

การพัฒนาวิธีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กด้วยสารสกัดใบบัวหลวง และเทคนิคอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

อุษารัตน์ คำทับทิม* เกษมณี พลุกคล้าย นภาพร รัชมีเฟื่องฟู และ รัฐพล หงส์เกรียงไกร

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

2 ถนนนางลิ้นจี่ แขวงทุ่งมหาเมฆ เขตสาทร กรุงเทพมหานคร 10120

รับบทความ 3 ธันวาคม 2566 แก้ไขบทความ 27 สิงหาคม 2567 ตอรับบทความ 25 กันยายน 2567

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาวิธีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กด้วยสารสกัดใบบัวหลวงและเทคนิคอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี โดยสารสกัดใบบัวหลวงเตรียมด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารสกัดใบบัวหลวงด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์พบว่าหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของสารสกัดใบบัวหลวงมีความสอดคล้องกับสารมาตรฐานกรดแทนนิก จากการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นได้แก่ การใช้ตัวทำละลายคือสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.8 ความเข้มข้นของกรดแทนนิกในสารสกัดใบบัวหลวง 5.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา 10 นาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร วิธีที่ได้พัฒนาขึ้นมีช่วงความเป็นเส้นตรง 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร สมการความเป็นเส้นตรงคือ $y = 0.0326x + 0.289$ ซิดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด 0.51 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9956 ค่าความเที่ยงในการวิเคราะห์ของวิธีที่พัฒนาขึ้นภายในวันเดียวกันและต่างวันกันมีค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 0.14 และ 1.28 ตามลำดับ ร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 87-104 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างเม็ดยาเสริมธาตุเหล็กด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นพบว่าให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความสอดคล้องกับเทคนิคเฟลมอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี (Flame-Atomic Absorption Spectroscopy) วิธีที่พัฒนาขึ้นจากงานวิจัยนี้เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก ใช้สารสกัดใบบัวหลวงเป็นรีเอเจนต์ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม อีกทั้งเครื่องมือที่ใช้ยังมีอยู่ทั่วไปในห้องปฏิบัติการและราคาถูก

คำสำคัญ : สารสกัดใบบัวหลวง; การวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก; การพัฒนาวิธี; อัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทร: +668 9130 1001, ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์: usarat.k@mail.rmutk.ac.th

Method Development for Iron Content Analysis Using Lotus Leaves Extract and Ultraviolet-Visible Spectroscopy Technique

Usarat Kumtabtim* Katmanee Phunkhlai Napaporn Rusameefeaungfoo and Rattapon Hongkreingkai

Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Krungthep
2 Nang Linchi Road, Thung Maha Mek, Sathon, Bangkok, 10120

Received 3 December 2023; Revised 27 August 2024; Accepted 25 September 202

Abstract

This research aims to study the method development for Iron content analysis using lotus leaves extract and Ultraviolet-Visible spectroscopy. The lotus leaves extract was prepared by solvent extraction method that used acetate buffer solution as extractant. The chemical structure of lotus leaves extracts was detected by Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR). The result showed the functional groups of lotus leaves extracts were similar to tannic acid standard. The optimum condition for Iron content analysis with the developed method included acetate buffer solution (pH 4.8) used as suitable solvent, the concentration of tannic acid in lotus leaves extracts of 5.6 milligrams per liter. The reaction time was 10 minutes. The detected wavelength was 570 nanometers. The linearity range of the developed method was 1-10 milligrams per Liter. The linear equation was $y = 0.0326x + 0.289$. The coefficient of determination (R^2) was 0.9956. The limit of detection was 0.51 milligrams per Liter. The percentage relative standard deviation (%RSD) of intra-day and inter-day were 0.14 and 1.28, respectively. The percentage recovery was 87-104. The result of iron content in pharmaceutical tablet that obtained from the developed method was well-correlated with Flame Atomic Absorption Spectroscopy. This developed method is simple, convenient, environmentally friendly, cheap and use the instrument that available in laboratory.

Keywords: Lotus Leaves Extract; Iron Content Analysis; Method Development; Ultraviolet-Visible Spectroscopy

* Corresponding Author. Tel.: +668 9130 1001, E-mail Address: usarat.k@mail.rmutk.ac.th

1. บทนำ

การวิเคราะห์ปริมาณโลหะในตัวอย่งที่มีความเข้มข้นต่ำในห้องปฏิบัติการทางเคมีนั้นสามารถใช้เครื่องมือวิเคราะห์ขั้นสูงได้หลายชนิดเช่น เครื่องเพลมอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรมิเตอร์ (Flame-Atomic Absorption Spectrometer) เครื่องอินดักทีฟคัปเปิลพลาสมา อะตอมมิกอิมิซชันสเปกโตรมิเตอร์ (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometer, ICP-AES) และเครื่องอินดักทีฟคัปเปิลพลาสมา แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry, ICP-MS)) เป็นต้น [1], [2] แต่การใช้เครื่องมือเหล่านี้มีข้อจำกัดเกี่ยวกับขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง สารเคมีที่ใช้ ความชำนาญเฉพาะของผู้ปฏิบัติงานและราคาของเครื่องมือส่งผลให้งานวิจัยที่ศึกษาและพัฒนาการวิเคราะห์โลหะด้วยเทคนิคอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (Ultraviolet-Visible Spectroscopy) เนื่องจากเทคนิคนี้มีขั้นตอนการวิเคราะห์ที่ไม่ซับซ้อน สะดวก และเครื่องมือราคาถูก [3], [4]

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโลหะด้วยเทคนิคอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรสโกปีนั้นอาศัยหลักการทำปฏิกิริยาระหว่างโลหะและรีเอเจนต์ (Reagent) แล้วเกิดเป็นผลิตภัณฑ์หรือสารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถดูดกลืนแสงได้ที่มีความยาวคลื่นต่างๆ โดยรีเอเจนต์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยามีหลายชนิด ทั้งที่เป็นรีเอเจนต์จากธรรมชาติ (Natural reagent) และรีเอเจนต์สังเคราะห์ (Synthesis reagent) ซึ่งการใช้รีเอเจนต์สังเคราะห์นั้นอาจส่งผลกระทบต่อผู้ปฏิบัติงานและเป็นพิษกับสิ่งแวดล้อม ทำให้มีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ด้วยการใช้สารสกัดจากธรรมชาติเช่น เปลือกแก้วมังกร ใบฝรั่ง กะหล่ำปลีม่วง ดอกกล้วยไม้ และดอกเฟื่องฟ้า [5]-[10] สำหรับการใช้สารสกัดจากธรรมชาติเป็นรีเอเจนต์นั้นเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก ราคาถูกและปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงานทดสอบ นอกจากนี้ยังเป็นเพิ่มมูลค่าให้กับ

พืชที่หาง่ายในท้องถิ่นและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยมีรายงานการวิจัยที่ใช้สารสกัดใบฝรั่งและสารสกัดกะหล่ำปลีม่วงสำหรับการตรวจวัดปริมาณเหล็ก [7], [8]

แทนนิน (Tannin) เป็นสารประกอบจำพวกฟีนอลที่มีความสามารถในการละลายน้ำได้ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลจำนวนมาก ขนาดโมเลกุลของแทนนินมีขนาดใหญ่และเป็นโครงสร้างที่ซับซ้อน โดยทั่วไปสารแทนนินพบได้ตามส่วนต่างๆ ของพืชเช่น รากไม้ เปลือกไม้ ดอกไม้ ผล ใบ และเมล็ด ซึ่งสารแทนนินพบมากในใบมันสำปะหลัง ใบบัวหลวง ใบฝรั่ง เปลือกมังคุด ใบชา และเปลือกเงาะ เป็นต้น สารแทนนินมีคุณสมบัติในการเกิดปฏิกิริยาที่เป็นคุณสมบัติเฉพาะเจาะจงของฟีนอลสามารถตกตะกอนกับโปรตีนประเภทต่างๆ เช่น เจลลาตินและโปรตีนจากหนังสัตว์ นอกจากนี้สารละลายของแทนนินยังสามารถเกิดปฏิกิริยากับโลหะหนักบางชนิดเช่น เหล็ก ตะกั่ว และสังกะสี เป็นต้น [11]

บัวหลวง (Lotus) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Nelumbo nucifera* Gaertn. เป็นพืชน้ำที่สามารถพบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยมีพื้นที่การผลิตบัวสำหรับการตัดดอกในแถบจังหวัดนนทบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี อุบลราชธานี กรุงเทพฯและปริมณฑล การผลิตเพื่อเก็บเมล็ด ตัดดอกและเกสรตากแห้งได้แก่พื้นที่แถบอยุธยา อ่างทอง นครสวรรค์ ส่วนพื้นที่แถบจังหวัดปราจีนบุรีเน้นการปลูกเพื่อเก็บเกี่ยวไหลบัว ผลผลิตส่วนใหญ่ถูกนำมาใช้ในประเทศ ที่เหลือจึงส่งออกไปต่างประเทศเช่น แอบบอเมริกา ญี่ปุ่น และ ยุโรป เป็นต้น ส่วนของบัวหลวงที่มีการนำมาใช้ประโยชน์เช่น ดอก เกสร เหง้า และใบ โดยมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการวิเคราะห์ปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic compound) ในสารสกัดจากส่วนของใบบัว ลำต้นและรากบัวซึ่งพบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดจากใบบัว ลำต้นและรากบัวเท่ากับ 165, 74 และ 30 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้งตามลำดับ

[12], [13] ซึ่งส่วนของใบบัวหลวงนั้นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าส่วนอื่นๆ

ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กด้วยสารสกัดใบบัวหลวงและเทคนิคอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี โดยวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก ราคาถูก ขั้นตอนไม่ซับซ้อน และการใช้สารสกัดใบบัวหลวงเป็นรีเอเจนต์ในขั้นตอนการวิเคราะห์ยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับบัวหลวงซึ่งเป็นพืชท้องถิ่นของไทยอีกด้วย

2. ระเบียบวิธีวิจัย

2.1 ขั้นตอนการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ได้เตรียมสารสกัดใบบัวหลวงด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายและศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้น ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย ค่าพีเอชของสารละลาย ความเข้มข้นของสารสกัดใบบัวหลวง ความเข้มข้นของสารละลายเหล็กไอออน (Fe^{3+}) เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา ความเสถียรของสารสกัดใบบัวหลวง และศึกษาคุณลักษณะของวิธีที่ได้พัฒนาขึ้น

2.1.1 สารเคมี

โซเดียมอะซิเตท ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, Kemaus) น้ำปราศจากไอออน (DI water) กรดไฮโดรคลอริก (HCl, Ajax Finechem) กรดแทนนิก ($\text{C}_7\text{H}_5\text{O}_4$, Himedia) โฟลีน - ซีโอแคลทรีเอเจนต์ (Folin-Ciocalteus reagent, Loba Chemie) เฟอริกไนเตรท ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, Kemaus) กรดอะซิติก (CH_3COOH , Merck)

2.1.2 เครื่องมือ

เครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (V650, Jasco) เครื่องวัดสภาพความเป็นกรดเบส (SP-2300, Suntex) เครื่อง Vortex mixer (G560-E, Vortex Genie 2) เครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม อินฟรา

เรดสเปกโตรมิเตอร์ (Nicolet 6700, Thermo Fisher Scientific) เครื่องเฟลมอะตอมมิกแอฟซอพท์ ซินสเปกโตรมิเตอร์ (PinAAcle 900T, PerkinElmer) เครื่องกวนสาร (MS-500, INTLLAB) ตู้อบลมร้อน (Mettler) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (BP110S, Sartorius) ไมโครปิเปต (Eppendorf Research)

2.1.3 วัดถุดิบใบบัวหลวง

วัตถุดิบใบบัวหลวงที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นใบบัวหลวงแก่ สายพันธุ์สีชมพูจากตำบลบางตาเถร อำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี

2.1.4 การเตรียมสารสกัดใบบัวหลวง

นำใบบัวหลวงสด 10 กิโลกรัม มาล้างด้วยน้ำให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วตากแดดให้แห้ง จากนั้นอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างใบบัวหลวงมาบดให้ละเอียด ร่อนคัดขนาดด้วยตะแกรงร่อน แล้วเก็บไว้ในขวดสีชาสำหรับสารสกัดใบบัวหลวงเตรียมด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย (สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์, สารละลายกรดไฮโดรคลอริกและน้ำกลั่น) อัตราส่วนน้ำหนักใบบัวหลวงแห้งบดละเอียดต่อปริมาตรตัวทำละลายเท่ากับ 1 ต่อ 20 กรัมต่อมิลลิลิตร [7] ปั่นกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า ความเร็วในการหมุน 200 รอบต่อนาที เวลาในการสกัด 30 นาที เมื่อครบเวลา กรองแยกสารสกัดใบบัวหลวงด้วยกระดาษกรอง Whatman no.1 จากนั้นเก็บสารสกัดใบบัวหลวงที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดไว้ในขวดสีชาและเก็บไว้ในตู้เย็น

2.2 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของสารสกัดใบบัวหลวงด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (FT-IR)

งานวิจัยนี้ได้วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันทางเคมีของสารสกัดใบบัวหลวงโดยการเทียบกับสารมาตรฐานกรดแทนนิก (Tannic acid) สภาวะที่ใช้ในการทดลองเป็น

ATR Mode ทำการสแกนในช่วงเลขคลื่นตั้งแต่ 400-4000 cm^{-1} ที่อุณหภูมิห้อง ความละเอียด (Resolution) เท่ากับ 4 (ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสารสกัดใบบัวหลวงได้ทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary Evaporator ให้ได้เป็นสารสกัดใบบัวหลวงเข้มข้น)

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดใบบัวหลวง

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลิกที่มีในสารสกัดใบบัวหลวงกับฟอลิน-ซิโอแคลทูรีเจเนต (Folin-Ciocalteu's reagent) เกิดเป็นสารประกอบ สีน้ำเงิน แล้วทำตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 735 นาโนเมตร (ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแทนนิกที่ใช้ในทดลองเท่ากับ 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร)

2.4 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น

2.4.1 การศึกษาชนิดของตัวทำละลาย

ตัวทำละลายที่ใช้ในการทดลองได้แก่สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์, สารละลายกรดไฮโดรคลอริก และน้ำกลั่น โดยปีเปิดสารสกัดใบบัวหลวงในตัวทำละลายแต่ละชนิด (ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกรวม 16.8 มิลลิกรัมต่อลิตร) ปริมาตร 5 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด จากนั้นปีเปิดสารละลายเหล็กไอออน (Fe^{3+}) ในตัวทำละลายแต่ละชนิด (ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร) ปริมาตร 5 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เขย่าหลอดทดลองให้สารผสมกัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำสารละลายผสมในตัวทำละลายแต่ละชนิด ไปสแกนสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 300 ถึง 900 นาโนเมตร

2.4.2 การศึกษาชนิดของโลหะ

นำสารละลายผสมระหว่างสารสกัดใบบัวหลวงกับสารละลายไอออนของโลหะแต่ละชนิด ได้แก่ Fe^{3+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} และ Pb^{2+} ในตัวทำละลายที่เหมาะสม ความเข้มข้นของสารละลายไอออนโลหะเท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อลิตรสารสกัดใบบัวหลวงที่มีความเข้มข้นของสารประกอบ ฟีนอลิกรวม 16.8 มิลลิกรัมต่อลิตร) ไปสแกนสเปกตรัมด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 300 ถึง 900 นาโนเมตร

2.4.3 การศึกษาค่าพีเอชของสารละลาย

ในการทดลองส่วนนี้ ตัวทำละลายที่ใช้เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสม (ตามผลการทดลองข้อ 2.4.2) โดยมีการปรับค่า pH ของสารละลายเท่ากับ 3.6, 4.0, 4.4, 4.8, 5.2 และ 5.6 ตามลำดับ จากนั้นทำการเตรียมสารละลายผสมระหว่างสารสกัดใบบัวหลวงกับสารละลาย Fe^{3+} (ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ละลายในตัวทำละลายที่มีค่า pH ต่างๆ ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร (แต่ละชุดการทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง)

2.4.4 การศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดใบบัวหลวง

ปีเปิดสารสกัดใบบัวหลวงที่มีความเข้มข้นของกรดแทนนิก 0.84, 1.68, 3.36, 4.2, 5.6, 8.4 และ 16.8 มิลลิกรัมต่อลิตร 5 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด จากนั้นปีเปิดสารละลาย Fe^{3+} ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด เขย่าหลอดทดลองให้สารผสมกัน (แต่ละชุดการทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง) ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำสารละลายผสมที่ได้แต่ละหลอดไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตรด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2.4.5 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายไอออนเหล็ก (Fe^{3+})

ในส่วนนี้มีขั้นตอนการทดลองเหมือนข้อ 2.4.4 แต่ใช้ความเข้มข้นของสารละลายไอออนเหล็ก (Fe^{3+}) เท่ากับ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้สารสกัดใบบัวหลวงที่มีความเข้มข้นของกรดแทนนิกเท่ากับ 5.6 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นนำสารละลายผสมที่เตรียมได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

2.4.6 การศึกษาเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา

ขั้นตอนการทดลองในส่วนนี้เหมือนกับข้อ 2.4.5 โดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายไอออนเหล็ก (Fe^{3+}) 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และใช้สารสกัดใบบัวหลวงที่มีความเข้มข้นกรดแทนนิก 5.6 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 และ 60 นาที (แต่ละชุดการทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง, $n=3$) เมื่อครบเวลา นำสารละลายผสมไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

2.4.7 การศึกษาความเสถียรของสารสกัดใบบัวหลวง

ในการทดลองส่วนนี้ได้ทำการเตรียมสารสกัดใบบัวหลวงและสารละลายผสม(ความเข้มข้นของสารละลาย Fe^{3+} 10 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารสกัดใบบัวหลวงที่มีความเข้มข้นกรดแทนนิกเท่ากับ 5.6 มิลลิกรัมต่อลิตร) แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25°C) เป็นเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อครบตามเวลา นำสารละลายที่เตรียมได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

2.4.8 การศึกษาสารรบกวน (Interference)

ในการทดลองส่วนนี้ได้ศึกษาผลของสารรบกวนที่มีผลต่อวิธีที่พัฒนาขึ้นได้แก่ สารละลายไอออนบวกของโลหะชนิดต่างๆ (Na^+ , Co^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} และ Pb^{2+}) โดยเตรียมสารละลายไอออนโลหะแต่ละชนิดความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อ

ลิตรในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.8 จากนั้นทำการผสมสารละลาย Fe^{3+} กับสารละลายไอออนบวกของโลหะแต่ละชนิดในอัตราส่วน 1:0 1:1 1:2 1:5 และ 1:10 โดยปริมาตรต่อปริมาตร [7] แล้วนำสารละลายผสมที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กตามขั้นตอนของวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้น

2.4.9 การศึกษาคุณสมบัติของวิธีที่ได้พัฒนาขึ้น

วิธีที่พัฒนาขึ้นจากงานวิจัยนี้ ได้ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity range) ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) โดยทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแบลงค์จำนวน 10 ครั้ง แล้วนำผลที่ได้ไปคำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และคำนวณขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด ($\text{LOD} = 3\text{SD}/\text{slope}$) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, $\text{LOQ} = 10\text{SD}/\text{slope}$) โดยสารละลายแบลงค์ที่ใช้คือสารสกัดใบบัวหลวงที่ละลายในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ ส่วนค่าร้อยละการกลับคืน (%Recovery) ใช้วิธีการเติมสารละลายมาตรฐาน Fe^{3+} ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิลิตรลงไปในตัวอย่าง (Spike sample) โดยทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ แต่ละความเข้มข้นทดสอบ 10 ตัวอย่าง(ทดสอบตัวอย่างทั้งหมด 30 ตัวอย่าง) ความสำคัญความเที่ยง (Precision) ในการวิเคราะห์เป็นการศึกษาภายในวันเดียวกัน (Intra-day) และวิเคราะห์ระหว่างวัน (Inter-day) แล้วนำผลการวิเคราะห์มาคำนวณค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างยาเม็ดเสริมเหล็กด้วยวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้นและเทคนิคเฟลอมอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี

ตัวอย่างยาเม็ดที่ใช้ในการทดลองเป็นยาเม็ดเสริมเหล็กที่มีขายในท้องตลาด 3 ยี่ห้อ (A B และ C)

โดยมีวิธีการเตรียมตัวอย่างเมื่อยา ดังนี้ บดยาเม็ดตัวอย่างแต่ละยี่ห้ออย่างละ 10 เม็ด จากนั้นชั่งตัวอย่างยาที่บดละเอียด 0.25 กรัม ละลายในน้ำปราศจากไอออน 90 มิลลิลิตรแล้วเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc.HCl) 4 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่ 100 องศาเซลเซียส 30 นาที เมื่อครบเวลา ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง สารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman no.1 แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร [8] หลังจากนั้นปีเตอร์สารละลายที่เตรียมได้ 20 มิลลิลิตรลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.5 มิลลิลิตร เพื่อทำให้เกิดการออกซิเดชันที่สมบูรณ์ (Complete oxidation) จาก Fe^{2+} ไปเป็น Fe^{3+} จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น แล้วนำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์ปริมาณเหล็กด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นและเครื่องเฟลมอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรมิเตอร์ (Detection wavelength 248.3 nm)

3. ผลการศึกษาและอภิปรายผล

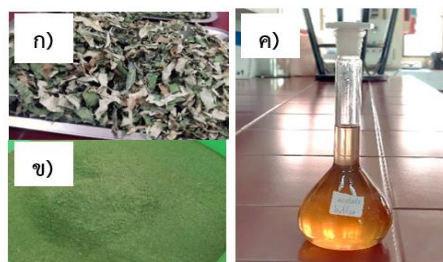
3.1 ผลการเตรียมสารสกัดใบบัวหลวง

ลักษณะใบบัวหลวงที่อบด้วยตู้อบลมร้อนแสดงดังรูปที่ 1ก) ส่วนใบบัวหลวงแห้งที่ผ่านการบดมีลักษณะเป็นผงละเอียดสีเขียวดังรูปที่ 1ข) จากผลการทดลองน้ำหนักใบบัวหลวงแห้งบดละเอียดที่เตรียมได้เท่ากับ 1.8 กิโลกรัม สำหรับสารสกัดใบบัวหลวงที่สกัดได้มีลักษณะเป็นสารละลายสีน้ำตาลอ่อนดังรูปที่ 1ค)

3.2 ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันทางเคมีของสารสกัดใบบัวหลวงด้วยเครื่องฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์

เมื่อวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันทางเคมีของสารสกัดใบบัวหลวงโดยการเทียบกับสารมาตรฐานกรดแทนนิก

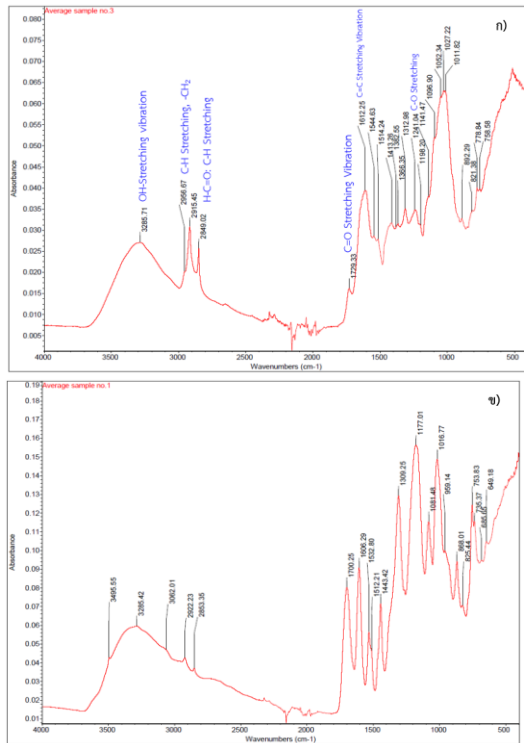
ลักษณะสเปกตรัม (FT-IR Spectrum) ที่ได้แสดงดังรูปที่ 2ก) และ 2ข) จากการพิจารณาลักษณะสเปกตรัมของสารสกัดใบบัวหลวงพบว่ามีคุณสมบัติคล้ายกับสเปกตรัมของสารมาตรฐานกรดแทนนิก โดยสารสกัดใบบัวหลวงมีหมู่ฟังก์ชันทางเคมีที่สำคัญได้แก่หมู่ไฮดรอกซิล (O-H) ซึ่งแสดงลักษณะของแถบสเปกตรัมที่กว้างและชัดเจนที่เลขคลื่น (Wave number) ประมาณ $3,285.71\text{ cm}^{-1}$ ส่วนพีกที่เลขคลื่น $2,915.45\text{ cm}^{-1}$ เป็นการแสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน -CH Stretching และ -CH₂ Vibration ของอะลิฟาติกไฮโดรคาร์บอน (Aliphatic hydrocarbon) นอกจากนี้ยังพบหมู่ฟังก์ชัน C=O และ C=C ที่เลขคลื่นประมาณ $1,600\text{--}1,730\text{ cm}^{-1}$ โดยผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันทางเคมีของสารสกัดใบบัวหลวงที่ได้จากงานวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับรายงานการวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างทางเคมีของกระเทียมขาวและบัวด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี [14]



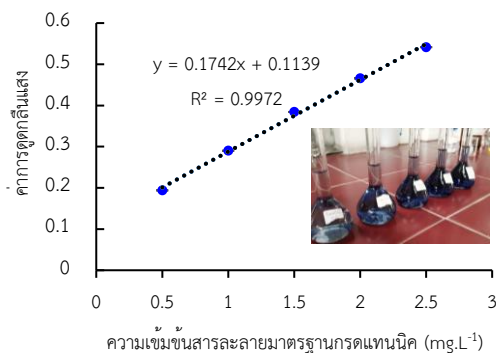
รูปที่ 1 ก) ใบบัวหลวงที่ผ่านการอบด้วยตู้อบลมร้อน ข) ใบบัวหลวงบดละเอียด ค) สารสกัดใบบัวหลวง

3.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดใบบัวหลวง

เมื่อนำสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกและสารสกัดใบบัวหลวงมาทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteus reagent จะได้สารละลายสีน้ำเงินดังรูปที่ 3 จากผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดใบบัวหลวงที่เตรียมได้จากงานวิจัยนี้มีปริมาณกรดแทนนิกเท่ากับ 16.8 ± 0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร



รูปที่ 2 ก) FT-IR Spectrum ของสารสกัดใบบัวหลวง
ข) FT-IR Spectrum ของสารมาตรฐานกรดแทนนิก



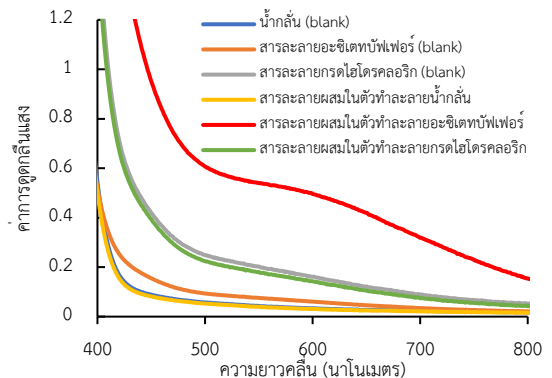
รูปที่ 3 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิก

3.4 ผลการศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้น

3.4.1 ผลการศึกษาชนิดของตัวทำละลาย

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมในตัวทำละลายทั้งสามชนิด ดังรูปที่ 4 พบว่าในตัวทำละลายที่เป็นสารละลายอะซิ

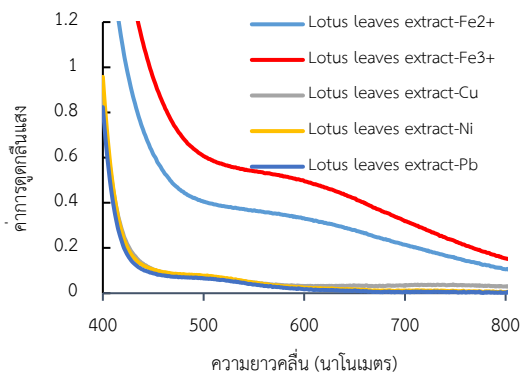
เตทบัฟเฟอร์เกิดการเปลี่ยนแปลงของสเปกตรัมอย่างชัดเจน โดยเกิดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดประมาณ 570 นาโนเมตร ซึ่งเป็นการแสดงถึงการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างกรดแทนนิกที่มีอยู่ในสารสกัดใบบัวหลวงและสารละลายเหล็กไอออน (Fe^{3+}) ส่วนลักษณะสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมในตัวทำละลายชนิดอื่น ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะสเปกตรัม โดยรายงานการวิจัยที่ใช้สารสกัดจากใบฝรั่งสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กได้รายงานถึงสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ว่าไม่มีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก และการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแทนนินในสารสกัดใบฝรั่งและ Fe^{3+} สามารถเกิดขึ้นได้ดีในสถานะที่มีค่า pH ในช่วงกรด [7] ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้น



รูปที่ 4 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมในตัวทำละลายแต่ละชนิด

3.4.2 ผลการศึกษาชนิดของโลหะ

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมระหว่างสารสกัดใบบัวหลวงกับสารละลายไอออนโลหะ (Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+}) พบว่าลักษณะสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสม Fe^{3+} มีการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนมากที่สุด ดังรูปที่ 5



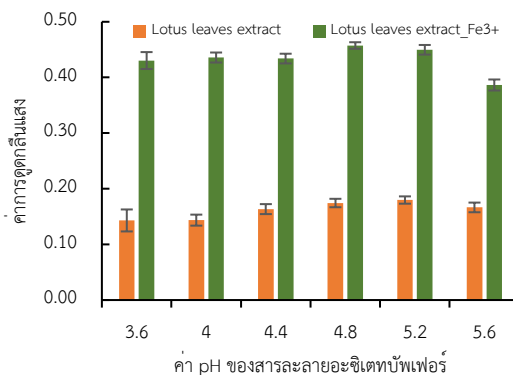
รูปที่ 5 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมระหว่างสารสกัดใบบัวหลวงกับสารละลายไอออนโลหะ

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบลักษณะสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมแต่ละชนิดพบว่า สารละลายผสมของ Fe^{3+} มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะเส้นสเปกตรัมที่ชัดเจนมากกว่าสารละลายผสมของ Fe^{2+} ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับรายงานที่ศึกษาเกี่ยวกับการใช้สารสกัดจากใบฝรั่งสำหรับการตรวจวัดปริมาณเหล็ก [7] โดยเกิดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตรเป็นการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นจากกรดแทนนิกที่มีอยู่ในสารสกัดใบบัวหลวงและสารละลายไอออน Fe^{3+} ส่วนลักษณะสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมของโลหะไอออนชนิดอื่นไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง โดยผลการทดลองที่ได้จากงานวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับรายงานที่ศึกษาเกี่ยวกับการใช้สารสกัดจากใบฝรั่งสำหรับการตรวจวัดปริมาณเหล็ก [7] นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ศึกษาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กกับกรดแทนนิกด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีแล้วอธิบายถึงการเกิดพันธะที่เชื่อมต่อกันระหว่างหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล ($-\text{OH}$) ในโมเลกุลของกรดแทนนิกและ Fe^{3+} [15]

3.4.3 ผลการศึกษาค่าพีเอชของสารละลาย

เมื่อพิจารณาผลการทดลองดังรูปที่ 6 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมเมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่มีค่า pH 4.8 จะทำ

ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุด ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ที่มีค่า pH เท่ากับ 4.8 เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างกรดแทนนิกในสารสกัดใบบัวหลวงและสารละลายเหล็กไอออน (Fe^{3+})



รูปที่ 6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมเมื่อใช้ตัวทำละลายที่มีค่า pH 3.6, 4.0, 4.4, 4.8, 5.2 และ 5.6

3.4.4 ผลการศึกษาความเข้มข้นสารสกัดใบบัวหลวง

จากการพิจารณาผลการทดลองดังตารางที่ 1 พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดใบบัวหลวงที่แตกต่างกันจะได้ค่าความชันของกราฟเส้นตรง (Slope) และค่าสหสัมพันธ์เชิงเส้น (R^2) ที่แตกต่างกัน โดยเมื่อใช้ความเข้มข้นของกรดแทนนิกในสารสกัดใบบัวหลวงเท่ากับ 5.6 มิลลิกรัมต่อลิตรจะได้ค่าความชันของกราฟเส้นตรงที่ดีที่สุดและให้ค่าสหสัมพันธ์เชิงเส้นที่มากที่สุด ($y=0.034x+0.0341$, $R^2=0.9901$) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ความเข้มข้นของกรดแทนนิกในสารสกัดใบบัวหลวงเท่ากับ 5.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้น

3.4.5 ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลาย Fe^{3+}

จากการทดลองพบว่าสีของสารละลายผสมที่เกิดจากสารสกัดใบบัวหลวงและสารละลาย Fe^{3+} ที่มีความเข้มข้นมากขึ้นจะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากสีเหลืองอ่อนเป็นสีน้ำตาลที่เข้มข้นตามความเข้มข้นของสารละลาย Fe^{3+} ที่เพิ่มมากขึ้นดังรูปที่ 7 และเมื่อนำผล

การวัดค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลาย Fe^{3+} ไปพล็อตกราฟโดยให้แกนในแนวนอนเป็นความเข้มข้นของ Fe^{3+} ส่วนแกนในแนวแกนตั้งเป็นค่าการดูดกลืนแสงจะได้ลักษณะกราฟเส้นตรง ดังรูปที่ 7 มีสมการความเป็นเส้นตรง $y = 0.0326x + 0.289$ ค่าสหสัมพันธ์เชิงเส้นเท่ากับ 0.9956 นอกจากนี้เมื่อพิจารณาลักษณะสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมระหว่างสารสกัดใบบัวหลวงกับ Fe^{2+} และ Fe^{3+} (ดังรูปที่ 8) พบว่าสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารละลายผสม Fe^{3+} มีค่าการดูดกลืนแสงที่มากกว่าและมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสเปกตรัมที่ชัดเจนซึ่งเป็นการบ่งบอกถึงความสามารถในการเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสารสกัดใบบัวหลวงกับ Fe^{3+} ที่ดีกว่า Fe^{2+} นั้นเอง โดยผลการทดลองในส่วนนี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยที่พัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณเหล็กโดยใช้รีเอเจนต์สารสกัดใบฝรั่ง [7]

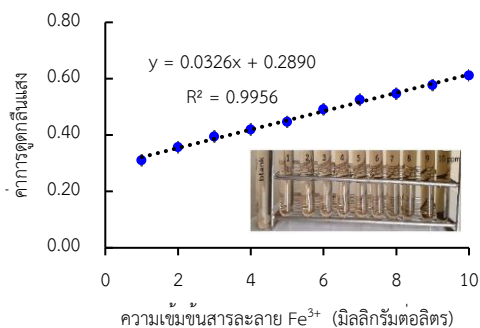
ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของสารสกัดใบบัวหลวง สมการความเป็นเส้นตรง และค่าสหสัมพันธ์เชิงเส้น

ความเข้มข้นของ กรดแทนนิกใน สารสกัดใบบัว หลวง (mg L^{-1})	สมการ ความเป็นเส้นตรง	ค่า สหสัมพันธ์ เชิงเส้น (R^2)
16.80	$y = 0.059x + 0.1408$	0.9594
8.40	$y = 0.0173x - 0.2307$	0.9658
5.60	$y = 0.034x + 0.0341$	0.9901
4.20	$y = 0.035x + 0.0212$	0.9858
3.36	$y = 0.033x + 0.0156$	0.9534
1.68	$y = 0.044x + 0.0022$	0.9841
0.84	$y = 0.045x - 0.0001$	0.9891

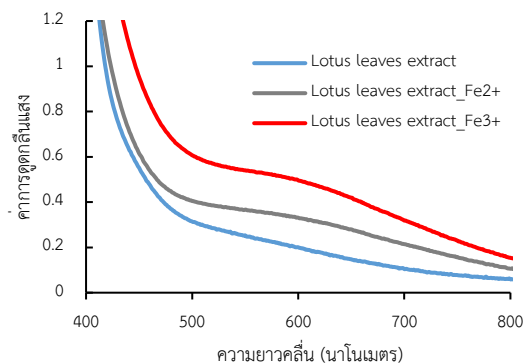
3.4.6 ผลการศึกษาเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา

เมื่อพิจารณาผลการทดลองดังรูปที่ 9 พบว่าเวลาที่ใช้ในเกิดปฏิกิริยาในช่วง 10 นาทีแรก การทำปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดใบบัวหลวงกับสารละลาย Fe^{3+} จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วโดยมีการเพิ่มขึ้นของค่าการ

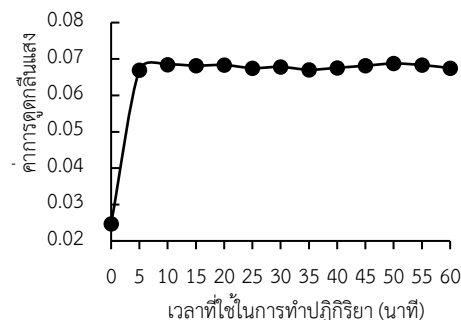
ดูดกลืนแสงอย่างชัดเจน และเมื่อเวลาในการทำปฏิกิริยามากกว่า 10 นาทีจะเห็นว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ตรวจวัดได้มีค่าใกล้เคียงกันและมีแนวโน้มค่อนข้างคงที่ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 10 นาทีเป็นเวลาที่เหมาะสมสำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้น



รูปที่ 7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมและความเข้มข้นสารละลาย Fe^{3+}



รูปที่ 8 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารสกัดใบบัวหลวงและสารละลายผสม (ความเข้มข้นของสารละลาย Fe^{2+} , Fe^{3+} เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร)

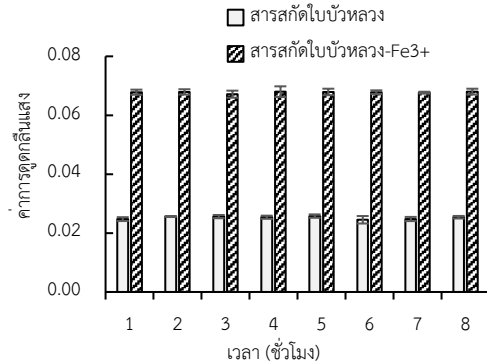


รูปที่ 9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมและเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา

3.4.6 ผลการศึกษาความเสถียรของสารสกัดใบบัว

หลวงและสารละลายผสม

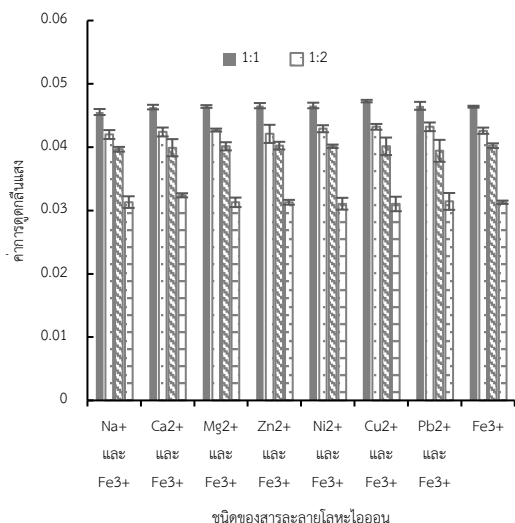
เมื่อพิจารณาผลทดลองดังรูปที่ 10 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดใบบัวหลวงและสารละลายผสมเมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 ชั่วโมงนั้นให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ใกล้เคียงกันซึ่งเป็นการแสดงถึงความเสถียรของสารสกัดใบบัวหลวงและสารละลายผสมที่มีความเสถียรอย่างน้อย 8 ชั่วโมง



รูปที่ 10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดใบบัวหลวงและสารละลายผสม

3.4.7 ผลการศึกษาสารรบกวน (Interference)

จากการพิจารณาผลทดลองดังรูปที่ 11 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายผสมระหว่างสารละลายไอออน Fe³⁺ กับสารละลายไอออนของโลหะชนิดต่างๆ (อัตราส่วน 1:1, 1:2, 1:5 และ 1:10 โดยปริมาตรต่อปริมาตร) มีค่าการดูดกลืนแสงที่ใกล้เคียงกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายผสม Fe³⁺ ที่ไม่มีสารรบกวน ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นว่าสารละลายไอออนบวกของ Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺ และ Pb²⁺ ไม่มีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก (Fe³⁺) ด้วยวิธีที่ได้พัฒนาขึ้น



รูปที่ 11 ผลการศึกษาสารรบกวนที่มีต่อวิธีที่พัฒนาขึ้น (สารละลายไอออนบวกของโลหะชนิดต่างๆ)

3.4.8 ผลการศึกษาความใช้ได้ของวิธี

สำหรับช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีที่พัฒนาขึ้นที่ใช้ในงานวิจัยนี้ มีช่วงความเข้มข้น 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร สมการความเป็นเส้นตรง $y = 0.0326x + 0.2890$ ค่าสหสัมพันธ์เชิงเส้น (R^2) เท่ากับ 0.9956 ค่าความชัน (Slope) เท่ากับ 0.0326 วิธีที่พัฒนาขึ้น มีขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด 0.51 มิลลิกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ 1.53 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับค่าความเที่ยงในการวิเคราะห์ของวิธีที่พัฒนาขึ้นภายในวันเดียวกันและต่างวันกันมีค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 0.14 และ 1.28 ตามลำดับ ร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 87-104

ตารางที่ 2 งานวิจัยที่ใช้สารสกัดจากธรรมชาติสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กด้วยเทคนิคอัลตราไวโอเลตวิลิเบิลสเปกโทรสโกปี

สารสกัดจากธรรมชาติ	ความยาวคลื่น (nm)	Limit of Detection (mg L ⁻¹)	เอกสารอ้างอิง
มะเขือเทศ	520	1.00	[16]
กะหล่ำมวง	540-560	0.11	[17]
กระเจี๊ยบ	464	27.92	[18]

สารสกัด จาก ธรรมชาติ	ความยาว คลื่น (nm)	Limit of Detection (mg L ⁻¹)	เอกสาร อ้างอิง
ใบฝรั่ง	560	0.05	[7]
ใบบัวหลวง	570	0.51	งานวิจัยนี้

3.5 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กในตัวอย่างยาเม็ดเสริมเหล็กด้วยวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นและเทคนิคเฟลมอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างเม็ดยาเสริมธาตุเหล็กที่ได้จากทั้งสองวิธี ดังตารางที่ 3 ด้วยสถิติทดสอบแบบที (Paired t-test) พบว่าผลการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กที่ได้จากทั้งสองวิธี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซนต์ (t stat = 2.96, t critical = 4.3) โดยวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณเหล็กในตัวอย่างเม็ดยาเสริมธาตุเหล็กได้ซึ่งวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นจากงานวิจัยนี้เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก ใช้สารสกัดใบบัวหลวงเป็นรีเอเจนต์ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม อีกทั้งยังใช้เครื่องมือที่มีอยู่ทั่วไปในห้องปฏิบัติการและมีราคาถูก

ตารางที่ 3 ปริมาณเหล็กในตัวอย่างเม็ดยาเสริมเหล็กด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นและเทคนิค Flame-AAS

ยา	ความเข้มข้นของ Fe ³⁺ (ppm)			
	Flame-AAS		วิธีที่พัฒนาขึ้น	
A	5.1266	± 0.0521	5.2098	± 0.0287
B	5.2029	± 0.0769	5.3130	± 0.0682
C	5.5525	± 0.0347	5.6156	± 0.0101

4. สรุป

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กด้วยสารสกัดใบบัวหลวงและเทคนิคอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรสโกปีที่ได้จากงานวิจัยนี้

ได้แก่ การใช้สารสกัดใบบัวหลวงที่มีกรดแทนนิกเข้มข้น 5.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เวลาในการทำปฏิกิริยา 10 นาที โดยสารสกัดใบบัวหลวงและสารละลายผสมมีความเสถียรอย่างน้อย 8 ชั่วโมง วิธีที่ได้พัฒนาขึ้นมีช่วงความเป็นเส้นตรง 1-10 มิลลิกรัมต่อลิตร มีสมการความเป็นเส้นตรงคือ $y = 0.0326x + 0.2890$ ค่าสหสัมพันธ์เชิงเส้นเท่ากับ 0.9956 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด 0.51 มิลลิกรัมต่อลิตร ขีดจำกัดในการตรวจวัดเชิงปริมาณ 1.53 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเที่ยงในการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและต่างวันกันมีค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 0.14 และ 1.28 ตามลำดับ ร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 87-104 วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นสามารถประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างเม็ดยาเสริมเหล็กได้โดยวิธีที่พัฒนาขึ้นจากงานวิจัยนี้เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก ใช้เครื่องมือที่มีอยู่ทั่วไปในห้องปฏิบัติการและมีราคาถูก นอกจากนี้การใช้สารสกัดใบบัวหลวงเป็นรีเอเจนต์ยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับใบบัวหลวงซึ่งเป็นพืชท้องถิ่นของไทยอีกด้วย

5. กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณรายได้ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีงบประมาณ 2565 และได้รับการสนับสนุนด้านห้องปฏิบัติการจากสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

6. เอกสารอ้างอิง

- [1] S. O. Fakayode, A. G. King, M. Yakubu, A. K. Moammed, and D. Pollard, "Determination of Fe content of some food items by Flame Atomic Absorption Spectroscopy (FAAS): A guided-inquiry learning experience in

- instrumental analysis laboratory,” *Journal of Chemical Education*, vol. 89, no.1, pp. 109-113, Nov. 2011.
- [2] N. J. M. Ihli, “Trace element determinations in foods and biological samples using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and flame atomic absorption spectrometry,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 44, no. 9, pp. 2675–2679, Sep. 1996.
- [3] Z. Yao, Y. Yang, X. Chen, X. Hu, L. Zhang, L. Liu, Y. Zhao, and H. C. Wu, “Visual detection of copper (II) ions based on an anionic polythiophene derivative using clicks chemistry,” *Analytical Chemistry*, vol. 85, no. 12, pp. 5650-5653, Jun. 2013.
- [4] B. K. Adebayo, S. Ayejuyo, H. K. Okoro and B. J. Ximba, “Spectrophotometric determination of iron (III) in tap water using 8-hydroxyquinoline as a chromogenic reagent,” *African Journal of Biotechnology*, vol. 10, no. 71, pp. 16051-16057, 2011.
- [5] M. Khairy, M. Ismael, R. E. Khatib, M. Abdelnaeem, and M. Khalaf, “Natural betanin dye extracted from bougainvillea flowers for the naked-eye detection of copper ions in water samples,” *Analytical Methods*, vol. 8, no. 8, pp. 4977-4982, Jun. 2016.
- [6] W. Khodee, R. Wongkitti, and S. Madang, “Naked-eye detection of lead ion in water sample using reagent extracted from white dragon fruit peel,” *KKU Science Journal*, vol. 45, no. 4, pp. 886-895, Oct.-Dec. 2017.
- [7] T. Settheeworrit, S. K. Hartwell, S. Lapanatnoppakhun, J. Jakmunee, G. D. Christian, and K. Grudpan, “Exploiting guava leaf extract as an alternative natural reagent for flow injection determination of iron,” *Talanta*, vol. 68, no. 2, pp. 262-267, Dec. 2005.
- [8] K. Saowongjan and S. Muncharoen, “Development of quantitative analysis technique for Fe(III) using natural anthocyanin extract detected by smartphone,” *Science and Technology Journal*, vol. 28, no. 8, pp. 1372-1388, Aug. 2020.
- [9] S. Killedar, A. Pawar, S. Nadaf, A. Nale, U. Tamboi, and S. Pishawikar, “Novel analytical method development for some amide group containing drugs using Bougainvillea spectabilis bract extracts,” *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, vol. 7, Supplement1, pp. S560-S567, Sep. 2014.
- [10] T. Sukaram, P. Sirsakwisut, and S. Chaneam, “Use of natural pigment from orchid as a reagent for quantitative analysis of ammonia in chemical fertilizers,” *Burapha Science Journal*, vol. 2017 (special), pp. 366-376, Aug. 2017.
- [11] Z. Tong, W. He, X. Fan, and A. Guo, “Biological Function of Plant Tannin and Its Application in Animal Health,” *Frontiers in Veterinary Science*, vol. 8, pp. 1-7, Jan 2022.
- [12] J. Choe, A. Jang, J. H. Choi, and Y. S. Choi, “Antioxidant activities of lotus leaves (*Nelumbo nucifera*) and barley leaves

- (*Hordeum vulgare*) extracts,” *Food Science and Biotechnology*, vol. 19, no. 3, pp. 831–836, Jun. 2010.
- [13] H. Y. Choi, K. Jung, and H. S. Shin, “Antioxidant Activity of the Various Extracts from Different Parts of Lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertner). *Food Science and Biotechnology*,” vol. 18, no. 4, pp. 1051–1054, Aug. 2009.
- [14] A. O. Jesse, “Fourier Transform Infrared Spectroscopy Analysis of *Allium sativum* L. and *Nymphaea lotus* L.,” *Asian Journal of Applied Chemistry research*. vol. 6, no. 2, pp. 7-24, Jul. 2020.
- [15] Z. Fu and R. Chen, “Study of complexes of Tannic acid with Fe(III) and Fe(II),” *Journal of Analytical method in Chemistry*, vol. 2019, no. 1, pp. 1-6, Feb. 2019.
- [16] J. M. Barcelo, J. N. Abril, K. M. P. Castillo, A. Diaz, J. P. Ladera, J. Javar, and E. Labuguen, “Detection of copper (II) and iron (III) in aqueous solutions using the spectroscopic characteristics of bugnaya (*Antidesma bunius*) anthocyanins,” *Annals of Tropical Research*, vol. 36, no. 1, pp. 102-118, 2014.
- [17] W. Khaodee, W. Aeungmaitrepirom, and T. Tuntulani, “Effectively simultaneous naked-eye detection of Cu(II), Pb(II), Al(III) and Fe(III) using cyanidin extracted from red cabbage as chelating agent,” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 126, no. 21, pp. 98-104, May. 2014.
- [18] R. Wattanayon, S. Satapor, B. Yama, S. Samanman, and P. Vangsirigul, “Determination of iron ion using anthocyanin from roselle,” *Princess of Naradhiwas University Journal*, vol. 9, no. 2, pp. 97-103, May.-Aug. 2017.