

รายงานการวิจัย

ชุดเครื่องมือต้นแบบชนิดรู้ผลเร็วสำหรับวิเคราะห์เอทานอล

และอะซีทัลดีไฮด์ในเครื่องดื่มสุราชุมชน

A Prototype for High Throughput Analysis of Ethanol
and Acetaldehyde in Alcoholic Drinks

RCH

FP

593

643614

ด. 1

เลขหมู่.....

121168

เลขทะเบียน.....

วัน, เดือน, ปี 25 ส.ค. 2555

ชื่อผู้วิจัย

ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชัน

สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

18408657
b.....
i.....

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ 2554

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ ชุดเครื่องมือต้นแบบชนิดรู้ผลเร็วสำหรับวิเคราะห์เอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในเครื่องดื่มสุราชุมชน

A Prototype for High Throughput Analysis of Ethanol and Acetaldehyde in Alcoholic Drinks

ได้รับทุนสนับสนุนจาก ทุนวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ประเภทส่งเสริมนักวิจัย

ประจำปีงบประมาณ 2554 จำนวนเงิน 250,000 บาท

ระยะเวลาในการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ เดือนตุลาคม ปี 2553 ถึง เดือนกันยายน ปี 2554

หน่วยงานและผู้ดำเนินการวิจัยพร้อมหน่วยงานที่สังกัดและหมายเลขโทรศัพท์

ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น (หัวหน้าโครงการ)

สาขาวิชาเคมีและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

โทร 02-32-8400-11 ต่อ 653 E-mail: nchoengchan@gmail.com และ kcnathaw@kmitl.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาชุดเครื่องมือต้นแบบขนาดเล็ก พกพาได้ เพื่อนำไปหาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในตัวอย่างสุราชุมชนเพื่อควบคุมคุณภาพและเฝ้าระวังสิ่งปนเปื้อนในสุรา โดยชุดเครื่องมือจะอาศัยหลักการของเทคนิคซีแวนเซียลอินเจกชันอะนาไลซิสทำให้วิเคราะห์ได้อัตโนมัติเมื่อสารตัวอย่างถูกนำส่งเข้าเครื่อง อะซีทัลดีไฮด์จะทำปฏิกิริยากับสารผสมระหว่างมอร์โฟลีนและไนโตรพรัสไซด์ได้โดยตรง เกิดเป็นผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินแล้วตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 590 นาโนเมตร เนื่องจากเอทานอลไม่สารทำปฏิกิริยาได้โดยตรงกับสารผสมทั้งสอง จึงต้องถูกเปลี่ยนเป็นอะซีทัลดีไฮด์เสียก่อนโดยใช้เพอร์แมงกาเนทเป็นตัวออกซิไดซ์ จากผลการทดลองเบื้องต้น พบว่า ได้กราฟมาตรฐานในช่วงความเข้มข้นของอะซีทัลดีไฮด์เท่ากับ 1×10^{-3} โมลาร์ ถึง 5×10^{-3} โมลาร์ โดยมีสมการเส้นตรงเป็น $Abs = 0.0241[AcH] - 0.006$ และมีสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9991 ซึ่งแสดงว่ามีความเป็นเส้นตรงดี ได้นำชุดเครื่องมือดังกล่าวไปหาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในตัวอย่างสุราและไวน์ผลไม้ พบว่าได้ปริมาณเอทานอลใกล้เคียงกับปริมาณที่ระบุข้างฉลาก ส่วนปริมาณอะซีทัลดีไฮด์นั้นก็อยู่ในเกณฑ์ที่ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค นอกจากนี้ จากการทดสอบความถูกต้องของวิธีที่พัฒนาขึ้นมาโดยเปรียบเทียบกับผลลัพธ์วิเคราะห์กับวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อใช้วิธีทางสถิติคือ paired t-test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

In this work, a prototype for high throughput analysis of ethanol and acetaldehyde in alcoholic drinks was developed for quality control and for contaminant monitoring in such kind of samples. Principle and manipulation of the prototyped is based on sequential injection analysis (SIA). By SIA, the prototype can be functioned automatically. After sample was introduced in to the SIA system, acetaldehyde was reacted with mixture reagent. Blue-colored product was developed and was monitored at 590 nm. Since ethanol can not react directly to mixed reagent, therefore prior oxidation with permanganate to become acetaldehyde is necessary. Preliminary results shown that calibration of standard acetaldehyde was ranged from 1×10^{-3} M to 5×10^{-3} M. Calibration equation: $Abs = 0.0241[AcH] - 0.006$ was achieved with good linearity ($r^2 = 0.9991$). Application of the developed prototype to liquor and fruit wine was studied. Ethanol content was not difference when it was compared with label value while Acetaldehyde content is below limit of regulation. By statistical paired t-test, the contents, determined by the prototype, were not significantly different from the validating gas-chromatographic method.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากการสนับสนุนเงินวิจัย จาก
ทุนวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ประเภทเงินงบประมาณแผ่นดินโดยสภာวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปี
งบประมาณ 2554 และได้รับความอนุเคราะห์จาก ห้องปฏิบัติการนวัตกรรม-วิจัยการไหล ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ดวงใจ นาคะปรีชา หัวหน้า
ห้องปฏิบัติการ ซึ่งอนุเคราะห์อุปกรณ์บางส่วนสำหรับใช้ทำวิจัยและให้คำปรึกษาในการทำวิจัย
ขณะนักวิจัย ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง มา ณ โอกาสนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญเรื่อง

เรื่อง	หน้า
1. บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
2. วิธีดำเนินการ	
2.1 สารเคมี	5
2.2 เครื่องมือ	5
2.3 วิธีดำเนินการ	5
3. อภิปรายและวิจารณ์ผลการทดลอง	6
3.1 การศึกษาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น	8
3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องมือต้นแบบ เพื่อวิเคราะห์อะซีทัลดีไฮด์และเอทานอล	12
3.3 ศึกษาคุณลักษณะเด่นของเครื่องมือต้นแบบ	13
3.4 การประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเครื่องดื่มสุราและเครื่องดื่มผสมแอลกอฮอล์	13
4. สรุปผลการทดลอง	14
บรรณานุกรม	15
ภาคผนวก (Manuscript)	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 3.1 แสดงคุณลักษณะเด่นของเครื่องมือ ในการวิเคราะห์หาปริมาณ อะซีทัลดีไฮด์และเอทานอล	13
ตารางที่ 3.2 ความเข้มข้นของอะซีทัลดีไฮด์และความเข้มข้นของเอทานอล ที่ตรวจพบในตัวอย่าง	13



สารบัญภาพ

รูปที่	หน้า
รูปที่ 2.1 แสดงระบบ FI เพื่อวิเคราะห์ อะซีทัลดีไฮด์ (ก) และเอทานอล (ข)	6
รูปที่ 3.1 แสดงสเปกตรัมของสารละลายอะซีทัลดีไฮด์ทำปฏิกิริยาระหว่าง สารละลายผสม มอร์โฟลีน กับ โซเดียมไนโตรพรัสไซด์	7
รูปที่ 3.2. กราฟแสดงอิทธิพลของ ความยาว Mixing coil ของ acceptor	8
รูปที่ 3.3 กราฟแสดงอิทธิพลของ ความยาว Mixing coil ของ donor	9
รูปที่ 3.3 กราฟแสดงอิทธิพลของ อัตราการไหล	9
รูปที่ 3.4 กราฟแสดงอิทธิพลของ ความเข้มข้นโซเดียมไนโตรพรัสไซด์	10
รูปที่ 3.5 กราฟแสดงอิทธิพลของ ความเข้มข้นมอร์โฟลีน	10
รูปที่ 3.6 กราฟแสดงอิทธิพลของ ความเข้มข้นโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต	11
รูปที่ 3.7 กราฟแสดงอิทธิพลของ ความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟูริก	12

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

FI	Flow injection
g	Gram
GC	Gas Chromatography
GD	Gas-diffusion
m	Milli
M	Molarity
SD	Standard Deviation
W	Weight
V	Volume



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ภายหลังจากที่มีโครงการ ‘หนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์ (OTOP)’ เกิดขึ้นเมื่อ ปี พ.ศ. 2544 แต่ละชุมชนได้ใช้ภูมิปัญญาท้องถิ่นเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ OTOPT ที่มีคุณภาพประจำตำบล โดยเครื่องคั้มแอลกอฮอล์พื้นบ้านของไทย เช่น สาโท และ ไวน์ผลไม้ ก็เป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์ OTOPT ที่มีวางจำหน่ายเป็นจำนวนมาก กรรมวิธีในการผลิตเครื่องคั้มแอลกอฮอล์ทำได้โดยนำวัตถุดิบจากธรรมชาติ ได้แก่ ผักและผลไม้ มาหมักกับจุลินทรีย์จะได้ผลผลิตหลักคือ ‘เอทานอล’ หรือ ‘เอทิลแอลกอฮอล์’ ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ชนิดที่บริโภคได้ แต่ถ้ามีปริมาณเอทานอลในเครื่องคั้มสูงเกินไปอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ในระหว่างขั้นตอนการหมัก นอกจากจะเกิดเอทานอลแล้วยังอาจเกิดอะซีทัลดีไฮด์ด้วย ถ้าสภาวะการหมักไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิสูงเกินไป หรือกระบวนการหมักยังไม่สิ้นสุด อะซีทัลดีไฮด์เป็นสารพิษ ถ้าร่างกายได้รับหรือสัมผัสกับอะซีทัลดีไฮด์ จะทำให้ คอแห้ง ไอ ปวดศีรษะ และอาจทำให้เสียชีวิต ดังนั้นการควบคุมปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในเครื่องคั้มแอลกอฮอล์ให้เหมาะสมจึงเป็นสิ่งจำเป็น

ในประเทศไทย กระทรวงอุตสาหกรรม ได้ออกประกาศของกระทรวง เรื่องกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์เครื่องคั้มแอลกอฮอล์ ไว้ในราชกิจจานุเบกษา โดยระบุให้มีปริมาณเอทานอลอยู่ในช่วง 15-40 ดีกรี (หรือ ร้อยละ 15-40 โดยปริมาตร) และปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ ไม่เกิน 160 พีพีเอ็ม (1) ถ้าผู้ผลิตผลิตเครื่องคั้มแอลกอฮอล์แล้วพบว่า มีความเข้มข้นของเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ไม่เป็นไปตามกำหนดจะถือว่าผิดกฎหมาย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในเครื่องคั้มแอลกอฮอล์ โดยเฉพาะเครื่องคั้มแอลกอฮอล์พื้นบ้านของไทยซึ่งอาจมีกระบวนการผลิตที่ยังไม่ได้มาตรฐานเพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์และเป็นการคุ้มครองผู้บริโภค ซึ่งจะสอดคล้องกับยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศตามแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 10 (พ.ศ.2550-2554) ในประเด็นของยุทธศาสตร์การพัฒนาคุณภาพคนและสังคมไทย ซึ่งมุ่งเน้นเสริมสร้างให้คนไทยมีความมั่นคงทางอาหารและบริโภคอาหารที่ปลอดภัย

วิธีมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์เอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ในเครื่องคั้มแอลกอฮอล์ตามที่กระทรวงอุตสาหกรรมประกาศไว้ในราชกิจจานุเบกษา ได้แก่ วิธีมาตรฐานของ Association of Analytical Communities (AOAC) (2) การวิเคราะห์เอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ด้วยวิธีดังกล่าวจะใช้หลักการรวมถึงเครื่องมือที่แตกต่างกัน กล่าวคือ การวิเคราะห์เอทานอลทำโดยใช้เครื่องวัดค่าความ

ถ่วงจำเพาะแล้วจึงนำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณหาเป็นความเข้มข้นของเอทานอล และยังมีคำแนะนำวิธีวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มด้วยหลักการต่างๆ เช่น หลักการทางโครมาโทกราฟี ซึ่งมีทั้งแก๊สโครมาโทกราฟีและลิควิดโครมาโทกราฟี ในส่วนของแก๊สโครมาโทกราฟีนั้น Jan Kovai (4) ได้ใช้หลักการแก๊ส-โซลิดโครมาโทกราฟี ร่วมกับวิธี internal standard สำหรับหาเอทานอลเพื่อหาวิธีวิเคราะห์ที่มีความเที่ยงและแม่นยำขึ้น ในส่วนของเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีนั้น T. Takeuchi และคณะ (5) ได้พัฒนาวิธีไมโคร-ไฮเพอร์ฟอร์มแมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี อาศัยการตรวจวัดทางแสงเพื่อวิเคราะห์อะลิฟาติกแอลกอฮอล์ ได้แก่ เมทานอล เอทานอล โพรพานอล และบิวทานอล ในเครื่องดื่ม แต่วิธีทางโครมาโทกราฟีมักใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน วิธีที่อาศัยหลักการสเปคโทสโกปี เช่น การวัดการดูดกลืนแสงในความยาวคลื่นอินฟราเรด (6-8) ซึ่งใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่า จึงเป็นอีกวิธีที่ได้รับความนิยมเพื่อใช้วิเคราะห์เอทานอล นอกจากหลักการดังกล่าวข้างต้นแล้ว การใช้เทคนิคทางเคมีไฟฟ้าร่วมกับการใช้ขั้วตรวจวัดทางชีวภาพอาศัยการทำงานของเอนไซม์ (9-11) ที่ถูกตรึงอยู่บนขั้วเพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจงของการตรวจวัดก็เป็นวิธีที่มีผู้เสนอเช่นเดียวกัน ในการเพิ่มความจำเพาะเจาะจงสำหรับการตรวจวัดเอทานอล นอกจากใช้ขั้วชีวภาพที่มีเอนไซม์ตรึงอยู่แล้วนั้น ยังทำได้โดยใช้อุปกรณ์ขนาดเล็กที่มีเยื่อเลือกผ่านชนิดที่ยอมให้แก๊สเท่านั้นที่แพร่ผ่านได้ วางอยู่ภายใน เนื่องจากเอทานอลระเหยกลายเป็นแก๊สได้ง่ายที่อุณหภูมิห้องในขณะที่ตัวรบกวนอื่นๆ ไม่สามารถระเหยได้ การใช้อุปกรณ์ชนิดนี้จึงสามารถแยกเอทานอลออกจากตัวรบกวนได้ อุปกรณ์ดังกล่าวเรียกว่า แก๊สดีฟฟิวชันยูนิท ในการวิเคราะห์เอทานอลด้วยอุปกรณ์นี้ มักใช้ร่วมกับเทคนิคโพลอินเจกชัน โดยมีคณะนักวิจัยจำนวนหนึ่ง เสนอวิธีการตรวจวัดเอทานอลด้วยระบบโพลอินเจกชันร่วมกับการใช้แก๊สดีฟฟิวชันแล้วประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (12)

สำหรับการวัดปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ เทคนิคส่วนใหญ่ที่กลุ่มนักวิจัยเสนอขึ้นสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ คือ แก๊สโครมาโทกราฟี (13-16) ซึ่งมีผู้เสนอทั้งแบบที่ใช้ร่วมกับเทคนิคเฮดสเปซ (Head-space) (13-15) และแบบที่ใช้ร่วมกับอุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์สารระเหยอีกลักษณะหนึ่งคือ เพอร์เวพเพอชันยูนิท ซึ่งมีหลักการคล้ายกับเทคนิคเฮดสเปซ (16) หลักการแยกอีกหลักการหนึ่งคือ ลิควิดโครมาโทกราฟี ก็มีผู้เสนอขึ้นเพื่อหาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ (17) ซึ่งวิธีดังกล่าวนี้เตรียมตัวอย่างด้วยการสกัดบนเฟสของแข็งด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม ทั้งแก๊สโครมาโทกราฟีและลิควิดโครมาโทกราฟี ต่างก็เป็นวิธีวิเคราะห์ที่มีความจำเพาะเจาะจงเนื่องจากมีการแยกอะซีทัลดีไฮด์ออกจากตัวรบกวนซึ่งมีในตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ อีกวิธีหนึ่งที่สามารถวิเคราะห์อะซีทัลดีไฮด์ได้อย่างจำเพาะเจาะจง คือ การใช้เอนไซม์อะซีทัลดีไฮด์ไฮโดรจีเนส (18-19) วิธีการวิเคราะห์ทำได้โดยบรรจุเอนไซม์ดังกล่าวในคอลัมน์แล้วนำไปต่อเข้ากับระบบโพลอินเจกชัน เพื่อให้วิเคราะห์ได้อย่างต่อเนื่อง ซึ่งพบว่าวิธีดังกล่าวนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างไวน์ได้ อย่างไรก็ตาม วิธีที่ดังกล่าวข้างต้น ล้วนแล้วแต่ต้องใช้เครื่องมือและสารเคมีที่มีราคาแพง ใช้เวลาในการวิเคราะห์นานกว่าจะรู้ผล อีกทั้งไม่สามารถดำเนินการวิเคราะห์ให้เป็นไปอย่างอัตโนมัติได้

ดังนั้น ในโครงการนี้ จึงจะพัฒนาวิธีวิเคราะห์แบบอัตโนมัติสำหรับหาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์โดยอาศัยหลักการตรวจวัดแบบใหม่ ซึ่งใช้อุปกรณ์และสารเคมีที่ราคาไม่แพง วิธีที่พัฒนาขึ้น จะใช้เทคนิคโพลินเจกชันกับการใช้อุปกรณ์แบบพิเศษซึ่งภายในมีเยื่อเลือกผ่านชนิดที่ยอมให้แก๊สเท่านั้นที่แพร่ผ่านได้ เพื่อแยกสารระเหยที่ต้องการวิเคราะห์ออกจากตัวรบกวนที่อาจเจือปนอยู่ในตัวอย่าง จึงทำให้การวิเคราะห์มีความจำเพาะเจาะจงมากขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อสร้างองค์ความรู้ใหม่ในการพัฒนาหลักการสำหรับตรวจวัดเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์
2. เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์แบบอัตโนมัติสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์อาศัยเทคนิคโพลินเจกชันร่วมกับการใช้อุปกรณ์แบบพิเศษซึ่งภายในมีเยื่อเลือกผ่านชนิดที่ยอมให้แก๊สแพร่ผ่านได้
3. เพื่อประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับควบคุมคุณภาพของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านของไทย

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

ได้พัฒนาหลักการใหม่สำหรับตรวจวัดเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ สำหรับอะซีทัลดีไฮด์สามารถตรวจวัดได้โดยตรงโดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างอะซีทัลดีไฮด์กับ โซเดียมไนโตรพรัสไซด์และเมอร์โพลีนเกิดเป็นสารประกอบซึ่งสามารถติดตามค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ส่วนการวิเคราะห์เอทานอลนั้น ต้องเปลี่ยนเอทานอลให้เป็นอะซีทัลดีไฮด์ก่อนโดยใช้โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่เตรียมในสารละลายกรดเป็นตัวออกซิไดส์ เนื่องจากเอทานอลไม่ทำปฏิกิริยากับโซเดียมไนโตรพรัสไซด์และเมอร์โพลีน

จากนั้นนำหลักการที่พัฒนาขึ้นนี้ไปใช้กับเทคนิคโพลินเจกชัน โดยต่อเข้ากับอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์สารระเหยได้แก่ แก๊สดีฟิวชันยูนิต ซึ่งภายในจะมีเยื่อเลือกผ่านชนิดที่ยอมให้แก๊สแพร่ผ่านได้ ดังนั้น จะมีเฉพาะอะซีทัลดีไฮด์ (ทั้งที่เป็นอะซีทัลดีไฮด์มาแต่เดิมหรือเป็นอะซีทัลดีไฮด์ที่ถูกเปลี่ยนมาจากเอทานอล) ซึ่งสามารถระเหยได้ดีที่อุณหภูมิห้อง เท่านั้นที่แพร่ผ่านได้ ในขณะที่ตัวรบกวนอื่นๆจะไม่แพร่ผ่าน จากนั้น อะซีทัลดีไฮด์ที่แพร่ผ่านได้นี้ จะไปทำปฏิกิริยากับโซเดียมไนโตรพรัสไซด์และเมอร์โพลีนต่อไป การใช้แก๊สดีฟิวชันยูนิตจึงทำให้การวิเคราะห์มีความจำเพาะเจาะจงสูง

ได้ใช้วิธีที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ ไปประยุกต์เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ใน ตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านของไทย เช่น สาโท และ ไวน์ผลไม้ต่างๆ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ระบบวิเคราะห์ที่สะดวก รวดเร็ว และสามารถพัฒนาให้ระบบวิเคราะห์แบบอัตโนมัติได้ เพื่อใช้เป็นวิธีสำหรับควบคุมคุณภาพของการผลิตเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วิธีดำเนินการ

2.1 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็นสารเคมีเกรดวิเคราะห์ (A.R. grade) นำปราศจากไอออนที่ใช้ในการเตรียมสารละลายได้จากกระบวนการ Milli-Q

สารละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 40 ถึง 5 ใช้เป็นสารละลายมาตรฐาน เตรียมโดยเจือจางจากสารละลายเอทานอล (99.9%) ด้วยน้ำปราศจากไอออน

สารละลายอะซีทัลดีไฮด์ (Sigma-Aldrich) ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร เตรียมโดย ซึ่งหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายอะซีทัลดีไฮด์ ด้วยวิธีไอโอโคเมทริก โทเทรตชัน

สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (Carlo erba reagent) ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ เตรียมได้โดยละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 2 กรัม ในกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

สารละลายผสมซึ่งใช้เป็นรีเอเจนต์ เตรียมได้จากน้ำ สารละลายเมอร์โฟลีนความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยปริมาตร ผสมกับ สารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

2.2 เครื่องมือ

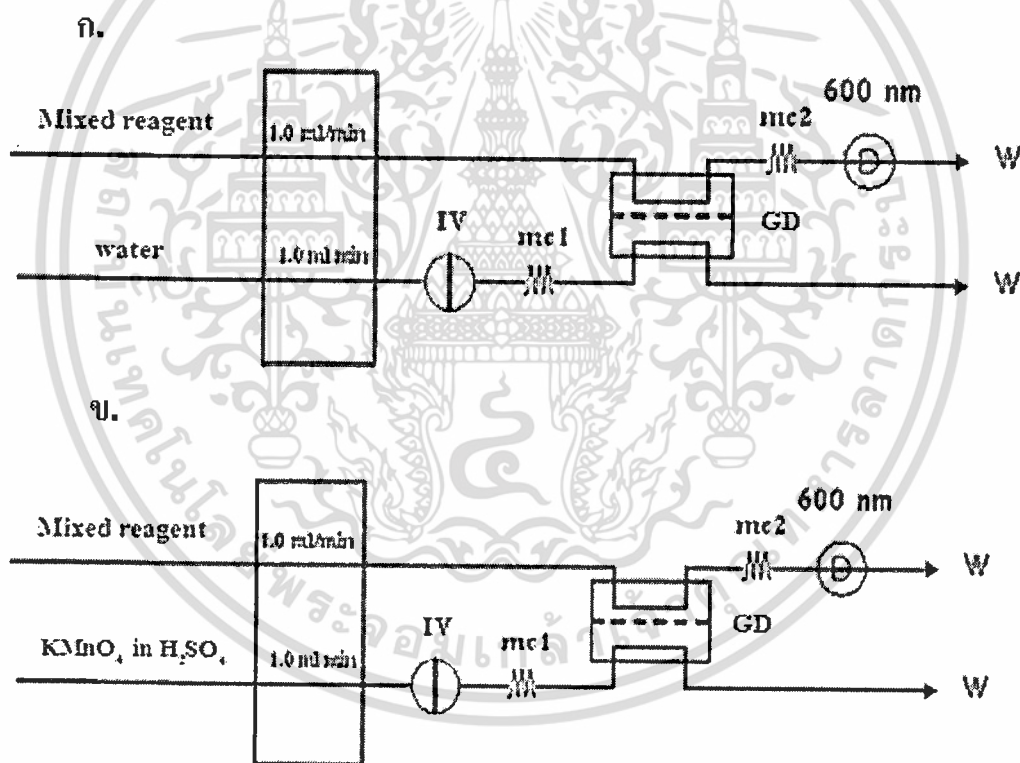
การตรวจวัดสัญญาณใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ของ Jasco V-630 สำหรับระบบโพลินเจกชัน ส่วนในการขับเคลื่อนสารละลายจะใช้ peristaltic pump (4 channels) การนำสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบจะใช้ Six port injection valve ท่อนำส่งสารเป็นชนิด Tygon (i.d. 0.95 mm) และ poly(tetrafluoro ethylene) (PTFE, i.d 0.05 mm) และ ส่วนของแก๊สดีฟิวชัน (GD) ภายในมี PTFE membrane (pore size = 0.45 μm)

2.3 วิธีดำเนินการ

ระบบโพลินเจกชัน (FI) แบ่งออกเป็น 2 ระบบ ระบบที่ 1 แสดงดังรูปที่ 2.1 (ก) สัญญาณที่ได้จะเป็นสัญญาณของอะซีทัลดีไฮด์ โดยจะปั๊ม น้ำกลั่นปราศจากไอออนเข้าสู่ระบบด้วยอัตราการไหล 1.0 mL.min⁻¹ ทำหน้าที่เป็นตัวพา จากนั้นฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าสู่กระแสของตัวพา อะ

ซีทลดีไฮด์จะแพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่าน (GD unit) ทำปฏิกิริยากับสารละลายผสม เกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์สีฟ้า เข้าสู่เครื่อง UV-VIS spectrophotometer ตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 600 nm

สำหรับระบบที่ 2 แสดงดังรูปที่ 2.1 (ข) สัญญาณที่ได้จะเป็นสัญญาณของเอทานอลและอะซีทลดีไฮด์ โดยสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (ตัวพา) และสารละลายผสมระหว่างมอร์โฟลีนกับโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ จะถูกปั๊มให้ไหลเข้าสู่ระบบด้วยอัตราการไหล 1.0 mL.min⁻¹ จากนั้นฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าสู่กระแสของตัวพา เอทานอลจะเข้าทำปฏิกิริยากับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต เกิดเป็นอะซีทลดีไฮด์ แพร่ผ่านเยื่อเลือกผ่าน (GD unit) ทำปฏิกิริยากับสารละลายผสม เกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์สีฟ้า เข้าสู่เครื่อง UV-VIS spectrophotometers ตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 600 nm สัญญาณของเอทานอลได้จากนำสัญญาณจากระบบที่ 1 หักลบกับระบบที่ 2 วิธีที่ใช้ในวิเคราะห์หาปริมาณคือ วิธีการสร้างกราฟมาตรฐาน



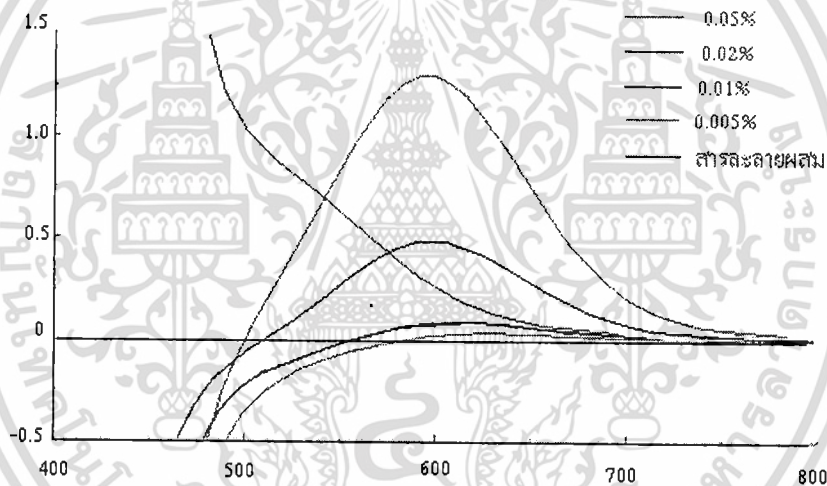
รูปที่ 2.1 แสดงระบบ FI เพื่อวิเคราะห์ อะซีทลดีไฮด์ (ก) และเอทานอล (ข) IV: Injection volume, SV: selection valve, MC: Mixing coil GD: Gas-diffusion ภายใต้มี PTFE membrane (pore size = 0.45 μm) D: Detector

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. อภิปรายและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 การศึกษาสเปกตรัมการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

โดยใช้ปฏิกิริยาระหว่างอะซีทัลดีไฮด์กับสารละลายผสม มอร์โฟลีนกับโซเดียมไนโตรพริสไซด์ วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานอะซีทัลดีไฮด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยทำการทดลองแบบ Batch สเปกตรัมแสดงดังรูปที่ 3.1 ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาระหว่างอะซีทัลดีไฮด์กับสารละลายผสม สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 600 nm ดังนั้นจึงเลือกความยาวคลื่นนี้ในการตรวจวัดตลอดการทดลอง



รูปที่ 3.1 แสดงสเปกตรัมของสารละลายอะซีทัลดีไฮด์ทำปฏิกิริยาระหว่าง สารละลายผสม มอร์โฟลีน กับ โซเดียมไนโตรพริสไซด์

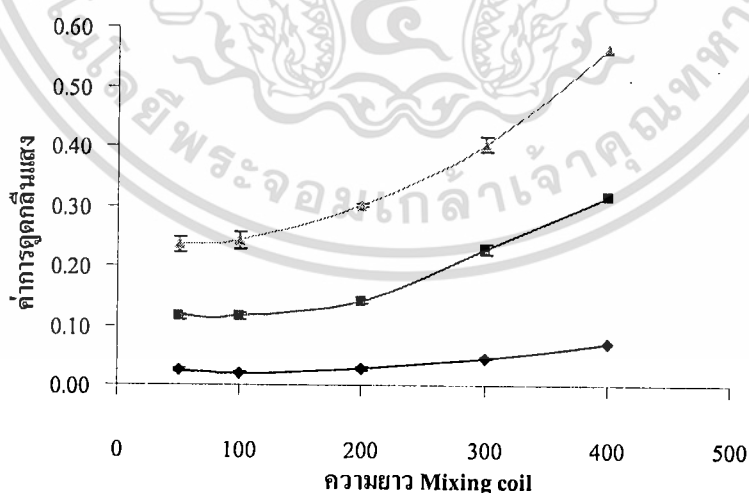
3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมของระบบ FI เพื่อวิเคราะห์อะซีทิลดีไฮด์และเอทานอล

3.2.1 อิทธิพลของ Injection volume

ศึกษา Injection volume ศึกษาในปริมาตรช่วง 100-500 μL พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นจนถึงปริมาตร 300 μL ที่ปริมาตรมากขึ้นค่าการดูดกลืนแสงลดลงทั้งนี้เนื่องจาก จำนวนโมลของอะซีทิลดีไฮด์แพร่ผ่าน แก๊สดีฟฟิวชันมากขึ้นทำให้จำนวนโมลของสารละลายผสมไม่เพียงพอในการทำปฏิกิริยา

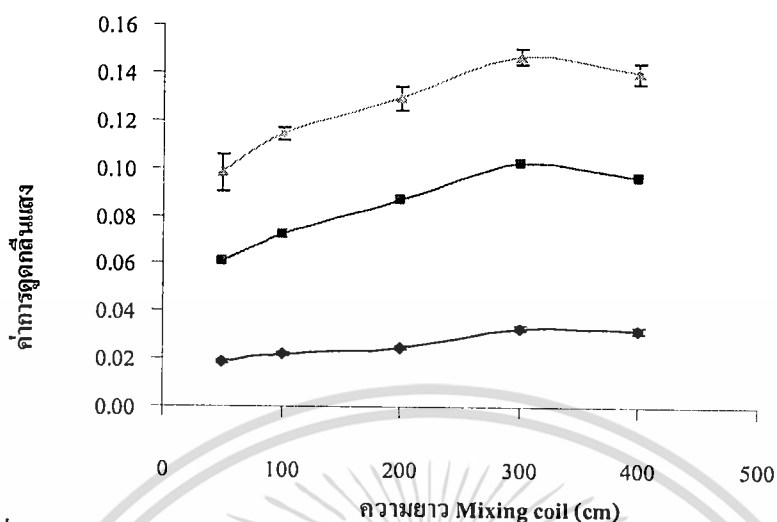
3.2.2 อิทธิพลของ ความยาวของ mixing coils

ความยาวของ mixing coil ของ Acceptor และ donor ศึกษาที่ 40-400 cm สัญญาณเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ความยาวเท่ากับ 300 cm เมื่อเพิ่มความยาว สัญญาณลดลง เนื่องจากเกิดการกระจายตัวมากขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเจือจาง สัญญาณจึงลดลง จึงเลือกใช้ความยาวของ mixing coil ของ Acceptor ที่ 300 cm แสดงดังรูปที่ 3.2 ส่วนความยาว mixing coil ของ donor จะส่งผลต่อการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลมากกว่าการวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทิลดีไฮด์ ทั้งนี้เนื่องจากในการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลนั้นจะต้องทำปฏิกิริยากับ โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต เกิดเป็นอะซีทิลดีไฮด์ เพราะฉะนั้น เมื่อเพิ่มความยาวของ mixing coil จะทำให้มีปริมาณอะซีทิลดีไฮด์เกิดเพิ่มมากขึ้น จึงเลือกใช้ mixing coil ของ donor ที่ 400 cm แสดงดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.2. กราฟแสดงอิทธิพลของ ความยาว Mixing coil ของ acceptor ศึกษาในช่วงความยาว 40-400 cm, (Δ) 40% v/v เอทานอล, (□) 30% v/v เอทานอล และ (○) 5% v/v เอทานอล

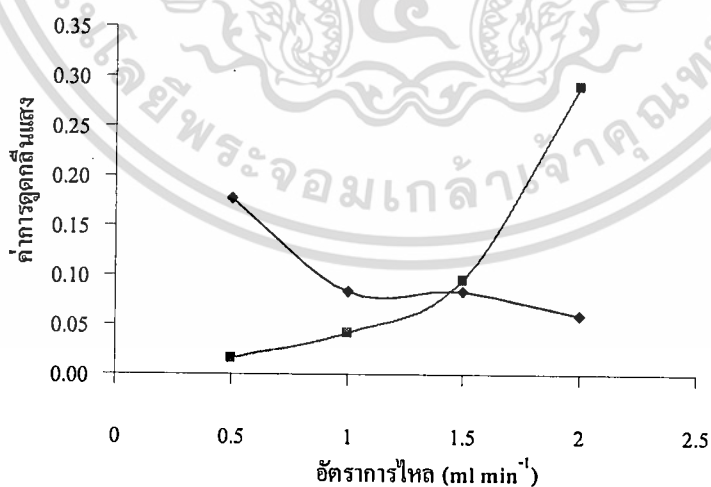
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.3 กราฟแสดงอิทธิพลของ ความยาว Mixing coil ของ donor ศึกษาในช่วงความยาว 40-400 cm, (Δ) 40% v/v เอทานอล, (□) 30% v/v เอทานอล และ (◇) 5% v/v เอทานอล

3.2.3 อิทธิพลของอัตราการไหล

เนื่องจากอัตราการไหลส่งผลโดยตรงต่อการตอบสนองของสัญญาณ จึงได้ศึกษาอิทธิพลของอัตราการไหลของของสารละลายผสมและสารละลายตัวพา ในช่วงอัตราการไหลระหว่าง 0.5-2.0 ml min⁻¹ จากการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของตัวพาเพิ่มขึ้น สัญญาณที่ตรวจวัดได้จะเพิ่มขึ้นในทางกลับกัน เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของสารละลายผสมเพิ่มขึ้น สัญญาณลดลง เนื่องจากระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาลดลงเมื่ออัตราการไหลเพิ่มขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นได้น้อยลง แสดงดังรูปที่ 3.4

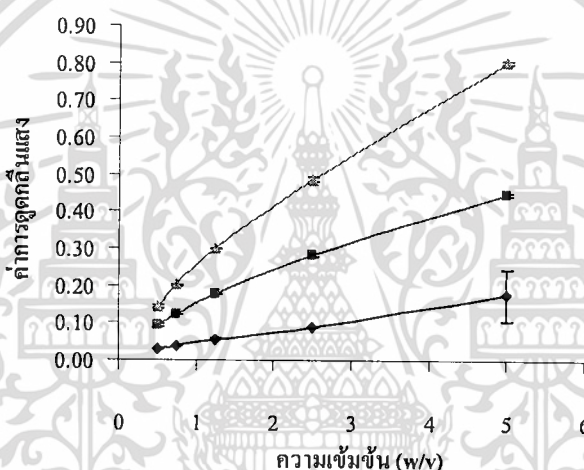


รูปที่ 3.3 กราฟแสดงอิทธิพลของ อัตราการไหล โดยศึกษาที่ 0.5-2.0 ml min⁻¹ (□) 5% v/v เอทานอล และ (◇) 5x10⁻³ M อะซิโตนฟีโนล

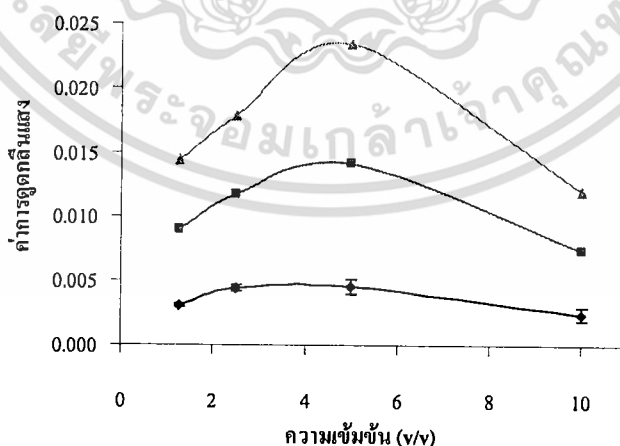
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4 อิทธิพลของความเข้มข้นสารละลายผสม (โซเดียมไนโตรพลัสไซด์ผสมกับมอร์โฟลีน)

ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ในช่วงความเข้มข้น 0.5-5 w/v พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมไนโตรพลัสไซด์เพิ่มขึ้น ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 3.4 จึงได้เลือกความเข้มข้นโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ที่ 2.5 % w/v เนื่องจากให้ค่าการดูดกลืนแสงที่เหมาะสมและไม่สิ้นเปลืองมากเกินไป สำหรับศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นมอร์โฟลีนในช่วงความเข้มข้น 1.25-10 % v/v จากกราฟแสดงดังรูปที่ 3.5 สัญญาณที่ตรวจได้จะเพิ่มจนถึงที่ความเข้มข้นมอร์โฟลีนเท่ากับ 5% v/v และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของมอร์โฟลีนขึ้นอีกพบว่าสัญญาณลดลง จึงเลือกใช้ความเข้มข้นมอร์โฟลีนที่ 5%v/v เป็นค่าที่เหมาะสม



รูปที่ 3.4 กราฟแสดงอิทธิพลของ ความเข้มข้นโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.5-5 w/v, (Δ) 5×10^{-3} M อะซีทิลดีไฮด์, (\square) 3×10^{-3} M อะซีทิลดีไฮด์ และ (\diamond) 1×10^{-3} M อะซีทิลดีไฮด์

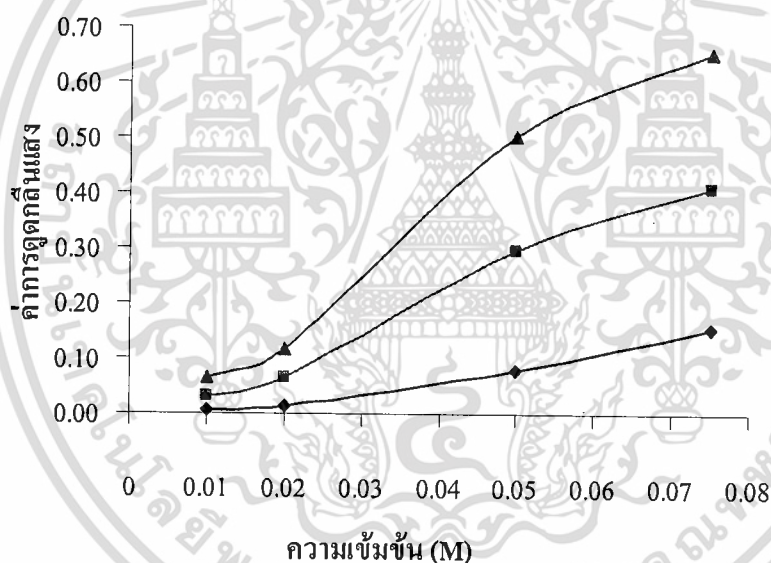


รูปที่ 3.5 กราฟแสดงอิทธิพลของ ความเข้มข้นมอร์โฟลีน ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 1.25-10 v/v, (Δ) 5×10^{-3} M อะซีทิลดีไฮด์, (\square) 3×10^{-3} M อะซีทิลดีไฮด์ และ (\diamond) 1×10^{-3} M อะซีทิลดีไฮด์

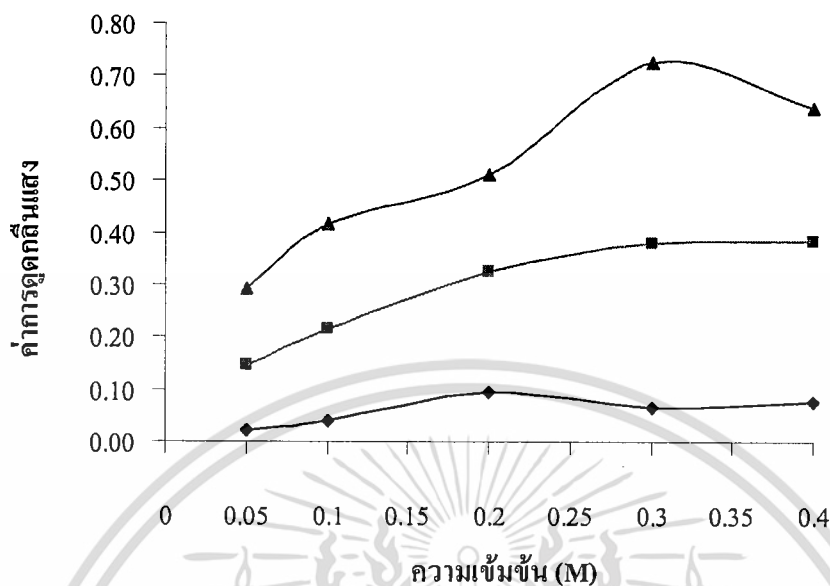
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.6 อิทธิพลของสารละลายออกซิเดชัน

ในการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลนั้น เอทานอลจะถูกออกซิไดส์เกิดเป็นอะซีทัลดีไฮด์ ด้วยสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ละลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก จึงได้ทดลองเพื่อศึกษาอิทธิพลของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตและสารละลายกรดซัลฟูริก ในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.075 M สำหรับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต และ 0.05-0.4 M สำหรับสารละลายกรดซัลฟูริก พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเพิ่มขึ้น ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มมากขึ้นจึงได้เลือกความเข้มข้นที่ 0.05 M เป็นค่าที่เหมาะสมให้ค่าการตอบสนองที่ยอมรับได้และไม่สิ้นเปลือง สำหรับความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นจนถึงความเข้มข้น 0.3 M ความเข้มข้นที่มากขึ้นให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลง จึงเลือกความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกที่ 0.3 M



รูปที่ 3.6 กราฟแสดงอิทธิพลของ ความเข้มข้นโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.01-0.075 M, (Δ) 40% v/v เอทานอล, (□) 20% v/v เอทานอล และ (◇) 5% v/v เอทานอล



รูปที่ 3.7 กราฟแสดงอิทธิพลของ ความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟูริก ศึกษาในช่วงความเข้มข้น 0.05-0.4 M, (Δ) 40% v/v เอทานอล, (\square) 20% v/v เอทานอล และ (\diamond) 5% v/v เอทานอล

3.3 ศึกษาคุณสมบัติเด่นของระบบ FI

คุณสมบัติเด่นของระบบ FIA แสดงดังตารางที่ 3.1 ซึ่งในการวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ได้ช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ระหว่าง 1×10^{-3} และ 5×10^{-3} M มีสมการเชิงเส้นเป็น $y = 15.1x + 0.0039$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9901 สำหรับค่า RSD (n=10) มีค่าเท่ากับ 3.7% และ 2.9% ของอะซีทัลดีไฮด์ความเข้มข้นที่ระดับ 1×10^{-3} และ 5×10^{-3} M ตามลำดับ ค่าขีดจำกัดการตรวจวัด มีค่าเท่ากับ 5.2×10^{-4} M และขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ มีค่าเท่ากับ 1.74×10^{-3} M ส่วนของการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลมีช่วงความเป็นเส้นตรงอยู่ระหว่าง 10-50 %v/v สมการเส้นตรงเป็น $y = 0.032x + 0.0696$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9931 ค่า RSD (n=10) มีค่าเท่ากับ 4.50% และ 2.18% สารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้นที่ระดับ 10 และ 50 % v/v ตามลำดับ สำหรับค่าค่าขีดจำกัดการตรวจวัด มีค่าเท่ากับ 4.56%v/v และขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ มีค่าเท่ากับ 15.19 %v/v

ตารางที่ 3.1 แสดงคุณลักษณะเด่นของระบบFI ในการวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์และเอทานอล

พารามิเตอร์	วิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์	วิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล
ช่วงความเป็นเส้นตรง	$1-5 \times 10^{-3}$ M	10-40 %v/v
RSD,%	3.7 และ 2.9 (1×10^{-3} และ 5×10^{-3} M)	4.50 และ 2.18 (10 และ 50 %v/v)
ขีดจำกัดการตรวจวัด	5.2×10^{-4} M	4.56 %v/v
ขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ	1.74×10^{-3} M	15.19 %v/v

3.4 การประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเครื่องดื่มสุราและเครื่องดื่มผสมแอลกอฮอล์

ความเข้มข้นของอะซีทัลดีไฮด์และความเข้มข้นของเอทานอลที่ตรวจพบในตัวอย่างเครื่องดื่มสุราและเครื่องดื่มผสมแอลกอฮอล์ จำนวน 5 ตัวอย่าง แสดงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ความเข้มข้นของอะซีทัลดีไฮด์และความเข้มข้นของเอทานอลที่ตรวจพบในตัวอย่าง

ตัวอย่าง	อะซีทัลดีไฮด์/ mM (mean \pm SD)		เอทานอล / % v/v (mean \pm SD)		
	วิธีที่พัฒนา	GC	ค่าข้างฉลาก	วิธีที่พัฒนา	GC
สุรากลั่น 1	3.57	3.69	35	36.8	37.9
สุรากลั่น 2	3.21	3.07	35	34.8	33.7
ไวน์ผลไม้ 1	5.24	5.37	10	9.81	9.88
ไวน์ผลไม้ 2	5.11	5.24	10	8.97	9.01
ไวน์ผลไม้ 3	5.87	5.78	14	13.5	14.7

จากตารางจะเห็นว่า ทั้งปริมาณอะซีทัลดีไฮด์และปริมาณเอทานอลที่วิเคราะห์ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นมานี้ มีค่าใกล้เคียงกับที่เมื่อใช้วิธีมาตรฐานคือ Gas chromatography (GC) โดยเมื่อเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสถิติ คือ *paired t-test* (20) พบว่าผลลัพธ์วิเคราะห์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (อะซีทัลดีไฮด์: $t_{\text{observed}} = 0.50$, $t_{\text{critical}} = 2.78$, เอทานอล: $t_{\text{observed}} = 0.62$, $t_{\text{critical}} = 2.78$) จึงกล่าวได้ว่า วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีคุณภาพสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. สรุปผลการทดลอง

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์และเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยใช้เทคนิคโพลินเจกชัน Flow Injection Analysis (FIA) ร่วมกับ Gas diffusion (GD) unit เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์และเอทานอลนั้น ได้ออกแบบระบบเป็น 2 ระบบ ระบบที่ 1 เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง ใช้น้ำเป็นสารละลายตัวพา ระบบที่ 2 เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ที่เกิดจากเอทานอลและอะซีทัลดีไฮด์ที่มีในสารตัวอย่าง ใช้สารละลายตัวพาเป็นโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ปริมาณอะซีทัลดีไฮด์ที่แพร่ผ่านเยื่อฟิวชันขึ้นมาจะทำปฏิกิริยากับสารละลายผสมระหว่าง มอร์โฟลีน กับ โซเดียมไนโตรพรัสไซด์

การหาปริมาณของอะซีทัลดีไฮด์ได้ทำได้โดยสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งได้สมการเชิงเส้นเท่ากับ $y = 0.032x + 0.0696$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9931 และมีความเที่ยงการตรวจวัด %RSD = 3.67 และ 2.9 ในระดับความเข้มข้น 1×10^{-3} และ 5×10^{-3} M ตามลำดับ ขีดจำกัดต่ำสุดของอะซีทัลดีไฮด์ที่ตรวจพบได้ (LOD) เท่ากับ 5.2×10^{-4} M และความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดปริมาณของอะซีทัลดีไฮด์ได้ (LOQ) เท่ากับ 1.74×10^{-3} M

การหาปริมาณของเอทานอล ได้จากการสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งได้สมการเชิงเส้นเท่ากับคือ $y = 0.032x + 0.0696$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) = 0.9931 และมีความเที่ยงการตรวจวัด %RSD = 4.50 และ 2.18 ในระดับความเข้มข้น 10 และ 50 % v/v ตามลำดับ ขีดจำกัดต่ำสุดของเอทานอลที่ตรวจพบได้ (LOD) เท่ากับ 4.56 % v/v และ ความเข้มข้นต่ำสุดที่วัดปริมาณของเอทานอลได้ (LOQ) เท่ากับ 15.19 % v/v เมื่อนำผลการวิเคราะห์ผลสารตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ด้วยระบบ FI-GD มาเปรียบเทียบกับเทคนิค แก๊สโครมาโทกราฟี ด้วยหลักทางสถิติ t-test พบว่าให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เทคนิคโพลินเจกชันที่ได้พัฒนาขึ้นมาใหม่นั้นเป็นเทคนิคที่ไม่จำเป็นต้องมีการเตรียมสารตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ทำให้ประหยัดเวลาและใช้เวลาในการวิเคราะห์ไม่นาน ใช้สารเคมีและสารตัวอย่างปริมาณน้อย ลดต้นทุนในการวิเคราะห์ และวิธีการวิเคราะห์เป็นแบบอัตโนมัติ

บรรณานุกรม

- [1] ราชกิจจานุเบกษา, ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม เรื่อง กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม สุรากลั่น, เล่ม 118 ม, 2544
- [2] AOAC. (1990). *AOAC official method of analysis of the association of official analytical chemistry*: Inc. Virginia.
- [3] <http://www.flowinjection.com>
- [4] Kovai J. (1985). Determination of alcoholic strength in alcoholic beverage by gas-solid chromatography: precision and accuracy. *Journal of Chromatography A*; 333: 389-403.
- [5] Tekeuchi T., and Murase K. (1988). Determination of alcohols in alcoholic beverage by micro high-performance liquid chromatography with indirect photometric detection. *Journal of Chromatography A*; 445: 139-144.
- [6] M. Gallignani, C. Ayala, R. B. Brunetto, L. J. Burguera and M. Burguera *Talanta*; 68 (2005) 470-479.
- [7] Gallignani M., Garrigues S., and Guardia dela M. (1994). Derivative Fourier transform infrared spectrometric determination of ethanol in alcoholic beverage. *Analytica Chimica Acta*; 287: 275-283.
- [8] Nordon A., Mills A., Burn. T. R., Cusick. M. F., and Littlejohn D. (2005). Comparison of non-invasive NIR and Raman spectrometries for determination of alcohol content of spirits. *Analytica Chimica Acta*; 548: 148-158.
- [9] Lvova L., Paolesse R., Natale D. C., and D'Amico A. (2006). Detection of alcohols in beverages: An application of porphyrin-based Electronic tongue. *Sensors and Actuators B: Chemical*; 118:439-447.
- [10] Rotariu L., Bala C., and Magearu V. (2004). New potentiometric microbial biosensor for ethanol determination in alcoholic beverages. *Analytica Chimica Acta*; 513:119-123.
- [11] Santos S. A., Pereira C. A. , Duran N., Kubota T. L. (2006). Amperometric biosensor for ethanol based on co-immobilization of alcohol dehydrogenase and Meldola's Blue on multi-wall carbon nanotube. *Electrochimica Acta*; 52:215-220.

- [12] Mattos I. L. Sartini R. P., and Zagatto E. A. G., Reis B. F. And Gine M. F. (1998) Spectrophotometric flow injection determination of ethanol in distilled spirits and wines involving permeation through a silicone tubular membrane. *Analytical Sciences*. 14: 1005-1008.
- [13] Jytte Molin Christensen, Helle Angelo, Joachim Knop (1981) Gas-liquid chromatographic determination of ethanol and acetaldehyde in tissues. *Clinica Chimica Acta*, 116(3), 389-395
- [14] Lena Kristoffersen, Liv –Ellen Stormhr and Anne Smith-Kielland (2006), Headspace gas chromatographic determination of ethanol: The use of factorial design to study effects of blood storage and headspace conditions on ethanol stability and acetaldehyde formation in whole blood and plasma *Forensic Science International*, 161(2-3), 151-157.
- [15] Jytte Molin Christensen, Helle Angelo and Joachim Knop (1981), Determination of acetaldehyde in human blood by a gas chromatographic method with negligible artefactual acetaldehyde formation *Clinica Chimica Acta*, 116(3), 389-395.
- [16] E. Priego-Lopez and M.D. Luque de Castro (2002), Pervaporation-gas chromatography coupling for slurry samples: Determination of acetaldehyde and acetone in food, *Journal of chromatography*, 976 (1-2), 399-407.
- [17] Weidong Ma and W.R. Klemm (1997), Determination of acetaldehyde in blood by solid phase extraction and high performance liquid chromatography, *Alcohol*, 14(5), 469-472.
- [18] Ala'ddin M. Almuabed and Alan Townshend (1987), Determination of acetaldehyde by flow injection analysis with soluble or immobilized aldehyde hydrogenase, *Analytical Chimica Acta* , 198, 37-44.
- [19] F. Lazaro, M.D. Luque de Castro and M. Valcarcel (2001), Individual and simultaneous enzymatic determination of ethanol and acetaldehyde in wines by flow injection analysis, *Analytical Chimica Acta* , 185, 57-64.
- [20] J. N. Miller and J. C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 4th edn., 2000, Pearson Education Limited, Essex, England

and was standardized according to iodometry. Calibrators were prepared by appropriate dilution of stock standard with water.

Acceptor stream (AS in Figure 1) was freshly prepared by mixing 2.5 % (w/v) of sodium nitroprusside (AnalaR, Australia) and 5 % (v/v) of morpholine (Fluka, Germany).

The GD-FI manifold

The manifold of the GD-FI system is depicted in Figure 1. The system was established with Teflon™ tubing (0.5 mm i.d.). A peristaltic pump (P1) (Ismatec, Switzerland) was employed for delivering the streams of carrier (CS) and acceptor (AS). An AS-90 auto-sampling with another peristaltic pump (P2) (Perkin-Elmer, USA) was used for automatically loading standard or sample solutions into an injection loop of 300 µl. A flat type GD unit (Methrom, Switzerland), fitted with a circular PTFE membrane (47 mm diameter, pore size = 0.45 µm; Sartorius, Germany), was used. Detection was carried out by a 630-UV-Vis. Spectrophotometer (Jasco, US).

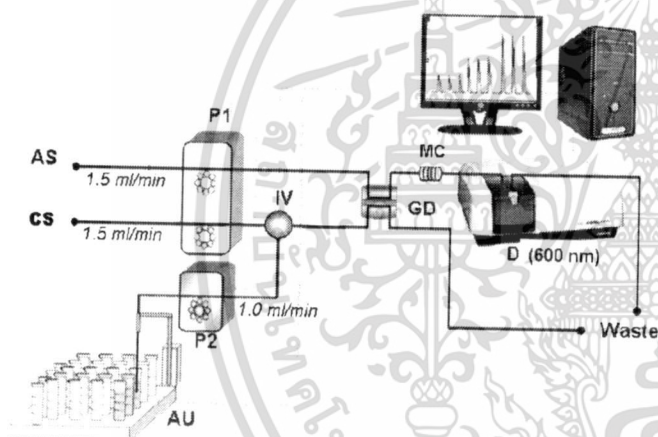


Figure 1. Manifold of the GD-FI system for determination of acetaldehyde. AU: Auto-sampler unit, P1, P2: Peristaltic Pump, IV: Injection Valve, MC: Mixing Coil, D: Detector, GD: Gas-diffusion unit with PTFE membrane, CS: Water and AS: Nitroprusside (2.5 % w/v) + Morpholine (5 % v/v).

Results and discussion

Absorption spectrum of detection reaction

The reaction between acetaldehyde with nitroprusside and morpholine was firstly proposed by F. Feigl [19] for qualitative analysis of acetaldehyde.

In this work, absorption spectra of the blue-colored product was monitored. Results are illustrated in Figure 2. Maximum absorption wavelength (λ_{max}) appears at 600 nm. This wavelength was therefore selected for all next investigation.

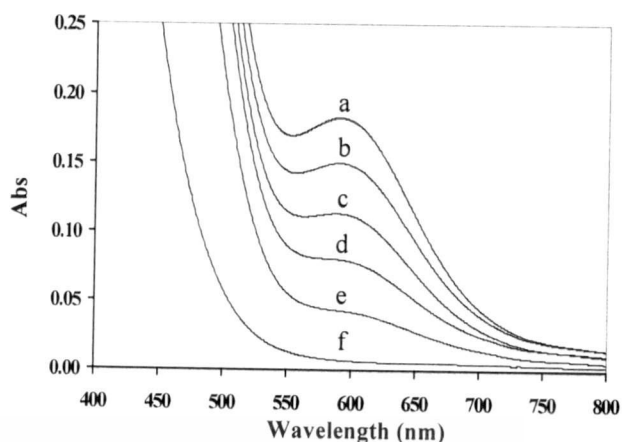


Figure 2. Spectra of standard acetaldehyde (a to e). a: 5, b: 4, c: 3, d: 2 and e: 1 mM. Spectrum of 0.6 % w/v nitroprusside, mixed with 1.2 % v/v morpholine (f).

Optimization of the GD-FI system

All chemical and physical parameters affecting sensitivity of the method were investigated by univariable approach. Each effect was discussed in subsections below. Summary of the studied ranges and the optimal values are shown in Table 1.

Effect of acceptor concentration

Effect of concentration of the acceptor stream is shown in Figure 3 and 4. Results in Figure 3 demonstrate that increasing in nitroprusside concentration results in improvement of sensitivity. Similar to the effect of morpholine (Figure 4), the sensitivity is increased with concentration of morpholine (upto 5 % v/v). At greater concentration (10 % v/v), the solution became more viscous. This leads to significant dropping in sensitivity. In addition, higher concentration of morpholine brought about strong alkaline solution. This can also affect the method sensitivity (See effect of pH of the acceptor stream). Concentration of 2.5 % (w/v) nitroprusside and of 5 % (v/v) morpholine is considerably appropriate since they gave adequate sensitivity.

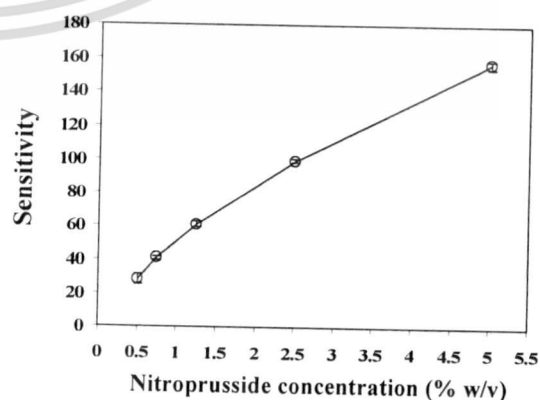


Figure 3. Effect of nitroprusside concentration.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้