



การพัฒนาวิธีการตรวจวัดเชิงสีแบบใหม่เพื่อการหาปริมาณกรดโฟลิก

DEVELOPMENT OF A NEW COLORIMETRIC METHOD
FOR DETERMINATION OF FOLIC ACID

อณัญพร เอนกรัตนทรัพย์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

2562

การพัฒนาวิธีการตรวจวัดเชิงสีแบบใหม่เพื่อการหาปริมาณกรดโฟลิก



อัญพร เอนกรัตนทรัพย์

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ปีการศึกษา 2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

DEVELOPMENT OF A NEW COLORIMETRIC METHOD
FOR DETERMINATION OF FOLIC ACID



ANANYAPORN ANEKRATTANASAP

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of MASTER OF SCIENCE
(Chemistry)

Faculty of Science, Srinakharinwirot University

2019

Copyright of Srinakharinwirot University

ปริญญานิพนธ์
เรื่อง
การพัฒนาวิธีการตรวจวัดเชิงสีแบบใหม่เพื่อหาปริมาณกรดโฟลิก
ของ
อัญปพร เอนกรัตนทรัพย์

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษาหลัก ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร.วีณา เสียงเพราะ) (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อมรา อภิลักษณ์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ สงศรีโรจน์)

ชื่อเรื่อง	การพัฒนาวิธีการตรวจวัดเชิงสีแบบใหม่เพื่อการหาปริมาณกรดฟอลิก
ผู้วิจัย	อนัญพร เอนกรัตนทรัพย์
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ปีการศึกษา	2562
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. วิณา เสียงเพราะ

กรดฟอลิกเป็นหนึ่งในกลุ่มวิตามินบีที่มีความจำเป็นต่อร่างกายมนุษย์สำหรับนำมาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ การสร้างพลังงาน และยังจำเป็นต่อการสร้างเซลล์เม็ดเลือดแดง อีกทั้งยังสามารถป้องกันความผิดปกติของร่างกายได้ เช่น การเกิดภาวะโลหิตจาง และภาวะหลอดประสาทไม่ปิดในทารก จากความสำคัญที่กล่าวมานั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการพัฒนาวิธีการตรวจวัดปริมาณกรดฟอลิกด้วยเทคนิคเชิงสีร่วมกับอุปกรณ์ตรวจวัดฐานแผ่นใส โดยงานวิจัยแบ่งออกเป็น 2 ส่วนตามชนิดของรีเอเจนต์และกลไกการทำให้เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนสี โดยวิธีการวิเคราะห์แรกเป็นการตรวจวัดปริมาณกรดฟอลิกโดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย จากปฏิกิริยาระหว่างกรดฟอลิกและสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอชาไนต์ในสถานะที่มีสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ โดยกรดฟอลิกจะทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ (Reducing agent) ทำให้ไอออนเหล็ก (III) เปลี่ยนเป็นไอออนเหล็ก (II) จากนั้นไอออนเหล็ก (II) จะทำปฏิกิริยากับสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอชาไนต์เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนปรัสเซียนบลู (Prussian blue) ทำให้สารละลายเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีฟ้าอมเขียวซึ่งสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิกโดยการวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ ทั้งนี้ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา ได้แก่ ความเข้มข้นของตัวทำละลาย ความเข้มข้นของรีเอเจนต์ ลำดับการหยดสารละลาย และระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยา พบว่าสามารถวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิกได้ในช่วงความเข้มข้น 10-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($R^2 = 0.9946$) มีค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดเท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในส่วนของวิธีการวิเคราะห์ที่สองเป็นการตรวจวัดปริมาณกรดฟอลิกโดยอาศัยการฟอกจางสีของสารละลาย จากปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนปรัสเซียนบลูระหว่างโพแทสเซียมเพอร์ไอชาไนต์ เฟอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยนาโนเงิน โดยเมื่อเติมกรดฟอลิกลงไปพบว่าสีของสารประกอบเชิงซ้อนปรัสเซียนบลูจะถูกฟอกจางเมื่อเปรียบเทียบกับกรณีไม่เติมกรดฟอลิก ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม พบว่า สามารถวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิกได้ในช่วงความเข้มข้น 50-300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($R^2 = 0.9975$) มีค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดเท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ถึงแม้วิธีที่สองจะให้ค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดที่สูงกว่าวิธีแรกแต่ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้นลง และมีความจำเพาะเจาะจงที่สูงขึ้น จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิกในตัวอย่างที่มีปริมาณสูง นอกจากนี้วิธีการวิเคราะห์ทั้งสองยังประสบความสำเร็จในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิกในตัวอย่างเม็ดยา โดยมีค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วง 91.89 – 110.83% ซึ่งแสดงว่า วิธีที่พัฒนานี้สามารถยอมรับและนำไปใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิกในตัวอย่างได้

คำสำคัญ : กรดฟอลิก, การตรวจวัดเชิงสี, อุปกรณ์ตรวจวัดฐานแผ่นใส

Title	DEVELOPMENT OF A NEW COLORIMETRIC METHOD FOR DETERMINATION OF FOLIC ACID
Author	ANANYAPORN ANEKRATTANASAP
Degree	MASTER OF SCIENCE
Academic Year	2019
Thesis Advisor	Associate Professor Dr. Weena Siangproh

Folic acid is a member of the water-soluble B vitamin family. It plays an essential role in human life, including supporting DNA replication, power generation and erythropoiesis. It can be used to indicate abnormalities, such as anemia and neural tube defects in babies. This research aims to develop a method for the determination of folic acid using the colorimetric technique and with a transparency sheet-based analytical device. This research was divided into two parts, depending on the reagent and mechanism; the first part is based on the reaction between folic acid and potassium ferricyanide in the presence of Fe (III). The mechanism was related to the reduction of Fe (III) ion to Fe (II) ion by folic acid followed by potassium ferricyanide to form a Prussian blue product. The color of the solution changed from yellow to blue-green and seen by the naked eye. The quantified folic acid concentration was calculated using color intensity by the ImageJ program. Moreover, all parameters affected analytical performance, such as the concentrations of solvents and reagents, sequences for adding solutions and the reaction times. Under optimal conditions, the linearity was from 10 to 100 µg/mL, with a correlation coefficient of 0.9946 and detection limit of 2 µg/mL. The second part was the reaction between potassium ferricyanide, ferric chloride and colloidal silver nanoparticles (AgNPs) to produce the Prussian blue complex. After that, the color changed from blue-green to colorless in the presence of folic acid. Under optimal conditions, the calibration graph for this method was linear over a concentration range from 50 to 300 µg/mL ($R^2 = 0.9946$) and the detection limit of folic acid was found to be 10 µg/mL. This method provides less sensitivity, offers a fast analysis time and increased selectivity. Therefore, this method could be an alternative way to determine a high content folic acid in the samples. In addition, these proposed methods were successfully applied to determine the amount of folic acid in folic acid tablets. The recoveries were obtained in the range of 91.89-110.83%, indicating that developed methods are applicable for folic acid in samples.

Keyword : Folic acid, Colorimetric detection, Transparency sheet-based analytical device

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์นี้เสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี เนื่องจากผู้วิจัยได้รับความกรุณาอย่างยิ่งจาก
 รองศาสตราจารย์ ดร.วีณา เสียงเพราะ อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษา
 คำแนะนำ ชี้แนะข้อบกพร่องต่าง ๆ ช่วยแก้ไขปัญหา และให้ความช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัย
 และการเขียนปริญญานิพนธ์นี้แก่ผู้วิจัยเป็นอย่างดี อีกทั้งทำให้ผู้วิจัยได้รับประสบการณ์ ได้เรียนรู้
 และเห็นคุณค่าของงานวิจัย ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้ง และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้
 ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อมรา อภิลักษณ์ ประธานกรรมการในการสอบปาก
 เปลาปริญญานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ สงศรีโรจน์ กรรมการควบคุมการสอบ
 ปากเปลาปริญญานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและชี้แนะข้อบกพร่อง เพื่อให้ปริญญานิพนธ์นี้มีความ
 สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ได้ถ่ายทอดความรู้ ให้ความ
 เมตตา ความเอาใจใส่ และให้ความช่วยเหลือแก่ผู้วิจัยด้วยดีเสมอมา
 ขอขอบคุณ เพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่คอย
 ช่วยเหลือ และให้กำลังใจกันเป็นอย่างดีมาโดยตลอด
 ผู้วิจัยขอโน้มราลึกลงถึงพระคุณบิดา มารดาและญาติสนิททุกท่านที่ได้อบรมเลี้ยงดู มอบ
 ความรัก ความเอาใจใส่ และสนับสนุนในทุก ๆ ด้าน รวมทั้งผู้มีพระคุณท่านอื่น ๆ ที่ไม่ได้เอ่ยนามมา
 ณ ที่นี้ด้วย ที่มีส่วนทำให้ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในครั้งนี้

อนัญพร เอนกรัตนทรัพย์

สารบัญ

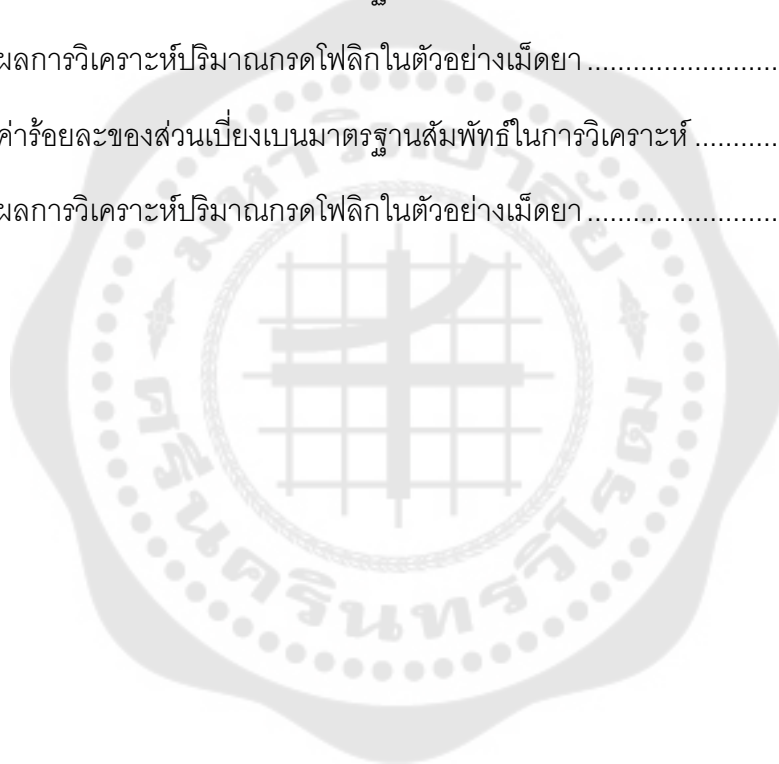
	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ภูมิหลัง	1
ความมุ่งหมายของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	3
บทที่ 2 เอกสารที่เกี่ยวข้อง	4
1. วิตามิน.....	4
1.1 ประเภทของวิตามิน.....	4
1.2 กรดโฟลิก	5
2. การตรวจวัดเชิงสี	7
3. อุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระดาษ	12
4. อนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน	14
5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	17
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	20
อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัย.....	20
ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	21

1 การออกแบบแผ่นพลาสติกใส.....	21
2 การออกแบบกล่องควบคุมแสง.....	21
3 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟอลิกโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียมเพอร์ไอธยาไนต์ และเพอร์ริกคลอไรด์.....	22
3.1 การศึกษากลไกการเกิดของปฏิกิริยาระหว่างกรดฟอลิกและเพอร์ริกคลอไรด์ใน สภาวะที่มีโพแทสเซียมเพอร์ไอธยาไนต์ ด้วยเทคนิคยูวี – วิสิเบิลสเปกโทร โฟโตเมตรี	22
3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดฟอลิก	22
3.3 การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์.....	25
3.4 การศึกษาผลของสารรบกวน.....	27
3.5 การหาปริมาณกรดฟอลิกในตัวอย่างจริงโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียมเพ อร์ไอธยาไนต์และเพอร์ริกคลอไรด์.....	27
4 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟอลิกโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียม เพอร์ไอธยาไนต์ เพอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน.....	27
4.1 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน	27
4.2 การศึกษากลไกการฟอกจางสีของปฏิกิริยาระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ ไอธยาไนต์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน ด้วยเทคนิคยูวี – วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี.....	28
4.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดฟอลิก	28
4.4 การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์.....	30
4.5 การศึกษาผลของสารรบกวน.....	32
4.6 การหาปริมาณกรดฟอลิกในตัวอย่างจริงโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียมเพ อร์ไอธยาไนต์ เพอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคนาโนเงิน	32
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	33

ตอนที่ 1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟอสฟอริกโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียม	
เฟอร์ไรเซียมไนต์และเฟอร์ริกคลอไรด์.....	33
ผลการศึกษากลไกการเกิดของปฏิกิริยาระหว่างกรดฟอสฟอริกและเฟอร์ริกคลอไรด์ในสภาวะที่	
มีโพแทสเซียมเฟอร์ไรเซียมไนต์ ด้วยเทคนิคยูวี – วิสึเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี.....	33
ผลการศึกษากการหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดฟอสฟอริก	34
การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์	41
การศึกษาผลของสารรบกวน	43
ผลการหาปริมาณกรดฟอสฟอริกในตัวอย่างจริง	44
ตอนที่ 2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟอสฟอริกโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย	
โพแทสเซียมเฟอร์ไรเซียมไนต์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน	
ใน	45
ผลการศึกษากลไกการพอกจางสีของปฏิกิริยาระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์	
ไรเซียมไนต์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน ด้วย	
เทคนิคยูวี – วิสึเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี.....	46
ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่าง	
สารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรเซียมไนต์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาค	
แขวนลอยเงินระดับนาโน.....	47
การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์	52
การศึกษาผลของสารรบกวน	54
ผลการหาปริมาณกรดฟอสฟอริกในตัวอย่างจริง	55
บทที่ 5 สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	57
บรรณานุกรม	60
ประวัติผู้เขียน.....	63

สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 แสดงปริมาณกรดโฟลิกที่ควรได้รับต่อวัน	6
ตาราง 2 แสดงลำดับการหยดสารละลาย.....	24
ตาราง 3 แสดงลำดับการหยดสารละลาย.....	39
ตาราง 4 ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในการวิเคราะห์	43
ตาราง 5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิกในตัวอย่างเม็ดยา	45
ตาราง 6 ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในการวิเคราะห์	54
ตาราง 7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิกในตัวอย่างเม็ดยา	56



สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพประกอบ 1 แสดงโครงสร้างของกรดโฟลิก	5
ภาพประกอบ 2 แสดงระบบสี CIE Lab	8
ภาพประกอบ 3 แสดงระบบสี HSB	9
ภาพประกอบ 4 แสดงระบบสี CMYK	10
ภาพประกอบ 5 แสดงระบบสี RGB	11
ภาพประกอบ 6 แสดงการตรวจวัดคลอไรด์ไอออน ด้วยการตรวจวัดเชิงสี	13
ภาพประกอบ 7 แสดงการตรวจวัดสารกระตุ้นการแพ้ ด้วยการตรวจวัดการวาวแสง	13
ภาพประกอบ 8 แสดงการตรวจวัดด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า	14
ภาพประกอบ 9 แสดงวิธีการสังเคราะห์ AgNPs @ Mt และการเร่งปฏิกิริยารีดักชันของ อนุภาคเงินระดับนาโน.....	16
ภาพประกอบ 10 แสดงการสังเคราะห์ PB @ 2.0AgNPs/PVA	17
ภาพประกอบ 11 แสดงสเปกตรัมของกรดโฟลิกใน pH ต่าง ๆ	18
ภาพประกอบ 12 แสดงวิธีการสังเคราะห์ควอนตัมดอท และการวิธีการตรวจวัดกรดโฟลิก	19
ภาพประกอบ 13 แสดงลักษณะของแผ่นพลาสติกใสที่ออกแบบ	21
ภาพประกอบ 14 แสดงลักษณะของกล่องควบคุมแสงที่ออกแบบ	22
ภาพประกอบ 15 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลาย ; (a) สารละลายผสมระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธนาต และสารละลายเพอร์ริคคลอไรด์ (b) สารละลายผสมระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธนาต สารละลายเพอร์ริคคลอไรด์ และสารละลายกรดโฟลิก ...	34
ภาพประกอบ 16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีและความเข้มข้นของกรดโฟลิกที่โหมดความเข้มสีต่าง ๆ.....	35
ภาพประกอบ 17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงและความเข้มข้นของกรดโฟลิกโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ.....	36

ภาพประกอบ 18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงและความเข้มข้นของกรดโฟลิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของแอมโมเนียมคลอไรด์	37
ภาพประกอบ 19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธนาต.....	38
ภาพประกอบ 20 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายเพอร์ริกคลอไรด์.....	39
ภาพประกอบ 21 แสดงการเปรียบเทียบค่าผลต่างความเข้มสีแดงของการวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิกที่มีลำดับในการหดยสารละลายต่างกัน	40
ภาพประกอบ 22 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงและเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา	41
ภาพประกอบ 23 แสดงกราฟมาตรฐานของกรดโฟลิก.....	42
ภาพประกอบ 24 แสดงการเปรียบเทียบผลต่างความเข้มสีแดงของวิตามินบีต่าง ๆ และวิตามินซี	44
ภาพประกอบ 25 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลาย; (a) สารละลายผสมระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธนาต และสารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ (b) สารละลายผสมระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธนาต สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน และ (c) สารละลายผสมระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธนาต สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ อนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน และสารละลายกรดโฟลิก.....	46
ภาพประกอบ 26 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงและความเข้มข้นของกรดโฟลิกที่ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ.....	48
ภาพประกอบ 27 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธนาต.....	49
ภาพประกอบ 28 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายเพอร์ริกคลอไรด์.....	50
ภาพประกอบ 29 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน	51

ภาพประกอบ 30 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงและเวลาที่ใช้เกิดปฏิกิริยา .	52
ภาพประกอบ 31 แสดงกราฟมาตรฐานของกรดโฟลิก.....	53
ภาพประกอบ 32 แสดงการเปรียบเทียบผลต่างความเข้มสีแดงของวิตามินบีต่าง ๆ และวิตามินซี	55



บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

วิตามินเป็นหนึ่งในสารอาหารหลักที่มีความจำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ ถึงแม้ว่าร่างกายจะต้องการวิตามินในปริมาณเล็กน้อย แต่ถ้าหากขาดวิตามินจะทำให้ร่างกายเกิดความผิดปกติได้ วิตามินจัดเป็นสารอินทรีย์ที่ส่วนใหญ่ร่างกายไม่สามารถสร้างหรือสังเคราะห์ขึ้นเองได้ ดังนั้นจึงต้องได้รับการรับประทานอาหารและวิตามินยังมีความสำคัญเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาเคมีในกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายอีกด้วย วิตามินสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มวิตามินที่ละลายในไขมัน ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินดี วิตามินอี และวิตามินเค และกลุ่มวิตามินที่ละลายในน้ำ ได้แก่ วิตามินบีรวม และวิตามินซี ถึงแม้ว่าวิตามินเหล่านี้จะสามารถพบในอาหารประเภททั่วไป แต่เนื่องด้วยพฤติกรรมต่าง ๆ ของผู้บริโภคในปัจจุบันอาจทำให้ได้รับวิตามินในปริมาณที่ไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ดังนั้นอุตสาหกรรมด้านอาหารและเครื่องดื่มจึงมีการเติมวิตามินต่าง ๆ เพิ่มลงไปในผลิตภัณฑ์ เพื่อให้สอดคล้องกับพฤติกรรมของผู้บริโภค และยังเป็นการเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้ครบถ้วนตามความต้องการของผู้บริโภค ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องวิเคราะห์ปริมาณของวิตามินที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น นม และอาหารเสริมประเภทต่าง ๆ เพื่อเป็นการรับรองคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้เป็นที่ยอมรับและสร้างความน่าเชื่อถือต่อผู้บริโภค อีกทั้งยังเป็นการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด

กรดโฟลิก (Folic acid) หรือวิตามินบี 9 จัดอยู่ในกลุ่มวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ ซึ่งวิตามินชนิดนี้ร่างกายสามารถสร้างขึ้นได้เอง และจะถูกเก็บไว้ที่ตับ กรดโฟลิกมีประโยชน์สำหรับการสังเคราะห์ DNA และการเจริญเติบโตของเซลล์ อีกทั้งยังจำเป็นต่อการสร้างเซลล์เม็ดเลือดแดงเป็นต้น การขาดกรดโฟลิกทำให้เกิดอาการท้องเสีย เสียดท้องหรือท้องผูก รวมถึงโลหิตจาง และที่สำคัญยังส่งผลต่อทารกในครรภ์ หากได้รับปริมาณกรดโฟลิกไม่เพียงพอ อาจเป็นการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเจริญเติบโตอย่างผิดปกติเกี่ยวกับกระดูกสันหลัง และระบบประสาทของทารกได้

สำหรับเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณวิตามินในปัจจุบันมีหลากหลายเทคนิค เช่น เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี (spectrophotometry) โฟลอินเจคชันอะนาไลซิส (flow injection analysis) เอนไซม์ลิงค์อิมมูโนซอร์เบนต์แอสเสย์ (enzyme-linked immunosorbent assay ; ELISA) และโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography ; HPLC) เป็นต้น ซึ่งเทคนิคดังกล่าวเป็นเทคนิคที่มีเครื่องมือราคาสูง และใช้เวลาในการวิเคราะห์

นาน อีกทั้งผู้ทำการวิเคราะห์จำเป็นต้องมีความเชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ จึงเป็นสาเหตุที่นำไปสู่การนำเสนอวิธีการวิเคราะห์กรดโฟลิกด้วยวิธีที่ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น มีความจำเพาะสูง และสามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องน่าเชื่อถือ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิกร่วมกับการใช้อุปกรณ์ฐานแผ่นใสซึ่งมีขนาดเล็ก เป็นวิธีทางเลือกใหม่ทางการวิเคราะห์ โดยอาศัยปฏิกิริยาเชิงสีด้วยการทำปฏิกิริยากับสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์และสารละลายเหล็ก (III) รวมถึงมีการใช้อุณหภูมิและเวลาในการวัดสีมาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจวัด สำหรับประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์กรดโฟลิกในตัวอย่างเม็ดยาที่มีจำหน่ายทั่วไป

ความมุ่งหมายของการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิก โดยการใช้ปฏิกิริยารีดอกซ์ ด้วยวิธีการตรวจวัดเชิงสีบนอุปกรณ์ฐานแผ่นใส
2. เพื่อพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิก โดยการใช้ปฏิกิริยารีดอกซ์ร่วมกับการใช้อุณหภูมิและเวลาในการวัดสีบนอุปกรณ์ฐานแผ่นใส
3. เพื่อประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิกในตัวอย่าง เช่น ผลิตภัณฑ์ยา

ความสำคัญของการวิจัย

1. ได้วิธีวิเคราะห์ทางเลือกใหม่สำหรับการตรวจวัดปริมาณกรดโฟลิก โดยการใช้ปฏิกิริยารีดอกซ์และตรวจวัดโดยใช้อุปกรณ์ฐานแผ่นใส
2. ได้วิธีวิเคราะห์ที่มีความรวดเร็ว มีความจำเพาะ และลดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิก
3. ได้ข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณของกรดโฟลิก ในผลิตภัณฑ์ยาที่จำหน่ายทั่วไปในท้องตลาด เพื่อใช้ในการตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้เป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด

ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์กรดโฟลิก โดยการใช้ปฏิกิริยารีดอกซ์และตรวจวัดโดยใช้อุปกรณ์ฐานแผ่นใส
2. ศึกษาการใช้อนุภาคแขวนลอยนาโนเงินร่วมกับปฏิกิริยารีดอกซ์ในการตรวจวิเคราะห์กรดโฟลิก
3. ศึกษาผลการรบกวนของวิตามินอื่น ๆ เช่น วิตามินบีต่าง ๆ วิตามินซี
4. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น
5. ประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์กรดโฟลิก ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ยา
6. ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น



บทที่ 2

เอกสารที่เกี่ยวข้อง

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาและพัฒนาการวิเคราะห์หาปริมาณกรดโฟลิก ในตัวอย่างเช่น ผลิตภัณฑ์ยา หรืออาหารเสริมโดยการใช้ปฏิกิริยารีดอกซ์และปฏิกิริยารีดอกซ์ร่วมกับอนุภาคแขวนลอยนาโนเงิน และทำการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสี บนอุปกรณ์ฐานแผ่นใส ซึ่งผู้วิจัยได้ศึกษาค้นคว้าเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องตามหัวข้อต่าง ๆ ดังนี้

1. วิตามิน
2. การตรวจวัดเชิงสี
3. อุปกรณ์ฐานกระดาษ
4. อนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน
5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. วิตามิน

วิตามินเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีความสำคัญต่อร่างกายมนุษย์ เนื่องจากวิตามินมีส่วนเกี่ยวข้องกับการควบคุมการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาเคมีในกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกาย ทำให้เซลล์ต่าง ๆ ทำหน้าที่ได้เป็นปกติ โดยส่วนใหญ่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์หรือผลิตวิตามินขึ้นมาเอง จะมีเพียงวิตามินไม่กี่ชนิดที่ร่างกายหรือแบคทีเรียสามารถสังเคราะห์ขึ้นมาได้ เช่น วิตามินบี 1 วิตามินบี 12 แต่ไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกายได้ หรือ วิตามินเอ วิตามินบี 3 สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้หากมีสารตั้งต้นที่เพียงพอ จึงจำเป็นต้องได้รับวิตามินเหล่านี้จากอาหารหรือเครื่องดื่ม

1.1 ประเภทของวิตามิน

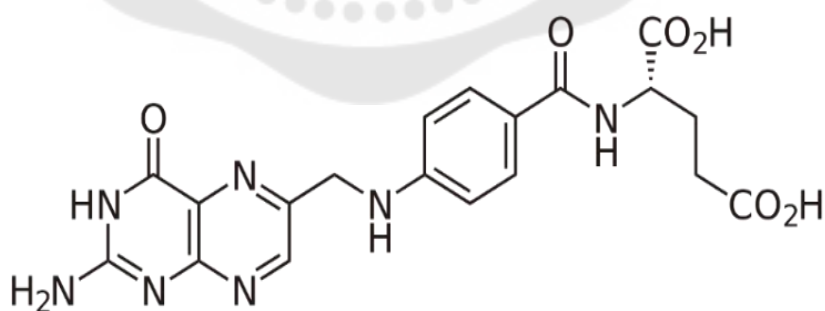
ประเภทของวิตามินสามารถจำแนกได้ตามความสามารถในการละลาย ทำให้สามารถจำแนกประเภทของวิตามินได้เป็น 2 ประเภทหลัก ดังนี้

วิตามินชนิดที่ละลายในน้ำมันหรือไขมัน ได้แก่ วิตามินเอ ดี อี และเค (vitamin A, D, E, K) วิตามินเหล่านี้สามารถถูกกักเก็บไว้ที่กัล้ามเนื้อหรือไขมันตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกายได้ ภายหลังจากที่รับประทานเข้าไป ดังนั้นร่างกายไม่จำเป็นต้องได้รับวิตามินกลุ่มนี้ทุกวันเนื่องจากการสะสมอยู่ตามกล้ามเนื้อส่วนต่าง ๆ อย่างไรก็ตามหากมีการรับประทานวิตามินเหล่านี้ในปริมาณมากเกินไป จะเกิดการสะสมในส่วนต่าง ๆ ทำให้เป็นพิษจากวิตามินได้ โดยเฉพาะวิตามิน

หากได้รับในปริมาณมากหรือสะสมอยู่ในร่างกายมากเกินไปอาจทำให้เสียชีวิตได้ (รักษิตา บุญพันธ์, 2550)

วิตามินชนิดที่ละลายในน้ำ ได้แก่ วิตามินบีรวม และวิตามินซี (vitamin B complex, vitamin C) วิตามินกลุ่มนี้ไม่สามารถสะสมหรือกักเก็บไว้ในร่างกายได้นาน เนื่องจากมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีทำให้ถูกกำจัดออกทางปัสสาวะหรือเหงื่อตลอดเวลา ดังนั้นร่างกายจึงจำเป็นต้องได้รับวิตามินกลุ่มนี้ทุกวันจากการรับประทานอาหาร ถ้าหากร่างกายได้รับวิตามินกลุ่มนี้ในปริมาณมากเกินไป ส่วนเกินของวิตามินเหล่านี้ก็สามารถถูกขับออกโดยไม่ทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย ถึงแม้ว่าร่างกายมนุษย์จะมีความต้องการวิตามินในปริมาณน้อย (ระดับมิลลิกรัมต่อวัน) เมื่อเทียบกับสารอาหารหลักในกลุ่มอื่น ๆ เนื่องจากวิตามินเป็นสารอาหารที่ไม่มีแคลอรี และไม่สามารถให้พลังงานโดยตรงกับร่างกายได้ แต่ถ้าหากร่างกายได้รับปริมาณวิตามินไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกายอาจทำให้ร่างกายเกิดสภาวะขาดแคลนวิตามิน ซึ่งมีผลต่อความผิดปกติของระบบต่าง ๆ ในร่างกาย หรือทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้ การขาดวิตามินบี 1 ทำให้เกิดโรคเหน็บชา การขาดวิตามินบี 9 ทำให้ท้องเสีย เสียดท้องหรือท้องผูก และที่สำคัญสำหรับทารกในครรภ์หากไม่ได้รับวิตามินบี 9 อย่างเพียงพออาจเพิ่มความเสี่ยงต่อทารกทำให้มีการเจริญเติบโตอย่างผิดปกติ เช่น เกิดความผิดปกติขึ้นที่กระดูกสันหลัง และระบบประสาทได้ (สมทอง เลขะกุล, 2543)

1.2 กรดโฟลิก



ภาพประกอบ 1 แสดงโครงสร้างของกรดโฟลิก

กรดโฟลิก (Folic acid) หรือที่รู้จักในชื่อวิตามินบี 9 สูตรโครงสร้างคือ (2S)-2-[(4-[(2-amino-4-hydroxypteridin-6-yl)methyl]amino}cphenyl)formamido] pentanedioic acid จัดอยู่ในกลุ่มวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ สถานะเป็นของแข็ง ผลึกสีเหลือง และไม่มีรสชาติ วิตามินชนิดนี้ร่างกายสามารถสร้างขึ้นได้เอง และจะถูกเก็บไว้ที่ตับ กรดโฟลิกมีประโยชน์สำหรับการสังเคราะห์ DNA และการเจริญเติบโตของเซลล์ และยังเป็นในการสร้างเซลล์เม็ดเลือดแดง การสร้างพลังงาน กรดโฟลิกนั้นเป็นสิ่งจำเป็นในการสร้าง Heme ซึ่งเป็นธาตุเหล็กที่เป็นส่วนประกอบสำคัญในฮีโมโกลบิน เพื่อการลำเลียงออกซิเจนในร่างกาย และจำเป็นต่อเซลล์ส่วนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับโคเอ็นไซม์ (coenzyme) ในการสังเคราะห์ RNA และ DNA อีกทั้งยังจำเป็นต่อการเผาผลาญโปรตีน และการรักษาโรคโลหิตจาง นอกจากนี้กรดโฟลิกยังมีส่วนช่วยในเรื่องการย่อยอาหาร และระบบประสาท ช่วยในเรื่องจิตใจและอารมณ์ เพราะสารอาหารนี้ช่วยในเรื่องระบบประสาท จึงมีผลทำให้ผ่อนคลายด้านอารมณ์ ความวิตกกังวลและความเครียดที่เป็นอยู่ได้ นอกจากนี้กรดโฟลิกมีความจำเป็นต่อการพัฒนาระบบประสาทของทารกในครรภ์ สำหรับเด็กทั่วไป วัยรุ่น ผู้ใหญ่ ก็ยังมีความจำเป็นต้องได้รับกรดโฟลิกอย่างสม่ำเสมอเพื่อช่วยให้ร่างกายมีสุขภาพที่แข็งแรง อีกทั้งยังมีส่วนสำคัญในการสร้างเม็ดเลือดแดงและป้องกันโรคหรือภาวะโลหิตจาง กรดโฟลิกเป็นวิตามินที่ละลายได้ดีในน้ำ จึงไม่ค่อยพบปัญหาของการสะสมในร่างกาย เพราะจะถูกขับออกมากับปัสสาวะ (อรสรวง บุตรนาถ, 2549)

ตาราง 1 แสดงปริมาณกรดโฟลิกที่ควรได้รับต่อวัน

ช่วงอายุ	ปริมาณที่แนะนำต่อวัน (ไมโครกรัมต่อวัน)
0 – 3 ปี	25 – 100
4 – 6 ปี	75 – 400
7 – 10 ปี	100 – 400
มากกว่า 10 ปี	150 – 400
หญิงตั้งครรภ์	400 - 800
หญิงให้นมบุตร	260 - 800

ที่มา อรสรวง, บ. (2549). วิตามิน A-Z (พิมพ์ครั้งที่ 2.): กรุงเทพฯ : ไกล่หมอ.

หน้าที่ของกรดโฟลิก

- ช่วยกระตุ้นถุงน้ำดีทำให้การย่อย และการดูดซึมไขมันดีขึ้น โดยเฉพาะกรดไขมันที่จำเป็น เช่น แครโรทีน วิตามินเอ วิตามินดี วิตามินอี และวิตามินเค
- ช่วยในการสร้างเม็ดเลือดแดง โดยช่วยให้ไขกระดูก (bone marrow) ให้ผลิตเม็ดเลือดแดง
- ทำงานร่วมกับวิตามินบี 12 และวิตามินซี เพื่อช่วยเผาผลาญ และใช้โปรตีนให้เกิดประโยชน์อย่างเต็มที่
- เป็นตัวสำคัญในการสร้างกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ซึ่งจำเป็นในการเจริญเติบโตของร่างกาย และสร้างเซลล์ต่าง ๆ ในร่างกายอย่างถูกต้องและเหมาะสม
- ควบคุมการทำงานของสมอง และเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับสุขภาพที่ดีของสมอง และอารมณ์ให้อยู่ในสภาพที่ปกติสมบูรณ์
- ทำให้รู้สึกอยากรับประทานอาหาร
- ช่วยให้ตับมีประสิทธิภาพในการทำงานที่ดีขึ้น

ผลของการขาดกรดโฟลิก

- เกิดภาวะโลหิตจาง เพราะกรดโฟลิกเป็นสารสำคัญในการสร้างเม็ดเลือดแดง
- ร่างกายขาดภูมิคุ้มกัน หรือต่อต้านโรคเนื่องจากไม่ยอมรับประทานอาหาร
- มีอาการลิ้นแดง ท้องร่วง และเกิดอาการผิดปกติในลำไส้
- สตรีที่ตั้งครรภ์หากขาดกรดโฟลิก ในขณะตั้งครรภ์ จะมีผลทำให้ทารกในครรภ์มีความคิดที่ผิดปกติ จิตใจของเด็กไม่เติบโตเท่าที่ควร ปัญญาอ่อน ร่างกายเติบโตไม่เต็มที่ รวมถึงเกิดภาวะหลอดประสาทไม่ปิด (neural tube defect) หรืออาการพิการทางสมอง ภาวะปากแหว่ง เพดานโหว่ และโรคหัวใจพิการแต่กำเนิด

2. การตรวจวัดเชิงสี

การตรวจวัดเชิงสีเป็นวิธีการหนึ่งในการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางเคมีโดยเป็นการวิเคราะห์ค่าความเข้มสีที่เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นจากปฏิกิริยาทางเคมีต่าง ๆ ซึ่งมีระบบสีที่สามารถใช้ตรวจวัดความเปลี่ยนแปลงของสีได้หลากหลายระบบ คือ

2.1 ระบบ CIE Lab color

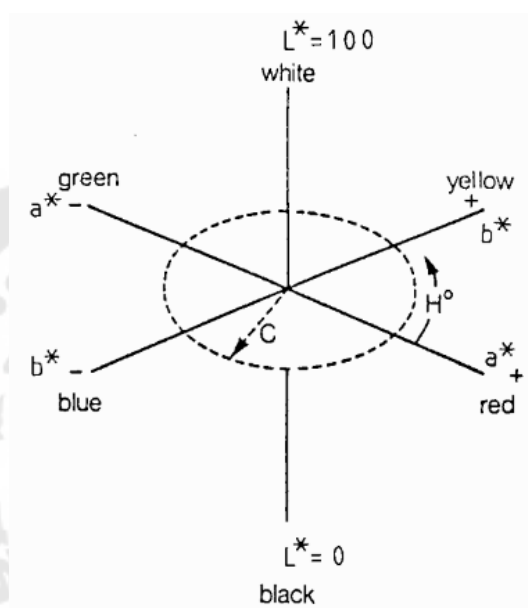
ระบบ CIE Lab เป็นระบบสีที่ขึ้นกับอุปกรณ์ใด ๆ ถูกกำหนดขึ้นจาก International Commission on Illumination หรือ The Commission internationale de l'éclairage (CIE) ซึ่งเป็นองค์ระหว่างประเทศที่ตั้งขึ้นเพื่อกำหนดมาตรฐานของการส่องสว่างของแสงและสี ซึ่งได้

กำหนดการวัดสีในปัจจุบันด้วยระบบ CIE Lab จะใช้สัญลักษณ์แทนคือ L^* - a^* - b^* ซึ่งแทนถึงค่าความสว่างและค่าสีตามแนวแกน (Harris และ Weatherall, 1990) ดังนี้

แกน L^* จะแสดงถึงค่าความสว่างตั้งแต่ 0 - 100 จาก L^* (สีดำ) จนถึง L^* (สีขาว)

แกน a^* จะแสดงค่าสีตั้งแต่ $-a^*$ (สีเขียว) จนถึง a^* (สีแดง)

แกน b^* จะแสดงค่าสีตั้งแต่ $-b^*$ (สีฟ้า) จนถึง b^* (สีเหลือง)

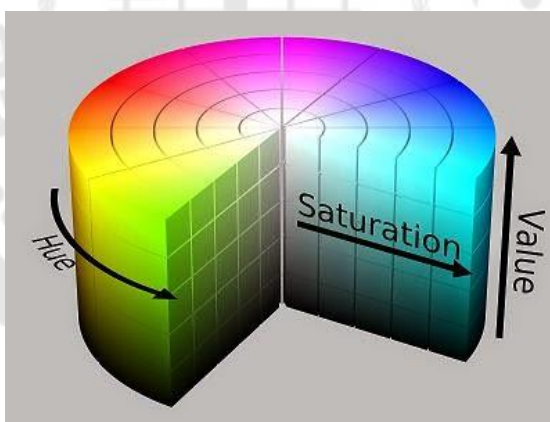


ภาพประกอบ 2 แสดงระบบสี CIE Lab

ที่มา Harris, A. C., และ Weatherall, I. L. (1990). Objective evaluation of colour variation in the sand-burrowing beetle *Chaerodes trachyscelides* White (Coleoptera: Tenebrionidae) by instrumental determination of CIELAB values. *Journal of the Royal Society of New Zealand*, 20(3), 253-259.

2.2 ระบบ HSB color

ระบบ HSB เป็นระบบสีพื้นฐานในการมองเห็นสีด้วยสายตาของมนุษย์ ประกอบด้วยลักษณะของสี 3 ลักษณะ คือ ค่า Hue หมายถึง สีต่าง ๆ ที่สะท้อนออกมาจากวัตถุเข้ามายังตาของเรา ทำให้เราสามารถมองเห็นวัตถุเป็นสีต่าง ๆ ได้ โดยการแสดงค่า Hue ถูกแสดงออกมาเป็นค่าสีบน Standard Color Wheel ซึ่งถูกแทนด้วย 0° จนถึง 360° แต่โดยทั่วไปแล้วมักจะเรียกการแสดงสีนั้น ๆ เป็นชื่อของสี เช่น สีแดง สีม่วง สีเหลือง ค่า Saturation คือ ความสดของสี โดยค่าความสดของสีจะเริ่มที่ 0 ถึง 100 ถ้ากำหนด Saturation ที่ 0 สีจะมีความสดน้อยเป็นสีขาว แต่ถ้ากำหนดที่ 100 สีจะมีความสดมาก หากถูกวัดโดยตำแหน่งบน Standard Color Wheel ค่า Saturation จะเพิ่มขึ้นจากจุดกึ่งกลางจนถึงเส้นขอบ โดยค่าที่เส้นขอบจะมีสีที่ชัดเจนและอิ่มตัวที่สุด และสุดท้ายค่า Brightness คือ ระดับความสว่างและความมืดของสี โดยค่าความสว่างของสีจะเริ่มที่ 0 ถึง 100 เช่นกัน ค่าที่ 0 ความสว่างจะน้อยซึ่งจะเป็นสีดำ แต่ถ้ากำหนดที่ 100 สีจะมีความสว่างมากที่สุด ยิ่งมีค่า Brightness มากจะทำให้สีนั้นสว่างมากขึ้น (Costa e Silva, Tiradentes, Parente, และ Bandeira, 2009)

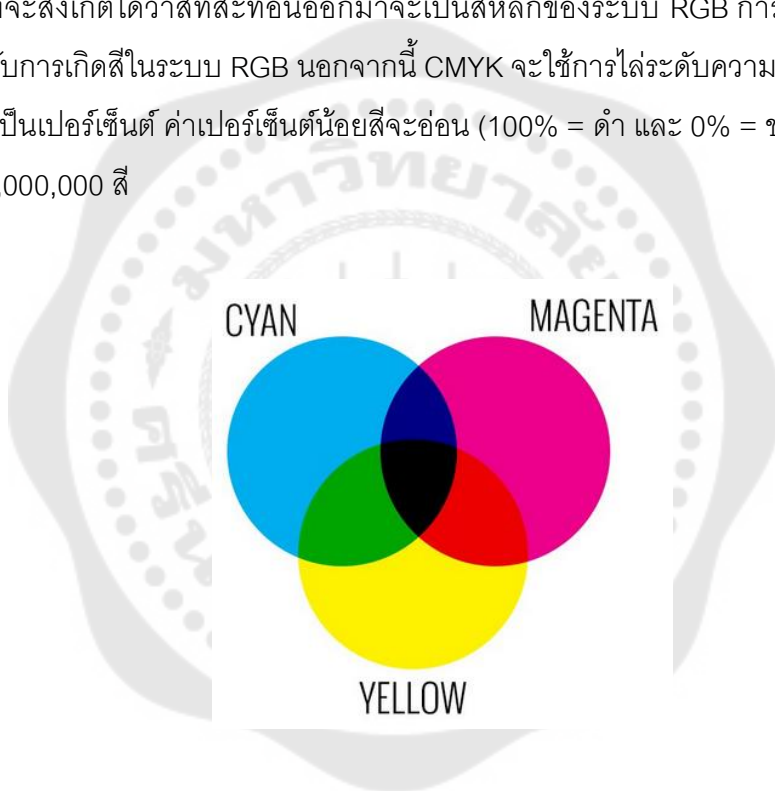


ภาพประกอบ 3 แสดงระบบสี HSB

ที่ ม ๑ Costa e Silva, D. d., Tiradentes, S. B. d. S. P., Parente, R. C. P., และ Bandeira, M. F. C. L. (2009). Color change using HSB color system of dental resin composites immersed in different common Amazon region beverages. *Acta Amazonica*, 39, 961-968.

2.3 ระบบ CMYK Color

ระบบ CMYK คือ ระบบสีที่ใช้กับเครื่องพิมพ์หรืองานพิมพ์ที่พิมพ์ออกทางกระดาษหรือวัสดุผิวเรียบอื่น ๆ โดยระบบสี CMYK ประกอบด้วย สีหลัก 4 สี คือ สีฟ้า (cyan) สีม่วงแดง (magenta) สีเหลือง (yellow) และสีดำ (black) เมื่อมีการนำสีทั้งหมดมาผสมกันและพิมพ์ออกมาจะพบว่าสีที่เกิดขึ้นดำไม่สนิท เนื่องจากหมึกที่ใช้ในการพิมพ์มีความไม่บริสุทธิ์ จึงเป็นการผสมสีแบบลบ (subtractive) หลักการเกิดสีของระบบนี้ คือ หมึกสีหนึ่งจะดูดกลืนแสงจากสีหนึ่งแล้วสะท้อนกลับออกมาเป็นสีต่าง ๆ เช่น สีฟ้าดูดกลืนแสงของสีม่วงแล้วสะท้อนออกมาเป็นสีน้ำเงิน ซึ่งจะสังเกตได้ว่าสีที่สะท้อนออกมาจะเป็นสีหลักของระบบ RGB การเกิดสีในระบบนี้จึงตรงข้ามกับการเกิดสีในระบบ RGB นอกจากนี้ CMYK จะใช้การไล่ระดับความสีเข้ม สีอ่อน โดยใช้หน่วยวัดเป็นเปอร์เซ็นต์ ค่าเปอร์เซ็นต์น้อยสีจะอ่อน (100% = ดำ และ 0% = ขาว) โดยมีสีทั้งหมดจำนวน 1,000,000 สี

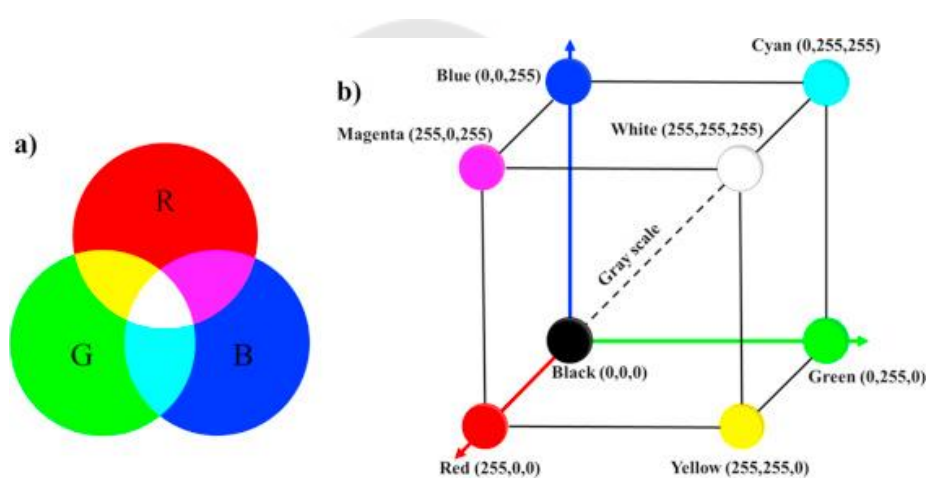


ภาพประกอบ 4 แสดงระบบสี CMYK

ที่มา Afshari-Jouybari, H., และ Farahnaky, A. (2011). Evaluation of Photoshop software potential for food colorimetry. *Journal of Food Engineering*, 106(2), 170-175.

2.4 ระบบ RGB Color

ระบบ RGB คือ ระบบสีที่ถูกแสดงออกมาจากอุปกรณ์ต่าง ๆ เช่น กล้อง จอภาพ เป็นต้น ประกอบด้วยสี 3 สี คือ แดง (red), เขียว (green) และน้ำเงิน (blue) โดยเก็บข้อมูล 3 สีๆ ซึ่งใกล้เคียงกับสีที่ตาเรามองเห็นปกติ เมื่อผสมสีทั้งหมดรวมกันจะได้ออกมาเป็นสีขาว ซึ่งเรียก ระบบสีนี้ว่าแบบ additive หรือการผสมสีแบบบวก และเมื่อนำสีต่าง ๆ มาผสมผสานกันจะทำให้เกิดสีต่าง ๆ ได้มากถึง 16.7 ล้านสี การกำหนดค่าสีนั้นจะกำหนดได้ตั้งแต่ 0 - 255 ในแต่ละสี เช่น $R = 0$ $G = 174$ $B = 239$ (Meelapsom และคนอื่น ๆ, 2016)



ภาพประกอบ 5 แสดงระบบสี RGB

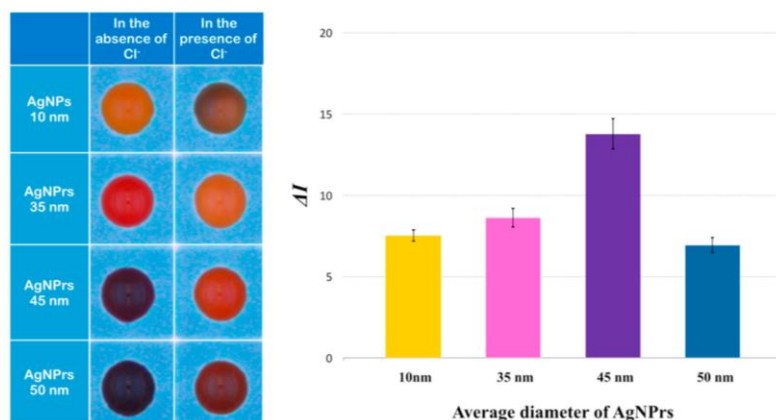
ที่มา Meelapsom, R., Jarujamrus, P., Amatatongchai, M., Chairam, S., Kulsing, C., และ Shen, W. (2016). Chromatic analysis by monitoring unmodified silver nanoparticles reduction on double layer microfluidic paper-based analytical devices for selective and sensitive determination of mercury(II). *Talanta*, 155, 193-201.

3. อุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระดาษ

ในปัจจุบันการพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์บนอุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระดาษ (paper-based analytical devices) เป็นวิธีได้รับความนิยมสูงเนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย มีต้นทุนต่ำ สะดวกต่อการพกพา (Jokerst และคนอื่น ๆ, 2012) โดยวิธีการดังกล่าวอาศัยคุณสมบัติที่ชอบน้ำ (hydrophilic) ของกระดาษภายในเนื้อเยื่อที่เกิดจากกุญรพุนของเซลลูโลสภายในกระดาษ เพื่อใช้ในการดึงสารเคมีต่าง ๆ ให้ไหลไปตามทิศทาง และมีการกำหนดขอบเขตขึ้นเพื่อกำหนดขอบเขตการไหลและควบคุมทิศทางของสารละลาย ซึ่งมีวิธีการในการกำหนดขอบเขตได้ 2 วิธี คือการสร้างขอบเขตโดยใช้วิธีการทางกายภาพ (patterning physical boundaries) ซึ่งเป็นวิธีที่ไม่ต้องอาศัยการสร้างส่วนไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ในการสร้างขอบเขต เช่น laser cutting เป็นการใช้เครื่องตัดกระดาษชนิดเลเซอร์ในการกำหนดขอบเขตพื้นที่การไหลของสาร plotter cutting เป็นการใช้เครื่องตัดกระดาษชนิดใบมีดในการกำหนดขอบเขตพื้นที่การไหลของสาร craft punch patterning เป็นการใช้แม่แบบโลหะที่ถูกออกแบบให้มีลักษณะตามต้องการกดลงบนแผ่นกระดาษหรือวัสดุที่ต้องการตัด และการสร้างขอบเขตโดยใช้สารเคมี (patterning hydrophobic boundaries) เป็นวิธีที่ใช้สารที่มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ในการสร้างขอบเขต เช่น photolithography เป็นการเคลือบสารไวแสงลงบนแผ่นกระดาษ การพิมพ์ด้วยน้ำหมึก (Ink jet printing) การพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (wax printing) (Akyazi, Basabe-Desmonts, และ Benito-Lopez, 2018) นอกจากการใช้กระดาษเป็นแผ่นตรวจวัดนั้นยังมีการเลือกใช้วัสดุอื่น ๆ อีกหลากหลายชนิด เช่น กระดาษเซลลูโลส แผ่นฟิล์มใส มาเป็นแผ่นตรวจวัดเพื่อให้เหมาะสมต่อชนิดของตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ (Mentele, Cunningham, Koehler, Volckens, และ Henry, 2012)

วิธีการตรวจวิเคราะห์บนอุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระดาษยังสามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ได้หลากหลายเทคนิคดังนี้

การตรวจวัดเชิงสี (colorimetric detection) เป็นการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาทางเคมีบนกระดาษ ซึ่งสามารถตรวจวัดได้ทั้งเชิงคุณภาพ จากการสังเกตด้วยตาเปล่า หรือการตรวจวัดเชิงปริมาณ ใช้อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ อาทิเช่น การใช้กล้องถ่ายภาพหรือโทรศัพท์มือถือ ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถทดสอบได้ง่ายและไม่สลับซับซ้อน ทำให้วิธีนี้เป็นที่นิยมในการนำไปประยุกต์ใช้ตรวจสารเคมีต่าง ๆ เช่น การตรวจวัดปริมาณคลอไรด์ไอออนในสิ่งแวดล้อมโดยการใช้นาโนอนุภาคเงินระดับนาโน (Yakoh, Rattanasat, Siangproh, และ Chailapakul, 2018)



ภาพประกอบ 6 แสดงการตรวจวัดคลอไรด์ไอออน ด้วยการตรวจวัดเชิงสี

ที่ มา Yakoh, A., Rattanarat, P., Siangproh, W., และ Chailapakul, O. (2018). Simple and selective paper-based colorimetric sensor for determination of chloride ion in environmental samples using label-free silver nanoprisms. *Talanta*, 178, 134-140.

การตรวจวัดด้วยการวาวแสง (chemiluminescence and fluorescence sensor) เป็นการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของแสงหรือการเรืองแสงของสารที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาทางเคมี เช่น การทดสอบสารกระตุ้นการแพ้ โดยการใช้นาโนเทคนิค enzyme-linked immunosorbent assay ซึ่งวิธีนี้มีข้อดี คือ สามารถทดสอบสารได้ในปริมาณต่ำ ๆ ได้ (Han และ คนอื่น ๆ, 2019)

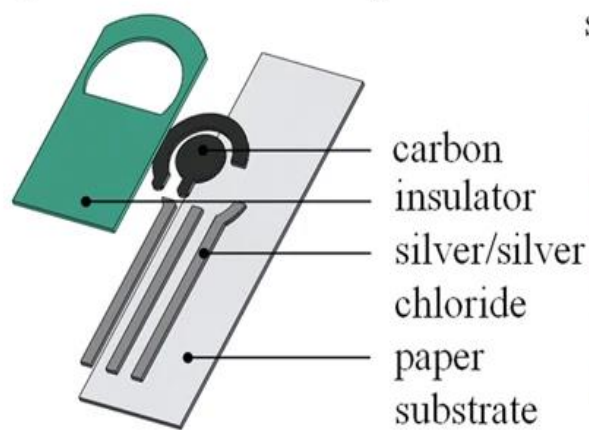


ภาพประกอบ 7 แสดงการตรวจวัดสารกระตุ้นการแพ้ ด้วยการตรวจวัดการวาวแสง

ที่ มา Han, X., Cao, M., Wu, M., Wang, Y.-J., Yu, C., Zhang, C., . . . Huang, W. (2019). A paper-based chemiluminescence immunoassay device for rapid and high-throughput detection of allergen-specific IgE. *Analyst*, 144(8), 2584-2593.

การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical sensor) เป็นการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีไฟฟ้าของสารที่เกิดขึ้น โดยในระบบจะมีการนำมีขั้วไฟฟ้าทั้งหมด 3 ขั้ว ได้แก่ ขั้วไฟฟ้าใช้งาน (working electrode) ขั้วไฟฟ้าช่วย (counter electrode) และขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (reference electrode) มาพิมพ์เคลือบไว้บนกระดาษ ซึ่งวิธีนี้สามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว มีความไวในการตรวจวิเคราะห์สูง

Paper-based sensor design:



Printed sensors on paper substrates:



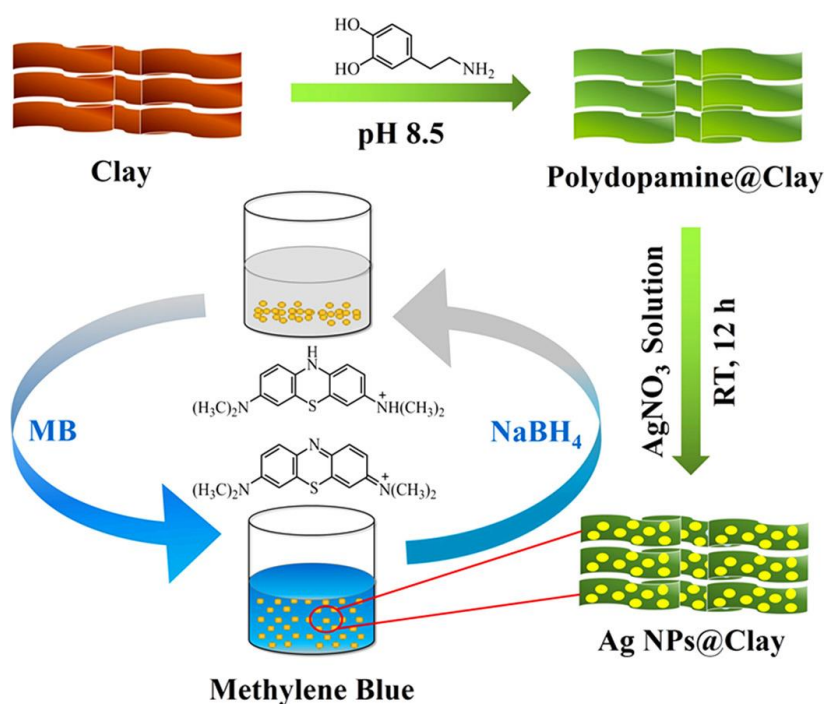
ภาพประกอบ 8 แสดงการตรวจวัดด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า

ที่มา Smith, S., Madzivhandila, P., Ntuli, L., Bezuidenhout, P., Zheng, H., และ Land, K. (2019). Printed Paper-Based Electrochemical Sensors for Low-Cost Point-of-Need Applications. *Electrocatalysis*, 10(4), 342-351.

4. อนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน

อนุภาคเงินระดับนาโนเป็นหนึ่งในอนุภาคโลหะระดับนาโนที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบัน โดยอนุภาคเงินระดับนาโนมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ สามารถเปลี่ยนแปลงสีได้ตามขนาดของอนุภาค เป็นตัวนำไฟฟ้าที่ดี รวมถึงการที่ขนาดอนุภาคที่เล็กทำให้มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรสูงจึงมีคุณสมบัติเป็นเร่งปฏิกิริยาเคมีโดยอนุภาคเงินระดับนาโนจะกระจายตัวในรูปคอลลอยด์ในตัวกลาง ทำให้ง่ายต่อการแยกออกจากปฏิกิริยาเช่นเดียวกับตัวเร่งปฏิกิริยาวิวิธพันธ์ (การะเกด เทศศรี, 2556)

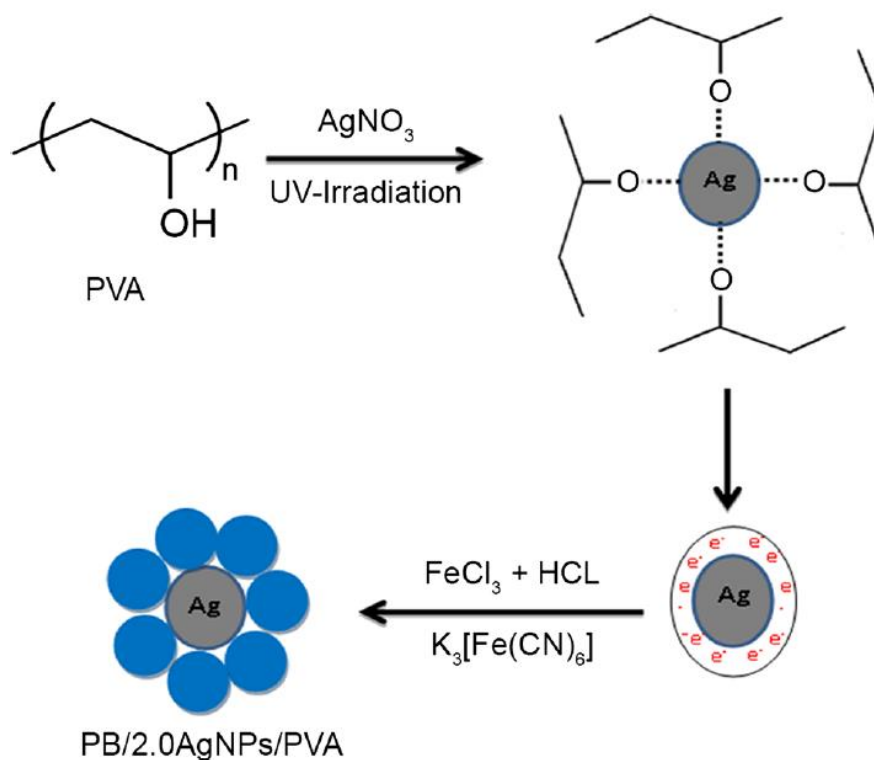
การสังเคราะห์อนุภาคเงินระดับนาโนสามารถทำได้ 3 วิธี คือ การสังเคราะห์โดยวิธีการทางเคมี (chemical approach) เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมสูงที่สุด เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถสังเคราะห์ได้ในปริมาณมาก ควบคุมขนาดและรูปร่างได้ง่าย ในการสังเคราะห์ด้วยวิธีการทางเคมีประกอบไปด้วยส่วนประกอบหลัก 3 ส่วนคือ เกลือของซิลเวอร์ (silver salt) ตัวรีดิวซ์ (reducing agent) และสารให้ความคงตัว (stabilizer) ซึ่งสารให้ความคงตัวมีหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและป้องกันการรวมตัวกันของอนุภาคเงินนาโน การสังเคราะห์โดยวิธีการทางกายภาพ (physical approach) เป็นวิธีการที่สามารถควบคุมขนาด รูปร่าง และปริมาณของอนุภาคเงินระดับนาโนได้ง่าย แต่เครื่องมือที่ใช้มีราคาแพงทำให้มีต้นทุนในการผลิตสูง มักใช้วิธีการระเหยและควบแน่น (evaporation – condensation) โดยใช้เตาเผาแบบหลอดแก้ว (tube furnace) ที่ความดันบรรยากาศ หรือวิธีการยิงด้วยเลเซอร์ (laser ablation) ซึ่งสามารถควบคุมขนาดและรูปร่างได้ง่ายด้วยการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ เช่น ความยาวคลื่นของเลเซอร์ ความเข้มของแสงเลเซอร์และเวลาในการยิงเลเซอร์ การสังเคราะห์โดยวิธีการทางชีวภาพ (biological approach) เป็นการสังเคราะห์ที่สามารถลดการใช้สารเคมีที่เป็นพิษและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยสามารถใช้แบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์ และสารสกัดจากพืชในการสังเคราะห์ ซึ่งส่วนประกอบหลักในการสังเคราะห์มี 3 ส่วนคือ สารละลายตัวกลางในการสังเคราะห์ ตัวรีดิวซ์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และสารให้ความคงตัวที่ไม่เป็นพิษ แต่ข้อเสียคือควบคุมขนาด รูปร่าง ความเป็นผลึกได้ยาก (กานต์พิมล กรไกร และ รินา ภัทรมานนท์, 2560) เช่น Du และคณะได้ทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนโดยการใช้ *Penicillium oxalicum* ในสภาวะที่ pH 8.0 และ 12.0 (Du, Xu, Huang, Xian, และ Feng, 2015) และ Wang และคณะได้สังเคราะห์อนุภาคนาโนจากซิลเวอร์ในเตรทบนมอนต์มอริลโลไนต์ (montmorillonite ; Mt) และนำอนุภาคเงินระดับนาโนที่ได้มาใช้ในการเร่งปฏิกิริยาฟอกจางสีของเมทิลีนบลู (Wang, Hu, และ Zhang, 2017)



ภาพประกอบ 9 แสดงวิธีการสังเคราะห์ AgNPs @ Mt และการเร่งปฏิกิริยารีดักชันของ
อนุภาคเงินระดับนาโน

ที่มา Wang, N., Hu, Y., และ Zhang, Z. (2017). Sustainable catalytic properties of silver nanoparticles supported montmorillonite for highly efficient recyclable reduction of methylene blue. *Applied Clay Science*, 150, 47-55.

นอกจากนี้ Ali และคณะ ได้สังเคราะห์ปรัสเซียนบลู (Prussian blue ; PB) โดยมีอนุภาคเงินระดับนาโนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยารีดักชัน อนุภาคเงินระดับนาโนสังเคราะห์ได้โดยนำซิลเวอร์ไนเตรทมาทำปฏิกิริยากับพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ภายใต้แสงยูวี และสังเคราะห์ปรัสเซียนบลูจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง 2.0 AgNPs / PVA โฟแทสเซียมเฟอริไซยาไนด์ และเฟอริกคลอไรด์ (Ali, Salama, Mohamed, Ghazy, และ Bakr, 2017)



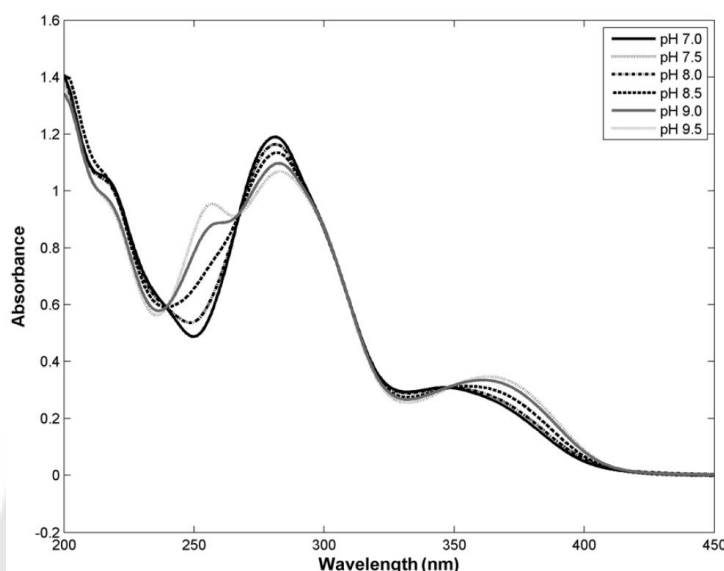
ภาพประกอบ 10 แสดงการสังเคราะห์ PB @ 2.0AgNPs/PVA

ที่มา Ali, I. O., Salama, T. M., Mohamed, M. I., Ghazy, M. B. M., และ Bakr, M. F. (2017). Synthesis and characterization of Ag nanoparticles embedded in PVA via UV-photoreduction technique for synthesis of Prussian blue pigment. *Iranian Polymer Journal*, 26(7), 511-520.

5. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การตรวจวิเคราะห์กรดโฟลิกด้วยเทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมตรี เช่น เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี (UV-Visible spectrophotometry) และเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมตรี (Spectrofluorimetry) เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความนิยมในการใช้งาน ดังเช่น ในปี 2014 Matias และคณะ ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์กรดโฟลิกด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรีโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของกรดโฟลิกโดยตรงในช่วงความยาวคลื่นที่ 282.5 นาโนเมตรในช่วงยูวี และได้มีการศึกษา ค่า pH ที่เหมาะสมในการวัดค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งสามารถวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิกได้ในช่วง

แคบ และมีค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้อยู่ที่ 9.3×10^{-3} ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Matias, Ribeiro, Sarraguca, และ Lopes, 2014)



ภาพประกอบ 11 แสดงสเปกตรัมของกรดโฟลิกใน pH ต่าง ๆ

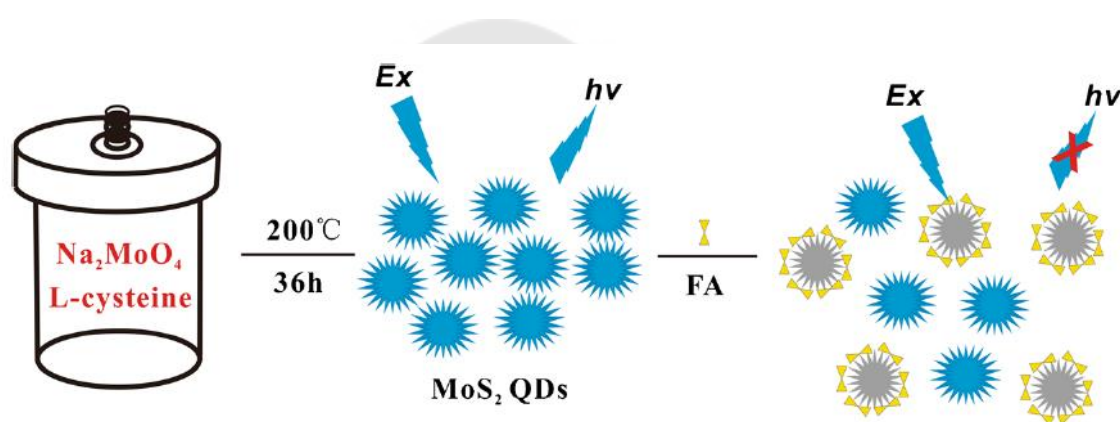
ที่มา Matias, R., Ribeiro, P. R., Sarraguca, M. C., และ Lopes, J. A. (2014). A UV spectrophotometric method for the determination of folic acid in pharmaceutical tablets and dissolution tests, 3065.

ในปีเดียวกัน Hemmateenejad และคณะได้ดัดแปลงพื้นผิวอนุภาคทองระดับนาโนด้วย bovine serum albumin (BSA) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิกจากการยับยั้งการวางแสงของอนุภาคทองระดับนาโนที่มีความยาวคลื่น 629 นาโนเมตร โดยสามารถวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิกได้ในช่วง 0.12 – 33.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัด 18.3 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (Hemmateenejad, Shakerizadeh-shirazi, และ Samari, 2014)

ต่อมาในปี 2016 Ribeiro และคณะได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์กรดโฟลิกโดยใช้เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรีโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 255.5 283.0 และ 365.5 นาโนเมตร นอกจากนั้นยังใช้เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรีเชิงอนุพันธ์อันดับหนึ่งมาใช้ในการ

วิเคราะห์ที่มีความยาวคลื่น 393.0 นาโนเมตร ซึ่งมีค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดในช่วง 0.64 – 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Ribeiro, Melo, Lopes, และ Moita, 2016)

ในปี 2019 Peng และคณะได้มีการศึกษาการใช้โมลิบดีนัม ไดซัลไฟด์ควอนตัมดอทในการวิเคราะห์กรดโฟลิกโดยอาศัยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างกรดโฟลิกกับควอนตัมดอท เมื่อควอนตัมดอทที่มีคุณสมบัติในการวาวแสงเกิดการรวมตัวเข้ากับกรดโฟลิกจะทำให้คุณสมบัติในการวาวแสงของควอนตัมดอทลดลง ซึ่งสามารถวิเคราะห์กรดโฟลิกได้ในช่วง 0.1 – 125 ไมโครโมลาร์ (Peng, Dong, Wan, และ Quan, 2019)



ภาพประกอบ 12 แสดงวิธีการสังเคราะห์ควอนตัมดอท และการวิเคราะห์กรดโฟลิก

ที่มา Peng, Y., Dong, W., Wan, L., และ Quan, X. (2019). Determination of folic acid via its quenching effect on the fluorescence of MoS₂ quantum dots. *Microchimica Acta*, 186(9), N.PAG-N.PAG.

ถึงแม้ว่าการตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรีจะเป็นเทคนิคที่ง่าย มีความแม่นยำสูง แต่ยังคงต้องใช้อุปกรณ์ที่มีขนาดใหญ่ไม่สามารถพกพาได้ รวมถึงมีการใช้สารละลายในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณมาก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะพัฒนาวิธีการวิเคราะห์กรดโฟลิกเชิงสีบนอุปกรณ์ตรวจวัดแผ่นใสซึ่งจะสามารถตรวจวิเคราะห์กรดโฟลิกได้ง่าย รวดเร็ว ไม่ต้องใช้เครื่องมือที่ซับซ้อนและมีราคาแพง พกพาสะดวก สามารถนำไปใช้งานในภาคสนามได้รวมถึงสามารถลดปริมาณสารละลายในการวิเคราะห์ลงได้

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัย

1. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย

- เครื่องพิมพ์เวิร์กบุ๊ก รุ่น ColorQube 8570 จากบริษัท XEROX
- เครื่องชั่งอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง (รุ่น AB204s) จากบริษัท METTLER TOLEDO
- เครื่องผลิตน้ำปราศจากไอออน รุ่น LaboStar จากบริษัท SIEMENS
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) รุ่น Zentrifugen EBA 8S จากบริษัท Hettich
- โทรศัพท์มือถือ
- ไมโครปิเปตขนาด 100 200 และ 1000 ไมโครลิตร จากบริษัท Labnet

2. สารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัย

- ซิลเวอร์ไนเตรท จากบริษัท MERCK
- โซเดียมโบโรไฮไดรด์ จากบริษัท MERCK
- น้ำแข็ง จากบริษัท MERCK
- กรดฟอสฟอริก จากบริษัท Sigma
- โพแทสเซียมเพอร์ไอโธไซด์ จากบริษัท Ajax
- เพอร์ริคคลอไรด์ จากบริษัท Ajax
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ จากบริษัท Ajax
- โซเดียมคลอไรด์ จากบริษัท Ajax
- แอมโมเนียมคลอไรด์ จากบริษัท Ajax
- โพแทสเซียมคลอไรด์ จากบริษัท Ajax
- ไทแอมีนไฮโดรคลอไรด์ จากบริษัท Ajax
- (-) ไรโบฟลาวิน จากบริษัท Sigma
- กรดนิโคตินิก จากบริษัท Himedia
- กรดแพนโทเทนิค จากบริษัท Sigma
- ไพริดอกซีนไฮโดรคลอไรด์ จากบริษัท Himedia
- วิตามินบี 12 จากบริษัท Sigma
- กรดแอสคอร์บิก จากบริษัท Sigma

3 ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองเป็นตัวอย่างยาเม็ดกรดโฟลิกที่หาซื้อได้จากร้านขายยา

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

1 การออกแบบแผ่นพลาสติกใส

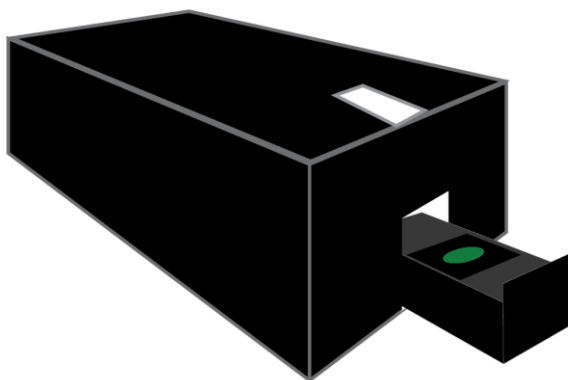
ออกแบบแผ่นพลาสติกใสให้มีลักษณะเป็นวงกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 มิลลิเมตร ด้วยโปรแกรมอะโดบี อิลลัสเตรเตอร์ (Adobe Illustrator) โดยให้มีพื้นหลังเป็นสีดำ จากนั้นพิมพ์แผ่นพลาสติกใสตามที่ได้ออกแบบไว้ ด้วยเครื่องพิมพ์แว็กซ์ ก่อนทำการจัดเก็บที่อุณหภูมิห้อง



ภาพประกอบ 13 แสดงลักษณะของแผ่นพลาสติกใสที่ออกแบบ

2 การออกแบบกล่องควบคุมแสง

กล่องควบคุมแสงออกแบบขึ้นในลักษณะทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าปิดสนิททุกด้านเพื่อป้องกันแสงจากภายนอก ภายในติดไฟ LED เพื่อใช้ในการให้แสง ด้านข้างเจาะช่องเพื่อสอดแผ่นใสที่ใช้ตรวจวัด และด้านบนติดเลนส์เพื่อขยายภาพที่ได้ให้มีความชัดเจนยิ่งขึ้น



ภาพประกอบ 14 แสดงลักษณะของกล่องควบคุมแสงที่ออกแบบ

3 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟอสฟอริกโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์และเพอร์ริกคลอไรด์

3.1 การศึกษากลไกการเกิดของปฏิกิริยาระหว่างกรดฟอสฟอริกและเพอร์ริกคลอไรด์ในสภาวะที่มีโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ ด้วยเทคนิคยูวี – วิสเปกโตรโฟโตเมตรี

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ 30 มิลลิโมลาร์ และสารละลายกรดฟอสฟอริก 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเปิดสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และโพแทสเซียมคลอไรด์ 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 300 - 800 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำโดยเติมสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 45 ไมโครลิตร ลงไปและตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 300 - 800 นาโนเมตร

3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดฟอสฟอริก

3.2.1 การศึกษาการความเข้มข้นในการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ 30 มิลลิโมลาร์ และสารละลายกรดฟอสฟอริก 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในโซเดียมคลอไรด์ จากนั้นเปิดสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 45 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง และ

นำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ (ImageJ) โดยการวัดค่าความเข้มเทา (Gray) สีแดง (Red) สีเขียว (Green) และสีน้ำเงิน (Blue)

3.2.2 การศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสม

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ 30 มิลลิโมลาร์ และสารละลายกรดฟอสฟอริก 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในโซเดียมคลอไรด์ จากนั้นเปิดสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 45 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง และนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนตัวทำละลายจากโซเดียมคลอไรด์เป็นแอมโมเนียมคลอไรด์ และโพแทสเซียมคลอไรด์ ตามลำดับ

3.2.3 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ที่เหมาะสม

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ 30 มิลลิโมลาร์ และสารละลายกรดฟอสฟอริก 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.01 โมลาร์ จากนั้นเปิดสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริก ปริมาตร 45 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง และนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของแอมโมเนียมคลอไรด์ เป็น 0.01 - 1 โมลาร์

3.2.4 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดฟอสฟอริก

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 10 - 50 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ 30 มิลลิโมลาร์ และสารละลายกรดฟอสฟอริก 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.01 โมลาร์ จากนั้นเปิดสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 45 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง และนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ

3.2.5 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดฟอสฟอริก

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธไซยาไนด์ความเข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 10 - 50 มิลลิโมลาร์ และสารละลายกรดฟอสฟอริก 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.01 โมลาร์ จากนั้นปิเปตสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธไซยาไนด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 45 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง และนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ

3.2.6 การศึกษาผลของลำดับในการหดยสารละลายต่อการเปลี่ยนแปลงสีในการวิเคราะห์กรดฟอสฟอริก

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธไซยาไนด์ความเข้มข้น 35 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์ และสารละลายกรดฟอสฟอริก 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.01 โมลาร์ จากนั้นปิเปตสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธไซยาไนด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 45 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง และนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนลำดับในการหดยสารดังตาราง

ตาราง 2 แสดงลำดับการหดยสารละลาย

ชุดการทดลอง	สารลำดับที่ 1	สารลำดับที่ 2	สารลำดับที่ 3
1	สารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธไซยาไนด์	สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์	สารละลายกรดฟอสฟอริก
2	สารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธไซยาไนด์	สารละลายกรดฟอสฟอริก	สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์
3	สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์	สารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธไซยาไนด์	สารละลายกรดฟอสฟอริก
4	สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์	สารละลายกรดฟอสฟอริก	สารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธไซยาไนด์

ตาราง 2 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	สารลำดับที่ 1	สารลำดับที่ 2	สารลำดับที่ 3
5	สารละลายกรดฟอสฟอริก	สารละลายโพแทสเซียม เพอร์ไอซายนด์	สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์
6	สารละลายกรดฟอสฟอริก	สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์	สารละลายโพแทสเซียม เพอร์ไอซายนด์

3.2.7 การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดฟอสฟอริก

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอซายนด์ความเข้มข้น 35 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์ และสารละลายกรดฟอสฟอริก 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.01 โมลาร์ จากนั้นปิเปตสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอซายนด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริก ปริมาตร 45 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 30 วินาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่อง ควบคุมแสง และนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ ทำการทดลองซ้ำโดย เปลี่ยนเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาเป็น 60 - 900 วินาที

3.3 การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

3.3.1 การหาช่วงความเป็นเส้นตรง

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอซายนด์ความเข้มข้น 35 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์ และสารละลายกรดฟอสฟอริก 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.01 โมลาร์ จากนั้นปิเปตสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอซายนด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริก ปริมาตร 45 ไมโครลิตรลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 8 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่อง ควบคุมแสง นำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ ทำการทดลองซ้ำโดย เปลี่ยนความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกเป็น 20 - 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาสร้างกราฟ มาตรฐานระหว่างค่าความเข้มสีกับความเข้มข้นของสารละลายกรดฟอสฟอริก

3.3.2 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOQ)

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 35 มิลลิโมลาร์ และสารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์ จากนั้นปิเปตสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 45 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง นำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้ง นำค่าความเข้มสีที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation; SD)

$$\text{LOD} = \text{ค่าเฉลี่ยของ sample blank} + 3\text{SD}$$

$$\text{LOQ} = \text{ค่าเฉลี่ยของ sample blank} + 10\text{SD}$$

3.3.3 การหาค่าความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ความเที่ยงภายในวันเดียวกัน (intraday)

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 35 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์ และสารละลายกรดฟอสฟอริก 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.01 โมลาร์ จากนั้นปิเปตสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 45 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 8 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง นำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 5 ครั้ง คำนวณค่าร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation; %RSD)

ความเที่ยงระหว่างวัน (interday)

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 35 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์ และสารละลายกรดฟอสฟอริก 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.01 โมลาร์ จากนั้นปิเปตสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 45 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 8 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง นำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 5 วัน คำนวณค่าร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

3.4 การศึกษาผลของสารรบกวน

การศึกษาผลของวิตามินบีต่าง ๆ ที่มีต่อปฏิกิริยา

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอชาไนต์ความเข้มข้น 35 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์ และสารละลายไทแอมีนไฮโดรคลอไรด์ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.01 โมลาร์ จากนั้นปิเปตสารละลาย โพแทสเซียมเพอร์ไอชาไนต์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และสารละลายไทแอมีนไฮโดรคลอไรด์ปริมาตร 45 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 8 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง และนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสี ด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนจากสารละลายไทแอมีนไฮโดรคลอไรด์เป็น กรดนิโคตินิก กรดแพนโทเทนิค ไฟรีดอกซินไฮโดรคลอไรด์ วิตามินบี 12 และกรดแอสคอร์บิก ตามลำดับ

3.5 การหาปริมาณกรดฟอลิกในตัวอย่างจริงโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่าง โพแทสเซียมเพอร์ไอชาไนต์และเฟอร์ริกคลอไรด์

นำตัวอย่างยา 1 เม็ดมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดและ ละลายในแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.01 โมลาร์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ นำไปหมุนเหวี่ยงที่ ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ปิเปตสารละลายส่วนใสมา 25 ไมโครลิตร ลงใน ขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.01 โมลาร์ จากนั้นนำไป วิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิกตามวิธีในข้อ 3.1

4 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟอลิกโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียม เพอร์ไอชาไนต์ เฟอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน

4.1 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน

การสังเคราะห์สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน อ้างอิงวิธีการ สังเคราะห์จากงานวิจัยของ Pranklang และคณะ (Pranklang และคนอื่น ๆ, 2013) โดยการรีดิวซ์ ซิลเวอร์ไนเตรทด้วยโซเดียมโบโรไฮไดรด์ และใช้น้ำแข็ง เพื่อเพิ่มความเสถียร เริ่มจากการเตรียม สารละลายเกลือซิลเวอร์โดยการละลายซิลเวอร์ไนเตรท 0.63 กรัม ใน น้ำแข็ง 500 มิลลิลิตร และ เตรียมตัวรีดิวซ์จากการละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ 0.21 กรัม ใน น้ำแข็ง 500 มิลลิลิตร จากนั้น เติมสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ลงในสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทโดยคนตลอดเวลา สารละลาย จะเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีเหลืองซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเกิดสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับ นาโน หลังจากนั้นให้ความร้อนกับสารละลายเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับ

ปริมาตรสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนเป็น 1000 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4.2 การศึกษากลไกการฟอกขาวสีของปฏิกิริยาระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน ด้วยเทคนิคยูวี – วิสเบิลสเปกโทรโฟโตเมตร

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 35 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์ สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายกรดฟอลิก 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปีเปตสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และสารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และโพแทสเซียมคลอและโพแทสเซียมคลอไรด์ 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 300 - 800 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำโดยเติมสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน 50 ไมโครลิตร และกรดฟอลิกปริมาตร 45 ไมโครลิตร ตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 300 - 800 นาโนเมตร

4.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดฟอลิก

4.3.1 การศึกษาชนิดและความเข้มข้นของตัวทำละลายที่เหมาะสม

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 35 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์ สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายกรดฟอลิก 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ ทำการผสมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน 100 ไมโครลิตรในหลอดไมโครเซ็นติฟิวจ์ จากนั้นปีเปตสารละลายผสม 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอลิกปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง และนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 0.5 และ 0.01 โมลาร์

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 35 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์ สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายกรดฟอลิก 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ ทำการผสมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 25

ไมโครลิตร สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน 100 ไมโครลิตรในหลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ จากนั้นเปิดสารละลายผสม 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง และนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของโพแทสเซียมคลอไรด์เป็น 0.01 โมลาร์

4.3.2 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรต์ที่เหมาะสม

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรต์ความเข้มข้น 5 - 50 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 40 มิลลิโมลาร์ สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริก 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ ทำการผสมสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรต์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน 100 ไมโครลิตรในหลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ จากนั้นเปิดสารละลายผสม 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง และนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ

4.3.3 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ที่เหมาะสม

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรต์ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 5 - 50 มิลลิโมลาร์ สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริก 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ ทำการผสมสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรต์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน 100 ไมโครลิตรในหลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ จากนั้นเปิดสารละลายผสม 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง และนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ

4.3.4 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคแขวนลอยนาโนเงินที่เหมาะสม

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนความเข้มข้น 140 - 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริก 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ ทำการผสมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน 100 ไมโครลิตรในหลอดไมโครเซ็นติฟิวจ์ จากนั้นเปิดสารละลายผสม 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล้องควมคุมแสง และนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ

4.3.5 การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดฟอสฟอริก

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนความเข้มข้น 360 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริก 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ ทำการผสมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน 100 ไมโครลิตรในหลอดไมโครเซ็นติฟิวจ์ จากนั้นเปิดสารละลายผสม 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ นำไปถ่ายภาพภายในกล้องควมคุมแสง และนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาเป็น 30 - 600 วินาที

4.4 การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

4.4.1 การหาช่วงความเป็นเส้นตรง

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนความเข้มข้น 360 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริก 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ ทำการผสมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน 100 ไมโครลิตรในหลอดไมโครเซ็นติฟิวจ์ จากนั้นเปิดสารละลายผสม 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 1

นาที่ นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง และนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริกเป็น 10 - 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าความเข้มสีกับความเข้มข้นของสารละลายกรดฟอสฟอริก

4.4.2 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOQ)

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนความเข้มข้น 360 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริก 10 – 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการผสมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน 100 ไมโครลิตรในหลอดไมโครเซ็นติฟิวจ์ จากนั้นเปิดสารละลายผสม 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง และนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ

4.4.3 การหาค่าความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ความเที่ยงภายในวันเดียวกัน (intraday)

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนความเข้มข้น 360 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริก 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ ทำการผสมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน 100 ไมโครลิตรในหลอดไมโครเซ็นติฟิวจ์ จากนั้นเปิดสารละลายผสม 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที่ นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสง ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 5 ครั้ง คำนวณค่าร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation; %RSD)

ความเที่ยงระหว่างวัน (interday)

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนความเข้มข้น 360 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริก 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ ทำการผสมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ปริมาตร 25

ไมโครลิตร สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน 100 ไมโครลิตรในหลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ จากนั้นปิเปตสารละลายผสม 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสงทำการวิเคราะห์ซ้ำ 5 วัน คำนวณค่าร้อยละความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation; %RSD)

4.5 การศึกษาผลของสารรบกวน

การศึกษาผลของวิตามินบีต่าง ๆ ที่มีต่อปฏิกิริยา

เตรียมสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรต์ในความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนความเข้มข้น 360 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายไทแอมีนไฮโดรคลอไรด์ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ ทำการผสมสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรต์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน 100 ไมโครลิตรในหลอดไมโครเซ็นติฟิวก์ จากนั้นปิเปตสารละลายผสม 15 ไมโครลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นใสตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที นำไปถ่ายภาพภายในกล่องควบคุมแสงและนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ ทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนจากสารละลายไทแอมีนไฮโดรคลอไรด์เป็น กรดนิโคตินิก กรดแพนโทเทนิค ไพริดอกซีนไฮโดรคลอไรด์ วิตามินบี 12 และกรดแอสคอร์บิก ตามลำดับ

4.6 การหาปริมาณกรดฟอสฟอริกในตัวอย่างจริงโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียมเฟอร์ไรต์ เฟอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคนาโนเงิน

นำตัวอย่างยา 1 เม็ดมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดและละลายในแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.01 โมลาร์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ปิเปตสารละลายส่วนใสมา 50 ไมโครลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยแอมโมเนียมคลอไรด์ 0.01 โมลาร์ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกตามวิธีในข้อ 4.2

บทที่ 4

ผลการทดลอง

สำหรับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ผู้วิจัยเสนอผลการวิจัยตามลำดับดังนี้

1. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟอลิกโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียมเพอร์ไอธยาไนต์ และเฟอร์ริกคลอไรด์

2. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟอลิกโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียมเพอร์ไอธยาไนต์ เฟอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน

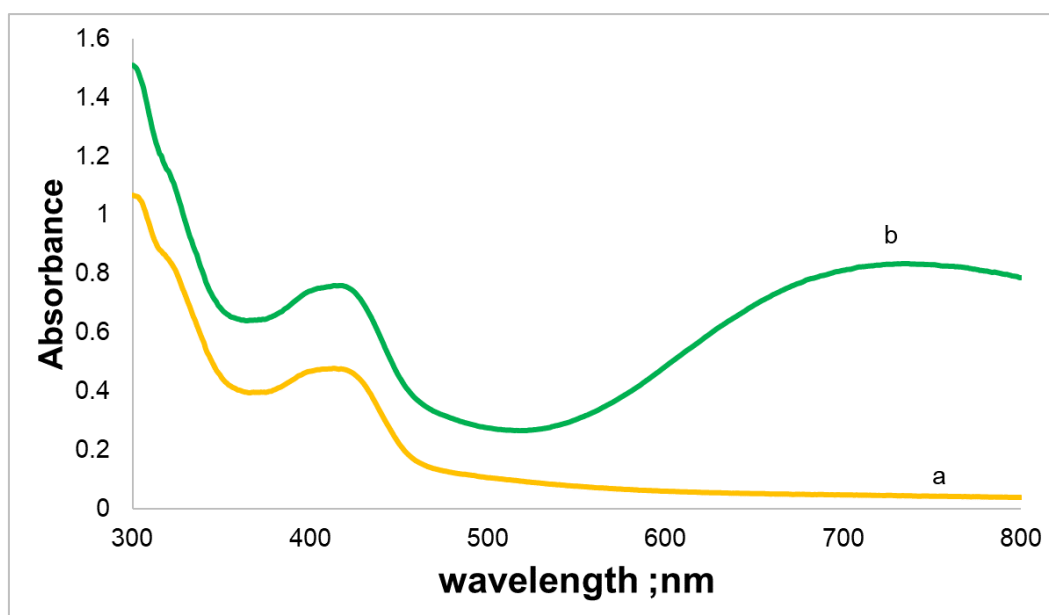
งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิกบนชุดอุปกรณ์ขนาดเล็กซึ่งประกอบด้วยแผ่นพลาสติกใสที่เคลือบด้วยแว็กซ์ และกล่องควบคุมแสงเพื่อใช้ในการควบคุมแสงจากภายนอกเพื่อให้สามารถถ่ายภาพและนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟอลิกด้วยโปรแกรมอิมเมจเจได้อย่างแม่นยำ และมีประสิทธิภาพ

ตอนที่ 1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟอลิกโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียมเพอร์ไอธยาไนต์และเฟอร์ริกคลอไรด์

งานวิจัยนี้อาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดฟอลิกและเฟอร์ริกคลอไรด์ในสถานะที่มีโพแทสเซียมเพอร์ไอธยาไนต์ โดยไอออนเหล็ก(III) ในเฟอร์ริกคลอไรด์จะถูกรีดิวซ์เปลี่ยนเป็นไอออนเหล็ก(II) จากนั้นไอออนเหล็ก(II) จะทำปฏิกิริยากับสารละลาย โพแทสเซียมเพอร์ไอธยาไนต์ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีฟ้าอมเขียวหรือปรัสเซียนบลู (prussian Blue) ทำให้สามารถวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิกได้อย่างแม่นยำ

ผลการศึกษากลไกการเกิดของปฏิกิริยาระหว่างกรดฟอลิกและเฟอร์ริกคลอไรด์ในสถานะที่มีโพแทสเซียมเพอร์ไอธยาไนต์ ด้วยเทคนิคยูวี – วิสเปิลสเปกโทรโฟโตเมตรี

จากการศึกษาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอธยาไนต์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ และสารละลายกรดฟอลิก ในภาพประกอบ 15 พบว่าเส้น a ซึ่งเป็นสเปกตรัมของรีเอเจนต์มีการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 400 นาโนเมตร และเมื่อทำการเติมสารละลายกรดฟอลิกลงไปทำให้เกิดการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 650 - 800 นาโนเมตรเพิ่มขึ้นในเส้น b แสดงให้เห็นว่าการเติมสารละลายกรดฟอลิกทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนปรัสเซียนบลูซึ่งดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 700 นาโนเมตร



ภาพประกอบ 15 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลาย ; (a) สารละลายผสมระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอซยาไนต์ และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (b) สารละลายผสมระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอซยาไนต์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ และสารละลายกรดฟอสฟอริก

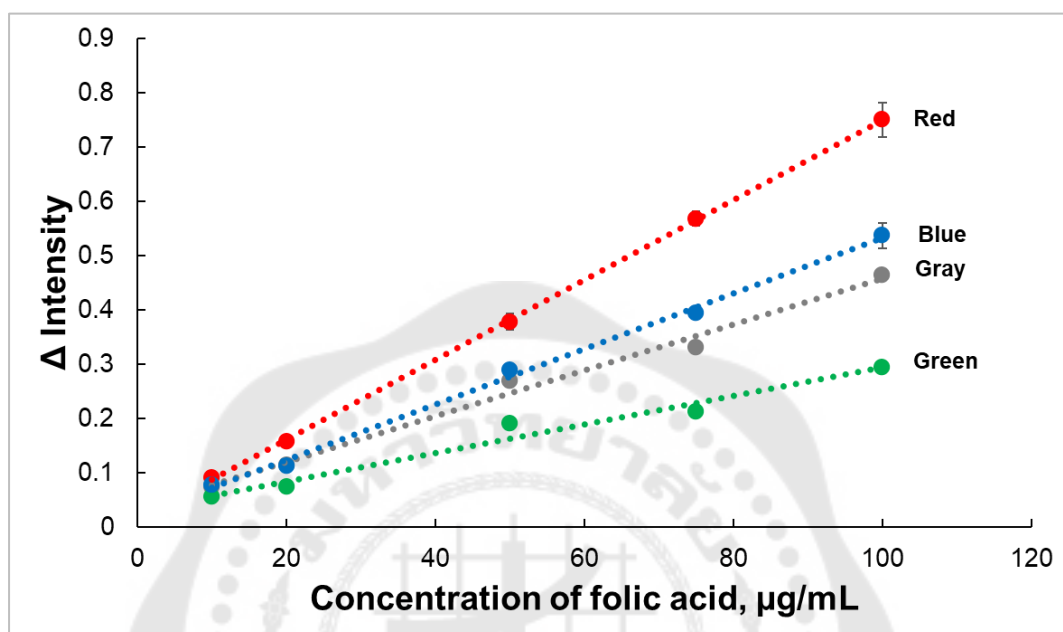
ผลการศึกษากการหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดฟอสฟอริก

ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกโดยอาศัยการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนปรัสเซียนบลูมีปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์ ได้แก่ หมายเหตุความเข้มข้นที่ใช้ตรวจวัด ชนิดของตัวทำละลาย ความเข้มข้นของตัวทำละลาย ความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอซยาไนต์ ความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ลำดับในการหยดสารละลายลงบนฐานตรวจวัดแผ่นพลาสติกใส รวมถึงเวลาที่ใช้ในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน จึงจำเป็นต้องทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริก

การศึกษาหมายเหตุความเข้มข้นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดฟอสฟอริก

จากการศึกษาหมายเหตุความเข้มข้นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกโดยการวัดค่าความเข้มข้นของสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นด้วยค่าความเข้มข้น 4 หมายเหตุ ได้แก่ หมายเหตุสีเทา หมายเหตุสีแดง หมายเหตุสีเขียว และหมายเหตุสีน้ำเงิน จากการสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าผลต่างความเข้มข้นของสารละลายและความเข้มข้นกรดฟอสฟอริก ดังแสดงในภาพประกอบ 15 พบว่า หมายเหตุความเข้มข้นสีเทา สีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ให้ค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงที่ 0.0042 0.0075 0.0027 และ 0.0055 ตามลำดับ ซึ่งค่าผลต่างความเข้มข้นสีแดงให้ค่าความชันของ

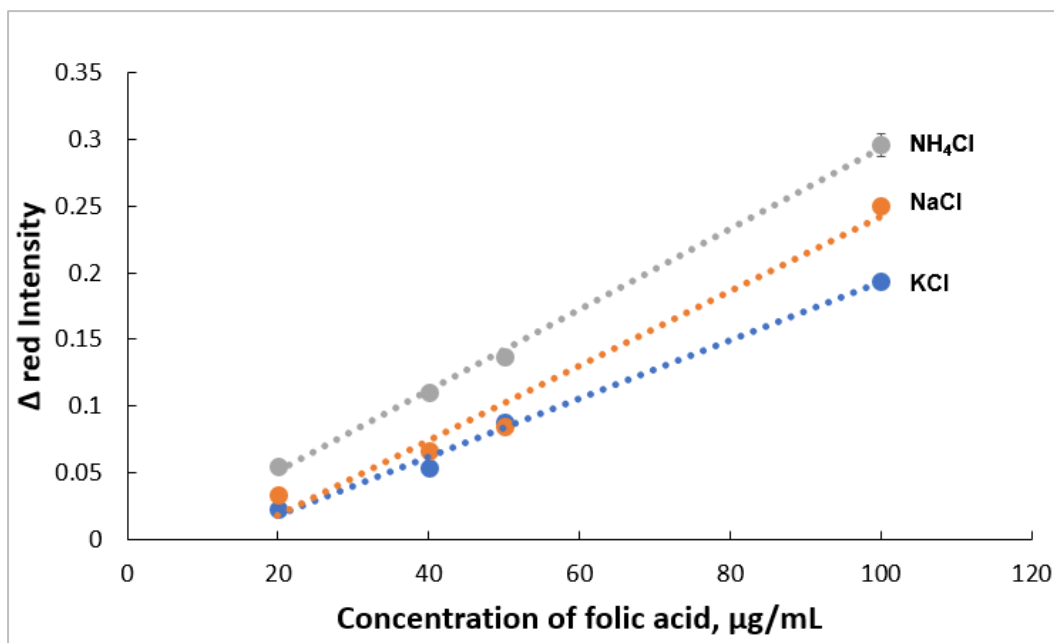
เส้นตรงสูงที่สุดรวมถึงมีค่าความเป็นเส้นตรง (R^2) เท่ากับ 0.9950 ดังนั้นจึงเลือกใช้ค่าโหมดความเข้มสีแดงในการวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิกต่อไป



ภาพประกอบ 16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีและความเข้มข้นของกรดโฟลิก ที่โหมดความเข้มสีต่าง ๆ

ผลการศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดโฟลิก

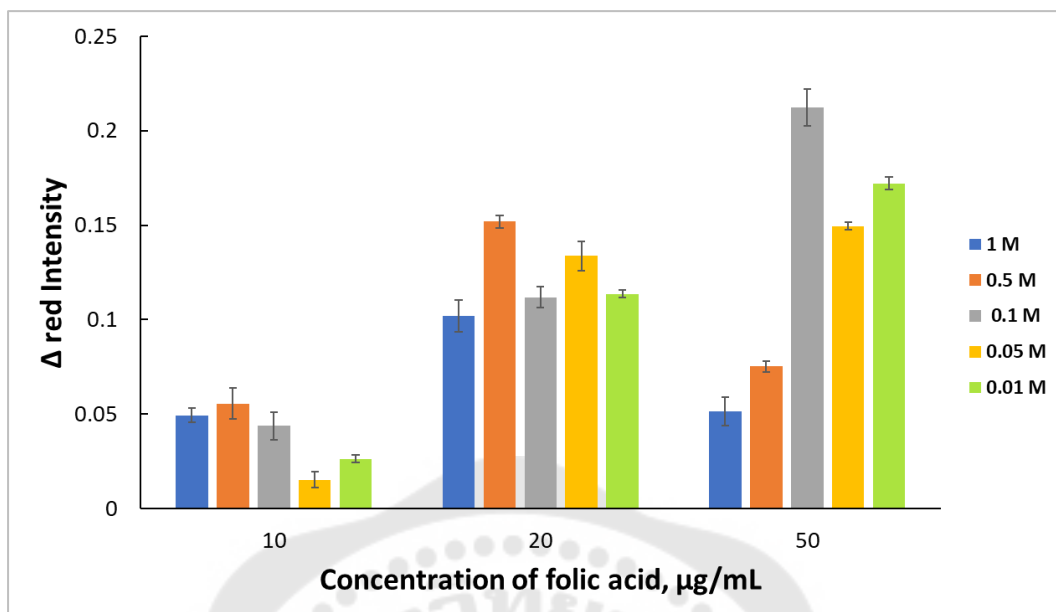
การศึกษานี้ของตัวทำละลายได้ทำการศึกษาค่าความเข้มข้นทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่ โพแทสเซียมคลอไรด์ โซเดียมคลอไรด์ และแอมโมเนียมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยการเปรียบเทียบความชันและความเป็นเส้นตรงของกราฟระหว่างผลต่างความเข้มสีและความเข้มข้นของกรดโฟลิก ที่ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เช่นเดียวกันกับการศึกษาค่าความเข้มสี จากภาพประกอบ 16 พบว่าตัวทำละลายทั้งสามให้ค่าความชันของกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงที่ 0.0044 0.0056 และ 0.0061 ตามลำดับ ซึ่งแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นตัวทำละลายที่ให้ค่าผลต่างความเข้มสีแดงสูงที่สุดมีค่าความเป็นเส้นตรง (R^2) เท่ากับ 0.9935 เนื่องจากแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นสารละลายเกลือของเบสอ่อนทำให้มีค่า pH อยู่ในช่วงกรดจึงเหมาะสมในการละลายรีเอเจนต์ได้ดีกว่าโพแทสเซียมคลอไรด์ โซเดียมคลอไรด์ ดังนั้นจึงเลือกใช้แอมโมเนียมคลอไรด์เป็นตัวทำละลายในการทดลองต่อไป



ภาพประกอบ 17 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงและความเข้มข้นของกรดโฟลิกโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดโฟลิก

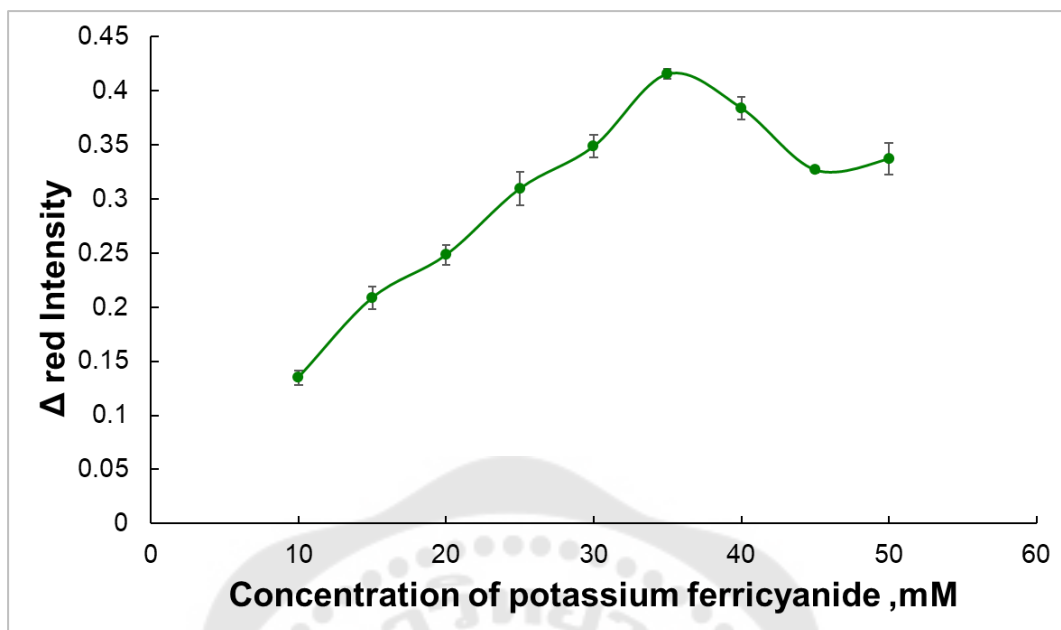
ทำการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.01 0.05 0.1 0.5 และ 1 โมลาร์ เพื่อดูค่าผลต่างความเข้มสีแดงก่อนและหลังเติมกรดโฟลิก จากภาพประกอบ 17 พบว่าที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ให้ค่าผลต่างความเข้มสีแดงสูงที่สุด แต่เนื่องจากการใช้สารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จะส่งผลให้สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์เกิดการตกตะกอน ดังนั้นเพื่อเป็นการถ่วงความเหมาะสมระหว่างค่าความไว (sensitivity) ของการตรวจวัดและคุณสมบัติการละลายของรีเอเจนต์ จึงเลือกใช้สารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.01 โมลาร์เป็นตัวทำละลาย ซึ่งมีค่าผลต่างความเข้มสีรองลงมาและไม่ทำให้สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ตกตะกอน



ภาพประกอบ 18 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงและความเข้มข้นของกรดโฟลิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของแอมโมเนียมคลอไรด์

ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเพอริซายาไนต์ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดโฟลิก

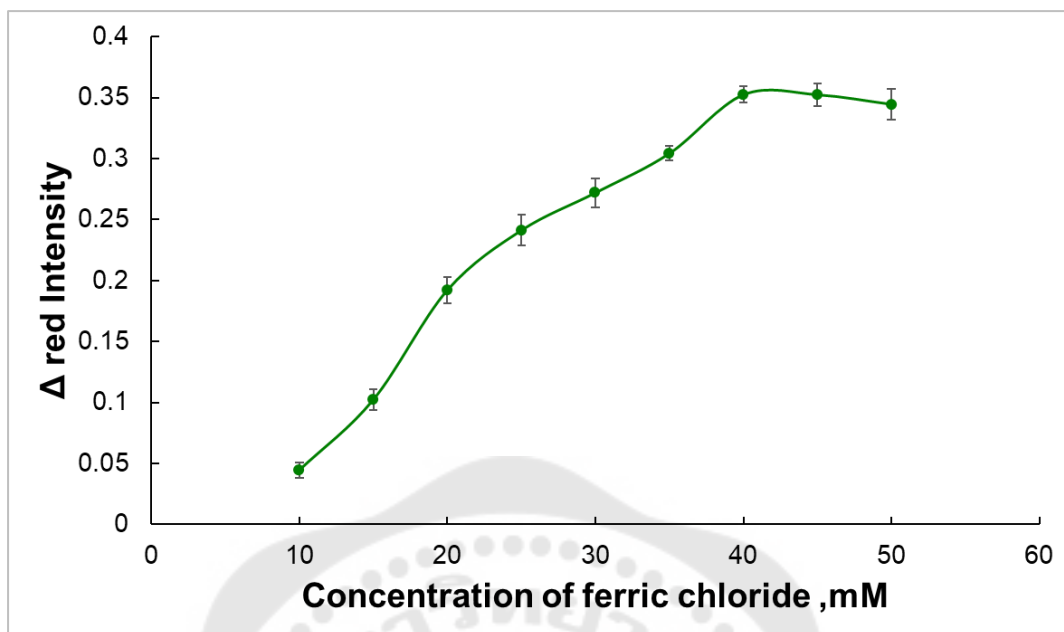
ทำการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเพอริซายาไนต์ที่ความเข้มข้นระหว่าง 10 - 50 มิลลิโมลาร์ และทำการวิเคราะห์โดยกำหนดความเข้มข้นของเพอร์ริกคลอไรด์ที่ 40 มิลลิโมลาร์ และความเข้มข้นของกรดโฟลิกที่ 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากภาพประกอบ 18 พบว่าผลต่างความเข้มสีแดงของสารละลายก่อนและหลังเติมกรดโฟลิกเพิ่มขึ้นในช่วงความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเพอริซายาไนต์ระหว่าง 10 – 35 มิลลิโมลาร์ และผลต่างความเข้มสีแดงของสารละลายลดลงตั้งแต่ 35 มิลลิโมลาร์ เป็นต้นไป ทั้งนี้เนื่องจากสีของสารละลายแบลงค์มีแนวโน้มที่สูงขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเพอริซายาไนต์ด้วย ดังนั้นความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเพอริซายาไนต์ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดโฟลิกจึงเลือกใช้เท่ากับ 35 มิลลิโมลาร์ สำหรับการทดลองในขั้นต่อไป



ภาพประกอบ 19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ริไซยาไนด์

ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดฟอสฟอริก

ทำการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ที่ความเข้มข้นในช่วง 10 - 50 มิลลิโมลาร์ และทำการวิเคราะห์โดยกำหนดความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์และกรดฟอสฟอริกที่ 35 มิลลิโมลาร์ และ 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่าค่าผลต่างความเข้มสีแดงของสารละลายก่อนและหลังเติมกรดฟอสฟอริกเพิ่มขึ้นตั้งแต่ความเข้มข้น 10 - 40 มิลลิโมลาร์ ดังภาพประกอบ 19 แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์เพิ่มสูงเป็น 45 มิลลิโมลาร์ ค่าผลต่างความเข้มสีแดงมีค่าที่ลดลงเล็กน้อย สาเหตุอาจเนื่องจากปริมาณไอออนเหล็ก (III) จากเฟอร์ริกคลอไรด์เพียงพอต่อการรีดิวซ์ด้วยกรดฟอสฟอริก และเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ทำให้ผลต่างความเข้มสีแดงของสารละลายเริ่มคงที่ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 40 มิลลิโมลาร์ ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ในการวิเคราะห์กรดฟอสฟอริกจึงเท่ากับ 40 มิลลิโมลาร์



ภาพประกอบ 20 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงกับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์

ผลการศึกษาอิทธิพลของลำดับในการหยดสารละลายต่อการเปลี่ยนแปลงสีสำหรับการวิเคราะห์กรดฟอสฟอริก

ลำดับในการหยดสารละลายทั้ง 3 ชนิดมีผลต่อค่าความต่างความเข้มสีแดงของสารละลายที่เกิดขึ้น ดังนั้นจึงทำการศึกษาลำดับในการหยดสารละลายทั้งหมด 6 ชุดการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3

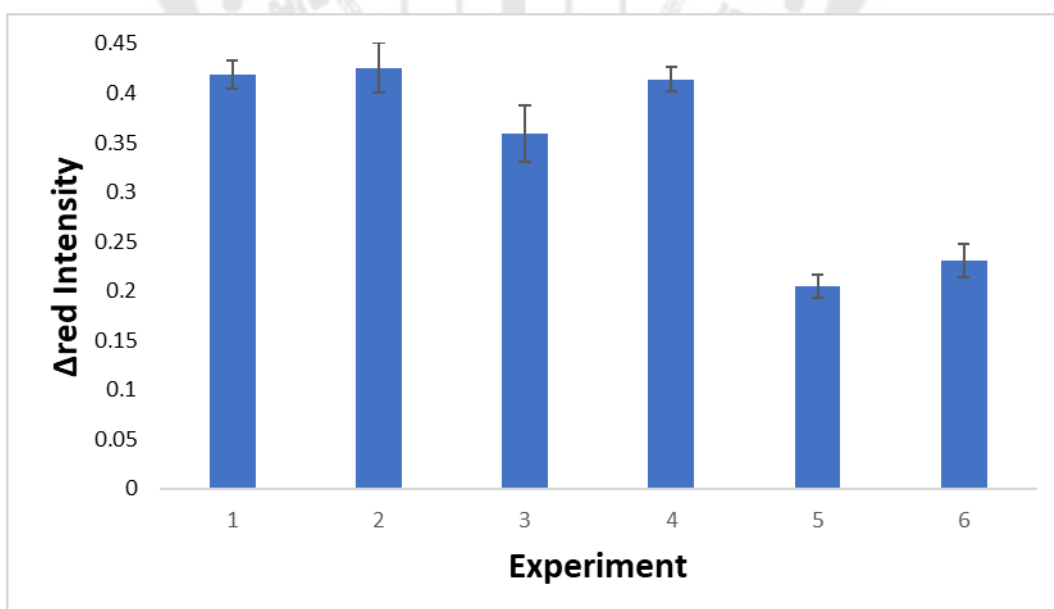
ตาราง 3 แสดงลำดับการหยดสารละลาย

ชุดการทดลอง	สารลำดับที่ 1	สารลำดับที่ 2	สารลำดับที่ 3
1	สารละลายโพแทสเซียม เฟอร์ไรไซด์	สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์	สารละลายกรดฟอสฟอริก
2	สารละลายโพแทสเซียม เฟอร์ไรไซด์	สารละลายกรดฟอสฟอริก	สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์
3	สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์	สารละลายโพแทสเซียม เฟอร์ไรไซด์	สารละลายกรดฟอสฟอริก
4	สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์	สารละลายกรดฟอสฟอริก	สารละลายโพแทสเซียม เฟอร์ไรไซด์

ตาราง 3 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	สารลำดับที่ 1	สารลำดับที่ 2	สารลำดับที่ 3
5	สารละลายกรดฟอสฟอริก	สารละลายโพแทสเซียม เพอร์ไอซยาไนต์	สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์
6	สารละลายกรดฟอสฟอริก	สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์	สารละลายโพแทสเซียม เพอร์ไอซยาไนต์

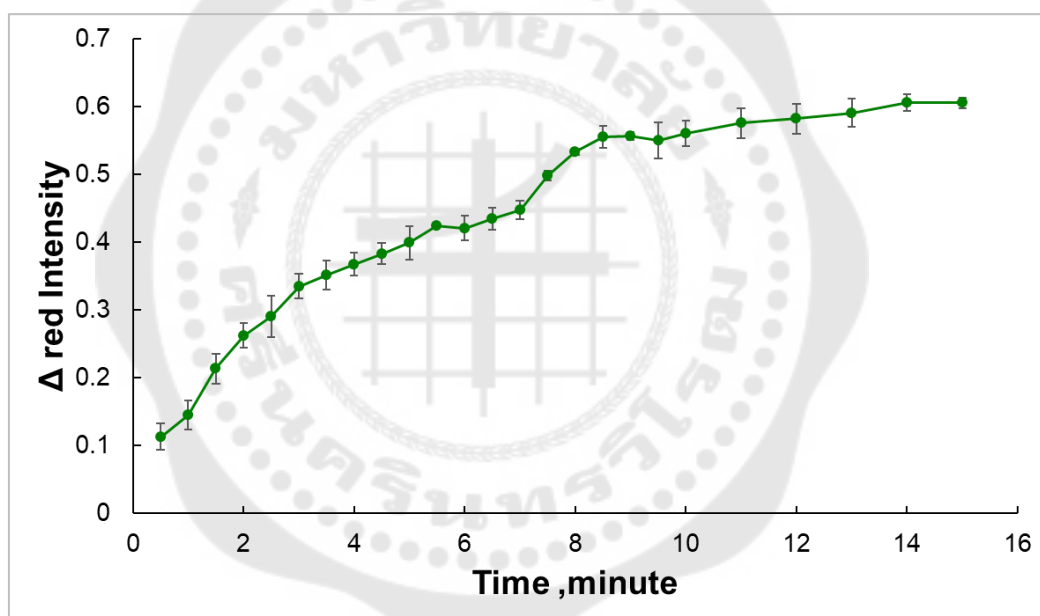
จากภาพประกอบ 20 คือผลการทดลองที่ได้จากการใช้สารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอซยาไนต์ที่มีความเข้มข้น 35 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ และสารละลายกรดฟอสฟอริกที่มีความเข้มข้น 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการทดลองพบว่าในชุดการทดลองที่ 1 - 4 มีค่าผลต่างความเข้มสีที่สูงกว่าชุดการทดลองที่ 5 และ 6 ที่ทำการหยดสารละลายกรดฟอสฟอริกลงบนแผ่นใสเป็นอันดับแรก แสดงให้เห็นว่าการหยดสารละลายกรดฟอสฟอริกลงบนแผ่นพลาสติกใสก่อนหยดรีเอเจนต์ทำให้ค่าผลต่างความเข้มสีแดงที่วัดได้มีค่าลดลง จากค่าผลต่างความเข้มสีแดงที่วัดได้ พบว่า ลำดับการหยดสารละลายที่เหมาะสมได้แก่ ชุดการทดลองที่ 2



ภาพประกอบ 21 แสดงการเปรียบเทียบค่าผลต่างความเข้มสีแดงของการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกที่มีลำดับในการหยดสารละลายต่างกัน

ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมของการเกิดปฏิกิริยาสำหรับการวิเคราะห์กรดโฟลิก

การศึกษเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโอไดต์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ และสารละลายกรดโฟลิกที่ความเข้มข้น 35 มิลลิโมลาร์ 40 มิลลิโมลาร์ และ 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยทำการศึกษาเวลาในช่วง 1 – 15 นาที จากภาพประกอบ 21 พบว่าในช่วงเวลา 1 – 8 นาที ผลต่างความเข้มสีแดงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จากนั้นจะมีค่าคงที่หรือเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตั้งแต่ 8 นาที เป็นต้นไป ดังนั้นระยะเวลา 8 นาทีจึงเป็นเวลาที่เหมาะสมและเพียงพอในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารตัวอย่างและรีเอเจนต์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิก



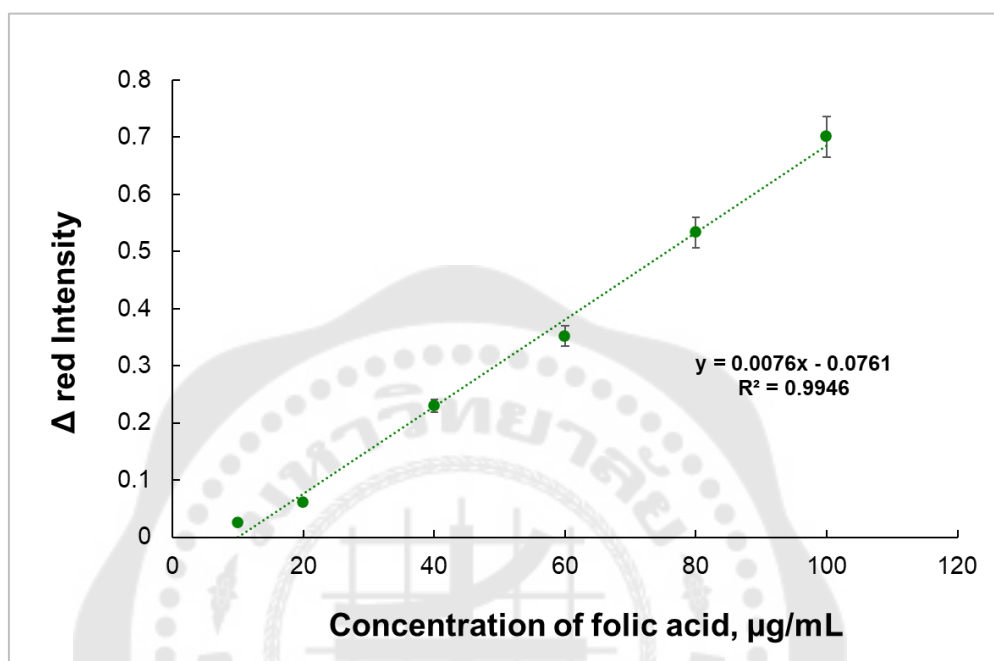
ภาพประกอบ 22 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงและเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

การหาช่วงความเป็นเส้นตรง

เมื่อทราบสภาวะที่เหมาะสมของการทดลอง จึงได้ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นโดยพบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงที่สามารถตรวจวิเคราะห์กรดโฟลิกได้อยู่ในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 10 – 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในภาพประกอบ 22

และพบว่ากราฟมาตรฐานให้สมการเชิงเส้นตรงคือ $y = 0.0076x - 0.0761$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9946 ซึ่งมีค่าเข้าใกล้ 1 อยู่ในระดับที่มีความถูกต้องและยอมรับได้



ภาพประกอบ 23 แสดงกราฟมาตรฐานของกรดโฟลิก

ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOQ)

จากการศึกษาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ โดยการวัดค่าผลต่างความเข้มสีแดงของสารละลายมาตรฐาน และสารละลายแบลนด์ (Blank) พบว่าที่ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้เท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การหาค่าความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์แสดงในตาราง 3 พบค่าความเที่ยงภายในวันเดียวกันของการวิเคราะห์มีค่าอยู่ในช่วง 1.50 – 2.32 % และค่าความเที่ยงระหว่างวันของการวิเคราะห์มีค่าอยู่ในช่วง 2.17 – 2.85 % ซึ่งเป็นค่าที่สามารถยอมรับได้ แสดงว่าวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้มีความเที่ยง

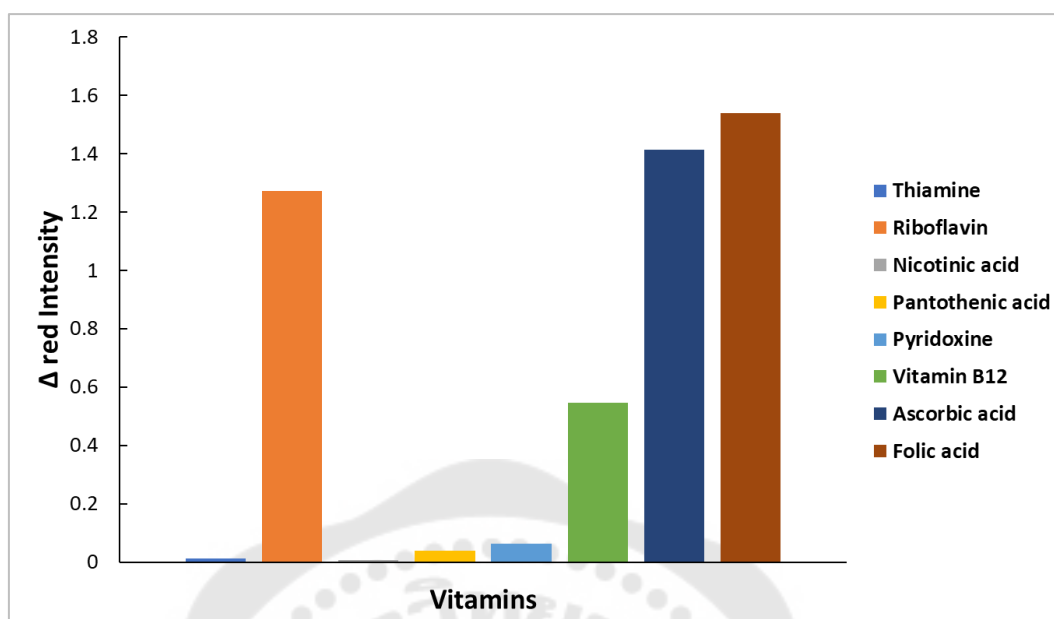
ตาราง 4 ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในการวิเคราะห์

ความเข้มข้นของกรดโฟลิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	%RSD ภายในวันเดียวกัน	%RSD ระหว่างวัน
40	1.50	2.85
60	1.56	2.17
80	2.32	2.44

การศึกษาผลของสารรบกวน

ผลการศึกษาผลของสารรบกวนที่มีต่อปฏิกิริยา

การศึกษาผลการรบกวนจากวิตามินบีชนิดอื่น ๆ และวิตามินซีที่มีต่อวิธีที่พัฒนาขึ้น สารรบกวนที่นำมาศึกษา ได้แก่ ไทแอมีนไฮโดรคลอไรด์ (วิตามินบี 1) ไรโบฟลาวิน (วิตามินบี 2) กรดนิโคตินิก (วิตามินบี 3) กรดแพนโทเทนิก (วิตามินบี 5) ไพริดอกซีนไฮโดรคลอไรด์ (วิตามินบี 6) โคบาลมีน (วิตามินบี 12) และกรดแอสคอร์บิกหรือวิตามินซี จากภาพประกอบ 23 พบว่าไทแอมีนไฮโดรคลอไรด์ กรดนิโคตินิก กรดแพนโทเทนิก ไพริดอกซีนไฮโดรคลอไรด์ และวิตามินบี 12 ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาเป็นสารประกอบเชิงซ้อนได้ เนื่องจากวิตามินเหล่านี้ไม่มีสมบัติของตัวรีดิวซ์ แต่จะสังเกตเห็นว่าวิตามินบี 12 ส่งผลกระทบบต่อค่าผลต่างความเข้มสีแดงได้ เนื่องจากสารมาตรฐานวิตามินบี 12 มีสีแดง ดังนั้นสีของสารละลายวิตามินบี 12 จึงส่งผลรบกวนการวัดค่าความเข้มสี นอกจากนี้ไรโบฟลาวิน และกรดแอสคอร์บิก ยังสามารถรบกวนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของกรดโฟลิกได้เนื่องจากไรโบฟลาวิน และกรดแอสคอร์บิกมีคุณสมบัติในการเป็นตัวรีดิวซ์เช่นเดียวกับกรดโฟลิก ดังนั้น การวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิกในตัวอย่างที่มีไรโบฟลาวิน และกรดแอสคอร์บิก เป็นองค์ประกอบจำเป็นต้องอาศัยการเตรียมตัวอย่างเพื่อกำจัดไรโบฟลาวิน และกรดแอสคอร์บิกออกไป ก่อนทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น เพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจงของการตรวจวิเคราะห์



ภาพประกอบ 24 แสดงการเปรียบเทียบผลต่างความเข้มสีแดงของวิตามินบีต่าง ๆ และวิตามินซี

ผลการหาปริมาณกรดโฟลิกในตัวอย่างจริง

การวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิกในตัวอย่างยาเม็ดทั้งหมด 2 ชนิด ที่ซื้อได้ในท้องตลาด ทำการทดสอบโดยวิธีการเติมสารมาตรฐานกรดโฟลิกที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ลงไปในตัวอย่าง จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดโฟลิกภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ผลการวิเคราะห์แสดงในตาราง 4 พบว่า ยาเม็ดชนิดที่ 1 ตรวจพบปริมาณกรดโฟลิกเท่ากับ 26.83 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่าร้อยละการกลับคือ (% Recovery) อยู่ในช่วง 93.02 – 102.17 และค่าร้อยละความเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ในช่วง 0.61 – 1.91 ในยาเม็ดชนิดที่ 2 ตรวจพบปริมาณกรดโฟลิกเท่ากับ 24.69 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า % Recovery อยู่ในช่วง 91.89 – 103.96 % และ %RSD อยู่ในช่วง 0.97 – 2.53 % แสดงให้เห็นว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิกในตัวอย่างเม็ดยาได้จริง และให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความแม่นยำและความเที่ยงที่ยอมรับได้

ตาราง 5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกในตัวอย่างเม็ดยา

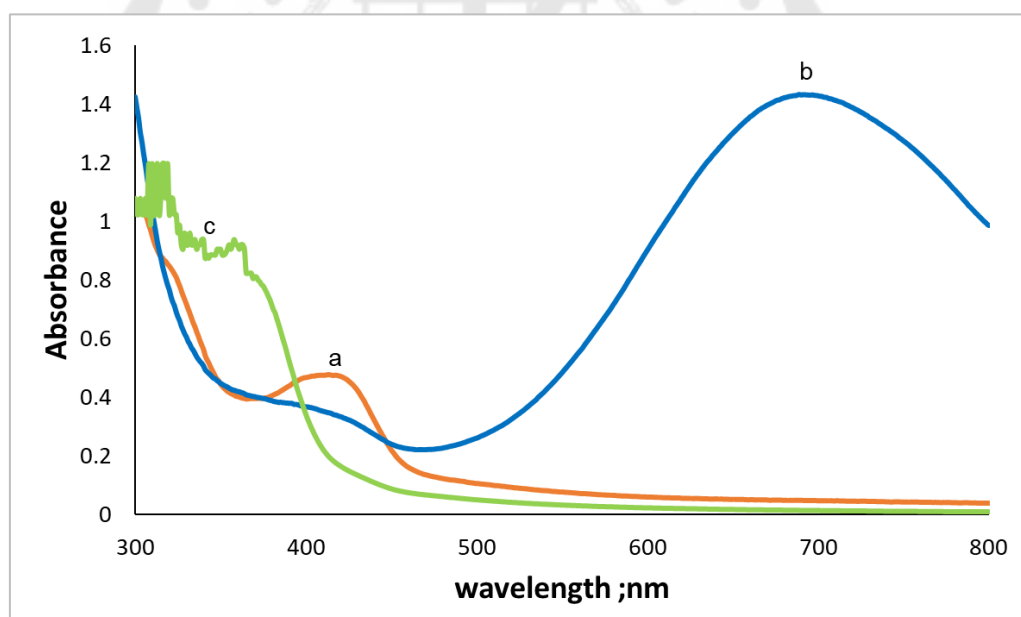
ยาเม็ดกรดฟอสฟอริก	ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก		% Recovery	% RSD
	ที่เดิม (ไม่โครกรั่มต่อ มิลลิลิตร)	ที่พบ (ไม่โครกรั่มต่อ มิลลิลิตร)		
ชนิดที่ 1	0	26.83	-	0.61
	20	45.44	93.02	1.31
	30	55.28	94.84	1.91
	40	67.70	102.17	1.46
ชนิดที่ 2	0	24.69	-	1.25
	20	43.07	91.89	0.97
	30	52.95	94.20	2.53
	40	66.27	103.96	1.62

**ตอนที่ 2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดฟอสฟอริกโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างสารละลาย
โพแทสเซียมเพอร์ไอซายาไนต์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับ
นาโน**

งานวิจัยส่วนนี้เป็นการศึกษาปฏิกิริยาแบบใหม่ระหว่างการใช้สารละลายรีเอเจนต์ดั้งเดิมร่วมกับอนุภาคโลหะ โดยคาดหวังการลดระยะเวลาการวิเคราะห์ และการเพิ่มความจำเพาะเจาะจงทางการวิเคราะห์จากกลไกการเกิดปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน โดยทำการผสมสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอซายาไนต์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน หรืออนุภาคนาโนเงิน เพื่อให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีฟ้าอมเขียวหรือปรัสเซียนบลูก่อน จากนั้นจะทำการติดตามการฟอกจางสีของสารประกอบเชิงซ้อนปรัสเซียนบลูด้วยสารละลายกรดฟอสฟอริก โดยผลการศึกษาและการอภิปรายผลแสดงในลำดับต่อไปดังนี้

ผลการศึกษากลไกการฟอกจางสีของปฏิกิริยาระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอริชยานาइट สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน ด้วยเทคนิคยูวี – วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี

จากการศึกษาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายโพแทสเซียมเพอริชยานาइट สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ อนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน และสารละลายกรดฟอสฟอริก ในภาพประกอบ 25 แสดงให้เห็นสเปกตรัมของสารละลายรีเอเจนต์ดั้งเดิมมีการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 400 นาโนเมตร ในเส้น a และเมื่อทำการเติมอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนลงไปทำให้เกิดการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 600 - 800 นาโนเมตร ในเส้น b แสดงให้เห็นว่าการเติมอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนปรัสเซียนบลู จากนั้นเมื่อทำการเติมสารละลายกรดฟอสฟอริกในสารประกอบเชิงซ้อนปรัสเซียนบลูที่เกิดขึ้นจะได้สเปกตรัม c ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนปรัสเซียนบลูในช่วงความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรลดลงแสดงให้เห็นถึงการฟอกจางสีของสารประกอบเชิงซ้อนปรัสเซียนบลู



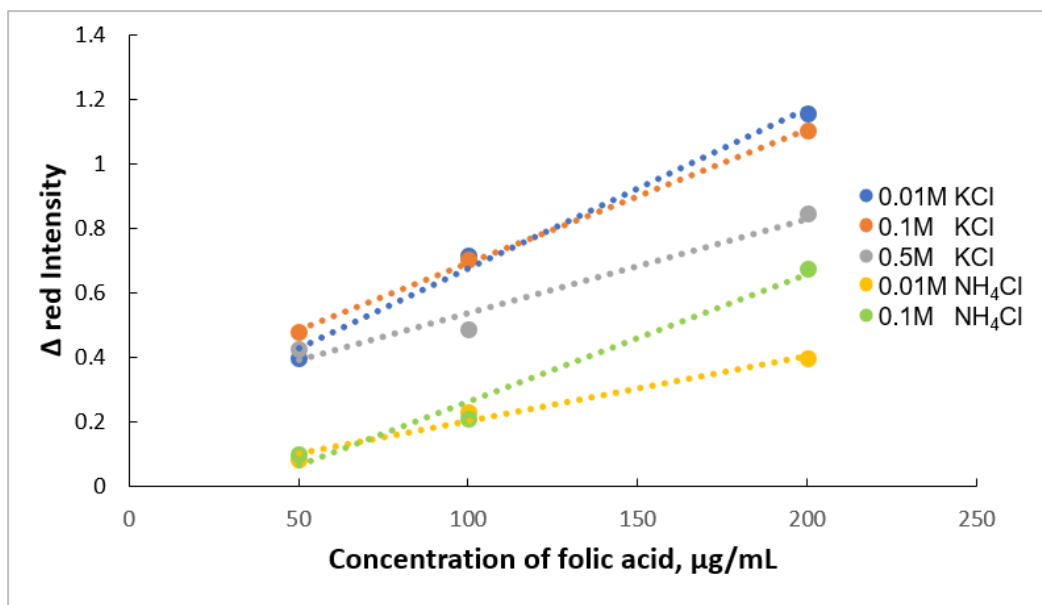
ภาพประกอบ 25 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลาย; (a) สารละลายผสมระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอริชยานาइट และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (b) สารละลายผสมระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอริชยานาइट สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน และ (c) สารละลายผสมระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอริชยานาइट สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ อนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน และสารละลายกรดฟอสฟอริก

ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอธยาไนต์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน

ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกโดยการฟอกจางสีสารประกอบเชิงซ้อนปรัสเซียนบลูมีปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์และได้ทำการศึกษา ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย ความเข้มข้นของตัวทำละลาย ความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอธยาไนต์ ความเข้มข้นของสารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ ความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน และเวลาที่ใช้ในการฟอกจางสีสารประกอบเชิงซ้อนปรัสเซียนบลู

ผลการศึกษาชนิดและความเข้มข้นของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดฟอสฟอริกโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอธยาไนต์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน

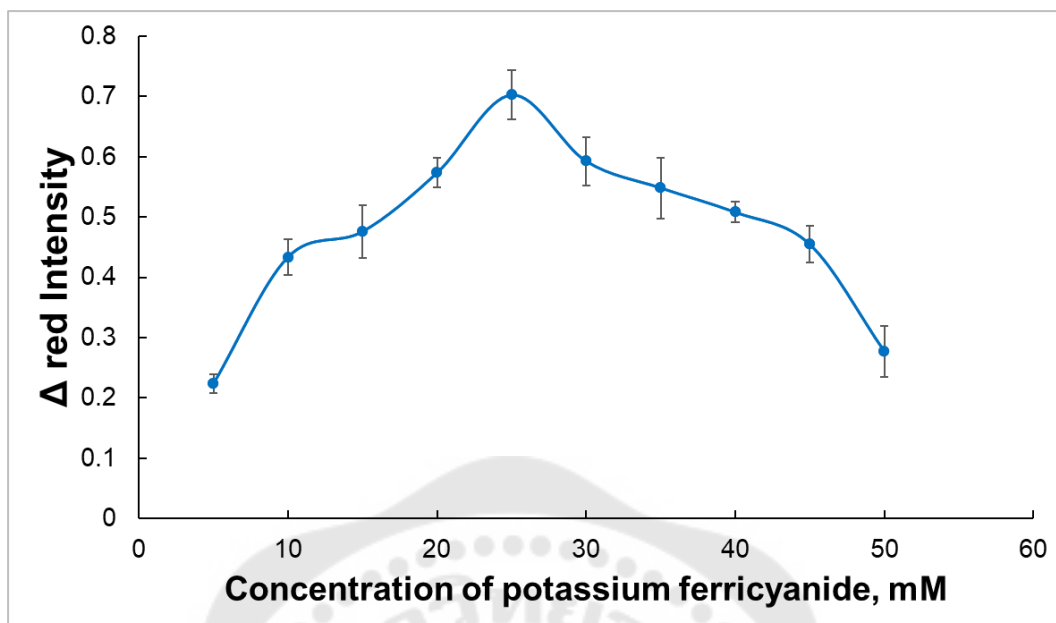
การศึกษานี้ของตัวทำละลายโดยทำการศึกษา 2 ชนิด คือ สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.01 0.1 และ 0.5 โมลาร์ และสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.01 และ 0.1 โมลาร์ จากภาพประกอบ 24 พบว่าการใช้สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เป็นตัวทำละลายให้ค่าผลต่างความเข้มสีแดงที่สูงกว่าการใช้สารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นตัวทำละลาย และสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ให้ค่าผลต่างความเข้มสีที่สูงที่สุดแต่ทำให้เกิดการตกตะกอนของสารละลายเพอร์ริกคลอไรด์เช่นกัน ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ซึ่งมีค่าผลต่างความเข้มสีรองลงมาเป็นตัวทำละลายแต่ไม่ทำให้สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ตกตะกอนแทนการใช้สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์



ภาพประกอบ 26 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงและความเข้มข้นของกรดโฟลิกที่ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเฟอริไซยาไนด์ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดโฟลิก

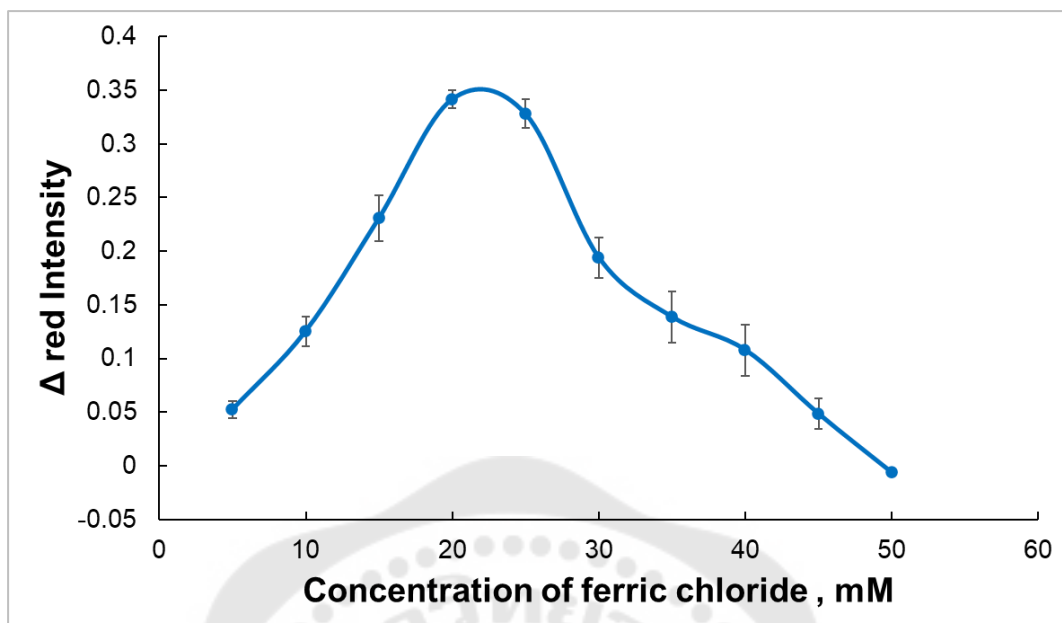
ทำการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเฟอริไซยาไนด์ที่ความเข้มข้นในช่วง 5 - 50 มิลลิโมลาร์ ทำการวิเคราะห์โดยกำหนดความเข้มข้นของสารละลายเฟอริกคลอไรด์ที่ 40 มิลลิโมลาร์ สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนที่ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายกรดโฟลิกที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากภาพประกอบ 25 พบว่าผลต่างความเข้มสีแดงของสารละลายเพิ่มขึ้นในช่วงความเข้มข้นสารละลายโพแทสเซียมเฟอริไซยาไนด์ตั้งแต่ 5 - 25 มิลลิโมลาร์ จากนั้นผลต่างความเข้มสีแดงของสารละลายลดลงเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นมากกว่า 25 มิลลิโมลาร์ เนื่องจากปริมาณของสารละลายโพแทสเซียมเฟอริไซยาไนด์ที่มากเกินไปจะทำให้สารประกอบเชิงซ้อนตกตะกอนและไม่เกิดการฟอกจางสี ดังนั้นความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเฟอริไซยาไนด์ที่เหมาะสมในปฏิกิริยานี้จึงเท่ากับ 25 มิลลิโมลาร์



ภาพประกอบ 27 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ริไซยาไนด์

ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดโฟลิก

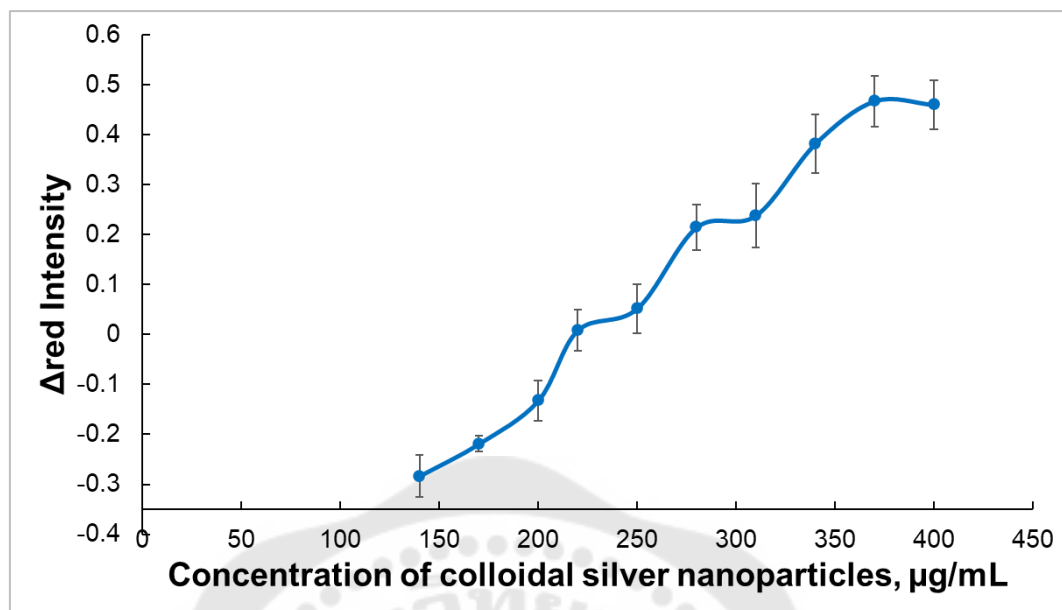
จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ที่ความเข้มข้นระหว่าง 5 – 50 มิลลิโมลาร์ ทำการวิเคราะห์โดยใช้สารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ริไซยาไนด์ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนที่ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายกรดโฟลิกที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าค่าผลต่างความเข้มสีแดงของสารละลายเพิ่มขึ้นตั้งแต่ความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ในช่วง 5 - 20 มิลลิโมลาร์ ดังภาพประกอบ 26 แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์สูงขึ้นมากกว่าหรือเท่ากับเป็น 30 มิลลิโมลาร์ ค่าผลต่างความเข้มสีแดงที่วัดได้มีค่าที่ลดลง เนื่องจากสารประกอบเชิงซ้อนเกิดการตกตะกอน และไม่สามารถฟอกจากสีด้วยกรดโฟลิกได้ และค่าผลต่างความเข้มสีแดงของสารละลายในช่วงความเข้มข้น 20 - 25 มิลลิโมลาร์มีค่าค่อนข้างคงที่ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ในปฏิกิริยานี้จึงเท่ากับ 20 มิลลิโมลาร์



ภาพประกอบ 28 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงกับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์

การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดฟอสฟอริก

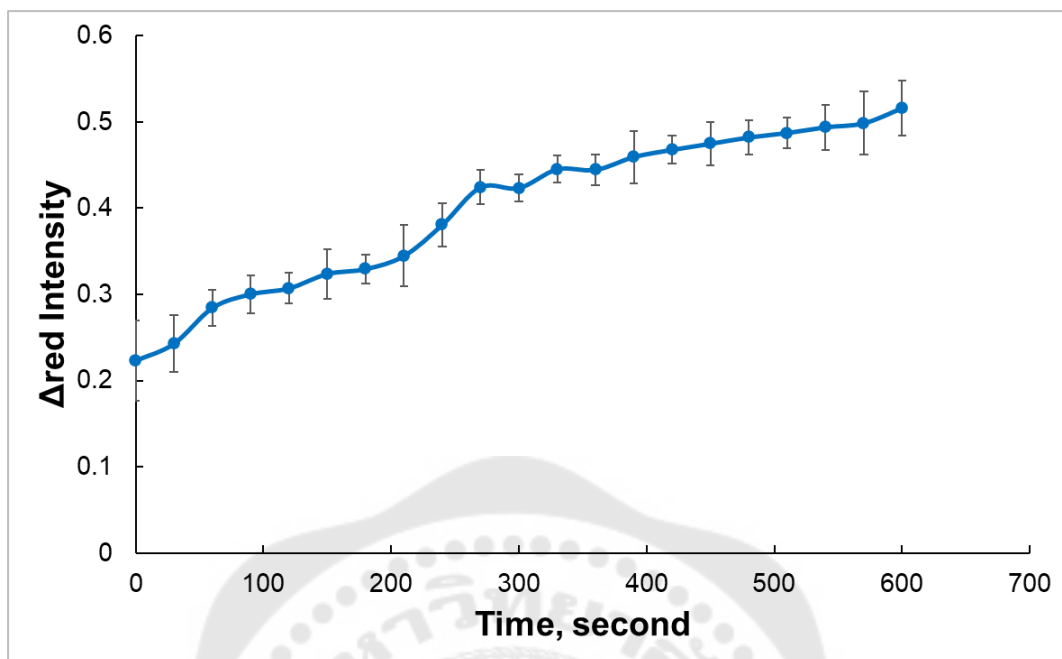
จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนในช่วงความเข้มข้น 140 - 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการวิเคราะห์โดยใช้สารละลายโพแทสเซียมเฟอร์ไรไซยาไนด์ที่มีความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ และสารละลายกรดฟอสฟอริกที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากภาพประกอบ 27 แสดงให้เห็นว่าผลต่างความเข้มสีแดงของสารละลายก่อนและหลังการเติมกรดฟอสฟอริกเพิ่มขึ้นในช่วงความเข้มข้นของอนุภาคนาโนเงินระหว่าง 140 - 360 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นผลต่างความเข้มสีแดงของสารละลายจะเริ่มคงที่ตั้งแต่ความเข้มข้น 360 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นต้นไป ดังนั้นความเข้มข้นของสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนที่เหมาะสมในปฏิริยานี้ที่ทำให้ค่าผลต่างความเข้มสีแดงสูงสุดเท่ากับ 360 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพประกอบ 29 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน

ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมของการเกิดปฏิกิริยาสำหรับการวิเคราะห์กรดฟอสฟอริก

การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาของสารละลายผสมระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไฮยาไนต์ 25 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ สารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนความเข้มข้น 360 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรโดยทำการศึกษาในช่วงระยะเวลา 1 – 10 นาที จากภาพประกอบ 28 พบว่าในช่วงเวลาเริ่มต้น คือ 1 – 5 นาทีแรก ผลต่างความเข้มสีแดงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จากนั้นจะมีค่าคงที่หรือเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเวลาในการเกิดปฏิกิริยามากกว่า 5 นาที ดังนั้นเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกเท่ากับ 5 นาที ซึ่งสามารถลดระยะเวลาในการวิเคราะห์จากตอนแรกได้ 3 นาที

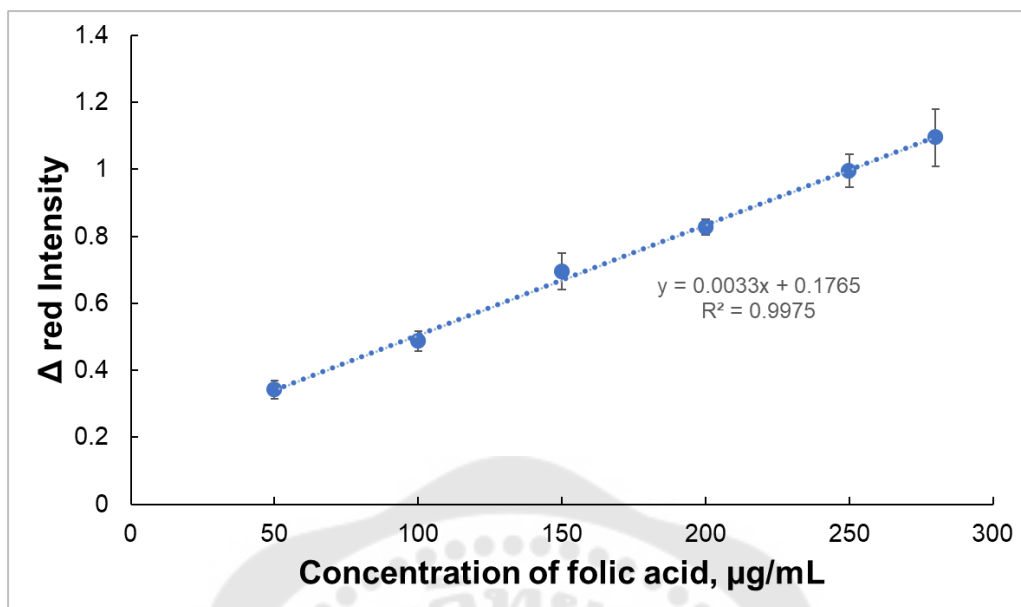


ภาพประกอบ 30 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างความเข้มสีแดงและเวลาที่ใช้เกิดปฏิกิริยา

การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

การหาช่วงความเป็นเส้นตรง

เมื่อทราบสภาวะที่เหมาะสมของการทดลอง จึงได้ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีการวิเคราะห์โดยพบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้อยู่ในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 50 – 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในภาพประกอบ 29 และพบว่ากราฟมาตรฐานให้สมการเชิงเส้นตรงมีค่าเท่ากับ $y = 0.0033x - 0.1765$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9975 ซึ่งมีค่าเข้าใกล้ 1 อยู่ในระดับที่มีความถูกต้องและยอมรับได้



ภาพประกอบ 31 แสดงกราฟมาตรฐานของกรดโฟลิก

ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOQ)

จากการศึกษาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ โดยการวัดค่าความเข้มสีแดงของสารละลายมาตรฐาน และสารละลายแบบบลิ้น พบว่าค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้เท่ากับ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การหาค่าความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์แสดงในตาราง 5 พบว่าค่าความเที่ยงภายในวันเดียวกันของการวิเคราะห์ให้การวิเคราะห์อยู่ในช่วง 0.81 – 2.49 % และค่าความเที่ยงระหว่างวันของการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 1.09 – 3.81 % ซึ่งเป็นค่าที่สามารถยอมรับได้ แสดงให้เห็นว่าวิธีการวิเคราะห์นี้มีความเที่ยง

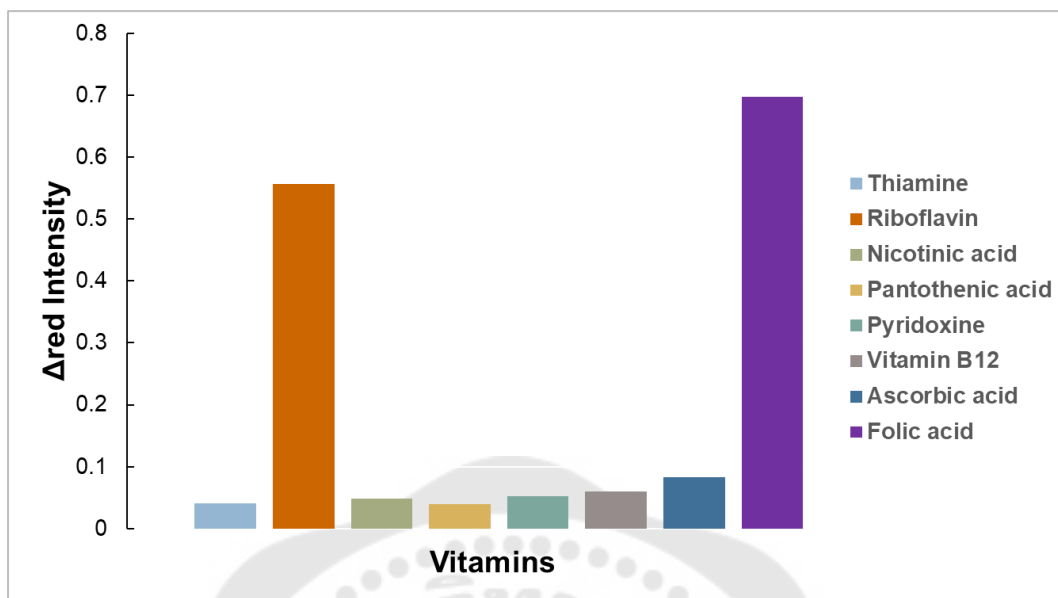
ตาราง 6 ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในการวิเคราะห์

ความเข้มข้นของกรดฟอลิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	%RSD ภายในวันเดียวกัน	%RSD ระหว่างวัน
100	2.49	1.67
150	1.45	3.81
200	0.81	1.09

การศึกษาผลของสารรบกวน

ผลการศึกษาผลของสารรบกวนที่มีต่อปฏิกิริยา

การศึกษาผลการรบกวนจากวิตามินบีอื่น ๆ และวิตามินซี ที่มีต่อวิธีที่พัฒนาขึ้น สารรบกวนที่นำมาศึกษา ได้แก่ ไทแอมีนไฮโดรคลอไรด์ (วิตามินบี 1) ไรโบฟลาวิน (วิตามินบี 2) กรดนิโคตินิก (วิตามินบี 3) กรดแพนโทเทนิก (วิตามินบี 5) ไพริดอกซีนไฮโดรคลอไรด์ (วิตามินบี 6) โคบาลมีน (วิตามินบี 12) และกรดแอสคอร์บิกหรือวิตามินซี ในภาพประกอบ 30 พบว่า ไทแอมีนไฮโดรคลอไรด์ กรดนิโคตินิก กรดแพนโทเทนิก ไพริดอกซีนไฮโดรคลอไรด์ วิตามินบี 12 และกรดแอสคอร์บิก ไม่สามารถพอกจางสีสารประกอบเชิงซ้อนปรัสเซียนบลูได้ ในขณะที่ไรโบฟลาวิน ยังสามารถรบกวนการพอกจางสีสารประกอบเชิงซ้อนของกรดฟอลิกได้ เนื่องจากไรโบฟลาวิน มีคุณสมบัติในการเป็นตัวรีดิวซ์เช่นเดียวกับกรดฟอลิก และน่าจะมีลำดับความแรงของการเป็นตัวรีดิวซ์ที่ใกล้เคียงกับกรดฟอลิก สำหรับกรดแอสคอร์บิก ไม่แสดงการรบกวนในการตรวจวัดด้วยระบบนี้ ผู้วิจัยคาดว่า กรดแอสคอร์บิกมีความเป็นตัวรีดิวซ์ที่แรงจึงเกิดสามารถไปออกซิไดส์อนุภาคนาโนเงินได้ด้วย จึงเกิดการแข่งขันระหว่างการพอกจางสีของสารประกอบเชิงซ้อนปรัสเซียนบลู ทำให้ท้ายที่สุดไม่สามารถเห็นการพอกจางสีได้ แต่อย่างไรก็ตามการพิสูจน์สมมติฐานนี้ ยังคงต้องทำการวิจัยอีกต่อไปโดยใช้เครื่องมือระดับสูงที่สามารถบ่งชี้กลไกการเกิดปฏิกิริยาที่แท้จริงสืบต่อไป



ภาพประกอบ 32 แสดงการเปรียบเทียบผลต่างความเข้มสีแดงของวิตามินบีต่าง ๆ และวิตามินซี

ผลการหาปริมาณกรดโฟลิกในตัวอย่างจริง

การวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิกในตัวอย่างยาเม็ดทั้งหมด 2 ชนิด ทำการทดสอบโดยการเติมสารมาตรฐานกรดโฟลิกที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ลงไปในตัวอย่าง จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดโฟลิกภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ผลการวิเคราะห์จะแสดงในตาราง 6 พบว่า ยาเม็ดชนิดที่ 1 ตรวจพบปริมาณกรดโฟลิกเท่ากับ 99.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า % Recovery อยู่ในช่วง 99.32 – 106.01 % และ % RSD อยู่ในช่วง 0.31 – 3.46 % และในยาเม็ดชนิดที่ 2 ตรวจพบปริมาณกรดโฟลิกเท่ากับ 91.29 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า % Recovery อยู่ในช่วง 98.35 – 110.83 % และ % RSD อยู่ในช่วง 0.09 – 2.97 % แสดงให้เห็นว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถวิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิกได้จริง โดยใช้ความแม่นยำและความเที่ยงของการตรวจวัดที่ยอมรับได้

ตาราง 7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกในตัวอย่างเม็ดยา

ยาเม็ดกรดฟอสฟอริก	ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก		% Recovery	% RSD
	ที่เติม (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ที่พบ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		
ชนิดที่ 1	0	99.32	-	0.31
	50	151.20	103.76	1.34
	75	173.81	99.32	3.46
	100	205.33	106.01	0.67
ชนิดที่ 2	0	91.29	-	1.57
	50	146.70	110.83	0.09
	75	172.68	108.53	2.97
	100	189.64	98.35	0.55



บทที่ 5

สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิกด้วยเทคนิคเชิงสีร่วมกับอุปกรณ์ฐานแผ่นใส เพื่อเป็นวิธีการวิเคราะห์ทางเลือกใหม่ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้นอกห้องปฏิบัติการได้ โดยขั้นตอนการวิจัยแบ่งตามวิธีการตรวจวิเคราะห์ออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนแรกเป็นการติดตามเกิดสีของสารละลายโดยใช้ปฏิกิริยารีดอกซ์ระหว่างกรดฟอลิก และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ในสภาวะที่มีสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธยาไนต์ ซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีน้ำเงินอมเขียว และส่วนที่สองเป็นการศึกษาการฟอกจางสีของสารละลายผสมระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธยาไนต์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนด้วยสารละลายกรดฟอลิก

การวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิกโดยการเกิดปฏิกิริยาร่วมกับสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธยาไนต์ และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ โดยมีสภาวะการทดลองที่เหมาะสมเพื่อการวิเคราะห์คือการใช้สารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์เป็นตัวทำละลาย การใช้สารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอโธยาไนต์ที่ความเข้มข้น 35 มิลลิโมลาร์ และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ใช้ระยะเวลา 8 นาทีสำหรับการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนบนอุปกรณ์ฐานแผ่นใสที่เคลือบด้วยแว็กซ์ จากนั้นนำไปถ่ายภาพด้วยโทรศัพท์มือถือภายใต้กล้องควบคุมแสง และนำไปวัดค่าความเข้มสีแดงด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิก ทำการศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นของปริมาณกรดฟอลิกที่ตรวจวัดได้พบว่ามีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 10 – 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9946 จากสมการเส้นตรง $y = 0.0076x - 0.0761$ และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (LOQ) เท่ากับ 2 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

การศึกษาผลของสารบบกวนที่มีต่อการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนทั้งหมด 7 ชนิด พบว่าไทแอมีนไฮโดรคลอไรด์ กรดนิโคตินิก กรดแพนโทเทนิค ไพริดอกซีนไฮโดรคลอไรด์ และวิตามินบี 12 ไม่รบกวนการเกิดปฏิกิริยา แต่ไรโบฟลาวินและกรดแอสคอร์บิกยังคงมีผลรบกวนการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนโดยทำให้ค่าผลต่างความเข้มสีแดงที่วัดได้นั้นมากเกินจริง ทำให้ต้องศึกษาการกำจัดสารทั้ง 2 นี้ต่อไป

การประยุกต์ใช้โดยการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิกในตัวอย่างยา พบว่ามี %recovery และ %RSD อยู่ในช่วง 91.89 – 103.96 % และ 0.61 – 2.53 % ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่สามารถ

ยอมรับได้นอกจากนั้นยังวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิกในเม็ดยาได้ใกล้เคียงกับปริมาณที่ถูกระบุไว้บริเวณฉลากยา

จากการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิกโดยการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนร่วมกับสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอธยาไนต์ และสารละลายเพอร์ริกคลอไรด์สามารถตรวจวัดปริมาณกรดฟอลิกได้ โดยไม่ต้องอาศัยเครื่องมือขนาดใหญ่ที่มีความซับซ้อน ราคาแพง และสามารถนำไปประยุกต์ในภาคสนามต่อไปได้ อีกทั้งยังสามารถวิเคราะห์ได้อย่างแม่นยำ แต่ยังคงใช้ระยะเวลาที่นานและยังมีวิตามินที่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการวิเคราะห์หลายชนิดจึงมีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์เพิ่มเติมเพื่อลดปัญหาดังกล่าวโดยเลือกใช้อนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนร่วมในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน

การวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิกโดยการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอธยาไนต์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ และอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโน และติดตามการฟอกจางสีสารประกอบเชิงซ้อนด้วยสารละลายกรดฟอลิก พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์มีดังนี้ สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสม การใช้สารละลายโพแทสเซียมเพอร์ไอธยาไนต์ที่มีความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ สารละลายเพอร์ริกคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ และสารละลายอนุภาคแขวนลอยเงินระดับนาโนที่ 360 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรคือความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน โดยใช้ระยะเวลาเพียง 5 นาทีในการฟอกจางสีสารประกอบเชิงซ้อนด้วยกรดฟอลิกบนอุปกรณ์ฐานแผ่นใสที่เคลือบด้วยแก้ว จากนั้นนำไปถ่ายภาพด้วยโทรศัพท์มือถือภายใต้กล้องควบคุมแสง และนำไปวัดค่าความเข้มสีแดงด้วยโปรแกรมอิมเมจเจ

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอลิก ทำการศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นของปริมาณกรดฟอลิกที่ตรวจวัดได้ ได้รับความสัมพันธ์ในช่วง 50 – 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9975 จากสมการเส้นตรง $y = 0.0033x - 0.1765$ และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ เท่ากับ 10 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

การศึกษาผลของสารรบกวนที่มีต่อการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนทั้งหมด 7 ชนิด พบว่าไทแอมีนไฮโดรคลอไรด์ กรดนิโคตินิก กรดแพนโทเทนิก ไพรดอกซีนไฮโดรคลอไรด์ วิตามินบี 12 และกรดแอสคอร์บิกไม่รบกวนการเกิดปฏิกิริยา แต่ไรโบฟลาวินและกรดแอสคอร์บิกยังคงมีผลรบกวนการฟอกจางสีสารประกอบเชิงซ้อนโดยทำให้ค่าผลต่างความเข้มสีแดงที่วัดได้นั้นมากเกินไป

จริง ดังนั้นก่อนการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกในตัวอย่างที่ซับซ้อนจึงยังต้องอาศัยวิธีการเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสมก่อนการวิเคราะห์เพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจง

การวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกในตัวอย่างเม็ดยา พบว่ามี %recovery และ %RSD อยู่ในช่วง 98.35 – 110.83 % และ 0.09 – 3.46 % ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่สามารถยอมรับได้ นอกจากนี้ยังวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกในเม็ดยาได้ใกล้เคียงกับปริมาณที่ถูกระบุไว้บริเวณฉลากยา

แต่อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่ได้พัฒนาขึ้นในส่วนที่สองนี้ สามารถลดระยะเวลาการวิเคราะห์ลง และเป็นแนวทางในการค้นหาคำตอบร่วมกันระหว่างสารละลายรีเอเจนต์อื่น ๆ และอนุภาคนาโนโลหะอื่น ๆ เพื่อเพิ่มสภาพไวและความจำเพาะเจาะจงของการตรวจวัดต่อไป

งานวิจัยในอนาคต

จากงานวิจัยข้างต้น จะเห็นได้ว่าการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกทั้ง 2 วิธียังคงพบการรบกวนของไบโอฟลาวินซึ่งเป็นสารในกลุ่มเดียวกับกับกรดฟอสฟอริก ดังนั้นงานวิจัยในอนาคตจึงต้องมีการพัฒนาการเตรียมตัวอย่างเพิ่มเติมเพื่อให้สามารถวิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกในตัวอย่างที่มีสารรบกวนการวิเคราะห์ได้ หรือการค้นหาระบบรีเอเจนต์ใหม่ร่วมกับอนุภาคนาโนโลหะอื่น ๆ นอกจากนี้ผู้วิจัยคาดว่า การพัฒนาการวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธีให้สามารถใช้งานได้พร้อมกันบนอุปกรณ์ขึ้นเดียวกันมีความน่าสนใจเพื่อให้สามารถวิเคราะห์กรดฟอสฟอริกได้อย่างแม่นยำมากยิ่งขึ้น

บรรณานุกรม

- Akyazi, T., Basabe-Desmonts, L., และ Benito-Lopez, F. (2018). Review on microfluidic paper-based analytical devices towards commercialisation. *Analytica Chimica Acta*, 1001, 1-17.
- Ali, I. O., Salama, T. M., Mohamed, M. I., Ghazy, M. B. M., และ Bakr, M. F. (2017). Synthesis and characterization of Ag nanoparticles embedded in PVA via UV-photoreduction technique for synthesis of Prussian blue pigment. *Iranian Polymer Journal*, 26(7), 511-520.
- Costa e Silva, D. d., Tiradentes, S. B. d. S. P., Parente, R. C. P., และ Bandeira, M. F. C. L. (2009). Color change using HSB color system of dental resin composites immersed in different common Amazon region beverages. *Acta Amazonica*, 39, 961-968.
- Du, L., Xu, Q., Huang, M., Xian, L., และ Feng, J.-X. (2015). Synthesis of small silver nanoparticles under light radiation by fungus *Penicillium oxalicum* and its application for the catalytic reduction of methylene blue. *Materials Chemistry and Physics*, 160, 40-47.
- Han, X., Cao, M., Wu, M., Wang, Y.-J., Yu, C., Zhang, C., . . . Huang, W. (2019). A paper-based chemiluminescence immunoassay device for rapid and high-throughput detection of allergen-specific IgE. *Analyst*, 144(8), 2584-2593.
- Harris, A. C., และ Weatherall, I. L. (1990). Objective evaluation of colour variation in the sand-burrowing beetle *Chaerodes trachyscelides* White (Coleoptera: Tenebrionidae) by instrumental determination of CIELAB values. *Journal of the Royal Society of New Zealand*, 20(3), 253-259.
- Hemmateenejad, B., Shakerizadeh-shirazi, F., และ Samari, F. (2014). BSA-modified gold nanoclusters for sensing of folic acid. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 199, 42-46.
- Jokerst, J. C., Adkins, J. A., Bisha, B., Mentele, M. M., Goodridge, L. D., และ Henry, C. S. (2012). Development of a Paper-Based Analytical Device for Colorimetric Detection

- of Select Foodborne Pathogens. *Analytical Chemistry*, 84(6), 2900-2907.
- Matias, R., Ribeiro, P. R., Sarraguca, M. C., และ Lopes, J. A. (2014). A UV spectrophotometric method for the determination of folic acid in pharmaceutical tablets and dissolution tests, 3065.
- Meelapsom, R., Jarujamrus, P., Amatatongchai, M., Chairam, S., Kulsing, C., และ Shen, W. (2016). Chromatic analysis by monitoring unmodified silver nanoparticles reduction on double layer microfluidic paper-based analytical devices for selective and sensitive determination of mercury(II). *Talanta*, 155, 193-201.
- Mentele, M. M., Cunningham, J., Koehler, K., Volckens, J., และ Henry, C. S. (2012). Microfluidic Paper-Based Analytical Device for Particulate Metals. *Analytical Chemistry*, 84(10), 4474-4480.
- Parnklang, T., Lertvachirapaiboon, C., Pienpinijtham, P., Wongravee, K., Thammacharoen, C., และ Ekgasit, S. (2013). H₂O₂-triggered shape transformation of silver nanospheres to nanoprisms with controllable longitudinal LSPR wavelengths, 12886.
- Peng, Y., Dong, W., Wan, L., และ Quan, X. (2019). Determination of folic acid via its quenching effect on the fluorescence of MoS₂ quantum dots. *Microchimica Acta*, 186(9), N.PAG-N.PAG.
- Ribeiro, M. V. d. M., Melo, I. d. S., Lopes, F. d. C. d. C., และ Moita, G. C. (2016). Development and validation of a method for the determination of folic acid in different pharmaceutical formulations using derivative spectrophotometry.
- Wang, N., Hu, Y., และ Zhang, Z. (2017). Sustainable catalytic properties of silver nanoparticles supported montmorillonite for highly efficient recyclable reduction of methylene blue. *Applied Clay Science*, 150, 47-55.
- Yakoh, A., Rattanarat, P., Siangproh, W., และ Chailapakul, O. (2018). Simple and selective paper-based colorimetric sensor for determination of chloride ion in environmental samples using label-free silver nanoprisms. *Talanta*, 178, 134-140.
- กานต์พิมล กรไกร, และ รินา ภัทรมานนท์. (2560). อนุภาคเงินนาโนสังเคราะห์ด้วยสารสกัดจากพืช และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์. วารสารวิทยาศาสตร์ มช., 45(1), 34-52.

การะเกด เทศศรี. (2556). ตัวเร่งปฏิกิริยานาโน : เทคโนโลยีการเร่งปฏิกิริยายุคใหม่. วารสาร
วิทยาศาสตร์บูรพา, 18(2), 274-280.

รักษิตา บุญพันธ์. (2550). วิตามิน = *Vitamins*: กรุงเทพฯ : บ้านหนังสือ 19.

สมทรง เลขะกุล. (2543). ซีวเคมีของวิตามิน (พิมพ์ครั้งที่ 2): กรุงเทพฯ : คณะแพทยศาสตร์ศิริราช
พยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.

อรสรวง บุตรนาค. (2549). วิตามิน A-Z (พิมพ์ครั้งที่ 2): กรุงเทพฯ : ไกล่หมอ.



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	อนัญพร เอนกรัตนทรัพย์
วัน เดือน ปี เกิด	12 พฤษภาคม 2540
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2557 มัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนสายปัญญา ในพระบรมราชินูปถัมภ์ กรุงเทพมหานคร พ.ศ. 2561 วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) เคมี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ที่อยู่ปัจจุบัน	21/1 ถนนพระราม6 แขวงรองเมือง เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร

