การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิคในอาหารเสริมวิตามินซี โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียมไทโอไซยาเนต-เหล็ก(III) ด้วยเทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาไลซีส

DETERMINATION OF ASCORBIC ACID IN VITAMIN C TABLETS BASED ON POTASSIUM THIOCYANATE-IRON(III) REACTION WITH FLOW INJECTION ANALYSIS

ศดานันท์ เมืองรอด
หนึ่งฤทัย กำลังสิงห์
หัทยา พลายโถ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมีอุตสาหกรรม
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิคในอาหารเสริมวิตามินซี โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียมไทโอไซยาเนต-เหล็ก(III) ด้วยเทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาไลซีส

DETERMINATION OF ASCORBIC ACID IN VITAMIN C TABLETS BASED ON POTASSIUM THIOCYANATE-IRON(III) REACTION WITH FLOW INJECTION ANALYSIS

T148991

ศดานันท์ เมืองรอด
หนึ่งฤทัย กำลังสิงห์
หัทยา พลายโถ

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 148991
วัน,เดือน,ปี 18 S.A. 2560

b.1287797
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมีอุตสาหกรรม
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DETERMINATION OF ASCORBIC ACID IN VITAMIN C TABLETS BASED ON POTASSIUM THIOCYANATE-IRON(III) REACTION WITH FLOW INJECTION ANALYSIS

SADANAN MUANGROD
NUENGRUETHAI GUMRUNGSING
HATTAYA PLAITHO

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิคในอาหารเสริมวิตามินซี โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียมไทโอไซยาเนต-เหล็ก(III) ด้วยเทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาไลซีส Determination of Ascorbic Acid in Vitamin C Tablets Base on Potassium Thiocyanate-Iron(III) Reaction with Flow Injection Analysis			
ชื่อนักศึกษา	ศดานันท์	เมืองรอด	รหัสนักศึกษา	55050809
	หนึ่งฤทัย	กำลังสิงห์	รหัสนักศึกษา	55050854
	หัทยา	พลายโถ	รหัสนักศึกษา	55050855
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)			
ภาควิชา	เคมี			
ปีการศึกษา	2558			
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.เสาวภาคย์	ธีราทรง		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น กรรมการ	
ผศ.ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิคในอาหารเสริมวิตามินซี โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างโพแทสเซียมไทโอไซยาเนต-เหล็ก(III) ด้วยเทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาไลซีส			
ชื่อนักศึกษา	ศดานันท์	เมืองรอด	รหัสนักศึกษา	55050809
	หนึ่งฤทัย	กำลังสิงห์	รหัสนักศึกษา	55050854
	หัทยา	พลายโถ	รหัสนักศึกษา	55050855
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)			
ภาควิชา	เคมี			
คณะ	วิทยาศาสตร์			
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)			
ปีการศึกษา	2558			
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง			

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิคในอาหารเสริมวิตามินซีด้วยวิธีวิเคราะห์โฟลอินเจคชันอะนาไลซีส และเทคนิคทางสเปคโตรโฟโตเมทรีในการตรวจวัด โดยอาศัยปฏิกิริยารีดักชันของเหล็ก(III) ด้วยกรดแอสคอร์บิค และติดตามเหล็ก(III) ที่เหลือจากปฏิกิริยาเข้าทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมไทโอไซยาเนตเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มแดง ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 458 นาโนเมตร และแปรผกผันกับปริมาณกรดแอสคอร์บิค ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิคเท่ากับ 25 ถึง 250 ไมโครโมลาร์ ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด และขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณเท่ากับ 7.46 และ 24.85 ไมโครโมลาร์ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าน้อยกว่า 0.46% (n = 7) ค่าวิเคราะห์คืนกลับมีค่าอยู่ในช่วง 87.83–108.38% จากผลที่ได้สามารถสรุปได้ว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นมีความเที่ยงและความแม่นยำของการวิเคราะห์สูง มีการนำวิธีที่พัฒนามาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิคในอาหารเสริมวิตามินซี 3 ตัวอย่าง วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว สารเคมีที่ใช้ราคาไม่แพง และให้ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ที่ต่ำ

คำสำคัญ : กรดแอสคอร์บิค โพแทสเซียมไทโอไซยาเนต โฟลอินเจคชันอะนาไลซีส สเปคโตรโฟโตเมทรี เหล็ก(III) อาหารเสริมวิตามินซี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Determination of Ascorbic Acid in Vitamin C Tablets base on Potassium Thiocyanate-Iron(III) Reaction with Flow Injection Analysis			
Students	Sadanan	Muangrod	Student ID	55050809
	Nuengruethai	Gumrungsing	Student ID	55050854
	Hattaya	Plaitho	Student ID	55050855
Degree	Bachelor of Science (Industrial Chemistry)			
Department	Chemistry			
Faculty	Science			
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)			
Academic Year	2015			
Advisor	Asst. Prof. Dr. Saowapak Teerasong			

Abstract

In this work, the determination of ascorbic acid in vitamin C tablets based on flow injection analysis (FIA) with spectrophotometric detection, was presented. The detection was based on the reduction reaction of iron(III) by ascorbic acid. The remained iron(III) was reacted with KSCN to produce the red complex of $FeSCN^{2+}$. The formation of $FeSCN^{2+}$ is thus inversely proportional to ascorbic acid concentration, which can be spectrophotometrically monitored at 458 nm.

Under optimum conditions, the linear calibration was obtained in range of 25 to 250 μM ascorbic acid. The detection limit and the quantitation limit were 7.46 and 24.85 μM, respectively. The relative standard deviation was lower than 0.46% (n=7). Analytical recoveries were found between 87.83–108.38%. These results implied that our method gave high precision and accuracy.

The proposed method was applied to determine ascorbic acid in 3 brands of Vitamin C tablet. The developed method is simple, rapid, inexpensive and provides low detection limit.

Keywords : Ascorbic Acid, KSCN, Flow Injection Analysis, Spectrophotometry, Iron(III), Vitamin C tablets

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก ผศ.ดร. เสาวภาคย์ ธีราทรง อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษา ตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความตั้งใจจริง ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ จากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งได้แก่ ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น และ ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์นี้ รวมถึงชี้แนะแนวทางในการจัดทำรูปเล่มโครงงานพิเศษให้เรียบร้อยเป็นอย่างดี

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวที่สนับสนุนและเป็นกำลังใจให้ผู้วิจัยด้วยดีเสมอมา

ศดานันท์ เมืองรอด
หนึ่งฤทัย กำลังสิงห์
หัทยา พลายโถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย [1]

วิตามินซี (vitamin C) เป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ สลายตัวได้ง่าย ไม่เสถียร และร่างกายไม่สามารถสร้างวิตามินซีได้เองจึงจำเป็นต้องได้จากการรับประทานเข้าไปให้เพียงพอ ปัจจุบันผลิตภัณฑ์อาหารเสริมวิตามินซีจึงเข้ามามีบทบาทสำหรับผู้ที่มีความต้องการเพิ่มวิตามินซีให้ร่างกาย เนื่องจากการสูญเสียวิตามินซีจากการใช้พลังงานในแต่ละวัน ทั้งนี้เพื่อความสะดวกในการเสริมสร้างวิตามินแก่ร่างกาย อาหารเสริมประเภทนี้จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับคนที่ต้องการดูแลสุขภาพ ซึ่งมีส่วนช่วยในการบำรุงร่างกายในเรื่องระบบการไหลเวียนเลือดให้ดีขึ้น ช่วยลดปัญหาในช่องปากและฟัน เช่น เลือดออกตามไรฟัน บำรุงเหงือก เป็นต้น การรับประทานวิตามินซีนอกจากช่วยเรื่องสุขภาพ เช่น ป้องกันไข้หวัด เสริมสร้างภูมิต้านทาน เร่งการเผาผลาญไขมันและคอเลสเตอรอลไม่ให้เกาะอยู่ตามผนังหลอดเลือดแล้ว สำหรับผิว ก็มีคุณประโยชน์หลายอย่างที่น่าสนใจ เช่น เร่งการสร้างคอลลาเจนในชั้นหนังแท้ จึงทำให้มีการผสมวิตามินซีในเครื่องสำอางหลายชนิด ไม่ว่าจะในครีมกันแดด โฟมล้างหน้า บ้างก็อยู่ในรูปเซรั่มหรือครีมบำรุงผิวเพื่อให้ดูมีคุณค่าเพิ่มมากขึ้น จากผลงานวิจัยยังพบว่า วิตามินซีมีคุณสมบัติปกป้องแสงแดดจากภายในเรียกว่าเป็น Systemic Sunscreen จะทำให้ผิวทนแดดได้ดีขึ้นเสมือนกับการทาครีมกันแดดที่มีค่า SPF ต่ำๆ และยังมีคุณสมบัติอีกอย่างที่น่าสนใจคือ การชะลอวัย วิตามินซีมีคุณสมบัติเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระ ร่างกายของคนเรามีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นตลอดเวลาทำให้เซลล์ต่างๆ รวมทั้งเซลล์ผิวเสื่อมสภาพลงเรื่อยๆ แต่หากมีตัวต้านอนุมูลอิสระก็จะคอยกำจัด ทำให้เซลล์ต่างๆ เสื่อมสภาพช้าลง วิตามินซีซึ่งออกฤทธิ์กับผิวโดยตรงต้องอยู่ในรูปของกรดแอล-แอสคอร์บิก (L-Ascorbic Acid) หากผิวได้รับอย่างเพียงพอจะทำให้ผิวขาวและใสขึ้นได้ ทั้งยังช่วยยับยั้งการทำลายอีลาสติน (Anti-Elastase) และคอลลาเจน (Anti-Collagenase) ในชั้นหนังแท้และยังกระตุ้นให้มีการสร้างคอลลาเจนเพิ่มขึ้นไปพร้อมๆ กัน ริ้วรอยจึงจางลง ผิวยืดหยุ่นขึ้น สุดท้ายยังช่วยให้วิตามินอีบริเวณผิวถูกทำลายช้าลง มีการหมุนเวียนกลับมาใช้ใหม่ได้อีก จึงช่วยเร่งการหายของแผลได้อีกทางหนึ่ง

ปัจจุบันมีผู้บริโภคส่วนใหญ่นิยมหันมารับประทานวิตามินซีหรืออาหารเสริมอื่นๆ มากขึ้นเพื่อความสวยความงาม บางคนถึงขนาดฉีดวิตามินเพราะอยากมีผิวที่สวยใส ถึงแม้วิตามินซีจะมีอยู่ในผักผลไม้หลายชนิดก็ตาม แต่สำหรับคนที่ไม่ชอบรับประทานผักผลไม้ก็นิยมหันมารับประมานวิตามินซีที่มีขายอยู่ทั่วไป จนทำให้มองข้ามความปลอดภัยจากการรับประทานวิตามินซีมากเกินจำเป็น เนื่องจากวิตามินซีทำหน้าที่เพิ่มการดูดซึมธาตุเหล็กซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่อการดูดซึมธาตุเหล็กตามข้อกระดูก มีอัตราความเสี่ยงเป็นโรคนิ่วในไตมากขึ้น และหากรับประทานวิตามินซีจำนวนมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ติดต่อกันหลายวันก็จะทำให้มีอาการท้องเสีย กระเพาะอาหารระคายเคือง จึงจำเป็นต้องมีการตรวจสอบและควบคุมปริมาณวิตามินซีในผลิตภัณฑ์อาหารเสริม เพื่อลดโอกาสการเกิดผลข้างเคียงต่อผู้บริโภค ในงานวิจัยนี้จึงพัฒนาระบบสำหรับการตรวจวัดปริมาณวิตามินซีที่มีความรวดเร็วในการวิเคราะห์ ให้ค่าความเที่ยงในการวิเคราะห์สูง และมีความน่าเชื่อถือ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) พัฒนาระบบโฟลอินเจคชันอะนาไลซีสโดยอาศัยเทคนิคสเปคโทรโฟโตเมทรีในการตรวจวัดปริมาณกรดแอสคอร์บิค

2) นำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้หาปริมาณกรดแอสคอร์บิคในผลิตภัณฑ์อาหารเสริม

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1) ศึกษาปฏิกิริยาเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิค โดยอาศัยปฏิกิริยาการรีดิวซ์ของ Fe(III)

2) พัฒนาระบบโฟลอินเจคชันอะนาไลซีสโดยอาศัยเทคนิคสเปคโทรโฟโตเมทรีในการตรวจวัด

3) ศึกษาสภาวะการทดลองที่เหมาะสมแก่การวิเคราะห์หากรดแอสคอร์บิคด้วยระบบโฟลอินเจคชันอะนาไลซีส โดยอาศัยเทคนิคสเปคโทรโฟโตเมทรี

4) ศึกษากระบวนการเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์หากรดแอสคอร์บิคในอาหารเสริม

. 5) นำวิธีที่พัฒนาขึ้นมาไปประยุกต์ใช้หากรดแอสคอร์บิคในตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริม

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีวิเคราะห์สำหรับหาปริมาณกรดแอสคอร์บิคที่มีความน่าเชื่อถือ (reliability) ทำได้ง่าย รวดเร็วและสามารถนำไปประยุกต์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิคในอาหารเสริมได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

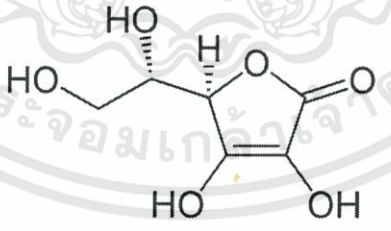
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 วิตามินซี หรือ กรดแอสคอร์บิค (Ascorbic acid)

วิตามินซีหรือชื่อทางเคมี คือ กรดแอสคอร์บิค (Ascorbic acid) เป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ และร่างกายไม่สามารถที่จะสร้างวิตามินซีได้จึงจำเป็นต้องได้จากการรับประทานเข้าไป วิตามินซีสามารถพบได้ในผักและผลไม้บางชนิด ผักและผลไม้ที่มีวิตามินซีสูง ได้แก่ ส้ม แตงโม มะละกอ องุ่น แคนตาลูป สตรอเบอร์รี่ มะม่วง กีวี่ มะเขือเทศ บร็อคโคลี่ ถั่วงอก กระหล่ำปลี และกระหล่ำดอก วิตามินซีในอาหารมี 2 รูปแบบซึ่งร่างกายสามารถนำไปใช้ได้ทั้ง 2 ชนิดคือ Ascorbic acid และ Dehydroascorbic acid ซึ่ง Ascorbic acid มีลักษณะโมเลกุลคล้ายกับน้ำตาลกลูโคสมีผลึกสีขาว และมีรสเปรี้ยว วิตามินซีเมื่อถูกออกซิไดซ์จะกลายเป็น Dehydroascorbic acid ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีความไวในการทำปฏิกิริยาทางเคมี ในร่างกายวิตามินซีร่วมในปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) รีดักชัน (Reduction) และปฏิกิริยาในการขนส่งอนุมูลไฮโดรเจน ด้วยเหตุนี้วิตามินซีจึงเป็นโมเลกุลที่มีความไวในการทำปฏิกิริยารีดักชันหรือแอนติออกซิแดนท์ที่มีความสำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปฏิกิริยาการเผาผลาญไขมัน และสามารถป้องกันไม่ให้เกิดออกซิเดชันของ Tetrahydrofolate ซึ่งเป็นโฟเลตโคเอนไซน์ ทำให้มีการดูดซึมเหล็กในรูปแบบที่เป็น non-heme ในลำไส้ให้มากขึ้น

กรดแอสคอร์บิคมีสูตรเคมีคือ $C_6H_8O_6$ (น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 176.14 กรัมต่อโมล) สูตรโครงสร้างดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 โครงสร้างกรดแอสคอร์บิค [2]

วิตามินซีสลายตัวได้เร็วที่สุดในจำพวกวิตามินด้วยกัน และมีความไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้ยังสามารถสลายตัวได้ง่ายในบรรยากาศที่มีความร้อน แสง ความชื้น โลหะหนักบางชนิด และในสิ่งแวดล้อมที่มีสภาพเป็นด่าง คุณสมบัติและปัจจัยต่างๆ เหล่านี้เป็นตัวทำให้วิตามินซีในพืชผักและผลไม้สลายตัวได้ง่าย โดยเฉพาะพืชผักและผลไม้ที่เด็ดจากต้นมาเป็นเวลานานๆ หรือนำมาผ่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการหุงต้ม ปัจจุบันได้มีการสังเคราะห์วิตามินซีเป็นอาหารเสริมเพื่อชดเชยการสูญเสียวิตามินตามธรรมชาติดังกล่าว

2.1.1 ประโยชน์ของวิตามินซี [3]

1. เสริมสร้างภูมิคุ้มกันและลดภูมิแพ้เมื่อร่างกายได้รับหรือสัมผัสกับเกสรดอกไม้ ฝุ่นละออง โปรตีนแปลกปลอมในอาหาร ฯลฯ ซึ่งมีผลให้เกิดอาการแพ้ มีไข้ ลมพิษ ผื่นคัน หายใจหอบ วิตามินซีเป็นส่วนสำคัญในการกระตุ้นกระบวนการทางเคมีโดยยับยั้งสารที่เรียกว่า ฮีสตามีน ซึ่งเป็นสารที่ร่างกายสร้างขึ้นมามากเกินไป ทำให้เลือดซึมผ่านผนังเส้นเลือดฝอยมาก เกิดผิวหนังบวมแดง มีอาการระคายเคืองตามระบบหายใจ ทำให้จามและมีน้ำมูกไหล นอกจากนี้วิตามินซียังมีความสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกัน โดยช่วยยับยั้งและต้านทานโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียและไวรัส ช่วยรักษาผิวของเม็ดเลือดขาวไม่ให้ถูกทำลาย ทำให้การเคลื่อนย้ายตัวของเม็ดเลือดขาวไปยังเชื้อโรคต่างๆ เป็นไปได้อย่างรวดเร็วขึ้น อีกทั้งยังช่วยกระตุ้นการทำงานของน้ำย่อยขณะทำลายเชื้อโรคเหล่านั้น ลดอัตราการเกิดอาการของโรคเก๊าท์ (Gout) และข้ออักเสบ (Arthritis)

2. เป็นสารต้านการออกซิไดซ์ (Antioxidant) วิตามินซีป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี จึงสามารถป้องกันการเสื่อมของเซลล์ และพบว่ามีผลในการต่อต้านการเกิดเซลล์ที่ผิดปกติต่างๆ เช่น เซลล์มะเร็ง โดยจะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ Superoxide (O_2^-) และ Hydroxyl ($^{\cdot}OH$) ป้องกันไม่ให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ซึ่งมาจากการสลายตัวของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว (Polyunsaturated Fatty Acid) วิตามินซีอาจจะทำปฏิกิริยาทางอ้อมในการป้องกันการสลายตัวของไขมันในเยื่อบุเซลล์ โดยช่วยในการสังเคราะห์วิตามินอีที่ติดกับผนังเซลล์ขึ้นมาใหม่เป็นการป้องกันโรคมะเร็ง นอกจากนี้ยังมีข้อแนะนำว่าการได้รับวิตามินซีวันละ 200 มิลลิกรัม อาจลดการเกิดไนโตรซามีน (Nitrosamine) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งในกระเพาะและตับ และวิตามินซียังสามารถสร้างคอลลาเจนซึ่งเป็นเสมือนตาข่ายคลุมเซลล์ให้พ้นจากมะเร็งด้วย อย่างไรก็ตามหากวิตามินซีนั้นมีสารประเภทไบโอฟลาโวนอยด์ (Bioflavanoid) ร่วมอยู่ด้วยก็ยิ่งเป็นการเพิ่มฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้วิตามินซียังช่วยป้องกันสารอื่นไม่ให้ถูกออกซิไดซ์ด้วย เช่น วิตามินเอ วิตามินบีหนึ่ง วิตามินบีสอง วิตามินอี และกรดแพนโทเทนิก

3. ช่วยสร้างและรักษาสภาพของคอลลาเจน วิตามินซีมีบทบาทสำคัญในการสร้างและการรักษาระดับของสารคอลลาเจน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ใช้ในการสร้างกระดูก ฟัน เส้นเอ็น และผิวหนัง คอลลาเจนประกอบด้วย ดรอกซีโพรลีน[4] ที่เป็นอนุพันธ์ของกรดแอมิโนโพรลีน ซึ่งคอลลาเจนช่วยให้กระดูกและฟันมีสภาพแข็งแรงสมบูรณ์ และซ่อมแซมเมื่อมีการแตกหักหรือร้าวบิ่น ช่วยบำรุงกระดูกและเสริมสร้างความหนาแน่นของกระดูกโดยเฉพาะบริเวณส่วนปลายกระดูกและข้อต่อ ลดอาการปวดจากโรคไขข้อต่างๆ และช่วยป้องกันโรคเลือดออกตามไรฟัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ช่วยบำรุงรักษาผิว วิตามินซีช่วยสร้างเซลล์ผิวหนังใหม่ ป้องกันการเกิดภาวะริ้วรอยก่อนวัยอันควร ช่วยต้านการเกิดเม็ดสีเมลานินอันเป็นต้นเหตุของการเกิดฝ้า ช่วยเร่งกระบวนการการรักษาแผลโดยเฉพาะแผลที่ถูกไฟไหม้ น้ำร้อนลวก อีกทั้งช่วยในการสร้างสารในหลอดเลือดฝอยซึ่งป้องกันการฟกช้ำดำเขียวหรือเลือดออกใต้ผิวหนัง การขาดวิตามินซีส่งผลให้บาดแผลหายช้าเพราะการสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่แผลไม่เป็นปกติ

5. ปฏิกิริยาต่อสารต่างๆ ในร่างกาย

ช่วยให้ร่างกายดูดซึมธาตุเหล็กได้ดีขึ้น เป็นการป้องกันโรคโลหิตจาง โดยวิตามินซีจะเปลี่ยนเหล็กในอาหารจากเฟอร์ริกไอออนให้เป็นเฟอร์รัสไอออนและยังรวมกับเหล็กที่เป็นสารอณูเล็ก ทำให้ดูดซึมได้ดีขึ้นและช่วยทำให้ทรานเฟอร์รินปลดปล่อยเหล็กออกมาสู่กระแสเลือดเพื่อนำไปใช้สร้างเฟอร์ริทิน ซึ่งธาตุเหล็กเป็นแร่ธาตุสำคัญที่ร่างกายเราใช้ในการสร้างเม็ดเลือดแดง

ช่วยเปลี่ยนกรดโฟลิคให้เป็นกรดโฟลินิคซึ่งช่วยป้องกันโรคโลหิตจางชนิดเม็ดเลือดแดงมีขนาดใหญ่ (Magaloblastic Anemia)

ช่วยในการเปลี่ยนทริปโทเฟนให้เป็นเซโรโทนิน (Serotonin) ซึ่งเป็นสารประกอบประเภทฮอร์โมน มีหน้าที่ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบและช่วยลดความดันในลูกตา ช่วยป้องกันต้อกระจกต้อหินในผู้สูงอายุ และป้องกันภาวะตาบอดเฉียบพลัน

ช่วยกระตุ้นการผลิตอินเตอร์เฟอร์รอน ซึ่งทำหน้าที่ช่วยต่อต้านเชื้อไวรัส เช่น โรคเริม ตับอักเสบ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ โรคหัด ปอดบวม เป็นต้น

ทำหน้าที่เป็นสารเร่งปฏิกิริยาของน้ำย่อยคลอเลสเตอรอล 7 โมโนออกซีจีเนส ซึ่งเป็นน้ำย่อยที่ใช้ในการเปลี่ยนคลอเลสเตอรอลให้เป็นกรดน้ำดี ทำให้ปริมาณคลอเลสเตอรอลในเลือดลดลง ลดการเสี่ยงต่อการเป็นโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด

ช่วยกระตุ้นการทำงานของน้ำย่อย การย่อย การเผาผลาญของเซลล์ภายในร่างกาย

ช่วยในกระบวนการเมตาบอลิซึมของกรดอะมิโนบางตัว เช่น ฟีนิลอะลานีน ทรอปโทเฟน และไทโรซีน

ช่วยในการสังเคราะห์คาร์นิทีนจากไลซีนและเมทไธโอนีน ซึ่งคาร์นิทีนนี้มีประโยชน์ในการเผาผลาญกรดไขมันเพื่อให้พลังงานแก่ร่างกายแบบ Active transport

ช่วยร่างกายในการหลั่งฮอร์โมนเมื่อเกิดความเครียด โดยสังเคราะห์อีพิเนฟรินและนอร์อีพิ-เนฟรินที่ต่อมหมวกไต

ลดอันตรายจากโลหะหนักหรือสารพิษต่างๆ ที่ร่างกายได้รับจากสิ่งแวดล้อม เช่น ช่วยขับสารตะกั่วออกจากร่างกายเมื่อรวมตัวกับสังกะสี

6. ผลต่อการไหลเวียนโลหิต

วิตามินซีช่วยลดการเกิดก้อนแข็งตัวในเส้นเลือด เพิ่มสมรรถนะของผนังหลอดเลือด ทำให้หลอดเลือดแดงมีความยืดหยุ่นตัวได้ดีขึ้น ทำให้ระดับความดันโลหิตอยู่ในภาวะปกติ ป้องกันการเกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาวะความดันโลหิตสูงและโรคหัวใจ ซึ่งหากใช้ร่วมกับวิตามินอีก็จะทำให้ประสิทธิภาพในการป้องกันโรคหัวใจดีขึ้น

ช่วยป้องกันอาการเลือดไหลไม่หยุด นอกจากนี้วิตามินซียังช่วยรักษาอาการท้องผูกเนื่องจากวิตามินซีจะช่วยให้กากอาหารในลำไส้ไม่แข็งตัวทำให้ขับถ่ายสะดวก เพิ่มประสิทธิภาพของยาที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ ลดอัตราการเป็นหมันในชายและทำให้สเปิร์มแข็งแรงเคลื่อนที่ได้ดีขึ้น ช่วยป้องกันโรคอัลไซเมอร์

2.1.2 ผลของการขาดวิตามินซี

โดยส่วนใหญ่แล้วการขาดวิตามินซีมักก่อให้เกิดโรคเลือดออกตามไรฟันหรือลักปิดลักเปิด (Scurvy) นอกจากนี้ยังสามารถก่อให้เกิดอาการอื่นๆ ตามมาซึ่งพบได้ทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ โดยสามารถแบ่งเป็นลักษณะกว้างๆ ได้ดังนี้

1. ทารก (Infantile Scurvy) พบในทารกที่กินนมวัวที่มีปริมาณวิตามินซีต่ำและไม่ได้รับอาหารเสริมที่ถูกต้อง เด็กจะเป็นโรคติดเชื้อง่าย เจริญเติบโตช้า เกิดภาวะโลหิตจาง ช่วงหายใจสั้น มีอาการทางประสาท อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร กระวนกระวาย มีอาการปวดตามกระดูกขาและขาบวม โดยเฉพาะบริเวณเหนือเข่าและข้อเท้า เด็กจะนอนในท่าแบะขาออกทั้ง 2 ข้าง (Scoebutic Position) ถ้าเด็กเริ่มมีฟันขึ้นมักจะมีเหงือกบวมสีคล้ำและอาจมีเลือดออก

2. ผู้ใหญ่ พบในผู้ที่ไม่ได้บริโภคอาหารผักและผลไม้สดเป็นเวลานานๆ ผู้สูงอายุหรือผู้ป่วยที่กินอาหารไม่พอต่อความต้องการของร่างกาย จากการทดลองพบว่าระยะ 2-3 เดือน หลังจากขาดวิตามินซีจะมีจุดเลือดออกเล็กๆ ที่ใต้ผิวหนังก่อน ต่อมาจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเป็นจ้ำตามผิวหนัง (Petechial Hemorrhages) เนื่องจากผนังเส้นเลือดฝอยเปราะบางเพราะมีโครงสร้างของคอลลาเจนที่ผนังเส้นเลือดฝอยไม่สมบูรณ์ ผิวหนังหยาบและมีตุ่มขึ้นตามบริเวณก้นและต้นขา ขนตามตัวหักและหดตัว เหงือกบวม เลือดออกตามไรฟัน ตาขาวมีเลือดออก นอกจากนี้ผิวหนังแห้ง ปากและตาแห้ง ผมร่วง ถ้าขาดวิตามินซีนานกว่า 3 เดือน จะมีอาการเหนื่อยง่าย ไม่มีแรง อ่อนเพลีย ปวดกล้ามเนื้อปวดตามข้อและขาทั้งสองข้าง บวมที่เท้าและข้อเท้า น้ำตาแห้ง น้ำลายแห้ง ผมร่วง ผิวหนังแห้ง ฟันอาจโยกหลุด จิตใจผิดปกติ และซึมเศร้า

2.1.3 ผลของการได้รับวิตามินซีมากเกินไป

จากเอกสารทางด้านวิชาการจากต่างประเทศจำนวนมากระบุว่า วิตามินซีเป็นวิตามินที่ปลอดภัยมากที่สุดตัวหนึ่ง มีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาถึงผลของการได้รับวิตามินซีมากเกินไป ซึ่งสรุปผลของงานวิจัยมีทั้งที่แสดงถึงข้อดีและข้อเสียจากการได้รับวิตามินซีในปริมาณมาก

ค.ศ. 1970 ดร.ไลนัส พอลิง (Linus Pauling) ได้ทำการทดลองให้วิตามินซีสูง 20-100 เท่าของปริมาณที่แนะนำเพื่อรักษาโรคหวัด พบว่าได้ผลดีและไม่เกิดอันตรายแก่ผู้ได้รับวิตามินซี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.ศ. 1971 ฮอดจส์ และเบเกอร์ (Hodges and Baker) รายงานว่าการได้รับวิตามินซีมากเกินไปประมาณ 4-9 กรัมต่อวัน จะทำให้อัตราการดูดซึมเหล็กสูงกว่าปกติและมีการเคลื่อนย้ายแคลเซียมเพิ่มขึ้นด้วย จนทำให้เกิดอุปสรรคในการรักษาโรคที่ต้องใช้ยาต้านการแข็งตัวของเลือด นอกจากนี้ยังมีผลทำให้เกิดก้อนยูริคเพิ่มขึ้น ทำให้มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเก๊าท์และเกิดก้อนออกซาเลต ทำให้มีความเสี่ยงต่อการเป็นนิ่วในกระเพาะปัสสาวะ

ค.ศ. 1974 แอนเดอร์สัน และคณะ ทำการทดลองพบว่าคนที่ได้รับวิตามินซีทุกวันเป็นหวัดน้อยกว่าคนที่ไม่ได้รับวิตามินซี และคนที่ได้รับวิตามินซีทุกวันจะหายเร็วกว่าคนที่ได้รับวิตามินซีในปริมาณต่ำ

อย่างไรก็ตามผลการศึกษาต่างๆ ระบุว่า โดยทั่วไปแล้วถือว่าวิตามินซีมีความเป็นพิษต่ำแต่ถ้ารับประทานในขนาดสูงกว่า 1000 มิลลิกรัมต่อวัน อาจทำให้เพิ่มการขับออกซาเลต (Oxalate) ออกทางปัสสาวะ ทำให้เสี่ยงต่อการตกตะกอนในทางเดินปัสสาวะซึ่งอาจก่อให้เกิดโรคนิ่วที่ไต แต่ข้อมูลนี้ยังไม่ชัดเจนพอและอาจเกิดขึ้นกับบางคนเท่านั้น แต่ถ้ารับประทานในขนาดสูงกว่า 2,000 มิลลิกรัมต่อวัน อาจทำให้เกิดอาการท้องเสีย มีแก๊สและอาการไม่สบายท้อง ดังนั้นจึงไม่ควรบริโภควิตามินซีเกินวันละ 1,000 มิลลิกรัม ในบางรายงานระบุว่าหญิงมีครรภ์ที่รับประทานวิตามินซีในขนาดสูงเป็นประจำจะทำให้ลูกเกิดโรคลักปิดลักเปิดหลังคลอด

2.1.4 ปริมาณวิตามินซีที่ร่างกายต้องการ [5]

วิตามินซีมีความสำคัญ และร่างกายไม่สามารถผลิตวิตามินซีขึ้นได้เองตลอดจนไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินซีจากกลูโคสได้ ดังนั้นทุกคนจึงควรบริโภคอาหารที่มีวิตามินซีอยู่เสมอ ส่วนปริมาณความต้องการนั้นก็ขึ้นอยู่กับแต่ละบุคคลเป็นสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณวิตามินซีที่ร่างกายต้องการต่อวัน (Recommended Daily Allowance) [5]

Recommended Daily Allowance (RCA)	
วัย	**ปริมาณที่ควรได้รับ (มิลลิกรัมต่อวัน)**
เด็กเล็ก	30-50
ผู้ใหญ่	60-90
หญิงมีครรภ์	90-95
ผู้สูบบุหรี่	92-125

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5 วิตามินซีในรูปอาหารเสริม

ตามที่ได้กล่าวแล้วว่าวิตามินซีมีอยู่ในผักและผลไม้ทั่วไป ดังนั้นหากเราบริโภคเพียงพอตามปริมาณที่ร่างกายต้องการแล้วก็ไม่มีความจำเป็นต้องพึ่งอาหารเสริมวิตามินซี อย่างไรก็ตามเนื่องจากวิตามินซีสลายตัวได้ง่าย ดังนั้นในกระบวนการปรุงและถนอมอาหารมีผลต่อการสลายตัวของวิตามินซี อาจเป็นไปได้ว่าแม้จะรับประทานผักและผลไม้ในปริมาณมาก แล้วร่างกายก็ยังไม่ได้รับวิตามินซีอย่างเพียงพอ ตรงจุดนี้จึงมีวิตามินซีในรูปอาหารเสริมจะเข้ามามีบทบาทสำคัญเพื่อชดเชยให้ร่างกายสามารถได้รับวิตามินซีในปริมาณที่เพียงพอแก่ความต้องการ

วิตามินซีในรูปแบบอาหารเสริมมีข้อดีตรงที่สามารถทราบปริมาณเป็นจำนวนมิลลิกรัมที่แท้จริง ทำให้สามารถประมาณค่าที่คาดว่าร่างกายได้รับต่อวันได้ เพื่อป้องกันการขาดหรือเกินจนส่งผลในเชิงลบต่อร่างกาย

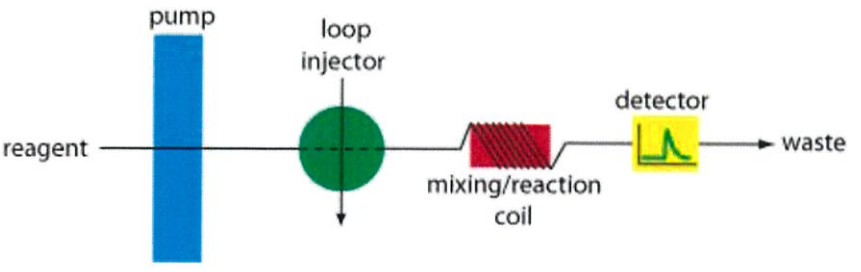
2.2 Flow Injection Analysis (FIA) [6,7]

2.2.1 หลักการของ FIA

การวิเคราะห์ทางเคมีด้วยเทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาไลซีส (flow injection analysis, FIA) ได้ถูกเสนอครั้งแรกในปี ค.ศ. 1974 โดย Ruzicka และ Hansen โดยอาศัยหลักการพื้นฐาน คือ การฉีดสารตัวอย่างปริมาตรระดับไมโครลิตรเข้าไปทางวาล์วฉีดสาร (injection valve) ของระบบเข้าสู่กระแสตัวพา (carrier) ที่เป็นสารเคมีซึ่งอาจเป็นรีเอเจนต์ (reagent) หรือตัวทำละลายที่ไหลอย่างต่อเนื่องด้วยอัตราการไหลที่เหมาะสมและคงที่ภายในท่อที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเล็ก (เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน < 1.0 มิลลิเมตร) โดยปราศจากอากาศค้น การไหลของสารตัวพาถูกควบคุมโดยการใช้ปั๊มเพอร์ริสตัลติก (peristalticpump) สารตัวอย่างจะผสมกับกระแสตัวพาและเกิดปฏิกิริยาที่ส่วนของท่อขด (mixing coil) จากนั้นจะเกิดกระบวนการต่างๆทางเคมีและทางกายภาพทำให้สารเกิดการเปลี่ยนแปลง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะไหลต่อไปสู่โฟลทรูเซลล์ (flow through cell) ของเครื่องตรวจวัด (detector) เพื่อวัดสัญญาณของผลิตภัณฑ์ออกมาในรูปของค่าการดูดกลืนแสงหรือค่าศักย์ไฟฟ้า

2.2.2 เครื่องมือพื้นฐานของระบบ FIA

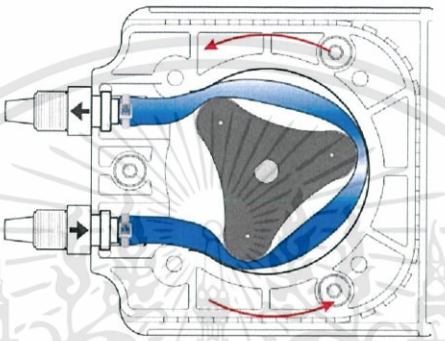
ระบบ FIA สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ส่วนแสดงดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 แสดงส่วนประกอบของระบบ FIA อย่างง่าย [8]

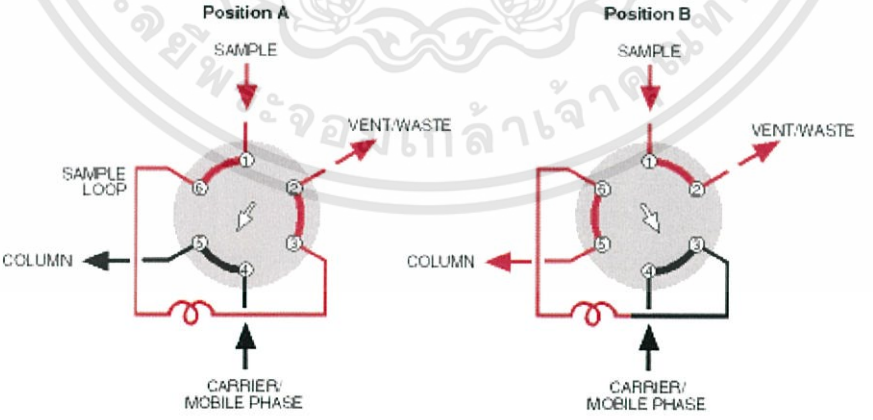
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) หน่วยลำเลียงสารละลาย (Propelling unit) เป็นหน่วยซึ่งสามารถลำเลียงสารละลายตั้งแต่หนึ่งสารละลายขึ้นไป การลำเลียงต้องให้มีอัตราการไหลที่คงที่ตลอดการทดลอง ซึ่งในการทดลองนี้จะใช้ peristaltic pump ซึ่งปั๊มชนิดนี้จะประกอบด้วยชุดของตัวหมุน (rotors) ซึ่งสามารถควบคุมให้มีความเร็วคงที่หมุนบีบสายยาง (pump tube) ทำให้สารละลายถูกลำเลียงไปได้ตามทิศทางการหมุนของตัวหมุนดังแสดงในรูปที่ 2.3 โดยที่สายยางที่ใช้จำเป็นต้องเลือกให้เหมาะสมกับสารละลายหรือตัวทำละลายที่จะถูกลำเลียง



รูปที่ 2.3 แสดงการทำงานของ Peristaltic pump [6]

2) ระบบฉีดสารละลาย (Injection system) เป็นระบบที่ใช้ฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าระบบ FIA โดยที่สามารถควบคุมให้การฉีดแต่ละครั้งมีปริมาตรเท่ากันตลอดการทดลอง ในปัจจุบันจะใช้วิธีการสอดแทรกแทนการฉีดและเครื่องมือที่นิยมใช้ ได้แก่ rotary valve ซึ่งการทำงานของ four - way injection valve แสดงดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงการทำงานของ four - way injection valve [6]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) หน่วยที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาต่างๆ และอาจรวมถึงกระบวนการต่างๆ ที่เติมเข้าไปในระบบ (Reaction zone and addition process) ในหน่วยนี้ประกอบด้วยสายลำเลียงสารละลายต่างๆ ซึ่งอาจทำด้วยแก้วหรือพลาสติกที่ทนต่อสารเคมีต่างๆ ส่วนข้อต่อจะมีหลายรูปแบบเช่นข้อต่อ 2 ทาง ข้อต่อ 3 ทาง และข้อต่อ 4 ทาง ขึ้นอยู่กับลักษณะการใช้งาน

4) หน่วยวัดสัญญาณ (Sensing system หรือ Detection system) เป็นหน่วยที่วัดสัญญาณจากสารตัวอย่างที่เราสนใจ Detection system ที่ใช้ในระบบ FIA มีหลายรูปแบบ การเลือกใช้ขึ้นอยู่กับธรรมชาติของปฏิกิริยาของระบบที่กำลังศึกษา โดยทั่วไปพบว่าเครื่องมือที่ใช้ในเคมีวิเคราะห์เกือบทุกชนิดสามารถนำมาใช้เป็น detection system ใน FIA ได้เช่น ICP, spectrophotometer, spectrofluorometer, atomic absorption spectrometer และเครื่องมือทางด้านไฟฟ้าเคมีบางชนิด เป็นต้น

ข้อดีของเทคนิค FIA คือ มีความเที่ยงสูงและพัฒนาให้เป็นระบบวิเคราะห์แบบอัตโนมัติได้ มีการใช้สารตัวอย่างในปริมาณน้อย และใช้อุปกรณ์ราคาถูกกว่าเทคนิคหรือเครื่องมืออื่นอีกหลายชนิด

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซี

2.3.1 เทคนิค Liquid chromatography

Inga Klimczak และคณะ [9] ได้ทำการเปรียบเทียบการหาปริมาณวิตามินซี ระหว่างเทคนิค Ultra performance liquid chromatography (UPLC) และ high-performance liquid chromatography (HPLC) โดยตรวจวัดปริมาณวิตามินซีที่อยู่ในรูป ascorbic acid (AA) และ total ascorbic acid (TAA, ปริมาณรวมของ AA และ dehydroascorbic acid ที่เกิดปฏิกิริยารีดักชันไปเป็น AA) ทั้งที่อยู่ในน้ำผลไม้และยา โดยเริ่มจากนำตัวอย่างน้ำผลไม้มาผสมกับ 10% meta-phosphoric acid ด้วยเครื่อง vortex และนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อนำส่วนสารละลายใสฉีดเข้าสู่ HPLC หรือ UPLC column (ปรับปริมาตรตัวอย่างด้วย 10% meta-phosphoric acid ให้มีอัตราส่วน 1:5 หรือ 1:10 ตามลำดับก่อนฉีดเข้าสู่ HPLC หรือ UPLC) ถ้าเป็นการหาปริมาณวิตามินซีรวม (TAA) ใช้ 5% DTT ผสมกับตัวอย่างในตอนแรกแทนการใช้ 10% meta-phosphoric acid สำหรับการหาปริมาณวิตามินซีที่อยู่ในรูปของเม็ดยาเตรียมได้โดยนำมาละลายและปรับปริมาตรด้วย 10% meta-phosphoric acid ให้มีอัตราส่วน 1:50 หรือ 1:150 ก่อนฉีดเข้าสู่ HPLC หรือ UPLC column ตามลำดับ ในการวิเคราะห์ด้วย HPLC จะใช้ LiChrospher C18 column ซึ่งยาวกว่า ACQUITY UPLC BEH C18 column ของ UPLC โดยมีอัตราการไหลของ mobile phase ที่ใช้เท่ากับ 0.8 mL min^{-1} และ 0.2 mL min^{-1} ส่วน injection volume เท่ากับ 20 µL และ 5 µL สำหรับ HPLC และ UPLC ตามลำดับ ทั้งสองวิธีใช้ mobile phase เป็นระบบ gradient ซึ่ง mobile phase ที่ใช้คือเมทานอล และ KH_2PO_4 (pH 2.65) เวลาที่ใช้วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC และ UPLC เท่ากับ 15 นาที และ 6 นาที ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ได้ %RSD สำหรับการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิเคราะห์ซ้ำ 6 ครั้งของทั้งสองเทคนิคมีค่าน้อยกว่า 5% ซึ่งการวิเคราะห์ด้วย UPLC ให้ %RSD ต่ำกว่าการวิเคราะห์ด้วย HPLC ในการวิเคราะห์วิตามินซีที่อยู่ในน้ำผลไม้และที่อยู่ในรูปของเม็ดยา ค่า LOD ของเทคนิค HPLC เท่ากับ 0.049 μg ml^{-1} และ LOD ของเทคนิค UPLC เท่ากับ 0.024 μg ml^{-1} ค่า LOQ ของเทคนิค HPLC และ UPLC เท่ากับ 0.149 μg ml^{-1} และ 0.073 μg ml^{-1} ตามลำดับ

เทคนิค UPLC และ HPLC เหมาะกับงานวิเคราะห์หาวิตามินซีทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ แต่เทคนิค UPLC มีความเร็วในการวิเคราะห์เนื่องจากคอลัมน์ที่สั้นของ UPLC ทำให้ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยลง ประหยัดตัวทำละลาย และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม อีกทั้งยังมี sensitivity สูงกว่าทำให้ได้ค่า LOD ที่ต่ำกว่าเทคนิค HPLC อย่างไรก็ตามทั้ง UPLC และ HPLC เป็นเครื่องมือขนาดใหญ่จึงยากต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ภาคสนาม และเป็นเทคนิคที่ต้องการตัวอย่างที่มีความบริสุทธิ์สูง จำนวนตัวอย่างที่สามารถวิเคราะห์ได้ต่อวันทำได้น้อย

2.3.2 เทคนิค Calorimetry

M.L. Antonelli และคณะ [10] ได้พัฒนาเทคนิค Microcalorimetry ในการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในอาหารบางชนิดและตัวอย่างยา โดยการวัดปริมาณความร้อนที่เปลี่ยนแปลง อาศัยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของวิตามินซี โดยใช้ enzyme ascorbate oxidase (A.O.) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ในสภาวะ pH 5.6 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดปริมาณวิตามินซีในช่วงความเข้มข้น 35 - 270 mg L^{-1} และใช้เวลาในการวิเคราะห์ตัวอย่างประมาณ 5 นาที แต่ต้องใช้เวลาในการรอให้เครื่องกลับมาสู่อุณหภูมิเริ่มต้นอีก 15 นาที

เทคนิค Calorimetry เป็นเทคนิคที่ไม่ยุ่งยากในการเตรียมตัวอย่าง สามารถนำตัวอย่างมาตรวจวัดโดยตรงได้เลย อย่างไรก็ตามเนื่องจากวิตามินซีสามารถสลายตัวได้ง่ายในสภาวะที่มีความร้อน ดังนั้นการวิเคราะห์โดยอาศัยความร้อนนี้อาจทำให้วิตามินซีบางส่วนถูกทำลายไปก่อนการตรวจวัด

2.3.3 เทคนิค Electrochemistry

SelehattinYilmaz และคณะ [11] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่สามารถหาปริมาณวิตามินซีในยาและน้ำผลไม้บางชนิด โดยการอาศัยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของวิตามินซีและถูกตรวจวัดด้วยขั้ว glassy carbon electrode ในสารละลายที่มีค่า pH 0.64 - 10.15 แล้วนำไปตรวจวัดด้วยเทคนิค cyclic voltammetry (CV) และ differential pulse voltammetry (DPV) เทคนิคนี้ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดปริมาณวิตามินซีในช่วงความเข้มข้น 6×10^{-6} mol L^{-1} ถึง 8×10^{-4} mol L^{-1}, ค่า LOD ของเทคนิคนี้เท่ากับ 5.17×10^{-7} mol L^{-1} และค่า LOQ ของเทคนิคนี้เท่ากับ 1.72×10^{-6} mol L^{-1}

Vijaykumar S. Ijeri และคณะ [12] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ที่สามารถหาปริมาณวิตามินซีในเม็ดวิตามินรวม น้ำผลไม้และไวน์ โดยออกแบบขั้ว carbon paste electrodes ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

azamacrocycles เพื่อใช้กระตุ้นปฏิกิริยาออกซิเดชันของวิตามินซีและเพิ่มสัญญาณของการตรวจวัด มีการใช้สารประกอบสังกะสีเป็นพื้นผิวหน้าขั้วอิเล็กโทรดเพื่อลดศักย์ไฟฟ้าที่มากเกินสำหรับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของวิตามินซี แล้วนำไปตรวจวัดด้วยเทคนิค differential pulse voltammetry (DPV) ให้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดปริมาณวิตามินซีในช่วงความเข้มข้น 0.6 $\mu g\ cm^{-3}$ ถึง 500 $\mu g\ cm^{-3}$ และค่า LOD ของเทคนิคนี้เท่ากับ 0.1 $\mu g\ cm^{-3}$

เทคนิค Electrochemistry เป็นเทคนิคที่ง่าย มีความจำเพาะเจาะจงกับสิ่งที่ต้องการวิเคราะห์ เทคนิคนี้ให้ผลที่ถูกต้อง มีความแม่นยำสูง และมีความรวดเร็วในการวิเคราะห์เนื่องจากได้ทำการออกแบบขั้วอิเล็กโทรดดังกล่าว และยังสามารถนำมาใช้กับตัวอย่างได้โดยไม่ต้องทำการสกัด การแยก การกรอง หรือการเตรียมตัวอย่างที่ซับซ้อน แต่เนื่องจากการวิเคราะห์เพียงรูปใดรูปหนึ่งของสารโดยวิธีนี้อาจไม่มีประโยชน์ เพราะบางครั้งจำเป็นต้องหาปริมาณสารทั้งหมด อีกทั้งขั้นตอนการเตรียมอิเล็กโทรดมีความยุ่งยากซับซ้อน และมีความเสถียรของสัญญาณต่ำ

2.3.4 เทคนิค Spectrophotometry

S.P. Arya และคณะ [13] ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในหลายกลุ่มตัวอย่าง โดยอาศัยการที่วิตามินซีทำปฏิกิริยากับเหล็ก (III) และถูกรีดิวซ์ไปเป็นเหล็ก (II) แล้วเกิดสารประกอบระหว่างเหล็ก (II) กับ 4-(2-pyridylazo)resorcinol (PAR) จากนั้นนำไปสกัดต่อในสารละลาย *n*-butanol เกิดเป็นสารสกัดสีน้ำตาลแดงและตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 710 nm ซึ่งใช้เวลาวิเคราะห์เพียง 5 นาทีต่อหนึ่งตัวอย่าง

เทคนิค Spectrophotometry เป็นเทคนิคที่ง่ายใช้เครื่องมือที่มีราคาถูก ขั้นตอนการวิเคราะห์ไม่ยุ่งยากซับซ้อน สามารถวิเคราะห์ได้หลายกลุ่มตัวอย่างทั้งตัวอย่างทางชีวภาพและผลิตภัณฑ์อาหาร แต่มี sensitivity และ selectivity ต่ำ จำเป็นต้องอาศัยการทำปฏิกิริยาต่างๆ เพื่อช่วยเพิ่ม sensitivity และ selectivity

2.3.5 เทคนิค Flow injection analysis

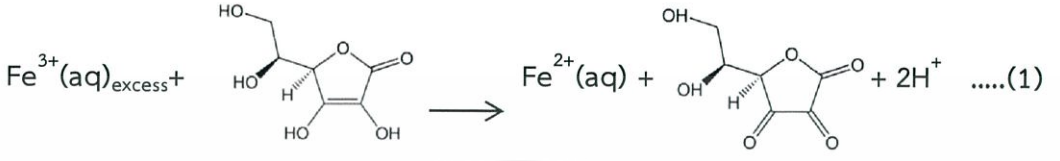
Kate Grudpan และคณะ [14] ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีโดยประยุกต์ระบบ flow injection เข้ากับการตรวจวัดด้วยเทคนิค spectrophotometry และ conductometry สำหรับเทคนิค flow injection spectrophotometry เป็นการวัดค่าการดูดกลืนแสงจากการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดจากปฏิกิริยารีดอกซ์ของวิตามินซีกับ acidic potassium permanganate โดยติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 nm และสำหรับเทคนิค flow injection conductometry เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาสะเทินระหว่างวิตามินซีกับสารละลายแอมโมเนีย

เทคนิคนี้มีความรวดเร็วในการวิเคราะห์สามารถวิเคราะห์ได้ 90 ตัวอย่างต่อชั่วโมง และใช้สารตัวอย่างในปริมาณน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 งานวิจัยที่พัฒนา

งานวิจัยนี้เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิค โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาของ Fe(III) กับ กรดแอสคอร์บิค ซึ่ง Fe(III) จะถูกรีดิวซ์โดยวิตามินซี ดังปฏิกิริยาที่ 1



ascorbic acid [15] dehydroascorbic acid [15]

จากนั้นติดตามปริมาณ Fe(III) ที่เหลือโดยการทำปฏิกิริยากับ Potassium thiocyanate (KSCN) จะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มแดง [16] ที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 458 นาโนเมตร ดังปฏิกิริยาที่ 2

$$Fe^{3+}(aq)_{existing} + SCN^{-}(aq) \longrightarrow FeSCN^{2+}(aq) \quad .....(2)$$

สารประกอบสีน้ำตาลแดง

จากปฏิกิริยาข้างต้น ปริมาณกรดแอสคอร์บิคจะแปรผกผันกับค่าการดูดกลืนแสงของ $FeSCN^{2+}$ ที่เกิดขึ้น นอกจากนี้งานวิจัยได้มีการพัฒนาระบบ FIA ร่วมกับการตรวจวัดด้วยเทคนิค Spectrophotometry สำหรับการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิค โดยระบบที่พัฒนาขึ้นมีความรวดเร็วในการวิเคราะห์ ให้ค่าความเที่ยงในการวิเคราะห์สูง และมีความน่าเชื่อถือในการนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

1) กรดแอสคอร์บิค (ascorbic acid) [$C_6H_8O_6$] เกรดคุณภาพวิเคราะห์ ของบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา

2) แอมโมเนียมเฟอร์ริกซัลเฟตโดเดคะไฮเดรต (ammonium-ferric-sulfate-dodecahydrate) [$FeNH_4(SO_4)_2$].12H_2O] เกรดคุณภาพวิเคราะห์ ของบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา

3) โพแทสเซียมไทโอไซยาเนต (potassium thiocyanate) [KSCN] เกรดคุณภาพวิเคราะห์ ของบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา

4) กรดซัลฟิวริก (sulfuric acid) [$H_2SO_4 \cdot H_2O$] เกรดคุณภาพวิเคราะห์ ของบริษัท Thomas baker ประเทศอินเดีย

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1) บีกเกอร์ (ขนาด 1000, 500, 100, 50 มิลลิลิตร)

2) ไมโครปิเปต (ขนาด1000, 5000 ไมโครลิตร)

3) ขวดวัดปริมาตร (ขนาด 100, 50, 25 มิลลิลิตร)

4) แท่งแก้วคนสาร

5) ช้อนตักสาร

6) กระบอกน้ำกลั่น

7) เครื่องชั่งน้ำหนักความละเอียด 4 ตำแหน่ง (AUX220 SHIMADZU, JP)

8) เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ (jasco v-630, USA)

9) กระบอกฉีดยา

10) Syringe Filters Nylon ขนาด 0.22 µm

11) นาฬิกาจับเวลา

12) อุปกรณ์สำหรับสร้างระบบโฟลอินเจคชัน ได้แก่

12.1 Peristaltic pump ของบริษัท ISMATEC

12.2 Pump tube ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.95 มิลลิเมตร

12.3 PTFE tube ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 1.0 มิลลิเมตร

12.4 Flow through cell สำหรับเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปคโทรโฟโตมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการเตรียมสารเคมี

3.2.1 สารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 25, 50, 100, 200, 250 µM

ชั่งกรดแอสคอร์บิค 0.0440 กรัม แล้วนำมาละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร สารละลายที่ได้นี้คิดเป็นความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิคเท่ากับ 0.01 M จากนั้นปิเปตสารละลายที่เตรียมข้างต้นมา 0.25, 0.5, 1, 2 และ 2.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3.2.2 กรดซัลฟิวริก เข้มข้น 0.025 M

นำกรด H_2SO_4 (conc. 98 % w/v) มาประมาณ 340 ไมโครลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 250 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3.2.3 สารละลาย $[FeNH_4(SO_4)_2]\cdot 12H_2O$ เข้มข้น 0.002 M

ชั่ง $[FeNH_4(SO_4)_2]\cdot 12H_2O$ มา 0.2411 กรัม แล้วละลายด้วย 0.025 M H_2SO_4 ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย 0.025 M H_2SO_4

3.2.4 สารละลาย KSCN เข้มข้น 0.025 M

ชั่ง KSCN มา 0.6074 กรัม แล้วละลายด้วยน้ำกลั่น ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3.2.5 การเตรียมสารตัวอย่าง

ตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ คือ อาหารเสริมวิตามินซี A,B และ C โดยมีขั้นตอนการเตรียมดังนี้

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 1 เม็ด และจดบันทึก
2. บดตัวอย่างแต่ละชนิดให้ละเอียด แล้วละลายน้ำด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
3. นำสารละลายตัวอย่างมากรองผ่าน Syringe Filters ขนาด 0.22 µm

สารตัวอย่างแต่ละชนิดมีปริมาณกรดแอสคอร์บิคเป็นองค์ประกอบแตกต่างกัน จึงต้องมีการเจือจางสารตัวอย่างหลังผ่านการกรองอย่างเหมาะสมก่อนนำไปวิเคราะห์ โดยมีวิธีการเจือจางสารตัวอย่าง ดังตารางที่ 3.1

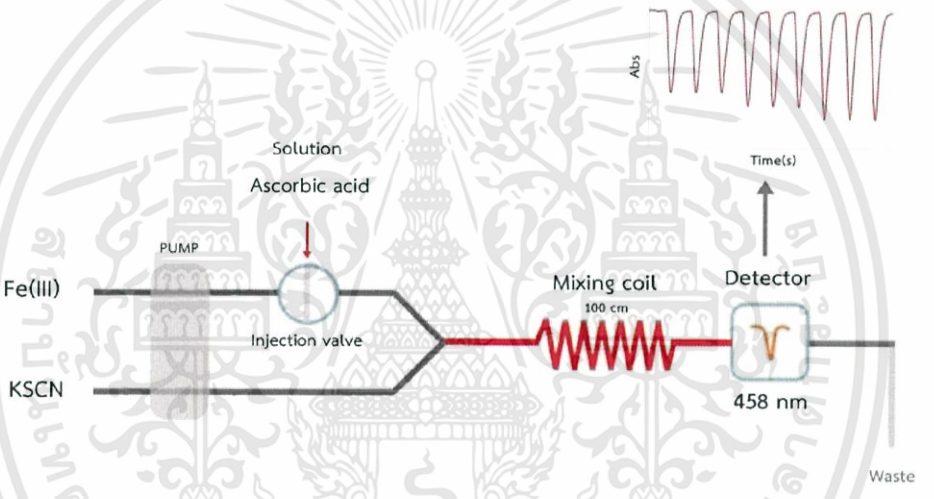
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

สารตัวอย่าง	ปริมาตรตัวอย่างที่ปิเปต	ขนาดขวดวัดปริมาตร
A	88 µL	100 mL
B	176 µL	100 mL
C	3.52 mL	100 mL

จากตารางที่ 3.1 ทำการปิเปตมาตามตาราง และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3.3 การสร้างระบบโฟลอินเจคชัน (FIA) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิค



รูปที่ 3.1 ระบบโฟลอินเจคชัน (FIA) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิค

จากรูปที่ 3.1 ระบบโฟลอินเจคชัน อาศัยการทำงานของ Peristaltic pump ช่วยในการเคลื่อนที่ของ Fe(III) และ KSCN ซึ่งทำหน้าที่เป็น Carrier และ Reagent เมื่อทำการฉีดสารละลายกรดแอสคอร์บิคปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผ่าน injection valve เข้ามาในกระแสตัวพา Fe(III) จะถูกรีดิวซ์ด้วยกรดแอสคอร์บิคกลายไปเป็น Fe(II) จากนั้น Fe(III) ที่เหลือจะเข้าทำปฏิกิริยากับ KSCN ภายในส่วนของ mixing coil เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มแดงของ $FeSCN^{2+}$ และถูกตรวจวัดสัญญาณค่าการดูดกลืนแสงที่ 458 นาโนเมตรโดยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ กราฟของสัญญาณที่ได้จะมีลักษณะเป็นกราฟหัวกลับ เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมีแนวโน้มลดลงเมื่อมีความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิคเพิ่มมากขึ้น ตัวอย่างสัญญาณที่ได้แสดงดังรูปที่ 3.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

3.4 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

3.4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิค

3.4.1.1 ศึกษาความเข้มข้นของ $[FeNH_4(SO_4)_2]\cdot 12H_2O$

1. ใช้สารละลาย 0.0005 M $[FeNH_4(SO_4)_2]\cdot 12H_2O$ และ 0.025 M KSCN

2. ฉีดสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 0, 50, 100 และ 250 μM ปริมาตร 300 μL ลงในระบบดังรูปที่ 3.1

3. จดบันทึกสัญญาณที่ถูกตรวจวัดด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ ณ ตำแหน่ง base line และยอดพีค และทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

4. ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-3 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลาย $[FeNH_4(SO_4)_2]\cdot 12H_2O$ เป็นความเข้มข้น 0.001, 0.002 และ 0.005 M ตามลำดับ

3.4.1.2 ศึกษาความเข้มข้นของ KSCN

1. ใช้สารละลาย 0.005 M KSCN และ 0.002 M $[FeNH_4(SO_4)_2]\cdot 12H_2O$

2. ฉีดสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 0, 50, 100 และ 250 μM ปริมาตร 300 μL ลงในระบบดังรูปที่ 3.1

3. จดบันทึกสัญญาณที่ถูกตรวจวัดด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ ณ ตำแหน่ง base line และยอดพีค และทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

4. ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-3 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลาย KSCN เป็นความเข้มข้น 0.01, 0.025 และ 0.05 M ตามลำดับ

3.4.1.3 ศึกษาความเข้มข้นของ H_2SO_4

1. ใช้ 0.01 M H_2SO_4 เป็นตัวทำละลาย $[FeNH_4(SO_4)_2]\cdot 12H_2O$ ให้ได้สารละลายเหล็กเข้มข้น 0.002 M และใช้ KSCN เข้มข้น 0.025 M

2. ฉีดสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 0, 50, 100 และ 250 μM ปริมาตร 300 μL ลงในระบบดังรูปที่ 3.1

3. จดบันทึกสัญญาณที่ถูกตรวจวัดด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ ณ ตำแหน่ง base line และยอดพีค และทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

4. ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-3 โดยเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลาย H_2SO_4 ที่เป็น ตัวทำละลาย $[FeNH_4(SO_4)_2]\cdot 12H_2O$ เป็นความเข้มข้น 0.025, 0.05, 0.1 และ 0.25 M

148991

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

3.4.1.4 ศึกษาอัตราการไหลของสาร (Flow rate)

1. ตั้งอัตราการไหลที่ 0.5 ml min^{-1}

2. ฉีดสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 0 และ 100 µM ปริมาตร 300 µL ลงในระบบดังรูปที่ 3.1

3. จดบันทึกสัญญาณที่ถูกตรวจวัดด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ ณ ตำแหน่ง base line และยอดพีค และทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

4. ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-3 โดยเปลี่ยนอัตราการไหล เป็น 1, 1.5 และ 2.0 ml min^{-1}

3.4.1.5 ศึกษาปริมาณสารที่เข้าทำปฏิกิริยา (Injection volume)

1. ใช้ท่อ Injection loop ที่มีปริมาตรเท่ากับ 100 ไมโครลิตร

2. ฉีดสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 0 และ 250 µM ปริมาตร 100 µL ลงในระบบดังรูปที่ 3.1

3. จดบันทึกสัญญาณที่ถูกตรวจวัดด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ ณ ตำแหน่ง base line และยอดพีค และทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

4. ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-3 โดยเปลี่ยน Injection loop ให้มีปริมาตรเท่ากับ 300, 400 และ 500 ไมโครลิตร

3.4.2 ขั้นตอนการสร้างกราฟมาตรฐาน และการทดลองตัวอย่าง

3.4.2.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ใช้สารละลาย 0.002 M $[FeNH_4(SO_4)_2]\cdot 12H_2O$, 0.025 M KSCN และ 0.025 M H_2SO_4

2. ฉีดสารละลายแบลงค์ (น้ำกลั่น) ปริมาตร 300 µL ผ่านระบบที่มีอัตราการไหล 1.5 mL min^{-1} ลงในระบบดังรูปที่ 3.1

3. จดบันทึกสัญญาณที่ถูกตรวจวัดด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ ณ ตำแหน่ง base line และยอดพีค และทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

4. ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-2 โดยเปลี่ยนสารละลายแบลงค์เป็นสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 25, 50, 100, 200 และ 250 µM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิคในตัวอย่าง

1. ฉีดสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 300 µL ลงในระบบดังรูปที่ 3.1

2. จดบันทึกสัญญาณที่ถูกตรวจวัดด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ ณ ตำแหน่ง base line และยอดพีค และทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

3. คำนวณหาความเข้มข้นของปริมาณกรดแอสคอร์บิค โดยการเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิค

3.4.3 ขีดจำกัดต่ำสุดสำหรับการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

1. ฉีดสารละลายแบลงค์ปริมาตร 300 µL ลงในระบบดังรูปที่ 3.1

2. จดบันทึกสัญญาณที่ถูกตรวจวัดด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ ณ ตำแหน่ง base line และยอดพีค และทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

3. นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่า LOD และ LOQ โดยใช้สูตรในการคำนวณหาค่า LOD เท่ากับ $\frac{3SD}{slope}$ และ ค่า LOQ เท่ากับ $\frac{10SD}{slope}$

เมื่อ SD คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายแบลงค์

Slope คือ ค่าความชันที่ได้จากกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิค

3.4.4 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation, RSD)

จากการทำการทดลองข้อ 3.4.3 นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่า %RSD จากสูตรต่อไปนี้

ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์หาได้จาก $\%RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$

เมื่อ SD คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายแบลงค์

$\bar{X}$ คือ ค่าเฉลี่ย peak height ของสารละลายแบลงค์

3.4.5 ค่าวิเคราะห์คืนกลับ (Recovery)

สูตรในการคำนวณหาค่า %Recovery คือ

$$\%Recovery = \frac{Spiked\ sample - Sample}{Standard} \times 100$$

เมื่อ Spiked sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน

Standard คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. เตรียม Spiked sample โดยปิเปตสารละลายตัวอย่างดังตารางที่ 3.1 ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 0.01 M ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

2. ทำการฉีด Spiked sample แล้วจดบันทึกสัญญาณที่ตรวจวัดด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ ณ ตำแหน่ง base line และยอดพีค แล้วทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

3. คำนวณหาความเข้มข้นของปริมาณกรดแอสคอร์บิค โดยการเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิค

4. ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-3 เตรียมสารละลายตัวอย่างโดยไม่มีการเติมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิคลงไป

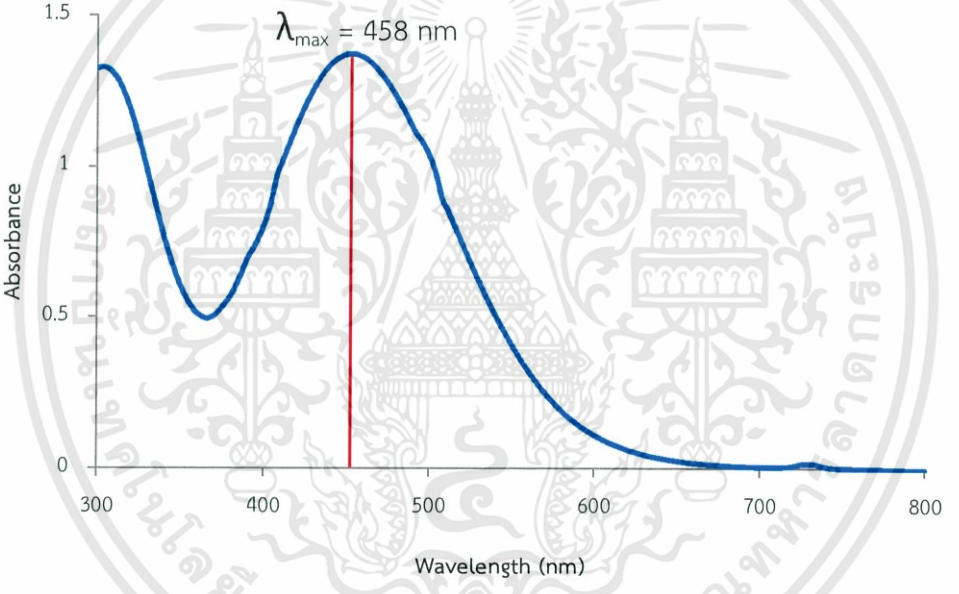
5. นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่า %Recovery

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ศึกษาความเป็นไปได้ของปฏิกิริยา

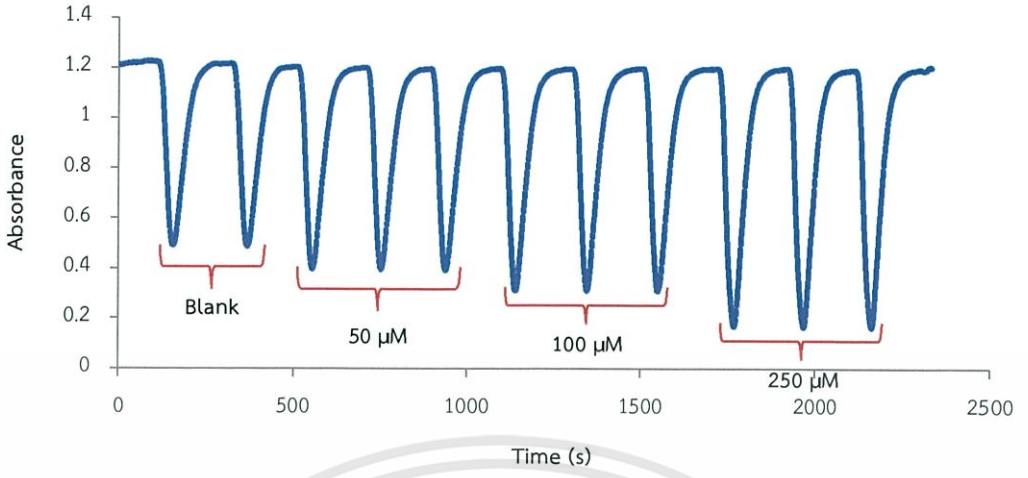
งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาปริมาณกรดแอสคอร์บิคในตัวอย่างอาหารเสริม โดยอาศัยปฏิกิริยาการรีดิวซ์ Fe(III) ให้กลายเป็น Fe(II) โดยกรดแอสคอร์บิคจากนั้น Fe(III) ที่เหลือจะทำปฏิกิริยากับ KSCN เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มแดง [14] ซึ่งสามารถตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปคโทรโฟโตเมทรี ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 458 นาโนเมตร แสดงดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 สเปกตรัมค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อน $FeSCN^{2+}$

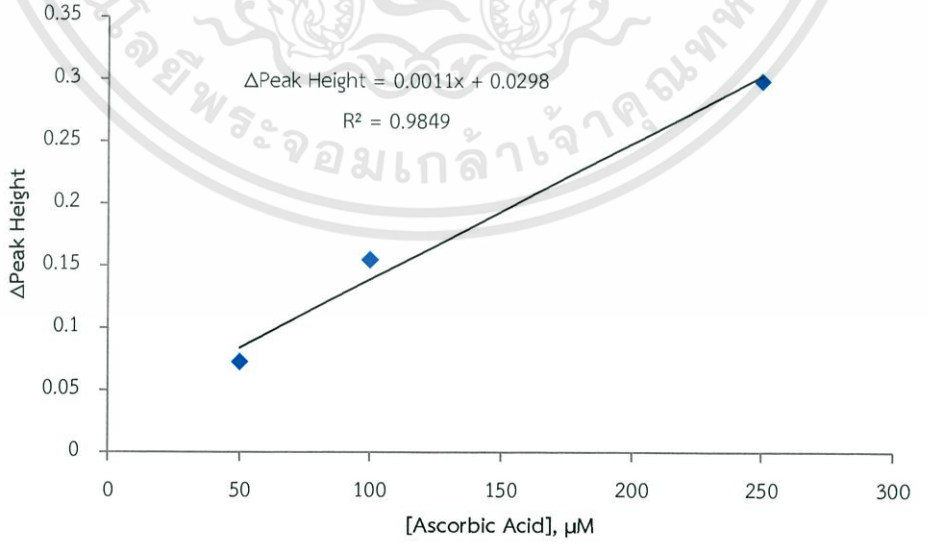
เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นวิธีที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการศึกษาความเป็นไปได้ของระบบโฟลอินเจคชั่น ภายใต้สภาวะการทดลองเมื่อใช้ 0.0015 M Fe(III) ใน 0.1 M H_2SO_4 และ 0.025 M KSCN ซึ่งมีอัตราการไหล 1 ml min^{-1} และทำการทดลองระบบดังรูปที่ 3.1 โดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิคที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0 - 250 µM ปริมาตร 300 µL และตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อนเหล็ก ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมีแนวโน้มลดลงเมื่อมีความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิคเพิ่มมากขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 สัญญาณของสารประกอบเชิงซ้อน $FeSCN^{2+}$ เมื่อมีความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิคที่แตกต่างกัน โดยสภาวะที่ทำการทดลอง คือ 0.0015 M Fe(III) ใน 0.1 M H_2SO_4 และ 0.025 M KSCN

จากสัญญาณในรูปที่ 4.2 นำค่าความสูงพีคมาการสร้างกราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิคในช่วงความเข้มข้น 0 – 250 µM ดังแสดงรูปที่ 4.3 จากกราฟแสดงให้เห็นว่า Δpeak height แปรผันตรงกับความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิค ดังนั้น วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำไปใช้ตรวจวัดปริมาณกรดแอสคอร์บิค โดยที่ Δpeak height คือ ผลต่างระหว่างความสูงพีคของสารละลายแบลงค์กับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิค



รูปที่ 4.3 กราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิคที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยสภาวะที่ทำการทดลอง คือ 0.0015 M Fe(III) ใน 0.1 M H_2SO_4 และ 0.025 M KSCN

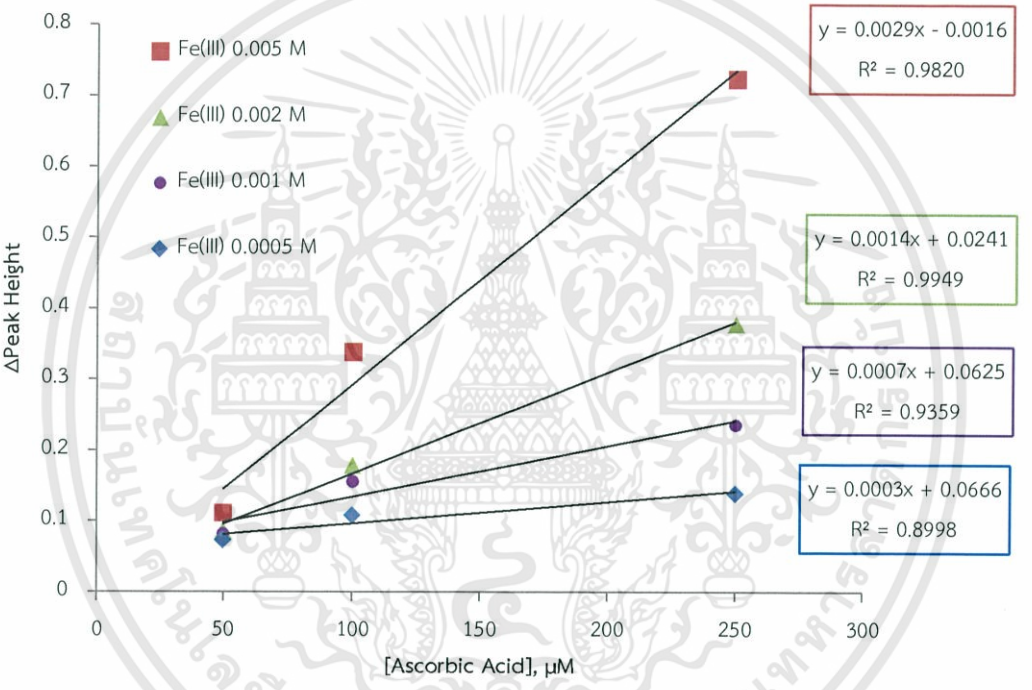
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง

4.2.1 ศึกษาความเข้มข้นของ Fe(III)

ปฏิกิริยาที่ใช้ในงานวิจัยนี้อาศัยปฏิกิริยาการรีดิวซ์ Fe(III) ให้กลายเป็น Fe(II) โดยกรดแอสคอร์บิค เพื่อให้ Fe(III) ที่เหลือสามารถไปทำปฏิกิริยากับ KSCN ต่อได้ ดังนั้นปริมาณของ Fe(III) ที่ใช้จะต้องมีปริมาณมากเกินพอ จึงทำการทดลองเพื่อหาปริมาณของ Fe(III) ที่เหมาะสม โดยความเข้มข้นของ Fe(III) ที่เลือกศึกษาคือ 0.0005, 0.001, 0.002 และ 0.005 M

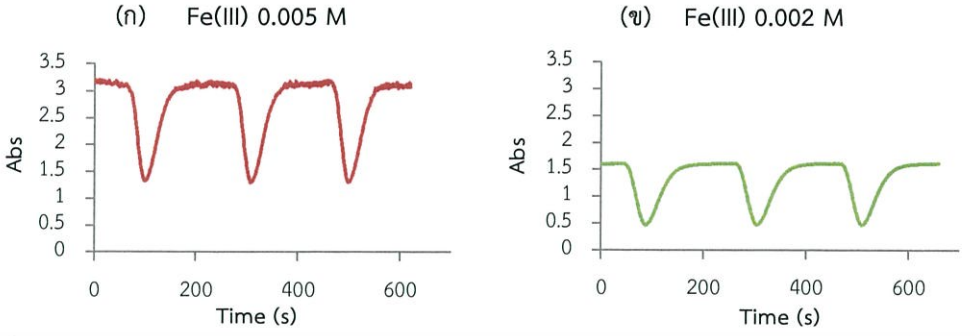
จากการทดลองพบว่า ΔPeak Height เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ Fe(III) ดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิคเมื่อใช้ Fe(III) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันและ KSCN ที่ความเข้มข้น 0.025 M

อย่างไรก็ตามพบว่า เมื่อใช้ Fe(III) ที่ความเข้มข้น 0.005 M ทำให้เกิด base line ของสัญญาณตรวจวัดไม่คงที่ ในทางตรงกันข้าม Fe(III) ความเข้มข้น 0.002 M ให้ base line คงที่ ดังรูปที่ 4.5 (ก) และ (ข) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ Fe(III) ที่ความเข้มข้น 0.002 M

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

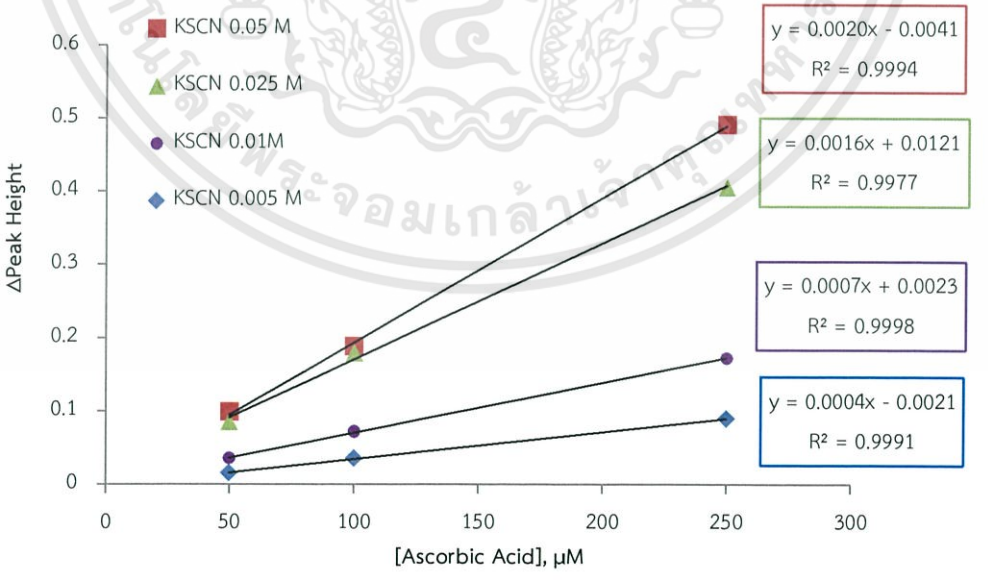


รูปที่ 4.5 สัญญาณค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกรดแอสคอร์บิคเข้มข้น 100 µM เมื่อใช้ Fe(III) ความเข้มข้น (ก) 0.005 M และ (ข) 0.002 M เป็นสารละลายตัวพา

4.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของ KSCN

ในการหาปริมาณกรดแอสคอร์บิคจำเป็นต้องอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่าง Fe(III) ที่เหลือจากการถูกรีดิวซ์ทำปฏิกิริยากับ KSCN ซึ่งปริมาณของ KSCN ที่ใช้ต้องมีปริมาณที่มากเกินพอ เพื่อให้มั่นใจว่า KSCN จะสามารถไปทำปฏิกิริยากับ Fe(III) ที่เหลือได้จนหมด ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาหาความเข้มข้นของ KSCN ที่เหมาะสม โดยความเข้มข้นของ KSCN ที่ศึกษาคือ 0.005, 0.01, 0.025 และ 0.05 M ตามลำดับ

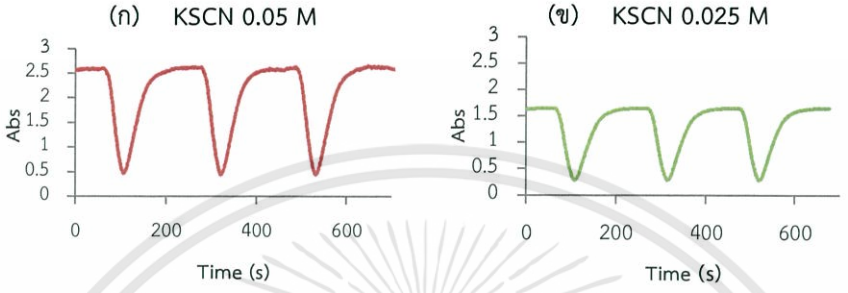
พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ KSCN เพิ่มขึ้นทำให้ได้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มมากขึ้น ดังรูปที่ 4.6 พบว่าความเข้มข้น KSCN ที่ 0.05 M และ 0.025 M ให้ sensitivity ใกล้เคียงกันและดีกว่า KSCN ที่ความเข้มข้น 0.01 M และ 0.005 M



รูปที่ 4.6 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิค เมื่อใช้ KSCN ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน และ Fe(III) ที่ความเข้มข้น 0.002 M

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

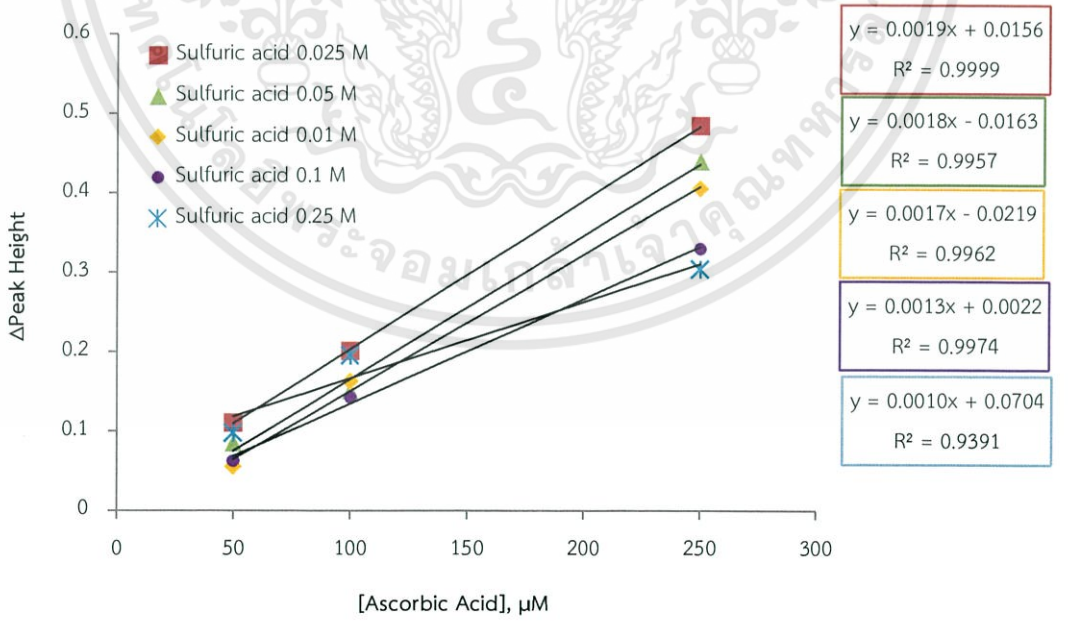
แต่เมื่อพิจารณาการเกิด base line ของสัญญาณตรวจวัดเมื่อใช้ KSCN เข้มข้น 0.05 M พบว่าให้ base line ที่ไม่คงที่ ในทางตรงกันข้ามเมื่อใช้ KSCN เข้มข้น 0.025 M ให้ base line ที่คงที่ ดังรูปที่ 4.7 (ก) และ (ข) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ KSCN ที่ความเข้มข้น 0.025 M อีกทั้งเป็นการลดปริมาณการใช้สารด้วย



รูปที่ 4.7 สัญญาณค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกรดแอสคอร์บิคที่ความเข้มข้น 250 µM เมื่อใช้ KSCN ความเข้มข้น (ก) 0.05 M และ (ข) 0.025 M

4.2.3 ความเข้มข้นของกรด H_2SO_4

สารละลาย Fe(III) จะต้องเตรียมในสารละลายกรด H_2SO_4 เพื่อป้องกันการเกิดเหล็กออกไซด์ ดังนั้นจึงต้องศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรด H_2SO_4 ที่ใช้ โดยทำการเปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างความเข้มข้นของกรด H_2SO_4 ที่ 0.025, 0.05, 0.01, 0.1 และ 0.25 M



รูปที่ 4.8 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิค เมื่อใช้ความเข้มข้นของกรด H_2SO_4 แตกต่างกัน

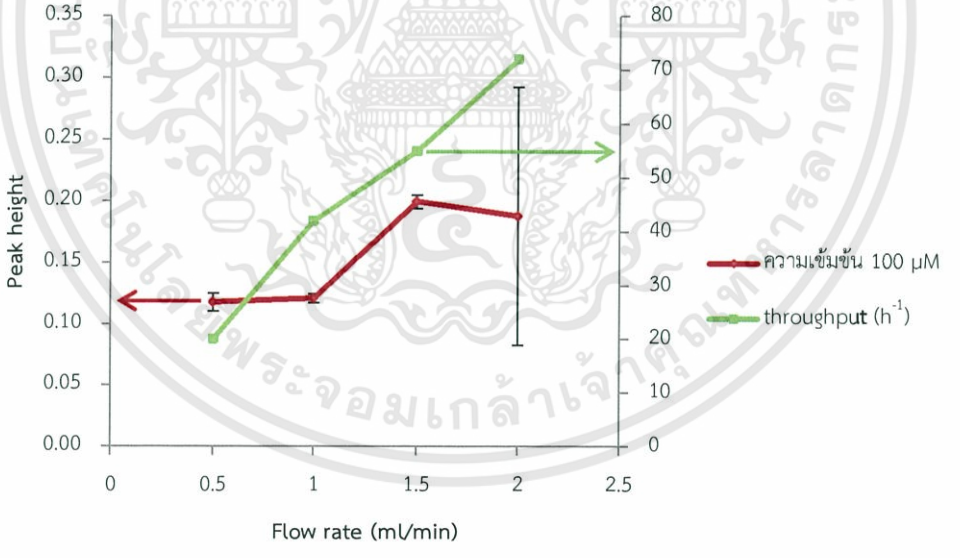
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นกรด H_2SO_4 0.025 M ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุด และมี sensitivity ดีที่สุด (ดังรูปที่ 4.8) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้กรด H_2SO_4 ที่ความเข้มข้น 0.025 M

4.2.4 อัตราการไหลของสาร (Flow rate)

อัตราการไหลของสารละลายมีผลต่ออัตราการผสมกันของสารเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาและความเร็วในการวิเคราะห์ จึงทำการศึกษาอัตราการไหลของสารที่เหมาะสม ตั้งแต่ 0.5 -2.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยศึกษากับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิค เข้มข้น 100 µM

จากผลการทดลองพบว่า เมื่ออัตราการไหลของสารต่างกันจะให้แนวโน้มการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกัน ซึ่งจะเห็นได้ว่าที่อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานต่ำ แสดงว่าที่อัตราการไหลนี้มีความเที่ยงสูง และเมื่อพิจารณาปริมาณตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้ต่อชั่วโมง (throughput) ร่วมด้วย ซึ่งจะคิดจากเวลาที่ปรากฏ Top peak พบว่าสามารถวิเคราะห์ได้ 55 ตัวอย่างต่อหนึ่งชั่วโมง (ดังรูปที่ 4.9) ดังนั้นในการทดลองจึงเลือกใช้อัตราการไหลของสารที่ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที



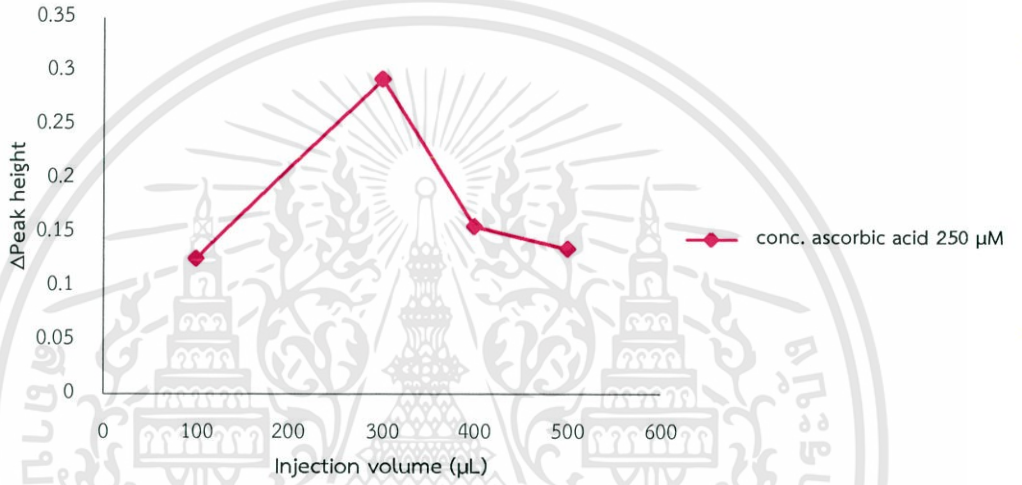
รูปที่ 4.9 ผลการศึกษาอัตราการไหลของสารต่อความสูงพีคการดูดกลืนแสง และจำนวนตัวอย่างในการวิเคราะห์ต่อชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิค 100 µM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.5 ปริมาตรสารที่ฉีดเข้าในระบบ (Injection Volume)

ทำการศึกษาปริมาตรสารที่เข้าทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม 100, 300, 400 และ 500 µL

จากผลการทดลองดังรูปที่ 4.10 เมื่อใช้ปริมาตรสารเข้าทำปฏิกิริยา 100 และ 300 µL ค่าความสูงพีคจะค่อยๆ เพิ่มขึ้น แต่เมื่อใช้ปริมาตรสารเข้าทำปฏิกิริยาที่ 400 และ 500 µL ค่าความสูงพีคจะลดลง เนื่องจาก Fe(III) ถูกรีดิวซ์โดยกรดแอสคอร์บิคจนเกือบหมด จึงไม่เพียงพอที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับ KSCN ทำให้เกิดเป็นสารประกอบของเหล็กน้อยลง ค่าความสูงของพีคจึงลดลงด้วย ดังนั้นปริมาตรสารที่เหมาะสมที่จะเข้าทำปฏิกิริยา คือ 300 µL



รูปที่ 4.10 ผลการศึกษาปริมาตรสารที่ฉีดเข้าในระบบที่มีผลต่อสัญญาณการตรวจวัด

จากการศึกษาหาสภาวะการทดลองที่เหมาะสมดังกล่าวมาแล้วข้างต้น สามารถสรุปผลการศึกษาได้ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 สรุปการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิคโดยอาศัยระบบโฟลอินเจคชั่น

พารามิเตอร์ที่ศึกษา	ช่วงที่ศึกษา	ค่าที่เลือกใช้
ความเข้มข้นของ Fe(III)	0.0005 M – 0.005 M	0.002 M
ความเข้มข้นของ KSCN	0.005 M – 0.05 M	0.025 M
ความเข้มข้นของ H_2SO_4	0.01 M – 0.25 M	0.025 M
อัตราการไหลของสาร (Flow rate)	0.5 – 2.5 ml min^{-1}	1.5 ml min^{-1}
ปริมาตรสารที่เข้าทำปฏิกิริยา (Injection volume)	100 – 500 µL	300 µL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

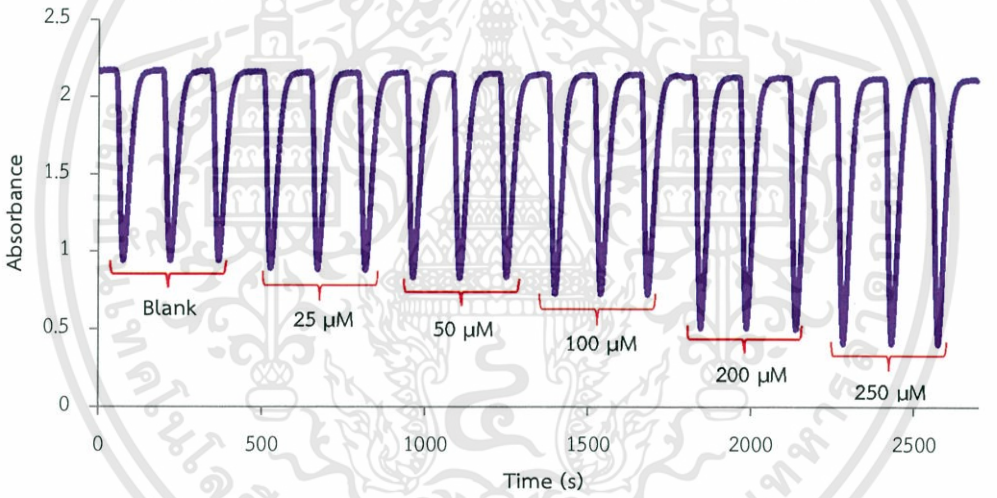
4.3 คุณลักษณะเด่นของวิธีที่พัฒนาขึ้น (Analytical feature)

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการทดลองข้อ 4.2 จึงนำสภาวะการทดลองดังกล่าวมาทำการทดลองเพื่อหาคุณลักษณะเด่นของวิธีที่พัฒนาขึ้น โดยหัวข้อที่ศึกษามีดังนี้

4.3.1 กราฟมาตรฐาน (Calibration Curve)

การสร้างกราฟมาตรฐานภายใต้สภาวะเหมาะสม เพื่อหาช่วงความเป็นเส้นตรงในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิค ทำการทดลองโดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิคที่ความเข้มข้นต่างๆ และทำการทดลองในแต่ละความเข้มข้นซ้ำ 3 ครั้ง

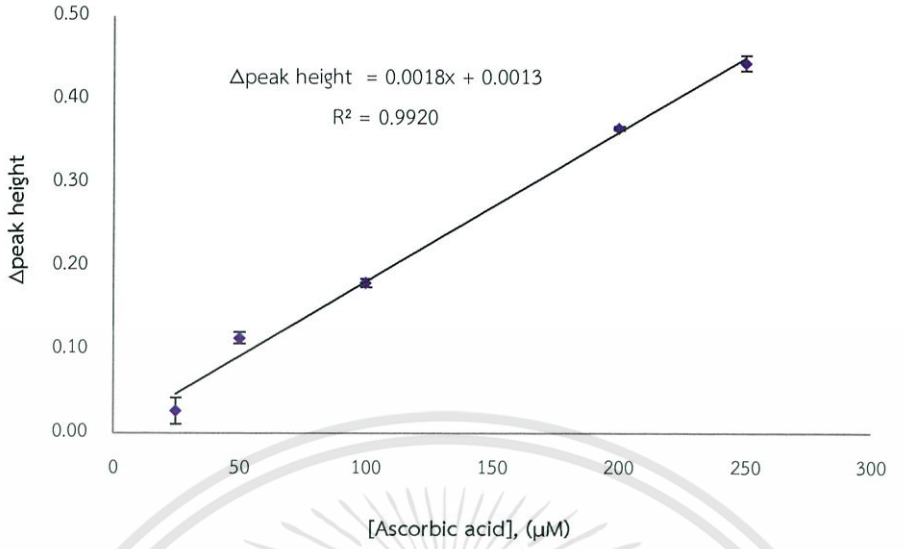
ผลการทดลองที่ได้จะแสดงสัญญาณค่าการดูดกลืนแสง (รูปที่4.11) เป็นสัญญาณลักษณะหัวกลับ ให้ค่าความสูงพีคแปรผันตรงกับความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิค เมื่อมีปริมาณกรดแอสคอร์บิคเพิ่มมากขึ้นค่าความสูงของพีคจะมีค่าสูงมากขึ้น



รูปที่ 4.11 สัญญาณค่าการดูดกลืนแสงของกรดแอสคอร์บิคที่ความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะดังตารางที่ 4.1

จากสัญญาณในรูปที่ 4.11 นำค่าความสูงพีคมาการสร้างกราฟมาตรฐาน (รูปที่ 4.12) ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงในการตรวจวัดปริมาณกรดแอสคอร์บิคในช่วงความเข้มข้น 25 – 250 µM และมีสมการการถดถอยเชิงเส้น คือ peak height= 0.0018[Ascorbic acid] + 0.0013 โดยที่ peak height คือ ผลต่างค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแบลงค์กับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิค และกราฟมาตรฐานที่ได้เป็นกราฟมาตรฐานที่มีความเป็นเส้นตรงที่ดี (R^2 = 0.9920)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 กราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิคที่ความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะ ดังตารางที่ 4.1

4.3.2 ขีดจำกัดต่ำสุดสำหรับการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

การหาค่า LOD และ LOQ ทำโดยการวัดสัญญาณค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแบลงค์จำนวน 7 ครั้ง หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) ของสัญญาณที่ได้จากแบลงค์ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งการคำนวณหาค่า LOD และ LOQ สามารถทำได้ดังนี้

ตารางที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแบลงค์ เมื่อทำการทดลองซ้ำ 7 ครั้ง

no.	peak height
1	0.9795
2	0.9775
3	0.9844
4	0.9845
5	0.9828
6	0.9809
7	0.9913
Means	0.9830
SD	0.004473

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2.1 การคำนวณค่า LOD

คำนวณหาค่า LOD ได้จาก $\frac{3SD}{slope}$

$$LOD = \frac{3SD}{slope}$$

$$= \frac{3 \times 0.004473}{0.0018}$$

$$= 7.5\ \mu M$$

ดังนั้น ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด คือ 7.46 μM

4.3.2.2 การคำนวณค่า LOQ

คำนวณหาค่า LOQ ได้จาก $\frac{10SD}{slope}$

$$LOQ = \frac{10SD}{slope}$$

$$= \frac{10 \times 0.004473}{0.0018}$$

$$= 24.9\ \mu M$$

ดังนั้น ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ คือ 24.85 μM

4.3.3 ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์

คำนวณหาค่า %RSD ได้จาก $\frac{SD}{\bar{X}} \times 100$

การหาความเที่ยงของวิธีจะพิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ซึ่งหาได้จากสูตร %RSD = $\frac{SD}{\bar{X}} \times 100$ และจากข้อมูลในตารางที่ 4.2 นำมาแทนค่าจะได้

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

$$= \frac{0.004473}{0.9830} \times 100$$

$$= 0.46\%$$

ดังนั้น ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ คือ 0.46% จึงถือได้ว่าวิธีนี้มีความเที่ยงสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.4 ความแม่นของวิธีวิเคราะห์

การหาความแม่นของวิธีวิเคราะห์จะพิจารณาจากค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (%Recovery) โดยการวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารเสริมวิตามินซีที่เติมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิคที่ความเข้มข้น 50 μM ลงไป หลังจากการเจือจางความเข้มข้นของตัวอย่างให้ความเข้มข้นอยู่ในช่วงกราฟมาตรฐาน จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐานและหาค่า %Recovery ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิคในตัวอย่างอาหารเสริมวิตามินซี

ตัวอย่าง	ครั้งที่	ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิค (μM)			%Recovery
		ปริมาณที่พบในตัวอย่าง (found)	ปริมาณที่เติม (added)	ปริมาณที่ตรวจพบทั้งหมด (detected)	
A	1	147.10	50	203.88	90.12
	2	144.12	50	199.44	87.83
B	1	145.77	50	209.70	101.50
	2	136.79	50	204.93	108.38
C	1	121.26	50	178.17	90.30
	2	127.40	50	187.81	95.94

ผลจากการศึกษาตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด พบว่า ค่า %Recovery ของทุกตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง 87.83 – 108.38% ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้[17] นั่นแสดงว่าองค์ประกอบอื่นที่อยู่ในตัวอย่างอาหารเสริมวิตามินซีไม่มีผลรบกวนการวิเคราะห์ จึงถือได้ว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่นสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การวิเคราะห์หากรดแอสคอร์บิคในตัวอย่างอาหารเสริม

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองโดยการสุ่มตัวอย่างอาหารเสริมวิตามินซีที่ขายอยู่ในท้องตลาดมาทั้งหมด 3 ตัวอย่าง และนำมาวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิคด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น ซึ่งผลวิเคราะห์ที่ได้นำไปเทียบกับปริมาณกรดแอสคอร์บิคที่ฉลากระบุข้างขวด แสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ผลการวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิคในอาหารเสริมและปริมาณ

ตัวอย่าง	ครั้งที่	ปริมาณกรดแอสคอร์บิค (mg)	
		ปริมาณที่ฉลากระบุ	ปริมาณที่ตรวจพบ
A	1	1000	1472.00
	2	1000	1442.17
B	1	500	729.33
	2	500	684.39
C	1	25	30.34
	2	25	31.87

จากผลการวิเคราะห์ตัวอย่างพบว่า เมื่อตรวจวัดตัวอย่างด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นพบปริมาณกรดแอสคอร์บิคมากเกินกว่าที่ฉลากระบุ ทั้ง 3 ตัวอย่าง เนื่องจากอาหารเสริมวิตามินซีอาจจะมีการเติมส่วนผสมของกรดแอสคอร์บิคมากเกินกว่าที่ฉลากระบุ หรือ ระบบสามารถตรวจวัดกรดแอสคอร์บิคที่อยู่ในรูปอื่นได้ วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิคในตัวอย่างอาหารเสริมวิตามินซีได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาระบบโฟลอินเจคชันร่วมกับการตรวจวัดทางสเปคโทรโฟโตเมทรีสำหรับการหาปริมาณกรดแอสคอร์บิค โดยการตรวจวัดอาศัยปฏิกิริยาการรีดิวซ์ Fe(III) ให้กลายเป็น Fe(II) โดยกรดแอสคอร์บิค จากนั้น Fe(III) ที่เหลือจะเข้าทำปฏิกิริยากับ KSCN เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีส้มแดงของ $FeSCN^{2+}$ ซึ่งดูดกลืนความยาวคลื่นแสงสูงสุดที่ 458 นาโนเมตร โดยสภาวะการทดลองที่เหมาะสม คือ สารละลาย Fe(III) เข้มข้น 0.002 M สารละลายโพแทสเซียมไทโอไซยาเนตเข้มข้น 0.025 M กรดซัลฟิวริก เข้มข้น 0.025 M อัตราการไหลของสารละลายเท่ากับ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที และปริมาตรสารที่เข้าทำปฏิกิริยา เท่ากับ 300 ไมโครมิลลิลิตร

จากการทดลองพบว่า ค่า Δpeak height แปรผันตรงกับความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิคอย่างเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 25 – 250 μM ได้สมการเส้นตรง คือ Δpeak height = 0.0018[Ascorbic acid] + 0.0013 และสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) = 0.9920

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมทำให้ได้คุณลักษณะเด่นของวิธีการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิคดังนี้ ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด เท่ากับ 7.46 ไมโครโมลต่อลิตร ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ เท่ากับ 24.85 ไมโครโมลต่อลิตร ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ประเมินจากค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ มีค่าเท่ากับ 0.46 ความแม่นของวิธีวิเคราะห์ประเมินจากร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ มีค่าอยู่ในช่วง 87.83 – 108.38 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้

งานวิจัยนี้ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิคในตัวอย่างทั้งหมด 3 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างทั้งหมดมีปริมาณของกรดแอสคอร์บิคมากเกินกว่าที่ฉลากระบุ ซึ่งวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว ประหยัดสารเคมีในการวิเคราะห์ และให้ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ที่ต่ำ

5.2 ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากวิตามินซี หรือ กรดแอสคอร์บิคเป็นสารที่ไม่เสถียร และสลายตัวได้ง่ายในสภาพแวดล้อมที่มีแสง ความร้อน และความชื้น ซึ่งการสลายตัวไปของวิตามินดังกล่าวมีผลต่อการวิเคราะห์เชิงปริมาณ แต่อย่างไรก็ตาม การเก็บรักษาวิตามินซีเพื่อป้องกันการสลายตัวสามารถทำได้โดยการบรรจุใส่ภาชนะที่และแห้งปิดมิดชิด เก็บให้พ้นแสงและความชื้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] วาสนา ยาวิชัย วิไลวรรณ แซ่ว่าง วีรวรรษ จอมใจ สิริลักษณ์ เขื่อนแก้ว และนพพล เล็กสวัสดิ์. **"ประสิทธิผลของผลิตภัณฑ์อาหารเสริมต่อสุขภาพของผู้บริโภค."** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://www.agro.cmu.ac.th/absc/data/57/57-011.pdf; 28 มีนาคม 2559.

[2] Yikrazuul. **"L-Ascorbic acid.svg."** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก https://commons.wikimedia.org/wiki/File:L-Ascorbic_acid.svg; 28 มีนาคม 2559.

[3] ร.อ.ฉัตรชัย ไตรทอง. **"วิตามินซี (Ascorbic acid)."** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://thailand.digitaljournals.org/index.php/RTAMG/article/viewFile/2270/2121; 26 มีนาคม 2559.

[4] ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. 2553. **"ไฮดรอกซีโพรลีน."** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/5195/hydroxyproline; 14 มิถุนายน 2559

[5] ภก.ดร.วิรัตน์ ทองรอด. 2549. **"ล้านคำถามเรื่องยา ปรึกษาเภสัชกร."** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก https://www.doctor.or.th/article/detail/2199; 26 มีนาคม 2559.

[6] อุทัยวรรณ แสงเสถียร. 2545. "กระประยุกต์เทคนิคโฟลอินเจคชันในการวิเคราะห์ในการหาปริมาณทองแดงและนิกเกิล โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยากับ bis(acetylacetone) propylenediimine." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

[7] Ruzicka, J. and Hansen, E.H. 1988. Flow Injection Analysis, 2nd Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York.

[8] D. Harvey. 2013. **"Manifolds for Flow Injection Analysis"** [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก http://community.asdlib.org/imageandvideocexchangeforum/ 2013/08/05/manifolds-for-flow-injection-analysis/; 3 เมษายน 2559.

[9] I. Klimczak, A. Gliszczyn´ ska-S´wigło. 2015. "Comparison of UPLC and HPLC methods for determination of vitamin C" **Food Chemistry.** 175: 100–105

[10] M.L. Antonelli, G. D'Ascenzo, A. Lagana`, P. Pusceddu. 2002. "Food analyses: a new calorimetric method for ascorbic acid (vitamin C) determination." **Talanta.** 58: 961-967

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

[11] S. Yilmaz, Murat Sadikoglu, G. Saglikoglu, S. Yagmur, G. Askin. 2008. "Determination of Ascorbic Acid in Tablet Dosage Forms and Some Fruit Juices by DPV." **Int. J. Electrochem. Sci.** 3: 1534 – 1542

[12] Vijaykumar S. Ijeri, Priya V. Jaiswal, Ashwini K. Srivastava. 2001. "Chemically modified electrodes based on macrocyclic compounds for determination of Vitamin C by electrocatalytic oxidation." **Analytica Chimica Acta.** 439: 291–297

[13] S.P. Arya_, M. Mahajan, P. Jain. 2001. "Spectrophotometric determination of vitamin C with iron(II)-4-(2-pyridylazo)resorcinol complex." **Analytica Chimica Acta.** 427: 245–251

[14] K. Grudpan, K. Kamfoo, J. Jakmunee. 1999. "Flow injection spectrophotometric or conductometric determination of ascorbic acid in a vitamin C tablet using." **Talanta.** 49: 1023–1026

[15] Corti, A.; Casini, A.F.; Pompella, 2010. A. "Cellular pathways for transport and efflux of ascorbate and dehydroascorbate." **Arch. Biochem. Biophys.** 500: 107–115.

[16] John, B.F., Robert, JR.C.E. and Claudep, C.P. 1957. "**Kinetics of the Formation of the Ferric Thiocyanate Complex**" The department of chemistry and the radiation laboratory University of California Berkeley. 2961-2967.

[17] ณัฏฐภพ พันชน. 2558. "Validation and Verification of Analytical Procedure For Impurity." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จากhttp://www.gpo.or.th/Portals/6/Newsletter/RDINewsYr22No2-6.pdf; 12 มิถุนายน 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้