

APPLICATION OF PAPER-BASED DEVICES AND SMARTPHONE FOR DETECTION OF BENZOIC ACID IN BEVERAGES

Nakarin PENLAP^{1*}, Anawat PINISAKUL¹ and Nisakorn THONGKON^{1*}

1 Faculty of Science, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Thailand;
nakarin0093@gmail.com (N. P.) (Corresponding Author); nisakorn.tho@KMUTT.ac.th (N. T.)
(Corresponding Author)

ARTICLE HISTORY

Received: 21 April 2023

Revised: 10 May 2023

Published: 22 May 2023

ABSTRACT

The purpose of this research was to design and apply paper-based devices and smartphone for quantitative analysis of benzoic acid. Based on the interactions between benzoic acid and methyl red indicator on the tetradecyltrimethylammonium bromide (TTAB) treated paper, the colors of methyl red modified paper changed from yellow to orange and pink, depending on benzoic acid concentration. In this research, the volume of TTAB, volume of benzoic acid, concentration of methyl red and time of detection were studied to obtain the optimum condition for preparing the paper-based devices. The digital images of paper-based devices were taken using a smartphone and using Color Grab application for RGB measurement. The ΔG intensity was linearly corresponding to the concentration of benzoic acid ranging from 20 to 200 mg/L ($R^2 = 0.995$) with the limit of detection (LOD) of 16.02 mg/L and limit of quantification (LOQ) of 48.54 mg/L. The Liquid-Liquid extraction technique was used to eliminate interferences including citric acid and ascorbic acid in sample preparation step. The proposed method was successfully applied to detect benzoic acid in beverage samples with recoveries of 101-109 %, and an acceptable relative standard deviation of 0.76-0.96 %

Keywords: Benzoic Acid, Paper-Based Devices, Smartphone Detection

CITATION INFORMATION: Penlap, N., Pinisakul, A., & Thongkon, N. (2023). Application of Paper-Based Devices and Smartphone for Detection of Benzoic Acid in Beverages. *Procedia of Multidisciplinary Research*, 1(5), 11.

การประยุกต์ใช้อุปกรณ์แบบกระดาษและสมาร์ทโฟนสำหรับการตรวจวัดกรดเบนโซอิกในตัวอย่างเครื่องดื่ม

นครินทร์ เป็นลาภ^{1*}, อนวัช พินิจศักดิ์กุล¹ และ นิสากร ทองก้อน^{1*}

1 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี; nakarin0093@gmail.com (นครินทร์) (ผู้ประพันธ์บรรณกิจ); nisakorn.tho@KMUTT.ac.th (นิสากร) (ผู้ประพันธ์บรรณกิจ)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อออกแบบและประยุกต์ใช้อุปกรณ์แบบกระดาษและสมาร์ทโฟนสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของกรดเบนโซอิก โดยอาศัยอันตรกิริยาระหว่างกรดเบนโซอิกและอินดิเคเตอร์ เมทิล เรด บนกระดาษที่ผ่านการปรับสภาพด้วย tetradecyltrimethylammonium bromide (TTAB) โดยสีของเมทิล เรด เกิดการเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีส้มและชมพูขึ้นกับความเข้มข้นของกรดเบนโซอิก โดยงานวิจัยนี้ทำการศึกษาปริมาณของ TTAB ปริมาตรของกรดเบนโซอิก ความเข้มข้นของเมทิล เรด และระยะเวลาที่เหมาะสมในการตรวจวัดเพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมอุปกรณ์แบบกระดาษ ภาพถ่ายดิจิทัลของอุปกรณ์แบบกระดาษได้จากการใช้สมาร์ทโฟนและใช้แอปพลิเคชัน Color Grab ในการวัดค่าความเข้มสี RGB โดยพบว่าค่าความเข้มสี ΔG มีความเป็นเส้นตรงที่สัมพันธ์กับความเข้มข้นของกรดเบนโซอิกในช่วง 20-200 mg/L ($R^2 = 0.995$) มีค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 16.02 mg/L และค่าขีดจำกัดเชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 48.54 mg/L ใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายในการกำจัดตัวรบกวน เช่น กรดซิตริกและกรดแอสคอร์บิกในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง วิธีวิเคราะห์ที่ได้นำเสนอ นำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเครื่องดื่มได้อย่างประสบความสำเร็จ มีค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 101-109 % และมีค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.76-0.96 %

คำสำคัญ: กรดเบนโซอิก, อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ, การตรวจวัดด้วยสมาร์ทโฟน

ข้อมูลการอ้างอิง: นครินทร์ เป็นลาภ, อนวัช พินิจศักดิ์กุล และ นิสากร ทองก้อน. (2566). การประยุกต์ใช้อุปกรณ์แบบกระดาษและสมาร์ทโฟนสำหรับการตรวจวัดกรดเบนโซอิกในตัวอย่างเครื่องดื่ม. *Procedia of Multidisciplinary Research*, 1(5), 11.

บทนำ

สารกันบูดจัดเป็นสารเจือปนในอาหารประเภทหนึ่งซึ่งช่วยเก็บรักษาอาหารไว้ได้นาน มีการใช้อย่างแพร่หลายทั้งในอาหาร เครื่องดื่มและเครื่องสำอาง หนึ่งในสารกันบูดที่นิยมใช้กันในปัจจุบันคือกรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอต (Xue et al., 2019) ประสิทธิภาพของกรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอตจะสูงที่สุดในช่วงพีเอช 2.5-4.0 และจะมีประสิทธิภาพสูงในรูปของกรดที่ไม่แตกตัวจึงเหมาะที่จะใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารที่มีความเป็นกรดสูงหรือมีความเป็นด่างต่ำ ตัวอย่างเช่น เครื่องดื่มชนิดต่าง ๆ ทั้งชนิดที่อัดและไม่อัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำหวานชนิดต่าง ๆ น้ำผลไม้ เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบ เป็นต้น สารกันบูดชนิดนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ ซึ่งมีผลต่อผนังเซลล์และเอนไซม์ของจุลินทรีย์ ในขณะที่ยวกันจะยับยั้งการสร้างเอนไซม์บางชนิดและปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ (Wibbertmann et al., 2005)

การได้รับกรดเบนโซอิกในปริมาณที่สูงมากอาจทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องเสีย อาการเลือดตกในอัมพาต และถ้าได้รับเกิน 500 mg ต่อน้ำหนักตัว 1 kg อาจเสียชีวิตได้ ดังนั้นคณะกรรมการผู้เชี่ยวชาญว่าด้วยวัตถุเจือปนอาหารขององค์การอาหารและเกษตรและองค์การอนามัยโลกแห่งสหประชาชาติ (JECFA)) จึงได้มีการกำหนดค่า Acceptable Daily Intake (ADI) ของกรดเบนโซอิกเท่ากับ 0-5 mg/kg น้ำหนักตัว/วัน (Wibbertmann et al., 2005) และจากประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่องข้อกำหนดการใช้วัตถุเจือปนอาหาร กำหนดให้ปริมาณกรดเบนโซอิกในเครื่องดื่มมีค่าไม่เกิน 200 mg/kg (คณะกรรมการอาหารและยา, 2548)

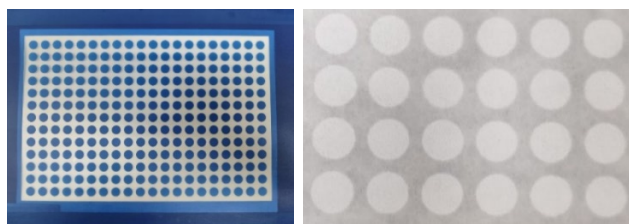
การวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิกในอาหาร เครื่องดื่ม เครื่องสำอาง รวมไปถึงยารักษาโรคบางชนิดสามารถทำได้หลายวิธี เช่น Thin layer chromatography (TCL) (Dong et al., 2006), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (Valeria et al., 2007), Capillary Electrophoresis (CE) (Nevin, 2018) และ Spectrophotometric method (Doreen, 2014) เป็นต้น แต่วิธีการดังกล่าวมาข้างต้นเป็นเทคนิคที่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง อีกทั้งผู้ทำการวิเคราะห์ยังต้องมีความเชี่ยวชาญในการใช้เครื่องมือ นอกจากนี้บางเทคนิคเช่น การไทเทรต (Chua and Teo, 2017) ยังมีการใช้สารเคมีในปริมาณที่มาก ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม

การใช้กระดาษเชลลูโลสที่ผ่านการปรับสภาพสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณ เป็นอีกเทคนิคหนึ่งซึ่งช่วยลดปริมาณสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ อีกทั้งเมทิล เรดที่เป็นอินดิเคเตอร์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณของกรดเบนโซอิก เป็นสารเคมีที่หาได้ง่ายและมีราคาถูก มีวิธีการวิเคราะห์ที่ไม่ซับซ้อนและเป็นมิตรต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้การนำแอปพลิเคชันในสมาร์ทโฟนเข้ามาช่วยในกระบวนการวิเคราะห์ด้วยการถ่ายภาพและวัดค่าสีที่เปลี่ยนแปลงของเมทิล เรด ทำให้การหาปริมาณกรดเบนโซอิกในเครื่องดื่มสามารถทำได้ง่ายและสะดวก มีความถูกต้องและแม่นยำสูง ใช้งบประมาณในการวิเคราะห์ที่ต่ำกว่าการใช้เครื่องมือคุณภาพสูง โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประยุกต์ใช้อุปกรณ์แบบกระดาษสำหรับการตรวจวัดปริมาณกรดเบนโซอิกในตัวอย่างเครื่องดื่ม โดยการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของรีเอเจนต์ต่อการปรับสภาพอุปกรณ์แบบกระดาษสำหรับการตรวจวัดกรดเบนโซอิกและนำอุปกรณ์แบบกระดาษร่วมกับสมาร์ทโฟนไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณของกรดเบนโซอิกในตัวอย่างจริง

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

1) การเตรียมอุปกรณ์กระดาษ

นำกระดาษโครมาโทกราฟี (Whatman, UK) ขนาด 6.0 × 9.0 cm หนา 0.21 mm จำนวน 1 แผ่น จากนั้นนำบล็อกสกรีนแสดงดังรูปที่ 1(a) มาวางทับ และทำการถู Paraffin wax ลงบนบล็อก แล้วใช้แผ่นยางรีด Wax ส่วนเกินออกจากนั้นใช้ไดร์ร้อนเป่าเพื่อให้ Wax หลอมเหลวลงบนกระดาษ จะได้กระดาษที่มีวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.0 cm เป็นบริเวณชอบน้ำ (Hydrophilic area) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิก และบริเวณรอบๆ วงกลมที่ถูก Wax หลอมเหลวลงเป็นบริเวณที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic area) (Namwong, 2018) แสดงดังรูปที่ 1(b)

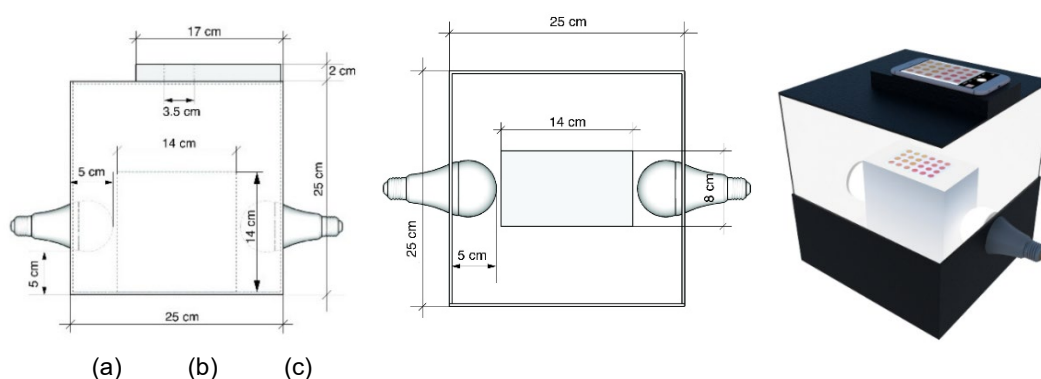


(a) (b)

รูปที่ 1 (a) บล็อกสกรีน (b) กระดาษที่ผ่านการเคลือบ Wax

2) กล่องควบคุมแสงสำหรับถ่ายภาพอุปกรณ์กระดาษ

กล่องถ่ายภาพจะทำจากแผ่นพลาสติกลูกฟูกสีดำ โดยกล่องจะมีขนาด $25 \times 25 \times 25$ cm ภายในกล่องจะมีฐานสำหรับวางอุปกรณ์กระดาษมีความสูง 14 cm จากพื้นกล่อง ด้านข้างมีหลอดไฟ LED ขนาด 3 W ค่าความส่องสว่าง 270 lm จำนวน 2 หลอด (ยี่ห้อไบโอบี) ด้านบนของกล่องมีฐานสำหรับวางสมาร์ทโฟนเพื่อให้ตำแหน่งของการถ่ายภาพคงที่ โดยระยะห่างจากอุปกรณ์กระดาษถึงสมาร์ทโฟนมีค่าเท่ากับ 13 cm



(a) (b) (c)

รูปที่ 2 กล่องควบคุมแสง (a) มุมมองด้านข้าง (b) มุมมองด้านบน (c) มุมมอง 3 มิติ

3) การศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของ TTAB ต่อการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกด้วยอุปกรณ์กระดาษ

ปิเปตสารละลาย TTAB เข้มข้น 1250 mg/L ปริมาตร 14, 16, 18 และ 20 μ L ลงบนอุปกรณ์กระดาษแล้วทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปิเปตเมทิล เรด เข้มข้น 0.025 %w/v ปริมาตร 10 μ L ลงบนอุปกรณ์กระดาษแล้วทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 30 นาที ทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกเข้มข้น 100 mg/L ที่มีปริมาตร 14 μ L ที่ได้เตรียมลงบนอุปกรณ์กระดาษ ทิ้งไว้ 5 นาทีแล้วนำไปถ่ายภาพในกล่องควบคุมแสง ทำการวิเคราะห์ด้วย Color Grab แอปพลิเคชันในสมาร์ทโฟนและคำนวณหาค่า ΔG intensity ที่ได้จากความแตกต่างของ Green intensity เมื่อทดสอบกับกรดเบนโซอิกและแบลงค์ (สารละลายเอทานอล เข้มข้น 5%v/v)

4) การศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของกรดเบนโซอิกต่อการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกบนอุปกรณ์กระดาษ

ปิเปตสารละลาย TTAB เข้มข้น 1250 mg/L ปริมาตร 16 μ L ลงบนอุปกรณ์กระดาษแล้วทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปิเปตสารละลายเมทิล เรด เข้มข้น 0.025 %w/v ปริมาตร 10 μ L ลงบนอุปกรณ์กระดาษแล้วทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 30 นาที ทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกเข้มข้น 100 mg/L ที่มีปริมาตร 10, 12, 14, 16, 18 และ 20 μ L ลงบนอุปกรณ์กระดาษ ทิ้งไว้ 5 นาทีแล้วนำไปถ่ายภาพด้วยกล่องควบคุมแสง ทำการวิเคราะห์ด้วย Color Grab แอปพลิเคชันในสมาร์ทโฟนและคำนวณหาค่า ΔG intensity ที่ได้จากความแตกต่างของ Green intensity เมื่อทดสอบกับกรดเบนโซอิกและแบลงค์ (สารละลายเอทานอล เข้มข้น 5%v/v)

5) การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเมทิล เรด ต่อการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกบนอุปกรณ์กระดาษ

ปิเปตสารละลายTTAB เข้มข้น 1,250 mg/L ปริมาตร 16 μ L ลงบนอุปกรณ์กระดาษแล้วทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปิเปตสารละลายเมทิล เรด เข้มข้น 0.025, 0.050 และ 0.10 %w/v ปริมาตร 10 μ L ลงบนอุปกรณ์กระดาษแล้วทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 30 นาที ทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกเข้มข้น 100 mg/L ปริมาตร 14 μ L ลงบนอุปกรณ์กระดาษที่ได้เตรียม ทิ้งไว้ 5 นาทีแล้วนำไปถ่ายภาพด้วยกล้องควบคุมแสง ทำการวิเคราะห์ด้วย Color Grab แอปพลิเคชันในสมาร์ทโฟนและคำนวณหาค่า ΔG intensity ที่ได้จากความแตกต่างของ Green intensity เมื่อทดสอบกับกรดเบนโซอิกและแบลงค์ (สารละลายเอทานอล เข้มข้น 5%v/v)

6) การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของเมทิล เรด ต่อการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกบนอุปกรณ์กระดาษ

ปิเปตสารละลายTTAB เข้มข้น 1,250 mg/L ปริมาตร 16 μ L ลงบนอุปกรณ์กระดาษแล้วทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปิเปตสารละลายเมทิล เรด เข้มข้น 0.050 %w/v ปริมาตร 10 μ L ลงบนอุปกรณ์กระดาษแล้วทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 30 นาที ทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกเข้มข้น 100 mg/L ปริมาตร 14 μ L ลงบนอุปกรณ์กระดาษที่ได้เตรียม นำอุปกรณ์กระดาษดังกล่าวไปถ่ายภาพด้วยกล้องควบคุมแสงเมื่อเวลาผ่านไป 5, 10 และ 15 นาที ทำการวิเคราะห์ด้วย Color Grab แอปพลิเคชันในสมาร์ทโฟนและคำนวณหาค่า ΔG intensity ที่ได้จากความแตกต่างของ Green intensity เมื่อทดสอบกับกรดเบนโซอิกและแบลงค์ (สารละลายเอทานอล เข้มข้น 5%v/v)

7) การศึกษาหาช่วงความเป็นเส้นตรงของความเข้มข้นของกรดเบนโซอิกด้วยอุปกรณ์กระดาษ ขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดเชิงปริมาณ (LOQ)

ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิก เข้มข้น 20, 50, 100, 150, 200, 400 และ 800 mg/L ปริมาตร 14 μ L ลงบนอุปกรณ์กระดาษที่ปรับสภาพด้วย TTAB และ เมทิล เรด ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วนำไปถ่ายภาพในกล้องควบคุมแสงด้วยสมาร์ทโฟนและใช้ Color Grab แอปพลิเคชัน วิเคราะห์หาค่า $\Delta Color$ intensity คือ ΔR , ΔG , ΔB และ ΔRGB ที่ได้จากความแตกต่างของ Red, Green, Blue และ RGB intensity เมื่อทดสอบกับกรดเบนโซอิกและแบลงค์ (สารละลายเอทานอล เข้มข้น 5%v/v) ตามลำดับ จากนั้นสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า $\Delta Color$ intensity และความเข้มข้น ทำการหา LOD และ LOQ จากกราฟมาตรฐานที่ได้

8) การศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อการสกัดสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิก

ทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกเข้มข้น 300 mg/L ปริมาตร 10 mL ลงในบีกเกอร์ แล้วทำการเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3.0 M ปริมาตร 1 mL และสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 10 %w/v ปริมาตร 39 mL (FSSAI, 2015) ลงในบีกเกอร์ที่มีกรดเบนโซอิก ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนปริมาตร 50 mL, 25 mL จำนวน 2 ครั้ง และ 10 mL จำนวน 5 ครั้ง ตามลำดับ จากนั้นนำชั้นของไดคลอโรมีเทนที่ได้มากำจัดน้ำส่วนเกินออกด้วย Na_2SO_4 แล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง หลังจากกระเหยตัวทำละลายแล้ว ทำการละลายด้วยสารละลาย เอทานอลเข้มข้น 5 %v/v แล้วนำไปทดสอบบนอุปกรณ์กระดาษที่ปรับสภาพด้วย TTAB และเมทิล เรด จากนั้นนำมาวิเคราะห์ด้วย Color Grab แอปพลิเคชัน

9) การศึกษาการสกัดสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกที่มีสารละลายกรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริกเจือปน เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมของกรดเบนโซอิกและกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 300, 500 และ 1000 mg/L จากนั้นนำไปสกัดด้วยวิธีการตามข้อ 8 โดยใช้ไดคลอโรมีเทนปริมาตร 10 mL จำนวน 5 ครั้ง แล้วนำส่วนสกัดที่ได้มาทดสอบบนอุปกรณ์กระดาษที่ผ่านการปรับสภาพ และวิเคราะห์ด้วย Color Grab แอปพลิเคชัน ทำการทดลองเช่นเดียวกันแต่เปลี่ยนเป็นสารละลายมาตรฐานผสมของกรดเบนโซอิกและกรดซิตริกเข้มข้น 1000, 2500 และ 5000 mg/L

10) การศึกษาร้อยละการกลับคืนของการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกในตัวอย่างเครื่องดื่ม

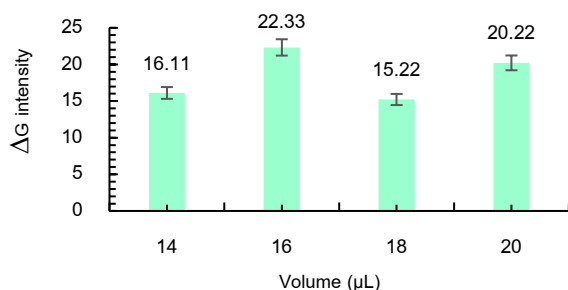
ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกเข้มข้น 10000 mg/L ปริมาตร 1.00 mL ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL แล้วเติมตัวอย่างเครื่องดื่มลงในขวดวัดปริมาตรจนมีปริมาตรเป็น 50 mL ทำเช่นเดียวกันกับวิธีการข้างต้น แต่เปลี่ยนจากสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิก เป็นสารละลาย Blank (สารละลายเอทานอลเข้มข้น 20 %v/v) นำไปสกัดด้วย

ไดคลอโรมีเทน จากนั้นนำส่วนที่สกัดได้ไปทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกด้วยอุปกรณ์กระดาศที่ปรับสภาพแล้ว ทำเช่นเดียวกันเป็นจำนวน 3 ตัวอย่าง คำนวณหาค่าร้อยละการได้กลับคืน (% Recovery)

ผลและวิจารณ์

1) ผลการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของTTAB ต่อการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกบนอุปกรณ์กระดาศ

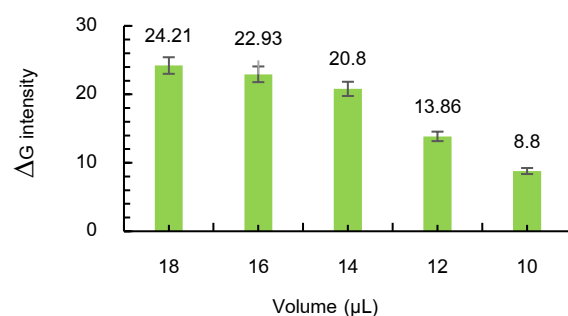
สาร TTAB คือสารลดแรงตึงผิวชนิดประจุบวก เมื่อทำการเตรียมที่ความเข้มข้น 1250 mg/L ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นที่เกือบถึงค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (CMC) ทำให้เมื่อนำมาปรับสภาพพื้นผิวของกระดาศที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ ทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างส่วนหัวที่เป็นประจุบวกของ TTAB กับ OH^- functional group ของเซลลูโลสและฟอร์มเป็นไบเลเยอร์ (Bilayer) เนื่องจากอันตรกิริยาระหว่างส่วนหางของ TTAB ทำให้ดูดซับเมทิล เรดได้ดี ดังนั้นปริมาตรของ TTAB มีผลต่อการดูดซับเมทิล เรด (Srirama, 2017) จากการทดลองพบว่าปริมาตรของ TTAB ที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิกบนอุปกรณ์กระดาศเท่ากับ 16 μL เนื่องจากมีค่า ΔG intensity สูงที่สุด ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 ค่า ΔG intensity ที่วัดได้เมื่อทำการเปลี่ยนแปลงปริมาตรของ TTAB

2) ผลการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของกรดเบนโซอิกต่อการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกบนอุปกรณ์กระดาศ

การเพิ่มปริมาตรของกรดเบนโซอิกจะทำให้ปริมาณกรดเบนโซอิกที่อยู่ในสารละลายเพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้นการใช้ปริมาตรกรดเบนโซอิกมากขึ้นก็จะทำให้ค่า ΔG intensity สูงขึ้นตาม แต่การเพิ่มปริมาตรของสารละลายที่มากเกินไปจะส่งผลให้มีสารละลายล้นออกจากบริเวณตรวจวัด ทำให้ส่งผลต่อความถูกต้องของการวิเคราะห์ได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกปริมาตร 14 μL เป็นปริมาตรที่เหมาะสมและมากที่สุดของกรดเบนโซอิกสำหรับการวิเคราะห์บนอุปกรณ์กระดาศโดยที่ไม่ล้นออกจากบริเวณตรวจวัด ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4

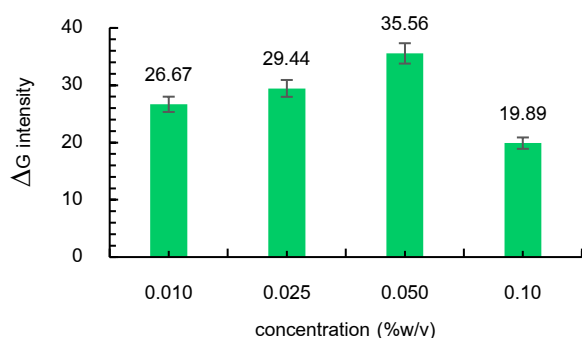


รูปที่ 4 ΔG Intensity ที่วัดได้เมื่อทำการเปลี่ยนแปลงปริมาตรของกรดเบนโซอิก

3) ผลการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเมทิล เรด ต่อการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกบนอุปกรณ์กระดาศ

หากในอุปกรณ์กระดาศมีเมทิล เรดที่มีความเข้มข้นสูง เมื่อเกิดอันตรกิริยากับกรดเบนโซอิกจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีที่ชัดเจนขึ้น แต่ในทางกลับกัน การเพิ่มความเข้มข้นของเมทิล เรด ที่มากเกินไป จะส่งผลให้สีของเมทิล

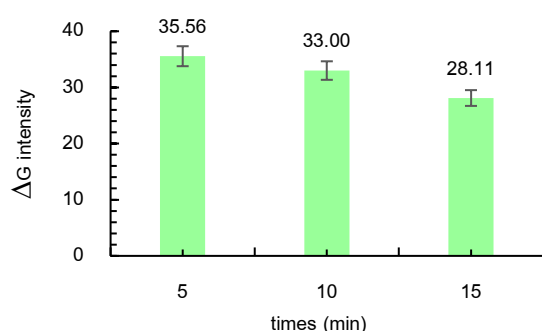
เรด ไปรบกวนการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้นหรือยากต่อการสังเกตเห็นเมื่อนำมาตรวจวัดกรดเบนโซอิก จากการศึกษาพบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของเมทิล เรดในการวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิกเท่ากับ 0.050 %w/v ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 5



รูปที่ 5 ค่า ΔG intensity ที่วัดได้เมื่อทำการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเมทิล เรด

4) ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเกิดอันตรกิริยาระหว่างเมทิล เรดกับกรดเบนโซอิก ด้วยอุปกรณ์กระดาษ

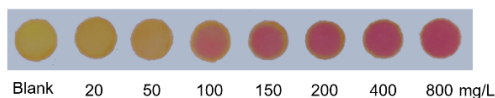
จากการทดลองพบว่าเมื่อปีเปตสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกลงบนอุปกรณ์กระดาษที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว เมื่อเวลาผ่านไปจะทำให้สีของเมทิล เรดบนกระดาษค่อยๆ จางลง ส่งผลให้ค่า ΔG intensity ที่วัดได้ค่าลดลง ดังนั้นระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการถ่ายภาพอุปกรณ์กระดาษเพื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิกคือหลังจากปีเปตสารละลายกรดเบนโซอิกเป็นเวลา 5 นาที ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 6



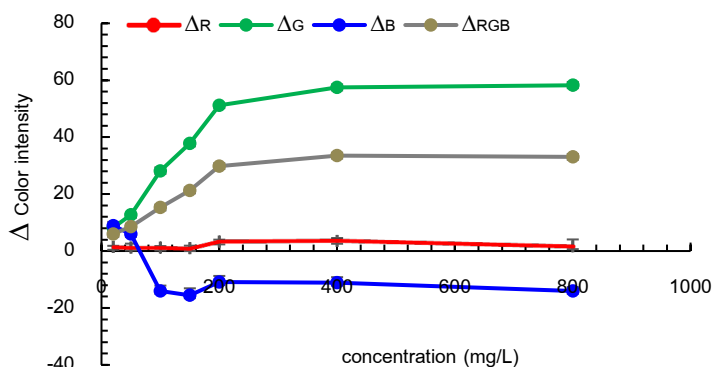
รูปที่ 6 ค่า ΔG intensity ที่วัดได้หลังจากปีเปตสารละลายกรดเบนโซอิกและทิ้งไว้ที่เวลาต่างๆ

5) ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกด้วยอุปกรณ์กระดาษ

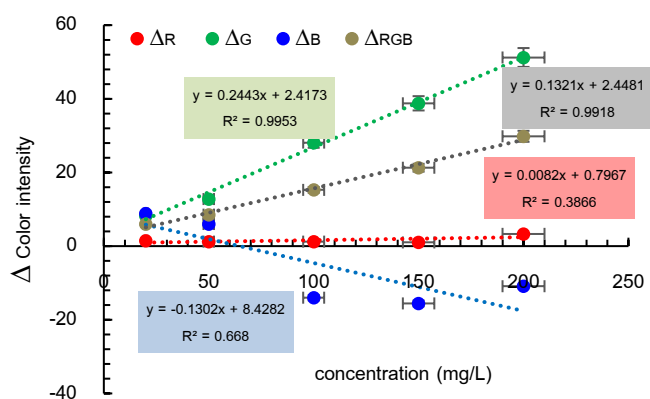
เมื่อนำอุปกรณ์กระดาษที่มีเมทิล เรดไปทดสอบกับกรดเบนโซอิกที่มีความเข้มข้นในช่วง 20-800 mg/L พบการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้นบนกระดาษจากสีเหลืองเป็นสีส้มและชมพู เมื่อความเข้มข้นของกรดเบนโซอิกเพิ่มขึ้น แสดงดังรูปที่ 7 เมื่อพิจารณากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\Delta Color$ intensity และสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกเข้มข้น 20-800 mg/L พบว่ากราฟ ΔG intensity ที่สัมพันธ์กับความเข้มข้นของกรดเบนโซอิก มีความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 20-200 mg/L สมการเส้นตรงของกราฟคือ $y = 0.2443x + 2.4173$ มีค่า $R^2 = 0.995$ ที่ใกล้เคียง 1 มากที่สุด (รูปที่ 8 และ 9) ค่า LOD เท่ากับ 16.02 mg/L และค่า LOQ เท่ากับ 48.54 mg/L



รูปที่ 7 ภาพถ่ายดิจิทัลของอุปกรณ์กระดาดที่มีเมทิล เรดแสดงการเปลี่ยนแปลงสี เมื่อทดสอบกับกรดเบนโซอิกที่ความเข้มข้นต่างๆ



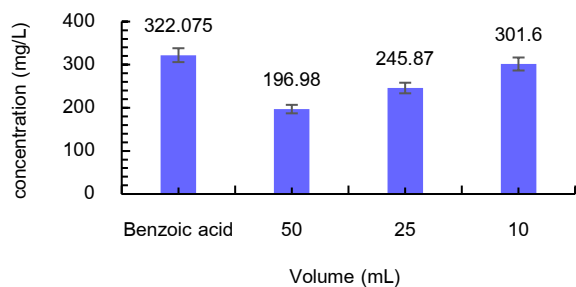
รูปที่ 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Δ Color intensity กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิก



รูปที่ 9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Δ Color intensity กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิก

6) ผลการศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อการสกัดสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิก

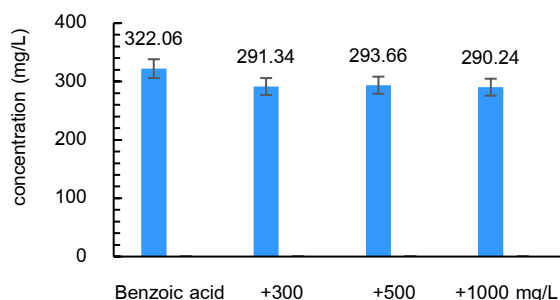
จากการทดลองพบว่าเมื่อใช้ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน 50 mL, 25 mL ทำการสกัดจำนวน 2 ครั้งและ 10 mL ทำการสกัดจำนวน 5 ครั้ง ตามลำดับ ในการสกัดสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิก จากรูปที่ 10 เมื่อนำค่าความเข้มข้นของกรดเบนโซอิกที่สกัดได้มาคำนวณหาร้อยละการสกัด พบว่ามีค่าร้อยละการสกัดเฉลี่ยอยู่ที่ 61.16, 76.34 และ 93.64 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่ได้จากการเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Δ G Intensity กับความเข้มข้นของกรดเบนโซอิก ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนปริมาตร 10 mL ทำการสกัดเป็นจำนวน 5 ครั้งในการสกัดกรดเบนโซอิกในตัวอย่างเครื่องดื่ม



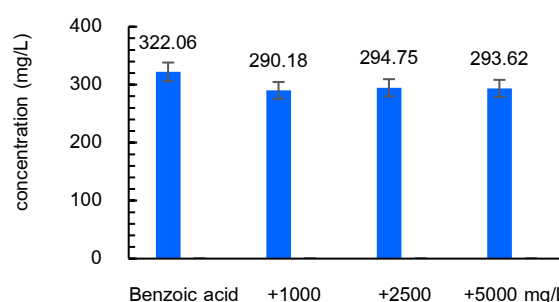
รูปที่ 10 ความเข้มข้นของกรดเบนโซอิกที่สกัดได้เมื่อใช้ไดคลอโรมีเทนที่มีปริมาตรและจำนวนครั้งการสกัดที่แตกต่างกัน

7) ผลการศึกษาการสกัดสารละลายมาตรฐานผสมของกรดเบนโซอิกที่มีสารละลายกรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก

จากรูปที่ 11 แสดงความเข้มข้นของกรดเบนโซอิกที่สกัดได้จากสารละลายมาตรฐานผสมของกรดเบนโซอิกและกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 300 500 และ 1000 mg/L ด้วยไดคลอโรมีเทน ปริมาตร 10 mL จำนวน 5 ครั้ง มีค่าร้อยละการสกัดเฉลี่ยอยู่ที่ 90.46, 91.18 และ 90.12 ตามลำดับ ในขณะที่สารละลายมาตรฐานผสมของกรดเบนโซอิกและกรดซิตริกเข้มข้น 1000, 2500 และ 5000 mg/L มีค่าร้อยละการสกัดเฉลี่ยอยู่ที่ 90.10, 91.52 และ 91.17 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่ได้จากการเทียบกับกราฟมาตรฐาน จะเห็นได้ว่ากรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริกไม่มีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกในตัวอย่างเครื่องดื่ม



(a)

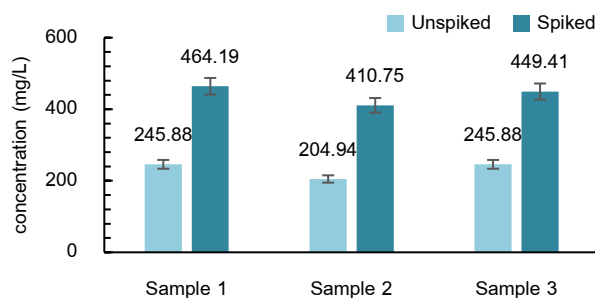


(b)

รูปที่ 11 ความเข้มข้นของกรดเบนโซอิกที่สกัดได้จากสารละลายผสมที่มีกรดเบนโซอิก 300 mg/L ผสมกับ (a) กรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นต่างๆ และ (b) กรดซิตริกที่ความเข้มข้นต่างๆ

8) ผลการศึกษาร้อยละการกลับคืนของการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกในตัวอย่างเครื่องดื่ม

เมื่อทำการตรวจวัดกรดเบนโซอิกในตัวอย่างที่ Unspiked และ Spiked (ความเข้มข้นของกรดเบนโซอิกที่เพิ่มเท่ากับ 200 mg/L) ในเครื่องดื่มจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ เครื่องดื่มบิวตี้ดริงค์ เครื่องดื่มน้ำส้ม และเครื่องดื่มน้ำผลไม้รวมผสมน้ำไข่มุก พบว่ามีค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ที่ 109.15, 102.90 และ 101.76 และมีค่า %RSD เท่ากับ 0.85, 0.96 และ 0.76 ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 12



รูปที่ 12 ความเข้มข้นของกรดเบนโซอิกที่ตรวจวัดได้ใน Unspiked และ Spiked ของตัวอย่างเครื่องดื่ม

สรุปและอภิปรายผล

งานวิจัยนี้เป็นการออกแบบและประยุกต์ใช้อุปกรณ์กระดาษสำหรับตรวจวัดปริมาณกรดเบนโซอิกในตัวอย่างเครื่องดื่มจากการเปลี่ยนแปลงสีของเมทิล เรดบนบริเวณตรวจวัดของอุปกรณ์กระดาษที่ปรับสภาพด้วยสารละลาย TTAB และทำการวิเคราะห์ปริมาณด้วยแอปพลิเคชันในสมาร์ตโฟนด้วยวิธีการสร้างกราฟมาตรฐานที่พล็อตระหว่าง ΔG Intensity และความเข้มข้น และจากการใช้วิธีดังกล่าวในการวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิกในตัวอย่างเครื่องดื่มพบว่ามีค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ วิธีที่พัฒนาขึ้นจึงสามารถนำไปวิเคราะห์ตัวอย่างจริงได้ และยังเป็นวิธีที่ตรวจวัดได้ง่าย ใช้อุปกรณ์และสารเคมีที่มีราคาถูก สามารถหาซื้อได้ทั่วไป ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สนธยา สุขยิ่ง และคณะ (2564) ได้ทำการศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิกและการประยุกต์ใช้ โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิกในอาหารและเครื่องดื่มด้วย 4 เทคนิค ได้แก่ เทคนิค HPLC พบว่ามีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 7.8-500 $\mu\text{g/mL}$ มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 2.5 และ 3.8 ng/mL ตามลำดับ เทคนิค UV-visible spectrophotometry มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 3-150 $\mu\text{g/mL}$ มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 14.2 และ 43.1 ng/mL ตามลำดับ เทคนิคการไทเทรต มีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 25-500 $\mu\text{g/mL}$ มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 6 และ 25 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ และเทคนิคการตกตะกอนด้วย Ferric chloride และ Copper (II) sulfate โดยวิธีเอนด์ดิงกล่าว เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดเบนโซอิกจะทำให้เกิดตะกอนสีส้มและฟ้าตามลำดับ โดยมีค่า LOD ของทั้ง 2 วิธีเท่ากับ 500 $\mu\text{g/mL}$ และมีช่วงการเปลี่ยนแปลงสีอยู่ในช่วง 500-1000 $\mu\text{g/mL}$

เอกสารอ้างอิง

- คณะกรรมการอาหารและยา. (2548). ประกาศเรื่องข้อกำหนดการใช้วัตถุเจือปนอาหาร. *ราชกิจจานุเบกษา*, 122, 53.
- สนธยา สุขยิ่ง, นันทกา โกรานา, กุลศิริ หน่อแก้ว, ธนวัฒน์ มูลรัตน์, ศิริอาย์ เข้มแข็ง และ โปรตปราน สุนทรนาค. (2564). วิธีวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิกและการประยุกต์ใช้. *วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ*, 16(4), 372-379.
- Chua, S.L., & Teo, S.S. (2017). Analysis of saccharin and benzoic acid in regular and diet cola-flavoured carbonated soft drinks, *International Journal of Food Science and Nutrition*, 2, 58-64.
- Dong, C., Mei, Y., & Chen, L. (2006). Simultaneous determination of sorbic acid and benzoic acid in food dressing by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography, *Journal of Chromatography A*, 1117, 109-114.
- Doreen, A. (2014). Determination of the amount of caffeine and benzoic acid in selected soft drinks, *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 5(6), 1375-1378.
- FSSAI: Food Safety and Standards authority of India ministry of Health and Family welfare Government of India. (2015). Manual of Methods of Analysis of Foods, *Food Additives*, 4-10.

- Namwong, P., Jarujamrus, P., Amatatongchai, M., & Chairam, S. (2018). Fabricating simple wax screen-printing paper-based analytical devices to demonstrate the concept of limiting reagent in acid - base reactions, *Journal of Chemical Education*, 95, 305-309.
- Nevin, O. (2018). Simultaneous determination of benzoic acid and sorbic acid in food products by capillary electrophoresis, *Food and Health*, 4(3), 176-182.
- Srirama, M.B., Chandra, M., Sibel, I., & Travis, L. (2017). A guide to the properties and uses of detergents in biological systems, *Sigma-Aldrich Lab Materials & Supplies*.
- Valeria, A.L., Jose, M.C., Maria, S.B., & Eduardo, J.M. (2007). Simultaneous determination of benzoic acid in commercial juices using the PLS-2 multivariate calibration method and validation by high performance liquid chromatography, *Talanta*, 73, 282-286.
- Wibbertmann, A., Kielhorn, J., Koennecker, G., Mangelsdorf, I., & Melber, C. (2005). Benzoic acid and sodium benzoate, *Concise International Chemical Assessment Document* 26, 11-26.
- Xue, L., Chen, L., Dong, J., Cai, L., Wang, Y., & Chen, X. (2019). Dispersive liquid-liquid microextraction coupled with surface enhanced Raman scattering for the rapid detection of sodium benzoate, *Talanta*, 208, 1-8.

Data Availability Statement: The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

Conflicts of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.



Copyright: © 2023 by the authors. This is a fully open-access article distributed under the terms of the Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0).