

# การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในน้ำผลไม้ โดยใช้เทคนิคโครโนแอมเปอร์เมตรี

## DETERMINATION OF ASCORBIC ACID IN JUICES USING THE CHRONOAMPEROMETRY

สุนันทา ทักท้วง ภารดี โสภพร ศิริพร เมฆสันต์ อนูรักษ์ จิตต์บึงพรว

กุลวดี ปิ่นวัฒนะ และ อัญชนา ปรีชาวรพันธ์\*

Sunantha Thakthuang, Paradee Sopaporn, Siriporn Meksun, Anurak Chitbuengphrao,

Kulwadee Pinwattana and Anchana Preechaworapun \*

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

Faculty of Science and Technology, Rajabhat Pibulsongkram University

\* corresponding author e-mail: anchanaaph@psru.ac.th

(Received: 9 November 2020; Revised: 12 December 2020; Accepted: 12 December 2020)

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิกโดยใช้เทคนิคโครโนแอมเปอร์เมตรีด้วยขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอน ทำการศึกษาพฤติกรรมทางเคมีไฟฟ้าและวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6.0 จากการศึกษาพฤติกรรมทางเคมีไฟฟ้าของกรดแอสคอร์บิกด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีจะพบพีคของปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกที่ศักย์ไฟฟ้า 0.30 โวลต์ ที่อัตราสแกน 0.10 โวลต์ต่อวินาที เทคนิคโครโนแอมเปอร์เมตรีสามารถตรวจวัดได้ช่วงของความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 1–340 ไมโครโมลาร์ ที่ศักย์ไฟฟ้า 0.30 โวลต์ นอกจากนี้ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างจริง คือ น้ำมะนาว และน้ำส้มตัวอย่างได้

**คำสำคัญ:** น้ำผลไม้ โครโนแอมเปอร์เมตรี วิตามินซี

### Abstract

The present work aims to determine the amount of ascorbic acid using chronoamperometry by glassy carbon electrode. The Electrochemical behavior and quantitative determination of ascorbic acid was carried out in phosphate buffer solution (pH 6.0). Electrochemical behavior of ascorbic acid has been studied by cyclic voltammetry, which the anodic peak of ascorbic acid

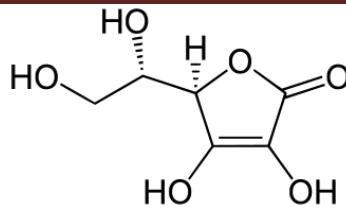
was observed at the potential of 0.30 Volt, at scan rate of 0.10 Volt per second. Chronoamperometric detection of ascorbic acid showed the linear response in the range of 10 to 340 micromolar at 0.30 Volt. Moreover, the proposed method was successfully applied to real sample analyze as lemon and orange juices.

**Keywords:** Juice, Chronoamperometry, Ascorbic acid

## บทนำ

กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic Acid;  $\text{HC}_6\text{H}_7\text{O}_6$ ) หรือมีอีกชื่อหนึ่งว่า วิตามินซี โครงสร้างดังภาพที่ 1 จัดเป็นวิตามินที่ละลายได้ดีในน้ำ เมื่อถูกออกซิไดซ์จะเปลี่ยนเป็น Dehydroascorbic acid (Cathcart, 1991) เป็นวิตามินที่ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ จึงต้องรับประทานอาหารที่มีกรดแอสคอร์บิกอยู่เสมอเพื่อป้องกันการขาดกรดแอสคอร์บิก ความต้องการกรดแอสคอร์บิกในแต่ละวัน แบ่งได้ตามอายุโดยอายุ 1–13 ปี ต้องการ 15–45 มิลลิกรัมต่อวัน อายุ 14–18 ปี ต้องการ 65–75 มิลลิกรัมต่อวัน ร่างกายมีความต้องการกรดแอสคอร์บิกเพิ่มขึ้นในภาวะการอักเสบ การติดเชื้อในร่างกาย หญิงตั้งครรภ์และให้นมบุตร หากร่างกายขาดกรดแอสคอร์บิก ในเด็ก มักเริ่มด้วยอาการกระดูกสะบ้าสะอ่าย งอแง เบื่ออาหาร มีไข้ต่ำๆ ต่อมาจะแสดงออกทางผิวหนัง เส้นเลือดฝอยเปราะบางแตกง่าย เกล็ดเลือดทำงานผิดปกติทำให้เลือดออก สังเกตได้จากเหงือกบวมและมีเลือดออก (ฉัตรชัย, 2562) กรดแอสคอร์บิกมีประโยชน์และจำเป็นต่อร่างกาย เป็นสารในกลุ่มต้านอนุมูลอิสระตัวหนึ่งที่มีมากในผักและผลไม้ ตัวอย่างของผักและผลไม้ที่ประกอบไปด้วยกรดแอสคอร์บิก ได้แก่ ฝรั่ง ส้ม มะละกอ มะม่วง มะนาว บร็อกโคลี่ องุ่น สตรอเบอร์รี่ ผลกีวี แคนตาลูป มะเขือเทศ มันฝรั่ง และผักใบเขียว เป็นต้น กรดแอสคอร์บิกนำมาใช้อย่างกว้างขวางด้านเภสัชกรรม เคมี เครื่องสำอางค์ และอาหาร การพัฒนาการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกให้มีความไวต่อการตรวจวัด กระบวนการวิเคราะห์ที่ง่ายจึงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญ

ในปัจจุบันพบว่าการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิก มีหลายเทคนิคด้วยกัน อาทิ การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิกโดยใช้เทคนิคทางสเปกโทรโฟโตเมตรี (Spectrophotometry) (Bazel, Riabukhina, & Tirpák, 2018) และเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography; HPLC) (Zuo et al., 2015) ซึ่งเทคนิคดังกล่าวต้องใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์ที่มีราคาแพง ขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างค่อนข้างซับซ้อน ประกอบกับต้นทุนในการวิเคราะห์สูงและต้องใช้นักวิทยาศาสตร์ที่มีความเชี่ยวชาญในการวิเคราะห์



ภาพที่ 1 โครงสร้างของกรดแอสคอร์บิก

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกพัฒนาวิธีวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิกโดยใช้เทคนิคทางเคมีไฟฟ้า ซึ่งเป็นเทคนิคที่ให้ศักย์ไฟฟ้ากับขั้วไฟฟ้าทำงานในงานวิจัยนี้ คือ ขั้วไฟฟ้าแกลสลิคาร์บอน เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือรีดักชันมีการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนระหว่างสารที่ทำการตรวจวัดกับขั้วไฟฟ้าทำงานเกิดเป็นกระแสขึ้น โดยปริมาณของกระแสจะแปรผันโดยตรงกับปริมาณของสารที่ตรวจวัด จัดเป็นเทคนิคที่มีต้นทุนในการวิเคราะห์ไม่มาก เนื่องจากลดขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ สามารถตรวจวัดได้ในสารละลายที่ขุ่น ใช้ปริมาตรสารเคมีในการวิเคราะห์น้อย และมีขั้นตอนในตรวจวัดไม่ยุ่งยากและซับซ้อน (Chammui et al., 2018) โดยเทคนิคที่เลือกใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในครั้งนี้ คือ เทคนิคโครโนแอมเปอร์เมตรี และประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างน้ำมะนาวสดและน้ำส้มบรรจุกล่องพร้อมดื่ม

### วิธีดำเนินการวิจัย

1. **เครื่องมือและอุปกรณ์** ได้แก่ เครื่องโพเทนชิโอสแตท (Potentiostat): รุ่น CHI1230A ขั้วไฟฟ้าทำงานกลาสลิคาร์บอน (Glassy carbon working electrode; เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร) ขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (Ag/AgCl reference electrode; 3 M KCl) ขั้วไฟฟ้าช่วยเป็นสแตนเลสสตีล (Stainless steel auxiliary electrode)

2. **สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง** ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid (AA),  $C_6H_8O_6$ ) จากบริษัท Ajax Finechem Pty Ltd โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $Na_2HPO_4$ ) จากบริษัท Ajax Finechem Pty Ltd กรดฟอสฟอริก ความเข้มข้น 85%v/v ( $H_3PO_4$ ) จากบริษัท RIC LABSCAN LIMITED โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ ) จากบริษัท Ajax Finechem Pty Ltd โซเดียมไฮดรอกไซด์ 97% (NaOH) จากบริษัท RIC LABSCAN LIMITED และน้ำปราศจากไอออน (Deionized water)

3. **วิธีการเตรียมตัวอย่าง** ตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ น้ำมะนาวสดและน้ำส้มบรรจุกล่องพร้อมดื่ม โดยตัวอย่างน้ำส้มบรรจุกล่องพร้อมดื่มซื้อจากร้านสะดวกซื้อ ส่วนน้ำมะนาวสดเตรียมจากการนำผลมะนาวสดที่ซื้อจากตลาดบ้านคลอง ตำบลบ้านคลอง อำเภอเมืองพิษณุโลก จังหวัดพิษณุโลก นำตัวอย่างผลมะนาวสดมาผ่าครึ่งคั้นน้ำแยกเมล็ดออก จากนั้นทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือทางไฟฟ้าโดยใช้เทคนิคโครโนแอมเปอร์เมตรี (Chronoamperometry)

**4. วิธีการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า** โดยใช้เทคนิคโครโนแอมเปอร์อิมเมตรี ซึ่งประกอบไปด้วย ขั้วไฟฟ้า 3 ขั้ว คือ 1) ขั้วไฟฟ้ากลาสสคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าใช้งาน 2) ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์ เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง และ 3) สแตนเลสสตีลเป็นขั้วไฟฟ้าช่วย ติดตั้งเซลล์เคมีไฟฟ้า ดังภาพที่ 2 ก่อนการใช้งานขัดขั้วไฟฟ้าทำงานกลาสสคาร์บอนด้วยผงอะลูมินาขนาด  $0.05\ \mu\text{m}$  ให้เป็นเงา และตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าดังนี้

#### 4.1 การศึกษากลไกของปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้า

ทำการศึกษากลไกของปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าของกรดแอสคอร์บิกในสารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6 ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์ในการทดลองครั้งนี้ โดยใช้เทคนิค ไซคลิกโวลแทมเมตรี (Cyclic voltammetry) ตั้งค่าอัตราการสแกน  $0.1\ \text{V/s}$  ตรวจวัดในช่วงของศักย์ไฟฟ้า  $0.0\text{--}0.8\ \text{V}$

#### 4.2 การศึกษาค่า pH

ทำการศึกษาค่า pH ของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสมต่อการตรวจวัด กรดแอสคอร์บิก โดยทำการศึกษาในช่วง pH 4–8 ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ในการตรวจวัด ตั้งค่าอัตราการสแกน  $0.1\ \text{V/s}$  ตรวจวัดในช่วงของศักย์ไฟฟ้า  $0.0\text{--}0.8\ \text{V}$  จากนั้นทำการพล็อตกราฟ ความสัมพันธ์ระหว่างความสูงของกระแสออกซิเดชันที่ตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกกับค่า pH เพื่อเลือก ค่า pH ที่ให้สัญญาณออกซิเดชันที่สูงที่สุด

#### 4.3 การหาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิก

ทำการศึกษาค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิก เติงปริมาณด้วยเทคนิคโครโนแอมเปอร์อิมเมตรี โดยกำหนดศักย์ไฟฟ้า  $0.25\ 0.30\ 0.35$  และ  $0.45\ \text{V}$  ตามลำดับ เวลาในการตรวจวัด  $300\ \text{s}$  และนำสัญญาณที่  $200\ \text{s}$  มาพล็อตกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง กระแสกับค่าศักย์ไฟฟ้า เพื่อเลือกค่าศักย์ไฟฟ้าที่ให้กระแสการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงสุด

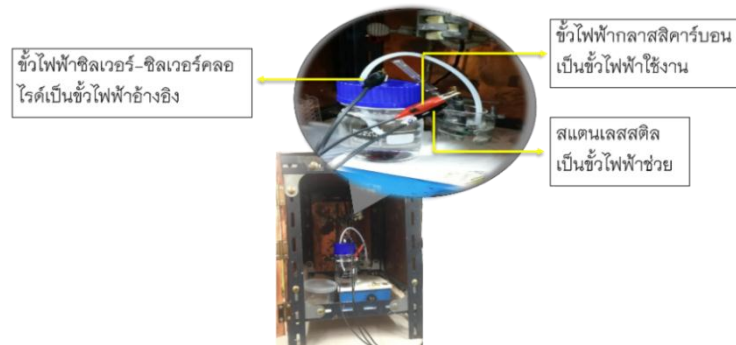
#### 4.4 การหาช่วงของความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง

ทำการหาช่วงของความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรง โดยใช้เทคนิคโครโนแอมเปอร์อิมเมตรี ตรวจวัดที่ศักย์ไฟฟ้า  $0.30\ \text{V}$  ในเวลา  $300\ \text{s}$  ตรวจวัดสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่มีความเข้มข้น ตั้งแต่  $0\text{--}0.34\ \text{mM}$  และนำสัญญาณที่  $200\ \text{s}$  มาพล็อตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสกับค่า ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก เพื่อหาช่วงของความเข้มข้นที่ให้ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงที่ดีที่สุด

#### 4.5 การวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างน้ำผลไม้

ทำการวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างน้ำผลไม้ ได้แก่ น้ำมะนาวสด และ น้ำส้มบรรจุกล่องพร้อมดื่ม และใช้เทคนิคการเติมสารมาตรฐาน (Standard addition) โดยตรวจวัด ด้วยการเติมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกลงในตัวอย่างน้ำผลไม้ โดยใช้เทคนิคโครโน

แอมแปร์โรเมตรรี ตรวจวัดที่ศักย์ไฟฟ้า 0.30 V ในเวลา 300 s และนำสัญญาณที่ 200 s มาพลอตกราฟ ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสกับค่าความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกที่เดิมลงไป จากนั้นทำการศึกษา ประสิทธิภาพของการตรวจวัดโดยหาร้อยละการกลับคืน

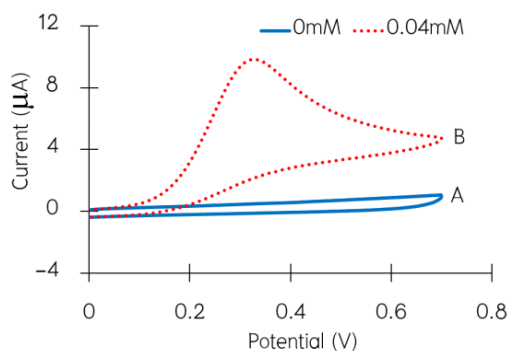


ภาพที่ 2 การตั้งเซลล์เคมีไฟฟ้าในการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิก

## ผลการวิจัย

### 1. ผลการศึกษากลไกของปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้า

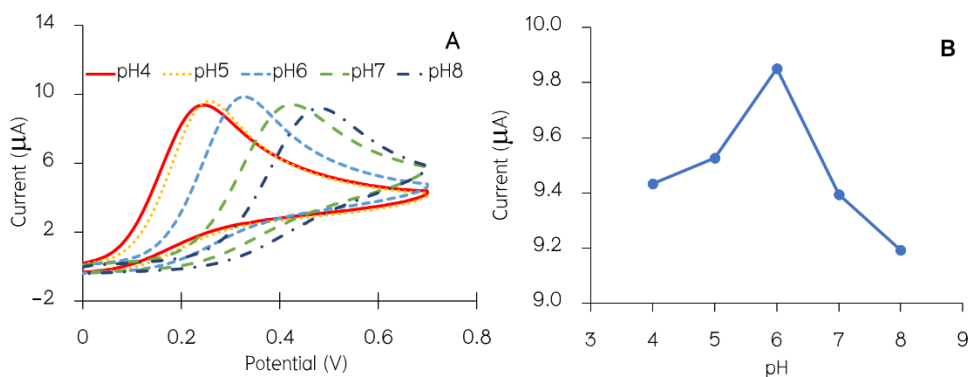
จากการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาในการวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิกทางเคมีไฟฟ้า ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 6) ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี โดยใช้ขั้วไฟฟ้า กลาสคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าในการทำงาน ดังภาพที่ 3 พบว่า จากการตรวจวัดอิเล็กโทรไลต์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 6) ไม่ปรากฏพีคใดๆ บนช่วงศักย์ไฟฟ้า 0.0 – 0.7 V ดังเส้นที่ภาพที่ 3(A) เมื่อมีกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.04 mM ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์จะปรากฏพีคของ ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า 0.33 V ด้วยกระแสแอโนดิกเท่ากับ 10  $\mu$ A ดังเส้นปะภาพ ที่ 3(B)



ภาพที่ 3 ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของกรดแอสคอร์บิก (A) ความเข้มข้น 0.00 mM (เส้นทึบ) และ (B) ความเข้มข้น 0.04 mM (เส้นปะ) ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 6) ตรวจวัดด้วย ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอน ด้วยอัตราสแกน 0.1 V/s

## 2. ผลการศึกษาค่า pH

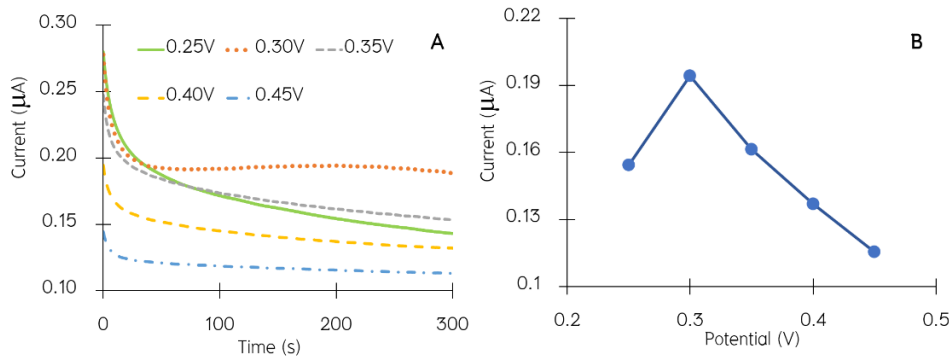
จากภาพที่ 4 ซึ่งแสดงไซคลิกโวลแทมโมแกรมของการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 0.04 mM ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH ต่างกัน ตั้งแต่ 4-8 เมื่อพิจารณาไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้พบว่า เมื่อมีค่า pH เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ตำแหน่งของศักย์ไฟฟ้าของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเลื่อนไปทางบวกมากขึ้น ดังภาพที่ 4(A) และเมื่อพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH กับความสูงของกระแสแอนอดิกในการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกพบว่า pH ที่ให้ความสูงของกระแสในการตรวจวัดสูงสุดอยู่ที่ pH 6 ดังภาพที่ 4(B)



**ภาพที่ 4 (A)** ไซคลิกโวลแทมโมแกรมของสารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.04 mM ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH 4 ถึง pH 8 ตรวจวัดด้วยหัวไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนด้วยอัตราการสแกน 0.1 V/s และ (B) กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับความสูงของกระแสแอนอดิกในการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4 ถึง 8

## 3. ผลการหาค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิก

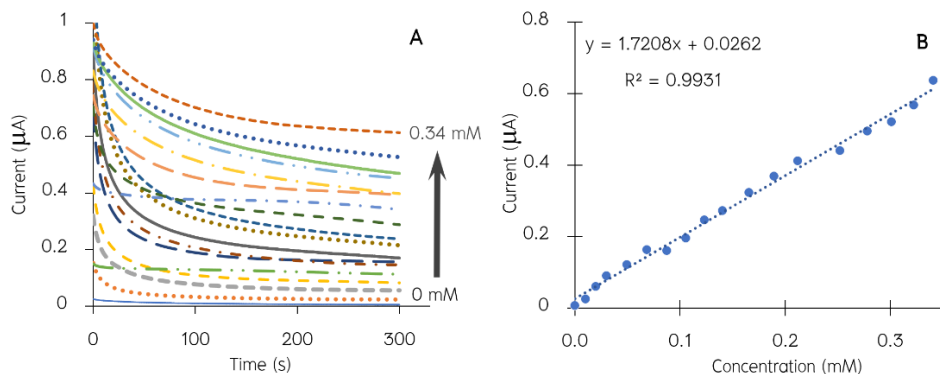
การตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกด้วยเทคนิคโครโนแอมเพโรเมตรี เริ่มต้นด้วยการหาสถานะของศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกได้ผลดังโครโนแอมเพโรแกรมดังภาพที่ 5(A) โดยทำการตรวจวัดที่ศักย์ไฟฟ้า 0.25 0.30 0.35 0.40 และ 0.45 V เมื่อนำกระแสที่ได้จากโครโนแอมเพโรแกรมที่เวลา 200 s พลอตเทียบกับค่าศักย์ไฟฟ้าที่ให้กับหัวไฟฟ้าทำงานกลาสสิคาร์บอน พบว่า ศักย์ไฟฟ้าที่ให้ความสูงของกระแสออกซิเดชันสูงสุด คือ 0.30 V ดังภาพที่ 5(B)



ภาพที่ 5 (A) แอมเปอร์โรแกรมของการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 0.04 mM ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6 ตรวจวัดที่ศักย์ไฟฟ้า 0.25 ถึง 0.45 V บนขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอน และ (B) ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสกับศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากแอมเปอร์โรแกรมที่เวลา 200 s

#### 4. ผลการหาช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง

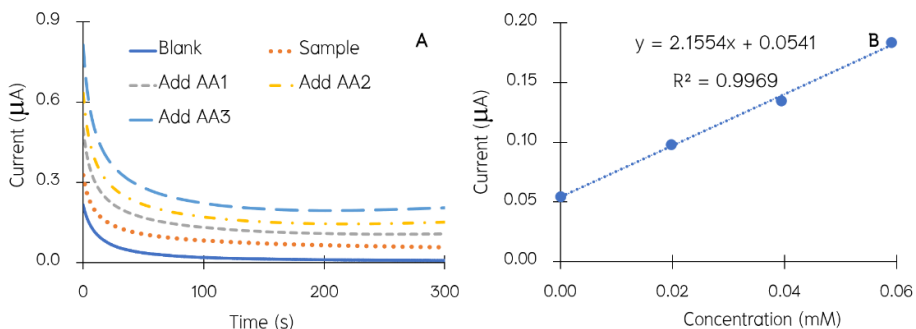
เมื่อนำสภาวะที่เหมาะสมมาศึกษาช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิก ดังภาพที่ 6(A) เป็นสัญญาณโครโนแอมเปอร์โรแกรมที่ได้จากการตรวจวัดเมื่อนำค่าของกระแสจากโครโนแอมเปอร์โรแกรมที่เวลา 200 s พล็อตกับความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก ดังภาพที่ 6(B) พบว่าอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.01 – 0.34 mM ด้วยความไวในการตรวจวัด 1.72 μA/mM ชีตจำกัดของการตรวจวัดเท่ากับ 4 μM



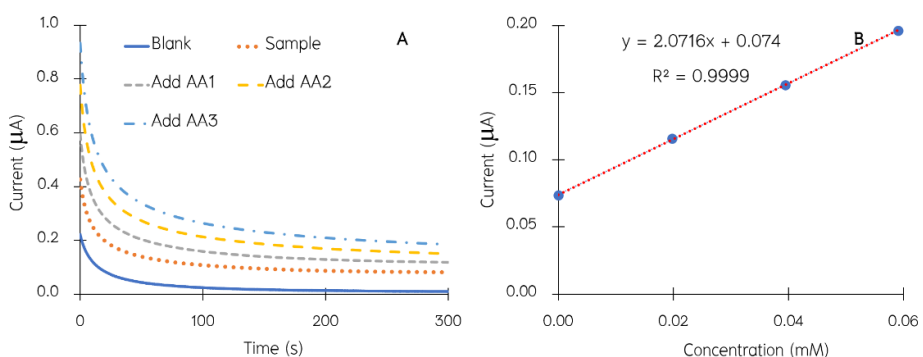
ภาพที่ 6 (A) โครโนแอมเปอร์โรแกรมของการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 0.00 ถึง 0.34 mM ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6 ตรวจวัดที่ศักย์ไฟฟ้า 0.30 V บนขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอน และ (B) ความสัมพันธ์ระหว่างกระแสกับศักย์ไฟฟ้าที่ได้จากโครโนแอมเปอร์โรแกรมที่เวลา 200 s

## 5. ผลการวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างน้ำผลไม้

จากการนำสถานะที่เหมาะสมมาทำการตรวจวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างน้ำผลไม้ ได้แก่ น้ำมะนาวสด และน้ำส้มบรรจุกล่องพร้อมดื่ม โดยใช้วิธีการเติมสารละลายมาตรฐานลงในตัวอย่าง (Standard addition) ได้ผลโครโนแอมเปอร์โรแกรม ดังภาพที่ 7(A) และภาพที่ 8(A) ตามลำดับ จากนั้นนำผลมาวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิก คำนวณโดยนำค่ากระแสที่เวลา 200 s ของแต่ละโครโนแอมเปอร์โรแกรมที่ได้มาพลอตกราฟเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่เติม ดังภาพที่ 7(B) และภาพที่ 8(B) ตามลำดับ จะได้สมการเส้นตรงเมื่อนำสมการเส้นตรงคำนวณหาความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก ผลของการคำนวณความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกในน้ำมะนาวเท่ากับ 44.64 g/100 mL และความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกในน้ำส้มผลไม้พร้อมดื่มเท่ากับ 63.50 g/100 mL



ภาพที่ 7 (A) โครโนแอมเปอร์โรแกรมของการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างน้ำมะนาวแบบ Standard addition และ (B) กราฟแสดงความสัมพันธ์ของกระแสไฟฟ้ากับความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกที่เติมในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH 6 บนขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ตรวจวัดด้วยเทคนิคโครโนแอมเปอร์เมตรี



ภาพที่ 8 (A) โครโนแอมเปอร์โรแกรมของการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างน้ำส้มบรรจุกล่องแบบ Standard addition และ (B) กราฟแสดงความสัมพันธ์ของกระแสไฟฟ้ากับความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกที่เติมในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ pH 6 บนขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ตรวจวัดด้วยเทคนิคโครโนแอมเปอร์เมตรี

เมื่อทำการหาประสิทธิภาพของการตรวจวัดโดยหาร้อยละการกลับคืนโดยเติมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 20 40 และ 60  $\mu\text{M}$  ลงในสารละลายตัวอย่างน้ำมะนาว และน้ำส้มกล่องพร้อมดื่มที่ทำการตรวจวัดได้ผลร้อยละการกลับคืน ดังตารางที่ 1 พบว่าได้ร้อยละการกลับคืนของผลการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิก อยู่ในช่วง 98–118% ซึ่งเป็นช่วงที่ยอมรับได้ในการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า และจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation; %RSD) มีค่าต่ำกว่า 6% แสดงถึงการวิเคราะห์มีความเที่ยงตรง

**ตารางที่ 1** ร้อยละการกลับคืนของการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกในตัวอย่าง

| สารตัวอย่าง                   | ความเข้มข้นของ<br>กรดแอสคอร์บิกที่เติม<br>( $\mu\text{M}$ ) | ความเข้มข้นของ                                      |                      | %RSD |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------|------|
|                               |                                                             | กรดแอสคอร์บิก<br>ที่ตรวจวัดได้<br>( $\mu\text{M}$ ) | ร้อยละ<br>การกลับคืน |      |
| น้ำมะนาว                      | –                                                           | 27 $\pm$ 1.0                                        | –                    |      |
|                               | 20                                                          | 48 $\pm$ 1.0                                        | 105 $\pm$ 5.0        | 4.76 |
|                               | 40                                                          | 72 $\pm$ 1.5                                        | 112 $\pm$ 3.8        | 3.42 |
|                               | 60                                                          | 95 $\pm$ 1.0                                        | 118 $\pm$ 1.7        | 1.41 |
| น้ำส้มบรรจุกล่อง<br>พร้อมดื่ม | –                                                           | 17 $\pm$ 1.0                                        | –                    |      |
|                               | 20                                                          | 37 $\pm$ 1.2                                        | 98 $\pm$ 5.8         | 5.87 |
|                               | 40                                                          | 60 $\pm$ 1.5                                        | 107 $\pm$ 3.8        | 3.58 |
|                               | 60                                                          | 83 $\pm$ 0.6                                        | 111 $\pm$ 1.0        | 0.87 |

### อภิปรายผล

จากผลการวิจัยได้ศึกษาหลักการเกิดปฏิกิริยาด้วยเทคนิคโวลแทมเมตรี พบว่า กรดแอสคอร์บิกสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ตำแหน่งศักย์ไฟฟ้า 0.33 V ในสารละลายอิเล็กโทรไลต์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ต่อมาเมื่อทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าโดยใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสซิลคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน พบว่า ค่า pH ที่เหมาะสมของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ คือ pH = 6 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wu et al. (2020) ที่ใช้อิเล็กโทรไลต์เป็นฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6 เช่นเดียวกันเป็น pH ที่เหมาะสมสำหรับหาปริมาณของกรดแอสคอร์บิก ค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกด้วยเทคนิคโครโนแอมเปอร์เมตรี คือ ที่ศักย์ไฟฟ้าเท่ากับ 0.30 V ได้ช่วงของความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงในช่วง 0.01–0.34 mM ด้วยความชัน 1.72  $\mu\text{A}/\text{mM}$  เมื่อเปรียบเทียบ

กับงานวิจัยที่ผ่านมา ดังตารางที่ 2 พบว่า ในงานวิจัยนี้มีขีดจำกัดในการตรวจวัดที่ต่ำกว่ากลุ่มวิจัยของ Wang et al. (2016); Kunpattee et al. (2020); Wu et al. (2020) ซึ่งมีค่าความไวในการตรวจวัด  $8.039 \times 10^6$  9.2 และ 3.51  $\mu\text{A}/\text{mM}$  ตามลำดับ ดังนั้นจึงควรพัฒนาให้สัญญาณมีความไวในการตรวจวัดให้สูงขึ้นต่อไป เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจวัดให้ดียิ่งขึ้น เมื่อทำการตรวจวัดในตัวอย่างน้ำผลไม้ พบว่ามีค่าร้อยละการกลับคืนของผลการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกอยู่ในช่วง 98–118% สามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ในการตรวจวัดหาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างได้จริง เหมาะที่จะนำไปตรวจวัดหาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างอื่นๆ เช่น อาหาร ผัก ผลไม้สด และผลไม้พร้อมดื่มชนิดอื่นๆ ต่อไป ข้อดีจากการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้าในงานวิจัยนี้ใช้ปริมาณตัวอย่างที่น้อยในการทดลอง เพียง 50  $\mu\text{L}$  ต่อครั้ง ในขณะที่วิธีมาตรฐานด้วยการไทเทรตต้องใช้ปริมาตรถึง 50 mL (Nielsen, 2010) ปริมาตรน้อยกว่าถึง 1000 เท่า สามารถตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกได้ระดับ  $\mu\text{M}$  ในขณะที่วิธีมาตรฐานด้วยการไทเทรตตรวจวัดได้ในระดับ mM ที่สำคัญวิธีทางเคมีไฟฟ้าสามารถตรวจวัดได้โดยไม่ต้องสกัดกรดแอสคอร์บิกออกจากสารตัวอย่าง เพียงละลายตัวอย่างก็สามารถทำการวิเคราะห์ได้และตัวอย่างน้ำผลไม้ไม่มีสีก็สามารถวิเคราะห์ได้โดยไม่ต้องเป็นตัวรบกวนการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกต่างจากเทคนิคการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐาน HPLC (Hernández, Lobo, & González, 2006) ต้องมีขั้นตอนการสกัดเพื่อกำจัดตัวรบกวนก่อนเข้าเครื่องตรวจวัด HPLC

**ตารางที่ 2** เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิกกับงานวิจัยอื่นๆ

| ขั้วไฟฟ้า                                                    | ช่วงของ<br>ความเข้มข้น<br>ที่เป็นเส้นตรง<br>( $\mu\text{M}$ ) | ขีดจำกัด<br>การตรวจวัด<br>( $\mu\text{M}$ ) | ความไว<br>ในการ<br>ตรวจวัด<br>( $\mu\text{A}/\text{mM}$ ) | เอกสารอ้างอิง                          |
|--------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| Au/PDDA/GNS/GCE                                              | 600–42000                                                     | 80                                          | $8.039 \times 10^6$                                       | (Wang et al., 2016)                    |
| PAP/ZrO <sub>2</sub> NDs/CNTs/GCE                            | 1–150                                                         | 0.35                                        | 45.5                                                      | (Duzmen, Baytak,<br>& Aslanoglu, 2020) |
| ZIF–65@CNTs/GCE                                              | 200–2267                                                      | 1.03                                        | 18.401                                                    | (Li et al., 2020)                      |
| GQDs/IL–SPCE                                                 | 25–400                                                        | 6.64                                        | 9.2                                                       | (Kunpattee et al.,<br>2020)            |
| CoTMPyP/Sr <sub>2</sub> Nb <sub>3</sub> O <sub>10</sub> /GCE | 50–3250                                                       | 10.6                                        | 3.51                                                      | (Wu et al., 2020)                      |
| GCE                                                          | 10–340                                                        | 3                                           | 1.72                                                      | งานวิจัยนี้                            |

## สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้สามารถทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิกด้วยเทคนิคโครโนแอมเปอร์เมตรี โดยการใช้ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนเป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์-ซิลเวอร์คลอไรด์เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิงและขั้วไฟฟ้าสแตนเลสสตีลเป็นขั้วไฟฟ้าช่วย ใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เป็นอิเล็กโทรไลต์ ซึ่งมีค่า pH ที่เหมาะสมเท่ากับ 6 โดยพบว่ากรดแอสคอร์บิกสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ค่าศักย์ไฟฟ้าเท่ากับ 0.30 V ได้ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.01–0.34 mM จากสภาวะที่เหมาะสมสามารถนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างน้ำมะนาวสด และน้ำส้มบรรจุกล่องพร้อมดื่ม โดยได้ผลร้อยละในการกลับคืนอยู่ในช่วง 98–118% การวิเคราะห์มีความเที่ยงตรงเพราะมีค่า %RSD ต่ำกว่า 6% ซึ่งการวิเคราะห์นี้จัดได้ว่าเป็นวิธีทางเคมีไฟฟ้าที่ง่าย ใช้สารปริมาณน้อย และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างได้หลากหลายโดยเฉพาะในน้ำผลไม้

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และศูนย์วิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรเวศน์นครราชสีมา ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือ อุปกรณ์ และสถานที่ในการทำวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

- ฉัตรชัย ยมศรีเคน. (2562) การวินิจฉัยและการรักษาภาวะอ่อนแรงผู้ป่วยโรคขาดวิตามินซี (โรคล็กปิดลักเปิด): รายงานผู้ป่วย 2 ราย ในโรงพยาบาลมหาสารคาม. *วารสารโรงพยาบาลมหาสารคาม*, 16(2), 62–71.
- Bazel, Y., Riabukhina, T., & Tirpák, J. (2018). Spectrophotometric determination of ascorbic acid in foods with the use of vortex-assisted liquid–liquid microextraction. *Microchemical Journal*, 143, 160–165.
- Cathcart, R.F. (1991). A unique function for ascorbate. *Medical Hypotheses*, 35(1), 32–37.
- Chammui, Y., Pinwattana, K., & Preechaworapun, A. (2018). A simple method for the determination of gallic acid in Thai herbs by cyclic voltammetry. *PSRU Journal of Science and Technology*, 4(1), 39–49.
- Duzmen, S., Baytak, A.K., & Aslanoglu, M. (2020). A novel voltammetric platform composed of poly (aminopyrazine),  $ZrO_2$  and CNTs for a rapid, sensitive and selective determination of ascorbic acid in pharmaceuticals and food samples. *Materials Chemistry and Physics*, 252, 123170.
- Hernández, Y., Lobo, M.G., & González, M. (2006). Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. *Food Chemistry*, 96(4), 654–664.
- Kunpattee, K., Traipop, S., Chailapakul, O., & Chuanwatanakul, S. (2020). Simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, and uric acid using graphene quantum dots/ionic liquid modified screen-printed carbon electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 314, 128059.

- Li, Y., Ye, W., Cui, Y., Li, B., Yang, Y., & Qian, G. (2020). A metal–organic frameworks@ carbon nanotubes based electrochemical sensor for highly sensitive and selective determination of ascorbic acid. **Journal of Molecular Structure**, **1209**, 127986.
- Nielsen, S.S. (2010). **Chapter 7 Food Analysis Laboratory Manual, Food Science Texts Series**. Business Media, LLC Springer Science. doi:[https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1463-7\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1463-7_7)
- Wang, H., Xiao, L.-G., Chu, X.-F., Chi, Y.-D., & Yang, X.-T. (2016). Rational Design of Gold nanoparticle/graphene hybrids for simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, **44**(12), e1617–e1625.
- Wu, S., Sun, T., Wang, H., Fan, Z., Li, L., Fan, B., Liu, L., Ma, J., & Tong, Z. (2020). A sandwich–structured, layered CoTMPyP/Sr<sub>2</sub>Nb<sub>3</sub>O<sub>10</sub> nanocomposite for simultaneous voltammetric determination of dopamine and ascorbic acid. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, **873**, 114403.
- Zuo, R., Zhou, S., Zuo, Y., & Deng, Y. (2015). Determination of creatinine, uric and ascorbic acid in bovine milk and orange juice by hydrophilic interaction HPLC. **Food Chemistry**, **182**, 242–245.