

การพัฒนากระดาษทดสอบตะกั่ว

Development of a Paper Test Strip for Detection of Lead

สุนิสา มีนนท์ และ ศิริวรรณ ตี๋ภู*

Sunisa Meenon and Siriwan Teepoo^{*}

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology,

Rajamangala University of Technology Thanyaburi

Received : 7 November 2018

Accepted : 8 May 2018

Published online : 25 May 2018

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนากระดาษทดสอบตะกั่ว โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างตะกั่วกับอะลิซารินเรดเอสบนกระดาษ ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารละลายสีน้ำตาลแดง วัดค่าความเข้มข้นด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ สร้างกระดาษทดสอบจากการสกรีนสารละลายพอลิแลกติกแอซิดลงบนกระดาษโครมาโทกราฟีด้วยเทคนิคการสกรีน เพื่อสร้างบริเวณไม่ชอบน้ำบนกระดาษ ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของกระดาษทดสอบตะกั่ว ได้แก่ ความเข้มข้นของอะลิซารินเรดเอส พีเอชและเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างตะกั่วกับอะลิซารินเรดเอส ผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของอะลิซารินเรดเอสที่เหมาะสมความเข้มข้น 14 มิลลิโมลาร์ พีเอชที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างตะกั่วกับอะลิซารินเรดเอส คือพีเอช 4.00 และเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาคือ 1 นาที ภายใต้สภาวะการทดลองที่เหมาะสมพบว่าความเข้มข้นมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของตะกั่วในช่วงความเป็นเส้นตรง 0.08-2.00 พีพีเอ็ม มีขีดจำกัดการตรวจวัด 0.06 พีพีเอ็ม และร้อยละการได้กลับคืน 87-116 กระดาษทดสอบตะกั่วที่ได้มีข้อดีคือ มีความแม่นยำสูง ใช้งานง่ายและเวลาในการวิเคราะห์น้อย

คำสำคัญ : ตะกั่ว, กระดาษทดสอบ, กระดาษโครมาโทกราฟี, อะลิซารินเรดเอส

* Correspondent author. E-mail : siriwan@mail.mutt.ac.th

Abstract

This research was the development of paper test for lead detection based on the reaction between lead and alizarin red S resulting in reddish brown product. Then reddish brown intensity was measured by image processing program. The paper test was fabricated by screening the polyacetic acid solution on chromatography paper using screen-printing technique to create hydrophobic barriers on paper. The optimum conditions of paper test for detection of lead were studied such as mole ratio of alizarin red S, pH value and reaction time between lead and alizarin red S. The results were found that the optimum concentration of alizarin red S was 14 mM. The pH value of 4.00 and the reaction time of 1 min were obtained for optimization of the reaction between lead and alizarin red S. Under optimal conditions, the color intensity was linearly correlated with concentration of lead in the range of 0.08 to 2.00 ppm. The detection limit was 0.06 ppm and %recovery was 87-116. The advantage, of the developed paper test strip were high accuracy and precision, easy to use, short analysis time.

Keywords : lead, paper test strip, chromatography paper, alizarin red S

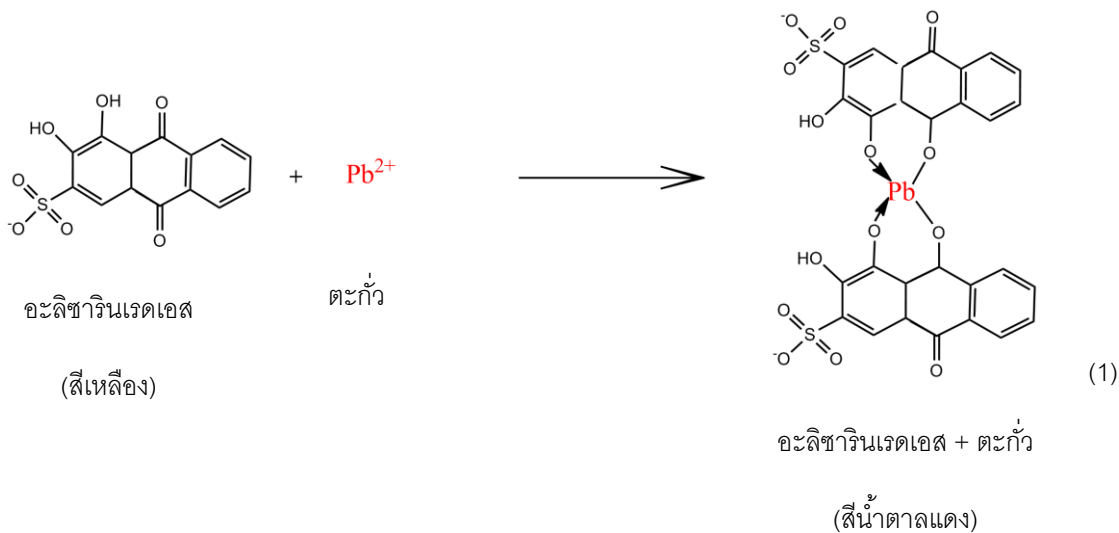
บทนำ

โลหะหนักเป็นธาตุที่มีน้ำหนักหรือความถี่จําเพาะมากกว่าน้ำ 5 เท่า โลหะหนักบางชนิดเป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น สังกะสี ทองแดง เหล็กและซีลีเนียม แต่โลหะหนักบางชนิดก็เป็นพิษต่อร่างกาย เช่น ตะกั่ว (Coco *et al.*, 2006) ตะกั่วเป็นโลหะหนักที่มีอยู่ในธรรมชาติและเป็นผลจากกิจกรรมของมนุษย์ เช่น การปล่อยมลพิษจากอุตสาหกรรม โรงงานที่ทําทําหรือใช้ตะกั่วโลหะผสมตะกั่ว ตะกั่วจากการทําทําเหมืองแร่ และตะกั่วที่เกิดจากการเผาไหม้ของน้ำมันเบนซินที่ถูกปล่อยออกจากท่อไอเสียรถยนต์ นอกจากนี้ตะกั่วยังมีในส่วนผสมของยากําจัดศัตรูพืชอีกด้วย ซึ่งสารตะกั่วเหล่านี้จะมีอนุภาคขนาดเล็กสามารถลอยอยู่ในอากาศไปตกค้างอยู่ในธรรมชาติทั้งในดิน น้ำ และอากาศ (Abadin *et al.*, 2007) สารตะกั่วเหล่านี้จะไปตกค้างในอาหารหรือพืชผักผลไม้ได้ เมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารหรือ ผักผลไม้ที่มีสารตะกั่วตกค้างเข้าไปปริมาณมาก จะทำให้เกิดอาการจุกเสียด เป็นโรคโลหิตจาง และยังส่งผลต่อสุขภาพในระยะยาวอีกด้วย นอกจากนี้ยังจัดตะกั่วให้เป็นสารอินทรีย์ที่อาจเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ (Norton *et al.*, 2015) ดังนั้นจึงได้มีการกำหนดปริมาณตะกั่วที่ยอมรับได้ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขของไทยฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 กำหนดให้พบตะกั่วปนเปื้อนในอาหารได้ไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัม (FDA, 2003)

วิธีทั่วไปที่ใช้ในการตรวจวัดตะกั่ว ได้แก่ เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี (Atomic Absorption Spectrometer ; AAS) (Zhao *et al.*, 2015) โครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography ; HPLC) (Zhou *et al.*, 2017) อินดักทีฟพลาสมาแมสสเปกโทรเมตรี (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry ; ICP-MS) (Li *et al.*, 2016) ซึ่งวิธีที่กล่าวมาเป็นวิธีตรวจวัดทั่วไป ซึ่งผู้วิเคราะห์จะต้องมีความเชี่ยวชาญในการใช้เครื่องมือ เครื่องมือที่ใช้มีราคาแพง ทำให้มีค่าใช้จ่ายในการตรวจวัดต่อตัวอย่างสูง การเตรียมตัวอย่างในการตรวจวัดยุ่งยาก ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน และเป็นวิธีที่ไม่สามารถตรวจวัดตะกั่วได้ในภาคสนาม

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะสร้างกระดาษทดสอบตะกั่ว เพื่อให้สามารถวัดตะกั่วได้ในภาคสนาม ใช้งานง่าย ราคาไม่แพงและตรวจได้อย่างรวดเร็ว โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างอะลิซารินเรดเอสกับตะกั่ว เกิดเป็นสารละลายสีน้ำตาลแดง ดังสมการที่ 1 อะลิซารินเรดเอสจะจับกับตะกั่วด้วยพันธะโคออดิเนต โคเวเลนต์ โดยออกซิเจนของอะลิซาริน

เรดเฮสจะให้อิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวแก่ตะกั่ว (Khalaf, 2011) ที่ผ่านมาได้มีงานวิจัยที่ใช้อะลิซารินเรดเฮสในการตรวจวัดตะกั่วในเส้นผมด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี โดยนำตัวอย่างเส้นผมมาสกัดด้วย กรดไนตริกเข้มข้น และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากนั้นนำไปตรวจวัดโดยเดิมสารละลายอะลิซารินเรดเฮส ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารละลายสีชมพูแดง นำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 518 นาโนเมตร สามารถตรวจวัดตะกั่วได้ที่มีความเข้มข้น 1.50-9.00 ppm (Khalaf, 2011) โดยในงานวิจัยสนใจที่จะพัฒนาวิธีการตรวจวัดตะกั่วให้อยู่ในรูปของกระดาษทดสอบ ซึ่ง กระดาษทดสอบตะกั่วที่พัฒนาขึ้นจะเป็นกระดาษทดสอบที่สามารถตรวจวัดได้ทั้งแบบเชิงปริมาณวิเคราะห์ (Quantitative) โดยนำกระดาษทดสอบ ที่ได้ไปสแกนด้วยเครื่องสแกนและวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มสีของตะกั่วและค่าความเข้มสี และหาความเข้มข้นที่แน่นอนของตะกั่วจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน และตรวจวัดเชิงกึ่งปริมาณวิเคราะห์ (Semi-quantitative) โดยการเปรียบเทียบสีที่ได้จากกระดาษทดสอบกับแถบสีมาตรฐานที่สร้างขึ้น จะได้ความเข้มข้นโดยประมาณของตะกั่ว



วิธีดำเนินการวิจัย

1. สารเคมี อุปกรณ์ และเครื่องมือ

เลด (II)ไนเตรต (Ajax Finechem Pty., Ltd, New Zealand) อะลิซารินเรดเฮส (Sigma-Aldrich, USA) พอลิแลกติก (LLC, USA) ไดคลอโรมีเทน (RCI Labscan Ltd., Thailand) เครื่องสแกนเนอร์ (Scanner) รุ่น CanoScan Lide 120 (Canon Marketing (Thailand) Co., Ltd., Vietnam) และกระดาษโครมาโทกราฟี เบอร์ 4 (Whatman, UK)

2. สร้างกระดาษทดสอบตะกั่วด้วยการพิมพ์สี

2.1 ออกแบบและสร้างกระดาษทดสอบตะกั่ว

ออกแบบกระดาษทดสอบตะกั่วด้วยโปรแกรมอะโดบี อิลลัสเตรเตอร์ (Adobe Illustrator) โดยออกแบบให้บริเวณตรวจวัดมีพื้นที่ที่แตกต่างกัน 4 แบบดังตารางที่ 1 และภาพที่ 1 จากนั้นนำรูปแบบที่ได้ไปสร้างบล็อกสกรีนนำบล็อกสกรีนที่ได้มาทำการทดลองตามขั้นตอนดังนี้ (ภาพที่ 2)

ขั้นที่ 1 นำบล็อกสกรีนมาวางบนกระดาษโครมาโทกราฟี เทสสารละลายพอลิแลกติกที่ละลายในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนลงบนบล็อกสกรีน

ขั้นที่ 2 ปาดสารละลายพอลิแลกติกที่อยู่ในบล็อกสกรีนด้วยอุปกรณ์ปาดบล็อก

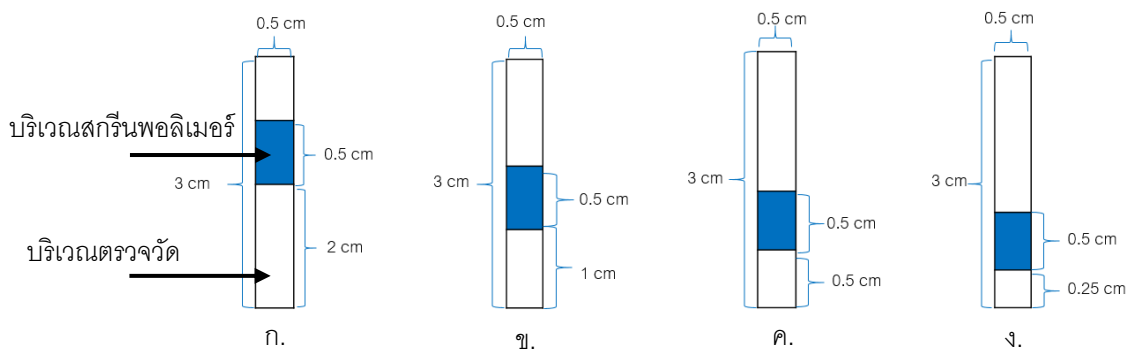
ขั้นที่ 3 วางกระดาษโครมาโทกราฟฟีที่สกรีนด้วยสารละลายพอลิแลกติกไว้จนแห้ง

ขั้นที่ 4 ตัดตามรูปแบบกระดาษให้มีขนาดตามตารางที่ 1

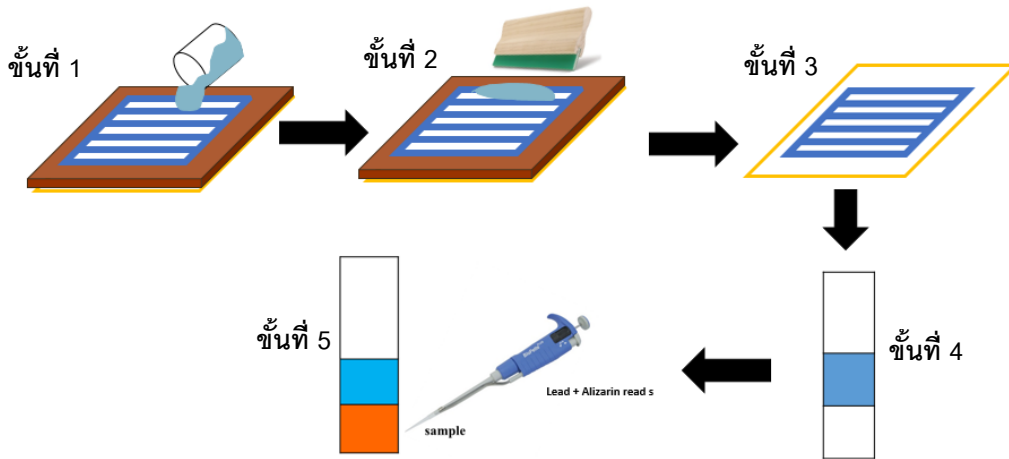
ขั้นที่ 5 บีบกระดาษละลายอะซิโตนเรดเอชความเข้มข้น 14 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษทดสอบบริเวณตรวจวัด จากนั้นบีบกระดาษมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้น 1 ppm ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยากัน 1 นาที เหนือการพิจารณาจะเลือกรูปแบบกระดาษทดสอบที่ผลิตภัณฑ์เกิดปฏิกิริยาเต็มบริเวณตรวจวัดและมีความเข้มสีชัดเจน

ตารางที่ 1 ตารางรูปแบบการสร้างกระดาษทดสอบ

รูปแบบ	ขนาด (ความกว้าง x ความยาว (เซนติเมตร))		
	บริเวณตรวจวัด	บริเวณสกรีน	กระดาษทดสอบ
แบบที่ 1	0.5x2	0.5 x 0.5	0.5 x 3
แบบที่ 2	0.5 x 1	0.5 x 0.5	0.5 x 3
แบบที่ 3	0.5 x 0.5	0.5 x 0.5	0.5 x 3
แบบที่ 4	0.5 x 0.25	0.5 x 0.5	0.5 x 3



ภาพที่ 1 รูปแบบการสร้างกระดาษทดสอบ ก.แบบที่ 1 ข. แบบที่ 2 ค. แบบที่ 3 ง. แบบที่ 4



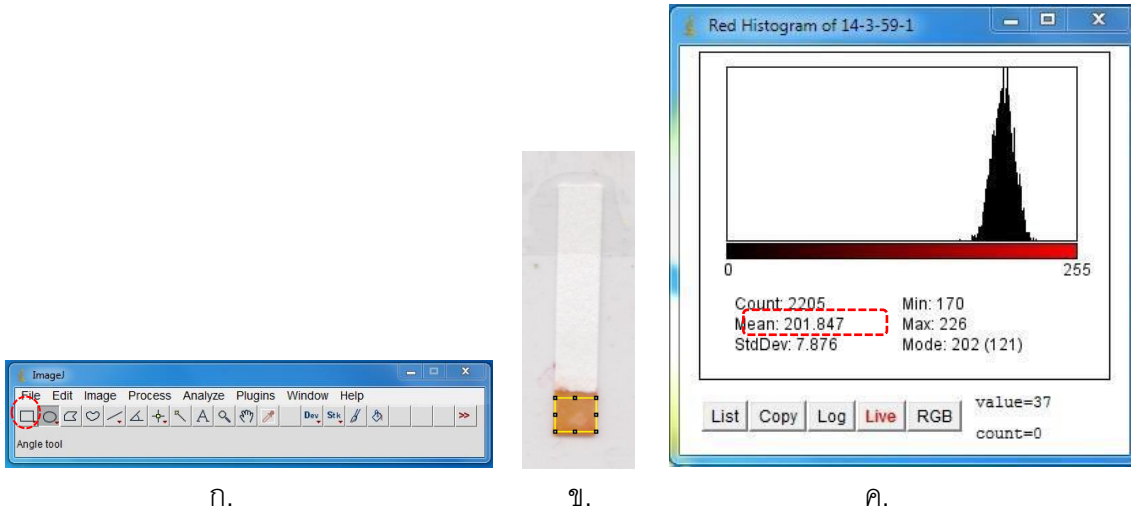
ภาพที่ 2 ขั้นตอนการสร้างชุดทดสอบ

2.2 ศึกษาความเข้มข้นของพอลิแลกติก

นำรูปแบบกระดาษทดสอบที่ได้จากข้อ 1 ไปสร้างบล็อกสกรีน เมื่อได้บล็อกสกรีนแล้วจึงทำการศึกษาความเข้มข้นของพอลิแลกติกที่ใช้สกรีนเพื่อสร้างบริเวณชอบน้ำและไม่ชอบน้ำบนกระดาษ โดยเตรียมพอลิแลกติกความเข้มข้น 2 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตรซึ่งมีไดคลอโรมีเทนเป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำมาตรวจวัดตะกั่ว 1 ppm เกณฑ์การพิจารณาจะเลือกจากการทดลองที่พอลิแลกติกสามารถกั้นบริเวณชอบน้ำและไม่ชอบน้ำบนกระดาษได้ดีที่สุด

3. วิธีวิเคราะห์ตะกั่วด้วยกระดาษทดสอบ

ขั้นแรกปิเปตอะลิซารินเรดเอสปริมาตร 6 ไมโครลิตร ความเข้มข้น 14 มิลลิโมลาร์ ลงบนบริเวณตรวจวัด จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้น 1 ppm ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา 1 นาที จากนั้นวัดความเข้มสีที่ได้ โดยนำกระดาษที่ได้ไปสแกนด้วยเครื่องสแกนและวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ (กรณีตรวจวัดแบบเชิงปริมาณวิเคราะห์) วัดค่าความเข้มสีบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ ได้โดยนำอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษไปสแกนด้วยเครื่องสแกนเนอร์ จากนั้นทำการวัดค่าความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ ดังภาพที่ 3 ก. โดยเลือกไอคอนสี่เหลี่ยม และนำไอคอนไปวางบริเวณตรวจวัด ดังภาพที่ 3 ข. จากนั้นโปรแกรมจะอ่านค่าความเข้มสีเฉลี่ย (Mean) ดังภาพที่ 3 ค. หรือกรณีตรวจวัดแบบเชิงกึ่งปริมาณวิเคราะห์ นำกระดาษมาเปรียบเทียบกับแถบสีมาตรฐานความเข้มข้นตะกั่ว



ภาพที่ 3 ขั้นตอนการวัดความเข้มของสีด้วยโปรแกรม ImageJ ก. ภาพแสดงโปรแกรม ImageJ ข.ภาพแสดงการวางไอคอนสีเหลือง และค. ภาพแสดงการอ่านค่าความเข้มสี

4. หาสภาวะที่เหมาะสมของกระดาษทดสอบตะกั่ว

ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของกระดาษทดสอบตะกั่ว ได้แก่ ความเข้มข้นของอะลิซารินเรดเอส พีเอชที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างตะกั่วกับอะลิซารินเรดเอส เวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา สรุปสภาวะที่จะศึกษา ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สภาวะที่ศึกษาในการสร้างกระดาษทดสอบ

สภาวะที่ศึกษา	ช่วงที่ศึกษา
1. ความเข้มข้นของอะลิซารินเรดเอส	7 ถึง 27 มิลลิโมลาร์
2. พีเอชที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างตะกั่วกับอะลิซารินเรดเอส	3.50 ถึง 6.00
3. เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา	0.5 ถึง 4 นาที

5. การสร้างแถบสีมาตรฐาน

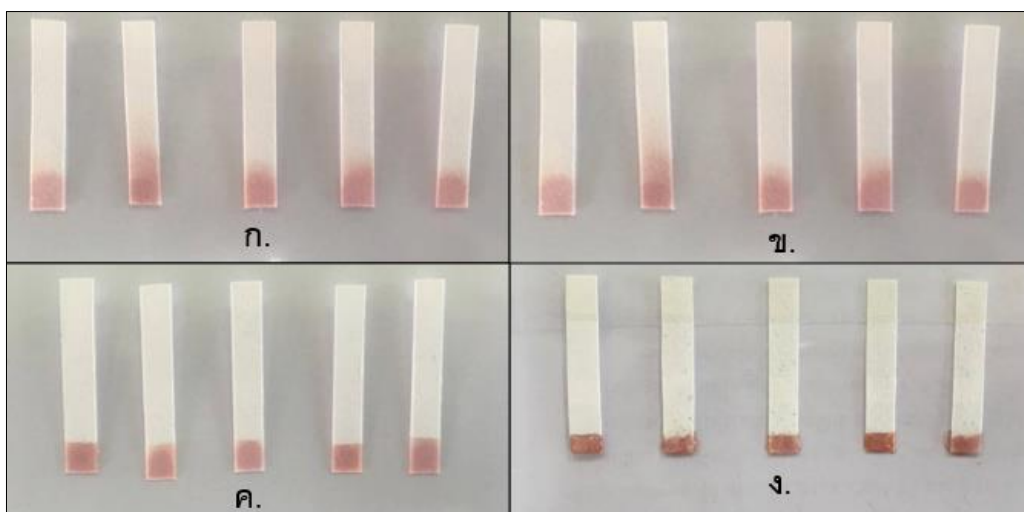
สร้างแถบสีมาตรฐานเพื่อใช้สำหรับตรวจวัดตะกั่วในเชิงปริมาณวิเคราะห์ โดยใช้ตะกั่วความเข้มข้น 0.1 0.3 0.5 0.7 0.9 1.1 1.3 1.5 1.7 และ 1.9 ppm ทำการทดลองโดยปิเปตสารละลายอะลิซารินเรดเอสความเข้มข้น 14 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ลงบนบริเวณตรวจวัดจากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานตะกั่วที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ทิ้งให้เกิดปฏิกิริยา 1 นาที บันทึกสีที่เปลี่ยนแปลงไปตามความเข้มข้นของตะกั่ว เพื่อนำไปสร้างแถบสีมาตรฐาน

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ผลการออกแบบและสร้างกระดาษทดสอบตะกั่ว

1.1 ออกแบบกระดาษทดสอบ

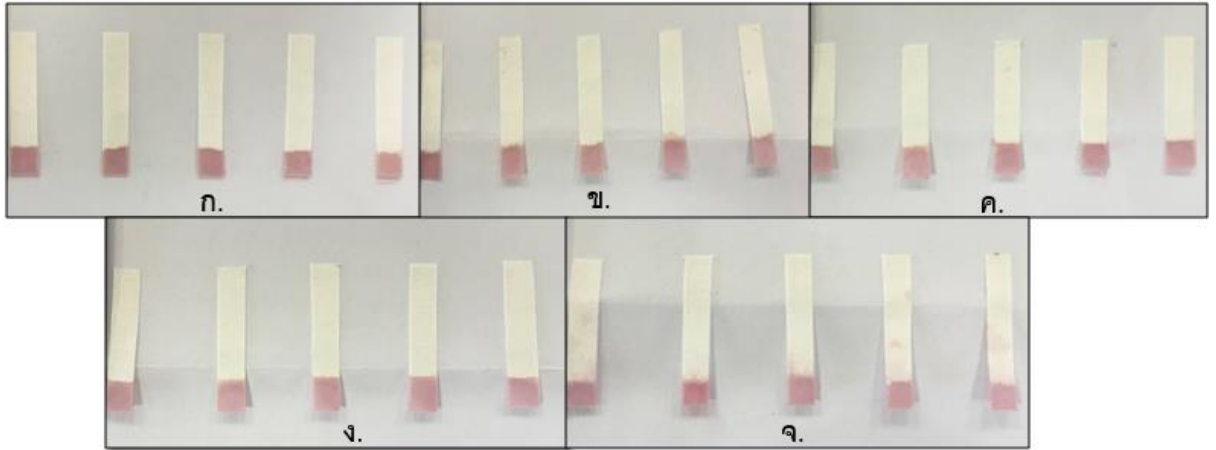
ผลการออกแบบกระดาษทดสอบตะกั่ว เมื่อหยดสารละลายอะลิซารินเรดเอสลงไปที่บนกระดาษทดสอบทั้ง 4 แบบ จากผลการทดลองเป็นดังภาพที่ 4 พบว่าแบบที่ 1 (ภาพที่ 4 ก.) และแบบที่ 2 (ภาพที่ 4 ข.) มีบริเวณตรวจวัดที่กว้าง ทำให้สารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาไม่เต็มบริเวณตรวจวัด แบบที่ 3 (ภาพที่ 4 ค.) ผลิตภัณฑ์เต็มบริเวณตรวจวัด และให้สีสม่ำเสมอและชัดเจน และแบบที่ 4 (ภาพที่ 4 ง.) เป็นบริเวณที่มีพื้นที่ตรวจวัดน้อยที่สุด ทำให้ได้ความเข้มสีชัดเจน แต่เนื่องจากพื้นที่ตรวจวัดน้อยสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงเกินพื้นที่บริเวณตรวจวัด ทำให้สีไม่สม่ำเสมอ ดังนั้นจึงเลือกกระดาษทดสอบแบบที่ 3 ที่ เพื่อไปสร้างบล็อกสกรีนเพื่อทำการทดลองต่อไป



ภาพที่ 4 รูปแบบกระดาษทดสอบ ก. แบบที่ 1 ข. แบบที่ 2 ค. แบบที่ 3 ง. แบบที่ 4

1.2 ศึกษาความเข้มข้นของพอลิแลกติก

ผลการศึกษาความเข้มข้นของพอลิแลกติกที่ความเข้มข้นพอลิแลกติก 2 4 6 8 10 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร ที่ละลายในไดคลอโรมีเทน ภาพที่ 5 แสดงผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นพอลิแลกติกที่น้อยกว่า 8 เปอร์เซ็นต์ โดยมวลต่อปริมาตร ไม่สามารถกั้นบริเวณตรวจวัดได้เนื่องจากพอลิแลกติกที่ความเข้มข้นต่ำ จะมีเนื้อสารพอลิแลกติกน้อย ทำให้โมเลกุลของน้ำซึมผ่านได้ง่าย ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของพอลิแลกติก 8 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร (ภาพที่ 5 ง) เนื่องจากสามารถกั้นบริเวณตรวจวัดได้ดี

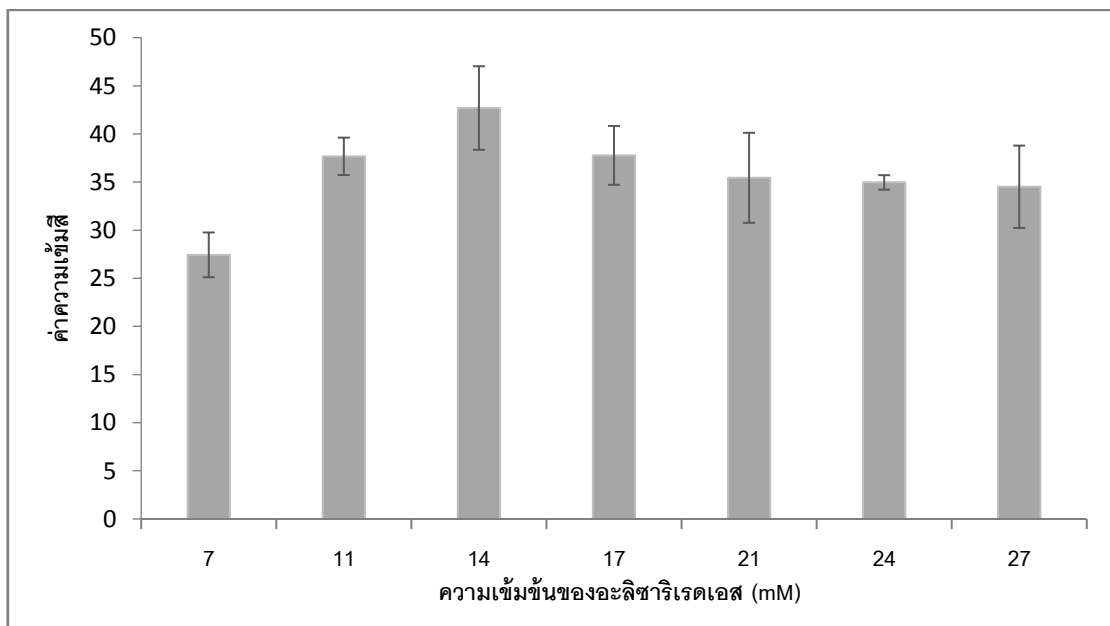


ภาพที่ 5 ความเข้มข้นของพอลิแลกติกในสารละลายไดคอลลอโรมีเทน ก. 2 เปอร์เซ็นต์ ข. 4 เปอร์เซ็นต์ ค. 6 เปอร์เซ็นต์ ง. 8 เปอร์เซ็นต์ และ จ. 10 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร

2. ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมของกระดาษทดสอบตะกั่ว

2.1 ผลของความเข้มข้นของอะลิซารินเรดเอส

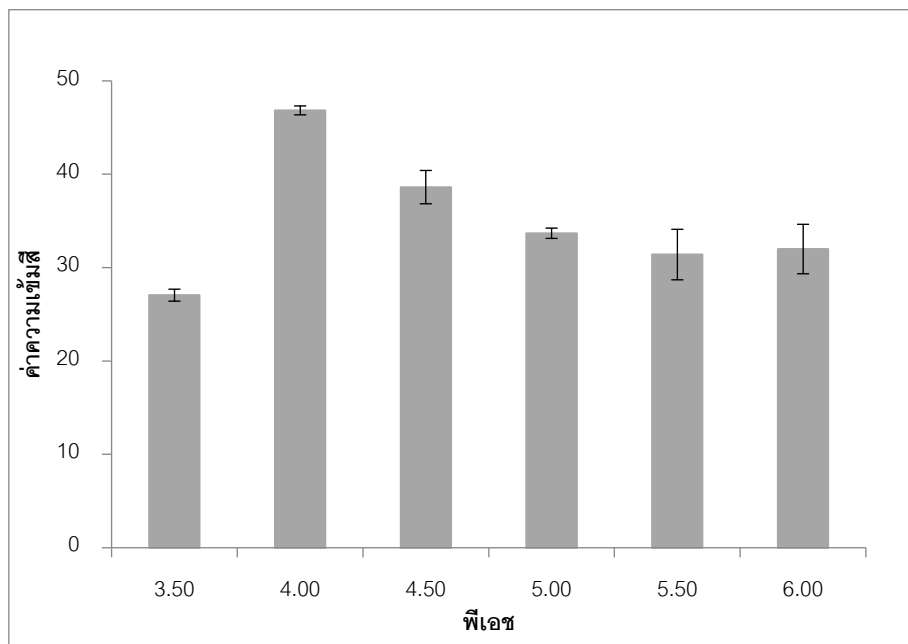
ความเข้มข้นของอะลิซารินเรดเอสมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยากับตะกั่ว ดังนั้นจึงทำการศึกษาความเข้มข้นของอะลิซารินเรดเอส 7 11 14 17 21 24 และ 27 มิลลิโมลาร์ โดยเปิดอะลิซารินเรดเอสความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ลงบริเวณตรวจวัด จากนั้นเปิดสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้น 1 ppm พีเอช 4.00 ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ทั้งให้เกิดปฏิกิริยา 1 นาที วัดความเข้มสีที่ได้ โดยนำกระดาษที่ได้ไปสแกนด้วยเครื่องสแกนและวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ พบว่าค่าความเข้มสีเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของอะลิซารินเรดเอสเพิ่มขึ้นและความเข้มสีสูงสุดที่ความเข้มข้นของอะลิซารินเรดเอส 14 มิลลิโมลาร์ (ภาพที่ 6) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของอะลิซารินเรดเอส คือ 14 มิลลิโมลาร์



ภาพที่ 6 ผลของความเข้มข้นของอะลิซารินเรดเอส

2.2 ผลของพีเอชที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างตะกั่วกับอะซิธาซีนเรดเอส

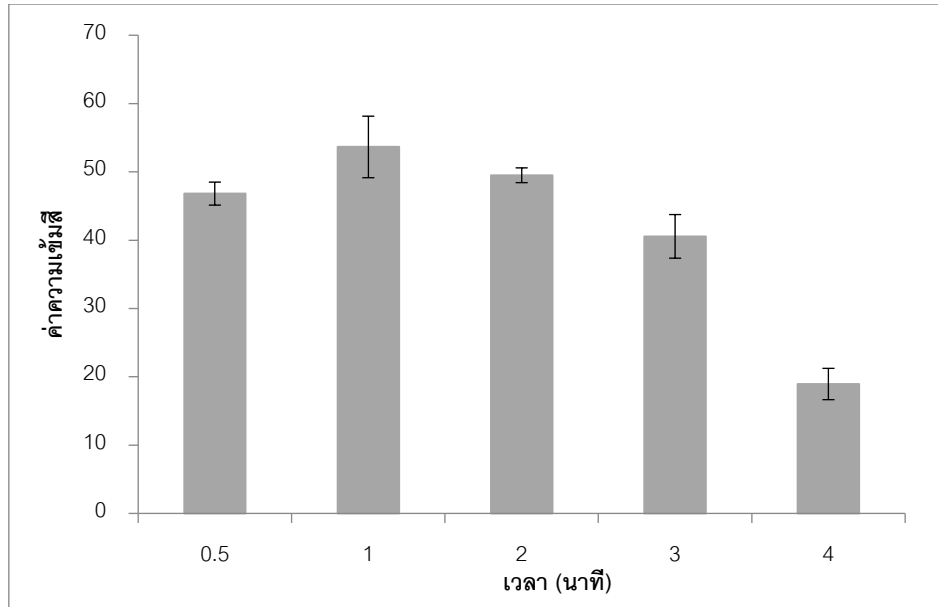
การเกิดปฏิกิริยาระหว่างตะกั่วกับอะซิธาซีนเรดเอสขึ้นอยู่กับพีเอชที่เหมาะสมของสารละลาย โดยเตรียมสารละลายตะกั่วที่พีเอชต่างๆ คือ 3.50 4.00 4.50 5.00 5.50 และ 6.00 โดยปีเปตสารละลายอะซิธาซีนเรดความเข้มข้น 14 มิลลิโมลาร์ ปริมาตรที่ 6 ไมโครลิตร ลงบนบริเวณตรวจวัด จากนั้นปีเปตสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้น 1 ppm ที่พีเอชต่างๆ ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ทิ้งให้เกิดปฏิกิริยา 1 นาที วัดความเข้มสีที่ได้ โดยนำกระดาษที่ได้ไปสแกนด้วยเครื่องสแกนและวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ ผลการทดลองเป็นดังภาพที่ 7 จากผลการทดลองพบว่าค่าพีเอชที่ให้ความเข้มสีสูงสุด คือพีเอช 4.00 ซึ่งพีเอช 4.00 เป็นพีเอชที่ทำให้ตะกั่วกับอะซิธาซีนเรดเอสจับกันได้ดีที่สุด เนื่องมาจากที่พีเอช 4.00 มีค่า K_f (formation constant) ของการจับกันระหว่างอะซิธาซีนเรดเอสกับตะกั่วสูงสุด (Satendra, 1965)



ภาพที่ 7 ผลของพีเอชต่อค่าความเข้มสีที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างตะกั่วกับอะซิธาซีนเรดเอส

2.3 ผลของเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา

การเกิดปฏิกิริยาระหว่างตะกั่วกับอะซิธาซีนเรดเอสต้องอาศัยเวลาในการเกิดปฏิกิริยา เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาได้สมบูรณ์ จึงทำการศึกษาเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาที่ 0.5 1 2 3 และ 4 นาที โดยปีเปตสารละลายอะซิธาซีนเรดความเข้มข้น 14 มิลลิโมลาร์ ปริมาตรที่ 6 ไมโครลิตร ลงบนบริเวณตรวจวัด จากนั้นปีเปตสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้น 1 ppm ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาที่เวลาต่างๆ จากนั้นวัดความเข้มสีที่ได้ โดยนำกระดาษที่ได้ไปสแกนด้วยเครื่องสแกนและวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ จะพบว่าค่าความเข้มสีเพิ่มขึ้นตามเวลาที่เพิ่มขึ้น จนถึงเวลา 1 นาที (ภาพที่ 8) ตั้งแต่วเวลา 1 นาที เป็นต้นไปค่าความเข้มสีลดลง แสดงว่าปฏิกิริยาเกิดได้สมบูรณ์ที่เวลา 1 นาที ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาคือ 1 นาที



ภาพที่ 8 ผลของเวลาในการการเกิดปฏิกิริยาต่อค่าความชื้น

3. ผลการศึกษาประสิทธิภาพของกระดาษทดสอบตะกั่ว

3.1 ความเที่ยงของกระดาษทดสอบตะกั่ว

ศึกษาการทำซ้ำ (Repeatability) และการทวน (Reproducibility) ของกระดาษทดสอบตะกั่ว ศึกษาการทำซ้ำของกระดาษทดสอบตะกั่วจะทำการทดลองภายใต้สภาวะเดียวกัน โดยตรวจวัดตะกั่วความเข้มข้น 1 ppm ทำการทดลองซ้ำ 7 ครั้ง จากนั้นวัดความชื้นที่ได้ โดยนำกระดาษที่ได้ไปสแกนด้วยเครื่องสแกนและวัดความชื้นด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ นำค่าที่ได้จากการทดลองไปคำนวณหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Percent Relative Standard Deviation ; % RSD) พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.6 สำหรับการศึกษากการทวนซ้ำของกระดาษทดสอบตะกั่ว ศึกษาการทวนซ้ำทำการทดลองภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน คือ ผู้วิเคราะห์ต่างกัน โดยตรวจวัดตะกั่วความเข้มข้น 1 ppm ทำการทดลองซ้ำ 7 ครั้ง จากนั้นวัดความชื้นที่ได้ โดยนำกระดาษที่ได้ไปสแกนด้วยเครื่องสแกนและวัดความชื้นด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ นำค่าที่ได้จากการทดลองไปคำนวณหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ มีค่าเท่ากับ 1.5 จากผลการทดลองสรุปได้ว่ากระดาษทดสอบตะกั่วมีความเที่ยงสูง (Taverniers *et al.*, 2004)

3.2 ผลการศึกษาความแม่นยำของกระดาษทดสอบตะกั่ว

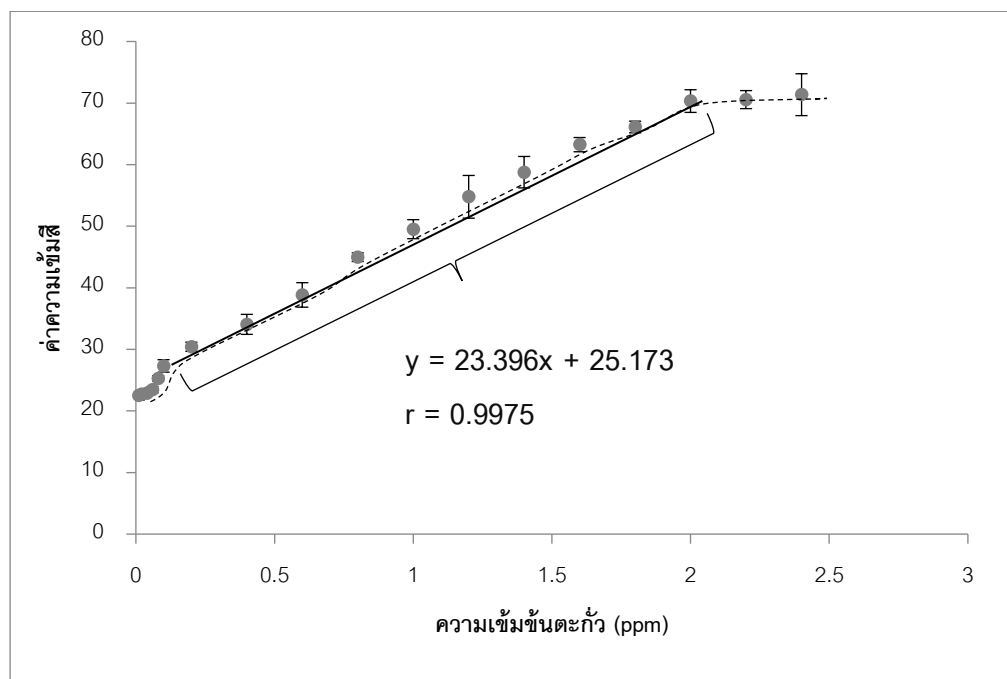
ศึกษาความถูกต้องของกระดาษทดสอบตะกั่ว โดยการหาเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืน (% Recovery) โดยเติมสารละลายมาตรฐานตะกั่วลงในตัวอย่าง โดยใช้ลำไยเป็นตัวอย่างกรณีศึกษา ที่ความเข้มข้นต่างๆ เช่น 0.5 1.0 และ 1.5 ppm จากนั้นทำการตรวจวัดตะกั่ว และนำกระดาษที่ได้ไปสแกนด้วยเครื่องสแกนและวัดความชื้นด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ นำข้อมูลที่ได้คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืน พบว่าเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนอยู่ในช่วง 87-116 % ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ (ช่วงที่ยอมรับได้คือ 80-120%) (Taverniers *et al.*, 2004) ดังตารางที่ 3 แสดงว่ากระดาษทดสอบมีความแม่นยำสูง

ตารางที่ 3 แสดงผลการหาเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืน

ลำดับ	ความเข้มข้นของตะกั่ว			เปอร์เซ็นต์การได้กลับคืน
	ก่อนเดิม	เดิม	หลังเดิม	
1	0	0.50	0.58	116
2	0.26	1.00	1.21	95
3	0	1.50	1.31	87

3.3 ช่วงความเป็นเส้นตรง

ในกรณีตรวจวัดแบบเชิงปริมาณวิเคราะห์ จะต้องศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง ทำการศึกษาโดยวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่วด้วยกระดาษทดสอบที่ความเข้มข้น 0.01-2.40 ppm (ภาพที่ 9) วัดความเข้มสีที่ได้ โดยนำกระดาษที่ได้ไปสแกนด้วยเครื่องสแกนและวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ จากนั้นนำค่าที่ได้จากการนำข้อมูลไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าความเข้มสีกับความเข้มข้นของตะกั่ว จากผลการทดลองพบว่ากระดาษทดสอบช่วงความเป็นเส้นตรงคือ 0.08–2.00 ppm ($r = 0.9975$)



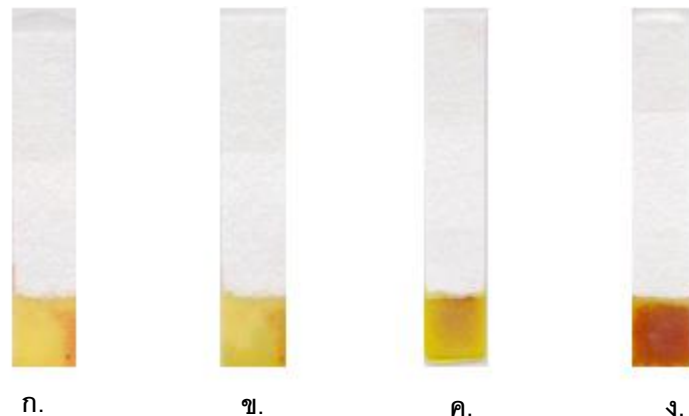
ภาพที่ 9 ช่วงความเป็นเส้นตรงของตะกั่ว

3.4 ขีดจำกัดในการตรวจวัด

ศึกษาหาการขีดจำกัดในการตรวจวัดของกระดาษทดสอบตะกั่วในกรณีตรวจวัดแบบเชิงปริมาณวิเคราะห์ ทำการทดลองโดยวัดสารละลายที่มีความเข้มข้นต่ำที่สุดของช่วงความเป็นเส้นตรง ทำการวัด 7 ซ้ำ จากนั้นวัดความเข้มสีที่ได้โดยนำกระดาษที่ได้ไปสแกนด้วยเครื่องสแกนและวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ นำค่าที่ได้จากการทดลองไปคำนวณหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากนั้นนำค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ที่คำนวณได้ไปคำนวณหาขีดจำกัดในการตรวจพบด้วยสูตร $3SD/m$ (SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ และ m คือ ค่าความชันของกราฟมาตรฐาน) พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.06 ppm

3.5 ความจำเพาะเจาะจงของกระดาษทดสอบตะกั่ว

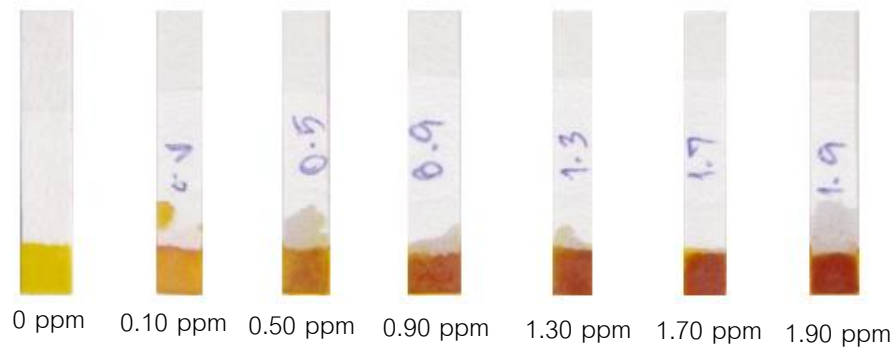
ศึกษาผลของตัวรบกวนที่คาดว่าจะมีผลรบกวนต่อการเกิดปฏิกิริยาของอะลิซารินเรดเอส ได้แก่ ทองแดง แคดเมียม และสังกะสี ทำการทดลองโดยปีเปตสารละลายอะลิซารินเรดเอสความเข้มข้น 14 มิลลิโมลาร์ ปริมาตรที่ 6 ไมโครลิตร ลงบนบริเวณตรวจวัด จากนั้นปีเปตตัวรบกวนที่ต้องการศึกษาความเข้มข้น 1 ppm ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา 1 นาที จากการทดลองพบว่าทองแดง แคดเมียม สังกะสี ไม่มีผลต่อกระดาษทดสอบ แสดงว่ากระดาษทดสอบมีความจำเพาะต่อตะกั่วสูง (ภาพที่ 10)



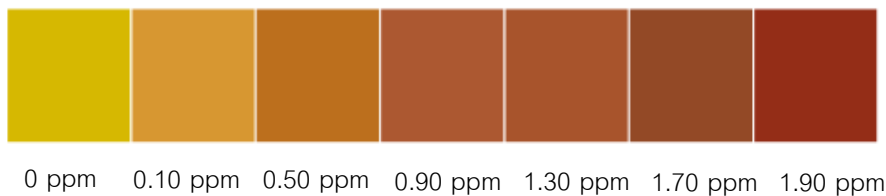
ภาพที่ 10 ผลการศึกษาตัวรบกวน ก. ทองแดง ข. แคดเมียม ค. สังกะสี และ ง. ตะกั่ว ที่ความเข้มข้น 1 ppm

4. ผลการสร้างแถบสี

สร้างแถบสีมาตรฐานตะกั่วกรณีตรวจวัดแบบกึ่งปริมาณวิเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 0 0.10 0.50 0.90 1.30 1.70 และ 1.90 ppm โดยปีเปตสารละลายอะลิซารินเรดเอสความเข้มข้น 14 มิลลิโมลาร์ ปริมาตรที่ 6 ไมโครลิตร ลงบนบริเวณตรวจวัดจากนั้นปีเปตสารละลายมาตรฐานตะกั่วที่มีความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 6 ไมโครลิตร ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา 1 นาที ผลการทดลองเป็นดังภาพที่ 11 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารตะกั่วเพิ่มมากขึ้นสีของสารละลายอะลิซารินเรดเอสจะเป็นสีน้ำตาลแดงเข้มขึ้น จากนั้นนำความเข้มสีของตะกั่วที่ความเข้มข้นต่างๆ ไปสร้างแถบสีมาตรฐานได้แถบสีมาตรฐานดังภาพที่ 12



ภาพที่ 11 ความเข้มสีของตะกั่วที่ความเข้มข้นต่างๆ



ภาพที่ 12 แถบสีมาตรฐานความเข้มข้นของตะกั่ว

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการสร้างกระดาษทดสอบตะกั่ว จากปฏิกิริยาระหว่างตะกั่วกับอะลิซารินเรดเอสบนกระดาษโครมาโทกราฟี เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีน้ำตาลแดง โดยกระดาษทดสอบตะกั่วที่พัฒนาขึ้นจะเป็นกระดาษทดสอบที่สามารถตรวจวัดได้ทั้งแบบเชิงปริมาณวิเคราะห์ และเชิงกึ่งปริมาณวิเคราะห์ พบว่าสามารถวัดตะกั่วที่ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานกำหนด (1 ppm) จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาตะกั่วในตัวอย่างเป็นจริงได้ กระดาษทดสอบตะกั่วที่พัฒนาขึ้นนี้มีข้อดี ได้แก่ มีความเที่ยงและความแม่นยำสูง ให้ผลวิเคราะห์รวดเร็ว จึงเหมาะสมสำหรับนำไปตรวจหาตะกั่วในภาคสนามต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Abadin H., Ashizawa, A., & Stevens, Y.W. (2007). Toxicological Profile for Lead, *Lead*. 1-47.
- Coco, F. L., Monotti, P., Cozzi, F., & Adami, G. (2006). Determination of cadmium and lead in fruit juices by stripping chronopotentiometry and comparison of two sample pretreatment procedures. *Food Control*, 17, 966-970.
- FDA. (2003). Notification of the Ministry of Public Health (No. 273), 2003, Re: Food Standards Containing Contaminants (No. 2). *Government Gazette*, 273, 10. (in Thai)
- Khalaf F. A. (2011). Spectrophotometric Assay of Lead in Human Hair Samples by using alizarin red(S) in Samarra area. *Journal of university of Anbar for pure science*, 5(3),

- Li, J.X., Sun, C.J., Zheng, L., Jiang, F.H., Yin, X.F., & Chen J.H. (2016). Determination of Lead Species in Algae by Capillary Electrophoresis-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 44, 1659-1664.
- Norton, G. J., Deacon, C. M., Mestrot, A., Feldmann, J., Jenkins, P., & Baskaran, C. (2015). Cadmium and lead in vegetable and fruit produce selected from specific regional areas of the UK. *Science of The Total Environment*, 533, 520-527.
- Satendra P. S. (1965). Composition and Stability of Lead-Alizarin Red S Chelate. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 30, 60-62.
- Taverniers, I., Loose, M.D., & Bockstaele, E. V. (2004). Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 23, 535-552.
- Zhao, S. L., Chen, F. S., Zhang, J., Ren, S. B., Liang, H. D., & Li, S. S. (2015). On-line flame AAS determination of traces Cd(II) and Pb(II) in water samples using thiol-functionalized SBA-15 as solid phase extractant. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 27, 362-367.
- Zhou, Q., Lei, M., Liu, Y., Wu Y., & Yuan, Y. (2017). Simultaneous determination of cadmium, lead and mercury ions at trace level by magnetic solid phase extraction with Fe@Ag@Dimercaptobenzene coupled to high performance liquid chromatography. *Talanta*, 175, 194-199.