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2547: ประเทศไทย.

[3] กรมควบคุมมลพิษ. มาตรฐานคุณภาพน้ำผิวดิน, กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2537: ประเทศไทย.

[4] กรมควบคุมมลพิษ. มาตรฐานคุณภาพน้ำใต้ดิน, กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2543: ประเทศไทย.

[5] กระทรวงอุตสาหกรรม. เรื่อง มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค, กระทรวงอุตสาหกรรม. 2521: ประเทศไทย.

[6] Visootviseth, P., Francesconi, K. and Sridokchan, W. The potential of Thai indigenous plant species for the phytoremediation of arsenic contaminated land. Environmental Pollution, 2002. 118: p 453–461.

[7] Johnson, D.L. and Pilson, M.E.Q. Spectrophotometric determination of arsenite arsenate and phosphate in nature waters. Analytical chimica acta, 1972. 58(2): p. 289-299.

[8] APHA, AWWA, WEF. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 2005, American Public Health Association: Washington, DC.

[9] Zhang, Y., Wang, W., Li, L., Huang, Y. and Cao, J. Eggshell membrane-based solid-phase extraction combined with hydride generation atomic fluorescence spectrometry for trace arsenic(V) in environmental water samples. Talanta, 2010. 80(5): p. 1907-1912.

[10] Jitmanee, K., Oshima, M. and Motomizu, S. Speciation of arsenic(III) and arsenic(V) by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry coupled with preconcentration system. Talanta, 2005. 66(3): p. 529-533.

[11] Villadangos, A.F., Ordóñez, E., Muñoz, M.I., Pastrana, I.M., Fiuza, M., Gil, J.A., Mateos, L.M. and Aller, A.J. Retention of arsenate using genetically modified coryneform bacteria and determination of arsenic in solid samples by ICP-MS. *Talanta*, 2010. 80(3): p. 1421-1427.

[12] Ratnarathorn, N.; Chailapakul, O.; Henry, C. S.; Dungchai, W., Simple silver nanoparticle colorimetric sensing for copper by paper-based devices. *Talanta*, 2012. 99:p. 552-557.

[13] Chen, Y.; Zilberman, Y.; Mostafalu, P.; Sonkusale, S. R., Paper based platform for colorimetric sensing of dissolved NH₃ and CO₂. *Biosensors and Bioelectronics*. 2015. 67:p. 477-484.

[14] Richtel, M. M., Electrochemiluminescence (ECL). *Chemical Reviews*. 2004. 104:p. 3003-3036.

[15] Grayeski, M. L., Chemiluminescence analysis. *Analytical Chemistry*. 1987. 59(21):p. 1243A-1256A.

[16] Lancaster, J. S., Chemiluminescence detection in analytical chemistry. *Endeavour*. 1992. 16(4):p. 194-200.

[17] Liu, W.; Kou, J.; Xing, H.; Li, B., Paper-based chromatographic chemiluminescence chip for the detection of dichlorvos in vegetables. *Biosensors and Bioelectronics*. 2014. 52:p. 76-81.

[18] Anawar, H.M., Akai, J., Mostofa, K.M., Safiullah, S. and Tareq, SM. Arsenic poisoning in groundwater health risk and geochemical sources in Bangladesh. *Environment International*. 2002. 27: p. 597- 604.

[19] Chowdhury, U.K., Biswas, B.K., Chowdhury, T.R., Samanta, G., Mandal, B.K. and Basu, G.C. Groundwater arsenic contamination in Bangladesh and West Bengal, India. *Environmental Health Sciences*. 2000. 108: p.393- 397.

[20] Das, H.K., Mitra, A.K., Sengupta, P.K., Hossain, A., Islam, F. and Rabbani, G.H. Arsenic concentrations in rice, vegetables, and fish in Bangladesh: a preliminary study. *Environment International*. 2004.30(3): p. 383-387.

[21] Mitra, A. K., Bose, B. K., Kabir, H., Das, B. K. and Hussain, M. Arsenic-related health problems among hospital patients in southern Bangladesh. *The Journal of Health, Population and Nutrition*. 2002. 20: p. 198-204.

[22] Pandey, P. K., Yadav, S., Nair, S. and Bhui, A. Arsenic contamination of the environment: a new perspective from central-east India. *Environment International*. 2002. 28: p. 235- 245.

[23] Smith, A. H., Lingas, E. O. and Rahman, M. Contamination of drinking-water by arsenic in Bangladesh health emergency. *Bulletin of the World Health Organization*. 2001. 78: p. 1093-1103.

[24] กรมทรัพยากรธรณี. 2553. อาร์เซนไพไรต์ (Arsenopyrite). Available from: <http://www.dmr.go.th/main.php?filename=arsenopyrite>. Accessed date: 30/10/2559

[25] ศูนย์วิจัยน้ำบาดาล. รายงานผลการปฏิบัติตาม มาตรการป้องกันและแก้ไขผลกระทบสิ่งแวดล้อม และมาตรการติดตามตรวจสอบคุณภาพสิ่งแวดล้อมโครงการเหมืองแร่ทองคำทับฟ้า ต.เขาหลวง อ.วังสะพุง จ.เลย. ขอนแก่น. 2553: คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

[26] สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 25 (พ.ศ. 2547) เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพดิน. 2547: กรุงเทพฯ .

[27] Science lab. Material safety data sheet of arsenic. Available from: <https://www.sciencelab.com/msds.php?msdsId=9922970>. Accessed date: 30/10/2559

[28] Wordbank. Chronic arsenic poisoning: Pictures of sufferers. Available from: http://users.physics.harvard.edu/~wilson/arsenic/pictures/arsenic_project_pictures2.htm. Accessed date: 30/10/2559

[29] นันทวรรณ ชุ่มจางวาง. การปนเปื้อนของสารหนูและตะกั่วในดินตะกอน บริเวณคลองอู่ตะเภา. 2557. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิตปริญญาโท. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

[30] Behari, J. R. and Prakash, R. Determination of total arsenic content in water by atomic absorption spectroscopy (AAS) using vapour generation assembly (VGA). *Chemosphere*. 2006. 63(1): p. 17-21.

- [31] Husakova, L., Cernohorsky, T., Sramkova, J. and Vavrusova, L.. Direct determination of arsenic in beer by electrothermal atomic absorption spectrometry with deuterium background correction (D2-ET-AAS). *Food Chemistry*. 2007.105(1): p.286-292.
- [32] Macedo, S. M., Jesus, R. M., Garcia, K. S., Hatje, V., Queiroz A. F. S. and S. L. C. Ferreira, S. L. C. Determination of total arsenic and arsenic (III) in phosphate fertilizers and phosphate rocks by HG-AAS after multivariate optimization based on Box-Behnken design. *Talanta*. 2009. 80(2): p. 974-979.
- [33] Barra, C. M., Cervera, M. L., Guardia, M. de la and Santelli, R. E. Atomic fluorescence determination of inorganic arsenic in soils after microwave-assisted distillation. *Analytica Chimica Acta* . 2000. 407(1–2): p. 155-163.
- [34] Keller, Stefánsson, A. and Sigfússon, B. Determination of arsenic speciation in sulfidic waters by ion chromatography hydride-generation atomic fluorescence spectrometry (IC-HG-AFS). *Talanta*. 2014.128: p. 466-472.
- [35] Welna, M. and Szymczycha-Madeja, A. Effect of sample preparation procedure for the determination of As, Sb and Se in fruit juices by HG-ICP-OES. *Food Chemistry*. 2014. 159: p. 414-419.
- [36] Hueber, D. M. and Winefordner, J. D. A flowing electrolytic hydride generator for continuous sample introduction in atomic spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 1995. 316(2): p. 129-144.
- [37] Koh, J., Kwon, Y. and Pak, Y.-N. Separation and sensitive determination of arsenic species ($\text{As}^{3+}/\text{As}^{5+}$) using the yeast-immobilized column and hydride generation in ICP–AES. *Microchemical Journal*. 2005. 80(2): p. 195-199.
- [38] Milstein, L. S., Essader, A., Pellizzari, E. D., Fernando, R. A. and Akinbo, O. Selection of a suitable mobile phase for the speciation of four arsenic compounds in drinking water samples using ion-exchange chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry. *Environment International*. 2002. 28(4): p. 277-283.

[39] Moreira, C. M., Duarte, F. A., Lebherz, J., Pozebon, D., Flores E. M. M. and Dressler, V. L. Arsenic speciation in white wine by LC–ICP–MS. *Food Chemistry*. 2011. 126(3): p. 1406-1411.

[40] Garlaschelli, F., Alberti, G., Fiol, N. and Villaescusa, I. Application of Anodic Stripping Voltammetry to assess sorption performance of an industrial waste entrapped in alginate beads to remove As(V). *Arabian Journal of Chemistry*.

[41] Martinez, A. W.; Phillips, S. T.; Butte, M. J.; Whitesides, G. M., Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2007. 46(8):p. 1318-20.

[42] Martinez, A. W.; Phillips, S. T.; Whitesides, G. M., Three-dimensional microfluidic devices fabricated in layered paper and tape. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008. 105(50):p. 19606-19611.

[43] Khan, M. S.; Fon, D.; Li, X.; Tian, J.; Forsythe, J.; Garnier, G.; Shen, W., Biosurface engineering through ink jet printing. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2010. 75(2):p. 441-447.

[44] Li, X.; Tian, J.; Shen, W., Progress in patterned paper sizing for fabrication of paper-based microfluidic sensors. *Cellulose*. 2010. 17(3):p. 649-659.

[45] Li, X.; Tian, J.; Nguyen, T.; Shen, W., Paper-Based Microfluidic Devices by Plasma Treatment. *Analytical Chemistry*. 2008. 80(23):p. 9131-9134.

[46] Wang, W.; Wu, W. Y.; Zhu, J. J., Tree-shaped paper strip for semiquantitative colorimetric detection of protein with self-calibration. *J Chromatogr A*. 2010. 11(24):p. 3896-9.

[47] Fenton, E. M.; Mascarenas, M. R.; Lopez, G. P.; Sibbett, S. S., Multiplex lateral-flow test strips fabricated by two-dimensional shaping. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2009. 1(1):p. 124-9.

[48] Lu, Y.; Shi, W.; Jiang, L.; Qin, J.; Lin, B., Rapid prototyping of paper-based microfluidics with wax for low-cost, portable bioassay. *ELECTROPHORESIS*. 2009. 30(9):p. 1497-1500.

[49] Leung, V.; Shehata, A.-A. M.; Filipe, C. D. M.; Pelton, R., Streaming potential sensing in paper-based microfluidic channels. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2010. 364(1–3);p. 16-18.

[50] Zhong, Z. W.; Wang, Z. P.; Huang, G. X. D., Investigation of wax and paper materials for the fabrication of paper-based microfluidic devices. *Microsystem Technologies*. 2012. 18(5):p. 649-659.

[51] Fenton, E. M.; Mascarenas, M. R.; López, G. P.; Sibbett, S. S., Multiplex Lateral-Flow Test Strips Fabricated by Two-Dimensional Shaping. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2009. 1(1):p. 124-129.

[52] Liu, H.; Crooks, R. M., Three-Dimensional Paper Microfluidic Devices Assembled Using the Principles of Origami. *Journal of the American Chemical Society*. 2011. 133(44):p. 17564-17566.

[53] Nie, Z.; Deiss, F.; Liu, X.; Akbulut, O.; Whitesides, G. M., Integration of paper-based microfluidic devices with commercial electrochemical readers. *Lab on a Chip*. 2010. 10(22):p. 3163-3169.

[54] Veigas, B.; Jacob, J. M.; Costa, M. N.; Santos, D. S.; Viveiros, M.; Inacio, J.; Martins, R.; Barquinha, P.; Fortunato, E.; Baptista, P. V., Gold on paper-paper platform for Au-nanoprobe TB detection. *Lab on a Chip*. 2012. 12(22):p. 4802-4808.

[55] Ferreira, D. C. M.; Giordano, G. F.; Soares, C. C. d. S. P.; de Oliveira, J. F. A.; Mendes, R. K.; Piazzetta, M. H.; Gobbi, A. L.; Cardoso, M. B., Optical paper-based sensor for ascorbic acid quantification using silver nanoparticles. *Talanta*. 2015. 141:p. 188-194.

[56] Jayawardane, B. M., Mckelvie, I. D. and Kolev, S. D. A paper-based device for measurement of reactive phosphate in water. *Talanta*. 2012. 100:p. 454-460.

[57] พนมขวัญ วิทยะมงคล. 2005. Color Image Processing. Available from:http://dusithost.dusit.ac.th/~juthawut_cha/download/Chapter%2005%20Color%20Image%20Processing.pdf.

[58] ภามรเทพ อมรวิชย์กิจ. มมป. เครื่องมือช่วยเทียบแปลงสี ระหว่างโมเดลสีระบบดิจิทัล (อาร์จีบี) กับโมเดลสีระบบมาตรฐาน สำหรับสีเคลือบผิวอาคาร (เอ็นซีเอส). Available from:<http://http://www.arch.chula.ac.th/ejournal/files/article/YHS9TTsAWKWed124548.pf>

[59] A.Giacomino A., Malandrino, M., Abollino, O., Velayuthamb, M., Chinnathangavelb T. and Mentastia E. An approach for arsenic in a contaminated soil: Speciation, fractionation, extraction and effluent decontamination. Environmental Pollution. 2010. 158:p. 416–423.

[60] จุไรรัตน์ มหาเทียน. มมป. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ. Available from:<http://reo06.mnre.go.th/home/images/upload/file/report/Jurairut070509.pdf>.

[61] Hu, S., Lu, J. and Jine, C. A novel colorimetric method for field arsenic speciation analysis. Journal of environmental sciences. 2012. 24(7):p.1341-1346.

