

การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) โดยใช้สารสกัด แอนโทไซยานินจากธรรมชาติตรวจวัดด้วยสมาร์ทโฟน Development of Quantitative Analysis Technique for Fe(III) Using Natural Anthocyanin Extract Detected by Smartphone

เกศินี เสาววงจันทร์ และศศิธร มั่นเจริญ*

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ถนนลงหาดบางแสน ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20130

Kesinee Saowongjan and Sasithorn Muncharoen*

Department of Chemistry, Faculty of Science, Burapha University,

Long-Hard Bangsaen Road, Saensook, Bangsaen, Chonburi 20131

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสารเชิงซ้อนกับสารสกัดแอนโทไซยานินจากผงกะหล่ำปลีม่วง โดยใช้สมาร์ทโฟนเป็นตัวตรวจวัด วิเคราะห์ภาพถ่ายที่ได้จากสมาร์ทโฟนด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS6 และได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ ได้แก่ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดและสภาวะที่เหมาะสมในการถ่ายภาพ (บล็อกสีวางคิเวท การวิเคราะห์ภาพถ่าย ฉาก แสง ระยะโฟกัส และบริษัทโทรศัพท์) เป็นต้น ผลการศึกษาพบว่าการใช้สีในการสกัดผงกะหล่ำปลี คือ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัด และการถ่ายภาพสารเชิงซ้อนที่วางบนบล็อกวางคิเวทสีขาวด้วยระยะโฟกัส 10 เซนติเมตร ภายใต้แสงธรรมชาติ คือ สภาวะที่เหมาะสมในการถ่ายภาพ ตามลำดับ เมื่อทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสมพบว่าเทคนิควิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ที่ 100-900 ไมโครโมลาร์ ด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) 0.9966 (สมการเส้นตรง $y = 0.0001x + 0.0190$) และขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (3sd) 73 ไมโครโมลาร์ นอกจากนี้ได้นำเทคนิคที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างยาเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน (ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมทรี) พบว่าทั้งสองเทคนิคไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ($t_{\text{stat}} = 0.09$, $t_{\text{critical}} = 3.18$)

คำสำคัญ : วิเคราะห์แบบสเปกโตรสโกปี; เหล็ก(III); สารสกัดธรรมชาติ; ระบบสี RGB; โทรศัพท์มือถือ

Abstract

The method for determination of Fe(III) using complex formation reaction between the extracted purple cabbage and Fe(III) detected by smartphone was developed in this work. Adobe Photoshop CS6 program for photos evaluation from the smartphone was used. The parameters affecting the analytical results were studied for instant optimal conditions for extraction and photo taking. The obtained results showed that distilled water was an optimal condition for purple cabbage powder extraction. In addition, photography taken under the white sample holder with a focusing distance of 10 cm in natural light on the scene was an optimal condition for photo taking. Under the optimum conditions, linearity range was in the range of 100-900 μM with correlation coefficient (r^2) of 0.9966 (linearity equation: $y = 0.0001x + 0.0190$) and limit of detection (3sd) was 73 μM . Moreover, the performance of the proposed method has been compared to that of UV-Vis spectrophotometric method as a standard method. According to the paired t -test, the results of the two methods are not significantly different at 95 % confidence ($t_{\text{stat}} = 0.09$, $t_{\text{critical}} = 3.18$).

Keywords: green analytical method; iron (III); natural extract; RGB system; cell phone

1. บทนำ

ปัจจุบันการพัฒนาการวิเคราะห์แบบเคมีสีเขียว (green analytical chemistry) ได้รับความนิยมขึ้นอย่างมากและรวดเร็ว ซึ่งการวิเคราะห์แบบสีเขียวนี้สามารถทำได้หลากหลายวิธี อาทิ การลดปริมาณการใช้สารเคมีหรือพลังงานต่าง ๆ ในการวิเคราะห์ การลดปริมาณของเสีย (waste) หรือสารพิษ (hazard) ที่เกิดขึ้นจากการทดลอง รวมทั้งการออกแบบวัสดุหรืออุปกรณ์การทดลองให้มีขนาดที่เล็กลงเพื่อใช้สารเคมีต่าง ๆ ให้น้อยลง และโดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้สารสกัดธรรมชาติ (natural extract) หรือรีเอเจนต์ธรรมชาติ (natural reagent) มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์เพิ่มมากขึ้น [1] ซึ่งรายงานการวิจัยพบว่าการใช้สารสกัดที่ได้จากวัสดุธรรมชาติต่าง ๆ อาทิ ผัก ผลไม้ และดอกไม้ มาประยุกต์ใช้เป็นสารเคมีในการทดลองได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้นอย่างมาก ตัวอย่าง เช่น การใช้สารสกัดจากกะหล่ำปลีม่วง (red

cabbage) [2,3] มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* Linn.) [4,5] กระเจี๊ยบแดง (reselle) [7] แก้วมังกร (dragon fruits) [8,9] ใบฝรั่ง (guava leave) [10] ดอกอัญชัน (*Clitoria ternatea*) [11,12] และดอกกล้วยไม้ (orchid) [13] อย่างไรก็ตาม รายงานวิจัยข้างต้นจะเห็นว่าเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์สารที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากับสารสกัดธรรมชาตินั้น ส่วนมากจะเป็นเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ เทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตเมทรี [2-7,9-13] เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม อินฟราเรด สเปกโทรสโกปี (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) [2] เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชัน สเปกโทรสโกปี (atomic absorption spectroscopy, AAS) [8] เทคนิคโฟลอินเจกชัน อะนาไลซิส (flow injection analysis) [4] เป็นต้น ทั้งนี้เพราะสารสกัดธรรมชาติที่ได้เป็นสารที่มีสี จึงทำให้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรีได้รับความนิยมในการวิเคราะห์สารสกัดธรรมชาติเหล่านี้

แต่เมื่อไม่นานมานี้ พบว่าเทคนิคการวิเคราะห์สี (colorimetry) นอกเหนือจากการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรีแล้ว การวิเคราะห์ภาพถ่ายจากสมาร์ตโฟนก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่นิยมนำมาใช้ในเทคนิคการวิเคราะห์สีด้วย และโดยทั่วไปเทคนิคการวิเคราะห์ภาพถ่ายนั้น จะเป็นการนำภาพถ่ายที่ได้ไปวิเคราะห์ในระบบค่าความเข้มสีแดง เขียว น้ำเงิน (red-green-blue, RGB system) ซึ่งพบว่าเทคนิคการวิเคราะห์ภาพถ่ายนี้ สามารถให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำ อีกทั้งยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณของสารต่าง ๆ ตัวอย่าง ได้แก่ การวิเคราะห์ปริมาณกรดซัลฟิวริกในตัวอย่างอาหาร ยา และเครื่องสำอาง [14] การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในตัวอย่างพลาสมา [15] และการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส (phosphorous) [16] และไตรโนโตรโทลูอิน (trinitrotoluene, TNT) ในตัวอย่างดิน [17] เป็นต้น ซึ่งงานวิจัยเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าเทคนิคการวิเคราะห์ภาพถ่ายจากสมาร์ตโฟนนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเป็นอย่างไรดี อีกทั้งยังใช้งานได้หลากหลายด้าน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสมัยนี้สมาร์ตโฟนยังเป็นอุปกรณ์ที่ทุกคนเข้าถึงได้ง่าย ใช้งานสะดวก รวดเร็ว และมีราคาที่ถูกลงอย่างมาก

ปัจจุบันเทคโนโลยีทางการแพทย์ได้พัฒนาขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ทราบถึงสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ อย่างถูกต้อง และนำมาซึ่งวิธีการป้องกัน และควบคุมปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคนั้น ๆ โดยหนึ่งในวิธีการป้องกันการเกิดโรค คือ การรับประทานอาหารเสริมแร่ธาตุต่าง ๆ ให้อยู่ในปริมาณที่เหมาะสมต่อร่างกาย ซึ่งแร่ธาตุที่มีความสำคัญต่อสุขภาพร่างกายของมนุษย์มีหลากหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุเหล็ก เนื่องจากธาตุเหล็กมีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางชีวภาพ นั่นคือ เป็นองค์ประกอบของเม็ดเลือดแดง

กล้ามเนื้อ และยังช่วยนำพาออกซิเจนในร่างกายด้วย อย่างไรก็ตาม หากร่างกายขาดธาตุเหล็กจะส่งผลให้จำนวนเม็ดเลือดแดงน้อยลง การนำและสะสมออกซิเจนไปสู่ส่วนต่าง ๆ ของร่างกายก็จะลดลง ทำให้เกิดภาวะซีด อ่อนล้า และจะทำให้เสี่ยงต่อการเป็นโรคโลหิตจาง (ธาลัสซีเมีย) ได้ [18] ซึ่งการป้องกันไม่ให้อาการขาดธาตุเหล็กนั้น สามารถทำได้โดยการรับประทานอาหารที่มีส่วนประกอบของธาตุเหล็ก หรือการรับประทานยาเสริมธาตุเหล็กโดยตรงตามคำแนะนำของแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ ถึงแม้ว่าธาตุเหล็กนั้นจะมีความสำคัญเป็นอย่างมาก แต่หากในร่างกายมีปริมาณของธาตุเหล็กมากเกินไปก็อาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกาย ซึ่งทำให้เกิดเป็นโรคเบาหวาน ตับหรือไตวาย และเสียชีวิตได้ [19] ดังนั้นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณของธาตุเหล็กที่มีความถูกต้อง และรวดเร็วจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งทั้งในระบบการควบคุมคุณภาพของอาหาร ยาเสริมธาตุเหล็ก หรือแม้กระทั่งการวิเคราะห์เหล็กในระบบการดูแลสุขภาพของมนุษย์เอง และด้วยเหตุผลดังกล่าวข้างต้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(III) และสารสกัดแอนโทไซยานินจากผงกะหล่ำปลีม่วง (ที่เตรียมขึ้นได้เองจากห้องปฏิบัติการ) จัดเป็นสารสกัดธรรมชาติที่มีราคาถูก และปลอดภัย โดยใช้สมาร์ตโฟนเป็นอุปกรณ์ตรวจวัด ซึ่งสามารถนำภาพถ่ายที่ได้จากสมาร์ตโฟนมาวิเคราะห์ในระบบค่าความเข้มสีแดง เขียว และน้ำเงินด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ Adobe Photoshop CS6 โดยเทคนิคที่พัฒนาขึ้นมานี้เป็นเทคนิคที่มีความปลอดภัยสูง อีกทั้งยังวิเคราะห์ปริมาณได้อย่างถูกต้องแม่นยำ สะดวก รวดเร็ว และมีราคาถูก นอกจากนี้ยังสามารถนำมาเป็นแนวทางในการพัฒนาเป็นอุปกรณ์ต้นแบบให้กับหน่วยงานที่ขาดแคลนเครื่องมืออีกทางหนึ่งด้วย

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 อุปกรณ์และสารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยต่อไปนี้เป็นเกรดวิเคราะห์ (AR-grade) โดยเฟอร์ริกคลอไรด์ เฮกซะไฮเดรต (Merck, Germany) ใช้สำหรับการเตรียมสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) ในตัวทำละลายกรดไนตริก (QRec, New Zealand) เข้มข้น 0.01 โมลาร์ สารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 4 เตรียมจากกรดอะซิติก (Qrec, New Zealand) และโซเดียมอะซิเตท (Ajax Finechem, New Zealand) ซึ่งสารเคมีดังกล่าวเตรียมด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน (deionized water, Thermo Scientific, Germany) กะหล่ำปลีม่วงที่ใช้เป็นรีเอเจนต์ธรรมชาติ ซึ่งซื้อจากตลาดสดทั่วไปในตำบลแสนสุข อำเภอบางแสน จังหวัดชลบุรี และสมาร์ตโฟนที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ Vivo รุ่น Vivo V5 Plus

2.2 การเตรียมสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีม่วง

นำกะหล่ำปลีม่วงมาล้างด้วยสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนตเข้มข้น 0.2 % (w/v) โดยแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นบดหยาบ แล้วนำไปผึ่งลม จากนั้นบดละเอียด แล้วนำไปอบในตู้อบจนกระทั่งน้ำหนักผงกะหล่ำปลีม่วงคงที่ ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วบดละเอียดอีกครั้งด้วยเครื่องปั่น (รุ่น HR1845, Philips) จากนั้นแยกขนาดด้วยตะแกรงร่อน (25 mesh) เก็บผงกะหล่ำปลีม่วงที่ได้ไว้ในเดซิเคเตอร์เพื่อนำไปใช้ต่อไป [20]

สำหรับสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารแอนโทไซยานินจากผงกะหล่ำปลีม่วง ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย และความเสถียรของสารสกัด ซึ่งชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมทดลองโดยใช้ผงแอนโทไซยานินหนัก 0.2000 กรัม ละลายในตัวทำละลายน้ำ และเอทานอลความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วเขย่า

ด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง (Whatman® No. 1) แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (รุ่น Specord 210 plus บริษัท Analytik Jena) และสำหรับความเสถียรของสารสกัดศึกษาโดยการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงระหว่างสารสกัดใหม่จากผงกะหล่ำปลีม่วงและสารสกัดที่เตรียมจากผงกะหล่ำปลีม่วงแล้วเก็บไว้ในตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) โดยตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงทุก ๆ 2 วัน จนครบ 1 เดือน

2.3 ปฏิกริยาการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(III) และสารสกัดแอนโทไซยานิน วิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรี

2.3.1 ความจำเพาะเจาะจงของปฏิกริยาการเกิดสารเชิงซ้อน

เตรียมสารละลายไอออนโลหะชนิดต่าง ๆ ได้แก่ แคดเมียม(II) สังกะสี(II) ทองแดง(II) ตะกั่ว(II) นิเกิล(II) เหล็ก(II) และเหล็ก(III) เข้มข้น 900 ไมโครโมลาร์ จากนั้นนำสารละลายโลหะแต่ละชนิดปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 5 มิลลิลิตร เติมสารสกัดแอนโทไซยานินปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตท ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (พีเอช 4) นำสารละลายดังกล่าวไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2.3.2 ความเสถียรของสารเชิงซ้อน

นำสารละลายเหล็ก(III) เข้มข้น 900 ไมโครโมลาร์ แล้วการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.3.1 โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนดังกล่าวทุก ๆ 5 นาที เป็นระยะเวลา 30 นาที

2.4 ความเป็นไปได้สำหรับการวิเคราะห์สารเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(III) และสารสกัดแอนโทไซยานินด้วยภาพถ่ายจากสมาร์ตโฟน

2.4.1 เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี

นำสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาใส่ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 5 มิลลิลิตร เติมน้ำกรดแอสคอร์บิก ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายบัฟเฟอร์อะซิเตท ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (พีเอช 4) นำสารละลายดังกล่าวไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

2.4.2 การวิเคราะห์ภาพถ่ายจากสมาร์ทโฟน

ทดลองเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี โดยนำสารละลายดังกล่าวมาถ่ายภาพด้วยสมาร์ทโฟน (การจัดตั้งอุปกรณ์ดังแสดงในรูปที่ 1) แล้วนำภาพถ่ายดังกล่าวมาประมวลผลด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS6 [21] จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนจากทั้ง 2 ระบบ (เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ และภาพถ่ายจากสมาร์ทโฟน) มาสร้างกราฟมาตรฐาน

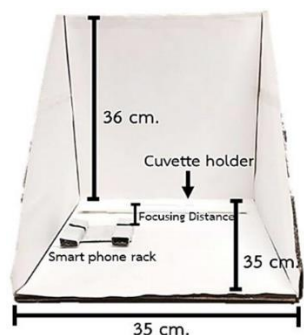


Figure 1 The device setup of the proposed method using photo analysis detected by smartphone.

2.5 สภาพที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดสารเชิงซ้อนด้วยภาพถ่ายจากสมาร์ทโฟน

2.5.1 ตำแหน่งในการวิเคราะห์ภาพถ่าย

ด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ Adobe Photoshop CS6 ทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.4 โดยดัดแปลงจาก พจนา และคณะ [21] ด้วยการลากเส้นแบ่งครึ่งความสูงของสารละลาย (line A) และตำแหน่งในการวิเคราะห์ภาพถ่ายจะอยู่ด้านบน (top position) และด้านล่าง (lower position) ของเส้นแบ่งดังกล่าว (รูปสี่เหลี่ยมหมายเลข 1 และ 2 ตามลำดับ) ดังในรูปที่ 2 ทั้งนี้เพื่อลดการสะท้อนของแสงที่เกิดขึ้นภายในภาพถ่ายทั้งด้านบนและด้านล่างของคิวเวท



Figure 2 Position of photo analysis using Adobe Photoshop CS6 program applied for the proposed method.

2.5.2 สีของบล็อกวางคิวเวท

ทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.4 โดยเปลี่ยนสีของบล็อกวางคิวเวท (รูปที่ 1) จากสีขาวเป็นสีต่าง ๆ คือ สีดำ สีเขียว สีแดง และสีน้ำเงิน จากนั้นพิจารณาเปรียบเทียบค่าสภาพไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

2.5.3 ระยะโฟกัสของการถ่ายภาพ

ทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.4 โดยเปลี่ยนระยะโฟกัสของการถ่ายภาพ (รูปที่ 1) ได้แก่ 10, 12 และ 15 เซนติเมตร จากนั้นพิจารณาเปรียบเทียบค่าสภาพไวในการวิเคราะห์และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

2.5.4 เปรียบเทียบระหว่างระบบควบคุมแสงและแสงธรรมชาติ

ทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.4 โดยการถ่าย

ภาพสารเชิงซ้อนภายในกล่องควบคุมแสงที่สร้างขึ้นมา (รูปที่ 3) ซึ่งกล่องควบคุมแสงจะมีขนาดใหญ่กว่าอุปกรณ์สำหรับการถ่ายภาพ และด้านบนของกล่องควบคุมแสงจะมีช่องสำหรับใส่หลอดไฟ (รูปที่ 3c) เพื่อควบคุมแสงให้มีความเข้มแสง 200, 250, 300, 350, 400 และ 500 ลักซ์ [โดยควบคุมความเข้มแสงด้วยแอปพลิเคชันลักซ์มิเตอร์ (Lux meter) ซึ่งเป็นแอปพลิเคชันที่ดาวน์โหลดได้ฟรีจากแอปเพลย์สโตร์] จากนั้นพิจารณาเปรียบเทียบค่าสภาพไวในการวิเคราะห์และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ระหว่างระบบที่มีการถ่ายภาพภายใต้การควบคุมแสง และการถ่ายภาพภายใต้ระบบแสงธรรมชาติ (ไม่ใช้กล่องควบคุมแสง) ดังในรูปที่ 1

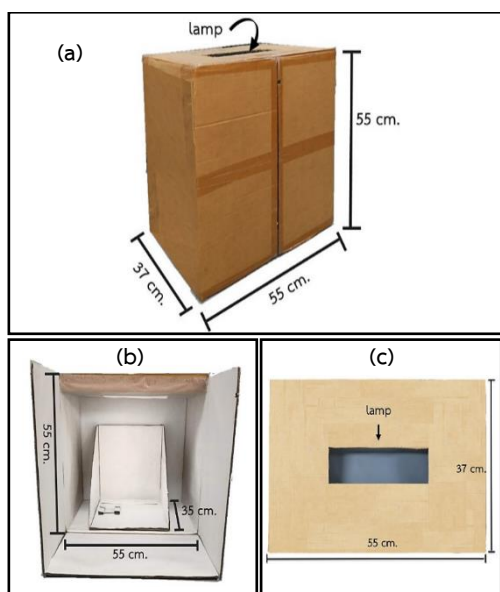


Figure 3 (a) Photo of light control box. (b) Cross section and (c) Top section photos of light control box used in the proposed method.

2.5.5 บริษัทผู้ผลิตสมาร์ทโฟน

ทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.4 โดยการใช้สมาร์ทโฟนจากบริษัทผู้ผลิตต่างกัน ดังนี้ Vivo V5

Plus, Wiko Lenny 2 และ Huawei P10 จากนั้นพิจารณาเปรียบเทียบค่าสภาพไวในการวิเคราะห์และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

2.6 คุณลักษณะการวิเคราะห์

คุณลักษณะการวิเคราะห์ (analytical performance) สำหรับเทคนิคที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้ ปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ ช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity range) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ขีดความจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (limit of detection) และความเที่ยงในการวิเคราะห์ (precision) ซึ่งการศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์นั้นเป็นการศึกษาระบบการวิเคราะห์ในวันเดียวกัน (intraday) และวิเคราะห์ระหว่างวัน (interday)

2.7 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

การเตรียมตัวอย่าง : ตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ ยาเม็ดเสริมธาตุเหล็ก (จำนวน 2 ตัวอย่าง : S1 และ S2) และตัวอย่างสังเคราะห์จำนวน 2 ตัวอย่าง (artificial sample: S3, S4) โดยตัวอย่างยาเม็ดเสริมธาตุเหล็กทดลองโดยดัดแปลงจาก Jaikrajang และคณะ [4] ดังนี้ : บดยาเม็ดตัวอย่างจำนวนอย่างละ 10 เม็ด จากนั้นชั่งตัวอย่างยาหนัก 0.300 กรัม ละลายในน้ำ 50 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดไนตริกเข้มข้น (conc. HNO_3) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปย่อยสารละลายด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง (Whatman® No. 1) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายที่ได้มา 10 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารแอนโทไซยานินจากผงกะหล่ำปลีม่วง

การศึกษาชนิดของตัวทำละลายและความเสถียรของสารสกัดแอนโทไซยานินจากผงกะหล่ำปลีม่วง พบว่าน้ำเป็นตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารแอนโทไซยานินได้ดีที่สุด เนื่องจากให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด คือ 1.2268 ที่ความยาวคลื่น 545 นาโนเมตร ซึ่งเป็นความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดแอนโทไซยานินจากตัวทำละลายอื่น (รูปที่ 4a) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Khaodee และคณะ [3] และ Chiguru

rupati และคณะ [22] ทั้งนี้เพราะแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากผงกะหล่ำปลีม่วงนั้นอยู่ในรูปของ ไซยานิดิน (cyanidin) และหากพิจารณาจากสูตรโครงสร้างของไซยานิดิน (รูปที่ 5) แล้วจะเห็นว่าเป็นโมเลกุลที่มีสภาพขั้วค่อนข้างสูง จึงสามารถละลายในน้ำได้ดี [22] ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกน้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารแอนโทไซยานินจากผงกะหล่ำปลีม่วง นอกจากจะให้ค่าการดูดกลืนแสงที่สูงสุดแล้ว น้ำกลั่นยังเป็นรีเอเจนต์ที่มีความปลอดภัยและมีราคาถูกที่ถูกต้อง

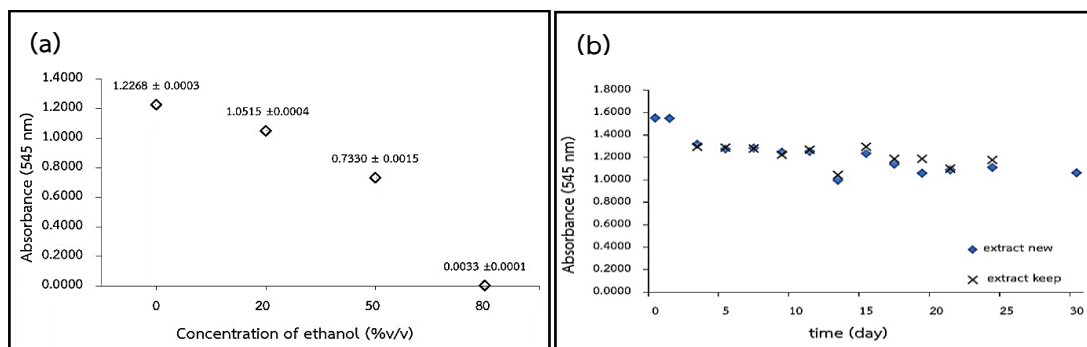


Figure 4 (a) Plot of the solvent study that affected on the absorbance of anthocyanin extract and (b) Plot of the study of the effect of absorbance between fresh anthocyanin extraction (daily prepared) and keeping extract.

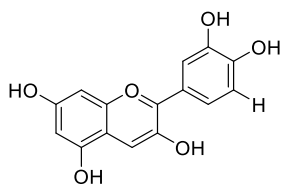


Figure 5 Molecular structure of cyanidin [22]

เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดผงกะหล่ำปลีม่วงโดยการเตรียมใหม่ทุกครั้งเปรียบเทียบกับค่าการเตรียมแล้วแช่ในตู้เย็น พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของสารแอนโทไซ

ยานินที่ได้จากการเตรียมทั้ง 2 แบบ ไม่แตกต่างกันมาก ดัง Figure. 4(b) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดแอนโทไซยานินที่ได้จากผงกะหล่ำปลีม่วงนั้นมีความเสถียรจนถึงระยะเวลา 25 วัน อย่างไรก็ตามเมื่อเก็บสารสกัดแอนโทไซยานินที่ได้จากการเตรียมแล้วแช่ในตู้เย็นมากกว่า 25 วัน พบว่าสารสกัดแอนโทไซยานินเริ่มมีสภาพที่เปลี่ยนไป คือ มีตะกอน และสารละลายแยกชั้น โดยชั้นบนมีสีจางลง อีกทั้งสารสกัดดังกล่าวเริ่มมีกลิ่นเหม็น ดังนั้นในการทดลองนี้จึงใช้วิธีการสกัดสารจากผงกะหล่ำปลีม่วงด้วยการเตรียมใหม่ทุกครั้ง

3.2 ปฏิกริยาการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(III) และสารสกัดแอนโทไซยานินด้วยวิธีเปิลสเปกโทรโฟโตเมทรี

3.2.1 ความจำเพาะเจาะจงของการเกิดปฏิกิริยาของสารเชิงซ้อน (selectivity)

การศึกษาความจำเพาะของการเกิดปฏิกิริยาของสารเชิงซ้อนระหว่างสารสกัดแอนโทไซยานินและไอออนโลหะชนิดต่าง ๆ (ความเข้มข้นของโลหะแต่ละชนิด 900 ไมโครโมลาร์) พบว่าสารเชิงซ้อนที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดแอนโทไซยานินและเหล็ก(III) ที่พีเอช 4 มีสีที่เปลี่ยนแปลงไปดังในรูปที่ 6a และเมื่อนำสารเชิงซ้อนที่ได้ไปสแกนสเปกตรัม จะเห็นว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร ของสารเชิงซ้อนที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดแอนโทไซยานินและเหล็ก(III) มีค่าเพิ่มขึ้น (รูปที่ 6b) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดจากผงกะหล่ำปลีม่วงที่พีเอช 4 มีความจำเพาะ

เจาะจงกับเหล็ก(III) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Khaodee และคณะ [3] และโดยทั่วไปสารสกัดแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดจากกะหล่ำปลีม่วงนั้นจะอยู่ในรูปของไซยานิดิน (รูปที่ 5) ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับโลหะดังสมการที่ 1 [3,22] การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดแอนโทไซยานินจากผงกะหล่ำปลีม่วงมีความจำเพาะเจาะจงในการเกิดสารเชิงซ้อนกับเหล็ก(III) ที่พีเอช 4 ดังนั้นจึงสามารถนำสารสกัดแอนโทไซยานินนี้ไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) ต่อไป

3.2.2 ความเสถียรของสารเชิงซ้อน

การศึกษาความเสถียรของสารเชิงซ้อนที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดแอนโทไซยานินจากผงกะหล่ำปลีม่วงและเหล็ก(III) ความเข้มข้น 900 ไมโครโมลาร์ โดยตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร ทุก ๆ 5 นาที เป็นระยะเวลา 30 นาที พบว่าปฏิกิริยาการเกิดสารเชิงซ้อนนั้นเกิดขึ้นได้รวดเร็ว

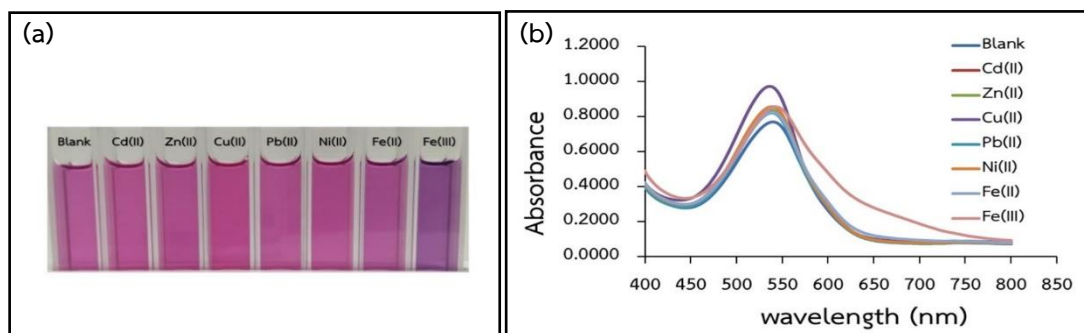
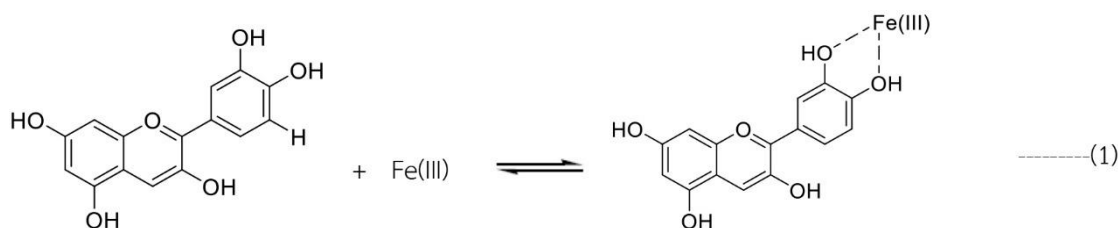


Figure 6 (a) Photo and (b) Spectrum of the complexes occurring between metal ions (900 μM) and anthocyanin extract.



และมีค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงน้อยมาก (รูปที่ 7) การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดแอนโทไซยานินและเหล็ก(III) มีความเสถียรอย่างน้อยภายในระยะเวลา 30 นาที ดังนั้นการศึกษานี้จึงได้เลือกระยะเวลาที่ 5 นาที เป็นระยะเวลาในการตรวจวัด (ทั้งในระบบการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรีและการวิเคราะห์ภาพถ่ายจากสมาร์ทโฟน) ทั้งนี้เพราะเป็นระยะเวลาที่ทดลองได้สะดวกและรวดเร็ว

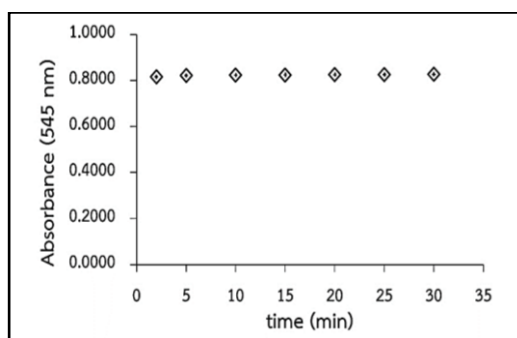


Figure 7 Stability study of the complexes of Fe(III)-anthocyanin extract.

3.2.3 ศึกษาความเป็นไปได้สำหรับการวิเคราะห์สารเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก(III) และสารสกัดแอนโทไซยานินด้วยภาพถ่ายจากสมาร์ทโฟน

การศึกษความเป็นไปได้ในการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) จากสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดแอนโทไซยานินและเหล็ก(III) ด้วยภาพถ่ายจากสมาร์ทโฟนเปรียบเทียบกับเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเหล็ก(III) เพิ่มขึ้น ค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นก็มีค่าเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน (รูปที่ 8a) และเมื่อนำไปพลอตกราฟมาตรฐาน จะเห็นว่ากราฟที่ได้มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้นของเหล็ก(III) 100-900 ไมโครโมลาร์ ($y = 0.0002x + 0.0464$) ด้วยค่า

สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.9938 ดังในรูปที่ 8b และเมื่อนำสารเชิงซ้อนที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยภาพถ่ายจากสมาร์ทโฟนจะสังเกตเห็นว่าสีของสารละลายมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อความเข้มข้นของเหล็ก(III) เพิ่มขึ้น ดังในรูปที่ 8c และเมื่อพิจารณาสเปกตรัมของสารเชิงซ้อนจะเห็นว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อนมีค่าอยู่ในช่วงของสารละลายสีแดง (630 นาโนเมตร) ดังนั้นในระบบการวิเคราะห์ด้วยภาพถ่ายจากสมาร์ทโฟน ซึ่งใช้การประมวลผลภาพจากโปรแกรม Adobe Photoshop CS6 จึงเลือกใช้การวิเคราะห์สีแดงจากระบบการวิเคราะห์สีแดง เขียว และน้ำเงินมาพลอตเป็นกราฟมาตรฐาน [21] โดยเป็นการพลอตระหว่างค่าการดูดกลืนแสงสีแดง และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเหล็ก(III) ซึ่งให้กราฟมาตรฐานที่ได้มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงความเข้มข้นของเหล็ก(III) 100-900 ไมโครโมลาร์ ($y = 0.0001x + 0.0190$) ด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.9966 ดังในรูปที่ 8d และผลการศึกษาเบื้องต้นแสดงให้เห็นว่าระบบการวิเคราะห์ภาพถ่ายจากสมาร์ทโฟนที่พัฒนาขึ้นนี้มีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) ที่เกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างสารสกัดแอนโทไซยานินจากผงกะหล่ำปลีม่วงและเหล็ก(III)

3.2.4 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับระบบการวิเคราะห์เหล็ก(III) ด้วยภาพถ่ายจากสมาร์ทโฟน

(ก) การศึกษาผลของตำแหน่งการวิเคราะห์ภาพถ่ายด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ Adobe Photoshop CS6 ที่มีต่อสภาพในการวิเคราะห์ ซึ่งตำแหน่งที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ ตำแหน่งบนและล่างของ line A (หมายเลข 1 และ 2 ในรูปที่ 2) ทั้งนี้เพราะตำแหน่ง line A เป็นตำแหน่งกึ่งกลางของสารละลายที่จะตรวจวิเคราะห์ ซึ่งเป็นตำแหน่งที่ได้รับผลการรบกวนจากการสะท้อนของสีจากปฏิกิริยาควม และ

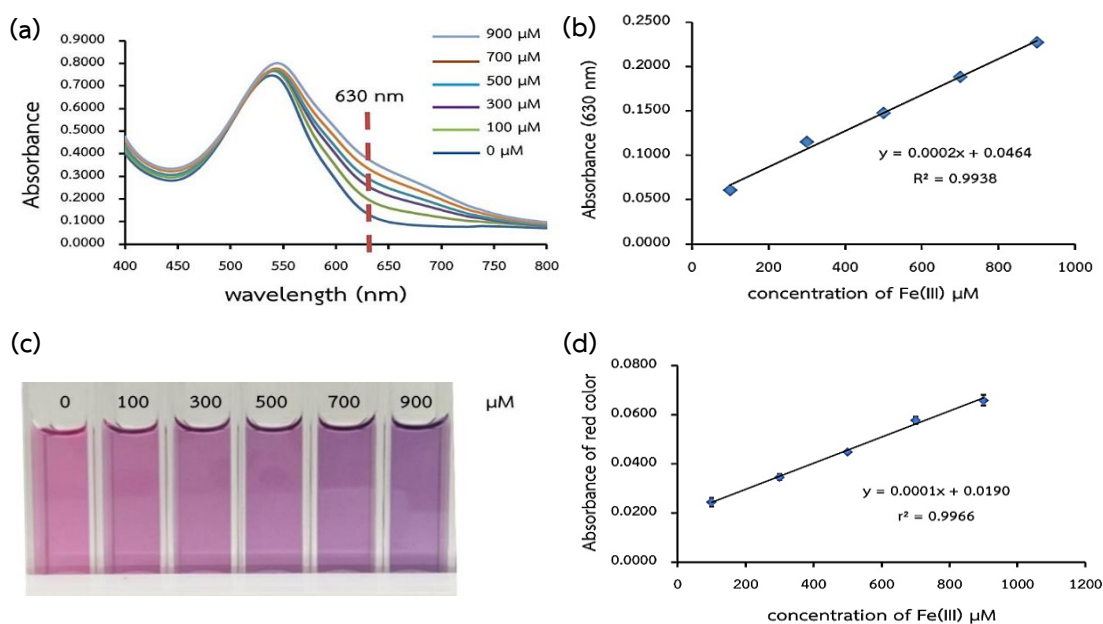


Figure 8 (a) Spectrum of the Fe(III)-anthocyanin extract complexes with different concentration of Fe(III) and (b) Calibration plot of the complexes using UV-Visible spectrophotometry (c) Photos of the complexes detected by the proposed method and (d) Calibration plot between the absorbance of red color in RGB system and various concentrations of Fe(III) for the proposed method.

การหักเหของแสงระหว่างอากาศและสารละลาย ด้านบนน้อย ซึ่งในการทดลองนี้ได้ใช้กล้องวงควิวเวทสี ขาวในการศึกษา โดยพิจารณาจากสภาพไวในการ วิเคราะห์และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์จากตำแหน่งทั้งสอง ผลการทดลองพบว่าค่าสภาพไวในการวิเคราะห์ซึ่ง ได้มาจากความชันของกราฟมาตรฐานและค่า สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ไม่แตกต่างกันมากทั้งตำแหน่ง บน และล่างของ line A (ตารางที่ 1) ซึ่งแสดงให้เห็น ว่าสามารถเลือกตำแหน่งในการวิเคราะห์ภาพถ่ายด้วย โปรแกรมประมวลผลภาพ Adobe Photoshop CS6 ทั้ง 2 ตำแหน่ง อย่างไรก็ตาม การทดลองนี้ได้เลือกใช้ ตำแหน่งบน (หมายเลข 1 จากรูปที่ 2) เป็นตำแหน่งที่ เหมาะสมในการวิเคราะห์ภาพถ่ายสำหรับการศึกษา ต่อไป

Table 1 Study results of the photo analysis position using Adobe Photoshop CS6 program affected on sensitivity and correlation coefficient using white color of cuvette holder.

Positions of photo analysis	Sensitivity (μM^{-1})	Correlation coefficients
Top ^(a)	8.00×10^{-5}	0.9899
Lower ^(b)	7.00×10^{-5}	0.9856

(a) No. 1 in Figure 2; (b) No. 2 in Figure 2

(ข) สีกล้องวงควิวเวท อาจมีผลต่อการ วิเคราะห์ภาพถ่ายในระบบที่พัฒนาขึ้น เพราะสีกล้อง วงควิวเวทอาจเกิดการสะท้อน ซึ่งจะส่งผลให้สีภาพถ่าย

ของสารเชิงซ้อนที่วิเคราะห์นั้นเกิดความคลาดเคลื่อนได้ ดังนั้นการทดลองนี้จึงได้ศึกษาสีต่าง ๆ ของบล็อกวางคิวเวท ได้แก่ แดง เขียว น้ำเงิน ขาว และดำ ซึ่งผลการศึกษาพบว่าสภาพโพในการวิเคราะห์ที่ได้จากการวางคิวเวทในบล็อกสีดังกล่าว มีค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันมากนัก (7.00×10^{-5} - 9.00×10^{-5} ไมโครโมลาร์⁻¹) ดังในตารางที่ 2 แต่เมื่อพิจารณาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) สำหรับการวิเคราะห์ภาพถ่ายของสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดแอนโทไซยานินจากผลกะหล่ำปลีม่วงและเหล็ก(III) เข้มข้น 1,000 ไมโครโมลาร์ พบว่าค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ภาพถ่ายดังกล่าวด้วยโปรแกรมประมวลภาพ Adobe Photoshop CS6 จากบล็อกสีแดง เขียว น้ำเงิน ขาว และดำ มีค่า 0.0217, 0.0207, 0.0256, 0.0181 และ 0.0243 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ภาพถ่ายที่ได้จากบล็อกสีขาวมีค่าต่ำที่สุด ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกใช้บล็อกวางคิวเวทสีขาวเป็นสีที่เหมาะสมสำหรับการทดลองต่อไป

(ค) ระยะโฟกัสการถ่ายภาพ เนื่องจากการถ่ายภาพในระบบการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้ ทำการถ่ายภาพโดยไม่มีการแตะหน้าจอสมาร์ทโฟนเพื่อเป็นการปรับโฟกัสภาพถ่าย ดังนั้นในการศึกษานี้ได้ปรับเปลี่ยนระยะโฟกัสการถ่ายภาพซึ่งอยู่ระหว่างตำแหน่งที่วางสมาร์ทโฟนและคิวเวท (รูปที่ 1) ซึ่ง

ภาพถ่ายที่ได้จากการปรับเปลี่ยนระยะโฟกัสที่ตำแหน่ง 10, 12 และ 15 เซนติเมตร แสดงดังรูปที่ 9 และเมื่อพิจารณาสภาพโพในการวิเคราะห์ที่ได้ พบว่าระยะโฟกัสในการถ่ายภาพที่ 10 เซนติเมตร มีค่าสูงสุด (ตารางที่ 3) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ พงนาและคณะ [21] เนื่องจากเป็นระยะที่เงาของคิวเวทไม่ไปกระทบฉากด้านหลัง และเป็นระยะที่กล้องจากสมาร์ทโฟนจับโฟกัสภาพได้เองโดยไม่ต้องแตะที่หน้าจอ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกระยะโฟกัสการถ่ายภาพที่ระยะ 10 เซนติเมตร เป็นระยะเหมาะสมสำหรับการทดลองต่อไป

Table 2 Study results of cuvette holder color using Adobe Photoshop CS6 program affected on the sensitivity and correlation coefficient.

Cuvette holder colors	Sensitivity (μM^{-1})	Correlation coefficients
red	7.00×10^{-5}	0.9610
green	7.00×10^{-5}	0.9857
blue	7.00×10^{-5}	0.9734
white	8.00×10^{-5}	0.9899
black	9.00×10^{-5}	0.9779

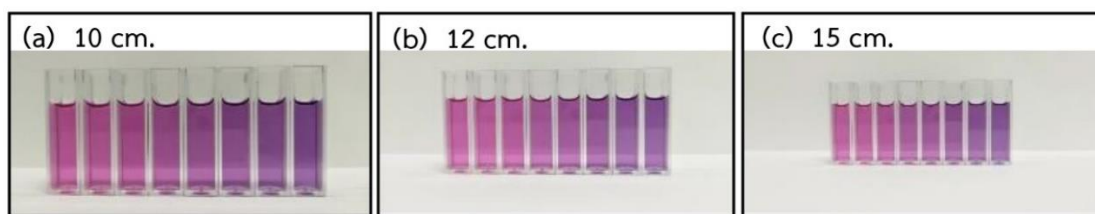


Figure 9 Photos of Fe(III)-anthocyanin extract complexes with various concentrations of Fe(III) at different focusing distance of (a) 10 cm (b) 12 cm and (c) 15 cm.

Table 3 Study results of the focusing distance affected on the sensitivity and correlation coefficient.

Focusing distances (cm)	Sensitivity (μM^{-1})	Correlation coefficients
10	1.00×10^{-4}	0.9966
12	7.00×10^{-5}	0.9527
15	9.00×10^{-5}	0.9975

(ง) การเปรียบเทียบระหว่างระบบควบคุมแสงและแสงธรรมชาติ แสงมีความสำคัญต่อภาพถ่ายและการวิเคราะห์ภาพถ่ายด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ Adobe Photoshop CS6 ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการวิเคราะห์ภาพถ่ายของสารเชิงซ้อนที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดแอนโทไซยานินจากผงกะหล่ำปลีม่วงและเหล็ก(III) ในระบบที่มี

การควบคุมแสงและแสงธรรมชาติที่เวลาต่าง ๆ กัน โดยระบบควบคุมแสงได้สร้างกล่องควบคุมแสงดังรูปที่ 3 ที่มีช่องใส่หลอดไฟด้านบนที่ควบคุมความเข้มแสงด้วยแอปพลิเคชันลักซ์มิเตอร์ ผลการทดลองพบว่าระบบที่มีการควบคุมแสงที่มีความเข้มแสง 300 ลักซ์ ให้ค่าสภาพไวในการวิเคราะห์สูงที่สุด (9.00×10^{-5} ไมโครโมลาร์) อีกทั้งค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ยังมีค่าเข้าใกล้ 1 มากที่สุดอีกด้วย ($r^2 = 0.9808$) และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับความเข้มแสงในระบบที่ไม่ควบคุมแสงหรือแสงธรรมชาติ พบว่าค่าความเข้มแสงในทุกช่วงเวลามีค่าความเข้มแสงใกล้เคียง 300 ลักซ์ ดังในตารางที่ 4 นอกจากนี้ยังให้ค่าสภาพไวในการวิเคราะห์และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่มีค่าใกล้เคียงกันในทุกช่วงเวลา ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกใช้ระบบแสงธรรมชาติ เนื่องจากสามารถติดตั้งอุปกรณ์ได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว อีกทั้งยังสามารถทดลองได้ทั้งวัน (ตั้งแต่ 08:30-16:00 น.) ด้วย

Table 4 Study results of the proposed method with and without light controlled system affected on the sensitivity and correlation coefficient.

Light systems	Brightness (lux)	Sensitivity (μM^{-1})	Correlation coefficients
With controlled system	200	5.00×10^{-5}	0.8990
	250	5.00×10^{-5}	0.9260
	300	9.00×10^{-5}	0.9808
	350	4.00×10^{-5}	0.9276
	400	4.00×10^{-5}	0.9140
Without controlled system ^a			
08:30-10:30 AM	285	1.00×10^{-4}	0.9733
10:30-12:00 AM	296	1.00×10^{-4}	0.9819
13:00-14:00 PM	290	1.00×10^{-4}	0.9929
14:00-16:00 PM	255	1.00×10^{-4}	0.9793

a: without light controlled system or nature light

(จ) บริษัทผู้ผลิตสมาร์ทโฟน เนื่องจากสมาร์ทโฟนแต่ละบริษัทผู้ผลิตมีการใช้กล้องที่คุณภาพต่างกัน ดังนั้นการทดลองนี้จึงศึกษาการถ่ายภาพสารเชิงซ้อนที่ได้จากกล้องของสมาร์ทโฟนจากบริษัทผู้ผลิตที่ต่างกัน 3 บริษัท ได้แก่ Vivo V5 Plus, Wiko Lenner 2 และ Huawei P10 ซึ่งเป็นสมาร์ทโฟนที่มีราคาถูกและหาซื้อได้ง่าย อีกทั้งยังเป็นบริษัทผู้ผลิตที่ต่างกัน ซึ่งงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าสภาพไวในการวิเคราะห์รวมถึงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ได้จากการศึกษานี้มีค่าไม่แตกต่างกัน ดังในตารางที่ 5 และจากรูปที่ 10

แสดงภาพถ่ายที่ได้จากสมาร์ทโฟนจากบริษัทผู้ผลิตทั้ง 3 บริษัท ดังกล่าว นอกจากนี้ยังให้ผลการศึกษาสอดคล้องกับ พงนา และคณะ [21] ที่วิเคราะห์ภาพถ่ายด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ Adobe Photoshop CS6 เช่นเดียวกัน ดังนั้นสำหรับเทคนิคการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถใช้สมาร์ทโฟนหลากหลายบริษัท เช่น Vivo V5 Plus, Wiko Lenner 2, Huawei P10 อย่างไรก็ตาม การทดลองนี้ได้เลือกใช้ Vivo V5 Plus เป็นสมาร์ทโฟนที่ใช้ในการถ่ายภาพสารเชิงซ้อนเพื่อนำไปวิเคราะห์ภาพถ่ายต่อไป

Table 5 Study results of various companies of smartphone affected on the sensitivity and correlation coefficient.

Smart phone companies	Pixel numbers (megapixels)	Sensitivity (μM^{-1})	Correlation coefficients
Vivo V5 Plus	16	1.00×10^{-4}	0.9936
Wiko lenny 2	5	1.00×10^{-4}	0.9951
Huawei p10	20	1.00×10^{-4}	0.9914

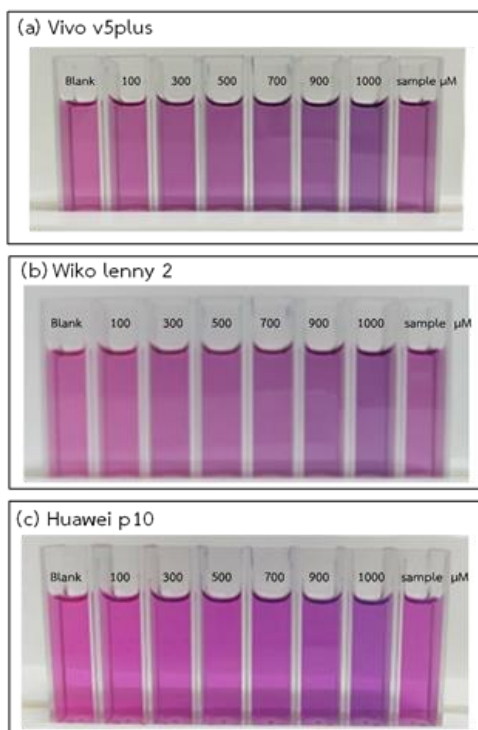


Figure 10 Photos of Fe(III)-anthocyanin extract complexes detected by various smartphone companies of (a) Vivo v5plus (b) Wiko lenny 2 and (c) Huawei p10

3.2.4 คุณลักษณะการวิเคราะห์

สำหรับคุณลักษณะการวิเคราะห์ (analytical performance) ที่ศึกษาในงานวิจัยนี้ได้แก่ ช่วงความเป็นเส้นตรง และขีดความจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด ผลการศึกษาพบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงมีค่าความเข้มข้นของเหล็ก(III) 100-900 ไมโครโมลาร์ ด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.9966 (สมการเส้นตรง คือ $y = 0.0001x + 0.0190$) และสำหรับค่าขีดความจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดมีค่า 73 ไมโคร

โมลาร์ นอกจากนี้นงานวิจัยนี้ยังได้ศึกษาค่าความเที่ยงในการวิเคราะห์ในระบบที่วิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน และต่างวันกัน พบว่ามีร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) 3.09 และ 8.57 ตามลำดับ ดังในตารางที่ 6

3.2.5 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

งานวิจัยนี้ได้นำเทคนิคที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ในการวิเคราะห์เหล็ก(III) ในตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็ก โดยเปรียบเทียบผลการศึกษากับเทคนิคยูวี- วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี ดังในตารางที่ 7 ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานด้วยสถิติทดสอบที (paired t-test) พบว่าทั้ง 2 เทคนิค ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ($t_{\text{stat}} = 0.09$, $t_{\text{critical}} = 3.18$) แสดง

ให้เห็นว่าเทคนิคที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้มีศักยภาพในการนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์เหล็ก(III) ในตัวอย่างจริงได้อย่างถูกต้องเช่นเดียวกับรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่มีการใช้สมาร์ตโฟนเป็นอุปกรณ์ตรวจวัด [15-17]

Table 6 analytical performance

Analytical performance	Obtained result
Linearity range (μM)	100-900
Example of linearity equation	$y = 0.0001x + 0.0190$
Correlation coefficient	0.9966
Limits of detection (μM)	73
Precision (% RSD, n = 10)	
Intraday	3.09
Interday	8.57

Table 7 Quantitative analysis of Fe(III) in samples using UV-visible spectrophotometry (standard method) and the proposed method.

Samples	Concentrations of Fe(III) (μM)		
	Labelled	UV-visible spectrophotometry (standard method)	The proposed method
S1	7.06	7.86 ± 0.008	7.41 ± 0.39
S2	6.67	6.69 ± 0.092	6.32 ± 0.22
S3	15.10	15.50 ± 0.04	16.29 ± 0.79
S4	18.50	19.78 ± 0.06	19.91 ± 0.34

The paired t-test, the results of the two method are not significantly different at 95 % confidence ($t_{\text{stat}} = 0.09$, $t_{\text{critical}} = 3.18$)

4. สรุป

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์เหล็ก(III) โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสารเชิงซ้อนกับสารสกัดแอนโทไซยานินจากผงกะหล่ำปลี (สารรีเอเจนต์ธรรมชาติ) ซึ่งจัดเป็นวิธีการวิเคราะห์แบบเคมีสะอาด ตรวจวัดด้วยการวิเคราะห์ภาพถ่ายจากกล้องสมาร์ตโฟน และประมวลผลภาพถ่ายด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS6 ผลการศึกษาพบว่าภาพถ่ายภาพสาร

เชิงซ้อนที่ได้วางอยู่บนบล็อกวางคิ้วเวทสีขาว การถ่ายภาพต้องถ่ายด้วยระยะโฟกัส 10 เซนติเมตร ภายใต้แสงธรรมชาติ และเมื่อนำเทคนิคที่พัฒนาขึ้นนี้ไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) ในตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็ก เปรียบเทียบกับเทคนิคมาตรฐาน (เทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมทรี) พบว่าให้ผลการวิเคราะห์ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 แสดงให้

เห็นว่าเทคนิคที่พัฒนาขึ้นนี้มีศักยภาพในการนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) ได้ไม่ต่างกับเทคนิคมาตรฐาน ซึ่งเทคนิคที่พัฒนาขึ้นนี้จัดการพัฒนาวิธีวิเคราะห์แบบเคมีสะอาดชนิดหนึ่งที่ใช้สารเคมีธรรมชาติ อีกทั้งยังใช้ระบบการตรวจวัดที่มีราคาถูก ใช้งานง่าย สะดวก รวดเร็ว และไม่ต้องการผู้ที่มีความเชี่ยวชาญมากในการทดลอง อีกทั้งยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านการเรียนการสอนสำหรับโรงเรียนที่ขาดแคลนเครื่องมือในการวิเคราะห์ เพื่อเป็นการส่งเสริมให้นักเรียนได้เกิดการเรียนรู้จากการปฏิบัติจริงได้อีกทางหนึ่งด้วย

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ (1) สถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) กระทรวงศึกษาธิการ สำหรับทุนการศึกษาจากโครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ (สควค.) ให้แก่ นางสาวเกศินี เสาวจันทร์ (2) คณะผู้บริหารและครูกลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ โรงเรียนอ้อมน้อยโสภณชนูปถัมภ์ และโรงเรียนบางลี่วิทยา ที่ให้ความอนุเคราะห์ต่าง ๆ (3) นางสาวเพชรลดา สัญขยานุกูล สำหรับคำแนะนำในการวิจัย และ (4) ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่เอื้อเพื่ออุปกรณ์และสารเคมี รวมทั้งสถานที่ในการศึกษาวิจัย

6. References

- [1] Gatuszka, A. , Migaszewski, Z. and Namiesnik, J., 2013, The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices, Trends Anal. Chem. 50: 78-84.
- [2] Qian, B.J., Wu, C.F., Lu, M.M., Xu, W. and Jing, P. , 2017, Effect of complexes of cyanidin- 3- diglucoside- 5- glucoside with rutin and metal ions on their antioxidant activities, Food Chem. 232: 545-551.
- [3] Khaodee, W., Auangmaitreepirom, W. and Tuntulani, T., 2014, Effectively simultaneous naked-eye detection of Cu(II), Pb(II), Al(III) and Fe(III) using cyanidin extracted from red cabbage as chelating agent, Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc. 126: 98-104.
- [4] Jaikrajang, N., Kruanetr, S., Harding, D.J. and Rattanakit, P., 2018, A simple flow injection spectrophotometric procedure for iron(III) determination using *Phyllanthus emblica* Linn. as a natural reagent, Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc. 204: 726-734.
- [5] Charoenteeraboon, J., Ngamkitidechakul, C., Soonthornchareonnon, N., Jaijoy, K. and Seewaboon Sireeratawong, S., 2010, Antioxidant activities of the standardized water extract from fruit of *Phyllanthus emblica* Linn. , Songklanakarin J. Sci. Technol. 32: 599-604.
- [6] Khan, A., Ahmed, T., Rizwan, M. and Khan, N., 2018, Comparative therapeutic efficacy of *Phyllanthus emblica* (Amla) fruit extract and procaine penicillin in the treatment of subclinical mastitis in dairy buffaloes, Microb. Pathog. 115: 8-11.
- [7] Wattanayon, R., Satapor, S., Yama, B.,

- Samanman, S. and Vangsirigul, P., 2017, Determination of iron ion using anthocyanin from roselle, Princ. Naradhiwas Univ. J. 9(2): 97-103. (in Thai)
- [8] Khaodee, W., Wongkiti, R. and Madang, S., 2017, Naked-Eye Detection of lead ion in water sample using reagent extracted from white dragon fruit peel, KKU Sci. J. 45(4): 886-895. (in Thai)
- [9] Ali, R.A.M. and Nayan, N., 2010, Fabrication and analysis of dye-sensitized solar cell using natural dye extracted from dragon fruit, Int. J. Integr. Eng. 2: 55-62.
- [10] Wulansari, D., Desmiaty, Y. and Purwitosari, E., 2007, The comparison of two colorimetric methods for determination of total tannin in *Psidium guajava* L. Leaves by Folin-Ciocalteu's and 1,10-phenanthroline reagents, pp. 1-6, The International Conference on Traditional Medicine and Medicinal Plants, Surabaya.
- [11] Saptarini, N. M. , Suryasaputra, D. and Nurmalia, H., 2015, Application of Butterfly Pea (*Clitoria ternatea* Linn.) extract as an indicator of acid- base titration, J. Chem. Pharm. Res. 7: 275-280.
- [12] Kamkaen, N. and Wilkinson, J.M., 2009, The antioxidant activity of *Clitoria ternatea* flower petal extracts and eye gel, Phytother. Res. 23: 1624-1625.
- [13] Sukaram, T., Sirisakwisut, P. and Chaneam, S. , 2017, Use of natural pigment from orchid as a reagent for quantitative analysis of ammonia in chemical fertilizers, Burapha Sci. J. 22: 366-376. (in Thai)
- [14] Moonrangsee, N., Prachain, C., Bumrungkij, C. and Peamaroon, N. , 2018, A simple device with a smartphone camera for determination of salicylic acid in food, drugs and cosmetics, J. KMUTNB. 28(3): 639-648. (in Thai)
- [15] Martinkova, P. and Pohanka, M. , 2016, Colorimetric sensor based on bubble wrap and camera phone for glucose determination, J. Appl. Biomed. 14: 315-319.
- [16] Moonrungssee, N. , Pencharee, S. and Jakmunee, J., 2015, Colorimetric analyzer based on mobile phone camera for determination of available phosphorus in soil, Talanta 136: 204-209.
- [17] Choodum, A., Kanatharana, P., Wongnira maikul, W. and Daeid, N.N., 2013, Using the iPhone as a device for a rapid quantitative analysis of trinitrotoluene in soil, Talanta 115: 143-149.
- [18] Pragourpuna, K., Sakeea, U. , Fernandezb, C. and Kruanetra, S, 2015, Deferiprone, a non- toxic reagent for determination of iron in samples via sequential injection analysis, Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc. 142: 110-117.
- [19] Viprakasit, V., 2009, Clinical Practice Guideline for Deferiprone in Patients with Iron Overload, 1st Ed., Government

- Pharmaceutical Organization, 36 p. (in Thai)
- [20] Pichayajittipong, P., 2013, Production and biological properties of food colorants from red dragon fruit (*Hylocercus polyrhizus*) peels, Master Thesis, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima, 40 p. (in Thai)
- [21] Palachai, P. and Muncharoen, S., 2017, A simple experiment to evaluate the equilibrium constant of bromothymol blue using smart phone for high school students, Srinakharinwirot Sci. J. 33(2): 213-228. (in Thai)
- [22] Chigurupati, N., Saiki, L., Gayser, C.Jr. and Dash, A. K. , 2002, Evaluation of red cabbage dye as a potential natural color for pharmaceutical use, Int. J. Pharm. 241: 293-299.