การพัฒนาแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับตรวจวัดตะกั่วในเนื้อสัตว์

DEVELOPMENT OF A PAPER TESE STRIP FOR DETECTION OF LEAD IN MEAT

รสสุคนธ์ ศรีสุขเจริญ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

การพัฒนาแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับตรวจวัดตะกั่วในเนื้อสัตว์

รสสุคนธ์ ศรีสุขเจริญ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นงานวิจัยที่เกิดจากการค้นคว้าและวิจัย ขณะที่ข้าพเจ้าศึกษาอยู่ในคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ดังนั้นงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ถือเป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี และข้อความต่าง ๆ ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอรับรองว่าไม่มีการคัดลอกหรือนำงานวิจัยของผู้อื่นมานำเสนอในชื่อของข้าพเจ้า

This thesis consists of research materials conducted at Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi and hence the copyright owner. I hereby certify that the thesis does not contain any forms of plagiarism.

รสสุคนธ์ ศรีสุขเจริญ

(น.ส.รสสุคนธ์ ศรีสุขเจริญ)

COPYRIGHT © 2021
FACULTY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
RAJAMANGALA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY THANYABURI

ลิขสิทธิ์ พ.ศ. 2564
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับตรวจวัดตะกั่วในเนื้อสัตว์
	Development of a Paper Test Strip for Detection of Lead in Meat
ชื่อ-นามสกุล	นางสาวรสสุคนธ์ ศรีสุขเจริญ
สาขาวิชา	เคมีประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ศิริวรรณ ตี้ภู่, ปร.ด.
ปีการศึกษา	2565

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วราภรณ์ ตรีพรหม, วท.ด.)

.... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เนตรนภิส แก้วช่วย, Ph.D.)

.... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ศิริวรรณ ตี้ภู่, ปร.ด.)

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อนุมัติวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นิพัทธ์ จงสวัสดิ์, ปร.ด.)

วันที่ 19 เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2565

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับตรวจวัดตะกั่วในเนื้อสัตว์
ชื่อ – สกุล	นางสาวรสสุคนธ์ ศรีสุขเจริญ
สาขาวิชา	เคมีประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ศิริวรรณ ตี้ภู่, ปร.ด.
ปีการศึกษา	2565

บทคัดย่อ

ตะกั่วเป็นธาตุที่เป็นพิษและมักปนเปื้อนในเนื้อสัตว์ เนื่องจากมีการนำตะกั่วมาใช้งานในด้านต่างๆ พิษของตะกั่วสามารถทำลายสมองและระบบประสาท ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาแผ่นทดสอบแบบกระดาษเพื่อตรวจหาตะกั่วที่ตกค้างในตัวอย่างเนื้อสัตว์ สร้างแผ่นทดสอบแบบกระดาษโดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างตะกั่วทำปฏิกิริยากับอนุพันธ์โรดามีน 6G ส่งผลให้สีเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพูบนบริเวณตรวจวัดของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ ตรวจวัดความเข้มสีด้วยสมาร์ทโฟน

ขั้นแรกสังเคราะห์อนุพันธ์โรดามีน 6G หาสภาวะพารามิเตอร์ที่เหมาะสมของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ ศึกษาประสิทธิภาพของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับตรวจวัดตะกั่ว ผลการทดลองพบว่าความเข้มของสีแปรผันตรงตามความเข้มข้นของตะกั่วในช่วงความเข้มข้นจาก 0.1-1 มิลลิกรัมต่อ-ลิตร มีขีดจำกัดในการตรวจพบและขีดจำกัดในการตรวจพบเชิงปริมาณเท่ากับ 0.08 และ 0.27 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีร้อยละการได้กลับคืน ในช่วง 83 – 103 เปอร์เซ็นต์ เวลาในการวิเคราะห์เพียง 1 นาที แผ่นทดสอบแบบกระดาษมีอายุการใช้งาน 10 สัปดาห์ สุดท้ายนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษไปตรวจวัดตะกั่วที่ตกค้างในตัวอย่างเนื้อสัตว์ ผลการวิเคราะห์ที่ได้จากแผ่นทดสอบแบบ กระดาษที่พัฒนาขึ้นสอดคล้องกับวิธีมาตรฐาน

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นมีข้อดี ได้แก่ มีความถูกต้องและความจำเพาะเจาะจงสูงต่อการตรวจวัดตะกั่ว ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อย ราคาถูก และสามารถใช้ตรวจวัดตะกั่วได้ในภาคสนาม

คำสำคัญ: ตะกั่ว แผ่นทดสอบแบบกระดาษ เนื้อสัตว์ อนุพันธ์โรดามีน 6G สมาร์ทโฟน

Thesis Title	Development of a Paper Test Strip for Detection of Lead in Meat
Name - Surname	Miss Rossukon Srisukjaroen
Program	Applied Chemistry
Thesis Advisor	Associate Professor Siriwan Teepoo, Ph.D.
Academic Year	2022

ABSTRACT

Lead is a toxic element which is usually contaminated in meat. It has been used in various fields. Lead poisoning can damage the brain and nervous system. Hence, this research aims to develop a paper test strip to detect lead residuals in meat samples. The paper test strips were created utilizing a reaction between the lead and a rhodamine 6G derivative, resulting in a color change from colorless to pink on the detection zone of the paper test strip. The color intensity was determined with a smartphone.

Firstly, the rhodamine 6G derivative was synthesized. Then, the optimum parameters of the paper test strips were determined and the effectiveness of paper test strips for the lead detection was investigated. The results of the experiment revealed that the color intensity was directly proportional to the lead concentration in the concentration range from 0.1-1 mg/L. The limitations of detection and those of the quantitative detection were 0.08 and 0.27 mg/l, respectively. The percentage of return in the range was 83 – 103 %. It took only one minute for the analysis. The paper test strips lifetime was ten weeks. Finally, the paper test strip was used to determine the lead residues in meat samples. The analysis results obtained from the paper test strips developed by the researcher conformed to those gained from the standard method.

This research showed that the developed paper test strips have advantages including high accuracy and specificity to lead detection with short analysis time, cost-effectiveness, and portability. That is, it could be used to determine lead in the field.

Keywords: lead, paper test strip, meat, rhodamine 6G derivative, smartphone

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์ ด้วยความเมตตากรุณาอย่างสูงจาก รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริวรรณ ตี้ภู่ ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ ตรีพรหม ประธานคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เนตรนภิส แก้วช่วย กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา และคำแนะนำในการทำงานวิจัย ตลอดจนให้ความช่วยเหลือและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริวรรณ ตี้ภู่ ที่ได้ให้คำแนะนำข้อคิดเห็นต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการทำวิทยานิพนธ์ ช่วยแก้ไขปัญหา พัฒนาศักยภาพของผู้วิจัยในการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการการแยกและวิเคราะห์สารปริมาณน้อย ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือสถานที่ และสมาชิกกลุ่มห้องปฏิบัติการการแยกและวิเคราะห์สารปริมาณน้อยที่คอยให้ความสนับสนุนในด้านต่าง ๆ ในครั้งนี้ ทำให้งานวิจัย และวิทยานิพนธ์ดำเนินไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และทุก ๆ ท่านที่เกี่ยวข้อง ที่ให้กำลังใจตลอดจนส่งเสริมการศึกษาด้วยดีเสมอมา ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุก ๆ ท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางการทำงานวิจัย ในการดำเนินงานวิจัยตลอดมา ขอกราบขอบพระคุณทุกท่านเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

รสสุคนธ์ ศรีสุขเจริญ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	(3)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
สารบัญตาราง	(8)
สารบัญภาพ	(10)
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	12
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	13
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	13
1.4 กรอบแนวคิดในการวิจัย	14
1.5 ประโยชน์ที่ได้รับ	16
บทที่ 2 วรรณกรรมหรืองานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ตะกั่ว	17
2.2 ความเป็นพิษของตะกั่ว	20
2.3 วิธีวิเคราะห์ตะกั่วทั่วไป	24
2.4 แผ่นทดสอบแบบกระดาษ	31
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	
3.1 สารเคมี	32
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	33
3.3 วิธีการทดลอง	34

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล
4.1 ออกแบบแผ่นทดสอบแบบกระดาษ และสร้างกล่องทึบแสงสำหรับถ่ายภาพ...... 45
4.2 การตรวจสอบโครงสร้างของสารสังเคราะห์ อนุพันธ์โรดามีน 6G........................ 46
4.3 ผลการศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง.. 51
4.4 ผลศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรึง 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีนบนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ... 52
4.5 ผลศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์ตะกั่ว.. 56
4.6 ศึกษาประสิทธิภาพของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการตรวจวัดปริมาณของตะกั่ว.. 61
4.7 ผลการวิเคราะห์หาตะกั่วในเนื้อสัตว์... 70
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ
5.1 สรุปผลการทดลอง.. 72
5.2 ข้อเสนอแนะ.. 73
บรรณานุกรม.. 74
ภาคผนวก.. 83
ประวัติผู้วิจัย.. 93

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แสดงความเสี่ยงของผู้ประกอบอาชีพ ที่สัมผัสตะกั่วจากการปฏิบัติงานในโรงงานอุตสาหกรรม........ 17
ตารางที่ 2.2 แสดงค่ามาตรฐานค่ามาตรฐานตะกั่วในอาหารประเภทเนื้อสัตว์........ 24
ตารางที่ 3.1 ตารางแสดงการหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง........ 41
ตารางที่ 4.1 แสดงการเปรียบเทียบโปรตรอน และคาร์บอนระหว่าง อนุพันธ์โรดามีน 6G ที่สังเคราะห์ได้ กับ สังเคราะห์อ้างอิง........ 49
ตารางที่ 4.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซลีน........ 53
ตารางที่ 4.3 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซลีน........ 54
ตารางที่ 4.4 ผลศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอก-ซีไซลีน........ 55
ตารางที่ 4.5 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอนุพันธ์ โรดามีน 6G........ 57
ตารางที่ 4.6 ผลการศึกษาค่า pH ของอนุพันธ์โรดามีน 6G........ 58
ตารางที่ 4.7 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาในการตรวจวัดตะกั่ว........ 60
ตารางที่ 4.8 สรุปผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ตะกั่ว........ 60
ตารางที่ 4.9 ผลการศึกษาการทำซ้ำของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการวิเคราะห์ตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม........ 61
ตารางที่ 4.10 ผลการศึกษาการทวนซ้ำของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการวิเคราะห์ตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม........ 62
ตารางที่ 4.11 ผลการศึกษาความถูกต้องของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการวิเคราะห์ตะกั่ว 63
ตารางที่ 4.12 แสดงผลการอ่านค่าความเข้มสีของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว........ 64
ตารางที่ 4.13 ผลการศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว........ 65
ตารางที่ 4.14 ผลการศึกษาความเสถียรของอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ใช้ทดสอบตะกั่ว........ 68
ตารางที่ 4.15 ผลการศึกษาความเสถียรของแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่ใช้ทดสอบตะกั่ว........ 69

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 4.16 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วในเนื้อสัตว์ด้วยแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น และเปรียบเทียบกับวิธีอินดัคทีพคัพเพิลพลาสมาแมสสเปกโทร-เมตทรี.. 71

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1.1 ขั้นตอนการตรวจวัดตะกั่ว ด้วยแผ่นทดสอบแบบกระดาษโดยใช้สมาร์ทโฟนเป็นตัวตรวจวัด ประกอบด้วย ก) ขั้นตอนการสร้างแผ่นทดสอบแบบกระดาษ ข) ขั้นตอนการตรวจวัด และ ค) ขั้นตอนการประมวลผล...................................... 16

ภาพที่ 2.1 แสดงความสัมพันธ์ของสารตะกั่วในอุตสาหกรรม และในสิ่งแวดล้อม.................. 20

ภาพที่ 2.2 หลักการทำงานของระบบสารฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์....................................... 27

ภาพที่ 2.3 กระบวนการปิด (OFF state) และเปิดวงสไรโปแลคแตม (ON state).................. 27

ภาพที่ 2.4 โครงสร้างโรดามีนบี.. 28

ภาพที่ 2.5 โครงสร้างโรดามีน 110... 28

ภาพที่ 2.6 โครงสร้างโรดามีน 123... 29

ภาพที่ 2.7 โครงสร้างโรดามีน 6 G.. 29

ภาพที่ 2.8 โครงสร้างโรดามีนบี ไฮดราไซด์... 30

ภาพที่ 2.9 โครงสร้างโรดามีน 6 G ไฮดราไซด์... 30

ภาพที่ 3.1 รูปแบบของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับตรวจวัดตะกั่ว.............................. 35

ภาพที่ 3.2 กล่องสำหรับใส่แผ่นทดสอบแบบกระดาษเพื่อถ่ายภาพ....................................... 36

ภาพที่ 3.3 การอ่านค่าความเข้มสีบนแผ่นทดสอบแบบกระดาษด้วยแอปพลิเคชัน Color Picker.. 37

ภาพที่ 4.1 แสดงรูปแบบของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับตรวจวัดตะกั่ว...................... 45

ภาพที่ 4.2 แสดงกล่องทึบแสงสำหรับถ่ายภาพแผ่นทดสอบแบบกระดาษ............................ 46

ภาพที่ 4.3 การตรวจสอบสารด้วยแผ่นอลูมิเนียมทีแอลซี ในสารละลายเคลื่อนที่ 10 ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร เอทิลอะซิเตต/ไดคลอโรมีเทน (ก) โรดามีน 6 จี ไฮดราซีน (ข) อนุพันธ์โรดามีน 6G.. 46

ภาพที่ 4.4 (ก) สเปกตรัมโปรตอน (ข) สเปกตรัมคาร์บอน NMR ของอนุพันธ์โรดามีน 6G........... 48

ภาพที่ 4.5 โครงสร้างของอนุพันธ์โรดามีน 6G... 49

ภาพที่ 4.6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของอนุภาคนาโนทองด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโกปี... 51

ภาพที่ 4.7 ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบทรานสมิสชัน แสดงรูปร่างของอนุภาคนาโนทอง.. 52

สารบัญภาพ

ภาพที่ 4.8 ผลการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอก-ซีไซลีน.......... 53

ภาพที่ 4.9 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอก-ซีไซลีน.......... 55

ภาพที่ 4.10 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอก ซีไซลีน.......... 56

ภาพที่ 4.11 ผลการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลายที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา.......... 56

ภาพที่ 4.12 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอนุพันธ์โรดามีน 6G ในการตรวจวัดตะกั่ว.......... 57

ภาพที่ 4.13 ผลการศึกษาค่า pH ของอนุพันธ์โรดามีน 6G.......... 59

ภาพที่ 4.14 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาในการตรวจวัดตะกั่ว.......... 60

ภาพที่ 4.15 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว.......... 64

ภาพที่ 4.16 ผลการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการตรวจวัดตะกั่ว.......... 67

ภาพที่ 4.17 ผลการศึกษาความเสถียรของอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ใช้สำหรับตรวจวัดตะกั่ว.......... 68

ภาพที่ 4.18 ผลการศึกษาความเสถียรของแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่ใช้สำหรับตรวจวัดตะกั่ว.......... 70

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหา

อาหารเป็นปัจจัยสำคัญในการดำรงชีวิตของมนุษย์ ซึ่งในปัจจุบันธุรกิจด้านอุตสาหกรรม-อาหาร มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคโดยส่วนใหญ่ผู้บริโภคนิยมทานเนื้อสัตว์ เช่น เนื้อหมู เนื้อไก่ เนื้อปลา รวมถึงอาหารทะเลมากกว่าผัก การบริโภคเนื้อสัตว์ที่มากเกินความเหมาะสม นอกจากจะส่งผลต่อระบบย่อยอาหารแล้ว ยังส่งผลต่อสุขภาพอย่างร้ายแรง เนื่องจากเนื้อสัตว์จากแผงตลาดมักถูกมองข้ามเรื่องการปนเปื้อนสารเคมี และโลหะหนัก ซึ่งโลหะมีคุณสมบัติในการให้อิเล็กตรอนจึงเกิดไอออนบวก หากมีปริมาณไอออนบวกในร่างกายมาก จะส่งผลให้เกิดความผิดปกติในร่างกาย โดยเฉพาะไอออนตะกั่วเมื่อเกิดการสะสมในร่างกาย จึงก่อให้เกิดโรคร้าย เช่น โรคมะเร็ง [1]

ตะกั่ว (Lead : Pb) เป็นโลหะหนักที่พบการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมทั่วไป ได้แก่ อากาศ น้ำ ดิน [2] และอาหาร [3] ร่างกายมนุษย์ได้รับตะกั่วเข้าสู่ร่างกายจากอาหารคิดเป็น 70 ถึง 85 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร การได้รับสารตะกั่วเป็นปัญหาด้านสุขภาพโดยเฉพาะทารกในครรภ์ และเด็ก เนื่องจากระบบประสาทของเด็กกำลังพัฒนา [4] การดูดซึมตะกั่วในทางเดินอาหารนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อายุ และภาวะโภชนาการ โดยเฉพาะในภาวะที่ท้องว่าง นอกจากนี้พบว่าเด็กเล็กยังมีโอกาสในการดูดซึมสารตะกั่วในอาหารได้มากกว่าผู้ใหญ่ [5] ซึ่งการปนเปื้อนของตะกั่วในอาหารอาจเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ หรืออาจเกิดจากการกิจกรรมของมนุษย์ เช่น ทิ้งขยะลงทะเล ทำให้เกิดมลพิษสู่สัตว์น้ำโดยเฉพาะ กุ้ง หอย ปู และปลา [6] ถ้าหากมนุษย์ได้รับตะกั่วจากอาหารทะเลและเนื้อสัตว์ในปริมาณสูง จะส่งผลให้เกิดอันตรายแบบเรื้อรังและเฉียบพลัน เช่น ปวดท้องอย่างรุนแรง คลื่นไส้ อาเจียน คอแห้ง ท้องเสีย ปวดศีรษะรุนแรง อาการชัก เป็นลม กล้ามเนื้ออ่อนแรง และถึงขั้นเสียชีวิต [7] ด้วยเหตุนี้กรมควบคุมอาหาร จึงกำหนดค่ามาตรฐานตะกั่วในอาหารประเภทเนื้อสัตว์จะต้องไม่เกิน 0.1 ถึง 0.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม [8] ดังนั้นจึงควรมีการตรวจวัดปริมาณของตะกั่วก่อนการรับวัตถุดิบมาแปรรูปเพื่อป้องกันอันตรายจากตะกั่ว

เนื่องจากวิธีการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในปัจจุบัน ส่วนใหญ่จะอาศัยเทคนิคการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการที่ต้องใช้อุปกรณ์ที่มีราคาแพง และมีขนาดใหญ่ อาจต้องใช้การทดสอบที่มีค่าใช้จ่ายสูง รวมถึงใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน ซึ่งเทคนิคทั่วไปที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว ได้แก่ เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชัน สเปกโทรสโกปี (Atomic Absorption Spectroscopy ; AAS) [9] เทคนิคอัลตราไวโอเลต และวิซิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี (UV-VIS Spectrophotometry) [10]

เทคนิคไฟฟ้าเคมี (Electrochemical analysis) [11] เทคนิคฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescence) [12, 13] เทคนิคอินดัคทีพลีคัพเพิลพลาสมาแมสสเปกโทรเมตรี (Inductively Coupled Plasma-Mass-Spectrometry ; ICP-MS) และการตรวจวัดทางสี (Colorimetry) [13] เป็นต้น แต่เทคนิคดังกล่าว มีข้อจำกัด คือ เครื่องมือมีราคาสูง ผู้วิเคราะห์จะต้องมีความชำนาญในการใช้เครื่องมือ และต้องส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเท่านั้น ซึ่งอาจทำให้ทราบผลการวิเคราะห์ล่าช้า

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะพัฒนาแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับตรวจวัดปริมาณตะกั่ว ในเนื้อสัตว์ โดยตรวจวัดด้วยสมาร์ทโฟน ซึ่งมีแนวคิดในการสร้างแผ่นทดสอบแบบกระดาษ เพื่อหาปริมาณตะกั่ว โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาเคมีของตะกั่วกับสารเคมีเฉพาะ ซึ่งเป็นปฏิกิริยาพื้นฐาน ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาตะกั่ว โดยเทคนิคนี้สามารถวิเคราะห์ได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว ต้นทุนต่ำ รายงานผลได้ทันที และมีประสิทธิภาพสูง

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อสร้างแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับตรวจวัดตะกั่ว โดยตรวจวัดด้วยสมาร์ทโฟน

1.2.2 เพื่อตรวจวัดตะกั่วในตัวอย่างเนื้อสัตว์ ด้วยแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 ออกแบบแผ่นทดสอบแบบกระดาษและสร้างกล่องทึบแสงสำหรับถ่ายภาพ

1.3.1.1 ออกแบบแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

1.3.1.2 กล่องทึบแสงสำหรับถ่ายภาพ

1.3.1.3 การอ่านค่าความเข้มสีบนแผ่นทดสอบแบบกระดาษด้วยแอปพลิเคชัน Color Picker

1.3.2 วิธีสังเคราะห์อนุพันธ์โรดามีน 6G

1.3.3 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง

1.3.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน

1.3.4.1 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน

1.3.4.2 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน

1.3.4.3 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน

1.3.5 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์ตะกั่ว

1.3.5.1 ศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลายที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

1.3.5.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดตะกั่ว

1) ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอนุพันธ์โรดามีน 6G

2) ศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา

3) ศึกษาเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

1.3.6 ศึกษาประสิทธิภาพของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการตรวจวัดปริมาณตะกั่ว

1.3.6.1 ศึกษาความเที่ยงของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ (Precision)

1.3.6.2 ศึกษาความถูกต้องของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ (Accuracy)

1.3.6.3 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linear range)

1.3.6.4 ศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัดของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ (Detection limit)

1.3.6.5 ศึกษาความจำเพาะเจาะจงของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ (Selectivity)

1.3.7 ศึกษาความเสถียรของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการตรวจวัดตะกั่ว

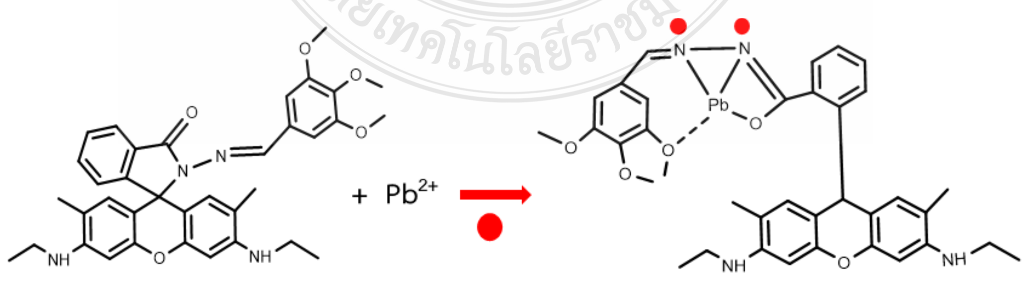
1.3.7.1 ศึกษาความเสถียรของอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ใช้สำหรับทดสอบตะกั่ว

1.3.7.2 ศึกษาอายุการใช้งานของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับทดสอบตะกั่ว

1.3.8 วิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วในเนื้อสัตว์ ด้วยแผ่นทดสอบแบบกระดาษและเปรียบเทียบผลการตรวจวัดกับเทคนิคอินดัคทีพลีคัพเพิลพลาสมาแมสสเปกโตรมิเมทรี

1.4 กรอบแนวคิดในการวิจัย

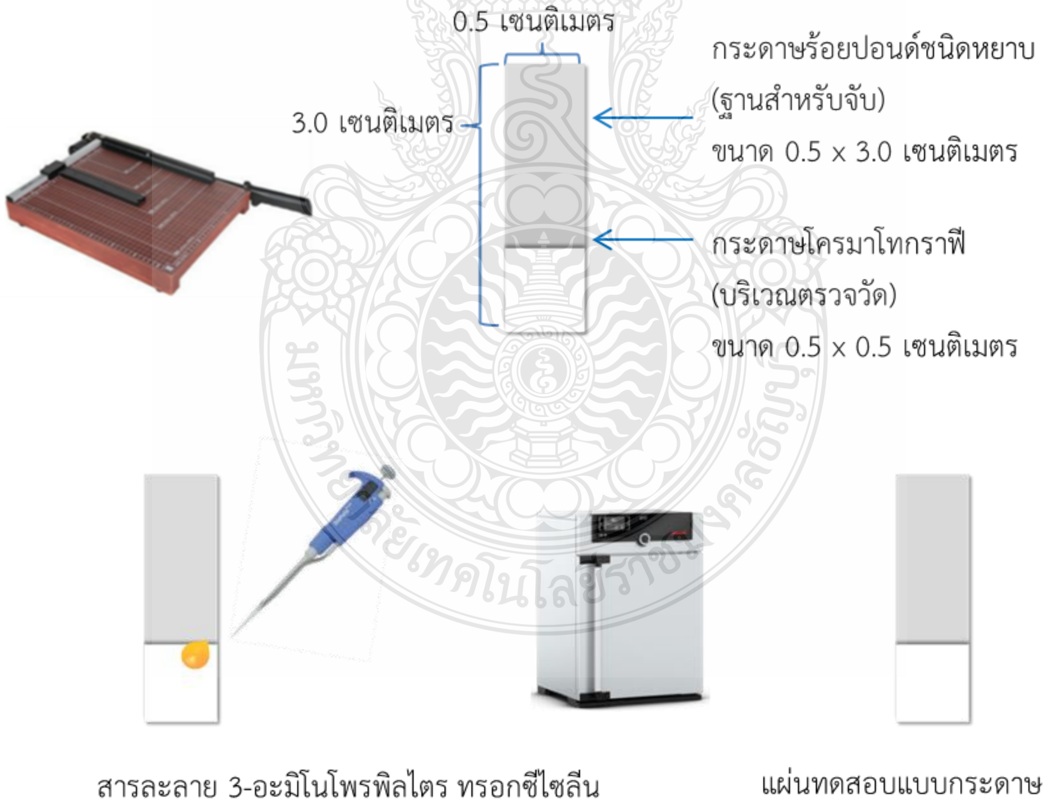
ในงานวิจัยนี้มีแนวคิดในการพัฒนาอุปกรณ์สำหรับการตรวจวัดตะกั่ว โดยใช้เทคนิคการตรวจวัดแบบแผ่นทดสอบแบบกระดาษ (Paper strip test) ซึ่งอาศัยเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์โรดามีน 6G กับตะกั่ว ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารละลายสีชมพู แสดงดังสมการที่ 1 ความเข้มสีของผลิตภัณฑ์ที่ได้จะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของตะกั่ว และตรวจวัดปริมาณตะกั่วจากค่าความเข้มสีที่เกิดขึ้น โดยจะใช้อนุภาคนาโนทอง (Gold nanoparticle ; AuNPs) เพื่อเพิ่มความไวการวิเคราะห์



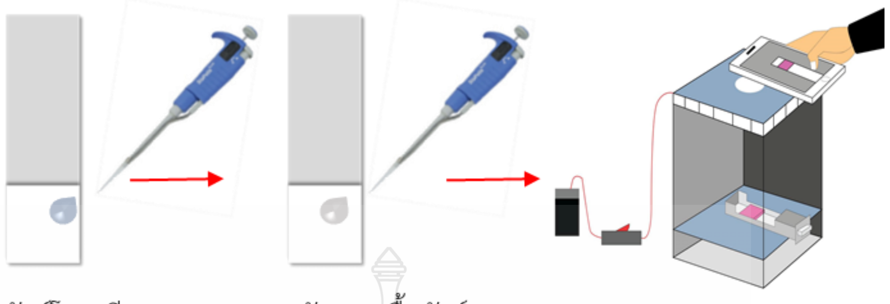
(อนุพันธ์โรดามีน 6G) (ตะกั่ว) (อนุภาคนาโนทอง) (ผลิตภัณฑ์สีชมพู) .....(1)

จากนั้นใช้หลักการการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวในการตรวจวัดตะกั่ว มาสร้างแผ่นทดสอบแบบกระดาษโดยมีแนวคิดแสดงดังภาพที่ 1.1 ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนแรกคือ ขั้นตอนการสร้างแผ่นทดสอบแบบกระดาษ (ภาพที่ 1.1 (ก)) โดยใช้กระดาษโครมาโทกราฟี เบอร์ 4 เป็นบริเวณตรวจวัดตะกั่ว มีขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร และใช้กระดาษร้อยปอนด์ชนิดหยาบเป็นฐานสำหรับจับ ขนาด 0.5 x 3.0 เซนติเมตร โดยใช้เทปกาวสองหน้าชนิดบางเป็นตัวเชื่อมสองส่วนเข้าด้วยกัน จากนั้นหยดสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน ลงบนกระดาษโครมาโทกราฟี และนำไปอบ จะได้แผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์ตะกั่ว จากนั้นเป็นขั้นตอนการตรวจวัด (ภาพที่ 1.1 (ข)) โดยหยดอนุพันธ์โรดามีน 6G และหยดสารสกัดจากเนื้อสัตว์ลงบนบริเวณตรวจวัด ต่อมาใช้สมาร์ทโฟนถ่ายภาพในกล่องทึบแสง และขั้นสุดท้ายคือขั้นตอนการประมวลผล (ภาพที่ 1.1(ค)) โดยใช้แอปพลิเคชัน Color Picker อ่านค่าสีที่ได้จากฟังก์ชัน RGB (Red-Green-Blue)

(ก) ขั้นตอนการสร้างแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

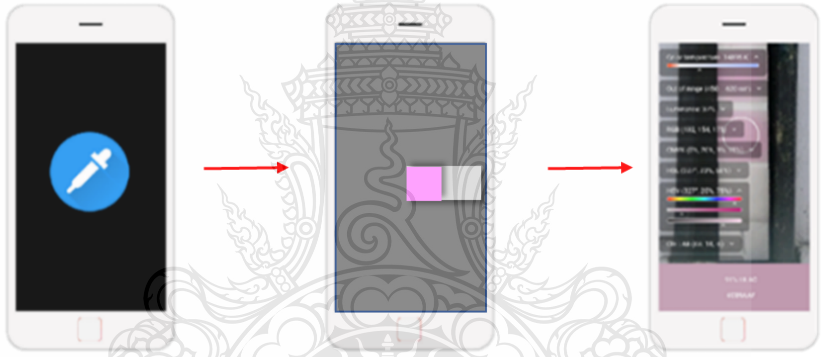


(ข) ขั้นตอนการตรวจวัด



อนุพันธ์โรดามีน 6G สารสกัดจากเนื้อสัตว์

(ค) ขั้นตอนการประมวลผล



ภาพที่ 1.1 ขั้นตอนการตรวจวัดตะกั่วด้วยแผ่นทดสอบแบบกระดาษ โดยใช้สมาร์ทโฟนเป็นตัวตรวจวัด ประกอบด้วย (ก) ขั้นตอนการสร้างแผ่นทดสอบแบบกระดาษ (ข) ขั้นตอนการตรวจวัด และ (ค) ขั้นตอนการประมวลผล

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ได้แผ่นทดสอบแบบกระดาษต้นแบบสำหรับตรวจวัดตะกั่วในเนื้อสัตว์ โดยตรวจวัดด้วยสมาร์ทโฟน

1.5.2 ได้ทราบปริมาณของตะกั่วในเนื้อสัตว์ด้วยแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น

บทที่ 2
วรรณกรรมหรืองานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ตะกั่ว

ตะกั่วเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่มีสัญลักษณ์ทางเคมีคือ Pb มีเลขอะตอมเท่ากับ 82 มีลักษณะเป็นโลหะเงาวาวสีฟ้าขาว มีความอ่อนตัวสูง จุดหลอมเหลวต่ำ มีความหนาแน่นสูง มีคุณสมบัติหล่อลื่นต้านทานการกัดกร่อนได้ดี ความหนาแน่นของตะกั่ว คือ 11.34 กรัมต่อลูกบาศ-เซนติเมตร [14] สารตะกั่วสามารถแบ่งออกได้หลายชนิด ทั้งที่สังเคราะห์ขึ้น และที่เป็นองค์ประกอบตามธรรมชาติของเปลือกโลก บริเวณที่พบตะกั่วส่วนใหญ่มักเป็นบริเวณที่มีการอยู่อาศัย หรือบริเวณที่ประกอบกิจกรรมของมนุษย์ [15] ตะกั่วเป็นที่นิยมใช้ในด้านอุตสาหกรรม การใช้ตะกั่วในโรงงานอุตสาหกรรมแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ สารประกอบอนินทรีย์ตะกั่ว (Inorganic lead) ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น การผลิตแบตเตอร์รี่รถยนต์ การหลอมโลหะ การผลิตและซ่อมเรือ รวมถึงการก่อสร้าง เป็นต้น [16-19] และสารประกอบอินทรีย์ตะกั่ว (Organic lead) ส่วนใหญ่มักนำมาใช้ในทางการเกษตรเป็นส่วนผสมของสารกำจัดศัตรูพืช [20] เป็นต้น ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ประชากรมีความเสี่ยงที่จะได้รับสารตะกั่วเข้าสู่ร่างกายได้มากขึ้น ซึ่งส่วนใหญ่แหล่งของตะกั่วส่วนใหญ่มาจากสิ่งแวดล้อม และอุตสาหกรรม [21,22]

2.1.1 ด้านอุตสาหกรรม

คุณสมบัติทางเคมีของตะกั่ว เป็นสาเหตุที่ทำให้ตะกั่วเป็นที่นิยมนำมาใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมหลายประเภท ซึ่งเป็นต้นเหตุทำให้ผู้ประกอบอาชีพสัมผัสกับตะกั่วจากการปฏิบัติงาน โดยสามารถแบ่ง แสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ระดับความเสี่ยงในการสัมผัสตะกั่วจากโรงงานอุตสาหกรรมของผู้ประกอบอาชีพ [23]

ความเสี่ยงสูง	ความเสี่ยงกลาง	ความเสี่ยงต่ำ
การเชื่อมและหลอมตะกั่ว	การพ่นสีรถยนต์	การผลิตเซรามิก
การผลิตและซ่อมเรือ	การผลิตสายเคบิล	อุตสาหกรรมกระเบื้อง
การผลิตหรือรีไซเคิลตะกั่ว	การเหมืองตะกั่ว	อุตสาหกรรมสี
การผลิตและซ่อมเครื่องยนต์	การผลิตกระสุนปืน	
การก่อสร้าง	การผลิตเซรามิก	

นอกจากนี้ของเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตมักมีการปนเปื้อนของตะกั่ว เช่น การกำจัดตะกอนดิน และน้ำที่ถูกปล่อยจากโรงงานเหมืองแร่ [23-25]

2.1.2 ด้านสิ่งแวดล้อม

2.1.2.1 การปนเปื้อนตะกั่วในดินเกิดขึ้นได้หลายปัจจัย เช่น เกิดจากสาเหตุทางธรรมชาติ การพัฒนาของชุมชน และทางอุตสาหกรรม เป็นต้น สาเหตุที่เกิดจากทางธรรมชาติ เช่น การผุกร่อนของเปลือกโลก [26] การระเบิดของภูเขาไฟ [27] โดยปกติตะกั่วอยู่ในรูปแบบโครงร่างผลึกแร่ (Lattice-held metal) การกัดเซาะของเปลือกโลกทำให้ตะกั่วมีอนุภาคเล็กลง และเกิดการสะสมตัวในรูปแบบโครงร่างผลึกแร่มากขึ้น ทำให้ตะกั่วแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมได้ง่ายขึ้น การปฏิบัติทางอุตสาหกรรม และการเกษตรตลอดจนการขยายตัวของเมืองอย่างรวดเร็ว ทำให้ในสหรัฐอเมริกาได้รับผลกระทบจากการปนเปื้อนสารตะกั่วในสิ่งแวดล้อม มีการวิเคราะห์หาตะกั่วในดินบริเวณชุมชนของเมืองพิวโบล รัฐโคโลราโด สหรัฐอเมริกา พบตะกั่วในดิน 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นค่าที่เกินเกณฑ์มาตรฐาน [28]

2.1.2.2 การปนเปื้อนตะกั่วในอากาศ ได้มีงานวิจัยพบว่าตะกั่วถูกปลดปล่อยสู่ชั้นบรรยากาศโดยตรงจากธรรมชาติอยู่ที่ปริมาณ 0.6 นาโนกรัมต่อลูกบาศก์เมตร [29] เมื่อมีการพัฒนาชุมชนเข้ามาทำให้เกิดการก่อสร้างโรงงานอุตสาหกรรม ส่งผลให้มีตะกั่วในชั้นบรรยากาศเพิ่มขึ้นเป็น 0.33×10^9 กิโลกรัม [30] และสาเหตุอีกด้านในการปนเปื้อน คือ เกิดจากการนำตะกั่วมาใช้เป็นส่วนผสมในสารกำจัดศัตรูพืช และการใช้น้ำมันเบนซิน โดยเมื่อมีการฉีดพ่นสารกำจัดศัตรูพืช หรือการใช้เครื่องยนต์ที่ปลดปล่อยควันออกมาจากท่อไอเสีย จะทำให้ตะกั่วเกิดการฟุ้งกระจายปนเปื้อนในอากาศ [29,30] รวมถึงการผลิตไอน้ำ การเผาขยะ การเผาเชื้อเพลิงในเพื่อการผลิตไฟฟ้า และอุตสาหกรรมการถลุงโลหะตะกั่ว เป็นต้น [31-33] ตะกั่วที่ปนเปื้อนในอากาศจะลอยตัวอยู่ในอากาศ ซึ่งสามารถแพร่กระจายได้หลายกิโลเมตร และก่อให้เกิดการรวมตัวกันจนมีขนาดใหญ่ขึ้น ตะกั่วที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่าจะตกลงสู่พื้นดินก่อน

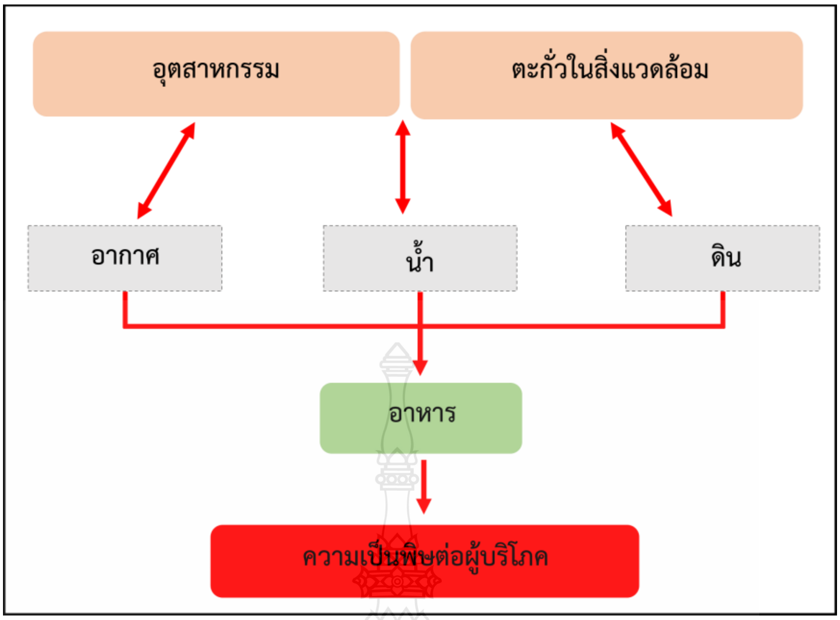
2.1.2.3 การปนเปื้อนตะกั่วในน้ำ

1) น้ำทิ้งจากแหล่งชุมชน เกิดจากการใช้น้ำในชีวิตประจำวัน ได้แก่ ซักผ้า ปรุงอาหาร ขับถ่าย การชำระร่างกาย จากที่อยู่อาศัยทุกประเภท อาคารบ้านเรือน ตลาดสด ร้านค้า ร้านอาหาร ภัตตาคาร หอพัก โรงพยาบาล สถานพยาบาล โรงแรม สถานบริการซ่อมรถยนต์ น้ำทิ้งที่ผ่านการใช้งานจะถูกปล่อยมาจากท่อน้ำโสโครกซึ่งส่วนใหญ่จะไหลลงสู่แม่น้ำโดยไม่มีการบำบัดก่อน นอกจากน้ำทิ้งจากท่อระบายน้ำแล้ว ยังมีน้ำทิ้งจากชุมชนปริมาณมากที่ไหลลงสู่แหล่งน้ำในลักษณะที่มีตำแหน่งไม่ชัดเจน เช่น น้ำที่เกิดจากการล้างพื้นผิวตามอาคารบ้านเรือน น้ำบนผิวถนน น้ำที่ชะล้างตะกอนดินทรายจากบริเวณที่มีการก่อสร้างถนน และบ้านเรือน

2) การทำเกษตรกรรม เช่น สวน ไร่ นา ฟาร์ม น้ำจากบริเวณที่มีการทำเกษตร มักพบสารประกอบทางเคมีที่ชะล้างมาจากผิวดิน ได้แก่ ปุ๋ยเคมี ปุ๋ยอินทรีย์ และวัตถุที่มีพิษที่ใช้ในการเกษตรกรรม จำเป็นต้องมีการใส่ปุ๋ย และยาฆ่าแมลง อีกทั้งอาจเกิดขึ้นจากการชำระล้างเครื่องมือและอุปกรณ์การเกษตร ซึ่งพบว่ามีสิ่งสกปรกและสารพิษลงสู่แหล่งน้ำทำให้น้ำที่สะอาดเกิดการเสื่อมคุณภาพและก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม [16]

3) โรงงานอุตสาหกรรมมีลักษณะแตกต่างกัน ตามประเภทของโรงงาน เช่น โรงงานแปรรูปน้ำมัน เคมีเกษตร อุตสาหกรรมสี การถลุงแร่ การขุด การกลั่น เครื่องสำอาง เครื่องประดับ ของเล่นเด็ก เซรามิก เครื่องปั้นดินเผา วัสดุประปา โลหะผสม มู่ลี่ไวนิล กระจกสี จานเคลือบตะกั่ว กระสุนผสมตะกั่ว แบตเตอรี่ หม้อน้ำสำหรับรถยนต์ รถบรรทุก และหมึกบางชนิด [34-41] เช่น การทำเหมืองแร่เป็นสาเหตุที่ทำให้น้ำขุ่น และมีตะกอนในแม่น้ำลำธาร กองเศษหิน แร่อาจถูกชะล้างไหลลงสู่ลำธาร มีถนนตัดเข้าเหมืองเพื่อความสะดวกในการขนส่งลำเลียงแร่ทำให้ดินพังทลาย โรงงานถลุงแร่ที่อยู่ตามริมฝั่งแม่น้ำเป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้น้ำสกปรก โดยการทิ้งขยะมูลฝอยหรือแร่ลงในแม่น้ำทำให้คุณภาพน้ำเสื่อม การขุดเหมืองทำให้ดินตามชายฝั่งพังทลายลง และเกิดตะกอนทำให้ลำธารตื้น การทำเหมืองนอกจากจะทำความเสียหายแก่แหล่งน้ำแล้วยังทำให้พื้นที่ในบริเวณนั้นเสียหายไปด้วย เนื่องจากต้องทำการโค่นต้นไม้ และมีค่า pH สูง [42,43]

2.1.2.4 การปนเปื้อนตะกั่วในห่วงโซ่อาหารมักตกค้างในเนื้อที่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ ตะกั่วจะสะสมอยู่ในดินหรือน้ำใกล้เขตอุตสาหกรรม เมื่อนำน้ำที่ปนเปื้อนด้วยตะกั่วเหล่านี้มาใช้จะทำให้เกิดปัญหาการตกค้างในเนื้อสัตว์ได้ เมื่อร่างกายบริโภคอาหารที่มีตะกั่วปนเปื้อนปริมาณมากจะก่อให้เกิดอันตรายแก่ร่างกายได้ มีงานวิจัยในประเทศไทย [44] วิเคราะห์หาตะกั่วที่ปนเปื้อนในผักที่ปลูกในดินปนเปื้อนตะกั่วจากห้วยคลิตี้ จังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งในการทดลองจะทำการแบ่งศึกษาในเรือนทดลองด้วยดินที่ปนเปื้อน และไม่ปนเปื้อนตะกั่ว โดยเริ่มทำการทดลองตรวจหาตะกั่วในพริก คะน้า และหัวไชเท้า ผลการศึกษาพบการปนเปื้อนของตะกั่ว ในพริก คะน้า และหัวไชเท้า (52.42±9.59, 51.62±4.95 และ 49.20±0.54 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) และลำต้น และใบ (37.48±11.38, 38.19±8.14 และ 35.59±4.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ) ซึ่งเกินเกณฑ์มาตรฐานในการบริโภค คือ 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม [45]



ภาพที่ 2.1 ความสัมพันธ์ของสารตะกั่วในอุตสาหกรรม และในสิ่งแวดล้อม [44]

2.2 ความเป็นพิษของตะกั่ว

ตะกั่วเป็นสารเคมีที่ก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพระดับประเทศ มีการรายงานพบผู้ป่วยจากการได้รับสารตะกั่วทั้งสิ้น 484 ราย ใน ปีพ.ศ. 2538 - 2547 ซึ่งพบผู้ป่วยมากที่สุดเป็นจำนวน 104 ราย ใน ปีพ.ศ. 2544 และมีรายงานว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี [37] โดยตะกั่วสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ 3 ระบบ คือ ระบบทางเดินอาหาร ระบบทางเดินหายใจ และทางผิวหนัง [38]

2.2.1 ระบบทางเดินอาหาร

ตะกั่วสามารถเข้าสู่ร่างกายได้จากการปนเปื้อนในอาหาร น้ำ เครื่องดื่ม ยาสมุนไพรแผนโบราณ และภาชนะที่มีตะกั่วปนเปื้อน โดยเฉลี่ยผู้ใหญ่สามารถดูดซึมตะกั่วจากอาหารได้ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณตะกั่วในอาหาร และเด็กสามารถดูดซึมตะกั่วได้มากถึง 40 ถึง 50 ร้อยละ โดยน้ำหนักต่อปริมาตรของปริมาณตะกั่วในอาหาร [46,47] ตะกั่วที่ปนเปื้อนในอาหารจะดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดที่ลำไส้เล็กส่วนต้น และจากลำไส้เล็กจะเข้าสู่ตับโดยผ่านทางเส้นเลือดดำใหญ่เข้าสู่กระแสเลือด [48] การดูดซึมตะกั่วในทางเดินอาหารขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อายุ และภาวะโภชนาการ ในภาวะที่ท้องว่างหรือได้รับอาหารที่ขาดธาตุแคลเซียม ธาตุเหล็ก และธาตุทองแดง หรือมีสารฟอสเฟตต่ำ จะทำให้ตะกั่วถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ดีขึ้น [49]

2.2.2 ระบบหายใจ

การหายใจสูดดมควัน ฝุ่นละออง และอนุภาคตะกั่วที่ปล่อยออกมาระหว่างการเผาไหม้วัสดุที่ปนเปื้อนตะกั่ว สามารถดูดซึมผ่านถุงลมปอดเข้าสู่กระแสเลือดได้ โดยการดูดซึมจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ตะกั่วที่มีขนาดเล็กกว่า 0.75 ไมครอน ทำให้การดูดซึมเข้าสู่ร่างกายจะใช้เวลานานกว่าโดยทั่วไป 35 ถึง 50 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตรของตะกั่ว [50] จะดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดด้วยวิธีฟาโกไซโตซิส (Phagocytosis) คือ กระบวนการทำลายสิ่งแปลกปลอมโดยเม็ดเลือดขาว [51] การสูดอากาศที่มีไอ หรืออนุภาคตะกั่ว ปริมาณ 1 ไมครอนต่อลูกบาศก์เมตรของอากาศ สามารถเพิ่มปริมาณตะกั่วในเลือดได้ 1 ถึง 2 มิลลิกรัมต่อปริมาณเลือด 100 มิลลิเมตร มีการกำหนดความเข้มข้นของตะกั่วในอากาศ โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย ไม่ควรเกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เมตรของอากาศ สำหรับผู้ที่ทำงาน 8 ชั่วโมงต่อวัน หรือ 40 ถึง 42 ชั่วโมงต่อสัปดาห์ [52] รวมถึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ในอากาศที่มีปริมาณมาก จะทำให้การดูดซึมของตะกั่วในปอดเข้าสู่ร่างกายเพิ่มมากขึ้น

2.2.3 ทางผิวหนัง

เนื่องจากอุตสาหกรรมน้ำมันมีการเติมสารเตตราเอธิล เลด (Tetraethyl lead) ในน้ำมันเบนซิน เมื่อพนักงานสัมผัสน้ำมันหรือใช้น้ำมันเบนซินล้างมือ เตตราเอธิลสามารถละลายชั้นไขมันของผิวหนังได้ ตะกั่วจึงสามารถซึมผ่านผิวหนัง และเข้าสู่ระบบไหลเวียนเลือด และเข้าสู่ตับ ทำให้ตะกั่วเข้าไปสะสมอยู่ในร่างกายได้

เมื่อร่างกายได้รับสารตะกั่วทำให้เกิดการดูดซึมที่บริเวณลำไส้ จากนั้นตะกั่วจะเข้าสู่ตับโดยผ่านทางเส้นเลือดดำ บางส่วนถูกขับออกทางน้ำดีและอุจจาระ หากตะกั่วเข้าสู่ปอดทำให้เป็นสาเหตุที่ตะกั่วไหลเข้าสู่กระแสเลือดโดยตรง ตะกั่วจึงแพร่กระจายไปทุกส่วนของร่างกายอย่างรวดเร็ว โดยใช้เวลาเพียง 14 วินาที ตะกั่วที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายระยะแรกจะอยู่ในสภาวะเลดไดฟอสเฟต (Lead diphosphate) [53] ตะกั่วจึงสะสมที่เส้นผมและเนื้อเยื่ออ่อน เช่น สมอง ปอด ม้าม ตับ และไต บางส่วนจะสะสมในกระดูกในสภาวะเลดไทรฟอสเฟตโดย 30 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตรของตะกั่วในร่างกายจะเกิดการสะสมที่เนื้อเยื่ออ่อน และ 70 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตรจะเกิดการสะสมในกระดูก ปัจจัยสำคัญที่ทำให้ตะกั่วถูกปล่อยออกจากกระดูก คือ สภาวะที่ร่างกายมีภาวะเครียดเกิดขึ้น เช่น มีไข้ ภาวะความเป็นกรด-ด่างของร่างกายผิดปกติ การลดระดับแคลเซียมในร่างกายหรือลดระดับแคลเซียมในเลือด ตะกั่วจะกลับออกจากกระดูกเข้าสู่กระแสเลือด ทำให้เกิดการสะสมตะกั่วที่เนื้อเยื่ออ่อนมากขึ้น ทำให้ร่างกายที่ไม่มีอาการเกิดอาการโรคพิษตะกั่วเฉียบพลันได้ [54] โดยอาการโรคพิษของตะกั่วจะแสดงอาการดังนี้

2.2.3.1 พิษของตะกั่วเฉียบพลัน [55]

พิษของตะกั่วเฉียบพลัน ส่วนใหญ่พบในเด็กอายุต่ำกว่า 3 ปี จะป่วยเป็นโรคเนื้อสมองเสื่อมเฉียบพลัน จะเกิดเมื่อระดับตะกั่วในเลือดสูงเกิน 120 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร ทำให้เกิดอาการชัก และหมดสติ หรือมีอาการอื่นร่วม เช่น เบื่ออาหาร ตัวซีด ซึม กระสับกระส่าย อาเจียน มีอาการทักษะเสื่อมถอยโดยเฉพาะการพูด อาการจะมากขึ้นเรื่อย ๆ ใน 3 ถึง 6 สัปดาห์ จากนั้นจึงมีอาการของโรคสมองเสื่อมตามมาใน 2 ถึง 5 วัน เกิดอาการอาเจียน ซึม หมดสติ และชักเกร็ง

2.2.3.2 พิษตะกั่วเรื้อรัง [56]

1) ที่ระบบประสาทส่วนกลาง อาการสำคัญที่พบคือ สมองเสื่อมจากพิษตะกั่ว พบในเด็กมากกว่าผู้ใหญ่ มีอาการหงุดหงิดง่าย กระวนกระวาย ซึม เวียนศีรษะ แขนขาอ่อนแรง นอนไม่หลับ บุคลิกภาพเปลี่ยนแปลง ความจำเสื่อม ในรายที่เป็นรุนแรง อาจมีอาการสั่นเวลาเคลื่อนไหว ชัก หมดสติ และเสียชีวิตได้ ซึ่งเป็นผลจากตะกั่วเข้าไปทำลายเซลล์ประสาท ทำให้เนื้อเยื่อสมองเกิดอาการบวม มีน้ำ และสารต่าง ๆ ในเซลล์เพิ่มขึ้น เมื่อสมองถูกกดมากขึ้นทำให้เนื้อสมองถูกทำลาย ผู้ป่วยที่มีอาการทางระบบประสาทส่วนกลาง มีอัตราตายประมาณ 25 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร สำหรับผู้ที่รอดชีวิตภายหลังการรักษาพบว่า มีความผิดปกติทางประสาทสมอง เกิดอาการประสาทตาฝ่อ และมีความผิดปกติในการทำงานของกล่องเสียง

2) ที่ระบบประสาทส่วนปลายและกล้ามเนื้อ พบว่ามีอาการปวดตามกล้ามเนื้อและข้อ กล้ามเนื้อที่ใช้บ่อยมีอาการอ่อนแรงหรือเป็นอัมพาต เช่น กล้ามเนื้อที่ใช้เหยียดข้อมือ ข้อเท้าอ่อนแรง ทำให้เกิดอาการข้อมือตก ข้อเท้าตก อาจเป็นข้างเดียวหรือสองข้างได้ อาการของระบบประสาทส่วนปลาย พบมีอาการชา ปลายประสาทอักเสบ

3) ที่ระบบทางเดินอาหาร เป็นอาการที่พบได้บ่อยที่สุด ผู้ได้รับสารตะกั่วจะเกิดอาการเบื่ออาหาร คลื่นไส้ อาเจียน โดยเริ่มแรกมักมีอาการท้องผูก ในบางรายอาจมีอาการท้องเดิน น้ำหนักลด เมื่อภาวะเป็นพิษเพิ่มมากขึ้น กล้ามเนื้อหน้าท้องบีบเกร็ง ทำให้มีอาการปวดท้องมาก เรียกว่า "โคลิก" นอกจากนี้อาจตรวจพบเส้นสีน้ำเงิน-ดำที่เหงือก ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างไฮโดรเจนซัลไฟด์ของแบคทีเรียในช่องปากกับตะกั่ว อาจพบได้ถึง 80 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตรของผู้ป่วยที่ได้รับตะกั่วสะสมมาเป็นเวลานาน

4) ในระบบโลหิต โดยทั่วไปจะมีลักษณะซีดจากการขาดธาตุเหล็ก เนื่องจากตะกั่วจะเข้าไปยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ฮีมในไขกระดูก โดยขัดขวางการใช้เหล็กและการสร้างโกลบินในไขกระดูก นอกจากนี้ยังมีผลให้เม็ดเลือดแดงมีลักษณะต่างจากปกติ มีจุดสีน้ำเงินกระจายอยู่ภายในเม็ดเลือดแดงมีขนาดเล็กและแตกง่ายอายุสั้นกว่าปกติ ความเป็นพิษต่อระบบโลหิตนี้มีผลต่อเด็กมากกว่าผู้ใหญ่

5) ที่ระบบทางเดินปัสสาวะ ผู้สัมผัสตะกั่วที่เป็นเวลานานอาจเกิดภาวะไตวายเรื้อรัง เนื่องจากตะกั่วมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและหน้าที่ของไต โดยทำให้เซลล์ที่บุส่วนต้นของท่อภายในไตเกิดสารประกอบของตะกั่วกับโปรตีน ซึ่งมีผลต่อกระบวนการสร้างพลังงานของไต โดยจะตรวจพบน้ำตาล กรดอะมิโน และฟอสเฟตในปัสสาวะสูง รวมทั้งฟอสเฟตในเลือดต่ำ เนื่องจากการดูดกลับลดลงทำให้ความแข็งแรงของกระดูกลดลง จากการที่ร่างกายดึงฟอสเฟตจากกระดูกมาใช้ และในรายที่เป็นเรื้อรังไตจะมีขนาดเล็กลง เส้นเลือดแข็ง และผู้ป่วยอาจเสียชีวิตเนื่องจากภาวะไตวาย นอกจากนี้ผู้ป่วยอาจเกิดภาวะกรดยูริกคั่งในร่างกายก่อเกิดอาการของโรคเกาต์ได้

6) พิษตะกั่วเรื้อรังใน ระบบโครงสร้าง ตะกั่วจะไปสะสมที่กระดูก โดยเฉพาะที่ส่วนปลายของกระดูกยาว เมื่อเอกซเรย์ดู จะพบรอยหนาทึบของตะกั่วฟอสเฟตพบได้ในเด็ก ถ้าร่างกายขาดแคลเซียมร่างกายจะดึงแคลเซียมจากกระดูกมาใช้ ทำให้ตะกั่วกลับเข้าสู่กระแสเลือด

7) พิษตะกั่วเรื้อรังใน ระบบสืบพันธุ์ ผู้ที่ได้รับตะกั่วติดต่อกันเป็นเวลานานอาจพบอาการเป็นหมันได้ทั้งชายและหญิง โดยเพศชายจะมีจำนวนเชื้ออสุจิน้อย อ่อนแอ และมีลักษณะผิดปกติ ในเพศหญิงจะมีความผิดปกติของประจำเดือน รังไข่ทำงานผิดปกติ และแท้งได้

8) พิษตะกั่วเรื้อรังในระบบอื่น ๆ ทำให้เกิดความผิดปกติ ในการทำงานของต่อมไทรอยด์ และต่อมหมวกไตได้ นอกจากนี้ตะกั่วเป็นสารก่อมะเร็งอาจทำให้เกิดมะเร็งที่ไต เนื้องอกที่ระบบทางเดินหายใจและระบบทางเดินอาหาร รวมทั้งเป็นสารก่อกลายพันธุ์ทำให้เกิดความผิดปกติของดีเอ็นเอได้

กลุ่มประชากรที่มีความเสี่ยงในการได้รับการปนเปื้อนตะกั่ว ได้แก่ บุคคลที่ประกอบอาชีพสัมผัสสารตะกั่ว บุคคลทั่วไป บุคคลในครอบครัวของพนักงานที่ประกอบอาชีพสัมผัสตะกั่ว เด็ก และทารก โดยสามารถเกิดโรคพิษตะกั่วได้เนื่องจาก [57]

(1) บุคคลที่ประกอบอาชีพสัมผัสสารตะกั่ว เช่น คนงานเหมืองตะกั่ว คนงานโรงงานถลุงแร่ตะกั่ว คนงานโรงงานอุตสาหกรรมผลิตชิ้นส่วนอิเล็กทรอนิกส์คอมพิวเตอร์ คนงานโรงงานผลิตแบตเตอรี่ คนงานผลิตสี คนงานชุบโลหะ คนงานเครื่องปั้นดินเผาและเซรามิก คนงานทำเครื่องประดับโลหะ คนงานโรงงานทำลูกปืน คนงานบัดกรีตะกั่ว คนงานผลิตและบรรจุสารกำจัดศัตรูพืช คนงานทาสีหรือพ่นสีกันสนิม คนงานทาสีบ้าน คนงานผลิตแก้ว คนงานที่ทำงานเกี่ยวข้องกับน้ำมันเบนซินที่ผสมสารตะกั่ว (ตะกั่วอินทรีย์) เช่น เด็กสถานีบริการน้ำมัน ช่างซ่อมเครื่องยนต์ และอาชีพอื่น ๆ เช่น ตำรวจจราจร เป็นต้น

(2) บุคคลทั่วไป เป็นบุคคลที่อาศัยอยู่ใกล้บริเวณโรงงานหลอมตะกั่ว หรือใกล้โรงงานอุตสาหกรรมที่มีการใช้สารตะกั่ว บุคคลที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีการจราจรหนาแน่น หรืออยู่ใกล้ถนน และผู้ใช้รถใช้ถนนที่ต้องติดอยู่ในการจราจรที่แน่นขนัด

(3) บุคคลในครอบครัวของพนักงานที่ประกอบอาชีพสัมผัสตะกั่ว เนื่องจากฝุ่นตะกั่วสามารถติดอยู่ตามเสื้อผ้า ผิวหนัง และผมของคนงาน ทำให้ตะกั่วสามารถติดจากที่ทำงานไปสู่บุคคลในครอบครัวได้

(4) เด็ก เนื่องจากพฤติกรรมของเด็กที่ชอบหยิบสิ่งของใส่ปาก ซึ่งบางครั้งของที่หยิบใส่ปากนั้นอาจมีสารตะกั่วปนเปื้อนอยู่ เช่น ของเล่นที่มีคุณภาพต่ำ จะมีสารตะกั่วปนเปื้อน

(5) ทารก เนื่องจากในหญิงมีครรภ์ สารตะกั่วสามารถซึมผ่านรกไปสู่ทารกในครรภ์ได้ โดยระดับตะกั่วในสายสะดือมีค่าเท่ากับระดับตะกั่วในเลือดของมารดา และหญิงให้นมบุตรที่มีระดับตะกั่วในร่างกายสูง ตะกั่วสามารถผ่านทางน้ำนมสู่ทารกที่ดื่มนมแม่ได้ ดังนั้นจึงได้มีการกำหนดปริมาณตะกั่วในเนื้อสัตว์ได้ไม่เกิน 0.1 ถึง 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

2.2.6 ค่ามาตรฐานตะกั่วในอาหารประเภทเนื้อสัตว์

จากผลกระทบที่รุนแรงจากการได้รับสารตะกั่วเข้าร่างกาย ก่อให้เกิดความผิดปกติของร่างกาย อวัยวะภายใน และระบบประสาท ซึ่งอาจรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิต ทำให้หน่วยงานองค์การอนามัยโลก (World Health Organization ; WHO) กำหนดปริมาณตะกั่วที่ตรวจพบในเนื้อสัตว์แสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ค่ามาตรฐานตะกั่วในอาหารประเภทเนื้อสัตว์ [8]

เนื้อสัตว์	ค่ามาตรฐานตะกั่ว (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
1. เนื้อหมู	ไม่เกิน 0.1
2. สัตว์ปีก และเครื่องใน	ไม่เกิน 0.5
3. เนื้อวัว	ไม่เกิน 0.1
4. ปลา	ไม่เกิน 0.3

2.3 วิธีทั่วไปวิเคราะห์ตะกั่ว

งานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว ซึ่งมีหลายวิธีวิเคราะห์ เช่น

2.3.1 เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชัน สเปกโทรสโกปี [58] โดยเทคนิคนี้อาศัยหลักการดูดกลืนพลังงานแสงของอะตอม เมื่ออะตอมดูดกลืนพลังงาน ทำให้เกิดการเปลี่ยนวงโคจรไปอยู่ในวงโคจรในระดับที่มีพลังงานสูง ซึ่งพลังงานที่กระตุ้นอะตอมจะเป็นพลังงานที่จำเพาะกับอะตอมของแต่ละธาตุ โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของโลหะ หากโลหะมีความเข้มข้นสูงค่าการดูดกลืนแสงจะมาก และโลหะมีความเข้มข้นต่ำค่าการดูดกลืนแสง

จะน้อย เช่นงานวิจัยของ Olivera และคณะ [59] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ตะกั่วในน้ำนมสัตว์โดยใช้เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตรี เป็นเทคนิคที่ใช้กระบวนการทำให้สารตัวอย่างแตกตัวกลายเป็นอะตอม โดยตัวอย่างน้ำนมถูกเตรียมด้วย Triton X-100 และกรดไนตริกไปวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 217 นาโนเมตร ผลการศึกษาพบว่าการวิเคราะห์ตะกั่วมีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 2 ถึง 20 ไมโครกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดในการตรวจพบเท่ากับ 0.64 ไมโครกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดในการตรวจพบในเชิงคุณภาพเท่ากับ 2.14 ไมโครกรัมต่อลิตร และค่าเปอร์เซ็นต์ของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 9.27

2.3.2 เทคนิคอัลตราไวโอเลตและวิซิเบิลสเปกโทรสโกปี อาศัยหลักการในการตรวจวัดปริมาณแสงและค่าความเข้มแสงในช่วงรังสียูวี และช่วงแสงขาวที่ทะลุผ่านหรือถูกดูดกลืนโดยตัวอย่าง โดยที่ความยาวคลื่นแสงจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณ และชนิดของสารที่อยู่ในตัวอย่าง ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน และสารประกอบอนินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเหล่านี้ได้ ในการดูดกลืนแสงของสารเมื่อโมเลกุลของตัวอย่างถูกฉายด้วยแสงในช่วงรังสียูวี หรือแสงขาวที่มีพลังงานเหมาะสมจะทำให้อิเล็กตรอนภายในอะตอมเกิดการดูดกลืนแสงแล้วเปลี่ยนสถานะไปอยู่ในชั้นที่มีระดับพลังงานสูงกว่าเมื่อทำการวัดปริมาณของแสงที่ผ่านหรือสะท้อนมาจากตัวอย่างเทียบกับแสงจากแหล่งกำเนิดที่ความยาวคลื่นค่าต่าง ๆ ตามกฎของ Beer-Lambert ค่าการดูดกลืนแสงของสารจะแปรผันกับจำนวนโมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสง ดังนั้นจึงสามารถใช้เทคนิคนี้ในการระบุชนิด และปริมาณของสารต่าง ๆ ที่มีอยู่ในตัวอย่างได้ เช่น ในการตรวจวัดตะกั่ว และทองแดงในน้ำ โดยตรวจวัดตะกั่วที่ความยาวคลื่น 211 นาโนเมตร และตรวจวัดทองแดงที่ความยาวคลื่น 221 นาโนเมตร พบว่ามีขีดจำกัดการตรวจวัดของตะกั่วและทองแดง ที่ความเข้มข้น 0.219 และ 0.212 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ [60]

2.3.3 เทคนิคฟลูออเรสเซนต์

เป็นเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์คุณสมบัติของสารโดยการอาศัยการดูดกลืนรังสียูวีที่ส่งผลให้โมเลกุลถูกกระตุ้นและมีการสั่นภายในโมเลกุลจากระดับชั้นพลังงานสถานะพื้น (Ground state) ไปสู่ระดับชั้นพลังงานที่สูงขึ้น (Excited state) เรียกว่าการดูดพลังงาน (Excite energy) โมเลกุลที่มีการเคลื่อนที่ไปอยู่ในระดับของชั้นพลังงานที่สูงจะไม่มีความเสถียร จึงมีการปลดปล่อยพลังงานและตกลงมาในชั้นระดับพลังงานที่ต่ำกว่า พลังงานที่โมเลกุลปลดปล่อยจากระดับชั้นพลังงานกระตุ้นชั้นที่หนึ่งสู่ระดับชั้นพลังงานสถานะพื้นจะทำให้เกิดการคายโฟตอน (Emission of photon) ทำให้เกิดสเปกตรัมในช่วงฟลูออเรสเซนต์ ค่าพลังงานที่กระตุ้นที่จำเพาะของสารแต่ละชนิด [61] เช่น งานวิจัยของ Bandi และคณะ [62] ได้มีการสังเคราะห์ Nitrogen doped carbon dots (NCDs)

จากผลลันทานาคามาร่าเบอร์รี่ จะได้สารละลายสีน้ำตาลเข้มของ NCDs ถูกนำไปตรวจวัดตะกั่วในน้ำตัวอย่าง ผลการศึกษาพบว่า ในการตรวจวัดโดยใช้เทคนิคฟลูออเรสเซนต์ให้ช่วงความเป็นเส้นตรง 0 ถึง 200 นาโนโมลาร์ และมีขีดจำกัดการตรวจวัด เท่ากับ 9.64 นาโนโมลาร์

2.3.4 เทคนิคไฟฟ้าเคมี

การตรวจวัดตะกั่วโดยใช้เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า [63] โดยมีงานวิจัยได้ทำการหาปริมาณตะกั่วในผัก ได้แก่ ผักบุ้ง ถั่วพู กะหล่ำ ข่า ถั่วฟักยาว ถั่วงอก ต้นหอม ฟักทอง และผักคะน้า ซึ่งวิธีนี้ใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์ โดยให้ศักย์ไฟฟ้าคงที่ ที่ 1100 มิลลิโวลต์ เป็นเวลา 60 วินาที ให้สมดุลที่ 10 วินาที วัดกระแสไฟฟ้าพีคที่ศักย์ครึ่งเซลล์ของตะกั่วได้ที่ -410 มิลลิโวลต์ พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มีค่ามากว่า 0.9906 และมีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ 0.43 ถึง 6.66 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่ช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 0.02 ถึง 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขีดจำกัดการตรวจวัดเท่ากับ 0.0103 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงคุณภาพเท่ากับ 0.0343 มิลลิกรัมต่อลิตร [64]

2.3.5 วิธีการวิเคราะห์ด้วยเครื่องอินดัคทีพลีคัพเพิลพลาสมาแมสสเปกโตรมิเตอร์ ทำการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วในเลือด โดยเตรียมตัวอย่างด้วยกรดไนตริก ความเข้มข้น 0.5 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่ามีขีดจำกัดในการตรวจพบเท่ากับ 0.0001 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร และขีดจำกัดในการตรวจวัดปริมาณ เท่ากับ 0.001 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร [65]

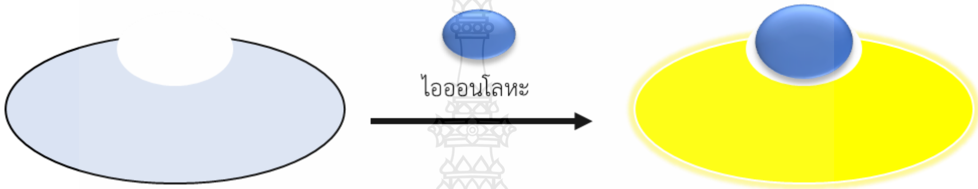
จากงานวิจัยที่ผ่านมาโดยการวิเคราะห์ตะกั่วด้วยเทคนิคมาตรฐาน พบว่ายังมีข้อจำกัดในการวิเคราะห์ เช่น ต้องใช้เครื่องมือขั้นสูงในการวิเคราะห์ซึ่งมีราคาสูง ทำให้มีค่าใช้จ่ายสูง และผู้ทำการวิเคราะห์ต้องมีทักษะความเชี่ยวชาญในการใช้เครื่องมือ

2.3.6 สารเรืองแสง หรือฟลูออเรสเซนต์

สารเรืองแสง คือสารที่สามารถคายพลังงานออกมาได้ในรูปของแสง และสีของการเรืองแสงสามารถมองเห็นได้เฉพาะเมื่อกระตุ้นด้วยแสงอัลตราไวโอเลต สารเรืองแสงเป็นกลุ่มสารอินทรีย์ประเภทหนึ่ง ส่วนใหญ่มีโครงสร้างเป็นวงอะโรมาติก ซึ่งส่วนใหญ่นิยมนำสารเรืองแสงมาเป็นตัวติดตามที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสง (Fluorescent probe) ประกอบด้วย 3 ส่วน ได้แก่ (1) ฟลูออโรฟอร์ (Fluorophore) ทำหน้าที่แสดงสมบัติของฟลูออเรสเซนต์ในการดูดกลืน หรือคายแสงในช่วงความยาวเคลื่นที่เหมาะสม (2) ไอโอโนฟอร์ (Ionophore) ทำหน้าที่ดักจับไอออนโลหะ และ (3) ตัวเชื่อม (Linker) ทำหน้าที่เชื่อมต่อระหว่างฟลูออโรฟอร์กับไอโอโนฟอร์ ซึ่งจะติดตามจากการเกิดอันตรกิริยาของโมเลกุล นอกจากนี้สารเรืองแสงสามารถตรวจวัดแอนไอออน และแคทไอออนได้ เช่น ไอออนตะกั่ว ดังนั้นจึงสามารถนำสารเรืองแสงมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดไอออนตะกั่วในเนื้อสัตว์ได้ [66]

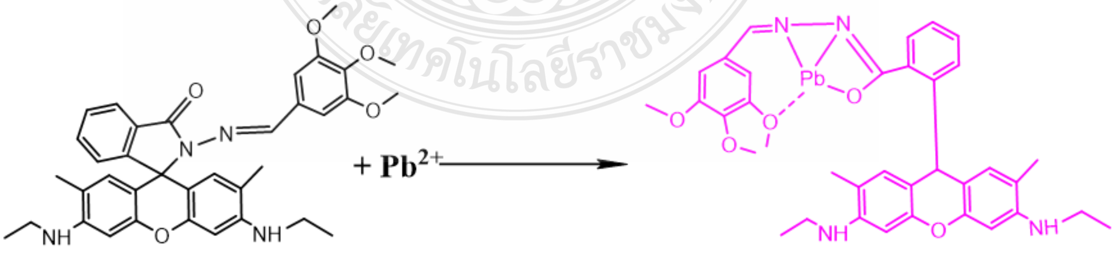
2.3.6.1 หลักการทำงานของระบบฟลูออเรสเซนต์

หลักการทำงานของระบบสารฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์จะมีการแสดงสัญญาณการตรวจวัดเสมือนการเปิด-ปิดสวิทซ์ไฟ กล่าวคือ เมื่อไม่มีไอออนโลหะในระบบ ไอโอโนฟอร์ไม่จับไอออนโลหะทำให้ฟลูออโรฟอร์ไม่แสดงการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ออกมา แต่หากมีไอออนโลหะในระบบ ไอออนโลหะจะเกิดการจับกับไอโอโนฟอร์อย่างจำเพาะเจาะจงทำให้ฟลูออโรฟอร์เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ออกมาเป็นอัตราส่วนที่แปรผันตรงกับความเข้มข้นของไอออนโลหะ แสดงดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 หลักการทำงานของระบบสารฟลูออเรสเซนต์เซนเซอร์ [66]

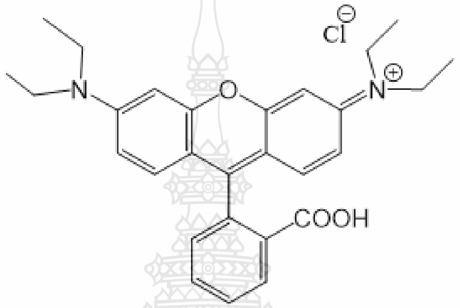
กระบวนการทำงานของสารฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์เกิดจากโครงสร้างเซ็นเซอร์มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเกิดการจับไอออน แสดงดังภาพที่ 2.3 คือ ในสารละลายที่ไม่มีไอออนเซ็นเซอร์จะปิดวงสไปร์ทโรแลคแตม (Spiro lactam) ไม่เกิดการคายแสงฟลูออเรสเซนต์ (OFF state) เนื่องจากระบบคอนจูเกต (Conjugation system) ในโครงสร้างเซ็นเซอร์สั้นและไม่ต่อเนื่อง ซึ่งในทางกลับกันเมื่อสารฟลูออเรสเซนต์เซ็นเซอร์เกิดอันตรกิริยากับไอออนนั้น จะทำให้เกิดการเปิดวงสไปโรแลคแตม เนื่องจากการเหนี่ยวนำให้อิเล็กตรอนในโครงสร้างเข้าสู่ระบบคอนจูเกตทำให้เกิดการความแสงฟลูออเรสเซนต์ออกมา (ON state)



ภาพที่ 2.3 กระบวนการปิด (OFF state) และเปิดวงสไรโปแลคแตม (ON state) [66]

2.3.6.1 โรดามีนบี (Rhodamine B)

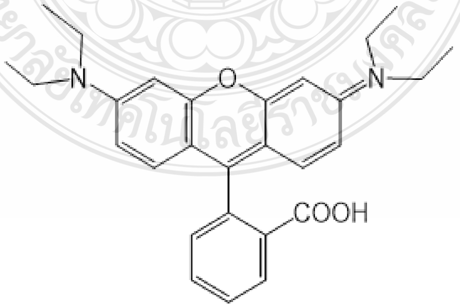
โรดามีนบี เป็นสารสังเคราะห์มีลักษณะเป็นผงสีแดงถึงม่วงให้การเรืองแสงสีชมพูถึงส้ม ที่มีโครงสร้างประกอบด้วยเฮทเทอโรไซคลิก มีสูตรโครงสร้าง คือ $C_{23}H_{31}ClN_2O_3$ โดยมีลักษณะทางกายภาพ คือ มวลโมเลกุล เท่ากับ 479.02 กรัมต่อโมล จุดหลอมเหลวเท่ากับ 210 ถึง 211 องสาเซลเซียสความยาวคลื่นของการกระตุ้น เท่ากับ 510 นาโนเมตร ความยาวคลื่นของการคายแสง 542 นาโนเมตร โรดามีนบี มีหลากหลายอนุพันธ์ ดังต่อไปนี้ [67]



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างโรดามีนบี [67]

2.3.6.2 โรดามีน 110 (Rhodamine 110)

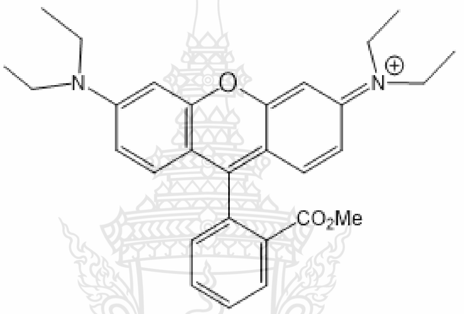
โรดามีน 110 เป็นสารสังเคราะห์ที่มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลให้การเรืองแสงสีเขียว มีสูตรโครงสร้าง คือ $C_{20}H_{15}ClN_2O_3$ มีลักษณะทางกายภาพ คือ มวลโมเลกุล เท่ากับ 332.35 กรัมต่อโมล จุดหลอมเหลวน้อยกว่า 300 องศาเซลเซียส ความยาวคลื่นของการกระตุ้น เท่ากับ 458 นาโนเมตร ความยาวคลื่นของการคายแสง เท่ากับ 530 นาโนเมตร [68]



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างโรดามีน 110 [68]

2.3.6.3 โรดามีน 123 (Rhodamine 123)

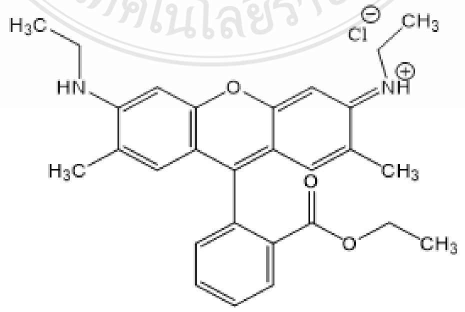
โรดามีน 123 เป็นสารสังเคราะห์ที่มีลักษณะเป็นผงสีแดงส้มให้การเรืองแสงสีเขียวที่ได้รับความนิยม ซึ่งย้อมไมโตคอนเดรียในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตในรูปแบบเมมเบรนที่ขึ้นอยู่กับศักยภาพ มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในการศึกษาโฟลว์ไซโตเมทรีที่เกี่ยวข้องกับศักยภาพของเมมเบรน โดยดูที่ Dihydrorhodamine 123 และเกลือกรดไฮโดรคลอริก มีสูตรโครงสร้างคือ $C_{21}H_{17}ClN_2O_3$ มีลักษณะทางกายภาพ คือ มวลโมเลกุล เท่ากับ 380.824 กรัมต่อโมล จุดหลอมเหลว เท่ากับ 235 องศาเซลเซียส ความยาวคลื่นของการกระตุ้น เท่ากับ 505 นาโนเมตร ความยาวคลื่นของการคายแสง เท่ากับ 560 นาโนเมตร [69]



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างโรดามีน 123 [69]

2.3.6.4 โรดามีน 6 G (Rhodamine 6 G)

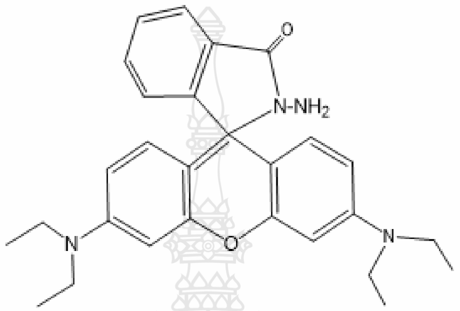
โรดามีน 6 G เป็นสารสังเคราะห์ที่มีลักษณะเป็นผงสีม่วงแดงเข้มผลึกสีน้ำตาลหรือสีดำให้การเรืองแสงสีชมพู มีสูตรโครงสร้าง คือ มี $C_{28}H_{31}N_2O_3CL$ ลักษณะทางกายภาพคือมีมวลโมเลกุล เท่ากับ 479.02 กรัมต่อโมล ความยาวคลื่นของการกระตุ้น เท่ากับ 525 นาโนเมตร ความยาวคลื่นของการคายแสง เท่ากับ 560 นาโนเมตร [70]



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างโรดามีน 6 G [70]

2.3.6.5 โรดามีนบี ไฮดราไซด์

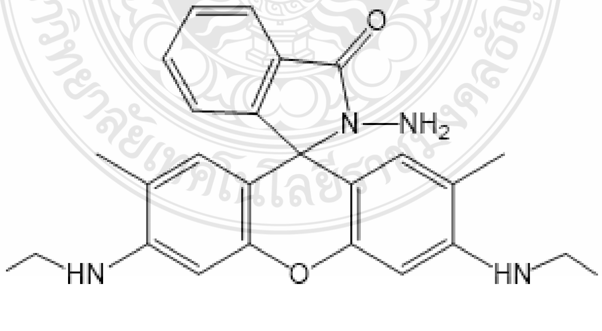
โรดามีนบี ไฮดราไซด์ เป็นสารสังเคราะห์ที่มีลักษณะเป็นผงสีขาวตุ่น มีการเรืองแสงสีชมพูม่วง มีสูตรโครงสร้าง คือ $C_{28}H_{32}N_4O_2$ ลักษณะทางกายภาพ คือ มีมวลโมเลกุล เท่ากับ 456.6 กรัมต่อโมล ความยาวคลื่นของการกระตุ้น เท่ากับ 500 นาโนเมตร ความยาวคลื่นของการคายแสง เท่ากับ 580 นาโนเมตร [71]



ภาพที่ 2.8 โครงสร้างโรดามีนบี ไฮดราไซด์ [71]

2.3.6.5 โรดามีน 6 จี ไฮดราไซด์

โรดามีน 6 จี ไฮดราไซด์เป็นสารสังเคราะห์ที่มีลักษณะเป็นผงสีขาวตุ่น มีการเรืองแสงสีชมพูม่วง มีสูตรโครงสร้าง คือ $C_{28}H_{32}N_4O_2$ ลักษณะทางกายภาพ คือ มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 456.6 กรัมต่อโมล ความยาวคลื่นของการกระตุ้น เท่ากับ 500 นาโนเมตร ความยาวคลื่นของการคายแสง เท่ากับ 550 นาโนเมตร [72]



ภาพที่ 2.9 โครงสร้างโรดามีน 6 G ไฮดราไซด์ [72]

2.4 แผ่นทดสอบแบบกระดาษ

อุปกรณ์วิเคราะห์ที่ใช้กระดาษเป็นที่นิยมอย่างมากในการทดสอบภาคสนาม ปัจจุบันมีการพัฒนามากขึ้นเพื่อแก้ไขปัญหาการทดสอบในภาคสนาม รวมถึงการแก้ปัญหาเรื่องต้นทุนในการวิเคราะห์ที่ต้องอาศัยเครื่องมือขั้นสูงในการตรวจวัดซึ่งมีราคาสูง และไม่ตอบสนองต่อการตรวจวัดภาคสนาม ซึ่งแผ่นทดสอบแบบกระดาษนั้นเปรียบเสมือนรวมทั้งห้องปฏิบัติการลงในกระดาษเพียงแผ่นเดียว (Lab-on-paper) หรือที่เรียกว่า แผ่นทดสอบแบบกระดาษ (Paper base device) [73, 74] เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดที่ทำจากกระดาษ สามารถพกพาได้สะดวก มีน้ำหนักเบาเนื่องจากอุปกรณ์มีขนาดเล็ก ให้ผลการตรวจวัดที่รวดเร็ว และมีความแม่นยำ โดยอาศัยหลักการกระดาษโครมาโทกราฟีมีพื้นผิวที่ชอบน้ำเมื่อหยดสารละลายเคมีเฉพาะลงบนพื้นที่ตรวจวัดของกระดาษจะเกิดปฏิกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์ จากข้อดีดังกล่าวทำให้นักวิจัยนิยมใช้อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเพื่อวิเคราะห์ตะกั่ว เช่น

งานวิจัยของ Sun และคณะ [75] ได้วิเคราะห์หาตะกั่วในน้ำ 3 ประเภท คือ น้ำประปา น้ำดื่มบรรจุขวด และน้ำในแม่น้ำ ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ โดยเตรียมอุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษที่ใช้เทคนิคการพิมพ์ด้วยเครื่องพล็อตเตอร์เป็นการเคลือบด้วยวัสดุพอลิเมอร์ที่เรียกว่าPolydimethylsiloxane (PDMS) เพื่อปิดกั้นรูพรุนบนกระดาษ โดยให้ตัวอย่างไหลไปที่บริเวณตรวจวัดและทำปฏิกิริยากับอิริเดียม ทำการตรวจวิเคราะห์ความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกันบนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ แต่จากการศึกษาพบว่าเทคนิคดังกล่าวยังมีข้อจำกัดคือ ต้องใช้เครื่องพิมพ์ที่มีราคาสูง มีการใช้วัสดุพอลิเมอร์ซึ่งมีขั้นตอนที่ซับซ้อนต้องอาศัยความเชี่ยวชาญสูง

การสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดด้วยเทคนิคการตัดกระดาษเป็นเทคนิคหนึ่งที่นิยมใช้ในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ราคาถูก มีขั้นตอนการเตรียมไม่ซับซ้อน และให้ผลการวิเคราะห์แม่นยำ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษในรูปแบบของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ โดยใช้เทคนิคการตัดกระดาษ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วโดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์โรดามีน 6G ทำปฏิกิริยากับตะกั่ว เกิดผลิตภัณฑ์เป็นสีชมพู และใช้อนุภาคนาโนทองเพื่อเพิ่มความไวในการวิเคราะห์ ค่าความเข้มสีที่ได้จะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของตะกั่ว จากนั้นตรวจวัดปริมาณตะกั่วจากค่าความเข้มสีที่เกิดขึ้นโดยใช้สมาร์ทโฟน

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมี

3.1.1 เลด (II) คลอไรด์ (Lead (II) chloride, Analytical Finechem, AUS)

3.1.2 อะซีโตไนไตรล์ (Acetonitrile, RCI Labscan, TH)

3.1.3 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน ((3-Aminopropyl) triethoxysilane; APTES Sigma-Aldrich, USA)

3.1.4 เมทานอล (Methanol, RCI Labscan, TH)

3.1.5 โรดามีน 6G (Rhodamine 6 G, Sigma-Aldrich, USA)

3.1.6 ไฮดราซีน ไฮเดรต (Hydrazine hydrate, LOBA CHEMIE, IN)

3.1.7 3, 4, 5- ไตรเมทอกซีเบนซอลดีไฮด์ (3, 4, 5-Trimethoxybenzaldehyde, Sigma-Aldrich, CN)

3.1.8 เอทานอล (Ethanol, RCI Labscan, TH)

3.1.9 เอทิลอะซิเตต (Ethyl acetate, RCI Labscan, TH)

3.1.10 ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane, RCI Labscan, TH)

3.1.11 ซิลิกา เจล 60 (Silica gel 60 (0.063-0.200 mm), Merck KGaA, GER)

3.1.12 กรดอะซิติก (Acetic, RCI Labscan, TH)

3.1.13 โกลด์ (III) คลอไรด์ไตรไฮเดรต (Gold (III) chloride trihydrate, Sigma-Aldrich, USA)

3.1.14 โซเดียมซิเตรต (Sodium citrate, Ajax Finechem, AUS)

3.1.15 โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (Sodium borohydride, Sigma-Aldrich, USA)

3.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์

3.2.1 สมาร์ทโฟน ยี่ห้อ Alcatel Shine Lite รุ่น 5080U ความละเอียดกล้อง 13 ล้านพิกเซล (TCL Communication Ltd., Chin)

3.2.2 กระดาษโครมาโทกราฟี เบอร์ 4 (Whatman, UK)

3.2.3 เครื่องตัดกระดาษ รุ่น Paper trimmer NO.8005 (Deli, Chin)

3.2.4 เครื่องวัด pH รุ่น Model UB-10 (pH meter, Denver instrument, USA)

3.2.5 กระดาษร้อยปอนด์ ชนิดหยาบ

3.2.6 ไมโครปิเปต ขนาด 2 ไมโครลิตร (Micro pipet, BRAND, Ger)

3.2.7 เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด ทศนิยมสี่ตำแหน่ง รุ่น AZ Series (Sartorius Instrument, USA)

3.2.8 เครื่องยูวี–วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น UV - 1601 (UV-visible spectrophotometer, SHIMATSU, JP)

3.2.9 เครื่องกวนแม่เหล็ก ขนาด 10.0 เซนติเมตร (Magnetic Stirrer, IKA RH basic 1, GER)

3.2.10 เครื่องกวนแม่เหล็กแบบใช้ความร้อน (Hotplate stirrer, IKA RH basic 1X Laboratory & Medical Supplies, CA)

3.2.11 คอลัมน์ ขนาด 2.0 × 30.0 เซนติเมตร (Column, CT Laboratory Co., Ltd.)

3.2.12 กล่องทึบแสงสำหรับการวัดแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับการวิเคราะห์ ขนาด 5.0 x 5.0 x 10.0 เซนติเมตร

3.2.13 แอปพลิเคชัน Color Picker เวอร์ชัน 3.3.4

3.2.14 แผ่นอลูมิเนียมทีแอลซี ซิลิกาเจล 60 F254 ขนาด 20.0 × 20.0 เซนติเมตร (TLC silica- gel 60 F254, Merck, GER)

3.2.15 หลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 0.6 และ 2.0 มิลลิลิตร (Axygen products, USA)

3.2.16 เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน รุ่น Hei-VAP core (Rotary evaporator, Heidolph, GER)

3.2.17 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน รุ่น JEM-1400 (Transmission electron microscope (TEM), JEOL Ltd., Tokyo, JP)

3.2.18 อินดัคทีพลีคัพเพิลพลาสมาแมสสเปกโตรมิเตอร์ รุ่น 7500-C (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS), Agilent Technologies, California, USA)

3.3 วิธีการทดลอง

ออกแบบ และสร้างแผ่นทดสอบแบบกระดาษโดยใช้กระดาษโครมาโทกราฟี

↓

ศึกษาวิธีตรวจวัดตะกั่วโดยใช้แผ่นทดสอบแบบกระดาษ

↓

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

- ศึกษาความเข้มข้นสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน บนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ
- ศึกษาความเข้มข้นของ อนุพันธ์โรดามีน 6G
- ศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของ อนุพันธ์โรดามีน 6G
- ศึกษาหาพีเอชที่เหมาะสมสำหรับเกิดปฏิกิริยาระหว่างอนุพันธ์โรดามีน 6G
- ศึกษาเวลาในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม

↓

ทดสอบประสิทธิภาพของการตรวจวัด

- ความเที่ยงของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ
- ความถูกต้องของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ
- ช่วงความเป็นเส้นตรงของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ
- ขีดจำกัดการตรวจพบของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ
- ขีดจำกัดการตรวจพบเชิงคุณภาพของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ
- ความจำเพาะเจาะจงของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

↓

การศึกษาอายุการใช้งานของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

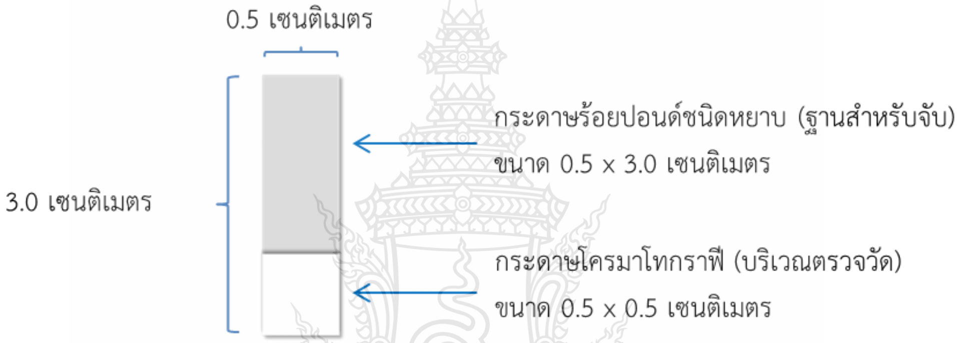
↓

ตรวจวัดตะกั่วในเนื้อสัตว์

3.3.1 ออกแบบแผ่นทดสอบแบบกระดาษและสร้างกล่องทึบแสงสำหรับถ่ายภาพ

3.3.1.1 ออกแบบแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

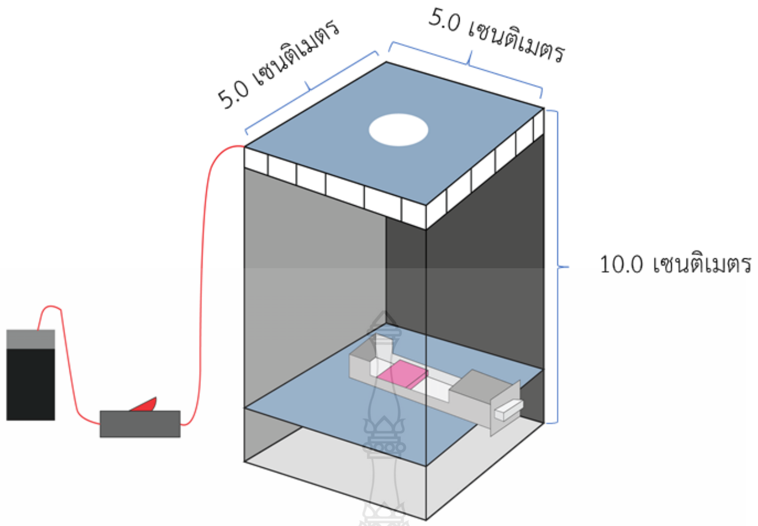
ออกแบบและสร้างแผ่นทดสอบแบบกระดาษประกอบด้วย 2 ส่วน คือ บริเวณตรวจวัด และบริเวณฐานสำหรับจับ ออกแบบในส่วนของบริเวณตรวจวัดโดยใช้กระดาษโครมาโทกราฟฟีเบอร์ 4 ขนาด 0.5 X 0.5 เซนติเมตร และส่วนของบริเวณฐานสำหรับจับใช้กระดาษร้อยปอนด์ชนิดหยาบ ขนาด 0.5 X 3.0 เซนติเมตร จากนั้นนำส่วนของบริเวณตรวจวัดประกอบลงบนส่วนของฐานสำหรับจับ โดยใช้เทปกาวสองหน้าชนิดบางเป็นตัวเชื่อมระหว่างกระดาษโครมาโทกราฟีกับกระดาษร้อยปอนด์ชนิดหยาบ แสดงดังภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 รูปแบบของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับตรวจวัดตะกั่ว

3.3.1.2 กล่องทึบแสงสำหรับถ่ายภาพ

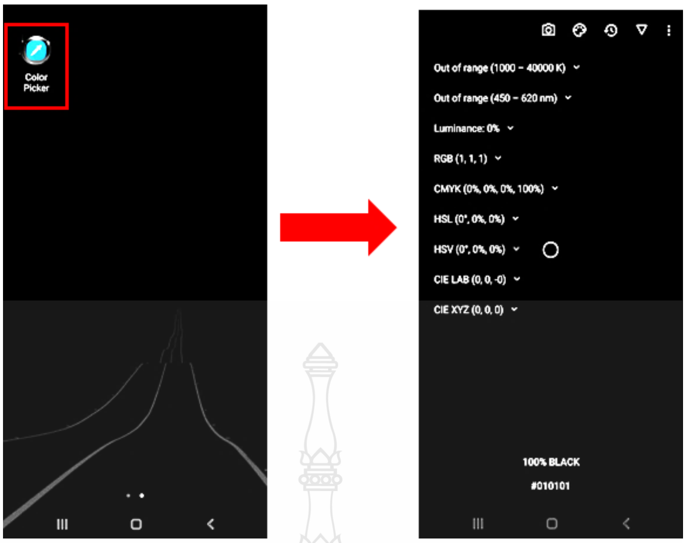
ออกแบบและสร้างกล่องทึบแสงสำหรับใช้ใส่แผ่นทดสอบแบบกระดาษเพื่อถ่ายภาพโดยสร้างจากกระดาษร้อยปอนด์ชนิดหยาบความหนา 0.17 เซนติเมตร มีขนาด 5.0 X 5.0 X 10.0 เซนติเมตร กำหนดช่องสำหรับใส่แผ่นทดสอบแบบกระดาษ สูงจากฐานกล่องขึ้นมา 3.0 เซนติเมตร และช่องสำหรับถ่ายภาพด้วยสมาร์ทโฟนเพื่อบันทึกรูปภาพอยู่ด้านบนกล่อง มีรัศมี 0.5 เซนติเมตร ภายในกล่องทึบแสงมีหลอดไฟ LED แสงสีขาวขนาด 5.0 x 20.0 เซนติเมตร ติดที่ขอบด้านบนทั้ง 4 ด้านของกล่อง เพื่อให้ความสว่างภายในกล่อง แสดงดังภาพที่ 3.2



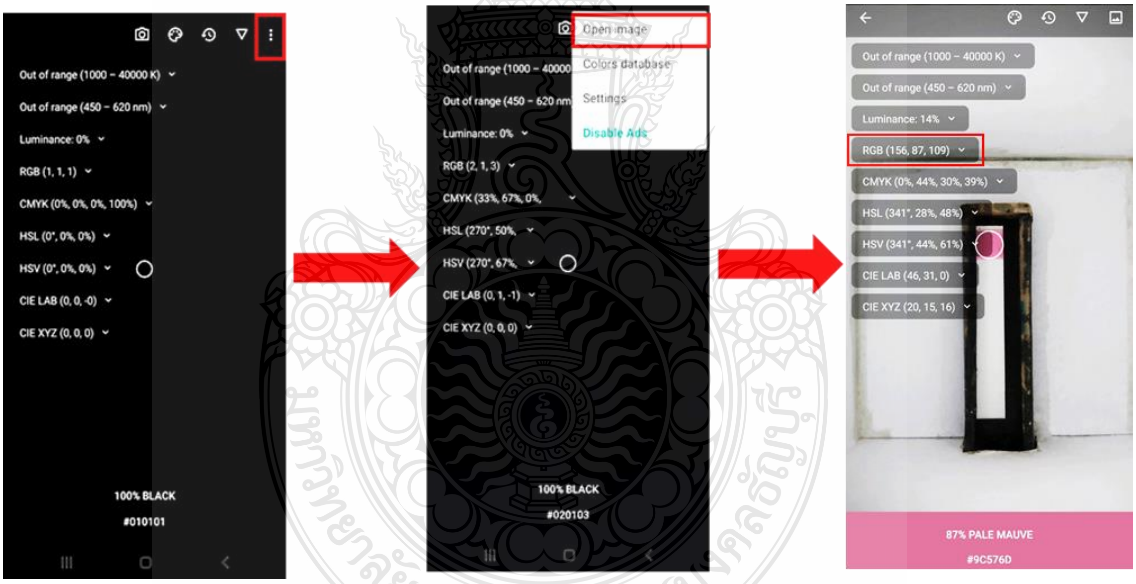
ภาพที่ 3.2 กล่องสำหรับใส่แผ่นทดสอบแบบกระดาษเพื่อถ่ายภาพ

3.3.1.3 การอ่านค่าความเข้มสีบนแผ่นทดสอบแบบกระดาษด้วยแอปพลิเคชัน Color Picker

การวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วโดยใช้แผ่นทดสอบแบบกระดาษที่สร้างขึ้น จะได้สีของสารผลิตภัณฑ์ปรากฏขึ้นมา โดยในงานวิจัยนี้ได้นำแอปพลิเคชัน Color Picker มาใช้ในการตรวจวัดค่าความเข้มสี R G และ B ของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเลือกอ่านค่าสีที่เหมาะสม โดยทำการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานตะกั่ว 5 ความเข้มข้น และนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษไปถ่ายภาพ โดยใช้สมาร์ทโฟนในกล่องทึบแสง เปิดแอปพลิเคชัน Color Picker แสดงดังภาพที่ 3.3 (ก) จากนั้นเลือกภาพที่ถ่ายไว้ วางไอคอนวงกลมบนบริเวณตรวจวัดของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ ปรับขนาดของไอคอนวงกลมให้มีขนาดพอดีกับบริเวณตรวจวัด จากนั้นอ่านค่าความเข้มสีของ R G B แสดงดังภาพที่ 3.3 (ข) นำค่าความเข้มสีที่อ่านได้ไปสร้างเป็นกราฟมาตรฐานเส้นตรง แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีและค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน โดยมีเกณฑ์การพิจารณาคือเลือกค่าสีที่ให้ค่าความชัน (Slope) สูงที่สุด



(ก)



(ข)

ภาพที่ 3.3 การอ่านค่าความเข้มสีบนแผ่นทดสอบแบบกระดาษด้วยแอปพลิเคชัน Color Picker

3.3.2 วิธีสังเคราะห์อนุพันธ์โรดามีน 6G

ขั้นที่ 1 สังเคราะห์โรดามีน 6G ไฮดราซีน โดยดัดแปลงขั้นตอนการสังเคราะห์มาจาก Sheng Wang และคณะ [76] โดยชั่งโรดามีน 6G น้ำหนัก 2.0 กรัม ใส่ลงในขวดก้นกลม และเติมเมทานอล ปริมาตร 40 มิลลิลิตร คนจนสารละลายเป็นกลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติมไฮดราซีนไฮเดรต ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้เทใส่น้ำกลั่นที่มีปริมาตร 800 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน จะได้ตะกอนของโรดามีน 6G ไฮดราซีน

ขั้นที่ 2 สังเคราะห์อนุพันธ์โรดามีน 6G ซึ่งจะดัดแปลงขั้นตอนการสังเคราะห์มาจาก Sunnapu และคณะ [77] โดยชั่งตะกอนโรดามีน 6G ไฮดราซีน ที่ได้จากขั้นที่ 1 น้ำหนัก 0.50 กรัม และชั่ง 3, 4, 5- ไตรเมทอกซีเบนซอลดีไฮด์ น้ำหนัก 0.2138 กรัม ใส่ลงในขวดก้นกลม จากนั้นเติมเอทานอล ปริมาตร 40 มิลลิลิตร คนจนสารละลายกลายเป็นเนื้อเดียวกัน เติมกรดอะซิติก ปริมาตร 30 ไมโครลิตร นำไปรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อทำการรีฟลักซ์ตามขั้นตอนดังกล่าวแล้ว ตั้งสารละลายทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 คืน จะได้ผลิตภัณฑ์คือ อนุพันธ์โรดามีน 6G

ขั้นที่ 3 ทำให้อนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ได้จากขั้นตอนที่ 2 เกิดความบริสุทธิ์ โดยนำอนุพันธ์โรดามีน 6G ละลายด้วยไดคลอโรมีเทน จากนั้นนำมาแยกด้วยซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทรกราฟี โดยใช้ระบบตัวทำละลายในการลงคอลัมน์ ได้แก่ 3 ถึง 25 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร เอทิลอะซิเตต/ไดคลอโรมีเทน นำสารละลายที่ได้ไปประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนจะได้อนุพันธ์โรดามีน 6G ที่บริสุทธิเพื่อใช้ในการตรวจวัดตะกั่ว

3.3.3 การสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง

ทำความสะอาดเครื่องแก้วโดยใช้กรดไนตริกความเข้มข้น 10 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร แช่เครื่องแก้วไว้เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำมาล้างด้วยน้ำกลั่น และเช็ดให้แห้ง จากนั้นเตรียมสารละลายโซเดียมซิเตรตละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน ความเข้มข้น 0.448 โมลาร์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ปั่นอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที และเติมโกลด์ (III) คลอไรด์ไตรไฮเดรต ความเข้มข้น 0.30 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 150 ไมโครลิตร และเตรียมโซเดียมโบโรไฮไดรด์ ความเข้มข้น 125 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปั่นต่อเนื่องด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กเป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้ไปตรวจวัดหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด โดยใช้ช่วงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 ถึง 650 นาโนเมตร และตรวจวัดสมบัติทางกายภาพด้วยเครื่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน [80]

3.3.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน บนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

3.3.4.1 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน สำหรับตรึงบนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน ด้วยความเข้มข้น 1.0 2.0 3.0 4.0 5.0 6.0 และ 7.0 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยหยดสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ลงบนบริเวณตรวจวัด ปริมาตร 2 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทดสอบการตรึงติดของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน บนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ โดยใช้สารละลายนินไฮดริน ความเข้มข้น 2 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร หยดลงบนบริเวณตรวจวัด เกณฑ์การพิจารณาคือเลือกความเข้มข้นของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน ที่สามารถทำให้สารละลายนินไฮดรินกระจายทั่วบริเวณตรวจวัด และเกิดเป็นสีม่วงเข้มที่สุด

3.3.4.2 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน บนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีนบนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ ที่อุณหภูมิ 80 90 100 110 และ 120 องศาเซลเซียส โดยหยดสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีนลงบนบริเวณตรวจวัด ความเข้มข้นที่ได้จากข้อ 3.3.4.1 ปริมาตร 2 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 30 นาที ทดสอบประสิทธิภาพการตรึงติดของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน บนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ โดยใช้สารละลายนินไฮดรินความเข้มข้น 2 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร หยดลงบนบริเวณตรวจวัด เกณฑ์การพิจารณาคือเลือกอุณหภูมิในการอบสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน ที่สามารถทำให้สารละลายนินไฮดรินกระจายทั่วบริเวณตรวจวัด และเกิดเป็นสีม่วงเข้ม

3.3.4.3 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน บนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน บนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ ที่เวลา 10 20 30 40 50 และ 60 นาที โดยหยดสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน ลงบนบริเวณตรวจวัด ความเข้มข้นที่ได้จากข้อ 3.3.4.1 ปริมาตร 2 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิที่ได้จากข้อ 3.3.4.2 โดยใช้เวลาต่าง ๆ ทดสอบประสิทธิภาพการตรึงติดของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน บนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ โดยใช้สารละลายนินไฮดรินความเข้มข้น 2 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร หยดลงบน

บริเวณตรวจวัด เกณฑ์การพิจารณาคือเลือกเวลาในการอบสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน ที่สามารถทำให้สารละลายนินไฮดรินกระจายทั่วบริเวณตรวจวัด และเกิดสีม่วงเข้มที่สุด

3.3.5 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์ตะกั่ว

3.3.5.1 ศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลายที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

ศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลายที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา โดยหยดสารละลายนินไฮดริน ความเข้มข้น 2.0 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 4 6 8 10 12 14 และ 16 ไมโครลิตร ลงบนบริเวณตรวจวัดของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ เกณฑ์การพิจารณาคือ เลือกปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาที่สามารถเกิดปฏิกิริยาได้เต็มพื้นที่ของบริเวณตรวจวัด

3.3.5.2 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดตะกั่ว

1) ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอนุพันธ์โรดามีน 6G

ศึกษาความเข้มข้นของอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ความเข้มข้น 0.10 0.50 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิโมลาร์ โดยหยดอนุพันธ์โรดามีน 6G ลงบนบริเวณตรวจวัดของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ จากนั้นหยดสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตรที่ได้จากข้อ 3.3.5.1 ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษไปใส่ในกล่องทึบแสง ถ่ายรูปด้วยสมาร์ทโฟน และอ่านค่าความเข้มสีที่ได้โดยใช้แอปพลิเคชัน Color Picker เกณฑ์การพิจารณาคือเลือกความเข้มข้นของอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ให้ค่าความเข้มสีสูงสุด

2) ศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา

ศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา โดยเตรียมสารละลายมาตราฐานตะกั่วในน้ำกลั่นที่ pH 1.0 2.0 3.0 4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 11.0 12.0 13.0 และ 14.0 การทดลองทำโดยใช้อนุพันธ์โรดามีน 6G ความเข้มข้นที่ได้จากข้อ 3.3.5.2 ข้อ 1) หยดลงบนบริเวณตรวจวัดของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ จากนั้นหยดสารละลายมาตราฐานตะกั่วความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตรที่ได้จาก ข้อ 3.3.5.1 ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษใส่ในกล่องทึบแสง ถ่ายรูปด้วยสมาร์ทโฟน และอ่านค่าความเข้มสีที่ได้โดยใช้แอปพลิเคชัน Color Picker เกณฑ์การพิจารณาคือเลือกค่าความ pH ให้ค่าความเข้มสีสูงสุด

3) ศึกษาเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

ศึกษาเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา ทำการทดลองโดยหยดอนุพันธ์โรดามีน 6G ความเข้มข้นที่ได้จากข้อ 3.3.5.2 ข้อ 1) ค่า pH ที่ได้จากข้อ 3.3.5.2 ข้อ 2) ลงบนบริเวณตรวจวัดของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ จากนั้นหยดสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตรที่ได้จากข้อ 3.3.5.1 ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยา 0.50 1 2 3 4 5 6 7 8 9 และ 10 นาที จากนั้นนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษใส่ในกล่องทึบแสง ถ่ายรูปด้วยสมาร์ทโฟน

และอ่านค่าความเข้มสีโดยใช้แอปพลิเคชัน Color Picker เกณฑ์การพิจารณาคือเลือกเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาที่ให้ค่าความเข้มสีสูงสุด

สรุปสภาวะที่ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิลไตรทรอกซีไซลีน บนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ และสภาวะที่หมาะสมในการตรวจวัดตะกั่ว แสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ตารางแสดงการหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง

การศึกษา	สภาวะที่ศึกษา	ช่วงที่ศึกษา
การตรึง 3-อะมิโนโพรพิลไตรทรอกซีไซลีน ลงบนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ	1. ความเข้มข้นของสารละลาย 3-อะมิโน-โพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	1 - 7
	2. อุณหภูมิที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน (องศาเซลเซียส)	80 - 120
	3. เวลาที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน (นาที)	10 - 60
การตรวจวัดตะกั่ว	1. ปริมาตรบริเวณตรวจวัดของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ (ไมโครลิตร)	2 - 14
	2. ความเข้มข้นของอนุพันธ์โรดามีน 6G (มิลลิโมลาร์)	0.10 - 2.50
	3. ค่า pH ที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา	1.0 – 14.0
	4. เวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา (นาที)	0.50 - 6

3.3.6 ศึกษาประสิทธิภาพของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการตรวจวัดปริมาณของตะกั่ว

3.3.6.1 ศึกษาความเที่ยงของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

1) ศึกษาการทำซ้ำของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ศึกษาการทำซ้ำของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ ทำการทดลองโดยหยดอนุพันธ์โรดามีน 6G ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานตะกั่ว ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการวิเคราะห์จำนวน 7 ซ้ำ ภายใต้สภาวะเดียวกัน จากนั้นนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษไปวัด

ค่าความเข้มสีที่เกิดขึ้นโดยใช้สมาร์ทโฟน และนำค่าความเข้มสีที่ได้จากการทดลองไปคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ [78]

2) การทวนซ้ำของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ศึกษาการทำซ้ำของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ ทำการทดลองโดยหยดอนุพันธ์โรดามีน 6G ทำปฏิกิริยากับสารละลายตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการวิเคราะห์จำนวน 7 ซ้ำ ภายใต้สภาวะต่างกัน คือ เปลี่ยนผู้ทดลอง และเปลี่ยนวัน เวลา ในการทดลอง จากนั้นนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษไปวัดค่าความเข้มสีที่เกิดขึ้นโดยใช้สมาร์ทโฟน และนำค่าความเข้มสีที่ได้จากการทดลองไปคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ [78]

3.3.6.2 ศึกษาความถูกต้องของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ศึกษาความถูกต้องของแผ่นทดสอบแบบกระดาษหาได้จากเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืน (% Recovery) ทำการทดลองโดยใช้สารละลายมาตรฐานตะกั่วที่ทราบความเข้มข้นเติมลงในเนื้อสัตว์ (Sample Spike) และคำนวณเปอร์เซ็นต์ตามสูตรการได้กลับคืนแสดงดังสมการที่ (3) เกณฑ์การพิจารณาคือเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนต้องอยู่ในช่วง 80 - 110 [78]

$$\% \text{ Recovery} = \left[\frac{C_{sp} - C_s}{C_a}\right] \times 100 \qquad \textbf{(3)}$$

โดย C_{sp} = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน

C_s = ความเข้มข้นของตัวอย่างก่อนเติมสารละลายมาตรฐาน

C_a = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงในสารสกัดจากเนื้อสัตว์

3.3.6.3 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง

ศึกษาความเป็นเส้นตรงของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ โดยใช้สารละลายมาตรฐานตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.005 ถึง 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการตรวจวัดที่ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในข้อ 3.3.5 จากนั้นนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษวัดค่าความเข้มสีที่เกิดขึ้นโดยใช้สมาร์ทโฟน และนำค่าความเข้มสีที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว เกณฑ์การพิจารณาคือ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ จะต้องมีค่าอยู่ระหว่าง 0.995 ถึง 1.0 [78]

3.3.6.4 ศึกษาขีดจำกัดในการตรวจวัดของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ศึกษาหาขีดจำกัดในการตรวจวัดสำหรับการตรวจวัดตะกั่ว โดยทำการทดลองตรวจวัดสารละลายแบลงค์ 10 ซ้ำ ภายใต้สภาวะที่ได้จากข้อ 3.3.5 จากนั้นนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษไปวัดค่าความเข้มสีของแบลงค์ที่เกิดขึ้นโดยใช้กล่องทึบแสง และสมาร์ทโฟน นำค่าความเข้มสีที่ได้มาคำนวณหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เพื่อมาคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจพบ โดยใช้สูตรขีดจำกัดในการตรวจพบ = 3SD/Slope [78] SD คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน, Slope คือ ค่าความชันของกราฟมาตรฐาน)

3.3.6.5 ศึกษาขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณ

ศึกษาหาขีดจำกัดในการตรวจวัดสำหรับการตรวจวัดตะกั่ว โดยทำการทดลองตรวจวัดสารละลายแบลงค์ 10 ซ้ำ ภายใต้สภาวะที่ได้จากข้อ 3.3.5 จากนั้นนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษไปวัดค่าความเข้มสีของแบลงค์ที่เกิดขึ้นโดยใช้กล่องทึบแสง และสมาร์ทโฟน นำค่าความเข้มสีที่ได้มาคำนวณหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เพื่อมาคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจวัดปริมาณ โดยใช้สูตรขีดจำกัดในการตรวจพบ = 10SD/Slope โดยขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณจะต้องมีค่าความเที่ยงและค่าความถูกต้อง อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ [78]

3.3.6.6 ความจำเพาะของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ศึกษาความจำเพาะของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ โดยการเตรียมสารละลายที่คาดว่าอาจรบกวนต่ออนุพันธ์โรดามีน 6G [77] เช่น โคบอลต์ (Co^{2+}) แคลเซียม (Ca^{2+}) แมกนีเซียม (Mg^{2+}) แมงกานีส (Mn^{2+}) แบเรียม (Ba^{2+}) นิกเกิล (Ni^{2+}) สังกะสี (Zn^{2+}) แคดเมียม (Cd^{2+}) เหล็ก (Fe^{2+}) โครเมียม (Cr^{2+}) และลิเทียม (Li^{+}) ทำการทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.3.5 จากนั้นนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษไปวัดค่าความเข้มสีที่เกิดขึ้นโดยใช้สมาร์ทโฟน

3.3.7 ศึกษาความเสถียรของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการตรวจวัดตะกั่ว

3.3.7.1 ศึกษาความเสถียรของสารเคมีที่ใช้ทดสอบตะกั่ว

ศึกษาความเสถียรของสารเคมีที่ใช้สำหรับทดสอบตะกั่ว โดยสารเคมีที่ใช้สำหรับทดสอบจะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส ทำการทดลองภายใต้สภาวะที่ได้จากข้อ 3.3.5 ทุก ๆ 1 สัปดาห์ จนกว่าการตอบสนองจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทำการทดสอบโดยใช้สถิติ *t*-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.3.7.2 ศึกษาอายุการใช้งานของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ศึกษาอายุการใช้งานของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ ทำได้โดยศึกษาความเสถียรของแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่ใช้สำหรับทดสอบตะกั่ว โดยแผ่นทดสอบแบบกระดาษจะเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดลองภายใต้สภาวะที่ได้จากข้อ 3.3.5 ทุก ๆ 1 สัปดาห์ จนกว่า

การตอบสนองจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ทำการทดสอบโดยใช้สถิติ *t*-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.3.8 วิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วในเนื้อสัตว์ ด้วยแผ่นทดสอบแบบกระดาษ และเปรียบเทียบผลการตรวจวัดกับเทคนิคอินดัคทีพลีคัพเพิลพลาสมาแมสสเปกโตรเมตทรี

ตรวจหาตะกั่วในเนื้อสัตว์ ได้แก่ ปลาทู หมู ไก่ เนื้อวัว และปลานิล ทำการสกัดตะกั่วในเนื้อสัตว์ อ้างอิงวิธีสกัดมาจาก (AOAC Official Method 2015.01) [79] โดยทำการบดตัวอย่างให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า ชั่งน้ำหนักเนื้อสัตว์ ปริมาณ 1 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ใส่ลงในหลอดทดลองเติมกรดไนตริกเข้มข้นปริมาตร 6 มิลลิลิตร และเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้รอจนกว่าฟองอากาศหายไป จากนั้นนำตัวอย่างที่เตรียมเสร็จแล้วใส่ลงในเครื่องย่อยสารด้วยระบบไมโครเวฟ (Microwave digestion) ด้วยกำลังไฟ 1,000 วัตต์ ที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นรอให้เย็น และให้ความร้อนอีกครั้ง ด้วยกำลังไฟ 1,000 วัตต์ ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่อย่อยเนื้อสัตว์แล้วจึงนำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 50 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปตรวจหาตะกั่ว ในสภาวะที่เหมาะสมที่ศึกษาได้ ด้วยแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ขั้นที่ 1 เตรียมแผ่นทดสอบแบบกระดาษขนาด 0.5 x 3.0 เซนติเมตร จากนั้นตรึงด้วยสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน ความเข้มข้น 5 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

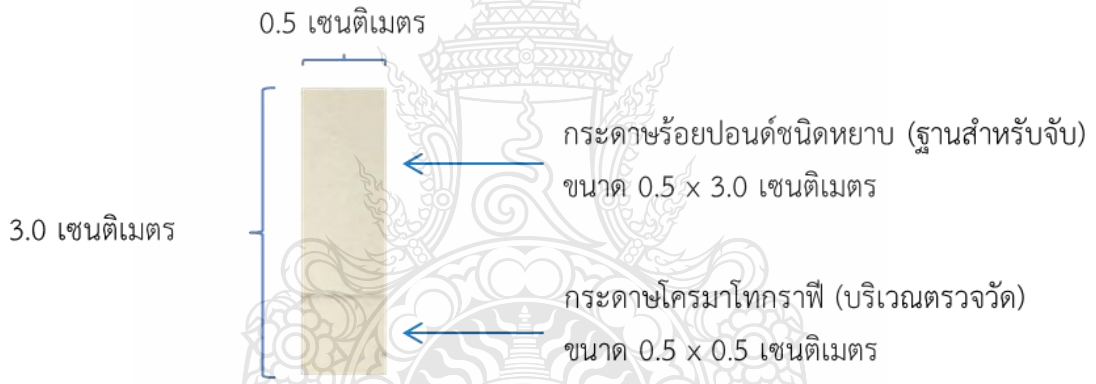
ขั้นที่ 2 ทำการตรวจหาตะกั่วภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.3.5 โดยใช้สารสกัดตะกั่วที่ได้จากเนื้อสัตว์แทนสารละลายมาตรฐานตะกั่ว จากนั้นนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษไปวัดค่าความเข้มสีที่เกิดขึ้นโดยใช้สมาร์ทโฟน และนำค่าความเข้มสีที่ได้มาคำนวณหาความเข้มข้นของตะกั่วที่ได้จากกราฟมาตรฐาน และเปรียบเทียบผลของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับการตรวจวัดตะกั่วกับวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอินดัคทีพลีคัพเพิลพลาสมาแมสสเปกโทรเมตรี

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ออกแบบแผ่นทดสอบแบบกระดาษและสร้างกล่องทึบแสงสำหรับถ่ายภาพ

4.1.1 สร้างแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

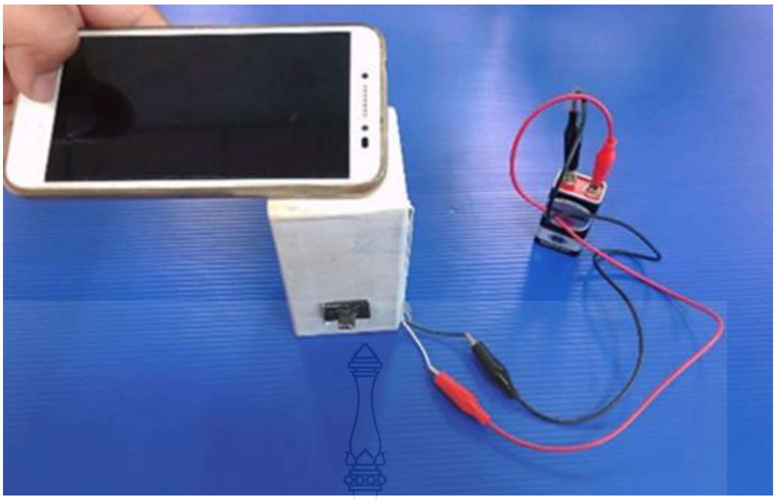
สร้างแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับตรวจวัดตะกั่วได้ ดังภาพที่ 4.1 โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ บริเวณตรวจวัดสร้างจากกระดาษกรองเบอร์ 4 ความกว้าง 0.5 เซนติเมตร ความยาว 0.5 เซนติเมตร และบริเวณฐานสำหรับจับสร้างจากกระดาษร้อยปอนด์ชนิดหยาบ ความกว้าง 0.5 เซนติเมตร ความยาว 3.0 เซนติเมตร จากนั้นนำส่วนของบริเวณตรวจวัดประกอบบนส่วนของบริเวณฐานสำหรับจับ โดยใช้เทปกาวสองหน้าชนิดบางเป็นตัวเชื่อมทั้งสองส่วนเข้าด้วยกัน



ภาพที่ 4.1 รูปแบบของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับตรวจวัดตะกั่ว

4.1.2 กล่องทึบแสงสำหรับถ่ายภาพ

สร้างกล่องทึบแสงสำหรับถ่ายภาพถูกสร้างจากกระดาษแข็งมีขนาด ความกว้าง 5.0 เซนติเมตร ความยาว 5.0 เซนติเมตร ความสูง 10.0 เซนติเมตร แสดงดังภาพที่ 4.2 ภายในกล่องถูกควบคุมแสงด้วยหลอดไฟ LED (14 วัตต์) ด้านบนกล่องมีช่องสำหรับถ่ายภาพมีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 0.5 เซนติเมตร มีระยะถ่ายภาพระหว่างสมาร์ทโฟน และแผ่นทดสอบแบบกระดาษ เท่ากับ 7.0 เซนติเมตร

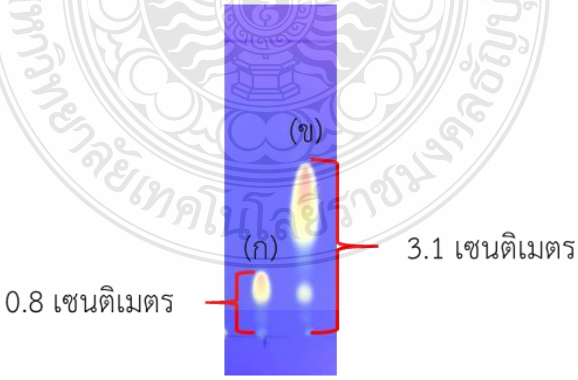


ภาพที่ 4.2 กล่องทึบแสงสำหรับถ่ายภาพแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

4.2 การตรวจสอบโครงสร้างของสารสังเคราะห์อนุพันธ์โรดามีน 6G

4.2.1 ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโททกราฟี

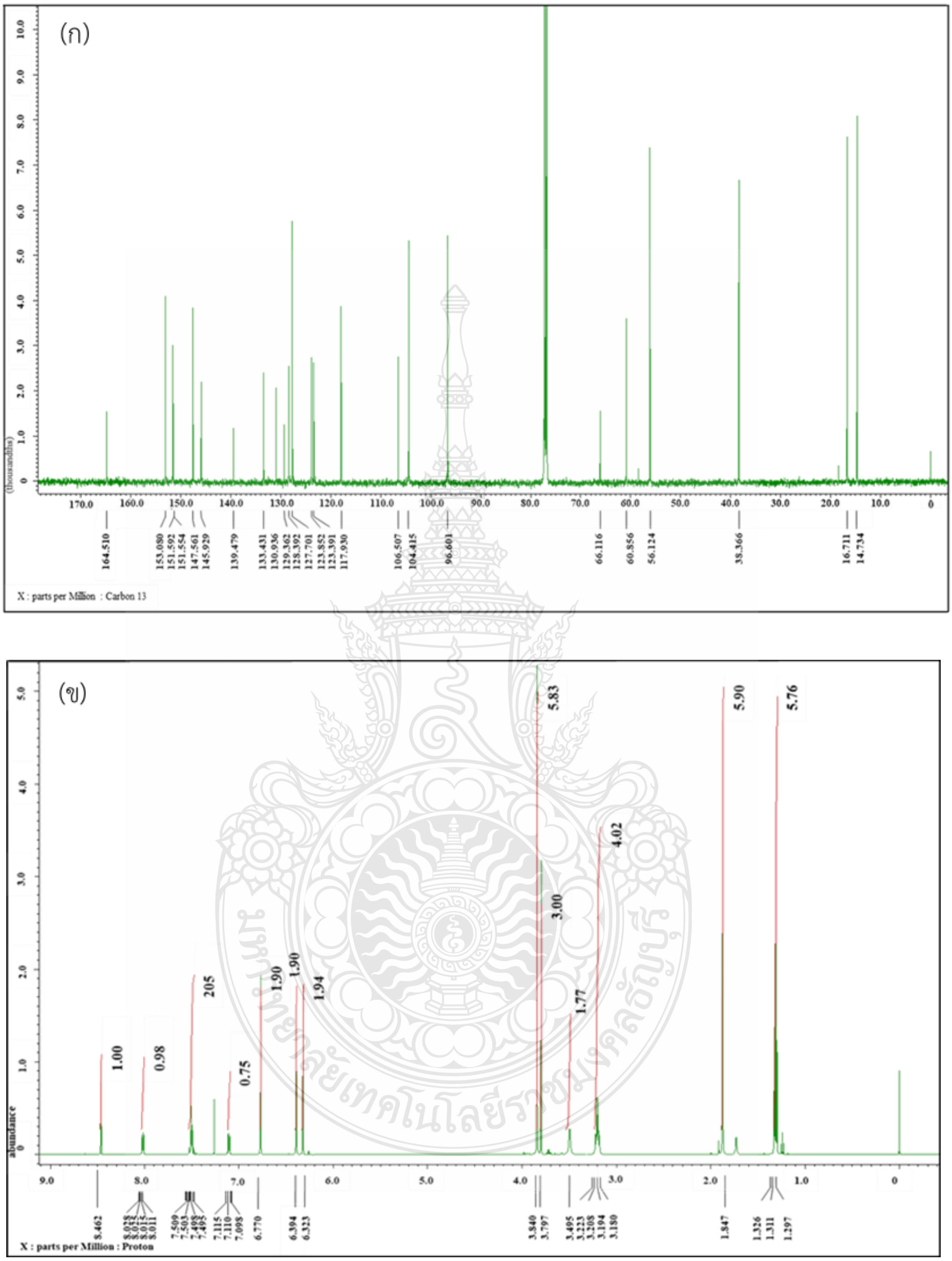
ตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในการสังเคราะห์อนุพันธ์โรดามีน 6G โดยใช้โรดามีน 6G ไฮดราไซด์เป็นสารตั้งต้น ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี ผลการทดลองเป็นดังภาพที่ 4.3 พบว่าโรดามีน 6G ไฮดราไซด์มีระยะทางเคลื่อนที่ เท่ากับ 0.8 เซนติเมตร และอนุพันธ์โรดามีน 6G มีระยะทางเคลื่อนที่ เท่ากับ 3.1 เซนติเมตร ในระบบตัวทำละลาย 10 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร เอทิลอะซิเตต/ไดคลอโรมีเทน แสดงว่าจากปฏิกิริยาสังเคราะห์ได้สารผลิตภัณฑ์ใหม่เกิดขึ้น



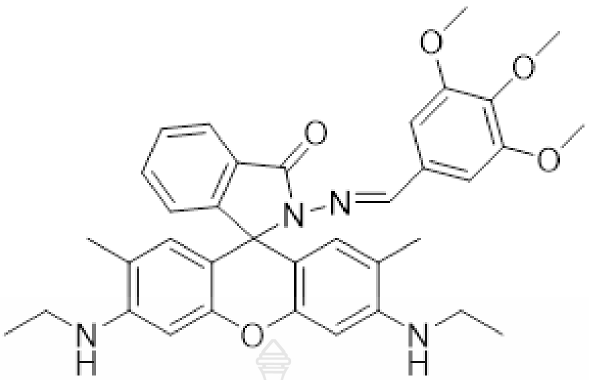
ภาพที่ 4.3 การตรวจสอบอนุพันธ์โรดามีน 6G ด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (ก) โรดามีน 6G-ไฮดราไซด์ และ (ข) อนุพันธ์โรดามีน 6G

4.2.2 ตรวจสอบโครงสร้างของอนุพันธ์โรดามีน 6G ด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติก-เรโซแนนซ์ สเปกโทรสโกปี

จากผลการศึกษาของเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรสโกปี ของอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ได้ แสดงการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ของโปรตรอน และคาร์บอน ระหว่างสารสังเคราะห์ และสารสังเคราะห์อ้างอิง ดังตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.4 พบตำแหน่งของโปรตรอน และคาร์บอนตามอ้างอิง ยกตัวอย่าง เช่น ตำแหน่งที่พบโปรตรอนของสารสังเคราะห์ที่ตำแหน่ง 8.46- (s, 1H) และสารสังเคราะห์อ้างอิง พบโปรตรอนที่ตำแหน่ง 8.445 (s, 1H) และตำแหน่งที่พบคาร์บอนของสารสังเคราะห์ที่ตำแหน่ง 164.81 และสารสังเคราะห์อ้างอิง พบคาร์บอนที่ตำแหน่ง 164.6 ในตำแหน่งต่าง ๆ พบว่าขึ้นในตำแหน่งที่ใกล้เคียงกันกับสารวิเคราะห์อ้างอิง จึงสรุปว่าสามารถสังเคราะห์อนุพันธ์โรดามีน 6G มีโครงสร้างแสดงดังภาพที่ 4.5



ภาพที่ 4.4 (ก) สเปกตรัม ^{1}H NMR (ข) สเปกตรัม ^{13}C NMR ของอนุพันธ์โรดามีน 6G



ภาพที่ 4.5 โครงสร้างของอนุพันธ์โรดามีน 6G

ตารางที่ 4.1 แสดงการเปรียบเทียบโปรตรอน และคาร์บอนระหว่างอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่สังเคราะห์ได้กับสารสังเคราะห์อ้างอิง

	โปรตรอน (^{1}H)	คาร์บอน (^{13}C)	
สารสังเคราะห์	**สารสังเคราะห์อ้างอิง [77]**	**สารสังเคราะห์**	**สารสังเคราะห์ อ้างอิง [77]**
8.46 (s, 1H)	8.445 (s, 1H)	164.81	164.6
8.03─8.01 (m, 1H),	8.034–8.019 (1H, d)	153.08	152.9
7.53─7.48 (m, 2H),	7.517–7.490(2H, dd, J ¼ 12 Hz)	151.59	151.5
7.11 (dd, *J* = 2.8, 5.8 Hz, 1H),	7.119–7.094 (1H, m)	151.55	151.4
6.77 (s, 2H)	6.801–6.774 (2H, d, J ¼ 8.1 Hz)	147.56	147.9
6.39 (s, 2H)	6.421 (s, 2H)	145.93	145.9
6.32 (s, 2H)	6.348 (s, 2H)	133.43	139.4
3.84 (s, 6H)	3.93 - 3.840 (s, 6H)	133.43	133.3

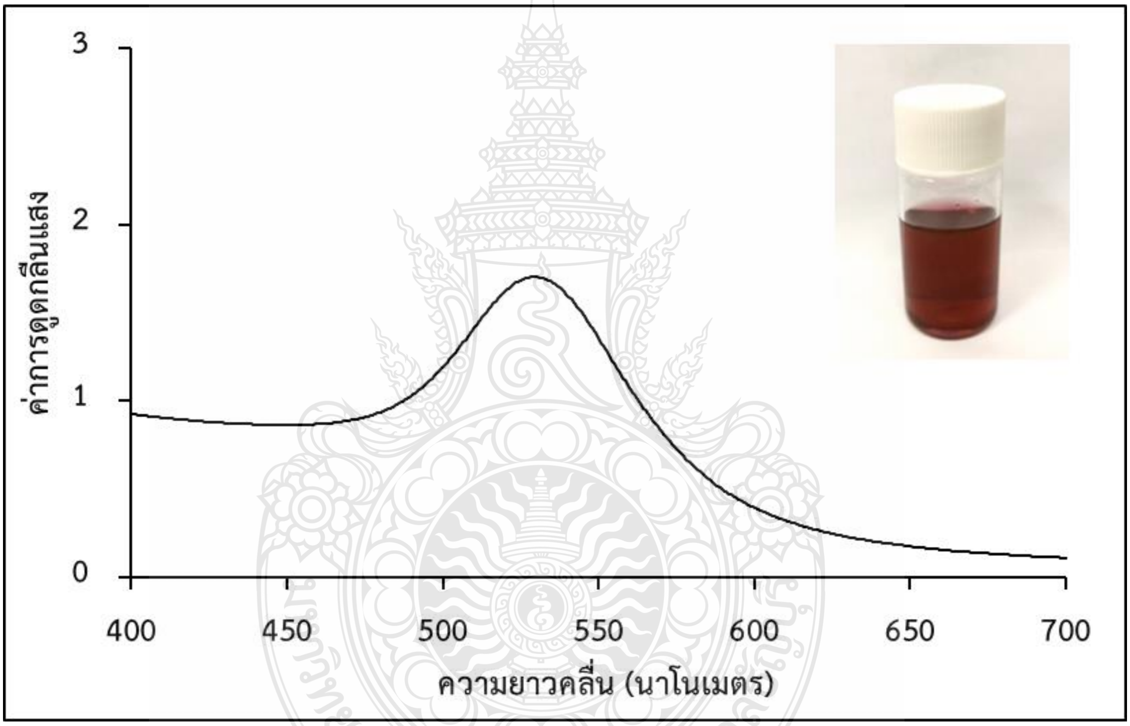
ตารางที่ 4.1 แสดงการเปรียบเทียบโปรตรอน และคาร์บอนระหว่างอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่สังเคราะห์ได้กับสารสังเคราะห์อ้างอิง (ต่อ)

โปรตรอน (^{1}H)		คาร์บอน (^{13}C)	
สารสังเคราะห์	**สารสังเคราะห์อ้างอิง [77]**	**สารสังเคราะห์**	**สารสังเคราะห์อ้างอิง [77]**
3.80 (s, 3H)	3.747 (s, 3H)	130.94	130.8
3.49 (s, 2H)	3.502 (s, 2H, Br)	129.36	129.3
3.20 (q, J = 7.2 Hz, 4H)	3.237–3.214 (m, 4H)	128.39	128.2
1.87 (s, 6H)	1.874 (s, 6H)	127.70	127.5
1.31 (t, J = 7.3 Hz, 6H).	1.361–1.310 (t, 6H, J ¼ 9 Hz)	123.85	123.75
		123.39	123.26
		117.93	117.8
		106.51	106.4
		104.41	106.3
		96.60	96.50
		66.12	66.0
		60.86	60.7
		56.12	56.0
		38.37	38.2
		16.71	16.5
		14.73	14.6

4.3 ผลการศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคนาโนทอง

4.3.1 ผลการตรวจสอบอนุภาคนาโนทองด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโคปี

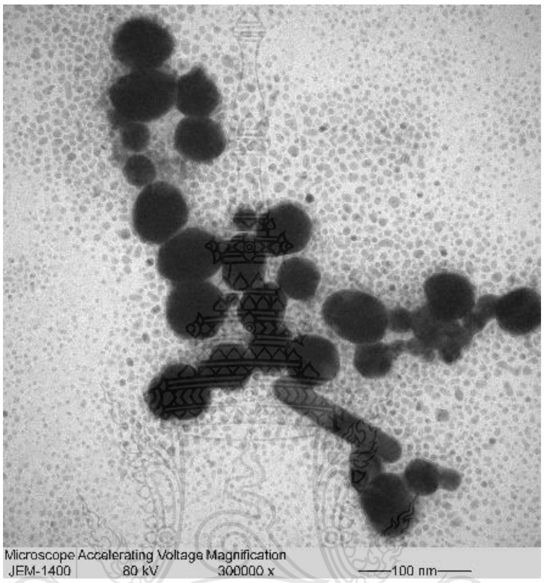
ผลการตรวจสอบอนุภาคนาโนทองที่สังเคราะห์ได้ แสดงดังภาพที่ 4.6 เมื่อนำไปตรวจวัดด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโคปี มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 532 นาโนเมตร เนื่องจากอนุภาคนาโนทองได้ดูดกลืนแสงสีเขียว ทำให้เห็นอนุภาคนาโนทองเป็นสีแดงเข้ม โดยความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงขึ้นอยู่กับขนาดของอนุภาคนาโนทอง แสดงให้เห็นว่าสารที่สังเคราะห์ได้ คือ อนุภาคนาโนทอง [80] จากนั้นนำอนุภาคนาโนทองไปตรวจสอบลักษณะทางกายภาพด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน



ภาพที่ 4.6 ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของอนุภาคนาโนทองด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรสโคปี

4.3.2 ผลการตรวจสอบอนุภาคนาโนทองด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

ผลการตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของอนุภาคนาโนทองด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบทรานสมิสชัน แสดงดังภาพที่ 4.7 พบว่ารูปร่างของอนุภาคนาโนทองมีลักษณะเป็นทรงกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 100 นาโนเมตร ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสามารถสังเคราะห์อนุภาคนาโนทองได้



ภาพที่ 4.7 ภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านของนุภาคนาโนทอง (กำลังขยาย 80 กิโลโวลต์)

4.4 ผลศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรึง 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีนบนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

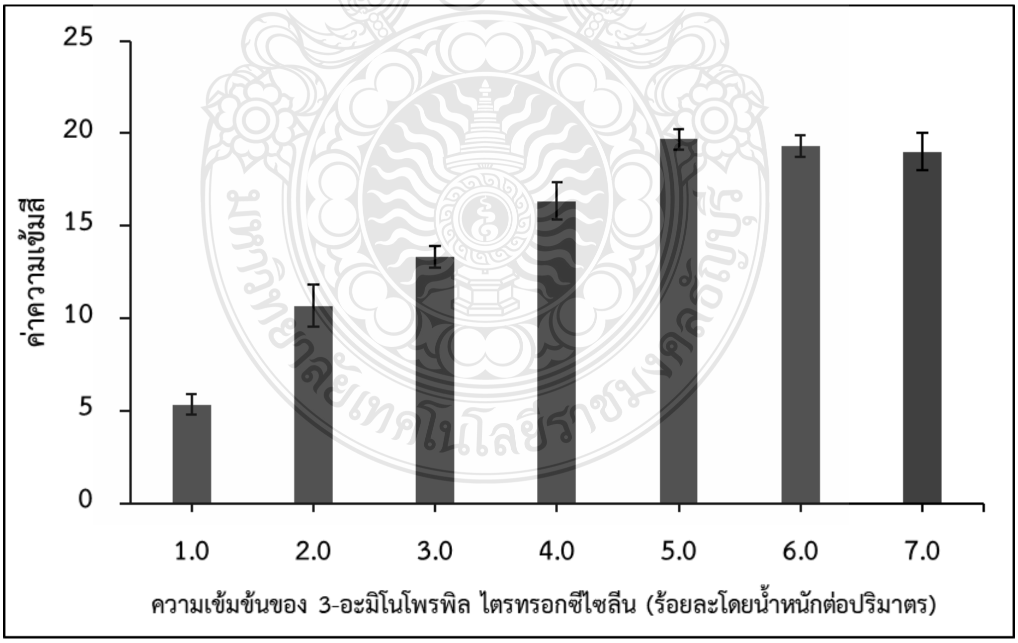
4.4.1 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีนสำหรับตรึงบนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

สารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซเลน เป็นสารที่ใช้ในการตรึงกระดาษ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสม ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาที่ความเข้มข้นของ สารละลาย 3-อะมิโนโพรพิลไตรทอกซีไซเลน ที่ 1.0 2.0 3.0 4.0 5.0 6.0 และ 7.0 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.8 พบว่า ที่ความเข้มข้นของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซเลนน้อย สามารถเกิดปฏิกิริยาไซเลไนเซชั่น (Salinization) ได้น้อย แต่หากความเข้มข้นของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซเลน

มากเกินไปจะทำให้เกิดการเกะกะจากการจับกันภายในโมเลกุล ทำให้เกิดปฏิกิริยาลดลง [81] ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าความเข้มข้นของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซเลนที่เหมาะสม คือ 5.0 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ตารางที่ 4.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซลีน

ความเข้มข้นสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซลีน (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	ค่าความเข้มสี			ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
	1	2	3		
1.0	6.0	5.0	5.0	5.3	0.6
2.0	10	12	10	10.7	1.2
3.0	13	13	14	13.3	0.6
4.0	16	16	17	16.3	0.6
5.0	20	20	19	19.7	0.6
6.0	19	19	20	19.3	0.6
7.0	18	20	19	19.0	1.0



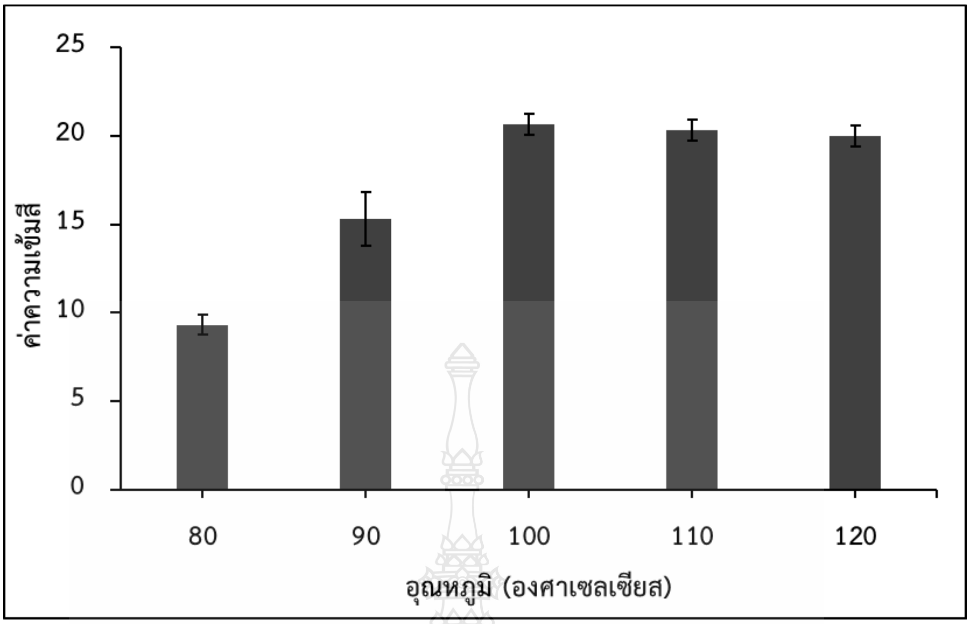
ภาพที่ 4.8 ผลการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซลีน

4.4.2 ผลศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีนบนแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ปฏิกิริยาในการเกิดพันธะโคเวเลนต์ระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของเซลลูโลสและหมู่ไซเลนอลของสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซเลน ต้องอาศัยอุณหภูมิเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซเลน ที่อุณหภูมิ 80 90 100 110 และ 120 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาดังตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.9 พบว่าที่อุณหภูมิ 80 ถึง 90 องศาเซลเซียส โมเลกุลของน้ำที่เกิดจากพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิล และหมู่ไซเลนอลไม่สามารถหลุดออกได้ จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้น้อยทำให้สารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซเลน ตรึงติดบนกระดาษได้น้อย และที่อุณหภูมิ 110 ถึง 120 องศาเซลเซียส ให้ค่าความเข้มสีลดลง เนื่องจากอุณหภูมิสูงส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาเร็วเกินไปทำให้หมู่ไซเลนนอลเกิดพันธะกับไฮดรอกซิลได้ไม่สมบูรณ์ และยังทำให้กระดาษไหม้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทรอกซีไซลีน คือ 100 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.3 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซลีน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่าความเข้มสี			ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
	1	2	3		
80	10	9.0	9.0	9.3	0.6
900	15	17	14	15.3	1.5
100	20	21	21	20.7	0.6
110	20	21	20	20.3	0.6
120	20	20	20	20.0	0.0



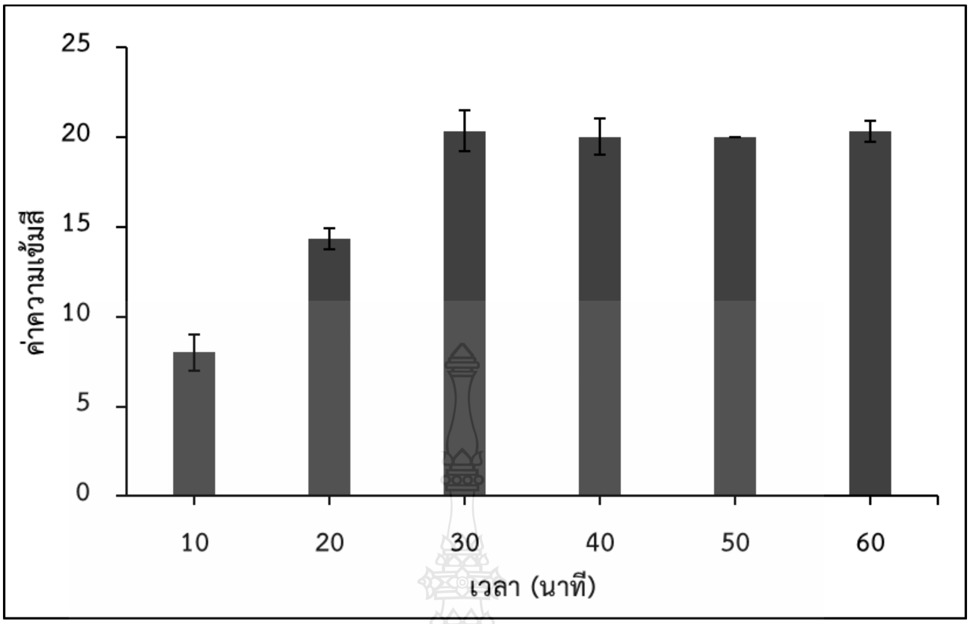
ภาพที่ 4.9 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซลีน

4.4.3 ผลศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซลีน

ผลการทดลองพบว่าเมื่อเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นจาก 10 ถึง 20 นาที สามารถเกิดปฏิกิริยาไซเลไนเซชั่นได้เพิ่มขึ้น ค่าความเข้มสีจึงเพิ่มขึ้น และจะเกิดปฏิกิริยาได้สมบูรณ์ที่ 30 นาที จึงเลือกเวลาที่ใช้ในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซลีน ที่ 30 นาที ดังตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.10

ตารางที่ 4.4 ผลศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซลีน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่าความเข้มสี			ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
	1	2	3		
10	7.0	9.0	8.0	8.0	1.0
20	15	14	14	14.3	0.6
30	19	21	21	20.3	1.0
40	19	21	20	20.0	1.0
50	20	20	20	20.0	0.0
60	21	20	20	20.3	0.6



ภาพที่ 4.10 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการตรึงสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรทอกซีไซลีน

4.5 ผลศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์ตะกั่ว

4.5.1 ผลการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลายที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

ศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลายที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา แสดงดังภาพที่ 4.11 หยดสารละลายนินไฮดริน ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2 4 6 8 10 12 และ 14 ไมโครลิตร ลงบนบริเวณตรวจวัดของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ ผลการศึกษาพบว่าปริมาตรที่เหมาะสม คือ 8 ไมโครลิตร เนื่องจากปริมาณสารละลายกระจายเต็มทั่วบริเวณตรวจวัด ส่วนที่ปริมาตรมากกว่า 8 ไมโครลิตร สารละลายล้นออกบริเวณตรวจวัด ดังนั้นจึงเลือกที่ปริมาตร 8 ไมโครลิตร

2 4 6 8 10 12 14 ไมโครลิตร

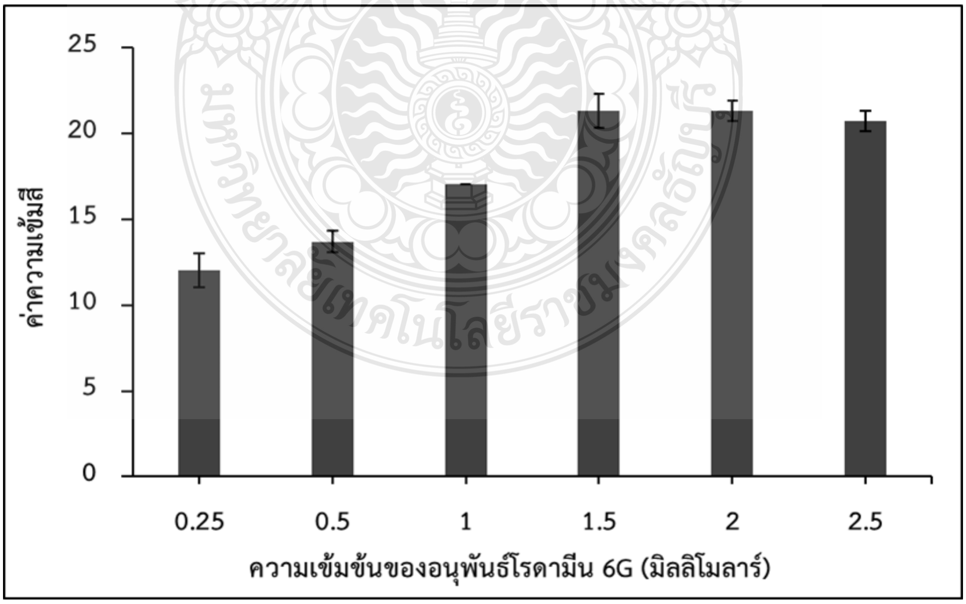
ภาพที่ 4.11 ผลการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลายที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

4.5.2 ผลศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอนุพันธ์โรดามีน 6G ในการตรวจวัดตะกั่ว

ผลศึกษาผลของความเข้มข้นที่เหมาะสมของอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ความเข้มข้น 0.25 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 มิลลิโมลาร์ ผลการทดลองเป็นดังตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.12 พบว่าค่าความเข้มสีเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของอนุพันธ์โรดามีน 6G มากขึ้นทำให้เกิดปฏิกิริยากับไอออนตะกั่วได้มากขึ้น และความเข้มข้นที่มากกว่า 1.5 มิลลิโมลาร์ ให้ค่าความเข้มสีลดลง เนื่องจากอนุพันธ์โรดีมีน 6G ที่เหลือไม่ได้จับกับไอออนตะกั่ว จึงทำให้มาบดบังสีผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ 1.5 มิลลิโมลาร์

ตารางที่ 4.5 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอนุพันธ์ โรดามีน 6G

ความเข้มข้นอนุพันธ์โรดามีน 6G (มิลลิโมลาร์)	ค่าความเข้มสี			ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
	1	2	3		
0.25	11	13	12	12.0	1.0
0.5	14	13	14	13.7	0.6
1.0	17	17	17	17.0	0.0
1.5	21	22	21	21.3	1.0
2.0	22	21	21	21.3	0.6
2.5	21	21	20	20.7	0.6



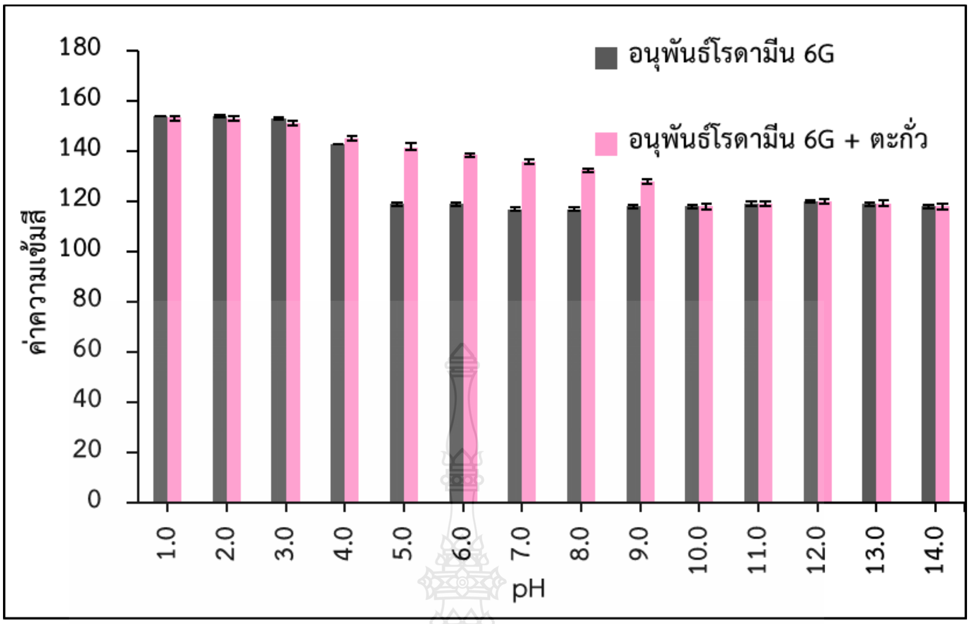
ภาพที่ 4.12 ผลการศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอนุพันธ์โรดามีน 6G ในการตรวจวัดตะกั่ว

4.5.3 ผลการศึกษาค่า pH ของอนุพันธ์โรดามีน 6G

ผลการศึกษาค่า pH ที่มีผลต่อการเปลี่ยนสีของอนุพันธ์โรดามีน 6 จี ในสารละลายที่ถูกเตรียมไว้ด้วย pH เท่ากับ 1.0 2.0 3.0 4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 11.0 12.0 13.0 และ 14.0 ผลการศึกษาเป็นดังตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.13 พบว่าในสภาวะที่สารละลายมีค่า pH มากกว่า 5.0 ไม่เกิดการเปลี่ยนสีของอนุพันธ์โรดามีน 6 จี เนื่องจากจากอิทธิพลโปรตอนในสารละลาย ทำให้อนุพันธ์โรดามีน 6 จี แสดงลักษณะเป็นสวิซเตอร์ไอออน (Switterion) ดังนั้นหากนำไปใช้เป็นตัวตรวจวัดไอออนตะกั่ว และมีการเปลี่ยนสีของอนุพันธ์โรดามีน 6G แสดงว่าเกิดขึ้นเนื่องจากการเปิดวงของโครงสร้างสไปโรแลคแตมโดยไอออนตะกั่ว และในขณะเดียวกันที่ pH 5.0 อนุพันธ์โรดามีน 6G สามารถเกิดปฏิกิริยากับตะกั่วเกิดผลิตภัณฑ์สีชมพูได้ความเข้มสีสูงสุด จึงเลือก pH 5.0 ในการศึกษาให้ค่าความเข้มสีสูงสุด

ตารางที่ 4.6 ผลการศึกษาค่า pH ของอนุพันธ์โรดามีน 6G

pH	ค่าความเข้มสี อนุพันธ์โรดามีน 6G	ค่าความเข้มสี อนุพันธ์โรดามีน 6G + ตะกั่ว			ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
		1	2	3		
1.0	154	153	154	153	153	0.6
2.0	154	153	154	152	153	1.0
3.0	153	152	151	151	151	0.6
4.0	143	145	145	146	145	0.6
5.0	119	142	143	140	141	1.0
6.0	119	139	138	139	138	0.0
7.0	117	137	136	135	136	1.0
8.0	117	133	133	132	132	0.6
9.0	118	128	129	127	128	1.0
10.0	118	119	117	118	118	1.0
11.0	119	119	118	120	119	1.0
12.0	120	120	121	119	120	1.0
13.0	119	118	119	120	119	1.7
14.0	118	119	117	118	118	1.0



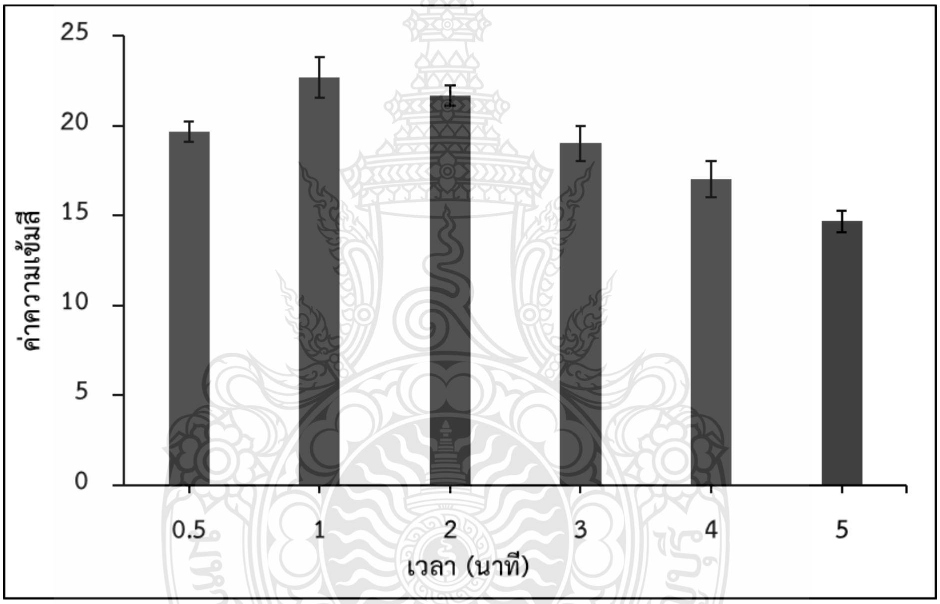
ภาพที่ 4.13 ผลการศึกษาค่า pH ของอนุพันธ์โรดามีน 6G

4.5.4 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างตะกั่วกับอนุพันธ์โรดามีน-6G ต้องอาศัยเวลาที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาโดยสมบูรณ์ จึงทำการศึกษาเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาที่เวลา 0.5 1 2 3 4 และ 5 นาที ผลการศึกษาเป็นดังตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.14 พบว่า ค่าความเข้มสีจะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น และเมื่อเวลา 1 นาที พบว่าสามารถเกิดปฏิกิริยาได้สูงสุด ทำให้ได้ค่าความเข้มสีสูงสุด และเมื่อเวลามากกว่า 1 นาที ค่าความเข้มสีของสารผลิตภัณฑ์เริ่มลดลง เนื่องจากอนุพันธ์โรดามีน 6 จีแสดงประจุบวกและลบอยู่ในโมเลกุล โดยจะเกิดประจุที่หมู่คาร์บอกซิล (Carboxyl) ทำให้โมเลกุลของอนุพันธ์โรดามีน 6 จี ใหญ่ขึ้น (Dimer) ทำให้จำนวณโมเลกุลไอออนตะกั่วต่อหน่วยพื้นที่แผ่นทดสอบแบบกระดาษลดลงค่าความเข้มสีจึงลดลง ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเวลาที่เหมาะในการเกิดปฏิกิริยาที่เวลา 1 นาที

ตารางที่ 4.7 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาในการตรวจวัดตะกั่ว

เวลา (นาที)	ค่าความเข้มสี				ส่วนเบี่ยงเบน
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	มาตรฐานสัมพัทธ์
0.5	20	20	19	19.7	0.6
1	24	23	22	23.0	1.0
2	22	22	22	22.0	0.0
3	18	19	20	19.0	1.0
4	18	16	17	17.0	1.0
5	15	14	15	14.7	0.6



ภาพที่ 4.14 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาในการตรวจวัดตะกั่ว

สรุปผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจตะกั่ว เป็นดังตารางที่ 4.8

ตาราง 4.8 สรุปผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ตะกั่ว

สารมาตรฐาน	**สภาวะที่ศึกษา**	**สภาวะที่เหมาะสม**
ตะกั่ว	1. ความเข้มข้นของอนุพันธ์โรดามีน 6G	1.50 มิลลิโมลาร์
	2. pH ที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา	5.0
	3. เวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา	1 นาที

4.6 ศึกษาประสิทธิภาพของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการตรวจวัดปริมาณของตะกั่ว

4.6.1 ผลความเที่ยงของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

4.6.1.1 ผลการทำซ้ำของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ศึกษาการทำซ้ำของแผ่นทดสอบแบบกระดาษซึ่งทำการทดลองโดยใช้สารละลายมาตรฐานตะกั่ว ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการวิเคราะห์จำนวน 7 ซ้ำ ภายใต้สภาวะเดียวกัน จากนั้นนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษไปวัดค่าความเข้มสีที่เกิดขึ้นโดยใช้สมาร์ทโฟน และนำค่าความเข้มสีที่ได้จากการทดลองไปคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ผลการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณแสดงดังตารางที่ 4.9 พบว่ามีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ 1.7 ผลการศึกษาของการทำซ้ำของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว พบว่า มีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ [78] ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นนั้นมีความเที่ยง

ตารางที่ 4.9 ผลการศึกษาการทำซ้ำของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการวิเคราะห์ตะกั่ว ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ครั้งที่	ค่าความเข้มสี
1	22
2	22
3	22
4	23
5	22
6	22
7	22
ค่าเฉลี่ย	22.1
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.4
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์	1.7

4.6.1.2 ผลการศึกษาการทวนซ้ำของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ผลการศึกษาการทวนซ้ำของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการวิเคราะห์ทำการทดลองโดยใช้สารละลายมาตรฐานตะกั่ว ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการวิเคราะห์จำนวน 7 ซ้ำ ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน คือ เปลี่ยนผู้ทดลอง และเปลี่ยนวัน เวลาในการทดลอง จากนั้นนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษไปถ่ายภาพในกล่องในทึบแสง ด้วยสมาร์ทโฟน และอ่านค่าความเข้มสีเพื่อคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.10 พบว่าในการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ 2.6 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ [78]

ตารางที่ 4.10 ผลการศึกษาการทวนซ้ำของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการวิเคราะห์ตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ครั้งที่	ค่าความเข้มสี
1	21
2	22
3	22
4	23
5	22
6	22
7	22
ค่าเฉลี่ย	22
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.58
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์	2.6

ผลการศึกษาของการทำซ้ำ และการทวนซ้ำ ของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว พบว่ามีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นนั้นมีความเที่ยง

4.6.2 ผลการศึกษาความถูกต้องของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ศึกษาความถูกต้องของแผ่นทดสอบแบบกระดาษหาได้จากเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืน ทำการทดลองโดยใช้สารละลายมาตรฐานตะกั่วที่ทราบความเข้มข้น เติมลงในเนื้อปลาทู เนื้อหมู เนื้อไก่ เนื้อวัว และเนื้อปลานิล จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์ตามสูตรการได้กลับคืน ผลการศึกษาพบว่า เปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนในการวิเคราะห์ของตะกั่วอยู่ในช่วง 82 ถึง 103 แสดงในตารางที่ 4.11 ผลการศึกษาความถูกต้องของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว พบว่าอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ [78] ดังนั้นสรุปได้ว่าแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นนั้นมีความถูกต้อง

ตารางที่ 4.11 ผลการศึกษาความถูกต้องของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการวิเคราะห์ตะกั่ว

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)			เปอร์เซ็นต์การได้กลับคืน
	ก่อนเติม	เติม	หลังเติม	
ปลาทู	ND	0.20	0.17±0.0	82±0.0
หมู	ND	0.30	0.26±0.0	88±0.0
ไก่	ND	0.40	0.41±0.0	103±0.0
เนื้อวัว	ND	0.80	0.75±0.0	93±2.3
ปลานิล	ND	1.0	1.01±0.0	100±1.0

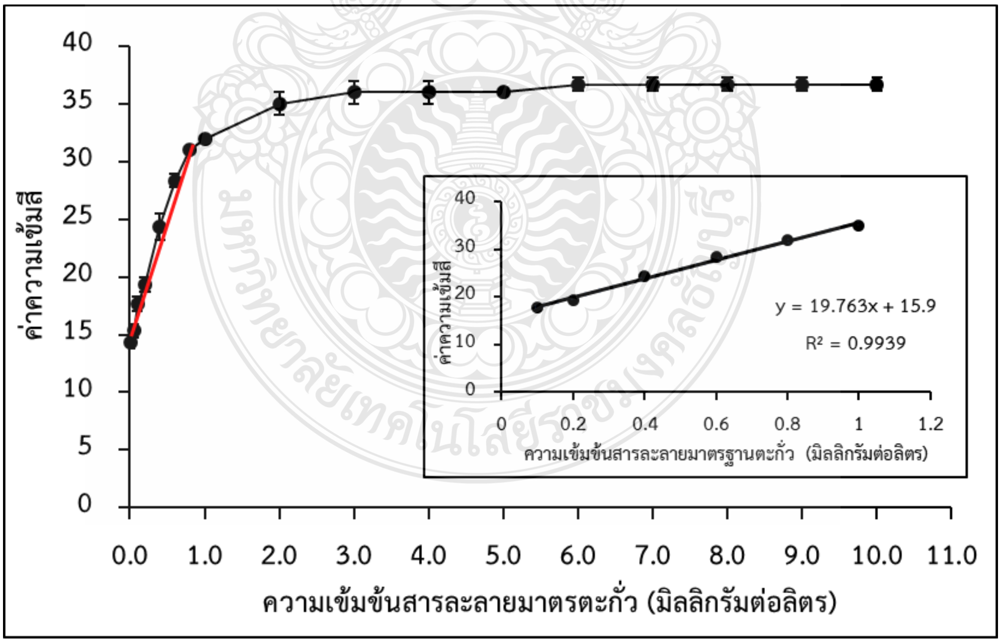
ND = ตรวจไม่พบ

4.6.3 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง

ผลการศึกษาความเป็นเส้นตรงของแผ่นทดสอบแบบกระดาษโดยใช้สารละลายมาตรฐานตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.005 ถึง 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการตรวจวัดที่ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษา จากนั้นนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษวัดค่าความเข้มสีที่เกิดขึ้นโดยใช้สมาร์ทโฟน และนำค่าความเข้มสีที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มสีกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.12 และภาพที่ 4.15 พบว่า ช่วงความเป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว อยู่ในช่วง 0.10 ถึง 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.12 แสดงผลการอ่านค่าความเข้มสีของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าความเข้มสี			ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
	1	2	3		
0.05	15	16	15	15	0.6
0.1	16	18	18	17	1.5
0.2	19	20	19	19	0.6
0.4	25	24	24	24	0.0
0.6	29	28	28	28	0.6
0.8	32	32	32	32	0.0
1.0	35	35	35	35	0.0
2.0	35	35	35	35	0.0
3.0	36	38	37	37	1.0
4.0	38	38	38	38	0.0
5.0	39	38	37	38	1.0



ภาพที่ 4.15 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว

4.6.4 ผลการศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

4.6.4.1 ผลการศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบสำหรับตรวจวัดตะกั่ว

ผลการศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบ สำหรับตรวจวัดตะกั่ว ซึ่งทำการทดลองทั้งหมด 10 ซ้ำ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม จากนั้นปิเปตสารละลายแบลงค์ลงบนบริเวณตรวจวัดของแผ่นทดสอบแบบกระดาษนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษมาวัดค่าความเข้มสีโดยใช้กล่องทึบแสงและถ่ายรูปด้วยสมาร์ทโฟน จากนั้นคำนวณหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.13 และสมการที่ (4) พบว่า เมื่อคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจพบมีค่าเท่ากับ 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.13 ผลการศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว

ครั้งที่	ค่าความเข้มสีของสารละลายแบลงค์
1	118
2	119
3	119
4	118
5	119
6	118
7	119
8	118
9	118
10	119
ค่าเฉลี่ย	118.5
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.5
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์	0.08

โดยขีดจำกัดในการตรวจพบคำนวณได้จากสูตร

$$LOD = 3SD/Slope \quad \textbf{(4)}$$

เมื่อ SD คือส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการตรวจวัดจะได้

$$LOD = 3(0.5)/19.763$$

= 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.6.5 ผลการศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบเชิงปริมาณของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ศึกษาขีดจำกัดในการตรวจพบเชิงปริมาณในการตรวจวัดตะกั่ว ซึ่งทำการทดลองทั้งหมด 10 ซ้ำ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม จากนั้นปิเปตสารละลายแบลงค์ลงบนบริเวณตรวจวัดของแผ่นทดสอบแบบกระดาษนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษมาวัดค่าความเข้มสีโดยใช้กล่องทึบแสงและถ่ายรูปด้วยสมาร์ทโฟน หลังจากนั้นคำนวณหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เพื่อนำมาคำนวณขีดจำกัดในการตรวจพบเชิงปริมาณ แสดงดังสมการที่ (5) พบว่ามีขีดจำกัดในการตรวจพบเชิงปริมาณ เท่ากับ 0.27 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 1.71 เปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนเท่ากับ 83 ถึง 103

โดยขีดจำกัดในการตรวจพบคำนวณได้จากสูตร

$$LOQ = 10SD/Slope \quad \textbf{(5)}$$

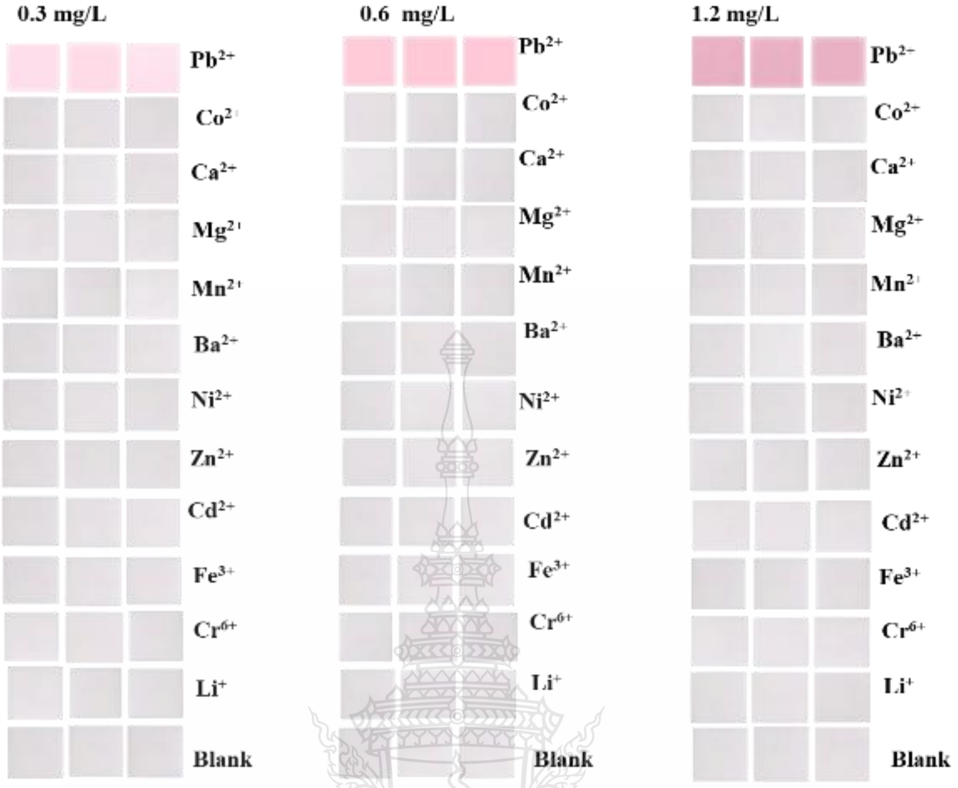
เมื่อ SD คือส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการตรวจวัดจะได้

$$LOQ = 10\ (0.5)/19.763$$

= 0.27 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.6.6 ผลการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ผลการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว โดยทดสอบกับสารที่คาดว่าอาจเกิดการรบกวนต่ออนุพันธ์โรดามีน 6G เช่น โคบอลต์ แคลเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส แบเรียม นิกเกิล สังกะสี แคดเมียม เหล็ก โครเมียม และลิเทียม ที่ความเข้มข้น 0.3 0.6 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการศึกษาดังภาพที่ 4.16 พบว่าตัวรบกวนที่ใช้ในการศึกษาไม่เกิดปฏิกิริยากับอนุพันธ์โรดามีน 6G ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า อนุพันธ์โรดามีน 6G มีความจำเพาะเจาะจงต่อตะกั่วสูง



ภาพที่ 4.16 ผลการศึกษาความจำเพาะเจาะจงของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการตรวจวัดตะกั่ว

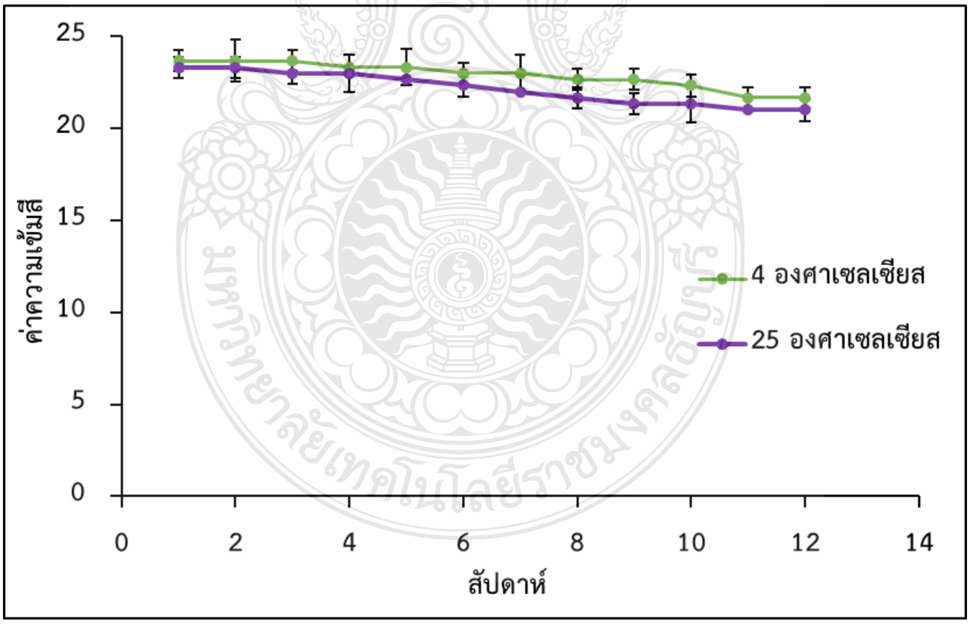
4.6.7 ผลการศึกษาความเสถียรอนุพันธ์โรดามีน 6G และแผ่นทดสอบแบบกระดาษในการตรวจวัดตะกั่ว

4.6.7.1 ผลการศึกษาความเสถียรของอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ใช้ทดสอบตะกั่ว

ผลการศึกษาความเสถียรของอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ใช้สำหรับทดสอบตะกั่ว โดยอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ใช้สำหรับทดสอบจะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส นำมาทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสมทุก ๆ 1 สัปดาห์จนกว่าการตอบสนองจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ทำการทดสอบโดยใช้สถิติ *t*-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 4.14 และภาพที่ 4.17 พบว่า เมื่อเวลาผ่านไปการตอบสนองของอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ใช้ในการทดสอบตะกั่ว ในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ถึงสัปดาห์ที่ 11 ซึ่งมีการตอบสนองที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และหลังจากสัปดาห์ที่ 10 การตอบสนองของอนุพันธ์โรดามีน 6G นั้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ จึงสรุปได้ว่าอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ใช้ในการตรวจวัดมีอายุการใช้งานถึง 10 สัปดาห์ โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.14 ผลการศึกษาความเสถียรของอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ใช้ทดสอบตะกั่ว

สัปดาห์ที่	ค่าความเข้มสี (25 องศาเซลเซียส)	ค่าความเข้มสี (4 องศาเซลเซียส)
1	23.±0.5	23±0.5
2	23±1.0	23±0.5
3	22±0.5	23±0.5
4	22±0.0	23±1.0
5	22±1.0	23±0.0
6	21±0.5	22±0.5
7	21±1.0	22±0.0
8	20±1.1	21±0.5
9	20±0.5	21±1.5
10	20±1.0	21±1.0
11	19±0.5	21±0.0
12	19±0.5	20±0.5



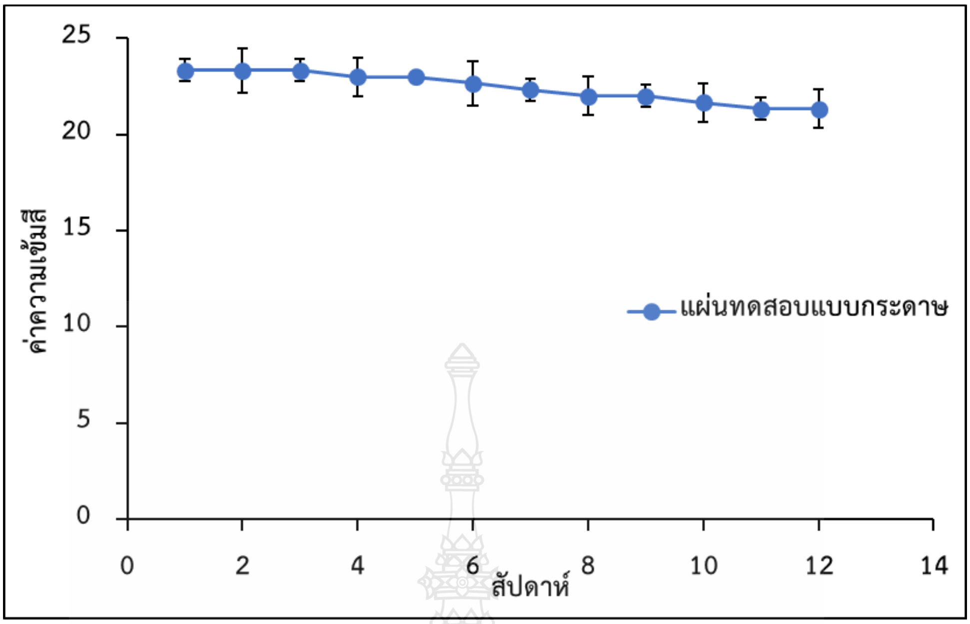
ภาพที่ 4.17 ผลการศึกษาความเสถียรของอนุพันธ์โรดามีน 6G ที่ใช้สำหรับตรวจวัดตะกั่ว

4.6.7.2 ผลการศึกษาอายุการใช้งานของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ

ศึกษาอายุการใช้งานของแผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับตรวจวัดตะกั่ว ทำได้โดยศึกษาความเสถียรของแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่ใช้สำหรับตรวจวัดตะกั่ว ซึ่งแผ่นทดสอบแบบกระดาษจะเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสมทุก ๆ 1 สัปดาห์จนกว่าการตอบสนองจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทดสอบโดยใช้สถิติ *t*-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังตารางที่ 4.15 และภาพที่ 4.18 ผลการศึกษาพบว่า เมื่อระยะเวลาผ่านไป การตอบสนองของแผ่นทดสอบแบบกระดาษในช่วงสัปดาห์ที่ 2 ถึง 10 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และหลังจากสัปดาห์ที่ 10 การตอบสนองของแผ่นทดสอบแบบกระดาษลดลงอย่างมีนัยสำคัญ จึงสรุปได้ว่าแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่ใช้ในการตรวจวัดตะกั่วมีอายุการใช้งานถึง 10 สัปดาห์ โดยเก็บรักษาแผ่นทดสอบแบบกระดาษไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.15 ผลการศึกษาความเสถียรของแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่ใช้ทดสอบตะกั่ว

สัปดาห์	ค่าความเข้มสี (25 องศาเซลเซียส)
1	23±0.6
2	23±1.2
3	23±0.6
4	23±1.0
5	23±0.0
6	22±1.1
7	22±0.6
8	22±1.0
9	22±0.6
10	21±1.0
11	20±0.6
12	20±1.0



ภาพที่ 4.18 ผลการศึกษาความเสถียรของแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่ใช้สำหรับตรวจวัดตะกั่ว

4.7 ผลการวิเคราะห์หาตะกั่วในเนื้อสัตว์

4.7.1 เมื่อทำการทดลองจนได้สภาวะ และวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมแล้ว จึงได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วในเนื้อสัตว์ พบว่าแผ่นทดสอบแบบกระดาษตรวจไม่พบตะกั่วในเนื้อสัตว์ ได้แก่ เนื้อปลาทู เนื้อหมู เนื้อไก่ เนื้อวัว และปลานิล เพื่อยืนยันความถูกต้องของแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้น จึงได้เปรียบเทียบผลการทดลองกับเทคนิคอินดัคทีพลีคัพเพิลพลาสมาแมสสเปกโทรเมตรี โดยการศึกษาเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนที่เติมสารละลายมาตรฐานตะกั่ว ที่ความเข้มข้น 0.2 ถึง 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.16 พบว่า เปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนของความเข้มข้นของตะกั่วที่วัดได้ด้วยแผ่นทดสอบแบบกระดาษ และเทคนิคอินดัคทีพลีคัพเพิลพลาสมาแมสสเปกโทรเมตรีอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณตะกั่วในเนื้อสัตว์ได้

ตารางที่ 4.16 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วในเนื้อสัตว์ด้วยแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นและเปรียบเทียบกับวิธีอินดัคทีพลีคัพเพิลพลาสมาแมสสเปกโตรเมตทรี

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นก่อนเติม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ความเข้มข้นที่เติมในสารสกัดจากเนื้อสัตว์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นหลังเติม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		เปอร์เซ็นต์การได้กลับคืน	
	แผ่นทดสอบแบบกระดาษ	ICP-MS		แผ่นทดสอบแบบกระดาษ	ICP-MS	แผ่นทดสอบแบบกระดาษ	ICP-MS
ปลาทู	ND	ND	0.20	0.17±0.0	0.18	83±0.0	90
ไก่	ND	ND	0.30	0.26±0.0	0.31	88±0.0	103
หมู	ND	ND	0.40	0.41±0.0	0.40	103±0.0	100
เนื้อ	ND	ND	0.80	0.75±0.02	0.72	93±2.38	90
ปลานิล	ND	ND	1.0	1.01±0.01	1.13	100±0.94	113

ND = ตรวจไม่พบ

ICP-MS = เทคนิคอินดัคทีพลีคัพเพิลพลาสมาแมสสเปกโตรเมตทรี

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาแผ่นทดสอบแบบกระดาษ สำหรับตรวจวัดตะกั่ว โดยตรวจวัดด้วยสมาร์ทโฟน สำหรับตรวจวัดตะกั่วในเนื้อสัตว์ โดยจะอาศัยหลักการการเกิดปฏิกิริยาเฉพาะของอนุพันโรดามีน 6G ซึ่งแผ่นทดสอบแบบกระดาษจะประกอบด้วย บริเวณตรวจวัดที่เป็นกระดาษโครมาโทกราฟีประกอบอยู่บนกระดาษร้อยปอนด์ชนิดแข็ง ซึ่งบริเวณตรวจวัด เป็นบริเวณที่มีการตรึงด้วยสารละลาย 3-อะมิโนโพรพิล ไตรเอทอกซีไซเลน และสารเคมีเฉพาะในการเกิดปฏิกิริยา คืออนุภาคนาโนทอง และอนุพันธ์โรดามีน 6G ในการตรวจวัดตะกั่ว จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารละลายสีชมพู

แผ่นทดสอบแบบกระดาษสำหรับตรวจวัดตะกั่วที่ได้พัฒนาขึ้น สามารถตรวจวัดได้ทั้งเชิงคุณภาพ และเชิงปริมาณ สำหรับการแปรผลในเชิงคุณภาพ เมื่อหยดสารสกัดจากเนื้อสัตว์ที่มีตะกั่วลงบนบริเวณตรวจวัดของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ จะเกิดการเปลี่ยนสีได้สีเป็นสีชมพู สำหรับการตรวจวัดเชิงปริมาณ จะนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่ได้ไปวัดค่าความเข้มสีในกล่องทึบแสง โดยใช้แอปพลิเคชัน Color Picker คำนวณหาความเข้มข้นของสารสกัดจากเนื้อสัตว์ จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานระหว่างค่าความเข้มสีและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว

เมื่อสร้างแผ่นทดสอบแบบกระดาษได้แล้ว จึงทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของ อนุพันธ์โรดามีน 6G เท่ากับ 1.5 มิลลิโมลาร์ ที่ pH 5 ปริมาตรทั้งหมด 8 ไมโครลิตร และเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ เท่ากับ 1 นาที

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดของแผ่นทดสอบแบบกระดาษแล้ว จึงทำการศึกษาหาประสิทธิภาพของแผ่นทดสอบแบบกระดาษโดยผลการศึกษาพบว่า แผ่นทดสอบแบบกระดาษมีเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนของการตรวจวัดตะกั่ว เท่ากับ 83 – 103 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานสำหรับตะกั่วมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ 0.10 – 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9986 มีความไววิเคราะห์ เท่ากับ 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีขีดจำกัดในการตรวจพบสำหรับตะกั่ว เท่ากับ 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขีดจำกัดในการตรวจพบเชิงปริมาณสำหรับตะกั่ว เท่ากับ 0.27 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีความจำเพาะเจาะจงสูง โดยมีอายุการใช้งาน 10 สัปดาห์

และสุดท้ายนำแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่ได้พัฒนาขึ้นไปตรวจวัดตะกั่วในเนื้อสัตว์ โดยเก็บตัวอย่างเนื้อสัตว์ มาจากตลาดสดในจังหวัดปทุมธานี พบว่าตรวจไม่พบตะกั่วในเนื้อสัตว์ และได้ทำการยืนยันความถูกต้องของวิธีโดยการหาเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนของตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.20 – 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าแผ่นทดสอบแบบกระดาษให้เปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนเท่ากับ 83 – 103 จากนั้นทดสอบความแตกต่างของทั้งสองวิธีด้วยสถิติ *t*-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ผลการทดลองที่ได้จากการตรวจวัดด้วยแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่พัฒนาขึ้นและวิธีมาตรฐานไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าแผ่นทดสอบแบบกระดาษที่ได้พัฒนาขึ้น สามารถตรวจวัดตะกั่วใช้งานได้จริงอย่างมีประสิทธิภาพ ตรวจวัดได้ทั้งในเชิงคุณภาพ และเชิงปริมาณ โดยมีข้อดีคือ สามารถใช้งานได้ง่าย ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างได้รวดเร็ว มีประสิทธิภาพสูง ใช้สารปริมาณน้อย ไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือขั้นสูงในการตรวจวัด และสามารถใช้งานได้ในภาคสนาม

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การรักษาประสิทธิภาพของแผ่นทดสอบแบบกระดาษ ควรเก็บรักษาสารเคมีให้พ้นแสงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซียลเซียส และจัดเก็บแผ่นทดสอบแบบกระดาษไว้ในที่แห้ง ปราศจากความชื้น

5.2.2 การถ่ายภาพของสารผลิตภัณฑ์ ควรวางแผ่นทดสอบแบบกระดาษไว้ในตำแหน่งเดิม เพื่อลดความคลาดเคลื่อนของผลการวิเคราะห์

บรรณานุกรม

[1] H. Vainio, “Lead and cancer - association or causation?,” *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, pp. 1-2, Oct 2020.

[2] H. Ping-Chi and L. G. Yueliang, “Antioxidant nutrients and lead toxicity,” *Toxicology*, vol. 180, pp. 33-44, 2002.

[3] “code of practice for the prevention and reduction of lead contamination in foods” pp. 1-7, 2004.

[4] R. Deborah and B. Stan, “Critical Periods of Vulnerability for the Developing Nervous System: Evidence from Humans and Animal Models,” *Environmental Health Perspectives,* vol. 108, pp. 511-533, Jan 2000.

[5] Y. John, S. M. M. Nakayama, Y. Ikenaka, Y. B. Yohannes, N. Bortey-Sam, *et al*., “Lead poisoning in children from townships in the vicinity of a lead– zinc mine in Kabwe, Zambia,” *Chemosphere.*, vol. 119, pp. 941-947, 2015.

[6] L. Ju-Wook, H. Chai, U. K. Hwang, J. C. Kang, Y. J. Kang, *et al*., “Toxic effects of lead exposure on bioaccumulation, oxidative stress, neurotoxicity, and immune responses in fish: A review,” Environmental Toxicology and Pharmacology, vol. 68, pp. 101-108, 2019.

[7] The technical review workgroup for lead, “Technical support document: parameters and equations used in the integrated exposure uptake biokinetic (IEUBK) model for lead in children (v 0.99d)” *Environmental Protection Agency*, pp. 1-58, Dec 1994.

[8] World Health Organization, “joint fao/(World Health Organization ; WHO) food standards programme codex committee on contaminants in foods,” Mar 2011.

[9] M. D. O. Tatiane, J. A. Peres, M. L. Felsner, and K. C. Justi. “Direct determination of Pb in raw milk by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) with electrothermal atomization sampling from slurries” *Food Chemistry,* vol. 229, pp. 721-725, 2017.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[10] O. L. Marta, R. A. Olsina, L. P. Fern´andez, and M. F. Silva, "Determination of lead in human saliva by combined cloud point extraction–capillary zone electrophoresis with indirect UV detection," *Journal of Hazardous Materials*, vol., 128, pp 240-246, 2006.

[11] D. Susom, S. Guinevere, and K. Pradeep, "Gold Nanostar Electrodes for Heavy Metal Detection," *Sensors and Actuators B,* 2018.

[12] B. Rajkumar, R. Dadigala, B. R. Gangapuram, and V. Guttena, "Green synthesis of highly fluorescent nitrogen – Doped carbon dots from Lantana camara berries for effective detection of lead (II) and bioimaging," *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology,* vol. 178, pp. 330-338, 2018.

[13] R. Tahir, M. Bilal, F. Nabeel, H. M. N. Iqbal, C. Li, *et al.*, "Fluorescent sensor-based models for the detection of environmentally-related toxic heavy metals," *Science of the Total Environment,* vol. 615, pp. 476-485, 2018.

[14] Z. Wei, J. Yang, X. Wu, Y, Hu, W. Yu, *et al.*, "A critical review on secondary lead recycling technology and its prospect," *Renewable and Sustainable Energy Reviews,* vol. 61, pp. 108-122, 2016.

[15] M. D. Moussa, J. S. Litt, D. Unis, N. Alfonso, L. Martinez, *et al.*, "Arsenic, Cadmium, Lead, and Mercury in surface soils, Pueblo, Colorado: implications for population health risk," *Environmental Geochemistry and Health,* vol. 28, pp. 297-315, 2006.

[16] C. Adrian, M. Teodora, and M. Cristian, "Optimized lead-acid grid architectures for automotive lead-acid batteries: An electrochemical analysis," *Electrochimica Acta,* vol. 372, 2021.

[17] M. Ahmad, S. Darlene, and M. Margaret, "The case for recycling: Overview and challenges in the material supply chain for automotive li-ion batteries," *Sustainable Materials and Technologies*, vol. 17, 2018.

[18] S. Benjamin, S. Margarethe, and R. Roland, "Role and potential of the circular economy in managing end-of-life ships in china," *Resources, Conservation & Recycling*, vol. 164, 2021.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[19] K. Steve and S. Stefan, “Holistic evaluation of the suitability of metal alloys for sustainable marine construction from a technical, economic and availability perspective,” *Ocean Engineering*., vol. 219, 2021.

[20] W. Salomons and U. Forstner, “Buchbesprechung,” *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica,* vol. 13, pp. 267, 1985.

[21] L. Ronnie, C. L. Zilli Vieira, M. H. Rosenbaum, K. Bischoff, D. C. Mordarski, *et al*., “The urban lead (Pb) burden in humans, animals and the natural environment,” *Environmental Research,* vol. 193, 2021.

[22] L. Antonia and A. T. E. Luis, “Current challenges in copper recycling: aligning insights from material flow analysis with technological research developments and industry issues in Europe and North America,” *Resources, Conservation & Recycling,* vol. 169, 2021.

[23] Occupational Safety and Health Administration, 2009

[24] M. S. C. Marina, C. M. Ordens, M. T. Condesso de Melo, M. Inácio, A. Almeida, *et al.,* “An Inter-disciplinary Approach to Evaluate Human Health Risks Due to Long-Term Exposure to Contaminated Groundwater Near a Chemical Complex,” *Exposure and Health*, vol. 12, pp. 199-214, 2020.

[25] M. S. C. Marina and A. F. Eduardo, “Heavy Metals of Santiago Island (Cape Verde) Alluvial Deposits: Baseline Value Maps and Human Health Risk Assessment,” *International Journal of Environmental Research and Public Health,* vol. 16, pp. 1-12, 2018.

[26] J. Pierre, T. V. Peer, M. S. A. Horstwood, P. Lusty, and B. Murton, “Geochemical evidence of Milankovitch cycles in Atlantic Ocean ferromanganese crusts,” *Earth and Planetary Science Letters*., vol. 553, 2021.

[27] B. Richard, “Contaminated lead environments of man: reviewing the lead isotopic evidence in sediments, peat, and soils for the temporal and spatial patterns of atmospheric lead pollution in Sweden,” *Environmental Geochemistry and Health*, vol. 33, pp. 311-329, 2011.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[28] O. N. Jerome and M. P. Jozef, “Quantitative assessment of worldwide contamination of air water and soils by trace metals,” *Nature.*, vol. 333, pp. 134-139, 1988.

[29] M. Alexandra, K. Gerard, and B. Philippe, “Concentrations of PCBs, organochlorine pesticides and heavy metals (lead, cadmium, and copper) in fish from the Droˆme river: Potential effects on otters (Lutra lutra),” *Chemosphere*, vol. 61, pp. 810-816, 2005.

[30] K. Jariya, S. Bureekul, P. Sompongchaiyakul, X. Wang, and R. Das, “Sources of Atmospheric Lead (Pb) after Quarter Century of Phasing Out of Leaded Gasoline in Bangkok, Thailand,” *Atmospheric Environment*, Mar 2021.

[31] I. Aamit, M. Rasul, and S. Jasmin, “Recovery of cadmium, lead and nickel from leach solutions of waste electrical and electronic equipment using activated carbon modified with 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol,” *Hydrometallurgy*, vol. 201, 2021.

[32] S. Larissa, N. L. Rose, A. Lintern, D. Sinclair, A. Zawadzki, *et al.,* “Assessing environmental contamination from metal emission and relevant regulations in major areas of coal mining and electricity generation in Australia,” *Science of the Total Environment*, vol. 728, 2020.

[33] L. Yanping, X. Zhang, Y. Yang, X. Guo, J. Zhi, *et al.,* “Synergic optimization of pollution prevention and resource recovery of secondary lead smelting industry based on two-stage BPNLP network model,” *Journal of Cleaner Production,* vol. 284, 2021.

[34] L. Ju-Wook, H. Choi, U. Hwang, J. Kang, Y. J. Kang, *et al.,* “Toxic effects of lead exposure on bioaccumulation, oxidative stress, neurotoxicity, and immune responses in fish: A review,” *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 68, pp. 101-108, 2019.

[35] Z. Usman, M. Farooq, S. Hussain, M. Maqsood, M. Hussain, *et al.,* “Lead toxicity in plants: Impacts and remediation,” *Journal of Environmental Management*, vol. 250, 2019.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[36] K. Amit, S. Arora, K. K. Jain, and K. K. Sharma, “Metabolic coupling in the co-cultured fungal-yeast suite of Trametes ljubarskyi and Rhodotorula mucilaginosa leads to hypersecretion of laccase isozymes,” *Fungal Biology*, vol. 123, pp. 913-926, 2019.

[37] K. Sandeeb, S. Prasad, K. K. Yadav, M. Shrivastava, N. Gupta, S. Nagar, *et al.,* “Hazardous heavy metals contamination of vegetables and food chain: Role of sustainable remediation approaches - A review,” *Environmental Research,* 2019.

[38] K. Abhay and N. V. P. Majeti, “Plant Genetic Engineering Approach for the Pb and Zn Remediation: Defense Reactions and Detoxification Mechanisms,” *Transgenic Plant Technology for Remediation of Toxic Metals and Metalloids*, pp. 359-380, 2019.

[39] G. Neha, K. K. Yadav, V. Kumar, S. Kumar, R. P. Chadd, *et al.,* “Trace elements in soil-vegetables interface: Translocation, bioaccumulation, toxicity and amelioration - A review,” *Science of the Total Environment,* vol. 651, pp. 2927-2942, 2019.

[40] K. Krishna, N. Gupta, A. Kumar, L. M. Reece, N. Singh, *et al.,* “Mechanistic understanding and holistic approach of phytoremediation: A review on application and future prospects,” *Ecological Engineering*, vol. 120, pp. 274-298, 2018.

[41] K. Ha Na, M. L. Lee, H. J. Kim, J. S. Kim and J. Yoon, “A new trend in rhodamine-based chemosensors: application of spirolactam ring-opening to sensing ions,” *Chemical Society Reviews*, vol. 37, pp. 1465-1472, 2008.

[42] B. S. Lauana, I. B. Comini, E. B. Moura Alves, S. da Rocha, and L. Jacovine, “Compensating the negative environmental impacts of mining with financial mechanisms in Brazil,” *Land Use Policy*, vol. 104, 2021.

[43] K. Abel and H. Chris, “State-led efforts to reduce environmental impacts of artisanal and small-scale mining in Tanzania: Implications for fulfilment of the sustainable development goals,” *Environmental Science and Policy*, vol. 120, pp. 157-164, 2021.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[44] N. Taniga, S. Tantaprasert, J. Saekoo and T. Panich-pat, “Lead Accumulation in Chili, Kale and Radish Grown in Lead Contaminated Soil,” *Thai Science and Technology Journal (TSTJ)*, vol. 28, 2020.

[45] C. Jennifer and J. Ma, “China’s Maximum Levels for Contaminants in Foods,” *GAIN Report*, 2013.

[46] W. Latif, A. Anjum, and A. U. Jawed, “Lead toxicity: a review,” *Interdisciplinary Toxicology*., vol. 8, pp. 55-64, 2015

[47] W. Shangning “The Toxic Truth: Children’s Exposure to Lead Pollution Undermines a Generation of Future Potential,” *Unicef*, pp. 1-96.

[48] M. Paul, “Gastro-Intestinal Absorption of Lead in Children and Adults: Overview of Biological and Biophysico- Chemical Aspects,” *Chemical Speciation & Bioavailability*, vol. 3, pp. 86-104, 1991.

[49] R. B. N. Cassia, E. R. Wagner, and B. Claudia, “Lead accumulation and metallothionein content in female rats of different ages and generations after daily intake of Pb-contaminated food,” *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 48, pp. 272-277, 2016.

[50] U.S. department of health and human services “Toxicological profile for nickel,” *Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, pp. 1-397, 2005.

[51] B. K. Jeffrey and D. K. David, “Functional morphology of the testis,” vol. 136, pp. 2440-2468.

[52] World Health Organization, “Selected pollutants,” 2010.

[53] Measuring Lead Exposure in Infants, Children, and Other Sensitive Populations “Committee on measuring lead in critical populations board on environmental studies and toxicology commission on life sciences,” 1993.

[54] O. A. Oluwasanmi and L. J. Arun, “relationship between lead accumulation in blood and soft tissues of rats sub chronically exposed to low levels of lead,” *Toxic Substance Mechanisms*, vol. 18, pp. 149-161, 1999.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[55] T. Ming-Ta, H. Shi-Yu, and C. Shih-Yu, "Lead Poisoning Can Be Easily Misdiagnosed as Acute Porphyria and Nonspecific Abdominal Pain," *Case Reports in Emergency Medicine*, vol. 2017, pp. 1-5, 2017.

[56] Y. Yuan, S. Li, H. Wang, M. Liu, B. Tuo, *et al.,* "Chronic lead poisoning induced abdominal pain and anemia: a case report and review of the literature," *BMC Gastroenterology*, vol. 20, pp. 335-339, 2020.

[57] Royal College of Physicians "Every breath we take, The lifelong impact of air pollution," Feb 2016.

[58] M. O. Tatiane, J. A. Peres, M. L. Felsner, and K. C. Justi. "Direct determination of Pb in raw milk by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) with electrothermal atomization sampling from slurries," *Food Chemistry*, vol. 229, pp. 721-725, 2017.

[59] C. H. Tan, Y. C. Moo, M. Z. Matjafri and H. S. Lim "UV spectroscopy determination of aqueous lead and copper ions in water," *Conference Paper in Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering,* May 2014.

[60] "UV-visible and fluorescence spectroscopy for forensic samples," *Handbook of Analytical Techniques for Forensic Samples*, pp. 37-54.

[61] B. Rajkumar, R. Dadigala, B. R. Gangapuram, and V. Guttena, "Green synthesis of highly fluorescent nitrogen – Doped carbon dots from Lantana camara berries for effective detection of lead (II) and bioimaging," *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology,* vol. 178, pp. 330-338, 2018.

[62] M. N. Stefanut, I. David, Z. Stanoiev, and C. Macarie, "The Monitoring of Heavy Metals in Fruits," Chemical Bulletin of the Technical University of Timisoara, vol. 52, pp. 147-151, 2007.

[63] G. Zbynek, B. Krska, V. Adam, J. Saloun, T. Pokorna, *et al.,* "Electrochemical Determination of the Antioxidant Potential of Some Less Common Fruit Species," *Sensor*, vol. 8, pp. 7564-7570, 2008.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[64] K. W. Warnken, “A fully quantitative research method for the analysis of lead in whole blood using the Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS,” *Application Note* 43137.

[65] G. Mateusz, M. Fiedoruk-Pogrebniak, R. Koncki, and L. Tymecki, “Flow injection analysis in lab-on-paper format,” *Sensors and Actuators B: Chemical,* vol. 257, pp. 16-22, 2018.

[66] Valeur, B. (2002). Molecular Fluorescence Principles and Applications. Weinheim: betz-druck gmbh and Darm-stadt

[67] Wikipedia. Rhodamine B, Available: www.wikipedia.org/wiki/Rhodamine_B.

[68] Wikipedia. Rhodamine, Available: www.wikipedia.org/wiki/Rhodamine

[69] Wikipedia. Rhodamine 123, Available: www.wikipedia.org/wiki/Rhodamine_123

[70] Wikipedia. Rhodamine 6, Available: wwww.wikipedia.org/wiki/Rhodamine_6G

[71] XF. Yang, XQ. Guo, YB. Zhao, “Novel spectrofluorimetric method for the determination of sulfite with rhodamine B hydrazide in a micellar medium,” Analytica Chimica Acta, vol. 456, pp. 121-128, 2002.

[72] X. Xie, M. Pan, L. Hong, K. Liu, J. Yang, S. Wang, S. Wang, An “Off-On" Rhodamine 6G Hydrazide-Based Output Platform for Fluorescence and Visual Dual-Mode Detection of Lead(II),” J Agric Food Chem, vol. 69, pp. 7209-7217, 2021.

[73] S. A. Klasner, A. K. Price, K. W. Hoeman., R. S. Wilson, K. J. Bell et al., “Paper-based microfluidic devices for analysis of clinically relevant analytes present in urine and saliva,” *Analytical and Bioanalytical Chemistry,* vol. 397, pp. 1821-1829, 2010.

[74] W. Andres, S. T. Phillips, M. J. Butte, and G. M. Whitesides, “Patterned Paper as a Platform for Inexpensive, Low-Volume, Portable Bioassays,” *Angewandte Chemie,* vol. 119, pp. 1340-1342, 2007.

[75] S. Han, W. Li, Z. Dong, C. Hu, C. Leung, *et al.,* “A suspending-droplet mode paper-based microfluidic platform for low-cost, rapid, and convenient detection of lead (II) ions in liquid solution,” *Biosensors and Bioelectronics,* vol. 99, pp. 361-367, 2018.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[76] H. Kim, S. Wang and Y. Son, "Synthesis and Properties of Novel Rhodamine 6G Fluorescent Dye Compound," *Textile Coloration and Finishing*, vol. 24, No.3, pp. 153-157, 2012.

[77] O. Sunnapu, N. Niranjan G. Kotla, B. Maddiboyina, S. Singaravadivel, and G. Sivaraman, "A rhodamine based "turn-on" fluorescent probe for Pb(II) and live cell imaging." *RSC Advances*, vol. 6, pp. 656-660, 2016.

[78] I. Taverniers, M. D. Loose, and E. V. Bockstaele, "Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance," *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 23, No. 8, pp. 535-552, 2004.

[79] AOAC Standard Method Performance Requirements, Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry First Action 2015, J. AOAC Int. vol. 96 No.4 pp. 704, 2013

[80] S. Teepoo, P. Chumsaeng, K. Palasak, N. Bousod, N. Mhadbamrung, P. Sae-lim, "Unmodified gold nanoparticles as a simple colorimetric probe for ramoplanin detection," Talanta, vol. 117 pp. 518-522, 2013.

[81] S. Teepoo, S. Arsawiset, "Ready-to-use, functionalized paper test strip used with a smartphone for the simultaneous on-site detection of free chlorine, hydrogen sulfide and formaldehyde in wastewater," Analytica Chimica Acta, vol. 1118, pp. 63-7229, 2020

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ภาคผนวก

ผลงานเผยแพร่ทางวิชาการ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ผลงานตีพิมพ์ในระดับนานาชาติ

เรื่อง "A smartphone based-paper test strip chemosensor coupled with gold nanoparticles for the Pb^{2+} detection in highly contaminated meat samples" วารสาร Microchemical Journal

Microchemical Journal 179 (2022) 107438

Contents lists available at ScienceDirect

Microchemical Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/microc

A smartphone based-paper test strip chemosensor coupled with gold nanoparticles for the Pb^{2+} detection in highly contaminated meat samples

Rossukon Srisukjaroen, Kanokorn Wechakorn, Siriwan Teepoo *

Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Thanyaburi, Pathumthani 12110, Thailand

ARTICLE INFO

Keywords:
Lead
Paper test strip
Chemosensor
Gold nanoparticles
Meat samples

ABSTRACT

A rapid and selective colorimetric chemosensor based on a paper test-strip platform and smartphone detection were investigated to determine lead ions (Pb^{2-}) in meat samples. The colorimetric chemosensor for Pb^{2+} analysis, the rhodamine 6G −1 (RD6G −1 probe), was synthesized through the Schiff base formation of rhodamine 6G hydrazide and 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde. The Pb^{2+} sensing process was accomplished by the color on the detection zone change from colorless to pink within 1 min. The proposed chemosensor strip was functionalized with (3-aminopropyl)triethoxysilane and gold nanoparticles (AuNPs) to enhance the colorimetric response. Under the optimal conditions, the color intensity of the chemosensor strip increased linearly with the Pb^{2+} concentrations in the range of 0.1–1.0 mg/L. This developed strip allowed low detection limit (0.12 mg/L). The paper test strip modified with AuNPs provided a color response 9-fold higher than the one without AuNPs. Moreover, the paper test strip was successfully applied for Pb^{2+} analysis in meat samples, consistent with the inductively coupled plasma-mass spectrometry method.This work showed the proposed smartphone-based paper test-strip chemosensor offers a highly selective and accurate quantitative detection of Pb^{2-} ions without the additional equipment.

1. Introduction

Food is a basic need for human growth, health maintenance reproduction, and good health [1,2]. With the growing global food-supply industry, food safety has become very important for consumers. Unsafe food is a leading cause of various disasters. One of the main hazardous of food is food contamination and its effects on human health [3]. There are four kinds of food contamination: biological, chemical, physical, and cross-contamination [4].

Heavy metals are one of the major sources of chemical contaminations in food [5]. The primary sources of heavy metal contamination are natural (erosion of bedrocks and ore deposits) and anthropogenic (industrial and agricultural) activities [6,7]. Lead is one of the most prevalent heavy metal that adversely affects human health [8]. Lead contamination arises from industry, feed animals, pesticides, and fertilizers and then transfers to bioaccumulation in organisms such as fish, pork, or chicken [9,10]. High lead contaminated were found in the poultry sample [9,10]. Moreover, lead can enter food samples through manufacturing processes and food packaging [11,12]. Lead is highly toxic to living organisms, even at very low levels [13]. Lead ions (Pb^{2+}) act by the affinity with thiol and sulfhydryl protein groups, interfering with cell membranes and enzymes as well as causing nerve damage, cardiovascular diseases, and even death, even though the intake is very low [14,15].

The codex committee of the Food and Agriculture Organization and the World Health Organization food standards program recommended that the maximum value of Pb^{2+}contaminants fish is 0.3 mg/kg, whereas poultry is 0.5 mg/kg. [16]. The World Health Organization has established a maximum tolerable weekly intake of Pb^{2+}. The acceptable total intake of Pb^{2+}should not exceed 0.025 mg/kg of body weight [17]. Therefore, sensitive, selective, and simple methods for lead detection are needed. Many methods have been developed to date, including including atomic absorption [18], spectrometry [19], inductively coupled plasma mass spectrometry [20,21], atomic fluorescence spectrometry [22], spectrophotometry [23] and electrochemical methods [24,25]. These methods are all based on sophisticated instruments, with the limitations of a high detection cost, tedious operation, time consumption, and the required large sample volume for lead analysis [26,27]. With the above limitations, their methods were difficult to apply for monitoring Pb^{2+} contaminants in the food industry. Therefore,

* Corresponding author.
E-mail address: siriwan@mail.rmutt.ac.th (S. Teepoo).

https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107438
Received 27 December 2021; Received in revised form 19 March 2022; Accepted 27 March 2022
Available online 1 April 2022
0026-265X/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.

to meet the needs for rapid, simple, and on-site lead detection, the development of rapid method for the Pb^{2+}determination is very important.

The development of paper-based analytical devices can potentially pave the way to rapid food safety management. The advantages of a paper-based analytical device are rapid analysis, simplicity, portability, and low cost [28,29]. The paper-based analysis platform has developed various forms such as paper-based microfluidic devices, lateral flow test strips, and paper test strips [30]. A few publications are available on paper-based microfluidic detection combined with electrochemical [31], colorimetric [32,33], and electrochemiluminescence [34] detection for analysis of lead. However, the colorimetric paper-based detection has a drawback in poor color intensity and uniformity due to uncontrolled diffusion of the chromogenic reagents [35]. Immobilization nanoparticles such as AuNPs on the paper support have been applied to address this problem due to their high absorption coefficient and their distance-dependent color changes [36].

To date, the developments of chemosensors for the detection of metal ions are of significant importance [37]. Chemosensors consist of two components: a receptor and a signal transducer [38]. The receptor interacts with the analyte via noncovalent interactions, and the signal transducer reports the interaction between receptor and analyte in the form of changes in optical or electronic properties [39]. The main advantage of chemosensors is high selectivity towards specific metal ions [40].

To the best of our knowledge, a paper test strip combined with a chemosensor was developed and applied for the first time herein for quantitative Pb^{2+} in highly contaminated meat samples such as chicken and duck. In this work, we designed and synthesized the RD6G-1 colorimetric chemosensor probe based on a rhodamine-trimethoxybenzaldehyde conjugate. The RD6G-1 probe showed high selectivity towards recognition of Pb^{2+}, resulting in color changes from colorless to pink, detected by a smartphone. Moreover, the proposed chemosensor strip was immobilized with (3-aminopropyl) triethoxysilane (APTES) and AuNPs to enhance color change. Finally, the approach proposed in this work was applied to detect lead concentration in meat samples for on-site evaluation of food safety.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals and instruments

Lead (II) chloride was purchased from Analytical Finechem (Taran Point, Australia). Rhodamine 6G, gold (III) chloride trihydrate, 3-aminopropyl)triethoxysilane, 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde, and sodium borohydride were purchased from Sigma-Aldrich (St Louis, USA). Hydrazine hydrate was purchased from LOBA CHEMIE (Maharashtra, India). Ethanol, methanol, ethyl acetate, dichloromethane and acetic acid were obtained from RCI Labscan Limited (Bangkok, Thailand). Chromatography paper No. 4 was purchased from GE Healthcare Life Sciences (Buckinghamshire, UK). A 5080X smartphone model was purchased from Alcatel Shine Lite (Shenzhen, China). Color Picker app was download from Google play. A transmission electron microscope (TEM) was obtained from JEOL Ltd (Tokyo, Japan). Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) was obtained from Agilent Technologies (California, USA).

Figure S1 shows the closed box (5 × 5 × 10 cm). It was created from gray paper cardboard. The light in the closed box is controlled by a white light-emitting diode. The distance between the camera of smartphone and the test strips was fixed at 7 cm.

2.2. Synthesis of RD6G-1 probe

The RD6G-1 probe was synthesized by a two-step reaction with rhodamine 6G hydrazide and 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde, as summarized in Fig. 1a [41,42]. First, a mixture of rhodamine 6G (2.0 g) in ethanol (40 mL) and hydrazine hydrate (2.5 mL) was stirred and refluxed at 70 °C for 8 h. After that, the solution was cooled to room temperature and then poured into distilled water (800 mL). After 24 h, the precipitated solid was collected and dried in a vacuum to give the desired product, rhodamine 6G hydrazide. Second, rhodamine 6G hydrazide (0.5 g) was added into the solution of 3,4,5-

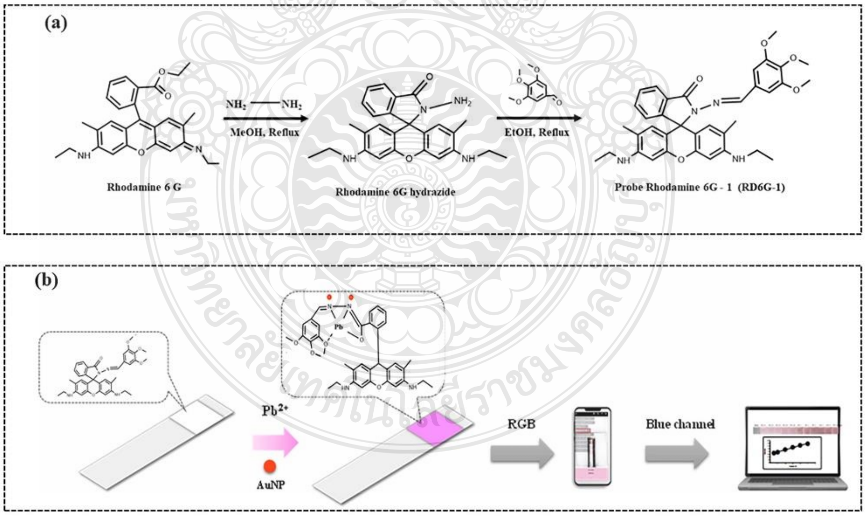


Fig. 1. Schematic illustration of (a) the synthetic procedure of probe RD6G-1 and (b) the proposed paper test strip used for the detection of Pb^{2-} in meat samples.

trimethoxybenzaldehyde (0.2138 g) in ethanol (40 mL) in the presence of 30 μL of acetic acid. The reaction mixture was refluxed at 80 °C for 6 h. After cooling to room temperature, the precipitated colorless solid was filtered and then purified via silica gel chromatography using dichloromethane–ethyl acetate (9:1) as the eluting solvent to obtain the RD6G-1 probe. The structure of rhodamine 6G −1 was characterized by ^{1}H NMR and ^{13}C NMR. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 8.46 (s, 1H), 8.03–8.01 (m, 1H), 7.53–7.48 (m, 2H), 7.11 (dd, J = 2.8, 5.8 Hz, 1H), 6.77 (s, 2H), 6.39 (s, 2H), 6.32 (s, 2H), 3.84 (s, 6H), 3.80 (s, 3H), 3.49 (s, 2H), 3.20 (q, J = 7.2 Hz, 4H), 1.87 (s, 6H), 1.31 (t, J = 7.3 Hz, 6H). ^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm):164.81, 153.08, 151.59, 151.55, 147.56, 145.93, 133.43, 133.43, 130.94, 129.36, 128.39, 127.70, 123.85, 123.39, 117.93, 106.51, 104.415, 96.60, 66.12, 60.86, 56.12, 38.37, 16.71, 14.73.

2.3. *Synthesis of AuNPs*

AuNPs were synthesized by a chemical reduction process described in previously work with some modifications [43]. Briefly, 150 μL of 1.0 g/mL gold (III) chloride trihydrate was mixed with 500 μL of 5.8 mM sodium citrate solution, and stirred for 1 min. Subsequently, rapid addition of 1.0 mL of 150 mM sodium borohydride into above solution. After that, the solution turned to wine red. The final product was keep 4 °C in the dark bottle until subsequent use. The characterization of the synthesized AuNPs was performed by TEM.

2.4. *Fabrication of paper test strip*

The fabrication of the paper test strip was carried out by the cutting technique. This is achieved by cutting the chromatography paper to a 0.5 × 0.5 cm square and then subsequently placed on 0.5 × 3.0 cm of drawing paper. Two layers were connected by double-sided adhesive tape. First, the 5% w/v APTES was added into the detection zone of the paper test strip. Then the resulting chemical modified paper was incubated at 100 °C for 30 min. The unbound APTES are removed through washing with distilled water, and then dried in hot oven at 60 °C for 30 min.

2.5. *Extraction of Pb^{2+} from meat samples*

Diverse samples (chicken meat, liver chicken, heart chicken, duck meat and duck egg) were analyzed in the experiment. All samples were extracted following the AOAC Official Method 2015.01 with slight modifications [44]. First, 0.25–2.0 g of each sample was transferred into previously decontaminated vessels with 7.0 mL of concentrated HNO_3 and 1.0 mL of 30% w/w H_2O_2. The microwave program was begun by applying (a) 1,000 W at 150 °C for 10 min and (b) 1,000 W at 200 °C for 20 min. After the digestion procedure and subsequent cooling, the digested samples were diluted to a final volume of 25 mL with distilled water for further analysis of Pb^{2+} using the developed chemosensor strip and ICP-MS.

2.6. *Detection of Pb^{2+} in meat samples*

Developing a chemosensor strip based on a smartphone for visual, potable detection of Pb^{2+} in meat samples was performed by the following procedure. First, 5 μL of AuNPs was dropped on the modified detection zone of the chemosensor strip and left it dry at room temperature before 5 μL of RD6G-1 probe was added to the AuNP-modified paper test strip. After that, 5 μL of extracted meat sample was introduced onto the modified detection zone. The pink color development was monitored after 1 min using a smartphone reader in a closed box. Finally, the concentration of lead was evaluated using the Color Picker application for red–green–blue (RGB) color analysis on the smartphone. The mean intensity value in blue histogram channel was detected. The color intensity is calculated by subtracting from the blank background intensity.

3. Results and discussion

In the current study, a chemosensor strip was developed for determining Pb^{2+} concentration in meat samples. Fig. 1b shows the schematic illustration of the experimental procedure for the detection of Pb^{2+} using smartphone-assisted paper-based strip.

3.1. *Synthesis and characterization of the RD6G-1 probe*

The Schiff base RD6G-1 probe was easily synthesized in a 53% yield by refluxing a mixture of rhodamine 6G hydrazide and 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde in ethanol. The product was collected as a colorless solid and characterized by ^{1}H NMR and ^{13}C NMR spectroscopic methods (Fig. S2-3). For the ^{13}C NMR spectrum, the characteristic spirocarbon peak of the RD6G-1 probe appeared at 66.12 ppm, suggesting that the spirolactam ring occurred in the closed form. Therefore, the solution of the RD6G-1 probe was colorless and had no fluorescent emission.

3.2. *Colorimetric response of the RD6G-1 probe to Pb^{2+}*

In distilled water at pH 5.0, the addition of Pb^{2+} ions immediately caused the color change of the RD6G-1 probe solution from colorless to pink (Fig. 2a). From the UV–vis absorption spectrum, RD6G-1 probe solution in the presence of Pb^{2+} ions showed the maximum absorption band at 661 nm, which is assigned to the ring-opened form of spirolactam rhodamine by the coordination of Pb^{2+} ions (Fig. 2b). A significant increase in the color intensity was observed after increasing lead concentrations, demonstrating the RD6G-1 probe could be used as a highly sensitive chemosensor for Pb^{2+} detection.

3.3. *Optimization of the APTES immobilization on the paper test strip*

Although a paper strip offers several advantages of low cost, simplicity, and portable workflow, it has a low sensitivity to colorimetric determination. The diffusion of chromogenic reagents on chromatography paper could not be controlled, resulting in a low color intensity signal [45]. In this work, the modified paper test strip was achieved by condensation reaction of APTES to improve the sensitivity because the chromogenic reagents formed on the chromatography paper were homogeneous [46]. Thus, the effects of the concentration of APTES, temperature, and condensation time were optimized.

3.3.1. *APTES concentration*

The APTES concentration for the modified paper strip was first optimized (Fig. S4a). The results showed the color intensity was enhanced with the increasing concentration of up to 5% (w/v) APTES. However, the color intensity above 5% (w/v) APTES was reduced because excess APTES caused a steric effect by binding to the RD6G-1 probe. Therefore, 5% (w/v) APTES was the minimum concentration that would lead to the maximum coloration and it was used for further experiments.

3.3.2. *Temperature*

The temperature effect on the APTES immobilization was carried out ranging from 80 to120 °C. The experimental results in Fig. S4b indicated that when the temperature was higher than 80 °C, the reaction immobilization of APTES on the paper test strip increased. However, it sharply decreased with the increment of temperature greater than 100 °C because these temperatures could destroy the chromatography paper. Thus, 100 °C was utilized for the temperature of APTES condensation reaction.

3.3.3. *Condensation time*

The condensation time was further designed to optimize the

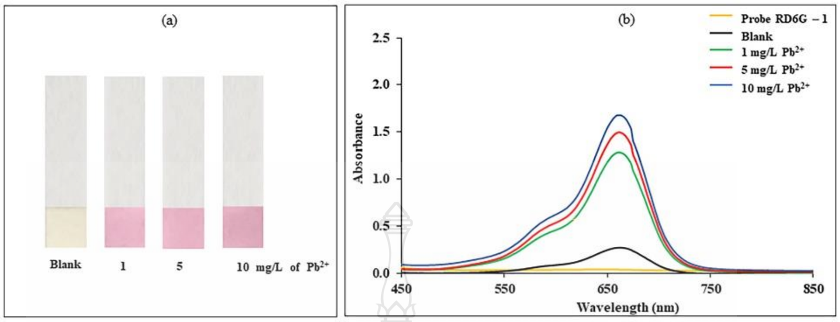


Fig. 2. (a) Photographs of the color changes and (b) UV–vis absorption spectra of probe RD6G-1 in the presence of Pb^{2-} ions at different concentrations such as 1, 5 and 10 mg/L.

immobilization condition in the range of 10–60 min for the Pb^{2+} detection. Fig. S4c displayed the color intensities significantly enhanced with condensation time consuming up to 30 min, indicating almost complete condensation reaction of APTES on chromatography paper (Fig. S4c). Thus, 30 min was regarded as the condensation time for Pb^{2+} detection in the paper test strip platform.

3.4. Optimization conditions for Pb^{2+} detection using the paper test strip

3.4.1. pH

The pH effect on the color intensity of the RD6G-1 probe in the absence and presence of Pb^{2+} ions was studied at different pH value from 1.0 to 14.0. From the pH titration experiment, the color intensity of the RD6G-1 probe did not change significantly between pH ranges of 5.0–14.0 (Fig. S5a). In contrast, the color intensity increased towards low pH because the protonation induced ring-opening phenomenon. In the presence of Pb^{2+} ions, the RD6G-1-Pb^{2+} complex almost had a color change due to the coordination of protonated RD6G-1 probe and Pb^{2+}. From these results, a color intensity enhancement of the RD6G-1–Pb^{2+} complex was significantly observed at pH 5.0. Therefore, pH 5.0 was selected for the following experiment.

3.4.2. RD6G-1 probe concentration

The color intensity of the product mainly depends on the concentration of the RD6G-1 probe. Consequently, the concentrations of the RD6G-1 probe were optimized from 0.25 to 2.5 mM (Fig. S5b). The discernable color intensity elevated with the increasing concentration of the RD6G-1 probe and remained constant at 1.5 mM, indicating that the formation of the RD6G-1-Pb^{2+} complex was remarkably observed at 1.5 mM. Therefore, the 1.5 mM of RD6G-1 probe was employed for this experiment.

3.4.3. Binding time

The binding time between the RD6G-1 probe and Pb^{2+}ions was also investigated. The color measurements for the RD6G-1 – Pb^{2+} complex were performed from 0.5 min to 5 min. As shown in Fig. S5c, the maximum color intensity was obtained within 1 min, suggesting that the RD6G-1 probe exhibited a rapid response for Pb^{2+}detection.

3.5. AuNPs to enhance the sensitivity of chemosensor-based paper test strip

The colorimetric chemosensors almost displayed low sensitivity and detection limits in the μM levels owing to the extinction coefficients of chromogenic dye molecules in the range of 10^5–10^6. To enhance the colorimetric sensitivity, AuNPs were added on the paper test strip surface of functionalized with APTES for Pb^{2+} detection. The size and morphology of AuNPs was shown in Fig. S6. Fig. 3a shows the improvement of the color intensity and uniformity on the detection area of the chemosensor strip treated with AuNPs after the Pb^{2+} addition.

Due to using AuNPs, the apparent color change at Pb^{2+} concentration of 0.2 mg/L was observed by the naked eye with the detection range of 0.2–1.0 mg/L. In contrast, the paper test-strip-based chemosensor in the absence of AuNPs could detect at the Pb^{2+} concentration of 1.0 mg/L by naked-eye observation. Fig. 3b showed that the use of AuNPs provided greater color intensity than those without AuNP-modified paper test strip did because AuNPs have very high molar extinction coefficients and the color changes induced by interparticle surface plasmon coupling. These results indicated that AuNPs enhanced the sensitivity about 9-fold for Pb^{2+} detection.

3.6. Analytical performance of the smartphone-based chemosensor strip

After the optimization conditions, the analytical performances of the smartphone-based paper test strip chemosensor were evaluated in terms of precision, linearity, detection limits (LOD), quantification limits (LOQ), and selectivity.

Precision performance of the smartphone-based chemosensor strip was evaluated by calculating relative standard deviations (RSDs) of intra- and interday studies. Intraday precision was carried out by analyzing 3.0 mg/L of Pb^{2+} in one day ($n = 7$), indicating high precision for quantitative analysis. In addition, the interday precision was tested by analyzing the same concentration over 7 days. The results showed the intra- and interday precision 2.1% and 2.8%, respectively.

The linearity was determined ranging between 0.1 and 1.0 mg/L of Pb^{2+} concentrations with the linear equation and uncertainties in slope and intercept of $y = 19.76 \pm 2.12 + 15.90 \pm 1.92$ and a correlation coefficient of 0.9969 (Fig. 4a). Additionally, ANOVA lack-of-fit (LOF) model was employed in this work. This test, recommended by the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) validation guidelines, is performed by the comparison of the experimental F value and the tabulated critical F [47,48]. In this linear range, experimental values of F were less than tabulated values of F, indicating that this linearity was very well verified for working range concentration to detect Pb^{2+} using the chemosensor strip.

The LOD and LOQ were estimated based on a signal-to-noise ratio of 3.29 and 10, respectively, according to the IUPAC guidelines [49,50]. The LOD and LOQ of Pb^{2+} were determined to be 0.12 mg/L and 0.36 mg/L, respectively.

The selectivity of the RD6G-1 probe towards Pb^{2+} was performed in

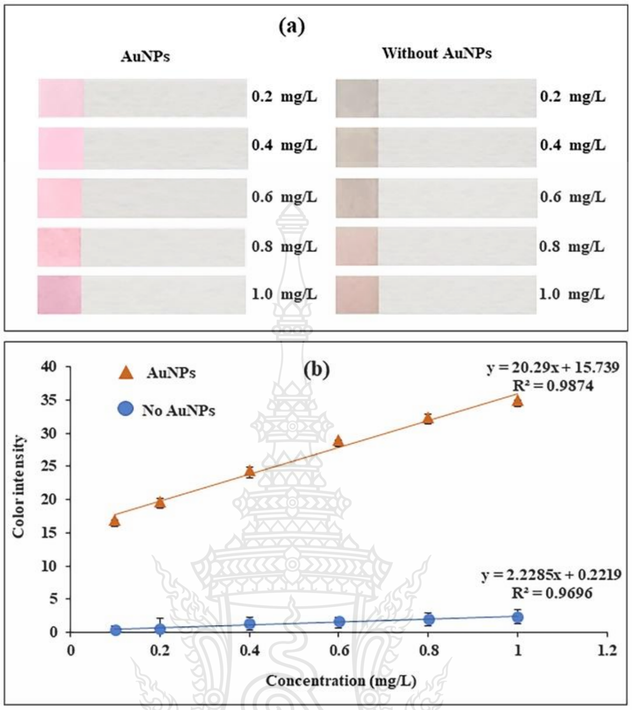


Fig. 3. Sensitivity enhancement of the chemosensor based-paper test strip using AuNPs (a) color change on the detection zone and (b) the calibration plot for Pb^{2+} detection with and without modified paper test strip.

the presence of various metal ions, including Co^{2+}, Fe^{3+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Li^{+}, Ba^{2+}, Ni^{2+}, Cd^{2+}, Cr^{6+}, Zn^{2+} and Cu^{2+}. The results were shown in this Fig. 4b. The results were shown in this Fig. 4b. Co^{2+}, Fe^{3+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Li^{+}, Ba^{2+}, Ni^{2+}, Cd^{2+}, Cr^{6+} and Zn^{2+} provided not response to RD6G−1 probe resulting no color change. For Cu^{2+} test, the RD6G−1 probe response towards Cu^{2+}, little color intensity changes were observed. However, it was not related to the concentration of Cu^{2+}.

The stability of reagents and the APTES-immobilized paper test strip were evaluated. The long-term stability of all chemicals used was investigated at 4 °C and 25 °C by measuring its response color to 0.3 mg/L Pb^{2+}. The color intensity was nearly unchanged during the first 6 weeks of both storage conditions (Fig. S7a). After 12 weeks, the chemosensor strip showed good storage stability and retained 87.3% and 82.9% of its initial response at 4 °C and 25 °C, respectively. Thus, all reagents should be stored at 4 °C to obtain good results. Furthermore, the long-term stability of APTES-immobilized paper test strip was studied. When not in use, the immobilized paper test strips were kept at room temperature (25 °C). As can be seen in Fig. S7b, the proposed APTES-immobilized paper test strips maintained 82.9% of color intensity after 12 weeks, which suggests the proposed chemosensor strip provided good stability for long-term reagents and APTES-modified paper strip stability.

3.7. Analysis of Pb^{2+} in meat samples

The smartphone-based paper test-strip chemosensor was further evaluated to detect Pb^{2+} residues using the standard addition method in several meat samples, including chicken meat, liver chicken, heart chicken, duck meat and duck eggs. As shown in Table 1, high recovery values were obtained in the range of 84–106%, and the RSD values were received in the range of 1.19–2.47% ($n = 3$). Furthermore, the meat samples were implemented by the ICP-MS method for Pb^{2+} detection. As shown in Table 1, the ICP-MS detection of all samples exhibited 87–110% of the recovery (%RSD = 0.12–2.33). These results are in good agreement observed between the two methods. Comparing the ICP-MS method, the proposed smartphone-based paper test-strip chemosensor was cheaper, simpler, and faster. This research demonstrated the proposed paper test strip could be an efficient protocol for quantitative detection of Pb^{2+} in food samples.

4. Conclusion

This work describes the development and validation of a smartphone-based paper test-strip chemosensor for simple, rapid, and portable detection of hightly Pb^{2+} residues in meat samples. The RD6G-1 probe on the paper test strip displayed a highly sensitive colorimetric response to Pb^{2+} ions by a color change to pink upon the addition of the Pb^{2+} ions due to the ring opening of the corresponding spirolactam ring.

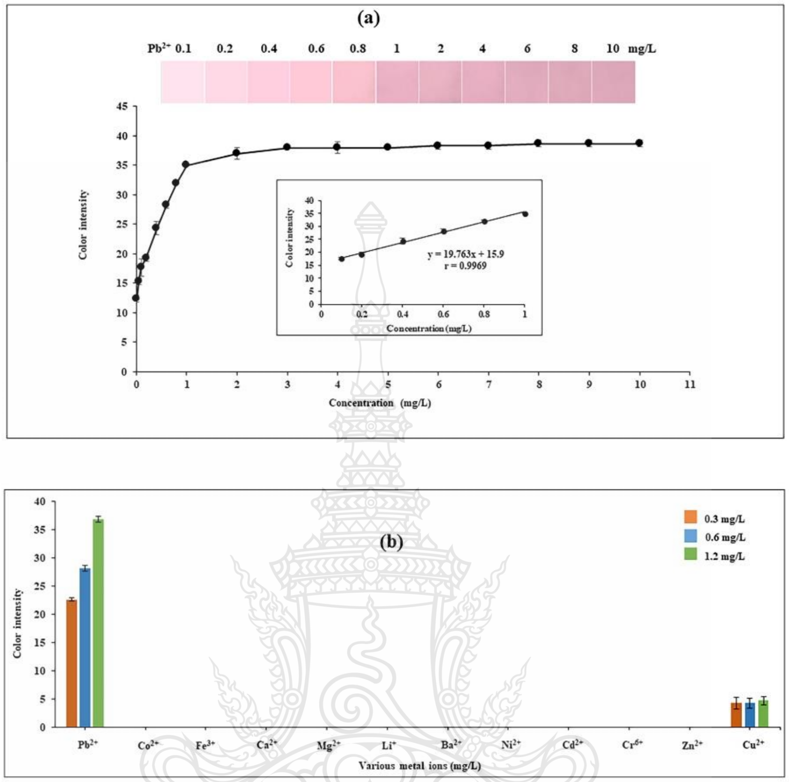


Fig. 4. (a) Calibration curve for Pb^{2+} detection and (b) selectivity test.

Table 1

Sample	Concentration of Pb^{2+} in original samples (mg/kg)		Spiked (mg/kg)	Concentration of Pb^{2+} in spiked samples (mg/kg)		Recovery (%)	
	Paper test strip	ICP-MS		Paper test strip	ICP-MS	Paper test strip	ICP-MS
Chicken meat	ND	ND	0.40	0.37 ± 0.01	0.42 ± 0.02	87 ± 2.38	99 ± 0.12
Chicken meat	ND	ND	0.80	0.74 ± 0.01	0.75 ± 0.05	89 ± 1.19	94 ± 1.23
Liver Chicken	ND	ND	0.40	0.42 ± 0.01	0.43 ± 0.03	102 ± 2.43	105 ± 0.85
Liver Chicken	ND	ND	0.90	0.78 ± 0.02	0.85 ± 0.04	85 ± 1.83	93 ± 1.19
Heart Chicken	0.05	0.09	0.70	0.70 ± 0.02	0.71 ± 0.08	92 ± 2.36	89 ± 2.11
Duck meat	ND	ND	0.90	0.79 ± 0.01	0.83 ± 0.03	84 ± 1.65	87 ± 1.15
Duck egg	0.06 ± 0.003	0.06 ± 0.005	0.60	0.70 ± 0.01	0.72 ± 0.09	106 ± 2.47	110 ± 2.33

The quantitative relationship was established between the color change and the concentration of Pb^{2+}ions, monitored by a smartphone. The smartphone-based paper test-strip chemosensor excellent exhibited high sensitivity, stability, and selectivity towards Pb^{2+} ions. Furthermore, a portable test strip based on an RD6G-1 probe was successfully applied for rapid, accurate and on-site analysis of Pb^{2+} in meat samples.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgement

This work was financially supported by National Research Council of Thailand, Thailand (Grant FR64E0615) and Rajamangala University of Technology Thanyaburi (RMUTT).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107438.

References

[1] R. Horiuchi, R.B. Singh, T. Takahashi, S.K. Basu, R.S. Tomar, Epigenetic modulation of nutritional factors in plants, animals, and humans, Role Funct. Food Security Global Health (2019) 665–680, https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813148-0.00039-6.

[2] X. Lv, Y. Wu, M. Gong, J. Deng, Y. Gu, Y. Liu, J. Li, G. Du, R. Ledesma-Amaro, L. Liu, J. Chen, Synthetic biology for future food: research progress and future directions, Future Foods 3 (2021) 1–12, https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100025.

[3] O.A. Mihalache, L. Dumitraşcu, A.I. Nicolau, D. Borda, Food safety knowledge, food shopping attitude and safety kitchen practices among Romanian consumers: a structural modelling approach, Food Control 120 (2021) 1–8, https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107545.

[4] A. Thakali, J.D. MacRae, A review of chemical and microbial contamination in food: what are the threats to a circular food system? Environ. Res. 194 (2021), 110635 https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110635.

[5] R.D.D. Altarez, N.A. Sedigo, Existing land use and extent of lead (Pb) contamination in the grazing food chain of the closed Carmona sanitary landfill in the Philippines, Heliyon. 5 (2019) 1-5. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01680.

[6] C. Kabala, B. Galka, P. Jezierski, Assessment and monitoring of soil and plant contamination with trace elements around Europe's largest copper ore tailings impoundment, Sci. Total Environ 738 (2020) 1–13, https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139918.

[7] W. Wu, S. Qu, W. Nel, J. Ji, The influence of natural weathering on the behavior of heavy metals in small basaltic watersheds: a comparative study from different regions in China, Chemosphere 262 (2021) 1–11, https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127897.

[8] M.P. Sutunkova, L.I. Privalova, I.A. Minigalieva, V.B. Gurvich, V.G. Panov, B. A. Katsnelson, The most important inferences from the Ekaterinburg nanotoxicology team's animal experiments assessing adverse health effects of metallic and metal oxide nanoparticles, Toxicol. Rep. 5 (2018) 363–376, https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.03.008.

[9] X. Bi, M. Zhang, Y. Wu, Z. Fu, G. Sun, L. Shang, Z. Li, P. Wang, Distribution patterns and sources of heavy metals in soils from an industry undeveloped city in Southern China, Ecotoxicol. Environ. Saf. 205 (2020), 111115, https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111115.

[10] D.A.R. Molina, J.H.L. Vargas, J.A.B. Gutierrez, A. Gallo-Ortiz, Y. Duarte-Correa, Residues of veterinary drugs and heavy metals in bovine meat from Uraba (Antioquia, Colombia), a promising step forward towards international commercialization, Vet. Anim. Sci. 13 (2021), 100192, https://doi.org/10.1016/j.vas.2021.100192.

[11] B. Geueke, K. Groh, J. Muncke, Food packaging in the circular economy: overview of chemical safety aspects for commonly used materials, J. Cleaner Prod. 193 (2018) 491–505, https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.05.005.

[12] A.P. Rebellato, J.G.S. Silva, E.L. de Paiva, A.P. Arisseto-Bragotto, J.A.L. Pallone, Aluminium in infant foods: toxicology, total content and bioaccessibility, Curr. Opin. Food Sci. 41 (2021) 130–137, https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.03.016.

[13] A.M. Chatta, M.N. Khan, Z.S. Mirza, A. Ali, Heavy metal (cadmium, lead, and chromium) contamination infarmed fish: a potential risk for consumers' health, Turkish J. Zool. 40 (2016) 248–256, https://doi.org/10.3906/zoo-1506-1.

[14] A.T. Jan, M. Azam, K. Siddiqui, A. Ali, I. Choi, Q.M. Haq, Heavy metals and human health: mechanistic insight into toxicity and counter defense system of antioxidants, Int. J. Mol. Sci. 16 (2015) 29592–29630, https://doi.org/10.3390/ijms161226183.

[15] S. Pan, L. Lin, F. Zeng, J. Zhang, G. Dong, B. Yang, Y. Jing, S. Chen, G. Zhang, Z. Yu, G. Sheng, H. Ma, Effects of lead, cadmium, arsenic, and mercury co-exposure on children's intelligence quotient in an industrialized area of southern China, Environ. Pollut. 235 (2018) 47–54, https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.044.

[16] Codex general standard for contaminants and toxins in food and feed, codex stan, 193 (1995) 1 - 44.

[17] WHO European Centre for Environment and Health, Fact Sheet NO. 4.4., Germany, Bonn, National Public Health Institute, Finland, Kuopio. 2007.

[18] T. Borahan, T. Unutkan, N.B. Turan, F. Turak, S. Bakirdere, Determination of lead in milk samples using vortex assisted deep eutectic solvent based liquid phase microextraction-slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry system, Food Chem. 299 (2019) 1–5, https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125065.

[19] E. Akkaya, F.A. Erulas, C. Buyukpinar, S. Bakirdere, Accurate and sensitive determination of lead in black tea samples using cobalt magnetic particles based dispersive solid-phase microextraction prior to slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry, Food Chem. 297 (2019) 1–5, https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.06.014.

[20] A. Londonio, E. Morzan, P. Smichowski, Determination of toxic and potentially toxic elements in rice and rice-based products by inductively coupled plasma-mass spectrometry, Food Chem. 284 (2019) 149–154, https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.104.

[21] A.L. Seyfferth, C. McClatchy, M. Paukett, Arsenic, lead, and cadmium in U.S. Mushrooms and substrate in relation to dietary exposure, Environ. Sci Technol. 50 (2016) 9661–9670, https://doi.org/10.1021/acs.est.6b02133.

[22] J. Zhou, M. Qing, Y. Ling, L. Wang, N.B. Li, H.Q. Luo, Double-stranded DNA nanobridge enhanced fluorescence of crystal violet/G-quadruplex complex for detection of lead ions and crystal violet, Sens. Actuators, B. 340 (2021) 1–7, https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.129968.

[23] M. Behbahani, P. Ghareh Hassanlou, M.M. Amini, F. Omidi, A. Esrafili, M. Farzadkia, A. Bagheri, Application of solvent-assisted dispersive solid phase extraction as a new, fast, simple and reliable preconcentration and trace detection of lead and cadmium ions in fruit and water samples, Food Chem. 187 (2015) 82–88, https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.061.

[24] G. Ran, F. Wu, X. Ni, X. Li, X. Li, D. Liu, J. Sun, C. Xie, D. Yao, W. Bai, A novel label-free electrochemical aptasensor with one-step assembly process for rapid detection of lead (II) ions, Sens. Actuators, B. 320 (2020) 1–8, https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128326.

[25] Y. Wang, G. Zhao, G. Zhang, Y. Zhang, H. Wang, W. Cao, T. Li, Q. Wei, An electrochemical aptasensor based on gold-modified MoS2/rGO nanocomposite and gold-palladium-modified Fe-MOFs for sensitive detection of lead ions, Sens. Actuators, B. 319 (2020) 1–8, https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128313.

[26] S. Andrejs, A.B. Ingvar, E. Ander, S. Staffan, Measurement by ICP-MS of lead in plasma and whole blood of lead workers and controls, Occup. Environ. Med. 53 (1996) 736–740, https://doi.org/10.1136/oem.53.11.736.

[27] B. Beltrán, L.O. Leal, L. Ferrer, V. Cerdà, Determination of lead by atomic fluorescence spectrometry using an automated extraction/pre-concentration flow system, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, J. Anal. At. Spectrom. 30 (2015) 1072-1079. https://doi: 10.1039/c4ja00456f.

[28] J.C. Jokerst, J.A. Adkins, B. Bisha, M.M. Mentele, L.D. Goodridge, C.S. Henry, Development of a paper-based analytical device for colorimetric detection of select foodborne pathogens, Anal. Chem. 84 (2012) 2900–2907, https://doi.org/10.1021/ac203466y.

[29] Y. Kentaro, S. Hiriyuki, S. Koji, C. Daniel, Toward practical application of paper-based microfluidics for medical diagnostics: state-of-the-art and challenges, Lab Chip 17 (2017) 1206–1249, https://doi.org/10.1039/C6LC01577H.

[30] P. Shah, X. Zhu, C.Z. Li, Development of paper-based analytical kit for point-of-care testing, Expert Rev. Mol. Diagn 13 (2013) 83–91.

[31] S. Jianjun, T. Fan, X. Honglong, Z. Huxiang, B. Lianhua, W. Wei, Electrochemical detection of Pb and Cd in paper-based microfluidic devices, J. Br az. Chem.Soc. 23 (2012) 1124–1130, https://doi.org/10.1590/S0103-50532012000600018.

[32] Y.F. Wisang, H. Sulistyarti, U. Andayani, A. Sabarudin, Microfluidic Paper-based Analytical Devices (μPADs) for analysis lead using naked eye and colorimetric detections, IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. 546 (2019) 1–8, https://doi.org/10.1088/1757-899X/546/3/032033.

[33] H. Wang, L. Yang, S. Chu, B. Liu, Q. Zhang, L. Zou, S. Yu, C. Jiang, Semiquantitative visual detection of lead ions with a smartphone via a colorimetric paper-based analytical device, Anal. Chem. 91 (2019) 9292–9299, https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02297.

[34] M. Zhang, L. Ge, S. Ge, M. Yan, J. Yu, J. Huang, S. Liu, Three-dimensional paper-based electrochemiluminescence device for simultaneous detection of Pb2+ and Hg2− based on potential-control technique, Biosens. Bioelectron. 41 (2013) 544–550, https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.09.022.

[35] H. Lim, A.T. Jafry, J. Lee, Fabrication, flow control, and applications of microfluidic paper-based analytical devices, Molecules 24 (2019) 1–24, https://doi.org/10.3390/molecules24162869.

[36] G. Zhang, Functional gold nanoparticles for sensing applications, Nanotechnol. Rev. 2 (2013) 269–288, https://doi.org/10.1515/ntrev-2012-0088.

[37] D. Wu, A.C. Sedgwick, T. Gunnlaugsson, E.U. Akkaya, J. Yoon, T.D. James, Fluorescent chemosensors: the past, present and future, Chem. Soc. Rev. 46 (2017) 7105–7123, https://doi.org/10.1039/c7cs00240h.

[38] H.N. Kim, M.H. Lee, H.J. Kim, J.S. Kim, J. Yoon, A new trend in rhodamine-based chemosensors: application of spirolactam ring-opening to sensing ions, Chem. Soc. Rev. 37 (2008) 1465–1472, https://doi.org/10.1039/b802497a.

[39] J.E. Pearson, A. Gill, P. Vadgama, Analytical aspects of biosensors, Ann. Clin. Biochem. 37 (2000) 119–145, https://doi.org/10.1258/0004563001899131.

[40] J.H. Kang, J.B. Chae, C. Kim, A multi-functional chemosensor for highly selective ratiometric fluorescent detection of silver(I) ion and dual turn-on fluorescent and colorimetric detection of sulfide, R. Soc. Open. Sci. 5 (2018) 1–12, https://doi.org/10.1098/rsos.180293.

[41] H.-J. Kim, S. Wang, Y.-A. Son, Synthesis and properties of novel rhodamine 6G fluorescent dye compound, Color. Technol. 24 (2012) 153–157, https://doi.org/10.5764/TCF.2012.24.3.153.

[42] O. Sunnapu, N.G. Kotla, B. Maddiboyina, S. Singaravadivel, G. Sivaraman, A rhodamine based "turn-on" fluorescent probe for Pb(ii) and live cell imaging, RSC Adv. 6 (2016) 656–660, https://doi.org/10.1039/C5RA20482H.

[43] S. Teepoo, P. Chumsaeng, K. Palasak, N. Bousod, N. Mhadbamrung, P. Sae-lim, Unmodified gold nanoparticles as a simple colorimetric probe for ramoplanin detection, Talanta 117 (2013) 518–522, https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.08.021.

[44] J. AOAC Int. 96 (2013) 704. https://doi.org/10.5740/jaoac.int.2012.007.

[45] E. Evans, E.F. Gabriel, T.E. Benavidez, W.K. Tomazelli Coltro, C.D. Garcia, Modification of microfluidic paper-based devices with silica nanoparticles, Analyst. 139 (2014) 5560–5567, https://doi.org/10.1039/C4AN01147C.

[46] J.P. Devadhasan, J. Kim, A chemically functionalized paper-based microfluidic platform for multiplex heavy metal detection, Sens. Actuators, B. 273 (2018) 18–24, https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.06.005.

[47] The Royal Society of Chemistry 2000, Data\amc\amctb\statssc\tb3 linearity, AMCTB No. 3, 2006.
[48] F. Raposo, Evaluation of analytical calibration based on least-squares linear regression for instrumental techniques: A tutorial review, TrAC, Trends Anal. Chem. 77 (2016) 167–185, https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.12.006.
[49] L.A. Currie, Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995), Pure Appl. Chem. 67 (1995) 1699–1723, https://doi.org/10.1351/pac199567101699.
[50] A.C. Olivieri, Analytical figures of merit: from univariate to multiway calibration, Chem. Rev., 114 (2014) 5358-5378. dx.doi.org/10.1021/cr400455s.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล นางสาว รสสุคนธ์ ศรีสุขเจริญ

วัน เดือน ปีเกิด 2 ตุลาคม 2539

ที่อยู่ 62/23 ม.6 ต.โพกรวม อ.เมือง จ.สิงห์บุรี 16000

ประวัติการศึกษา ปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาเคมี สำเร็จการศึกษา ปี 2562

เบอร์โทรศัพท์ 099-1947501

อีเมล์ rossukonsanny@gmail.com, rossukon_s@mail.rmutt.ac.th