

การพัฒนาวิธีสำหรับการวิเคราะห์โลหะด้วยสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าและเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโคปี

METHOD DEVELOPMENT FOR METAL ANALYSIS USING BOUGAINVILLEA FLOWER EXTRACTS AND ULTRAVIOLET-VISIBLE SPECTROSCOPY TECHNIQUE

รัฐพล หงส์เกรียงไกร*, จุฑามณี ตราทิพย์, สุภาวิณี ฤทธิศักดิ์, อุษารัตน์ คำทับทิม

Rattapon Hongkrekngai, Jutamane Traatip, Supawinee Rittisak, Usarat Kumtabtim*

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

Division of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rajamangala University of Technology Krungthep.

*Corresponding author, e-mail: rattapon.h@mail.rmutk.ac.th

Received: 27 October 2021; **Revised:** 20 June 2023; **Accepted:** 20 June 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาวิธีสำหรับการวิเคราะห์โลหะด้วยสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าและเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโคปี โดยสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าที่ใช้ในการทดลองเตรียมด้วยวิธีการสกัดด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าด้วยเทคนิคฟลูออเรสเซนซ์ฟอรัมอินฟราเรดสเปกโทรสโคปี พบว่าหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้ามีความสอดคล้องกับสารมาตรฐานบีตานินที่พบได้จากบีทรูท จากการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์โลหะด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น ได้แก่ ตัวทำละลายชนิดที่เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ (พีเอช 7) ความเข้มข้นของบีตานินในสารสกัดเฟื่องฟ้า 2.8 กรัมต่อลิตร เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา 10 นาที ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานนิกเกิลอยู่ในช่วง 2.5-40 มิลลิกรัมต่อลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 536 นาโนเมตร ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 2.92 มิลลิกรัมต่อลิตร สมการความเป็นเส้นตรง คือ $y = -0.0045x + 0.6096$ ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9857 ค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของความสามารถในการทำซ้ำและความสามารถในการทวนซ้ำเท่ากับ 0.65 และ 0.18 ตามลำดับ ค่าร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 91-96 เปอร์เซ็นต์ การวิเคราะห์ปริมาณนิกเกิลในตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความสอดคล้องกับเทคนิค Flame-AAS โดยวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นจากงานวิจัยนี้เป็นวิธีการที่ง่าย สะดวก ราคาถูก และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

คำสำคัญ: ดอกเฟื่องฟ้า; การวิเคราะห์โลหะ; เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม; ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโคปี

Abstract

This research aims to develop a method for metal analysis with Bougainvillea flower or paper flower extracts and Ultra-Visible spectroscopy techniques. The paper flower extracts that used in this study were extracted with buffer solution. The chemical structure of paper flower extracts was determined by Fourier

transform infrared spectroscopy (FT-IR) technique. The result showed that the functional groups of paper flower extracts were similar to betanin standard that produced from beetroot. The optimum condition for metal analysis with developed method included the buffer solution (pH 7) that used as extraction solvent, the concentration of betanin in paper flower extracts of 2.8 grams per liter. The reaction time was 10 minutes. The linearity range of nickel standard solution was 2.5-40 milligrams per Liter. This method was detected at the wavelength of 536 nanometer. The limit of detection was 2.92 milligrams per liter. The linear equation was $y = -0.0045x + 0.6096$. The coefficient of determination (R^2) was 0.9857. The relative standard deviation of reproducibility and repeatability were 0.65 and 0.18 percentage, respectively. The recovery was 91-96 percentage. The result of nickel content in synthetic wastewater from developed method showed correlated with Flam-AAS technique. This developed method is simple, rapid, cheap and environmentally friendly.

Keywords: Bougainvillea Flower; Metal Analysis; Environmentally Friendly; UV-Vis Spectroscopy

บทนำ

ในปัจจุบันการปนเปื้อนของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมได้รับความสนใจมากขึ้นเนื่องจากโลหะหนักสามารถถ่ายทอดสู่สิ่งมีชีวิตตามห่วงโซ่อาหารและมีผลกระทบต่อร่างกายของมนุษย์ ซึ่งโลหะหนักที่เจือปนในน้ำเสียจากแหล่งโรงงานอุตสาหกรรมมีหลายชนิด เช่น โครเมียม (Cr) นิกเกิล (Ni) ตะกั่ว (Pb) แคดเมียม (Cd) ทองแดง (Cu) และเหล็ก (Fe) เป็นต้น โดยทั่วไปวิธีการสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโลหะมีหลายวิธี เช่น การวิเคราะห์ทางไฟฟ้าเคมี (Electrochemical analysis) การใช้เทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี (Atomic Absorption Spectroscopy) และการใช้เทคนิคอินดักทีฟลีคัปเปิลพลาสมาสเปกโทรเมทรี (Inductively Coupled Plasma Spectrometry) เป็นต้น แต่การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเหล่านี้มีข้อจำกัดเกี่ยวกับการเตรียมตัวอย่าง สารเคมีที่ใช้ในขั้นตอนการวิเคราะห์และราคาของเครื่องมือที่มีราคาสูง ดังนั้นจึงได้มีงานวิจัยที่พัฒนาวิธีการวิเคราะห์โลหะด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (UV-Visible spectroscopy) เนื่องจากเทคนิคนี้มีขั้นตอนการวิเคราะห์ไม่ซับซ้อนและเครื่องมือราคาถูก ซึ่งการวิเคราะห์ปริมาณโลหะด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปีนั้นอาศัยหลักการทําปฏิกิริยาระหว่างโลหะและรีเอเจนต์ (Reagent) ได้เป็นผลิตภัณฑ์หรือสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะที่สามารถดูดกลืนแสงได้ที่มีความยาวคลื่นต่าง ๆ สำหรับรีเอเจนต์ที่ใช้ในการทําปฏิกิริยามีหลายชนิด ทั้งที่เป็นรีเอเจนต์จากธรรมชาติ [1] และรีเอเจนต์สังเคราะห์ [2-4] ซึ่งการใช้รีเอเจนต์สังเคราะห์นั้นอาจมีผลกระทบต่อผู้ปฏิบัติงานและเป็นพิษกับสิ่งแวดล้อม ทำให้มีการพัฒนาวิธีสำหรับการวิเคราะห์โลหะด้วยสารสกัดจากธรรมชาติหลายชนิด เช่น เปลือกแก้วมังกร [5] ใบฝรั่ง [6] กะหล่ำปลี [7] ดอกกล้วยไม้ [8] และดอกเฟื่องฟ้า [9] เป็นต้น โดยการใช้สารสกัดจากธรรมชาติเป็นรีเอเจนต์สำหรับการวิเคราะห์โลหะนั้นเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก ราคาถูกและไม่เป็นอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงานทดสอบ นอกจากนี้ยังเป็นเพิ่มมูลค่าให้กับพืชที่หาง่ายในท้องถิ่นและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

สารสกัดจากธรรมชาติในกลุ่มบีตาเลน (Betalains) เป็นกลุ่มของรงควัตถุที่ให้สีแดงและเหลือง ละลายน้ำได้ดี พบในพืชหลายชนิด เช่น บีทรูท แก้วมังกร ผลผักปลังสุก และผลแคดตุส นอกจากนี้ยังพบในดอกไม้หลายชนิด เช่น ดอกเฟื่องฟ้า ดอกหงอนไก่ ดอกบานไม่รู้โรย และดอกแคดตุส [10] โดยสารบีตาเลนสามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแรกเป็นบีตาไซยานิน (Betacyanin) ที่ให้สีแดงถึงม่วงมีคุณสมบัติในการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 535-540 นาโนเมตร สารกลุ่มบีตาไซยานินมี 4 ชนิดคือ บีทานิน (Betanin) บูเจนวิลล์ลีน (Bougainvillein) กอมพรีนิน (Gomphrenin) และอะมารานทีน (Amaranthin) ส่วนกลุ่มที่สองเป็นบีตาแซนทีน (Betaxanthin) ที่ให้สีเหลืองส้มซึ่งสามารถดูดกลืนแสงช่วงความยาวคลื่น 475-480 นาโนเมตร โดยสารในกลุ่มบีตาเลนนี้มีความสามารถในการดูดกลืนแสงได้ดีและสามารถเกิดปฏิกิริยากับไอออนของโลหะบางชนิด เช่น เหล็ก ทองแดง ตะกั่ว สังกะสี และนิกเกิล [10]

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงสนใจศึกษาการพัฒนาวิธีสำหรับการวิเคราะห์โลหะด้วยสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้า (*Bougainvillea glabra*) และและเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี โดยวิธีที่พัฒนาขึ้นเป็นวิธีที่ง่าย ขั้นตอนการวิเคราะห์ไม่ซับซ้อน เครื่องมือมีอยู่ทั่วไปในห้องปฏิบัติการ ราคาถูก นอกจากนี้การใช้สารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าซึ่งเป็นรีเอเจนต์จากธรรมชาติในขั้นตอนการวิเคราะห์ยังมีความปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงานและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์โลหะด้วยสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าและเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี
2. เพื่อศึกษาหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้า
3. เพื่อศึกษาคูณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้น และประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณนิกเกิลในตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้า
 - 1.1 ดอกเฟื่องฟ้าที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นดอกเฟื่องฟ้าสีชมพูอมแดงที่ปลูกบริเวณสถานี BRT เทคนิคกรุงเทพ ถนนนราธิวาสราชนครินทร์ แขวงทุ่งวัดดอน เขตสาทร จังหวัดกรุงเทพมหานคร
 - 1.2 การเตรียมสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าสดในรูปแบบสารละลาย ซึ่งดอกเฟื่องฟ้าประมาณ 50 กรัม ด้วยเครื่องชั่งตวงวัด 4 ตำแหน่งและบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน หลังจากนั้นนำดอกเฟื่องฟ้าใส่ในอุปกรณ์สำหรับปั่น แล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson (pH 7) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงไปในอุปกรณ์สำหรับปั่น แล้วปั่นดอกเฟื่องฟ้าให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นผลไม้ หลังจากนั้นกรองแยกกากดอกเฟื่องฟ้าออกด้วยกระดาษกรอง นำเฉพาะส่วนที่เป็นสารละลายไปวิเคราะห์หาปริมาณนิกเกิลในสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าด้วยเครื่องเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยการเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานนิกเกิล (สารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าสดที่เตรียมได้ในรูปแบบสารละลาย ต้องเก็บไว้ในขวดสีชาและเก็บไว้ในตู้เย็น มีอายุการใช้งานประมาณ 4 วัน)
 - 1.3 การเตรียมสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าสดให้อยู่ในรูปแบบของแข็งด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง (freeze dry รุ่น Supermodulyo-230 ยี่ห้อ Thermo scientific) ซึ่งดอกเฟื่องฟ้าประมาณ 1500 กรัม ด้วยเครื่องชั่งตวงวัด 4 ตำแหน่งและบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน หลังจากนั้นนำดอกเฟื่องฟ้าใส่ในอุปกรณ์สำหรับปั่น แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.5 ลิตร ลงไปในอุปกรณ์สำหรับปั่น แล้วปั่นดอกเฟื่องฟ้าให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นผลไม้ หลังจากนั้นกรองแยกกากดอกเฟื่องฟ้าออกด้วยกระดาษกรอง นำเฉพาะส่วนที่เป็นสารละลายไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง หลังจากนั้นนำสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีด้วยเครื่องฟลูอริเยอร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (FT-IR spectrometer, รุ่น model Nicolet 6700 ยี่ห้อ Thermo scientific) โดยใช้สภาวะการทดลองเป็น Absorption mode ทำการสแกนในช่วงเลขคลื่น $400-4000\text{ cm}^{-1}$ ที่อุณหภูมิห้อง ความละเอียด (Resolution) เท่ากับ 4
2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์โลหะด้วยสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าและเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโกปี
 - 2.1 การศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้นในการทดลองส่วนนี้ได้ใช้สารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าสดที่อยู่ในรูปแบบของสารละลาย (เตรียมจากข้อ 1.2) มาทำการเจือจางด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ น้ำ เมทานอล และสารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson (pH 7) ให้มีความเข้มข้นของนิกเกิลในสารละลายเท่ากับ 1.5 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นทำการสแกนสเปกตรัมที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 400 ถึง 700 นาโนเมตรด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2.2 การศึกษาผลของค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ต่อสารสกัดดอกเฟื่องฟ้า

ในการทดลองส่วนนี้ได้ใช้สารสกัดดอกเฟื่องฟ้าสดที่อยู่ในรูปแบบของสารละลาย (เตรียมจากข้อ 1.2) มาทำการเจือจางด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 3 7 และ 9 ตามลำดับ โดยสารละลายที่เตรียมได้มีความเข้มข้นของบิตานินเท่ากับ 2.8 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นทำการสแกนสเปกตรัมที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 400 ถึง 700 นาโนเมตรด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2.3 การศึกษาชนิดของโลหะที่เหมาะสมสำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้น

ในการทดลองส่วนนี้ได้เตรียมสารละลายไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ โดยทำการละลายสารประกอบของโลหะแต่ละชนิด (NiSO_4 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ CuSO_4 ZnSO_4 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ FeCl_3) ในตัวทำละลายที่เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson (pH 7) ซึ่งความเข้มข้นของสารละลายไอออนของโลหะที่ใช้ในการทดลองเท่ากับ 10 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นเปิดสารละลายไอออนของโลหะแต่ละชนิด (Ni^{2+} Cr^{3+} Cu^{2+} Zn^{2+} Pb^{2+} Cd^{2+} และ Fe^{3+}) ปริมาตร 5 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด (แต่ละชุดการทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง, $n=3$) แล้วเปิดสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าสดที่เจือจางในสารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson (pH 7) ซึ่งมีความเข้มข้นของบิตานินเท่ากับ 2.8 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด เขย่าหลอดทดลองให้สารผสมกัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2.4 การศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าที่เหมาะสมสำหรับวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น

เปิดสารละลาย Ni^{2+} ความเข้มข้น 2.5 5 10 15 20 25 30 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแล้วเปิดสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าที่มีความเข้มข้นของบิตานินเท่ากับ 1.1 1.4 1.8 2.8 และ 5.6 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองตามลำดับ (แต่ละชุดการทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง) เขย่าหลอดทดลองให้สารผสมกัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด นำสารละลายที่เตรียมได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2.4 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายไอออนโลหะที่เหมาะสมสำหรับวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น

เปิดสารละลาย Ni^{2+} ที่มีความเข้มข้น 2.5 5 10 15 20 25 30 40 50 60 70 80 90 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด (แต่ละชุดการทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง) แล้วเปิดสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าที่มีความเข้มข้นของบิตานิน 2.8 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด เขย่าหลอดทดลองให้สารผสมกัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำสารละลายที่เตรียมได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2.5 การศึกษาเวลาที่เหมาะสมสำหรับวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น

เปิดสารละลาย Ni^{2+} ที่มีความเข้มข้น 5 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอดทดลอง ($n=3$) แล้วเปิดสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าที่มีความเข้มข้นของบิตานิน 2.8 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด เขย่าหลอดทดลองให้สารผสมกัน ตั้งทิ้งไว้ตามเวลาที่กำหนด (5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 และ 60 นาที ตามลำดับ) หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2.6 การศึกษาผลของสารรบกวน (Interference) ที่มีต่อวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น

สารละลายไอออนของโลหะที่ทำการศึกษาผลของสารรบกวน ได้แก่ Na^+ Co^{2+} Ca^{2+} Mg^{2+} Zn^{2+} Cr^{3+} Cu^{2+} Pb^{2+} และ Fe^{3+} (เตรียมจากสารประกอบของโลหะที่ละลายด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson pH 7 ได้แก่ NaCl CoCl_2 CaCl_2 MgCl_2 ZnSO_4 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ CuSO_4 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ และ FeCl_3) โดยในการทดลองได้ทำการผสมสารละลาย Ni^{2+} ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมกับสารละลายไอออนโลหะชนิดต่าง ๆ (ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร) ในอัตราส่วนโดยปริมาตร 1:1 1:2 และ 1:5 ตามลำดับ หลังจากนั้นนำสารละลายผสมที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์ด้วยวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น

3. การศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้น

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้นได้แก่ ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity range) ความสามารถในการทวนซ้ำ (Repeatability) ความสามารถในการทำซ้ำ (Intermediate precision) ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) ร้อยละการกลับคืน (%Recovery) และทำการวิเคราะห์ปริมาณ Ni^{2+} ในน้ำเสียสังเคราะห์ (Synthetic wastewater) ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นและเทคนิคเฟลมอะตอมมิคแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี (Flame-AAS, รุ่น PinAAcle 900T ยี่ห้อ PerkinElmer)

3.1 การศึกษาความสามารถในการทวนซ้ำ สำหรับการทดลองส่วนนี้ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณ Ni^{2+} ในตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ ซ้ำ 10 ครั้ง (ความเข้มข้น Ni^{2+} 20 มิลลิกรัมต่อลิตร สารสกัดดอกเฟื่องฟ้าสดที่มีความเข้มข้นบีตานิน 2.8 กรัมต่อลิตร) คำนวณค่าเฉลี่ย (Average) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) และร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Percentage of Relative Standard Deviation, %RSD)

3.2 การศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ ในการทดลองส่วนนี้ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณ Ni^{2+} ในตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ ซ้ำ 10 ครั้ง 10 วัน แล้วคำนวณค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

3.3 การศึกษาขีดจำกัดของการตรวจวัดของวิธีที่พัฒนาขึ้น ในการทดลองส่วนนี้ได้ทำการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแบลงค์ (Blank solution) ที่ความยาวคลื่น 536 นาโนเมตร จำนวน 10 ครั้ง แล้วนำผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน หลังจากนั้นคำนวณค่า LOD จากสมการ $\text{LOD} = \text{ค่าเฉลี่ย} + 3\text{SD}$

3.4 การศึกษาร้อยละการกลับคืน (%Recovery) ในการทดลองส่วนนี้ได้เตรียมสารตัวอย่าง (Unspike sample) และสารตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน Ni^{2+} (Spike sample) โดยความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมเท่ากับ 10 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร (แต่ละความเข้มข้นทำซ้ำ 10 ครั้ง) หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณนิกเกิลด้วยวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น แล้วคำนวณหาร้อยละการกลับคืน ดังสมการ

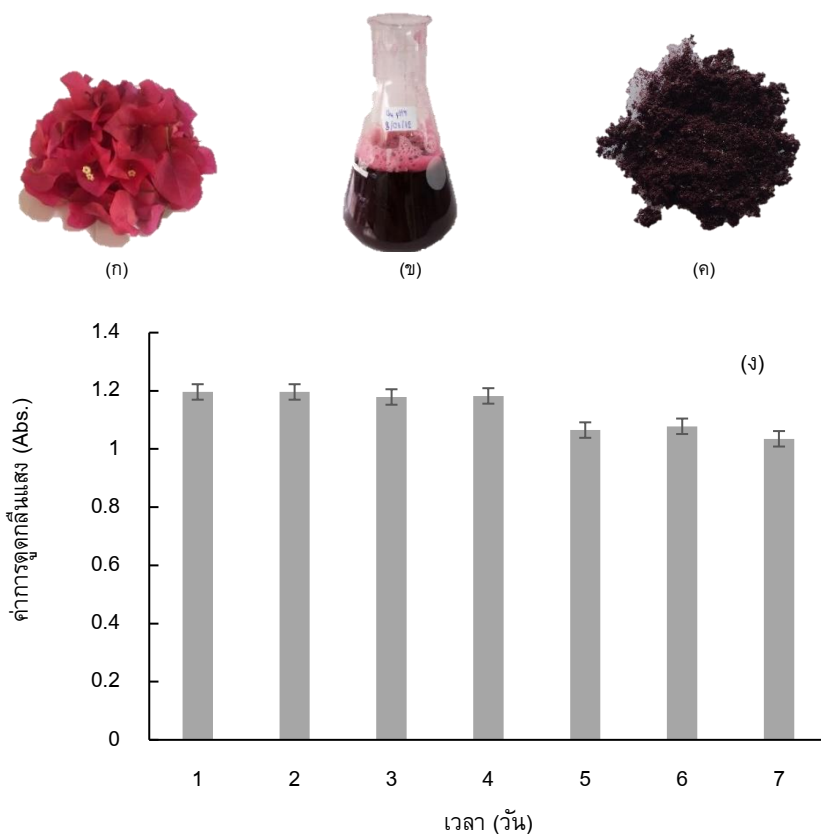
$$\text{ร้อยละการกลับคืน} = \frac{[\text{ความเข้มข้นสารที่วิเคราะห์ได้ทั้งหมด}] - [\text{ความเข้มข้นสารในตัวอย่าง}]}{[\text{ความเข้มข้นสารมาตรฐานที่เติมลงไป}]} \times 100$$

ผลการวิจัย

1. ผลของการสกัดดอกเฟื่องฟ้า

เมื่อนำดอกเฟื่องฟ้าสดมาสกัดด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson จะได้สารสกัดดอกเฟื่องฟ้าในรูปแบบสารละลายที่มีลักษณะเป็นของเหลวสีชมพูอมแดงดังภาพที่ 1 เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณบีตานินในสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าสดด้วยเครื่องวี-วิสเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์โดยการเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐานบีตานิน พบว่ามีปริมาณสารบีตานินในสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าสดเท่ากับ 5.6 กรัมต่อลิตร โดยสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าสดที่เตรียมได้จะเก็บไว้ในขวดทึบแสงและนำไปแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าในรูปแบบที่เป็นของแข็งซึ่งเตรียมโดยแบบแช่เยือกแข็ง พบว่ามีลักษณะเป็นผงละเอียด สีชมพูอมแดงเข้ม คิดเป็นร้อยละผลผลิต (% yield) เท่ากับ 3.25 เปอร์เซ็นต์

เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าในรูปแบบสารละลายที่เตรียมใหม่ ๆ กับการเตรียมแล้วแช่ไว้ในตู้เย็นพบว่า เมื่อสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าแช่ไว้ในตู้เย็นแล้วประมาณ 4 วัน ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าที่ตรวจวัดได้มีค่าลดลง และสารสกัดดอกเฟื่องฟ้ามีตะกอน สีจางลง ดังนั้นในการทดลองจึงทำการเตรียมสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าสดด้วยวิธีการเตรียมใหม่ทุกครั้ง (สารสกัดดอกเฟื่องฟ้าในรูปแบบสารละลายมีอายุการใช้งานประมาณ 4 วัน)



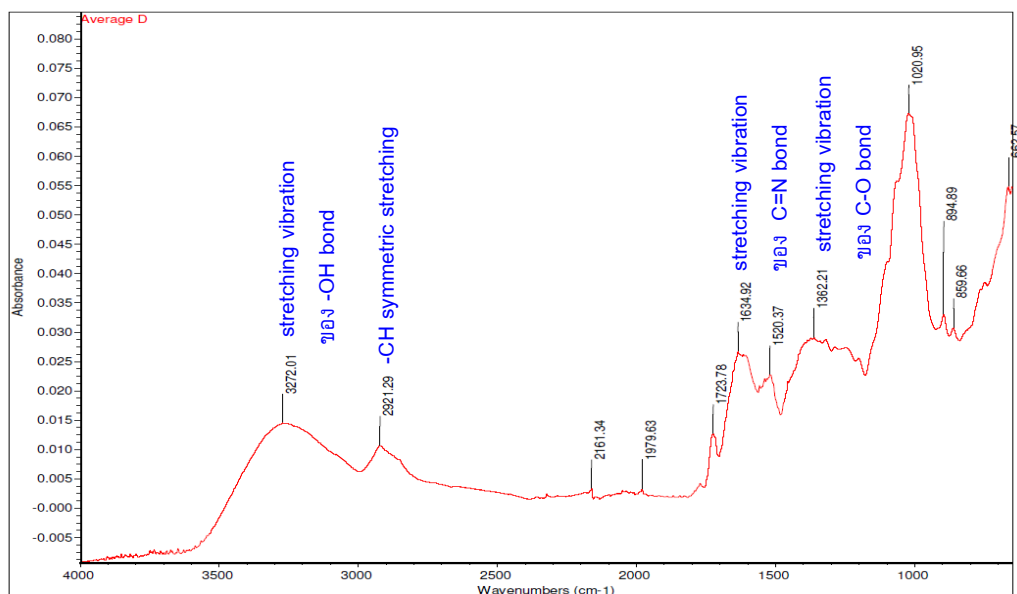
ภาพที่ 1 ดอกเฟื่องฟ้า (ก) สารสกัดดอกเฟื่องฟ้าสดแบบสารละลาย (ข) สารสกัดดอกเฟื่องฟ้าแบบแช่เยือกแข็ง (ค) ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าสดที่เก็บไว้ในตู้เย็นที่เวลาต่าง ๆ (ง)

2. ผลการศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ฟอรัมอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์

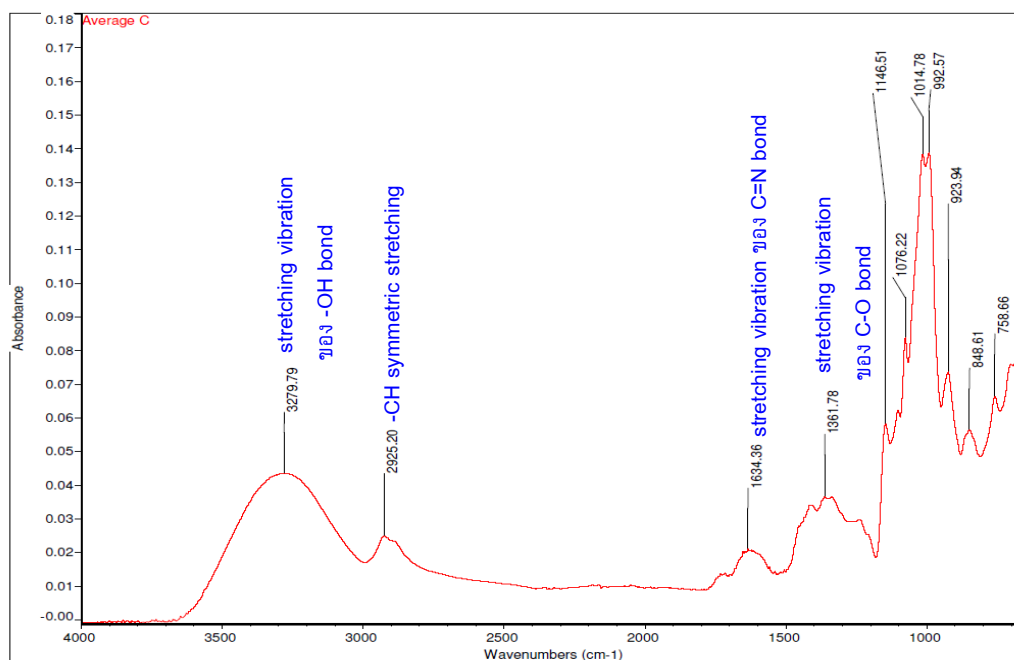
เมื่อวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันทางเคมีของสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าและสารมาตรฐานบีทานินจากบีทรูทด้วยเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ฟอรัมอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ จากผลการทดลองพบว่าลักษณะของ IR spectrum ที่ได้จากสารสกัดดอกเฟื่องฟ้ามีความสอดคล้องกับสารมาตรฐานบีทานินจากบีทรูท (ดังภาพที่ 2)

3. ผลการศึกษานิตของตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้น

เมื่อนำสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าในตัวทำละลายน้ำ เมทานอล และสารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson (pH 7) ไปสแกนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 400 ถึง 700 นาโนเมตรด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ จากผลการทดลองพบว่าลักษณะของเส้นสเปกตรัมและค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าในตัวทำละลายแต่ละชนิดมีค่าแตกต่างกัน ดังภาพที่ 3 (ก) โดยเมื่อทำการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ตรวจวัดที่ 536 นาโนเมตร พบว่าค่าสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าที่ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson (pH 7) ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุด



(ก)

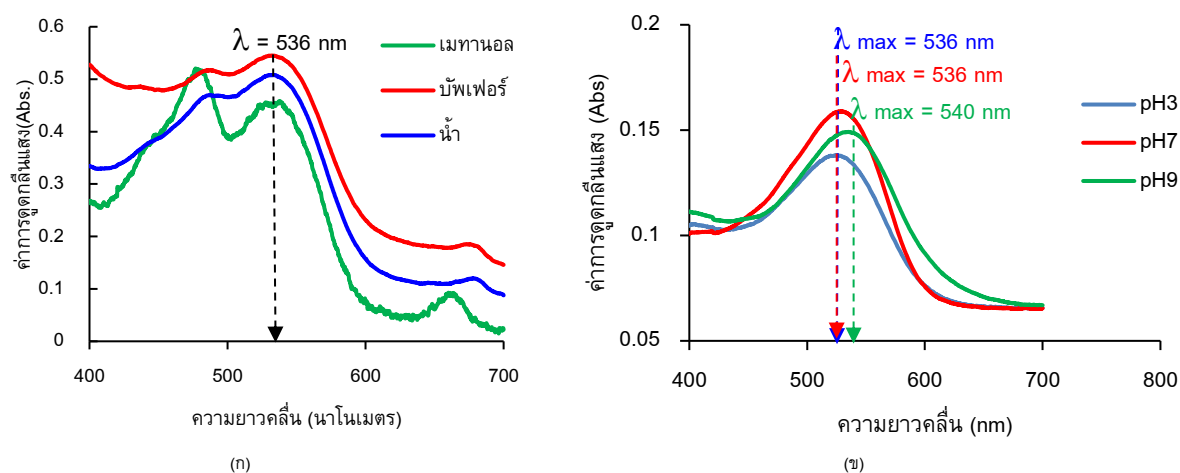


(ข)

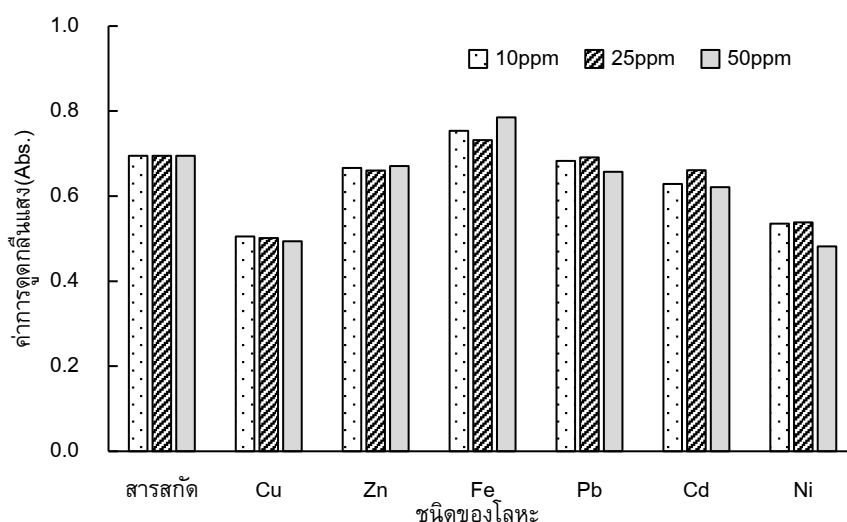
ภาพที่ 2 IR spectrum ของสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้า (ก) และสารมาตรฐานบีตานิน (ข)

4. ผลการศึกษาค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ต่อสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้า

เมื่อนำสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าในตัวทำละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson ที่มีค่า pH 3, 7 และ 9 ไปสแกนสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 400-800 นาโนเมตร พบว่าค่าความยาวคลื่นสูงสุดของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้า เท่ากับ 536 536 และ 540 นาโนเมตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 3 (ก) และมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.1378 0.1686 และ 0.1491 Abs. ตามลำดับ ดังภาพที่ 3 (ข)



ภาพที่ 3 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าในตัวทำละลายแต่ละชนิด (ก) สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าในสารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson ที่มีค่าพีเอช 3 7 และ 9 (ข)



ภาพที่ 4 ชนิดของโลหะที่มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้า

5. ผลการศึกษาชนิดของโลหะที่เหมาะสมสำหรับวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้น

การทดลองส่วนนี้เป็นศึกษาชนิดของโลหะที่เหมาะสมสำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้น โดยใช้สารละลายของโลหะ 6 ชนิด คือ Cu^{2+} Zn^{2+} Fe^{2+} Pb^{2+} Cd^{2+} และ Ni^{2+} จากผลการทดลองพบว่าสารละลายของโลหะแต่ละชนิดมีผลทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้ามีค่าลดลงแตกต่างกัน (ดังภาพที่ 4)

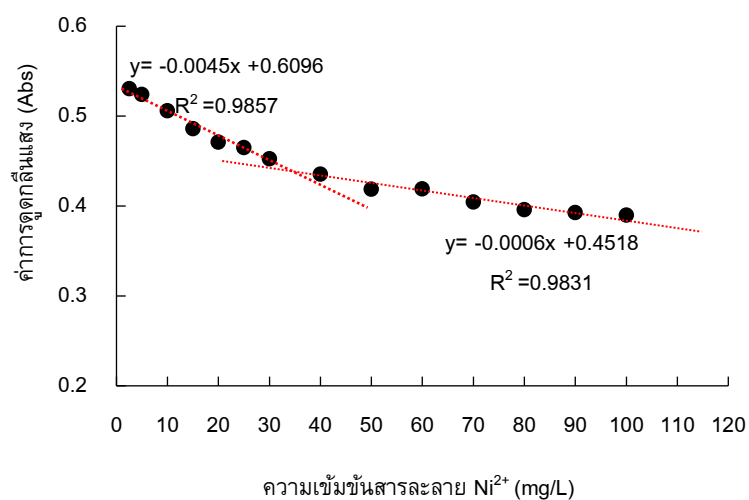
6. ผลการศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าที่เหมาะสมสำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้น

เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าแตกต่างกัน ความชันของกราฟเส้นตรง (slope) และค่าสหสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (R^2) ที่ได้จะมีค่าแตกต่างกัน (ดังตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 สารสกัดดอกเฟื่องฟ้าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ สมการความเป็นเส้นตรง ค่าความชัน และค่าสหสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (R^2)

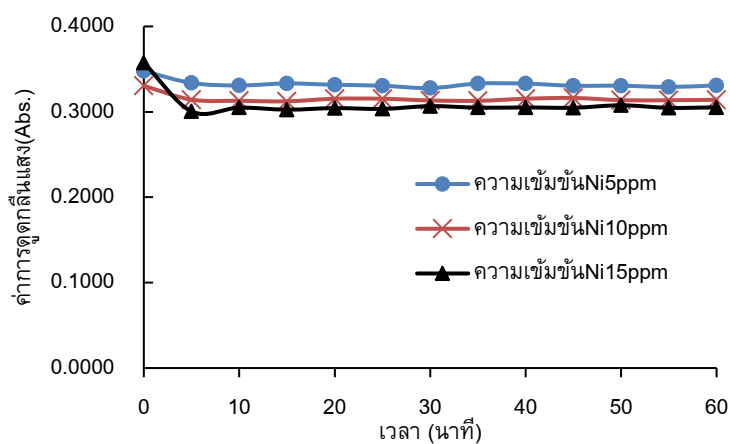
ความเข้มข้นของ สารสกัดดอกเฟื่องฟ้า (กรัมต่อลิตร)	สมการความเป็นเส้นตรง ($y = mx+c$)	ค่าความชัน (Slope)	ค่าสหสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (R^2)
5.6	$y = -0.0058x + 1.0649$	-0.0058	$R^2 = 0.8874$
2.8	$y = -0.0041x + 0.6062$	-0.0041	$R^2 = 0.9696$
1.8	$y = -0.0026x + 0.4241$	-0.0026	$R^2 = 0.9428$
1.4	$y = -0.0014x + 0.3659$	-0.0014	$R^2 = 0.9377$
1.1	$y = -0.0013x + 0.3109$	-0.0013x	$R^2 = 0.9441$

7. ผลการศึกษาความเข้มข้นสารละลาย Ni^{2+} ที่เหมาะสมสำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้น



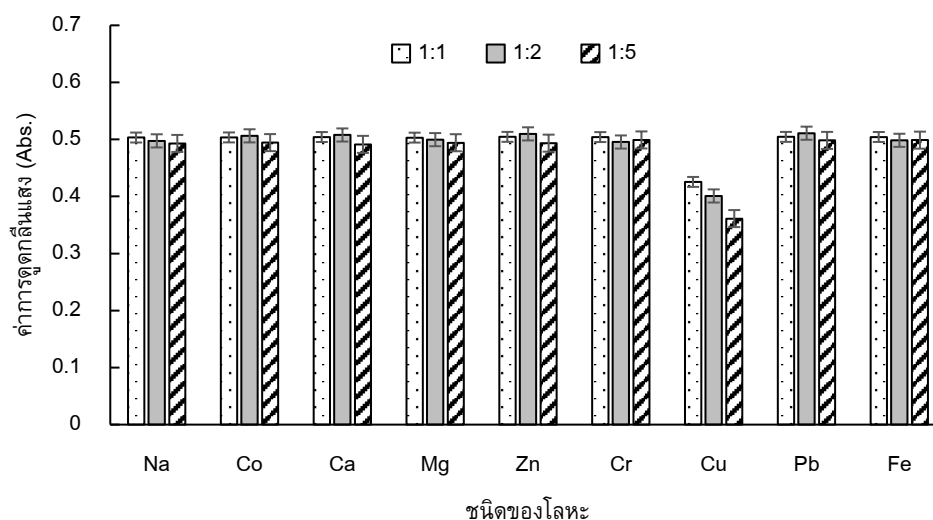
ภาพที่ 5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดเฟื่องฟ้าและความเข้มข้นสารละลาย Ni^{2+}

8. ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมสำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้น



ภาพที่ 6 ผลของเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดดอกเฟื่องฟ้ากับสารละลาย Ni^{2+}

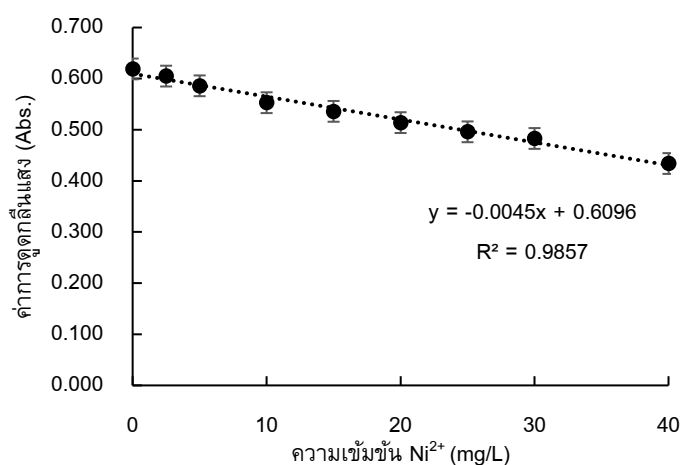
9. ผลการศึกษาสารรบกวนที่มีผลต่อวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น



ภาพที่ 7 ผลการศึกษาสารรบกวนที่มีผลต่อวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น

10. ผลการศึกษาความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาขึ้น

จากผลการทดลองพบว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นมีช่วงความเป็นเส้นตรงสองช่วงได้แก่ ช่วงที่ 1 ช่วงความเข้มข้น 2.5 - 40 มิลลิกรัมต่อลิตร สมการความเป็นเส้นตรง คือ $y = -0.0045x + 0.6096$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9857 ช่วงความเป็นเส้นตรงและสมการความเป็นเส้นตรง ดังภาพที่ 8 และช่วงความเป็นเส้นตรงช่วงที่ 2 ได้แก่ ช่วงความเข้มข้น 50-100 มิลลิกรัมต่อลิตร สมการความเป็นเส้นตรง คือ $y = -0.0006x + 0.4518$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9831 ดังภาพที่ 5 แต่เนื่องจากเมื่อพิจารณาความชันของกราฟ (Slope) พบว่าค่าความชันของช่วงความเข้มข้น 2.5 - 40 มิลลิกรัมต่อลิตรมีค่ามากกว่า ซึ่งแสดงถึงสภาพไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ที่มากกว่า ดังนั้นด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นจึงมีความเหมาะสมที่จะใช้งานในช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 2.5 - 40 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 8 ช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีที่พัฒนาขึ้น

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาร้อยละการกลับคืนของวิธีที่พัฒนาขึ้น

ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นของ สารมาตรฐาน Ni ²⁺ ที่เติม (mg/L)	ความเข้มข้นของ Ni ²⁺ ที่วิเคราะห์ได้ (mg/L)	ร้อยละการกลับคืน (%Recovery)	%RSD
1	10	9.36 ± 0.31	96.3 ± 3.1	3.18
2	20	18.76 ± 0.54	93.8 ± 2.7	2.89
3	40	35.55 ± 0.54	91.4 ± 1.7	1.82

10. ผลการวิเคราะห์ปริมาณ Ni²⁺ ในสารตัวอย่างด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นและเทคนิคเฟลมอะตอมมิกแอปซอร์พชันสเปกโทรสโคปี (Flame-AAS) ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ความเข้มข้นของ Ni²⁺ ในตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นและเทคนิคเฟลมอะตอมมิกแอปซอร์พชันสเปกโทรสโคปี (Flame-AAS)

ตัวอย่างที่	ความเข้มข้นของ Ni ²⁺ ในตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ (mg/L)	
	วิธีที่พัฒนาขึ้น	Flame-AAS
1	9.83 ± 0.09	9.95 ± 0.02
2	19.93 ± 0.06	20.09 ± 0.05
3	39.94 ± 0.17	40.17 ± 0.10

สรุปและอภิปรายผล

สารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าที่เตรียมจากวิธีการสกัดด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ที่ในงานวิจัยนี้เป็นสารละลายสีชมพูอมแดงซึ่งมีปริมาณบิตานินในสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าเท่ากับ 5.6 กรัมต่อลิตร ส่วนสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าที่เตรียมแบบแช่เยือกแข็ง มีลักษณะเป็นผงละเอียด สีชมพูอมแดง มีร้อยละของผลผลิตเท่ากับ 3.25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันทางเคมีของสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าด้วยเครื่องฟลูอริเยร์ทรานส์ฟอร์มีนฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ พบว่าลักษณะของ IR spectrum ที่ได้มีความสอดคล้องกับสารมาตรฐานบิตานินจากบีทรูท โดยเส้นสเปกตรัมมีแถบดูดกลืนแสง (absorption bands) ที่เป็นลักษณะเฉพาะของหมู่ฟังก์ชันหลายประเภท เช่น แถบสเปกตรัมที่เลขคลื่น 3272 cm⁻¹ เป็น stretching vibration ของ -OH bond ในหมู่ฟังก์ชันของฟีนอล(phenol) พีกที่เลขคลื่น 2921 cm⁻¹ เป็นของ -CH symmetric stretching ส่วนพีกที่เลขคลื่น 2161 cm⁻¹ เป็น C=C bond ที่เลขคลื่น 1634 cm⁻¹ เป็น stretching vibration ของ C=N bond พีกที่เลขคลื่น 1361cm⁻¹ เป็น stretching vibration ของ C-H bond และพีกที่เลขคลื่น 1362 cm⁻¹ เป็น stretching vibration ของ C-O bond ในหมู่ฟังก์ชันคาร์บอกซิลิก โดยผลการวิเคราะห์ที่ได้จากงานวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Shi Kumar et al., 2017 ที่ศึกษาวิธีการสกัดและศึกษาคุณลักษณะของสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าด้วยเทคนิค FT-IR [11]

เมื่อนำสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าในตัวทำละลายน้ำ เมทานอล และสารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson (pH 7) ไปสแกนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 400 ถึง 700 นาโนเมตร จากผลการทดลองพบว่าลักษณะของเส้นสเปกตรัมของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าในตัวทำละลายน้ำ เมทานอล และสารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson มีลักษณะของเส้นสเปกตรัมที่คล้ายคลึงกัน แต่ค่าการดูดกลืนแสงที่ตรวจวัดได้ที่มีความยาวคลื่น 536 nm มีค่าเท่ากับ 0.5076, 0.4632 และ 0.5985 Abs. ตามลำดับ ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าในสารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson มีค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุด โดยมีรายงานวิจัยถึงปัจจัยที่มีต่อสีและความเสถียรของสารในกลุ่มบีต้าไซยานินและบีตาอินว่าประกอบด้วยความเป็นกรดต่าง (ค่า pH) และความร้อน [5] ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้สารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้น

เมื่อนำสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าในสารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson ที่มีค่า pH เท่ากับ 3 7 และ 9 ไปสแกนสเปกตรัมด้วยเครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ จากการทดลองพบว่า ค่าความยาวคลื่นสูงสุด (λ_{max}) ของสารสกัดจากดอกเฟื่องฟ้าเท่ากับ 536 536 และ 540 นาโนเมตร ตามลำดับ และมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.1378 0.1686 และ 0.1491 Abs. ตามลำดับ (ภาพที่ 3) โดยค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้ามีค่าสูงสุดเมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอช 7 เมื่อพิจารณาผลการทดลองพบว่าค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์มีผลต่อค่าความยาวคลื่นสูงสุดและค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้า ซึ่งผลการทดลองที่ได้จากงานวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Mohamed Khairy et al., 2016 [1] ที่รายงานผลการวิจัยว่าสารสกัดบีตาอินจากดอกเฟื่องฟ้าจะมีความเสถียรภายใต้สภาวะที่ตัวทำละลายเป็นสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่า pH 7 โดยสารบีตาอินที่มีอยู่ในสารสกัดดอกเฟื่องฟ้า มีค่า pK_a เท่ากับ 9.69 และมีช่วงของการเปลี่ยนสีอยู่ที่ช่วงพีเอช 8-10 ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 7 เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมและตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 536 นาโนเมตร

เมื่อศึกษาชนิดของโลหะที่เหมาะสมสำหรับวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นโดยใช้สารละลายไอออนโลหะ 6 ชนิด คือ Cu^{2+} Zn^{2+} Fe^{2+} Pb^{2+} Cd^{2+} และ Ni^{2+} จากการทดลองพบว่า สารละลายไอออนโลหะแต่ละชนิดมีผลทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้ามีค่าแตกต่าง ซึ่งผลการทดลองที่ได้จากงานวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับรายงานการวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับผลของไอออนโลหะที่มีต่อสารบีตาอินในตัวทำละลายน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ [12] โดยเมื่อพิจารณาผลการทดลองดังภาพที่ 4 พบว่าสารละลายไอออน Cu^{2+} และ Ni^{2+} มีผลทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าลดลงอย่างเห็นได้ชัด แต่เนื่องจากได้มีรายงานการวิจัยเรื่องการวิเคราะห์ปริมาณทองแดงด้วยสารสกัดบีตาอินแล้ว [1] ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจการพัฒนาวิธีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณนิกเกิลในตัวอย่างน้ำด้วยสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าสด ซึ่งเป็นวิธีการที่ง่าย ขั้นตอนไม่ซับซ้อน เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้สามารถหาได้ทั่วไปในห้องปฏิบัติการสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเรียนการสอนได้ นอกจากนี้การใช้สารสกัดจากธรรมชาติเป็นการช่วยลดปริมาณการใช้สารรีเอเจนต์สังเคราะห์ โดยโลหะนิกเกิลจะมีการใช้งานเป็นอย่างมากในอุตสาหกรรมชุบเคลือบผิวโลหะ ซึ่งน้ำที่ผ่านการใช้งานแล้วจะมีการเจือปนของนิกเกิลในปริมาณสูง ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจในการพัฒนาวิธีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณนิกเกิลในน้ำทิ้งที่มีการปนเปื้อนนิกเกิล

จากผลการศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าที่เหมาะสมสำหรับวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น เมื่อนำผลการทดลองที่ได้มาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายไอออนโลหะ พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าแตกต่างกัน จะมีผลทำให้ความชันของกราฟเส้นตรง (Slope)

และค่าสหสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (R^2) มีค่าแตกต่างกัน (ตารางที่ 1) โดยผลการทดลองที่ได้จากงานวิจัยนี้พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าเท่ากับ 2.8 กรัมต่อลิตรจะได้ค่าสหสัมพันธ์เชิงเส้นตรงมากที่สุดและค่าความชันของกราฟมีค่าใกล้เคียงกับเมื่อใช้ความเข้มข้นสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าเท่ากับ 5.6 กรัมต่อลิตร ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงใช้ความเข้มข้นของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าเท่ากับ 2.8 กรัมต่อลิตรเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้น

จากผลการศึกษาความเข้มข้นสารละลาย Ni^{2+} ที่เหมาะสมสำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้น พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงที่ได้มี 2 ช่วง (ภาพที่ 5) โดยช่วงแรกเป็นความเข้มข้น 2.5 - 40 มิลลิกรัมต่อลิตร สมการเส้นตรง $y = -0.0045x + 0.6096$ $R^2 = 0.9857$ และช่วงที่สองเป็นความเข้มข้น 50-100 มิลลิกรัมต่อลิตร สมการเส้นตรง $y = -0.0006x + 0.4518$ $R^2 = 0.9831$ ซึ่งเมื่อพิจารณาความเป็นเส้นตรงที่ได้จากทั้งสองช่วง พบว่าในช่วงความเข้มข้น 2.5 - 40 มิลลิกรัมต่อลิตรจะมีความเป็นเส้นตรงที่ให้ความชันมากกว่าช่วงความเข้มข้น 50 - 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกความเข้มข้นของสารละลาย Ni^{2+} ที่มีช่วงความเข้มข้น 2.5 - 40 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้นของสารละลาย Ni^{2+} ที่เหมาะสมสำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้น เนื่องจากมีความชันของกราฟเส้นตรงที่มากกว่า โดยความชันของกราฟเส้นตรงจะบ่งบอกถึงความไวในการวิเคราะห์ (Sensitivity)

จากการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าและสารละลาย Ni^{2+} จากการทดลองพบว่าในระยะเวลา 10 นาทีแรก การทำปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดดอกเฟื่องฟ้ากับสารละลาย Ni^{2+} จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว และเมื่อเวลามากกว่า 10 นาทีการทำปฏิกิริยาระหว่างสารสกัดดอกเฟื่องฟ้ากับสารละลาย Ni^{2+} จะค่อนข้างคงที่ (ภาพที่ 6) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 10 นาทีเป็นเวลาที่เหมาะสมสำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้น

สำหรับการศึกษาผลของสารรบกวน (Interference) ที่มีต่อวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้น จากการทดลองพบว่าการตรวจวัดไอออนนิกเกิลไม่มีผลรบกวนจากไอออนบวก (cation) ได้แก่ Na^+ Co^{2+} Ca^{2+} Mg^{2+} Zn^{2+} Cr^{3+} Pb^{2+} และ Fe^{3+} แต่มีผลรบกวนเพียงเฉพาะไอออนทองแดง ดังผลการทดลองในภาพที่ 7 ซึ่งวิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้นสามารถประยุกต์ใช้ได้ในการเรียนการสอน หรือใช้สำหรับงานวิเคราะห์ตัวอย่างที่ไม่มีการปนเปื้อนของไอออนทองแดง โดยหากในตัวอย่างมีการปนเปื้อนของไอออนทองแดง ควรทำการแยกไอออนของทองแดงออกไปก่อนด้วยการแยกทางเคมีไฟฟ้า (electrochemical separation) หรือใช้การตกตะกอนทางเคมีในรูปโลหะไฮดรอกไซด์ร่วมกับค่าคงที่ผลคูณการละลาย (K_{sp}) หรือใช้วิธีการป้องกันไม่ให้ไอออนของทองแดงไปทำปฏิกิริยากับสารสกัดดอกเฟื่องฟ้าด้วยการใช้ masking agent เช่น potassium fluoride (KF) หรือ dimethylglyoxime (DMG) ร่วมกับการควบคุมค่าพีเอชของสารละลาย เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการรบกวนจากไอออนทองแดง

ในส่วนของการศึกษาคุณลักษณะของวิธีที่พัฒนาขึ้น จากผลการทดลองพบว่ามีช่วงความเป็นเส้นตรง 2.5-40 มิลลิกรัมต่อลิตร สมการความเป็นเส้นตรงคือ $y = -0.0045x + 0.6096$ (ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 536 นาโนเมตร) ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9857 ขีดจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ 2.92 มิลลิกรัมต่อลิตร ความสามารถในการทำซ้ำมีค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 0.6551 ความสามารถในการทวนซ้ำมีค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 0.1775 ค่าร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 91-96 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณ Ni^{2+} ในตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ด้วยวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นและเทคนิคเฟลมอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโทรสโกปี แล้วทำการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ของทั้งสองวิธีด้วยการทดสอบแบบที (t-test) พบว่าผลการวิเคราะห์ที่ได้จากทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (t-stat = 2.49 และ t-critical = 4.30)

จากผลการทดลองที่ได้จากงานวิจัยนี้ สารสกัดดอกเฟื่องฟ้าที่ใช้สำหรับวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถเตรียมด้วยวิธีการสกัดด้วยน้ำและสารละลายบัฟเฟอร์ โดยหมู่ฟังก์ชันทางเคมีของสารสกัดดอกเฟื่องฟ้ามีความสอดคล้องกับสารมาตรฐานบีตานินจากบีทรูท สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์โลหะด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นได้แก่ ตัวทำละลายชนิดที่เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ Britton-Robinson (พีเอช 7) ความเข้มข้นของบีตานินในสารสกัดเฟื่องฟ้า 2.8 กรัมต่อลิตร เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา 10 นาที ช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานนิกเกิลอยู่ในช่วง 2.5-40 มิลลิกรัมต่อลิตร ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 536 นาโนเมตร ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเท่ากับ 2.92 มิลลิกรัมต่อลิตร ($LOD = \text{ค่าเฉลี่ย} + 3SD$) สมการความเป็นเส้นตรงคือ $y = -0.0045x + 0.6096$ ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9857 ค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของความสามารถในการทำซ้ำและความสามารถในการทวนซ้ำมีเท่ากับ 0.65 และ 0.18 ตามลำดับ ค่าร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 91-96 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณนิกเกิลในตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ด้วยวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นและเทคนิคเฟลมอะตอมมิกแอปซอร์พชันสเปกโทรสโคปีพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ วิธีวิเคราะห์ที่ได้พัฒนาขึ้นเป็นวิธีที่ง่าย เครื่องมือที่ใช้มีอยู่ทั่วไปในห้องปฏิบัติการ ราคาถูก สามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการเรียนการสอนในห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้การใช้สารสกัดดอกเฟื่องฟ้าซึ่งเป็นรีเอเจนต์จากธรรมชาติในขั้นตอนการวิเคราะห์ของวิธีที่พัฒนาขึ้นยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของดอกเฟื่องฟ้าและมิตรกับสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณรายได้ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีงบประมาณ 2563 และได้รับการสนับสนุนด้านเครื่องมือวิทยาศาสตร์จากสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

เอกสารอ้างอิง

- [1] Khairy, M., Ismael, M., El-Khatib, R. M., Abdelnaeem, M., and Khalaf, M. (2016). Natural betanin dye extracted from *bougainvillea* flowers for the naked-eye detection of copper ions in water samples. *Analytical Methods*, 8, 4977-4982.
- [2] Yao, Z., Yang, Y., Chen, X., Hu, X., Zhang, L., Liu, L., Zhao, Y., and Wu, H.-C. (2013). Visual detection of copper (II) ions based on an anionic polythiophene derivative using click chemistry. *Analytical Chemistry*, 85, 5650-5653.
- [3] Adebayo, B. K., Ayejuyo, S., Okoro, H. K., and Ximba, B. J. (2011). Spectrophotometric determination of iron (III) in tap water using 8-hydroxyquinoline as a chromogenic reagent. *African Journal of Biotechnology*, 10(71), 16051-16057.
- [4] Stalikas, C. D., Pappas, A. Ch., Karayannis, M. I., and Veltsistas, P. G. (2003). Simple and selective spectrophotometric method for the determination of iron (III) and total iron content, based on the reaction of Fe(III) with 1,2-dihydroxy-3,4-diketocyclo-butene (squaric acid). *Microchimica Acta*, 142, 43-48.
- [5] Khaodee, W., Wongkiti, R., and Madang, S. (2017). Naked-eye detection of lead ion in water sample using reagent extracted from white dragon fruit peel. *KKU Science Journal*, 45(4), 886-895.

- [6] Settheeworarit, T., Hartwell, S. K., Lapanatnoppakhun, S., Jakmune, J., Christian, G. D., and Grudpan, K. (2005). Exploiting guava leaf extract as an alternative natural reagent for flow injection determination of iron. *Talanta*, 68(2), 262-267.
- [7] Saowongchan, K., and Mancharoen, S. (2019). Development of quantitative analysis technique for Fe(III) using natural anthocyanin extract detected by smartphone. *Science and Technology Journal*, 28(8), 1372-1388.
- [8] Sukaram, T., Sirisakwisut, P., and Chaneam, S. (2017). Use of natural pigment from orchid as a reagent for quantitative analysis of ammonia in chemical fertilizers. *Burapha Science Journal*, 22(4), 366-376.
- [9] Killedar, S., Pawar, A., Nadaf, S., Nale, A., Tamboli, U., and Pishawikar, S. (2014). Novel analytical method development for some amide group containing drugs using Bougainvillea spectabilis bract extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7(Supplement 1), S560-S567.
- [10] Azeredo, H. M. C. (2009). Betalains: Properties, sources, applications, and stability - A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 2365-2376.
- [11] Kumar, S. N. A., Ritesh, S. K., Sharmila, G., and Muthukumaran, C. (2017). Extraction optimization and characterization of water soluble red purple pigment from floral bracts of *Bougainvillea glabra*. *Arabian Journal of Chemistry*, 10(Supplement 2), S2145-2150.
- [12] Wybraniec, S., Starzak, K., Skopińska, A., Szaleniec, M., Słupski, J., Mitka, K., Kowalski, P., and Michałowski, T. (2013). Effects of metal cations on betanin stability in aqueous-organic solutions. *Food Science and Biotechnology*, 22, 353-363.