

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย

**DEVELOPMENT OF FLOW INJECTION ANALYSIS SYSTEMS
WITH CONDUCTOMETRIC AND RADIOMETRIC DETECTORS**

ทุนพัฒนานักวิจัย รุ่นที่ 1

(1 ธันวาคม 2537 - 30 พฤศจิกายน 2540)

เสนอต่อ

สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. เกตุ กรุดพันธ์

หัวหน้าโครงการ

สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

และ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่สนับสนุนทุนพัฒนา
นักวิจัย รุ่นที่ 1 (ธันวาคม 2537 - พฤศจิกายน 2540) ต่อโครงการวิจัยนี้

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัย
เชียงใหม่ที่สนับสนุนทุนสมทบเพิ่มเติมต่อโครงการวิจัยนี้

ขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ และมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้กรุณา
เอื้อเฟื้อในส่วนการสนับสนุนการวิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณ Alexander von Humboldt Foundation ที่มอบเครื่อง Radiometric
Detector (Packard FLO-ONE) ซึ่งได้นำมาใช้ในส่วนหนึ่งของโครงการและได้รับการ
สนับสนุนบางส่วนร่วมกับ สกว. ในการไปเสนอผลงานวิจัยอันเกิดจากโครงการนี้ใน
Internationa Conference : Analytica ' 96 ที่เมืองมิวนิค เยอรมนี

ขอขอบคุณบริษัท ไทยยูนิค จำกัด Lachat Instrument Inc., USA บริษัท สัทธิพร
แอสโซซิเอต จำกัด ที่ได้ให้ยืมเครื่องมือใช้บางส่วนของงานวิจัย

ขอขอบคุณนักศึกษา ผู้ช่วยวิจัย ในห้องปฏิบัติการวิจัยเพื่อพัฒนาเครื่องมือวิเคราะห์
ที่มีส่วนช่วยในการวิจัย โครงการวิจัย ฯ นี้มีส่วนเสริมโครงการอื่น ๆ และโครงการอื่น ๆ
มีส่วนเสริมในโครงการ ฯ นี้ เช่นกัน (รวมถึงโครงการบัณฑิตศึกษาปริญญาโท - เอก)

ขอขอบคุณ Dr. C.G. Taylor (Liverpool John Moores University, U.K.)
Professor G.D. Christain (University of Washington, USA.) ที่ได้ให้คำแนะนำปรึกษา
ขอขอบคุณ Dr. H. Geckeis , Mr. H. Sitter, Mr. W. Papenfuss ที่ได้สนับสนุน วัสดุ
อุปกรณ์บางอย่าง

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของสถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และ
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รวมถึงทุกท่านที่ไม่ได้เอ่ยนาม
ที่อำนวยความสะดวกสนับสนุนโครงการวิจัยนี้

ท้ายสุดขอขอบคุณครอบครัวของข้าพเจ้าที่เข้าใจในเวลาที่ได้ทุ่มให้กับงานวิจัยนี้

การพัฒนาระบบฟลูอิดอินเจกชันอะนาไลซิสที่มีเครื่องตรวจวัดค่า การนำไฟฟ้าและเครื่องวัดรังสี

โครงการวิจัยโดยทุนพัฒนานักวิจัย รุ่นที่ 1 สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

เกตุ กรุดพันธ์

สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาระบบ flow injection analysis (FIA) ที่มีระบบตรวจวัดค่าการนำไฟฟ้าและระบบการตรวจวัดรังสี รวมถึงการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ใหม่ ๆ โดยใช้เครื่องมือที่ง่ายขึ้น ได้สร้างระบบตรวจวัดการนำไฟฟ้าหลายแบบ ทั้งแบบที่ง่ายและแบบที่ยุ่งยากขึ้น เครื่องตรวจวัดรังสี (Packard FLO-ONE) ซึ่งโดยปกติใช้ใน HPLC ที่จะนำมาใช้สำหรับ FIA แต่บังเอิญอุบัติเหตุเกิดชำรุด ได้ประยุกต์ใช้ระบบตรวจความเข้มวัดแสงด้วย

ได้ศึกษาระบบ flow injection analysis (FIA) สำหรับกรดอินทรีย์บางตัว โดยการติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้า หรือความเข้มของแสงในระบบ conductometric FIA หรือ spectrophotometric FIA ตามลำดับ

สำหรับการหาปริมาณกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูใช้ระบบ FIA อย่างง่ายที่ใช้รีเอเจนต์ คือ สารละลายแอมโมเนียหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ / ฟีนอล์ฟเทลิน ในระบบของ conductometric หรือ spectrophotometric FIA ส่วนความเป็นกรด (acidity) ของน้ำผลไม้ (ซึ่งรายงานเป็นปริมาณของกรดซิตริก) ใช้ระบบ FIA ที่มี gas diffusion device เพื่อป้องกันการรบกวนอันเนื่องมาจากเกลือและน้ำตาลจะฉีดตัวอย่างลงในกระแสของสารละลายแอมโมเนีย (เป็น donor stream) แต่จะติดตามตรวจสอบค่าการนำไฟฟ้าของ acceptor stream (ใช้กรดอะซิติก) spectrophotometric FIA ของการวิเคราะห์กรดซิตริกจะเป็น

ทำนองเดียวกับการวิเคราะห์กรดอะซิติก ในการหาปริมาณ free fatty acid (รายงานในรูปของปริมาณกรดโอเลอิก) โดยใช้ conductometric FIA. ต้องหาตัวทำละลายที่เหมาะสม ได้พัฒนาการหาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในชาเม็ควิตามินซี เมื่อใช้ conductometric FIA จะมีวิธีการทำนองเดียวกับการวิเคราะห์กรดอะซิติก (ใช้ปฏิกิริยาสะเทิน) ใช้ปฏิกิริยaredox ของกรดแอสคอร์บิกกับสารละลายค่างทับทิม (KMnO_4) ซึ่งไม่สามารถใช้ใน batch procedure เนื่องจากความไม่เสถียรของ KMnO_4 แต่นำมาใช้ในระบบ FIA ได้โดยการวัดค่า absorbance ที่ลดลง วิธีการหาค่า iodine number ของน้ำมันพืชโดย FIA สามารถประยุกต์มาจาก Hanus method แต่เปลี่ยนการหาปริมาณไอโอดีนจากการไตเตรตมาใช้ spectrophotometric FIA แทน

ได้ศึกษา flow injection in-valve solid phase extraction microcolumn สำหรับการเพิ่มความเข้มข้นและการแยกยูเรเนียมแบบ on-line ใช้ chromatographic resin (U/TEVA.SpecTM)

ได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของ FIA ทุกระบบ จะได้กล่าวถึงข้อดีของวิธีวิเคราะห์ที่ได้เสนอ

ผลงานวิจัยนี้ เป็นตัวอย่างส่วนหนึ่งของการวิจัยที่ยั่งยืน

DEVELOPMENT OF FLOW INJECTION ANALYSIS SYSTEMS WITH CONDUCTOMETRIC AND RADIOMETRIC DETECTORS

A Research Project supported by Thailand Research Fund.

Kate Grudpan

Institute for Science and Technology Research and Development and Department of Chemistry, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200.

Abstract

This research project was aimed to develop flow injection analysis (FIA) with conductometric and radiometric detection systems, including some new analytical procedures by making use of them. Some designs both simple and more complicated conductometric detection systems have been laboratory made. Unfortunately a commercial radiometric detector (Packard FLO-ONE) which is normally used for HPLC and which was planned to be adapted for FIA was accidentally out of order. A spectrophotometric detection system has also been applied.

Flow injection analysis (FIA) systems for some organic acids were investigated. Continuous changes of either conductivity or absorbance were monitored for conductometric or spectrophotometric FIA respectively. For acetic acid in vinegar samples, simple FIA systems (both conductometric and spectrophotometric) using aqueous ammonia or sodium hydroxide / phenolphthalein reagents. Acidity of fruit juice (expressed as citric acid content) using a FIA system with a gas diffusion device to avoid interferences from salt and sugar was proposed. A sample was injected into a stream of ammonia solution (donor stream) but involving a continuous monitoring of

conductivity due to acceptor stream (acetic acid) . A spectrophotometric FIA for the citric acid content was similar to the one for acetic acid. Suitable solvents for vegetable oil for conductometric FIA for free fatty acid (expressed as oleic acid content) were investigated. FIA for procedures for ascorbic acid content in a vitamin C tablet were developed. A conductometric FIA was similar to the one of acetic acid (acid-base neutralisation). A redox reaction of ascorbic acid with permanganate which cannot be used for batch procedure due to its unstability can be applied in a FIA method with absorbance monitoring. A FIA procedure to determine iodine number of a vegetable oil sample was adapted from the standard Hanus method but titration was replaced by FI spectrophotometric determination of iodine.

Flow injection in-valve solid-phase extraction microcolumn for on-line preconcentration and separation of uranium was introduced. A novel chromatographic resin (U/TEVA. SpecTM) was applied.

Optimisation for all FIA systems were studied. Advantages of the developed procedures are discussed.

This research is an example of a sustainability research.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทกัศย่อ	ข
Abstract	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ณ
1. บทนำ	1
2. การทดลองและผลการทดลอง	4
2.1 การพัฒนา conductometric detector และ radiometry c detection system สำหรับระบบ FIA	4
2.2 การวิเคราะห์กรดอะซิดิกด้วยระบบ FIA	10
2.3 การพัฒนาการวิเคราะห์กรดซิดริกโดยระบบ FIA	14
2.4 การพัฒนาการวิเคราะห์กรดโอเลอิกโดยใช้ conductometric FIA	15
2.5 การพัฒนาการวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิก	16
2.6 การหาค่า Iodine number	21
2.7 การเพิ่มความเข้มข้นและการแยกของยูเรเนียมแบบ on-line	24
3. สรุป	26
4. เอกสารอ้างอิง	31
ภาคผนวก ก.	
รายการ paper ที่เป็นผลงานอันเนื่องมาจากโครงการวิจัยนี้ที่ตีพิมพ์ในวารสาร นานาชาติ	33
ภาคผนวก ข.	
Flow injection conductometric determination of free fatty acid in oil samples Talanta, submitted	35

ภาคผนวก ค.

Flow injection conductimetric or spectrophotometric analysis
for acidity in fruit juice, Anal. Chim. Acta , submitted. 50

ภาคผนวก ง.

Spectrophotometric determination of uranium by flow injection
analysis using U/TEVA.SpecTM chromatographic resin. J. Radioanal.
Nucl. Chem. Letter, in press. 64

ภาคผนวก จ.

Flow injection in-valve solid phase extraction spectrophotometric
determination of uranium in geological samples. Laboratory Robotics
and Automation, in press. 75

ภาคผนวก ฉ.

รายการผลงานอื่น ๆ ที่เป็นผลสืบเนื่องจากโครงการวิจัยนี้ 100

สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 2.1 ตัวอย่างการวิเคราะห์กรดอะซิติกในน้ำส้มสายชู โดยเทคนิค FIA(conductometric และ spectrophotometric) และการไตเตรดแบบธรรมดา	13
ตาราง 2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในยาเม็ดวิตามินซี โดยเทคนิค FIA และวิธีมาตรฐาน	19
ตาราง 2.3 การหาค่า iodine number ของน้ำมันพืชตัวอย่าง	22

สารบัญรูป

	หน้า
รูป 2.1 วงจรอย่างง่ายสำหรับ conductometric detector ใช้ wheatstone bridge	5
รูป 2.2 conductometric detector	6
รูป 2.3 flow-through cell แบบใช้แผ่นปรี้นท์	8
รูป 2.4 flow-through cell แบบใช้หลอดทองแดง	8
รูป 2.5 ระบบ FIA ที่ประกอบแล้ว	9
รูป 2.6 ระบบ FIA พร้อมทดลอง	9
รูป 2.7 conductometric FIA system for acetic acid	12
รูป 2.8 Spectrophotometric FIA system for acetic acid	12
รูป 2.9 FIA-gram ของ conductometric FIA ในการหาปริมาณ กรดแอสคอร์บิก	17
รูป 2.10 spectrophotometric FIA system for ascorbic acid	17
รูป 2.11 FIA-gram ของกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน(ใช้ KMnO_4 reagent)	20
รูป 2.12 Spectrophotometric FIA system for iodine number	23
รูป 2.13 FIA-gram ของการหาค่า iodine number	23

1. บทนำ

ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ เครื่องมือวิเคราะห์และเทคนิคการวิเคราะห์ เพื่อการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว มีความถูกต้องสูง และประหยัดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์

Flow injection analysis (FIA) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์อย่างต่อเนื่อง (continuous analysis) แบบใหม่ที่เสนอโดย Ruzicka และ Hansen ในปี 1975 ^(1,2)

เทคนิคการวิเคราะห์แบบต่อเนื่องชนิดนี้เป็น non-segmented continuous analysis คือไม่มีฟองอากาศเป็นตัวคั่น ต่างจากเทคนิคที่ใช้ในระบบการวิเคราะห์แบบเดิมชนิด segmented continuous analysis ซึ่งจะใช้อากาศเป็นตัวคั่นระหว่างตัวอย่าง (ที่มักจะเรียกกันทั่ว ๆ ไปว่า "auto analyzer")

ในเทคนิค FIA จะใช้การฉีดสารละลายมาตรฐานตัวอย่างเข้าไปในกระแสตัวพา ซึ่งอาจเป็นรีเอเจนต์ (ที่ไหลต่อเนื่องในท่อขนาดจิ๋วด้วยอัตราการไหลที่คงที่) มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นในขณะที่ไหลจนถึงจุดตรวจสอบใน detection system ซึ่งจะมีการตรวจสอบอย่างต่อเนื่อง สัญญาณ(output signal) ของการเปลี่ยนแปลงจะมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ด้วยระบบ FIA จึงมีพื้นฐาน 3 ประการคือ (1) sample injection (2) reproducible timing โดยเฉพาะ residence time (ซึ่งเป็นเวลาดังแต่ injection point จนถึง detection point) และ (3) controlled dispersion ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของระบบ FIA แต่ละระบบ

ส่วนประกอบหลักของระบบ FIA ประกอบด้วย (1) propulsion unit สำหรับควบคุมการไหลของ carrier stream/ reagent (2) sample introducing unit เพื่อใส่ตัวอย่างเข้าระบบ (3) reator เป็นส่วนที่เกิดการเปลี่ยนแปลง (เกิดปฏิกิริยา) (4) detection system สำหรับตรวจวัดการเปลี่ยนแปลง (5) recording read out device สำหรับบันทึกหรืออ่านสัญญาณที่ได้จาก detection system

ประโยชน์และข้อดีของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FIA

1. สามารถวิเคราะห์ได้รวดเร็ว (เช่น 60-300 ตัวอย่างต่อชั่วโมง)
2. ใช้ตัวอย่างและรีเอเจนต์ปริมาณเพียงเล็กน้อย จึงประหยัด และลดปัญหาเกี่ยวกับการบริหารจัดการเคมีที่ใช้แล้ว
3. เป็นระบบปิด จึงลดอันตรายที่อาจได้รับจากสารเคมี ต่อผู้ดำเนินการทดลอง และสิ่งแวดล้อม
4. เครื่องมือไม่ยุ่งยากซับซ้อน

5. อาจใช้สารรีเอเจนต์ที่ไม่เสถียรหรือสารรีเอเจนต์ที่ว่องไวต่ออากาศได้ (เนื่องจากเป็นระบบปิด)

ได้มีการศึกษาวิจัย-พัฒนาระบบ FIA ผู้วิจัยดังได้เคยรายงานไว้ ตัวอย่างเช่น การพยายามใช้วัสดุที่หาง่ายในประเทศ⁽³⁻⁶⁾ การใช้ปั๊มปีศาจเป็นส่วนประกอบในระบบ FIA⁽⁷⁾ injection valve ที่มี 2 sample loop⁽⁶⁾ เป็นกลุ่มวิจัยแรกที่ประสบผลสำเร็จในการประยุกต์ radiometric detector⁽⁴⁻⁶⁾ และ visual detection system⁽⁸⁾ การใช้ in-valve microcolumn^(9,10) เป็นต้น

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนา conductometric detector และ radiometric detector system เพื่อประยุกต์ใช้สำหรับระบบ FIA ควบคู่ไปกับการศึกษาปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องเพื่อให้ได้วิธีการวิเคราะห์วิธีใหม่ สำหรับการวิเคราะห์ในอุตสาหกรรมเกษตร และการวิเคราะห์ทางสิ่งแวดล้อม

นอกจากการพัฒนา detection system แล้วได้ศึกษาพัฒนา การวิเคราะห์วิธีใหม่โดยใช้ระบบ FIA สำหรับ กรดอะซิดิก กรดซิดริก กรดโอเลอิก กรดแอสคอร์บิก iodine number และ flow injection on-line preconcentration and separation of uranium ด้วย

2. การทดลองและผลการทดลอง

2.1 การพัฒนา conductometric detector และ radiometry detection system สำหรับระบบ FIA

2.1.1 conductometric detector ได้ศึกษา conductometric detection system

ในลักษณะที่เป็นวงจรไฟฟ้าง่ายไม่ยุ่งยากโดยใช้ หลักการของ wheatstone bridge

ดังรูป 2.1 และชนิด differential conductivity meter โดยดัดแปลงจากที่เคยมีรายงาน⁽¹¹⁾

ดังรูป 2.2 ซึ่งประกอบด้วย ส่วนของ Wein bridge measurement bridge (ที่มี

amplifier และระบบการปรับความไวและการสมดุล และส่วนของ precision

rectifier และ output buffer สัญญาณที่เป็น output signal จะเปลี่ยนเป็น mV

ในการวิจัยนี้แทนที่จะใช้ flow-through cell 2 cell สำหรับวัดผลต่างของค่า

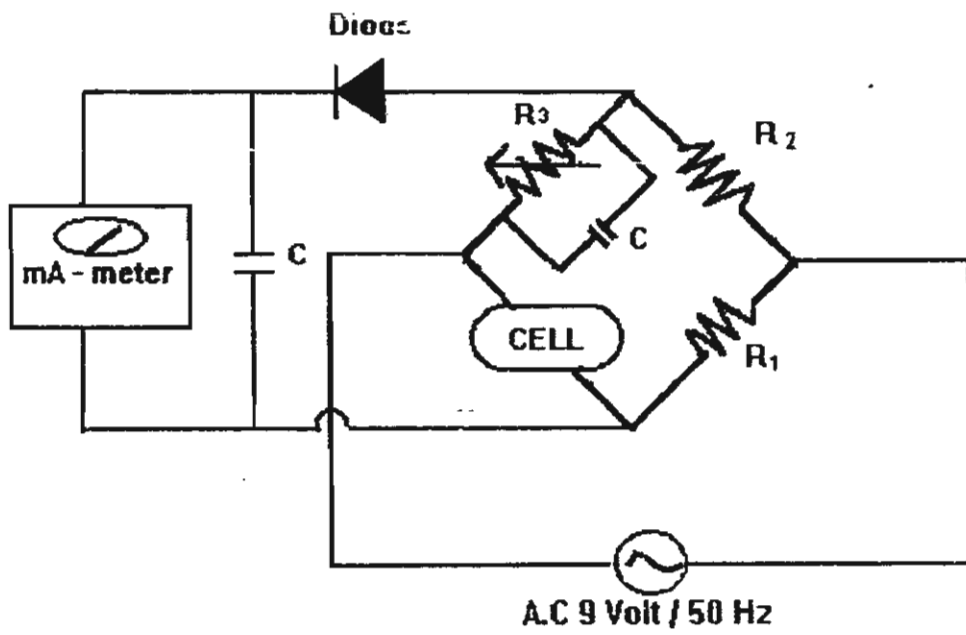
การนำไฟฟ้า โดยเปรียบเทียบค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายที่ไหลในท่อจั่ว

ในจุดก่อนการเกิดปฏิกิริยาเคมี และในจุดที่เกิดปฏิกิริยาเคมีแล้ว แต่ใช้ flow-through

cell เพียง 1 cell วัดค่าการนำไฟฟ้าของจุดหลังโดยจะใช้เทียบการเปลี่ยนแปลง

ค่าการนำไฟฟ้าเกี่ยวข้องกับการใช้ variable resistor ที่ fix ไว้ที่ค่าหนึ่งหลังจากที่

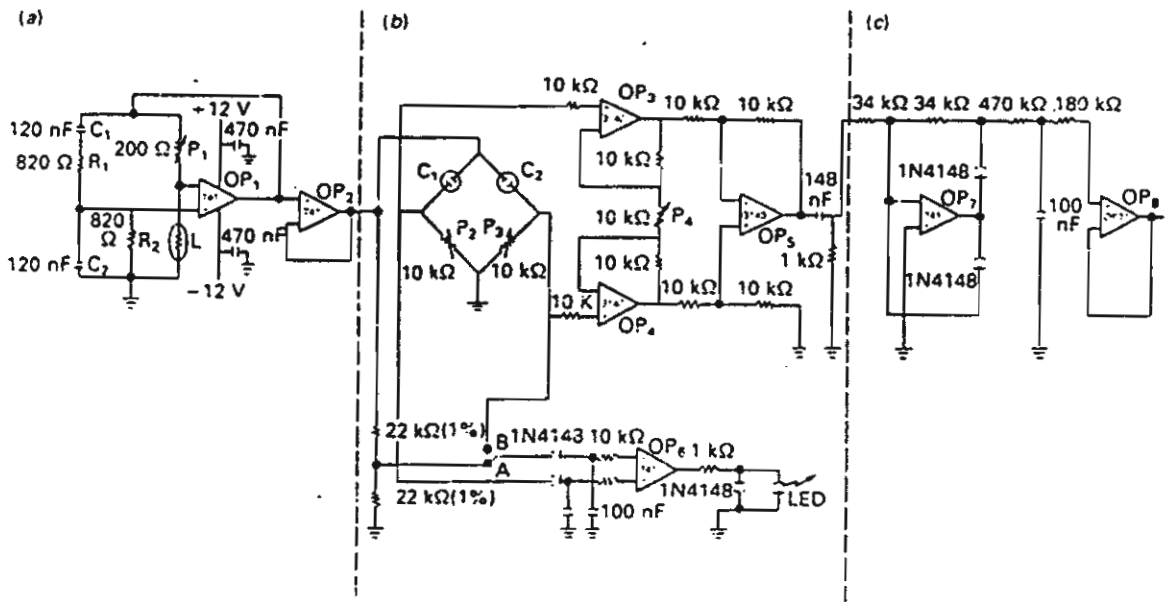
ได้ปรับให้เหมาะสมสำหรับแต่ละ FIA system



$R_1 = R_2 = 250 \, \Omega$ ความคลาดเคลื่อน 1 %

$R_3 = 1 \, K\Omega$ ความคลาดเคลื่อน 1 %

รูป 2.1 วงจรอย่างง่ายสำหรับ conductometric detector ใช้ wheatstone bridge



Circuit diagram of the differential conductivity meter. (a) Wein bridge; (b) measurement bridge with instrumentation amplifier and circuit for sensitivity and balance adjustment; (c) precision rectifier and output buffer (19).

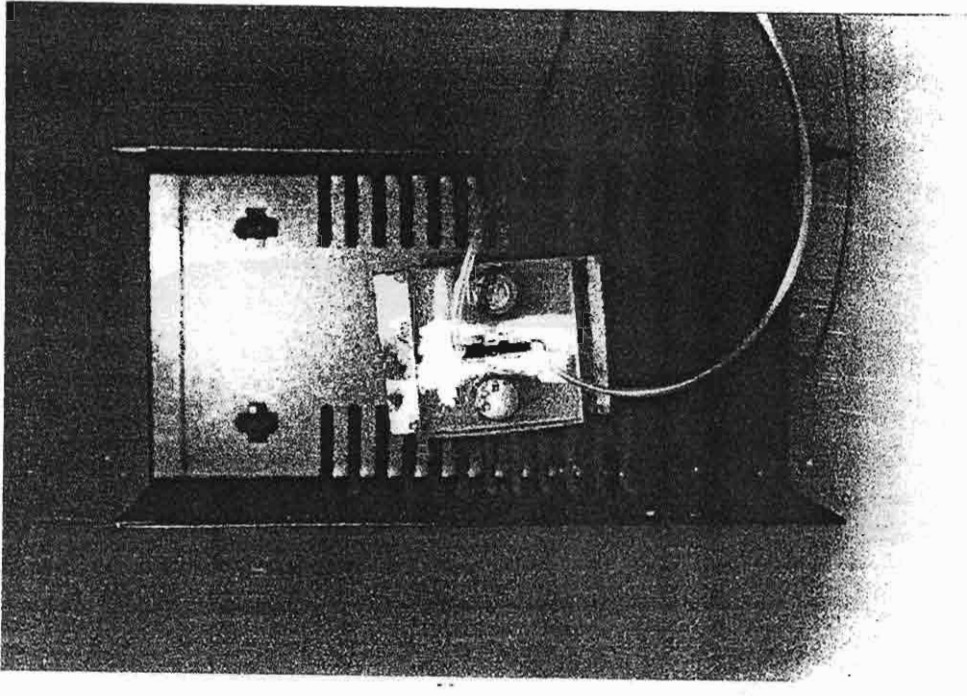
ได้ออกแบบ flow-through cell แบบต่าง ๆ กัน เช่น ใช้แผ่นปรินท์ของ การทำวงจรไฟฟ้ามาทำให้เป็น 2 ส่วน ทำหน้าที่เป็น 2 อิเล็กโทรด แผ่นปรินท์นี้ ชีดติดกันกับแผ่น perspex ที่เจาะร่องเพื่อให้สารละลายไหลผ่านได้ (ดังรูป 2.3) Flow-cell แบบนี้มีพื้นที่หน้าตัดใหญ่ แต่มีปัญหาเกี่ยวกับการเกิดฟิล์มออกไซด์ เมื่อใช้งานไปในระยะหนึ่ง หรือเมื่อทิ้งไว้ไม่ได้ใช้งาน ต้องกำจัดฟิล์มออกไซด์ ที่เกิดขึ้นก่อนจึงใช้ได้

Flow-cell อีกแบบหนึ่งทำด้วยแท่ง perspex (12 x 15 x 47 mm) เจาะรูมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มม. เพื่อเป็นช่องให้สารละลายไหล (จากระบบ FIA) ใช้หลอดทองแดง ซึ่งเป็นไส้สายไฟฟ้า (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มม.) 2 เส้นเป็นขั้วไฟฟ้า ของ cell (ดังรูป 2.4)

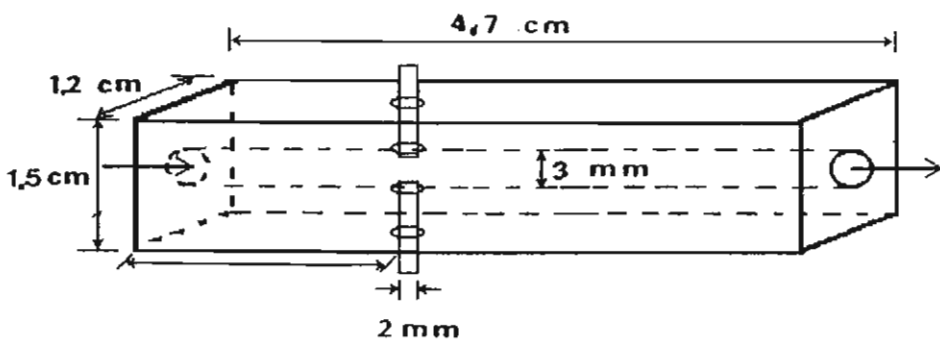
รูป 2.5 และ รูป 2.6 แสดง ระบบ FIA ที่สร้างขึ้นเอง

2.1.2 Radiometric detection system เพื่อที่จะได้ปรับปรุงเพิ่มประสิทธิภาพ

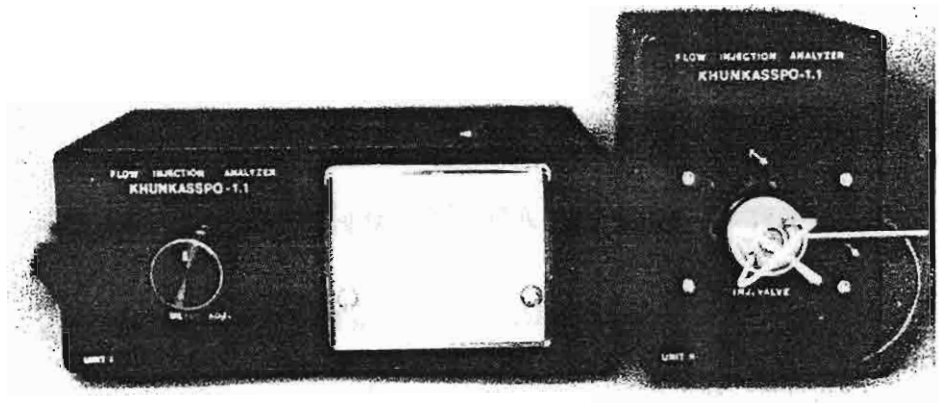
ในการวัดปริมาณรังสี ในการใช้ flow-through radiometric detection system นำมาใช้ในระบบ FIA^(4,5) ที่สร้างขึ้นเองโดยใช้ GM counter (ทั้งที่เป็น end-window และ liquid type) และ NaI(Tl) detector (ทั้งแบบ planar และ well-type) จึงได้สนใจ คัดแปลง และปรับปรุง flow-through radiometric detector ที่ใช้กับ HPLC ได้แก่ Packard FLO-ONE detector ซึ่งสามารถใช้วัดรังสีเบต้าและรังสีแกมมาได้



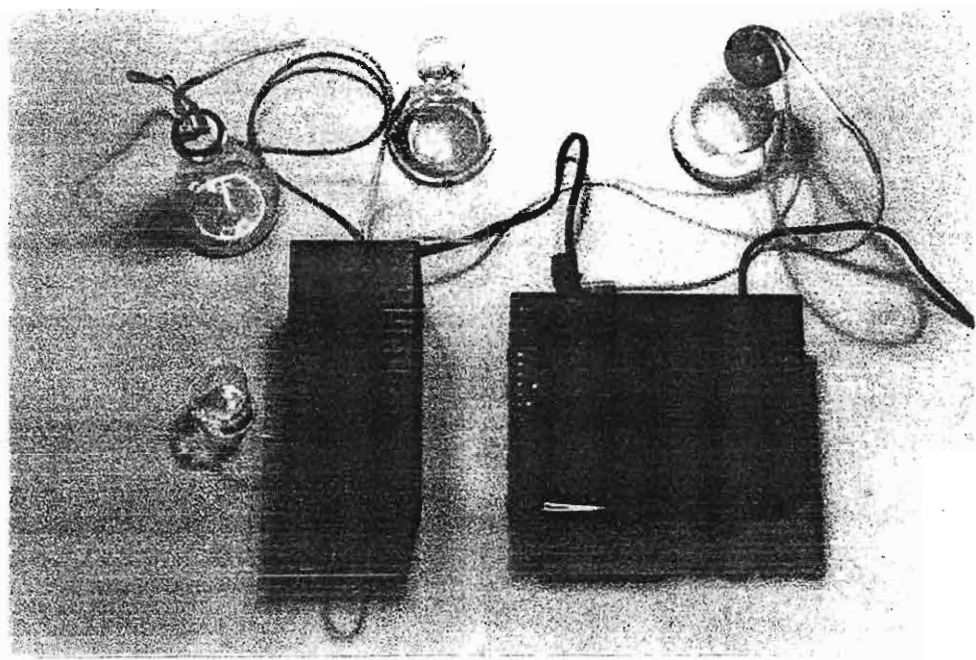
รูป 2.3 flow-through cell แบบใช้แผ่นปรีนท์



รูป 2.4 flow-through cell แบบใช้หลอดทองแดง



รูป 2.5 ระบบ FIA ที่ประกอบแล้ว



รูป 2.6 ระบบ FIA พร้อมทดลอง

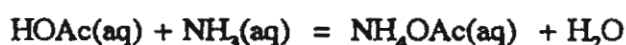
ได้ทดลองศึกษาวัด cerenkov counting ของรังสีเบตาของ Pa-234 m ที่อยู่ในสมดุล กับ U-238 parent nuclide แต่บังเอิญเกิดอุบัติเหตุเนื่องจากในฤดูฝนที่มีฝนตกหนัก และเกิดฟ้าผ่ารุนแรง ระบบไฟฟ้าในตัวเครื่องจึงไหม้เกิด over voltage ทำให้ Packard FLO-ONE detector เกิดชำรุดจึงได้พยายามซ่อมแซม

จากเหตุดังกล่าวจึงได้พยายามพัฒนาระบบ FIA ที่ใช้ spectrophotometric detection system ในการศึกษาการวิเคราะห์ยูเรเนียมไปพร้อมกันด้วย

2.2 การวิเคราะห์กรดอะซิติกด้วยระบบ FIA

2.2.1 ใช้ conductometric FIA system flow system ดังแสดงในรูป 2.7

เมื่อนิตสารละลาย (มาตรฐานหรือตัวอย่าง) ลงใน carrier stream ซึ่งเป็นน้ำเพื่อเป็น การเจือจางสารตัวอย่างก่อนที่จะไปผสมกับ กระแสของสารละลายแอมโมเนีย (5% v/v) จะเกิดปฏิกิริยาสะเทินขึ้น ดังสมการ



NH_4OAc แยกตัวได้ดีจึงทำให้ค่าการนำไฟฟ้าเปลี่ยนไปจากค่าการนำไฟฟ้าของ $\text{NH}_3(\text{aq})$ ซึ่งเป็น base-line จึงเกิด peak ขึ้น ความสูงของ peak หรือ พื้นที่ของ peak จะนำมาเขียนเป็น calibration graph เทียบกับความเข้มข้นได้

สามารถประยุกต์วิธีการนี้กับการหาปริมาณกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูได้
จากการศึกษาพบว่าปริมาณเกลือที่มีอยู่ในน้ำส้มสายชูจะไม่อยู่ในระดับที่จะ interfere
ในการวิเคราะห์

ตัวอย่างผลของการวิเคราะห์แสดงในตาราง 2.1

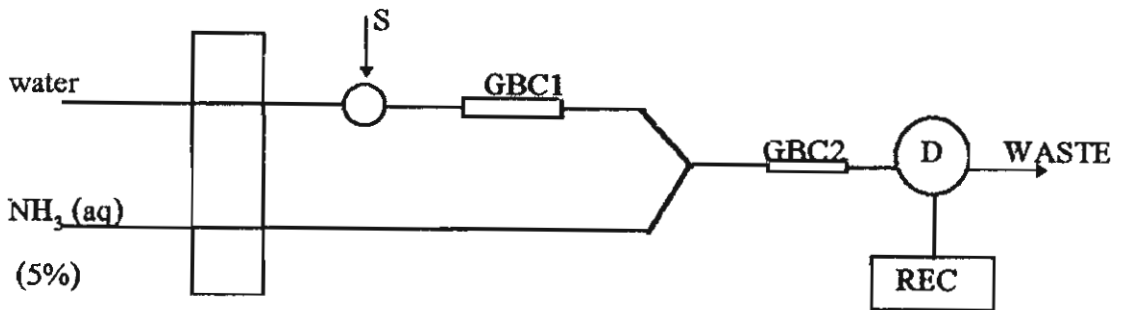
2.2.2 ใช้ spectrophotometric FIA system ใช้ Quikchem 8100 (Lachat
Instrument, USA) ซึ่งใช้ manifold สำหรับการวิเคราะห์คลอไรด์นำมาดัดแปลง
ดั่ง flow system ในรูป 2.8

เมื่อนิยตารละลายกรดอะซิติกลงใน NaOH stream เกิดปฏิกิริยาสะเทินขึ้น
ทำให้ค่า absorbance ของ phenolphthalein indicator ซึ่งเป็น base line signal เปลี่ยน
ไปเนื่องจากความเข้มข้นของ NaOH ใน stream เปลี่ยนไป อันเนื่องจากการทำ
ปฏิกิริยา การเปลี่ยนค่า absorbance (peak) นำมาเขียนกราฟมาตรฐาน (โดยเทียบกับ
ความเข้มข้น) ทำให้หาค่าความเข้มข้นของกรดอะซิติกได้

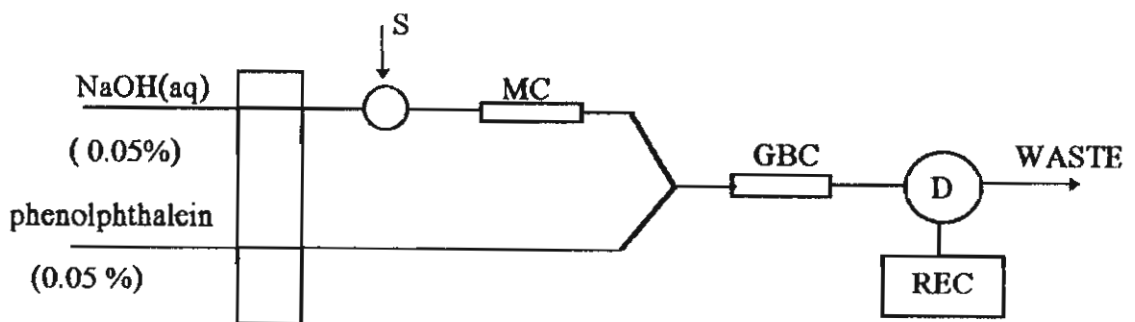
สามารถประยุกต์วิธีการนี้ในการหาปริมาณกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูได้
ดังตัวอย่างผลการวิเคราะห์ในตาราง 1

ข้อดีของการวิเคราะห์กรดอะซิติกโดยระบบ FIA ทั้งสองระบบที่เห็นได้
เด่นชัดได้แก่

1. ทำการวิเคราะห์ได้รวดเร็ว สามารถวิเคราะห์ได้ไม่ต่ำกว่า 60 ตัวอย่างต่อชั่วโมง
(เร็วกว่าการไตเตรดแบบธรรมดา)



2.7 Conductometric FIA system for acetic acid



2.8 Spectrophotometric FIA system for acetic acid

2. ใช้ตัวอย่างและรีเอเจนต์ปริมาณน้อย (ใช้ตัวอย่างไม่ถึง ml และใช้รีเอเจนต์น้อยกว่าการไตเตรตแบบธรรมดา)
3. ใช้และล้างเครื่องแก้วน้อยกว่าการไตเตรตแบบธรรมดา
4. เครื่องมือไม่ยุ่งยากซับซ้อน
5. สามารถปรับเป็นระบบ automation เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมได้

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างการวิเคราะห์กรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูโดยเทคนิค FIA

(conductometric และ spectrophotometric) และการไตเตรตแบบธรรมดา

ตัวอย่าง	ปริมาณ HOAc (%w/v)		
	Conductometric	Spectrophotometric	Titration
	FIA	FIA	
1	3.9	3.8	3.8
2	4.2	4.1	4.2
3	4.2	4.2	4.3
4	4.9	4.8	4.9
5	5.0	5.0	4.9

2.3 การพัฒนาการวิเคราะห์กรดซิตริกโดยระบบ FIA

การพัฒนาการวิเคราะห์กรดซิตริกด้วยจุดประสงค์ในการนำไปใช้ในการวิเคราะห์ความเป็นกรด (acidity) ของน้ำผลไม้ทั้งนี้ ตามวิธีมาตรฐานของการวิเคราะห์ความเป็นกรดของน้ำผลไม้ (ซึ่งใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมเกษตร) express ในหน่วยของ % w/v citric acid

ดังนั้นจึงสามารถใช้ปฏิกิริยาทางสะเทินของกรด-เบส ในระบบ FIA จึงนำมาใช้ได้เนื่องจากจริง ๆ แล้ว ต้องการหาปริมาณกรดรวม(ค่า acidity) ทั้งนี้ใช้กรดซิตริกเป็นสารละลายมาตรฐานเพราะต้องรายงานค่า acidity ในหน่วยของ % w/v citric acid วิธีวิเคราะห์ acidity ของน้ำผลไม้โดย spectrophotometric FIA จึงทำได้ทำนองเดียวกับการหาปริมาณกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชู แต่เนื่องจากในวิธี conductometric FIA นั้นเกลือและน้ำตาลในน้ำผลไม้จะ interfere ในวิธีการวิเคราะห์ ได้จึงต้องมีวิธีการกำจัด interference เนื่องจากเกลือและน้ำตาลโดยใช้ on-line gas diffusion โดยจะฉีดสารละลายตัวอย่าง(ที่มีกรดซิตริกและอาจมีเกลือและน้ำตาลผสมอยู่) ลงใน stream ของแอมโมเนียซึ่งจะทำหน้าที่เป็น donor stream สำหรับ gas diffusion device ที่มี teflon membrane คั่นอยู่กับ acceptor stream ที่เป็นกรดอะซิติกที่ต่อไปยัง conductometric detector ค่าการนำไฟฟ้าของกรดอะซิติกที่เป็น base-line จะเปลี่ยนไป เมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียเปลี่ยนไปอันเนื่องมาจากทำปฏิกิริยากับกรดซิตริกในตัวอย่าง ดังนั้นเกลือและน้ำตาลในน้ำผลไม้จึงไม่รบกวนวิธีการวิเคราะห์

ดั่งรายละเอียดในภาคผนวก ข (ซึ่งเป็น manuscript ที่ submit เพื่อการตีพิมพ์ในวารสาร

Analytica Chimica Acta (เอกสารอ้างอิง 21)

2.4 การพัฒนาการวิเคราะห์กรดโอเลอิกโดยใช้ conductometric FIA

ได้พัฒนาวิธีการใหม่โดยใช้ FIA เพื่อเป็นการวิเคราะห์แบบต่อเนื่อง รวดเร็ว เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมน้ำมันพืชที่เกี่ยวข้องกับ free fatty acid โดยอาศัย ปฏิกิริยาสะเทินของกรดเบส เกิดเกลือขึ้น ซึ่งเกลือจะนำไฟฟ้าได้ดีกว่ากรด(อ่อน) หรือเบส(อ่อน) จึงสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าอย่างต่อเนื่อง ในระบบ FIA ได้ในทำนองเดียวกับระบบ FIA ข้างต้น กล่าวคือได้ศึกษาหาตัว ทำละลายที่เหมาะสมเพื่อสามารถละลายกรดโอเลอิก(และน้ำมันพืช) และต้องเป็น medium ที่ทำให้สามารถวัดการเปลี่ยนแปลงการนำไฟฟ้าได้ด้วย พบว่า isopropanol และ aqueous isopropanol จะนำมาใช้ได้ ดั่งรายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก (เป็น manuscript ที่ได้ submit เพื่อตีพิมพ์ในวารสาร *Talanta* (ดั่งเอกสารอ้างอิง 20) วิธี FIA ที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ free fatty acid โดยใช้หลัก conductometry ที่ง่ายทั้งปฏิกิริยาเคมีเกี่ยวข้องและเครื่องมือที่ใช้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้รวดเร็ว (60-65 ตัวอย่างต่อชั่วโมง) (โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ) จะเป็นประโยชน์ต่อ อุตสาหกรรมน้ำมันพืชอย่างยิ่ง

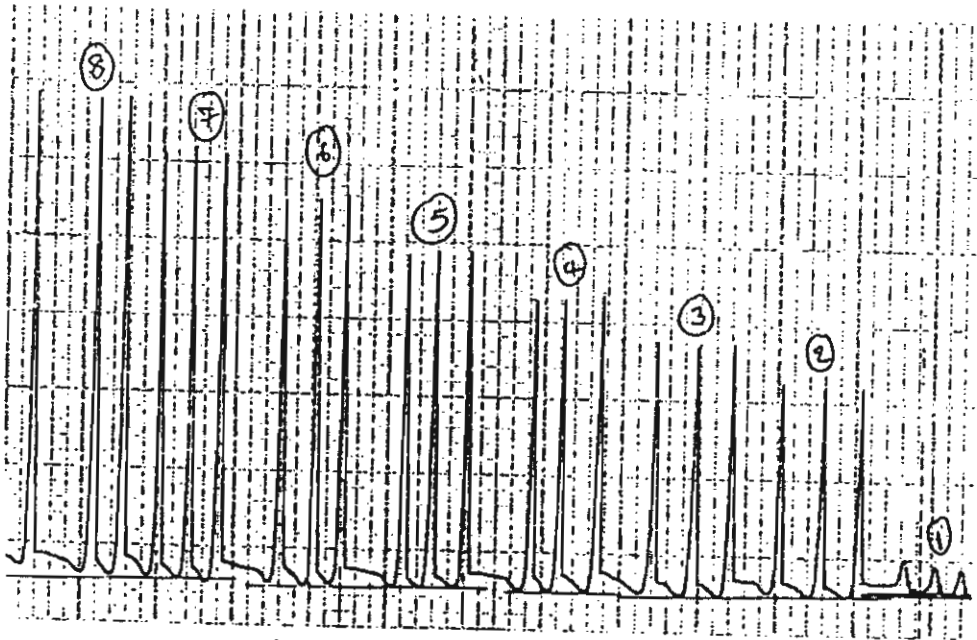
2.5 การพัฒนาการวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิก⁽¹⁷⁾

การหาปริมาณกรดแอสคอร์บิกตามวิธีมาตรฐานจะใช้วิธีการ Iodometric titration⁽¹²⁾ หรือ การทำปฏิกิริยา redox เช่น 2, 6- Dichlorophenol-indolphanol^(13,14) งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีใหม่สำหรับการวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิก

2.5.1 ใช้ conductometric FIA ใช้ปฏิกิริยาสะเทินของกรดแอสคอร์บิกกับสารละลายแอมโมเนียเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิกโดยการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าของกระแสตัวพา สารละลายแอมโมเนียทำนองเดียวกับการหาปริมาณกรดอินทรีย์อื่น ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้ว (รูป 2.9 แสดงตัวอย่าง FIA - gram ที่ได้)

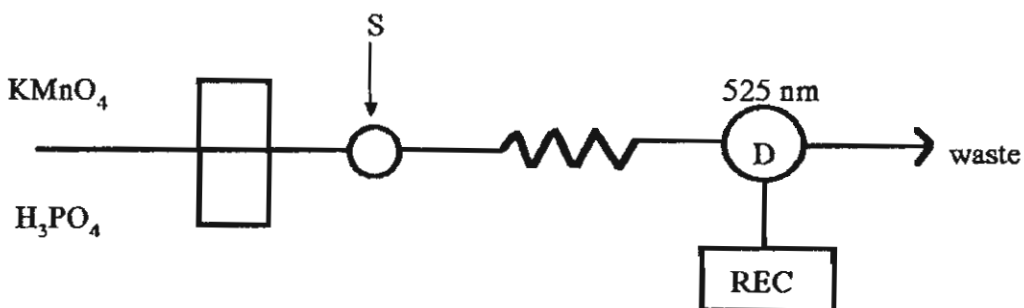
ได้ประยุกต์วิธีการที่พัฒนานี้เพื่อหาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในชาเม็คควิตามินซี (ดังตาราง 2.2) ซึ่งจากการศึกษาพบว่าได้ผลการวิเคราะห์ที่มีค่าสูงกว่าวิธีอื่นเล็กน้อย ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากการเกิด interfere อันเนื่องมาจากส่วนประกอบของชาเม็คควิตามินซี

2.5.2 ใช้ spectrophotometric FIA การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิกโดย spectrophotometry อาจอาศัยสมบัติการเป็นตัวรีดิวซ์ของกรดแอสคอร์บิกในปฏิกิริยา redox ทำให้เกิดสารมีสีขึ้นได้ เช่น ในการรีดิวซ์ Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} ซึ่งเกิดสารเชิงซ้อนที่มีสีกับ 1,10-phenanthroline กรดแอสคอร์บิกสามารถรีดิวซ์ สารละลายค่างทับทิม (KMnO_4) ได้ ทำให้ความเข้มของสีของสารละลายนี้เจือจางลง แต่หลักการนี้นำมาใช้ใน batch procedure ไม่ได้เนื่องจากสารละลายค่างทับทิมไม่เสถียร จึงได้นำหลักการนี้มาใช้ในระบบ FIA ซึ่งเป็นระบบปิด flow system แสดงในรูป 2.10 ได้ศึกษา



พิกที่ได้โดยใช้ คอนดักโตเมตรี เอฟ ไอ เอ โดยใช้สารละลายมาตรฐาน กรดแอสคอร์บิก (1) แบลงค์ (2) 0.021 (3) 0.023 (4) 0.025 (5) 0.027 (6) 0.029 (7) 0.032 และ (8) 0.034 โมลต่อลิตร

รูป 2.9 FIA-gram ของ conductometric FIA ในการหาปริมาณกรดแอสคอร์บิก



รูป 2.10 spectrophotometric FIA system for ascorbic acid.

สถานะที่มีผลต่อการวิเคราะห์ เช่น ความขาวคลุ่น ความเข้มข้นของ KMnO_4

ความเป็นกรดของรีเอเจนต์ เป็นต้น รูป 2.11 แสดงตัวอย่าง FIA - gram

ของกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน

นำวิธีการวิเคราะห์ใหม่นี้ไปหาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในชาเมื่ควิตามินซีดัง

ตาราง 2.2

จะเห็นว่าวิธีที่พัฒนานี้นอกจากจะมีข้อดีและประโยชน์ของการใช้ FIA

โดยทั่ว ๆ ไป แล้วยังสามารถ นำ unstable reagent มาใช้ได้โดยการใช้ประโยชน์ของ

FIA ถ้าใช้ง่ายในการวิเคราะห์นี้จะถูกมากเมื่อเทียบกับวิธีที่เคยมีรายงานมา

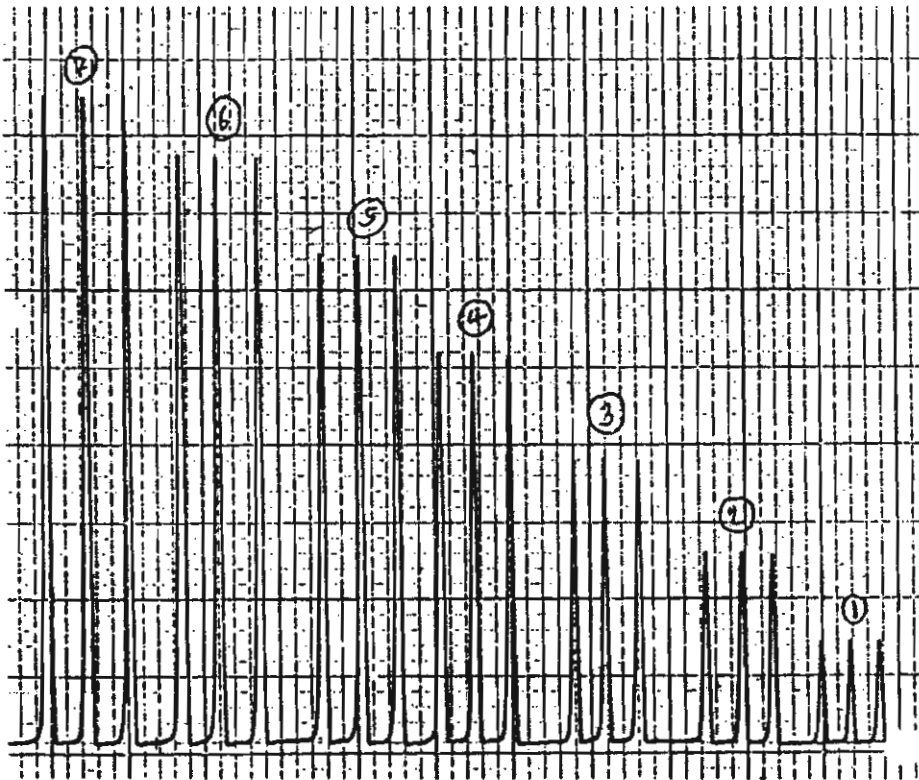
วิธีการวิเคราะห์นี้จะปรับเป็นระบบอัตโนมัติได้

ตาราง 2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในยาเม็ดวิตามินซีโดยเทคนิค FIA

และวิธีมาตรฐาน

ตัวอย่าง*	ปริมาณกรดแอสคอร์บิก (มก./เม็ด)		
	Conductometric	Spectrophotometric	วิธีมาตรฐาน
	FIA	FIA	
1	62	52	54
2	55	47	49
3	63	47	47
4	57	49	48
5	65	51	56

* เก็บตัวอย่างจากร้านขายยา 5 ซี่ห้อ (ชนิด 50 มก./เม็ด)



พีคที่ได้เมื่อใช้ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก

(1) แบลงค์ (2) 2.30×10^{-4} (3) 4.60×10^{-4} (4) 6.90×10^{-4}
 (5) 9.12×10^{-4} (6) 11.40×10^{-4} และ (7) 13.70×10^{-4} โมลต่อ
 ลิตร

รูป 2.11 FIA - gram ของกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน (ใช้ KMnO_4 reagent)

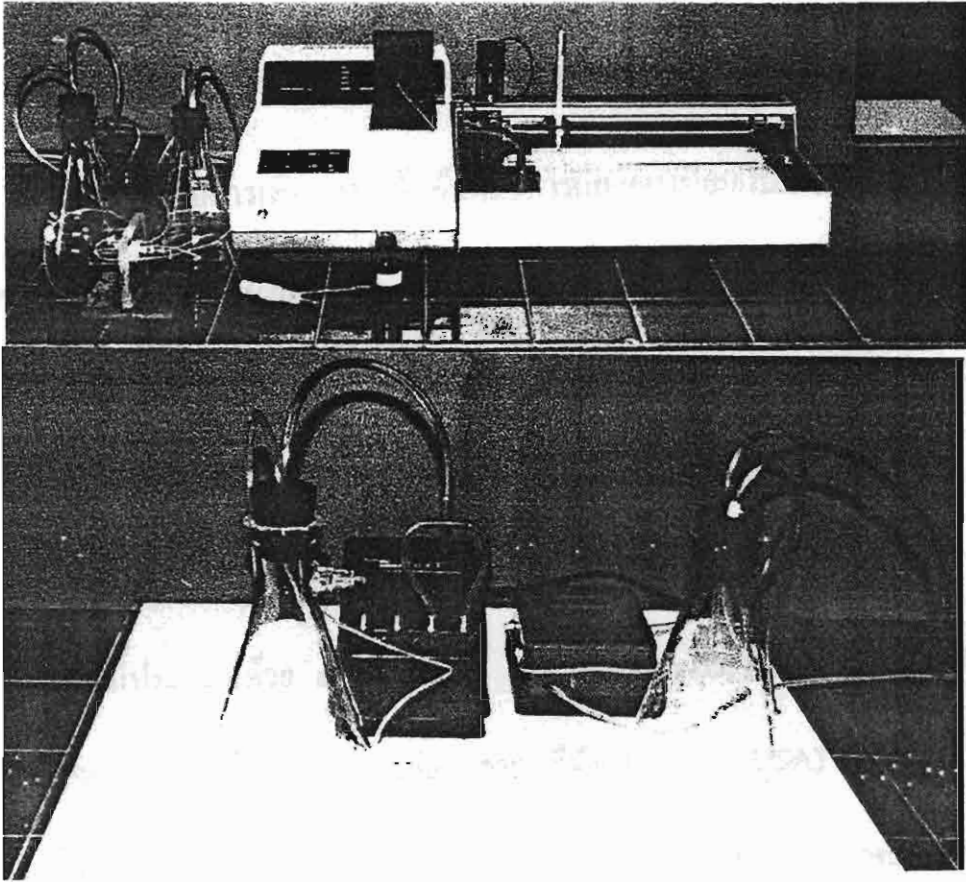
2.6 การหาค่า Iodine number

ได้พัฒนาวิธีการหาค่า iodine number ของน้ำมันพืช จากวิธี Hanus method ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน โดยใช้น้ำมันพืชที่ต้องการหาค่า iodine number ในขวดไอโอดีน แล้วเจือจางคลอโรฟอร์มเคมี สารละลาย Hanus (IBr ใน glacial HOAc) เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาที เคมีสารละลาย KI และน้ำกลั่น นำ aqueous solution ไปไตเตรตกับสารละลายมาตรฐานโซอิลเฟต⁽¹⁵⁾ ซึ่งต้องใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมงต่อตัวอย่าง

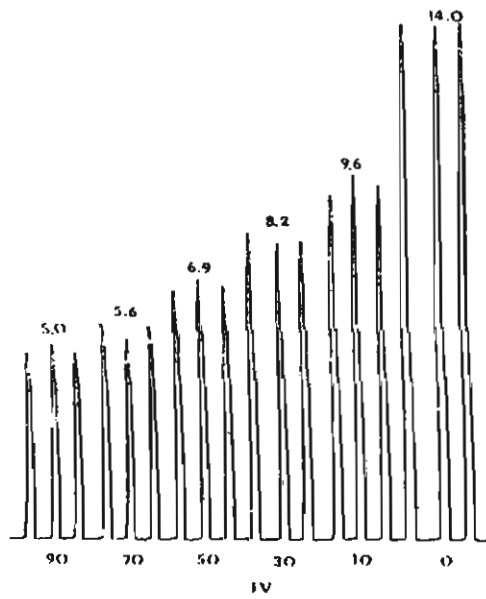
เมื่อประยุกต์วิธี spectrophotometric FIA แทนการไตเตรต เพื่อหาปริมาณ I_2 ที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาของ Hanus reagent กับน้ำมันพืชสามารถลดปริมาณสารลงได้มาก โดยใช้น้ำมันพืชมาตรฐาน (กรดโอเลอิก) 3 มล. ในขวดสีชาขนาด 100 มล. เคมี Hanus reagent ลงไป 3 มล. เขย่าแล้วรีบเก็บไว้ที่มีค 5 นาที แล้วเคมีสารละลาย KI (10%) 10 มล. เขย่าแล้วเติมน้ำกลั่นลงไปอีก 25 มล. นำขึ้น aqueous ไปฉีดในระบบ FIA ดังรูป 2.12 ตาราง 2.3 แสดงผลการหา iodine number ในน้ำมันพืชตัวอย่าง จะเห็นว่าสามารถลดเวลาในการวิเคราะห์ (ลดจาก 1 ชั่วโมง เป็นประมาณ 10 นาทีต่อตัวอย่าง) และทำได้สะดวกมากยิ่งขึ้น นอกจากจะลดปริมาณ รีเอเจนต์ที่ใช้แล้วยังสามารถจะปรับปรุงเป็นระบบอัตโนมัติได้

ตาราง 2.3 การหาค่า iodine number ของน้ำมันพืชตัวอย่าง

น้ำมันพืช	Iodine number	
	Hanus method	FIA
ทิฟ	107	105
ถัก	109	108
มรกต	48.2	45
แวน	43.5	40.5



รูป 2.12 Spectrophotometric FIA system for iodine number



รูป 2.13 FIAgram ของการหาค่า iodine number

2.7 การเพิ่มความเข้มข้นและการแยกของยูเรเนียมแบบ on - line

ได้พัฒนาระบบการเพิ่มความเข้มข้นและการแยกยูเรเนียมแบบ on - line โดยใช้คอลัมน์ที่บรรจุด้วยเรซิน (chromatographic resin) โดยที่คอลัมน์ดังกล่าวอยู่ที่ Valve ของระบบ FIA (อาจเรียกว่า Flow injection in - valve solid phase extraction column Detection system นี้ใช้ spectrophotometric detection system เนื่องจาก radiometric detector เกิดปัญหาดังกล่าวข้างต้น

ระบบนี้ประกอบด้วย microcolumn (ขนาด 2 mm ID, ยาว 40 mm) ที่บรรจุ U/ TEVA.SpecTM (50-100 μ m diameter ; จากบริษัท Eichrom, USA) ซึ่งเป็น chromatographic resin ชนิดใหม่ ที่ประกอบด้วย diamyl amyl phosphosphonate sorbed อยู่บน inert polymeric support (AmberchromTM CG - 71 หรือ Amberite XAD-7) ซึ่ง selective ค่อยูเรเนียมและ tetravalent actinide ions⁽¹⁶⁾

microcolumn ดังกล่าวจะอยู่บน valve ซึ่งใช้แทน sample loop ซึ่ง injection valve ดังกล่าวเป็นแบบชนิดที่ทำขึ้นเอง⁽⁷⁾ ต่อเข้ากับ suction system ที่ใช้ปั๊มปีตู้ปลาเมื่อ load ยูเรเนียมใน column โดยการผ่านสารละลาย(มาตรฐานหรือตัวอย่าง) แล้วล้างเรซิน/คอลัมน์ด้วยน้ำ (ใช้ stop cock) แล้วสับ valve เพื่อเปลี่ยนตำแหน่งเพื่อ elute ยูเรเนียมจากเรซินด้วย สารละลาย HCl eluate stream จะไหลไปรวมกับ stream ของบัพเฟอร์ (triethanolamine, pH=10) แล้วไปรวมกับ stream ของ color agent (PAR) ผ่าน single glass bead column เพื่อการผสมที่คล่องตัวก่อนเข้าสู่ detector เพื่อตรวจสอบค่า

absorbance อย่างต่อเนื่อง สัญญาณที่เปลี่ยนแปลง (peak height) จะเป็นสัดส่วนกับ
 ความเข้มข้น นอกจากจะกำจัด interference ได้มากขึ้นแล้วยัง ได้ศึกษาการทำ single
 standard calibration (ทำกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลายมาตรฐานเพียงตัวเดียว)
 วิธีการวิเคราะห์แบบใหม่นี้รวดเร็ว และสามารถปรับปรุงให้เป็นระบบอัตโนมัติได้
 ได้ประยุกต์วิธีใหม่นี้เพื่อหาปริมาณยูเรเนียมในตัวอย่างทางธรณีวิทยา

สภาวะการศึกษารวมถึงการเปรียบเทียบกับเรซินชนิดอื่น (Duolite C-225 (H))
 ดังรายละเอียดใน manuscript ที่ได้เสนอไปตีพิมพ์ในวารสาร Journal of Radioanalytical
 and Nuclear Chemistry, Letter (ภาคผนวก ง เอกสารอ้างอิง 18) และวารสาร Laboratory
 Robotics and Automation (ภาคผนวก จ เอกสารอ้างอิง 19)

3. สรุป

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์แบบต่อเนื่อง ชนิดใหม่ที่เรียกว่า Flow Injection Analysis (FIA) โดยพัฒนา detection systems ที่เป็น conductometric detector และ radiometric detector ควบคู่ไปกับการศึกษาปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้อง เพื่อให้ได้วิธีการวิเคราะห์วิธีใหม่สำหรับการวิเคราะห์ในอุตสาหกรรมเกษตร และการวิเคราะห์ทางสิ่งแวดล้อม

ได้พัฒนาโดยออกแบบและสร้าง conductometric detector เพื่อใช้กับระบบ flow injection analysis ส่วน radiometric detector นั้นได้พยายามปรับปรุง radiometric detector (Packard FLO-ONE) ที่ใช้กับ HPLC เพื่อใช้ในระบบ FIA แต่เนื่องจาก detector ดังกล่าวเกิดชำรุด อันเนื่องจาก over voltage (เกิดจากฝนตกหนักและฟ้าผ่า) ได้พยายามซ่อมแซม และได้พยายามพัฒนา spectrophotometric detection system พร้อมกันไปด้วย

ได้ศึกษาพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

กรดอะซิดิก ใช้ระบบ FIA ที่มี conductometric detector โดยฉีดสารละลายกรดอะซิดิกลงในกระแสตัวพาของสารละลายแอมโมเนียที่ไหลอย่างต่อเนื่อง เกลือที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาสะเทินทำให้ค่าการนำไฟฟ้าของกระแสตัวพามีค่าเปลี่ยนไปซึ่งจะ

ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรดอะซิติก ส่วนระบบ FIA ที่มี Spectrophotometric detector นั้นจะฉีดสารละลายกรดอะซิติกลงในกระแสตัวพา ที่เป็นสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่มี phenolphthalein indicator เปลี่ยนแปลงสีเมื่อเกิด ปฏิกิริยาสะเทิน ติดตามการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่องของค่า absorbance ซึ่งมีความสัมพันธ์กับค่าความเข้มข้นของกรดอะซิติก ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ของทั้งสองระบบ เพื่อการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชู การวิเคราะห์ วิธีใหม่ทั้งสองวิธีมีข้อดีหลายประการ

กรดซัลฟิวริก ในระบบ conductometric FIA จะฉีดสารละลายกรดซัลฟิวริกลงใน กระแสของสารละลายแอมโมเนียที่คั่นกับ gas diffusion device ที่มี acceptor stream เป็นกรดอะซิติก ซึ่งคั่นเข้ากับ conductometric detector วัดการเปลี่ยนแปลงการนำ ไฟฟ้าอย่างต่อเนื่อง ซึ่งมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก สำหรับระบบ spectrophotometric FIA จะใช้หลักการทำนองเดียวกับของกรดอะซิติก

จากการที่ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีทั้งสอง ทำให้ได้วิธีวิเคราะห์วิธี ใหม่เพื่อการหาความเป็นกรด (acidity) ในน้ำผลไม้ ซึ่งมีข้อดีหลายประการ

กรดโอเลอิก ได้สนใจที่จะพัฒนาวิธีใหม่ในการวิเคราะห์อย่างต่อเนื่องรวดเร็ว เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมน้ำมันพืชที่เกี่ยวข้องกับ free fatty acid โดยอาศัยหลักการ ทำนองเดียวกับวิธีการหาปริมาณกรดอินทรีย์ที่กล่าวมาข้างต้น ได้ศึกษาหาตัวทำ ละลายที่เหมาะสม เพื่อสามารถใช้วัดการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าในระบบ FIA

ด้วย พบว่าเมื่อใช้ isopropanol และ aqueous isopropanol solution จะได้ผลดี จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสม สามารถได้วิธีการวิเคราะห์แบบใหม่ ที่มีข้อดี หลายประการในการหาปริมาณ free fatty acid ในตัวอย่าง น้ำมันพืช

กรดแอสคอร์บิก อาศัยปฏิกิริยาสะเทินของกรดแอสคอร์บิกกับสารละลาย แอมโมเนีย สามารถวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิกโดยการวัดการเปลี่ยนแปลง ค่าการนำไฟฟ้า ของกระแสตัวพาสารละลายแอมโมเนีย เมื่อฉีดด้วยกรดแอสคอร์บิก ใน conductometric FIA system ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่านำไฟฟ้าจะมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก ในระบบ spectrophotometric FIA อาศัยการเกิดปฏิกิริยา Redox ของกรดแอสคอร์บิก กับสารละลายค่างทับทิม (KMnO_4) ซึ่งปฏิกิริยานี้ไม่สามารถนำมาใช้ใน Batch procedure ได้ แต่สามารถนำมาใช้กับระบบ FIA ได้ การเปลี่ยนแปลงความเข้มของสี (absorbance) สารละลายค่างทับทิม เมื่อฉีดกรดแอสคอร์บิกลงไปจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ กรดแอสคอร์บิก

ได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อเป็นวิธีการวิเคราะห์แบบใหม่ที่มีราคาถูก รวดเร็ว ประหยัด และยังสามารถปรับปรุงเป็นระบบอัตโนมัติในการวิเคราะห์วิตามินซีในวิตามินซี เม็ดได้

Iodine number ได้พัฒนาวิธี conventional standard Hanus method สำหรับ หาปริมาณ iodine number ในน้ำมันพืช เป็นวิธีใหม่โดยใช้ Flow injection

spectrophotometry ลดปริมาณรีเอเจนต์ที่ใช้ลงได้อย่างมาก เมื่อนำน้ำมันพืชมาเจือจางด้วยคลอโรฟอร์ม แล้วผสมกับ Hanus reagent (iodine monobromide) ในขวดสีชา หลังเกิดปฏิกิริยานำมาสกัดกับ aqueous KI solution นำชั้นของ aqueous ไปฉีดลงในระบบ FIA เพื่อตรวจสอบ absorbance อันเนื่องมาจากปริมาณ I_2 ที่เกิดขึ้น ทำให้สามารถวิเคราะห์หา iodine number ได้รวดเร็ว ประหยัดรีเอเจนต์ และยังสามารถปรับปรุงเป็นระบบอัตโนมัติได้

On - line preconcentration and separation of uranium ได้พัฒนาระบบ Flow injection in-valve solid phase extraction column ซึ่งเป็นวิธีการใหม่เพื่อเพิ่มความเข้มข้นและการแยกยูเรเนียมในลักษณะ on-line

เนื่องจาก radiometric detector มีปัญหาดังกล่าวแล้วข้างต้นจึงได้ใช้ spectrophotometric detection system

ระบบ FIA ประกอบด้วย microcolumn ที่บรรจุด้วย chromatographic resin ชนิดใหม่ (U/TEVA. SpecTM ที่ selective คือ uranium และ tetravalent actinide ions) microcolumn นี้สวมแทน sample loop ของ injection valve ที่ทำขึ้นเองใช้กับ suction system ที่ใช้ปั๊มปิศาจ เมื่อผ่านสารละลายยูเรเนียมในคอลัมน์ (load) แล้วจะสับ valve เพื่อเปลี่ยนตำแหน่งเพื่อผ่าน eluent (HCl) เพื่อ desorb ยูเรเนียมจาก resin เข้าไปผสมกับกระแสของบัฟเฟอร์และ color agent (PAR) ในส่วนของ mixing device

สารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นถูกตรวจสอบค่า absorbance อย่างต่อเนื่อง สัญญาณที่เปลี่ยนแปลงจะสัมพันธ์กับปริมาณของยูเรเนียม วิธีการใหม่นี้มีข้อดีหลายประการ

การวิจัยในโครงการนี้เป็นการพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์แบบใหม่ เทคนิค flow injection analysis ซึ่งเป็นตัวอย่างของการวิจัยและการประยุกต์ที่ยั่งยืน (sustainability)⁽²²⁾

4. เอกสารอ้างอิง

- (1) Ruzicka J., & Hansen E.H. " Flow injection analysis " 2nd ed. wiley & sons, New York, 1983.
- (2) Grudpan K., " Flow Injection analysis (FIA) as a tool in environmental pollution monitoring " International COMETT Course on Environmental Pollution Monitoring , Karlsruhe, Germany, 1992.
- (3) Grudpan, K., " Low - cost flow injection analysis system including home-made flow through cell and peristaltic pump" UNESCO Workshop, 1988, Malaysia, pp 7-15.
- (4) Grudpan, K., Nacapricha, D., Wattanakanjana, Y., Anal. Chim. Acta., 246 (1991) 325.
- (5) Grudpan, K., Nacapricha, D., Anal. Chim. Acta, 246 (1991) 329.
- (6) Grudpan, K., J. Radional. Nucl. Letters 201 (1995) 2107.
- (7) Grudpan, K., Taylor C.G., Sitter, H., Keller, C., Fres. J. Anal. Chem. 346 (1993) ,882
- (8) Grudpan, K., Thanasarn , T., Anal. Proc. 30(1993) 10.
- (9) Grudpan, K., Laiwraungrath , S., Sooksamiti, P., Analyst, 120 (1995) 2107.
- (10) Sooksamiti, P., Geckeis, H., Grudpan, K., Analyst, 121 (1996) 1413.
- (11) Rohwedder J. J. R. and Pasquini, C., Analyst, 116 (1991) 841.
- (12) British Pharmacopocia, London. B.P. 1988 ,vol II pp. 901.
- (13) Hashmi , M. (ed) Assay of Vitamins in Pharmaceutical Preparations, Wiley-Interscience, New York, 1972, p. 286.
- (14) Abdelmageed , O.H., Khashaba, P.Y., Askal, H.F., Salch, G.M. , Refast, I.H. Talanta, 42 (1995) 573.
- (15) AOAC Official Method of Analysis, 15th , 1990.

- (16) Horwitz, E.P., Dietz., M.L., Rhoads, S., Felinto, C., Gake, N.H., Houghton, J.
Anal. Chim. Acta, 292 (1994) 263.
- (17) เกตุ กรุดพันธ์ " Flow - injection determination of ascorbic acid in vitamin C tablets" การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 22 , 25-27 ตุลาคม 2539 , กรุงเทพฯ ,90
- (18) Grudpan, K., Jakmune, J., Sooksamiti, P., Spectrophotometric determination of uranium by flow injection analysis using U/TEVA. SPECTM chromatographic resin. J. Radioanal. Nucl. Chem., Letter, inpress.
- (19) Grudpan, K., Jakmune J., Sooksamiti, P., Flow injection in-valve solid phase extraction spectrophotometric determination of uranium in geological samples, Laboratory Robotics and Automation, in press.
- (20) Grudpan, K., Sritharathikhun, P., Jakmune, J., Kamolachote, K., Flow injection conductometric determination of free fatty acid in oil samples. Talanta , submitted.
- (21) Grudpan K., Sritharathikhun, P., Jakmune, J., Flow injection conductimetric or spectrophotometric analysis for acidity in fruit juice, Anal. Chim. Acta., submitted.
- (22) เกตุ กรุดพันธ์ " Flow Injection Analysis : ตัวอย่างของการวิจัยและการประยุกต์ที่ยั่งยืน "ใน session : แผนงานงานวิจัยยอดเยี่ยม จัดโดย สวทช.การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 23 เชียงใหม่ 2540 : 63

ภาคผนวก ก.

**รายการ paper ที่เป็นผลงานอันเนื่องจาก โครงการวิจัยนี้ที่ตีพิมพ์ใน
วารสารนานาชาติ**

ภาคผนวก ก

รายการ paper ที่เป็นผลงานอันเนื่องมาจากโครงการวิจัยนี้ที่ตีพิมพ์ในวารสาร

นานาชาติ

1. Publication ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

- 1.1 Grudpan, K., Jakmune, J., Sooksamiti, P., Spectrophotometric determination of uranium by flow injection analysis using U/TEVA. SPECTM chromatographic resin. J. Radioanal. Nucl. Chem., Letter, inpress.
- 1.2 Grudpan, K., Jakmune J., Sooksamiti, P., Flow injection in-valve solid phase extraction spectrophotometric determination of uranium in geological samples, Laboratory Robotics and Automation, in press.
- 1.3 Grudpan, K., Sritharathikhun, P., Jakmune, J., Kamolachote, K., Flow injection conductometric determination of free fatty acid in oil samples. Talanta , submitted.
- 1.4 Grudpan K., Sritharathikhun, P., Jakmune, J., Flow injection conductimetric or spectrophotometric analysis for acidity in fruit juice, Anal. Chim. Acta., submitted.

2. คาดว่าจะเสนอเพื่อตีพิมพ์เพิ่มเติม ดังนี้

- 2.1 Grudpan, K., et.al. " Flow injection conductimetric and spectrophotometric determination of ascorbic acid in tablets" จะ submit ยัง Anal. Chim. Acta อีกประมาณ 3 เดือน
- 2.2 Grudpan, K., et.al. " Determination of acetic acid by flow injection techniques", จะ submit ยัง Anal. Chim. Acta อีกประมาณ 3 เดือน
- 2.3 Grudpan, K., et. al. " Flow injection determination for iodine value of oil" จะดำเนินงานวิจัยเพิ่มเติมและคาดว่าจะ submit ไปยัง Talanta (อีกประมาณ 6 เดือน)

ภาคผนวก ข.

Flow injection conductometric determination of free fatty acid in oil
samples Talanta, submitted

Flow injection conductometric determination of free fatty acid in oil samples

Kate Grudpan*, Piyanete Sritharathikhun and Jaroon Jakmunee
*Department of Chemistry, Faculty of Science, and Institute of Science
and Technology Research and Development, Chiang Mai University,
Chiang Mai 50200, Thailand.*

Klangpol Kamolchote
*Department of Chemistry, Faculty of Science, Silpakorn University,
Nakorn Pathom, 73000, Thailand.*

Abstract

A simple flow injection determination of free fatty acid in vegetable oil samples is proposed. The method is based on continuous monitoring of conductivity change. A solution of a sample in isopropanol is injected into a stream of sodium hydroxide in aqueous isopropanol, merging with another stream of aqueous isopropanol to decrease its viscosity before entering the flow-cell. The detection limit is 0.010 % w/v oleic acid. A through-put of 180 h⁻¹ and an RSD of 4.2 % (at 0.10 % w/v, n=12) are obtained.

Keywords: Conductometry, Flow injection, Free fatty acid, Vegetable oil

* Corresponding author: Tel.: (+66) 53 943345; fax: (+66) 53 222268.

E-mail: kate@chiangmai.ac.th.

1. Introduction

The acidity or free fatty acid content is a measure of quality of an oil and fat for assessing the sensory properties and deterioration [1]. Although a conventional titrimetric method has still been used as a standard method [2], attempts have been made to develop continuous methods for automation. Flow injection analysis (FIA) has been applied for the determination of free fatty acid. Both FIA [3] and flow-reversal injection [4] solvent extraction concerning copper(II)-free fatty acid complex formation with spectrophotometric detections have been reported. Spectrophotometric flow injection titration based on the neutralization of the acid with potassium hydroxide in the presence of phenolphthalein in ethanol-diethyl ether media has been developed [5].

In this work, conductometric flow injection determination of free fatty acid in vegetable oil samples using a simple instrument is proposed. The acid is neutralized by sodium hydroxide in aqueous isopropanol. Changes in conductant are continuously monitored using a home-made flow-through cell and differential conductivity meter. The proposed procedure which is very simple and fast has been applied for vegetable oil samples.

2. Experimental

2.1 Solutions

All chemicals of analytical reagent grade and deionized water were used. Stock standard free fatty acid-solution was 5 % w/v oleic acid solution in isopropanol by dissolving the acid (5.00 g, Merck, Germany) in isopropanol to make a volume of 100.0 ml. Other concentrations of free fatty acid were prepared by appropriate dilution of the stock solution with isopropanol.

The reagent was 0.05 g l⁻¹ sodium hydroxide in 15 % v/v aqueous isopropanol. Sodium hydroxide (0.05 g, Merck, Germany) was dissolved in an aqueous solution (15 % v/v) of isopropanol (Merck, Germany). Carrier solution of 50 % v/v isopropanol/water was used.

Sample solution preparation. A sample was weighed and dissolved, then made to 100.0 ml with isopropanol.

2.2 The flow manifold

The manifold is depicted in Fig. 1. A FIAlab 2000 (Alitea, USA) consisting of a peristaltic pump for propulsion of solutions, an injection valve with 80 µl sample loop was used. The valve was connected to a suction system using an aquarium air pump, as described previously [6]. A standard or sample was injected into a stream of the reagent (sodium hydroxide in 15 % v/v aqueous isopropanol flowing through GBC1 a mixing device of a single string glass bead column (2.5 mm diameter

beads packed in a silicone tubing of 3 mm inner diameter) [7]. The stream merged with another stream of 50 % v/v aqueous isopropanol in order to decrease the viscosity. After passing through GBC2, another glass bead column, the stream was passed through the home-made flow-through cell of conductometric detector which was connected to a chart recorder (Philips, PM 8251, Holland).

2.3 The conductometric detection system

The detector was a differential conductivity meter, similar to that described by Rohwedder and Pasquini [8]. In stead of using two flow through cells for measuring the difference in conductant values of the flowing solution at the points of up-stream before chemical reaction and of the down stream after a chemical change, a continuous monitoring was made for the conductivity change of the down stream at the point of detection (a flow through cell) with respect to a variable resistor but fixed to an optimum value. It was composed of (a) Wein bridge, (b) measurement bridge with instrumentation amplifier and circuit for sensitivity and balance adjustment and (c) precision rectifier and output buffer. The output signal was converted into mV.

The flow-through cell (Fig. 2) was made of an acrylic block (12x15x47 mm) having a 3 mm diameter channel connecting to the FIA stream line. Two copper electrodes (2 mm diameter) which were of pieces of the core of lead power cable without any modification) were fixed : one opposite to the other in the channel.



3. Results and discussion

An appropriate solvent for dilution of a vegetable oil sample for the determination of free fatty acid is required, especially by means of conductivity measurement. In this work, in comparison to the previous report, isopropanol is chosen in term of its being non-hazardous to an operator, environment and/or a component of the FI-analyzer, such as toluene [3], ether-ethanol mixture [5].

3.1 Optimization of the flow system

For optimization, the parameters, kept constant, were: flow rate 5.8 ml min^{-1} ; GBC1, 5 cm; GBC2, 10 cm; the stream C, 50 % v/v isopropanol/water, solvent for sodium hydroxide stream (R), 15 % v/v aqueous isopropanol; a series of standards injected, 0-0.25 % w/v oleic acid. The effect of sodium hydroxide concentration, shown in Fig. 3, indicates that 0.05 g l^{-1} sodium hydroxide should be the most appropriate concentration as the best slope may be resulted for 0-0.15 % w/v free fatty acid. When the flow rate was varied from 2.8 to 7.3 ml min^{-1} , the flow of 3.9 ml min^{-1} should be selected for both streams at it yields the best slope (Fig. 4). The 5 cm of the glass bead column, GBC1 is found to be most appropriate among the 0, 5, 10 and 15 cm in length studied (Fig. 5), while 15 cm for the GBC2 (Fig. 6).

3.2 Calibration curve and determination of free fatty acid in vegetable oil samples

Under the optimum conditions studied, a calibration graph is linear at least over the range 0-0.15 % w/v free fatty acid as oleic acid ($y = 61.40 x + 4.87$; $r = 0.999$; $n=4$, triplicate injections each).

The method developed was applied to determine the free fatty acid in vegetable oil samples. The results obtained agree with the ones obtained by the standard titrimetric method [2] (Table 1).

The 3σ detection limit is 0.010 % w/v free fatty acid (as oleic acid) with a relative standard deviation of 4.2 % ($n = 12$, 0.10 % w/v). It is possible to achieve a through-put of 60-65 samples h^{-1} (triplicate) or 180 injections h^{-1} .

4. Conclusion

The FIA method which has been developed for the determination of free fatty acid, based on conductometry is extremely simple regarding both chemistry and the instrumentation needed. Two of FIA's inherent advantages, the ease of automation and the high sampling frequency, make it suitable for application to industrial processes and quality control for the manufacture of vegetable oil.

Acknowledgements

The Thailand Research Fund (TRF) is acknowledged for the research grant. The authors thank Dr. Colin Taylor and Professor Gary Christian for useful discussions.

References

- [1] R. J. Hamilton and J. B. Rossell, *Analysis of oils and Fats*, Elsevier Applied Science Publishers, Essex, 1986.
- [2] K. Helrich, *AOAC Official Method of Analysis*, AOAC, Arlington, VA, 15th edn., 1990.
- [3] L. Ekstrom, *JAOCS*, 58 (1981) 935.
- [4] Z. Zhi, A. Rios and M. Valcarcel, *Anal. Chim. Acta*, 318 (1996) 187.
- [5] P. Linares, M. D. Luque de Castro and M. Valcarcel, *Anal. Chim. Acta*, 225 (1989) 431.
- [6] K. Grudpan, C. Taylor, H. Sitter and C. Keller, *Fres. J. Anal. Chem.*, 324 (1993) 882.
- [7] K. Grudpan, P. Sooksamiti and S. Laiwraungrath, *Anal. Chim. Acta*, 314 (1995) 51.
- [8] J. J. R. Rohwedder and C. Pasquini, *Analyst*, 116 (1991) 841.

Fig. 1 FI-conductometric manifold; R = sodium hydroxide in 15 % v/v aqueous isopropanol; C = 50 % v/v isopropanol/water; GBC1 and GBC2 = glass bead columns; Rec. = recorder.

Fig. 2 Home-made flow through cell.

Fig. 3 Effect of sodium hydroxide concentration on peak height; (a) 0.25, (b) 0.13, (c) 0.063, (d) 0.050 and (e) 0.025 g l⁻¹.

Fig. 4 Effect of flow rate; (a) 2.8, (b) 3.9, (c) 5.8, and (d) 7.3 ml min⁻¹.

Fig. 5 Effect of glass bead column 1 (GBC1); (a) 0, (b) 5, (c) 10 and (d) 15 cm.

Fig. 6 Effect of glass bead column 2 (GBC2); (a) 0, (b) 5, (c) 10 and (d) 15 cm.

Table 1 Comparison between FIA and titrimetric methods [2], all results are the means of triplicates.

sample	free fatty acid (% w/w)	
	FIA	Titration
S1	0.072	0.079
S2	0.009	0.007
S3	0.010	0.010
S4	0.007	0.007
S5	0.009	0.010

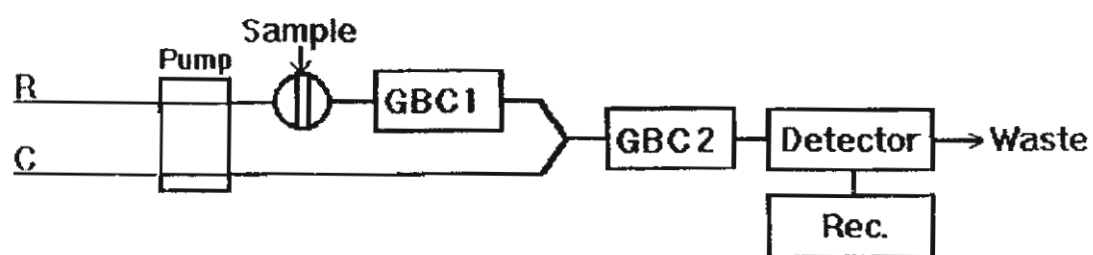


Fig. 1

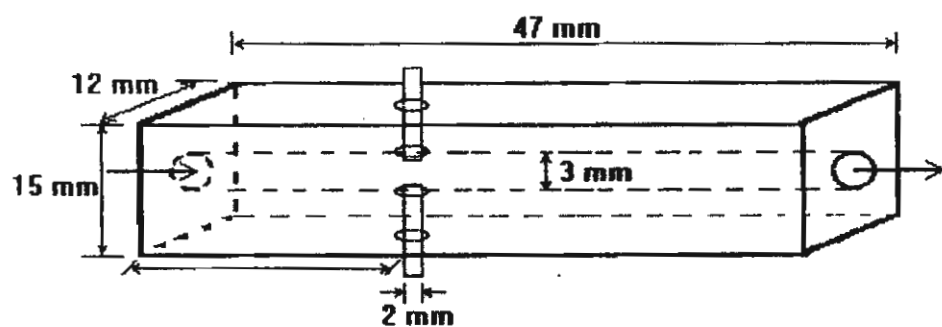


Fig. 2

