

## การพัฒนาชุดทดสอบกรดซาลิซิลิกในอาหาร Development of Test Kit for Salicylic Acid in Food

ลัดดาวัลย์ โรจนพรณทิพย์  
ประกาย บริบูรณ์  
ทิพวรรณ นิ่งน้อย  
มยุรี อุรารุ่งโรจน์  
สมพร ทัณชีวะ

Laddawan Rojanapantip  
Prakai Boriboon  
Tipawan Ningnoi  
Mayuree Urarongroj  
Somporn Thuncheewa

กองอาหาร  
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

Division of Food  
Department of Medical Sciences

### บทคัดย่อ

การพัฒนาชุดทดสอบกรดซาลิซิลิกในตัวอย่างอาหาร มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ในการตรวจคัดกรองตัวอย่าง การพัฒนาได้ดำเนินการในช่วงเดือน มกราคม 2537 - เดือนกรกฎาคม 2537 โดยได้ทำการศึกษาคคุณสมบัติของ indicator หลายชนิด ผลการศึกษาพบว่า indicator ที่เหมาะสมที่จะใช้ทดสอบกรดซาลิซิลิกในอาหารมากที่สุดคือ 2% Ferric chloride ช่วง pH ที่เหมาะสมคือ 3-4 และชุดทดสอบนี้มีความไวต่อกรดซาลิซิลิก 100 ppm. ในน้ำคองผักและน้ำคองผลไม้ สำหรับตัวอย่างที่ตรวจด้วยชุดทดสอบนี้แล้วพบกรดซาลิซิลิก จะถูกส่งตรวจยืนยันผลยังห้องปฏิบัติการต่อไป

### ABSTRACT

The test kit for salicylic acid in food was developed with an objective of screening food samples. The development was carried out during January-July 1994. Several indicators were studied and it was found that 2% Ferric chloride at pH 3-4 was the most appropriate indicator for detection of salicylic acid in food. The test kit was sensitive enough to detect salicylic in salted vegetable and salted fruits at the concentration not lower than 100 ppm. The sample that shows positive result, however, must be sent to laboratory for confirmation.

**Keywords :** salicylic acid, test kit food

## บทนำ

กรดซาลิซิลิกเป็นสารเคมีลักษณะเป็นผลึกสีขาวขุ่น มีสูตรทางเคมี  $C_7H_6O_3$  น้ำหนักโมเลกุล 138.12 มีจุดหลอมเหลว 157-159 °C เมื่อเผาจะแตกตัวได้ฟีนอลและกาซคาร์บอนไดออกไซด์ ละลายได้ดีในน้ำอุ่น แอลกอฮอล์ อะซิโตน และอีเทอร์<sup>(1)</sup> กรดซาลิซิลิกมีอยู่ในพืชหลายชนิดในรูปของ ester

### คุณสมบัติของกรดซาลิซิลิก

กรดซาลิซิลิก มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราบางชนิด จึงนำมาใช้ในทางยา ปัจจุบันใช้เป็นส่วนประกอบของยาทาแก้โรคผิวหนังบางชนิด เนื่องจากคุณสมบัติดังกล่าวบางประเทศนำกรดซาลิซิลิกไปใช้เป็นวัตถุกันเสียในอาหาร<sup>(1)</sup> แต่ในประเทศไทยได้มีประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 151 (พ.ศ. 2536) กำหนดให้กรดซาลิซิลิกเป็นวัตถุที่ห้ามใช้ในอาหาร **ความเป็นพิษ**

ถ้ารับประทานกรดซาลิซิลิกเกิน 170 mg/น้ำหนักตัว 1 kg จะแสดงอาการเป็นพิษคือ หูอื้อ อาเจียนรุนแรง ใช้ขึ้น กระวนกระวาย ซัก ไตวาย และเสียชีวิตได้

หากได้รับกรดซาลิซิลิกมาก ๆ จนมีกรดซาลิซิลิกในเลือด 25-35 mg/เลือด 100 ml. หรือมากกว่านี้ จะเกิดความเป็นพิษรุนแรงจนตายได้<sup>(2)</sup>

ในอดีตเคยมีการใช้กรดซาลิซิลิกเป็นยาลดไข้ แก้ปวด และยาลดการอักเสบ (antiinflammation) แต่เนื่องจากพบว่ามีความเป็นพิษต่อร่างกายมนุษย์อย่างมาก จึงเลิกใช้เป็นยารับประทาน สำหรับทางด้านอาหารยังคงมีผู้ผลิตอาหารบางรายซึ่งส่วนใหญ่เป็นผู้ผลิตอาหารขนาดย่อมหรือผลิตในครัวเรือน นำกรดซาลิซิลิกมาใช้ประโยชน์ในการผลิตอาหารโดยใช้เป็นวัตถุกันเสียในอาหารบางจำพวก เช่น อาหารพวกผักหรือผลไม้ดอง โดยผู้ผลิตอาหารจะใช้กรดซาลิซิลิกในการหยุดปฏิกิริยาการหมักดองของผักผลไม้ดองและเติมลงในน้ำแช่ผักหรือผลไม้ดองเพื่อป้องกันการเน่าเสียอีกด้วย ในปัจจุบันจะมีเจ้าหน้าที่ทางด้าน

สาธารณสุขออกไปปฏิบัติงานด้านคุ้มครองผู้บริโภค มีการสำรวจความไม่ปลอดภัยของผักหรือผลไม้ดอง และการเก็บตัวอย่าง ส่งให้ห้องปฏิบัติการตรวจหาวัตถุกันเสีย และวัตถุห้ามใช้อยู่เสมอ แต่กว่าจะทราบผลต้องใช้เวลาอันยาวนาน นั่นคือนักวิจัยจึงได้ศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาชุดทดสอบกรดซาลิซิลิกขึ้นเพื่อนำไปตรวจสอบกรดซาลิซิลิกเบื้องต้นในน้ำดองผักหรือน้ำดองผลไม้ นอกห้องปฏิบัติการได้ ใช้เวลาในการทดสอบน้อยและให้ผลถูกต้องในระดับที่เชื่อถือได้

## วัตถุประสงค์และวิธีการ

### วัสดุและอุปกรณ์

เครื่องแก้วพื้นฐานที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ volumetric flask ขนาด 100 มล.  
ปิเปต ขนาด 1, 5 มล.  
หลอดทดลอง  
กระดาษลิทมัส  
หลอดหยดยา (dropper)  
Beaker ขนาด 50 มล., 100 มล., 150 มล.,  
กระบอกตวง ขนาด 100 มล.  
เครื่องชั่งละเอียด

### สารเคมีและวิธีเตรียม

1. กรดซาลิซิลิก 1000 ppm.  
ซึ่งกรดซาลิซิลิก AR grade 0.1000 กรัม ใส่ใน beaker ขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วย ethanol 20 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ Vol. flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ล้าง beaker ด้วยน้ำกลั่น เหน้ล้างลงใน Vol. flask เติม ทำซ้ำหลาย ๆ ครั้ง แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
2. กรดซาลิซิลิก 5000 ppm.  
ซึ่งกรดซาลิซิลิก AR grade 0.5000 กรัม ละลายใน ethanol 20 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3. Ferric chloride 2%  
ซึ่ง Ferric chloride 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
4. Ferric alum 2%  
ซึ่ง Ferric alum 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
5. 2% Ferric chloride + 2% Ferric alum (1:1)  
ตวง 2% Ferric Chloride 50 มิลลิลิตร ผสมกับ 2% Ferric alum 50 มิลลิลิตร
6. Hydrochloric acid 0.5 N  
เปิด Hydrochloric acid เข้มข้น 4.15 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นประมาณ 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
7. Sodium hydroxide 0.5 N  
ซึ่ง Sodium hydroxide 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น  
สารเคมีที่จะใช้ในการศึกษาตั้งแต่ข้อ 8–ข้อ 23 ให้ปรับ pH เป็น 3–4 ด้วย 0.5 N HCl หรือ 0.5 N NaOH
8. Calcium oxide 1000 ppm. pH 3–4  
ซึ่ง Calcium oxide 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3–4 ด้วย 0.5 N HCl แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
9. Calcium Chloride 1000 ppm. pH 3–4  
ซึ่ง Calcium Chloride 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3–4 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
10. Benzoic acid 1000 ppm pH 3–4  
ซึ่ง Benzoic acid 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3–4 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
11. Potassium sorbate 1000 ppm. pH 3–4  
ซึ่ง Potassium sorbate 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3–4 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
12. Acetic acid 4% pH 3–4  
เปิด Acetic acid เข้มข้น 4 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3–4 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
13. Citric acid 0.1% pH 3–4  
ซึ่ง Citric acid 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3–4 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
14. Lactic acid 0.1% pH 3–4  
เปิด Lactic acid เข้มข้น 0.1 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3–4 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
15. Ascorbic acid 0.1% pH 3–4  
ซึ่ง Ascorbic acid 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3–4 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
16. Tartaric acid 0.1% pH 3–4  
ซึ่ง Tartaric acid 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3–4 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
17. Saccharin 1000 ppm. pH 3–4  
ซึ่ง Saccharin 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3–4 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
18. Cyclamate 1000 ppm. pH 3–4  
ซึ่ง Cyclamate 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3–4 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
19. Sodium Chloride 0.1% pH 3–4  
ซึ่ง Sodium chloride 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3–4

แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

20. Phosphoric acid 0.1% pH 3-4

ปิเปต Phosphoric acid เข้มข้น 0.1 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3-4 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

21. Sulfuric acid 0.1% pH 3-4

ปิเปต Sulfuric acid เข้มข้น 0.1 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3-4 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

22. Hydrochloric acid 0.5 N pH 3-4

ปิเปต Hydrochloric acid เข้มข้น 4.15 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3-4 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

23. Sodium hydroxide 0.5 N pH 3-4

ชั่ง Sodium hydroxide 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 3-4 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

### วิธีการ

Indicator ที่ใช้ศึกษา มี 3 ชนิด คือ

1. Ferric chloride 2%
2. Ferric alum 2%
3. 2% Ferric chloride + 2% Ferric alum (1:1)

### 1. ทดสอบหาความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมกับการเกิดสีของ indicator

1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน Salicylic acid 100 ppm. pH 1-10 โดยปิเปตสารละลาย salicylic acid 1000 ppm. 5 ml. ลงใน beaker ขนาด 50 ml. จำนวน 10 ใบ เติมน้ำกลั่นลงใน beaker แต่ละใบ ใบละประมาณ 25 ml. ปรับ pH ของสารละลายให้เป็น 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 ด้วย 0.5 N HCl หรือ 0.5 N NaOH ถ่ายสารละลายลงใน volumetric flask ขนาด 50 ml. ล้าง beaker ด้วยน้ำกลั่น แล้วถ่ายน้ำล้างรวมลงใน volumetric

flask ใบเดิม ทำซ้ำหลาย ๆ ครั้ง ปรับปริมาตรให้เป็น 50 ml. ด้วยน้ำกลั่น

1.2 ปิเปตสารละลายข้อ 1.1 จำนวน 5 ml.

ลงในหลอดทดลอง pH ละ 3 หลอด

1.3 แต่ละ pH ของสารละลายกรดซาลิซิลิก (มี 3 หลอด) เติมนิโคติน 1,2 และ 3 ชนิดละ 1 หลอด, หลอดละ 10 หยด สังเกตการเปลี่ยนสีและบันทึกผล

### 2. การทดสอบหาความไวของ Indicator แต่ละชนิด

2.1 เตรียมสารละลาย Salicylic acid ความเข้มข้น 5,8,10,25,50 ppm. pH 3-4 ความเข้มข้นละ 100 ml.

2.2 ตูตสารละลายข้อ 2.1 จำนวน 5 ml. ใส่ในหลอดทดลองความเข้มข้นละ 3 หลอด

2.3 แต่ละความเข้มข้นของสารละลายกรดซาลิซิลิก (มี 3 หลอด) ให้เติมนิโคติน 1,2 และ 3 ชนิดละ 1 หลอด หลอดละ 10 หยด สังเกตการเปลี่ยนสีและบันทึกผล

### 3. การศึกษาผลของสารเคมีที่อาจพบในอาหารหมักดองกับ indicator ทั้ง 3 ชนิด

3.1 เตรียมสารเคมีต่าง ๆ ต่อไปนี้ให้มี pH 3-4

- Calcium oxide 1000 ppm
- Calcium chloride 1000 ppm
- Benzoic acid 1000 ppm.
- Potassium sorbate 1000 ppm.
- Acetic acid 4%
- Citric acid 0.1%
- Lactic acid 0.1%
- Ascorbic acid 0.1%
- Tartaric acid 0.1%
- Saccharin 1000 ppm.
- Cyclamate 1000 ppm.

- Sodium chloride 0.1%
- Phosphoric acid 0.1%
- Sulfuric acid 0.1%
- Hydrochloric acid 0.5 N
- Sodium hydroxide 0.5 N

3.2 ดูดสารเคมีในข้อ 3.1 จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองชนิดละ 3 หลอด

3.3 แต่ละชนิดของสารเคมี (มี 3 หลอด) เติม indicator 1,2 และ 3 ชนิดละ 1 หลอด หลอดละ 10 หยด สังเกตการเปลี่ยนสีและบันทึกผล

#### 4. ศึกษาการรบกวนของสารเคมีต่อการทดสอบกรดซาลิซิลิก

4.1 เตรียมสารละลายเช่นเดียวกับข้อ 3 จนถึงข้อ 3.2

4.2 เติมกรดซาลิซิลิกความเข้มข้น 1000 ppm. จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในสารเคมีข้อ 4.1 ทุกหลอด

4.3 สารละลายในข้อ 4.2 จะมีความเข้มข้นตามข้อ 3.1 ปนกับกรดซาลิซิลิก (แต่ละชนิดของสารเคมีจะมี 3 หลอด) ให้เติม indicator 1,2 และ 3 ชนิดละ 1 หลอด หลอดละ 10 หยด สังเกตการเปลี่ยนสีและบันทึกผล

#### 5. ศึกษาความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เหมาะสมต่อการเกิดสีของ indicator กับกรดซาลิซิลิกในน้ำตองผักและน้ำตองผลไม้ (น้ำมีสีเหลืองอ่อน)

5.1 ปรับ pH น้ำตองผักและน้ำตองผลไม้ให้เป็น 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 ด้วย 0.5 N HCl หรือ 0.5 N NaOH

5.2 ดูดตัวอย่างในข้อ 5.1 ใส่ในหลอดทดลอง ละ 1 หลอด หลอดละ 5 มิลลิลิตร

5.3 เติมกรดซาลิซิลิกความเข้มข้น 1000 ppm. จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในสารละลายข้อ 5.2 ทุกหลอด

5.4 เติม 2% FeCl<sub>3</sub> หลอดละ 1 มิลลิลิตร สังเกตการเปลี่ยนสีและบันทึกผล

#### 6. การทดสอบหาความไว (Sensitivity) ของ salicylic acid กับ 2% Ferric chloride ในน้ำตองผักและน้ำตองผลไม้

6.1 ปรับ pH น้ำตองผักและน้ำตองผลไม้ให้มี pH 3-4 ด้วย 0.5 N HCl หรือ 0.5 N NaOH

6.2 ดูดตัวอย่างในข้อ 6.1 ใส่ลงในหลอดทดลอง 9 หลอด หลอดละ 4 มิลลิลิตร

6.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดซาลิซิลิก ให้มีความเข้มข้น 25,40,50,125,250,500,750,1000 ppm. ชนิดละ 100 ml.

6.4 เติมสารละลาย ข้อ 6.3 ชนิดละ 1 มิลลิลิตร ลงในน้ำตองผักและน้ำตองผลไม้ ข้อ 6.2 ชนิดละ 1 หลอด

สำหรับหลอดทดลองที่เหลือ ให้เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร แทนสารละลาย มาตรฐานกรดซาลิซิลิก

6.5 ตัวอย่างในข้อ 6.4 จะมีความเข้มข้นของกรดซาลิซิลิกที่เติมลงไปเท่ากับ 0,5,8,10,25,50,100,150,200 ppm. ตามลำดับ

6.6 เติม 2% Ferric chloride หลอดละ 1 มิลลิลิตร สังเกตการเปลี่ยนสีและบันทึกผล

#### 7. ศึกษาการรบกวนของสารเคมีต่อการทดสอบ salicylic acid ในน้ำตองผักและน้ำตองผลไม้

7.1 ดูดน้ำตองผักหรือน้ำตองผลไม้ที่ปรับ pH เป็น 3-4 แล้ว จำนวน 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง 16 หลอด

7.2 ดูดสารเคมีในข้อ 3.1 ชนิดละ 2 มิลลิลิตร ลงในน้ำตองผักหรือน้ำตองผลไม้ (ข้อ 7.1) ชนิดละ 1 หลอด

7.3 เติม salicylic acid ความเข้มข้น 1000 ppm. จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างข้อ 7.2 ทุกหลอด

7.4 เติม 2% Ferric chloride ลงในตัวอย่างข้อ

7.3 ทุกหลอด หลอดละ 1 มิลลิลิตร สังเกตการเปลี่ยนสีและบันทึกผล

### ผล

ในการทดสอบหาความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเกิดสีของ indicator ทั้ง 3 ชนิด กับกรด ซาลิซิลิกเมื่อละลายในน้ำกลั่นพบว่า indicator ทั้ง 3 ชนิด ให้สีม่วงกับกรดซาลิซิลิกที่ pH ตั้งแต่ 2-10 แต่จะให้สีเข้มที่สุดที่ pH 3-4 (ตารางที่ 1)

การทดสอบความไวในการเกิดสีของ indicator ทั้ง 3 ชนิด กับสารละลายมาตรฐานกรดซาลิซิลิกที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่า indicator ทั้ง 3 ชนิด จะให้สีม่วงเข้มพอที่จะมองเห็นได้กับกรดซาลิซิลิกที่มีความเข้มข้น 10 ppm. (ตารางที่ 2)

ได้ทำการศึกษาการรบกวนของสารเคมีต่าง ๆ ที่คาดว่าจะพบในน้ำตองผัก หรือน้ำตองผลไม้ ต่อการเกิดสีของ indicator กับกรดซาลิซิลิก โดยได้ดำเนินการทดลองเป็น 2 ชั้น ดังนี้

**ตารางที่ 1** ผลของ pH ต่อปฏิกิริยาการเกิดสีของ indicator กับสารละลายมาตรฐานกรดซาลิซิลิก

pH	2% Ferric chloride	2% Ferric alum	2% Ferric chloride + 2% Ferric alum 1:1
1	สีเหลือง	สีเหลือง	สีเหลือง
2	+3	+3	+3
3	+5	+4	+4
4	+4	+5	+5
5	+3	+3	+3
6	+3	+3	+3
7	+3	+3	+3
8	+3	+3	+3
9	+3	+3	+3
10	+3	+3	+3

- +1 = สีม่วงอ่อนมาก
- +2 = สีม่วงอ่อน
- +3 = สีม่วงเข้มปานกลาง
- +4 = สีม่วงเข้มมาก
- +5 = สีม่วงเข้มมากที่สุด

**ตารางที่ 2** ความไวของ indicator แต่ละชนิดต่อการเกิดสีกับสารละลายมาตรฐานกรดซาลิซิลิก

ความเข้มข้นของ กรดซาลิซิลิก (ppm.)	2% Ferric chloride	2% Ferric alum	2% Ferric chloride +2% Ferric alum 1:1
0	สีเหลือง	สีเหลือง	สีเหลือง
5	สีชมพูอ่อน	สีชมพูอ่อน	สีชมพูอ่อน
8	สีชมพูอมม่วง	สีชมพูอมม่วง	สีชมพูอมม่วง
10	+2	+2	+2
25	+3	+3	+3
50	+4	+4	+4

- +1 = สีม่วงอ่อนมาก
- +2 = สีม่วงอ่อน
- +3 = สีม่วงเข้มปานกลาง
- +4 = สีม่วงเข้มมาก
- +5 = สีม่วงเข้มมากที่สุด

ขั้นที่ 1 ศึกษาการเกิดสีของสารเคมีต่าง ๆ จำนวน 16 ชนิด กับ indicator ทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารเคมีทั้ง 16 ชนิด ที่ทำการทดลองไม่ให้เกิดสีกับ indicator ทั้ง 3 ชนิด แต่ 2% ferric alum และ indicator ผลของ 2% ferric alum กับ 2% ferric chloride (1:1) จะให้ตะกอนขาวกับกรดฟอสฟอริก (ตารางที่ 3)

ขั้นที่ 2 ศึกษาการเกิดสีของกรดซาลิซิลิกกับ indicator ทั้ง 3 ชนิด ในสภาพที่สารเคมีที่ศึกษา 16 ชนิด ปนอยู่ พบว่า citric acid, ascorbic acid และ tartaric acid มีผลให้สีที่เกิดจากปฏิกิริยาของกรดซาลิซิลิกกับ indicator ทั้ง 3 ชนิด เปลี่ยนเป็นสีม่วงอมน้ำตาล แต่สีที่เปลี่ยนไปไม่มีผลให้การอ่านผลวิเคราะห์ผิดพลาด นอกจากนี้ 2% ferric alum และ indicator ผลของ 2% ferric chloride กับ 2% ferric alum (1:1) จะให้เพียงสีม่วง

จาง ๆ และเกิดตะกอนขาวเมื่อมีกรดฟอสฟอริกปนอยู่ ส่วน 2% ferric chloride จะให้สีม่วงได้ดีที่สุด (ตารางที่ 4) ดังนั้นในการศึกษาขั้นต่อไป ผู้วิจัยจึงเลือกใช้เฉพาะ 2% ferric chloride ในการทดสอบกรดซาลิซิลิกในอาหาร

ได้ศึกษาความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเกิดสีของ 2% ferric chloride กับกรดซาลิซิลิกเมื่ออยู่ในน้ำตองผักและน้ำตองผลไม้ เช่น ผักกาดตอง, กระเทียมตอง, ขิงตอง, มะนาวตอง, มะม่วงตอง พบว่า 2% Ferric chloride จะให้สีม่วงได้ดีกับกรดซาลิซิลิกในช่วง pH ที่เป็นกรด (pH 2-5) เท่านั้น และช่วง pH ที่ให้สีม่วงชัดเจนที่สุดคือ ช่วง pH 3-4 (ตารางที่ 5)

ในการศึกษาหาความไวของการเกิดสีของ 2% ferric chloride กับกรดซาลิซิลิก เมื่ออยู่ในน้ำตองผัก, น้ำตองผลไม้ พบว่า 2% ferric chloride จะให้สีม่วงกับกรด

**ตารางที่ 3** สีที่เกิดจากปฏิกิริยาของวัตถุเจือปนอาหารต่าง ๆ กับ indicator แต่ละชนิด

ลำดับที่	วัตถุเจือปนอาหาร	2% Ferric Chloride	2% Ferric alum	2% Ferric chloride + 2% Ferric alum 1:1
1	Calcium oxide 1000 ppm.	เหลือง	เหลือง	เหลืองอมส้ม
2	Calcium chloride 1000 ppm.	เหลือง	เหลือง	เหลืองอมส้ม
3.	Benzoic acid 1000 ppm.	เหลือง	เหลือง	เหลือง
4	Potassium sorbate 1000 ppm.	เหลือง	เหลือง	เหลืองอมส้ม
5	Acetic acid 4%	ส้ม	ส้ม	ส้ม
6	Citric acid 0.1%	เหลือง	เหลือง	เหลือง
7	Lactic acid 0.1%	เหลือง	เหลือง	เหลือง
8	Ascorbic acid 0.1%	เหลือง	เหลือง	เหลือง
9	Tartaric acid 0.1%	เหลือง	เหลือง	เหลือง
10	Saccharin 1000 ppm.	เหลือง	ส้มอ่อน	ส้มอ่อน
11	Cyclamate 1000 ppm.	เหลือง	เหลือง	เหลือง
12	Sodium chloride 0.1%	เหลือง	เหลือง	เหลือง
13	Phosphoric acid 0.1%	เหลืองอ่อน	เหลือง+ ตะกอนขาว	เหลือง+ ตะกอนขาว
14	Sulfuric acid 0.1%	เหลือง	เหลือง	เหลือง
15	Hydrochloric acid 0.5 $\bar{N}$	เหลือง	เหลือง	เหลือง
16	Sodium hydroxide 0.5 $\bar{N}$	เหลือง	เหลือง	เหลือง

**ตารางที่ 4** ผลของวัตถุเจือปนอาหารต่าง ๆ ต่อปฏิกิริยาการเกิดสีของกรดซาลิซิลิก กับ indicator

ลำดับที่	วัตถุเจือปนอาหาร	2% Ferric Chloride	2% Ferric alum	2% Ferric chloride + 2% Ferric alum 1:1
1	Calcium oxide 1000 ppm.	สีม่วง	สีม่วง	สีม่วง
2	Calcium chloride 1000 ppm.	สีม่วง	สีม่วง	สีม่วง
3.	Benzoic acid 1000 ppm.	สีม่วง	สีม่วง	สีม่วง
4	Potassium sorbate 1000 ppm.	สีม่วง	สีม่วง	สีม่วง
5	Acetic acid 4%	สีม่วง	สีม่วง	สีม่วง
6	Citric acid 0.1%	สีม่วงอมน้ำตาล	สีม่วงอมน้ำตาล	สีม่วงอมน้ำตาล
7	Lactic acid 0.1%	สีม่วง	สีม่วง	สีม่วง
8	Ascorbic acid 0.1%	สีม่วงอมน้ำตาล	สีม่วง	สีม่วงอมน้ำตาล

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ลำดับที่	วัตถุเจือปนอาหาร	2% Ferric Chloride	2% Ferric alum	2% Ferric chloride + 2% Ferric alum 1:1
9	Tartaric acid 0.1%	สีม่วงอมน้ำตาล	สีม่วงอมน้ำตาล	สีม่วงอมน้ำตาล
10	Saccharin 1000 ppm.	สีม่วง	สีม่วง	สีม่วง
11	Cyclamate 1000 ppm.	สีม่วง	สีม่วง	สีม่วง
12	Sodium chloride 0.1%	สีม่วง	สีม่วง	สีม่วง
13	Phosphoric acid 0.1%	สีม่วง	สีม่วงอ่อน+ ตะกอนขาว	สีม่วงอ่อน+ ตะกอนขาว
14	Sulfuric acid 0.1%	สีม่วง	สีม่วง	สีม่วงคล้ำ
15	Hydrochloric acid 0.5 N	สีม่วง	สีม่วง	สีม่วง
16	Sodium hydroxide 0.5 N	สีม่วง	สีม่วง	สีม่วง

ตารางที่ 5 ผลของ pH ต่อปฏิกิริยาการเกิดสีของ 2% Ferric chloride กับกรดซาลิซิลิกในน้ำตองผัก, น้ำตองผลไม้

pH	2% Ferric chloride
1	สีเขียวคล้ำ
2	+3
3	+4
4	+3
5	+2
6	+1
7	+1
8	+1
9	สีส้มอมน้ำตาล
10	สีส้มอมน้ำตาล

- +1 = สีม่วงอ่อนมากอมน้ำตาล
- +2 = สีม่วงอ่อนอมน้ำตาล
- +3 = สีม่วงเข้มปานกลางอมน้ำตาล
- +4 = สีม่วงเข้มมากอมน้ำตาล

**ตารางที่ 6** ความไวของ 2% ferric chloride ต่อการเกิดสีกับกรดซาลิซิลิกในน้ำตองผัก, น้ำตองผลไม้

ความเข้มข้นของกรดซาลิซิลิก (ppm.)	2% Ferric chloride
0	สีเหลืองคล้ำ
5	สีเหลืองคล้ำ
8	สีเหลืองคล้ำ
10	สีเหลืองคล้ำ
25	สีเหลืองคล้ำ
50	+1
100	+2
150	+3
200	+4

+1 = สีม่วงอ่อนมากอมน้ำตาล

+2 = สีม่วงอ่อนอมน้ำตาล

+3 = สีม่วงเข้มปานกลางอมน้ำตาล

+4 = สีม่วงเข้มมากอมน้ำตาล

**ตารางที่ 7** ผลของวัตถุเจือปนอาหารต่าง ๆ ต่อปฏิกิริยาการเกิดสีของ 2% ferric chloride กับกรดซาลิซิลิกในน้ำตองผัก, น้ำตองผลไม้

ลำดับที่	วัตถุเจือปนอาหาร	สีที่ปรากฏ
1	Calcium oxide 1000 ppm.	สีม่วงอมน้ำตาล
2	Calcium chloride 1000 ppm.	สีม่วงอมน้ำตาล
3.	Benzoic acid 1000 ppm.	สีม่วงอมน้ำตาล
4	Potassium sorbate 1000 ppm.	สีม่วงอมน้ำตาล
5	Acetic acid 4%	สีม่วงอมน้ำตาล
6	Citric acid 0.1%	สีม่วงอมน้ำตาล
7	Lactic acid 0.1%	สีม่วงอมน้ำตาล
8	Ascorbic acid 0.1%	สีม่วงอมน้ำตาล
9	Tartaric acid 0.1%	สีม่วงอมน้ำตาล
10	Saccharin 1000 ppm.	สีม่วงอมน้ำตาล
11	Cyclamate 1000 ppm.	สีม่วงอมน้ำตาล
12	Sodium chloride 0.1%	สีม่วงอมน้ำตาล
13	Phosphoric acid 0.1%	สีม่วงอมน้ำตาล
14	Sulfuric acid 0.1%	สีม่วงอมน้ำตาล
15	Hydrochloric acid 0.5 <u>N</u>	สีม่วงอมน้ำตาล
16	Sodium hydroxide 0.5 <u>N</u>	สีม่วงอมน้ำตาล

ซาลิซิลิกในน้ำตองผัก, น้ำตองผลไม้ เข้มพอที่จะสังเกตเห็นการเกิดสีได้ที่มีความเข้มข้นของกรดซาลิซิลิก 100 ppm. (ตารางที่ 6)

ขั้นตอนต่อไปได้ศึกษาการรบกวนของสารเคมีต่างๆ ที่นิยมใช้ในการผลิตผักหรือผลไม้ตองต่อการทดสอบกรดซาลิซิลิกในน้ำตองผัก น้ำตองผลไม้ พบว่า 2% ferric chloride จะให้สีม่วงอมน้ำตาลกับกรดซาลิซิลิกในน้ำตองผักและน้ำตองผลไม้ที่มีสารเคมี 16 ชนิดนี้ป็นอยู่ (ตารางที่ 7)

### วิจารณ์

จากการศึกษาความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเกิดสีม่วงของกรดซาลิซิลิกกับ indicator ทั้ง 3 ชนิดนั้นพบว่าเมื่อกรดซาลิซิลิกละลายอยู่ในน้ำกลั่นจะเกิดสีม่วงกับ indicator ทั้ง 3 ชนิด ได้ในช่วง pH กว้างมาก คือ ตั้งแต่ pH 2-10 แต่เมื่อละลายอยู่ในน้ำตองผักหรือน้ำตองผลไม้แล้ว จะเกิดสีม่วงกับ 2% FeCl<sub>3</sub> ได้เฉพาะช่วง pH ที่เป็นกรดเท่านั้น คือช่วง pH 2-5 แต่อย่างไรก็ตาม ช่วง pH ที่ indicator จะเกิดสีม่วงกับกรดซาลิซิลิกได้ดีที่สุดไม่ว่าจะละลายอยู่ในน้ำกลั่นหรือน้ำตองผักก็ตามคือ ช่วง pH 3-4

เนื่องจากน้ำตองผักและน้ำตองผลไม้ที่ผลิตจำหน่ายจะมีสภาพเป็นกรดอยู่แล้ว เพราะช่วง pH ที่เป็นกรดจะป้องกันการเจริญเติบโตของยีสต์และราได้ดี และจากการตรวจสอบ pH ของน้ำตองผัก และน้ำตองผลไม้ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ จำนวน 20 ตัวอย่าง พบ pH อยู่ระหว่าง 2.5-4.5 เช่นกัน ดังนั้นในการทดสอบกรดซาลิซิลิกในน้ำตองผักและน้ำตองผลไม้จึงสามารถทดสอบได้ทันทีโดยไม่ต้องปรับความเป็นกรด-ด่างอีก

การศึกษาค่าความไวในการเกิดสีม่วงของกรดซาลิซิลิกกับ indicator นั้น พบว่า ความไวในการเกิดสีม่วงของ 2% ferric chloride กับกรดซาลิซิลิกเมื่ออยู่ในน้ำตองผักจะต่ำกว่าความไวในการเกิดสีม่วงของ indicator กับกรดซาลิซิลิกเมื่อละลายอยู่ในน้ำกลั่นประมาณ 10 เท่า ทั้งนี้อาจเป็น

เพราะน้ำตองผัก และน้ำตองผลไม้ปกติมีกลิ่น และบางตัวอย่างมีการแต่งสี ความขุ่นและสีของตัวอย่างอาจเป็นสาเหตุให้ความไวในการเห็นสีม่วงลดลงจากที่ทดสอบกับสารละลายมาตรฐานกรดซาลิซิลิก

เนื่องจากในขบวนการผลิตผักและผลไม้ตอง จะมีการใช้สารเคมีต่างๆ เดิมลงในผักและผลไม้ตอง เพื่อปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ เช่น สารทำให้กรอบ, สารกันเสีย, สารเพิ่มความเป็นกรด, วัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาล ฯลฯ นอกจากนี้ยังมีสารที่เกิดขึ้นจากขบวนการผลิต เช่น lactic acid เจือปนอยู่ด้วย ซึ่งสารต่างๆ เหล่านี้อาจรบกวนการเกิดสีของกรดซาลิซิลิก และ indicator ได้ ผู้วิจัยจึงได้ศึกษาผลของสารเคมีต่างๆ เหล่านี้ต่อปฏิกิริยาการเกิดสีของกรดซาลิซิลิกกับ indicator ด้วย จากการศึกษพบว่า 2% ferric alum และ indicator ผสมของ 2% ferric chloride กับ 2% ferric alum (1:1) ไม่เหมาะสมที่จะใช้ทดสอบกรดซาลิซิลิกในอาหาร เพราะจะมีปัญหากรณีมีฟอสเฟตโมเลกุลเจือปนอยู่ในอาหาร ส่วน 2% ferric chloride จะให้สีที่ดีและไม่มีการรบกวนอันเนื่องจากสารเคมี แม้จะมีสารเคมีบางชนิด เช่น citric acid, ascorbic acid, tartaric acid เป็นสาเหตุให้สีม่วงที่เกิดจากปฏิกิริยาเปลี่ยนไปเป็นสีม่วงอมน้ำตาลก็ตาม แต่สีที่เปลี่ยนไปไม่มีผลให้การอ่านผลวิเคราะห์ผิดพลาด

จากการทดลองที่ผ่านมา จึงสรุปได้ว่า 2% ferric chloride เป็น indicator ที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดสอบกรดซาลิซิลิกในอาหาร

### สรุป

รูปแบบชุดทดสอบกรดซาลิซิลิกที่เหมาะสมประกอบด้วย

#### น้ำยาชุดทดสอบ

1. กรดซาลิซิลิก 1 คือ กรดซาลิซิลิก 5000 ppm.
2. กรดซาลิซิลิก 2 คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 N
3. กรดซาลิซิลิก 3 คือ กรดเกลือ 0.5 N

4. กรดซาลิซิลิก 4 คือ Ferric chloride 2%

### วิธีการทดสอบ

1. เติมน้ำดองผักหรือผลไม้ที่ต้องการทดสอบใส่ในหลอดแก้ว จำนวน 2 หลอด หลอดละประมาณ 5 มิลลิลิตร ( $\frac{1}{4}$  หลอด)
2. ใช้หลอดหยดดูดสารละลายกรดซาลิซิลิก 1 จำนวน 2 หยด ใส่ในหลอดแก้ว หลอดที่ 2
3. ใช้กระดาษลิตมัสตรวจสอบความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของตัวอย่างทั้ง 2 หลอด
  - ถ้า pH ต่ำกว่า 3 ให้เติมสารละลายกรดซาลิซิลิก 2 จน pH เป็น 3-4
  - ถ้า pH สูงกว่า 4 ให้เติมสารละลายกรดซาลิซิลิก 3 จน pH เป็น 3-4
4. เติมสารละลายกรดซาลิซิลิก 4 จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด เขย่าให้เข้ากัน

### อ่านผล

- ถ้าสารละลายในหลอดที่ 1 ให้สีม่วงอมน้ำตาล เช่นเดียวกับหลอดที่ 2 แสดงว่า น้ำดองผักหรือน้ำดองผลไม้ที่ทดสอบมีกรดซาลิซิลิกเจือปน
- ถ้าสารละลายในหลอดที่ 1 ไม่ให้สีม่วงอมน้ำตาล แสดงว่า น้ำดองผัก หรือน้ำดองผลไม้ที่ทดสอบไม่มีกรดซาลิซิลิกเจือปน

### เอกสารอ้างอิง

1. Budavari, S. 1989. The Merck Index. 11<sup>th</sup> Edition, Merck & Co Inc. Publishing Company Rahway, N.J., USA. p. 1606.
2. Casarett and Doull's. 1986. Toxicology The Basic Science of Poisons. 3<sup>rd</sup> Ed., Macmillan Publishing. Company, 866 Third Avenue, New York 10022, USA. p.974.
3. ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 151 (พ.ศ. 2536) เรื่องกำหนดวัตถุที่ห้ามใช้ในอาหาร ออกตามความในพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ในราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไปเล่ม 111 ตอนพิเศษ 99. วันที่ 4 เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2537.
4. Pearson, D. 1962. The Chemical Analysis of Foods. 5<sup>th</sup> Ed., J & A Churchill LTB Publishing Company, 104 Gloucester Place, London W.1. p.464.
5. Meites, L. 1963. Hand Book of Analytical Chemistry 1<sup>st</sup> Ed. McGraw-Hill Book Company Inc., New York. p.6.