

การพัฒนาการตรวจหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยการติดตามการ  
เปลี่ยนแปลงสีบนกระดาษแอนโทไซยานิน

To develop the measurement of hydrogen peroxide by changing in  
color of anthocyanin paper

สุกัญญา เพชรศิริเวทย์  
ปิยนันท์ น้อยรอด  
เนรมิต จิรกาญจน์ไพศาล  
กรรณิการ์ แก้วกิม

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

ปีการศึกษา 2560

<b>ชื่อเรื่อง</b>	การพัฒนาการตรวจหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยการติดตามการเปลี่ยนแปลงสีบนกระดาษแอนโทไซยานิน
<b>ผู้วิจัย</b>	สุกัญญา เพชรศิริเวทย์ ปิยนันท์ น้อยรอด เนรมิต จิรกาญจน์ไพศาล กรรณิการ์ แก้วกิม
<b>สถาบัน</b>	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
<b>ปีที่พิมพ์</b>	2563
<b>สถานที่พิมพ์</b>	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
<b>แหล่งที่เก็บรายงานฉบับสมบูรณ์</b>	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
<b>จำนวนหน้างานวิจัย</b>	54 หน้า
<b>คำสำคัญ</b>	รงควัตถุ สารแอนโทไซยานิน รหัสสี RGB ค่าอัตราส่วนสี
<b>ลิขสิทธิ์</b>	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

### บทคัดย่อ

รายงานการวิจัย เรื่องการพัฒนาการตรวจหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยการติดตามการเปลี่ยนแปลงสีบนกระดาษแอนโทไซยานิน เป็นการวิจัยพื้นฐานที่มุ่งศึกษาการพัฒนาใน 2 ส่วน ส่วนที่หนึ่ง พัฒนาเครื่องมือในการติดตามการตรวจวัดรหัสสีแดง เขียวและน้ำเงิน (RGB index) และสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงของรหัสสีที่ขึ้นกับเวลาเรียกว่า เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน (light reflection sensor) และการพัฒนากระดาษแอนโทไซยานินเพื่อใช้เป็นตัวตรวจวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) ส่วนที่สอง การพัฒนากระดาษแอนโทไซยานินเตรียมจากสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินของกะหล่ำปลีม่วง (Red Cabbage) ที่ผ่านการอบแห้งแบบเยือกแข็ง การทดสอบหาปริมาณความเข้มข้นของ  $H_2O_2$  โดยสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงสีบนกระดาษแอนโทไซยานินด้วยเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน

ผลจากการวิจัยพบว่า เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนสามารถใช้อ่านค่ารหัสสี RGB โดยบันทึกค่าทุก ๆ 0.1 วินาทีเป็นไฟล์สกุล CSV บนการ์ดแบบไมโครเอสดี การตั้งระยะห่างระหว่างวัตถุกับเซ็นเซอร์อยู่ที่ 4 เซนติเมตร ในแต่ละจุดเวลาพบค่าการแกว่งของการบันทึกผลอยู่ที่  $\pm 5$  ในขณะที่ผลของการทำซ้ำมีการแกว่งของข้อมูลอยู่ที่  $\pm 2$  ค่ารหัสสี RGB ของกระดาษตัวอย่างที่อ่านโดยเครื่อง

## ข

ตรวจวัดแสงสะท้อนเปรียบเทียบกับเครื่องตรวจวัดสีมาตรฐาน (Colorimeter) มีความสัมพันธ์กันด้วยค่า  $R^2 = 0.89$   $R^2 = 0.87$  และ  $R^2 = 0.80$  ของแต่ละรหัสสีตามลำดับแสดงว่าเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนสามารถใช้อ่านค่ารหัสสีของวัตถุได้ สำหรับการหาปริมาณความเข้มข้นของสารตัวเดียวกับเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี (spectrophotometry) ได้ จากการหาค่ารหัสสีเทียบกับความเข้มแสงของการส่องผ่านสารละลายสารประกอบไอออนเหล็ก พบข้อมูลมีความสัมพันธ์ด้วยค่า  $R^2 = 0.84$   $R^2 = 0.97$  และ  $R^2 = 0.83$  ของแต่ละสีตามลำดับ สำหรับการเตรียมกระดาษแอนโทไซยานินพบว่ามีการหาค่ารหัสสีเฉลี่ยอยู่ที่ 151-54-79 ปฏิกริยาระหว่างสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับกระดาษแอนโทไซยานินทดสอบด้วยเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน พบว่าความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่วิเคราะห์ต้องมีปริมาณมากกว่า 0.2 M ขึ้นไป สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไฮดรอกไซด์เรดิคัลของไอละเหยของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังไม่สามารถตรวจวัดได้

<b>Research Title</b>	To develop the measurement of hydrogen peroxide by changing in color of anthocyanin paper
<b>Researcher(s)</b>	Sukanya Petchsirivej Peeyanan Noirod Neramitr Chirakarnphaisarn Kannika Keawkim
<b>Institution</b>	Faculty of Science and Technology Huachiew Chalermprakiet University
<b>Year of Publication</b>	2020
<b>Publisher</b>	Huachiew Chalermprakiet University
<b>Sources</b>	Huachiew Chalermprakiet University
<b>No. of Pages</b>	54
<b>Keywords</b>	pigment anthocyanin RGB index color ratio
<b>Copyright</b>	Huachiew Chalermprakiet University

### ABSTRACT

This is a report of the topic “To develop the measurement of hydrogen peroxide by changing in color of anthocyanin paper”. The research is a basic science research and the aims of the research have two parts, the first develop the light detector sensor which can be detect the red, green, and blue light or RGB index and the changing in RGB index as a function of time. This sensor called the light reflection sensor. The second develop the anthocyanin paper which crude anthocyanin extract was prepared from the freeze-dried red cabbage. The concentration of Hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) was detected from the changing of color on the anthocyanin paper with the reflection sensor.

The result shows the reflection sensor can be detected the RGB index in every 0.1 s and save in file CSV on micro SD card. The distance between sample and sensors is 4 cm. The standard deviation of RGB index at each point of time is  $\pm 5$  whereas the

repeatable result has  $\pm 2$ . The RGB index of the color papers which measured from the reflection sensor to compared with the commercial colorimeter have a correlation with  $R^2 = 0.89$ ,  $R^2 = 0.87$ , and  $R^2 = 0.80$  for each color index. That means the reflection sensor can be detect the RGB index form object. For detected the concentration of solution was compared with spectrophotometry technique. The RGB index of the ferrous ions in iron complex solution has a correlation  $R^2 = 0.84$ ,  $R^2 = 0.97$  and  $R^2 = 0.83$  for each color index. The average RGB index of the anthocyanin papers are 151-54-79. The reaction of Hydrogen peroxide solution to the anthocyanin papers was observed from the reflection sensor. The concentration of Hydrogen peroxide solution that can be detected with the anthocyanin paper should higher than 0.2 M in concentration. For Hydroxide radicals of the irradiated Hydrogen peroxide is cannot detected.

## คำนำ

งานวิจัยฉบับนี้เป็นงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์พื้นฐานที่ต้องการการพัฒนาเครื่องมือในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งมีการบูรณาการกับการเรียนการสอนในวิชา วิศวกรรมพิเศษ CS4903 โดยมีนักศึกษาหลักสูตรวิทยาการคอมพิวเตอร์ นายภัทรพล ซาซากิ เป็นผู้ประกอบเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนภายใต้การควบคุมของคณะผู้วิจัย สำหรับนำไปใช้ในการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสีที่เกิดบนกระดาษแอนโทไซยานินที่เตรียมจากสารสกัดหยาดแอนโทไซยานินของกะหล่ำปลีม่วงที่ผ่านการอบแห้งแบบเยือกแข็ง

ทั้งนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติผู้ให้ทุนสนับสนุนโครงการวิจัย และขอขอบคุณผู้ช่วยสนับสนุนการทำงานวิจัยในครั้งนี้ ได้แก่ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์กายภาพ ที่เอื้อเพื่อห้องปฏิบัติการ และเครื่อง ยูวี-วิส สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ หลักสูตรวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ สำหรับการสนับสนุนเครื่องวัดสี colorimeter และเครื่องอบแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dired) และบุคลากรสายสนับสนุน นางดวงดาว ชื่นสว่าง นายอาคม สิ้นโสม นางสาวระพีพันธ์ บุญจันทร์ นายพิเชษฐ ผลสว่าง และนางสาวบุณชริกา กัดพิบูลย์ ที่สนับสนุนอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

คณะผู้วิจัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก-ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค-ฆ
คำนำ	ง
สารบัญ	จ-ช
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูปภาพ	ฌ-ฎ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1-3</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 สมมติฐานของการวิจัย	2
1.4 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>4-5</b>
<b>บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย</b>	<b>6-17</b>
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	6
3.1.1 ส่วนของเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน	6
3.1.2 ส่วนของสารเคมี	6
3.1.3 เครื่องมือ	7
3.2 การสร้างเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน	7
3.3 การทดสอบเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน	13
3.3.1 ขนาดของตัวอย่าง (พื้นที่) ที่เหมาะสมสำหรับเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน	13
3.3.2 การตรวจวัดค่ารหัสสี RGB	14

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.3 การสอบเทียบเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนกับเครื่องมือมาตรฐาน	14
3.3.3.1 เปรียบเทียบค่ารหัสสี RGB ของกระดาษสีตัวอย่างกับเครื่องวัดสีมาตรฐาน colorimeter	14
3.3.3.2 การตรวจหาปริมาณไอออนเหล็กในสารประกอบเหล็กเปรียบเทียบกับเครื่องมือมาตรฐาน UV-Vis Spectrophotometer	14
3.4 การสกัดสารสกัดหยาบแอนโทไซยานิน	15
3.4.1 การอบแห้งกะหล่ำปลีม่วงแบบเยือกแข็ง	15
3.4.2 การสกัดสารสกัดหยาบแอนโทไซยานิน	15
3.4.3 วัดปริมาณแสงส่องผ่าน (Transmission) ของแสงด้วยเครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์	16
3.4.4 วัดค่ารหัสสี RGB ด้วยเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน	16
3.5 การเตรียมกระดาษแอนโทไซยานิน	16
3.6 การหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	16
3.6.1 การหาปริมาณสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	17
3.6.2 การหาปริมาณไอระเหยของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	17
<b>บทที่ 4 ผลการทดลอง</b>	<b>18-47</b>
4.1 เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน (Light Reflection sensors)	18
4.1.1 การวัดค่ารหัสสี RGB	19
4.1.1.1 การวัดค่ารหัสสี RGB จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน	19
4.1.1.2 การหาค่า RGB ด้วยโปรแกรมพื้นฐาน	20
4.1.2 ผลของระยะห่างระหว่างตัวอย่างกับเซ็นเซอร์	22
4.1.3 ความเสถียร (stability) และความเที่ยง (repeatability) ของเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน	23
4.1.4 ขนาด (พื้นที่) ของตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน	24
4.2 การสอบเทียบเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนกับเครื่องมือมาตรฐาน	26



**สารบัญ (ต่อ)**

	<b>หน้า</b>
4.2.1 เปรียบเทียบค่ารหัสสี RGB ของกระดาษสีตัวอย่างกับเครื่องวัดสีมาตรฐาน colorimeter	26
4.2.2 การตรวจหาปริมาณไอออนเหล็กในสารละลายเชิงซ้อนเปรียบเทียบกับเครื่องมือมาตรฐาน ยูวี-วิส สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis Spectrophotometer)	26
4.2.2.1 สเปกตรัมการส่องผ่านจากเครื่องยูวี-วิส สเปกโตรโฟโตมิเตอร์	26
4.2.2.2 เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน	29
4.2.3 การหาค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง	30
4.3 การสกัดสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีม่วง	32
4.3.1 เปรียบเทียบการสกัดสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีม่วงผลสดและกะหล่ำปลีม่วงที่ผ่านการอบแห้งแบบเยือกแข็ง	32
4.3.2 การวัดปริมาณแสงสะท้อนของสารสกัดหยาบแอนโทไซยานิน	35
4.4 การเตรียมกระดาษแอนโทไซยานิน	38
4.5 การตรวจวัดปริมาณสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	38
4.5.1 ตรวจวัดค่ารหัสสีการสะท้อนแสงจากการหยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์บนกระดาษแอนโทไซยานิน	38
4.5.2 ตรวจวัดค่ารหัสสีการสะท้อนแสงจากไอระเหยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์บนกระดาษแอนโทไซยานิน	43
<b>บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง</b>	<b>48-49</b>
<b>บรรณานุกรม</b>	<b>50-52</b>
<b>ภาคผนวก</b>	<b>53-54</b>

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	แสดงค่าเฉลี่ยของรหัสสี RGB จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนและจากโปรแกรม Paint	20
4.2	แสดงค่าเฉลี่ยของ RGB index ที่ระยะห่าง 3 cm และ 4 cm ของกระดาษสีตัวอย่าง	23
4.3	แสดงค่าคงที่ของสมการความสัมพันธ์เชิงเส้นของข้อมูลที่ได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์และเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน	31
4.4	แสดงผลการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารประกอบเหล็กสารละลายตัวอย่าง S1 และ S2 จากสมการเชิงเส้นที่วิเคราะห์ได้จากทั้งสองเทคนิค	32
4.5	ปริมาณความเข้มแสงส่องผ่านของสารละลายสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินด้วยการสกัดจากผลสด (Fresh RC) และการอบแห้งแบบเยือกแข็ง (FD RC) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	33
4.6	ปริมาณแสงสะท้อนของสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินด้วยการสกัดจากผลสด (Fresh RC) และการอบแห้งแบบเยือกแข็ง (FD RC) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	35
4.7	แสดงการเลื่อนของคาร์รหัสสี RGB ของกระดาษแอนโทไซยานินเมื่อหยดด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	41
4.8	แสดงค่าคงที่ของสมการความสัมพันธ์แบบเส้นโค้งเลขชี้กำลังของคาร์รหัสสี RGB ที่เพิ่มขึ้นหลังหยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	41
4.9	แสดงผลการคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากการหยดลงบนกระดาษแอนโทไซยานิน	43
4.10	แสดงผลต่างคาร์รหัสสี RGB ของกระดาษแอนโทไซยานินเมื่อโดนไอระเหยของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	45
4.11	แสดงค่าคงที่ของสมการความสัมพันธ์แบบเส้นตรงของคาร์รหัสสี RGB ที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากไอระเหยของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	46
4.12	แสดงผลการคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากการทดสอบไอระเหยบนกระดาษแอนโทไซยานิน	47

## สารบัญรูปภาพ

ภาพที่		หน้า
3.1	แสดง Block diagram of RCB color unit operation	8
3.2	แสดงรูปผลงานเครื่องต้นแบบทางฮาร์ดแวร์ (Hardware prototype)	8
3.3	แสดงส่วนประกอบสำคัญของเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน (ก) ไมโครคอนโทรลเลอร์ (Arduino MEGA 2560 R3) (ข) ตัวตรวจวัดแสง (TCS230 RGB sensor) (ค) จอแสดงผล LCD 20x4 Character with I2C (Integrate-Inter Communication) และ(ง) ช่องสำหรับใส่การ์ดบันทึกข้อมูล SD Card Module	12
4.1	(ก) แผนภาพแสดงส่วนประกอบของเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน และ (ข) เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน	18
4.2	กราฟแสดงค่ารหัสสี RGB ของกระดาษสีน้ำเงิน ตลอดช่วงเวลาการวัดที่ 30 min	19
4.3	แสดงสีที่ได้จากเครื่องตรวจวัดการสะท้อนแสงและจากโปรแกรม Paint ของกระดาษตัวอย่างสีเขียว (ก) สีแดง (ข) สีเหลือง (ค) สีฟ้า (ง) และสีน้ำเงิน (จ)	21
4.4	แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีแสงสีที่ได้จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนและโปรแกรม Paint (ก) R index (ข) G index และ (ค) B index	22
4.5	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยรหัสสี RGB ของกระดาษตัวอย่างเขียว (ก) และกระดาษตัวอย่างสีเหลือง (ข) จำนวน 20 ครั้งจากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน	24
4.6	กราฟแสดงค่ารหัสสี RGB ของกระดาษสีดำขนาด 54 cm <sup>2</sup> และกระดาษสีขาวขนาด 4 cm <sup>2</sup> 9 cm <sup>2</sup> 16 cm <sup>2</sup> และ 54 cm <sup>2</sup>	25
4.7	แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีแสงสีที่ได้จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนและเครื่อง colorimeter (ก) รหัสสีแดง (ข) รหัสสีเขียว และ (ค) รหัสสีน้ำเงิน	27
4.8	กราฟแสดงสเปกตรัมของแสงส่องผ่านด้วยเครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ของสารละลายไอออนเหล็กที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	28
4.9	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงของการส่องผ่านสารประกอบเหล็ก (สารละลายเหล็ก) กับความเข้มข้นและเส้นกราฟแสดงแนวโน้มความสัมพันธ์เชิงเส้นด้วยเครื่องยูวี สเปกโตรโฟโตมิเตอร์	28
4.10	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงสะท้อนกับความเข้มข้นของสาร	29

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
	ประกอบสารละลายหลักที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยเครื่องตรวจวัดการสะท้อนแสง	
4.11	แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแสงสะท้อนและปริมาณแสงส่องผ่านที่ได้จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนและเครื่อง UV-Vis spectrophotometer (ก) แสงสีเขียว และ (ข) แสงสีน้ำเงิน	30
4.12	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแสงส่องผ่านกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจาก (ก) กะหล่ำปีสด (Fresh RC) และ (ข) กะหล่ำปลีอบแห้งแบบเยือกแข็ง (FD-RC)	34
4.13	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแสงสะท้อนกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจาก (ก) กะหล่ำปีสด และ (ข) กะหล่ำปลีอบแห้งแบบเยือกแข็ง	36
4.14	แสดงกราฟความสัมพันธ์ของปริมาณแสงส่องผ่านจากการสกัดด้วยผลสดและผลอบแห้งแบบเยือกแข็งที่ความยาวคลื่น (ก) 640 nm (ข) 524 nm และ (ค) 470 nm	37
4.15	กราฟแสดงค่ารหัสสี RGB ของกระดาศแอนโทไซยานิน จำนวน 20 ชิ้น	38
4.16	แสดงการเปลี่ยนแปลงของสีกระดาศแอนโทไซยานินเมื่อหยดด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ความเข้มข้น (ก) 0.01 M (ข) 0.05 M (ค) 0.1 M (ง) 0.3 M (จ) 3 M และ (ฉ) 5 M	39
4.17	กราฟแสดงผลการเปลี่ยนแปลงค่ารหัสสี RGB ของกระดาศแอนโทไซยานินเมื่อหยดด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ปริมาตร 30 $\mu$ L (ก) ความเข้มข้น 0.01 M และ(ข) ความเข้มข้น 5 M	40
4.18	กราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่ารหัสสี RGB ที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น (ก) 0.01-5 M ให้ความสัมพันธ์แบบเส้นโค้งเลขชี้กำลัง และ (ข) 0.01-0.3 M ให้ความสัมพันธ์แบบเส้นตรง	42
4.19	แสดงการเปลี่ยนแปลงของสีกระดาศแอนโทไซยานินเมื่อโดนไอระเหยของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ความเข้มข้น (ก) 0.01 M (ข) 0.05 M (ค) 0.1 M (ง) 0.5 M (จ) 1 M และ (ฉ) 5 M	44

## สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.20	กราฟแสดงสเปกตรัมการเปลี่ยนแปลงรหัสสี RGB เนื่องจากไอระเหยของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 5 M	45
4.21	กราฟแสดงค่ารหัสสี RGB ที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากไอระเหยของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 5 M	46



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การทดสอบปฏิกิริยาเคมีบางอย่างเมื่อเกิดปฏิกิริยาจะมีการเปลี่ยนแปลงของสีสารละลายเกิดขึ้นและความเข้มของสีหรือสีที่มีเปลี่ยนแปลงจะบอกถึงความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาพบมากในชุดทดสอบทั่วไป (ชุด kit) เช่นชุดทดสอบการหาโลหะหนัก เป็นต้น ชุดทดสอบเป็นชุดที่สามารถทำการทดสอบหาปริมาณบางอย่างในเบื้องต้นก่อนที่จะนำเข้าสู่ห้องปฏิบัติการเพื่อหาปริมาณเชิงตัวเลขอย่างละเอียดอีกครั้งหนึ่ง ดังนั้นในการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสีระหว่างก่อนและหลังทำการทดสอบนั้นมีความสำคัญอย่างมาก หากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนั้นน้อยมากการเปลี่ยนแปลงของเฉดสี (shades) จะมีความแตกต่างกันอย่างมาก ซึ่งดวงตาของมนุษย์ไม่สามารถแยกหรือจำแนกเฉดสีที่มีความใกล้เคียงกันออกจากกันได้อย่างชัดเจน

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen Peroxide,  $H_2O_2$ ) เป็นสารละลายมีฤทธิ์กัดกร่อนที่มีความเป็นเบสและแตกตัวให้ก๊าซออกซิเจนและน้ำ ระเหยได้ในอุณหภูมิห้อง ถูกนำไปใช้มากในอุตสาหกรรมฟอก ย้อมสี ใช้ในการฆ่าเชื้อโรคในทางการแพทย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังเป็นผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เมื่อเกิดการสะสม การสัมผัสหรือสูดดมเข้าร่างกายโดยตรงจะส่งผลเสียต่อเนื้อเยื่อและระบบทางเดินหายใจ ในขณะที่สารแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) เป็นรงควัตถุที่พบอยู่ในพืชผักและผลไม้ที่มีสีน้ำเงิน ม่วงหรือม่วงแดง ได้แก่ ดอกอัญชัน (Butterfly pea) ข้าวไรซ์เบอร์รี่ (Riceberry) กะหล่ำปลีม่วง (Red Cabbage) และองุ่นแดง (Grape) เป็นต้น สีของสารแอนโทไซยานินเกิดจากส่วนประกอบหลักในโครงสร้างทางเคมีประกอบไปด้วยหมู่ฟีนอลและเฉดสีขึ้นกับหมู่ฟังก์ชันที่เป็นส่วนประกอบในโครงสร้างนั้น และเนื่องจากสารแอนโทไซยานินเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในปัจจุบันนิยมจึงนิยมบริโภคพืชผักที่มีสารแอนโทไซยานินเพื่อลดภาวะเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็ง โครงสร้างทางเคมีของสารแอนโทไซยานินจะมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อสภาวะแวดล้อมของสารแอนโทไซยานินมีการเปลี่ยนแปลง ได้แก่ การเปลี่ยนอุณหภูมิ ความเป็นกรด-เบส หรือเมื่อเกิดปฏิกิริยาบางอย่างเกิดขึ้นจากสมบัติการเปลี่ยนแปลงสีของสารแอนโทไซยานินและสมบัติการกัดกร่อนของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดังกล่าวจึงสามารถนำมาใช้เป็นตัวตรวจวัดปริมาณสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สะสมหรือเกิดขึ้นในสารตัวอย่างได้โดยสังเกตจากการเปลี่ยนแปลงของสีแอนโทไซยานิน ผู้ทำการวิจัยได้ทำการทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีจากไอระเหยของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์บนกระดาษแอนโทไซยานินด้วยตา พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ใน

ระดับต่ำหรือมีความเข้มข้นใกล้เคียงกัน การสังเกตด้วยสายตาจึงไม่สามารถแยกความแตกต่างของสีออกจากกันได้ (1) โดยสังเกตสีของสารแอนโทไซยานินที่มีการเปลี่ยนแปลงด้วยเครื่องติดตามการเปลี่ยนแปลงสีแทนการมองด้วยตา การเห็นสีของวัตถุเกิดจากการที่แสงสีนั้นไม่ถูกดูดกลืนโดยวัตถุจึงสะท้อนกลับมาให้ตามองเห็นได้และถูกส่งไปเซลล์รับแสงสีแดง (Red) สีเขียว (Green) และสีน้ำเงิน (Blue) ภายในดวงตาซึ่งเก็บข้อมูลในรูปของความถี่เพื่อวิเคราะห์เป็นสีที่เห็น แสงสีทั้งสามสีดังกล่าวเป็นแม่สีของแสงสี ทั้งนี้ในแต่ละบุคคลมีความสามารถในการแยกแยะเฉดสีด้วยตาที่ไม่เหมือนกัน ดังนั้นการบอกความแตกต่างของสีจึงควรบอกในรูปของค่ารหัสของแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน (RGB index) เป็นค่าที่ใช้บอกเฉดของสี

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อเป็นการพัฒนาการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยกระดาษแอนโทไซยานิน และพัฒนาเครื่องมือในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของรหัสแสงสีแดง เขียว และน้ำเงิน (RGB index) ที่สะท้อนออกจากกระดาษแอนโทไซยานิน

## 1.3 สมมติฐานของการวิจัย

สารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสารที่ระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิห้อง สามารถทำลายโครงสร้างของสารแอนโทไซยานินส่งผลให้สีของแอนโทไซยานินหายไป โดยการที่สีของกระดาษแอนโทไซยานินเปลี่ยนแปลงไปขึ้นกับความเข้มข้นของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ดังนั้นความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ต่างกันจะใช้เวลาในการจางลงของสีแอนโทไซยานินต่างกัน

## 1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1. พัฒนาเครื่องมือในการวัดปริมาณแสงสะท้อน (เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน) เพื่อใช้วัดรหัสแสงสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน (RGB index) ที่สะท้อนจากกระดาษแอนโทไซยานิน สำหรับใช้ติดตามการเปลี่ยนแปลงของรหัสแสงสีตลอดระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาซึ่งเป็นการติดตามที่ขึ้นกับเวลา

2. พัฒนาตัวตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยกระดาษเคลือบสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินเพื่อใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของรหัสสี เมื่อเกิดปฏิกิริยากับสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนที่สร้างขึ้น

### 1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

**รงควัตถุ** (pigment) หมายถึง สารมีสีที่อยู่ในเซลล์พืช และสัตว์ ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของสารสีนั้น ๆ

**สารแอนโทไซยานิน** (Anthocyanin) หมายถึง รงควัตถุที่ให้สีม่วงแดง ละลายน้ำได้ (จากกะหล่ำปลีม่วง) อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) พบในพืชผักผลไม้ตามธรรมชาติที่มีสีน้ำเงินม่วงแดง

**รหัสสี RGB** (RGB index) หมายถึง รหัสตัวเลขแทนแสงสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน มีค่าระหว่าง 0-255

**ค่าอัตราส่วนสี** (Color ratio) หมายถึง ค่าเฉลี่ยของสัดส่วนสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน ของสารตัวอย่างกับสารอ้างอิง

### 1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถวิเคราะห์ปริมาณสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยกระดาษแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากกะหล่ำปลีม่วง
2. สามารถนำเครื่องมือตรวจวัดแสงสะท้อนไปใช้ติดตามการตรวจวัดปฏิกิริยาอื่น ๆ ที่มีการเปลี่ยนแปลงของรหัสแสงสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน (RGB index) ได้



## บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สารแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) เป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) มีอยู่ในพืชผักผลไม้ตามธรรมชาติที่มีสีน้ำเงิน ม่วงหรือม่วงแดง เช่น กะหล่ำปลีม่วง มันเทศสีม่วง ชมพู่มะเหมียว ข้าวนิล ดอกอัญชัน ราชเบอร์รี่ สตรอเบอร์รี่ เป็นต้น เป็นสารให้สี (coloring agent) หรือสารสี (pigment) ซึ่งส่วนประกอบหลักในโครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานิน ประกอบด้วยหมู่ฟีนอล โดยสีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามหมู่ฟังก์ชันที่เป็นส่วนประกอบในโครงสร้าง และขึ้นกับสภาพแวดล้อมของสารแอนโทไซยานิน โดยสารแอนโทไซยานินสามารถทำหน้าที่เป็นอินดิเคเตอร์ตรวจวัดความเป็นกรด-เบสได้ (pH indicator) ในสถานะที่เป็นกรด มีค่า pH ต่ำกว่า 3 สารแอนโทไซยานินจะมีสีแดง ในสถานะที่เป็นกลาง มีค่า pH ประมาณ 7-8 สารแอนโทไซยานินจะมีสีม่วง และเมื่อสถานะเป็นเบส มีค่า pH มากกว่า 10 สารแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว (1) ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลต่อสีและความเสถียรของสารแอนโทไซยานินมีหลายชนิด เช่น โครงสร้าง อุณหภูมิ ความเป็นกรด-เบส กรดแอสคอร์บิก และน้ำตาล เป็นต้น นอกจากนี้เมื่อทำการสกัดแอนโทไซยานินออกมา พบว่ามีสมบัติเป็นโภชนเภสัช (nutraceutical) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (2, 3) ช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ ลดอาการอักเสบ (anti-inflammatory) ช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและเส้นเลือดอุดตันในสมอง โดยการยับยั้งไม่ให้เลือดจับตัวเป็นก้อน ชะลอความเสื่อมของดวงตา ช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) เช่น อีโคไล (Escherichia coli) ในระบบทางเดินอาหาร เป็นต้น (4) ดังนั้นจึงมีงานวิจัยที่ทำการสกัดสารแอนโทไซยานิน เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ หลากหลายเช่น ใช้ในการควบคุมคุณภาพของอาหาร โดยนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของบรรจุภัณฑ์ (5, 6) นำมาสกัดใช้เป็นอาหารหรือสารแต่งสี เพื่อเพิ่มสีสันความสวยงามของอาหารจากสารธรรมชาติ (7, 8)

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen Peroxide,  $H_2O_2$ ) เป็นสารที่ใช้มากในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น การควบคุมการปนเปื้อนของในกระบวนการหมัก (9) กระบวนการฆ่าเชื้อในบรรจุภัณฑ์อาหาร อุตสาหกรรมการฟอกย้อม นอกจากนี้  $H_2O_2$  ยังเป็นผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันต่าง ๆ เช่น ปฏิกิริยาของสารอนุมูลอิสระ และปฏิกิริยาระหว่างสารกำจัดศัตรูพืชกับเอนไซม์ที่ให้  $H_2O_2$  เป็นผลผลิต (10-12) ปริมาณสาร  $H_2O_2$  ตกค้างจากผลิตภัณฑ์หรือน้ำทิ้งจากกระบวนการอุตสาหกรรม หรือผลผลิตจากสารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในพืชผัก ผลไม้ ย่อมส่งผลเสียต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม เทคนิคการตรวจวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสาร  $H_2O_2$  ทำได้หลายวิธี

เช่น เทคนิคทางสเปกโตรโฟโตเมตรี (13, 14) เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า (15) เป็นต้น การวิเคราะห์ดังกล่าวเป็นการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการให้ผลที่มีความละเอียดสูง แต่มีราคาแพงและต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ  $H_2O_2$  เพื่อให้สามารถวิเคราะห์ได้ในปริมาณต่ำ หรือเพื่อการใช้งานที่ง่ายและถูกต้องมากขึ้น เช่น พัฒนาขั้วอิเล็กโทรด โดยพัฒนา platinum ให้มีรูพรุน เพื่อเพิ่มความสามารถในการตรวจหาปริมาณ  $H_2O_2$  ใน (16) และพัฒนาการตรวจวัดโดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงสี เนื่องจากปฏิกิริยาจาก  $H_2O_2$  (17) หรือใช้ติดตามการเกิดปฏิกิริยาหรือทดสอบการปนเปื้อน

การพัฒนาตัวตรวจวัดที่อาศัยหลักการของการเปลี่ยนแปลงสีที่ ถูกพัฒนาเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณการปนเปื้อนต่าง ๆ เช่น การหาปริมาณคลอรีนปนเปื้อนในน้ำ (18, 19) และการหาปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต (20) ฯลฯ สำหรับสารแอนโทไซยานินเมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับ  $H_2O_2$  พบว่าสาร  $H_2O_2$  จะสามารถเข้าทำลายโครงสร้างของแอนโทไซยานินได้ ทำให้สีของสารแอนโทไซยานินหายไป (21) เช่น การเปลี่ยนสีของสารแอนโทไซยานินในน้ำเซอรีและน้ำสตอร์เบอร์เนื่องจากการตกค้างของ  $H_2O_2$  ในการทำฆ่าเชื้อก่อนบรรจุ (22)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงพัฒนาวิธีการตรวจวัดหาปริมาณของ  $H_2O_2$  โดยอาศัยการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสีแอนโทไซยานินขณะเกิดปฏิกิริยากับ  $H_2O_2$  และทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ  $H_2O_2$  ที่ผู้วิจัยได้พัฒนาขึ้นโดยใช้เซ็นเซอร์ตรวจวัดแสงสีที่สะท้อนจากตัวอย่างด้วยเซ็นเซอร์ TCS230 เนื่องจากมีราคาถูกซึ่งได้มีการนำมาใช้สร้างเป็นเซ็นเซอร์ติดตามการเปลี่ยนแปลงของสีเพื่อทำการวิเคราะห์ไอออนตะกั่ว ( $Pb^{2+}$ ) (23) และการตรวจสอบปริมาณคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) (24) เป็นต้น

## บทที่ 3

### ระเบียบวิธีวิจัย

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การสร้างเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนและการตรวจหาปริมาณสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยกระดาษแอนโทไซยานิน โดยมีขั้นตอนของแต่ละส่วนดังต่อไปนี้

#### 3.1. วัสดุและอุปกรณ์

##### 3.1.1. ส่วนของเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน

1. เซ็นเซอร์ตรวจวัดแสง (RGB color sensor) รุ่น TCS230 RGB
2. ชุดบอร์ดไมโครคอนโทรลเลอร์รุ่น Arduino MEGA 2560 R3
3. หลอดไดโอดเปล่งแสง (Light Emitting Diode) สีขาว 4 ดวง
4. ท่อพีวีซี ขนาด 1/2 นิ้ว พร้อมข้อต่อต่างๆ และตัวล็อคท่อ
5. สายนำสัญญาณและ Header strip connector
6. จอแสดงผล LCD แบบ SPI interface ขนาด 20x4 with backlight
7. โมดูลบันทึกข้อมูล SD Card Module และ Micro SD Card
8. ตัวต้านทานแบบปรับค่าได้แบบ Linear Potentiometer 10KB
9. แหล่งจ่ายไฟฟ้ากระแสตรง Adapter 5 Volts DC/2 Amp
10. อุปกรณ์เชื่อมต่อ ได้แก่ 8 poles connector 8 cores wire/shielded cable
11. สายนำสัญญาณแบบ Signal USB cable 1.5 m
12. สายไฟต่าง ๆ ได้แก่ สายไฟอ่อน 24 AWG และสายไฟอ่อน 28 AWG
13. ปุ่มควบคุม (knob for adjust value) และกล่องควบคุม (plastic electronic box)
14. กล่องครอบเครื่องวัด (Housing)
15. อุปกรณ์อื่น ๆ

##### 3.1.2. ส่วนของสารเคมี

1. กะหล่ำปลีม่วง (Red Cabbage)
2. กระดาษสีตัวอย่าง 6 สี ได้แก่ กระดาษสีขาว กระดาษสีแดง กระดาษสีเขียว กระดาษสีเหลือง กระดาษสีฟ้า และกระดาษสีน้ำเงิน

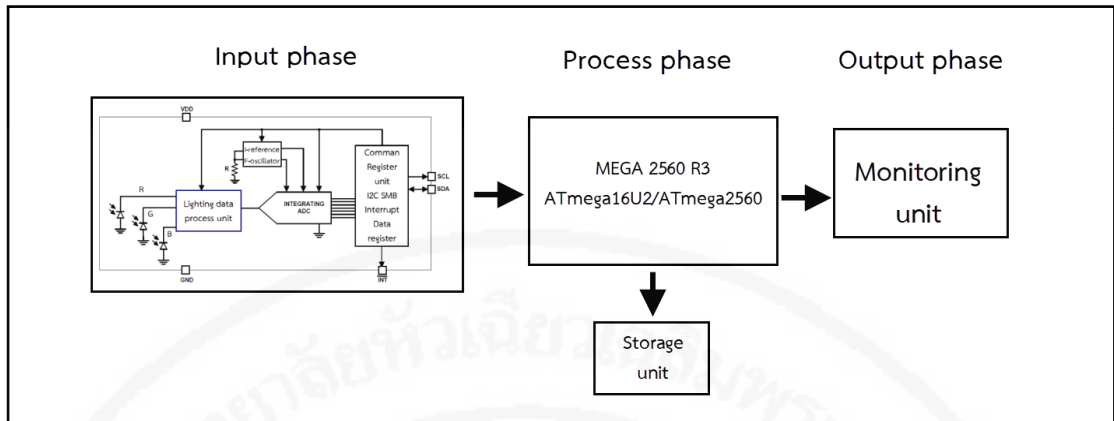
3. Ammonium Eisen(II)-sulfat hexahydrat  $[(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$
4. Hydroxylammonium chloride  $[\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}]$
5. 1-10 phenanthroline hydrate  $[\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]$
6. Sodium acetate hydrated  $[\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$
7. Ethanol  $[\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}]$  จากบริษัทเมอร์ค (Merck)
8. Hydrochloric acid 37 %w/w  $[\text{HCl}]$  จากบริษัทเมอร์ค (Merck)
9. Hydrogen Peroxide 30 %w/w  $[\text{H}_2\text{O}_2]$  จากบริษัทเมอร์ค (Merck)
10. น้ำกลั่น (Deionized water)
11. กระดาษกรอง (Whatman) เส้นผ่านศูนย์กลาง 150 mm เบอร์ 1

### 3.1.3. เครื่องมือ

1. เครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-1800 UV spectrophotometer) ของบริษัท Shimadzu Corporation
2. เครื่องอบแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze-dried technique) ยี่ห้อ LABCONCO series 7670530 ของบริษัท BECTHAI
3. เครื่องตรวจวัดสี colorimeter Chroma Meters “Minolta” #CR-400/410 ของบริษัท Konica Minolta

### 3.2. การสร้างเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน

เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนแบ่งเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ฮาร์ดแวร์ (Hardware) และ ซอฟต์แวร์ (Software) การสร้างส่วนฮาร์ดแวร์ก่อนแล้วป้อนคำสั่ง และทำการตรวจสอบการทำงานของเครื่องมือที่สร้างขึ้นจากภาพที่ 3.1 แสดงการทำงานของเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนประกอบไปด้วย 3 ส่วนคือ ส่วนนำข้อมูลเข้า (Input phase) ส่วนประมวลผล (processing phase) และส่วนส่งออกข้อมูล (Output phase) โดยส่วนแรก Input phase ทำหน้าที่ตรวจจับแสงที่มีความยาวคลื่น 640 nm สำหรับแสงสีแดง ความยาวคลื่น 524 nm สำหรับแสงสีเขียว และความยาวคลื่น 470 nm สำหรับแสงสีน้ำเงิน แสงที่มีความยาวคลื่นดังกล่าวจะถูกตรวจจับด้วยเซ็นเซอร์ตรวจวัดแสง (TCS230 RGB sensor) ภายในมีโฟโตไดโอด (photodiode) ขนาด 8x8 แถว 4 ตัว เป็นแบบมีฟิลเตอร์กรองแสงสีแดง แสงสีเขียว แสงสีน้ำเงินและไม่มีฟิลเตอร์กรองแสงใดเลย โดยแต่ละชุดจะมีทั้งหมด 16 ตัว และสัญญาณที่ได้



ภาพที่ 3.1 แสดง Block diagram of RCB color unit operation

จากโฟโตไดโอดจะถูกส่งต่อไปยังตัวแปลงกระแสเป็นความถี่ (current-to-frequency convertor) เพื่อทำการแปลงกระแสไฟฟ้าที่ได้เป็นสัญญาณความถี่ส่งไปยังหน่วยประมวลผล เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนใช้หลอดไดโอดเปล่งแสงสีขาว (LED) จำนวน 4 หลอดถูกใช้เป็นแหล่งกำเนิดแสงตกกระทบลงบนวัตถุตัวอย่างโดยติดตั้งไว้ที่ตัวตรวจวัดแสงให้ทิศทางของแสงพุ่งตรงตั้งฉากกับตัวอย่างเพื่อให้แสงสะท้อนกลับเข้าตัวตรวจจับแสงโดยตรง และควบคุมแสงสว่างจากภายนอกโดยการสร้างกล่องครอบ เครื่องตรวจวัดนี้ไว้ให้ภายในมืดสนิท การตั้งโครงยึดตัวตรวจวัดแสงสะท้อนในแนวตั้งด้วยท่อพีวีซีและสามารถเลื่อนขึ้นลงในแนวตั้งได้ด้วยซึ่งตั้งอยู่ภายในกล่องครอบเครื่องตรวจวัดและมีสายสัญญาณต่อออกจากเครื่องตรวจวัดไปยังกล่องควบคุมซึ่งอยู่ภายนอก โดยเครื่องต้นแบบที่สร้างแสดงดังภาพที่ 3.2



ภาพที่ 3.2 แสดงรูปผลงานเครื่องต้นแบบทางฮาร์ดแวร์ (Hardware prototype)

ส่วนที่ 2 คือ processing phase ทำหน้าที่รับคือสัญญาณจาก RGB sensor เพื่อเข้าขบวนการประมวลผลเชิงคณิตศาสตร์และทาง software programing ซึ่งส่วนดังกล่าวประกอบด้วย ไมโครคอนโทรลเลอร์ (Arduino MEGA 2560 R3) สำหรับควบคุมการทำงานของฮาร์ดแวร์ทั้งหมด ชิพควบคุม (Chip Processor) เป็น AT mega 2560 ความเร็วแฟลชอยู่ที่ 256 KB แรม 8 KB ใช้ไฟ 7-12 Volts มี Digital input 54 ขา และ Analog input 16 ขา และส่วนที่ 3 คือ output phase เป็นส่วนของการแสดงผลค่าที่ได้ซึ่งสามารถอธิบายส่วนประมวลผลและส่วนอื่น ๆ ตามกรรมวิธีทางซอฟต์แวร์ด้วยขั้นตอนวิธี (Algorithm) ได้ดังนี้

Algorithm1 for RCB sensor operation software

1	//Arduino Color Sensing Tutorial
2	#define S0 4
3	#define S1 5
4	#define S2 6
5	#define S3 7
6	#define sensorOut 8
7	int frequency = 0;
8	void setup() {
9	pinMode(S0, OUTPUT);
10	pinMode(S1, OUTPUT);
11	pinMode(S2, OUTPUT);
12	pinMode(S3, OUTPUT);
13	pinMode(sensorOut, INPUT);
14	
15	// Setting frequency-scaling to 20%
16	digitalWrite(S0,HIGH);
17	digitalWrite(S1,LOW);
18	
19	Serial.begin(9600);
20	}
21	void loop() {

```
22 // Setting red filtered photodiodes to be read
23 digitalWrite(S2,LOW);
24 digitalWrite(S3,LOW);
25 // Reading the output frequency
26 frequency = pulseIn(sensorOut, LOW);
27 // Printing the value on the serial monitor
28 Serial.print("R= "); //printing name
29 Serial.print(frequency); //printing RED color frequency
30 Serial.print(" ");
31 delay(100);
32 // Setting Green filtered photodiodes to be read
33 digitalWrite(S2,HIGH);
34 digitalWrite(S3,HIGH);
35 // Reading the output frequency
36 frequency = pulseIn(sensorOut, LOW);
37 // Printing the value on the serial monitor
38 Serial.print("G= "); //printing name
39 Serial.print(frequency); //printing RED color frequency
40 Serial.print(" ");
41 delay(100);
42 // Setting Blue filtered photodiodes to be read
43 digitalWrite(S2,LOW);
44 digitalWrite(S3,HIGH);
45 // Reading the output frequency
46 frequency = pulseIn(sensorOut, LOW);
47 // Printing the value on the serial monitor
48 Serial.print("B= "); //printing name
49 Serial.print(frequency); //printing RED color frequency
50 Serial.println(" ");
51 delay(100);
```

52	}
----	---

จาก Algorithm ด้านบน ในแต่ละบรรทัดสามารถแยกอธิบายเป็น ส่วนต่าง ๆ ได้ ดังนี้

ส่วนที่ 1 บรรทัดที่ 1-13

- เป็นการกำหนดการหนดค่าไลบรารีหรือ preprocessor รวมถึงการประกาศค่ากำหนดตัวแปร (Declare variable)

ส่วนที่ 2 บรรทัดที่ 15-19

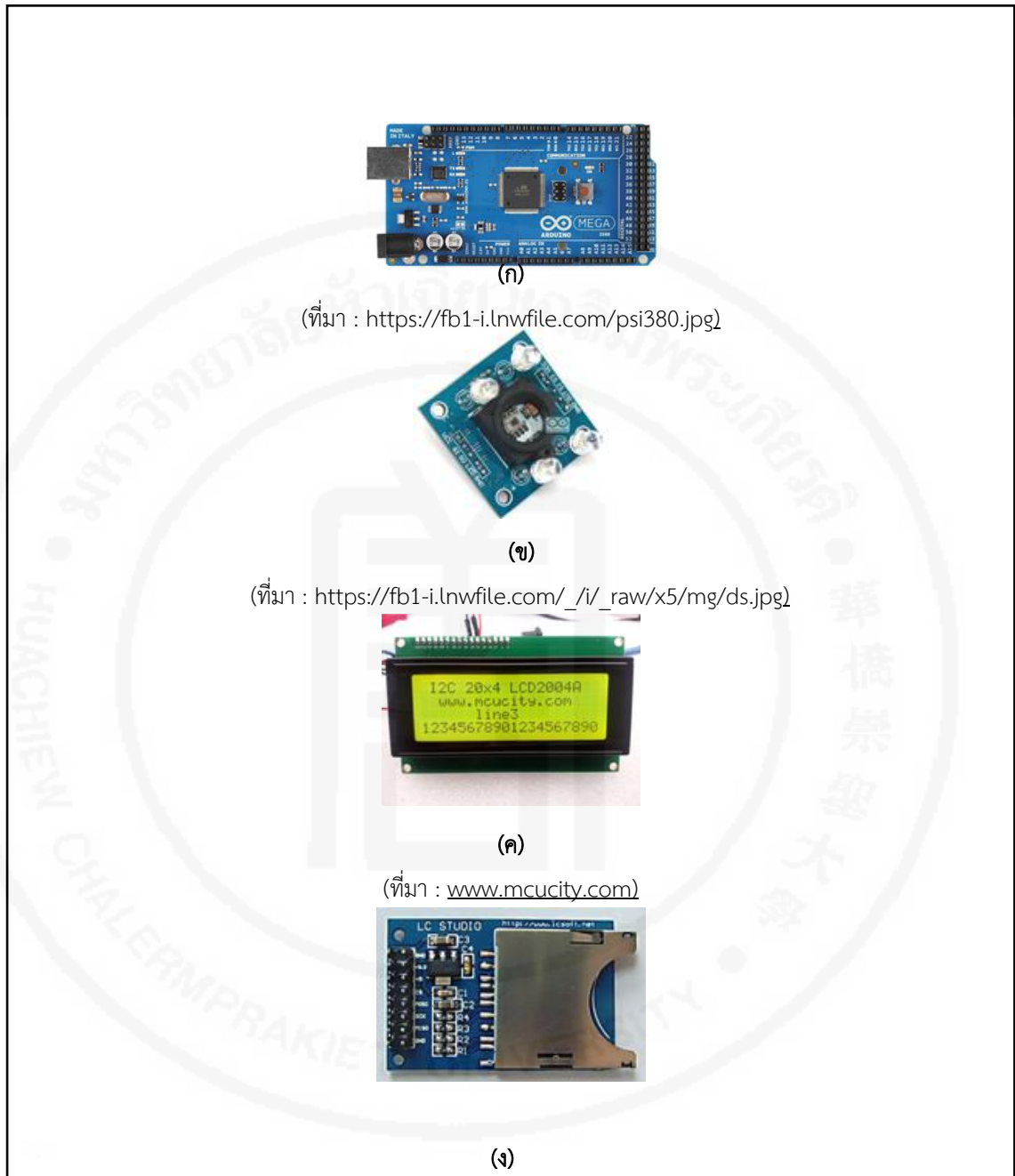
- เป็นการตั้งค่าความถี่สำหรับการอ่านค่าสีต่าง ๆ ตามช่วงที่กำหนดตามคุณสมบัติทางเทคนิคของเซ็นเซอร์ รวมถึงกำหนด buad rate

ส่วนที่ 3 บรรทัดที่ 20-52

- เป็นการรับค่าและคำนวณเพื่อแสดงผลตามข้อกำหนดทางโปรแกรมดังนี้
  - Setting red filtered photodiodes to be read และ Print value on the serial monitor
  - Setting Green filtered photodiodes to be read และ Print value on the serial monitor
  - Setting Blue filtered photodiodes to be read และ Print value on the serial monitor

ภาพที่ 3.3 แสดงส่วนประกอบสำคัญของเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน ได้แก่ ไมโครคอนโทรลเลอร์ ตัวตรวจวัดแสง จอแสดงผล และช่องการ์ดบันทึกข้อมูล (SD Card Module) แบบ micro SD ส่วนของการเขียนซอฟต์แวร์ (Software) เพื่อควบคุมการทำงานของฮาร์ดแวร์ใช้ Arduino IDE ใช้สำหรับเขียนสั่งควบคุมการทำงานของ Arduino โดยใช้ภาษาซี ( C/C++ program) โดยใช้ชุดคำสั่งจากไลบรารี (Library) ตาม Algorithm ด้านบนเพื่อทำการควบคุมและประมวลผลสัญญาณความถี่ที่ส่งมาจากตัวตรวจวัดและส่งข้อมูลกลับออกมาแบบ 8 บิตไปเก็บไว้ที่หน่วยความจำและแสดงบนจอ LCD พร้อมกับสถานะการทำงานของเครื่อง โดยค่าที่ประมวลได้จะเป็นค่ารหัสสีของแสงสี (RGB index) มีค่าอยู่ระหว่าง 0-255 ของแสงแต่ละสี ดังนั้นก่อนการใช้งานต้องตั้งค่าเครื่องตรวจวัดก่อนโดนการทำ การสอบเทียบแสงสี (calibration) ด้วยกระดาษสอบเทียบสีดำและสีขาว โดยการสอบเทียบด้วยกระดาษสีดำจะต้องให้ชุดค่ารหัสสีออกมาเป็น 0-0-0 เนื่องจากไม่มีแสงสะท้อนจากกระดาษเข้าสู่เครื่องตรวจวัดเลย และเมื่อเป็นกระดาษสีขาวจะต้องให้ชุดค่ารหัสสีเป็น 255-255-255 เนื่องจากมีทุกแสงสีสะท้อนเข้าตัวเครื่องตรวจวัดแล้วบันทึกเป็นค่ามาตรฐาน การบันทึกข้อมูลกำหนดให้บันทึกข้อมูลทุก 0.1 วินาทีลงในหน่วยความจำจนกว่าจะมีคำสั่งหยุดการบันทึกข้อมูล





**ภาพที่ 3.3** แสดงส่วนประกอบสำคัญของเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน (ก) ไมโครคอนโทรลเลอร์ (Arduino MEGA 2560 R3) (ข) ตัวตรวจวัดแสง (TCS230 RGB sensor) (ค) จอแสดงผล LCD 20x4 Character with I<sup>2</sup>C (Integrate-Inter Communication) และ(ง) ช่องสำหรับใส่การ์ดบันทึกข้อมูล SD Card Module

### 3.3. การทดสอบเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน

ส่วนของการทดสอบเครื่องมือที่สร้างขึ้นมาในการอ่านค่ารหัสสี RGB ทั้งความแม่นยำในการอ่านค่า การแกว่งของข้อมูล พื้นที่ที่รองรับการตรวจวัด พร้อมทำการเปรียบเทียบรหัสสีที่ได้กับรหัสสีจากโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (Paint program) โดยทำการทดสอบกับกระดาษสีตัวอย่าง และการทดสอบการหาปริมาณไอออนของเหล็กในสารประกอบเหล็กเปรียบเทียบกับวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี สำหรับการเริ่มต้นใช้งานเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนทำได้โดยการตั้งระยะความสูงที่เหมาะสมระหว่างตัวอย่างกับตัวเซ็นเซอร์จากการเลื่อนตัวล้อคเพื่อปรับระดับความสูงทั้งสองข้างบนท่อนพีวีซีที่ตั้งไว้ นำ micro SD card ใส่ในช่องโมดูลบันทึกข้อมูล เมื่อต่อเข้ากับแหล่งจ่ายไฟฟ้ากระแสตรงหรือเครื่องสำรองไฟที่จ่ายไฟกระแสตรงขนาด 5 Volts เครื่องจะมีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

1. ทำการประมวลผลระบบและเรียกหาหน่วยความจำสำหรับการบันทึกข้อมูล
2. ทำการสอบเทียบค่าสีมาตรฐาน โดยการสอบเทียบสีตามมาตรฐานก่อน โดยจะให้ค่ารหัสสีเป็น 0-0-0 แล้วตามด้วยการสอบเทียบสีขาว ซึ่งจะให้ค่ารหัสสีเป็น 255-255-255 ขณะสอบเทียบค่ารหัสสีจะแสดงบนจอ LCD ที่อยู่บนกล่องควบคุม
3. เมื่อทำการสอบเทียบสีมาตรฐานแล้วให้นำตัวอย่างวางบนฐานวางตัวอย่าง แสงสีขาวจากหลอด LED ซึ่งปล่องแสงออกมาทุกความยาวคลื่นจะตกกระทบลงบนผิวตัวอย่าง แล้วจะสะท้อนกลับเข้าสู่เซ็นเซอร์ในทิศทางตั้งฉากกับพื้นผิวตัวอย่าง ระบบทำการประมวลผลและแสดงบนจอ LCD บนกล่องควบคุม แต่จะยังไม่บันทึกค่ารหัสสีลงบน micro SD card จนกว่าจะสั่งให้มีการบันทึกค่า

สำหรับการทำงานของตัวเซ็นเซอร์ตรวจวัดแสง (TCS230 RGB Color sensor) จะทำการกรองแสงสะท้อนสีแดงมีความยาวคลื่น 640 nm แสงสีเขียวความยาวคลื่น 524 nm และแสงสีน้ำเงินความยาวคลื่น 470 nm แล้วทำการส่งสัญญาณไฟฟ้าเป็นสัญญาณความถี่เพื่อไปประมวลผลด้วย Arduino MEGA 2560 R3 ส่งข้อมูลกลับไปบันทึกใน micro SD card เก็บเป็นไฟล์สกุล CSV แยกเป็น 3 คอลัมน์ คือ คอลัมน์ค่ารหัสสีแดง (R index) คอลัมน์ค่ารหัสสีเขียว (G index) และคอลัมน์ค่ารหัสสีน้ำเงิน (B index) ในการเก็บข้อมูลการวัดค่ารหัสสีจะต้องกดปุ่มบันทึกค่า (record) และจะมี

การบันทึกค่าทุก ๆ 0.1 s เมื่อต้องการหยุดการบันทึกข้อมูลให้กดปุ่มบันทึกซ้ำ และทำการกดปุ่มรีเซ็ตเมื่อต้องการเริ่มต้นการวัดครั้งใหม่

#### 3.3.1. ขนาดของตัวอย่าง (พื้นที่) ที่เหมาะสมสำหรับเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน

การตรวจหาขนาดพื้นที่ที่เหมาะสม (effective area) เพื่อรองรับการตรวจวัด ทำโดยการใช้กระดาษสีขาว 4 ขนาด ได้แก่  $4\text{ cm}^2$   $9\text{ cm}^2$   $16\text{ cm}^2$  และ  $54\text{ cm}^2$  ที่ระดับต่ำกว่าตัวตรวจวัด 4 cm โดยเริ่มต้นจากการวัดค่ารหัสสี RGB จากกระดาษทดสอบสีดำ แล้วทำการสลับเป็นกระดาษสีขาว

ขนาด 54 cm<sup>2</sup> ก่อนเพื่อใช้เป็นค่าเปรียบเทียบแล้วสลับกลับเป็นกระดาษดำ แล้วทำซ้ำโดยการเปลี่ยนขนาดของกระดาษทดสอบสีขาว ในการบันทึกค่าแต่ละครั้งทำการวัดนาน 5 min

### 3.3.2. การตรวจวัดค่ารหัสสี RGB

การตรวจวัดค่ารหัสสี RGB ค่าความสเถียรของการตรวจวัด และความเที่ยงของการตรวจวัด โดยการใช้กระดาษสีทดสอบ 5 สี ได้แก่ กระดาษสีแดง กระดาษสีเขียว กระดาษสีเหลือง กระดาษสีฟ้า และกระดาษสีน้ำเงิน ขนาด 9 cm<sup>2</sup> ทำการตรวจวัดค่าแสงสะท้อนจากกระดาษด้วยเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน ที่ระยะต่ำกว่าตัวตรวจวัด 4 cm เป็นเวลา 30 min ต่อเนื่อง และทำซ้ำ 20 รอบ และนำค่าเฉลี่ยของรหัสสี RGB ไปสร้างสีด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์พื้นฐาน (Paint Program) และทำการถ่ายภาพกระดาษสีทดสอบด้วยกล้องจากโทรศัพท์เคลื่อนที่ iPhone เพื่อนำไปเปรียบเทียบกับสีที่สร้างขึ้นด้วยโปรแกรม

ในการหาระดับความสูงจากตัวอย่างของตัวตรวจวัดทำโดยการเปลี่ยนระดับความสูงจาก 4 cm มาเป็น 3 cm และทำการตรวจวัดกับกระดาษสีเขียวและกระดาษสีเหลืองเป็นเวลา 30 min ต่อเนื่อง จำนวน 3 รอบ

### 3.3.3. การสอบเทียบเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนกับเครื่องมือมาตรฐาน

#### 3.3.3.1. เปรียบเทียบค่ารหัสสี RGB ของกระดาษตัวอย่างกับเครื่องวัดสีมาตรฐาน colorimeter

วัดค่าสีของกระดาษตัวอย่างขนาด ขนาด 9 cm<sup>2</sup> ทั้ง 5 ตัวอย่างด้วยเครื่อง colorimeter Chroma Meters “Minolta” #CR-400/410 ของ Konica Minolta โดยบันทึกค่าในระบบ CIE L\*ab แล้วทำการแปลงให้อยู่ในระบบ RGB ผ่านโปรแกรมสำเร็จรูป Convert | EasyRGB ผ่านเว็บไซต์ของ EasyRGB.com โดยใช้แหล่งกำเนิดมาตรฐาน (illuminant) เป็น D65 และมาตรฐานเทียบสี CIE 1964 (total color different) โดยมีทิศทางของมุมมอง 10° และเปรียบเทียบกับค่ารหัสสี RGB ที่ได้จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน

#### 3.3.3.2. การตรวจหาปริมาณไอออนเหล็กในสารประกอบเหล็กเปรียบเทียบกับเครื่องมือมาตรฐาน UV-Vis Spectrophotometer

การทดสอบการตรวจวัดหาปริมาณในสารละลายที่มีสี เช่นสารประกอบเหล็ก เปรียบเทียบกับวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงหรือค่าการส่องผ่านของแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer โดยการเตรียม Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O เข้มข้น 0.01 mg/mL ปริมาตร 50 mL (stock solution)

สารละลาย Hydroxylamine hydrochloride ( $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ) 10% ปริมาตร 4 mL สารละลาย 1-10 phenanthroline solution 0.1% ปริมาตร 20 mL และสารละลาย Sodium acetate ( $\text{NaOAc}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) เข้มข้น 1.0 M ปริมาตร 20 mL เพื่อนำมาเตรียมสารประกอบไอออนเหล็ก (สารละลาย  $\text{Fe}^{2+}$ ) ที่มีความเข้มข้น 0.2 ppm 0.4 ppm 0.6 ppm 0.8 ppm และ 1 ppm และสารละลายตัวอย่างไม่ทราบความเข้มข้น 2 ตัวอย่าง (S1 และ S2) โดยทำการตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ก่อนนำไปวิเคราะห์ต่อ

ใช้เครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ หาสเปกตรัมของการส่องผ่านของแสง (Transmission spectrum) ในช่วงความยาวคลื่น 350-750 nm ปริมาตร 1 mL ใส่ใน cuvette quartz และหาค่าปริมาณเข้มแสงของการส่องผ่านที่ความยาวคลื่น 640 nm 524 nm และ 470 nm เปรียบกับค่ารหัสสีที่ได้จากการวัดค่าการสะท้อนของแสงด้วยเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน

### 3.4. การสกัดสารสกัดหยาบแอนโทไซยานิน

การสกัดสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินในงานวิจัยครั้งนี้ทำการสกัดด้วย 2 วิธี คือการสกัดจากกะหล่ำปลีสด (Fresh Red Cabbage) และสกัดจากกะหล่ำปลีอบแห้งแบบเยือกแข็ง โดยทำตามวิธีของ Chandrasekhar (25)

#### 3.4.1 การอบแห้งกะหล่ำปลีม่วงแบบเยือกแข็ง

ล้างและหั่นกะหล่ำปลีม่วงหยาบๆ แล้วนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 1 คืน หลังจากนั้นนำเข้าเครื่องอบแห้งแบบเยือกแข็ง อบภายใต้อุณหภูมิ  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$  ที่ความดัน 0.13 mbar เป็นเวลารวม 24 hr เมื่อกะหล่ำปลีม่วงแห้งดีแล้วทำการปั่นด้วยเครื่องปั่นให้ละเอียดแล้วเก็บในขวดสีชาและใส่ตู้เย็นอุณหภูมิ  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$

#### 3.4.2. การสกัดสารสกัดหยาบแอนโทไซยานิน

เตรียมตัวทำละลาย 1% ของไฮโดรคลอริกใน 50% เอทานอล สำหรับเตรียมสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีม่วงสด (Fresh Red Cabbage, FreshRC) หั่นหยาบอัตราส่วน 25 g ใส่ในตัวทำละลาย 1% ของไฮโดรคลอริกใน 50% เอทานอล ปริมาตร 50 mL แช่ไว้เป็นเวลา 1 min แล้วทำการกรองเพื่อเอากากกะหล่ำปลีออกและนำสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินเก็บใส่ขวดสีชาสำหรับการเตรียมสารสกัดหยาบจากกะหล่ำปลีอบแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dried Red Cabbage, FDRC) ทำโดยการใส่กะหล่ำปลีม่วงอบแห้งอัตราส่วน 100 mg ในตัวทำละลาย 1% ของ

ไฮโดรคลอริกใน 50% เอทานอล ปริมาตร 5 mL แช่ไว้เป็นเวลา 5min ทำการกรองเอากากออกแล้ว เก็บสารสกัดหยาบไว้ในขวดสีชา

### 3.4.3. วัดปริมาณแสงส่องผ่าน (Transmission) ของแสงด้วยเครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

เปรียบเทียบสเปกตรัมของแสงส่องผ่าน (Transmission spectrum) ของสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดกะหล่ำปลีสดและกะหล่ำปลีอบแห้ง ด้วยเครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ในช่วงความยาวคลื่น 350-750 nm และนำไปตรวจวัดปริมาณแสงสะท้อนด้วยเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนเพื่อหาค่ารหัสสี RGB โดยทำการเจือจางสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินที่ได้ทั้งสองวิธีด้วยตัวทำละลาย 1% ของไฮโดรคลอริกใน 50% เอทานอลที่ความเข้มข้นต่อไปนี้ 50 %v/v 25 %v/v 12.5 %v/v 6.255 %v/v 3.125 %v/v 1.56 %v/v 0.78 %v/v 0.39 %v/v 0.195 %v/v และ 0.98 %v/v

### 3.4.4. วัดค่ารหัสสี RGB ด้วยเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน

นำสารสกัดหยาบที่เตรียมได้ที่ความเข้มข้น 50 %v/v 25 %v/v 12.5 %v/v 6.255 %v/v 3.125 %v/v 1.56 %v/v 0.78 %v/v 0.39 %v/v 0.195 %v/v และ 0.98 %v/v วัดค่ารหัสสี RGB ด้วยเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน เป็นเวลา 5 min

## 3.5 การเตรียมกระดาษแอนโทไซยานิน

กระดาษแอนโทไซยานินถูกนำไปใช้เป็นตัวตรวจสอบหาปริมาณสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เนื่องจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถเข้าไปทำลายโครงสร้างของแอนโทไซยานินให้สีเปลี่ยนไป โดยนำกะหล่ำปลีอบแห้ง 4 g ใส่ในตัวทำละลาย 1% ของไฮโดรคลอริกใน 50% เอทานอล แล้วกรองออก นำกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ขนาด 2.5 \*2.5 cm<sup>2</sup> แช่ลงในสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินเป็นเวลา 30 min แล้วกลับด้าน แช่ต่ออีก 30 min หลังจากนั้นนำมาตากแห้งและเป่าด้วยลมเย็นในที่มืดจนแห้ง เก็บไว้ในตู้เก็บความชื้น และทำการวัดค่ารหัสสี RGB ของกระดาษแอนโทไซยานินด้วยเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน จำนวน 20 ชิ้น

## 3.6 การหาปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

เตรียมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.01 M 0.05 M 0.1 M 0.3 M 0.5 M 1 M 3 M และ 5 M และทำการเตรียมสารตัวอย่างทดสอบ เรียกว่า sam1 และ sam2

### 3.6.1. การหาปริมาณสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

วัดค่ารหัสสี RGB ของกระดาษแอนโทไซยานินก่อนการทดสอบนาน 5 min หลังจากนั้นหยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ปริมาตร 20  $\mu\text{L}$  ลงไปบนกระดาษแอนโทไซยานินแล้วทำการวัดค่ารหัสสีต่อไปเป็นเวลา 3 hr

### 3.6.2. การหาปริมาณไอระเหยของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

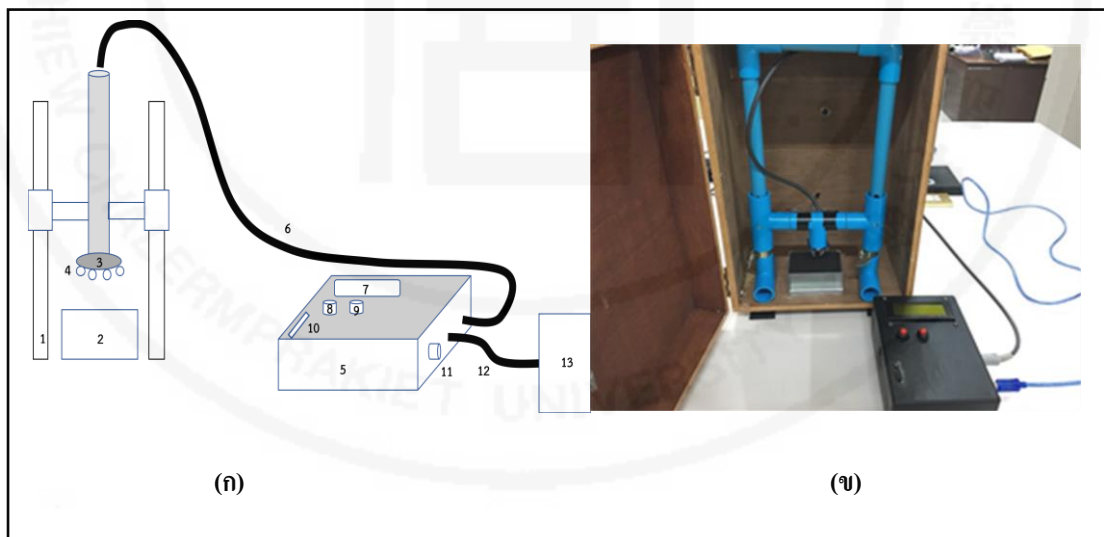
เตรียมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ 10 mL ใส่ถ้วย ปิดด้วยกระดาษแข็ง หลังจากนั้นนำกระดาษแอนโทไซยานินวางซ้อนบนกระดาษแข็งแล้ววัดค่ารหัสสี RGB ก่อนการทดสอบนาน 5 min หลังจากนั้นนำกระดาษแข็งออกและวางกระดาษแอนโทไซยานินไว้ที่เดิมเพื่อทำการวัดค่ารหัสสีต่อไปอีก 3 hr

## บทที่ 4 ผลการทดลอง

การรายงานผลของงานวิจัยครั้งนี้แยกออกเป็น ส่วนของการสร้างเครื่องมือเพื่อใช้ในการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของสีและส่วนของการตรวจสอบหาปริมาณ  $H_2O_2$  โดยใช้กระดาษแอนโทไซยานินซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษแอนโทไซยานินเมื่อเกิดปฏิกิริยากับ  $H_2O_2$  โดยแบ่งย่อยออกเป็นการเตรียมกระดาษแอนโทไซยานินและการตรวจวัดปริมาณ  $H_2O_2$

### 4.1. เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน (Light Reflection sensors)

เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนที่สร้างขึ้นมีไดอะแกรมของเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนแสดงไว้ในภาพที่ 4.1(ก) และภาพที่ 4.1(ข) แสดงส่วนประกอบของเครื่องต้นแบบทางฮาร์ดแวร์และกล่องควบคุม

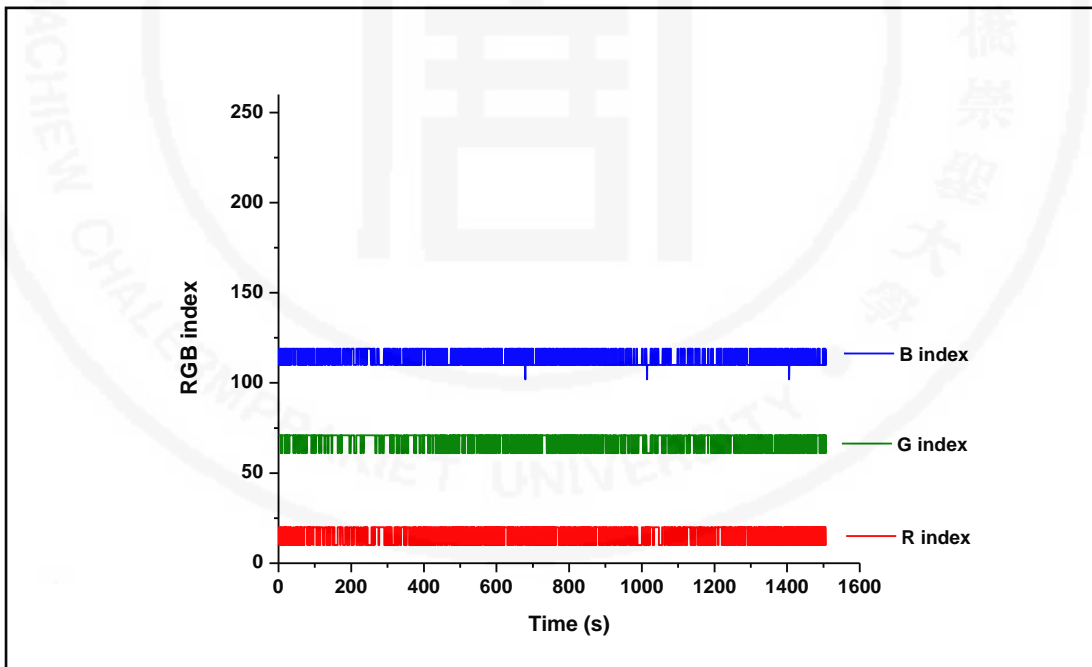


ภาพที่ 4.1. (ก) แผนภาพแสดงส่วนประกอบของเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน และ (ข) เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน

#### 4.1.1 การวัดค่ารหัสสี RGB

##### 4.1.1.1 การวัดค่ารหัสสี RGB จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน

การวัดค่ารหัสสี RGB จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนเป็นการวัดปริมาณส่วนผสมของแสงสีปฐมภูมิ (แสงสีแดง แสงสีเขียว และแสงสีน้ำเงิน) ที่สะท้อนออกจากตัวอย่างเมื่อได้รับแสงตกกระทบเป็นแสงขาว (จากหลอด LED) โดยทำการบันทึกค่าทุก ๆ 0.1 s เป็นเวลา 30 min ต่อเนื่องเมื่อนำค่ารหัสสี RGB ในแต่ละครั้งที่ได้มาเขียนกราฟเทียบกับเวลาจะแสดงผลดังแสดงในภาพที่ 4.2 จากภาพเป็นผลของการวัดปริมาณแสงสะท้อนจากกระดาษสีน้ำเงิน พบว่ามีการแกว่งของค่ารหัสสี RGB แต่ละช่วงเวลาของการบันทึกค่าอยู่ที่  $\pm 5$  ตลอดระยะเวลา 30 min และเมื่อทำการวัดซ้ำ 3 ครั้ง ได้ค่าเฉลี่ยของค่ารหัสสี RGB ของกระดาษสีน้ำเงินอยู่ที่ 17-69-115 (R-G-B) และมีค่าการแกว่งของข้อมูลเฉลี่ยในแต่ละครั้งของการวัด (SD) ที่ทำการวัดอยู่ที่ ( $\pm 1.40$ ,  $\pm 1.31$ ,  $\pm 1.78$ ) เช่นเดียวกันค่าเฉลี่ยของการวัดค่ารหัสสี RGB ของกระดาษสีแดงอยู่ที่ 101-12-15 และของกระดาษสีเหลืองอยู่ที่ 192-148-53 ดังในตารางที่ 4.1



ภาพที่ 4.2. กราฟแสดงค่ารหัสสี RGB ของกระดาษสีน้ำเงิน ตลอดช่วงเวลาการวัดที่ 30 min



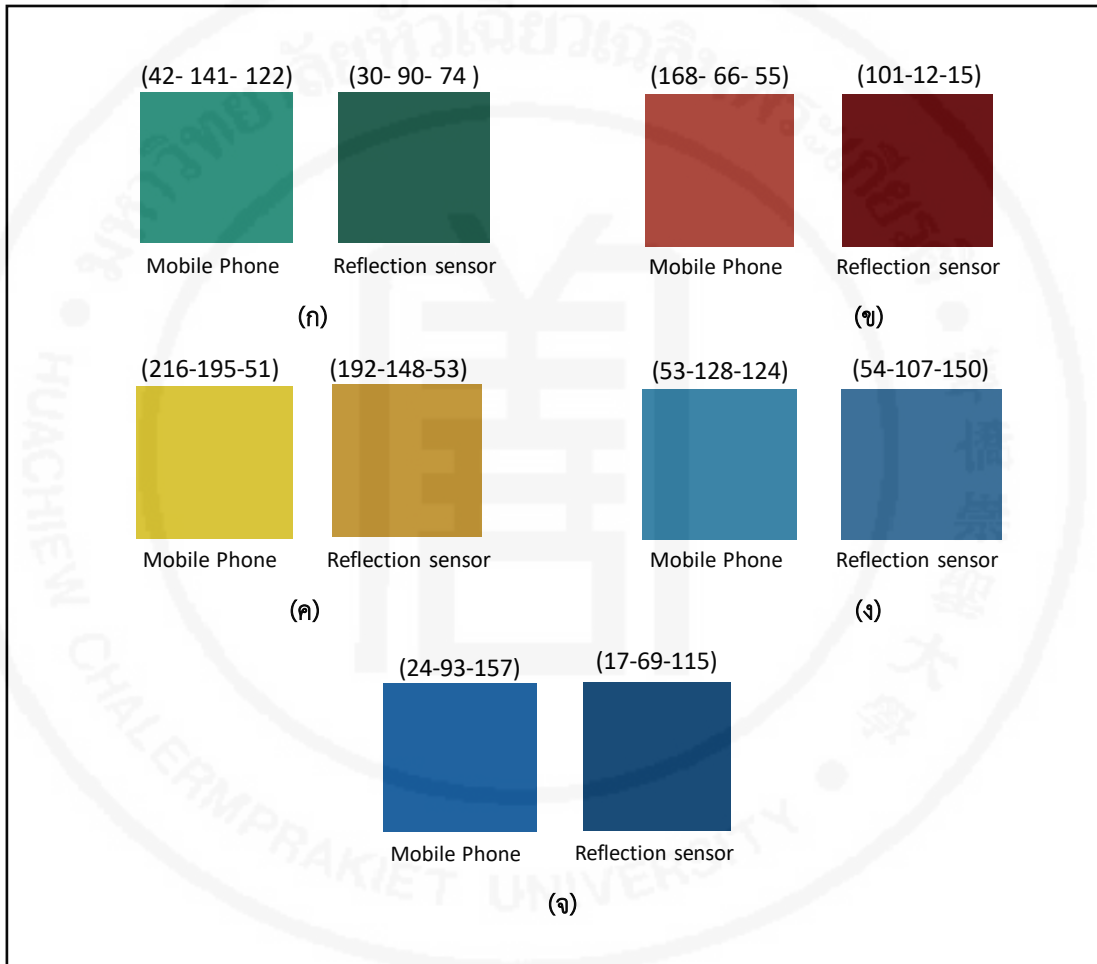
#### 4.1.1.2 การหาค่า RGB ด้วยโปรแกรมพื้นฐาน

การอ่านค่ารหัสสี RGB ในระบบ 8 บิต เป็นการอ่านค่าสีที่พบได้ในโปรแกรมพื้นฐานในคอมพิวเตอร์ เช่น Paint Program โดยการดูสีในภาพถ่ายแล้วทำการอ่านค่ารหัสสีแสดงเฉดสีจากสีที่ดูได้จำนวน 10 จุดต่อภาพตัวอย่างและทำซ้ำ 3 ครั้งเพื่อทำการเปรียบเทียบกับค่ารหัสสี RGB ที่ได้จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนให้ผลดังตารางที่ 4.1 โดยค่าที่ได้จากโปรแกรม Paint ของตัวอย่างกระดาษสีต่าง ๆ ให้สัดส่วนของแสงสีในปริมาณที่ใกล้เคียงกับการใช้เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน เช่น กระดาษตัวอย่างสีน้ำเงิน ได้ค่ารหัสสี RGB ที่ 24-93-157 ในขณะที่รหัสสี RGB จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนเป็น 17-69-115 แต่ค่าการแกว่งของข้อมูลจากการทำซ้ำ 3 ครั้งของการใช้โปรแกรมพื้นฐานมีค่าสูงกว่าซึ่งอยู่ที่  $\pm 19.30$ ,  $\pm 14.01$ ,  $\pm 14.01$  อาจเป็นผลมาจากแสงจากสิ่งแวดล้อมขณะทำการถ่ายภาพ เช่นเดียวกันกับผลที่ได้จากกระดาษตัวอย่างสีแดง มีค่ารหัสสี RGB 168-66-55 และ 101-12-15 จากโปรแกรม Paint และเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนตามลำดับ และเมื่อนำค่าเฉลี่ยรหัสสี RGB ที่ได้จากเครื่องมือทั้งสองชนิดไปสร้างภาพที่มีสีเดียวกับค่าเฉลี่ยรหัสสี RGB จะได้ภาพกระดาษสีออกมาตามภาพที่ 4.3 แสงสีที่ได้จากค่ารหัสสี RGB เฉลี่ยของเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนจะให้ภาพของกระดาษสีที่สว่างน้อยกว่าภาพที่ได้จากค่าเฉลี่ยรหัสสี RGB ของโปรแกรม

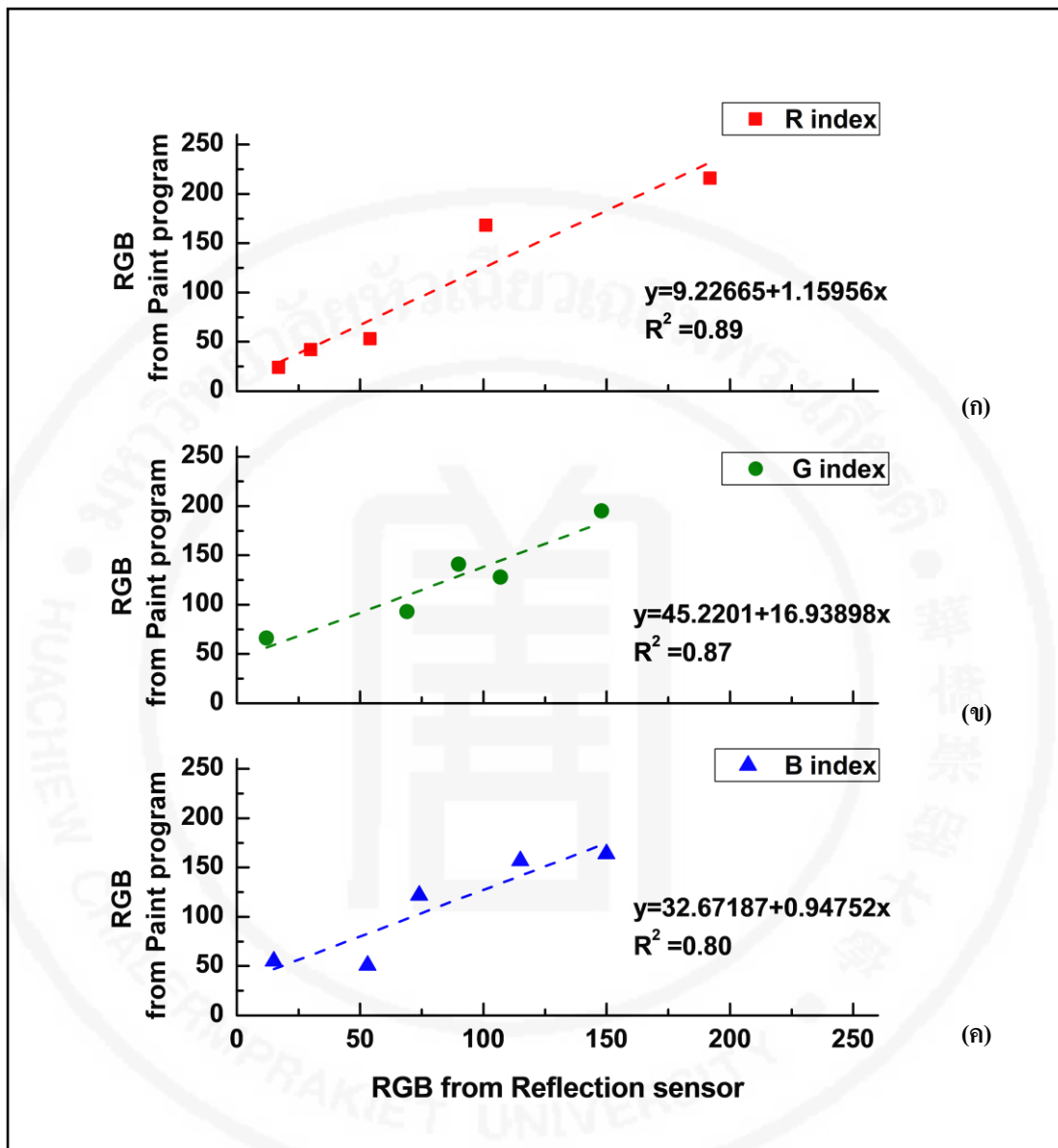
ตารางที่ 4.1. แสดงค่าเฉลี่ยของรหัสสี RGB จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนและจากโปรแกรม Paint

กระดาษตัวอย่าง (Color paper)	เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน (Light Reflection sensor)			โปรแกรม (Paint Program)		
	R (SD)	G (SD)	B (SD)	R (SD)	G (SD)	B (SD)
สีแดง (Red)	101 ( $\pm 1.69$ )	12 ( $\pm 1.26$ )	15 ( $\pm 1.52$ )	168 ( $\pm 9.71$ )	66 ( $\pm 7.94$ )	55 ( $\pm 8.74$ )
สีเขียว (Green)	30 ( $\pm 1.28$ )	90 ( $\pm 1.79$ )	74 ( $\pm 1.73$ )	42 ( $\pm 8.62$ )	141 ( $\pm 11.53$ )	122 ( $\pm 11.02$ )
สีเหลือง (Yellow)	192 ( $\pm 2.30$ )	148 ( $\pm 1.88$ )	53 ( $\pm 1.63$ )	216 ( $\pm 14.57$ )	195 ( $\pm 15.01$ )	51 ( $\pm 15.82$ )
สีฟ้า (Light Blue)	54 ( $\pm 1.94$ )	107 ( $\pm 2.27$ )	150 ( $\pm 2.62$ )	53 ( $\pm 16.5$ )	128 ( $\pm 16.52$ )	164 ( $\pm 18.72$ )
สีน้ำเงิน (Blue)	17 ( $\pm 1.40$ )	69 ( $\pm 1.31$ )	115 ( $\pm 1.78$ )	24 ( $\pm 19.30$ )	93 ( $\pm 14.01$ )	157 ( $\pm 14.01$ )

และเมื่อหาความสัมพันธ์ของค่าที่วัดได้จากเครื่องตรวจวัดการสะท้อนแสงกับจากโปรแกรม Paint พบความสัมพันธ์ของค่ารหัสสีแดงจากสองวิธีแสดงดังกราฟในภาพที่ 4.4 (ก) พบว่ามีค่า  $R^2 = 0.89$  ในขณะที่ภาพ 4.4 (ข)-(ค) แสดงความสัมพันธ์ของค่ารหัสสีเขียวและสีน้ำเงิน พบว่ามีค่า  $R^2 = 0.87, R^2 = 0.80$  ตามลำดับ



ภาพที่ 4.3 แสดงสีที่ได้จากเครื่องตรวจวัดการสะท้อนแสงและจากโปรแกรม Paint ของกระดาษตัวอย่าง (ก) สีเขียว (ข) สีแดง (ค) สีเหลือง (ง) สีฟ้า และ (จ) สีน้ำเงิน



ภาพที่ 4.4. แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีแสงสีที่ได้จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนและโปรแกรม Paint (ก) R index (ข) G index และ (ค) B index

#### 4.1.2. ผลของระยะห่างระหว่างตัวอย่างกับเซ็นเซอร์

การศึกษาหาระยะห่างที่เหมาะสมระหว่างเซ็นเซอร์ตรวจวัดแสงสะท้อนกับตัวอย่าง ทำการกำหนดระยะห่างไว้ที่ 2 ช่วง คือ ระยะ 3 cm และ ระยะ 4 cm แล้วทำการบันทึกค่ารหัสสี RGB ของกระดาษสีตัวอย่าง (สีเหลืองและสีเขียว) เป็นเวลา 30 min ต่อครั้ง ทำซ้ำตัวอย่างละ 3 รอบ โดยต้องควบคุมแสงจากหลอด LED ทั้งสี่ดวงต้องตกกระทบบนตัวอย่างและรวมกันบนกึ่งกลางของกระดาษ

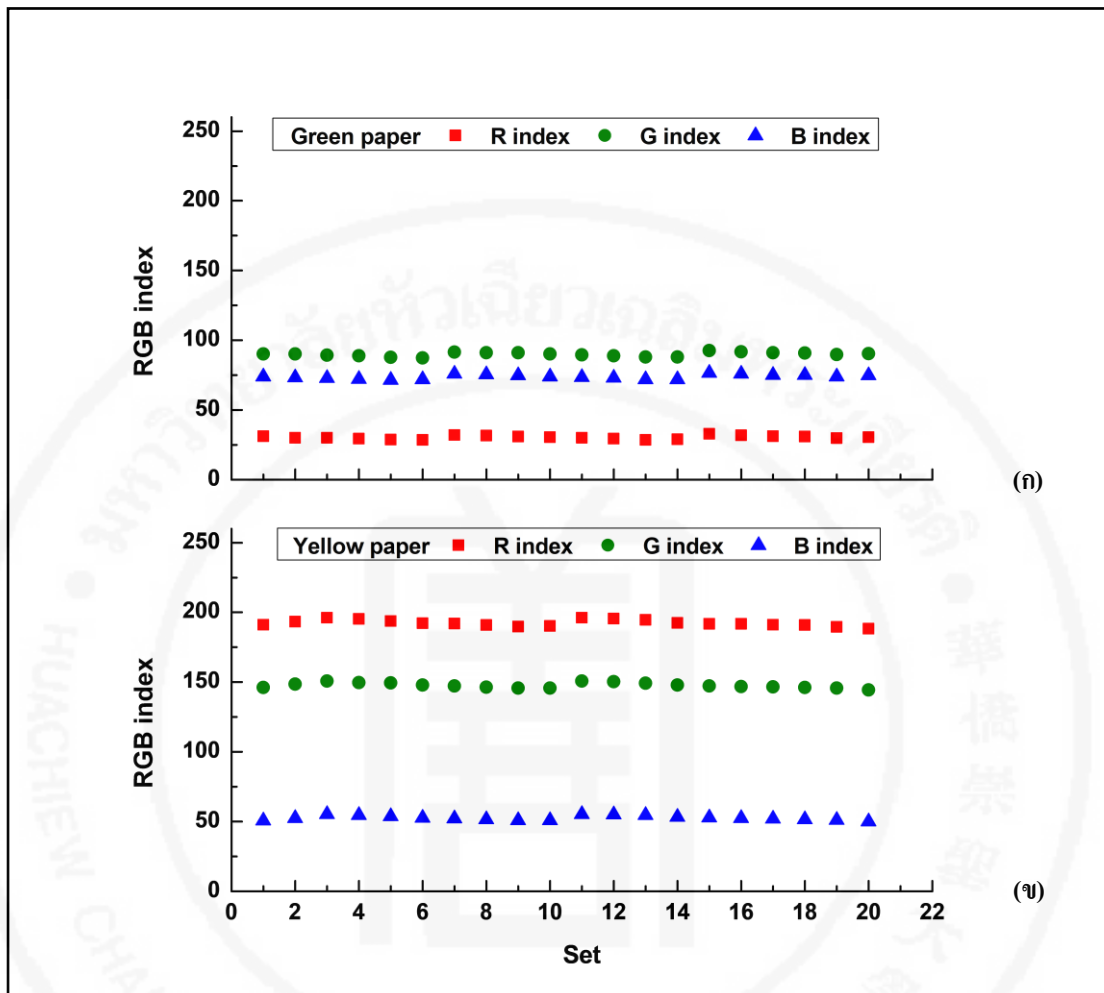
ตัวอย่างให้เป็นจุดสว่างเพียงจุดเดียว ดังนั้นที่ระยะใกล้กว่า 3 cm จะไม่สามารถรวมแสงจากหลอด LED ทั้งสี่ดวงให้เป็นจุดเดียวกันได้ จากการทดลองพบว่าในแต่ละรอบของการวัดแสงสะท้อนจากกระดาษสีตัวอย่างให้ค่ารหัสสี RGB มีการแกว่งอยู่ที่  $\pm 5$  ทุก ๆ 0.1 s ตลอดระยะเวลา 30 min ทั้งระยะห่างที่ 3 cm และระยะห่างที่ 4 cm และค่าเฉลี่ยของรหัสสี RGB ทั้ง 3 รอบมีค่าการแกว่งของค่าเฉลี่ยข้อมูลที่ไม่เท่ากัน โดยที่ระยะ 3 cm มีการแกว่งของค่าเฉลี่ยข้อมูลมากกว่าที่ระยะ 4 cm ดังแสดงในตามตารางที่ 4.2 กระดาษตัวอย่างสีเขียวพบค่ารหัสสีแดงเฉลี่ยทั้ง 3 รอบอยู่ที่ 28.6 และ 36.14 โดยมีค่าการแกว่งของค่าเฉลี่ยอยู่ที่  $\pm 2.07$  และ  $\pm 1.08$  ที่ระยะห่าง 3 cm และ 4 cm ตามลำดับ ดังนั้นที่ระยะห่างระหว่างตัวอย่าง 4 cm ให้ค่ารหัสสีดีกว่าที่ระยะ 3 cm สำหรับกระดาษสีตัวอย่าง

**ตารางที่ 4.2.** แสดงค่าเฉลี่ยของ RGB index ที่ระยะห่าง 3 cm และ 4 cm ของกระดาษสีตัวอย่าง

กระดาษสี	ระยะห่าง (Distance)					
	3 cm			4 cm		
	R	G	B	R	G	B
สีเขียว (Green)	28.60 ( $\pm 2.07$ )	87.89 ( $\pm 4.64$ )	74.44 ( $\pm 3.60$ )	36.14 ( $\pm 1.08$ )	89.31 ( $\pm 0.73$ )	72.48 ( $\pm 0.10$ )
สีเหลือง (Yellow)	195.87 ( $\pm 7.31$ )	147.78 ( $\pm 3.50$ )	52.61 ( $\pm 2.53$ )	197.85 ( $\pm 0.87$ )	147.33 ( $\pm 0.03$ )	48.53 ( $\pm 2.21$ )

#### 4.1.3. ความเสถียร (stability) และความเที่ยง (repeatability) ของเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน

ในการตรวจสอบความเสถียรในการวัดค่ารหัสสี RGB ของการวัดปริมาณแสงสะท้อนจากกระดาษสีตัวอย่าง 5 สี โดยแต่ละสีวัดค่ารอบละ 30 min ทำซ้ำ 20 รอบในหนึ่งตัวอย่างแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยรหัสสี ในแต่ละรอบการวัดรหัสสีมีการแกว่งของข้อมูลอยู่ที่  $\pm 5$  และไม่พบการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลตลอดระยะเวลาการบันทึกค่า ในภาพที่ 4.5 (ก) แสดงกราฟค่าเฉลี่ยของรหัสสี RGB ทั้ง 20 รอบของกระดาษตัวอย่างสีเขียว พบว่ามีการแกว่งของค่าเฉลี่ยอยู่ที่  $\pm 1.28$ ,  $\pm 1.79$  และ  $\pm 1.73$  สำหรับค่ารหัสสี R, G และ B ตามลำดับและ ภาพที่ 4.5 (ข) แสดงกราฟค่าเฉลี่ยของรหัสสี RGB ของกระดาษตัวอย่างสีเหลืองให้ค่าการแกว่งเฉลี่ยอยู่ที่  $\pm 2.3$ ,  $\pm 1.88$  และ  $\pm 1.83$  และสำหรับกระดาษสีตัวอย่างสีอื่น ๆ ให้ผลเช่นเดียวกัน โดยค่าเฉลี่ยของรหัสสี RGB และค่าการแกว่งของค่าเฉลี่ย แสดงดังตารางที่ 4.1 ดังนั้นเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนเมื่อนำมาตรวจวัดค่ารหัสสีของตัวอย่างที่แสงไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีพบว่ามีเสถียรดีและสามารถวัดซ้ำได้โดยมีค่าการแกว่งไม่เกินค่าการแกว่งของการบันทึกผลในแต่ละจุดเวลา ( $\pm 5$ )

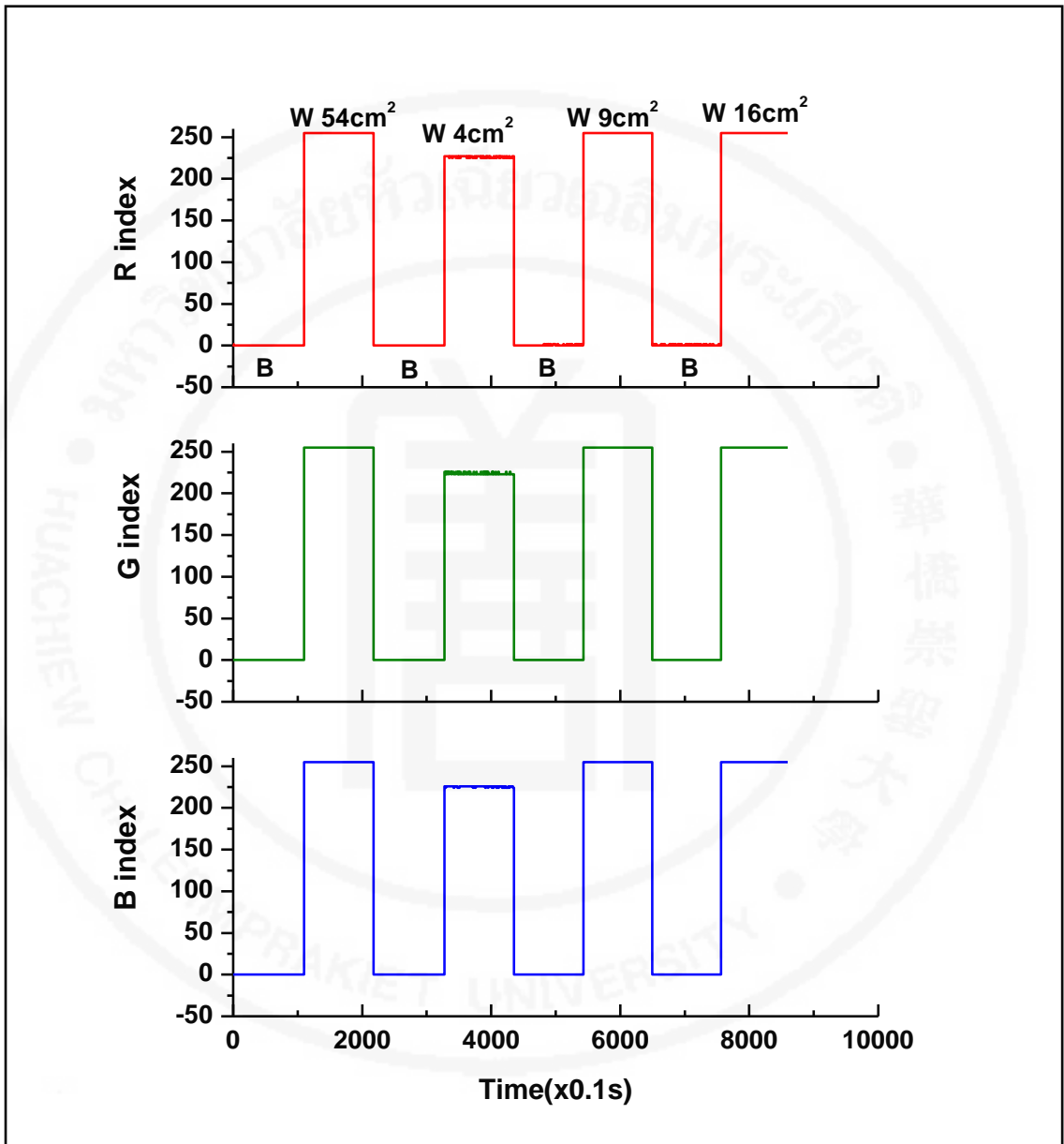


ภาพที่ 4.5. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยรหัสสี RGB ของ (ก) กระดาษตัวอย่างเขียว และ (ข) กระดาษตัวอย่างสีเหลืองจำนวน 20 ครั้งจากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน

#### 4.1.4. ขนาด (พื้นที่) ของตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน

กำหนดพื้นที่ไว้ทั้งหมด 4 ขนาด ได้แก่  $4 \text{ cm}^2$   $9 \text{ cm}^2$   $16 \text{ cm}^2$  และ  $54 \text{ cm}^2$  สำหรับกระดาษสีขาว และขนาด  $54 \text{ cm}^2$  สำหรับกระดาษสีดำ และกำหนดระยะห่างระหว่างตัวเซ็นเซอร์รับแสงสะท้อนกับกระดาษตัวอย่างอยู่ที่  $4 \text{ cm}$  ผลการวัดค่ารหัสสีแสดงในภาพที่ 4.6 แสดงผลรหัสสี RGB ของกระดาษสีขาวขนาดพื้นที่ต่าง ๆ สลับกับกระดาษสีดำ โดยเริ่มต้นที่ขนาด  $54 \text{ cm}^2$  เพื่อใช้เป็นค่ามาตรฐาน พบว่าให้ค่ารหัสสี RGB อยู่ที่ 255-255-255 ทำการสลับกลับมาที่กระดาษสีดำค่ารหัสสี RGB อยู่ที่ 0-0-0 เมื่อเปลี่ยนขนาดกระดาษสีขาวเป็น  $4 \text{ cm}^2$   $9 \text{ cm}^2$  และ  $16 \text{ cm}^2$  ตามลำดับ พบว่าค่า RGB ของกระดาษสีขาวขนาด  $4 \text{ cm}^2$  มีค่าไม่ถึงค่ามาตรฐานในขณะที่พื้นที่ตั้งแต่  $9 \text{ cm}^2$  ขึ้นไปจะ

ให้ค่ารหัสสี RGB ที่ถูกต้องเท่ากับค่ามาตรฐานของกระดาษสีขาวขนาด  $54 \text{ cm}^2$  แสดงว่าขนาดของกระดาษตัวอย่างที่เหมาะสมควรมีพื้นที่ตั้งแต่  $9 \text{ cm}^2$  ขึ้นไป



ภาพที่ 4.6. กราฟแสดงค่ารหัสสี RGB ของกระดาษสีดำขนาด  $54 \text{ cm}^2$  และกระดาษสีขาวขนาด  $4 \text{ cm}^2$   $9 \text{ cm}^2$   $16 \text{ cm}^2$  และ  $54 \text{ cm}^2$

## 4.2. การสอบเทียบเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนกับเครื่องมือมาตรฐาน

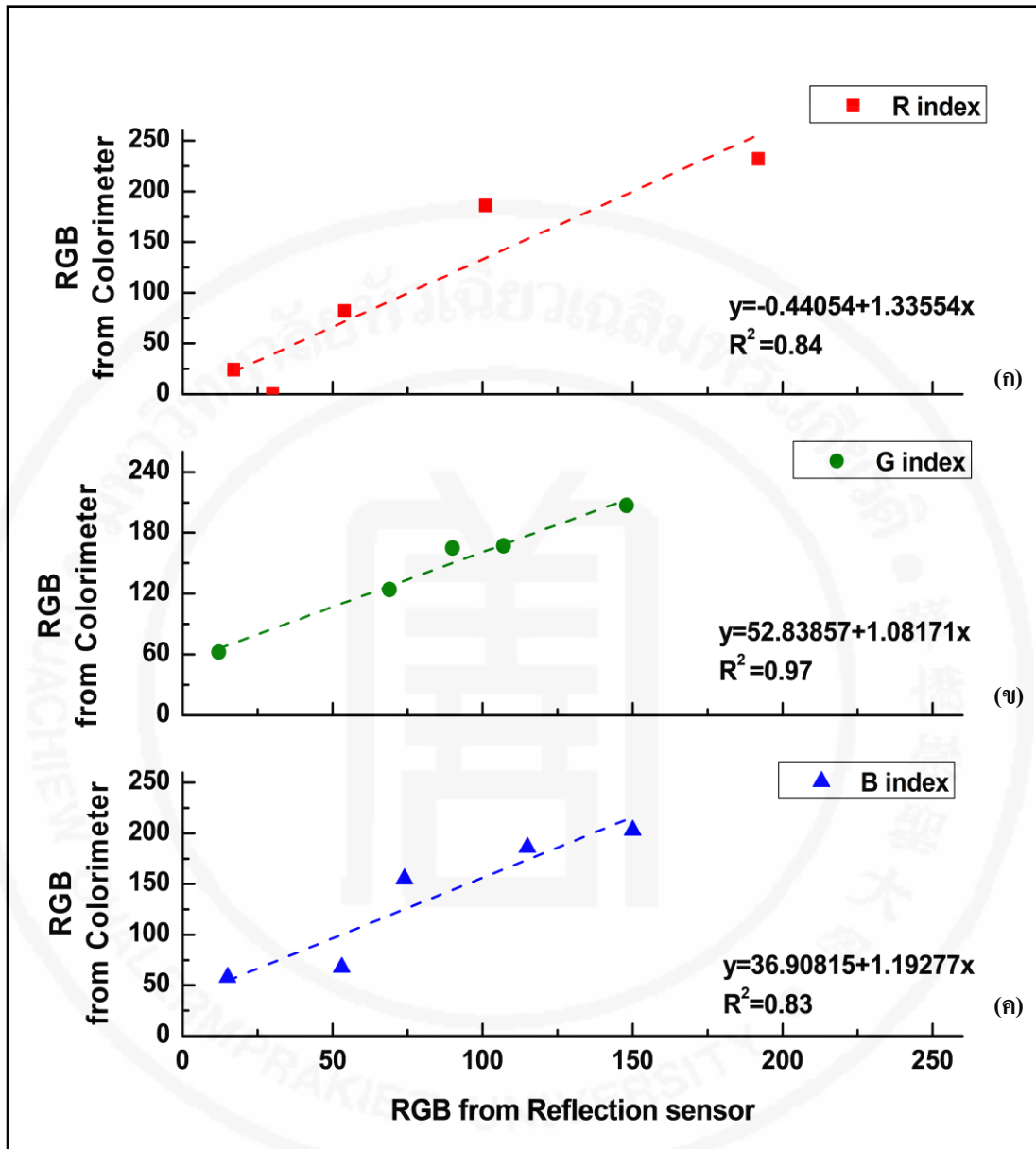
### 4.2.1. เปรียบเทียบค่ารหัสสี RGB ของกระดาษสีตัวอย่างกับเครื่องวัดสีมาตรฐาน colorimeter

เมื่อนำกระดาษสีตัวอย่างตรวจหาค่าสีด้วยเครื่อง colorimeter ในโหมดสี Hunter color space ซึ่งให้ค่าออกมาเป็น  $L^*ab$  แล้วทำการแปลงค่ากลับผ่านโปรแกรมสำเร็จรูป Convert | EasyRGB ผ่านเว็บไซต์ของ EasyRGB.com โดยใช้แหล่งกำเนิดมาตรฐาน (illuminant) เป็น D65 และมาตรฐานเทียบสี CIE 1964 (total color different) โดยมีทิศทางของมุมมอง  $10^\circ$  เพื่อนำมาทำการหาความสัมพันธ์ของค่ารหัสสี RGB จากเครื่องมือทั้งสองให้ผลดังภาพที่ 4.7 พบว่าความสัมพันธ์ของค่าที่วัดได้จากเครื่องมือทั้งสองไม่ว่าจะเป็นค่า R index ค่า G index หรือค่า B index มีแนวโน้มความสัมพันธ์กันในระดับดี ซึ่งให้ค่า  $R^2 = 0.84$   $R^2 = 0.97$  และ  $R^2 = 0.83$  ของแต่ละสีตามลำดับ แสดงว่าเครื่องวัดการสะท้อนแสงที่สร้างขึ้นมาสามารถใช้หาค่ารหัสสี RGB ของวัตถุได้

### 4.2.2. การตรวจหาปริมาณไอออนเหล็กในสารละลายเชิงซ้อนเปรียบเทียบกับเครื่องมือมาตรฐาน เครื่องยูวี-วิส สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis Spectrophotometer)

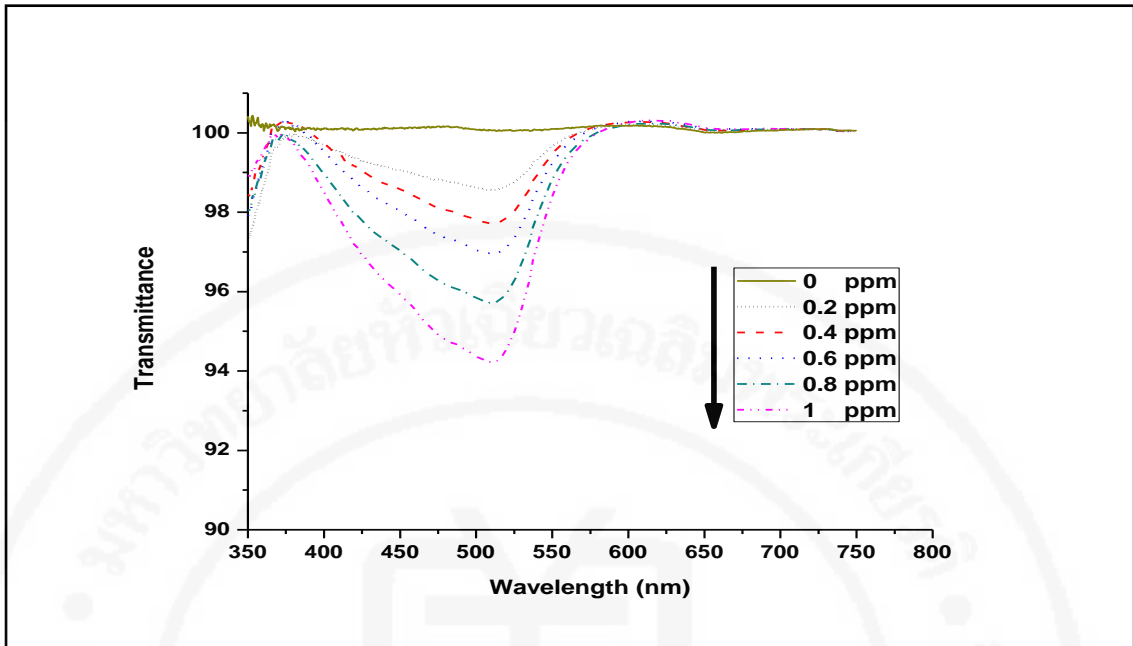
#### 4.2.2.1. สเปกตรัมการส่องผ่านจากเครื่องยูวี-วิส สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

การตรวจหาปริมาณความเข้มข้นของไอออนเหล็กโดยการดูการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลาย เนื่องจากเมื่อเกิดปฏิกิริยาจะได้สารละลายเชิงซ้อนของเหล็กและสีสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีแดงอมชมพู จึงทำการตรวจหาแสงสีที่เปลี่ยนไปด้วยเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนโดยการวัดค่ารหัสสี RGB ที่เกิดขึ้นในสารละลายเชิงซ้อนของเหล็ก ที่ระยะความสูงจากผิวของสารละลายถึงตัวรับสัญญาณ 4 cm เปรียบเทียบกับสเปกตรัมของแสงที่ส่องผ่านสารละลายด้วยเครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยสารละลาย blank มีลักษณะเป็นของเหลวใส เมื่อปริมาณไอออนเหล็กเพิ่มมากขึ้นสารละลายจะมีสีแดงอมชมพู ภาพที่ 4.8 แสดงสเปกตรัมของแสงส่องผ่านสารละลายที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า เมื่อความเข้มข้นของไอออนเหล็กเพิ่มขึ้นความเข้มของแสงที่ส่องผ่านจะมีค่าลดลง และความสัมพันธ์ของความเข้มแสงที่ส่องผ่านที่ความยาวคลื่น 640 nm (แสงสีแดง) 524 nm (แสงสีเขียว) และ 470 nm (สีน้ำเงิน) เปรียบเทียบกับความเข้มข้นของปริมาณไอออนเหล็ก พบว่ามีค่าลดลงดังภาพที่ 4.9 โดยความเข้มแสงของการส่องผ่านที่ความยาวคลื่น 640 nm ไม่มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลง ในขณะที่ความยาวคลื่น 524 nm และ 470 nm มีการเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อค่าความเข้มข้นของไอออนเพิ่มมากขึ้น และแสดงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงในสัดส่วนที่เท่ากัน

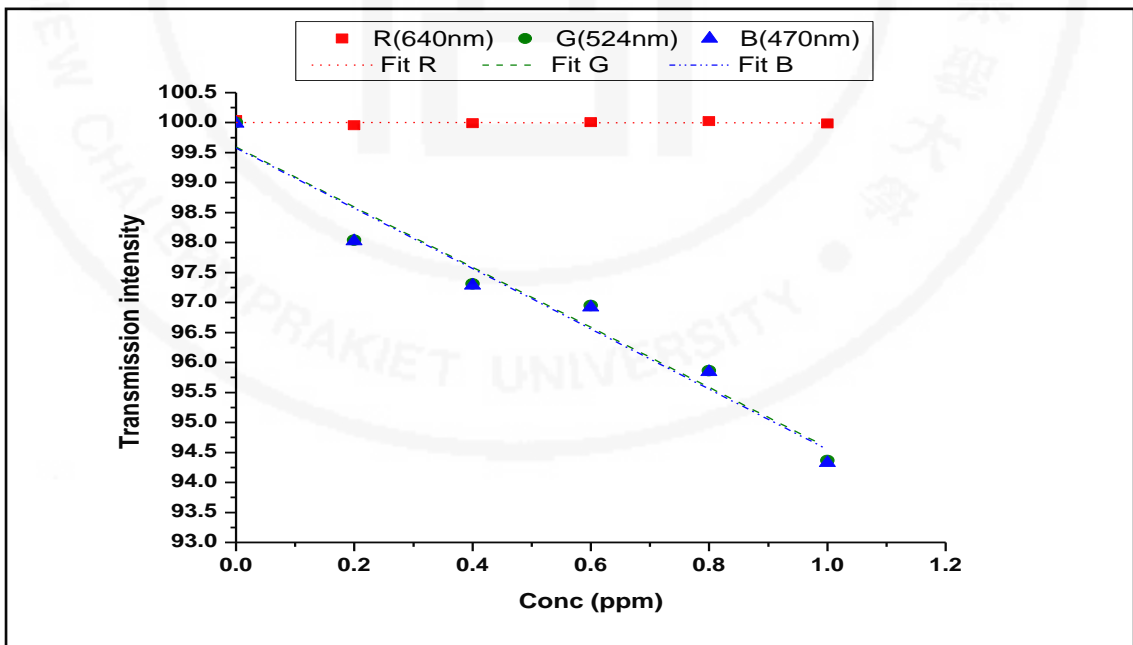


ภาพที่ 4.7. แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีแสงสีที่ได้จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนและเครื่อง colorimeter (ก) รหัสสีแดง (ข) รหัสสีเขียว และ (ค) รหัสสีน้ำเงิน





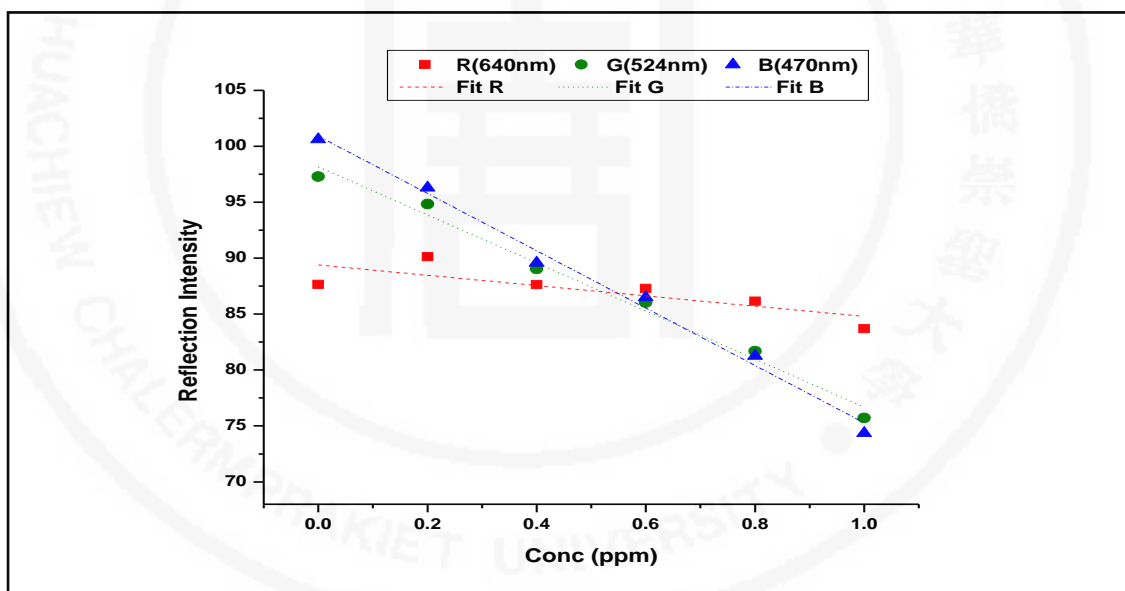
ภาพที่ 4.8. กราฟแสดงสเปกตรัมของแสงส่องผ่านด้วยเครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ของสารละลายไอออนเหล็กที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



ภาพที่ 4.9. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงของการส่องผ่านสารประกอบเหล็ก (สารละลายเหล็ก) กับความเข้มข้นและเส้นกราฟแสดงแนวโน้มความสัมพันธ์เชิงเส้นด้วยเครื่องยูวีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

#### 4.2.2.2 เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน

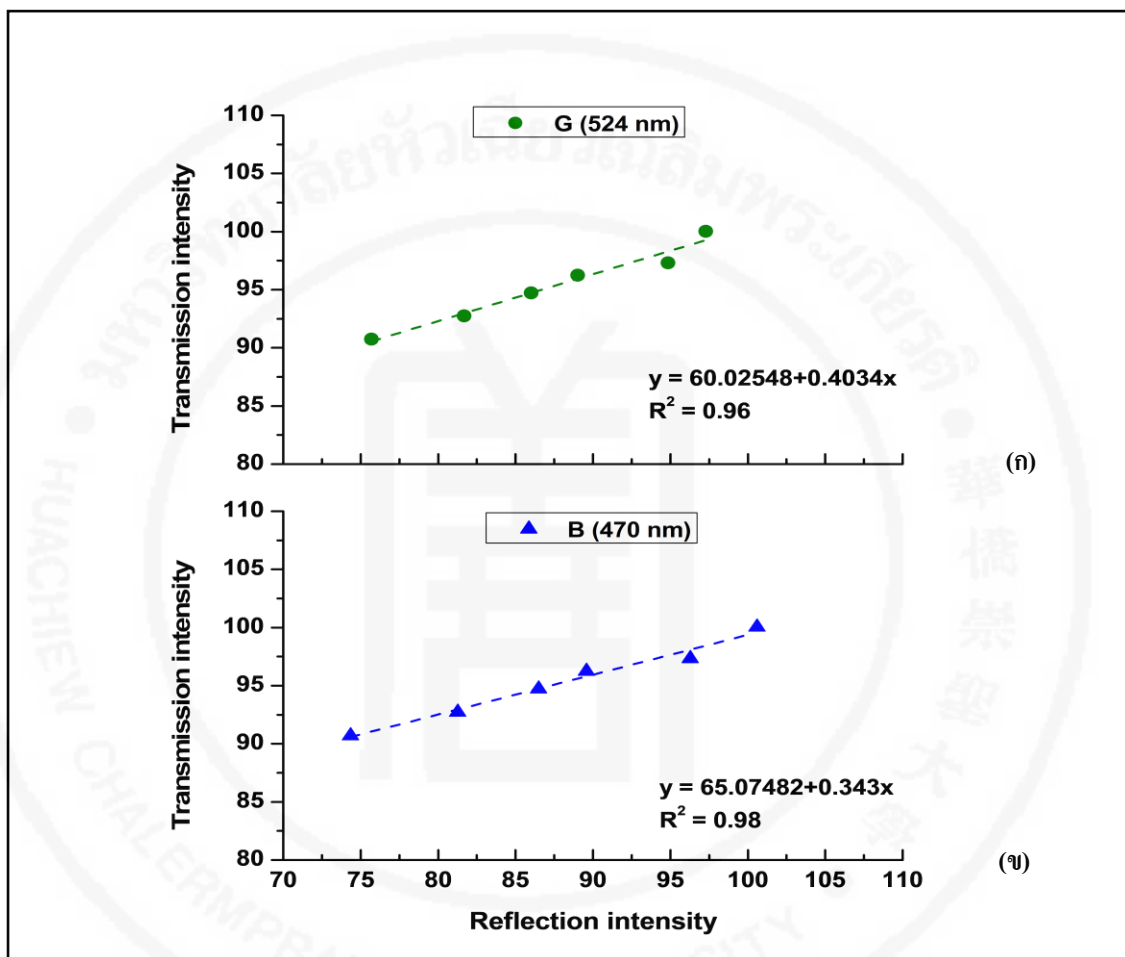
ในการตรวจวัดแสงสีจากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนของสารละลายเหล็กที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อนำค่ารหัสสี RGB มาเทียบเป็นความเข้มแสงของการสะท้อนของแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงินมาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของไอออนเหล็ก พบว่ามีแสงสะท้อนแนวโน้มนลดลงเมื่อปริมาณสารประกอบเหล็กเพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะแสงสีเขียวและสีน้ำเงินโดยมีการลดลงด้วยอัตรา มากกว่าแสงสีแดงหรือกล่าวได้ว่ามีปริมาณแสงสะท้อนสีเขียวและสีน้ำเงินลดลงเมื่อสารละลายมีความเข้มข้นของไอออนเหล็กเพิ่มขึ้นในขณะที่แสงสีแดงมีการเปลี่ยนแปลงการสะท้อนของแสงน้อยกว่า ทำให้มองเห็นสารประกอบเหล็กเป็นสีแดงชัดเจนขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 4.10 ซึ่งสอดคล้องกับการวัดปริมาณแสงส่องผ่าน ด้วยเครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์และสำหรับแสงสีแดงเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงของแสงที่ความยาวคลื่นนี้ได้ดีกว่าเครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์



ภาพที่ 4.10. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงสะท้อนกับความเข้มข้นของสารประกอบสารละลายเหล็กที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยเครื่องตรวจวัดการสะท้อนแสง

เมื่อทำการเปรียบเทียบการวัดปริมาณสารประกอบเหล็กในสารละลายด้วยเครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์และเครื่องวัดปริมาณแสงสะท้อนมาเปรียบเทียบความสามารถในการวัดปริมาณสารประกอบเหล็กพบว่ากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์และเครื่องวัดปริมาณแสงสะท้อนของแสงสีเขียวและสีน้ำเงิน แสดงดังภาพที่ 4.11 พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้น โดยมีค่าความเป็นเส้นตรง  $R^2 = 0.96$  และ  $0.98$  สำหรับแสงสีเขียวและสีน้ำเงินตามลำดับ

สำหรับแสงสีแดงไม่สามารถนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องมือได้เนื่องจากค่าปริมาณแสงส่องผ่านที่ได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์มีแสดงการเปลี่ยนแปลงความเข้มแสงที่ความคลื่อนี้เมื่อมีปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบหลักเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 4.11. แสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแสงสะท้อนและปริมาณแสงส่องผ่านที่ได้จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนและเครื่อง UV-Vis spectrophotometer (ก) แสงสีเขียว และ (ข) แสงสีน้ำเงิน

#### 4.2.3 การหาค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง

จากสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงส่องผ่านกับปริมาณความเข้มข้นของสารหลัก และสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงสะท้อนกับปริมาณความเข้มข้นของสารละลายเชิงซ้อนของหลัก พบว่ามีความสัมพันธ์เป็นแบบเส้นตรงตามสมการ  $y = ax + b$  เมื่อ  $y$  คือปริมาณความเข้มแสงส่องผ่านหรือปริมาณความเข้มแสงสะท้อน และ  $x$  คือปริมาณความเข้มข้น

สารละลายเชิงซ้อนของเหล็ก โดยค่าคงที่ของแต่ละวิธีแสดงไว้ในตารางที่ 4.3 จากสมการความสัมพันธ์ที่ได้พบว่า ความสัมพันธ์ที่ความยาวคลื่น 640 nm หรือแสงสีแดงให้ค่า  $R^2$  ต่ำทั้งจากการวัดปริมาณแสงส่องผ่านและการวัดปริมาณแสงสะท้อน แสดงว่าไม่สามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับทั้งปริมาณแสงส่องผ่านและปริมาณแสงสะท้อนที่ความยาวคลื่นนี้ได้ ในขณะที่ความยาวคลื่นของแสงสีเขียวและแสงสีน้ำเงินให้ค่า  $R^2 = 0.95$  สำหรับทั้งสองแสงสีจากเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี และมีค่า  $R^2 = 0.98$  และ  $0.99$  สำหรับแสงสีเขียวและสีน้ำเงินจากการวัดด้วยเครื่องวัดแสงสะท้อน ดังนั้น ปริมาณแสงสะท้อนและปริมาณแสงส่องผ่านของแสงสีแดงจากทั้งสองเครื่องมือไม่สามารถที่จะนำมาอธิบายปริมาณไอออนเหล็กจากสารตัวอย่างได้แม้ว่ากราฟแสดงความสัมพันธ์ของปริมาณแสงสะท้อนของแสงสีแดงจะแสดงแนวโน้มลดลง

**ตารางที่ 4.3** แสดงค่าคงที่ของสมการความสัมพันธ์เชิงเส้นของข้อมูลที่ได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์และเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน

สมการเชิงเส้น (Linear equation) $y = ax + b$						
Color	Spectroscopy technique			Reflection technique		
	$a$	$b$	$R^2$	$a$	$b$	$R^2$
R (640 nm)	-0.00885	100.0039	-0.235	-4.59867	89.39023	0.5753
G (524 nm)	-5.01	99.594	0.95	-21.48	98.168	0.98
B (470 nm)	-5.027	99.578	0.95	-25.63	100.91	0.99

ในการหาค่าความเข้มข้นของไอออนเหล็กของสารตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบปริมาณแสงส่องผ่านและปริมาณแสงสะท้อนจากเครื่องมือทั้งสองชนิด และหาปริมาณความเข้มข้นของสารละลายเหล็กตัวอย่าง S1 และ S2 โดยใช้กับสมการความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไอออนเหล็กกับปริมาณแสงส่องผ่านและปริมาณแสงสะท้อนที่ได้ข้างต้น แสดงไว้ในตารางที่ 4.4 ค่าความเข้มข้นที่คำนวณได้สำหรับสารละลายตัวอย่าง S1 จากแสงสีแดงที่ความยาวคลื่น 640 nm พบว่ามีค่าสูงกว่าความเข้มข้นจริงมากสำหรับเทคนิคสเปกโตรสโคปีและให้ค่าน้อยกว่าความเป็นจริงมากเช่นกันสำหรับเทคนิคการวัดแสงสะท้อนโดย ในขณะที่ค่าความเข้มข้นที่คำนวณได้จากแสงสีเขียวและแสงสีน้ำเงินมีค่าความคลาดเคลื่อนที่คำนวณได้จากเทคนิคสเปกโตรสโคปีให้ค่าต่ำกว่าการคำนวณจากเทคนิคการวัดแสงสะท้อนอยู่ 17% สำหรับแสงสีเขียว และ 4% สำหรับแสงสีน้ำเงิน สำหรับสารละลายตัวอย่าง S2 ให้ผลการคำนวณเช่นเดียวกับสารตัวอย่าง S1 โดยไม่สามารถใช้แสงสีแดงในการคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นได้ในขณะที่แสงสีเขียวและสีน้ำเงินให้ค่าความเข้มข้นสูงกว่าความเป็นจริงและ

ค่าที่ได้จากทั้งสองเครื่องมือต่างกันอยู่ 7% ทั้งสองความยาวคลื่น แสดงว่าเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนสามารถหาปริมาณความเข้มข้นของไอออนเหล็กได้เช่นเดียวกับการใช้เครื่องยูวี-วิส สเปกโตรสโคปี โดยใช้ความเข้มแสงสะท้อนที่ความยาวคลื่น 524 nm และ 470 nm ได้ แต่ยังคงให้ค่าความคลาดเคลื่อนมากกว่าจากเทคนิคสเปกโตรสโคปีซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน

**ตารางที่ 4.4** แสดงผลการคำนวณค่าความเข้มข้นของสารประกอบเหล็กสารละลายตัวอย่าง S1 และ S2 จากสมการเชิงเส้นที่วิเคราะห์ได้จากทั้งสองเทคนิค

สารประกอบ ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (% Error) Spectroscopy technique			ความเข้มข้น (% Error) Reflection technique		
	R	G	B	R	G	B
S1	2.74 (-813%)	0.3 (0%)	0.31 (-3%)	0.01 (97%)	0.25 (17%)	0.28 (7%)
S2	5.48 (683%)	0.65 (7%)	0.65 (7%)	0.29 (59%)	0.6 (14%)	0.61 (13%)

#### 4.3. การสกัดสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีม่วง

จากผลการทดลองข้างต้นเป็นการทดสอบการทำงานของเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนที่สร้างขึ้น และจากวัตถุประสงค์หลักในการใช้สารสกัดหยาบแอนโทไซยานินเพื่อตรวจหาปริมาณ  $H_2O_2$  จากการใช้ตัวทำละลาย 1% ของกรดไฮโดรคลอริกใน 50% เอทานอลเพื่อทำการสกัดสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีม่วง (Red Cabbage) และนำสารสกัดหยาบที่ได้มาเตรียมสารละลายสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินที่ความเข้มข้น 50% 25% 12.500% 6.250% 3.125% 1.563% 0.781% 0.391% 0.195% และ 0.049 %v/v และตรวจวัดหาสเปกตรัมของแสงส่องผ่าน (transmission spectrum) ด้วยเทคนิคสเปกโตรสโคปีและคาร์ทาสสี RGB ด้วยเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนทั้งในรูปแบบของสารละลายสารสกัดหยาบและกระดาษแอนโทไซยานิน

##### 4.3.1. เปรียบเทียบการสกัดสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีม่วงผลสดและกะหล่ำปลีม่วงที่ผ่านการอบแห้งแบบเยือกแข็ง

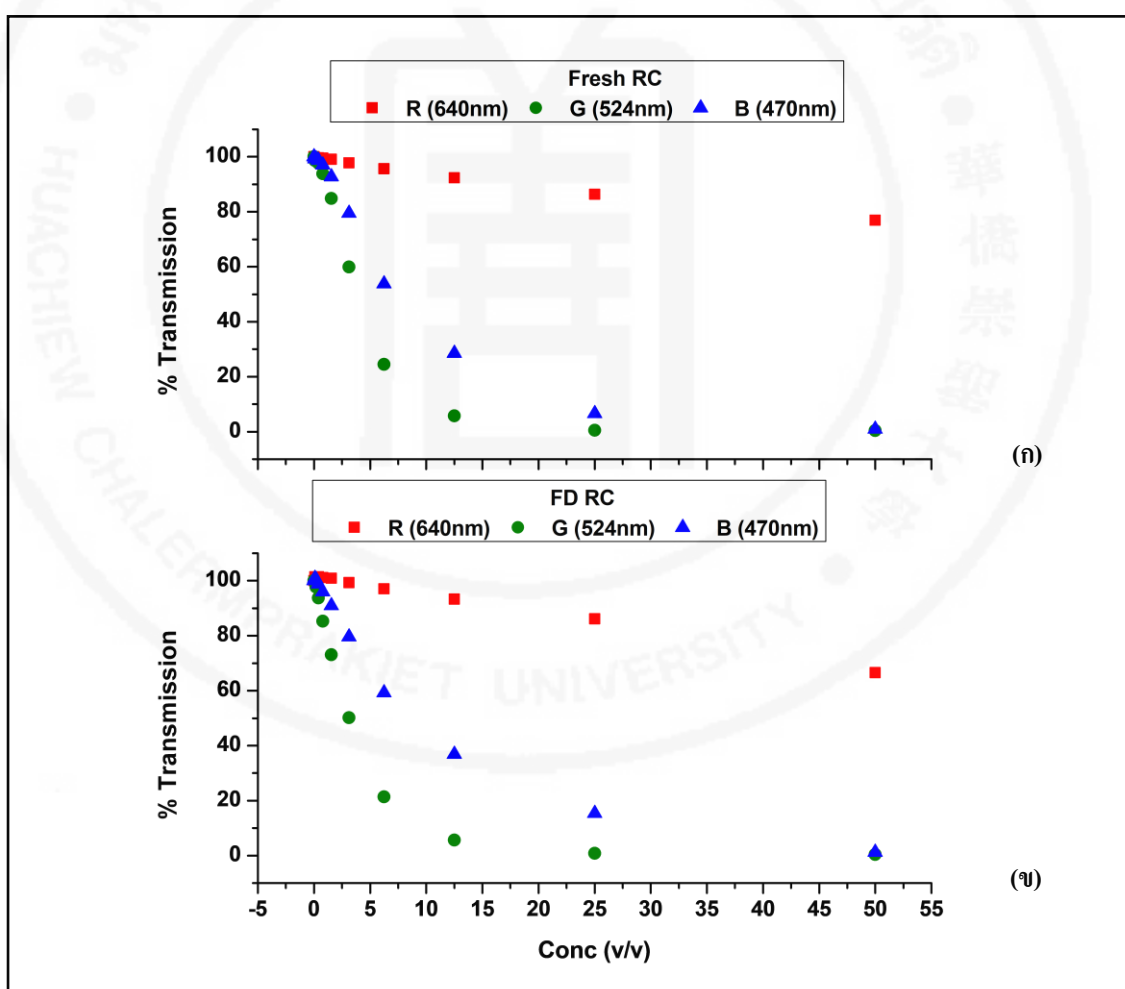
กะหล่ำปลีม่วงผลสด (fresh red cabbage) เมื่อทำการหั่นแล้วจะไม่สามารถเก็บไว้ได้นาน ดังนั้นจึงทำการเก็บรักษากะหล่ำปลีม่วงด้วยวิธีการอบแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze-dried technique) แล้วทำการเปรียบเทียบผลของการสกัดสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจากผลสดและผลที่ผ่าน

กระบวนการอบแห้งแบบเยือกแข็ง เทคนิคนี้เป็นการนำน้ำออกจากกะหล่ำปลีม่วงโดยไม่ผ่านความร้อน เป็นการอบที่อุณหภูมิต่ำ -50 °C ภายใต้ความดัน 0.13 mbar เป็นเวลา 24 hr แล้วนำมาปั่นให้ละเอียดเก็บไว้ในที่มีดและเย็นจะสามารถเก็บรักษากะหล่ำปลีม่วงไว้ได้นานกว่าการเก็บแบบผลสด ผลการเปรียบเทียบการสกัดสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจากผลสด (Fresh RC) และกะหล่ำปลีที่ผ่านการอบแห้งแบบเยือกแข็ง (FD RC) จากเทคนิคสเปกโตรสโคปี พบว่าความยาวคลื่นของแสงที่ส่องผ่านจากการสกัดทั้งสองวิธีให้ผลเหมือนกัน แต่มีปริมาณความเข้มของแสงส่องผ่าน (transmission intensity) ต่างกันโดยที่การสกัดด้วยวิธีการอบแห้งแบบเยือกแข็งให้ปริมาณความเข้มแสงส่องผ่านมากกว่าการสกัดจากผลสด อาจเนื่องมาจากปริมาณน้ำที่มีในผลกะหล่ำปลีสดเมื่อนำไปสกัดทำให้มีความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ลดลง ปริมาณแสงความเข้มแสงส่องผ่านของแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงินของสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินที่สกัดจากทั้งสองวิธี โดยวัดที่ความยาวคลื่น 640, 524 และ 470nm ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.5 ที่ความเข้มข้น 0% (blank) พบปริมาณความเข้มแสงส่องผ่านของทุกแสงสีมีค่ามากที่สุดเนื่องจากมีเฉพาะตัวทำละลาย และค่าความเข้มแสงจะลดลงเมื่อมีปริมาณสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น โดยแต่ละแสงสีมีอัตราการเพิ่มขึ้นที่ไม่เท่ากัน

**ตารางที่ 4.5** ปริมาณความเข้มแสงส่องผ่านของสารละลายสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินด้วยการสกัดจากผลสด (Fresh RC) และการอบแห้งแบบเยือกแข็ง (FD RC) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น % (v/v)	ผลสด (Fresh RC)			อบแห้ง (FD RC)		
	R (640 nm)	G (524 nm)	B (470 nm)	R (640 nm)	G (524 nm)	B (470 nm)
50	76.96175	0.389	0.89375	66.527	0.356	1.25
25	86.3485	0.50775	6.54275	86.099	0.787	15.417
12.500	92.37	5.69175	28.5715	93.325	5.585	36.898
6.250	95.7085	24.46	53.83775	97.051	21.38	59.293
3.125	97.79875	59.89625	79.44225	99.312	50.119	79.616
1.563	99.04925	84.80275	92.751	100.925	73.114	90.991
0.781	99.45775	93.79	97.008	101.158	85.31	95.94
0.391	99.64225	97.66675	98.7545	101.391	93.756	98.855
0.195	99.65425	98.951	99.3325	101.391	97.724	100.462
0.098	99.712	98.7045	99.29325	101.391	99.541	100.925

เมื่อนำมาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มแสงส่องผ่านกับความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจากการสกัดด้วยผลสด ดังแสดงในภาพที่ 4.12 (ก) และจากสกัดโดยการอบแห้งแบบเยือกแข็ง แสดงไว้ดังภาพที่ 4.12 (ข) จากภาพแสดงให้เห็นแนวโน้มการลดลงของแต่ละแสงสี โดยเฉพาะแสงสีเขียว (524 nm) และแสงสีน้ำเงิน (470 nm) ของสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินที่สกัดจากกะหล่ำสดมีแนวโน้มการลดลงอย่างรวดเร็วแบบ exponential ในช่วงความเข้มข้น 0-7 %v/v และสำหรับการสกัดจากกะหล่ำปลีที่ผ่านการอบแห้งแบบเยือกแข็ง พบว่ามีการลดลงแบบเดียวกับการสกัดจากกะหล่ำปลีสดแต่พบในช่วงความเข้มข้นต่ำกว่าที่ 0-5 %v/v สำหรับแสงสีแดง(670 nm) พบว่าจากการสกัดจากทั้งสองวิธีมีแนวโน้มการลดลงที่ต่างจากแสงสีเขียวและแสงสีน้ำเงินซึ่งเป็นการลดลงแบบเชิงเส้น (linearly decay)



ภาพที่ 4.12. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแสงส่องผ่านกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจาก (ก) กะหล่ำปลีสด (Fresh RC) และ (ข) กะหล่ำปลีอบแห้งแบบเยือกแข็ง (FD-RC)

#### 4.3.2. การวัดปริมาณแสงสะท้อนของสารสกัดหยาบแอนโทไซยานิน

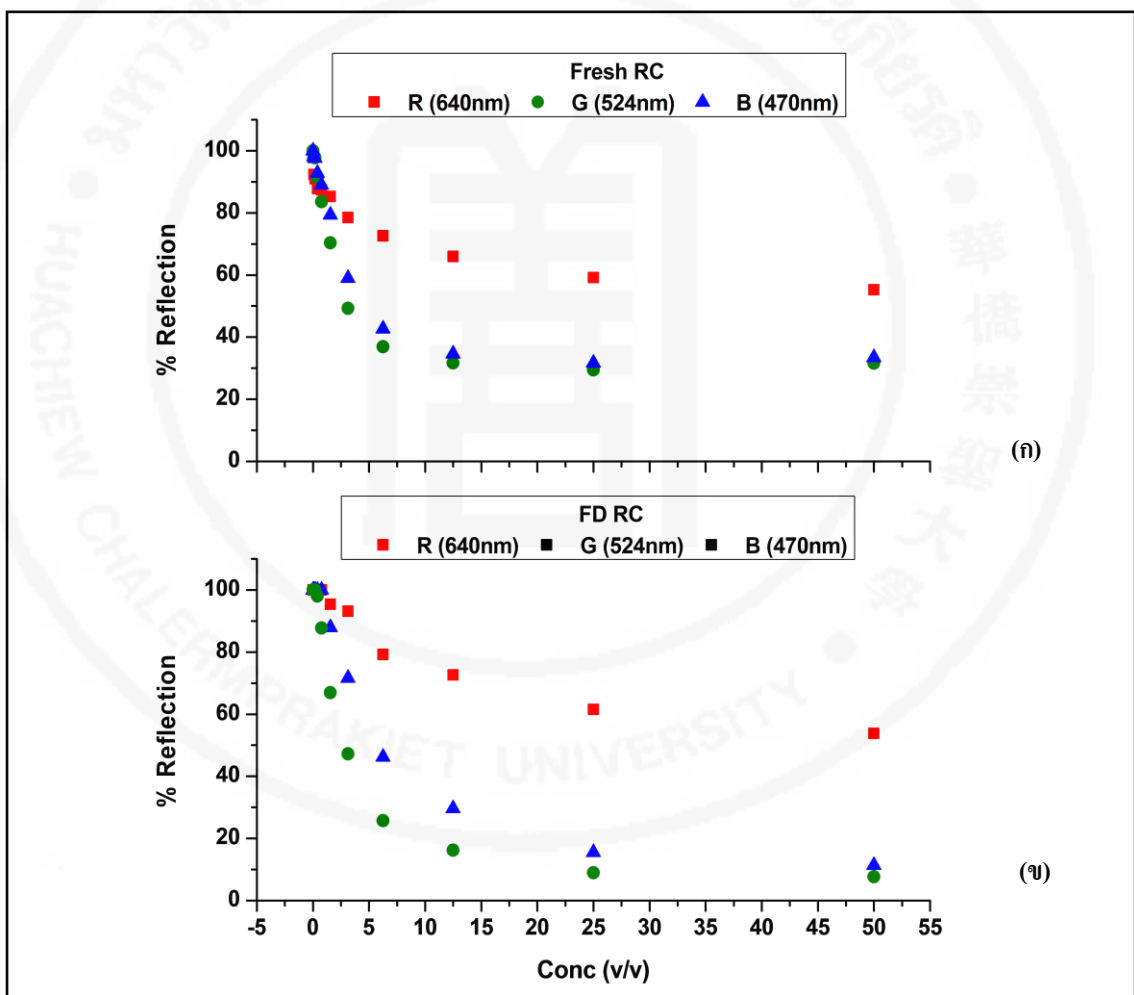
การวัดปริมาณแสงสะท้อนจากสารสกัดหยาบจากทั้งการสกัดจากกะหล่ำปลีสดและกะหล่ำปลีแห้งแบบเยือกแข็ง เป็นการวัดจากค่ารหัสสี RGB โดยการสะท้อน 100 % จะให้ค่ารหัสสีเป็น 255 แต่ถ้าไม่มีการสะท้อนของแสง ค่ารหัสสี RGB จะเป็น 0-0-0 และค่ารหัสสีการสะท้อนแสง (ค่ารหัสสี RGB) ของสารละลายจากการสกัดทั้งสองวิธีแสดงในตารางที่ 4.6 ปริมาณแสงสะท้อนสอดคล้องกับปริมาณความเข้มแสงการส่องผ่านจากเครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ปริมาณแสงสะท้อนของสารสกัดหยาบที่วัดได้จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินในสารละลายมากขึ้น และจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่ารหัสสี RGB ของแต่ละแสงสีกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบแอนโทไซยานิน พบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่ารหัสสีแสงสีเขียวและแสงสีน้ำเงินลดลงอย่างรวดเร็วแบบเส้นโค้งเลขชี้กำลัง (exponential decay) เช่นเดียวกับกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงส่องผ่านกับปริมาณความเข้มข้น

**ตารางที่ 4.6** ปริมาณแสงสะท้อนของสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินด้วยการสกัดจากผลสด (Fresh RC) และการอบแห้งแบบเยือกแข็ง (FD RC) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น (% v/v)	ผลสด (Fresh RC)			อบแห้ง (FD RC)		
	R (640 nm)	G (524 nm)	B (470 nm)	R (640 nm)	G (524 nm)	B (470 nm)
50	55.244	31.572	33.458	53.804	7.61	11.373
25	59.194	29.451	31.665	61.502	8.956	15.512
12.500	65.957	31.706	34.639	72.596	16.234	29.654
6.250	72.649	36.882	42.681	79.169	25.726	46.192
3.125	78.515	49.212	58.973	93.102	47.196	71.647
1.563	85.261	70.37	79.423	95.411	66.896	87.874
0.781	87.442	83.567	89.043	99.984	87.766	100
0.391	87.833	91.357	92.831	99.973	98.007	100
0.195	90.97	97.725	97.605	100	100	100
0.098	92.293	98.412	98.184	100	100	100
0	97.801	100	100	100	100	100

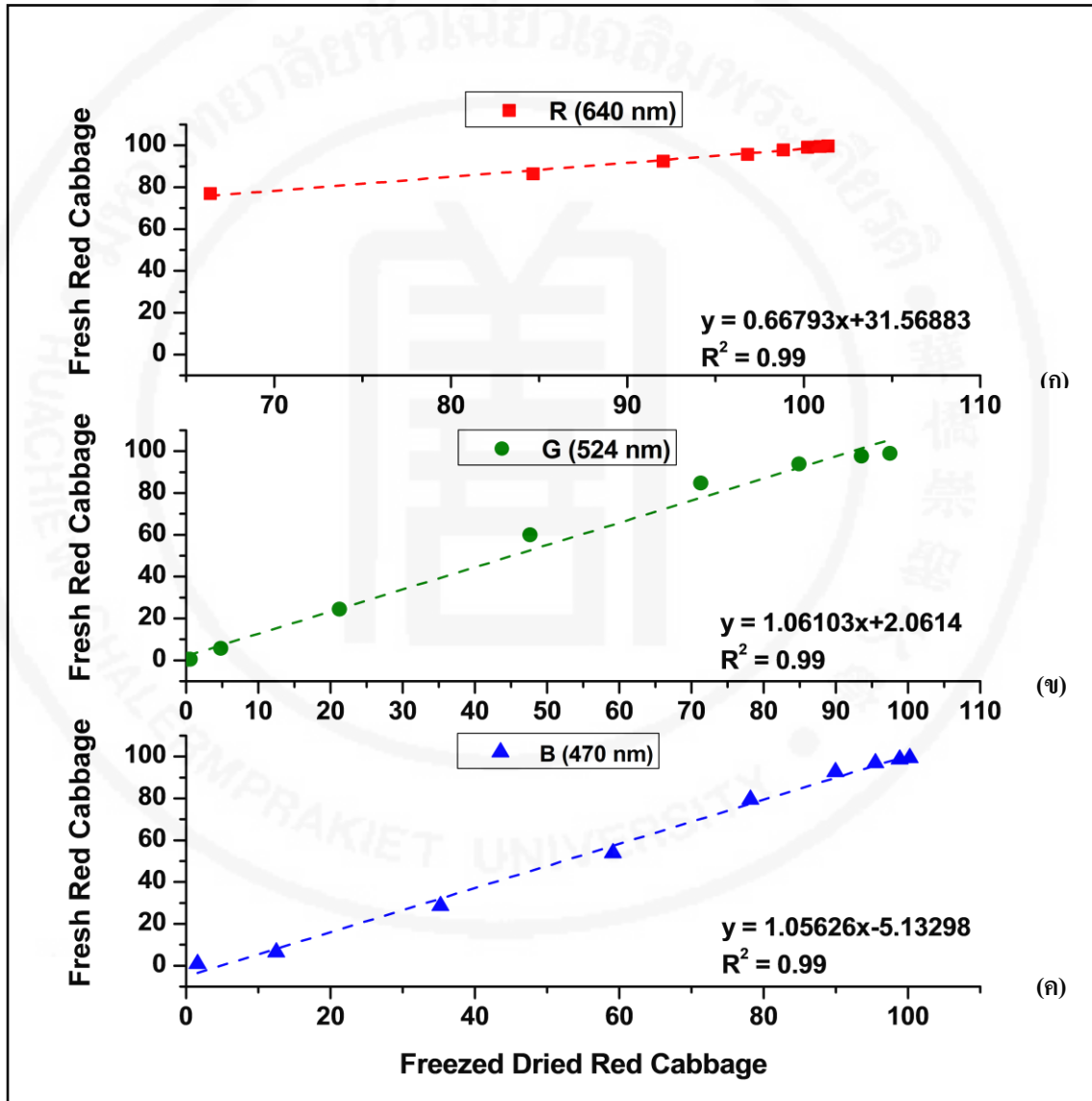


สำหรับการเปลี่ยนแปลงของค่ารหัสสีแสงสีแดงกับความเข้มข้นพบการเปลี่ยนแปลงแบบเส้นโค้งเลขชี้กำลังเช่นเดียวกับแสงสีเขียวและแสงสีน้ำเงิน ในขณะที่การหาปริมาณแสงส่องผ่านของแสงสีแดงให้การเปลี่ยนแปลงแบบเส้นตรง ปริมาณแสงสะท้อนจากสารละลายสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจากทั้งกะหล่ำปลีสดและแบบอบแห้งแบบเยือกแข็ง แสดงในภาพที่ 4.13 (ก) และภาพที่ 4.13 (ข) ตามลำดับ พบว่าลักษณะการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแสงสะท้อนจากการสกัดทั้งสองวิธีให้ผลที่คล้ายกัน โดยช่วงความเข้มข้นที่มีการเปลี่ยนแปลงของค่ารหัสสีแสงสีอย่างรวดเร็วจะอยู่ที่ 0-5 %v/v และ 0-7 %v/v สำหรับวิธีการสกัดจากกะหล่ำปลีสดและแบบเยือกแข็งตามลำดับ



ภาพที่ 4.13. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแสงสะท้อนกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจาก (ก) กะหล่ำปลีสด และ (ข) กะหล่ำปลีอบแห้งแบบเยือกแข็ง

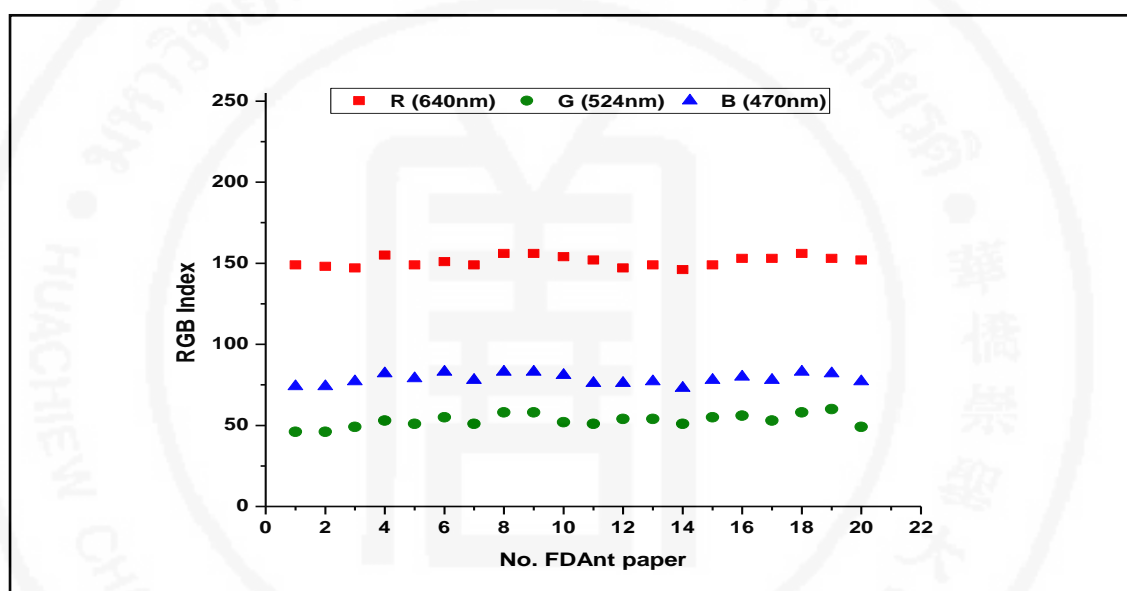
การเปรียบเทียบปริมาณแสงส่องผ่านจากสารสกัดหยาบที่ทำการสกัดจากผลสดและผลอบแห้งแบบเยือกแข็ง พบว่าที่แต่ละความยาวคลื่นแสงที่สนใจมีความสัมพันธ์ดังภาพที่ 4.14 ดังนี้ ที่ความยาวคลื่น 640 nm สำหรับแสงสีแดง 524 nm สำหรับแสงสีเขียวและ 470 nm สำหรับแสงสีน้ำเงินให้ค่า  $R^2 = 0.99$  ดังนั้นการอบแห้งแบบเยือกแข็งไม่ทำให้ปริมาณสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินแตกต่างจากการสกัดจากผลสด



ภาพที่ 4.14. แสดงกราฟความสัมพันธ์ของปริมาณแสงส่องผ่านจากการสกัดด้วยผลสดและผลอบแห้งแบบเยือกแข็งที่ความยาวคลื่น (ก) 640 nm (ข) 524 nm และ (ค) 470 nm

#### 4.4. การเตรียมกระดาษแอนโทไซยานิน

การเตรียมสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินลงบนกระดาษกรองเบอร์ 1 ทำโดยการแช่ลงในสารสกัดหยาบเข้มข้นแล้วถูกทำให้แห้งโดยการเป่าด้วยลมเย็นภายในที่มีด กระดาษแอนโทไซยานินที่เตรียมได้มีพื้นที่ขนาด  $6.25 \text{ cm}^2$  ( $2.5 \times 2.5 \text{ cm}^2$ ) จำนวน 20 ชิ้น เมื่อนำกระดาษแอนโทไซยานินไปตรวจวัดค่าคาร์ทาสี RGB ด้วยเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน พบว่าให้ค่าเฉลี่ยของรหัสสี RGB ของกระดาษจำนวน 20 ชิ้นมีค่าอยู่ที่ 151-54-79 โดยมีค่าการแกว่งของข้อมูลเป็น 3-5-4 ดังแสดงในภาพที่ 4.15 แสดงว่าในการเตรียมกระดาษแอนโทไซยานินให้ผลการกระจายของสีบนกระดาษใกล้เคียงกัน



ภาพที่ 4.15. กราฟแสดงค่ารหัสสี RGB ของกระดาษแอนโทไซยานิน จำนวน 20 ชิ้น

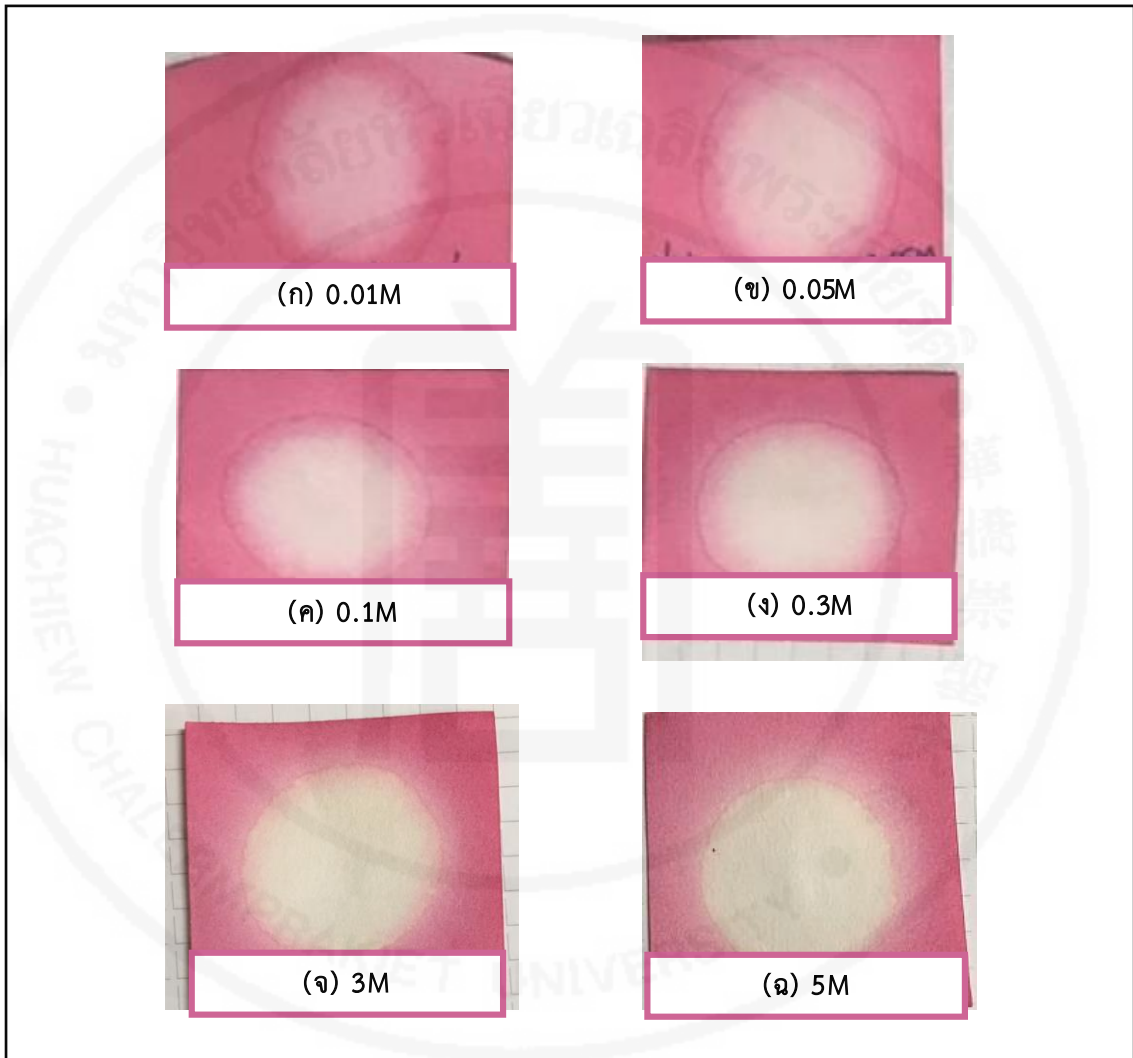
#### 4.5. การตรวจวัดปริมาณสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

การตรวจวัดปริมาณสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ทำโดยใช้เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน ก่อนและหลังการเกิดปฏิกิริยา ที่สารละลายความเข้มข้นต่าง ๆ โดยแยกออกเป็น การหาปริมาณความเข้มข้นโดยดูจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเนื่องจากสารละลายและปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเนื่องจากไอระเหยของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์บนกระดาษแอนโทไซยานินที่เตรียมขึ้น

##### 4.5.1 ตรวจวัดค่ารหัสสีการสะท้อนแสงจากการหยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์บนกระดาษแอนโทไซยานิน

ค่ารหัสสี RGB ของกระดาษแอนโทไซยานินก่อนการหยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะถูกบันทึกให้เป็นค่าเริ่มต้น เมื่อทำการหยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ปริมาตร  $20 \mu\text{L}$  พร้อม

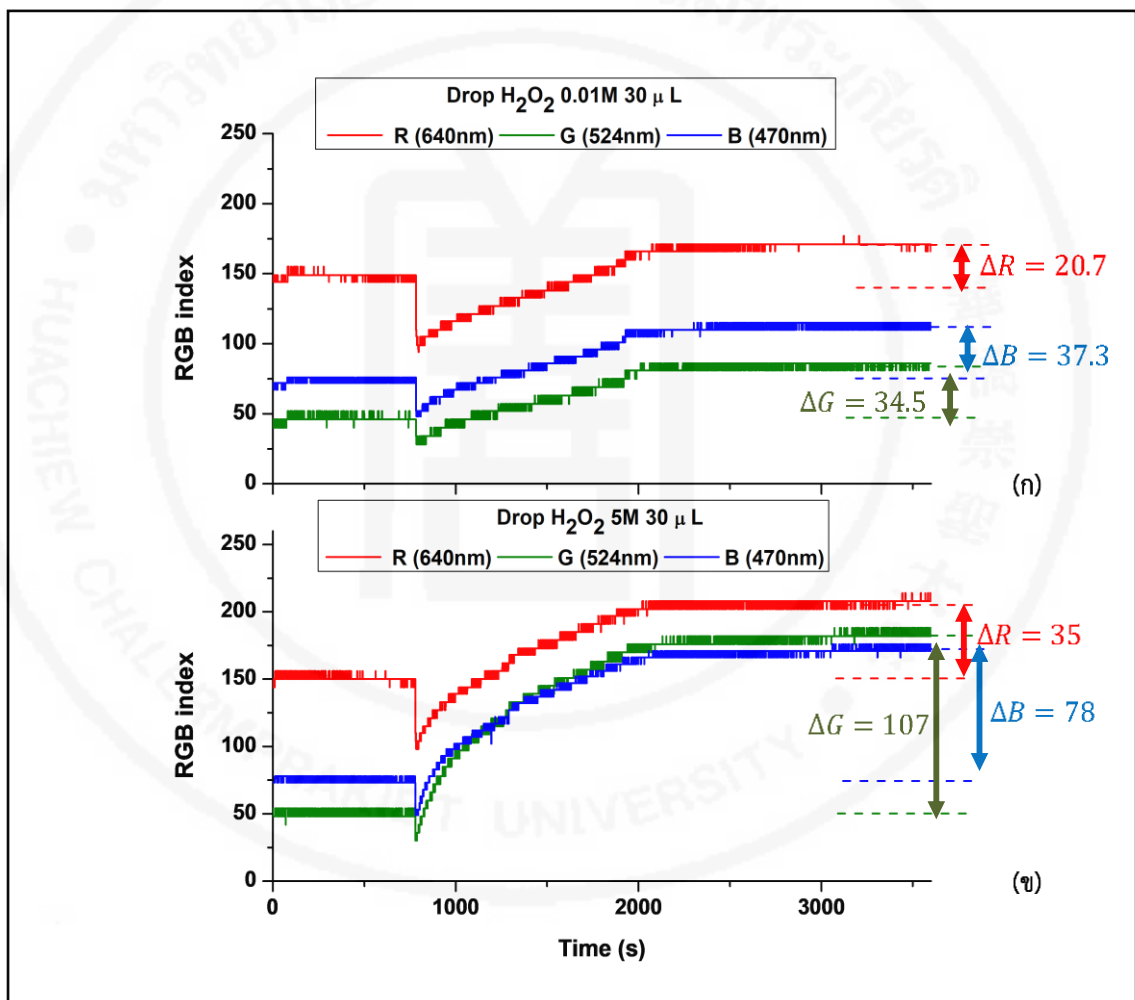
กับการวัดค่ารหัสสี RGB ด้วยเครื่องตรวจวัดปริมาณแสงสะท้อน เมื่อสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินบนกระดาษถูกย่อยโดยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สีของกระดาษจางลงซึ่งจะแตกต่างกันตามความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่หยด ดังภาพที่ 4.16



**ภาพที่ 4.16.** แสดงการเปลี่ยนแปลงของสีกระดาษแอนโทไซยานินเมื่อหยดด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ความเข้มข้น (ก) 0.01 M (ข) 0.05 M (ค) 0.1 M (ง) 0.3 M (จ) 3 M และ (ฉ) 5 M

กราฟระหว่างรหัสสี RGB กับเวลาในขณะที่ทำการหยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์พบว่าขณะหยดสารคัดรหัสสี RGB แต่ละสีมีการเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากการสะท้อนของแสงขณะกระดาษเปียกต่ำกว่าขณะแห้งเนื่องจากตัวสารละลายและค่ารหัสสี RGB จะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนกระทั่งคงที่เมื่อกระดาษเริ่มแห้งเมื่อเกิดปฏิกิริยาระหว่าง  $H_2O_2$  กับสารสกัดแอนโทไซยานิน

บนกระดาษจันกระดาษให้ค่าที่คงที่และกระดาษแอนโทไซยานินแห้งและปฏิกิริยาได้หยุดลง ซึ่งใช้เวลาไม่น้อยกว่า 1 hr ดังภาพที่ 4.17(ก) เป็นกราฟแสดงผลการเปลี่ยนแปลงค่ารหัสสี RGB เมื่อทำการหยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.01 M จะเห็นว่าการเลื่อนขึ้น (ผลต่าง) ของค่ารหัสสี RGB หลังเกิดปฏิกิริยาเป็น 20.7 37.3 และ 34.5 ตามลำดับ ในขณะที่ภาพ 4.17 (ข) เป็นผลจากการใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 5 M จะมีผลต่างของค่ารหัสสีเป็น 35 107 และ 78 และสำหรับที่ความเข้มข้นอื่น ๆ แสดงไว้ในตารางที่ 4.7



ภาพที่ 4.17. กราฟแสดงผลการเปลี่ยนแปลงค่ารหัสสี RGB ของกระดาษแอนโทไซยานิน เมื่อหยดด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ปริมาตร 30 μL (ก) ความเข้มข้น 0.01 M และ(ข) ความเข้มข้น 5 M

ตารางที่ 4.7 แสดงการเลื่อนของค่ารหัสสี RGB ของกระดาษแอนโทไซยานินเมื่อหยดด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้น (M)	ผลต่างค่ารหัสสี R ( $\Delta R$ )	ผลต่างค่ารหัสสี G ( $\Delta G$ )	ผลต่างค่ารหัสสี B ( $\Delta B$ )
0.01	21	35	38
0.05	28	54	53
0.1	31	68	62
0.3	44	93	80
0.5	46	103	84
1	46	106	84
3	49	116	85
5	50	122	91

เมื่อทำการหาความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างค่ารหัสสี RGB กับปริมาณความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่าเป็นความสัมพันธ์แบบการเพิ่มขึ้นแบบเส้นโค้งเลขชี้กำลัง (Exponential growth) ดังแสดงในภาพที่ 4.18 (ก) ซึ่งเป็นไปตามสมการ

$$y = Ae^{\left(\frac{x}{B}\right)} + C$$

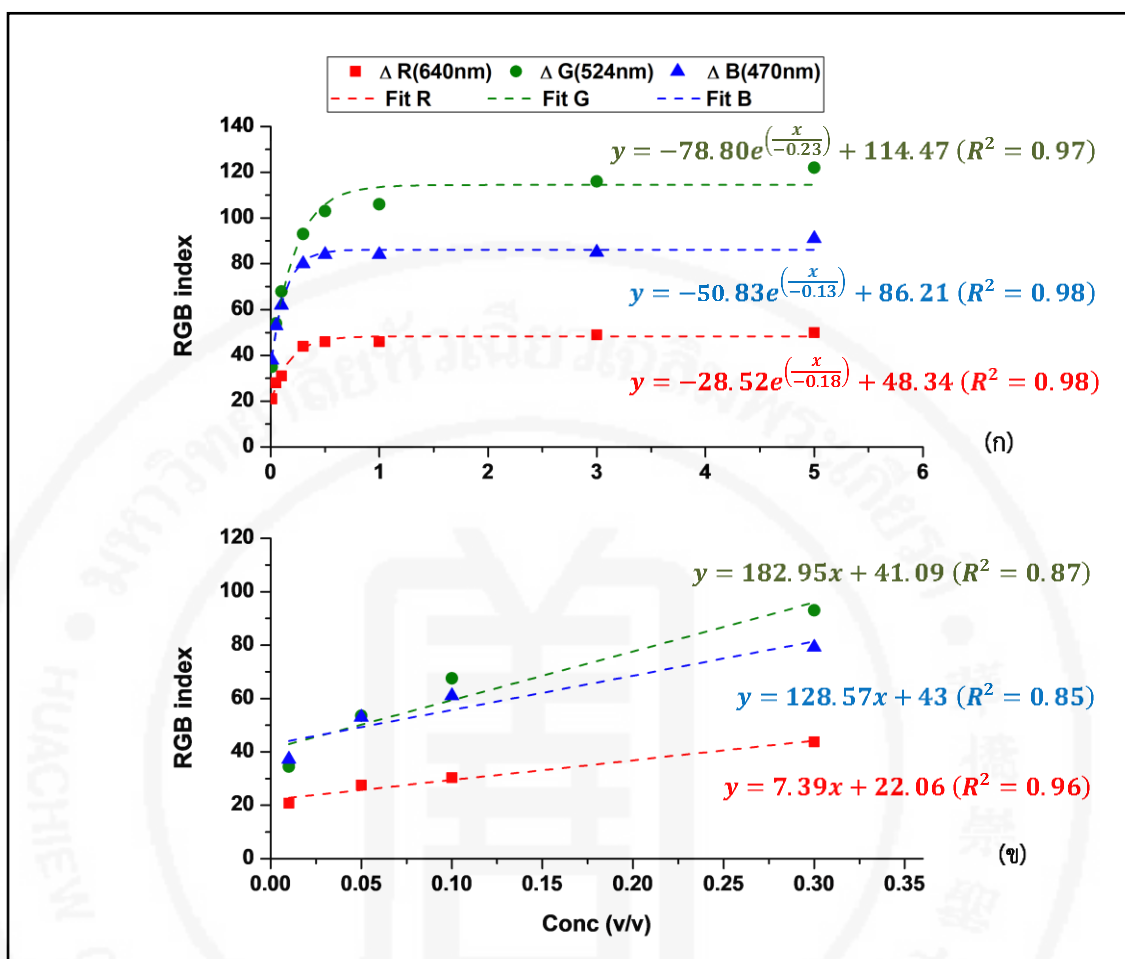
เมื่อ  $A$   $B$  และ  $C$  เป็นค่าคงที่

$x$  คือปริมาณความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

$y$  คือค่ารหัสสีที่เปลี่ยนไป โดยค่าคงที่ของแต่ละสีแสดงไว้ในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าคงที่ของสมการความสัมพันธ์แบบเส้นโค้งเลขชี้กำลังของค่ารหัสสี RGB ที่เพิ่มขึ้นหลังหยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

สมการเส้นโค้งเลขชี้กำลัง (Exponential equation) $y = Ae^{\left(\frac{x}{B}\right)} + C$					สมการเส้นตรง (Linear equation) $y = Ax + B$		
Color	A	B	C	$R^2$	A	B	$R^2$
R(640nm)	-28.52	-0.18	48.34	0.98	7.39	43	0.85
G(524nm)	-78.80	-0.22	114.47	0.97	182.95	41.09	0.87
B(470nm)	-50.83	-0.13	86.21	0.98	128.57	43	0.85



ภาพที่ 4.18. กราฟแสดงความสัมพันธ์ของค่ารหัสสี RGB ที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น (ก) 0.01-5 M ให้ความสัมพันธ์แบบเส้นโค้งเลขชี้กำลัง และ (ข) 0.01-0.3 M ให้ความสัมพันธ์แบบเส้นตรง

จากสมการความสัมพันธ์ที่ได้พบว่าปริมาณสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินบนกระดาษที่ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้การเปลี่ยนแปลงรหัสสี RGB ในช่วงความเข้มข้นสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0-0.3 M พบว่าการเปลี่ยนแปลงรวดเร็วและเมื่อความเข้มข้นมากกว่า 0.3 M การเปลี่ยนแปลงค่ารหัสสี RGB จะเริ่มคงที่ นั่นแสดงว่ากระดาษแอนโทไซยานินที่เตรียมได้สามารถตรวจวัดปริมาณสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ที่ความเข้มข้นช่วง 0-0.3 M ดังนั้นเมื่อนำข้อมูลค่ารหัสสี RGB ในช่วงความเข้มข้นดังกล่าวมาหาความสัมพันธ์จะพบความสัมพันธ์แบบเชิงเส้น ดังแสดงในภาพที่ 4.18 (ข) และเมื่อใช้ความสัมพันธ์เชิงเส้นเพื่อทำนายหาค่าความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ตัวอย่างที่ 1 (Sam1) และตัวอย่างที่ 2 (Sam2) โดยการนำค่าผลต่างรหัสสี RGB มาคำนวณแสดงในตารางที่ 4.10 ตัวอย่างที่ 1 ให้ค่าความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์

ออกไซด์ที่คำนวณได้จากคาร์ทาสีแสงสีแดงอยู่ที่ 0 M มีค่าความคลาดเคลื่อนอยู่ที่ 100 % โดยค่าความเข้มข้นจริงที่เตรียมไว้คือ 0.04 M และตัวอย่างที่ 2 ให้ค่าความเข้มข้นอยู่ที่ 0.2 M และค่าความคลาดเคลื่อนอยู่ที่ 0 % สำหรับค่าความเข้มข้นของทั้งสองตัวอย่างจากคาร์ทาสีแสงสีอื่นแสดงไว้ในตารางที่ 4.9 พบว่าสามารถทำนายค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ 2 ได้อย่างแม่นยำ ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ ขนาด 0.04 M ไม่สามารถทำนายได้

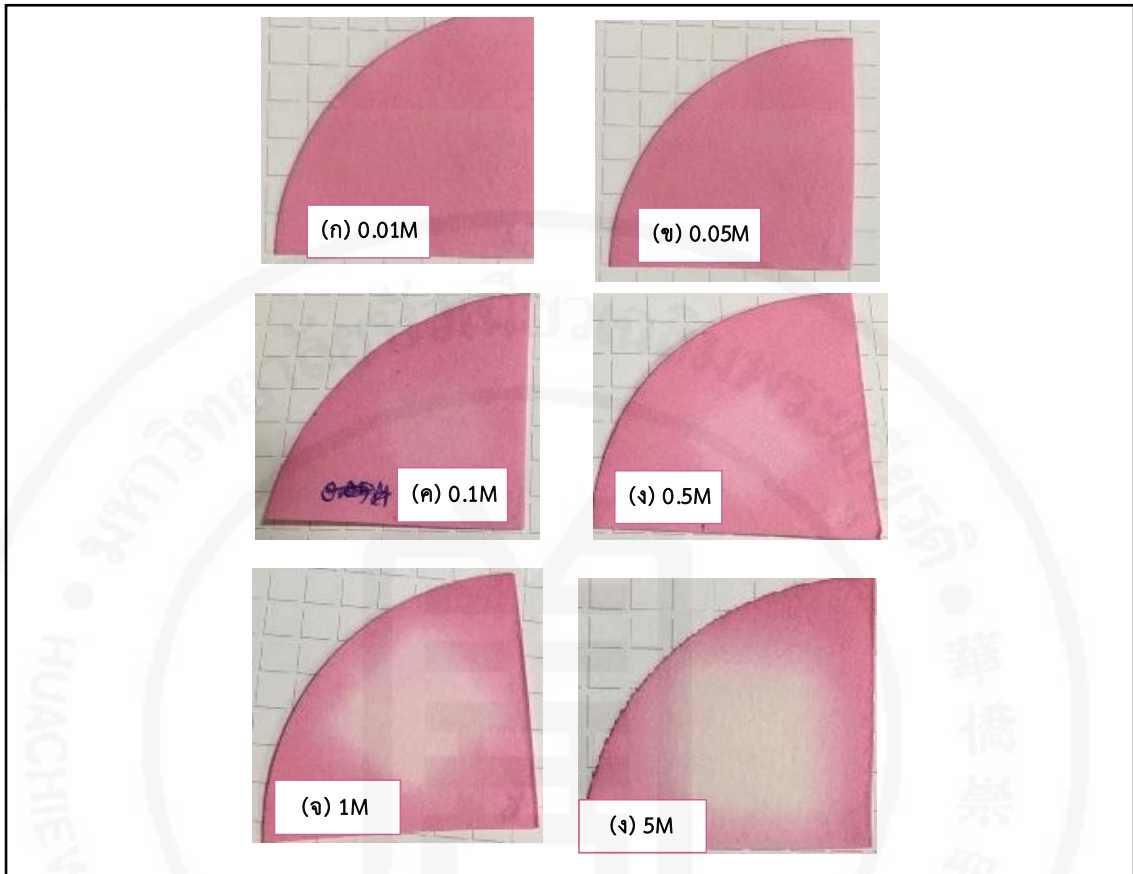
**ตารางที่ 4.9** แสดงผลการคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากการหยดลงบนกระดาษแอนโทไซยานิน

สารละลายตัวอย่าง	ค่าความเข้มข้น (% Error) ของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์		
	R	G	B
ตัวอย่างที่ 1 (Sam 1)	0 (100%)	0 (100%)	0 (100%)
ตัวอย่างที่ 2 (Sam 2)	0.2 (0%)	0.2 (0%)	0.2 (0%)

#### 4.5.2 ตรวจวัดคาร์ทาสีการสะท้อนแสงจากไอระเหยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์บนกระดาษแอนโทไซยานิน

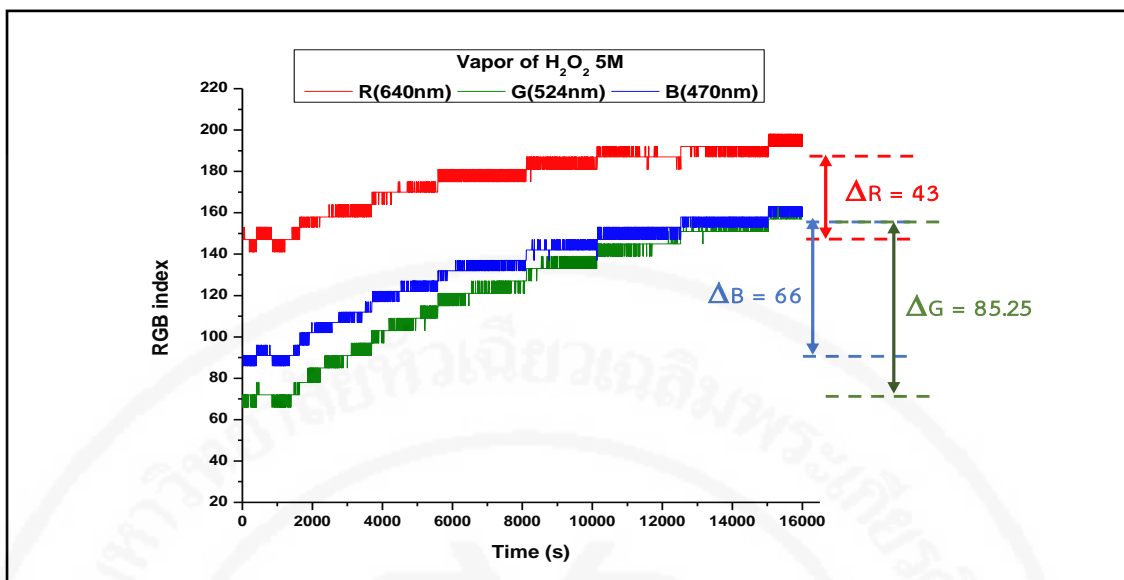
ในการหาปริมาณไอระเหยของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยการวัดคาร์ทาสี RGB ของกระดาษแอนโทไซยานินทั้งก่อนและหลังโดนไอระเหยโดยใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ปริมาตร 10 mL ไอระเหยของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะย่อยสารสกัดหยาดแอนโทไซยานินบนกระดาษจนสีของกระดาษจางลงซึ่งจะแตกต่างกันเมื่อให้สารละลายที่มีความเข้มข้นต่างกัน ดังภาพที่ 14.19 พบว่าเมื่อมองด้วยตาเปล่าจะพบความเปลี่ยนแปลงของสีเมื่อกระดาษโดนไอระเหยของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1 M โดยเปลี่ยนจากสีแดงชมพูเป็นสีขาวในบริเวณที่โดนไอระเหยของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เช่นเดียวกับการทดสอบหยดสารละลาย กราฟระหว่างคาร์ทาสี RGB กับเวลาตั้งแต่ก่อนโดนไอระเหยและขณะโดนไอระเหยพบว่าคาร์ทาสี RGB จะมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเกิดปฏิกิริยาระหว่างไฮดรอกไซด์เรดิคัล ( $\text{OH}^-$ ) กับสารสกัดแอนโทไซยานินบนกระดาษตลอดระยะเวลาการทดสอบ 3 ชั่วโมง ดังภาพที่ 4.20 เป็นผลการเปลี่ยนแปลงคาร์ทาสี RGB ที่ความเข้มข้น 5 M จะพบว่าคาร์ทาสีค่อยๆเพิ่มขึ้นตลอดตั้งแต่เริ่มโดนไอระเหยแต่จากกราฟคาร์ทาสีจะยังไม่เข้าสู่ค่าคงที่ในช่วงเวลา 3 hr และมีค่าผลต่างของคาร์ทาสี RGB อยู่ที่ 43 85.25 และ 66 ตามลำดับ





**ภาพที่ 4.19.** แสดงการเปลี่ยนแปลงของสีกระดาษแอนโทไซยานินเมื่อโดนไอระเหยของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ความเข้มข้น (ก) 0.01 M (ข) 0.05 M (ค) 0.1 M (ง) 0.5 M (จ) 1 M และ (ฉ) 5 M

เมื่อเปรียบเทียบกับ การหยุดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลงบนกระดาษแอนโทไซยานิน โดยตรงจะพบว่าการเปลี่ยนแปลงค่ารหัสสีเกิดขึ้นน้อยมาก โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่ำ ๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.10 เนื่องจากปริมาณไฮดรอกไซด์เรดิคัลที่สัมผัสกับสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินบนกระดาษมีปริมาณน้อยกว่าเมื่อทำการหยุดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำให้ปริมาณปฏิกิริยาในการย่อยสลายแอนโทไซยานินน้อยลง



ภาพที่ 4.20. กราฟแสดงสเปกตรัมการเปลี่ยนแปลงรหัสสี RGB เนื่องจากไอระเหยของสารละลาย สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 5 M

ตารางที่ 4.10 แสดงผลต่างค่ารหัสสี RGB ของกระดาษแอนโทไซยานินเมื่อโดนไอระเหยของ สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

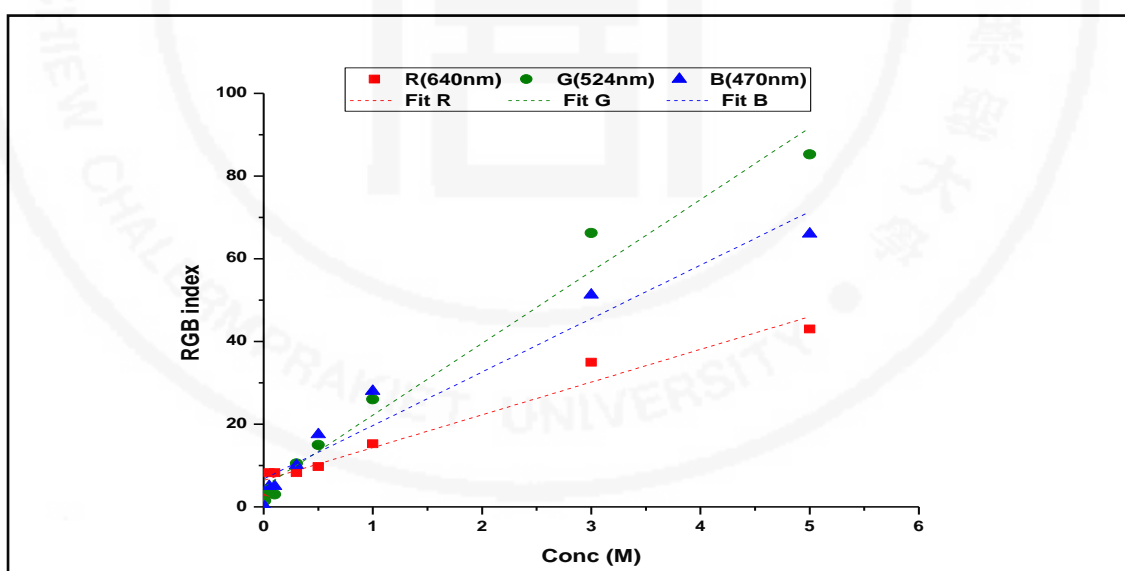
ความเข้มข้น (M)	ผลต่างค่ารหัสสี R ( $\Delta R$ )	ผลต่างค่ารหัสสี G ( $\Delta G$ )	ผลต่างค่ารหัสสี B ( $\Delta B$ )
0.01	-3	2	0
0.05	8	4	5
0.1	8	3	5
0.3	8	11	10
0.5	10	15	18
1	15	26	28
3	35	66	51
5	43	85	66

ค่าผลต่างของรหัสสี RGB ก่อนและหลังโดนไอระเหยที่ความเข้มข้น 0.01M ไม่สามารถบอก การเปลี่ยนแปลงได้เนื่องจาก ค่ารหัสสีที่อ่านได้จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนมีการแกว่งอยู่ที่  $\pm 5$  ตามที่กล่าวไว้แล้วในหัวข้อ 4.1.1.1 การวัดค่ารหัสสี RGB จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน และการ เปลี่ยนแปลงค่ารหัสสี RGB เริ่มเห็นชัดเจนที่การทดสอบกับไอระเหยของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์

ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.3 M เป็นต้นไป และเมื่อนำข้อมูลค่ารหัสสี RGB ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.3 M มาหาความสัมพันธ์จะพบความสัมพันธ์ระหว่างผลต่างของรหัสสีกับความเข้มข้นเป็นแบบเชิงเส้นโดยมีค่าคงที่ของสมการเชิงเส้นแสดงในตารางที่ 4.11 และเมื่อนำมาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์จะได้ดังภาพที่ 4.21 ซึ่งลักษณะความสัมพันธ์คล้ายกับการทดสอบด้วยการหยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ช่วงความเข้มข้นต่ำ ๆ

**ตารางที่ 4.11** แสดงค่าคงที่ของสมการความสัมพันธ์แบบเส้นตรงของค่ารหัสสี RGB ที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากไอระเหยของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

สมการเส้นเส้นตรง (Linear equation) $y = Ax + B$			
Color	A	B	$R^2$
R (640nm)	8.19	5.47	0.92
G (524nm)	17.38	4.80	0.97
B (470nm)	12.93	7	0.94



**ภาพที่ 4.21.** กราฟแสดงค่ารหัสสี RGB ที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากไอระเหยของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 5 M

สมการที่ได้จากความสัมพันธ์ตามภาพที่ 4.21 เมื่อนำความสัมพันธ์เชิงเส้นมาใช้ทำนายค่าความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ตัวอย่างที่ 1 (Sam1) ตัวอย่างที่ 2 (Sam2) และตัวอย่างที่ 3 (Sam3) โดยการนำค่าผลต่างรหัสสี RGB ก่อนและหลังโดนไอระเหยของสารละลายมา

คำนวณพบว่าไม่สามารถใช้คำนวณค่าความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของตัวอย่างที่ 1 และตัวอย่างที่ 2 ได้ แต่ในขณะที่ตัวอย่างที่ 3 สามารถคำนวณให้ค่าความคลาดเคลื่อนที่ไม่เกิน 30% ดังแสดงในตารางที่ 4.12 แสดงว่ากระดาษที่เคลือบสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินที่เตรียมได้นี้ยังไม่สามารถตรวจหาปริมาณไอระเหยของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ เนื่องจากปริมาณไฮดรอกไซด์เรดิคอลลที่ระเหยออกมามีปริมาณต่ำเกินไป

**ตารางที่ 4.12** แสดงผลการคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากการทดสอบไอระเหยบนกระดาษแอนโทไซยานิน

สารละลายตัวอย่าง	ค่าความเข้มข้น (% Error) ของสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์		
	R	G	B
ตัวอย่างที่ 1 (Sam 1)	0.2 (-400%)	0.2 (-400%)	0.1 (-150%)
ตัวอย่างที่ 2 (Sam 2)	0.9 (-350%)	0.3 (-50%)	0.5 (-150%)
ตัวอย่างที่ 3 (Sam 3)	0.3 (25%)	0.5 (-25%)	0.4 (0%)

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนต้นแบบที่พัฒนาขึ้นสามารถตรวจหาแสงสะท้อนจากวัตถุได้ทั้งของแข็งและของเหลว โดยให้ผลออกมาในรูปแบบของค่ารหัสสี RGB สามารถทำการบันทึกข้อมูลลงใน micro SD card เก็บเป็นไฟล์สกุล CSV แยกเป็น 3 คอลัมน์ ได้แก่ ค่ารหัสสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน โดยการเก็บบันทึกข้อมูลทุก ๆ 0.1 s โดยตัวอย่างที่จะทำการวัดค่ารหัสสีควรมีระยะห่างที่เหมาะสมอยู่ที่ 4 cm จากตัวเซนเซอร์และต้องตั้งค่าแสงตกกระทบให้ตกลงบนกึ่งกลางของสารตัวอย่าง ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของตัวอย่างที่นำมาตรวจวัดว่าแสงมีผลต่อตัวอย่างหรือไม่ ค่า SD ของข้อมูลรหัสสีมีค่าอยู่ที่  $\pm 5$  และเมื่อทำซ้ำพบว่าให้ผลของค่าเฉลี่ยของดัชนี RGB ที่มี ค่า SD ของการทำซ้ำไม่เกิน  $\pm 2$  ซึ่งไม่เกินค่า SD ของข้อมูลขณะทำการวัดและบันทึกผลแสดงว่าในการตรวจวัดซ้ำให้ผลที่น่าเชื่อถือ แต่ควรมีการพัฒนาให้เครื่องมือมีค่า SD ของการเก็บข้อมูลแคบลง ซึ่งอาจทำได้โดยการลดระยะเวลาในการเก็บข้อมูลแต่ละจุดให้น้อยกว่า 0.1 s เมื่อนำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับเครื่องมือมาตรฐานเช่น โปรแกรมการอ่านค่ารหัสสี RGB (paint program) และเครื่องตรวจวัดสี colorimeter พบว่าค่ารหัสสีที่ได้จากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนและภาพดิจิทัลผ่านโปรแกรม Paint มีค่าปริมาณอัตราส่วนของแสงสีในปริมาณที่ใกล้เคียงกันเมื่อทำการเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์ของค่าดัชนีของกระดาศสีทั้ง 5 สี ที่ได้จากสองวิธีพบว่ามีความสัมพันธ์กันในระดับดี โดยมีค่า  $R^2 = 0.89$   $R^2 = 0.87$ ,  $R^2 = 0.80$  สำหรับค่ารหัสสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงินตามลำดับ และเมื่อทำการเปรียบเทียบกับเครื่องมือมาตรฐาน colorimeter พบว่าค่าความสัมพันธ์ของดัชนีแต่ละสีนั้น อยู่ในระดับดีเช่นกัน โดยมีค่า  $R^2 = 0.84$   $R^2 = 0.97$ ,  $R^2 = 0.83$  ของค่ารหัสสีแดง เขียวและน้ำเงินตามลำดับ โดยมีระยะห่างระหว่างเซนเซอร์กับตัวอย่างและขนาดพื้นที่ของตัวอย่างที่เหมาะสม คือ 4 cm ขึ้นไป และมากกว่า 4 cm<sup>2</sup> ขึ้นไป แต่อาจต้องพิจารณาระยะห่างและระยะเวลาในการตรวจวัดที่เหมาะสม ถ้าสารตัวอย่างมีความไวต่อแสงหรือมีปฏิกิริยากับความยาวคลื่นของแสงที่ตกกระทบ และพื้นผิวตัวอย่างต้องไม่ขรุขระและมันวาวนั้นแสดงว่าสามารถนำเครื่องตรวจวัดการสะท้อนแสงไปใช้ในการหาค่าดัชนี RGB ได้ภายใต้เงื่อนไขและลักษณะของตัวอย่างที่นำมาวัดค่าที่เหมาะสม เมื่อทำการทดสอบเครื่องมือที่พัฒนาขึ้นด้วยการตรวจหาความเข้มข้นของสารประกอบไอออนเหล็กเปรียบเทียบกับเครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ พบว่าปริมาณแสงส่องผ่านของแสงสีแดง (640 nm) จากเครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ไม่สามารถบอกความเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นได้ ในขณะที่เครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนที่พัฒนาขึ้นพบการเปลี่ยนแปลงที่ความยาวคลื่นนี้และผลการทำนายความเข้มข้นของสาร

ประกอบไอออนเหล็กจากเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนมีความคลาดเคลื่อนอยู่ที่ 17% และ 7% และเครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์อยู่ที่ 0% และ -3% สำหรับความยาวคลื่นแสงสีเขียวและแสงสีน้ำเงินของตัวอย่างที่ 1 และตัวอย่างที่ 2 มีคลาดเคลื่อนอยู่ที่ 14% และ 13% สำหรับเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อน และเครื่องยูวี-สเปกโตรโฟโตมิเตอร์อยู่ที่ 7% ของแสงสีเขียวและสีน้ำเงิน

ผลการสกัดสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีม่วงโดยใช้ผลสด(Fresh RC) และผลอบแห้งแบบเยือกแข็ง (FD RC) ให้ผลเหมือนกันโดยพบว่ามีค่าปริมาณแสงส่องผ่านที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากทั้งสองแบบให้ความสัมพันธ์ที่สอดคล้องกันที่  $R^2 = 0.99$  สำหรับทั้งแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน ดังนั้นจึงเตรียมกระดาษแอนโทไซยานินด้วยสารสกัดหยาบจากกะหล่ำปลีอบแห้งแบบเยือกแข็ง มีค่าเฉลี่ยของรหัสสี RGB ของกระดาษที่เตรียมได้อยู่ที่ 151-54-79 และมีค่า SD ของข้อมูลเป็น 3-5-4 เมื่อทำการตรวจสอบหาปริมาณ  $H_2O_2$  โดยการติดตามค่าการเปลี่ยนแปลงดัชนี RGB ขณะกระดาษแอนโทไซยานินสัมผัส  $H_2O_2$  จากทั้งการหยุดสารละลายลงบนกระดาษโดยตรงและจากการสัมผัสเพียงไอระเหยที่ความเข้มข้นเดียวกัน พบว่าการตรวจสอบผ่านการหยุดสารละลายลงบนกระดาษแอนโทไซยานินโดยตรงพบการเกิดปฏิกิริยาบนกระดาษได้มากและรวดเร็วกว่าการให้สัมผัสกับไฮดรอกไซด์เรดิคอล (ไอระเหย) ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งสามารถบอกได้จากผลต่างของค่าดัชนี RGB ก่อนและหลังสัมผัสกับสาร ส่งผลให้การทำนายค่าความเข้มข้นของสารละลายด้วยวิธีการหยุดโดยตรงทำได้ง่ายกว่าและใกล้เคียงกว่า ความเข้มข้นสารตัวอย่างที่ 1 ให้ค่าความเข้มข้นเป็น 0 M และสารตัวอย่างที่ 2 ได้ 0.2 M ซึ่งตรงกับค่าความเข้มข้นจริงที่เตรียมไว้ (มีความคลาดเคลื่อนเป็น 0%) ในขณะที่การทดสอบผ่านไอระเหยสารตัวอย่างที่ 2 ไม่สามารถทำนายค่าความเข้มข้นได้เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไอระเหยของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินบนกระดาษน้อยมากและปริมาณสารสกัดหยาบบนกระดาษมีปริมาณมากเมื่อเกิดปฏิกิริยาเพียงเล็กน้อยไม่ทำให้ปริมาณความเข้มข้นของแสงสะท้อนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

ทั้งนี้ทางที่วิจัยเห็นว่าควรพัฒนาเครื่องตรวจวัดแสงสะท้อนให้สามารถวัดค่าดัชนี RGB ที่มีค่า SD ของข้อมูลขณะทำการบันทึกข้อมูลน้อยกว่า  $\pm 5$  โดยการลดช่วงเวลาในการบันทึกค่าแต่ละจุดให้สั้นลง เพื่อเพิ่มความสามารถในการตรวจวัดแสงสะท้อนเก็บข้อมูล และทำใช้เทคนิคอื่นในการตรวจหาปริมาณ  $H_2O_2$  เพื่อทำการเปรียบเทียบกับเครื่องมือที่พัฒนาขึ้น และพัฒนาการเตรียมกระดาษแอนโทไซยานินเพื่อรองรับการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ  $H_2O_2$  ที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ ต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

1. Choi I, Lee JY, Lacroix M, Han J. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food Chem.* 2017;218:122-8.
2. Bridle P, Timberlake CF. Anthocyanins as natural food colours—selected aspects. *Food Chem.* 1997;58(1):103-9.
3. Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández MdL, Páez-Hernández ME, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA. Chemical studies of anthocyanins: *Food Chem.* 2009;113(4):859-71.
4. สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ประมวลสารสนเทศพร้อมใช้ แอนโทไซยานิน [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพฯ: กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี; 2553 [เข้าถึงเมื่อ 30 ก.พ. 2561]. เข้าถึงได้จาก: [http://siweb1.dss.go.th/repack/repack\\_description.asp?repack\\_ID=20](http://siweb1.dss.go.th/repack/repack_description.asp?repack_ID=20)
5. Golasz LB, Janice da Silva, Botelho da Silva S. Film with anthocyanins as an indicator of chilled pork deterioration. *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas* 2013;33(1):155-62.
6. Valdir Aniceto Pereira Jr. INaQdA, Ricardo Stefani. Active chitosan/PVA films with anthocyanins from *Brassica oleraceae* (Red Cabbage) as Time-Temperature Indicators for application in intelligent food packaging. *Food Hydrocolloids.* 2015;43:180-8.
7. Arici M, Karasu S, Baslar M, Toker OS, Sagdic O, Karaagacli M. Tulip petal as a novel natural food colorant source: Extraction optimization and stability studies. *Ind Crop Prod.* 2016;91:215–22.
8. Ficco DBM, Borrelli GM, Giovannello V, Platani C, Vita PD. Production of anthocyanin-enriched flours of durum and soft pigmented wheats by air-classification, as a potential ingredient for functional bread. *J. Cereal Sci.* 2018;79:118-26.
9. Condon S. Responses of lactic acid bacteria to oxygen. *FEMS Microbiology Reviews.* 2006;3(3):269-80.
10. เจนจิรา จิรัมย์ , ประสงค์ สีหานาม. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี.* 2011;1(1):59-70.

**เอกสารอ้างอิง (ต่อ)**

11. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol.* 2001;54(3):176-86.
12. Marty JL, Sode K, Karube I. Biosensor for detection of organophosphate and carbamate insecticides. *Electroanalysis.* 1992;4(2):249-52.
13. Zhang Q, Fu S, Li H, Liu Y. A Novel Method for the Determination of Hydrogen Peroxide in Bleaching Effluents by Spectroscopy. *BioResources.* 2013;8(3):3699-705.
14. Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem.* 1982;28(10):2077-80.
15. Shao MW, Shan YY, Wong NB, Lee ST. Silicon Nanowire Sensors for Bioanalytical Applications: Glucose and Hydrogen Peroxide Detection. *Adv. Funct. Mater.* 2005;15(9):1478-82.
16. Evans SAG, Elliott JM, Andrews LM, Bartlett PN, Doyle PJ, Denuault G. Detection of Hydrogen Peroxide at Mesoporous Platinum Microelectrodes. *Anal. Chem.* 2002;74(6):1322-6.
17. Eisenberg G. Colorimetric Determination of Hydrogen Peroxide. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition.* 1943;15(5):327-8.
18. Siribunbandal P, Preechaburana P, Suzuki H. Electrowetting-Based Chip for Monitoring Chlorine Concentration Using Mobile Phones. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.* 2558;23(2):319-32.
19. Sumriddetchkajorn S, Chaitavon K, Intaravanne Y. Mobile device-based self-referencing colorimeter for monitoring chlorine concentration in water. *Sens. Actuators B.* 2013;182:592-7.
20. No H-Y, Kim YA, Lee YT, Lee H-S. Cholinesterase-based dipstick assay for the detection of organophosphate and carbamate pesticides. *Anal. Chim. Acta.* 2007;594(1):37-43.
21. Elham NIKKHAH MK, Reza HEIDARY, Ali Sorayaie AZAR. The effect of ascorbic acid and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment on the stability of anthocyanin pigments in berries. *Turk J Biol.* 2010;30:47-53.



**เอกสารอ้างอิง (ต่อ)**

22. Özkan M. Degradation of anthocyanins in sour cherry and pomegranate juices by hydrogen peroxide in the presence of added ascorbic acid. *Food Chem.* 2002;78(4):499-504.
23. de L. M. de Morais C, Carvalho JC, Sant'Anna C, Eugênio M, Gasparotto LHS, Lima KMG. A low-cost microcontrolled photometer with one color recognition sensor for selective detection of  $Pb^{2+}$  using gold nanoparticles. *Analytical Methods.* 2015;7(18):7917-22.
24. Abdullakasim TSaW. Low-cost Sensor for Measuring and Mapping Chlorophyll Content in Cassava Leaves. *CMU J. Nat. Sci.* 2017;16(3):183-90.
25. Chandrasekhar J, Madhusudhan MC, Raghavarao KSMS. Extraction of anthocyanins from red cabbage and purification using adsorption. *Food and Bioproducts Processing.* 2012;90(4):615-23.

## ภาคผนวก

### ประวัติย่อผู้วิจัย

- ชื่อ-นามสกุล      ดร.สุกัญญา เพชรศิริเวทย์
- ประวัติการศึกษา วท.บ. (ฟิสิกส์) มหาวิทยาลัยมหิดล  
วท.ม. (ฟิสิกส์) มหาวิทยาลัยมหิดล  
ปร.ด. (ฟิสิกส์) มหาวิทยาลัยมหิดล
- สถานที่ติดต่อ    สาขาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี  
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ โทรศัพท์ 0-2312-6300 ต่อ 1416
- ชื่อ-นามสกุล      ดร.ปิยนันท์ น้อยรอด
- ประวัติการศึกษา วท.บ. (เคมี) มหาวิทยาลัยนครสวรรค์  
วท.ม. (เคมี) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
วท.ด. (เคมี) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- สถานที่ติดต่อ    สาขาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี  
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ โทรศัพท์ 0-2312-6300 ต่อ 1213
- ชื่อ-นามสกุล      ผู้ช่วยศาสตราจารย์กรรณิการ์ แก้วกิม
- ประวัติการศึกษา วท.บ. (เคมี) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
วท.ม. (เคมี) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- สถานที่ติดต่อ    สาขาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี  
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ โทรศัพท์ 0-2312-6300 ต่อ 1213

**ประวัติย่อผู้วิจัย (ต่อ)**

ชื่อ-นามสกุล อาจารย์เนรมิต จิรกาญจน์ไพศาล

ประวัติการศึกษา วศ.บ. (วิศวกรรมคอมพิวเตอร์) มหาวิทยาลัยรามคำแหง

วท.ม. (Computer Science) (International Programme) มหาวิทยาลัยมหิดล

Certification of Documentary Proof of Ethical Clearance Committee on  
Human Right Related to Research Involving Human Subjects,

Faculty of Medicine, Mahidol University

สถานที่ติดต่อ ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้าและคอมพิวเตอร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์  
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

โทรศัพท์ 038259050 ต่อ 3002 , 0814252549

E-mail : cneramit@engr.tu.ac.th