

สารสกัดจากใบกระถินที่ถูกตรึงบนกระดาษสำหรับเป็นชุดทดสอบปริมาณไอออนเหล็ก ในตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็ก

Leucaena leucocephala (Lam) de Wit Leaf Extracts Immobilized on Paper as A Test Kit for Iron Ion Determination in Iron Supplement

เยาวลักษณ์ ขันหัวโทน¹, ณรงค์ คชภักดี², นภาพร วรณามพร^{1*}

Yaowalak Khunhuathon¹, Narong Kotchabhakdi², Napaporn Wannaprom^{1*}

¹สาขาวิชาเคมี คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย

Chemistry Program, Faculty of Education, Chiang Rai Rajabhat University

²สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง

Chemistry Program, Faculty of Science, Lampang Rajabhat University

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาหาปริมาณไอออนเหล็กในตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็กด้วยเทคนิคแลป-ออน-เปเปอร์ โดยใช้สารสกัดจากใบกระถินเป็นรีเอเจนต์ ร่วมกับการตรวจวัดค่าสี RGB ด้วยโทรศัพท์มือถือ การเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารมิโมซินในใบกระถินกับไอออนเหล็กจะได้สารประกอบเชิงซ้อนสีส้มอิฐ ให้สเปกตรากการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 460 nm โดยได้ศึกษาตัวแปรต่าง ๆ เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมพบค่าที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้นของสารสกัดใบกระถินที่ 2.5 %w/v เวลาในการสกัด 20 นาที pH ในการเกิดปฏิกิริยา 4.5 ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่หยดบนกระดาษเท่ากับ 15 ไมโครลิตร เวลาในการทำปฏิกิริยา 7.5 นาที และใช้แสงสีน้ำเงิน (B) ในการติดตามสัญญาณ ซึ่งภายใต้สภาวะการทดลองที่เหมาะสม พบช่วงการใช้งานที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานเหล็กอยู่ในช่วง 1.00–10.00 ppm ($y = 0.9626x - 2.1379$, $R^2 = 0.9959$) ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.09 และ 3.68 ppm ตามลำดับ และค่าความแม่นยำในการวิเคราะห์ของเทคนิคที่พัฒนาขึ้นที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเหล็ก 1.00, 5.00 และ 10.00 ppm ($n = 8$) พบว่า %RSD เท่ากับ 3.00 2.84 และ 2.38 ตามลำดับ ร้อยละการได้คืนกลับ 87–93% จากการวิเคราะห์ไอออนเหล็กในตัวอย่างยาพบว่า เมื่อเปรียบเทียบค่าการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ t-Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีมาตรฐานของยาแต่ละชนิดพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ งานวิจัยนี้ถือได้ว่าเป็นเครื่องมืออย่างง่าย มีความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและราคาประหยัด

คำสำคัญ: ไอออนเหล็ก สารสกัดจากใบกระถิน รีเอเจนต์ธรรมชาติ แลป-ออน-เปเปอร์ ยาเสริมธาตุเหล็ก

* Corresponding author : napaporn.wan@cruu.ac.th

Abstract

The iron ion determination in iron supplement using the lab-on-paper technique with *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit leaf extracts as a reagent and RGB color measurement via mobile phone was developed. The reaction between mimosine in *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit leaf extracts and iron ions was provided by a brick-orange complex compound which its highest light absorption spectrum at 460 nm. The various parameters were examined in order to obtain the appropriate condition were studied. The optimum values were found to be the concentration of acacia leaf extract at 2.5 % w/v, extraction time of 20 minutes, pH in the reaction of 4.5, volume of sample solution dropped on paper of 15 μ L, reaction time of 7.5 minutes, and blue light (B) used as monitoring of the signals. Under optimum conditions, it was found that the linearity range of the iron ion standard solution was in the range of 1.00–10.00 ppm ($y = 0.9626x - 2.1379$, $R^2 = 0.9959$). LOD and LOQ values were 0.09 and 3.68 ppm, respectively. The accuracy of the proposed method was studied at iron ion concentrations of 1.00, 5.00 and 10.00 ppm ($n = 8$). The results showed that the %RSD was 3.00, 2.84 and 2.38, respectively. The % recovery was 87–93%. The iron ion determination in iron supplements by the proposed method and the standard method were compared using t-test statistical analysis values at the 95% confidence level. It was found that there were no significant differences. This research can be considered a simple, environmentally friendly and economical.

Keywords: Iron ion, *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit leaf extracts, Natural reagent, Lab-on-paper, Iron supplement

1. บทนำ

ธาตุเหล็กมีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางชีวภาพ เป็นองค์ประกอบของเม็ดเลือดแดงกล้ามเนื้อ และยังช่วยนำพาออกซิเจนในร่างกาย หากร่างกายขาดธาตุเหล็กจะทำให้จำนวนเม็ดเลือดแดงน้อยลง การนำส่งออกซิเจนไปสู่ส่วนต่าง ๆ ของร่างกายก็จะลดลง เกิดสภาวะซีด และทำให้เสี่ยงต่อการเป็นโรคโลหิตจาง (ธาลัสซีเมีย) ได้ ซึ่งการป้องกันไม่ให้ร่างกายขาดธาตุเหล็กทำได้โดยการรับประทานอาหารที่มีส่วนประกอบของธาตุเหล็ก หรือการรับประทานยาเสริมธาตุเหล็ก ซึ่งอาจอยู่ในรูป เฟอร์รัส ฟumarate หรือ เฟอร์รัส ซัลเฟต โดยตรงตามคำแนะนำของแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ ถึงแม้ว่าธาตุเหล็กนั้นจะมีความสำคัญเป็นอย่างมาก แต่หากในร่างกายมีปริมาณของธาตุเหล็กมากเกินไปก็อาจส่งผลเสียต่อการทำงานของอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกาย ก่อให้เกิดโรคเบาหวาน ตับหรือไตวาย และเสียชีวิตได้ (เกศินี เสาวงามจันทร์ และศศิธร มั่นเจริญ, 2563)

โดยทั่วไปในการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กจะใช้เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรีช่วงวิสิเบิล โดยอาศัยการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีกับบรีเจนต์หรือลิแกนด์ (Cappai et al., 2024; Xia et al., 2022; Hussein Elgailani & Alamar, 2017) หรือโดยการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคสเปกโทรสโกปีการดูดกลืนแสงของอะตอม (Atomic absorption spectroscopy) เป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณของโลหะในตัวอย่างต่าง ๆ (ภูวดล เชื้อผู้ดี, 2563; Ruzmetov et al., 2023; Fakayode et al., 2022; Abdulkareem et al., 2022) ซึ่งทั้งสองวิธีมีสภาพวิเคราะห์และความจำเพาะเจาะจงสูง แต่วิธีดังกล่าวมีหลายขั้นตอนที่ซับซ้อน เครื่องมือขนาดใหญ่ ราคาแพง และใช้รีเอเจนต์ที่เป็นสารเคมี ปฏิบัติการบนแผ่นกระดาษ (Lab on paper) ถูกคิดค้นและพัฒนาขึ้นเป็นครั้งแรกโดยกลุ่มวิจัยของ จอร์จ เอ็ม ไวท์ไซด์ (Whitesides et al., 2007) เพื่อใช้ในตรวจวัดสารทางชีวภาพ (Biosensor) และมีการใช้อย่างแพร่หลายทางด้านเคมีวิเคราะห์ (López-Marzo & Merkoci, 2016) รวมถึงการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณในโรงงานอุตสาหกรรม (Singh et al., 2018) ซึ่งอุปกรณ์ดังกล่าวใช้กระดาษเพื่อตรึงสารรีเอเจนต์ไว้ในพื้นผิวกระดาษ จากนั้นนำไปทำให้เกิดปฏิกิริยากับสารที่สนใจ (Analyte) ภายหลังได้ สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับเทคนิคการตรวจวัดได้หลายวิธี เช่น การตรวจวัดด้วยตาเปล่า (Ravgiala et al., 2014; Lai et al., 2020) การตรวจวัดด้วยโทรศัพท์มือถือด้วยการถ่ายภาพ (Kehoe & Penn, 2013; Cai et al., 2013; Wang et al., 2015; Koesdjojo et al., 2015) การตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า (Electro-chemical detection) และการตรวจวัดโดยใช้การวิเคราะห์สี (Colorimetric detection) (นภาพร วรรณพรม และเยาวลักษณ์ ชันหวัทโน, 2563) ซึ่งการวิเคราะห์บนกระดาษมีข้อดี เช่น ราคาไม่แพง สามารถพกพาได้ง่าย ง่ายต่อการสร้างและการตรวจวัด มีขนาดเล็ก ใช้สารปริมาณน้อยในการตรวจวัด ใช้งานง่าย Armenta et al., 2020 ได้พัฒนาปฏิบัติการบนกระดาษในการวิเคราะห์ไอออนเหล็ก(III) โดยใช้รีเอเจนต์ที่เป็นสารเคมีสำหรับการทดลองในห้องปฏิบัติการของนักเรียน

จากที่กล่าวมาข้างต้น เพื่อให้เป็นการวิเคราะห์ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม แนวคิดเกี่ยวกับเคมีสีเขียวจึงเป็นแนวทางในการวิเคราะห์ที่น่าสนใจ โดยมีหลักการที่เกี่ยวข้องกับการลดการเกิดของเสียจากการทดลอง การใช้ตัวทำละลายที่ปลอดภัยหรือใช้รีเอเจนต์ที่มีความเป็นพิษน้อย (นภาพร วรรณพรม และเยาวลักษณ์ ชันหวัทโน, 2563) จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องเช่น การวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) ไอออน ด้วยการเกิดสารเชิงซ้อนกับสารสกัดธรรมชาติโดยการใช้สมาร์ทโฟน (เกศินี เสาวงจันทร์, 2562) การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) โดยใช้สารสกัดแอนโทไซยานินจากธรรมชาติตรวจวัดด้วยสมาร์ทโฟน (เกศินี เสาวงจันทร์ และศศิธร มั่นเจริญ, 2563) ซึ่งเป็นการใช้อินดิเคเตอร์ธรรมชาติ เป็นวิธีที่ราคาไม่แพง และหาง่าย

กระถินไทยเป็นพืชพื้นบ้านที่สามารถพบได้ทั่วไปในประเทศไทย มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit จัดอยู่ในวงศ์ Fabaceae หรือ Leguminosae (ชื่อเดิม) กระถินไทยมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (คณาทิพย์ สิงห์สาย และคณะ, 2563) จากรายงานการวิจัยพบว่าได้มีการสกัดใบกระถินด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ซึ่งส่วนที่สกัดได้จะมีสารมิโมซีน (Mimosine) เป็นส่วนประกอบหลัก โดยสารนี้สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนของเหล็กได้ (Kotchabhakdi et al., 2021)

จากงานวิจัยที่ได้ศึกษาข้างต้น ผู้วิจัยจึงได้ทำการพัฒนานิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กในตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็กโดยใช้สารสกัดจากใบกระถินเป็นรีเอเจนต์ธรรมชาติด้วยปฏิบัติการบนแผ่นกระดาษ (Lab-on-paper, LOP) โดยใช้โทรศัพท์มือถือในการตรวจผลการวิเคราะห์ ซึ่งเป็นเครื่องมือที่มีขนาดเล็ก ราคาไม่แพง ใช้สารปริมาณน้อย สามารถนำไปวิเคราะห์นอกสถานที่ได้ อีกทั้งยังมีความถูกต้องให้ผลการวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือ

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาชุดทดสอบที่ตรงด้วยสารสกัดจากใบกระถินสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กในตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็ก และใช้แอปพลิเคชันบนโทรศัพท์มือถือในการตรวจวัดค่าความเข้มแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน (RGB) ในกล่องควบคุมแสง

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและการเตรียมสารละลาย

เตรียมสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก (Iron AAS standard solution 1000 mg/L in diluted HNO_3 , LOBA CHEMIE PVD.LTD) จากการเจือจางสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก(III) เข้มข้น 1000 ppm ด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI) ให้ได้ไอออนเหล็ก(III) ในช่วงความเข้มข้น 1.00–10.00 ppm

เตรียมสารละลายโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 4.5 ปริมาตร 500 mL โดยการชั่งโซเดียมอะซิเตตไตรไฮเดรต ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 99.5 %v, Analytical grade, RCI Labscan Limited) 24.8404 g เติมน้ำปราศจากไอออน 250 mL คนให้ละลาย เทสารละลายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 mL เติมกรดอะซิติกเข้มข้น (CH_3COOH , ≥ 99.8 %, Analytical grade, RCI-Labscan) ปริมาตร 18.20 mL จากนั้นเติมน้ำปราศจากไอออน จนถึงขีดปริมาตร นำไปวัดค่า pH และปรับ pH ด้วย 1 mol/L HCl

เตรียมสารสกัดจากใบกระถินเข้มข้น 2.50 %w/v ปริมาตร 100 mL โดยใช้ใบกระถินในส่วนยอดจากพื้นที่ในจังหวัดเชียงราย ชั่งน้ำหนักของกระถิน นำไปล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งแดดจนแห้งจนได้น้ำหนักที่คงที่ นำไปร่อนให้เหลือแต่ส่วนใบ นำมาบดให้ละเอียด ชั่งผงใบกระถิน 2.50 g ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 mL เติมกรดไฮโดรคลอริก (HCl , Analytical grade, RCI Labscan Limited) 0.10 mol/L ปริมาตร 100 mL ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที เพื่อสกัดเอาสารมิโมซีน (Mimosine) ซึ่งเป็นสารสำคัญในใบกระถินออกมา จากนั้นกรองแบบหยาบด้วยผ้าขาวบาง และนำไปกรองแบบละเอียดอีกครั้งด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL จากนั้นปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.10 mol/L จนถึงขีดบอกระดับ (Kotchabhakdi et al., 2021)

การเตรียมตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็ก ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็กทั้งหมด 4 ชนิด โดยซื้อจากร้านขายยาทั่วไปในจังหวัดเชียงรายซึ่งมีวิธีการเตรียมตัวอย่างดังนี้ ซึ่งตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็กจำนวน 15 เม็ด แล้วหาค่าเฉลี่ย นำมาบดในโถร่งให้ละเอียด จากนั้นชั่งแบบละเอียดประมาณ 1 g ใส่บีกเกอร์ขนาด 100 mL จำนวน 3 บีกเกอร์ แล้วเติมน้ำลงไปบีกเกอร์อย่างละ 25 mL นำไปเติมกรด HCl เข้มข้น

บีกเกอร์ละ 1 mL นำไปต้มให้เดือดประมาณ 30 นาทีตั้งไว้ให้เย็นเทใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 500 mL และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนแล้วนำสารละลายที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เก็บสารละลายตัวอย่างในขวดสีชาเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

3.2 การตรึงสารสกัดจากใบกระถินบนกระดาษ

เทสารสกัดจากใบกระถินปริมาตร 30 mL ลงในภาชนะที่เตรียมไว้ จากนั้นนำกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เส้นผ่านศูนย์กลาง 12.5 เซนติเมตร วางลงในภาชนะที่มีสารสกัด แช่ 5 นาที (นภาพร วรรณพรม และเยาวลักษณ์ ชันหัวโทน, 2563) เมื่อครบเวลานำกระดาษกรองมาเป่าให้แห้งด้วยไดร์เป่าผม จากนั้นตัดให้ได้ขนาด 2 x 2 เซนติเมตร ก่อนนำไปวิเคราะห์ขั้นต่อไป แสดงดังภาพที่ 1



เทสารสกัดจากใบกระถิน ปริมาตร 30 มิลลิลิตร แช่กระดาษ 5 นาที นำกระดาษกรองเบอร์ 1 ใส่ลงในสารสกัดใบกระถิน เป่าให้แห้งด้วยไดร์เป่าผม ตัดกระดาษขนาด 2 x 2 ซม.

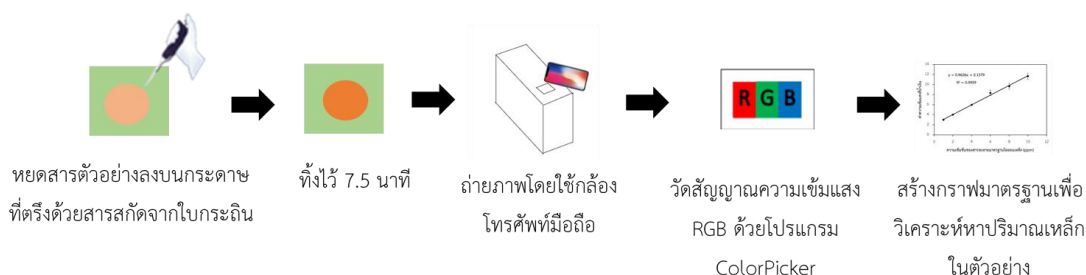
ภาพที่ 1 การตรึงสารสกัดจากใบกระถินบนกระดาษ

3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กในตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็กด้วยวิธีการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition method) โดยใช้สารสกัดจากใบกระถินเป็นรีเอเจนต์ธรรมชาติด้วยวิธีที่ได้พัฒนาขึ้น

ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เตรียมจากขั้นตอน 3.1 ปริมาตร 5.00 mL เติมสารละลายอะซิเตดบัฟเฟอร์ pH 4.5 ปริมาตร 12.00 mL และสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กที่ความเข้มข้น 0.00, 2.00, 4.00, 6.00 และ 10.00 ppm และปรับปริมาตรจนครบ 25.00 mL ด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างข้างต้นปริมาตร 15 μ L หยดลงบนกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดจากใบกระถิน ตั้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 7.5 นาที ถ่ายภาพโดยใช้กล้องโทรศัพท์มือถือภายใต้กล้องควบคุมแสงสีขาว โดยมีการควบคุมตำแหน่งของกล้องควบคุมแสง และตำแหน่งของกระดาษที่จะนำมาวิเคราะห์ที่ตำแหน่งเดิมตลอดการทดลอง และตรวจค่าความเข้มแสงด้วยแอปพลิเคชันบนโทรศัพท์มือถือ (Colorpicker) นำค่าความเข้มแสงสีน้ำเงิน ไปสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กในตัวอย่างต่อไป แสดงดังภาพที่ 2

3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กด้วยวิธีมาตรฐาน

วิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กด้วยวิธีมาตรฐานโดยใช้เทคนิคอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิล สเปกโตรเมตริก (A Thermo Scientific Genesys 840-208100 UV/Vis spectrophotometer) อาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กกับ 1,10-phenanthroline จนเกิดสารประกอบเชิงซ้อนจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร



ภาพที่ 2 ขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กด้วยเทคนิคที่พัฒนาขึ้น

4. ผลการวิจัย

4.1 ศึกษาลักษณะสเปกตราของการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดจากใบกระถินและสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก

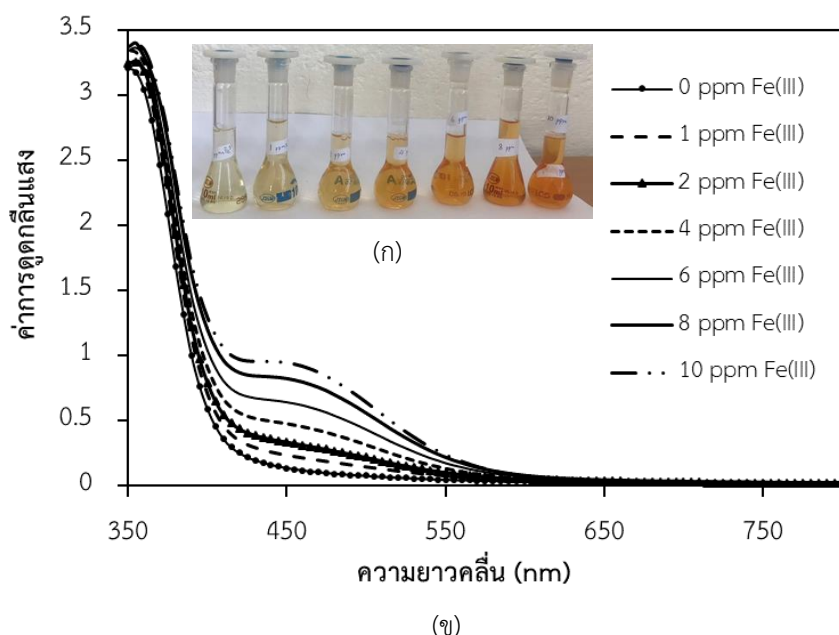
จากการศึกษาสเปกตราในช่วงความยาวคลื่น 350–800 nm ของการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดจากใบกระถินความเข้มข้น 2.5 %w/v และสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กด้วยเทคนิคอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี ที่ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กเท่ากับ 0.00, 1.00, 2.00, 4.00, 6.00, 8.00 และ 10.00 ppm ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 3 ซึ่งเป็นสัญญาณที่หักกลับแปลงค์เรียบร้อยแล้ว พบว่า การทำปฏิกิริยาระหว่างสารมีโมสีนที่เป็นสารสำคัญในสารสกัดจากใบกระถินกับสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีส้ม-อิฐ ได้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 460 nm

4.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง

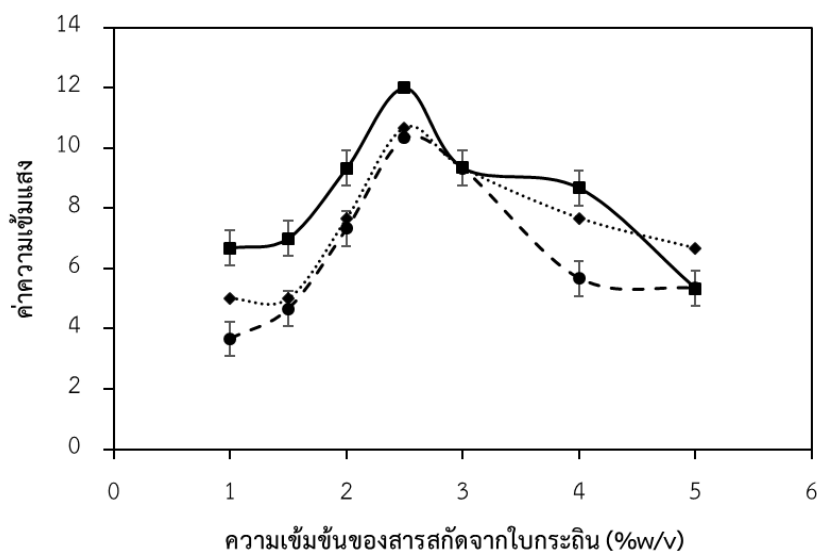
การหาสภาวะการทดลองทั้งหมดได้ศึกษานบนกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดจากใบกระถินได้ผลการทดลองดังนี้

4.2.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกระถิน

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกระถินในช่วง 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0 และ 5.0 %w/v ที่ตรึงบนกระดาษกรอง และนำไปทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กที่ความเข้มข้น 6 ppm เมื่อทำการสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกระถิน กับค่าความเข้มแสงสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน พบว่า ค่าความเข้มของแสงสีน้ำเงินให้สัญญาณการตรวจวัดสูงสุด และเมื่อพิจารณาที่เฉพาะความเข้มแสงนี้พบว่าให้ค่าสัญญาณสูงสุดที่ความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกระถิน 2.5 %w/v จากนั้นค่าความเข้มแสงจะลดลงและคงที่ถึงความเข้มข้น 5 %w/v ดังภาพที่ 4 ดังนั้นในงานวิจัยนี้เลือกความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกระถินที่ 2.5 %w/v และเลือกใช้ค่าความเข้มแสงสีน้ำเงินสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างอื่น ๆ ต่อไป



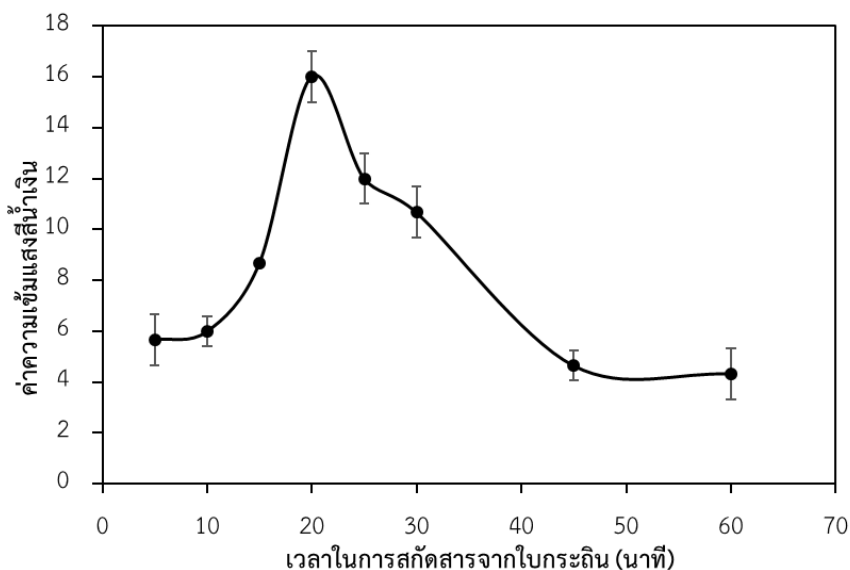
ภาพที่ 3 (ก) ภาพการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารมิโซซีนที่เป็นสารสำคัญในสารสกัดจากใบกระถินกับสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีส้ม-อิฐ
(ข) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงระหว่างสารสกัดจากใบกระถินและสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก ด้วยเทคนิคอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิล สเปกโทรสโกปี



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกระถินกับค่าความเข้มของแสงสีแดง (●) สีเขียว (◆) และสีน้ำเงิน (■)

4.2.2 ผลการศึกษาเวลาในการสกัดไบโกระถิน

จากการศึกษาเวลาในการสกัดไบโกระถินในช่วงเวลาที่ 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 และ 60 นาที เมื่อนำมาสร้างกราฟระหว่างเวลาในการสกัดไบโกระถินกับค่าความเข้มข้นแสงสีน้ำเงิน พบว่า เมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น ค่าความเข้มของแสงสีน้ำเงินจะเพิ่มขึ้นและให้ค่าสัญญาณสูงสุดที่เวลา 20 นาที จากนั้นค่าความเข้มข้นแสงจะลดลงและคงที่ถึงเวลา 60 นาที ดังภาพที่ 5 ความเข้มแสงลดลงเนื่องจากการสลายตัวของสารสกัดจากไบโกระถิน ซึ่งเป็นสารสกัดจากธรรมชาติและเกิดการสลายตัวของสารประกอบเชิงซ้อนอาจเกิดการออกซิไดส์ด้วยแสง ดังนั้นในงานวิจัยนี้เลือกเวลาในการสกัดไบโกระถินที่ 20 นาที สำหรับใช้ในการวิเคราะห์หัตถ์แปรอื่นต่อไป



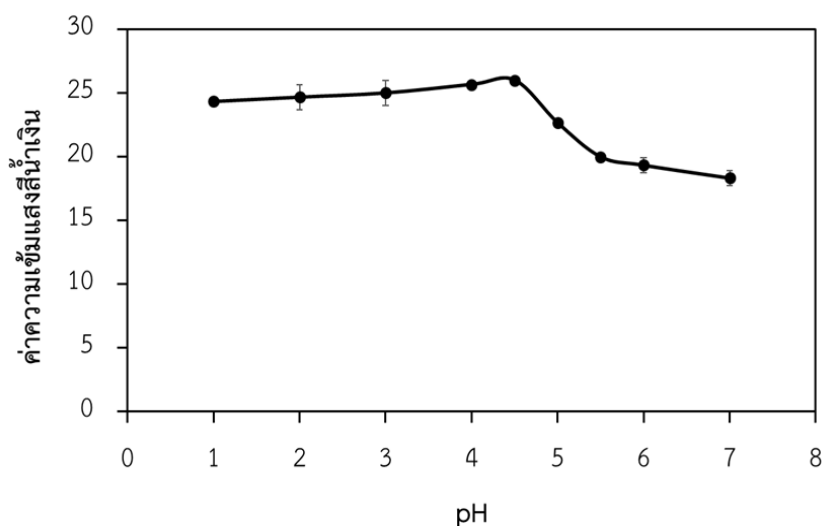
ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการสกัดสารจากไบโกระถินกับค่าความเข้มแสงของแสงสีน้ำเงิน

4.2.3 ผลการศึกษาค่า pH ในการทำปฏิกิริยา

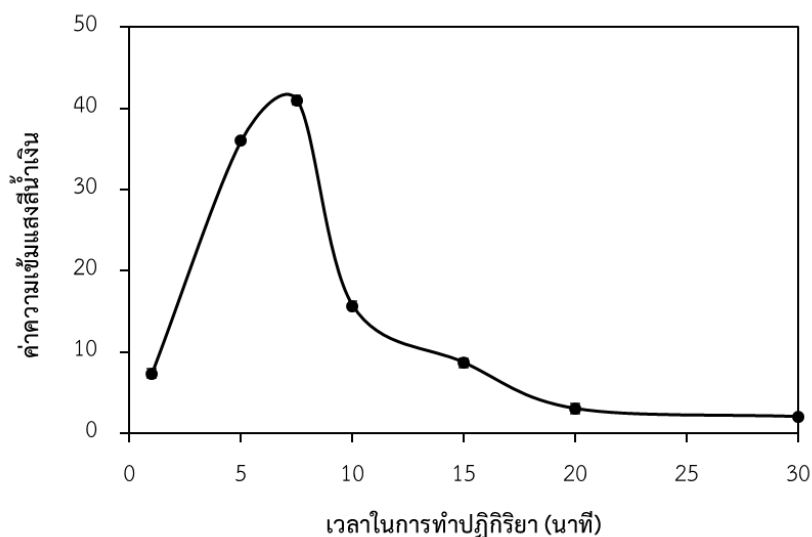
จากการศึกษาค่า pH ในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดจากไบโกระถินกับสารละลายมาตรฐานเหล็กในช่วง pH ที่ 1, 2, 3, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 7, 8 และ 10 เมื่อทำการสร้างกราฟระหว่างค่า pH กับค่าความเข้มแสงสีน้ำเงิน ดังภาพที่ 6 พบว่า ค่าความเข้มของแสงสีน้ำเงินสูงสุดที่ pH 4.5 จากนั้นค่าความเข้มแสงจะลดลงและคงที่จนถึง pH ที่ 10 เนื่องจากเมื่อ pH เพิ่มขึ้นส่งผลให้ไอออนเหล็กอยู่ในรูปแบบที่ไม่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยา หรืออาจเกิดเป็นสารประกอบไฮดรอกไซด์จึงทำให้สัญญาณลดลง แสดงว่าปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถเกิดได้ดีที่ pH 4.5 ดังนั้น ในงานวิจัยนี้เลือกค่า pH ที่ 4.5 สำหรับใช้ในการวิเคราะห์หัตถ์แปรอื่น ๆ ต่อไป

4.2.4 ผลการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดจากใบกระถินกับสารละลายมาตรฐานเหล็ก

จากการศึกษาเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดจากใบกระถินกับสารละลายมาตรฐานเหล็กในช่วง 1, 5, 7.5, 10, 15, 20 และ 30 นาที ผลการทดลองพบว่า ค่าความเข้มแสงของสีน้ำเงินสูงสุดที่เวลา 7.5 นาที จากนั้นค่าความเข้มแสงจะลดลงและคงที่จนถึงเวลาที่ 30 นาที ดังภาพที่ 7 ดังนั้น ในงานวิจัยนี้เลือกเวลาในการทำปฏิกิริยาที่ 7.5 นาที สำหรับใช้ในการวิเคราะห์ตัวแปรอื่น ๆ ต่อไป



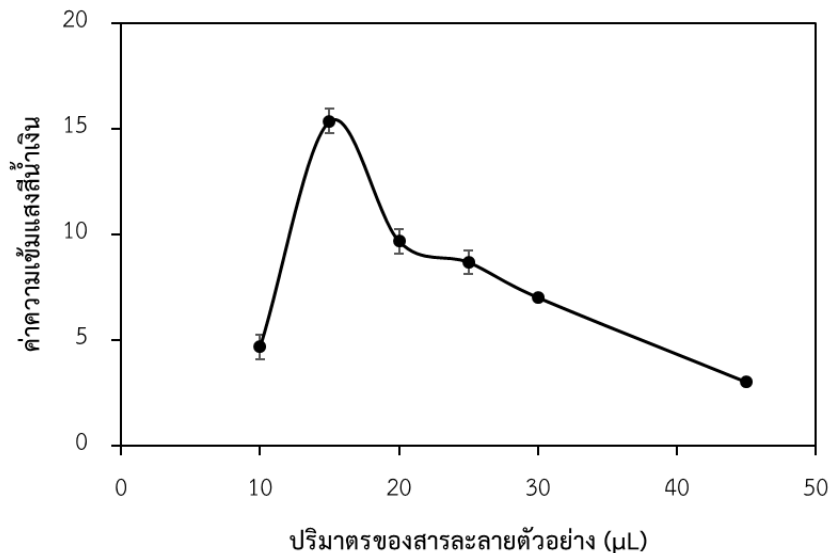
ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ในการทำปฏิกิริยากับค่าความเข้มแสงของแสงสีน้ำเงิน



ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำปฏิกิริยากับค่าความเข้มแสงของแสงสีน้ำเงิน

4.2.5 ผลการศึกษาปริมาณสารละลายมาตรฐานและตัวอย่างที่ใช้หยดในการเกิดปฏิกิริยากับสารที่ตรึงบนกระดาษ

จากการศึกษาปริมาณสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กความเข้มข้น 6 ppm และตัวอย่างที่ใช้หยดในการเกิดปฏิกิริยากับสารที่ตรึงบนกระดาษในช่วง 10, 15, 20, 25, 30 และ 45 μL พบว่า ค่าความเข้มของแสงสีน้ำเงินสูงสุดที่ปริมาตร 15 μL จากนั้นค่าความเข้มแสงจะลดลงและคงที่จนถึงปริมาณ 45 μL ดังภาพที่ 8 ดังนั้นในงานวิจัยนี้เลือกปริมาณที่ใช้หยดในการเกิดปฏิกิริยา 15 μL สำหรับใช้ในการวิเคราะห์ตัวแปรอื่น ๆ ต่อไป



ภาพที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของสารมาตรฐานเหล็กกับค่าความเข้มแสงของแสงสีน้ำเงิน

จากการศึกษาตัวแปรต่าง ๆ ที่ส่งผลต่อการวิเคราะห์สามารถสรุปสภาวะการทดลองที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กโดยใช้สารสกัดจากใบกระถินเป็นรีเอเจนต์ธรรมชาติด้วยเทคนิคปฏิบัติการบนแผ่นกระดาษ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สภาวะการทดลองที่เหมาะสมในการหาปริมาณไอออนเหล็กในตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็ก

ตัวแปรที่ศึกษา	ช่วงที่ศึกษา	ค่าที่เหมาะสม
1. ความเข้มข้นของกระถิน	1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0 และ 5.0 %w/v	2.5 %w/v
2. เวลาที่ใช้ในการสกัดสาร	1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 และ 60 นาที	20 นาที
3. ค่า pH ในการทำปฏิกิริยา	1, 2, 3, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 7, 8 และ 10	4.5 นาที
4. เวลาในการเกิดปฏิกิริยา	1, 5, 7.5, 10, 15, 20 และ 30 นาที	7.5 นาที
5. ปริมาตรสารละลายมาตรฐานและตัวอย่างที่ใช้หยดในการเกิดปฏิกิริยา	10, 15, 20, 25, 30 และ 45 μ L	15 μ L
6. ค่าความเข้มข้นที่เหมาะสม	แสงสีแดง, แสงสีเขียว, แสงสีน้ำเงิน	แสงสีน้ำเงิน

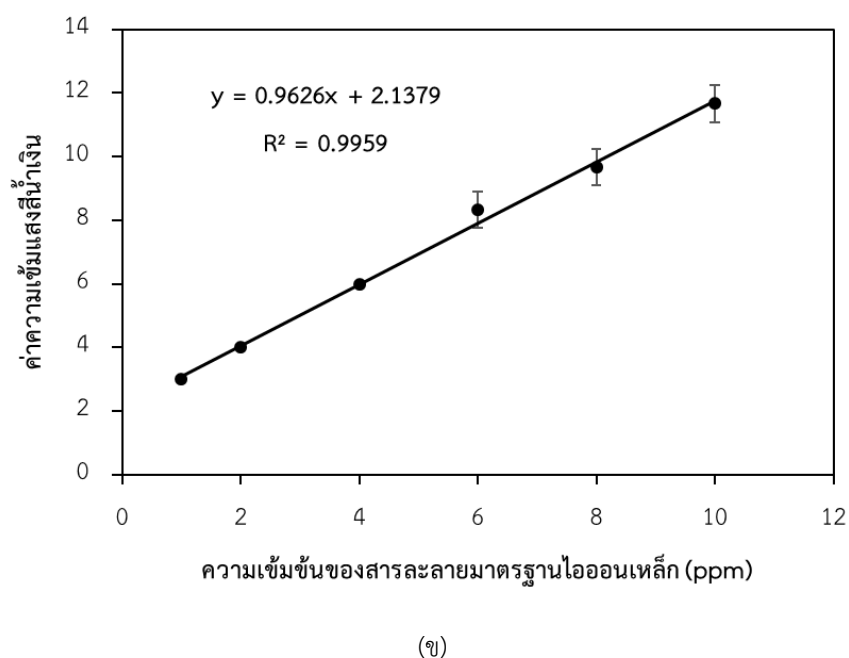
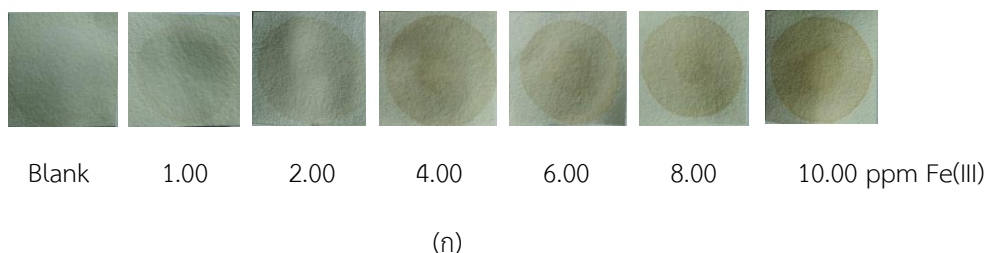
4.3 ค่าคุณลักษณะทางการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กในตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็กโดยใช้สารสกัดจากใบกระถินเป็นรีเอเจนต์ธรรมชาติด้วยเทคนิคปฏิบัติการบนแผ่นกระดาษ

จากการหาสภาวะการทดลองที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์สามารถนำมาหาค่าคุณลักษณะทางการวิเคราะห์ได้ โดยจากการทดลองพบว่าช่วงการใช้งานที่เป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานเหล็กอยู่ในช่วง 1.00–10.00 ppm ($y = 0.9626x - 2.1379$, $R^2 = 0.9959$) แสดงดังภาพที่ 9 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (Limit of Detection, LOD) หาได้จากสามเท่าของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณของแบลงค์ ($3SD_{\text{blank}}$, $n=10$) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Quantitation, LOQ) หาได้จากสิบเท่าของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัญญาณของแบลงค์ ($10SD_{\text{blank}}$, $n=10$) เท่ากับ 0.09 ppm และ 3.68 ppm ตามลำดับ จากการศึกษาค่าความแม่นยำในการวิเคราะห์ของเทคนิคที่พัฒนาขึ้นที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเหล็ก 1.00, 5.00 และ 10.00 ppm โดยการวัดสัญญาณความเข้มของแสงสีน้ำเงินจำนวน 8 ครั้ง ($n = 8$) พบว่า %RSD เท่ากับ 3.00, 2.84 และ 2.38 ตามลำดับ ซึ่งมีค่า %RSD น้อยกว่า 5% แสดงว่าวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นมีความแม่นยำสูง และร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) ซึ่งศึกษาโดยการเติมสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กความเข้มข้น 2.00, 4.00 และ 6.00 ppm ในตัวอย่าง และทำการเทียบค่าสัญญาณที่ได้ข้างต้นกับสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กความเข้มข้น 2.00, 4.00 และ 6.00 ppm ตามสูตรการคำนวณหาค่าร้อยละการคืนกลับ จากการทดลองพบว่าอยู่ในช่วง 87–93%

4.4 การประยุกต์ใช้วิธีที่ได้พัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กในตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็กด้วยเทคนิคปฏิบัติการบนแผ่นกระดาษ

ในงานวิจัยนี้ได้ประยุกต์ใช้วิธีที่ได้พัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กในตัวอย่างยาที่มีจำหน่ายทั่วไปตามท้องตลาด ผลการวิเคราะห์รายงานเป็นปริมาณไอออนเหล็ก เมื่อเปรียบเทียบค่าการวิเคราะห์ของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีมาตรฐานของยาแต่ละชนิดแสดงดังตารางที่ 2 พบว่า ทั้งสองวิธีมีค่าใกล้เคียง

กัน และจากการทดสอบวิธีทางสถิติแบบที (t-test Paired two sample for means) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า t_{Stat} มีค่าเท่ากับ 0.3973 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า t_{Critical} ที่มีค่าเท่ากับ 4.3026 แสดงให้เห็นว่าผลการวิเคราะห์ทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



ภาพที่ 9 (ก) ภาพการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารมิโมซีนที่อยู่ในสารสกัดใบกระถินกับสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก(III) บนกระดาษที่ตรึงด้วยสารสกัดใบกระถิน และ (ข) กราฟมาตรฐานไอออนเหล็ก(III) ที่ช่วงความเข้มข้น 1.00–10.00 ppm

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณไอออนเหล็กในตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็กของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีมาตรฐาน

ตัวอย่าง	รูปแบบของธาตุเหล็ก	ปริมาณสารประกอบ Ferrous (mg/tablet)			%Deviation เทียบกับวิธีมาตรฐาน
		ที่ระบุบนฉลาก	วิธีมาตรฐาน	วิธีที่พัฒนาขึ้น	
1	Fumarate	200	215±5	224±6	3.2
2	Sulfate	135	122±2	119±8	-2.5
3	Fumarate	200	207±4	211±8	1.9
4	Fumarate	200	192±3	188±9	-2.1

5. อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาลักษณะสเปกตรัมของการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดจากใบกระถินที่มีมิโมซิน ซึ่งเป็นสารสำคัญในสารสกัดจากใบกระถินกับสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็กที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ จนเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มอิฐ พบว่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอออนเหล็ก และได้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 460 nm ซึ่งเป็นการดูดกลืนแสงของแสงสีน้ำเงินแกมเขียว (Greenish blue color) (Kotchabhakdi et al., 2021) จากผลการทดลองสรุปได้ว่า สารสกัดจากใบกระถินสามารถใช้เป็นรีเอเจนต์ธรรมชาติในการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กได้ จากการหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลองในวิธีที่พัฒนาขึ้น มีการศึกษาตัวแปรต่าง ๆ คือ ค่าความเข้มข้นแสงสีแดง เขียว และน้ำเงิน เพื่อใช้ติดตามสัญญาณจากการทำปฏิกิริยา ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าค่าความเข้มข้นแสงของแสงสีน้ำเงินให้ค่าสัญญาณสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับสเปกตรัมของสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มอิฐที่ดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่นของแสงสีน้ำเงินแกมเขียว ความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกระถินในการเกิดปฏิกิริยากับสารที่สนใจค่าสัญญาณของแสงสีน้ำเงินจะเพิ่มตามความเข้มข้นของสารสกัด เพราะเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นปริมาณมิโมซินที่จะทำปฏิกิริยากับไอออนเหล็กก็จะเพิ่มขึ้นด้วย จนถึงระดับความเข้มข้นหนึ่งสัญญาณค่าความเข้มข้นแสงสีน้ำเงินก็จะลดลงทั้งนี้เพราะเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกระถินเพิ่มขึ้นจะทำให้บดบังสีที่แท้จริงจากการทำปฏิกิริยา และทำให้ค่าความแม่นยำในการวิเคราะห์ลดลง เวลาในการสกัดเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญจากการทดลองพบว่าเมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น ปริมาณมิโมซินที่สกัดออกมาได้ก็จะเพิ่มขึ้นจนถึงเวลาที่ 20 นาที และหลังจากนั้นจะลดลงและคงที่ เพราะเวลาที่ใช้สกัดมากขึ้นจะทำให้เกิดการสลายตัวของสารสำคัญหรือเกิดการออกซิไดซ์กับอากาศ (Weinges & Nader, 1982) ค่า pH ที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาคือที่ pH 4.5 เนื่องจากที่ pH ดังกล่าวทั้งสารมิโมซินและไอออนเหล็กอยู่ในรูปแบบที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยา และเมื่อ pH มีความเป็นเบสมากขึ้นจะทำให้ไอออนเหล็กบางส่วนเกิดการตกตะกอนในรูปสารประกอบไฮดรอกไซด์ (Grundl & Delwiche, 1993) เวลาในการเกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมคือที่ 7.5 นาที ถ้ามากกว่านี้ค่าสัญญาณจะลดลงเนื่องจากอาจเกิดการสลายตัวของสารประกอบเชิงซ้อน หรือออกซิไดซ์ด้วยอากาศ อีกทั้งเป็นการลดเวลาในการวิเคราะห์ ปริมาตรสารตัวอย่างเหมาะสมคือ 15 μ L เพราะถ้าปริมาตรน้อยไปอาจไม่เพียงพอต่อการติดตามสัญญาณจากปฏิกิริยา ถ้าปริมาตร

มากเกินไปก็จะเกิดแพร่กระจายของบริเวณที่เกิดปฏิกิริยาจนไม่สามารถไม่ตรวจวัดสัญญาณได้ จากรายงานการวิจัยพบว่าไอออนที่รบกวน (Interferences ion) ต่อการทำให้ปฏิกิริยาระหว่างไอออนเหล็ก (Fe(III)) กับโมโนซินที่อยู่ในสารสกัดจากใบกระถิน โดยได้ศึกษาไอออนของโลหะต่าง ๆ ในอัตราส่วน 1:1 ระหว่าง Fe(III) ppm กับ Al(III) Ca(II) Mg(II) Ni(II) Cr(II) Cu(II) และ Pb(II) ppm พบว่าที่อัตราส่วน 1:1 ไอออนรบกวนที่ศึกษาไม่ส่งผลต่อสัญญาณที่ตรวจวัดได้ ยกเว้น Al(III) ที่รบกวน แต่เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของ Fe(III):Al(III) เป็น 2:1 Al(III) จะไม่รบกวนต่อสัญญาณที่ติดตาม (Kotchabhakdi et al., 2021) ในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปของเฟอร์รัสไอออน (Fe(II)) จะมีการย่อยตัวอย่างยาด้วยกรดเข้มข้น ทำให้ได้ไอออนเหล็กในรูปเฟอร์ริกไอออน (Fe(III)) และมีการตรวจสอบการออกซิไดซ์ของไอออนเหล็กในตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็กด้วยโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (KMnO_4) พบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสี แสดงว่าในตัวอย่างหลังจากการย่อยด้วยกรดเข้มข้น ไอออนเหล็กจะอยู่ในรูปเฟอร์ริกไอออน (Fe(III)) ทั้งหมด (Kotchabhakdi et al., 2021) จากการหาสถานะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์สามารถนำมาหาคุณลักษณะทางการวิเคราะห์ได้ผลดังแสดงข้างต้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นมีความถูกต้องแม่นยำสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กในตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็กได้ โดยเมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองทางสถิติกับวิธีมาตรฐานไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จึงถือได้ว่าวิธีการที่พัฒนาขึ้นมีความน่าเชื่อถือ ขนาดเล็ก สะดวก เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และสามารถนำไปวิเคราะห์นอกสถานที่ได้ ในส่วนข้อเสนอแนะ จากงานวิจัยของ Xiu-li และคณะ ได้ทำการทดลองพบว่า ควรเก็บกระดากที่ตรงด้วยสารสกัดในที่มืด แห้งและ อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส และควรใช้ภายใน 30 วันหลังผลิต (Xiu-li et al., 2015)

โดยสรุป งานวิจัยนี้ได้มีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ทางเคมีแบบลดขนาดที่เกี่ยวข้องกับการวัดในระดับไมโคร และได้ชุดทดสอบที่ตรงด้วยสารสกัดจากใบกระถินสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กในตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็กที่มีราคาไม่แพง น่าเชื่อถือ มีความแม่นยำในการวิเคราะห์ ลดขั้นตอนในการทดลอง ลดอุปกรณ์ เครื่องแก้ว และใช้รีเอเจนต์จากกระถินที่มีความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและเป็นรีเอเจนต์ในการเกิดปฏิกิริยากับไอออนเหล็ก สามารถกล่าวได้ว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นเป็นวิธีการวิเคราะห์สีเขียว สามารถใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กไอออนในตัวอย่างยาเสริมธาตุเหล็กได้ และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณไอออนเหล็กกับวิธีมาตรฐานพบว่าผลการวิเคราะห์ทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

6. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์กิตติคุณ เกตุ กรุดพันธ์ ศูนย์ความเป็นเลิศนวัตกรรมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการวิเคราะห์เพื่อเศรษฐกิจและสังคมบนความหลากหลายทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะในการทำวิจัย ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงรายสำหรับทุนสนับสนุนในการทำวิจัยในครั้งนี้ (รหัสทุนวิจัย B167004) และขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัยนายพลาริป ไชยชมภู และนางสาวศิริพร คำมิตโกน

7. เอกสารอ้างอิง

- เกศินี เสาวงามจันทร์. (2562). *การวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III)ไอออนด้วยการเกิดสารเชิงซ้อนกับสารสกัดธรรมชาติ โดยการใช้สมรทโฟน* [วิทยานิพนธ์ปริญญาโท]. มหาวิทยาลัยบูรพา.
- เกศินี เสาวงามจันทร์ และ ศศิธร มั่นเจริญ. (2563). การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก(III) โดยใช้สารสกัดแอนโทไซยานินจากธรรมชาติตรวจวัดด้วยสมรทโฟน. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 28(8), 1372–1388. <https://doi.org/10.14456/tstj.2020.110>
- คณาทิพย์ สิงห์หาญ, อภิษฎา ศักดาวิโรจน์, กนกพิชญ์ เวชพานิชย์กิจกุล, และ อสมภรณ์ หมุนสมัย. (2563). การเปรียบเทียบสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดเอทานอลจากยอดอ่อน ใบ ผล เมล็ดของกระถินไทย. *วารสารนเรศวรพะเยา*, 13(3), 66–73. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/journalup/article/view/246829>
- นภาพร วรรณพรม และ ยาวลักษณ์ ชันหวัโทน. (2563). การพัฒนาอุปกรณ์อย่างง่ายที่อาศัยการแพร่ของแก๊สกับกระดาษที่ตรึงด้วยรีเอเจนต์ธรรมชาติและการวิเคราะห์ค่าสีจากภาพถ่ายดิจิทัลสำหรับวิเคราะห์แอมโมเนีย. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี*, 19(1), 86–96. <https://doi.org/10.14456/rj-rumtt.2020.8>
- ภูวดล เชื้อผู้ดี. (2563). *การทดสอบเหล็กในน้ำโดยใช้เครื่อง Atomic Absorption Spectrometer ยี่ห้อ Analytik Jena รุ่น Zeenit 700 ด้วยเทคนิค Flame Atomization* [รายงานการวิจัย]. มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง.
- Abdulkareem, E. A., Abdulsattar, J. O., & Abdulsattar, B. O. (2022). Iron (II) determination in lipstick samples using spectrophotometric and microfluidic paper-based analytical device (μPADs) platform via complexation reaction with iron chelator 1, 10-phenanthroline: A comparative study. *Baghdad Science Journal*. 19(2), 355–367. <http://dx.doi.org/10.21123/bsj.2022.19.2.0355>
- Armenta, S., Esteve-Turillas, F. A., & Herrero-Martínez, J. M. (2020). Development and evaluation of paper-based devices for iron(III) determination in an advanced undergraduate laboratory. *Journal of Chemical Education*, 97(10), 3852–3857. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.0c00369>
- Cai, L., Wu, Y., Xu, C., & Chen, Z. (2013). A Simple Paper-Based Microfluidic Device for the determination of the total amino acid content in a tea leaf extract. *Journal of Chemical Education*. 90(2), 232–234. <https://doi.org/10.1021/ed300385j>
- Cappai, R., Fantasia, A., Melchior, A., Crisponi, G., & Nurchi, V. M. (2024). One-step determination of total iron using deferiprone or kojic acid as colorimetric reagents. *Results in Chemistry*, 7, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2024.101353>.

- Fakayode, S. O., King, A. G., Yakubu, M., Mohammud, A. K., & Pollar, D. A. (2022). Determination of Fe content of some food items by flame atomic absorption spectroscopy (FAAS): A guided-inquiry learning experience in instrumental analysis laboratory. *Journal of Chemical Education*, 89(1), 109–113. <https://doi.org/10.1021/ed1011585>
- Grundl, T., & Delwiche, J. (1993). Kinetics of ferric oxyhydroxide precipitation. *Journal of Contaminant Hydrology*, 14(1), 71–87. [https://doi.org/10.1016/0169-7722\(93\)90042-Q](https://doi.org/10.1016/0169-7722(93)90042-Q)
- Hussein Elgailani, I.E., & Alamary, H.S. (2017). Determination of iron content in iron deficiency drugs by UV-Visible spectrophotometer. *Orbital: The Electronic Journal of Chemistry*, 9(3), 151–156. <http://dx.doi.org/10.17807/orbital.v9i3.953>
- Kehoe, E., & Penn, R. L. (2013). Introducing colorimetric analysis with camera phones and digital cameras: An activity for high school or general chemistry. *Journal of Chemical Education*, 90(9), 1191–1195. <https://doi.org/10.1021/ed300567p>
- Koesdjojo, M. T., Pengpumkiat, S., Wu Y., Boonloed A., Huynh, D., Remcho, T. P. & Remcho, V.T. (2015). Cost effective paper-based colorimetric microfluidic devices and mobile phone camera readers for the classroom. *Journal of Chemical Education*, 92 (4), 737-741. <https://doi.org/10.1021/ed500401d>
- Kotchabhakdi, N., Seanjum, C., Kiwfo, K., & Grudpan, K. (2021). A simple extract of *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit leaf containing mimosine as a natural color reagent for iron determination. *Microchemical Journal*, 162, 105860–105868. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105860>
- Lai, H., Li, Z., Zhu, S., Cai, L., Xu, C., & Zhou, Q. (2020). Naked-eye detection of aluminum in gastric drugs on a paper-based analytical device. *Journal of Chemical Education*, 97(1), 295–299. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.9b00569>
- López-Marzoa, A. M., & Merkoçi, A. (2016). Paper-based sensors and assays: a success of the engineering design and the convergence of knowledge areas. *Lab on chip*, 16, 3150-3176. <https://doi.org/10.1039/D3LC00978E>
- Ravgiala, R. R., Weisburd, S., Sleeper, R., Martinez, A., Rozkiewicz, D., Whitesides, G. M., & Hollar, K. A. (2014). Using paper-based diagnostics with high school students to model forensic investigation and colorimetric analysis. *Journal of Chemical Education*, 91(1), 107–111. <https://doi.org/10.1021/ed300261a>

- Ruzmetov, U., Jumaeva, E., Orziqulov, B., & Smanova, Z. (2023). Determination of iron in water by flame atomic absorption spectrometry with sorption preconcentration. *Industrial laboratory Diagnostics of materials*, 89(12), 22–30. <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2023-89-12-22-30>.
- Singh, A. T., Lantigua, D., Meka, A., Taing, S., Pandher, M., & Camci-Unal, G. (2018). Paper-based sensors: Emerging themes and applications. *Sensors*, 18, 1–22. <https://doi.org/10.3390/s18092838>
- Wang, B., Lin, Z., & Wang, M. (2015). Fabrication of a paper-based microfluidic device to readily determine nitrite ion concentration by simple colorimetric assay. *Journal of Chemical Education*, 92 (4), 733–736. <https://doi.org/10.1021/ed500644m>
- Weinges, K., & Nader, F. W. (1982). *Proanthocyanidins*. In: Pericles Markakis, editor. *Anthocyanins as food colors* (1sted.). New york: Academic Press A subsidiary of Harcourt Brace Javanovich.
- Whitesides, G. M., Martinez, A. W., Phillips, S. T., & Butte M. J. (2007). Patterned paper as platform for inexpensive, low volume, portable bioassays. *Angewandte Chemie International Edition*, 46(8), 1318–1320. <https://doi.org/10.1002/anie.200603817>
- Xia, Y., Chen, H., & Li, W. (2022). Spectrophotometric determination of Fe(II) EDTA-NO, Fe(II)EDTA/Fe(III)EDTA in chemical absorption-biological reduction integrated NOx removal system. *Polish Journal of Environmental Studies*, 31(4), 3335–3342. <https://doi.org/10.15244/pjoes/183430>.
- Xiu-li, H. E., Xue-li, L.I., Yuan-ping, L. V., & Qiang, H. E. (2015). Composition and color stability of anthocyanin-based extract from purple sweet potato. *Food Science and Technology (Brazil)*, 35(3), 468–73. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.6687>