

การพัฒนาวิธีโฟลอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมทรีสำหรับตรวจวัด

ปริมาณออกซาลิกในตัวอย่างชา

Development of Flow Injection Spectrophotometry for Analysis of Oxalic Content in Tea Samples

มนัญญา ساกล, มธุรส สิงห์เถื่อน, อภิชาติ บุญมัลย์*

Mananya Sakol, Mathuros Singthuen, Apichart Boonmalai*

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์

Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Nakhon Sawan Rajabhat University

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาวิธีโฟลอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมทรีสำหรับตรวจวัดหาปริมาณออกซาลิกในตัวอย่างชา โดยอาศัยหลักการพื้นฐานของปฏิกิริยารีดอกซ์ ซึ่งสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตจะถูกฉีดเข้าไปในระบบโฟลอินเจกชันเข้าทำปฏิกิริยากับสารละลายออกซาลิกที่อยู่ในสถานะกรด และตรวจวัดสัญญาณสีของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ลดลงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิที่ทำปฏิกิริยา ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก อัตราการไหลของสารในระบบ ความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต และความยาวท่อส่วนผสม จากนั้นศึกษาประสิทธิภาพของระบบที่สร้างขึ้นได้ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานออกซาลิกความเข้มข้น 0 – 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดการตรวจวัด 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ 25.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (จำนวน 7 ซ้ำ) และร้อยละความเที่ยง 2.7 ได้นำระบบดังกล่าวไปประยุกต์ใช้หาปริมาณออกซาลิกในตัวอย่างชา 10 ตัวอย่าง พบปริมาณออกซาลิก 1.40 – 2.82 มิลลิกรัมต่อกรัมชาแห้ง ได้ร้อยละค่าคืนกลับในช่วง 83 – 115 ซึ่งวิธีโฟลอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมทรีที่สร้างขึ้นเป็นระบบที่ง่ายและอัตโนมัติ ใช้สารปริมาณน้อยเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม วิเคราะห์รวดเร็ว 30 ตัวอย่างต่อชั่วโมง มีความถูกต้องและแม่นยำสูง

คำสำคัญ: โฟลอินเจกชัน สเปกโตรโฟโตเมทรี ออกซาลิก ชา

* Corresponding author : apichart.b@nsru.ac.th

Abstract

This research was to develop a flow injection spectrophotometry for analysis of oxalic content in tea samples based on a redox reaction. The potassium permanganate (KMnO_4) solution was injected into the flow system and then reacted with the oxalic in acid solution. The signal of reduced color of KMnO_4 was detected at 525 nm by spectrophotometer. The optimum conditions were studied as a reaction temperature, concentration of H_2SO_4 , flow rate, concentration of KMnO_4 and length of mixing coil. The efficiency of the system was determined. The linear range of the oxalic standard solution was 0-400 ppm. The limit of detection (LOD) and the limit of quantitation (LOQ) of 7.5 and 25.0 ppm, respectively and the precision of 2.7% (%RSD) were achieved. The proposed system was successfully applied for 10 tea samples. These samples contain about 1.40 – 2.82 mg of oxalic/g dry weight of tea with the percent recovery 83 – 115%. The proposed system was simple, an automated system, low chemical consumption, environmentally friendly, fast analysis (30 samples per hour), high accuracy and precision.

Keywords: Flow injection, Spectrophotometry, Oxalic, Tea

1. บทนำ

ในปัจจุบันประเทศไทยมีชาหลายชนิด ซึ่งชาเป็นผลผลิตทางเกษตรกรรมจากใบ ยอดอ่อน และก้านของต้นชา นำมาผ่านกรรมวิธีแปรรูปหลากหลาย "ชา" ยังหมายรวมถึงเครื่องดื่มกลิ่นหอมที่ทำจากพืชตากแห้งชนิดต่าง ๆ นำมาชงหรือต้มกับน้ำร้อน เป็นเครื่องดื่มที่มีผู้บริโภคมากที่สุดเป็นอันดับสองของโลกรองจากน้ำ โดยทั่วไปนิยมชงใบชากับน้ำดื่มเพื่อกระตุ้นให้ไม่่วงนอน และนอกจากนี้ยังรักษาโรคท้องร่วงได้ แต่อย่างไรก็ตามการบริโภคชามากเกินไปอาจมีโอกาสดำรงสารกรดออกซาลิกในชา และเมื่ออยู่ในรูปประจุเรียกว่า ออกซาเลต (oxalate) โดยกรดออกซาลิก (oxalic acid) นี้มีสูตรทางเคมีคือ $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4$ ซึ่งสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับธาตุอื่นในร่างกายทำให้มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำและส่งผลเสียต่อร่างกาย เช่น แคลเซียมออกซาเลต (CaC_2O_4) แมกนีเซียมออกซาเลต (MgC_2O_4) โซเดียมออกซาเลต ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) และโพแทสเซียมออกซาเลต ($\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$) โดยเฉพาะผลึกของแคลเซียมออกซาเลตเกิดได้ง่าย ที่ส่งผลให้เกิดเป็นโรคนิ่วในไตและทางเดินปัสสาวะ (สำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2563; พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนাপนนท์, ม.ป.ป)

การวิเคราะห์ปริมาณออกซาลิกในตัวอย่างต่าง ๆ มีหลายวิธี เช่น การไทเทรต (ChemCollective, 2022) เป็นวิธีพื้นฐานที่ง่ายแต่มีข้อเสียคือ การสังเกตสีที่จุดยุติยากด้วยตาเปล่าอาจทำให้เกิดการวิเคราะห์คลาดเคลื่อน ใช้เวลาวิเคราะห์นาน ใช้สารเคมีปริมาณมาก ส่วนการใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์เช่นเครื่อง

Ultraviolet and Visible spectrophotometry (UV-VIS) และ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Kassie et al., 2019; Mahanin & Pongthananikorn, 2012) ถึงแม้จะมีสามารถวิเคราะห์ได้ถูกต้องแม่นยำ แต่ก็มีข้อเสียคือเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีราคาแพง และต้องมีความชำนาญในการใช้เครื่องมือขั้นสูง นอกจากนี้ อภิชาติ บุญมาลัยและคณะ (2562) ได้ศึกษาหาออกซาเลตในผักโดยใช้วิธีไฟฟ้าต้นทุนต่ำด้วยวิธีโพเทนชิโอเมตริกไมโครไทเทรชันเป็นวิธีการวิเคราะห์แบบไม่ต่อเนื่อง จากข้อจำกัดดังกล่าวจึงสนใจนำเทคนิคโฟลอินเจกชันมาพัฒนาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยนี้ เนื่องจากมีข้อดีคือ เป็นระบบการวิเคราะห์แบบอัตโนมัติไม่ยุ่งยาก ใช้สารน้อย ลดขั้นตอนการวิเคราะห์ รวดเร็ว เป็นระบบปิดไม่ต้องสัมผัสสารเคมีโดยตรง ไม่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายมากนัก (ธีรรัตน์ ปิ่นอ่วม และคณะ, 2561) และสามารถประยุกต์ใช้กับการวิเคราะห์สารได้หลากหลาย เช่น ขวัญจิตต์ เหมะวิบูลย์ และ สายรุ้ง อวยพรกชกร (2560) ได้ศึกษาระบบโฟลอินเจกชันสเปกโตรโฟโตเมตรีสำหรับการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปิยวรรณ พันสี และคณะ (2563) ได้ศึกษาการตรวจวัดปริมาณฟอสเฟตในน้ำผิวดินจังหวัดลพบุรีด้วยระบบวิเคราะห์แบบไหลชนิดโฟลอินเจกชันอย่างง่าย อภิชาติ บุญมาลัย และ ธนัชร พัฒนาธรรชัย (2564) ได้ออกแบบระบบโฟลอินเจกชันสเปกโตรโฟโตเมตริกอย่างง่ายสำหรับการวิเคราะห์ไอออนตะกั่วโดยใช้พอลิไดอะเซทิสันรีเอเจนต์ Salimi and Nouroozi (2022) ได้ศึกษาสร้างระบบโฟโตเมตริกโฟลอินเจกชันอะนาไลซิสสำหรับวิเคราะห์หาอาร์เซนิก (III) อาศัยหลอดแอลอีดีและใช้สารเมทิลออร์เรนจ์เป็นรีเอเจนต์ Kimoto et al (2023) ได้ศึกษาการวิเคราะห์หาฟอสฟอรัสด้วยโฟลอินเจกชันอะนาไลซิสโดยใช้สารไดฟโคลิควาเอมีน เป็นต้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณออกซาลิกในตัวอย่างเป็นตัวอย่างชาด้วยระบบโฟลอินเจกชันสเปกโตรโฟโตเมตรีเป็นวิธีการวิเคราะห์อีกทางเลือกหนึ่ง จำเป็นต้องออกแบบระบบให้เหมาะสมกับการวิเคราะห์ตัวอย่างชา พร้อมกับหาสภาวะที่เหมาะสมและความใช้ได้ของวิธีดังกล่าวเพื่อให้มีความถูกต้องแม่นยำในการวิเคราะห์

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีโฟลอินเจกชันสเปกโตรโฟโตเมตรีสำหรับตรวจวัดหาปริมาณออกซาลิกในตัวอย่างเป็นตัวอย่างชา

3. วิธีดำเนินการวิจัย

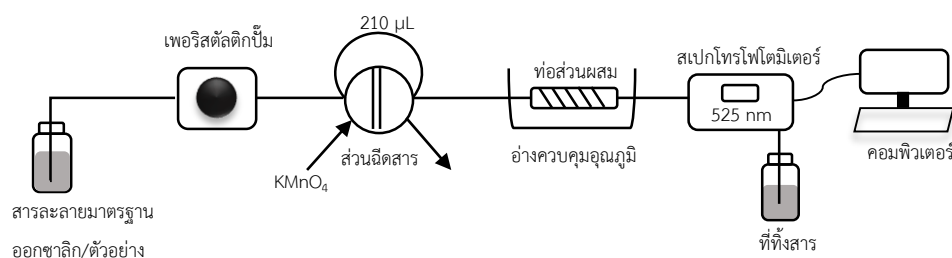
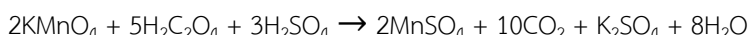
สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นเกรดสำหรับวิเคราะห์ (AR-grade) เตรียมจากโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (99.0%, Ajax, Australia) กรดออกซาลิก (99.9%, Ajax, Australia) กรดซัลฟิวริก (97.5-98.5%, Labscan, Ireland) สารละลายทุกชนิดเตรียมในน้ำกลั่น

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้ คือ เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น spectronic21 บันทึกสัญญาณด้วยคอมพิวเตอร์โปรแกรม Wisco เปลี่ยนสัญญาณการดูดกลืนแสงเป็นค่าศักย์ไฟฟ้า เครื่องเพอร์สตัลติกปั๊ม

ยี่ห้อ Ismatec ส่วนฉีดสารแบบ six port valve ท่อพลาสติกขนาดเล็ก (PTFE) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 มิลลิเมตร

3.1 การศึกษาออกแบบระบบโฟลอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมทรีเพื่อหาปริมาณออกซาลิก

ระบบโฟลอินเจกชันเป็นระบบที่สารตัวอย่างหรือรีเอเจนต์ไหลผ่านเข้าไปในของกระแสตัวพาที่ไหลอย่างต่อเนื่องอยู่ภายในท่อพลาสติกขนาดเล็กที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.5 – 1.0 มิลลิเมตร ซึ่งถูกควบคุมอัตราการไหลด้วยปั๊ม สารจะเข้าผสมกันที่ท่อส่วนผสมเกิดปฏิกิริยาเคมีและตรวจวัดสัญญาณที่เปลี่ยนแปลง เช่น สีของสารละลาย ซึ่งงานวิจัยนี้ได้ออกแบบระบบโฟลอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมทรีเพื่อหาปริมาณออกซาลิก โดยสารละลายมาตรฐานออกซาลิก/สารละลายตัวอย่างจะถูกผลักเข้าไปในระบบโฟลอินเจกชันโดยมีเพอร์ิสต์ลิตกปั๊มเป็นตัวควบคุมอัตราการไหล หลังจากนั้นสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต จะถูกฉีดเข้าไปในส่วนฉีดสารปริมาณน้อยที่คงที่ขนาด 210 ไมโครลิตร สารจะถูกผสมกันที่ท่อส่วนผสม (mixing coil) ที่มีการควบคุมอุณหภูมิในอ่างน้ำร้อน และเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของกรดออกซาลิกจะทำให้สีของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตลดลง จากนั้นจะถูกตรวจวัดสัญญาณโดยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร แล้วถูกบันทึกสัญญาณโดยคอมพิวเตอร์ ดังภาพที่ 1 และปฏิกิริยารีดอกซ์ที่เกิดขึ้น แสดงดังสมการ



ภาพที่ 1 การออกแบบระบบโฟลอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมทรีสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณออกซาลิก

3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมของระบบโฟลอินเจกชันสเปกโทรโฟโตเมทรี

3.2.1 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา

การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาทำโดยนำสารละลายมาตรฐานออกซาลิกในสภาวะกรดซัลฟิวริกเข้าไปในระบบโฟลอินเจกชันโดยเพอร์ิสต์ลิตกปั๊มมีอัตราการไหล 2.5 มิลลิลิตรต่อนาที หลังจากนั้นสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร ถูกฉีดในเข้าไปในส่วนฉีดสารปริมาตร 210 ไมโครลิตร สารจะถูกผสมกันที่ท่อส่วนผสมความยาว 100 เซนติเมตร โดยมีการควบคุมอุณหภูมิในอ่าง

ควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งอุณหภูมิที่ศึกษาได้แก่อุณหภูมิห้อง, 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส และตรวจวัดสัญญาณโดยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

3.2.2 การศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสม

กรดซัลฟิวริกทำหน้าที่ช่วยเร่งปฏิกิริยาได้ศึกษาความเข้มข้นของกรดกรดซัลฟิวริกดังนี้ 0.05, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 โมลต่อลิตร โดยกำหนดสภาวะต่าง ๆ คือ อัตราการไหลสารละลายในระบบ 2.5 มิลลิลิตร ต่อนาที ความเข้มข้นสารละลายสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร ความยาวของท่อส่วนผสม 100 เซนติเมตร และอุณหภูมิในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

3.2.3 การศึกษาอัตราการไหลของสารในระบบโฟลอินเจคชันที่เหมาะสม

การศึกษ้อัตราการไหลของสารในระบบโฟลอินเจคชันที่เหมาะสมโดยอัตราการไหลของสารในระบบจะถูกควบคุมด้วยเพอร์ิสต์ลิติกปั๊ม ได้มีการศึกษ้อัตราการไหลของสารดังนี้ 1.0, 2.0, 2.5 และ 3.0 มิลลิลิตรต่อ นาที โดยสารละลายมาตรฐานออกซาลิกอยู่ในสภาวะกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.50 โมลต่อลิตร ความเข้มข้นสารละลายสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 1.0 มิลลิโมลต่อลิตร ความยาวของท่อส่วนผสม 100 เซนติเมตร และอุณหภูมิในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

3.2.4 การศึกษาหาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่เหมาะสม

การศึกษหาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่เหมาะสมทำโดยใช้ความเข้มข้นสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต คือ 0.5, 0.75, 1.0, 2.5 และ 5.0 มิลลิโมลต่อลิตร อัตราการไหลของสารในระบบ 2.5 มิลลิลิตรต่อนาที กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.50 โมลต่อลิตร ความยาวของท่อส่วนผสม 100 เซนติเมตร และอุณหภูมิในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

3.2.5 การศึกษาหาความยาวของท่อส่วนผสมที่เหมาะสม

การศึกษหาความยาวของท่อส่วนผสมที่เหมาะสมทำโดยเปลี่ยนความยาวของท่อส่วนผสมได้แก่ 0, 50, 100, 150, 200 และ 250 เซนติเมตร และมีสภาวะต่าง ๆ ดังนี้ ความเข้มข้นสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต คือ 0.75 มิลลิโมลต่อลิตร อัตราการไหลของสารในระบบ 2.5 มิลลิลิตรต่อนาที กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.50 โมลต่อลิตร และอุณหภูมิในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

3.3 การศึกษาประสิทธิภาพของระบบโฟลอินเจคชันสเปกโทรโฟโตเมทรีที่สร้างขึ้น

3.3.1 การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง

การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงทำหลังจากได้สภาวะการทดลองที่เหมาะสมโดยศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานออกซาลิก ศึกษาช่วงความเข้มข้น 0 - 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.3.2 การศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัดและขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ

การศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัดและขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณทำโดยนำสารละลายแบลงค์ (blank) มาทำการวิเคราะห์ 7 ซ้ำ ด้วยระบบโพลินเจคชัน หาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานแล้วคำนวณหาค่า LOD จากสูตร $3SD_{blank}$ และ LOQ จากสูตร $10SD_{blank}$

3.3.3 การศึกษาความเที่ยง

การศึกษาความเที่ยงทำโดยนำสารละลายมาตรฐานออกซาลิกความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร มาทำการวิเคราะห์ 11 ซ้ำ ด้วยระบบโพลินเจคชัน คำนวณหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

3.3.4 การศึกษาความถูกต้อง

การศึกษาความถูกต้องทำโดยนำสารละลายตัวอย่างชามาเติมสารละลายมาตรฐานออกซาลิก 100 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยระบบโพลินเจคชันในสภาวะที่เหมาะสม คำนวณหาปริมาณออกซาลิกหลังเติมสารละลายมาตรฐานออกซาลิก แล้วนำผลที่ได้ไปคำนวณหาความถูกต้องจาก %Recovery ด้วยสูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(\text{ค่าจากตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน} - \text{ค่าจากตัวอย่างที่ไม่เติม})}{\text{ค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม}} \times 100$$

3.4 การศึกษาหาปริมาณออกซาลิกในตัวอย่างชาด้วยระบบโพลินเจคชันสเปกโทรโฟโตเมทรีที่สร้างขึ้น

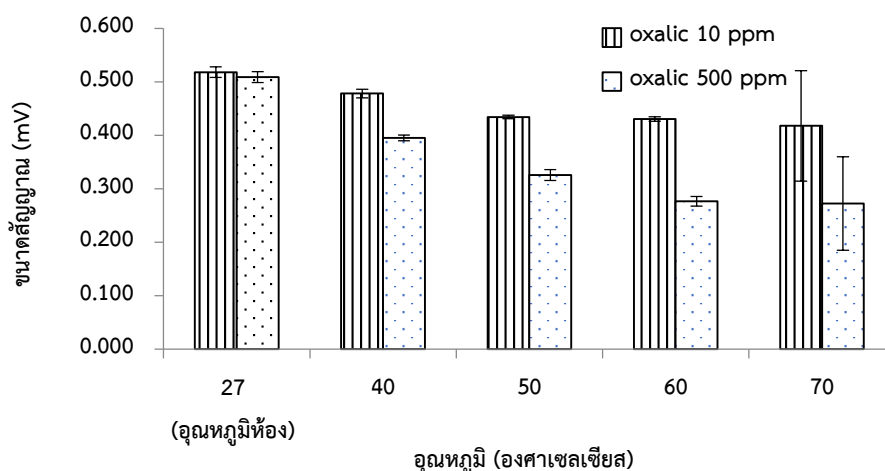
วิธีการเตรียมตัวอย่างชา ชาที่ได้จากใบชา 5 ตัวอย่างและจากพืชสมุนไพรที่นำมาทำเป็นชา 5 ตัวอย่าง ทำโดยนำตัวอย่างชาแห้งที่ชั่ง 2.000 กรัม มาแช่ในน้ำร้อน (80 ± 2 องศาเซลเซียส) 50 มิลลิตร เป็นเวลา 5 นาที กรองด้วยผ้าขาวบาง และกรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นเจือจางสารละลายตัวอย่างชาที่เตรียมได้ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.50 โมลต่อลิตร จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์ทันทีด้วยระบบโพลินเจคชันที่หาสภาวะที่เหมาะสมแล้ว นำผลที่ได้ไปหาปริมาณออกซาลิกโดยคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น

4. ผลการวิจัย

4.1 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมของปฏิกิริยา

การเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมมีผลต่อการทำปฏิกิริยาของสาร เนื่องจากอุณหภูมิจะช่วยเร่งปฏิกิริยา โดยศึกษาอุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) ถึง 70 องศาเซลเซียส จากภาพที่ 2 พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิที่อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิให้สูงขึ้น ทำให้ได้สัญญาณของออกซาลิกทั้ง 10 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตรลดลง แสดงว่าปฏิกิริยาระหว่างออกซาลิกและโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเกิดได้ดีที่อุณหภูมิสูงขึ้น แต่อุณหภูมิที่ 70 องศา

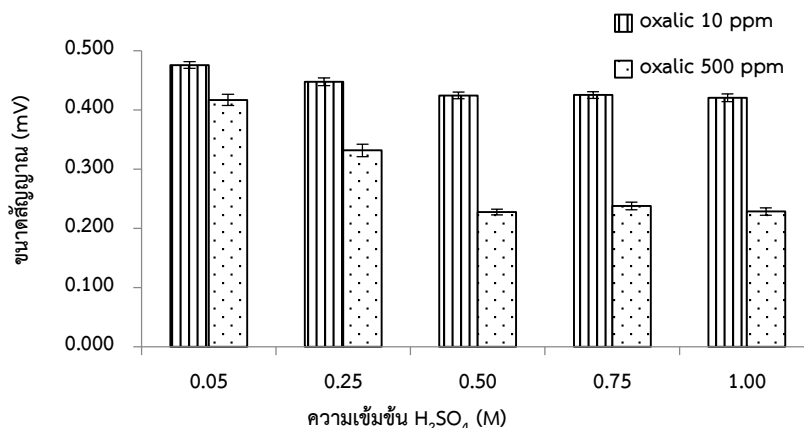
เซลเซียส มีความร้อนมากเกินไปจะทำให้เกิดฟองอากาศภายในท่อของระบบโพลีอินเจคชั่นส่งผลต่อการตรวจวัดสัญญาณมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสูง ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส ที่ทำให้สัญญาณของออกซาลิกทั้ง 10 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตรแตกต่างกันมากที่สุด เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 2 กราฟแสดงผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมของปฏิกิริยา

4.2 การศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสม

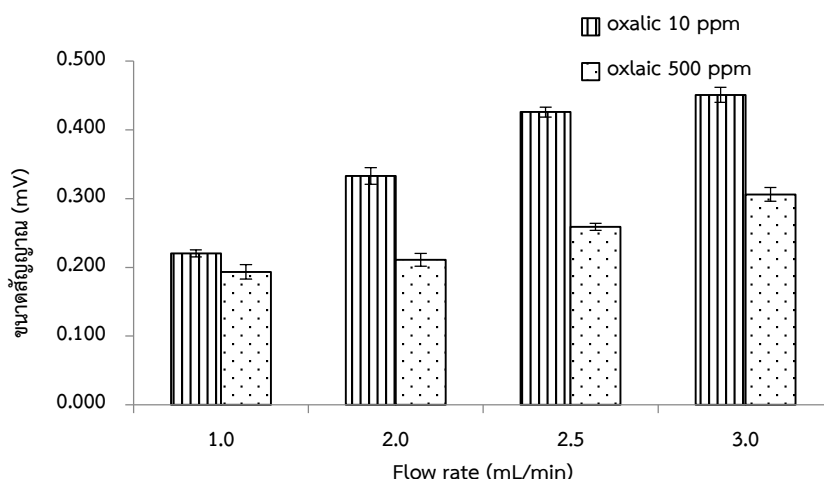
การเลือกความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมจะทำให้ปฏิกิริยาเกิดติดขึ้นดังสมการที่ 1 ได้ศึกษาความเข้มข้นกรดซัลฟิวริก 5 ความเข้มข้น 0.05 -1.00 โมลต่อลิตร แสดงผลดังภาพที่ 3 พบว่า เมื่อความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกมากขึ้น สัญญาณของการตรวจวัดที่ได้ของออกซาลิกทั้ง 10 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตรลดลงจนถึง 0.50 โมลต่อลิตร และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นกรดไปอีกสัญญาณจะไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงจนถึง 1.00 โมลต่อลิตร เนื่องจากกรดมีความเข้มข้นเพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าว และเพื่อเป็นการลดการใช้สารเคมี ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้น 0.50 โมลต่อลิตร เป็นความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 3 กราฟแสดงผลการศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสม

4.3 การศึกษาอัตราการไหลของสารในระบบโพลินเจคชันที่เหมาะสม

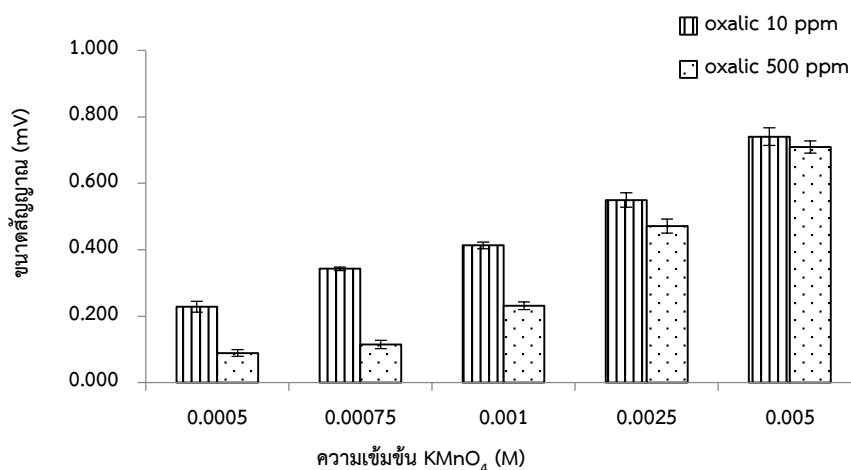
การเลือกอัตราการไหลของสารในระบบที่เหมาะสมเป็นอีกปัจจัยหนึ่งซึ่งควบคุมปฏิกิริยาเคมีหรือสัญญาณที่เกิดขึ้น โดยจะมีผลต่อการแพร่ของสารภายในท่อขนาดเล็กของระบบโพลินเจคชัน อัตราการไหลที่เหมาะสมจะทำให้ได้สภาพไว (sensitivity) ในการวิเคราะห์สูง ได้ศึกษาอัตราการไหลที่ 1.0 – 3.0 มิลลิลิตรต่อนาที ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4 พบว่า เมื่อปรับอัตราการไหลของสารในระบบให้เพิ่มขึ้น จะทำให้ได้สัญญาณการตรวจวัดเพิ่มขึ้นของออกซาลิกทั้ง 10 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อัตราการไหลต่ำทำให้สารเกิดการผสมกันในระบบไม่ดีทำให้ได้สัญญาณของตรวจวัดต่ำและสัญญาณระหว่างออกซาลิกทั้งสองความเข้มข้นมีความแตกต่างกันน้อย ส่วนที่อัตราการไหลที่ 2.5 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ความแตกต่างของสัญญาณระหว่างออกซาลิกสองความเข้มข้นมากที่สุด เนื่องจากทำให้สารเกิดการผสมกันได้ดีและเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นในระบบ จึงมีสภาพไวในการวิเคราะห์ที่ดี และใช้เวลาไม่นานในการวิเคราะห์ จึงเลือกอัตราการไหลของสารในระบบโพลินเจคชันที่ 2.5 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นอัตราการไหลของสารในระบบในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 4 กราฟแสดงผลการศึกษาอัตราการไหลของสารในระบบโพลีเมอร์เจกซ์ที่เหมาะสม

4.4 การศึกษาหาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่เหมาะสม

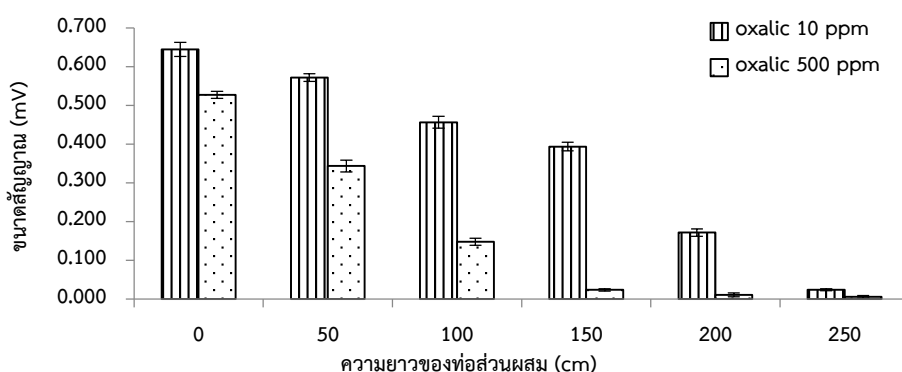
ศึกษาความเข้มข้นสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตตั้งแต่ 0.5 – 5.0 มิลลิโมลต่อลิตร ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 5 พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ทำให้ได้สัญญาณตรวจวัดที่เพิ่มขึ้นทั้งออกซาลิก 10 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ความแตกต่างของสัญญาณระหว่างออกซาลิก 10 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตรกลับลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตมีมากเกินไป ดังนั้นเพื่อที่จะสามารถหาปริมาณวิเคราะห์ได้จึงเลือกความเข้มข้นสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.75 มิลลิโมลต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 5 กราฟแสดงผลการศึกษาหาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

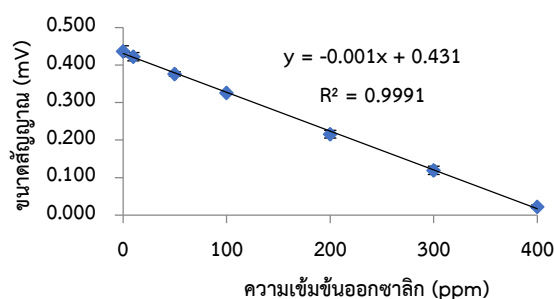
4.5 การศึกษาหาความยาวของท่อส่วนผสมที่เหมาะสม

การเลือกความยาวของท่อส่วนผสมที่เหมาะสมนั้นเพื่อให้สารต่าง ๆ ผสมกันให้เกิดปฏิกิริยาได้ดี ได้ศึกษาความยาวของท่อส่วนผสมตั้งแต่ 0 - 250 เซนติเมตร ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 6 พบว่า เมื่อความยาวท่อส่วนผสมมากขึ้นทำให้สัญญาณการตรวจวัดของออกซาลิก 10 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตรลดลงทั้งคู่เห็นได้ชัด เนื่องจากยิ่งเพิ่มความยาวท่อส่วนผสมทำให้สารผสมกันมากขึ้นและปฏิกิริยาเกิดได้ดีขึ้นทำให้สีของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตลดลงมาก ที่ความยาวท่อส่วนผสม 150 เซนติเมตร มีความแตกต่างของสัญญาณจากการตรวจวัดออกซาลิกทั้งสองความเข้มข้นมาก เพื่อใช้ในการหาปริมาณวิเคราะห์ได้ ดังนั้นจึงเลือกความยาวท่อส่วนผสมที่ 150 เซนติเมตร ที่เหมาะสมในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 6 กราฟแสดงผลการศึกษาหาความยาวของท่อส่วนผสมที่เหมาะสม

หลังจากได้สภาวะที่เหมาะสมแล้วทำการหาประสิทธิภาพของระบบโพลินิเจชันสเปกโทรโฟโตเมทรีที่สร้างขึ้น พบว่าได้กราฟมาตรฐานที่เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นออกซาลิก 0 - 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้สมการเส้นตรงเท่ากับ $y = -0.0001x + 0.431$ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9991 ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 กราฟมาตรฐานแสดงช่วงความเป็นเส้นตรงที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณออกซาลิก

มีขีดจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณเท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีค่าร้อยละความเที่ยงเท่ากับ 2.74 (ออกซาลิก 200 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ 11 ซ้ำ) และได้ร้อยละค่าคืนกลับในช่วง 83 – 115 จากการศึกษาหาปริมาณออกซาลิกในตัวอย่างชาด้วยวิธีโฟลอินเจกชันสเปกโตรโฟโตเมทรี แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณออกซาลิกในตัวอย่างชาด้วยวิธีโฟลอินเจกชันสเปกโตรโฟโตเมทรี

ตัวอย่างชา ที่	ปริมาณออกซาลิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณออกซาลิก (มิลลิกรัมต่อกรัมชาแห้ง)	ร้อยละค่าคืนกลับ (%recovery)
1	56.05±0.04	1.40±0.02	93.0
2	83.20±0.05	2.08±0.05	115.0
3	72.42±0.03	1.81±0.02	86.7
4	87.63±0.01	2.19±0.00	96.7
5	71.20±0.03	1.78±0.02	91.7
6	112.81±0.04	2.82±0.04	83.0
7	109.62±0.05	2.74±0.06	106.3
8	81.20±0.12	2.03±0.12	98.3
9	100.05±0.00	2.50±0.00	91.2
10	60.08±0.03	1.50±0.02	111.3

หมายเหตุ: หมายเลข 1-5 คือชาจากพืชสมุนไพร หมายเลข 6-10 คือชาที่ได้จากใบชา

5. อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีโฟลอินเจกชันสเปกโตรโฟโตเมทรีที่สร้างขึ้นสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณออกซาลิกในตัวอย่างชา โดยออกแบบระบบและหาสภาวะที่เหมาะสมได้ดังนี้ สารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานออกซาลิกที่อยู่ในสภาวะกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตร ซึ่งกรดทำหน้าที่ช่วยการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ สารละลายจะถูกนำเข้าสู่ระบบโฟลอินเจกชันด้วยเพอร์สแตติกปั๊มควบคุมให้มีอัตราการไหล 2.5 มิลลิเมตรต่อนาที ซึ่งเป็นอัตราการไหลที่เหมาะสมจะทำให้ได้สภาพไวการตรวจวัดที่ดีและใช้สารไม่มากเกินไป ส่วนสารละลาย โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตความเข้มข้น 0.75 มิลลิโมลต่อลิตร ถูกฉีดเข้าไปในส่วนฉีดสารที่มีปริมาตร 210 ไมโครลิตร หลังจากฉีดสารเข้าไปในระบบแล้วสารทั้งสองจะเข้าผสมกันและเกิดปฏิกิริยาที่บริเวณท่อส่วนผสมขนาดความยาว 150 เซนติเมตร แทนการคนผสมกันแบบวิธีปกติ หากใช้ความยาวท่อส่วนผสมมากกว่านี้สารจะอยู่ในระบบนานขึ้นและเกิดการแพร่มากขึ้นในท่อขนาดเล็ก ทำให้สารเกิดการเจือจางและทำให้

สัญญาณที่ได้มีสภาพความไวต่ำ นอกจากนั้นบริเวณนี้ยังมีการควบคุมอุณหภูมิด้วยอย่างควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาได้ดีที่อุณหภูมิสูง แต่ถ้าอุณหภูมิสูงมากเกินไปจะเกิดฟองแก๊สรบกวนการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์และตรวจวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร ได้ศึกษาประสิทธิภาพของระบบที่สร้างขึ้นได้ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานออกซาลิกความเข้มข้น 0 – 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ชีตจำกัดการตรวจวัด 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชีตจำกัดของการตรวจเชิงปริมาณ 25.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ($n = 7$) และได้ค่าร้อยละความเที่ยง 2.7 ได้นำวิธีโพลีอินเจคชันสเปกโทรโฟโตเมทรีที่พัฒนาขึ้นนี้มาประยุกต์ใช้กับตัวอย่างชาทั้ง 10 ตัวอย่างที่ขายในท้องตลาด พบว่ามีปริมาณออกซาลิกอยู่ประมาณ 1.40 – 2.82 มิลลิกรัม/กรัมชาแห้ง ซึ่งปริมาณออกซาลิกที่ร่างกายควรได้รับในแต่ละวันไม่ควรเกิน 22 กรัม ต่อ น้ำหนักตัว 60 กิโลกรัม หรือ 378 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม กรณีผู้ป่วยโรคนี้ในไต ไม่ควรได้รับปริมาณออกซาลิกเกิน 40-50 มิลลิกรัมต่อวัน (Mahanin & Pongthanikorn, 2012) ระบบโพลีอินเจคชันสเปกโทรโฟโตเมทรีที่สร้างขึ้นสามารถหาปริมาณออกซาลิกในชา ซึ่งเป็นระบบอัตโนมัติใช้งานง่ายและใช้สารปริมาณน้อย (5 มิลลิตรต่อการวิเคราะห์ 1 รอบ) เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ความเร็วในการวิเคราะห์ 30 ตัวอย่างต่อชั่วโมง มีค่าร้อยละการคืนกลับในช่วง 83 – 115 ซึ่งถือว่ามีความถูกต้องและแม่นยำเหมาะสมสามารถใช้เป็นทางเลือกอีกวิธีหนึ่งในการหาปริมาณออกซาลิกในชาได้

6. เอกสารอ้างอิง

- ขวัญจิตต์ เหมะวิบูลย์ และ สายรุ้ง อวยพรกษกร. (2560). ระบบโพลีอินเจคชันสเปกโทรโฟโตเมทรีสำหรับการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้*, 8(1), 172-180. <https://doi.org/10.14456/jstel.2017.11>
- ธีรรัตน์ ปันอ่วม, สุภาดา คนยัง และ จรูญ จักรมณี. (2561). การวิเคราะห์หาปริมาณซัลไฟด์ด้วยระบบโพลีอินเจคชันคัลเลอรีเมตริกโดยใช้รีเอเจนต์จากธรรมชาติ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 26(3), 438-448. <https://doi.org/10.14456/tstj.2018.39>
- ปิยวรรณ พันสี, จันทิรา กออินทร์, และ ดวงใจ นาคะปรีชา. (2563). การตรวจวัดปริมาณฟอสเฟตในน้ำผิวดินจังหวัดลพบุรีด้วยระบบวิเคราะห์แบบไหลชนิดโพลีอินเจคชันอย่างง่าย. *วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร*, 14(2), 122-134. <https://doi.org/10.14456/jrmutp.2020.26>
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนพานนท์. (ม.ป.ป.). *Oxalic acid / กรดออกซาลิก*. Food Network Solution ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหาร. <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3311/oxalic-acid-กรดออกซาลิก>
- สำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. (2563). *ปริมาณสารอาหารอ้างอิงที่ควรได้รับประจำวันสำหรับคนไทย พ.ศ. 2563*. <https://www.thaidietetics.org/wp-content/uploads/2020/04/dri2563.pdf>

- อภิชาติ บุญมัลย์, คณกรณ์ แสงชัยมงคลลาภ, และ กนกนิภา บุตรศรี. (2562). การวิเคราะห์ออกซาเลตในตัวอย่างผักโดยใช้ขั้วไฟฟ้าต้นทุนต่ำด้วยวิธีโพเทนชิโอเมตริกไมโครไทเทรชัน. *วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 14(2), 148-160. https://li01.tci-thaijo.org/index.php/PRRJ_Scitech/article/download/122163/149887/685555
- อภิชาติ บุญมัลย์ และ ธนัษพร พัฒนารชชัย. (2564). การประยุกต์ใช้พอลิไดอะเซพติลีนรีเอเจนต์ในระบบโพลีเมอร์เซนเซอร์ไทเทรตไทเทรตอย่างง่ายสำหรับการวิเคราะห์ไอออนตะกั่ว. *Life Sciences and Environment Journal*, 22(2), 274-286. <https://doi.org/10.14456/lsej.2021.14>
- ChemCollective. (2022, November 13). *Volumetric Analysis: Potassium Permanganate Titration: Calculate the concentration of oxalic acid*. <https://chemcollective.org/chem/ubc/exp04/oxalicacid.php>
- Kassie, W., Washe, A.P. & Etsay, H. (2019). Spectrophotometric determination of oxalic acid in dietary sources through catalytic titration with hexavalent chromium. *Food Science and Quality Management*, 83, 30-38. <https://doi.org/10.7176/FSQM>
- Kimoto, H., Hirahara, Y., Sato, K., Iiyama, M., Hashimoto, T. & Hayashita, T. (2023). High-throughput determination of lipopolysaccharide by flow injection analysis using dipicolylamine-type fluorescent probe. *Talanta Open*, 7, 100204. <https://doi.org/10.1016/j.talo.2023.100204>
- Mahanin, N. & Pongthananikorn, S. (2012). Determination of oxalate content in tea samples by high performance liquid chromatography. *Journal of Health Research*, 26(3), 109-112. <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/jhealthres/article/view/85060>
- Salimi, M., & Nouroozi, S. (2022). Photometric flow injection analysis of As(III) by using a homemade, LED-based flow-cell device and methyl orange reagent. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 283, 121713. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121713>