

การพัฒนาวิธีตรวจวัดปริมาณเหล็กในหอยแครงด้วยอุปกรณ์ปฏิบัติการ
บนกระดาษโดยวิธีคัลเลอร์ิเมตรี

The Development for Analysis of Iron in Cockles with Paper-based
Devices by Colorimetry

กรรณิการ์ แก้วกิม* กมลวรรณ วงศ์ดี** อรสา ชูทอง** และ เบญจวรรณ นิลวงศ์**
Kannika Keawkim*, Kamonwan wongdee**, Orasa Chuthong**
and Benjawan Ninwong***

บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีตรวจวัดด้วยคัลเลอร์ิเมตรี สำหรับวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก (II) ในหอยแครง ด้วยอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ สร้างอุปกรณ์ตรวจวัดโดยการสกรีนด้วยเทียบบนกระดาษกรอง เพื่อกำหนดส่วนไม่ชอบน้ำ การตรวจวัดเหล็ก (II) อาศัยการเกิดปฏิกิริยาของเหล็ก (II) และ 1,10-phenanthroline จะให้สารประกอบเชิงซ้อนสีส้มแดงซึ่งอยู่ในรูปของ $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ สปีบริเวณตรวจวัดจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทันทีเมื่อมีสารละลายเหล็ก (II) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของสี จะขึ้นกับความเข้มข้นของเหล็ก (II) การทดสอบสารรบกวนด้วยโลหะชนิดต่าง ๆ พบว่าไม่ส่งผลกระทบต่อ การเปลี่ยนแปลง ความเข้มสีของการวิเคราะห์เหล็ก (II) บันทึกผลการทดลองด้วยเครื่องสแกนเนอร์และหาความเข้มสีเฉลี่ยด้วยโปรแกรม Image J ในโหมดสีเทา ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ช่วงความเป็นเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเหล็ก (II) กับค่าความเข้มสีเฉลี่ยมีสองช่วงที่ ความชันต่างกันคือ 0.005-1.0 mg/L ($R^2 = 0.9978$) และ ที่ความเข้มข้น 1.0-9.0 mg/L ($R^2 = 0.9956$) ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด เท่ากับ 0.005 mg/L ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 0.54, 0.48 และ 0.55% ($n = 10$) ที่ความเข้มข้นของสารละลายเหล็ก (II) 0.005, 0.4 และ 1.0 mg/L ตามลำดับ วิธีตรวจวัดที่ได้พัฒนาขึ้นมานี้ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์เหล็ก (II) ในตัวอย่างหอยแครงได้ ให้ค่าร้อยละการกลับคืน เท่ากับ 93.00 - 94.67% ซึ่งวิธีตรวจวัดนี้สามารถ วิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว มีความจำเพาะเจาะจงและวิเคราะห์เหล็ก (II) ในระดับต่ำได้ ใช้สารละลาย ในปริมาณน้อย อุปกรณ์ตรวจวัดมีราคาถูก และเหมาะสำหรับการใช้งานภาคสนาม

คำสำคัญ: เหล็ก, หอยแครง, อุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ

* อาจารย์ประจำสาขาวิชาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ สมุทรปราการ

** นักศึกษาระดับปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

***อาจารย์ประจำสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

Corresponding author e-mail: ben-benone@hotmail.com

Abstract

A colorimetric method has been developed for determination of Fe(II) by paper based devices. The analytical device fabricated by solid wax printing on filter paper with was indicated that hydrophobic zone. Fe(II) was detected by the reaction of Fe(II) and 1,10-phenanthroline which the red/orange ferriin complex $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ was formed. The color in detection zone immediately change after addition of Fe(II) that was depending on the concentration. The effects of other metal ions as sources of interference on paper based devices were investigated and so do not interfere. The color intensity of detection zone was measured using a scanner and conjunction with Image J software in gray mode. Under the optimum conditions, the linear range between the color intensity and the concentration were found to be 0.005-1.0 mg/L ($R^2=0.9978$) and 1.0-9.0 mg/L ($R^2=0.9956$), but with a different slope. The limits of detection (LOD) were obtained at the concentrations as low as 0.005 mg/L, while the relative standard deviation (%RSD) were 0.54, 0.48 and 0.55% ($n=10$), at three concentration levels (0.005, 0.4 and 1.0 mg/L) of Fe(II). The develop method can be successfully applied to the determination of Fe(II) in cockle sample. The recoveries were in the range 93.00–94.67%. The present procedure provides rapid, sensitive and selective for detection of Fe(II), minimal reagent consumption, low cost, thus it is suitable for on-site environmental monitoring.

Keywords: Fe(II), Cockles, Paper-based device

1. บทนำ

บริเวณปากแม่น้ำจังหวัดนครศรีธรรมราชมีการพัฒนาและการขยายตัวทางเศรษฐกิจเป็นแหล่งที่ตั้งโรงงานอุตสาหกรรมเพิ่มมากขึ้น มีการพัฒนาทางด้านเกษตรและการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ รวมถึงมีพื้นที่ชุมชนเมืองมากขึ้น ลักษณะกิจกรรมจากการขยายตัวดังกล่าว ส่งผลให้เกิดน้ำทิ้งลงสู่สิ่งแวดล้อม ทำให้คุณภาพของน้ำมีปริมาณออกซิเจนค่อนข้างต่ำ ปริมาณความสกปรกในสารอินทรีย์และโคลิฟอร์มแบคทีเรียค่อนข้างสูง ซึ่งการปนเปื้อนของโลหะหนักที่มาจากกระบวนการผลิตทั้งทางด้านอุตสาหกรรมและเกษตรกรรม มีแนวโน้มทำให้เกิดการปนเปื้อนของโลหะอยู่ในสิ่งแวดล้อม ซึ่งมนุษย์อาจได้รับโลหะหนักเข้าสู่ร่างกายอย่างไม่รู้ตัว เมื่อสะสมอยู่ในร่างกายจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพ

เหล็กเป็นโลหะชนิดหนึ่งที่มีการปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อม ส่วนใหญ่มักพบเห็นในรูปออกไซด์ (Oxidized form) หรือ iron(III) oxide บทบาทและความเป็นพิษของเหล็กต่อร่างกายมนุษย์คือ มีฤทธิ์กัดกร่อนต่อเยื่อทางเดินอาหาร ซึ่งอาจก่อให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อชนิดซ้ำเลือดและการทะลุของทางเดินอาหาร นอกจากนี้การกัดกร่อนระคายเคืองยังอาจทำให้เกิดการสูญเสียน้ำปริมาณมากจากทางเดินอาหารโดยเฉียบพลัน ซึ่งอาจทำให้ช็อกจากการสูญเสียน้ำได้ เหล็กที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายในปริมาณมากเกินไป จะมีความสามารถในการรวมตัวกับโปรตีนปริมาณสูง ทำให้เซลล์ต่างๆ ทำงานผิดปกติและตายได้

หอยแครงเป็นหอยสองฝาชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีการเพาะเลี้ยงมีเพียงสกุลเดียวคือ หอยแครงในสกุล *Anadara* และชนิดที่มีการเพาะเลี้ยงมากที่สุดในโลกคือ *Anadara granosa* หอยแครงจะพบมากในพื้นที่ที่เป็นโคลนปนทรายบริเวณปากแม่น้ำ ซึ่งมักมีสารอินทรีย์ในปริมาณสูง น้ำที่อยู่เหนือที่อยู่อาศัยของหอยแครงส่วนมากเป็นน้ำขุ่น และมีความแปรผันของอุณหภูมิค่อนข้างมาก ในบรรดาสัตว์น้ำนั้น หอยสองฝาสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้สภาวะแวดล้อมได้ดี เนื่องจากหอยเป็นสัตว์ที่อยู่กับที่ไม่สามารถว่ายน้ำได้อย่างปลา กินอาหารโดยการกรองน้ำผ่านตัวหอย จึงมีโอกาสที่จะได้รับและสะสมโลหะหนักได้ นอกจากนี้ระดับการตกค้างของสารมลพิษในตัวหอยจากน้ำไม่ได้ขึ้นอยู่กับอายุของหอยแต่ขึ้นอยู่กับปริมาณโลหะหนักที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อม ฉะนั้นเพื่อให้ได้ตามมาตรฐานอาหารทะเลที่เหมาะสมกับการบริโภค และมาตรฐานที่กระทรวงสาธารณสุขแห่งประเทศไทย (พ.ศ. 2529) ได้กำหนดให้มีเหล็กในอาหารทะเลไม่เกิน 1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

เทคนิคทั่วไปที่ใช้วิเคราะห์โลหะหนักมีหลายวิธี เช่น เทคนิค Atomic absorption spectrometry (AAS), Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES) (Katarina, R.K., *et al.*, 2007), Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) และ Anodic stripping voltammetry (ASV) (Economou and Voulgaropoulos, 2007) ซึ่งเทคนิคเหล่านี้ต้องใช้ความชำนาญสูงและต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงในการวิเคราะห์ตัวอย่าง นอกจากนี้การคิดค้นพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ที่ใช้เครื่องมือหรืออุปกรณ์ที่มีขนาดเล็กและสามารถพกพาได้สะดวก อุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ Lab-on-paper เป็นอีกเทคนิคหนึ่งที่ได้ความนิยมเป็นอย่างมาก (Amara, A., *et al.*, 2012, Dungchai, W., *et al.*, 2009) นอกจากจะประดิษฐ์ขึ้นได้ง่ายแล้ว ยังสามารถวิเคราะห์สารได้หลายชนิดในอุปกรณ์ชิ้นเดียวและสามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว การวิเคราะห์ใช้ปริมาณสารตัวอย่างในระดับไมโครลิตร สร้างจากวัสดุที่ทำได้ง่าย มีราคาถูก

ย่อยสลายได้ดีเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น (ปนัดดา อนนกเวียง และริษา ภัทรมานนท์, 2556, Martinez, A.W., *et al.*, 2008)

อุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษอาศัยเทคโนโลยีเกี่ยวกับของไหลจุลภาค (Microfluidics) ซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่จัดการของไหลปริมาณน้อย หรืออย่างน้อยด้านหนึ่งของช่องขนส่งของไหลมีขนาดอยู่ระหว่าง 1-100 ไมโครเมตร โดยทั่วไปความหนาของกระดาษเองก็อยู่ในระดับไมโครเมตรอยู่แล้ว กระดาษเป็นวัสดุที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) เมื่อหยดน้ำลงบนกระดาษหรือจุ่มกระดาษลงในน้ำ น้ำจะซึมไปทั่วกระดาษ เพื่อสร้างช่องขนส่งซึ่งควบคุมทิศทาง การซึมของน้ำหรือของไหลซึ่งละลายสารที่ต้องการวิเคราะห์ไปยังบริเวณทดสอบบนกระดาษได้ อุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษจึงมีการออกแบบให้บางบริเวณบนกระดาษไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) ซึ่งมีอยู่หลายวิธี ได้แก่ การพิมพ์ด้วยแสง (Photolithography) การพิมพ์ด้วยเครื่องพล็อตเตอร์ (Plotter) การสลักด้วยการฉีดหมึก (Ink-jet etching) การพิมพ์ด้วยการฉีดหมึก (Ink-jet printing) (Abe, K., *et al.*, 2008) การปรับสภาพด้วยพลาสมา (Plasma treatment) (Li, X., *et al.*, 2008) การพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (Wax printing) การพิมพ์แบบยืดหยุ่น (Flexography printing) การปรับสภาพด้วยเลเซอร์ (Laser treatment) และการตัด (Paper cutting) เป็นต้น ซึ่งหลายวิธีที่กล่าวมานี้อาจต้องอาศัยบุคลากรที่เชี่ยวชาญในการใช้อุปกรณ์หรือสารเคมีที่มีราคาแพงหรือหาได้ยากในประเทศที่กำลังพัฒนา สำหรับวิธีการสร้างอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษโดยทีมนักวิจัยไทยมีอย่างน้อย 2 วิธี คือ การพิมพ์สกรีนด้วยขี้ผึ้ง (Wax printing) และการจุ่มด้วยขี้ผึ้ง (Wax dipping) ซึ่งขี้ผึ้งหรือไขเป็นวัสดุไม่ชอบน้ำมีราคาถูกและหาได้ทั่วไป (ภัทรสุดา รักทอง และริษา ภัทรมานนท์, 2556)

ในงานวิจัยครั้งนี้เป็นการพัฒนาอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก (II) ในหอยแครง โดยตรวจวัดสีของโลหะเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นในช่วงที่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า และความเข้มสีที่ปรากฏบนอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษที่ออกแบบขึ้น และประมวลผลด้วยโปรแกรม Image J ที่มีการเลือกความเข้มสีโดยเฉพาะและปรับเปลี่ยนให้อยู่ในโหมดสีเทา ศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ และสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มสีของเหล็กและความเข้มสีเฉลี่ย จากนั้นนำอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษไปวิเคราะห์การสะสมของเหล็ก (II) ในหอยแครง

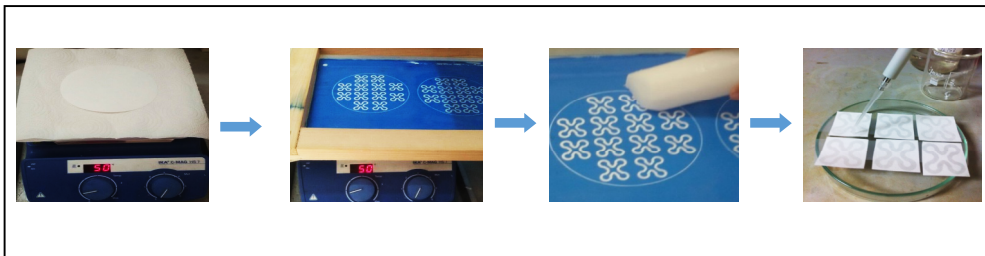
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย

2.1 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ทุกชนิดเป็นเกรดสำหรับการวิเคราะห์ (AR grade) ประกอบด้วย Ferric chloride (FeCl_3), 1,10-phenanthroline, Hydroxylamine และ Poly (Acrylic acid) ซึ่งเป็นสารที่ใช้สำหรับการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก (II) โดยควบคุมสถานะของสารละลายด้วยอะซิเตทบัฟเฟอร์ เตรียมจากกรดอะซิติกและเกลือโซเดียมอะซิเตท พีเอช 4.5 ปรับพีเอชของสารละลายด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 โมลาร์ ศึกษาสารรบกวนของโลหะไอออน Zn(II) , Cd(II) , Pb(II) , Cu(II) , Co(II) , Hg(II) , Al(II) , Bi(III) และ Ni(II) โดยเตรียมจาก ZnCl_2 , $\text{CdCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb(NO}_3)_2$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Co(NO}_3)_2$, $\text{Hg(NO}_3)_2$, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Bi(NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, และ $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ตามลำดับ ย่อยตัวอย่างหอยแครงด้วยกรดไนตริกเข้มข้นและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

2.2 การเตรียมอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ

การเตรียมอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ ใช้วิธีการพิมพ์สกรีนด้วยเทียน เพราะเป็นวิธีที่สามารถทำได้ง่ายและราคาถูก ซึ่งการสกรีนด้วยเทียนเป็นการควบคุมช่องทางการไหลเพื่อกำหนดส่วนที่ชอบน้ำและส่วนที่ไม่ชอบน้ำ วิธีการสร้างอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษสามารถทำได้โดยการอุ่นแผ่นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C และวางทับด้วยกระดาษทิชชูแผ่นใหญ่เพื่อป้องกันเทียนซึมบนแผ่นให้ความร้อน จากนั้นวางกระดาษกรองเบอร์ 1 บนแผ่นให้ความร้อน และวางบล็อกสำหรับสกรีนทับบนกระดาษกรอง ซึ่งบล็อกที่นำมาใช้งานนี้สร้างมาจากแผ่นฟิล์มต้นแบบ โดยออกแบบด้วยโปรแกรม adobe illustrator CS3 จากนั้นสกรีนเทียนให้ทั่วบริเวณที่มีการกำหนดบริเวณร่องการไหลเป็นเวลา 30 วินาที ยกบล็อกขึ้นแล้วดึงกระดาษกรองออกจากบล็อก รอให้แห้งตัดออกเป็นชิ้นเมื่อต้องการใช้งาน ซึ่งกระดาษกรอง 1 แผ่นจะได้อุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษจำนวน 12 ชิ้น แสดงภาพที่ 1 สำหรับการทำความสะอาดบล็อกสกรีน ทำได้โดยการให้อุณหภูมิที่ 100 °C เพื่อให้เทียนที่ติดค้างอยู่ละลายออกหมด แล้วเช็ดด้วยกระดาษทิชชู รอให้เย็นที่อุณหภูมิห้องจึงสามารถนำมาใช้งานในครั้งถัดไป



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ

2.3 ศึกษาลักษณะการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน

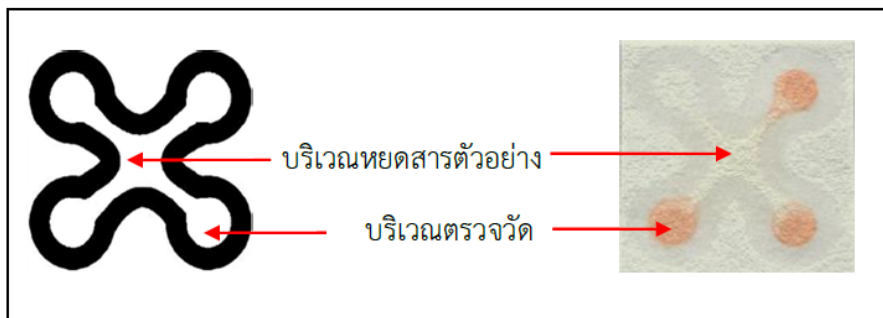
ศึกษาลักษณะเฉพาะของสารประกอบเชิงซ้อนของ $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$ ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมตรี โดยการติดตามปฏิกิริยาของสารประกอบเชิงซ้อนเทียบกับเวลาที่ความยาวคลื่น 510.19 nm อ้างอิงจากวิธี Phenanthroline method (APHA, 1985) พล็อตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและค่าการดูดกลืนแสง เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบเชิงซ้อน

2.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วยด้วยอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ

2.4.1 ปริมาตรของสารละลายที่เหมาะสม

นำอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษติดบนกระดาษกรองด้วยเทปกาว หยดสารแต่ละชนิดบริเวณตรวจวัด โดยหยดสารละลาย Hydroxylamine 0.50 ไมโครลิตร สารละลาย Poly(acrylic acid) จำนวน 0.50 ไมโครลิตร และ สารละลาย 1,10-phenanthroline จำนวน 0.50 ไมโครลิตร ที่บริเวณตรวจวัด เมื่ออุปกรณ์แห้งแล้วหยดสารละลายเหล็ก หรือสารตัวอย่าง ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยด 2 ครั้ง ที่บริเวณตรงกลางของอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ ทุกครั้งที่หยดต้องรอให้แห้งก่อนที่จะหยดซ้ำ ซึ่งบริเวณตรวจวัดจะปรากฏเป็นสีส้มแดง แสดงดังภาพที่ 2 นำอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษไปสแกนแล้วบันทึกเป็นไฟล์รูปภาพ โดยวิธีการวิเคราะห์ที่ดัดแปลงมาจากงานวิจัยของ Mentele และคนอื่นๆ (Mentele, M.M., *et al.*, 2012) จากนั้นประมวลผลบริเวณ

ตรวจวัดด้วยโปรแกรม Image J ในโหมดสีเทาเพื่อหาค่าความเข้มสีเฉลี่ย และในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ ทำการทดลองโดยการปรับเปลี่ยนปริมาตรที่ใช้ในการหยดของสารละลาย Hydroxylamine, Poly(acrylic acid), 1,10-phenanthroline ในช่วงปริมาตร 0.50-1.30 ไมโครลิตร และศึกษาปริมาตรของสารละลายตัวอย่างในช่วง 5.0-25.0 ไมโครลิตร



ภาพที่ 2 ลักษณะของอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ

2.4.2 ความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสม

ทำการทดลองเช่นเดียวกับการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสม แต่เปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารละลายที่ส่งผลต่อการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน คือความเข้มข้นของ Hydroxylamine ศึกษาในช่วง 0.10 – 0.90 กรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นของสารละลาย 1,10-phenanthroline ศึกษาในช่วง 4 – 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.4.3 ระยะเวลาการใช้งานของอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ

นำอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษติดบนกระดาษหน้าด้วยเทปกาว โดยหยดสารละลาย Hydroxylamine 0.50 ไมโครลิตร สารละลาย Poly(acrylic acid) จำนวน 0.50 ไมโครลิตร และสารละลาย 1,10-phenanthroline จำนวน 0.50 ไมโครลิตร ที่บริเวณตรวจวัด โดยยังไม่ทำการวิเคราะห์เหล็ก จำนวน 20 ชั้น จากนั้นปล่อยให้ตัวรีดิคซ์และลิแกนด์แห้ง เก็บไว้ในโถดูดความชื้น เมื่อครบ 1 สัปดาห์ นำอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษที่หยดสารละลายทิ้งไว้มาจำนวน 5 ชั้น หยดสารละลายเหล็กปริมาตร 10 ไมโครลิตร ที่บริเวณตรงกลางของอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ สแกนอุปกรณ์บันทึกเป็นรูปภาพเพื่อหาค่าความเข้มสีเฉลี่ย ส่วนอุปกรณ์ที่เก็บไว้จะทำการทดลองเช่นเดียวกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นสแกนอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษและตรวจวัดความเข้มสีเป็นรายสัปดาห์ รวมระยะเวลา 4 สัปดาห์ (1 เดือน)

2.5 การศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

2.5.1 ช่วงความเป็นเส้นตรงและกราฟมาตรฐาน

ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง โดยการวัดสารละลายมาตรฐานเหล็ก (II) ในช่วงความเข้มข้น 0.005 - 15.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นำไปสร้างกราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของเหล็ก (II) และความเข้มสีเฉลี่ย จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ให้อยู่ในช่วงของความเข้มข้นเส้นตรง สำหรับใช้วิเคราะห์หาปริมาณเหล็กในตัวอย่างหอยแครง

2.5.2 ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด

ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดโดยการวัดสารละลายที่มีความเข้มข้น 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 10 ครั้ง หาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และคำนวณหาค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) จากสมการที่ 1 ขีดจำกัดต่ำสุดของการทำปริมาณวิเคราะห์ (LOQ) จากสมการที่ 2 และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถมองเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อนได้

$$\text{LOD} = \frac{3 \times \text{SD}}{\text{slope}} \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \text{SD}}{\text{slope}} \dots\dots\dots(2)$$

2.5.3 ความเที่ยงในการวิเคราะห์

ศึกษาการวัดซ้ำของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น โดยทำการทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสม วัดความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเหล็ก (II) ที่ความเข้มข้น 0.005, 0.4 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 10 ครั้ง หาค่าความเข้มสีเฉลี่ย และคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) จากสมการที่ 3

$$\% \text{RSD} = \frac{\text{SD} \times 100}{\bar{X}} \dots\dots\dots(3)$$

2.6 การศึกษาสารรบกวน

ศึกษาการรบกวนของโลหะไอออน 9 ชนิดคือ Zn(II), Cd(II), Pb(II), Cu(II), Co(II), Hg(II), Al(II), Bi(III), และ Ni(II) ซึ่งเตรียมจาก ZnCl₂, CdCl₂·5H₂O, Pb(NO₃)₂, CuSO₄·5H₂O, Co(NO₃)₂, Hg(NO₃)₂, AlCl₃·6H₂O, Bi(NO₃)₃·5H₂O และ NiSO₄·6H₂O ตามลำดับ โดยศึกษาที่อัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายเหล็ก (II) ต่อสารรบกวน ในอัตราส่วน 3:1, 2:1, 1:1, 1:2 และ 1:3 จากนั้นวัดความเข้มสีเฉลี่ยเพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลง

2.7 การเตรียมตัวอย่างหอยสำหรับวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ

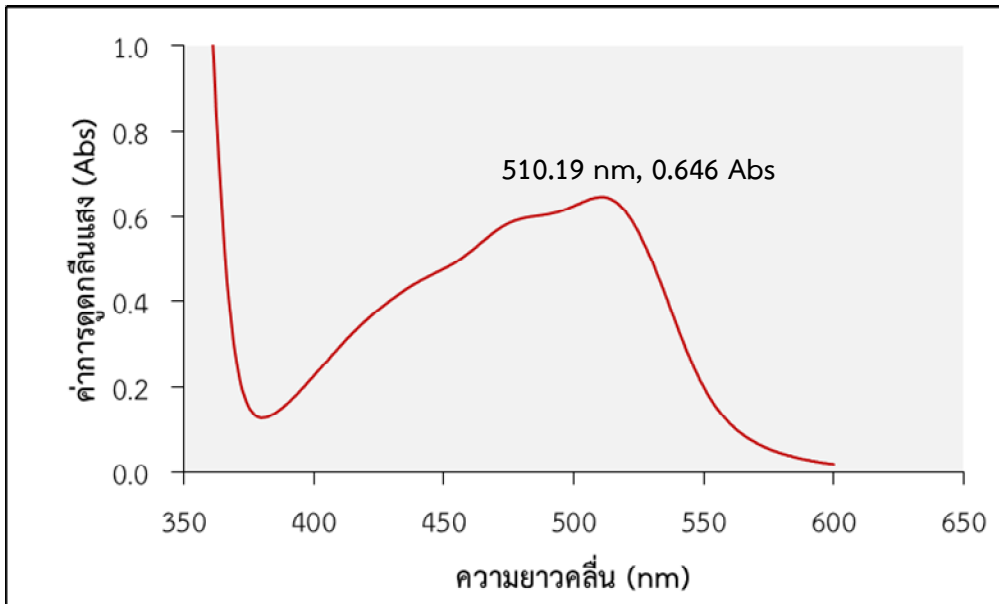
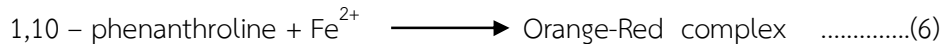
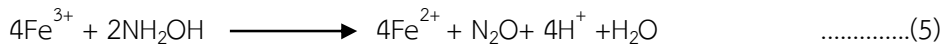
การเตรียมตัวอย่างหอยเป็นวิธีการทดลองที่ดัดแปลงมาจากงานวิจัยของ Meucci และคนอื่นๆ (Meucci, V., *et al.*, 2009) ซึ่งตัวอย่างหอย 1 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมนครไดไตรกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร ปิดด้วยกระดาษฟิวส์ นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง รอให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเติมไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H₂O₂) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ปรับพีเอชของสารตัวอย่างหลังการย่อยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และกรดไนตริกให้มีพีเอชประมาณ 4.5 จากนั้นปรับปริมาตร ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ด้วยอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 4.5 จากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ ตามสถานะเช่นเดียวกับการวิเคราะห์สารมาตรฐาน ทำการทดลองซ้ำโดยการเติมสารมาตรฐานเหล็ก ก่อนการย่อยที่ความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร คำนวณหาค่าร้อยละการกลับคืน เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ตามสมการที่ 4

$$\% \text{recovery} = \frac{(\text{ค่าความเข้มข้นจากตัวอย่างที่ได้จากการตรวจวัด}) - (\text{ค่าความเข้มข้นจาก Blank}) \times 100}{(\text{ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน})} \dots\dots\dots(4)$$

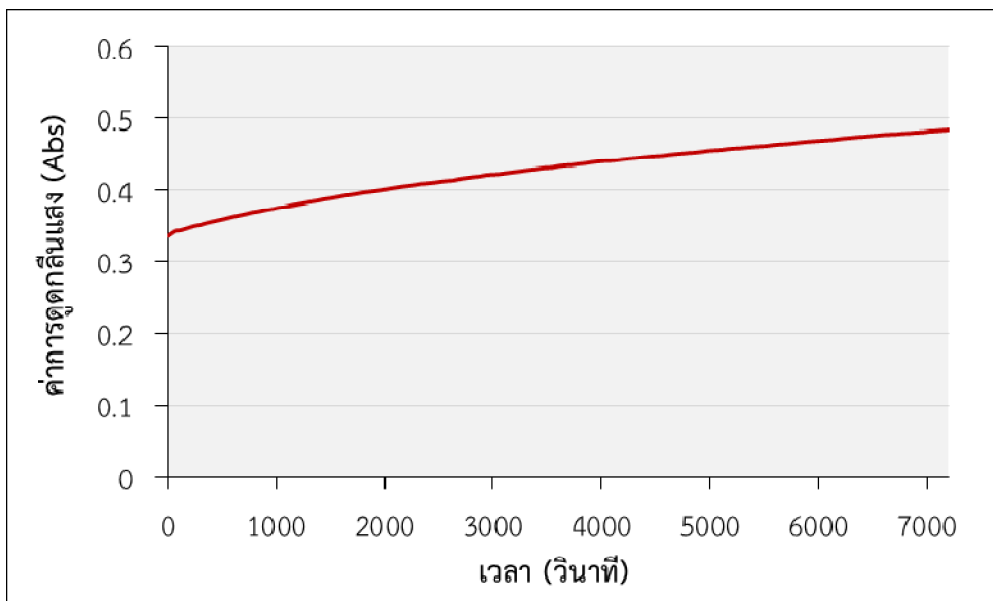
3. ผลการดำเนินการวิจัย

3.1 ลักษณะการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของ $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$

ในการวิเคราะห์ไอออนของเหล็ก (II) โดยทำปฏิกิริยากับ 1,10-phenanthroline ได้สารประกอบเชิงซ้อนในรูปของ $\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3^{2+}$ พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510.19 nm ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงในช่วง Visible และสัญญาณจะเริ่มคงที่ เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 1 ชั่วโมง 30 นาที แสดงดังภาพที่ 3 และ 4 ในปฏิกิริยาจะทำการเติม Hydroxylamine ลงไปเพื่อทำการรีดิวซ์ Fe^{3+} ให้เป็น Fe^{2+} ดังสมการที่ 5 และทำปฏิกิริยากับ 1,10- phenanthroline ดังสมการที่ 6 โดย Fe^{2+} เท่านั้นที่สามารถทำปฏิกิริยากับ 1,10-phenanthroline จากการทดลองพบว่า เมื่อเติม Hydroxylamine จะเกิดสารเชิงซ้อนสีส้มแดง ในขณะที่เมื่อไม่เติม Hydroxylamine จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ลักษณะของสารละลายยังคงสภาพเป็นสีเหลืองอ่อนของสารละลายเหล็ก ซึ่งแสดงให้เห็นว่า 1,10-phenanthroline มีความจำเพาะเจาะจง (selectivity) สำหรับการวิเคราะห์ Fe^{2+}



ภาพที่ 3 ลักษณะสเปกตรัมของสารประกอบเชิงซ้อน $[\text{Fe}(\text{phen})_3]^{2+}$



ภาพที่ 4 ระยะเวลาของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนเมื่อเทียบกับค่าการดูดกลืนแสง

3.2 สภาวะที่เหมาะสมของอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ

3.2.1 ปริมาณที่เหมาะสมของสารละลายในการวิเคราะห์เหล็ก

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทดลอง ได้แก่ ปริมาตรของ Hydroxylamine ปริมาตร Poly(acrylic acid) ปริมาตรของ 1,10-phenanthroline และปริมาตรของสารตัวอย่าง ผลการทดลองพบว่าในการวิเคราะห์เหล็ก (II) ใช้ปริมาตรของ Hydroxylamine 0.50 ไมโครลิตร จำนวน 2 ครั้ง หากหยดสารละลาย Hydroxylamine มากกว่า 2 ครั้ง ความเข้มข้นไม่มีการเปลี่ยนแปลง และ Poly(acrylic acid) จำนวน 0.50 ไมโครลิตร เพื่อให้สารเชิงซ้อนเกิดความเสถียร มีความคงตัวในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนได้นาน ซึ่งเมื่อเพิ่มปริมาตรของ Poly(acrylic acid) จะไม่ส่งผลต่อความเข้มข้นเฉลี่ย ส่วนสารละลาย 1,10-phenanthroline ปริมาตร 0.50 ไมโครลิตร จำนวน 2 ครั้ง ให้ค่าความเข้มข้นเฉลี่ยสูงกว่าการใช้ 1,10-phenanthroline ปริมาตร 0.50 ไมโครลิตร จำนวน 1 ครั้ง และสูงกว่าการใช้ 1,10-phenanthroline ปริมาตร 1 ไมโครลิตร จำนวน 1 ครั้ง เนื่องจากปริมาตรสารมากเกินไปทำให้เกิดการแพร่ออกนอกบริเวณตรวจวัดทำให้ความเข้มข้นเฉลี่ยที่วัดได้ลดลง ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานให้ค่าเหมาะสมที่ปริมาตร 10 ไมโครลิตร จำนวน 2 ครั้ง หากใช้ปริมาตรน้อยเกินไปสารละลายตัวอย่างจะไม่สามารถเกิดการแพร่เข้าไปทำปฏิกิริยาบริเวณตรวจวัด และหากมีปริมาณมากเกินไปจะแพร่ออกนอกบริเวณตรวจวัด โดยปริมาตรที่ใช้ในการวิเคราะห์เหล็กแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์เหล็ก (II)

พารามิเตอร์	ช่วงการศึกษา (ไมโครลิตร)	ค่าที่เหมาะสม (ไมโครลิตร)
ปริมาตร Hydroxylamine	0.5-1.3	0.5×2
ปริมาตร Poly(acrylic acid)	0.5-1.3	0.5×1
ปริมาตร 1,10-phenanthroline	0.5-1.3	0.5×2
ปริมาตรสารละลายมาตรฐานและสารตัวอย่าง	5.0-25.0	10.0×2

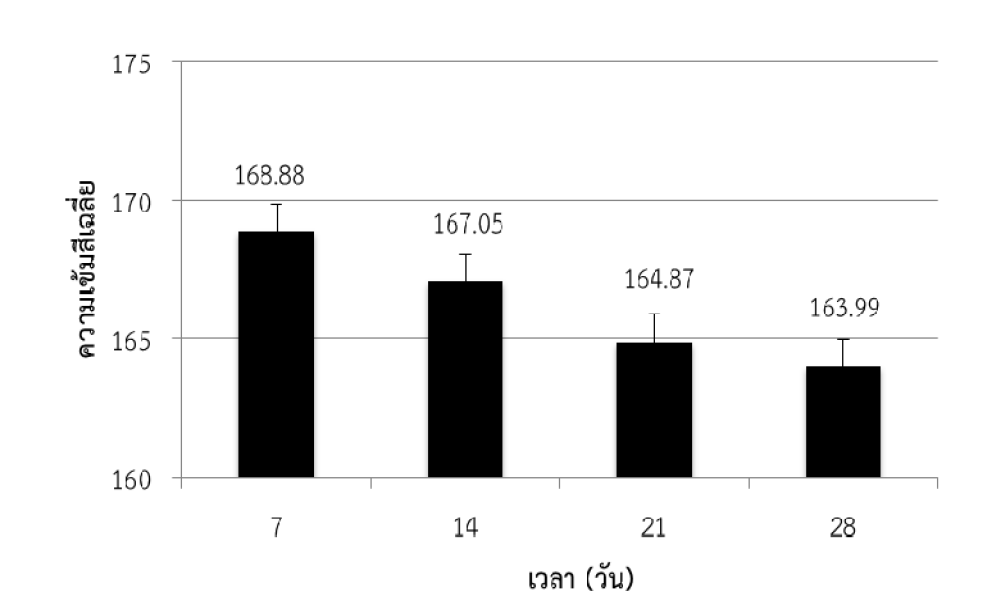
หมายเหตุ การคูณหมายถึงจำนวนครั้งที่หยดสารละลาย

3.2.2 ความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสม

ผลการศึกษาความเข้มข้นของ Hydroxylamine ในช่วง 0.10 - 0.90 กรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าทุกความเข้มข้นของ Hydroxylamine ให้ความเข้มข้นสีเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน จึงเลือกใช้ที่ความเข้มข้น 0.10 กรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อประหยัดสารเคมี ส่วนความเข้มข้นของ 1,10-phenanthroline ศึกษาในช่วง 4 - 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าความเข้มข้นของ 1,10-phenanthroline น้อย ให้ความเข้มข้นสีต่ำและมีผลในการแพร่ของสารไปยังบริเวณจุดตรวจวัด และถ้าความเข้มข้นมากจะส่งผลให้การแพร่ของสารแพร่ไปบริเวณแขนของการตรวจวัด ดังนั้นความเข้มข้นของ 1,10-phenanthroline สำหรับการวิเคราะห์เหล็ก (II) บนอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาศที่เหมาะสมคือ 8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2.3 ผลของระยะเวลาการใช้งานของอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาศ

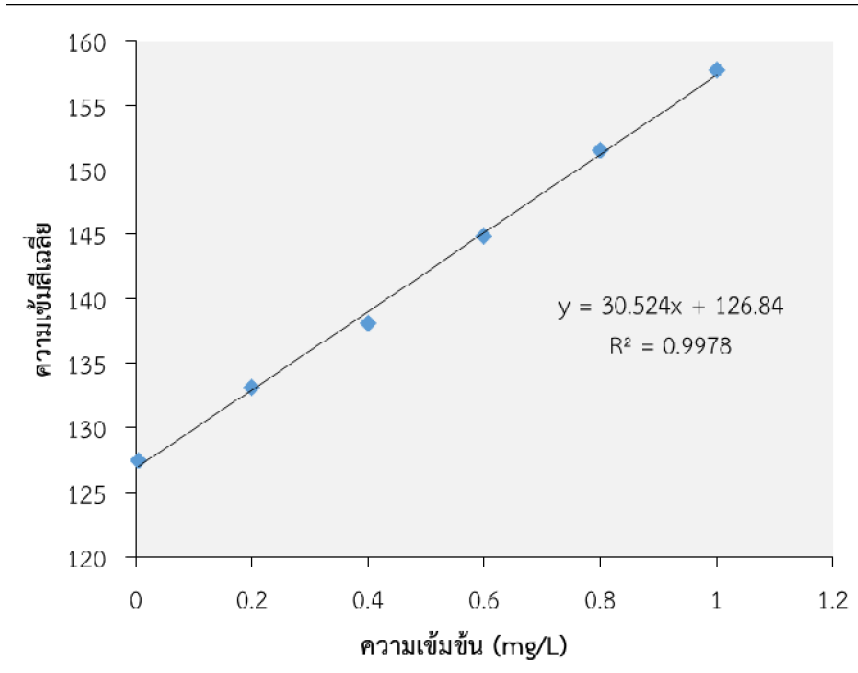
การวิเคราะห์เหล็ก (II) ที่เกิดปฏิกิริยากับ 1,10-phenanthroline เกิดเป็นสีส้มแดงบนอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาศ การศึกษาระยะเวลาการใช้งานบนอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาศเพื่อสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดเหล็กในภาคสนามได้ การศึกษาประสิทธิภาพการใช้งานของอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาศแสดงดังภาพที่ 5 จากการทดลองพบว่าค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของเหล็ก (II) ที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน จากการทดลองพบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 1 เดือน (4 สัปดาห์, 28 วัน) ค่าความเข้มข้นเฉลี่ยจะลดลง 3.54 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากการเกิดสารเชิงซ้อนระหว่างสารละลายมาตรฐานเหล็กกับ 1,10-phenanthroline ได้ไม่ดี อาจเป็นเพราะ hydroxylamine กับ 1,10-phenanthroline ถูกสัมผัสกับอากาศเป็นผลให้ความเข้มข้นเฉลี่ยลดลง ดังนั้นอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาศสามารถใช้งานได้อย่างน้อย 1 เดือน



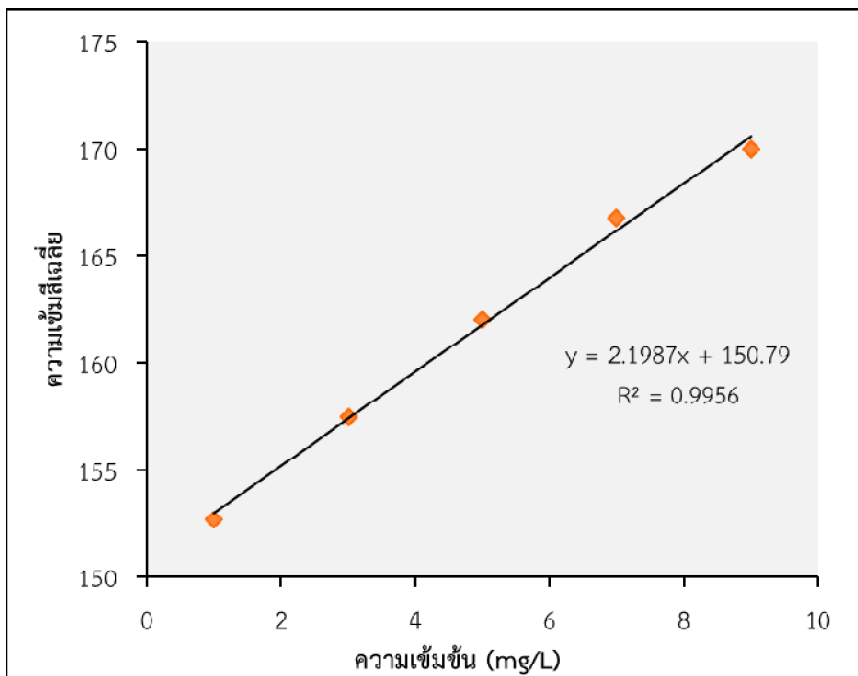
ภาพที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลา 4 สัปดาห์ กับค่าความเข้มสีเฉลี่ยของเหล็ก (II)

3.3 ประสิทธิภาพของการวิเคราะห์

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเหล็ก (II) กับค่าความเข้มสีเฉลี่ย (Mean Intensity) ซึ่งกราฟมาตรฐานที่ได้มีช่วงความเป็นเส้นตรงสองช่วงที่ความชันต่างกันคือ $Y = 30.524x + 126.84$ ค่า $R^2 = 0.9978$ ที่ความเข้มข้น 0.005-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ $Y = 2.198x + 150.8$ ค่า $R^2 = 0.9956$ ที่ความเข้มข้น 1.0-9.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในภาพที่ 6 และ 7 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) จากการวัดจริงของสารละลายมาตรฐานเหล็ก (II) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งความสามารถของการวัดซ้ำได้ของวิธีวิเคราะห์ (Precision) ที่ 3 ความเข้มข้น คือ 0.005, 0.4 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 0.54, 0.48 และ 0.55% ตามลำดับ



ภาพที่ 6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีเฉลี่ยกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานหลัก (II) ในช่วงความเข้มข้นต่ำ 0.005 – 1 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีเฉลี่ยกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานหลัก (II) ในช่วงความเข้มข้น 1 – 9 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.4 ผลของสารรบกวนต่อการวิเคราะห์

ทดสอบสารรบกวน 9 ชนิดคือ Zn(II), Cd(II), Pb(II), Cu(II), Co(II), Hg(II), Al(II), Bi(III) และ Ni(II) โดยกำหนดเป็นอัตราส่วนของเหล็กต่อสารรบกวน 3:1, 2:1, 1:3, 1:2 และ 1:1 จากการทดลองพบว่าสารรบกวนสารทุกชนิดไม่ส่งผลต่อการวิเคราะห์ โดยจะมีความเข้มข้นเปลี่ยนแปลงไม่เกิน 10%

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างหอย

การเตรียมและการย่อยตัวอย่างตัดแปลงมาจากวิธีของ Meucci และคนอื่นๆ ในปี 2009 โดยใช้ปริมาณตัวอย่างหอยสดและตัวอย่างหอยที่อบแห้งจำนวน 5 กรัม ผลที่ได้จากการย่อยตัวอย่างสดพบว่าตัวอย่างย่อยไม่สมบูรณ์ มีลักษณะขุ่น ส่วนตัวอย่างแห้งมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลไหม้ จึงได้มีการดัดแปลงวิธีการเตรียมและย่อยตัวอย่างเพื่อให้ได้ตัวอย่างที่มีลักษณะใสสามารถวิเคราะห์บนอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษได้ โดยลดปริมาณตัวอย่างเป็น 1 กรัม ใช้เฉพาะตัวอย่างเปียก และทำการปรับ pH ที่ 4.5 เพื่อให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสม และใช้กรดไนตริก 5 มิลลิลิตร ย่อยที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และย่อยต่อด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 70 °C 2 ชั่วโมง เพื่อช่วยในการกำจัดไอของกรดไนตริกที่ยังเหลืออยู่ พบว่าสารตัวอย่างหลังการย่อยมีลักษณะใส เมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษตรวจพบปริมาณเหล็ก 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยให้ค่าร้อยละการกลับคืน (%Recovery) เท่ากับ 93.00 และ 94.67% ที่ความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำมาวิเคราะห์ตัวอย่างระหว่างวัน (Interday analysis) จำนวน 3 วัน โดยการทำซ้ำ 3 ซ้ำ จากการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี t-test พบว่าผลการวิเคราะห์ทั้ง 3 วัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4. การวิจารณ์และสรุป

การวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก (II) ในหอยแครงด้วยอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษโดยวิธีคัลเลอร์เมตรี โดยอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษสร้างจากการสกรีนด้วยเทียน (Wax printing) ออกแบบให้สามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็วและมีความจำเพาะเจาะจงกับการวิเคราะห์เหล็ก (II) ในระดับมิลลิกรัมต่อลิตร กำหนดส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) และไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) บริเวณตรวจวัดจะเกิดเป็นสารเชิงซ้อนระหว่างเหล็ก (II) กับ 1,10-phenanthroline เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มแดง บันทึกผลการทดลองด้วยเครื่องสแกนเนอร์และหาความเข้มข้นด้วยโปรแกรม Image J ในโหมดสีเทา การวิเคราะห์เหล็ก (II) ด้วยอุปกรณ์ของไหลจุลภาคบนกระดาษ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ได้กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเหล็ก (II) กับค่าความเข้มสีเฉลี่ย (Mean Intensity) ที่ความเข้มข้น 0.005-1.0 mg/L ($R^2 = 0.9978$) และที่ความเข้มข้น 1.0-9.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ($R^2 = 0.9950$) ขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) จากการวัดจริงของสารละลายมาตรฐานเหล็ก (II) เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อลิตร การทดสอบสารรบกวน (Interference) ด้วยโลหะชนิดต่างๆ (Zn^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} , Co^{2+} , Al^{3+} , Bi^{2+} และ Ni^{2+}) พบว่าไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มสีของการวิเคราะห์เหล็ก (II) และ

สามารถเก็บไว้ใช้งานได้อย่างน้อย 1 เดือน การวิเคราะห์เหล็ก (II) ด้วยอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษ มีความเที่ยงสูง สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์เหล็ก (II) ในตัวอย่างหอยแครงได้จริง ให้ค่าร้อยละการกลับคืน (%Recovery) เท่ากับ 93.00 และ 94.67% ที่ความเข้มข้น 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังนั้นวิธีนี้จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการวิเคราะห์เหล็ก (II) ที่สามารถทำได้รวดเร็ว ประดิษฐ์ขึ้นได้ง่าย วิเคราะห์สารได้หลายชนิดในอุปกรณ์ชิ้นเดียว วิเคราะห์เหล็ก (II) ในระดับความเข้มข้นต่ำ รวมทั้งเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ตัวอย่างและไม่รบกวนต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้อุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษที่ได้พัฒนาขึ้นมานี้ เหมาะสำหรับการใช้งานภาคสนาม

นอกจากนี้ รูปแบบของอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษที่ผู้วิจัยได้ออกแบบไว้ สามารถวิเคราะห์โลหะได้ถึง 4 ชนิด ในอุปกรณ์ปฏิบัติการบนกระดาษชิ้นเดียวกัน ซึ่งจะทำให้การพัฒนาในงานวิจัยถัดไป

5. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณาจารย์สาขาวิชาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ และสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช ที่ให้การสนับสนุน แนะนำ เพื่อให้เกิดงานวิจัยนี้

6. เอกสารอ้างอิง

- ปนัดดา อเนกเวียง และ รินา ภัทรมานนท์. (2556). ความก้าวล้ำของเทคโนโลยีไบโอเซอร์: นวัตกรรมสู่โลกอนาคต. *วารสารคณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 41(2), 262-280.
- ภัทรสุดา รักษทอง และ รินา ภัทรมานนท์. (2556). การพัฒนาไบโอเซนเซอร์แบบกระดาษสู่ระบบการวินิจฉัยโรคใกล้ชิดผู้ป่วย. *วารสารคณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 41(4), 873-884.
- Abe, K.; Suzuki, K.; Citterio, D. (2008). Injet-printed microfluidic multianalyte chemical sensing paper. *Anal. Chem.*, 80, 6928-6934.
- Amara, A.; Weena, S.; Narong, P.; Orawan, C. (2012). Simple and rapid colorimetric detection of Hg(II) by a paper-based device using silver nanoplates. *Talanta*, 97, 388-394.
- American Public Health Association (APHA) (1985). *Iron: Phenanthroline method*, 215-219.
- Dungchai, W.; Chailapakul, O.; Henry, C.S. (2009). Electrochemical detection for paper-based microfluidics. *Anal. Chem.*, 81, 5821-5826.
- Economou, A.; Voulgaropoulos, A. (2007). On-line stripping voltammetry of trace metals at a flow-through bismuth-film electrode by means of a hybrid flow-injection/sequential-injection system. *Talanta*, 71, 758-765.

- Katarina, R.K.; Lenghor, N.; Motomizu, S. (2007). On-line preconcentration method for the determination of trace metals in water sample using a fully automated pretreatment system coupled with ICP-AES. **Anal. Sci.**, 23, 343-350.
- Li, X.; Tian, J.; Neuyen, T.; Shen, W. (2008). Paper-based Microfluidic devices by plasma treatment. **Anal. Chem.**, 80, 9131-9134.
- Martinez, A.W.; Phillips, S.T.; Carrilho, E.; Thomas, S.W.; Sindi, H.; Whitesides, G.M. (2008). Simple telemedicine for developing regions: camera phones and paper-based microfluidic devices for real-time, off-site diagnosis. **Anal. Chem.**, 80, 3699-3707.
- Mentele, M.M.; Cunningham, J.; Koehler, K.; Volckens, J.; Henry, C.S. (2012). Microfluidic paper-based analytical device for particulate metals. **Anal. Chem.**, 84, 4474-4480.
- Meucci, V.; Laschi, S.; Minunni, M.; Pretti, C.; Intorrea, L.; Soldani, G.; Mascini, M. (2009) An optimized digestion method coupled to electrochemical sensor for the determination of Cd, Cu, Pb and Hg in fish by square wave anodic stripping voltammetry. **Talanta**, 77, 1143-1148.