

# การใช้สมาร์ทโฟนเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางสีสำหรับการหาปริมาณ ไอออนเหล็กในน้ำโดยใช้แอนโทไซยานินเป็นรีเอเจนต์

วันภัทร รัตนการุณจิต<sup>1</sup> รัฐพล มีลาภสม<sup>2</sup>

ศักดิ์ศรี สุภาธร<sup>1,3</sup> และปริม จารุจรัส<sup>3</sup>

<sup>1</sup>หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อุบลราชธานี 34190

<sup>2</sup>สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสุขภาพ มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ กาฬสินธุ์ 46000

<sup>3</sup>ภาควิชาเคมี และศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อุบลราชธานี 34190

<sup>1</sup>E-mail: purim.j@ubu.ac.th

รับบทความ: 24 มกราคม 2563 แก้ไขบทความ: 7 พฤษภาคม 2563 ยอมรับตีพิมพ์: 16 พฤษภาคม 2563

## บทคัดย่อ

น้ำในธรรมชาติจะมีไอออนเหล็กละลายอยู่ เหล็กเป็นธาตุที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย แต่หากเข้าสู่ร่างกายในปริมาณมากเกินไปจะก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์ได้ ดังนั้นหน่วยงานของภาครัฐที่เกี่ยวข้อง อาทิ องค์การอนามัยโลก รวมถึงกระทรวงสาธารณสุขและกรมทรัพยากรน้ำบาดาลได้กำหนดค่าความเข้มข้นมาตรฐาน (เกณฑ์กำหนดสูงสุด) เพื่อควบคุมปริมาณไอออนของเหล็กที่ปนเปื้อน การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กจึงมีความสำคัญ โดยวิธีการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กแบบมาตรฐานมีหลายวิธี เช่น เทคนิคทางสเปกโทรสโกปี และเทคนิคทางไฟฟ้าเคมีต่าง ๆ ซึ่งเทคนิคดังกล่าวมีสภาพไวโดยสามารถตรวจวัดได้ในระดับต่ำ ๆ และมีความจำเพาะเจาะจงสูง แต่มีข้อจำกัดคือยังต้องใช้เครื่องมือขั้นสูงที่มีราคาสูงและมีขั้นตอนที่ยุ่งยากที่ต้องอาศัยทักษะหรือผู้เชี่ยวชาญในการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ ปัจจุบันได้มีผู้วิจัยหลายกลุ่มมุ่งพัฒนาวิธีการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยใช้การวิเคราะห์ทางสีโดยการใช้สมาร์ทโฟนร่วมกับโปรแกรม ImageJ เพื่อลดข้อจำกัดด้านการใช้เครื่องมือขั้นสูงที่มีราคาสูงและลดขั้นตอนที่ยุ่งยากซับซ้อนโดยไม่ต้องอาศัยทักษะหรือผู้เชี่ยวชาญในการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ นอกจากนี้ยังใช้แอนโทไซยานินที่สกัดได้จากธรรมชาติเป็นรีเอเจนต์ทดแทนการใช้รีเอเจนต์ทางเคมีในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กในน้ำตัวอย่างจริง ซึ่งในบทความวิจัยหลายบทความได้รายงานว่าการใช้สมาร์ทโฟนร่วมกับโปรแกรม ImageJ มีประสิทธิภาพเทียบเคียงกับวิธีมาตรฐาน และอาจสามารถประยุกต์ใช้สำหรับการทำปฏิบัติการหาปริมาณโลหะหนักสำหรับวิชาเคมีระดับมัธยมศึกษาเพื่อเพิ่มโอกาสให้นักเรียนได้ลงมือทำปฏิบัติการอีกด้วย

คำสำคัญ: ไอออนเหล็ก แอนโทไซยานิน เคมีวิเคราะห์ สมาร์ทโฟน อุปกรณ์ตรวจวัดทางสี

## Use of Smartphone as Colorimetric Analyzer for Determination of Iron Ions in Water by Using Anthocyanin as the Indicator

Waranphat Rattanakaronjit<sup>1</sup>, Rattapol Meelapsom<sup>2</sup>,  
Saksri Supasorn<sup>1,3</sup> and Purim Jarujamrus<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Science Education Program, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University,  
Ubon Ratchathani 34190, Thailand

<sup>2</sup>Department of Science and Mathematics, Faculty of Science and Health Technology,  
Kalasin University, Kalasin 46000, Thailand

<sup>3</sup>Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry,  
Faculty of Science, Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani 34190, Thailand

\*E-mail: purim.j@ubu.ac.th

Received: 24 January 2020 Revised: 7 May 2020 Accepted: 16 May 2020

### Abstract

Iron ions can be found in water resources. Iron is a beneficial element for health, but excess iron ions are harmful to life. Therefore, involved government agencies, World Health Organization, Ministry of Public Health and Department of Groundwater Resources, have been stated the maximum acceptable concentration of contaminated iron ions for the water quality control. Conventional techniques such as spectroscopy and electrochemical techniques are utilized for routine analysis. Although, these techniques provide high sensitivity and selectivity for analysis, but still require expensive instruments and complicated procedure to operate advanced instruments along with an expert for quantitative analysis. Recently, an alternative method has been developed for quantitative analysis of iron ions in water using a smartphone coupled with ImageJ software as colorimetric analyzer. The developed method offers great potential with obvious advantages over the conventional techniques such as convenient, cost-effective, and suitable for unskilled user. In addition, anthocyanin extracted from natural sources was also used as the indicator instead of chemical reagents for the determination of iron ions. Moreover, smartphone-assisted colorimetric analysis of iron ions in water can provide reliable results that are comparable to those obtained from complicated laboratory advanced instru-

ments and could possibly lead the development of hands on experiment for demonstrating students in high school.

**Keywords:** Iron ions, Anthocyanin, Analytical chemistry, Smartphone, Colorimetric analysis

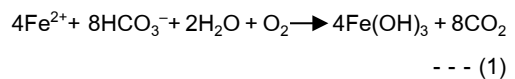
## บทนำ

ไอออนของโลหะเหล็กในน้ำพบได้ทั่วไปในน้ำอุปโภค บริโภคที่ผู้คนใช้ในชีวิตประจำวัน ซึ่งการปริมาณไอออนเหล็กมากเกินไปส่งผลกระทบต่อทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อระบบนิเวศและอาจก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อระบบร่างกายของสิ่งมีชีวิตได้ ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กจึงมีความสำคัญและได้รับความสนใจในกลุ่มนักวิจัยสำหรับการคิดค้นและพัฒนาวิธีการตรวจวัดทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ (Schwarzenbach *et al.*, 2010)

## เหล็กในธรรมชาติและพิษของเหล็ก

เหล็ก (Iron: Fe) เป็นโลหะที่พบมากเป็นอันดับสองในเปลือกโลก สามารถละลายน้ำได้ในรูปของเฟอร์รัสไอออน ( $Fe^{2+}$ ) และเฟอร์ริกไอออน ( $Fe^{3+}$ ) เป็นสาเหตุที่ทำให้ น้ำมีรสชาติ (Nordberg *et al.*, 2014) และสีของน้ำอาจเปลี่ยนแปลงไปเป็นสีน้ำตาลเนื่องมาจากเหล็กที่เป็นของแข็งแขวนลอยในน้ำ (Ibrahim *et al.*, 2014) ซึ่งทำให้เกิดคราบสนิมสีส้มแดงบนอ่างล้างจาน เครื่องครัว หรือแม้กระทั่งสุขภัณฑ์ในห้องน้ำ อีกทั้งยังทำให้เกิดคราบบนเสื้อผ้าอีกด้วย นอกจากนี้ยังมีปัญหาในด้านการเพาะปลูก โดยหากมีปริมาณเหล็กในดินมากกว่า 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลกับพืชทำให้มีอาการใบสีเหลือง หรือสีทองแดงโดยเฉพาะในข้าว (Silva *et al.*, 2003) เฟอร์รัสไอออน ( $Fe^{2+}$ ) เป็นรูปฟอร์มที่มีความเสถียรต่ำ เมื่อสัมผัส

กับออกซิเจนจะถูกออกซิไดซ์เป็นเฟอร์ริกไฮดรอกไซด์ ( $Fe(OH)_3$ ) ดังสมการที่ 1 ซึ่งมักอยู่ในรูปของแข็งและมีความสามารถในการละลายต่ำ ทั้งนี้การรักษารูปฟอร์มของไอออนเหล็ก ในน้ำขึ้นอยู่กับผลของความเป็นกรด-เบส (pH) เนื่องจากน้ำในธรรมชาติมีค่าความเป็นกรด-เบสไม่ต่ำพอที่จะป้องกันการเกิดการออกซิไดซ์ นอกจากนี้ไอออนของเหล็กในน้ำมีแนวโน้มที่จะเกิดไอออนเชิงซ้อนกับสารอินทรีย์รวมทั้งสารอนินทรีย์ พบว่า เฟอร์ริกไอออนสามารถเกิดไอออนเชิงซ้อนได้กับทั้งคลอไรด์ ฟลูออไรด์ ฟอสเฟต ซัลเฟตและคาร์บอเนตไอออน ส่วนเฟอร์รัสไอออนสามารถเกิดไอออนเชิงซ้อนกับสารอนินทรีย์ได้บางชนิดเท่านั้น



ถ้าหากน้ำที่มีปริมาณเหล็กสูงเกิน 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำจะมีกลิ่นคาวและมีรสชาติของเหล็ก น้ำที่มีปริมาณเหล็กสูงจึงไม่เหมาะสมสำหรับการบริโภค เนื่องจากหากร่างกายได้รับในปริมาณมากเกินไปจะทำให้เสี่ยงต่อการเกิดภาวะพิษจากโลหะหนัก (heavy metal poisoning) (World Health Organization, 1996) นอกจากนี้เหล็กยังช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรีย เนื่องจากเป็นองค์ประกอบสำคัญในโมเลกุลของสารที่อยู่ในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ (Teamroong and Boonkerd, 1996) พิษของเหล็กทั้งในรูปของเฟอร์รัสไอออน ( $Fe^{2+}$ ) และเฟอร์ริกไอออน ( $Fe^{3+}$ ) ในปริมาณสูงก่อให้เกิดภาวะเหล็กเกินมีฤทธิ์แบ่ง

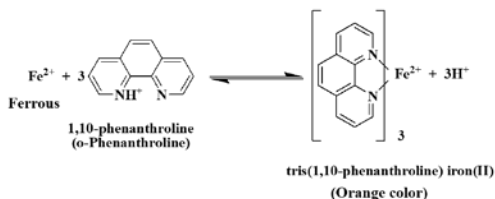
ได้เป็น 2 ชนิด คือ ชนิดที่ 1 ผลกระทบเฉพาะที่ หรือออกฤทธิ์เฉพาะแห่ง โดยจะระคายเคืองต่อเยื่อทางเดินอาหาร ทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน เกิดเป็นโรคกระเพาะอาหารอักเสบหรือเกิดการระคายเคืองบริเวณเยื่อภายในกระเพาะอาหาร (gastritis) ซึ่งทำให้มีอาการเสียดอกผิปกติหรือลำไส้ทะลุได้ ส่วนชนิดที่ 2 คือ ผลกระทบที่ส่งผลต่อระบบร่างกาย เมื่อเหล็กเข้าสู่ร่างกาย พลาสมาโปรตีนในเลือดจะทำหน้าที่จับเหล็กและพาไปยังเซลล์ผ่านตัวรับ (transferrin) เหล็กไอออนที่เหลือน้อยอยู่ในรูปเฟอร์รัสไอออน ( $Fe^{2+}$ ) จะถูกออกซิไดซ์เป็นเฟอร์ริกไอออน ( $Fe^{3+}$ ) ก่อนจะถูกเก็บสะสมในรูปของเฟอร์ริติน (ferritin) และฮีโมซิเดอริน (hemosiderin) โดยหากเฟอร์ริตินปริมาณสูงในระยะเฉียบพลันจะกระตุ้นให้มีการหลั่งสารฮิสตามีน (histamine) และเซโรโทนิน (serotonin) ทำให้มีการเพิ่มความเสียหายของหลอดเลือดดำ รวมทั้งเฟอร์ริตินยังมีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดขยายตัว ส่งผลให้เกิดภาวะช็อคขึ้น นอกจากนี้เฟอร์รัสไอออน ( $Fe^{2+}$ ) ที่มีปริมาณสูงบนเยื่อหุ้มเซลล์ของไมโทคอนเดรีย (mitochondria) จะมีฤทธิ์ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (peroxidase) ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย ส่งผลให้กระบวนการส่งผ่านอิเล็กตรอนและกระบวนการสังเคราะห์เอทีพี (ATP) เกิดขึ้นไม่ได้ มีผลให้เซลล์ต้องใช้กระบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจน จึงเกิดมีภาวะเลือดเป็นกรดจากกรดแลคติกในเลือดสูงขึ้น การมีเฟอร์รัสไอออน ( $Fe^{2+}$ ) คงอยู่ในเซลล์คัพเพอร์ (Kupffer cells) ของตับและเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ สามารถทำให้เกิดการทำลายเซลล์ตับและเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจได้ (Henretig and Temple, 1984) เพื่อมุ่งแก้ปัญหาเหล่านี้หน่วยงานที่รับผิดชอบจึงได้มีการกำหนดค่ามาตรฐาน

ควบคุมปริมาณมลพิษที่ถูกปล่อยออกมาจากอุตสาหกรรมต่าง ๆ และมาตรฐานคุณภาพน้ำเพื่อการบริโภค ซึ่งค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำบริโภคของไอออนเหล็กที่อยู่ในเกณฑ์มีค่าไม่เกิน 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร (Ministry of Public Health, 2002; World Health Organization, 1996) และไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกณฑ์อนุโลมสูงสุดไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (Department of Groundwater Resources, 1999)

### การวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็ก

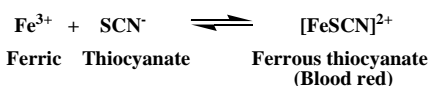
การวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กในน้ำสามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่องมือขั้นสูง เช่น อะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี (atomic absorption spectroscopy: AAS) (Chaiyachok, 2009; Fakayode *et al.*, 2012) อินดักทีฟฟลิคัฟเฟิลพลาสมาอะตอมมิคอีมิสชันสเปกโทรเมทรี (inductively coupled plasma atomic emission spectrometry: ICP-AES) (Trandafir *et al.*, 2011) ฟลูออเรสเซนซ์สเปกโทรโฟโตเมทรี (fluorescence spectrophotometry) (Xie *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2010) นอกจากเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีที่กล่าวมาแล้ว ยังสามารถวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางไฟฟ้าเคมี เช่น เทคนิคโวลแทมเมทรี (voltammetry) (Chaiyo, 2012) อีกวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจและเป็นที่ยอมรับในการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กในน้ำ คือการตรวจวิเคราะห์ทางสี (colorimetric analysis method) โดยทำให้ไอออนเหล็กทั้งหมดเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของเฟอร์รัสไอออน ( $Fe^{2+}$ ) ทั้งหมดโดยใช้ไฮดรอกซีลามีน ( $NH_2OH$ ) หรือกรดแอสคอบิก ( $C_6H_8O_6$ ) เป็นตัวรีดิวซ์ จากนั้น  $Fe^{2+}$  จะทำปฏิกิริยากับสารละลายอโธปีแนนโทรอลีน (1,10-phenanthroline monohydrate) ซึ่งเป็นรีเอเจนต์สำหรับ

ทดสอบได้สารประกอบเชิงซ้อนสีส้ม (ภาพที่ 1) ซึ่งหากมีปริมาณ  $Fe^{2+}$  มาก สีของสารละลายก็จะมีสีส้มเข้มขึ้น (Harris, 1995; Skoog and Leary, 1992; Skoog *et al.*, 2013) หรืออาจเปลี่ยนไอออนเหล็กทั้งหมดให้อยู่ในรูปฟอร์ของเฟอร์ริกไอออน ( $Fe^{3+}$ ) โดยใช้กรดไนตริกเข้มข้น (conc.  $HNO_3$ ) เป็นตัวออกซิไดซ์ (Perämäki *et al.*, 2000) จากนั้นนำ  $Fe^{3+}$  ไปทำปฏิกิริยากับไทโอไซยานेटซึ่งเป็นรีเอเจนต์ที่ใช้ทดสอบจะได้สารประกอบเชิงซ้อนเฟอร์รัสไทโอไซยานेटที่มีสีแดง (ภาพที่ 2) โดยความเข้มสีแปรผันตามความเข้มข้นและสามารถนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี (UV-visible spectrophotometry: UV-Vis) ได้ สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กทั้งในรูปฟอร์ของ  $Fe^{2+}$  และ  $Fe^{3+}$  ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีได้มีการพัฒนามาอย่างต่อเนื่องตลอดหลายปีทั้งในเรื่องของรีเอเจนต์สำหรับทดสอบและการสร้างเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยในบทความนี้จะขอก้าวถึงการพัฒนาในเรื่องของรีเอเจนต์เท่านั้น



ภาพที่ 1 ปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของเฟอร์รัสไอออนและอโทพีแนนโทโรลีน

ที่มา: ปรับปรุงจาก Harris, 1995; Skoog and Leary, 1992; Skoog *et al.*, 2013



ภาพที่ 2 ปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของเฟอร์ริกไอออนและไทโอไซยานेट

ที่มา: ปรับปรุงจาก Hovinen *et al.*, 1999

การประยุกต์ใช้แอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารสกัดจากธรรมชาติสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็ก

แอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นรงควัตถุหรือสารสีที่ให้สีแดง ม่วง และน้ำเงิน สามารถสกัดได้จากพืช ผักและผลไม้ที่มีสีน้ำเงิน สีม่วง และสีแดง ซึ่งพบในปริมาณที่แตกต่างกันออกไปดังในตาราง 1 แอนโทไซยานินจัดเป็นสารที่ได้มาจากธรรมชาติ (green reagent) ซึ่งเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม สามารถใช้ทดแทนรีเอเจนต์ทางเคมีที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กในน้ำ เพื่อช่วยลดสิ่งที่เหลือจากการทดลองที่อาจก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมได้ (green chemistry)

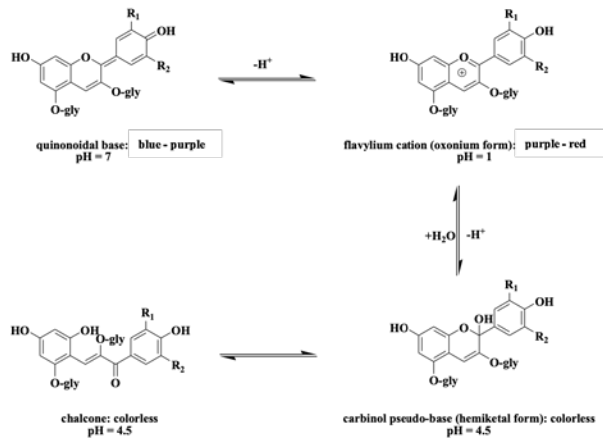
แอนโทไซยานินเป็นสารที่ละลายน้ำได้ จัดเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์สามารถให้สีได้ตามธรรมชาติ โดยสีที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยนแปลงได้ตามค่าความเป็นกรด-เบส ซึ่งเป็นผลจากการให้และรับโปรตอนทำให้สูตรโครงสร้างเกิดการเปลี่ยนแปลงจึงมองเห็นสีของแอนโทไซยานินเปลี่ยนไปตามค่าความเป็นกรด-เบส จึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นอินดิเคเตอร์วัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH indicator) โดยสามารถให้สีที่ตามองเห็นได้ในช่วงกว้างดังนี้ สีน้ำเงินม่วงเมื่อสารละลายอยู่ในสภาวะเป็นกลางค่าความเป็นกรด-เบสมีค่าเท่ากับ 7 (pH=7) จะมีสูตรโครงสร้างอยู่ในรูปควิโนนอยดอล เบส (quinonoidal base) และสีม่วงแดงเมื่อสารละลายอยู่ในสภาวะเป็นกรดเมื่อมีค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 1 (pH=1) จะมีสูตรโครงสร้างอยู่ในรูปฟลาวิลเลียม แคทไอออน (Flavillium cation:  $AH^+$ ) และไม่มีสีเมื่อสารละลายอยู่ในสภาวะเป็นกรดเมื่อมีค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 4.5 (pH=4.5) จะมีสูตรโครงสร้างอยู่

ตาราง 1 ปริมาณแอนโทไซยานินที่พบในผักผลไม้ชนิดต่าง ๆ

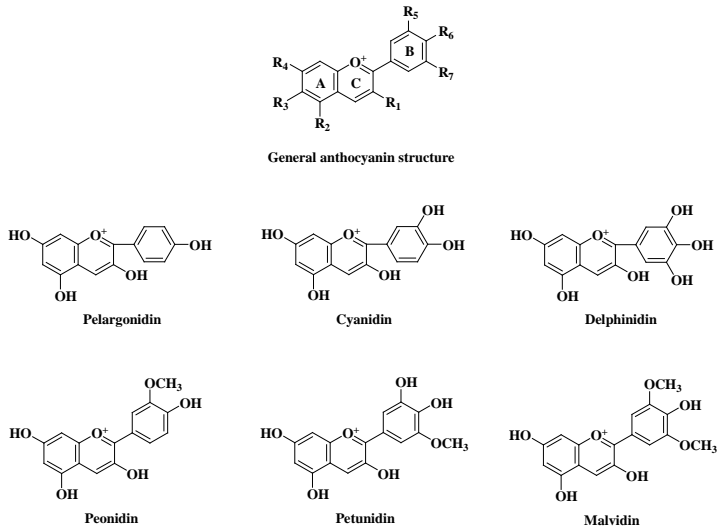
ชนิดของผักผลไม้	วิธีการสกัด	ปริมาณแอนโทไซยานิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	อ้างอิง
บลูเบอร์รี่	สกัดด้วยเมทานอลในภาวะกรดและกรอง	1,100–2,600	Gao and Mazza (1994)
เชอร์รี่	สกัดด้วยเมทานอลในภาวะกรด	20–3,000	Gao and Mazza (1995)
เปลือกพีชและเน็คทาริน	สกัดด้วยเมทานอล	1,000–1,300	Cheng <i>et al.</i> (1995)
แอปเปิล	สกัดด้วยเมทานอลในภาวะกรด	0–2,600	Lister <i>et al.</i> (1996)
สตรอว์เบอร์รี่	สกัดด้วยอะซิโตนโดยใช้เทคนิคการ สกัดในเฟสของแข็ง	120	Gil <i>et al.</i> (1997)
เปลือกองุ่น	สกัดด้วยเมทานอล	0–40,000	Keller and Harzdina (1998)
น้ำแบล็คเคอแรนท์	ใช้ผงแบล็คเคอแรนท์ละลายน้ำ	25	da Costa <i>et al.</i> (1998)
เบอร์รี่	สกัดด้วยเมทานอลในภาวะกรด	66–1,457	Kalt <i>et al.</i> (1999)
น้ำส้ม	คั้นและกรอง	1–280	Rapisarda <i>et al.</i> (1999)
กะหล่ำปลีสีม่วง	สกัดด้วยเมทานอล	398	Chandrasekhar <i>et al.</i> (2012)

รูปคาร์บินอล ซูโดเบส (carbinol pseudobase) และซาลโคน (chalcone) เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำ โดยเมื่อเปลี่ยนตัวทำละลายของแอนโทไซยานินก็จะเปลี่ยนไป ดังในภาพที่ 3 โดยในภาวะที่เป็นกรดและมีค่าความเป็นกรด-เบสต่ำกว่า 2 (pH<2) จะมีโครงสร้างเป็น AH<sup>+</sup> เมื่อความเป็นกรด-เบสเพิ่มขึ้น AH<sup>+</sup> จะเกิดการสูญเสียโปรตอน เกิดเป็นสารละลาย quinonoidal base ทำให้เห็นสีเปลี่ยนไปทางสีน้ำเงินม่วง ซึ่งเป็นโครงสร้างที่เกิดเป็นปกติ แต่การเกิดปฏิกิริยาไฮเดรชัน (hydration) ของ AH<sup>+</sup> จะทำให้เกิด carbinol pseudobase ซึ่งไม่มีสี (Mazza and Brouillard, 1987) อย่างไรก็ตามในช่วงที่มีความเป็นเบส (pH>7) ไม่พบการรายงานในเรื่องของสูตรโครงสร้างและสีที่มองเห็น เนื่องจากความไม่เสถียรของสูตรโครงสร้างที่เกิดขึ้น สารในกลุ่มแอนโทไซยานินมีอยู่หลายชนิด แต่มีอยู่ 6 ชนิดที่พบบ่อย ได้แก่ เพลาโกนินิดิน (pelargonidin) ไชยานินิดิน (cyanidin) เดลฟินิดิน (delphinidin) พีโอนินิดิน (peonidin) เพทูนินิดิน (petunidin) และมาลวิดิน (malvidin) ดังในภาพที่ 4 (Pascual-Teresa and Sanchez-Ballesta, 2008)

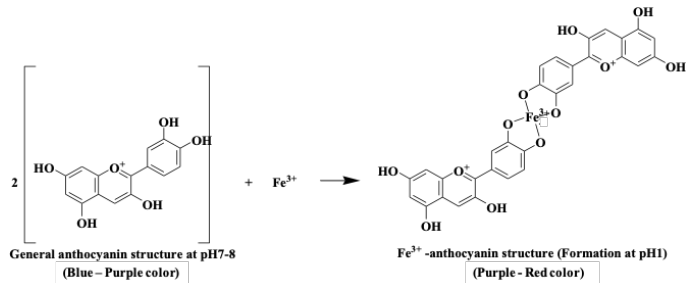
จากการศึกษาทางวิจัยที่ผ่านมา มีการรายงานที่วง B ของสูตรโครงสร้างทั่วไปของแอนโทไซยานิน (ภาพที่ 4) ที่บริเวณตำแหน่งออร์โทไดไฮดรอกซิล (o-di-hydroxyl group) สามารถใช้เป็นลิแกนด์เพื่อเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไอออนโลหะได้หลายชนิดรวมทั้งไอออนเหล็กในรูปของเฟอร์ริกไอออน (Fe<sup>3+</sup>) ด้วย ซึ่งแอนโทไซยานินที่สามารถเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับเฟอร์ริกไอออนได้คือ ไชยานินิดิน เดลฟินิดิน และเพทูนินิดิน อีกทั้งโครงสร้างของแอนโทไซยานินยังประกอบด้วยวงอะโรมาติกหลายวงทำให้มีคุณสมบัติในการดูดกลืนแสง และยังสามารถเกิดสารประกอบที่มีสี สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า กล่าวคือในช่วงความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 7 แอนโทไซยานินจะมีสีน้ำเงินเข้มจนถึงสีม่วง เมื่อทำปฏิกิริยากับเฟอร์ริกไอออน แอนโทไซยานินจะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับเฟอร์ริกไอออน ทำให้มีสีเปลี่ยนไปเป็นสีม่วงจนถึงสีแดงซึ่งเป็นรูปฟอร์มของแอนโทไซยานินในภาวะกรด ดังในภาพที่ 5



ภาพที่ 3 โครงสร้างของแอนโทไซยานินในภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-เบส 1 4.5 และ 7  
ที่มา: Giusti and Wrolstad, 2001



ภาพที่ 4 โครงสร้างของสารในกลุ่มแอนโทไซยานิน  
ที่มา: Pascual-Teresa *et al.*, 2008



ภาพที่ 5 ปฏิกริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของเฟอร์ริกไอออนและแอนโทไซยานินที่เป็นไปได้  
ที่มา: ปรับปรุงจาก Landi *et al.*, 2015

ทั้งนี้ความเสถียรของแอนโทไซยานินขึ้นอยู่กับที่วง B (ภาพที่ 4) หากอยู่ในสภาวะที่ค่าพีเอชสูงขึ้นจะทำให้เกิดการสลายตัว (degradation) ซึ่งพบว่าเมื่อมีไอออนของโลหะเข้าไปจับ จะเกิดการดึงไฮโดรเจนออกจากโมเลกุลของแอนโทไซยานิน (deprotonation) ทำให้อยู่ในรูปฟลาโวลีเลียมแคทไอออน (flavylium cation) และทำให้อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินลดลง (Sigurdson and Giusti, 2014; Sigurdson *et al.*, 2016) เป็นผลทำให้สารละลายเปลี่ยนไปเป็นสีม่วงแดงดังที่กล่าวมาข้างต้น โดยการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กรวมในรูปฟอร์มของเฟอร์ริกไอออนจะต้องมีการออกซิไดซ์ด้วยกรดไนตริกเข้มข้นทำให้เฟอร์ริกไอออนจะอยู่ในภาวะที่เป็นกรด ดังนั้นเมื่อทำปฏิกิริยากับแอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปฟอร์มของฟลาโวลีเลียมแคทไอออนซึ่งมีสีม่วงแดง แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเฟอร์ริกไอออน สีม่วงแดงของแอนโทไซยานินก็ยังคงมีความเข้มข้นสัมพันธ์กับความเข้มข้นที่เปลี่ยนแปลง (Barcelo, 2014; Khaodee *et al.* 2014; Wattanayon *et al.* 2017) นอกจากนี้แอนโทไซยานินยังค่อนข้างจำเพาะกับเฟอร์ริกไอออนตามหลักความแรงกรดและเบสของเพียร์สัน (Pearson's hard-soft acid and base) ที่มีการจำแนกความแรงของกรดและเบส เป็นแรงมาก (hard) แรงน้อย (soft) และปานกลาง (border line) (Skoog *et al.*, 2013) โดย เฟอร์ริกไอออนจัดอยู่ในกลุ่มของกรดที่มีความแรงมาก (hard acid) ต้องจับกับเบสที่มีความแรงมาก (hard base) ซึ่งสัมพันธ์กับที่ตำแหน่งที่เกิดคีเลตที่มีปลายเป็นหมู่ไฮดรอกซิลซึ่งเป็นเบสที่มีความแรงมาก ในขณะที่ไอออนของโลหะชนิดอื่น ๆ จัดอยู่ในกลุ่มกรดที่มีความแรงปานกลาง อย่างไรก็ตาม สีของสารประกอบเชิงซ้อนที่ได้ ขึ้นอยู่กับปัจจัย

หลายอย่าง ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-เบส ไอออนของโลหะ อัตราส่วนระหว่างแอนโทไซยานินต่อไอออนของโลหะนั้น รวมทั้งโครงสร้างของแอนโทไซยานินด้วย (Buchweitz *et al.*, 2012a, 2012b, 2013a, 2013b; Sigurdson and Giusti, 2014; Tachibana *et al.*, 2014)

Barcelo (2014) ศึกษาการตรวจวัดปริมาณเฟอร์ริกไอออนในตัวอย่างน้ำโดยใช้แอนโทไซยานินที่สกัดได้จากมะเข่า โดยที่ไอออนของเหล็กจะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับลิแกนด์จากสารสกัดแอนโทไซยานินทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสีที่ค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 4.5 หลังจากทำปฏิกิริยากันเป็นเวลา 1 ชั่วโมง และวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี ในช่วงการตรวจวัด 1-10 ส่วนในล้านส่วน (part per million: ppm) และตรวจวิเคราะห์กับน้ำตัวอย่างจริง พบว่าแอนโทไซยานินที่สกัดได้สามารถทำหน้าที่เป็นสารให้สีในการตรวจหาปริมาณโลหะในน้ำได้ แต่อย่างไรก็ตามยังต้องได้รับการพัฒนาและปรับปรุงระบบในการวิเคราะห์ต่อไปเพื่อให้มีความแม่นยำในการตรวจวัดยิ่งขึ้น

สำหรับงานวิจัยในประเทศไทย มีผู้วิจัยศึกษาการหาปริมาณไอออนเหล็กในน้ำตัวอย่าง โดย Khaodee *et al.* (2014) ศึกษาการตรวจหาปริมาณเฟอร์ริกไอออนด้วยการทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีสีม่วง ได้สารประกอบสีฟ้าอมม่วง ซึ่งสามารถตรวจวัดได้ด้วยตาเปล่า จากการศึกษาพบว่าภาวะที่เหมาะสมสำหรับเกิดสารประกอบนั้นมีค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 4 ช่วงการตรวจวัด 0.11-0.33 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดเท่ากับ 0.11 มิลลิกรัม



ต่อลิตร เมื่อนำไปตรวจวิเคราะห์หาในน้ำตัวอย่างจริง พบว่า วิธีการนี้มีประสิทธิภาพเทียบเคียงกับวิธีมาตรฐานที่ใช้ นั่นคือ อินดักทีฟพลาสมา (inductively coupled plasma: ICP) และยังประหยัดเวลาในการตรวจวัดและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเนื่องจากใช้สารในปริมาณน้อยมาก ต่อมา Wattanayon *et al.* (2017) ใช้แอนโทไซยานินที่สกัดจากกระเจี๊ยบแดงในการตรวจวัดปริมาณเฟอร์ริกไอออน โดยแอนโทไซยานินจะเกิดสารเชิงซ้อนกับเฟอร์ริกไอออนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสง และสามารถมองเห็นการเปลี่ยนสีของสารละลายด้วยตาเปล่า มีช่วงการตรวจวัด  $5.58-2.79 \times 10^3$  มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถนำแอนโทไซยานินไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดไอออนเหล็กในน้ำตัวอย่างจริงได้ เป็นผลสำเร็จ ได้แก่ น้ำดื่ม น้ำทะเล และน้ำเขื่อน

โดยพบว่าไม่เกิดการรบกวนจากองค์ประกอบอื่นในน้ำตัวอย่าง จากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า แอนโทไซยานินที่สกัดได้จากแหล่งต่าง ๆ มีประสิทธิภาพในการใช้ตรวจหาปริมาณไอออนเหล็กในน้ำโดยไม่จำเป็นต้องใช้รีเอเจนต์ที่เป็นสารเคมี อย่างไรก็ตามต้องศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากแหล่งที่แตกต่างกัน เช่น ค่าความเป็นกรด-เบส ความเข้มข้นของแอนโทไซยานินที่สกัดได้ ตัวทำละลาย เนื่องจากปัจจัยเหล่านี้เป็นหัวใจของการเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทไซยานิน นอกจากนี้แอนโทไซยานินที่สกัดได้จากแหล่งที่แตกต่างกันยังส่งผลต่อค่าขีดจำกัดการตรวจวัดอีกด้วย เนื่องจากพืชแต่ละชนิดมีปริมาณแอนโทไซยานินมากน้อยแตกต่างกัน ดังในตาราง 1

**ตาราง 2** การตรวจวัดทางสีเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กรวมในน้ำในระบบสารละลายด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี และเทคนิคที่ใกล้เคียงในระหว่างปี 2008-2019

สปีชีส์ของเหล็ก	รีเอเจนต์ใช้ทดสอบ	เครื่องมือที่ใช้ตรวจวัด	ขีดจำกัดในการตรวจวัด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	อ้างอิง
Fe <sup>2+</sup>	2,4,6-ไตรไพริดีล-เอส-ไตรอาซีน (2,4,6-tripyridyl-s-triazine: TPTZ)	LED spectrophotometer	2,234.00	Place (2019)
Fe <sup>3+</sup>	แอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบ (roselle)	UV-visible spectrophotometer	27.92	Wattanayon <i>et al.</i> (2017)
Fe <sup>3+</sup>	ซาลิไซเลต (salicylate)	UV-visible spectrophotometer	11.17	Mitchell-Koch <i>et al.</i> (2008)
Fe <sup>3+</sup>	แอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วง (red cabbage)	UV-visible spectrophotometer	0.11	Khaoodee <i>et al.</i> (2014)
Fe <sup>3+</sup>	แอนโทไซยานินจากมะเเฒ่า ( <i>Antidesma bunius</i> )	UV-visible spectrophotometer	1.00	Barcelo (2014)
Fe <sup>3+</sup>	แอนโทไซยานินจากเนื้อเยื่อผิวองุ่น (grape skin tissue)	Fluorescence spectrometer	$2.9 \times 10^{-4}$	Zhang <i>et al.</i> (2010)

จากตาราง 2 จะเห็นว่าเป็นการทำปริมาณวิเคราะห์ที่ใช้เทคนิคขั้นสูง ต้องอาศัยเครื่องมือและผู้เชี่ยวชาญ แม้ว่าเทคนิคดังกล่าว

จะมีสภาพไว (sensitivity) มีความจำเพาะเจาะจง (selectivity) สูงและสามารถวิเคราะห์ แต่ยังมีข้อจำกัดคือเครื่องมือที่ใช้ราคาสูง และมีขั้นตอนการ

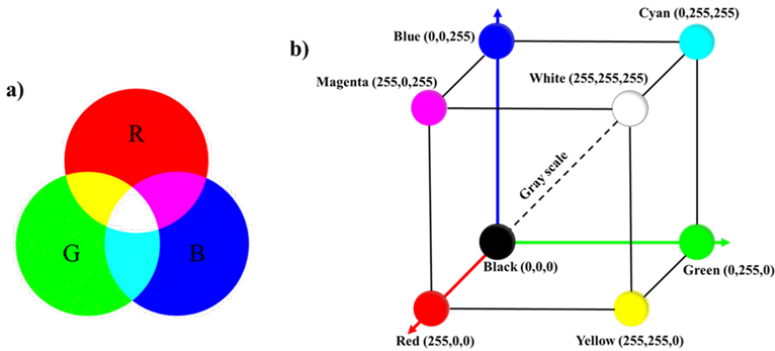
เตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยาก ดังนั้นอีกวิธีการหนึ่งที่ยอมรับในปัจจุบันคือ การวิเคราะห์ทางสีเนื่องจากมีความง่ายในการตรวจวิเคราะห์ และราคาถูกโดยการใช้กล้องดิจิทัลหรือเครื่องสแกนเนอร์เพื่อเก็บภาพกับการใช้โปรแกรมประมวลผลภาพ (image processing software) เพื่ออ่านค่าความเข้มสี หรือใช้สมาร์ตโฟนที่มีการติดตั้งแอปพลิเคชันการประมวลผลภาพ ก็จะสะดวกมากยิ่งขึ้น

### การทำปริมาณวิเคราะห์ด้วยการวิเคราะห์ความเข้มสี

การวิเคราะห์ทางสีจากรูปภาพนำเสนอโดย Birch and Stickley (2003) โดยการใช้เครื่องสแกนเนอร์ร่วมกับโปรแกรมประมวลผลภาพ เพื่อติดตามความเข้มสีที่เปลี่ยนไปตามความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ด้วยระบบแสงสีแดง เขียว น้ำเงิน (RGB) ซึ่งสามารถคำนวณย้อนกลับเป็นค่าการดูดกลืนแสงได้ โดยจะให้ผลการวิเคราะห์สอดคล้องกับเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี โดยทั่วไปแสงสีในระบบ RGB จะใช้ในอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ต่างๆ เช่น โทรศัพท์มือถือ สมาร์ตโฟน กล้องดิจิทัล ซึ่งแสงในระบบ RGB นี้ยังใช้อธิบายการมองเห็นของมนุษย์อีกด้วย (Jayawardane *et al.*, 2012, 2014a, 2014b) ดังนั้นการวิเคราะห์ทางสีในระบบ RGB จึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ โดยจะเห็นได้จากข้อได้เปรียบและข้อจำกัดเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการวิเคราะห์ทางสีด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีและการถ่ายภาพโดยใช้กล้องบนสมาร์ตโฟน หรือกล้องดิจิทัลร่วมกับโปรแกรมประมวลผลภาพ (เช่น ImageJ) ในระบบสารละลายดังในตาราง 3

ตามทฤษฎีแสงสี แสงสีที่มองเห็นในระบบ RGB ประกอบด้วยแม่แสงสามสีคือ แดง

(R) เขียว (G) และน้ำเงิน (B) ดังในภาพที่ 6a โดยการรวมกันของแม่แสงสีจะทำให้ได้สีใหม่เกิดขึ้นตามอัตราส่วนของ RGB การนำระบบ RGB ไปใช้ในภาพดิจิทัลอลชนิด 8 บิต ซึ่งแบ่งค่าความเข้มสีได้ 256 ระดับที่แตกต่างกัน (0-255) แต่ละสีของ 1 พิกเซลในภาพดิจิทัลแสดงความเข้มสีของแม่แสงสีในรูปแบบของ (R, G, B) ด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพดังในภาพที่ 6b ค่า (R, G, B) ของแสงสีขาว และแสงสีดำ มีค่า (255, 255, 255) และ (0, 0, 0) ตามลำดับ ความเข้มสีรวม (M) สามารถคำนวณได้จากสมการ  $R + 255G + 2552B$  (Choodum and Daeid, 2011; Sharma, 2002) ระบบสีเทา (gray scale) เป็นระบบสองสี คือ ขาวและดำ ซึ่งเปรียบเทียบเหมือนการดูภาพผ่านฟิลเตอร์สีขาว (255, 255, 255) โดย RGB แต่ละค่าจะถูกปรับให้มาอยู่ในแนวแกนของระบบสีเทาด้วยการทำให้ทุกค่ามีค่าเท่ากัน ( $R = G = B$ ) ซึ่งในระบบสีเทาในภาพดิจิทัลอลชนิด 8 บิตก็แบ่งค่าความเข้มสีเป็น 256 ระดับ (0-255) เช่นเดียวกับกับระบบ RGB ค่าสีเทาเฉลี่ยในอุดมคติ (ideal average grayscale) สามารถคำนวณได้จาก  $(R + G + B)/3$  อย่างไรก็ตามค่าสีเทาที่ได้น่าจะไม่ใช่ค่าที่ถูกต้อง เนื่องจากความสว่างของแสง และการรับรู้ของมนุษย์ต่อแสงสีแต่ละสีมีความแตกต่างกัน โดยการรับรู้ต่อแสงสีแดงและเขียวของมนุษย์จะสว่างมากกว่าแสงสีน้ำเงิน จึงต้องนำค่าสัมประสิทธิ์ความสว่างของแสงแต่ละสีมาใช้ในการคำนวณเพื่อเปลี่ยนค่าสีจากระบบ RGB ให้เป็นระบบสีเทาที่คิดผลของการเรืองแสงจากภายนอก (grayscale with luminosity) ซึ่งสามารถคำนวณได้จาก  $0.299R + 0.587G + 0.144B$  นอกจากนี้ค่าสีในระบบ RGB ทุกค่าต้องปรับให้เป็นระบบสีเทาของแต่ละโทนสีก่อนจะนำมาคำนวณในระบบสีเทาเฉลี่ยในอุดมคติ และสีเทา



ภาพที่ 6 แบบจำลองสีในระบบ RGB (a) และการรวมกันของแม่แสงสีทำให้เกิดแสงสีใหม่โดยขึ้นกับอัตราส่วนของ RGB (b)

ที่มา: Burger and Burge, 2009; Choodum and Daeid, 2011; Sharma, 2002

ที่คิดผลของการเรืองแสงจากภายนอก (Burger and Burge, 2009)

ในการตรวจวัดทางสี ค่าความเข้มสีของบริเวณตรวจวัดจะถูกวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมประมวลผลภาพ พบว่า ระบบสีเทาเหมาะสมที่จะใช้ในการตรวจวัดทางสีโดยเฉพาะในการตรวจวัดทางสีของปฏิกิริยาที่เป็นเฉดสีเดียว โดยไม่มีการรบกวนจากแสงสีอื่น อย่างไรก็ตามในการตรวจวัดทางสีในปฏิกิริยาที่ให้สีหลากหลายอาจใช้ระบบสีอื่นที่ให้สัญญาณตอบสนองไว และมีความจำเพาะมากที่สุด โปรแกรมประมวลผลภาพ ImageJ เป็นการวิเคราะห์ค่าสีในระบบสีเทาที่อาศัยพื้นฐานสีในระบบ RGB นำมาประยุกต์ใช้วิเคราะห์แสงสีของบริเวณตรวจวัดผ่านระบบสีเทา โดยความเข้มสีทุกชนิดจะอยู่ในระบบสีเทา ในช่องโทนสีที่แตกต่างกันคือ แดง ( $G_R$ ) เขียว ( $G_G$ ) และ น้ำเงิน ( $G_B$ ) ซึ่งในโปรแกรม ImageJ จะเปลี่ยนภาพทั้งหมดให้อยู่ในระบบสีเทาก่อนจะวิเคราะห์ทางสี (Ferreira and Rasband, 2012) ดังในภาพที่ 6b โดยค่าสีที่ได้จากแต่ละช่องแสงสี RGB นั้น เป็นสีผสมเชิงลบ (subtractive color) เป็นสีที่ถูกดูดกลืนตามความยาวคลื่นแสง เช่น แสงสี

น้ำเงิน เขียว และแดง มีช่วงความยาวคลื่น 400–500 500–580 และ 580–700 nm ตามลำดับ ซึ่งส่งผลต่อการมองเห็นซึ่งตรงกันข้ามกับการรับรู้แสงสีของมนุษย์ (Birch and Stickle, 2003; Byrne *et al.*, 2000; Cantrell *et al.*, 2010; Choodum and Daeid, 2011; Choodum *et al.*, 2012, 2013; Epperson *et al.*, 1988; Giorgianni and Madden, 1998; Suzuki *et al.*, 2006) โดยการตรวจวัดค่าสีที่ได้แต่ละช่องแสงสี RGB นั้นที่เป็นสีผสมเชิงลบหรือเป็นสีที่ถูกดูดกลืนตามความยาวคลื่นแสงนั้นจะให้ค่าสัญญาณการตอบสนองไวสูง ส่งผลให้การวิเคราะห์มีความไวสูง ซึ่งหลักการและทฤษฎีสอดคล้องกับเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี

Puchum *et al.* (2019) Meelapsom *et al.* (2016) และ Jarujamrus *et al.* (2018) ศึกษาการวิเคราะห์ทางสี (RGB) เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณปรอท ( $Hg^{2+}$ ) ในตัวอย่างน้ำ โดยอาศัยการตรวจติดตามการลดลงของอนุภาคเงินขนาดนาโน (AgNPs) ที่ไม่มีการปรับปรุงพื้นผิว โดยอาศัยไมโครเฟลตขนาดเล็กที่ประกอบไปด้วย 96 หลุม เกิดปฏิกิริยาสำหรับการตรวจวัดเป็นพื้นที่รองรับการเกิดปฏิกิริยาโดยถ่ายรูปปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นด้วย

**ตาราง 3** การเปรียบเทียบระหว่างการวิเคราะห์ทางสีด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรีและการถ่ายภาพโดยใช้กล้องบนสมาร์ตโฟนหรือกล้องดิจิทัลร่วมกับโปรแกรมประมวลผลภาพ (เช่น ImageJ) ในระบบสารละลาย

ประเด็นการเปรียบเทียบ	เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี*	การถ่ายภาพโดยใช้กล้องบนสมาร์ตโฟน หรือ กล้องดิจิทัลร่วมกับโปรแกรมประมวลผลภาพ (เช่น ImageJ)**
ปริมาตรสารที่ใช้	ใช้สารครั้งละประมาณ 3 มิลลิลิตร	ใช้สารครั้งละ 200 ไมโครลิตร (สามารถปรับเปลี่ยนได้ขึ้นอยู่กับภาชนะที่ใช้)
ราคาเครื่องมือ/อุปกรณ์	ราคาสูงเนื่องจากต้องใช้ cuvette รวมทั้งเครื่องมือชั้นสูง ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตรี	ราคาถูกกว่ามากเนื่องจากใช้เพียงกล้องบนสมาร์ตโฟนที่มีการติดตั้งแอปพลิเคชันที่ใช้อ่านค่าสีที่เป็นฟรีดาวน์โหลด หรือที่พัฒนาขึ้นเอง/กล้องดิจิทัลร่วมกับโปรแกรมประมวลผลภาพในสถานะที่มีการควบคุมแสง
การวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่าง	เทียบจากกราฟมาตรฐาน	เทียบจากกราฟมาตรฐาน
ความถูกต้อง (accuracy) และความเที่ยง (precision) ของการวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่าง	สูง	ยอมรับได้ และสอบเทียบกับวิธีมาตรฐานหรือตัวอย่างมาตรฐานผ่าน
ความถูกต้องของการใช้งาน	ใช้ผู้เชี่ยวชาญในห้องปฏิบัติการ และวิเคราะห์ที่ละเอียดตัวอย่าง	วิเคราะห์หาปริมาณสารตัวอย่างด้วยแอปพลิเคชันที่พัฒนาขึ้นหรือฟรีดาวน์โหลดซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้หลายตัวอย่างต่อการวิเคราะห์หนึ่งครั้ง สามารถวิเคราะห์ได้ง่าย รวดเร็ว โดยไม่ต้องอาศัยทักษะหรือผู้เชี่ยวชาญในการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ

**หมายเหตุ** \*ใช้ cuvette ที่ทำจากควอทซ์ขนาดมาตรฐานขนาด 3.5 มิลลิลิตร (Khaodee *et al.*, 2014)

\*\*ใช้ไมโครเพลตขนาดเล็กที่ประกอบไปด้วย 96 หลุมเกิดปฏิกิริยา (Puchum *et al.*, 2019)

สมาร์ตโฟน ภายใต้ภาวะที่มีการควบคุมแสงแล้ว วิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นของปรอทด้วยแอปพลิเคชันที่พัฒนาขึ้นซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้หลายตัวอย่างต่อการวิเคราะห์หนึ่งครั้ง (128 ตัวอย่างต่อชั่วโมง) โดยมีกลไกในการตรวจวัดดังนี้ เมื่ออนุภาคเงินขนาดนาโนทำปฏิกิริยากับ  $Hg^{2+}$  จะทำให้เกิดการออกซิไดซ์ของ AgNPs ( $Ag^0$ ) ให้เกิดเป็น  $Ag^+$  เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่เดียวกัน  $Hg^{2+}$  ถูกรีดิวซ์เกิดเป็น  $Hg^0$  ไปยึดจับบนผิวของ AgNPs เกิดเป็น Ag-Hg อะมัลกัม ทำให้สีเหลืองของ AgNPs เกิดการซีดจางลงตามความเข้มข้นของ  $Hg^{2+}$  ที่

เพิ่มขึ้น โดยสามารถวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยใช้สมาร์ตโฟนที่ติดตั้งแอปพลิเคชันที่พัฒนาขึ้นเป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางสี ซึ่งทำให้สามารถปรับปรุงในส่วนการตรวจวัดให้มีประสิทธิภาพในการตรวจวัดปรอทได้ดีขึ้น เช่น สามารถวิเคราะห์ได้ง่ายและรวดเร็วขึ้น (ความเข้มข้นของปรอทที่ตรวจพบในน้ำตัวอย่างจะแสดงที่หน้าจอของสมาร์ตโฟนทันที) ให้สภาพการวิเคราะห์ที่มีความไวสูง มีความจำเพาะเจาะจง วิเคราะห์หาปริมาณปรอทในตัวอย่างน้ำในพื้นที่จริงได้ครั้งละหลาย ๆ ตัวอย่าง และไม่จำเป็นต้องใช้ผู้มีทักษะ

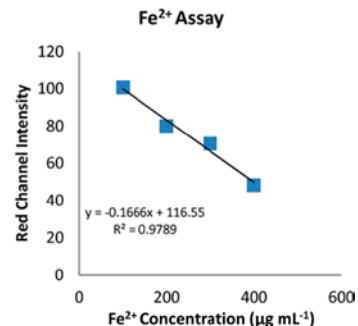
ในการใช้งาน

จากการหาภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัด พบว่า ค่าสีเทาในช่องสีน้ำเงินให้ความไวในการตรวจวัดสูงสุดเนื่องจากสีเหลืองจากปฏิกิริยาที่มองเห็นเป็นแสงสีผสมเชิงลบระหว่างสีแดงและเขียวซึ่งเป็นแสงสีตรงกันข้ามกับแสงสีน้ำเงิน การตรวจวัดที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้วิเคราะห์หาปริมาณปรอทได้ที่ขีดจำกัดการตรวจวัดต่ำสุดที่ตอบโต้กับค่ากำหนดในแหล่งน้ำธรรมชาติ

ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมในการถ่ายภาพจากปฏิกิริยาทำภายใต้กล่องควบคุมแสงที่สร้างขึ้นจากกล่องพลาสติก และติดหลอดไฟภายในกล่องบริเวณมุมทั้ง 4 มุม เพื่อควบคุมความสว่างของแสงให้คงที่เพื่อลดความคลาดเคลื่อนของผลการทดลองและจำเป็นต้องสร้างกราฟมาตรฐานร่วมก่อนหาความเข้มข้นปรอท นอกจากนี้การตรวจสอบความถูกต้องของการเทคนิคที่พัฒนาขึ้นเทียบกับเทคนิคมาตรฐาน “โคลด์เวเปอร์อะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโทรเมทรี (cold vapor atomic absorption spectrometry: CV-AAS)” พบว่า แอปพลิเคชัน CAnal ที่ติดตั้งบนสมาร์ตโฟนที่ใช้เป็นอุปกรณ์ตรวจวัดทางสีนี้ให้ผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกับวิธีมาตรฐาน อีกทั้งมีความไวในการตรวจวัดสูง ใช้เวลาน้อยในการวิเคราะห์

นอกจากนี้ Koedsojo *et al.* (2015) ศึกษาการหาปริมาณโลหะเหล็กในน้ำในระบบตรวจวัดที่อาศัยระบบของไหลจุลภาคที่ประดิษฐ์จากกระดาษด้วยเทคนิคการตัด โดยให้เฟอร์รัสไอออน ( $Fe^{2+}$ ) ทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอเรต(III) ( $K_3[Fe(CN)_6]$ ) ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีฟ้าของไอออน(II) เฟอร์ริกไซยาไนด์ ( $Fe_3[Fe(CN)_6]_2$ ) ซึ่งหากมีปริมาณเฟอร์รัสไอออนมากสีของสารละลายจะมีสีฟ้าเข้มขึ้นเช่นกัน จาก-

นั้นวิเคราะห์ความเข้มข้น โดยใช้กล้องถ่ายภาพของสมาร์ตโฟน ร่วมกับการใช้แอปพลิเคชัน Color Assist เพื่ออ่านค่าความเข้มสีในระบบ RGB โดยเลือกการอ่านค่าความเข้มสีแดงแล้วนำค่าที่ได้สร้างกราฟมาตรฐาน โดยได้ช่วงความเป็นเส้นตรง  $y = -0.1666x + 116.55$  (ภาพที่ 7) และมีขีดจำกัดต่ำสุดสำหรับการตรวจวัดที่ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร สามารถวิเคราะห์หาปริมาณไอออนเหล็กได้ภายในเวลาไม่กี่นาที และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเรียนการสอนได้



ภาพที่ 7 กราฟมาตรฐานระหว่างค่าความเข้มสีในช่องสีแดงและความเข้มข้นของเหล็ก

ที่มา: Koedsojo *et al.*, 2015

### การประยุกต์ใช้การวิเคราะห์ความเข้มสีโดยใช้สมาร์ตโฟนเป็นตัวช่วยในห้องเรียนเคมี

เคมีเป็นสาขาหนึ่งของวิทยาศาสตร์ที่ศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบ สมบัติและการเปลี่ยนแปลงของสารที่เป็นส่วนประกอบของสสาร เนื่องจากสสารรอบตัวเรล้วนมีอิทธิพลต่อการดำเนินชีวิตของมนุษย์เรา ดังนั้นการเข้าใจการเปลี่ยนแปลงของสสารจะนำมาซึ่งประโยชน์ในการดำรงชีวิต ซึ่งการหาคำตอบเกี่ยวกับสสารในวิชาเคมีต้องอาศัยการปฏิบัติการทดลอง ทั้งนี้ปฏิบัติการทดลองหลายการทดลองยังจำเป็นต้องใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์ที่ยุ่ยากและซับซ้อน

เช่น การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะเหล็กดังกล่าวไปข้างต้น ยังคงต้องอาศัยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี และเนื่องด้วยเทคนิคขั้นสูงนี้มีข้อจำกัดดังที่กล่าวข้างต้น ทำให้ต้องการผู้เชี่ยวชาญในการทำปฏิบัติการ ขั้นตอนการวิเคราะห์ที่ซับซ้อนและต้องใช้ทักษะขั้นสูง ราคาและค่าบำรุงรักษาเครื่องมือที่สูงมาก และเครื่องมือเหล่านี้ไม่ใช่เครื่องมือพื้นฐานที่มีในโรงเรียนชั้นมัธยมศึกษา ทำให้เป็นข้อจำกัดหากต้องการทำปฏิบัติการ เพื่อแก้ปัญหาทางด้านข้อจำกัดดังกล่าวการนำสมาร์ตโฟน และโปรแกรมที่ช่วยในการวิเคราะห์ทางสี เช่น ImageJ ColorAssist RGB tool มาช่วยในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ ดังในงานวิจัยของ Koesdjojo *et al.* (2015) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Rattanakaroonjit *et al.* (2019) ที่หาปริมาณไอออนเหล็กโดยใช้ข้อโทพีแนทโรรีเป็นรีเอเจนต์ จากนั้นถ่ายภาพด้วยสมาร์ตโฟนในกล่องควบคุมแสงแล้วนำไปวิเคราะห์ค่าความเข้มสีในช่องสีฟ้าด้วยโปรแกรม ImageJ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์หาความเข้มข้นสำหรับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษา เพื่อเสริมสร้างทักษะการทำการทดลองและเชื่อมโยงสิ่งที่ได้เรียนรู้กับชีวิตประจำวัน โดยมีข้อดีคือใช้สารปริมาตรน้อยมากทำให้เกิดของเสียจากการทดลองน้อยลง (เคมีสีเขียว) สามารถนำมาปรับใช้เป็นการทดลองพื้นฐานสำหรับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาได้ ซึ่งจะช่วยให้มีโอกาสให้นักเรียนได้มีประสบการณ์การทำการทดลองด้วยตนเอง อีกทั้งยังพัฒนาความเข้าใจและทักษะการทำการทดลองเพื่อเตรียมความพร้อมสู่ระดับอุดมศึกษาต่อไป

## บทสรุป

พิษจากไอออนของเหล็กเป็นอันตราย

หากร่างกายได้รับเกินค่ามาตรฐานที่กำหนด จึงควรตระหนักถึงภัยอันตรายที่มีต่อสุขภาพมนุษย์ และสิ่งแวดล้อม โดยที่งานวิจัยต่าง ๆ ได้คิดค้นและพัฒนาเทคนิคการตรวจหาปริมาณเฟอร์รัสไอออน ( $Fe^{2+}$ ) และเฟอร์ริกไอออน ( $Fe^{3+}$ ) ด้วยรีเอเจนต์ที่สามารถใช้ตรวจวัดหาไอออนของเหล็กแต่ละรูปทางสี โดยอาศัยเทคนิคยูวี-สเปกโทรโฟโตเมทรีซึ่งเทคนิคดังกล่าวยังมีความยุ่งยากซับซ้อน ใช้สารในปริมาณมาก ทำให้เกิดของเสียมาก และใช้เครื่องมือที่มีราคาสูง ดังนั้นการวิเคราะห์โดยการอ่านค่าความเข้มสีผ่านโปรแกรม ImageJ และใช้สมาร์ตโฟนเป็นอุปกรณ์ช่วยจึงนิยมมากในปัจจุบัน เนื่องจากสามารถอ่านค่าความเข้มสีและสร้างกราฟมาตรฐาน ทำให้ทราบปริมาณโลหะในตัวอย่างที่เราต้องการได้อย่างรวดเร็วเทียบเท่ากับเทคนิคมาตรฐาน ทำให้ประหยัดเวลาและค่าใช้จ่าย ไม่ต้องมีการซ่อมบำรุง รักษาเครื่องมือ และใช้สารปริมาตรน้อยลงทำให้ของเสียเกิดขึ้นน้อย นอกจากนี้วิธีนี้สามารถนำมาวิเคราะห์ได้ดีกับปฏิกิริยาที่มีสีอื่น ๆ

ปฏิกิริยาระหว่างเหล็ก ( $Fe^{3+}$ ) กับแอนโทไซยานินสามารถเกิดง่ายและมองเห็นสีชัดเจน เนื่องจากสารสกัดแอนโทไซยานินที่สกัดจากแหล่งธรรมชาติสามารถทำหน้าที่เป็นรีเอเจนต์ในการตรวจวัด สามารถตรวจหาปริมาณไอออนเหล็กแทนรีเอเจนต์ที่เป็นสารเคมีแบบดั้งเดิมได้ เป็นการลดการใช้สารเคมีที่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม (เคมีสีเขียว) เนื่องจากเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้ง่ายและสามารถมองเห็นสีด้วยตาเปล่าชัดเจน ดังนั้นสามารถนำมาใช้เป็นการทดลองสำหรับนักเรียนระดับชั้นมัธยม เพื่อช่วยให้นักเรียนเข้าใจหลักการอย่างง่ายในการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะเหล็ก และสามารถนำไปใช้ได้จริง

ในชีวิตประจำวัน

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) โครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สควท.) ที่ให้ทุนสนับสนุน และศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี (PERCH-CIC) กระทรวงอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม และภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อุบลราชธานี

### เอกสารอ้างอิง

- Barcelo, J. M. (2014). Detection of copper (II) and iron (III) in aqueous solutions using the spectroscopic characteristics of bugnay (*Antidesma bunius*). **Annals of Tropical Research** 36(1): 101–117.
- Birch, N. C., and Stickle, D. F. (2003). Example of use of a desktop scanner for data acquisition in a colorimetric assay. **Clinica Chimica Acta** 333: 95–96.
- Buchweitz, M., Brauch, J., Carle, R., and Kammerer, D. R. (2013a). Application of ferric anthocyanin chelates as natural blue food colorants in polysaccharide and gelatin based gels. **Food Research International** 51(1): 274–282.
- Buchweitz, M., Brauch, J., Carle, R., and Kammerer, D. R. (2013b). Colour and stability assessment of blue ferric anthocyanin chelates in liquid pectin-stabilised model sys-

tems. **Food Chemistry** 138(2–3): 2026–2035.

- Buchweitz, M., Carle, R., and Kammerer, D. R. (2012a). Bathochromic and stabilising effects of sugar beet pectin and an isolated pectic fraction on anthocyanins exhibiting pyrogallol and catechol moieties. **Food Chemistry** 135(4): 3010–3019.
- Buchweitz, M., Nagel, A., Carle, R., and Kammerer, D. R. (2012b). Characterisation of sugar beet pectin fractions providing enhanced stability of anthocyanin-based natural blue food colourants. **Food Chemistry** 132(4): 1971–1979.
- Burger, W., and Burge, M. J. (2009). **Principles of Digital Image Processing: Fundamental Techniques**. Berlin: Springer.
- Byrne, L., Barker, J., Pennarun-Thomas, G., Diamond, D., and Edwards, S. (2000). Digital imaging as a detector for generic analytical measurements. **TrAC Trends Analytical Chemistry** 19: 517–522.
- Cantrell, K., Erenas, M. M., Orbe-Payá, I. d. and Capitán-Vallvey, L. F. (2010). Use of the hue parameter of the hue, saturation, value color space as a quantitative analytical parameter for bitonal optical sensors. **Analytical Chemistry** 82: 531–542.
- Chaiyachok, V. (2009). **Treatment of Heavy Metal Wastewater Using Green Liquor Dregs**. Master thesis in Engineering. Bangkok: Graduate School, Chulalongkorn Uni-

- versity. (in Thai)
- Chaiyo, S. (2012). **Method Development for Trace Copper and Mercury Analysis Using Stripping Voltammetry**. Master thesis in Chemistry. Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. (in Thai)
- Chandrasekhar, J., Madhusudhan, M. C., and Raghavarao, K. S. M. S. (2012). Extraction of anthocyanins from red cabbage and purification using adsorption. **Food and Bioproducts Processing** 90(4): 615–623.
- Cheng, G. W., and Crisosto, C. H. (1995). Browning potential, phenolic composition, and polyphenoloxidase activity of buffer extracts of peach and nectarine skin tissue. **Journal of the American Society for Horticultural Science** 120(5): 835–838.
- Choodum, A., and Daeid, N. N. (2011). Rapid and semi-quantitative presumptive tests for opiate drugs. **Talanta** 86: 284–292.
- Choodum, A., Kanatharana P., Wongniramai-kul, W., and NicDaeid N. (2012). Rapid quantitative colourimetric tests for trinitrotoluene (TNT) in soil. **Forensic Science International** 222: 340–345.
- Choodum, A., Kanatharana P., Wongniramai-kul, W., and NicDaeid N. (2013). Using the iPhone as a device for a rapid quantitative analysis of trinitrotoluene in soil. **Talanta** 115: 143–149.
- da Costa, C. T., Nelson, B. C., Margolis, S. A., and Horton, D. (1998). Separation of black-currant anthocyanins by capillary zone electrophoresis. **Journal of Chromatography A** 799(1–2): 321–327.
- Department of Groundwater Resources, (1999). **Water Quality Standard**. Retrieved from <http://plan.dgr.go.th/school/5.pdf>, December 4, 2019. (in Thai)
- Epperson, P. M., Sweedler, J. V., Bilhorn, R. B., Sims, G. R., and Denton, M. B. (1988). High performance charge transfer device detectors. **Analytical Chemistry** 60: 327A–335A.
- Fakayode, S. O., King, A. G., Yakubu, M., Mohammed, A. K. and Pollard, D. A. (2012). 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.
- Ferreira, T., and Rasband, W. (2012). **ImageJ User Guide IJ 1.46r**. Bethesda, MD: National Institutes of Health.
- Gao, L., and Mazza, G. (1994). Quantitation and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolics in blueberries. **Journal of Food Science** 59(5): 1057–1059.
- Gao, L., and Mazza, G. (1995). Characterization, quantitation, and distribution of anthocyanins and colorless phenolics in



- sweet cherries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 43(2): 343–346.
- Gil, M. I., Holcroft, D. M., and Kader, A. A. (1997). Changes in strawberry anthocyanins and other polyphenols in response to carbon dioxide treatments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 45(5): 1662–1667.
- Giorgianni, E. J., and Madden, T. E. (1998). **Digital Color Management: Encoding Solutions**. United Kingdom: Wiley.
- Giusti, M. M., and Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by uv–visible spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry** 00(1): F1.2.1–F1.2.13.
- Harris, D.C. (1995). **Quantitative Chemical Analysis**. 3rd ed. United States: Marcel Dekker.
- Henretig, F. M., and Temple, A. R. (1984). Acute iron poisoning in Children. **Emergency Medicine Clinics of North America** 4: 575–586.
- Hovinen, J., Lahti, M., and Vilpo, J. (1999). Spectrophotometric determination of thiocyanate in human saliva. **Journal of Chemical Education** 76(9): 1281.
- Ibrahim, A. Q., Onyenekwe P. C., and Nwaezozic I. M. (2014). An efficiency assessment of lower usuma water treatment plant in Abuja. Metropolis, Nigeria. **IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology** [Online], 8, Ver.II. (pp. 46–53). Retrieved from <http://www.scribd.com/document/250619321/>, April 28, 2020.
- Jarujamrus, P., Meelapsom, R., Pencharee, P., Obma, A., Amatatongchai, M., Ditcha-roen, N., Chairam, S., and Tamuang, S., (2018). Use of a smartphone as a colorimetric analyzer in paper–based devices for sensitive and selective determination of mercury in water samples. **Analytical Science** 34: 75-81.
- Jayawardane, B. M., McKelvie, I., and Kolev, S. (2012). A paper–based device for measurement of reactive phosphate in water. **Talanta** 100: 454–460.
- Jayawardane, B. M., Wei, S., McKelvie, I. D., and Kolev, S. D. (2014 a). Microfluidic paper–based analytical device for the determination of nitrite and nitrate. **Analytical Chemistry** 86: 7274–7279.
- Jayawardane, B. M., Wongwilai, W., Grudpan, K., Kolev, S. D., Heaven, M. W., Nash, D. M., and McKelvie, I. D. (2014b). Evaluation and application of a paper–based device for the determination of reactive phosphate in soil solution. **Journal of Environmental Quality**. 43(3): 1081–1085.
- Kalt, W., Fomey, C. F., Martin, A., and Prior, R. L. (1999). Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. **Journal of Agri-**

- cultural and Food Chemistry** 47(11): 4638–4644.
- Keller, M., and Hrazdina, G. (1998). Interaction of nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison. II. Effects on anthocyanin and phenolic development during grape ripening. **American Journal of Enology and Viticulture** 49(3): 341–349.
- Khaodee, W., Aeungmaitrepirom, W., and Tuntulani, T. (2014). Effectively simultaneous naked-eye detection of Cu (II), Pb (II), Al (III) and Fe (III) using cyanidin extracted from red cabbage as chelating agent. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy** 126: 98–104.
- Koesdjojo, M. T., Pengpumkiat, S., Wu, Y., Boonloed, A., Huynh, D., Remcho, T. P., and 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.
- Landi, M., Tattini, M., and Gould, K. S. (2015). Multiple functional roles of anthocyanins in plant–environment interactions. **Environmental and Experimental Botany** 119: 4–17.
- Lister, C. E., Lancaster, J. E., and Walker, J. R. (1996). Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity and its relationship to anthocyanin and flavonoid levels in New Zealand-grown apple cultivars. **Journal of the American Society for Horticultural Science** 121(2): 281–285.
- Mazza, G., and Brouillard, R. (1987). Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. **Food Chemistry** 25(3): 207–225.
- Meelapsom, R., Jarujamrus, P., Amatatongchai, M., Chairam, S., Kulsing, C., and Shen, W. (2016). Chromatic analysis by monitoring unmodified silver nanoparticles reduction on double layer microfluidic paper-based analytical devices for selective and sensitive determination of mercury(II). **Talanta** 155: 193-201.
- Ministry of Public Health. (2002). **Water Quality Standard**. Retrieved from <http://plan.dgr.go.th/school/5.pdf>, December 4, 2019. (in Thai)
- Mitchell-Koch, J. T., Reid, K. R., and Meyerhoff, M.E. (2008). Salicylate detection by complexation with iron(III) and optical absorbance spectroscopy. **Journal of Chemical Education** 85(12): 1658–1659.
- Nordberg, G., Fowler, B. and Nordberg, M. (2014). **Handbook on the toxicology of metals**. 4th ed. Amsterdam: Elsevier. Chapter 41, Iron. pp 879–902. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-59453-2.00041>, April 28, 2020.
- Perämäki, P., Kumpumäki, M., Välimäki, I.,

- and Heikkinen, R. (2000). Preliminary studies of iron speciation ( $\text{Fe}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{3+}$ ) in peat samples using polarography. **Analytical Sciences** 16: 751–756.
- Pascual–Teresa, S., and Sanchez–Ballesta, T. (2008). Anthocyanins: From plant to health. **Phytochemistry Reviews** 7(2): 281–299.
- Place, B. J. (2019). Activity analysis of iron in water using a simple led spectrophotometer. **Journal of Chemical Education** 96(4): 714–719.
- Puchum, S., Meelapsom, R., Muniandy, S. S., Lee, H. L., Pencharee, S., Amatongchai, M., Suttisintong, K., and Jarujamrus, P. (2019). Use of unmodified silver nanoparticles (AgNPs) as colorimetric Hg(II) sensor: A new approach to sensitive and high sample throughput determination of Hg(II) under high influence of ionic suppression. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry** 99(2): 139–156.
- Rapisarda, P., Tomaino, A., lo Cascio, R., Bonina, B., de Pasquale A., and Saija, A. (1999). Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 47: 4718.
- Rattanakaroornjit, W., Jarujamrus, P. and Supasorn, S. (2019). Development of conceptual understanding of oxidation–reduction reaction and determination of iron ions using smartphone-assisted colorimetric experiment. **Proceedings of the Universal Academic Cluster International Autumn Conferences** (pp. 45–56). Bangkok, Thailand.
- Schwarzenbach, R. P., Egli, T., Hofstetter, T. B., Gunten, U. V., and Wehrli, B. (2010). Global water pollution and human health. **Annual Review of Environment and Resources** 35: 109–136.
- Sharma, G. (2002). **Digital Color Imaging Handbook: Color Fundamentals for Digital Imaging**. New York: CRC.
- Sigurdson, G. T., and Giusti, M. M. (2014). Bathochromic and hyperchromic effects of aluminum salt complexation by anthocyanins from edible sources for blue color development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 62(29): 6955–6965.
- Sigurdson, G. T., Robbins, R. J., Collins, T. M., and Giusti, M. M. (2016). Evaluating the role of metal ions in the bathochromic and hyperchromic responses of cyanidin derivatives in acidic and alkaline pH. **Food Chemistry** 208: 26–34.
- Silva, M. M., Vale M. G. R., Damin, I. C. F., Welz, B., Mandaji, M., and Fett, J. P. (2003). Method development for the determination of iron in milligram amounts of rice plants (*Oryza sativa* L.) from cultivation experiments using graphite furnace atomic

- absorption spectrometry. **Analytical & Bio-analytical Chemistry** 377: 165–172.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., and Crouch, S. R. (2013). **Fundamental of Analytical Chemistry**. 9th ed. Philadelphia: Cengage Learning.
- Skoog, D. A., and Leary, J. J. (1992). **Principles of Instrumental Analysis**. 4th ed. Philadelphia: Saunders College.
- Suzuki, Y., Endo, M., Jin, J., Iwase, K., and Iwatsuki, M. (2006). Tristimulus colorimetry using a digital still camera and its application to determination of iron and residual chlorine in water samples. **Analytical Sciences** 22: 411–414.
- Tachibana, N., Kimura, Y., and Ohno, T. (2014). Examination of molecular mechanism for the enhanced thermal stability of anthocyanins by metal cations and polysaccharides. **Food Chemistry** 143: 452–458.
- Teaumroong, N., and Boonkerd, N. (1996). Iron element, siderophores and microbes. **Suranaree Journal Science Technology** 3: 95–100.
- Trandafir, I., Nour, V., and Ionica, M. E. (2011). Determination of tin in canned foods by inductively coupled plasma–mass spectrometry. **Polish Journal of Environmental Studies** 21: 741–754.
- Wattanayon, R., Satapor, S., Yama, B., Samanman, S., and Vangsirigul, P. (2017). Determination of iron ion using anthocyanin from roselle. **Princess of Naradhiwas University Journal** 9(2): 97–103. (in Thai)
- World Health Organization & International Programme on Chemical Safety. (1996). **Guidelines for Drinking–Water Quality. Vol. 2, Health Criteria and Other Supporting Information**. 2nd ed. World Health Organization. Retrieved from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/38551>, December 4, 2019.
- Xie, Y., Zhu, X., Li, Y., and Wang, C. (2018). Analysis of the pH–dependent Fe(III) ion chelating activity of anthocyanin extracted from black soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] coats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 66: 1131–1139.
- Zhang, M., Zheng, B., Yuan, H., and Xiao, D. (2010). A spectrofluorimetric sensor based on grape skin tissue for determination of iron(III). **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia** 24(1): 31–37.