

เปรียบเทียบการทดสอบน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์
ระหว่างการสกัดด้วยกรวยแยกกับการสกัดด้วยซอกซ์เลต
Comparison of Oil and Fat Testing in Synthetic Wastewater
Between Separatory Funnel Extraction and Soxhlet Extraction

สิทธิชัย ใจขาน^{1*} สุภาณี จันทศิริ¹ สมเจตน์ ทองดำรงธรรม¹ อนุสรา สารักษ์² และ ไพเราะ แสนหวัง²
Sittichai Chaikhan^{1*}, Supanee Junsiri¹, Somjate Thongdamrongtham¹, Anusara Sarak² and Pairor Seanwang²

บทคัดย่อ

การพัฒนางานประจำเป็นงานวิจัย (Routine to Research) ในรูปแบบการวิจัยเชิงทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบน้ำมันและไขมันในน้ำด้วยวิธีการสกัดด้วยกรวยแยกและวิธีการสกัดด้วยซอกซ์เลต ผู้วิจัยทดลองด้วยตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีน้ำมันเข้มข้น 20 mg/L จำนวน 3 ซ้ำ ทดสอบน้ำมันและไขมันด้วยวิธีห้องปฏิบัติการที่ประยุกต์จากคู่มือ Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 22nd edition และคู่มือมาตรฐานวิธีทดสอบมลพิษทางน้ำของกรมโรงงานอุตสาหกรรม วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ย และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการศึกษา พบว่า ความเข้มข้นน้ำมันในตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ระหว่างวิธีการสกัดด้วยซอกซ์เลตกับการสกัดด้วยกรวยแยกมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 20.00 ± 0.01 mg/L และ 13.73 ± 0.92 mg/L ตามลำดับ วิธีการสกัดน้ำมันและไขมันละลายน้ำด้วยซอกซ์เลตให้ผลการทดสอบที่ดีกว่าวิธีสกัดด้วยกรวยแยกในด้านคุณภาพและความแม่นยำ ได้แก่ ค่า Relative Difference ไม่เกิน 10% และ ค่า %recovery อยู่ในช่วง 80-120% จึงควรพิจารณาเลือกใช้วิธีการสกัดน้ำมันและไขมันละลายน้ำด้วยซอกซ์เลตในการให้บริการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำที่มีน้ำมันและไขมันปนเปื้อนต่อไป

คำสำคัญ: การสกัดด้วยกรวยแยก; การสกัดด้วยซอกซ์เลต; น้ำมันและไขมัน

^{1*} กลุ่มวิชาสาธารณสุขศาสตร์ วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

^{1*} Public Health Sub Division, College of Medicine and Public Health, Ubon Ratchathani University

² งานห้องปฏิบัติการ วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

² Laboratory Office, College of Medicine and Public Health, Ubon Ratchathani University

* Corresponding Author: sittichai.c@ubu.ac.th

Abstract

This development routine is an experimental research investigation comparing oil and fat testing results in water using two different extraction methods: the separatory funnel extraction method and the Soxhlet extraction method. The researchers conducted experiments using three replicates of synthetic wastewater samples containing 20 mg/L of concentrated oil. The analysis of oil and fat content was conducted using laboratory protocols specified in the 22nd edition of the Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, as well as the Water Pollution Testing Methods standard manual published by the Department of Industrial Works. The collected data were subjected to statistical analysis, which included calculating the mean and standard deviation.

The results indicated that the average oil concentrations in the synthetic wastewater samples were 20.00 ± 0.01 mg/L when using the Soxhlet extraction method and 13.73 ± 0.92 mg/L with the separatory funnel extraction method. The Soxhlet extraction method was found to offer superior quality and accuracy compared to the separatory funnel extraction method. This was evidenced by a relative difference of less than 10% and a recovery rate within the range of 99.0% to 100.5%. Therefore, it should be considered to choose the method of extracting water-soluble oils and fats using Soxhlet in providing services for analyzing the quality of water contaminated with fats.

Keywords: separatory funnel extraction; soxhlet extraction; oil and fat

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี โดยกลุ่มวิชาสาธารณสุขศาสตร์ หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขานามัยสิ่งแวดล้อม เริ่มดำเนินโครงการบริการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้ง โรงพยาบาล ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2562 การทดสอบการปนเปื้อนน้ำมันและไขมันในน้ำถือเป็นหนึ่งในพารามิเตอร์ที่มีการให้บริการแก่หน่วยงานภายนอก หลักการวิเคราะห์น้ำมันและไขมันเป็นการตรวจวัดกลุ่มน้ำมันหรือไขมันที่มีคุณสมบัติทางกายภาพใกล้เคียงกัน นิยมใช้หลักการตรวจวัดไฮโดรคาร์บอนซึ่งละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ (Organic solvent) เช่น อีเทอร์ เฮกเซน ฟริออน เมทานอล เอทานอล และอะซิโตน (Do et al., 2013) เพื่อสกัดน้ำมันและไขมันออกจาก

ตัวอย่างน้ำ จากนั้นแยกตัวทำละลายออก แล้วนำไประเหยน้ำและสารละลายอื่นในน้ำที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส เพื่อให้เหลือเพียงน้ำมันและไขมัน จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกจนแห้งแล้วทิ้งให้เย็น ผู้ทดสอบก็จะสามารถชั่งน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น เพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและไขมันในตัวอย่างน้ำได้ (มันสิน ตันตุลเวศม์, 2551) กรมโรงงานอุตสาหกรรมของประเทศไทยได้จัดทำคู่มือมาตรฐานวิธีทดสอบมลพิษทางน้ำขึ้น โดยมีวิธีทดสอบน้ำมันและไขมันซึ่งห้องปฏิบัติการทดสอบหลายแห่งได้นำมาใช้งาน เช่น การสกัดด้วยกรวยแยก (Separatory Funnel Extraction) และการสกัดด้วยซอกซ์เลต (Soxhlet Extraction) เป็นต้น (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2559)

ปัจจุบันวิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุขมีการทดสอบน้ำมันและไขมันโดยใช้วิธีการการสกัดด้วยซอกซ์เลตโดยใช้สารเฮกเซนเป็นตัวทำละลายไขมันตามวิธีมาตรฐานของคู่มือ Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 22nd edition พบว่าสามารถช่วยสกัดไขมันได้อย่างดีแม้จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่มีข้อเสียคือ ระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบมากกว่า 4 ชั่วโมง (American Public Health Association [APHA], 2012) ในไตรมาสที่ 4 ของปีงบประมาณ 2566 โรงพยาบาลในจังหวัดอุบลราชธานีส่งตัวอย่างน้ำเสียและน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดเข้ารับบริการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำมากกว่า 25 แห่ง จึงทำให้ภาระงานด้านให้บริการตรวจวิเคราะห์น้ำทิ้งกระทบกับภาระงานอื่นของผู้ปฏิบัติงาน เนื่องจากผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการมีหน้าที่เป็นฝ่ายสนับสนุนบุคลากรด้านวิชาการในองค์กรด้วย เช่น การสนับสนุนด้านการเรียนการสอน การวิจัย และการให้บริการตรวจวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์อื่นที่เกี่ยวข้อง จึงนำมาสู่ความสนใจในการศึกษาการทดสอบน้ำมันและไขมันในตัวอย่างน้ำด้วยวิธีการสกัดด้วยกรวยแยกซึ่งเป็นหนึ่งในวิธีที่สามารถใช้ทดสอบน้ำมันและไขมันในน้ำเสียได้ตามคู่มือมาตรฐานวิธีทดสอบมลพิษทางน้ำ เนื่องจากวิธีการสกัดด้วยกรวยแยกมีการใช้ปริมาณตัวทำละลายน้อยและระยะเวลาในการทดสอบที่สั้นกว่าวิธีการการสกัดด้วยซอกซ์เลต (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2559) อีกทั้งต้นทุนในการให้บริการต่ำกว่าวิธีการวิเคราะห์ในปัจจุบัน หากผลการวิจัยพบว่าวิธีการสกัดด้วยกรวยแยกสามารถให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความแม่นยำและมีคุณภาพกับตัวอย่างน้ำเสียจะก่อให้เกิดประโยชน์ คือ ผู้ปฏิบัติงานภายใต้โครงการบริการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งโรงพยาบาลอาจนำมาประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมตามคุณลักษณะของน้ำที่ให้บริการตรวจวิเคราะห์ คือ

น้ำเสียและน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดแล้ว ช่วยลดระยะเวลาในการทำงาน ลดระยะเวลาในการรับสัมผัสไอระเหยของสารเคมี และลดต้นทุนในการจัดซื้อหลอดกระดาษกรอง (Extraction Thimble) ในการทดสอบโดยใช้วิธีการการสกัดด้วยซอกซ์เลตที่มีราคาสูงขึ้นเกือบเท่าตัวเมื่อเทียบกับปีงบประมาณที่ผ่านมา ดังนั้น ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบการทดสอบน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ระหว่างการสกัดด้วยกรวยแยกกับการสกัดด้วยซอกซ์เลต ผลการทดสอบตัวอย่างด้วยวิธีการทั้งสองอาจนำไปสู่การพัฒนาวิธีการปฏิบัติงานให้เหมาะสมกับการให้บริการทางวิชาการและการเรียนการสอนของหน่วยงานต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาผลการทดสอบปริมาณน้ำมันและไขมันในตัวอย่างน้ำของวิธีการสกัดด้วยกรวยแยกและวิธีการสกัดด้วยซอกซ์เลต
- 2) เพื่อศึกษาผลการควบคุมคุณภาพการทดสอบปริมาณน้ำมันและไขมันในน้ำของวิธีการสกัดด้วยกรวยแยกและวิธีการสกัดด้วยซอกซ์เลต

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (Experimental Research) ณ ห้องปฏิบัติการด้านอนามัยสิ่งแวดล้อม วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี การพัฒนางานประจำเป็นงานวิจัย (Routine to Research) ในครั้งนี้มีผู้วิจัย คือ ผู้รับผิดชอบโครงการและผู้ปฏิบัติงานภายใต้โครงการบริการวิชาการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งโรงพยาบาลและไม่เข้าข่ายที่ต้องของจริยธรรมงานวิจัยในมนุษย์ตามบันทึกข้อความของสำนักงานส่งเสริมบริหารงานวิจัย มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี เลขที่ อว 0604.1.4/918 ลงวันที่ 11 กุมภาพันธ์ 2565

วัสดุและอุปกรณ์ในการทดลอง

ตารางที่ 1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบ

การสกัดด้วยกรวยแยก	การสกัดด้วยซอกซ์เลต
อุปกรณ์ 1. กรวยแยก (Separatory funnel) ขนาด 1000 mL 2. ถ้วยระเหย (Evaporation dish) 3. ขวดกลั่นขนาด 125 ลบ.ซม. 4. กระดาษกรอง whatman เบอร์ 40 ขนาด 11 cm. 5. ปากคีบ (Forceps) 6. เครื่องชั่งละเอียด (Analytical Balance) 7. ขาตั้งและวงแหวน 8. แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod) 9. ปีกเกอร์ (Beaker) 10. โถดูดความชื้น (Desiccator) 11. กระบอกตวง (Cylinder)	อุปกรณ์ 1. เครื่องสกัดซอกซ์เลต (Soxhlet Extraction Apparatus) 2. ขวดสกัด (Extraction Flask) ขนาด 500 mL 3. หลอดสกัดทำด้วยกระดาษกรอง (Extraction Thimble) 4. เต้าไฟฟ้า (Electric Heating Mantle) 5. เครื่องดูดสุญญากาศ (Vacuum Pump) 6. กรวยบุชเนอร์ (Buchner Funnel) ขนาด 12 cm. 7. กระดาษกรอง “Whatman” No.40 8. แผ่นผ้าลินิน (Muslin Cloth Disks) ขนาด 11 cm. 9. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) 10. โถดูดความชื้น (Desiccator) 11. ปากคีบ (Forceps) 12. เครื่องชั่งละเอียด (Analytical Balance) 13. ลูกแก้ว (Glass Beads) 14. กระบอกตวง (Cylinder)

สารเคมี

1. น้ำรีเอเจนต์ที่มีคุณสมบัติเป็นน้ำที่ปราศจากไอออน (Deionized water : Type II)
2. เฮกเซน (n-Hexane) ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 85%
3. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Sulfuric Acid, H_2SO_4 Conc.) AR Grade หรือเทียบเท่า
4. โซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ (Sodium sulfate)
4. สารแขวนลอยช่วยกรอง (Diatomaceous-silica Filter Aid Suspension)
5. น้ำมัน Shell S.A.E. No.40

วิธีเตรียมการทดลอง

ตัวอย่างน้ำสำหรับทดสอบน้ำมันและไขมันถูกเก็บรักษาสภาพที่ที่เย็นน้อยกว่า 2 (โดยเติม H_2SO_4 2 mL ต่อ น้ำ 1,000 mL) ที่อุณหภูมิไม่เกิน 6 องศาเซลเซียส

โดยตัวอย่างน้ำแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ น้ำรีเอเจนต์ และน้ำเสียสังเคราะห์ มีวิธีการเตรียมดังนี้

- 1) น้ำรีเอเจนต์สำหรับการวิจัยเตรียมขึ้นจากน้ำประปาของห้องปฏิบัติการที่ผ่านกระบวนการกรองและสกัดด้วยเครื่องผลิตน้ำกลั่นจนได้น้ำรีเอเจนต์ที่ปราศจากไอออน (Deionized water : Type II)

2) น้ำเสียสังเคราะห์เตรียมขึ้นโดยผสม น้ำมัน Shell S.A.E. No. 40 (ความหนาแน่น 0.890 g/mL) ปริมาณ 0.0225 mL ต่อน้ำรีเอเจนต์ 1,000 mL เพื่อให้ได้น้ำเสียที่มีค่าน้ำมันและไขมันให้มีความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/ลิตร

อุปกรณ์เครื่องแก้วสำหรับกระบวนการสกัดไขมันในการวิจัยจัดซื้อใหม่และยังไม่เคยผ่านการใช้งานมาก่อน ทำความสะอาดตัวทำลาย (อะซิโตน) ก่อนและหลังใช้งานเพื่อให้มีการปนเปื้อนน้ำมันน้อยที่สุดสำหรับการทดสอบน้ำมันและไขมันในน้ำที่สกัดด้วยกรวยแยกและสกัดด้วยซอกซ์เลต มีการทดสอบซ้ำ 3 ครั้งต่อวิธีการสกัด และทดสอบซ้ำ 3 ครั้งต่อชนิดตัวอย่างน้ำ

การทดสอบตัวอย่าง

วิธีการสกัดด้วยกรวยแยก

วิธีการสกัดด้วยกรวยแยกที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่ผู้วิจัยต้องการศึกษาเปรียบเทียบกับวิธีการที่ใช้ในการให้บริการเดิม (วิธีการสกัดด้วยซอกซ์เลต) เพื่อนำผลที่ได้ไปใช้เป็นแนวทางในการให้บริการในอนาคต การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำอ้างอิงจากคู่มือมาตรฐานวิธีทดสอบมลพิษทางน้ำ (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2559) มีขั้นตอนดังนี้

1) เทตัวอย่างปริมาตร 1,000 mL ใส่ปิកเกอร์ขนาด 1,000 mL

2) เทตัวอย่างน้ำใส่กรวยแยก เติมหะเสน 10-15 mL แล้วเขย่าอย่างแรงประมาณ 2 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ สารจะเกิดการแยกชั้น (ส่วนบน คือ เฮกเซน และ ส่วนล่าง คือ ตัวอย่างน้ำ)

3) ถ่ายชั้นตัวอย่างน้ำไว้ในปิกเกอร์เดิม เพื่อนำมาสกัดอีก

4) ถ่ายชั้นเฮกเซน (ไขมันจะละลายอยู่ในส่วนนี้) ผ่านกรวยกรองที่มีโซเดียมซัลเฟตบนกระดาษกรองลงในถ้วยระเหย (ซึ่งได้ทำให้แห้งและชั่งน้ำหนักไว้ก่อนแล้ว)

5) ทำการสกัดซ้ำด้วยวิธีเดียวกันจนครบ 5 ครั้ง (น้ำมันและไขมันในตัวอย่างน้ำถูกสกัดออกจนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า)

6) นำถ้วยระเหยที่มีเฮกเซน (น้ำมันและไขมันละลายอยู่ในนั้น) ไประเหยเอาเฮกเซนออกแล้วนำไประเหยบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เช็ดก้นขวดสกัดให้แห้ง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในโถทำแห้ง เป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที ซึ่งน้ำหนักถ้วยระเหยซ้ำแล้วบันทึกผล

วิธีการสกัดด้วยซอกซ์เลต

วิธีการสกัดด้วยซอกซ์เลตที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้เป็นวิธีการสำหรับวิเคราะห์น้ำตัวอย่างทั่วไปในการทำงานประจำของห้องปฏิบัติการซึ่งประยุกต์มาจากคู่มือปฏิบัติการทดสอบ (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 22nd edition) มีขั้นตอนดังนี้

1) เตรียมการกรองโดยวางผ้ามีสลิบบนกรวยกรอง แล้วปูทับด้วยกระดาษกรอง ใช้น้ำเอเจนต์ฉีดลงไปเพื่อให้แผ่นผ้ามีสลิบบนและกระดาษกรองพร้อมกดให้แนบสนิทกับกรวยบูชเนอร์

2) ต่ออุปกรณ์และเปิดเครื่องดูดสุญญากาศผ่านสารแขวนลอยช่วยกรอง ปริมาตร 100 mL ลงในกรวยบูชเนอร์

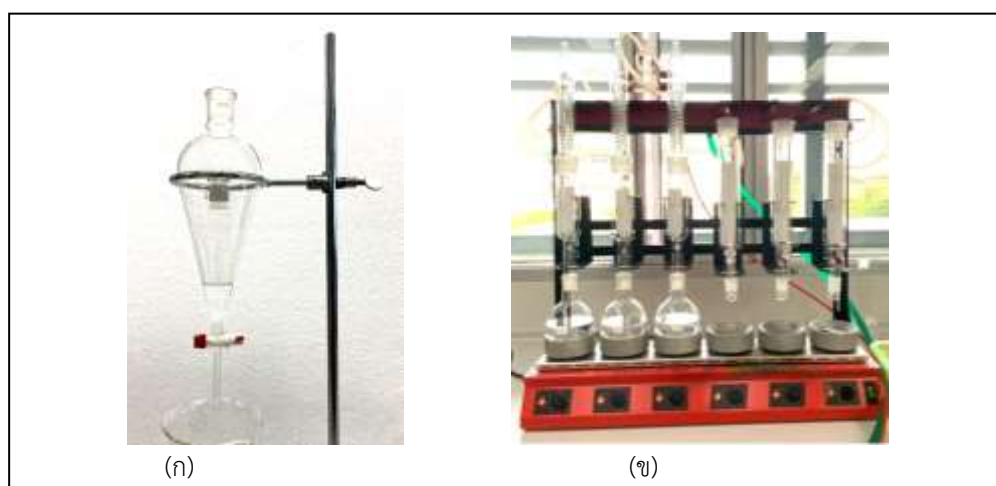
3) ล้างด้วยน้ำรีเอเจนต์ปริมาตร 1,000 mL รอนจนกระทั่งแห้ง เทตัวอย่างที่ผ่านการปรับสภาพและดูดให้แห้ง

4) ใช้ปากคีบหยิบผ้ามีสลิบบนที่มีกระดาษกรองวางบนกระจกนาฬิกา เช็ดด้านข้างและก้นขวดเก็บตัวอย่างด้านใน และด้านในของกรวยบูชเนอร์ด้วยชั้นกระดาษกรองหรือสำลิตีที่ชุ่มด้วยตัวทำลายที่ใช้สกัด โดยต้องซับคราบน้ำมันและของแข็งออกมาให้หมด นำชิ้นกระดาษกรองทั้งหมดมาใส่รวมในกระจกนาฬิกาเดียวกัน เช็ดกระจกนาฬิกาด้วยกระดาษกรองที่ชุ่มด้วยสารละลายที่ใช้สกัด

- 5) ใส่กระดาษกรองและผ้าฝ้ายลินทั้งหมดลงในหลอดสำหรับสกัด โดยให้อยู่ในระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการสกัด แล้วนำหลอดสำหรับสกัดไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
- 6) เติมลูกแก้วกันเดือดลงในหลอดสำหรับสกัดซึ่งขวดสกัดและบันทึกน้ำหนัก แล้วเติมน้ำที่ละลายที่

ใช้ 100 mL สกัดน้ำมันและไขมัน โดยใช้ชุดสกัดชอกซ์เลตที่อัตรา 20 รอบต่อชั่วโมงเป็นเวลา 4 ชั่วโมง

- 7) นำขวดสกัดออกจากชุดสกัดชอกซ์เลตเพื่อไประเหยบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เช็ดก้นขวดสกัดให้แห้ง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในโถทำแห้ง เป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที ซึ่งน้ำหนักขวดสกัดแล้วบันทึกผล



รูปที่ 1 แสดงการสกัดน้ำมันและไขมัน (ก) การสกัดด้วยกรวยแยก (ข) การสกัดด้วยชอกซ์เลต

การทดสอบคุณภาพของการทดลอง

การวิจัยครั้งนี้มีการควบคุมการทดสอบคุณภาพของการทดลองตามมาตรฐานวิธีวิเคราะห์ทดสอบมลพิษน้ำของกรมโรงงานอุตสาหกรรม (2559) ดังนี้

- 1) การทดสอบซ้ำ (Test-Retest Method) คือ การสกัดน้ำมันและไขมันในตัวอย่างน้ำซ้ำอีกครั้ง การวิจัยครั้งนี้กำหนดไว้จำนวน 3 ซ้ำ (Triplicates) เพื่อตรวจสอบความเที่ยงตรง กำหนดค่า Relative Difference (RPD) ไม่เกินร้อยละ 10

- 2) Method Blank (MB) คือ การสกัดน้ำมันและไขมันในตัวอย่างน้ำรีเอเจนต์ ผลการวิเคราะห์จะต้องมีค่าน้อยกว่าค่าต่ำสุดที่ทดสอบด้วยตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ในแต่ละวิธีการการสกัด

- 3) Laboratory Fortified Blank (LFB) คือ การทดสอบตัวอย่างน้ำที่ไม่มีสารที่สนใจที่ผ่านการเติม

สารมาตรฐาน (Shell S.A.E. No.40) กำหนดร้อยละการกลับคืน (%Recovery) ของ LFB อยู่ระหว่าง 80-120%

- 4) Laboratory Fortified Matrix (LFM) คือ การทดสอบตัวอย่างน้ำที่มีการใช้สารที่สนใจ ผ่านการเติมสารมาตรฐาน (Shell S.A.E. No.40) กำหนดร้อยละการกลับคืน (%Recovery) ของ LFM อยู่ระหว่าง 80-120%

- 5) การควบคุมสภาพแวดล้อมในการวิเคราะห์โดยควบคุมความชื้นภายในห้องปฏิบัติการให้อยู่ในช่วงร้อยละ 45 – 60 ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$

- 6) กำหนดวิธีการบันทึกน้ำหนักของเครื่องแก้วเมื่อชั่งน้ำหนักซ้ำแล้วมีค่าคงที่หรือมีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักน้อยกว่าร้อยละ 4 จากน้ำหนักที่ชั่งครั้งก่อนแล้วจึงเลือกบันทึกน้ำหนักค่าที่น้อย

การวิเคราะห์ข้อมูล**1) การคำนวณผลการทดสอบปริมาณน้ำมันและไขมัน**

$$\text{ปริมาณน้ำมันและไขมัน (mg/L)} = \frac{W_2 - W_1}{V}$$

เมื่อ W_2 คือ น้ำหนักของน้ำมันและไขมันหาได้จากน้ำหนักขวดกลั่นที่มีน้ำมันและไขมัน (mg) W_1 คือ น้ำหนักของขวดกลั่น (mg) และ V คือ ปริมาตรของตัวอย่างเริ่มต้น (L)

2) Relative Difference (RPD)

$$\text{RPD (\%)} = \frac{W_{\max} - W_{\min}}{W_{\text{av}}} \times 100$$

เมื่อ $W_{\max}$ คือ ค่าปริมาณน้ำมันและไขมันสูงสุด (mg/L), $W_{\min}$ คือ ค่าปริมาณน้ำมันและไขมันต่ำสุด (mg/L) และ W_{av} คือ ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำมันและไขมัน (mg/L)

3) %Recovery

$$\% \text{Recovery (\%)} = \frac{\text{Amount Recovered}}{\text{Initial Amount}} \times 100$$

เมื่อ Amount Recovered คือ ค่าปริมาณน้ำมันและไขมันที่ได้จริง (mg/L), และ V คือ ค่าปริมาณน้ำมันและไขมันที่คาดหวัง (mg/L)

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์น้ำมันและไขมันของวิธีการสกัดด้วยกรวยแยก

ตัวอย่าง	น้ำหนักถ้วยระเหย (g)		ปริมาณน้ำมันและไขมัน(mg/L)			RPD (%)	%Recovery (%)	ความชื้น/อุณหภูมิ
	ก่อนทดลอง	หลังทดลอง	FOG	ค่าเฉลี่ย	S.D.			
SAE ₁	96.30260	96.30590	13.20	13.73	0.923	11.65	66.00	48.0 % 25.3 °C
SAE ₂	97.8172	97.82072	14.80				74.00	
SAE ₃	98.04633	98.04963	13.20				66.00	
Reagent ₁	98.293	98.3050	0.012				99.90	48.0 % 25.3 °C
Reagent ₂	96.3124	96.3234	0.011	0.034	0.039	38.83	98.50	
Reagent ₃	97.8153	97.8953	0.080				110.50	

หมายเหตุ: RPD คือ Relative Percent Difference , MB คือ Method Blank , LFB คือ Laboratory Fortified Blank , LFM คือ Laboratory Fortified Matrix

จริยธรรมการวิจัย

การวิจัยนี้ผ่านการพิจารณาว่าไม่เข้าข่ายที่ต้องขอรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ ตามบันทึกข้อความที่ อว 0604.1.4/918 เนื่องจากการดำเนินโครงการวิจัยเป็นการวิจัยเชิงทดลองทางห้องปฏิบัติการที่ไม่มีการเก็บข้อมูลใดในมนุษย์และสัตว์ทดลอง

ผลการวิจัย

ผลการวิเคราะห์น้ำมันและไขมันของวิธีการสกัดด้วยกรวยแยก ตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีสารละลายน้ำมัน Shell S.A.E. No.40 เข้มข้น 20 mg/L (SAE) และตัวอย่างน้ำรีเอเจนต์ (Reagent) พบว่า วิธีการวิเคราะห์นี้มีค่าเฉลี่ยน้ำมันและไขมันของสารละลายมาตรฐานที่เตรียมไว้ (SAE) เท่ากับ 13.73 ± 0.923 mg/L โดยให้ผลการทดสอบ MB โดยใช้ น้ำรีเอเจนต์มีค่าเฉลี่ย 0.034 ± 0.039 mg/L น้อยกว่าค่าต่ำสุดที่ของตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ (13.20 mg/L) การทดสอบ LFM ของตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ มีค่า %recovery ระหว่าง 66.00-74.00% และน้ำรีเอเจนต์ มีค่าระหว่าง 98.50-110.50% (ตารางที่ 2)

ผลการวิเคราะห์น้ำมันและไขมันของ
วิธีการสกัดด้วยซอกซ์เลต ตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีสารละลายน้ำมัน Shell S.A.E. No.40 เข้มข้น 20 mg/L (SAE) และตัวอย่างน้ำรีเอเจนต์ (Blank) พบว่า วิธีการวิเคราะห์นี้สามารถหาค่าไขมันเฉลี่ยของสารละลายมาตรฐานที่เตรียมไว้ (SAE) เท่ากับ 20.00 ± 0.011 mg/L

โดยให้ผลการทดสอบ MB โดยใช้น้ำรีเอเจนต์ มีค่าเฉลี่ย 0.014 ± 0.001 น้อยกว่าค่าต่ำสุดที่ของตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ (19.98 mg/L) การทดสอบ LFM ของตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ มีค่า %recovery ระหว่าง 99.90-100.05% และน้ำรีเอเจนต์ มีค่าระหว่าง 99.90-100.50% (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์น้ำมันและไขมันของวิธีการสกัดด้วยซอกซ์เลต

ตัวอย่าง	น้ำหนักถ้วยระเหย (g)		ปริมาณน้ำมันและไขมัน(mg/L)			RPD (%)	%Recovery (%)	ความชื้น/อุณหภูมิ
	ก่อนทดลอง	หลังทดลอง	FOG	ค่าเฉลี่ย	S.D.			
SAE ₁	163.6144	163.6343	19.99	20.00	0.011	0.60	100.50	48.0% 25.3 °C
SAE ₂	162.0921	162.112.1	20.01				99.95	
SAE ₃	153.9827	154.0026	19.98				99.90	
Reagent ₁	165.7402	165.7522	0.014				99.95	48.0% 25.3 °C
Reagent ₂	153.9820	153.9970	0.015	0.014	0.001	6.85	100.05	
Reagent ₃	160.9130	160.9260	0.013				99.90	

หมายเหตุ: RPD คือ Relative Percent Difference , MB คือ Method Blank , LFB คือ Laboratory Fortified Blank , LFM คือ Laboratory Fortified Matrix

ผลการเปรียบเทียบคุณภาพการวิเคราะห์น้ำมันและไขมันด้วยซอกซ์เลตกับกรวยแยก พบว่า วิธีการสกัดน้ำมันและไขมันละลายน้ำด้วยซอกซ์เลตสามารถควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ได้ดีกว่าในด้านของการทดสอบตัวอย่างเดียวกันสามซ้ำในแต่ละชุดการทดสอบ โดยมีค่า Relative Difference (RPD) ไม่เกิน

ร้อยละ 10 และการตรวจสอบค่าความถูกต้องและความแม่นยำจากการรบกวนการทดสอบในตัวอย่างทดสอบน้ำเสียสังเคราะห์ โดยมีค่า % recovery ของ Laboratory Fortified Matrix (LFM) ระหว่าง 80-120% (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบคุณภาพการวิเคราะห์น้ำมันและไขมันด้วยซอกซ์เลตกับกรวยแยก

วิธีการ	ตัวอย่าง	น้ำมันและไขมัน		การควบคุมคุณภาพ			
		Mean	SD	RPD ($\leq 10.0\%$)	MB ($< SAE_{min}$)	LFB (80-120%)	LFM (80-120%)
กรวยแยก	Reagent	0.103	0.039	X	✓	✓	-
	SAE	13.73	0.923	X		-	X
ซอกซ์เลต	Reagent	0.014	0.001	✓	✓	✓	-
	SAE	20.00	0.011	✓		-	✓

หมายเหตุ: RPD คือ Relative Percent Difference , MB คือ Method Blank , LFB คือ Laboratory Fortified Blank , LFM คือ Laboratory Fortified Matrix

การอภิปรายผล

การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเสียสังเคราะห์ที่มีความเข้มข้น 20 mg/L วิธีการวิเคราะห์น้ำมันและไขมันด้วยชอกซ์เลตมีความเข้มข้นเฉลี่ย 20.00 ± 0.011 mg/L ใกล้เคียงกับค่าน้ำมันในตัวอย่างที่เตรียมขึ้นด้วยสารละลายน้ำมัน Shell S.A.E. No.40 (SAE) แตกต่างจากวิธีการสกัดด้วยกรวยแยกที่มีผลวิเคราะห์การปนเปื้อนของน้ำมันเฉลี่ย 13.73 ± 0.923 mg/L ซึ่งน้อยกว่าค่าความเข้มข้นที่เตรียมขึ้นและมี % recovery ไม่อยู่ในช่วงที่เหมาะสมในทุกครั้งของการทดสอบ เนื่องมาจากข้อจำกัดของวิธีการสกัดด้วยกรวยแยกสำหรับน้ำที่มีการปนเปื้อนของน้ำมันหรือไขมันจะส่งผลให้บริเวณรอยต่อระหว่างชั้นทั้งสองของน้ำและน้ำมันไม่สามารถจะแยกออกจากกันได้อย่างเด็ดขาด ต้องนำมาแยกออกจากกันโดยการกรองเมื่อการสกัดได้สิ้นสุดลงแล้ว (สุภาพร แสงศรีจันทร์, 2561) หรือเรียกว่า การเกิดสภาวะอิมัลชัน (Emulsion) เกิดขึ้นจากการผสมของเหลวสองชนิดที่ไม่ละลายซึ่งกันและกัน เพื่อให้สามารถรวมเป็นเนื้อเดียวกันได้อาจเกิดจากการรวมตัวกัน (Coalescence) หรือการจับกลุ่ม (Flocculation) ด้วยการใช้แรงกล (วรพจน์ โพธาเจริญ, 2554) การวิจัยครั้งนี้มีขั้นตอนการแยกกรวยแยก จึงอาจทำให้ส่วนผสมของน้ำและน้ำมันรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกันและไม่แยกชั้นที่ชัดเจน ส่งผลให้ไม่สามารถควบคุมคุณภาพและความแม่นยำที่ดีในการวิเคราะห์ได้ ทั้งนี้ สุภาพร แสงศรีจันทร์ (2561) และ ดวงกมล เรืองงาม (2557) ได้ให้ข้อเสนอแนะในการป้องกันการเกิดสภาวะอิมัลชันโดยหลีกเลี่ยงการเขย่าอย่างรุนแรงและลดความดันขณะแยกกรวยแยกโดยการเปิดก๊อก หรือเลือกใช้เครื่องมืออัลตราโซนิกฟิเคชันในการสกัด (Ultrasound-assisted Extraction, UAE) หรือเติมสารประกอบเกลือ (NaCl) เพื่อเพิ่มความหนาแน่นของน้ำและเปลี่ยนแปลงแรงตึงผิว ดังนั้นโครงการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทั้งโรงพยาบาลของวิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข สอดคล้องกับ Honeywell, Burdick & Jackson Laboratories

Inc. (1966) ได้ระบุว่า การสกัดแบบกรวยแยกแม้จะใช้งานง่ายและสามารถใช้กับตัวทำละลายที่หลากหลาย ทำให้เหมาะสำหรับการสกัดสารประกอบหลากหลายประเภท (รวมถึงสารประกอบที่มีขี้และไม่มีขี้) จากตัวอย่างปริมาณมาก จึงอาจไม่มีประสิทธิภาพเท่ากับวิธีการสกัดเครื่องสกัดแบบชอกซ์เลต วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุขควรพิจารณาเลือกใช้วิธีการสกัดน้ำมันและไขมันละลายน้ำด้วยชอกซ์เลตเช่นเดิม สอดคล้องกับ มั่นสิน ตัญพลเวศม์ (2551) ที่ได้กล่าวถึงปริมาณน้ำมันและไขมันที่มีความเหมาะสมของวิธีการสกัดด้วยกรวยแยก ควรมีปริมาณน้ำมันและไขมันที่ต่ำ (น้อยกว่า 1 มก./ลิตร) หน่วยบริการวิเคราะห์คุณภาพน้ำของวิทยาลัยฯ ควรเลือกใช้วิธีการวิเคราะห์น้ำมันและไขมันด้วยชอกซ์เลตเพื่อให้บริการตรวจวิเคราะห์มีทั้งน้ำเสียที่ยังไม่ผ่านกระบวนการบำบัดและน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้ว และพิจารณาเลือกใช้วิธีการสกัดด้วยกรวยแยกสำหรับการทดสอบตัวอย่างน้ำที่มีน้ำมันและไขมันปนเปื้อนในปริมาณต่ำ เช่น น้ำประปา น้ำดื่ม น้ำบาดาล เป็นต้น เนื่องจากวิธีการสกัดด้วยกรวยแยกมีค่าผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำรีเอเจนต์ที่ใกล้เคียงกับวิธีการสกัดด้วยชอกซ์เลต

การสกัดด้วยชอกซ์เลตเป็นการสกัดแบบต่อเนื่องมีข้อดี คือ ประหยัดตัวทำละลายเนื่องจากการสกัดแบบต่อเนื่อง ได้สารสกัดความเข้มข้นสูง และเนื้อสิ่งสกัดไม่สัมผัสความร้อนสูงเท่ากับการให้ความร้อนโดยตรง แต่ยังมีข้อเสีย คือ การสกัดด้วยวิธีนี้ใช้ความร้อน จึงอาจทำให้สารเคมีสำคัญบางชนิดสลายตัวได้ นอกจากนี้ยังใช้เวลานาน และหลังจากกระบวนการเสร็จสมบูรณ์มีตัวทำละลายอินทรีย์เหลือเป็นของเสีย (ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม, 2564) ปัจจุบันการให้บริการตรวจวิเคราะห์น้ำมันและไขมันน้ำทั้งโรงพยาบาลของวิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุขมีการใช้นอร์มัลเฮกเซน (n-Hexane) เป็นตัวทำละลาย จึงจัดเป็นของเสียอันตรายที่เกิดจากการวิเคราะห์ด้วยการสกัดชอกซ์เลตหากมีการศึกษา

คุณภาพของตัวทำละลายหมุนเวียนที่เหลือจากกระบวนการวิเคราะห์น้ำมันและไขมันใช้งานซ้ำในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ อาจนำไปสู่การลดต้นทุนของการจัดซื้อสารเคมีในการให้บริการลงได้ ข้อควรระวังที่สำคัญ คือ การไม่ใช้หลอดสำหรับสกัดทำด้วยกระดาษกรอง (Extraction Thimble) ในกรณีที่มีการให้บริการตรวจวิเคราะห์หรือการทำวิจัย เนื่องจากหลอดสำหรับสกัดทำด้วยกระดาษกรองสามารถเกิดการสะสมของน้ำมันและไขมันที่นำไปสู่การปนเปื้อนในตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ได้

สรุปผลการวิจัย

วิธีการสกัดน้ำมันและไขมันละลายน้ำด้วยชอกซ์เลตให้ผลการทดสอบที่ดีในด้านคุณภาพและความแม่นยำ ได้แก่ การควบคุมผลการทดสอบความแตกต่างในแต่ละชุดการทดสอบของวิธีการสกัดด้วยชอกซ์เลตในทุกชนิดตัวอย่างทดสอบมีค่า Relative Difference (RPD) ไม่เกินร้อยละ 10 และการตรวจสอบค่าความถูกต้องและความแม่นยำจากการรบกวนการทดสอบในทุกชนิดตัวอย่างที่ทำการทดสอบมีค่า % recovery ระหว่าง 80-120% แม้ผู้วิจัยจะได้มีการฝึกทักษะการทดสอบสกัดด้วยกรวยแยกก่อนเริ่มการวิจัยแล้ว แต่ขั้นตอนในการสกัดมีหลายขั้นตอนที่อาจส่งผลต่อผลการทดสอบหลายประการ เช่น ความแรงและระยะเวลาในการเขย่า ความดันในกรวยแยก การดูดความชื้นด้วยโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ เป็นต้น โครงการบริการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทั้งโรงพยาบาลจึงควรพิจารณาเลือกใช้วิธีการสกัดน้ำมันและไขมันละลายน้ำด้วยชอกซ์เลตในการให้บริการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำที่มีโอกาสปนเปื้อนสูง ข้อจำกัดของการวิจัยในครั้งนี้คือ จำนวนตัวอย่างที่ทำการทดสอบซ้ำ (3 ซ้ำ) อาจยังไม่มากเพียงพอเพื่อทำให้วัดผลความแตกต่างระหว่างการทดสอบซ้ำอยู่ในระดับต่ำและยังไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสถิติ

ข้อเสนอแนะ

1) การวิเคราะห์น้ำมันและไขมันปนเปื้อนในตัวอย่างน้ำทิ้งหรือน้ำเสียควรเลือกใช้วิธีการสกัดด้วยชอกซ์เลต หากแหล่งน้ำแนวโน้มการปนเปื้อนน้ำมันและไขมันต่ำ เช่น น้ำประปา น้ำดื่ม น้ำบาดาล อาจเลือกใช้วิธีการสกัดด้วยกรวยแยกเพื่อวิเคราะห์คุณภาพน้ำเบื้องต้นได้

2) การนำวิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำใดมาใช้งานจะต้องมีการฝึกฝนทักษะเพื่อให้เกิดความชำนาญและมีความแม่นยำก่อนนำมาใช้สำหรับให้บริการตรวจวิเคราะห์

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

1) การศึกษาเปรียบเทียบการทดสอบน้ำมันและไขมันในน้ำเสียสังเคราะห์ระหว่างการสกัดด้วยกรวยแยกกับการสกัดด้วยชอกซ์เลต ควรออกแบบการทดลองโดยใช้ตัวอย่างที่ความเข้มข้นหลากหลายและครอบคลุมช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ระดับต่ำ เพื่อค้นหาแนวทางในการเลือกใช้ให้เหมาะสมกับลักษณะของตัวอย่างน้ำที่จะให้บริการ

2) ควรมีการศึกษาการปนเปื้อนของน้ำมันและไขมันในตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดด้วยชอกซ์เลต หากนำสารเคมีซึ่งเหลือจากกระบวนการวิเคราะห์น้ำมันและไขมันมาหมุนเวียนใช้งานในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำได้จะสามารถลดต้นทุนของการจัดซื้อสารเคมีได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณวิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่สนับสนุนงบประมาณการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2565

เอกสารอ้างอิง

- กรมโรงงานอุตสาหกรรม. (2559). *มาตรฐานวิธีทดสอบมลพิษทางน้ำ* (พิมพ์ครั้งที่ 3). สำนักพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ.
- ดวงกมล เรือนงาม. (2557). การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง*, 23(2), 120-139.
- มันสิน ตันทุลเทศ. (2551). *คู่มือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ* (พิมพ์ครั้งที่ 5). จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วรพจน์ โพธิ์เจริญ. (2554). *การวิเคราะห์สมรรถนะเครื่องยนต์ดีเซลขนาดเล็กที่ใช้ น้ำมันผสมดีเซลและมะเยาหินในรูปอิมัลชันเป็นเชื้อเพลิง* [วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่].
- สุภาพร แสงศรีจันทร์. (2561, 18 พฤษภาคม). *การสกัด (Extraction)*. สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. https://chemistry.mju.ac.th/government/25610518095245_chemistry/Doc_25620922185510_775945.pdf
- ศิริวัลย์ สร้อยกล่อม. (2564, 21 ธันวาคม). *การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร : เทคนิคสกัดสารด้วยซอกซ์เลต*. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. http://www.rdi.ku.ac.th/cl/knowledge/2564/dec2021/soxhlet_extraction.
- APHA. (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (22nded.). American Public Health Association.
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S. & Ju, Y. H. (2013). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296-302.
- Honeywell, Burdick & Jackson Laboratories Inc.. (1966). Solvent Extraction of Organic Analytes. *Analytical Chemistry*, 38(5), 661-667.