

การวิเคราะห์ออกซาเลตในตัวอย่างผักโดยใช้ขั้วไฟฟ้าต้นทุนต่ำ
ด้วยวิธีโพเทนชิโอเมตริกไมโครไทเทรชัน

DETERMINATION OF OXALATE IN VEGETABLE SAMPLES
USING A LOW COST ELECTRODE
BY POTENTIOMETRIC MICROTRITRATION METHOD

อภิชาติ บุญมาลัย^{1*} คณภรณ์ แสงชัยมงคลลาภ² และ กนกนิกา บุตรศรี³

^{1, 2, 3}สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ นครสวรรค์ 60000

Apichart Boonmalai^{1*}, Khanaphon Sangchaimongkonlap² and Kanoknipa Bhudsri³

^{1, 2, 3}Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Nakhon Sawan Rajabhat University,
Nakhon Sawan, 60000

E-mail: apichart_boon@hotmail.com

Received: 2018-05-04

Revised: 2018-09-24

Accepted: 2019-01-10

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้สร้างระบบโพเทนชิโอเมตริกไมโครไทเทรชัน โดยใช้ขั้วไฟฟ้าต้นทุนต่ำที่ผลิตขึ้นใช้เอง คือขั้วไฟฟ้าที่ทำจากคาร์บอนจากไส้ดินสอด่เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน และใช้ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ที่ประยุกต์ขึ้นเป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ในการวิเคราะห์หาปริมาณออกซาเลตอาศัยพื้นฐานของปฏิกิริยารีดอกซ์ โดยสารละลายออกซาเลตเป็นตัวไทเทรนต์ที่อยู่ในสารละลายกรดซัลฟิวริก จะถูกไทเทรตด้วยสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ความเข้มข้น 0.02 โมลต่อลิตร เป็นตัวไทเทรนต์ในระดับไมโครลิตร และได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่าง ๆ ได้แก่ เวลาในการชุบเส้นลวดเงินด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์อิมมิตูว ความเข้มข้นและปริมาตรของกรดซัลฟิวริก และอุณหภูมิของระบบ ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมพบว่า ได้เวลาในการชุบเส้นลวดเงิน 9 นาที ใช้ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 2.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และไทเทรตสารที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งวิธีดังกล่าวสามารถนำมาประยุกต์ใช้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณออกซาเลตในตัวอย่างผักชนิดต่าง ๆ ซึ่งเป็นวิธีที่มีต้นทุนการวิเคราะห์ต่ำเนื่องจากราคาเครื่องมือถูก เป็นวิธีที่ง่าย ใช้สารเคมีปริมาณน้อย เป็นมิตรต่อ

สิ่งแวดล้อม และผลการวิเคราะห์หาปริมาณออกซาเลตในตัวอย่างผัก พบว่ามีความถูกต้องและความเที่ยงในการวิเคราะห์ที่ดี

คำสำคัญ: โพลีเอทิลีนไกลคอล ไมโครไทเทรชัน ออกซาเลต ผัก

ABSTRACT

The purpose of this research was to build a potentiometric microtitration system by using homemade low cost electrodes (a pencil carbon electrode as a working electrode and a silver/silver chloride (Ag/AgCl) electrode as a reference electrode) for determination of oxalate. The analysis was based on a redox reaction of the oxalate (titrand) in sulfuric acid solution was titrated with a few microliter of 0.02 mol L⁻¹ potassium permanganate solution (titrant). The conditions such as electroplating time of silver stripe in saturated potassium chloride solution, concentration and volume of sulfuric acid and temperature of titration system were studied. The results were 9 min of electroplating time, 2.0 mol L⁻¹ and 1 mL of sulfuric acid and titration at room temperature. This proposed method was applied for the determination of oxalate in some vegetable samples. It provided some advantages of low cost of instruments and analysis, simple system and operation, low chemical consumption, low toxic waste and environmental friendly. It was found that the results obtained from the proposed method were good accuracy and precision.

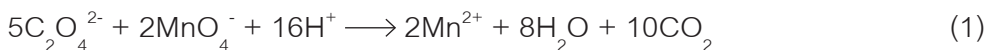
Keywords: Potentiometric, Microtitration, Oxalate, Vegetable

บทนำ

ออกซาเลต (Oxalate) เป็นเกลือของกรดออกซาลิก [(COOH)₂] สามารถพบได้ในพืชผักทั่วไปที่รับประทานหลายชนิด อาทิเช่น ผักโขม ผักขึ้นฉ่าย สะระแหน่ ผักหวานป่า ผักกาดหอม โหระพา ใบชะพลู ใบชะมวง (Pourreza et al., 2018; Piwpuan, 2014) โดยสารออกซาเลตที่มีในพืชผักที่รับประทานมีอยู่ 2 รูปแบบคือ สารออกซาเลตที่ละลายน้ำได้ (Soluble oxalate) เช่น โซเดียมออกซาเลต โพแทสเซียมออกซาเลต และสารออกซาเลตที่ไม่ละลายน้ำ (Insoluble oxalate) เช่น แคลเซียมออกซาเลต (Shi et al., 2018) โดยพืชผักหลายชนิดมีปริมาณออกซาเลตที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อม เช่น สภาพการเจริญเติบโต ชนิดของดิน ฤดูกาล ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยว และปริมาณแคลเซียมในดิน (Kusuma et al., 2016)

การรับประทานพืชผักที่มีปริมาณออกซาเลตสูงทั้ง 2 รูปแบบ ส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคคือ จะทำให้มีความเสี่ยงต่อการเกิดเป็นนิ่วในทางเดินปัสสาวะ (Nguyen et al., 2018; Charoenkiatkul, 2004) ซึ่งกองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข แนะนำว่าไม่ควรบริโภคอาหารที่มีออกซาเลตเกินวันละ 22 กรัมต่อน้ำหนักตัว 60 กิโลกรัม หรือ 378 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (Chongchaitet, 2006) ดังนั้นเพื่อเป็นการลดความเสี่ยงดังกล่าว จึงจำเป็นจะต้องมีการวิเคราะห์ปริมาณออกซาเลตในพืชผักเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการเลือกบริโภคให้เหมาะสม

การวิเคราะห์ปริมาณออกซาเลตมีหลายวิธีด้วยกัน ได้แก่ วิธีพื้นฐาน เช่น การไทเทรต (Nakorn, 2003) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานและทำได้ง่าย แต่มีข้อเสียคือ การหาจุดยุติอาศัยการดูสีที่เปลี่ยนแปลงของสารละลายซึ่งอาจเกิดความคลาดเคลื่อนได้ นอกจากนี้วิธีพื้นฐานแล้วยังมีวิธีที่ใช้เครื่องมือขั้นสูง เช่น วิธีทางสเปกโทรโฟโตเมตรี (Pourreza et al., 2018) วิธีทางโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) (Nguyen et al., 2018) วิธีทางแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) (Hu et al., 2014) วิธีทางแคปิลลารี อิเล็กโทรโฟรีซิส (CE) (Nelson et al., 2000) วิธีทางไอออนโครมาโทกราฟี (Cao et al., 2012) และการวิเคราะห์ด้วยเอนไซม์ (Shi et al., 2018) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความถูกต้อง ความเที่ยงและมีความไวสูง แต่ก็มีข้อเสียคือ ใช้เครื่องมือวิเคราะห์ที่มีราคาแพง ต้องอาศัยความรู้ความชำนาญหรือต้องใช้นักวิทยาศาสตร์ที่มีความชำนาญในการใช้เครื่องมือเหล่านั้น มีความยุ่งยากในการใช้งาน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้สร้างระบบ โฟเทนซิโอเมตริกไมโครไทเทรชันโดยใช้ขั้วไฟฟ้าต้นทุนต่ำที่ผลิตขึ้นใช้เอง คือใช้ขั้วไฟฟ้าที่ทำจากคาร์บอนจากไส้ดินสอด่เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน และใช้ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ที่สร้างขึ้นเองอย่างง่ายเป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ซึ่งเป็นอีกแนวทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณออกซาเลต ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีต้นทุนการวิเคราะห์ต่ำเนื่องจากราคาเครื่องมือถูก เป็นวิธีที่ง่ายมีขั้นตอนไม่ซับซ้อน ใช้สารเคมีปริมาณน้อย และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม โดยอาศัยพื้นฐานของปฏิกิริยารีดอกซ์ ดังสมการที่ (1)



งานวิจัยนี้ใช้สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตปริมาณน้อยระดับไมโครลิตรเป็นตัวไทเทรนต์ (Titrant) ในการไทเทรตหาปริมาณออกซาเลตซึ่งเป็นตัวไทเทรนต์ (Titrand) ที่บรรจุอยู่ในภาชนะที่มีขนาดเล็ก โดยออกซาเลตในสารละลายกรดนี้สามารถรีดิวซ์เปอร์แมงกาเนตไอออนให้เป็นแมงกานีสไอออนได้ แล้ววัดค่าศักย์ไฟฟ้านำไปสร้างไทเทรชันกราฟหาจุดยุติเพื่อคำนวณหาปริมาณออกซาเลตในสารละลาย

วิธีการ

1. อุปกรณ์และสารเคมี

โวลต์มิเตอร์ รุ่น DT93A Digital เครื่องกวนสารด้วยแม่เหล็กไฟฟ้า เต้าไฟฟ้า ไมโครปิเปต ภาชนะสำหรับการไทเทรตขนาด 10 มิลลิลิตร ไล้ดินสอ (ชนิด 2B เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 เซนติเมตร สูง 9 เซนติเมตร) และเส้นลวดเงิน (ความยาว 7 เซนติเมตร กว้าง 3 มิลลิเมตร)

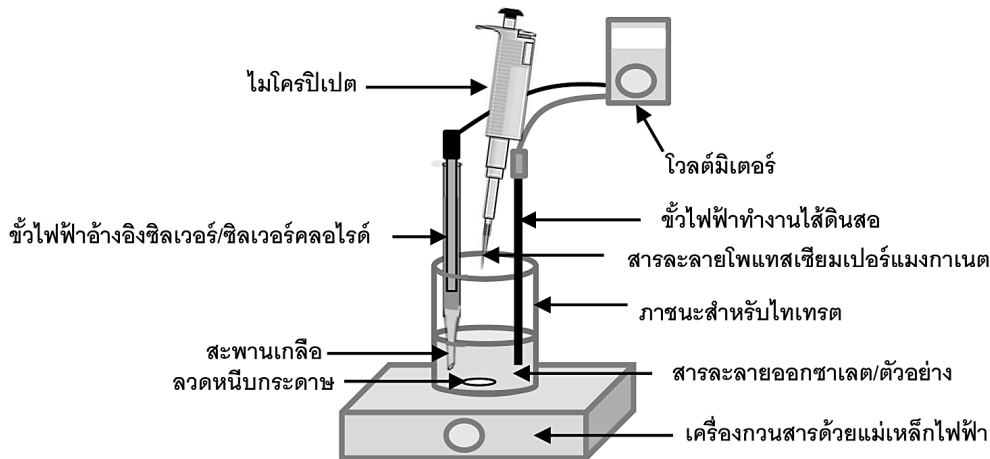
สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง น้ำปราศจากไอออน (DI water) ผลิตจากเครื่อง Milli-Q โฟแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (99.0%, A.R., Ajax Finechem, Austria) โซเดียมออกซาลเลต (99.9%, A.R., Ajax Finechem, Austria) กรดซัลฟิวริก (97.5-98.5%, A.R., Labscan, Ireland) กรดไฮโดรคลอริก (35.4%, A.R., BDH, England) กรดไนตริก (69%, A.R., BDH, England) กรดอะซิติก (99.7%, A.R., Labscan, Ireland) โฟแทสเซียมคลอไรด์ (99.8%, A.R., Ajax Finechem, Austria) แคลเซียมอะซิเตต (99%, A.R., Carlo Erba, Italy) แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (30%, A.R., J.T.Baker, USA)

2. ระบบโพเทนชิโอเมตริกไมโครไทเทรชันโดยใช้ขั้วไฟฟ้าต้นทุนต่ำ

งานวิจัยนี้ได้ทำการสร้างขั้วไฟฟ้าต้นทุนต่ำใช้เอง ซึ่งประยุกต์มาจากงานวิจัยของ Khiwasaart et al. (2013) โดยมีวิธีการทำดังนี้ การสร้างขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ นำเส้นลวดเงินจำนวน 2 เส้นต่อกับขั้วบวกและขั้วลบของแบตเตอรี่ขนาด 9 โวลต์ จุ่มเส้นลวดเงินทั้งสองลงในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) อิ่มตัวเป็นเวลา 9 นาที จะได้เส้นลวดซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl) ที่ขั้วบวก (ขั้วแอนอด) ส่วนสะพานเกลือทำจากหลอดแก้วยาว 8 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร บริเวณปลายหลอดแก้วมีสะพานเกลือที่ทำจากผงวุ้นผสมโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร ซึ่งมีความสูงประมาณ 1.5-2.0 เซนติเมตร ภายในหลอดแก้วบรรจุสารละลาย KCl อิ่มตัว หลังจากนั้นนำเส้นลวด Ag/AgCl ที่เตรียมไว้ไปประกอบกับสะพานเกลือที่สร้างขึ้นแล้วใช้แผ่นพาราฟิล์มปิดท้ายหลอดแก้วเหลือปลายเส้นลวดเงินไว้ต่อเข้ากับสายไฟ ส่วนขั้วไฟฟ้าทำงานทำจากคาร์บอนจากไล้ดินสอ โดยระบบโพเทนชิโอเมตริกไมโครไทเทรชันโดยใช้ขั้วไฟฟ้าต้นทุนต่ำแสดงดังรูปที่ 1

สารละลายมาตรฐานออกซาลเลตหรือสารตัวอย่างจะถูกปิเปตใส่ลงไปในภาชนะสำหรับไทเทรตขนาดเล็กที่วางไว้บนเครื่องกวนสารด้วยแม่เหล็กไฟฟ้า และใช้ลวดหนีบกระดาษตัดเป็นชิ้นเล็กแล้วพันด้วยเทปพันเกลียวแทนการใช้แท่งกวนสาร (Magnetic bar) นำขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl และขั้วไฟฟ้าทำงานไล้ดินสอที่สร้างขึ้นจุ่มลงไปในการละลายและต่อขั้วไฟฟ้าเข้ากับโวลต์มิเตอร์ โดยการไทเทรตนั้นจะ ปิเปตไทเทรนต์หรือสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตครั้งละ 50 หรือ 200 ไมโครลิตรและบริเวณจุดยุติปิเปตครั้งละ 10 ไมโครลิตร คนสารละลายตลอดการไทเทรต วัดค่าศักย์ไฟฟ้าโดยโวลต์มิเตอร์ นำผลการทดลองไปสร้าง

ไทเทรชันกราฟโดยใช้กราฟอนุพันธ์อันดับหนึ่งเป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าศักย์ไฟฟ้าตอนที่เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาตร ($\Delta E / \Delta V$) กับปริมาตรของไทเทรนต์เพื่อหาจุดยุติ



รูปที่ 1 ระบบโพเทนชิโอเมตริกไมโครไทเทรชันโดยใช้ขั้วไฟฟ้าต้นทุนต่ำ

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและประสิทธิภาพของระบบโพเทนชิโอเมตริกไมโครไทเทรชันโดยใช้ขั้วไฟฟ้าต้นทุนต่ำ

3.1 การศึกษาเวลาในการชุบเส้นลวดเงินด้วยสารละลาย KCl อิมมิตัว

ทำโดยนำเส้นลวดเงินที่ต่อกับแบตเตอรี่จุ่มลงในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์อิมมิตัวเป็นเวลา 3, 6, 9, 12 และ 15 นาที แล้วนำไปใช้เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl โดยทดสอบประสิทธิภาพสำหรับการวิเคราะห์ออกซาเลตด้วยระบบที่สร้างขึ้น โดยใช้ออกซาเลตความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร และสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.02 โมลต่อลิตร

3.2 การศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก

ทำโดยการเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 และ 4.0 โมลต่อลิตร ปิเปตสารละลายกรดซัลฟิวริก 1.0 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายมาตรฐานออกซาเลตความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในภาชนะสำหรับการไทเทรต แล้วนำไปวิเคราะห์ออกซาเลตด้วยระบบที่สร้างขึ้น

3.3 การศึกษาปริมาตรกรดซัลฟิวริก

ทำโดยการปิเปตกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการทดลองในข้อ 3.2 ที่ปริมาตรต่าง ๆ 0.05, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายมาตรฐานออกซาเลตความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในภาชนะสำหรับการไทเทรต แล้วนำไปวิเคราะห์ออกซาเลตด้วยระบบที่สร้างขึ้น

3.4 การศึกษาการให้หรือไม่ให้ความร้อนของระบบการไทเทรต

โดยทำการเปรียบเทียบการทดลองไทเทรตในสภาวะอุณหภูมิห้องปกติ (25 ± 0.5 °C) ซึ่งไม่มีการให้ความร้อนแก่สารละลายมาตรฐานหรือสารละลายตัวอย่างในภาชนะสำหรับการไทเทรตก่อนการไทเทรต เปรียบเทียบกับการให้ความร้อนแก่สารละลายมาตรฐานหรือสารละลายตัวอย่าง 60 °C ประมาณ 5 นาที ก่อนนำมาไทเทรตกับสารละลายสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

3.5 การทดสอบความเที่ยง (Precision) และการทดสอบความถูกต้องหรือความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์ (Accuracy) ของวิธีการวิเคราะห์

โดยทำการทดลองที่สภาวะเหมาะสมในหนึ่งวัน ทดสอบสารละลายมาตรฐานออกซาลेट ความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร จำนวน 11 ซ้ำ (Intra day) และทำการทดลองคนละวัน (Inter day) จำนวน 7 วัน แล้วคำนวณหาค่าความเที่ยงจากค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ส่วนการทดสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ (Accuracy) ประเมินจากค่าร้อยละการกลับคืน (%Recovery) โดยใช้สารละลายตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน (Spiked sample) ที่มีความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานออกซาลेट เท่ากับ 0.005 โมลต่อลิตร นำไปวิเคราะห์ด้วยระบบดังกล่าว แล้วคำนวณหาค่า %Recovery

4. การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

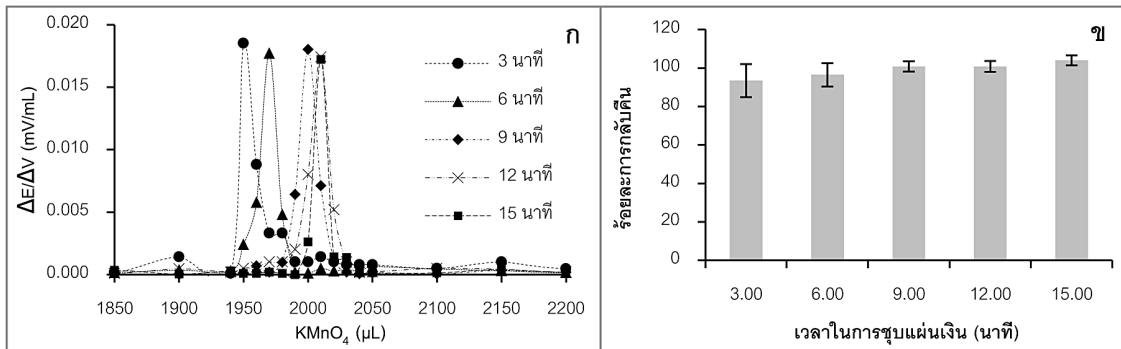
การเตรียมสารละลายตัวอย่างในการวิเคราะห์หาปริมาณออกซาลेट โดยประยุกต์วิธีการของ Nakorn (2003) ซึ่งมีวิธีการสำคัญคือ ชั่งตัวอย่างผักสดที่หั่นเป็นชิ้นเล็กหนัก 25.0000 กรัม มาปั่นและเติมน้ำ DI 80 มิลลิลิตร จากนั้นทำการสกัดออกซาลेटจากตัวอย่างผักด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตรและกรดไนตริกเข้มข้น 30 มิลลิลิตรนำไปให้ความร้อน ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วกรอง แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 250 มิลลิลิตร บีบอัดสารละลายตัวอย่าง 10 มิลลิลิตรใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ปรับ pH สารละลายให้ได้ประมาณ 8 ด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ จากนั้นทำการตกตะกอนแคลเซียมออกซาลेटด้วยการเติมสารละลายแคลเซียมอะซิเตตอิ่มตัว นำสารละลายเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเติมสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.5 โมลต่อลิตร $5-10$ มิลลิลิตร เข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง รินส่วนของเหลวทิ้ง นำหลอดที่มีตะกอนไปอบในตู้อบที่ 80 °C นาน 2 ชั่วโมง และทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 2.0 โมลต่อลิตร เขย่าแบบอุลตราโซนิก และปรับปริมาตรของสารละลายด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 2.0 โมลต่อลิตร แล้วเตรียมสารละลายตัวอย่างผักชนิดอื่น ๆ ในทำนองเดียวกัน ในงานวิจัยนี้ใช้ตัวอย่างผักชนิดต่าง ๆ 13 ชนิด ได้แก่ ผักคะน้า ผักบุ้งจีน ผักกวางตุ้ง ผักกระเฉด ผักกาดหอม ชะอม ชะพลู สะเดา ใบมะกรูด ผักหวาน โหระพา ใบยอ และมะรุ้ม โดยส่วนของพืชที่นำมาวิเคราะห์ขึ้นอยู่กับส่วนที่นิยมมาบริโภคเช่น ใบและยอดอ่อน สารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้นำไปวิเคราะห์หาปริมาณ

ออกซาลेटด้วยระบบโพเทนชิโอมेटริกไมโครไทเทรชันโดยใช้ขั้วไฟฟ้าต้นทุนต่ำที่ได้หาสภาวะที่เหมาะสมแล้ว

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการศึกษาเวลาในการชุบเส้นลวดเงินด้วยสารละลาย KCl อิมิตัว

เวลาในการชุบเส้นลวดเงินด้วยสารละลาย KCl อิมิตัวมีผลต่อปริมาณการเกิด AgCl มาเคลือบที่เส้นลวดเงินและมีผลต่อประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl ด้วย โดยศึกษาการชุบเส้นลวดเงินที่เวลาต่างๆ ได้กราฟการไทเทรชันของอนุพันธ์อันดับหนึ่ง ดังแสดงรูปที่ 2 ก. และกราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการชุบเส้นลวดเงินกับร้อยละการกลับคืน ดังแสดงรูปที่ 2 ข.



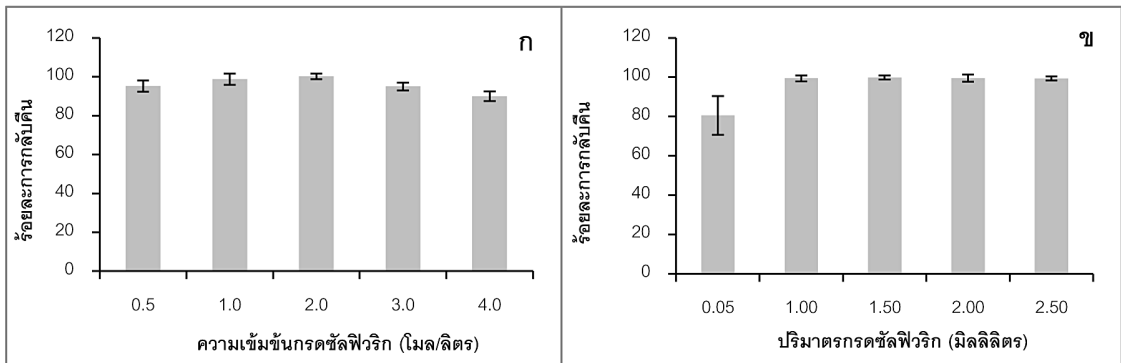
รูปที่ 2 ก. กราฟการไทเทรชันของอนุพันธ์อันดับหนึ่งจากการทดลองหาเวลาในการชุบเส้นลวดเงินที่เหมาะสม

ข. กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการชุบเส้นลวดเงินกับร้อยละการกลับคืน

จากรูป 2 ก. จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้เวลาในการชุบเส้นลวดเงินต่างกัน จะได้จุดยุติที่แตกต่างกัน เนื่องจากการเกิด AgCl มาเคลือบที่ผิวของเส้นลวดเงินได้มากขึ้นเมื่อเพิ่มเวลาในการชุบและมีความหนาและพื้นผิวเรียบมากกว่า ส่งผลต่อประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าอ้างอิงและการหาปริมาณออกซาลेटที่ถูกต้อง ดังรูปที่ 2 ข. จะเห็นได้เวลาที่ 9 ถึง 15 นาที ได้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ระหว่างร้อยละ 100.8-104.0 และมีความเที่ยงสูง จากการทดลองพบว่าขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl ที่มีประสิทธิภาพดี และใช้เวลาในการเตรียมน้อย คือขั้วไฟฟ้าที่ใช้สภาวะในการชุบเส้นลวดเงินเป็นเวลา 9 นาที

2. ผลการศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก

ทำการทดลองหาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมที่จะสามารถใช้กับระบบโพเทนชิโอมेटริกไมโครไทเทรชัน โดยการเปลี่ยนความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกในการทดลอง ได้ผลการทดลองดังรูป 3 ก. ซึ่งเป็นกราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกกับร้อยละการกลับคืน จะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริก 2.0 โมลต่อลิตร มีค่าร้อยละการกลับคืนเท่ากับร้อยละ 100.2 ซึ่งมีความถูกต้องมากกว่าความเข้มข้นอื่น เนื่องจากปฏิกิริยารีดอกซ์นี้ต้องอยู่ในสภาวะที่เป็นกรดตั้งสมการ (1) เพื่อให้ออกซาเลตสามารถไปรีดิวซ์เปอร์แมงกาเนตไอออนให้เป็นแมงกานีสไอออนได้สมบูรณ์ แต่หากมีความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกมากเกินไป จะทำให้ขั้วไฟฟ้าทำงานที่ทำจากไส้ดินสอดเกิดความเสียหายได้เมื่อใช้ไประยะเวลาานานเนื่องจากการสึกกร่อน ทำให้ประสิทธิภาพการตรวจวัดด้วยไฟฟ้าลดลง แต่ในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองการใช้ไส้ดินสอดพบว่าสามารถใช้ซ้ำได้ 21 ครั้งโดยยังมีประสิทธิภาพดี ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมคือ 2.0 โมลต่อลิตร เพื่อทำการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมอื่น ๆ ต่อไป



รูปที่ 3 ก. กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกกับร้อยละการกลับคืน ข. กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของกรดซัลฟิวริกกับร้อยละการกลับคืน

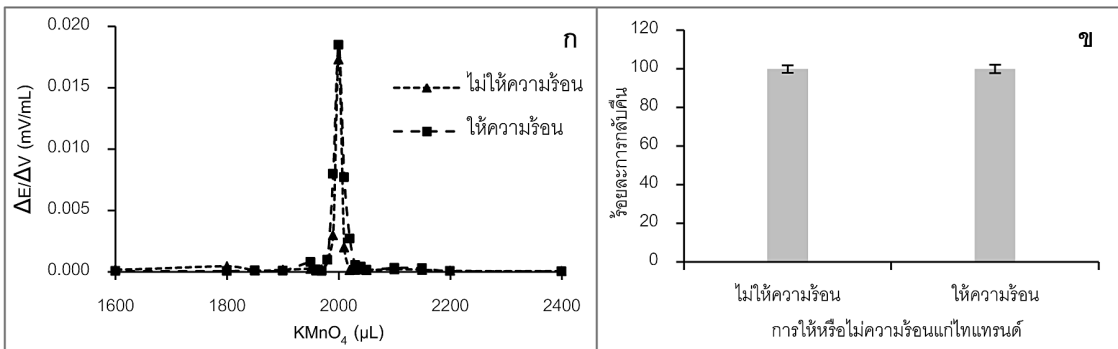
3. ผลการศึกษาปริมาตรกรดซัลฟิวริก

ทำการทดลองหาปริมาตรของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมที่ใช้กับระบบโพเทนซิโอมेटริกไมโครไทเทรชันโดยการเปลี่ยนปริมาตรกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในภาชนะสำหรับไทเทรต ได้กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรของกรดซัลฟิวริกกับร้อยละการกลับคืน ดังแสดงรูปที่ 3 ข. จะเห็นได้ว่าที่ปริมาตรของกรดซัลฟิวริกมีผลต่อความถูกต้องของการวิเคราะห์หาปริมาณออกซาเลตโดยดูจากร้อยละการกลับคืน โดยที่ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริกตั้งแต่

1.0 ถึง 2.5 มิลลิลิตร จะให้ผลร้อยละการกลับคืนอยู่ระหว่างร้อยละ 99.3-99.8 เนื่องจากว่ามีกรดมากเพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ดังกล่าว และเพื่อเป็นการลดการใช้สารเคมี ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกปริมาตรของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมคือ 1.0 มิลลิลิตร สำหรับการทดลองหาสภาวะอื่น ๆ ต่อไป

4. ผลการศึกษาการให้หรือไม่ให้ความร้อนของระบบการไทเทรต

ทำการทดลองการเปรียบเทียบการไทเทรตแบบให้ความร้อนแก่สารไทแทนด์ที่อยู่ในภาชนะสำหรับไทเทรตที่อุณหภูมิ 60 °C เวลา 5 นาทีก่อนนำมาไทเทรตเพื่อเร่งการเกิดปฏิกิริยาเทียบกับการไม่ให้ความร้อนแก่สารไทแทนด์ โดยไทเทรตที่อุณหภูมิห้องปกติ (25 ± 0.5 °C) ด้วยระบบโพเทนชิโอมิเตอร์ไมโครไทเทรชัน ผลการทดลองได้กราฟการไทเทรชันของอนุพันธ์อันดับหนึ่งดังแสดงรูปที่ 4 ก. และกราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการให้หรือไม่ให้ความร้อนกับร้อยละการกลับคืน ดังแสดงรูปที่ 4 ข.



รูปที่ 4 ก. กราฟการไทเทรชันของอนุพันธ์อันดับหนึ่งจากการเปรียบเทียบการให้หรือไม่ให้ความร้อนแก่สารไทแทนด์ ข. กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการให้หรือไม่ให้ความร้อนแก่สารไทแทนด์กับร้อยละการกลับคืน

จากรูปที่ 4 ก. จะเห็นได้ว่าการให้ความร้อนและการไม่ให้ความร้อนแก่สารไทแทนด์ก่อนการนำไปไทเทรต ให้ผลกราฟไทเทรชันของอนุพันธ์อันดับหนึ่งที่เหมือนกันคือได้จุดยุติที่เท่ากัน ทำให้ผลการวิเคราะห์หาปริมาณออกซาลेटไม่แตกต่างกันดังรูปที่ 4 ข. ซึ่งโดยปกติวิธีมาตรฐานการไทเทรตระหว่างโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตกับออกซาลेटในสภาวะกรดมักมีการให้ความร้อนแก่สารไทแทนด์ก่อนนำไปไทเทรตเพื่อช่วยเร่งให้เกิดปฏิกิริยาได้ดี และจะทำให้สีของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตหายไปชัดเจน แต่จากการทดลองการไม่ให้ความร้อนแก่สารไทแทนด์มีผลไม่แตกต่างกัน คาดว่าน่าจะเนื่องมาจากเป็นการไทเทรตที่มีขนาดเล็กระดับไมโครลิตรจึงใช้เวลาไม่นานในการเกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์ได้ และการวิเคราะห์

ทางไฟฟ้าเคมีไม่จำเป็นต้องดูสีด้วยตาเปล่าที่จุดยุติเหมือนการไทเทรตทั่วไป นอกจากนี้การให้ความร้อนแก่สารไทเทรนต์อาจทำให้เกิดการละลายของวุ้นที่ทำหน้าเป็นสะพานเกลือที่ปลายหลอดแก้วของขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl ที่สร้างขึ้นเอง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกการไทเทรตสารที่อุณหภูมิห้องโดยไม่ให้ความร้อน เพื่อความสะดวกในการทำงานและยืดอายุการใช้งานของขั้วไฟฟ้าอ้างอิง

5. ผลการทดสอบความเที่ยง (Precision)

จากการทดสอบความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์ พบว่าได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 1.8% (Intra day จำนวน 11 ข้ำ) และ 3.4% (Inter day จำนวน 7 วัน) โดยใช้อุปกรณ์ชุดเดิม แสดงให้เห็นว่าระบบโพเทนชิโอเมตริกไมโครไทเทรชันโดยใช้ขั้วไฟฟ้าต้นทุนต่ำที่ผลิตขึ้นใช้เองนั้นมีความเที่ยงสูง

6. ผลการวิเคราะห์ปริมาณออกซาเลตในผักและผลทดสอบความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีการวิเคราะห์

จากการหาสภาวะที่เหมาะสมของระบบโพเทนชิโอเมตริกไมโครไทเทรชันโดยใช้ขั้วไฟฟ้าต้นทุนต่ำที่ผลิตขึ้นใช้เองนั้น นำไปประยุกต์ใช้หาปริมาณออกซาเลตในตัวอย่างผักที่เก็บมาจากตลาดใน อ.เมือง จ.นครสวรรค์ ซึ่งตรวจพบปริมาณออกซาเลตในหน่วยมิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (สด) โดยแสดงผลดังตารางที่ 1 พบว่าผักทั้ง 13 ชนิด ที่ปริมาณออกซาเลตที่แตกต่างกัน ผักที่มีปริมาณออกซาเลตสูงกว่า 1,000 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม คือ สะเดา และใบมะกรูด ส่วนผักที่มีปริมาณออกซาเลตระหว่าง 100 - 1,000 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม คือ ผักบุ้งจีน ผักกระเฉด ผักกาดหอม สะพลู ผักหวาน ชะอม โหระพา ใบยอ และ มะรุม ส่วนผักที่มีปริมาณออกซาเลตน้อยกว่า 100 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม คือ ผักคะน้า และผักกวางตุ้ง จากข้อมูลในตารางที่ 1 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณออกซาเลตที่ตรวจพบในงานวิจัยอื่น พบว่ามีความใกล้เคียงหรือแตกต่างกันบ้างเนื่องจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น ชนิดของดินที่ปลูก สภาวะแวดล้อมและ ฤดูกาล เป็นต้น (Kusuma et al., 2016) จึงทำให้พืชผักมีปริมาณออกซาเลตที่แตกต่างกันถึงแม้จะเป็นชนิดเดียวกันก็ตาม และจากการทดสอบความถูกต้องหรือความแม่นยำ พบว่าสามารถวิเคราะห์หาปริมาณออกซาเลตในตัวอย่างผักได้ถูกต้องโดยมีค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ระหว่างร้อยละ 92.7-113.3 งานวิจัยนี้ทำการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ออกซาเลตด้วยวิธีโพเทนชิโอเมตริกไมโครไทเทรชันกับวิธีมาตรฐานไทเทรชัน เมื่อใช้ paired t-test ตรวจสอบ พบว่าทั้ง 2 วิธีให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 1 ปริมาณออกซาเลตในตัวอย่างผักที่วิเคราะห์ด้วยระบบโพเทนชิโอเมตริกไมโคร-ไทเทรชันโดยใช้ขั้วไฟฟ้าต้นทุนต่ำและวิธีมาตรฐาน ไทเทรชัน

ตัวอย่างผัก	วิธีโพเทนชิโอเมตริกไมโคร-ไทเทรชัน		วิธีไทเทรชัน AOAC Official Method 974.24	ปริมาณออกซาเลต ที่ตรวจพบ ในงานวิจัยอื่น
	ร้อยละ การคืนกลับ (%Recovery)	มิลลิกรัม/ 100กรัม (n = 3) ± %RSD	มิลลิกรัม /100กรัม (n = 3) ± %RSD	มิลลิกรัม /100กรัม
	ผักคะน้า	108.9	18.9 ± 1.2	21.6 ± 1.3
ผักบุ้งจีน	92.7	135.6 ± 1.7	146.9 ± 2.4	113.3 ²
ผักกวางตุ้ง	110.5	19.2 ± 1.3	14.8 ± 1.7	8.2 ²
ผักกระเฉด	98.3	120.3 ± 2.3	88.5 ± 2.1	107.6 ²
ผักกาดหอม	95.5	142.5 ± 3.1	97.2 ± 1.7	131.13 ⁵
ชะพลู	106.7	775.3 ± 2.8	806.7 ± 3.2	682.73 ¹
สะเดา	109.0	1475.7 ± 2.0	1395.5 ± 3.4	1,818.03 ¹
ใบมะกรูด	101.7	1375.6 ± 2.3	1402.4 ± 3.1	2,254 ³
ผักหวาน	101.7	137.4 ± 3.2	128.3 ± 2.9	56.8 ⁴
ชะอม	103.3	250.1 ± 3.1	215.8 ± 2.2	327.02 ¹
โหระพา	106.7	500.2 ± 2.6	455.4 ± 3.2	416.22 ¹
ใบยอ	113.3	725.3 ± 2.9	808.5 ± 2.2	843 ²
มะรุม	106.7	650.2 ± 1.7	703.7 ± 3.4	-

¹Nakorn (2003) ²Charoenkiatkul et al., 2004 ³Sriboonlue et al., 1994 ⁴Chongchaitet (2006) ⁵Piwpuan (2014)

หมายเหตุ: สมการในการคำนวณปริมาณออกซาเลตในตัวอย่างผักในหน่วย มิลลิกรัม/100 กรัม ดังนี้

$$\text{มิลลิกรัม/100กรัม} = \frac{C \times V \times 90.03 \times 100}{W}$$

เมื่อ C = ความเข้มข้นที่ได้จากการไทเทรต (โมล/ลิตร)

V = ปริมาตรตัวอย่างผักที่เตรียมเท่ากับ 250 มิลลิลิตร

W = น้ำหนักผักตัวอย่าง (กรัม)

สรุป

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาเวลาในการชุบเส้นลวดเงินด้วยสารละลาย KCl อิมมัลชัน ถ้าใช้เวลาชุบมากจะมี AgCl มาเคลือบอยู่บนเส้นลวดเงินทำให้มีความหนาและพื้นผิวที่เรียบมากกว่า และมีประสิทธิภาพของขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl ดีกว่าการชุบที่ใช้เวลาน้อย ส่วนความเข้มข้นและปริมาตรของกรดซัลฟิวริกที่ใช้มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์ นอกจากนี้ยังศึกษาผลของ

อุณหภูมิของระบบการไทเทรต จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมได้เวลาในการชุบเส้นลวดเงิน ที่เวลา 9 นาที ใช้กรดซัลฟิวริก 2.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และไทเทรตสารที่อุณหภูมิห้อง ระบบที่สร้างขึ้นมานี้ มีข้อดีคือใช้ขั้วไฟฟ้าที่มีราคาถูกคือขั้วไฟฟ้าทำงานจากไส้ดินสอด และขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl ที่สร้างขึ้นเอง ทำให้ต้นทุนการวิเคราะห์ต่ำเมื่อเทียบกับการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือใช้สูง และระบบนี้เป็นการไทเทรตระดับไมโครลิตร จึงใช้สารเคมีปริมาณน้อย ลดของเสียที่เหลือจากการทดลอง การทดลองไม่ยุ่งยาก เครื่องมือยังมีขนาดเล็กสามารถเคลื่อนย้ายได้ง่าย นอกจากนี้ในการไทเทรตสามารถหาจุดยุติได้อย่างชัดเจนจากการวัดศักย์ไฟฟ้าและใช้กราฟไทเทรตแบบอนุพันธ์อันดับหนึ่งในการหาจุดยุติจะตรงกับจุดสมมูลที่สารทำปฏิกิริยาพอดี ซึ่งเป็นวิธีที่ให้ผลถูกต้องกว่าการใช้อินดิเคเตอร์ที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ระบบนี้สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณออกซาลेटในตัวอย่างผักได้ผลถูกต้องและแม่นยำสูง ให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ระหว่างร้อยละ 92.7 - 113.3 และมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่าร้อยละ 5 นอกจากนี้สามารถนำระบบนี้ไปประยุกต์ใช้กับการไทเทรตปฏิกิริยารีดอกซ์อื่น ๆ ได้ โดยต้องศึกษาปฏิกิริยาและหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยเท่านั้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏ นครสวรรค์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ทางด้านสารเคมี เครื่องมือ อุปกรณ์และสถานที่รวมทั้งเงินสนับสนุนในการทำวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- Cao, S.L., Ye, M.L., Lv, W.D., Pan, G.W., Zhang, T.T., Hu, Z.Y., Liang, L.N. & Zhu, Y. (2012). Determination of common anions in oxalate by ion chromatography couple with UV photolysis pretreatment. *Chinese Chemical Letters*. 23, 1263-1266.
- Charoenkiatkul, S., Wasantwisut, E., Rojroongwasinkul, N., Judprasong, K. & Kettawan, A. (2004). Study of calcium bioavailability in selected Thai food by estimation from chemical composition. Research report submitted to Thailand Research Fund.
- Chongchaitet, N. (2006). Kerd Khwam ru reuang oxalate. Bureau of Nutrition (BoN), Department of Health, Ministry of Public Health. (in Thai)
- Hu, H.C., Jin, H.J. & Chai, X.S. (2014). A practical headspace gas chromatographic method for the determination of oxalate in bleaching effluents. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 20, 13-16.

- Khiawsaart, K., Jaidee, P., Ramangthong, J. (2013). **Determination of ethanol in alcoholic beverage by a microscale potentiometric redox titration.** Bachelor of Science Program in Chemistry. Faculty of Science and Technology, Nakhon Sawan Rajabhat University. (in Thai)
- Kusuma, D.S., Vanhanen, L.P. & Savage, G.P. (2016). Evaluation of extraction parameters for total oxalate determination in spinach using design of experiment analysis. **Journal of Food Composition and Analysis.** 51, 9-14.
- Nakorn, B. (2003). **Determination of Oxalic acid in Thai vegetables by Precipitation of Calcium Oxalate.** Ubonratchatani : Faculty of Science and Technology, Ubonratchatani Rajabhat University. (in Thai)
- Nelson, B.C., Rockwell, G.F., Campfield, T., O'Grady, P., Hernandez, R.M. & Wise, S.A. (2000). Capillary electrophoretic determination of oxalate in amniotic fluid. **Analytica Chimica Acta.** 410, 1-10.
- Nguyễn, H.V.H., Lê, H.M. & Savage, G.P. (2018). Effects of maturity at harvesting and primary processing of cocoa beans on oxalate contents of cocoa powder. **Journal of Food Composition and Analysis.** 67, 86-90.
- Piwpuan, N. (2014). Calcium oxalate crystals and oxalate content in some vegetables from Nong Khai Province. **KKU Science Journal.** 42(4), 820-829. (in Thai)
- Pourreza, N., Lotfizadeh, N. & Golmohammadi, H. (2018). Colorimetric sensing of oxalate based on its inhibitory effect on the reaction of Fe(III) with curcumin nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.** 192, 251-256.
- Shi, L., Arntfield, S.D. & Nickerson, M. (2018). Changes in levels of phytic acid, Lectins and oxalates during soaking and cooking of Canadian pulses. **Food Research International.** 107, 660-668.
- Sriboonlue, P., Prasongwatana, V. & Suwanatrai, S. (1994). **Calcium oxalate content of vegetables frequently consumed in Khon Kaen province.** Khon Kaen: Khon Kaen University. (in Thai)