

อุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษสำหรับการตรวจวัดปริมาณ กรดแอสซิติคในน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนด

เวดิน หนูนางค์¹ นิชา ประสงค์จันทร์² และโกสินทร์ ที่รักษพันธ์^{2*}

¹หลักสูตรรายวิชาคณิตศาสตร์ และ ²หลักสูตรรายวิชาวิทยาศาสตร์ สาขาศึกษาทั่วไป

คณะศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย สงขลา 90000

*E-mail: Kosin.t@rmutsv.ac.th

รับบทความ: 3 มกราคม 2568 แก้ไขบทความ: 5 มิถุนายน 2568 ยอมรับตีพิมพ์: 6 มิถุนายน 2568

บทคัดย่อ

น้ำส้มสายชูเป็นเครื่องปรุงรสเปรี้ยวที่นิยมใช้สำหรับการปรุงอาหาร น้ำส้มสายชูหมักตาลโตนด เป็นผลิตภัณฑ์ท้องถิ่นที่พบมากในพื้นที่ภาคใต้ ปัญหาของน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดคือขาดความเสถียรในเรื่องของความเปรี้ยว เนื่องจากไม่มีวิธีการทดสอบ ทำให้คุณภาพของน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดที่ผลิตได้ในแต่ละครั้งมีความแตกต่างกัน ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543 เรื่องน้ำส้มสายชู กำหนดมาตรฐานของน้ำส้มสายชูหมักว่าต้องมีปริมาณกรดแอสซิติคไม่น้อยกว่า 4 กรัม/100 มิลลิลิตร หรือร้อยละ 4 โดยมวลต่อปริมาตร (%w/v) ดังนั้นต้องมีวิธีการวิเคราะห์ปริมาณของกรดแอสซิติคเพื่อควบคุมคุณภาพน้ำส้มสายชูหมัก งานวิจัยนี้พัฒนาอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์ปริมาณของกรดแอสซิติคซึ่งสามารถบ่งชี้ระดับของความเปรี้ยวของน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนด วิธีวิเคราะห์อาศัยหลักการของสารจำกัดปริมาณ (limiting reagent) ในกระบวนการไทเทรตโดยสังเกตปฏิกิริยาจากการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์บนอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ ถ่ายภาพด้วยสมาร์ทโฟน และแปลผลเป็นความเข้มสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน และสีเทา ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม อุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ มีสมรรถนะของการวิเคราะห์โดยมีช่วงความเป็นเส้นตรง 0.001–0.06 M มีสมการเส้นตรง คือ $y = 1,591.7x + 0.4772$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.991 มีค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) และปริมาณต่ำสุดของการตรวจวัด (LOQ) เท่ากับ 0.001 และ 0.003 M ตามลำดับ ผลการศึกษาความแม่นยำพบว่าร้อยละการได้กลับคืน (%recovery) มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 91.73±19.17 ถึง 100.52±8.48 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยมีร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและการวิเคราะห์ระหว่างวันเท่ากับ 3.69–13.18 และ 3.71–14.61 %RSD ตามลำดับ นำอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษที่พัฒนาขึ้นมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณของกรดแอสซิติคในตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดจำนวน 7 ตัวอย่างที่ซื้อจากร้านค้าจำหน่ายผลิตภัณฑ์ชุมชนในพื้นที่คาบสมุทรมหาสมุทรสงขลา พบว่า สามารถตรวจพบปริมาณของกรดแอสซิติคในช่วง 2.47±0.62 ถึง 3.60±0.73%w/v โดยเมื่อเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีการทดสอบด้วยอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษกับผลการวิเคราะห์จากศูนย์บริการ

ตรวจสอบและรับรองมาตรฐาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ .05

คำสำคัญ: อุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ การป้อนด้วยทรายาง เซ็นเซอร์วัดสี น้ำส้มสายชูหมัก
ตาลโตนด

Paper-Based Analytical Device for Acetic Acid Detection in Fermented Palmyra Palm Vinegar

Vakin Nunumvong¹, Nicha Prasongchan² and Kosin Teeparuksam^{2*}

¹Mathematics Program and ²Science Program, Department of General Education, Faculty of Liberal Arts,
Rajamangala University of Technology Srivijaya, Songkhla 90000, Thailand

*E-mail: Kosin.t@rmutsv.ac.th

Received: 3 January 2025 Revised: 5 June 2025 Accepted: 6 June 2025

Abstract

Vinegar is a widely-used acidic condiment in culinary applications. Fermented palmyra palm vinegar is a locally produced item prevalent in the southern region. A challenge of fermented palmyra palm vinegar is the inconsistency of its acidity, which is caused by the lack of testing methodologies. This results in variable quality of the vinegar produced in each batch. According to the Ministry of Public Health Announcement (No. 204) B.E. 2543 regarding vinegar, the standard for fermented vinegar requires an acetic acid content of no less than 4 g/100 mL or 4%w/v. Therefore, there must be a method for analyzing the acetic acid content to control the quality of fermented vinegar. This research developed an analytical device for measuring the amount of acetic acid, which can indicate the level of sourness. The analytical method relies on the principle of the limiting reagent in the titration process. The reaction is observed through the color change of the indicator on the paper based analytical device (PAD). Smartphones were used to capture images, which were then interpreted as varying intensities of red, green, blue, and gray. Under optimum condition, the paper-based analytical device showed a linear measurement range of 0.001 to 0.06 M. The linear relationship was $y = 1591.7x + 0.4772$, achieving a correlation coefficient (r) of 0.9911. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were 0.001 and 0.003 M, respectively. Accuracy assessment indicated percentage recoveries (%recovery) ranging from 91.73±19.17 to 100.52±8.48%, in alignment with established guidelines. Intraday and inter-day analysis exhibited relative standard deviation percentages (%RSD) of 3.69–13.18% and 3.71–14.61% RSD, respectively. We procured seven samples of fermented palmyra palm vinegar from a local community store in the Sathing Phra Peninsula, Songkhla Province, to practically apply the developed PAD. The analysis revealed

an acetic acid concentration of 2.47 ± 0.62 to $3.60 \pm 0.73\%$ w/v. Interestingly, a comparison of these results with those from the Center of Measurement and Standard Accreditation at the Faculty of Science, Prince of Songkla University, revealed no significant differences at the .05 significance level.

Keywords: Paper-based analytical device, Rubber stamping, Colorimetric sensor, Fermented vinegar, Palmyra palm

บทนำ

น้ำส้มสายชูเป็นเครื่องปรุงรสเปรี้ยวที่นิยมใช้สำหรับการปรุงอาหาร น้ำส้มสายชูที่มีจำหน่ายทั่วไปในท้องตลาดนั้นมีด้วยกันหลายชนิด ได้แก่ น้ำส้มสายชุกลิ่น ซึ่งได้จากการกลั่นแอลกอฮอล์ที่เกิดจากการหมักผลไม้หรือผักที่มีน้ำตาล น้ำส้มสายชูเทียม ใช้กรดแอซิดิกมาเจือจางให้มีรสเปรี้ยวโดยจะมีสีใสคล้ายน้ำส้มสายชุกลิ่น และ น้ำส้มสายชูหมัก เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักผักหรือผลไม้ด้วยจุลินทรีย์ (Wongsudaluk and Nuniem, 2013) การผลิตน้ำส้มสายชูหมักเป็นภูมิปัญญาท้องถิ่น ที่มีรสชาติที่เป็นเอกลักษณ์ ผลิตจากวัตถุดิบ เช่น น้ำตาลโตนด (Srisawas *et al.*, 2002) น้ำตาลจากต้นจาก (Chaisom and Pethuan, 2018) กล้วยน้ำว่า (Sornsanit *et al.*, 2022) แอปเปิ้ล (Kongwan, 2008) เงาะ (Ninlanon *et al.*, 2013) เปลือกและกากส้ม (Wongsudaluk and Nuniem, 2013) กากสาโท (Ruansung, 2021) น้ำส้มสายชูหมักที่ผลิตในพื้นที่ภาคใต้โดยเฉพาะในจังหวัดสงขลา ได้แก่ น้ำส้มสายชูหมักตาลโตนด ได้จากกระบวนการหมักน้ำตาลโตนดซึ่งเป็นผลผลิตที่มีอยู่เป็นจำนวนมากในเขตลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา ตอนล่างบริเวณคาบสมุทรสทิงพระ เกษตรกรนำน้ำตาลโตนดมาหมักในไหหรือโอ่งเป็นเวลา 2–3 เดือน เพื่อให้ได้น้ำส้มสีขาวขุ่น รสเปรี้ยว และจำหน่ายในตลาดชุมชน น้ำส้มสายชูหมักมีกลิ่นเฉพาะ

ตามวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก และมียุงประกอบที่สำคัญ คือ กรดน้ำส้มหรือกรดแอซิดิก (acetic acid) ซึ่งเป็นสารที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักและทำให้น้ำส้มสายชูหมักมีรสเปรี้ยว กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดโดยใช้ภูมิปัญญาชาวบ้านพบว่าน้ำส้มสายชูหมักมีความเปรี้ยวไม่คงที่เนื่องจากเกษตรกรประเมินความเปรี้ยวโดยใช้วิธีการชิม ทำให้คุณภาพของน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดที่ผลิตได้ในแต่ละรอบมีความเปรี้ยวที่แตกต่างกัน ดังนั้นหากวิเคราะห์ปริมาณของกรดแอซิดิกที่เกิดขึ้นในการหมัก จะสามารถควบคุมความเปรี้ยว ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู กำหนดมาตรฐานของน้ำส้มสายชูหมักว่าต้องมีปริมาณกรดแอซิดิกไม่น้อยกว่า 4 กรัม/100 มิลลิลิตร หรือร้อยละ 4 โดยมวลต่อปริมาตร (%w/v) ที่ 27 องศาเซลเซียส และต้องไม่มีกรดกำมะถัน (sulfuric acid) หรือกรดแร่อิสระอื่นเจือปนอยู่

การวิเคราะห์ปริมาณของกรดแอซิดิกในตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมัก โดยอาศัยวิธีการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ เช่น โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography: HPLC) (Mohamed *et al.*, 2022) และแก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography: GC) (Wang *et al.*, 2024) เป็นเทคนิคที่สามารถใช้ในการวิเคราะห์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ให้ผลการวิเคราะห์ที่แม่นยำ

ยำ แต่มีข้อจำกัดคือเครื่องมือมีราคาแพงและต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ สำหรับประเทศไทย สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม ได้กำหนดวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณของกรดแอสติคในน้ำส้มสายชู ตามวิธี AOAC (2016) 930.35 (J) (Ministry of Industry, 2020) ซึ่งเป็นวิธีการไทเทรตโดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ด้วยวิธีการไทเทรตยังมีข้อจำกัด เช่น ใช้สารตัวอย่างปริมาณมากและต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญที่มีความชำนาญ โดยผู้ดำเนินการไทเทรตจำเป็นต้องมีทักษะและประสบการณ์ในการอ่านจุดยุติและการคำนวณ

การวิเคราะห์ด้วยวิธีการตรวจวัดทางสี (colorimetric sensor) เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นวิธีการที่สามารถทำได้ง่าย มีราคาถูก และไม่จำเป็นต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ (Balbach *et al.*, 2021; Namwong *et al.*, 2018; Nunumawong *et al.*, 2024, Lantam *et al.*, 2020) การตรวจวัดทางสี อาศัยการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อสารตัวอย่างเกิดปฏิกิริยาหรืออันตรกิริยากับรีเอเจนต์ และสามารถตรวจวัดการเปลี่ยนสีโดยวิธีต่าง ๆ เช่น เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี (Chaisiwamongkol *et al.*, 2022; Teeparuksapun *et al.*, 2019; Lantam *et al.*, 2020) หรือการใช้เครื่องสแกนเนอร์ร่วมกับโปรแกรมอ่านค่าสี (Uhlíkova *et al.*, 2023) และจากความก้าวหน้าทางเทคโนโลยี จึงมีการพัฒนาถ่ายภาพด้วยสมาร์ทโฟนภายใต้กล้องควบคุมแสงและนำภาพที่ได้มาวิเคราะห์ค่าสีโดยใช้แอปพลิเคชันที่ติดตั้งร่วมกับสมาร์ทโฟน ทำให้สามารถวิเคราะห์ค่าความเข้มสีในรูปแบบต่าง ๆ เช่น ค่าความเข้มสีแดง (red) สีเขียว (green) สีน้ำเงิน (blue) สีเทา (gray) (Choo-

dum *et al.*, 2016; Jarujamrus *et al.*, 2018) ซึ่งเป็นวิธีการวิเคราะห์ที่ได้รับความนิยมในปัจจุบัน การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้มีวิธีการวัดโดยใช้รูปแบบและอุปกรณ์ที่แตกต่าง เช่น การใช้คิวเวต (Teeparuksapun *et al.*, 2019) หลอดขนาดเล็ก (Nunumwong *et al.*, 2024) ไมโครเฟลทที่มีหลุมใส่ตัวอย่างจำนวน 96 ช่อง (Chaisiwamongkol *et al.*, 2024) การวิเคราะห์บนกระดาษ (Kumpoo *et al.*, 2020)

อุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ (paper-based analytical device: PAD) เป็นอุปกรณ์ในการวิเคราะห์รูปแบบใหม่ ใช้กระดาษเป็นวัสดุหลักในการสร้าง สามารถกำหนดขอบเขตบริเวณตรวจวัดได้โดยสร้างส่วนกันที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic barrier) ให้เป็นรูปแบบต่าง ๆ จะทำให้บริเวณที่เหลือซึ่งเป็นกระดาษที่มีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) ใช้เป็นบริเวณตรวจวัดได้ (Suwanatnai and Sameenoi, 2016) ทั้งนี้มีการศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีดังกล่าวให้เป็นทางเลือกใหม่สำหรับการตรวจวิเคราะห์สารที่สนใจโดยการประยุกต์การวิเคราะห์แบบดั้งเดิมมาวิเคราะห์บนกระดาษโดยใช้รีเอเจนต์และตัวอย่างในปริมาณน้อย ปัจจุบันพบว่ากระดาษกรอง (filter paper) มีคุณสมบัติที่ดีที่สามารถนำมาใช้สร้างเป็นอุปกรณ์ในการตรวจวัดได้ เทคนิคที่ใช้ในการสร้าง PAD มีหลายเทคนิค เช่น การพิมพ์ด้วยแสง (photolithography) การพิมพ์ด้วยเครื่องพลอตเตอร์ (plotter) การสลักด้วยการฉีดหมึก (ink jet etching) การตัดกระดาษ (paper cutting) การพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (wax printing) การพิมพ์ด้วยน้ำหมึกฉีด (ink jet printing) การพิมพ์สกรีน (screen printing) (Duenchay and Dungchai, 2014) และการ

ปั๊มด้วยตรายาง (rubber stamping) (Mathawe-sansurn *et al.*, 2020)

การสร้าง PAD ด้วยเทคนิคการปั๊มด้วยตรายาง เป็นวิธีที่สามารถทำได้ง่ายในขั้นตอนเดียว มีราคาถูก และใช้เวลาสั้น โดยใช้ตรายางที่มีลักษณะเป็นแผ่นยางที่แกะลวดลายหรือรูปแบบต่าง ๆ ไว้ สามารถใช้พิมพ์ลงบนวัสดุต่าง ๆ เช่น กระดาษกรองโดยใช้หมึกที่ไม่สามารถลบออกได้ (indelible ink) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นหมึกกันน้ำ

Curto *et al.* (2013) พัฒนาวิธีการสร้าง PAD สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสโดยใช้การปั๊มด้วยตรายางที่สร้างจาก polydimethylsiloxane (PDMS) ที่ออกแบบเป็นรูปวงกลมและทำการพิมพ์หมึกที่ไม่สามารถลบออกได้ ลงบนกระดาษกรอง (Whatman® เบอร์ 1 และ 595) โดยในการพิมพ์นั้นจะกดตรายางลงบนแผ่นที่มีหมึกที่ไม่สามารถลบออกได้จำนวน 3 ครั้ง และปล่อยให้ตรายางสัมผัสกับอากาศเป็นเวลา 5 วินาที เพื่อให้กำจัดฟองอากาศที่เกาะบนตรายาง จากนั้นจึงกดตรายางลงบนกระดาษกรองเป็นเวลา 3 วินาที โดยไม่ต้องเพิ่มแรงจากภายนอก วิธีสร้าง PAD ที่นำเสนอนี้เป็นวิธีการที่สามารถทำได้รวดเร็ว ใช้เวลาน้อยกว่า 10 วินาที

Mathawe-sansurn *et al.* (2020) พัฒนาการสร้าง μ PAD บนกระดาษกรอง (Whatman® เบอร์ 1) ด้วยเทคนิคการปั๊มด้วยตรายางสำหรับการวิเคราะห์ creatinine ในปัสสาวะ โดยออกแบบตรายางให้มีพื้นที่ที่เกิดปฏิกิริยาแบ่งเป็นโซนต่าง ๆ ได้แก่ โซนสำหรับการโหลดตัวอย่าง (sample zone) โซนสำหรับการโหลดรีเอเจนต์ (reagent zone) และโซนสำหรับการตรวจวัด (detection zone) แต่ละ μ PAD มีขนาด 50×50 mm และมีโซนต่าง ๆ จำนวน 8 โซน ตรายางได้รับการออกแบบให้มี

ช่องสำหรับเติมน้ำหมึก (Horse No. 2, Nan Mee Industry, Thailand) ในการพิมพ์กดตรายางลงบนกระดาษกรองเป็นเวลา 5 วินาที โดยไม่เพิ่มแรงจากภายนอก ด้วยเทคนิคนี้สามารถสร้าง μ PAD ที่มีการแยกส่วนที่ชอบน้ำและส่วนที่ไม่ชอบน้ำ และนำไปใช้ในการวิเคราะห์ creatinine ในปัสสาวะโดยถ่ายภาพ μ PAD เมื่อเกิดปฏิกิริยาระหว่าง creatinine และรีเอเจนต์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีเป็นสีส้ม และแปลผลเป็นอัตราส่วนระหว่างความเข้มสีแดงและความเข้มสีเขียว (R/G ratio) วิธีที่พัฒนามีช่วงความเป็นเส้นตรง $50\text{--}1,000\text{ mg L}^{-1}$ ($R^2 > 0.99$) สามารถวัดความเข้มข้นของ creatinine ในตัวอย่างปัสสาวะได้อย่างแม่นยำและสอดคล้องกับวิธีมาตรฐาน (HPLC)

จากงานวิจัยข้างต้นจะเห็นได้ว่าการสร้าง PAD ด้วยวิธีการปั๊มด้วยตรายาง เป็นวิธีที่ทำได้ง่าย รวดเร็ว ราคาถูก และสามารถประยุกต์ใช้ในการพัฒนาเป็นวิธีการตรวจวัดปริมาณของสารที่สนใจต่าง ๆ เมื่อใช้ร่วมกับเทคนิคการตรวจวัดสี ซึ่งเป็นวิธีที่ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางและเป็นที่ยอมรับในปัจจุบัน (Martinez *et al.*, 2007)

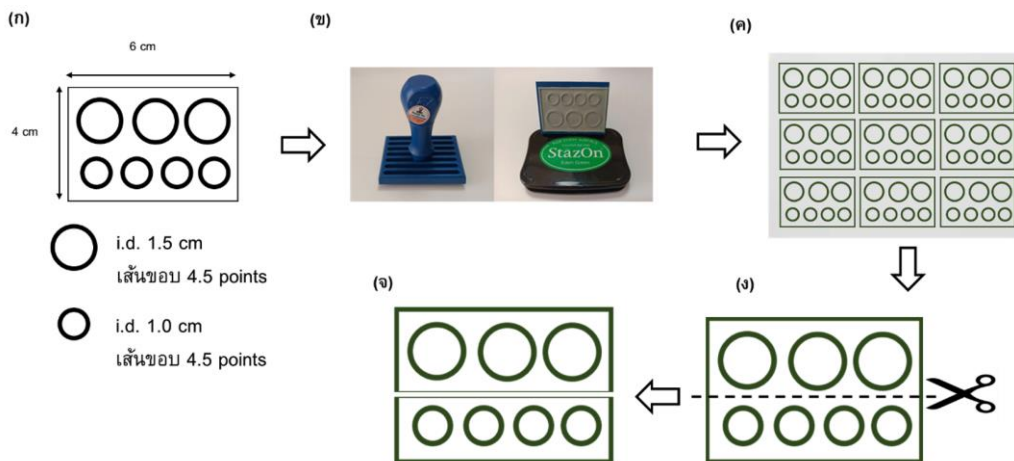
งานวิจัยนี้นำเสนอการพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณของกรดแอสซิติคในตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนด โดยประยุกต์ใช้ PAD ที่สร้างขึ้นด้วยเทคนิคการปั๊มด้วยตรายางที่มีการออกแบบรูปแบบ (pattern) ของการวัดบนกระดาษกรอง การวิเคราะห์อาศัยหลักการของสารจำกัดปริมาณของการไทเทรต โดยตรวจวัดสีของอินดิเคเตอร์ (ฟีนอล์ฟทาลีน) ที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อกรดแอสซิติค (CH_3COOH) ทำปฏิกิริยากับโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) และใช้สมาร์ทโฟนในการถ่ายภาพสีของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแล้วแปลเป็นความเข้มสีผ่านโปรแกรม/แอปพลิเคชันและใช้

เป็นสัญญาณของการวิเคราะห์

วิธีการดำเนินการวิจัย

การสร้างอุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษ
ออกแบบ PAD โดยใช้โปรแกรม Power

Point รูปแบบของ PAD (ภาพที่ 1) มีขนาด 6×4 cm และมีพื้นที่สำหรับการเกิดปฏิกิริยา (reaction zone) 2 ขนาด คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 1.5 และ 1.0 เซนติเมตร โดยทั้งสองแบบจะมีความหนาของเส้นรอบวงขนาด 4.5 point จากนั้นนำแบบที่ได้ไปทำตรงยาง (Pump Ku, เชียงใหม่ ประเทศไทย) และนำมาปั๊มบนกระดาษกรอง Grade 4 ยี่ห้อ Whatman® (Cat. No. 1004–917) ใช้หมึกที่ไม่ละลายน้ำสีเขียว (StazOn®, Japan) เพื่อสร้าง reaction zone กำหนดขอบเขตโดยส่วนที่ไม่ชอบน้ำ การปั๊มด้วยตรายางดัดแปลง



ภาพที่ 1 (ก) การออกแบบ PAD ด้วยโปรแกรม PowerPoint (ข) ตรายางสำหรับการสร้าง PAD โดยใช้หมึกกันน้ำ (ค) PAD ที่ปั๊มบนกระดาษกรอง Grade 4 (ง) ตัดด้วยกรรไกร และ (จ) PAD ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 1.5 (บน) และ 1.0 cm (ล่าง) ตามลำดับ

การออกแบบกล่องควบคุมแสงสำหรับการ
การถ่ายรูปด้วยสมาร์ทโฟน

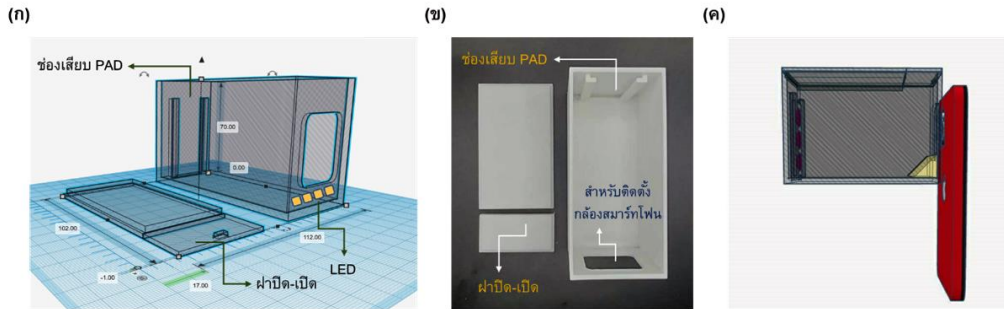
ภาพที่ 2(ก) แสดงการออกแบบกล่องควบคุมแสงสำหรับการถ่ายรูปด้วยมือถือสมาร์ทโฟน

จากวิธีของ Curto *et al.* (2013) โดยเริ่มต้นจากการกดตรายางลงบนแท่นปั๊มหมึกกันน้ำจำนวน 3 ครั้ง และปล่อยให้ตรายางสัมผัสกับอากาศเป็นเวลา 5 วินาที เพื่อกำจัดฟองอากาศที่เกาะบนตรายาง จากนั้นจึงกดตรายางลงบนกระดาษกรองเป็นเวลา 5 วินาทีแล้วยกออก จะตัดได้ PAD 2 ขนาด ในงานวิจัยนี้ใช้ PAD ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 cm ตลอดการทดลอง สำหรับตรายางเมื่อปั๊มเสร็จแล้ว ล้างด้วยน้ำยาทำความสะอาดหน้ายาง (StazOn®, Japan) นำ PAD ขนาด 1.5 cm มาทดสอบด้วยการหยดสารละลายที่ได้จากการผสมกรดแอซิติก (0.03 M) ฟีนอล์ฟทาลีน (0.5%w/v) และโซเดียมคาร์บอเนต (0.03 M) ที่อัตราส่วน 1:1:1 เพื่อดูการกระจายตัวของของเหลวบนกระดาษและทดสอบปริมาตรที่เหมาะสมของของเหลวที่ใช้ในการหยด โดยศึกษาที่ปริมาตร 1–15 μ L

กล่องมีขนาด กว้าง×ยาว×สูง เท่ากับ 46×102×70 mm ตามลำดับ ซึ่งพิมพ์ด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติ (ET4, Anet, Shenzhen, China) โดยใช้เส้นพลาสติกขาว (PLA+, 1.75 mm) ภายในติดตั้งหลอด

LED ซึ่งดัดแปลงจาก LED USB (Input: DC 5 V, 1.2 Watts, warm white) และมีช่องสำหรับการใส่ PAD ภาพที่ 2(ข) แสดงกล่องควบคุมแสงที่ได้จากการพิมพ์ด้วยเครื่องพิมพ์สามมิติ สำหรับ

การถ่ายภาพ PAD กล้องควบคุมแสงถูกติดตั้งเข้ากับสมาร์ทโฟนโดยใช้เทปกาวยึดติดในภาพที่ 2(ค)



ภาพที่ 2 (ก) การออกแบบกล่องควบคุมแสงสำหรับการถ่ายภาพ PAD (ข) กล่องควบคุมแสงที่ได้จากการพิมพ์ด้วยเครื่องพิมพ์ 3 มิติ และ (ค) การติดตั้งกล่องควบคุมแสงกับสมาร์ทโฟน

การออกแบบแอปพลิเคชันสำหรับการถ่ายภาพและการวิเคราะห์ค่าสี

นำภาพถ่ายของ PAD ด้วยสมาร์ทโฟนมาแปลผลเป็นค่าสี โดยใช้แอปพลิเคชันที่พัฒนาโดย app inventor ซึ่งเป็นเครื่องมือในการพัฒนาแอปพลิเคชันสำหรับสมาร์ทโฟนที่สร้างโดย Massachusetts Institute of Technology (MIT) (Wolber *et al.*, 2016; Yarosh *et al.*, 2015) โดยมีลักษณะเป็นบล็อกคำสั่ง (block-based programming) ดังในภาพที่ 3 (Grover and Pea, 2013)



ภาพที่ 3 บล็อกคำสั่งสำหรับการออกแบบแอปพลิเคชันแปลผลค่าสี

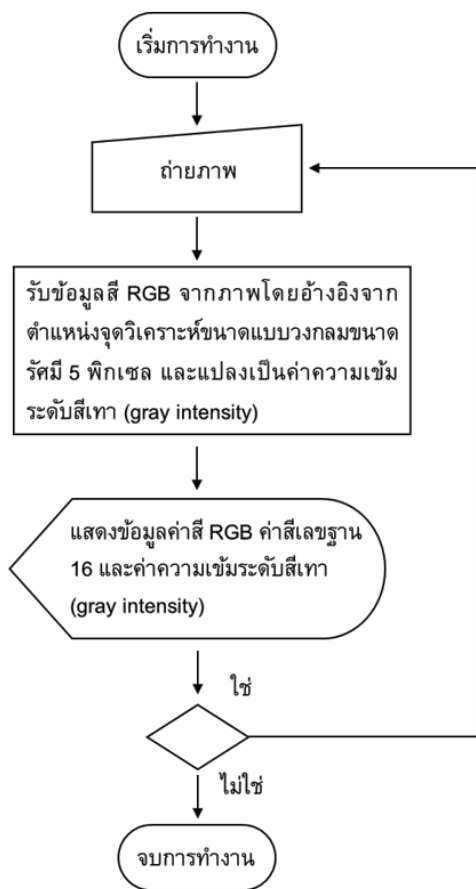
การทำงานของแอปพลิเคชันสำหรับการถ่ายภาพและการวิเคราะห์ค่าสีเริ่มต้นการทำงานจากการถ่ายภาพ จากนั้นรับค่า RGB จากภาพ

ถ่ายโดยอ้างอิงจากจุดวิเคราะห์สีแบบวงกลมขนาดรัศมี 5 พิกเซล (1.322 mm) และแปลงค่า RGB ให้อยู่ในรูปแบบของค่าความเข้มสีเทา (gray intensity) ด้วยสมการ $(0.299R) + (0.587G) + (0.114B)$ โดย RGB คือ ค่าความเข้มแสงสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงินตามลำดับ แล้วจึงแสดงผลค่า RGB ค่า Hex และค่า grayscale ขั้นตอนการทำงานของแอปพลิเคชันสำหรับการถ่ายภาพและการวิเคราะห์ค่าสีแสดงดังในภาพที่ 4

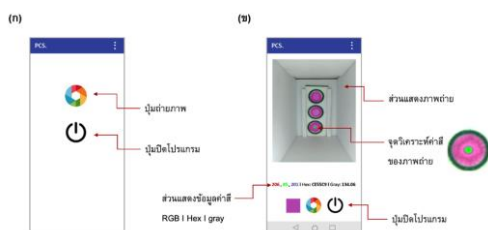
หน้าจอการทำงานของแอปพลิเคชันสำหรับการถ่ายภาพและการวิเคราะห์ค่าสี ประกอบไปด้วย 2 ส่วน ได้แก่ หน้าจอหลักทำหน้าที่แสดงเมนูการทำงานของโปรแกรมดังภาพที่ 5(ก) ประกอบด้วยปุ่มเปิดโปรแกรมและปุ่มถ่ายภาพและหน้าจอประมวลผลภาพทำหน้าที่ในการแสดงผลข้อมูลของค่าสีจากภาพถ่ายดังภาพที่ 5(ข)

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสม

ปริมาตรของการหยดรีเอเจนต์: ปริมาตรที่ PAD สามารถรองรับได้ในพื้นที่สำหรับการเกิดปฏิกิริยา เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาและ



ภาพที่ 4 แผนผังลำดับการทำงานของของแอปพลิเคชันสำหรับการถ่ายภาพและการวิเคราะห์ค่าสี

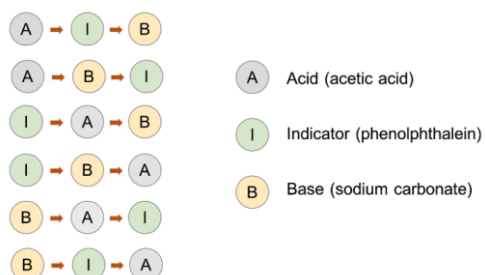


ภาพที่ 5 (ก) หน้าจอหลัก และ (ข) หน้าจอประมวลผลภาพ

การตรวจวัดความเข้มสี โดยขั้นตอนแรกศึกษาปริมาณของการหยดสารละลายบน PAD โดยใช้สารละลายที่ได้จากการผสมฟีนอล์ฟทาลีน (0.5% w/v, จำนวน 200 μ L) กรดแอซิดิก (0.03 M, จำนวน

200 μ L) และโซเดียมคาร์บอเนต (0.1 M, จำนวน 200 μ L) ศึกษาปริมาตรของการหยด 1–20 μ L ลงบน PAD และรอเวลา 1 นาที จากนั้นเลือกปริมาตรที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากการเคลื่อนที่ของสารละลายในขอบเขตของ PAD เนื่องด้วยในการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาของกรดแอซิดิก โซเดียมคาร์บอเนต โดยมีฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาบน PAD โดยตรง ในขั้นตอนต่อไปทดสอบปริมาตรของการหยดโดยใช้สารละลายทั้งสามชนิดบน PAD โดยตรง มีลำดับของการหยดคือฟีนอล์ฟทาลีน กรดแอซิดิก และโซเดียมคาร์บอเนต มีปริมาตรของการหยดของสารละลายแต่ละชนิด 1–15 μ L

ลำดับของการหยดรีเอเจนต์: เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมของปริมาตรในการหยด นำสภาวะดังกล่าวมาทดสอบลำดับของการหยดรีเอเจนต์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาโดยใช้ ฟีนอล์ฟทาลีน (0.5% w/v) กรดแอซิดิก (0.03 M) และโซเดียมคาร์บอเนต (0.1 M) หยดรีเอเจนต์ ตามลำดับ ดังในภาพที่ 6 และถ่ายภาพเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงสีของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบน PAD



ภาพที่ 6 ลำดับของการหยดรีเอเจนต์เพื่อศึกษาการเกิดปฏิกิริยาของกรดแอซิดิกและโซเดียมคาร์บอเนต โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

การเลือกความเข้มสี: ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดแอซิดิก (0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09 และ 0.10

M) และโซเดียมคาร์บอเนต (0.03 M) โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมของปริมาตรในการหยดและลำดับของการหยดรีเอเจนต์ และเวลาในการเกิดปฏิกิริยา 3 นาที ถ่ายภาพสีของอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษที่ได้จากการเกิดปฏิกิริยาของกรดแอซิดิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และแปลผลเป็นค่าความเข้มสี RGB และ gray scale โดยใช้แอปพลิเคชันที่พัฒนาขึ้น แต่ละความเข้มข้นของกรดแอซิดิกทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าความเข้มสีมาสร้างกราฟมาตรฐานเทียบกับความเข้มข้นของกรดแอซิดิก เพื่อเลือกความเข้มสีที่เหมาะสมที่ใช้ในการทดลอง โดยมีเกณฑ์ในการพิจารณาคือเลือกจากความเข้มสีที่ให้ความเป็นเส้นตรงที่มีความชันของกราฟสูง (ความไวในการวิเคราะห์สูง)

ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต: ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต โดยเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ได้แก่ 0.02, 0.03 และ 0.04 M นำมาทดสอบกับสารละลายมาตรฐานกรดแอซิดิกที่ความเข้มข้น 0.00, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09 และ 0.10 M ใช้ PAD อ่านค่าความเข้มของสีหลังจากการเกิดปฏิกิริยา 3 นาที โดยการถ่ายรูปด้วยสมาร์ทโฟนและวิเคราะห์ด้วยแอปพลิเคชัน (ทำการซ้ำทดลอง 3 ครั้ง) และเปรียบเทียบค่าความไวในการวิเคราะห์ของแต่ละการทดลองและนำเสนอที่เหมาะสมไปใช้ในการทดลองต่อไป

ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสี: เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่มีความเข้มข้นที่สภาวะที่เหมาะสม นำมาทดสอบกับสารมาตรฐานกรดแอซิดิก อ่านค่าความเข้มของ

สีโดยการถ่ายรูปด้วยสมาร์ทโฟนและวิเคราะห์ด้วยแอปพลิเคชัน ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที ตามลำดับ (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

การตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะของวิธี

ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ: เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอซิดิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ตั้งแต่ 0–1.0 M ตรวจวัดสีที่เปลี่ยนแปลงไป บน PAD สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่าสีที่เปลี่ยนแปลงไป แสดงค่าสมการเส้นตรงและสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient: r) มีค่าเข้าใกล้ 1.000

ขีดต่ำสุดของการตรวจพบและขีดต่ำสุดของการตรวจวัด: ศึกษา LOD และ LOQ โดยสร้างกราฟมาตรฐาน ($n = 7$) จากนั้นจึงคำนวณ LOD และ LOQ โดยพิจารณาจากอัตราส่วนระหว่างค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน y ต่อความชันของกราฟมาตรฐาน ดังสมการที่ (1) และ (2) ตามลำดับ

$$\text{LOD} = 3S_a/b \quad \text{--- (1)}$$

$$\text{LOQ} = 10S_a/b \quad \text{--- (2)}$$

เมื่อ S_a คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน y และ b คือความชันของกราฟมาตรฐาน

ความแม่นยำและความเที่ยง: ศึกษาโดยใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดที่ทราบความเข้มข้นของกรดแอซิดิกและเติมสารมาตรฐานกรดแอซิดิกความเข้มข้น 0.5 M เจือจางและวิเคราะห์เพื่อให้ได้สัญญาณของการวิเคราะห์อยู่ในช่วงของความเป็นเส้นตรงโดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณความเข้มข้นที่วัดได้เทียบเป็นเปอร์เซ็นต์กับความเข้มข้นที่ทราบค่า รายงานเป็นร้อยละการได้กลับคืน (%recovery)

โดยให้เกณฑ์การยอมรับ %recovery อยู่ในช่วง 90–108%

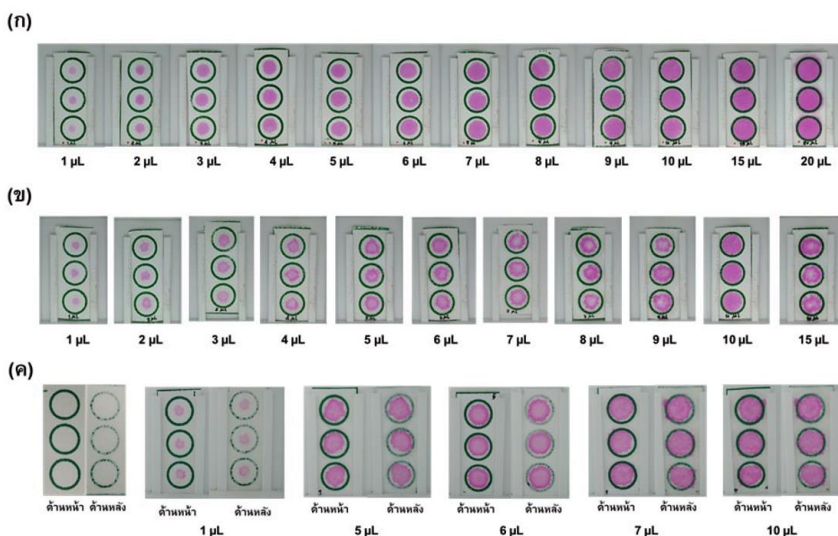
สำหรับการศึกษาความเที่ยงประกอบ-ด้วยการศึกษาความสามารถในการทวนซ้ำ (repeatability) ของการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ ในสภาวะเดียวกัน โดยใช้วิธีเดียวกันในห้องปฏิบัติการเดียวกัน และผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน และการศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ของการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ ในสภาวะเดียวกัน ในเวลาที่แตกต่างกัน (วิเคราะห์เป็นระยะเวลา 5 วัน) ต่างห้องปฏิบัติการกันและผู้วิเคราะห์ต่างกัน โดยในการศึกษาความเที่ยงนั้นจะทำการสร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้กรดแอสติคเข้มข้น 0.001, 0.02 และ 0.06 M แล้วนำมาคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation; RSD) โดยให้เกณฑ์การยอมรับ %RSD ต้องไม่เกิน $\pm 15\%$

การวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสติคในตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักจากตาลโตนด: เก็บตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักจากตาลโตนดจากตลาดชุมชนในพื้นที่ คาบสมุทรสทิงพระ (อำเภอสิงหนคร และอำเภอสทิงพระ) จำนวน 7 ตัวอย่าง และนำมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและวิเคราะห์ปริมาณของกรดแอสติคด้วย PAD ที่พัฒนาขึ้น เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน (AOAC (2016) 930.35 (J))

ผลการทดลอง

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสม

ปริมาตรของการหยดรีเอเจนต์: จากการศึกษปริมาตรของการหยดสารละลายที่ได้จากการผสมของฟีนอล์ฟทาลีน กรดแอสติค และโซเดียมคาร์บอเนต ในอัตราส่วน 1:1:1 โดยศึกษาที่ปริมาตรของการหยด 1–20 μL ลงบน PAD ได้ผลการทดลองดังในภาพที่ 7(ง)

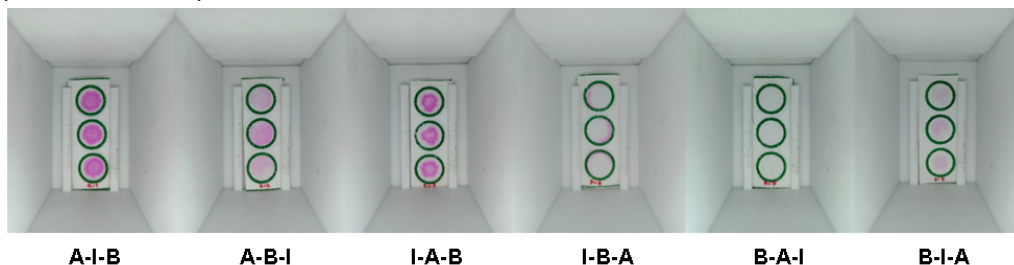


ภาพที่ 7 (ก) ผลการทดสอบปริมาตรของการหยดสารละลายผสมรีเอเจนต์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา ปริมาตรของการหยด 1–20 μL (ข) ผลการทดสอบปริมาตรของการหยดรีเอเจนต์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาบน PAD โดยมีลำดับของการหยดคือฟีนอล์ฟทาลีน กรดแอสติค และโซเดียมคาร์บอเนต ที่ปริมาตรของการหยด 1–15 μL และ (ค) ภาพด้านหน้าและด้านหลังของ PAD แสดงการซึมผ่านของหมึกกันน้ำและการแพร่ของฟีนอล์ฟทาลีน กรดแอสติค และโซเดียมคาร์บอเนต ที่เกิดการทำให้ปฏิกิริยาบน PAD ที่ปริมาตรของการหยด 1, 5, 6, 7 และ 10 μL

จากผลการทดลอง (ภาพที่ 7(ก)) พบว่า ปริมาณของการหยดสารละลาย 1–9 μL สามารถสังเกตการเคลื่อนที่ของสารละลายภายใน reaction zone ของ PAD แต่ยังไม่ได้เต็มพื้นที่ของ reaction zone เมื่อเพิ่มปริมาณของการหยดเป็น 10 μL พบว่ามีการแพร่ของสารละลายบนพื้นผิวของกระดาษเติม reaction zone อย่างไรก็ดีตามปริมาณ 15 และ 20 μL พบว่ามีการแพร่ของตัวทำละลายออกนอกบริเวณ reaction zone จากผลการประเมินเบื้องต้นปริมาณที่เหมาะสมของการหยดสารละลายบน PAD คือ 10 μL อย่างไรก็ตามเนื่องด้วยในการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาของการไทเทรตของกรดแอสติกโดยใช้โซเดียมคาร์บอเนตและฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ เกิดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบน PAD โดยตรง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทดสอบปริมาณเมื่อหยดสารละลายทั้งสามชนิดบน PAD โดยมีลำดับของการหยดคือฟีนอล์ฟทาลีน กรดแอสติก และโซเดียมคาร์บอเนต ซึ่งจากการศึกษาที่ปริมาณของการหยด 1–15 μL ให้ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 7(ข) ผลจากการทดลองพบว่าปริมาณที่เหมาะสมของการหยดคือ 6 μL ให้ผลของการเกิดสีของปฏิกิริยาและการแพร่กระจายของสารละลายดีที่สุดและจำกัดอยู่ในวงของ reaction zone สำหรับที่ปริมาณของการหยด 7 μL ขึ้นไป พบว่าเมื่อหยดฟีนอล์ฟทาลีน 7 μL กรดแอสติก 7 μL และโซเดียมคาร์บอเนต 7

μL โดยเว้นช่วงของการหยด 1 นาที พบว่า มีการแพร่กระจายของสารบางส่วนออกนอกบริเวณ reaction zone ซึ่งอาจเกิดจากการสร้าง PAD โดยใช้หมึกกันน้ำ การซึมของหมึกที่ได้จากการบีบด้วยตรายาง มีบางบริเวณที่น้ำหมึกไม่ได้ซึมผ่านทะลุด้านหลังของกระดาษอย่างสมบูรณ์ดังในภาพที่ 7(ค) จึงทำให้เกิดการแพร่ของสารละลายที่ใช้ในการหยดออกนอกพื้นที่ของ reaction zone เมื่อมีสารละลายที่มากเกินไป หากสารละลายมีการแพร่เกินขอบเขตของ reaction zone ทำให้การวัดผลมีความคลาดเคลื่อน ดังนั้นปริมาณที่เหมาะสมของการหยดคือฟีนอล์ฟทาลีน 6 μL กรดแอสติก 6 μL และโซเดียมคาร์บอเนต 6 μL

ลำดับของการหยดรีเอเจนต์: จากสถานะที่เหมาะสมของปริมาณในการหยดฟีนอล์ฟทาลีน (6 μL) กรดแอสติก (6 μL) และโซเดียมคาร์บอเนต (6 μL) เมื่อนำสภาวะดังกล่าวมาทดสอบลำดับของการหยดรีเอเจนต์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา โดยหยดรีเอเจนต์ทั้ง 3 ชนิดตามลำดับ ดังในภาพที่ 6 และถ่ายภาพเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงสีของปฏิกิริยาจากการทดลองพบว่าลำดับที่เหมาะสมของการหยดคือ I–A–B โดยมีลำดับของการหยดคือ 1) ฟีนอล์ฟทาลีน 2) กรดแอสติก และ 3) โซเดียมคาร์บอเนต ดังในภาพที่ 8 ทั้งนี้พบว่าที่ลำดับการหยด I–B–A, B–A–I, และ B–I–A ไม่สามารถสังเกตการเปลี่ยนสีได้



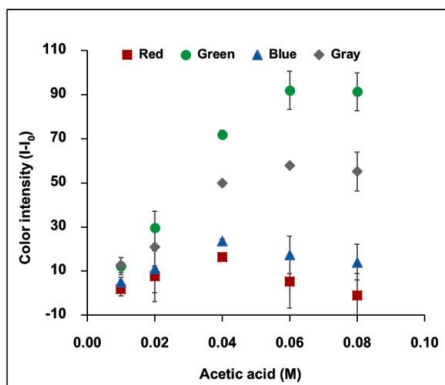
ภาพที่ 8 ผลการทดลองลำดับของการหยดรีเอเจนต์ (A=acetic acid, I = phenolphthalein และ B= sodium carbonate)

การวัดความเข้มสีของปฏิกิริยาบน PAD และการแปลผลค่าสี: เมื่อหยดนอร์ฟาลีน (6 μL) กรดแอซิดิก (6 μL) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และโซเดียมคาร์บอเนต (6 μL) ลงบน PAD และถ่ายภาพด้วยสมาร์ทโฟนในโหมดปิดแฟลชโดยใช้กล้องควบคุมแสง นำภาพถ่ายที่ได้มาแปลผลค่าสีโดยใช้แอปพลิเคชันที่พัฒนาขึ้น โดยกระบวนการแปลผลค่าสี มีขั้นตอนคือ 1) นำภาพถ่ายที่ได้มากำหนดจุดเพื่อวัดค่าสีโดยกำหนดจุดกึ่งกลางของพื้นที่ในการเกิดปฏิกิริยาเป็นวงกลม ซึ่งมีขนาดรัศมี 5 พิกเซล (1.322 mm) 2) คำนวณความเข้มของ gray intensity 3) รายงานผลค่า RGB และ gray intensity ตามลำดับ (ภาพที่ 9(ก)) จากการทดลองพบว่าความเข้มสีเขียวให้กราฟที่

(ก)

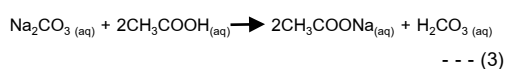


(ข)



ภาพที่ 9 (ก) หน้าจอแสดงผลบนสมาร์ทโฟนของแอปพลิเคชันสำหรับการแปลผลค่าสี และ (ข) สัญญาณของการวิเคราะห์ซึ่งคำนวณจากความเข้มสีต่าง ๆ ลบความเข้มสีของแบล็กของความเข้มสีนั้น ๆ ($I-I_0$) โดยพบว่าความเข้มสีเขียวลบความเข้มสีเขียวของแบล็ก (G-Gb) เป็นสัญญาณที่ให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงต่อความเข้มข้นของกรดแอซิดิก

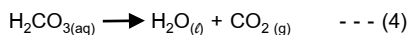
ความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต: การเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดอะซิดิก (CH_3COOH) และโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) แสดงดังสมการที่ (3)



มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงและจะใช้ค่าความเข้มสีเขียวลบความเข้มสีเขียวของแบล็ก (G-Gb) เป็นสัญญาณของการวิเคราะห์ (ภาพที่ 9(ข)) ทั้งนี้เนื่องจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นปรากฏเป็นสีชมพู สีที่ถูกดูดกลืน (หรือสีที่ไม่สะท้อนกลับ) จึงเป็นสีเขียว เนื่องจากสีชมพูเกิดจากการผสมของสีแดงและสีฟ้า ซึ่งในวงจรสี ในขณะที่ตาของมนุษย์จะมองเห็นสีที่สะท้อนกลับมาเป็นสีชมพู สีที่ถูกดูดกลืนจะเป็นสีที่อยู่ตรงข้ามในวงจรสี ซึ่งสีเขียวที่เป็นสีตรงข้ามกับสีแดงและสีฟ้า ดังนั้นความเข้มสีเขียวจึงเป็นความเข้มสีที่เหมาะสมของปฏิกิริยาการไทเทรตระหว่างกรดแอซิดิกและโซเดียมคาร์บอเนต โดยมีฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

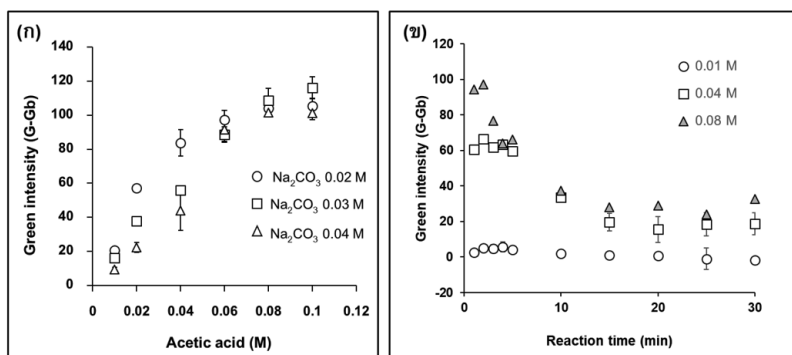
จากปฏิกิริยาที่ 3 พบว่าโซเดียมคาร์บอเนต 1 โมล ทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดแอซิดิก 2 โมล ให้ผลิตภัณฑ์เป็นโซเดียมแอซิเตต (CH_3COONa) และกรดคาร์บอนิก (H_2CO_3) อย่างไรก็ตามกรดคาร์บอนิกไม่เสถียรและสลายตัวกลายเป็นน้ำและคาร์บอนไดออกไซด์ดังในสมการที่ (4) (Namwong

et al., 2018)



ความเข้มข้นของโซเดียมคาร์บอเนตมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาและจะส่งผลต่อความเข้มของสี หากความเข้มข้นของโซเดียมคาร์บอเนตสูงเกินไป จะทำให้กรดแอซิดิกถูกทำปฏิกิริยาจนหมด ทำให้โซเดียมคาร์บอเนตเหลือและจะทำปฏิกิริยากับฟีนอล์ฟทาลีนเกิดเป็นสีชมพู ทำให้ไม่สามารถแยกความเข้มของสีที่เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยากับกรดแอซิดิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้ หรืออาจทำให้ขีดจำกัดของการตรวจวัดมีค่าสูงและช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดปริมาณของกรดแอซิดิกอยู่ในช่วงของความเข้มข้นของกรดแอซิดิกสูงซึ่งอาจส่งผลต่อการวิเคราะห์

ปริมาณกรดแอซิดิกในตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักในทางกลับกันหากความเข้มข้นของโซเดียมคาร์บอเนตต่ำเกินไป โซเดียมคาร์บอเนตถูกทำปฏิกิริยาจนหมด ทำให้ไม่สามารถสังเกตการเปลี่ยนสีได้ ในการทดลองนี้จะทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของของโซเดียมคาร์บอเนต โดยศึกษาที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ได้แก่ 0.02, 0.03 และ 0.04 M และเมื่อนำมาทดสอบกับสารละลายมาตรฐานกรดแอซิดิกที่ความเข้มข้น 0.0, 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.10 M อ่านค่าความเข้มของสีโดยการถ่ายรูปด้วยสมาร์ตโฟนและวิเคราะห์ด้วยแอปพลิเคชัน ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 10(ก)



ภาพที่ 10 (ก) กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงสีเขียวและความเข้มข้นของกรดแอซิดิกในการเกิดปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 0.02, 0.03 และ 0.04 M (ข) ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงสีเขียวและระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.03 M กับสารละลายมาตรฐานกรดแอซิดิกที่ความเข้มข้น 0.01, 0.04 และ 0.08 M ที่เวลาในการเกิดปฏิกิริยา 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที

ภาพที่ 10(ก) แสดงผลการสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 0.02, 0.03 และ 0.04 M ต่อการเกิดปฏิกิริยากับกรดแอซิดิกที่ความเข้มข้น 0.01–0.1 M ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.02

M ให้ช่วงของความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดกรดแอซิดิกในช่วง 0.01–0.04 M ทั้งนี้ที่ความเข้มข้นของกรดแอซิดิกสูงกว่า 0.04 M ค่าความเข้มแสงสีเขียวเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเนื่องจากเมื่อความเข้มข้นของกรดแอซิดิกสูงขึ้น สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตถูกทำให้เป็นกลาง (neutralize) ทำให้สี

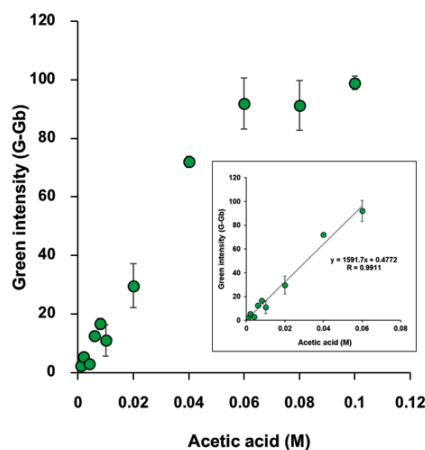
ที่เกิดขึ้นลดลง เมื่อศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้น 0.03 M พบว่ามีช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.01–0.06 M และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9908 และที่ความเข้มข้นของโซเดียมคาร์บอเนต 0.04 M พบว่ามีความเป็นเส้นตรงในช่วง 0.01–0.06 M แต่ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) มีค่าเท่ากับ 0.9819 ดังนั้นในการหาสภาวะที่เหมาะสมของสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตจึงเลือกใช้ความเข้มข้น 0.03 M เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับของปฏิกิริยาเคมีเนื่องจากมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่กว้างและมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) สูงและใช้หาสภาวะที่เหมาะสมของเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเคมีต่อไป

ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยา: เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าความไวของการวิเคราะห์ ในการทดลองนี้เป็นการศึกษาเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของปฏิกิริยาระหว่างสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.03 M กับสารละลายมาตรฐานกรดแอสติกความเข้มข้น 0.01, 0.04 และ 0.08 M ที่เวลา 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที ตามลำดับ ผลการทดลอง (ภาพที่ 10(ข)) พบว่าที่ความเข้มข้นของกรดแอสติก 0.01 M ค่าสัญญาณของการวิเคราะห์เพิ่มขึ้น และคงที่ที่เวลา 5 นาที และค่อย ๆ ลดลงเล็กน้อยเมื่อเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น ที่ความเข้มข้นของกรดแอสติก 0.04 และ 0.08 M พบว่าที่เวลา 2 นาที สัญญาณของการวิเคราะห์สูงสุดและมีแนวโน้มลดลงเมื่อเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นและคงที่อีกครั้งที่เวลา 15–30 นาที ดังนั้นเมื่อพิจารณาเวลาในการเกิดปฏิกิริยา ตามเกณฑ์ความสอดคล้องระหว่างสัญญาณการวิเคราะห์และเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา พบว่าเวลาในการ

เกิดปฏิกิริยาที่เหมาะสมคือ 2 นาที

คุณลักษณะเฉพาะของวิธี

ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ขีดต่ำสุดของการตรวจพบ และขีดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ: การตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะของการวิเคราะห์กรดแอสติกศึกษาโดยใช้ความเข้มข้นของโซเดียมคาร์บอเนต 0.03 M กับสารละลายมาตรฐานกรดแอสติกที่มีความเข้มข้น 0, 0.001, 0.002, 0.004, 0.006, 0.008, 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 M โดยใช้ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสี 2 นาที วิเคราะห์ผลด้วยการถ่ายภาพด้วยสมาร์ทโฟนและแปลผลค่าสีเพื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับของกรดแอสติกกับค่าความเข้มแสงสีเขียว (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสงสีเขียวของการศึกษาโดยใช้ความเข้มข้นของโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.03 M กับสารละลายมาตรฐานกรดแอสติกความเข้มข้น 0–0.1 M ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

จากการทดลองพบว่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงและช่วงความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ (linearity and range) ของการตรวจวัดสีโดยวิเคราะห์ด้วยการถ่ายภาพด้วยสมาร์ทโฟนและแปลผลค่าสีด้วย

แอปพลิเคชัน เมื่อศึกษาจากความเข้มข้นสีเขียวและความเข้มข้นของกรดแอสติกในช่วง 0–0.1 M แสดงให้เห็นว่า มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.001–0.06 M มีสมการเส้นตรง คือ $y = 1591.7x + 0.4772$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9911 ดังในภาพที่ 10 มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.001 และ 0.003 M ตามลำดับ

ความแม่นยำ: จากการศึกษาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์โดยใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดที่ได้ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของกรดแอสติกและการศึกษาเติมสารมาตรฐานกรดแอสติกความเข้มข้น 0.5 M ผลการทดลองแสดงในตาราง 1

ตาราง 1 %recovery ของตัวอย่างจากการวิเคราะห์หาความเข้มข้นกรดแอสติกในตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักตาลโตนด

ตัวอย่าง	กรดแอสติก (M)		ร้อยละการได้กลับคืน
	ความเข้มข้นที่เติม	ความเข้มข้นที่ตรวจพบ	
1	0	0.38±0.03	100.52±7.01
	0.5	0.88±0.03	
2	0	0.41±0.10	91.73±19.17
	0.5	0.87±0.02	
3	0	0.54±0.06	92.98±15.20
	0.5	1.01±0.03	
4	0	0.51±0.08	91.73±15.93
	0.5	0.97±0.04	
5	0	0.47±0.05	100.52±8.48
	0.5	0.98±0.02	

จากตาราง 1 พบว่าเมื่อศึกษาการเติมสารละลายมาตรฐานกรดแอสติกความเข้มข้น 0.5 M ลงในตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดจำนวน 5 ตัวอย่าง พบว่าสามารถตรวจพบความเข้มข้นของกรดแอสติกในตัวอย่างในช่วง 0.38±0.03 ถึง 1.01±0.03 M และเมื่อคำนวณ %recovery พบว่ามีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 91.73±19.17

ถึง 100.52±8.48 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (AOAC international, 2013) แสดงให้เห็นว่าวิธีการทดสอบที่พัฒนาขึ้นมีความแม่นยำ

ความเที่ยง: ผลการศึกษาความสามารถในการทวนซ้ำ (repeatability) จากการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ ในสภาวะเดียวกัน โดยใช้วิธีเดียวกันในห้องปฏิบัติการเดียวกัน และผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน พบว่ามีร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ในช่วง 3.69–13.18% และผลการศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ของการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ ในสภาวะเดียวกัน โดยทำการทดสอบจำนวน 5 วัน ๆ ละ 1 ครั้ง พบว่ามีร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ในช่วง 3.71–14.61% แสดงให้เห็นว่า PAD ที่พัฒนาขึ้นมีความสามารถในการทวนซ้ำตามเกณฑ์ที่ยอมรับได้

การทดสอบการวิเคราะห์ในตัวอย่างจริง: นำอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษที่พัฒนาขึ้นไปตรวจวิเคราะห์ปริมาณของกรดแอสติกในตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดจำนวน 7 ตัวอย่าง ที่ซื้อจากร้านค้าจำหน่ายผลิตภัณฑ์ชุมชนในพื้นที่คาบสมุทสงทิงพระ จังหวัดสงขลา จากการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพพบว่าน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดมีลักษณะขาวขุ่นและบางผลิตภัณฑ์อาจมีสีปนน้ำตาลเนื่องจากอาจมีการเติมน้ำตาลเคี้ยวเพื่อเพิ่มรสชาติ จำหน่ายโดยบรรจุในขวดน้ำดื่มขนาด 1.5 ลิตร ราคาขวดละ 20–30 บาท เมื่อนำตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดมาวิเคราะห์ค่าสี (ตาราง 2) พบว่า สีที่ได้จากตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดในแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกัน โดยขึ้นอยู่กับกระบวนการหมักและวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก จากการที่ตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดมีความขุ่นและมีสีที่แตกต่าง

ตาราง 2 ค่าสี L*a*b* ของตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักตาล-
โตนดที่ซื้อจากร้านค้าจำหน่ายผลิตภัณฑ์ชุมชนใน
พื้นที่คาบสมุทรสงขลา จังหวัดสงขลา

ตัวอย่าง	ค่าสี	ผลการทดลอง				
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	SD
1	L*	31.3	31	30.9	31.1	0.19
	a*	5.3	5.1	5.6	5.3	0.23
	b*	2.8	2.5	2.8	2.7	0.15
2	L*	27.2	27.1	27.1	27.1	0.05
	a*	5.3	5.5	5.3	5.4	0.10
	b*	4.5	4.5	4.3	4.4	0.10
3	L*	30.4	30.3	29.9	30.2	0.24
	a*	5	5.3	5.7	5.3	0.31
	b*	3.8	3.5	3.4	3.6	0.19
4	L*	27.7	28.2	28.1	28.0	0.24
	a*	5.1	5.2	4.9	5.1	0.14
	b*	2.9	2.8	3.6	3.1	0.39
5	L*	26.5	26.7	27	26.7	0.23
	a*	4.9	5.2	5.2	5.1	0.15
	b*	3.6	3.7	3.5	3.6	0.09
6	L*	27.4	28.2	28.6	28.1	0.55
	a*	5.3	5.1	4.8	5.1	0.23
	b*	3.2	2.7	2.3	2.7	0.40
7	L*	27.3	27.7	27.3	27.4	0.21
	a*	5.4	5.4	4.9	5.2	0.26
	b*	3.5	3.2	3.3	3.3	0.14

กัน ดังนั้นในการวิเคราะห์ปริมาณของกรดแอซิดิก
จึงต้องทำการกรองตัวอย่างด้วยไนลอนเมมเบรน
(nylon membrane) ขนาด 0.45 ไมครอน (μm)
และต้องเจือจางตัวอย่าง 30 เท่าก่อนวิเคราะห์
ผลการวิเคราะห์ปริมาณของกรดแอซิดิกในตัวอย่าง
น้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดจำนวน 7 ตัวอย่าง
(ตาราง 3) พบว่าสามารถตรวจพบปริมาณ
ของกรดแอซิดิกในช่วง 2.47 ± 0.62 ถึง 3.60 ± 0.73
%w/v โดยเมื่อเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ที่ได้
จากการทดสอบด้วย PAD ที่พัฒนาขึ้นกับผลการ
วิเคราะห์จากศูนย์บริการตรวจสอบและรับรอง
มาตรฐาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลา-
นครินทร์ พบว่าไม่แตกต่างกันที่ระดับ 0.05 จาก

ตาราง 3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของกรดแอซิดิกในตัวอย่าง
น้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดโดย PAD ที่พัฒนา
ขึ้นและวิธีมาตรฐาน (AOAC, 2016)

ตัวอย่างน้ำส้มสาย- ชูหมักตาลโตนด	กรดแอซิดิก (%w/v)		<i>t</i>	<i>p</i> ^๑
	PAD	AOAC (2016)		
1	2.47 ± 0.62	2.66	-0.475	.681
2	3.26 ± 0.36	3.83	-2.409	.138
3	3.07 ± 0.51	3.14	-0.200	.860
4	2.85 ± 0.31	2.73	0.593	.613
5	3.04 ± 0.63	2.67	0.899	.463
6	2.77 ± 0.25	2.76	0.780	.945
7	3.60 ± 0.73	3.82	-0.463	.689

^๑ค่า *t* ที่คำนวณได้จากการทดสอบความแตกต่างของกลุ่มที่เป็นอิสระ
ต่อกัน และ ^๒*p* คือค่าความน่าจะเป็นของการทดสอบสมมติฐาน $p <$
.05 แสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05

ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าน้ำส้มสาย-
ชูหมักตาลโตนดที่มีจำหน่าย มีปริมาณของกรด
แอซิดิกที่ต่ำกว่ามาตรฐานตามประกาศกระทรวง
สาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ.2543 เรื่องน้ำส้ม
สายชู ซึ่งกำหนดมาตรฐานของน้ำส้มสายชูหมัก
ว่าต้องมีปริมาณกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4%w/v
ดังนั้นวิธีการทดสอบด้วย PAD ที่พัฒนาขึ้นสามารถ
เป็นทางเลือกหนึ่งในการนำไปใช้เพื่อวิเคราะห์
ปริมาณของกรดแอซิดิกในน้ำส้มสายชูหมักตาล-
โตนดและสามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับกระ-
บวนการควบคุมคุณภาพก่อนการจำหน่ายได้

สรุปผลการทดลอง

การพัฒนา PAD ด้วยวิธีการบีบด้วยตรา-
ยางเป็นวิธีการที่สามารถทำได้ง่าย สะดวก รวด-
เร็ว และมีราคาถูก สามารถพัฒนาเป็นวิธีการ
วิเคราะห์ความเปรี้ยวที่ระบุความเข้มข้นของกรด
แอซิดิกในตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดได้
วิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นอาศัยปฏิกิริยาการด-
เบสระหว่างสารละลายกรดแอซิดิกกับสารละลาย
โซเดียมคาร์บอเนตโดยมีฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิ-

เคเตอร์ โดยสามารถสังเกตการเปลี่ยนสีของปฏิกิริยาดังกล่าวได้ด้วยตาเปล่าหรือการถ่ายภาพด้วยสมาร์ทโฟน การวิเคราะห์เชิงปริมาณสามารถตรวจวัดสีของปฏิกิริยาการด-เบสที่เกิดขึ้นและแปลผลเป็นความเข้มข้นซึ่งให้ช่วงของความเข้มข้นตรงสูงสุด การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมของการหยดพบว่าปริมาตรในการหยดที่เหมาะสมคือ 6 ไมโครลิตร และมีลำดับของการหยด คือ อินดิเคเตอร์ กรดแอซิดิก หรือตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนด และโซเดียมคาร์บอเนต ตามลำดับ เมื่อทดสอบสภาวะที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ พบว่า ความเข้มข้นที่เหมาะสมของโซเดียมคาร์บอเนตคือ 0.03 M และเวลาในการเกิดปฏิกิริยา 2 นาที ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม อุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ มีช่วงความเป็นเส้นตรง 0.001–0.06 M มีสมการเส้นตรง คือ $y = 1591.7x + 0.4772$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9911 มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.001 และ 0.003 M ตามลำดับ ผลการศึกษาความแม่นยำพบว่า %recovery มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 91.73±19.17 ถึง 100.52±8.48 ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยมีร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันเท่ากับ 3.69–13.18%RSD และมีร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการวิเคราะห์ระหว่างวันเท่ากับ 3.71–14.61%RSD อุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษที่พัฒนาขึ้น นำมาใช้ตรวจวิเคราะห์ปริมาณของกรดแอซิดิกในตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดจำนวน 7 ตัวอย่าง ที่ซื้อจากร้านค้าจำหน่ายผลิตภัณฑ์ชุมชนในพื้นที่ตำบลสมุทราชิงพระ จังหวัดสงขลา พบว่าสามารถตรวจพบปริมาณของกรดแอซิดิกในช่วง 2.47±0.62 ถึง 3.60±0.73%w/v โดยเมื่อเปรียบ-

เทียบผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีการทดสอบด้วยอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์บนกระดาษกับวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นกับผลการวิเคราะห์จากศูนย์บริการตรวจสอบและรับรองมาตรฐาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ .05 และตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักตาลโตนดที่มีขายตามท้องตลาดมีปริมาณกรดแอซิดิกต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนด ถึงแม้ว่าการพัฒนา PAD ด้วยวิธีการบีบด้วยตรายางที่นำเสนอในงานวิจัยนี้เป็นวิธีการที่สามารถทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว และมีราคาถูก มีศักยภาพในการสร้าง PAD ในรูปแบบต่าง ๆ ได้ อย่างไรก็ตามวิธีนี้อาจมีข้อจำกัดเนื่องจากการบีบด้วยตรายางโดยใช้เพียงแรงจากมือกดนั้น ในบางครั้งรูปแบบของ PAD อาจไม่สม่ำเสมอโดยเฉพาะส่วนที่ไม่ชอบน้ำซึ่งเป็นขอบเขตแบ่งแยกส่วนของ reaction zone หรือ detection zone ซึ่งหากในการบีบด้วยตรายางมีแรงกดไม่เพียงพอ จะทำให้หมึกกันน้ำไม่สามารถซึมผ่านผิวด้านล่างของ PAD หากปริมาตรของการหยดสูงเกินไป อาจทำให้เกิดการรั่วซึมของสารตัวอย่าง/รีเอเจนต์ออกนอกบริเวณของ reaction zone หรือ detection zone ได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ประจำปีงบประมาณ 2565 ขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร. อภิชัย พลชัย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับการให้คำแนะนำในการดำเนินโครงการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- AOAC International. (2013). Appendix K: Guidelines for dietary supplements and botanicals. In **Part I AOAC Guidelines for Single-Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals**. USA: Author.
- AOAC International. (2016). AOAC Official Method 930.35 (J): Acidity in vinegar. In **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 20th ed. USA: Author.
- Balbach, S., Jiang, N., Moreddu, R., Dong, X., Kurz, W., Wang, C., Dong, J., Yin, Y., Butt, H., Brischwein, M., Hayden, O., Jakobi, M., Tasoglu, S., Koch, A. W., and Yetisen, A. K. (2021). Smartphone-based colorimetric detection system for portable health tracking. **Analytical Methods** 13(38): 4361–4369.
- Chaisiwamongkhol, K., Phonchai, A., Pon-In, S., Bunchuay, T., and Limbut, W. (2022). A microplate spectrophotometric method for analysis of indole-3-carbinol in dietary supplements using *p*-dimethylamino cinnamaldehyde (DMACA) as a chromogenic reagent. **Analytical Methods** 14(35): 3366–3374.
- Chaisorn, W., and Pethuan, S. (2018). Product development of drinking vinegar from Nipa Palm (*Nypa fruticans*) sugar. **Research Report**. Bangkok: National Research Council of Thailand.
- Choodum, A., Malathong, K., NicDaeid, N., Limsakul, C., and Wongniramaikul W. (2016). A cost-effective hydrogel test kit for pre and post blast trinitrotoluene. **Forensic Science International** 266: 202–208.
- Curto, V. F., Lopez-Ruiz, N., Capitan-Vallvey, L. F., Palma, A. J., Benito-Lopez, F., and Diamond, D. (2013). Fast prototyping of paper-based microfluidic devices by contact stamping using indelible ink. **RSC Advances** 3(41): 18811.
- Duenchay, P., and Dungchai, W. (2014). Paper-based analytical device. **Pathumwan Academic Journal** 4(10): 37–47. (in Thai)
- Grover, S., and Pea, R. D. (2013). Computational thinking in K–12 education. **Educational Researcher** 42(1): 38–43.
- Jarujamrus, .P., Meelapsom, R., Pencharee, S., Obma, A., Amatatongchai, M., Ditcharoen, 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(1): 75–81.
- Kongwan, N. (2008). Production of apple cider vinegar and fruit-flavour vinegar dink. **Research report**. Rangsit University: 1–47. (in Thai).
- Kumpoo, R., Choosakoonkriang, S., and Supaluknari, S. (2020). Development of microfluidic paper based analytical devices

- p>for determination of nitrate and nitrite in gunshot residues.
- Rajamangala University of Technology Tawan-Ok Research Journal**
- 13(1): 10–19. (in Thai)
- Lantam, A., Limbut, W., Thiagchanya, A., and Phonchai, A. (2020). A portable optical colorimetric sensor for the determination of promethazine in lean cocktail and pharmaceutical doses. **Microchemical Journal** 159: 105519.
- Martinez, A. W., Phillips, S. T., Butte, M. J., and Whitesides, G. M. (2007). Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays. **Angewandte Chemie International Edition** 46(8): 1318–1320.
- Mathaweensansurn, A., Thongrod, S., Khongkaew, P., Phechkrajang, C. M., Wilairat, P., and Choengchan, N. (2019). Simple and fast fabrication of microfluidic paper-based analytical device by contact stamping for multiple-point standard addition assay: Application to direct analysis of urinary creatinine. **Talanta** 210: 120675.
- Ministry of Industry, 2020. **Thai Industrial Standard: Vinegar. TSI 83/2020**. Bangkok: Industrial Standards Office. (in Thai).
- Mohamed, S. H., Salim, A. I., Issa, Y. M., and Ali, A. E. (2021). Detection and identification of adulteration in vinegar samples based on reversed-phase high-performance liquid chromatographic (RP-HPLC) strategies. **ACS Food Science & Technology** 2(1): 21–30.
- Namwong, P., Jarujamrus, P., Amatatongchai, M., and Chairam, S. (2018). Fabricating simple wax screen-printing paper-based analytical devices to demonstrate the concept of limiting reagent in acid-base reactions. **Journal of Chemical Education** 95(2): 305–309.
- Ninlanon, N., Suwannarat, Y., and Sriklong, P. (2013). Development of vinegar production from Rambutan by prototype acetifier. **Research Report**. Chantaburi: Ramphai Barni Rahabhat University. (in Thai).
- Nunumvong, V., Teeparuksapun, K., Prasongchan, N., and Phonchai, A. (2024). A portable RGB color sensor for detecting free fatty acid (FFA) in palm oil samples. **Asia-Pacific Journal of Science and Technology** 29(6): 1–10.
- Ruansung, S. (2021). Optimal condition for production of vinegar from Satho residues and development of mixed beverage from Satho vinegar and rice syrup. **Research Report**. Pathumthani: Rajamangala University of Technology Thanyaburi. (in Thai).
- Somsanit, K., ARLAI, A., and Riangmoo, A. (2022). Product development of fermented vinegar from Kluai Nam Wa. **Proceedings of the 14th Nakhon Pathom Rajabhat University National Academic Conference**

- rence (pp. 203–211). Nakhon Pathom: Nakhon Pathom Rajabhat University. (in Thai)
- Srisawas, S., Budhaka, P., Bunyaphak, P., Cahtket, I., Nuanyai, T., Sithisam-ang, D., Srinorakutara, P. and Suksangpleng, S. (2002). The process and storage of palmyra palm vinegar. **Research Project Number 44–01, Sub Project Number 2**. Bangkok: Thailand Institute of Scientific and Technology Research. (in Thai).
- Suwannatrai, T., and Sameenoi, Y. (2016). A paper-based device for antioxidant activity analysis using distance-based measurement. **Proceeding of the National and International Graduate Research Conference** (pp. 292–299). Khon Kaen Poj Sarasin Building, Khon Kaen University. (in Thai).
- Teeparuksapun T, Prasongchan N, and Thawonsuwan A. (2019). Alpha-lipoic acid functionalized silver nanoparticles for colorimetric detection of copper ion. **Analytical Science** 35(4): 371–377.
- Uhlikova, N., Almeida, M. I. G. S., McKelvie, I., Morrison, R., and Kolev, S. D. (2023). Use of scanners for colorimetric analysis of microfluidic paper-based analytical devices (μ PADs): A practical guide. **Microchemical Journal** 191: 108879.
- Wang, D., Feng, D., Zhong, Q., An, H., Wu, Z., Zhang, Q., Yue, H., Hu, L., Liu, Y., Wang, X., and Zhang, L. (2024). A new method to analysis synthetic acetic acid to vinegar: Hydrogen isotope ratio at the methyl site of acid in vinegar by GC–IRMS. **Food Chemistry** 451: 139443.
- Wolber, D., Abelson, H., and Phillips, M. (2016). **App inventor 2: Create your own Android apps**. Australia: O'Reilly Media.
- Wongsudaluk, W., and Nuniem, T. (2013). Development of fermented vinegar from Tangerine and Pomaces. **Suan Dusit University Research Journal** 6(1): 159–170. (in Thai)
- Yarosh, S., Bigam, J. P., and O'Reilly, M. (2015). Making learning to program more accessible: Teaching app development to blind students using App Inventor. **Proceedings of the 16th International ACM SIGACCESS Conference on Computers & Accessibility** (pp. 159–166). New York: Association for Computing Machinery.