สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การปรับสภาวะให้เหมาะสมเพื่อการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ในชา ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

T 061927

นางสาว อัญชลี เพียรพล

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2547
ส595 ก
2547

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 61927
วัน,เดือน,ปี 25 ก.ค. 2549

b. 11605981
i.....

โครงงานพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OPTIMIZATION FOR DETERMINATION OF INORGANIC ANIONS IN TEA BY ION CHROMATOGRAPHY

Miss. Anchalee Phainphol

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the

Degree of Bachelor of Science

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2004

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การปรับสภาวะให้เหมาะสมเพื่อการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ในชาด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

นักศึกษา น.ส. อัญชลี เพียรพล

ภาควิชา เคมี

สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์

ปีการศึกษา 2547

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาล	.....
กรรมการ ผศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์	.....
กรรมการ ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ	.....

ผศ.ดร. ประยงค์ ดวงดี

(.....)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การปรับสภาวะให้เหมาะสมเพื่อการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ในชาด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

นักศึกษา น.ส. อัญชลี เพียรพล

ภาควิชา เคมี

สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์

ปีการศึกษา 2547

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์

บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อทำการปรับสภาวะเพื่อการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ ได้แก่ ฟลูออไรด์ คลอไรด์ โบรไมด์ ไนไทรต์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟตในชาด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี โดยใช้เครื่องไอออนโครมาโทกราฟ ที่มีระบบเป็นแบไอออนซัพเพรส ระบบการตรวจวัดเป็นแบบการตรวจวัดค่านำไฟฟ้า ได้ทำการปรับสภาวะที่เหมาะสมเพื่อทำการแยกไอออนลบของสารอนินทรีย์ทั้ง 7 ชนิดโดยปรับเปลี่ยนความแรงและอัตราเร็วการไหลของสารละลายเคลื่อนที่ผสมระหว่างโซเดียมคาร์บอเนตกับโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุด คือ 3.2/1.0 mM โซเดียมคาร์บอเนตกับโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต และอัตราเร็วการไหล 0.5 ml/min ใช้เวลาในการแยกไอออนลบของสารอนินทรีย์ภายใน 18 นาที วิธีวิเคราะห์มีความเที่ยง ความแม่นสูงและระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ต่ำ ไม่ต้องมีการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยากและสามารถนำประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาเขียวและชาดำได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Optimization for Determination of Inorganic Anions in Tea by Ion Chromatography

Name Miss. Anchalee Phainphol

Department Chemistry

Program Analytical-Instrument Industrial Chemistry

Academic Year 2004

Special Project Advisor Asst. Prof. Dr. Suwan Chaiyasith

ABSTRACT

The purposes of this study were to the optimize for determination of inorganic anions : fluoride, chloride, bromide, nitrite, nitrate, phosphate and sulphate in tea samples by ion chromatography. The ion chromatograph with an ion-suppressed and a conductivity detector was used. It is found that for separated 7 inorganic anions, the eluent strength were 3.2/1.0 mM sodium carbonate and sodium hydrogencarbonate and flow rate 0.5 ml/min. The analysis time was less than 18 min and the method was high precision, high accuracy and low limit of detection. The method does not need a special sample treatment and was successfully applied to the analysis of green and black tea samples.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอพระคุณ ผศ.ดร. สุวรรณ ไชยสิทธิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์และกรุณาให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจ และช่วยตรวจสอบแก้ไขตลอดจนปรับปรุงข้อบกพร่องต่างๆ จนโครงงานสำเร็จได้อย่างสมบูรณ์ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณา และขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ รศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาล และ ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ ที่ให้คำแนะนำ ในการแก้ไขข้อบกพร่อง เพื่อให้โครงงานพิเศษนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ตลอดจนข้อคิดต่างๆ อันก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการศึกษาค้นคว้า และเป็นแนวทางในการจัดทำโครงงานพิเศษจนประสบความสำเร็จ

ขอขอบพระคุณ คุณสุรินทร์ เหล่าพระจันทร์ คุณปราณี บุญวัฒน์ คุณกัญญา มงคลโภชน์ และคุณสุภัทร บานเย็น นักวิทยาศาสตร์ภาควิชาเคมี ที่ได้ให้ความกรุณาให้คำแนะนำเกี่ยวกับการเตรียมสารเคมีและเครื่องมือที่ใช้เกี่ยวกับการทำโครงงานพิเศษ จนสำเร็จได้อย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ซึ่งเป็นที่รักและเคารพอย่างยิ่ง รวมทั้งพี่ น้องและเพื่อนๆ ที่ได้ให้กำลังใจและความช่วยเหลือโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ ทุกๆท่านที่ปรารถนาดี ที่ผู้วิจัยไม่ได้กล่าวไว้ในที่นี้ ที่ให้กำลังใจ และให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ด้วยดีตลอดมา

โครงงานพิเศษนี้สำเร็จได้ด้วยกำลังใจ และความช่วยเหลือ จากทุกๆท่าน ทั้งที่ได้กล่าวและไม่ได้กล่าวไว้ในที่นี้ คุณค่าและประโยชน์ที่เป็นผลจากโครงงานพิเศษ ผู้วิจัยขอมอบแด่ คุณพ่อ คุณแม่ ครู-อาจารย์ และทุกๆท่าน ด้วยความเต็มใจและเคารพ

น.ส. อัญชลี เพียรพล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
1.4 ขั้นตอนของการวิจัยและการดำเนินโครงงานพิเศษ	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	
2.1 ชา	4
2.2 การแยกสารโดยวิธีโครมาโทกราฟี	5
2.3 ทฤษฎีโครมาโทกราฟี	7
2.4 ทฤษฎีการอีลูทในโครมาโทกราฟี	12
2.5 ทฤษฎีเพลตของโครมาโทกราฟี	15
2.6 เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี	25
2.7 การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์	35
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	41
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	43
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	43
3.3 การเตรียมสารละลาย	44
3.4 วิธีการดำเนินการทดลอง	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปราย 52

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ 65

เอกสารอ้างอิง 67

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. แสดงผลการทดลอง 69

ภาคผนวก ข. แสดงวิธีคำนวณ 155

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงเกณฑ์กำหนดโดยทั่วไปของค่าการกลับคืน	39
2.2 แสดงเกณฑ์กำหนดโดยทั่วไปของ Precision	40
3.1 แสดงความเข้มข้นของสารมาตรฐานผสมที่ใช้เตรียมกราฟมาตรฐาน	46
4.1 แสดงผลการศึกษาความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์	62
4.2 แสดงผลการศึกษาความแม่น (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์	63
4.3 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชา	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แสดงการอีลูทสารผสมของตัวถูกละลาย 2 ชนิดในวิธีโครมาโทกราฟี	13
2.2	แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากวิธีโครมาโทกราฟี	14
2.3	แสดงการหาความกว้างพีกของโครมาโทแกรมที่ได้จากวิธีโครมาโทกราฟี	18
2.4	แสดงการถ่ายโอนมวลในเฟสที่อยู่กับที่	21
2.5	แสดงการถ่ายโอนมวลในเฟสที่เคลื่อนที่	22
2.6	แสดงการถ่ายโอนมวลของเฟสที่เคลื่อนที่ผ่านรูพรุนชั่วขณะหนึ่ง	22
2.7	แสดงกราฟระหว่าง H และ U ตามสมการ van Deemter equation กับพจน์ A, B และ C	23
2.8	แสดงวิธีการแยกของพีกที่มีค่า R ต่างๆกัน	24
2.9	แสดงการหาค่า w_{1R} และ w_{2L} จากพีกที่ไม่สมมาตร	24
2.10	โครมาโทแกรมแสดงการวัดค่าความกว้างของพีกด้านซ้ายและด้านขวาที่มีความสูง 0.15h a= $w_{0.15L}$ และ b=$w_{0.15R}$ ในกรณีที่asymmetry factor แสดงว่าพีกนั้นสมมาตร	25
2.11	แสดงองค์ประกอบของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟี	26
2.12	แสดง pneumatic amplifier pump	27
2.13	แสดง syring type pump	28
2.14	แสดง reciprocating pump	28
2.15	แสดง external loop valve	30
2.16	แสดง internal loop valve	30
4.1	แสดงผลการศึกษาความแรงของสารละลายเคลื่อนที่ (eluent strength)	52
4.2	แสดง van Deemter plot เพื่อศึกษาอัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่ (flow rate)	53
4.3	แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานฟลูออไรด์	54
4.4	แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานคลอไรด์	54
4.5	แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานไนไทรต์	55
4.6	แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานโบรไมด์	55
4.7	แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานไนเทรต	56
4.8	แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity)ของกราฟมาตรฐานฟอสเฟต	56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.9 แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานซัลเฟต 57
4.10 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของฟลูออไรด์ 58
4.11 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของคลอไรด์ 58
4.12 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของไนไทรต์ 59
4.13 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของโบรไมด์ 59
4.14 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของไนเทรต 60
4.15 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของฟอสเฟต 60
4.16 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของซัลเฟต 61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

ในปัจจุบัน ประเทศไทยมีการพัฒนาอาหารและเครื่องดื่มเจริญมากขึ้น ทำให้เกิดการแข่งขันในเชิงธุรกิจตามไปด้วย ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จึงได้มีการเติมวัตถุเจือปนในผลิตภัณฑ์ วัตถุเจือปนในอาหารและเครื่องดื่มนั้นส่วนใหญ่มิได้ทำให้เกิดอันตรายต่อชีวิตโดยเฉียบพลัน แต่จะก่อให้เกิดโรคที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพทั้งในระยะสั้นและในระยะยาว อาจก่อให้เกิดมะเร็งก็ได้ และโรคภัยต่างๆ ที่ยากแก่การรักษา สำนักงานคระกรรมการอาหารและยาจึงได้ออกประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ.2524) และฉบับที่ 84 (พ.ศ.2527) เรื่องวัตถุเจือปนในอาหารและเครื่องดื่ม เพื่อเป็นการควบคุมและกำหนดคุณภาพอาหารและเครื่องดื่มที่มีความปลอดภัยในการบริโภค ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์ปริมาณวัตถุเจือปนในอาหารและเครื่องดื่มจึงเป็นขั้นตอนหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการควบคุมคุณภาพ [1].

ชา (Tea) เป็นเครื่องดื่มที่นิยมมากชนิดหนึ่งในปัจจุบัน ซึ่งมีวัตถุเจือปนทั้งที่เป็นกรดอินทรีย์ (organic acids) และที่เป็นไอออนลบของสารอนินทรีย์ (inorganic anions)อยู่มากมายหลายชนิด [2,3]. ซึ่งต่อมาก็ได้มีงานวิจัยที่ทำการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ (organic acids) พร้อมกับไอออนลบของสาร อนินทรีย์ (inorganic anions) ในชาโดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (ion chromatography) แต่สามารถวิเคราะห์กรดอินทรีย์ (organic acids) และไอออนลบของสารอนินทรีย์ (inorganic anions)ในชาได้ไม่ครบทุกชนิด [4,5]. และเมื่อเร็วๆนี้ได้มีงานวิจัยที่ทำการพัฒนาและปรับสภาวะเพื่อการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ (organic acids) ในชาโดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (ion chromatography) และเทคนิคอื่นๆ ให้สามารถวิเคราะห์กรดอินทรีย์ได้หลายชนิดมากขึ้น [6-9].

ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ ที่จะศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ (inorganic anions) ในชาโดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (ion chromatography) ที่มีระบบเป็นแบบ ion-suppressed โดยมีสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตกับโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนตเป็นสารละลายเคลื่อนที่ (mobile phase) และตรวจวัดโดยใช้ conductivity detecter ให้สามารถวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ (inorganic anions) ได้หลายชนิดมากขึ้น เพื่อตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (method validation) และเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ (inorganic anions) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาที่มีอยู่ในท้องตลาด หากวิธีวิเคราะห์มีความเที่ยง ความแม่น และประสิทธิภาพสูงก็สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการวิเคราะห์ไอออนลบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของสารอนินทรีย์ (inorganic anions)ในเครื่องดื่มชนิดอื่นๆ ก็เป็นอีกแนวทางที่มีประโยชน์อีกทางเลือกหนึ่ง

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ในชาโดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (ion chromatography)
2. เพื่อตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (method validation)
3. เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ (inorganic anions)ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาที่มีอยู่ในท้องตลาด

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ในชาโดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (ion chromatography) โดยมีปัจจัยที่ทำการศึกษาได้แก่
   - ศึกษาความแรงของสารละลายเคลื่อนที่ (eluent strength) : $Na_2CO_3/NaHCO_3$ 1.2/2.0 mM , 2.2/1.5 mM , 3.2/1.0 mM และ 4.2/0.5 mM
   - ศึกษาอัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่ (flow rate) :0.4 ,0.5 ,0.6และ 0.7ml/min
2. ตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (method validation) โดยที่ทำการศึกษาดังนี้
   - ศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) โดยรายงาน Regression Coefficient (r^2) ของกราฟมาตรฐาน
   - ศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (limit of detection)
   - ศึกษาความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์โดยรายงานในรูปค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)
   - ศึกษาความแม่น (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์โดยรายงานในรูปของร้อยละการได้กลับคืน(% recovery)
3. วิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ (inorganic anions) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาที่มีอยู่ในท้องตลาด ได้แก่
   - ผลิตภัณฑ์ใบชาสำหรับชง 2 ชนิด
   - ผลิตภัณฑ์ชาพร้อมดื่ม 2 ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ขั้นตอนการวิจัยและการดำเนินงาน

1. สืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้อง
2. ออกแบบการทดลอง จัดหาอุปกรณ์และสารเคมี
3. ดำเนินการทดลองโดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ตอน

   ตอนที่ 1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ (inorganic anions)ในชาโดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (ion chromatography)

   ตอนที่ 2 การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

   ตอนที่ 3 การวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ (inorganic anions)ในตัวอย่างชา
4. สรุปและรายงานผล

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบสภาวะที่เหมาะสมเพื่อการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ (inorganic anions) ในชาโดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (ion chromatography)
2. ทราบผลการตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (method validation)
3. ทราบปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ (inorganic anions) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาที่มีอยู่ในท้องตลาด
4. สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ (inorganic anions) ในเครื่องดื่มชนิดอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ชา (Tea) [2,3].

เป็นพืชสวนอุตสาหกรรมที่ใช้แปรรูปเป็นเครื่องดื่มและผลิตภัณฑ์อื่น ๆ โดยผลผลิตชาของโลกเป็นชาดำหรือชาฝรั่ง (black tea) ประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ อีก 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นชาใบซึ่งรวมถึงชาจีน (oolong tea)และชาเขียว (green tea) ในปีหนึ่ง ๆ ประเทศไทยมีการนำเข้าผลิตภัณฑ์ชาจากต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ผลิตภัณฑ์ชาของไทยยังต่ำมากเมื่อเทียบกับมูลค่าผลิตภัณฑ์ชาจากต่างประเทศ ซึ่งสาเหตุสำคัญคือ ชาที่ผลิตได้ในประเทศยังมีคุณภาพต่ำและไม่ตรงตามความต้องการของผู้บริโภค จำเป็นต้องปรับปรุงคุณภาพ โดยการพัฒนาเทคโนโลยีในการผลิตเพื่อให้ได้ยอดชาคุณภาพดีเป็นวัตถุดิบในการแปรรูป การปรับเปลี่ยนไปใช้พันธุ์ชาให้เหมาะสมสำหรับการผลิตชาแต่ละชนิด ตลอดจนการปรับปรุง ขั้นตอนการแปรรูปให้เหมาะสมกับพันธุ์ชาที่เกษตรกรมีอยู่ให้มีคุณภาพสูงขึ้นหรือหาแนวทางใหม่ๆ หรืออาจจะทำการเปลี่ยนพันธุ์ให้เป็นชาพันธุ์ดี ซึ่งการพัฒนาทั้งทางด้านการปรับปรุงพันธุ์และศึกษาเทคโนโลยีด้านต่าง ๆ ล้วนมีวัตถุประสงค์หลักคือการปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ชาให้มีคุณภาพดีขึ้นตามความต้องการของตลาด

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ชื่อสามัญ	Tea
ชื่อวิทยาศาสตร์	*Camellia sinensis* (L) Okuntze. (2n = 30)
ต้น	เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ทรงต้นรูปกรวย สูงประมาณ 30 ฟุต
ใบ	ใบเดี่ยวเรียงตัวแบบสลับ มี 1 ใบใน 1 ข้อ ขอบใบหยักแบบฟันเลื่อย ปลายใบแหลม แผ่นใบหน้า ด้านบนใบมัน ใต้ใบมีขนอ่อนปกคลุม ใบยาว 7-30 ซม. ชาจีนมีใบแคบ สีเขียวแก่ ชาอัสสัม มีใบขนาดใหญ่ ปากใบมีมากบริเวณใต้ใบ
ดอก	มีทั้งดอกเดี่ยวและดอกช่อ เป็นดอกสมบูรณ์เพศ เกสรตัวผู้มีจำนวนมาก ยอดเกสรตัวเมียมี 3-5 ช่อง กลีบดอกประดับสีขาว 5-8 กลีบ กลีบเลี้ยงสีเขียว 5-6 กลีบ ดอกมีกลิ่นหอมเล็กน้อย
ผล	เป็นแคปซูล มี 3 ช่อง เปลือกหุ้มผลหนา สีน้ำตาลปนเขียว ผลแก่ 9-12 เดือน หลังติดผล ผลแก่แตกง่าย ภายในมีเมล็ดในช่องแคปซูล 1-3 เมล็ด ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมล็ด	รูปร่างกลม มีใบเลี้ยง 2 ใบ งอกได้ 2-3 สัปดาห์หลังเพาะ โดยเพาะในกระบะที่มีทรายหรือถ่านแกลบเป็นวัสดุเพาะ วิธีการนี้ใช้สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ชาเท่านั้น แต่การปลูกชา โดย ทั่วไปมักใช้วิธีปลูกด้วยกิ่งปักชำ
ราก	ต้นเพาะเมล็ดเป็นระบบรากแก้ว หยั่งลึก 1.5-3 เมตร มีรากฝอยหาอาหาร กิ่งปักชำเป็นระบบรากฝอย ส่วนต้นที่ปลูกจากกิ่งปักชำ เป็นระบบรากฝอย

ชาและองค์ประกอบทางเคมี

ชาเป็นไม้พุ่มอายุยืน ประกอบด้วยสารโพลีฟีนอล (polyphenols) มากถึง 20-35% ซึ่งมีผลต่อรสฝาดและสีของน้ำชา ข้อมูลจากการหมัก (decomposition) และการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าชามีองค์ประกอบทางอินทรีย์ (organic matter) ไม่น้อยกว่า 450 ชนิด และยังพบสารอนินทรีย์ (inorganic mater) ไม่น้อยกว่า15ชนิด

ประโยชน์ของชา

1. มีธาตุอาหารหลายชนิดเป็นองค์ประกอบ เช่น วิตามินซี โปรตีน น้ำตาล บำรุงร่างกาย ทำให้มีสุขภาพดี
2. มีคาเฟอีนเป็นองค์ประกอบ
   - ช่วยกระตุ้นให้ระบบประสาทให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ
   - ช่วยกระตุ้นระบบไหลเวียนของโลหิต
   - ช่วยขยายหลอดเลือด ช่วยป้องกันโรคหัวใจตีบตัน ช่วยรักษาอาการกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด
   - ช่วยรักษาอาการเจ็บหน้าอก ช่วยให้กล้ามเนื้อผ่อนคลาย ช่วยรักษาโรคหวัด
   - ช่วยรักษาโรคปวดหัว มีสิทธิพลต่อระบบเมตาโบลิซึมของเซลล์ร่างกาย
3. มีสารโพลีฟีนอลช่วยฆ่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุของโรคไทฟอยด์ อหิวาตกโรค
4. มีสารไดเมธิลแซนธีน ช่วยระบบขับถ่ายให้ดีขึ้น
5. ช่วยแก้กระหาย ดื่มแล้วชุ่มคอ ชื่นใจ และช่วยย่อยอาหาร แก้ร้อนใน และลดไขมัน
6. ช่วยลดอาการอักเสบ สมานแผล
7. ช่วยชะล้างสารพิษออกจากร่างกาย
8. ใช้เป็นส่วนประกอบของยา
9. ช่วยให้ระบบขับถ่ายดีขึ้น

2.2 การแยกสารโดยวิธีโครมาโทกราฟี (Separations by chromatography) [10].

โครมาโทราฟี (chromatography) เป็นเทคนิคและวิธีการแยกที่นิยมกันอย่างกว้างขวางมากที่สุด นอกจากนี้ยังสามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ และในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพได้ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรรมวิธีในการทำโครมาโทกราฟี คือการทำให้ส่วนผสมของสารตัวอย่างแยกตัวออกจากกัน เป็นโซนหรือแบ่งเป็นตอนๆซึ่งเกิดขึ้นได้จากการกระจายของสารตัวอย่างระหว่างสองเฟส ซึ่งเฟสหนึ่งเป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) อีกเฟสหนึ่งคือเฟสที่อยู่กับที่ (stationary phase) การเคลื่อนที่ของเฟสเคลื่อนที่จะทำให้เกิดการเคลื่อนของสารผสมแต่ละชนิดในสารละลายตัวอย่างแตกต่างกัน จึงทำให้สารผสมแยกออกจากกันเป็นตอนๆหรือเป็นโซนได้ กระบวนการที่ตัวถูกละลายเคลื่อนที่แยกออกได้โดยมีตัวทำละลายเคลื่อนที่เป็นตัวพา เรียกว่า elution ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้เป็นตัวพาตัวถูกละลายนั้นจะถูกเรียกว่าตัว eluent และตัวถูกละลายซึ่งถูกอีลูทจะเรียกว่า eluate

วิธีโครมาโทกราฟีถูกค้นพบโดยนักชีววิทยาชาวรัสเซียชื่อ Michael Tgwett ในปี ค.ศ 1906 เหตุที่เรียกการวิเคราะห์นี้ว่าโครมาโทกราฟี (chromatography) เพราะผู้ค้นพบกรรมวิธีการวิเคราะห์ได้พบว่าการแยกที่ทำให้เกิดโซนหรือเป็นตอนๆ นั้นให้โซนที่มีสี จึงตั้งชื่อวิธีการวิเคราะห์ว่าโครมาโทกราฟี ซึ่งมาจากภาษากรีกที่แปลว่าสี และการเขียน ดังนั้นคำ ว่าโครมาโทกราฟีจึงถูกใช้มาตลอดจนถึงปัจจุบัน ต่อมาได้มีการพัฒนาเทคนิคและวิธีการของโครมาโทกราฟีเพื่อให้การวิเคราะห์ทำได้ดีขึ้น จนกระทั่งได้เทคนิคและวิธีการวิเคราะห์หลายชนิดทำให้เกิดการจัดแบ่งชนิดและวิธีการของโครมาโทกราฟีขึ้น การแบ่งสามารถแบ่งตามชนิดของเฟสเคลื่อนที่ได้ จากนั้นสามารถแบ่งย่อยๆได้อีก ตามลักษณะของวิธีการทำโครมาโทกราฟี คือแบ่งเป็นคอลัมน์โครมาโทกราฟี (column chromatography) และเพลนโครมาโทกราฟี (plane chromatography) และสามารถแบ่งต่อไปได้อีกตามชนิดขอเฟสที่อยู่กับที่ (stationary phase)

การแบ่งชนิดของโครมาโทกราฟี

เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase)ประกอบด้วย 2 ชนิด คือ ของเหลว และก๊าซ ดังนั้นโครมาโทกราฟีจึงแบ่งได้เป็น 2 แขนง ดังนี้คือ

1. ก๊าซโครมาโทกราฟี (gas chromatography) วิธีโครมาโทกราฟีที่ใช้ก๊าซเป็นเฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยเทคนิคและวิธีการวิเคราะห์ 2 วิธี คือวิธีที่ใช้ของเหลวเป็นเฟสที่อยู่กับที่เรียกว่า gas-liquid chromatography (GLC) และวิธีที่ใช้ของแข็งเป็นเฟสที่อยู่กับที่เรียกว่า gas- solid chromatography (GSC)

2. ลิควิดโครมาโทกราฟี (liquid chromatography) วิธีโครมาโทกราฟีที่ใช้ของเหลวเป็นเฟสเคลื่อนที่ สามารถแบ่งได้อีกหลายวิธีขึ้นอยู่กับเทคนิคของการทำโครมาโทกราฟีคือ

2.1 การทำโครมาโตกราฟีแบบแผ่น (plane chromatography) ถ้าเฟสที่อยู่กับที่เป็นเฟสที่เป็นของเหลวจะเรียกว่า liquid - liquid chromatography (LLC) ตัวอย่างเช่น paper chromatography (PC) และถ้าเฟสที่อยู่กับที่เป็นเฟสที่เป็นของแข็งจะเรียกว่า liquid - solid chromatography (LSC) ตัวอย่างเช่น thin layer chromatography(TLC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การทำโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์(column chromatography)การทำโครมาโทกราฟีแบบนี้เป็นที่รู้จักกันดีและใช้กันมากทั่วๆไป สามารถใช้ได้กับเฟสที่อยู่กับที่ที่เป็นของเหลวซึ่งเรียกว่า LLC ก็ได้ หรือที่เป็นของแข็งซึ่งเรียกว่า LSC ก็ใช้ได้เช่นกัน ลิควิดโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์นี้ได้ถูกพัฒนาโดยใช้ความดันช่วย เพื่อทำให้การแยกดีขึ้น ทำให้เกิดเทคนิคใหม่ขึ้นเช่น high performance liquid chromatography

2.3 ถ้าเฟสที่อยู่กับที่เป็นของแข็งที่สามารถแลกเปลี่ยนไอออนได้ เช่น เรซิน จะทำให้เกิดเทคนิคการวิเคราะห์ที่ เรียกว่า ion chromatography

2.4 ถ้าเฟสที่อยู่กับที่คือสารที่ไม่สามารถเกิดการดูดซับ หรือแบ่งส่วน หรือแลกเปลี่ยนไอออน แต่เป็นสารที่สามารถกีดขวางการเคลื่อนที่ของโมเลกุลของสารตัวอย่าง เนื่องจากมีรูพรุนให้สารตัวอย่างผ่านเข้าไปได้จะเรียกว่าเทคนิคการวิเคราะห์นี้ว่า exclusion chromatography

เมื่อพิจารณากลไกที่เกิดขึ้นในการทำโครมาโทกราฟี ประกอบด้วย 2 กระบวนการ คือ

1. กระบวนการดูดซับ (adsorption) กระบวนการนี้เกิดขึ้นเมื่อใช้เฟสที่อยู่กับที่เป็นของแข็ง (LSC) การดูดซับจะขึ้นกับพื้นที่ผิวของของแข็งด้วย

2. กระบวนการแบ่งส่วน (partition) กระบวนการนี้เกิดขึ้นเมื่อใช้เฟสที่อยู่กับที่เป็นของเหลว (LLC)

ดังนั้นการแบ่งประเภทของโครมาโทกราฟีสามารถจัดแบ่งได้อีกคือแบ่งเป็นโครมาโทกราฟีแบบดูดซับ (adsorption chromatography) และโครมาโทกราฟีแบบแบ่งส่วน (partition chromatography)

2.3 ทฤษฎีโครมาโทกราฟี (Theories of chromatography) [10].

ผู้ตั้งทฤษฎีทั่วไปของโครมาโทกราฟี คือ A.J.P. Martin และ R.L.M. Synge โดยพิจารณาส่วนที่ เล็กที่สุดของคอลัมน์ที่ใช้ในการทำโครมาโทกราฟี ซึ่งประกอบด้วยเฟสที่อยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่ เมื่อโมเลกุลของสารตัวอย่างถูกผ่านไปในคอลัมน์จะกระจายระหว่างเฟสทั้งสองการกระจายขึ้นอยู่กับสัมประสิทธิ์ของการกระจาย เมื่อการกระจายถึงสมดุล ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่อยู่ ในแต่ละเฟส จะเป็นไปตามกฎการกระจาย คือ

$$K_d = \frac{C_s}{C_m} \qquad \ldots\ldots (2.1)$$

C_s คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ยู่ในเฟสที่อยู่กับที่

C_m คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ยู่ในเฟสที่เคลื่อนที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจาย (K_d) จะมีความสัมพันธ์กันกับความเร็วของการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างตามเฟสที่เคลื่อนที่ได้ขณะทำการ development เมื่อค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจายเพิ่มขึ้น ค่าเฉลี่ยของอัตราในการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างจะลดลง คือปริมาณสารตัวอย่างชอบอยู่ในเฟสที่อยู่กับที่อยู่กับที่มากกว่าที่จะกระจายไปอยู่ในเฟสที่เคลื่อนที่ได้ แสดงว่าถ้ามีสารตัวอย่างหลายชนิดที่มีค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจายแตกต่างกัน จะมีความเร็วในการเคลื่อนที่ต่างกันทำให้สามารถแยกสารสารตัวอย่างนั้นๆออกจากกันได้ การพิจารณาอัตราในการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างสามารถพิจารณาได้จากระยะเวลาที่โมเลกุลของสารตัวอย่างใช้เวลาอยู่กับเฟสที่อยู่กับที่มากกว่าเฟสที่เคลื่อนที่ได้ แสดงว่าอัตราในการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างมีค่าน้อยหรือค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจายมีค่ามาก แต่ถ้าโมเลกุลของสารตัวอย่างใช้เวลาอยู่กับเฟสที่อยู่กับที่น้อยกว่าเฟสที่เคลื่อนที่ได้ แสดงว่าอัตราในการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างมีค่ามาก ซึ่งเศษส่วนของเวลาที่สารตัวอย่าง หรือตัวถูกละลายใช้อยู่ในแต่ละเฟสจะสัมพันธ์โดยตรงกับเศษส่วนของจำนวนโมเลกุลของตัวถูกละลายในแต่ละเฟส

$$\text{เศษส่วนของเวลาที่ตัวถูกละลายในเฟสที่เคลื่อนที่} = \frac{\text{จำนวนโมเลกุลที่อยู่ในเฟสที่เคลื่อนที่}}{\text{จำนวนโมเลกุลทั้งหมด}}$$

$$= \frac{C_m V_m}{C_m V_m + C_s V_s}$$

นำ $C_m V_m$ หารทั้งเศษและส่วนจะได้

$$\text{เศษส่วนของเวลาที่ตัวถูกละลายในเฟสที่เคลื่อนที่} = \frac{1}{1 + \frac{C_s V_s}{C_m V_m}}$$

$$= \frac{1}{1 + K_d \frac{V_s}{V_m}}$$

$$= \frac{1}{1 + k'} \qquad \ldots\ldots (2.2)$$

เมื่อ k' คือ $K_d \frac{V_s}{V_m}$ ซึ่งเป็นตัวแปรที่เรียกว่า capacity factor มีความหมายถึงอัตราส่วนของจำนวนโมลของสารตัวอย่างในเฟสที่อยู่กับที่ต่อจำนวนโมลของสารตัวอย่างในเฟสที่เคลื่อนที่

$$k' = K_d \frac{V_s}{V_m}$$

$$= \frac{C_s V_s}{C_m V_m} \qquad \ldots\ldots (2.3)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการที่ 2.3 ซึ่งคือเศษส่วนของเวลาที่ตัวถูกละลายใช้อยู่ในเฟสเคลื่อนที่ ถ้าเราคูณด้วยความเร็วที่เป็นเส้นตรง u (linear velocity) ของเฟสที่เคลื่อนที่หรือตัวพา จะได้อัตราเร็วในการเคลื่อนที่ของโมเลกุลของตัวถูกละลายหรือสารตัวอย่าง

$$\text{Rate of travel} = u \frac{1}{1 + k'} \quad \ldots\ldots (2.4)$$

$$= u \frac{1}{1 + K_d \frac{V_s}{V_m}} \quad \ldots\ldots (2.5)$$

จากสมการที่ 2.4 หรือ 2.5 แสดงได้ว่าอัตราเร็วของการเคลื่อนที่เฉลี่ยของโมเลกุลของสารตัวอย่าง จะมีค่าเท่ากับเท่าไรนั้นขึ้นอยู่กับ

- ความเร็วของตัวพาหรือเฟสเคลื่อนที่
- อัตราเร็วของปริมาตรของเฟสทั้งสอง
- ค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจาย

ในการทดลองโครมาโทกราฟี สารตัวอย่างจะประกอบด้วยตัวถูกละลายหลายชนิด ดังนั้นเมื่อใส่สารตัวอย่างลงในคอลัมน์โมเลกุลของตัวถูกละลายทุกตัวจะเริ่มเคลื่อนที่พร้อมกัน ในเวลาเดียวกัน แต่ตัวถูกละลายแต่ละชนิดจะเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วที่แตกต่างกัน จึงทำให้เกิดเทคนิคของการทำโครมาโทกราฟีได้ 2 วิธี คือ

1. กำหนดเวลาแน่นอนโดยการกำหนดเวลาให้แน่นอนในการแยกโดยวิธีโครมาโทกราฟีเนื่องจากตัวถูกละลายแต่ละตัวเคลื่อนที่ได้ด้วยอัตราเร็วที่ต่างกัน เมื่อถึงเวลาที่กำหนดจะทำให้เกิดเป็นแบนด์หรือเป็นโซนของตัวถูกละลายแต่ละตัวแยกออกจากกัน ตัวอย่าง โครมาโทกราฟีที่ใช้เทคนิคนี้ ได้แก่ paper chromatography (PC) และ thin layer chromatography (TLC)

2. กำหนดระยะทางให้แน่นอน ตัวอย่างการทดลองโดยใช้เทคนิคนี้ คือ การทำคอลัมน์โครมาโทกราฟี โดยกำหนดระยะทางเป็นความยาว 1 คอลัมน์ ตัวถูกละลายแต่ละตัวเดินทางจากส่วนบนของคอลัมน์มายังส่วนล่างสุด หรือออกจากคอลัมน์จะใช้เวลาเดินทางแตกต่างกัน ตัวถูกละลายที่ถูกปล่อยออกจากคอลัมน์ จะถูกตรวจพบได้ด้วยดีเทคเตอร์ (detector) เมื่อสร้างกราฟระหว่างผลที่ได้จากการตรวจพบด้วยดีเทคเตอร์ (detector response) กับเวลาที่ใช้ในการเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ จะได้กราฟที่เรียกว่า โครมาโทแกรม (chromatogram) เวลาที่ตัวถูกละลายใช้เดินทางจากส่วนบนของคอลัมน์จนถึงออกจากคอลัมน์เรียกว่าRetention timeและขนาดของโครมาโทแกรมจะขึ้นกับปริมาณสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Retention time, t_R คือเวลาที่ใช้ในการทำให้ตัวถูกละลายเคลื่อนที่ได้เท่ากับ 1 คอลัมน์ ซึ่งมีค่าเท่ากับความยาวของคอลัมน์หารด้วยอัตราเร็วของการเคลื่อนที่ของตัวถูกละลาย ในโครมาโทแกรมสามารถหาค่าt_Rได้จากการวัดระยะทางตั้งแต่เริ่มใส่สารตัวอย่างลงในคอลัมน์จนถึงส่วนยอดของพีก

$$t_R = \frac{\text{length of column (L)}}{\text{rate of travel}} \qquad \ldots\ldots (2.6)$$

แทนค่าสมการที่ 2.4 ลงในสมการที่ 2.6

$$t_R = \frac{L}{u}(1+k') \qquad \ldots\ldots (2.7)$$

ให้ t_m คือเวลาที่โมเลกุลของตัวพาเดินทางได้ 1 คอลัมน์ ซึ่งมีค่าเท่ากับความยาวของคอลัมน์หารด้วยอัตราเร็วในการเคลื่อนที่ของเฟสที่เคลื่อนที่ (u) นั่นคือ $t_m = \frac{L}{u}$ ในกรณีที่เฟสเคลื่อนที่คือก๊าซ สามารถวัดค่า t_m ได้จากพีกของอากาศ เมื่ออากาศไม่เป็นตัวหน่วงในคอลัมน์

$$t_R = t_m(1+k') \qquad \ldots\ldots (2.8)$$

$$\text{หรือ} \quad k' = \frac{t_R - t_m}{t_m}$$

สมการที่มีประโยชน์อีกสมการหนึ่งคือ สมการของอัตราส่วนของรีเทนชัน (retention ration), r ซึ่งหมายถึงอัตราส่วนของเวลาที่โมเลกุลของตัวพาเดินทางได้ 1 คอลัมน์ (t_m) ต่อ รีเทนชันม์ไทม์ (t_R)

$$r = \frac{t_m}{t_R} \qquad \ldots\ldots (2.9)$$

แทนค่าสมการที่ 2.8 ลงในสมการที่ 2.9

$$r = \frac{t_m}{t_m(1+k')} = \frac{1}{1+k'} = \frac{1}{1+Kd\frac{Vs}{Vm}} = \frac{Vm}{Vm+KdVs} \qquad \ldots\ldots (2.10)$$

Retention volumn, V_R คือ ปริมาตรของเฟสเคลื่อนที่ หรือตัวพาที่ต้องการใช้สำหรับอีลูทสารตัวอย่างออกจากคอลัมน์ รีเทนชันโวลูมมีความสัมพันธ์กับรีเทนชันม์ไทม์ คือ มีค่าเท่ากับเวลาที่ใช้ทั้งหมด หรือรีเทนชันม์ไทม์คูณด้วยอัตราการไหลของตัวพา (ปริมาตร/เวลา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{Volume} = \text{time x flow rate}$$

$$V_R = t_R F \quad \ldots\ldots (2.11)$$

แทนค่าสมการที่ 2.8 ลงในสมการที่ 2.11

$$V_R = t_m (1+k')F \quad \ldots\ldots (2.12)$$

สำหรับปริมาตรของตัวพาที่ใช้เวลาในการเดินทางได้ 1 คอลัมน์ (t_m) มีค่าเท่ากับ v_m จะมีความสัมพันธ์ดังนี้คือ

$$V_m = t_m F \quad \ldots\ldots (2.13)$$

ปริมาตร v_m ตามปกติถูกเรียกว่า dead volumn หรือ interstitial หรือ void volumn แทนค่าสมการที่ 2.13 ลงในสมการที่ 2.12

$$V_R = \frac{V_m}{F}(1+k')F$$

$$= V_m(1+k')$$

ในเมื่อ $k' = K_d \frac{V_S}{V_m}$

$$V_R = V_m\left(\frac{1}{1+K_d\frac{V_S}{V_m}}\right)$$

$$= V_m + K_d V_S \quad \ldots\ldots (2.14)$$

สมการที่ 2.14 จะเป็นสมการพื้นฐานของรีเทนชันที่ใช้กับโครมาโทกราฟีทุกชนิด เช่นกัน ถ้าเฟสที่อยู่กับที่เป็นของแข็ง เราสามารถเปลี่ยน V_S ให้เป็นพื้นผิวที่เกิดการดูดซับหรือเป็น ion exchange capacity ก็ได้แล้วแต่ความเหมาะสม

ตามปกติวิธีโครมาโทกราฟีที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Qualitative analysis)ที่นิยมคือการเปรียบเทียบรีเทนชันไทม์ หรือรีเทนชันโวลูมของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐานที่ทำการทดลองภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน สารชนิดเดียวกันเมื่อทำการทดลองภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกันทุกอย่าง จะให้ค่ารีเทนชันไทม์หรือรีเทนชันโวลูมเท่ากัน ซึ่งเป็นค่าที่สามารถแสดงเอกลักษณ์ หรือพิสูจน์(identify)สารนั้นๆได้ แต่เนื่องจากสภาวะการทดลองขึ้นกับแฟคเตอร์หลายชนิด คือ ชนิดของเฟสที่อยู่กับที่ เฟสที่เคลื่อนที่ อุณหภูมิ และอัตราการไหลของเฟสที่เคลื่อนที่หรืออื่นๆ ทำให้ไม่สามารถแสดงรายละเอียดของค่า V_R และ t_R ของสารตัวอย่างแต่ละตัวที่สภาวะต่างๆ ได้หมดทุกสภาวะ ดังนั้นจึงไม่สะดวกที่จะใช้ค่านี้ในการทำการวิเคราะห์ทางคุณภาพหรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิสูจน์สารต่างๆ ค่าที่สามารถใช้ในการพิสูจน์สารได้ถูกต้องและสะดวกกว่าคือ relative retention, α หรือ selectivity factor ซึ่งคืออัตราส่วนของรีเทนชันไทม์ของสารตัวอย่างต่อสารมาตรฐาน ซึ่งเป็นรีเทนชันไทม์ ที่มีการแก้ไขให้ถูกต้อง โดยหักเวลาที่ใช้ในการทำให้ตัวพาที่มีอยู่ในคอลัมน์ออกจากคอลัมน์แล้ว

$$\alpha = \frac{t_R - t_m}{t_{R^*} - t_{m^*}} = \frac{t_R}{t'_{R^*}} \quad \ldots\ldots (2.15)$$

t_{R^*} คือรีเทนชันไทม์ของสารมาตรฐาน

เราสามารถทำการทดลอง เพื่อพิสูจน์ว่าสารตัวอย่างนั้นคืออะไรได้โดยใช้สารตัวอย่างผสมสารมาตรฐานแล้วผ่านลงคอลัมน์ จากนั้นหาค่ารีเลทีฟเทนชันเปรียบเทียบกับค่ารีเลทีฟเทนชัน ของสารที่ทราบว่าคืออะไรต่อสารมาตรฐานตัวเดียวกัน ถ้าได้ค่าเท่ากันแสดงว่าสารตัวอย่างก็คือชนิดเดียวกันกับที่ทราบ วิธีการพิสูจน์สารแบบนี้ต้องใช้ค่ารีเลทีฟเทนชันของสารทั้งสองชนิดที่ได้จากการใช้เฟสที่อยู่กับที่และเฟสที่เคลื่อนที่ได้เป็นชนิดเดียวกันเท่านั้นจึงเปรียบเทียบกันได้ วิธีการนี้ไม่ต้องยุ่งยากในการควบคุมสภาวะการทดลอง ดังนั้นจึงเป็นการสะดวกที่จะแสดงค่ารีเลทีฟเทนชัน ของสารที่ทราบว่าคืออะไรต่อสารมาตรฐานต่างๆไว้ได้มากมาย เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบสำหรับการวิเคราะห์ทางคุณภาพ เนื่องจากค่ารีเทนชันโวลูม ที่มีอัตราการไหลของตัวพาคงที่เป็นสัดส่วนโดยตรงกับรีเทนชันไทม์ นั่นคือ

$$\alpha = \frac{V_R - V_m}{V_{R^*} - V_m} \quad \ldots\ldots (2.16)$$

จากสมการ 2.14 แทนค่าลงในสมการที่ 2.16

$$\alpha = \frac{(V_m + K_d V_s) - V_m}{(V_m + K_{d^*} V_s) - V_m}$$

$$\alpha = \frac{K_d}{K_{d^*}} \quad \ldots\ldots (2.17)$$

V_{R^*}, K_{d^*} ค่าของสารมาตรฐาน

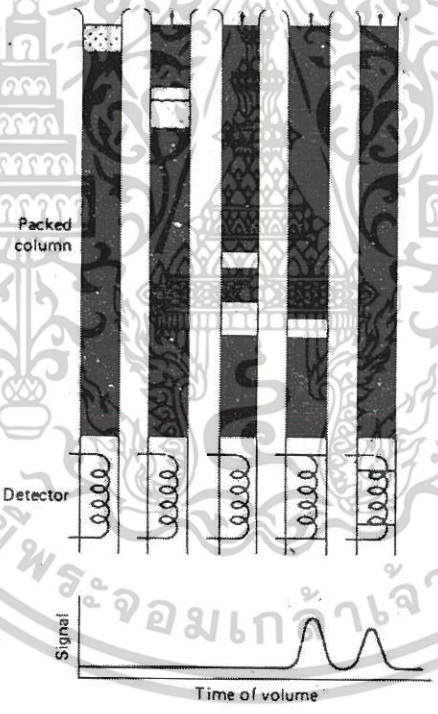
ในการทำ ion exchange chromatography ค่ารีเลทีฟเทนชัน ที่แสดงในสมการที่ 2.17 บางทีเรียกว่า แฟคเตอร์ของการแยก (separation factor)

2.4 ทฤษฎีการอีลูทในโครมาโทกราฟี (Theories of elution chromatography) [10].

เมื่อนำสารตัวอย่างที่ละลายในเฟสที่เคลื่อนที่ใส่ลงในส่วนบนของคอลัมน์ จะเกิดการแบ่งส่วนระหว่างเฟสที่อยู่กับที่กับเฟสที่เคลื่อนที่ เมื่อเริ่มเติมเฟสที่เคลื่อนที่เข้าไปในคอลัมน์อีก คือ เติมตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

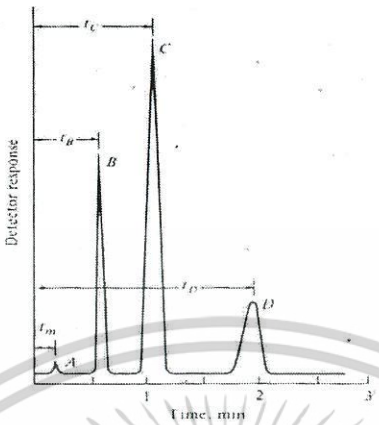
eluent มันจะผลักดันด้วยแรงขับ (driving force)ให้เฟสที่เคลื่อนที่ที่มีสารตัวอย่างละลายอยู่เคลื่อนที่ลงในคอลัมน์ สารตัวอย่างที่ถูกพาลงมาจะมาพบกับเฟสที่อยู่กับที่ส่วนใหม่ ก็จะเกิดการแบ่งส่วนระหว่างเฟสทั้งสองอีก เมื่อเติมอีลูทต่อไปอีกเรื่อยๆก็จะทำให้สารตัวอย่างถูกพาลงมาส่วนล่างของคอลัมน์อีก จนในที่สุดออกจากคอลัมน์ เพราะว่าการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างสามารถเกิดขึ้นได้เนื่องจากการพาของเฟสที่เคลื่อนที่ หรือตัว อีลูทเท่านั้น ฉะนั้น อัตราเร็วเฉลี่ยของการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างในคอลัมน์ จึงขึ้นอยู่กับเศษส่วนของเวลาที่สารตัวอย่างอยู่ในเฟสที่เคลื่อนที่ ถ้าสารตัวอย่างที่นำมาใส่ในคอลัมน์มีตัวถูกละลายมากกว่าหนึ่งชนิด และตัวถูกละลายมีค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจายต่างกัน พบว่าความสามารถในการเคลื่อนที่ของตัวถูกละลายนั้นต่างกัน ทำให้สามารถแยกตัวถูกละลายทั้งสองชนิดออกจากกันได้ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 แสดงการอีลูทสารผสมของตัวถูกละลาย 2 ชนิดในวิธีโครมาโทกราฟี

และเนื่องจากโมเลกุลของตัวถูกละลายทุกตัวมีความประพฤติไม่เหมือนกัน บางโมเลกุลเคลื่อนที่เร็ว บางโมเลกุลเคลื่อนที่ช้า ทำให้โครมาโทแกรมที่ได้เป็นแบนด์หรือพีกที่มีความกว้าง(band broadening) ดังแสดงในรูปที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 แสดงโครมาโทแกรมที่ได้จากวิธีโครมาโทกราฟี

ลักษณะของแบนด์หรือพีกที่ได้จะกว้างหรือแคบมากน้อยแค่ไหนขึ้นอยู่กับองค์ประกอบหลายอย่าง คือ

1. การใส่สารตัวอย่างลงในคอลัมน์

2. การแพร่กระจายของสารตัวอย่างในคอลัมน์ จากบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงสู่บริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำ (longitudinal diffusion)

3. การไหลของโมเลกุลของสารตัวอย่างในคอลัมน์มีทิศทางที่แตกต่างกัน และได้ระยะทางที่ต่างกันเพราะขนาดและรูปร่างของเฟสที่อยู่กับที่ในคอลัมน์แตกต่างกัน(eddy diffusion)

4. โมเลกุลของสารตัวอย่างไม่สามารถเกิดสมดุลขึ้นระหว่างเฟสที่เคลื่อนที่และเฟสที่อยู่กับที่ได้ (non equilibrium mass transfer)

สำหรับการควบคุมขนาดขององค์ประกอบ 3 ข้อหลัง สามารถทำได้โดยควบคุมอัตราเร็วของการไหลของเฟสที่เคลื่อนที่ ขนาดของสารที่บรรจุในคอลัมน์หรือเฟสที่อยู่กับที่และขนาดของคอลัมน์ แบนด์จะมีความกว้างมากขึ้น ถ้ามีการกระจายเพิ่มขึ้น ซึ่งเกิดจากสารตัวอย่างอยู่ในคอลัมน์เป็นเวลานานเกินไป การที่จะทำให้สารตัวอย่างไม่อยู่ในคอลัมน์นานเกินไปสามารถทำได้โดยเพิ่มอัตราเร็วของการไหลของเฟสที่เคลื่อนที่ แต่ถ้าเพิ่มอัตราเร็วของการไหลของเฟสที่เคลื่อนที่ ก็จะมีผลให้การแยกของสารตัวอย่างผสมเกิดขึ้นไม่ดี พีกไม่สามารถแยกออกจากกันได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็น ที่ต้องควบคุมให้อัตราเร็วของการไหลของเฟสที่เคลื่อนที่ก็จะมีผลให้แยกของสารตัวอย่างผสมเกิดขึ้นสารผสมออกจากกันได้ ถ้าโมเลกุลของสารตัวอย่างไม่สามารถเกิดสมดุลขึ้น ระหว่างเฟสที่เคลื่อนที่อยู่กับที่ พบว่ามันจะใช้เวลาอยู่กับเฟสหนึ่งมากกว่าอีกเฟสหนึ่งได้มากกว่าที่มันควรจะเป็น ซึ่งมีผลทำให้แบนด์ที่ได้กว้าง เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของเฟสที่เคลื่อนที่ จะมีผลทำให้มีเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้อย ที่จะทำให้สารตัวอย่างเกิดสมดุลระหว่างเฟสทั้งสอง เมื่อขาดการเกิดสมดุลขึ้น ก็มีผลทำให้แบนด์ที่ได้กว้างนั่นเอง สรุปได้ว่าในกรณีที่เกิดการแพร่กระจายของสารตัวอย่างขึ้น จะทำให้แบนด์ที่ได้กว้าง การทำให้การแพร่กระจายลดลงสามารถทำได้โดยอัตราการไหลของเฟสที่เคลื่อนที่ แต่ถ้าเพิ่มอัตราการไหลของเฟสที่เคลื่อนที่ให้เร็วขึ้น จะมีผลทำให้สารตัวอย่างไม่สามารถเกิดสมดุลระหว่างเฟสที่เคลื่อนที่และเฟสที่อยู่กับที่ได้เพราะมีเวลาน้อย ก็จะเป็นสาเหตุทำให้แบนด์กว้างขึ้น แสดงว่าการเพิ่มอัตราการไหลของเฟสที่เคลื่อนที่สามารถทำให้แบนด์กว้างก็ได้ แคบก็ได้ ขึ้นอยู่กับว่าองค์ประกอบใดมีผลมากกว่ากัน ถ้าสมดุลระหว่างเฟสทั้งสองเกิดขึ้นได้รวดเร็วมาก การเพิ่มอัตราการไหลก็จะทำให้แบนด์ที่ได้แคบ เพราะสามารถขจัดผลของการเกิดการแพร่กระจาย ถ้าสมดุลเกิดขึ้นช้า การเพิ่มอัตราเร็วของการไหลเพื่อขจัดผลของการแพร่กระจาย ไม่สามารถทำให้แบนด์แคบลงได้ ดังนั้น การควบคุมอัตราเร็วของการไหลของเฟสที่เคลื่อนที่ได้ จึงเป็นสิ่งสำคัญมากในการทำโครมาโทกราฟี ต้องมีการทดลองค้นคว้า เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สามารถทำให้แบนด์ที่ดีและสามารถแยกได้

2.5 ทฤษฎีเพลตของโครมาโทกราฟี (Plate theory of chromatography) [10-13].

Martinและ Synge เป็นผู้คิดได้ว่า กระบวนการของโครมาโทกราฟีนั้นเหมือนกับกระบวนการของเคาน์เตอร์เคอร์เรนท์ และการกลั่นลำดับส่วน ในคอลัมน์ของโครมาโตกราฟีจะประกอบด้วยส่วนย่อยๆซึ่งเปรียบเสมือน craig อันเล็กๆหลายๆอัน ที่เรียกว่า theoretical plate ซึ่งแต่ละเพลตสามารถเกิดการกระจายของตัวถูกละลายขึ้นได้ในกระบวนการสกัดด้วยเครื่องมือ craig เราสามารถคำนวณการกระจายของสารตัวอย่างใน craig แต่ละอัน เมื่อทำการสกัด n ครั้งได้ ในทำนองเดียวกันก็สามารถหาการกระจายของสารตัวอย่างในแต่ละเพลตตลอดคอลัมน์ของวิธีโครมาโทกราฟี เพราะ theoretical plate แต่ละอันในโครมาโทกราฟีเปรียบได้กับ craig แต่ละอันในการทำเคาน์เตอร์เคอร์เรนท์ นั่นคือ การกระจายของตัวถูกละลายใน theoretical plate แต่ละอันสามารถคำนวณได้จากสมการ

$$f(n , r) = \frac{n!}{r!(n - r)!} x^{(n-r)} y^{r} \qquad \ldots\ldots (2.18)$$

ในโครมาโทกราฟี n และ r จะมีค่ามากๆ เพราะว่าต้องใช้เฟสที่เคลื่อนที่ผ่านส่งไปในคอลัมน์จำนวนมากเพื่ออีลูทสารตัวอย่าง ดังนั้น $n >> r$ นั่นคือ

$$x^{(n-r)} = x^{n} = (1-y)^{n} = e^{-ny} \qquad \ldots\ldots (2.19)$$

เมื่อ x คือเศษส่วนของตัวถูกละลายที่อยู่ในเฟสที่อยู่กับที่

y คือเศษส่วนของตัวถูกละลายที่อยู่ในเฟสที่เคลื่อนที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในกรณี n >> r จะได้

$$\frac{n!}{(n-r)!} = n^r \quad \ldots\ldots (2.20)$$

แทนค่าสมการที่ 2.19 และ 2.20 ลงในสมการที่ 2.18 จะได้

$$f(n,r) = \frac{(ny^r)e^{-ny}}{r!} \quad \ldots\ldots (2.21)$$

โดยวิธีการทางคณิตศาสตร์และใช้วิธีการประมาณค่าของ Stirling จะได้

$$r! = \frac{\sqrt{2\pi r \cdot r^r}}{e^r} \quad \ldots\ldots (2.22)$$

แทนค่าสมการที่ 2.22 ลงในสมการ 2.21

$$f(n,r) = \frac{(ny)^r e^{-ny} e^r}{r^r \cdot \sqrt{2\pi r}} \quad \ldots\ldots (2.23)$$

สมการที่ 2.23 คือสมการที่แสดงการกระจายของสารตัวอย่างในเพลตต่างๆ เราสามารถคำนวณเศษส่วนของสารตัวอย่างที่มีอยู่ในเพลตที่มีมากที่สุด หรือเพลตที่เป็นส่วนยอดของพีกได้จาก

$$r_{max} = ny$$

ให้แทนที่ลงในสมการที่ 2.23

$$f(n,r_{max}) = \frac{(r_{max})^r e^{-r_{max}} e^r}{r^r \cdot \sqrt{2\pi r}}$$

ในสมการที่ 2.23 เมื่อเศษส่วนของสารตัวอย่างในเพลตที่มีมากที่สุด แสดงว่า r คือ r_{max}

$$f(n,r_{max}) = \frac{(r_{max})^{r_{max}} e^{-r_{max}} e^{r_{max}}}{r^{r_{max}} \cdot \sqrt{2\pi r}}$$

$$f(n,r_{max}) = \frac{1}{\sqrt{2\pi r_{max}}} \quad \ldots\ldots (2.24)$$

ถ้าพิจารณาให้ส่วนยอดของพีก (r_{max}) อยู่ที่ปลายสุดของคอลัมน์ที่มีจำนวนเพลตทั้งหมดเท่ากับ Nแสดงว่า r_{max} = N และสารตัวอย่างที่ใส่เข้าไปในคอลัมน์มีค่าเท่ากับ m โมล แสดงว่าปริมาณของสารตัวอย่างที่ r_{max} หรือที่เพลตที่ N จะมีค่าเท่ากับ f (n , N) x m

ให้ Q(n,N) คือปริมาณของสารตัวอย่างที่อยู่ที่เพลตที่ N

$$Q(n,N) = f(n,N) \times m = \frac{m}{\sqrt{2\pi N}} \quad \ldots\ldots (2.25)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

เมื่อสารตัวอย่างเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ที่มีเพลตอยู่ทั้งหมด N เพลต ในเวลา t_R แสดงว่า อัตราเร็วของการเคลื่อนที่คือ N/t_R สมการที่ 2.25 แสดงการคำนวณหาปริมาณของสารตัวอย่างที่มีมากที่สุดที่เพลตที่ N เมื่อต้องการหาอัตราเร็วสูงสุดที่สารตัวอย่างเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ (S_{max})จะได้

$$S_{max} = Q_{(n,N)} \left(\frac{\text{moles}}{\text{plates}}\right) \frac{N}{t_R} \left(\frac{\text{plates}}{\text{unit time}}\right)$$

$$= \frac{Q_{(n,N)} \cdot N}{t_R} \left(\frac{\text{moles}}{\text{unit time}}\right)$$

$$S_{max} = \frac{mN}{t_R \cdot \sqrt{2\pi R}} \quad \ldots\ldots (2.26)$$

$$N = \frac{2\pi S_{max}^2 t_R^2}{m^2} \quad \ldots\ldots (2.27)$$

N หมายถึงจำนวน plate ที่มีอยู่ในคอลัมน์ซึ่งตามความเป็นจริงแล้วเราสามารถทราบได้หรือนับได้ว่าในคอลัมน์แต่ละอันจะมีเพลตอยู่เท่าใด ดังนั้น N จึงเป็นจำนวนเพลตที่คำนวณได้ตามทฤษฎีซึ่งเรียกว่า theoretical plate

ปริมาณสารตัวอย่าง m ที่ใส่ลงในคอลัมน์ จะแปรผันโดยตรงกับพื้นที่ของพีก สมมุติให้โครมาโทกราฟีพีกที่ได้มีความสูงเท่ากับ h และมีความกว้างเท่ากับ w

$$m \alpha \frac{hW}{2}$$

$$m = \frac{khW}{2} \quad \ldots\ldots (2.28)$$

k คือค่าคงที่ที่ทำให้พื้นที่ของพีกมีค่าเท่ากับปริมาณของสารตัวอย่างที่ใส่ในคอลัมน์ ซึ่งเป็นค่าคงที่ตัวเดียวกับค่าคงที่ที่ทำให้อัตราเร็วสูงสุดที่สารตัวอย่างเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์เท่ากับความสูง

$$S_{max} \alpha h$$

$$S_{max} = kh \quad \ldots\ldots (2.29)$$

แทนค่าสมการที่ 2.28 และ 2.29 ลงในสมการที่ 2.27

$$N = \frac{2\pi (kh)^2 t_R^2}{\left(\frac{khW}{2}\right)^2}$$

$$= 8\pi \left(\frac{t_R}{W}\right)^2 \quad \ldots\ldots (2.30)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
61927

การคำนวณตามสมการที่ 2.30 เป็นการคำนวณโดยพิจารณาพีกที่ได้เป็นรูปสามเหลี่ยมหน้าจั่ว แต่ตามความเป็นจริงแล้วพีกที่ได้มีลักษณะเคอร์ฟที่มีการกระจายแบบ Gaussian curve ดังนั้นถ้าพิจารณาให้ถูกต้อง การคำนวณตามสมการที่ 2.30 จะมีค่าดังนี้คือ

$$N = 16(\frac{t_R}{W})^2 = (\frac{4\,t_R}{W})^2 \quad \ldots\ldots (2.31)$$

W คือความกว้างของพีกที่สามารถวัดได้ดังแสดงในรูป การวัดค่า W ต้องใช้วิธีการประมาณค่าอาจทำให้คลาดเคลื่อนได้ วิธีที่ดีควรวัดความกว้างของพีกที่มีความสูงเป็นครึ่งหนึ่งของความสูงทั้งหมด คือค่า $W_{1/2}$ จะได้พื้นที่สามเหลี่ยมมีค่าเท่ากับ $hW_{1/2}$ นั่นคือจากสมการที่ 2.28 จะได้

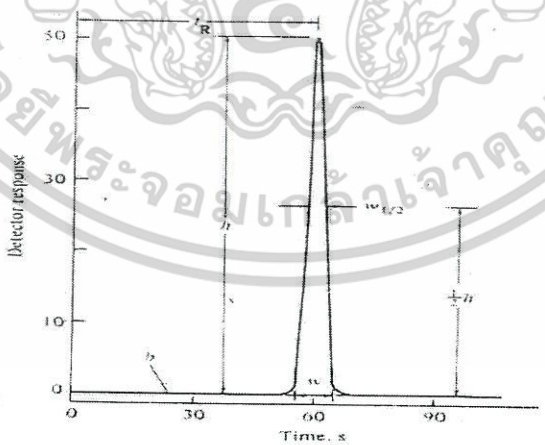
$$m = khW_{1/2}$$

$$N = 2\pi(\frac{t_R}{W_{1/2}})^2 \quad \ldots\ldots (2.32)$$

ด้วยเหตุผลเดียวกับสมการที่ 2.31 จะได้

$$N = 5.54(\frac{t_R}{W_{1/2}})^2 \ldots\ldots (2.33)$$

สมการที่ 2.31 และ 2.33 ใช้เป็นสมการสำหรับคำนวณหาจำนวนเพลต (N) ที่มีอยู่ในคอลัมน์ ค่า W , $W_{1/2}$ จะต้องมีหน่วยเดียวกับ t_R ตามปกตินิยมใช้สมการที่ 2.33 ในการคำนวณมากกว่า เพราะไม่ต้องเสียเวลาในการประมาณค่า เพื่อสร้างกราฟให้เป็นรูปสามเหลี่ยมในการหาค่า W



รูปที่ 2.3 แสดงการหาความกว้างพีกของโครมาโทแกรมที่ได้จากวิธีโครมาโทกราฟี

จำนวนเพลต N จะมีผลต่อลักษณะพีก ถ้า N มีจำนวนมากๆจะได้พีกที่มีลักษณะแคบและคมชัด การเพิ่ม N ให้มากขึ้นไม่ได้หมายความว่าต้องเพิ่มความยาวของคอลัมน์ เพราะถ้าความยาวของคอลัมน์ เพิ่มขึ้นจะทำให้ t_R เพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลทำให้พีกกว้างเหมือนเดิม การเพิ่ม N ให้มากขึ้น หมาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความว่าต้องเพิ่มขึ้นใน 1 หน่วยของความยาวของคอลัมน์ที่เท่าเดิม แสดงว่าประสิทธิภาพของคอลัมน์ (efficiency) จะขึ้นอยู่กับจำนวนเพลต N (theoretical plate)

ถ้า N เพิ่มขึ้นประสิทธิภาพของคอลัมน์จะเพิ่มขึ้น แต่เนื่องจากการเปรียบเทียบค่า N ที่เพิ่มขึ้นต้องเปรียบเทียบกับคอลัมน์ที่มีความยาวเท่ากัน ดังนั้นการพิจารณาประสิทธิภาพของคอลัมน์จากจำนวนเพลต N จึงไม่สะดวก เทอมที่ใช้ประโยชน์ได้มากกว่าในการพิจารณาถึงประสิทธิภาพของคอลัมน์คือเทอม Height equivalent of a theoretical plate (HETP) ใช้สัญลักษณ์ย่อคือ H ซึ่งหมายถึงความยาวของคอลัมน์ต่อจำนวนเพลต N เรียกสั้นๆว่า plate height

$$H = \frac{L}{N} \qquad \ldots\ldots (2.34)$$

คอลัมน์ที่ดีนั้นต้องมีค่า HETP น้อย นั่นคือ N ควรมีค่ามากที่สุด และคอลัมน์ควรสั้นที่สุด เพื่อให้ H น้อย เนื่องจาก N จะมีค่าได้มาก เมื่อความกว้างของพีกมีค่าน้อย ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าประสิทธิภาพของคอลัมน์จะดีเมื่อพีกที่ได้มีความกว้างน้อยหรือแคบ ประสิทธิภาพของคอลัมน์จะลดลงเมื่อความกว้างของพีกมากขึ้น ซึ่งจะมีผลต่อการแยกสารผสมด้วย ถ้าประสิทธิภาพของคอลัมน์ดีก็ทำให้การแยกสามารถเกิดขึ้นได้ดี เมื่อแทนค่าสมการที่ 2.31 ลงในสมการ 2.34 จะได้

$$H = L\left(\frac{W}{4t_R}\right)^2 \qquad \ldots\ldots (2.35)$$

ประสิทธิภาพของคอลัมน์โครมาโทกราฟี (Efficiency of column) อยู่ที่คอลัมน์ซึ่งขึ้นอยู่กับจำนวนเพลตตามทฤษฎี หรือ Height equivalent of a theoretical plate นอกจากการพิจารณาหาค่า HETP เพื่ออธิบายประสิทธิภาพของคอลัมน์จากทฤษฎีของเพลตแล้ว ทฤษฎีอัตราการไหล (rate theory) หรือทฤษฎีของการอีลูท ก็เป็นอีกทฤษฎีหนึ่งที่พิจารณาหาค่า HETP เพื่ออธิบายประสิทธิภาพของคอลัมน์ได้

ตามทฤษฎีของการอีลูทที่ได้กล่าวมาแล้วตอนต้นว่า การอีลูทสารตัวอย่าง จะทำให้เกิดการกระจายของสารตัวอย่าง จะทำให้เกิดการกระจายของสารตัวอย่างเมื่อออกจากคอลัมน์ โดยมีลักษณะเป็นแบนด์หรือเป็นพีก ทั้งนี้เพราะโมเลกุลของสารตัวอย่างที่อยู่ในคอลัมน์มีความประพฤติที่สับสนและยุ่งเหยิงไม่เหมือนกัน มีสิ่งสำคัญอยู่ 3 สิ่งที่เป็นสาเหตุให้โมเลกุลมีความประพฤติไม่เหมือนกัน คือการแพร่กระจายของสารตัวอย่างในคอลัมน์จากความเข้มข้นสูงไปความเข้มข้นต่ำ (longitudinal diffusion) การไหลเข้าและออกของสารตัวอย่างในคอลัมน์เป็นไปอย่างสุ่มๆ (random) ทำให้ได้ระยะทางที่ไม่เท่ากัน (eddy diffusion) และโมเลกุลของสารตัวอย่างไม่สามารถเกิดสมดุลขึ้นระหว่างเฟสที่เคลื่อนที่และเฟสที่อยู่กับที่ได้ (non equilibrium mass transfer) ซึ่งสาเหตุทั้งสามนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้ค่า HETP มีค่ามากกว่าที่ควรจะเป็นไปตามอุดมคติ เพราะต้องมีค่าเท่ากับ HETP ที่เกิดจากทั้งสามเหตุรวมกัน

$$H = \begin{matrix}\text{HETP ที่เกิดจากผลของ} \\ \text{eddy diffusion}\end{matrix} + \begin{matrix}\text{HETP ที่เกิดจากผลของ} \\ \text{longitudinal diffusion}\end{matrix} + \begin{matrix}\text{HETP ที่เกิดจากผลของ} \\ \text{non equilibrium mass transfer}\end{matrix}$$

กลุ่มนักเคมีชาวดัทช์ได้พิสูจน์สมการข้างบนนี้ให้อยู่ในรูปสมการคณิตศาสตร์ซึ่งมีชื่อเรียกว่า Van Deemter equation

$$H = A + \frac{B}{u} + Cu \qquad \ldots\ldots (2.36)$$

u คือ ค่าอัตราการไหลของเฟสที่เคลื่อนที่เป็นความเร็วในเชิงเส้นตรง (linear velocity)

ค่า A, B และC เป็นค่าคงที่ของคอลัมน์แต่ละอัน ซึ่งยังขึ้นอยู่กับองค์ประกอบอีกหลายชนิดของคอลัมน์ จากการสังเกตเราสามารถสรุปผลขององค์ประกอบที่มีต่อค่า A, B และC ได้ดังนี้

1. เทอม A ขึ้นอยู่กับขนาดของเฟสที่อยู่กับที่ที่บรรจุในคอลัมน์ และแต่ละหน่วยต้องมีขนาดเท่ากันหรือเหมือนกันหมด ถ้ามีขนาดเล็กค่า A จะน้อย ในกรณีที่บรรจุในคอลัมน์ได้ดี ค่าของ A จะมีค่าน้อยมาก เข้าใกล้ศูนย์ บางทีสามารถตัดทิ้งได้

$$A = 2\lambda d_p \qquad \ldots\ldots (2.37)$$

เมื่อ λ คือ แฟกเตอร์ของการบรรจุ (packing factor)

d_p คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของขนาดเฟสที่อยู่กับที่

2. เทอม B จะมีความสัมพันธ์กับการแพร่ของโมเลกุลตามความยาวของคอลัมน์หรือกับค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของโมเลกุลของสารที่ต้องการแยกในเฟสที่เคลื่อนที่ D_m ดังนี้

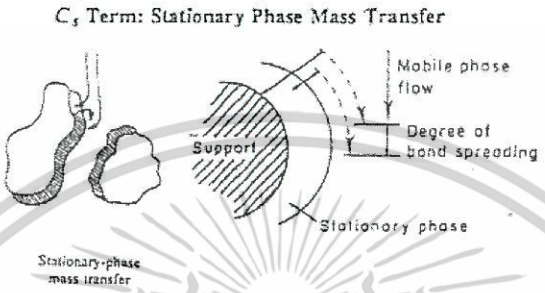
$$B = 2\gamma D_m \qquad \ldots\ldots (2.38)$$

เมื่อ γ คือ ค่าคงที่เกี่ยวกับการเคลื่อนไปของเฟสที่เคลื่อนที่ เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของโมเลกุลของสารที่ต้องการแยกในเฟสที่เคลื่อนที่ที่เป็นของเหลว (D_m ประมาณ 10^{-5}ลบ.ซม./วินาที) จะมีค่าน้อยกว่าเฟสที่เคลื่อนที่ที่เป็นแก๊ส (D_m ประมาณ 10^{-1} ลบ.ซม./วินาที) ดังนั้นผลการแพร่ของโมเลกุลตามความยาวของคอลัมน์จะไม่มีผลต่อเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี

3. เทอม C จะมีความสัมพันธ์ของการเกิดสมดุลของโมเลกุลของสารที่จะแยกระหว่างเฟสที่อยู่กับที่กับเฟสที่เคลื่อนที่ ในระบบของเทคนิคโครมาโทกราฟีนั้นมักจะเกิดอาการไม่สมดุลขึ้นโดยเฉพาะเมื่อเฟสที่เคลื่อนที่มีความเร็วสูง จะทำให้โมเลกุลของสารที่อยู่ในภาวะสมดุลที่เคลื่อนผ่านออกจากคอลัมน์ได้น้อย และถ้าบรรจุอนุภาคในคอลัมน์มีความหนาแน่นมากๆ โมเลกุลของสารจะถูกจับไว้ (adsorption) นานเกินไป ดูเหมือนว่าโมเลกุลถูกจับไว้อยู่หลายๆ ชั้นบนเฟสที่อยู่กับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่และมีบางส่วนของโมเลกุลเท่านั้นที่หลุดออก (desorption) จากเฟสที่อยู่กับที่แต่ถ้าของเหลวเป็นเฟสที่อยู่กับที่การถูกจับไว้ หรือถูกปล่อยออกมาจะขึ้นอยู่กับอัตราการแพร่ การถ่ายโอนมวลในเฟสที่อยู่กับที่แสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 แสดงการถ่ายโอนมวลในเฟสที่อยู่กับที่

ดังนั้น C_S ที่มีผลต่อค่า H ดังนี้

. ถ้าของแข็งเป็นเฟสที่อยู่กับที่ (เกิดการดูดซับ)

$$H_S = \frac{2T_d k'}{(1+k')^2} \quad \ldots\ldots (2.39)$$

. ถ้าของเหลวเป็นเฟสที่อยู่กับที่ (เกิดพาร์ติชัน)

$$H_S = \frac{d_f^2 k'}{(1+k')^2 D_S} \quad \ldots\ldots (2.40)$$

เมื่อ D_S คือ สัมประสิทธิ์ของการกระจายของโมเลกุลของสารตัวอย่าง ในเฟสที่อยู่กับที่

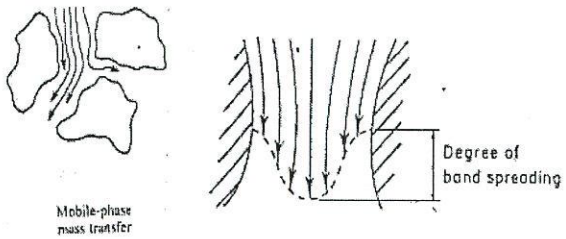
t_d คือ เวลาที่โมเลกุลของสารหลุดออกจากเฟสที่เคลื่อนที่

d_f คือ ความหนาของฟิล์มของเหลวที่เคลื่อนที่บนอนุภาคของแข็งที่เป็นตัวดูดซับ

เรามาพิจารณาเทอม C ที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายโอนในเฟสที่เคลื่อนที่ ดังนี้

ก .โมเลกุลของสารที่เคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ โดยมีเฟสที่เคลื่อนที่เป็นตัวพาไม่ได้เคลื่อนที่ด้วยความเร็วที่เท่ากัน เราจะพบว่าตรงกลางของคอลัมน์จะมีการเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าส่วนขอบของคอลัมน์อันเนื่องมาจากแรงเสียดสี ดังแสดงในรูปที่ 2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



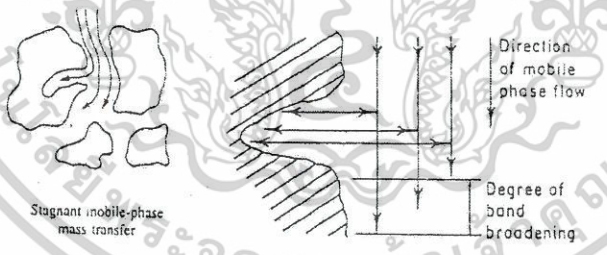
รูปที่ 2.5 แสดงการถ่ายโอนมวลในเฟสที่เคลื่อนที่

ลักษณะการเคลื่อนที่ดังกล่าวอันเนื่องมาจากการแพร่วน ดังความสัมพันธ์

$$C_m = \frac{\Omega d^2 p}{D_m} \quad \ldots\ldots (2.41)$$

เมื่อ Ω เป็นฟังก์ชันเกี่ยวกับลักษณะของการบรรจุเฟสที่อยู่กับที่ในคอลัมน์

ข. ในบางกรณีที่ของแข็งที่เป็นเฟสอยู่กับที่มีรูพรุน ซึ่งเป็นช่องว่างที่เฟสที่เคลื่อนที่จะแทรกเข้าไปได้ จึงทำให้เฟสที่เคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์หยุดไปชั่วขณะหนึ่ง และบางโมเลกุลของสารที่ต้องการแยกจะถูกแทรกเข้าไปในรูพรุนได้จึงทำให้เคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ช้า จึงทำให้แถบหรือพีกมีความกว้าง ดังแสดงในรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 แสดงการถ่ายโอนมวลของเฟสที่เคลื่อนที่ผ่านรูพรุนชั่วขณะหนึ่ง

ดังนั้นค่า C_{SM} จึงมีความสัมพันธ์กับขนาดและรูพรุนของอนุภาคที่ใช้เป็นเฟสที่อยู่กับที่ ดังนี้

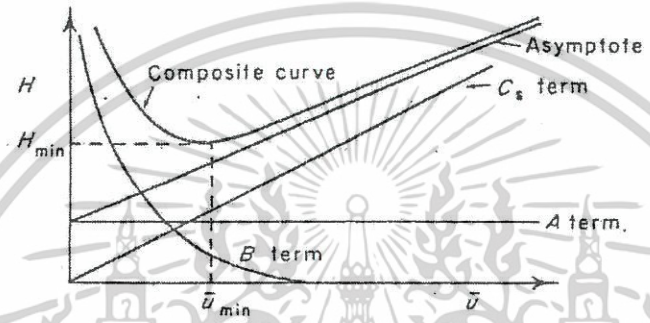
$$C_{SM} = \frac{(1 - \Phi + k')d_p^2}{30(1 - \Phi)(1 + k')\gamma D_M} \quad \ldots\ldots (2.42)$$

เมื่อ Φ เป็นสัดส่วนทั้งหมดที่เฟสที่เคลื่อนที่เข้าไปอยู่ในรูพรุน

จาก Van Deemter equation ทำให้เราเข้าใจและสามารถทำนาย เกี่ยวกับผลของพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ให้ผลต่อการทำงานภายในคอลัมน์ เพื่อต้องการจะให้ได้ค่า H มีค่าต่ำสุด (N มีค่ามากสุด พีก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ได้แคบ) ก็โดยใช้แผ่นฟิล์มบางๆเคลือบบนโซลิดซับพอร์ท อนุภาคที่เป็นเฟสอยู่กับที่ควรจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางน้อย และเฟสที่เคลื่อนที่ควรมีความหนืดต่ำ ถึงแม้ว่าอุณหภูมิไม่ได้ปรากฏอยู่ในสมการก็ตาม แต่อุณหภูมิจะมีผลต่อประสิทธิภาพของคอลัมน์ เพราะว่าอุณหภูมิมีผลต่อการแพร่ ความหนืด การเกิด sorption/desorption kinetics ดังนั้น ถ้าเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้เพิ่มประสิทธิภาพของคอลัมน์ และจะได้ค่า H ลดลง



รูปที่ 2.7 แสดงกราฟระหว่างH และ U ตามสมการ van Deemter equation กับพจน์ A,B และ C

ในทางปฏิบัติสิ่งที่สำคัญไม่ได้อยู่ที่ประสิทธิภาพของคอลัมน์เพียงอย่างเดียว สิ่งที่สำคัญที่สุดในการทำโครมาโทกราฟี คือการแยกองค์ประกอบสองชนิดหรือมากกว่าออกจากกัน คอลัมน์ที่มีประสิทธิภาพดีย่อมให้พีกของสารตัวอย่างแยกออกจากกันได้ชัดเจน

การแยก (Resolution), R คือ การวัดอาณาเขตของพีก 2 พีกที่ซ้อนกัน ปริมาณการแยกระหว่างพีก 2 พีก คือความแตกต่างระหว่างรีเทนชันไทม์ระหว่างพีกทั้งสองกับผลรวมของครึ่งหนึ่งของความกว้างของพีกทั้งสอง พบว่าถ้ารีเทนชันไทม์ของพีกทั้งสองแตกต่างกันมาก การแยกจะเกิดได้ดีแต่ถ้าความกว้างของพีกมีค่ามาก การแยกเกิดขึ้นได้ไม่ดี สำหรับพีกที่สมมาตรคือมีรูปร่างเป็น normal Gaussian shape และพีกทั้งสองมีขนาดเท่ากัน ค่าการแยกจะมีค่าตามสมการที่ 2.43 ดังนี้คือ

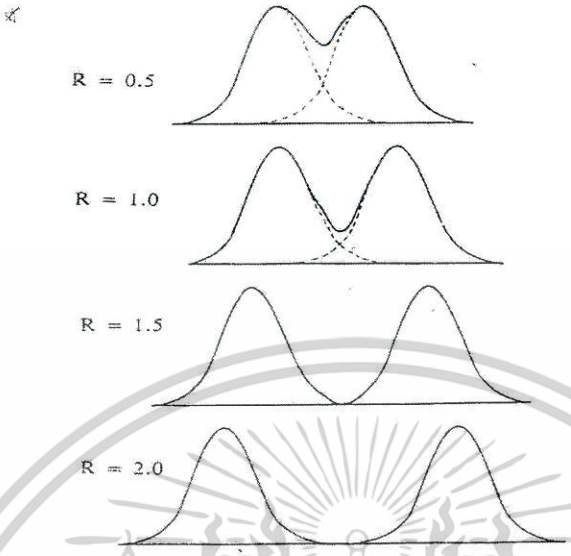
$$R = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{W_1}{2} + \frac{W_2}{2}} = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2} \quad \ldots\ldots (2.43)$$

เมื่อ t_{R1} และ t_{R2} คือรีเทนชันไทม์ของพีกที่ 1 และ 2 ตามลำดับ ($t_{R2} > t_{R1}$)

W_1และ W_2 คือความกว้างของฐานพีกทั้งสอง

สำหรับพีกที่สมมาตรและมีค่าการแยกเท่ากับ 1 จะมีพื้นที่พีกที่ซ้อนกันเพียง 2% ซึ่งเพียงพอสำหรับงานวิเคราะห์ทางปริมาณ ถ้าการแยกมีค่าเท่ากับ 1.5 พีก สามารถแยกออกจากกันได้สมบูรณ์ ลักษณะของการแยกแสดงในรูปที่ 2.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

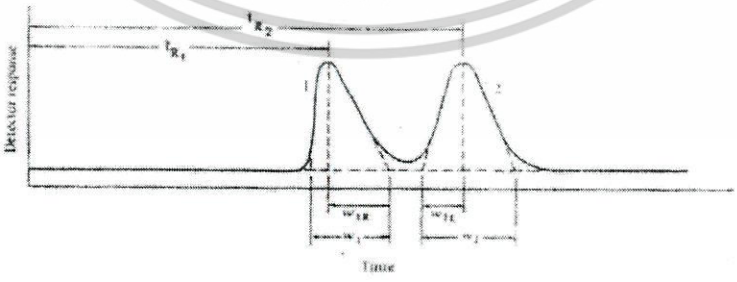


รูปที่ 2.8 แสดงวิธีการแยกของพีกที่มีค่า R ต่างๆกัน

สมการที่ 2.43 เป็นสมการที่ใช้กับพีกที่มีลักษณะสมมาตร ในกรณีที่พีกไม่สมมาตรควรใช้สมการที่ 2.44 คือ

$$R = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{1R} + W_{2L}} \quad \ldots\ldots (2.44)$$

สำหรับสมการที่ 2.43 และสมการ 2.44 สามารถใช้ค่ารีเทนชันโวลูมแทนค่ารีเทนชันไทม์ ค่า W_{1R}และ W_{2L} สามารถวัดได้จากพีกของโครมาโทแกรม ดังแสดงในรูป สำหรับหน่วยของ W_{1R}และ W_{2L} ต้องใช้ให้สอดคล้องตามค่ารีเทนชันไทม์หรือรีเทนชันโวลูม



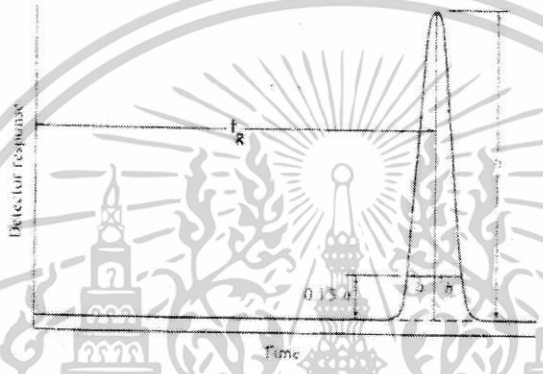
รูปที่ 2.9 แสดงการหาค่า w_{1R}และ w_{2L} จากพีกที่ไม่สมมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามปกติพีกที่ได้จะไม่สมมาตรมักจะมีหาง (peak tailing)ดังแสดงในรูป พีกที่ 1 มีหาง ซึ่งจะมีผลทำให้การแยกไม่ดี การพิจารณาว่าพีกสมมาตรหรือไม่พิจารณาได้จาก Asymmetry factor (a_f)

$$a_f = \frac{W_{0.15R}}{W_{0.15L}} \quad \ldots\ldots (2.45)$$

โดยใช้ความกว้างของพีกที่สูงเท่ากับ 0.15 h ด้านขวาหารด้วยด้านซ้าย ดังแสดงในรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 โครมาโทแกรมแสดงการวัดค่าความกว้างของพีกด้านซ้ายและด้านขวาที่มีความสูง 0.15h , a = $W_{0.15L}$ และ b = $W_{0.15R}$ ในกรณีที่asymmetry factor แสดงว่าพีกนั้นสมมาตร

2.6 เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Ion chromatography) [10,14].

ไอออนโครมาโทกราฟี คือ วิธีการวิเคราะห์แขนงหนึ่งของลิควิดโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ที่สามารถใช้วิเคราะห์ไอออนของสารอนินทรีย์และสารอินทรีย์ที่สามารถแสดงประจุได้ โดยอาศัยหลัก การการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่างไอออนของสารตัวอย่าง (analyst) กับไอออนที่ปลายของตัวแลกเปลี่ยนไอออน (ion-exchanger) ซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสที่อยู่กับที่ (stationary phase) บรรจุอยู่ในคอลัมน์

สมการการแลกเปลี่ยนแคทไอออนและแอนไอออนของ cation exchanger และ anion exchanger เป็นดังนี้

$$Resin\text{-}SO_3^-H^+_{Stat} + A^+_{mob} \rightleftharpoons Resin\text{-}SO_3^-A^+_{Stat} + H^+_{mob}$$

เมื่อ H^+ เป็น counter ion และ A^+ แทน sample cation

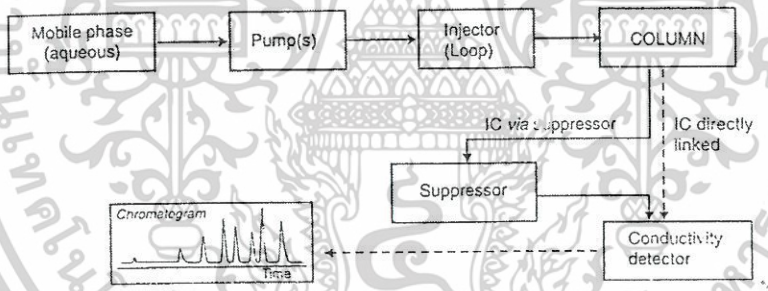
$$Resin\text{-}NR_3^+Cl^-_{Stat} + A^-_{mob} \rightleftharpoons Resin\text{-}NR_3^+A^-_{Stat} + Cl^-_{mob}$$

เมื่อ Cl^- เป็น counter ion และ A^- แทน sample anion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภายหลังจากการเกิดสมดุลการแลกเปลี่ยนไอออน แคทไอออน (A^+) และแอนไอออน (A^-) จะถูกชะออกจากคอลัมน์ด้วยสารละลายกรดหรือบัฟเฟอร์เป็นตัวชะ(eluent)หรือเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase)ต่อไป และถ้าสารตัวอย่างมีองค์ประกอบของไอออนหลายชนิดปะปนกันไอออนเหล่านี้สามารถแยกออกจากกันได้โดยอาศัยหลักการที่ว่า ไอออนแต่ละชนิดมีแอฟฟินิตี (affinities)กับเฟสที่อยู่กับที่ต่างกัน หรือมีค่าคงที่สมดุลของสัมประสิทธิ์การกระจาย(K) แตกต่างกัน และถูกชะออกจากคอลัมน์ตามลำดับ ดังนี้ไอออนที่มีขนาดเล็กจะถูกชะออกก่อนไอออนที่มีขนาดใหญ่ และไอออนที่มีความหนาแน่นประจุน้อยกว่า (monovalent ions) จะถูกชะออกก่อนไอออนที่มีความหนาแน่นประจุมากกว่า(di and trivalent ions)

การตรวจวัดปริมาณไอออนที่แยกออกจากคอลัมน์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี นิยมใช้การวัดค่าการนำไฟฟ้า (conductivity detection) ถ้าใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายกรดหรือบัฟเฟอร์จำเป็นต้องมีอุปกรณ์ที่ช่วยลดค่าการนำไฟฟ้าของเฟสเคลื่อนที่ก่อนเข้าสู่ตัวตรวจวัด ซึ่งเรียกว่า Ion Suppressor แทรกอยู่ระหว่างคอลัมน์กับตัวตรวจวัด ดังแสดงในรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 แผนภาพแสดงองค์ประกอบของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟี

ส่วนประกอบของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟี

1. ภาชนะใส่เฟสที่เคลื่อนที่ (solvent reservoir) ในเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟีนั้น เฟสที่เคลื่อนที่อาจจะเป็นของผสมระหว่างตัวทำละลายกับสารละลาย หรือเป็นสารละลายบัฟเฟอร์ หรือของผสมระหว่างตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ ขึ้นอยู่กับว่าจะใช้ตัววัดสัญญาณเป็นชนิดใด โดยทั่วไปภาชนะใส่เฟสที่เคลื่อนที่จะทำด้วยแก้ว มีขนาดบรรจุ 1-2 ลิตร จะมีท่อเล็กๆขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1/8 นิ้วที่ต่อจากภาชนะใส่เฟสที่เคลื่อนที่เพื่อพาของเหลวเข้าสู่ตัวปั๊ม ของเหลวที่เป็นเฟสที่เคลื่อนที่ก่อนที่จะเข้าสู่ตัวปั๊ม จะต้องกรองให้ปราศจาก ผง และอนุภาคแขวนลอยต่างๆออกเสียก่อน เพราะว่าอนุภาคแขวนลอยต่างๆ จำทำให้เกิดการแทรกสอดการทำงานของตัวปั๊ม และอาจทำลายลิ้นปิด-

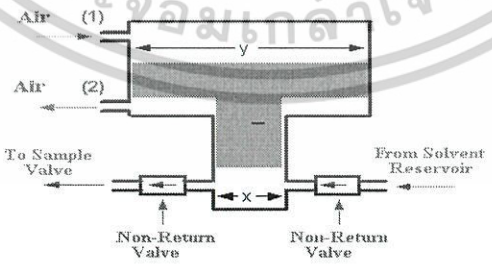
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปิดของตัวปั๊มได้ และอีกประการหนึ่งที่สำคัญคือ ฟองอากาศหรืออากาศที่ละลายอยู่ในเฟสที่เคลื่อน โดยเฉพาะก๊าซออกซิเจนหรือไนโตรเจน ถ้าไม่กำจัดทิ้งจะทำให้เกิดฟองก๊าซในคอลัมน์หรืออาจรบกวนการตรวจวัดหรือไปทำให้การทำงานของปั๊มเสียหาย ดังนั้นจึงต้องกำจัดแก๊สที่ละลายอยู่ในเฟสที่เคลื่อนที่ก่อนด้วยระบบทำลายแก๊ส (degassing system) การทำลายแก๊สอาจทำได้โดยการเก็บเฟสที่เคลื่อนที่ไว้ภายใต้สูญญากาศ หรือโดยการให้ความร้อนและคนเฟสที่เคลื่อนที่ด้วยระบบอัลตราโซนิก สำหรับน้ำกลั่นที่ใช้ต้องเป็นน้ำกลั่นที่มีความบริสุทธิ์สูง เนื่องจากในน้ำมีไอออนอยู่ถ้าใช้น้ำไม่บริสุทธิ์ก็จะมีผลต่อการตรวจวัด

ถ้าการวิเคราะห์ใช้ตัวทำละลายเพียงชนิดเดียว เครื่องมือก็จะมีขวดใส่ตัวทำละลายเพียงชุดเดียว แต่ถ้าต้องใช้ตัวทำละลายผสมในการอีลูทต้องมีเครื่องมือ 2 ชุด ต่อเชื่อมกันเพื่อทำให้ตัวทำละลายสามารถผสมกันและเปลี่ยนโพลาริตีได้อย่างต่อเนื่อง (gradient elution) การอีลูทที่ใช้ตัวทำละลายเพียงตัวเดียว (isocratic elution) จะใช้เวลาในการแยกนาน แต่ถ้าเปลี่ยนตัวอีลูทโดยทำให้ตัวทำละลายผสมกันและเปลี่ยนโพลาริตีได้อย่างต่อเนื่อง (gradient elution) พบว่าการแยกจะใช้เวลาน้อยลง การเพิ่มโพลาริตีของตัวทำละลายขึ้นเรื่อยๆหรือการทำเป็นขั้น (stepwise) คือการเพิ่มโพลาริตีของตัวทำละลายขึ้นเรื่อยๆในช่วงเวลาหนึ่ง ต่อจากนั้นก็ควบคุมให้คงที่ในช่วงเวลาหนึ่ง แล้วก็เพิ่มขึ้นอีก จากนั้นก็ควบคุมให้คงที่อีกเป็นเช่นนี้ตลอดการทดลอง

2. เครื่องปั๊ม (pump) ทำหน้าที่ปั๊มเฟสที่เคลื่อนที่สู่เข้าคอลัมน์ด้วยความดันที่เหมาะสมประมาณ 4000 ถึง 6000 psi ซึ่งจะทำให้อัตราการไหลของตัวทำละลายมีค่าเท่ากับ 3 ลบ.ซม./นาที อัตราการไหลควรควบคุมให้คงที่ เบี่ยงเบนได้ไม่เกิน 2% เนื่องจากการไหลมีผลโดยตรงต่อเวลาที่ใช้ในการแยก ระบบปั๊มที่ใช้ในเครื่องไอออนโครมาโทกราฟี มีด้วยกัน 2 ระบบ คือ

2.1 ปั๊มชนิดความดันคงที่ (constant pressure pumps) ได้แก่ pneumatic amplifier pump ดังรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.12 แสดง pneumatic amplifier pump

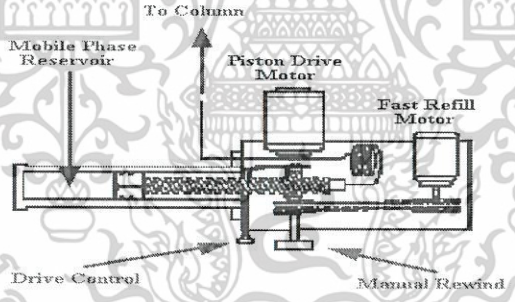
หลักการทำงานของ pneumatic amplifier pumpให้ความดันอากาศประมาณ 10 บาร์ กับลูกสูบแก๊ส (gas piston) ที่มีพื้นที่ผิวมาก ลูกสูบแก๊สจะต่ออยู่กับลูกสูบไฮโดรลิก (hydraulic piston) ที่มีผิว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

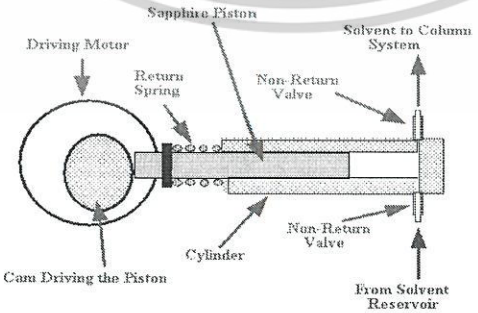
น้อยกว่า ดังนั้น ความดันที่ดันของเหลว = (ความดันของแก๊ส) (พื้นที่ผิวลูกสูบแก๊ส / พื้นที่ผิวลูกสูบไฮโดรลิก) ถ้าความดันเข้าเท่ากับ 10 บาร์ และอัตราส่วนของพื้นที่ผิวเป็น 50 : 1 จะทำให้ความดันตรงลูกสูบไฮโดรลิกมีค่าเท่ากับ 500 บาร์ จะเห็นว่าความดันแก๊ส 10 บาร์ จะทำให้ความดันของเฟสที่เคลื่อนที่เท่ากับ 500 บาร์ เมื่อเกิดจังหวะดันเข้าของลูกสูบเกิดขึ้น (drive stroke) จะทำลิ้น (valve) ด้านทางออกของปั๊มเปิดออกและเฟสที่เคลื่อนที่จะถูกดันเข้าสู่คอลัมน์ และลิ้นด้านทางเข้าของปั๊มจะถูกปิดจากทางด้านที่ติดอยู่กับภาชนะใส่เฟสที่เคลื่อนที่ จากนั้นจะเกิดจังหวะดันออกของลูกสูบ ลิ้นด้านทางออกของปั๊มจะปิดและลิ้นด้านทางเข้าของปั๊มจะเปิดออก และเฟสที่เคลื่อนที่จะเข้าสู่ตัวปั๊ม ระบบปั๊มทั้งหมดจะถูกควบคุมด้วยลิ้นปิดเปิดที่ต่ออยู่ระหว่างตัวควบคุม (regulator) กับตัวปั๊ม

pneumatic amplifier pump มีราคาถูก เมื่อเสียหรือชำรุดแล้วยากต่อการซ่อม ขณะปั๊มทำงานจะมีเสียงรบกวน เนื่องจากว่าปั๊มชนิดนี้มีอัตราการไหลของเฟสที่เคลื่อนที่ไม่คงที่จึงไม่ค่อยถูกนำมาใช้มากนัก

2.2 ปั๊มชนิดอัตราการไหลคงที่ (constant flow pumps) มีด้วยกัน 2 ชนิด คือ syring type pump ดังรูปที่ 2.13 และ reciprocating pump ดังรูปที่ 2.14



รูปที่ 2.13 แสดง syring type pump



รูปที่ 2.14 แสดง reciprocating pump

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

syring type pumpประกอบด้วย (chamber) ขนาดความจุ 200-500 ลบ.ซม. ที่มีมอเตอร์อยู่จะค่อยๆ ดันลูกสูบด้วยอัตราเร็วคงที่ การไหลจะไม่มีพัลส์ (pulseless) และความเร็วที่ให้กับมอเตอร์สามารถเปลี่ยนแปลงได้ สำหรับความจุเฟสที่เคลื่อนที่เข้าสู่คอลัมน์จะขึ้นอยู่กับขนาดของแชมเบอร์

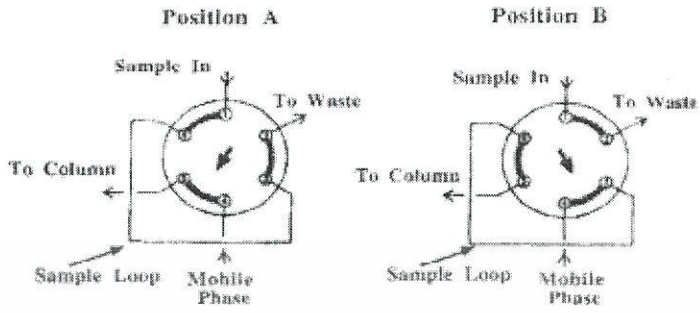
reciprocating pump ปั๊มชนิดนี้ลูกสูบจะถูกดันเข้า และดันออกจากแชมเบอร์ด้วยเกียร์ เมื่อดันลูกสูบเข้าลิ้นตรงทางด้านเข้าของเฟสที่เคลื่อนที่จะปิดและลิ้นตรงทางด้านทางออกจะเปิด ทำให้เฟสที่เคลื่อนที่ถูกปั๊มเข้าสู่คอลัมน์ในทางกลับกัน เมื่อดันลูกสูบออกลิ้นทางออกจะปิดและเฟสที่เคลื่อนที่จะเข้าสู่ปั๊ม ปั๊มชนิดนี้ต่างจาก syring type pump ตรงที่ว่าความจุของตัวทำละลายมีไม่จำกัด และปริมาตรภายในของแชมเบอร์มีขนาดน้อยมากๆ ประมาณ 10-100 µl. อัตราการไหลจะเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงความยางของคานที่ดันลูกลูบหรืออัตราเร็วมอเตอร์

3. ส่วนที่ฉีดสาร (sample injection system) เป็นส่วนที่ใช้ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์ในการทำไอออนโครมาโทกราฟี การฉีดสารต้องมีปริมาณน้อยและต้องระมัดระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศในขณะฉีดสารเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพการแยกเกิดขึ้นสมบูรณ์ วิธีการฉีดสารที่นิยมในเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี คือ การฉีดสารเข้าสู่คอลัมน์ชนิดผ่านลูพวาล์ว (loop valve) ซึ่งมีอยู่ 2 แบบ คือ

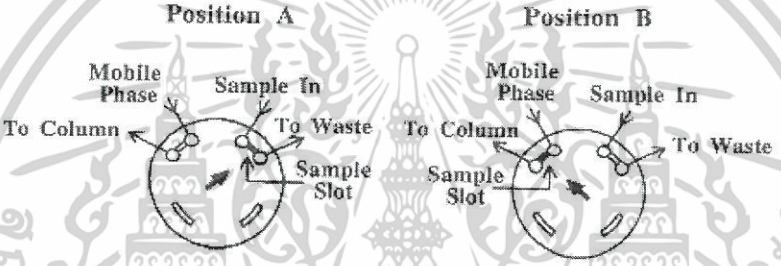
3.1 ลูพของการฉีดสารตัวอย่างชนิดมีลูพวาล์วอยู่ภายนอก(external loop valve) ลูพวาล์วชนิดนี้จะมีวาล์วอยู่ 6 แห่ง ประกอบด้วยลูพที่รับสารตัวอย่างและสำหรับให้สารตัวอย่างออก 2 แห่ง ที่สามารถจำกัดปริมาตรได้ ส่วนวาล์วอีก 4 แห่ง จะใช้สำหรับการนำเฟสที่เคลื่อนที่และสารตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์และออกจากคอลัมน์ เมื่อเริ่มแรกจะบรรจุสารตัวอย่างโดยการฉีดเข้าไปตรงบริเวณลูพวาล์วที่รับตัวอย่างก่อนการฉีดสารตัวอย่างจะต้องผ่านเฟสที่เคลื่อนที่เข้าไปคอลัมน์ เพื่อให้ระบบอิ่มตัวเสียก่อน ตอนนี้จะเรียกว่าโหลดสารตัวอย่าง จากนั้นก็ปรับวาล์วโดยการหมุนไปอยู่ในตำแหน่ง inject จะทำให้เฟสที่เคลื่อนที่พาสารตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์ ดังแสดงในรูปที่ 2.15 ปริมาตรที่ใช้กับ external loop valve ประมาณ 10 µl.

3.2 ลูพของการฉีดสารตัวอย่างชนิดมีลูพวาล์วอยู่ภายใน (internal loop valve) ในกรณีที่ฉีดสารปริมาตรสารตัวอย่างน้อยกว่า 10 µl. จะใช้ลูพวาล์วชนิดที่มีวาล์วอยู่ 4 แห่ง เมื่อโหลดสารตัวอย่างแล้วก็หมุนจากตำแหน่งโหลดไปยังตำแหน่ง inject ด้วยมุม 270 องศา จะทำให้สารตัวอย่างถูกปั๊มเข้าสู่คอลัมน์ดังแสดงการทำงานในรูปที่ 2.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.15 แสดง external loop valve



รูปที่ 2.16 แสดง internal loop valve

คอลัมน์ (column) ทำหน้าที่ในการแยกสารที่จะทำการวิเคราะห์ คอลัมน์ส่วนใหญ่ที่ใช้ในเครื่องไอออนโครมาโทกราฟีจะทำมาจาก PEEK หรือ สเตนเลส มีเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 3-5 cm. คอลัมน์สามารถจะบรรจุด้วยอนุภาคที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 หรือ 5 μm. สารที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์หรือสารที่ทำหน้าที่เป็นเฟสที่อยู่กับที่ที่นิยมใช้ในไอออนโครมาโทกราฟี คือ เรซินที่สามารถแลกเปลี่ยนไอออนได้ (ion exchange resins)

ion exchange resins คือ สารโพลีเมอร์ที่สังเคราะห์ได้จากการทำโพลิเมอร์ไรซ์สารอินทรีย์ต่อไปนี้

- Styrene + divinylbenzene
- Polymethacrylate
- Methacrylic acid + divinylbenzene
- Acrylic acid + divinylbenzene

การโพลีเมอร์ไรซ์สามารถทำให้โมเลกุลของสารอินทรีย์เชื่อมโยง (cross-linking)ได้หลายแบบ ทำให้ได้สารเรซินที่มีคุณสมบัติ ๆต่างกัน เรซินที่นิยมใช้กัน คือเรซินที่ได้จากเตรียมโพลีเมอร์ไรซ์สารสไตรีนกับไดไวนิลเบนซีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเกิดโพลีเมอร์ไรซ์ของสารตามปฏิกิริยาข้างบนสารเกิดได้ทั้ง 3 ทิศทางองศาของการควบคุมกัน (degree of cross linking) ของโพลีเมอร์สามารถควบคุมได้โดยควบคุมอัตราส่วนของไดไวนิลเบนซีนกับสไตรีน (อัตราส่วน Y/N) ตามปกติจะใช้ 1 โมล ของไดไวนิลเบนซีนต่อ 11 โมลของสไตรีน นอกจากจะใช้พารา-ไดไวนิลเบนซีนแล้ว อาจใช้เมตา-ไดไวนิลเบนซีนก็ได้

เรซินที่เตรียมได้จะแสดงคุณสมบัติอย่างไรขึ้นอยู่กับหมู่ธาตุ (functional group) ที่นำเข้าไปในอะโรมาติกนิวเคลียส ดังนั้น เรซินที่ใช้ในการทำไอออนโครมาโทกราฟีสามารถแบ่งตามคุณสมบัติของหมู่ธาตุที่ใส่เข้าไปได้ 2 ชนิด คือ

1. ชนิดแลกเปลี่ยนแคทไอออน (cation exchangers) เรซินนี้จะมีหมู่ธาตุที่เป็นกรดอยู่ในอะโรมาติกนิลเคลียส เตรียมได้โดยนำกรดซัลฟิวริกทำปฏิกิริยากับโพลีเมอร์ของสไตรีนกับไดไวนิลเบนซีน หมู่-SO_3H จะเข้าไปในโพลีเมอร์ ทำให้ได้เรซินที่สามารถแลกเปลี่ยนแคทไอออนได้ เรซินที่เตรียมได้ชนิดนี้คุณสมบัติที่สามารถแลกเปลี่ยนไอออน H^+ กับแคทไอออนอื่นๆได้ดี จัดเป็นแคทไอออนที่แรง (strong cation exchangers) ยังมีแคทไอออนเอ็กซ์เชนจ์เรซินชนิดอื่นๆอีกมากซึ่งเป็น เรซินที่แตกต่างกันที่หมู่ฟังก์ชันนอลที่มีฤทธิ์เป็นกรดเตรียมได้โดยทำปฏิกิริยาเคมีแทนที่ระหว่างหมู่ฟังก์ชันนอลกับโพลีเมอร์ เช่นกัน หมู่ของกรดที่ใช้เป็นหมู่ฟังก์นอลได้แก่

Carboxylic acid	- COOH
Phosphonic acid	- PO_3H^- , PO_3H_3
Phosphinic acid	- HPO_2H^- , HPO_2H_2
Phenolic	- OH
Arsonic acid	- AsO_3H^- , AsO_3H_2
Selenonic acid	- SeO_3H

แคทไอออนเอ็กซ์เชนจ์ที่ได้จากหมู่ของกรดเหล่านี้จะมีความแรงน้อยกว่าหมู่ -SO_3H จึงจัดเป็นแคทไอออนเอ็กซ์เชนจ์ที่อ่อน (weak cation exchangers) ความแรงของหมู่กรดแต่ละชนิดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับค่าคงที่ของการแตกตัวของกรดนั้นๆ และ pH ของสารละลาย ถ้าสารละลายมี pH ต่ำ การแตกตัวของ H^+ จะเกิดได้น้อย ความสามารถในการแลกเปลี่ยนแคทไอออนมีน้อย ถ้าสารละลายมี pH สูงๆ หรือเป็นเบสจะทำให้หมู่ของกรดแตกตัวได้ดีและได้ เรซินอยู่ในรูปของเกลือโซเดียม (ถ้าสารละลายคือเบส NaOH) ซึ่งทำให้เรซินพองตัวขึ้น เรซินที่อยู่ในรูปของเกลือโซเดียมสามารถนำไปใช้แลกเปลี่ยนกับแคทไอออนอื่นๆได้ดี

$$RCOOH + Na^+ + OH^- \longrightarrow RCOO^-Na^+ + H_2O$$

$$RCOO^-Na^+ + M^{n+} \longrightarrow (RCOO^-)_n M^{n+} + nNa^+$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากเรซินที่อยู่ในรูปของเกลือโซเดียม มีลักษณะเป็นเกลือของกรดอ่อนที่สามารถเกิดไฮโดรไลซีสได้ ดังนั้น ถ้าใช้น้ำกลั่นล้างเรซินจะทำให้เกิดการไฮโดรไลซีสกลับมาอยู่ในรูปของกรดอ่อนที่มีความสามารถในการแลกเปลี่ยนแคทไอออนต่ำ

$$RCOO^-Na^+ + H_2O \rightleftharpoons RCOOH + Na^+ + OH^- \text{ (R แทนด้วยโพลีเมอร์)}$$

แสดงว่า ถ้าต้องการให้แคทไอออนเอ็กซ์เชนจ์ชนิดอ่อนสามารถเกิดการแลกเปลี่ยนแคทไอออนได้ดีควรทำในสารละลายที่เป็นเบส หรือทำเรซินให้อยู่ในรูปของเกลือโซเดียม จะเห็นได้ว่า เรซินชนิดแคทไอออนเอ็กซ์เชนจ์มีได้ 2 รูป คือที่อยู่ในรูปของ H^+(hydrogen form) และในรูปของ Na^+ (sodium form)

2. ชนิดแลกเปลี่ยนแอนไอออน (anion exchangers) เรซินนี้จะมีหมู่ธาตุที่เป็นเบสอยู่ภายในอะโรมาติกนิลเคลียส เตรียมได้โดยนำทำปฏิกิริยาเคมีระหว่างหมู่ของเบสกับโพลีเมอร์ของสไตรีนกับไดไวนิลเบนซีนที่ถูกทำคลอโรเมทิลเลตแล้ว ถ้ากลุ่มของเบส คือ quaternary amine group ($-CH_2N(CH_3)^+_3$) เรซินที่เตรียมได้จะมีฤทธิ์เป็นเบสแก่ เรียกว่า แอนไอออนเอ็กซ์เชนจ์ชนิดแก่ (strong anion exchangers) จะมีความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออนได้ดี ถ้ากลุ่มของเบสเป็น teriary และ secondary amine ($-CH_2NH(CH_3)^+_2$) , ($-CH_2NH_2(CH_3)^+$) ความแรงของเบสก็จะลดน้อยลงตามลำดับ จัดเป็นเรซินที่มีความแรงขนาดกลาง (moderately basic anion exchangers) แต่ถ้ากลุ่มของเบส คือ เอมีน ($-NH_2$) จะมีความเป็นเบสต่ำมากจัดเป็นเรซินชนิดอ่อน (weak anion exchangers) ปฏิกิริยาในการเตรียมมีดังนี้

1. $R\text{-}CH_2Cl + N(CH_3) \longrightarrow RCH_2N(CH_3)^+_3\,Cl^-$
   $\Downarrow H_2O$
   $RCH_2N(CH_3)^+_3OH^- + Cl^- + H^+$
2. $R\text{-}CH_2Cl + NH(CH_3)_2 \longrightarrow RCH_2N(CH_3)_2 + Cl^- + H^+$
3. $R\text{-}CH_2Cl + NH(CH_3) \longrightarrow RCH_2N(CH_3) + Cl^- + H^+$
4. $R\text{-}CH_2Cl + NH_3 \longrightarrow RCH_2NH_2 + Cl^- + H^+$

เรซินที่เตรียมได้ตามปฏิกิริยาที่ 1 เป็นชนิดที่มีความเป็นเบสมาก สามารถแลกเปลี่ยนไอออนกับแอนไอออนต่างๆ ได้ดีโดยไม่ขึ้นกับค่า pH ของสารละลาย

$$xRCH_2N(CH_3)^+_3\,Cl^- + A^{X-} \rightleftharpoons (RCH_2N(CH_3)^+_3)_X\,A^X + xCl^-$$

$$xRCH_2N(CH_3)^+_3\,Cl^- + A^{X-} \rightleftharpoons (RCH_2N(CH_3)^+_3)_X\,A^X + xOH^-$$

A^{X-} คือแอนไอออนต่างๆ เช่น OH^-, SO_4^{2-}, NO_3^-

เรซินที่เตรียมได้ตามปฏิกิริยาที่ 2 และ 3 มีความเป็นเบสปานกลาง เมื่ออยู่ในสารละลายของน้ำจะเกิดการแตกตัวให้ OH^- ที่สามารถแลกเปลี่ยนกับแอนไอออนตัวอื่นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$RCH_2N(CH_3)_2 + H_2O \rightleftharpoons RCH_2N(CH_3)^+_2OH^-$$

$$R\text{-}CH_2Cl + NH(CH_3) + H_2O \rightleftharpoons RCH_2N(CH_3)^+OH^-$$

$$x\ RCH_2N(CH_3)^+_2OH^- + A^{X-} \rightleftharpoons (RCH_2NH(CH_3)^+_2)_X\ A^X + xOH^-$$

การแตกตัวของเรซินเพื่อให้ OH^- สำหรับการแลกเปลี่ยนไอออนกันนั้นขึ้นอยู่กับ pH ของสารละลาย สารละลายที่มี pH สูง (เป็นเบส) จะทำให้เรซินแตกตัวได้น้อย ความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออนมีค่าน้อย ในสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรดจะทำให้เรซินแตกตัวให้ OH^- ได้ดี และได้เรซินที่อยู่ในรูปของเกลือที่มีการแตกตัวได้ดี

$$RCH_2N(CH_3)_2 + H_2O \longrightarrow RCH_2NH(CH_3)^+_2OH^- \xrightarrow{HCl} RCH_2NH(CH_3)^+_2Cl^- + H_2O$$

เรซินที่อยู่ในรูปของเกลือคลอไรด์ สามารถแลกเปลี่ยนแอนไอออนได้ดีเช่นเดียวกับเรซินชนิดแก่ ดังนั้นถ้าต้องการให้แอนไอออนเรซินชนิดอ่อนปานกลางสามารถแลกเปลี่ยนแอนไอออนได้ดี ควรทำในสารละลายที่เป็นกรดหรือ pH ต่ำๆ เพื่อเปลี่ยนเรซินให้อยู่ในรูปของคลอไรด์ที่สามารถเกิดการแลกเปลี่ยนไอออนได้ดีจะเห็นได้ว่า ลักษณะของเรซินที่นำมาใช้ในการแลกเปลี่ยนแอนไอออนมีได้ 2 รูป คือ รูปของ OH^- (hydroxide form) และอยู่ในรูปของคลอไรด์ (chloride form)ในทางการค้าสามารถซื้อหาเรซินทั้งชนิดแก่และชนิดปานกลางในรูปต่างๆมาใช้งานได้โดยตรง

สำหรับแอนไอออนเรซินชนิดอ่อนที่เตรียมได้ตามปฏิกิริยาที่ 4 ในทางการค้าจะอยู่ในรูปของเบสอิสระ (RCH_2NH_2) เมื่อต้องการนำมาใช้งานตองนำมาทำปฏิกิริยากับกรดเกลือก่อนเพื่อทำให้อยู่ในรูปของคลอไรด์

$$RCH_2NH_2 + HCl \longrightarrow RCH_2NH_3^+Cl^-$$

จากนั้นจึงนำไปแลกเปลี่ยนกับไอออนอื่นๆ

$$xRCH_2NH^+_3\ Cl^- + A^{X-} \rightleftharpoons (RCH_2NH^+_3)_X\ A^X + xCl^-$$

เมื่อต้องกาทำให้เรซินกลับมาใช้งานได้ใหม่ต้องล้างเรซินด้วย 1M NaOH หรือ NH_4OH

จากชนิดต่างๆของเรซินที่กล่าวมาข้างต้น เป็นการแบ่งตามความประพฤติของเรซินที่เกิดจากธรรมชาติของหมู่ฟังก์ชันนอล เรซินที่แบ่งไว้เป็นพวกเดียวกันตามหมู่ฟังก์ชันนอลนี้ยังมีความประพฤติแตกต่างกันไปได้อีก สิ่งที่มีผลทำให้เรซินมีความประพฤติต่างๆกันได้แก่

- ขนาดของเรซิน (size of particles) มีผลต่ออัตราเร็วในการแลกเปลี่ยนไอออนและการซึมผ่านของสารละลายออกจากคอลัมน์
- Degree of cross-linking จะมีผลทำให้เรซินมีความแข็ง มีการพองตัว และมีขนาดรู (porosity) ต่างๆกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Strength of functional group มีผลต่อค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจายของไอออนระหว่างเรซินกับสารละลาย
- Number of functional group มีผลทำให้เรซินมีขนาดความจุต่างๆกัน

5. ส่วนควบคุมอุณหภูมิ (temperature control) สำคัญมากสำหรับการวัดความถูกต้องของข้อมูลการคงไว้ (retention data) ส่วนควบคุมอุณหภูมิอาจใช้เป็นถังน้ำหุ้มคอลัมน์ไว้ (water jacketed) เพื่อทำให้อุณหภูมิคงที่ แต่ถ้าต้องการให้รีเทนชันไทม์ของสารตัวอย่างสั้นขึ้น อาจเพิ่มอุณหภูมิให้แก่คอลัมน์ได้เช่นเดียวกับก๊าซโครมาโทกราฟี โดยใช้เตา (oven) ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ การเพิ่มอุณหภูมิเป็นการเพิ่มอัตราการแยกโดยเฉพาะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของคอลัมน์

6. ส่วนปรับค่าการนำไฟฟ้า (suppressor) มีหน้าที่ทำลายไอออนของตัวอีลูทโดยเปลี่ยนตัวอีลูทให้อยู่ในรูปที่มีค่าการนำไฟฟ้าที่ต่ำ และในขณะเดียวกันยังสามารถเปลี่ยนไอออนของสารตัวอย่างให้เป็นไอออนที่มีค่าการนำไฟฟ้าสูง คือ H^+ หรือ OH^- ซึ่งทำให้ conductivity detector มีความไวสูง

7. ดีเทคเตอร์ (detector) หลังจากที่สารตัวอย่างที่ถูกอีลูทออกจากคอลัมน์จะประกอบด้วยไอออนต่างๆ และไอออนแต่ละตัวที่อยู่ในสารตัวอย่างจะมีความสามารถในการนำไฟฟ้าได้แตกต่างกัน ดังนั้นวิธีการตรวจวัดค่าการนำไฟฟ้า (conductivity detector) จึงเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด ดีเทคเตอร์ที่ใช้ในไอออนโครมาโทกราฟีชนิดอื่นๆ เช่นการวัดค่าการดูดกลืนแสง , วิธีการทางรังสี , วิธีโพเทนชิโอเมตรี หรือวิธีโพลาโรกราฟี เป็นต้น

การประยุกต์ใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Applications of ion chromatography)

1. การทำคุณภาพวิเคราะห์ (Qualitative analysis) การวิเคราะห์สามารถทำได้โดยเปรียบเทียบค่ารีเทนชันไทม์หรือรีเทนชันโวลูมของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐานที่ทราบค่ารีเทนชันไทม์แล้ว การเปรียบเทียบสามารถทำได้เมื่อสภาวะการทดลองเหมือนกันทุกประการ

2. การทำปริมาณวิเคราะห์ (Quatitative analysis) การวิเคราะห์สามารถทำได้โดยสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) โดยการนำสารมาตรฐานที่ทราบปริมาณที่แน่นอน หลายๆขนาดความเข้มข้นมาทำทำการวิเคราะห์ เมื่อได้โครมาโทแกรม จากนั้นวัดพื้นที่ใต้พีกแล้วนำไปสร้างกราฟมาตรฐานโดยทำการพลอตระหว่างพื้นที่พีกเทียบกับปริมาณความเข้มข้น เมื่อทำการวิเคราะห์สารตัวอย่าง ก็ได้จะโครมาโทแกรมของสารตัวอย่างและวัดพื้นที่ใต้พีกได้ แล้วก็สามารถนำไปพลอตลงบนกราฟมาตรฐานและอ่านค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (method validation) [15].

การตรวจสอบความเหมาะสม คือ การยืนยันโดยการตรวจสอบและจัดหาหลักฐานที่เป็นรูปธรรม เพื่อแสดงว่าข้อกำหนดพิเศษโดยเฉพาะต่างๆ สำหรับการใช้ตามที่ตั้งใจไว้โดยเฉพาะสามารถบรรลุผลได้เป็นที่พอใจ

การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (method validation) จะต้องครอบคลุมความต้องการประยุกต์ใช้ มีบันทึกวิธีดำเนินการและผลที่ได้ มีข้อสรุปบ่งชี้ว่าวิธีนั้นเหมาะสมกับวัตถุประสงค์การใช้งาน

การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (method validation) ต้องทำเมื่อใช้วิธีที่ไม่เป็นมาตรฐาน วิธีที่ห้องปฏิบัติการพัฒนาหรือออกแบบขึ้นมาเอง วิธีมาตรฐานที่ใช้นอกขอบข่าย การขยายและดัดแปลงวิธีมาตรฐาน

ในกรณีมีการขยายและดัดแปลงวิธีมาตรฐานที่ต้องทำการตรวจสอบความเหมาะสม ดังนี้

- Matrix ต่างจากที่กำหนด
- การดัดแปลงจากวิธีมาตรฐานเช่น เวลาอบ เวลากลั่น เวลา Incubate เปลี่ยนอุณหภูมิ สารเคมี น้ำยา (Reagent) อาหารเลี้ยงเชื้อ ข้ามขั้นตอนเพื่อให้เร็วขึ้น เป็นต้น

Key Performance Parameters

1. Selectivity vs Specificity
2. Working and Linear Ranges
3. Sensitivity
4. Level of Detection
5. Accuracy (trueness, recovery)
6. Precision (repeatability, reproducibility)
7. Ruggedness or Robustness

1. Selectivity vs Specificity หมายถึง ความสามารถในการทดสอบสารที่ต้องการในสารตัวอย่างที่มีสารอื่นเจือปนโดยยังคงความถูกต้องและความจำเพาะเจาะจง

วิธีการตรวจสอบ

1. ทำการตรวจวัดสารที่ต้องการ ในตัวอย่างที่มีสิ่งรบกวน (อาจมีโดยธรรมชาติหรือการเติมลงในตัวอย่าง)

2. กรณีที่ไม่แน่ใจว่ามีสิ่งรบกวนหรือไม่ให้ทำการตรวจวัดสารที่ต้องการในตัวอย่าง และตรวจ Reference Material โดยเปรียบเทียบกับวิธีหรือเทคนิคอื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. Working and Linear Ranges หมายถึง ช่วงการใช้งานที่ครอบคลุมระดับความเข้มข้นของสารที่ทดสอบโดยสามารถแสดงระดับความเที่ยง (Precision) ความแม่น (Accuracy) และความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity)ตามที่กำหนดในวิธีทดสอบ

ความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity) หมายถึง ความสามารถของวิธีทดสอบที่ให้ค่าผลทดสอบซึ่งเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารที่ต้องการวัดในตัวอย่าง ภายในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด แบ่งออกเป็น System Linearity และ Method Linearity

System Linearity ทดสอบโดยใช้สารมาตรฐาน โดยจะแสดงถึงความสามารถของระบบที่ให้ผลทดสอบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

การหาค่า System Linearity

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานอย่างน้อย 5 ระดับความเข้มข้น(ในช่วง 50-200 % ของความเข้มข้นของสารที่ต้องการวัดในตัวอย่าง)
2. ทำการวัดสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นๆละ 5 ซ้ำ
3. หาค่าเฉลี่ยของค่าที่อ่านได้แต่ละระดับความเข้มข้น
4. พลอตกราฟระหว่างความเข้มข้น (แกน x) และค่าที่อ่านได้ (แกน y)

จากกราฟที่พลอตระหว่างความเข้มข้นและค่าที่อ่านได้ นำมาคำนวณ Regression Line โดยใช้ Method of Least Squares ทั้งนี้ Slope ของ Regression Line , Regression Coefficient (r^2) และ Y-Intercept สามารถนำมาเป็นเกณฑ์การยอมรับความถูกต้อง ซึ่งผลของ Linearity ที่ดีจะได้กราฟเส้นตรง โดยมี Slope = 1, Regression Coefficient (r^2) = 1 (โดยทั่วไปยอมรับที่ 0.999 ถึง 0.995)

Method Linearity ทดสอบโดยใช้สารตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานโดยจะแสดงถึงความสามารถของวิธีทดสอบ ที่ให้ผลทดสอบเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารที่มีอยู่จริงในตัวอย่าง (ภายในช่วงที่กำหนด)

การหาค่า Method Linearity

1. เตรียมตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานอย่างน้อย 3 ระดับความเข้มข้น(ในช่วง 50-150 % ของความเข้มข้นของสารที่ต้องการวัดในตัวอย่าง)
2. ทำการวัดที่ระดับความเข้มข้นๆละ 5 ซ้ำ
3. หาค่าเฉลี่ยของค่าที่อ่านได้แต่ละระดับความเข้มข้น
4. พลอตกราฟระหว่างความเข้มข้น (แกน x) และค่าที่อ่านได้ (แกนy)
5. คำนวณหาค่า Regression Coefficient (r^2) โดยทั่วไปยอมรับที่ $r^2 \geq 0.99$

3. Sensitivity หมายถึง อัตราส่วนการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณต่อการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. Level of Detection

4.1 Instrument Detection (IDL) หมายถึง ความเข้มข้นของสารที่ให้สัญญาณเป็น 5 เท่า S/N ของเครื่องมือ หรือที่มีค่าเป็น 1.645 เท่าของ SD ของ Blank

4.2 Level of Detection (LOD) หมายถึง ความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ต้องการวัดในตัวอย่างที่สามารถตรวจพบ โดยไม่จำเป็นต้องหาปริมาณได้ หรือเป็นความเข้มข้นของสารที่ให้สัญญาณเป็น 2 เท่าของ SD ของ Blank เหนือค่าเฉลี่ยของสัญญาณของ Blank

4.3 Method Detection Limit (MDL) หมายถึง ความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ต้องการวัดในตัวอย่างที่สามารถตรวจพบได้โดยไม่ใช่ปริมาณที่วัดได้เป็นความเข้มข้นของสารที่ผ่านกระบวนการของวิธีทดสอบ หรือเป็นความเข้มข้นของสารที่ให้สัญญาณเป็น 3.14 เท่าของ SD ของ Blank เหนือค่าเฉลี่ยของสัญญาณของ Blank

4.4 Limit of Quantitation (LOQ) หมายถึง ความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ต้องการวัดในตัวอย่างที่สามารถหาปริมาณได้ โดยมีความแม่นยำและความถูกต้องที่ยอมรับได้หรือเป็นความเข้มข้นของสารที่ให้สัญญาณเป็น 10 เท่าของ SD ของ Blank เหนือค่าเฉลี่ยของสัญญาณของ Blank

วิธีการหาค่า MDL และ LOQ

วิธีที่ 1 1. ทำการทดสอบ(Sample Blanks , Fortified Sample Blanks) ที่ความเข้มข้นต่ำที่ ยอมรับได้ 10 ซ้ำ

2. คำนวณหาค่าเฉลี่ยของ Blank และ SD
3. กำหนดค่า MDL เท่ากับค่าเฉลี่ยของ Blank + 3.14 SD
4. กำหนดค่า LOQเท่ากับค่าเฉลี่ยของ Blank + 10 SD

วิธีที่ 2 1. ทำการทดสอบ Sample Blanks ที่เติมสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ต่ำ กลาง สูง)

2. ทำการวัดความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ
3. คำนวณหาค่าเฉลี่ย และ SD
4. พลอตกราฟระหว่างความเข้มข้น(แกน X) และค่า SD(แกน Y)
5. ลากเส้นกราฟตัดที่แกน Y ได้ค่า SD_0
6. กำหนดค่า MDL เท่ากับ 3.14 SD_0
7. กำหนดค่า LOQเท่ากับ 10 SD_0 (หมายเหตุ: SD_0 = ค่า SD ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการหาค่า LOQ วิธีที่ 3

การประเมินด้วยการมองเห็นได้ อาจจะใช้การทดสอบที่ไม่ได้ใช้เครื่องมือ (หรืออาจใช้กับวิธีที่ใช้เครื่องมือด้วย) ทำการทดสอบโดยเตรียมตัวอย่างที่ทราบความเข้มข้น โดยกำหนดระดับความเข้มข้นต่ำสุด (คือ LOQ) ที่สามารถทำการทดสอบได้ด้วยความถูกต้องและความแม่นยำที่ยอมรับได้ (อาจใช้วิธีการลดระดับความเข้มข้นของตัวอย่างลงมาเรื่อยๆ จนถึงจุดที่ทดสอบด้วยการมองเห็นได้ ถ้าทำไม่ได้ให้เพิ่มระดับความเข้มข้นไปถึงจุดความเข้มข้นสุดท้ายที่มองเห็นได้ แล้วทำการทดสอบหาค่าความถูกต้องและความแม่นยำ ที่ระดับความเข้มข้นนี้ ที่ยอมรับได้ ซึ่งเป็นความเข้มข้นระดับ LOQ)

วิธีการหาค่า LOD

1. ทำการทดสอบ SampleBlanks ที่เติมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ
2. คำนวณหาค่า %Positive หรือ Negative Results
3. กำหนดค่า LOD โดยตรวจสอบจากความเข้มข้นต่ำสุดที่ให้ผลการวัดที่สามารถยอบรับได้

5. Accuracy (trueness, recovery) หมายถึง ความใกล้เคียงของค่าที่วัดได้กับค่ามาตรฐานหรือค่าจริงของสารที่ต้องการวัดในสารตัวอย่างภายใต้วิธีการทดสอบเดียวกัน โดยทั่วไปจะแสดงในเทอมของการเบี่ยงเบน

การแสดงค่า Accuracy

1. การหาค่า Relative Accuracy

$$\text{Relative Accuracy (RA)} = \frac{\text{ค่าที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ค่าจริง}} \times 100 \quad \ldots\ldots (2.46)$$

(เกณฑ์การยอมรับของ RA อยู่ในช่วง 90-110%)

2. การอ้างอิงค่า Certified Value

(เกณฑ์การยอมรับ = Certified Value $\pm$ Uncertainty)

วิธีการหาค่าความถูกต้อง

1. ทดสอบวัสดุอ้างอิงที่รู้ค่า
2. เปรียบเทียบผลของวิธีทดสอบกับวิธีอื่นๆที่กำหนดความถูกต้องไว้
3. การทดสอบตัวอย่างที่เติมสารที่รู้ค่าสารที่ต้องการวัดในปริมาณที่รู้ค่าแน่นอนลงในตัวอย่าง แล้วหาค่าการกลับคืน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าการกลับคืน หมายถึง การทดสอบตัวอย่างที่เติมสารที่ต้องการวัดในปริมาณที่ทราบค่าที่แน่นอนแล้วทดสอบหาปริมาณที่แท้จริงของสาร โดยคำนวณเป็นร้อยละการกลับคืนทั้งนี้เพื่อประเมินประสิทธิภาพของวิธีทดสอบที่ใช้ต่อการสกัดและตรวจวัดสารที่ต้องการวัดที่มีในตัวอย่าง

วิธีการหาค่าการกลับคืน

1. เติมสารละลายมาตรฐานลงในตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่างกันอย่างน้อย 3 ระดับ (ต่ำ กลาง สูง หรือช่วง 50-150 %)
2. ทำการทดสอบ Matrix blank ที่แต่ละระดับความเข้มข้น (6 ซ้ำ)
3. คำนวณค่าการกลับคืน

$$\text{ร้อยละการกลับคืน} = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100 \qquad \ldots\ldots (2.47)$$

เมื่อ C_1 = ความเข้มข้นของสารตัวอย่างและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติม

C_2 = ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง

C_3 = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติม

ตารางที่ 2.1 เกณฑ์กำหนดโดยทั่วไปของค่าการกลับคืน

ความเข้มข้นของสารที่ต้องการวัดในตัวอย่าง	ค่าการกลับคืน, ร้อยละ
100%	98-102
10%	98-102
1%	97-103
0.1%	95-105
100 ppm	90-107
10 ppm	80-110
1 ppm	80-110
100 ppb	80-110
10 ppb	60-115
1 ppb	40-120

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. Precision (repeatability, reproducibility) หมายถึง ค่าที่แสดงถึงความใกล้เคียงกันของผลวิเคราะห์ตัวอย่างที่ทำการทดลองซ้ำหลายครั้ง โดยทั่วไปจะแสดงด้วยค่า % Relative Standard Deviation (RSD) หรือ Coefficient of variation (CV)

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \quad \ldots\ldots (2.48)$$

ลักษณะความแม่นยำ จำแนกได้เป็น

1. repeatability (Within-run precision) เป็นความแม่นยำที่สัมพันธ์กับการทดสอบตัวอย่างซ้ำภายใต้สภาวะคงที่ได้แก่ การใช้เครื่องมือ ผู้วิเคราะห์และห้องปฏิบัติการเดียวกัน ภายในช่วงเวลาสั้นๆ

2. reproducibility (Between-run precision) เป็นความแม่นยำที่สัมพันธ์กับการทดสอบตัวอย่างซ้ำภายใต้สภาวะทวนซ้ำ ได้แก่ การใช้วิธีทดสอบเดียวกัน แต่ใช้เครื่องมือ ผู้วิเคราะห์และห้องปฏิบัติการต่างกันในช่วงระยะเวลาที่ห่างกัน

การหาค่า repeatability

1. ทำการทดสอบ(Standard Reference material หรือ Fortified Sample Blanks) ที่ความเข้มข้นในช่วง Working Range
2. ทดสอบซ้ำในช่วงระยะเวลาสั้นๆ
3. คำนวณค่า repeatability ที่แต่ละความเข้มข้น โดยรายงานเป็นค่า SD หรือ %RSD

การหาค่า reproducibility

1. ทำการทดสอบ(Standard Reference material หรือ Fortified Sample Blanks) ที่ความเข้มข้นในช่วง Working Range
2. ทดสอบซ้ำโดยขยายเวลามากขึ้น เมื่อเปลี่ยนเจ้าหน้าที่ทดสอบ เครื่องมือ
3. คำนวณค่า reproducibility ที่แต่ละความเข้มข้น โดยรายงานเป็นค่า SD หรือ %RSD

ตารางที่ 2.2 เกณฑ์กำหนดโดยทั่วไปของ Precision

ความเข้มข้นของสารที่ต้องการทดสอบในตัวอย่าง	RSD, (%)
100%	1.3
10%	2.8
1%	2.7
0.1%	3.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นของสารที่ต้องการทดสอบในตัวอย่าง	RSD, (%)
100 ppm	5.3
10 ppm	7.3
1 ppm	11
100 ppb	15
10 ppb	21
1 ppb	30

7. **Ruggedness or Robustness** หมายถึง การเปลี่ยนแปลงของผลการทดสอบที่ได้จากการทดสอบตัวอย่างเดียวกันภายใต้ตัวแปรของสภาวะการทำงานปกติ ได้แก่ เครื่องมือที่มีคุณลักษณะต่างกัน ผู้ทดสอบที่มีประสบการณ์ต่างกัน สารเคมีและสารมาตรฐานต่างกัน สภาวะแวดล้อมของการทดสอบต่างกัน ค่า Ruggedness or Robustness ที่ดีจะต้องมีค่าต่ำๆ

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Ding และคณะ [5]. การพัฒนาเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (ion chromatography) ซึ่งเป็นระบบ non-suppressed ให้สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งกรดอินทรีย์ (organic acids) และไอออนลบของสารอนินทรีย์ (inorganic anions) ในชาได้แก่ aectic acid, ascorbic acid, succinic acid, formic acid, malic acid, citric acid, tartaric acid, chloride, phosphate และsulfate ได้ในเวลาเดียวกัน โดยใช้ Anion-exchange column (Shim-pack IC A1) ที่อุณหภูมิ 40 °C สารละลายเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมระหว่าง 0.75 mM potassium hydrogenphthalate และ 0.25 mM phthalic acid อัตราการไหลเท่ากับ 1.0 ml/min สามารถทำการแยกและวิเคราะห์ได้โดยไม่มีสิ่งรบกวนจากสารประกอบอื่นๆ วิธีการวิเคราะห์นี้เป็นวิธีที่ง่าย ไม่ต้องมีการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยาก และมี detection limits (S/N=3) สำหรับ organic acids เท่ากับ 0.044-0.19 ppm และ inorganic anions เท่ากับ 0.48 -1.34 ppm

Jinshu และคณะ [6]. การออกแบบการทดลองเป็นแบบ central composite face-centered เพื่อทำการพัฒนาและปรับสภาวะเพื่อการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ (organic acids) ใน tobaccoได้แก่ aectic acid , lactic acid, pyroglutamic acid, succinic acid, formic acid, malic acid, citric acid, malonic acid และ phosphoric acid โดยใช้ Dionex-100 ion chromatographic ซึ่งเป็นระบบ ion-suppressed และ Bio-Red Aminex HPX-87H column ทำการตรวจวัดโดยใช้ conductivity detecterการปรับสภาวะเพื่อทำการแยกและวิเคราะห์กรดอินทรีย์ทั้ง 13 ชนิด ทำได้โดยปรับเปลี่ยน 2 ปัจจัย คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิของคอลัมน์ และความแรงของสารละลายเคลื่อนที่ ซึ่งสารละลายเคลื่อนที่คือ heptafluorobutyric, HFBA อัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่ที่ใช้ เท่ากับ 0.6 ml/min และใช้เวลาในการวิเคราะห์เพียง 18 นาทีหรือน้อยกว่า การเตรียมตัวอย่างทำได้โดยนำ tobacco มา 2 g. ทำการสกัดด้วย 100 ml ของ 5 mM sulfuric acid เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วทำการกรองและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

Alcazar และคณะ [7]. ทำการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ (organic acids) ได้แก่ aectic acid, ascorbic acid, succinic acid, malic acid, citric acid และไอออนลบของสารอนินทรีย์ (inorganic anions) ได้แก่ chloride, phosphate โดยใช้ Water-510 ion chromatographic ซึ่งเป็นระบบ non-suppressed และ Anion-exchange column (PRP-X110) ที่อุณหภูมิ 40 °C มีสารละลายเคลื่อนเป็นสารละลายผสมระหว่าง 0.6 mM potassium hydrogenphthalate และ 4%(v/v) acetonitrile ทำการตรวจวัดโดยใช้ conductivity detection วิธีการวิเคราะห์นี้ไม่ต้องมีการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยากและสามารถนำประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ชาและกาแฟได้มากมายหลายชนิด

Jenny และคณะ[8]. ได้พัฒนาเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (ion chromatography)ซึ่งเป็นระบบ ion-suppressed ให้สามารถทำการวิเคราะห์ไอออนบวกของสารอนินทรีย์ (inorganic cation)ได้รวดเร็วมากยิ่งขึ้น โดยการเพิ่มอุณหภูมิของคอลัมน์ถึง 90 °C และใช้ Dionex CS12A column สารละลายเคลื่อนที่ที่ใช้คือ methanesulfonic acid, MSA อัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่ที่ใช้สูงขึ้นถึง 1.3 ml/min จากปกติ 0.5 ml/min การเพิ่มอุณหภูมิของคอลัมน์ทำให้เวลาในการเคลื่อนที่ของไอออนบวกของสารอนินทรีย์(inorganic cation)ภายในคอลัมน์น้อยลง ดังนั้นทำให้ใช้เวลาในวิเคราะห์เพียง 5 นาที เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะปกติที่ใช้เวลา 12 นาที ลดเวลาในการวิเคราะห์ถึง 60%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. สารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ เข้มข้น 1000 ppm เกรดวิเคราะห์ IC ของบริษัท Merck
2. สารละลายมาตรฐานคลอไรด์ เข้มข้น 1000 ppm เกรดวิเคราะห์ IC ของบริษัท Merck
3. สารละลายมาตรฐานโบรไมด์ เข้มข้น 1000 ppm เกรดวิเคราะห์ IC ของบริษัท Merck
4. สารละลายมาตรฐานไนเทรต เข้มข้น 1000 ppm เกรดวิเคราะห์ IC ของบริษัท Merck
5. สารละลายมาตรฐานฟอสเฟต เข้มข้น 1000 ppm เกรดวิเคราะห์ IC ของบริษัท Merck
6. สารละลายมาตรฐานซัลเฟต เข้มข้น 1000 ppm เกรดวิเคราะห์ IC ของบริษัท Merck
7. โซเดียมไนไทรต์ ชนิดผง เกรดวิเคราะห์ ของบริษัท Carlo
8. โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต ชนิดผง เกรดวิเคราะห์ ของบริษัท Carlo
9. โซเดียมคาร์บอเนต ชนิดผง เกรดวิเคราะห์ ของบริษัท Ajax
10. สารละลายอะซีโตน เกรดวิเคราะห์ ของบริษัท Carlo
11. สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น เกรดวิเคราะห์ ของบริษัท Carlo

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่อง ion chromatograph (IC) (Metrohmรุ่น MIC-3)
2. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น AC 210)
3. เครื่อง ultrasonic bath (Fisher Scientific รุ่น KLSC09)
4. ชุดเครื่องกรองสูญญากาศพร้อมขวดสูญญากาศขนาด 1 l. พร้อมด้วยเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 0.45µm.
5. เข็มฉีดพลาสติกพร้อมชุดกรอง พร้อมด้วยเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 0.45µm.
6. ไมโครปิเปตต์ ขนาด 20-200 และ 100-1000 µl.
7. เทอร์โมมิเตอร์
8. เครื่องให้ความร้อน
9. บีกเกอร์ ขนาด 25, 50 ml.
10. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 , 25 และ 2000 ml.
11. กระบอกตวงขนาด 10, 500 ml.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. ช้อนตักสาร
13. หลอดหยด
14. กระบอกน้ำกลั่น
15. เทอร์โมมิเตอร์

3.3 การเตรียมสารละลาย

3.3.1 การเตรียมสารละลายเคลื่อนที่ (mobile phase) ผสมระหว่างโซเดียมคาร์บอเนตกับโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (Na_2CO_3/$NaHCO_3$) ความเข้มข้น 1.2/2.0 mM

1. ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต กับโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนตมา 0.2756 g. และ 0.3360 g. ตามลำดับ ละลายด้วยน้ำความบริสุทธิ์สูง (ultrapure water) ประมาณ 80-100 ml.
2. เติมอะซีโตนจำนวน 100 ml. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงจนได้ 2 l. ในขวดวัดปริมาตรผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน
3. นำสารละลายที่ได้ไปไล่ก๊าซที่อาจมีอยู่ในสารละลายโดยแช่ในเครื่อง ultrasonic 30 นาที
4. นำมาผ่านการกรองโดยใช้เมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 0.45 μm. ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ
5. นำมาแช่ในเครื่อง ultrasonic นาน 5 นาที

3.3.2 การเตรียมสารละลายเคลื่อนที่ (mobile phase) ผสมระหว่างโซเดียมคาร์บอเนต กับโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (Na_2CO_3/$NaHCO_3$) ความเข้มข้น 2.2/1.5 mM

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต กับโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนตมาเป็น 0.4664 g. และ 0.2520 g. ตามลำดับ แล้วเตรียมเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1

3.3.3 การเตรียมสารละลายเคลื่อนที่ (mobile phase) ผสมระหว่างโซเดียมคาร์บอเนต กับโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (Na_2CO_3/$NaHCO_3$) ความเข้มข้น 3.2/1.0 mM

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต กับโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนตมาเป็น 0.6783 g. และ 0.1680 g. ตามลำดับ แล้วเตรียมเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1

3.3.4 การเตรียมสารละลายเคลื่อนที่ (mobile phase) ผสมระหว่างโซเดียมคาร์บอเนต กับโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (Na_2CO_3/$NaHCO_3$) ความเข้มข้น 4.2/0.5 mM

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต กับโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนตมาเป็น 0.8904 g. และ 0.0840 g. ตามลำดับ แล้วเตรียมเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.5 การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริก 80 mM สำหรับซัพเพรสเซอร์

ปิเปตต์กรดซัลฟิวริกเข้มข้น มา 4 ml. ลงในน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูง ปริมาตร 1000 ml. ในขวดวัดปริมาตร ผสมสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน บรรจุลงในขวดเพื่อใช้ในการซัพเพรสสารละลายเคลื่อนที่ให้มีค่าการนำไฟฟ้าต่ำสุด เพื่อลดสัญญาณรบกวนที่มีต่อสัญญาณของไอออนที่ทำการวิเคราะห์

3.3.6 การเตรียมสารละลายสต็อกของไนไทรต์มาตรฐานเข้มข้น 1000 ppm

ชั่งโซเดียมไนไทรต์ 0.0375 g. ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 25 ml. ละลายน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูง ถ่ายใส่ขวดวัดวัดปริมาตรขนาด 25 ml. ล้างบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูง ใส่ในขวดวัดปริมาตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงจนถึงขีดบอกปริมาตร

3.3.7 การเตรียมสารละลายสต็อกของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟตมาตรฐาน เข้มข้น 100 ppm

ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์เข้มข้น 1000 ppm มา 2.5 ml. ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงจนถึงขีดบอกปริมาตร

สารละลายสต็อกของคลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และซัลเฟตมาตรฐานเข้มข้น 100 ppm ทำเช่นกันแต่เปลี่ยนจากสารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ เป็นสารละลายมาตรฐานคลอไรด์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และซัลเฟต ตามลำดับ

3.3.8 การเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต เข้มข้น 0.5, 5, 0.1, 0.1, 1.5, 5 และ 5 ppm

ปิเปตต์สารละลายสต็อกของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และซัลเฟต เข้มข้น 100 ppm มา 125, 1250, 25, 25, 375, 1250 และ1250 µl. ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงจนถึงขีดบอกปริมาตร

3.3.9 การเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมระหว่างฟลูออไรด์ คลอไรด์ โบรไมด์ ไนไทรต์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต สำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ปิเปตต์สารละลายสต็อกของฟลูออไรด์ คลอไรด์ โบรไมด์ ไนไทรต์ ไนเทรต ฟอสเฟต และซัลเฟต เข้มข้น 100 ppm มา 25, 250, 2.5, 2.5, 125, 250 และ250 µl. ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงจนถึงขีดบอกปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ปิเปตต์สารละลายสต็อกของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และซัลเฟต เข้มข้น 100 ppm มา 75, 750, 12.5, 12.5, 250, 750 และ750 µl. ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงจนถึงขีดบอกปริมาตร

3. ปิเปตต์สารละลายสต็อกของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และซัลเฟต เข้มข้น 100 ppm มา 125, 1250, 25, 25, 375, 1250 และ1250 µl. ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงจนถึงขีดบอกปริมาตร

4. ปิเปตต์สารละลายสต็อกของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และซัลเฟต เข้มข้น 100 ppm มา 175, 1750, 125, 125, 500, 1750 และ1750 µl. ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงจนถึงขีดบอกปริมาตร

5. ปิเปตต์สารละลายสต็อกของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และซัลเฟต เข้มข้น 100 ppm มา 225, 2250, 250, 250, 625, 2250 และ2250 µl. ตามลำดับ ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 ml. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงจนถึงขีดบอกปริมาตร

ตารางที่ 3.1 แสดงความเข้มข้นของสารมาตรฐานผสมที่ใช้เตรียมกราฟมาตรฐาน

ขวดที่	ความเข้มข้น (ppm)						
	ฟลูออไรด์	คลอไรด์	ไนไทรต์	โบรไมด์	ไนเทรต	ฟอสเฟต	ซัลเฟต
1	0.1	1	0.01	0.01	0.5	1	1
2	0.3	3	0.05	0.05	1	3	3
3	0.5	5	0.1	0.1	1.5	5	5
4	0.7	7	0.5	0.5	2	7	7
5	0.9	9	1	1	2.5	9	9

3.3.10 การเตรียมสารละลายตัวอย่างชา

ชั่งตัวอย่างชาที่อบแห้งและบดละเอียดแล้วจำนวน 0.5 g. ใส่บีกเกอร์ขนาด 50 ml. เติมน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูง (ultrapure water) ที่อุณหภูมิ 100 °C 20 ml. หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็น (สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ใบชาสำหรับชง) และนำเข้มฉีดยาพลาสติกพร้อมชุดกรองซึ่งมีเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 0.45 µm. กรองสารละลายตัวอย่างมา 1 ml. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 ml.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ในชาโดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

3.4.1.1 ศึกษาความแรงของสารละลายเคลื่อนที่ (eluent strength)

1. นำสารละลายมาตรฐานผสม ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.8 ไปฉีดเข้าเครื่อง IC โดยใช้สภาวะของเครื่องดังนี้

   คอลัมน์ : IC anion column รุ่น Metrosep A supp 5-150 (polyvinyl alcohol with quaternary ammonium) ขนาด 4.00 x 150 mm.

   สารละลายเคลื่อนที่ : 1.2/2.0 mM Na_2CO_3/$NaHCO_3$ ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.1

   อัตราการไหล : 0.7 ml/min

   เครื่องวัดสัญญาณ : conductivity detector

2. ทำการฉีดซ้ำ 6 ครั้ง และทำการบันทึกโครมาโทแกรมที่ได้
3. ทำการทดลองซ้ำเช่นเดิม แต่เปลี่ยนความแรงของสารละลายเคลื่อนที่ Na_2CO_3/$NaHCO_3$ เป็น 2.2/1.5 mM, 3.2/1.0 mM และ 4.2/0.5 mM ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.2, 3.33 และ 3.34
4. คำนวณหาค่า capacity fector (k′) ซึ่งคำนวณได้ดังนี้

$$k' = \frac{t_R - t_m}{t_m} \quad \ldots\ldots (3.1)$$

5. พลอตกราฟระหว่างค่า capacity fector (k′) ของสารมาตรฐานแต่ละชนิดกับความแรงของสารละลายเคลื่อนที่ (eluent strength) เพื่อหาความแรงของสารละลายเคลื่อนที่ที่เหมาะสมที่สุด

3.4.1.2 ศึกษาอัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่ (flow rate)

1. นำสารละลายมาตรฐานผสม ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.8 ไปฉีดเข้าเครื่อง IC และทำการฉีดซ้ำ 6 ครั้ง โดยใช้สภาวะของเครื่องดังนี้

   คอลัมน์ : IC anion column รุ่น Metrosep A supp 5-150 (polyvinyl alcohol with quaternary ammonium) ขนาด 4.00 x 150 mm.

   สารละลายเคลื่อนที่ : Na_2CO_3/$NaHCO_3$ 3.2/1.0 mM ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.3

   อัตราการไหล : 0.4 ml/min

   เครื่องวัดสัญญาณ : conductivity detector

2. ทำการฉีดซ้ำ 6 ครั้ง และทำการบันทึกโครมาโทแกรมที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ทำการทดลองซ้ำเช่นเดิม แต่ปรับอัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่เป็นแปรค่าเป็น 0.5, 0.6 และ 0.7 ml/min

4. คำนวณหาค่า theoretical plate number (N) และ Height equivalent of a theoretical plate (HETP) ของสารมาตรฐานแต่ละชนิด ซึ่งคำนวณได้ดังนี้

$$N = 5.54\left(\frac{t_R}{W_{1/2}}\right)^2 \quad \ldots\ldots (3.2)$$

$$H = \frac{L}{N} \quad \ldots\ldots (3.3)$$

5. ทำการสร้าง van Deemter plot โดยพลอตระหว่าง Height equivalent of a theoretical plate (HETP) ของสารมาตรฐานแต่ละชนิด และ flow rate เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุด

3.4.2 การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

3.4.2.1 ศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity)

1. ทำการฉีดสารละลายมาตรฐานผสมทั้ง 5 ระดับ ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.9 เข้าเครื่อง IC ทำการฉีดซ้ำระดับละ 6 ครั้ง โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด ควรเรียงลำดับจากความเข้มข้นน้อยไปมาก ระหว่างแต่ละสารมาตรฐาน ควรเดินเครื่อง และฉีดน้ำกลั่นที่ความบริสุทธิ์สูงล้างสารที่อาจตกค้างในคอลัมน์ เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีไอออนค้างอยู่ภายในคอลัมน์ ก่อนทำการวิเคราะห์ครั้งต่อไป

2. คำนวณหาค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้พีกของสารมาตรฐานแต่ละชนิดที่ได้จากการวิเคราะห์ ซึ่งคำนวณได้ดังนี้

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad \ldots\ldots (3.4)$$

3. สร้างกราฟมาตรฐานฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต โดยพลอตระหว่างพื้นที่ใต้พีกกับค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานแต่ละชนิด

4. คำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์, Regression Coefficient (r^2) ของกราฟมาตรฐานแต่ละชนิด ซึ่งคำนวณได้ ดังนี้

$$r^2 = \frac{N\sum xy - (\sum x)(\sum y)}{(N\sum x^2 - \sum x^2)(N\sum y^2 - \sum y^2)} \quad \ldots\ldots (3.5)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2.2 ศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (limit of detection)

1. ทำการฉีดสารละลายสารมาตรฐานผสมทั้ง 3 ระดับ ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.9 (ขวดที่1,3,5) เข้าเครื่อง IC ทำการฉีดซ้ำระดับละ 6 ครั้ง โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด
2. คำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานแต่ละชนิด โดยนำพื้นที่ใต้พีกที่ได้จากการวิเคราะห์พลอตลงในกราฟมาตรฐานของสารแต่ละชนิด
3. คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) ของความเข้มข้นของสารมาตรฐานแต่ละชนิดที่ได้จากการวิเคราะห์ ซึ่งคำนวณได้ดังสมการ 3.4
4. คำนวณหาค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของความเข้มข้นสารมาตรฐานแต่ละชนิด ซึ่งคำนวณได้ดังนี้

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}} \quad \ldots\ldots (3.6)$$

5. สร้างกราฟระหว่าง ค่า SD ของความเข้มข้นสารมาตรฐาน กับความเข้มข้น ลากเส้นกราฟตัดแกน y ค่า SD ที่อ่านจากจุดตัด คือ SD ของสารละลายแบลงค์ของสารมาตรฐาน(SD_0) แต่ละชนิด
6. คำนวณหาค่า LOD (limit of detection) ของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต ซึ่งคำนวณได้ดังนี้

$$LOD = 3\ SD_0 \quad \ldots\ldots (3.7)$$

3.4.2.3 ศึกษาความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์

1. ทำการฉีดสารละลายมาตรฐาน ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.8 เข้าเครื่อง IC ทำการฉีดซ้ำ 6 ครั้ง โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด
2. คำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานแต่ละชนิด โดยนำพื้นที่ใต้พีกที่ได้จากการวิเคราะห์พลอตลงในกราฟมาตรฐานของสารแต่ละชนิด
3. คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) และค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของความเข้มข้นของสารมาตรฐานแต่ละชนิด ที่ได้จากการวิเคราะห์ ซึ่งคำนวณได้ดังสมการ 3.4 และ 3.6
4. คำนวณหาค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) ของความเข้มข้นสารมาตรฐานฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต ซึ่งคำนวณได้ดังนี้

$$\%\ RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \quad \ldots\ldots (3.8)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2.4 ศึกษาความแม่น (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์

1. ทำการฉีดสารละลายตัวอย่างชา ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.10 เข้าเครื่อง IC ทำการฉีดซ้ำ 6 ครั้ง โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด
2. ทำการปิเปตต์สารละลายสต็อกของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต เข้มข้น 100 ppm มา 75, 1000, 25, 25, 250, 750 และ750 µl. ตามลำดับ เติมลงในสารละลายตัวอย่างข้อ 1 แล้วปรับปริมาตรเป็น 25 ml. ด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูง
3. ทำการฉีดสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 2 เข้าเครื่อง IC ทำการฉีดซ้ำ 6 ครั้ง โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด
4. คำนวณหาค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของสารตัวอย่างแต่ละชนิด (ข้อ 1) และความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานแต่ละชนิด (ข้อ 3) ที่ได้จากการวิเคราะห์ ซึ่งคำนวณได้ดังสมการ 3.4
5. คำนวณหาค่าร้อยละของการได้คืนกลับ (% recovery) ของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต ซึ่งคำนวณได้ดังนี้

$$\% \text{ recovery} = \frac{C_{splike} - C_{sample}}{C_{add}} \times 100 \qquad \ldots\ldots (3.9)$$

3.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชา

1. ทำการฉีดสารละลายตัวอย่างชาที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.10 เข้าเครื่อง IC ทำการฉีดซ้ำตัวอย่างละ 6 ซ้ำ โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด
2. คำนวณหาค่าความเข้มข้นของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟตในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาทั้ง 4 ชนิด โดยนำพื้นที่ใต้พีกที่ได้จากการวิเคราะห์พลอตลงในกราฟมาตรฐานของสารแต่ละชนิด และนำความเข้มข้นที่อ่านได้จากกราฟไปคำนวณหาความเข้มข้นของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต ซึ่งคำนวณได้ดังนี้

$$C_1 = \frac{C_2 \times V_2}{V_1} \qquad \ldots\ldots (3.10)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. คำนวณหาค่าคำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) และค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของความเข้มข้นฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟตในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาแต่ละชนิด ซึ่งคำนวณได้ดังสมการ 3.4 และ 3.6
4. คำนวณหาค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของความเข้มข้นฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟตในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาแต่ละชนิด ซึ่งคำนวณได้ดังสมการ 3.8

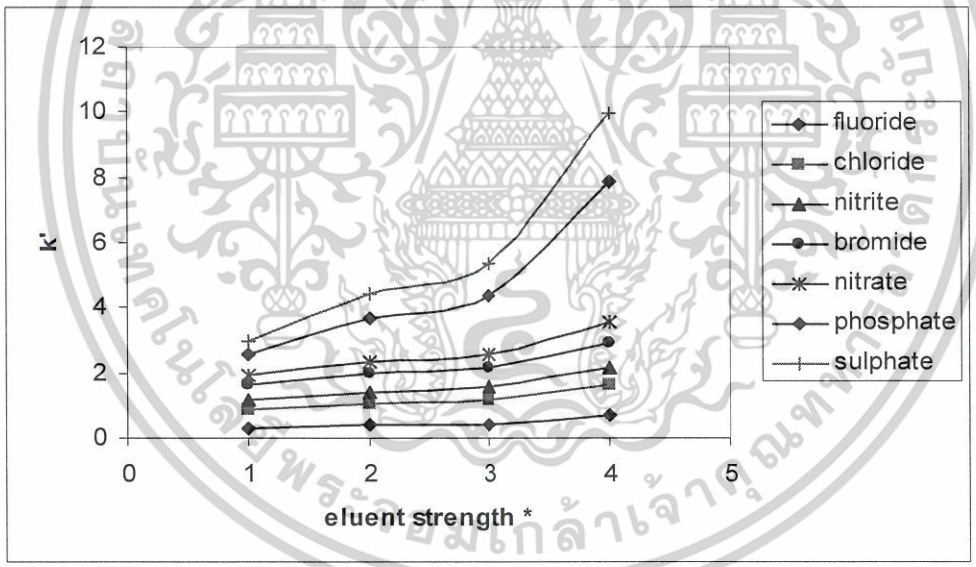
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ในชาโดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

4.1.1 ศึกษาความแรงของสารละลายเคลื่อนที่ (eluent strength)

ศึกษาโดยใช้สารละลายมาตรฐานผสม ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.8 ฉีดซ้ำความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ แต่เปลี่ยนสารละลายเคลื่อนที่ Na_2CO_3/$NaHCO_3$ เป็น 1.2/2.0 mM, 2.2/1.5 mM, 3.2/1.0 mM และ 4.2/0.5 mM พลอตกราฟระหว่างค่า capacity fector (k′) ของสารมาตรฐานแต่ละชนิดกับความแรงของสารละลายเคลื่อนที่ (eluent strength) ดังแสดงในรูปที่ 4.1(ตารางที่ ก.1- ก.4)



รูปที่ 4.1 แสดงผลการศึกษาความแรงของสารละลายเคลื่อนที่ (eluent strength)

***หมายเหตุ** eluent strength 1 คือ 1.2/2.0 mM Na_2CO_3/$NaHCO_3$, eluent strength 1 คือ 2.2/1.5 mM Na_2CO_3/$NaHCO_3$, eluent strength 3 คือ 3.2/1.0 mM Na_2CO_3/$NaHCO_3$, eluent strength 4 คือ 4.2/0.5 mM Na_2CO_3/$NaHCO_3$

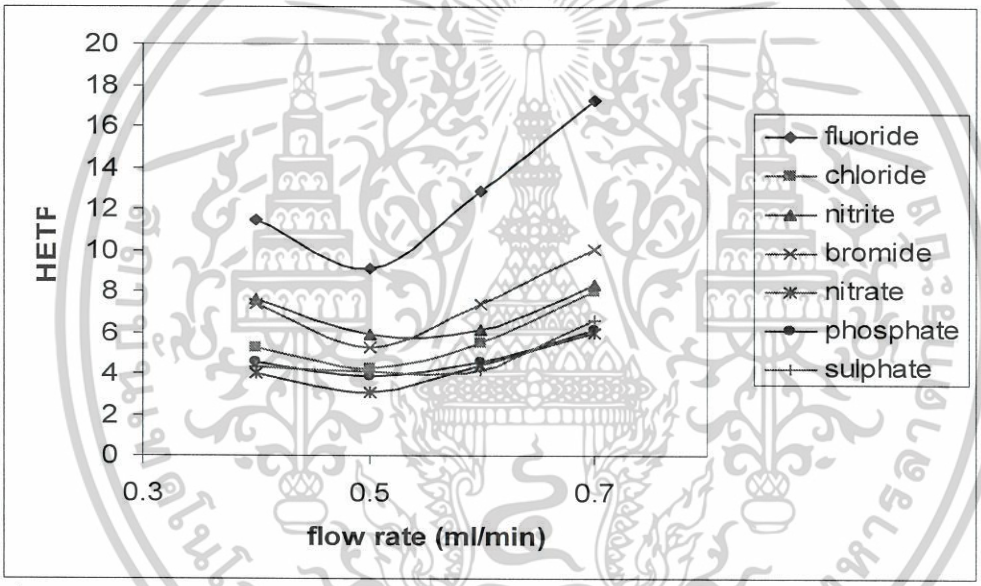
จากรูปที่ 4.1 แสดงผลการศึกษาความแรงของสารละลายเคลื่อนที่ (eluent strength) ซึ่งพบว่าความแรงของสารละลายเคลื่อนที่ (eluent strength) Na_2CO_3/$NaHCO_3$ 3.2/1.0 mM สามารถแยกไอออนลบของสารอนินทรีย์ออกจากกันได้ชัดเจน สมบูรณ์ และใช้เวลาน้อยที่สุด ดังนั้นความแรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของสารละลายเคลื่อนที่ (eluent strength) Na_2CO_3/$NaHCO_3$ 3.2/1.0 mM เหมาะสมที่สุดที่จะใช้ในการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ในชา

4.1.2 ศึกษาอัตราเร็วของสารละลายเคลื่อนที่ (flow rate)

ศึกษาโดยใช้สารละลายมาตรฐานผสม ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.8 ฉีดซ้ำความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ แต่ปรับอัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่ (flow rate) เป็น 0.4, 0.5, 0.6และ0.7 ml/min ทำการสร้าง van Deemter plot โดยพลอตระหว่าง Height equivalent of a theoretical plate (HETP) ของสารมาตรฐานแต่ละชนิด และ flow rate ดังแสดงในรูปที่ 4.2 (ตารางที่ ก.5- ก.8)



รูปที่ 4.2 แสดง van Deemter plot เพื่อศึกษาอัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่ (flow rate)

จากรูปที่ 4.2 แสดง van Deemter plot เพื่อศึกษาอัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่ (flow rate) ซึ่งพบว่าอัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่ (flow rate)เท่ากับ 0.5 ml/min ทำให้ค่า HETP ของไอออนลบของสารอนินทรีย์ มีค่าต่ำสุด (N มีค่ามากสุด พีกที่ได้แคบ) ดังนั้นอัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่ (flow rate)เท่ากับ 0.5 ml/min จึงเหมาะสมที่สุดที่จะใช้ในการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ในชา

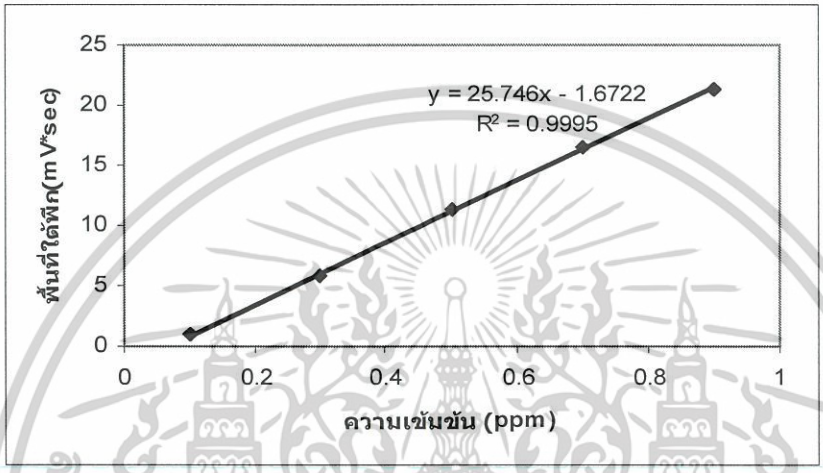
4.2 การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

4.2.1 ศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity)

ศึกษาโดยใช้สารละลายมาตรฐานผสมทั้ง 5 ระดับความเข้มข้น ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.9 ฉีดซ้ำความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ สารละลายเคลื่อนที่ Na_2CO_3/$NaHCO_3$

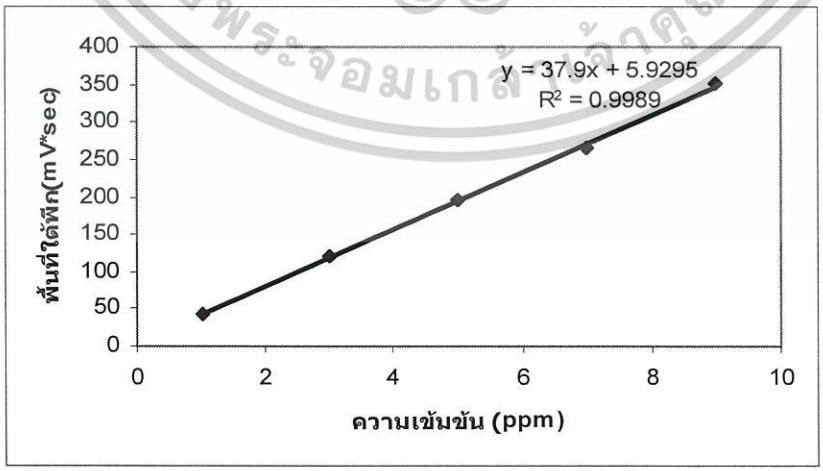
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2/1.0 mM และอัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่ (flow rate) 0.5 ml/min ทำการสร้างกราฟมาตรฐานฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และซัลเฟตโดยพลอตระหว่างพื้นที่ใต้พีกกับค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานแต่ละชนิด และคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ ดังแสดงในรูปที่ 4.3-4.9 (ตารางที่ ก.9- ก.13)



รูปที่ 4.3 แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานฟลูออไรด์

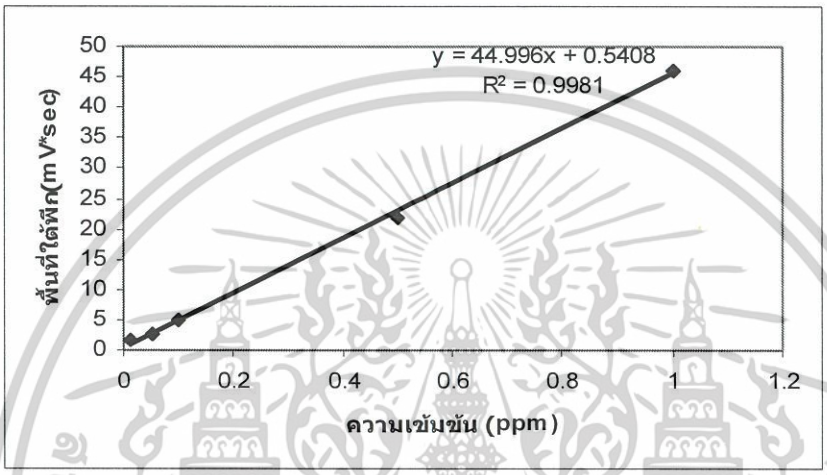
จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.3 โดยจะแสดงถึงความสามารถของระบบที่ให้ผลการทดลองเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.1-0.9 ppm โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ 0.9995 ซึ่งโดยทั่วไปยอมรับค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ที่ 0.999 ถึง 0.995



รูปที่ 4.4 แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานคลอไรด์

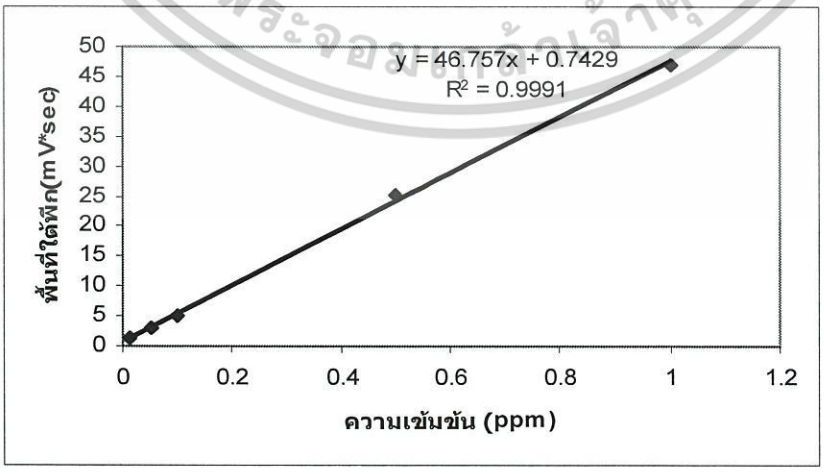
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.4 โดยจะแสดงถึงความสามารถของระบบที่ให้ผลการทดลองเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานคลอไรด์ ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน คลอไรด์ เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 1-9 ppm โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ 0.9989 ซึ่งโดยทั่วไปยอมรับค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ที่ 0.999 ถึง 0.995



รูปที่ 4.5 แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานไนไทรต์

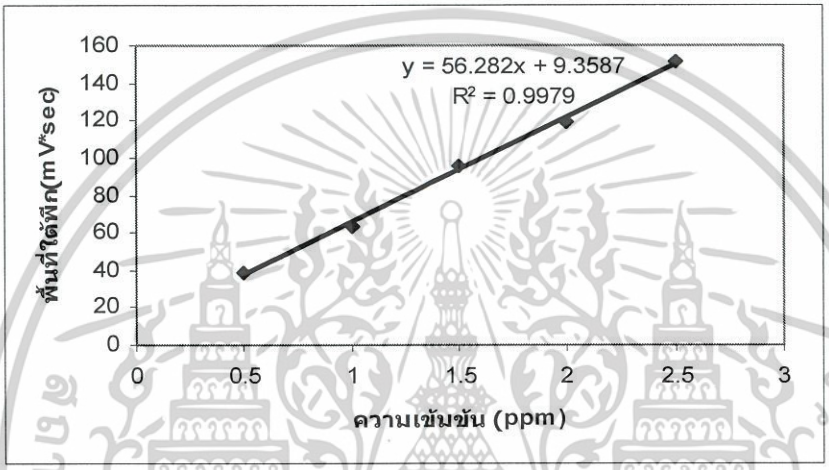
จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.5 โดยจะแสดงถึงความสามารถของระบบที่ให้ผลการทดลองเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไทรต์ ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ไนไทรต์ เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.01-1 ppm โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ 0.9981 ซึ่งโดยทั่วไปยอมรับค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ที่ 0.999 ถึง 0.995



รูปที่ 4.6 แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานโบรไมด์

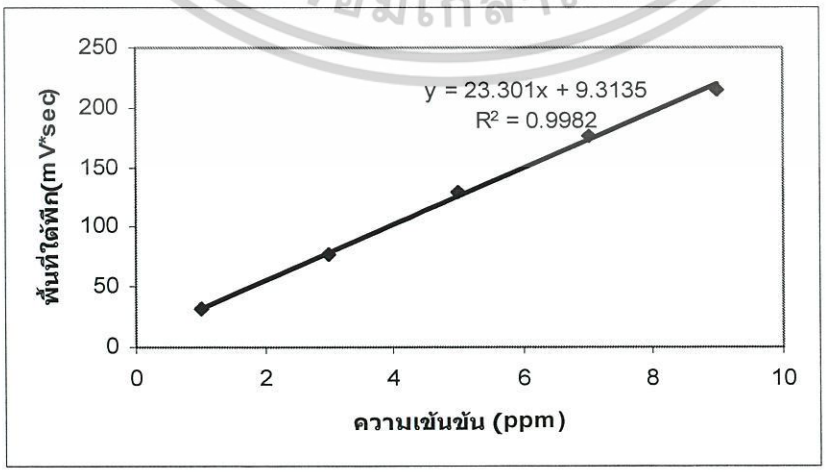
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.6 โดยจะแสดงถึงความสามารถของระบบที่ให้ผลการทดลองเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโบรไมด์ ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน โบรไมด์ เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.01-1 ppm โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ 0.9991 ซึ่งโดยทั่วไปยอมรับค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ที่ 0.999 ถึง 0.995



รูปที่ 4.7 แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานไนเทรต

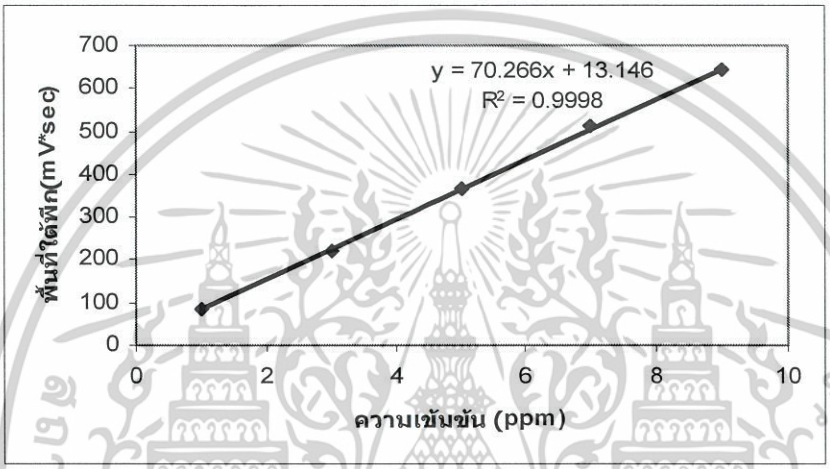
จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.7 โดยจะแสดงถึงความสามารถของระบบที่ให้ผลการทดลองเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนเทรต ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนเทรต เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.5-2.5 ppm โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ 0.9979 ซึ่งโดยทั่วไปยอมรับค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ที่ 0.999 ถึง 0.995



รูปที่ 4.8 แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity)ของกราฟมาตรฐานฟอสเฟต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.8 โดยจะแสดงถึงความสามารถของระบบที่ให้ผลการทดลองเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 1-9 ppm โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ 0.9982 ซึ่งโดยทั่วไปยอมรับค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ที่ 0.999 ถึง 0.995



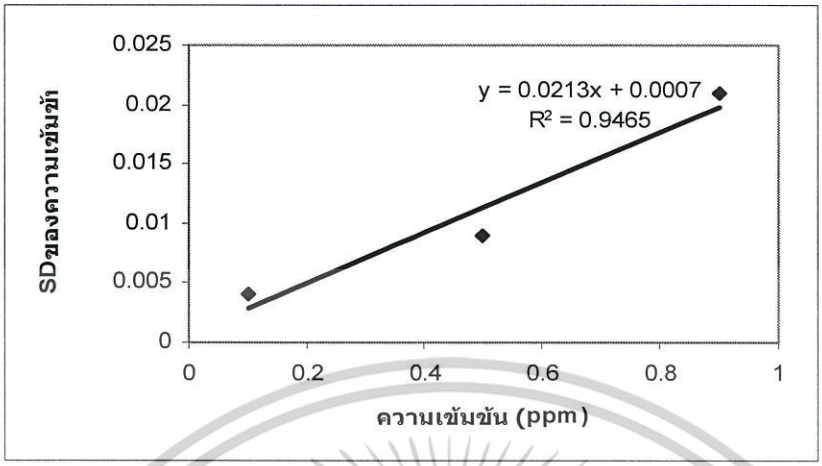
รูปที่ 4.9 แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานซัลเฟต

จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.9 โดยจะแสดงถึงความสามารถของระบบที่ให้ผลการทดลองเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานซัลเฟต ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานซัลเฟต เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 1-9 ppm โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ 0.9998 ซึ่งโดยทั่วไปยอมรับค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ที่ 0.999 ถึง 0.995

4.2.2 ศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (limit of detection)

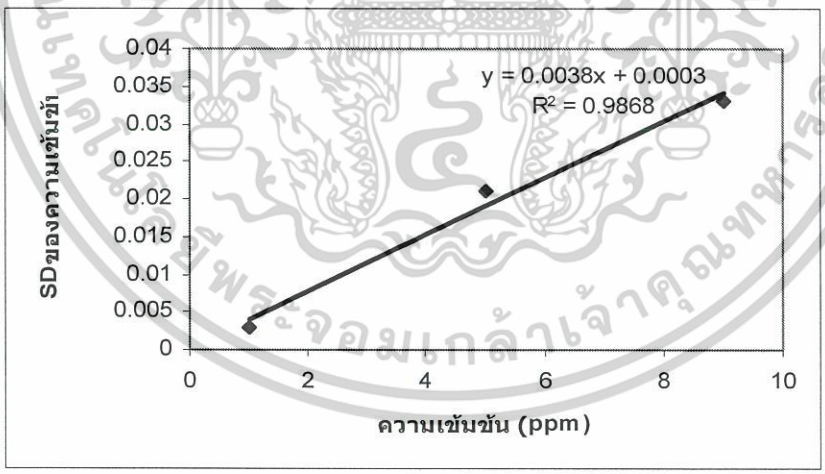
ศึกษาโดยใช้สารละลายมาตรฐานผสม ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.9 (ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง สูง) ฉีดซ้ำความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด พลอตกราฟระหว่างค่า SD ของความเข้มข้น กับความเข้มข้น ดังแสดงในรูปที่ 4.10-4.16 (ตารางที่ ก.14- ก.16)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของฟลูออไรด์

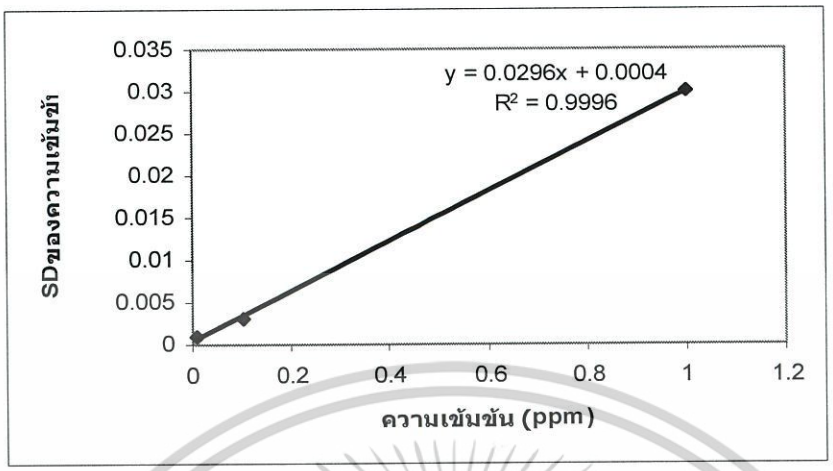
จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.10 โดยจะแสดงถึงความเข้มข้นระดับต่ำสุดของฟลูออไรด์ที่ต้องการวิเคราะห์ในตัวอย่างที่สามารถตรวจพบ โดยไม่จำเป็นต้องหาปริมาณได้ มีค่าเท่ากับ $3SD_o$ (SD_o = ค่า SD ที่อ่านได้จากจุดตัดของกราฟ) ซึ่งพบว่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของฟลูออไรด์เท่ากับ 0.002 ppm



รูปที่ 4.11 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของคลอไรด์

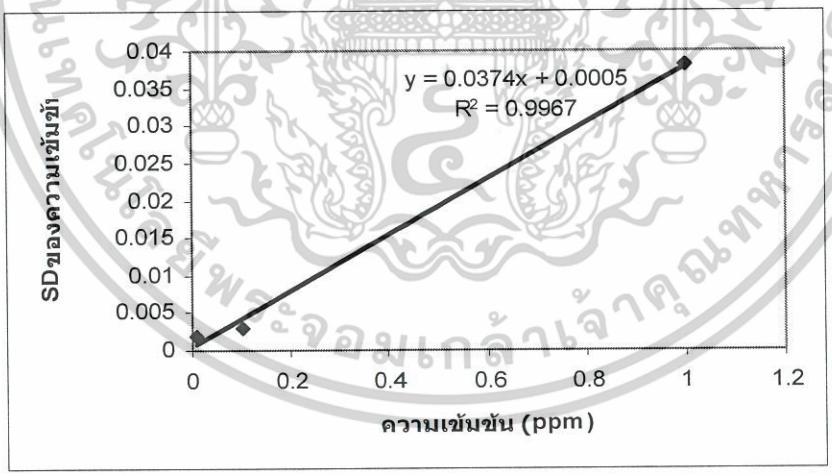
จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.11 โดยจะแสดงถึงความเข้มข้นระดับต่ำสุดของคลอไรด์ที่ต้องการวิเคราะห์ในตัวอย่างที่สามารถตรวจพบ โดยไม่จำเป็นต้องหาปริมาณได้ มีค่าเท่ากับ $3SD_o$ (SD_o = ค่า SD ที่อ่านได้จากจุดตัดของกราฟ) ซึ่งพบว่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของคลอไรด์เท่ากับ 0.001 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของไนไทรต์

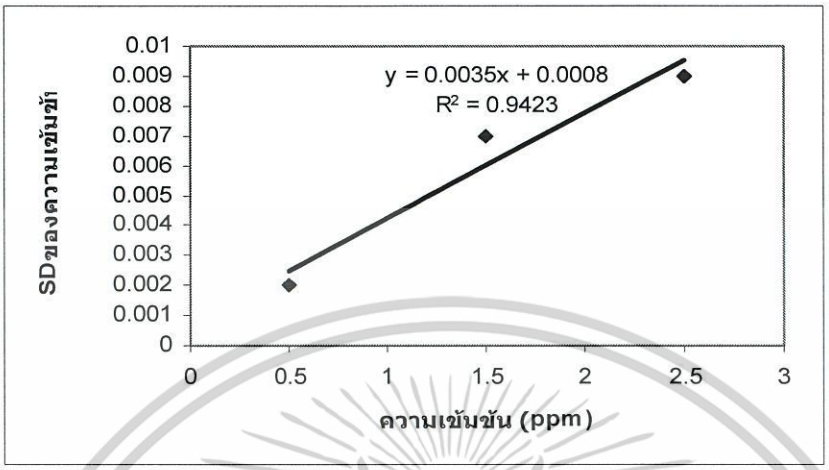
จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.12 โดยจะแสดงถึงความเข้มข้นระดับต่ำสุดของไนไทรต์ที่ต้องการวิเคราะห์ในตัวอย่างที่สามารถตรวจพบ โดยไม่จำเป็นต้องหาปริมาณได้ มีค่าเท่ากับ $3SD_0$ (SD_0 = ค่า SD ที่อ่านได้จากจุดตัดของกราฟ) ซึ่งพบว่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของ ไนไทรต์ เท่ากับ 0.003 ppm



รูปที่ 4.13 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของโบรไมด์

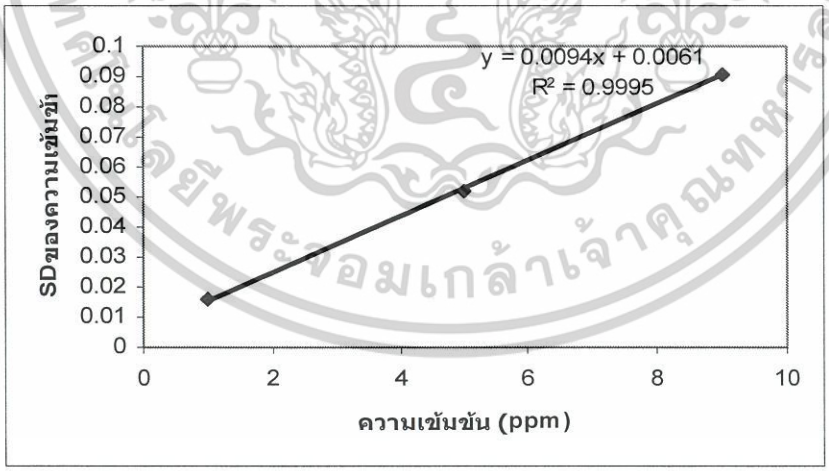
จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.13 โดยจะแสดงถึงความเข้มข้นระดับต่ำสุดของโบรไมด์ที่ต้องการวิเคราะห์ในตัวอย่างที่สามารถตรวจพบ โดยไม่จำเป็นต้องหาปริมาณได้ มีค่าเท่ากับ $3SD_0$ (SD_0 = ค่า SD ที่อ่านได้จากจุดตัดของกราฟ) ซึ่งพบว่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของโบรไมด์ เท่ากับ 0.002 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของไนเทรต

จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.14 โดยจะแสดงถึงความเข้มข้นระดับต่ำสุดของไนเทรตที่ต้องการวิเคราะห์ในตัวอย่างที่สามารถตรวจพบ โดยไม่จำเป็นต้องหาปริมาณได้ มีค่าเท่ากับ $3SD_0$ (SD_0 = ค่า SD ที่อ่านได้จากจุดตัดของกราฟ) ซึ่งพบว่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของไนเทรตเท่ากับ 0.002 ppm

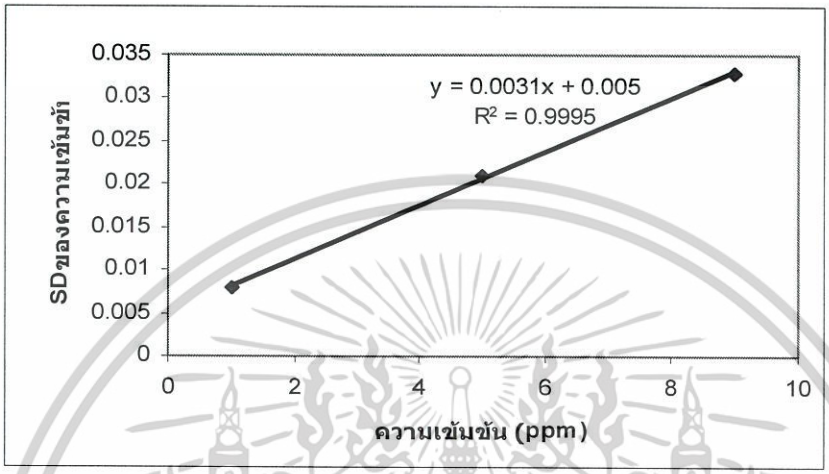


รูปที่ 4.15 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของฟอสเฟต

จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.15 โดยจะแสดงถึงความเข้มข้นระดับต่ำสุดของฟอสเฟตที่ต้องการวิเคราะห์ในตัวอย่างที่สามารถตรวจพบ โดยไม่จำเป็นต้องหาปริมาณได้ มีค่าเท่ากับ $3SD_0$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(SD_0 = ค่า SD ที่อ่านได้จากจุดตัดของกราฟ) ซึ่งพบว่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถสามารถวิเคราะห์ได้ของฟอสเฟต เท่ากับ 0.018 ppm



รูปที่ 4.16 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของซัลเฟต

จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.16 โดยจะแสดงถึงความเข้มข้นระดับต่ำสุดของซัลเฟตที่ต้องการวิเคราะห์ในตัวอย่างที่สามารถตรวจพบ โดยไม่จำเป็นต้องหาปริมาณได้ มีค่าเท่ากับ $3SD_0$ (SD_0 = ค่า SD ที่อ่านได้จากจุดตัดของกราฟ) ซึ่งพบว่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถสามารถวิเคราะห์ได้ของซัลเฟตเท่ากับ 0.015 ppm

4.2.3 ศึกษาความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์

ศึกษาโดยใช้สารละลายมาตรฐานผสม ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.8 ฉีดซ้ำความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด และคำนวณหาค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) ของความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต ดังแสดงในตารางที่ 4.1 (ตารางที่ ก.17- ก.18)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการศึกษาความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์

Compound	RSD (%) (n = 6)	
	Repeatability	Reproducibility
ฟลูออไรด์	2.01	6.16
คลอไรด์	0.46	1.39
ไนไทรต์	2.44	8.42
โบรไมด์	3.18	10.52
ไนเทรต	1.90	3.81
ฟอสเฟต	1.00	2.06
ซัลเฟต	0.38	0.56

จากตารางที่ 4.1 แสดงผลการศึกษาความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์ ซึ่งแสดงถึงความใกล้เคียงกันของผลวิเคราะห์ที่ทำการทดลองซ้ำหลายครั้ง โดยรายงานในรูปค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.01, 0.46, 2.44, 3.18, 1.90, 1.00 และ 0.38 ตามลำดับ สำหรับ repeatability และ มีค่าเท่ากับ 6.16, 1.39, 8.42, 10.52, 3.81, 2.06 และ 0.56 ตามลำดับ สำหรับ reproducibility

4.2.4 ศึกษาความแม่น (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์

ศึกษาโดยใช้สารละลายตัวอย่างชาที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.10 และทำการปิเปตต์สารละลายสต็อกของฟลูออไรด์ คลอไรด์ โบรไมด์ ไนไทรต์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต เข้มข้น 100 ppm มา 75, 1000, 25, 25, 250, 750 และ750 µl. ตามลำดับ เติมลงในสารละลายตัวอย่าง ฉีดซ้ำความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด และคำนวณหาค่าร้อยละของการได้คืนกลับ (% recovery) ของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต ดังแสดงในตารางที่ 4.2 (ตารางที่ ก.19- ก.22)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาความแม่น (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์

Compound	Recovery (%) (n = 6)			
	ใบชาเขียว	ชาเขียวพร้อมดื่ม	ใบชาดำ	ชาดำพร้อมดื่ม
ฟลูออไรด์	109 ± 1.60	108 ± 0.40	109 ± 0.55	109 ± 0.63
คลอไรด์	104 ± 0.89	106 ± 1.67	103 ± 0.45	102 ± 0.55
ไนไทรต์	110 ± 6.68	107 ± 2.59	109 ± 2.83	86 ± 2.07
โบรไมด์	111 ± 3.97	113 ± 3.13	113 ± 3.06	114 ± 3.78
ไนเทรต	112 ± 2.97	113 ± 0.52	113 ± 0.52	113 ± 0.52
ฟอสเฟต	110 ± 0.63	110 ± 0.63	111 ± 1.38	110 ± 0.63
ซัลเฟต	105 ± 0.98	105 ± 0.41	105 ± 0.41	105 ± 0.41

จากตารางที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาความแม่น (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ ซึ่งแสดงถึงความใกล้เคียงของค่าที่วัดได้กับค่าจริงของสารที่ต้องการวัดในสารตัวอย่างภายใต้วิธีการทดสอบเดียวกัน โดยรายงานในรูปค่าร้อยละของการได้คืนกลับ (% recovery) ของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต ซึ่งมีค่าเท่ากับ 109 ± 1.60, 104 ± 0.89, 110 ± 6.68, 111± 3.97, 112 ± 2.97, 110 ± 0.63, และ 105 ± 0.98 ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ใบชาเขียว มีค่าเท่ากับ 108 ± 0.40, 106 ± 1.67, 107 ± 2.59, 113 ± 3.13, 113 ± 0.52, 110 ± 0.63, และ 105 ± 0.41 ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาเขียวพร้อมดื่ม มีค่าเท่ากับ 109 ± 0.55, 103 ± 0.45, 109 ± 2.83, 113 ± 3.06, 113 ± 0.52, 110 ± 1.38, และ 105 ± 0.41 ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ใบชาดำ และมีค่าเท่ากับ 109 ± 0.63, 102 ± 0.55, 86 ± 2.07, 114 ± 3.78, 113 ± 0.52, 110 ± 0.63, และ 105 ± 0.41 ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาดำพร้อมดื่ม

4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชา

ทำการฉีดสารละลายตัวอย่างชา ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.10 ฉีดซ้ำความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด และคำนวณหาค่าความเข้มข้นของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟตในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาทั้ง 4 ชนิด ดังแสดงในตารางที่ 4.3 (ตารางที่ ก.23- ก.26)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชา

Compound	ใบชาเขียว		ชาเขียวพร้อมดื่ม		ใบชาดำ		ชาดำพร้อมดื่ม	
	Mean (ppm)	RSD (%)	Mean (ppm)	RSD (%)	Mean (ppm)	RSD (%)	Mean (ppm)	RSD (%)
ฟลูออไรด์	1.79	3.12	4.13	0.48	3.05	0.95	1.62	2.32
คลอไรด์	25.36	0.04	40.17	0.12	30.20	0.13	21.35	0.14
ไนไทรต์	1.35	0.44	1.23	0.36	1.61	0.72	1.86	0.22
โบรไมด์	0.83	0.48	0.42	1.08	0.51	0.73	1.11	0.26
ไนเทรต	11.00	0.12	7.95	0.05	13.00	0.33	7.53	0.07
ฟอสเฟต	41.51	0.16	29.93	0.09	47.55	0.44	45.36	0.12
ซัลเฟต	40.22	0.42	18.42	0.27	45.16	0.47	17.87	0.20

จากตารางที่ 4.3 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชา ได้แก่ ฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต ซึ่งมีความเข้มข้นเท่ากับ 1.79, 25.36, 1.35, 0.83, 11.00, 41.51 และ 40.22 ppm ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ใบชาเขียว มีความเข้มข้นเท่ากับ 4.13, 40.17, 1.23, 0.42, 7.95, 29.93 และ 18.42 ppm ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาเขียวพร้อมดื่ม มีความเข้มข้นเท่ากับ 3.05, 30.20, 1.61, 0.51, 13.00, 47.55 และ 45.16 ppm ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ใบชาดำ และมีความเข้มข้นเท่ากับ 1.62, 21.35, 1.86, 1.11, 7.53, 45.36 และ 17.87 ppm ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาดำพร้อมดื่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

การปรับสภาวะให้เหมาะสมเพื่อการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ในชา มีจุดประสงค์เพื่อให้สามารถวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ในชาได้ครบทุกชนิดพร้อมกัน ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยที่สุด และเป็นวิธีที่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้หลากหลาย มีความเที่ยง ความแม่นสูงโดยใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาในท้องตลาด ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ใบชาเขียว ผลิตภัณฑ์ชาเขียวพร้อมดื่ม ผลิตภัณฑ์ใบชาดำ ผลิตภัณฑ์ชาดำพร้อมดื่ม โดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

สภาวะที่เหมาะสมที่สุดเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ในชา คือความแรงของสารละลายเคลื่อนที่ (eluent strength) $Na_2CO_3/NaHCO_3$ 3.2/1.0 mM และอัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่ (flow rate) เท่ากับ 0.5 ml/min

สำหรับการตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (method validation) พบว่าการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) โดยรายงานในรูปค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ของกราฟมาตรฐานฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.9995, 0.9989, 0.9981, 0.9991, 0.9979, 0.9982 และ 0.9998 ตามลำดับ ความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (limit of detection) ของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.002, 0.001, 0.003, 0.002, 0.002, 0.018 และ 0.015 ppm ตามลำดับ ความเที่ยง(precision)โดยรายงานในรูปค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.01, 0.46, 2.44, 3.18, 1.90, 1.00 และ 0.38 ตามลำดับ สำหรับ repeatability และ มีค่าเท่ากับ 6.16, 1.39, 8.42, 10.52, 3.81, 2.06 และ 0.56 ตามลำดับ สำหรับ reproducibility และความแม่น (accuracy) โดยรายงานในรูปค่าร้อยละของการได้คืนกลับ (% recovery) ของฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต ซึ่งมีค่าเท่ากับ 109 ± 1.60, 104 ± 0.89, 110 ± 6.68, 111± 3.97, 112 ± 2.97, 110 ± 0.63, และ 105 ± 0.98 ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ใบชาเขียว มีค่าเท่ากับ 108 ± 0.40, 106 ± 1.67, 107 ± 2.59, 113 ± 3.13, 113 ± 0.52, 110 ± 0.63, และ 105 ± 0.41 ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาเขียวพร้อมดื่ม มีค่าเท่ากับ 109 ± 0.55, 103 ± 0.45, 109 ± 2.83, 113 ± 3.06, 113 ± 0.52, 110 ± 1.38, และ 105 ± 0.41 ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ใบชาดำ และมีค่าเท่ากับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

109 ± 0.63, 102 ± 0.55, 86 ± 2.07, 114 ± 3.78, 113 ± 0.52, 110 ± 0.63, และ 105 ± 0.41 ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาดำพร้อมดื่ม

และสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชา ได้แก่ฟลูออไรด์ คลอไรด์ ไนไทรต์ โบรไมด์ ไนเทรต ฟอสเฟต และ ซัลเฟต ซึ่งมีความเข้มข้นเท่ากับ 1.79, 25.36, 1.35, 0.83, 11.00, 41.51 และ 40.22 ppm ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ใบชาเขียว มีความเข้มข้นเท่ากับ 4.13, 40.17, 1.23, 0.42, 7.95, 29.93 และ 18.42 ppm ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาเขียวพร้อมดื่ม มีความเข้มข้นเท่ากับ 3.05, 30.20, 1.61, 0.51, 13.00, 47.55 และ 45.16 ppm ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ใบชาดำ และมีความเข้มข้นเท่ากับ 1.62, 21.35, 1.86, 1.11, 7.53, 45.36 และ 17.87 ppm ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาดำพร้อมดื่ม

จากสรุปผลการทดลองจะพบว่าวิธีการวิเคราะห์ที่ได้จากการปรับสภาวะให้เหมาะสมที่สุด เป็นวิธีที่สามารถนำไปใช้เพื่อการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาได้ ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้หลากหลาย มีความถูกต้อง แม่นยำสูง และมีประสิทธิภาพสูง

ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

การวิจัยในครั้งนี้มีข้อจำกัดเรื่องการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาให้ได้ครบทุกชนิดพร้อมกัน ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยที่สุด ซึ่งการศึกษาสภาวะให้เหมาะสมเพื่อการวิเคราะห์ไอออนลบของสารอนินทรีย์ในชา โดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ที่สามารถนำไปใช้วิเคราะห์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาได้หลากหลาย

ข้อเสนอแนะในการวิจัยต่อไป

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อการวิเคราะห์กรดอินทรีย์พร้อมกันกับไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาโดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี เนื่องจากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ไม่สามารถทำการวิเคราะห์กรดอินทรีย์พร้อมกันกับไอออนลบของสารอนินทรีย์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 61 และฉบับที่ 84. [online]: http://www.fda.moph.go.th/fda-net/html/product/other/kbs3/foodnutrition/htm.

[2] ศุภนารถ เกศเจริญ. ชา. [online]: http://www.ku.ac.th.agri/char/index.htm.

[3] กรมวิชาการเกษตร. ชา. [online]:http://www.doa.go.th/data-agri/02_LOCAL /oard1/tea/html.

[4] Buldini, P.L.; Xovalli, S.; and Trifiro, A. 1997. **State of the Art Ion Chromatographic Determination of Inorganic Ions in Food**. Journal of Chromatography A(789): 529-548

[5] Ding, M.Y.; Chen P.R.; and Luo G.A. 1997. **Simultaneous Determination of Organic Acids and Inorganic Anions in Tea by Ion Chromatography**. Journal of Chromatography A(764): 341-345

[6] Qiu, J and Jin, X.H. 2002. **Development and Optimization of Organic Acid Analysis in Tobacco with Ion Chromatography and Suppressed Conductivity Detection**. Journal of Chromatography A(950): 81-88

[7] Alcazar,A.; Martub, M.J.; Pablos, F. and Gonzalea A.G. 2003, **Ion Chromatographic Determination of some Organic Acids Chloride and Phosphate in Coffee and Tea**. Tatanta (61): 95-101

[8] Jenny, C.; Panos, H. and Charles A.L. 2003, **High–Speed Ion Chromatographic Separation of Cation at Elevated Temperature.** Journal of Chromatography A(997): 161-169

[9] Hidelei, H. and Kastsunori, K. 2000. **Analysis of Tea Components by High-Performance Liquid Chromatography and High-Performance Capillary Electrophoresis.** Journal of Chromatography A(881): 425-438

[10] รศ. ธวัชชัย ศรีวิบูลย์. 2541. เคมีวิเคราะห์ 2. ภาควิชาเคมี. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยรามคำแหง. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

[11] Sewell, P.A. 1991. **Chromatographic Separation**. Singapore: John Wiley & Sons.

[12] Raymond, P.W. Scott. 1995. **Techniques and Practice of Chromatography**. New York: Marcel Dekker, Inc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[13] Braithwaitx, A. and Smith, F.J. 1995. **Chromatographic Methods**. 5th ed. London: Blackie Academic & Professional.

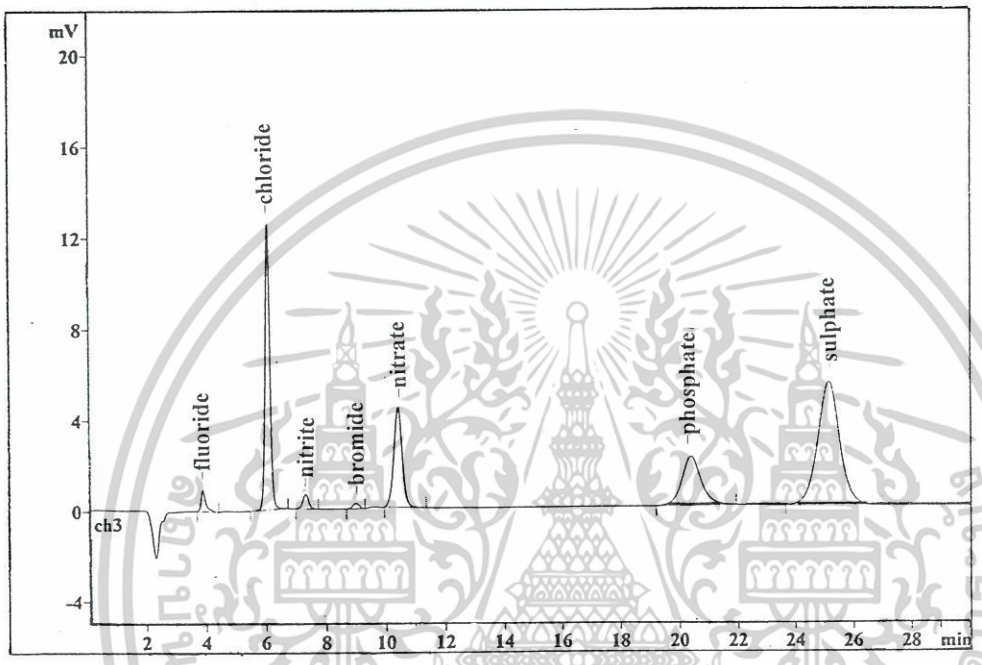
[14] Fritz, J.S. and Girede, D.T. 2000. **Ion Chromatography**. 3rd ed. New York: Wiley – VCH.

[15] กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2544. **การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์**. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

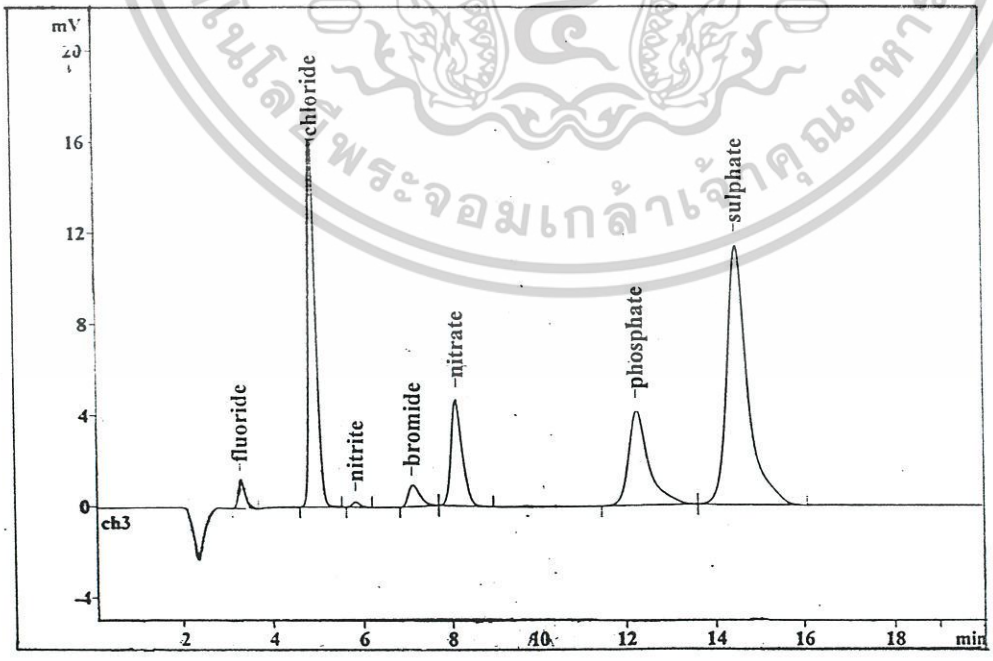
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

แสดงผลการทดลอง

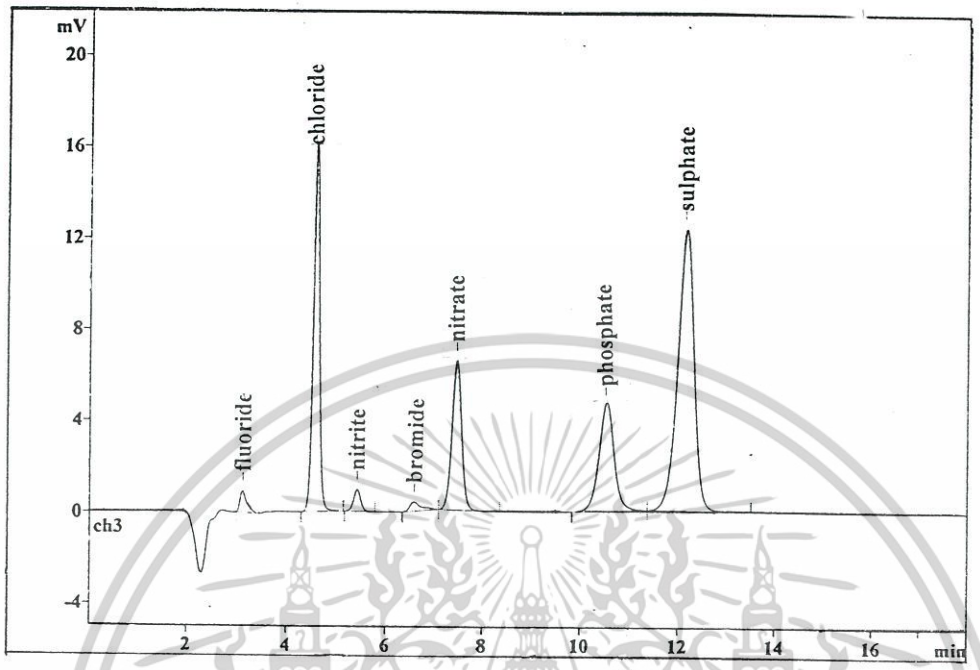


รูปที่ ก.1 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแรงของสารละลาย $Na_2CO_3/NaHCO_3$ 1.2/2.0 mM

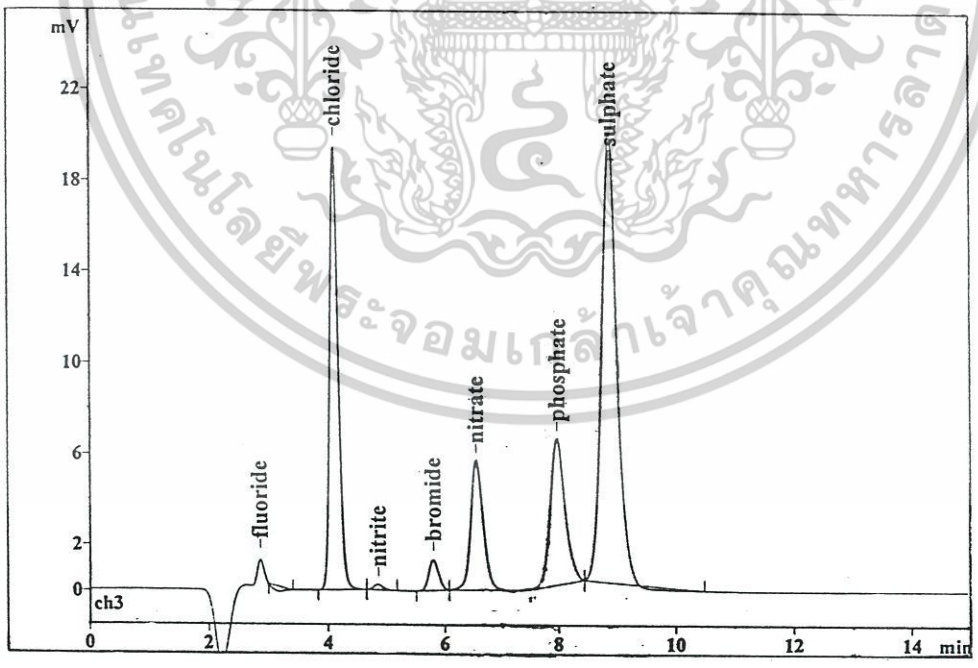


รูปที่ ก.2 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแรงของสารละลาย $Na_2CO_3/NaHCO_3$ 2.2/1.5 mM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.3 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแรงของสารละลาย Na_2CO_3/$NaHCO_3$ 3.2/1.0 mM



รูปที่ ก.4 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแรงของสารละลาย Na_2CO_3/$NaHCO_3$ 4.2/0.5 mM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.1 แสดงผลการทดลองการศึกษาความแรงของสารละลาย $Na_2CO_3/NaHCO_3$ 1.2/2.0 mM

สาร	การทดลอง	เวลา (t_m, min)	เวลา (t_r, min)	capacity fector (k´)
ฟลูออไรด์	1	2.30	3.90	0.69
	2	2.30	3.89	0.69
	3	2.30	3.89	0.69
	4	2.30	3.88	0.69
	5	2.30	3.89	0.69
	6	2.30	3.90	0.69
	เฉลี่ย			**0.69**
คลอไรด์	1	2.30	6.08	1.64
	2	2.30	6.08	1.64
	3	2.30	6.07	1.64
	4	2.30	6.07	1.64
	5	2.30	6.08	1.64
	6	2.30	6.08	1.64
	เฉลี่ย			**1.64**
ไนไทรต์	1	2.30	7.32	2.18
	2	2.30	7.31	2.18
	3	2.30	7.32	2.18
	4	2.30	7.33	2.19
	5	2.30	7.31	2.18
	6	2.30	7.32	2.18
	เฉลี่ย			**2.18**
โบรไมด์	1	2.30	8.99	2.91
	2	2.30	9.01	2.92
	3	2.30	9.00	2.91
	4	2.30	9.01	2.92
	5	2.30	9.00	2.91

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_m, min)	เวลา (t_r, min)	capacity fector (k′)
	6	2.30	9.00	2.91
	เฉลี่ย			**2.91**
ไนเทรต	1	2.30	10.40	3.52
	2	2.30	10.42	3.53
	3	2.30	10.42	3.53
	4	2.30	10.41	3.53
	5	2.30	10.42	3.53
	6	2.30	10.42	3.53
	เฉลี่ย			**3.53**
ฟอสเฟต	1	2.30	20.38	7.86
	2	2.30	2.0.40	7.87
	3	2.30	20.41	7.87
	4	2.30	20.39	7.87
	5	2.30	20.40	7.87
	6	2.30	20.42	7.88
	เฉลี่ย			**7.87**
ซัลเฟต	1	2.30	25.16	9.94
	2	2.30	25.17	9.94
	3	2.30	25.16	9.94
	4	2.30	25.17	9.94
	5	2.30	25.17	9.94
	6	2.30	25.18	9.95
	เฉลี่ย			**9.94**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2 แสดงผลการทดลองการศึกษาความแรงของสารละลาย $Na_2CO_3/NaHCO_3$ 2.2/1.5 mM

สาร	การทดลอง	เวลา (t_m, min)	เวลา (t_r, min)	capacity fector (k')
ฟลูออไรด์	1	2.28	3.27	0.43
	2	2.28	3.26	0.43
	3	2.28	3.27	0.43
	4	2.28	3.28	0.44
	5	2.28	3.27	0.43
	6	2.28	3.27	0.43
	เฉลี่ย			**0.43**
คลอไรด์	1	2.28	4.91	1.15
	2	2.28	4.89	1.14
	3	2.28	4.90	1.15
	4	2.28	4.91	1.15
	5	2.28	4.90	1.15
	6	2.28	4.90	1.15
	เฉลี่ย			**1.15**
ไนไทรต์	1	2.28	5.82	1.55
	2	2.28	5.83	1.56
	3	2.28	5.83	1.56
	4	2.28	5.83	1.56
	5	2.28	5.83	1.56
	6	2.28	5.82	1.55
	เฉลี่ย			**1.56**
โบรไมด์	1	2.28	7.14	2.13
	2	2.28	7.14	2.13
	3	2.28	7.12	2.12
	4	2.28	7.13	2.13
	5	2.28	7.13	2.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_m, min)	เวลา (t_r, min)	capacity fector (k′)
	6	2.28	7.13	2.13
	เฉลี่ย			**2.13**
ไนเทรต	1	2.28	8.10	2.55
	2	2.28	8.12	2.56
	3	2.28	8.10	2.55
	4	2.28	8.11	2.56
	5	2.28	8.12	2.56
	6	2.28	8.11	2.56
	เฉลี่ย			**2.56**
ฟอสเฟต	1	2.28	12.29	4.39
	2	2.28	12.26	4.37
	3	2.28	12.27	4.38
	4	2.28	12.26	4.37
	5	2.28	12.27	4.38
	6	2.28	12.27	4.38
	เฉลี่ย			**4.38**
ซัลเฟต	1	2.28	14.50	5.36
	2	2.28	14.54	5.38
	3	2.28	14.53	5.37
	4	2.28	14.52	5.37
	5	2.28	14.52	5.37
	6	2.28	14.52	5.37
	เฉลี่ย			**5.37**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.3 แสดงผลการทดลองการศึกษาความแรงของสารละลาย $Na_2CO_3/NaHCO_3$ 3.2/1.0 mM

สาร	การทดลอง	เวลา (t_m, min)	เวลา (t_r, min)	capacity fector (k´)
ฟลูออไรด์	1	2.25	3.12	0.39
	2	2.25	3.13	0.39
	3	2.25	3.12	0.40
	4	2.25	3.13	0.39
	5	2.25	3.13	0.39
	6	2.25	3.14	0.40
	เฉลี่ย			**0.39**
คลอไรด์	1	2.25	4.58	1.04
	2	2.25	4.59	1.04
	3	2.25	4.59	1.04
	4	2.25	4.59	1.04
	5	2.25	4.59	1.04
	6	2.25	4.60	1.04
	เฉลี่ย			**1.04**
ไนไทรต์	1	2.25	5.40	1.40
	2	2.25	5.42	1.41
	3	2.25	5.42	1.41
	4	2.25	5.42	1.41
	5	2.25	5.41	1.40
	6	2.25	5.42	1.41
	เฉลี่ย			**1.41**
โบรไมด์	1	2.25	6.67	1.96
	2	2.25	6.68	1.96
	3	2.25	6.68	1.96
	4	2.25	6.69	1.96
	5	2.25	6.65	1.96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_m, min)	เวลา (t_r, min)	capacity fector (k′)
	6	2.25	6.69	1.96
	เฉลี่ย			**1.96**
ไนเทรต	1	2.25	7.45	2.31
	2	2.25	7.46	2.32
	3	2.25	7.46	2.32
	4	2.25	7.46	2.32
	5	2.25	7.47	2.32
	6	2.25	7.45	2.31
	เฉลี่ย			**2.32**
ฟอสเฟต	1	2.25	10.51	3.67
	2	2.25	10.52	3.68
	3	2.25	10.51	3.67
	4	2.25	10.52	3.68
	5	2.25	10.53	3.68
	6	2.25	10.53	3.68
	เฉลี่ย			**3.68**
ซัลเฟต	1	2.25	12.13	4.39
	2	2.25	12.14	4.40
	3	2.25	12.15	4.40
	4	2.25	12.15	4.40
	5	2.25	12.13	4.39
	6	2.25	12.16	4.40
	เฉลี่ย			**4.40**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

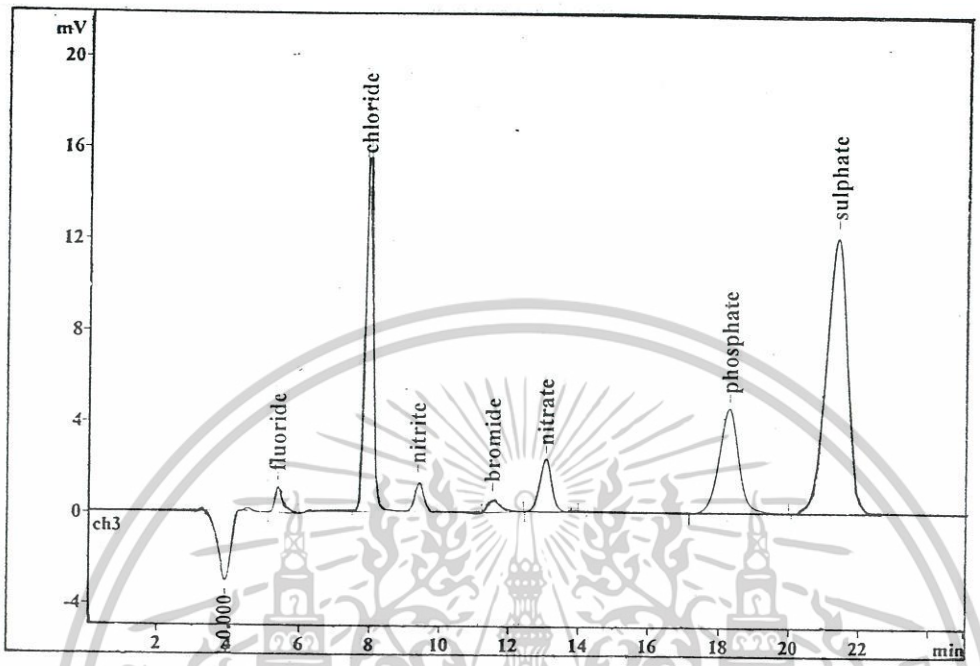
ตารางที่ ก.4 แสดงผลการทดลองการศึกษาความแรงของสารละลาย $Na_2CO_3/NaHCO_3$ 4.2/0.5 mM

สาร	การทดลอง	เวลา (t_m, min)	เวลา (t_r, min)	capacity fector (k′)
ฟลูออไรด์	1	2.22	2.83	0.27
	2	2.22	2.85	0.28
	3	2.22	2.85	0.28
	4	2.22	2.85	0.28
	5	2.22	2.84	0.28
	6	2.22	2.86	0.29
	เฉลี่ย			**0.28**
คลอไรด์	1	2.22	4.09	0.84
	2	2.22	4.09	0.84
	3	2.22	4.10	0.85
	4	2.22	4.10	0.85
	5	2.22	4.10	0.85
	6	2.22	4.09	0.84
	เฉลี่ย			**0.85**
ไนไทรต์	1	2.22	4.80	1.16
	2	2.22	4.82	1.17
	3	2.22	4.82	1.17
	4	2.22	4.82	1.17
	5	2.22	4.81	1.17
	6	2.22	4.82	1.17
	เฉลี่ย			**1.17**
โบรไมด์	1	2.22	5.79	1.61
	2	2.22	5.79	1.61
	3	2.22	5.80	1.61
	4	2.22	5.79	1.61
	5	2.22	5.88	1.60

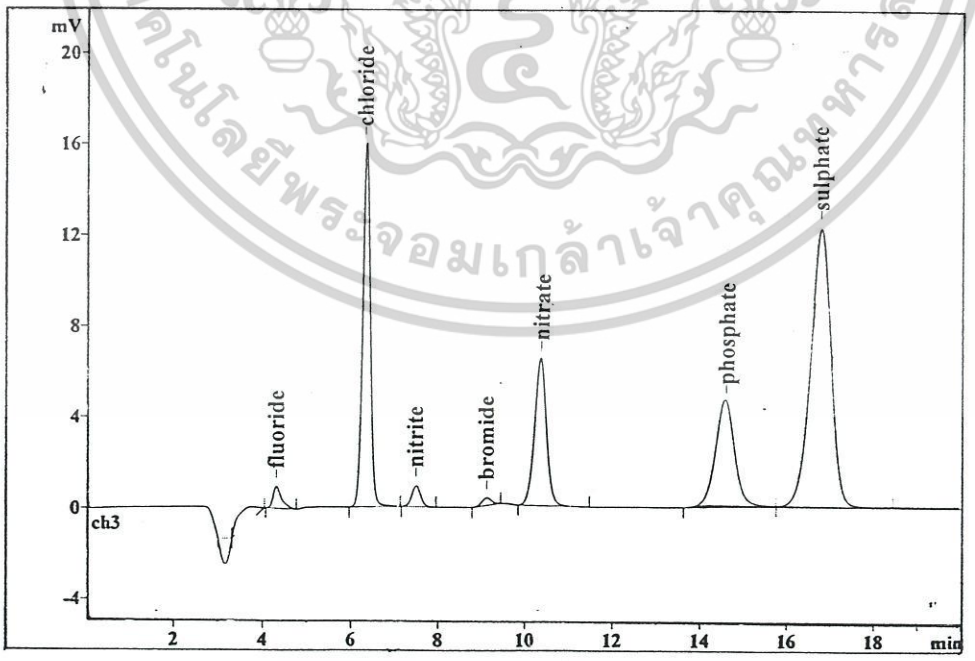
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_m, min)	เวลา (t_r, min)	capacity fector (k')
	6	2.22	5.78	1.60
	เฉลี่ย			**1.61**
ไนเทรต	1	2.22	6.53	1.94
	2	2.22	6.54	1.95
	3	2.22	6.55	1.95
	4	2.22	6.55	1.95
	5	2.22	6.56	1.96
	6	2.22	6.56	1.96
	เฉลี่ย			**1.95**
ฟอสเฟต	1	2.22	7.95	2.58
	2	2.22	7.96	2.59
	3	2.22	7.98	2.60
	4	2.22	7.97	2.59
	5	2.22	7.97	2.59
	6	2.22	7.98	2.60
	เฉลี่ย			**2.59**
ซัลเฟต	1	2.22	8.86	2.99
	2	2.22	8.89	3.00
	3	2.22	8.90	3.01
	4	2.22	8.88	3.00
	5	2.22	8.88	3.00
	6	2.22	8.90	3.01
	เฉลี่ย			3.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

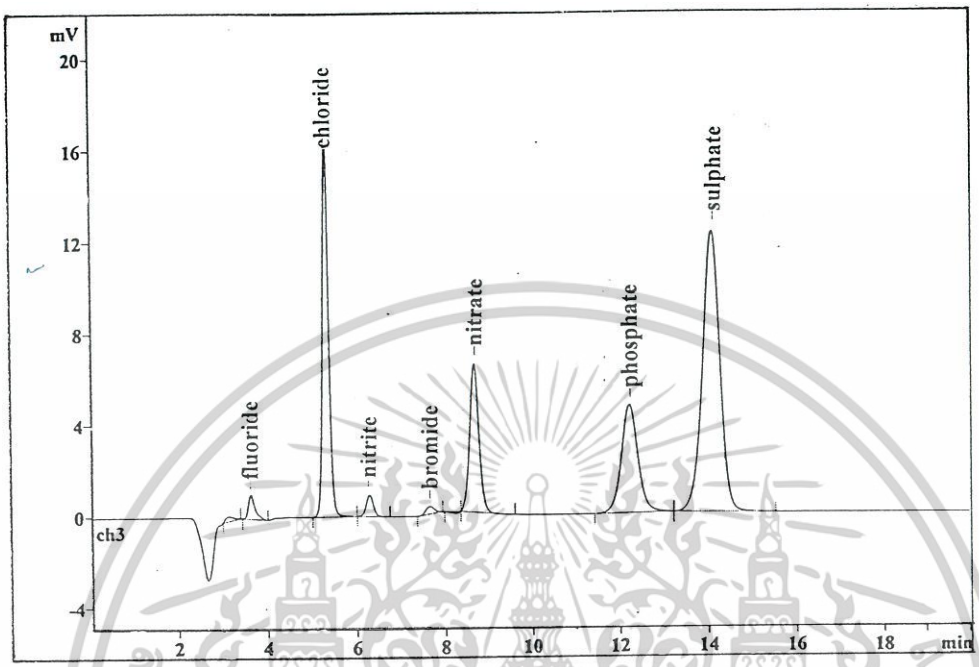


รูปที่ ก.5 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาอัตราเร็วของสารละลายเคลื่อนที่ 0.4 ml/min

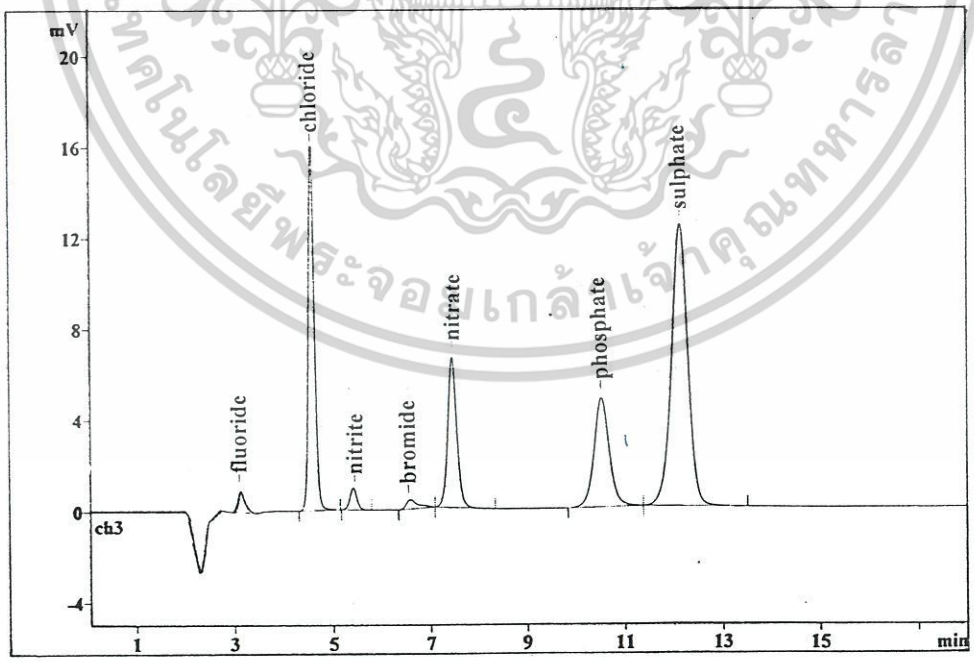


รูปที่ ก.6 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาอัตราเร็วของสารละลายเคลื่อนที่ 0.5 ml/min

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.7 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาอัตราเร็วของสารละลายเคลื่อนที่ 0.6 ml/min



รูปที่ ก.8 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาอัตราเร็วของสารละลายเคลื่อนที่ 0.7 ml/min

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.5 แสดงผลการทดลองการศึกษาอัตราเร็วของสารละลายเคลื่อนที่ 0.4 ml/min

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	$W_{1/2}$ (cm.)	N	HETP
ฟลูออไรด์	1	5.37	0.35	1304.13	0.0115
	2	3.39	0.35	1313.87	0.0114
	3	5.38	0.35	1308.99	0.0115
	4	5.38	0.35	1308.99	0.0115
	5	5.38	0.35	1308.99	0.0115
	6	5.38	0.35	1308.99	0.0115
	เฉลี่ย				**0.0115**
คลอไรด์	1	7.94	0.35	2851.12	0.0053
	2	7.94	0.35	2851.12	0.0053
	3	7.94	0.35	2851.12	0.0053
	4	7.94	0.35	2851.12	0.0053
	5	7.94	0.35	2851.12	0.0053
	6	7.96	0.35	2865.50	0.0052
	เฉลี่ย				**0.0053**
ไนไทรต์	1	9.39	0.50	1953.89	0.0077
	2	9.40	0.50	1958.06	0.0077
	3	9.41	0.50	1942.23	0.0076
	4	9.41	0.50	1962.23	0.0076
	5	9.42	0.50	1966.40	0.0076
	6	9.41	0.50	1962.23	0.0076
	เฉลี่ย				**0.0076**
โบรไมด์	1	11.51	0.60	2038.72	0.0074
	2	11.49	0.60	2031.64	0.0074
	3	11.52	0.60	2042.27	0.0073
	4	11.50	0.60	2035.18	0.0074
	5	11.51	0.60	2038.72	0.007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	$W_{1/2}$ (cm.)	N	HETP
	6	11.51	0.60	2038.72	0.0074
	เฉลี่ย				**0.0074**
ไนเทรต	1	13.04	0.50	3768.12	0.0040
	2	13.04	0.50	3768.12	0.0040
	3	13.05	0.50	3773.90	0.0040
	4	13.06	0.50	3779.69	0.0040
	5	13.05	0.50	3773.90	0.0040
	6	13.05	0.50	3773.90	0.0040
	เฉลี่ย				**0.0040**
ฟอสเฟต	1	18.25	0.75	3280.30	0.0046
	2	18.26	0.75	3283.89	0.0046
	3	18.25	0.75	3280.30	0.0046
	4	18.26	0.75	3283.89	0.0046
	5	18.27	0.75	3287.49	0.0046
	6	18.26	0.75	3283.89	0.0046
	เฉลี่ย				**0.0046**
ซัลเฟต	1	21.33	0.85	3488.62	0.0043
	2	21.35	0.85	3495.17	0.0043
	3	21.35	0.85	3495.17	0.0043
	4	21.34	0.85	3491.89	0.0043
	5	21.34	0.85	3491.89	0.0043
	6	21.33	0.85	3488.62	0.0043
	เฉลี่ย				**0.0043**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.6 แสดงผลการทดลองการศึกษาอัตราเร็วของสารละลายเคลื่อนที่ 0.5 ml/min

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	$W_{1/2}$ (cm.)	N	HETP
ฟลูออไรด์	1	4.32	0.25	1654.24	0.0091
	2	4.32	0.25	1654.24	0.0091
	3	4.32	0.25	1654.24	0.0091
	4	4.32	0.25	1654.24	0.0091
	5	4.32	0.25	1654.24	0.0091
	6	4.33	0.25	1661.90	0.0090
	เฉลี่ย				**0.0091**
คลอไรด์	1	6.34	0.25	3562.94	0.0042
	2	6.34	0.25	3562.94	0.0042
	3	6.34	0.25	3562.94	0.0042
	4	6.34	0.25	3562.94	0.0042
	5	6.34	0.25	3562.94	0.0042
	6	6.34	0.25	3562.94	0.0042
	เฉลี่ย				**0.0042**
ไนไทรต์	1	7.50	0.35	2543.88	0.0059
	2	7.49	0.35	2537.10	0.0059
	3	7.50	0.35	2543.88	0.0059
	4	7.51	0.35	2550.67	0.0059
	5	7.50	0.35	2543.88	0.0059
	6	7.50	0.35	2543.88	0.0059
	เฉลี่ย				**0.0059**
โบรไมด์	1	9.10	0.40	2867.30	0.0052
	2	9.11	0.40	2873.30	0.0052
	3	9.10	0.40	2867.30	0.0052
	4	9.10	0.40	2867.30	0.0052
	5	9.10	0.40	2867.30	0.0052

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	$W_{1/2}$ (cm.)	N	HETP
	6	9.09	0.40	2861.00	0.0052
	เฉลี่ย				**0.0052**
ไนเทรต	1	10.34	0.35	4835.20	0.0031
	2	10.34	0.35	4835.20	0.0031
	3	10.35	0.35	4844.56	0.0031
	4	10.35	0.35	4844.56	0.0031
	5	10.35	0.35	4844.56	0.0031
	6	10.35	0.35	4844.56	0.0031
	เฉลี่ย				**0.0031**
ฟอสเฟต	1	14.57	0.55	3887.80	0.0039
	2	14.56	0.55	3882.46	0.0039
	3	14.57	0.55	3887.80	0.0039
	4	14.58	0.55	3893.14	0.0038
	5	14.57	0.55	3887.80	0.0039
	6	14.57	0.55	3887.80	0.0039
	เฉลี่ย				**0.0039**
ซัลเฟต	1	16.78	0.65	3692.05	0.0041
	2	16.78	0.65	3692.05	0.0041
	3	16.79	0.65	3696.45	0.0041
	4	16.79	0.65	3696.45	0.0041
	5	16.79	0.65	3696.45	0.0041
	6	16.80	0.65	3700.85	0.0040
	เฉลี่ย				**0.0041**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.7 แสดงผลการทดลองการศึกษาอัตราเร็วของสารละลายเคลื่อนที่ 0.6 ml/min

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	$W_{1/2}$ (cm.)	N	HETP
ฟลูออไรด์	1	3.62	0.25	1161.57	0.0129
	2	3.63	0.25	1168.00	0.0128
	3	3.63	0.25	1168.00	0.0128
	4	3.63	0.25	1174.45	0.0128
	5	3.64	0.25	1174.45	0.0127
	6	3.64	0.25	1168.00	0.0127
	เฉลี่ย				**0.0128**
คลอไรด์	1	5.53	0.25	2710.69	0.0055
	2	5.53	0.25	2710.69	0.0055
	3	5.54	0.25	2720.50	0.0055
	4	5.53	0.25	2710.69	0.0055
	5	5.53	0.25	2710.69	0.0055
	6	5.54	0.25	2720.50	0.0055
	เฉลี่ย				**0.0055**
ไนไทรต์	1	6.28	0.30	2427.65	0.0062
	2	6.30	0.30	2443.14	0.0061
	3	6.30	0.30	2443.14	0.0062
	4	6.30	0.30	2443.14	0.0062
	5	6.30	0.30	1443.14	0.0062
	6	6.28	0.30	2427.65	0.0062
	เฉลี่ย				**0.0062**
โบรไมด์	1	7.64	0.40	2021.05	0.0074
	2	7.65	0.40	2026.34	0.0074
	3	7.65	0.40	2026.34	0.0074
	4	7.64	0.40	2021.05	0.0074
	5	7.65	0.40	2026.34	0.0074

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	$W_{1/2}$ (cm.)	N	HETP
	6	7.65	0.40	2026.34	0.0074
	เฉลี่ย				**0.0074**
ไนเทรต	1	8.69	0.35	3415.18	0.0044
	2	8.69	0.35	3415.18	0.0044
	3	8.69	0.35	3415.18	0.0044
	4	8.69	0.35	3415.18	0.0044
	5	8.68	0.35	3407.32	0.0044
	6	8.68	0.35	3407.32	0.0044
	เฉลี่ย				**0.0044**
ฟอสเฟต	1	12.24	0.50	3319.96	0.0045
	2	12.25	0.50	3314.54	0.0045
	3	12.24	0.50	3319.96	0.0045
	4	12.25	0.50	3314.54	0.0045
	5	12.25	0.50	3314.54	0.0045
	6	12.24	0.50	3319.96	0.0045
	เฉลี่ย				**0.0045**
ซัลเฟต	1	14.07	0.55	3625.54	0.0041
	2	14.08	0.55	3630.69	0.0041
	3	14.08	0.55	3635.85	0.0041
	4	14.08	0.55	3630.69	0.0041
	5	14.09	0.55	3635.85	0.0041
	6	14.10	0.55	3641.02	0.0041
	เฉลี่ย				**0.0041**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

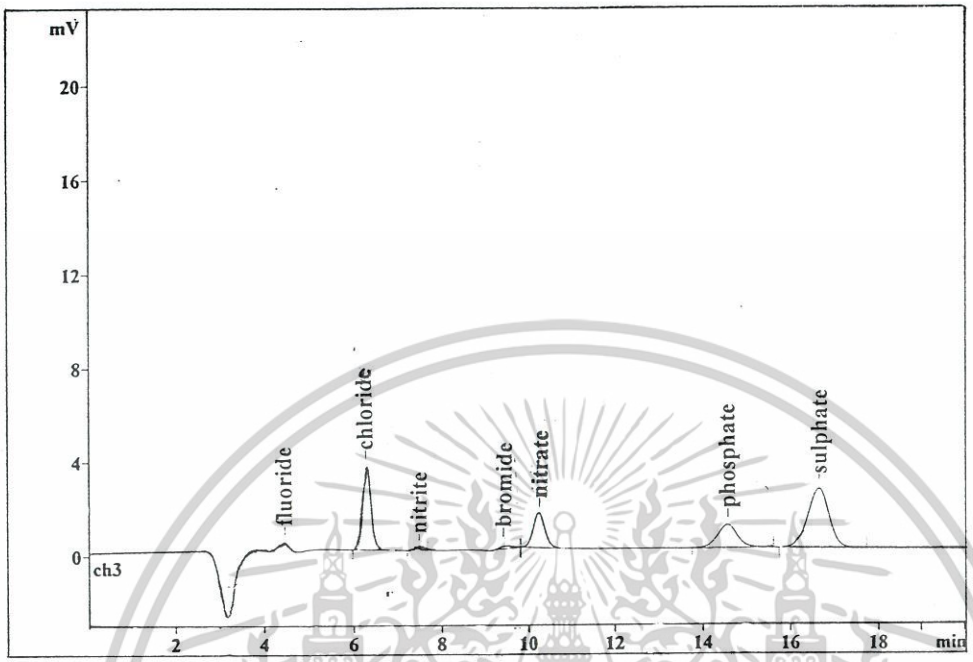
ตารางที่ ก.8 แสดงผลการทดลองการศึกษาอัตราเร็วของสารละลายเคลื่อนที่ 0.7 ml/min

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	$W_{1/2}$ (cm.)	N	HETP
ฟลูออไรด์	1	3.12	0.25	862.86	0.0174
	2	3.13	0.25	868.40	0.0173
	3	3.13	0.25	868.40	0.0173
	4	3.13	0.25	868.40	0.0173
	5	3.13	0.25	868.40	0.0173
	6	3.14	0.25	873.96	0.0171
	เฉลี่ย				**0.0173**
คลอไรด์	1	4.57	0.25	1851.24	0.0081
	2	4.57	0.25	1851.24	0.0081
	3	4.59	0.25	1867.48	0.0080
	4	4.59	0.25	1867.48	0.0080
	5	4.59	0.25	1867.48	0.0080
	6	4.59	0.25	1867.48	0.0080
	เฉลี่ย				**0.0080**
ไนไทรต์	1	5.40	0.30	1794.96	0.0084
	2	5.42	0.30	1808.28	0.0083
	3	5.42	0.30	1808.28	0.0083
	4	5.43	0.30	1814.96	0.0083
	5	5.42	0.30	1808.28	0.0083
	6	5.42	0.30	1808.28	0.0083
	เฉลี่ย				**0.0083**
โบรไมด์	1	6.58	0.40	1499.14	0.0100
	2	6.58	0.40	1499.14	0.0100
	3	6.58	0.40	1499.14	0.0100
	4	6.58	0.40	1499.14	0.0100
	5	6.59	0.40	1503.70	0.0099

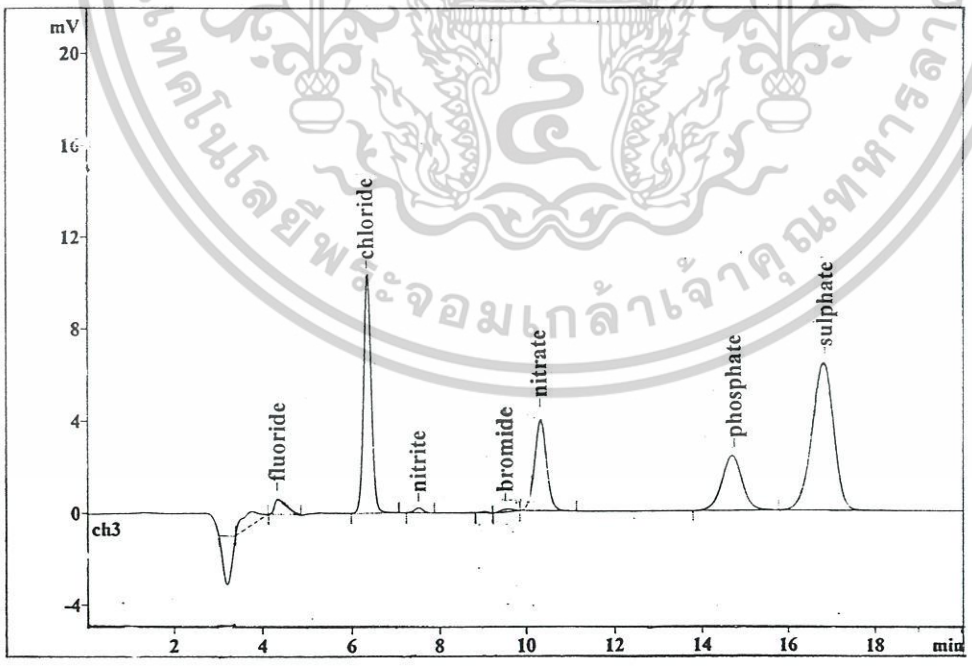
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	$W_{1/2}$ (cm.)	N	HETP
	6	6.60	0.40	1508.27	0.0099
	เฉลี่ย				**0.0100**
ไนเทรต	1	7.45	0.35	2510.07	0.0060
	2	7.46	0.35	2516.82	0.0060
	3	7.45	0.35	2510.07	0.0060
	4	7.46	0.35	2510.07	0.0060
	5	7.46	0.35	2510.07	0.0060
	6	7.47	0.35	2523.57	0.0059
	เฉลี่ย				**0.0060**
ฟอสเฟต	1	10.51	0.50	2447.80	0.0061
	2	10.52	0.50	2452.45	0.0062
	3	10.53	0.50	2457.12	0.0061
	4	10.53	0.50	2457.12	0.0061
	5	10.51	0.50	2457.12	0.0061
	6	10.52	0.50	2452.46	0.0062
	เฉลี่ย				**0.0061**
ซัลเฟต	1	12.12	0.60	2260.54	0.0066
	2	12.13	0.60	2260.27	0.0066
	3	12.14	0.60	2268.01	0.0066
	4	12.14	0.60	2268.01	0.0066
	5	12.14	0.60	2268.01	0.0066
	6	12.15	0.60	2271.74	0.0066
	เฉลี่ย				**0.0066**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

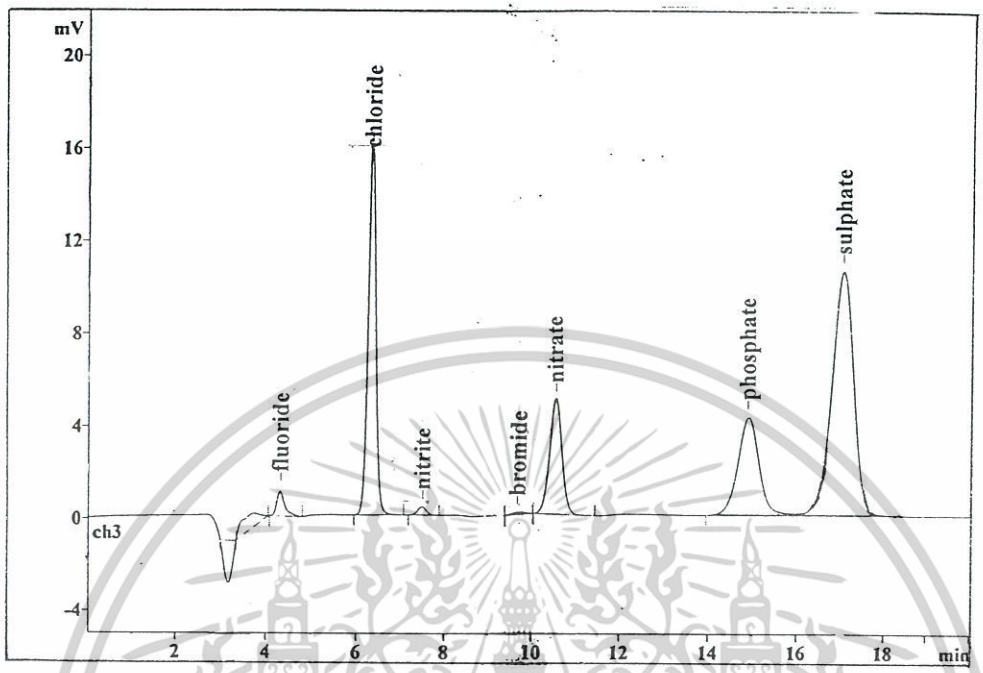


รูปที่ ก.9 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (ระดับความเข้มข้นที่ 1)

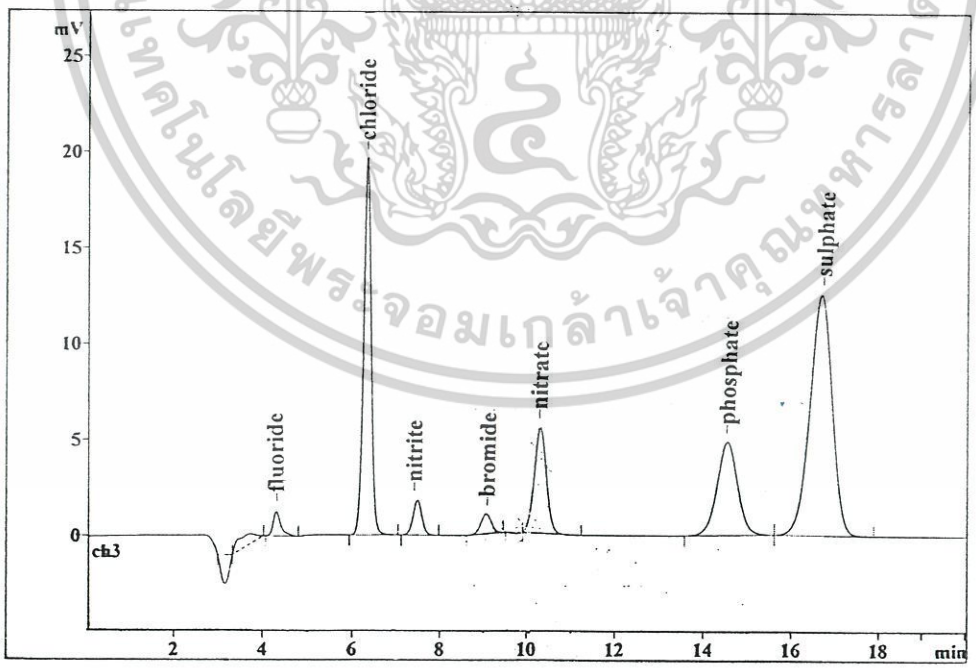


รูปที่ ก.10 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (ระดับความเข้มข้นที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

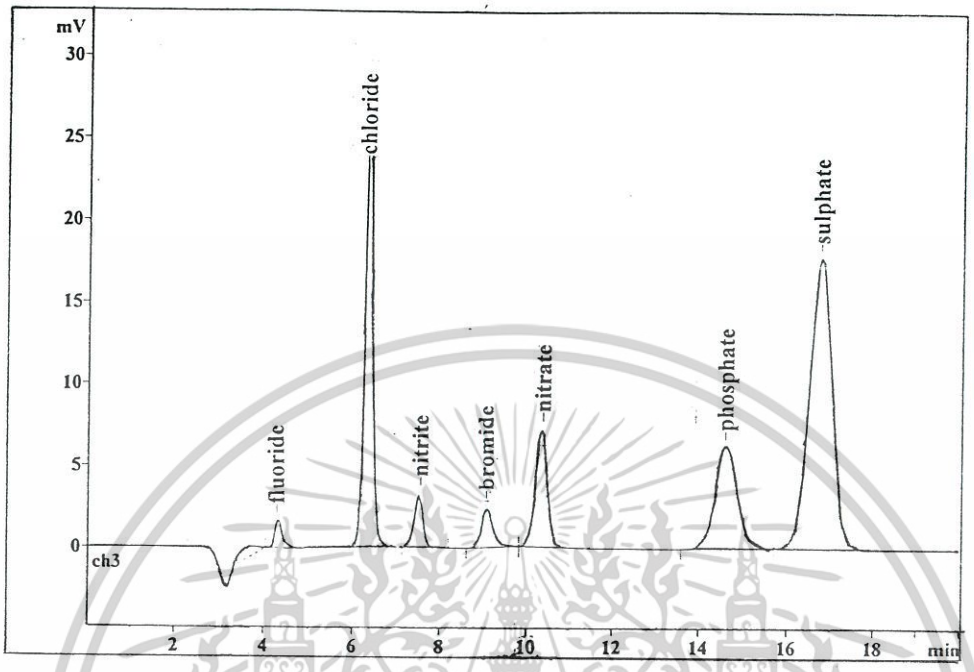


รูปที่ ก.11 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (ระดับความเข้มข้นที่ 3)



รูปที่ ก.12 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (ระดับความเข้มข้นที่ 4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.13 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (ระดับความเข้มข้นที่ 5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.9 แสดงผลการทดลองการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (ระดับความเข้มข้นที่ 1)

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)
ฟลูออไรด์	1	4.48	0.32	1.04
	2	4.49	0.32	0.99
	3	4.49	0.32	1.07
	4	4.49	0.31	0.99
	5	4.50	0.32	0.92
	6	4.50	0.32	1.06
	เฉลี่ย			**1.01**
	SD			**0.06**
	%RSD			**5.74**
คลอไรด์	1	6.30	3.57	44.04
	2	6.31	3.70	43.88
	3	6.32	3.73	44.02
	4	6.32	3.57	44.08
	5	6.33	3.71	44.15
	6	6.33	3.73	44.17
	เฉลี่ย			**44.06**
	SD			**0.11**
	%RSD			**0.24**
ไนไทรต์	1	7.44	0.09	1.14
	2	7.46	0.09	1.16
	3	7.46	0.09	1.19
	4	7.47	0.09	1.20
	5	7.48	0.09	1.20
	6	7.48	0.09	1.18
	เฉลี่ย			**1.18**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)
	SD			**0.03**
	%RSD			**2.21**
โบรไมด์	1	9.47	0.12	1.70
	2	9.49	0.13	2.03
	3	9.51	0.13	1.36
	4	9.51	0.11	1.80
	5	9.52	0.13	2.03
	6	9.53	0.13	1.50
	เฉลี่ย			**1.73**
	SD			**0.27**
	%RSD			**0.16**
ไนเทรต	1	10.25	1.49	38.42
	2	10.27	1.52	38.53
	3	10.30	1.53	38.69
	4	10.30	1.49	38.42
	5	10.31	1.52	38.76
	6	10.32	1.52	38.67
	เฉลี่ย			**38.58**
	SD			**0.15**
	%RSD			**0.38**
ฟอสเฟต	1	14.56	0.98	31.32
	2	14.57	1.02	32.23
	3	14.59	1.01	32.06
	4	14.58	1.00	31.98
	5	14.59	1.02	32.32
	6	14.59	1.01	32.35
	เฉลี่ย			**32.04**
	SD			**0.38**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)
	%RSD			**1.20**
ซัลเฟต	1	16.66	2.50	83.43
	2	16.68	2.49	83.03
	3	16.69	2.50	83.46
	4	16.69	2.47	83.47
	5	16.69	2.48	84.02
	6	16.70	2.47	83.78
	เฉลี่ย			**83.53**
	SD			**0.34**
	%RSD			**0.403**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.10 แสดงผลการทดลองการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (ระดับความเข้มข้นที่ 2)

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)
ฟลูออไรด์	1	4.50	0.24	5.89
	2	4.51	0.21	5.78
	3	4.52	0.21	5.80
	4	4.53	0.21	5.58
	5	4.53	0.27	5.82
	6	4.53	0.29	5.84
	เฉลี่ย			**5.79**
	SD			**0.11**
	%RSD			**1.83**
คลอไรด์	1	6.33	9.76	119.98
	2	6.34	10.11	120.46
	3	6.35	10.30	121.50
	4	6.34	9.96	122.62
	5	6.34	10.32	122.31
	6	6.35	10.38	122.58
	เฉลี่ย			**121.58**
	SD			**1.02**
	%RSD			**0.84**
ไนไทรต์	1	7.50	0.22	3.01
	2	7.51	0.21	2.85
	3	7.51	0.22	2.98
	4	7.49	0.22	3.03
	5	7.50	0.21	2.81
	6	7.50	0.22	2.96
	เฉลี่ย			**2.94**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)
	SD			**0.09**
	%RSD			**3.06**
โบรไมด์	1	9.54	0.09	2.49
	2	9.54	0.11	2.72
	3	9.54	0.11	2.75
	4	9.51	0.10	2.40
	5	9.51	0.12	2.78
	6	9.53	0.12	2.73
	เฉลี่ย			**2.64**
	SD			**0.16**
	%RSD			**6.06**
ไนเทรต	1	10.33	3.82	63.48
	2	10.34	3.89	63.74
	3	10.34	3.91	63.62
	4	10.29	3.88	63.95
	5	10.29	3.93	63.98
	6	10.32	3.94	63.58
	เฉลี่ย			**63.72**
	SD			**0.20**
	%RSD			**0.32**
ฟอสเฟต	1	14.59	2.38	76.09
	2	14.61	2.42	77.20
	3	14.64	2.40	76.85
	4	14.68	2.35	77.02
	5	16.69	2.37	77.03
	6	14.69	2.38	77.23
	เฉลี่ย			**76.90**
	SD			**0.42**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)
	%RSD			**0.55**
ซัลเฟต	1	16.70	6.49	220.19
	2	16.72	6.51	221.80
	3	16.77	6.47	220.69
	4	16.81	6.44	223.21
	5	16.81	6.43	222.17
	6	16.82	6.43	222.08
	เฉลี่ย			**221.69**
	SD			**1.09**
	%RSD			**0.49**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.11 แสดงผลการทดลองการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (ระดับความเข้มข้นที่ 3)

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)
ฟลูออไรด์	1	4.30	1.10	11.61
	2	4.31	1.08	11.36
	3	4.31	1.02	11.20
	4	4.32	1.10	11.40
	5	4.31	1.08	11.36
	6	4.32	1.01	10.92
	เฉลี่ย			**11.31**
	SD			**0.23**
	%RSD			**2.04**
คลอไรด์	1	6.31	16.35	194.25
	2	6.33	16.51	195.83
	3	6.33	15.86	195.42
	4	6.33	16.62	196.62
	5	6.33	16.51	195.83
	6	6.32	15.95	195.43
	เฉลี่ย			**195.56**
	SD			**0.78**
	%RSD			**0.40**
ไนไทรต์	1	7.47	0.38	5.22
	2	7.49	0.36	4.98
	3	7.49	0.37	5.22
	4	7.49	0.36	4.91
	5	7.49	0.36	4.98
	6	7.49	0.36	4.97
	เฉลี่ย			**5.04**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)
	SD			**0.14**
	%RSD			**2.74**
โบรไมด์	1	9.51	0.19	4.84
	2	9.53	0.20	5.18
	3	9.52	0.18	5.16
	4	9.52	0.20	4.96
	5	9.53	0.20	5.24
	6	9.48	0.19	5.28
	เฉลี่ย			**5.11**
	SD			**0.17**
	%RSD			**3.35**
ไนเทรต	1	10.29	5.03	94.93
	2	10.35	5.04	98.08
	3	10.31	4.95	94.64
	4	10.29	5.06	94.59
	5	10.35	5.04	98.08
	6	10.25	4.99	94.24
	เฉลี่ย			**95.76**
	SD			**1.81**
	%RSD			**1.89**
ฟอสเฟต	1	14.55	4.39	130.33
	2	14.52	4.24	128.64
	3	14.59	4.24	127.46
	4	14.65	4.28	129.71
	5	14.61	4.24	128.64
	6	14.64	4.14	126.95
	เฉลี่ย			**128.62**
	SD			**1.29**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)
	%RSD			**1.00**
ซัลเฟต	1	16.68	10.67	364.58
	2	16.76	10.54	366.12
	3	16.72	10.57	364.71
	4	16.79	10.51	365.75
	5	16.76	10.54	366.12
	6	16.82	10.33	362.51
	เฉลี่ย			**364.96**
	SD			**1.38**
	%RSD			**0.38**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.12 แสดงผลการทดลองการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (ระดับความเข้มข้นที่ 4)

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)
ฟลูออไรด์	1	4.31	1.48	16.62
	2	4.31	1.48	16.62
	3	4.30	1.38	16.10
	4	4.31	1.47	16.48
	5	4.30	1.48	16.56
	6	4.30	1.50	16.64
	เฉลี่ย			**16.50**
	SD			**0.20**
	%RSD			**1.24**
คลอไรด์	1	6.31	22.58	264.87
	2	6.31	22.58	264.87
	3	6.31	21.55	264.39
	4	6.32	22.34	264.26
	5	6.32	22.31	265.52
	6	6.32	22.35	264.36
	เฉลี่ย			**264.71**
	SD			**0.60**
	%RSD			**0.23**
ไนไทรต์	1	7.46	2.08	24.85
	2	7.46	2.08	24.85
	3	7.46	2.08	25.97
	4	7.46	2.07	24.88
	5	7.48	2.08	25.23
	6	7.49	2.07	24.99
	เฉลี่ย			**25.13**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)
	SD			**0.44**
	%RSD			**1.74**
โบรไมด์	1	8.99	1.21	21.01
	2	8.99	1.21	21.01
	3	9.01	1.17	21.31
	4	9.05	1.18	21.01
	5	9.03	1.14	20.49
	6	9.07	1.22	25.51
	เฉลี่ย			**21.72**
	SD			**1.87**
	%RSD			**8.61**
ไนเทรต	1	10.23	6.34	119.41
	2	10.23	6.34	119.41
	3	10.26	6.20	119.31
	4	10.29	6.28	119.49
	5	10.31	6.23	119.06
	6	10.32	6.22	119.75
	เฉลี่ย			**119.40**
	SD			**0.22**
	%RSD			**0.19**
ฟอสเฟต	1	14.61	5.70	176.47
	2	14.61	5.70	176.47
	3	14.58	5.60	174.52
	4	14.57	5.66	175.66
	5	14.53	5.67	177.29
	6	14.52	5.63	175.93
	เฉลี่ย			**176.06**
	SD			**0.94**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)
	%RSD			**0.53**
ซัลเฟต	1	16.75	14.63	510.37
	2	16.75	14.63	510.37
	3	16.71	14.47	507.94
	4	16.70	14.53	508.76
	5	16.66	14.53	514.59
	6	16.65	14.45	509.98
	เฉลี่ย			**510.33**
	SD			**2.30**
	%RSD			**0.45**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.13 แสดงผลการทดลองการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (ระดับความเข้มข้นที่ 5)

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)
ฟลูออไรด์	1	4.32	1.84	20.21
	2	4.32	1.73	21.06
	3	4.31	1.59	22.11
	4	4.31	1.80	21.66
	5	4.32	1.81	21.77
	6	4.32	1.72	21.60
	เฉลี่ย			**21.40**
	SD			**0.68**
	%RSD			**3.16**
คลอไรด์	1	6.34	28.97	343.26
	2	6.34	28.99	350.68
	3	6.34	27.31	355.37
	4	6.34	29.16	353.66
	5	6.34	29.18	351.59
	6	6.34	28.21	353.87
	เฉลี่ย			**351.41**
	SD			**4.33**
	%RSD			**1.23**
ไนไทรต์	1	7.50	3.26	47.36
	2	7.51	3.22	46.60
	3	7.50	3.18	46.82
	4	7.50	3.28	47.22
	5	7.50	3.22	46.25
	6	7.51	3.25	48.01
	เฉลี่ย			**47.04**

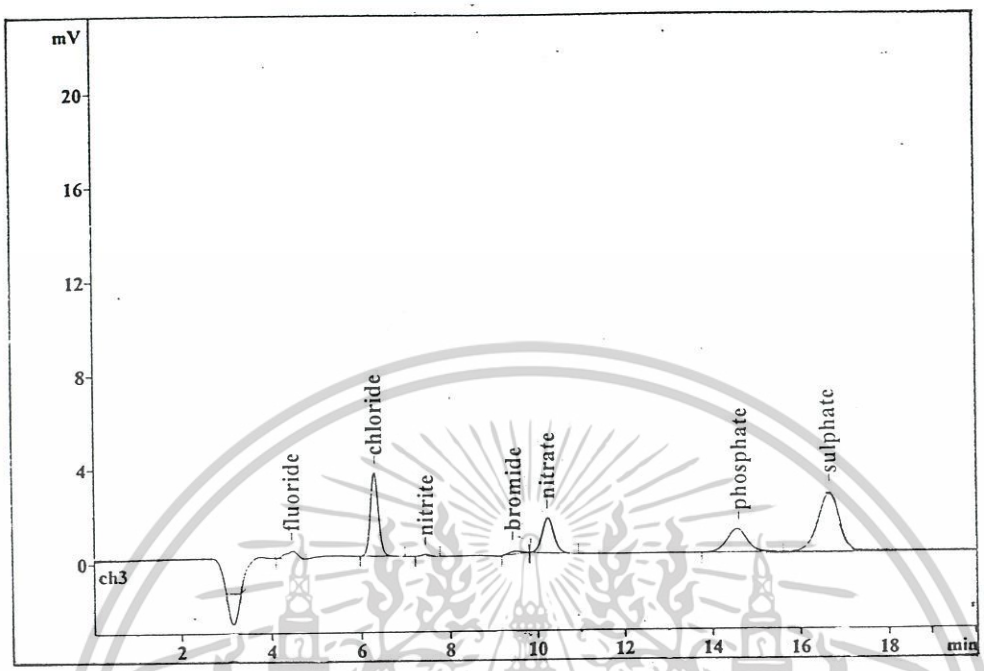
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)
	SD			**0.63**
	%RSD			**1.32**
โบรไมด์	1	9.08	2.45	45.27
	2	9.09	2.40	46.63
	3	9.08	2.40	46.40
	4	9.07	2.32	46.64
	5	9.07	2.39	46.02
	6	9.07	2.42	46.18
	เฉลี่ย			**46.19**
	SD			**0.51**
	%RSD			**1.11**
ไนเทรต	1	10.35	7.30	148.64
	2	10.35	7.19	151.48
	3	10.34	6.69	152.75
	4	10.33	7.27	152.32
	5	10.33	7.24	151.17
	6	10.33	7.17	151.29
	เฉลี่ย			**151.44**
	SD			**1.43**
	%RSD			**0.95**
ฟอสเฟต	1	14.57	6.48	204.53
	2	14.56	6.46	215.24
	3	14.57	6.53	220.55
	4	14.58	6.42	219.53
	5	14.59	6.34	216.28
	6	14.60	6.34	216.73
	เฉลี่ย			**215.48**
	SD			**5.73**

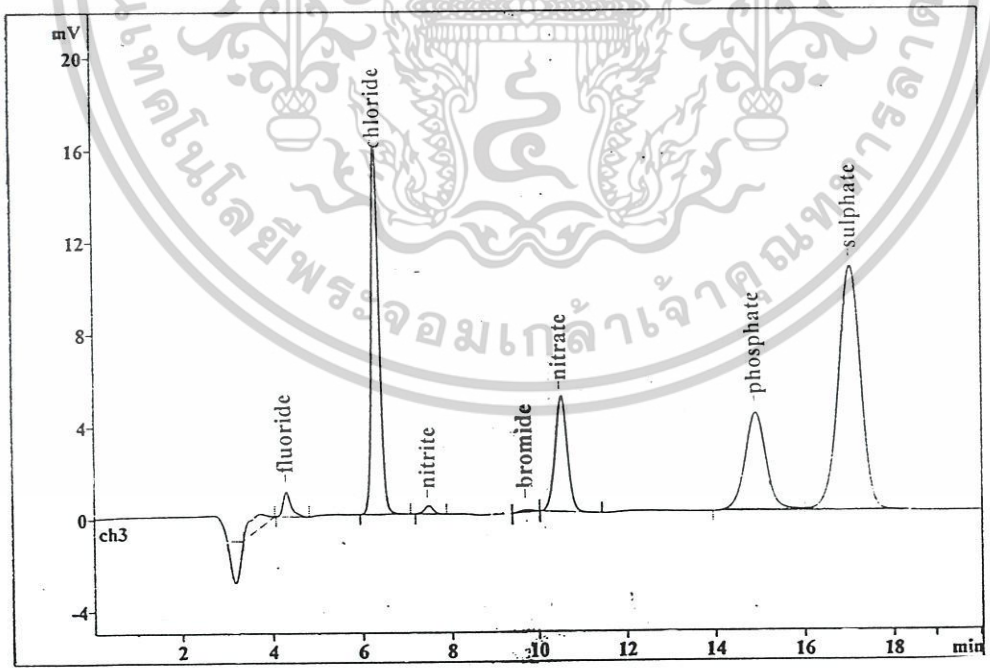
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)
	%RSD			**2.66**
ซัลเฟต	1	16.70	17.90	618.20
	2	16.72	17.91	637.98
	3	16.72	17.20	654.90
	4	16.74	18.03	649.23
	5	16.75	17.80	641.18
	6	16.76	17.82	649.74
	เฉลี่ย			**641.87**
	SD			**13.13**
	%RSD			**2.05**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

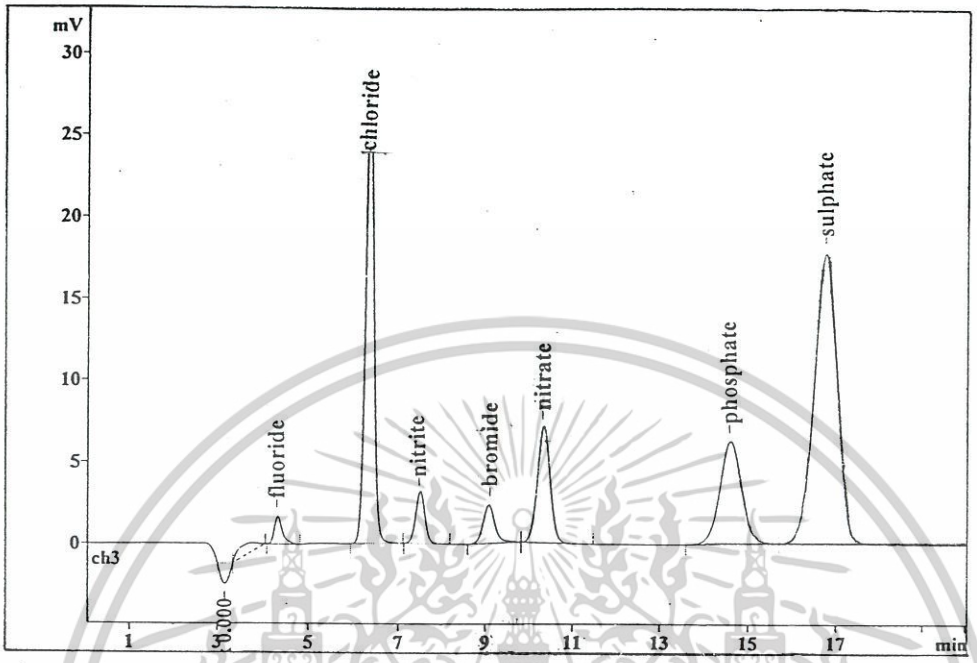


รูปที่ ก.14 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (ระดับความเข้มข้นต่ำ)



รูปที่ ก.15 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (ระดับความเข้มข้นกลาง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.16 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (ระดับความเข้มข้นสูง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.14 แสดงผลการทดลองการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (ระดับความเข้มข้นต่ำ)

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
ฟลูออไรด์	1	4.47	0.30	1.10	0.04
	2	4.48	0.33	0.98	0.04
	3	4.49	0.31	1.17	0.05
	4	4.49	0.31	0.99	0.04
	5	4.50	0.32	1.17	0.05
	6	4.50	0.32	1.16	0.05
	เฉลี่ย				**0.04**
	SD				**0.004**
	%RSD				**9.30**
คลอไรด์	1	6.30	3.57	44.21	1.17
	2	6.31	3.50	44.14	1.17
	3	6.33	3.65	44.02	1.16
	4	6.32	3.57	44.28	1.17
	5	6.31	3.66	44.15	1.17
	6	6.32	3.74	44.07	1.16
	เฉลี่ย				**1.16**
	SD				**0.003**
	%RSD				**0.26**
ไนไทรต์	1	7.45	0.08	1.24	0.03
	2	7.46	0.09	1.26	0.03
	3	7.47	0.09	1.21	0.02
	4	7.47	0.07	1.30	0.03
	5	7.48	0.08	1.30	0.03
	6	7.48	0.09	1.28	0.03
	เฉลี่ย				**0.03**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	SD				**0.001**
	%RSD				**3.33**
โบรไมด์	1	9.47	0.10	1.75	0.04
	2	9.47	0.13	1.75	0.04
	3	9.48	0.11	1.76	0.04
	4	9.48	0.11	1.80	0.04
	5	9.50	0.13	1.71	0.04
	6	9.53	0.14	1.80	0.04
	เฉลี่ย				**0.04**
	SD				**0.002**
	%RSD				**5.00**
ไนเทรต	1	10.25	1.49	38.42	0.68
	2	10.27	1.52	38.52	0.68
	3	10.30	1.53	38.69	0.69
	4	10.30	1.49	38.42	0.68
	5	10.31	1.52	38.46	0.68
	6	10.32	1.52	38.66	0.69
	เฉลี่ย				**0.69**
	SD				**0.002**
	%RSD				**0.29**
ฟอสเฟต	1	14.59	1.00	31.32	1.34
	2	14.59	1.01	32.23	1.38
	3	14.57	1.02	32.01	1.38
	4	14.58	1.03	31.98	1.37
	5	14.59	1.01	32.32	1.39
	6	14.59	1.03	32.35	1.39
	เฉลี่ย				**1.38**
	SD				**0.02**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	%RSD				**1.45**
ซัลเฟต	1	16.71	2.50	83.53	1.19
	2	16.72	2.49	83.53	1.19
	3	16.69	2.50	83.51	1.19
	4	16.71	2.47	83.37	1.19
	5	16.69	2.48	84.90	1.20
	6	16.70	2.47	83.38	1.19
	เฉลี่ย				**1.19**
	SD				**0.01**
	%RSD				**0.84**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.15 แสดงผลการทดลองการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (ระดับความเข้มข้นกลาง)

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
ฟลูออไรด์	1	4.30	1.10	11.61	0.45
	2	4.30	1.09	11.36	0.44
	3	4.32	1.09	11.20	0.43
	4	4.33	1.10	11.40	0.44
	5	4.31	1.08	11.36	0.44
	6	4.31	1.10	10.92	0.46
	เฉลี่ย				**0.44**
	SD				**0.009**
	%RSD				**2.05**
คลอไรด์	1	6.33	16.55	194.15	5.12
	2	6.33	16.41	195.82	5.17
	3	6.33	15.62	195.52	5.16
	4	6.33	16.62	196.6	5.19
	5	6.32	16.51	195.85	5.17
	6	6.32	15.35	195.43	5.16
	เฉลี่ย				**5.16**
	SD				**0.02**
	%RSD				**0.39**
ไนไทรต์	1	7.49	0.37	4.92	0.11
	2	7.49	0.36	4.98	0.11
	3	7.48	0.36	5.22	0.11
	4	7.47	0.38	4.91	0.11
	5	7.50	0.36	4.98	0.11
	6	7.49	0.36	4.97	0.11
	เฉลี่ย				**0.11**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	SD				**0.003**
	%RSD				**2.73**
โบรไมด์	1	9.52	0.21	4.94	0.11
	2	9.53	0.21	5.28	0.12
	3	9.52	0.20	5.22	0.12
	4	9.52	0.20	4.96	0.11
	5	9.53	0.20	5.24	0.12
	6	9.54	0.20	5.28	0.12
	เฉลี่ย				**0.11**
	SD				**0.003**
	%RSD				**2.73**
ไนเทรต	1	10.35	5.04	94.63	1.68
	2	10.35	5.04	95.10	1.69
	3	10.34	5.03	94.64	1.68
	4	10.34	5.03	94.49	1.68
	5	10.35	5.04	98.08	1.64
	6	10.35	5.04	94.24	1.67
	เฉลี่ย				**1.68**
	SD				**0.007**
	%RSD				**0.42**
ฟอสเฟต	1	14.53	4.23	125.33	5.38
	2	14.53	4.24	124.64	5.35
	3	14.50	4.24	127.26	5.46
	4	14.55	4.23	125.51	5.39
	5	14.55	4.24	127.64	5.48
	6	14.54	4.24	126.95	5.45
	เฉลี่ย				**5.42**
	SD				**0.05**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	%RSD				**0.92**
ซัลเฟต	1	16.72	10.57	363.58	5.17
	2	16.76	10.56	365.12	5.20
	3	16.72	10.57	364.71	5.20
	4	16.72	10.57	365.75	5.21
	5	16.76	10.54	362.12	5.15
	6	16.72	10.57	362.51	5.16
	เฉลี่ย				**5.18**
	SD				**0.08**
	%RSD				**1.54**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.16 แสดงผลการทดลองการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (ระดับความเข้มข้นสูง)

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
ฟลูออไรด์	1	4.31	1.82	22.21	0.86
	2	4.31	1.83	21.06	0.82
	3	4.31	1.91	22.11	0.86
	4	4.31	1.80	21.66	0.84
	5	4.32	1.81	21.77	0.84
	6	4.32	1.82	22.60	0.88
	เฉลี่ย				**0.85**
	SD				**0.02**
	%RSD				**2.35**
คลอไรด์	1	6.34	28.78	353.25	9.32
	2	6.35	28.88	350.69	9.25
	3	6.34	28.91	354.35	9.35
	4	6.34	29.11	352.67	9.31
	5	6.36	29.15	352.59	9.30
	6	6.35	28.92	353.66	9.33
	เฉลี่ย				**9.31**
	SD				**0.03**
	%RSD				**0.32**
ไนไทรต์	1	7.50	3.24	47.64	1.02
	2	7.50	3.24	46.60	1.00
	3	7.50	3.22	44.62	0.95
	4	7.50	3.25	47.20	1.01
	5	7.50	3.22	45.15	0.97
	6	7.50	3.25	48.11	1.03
	เฉลี่ย				0.99

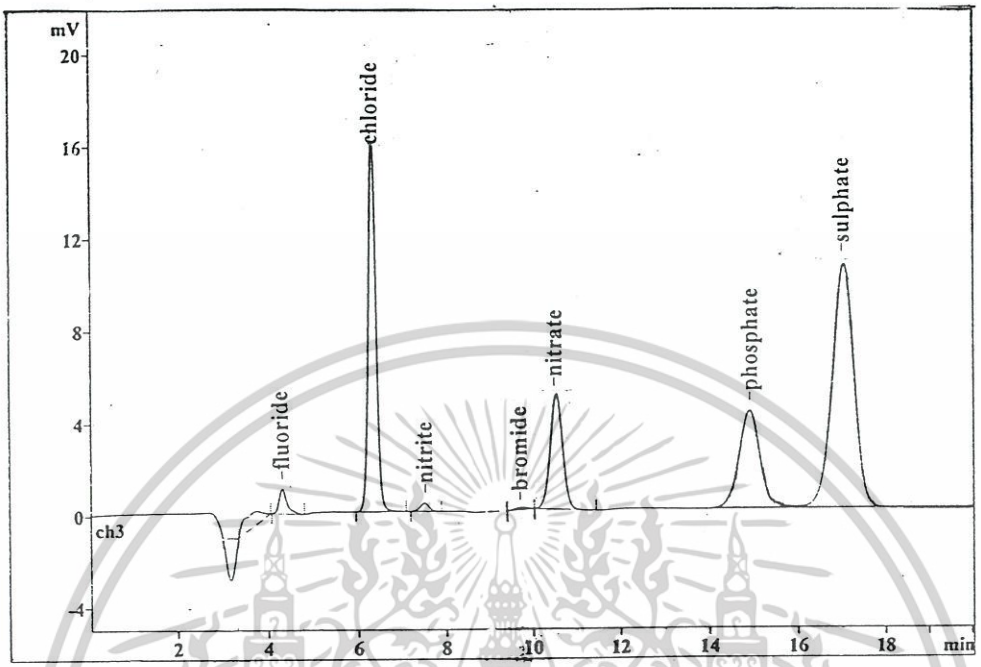
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	SD				**0.03**
	%RSD				**3.03**
โบรไมด์	1	9.07	2.41	45.27	1.01
	2	9.08	2.40	44.66	0.99
	3	9.09	2.40	46.40	1.03
	4	9.09	2.42	41.62	0.93
	5	9.07	2.40	45.62	1.01
	6	9.09	2.42	46.18	1.03
	เฉลี่ย				**1.00**
	SD				**0.04**
	%RSD				**4.00**
ไนเทรต	1	10.34	7.20	152.65	2.71
	2	10.35	7.22	151.45	2.69
	3	10.33	7.21	152.55	2.71
	4	10.34	7.24	151.69	2.70
	5	10.34	7.25	151.52	2.70
	6	10.35	7.23	152.29	2.71
	เฉลี่ย				**2.70**
	SD				**0.01**
	%RSD				**0.37**
ฟอสเฟต	1	14.57	6.45	214.13	9.19
	2	14.56	6.46	215.64	9.26
	3	14.57	6.45	218.45	9.38
	4	14.57	6.42	215.43	9.25
	5	14.57	6.44	219.08	9.40
	6	14.56	6.45	216.13	9.28
	เฉลี่ย				**9.29**
	SD				**0.08**

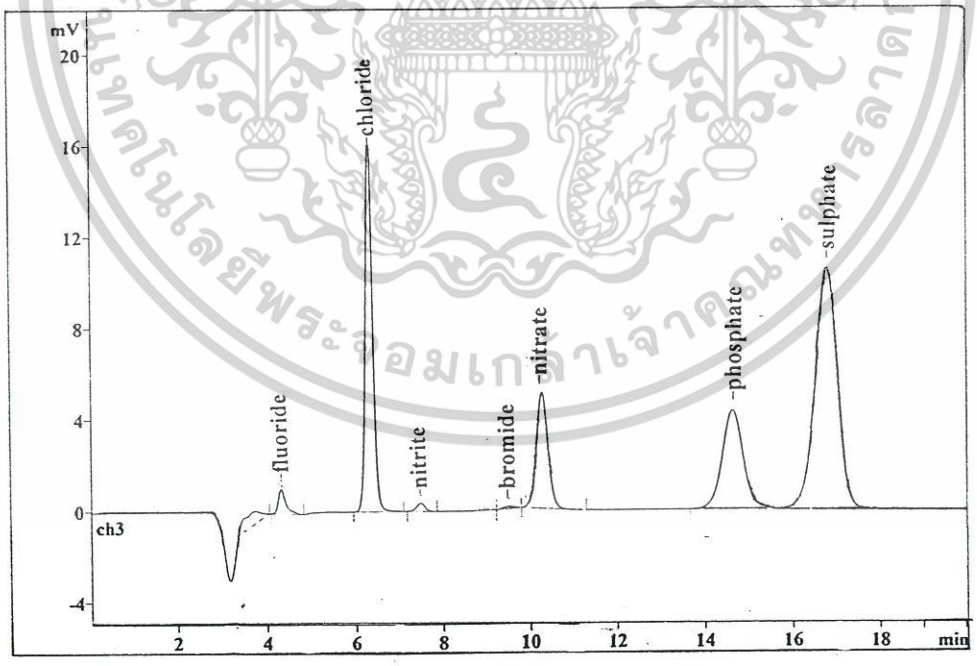
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	%RSD				**0.86**
ซัลเฟต	1	16.71	17.84	648.20	9.23
	2	16.70	17.81	641.98	9.14
	3	16.72	17.80	644.90	9.18
	4	16.71	17.83	642.23	9.14
	5	16.72	17.80	643.18	9.15
	6	16.70	17.82	643.74	9.16
	เฉลี่ย				**9.17**
	SD				**0.03**
	%RSD				**0.33**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.17 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ (Repeatability)



รูปที่ ก.18 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ (Reproducibility)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.17 แสดงผลการทดลองการศึกษาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ (Repeatability)

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
ฟลูออไรด์	1	4.33	1.08	11.61	0.45
	2	4.32	1.08	11.36	0.44
	3	4.28	1.02	11.20	0.44
	4	4.32	1.10	11.40	0.44
	5	4.30	1.08	11.36	0.44
	6	4.32	1.01	10.92	0.42
	เฉลี่ย				**0.44**
	SD				**0.01**
	%RSD				**2.01**
คลอไรด์	1	6.32	16.60	194.25	5.13
	2	6.31	16.35	195.83	5.17
	3	6.33	16.51	195.42	5.16
	4	6.33	15.86	196.62	5.19
	5	6.33	16.62	195.83	5.17
	6	6.33	16.51	194.43	5.13
	เฉลี่ย				**5.16**
	SD				**0.02**
	%RSD				**0.46**
ไนไทรต์	1	7.46	0.35	5.22	0.11
	2	7.49	0.38	4.98	0.11
	3	7.49	0.36	5.22	0.11
	4	7.49	0.37	4.91	0.11
	5	7.49	0.36	4.98	0.11
	6	7.49	0.37	4.97	0.11
	เฉลี่ย				**0.11**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	SD				**0.003**
	%RSD				**2.44**
โบรไมด์	1	9.47	0.20	4.70	0.11
	2	9.53	0.20	5.18	0.12
	3	9.48	0.19	5.16	0.12
	4	9.52	0.20	4.96	0.11
	5	9.53	0.20	5.24	0.12
	6	9.48	0.19	5.28	0.12
	เฉลี่ย				**0.11**
	SD				**0.004**
	%RSD				**3.18**
ไนเทรต	1	10.25	5.03	94.93	1.69
	2	10.29	5.07	98.08	1.74
	3	10.31	4.95	94.64	1.68
	4	10.29	5.06	94.59	1.68
	5	10.22	5.07	98.08	1.74
	6	10.25	4.99	94.24	1.67
	เฉลี่ย				**1.72**
	SD				**0.03**
	%RSD				**1.90**
ฟอสเฟต	1	14.85	4.39	130.33	5.59
	2	14.62	4.24	128.64	5.52
	3	14.59	4.24	127.46	5.47
	4	14.65	4.28	129.71	5.57
	5	14.61	4.24	128.64	5.52
	6	14.64	4.14	126.95	5.45
	เฉลี่ย				**5.52**
	SD				**0.06**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	%RSD				**1.00**
ซัลเฟต	1	16.68	10.67	364.58	5.19
	2	16.76	10.54	366.12	5.21
	3	16.82	10.33	364.71	5.19
	4	16.79	10.51	365.75	5.21
	5	16.76	10.54	366.12	5.21
	6	16.81	10.39	362.51	5.16
	เฉลี่ย				**5.19**
	SD				**0.02**
	%RSD				**0.38**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.18 แสดงผลการทดลองการศึกษาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ (Reproducibility)

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
ฟลูออไรด์	1	4.28	1.08	11.61	0.45
	2	4.29	1.05	11.19	0.44
	3	4.28	1.03	12.82	0.50
	4	4.32	1.10	10.92	0.42
	5	4.28	1.03	12.17	0.47
	6	4.32	1.01	11.18	0.43
	เฉลี่ย				**0.45**
	SD				**0.03**
	%RSD				**6.16**
คลอไรด์	1	6.26	16.60	194.25	5.13
	2	6.31	16.75	195.99	5.17
	3	6.28	16.71	200.17	5.28
	4	6.30	15.86	195.43	5.16
	5	6.30	16.62	197.65	5.22
	6	6.33	16.61	201.17	5.31
	เฉลี่ย				**5.21**
	SD				**0.07**
	%RSD				**1.39**
ไนไทรต์	1	7.46	0.38	5.22	0.11
	2	7.49	0.38	4.72	0.10
	3	7.43	0.36	5.22	0.11
	4	7.49	0.37	4.97	0.11
	5	7.47	0.39	4.63	0.10
	6	7.49	0.37	5.85	0.13
	เฉลี่ย				**0.11**

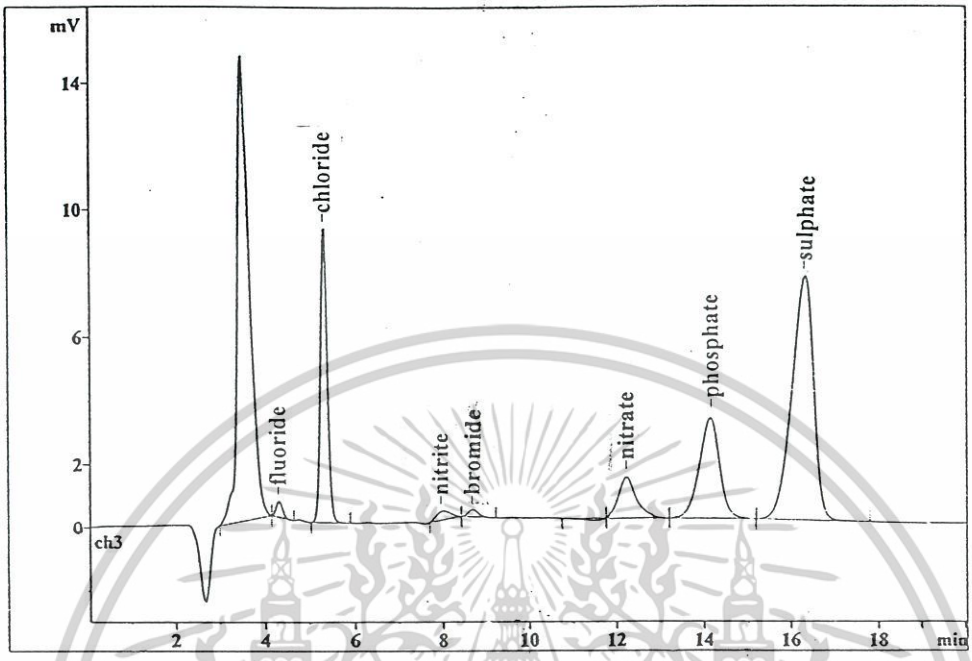
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	SD				**0.01**
	%RSD				**8.42**
โบรไมด์	1	9.47	0.20	4.70	0.11
	2	9.53	0.20	4.84	0.11
	3	9.48	0.19	5.56	0.12
	4	9.52	0.20	4.50	0.10
	5	9.53	0.20	5.60	0.12
	6	9.48	0.19	5.81	0.13
	เฉลี่ย				**0.12**
	SD				**0.12**
	%RSD				**10.52**
ไนเทรต	1	10.28	5.16	95.93	1.71
	2	10.25	5.07	95.13	1.69
	3	10.21	5.08	87.79	1.56
	4	10.29	5.06	95.24	1.69
	5	10.22	5.07	91.09	1.62
	6	10.25	5.09	97.29	1.73
	เฉลี่ย				**1.67**
	SD				**0.06**
	%RSD				**3.81**
ฟอสเฟต	1	14.53	4.93	130.33	5.59
	2	14.46	4.45	126.59	5.43
	3	14.59	4.72	125.83	5.40
	4	14.95	4.78	126.95	5.45
	5	14.55	4.72	128.08	5.50
	6	14.70	4.44	132.76	5.70
	เฉลี่ย				**5.51**
	SD				**0.11**

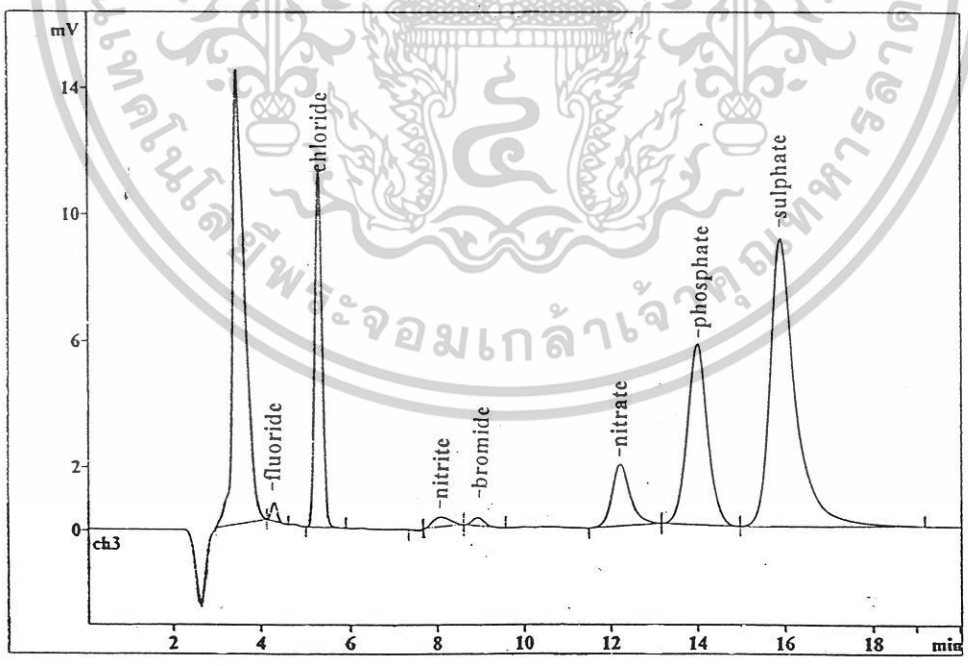
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	%RSD				**2.06**
ซัลเฟต	1	16.51	10.77	364.58	5.19
	2	16.68	10.65	362.49	5.16
	3	16.82	10.42	367.33	5.23
	4	16.94	10.51	362.51	5.16
	5	16.72	10.52	366.53	5.22
	6	16.76	10.51	365.56	5.20
	เฉลี่ย				**5.19**
	SD				**0.03**
	%RSD				**0.56**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

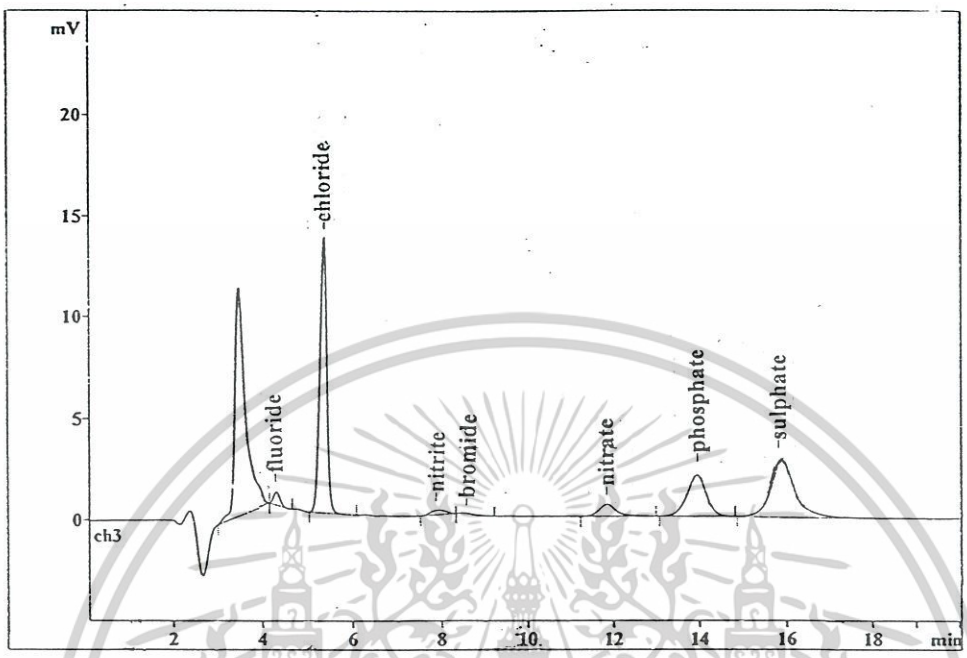


รูปที่ ก.19 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างใบชาเขียวที่ยังไม่ได้ทำการเติมสารมาตรฐานลงไปแล้ว)

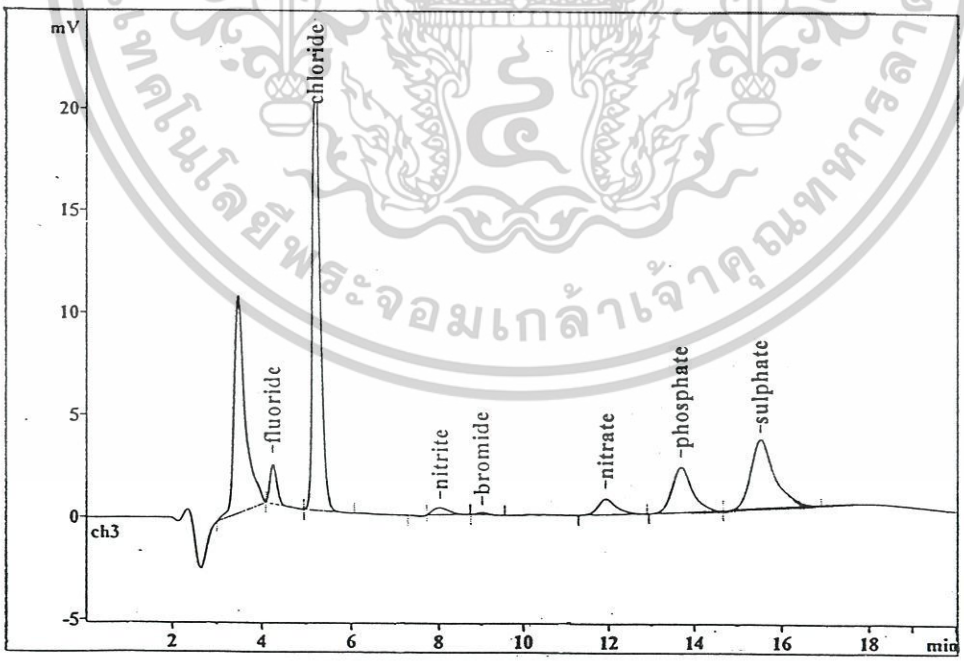


รูปที่ ก.20 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างใบชาเขียวที่ได้ทำการเติมสารมาตรฐานลงไปแล้ว)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

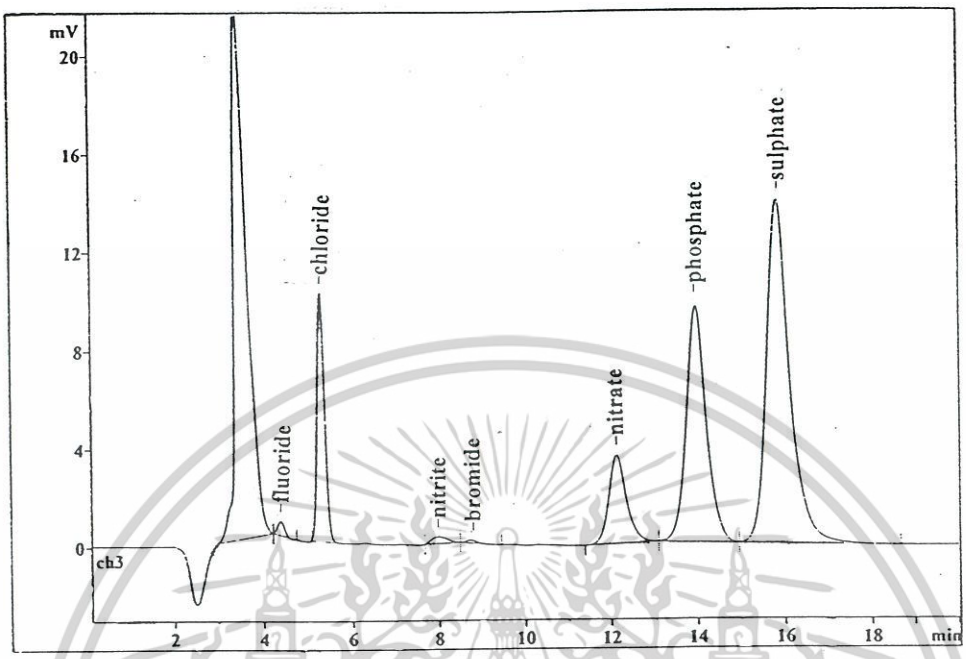


รูปที่ ก.21 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างชาเขียวที่ยังได้ทำการเติมสารมาตรฐานลงไปแล้ว)

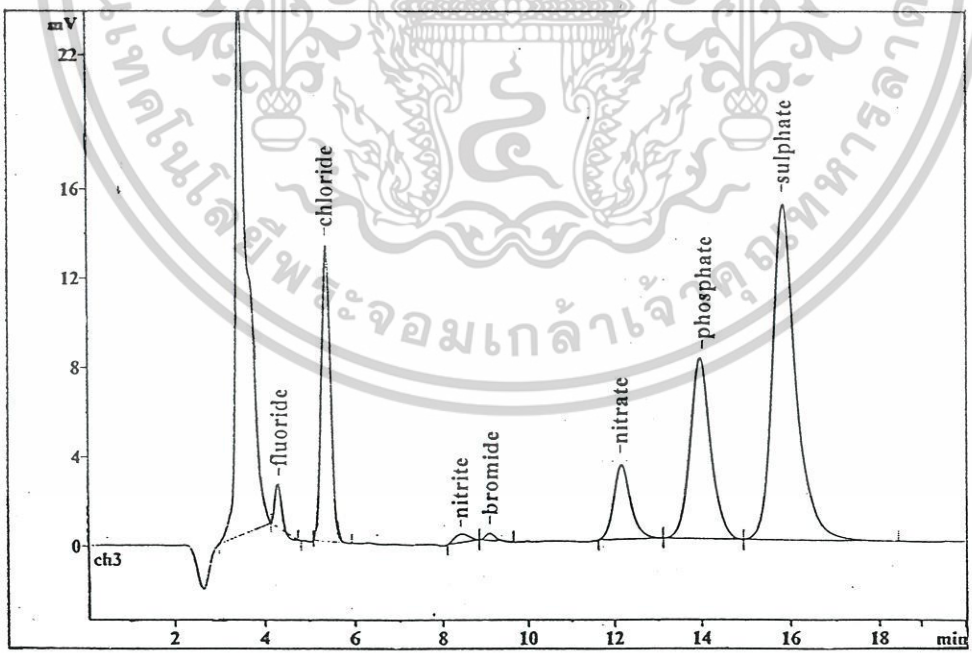


รูปที่ ก.22 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างชาเขียวที่ได้ทำการเติมสารมาตรฐานลงไปแล้ว)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

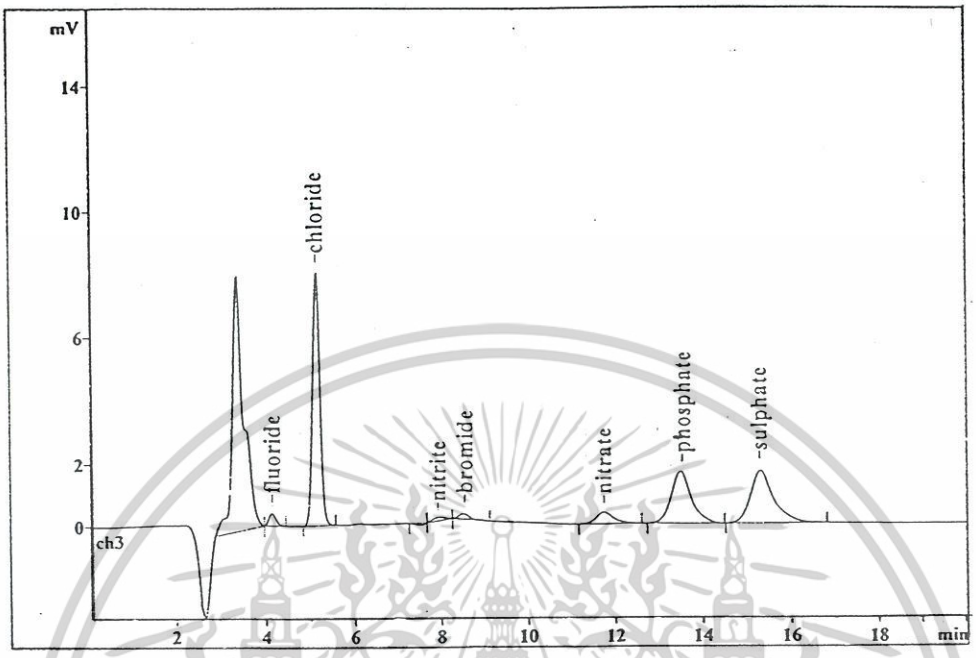


รูปที่ ก.23 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างใบชาดำที่ยังไม่ได้ทำการเติมสารมาตรฐานลงไปแล้ว)

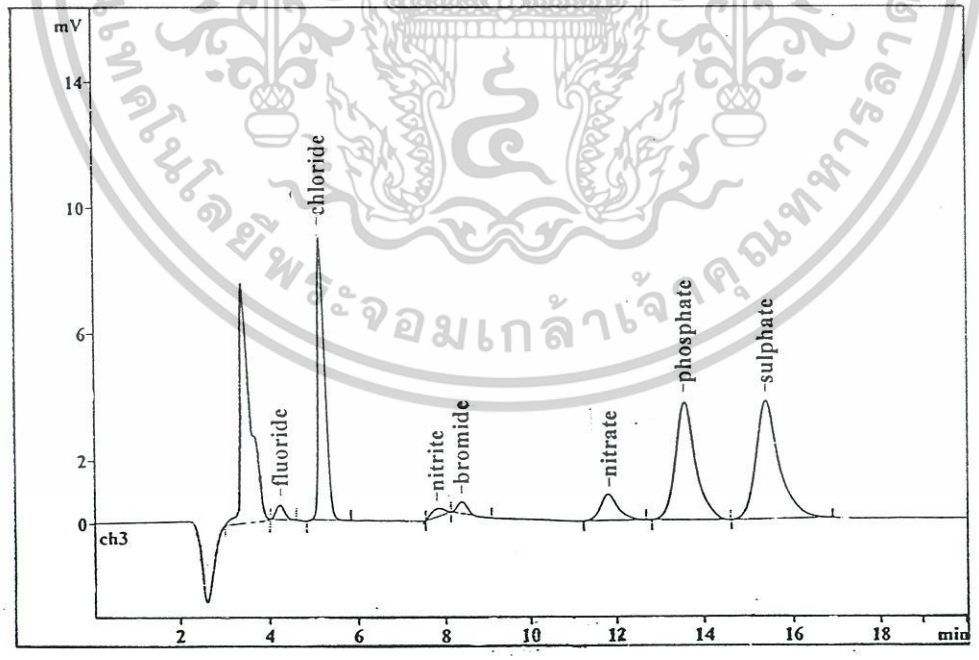


รูปที่ ก.24 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างใบชาดำที่ได้ทำการเติมสารมาตรฐานลงไปแล้ว)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.25 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างชาดำที่ยังไม่ได้ทำการเติมสารมาตรฐานลงไปแล้ว)



รูปที่ ก.26 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างชาดำที่ได้ทำการเติมสารมาตรฐานลงไปแล้ว)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.19 แสดงผลการทดลองการศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างใบชาเขียว)

สาร	การทดลอง	ความเข้มข้น (C_{splike}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{sample}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{add}, ppm)	% recovery
ฟลูออไรด์	1	0.41	0.18	0.30	110
	2	0.40	0.17	0.30	108
	3	0.41	0.18	0.30	108
	4	0.41	0.18	0.30	112
	5	0.40	0.17	0.30	108
	6	0.41	0.18	0.30	109
	เฉลี่ย				**109**
	SD				**1.60**
	%RSD				**0.55**
คลอไรด์	1	6.68	2.53	4.00	104
	2	6.69	2.54	4.00	104
	3	6.73	2.55	4.00	105
	4	6.67	2.54	4.00	103
	5	6.72	2.53	4.00	105
	6	6.64	2.53	4.00	103
	เฉลี่ย				**104**
	SD				**0.89**
	%RSD				**0.86**
ไนไทรต์	1	0.25	0.14	0.10	112
	2	0.25	0.14	0.10	106
	3	0.24	0.12	0.10	123
	4	0.25	0.14	0.10	107
	5	0.24	0.14	0.10	107
	6	0.24	0.13	0.10	106
	เฉลี่ย				**110**
	SD				**6.68**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	ความเข้มข้น (C_{splike}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{sample}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{add}, ppm)	% recovery
	%RSD				**6.07**
โบรไมด์	1	0.19	0.09	0.10	108
	2	0.20	0.09	0.10	115
	3	0.19	0.08	0.10	115
	4	0.20	0.09	0.10	110
	5	0.20	0.08	0.10	116
	6	0.19	0.08	0.10	107
	เฉลี่ย				**111**
	SD				**3.97**
	%RSD				**3.53**
ไนเทรต	1	2.14	1.01	1.00	113
	2	2.00	0.87	1.00	113
	3	2.32	1.19	1.00	113
	4	2.26	1.20	1.00	106
	5	2.29	1.16	1.00	114
	6	2.31	1.18	1.00	113
	เฉลี่ย				**112**
	SD				**2.97**
	%RSD				**2.65**
ฟอสเฟต	1	7.30	4.04	3.00	109
	2	7.44	4.12	3.00	110
	3	7.49	4.19	3.00	110
	4	7.48	4.18	3.00	110
	5	7.46	4.14	3.00	110
	6	7.54	4.22	3.00	111
	เฉลี่ย				**110**
	SD				**0.63**
	%RSD				**0.58**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	ความเข้มข้น (C_{splike}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{sample}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{add}, ppm)	% recovery
ซัลเฟต	1	6.98	3.85	3.00	105
	2	6.97	3.82	3.00	105
	3	7.20	4.12	3.00	103
	4	7.22	4.05	3.00	106
	5	7.21	4.04	3.00	105
	6	7.41	4.26	3.00	105
	เฉลี่ย				**105**
	SD				**0.98**
	%RSD				**0.94**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.20 แสดงผลการทดลองการศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างชาเขียว)

สาร	การทดลอง	ความเข้มข้น (C_{splike}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{sample}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{add}, ppm)	% recovery
ฟลูออไรด์	1	0.63	0.40	0.30	108
	2	0.65	0.43	0.30	108
	3	0.62	0.40	0.30	108
	4	0.67	0.45	0.30	108
	5	0.63	0.40	0.30	109
	6	0.63	0.41	0.30	108
	เฉลี่ย				**108**
	SD				**0.40**
	%RSD				**0.38**
คลอไรด์	1	8.14	4.02	4.00	103
	2	8.22	4.06	4.00	104
	3	8.26	3.93	4.00	108
	4	8.15	4.05	4.00	104
	5	8.25	4.00	4.00	106
	6	8.28	4.04	4.00	106
	เฉลี่ย				**106**
	SD				**1.67**
	%RSD				**1.58**
ไนไทรต์	1	0.23	0.13	0.10	107
	2	0.23	0.12	0.10	111
	3	0.23	0.12	0.10	106
	4	0.23	0.12	0.10	107
	5	0.24	0.13	0.10	104
	6	0.22	0.12	0.10	108
	เฉลี่ย				**107**
	SD				**2.59**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	ความเข้มข้น (C_{splike}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{sample}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{add}, ppm)	% recovery
	%RSD				**2.42**
โบรไมด์	1	0.15	0.03	0.10	115
	2	0.16	0.04	0.10	108
	3	0.16	0.04	0.10	114
	4	0.16	0.05	0.10	116
	5	0.16	0.05	0.10	114
	6	0.15	0.04	0.10	110
	เฉลี่ย				**113**
	SD				**3.13**
	%RSD				**2.77**
ไนเทรต	1	1.93	0.80	1.00	113
	2	1.92	0.80	1.00	113
	3	1.92	0.79	1.00	113
	4	1.93	0.80	1.00	114
	5	1.93	0.80	1.00	114
	6	1.93	0.80	1.00	113
	เฉลี่ย				**113**
	SD				**0.52**
	%RSD				**0.46**
ฟอสเฟต	1	6.26	3.00	3.00	109
	2	6.33	3.02	3.00	110
	3	6.25	2.95	3.00	110
	4	6.30	3.00	3.00	110
	5	6.28	2.98	3.00	110
	6	6.33	3.02	3.00	111
	เฉลี่ย				**110**
	SD				**0.63**
	%RSD				**0.58**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	ความเข้มข้น (C_{splike}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{sample}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{add}, ppm)	% recovery
ซัลเฟต	1	5.02	1.89	3.00	105
	2	5.05	1.89	3.00	105
	3	4.96	1.82	3.00	105
	4	4.98	1.81	3.00	106
	5	4.93	1.77	3.00	105
	6	5.03	1.88	3.00	105
	เฉลี่ย				**105**
	SD				**0.41**
	%RSD				**0.39**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.21 แสดงผลการทดลองการศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างใบชาดำ)

สาร	การทดลอง	ความเข้มข้น (C_{splike}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{sample}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{add}, ppm)	% recovery
ฟลูออไรด์	1	0.55	0.33	0.30	108
	2	0.56	0.33	0.30	109
	3	0.57	0.35	0.30	108
	4	0.51	0.29	0.30	108
	5	0.50	0.28	0.30	109
	6	0.54	0.31	0.30	109
	เฉลี่ย				**109**
	SD				**0.55**
	%RSD				**0.50**
คลอไรด์	1	7.08	3.01	4.00	102
	2	7.15	3.04	4.00	102
	3	7.15	3.05	4.00	103
	4	7.15	3.05	4.00	103
	5	7.05	2.95	4.00	103
	6	7.12	3.02	4.00	103
	เฉลี่ย				**103**
	SD				**0.45**
	%RSD				**0.43**
ไนไทรต์	1	0.26	0.16	0.100	106
	2	0.28	0.17	0.100	106
	3	0.29	0.17	0.100	112
	4	0.28	0.17	0.100	112
	5	0.26	0.15	0.100	108
	6	0.26	0.15	0.100	107
	เฉลี่ย				**109**
	SD				**2.83**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	ความเข้มข้น (C_{splike}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{sample}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{add}, ppm)	% recovery
	%RSD				**2.60**
โบรไมด์	1	0.17	0.05	0.10	111
	2	0.16	0.05	0.10	115
	3	0.16	0.05	0.10	115
	4	0.17	0.05	0.10	108
	5	0.17	0.06	0.10	116
	6	0.17	0.05	0.10	114
	เฉลี่ย				**113**
	SD				**3.06**
	%RSD				**2.71**
ไนเทรต	1	2.41	1.28	1.00	113
	2	2.48	1.34	1.00	113
	3	2.45	1.32	1.00	113
	4	2.47	1.34	1.00	114
	5	2.37	1.23	1.00	114
	6	2.41	1.28	1.00	113
	เฉลี่ย				**113**
	SD				**0.52**
	%RSD				**0.46**
ฟอสเฟต	1	7.85	4.46	3.00	113
	2	8.22	4.91	3.00	110
	3	8.18	4.88	3.00	109
	4	8.30	5.00	3.00	110
	5	7.90	4.60	3.00	110
	6	8.00	4.68	3.00	111
	เฉลี่ย				**111**
	SD				**1.38**
	%RSD				**1.24**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	ความเข้มข้น (C_{splike}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{sample}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{add}, ppm)	% recovery
ซัลเฟต	1	7.55	4.42	3.00	104
	2	7.80	4.64	3.00	105
	3	7.74	4.60	3.00	105
	4	7.97	4.79	3.00	106
	5	7.34	4.18	3.00	105
	6	7.62	4.47	3.00	105
	เฉลี่ย				**105**
	SD				**0.41**
	%RSD				**0.39**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.22 แสดงผลการทดลองการศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างชาดำ)

สาร	การทดลอง	ความเข้มข้น (C_{splike}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{sample}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{add}, ppm)	% recovery
ฟลูออไรด์	1	0.45	0.22	0.30	109
	2	0.39	0.167	0.30	109
	3	0.38	0.15	0.30	109
	4	0.41	0.19	0.30	109
	5	0.36	0.13	0.30	108
	6	0.34	0.11	0.30	110
	เฉลี่ย				**109**
	SD				**0.63**
	%RSD				**0.58**
คลอไรด์	1	6.23	2.12	4.00	103
	2	6.26	2.15	4.00	103
	3	6.21	2.14	4.00	102
	4	6.15	2.08	4.00	102
	5	6.27	2.17	4.00	103
	6	6.22	2.15	4.00	102
	เฉลี่ย				**102**
	SD				**0.55**
	%RSD				**0.54**
ไนไทรต์	1	0.28	0.19	0.10	91
	2	0.27	0.18	0.10	85
	3	0.27	0.19	0.10	85
	4	0.28	0.19	0.10	90
	5	0.28	0.19	0.10	86
	6	0.27	0.18	0.10	86
	เฉลี่ย				**86**
	SD				**2.07**

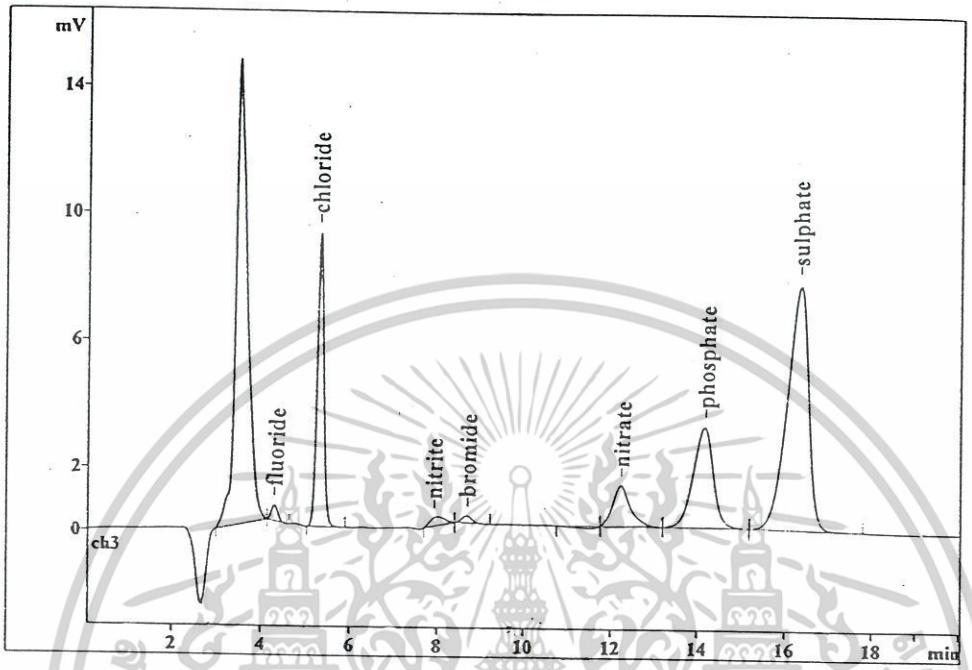
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	ความเข้มข้น (C_{splike}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{sample}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{add}, ppm)	% recovery
	%RSD				**2.41**
โบรไมด์	1	0.23	0.11	0.10	111
	2	0.23	0.12	0.10	115
	3	0.22	0.11	0.10	115
	4	0.22	0.11	0.10	108
	5	0.22	0.11	0.10	119
	6	0.22	0.11	0.10	114
	เฉลี่ย				**114**
	SD				**3.78**
	%RSD				**3.31**
ไนเทรต	1	1.89	0.76	1.00	113
	2	1.88	0.75	1.00	113
	3	1.89	0.76	1.00	113
	4	1.89	0.75	1.00	114
	5	1.89	0.75	1.00	114
	6	1.88	0.75	1.00	113
	เฉลี่ย				**113**
	SD				**0.52**
	%RSD				**0.46**
ฟอสเฟต	1	7.84	4.58	3.00	109
	2	7.88	4.56	3.00	110
	3	7.79	4.49	3.00	110
	4	7.76	4.45	3.00	110
	5	7.89	4.58	3.00	110
	6	7.87	4.55	3.00	111
	เฉลี่ย				**110**
	SD				**0.63**
	%RSD				**0.58**

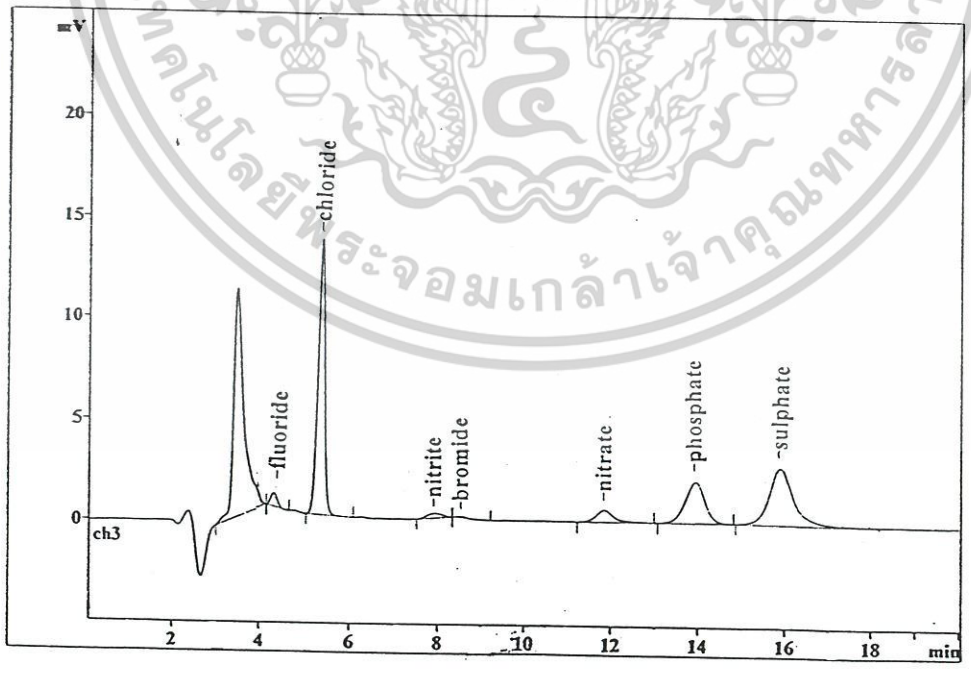
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	ความเข้มข้น (C_{splike}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{sample}, ppm)	ความเข้มข้น (C_{add}, ppm)	% recovery
ซัลเฟต	1	4.94	1.81	3.00	105
	2	4.94	1.79	3.00	105
	3	4.90	1.76	3.00	105
	4	4.91	1.73	3.00	106
	5	4.99	1.83	3.00	105
	6	4.96	1.81	3.00	105
	เฉลี่ย				**105**
	SD				**0.41**
	%RSD				**0.39**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

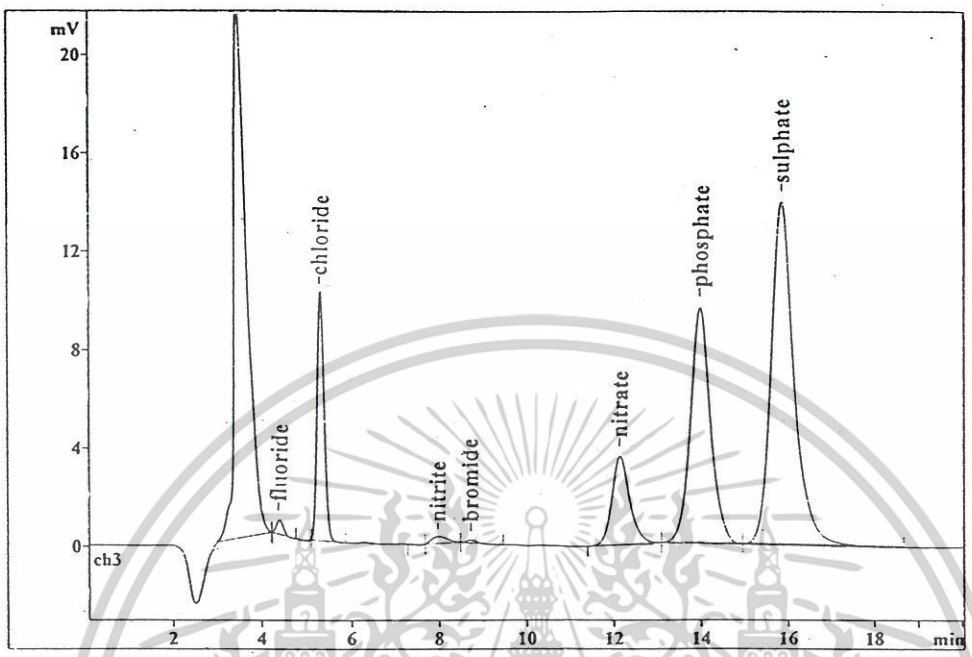


รูปที่ ก.27 แสดงโครมาโทแกรมการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างใบชาเขียว

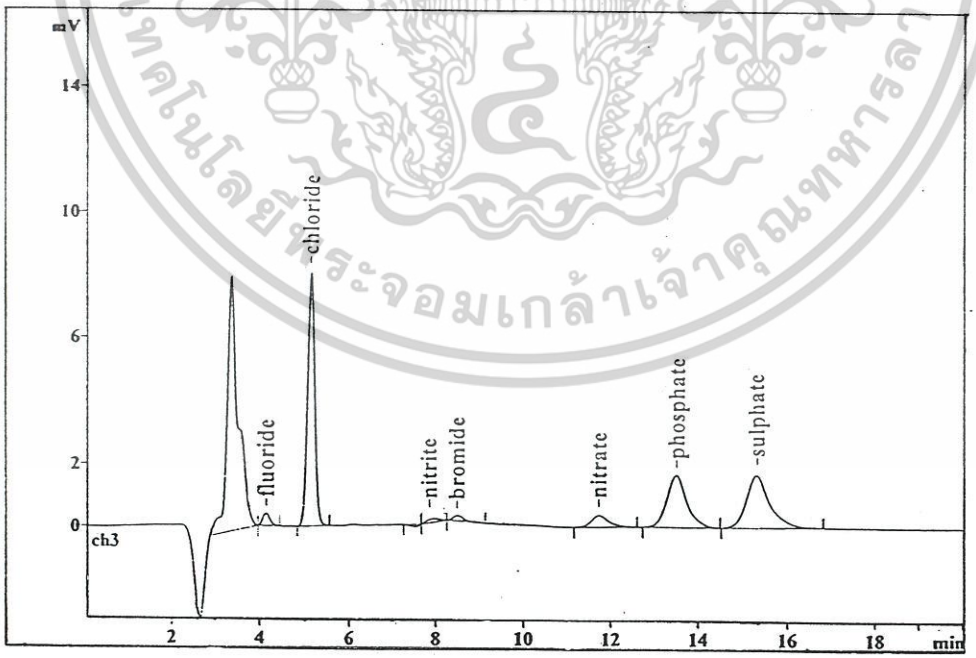


รูปที่ ก.28 แสดงโครมาโทแกรมการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างชาเขียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.29 แสดงโครมาโทแกรมการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างใบชาดำ



รูปที่ ก.30 แสดงโครมาโทแกรมการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่าง**ชาดำ**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.23 แสดงผลการทดลองการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างใบชาเขียว

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
ฟลูออไรด์	1	4.29	0.51	4.70	1.83
	2	4.29	0.47	4.42	1.72
	3	4.30	0.50	4.73	1.84
	4	4.31	0.50	4.71	1.83
	5	4.31	0.46	4.43	1.72
	6	4.30	0.43	4.64	1.80
	เฉลี่ย				**1.79**
	SD				**0.06**
	%RSD				**3.12**
คลอไรด์	1	5.31	9.25	95.81	25.29
	2	5.31	8.96	96.36	25.43
	3	5.32	9.24	96.68	25.51
	4	5.32	9.26	96.20	25.39
	5	5.32	8.90	95.88	25.30
	6	5.31	8.68	95.79	25.28
	เฉลี่ย				**25.36**
	SD				**0.01**
	%RSD				**0.04**
ไนไทรต์	1	7.96	0.28	6.46	1.39
	2	7.94	0.27	6.53	1.40
	3	7.99	0.26	5.76	1.23
	4	7.98	0.28	6.55	1.40
	5	7.98	0.27	6.34	1.37
	6	7.95	0.25	6.24	1.34
	เฉลี่ย				**1.35**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	SD				**0.006**
	%RSD				**0.44**
โบรไมด์	1	8.69	0.24	3.87	0.86
	2	8.69	0.23	3.85	0.86
	3	7.99	0.23	3.50	0.78
	4	8.68	0.23	3.82	0.85
	5	8.67	0.23	3.69	0.82
	6	8.65	0.25	3.72	0.83
	เฉลี่ย				**0.830**
	SD				**0.004**
	%RSD				**0.482**
ไนเทรต	1	12.22	1.96	56.84	10.10
	2	12.21	1.59	48.92	08.69
	3	12.23	2.41	66.82	11.87
	4	12.25	2.35	63.01	11.95
	5	12.26	2.36	65.02	11.55
	6	12.26	2.02	66.44	11.81
	เฉลี่ย				**11.00**
	SD				**0.13**
	%RSD				**0.12**
ฟอสเฟต	1	14.00	5.75	94.07	40.37
	2	14.00	5.77	96.08	41.24
	3	14.03	5.77	97.70	41.93
	4	14.05	5.76	97.34	41.77
	5	14.06	5.70	96.84	41.56
	6	14.06	5.47	98.35	42.21
	เฉลี่ย				**41.51**
	SD				**0.07**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	%RSD				**0.16**
ซัลเฟต	1	15.91	9.13	270.26	38.46
	2	15.92	8.18	268.24	38.18
	3	15.92	10.87	289.29	41.17
	4	15.95	10.58	284.30	40.46
	5	15.95	10.55	284.10	40.43
	6	15.96	8.75	299.42	42.61
	เฉลี่ย				**40.22**
	SD				**0.17**
	%RSD				**0.42**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.24 แสดงผลการทดลองการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างชาเขียว

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
ฟลูออไรด์	1	4.27	2.10	10.30	4.00
	2	4.27	2.13	10.96	4.26
	3	4.26	1.96	10.15	3.94
	4	4.28	2.07	11.49	4.46
	5	4.26	2.10	10.39	4.03
	6	4.26	1.95	10.48	4.07
	เฉลี่ย				**4.13**
	SD				**0.02**
	%RSD				**0.48**
คลอไรด์	1	5.25	17.77	152.51	40.24
	2	5.26	17.80	153.90	40.61
	3	5.25	16.52	148.86	39.28
	4	5.27	17.52	153.51	40.51
	5	5.26	17.53	151.69	40.03
	6	5.26	16.61	152.99	40.37
	เฉลี่ย				**40.17**
	SD				**0.05**
	%RSD				**0.12**
ไนไทรต์	1	7.91	0.23	5.86	1.25
	2	7.94	0.22	5.74	1.23
	3	7.93	0.21	5.70	1.22
	4	7.96	0.22	5.80	1.24
	5	7.96	0.22	5.83	1.28
	6	7.95	0.20	5.35	1.15
	เฉลี่ย				**1.23**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	SD				**0.004**
	%RSD				**0.36**
โบรไมด์	1	8.52	0.08	1.52	0.34
	2	8.56	0.08	1.81	0.40
	3	8.56	0.08	1.92	0.43
	4	8.59	0.09	2.02	0.45
	5	8.60	0.09	2.11	0.47
	6	8.60	0.09	1.89	0.42
	เฉลี่ย				**0.42**
	SD				**0.005**
	%RSD				**1.08**
ไนเทรต	1	11.92	2.74	44.75	7.95
	2	11.92	2.75	44.76	7.95
	3	11.88	2.72	44.27	7.87
	4	11.89	2.75	44.79	7.96
	5	11.88	2.75	44.80	7.96
	6	11.87	2.75	44.93	7.98
	เฉลี่ย				**7.95**
	SD				**0.004**
	%RSD				**0.05**
ฟอสเฟต	1	13.70	4.17	69.82	29.96
	2	13.68	4.18	70.32	30.18
	3	13.65	4.13	68.76	29.51
	4	13.66	4.15	69.84	29.98
	5	13.65	4.18	69.37	29.77
	6	13.64	4.17	70.27	30.16
	เฉลี่ย				**29.93**
	SD				**0.03**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	%RSD				**0.09**
ซัลเฟต	1	15.52	5.39	132.67	18.88
	2	15.52	5.38	132.73	18.89
	3	15.48	5.20	128.14	18.24
	4	15.49	5.33	126.79	18.05
	5	15.48	5.28	124.29	17.69
	6	15.47	5.34	131.74	18.75
	เฉลี่ย				**18.42**
	SD				**0.05**
	%RSD				**0.27**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.25 แสดงผลการทดลองการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างใบชาดำ

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
ฟลูออไรด์	1	4.28	1.97	18.41	3.27
	2	4.29	2.08	18.44	3.28
	3	4.30	2.10	18.96	3.48
	4	4.30	1.92	17.38	2.87
	5	4.27	1.94	17.11	2.76
	6	4.27	2.01	18.03	3.12
	เฉลี่ย				**3.05**
	SD				**0.03**
	%RSD				**0.95**
คลอไรด์	1	5.31	10.16	114.04	30.09
	2	5.31	10.57	115.25	30.41
	3	5.32	10.63	115.51	30.48
	4	5.31	10.32	115.68	30.52
	5	5.26	10.34	111.68	29.47
	6	5.27	10.62	114.54	30.22
	เฉลี่ย				**30.20**
	SD				**0.04**
	%RSD				**0.13**
ไนไทรต์	1	7.99	0.28	7.22	1.55
	2	7.98	0.32	8.03	1.72
	3	7.99	0.32	8.14	1.74
	4	7.98	0.31	7.85	1.68
	5	7.95	0.29	6.87	1.47
	6	7.96	0.30	7.07	1.51
	เฉลี่ย				**1.61**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	SD				**0.01**
	%RSD				**0.72**
โบรไมด์	1	8.72	0.13	2.28	0.51
	2	8.71	0.14	2.21	0.49
	3	8.71	0.14	2.20	0.49
	4	8.69	0.13	2.17	0.48
	5	8.58	0.13	2.61	0.58
	6	8.58	0.12	2.39	0.53
	เฉลี่ย				**0.51**
	SD				**0.00**
	%RSD				**0.73**
ไนเทรต	1	12.14	3.62	72.17	12.82
	2	12.16	3.73	75.56	13.43
	3	12.19	3.67	74.42	13.22
	4	12.19	3.67	75.20	13.36
	5	11.94	3.53	69.29	12.31
	6	11.96	3.62	72.26	12.84
	เฉลี่ย				**13.00**
	SD				**0.04**
	%RSD				**0.33**
ฟอสเฟต	1	13.98	9.60	106.92	44.60
	2	14.02	9.82	114.37	49.09
	3	14.04	9.80	113.79	48.83
	4	14.05	9.77	116.50	50.0
	5	13.68	9.56	107.11	45.97
	6	13.70	9.95	109.10	46.82
	เฉลี่ย				**47.55**
	SD				**0.21**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	%RSD				**0.44**
ซัลเฟต	1	15.85	13.98	310.50	44.19
	2	15.88	14.53	326.35	46.44
	3	15.91	14.14	322.95	45.96
	4	15.92	14.29	336.65	47.91
	5	15.49	14.05	293.81	41.82
	6	15.52	14.30	313.72	44.65
	เฉลี่ย				**45.16**
	SD				**0.21**
	%RSD				**0.47**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.26 แสดงผลการทดลองการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างชาดำ

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
ฟลูออไรด์	1	4.24	0.26	5.64	2.19
	2	4.25	0.22	4.29	1.67
	3	4.25	0.19	3.91	1.52
	4	4.24	0.18	4.75	1.85
	5	4.26	0.15	3.41	1.33
	6	4.26	0.13	2.93	1.14
	เฉลี่ย				**1.62**
	SD				**0.04**
	%RSD				**2.32**
คลอไรด์	1	5.23	8.57	80.46	21.23
	2	5.24	8.48	81.47	21.50
	3	5.24	8.50	81.04	21.38
	4	5.24	8.57	78.89	20.82
	5	5.25	8.61	82.10	21.66
	6	5.25	8.48	81.45	21.49
	เฉลี่ย				**21.35**
	SD				**0.03**
	%RSD				**0.14**
ไนไทรต์	1	7.93	0.12	8.76	1.87
	2	7.93	0.12	8.47	1.81
	3	7.92	0.11	8.84	1.89
	4	7.92	0.12	8.78	1.88
	5	7.93	0.12	8.82	1.89
	6	7.92	0.11	8.39	1.80
	เฉลี่ย				**1.86**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	SD				**0.004**
	%RSD				**0.22**
โบรไมด์	1	8.51	0.17	5.14	1.14
	2	8.52	0.16	5.17	1.15
	3	8.52	0.17	4.86	1.08
	4	8.50	0.17	4.96	1.10
	5	8.52	0.17	4.89	1.09
	6	8.51	0.17	4.96	1.10
	เฉลี่ย				**1.10**
	SD				**0.003**
	%RSD				**0.26**
ไนเทรต	1	11.84	1.38	42.88	7.62
	2	11.88	1.37	42.14	7.49
	3	11.88	1.36	42.56	7.56
	4	11.89	1.37	42.22	7.50
	5	11.93	1.37	42.27	7.51
	6	11.92	1.37	42.32	7.52
	เฉลี่ย				**7.53**
	SD				**0.005**
	%RSD				**0.07**
ฟอสเฟต	1	13.61	3.70	106.64	45.77
	2	13.66	3.65	106.33	45.64
	3	13.66	3.68	104.63	44.90
	4	13.67	3.67	103.69	44.50
	5	13.71	3.69	106.78	45.83
	6	13.70	3.67	106.03	45.510
	เฉลี่ย				**45.36**
	SD				**0.05**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร	การทดลอง	เวลา (t_r, min)	ความสูงพีก (mV)	พื้นที่ใต้พีก (mV*Sec)	ความเข้มข้น (ppm)
	%RSD				**0.12**
ซัลเฟต	1	15.43	2.73	127.22	18.11
	2	15.48	2.62	125.44	17.85
	3	15.48	2.61	123.36	17.56
	4	15.49	2.68	121.82	17.34
	5	15.48	2.64	128.44	18.28
	6	15.53	2.64	126.91	18.06
	เฉลี่ย				**17.87**
	SD				**0.04**
	%RSD				**0.20**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

แสดงวิธีคำนวณ

ข.1 วิธีการคำนวณหา capacity fector (k′)

จากสูตร $k' = \frac{t_R - t_m}{t_m}$

เมื่อ k' = capacity fector

t_R = retention time ของสาร

t_m = retention time ของสารละลายเคลื่อนที่

แทนค่า $k' = \frac{3.90 - 2.30}{2.30}$

$= 0.69$

ข.2 วิธีการคำนวณหา theoretical plate number (N) และ Height equivalent of a theoretical plate (HETP)

จากสูตร $N = 5.54(\frac{t_R}{W_{1/2}})^2$

$H = \frac{L}{N}$

เมื่อ N = จำนวน theoretical plate

t_R = retention time ของสาร

$W_{1/2}$ = ความกว้างของพีกที่ครึ่งหนึ่งของความสูง มีหน่วยเป็นcm.

H = Height equivalent of a theoretical plate

L = ความยาวของคอลัมน์ มีหน่วยเป็นcm.

แทนค่า $N = 5.54(\frac{5.37}{0.35})^2$

$= 1304.13$

$H = \frac{15.00}{1304.13}$

$= 0.0115$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.3 วิธีการคำนวณหาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (limit of detection)

จากสูตร $LOD = 3SD_0$

เมื่อ LOD = ความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้

SD_0 = ค่า SD ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0 (ค่า SD ที่อ่านได้จากจุดตัดของกราฟ)

แทนค่า $LOD = 3(0.0007)$

$= 0.002$ ppm

ข.4 วิธีการคำนวณหาค่าร้อยละของการได้คืนกลับ (% recovery)

จากสูตร $\%\ recovery = \frac{C_{splike} - C_{sample}}{C_{add}} \times 100$

เมื่อ C_{splike} = ความเข้มข้นของสารตัวอย่างและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติม

C_{sample} = ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง

C_{add} = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติม

แทนค่า $\%\ recovery = \frac{0.63\,(ppm) - 0.40\,(ppm)}{0.30\,(ppm)} \times 100$

$= 108$

ข.5 วิธีการคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างชา

จากสูตร $C_1 = \frac{C_2 \times V_2}{V_1}$

เมื่อ C_1 = ความเข้มข้นเริ่มต้นของไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่าง

C_2 = ความเข้มข้นของไอออนลบของสารอนินทรีย์ในตัวอย่างที่ได้จากการวิเคราะห์

V_1 = ปริมาตรเริ่มต้นของสารละลายตัวอย่างที่ปิเปตมา

V_2 = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างสุดท้ายที่ผ่านการปรับปริมาตรแล้ว

แทนค่า $C_1 = \frac{0.18\,(ppm) \times 10\,(ml)}{1\,(ml)}$

$= 1.83$ ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้