



การพัฒนาอุปกรณ์อย่างง่ายที่อาศัยการแพร่ของแก๊สกับกระดาษที่ตรึงด้วยรีเอเจนต์ธรรมชาติและการวิเคราะห์ค่าสีจากภาพถ่ายดิจิทัลสำหรับวิเคราะห์แอมโมเนีย

Development of Simple Device based on Gas Diffusion with Natural Reagent Immobilized Paper and Digital Image Colorimetry for Ammonia Determination

นภาพร วรณพรม และ เยาวลักษณ์ ขันหัวโทน*

Napaporn Wannaprom and Yaowalak Khanhuathon*

สาขาวิชาเคมี คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย อ.เมือง จ.เชียงราย 57100

Chemistry Program, Faculty of Education, Chiang Rai Rajabhat University, Mueang, Chiang Rai 57100, THAILAND

*Corresponding author e-mail: fonyaowalak@gmail.com

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article history:

Received: 29 April, 2020

Revised: 26 May, 2020

Accepted: 19 June, 2020

Available online: 23 June, 2020

DOI: 10.14456/rj-rmUTT.2020.8

Keywords: ammonia gas,

simple gas detection

device, natural reagent,

digital image colorimetry

This research has developed a simple device based on gas diffusion with natural reagent immobilized on paper for ammonia determination and colorimetric detection via smart phone. The proposed method based on the reaction between ammonium chloride and sodium hydroxide to provide ammonia gas in reaction chamber, after that this gas was diffused through immobilized paper with natural reagent then the colorimetric change on the paper was measured with a smart phone. Three kinds of natural reagent (Red cabbage, orchid flower and butterfly pea flower) were investigated for suitability of immobilized on paper. The result found that the highest sensitivity was obtained with red cabbage extracts immobilized paper. The various parameters were studied for optimum condition of ammonia determination. The suitable parameter values were 4 % w/v of red cabbage extracts concentration. Time of extraction, immobilization on paper and reaction were 15, 5 and 3 minutes, respectively. Under optimum condition, the linearity range was 1.00–30.00 mM ammonium chloride ($y = 1.31 \pm 0.03x + 15.34 \pm 0.59$, $R^2 = 0.9955$) with limit of detection and limit of quantitation were 0.24 and 0.81 mM, respectively. The precision of proposed method were studied; the results

found that %RSD were less than 5 % and %recovery were found in the range of 96.8–107.0 %. The developed device was successfully applied for ammonia determination in chemical fertilizer samples. The proposed method was compared with standard method. It was found that both methods agree well with not significant different at 95 % interval levels. The developed gas detection device has many advantages such as cost-effective, simple, using natural reagent and portable device.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้มีการพัฒนาอุปกรณ์อย่างง่ายที่อาศัยการแพร่ของแก๊สกับกระดาษที่ตรึงด้วยรีเอเจนต์ธรรมชาติสำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียและตรวจวัดค่าสีด้วยโทรศัพท์เคลื่อนที่โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างแอมโมเนียมคลอไรด์กับโซเดียมไฮดรอกไซด์แล้วเกิดเป็นแก๊สแอมโมเนีย ซึ่งจะระเหยไปทำปฏิกิริยากับแผ่นกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดจากพืชธรรมชาติ และวัดค่าความเข้มสีบนกระดาษที่เปลี่ยนแปลงไปด้วยโทรศัพท์เคลื่อนที่ การศึกษาชนิดของสารสกัดจากพืชธรรมชาติ 3 ชนิด (กะหล่ำปลีแดง ดอกกล้วยไม้ และดอกอัญชัน) สำหรับตรึงบนกระดาษ พบว่าสารสกัดจากกะหล่ำปลีแดงให้ค่าสภาพไววิเคราะห์ที่สูงที่สุด ทำการ ศึกษาตัวแปรต่าง ๆ เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย ค่าตัวแปรที่เหมาะสมคือ ความเข้มข้นของกะหล่ำปลีแดง 40 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร เวลาในการสกัดสาร การตรึงสาร และการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 15, 5 และ 3 นาที ตามลำดับ ภายใต้ภาวะการทดลองที่เหมาะสมแสดงช่วงความเป็นเส้นตรงที่ 1.00–30.00 มิลลิโมลาร์ แอมโมเนียมคลอไรด์ ($y = 1.31 \pm 0.03x + 15.34 \pm 0.59$, $R^2 = 0.9955$) โดยมีค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดและขีดจำกัดการวิเคราะห์ปริมาณเท่ากับ 0.24 และ 0.81 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ค่าความแม่นยำของวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นน้อยกว่า 5.0 %RSD และค่าร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วง 96.8–107.0 % อุปกรณ์ที่ได้พัฒนาขึ้นประสบความสำเร็จสำหรับประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียในตัวอย่างปุ๋ยเคมี เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีมาตรฐาน พบว่าทั้ง 2 วิธีให้ผลการทดลองที่

สอดคล้องกันอย่างไม่มีความสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ซึ่งอุปกรณ์ตรวจวัดแก๊สที่ได้พัฒนาขึ้น ราคาไม่แพง ง่ายต่อการวิเคราะห์ ใช้รีเอเจนต์ธรรมชาติ และสามารถวิเคราะห์นอกสถานที่ได้

คำสำคัญ: แก๊สแอมโมเนีย อุปกรณ์ตรวจวัดแก๊สอย่างง่าย สารสกัดจากธรรมชาติ การวิเคราะห์ค่าสีจากภาพถ่ายดิจิทัล

บทนำ

ไนโตรเจนเป็นธาตุสำคัญธาตุหนึ่งของสิ่งมีชีวิต ซึ่งเป็นองค์ประกอบในสารอินทรีย์หลายชนิด เช่น กรดนิวคลีอิก โปรตีน ยูเรีย เป็นต้น และแหล่งไนโตรเจนที่สำคัญของพืชและสัตว์จะอยู่ในรูปแอมโมเนีย แต่ถ้ามีปริมาณแอมโมเนียตกค้างในสิ่งแวดล้อมมาก ๆ อาจส่งผลกระทบต่อพืชและสัตว์โดยตรง (1) และพืชจะใช้ไนโตรเจนที่อยู่ในรูปไนเตรทและแอมโมเนียโดยพบมากที่สุดไนโตรเจนของปุ๋ยเคมีที่อยู่ในสารประกอบของเกลือแอมโมเนียม เช่น แคลเซียม แอมโมเนียมไนเตรท แอมโมเนียมฟอสเฟต (2) ในปัจจุบันพบว่าการใช้ปุ๋ยเคมีในพื้นที่เกษตรกรรมอยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งเมื่อปุ๋ยที่ตกค้างถูกชะลงแหล่งน้ำจะทำให้มีปริมาณไนโตรเจนสูงและทำให้เกิดกระบวนการยูโทรฟิเคชัน (Eutrophication) สูง ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศ โดยทั่วไปในการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียจะใช้เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี ซึ่งอาศัยปฏิกิริยาเบเธรลอต (Betherlot Reaction) โดยอาศัยการทำปฏิกิริยากับไฮโปคลอไรท์เกิดเป็นสารประกอบคลอโรเอมีน ซึ่งเกิดการควบแน่นต่อกับฟีนอลได้สารประกอบควิโนน

คลอโรเอมีน แล้วควมแน่นต่อกับฟีนอลเลตไอออน เกิดเป็นสารประกอบอินโดฟีนอลบลู (Indophenol Blue) (3–5) ส่วนปฏิกิริยาของเนสเลอร์ (Nessler's reaction) ใช้ปรอทคลอไรด์ และโพแทสเซียมไอโอไดด์ในภาวะที่เป็นเบส เกิดเป็นสารประกอบโพแทสเซียมเตตระไอโอโดเมอคูเรต (II) เมื่อสารนี้ทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียจะเกิดตะกอนสีเหลืองส้ม (6) ซึ่งทั้งสองวิธีมีสภาพไววิเคราะห์และความจำเพาะเจาะจงสูง แต่วิธีดังกล่าวมีหลายขั้นตอนที่ซับซ้อน และใช้รีเอเจนต์ที่มีความอันตราย จากที่ดังกล่าวมาข้างต้น จึงมีการนำเสนอทางเลือกอื่น ๆ เช่น การวิเคราะห์แอมโมเนียโดยใช้อินดิเคเตอร์กรด-เบส ร่วมกับการแพร่ของแก๊ส โดยอาศัยการเปลี่ยนจากแอมโมเนียมไอออนไปเป็นแก๊สแอมโมเนีย แก๊สแอมโมเนียจะแพร่ไปทำปฏิกิริยากับอินดิเคเตอร์ (7–10) งานวิจัยก่อนหน้านี้ประสบความสำเร็จในการแยกแก๊สแอมโมเนียที่แพร่บนกระดาษในการวิเคราะห์แอมโมเนียในตัวอย่างน้ำเสีย โดยใช้พีเอชอินดิเคเตอร์เป็นรีเอเจนต์ที่ใช้จับกับแก๊ส และใช้เครื่องสแกนเนอร์เป็นตัวตรวจวัด (8) อย่างไรก็ตามในการเตรียมตัวอย่างมีความจำเป็นก่อนการวิเคราะห์สำหรับตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อมและตัวอย่างที่ซับซ้อนเนื่องจากมีเมทริกซ์ที่สามารถไปอุดตันรูของเมมเบรนและทำให้ลดสภาพไววิเคราะห์ได้ เคมีสีเขียวเป็นแนวทางในการวิเคราะห์ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยมีหลักการที่เกี่ยวข้องกับการลดการเกิดของเสียจากการทดลอง การใช้ตัวทำละลายที่ปลอดภัยหรือใช้รีเอเจนต์ที่มีความเป็นพิษน้อย (11, 12) โดยมีงานวิจัยได้รายงานเกี่ยวกับการใช้อินดิเคเตอร์ธรรมชาติสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี โดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงสีตามค่าความเป็นกรด-เบส เช่น สารสกัดจากดอกกล้วยไม้ (2, 13, 17) ดอกอัญชัน (13, 14) บัทรูป (13) ขมิ้นกับมะนาว (15) และกะหล่ำปลีแดง (16) เป็นต้น อินดิเคเตอร์หรือรีเอเจนต์ธรรมชาติสามารถนำมาใช้บนกระดาษกรอง ซึ่งทำให้เป็นวิธีที่ราคาไม่แพงในการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย (18, 19)

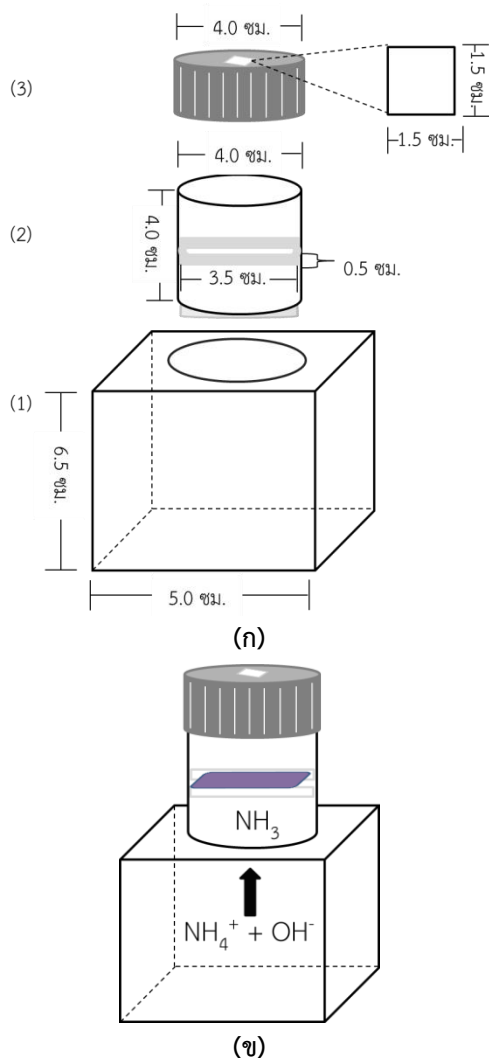
งานวิจัยนี้ได้มีการสร้างอุปกรณ์อย่างง่ายในการตรวจวัดแก๊สแอมโมเนีย โดยได้ศึกษาสารสกัดจากพืช

ธรรมชาติ 3 ชนิด (กะหล่ำปลีแดง ดอกกล้วยไม้ และดอกอัญชัน) ที่นำสารสกัดมาตรึงบนกระดาษ เนื่องจากในพืชทั้ง 3 ชนิดมีรงควัตถุที่สำคัญ ซึ่งจัดอยู่กลุ่มสารแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) และอยู่รูปสารไซยาไดนิน (Cyadinin) ที่เป็นสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับแก๊สแอมโมเนียแล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงสีบนกระดาษจากสีม่วงเป็นน้ำเงินอมเขียว จากนั้นจะตรวจวัดค่าความเข้มแสงสีแดง เขียว และน้ำเงิน (RGB) ด้วยโทรศัพท์เคลื่อนที่ภายใต้กล้องควบคุมแสง และภายใต้ภาวะที่เหมาะสมจะได้นำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์แอมโมเนียในตัวอย่างปุ๋ยเคมีและเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับวิธีมาตรฐาน

วิธีดำเนินการวิจัย

การสร้างอุปกรณ์สำหรับตรวจวัดแก๊สแอมโมเนีย

งานวิจัยนี้ได้ออกแบบและสร้างอุปกรณ์อย่างง่ายสำหรับการตรวจวัดแก๊สแอมโมเนียที่ทำจากอะคริลิกใสและฝาปิดพลาสติก (รูปที่ 1 (ก)) ซึ่งประกอบด้วย 3 ส่วน คือส่วนที่ 1 เป็นห้องสำหรับทำปฏิกิริยาระหว่างแอมโมเนียม คลอไรด์กับโซเดียมไฮดรอกไซด์แล้วเกิดเป็นแก๊สแอมโมเนียซึ่งออกแบบให้เป็นทรงสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ขนาด 5×6.5 เซนติเมตร ส่วนที่ 2 เป็นส่วนที่ออกแบบสำหรับตรวจวัดแก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้นประกอบด้วยอะคริลิกใสทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร สูง 4 เซนติเมตร และตรงกลางของทรงกระบอกออกแบบสำหรับวางกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดจากพืชธรรมชาติประกอบด้วยแผ่นอะคริลิกใสสองชิ้น ขนาด 0.5×3.5 เซนติเมตร วางห่างกัน 1.5 เซนติเมตร โดยส่วนที่ 1 และ 2 สามารถถอดออกได้และส่วนที่ 3 ฝาปิดที่มีช่องว่างสำหรับตรวจวัดค่าสีด้วยมือถือขนาด 1.5×1.5 เซนติเมตร โดยทำการวัดค่าสีในกล้องควบคุมแสง ดังแสดงในรูปที่ 1 (ข)



รูปที่ 1 อุปกรณ์การตรวจวัดแอมโมเนีย (ก) ส่วนประกอบของอุปกรณ์ที่สร้างขึ้นในแต่ละส่วน และ (ข) รูปร่างอุปกรณ์ที่สำเร็จ

การเตรียมสารละลาย

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์

ชั่งแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl , 99.5%, Lab grade, KEMAUS) 2.6725 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI) (รุ่น Arioso power I, บริษัท global hidden champions human corporation สาธารณรัฐเกาหลี) ปริมาตรรวม 100 มิลลิลิตร

2. การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH, 99%, AR grade, RCI Labscan) 1.0000 กรัม ละลายด้วยน้ำ DI ปริมาตรรวม 250 มิลลิลิตร

3. การเตรียมสารสกัดจากพืชธรรมชาติ 3 ชนิด นำกะหล่ำปลีแดงที่ล้างและหั่นละเอียดมาชั่งปริมาณ 100.00 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ นำไปบดในโกร่งให้ละเอียด จากนั้นเทใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำ DI 70 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ดังกล่าว ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที เพื่อสกัดสารไซยาไดนิน (Cyadinin) ออกมา นำไปกรองแบบหยาบด้วยผ้าขาวบาง ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำ DI นำสารสกัดที่ได้ไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ โดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No. 1) เก็บสารสกัดที่กรองได้ในขวดสีชา ทำการเจือจางสารสกัดให้ได้ตามความเข้มข้นที่ต้องการ ก่อนนำไปทำการวิเคราะห์สำหรับการเตรียมสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ และดอกอัญชันมีขั้นตอนการเตรียมเช่นเดียวกับการสกัดสารจากกะหล่ำปลีแดงดังกล่าวข้างต้น

4. การเตรียมตัวอย่างปุ๋ยเคมี

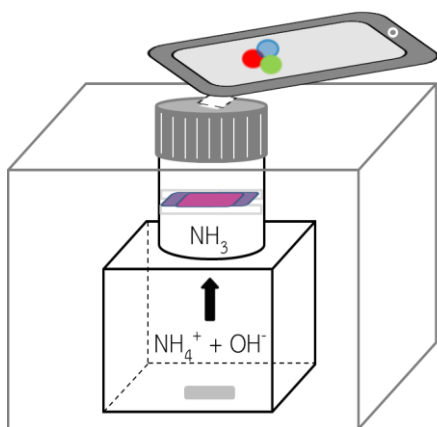
นำตัวอย่างปุ๋ยที่เตรียมไว้ ชั่ง 0.100x g แล้วเทใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำ DI 20 มิลลิลิตร เขย่าจนปุ๋ยละลายหมด และปรับปริมาตรสุดท้ายให้ครบขีดบอกปริมาตรด้วยน้ำ DI

การตรึงสารสกัดจากพืชธรรมชาติบนกระดาษ

เทสารสกัดจากพืชธรรมชาติปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในภาชนะที่เตรียมไว้ จากนั้นนำกระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman No. 1) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12.5 เซนติเมตร วางลงในภาชนะที่มีสารสกัดแช่กระดาษกรอง 5 นาที เมื่อครบเวลานำกระดาษกรองมาเป่าให้แห้งด้วยไดร์เป่าผม จากนั้นตัดเป็นชิ้นขนาด 2.5 x 2.5 เซนติเมตร ก่อนนำไปวิเคราะห์ในขั้นต่อไป

การวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียบนกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดจากกะหล่ำปลีแดง

ปิเปต 0.1 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นดังรูปที่ 1 (ก) ตำแหน่ง ส่วนที่ 1 จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ลงไป ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และปรับปริมาตรสุดท้ายให้ครบ 20 มิลลิลิตรด้วยน้ำ DI นำกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดจากกะหล่ำปลีแดง วางบนอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้นดังรูปที่ 1 (ข) ในส่วนที่ 2 ทำการกลั่นสารละลายผสม ด้วยเครื่องกลั่นสารละลายเป็นเวลา 3 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดทำการตรวจวัดค่าความเข้มแสงของแสงสีแดง (R), สีเขียว (G), และสีน้ำเงิน (B) ในกล่องควบคุมแสงด้วยแอปพลิเคชัน RGB Color Detector บนโทรศัพท์มือถือ ดังรูปที่ 2 โดยนำค่าความเข้มแสงของแต่ละสีนำไปหาค่าของสัญญาณแปลงค่า (กระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดจากพืชธรรมชาติที่ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ DI) นำค่าความเข้มแสงของสีต่าง ๆ ไปแปลผลสัญญาณต่อไป

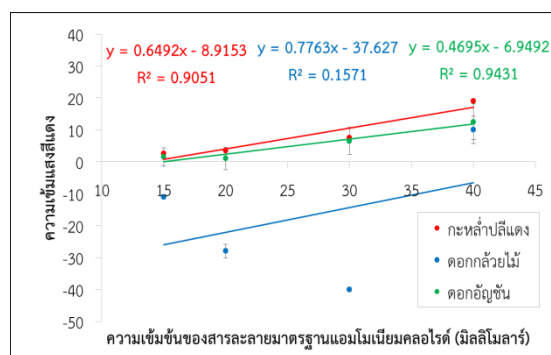


รูปที่ 2 การวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียบนกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดจากกะหล่ำปลีแดงด้วยอุปกรณ์ที่พัฒนาขึ้น

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

การศึกษาสารสกัดจากพืชธรรมชาติที่เหมาะสมต่อการตรึงบนกระดาษ

ในงานวิจัยก่อนหน้านี้ พบว่า สารโซเดียมไนตริกซึ่งเป็นสารในกลุ่มแอนโทไซยานินที่พบมากในพืชที่มีรงควัตถุสีแดง และสีน้ำเงิน ซึ่งสารดังกล่าวสามารถละลายน้ำได้ดี และมีการเปลี่ยนแปลงสีตามค่าพีเอช (pH) ในภาวะที่เป็นกรด กลาง และเบส จะมีสีของสารละลายเป็นสีแดงชมพู สีม่วงและสีน้ำเงินอมเขียวหรือสีเหลือง ตามลำดับ (20) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจในการศึกษาสารสกัดจากพืชธรรมชาติประกอบด้วยสารสกัดจาก กะหล่ำปลีแดง ดอกกล้วยไม้ และดอกอัญชัน ซึ่งเป็นพืชที่มีสารกลุ่มแอนโทไซยานิน เพื่อตรึงสารสกัดดังกล่าวบนกระดาษ และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย จากการศึกษาเกี่ยวกับการหาสารสกัดจากพืชธรรมชาติ 3 ชนิด (กะหล่ำปลีแดง ดอกกล้วยไม้ และดอกอัญชัน) ที่เหมาะสมในการตรึงสารสกัดดังกล่าวบนกระดาษดังแสดงในรูปที่ 3 พบว่า เนื่องจากสีที่เกิดจากปฏิกิริยาบนกระดาษมีสีน้ำเงินอมเขียวจะดูคลืนแสงได้ดีในช่วงความยาวคลื่นของแสงสีแดง (R) จึงติดตามสัญญาณของแสงสีนี้ จากการตรวจวัดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบนกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดจากกะหล่ำปลีแดงให้ค่าสภาพไววิเคราะห์ (Sensitivity) สูงที่สุด และมีค่า R2 มากกว่า 0.9 เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากพืชธรรมชาติชนิดอื่น

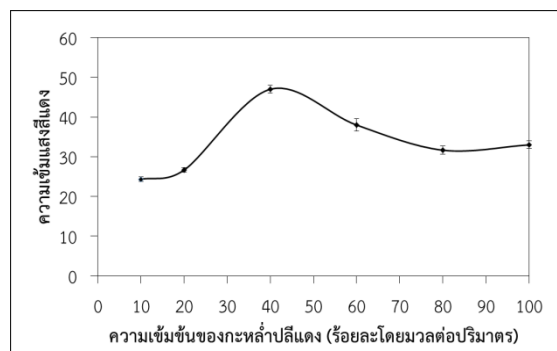


รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์กับค่าความเข้มแสงสีแดง สำหรับกระดาษที่ตรึงสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ กะหล่ำปลีแดง และดอกอัญชัน

การหาภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง

1. ผลการศึกษาความเข้มข้นของกะหล่ำปลีแดง สำหรับตรึงบนกระดาษ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของความเข้มข้นของกะหล่ำปลีแดงสำหรับตรึงบนกระดาษในช่วง 10.00–100.00 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร สารสกัดจากกะหล่ำปลีแดงที่ตรึงบนกระดาษจะอยู่ในรูปแอนไฮดราเบส แอนไฮดรอน (Anhydrabase Anion) ซึ่งกระดาษจะเป็นสีม่วง (21) และหลังจากทำปฏิกิริยากับแก๊สแอมโมเนียที่มีฤทธิ์เป็นเบสจะทำให้กระดาษเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินอมเขียวที่อยู่ในรูปควินอยด์ บลู (Quinoidal Blue) (22) จากผลการทดลองพบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดกะหล่ำปลีแดงเพิ่มขึ้น ค่าความเข้มแสงจะเพิ่มขึ้น และแสดงค่าสูงสุดที่ 40 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร จากนั้นค่าความเข้มแสงจะลดลงและคงที่ (รูปที่ 4) เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดกะหล่ำปลีแดงเพิ่มขึ้นจะทำให้บดบังสีที่แท้จริงจากการทำปฏิกิริยา และทำให้ค่าความแม่นยำในการวิเคราะห์ลดลง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกความเข้มข้นของกะหล่ำปลีแดงสำหรับตรึงบนกระดาษที่ 40 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ตัวแปรอื่น ๆ ต่อไป

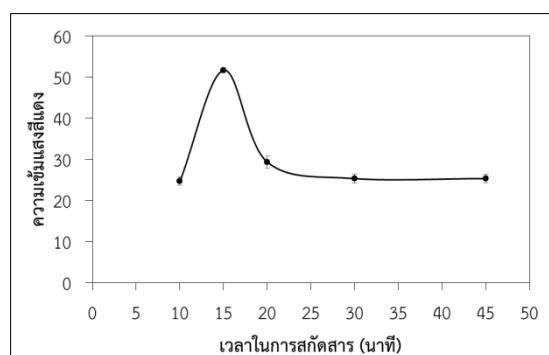


รูปที่ 4 ผลของการศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดจากกะหล่ำปลีแดงกับค่าความเข้มแสงสีแดง

2. ผลการศึกษาเวลาที่ใช้ในการสกัดกะหล่ำปลีแดงสำหรับตรึงบนกระดาษ

งานวิจัยนี้ได้ทำการสกัดสารไซยานิน

(Cyanidin) ซึ่งสารดังกล่าวจะอยู่ในสารกลุ่มแอนโทไซยานิน (Anthocyanins) ด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI) เนื่องจากสารกลุ่มนี้มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี อีกทั้งน้ำยังเป็นตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จากการศึกษาค้นคว้าเวลาที่ใช้ในการสกัดกะหล่ำปลีแดงสำหรับตรึงบนกระดาษในช่วง 10–45 นาที เมื่อทำการสร้างกราฟระหว่างเวลาที่ใช้ในการสกัดกะหล่ำปลีแดง กับค่าความเข้มแสงของแสงสีแดง (R) ดังรูปที่ 5 พบว่า เวลาในการสกัดสารเพิ่มขึ้นค่าความเข้มแสงสีแดงจะเพิ่มขึ้น และแสดงค่าสูงสุดที่เวลา 15 นาที จากนั้นค่าความเข้มแสงจะลดลงและคงที่จนถึงเวลา 45 นาที เนื่องจากที่เวลามากกว่า 15 นาที อาจเกิดการสลายตัวของสารสกัดกะหล่ำปลีแดง (23) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกเวลาในการสกัดสารที่ 15 นาที สำหรับใช้ในการวิเคราะห์ตัวแปรอื่น ๆ ต่อไป

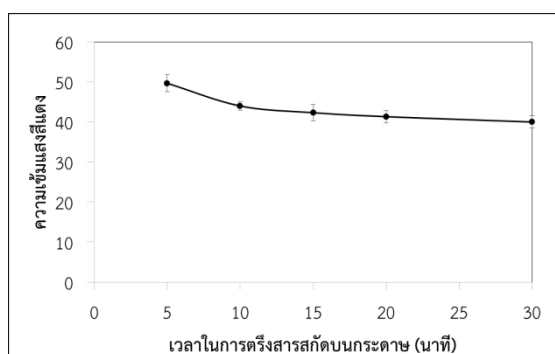


รูปที่ 5 ผลของการศึกษาเวลาที่ใช้ในการสกัดกะหล่ำปลีแดงกับค่าความเข้มแสงสีแดง

3. ผลการศึกษาเวลาในการตรึงสารสกัดบนกระดาษ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของเวลาในการตรึงสารสกัดกะหล่ำปลีแดงบนกระดาษในช่วง 5–30 นาที จากรูปที่ 6 พบว่า ที่ 5 นาที แสดงค่าความเข้มแสงสูงสุด เมื่อเวลามากกว่า 5 นาที ค่าความเข้มแสงลดลงเล็กน้อย เนื่องจากเป็นรีเอเจนต์ธรรมชาติซึ่งอาจจะถูกออกซิไดส์ได้ง่ายด้วยอากาศ ดังนั้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นอาจเกิดการสลายตัวของสารสำคัญที่อยู่ในรีเอเจนต์ และเมื่อนำกระดาษที่ตรึงด้วยรีเอเจนต์ดังกล่าวไปทำปฏิกิริยากับ

แอมโมเนียจึงส่งผลให้ความเข้มข้นที่วัดได้ลดลง (23) งานวิจัยนี้ได้เริ่มศึกษาเวลาสำหรับการตรึงสารสกัดบนกระดาษกรองที่ 5 นาที จากการสังเกตที่เวลาน้อยกว่า 5 นาที ปริมาณของสารสกัดที่ตรึงบนกระดาษกรองยังดูดซับไม่ทั่วพื้นที่ผิวของกระดาษซึ่งจะส่งผลต่อค่าความแม่นยำ อีกทั้งเวลาในการตรึงสารสกัดที่ 5 นาที ถือว่าเป็นเวลาที่ไม่นาน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกเวลาในการตรึงสารสกัดบนกระดาษที่ 5 นาที สำหรับใช้ในการวิเคราะห์ตัวแปรอื่น ๆ ต่อไป

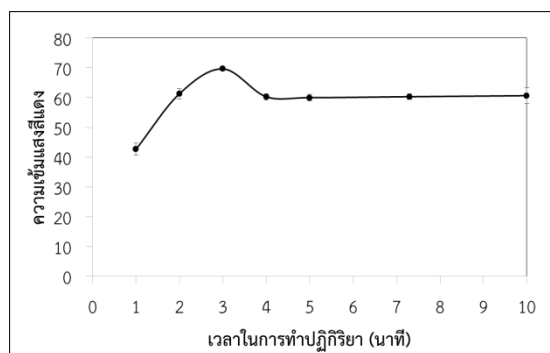


รูปที่ 6 ผลของการศึกษาเวลาที่ใช้ในการตรึงสารสกัดบนกระดาษกรองกับค่าความเข้มข้นแอมโมเนีย

4. ผลการศึกษาเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างแก๊สแอมโมเนียกับกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดกะหล่ำปลีแดง
งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างแก๊สแอมโมเนียกับกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดกะหล่ำปลีแดงในช่วง 1-10 นาที จากรูปที่ 7

เป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยากับค่าความเข้มข้นสีแดง พบว่า เมื่อเวลาในการทำปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น ค่าความเข้มข้นเพิ่มขึ้น และเพิ่มขึ้นสูงสุดที่เวลา 3 นาที หลังจากนั้นค่าความเข้มข้นลดลงที่ 4 นาที และค่าความเข้มข้นคงที่หลังจากเวลา 4 นาที เป็นต้นไป เพราะปฏิกิริยาระหว่างแอมโมเนียที่เป็นเบสกับบรีเอเจนต์ธรรมชาติเกิดปฏิกิริยาได้เร็ว ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกที่ 3 นาทีในการทำปฏิกิริยา และสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ตัวแปรอื่น ๆ ต่อไป

จากการศึกษาตัวแปรต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์ สามารถสรุปภาวะการทดลองที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียบนกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดจากกะหล่ำปลีแดง และตรวจวัดด้วยโทรศัพท์เคลื่อนที่ดังแสดงในตารางที่ 1



รูปที่ 7 ผลของการศึกษาเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยากับค่าความเข้มข้นแอมโมเนีย

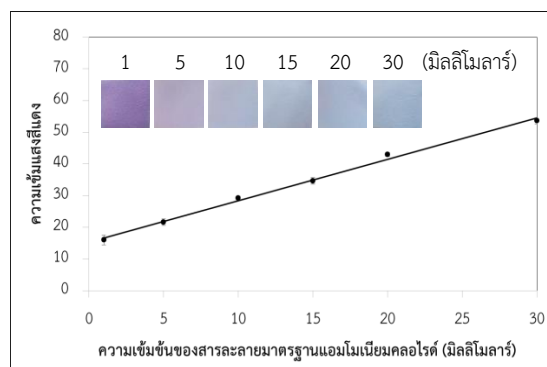
ตารางที่ 1 ภาวะการทดลองที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียบนกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดจากกะหล่ำปลีแดง และตรวจวัดค่าสีด้วยโทรศัพท์เคลื่อนที่

ตัวแปรที่ศึกษา	ช่วงที่ศึกษา	ค่าที่เหมาะสม
ความเข้มข้นของกะหล่ำปลีแดง	10, 20, 40, 60, 80 และ 100 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร	40 ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร
เวลาที่ใช้ในการสกัดสารกะหล่ำปลีแดง	10, 15, 20, 30 และ 45 นาที	15 นาที
เวลาในการตรึงสารสกัดบนกระดาษกรอง	5, 10, 15, 20 และ 30 นาที	5 นาที
เวลาในการทำปฏิกิริยา	1, 2, 3, 4, 5, 7.5 และ 10 นาที	3 นาที

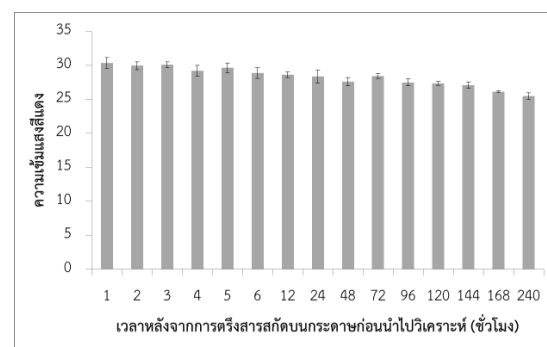
ค่าคุณลักษณะทางการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียบนกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดจากกะหล่ำปลีแดง และตรวจวัดค่าสีด้วยโทรศัพท์เคลื่อนที่

จากการหาภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์สามารถนำมาหาค่าคุณลักษณะทางการวิเคราะห์ได้ โดยการทดลองพบว่า ช่วงการใช้งานที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์อยู่ในช่วงความเข้มข้น 1.00–30.00 มิลลิโมลาร์ ได้สมการเส้นตรง $y = 1.31 \pm 0.03x + 15.34 \pm 0.59$, $R^2 = 0.9955$ แสดงดังรูปที่ 8 ค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) หาได้จากสามเท่าของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณแบล็ก (3SD_{blank}, n = 10) และค่าขีดจำกัดในการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ) หาได้จากสิบเท่าของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณแบล็ก (10SD_{blank}, n = 10) มีค่าเท่ากับ 0.24 และ 0.81 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ และจากการศึกษาหาความแม่นยำในการวิเคราะห์ของเทคนิคที่พัฒนาขึ้นที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ 5.00, 15.00 และ 30.00 มิลลิโมลาร์ โดยการวัดสัญญาณค่าความเข้มแสงสีแดงจำนวน 9 ครั้ง พบว่า ค่า %RSD เท่ากับ 4.6, 2.9 และ 1.9 ตามลำดับ ซึ่งมีค่า %RSD น้อยกว่า 5 % แสดงว่าวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นมีความแม่นยำสูง นอกจากนี้งานวิจัยนี้ได้หาค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) ศึกษาโดยการเติมสารมาตรฐานแอมโมเนียม คลอไรด์ความเข้มข้น 5.00 และ 10.00 มิลลิโมลาร์ ในตัวอย่าง และทำการเทียบค่าสัญญาณที่ได้ข้างต้นกับสารมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 5.00 และ 10.00 มิลลิโมลาร์ ตามสูตรการคำนวณหาค่าร้อยละการคืนกลับ พบว่าอยู่ในช่วง 96.8–107.0 % และจากการศึกษาค่าคงตัว (Stability) ของกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดจากกะหล่ำปลีแดงดังรูปที่ 9 เมื่อนำกระดาษที่ผลิตและเก็บในที่แห้งและเย็นเป็นเวลาในช่วง 1–240 ชั่วโมงก่อนนำไปทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียมคลอไรด์ พบว่า ค่าความเข้มแสงสีแดงมีค่า

ลดลงประมาณ 16 % ดังนั้น ควรนำกระดาษที่ตรึงด้วยกะหล่ำปลีแดงไปใช้ภายใน 1 สัปดาห์เพื่อให้ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับค่าคงตัวของรงควัตถุที่อยู่ในสารสกัดกะหล่ำปลีแดง ถ้าเก็บกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดในที่มืดและอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส จะสามารถเก็บรักษาได้นาน 30 วัน (24)



รูปที่ 8 ช่วงความเป็นเส้นตรงจากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์กับค่าความเข้มแสงสีแดง



รูปที่ 9 ความคงตัว (Stability) ของกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดจากกะหล่ำปลีแดงที่เก็บรักษาในช่วงเวลาต่าง ๆ (ชั่วโมง) ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น

การประยุกต์ใช้วิธีที่ได้พัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียในตัวอย่างปุ๋ยเคมี

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการประยุกต์ใช้วิธีที่ได้พัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียใน

ตัวอย่างปุ๋ยเคมีที่มีจำหน่ายทั่วไปตามท้องตลาด ผลการวิเคราะห์รายงานเป็นร้อยละไนโตรเจน (% Nitrogen, ร้อยละโดยมวล) เมื่อเปรียบเทียบค่าการวิเคราะห์ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีมาตรฐาน (ตารางที่ 2) พบว่า ทั้งสองวิธีมีค่าใกล้เคียงกัน และเมื่อทดสอบวิธีทางสถิติแบบที่

(t-test) (Paired two sample for means) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % พบว่า t_{stat} มีค่าเท่ากับ 0.17 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า $t_{critical}$ ที่มีค่าเท่ากับ 4.30 แสดงให้เห็นว่าผลการวิเคราะห์ทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 2 ปริมาณร้อยละโดยมวลไนโตรเจน (% Nitrogen) ในตัวอย่างปุ๋ยเคมีของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีมาตรฐาน

ตัวอย่างที่	% Nitrogen (ร้อยละโดยมวล)	
	วิธีที่พัฒนาขึ้น	วิธีมาตรฐาน
S1	16.21±2.36	19.89±1.57
S2	16.38±1.19	18.83±1.48
S3	19.51±1.17	18.19±1.57
S4	27.64±1.23	25.85±1.54

สรุปผล

งานวิจัยนี้ได้มีการพัฒนาอุปกรณ์อย่างง่ายที่ใช้ตรวจวัดแก๊สแอมโมเนียบนกระดาษที่ตรึงด้วยกระดาษสี RGB ด้วยโทรศัพท์เคลื่อนที่ อุปกรณ์ที่พัฒนาประสบความสำเร็จในการประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณแอมโมเนียในตัวอย่างปุ๋ยเคมี โดยกล่าวได้ว่างานวิจัยนี้เป็นการวิเคราะห์ที่ง่าย สะดวก ราคาไม่แพง เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และสามารถนำไปวิเคราะห์นอกสถานที่ได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการทำวิจัยตามโครงการสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณกองทุนสนับสนุนการวิจัยเพื่อการพัฒนา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 จากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย ตามเลขที่สัญญา B26301016 เรื่อง การสร้างชุดทดสอบอย่างง่ายโดยใช้เรอเจนต์ธรรมชาติสำหรับหาปริมาณแอมโมเนียในปุ๋ยเคมี และขอขอบคุณนางสาวปราณี ไชยวุฒิ นางสาวสิริขวัญ มุนิจารวัฒนกุล และนายจตุพล บุญภา ผู้ช่วยวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Yuen KI, Shit FC. Ammonia production, excretion, toxicity, and defense in fish: a review. *Frontiers in Physiology*. 2010;1:1–20.
2. Sukaram T, Sirisakwisut P, Sirirak J, Nacapricha D, Chaneam S. Environmentally friendly method for determination of ammonia nitrogen in fertilisers and wastewaters based on flow injection-spectrophotometric detection using natural reagent from orchid flower. *Int J Anal Chem*. 2018;98(10):907–20.
3. Daridon A, Sequeira M, Pennarun-Thomas G, Dirac H, Krog JP, Gravesen P, et al. Chemical sensing using an integrated microfluidic system based on the Berthelot reaction. *Sensor Actuat B-Chem*. 2001;76(1–3):235–43.
4. Felix EP, Cardoso AA. Colorimetric determination of ammonia in air using a

- hanging drop. Instrum Sci Technol. 2003;31(3):283–94.
5. Lin K, Li P, Wu Q, Feng S, Ma J, Yuan D. Automated determination of ammonium in natural waters with reverse flow injection analysis based on the indophenol blue method with o-phenylphenol. Microchem J. 2018;138:519–25.
 6. Demutskaya L, Kalinichenko I. Photo-metric determination of ammonium nitrogen with the nessler reagent in drinking water after its chlorination. J Water Chem Technol. 2010;32(2):90–4.
 7. Oms M, Cerda A, Cladera A, Cerdà V, Forteza R. Gas diffusion techniques coupled sequential injection analysis for selective determination of ammonium. Anal Chim Acta. 1996;318(3):251–60.
 8. Segundo RA, Mesquita RBR, Ferreira MTSOB, Teixeira CFPC, Bordalo AA, Rangel AOSS. Development of a sequential injection gas diffusion system for the determination of ammonium in transitional and coastal waters. Anal Methods-UK. 2011;3(9):2049–55.
 9. Jayawardane BM, McKelvie ID, Kolev SD. Development of a gas-diffusion microfluidic paper-based analytical device (μ PAD) for the determination of ammonia in wastewater samples. Anal Chem. 2015;87(9): 4621–6.
 10. Musile G, Gottardo R, Palacio C, Shestakova K, Raniero D, Elio F, et al. Development of a low cost gas diffusion device for ammonia detection in the vitreous humor and its preliminary application for estimation of the time since death. Forensic Sci Int. 2019;295:150–6.
 11. de la Guardia M, Garrigues S. Handbook of Green Analytical Chemistry. 1 st ed. John Wiley & Sons, Ltd; 2012.
 12. Armenta S, Garrigues S, de la Guardia M. The role of green extraction techniques in Green Analytical Chemistry. Trac-Trend Anal Chem. 2015;71:2–8.
 13. Grudpan K, Hartwell SK, Wongwilai W, Grudpan S, Lapanantnoppakhun S. Exploiting green analytical procedures for acidity and iron assays employing flow analysis with simple natural reagent extracts. Talanta. 2011;84(5):1396–400.
 14. MY MUL, Atika A, OA MZ, Khor P. A comparative analysis of Clitoriaternatea Linn. (ButterflyPea) flower extract as natural liquid pH indicator and natural pH paper. Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences. 2018;17(1):97–103.
 15. Supharoek SA, Ponhong K, Siriangkhawut W, Grudpan K. Employing natural reagents from turmeric and lime for acetic acid determination in vinegar sample. J Food Drug Anal. 2018; 26(2):583–90.
 16. นภาพร วรรณพรม, เยาวลักษณ์ ชื่นหัวโตน. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซีติกในตัวอย่างน้ำส้มสายชูด้วยเทคนิคแลปออนไมโครเฟลทโดยใช้สารสกัดจากกะหล่ำปลีแดงเป็นรีเอเจนต์ธรรมชาติ. ใน: การประชุมวิชาการระดับชาติ นครศวรวิจัยครั้งที่ 14: University in Disruptive Era; 1–2 พ.ย. 2561;

- มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก. กองส่งเสริมการวิจัย มหาวิทยาลัยนเรศวร; 2561. น. 165–73.
17. เยาวลักษณ์ ชันหวัทอน, นภาพร วรรณพรม. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดซิตริกในน้ำมะนาวสังเคราะห์โดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติจาก กลีบดอกกล้วยไม้ (*Dendrobium sonia earsakul*) เป็นรีเอเจนต์ร่วมกับการตรวจวัดด้วยเครื่อง PiCO-EXPLORER. ใน: การประชุมวิชาการระดับชาติด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ครั้งที่ 3; 18–19 ม.ค. 2562; คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ จ.พระนครศรีอยุธยา. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ; 2562. น. 498–507.
 18. Peters JJ, Almeida MIGS, Šraj LOC, McKelvie ID, Kolev SD. Development of a micro-distillation microfluidic paper based analytical device as a screening tool for total ammonia monitoring in freshwaters. *Anal Chim Acta*. 2019;1079:120–8.
 19. Phansi P, Sumantakul S, Wongpakdee T, Fukana N, Ratanawimarnwong N, Sitanurak J, et al. Membraneless gas-separation microfluidic paper-based analytical devices for direct quantitation of volatile and non volatile compounds. *Anal Chem*. 2016;88(17):8749–56.
 20. รัตนา วงศ์ชูพันธ์, ขวัญกมล ชูนิ่ม, เฉลิมพร ทองพูน, ณัฐพันธ์ สงวนศักดิ์บาร์มี. พืชมีสีกับการเป็นอินดิเคเตอร์ธรรมชาติ. *Rajabhat Journal of Sciences, Humanities & Social Sciences*. 2559;17:74–83.
 21. Brouillard R, Dubois JE. Mechanism of the structural transformations of antho-cyanins in acidic media. *Journal of American the Journal Society*. 1977;9:1359–64.
 22. Castaneda-Ovando A, deLourdes Pacheco-Hernández M, Páez-Hernández ME, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA. Chemical studies of anthocyanins: a review. *Food Chem*. 2009;113(4):859–71.
 23. Weinges K, Nader FW. Proanthocyanidins. In: Pericles Markakis, editor. *Anthocyanins as food colors*. 1st ed. Newyork: Academic Press A subsidiary of Harcourt Brace Javanovich; 1982. p. 111.
 24. Xiu-li HE, Xue-li LI, Yuan-ping LV, Qiang HE. Composition and color stability of anthocyanin-based extract from purple sweet potato. *Food Sci Tech-Brazil*. 2015;35(3):468–73.