สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การตรวจวัดลิเทียมไอออนในไวน์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

T061928

นางสาวอัปสร หัตถเสรีพงษ์

วท.
ล549ก
2547

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....61928
วัน,เดือน,ปี.....25 ก.ค. 2549

ส.....11606010
ส.....

ปัญหาพิเศษ/โครงงานพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Determination of lithium in wines by ion chromatography

Miss. Absorn Huttasereephong

A Sepecial Project Submitted in Partial fulfilment of the Requirement for the Degree of

Bachelor of Science

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Acadamic Year 2004

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การตรวจวัดลิเทียมไอออนในไวน์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี
(Determination of Lithium in Wines by Ion Chromatography)

นักศึกษา นางสาวอัปสร หัตถเสรีพงษ์

ภาควิชา เคมี

สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.คณิตา ตังคณานุรักษ์

ภาควิชา เคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้ปัญหาพิเศษ/โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล	
กรรมการ ผศ.ดร.ประยงค์ ดวงดี	
กรรมการ ผศ.คณิตา ตังคณานุรักษ์	

(.....)

ผศ.ดร.ประยงค์ ดวงดี

หัวหน้าภาควิชาเคมี

ลิขสิทธิ์ของภาควิชา เคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การตรวจวัดลิเทียมไอออนในไวน์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี
นักศึกษา นางสาวอัปสร หัตถเสรีพงษ์
ภาควิชา เคมี
สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
ปีการศึกษา 2547
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.คณิตา ตังคณานุรักษ์

บทคัดย่อ

ลิเทียมไอออนในไวน์เป็นสารที่ทำให้คุณสมบัติของไวน์เปลี่ยนไป เช่น สีและกลิ่นไม่เหมาะสมสำหรับการบริโภค ซึ่งลิเทียมไอออนที่ปรากฏในไวน์มาจากส่วนรากของพืชที่นำมาผลิตไวน์และการเก็บไวน์ไว้ในภาชนะที่เป็นแก้ว ดังนั้นโครงงานวิจัยจึงมีความมุ่งหวังที่จะตรวจวัดปริมาณลิเทียมที่มีอยู่ในระดับต่ำๆด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี โดยการทดลองจะมีการหาปัจจัยหรือพารามิเตอร์ต่างๆที่มีผลต่อการตรวจวัด สำหรับการศึกษาเบื้องต้นนี้ได้มีการออกแบบการทดลองเพื่อหาสิ่งที่มีอิทธิพลต่อความถูกต้องของการตรวจวัดลิเทียมไอออนในระดับ ppb ซึ่งทำการศึกษากับไวน์ 3 ชนิด คือ ไวน์ลิ้นจี่ ไวน์มังคุดและไวน์มะขามป้อม จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าวิธีไอออนโครมาโทกราฟีง่าย (ไม่ต้องมีการเตรียมตัวอย่างที่ยุ่งยาก) และมีความไวต่อการตรวจวัด ซึ่งค่าการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานลิเทียมเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 20-60 ppb โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ 0.999 ความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (limit of detection) ของลิเทียมเท่ากับ 0.792 ppb สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ พบว่าตัวอย่างไวน์มังคุดพบปริมาณลิเทียมไอออนมีความเข้มข้นเท่ากับ 2.818 ppm ตัวอย่างไวน์ลิ้นจี่พบปริมาณลิเทียมไอออนมีความเข้มข้นเท่ากับ 1.714 ppm และ ตัวอย่างไวน์มะขามป้อมพบปริมาณลิเทียมไอออนมีความเข้มข้นเท่ากับ 1.500 ppm ซึ่งพบว่าการเก็บไวน์ไว้ในภาชนะที่เป็นแก้วจะทำให้ค่าความเข้มข้นของลิเทียมไอออนสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Determination of lithium in wines by ion chromatography
Name	Miss. Absorn Huttasereephong
Department	Chemistry
Program	Industrial Chemistry - Analytical Instrumention
Academic Year	2004
Special Project Advisor	Asst.Prof. Kanita Tangkananuruk

ABSTRACT

Lithium ion in wines was as a denaturing agent to wines unsuitable for consumption. Lithium ion is present in wines due to plant roots uptake or to storage in glass bottles.Therefore ,this project is aimed to study the determination of trace amount of lithium ion by using ion chromatography. Experimental design was used to investigate the influence on the accuracy of the determination of Li^+ at ppb levels. For these study , preliminary analyses were performed on 3 wine samples is lychee wine, mangosteen wine and phyllanthus emblica wine. From this study, it was found that the method is simple (no special sample pretreatment) and sensitive with linearity range 20-60 ppb (Regression Coefficient;r^2) of 0.999,detection limit of 0.792 for lithium ion. The concentration of the analytical results of three wine samples were 1.714 ppm Li^+ of lychee wine,2.818 ppm Li^+ of mangosteen wine and 1.500 ppm Li^+ of phyllanthus emblica wine. It was found that, the more storage, the higher the lithium ion value.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำโครงงานพิเศษนี้ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากการได้รับการดูแล เอาใจใส่ ช่วยเหลือ แนะนำ การอำนวยความสะดวก และสิ่งที่เป็นประโยชน์ของคณาจารย์และผู้ที่เกี่ยวข้อง แก่ผู้จัดทำ ตลอดจนการตรวจทานและแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.คณิตา ตังคณานุรักษ์ เป็นอย่างสูงที่ให้คำปรึกษา ช่วยแก้ปัญหา คอยเอาใจใส่ดูแล ให้ความช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษนี้มาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล และ ผศ.ดร.ประยงค์ ดวงดี อาจารย์คณะกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษที่ให้ความกรุณาแก้ไขโครงงานพิเศษนี้ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีทุกท่านที่คอยช่วยเหลือให้การทำโครงงานพิเศษนี้ดำเนินไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้คำปรึกษาที่ดีและให้กำลังใจตลอดมา ขอบคุณเพื่อนๆทุกคนที่คอยช่วยเหลือตลอดการทำโครงงานพิเศษนี้

นอกจากนี้บุคคลที่มีส่วนช่วยที่มิได้กล่าวไว้ ณ ที่นี้ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

นางสาวอัปสร หัตถเสรีพงษ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ขั้นตอนของการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน	3
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	
2.1 การทำไวน์ในอุตสาหกรรม	4
2.2 ทฤษฎีโครมาโทกราฟี	5
2.3 ลิควิดโครมาโทกราฟี	6
2.4 ทฤษฎีสัมพันธ์กับภาคปฏิบัติ	9
2.5ไอออนโครมาโทกราฟี	17
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	20
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	21
3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	21
3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	21
3.3 วิธีการดำเนินการทดลอง	22
3.4 การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (method validation)	24
3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์	25
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	26
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	33
เอกสารอ้างอิง(บรรณานุกรม)	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. แสดงผลการทดลอง 35

ภาคผนวก ข. แสดงวิธีคำนวณ 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1 แสดงผลค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของการทำ Repeatability และReproducibility 29

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาความแม่นยำ (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 13.3 แสดงวิธีการต่างๆ 4 แบบของลิควิดโครมาโทกราฟี 8

รูปที่ 13.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเร็วของการไหล ขึ้นอยู่กับค่า H และค่าต่างๆที่มีผลต่อค่า H 11

รูปที่ 13.8 แสดงการแยก (resolution) ใน LC 12

รูปที่ 13.9 แสดงการแยกที่ขึ้นอยู่กับค่า R_s และอัตราส่วนของความสูงของพีก 13

รูปที่ 13.37 แสดงการแยกกรดอะมิโนโดยเทคนิคทาง ion-exchange chromatography 17

รูปที่ 13.38 แสดงแผนภาพกระบวนการแยกแอนไอออน 19

รูปที่ 4 แผนภาพแสดงองค์ประกอบของเครื่อง ion chromatography 20

รูปที่ 4.1 แสดงผลการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายลิเทียม (Calibration Curve Method) 26

รูปที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานลิเทียม 27

รูปที่ 4.3 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (limit of detection) ของลิเทียม 28

รูปที่ 4.4 แสดงผลการศึกษาหาความเข้มข้นของลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์มังคุด 31

รูปที่ 4.5 แสดงผลการศึกษาหาความเข้มข้นของลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ลิ้นจี่ 32

รูปที่ 4.6 แสดงผลการศึกษาหาความเข้มข้นของลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์มะขามป้อม 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

ประเทศไทยมีผลไม้มากมายหลายชนิดและมีตลอดทุกฤดูกาล แต่ละฤดูกาลจะมีผลไม้แตกต่างกันออกไป ซึ่งผลไม้เหล่านี้เมื่อถึงฤดูกาลของมันจะมีมากทีเดียว จนบางครั้งมีมากเกินความต้องการของผู้บริโภคทำให้ขายไม่ออกและราคาตก จะเก็บไว้ใช้ในฤดูอื่นก็มีกรรมวิธียุ่งยากและต้องเสียค่าใช้จ่ายสูง นอกจากนั้นผลไม้ที่เก็บไว้นานโดยกรรมวิธีที่ทำกันนั้น ก็มีคุณภาพสู้ผลไม้สดไม่ได้ วิธีที่จะนำเอาผลไม้เหล่านี้มาใช้ประโยชน์ได้ง่าย สะดวก และน่าสนใจ นั่นคือการนำเอาผลไม้ที่เหลือใช้นั้นผ่านกระบวนการถนอมอาหารโดยวิธีหมักดองเป็น"ไวน์ผลไม้"

ไวน์เป็นเครื่องดื่มที่เกิดจากการหมักของน้ำผลไม้โดยใช้ยีสต์ไปเปลี่ยนน้ำตาลในน้ำผลไม้ให้เป็นแอลกอฮอล์ ในขณะเดียวกันจะเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นสังเกตได้จากฟองที่เกิดขึ้นในขณะหมัก ดังนั้นไวน์จึงมีรสเปรี้ยว รสหวาน และมีกลิ่นหอมของน้ำผลไม้ชนิดนั้นๆ มีปริมาณแอลกอฮอล์อยู่ต่ำกว่าเหล้า และสำหรับการผลิตเหล้าไวน์กับการผลิตเหล้ามีขบวนการที่แตกต่างกันบ้างคือ ขบวนการผลิตไวน์จะไม่มีการกลั่น และไม่มีการเจือปนรสหรือกลิ่น จะมีเฉพาะแต่การหมักเพียงอย่างเดียวเท่านั้น

คำว่า"ไวน์"นั้น ตามความหมายที่แท้จริงหรือโดยหลักสากล จะหมายถึงเหล้าไวน์ที่ทำจากน้ำองุ่นเท่านั้น แต่โดยทั่วไปแล้วผลไม้ทุกชนิดจะใช้ทำไวน์ได้ทั้งนั้น แต่ถ้าเป็นเหล้าไวน์ที่ได้มาจากการหมักของน้ำผลไม้ชนิดอื่นๆจะไม่เรียกคำว่าไวน์เฉยๆ แต่จะเรียกชื่อชนิดของผลไม้นั้นด้วยเพื่อแสดงว่าเป็นไวน์จากผลไม้ชนิดใด เช่น ถ้าเป็นไวน์ที่ได้มาจากการหมักของน้ำสับปะรด จะเรียกว่าไวน์สับประรด เป็นต้น

นอกจากนี้ไวน์ยังอาจทำได้จากผัก ใบไม้และดอกไม้ได้อีกด้วย ในไวน์จะประกอบไปด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ น้ำตาล คาร์โบไฮเดรท วิตามิน และแร่ธาตุต่างๆไม่น้อยกว่า 20 ชนิด นอกจากนี้ยังมีกรดอินทรีย์มากกว่า 22 ชนิด รวมทั้งสารอื่นๆที่ยังไม่ได้จำแนกอีกด้วย เมื่อไวน์ทำจากน้ำผลไม้ การดื่มไวน์ก็คงเหมือนกับการดื่มน้ำผลไม้เจือปนแอลกอฮอล์อย่างเบาๆ ย่อมมีผลประโยชน์ต่อร่างกายมากกว่าเหล้าอื่นๆ เพราะไวน์ให้ทั้งแคลอรี่ และวิตามิน นอกจากนี้ไวน์จะเป็นสิ่งที่ช่วยเจริญอาหาร ทำให้บริโภคอาหารได้มากขึ้น ถือว่าเป็นยาเจริญอาหาร เพราะไวน์จะไปช่วยทำให้รสชาติของอาหารดีขึ้น

ไวน์ผลไม้นั้นดื่มได้ทั้งหญิงและชาย เนื่องจากปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ไม่สูงหรือต่ำเกินไป โดยปกติไวน์จะมีแอลกอฮอล์อยู่ประมาณ 7-24% ซึ่งสูงกว่าเบียร์ แต่ต่ำกว่าสุรา ปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์นั้นเพียงพอที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของบักเตรีที่เป็นโทษต่อร่างกาย ฉะนั้นไวน์จึงนับว่าเป็นเครื่องดื่มที่ปลอดภัยอย่างหนึ่ง แต่อย่างไรก็ตาม ไวน์ก็เป็นเครื่องดื่มประเภท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอลกอฮอล์ ถ้าดื่มมากเกินไปก็อาจเมาและถ้าหากดื่มครั้งละมากๆทุกๆวัน ก็อาจเป็นโรคพิษสุรา เรื้อรังได้เช่นเดียวกับการดื่มสุราอื่นๆ แต่หากดื่มในปริมาณที่พอสมควรก่อนหรือหลังอาหาร กลับจะเป็นประโยชน์ต่อร่างกาย นอกเหนือจากจากใช้ดื่มได้แล้ว อาจใช้ไวน์ในการปรุงอาหาร โดยผสมลงไปในอาหารก่อนหรือหลังปรุงเรียบร้อยแล้ว ใช้ดื่มคู่กับอาหาร นอกจากนี้ในทางการแพทย์ยังใช้ไวน์เพื่อรักษาโรคหรือความเจ็บป่วยบางชนิด โดยมีแพทย์ใช้ไวน์เป็นอาหารบำบัดความเจ็บปวดเล็กๆน้อยๆใช้เป็นยาระงับความตื่นเต้นหรือความกังวล ช่วยให้เส้นเลือดขยายตัวในคนที่เป็นโรคความดันโลหิตต่ำ ช่วยให้การขับถ่ายปัสสาวะสะดวก เป็นอาหารเสริมสำหรับผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวาน เป็นต้น

ในเครื่องดื่มประเภทไวน์ มีการตรวจพบไอออนของโลหะชนิดหนึ่งที่เป็นสิ่งที่ปะปนมากับส่วนรากของพืชที่นำมาผลิตไวน์และการเก็บไวน์ไว้ในภาชนะที่เป็นแก้ว ไอออนของโลหะดังกล่าว คือ ลิเทียมไอออน(Lithium ion,Li^+)ซึ่งมีอยู่ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำ คือ 5-50 μg /l ลิเทียมไอออนมีผลทำให้คุณสมบัติของไวน์เปลี่ยนไป เช่น สีและกลิ่นไม่เหมาะสมสำหรับการบริโภค โดยโครงงานวิจัยนี้ จะทำการศึกษาการตรวจวัดปริมาณ Li^+ ในไวน์โดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Ion Chromatography) สำหรับวิธีการตรวจวัดปริมาณไอออนของโลหะในไวน์ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณไอออนที่กฎหมายมีการควบคุมวิธีหนึ่ง

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดปริมาณลิเทียมไอออนที่เหมาะสมในเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Ion Chromatography) เช่น ตัวทำละลายหรือเฟสเคลื่อนที่ โดยทดลองกับสารละลายมาตรฐานและเตรียมกราฟมาตรฐาน (Calibration Curve Method)

2.ศึกษาการตรวจวัดปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Ion Chromatography)

3.ทดสอบความถูกต้องของวิธี เช่น หาค่าเฉลี่ย(Mean), ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน(Standard Deviation), การตอบสนองเป็นเส้นตรง (Linearity), ความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้(Limit of Detection), ความเที่ยงตรง (Precision) และความแม่นยำ(Accuracy)

1.3 ขอบเขตของโครงงาน

1.ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดปริมาณลิเทียมไอออนที่เหมาะสมในเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Ion Chromatography) เช่น ตัวทำละลายหรือเฟสเคลื่อนที่ โดยทดลองกับสารละลายมาตรฐานและเตรียมกราฟมาตรฐาน (Calibration Curve Method)

2.ทำการตรวจวัดปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Ion Chromatography)

3.นำผลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย(Mean), ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน(Standard Deviation), การตอบสนองเป็นเส้นตรง (Linearity), ความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้(Limit of

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Detection), ความเที่ยงตรง (Precision) และความแม่นยำ(Accuracy)

4. วิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ทั้ง 3 ชนิด คือ ไวน์มังคุด,ไวน์ลิ้นจี่ และไวน์มะขามป้อม

1.4 ขั้นตอนการวิจัยและการดำเนินโครงงานพิเศษ

1.สืบค้นข้อมูลที่เกี่ยวข้อง

2.ออกแบบการทดลอง จัดหาอุปกรณ์และสารเคมี

3.ดำเนินการทดลองโดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ตอน

ตอนที่ 1 ทำการตรวจวัดปริมาณลิเทียมไอออนในสารละลายมาตรฐานด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Ion Chromatography)

ตอนที่ 2 ทำการตรวจวัดปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ลิ้นจี่,ไวน์มังคุดและไวน์มะขามป้อมด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Ion Chromatography)

ตอนที่ 3 นำผลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย(Mean), ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน(Standard Deviation), การตอบสนองเป็นเส้นตรง (Linearity), ความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ ได้(Limit of Detection), ความเที่ยงตรง (Precision) และความแม่นยำ (Accuracy)

ตอนที่ 4 วิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ทั้ง 3 ชนิด คือ ไวน์มังคุด, ไวน์ลิ้นจี่และไวน์มะขามป้อม

4.สรุปและรายงานผล

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อการศึกษาค้นคว้าวิจัยที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับไวน์ต่อไปในอนาคต
2. เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกเครื่องมือและวิธีวิเคราะห์ให้เหมาะสมกับการวิเคราะห์ลิเทียมไอออนในไวน์
3. เพื่อทราบถึงปริมาณลิเทียมที่มีอยู่ในไวน์ทั้ง 3 ชนิด คือ ไวน์ลิ้นจี่,ไวน์มังคุดและไวน์มะขามป้อม และสามารถนำไปหาปริมาณลิเทียมในไวน์ตัวอื่นๆได้อีกด้วย
4. เพื่อให้ผู้ที่ชอบรับประทานไวน์หรือใช้ประโยชน์จากไวน์ได้รับความปลอดภัยจากการปนเปื้อนของสารลิเทียมในไวน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎี

2.1 การทำไวน์ในอุตสาหกรรม

ไม่มีใครที่ทราบว่าผู้ผลิตไวน์คนแรกในโลกคือใคร ทั้งนี้เพราะเหล้าไวน์ได้กำเนิดบนพื้นโลกมานานแล้ว แต่ผู้ที่ค้นพบหลักการพื้นฐานสำคัญในการผลิตไวน์ ได้แก่ชาวฝรั่งเศส คือ หลุยส์ ปาสเตอร์ ในปี ค.ศ. 1852 ซึ่งค้นพบว่าการหมักไวน์นั้น ยีสต์จะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลให้กลายเป็นเอทิลแอลกอฮอล์และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ภายใต้สภาพปลอดอากาศ นอกจากนี้ปาสเตอร์ยังได้พบวิธีการป้องกันไวน์ไม่ให้เสียจนกลายเป็นน้ำส้มสายชู จากการค้นพบดังกล่าวนี้ ทำให้คนทั่วไปสามารถผลิตไวน์ที่มีคุณภาพดีได้ พื้นฐานการค้นพบอันนี้ทำให้ประเทศฝรั่งเศสนับเป็นประเทศที่มีการผลิตไวน์ที่มีชื่อเสียงและจำนวนมากที่สุด

องุ่นที่เหมาะสมสำหรับการทำไวน์ควรจะปลูกในสภาพดินฟ้าอากาศที่เหมาะสม เพื่อให้องุ่นผลิตกรดและน้ำตาลในอัตราส่วนที่พอเหมาะพอดี ถ้าอากาศเย็นมากจะทำให้องุ่นเปรี้ยว(น้ำตาลน้อยแต่กรดมาก) เช่น ประเทศเยอรมันนี แต่ถ้าอากาศร้อน เช่น ทางใต้ของแคลิฟอร์เนียในอเมริกา หรือประเทศไทย จะมีน้ำตาลมาก องุ่นเหล่านี้ไม่เหมาะสำหรับทำไวน์ ถ้าใช้ทำไวน์จะต้องมีการปรับสภาพกรดและน้ำตาลของน้ำองุ่น

ขั้นตอนการทำไวน์ในระดับอุตสาหกรรมอย่างย่อๆ มีดังนี้ นำองุ่นมาคัดเลือกเอาที่เป็นราทิ้งไป ผลองุ่นเมื่อสุกจะมีผิวเต่งตึง ที่ผิวมีลักษณะเยื่อบางๆเคลือบอยู่ ซึ่งถ้าส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเชื้อยีสต์ธรรมชาติมากมาย องุ่นที่สุกได้ที่และคัดเลือกแล้วนี้จะถูกขนส่งสู่โรงงาน ที่โรงงานองุ่นจะถูกบีบให้แตก ก้านจะถูกแยกออกทิ้งไป ถ้าไม่แยกก้านออกจะทำให้ไวน์มีรสขม เนื่องจากสารที่เรียกว่า แทนนินจะออกมา ส่วนที่เหลือเรียกว่า มัส (must) ซึ่งประกอบด้วยน้ำองุ่น เนื้อองุ่น เปลือกองุ่นและเมล็ด

น้ำผลไม้ที่ผ่านการหมักมาแล้ว จะถูกนำมาปรับปริมาณน้ำตาลและความเป็นกรดให้เหมาะสม เติมน้ำตาลและสารอาหารเพียงพอแล้ว ก่อนเติมยีสต์ไปทำการหมัก ต้องผ่านขบวนการฆ่าเชื้อเสียก่อน การฆ่าเชื้ออาจฆ่าโดยใช้ความร้อนหรือสารเคมี แต่การฆ่าเชื้อด้วยสารเคมีเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากมาย ดังนั้นก่อนใส่ยีสต์จึงต้องเติมสารป้องกันการเจริญเติบโตของยีสต์ป่า เชื้อราและเชื้อแบคทีเรียที่ติดมากับพวงองุ่น สารที่ใช้ได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ หรือเกลือ ที่สามารถแตกตัวเป็นก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่เหมาะสม สามารทำการฆ่าเชื้อได้หมดและไม่เหลือตกค้างมากอยู่ในช่วง 75-150 ส่วนในล้าน(ppm) ซึ่งจำนวนที่ใช้จริงๆอาจลดลงเหลือ 50-75 ส่วนในล้านก็ได้ หรือขึ้นไปสูงกว่า 200 ส่วนในล้านส่วนก็ได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำผลไม้ว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ปะปนอยู่มากน้อย แต่สำหรับน้ำผลไม้ปกติทั่วไปที่ไม่มีการเน่าเสีย ใช้ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ประมาณ 50-100 ส่วนในล้านส่วนก็เพียงพอแล้ว ตั้งทิ้งไวน์ประมาณ 1-2 วัน ในรูปของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สตาร์ทเตอร์ (starter) ยีสต์จากสตาร์ทเตอร์จะเริ่มทำงานในถังหมักขนาดใหญ่ ซึ่งดูได้จากปริมาณฟองแก๊สที่เกิดขึ้นภายในถัง กากองุ่นจะลอยอยู่ที่ผิวหน้าด้วยแรงดันแก๊ส เรียกว่า แคพ (cap) แคพนี้จะต้องทำให้เปียกอยู่เสมอ อย่าปล่อยให้แห้ง เนื่องจากจะเป็นแหล่งเพาะเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆที่ทำให้ไวน์เสียได้ ยีสต์จะต้องทำงานอย่างหนักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ซึ่งก่อให้เกิดความร้อนขึ้นมาอย่างมากมาย เนื่องจากปฏิกิริยาจากการเมตาบอลิซึ่มของยีสต์ ในโรงงานใหญ่ๆอาจใช้วิธีปั๊มน้ำเย็นให้ไหลผ่านไปยังถังหมักเพื่อเป็นการระบายความร้อน และควบคุมอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก ถ้าอุณหภูมิสูงถึง 100 องศาฟาเรนไฮท์ จะไม่มีการหมักเกิดขึ้นและถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 50 องศาฟาเรนไฮท์ การหมักจะช้ามาก

เมื่อมีการหมักเกิดขึ้น น้ำตาลจะถูกเปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อการหมักช้าลงจึงแยกน้ำไวน์และกากออกจากกัน โดยการกรองด้วยเครื่องกรองน้ำ ไวน์ที่ยังอุ่นอยู่จะถูกตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ตะกอนส่วนมากจะเป็นเซลยีสต์และสารแขวนลอยที่มีอยู่เดิมในน้ำผลไม้ จากนั้นจึงมีการดูดน้ำไวน์มาใส่ขวดใหม่ และตั้งทิ้งไว้ต่อไปจนการหมักสิ้นสุด (ปริมาณน้ำตาลถูกใช้จนหมดไป) ไวน์ที่ทำการหมักเสร็จแล้วอาจไม่ใสอย่างที่ต้องการ บางครั้งขุ่นมากบางครั้งขุ่นน้อย หรือบางทีอาจใส แต่ก็ไม่สดใสเป็นประกาย แสดงว่ายังมีตะกอนละเอียดเหลืออยู่ ไวน์นี้จะถูกทำให้ใสต่อไปโดยใช้สารเคมี สารพวกนี้จะทำหน้าที่จับตะกอนขนาดเล็กที่แขวนลอยอยู่ในไวน์ให้มีขนาดใหญ่ขึ้น และพากันตกสู่ก้นถัง หรือใช้วิธีกรองโดยเครื่องกรองพิเศษที่มีความดันเข้าช่วย ไวน์ใสที่ได้จะผ่านการบ่ม เมื่อบ่มจนพอดีแล้ว ไวน์ที่ได้จะมีรสบาดคอและรสขื่นต่างๆจะค่อยๆหมดไป กลายมาเป็นไวน์ที่มีกลิ่นและรสชวนรับประทาน

ไวน์ที่ได้จะประกอบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ น้ำตาล คาร์โบไฮเดรท แร่ธาตุ กรดอินทรีย์และสารอื่น เป็นส่วนทำให้ไวน์ดีหรือไม่ดีได้ ในบ้านเราก็มีการผลิตไวน์เหมือนกัน ซึ่งมีทั้งไวน์แดง ไวน์ขาวและเพิ่งจะมานิยมกันในระยะไม่กี่สิบปีมานี้เอง(สามารถ,ม.ป.ป.;วรายุ,2545;ศิริลักษณ์ ,ม.ป.ป)

2.2 ทฤษฎีโครมาโทกราฟี (Chromatography Theory)

ทฤษฎีโครมาโทกราฟีที่จะได้กล่าวถึงต่อไปนี้ จะอธิบายถึงพื้นฐานของสมการที่นำไปสู่การอธิบายถึง สมดุลการแจกแจง (distribution Equilibrium) ของโมเลกุลของสารตัวอย่างที่กระจายอยู่ระหว่างเฟสที่อยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่ เวลาการคงไว้และปริมาตรการคงไว้ (retention time and retention volume) การคงไว้สัมพัทธ์ (relative retention) แฟกเตอร์ความจุ (capacity factor) ตลอดจนถึงแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุล (Intermolecular forces)ที่มีผลต่อการคงไว้

โครมาโทกราฟีเกือบทุกเทคนิคจะเป็นแบบ อีลูชันโครมาโทกราฟี (elution chromatography) โดยขั้นแรกโมเลกุลของสารตัวอย่างแต่ละชนิดถูกผ่านไปในคอลัมน์จะเกิดการแบ่งละลาย (partition) ระหว่างเฟสที่อยู่กับที่กับเฟสที่เคลื่อนที่ เมื่อผ่านตัวชะ (eluent) ซึ่งเป็นเฟสที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เคลื่อนที่ลงไปในคอลัมน์อีก จะทำหน้าที่ชะสารตัวอย่างออกจากจุดเริ่มให้เคลื่อนที่ไปด้วยอัตราเร็วต่างๆกัน โดยจะขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายหรือสัมพรรคภาพ (affinity) ของสารที่มีต่อตัวชะสารที่ละลายได้ดีในตัวชะก็จะเคลื่อนที่ไปพร้อมกับตัวชะเร็ว ส่วนสารที่มีสัมพรรคภาพต่อเฟสที่อยู่กับที่ก็จะถูกยึดไว้ให้ติดกับที่หรือเคลื่อนที่ช้า ทำให้สามารถแยกสารตัวอย่างออกจากกันได้ ตอนนี้เราจะมาพิจารณาถึงแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลที่เกิดขึ้นในคอลัมน์

ถ้าเป็นเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีจะมีแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลเกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลของสารที่ต้องการแยก (solute) กับเฟสที่อยู่กับที่เขียนได้ดังนี้

$$\text{Solute} \rightleftharpoons \text{stationary phase}$$

แรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลที่เกิดขึ้นจะอาศัยหลักที่ว่า “like dissolves like”หมายความว่า โมเลกุลที่มีขั้วจะมีแรงยึดเหนี่ยวกับโมเลกุลที่มีขั้ว ส่วนโมเลกุลที่ไม่มีขั้วจะมีแรงยึดเหนี่ยวกับโมเลกุลที่ไม่มีขั้ว สำหรับเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีเราจะพิจารณาถึงเฟสที่อยู่กับที่ไม่มีขั้ว(an apolar stationary phase) และชนิดมีขั้ว (a polar stationary phase)

<u>ก. เฟสที่อยู่กับที่ชนิดไม่มีขั้ว</u>

แรงยึดเหนี่ยวที่เกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลของสารกับเฟสที่อยู่กับที่ชนิดไม่มีขั้วจะเป็นแรงแผ่กระจาย ความแตกต่างกันของแรงแผ่กระจายจะมีผลอันเนื่องมาจากจุดเดือดของสาร ด้วยการใช้เฟสที่อยู่กับที่ชนิดไม่มีขั้ว เราสามารถจะทำนายได้ว่า โมเลกุลของสารที่ไม่มีขั้วจะถูกยึดให้ติดกับเฟสที่อยู่กับที่ หรือเคลื่อนที่ช้ากว่าพวกโมเลกุลของสารที่มีขั้ว ดังนั้น ถ้าสารผสมประกอบโมเลกุลที่มีขั้วและไม่มีขั้วอยู่ เราจะพบว่า โมเลกุลของสารที่มีจุดเดือดต่ำ (ความดันไอสูง) จะถูกชะออกจากคอลัมน์ก่อนสารที่มีจุดเดือดสูง (ความดันไอต่ำ)

<u>ข. เฟสที่อยู่กับที่ชนิดมีขั้ว</u>

เมื่อใช้เฟสที่อยู่กับที่ชนิดมีขั้วแล้ว โมเลกุลของสารที่มีขั้วจะมีสัมพรรคภาพสูงต่อเฟสที่อยู่กับที่ อันเนื่องมาจากแรงไดโพล-ไดโพลมากกว่าจะเป็นแรงแผ่กระจายดังนั้นโมเลกุลของสารที่มีขั้วจะถูกชะออกจากคอลัมน์ช้ากว่าโมเลกุลของสารที่ไม่มีขั้ว แสดงว่าโมเลกุลของสารที่ไม่มีขั้วมีสัมพรรคภาพ (affinity) ต่อเฟสที่อยู่กับที่ชนิดมีขั้วนั้นน้อยมาก อย่างไรก็ตามโมเลกุลของสารที่มีความสามารถในการเกิดขั้ว (polarisable) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงแรงไดโพล-ไดโพลเหนี่ยวนำ ดังนั้นการถูกยึดติดอยู่เฟสที่อยู่กับที่ชนิดมีขั้วจึงขึ้นอยู่กับองศาของแรงยึดเหนี่ยว

พอกล่าวสรุปได้ว่า ถ้าใช้เฟสที่อยู่กับที่ชนิดมีขั้ว การแยกสารผสมออกจากกันนั้นจะไม่คำนึงถึงจุดเดือดของสารเป็นสำคัญ แต่จะคำนึงถึงแรงยึดเหนี่ยวระหว่างขั้วเป็นหลักสำคัญ

2.3 ลิควิดโครมาโทกราฟี(liquid chromatography)

ในปี ค.ศ. 1906 Michael Tswett นักพฤกษศาสตร์ชาวรัสเซียได้ค้นพบวิธีการทางโครมาโทกราฟี เมื่อเขาพยายามที่จะแยกสีจากใบของพืช โดยผ่านสารละลายที่ได้จากการสกัดใบไม้ลงไปในคอลัมน์ซึ่งบรรจุด้วยอนุภาคของแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) สีแต่ละชนิดที่เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

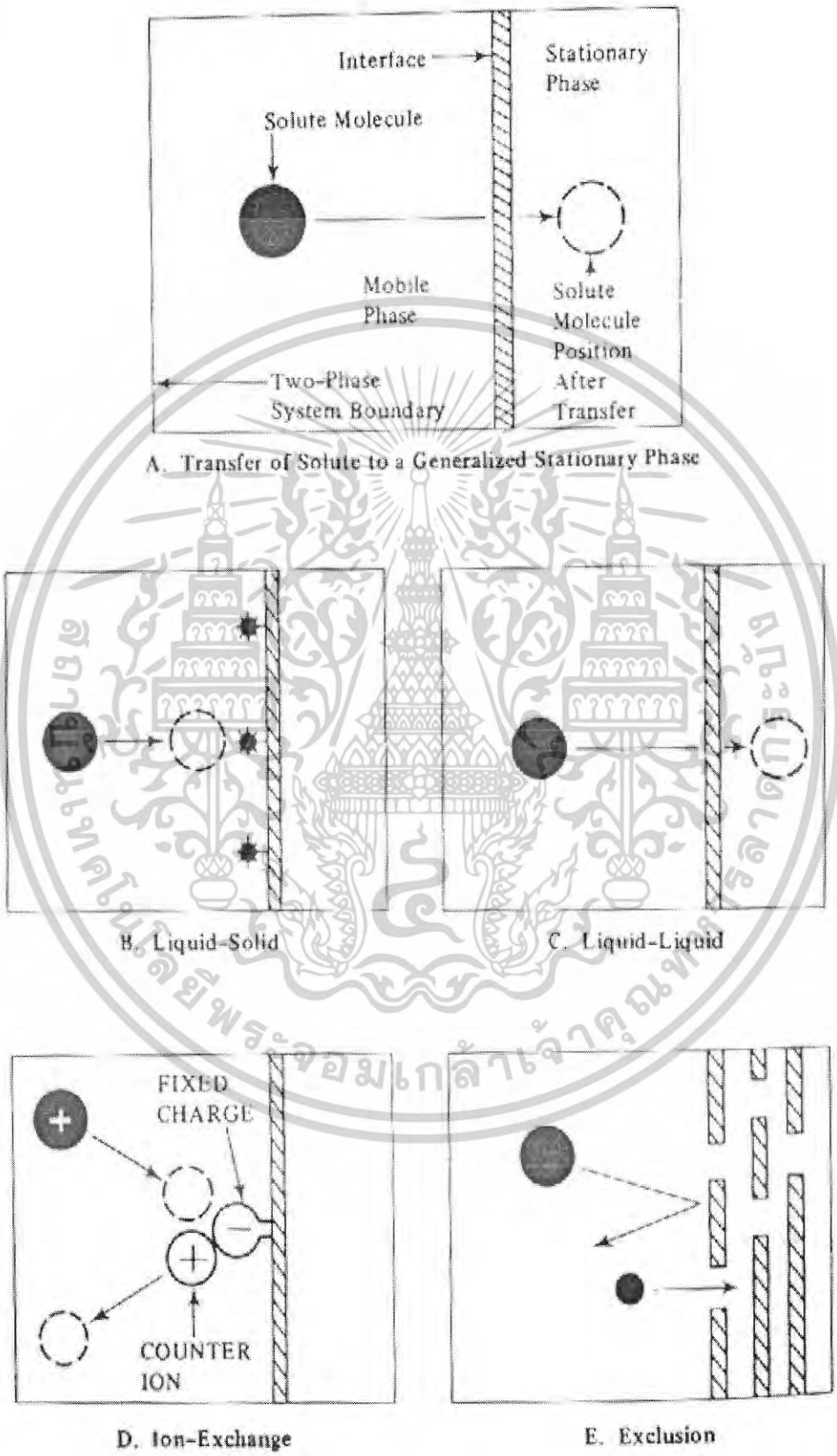
องค์ประกอบของใบไม้จะเคลื่อนผ่านไปตามคอลัมน์ด้วยอัตราเร็วที่แตกต่างกัน และผลสุดท้ายจะแยกออกจากกัน เกิดเป็นแถบสีแตกต่างกันเป็นชั้นๆ ดังนั้น คำว่า “chromatography”ซึ่งมาจากคำว่า “chroma”ซึ่งหมายถึงสี รวมกับคำว่า “graphy” ซึ่งแปลว่า การเขียน ในปี ค.ศ. 1941 ได้มีการพัฒนาวิธีการทางโครมาโทกราฟีที่สำคัญขึ้นมาวิธีหนึ่งคือ Liquid-Liquid(Partition)Chromatography โดย Martin และ Synge แทนที่จะใช้ตัวดูดซับเป็นของแข็ง เขาได้ใช้ลิควิดเฟสเคลือบบนผิวของตัวดูด-ซับ และลิควิดเฟสนี้จะต้องไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกับเฟสที่เคลื่อนที่ (mobile phase)สารประกอบที่อยู่ในสารตัวอย่างจะเกิดการ พาร์ทิชัน (partition) ระหว่างเฟสทั้งสอง จากผลงานนี้ Martinและ Syngeได้รับรางวัลโนเบล (Nobel prize) สาขาเคมี ในปี ค.ศ.1952 ในระยะเริ่มต้นของคอลัมน์โครมาโทกราฟี(Column Chromatography) การแยกสารที่มีปริมาณน้อยนั้นทำได้ยาก ดังนั้นจึงมีการพัฒนาทาง Paper Chromatography ซึ่งบางครั้งเรียกรวมว่า Planar Technique การแยกสารประกอบนั้นทำได้โดยใช้แผ่นกระดาษกรอง ซึ่งกลไกของการแยกจะเป็นแบบ partition ข้อดีของวิธีการนี้ส่งผลให้มีการพัฒนาเป็น Thin Layer Chromatography (TLC) ซึ่งการแยกสารจะทำบนแผ่นบางของตัวดูดซับ (absorbent) เคลือบอยู่บนแผ่นแก้วหรือวัสดุที่แข็งอย่างอื่นๆ เช่น พลาสติก TLCได้รับความนิยมมาก หลังจากงานของ Stahl ในปี ค.ศ. 1958 ซึ่งได้ทำการพัฒนาวิธีการและวัสดุที่ใช้ให้มีมาตรฐาน สำหรับการแยกสารซึ่งเป็นพวกสารประกอบที่มีประจุโดยวิธีทาง Paper Chromatography และ TLC ให้ดีขึ้นนั้น ทำได้โดยการผ่านสนามไฟฟ้าคร่อมบนกระดาษหรือแผ่น TLC วิธีการนี้เราเรียกว่า paper และ thin layer electrophoresis ตามลำดับ

ในปัจจุบันนี้ได้มีวิธีการแยกแบบใหม่ซึ่งเป็นวิธีที่สนใจกันมาก คือ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) และเป็นที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางเช่นเดียวกับ Gas Chromatography

ลิควิดโครมาโทกราฟีที่ใช้ในการแยกสารนั้น สามารถจำแนกออกได้อย่างกว้างๆตามกลไกของการแยกโดยอาศัยเฟสเป็นตัวกำหนด มีดังต่อไปนี้

1. Adsorption Chromatography
2. Liquid-Liquid (Partition) Chromatography
3. Ion Exchange Chromatography
4. Size Exclusion Chromatography

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 18.3 แสดงวิธีการต่าง ๆ 4 แบบ ของลิควิดโครมาโทกราฟี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. Ion-Exchange Chromatography

Ion-Exchange Chromatography ดังแสดงในรูปที่ 13.3D หลักการของการแยกสารจะขึ้นอยู่กับสัมพรรคภาพของไอออนในสารละลายกับไอออนที่มีประจุตรงกันข้ามซึ่งอยู่ที่ผิวของเฟสอยู่กับที่ Ion-exchange ประกอบด้วยของแข็งที่มีรูพรุนซึ่งปกติแล้วจะเป็นพวกเรซิน (resin) ที่มี ionic group ต่ออยู่ด้วยพันธะทางเคมี เฟสเคลื่อนที่ปกติแล้วจะใช้สารละลายบัฟเฟอร์ (buffer) ซึ่งประกอบด้วย counter ion ที่มีประจุตรงกันข้ามกับ group ที่อยู่บนผิวของอนุภาคที่บรรจุอยู่ นั่นก็คือไอออนเคลื่อนจะมีประจุเหมือนกับไอออนที่ต้องการแยก ซึ่งไอออนดังกล่าวนี้จะรวมกับ group ที่อยู่บนผิวของเรซินในลักษณะเป็น ion pair เพื่อทำให้ประจุทั้งหมดอยู่ในสภาวะสมดุล การแข่งขันกันระหว่างไอออนในสารละลายกับ counter ion เพื่อเข้าครอบครองตำแหน่งที่มีประจุบนผิวของเรซินจะมีผลทำให้เกิดการยึดเกาะขึ้น ion exchange chromatographpy จะถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในวิชาอนินทรีย์เคมี เพื่อใช้แยกพวกไอออนของโลหะ และยังใช้ประโยชน์ในการแยกสารประกอบทางชีวภาพ (biological sample) ที่ละลายในน้ำได้ดีอีกด้วย เช่น แยกพวกโปรตีน (protein) และกรดอะมิโน (amino acids) เป็นต้น

2.4 ทฤษฎีสัมพันธ์กับภาคปฏิบัติ (theory related to Practice)

การพิจารณาทางทฤษฎีจะเป็นเครื่องชี้แนะที่มีประโยชน์อย่างมากในทางปฏิบัติ จุดมุ่งหมายของโครมาโทกราฟีคือการแยกสารในระยะเวลาพอสมควรและอาจนำไปสู่การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณได้อีกด้วย

2.4.1 Retention

การแยกจะประสบผลสำเร็จได้ก็ต่อเมื่อสารมีอัตราการเคลื่อนที่ที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์ ดังนั้นจากนิยามของ distribution coeffcient (Kx) ก็คือ การวัดลำดับของสาร X ที่จะทำให้ถูกยึดหรือทำให้เคลื่อนที่ได้ช้าลง ในทางปฏิบัติแล้ว ค่า coefficient factor (k') จะเป็นค่าที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้มากกว่า และสามารถที่จะหาได้โดยตรงจากโครมาโทแกรม ซึ่งสมการของค่า k' เป็นดังนี้

$$k' = \frac{\text{จำนวนโมลทั้งหมดของสาร x ในเฟสคงที่}}{\text{จำนวนโมลทั้งหมดของสาร x ในเฟสเคลื่อนที่}}$$

$$= \frac{V_s[X]_s}{V_m[X]_m}$$

$$= \frac{V_s(K_s)}{V_m}$$

เมื่อ V_s = ปริมาตรของเฟสคงที่ในคอลัมน์

V_m = ปริมาตรของเฟสเคลื่อนที่ภายในคอลัมน์

$[X]_s$ = ความเข้มข้นของสาร X ในเฟสคงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$[X]_m$ = ความเข้มข้นของสาร X ในเฟสเคลื่อนที่

K_x = ค่าคงที่คือ distribution coeffcient ของสาร X

2.4.2 ประสิทธิภาพของคอลัมน์ (Column Efficiency)

ประสิทธิภาพของคอลัมน์สามารถพิจารณาได้จากอัตราการขยายตัวของแถบ (band) ให้กว้างขึ้น เมื่อแถบนี้หรือตัวละลายนี้เคลื่อนที่ไปตามคอลัมน์ หรือเคลื่อนที่ไปตาม plate หรือกระดาษดังแสดงในรูปที่ 13.1 โมเลกุลทุกตัวจะเคลื่อนที่ด้วยความเร็วที่แตกต่างกัน การกระจายของโมเลกุลจะอยู่ในลักษณะเป็นรูป gaussian จุดกึ่งกลางของแถบนั้นก็คือ k′-value ของสารแต่ละชนิด ซึ่งหมายถึงอัตราเร็วโดยเฉลี่ยของการเคลื่อนที่โมเลกุลนั้น และถ้าเกิดการเบี่ยงเบนไปจากค่าเฉลี่ยเล็กน้อยจะเป็นผลเนื่องมาจาก nonequilibrium effect ระหว่างเฟสเคลื่อนที่และเฟสคงที่ของสารประกอบนั้น ซึ่งเรียกว่า "resistance to mass transfer" การไหลของโมเลกุลในระยะทางที่แตกต่างกันจะมีสาเหตุมาจากลักษณะของอนุภาคที่ถูกประจุอยู่ในคอลัมน์ และอีกสาเหตุหนึ่งคือการแพร่ในแนวการไหลของเฟสเคลื่อนที่

ค่าที่ใช้ในการวัดประสิทธิภาพของคอลัมน์ คือ จำนวนtheoretical plates(N) ซึ่งสามารถคำนวณได้จากโครมาโทแกรมโดยใช้สมการต่อไปนี้

$$N = 16\left(\frac{t_r}{W}\right)^2$$

$$= 5.54\left(\frac{t_r}{W_{1/2}}\right)^2$$

เมื่อ t_r = retention time

W = ความกว้างของฐานพีก (หน่วยเดียวกันกับ tr)

$W_{1/2}$ = ความกว้างของพีกที่ครึ่งนึงของความสูง

ความกว้างของฐานพีกหาได้จากการลากเส้นสัมผัสมาตัดเส้น base line ระยะทางระหว่างจุดที่ตัดทั้งสองก็คือความกว้างของฐานพีก theoretical plate model ได้มาจากทฤษฎีของการกลั่นโดยตั้งสมมติฐานว่าคอลัมน์ได้จากการนำเอา plates มาประกอบกันเข้าแต่ละ plate จะเกิดสมดุลของการกระจายของตัวถูกทำลายระหว่างเฟสคงที่กับเฟสเคลื่อนที่ ดังนั้นค่า N ยิ่งมีค่ามากประสิทธิภาพในการแยกก็จะดีตามไปด้วย

พารามิเตอร์ (parameter) ที่มีประโยชน์อีกตัวที่ใช้ในการวัดประสิทธิภาพของคอลัมน์ คือ height equivalent a theoretical plates (HETP) สมการต่อไปนี้เป็นการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า H (HETP) กับค่าอื่น

$$H = L / N$$

เมื่อ L = ความยาวของคอลัมน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

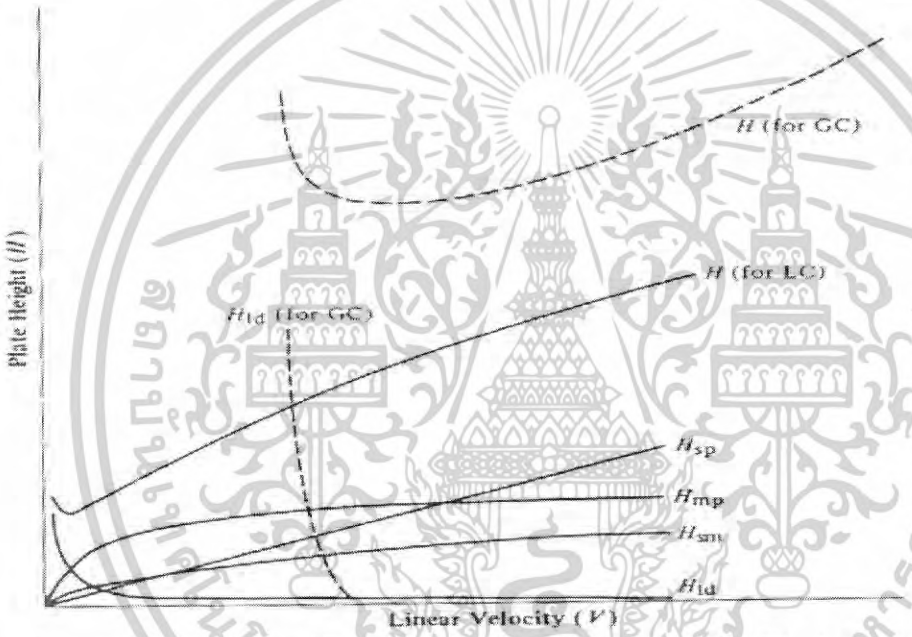
ดังนั้น คอลัมน์ที่มีค่า H ต่ำ จะดีกว่าคอลัมน์ที่มีค่า H สูง โดยปกติแล้ว GC ค่า H จะต่ำกว่า 1-3 มม. และใน HPLC ค่า H จะต่ำกว่าค่า H ใน GC ประมาณ 1-2 เท่า
เพราะฉะนั้นสาเหตุที่ทำให้เกิดแถบกว้างขึ้น และที่มีผลถึงค่า H ดังแสดงในรูปที่ 13.7 และสามารถอธิบายได้โดยสมการทางคณิตศาสตร์ ดังต่อไปนี้

$$H = \sum Hi$$

$$= [1 / (1/H_{ed} + 1/H_{mp})] + H_{id} + H_{sm} + H_{sp}$$

เมื่อ $H_{ed} = C_e D_o$ (eddy diffusion)

$H_{mp} = C_m d_p v / D_m$ (mobile phase mass transfer)



รูปที่ 13.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเร็วของการไหล ขึ้นอยู่กับค่า H และค่าต่าง ๆ ที่มีผลต่อ H (สมการ 13.6)

$H_{id} = C_d D_{m/v}$ (longitudinal diffusion)

$H_{sm} = C_{sm} d_p^2 v / D_m$ (stagnant to mobile phase mass transfer)

$H_{sp} = C_s d_f^2 v / D_s$ (stationary phase mass transfer)

d_p = เส้นผ่าศูนย์กลางของอนุภาค

D_m = สัมประสิทธิ์การแพร่ของตัวถูกละลายในเฟสเคลื่อนที่

D_s = สัมประสิทธิ์การแพร่ของตัวถูกละลายในเฟสคงที่

v = ความเร็วเชิงเส้นของเฟสเคลื่อนที่

d_f = ความหนาของฟิล์ม (film) ของเฟสคงที่

C_e, C_m, C_d, C_{sm} และ C_s = plate height coefficients

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า H_{sp} ใน LC มีค่าน้อยมาก ยกเว้นในกรณีของ ion-exchange resin หรือการเคลือบเฟสคงที่หนามาก ดังนั้น ค่า H_{sp} จึงไม่นำมาคิดในสมการจึงสามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้ คือ

H จะมีค่าน้อยเมื่อค่า dp และค่า v มีค่าน้อย

H จะมีค่าน้อยสำหรับตัวทำละลายที่มีความหนืดต่ำ

H จะมีค่าน้อยสำหรับการแยกที่อุณหภูมิสูง

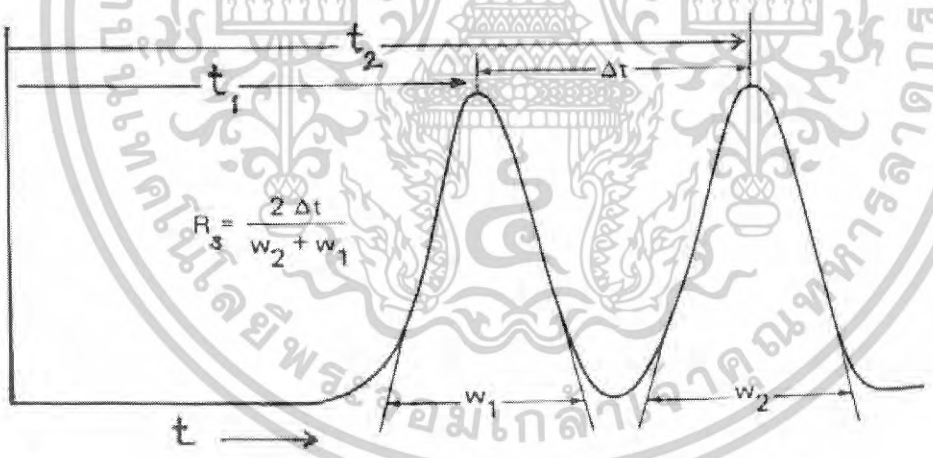
H จะมีค่าน้อยสำหรับสารตัวอย่างที่มีขนาดเล็ก

เพราะฉะนั้น การปรับปรุงเพื่อให้แยกสารดีขึ้นนั้นสามารถทำได้ โดยใช้อนุภาคที่บรรจุในคอลัมน์ให้มีขนาดเล็ก ใช้อัตราการไหลของตัวละลายช้าลง ใช้ตัวละลายที่ไม่หนืด แยกสารที่อุณหภูมิสูง และใช้คอลัมน์ที่ยาว

2.4.3 การแยกและเวลาใช้แยก (Resolution and Separation Time)

เป้าหมายของ L.C.คือ สามารถทำการแยกสารละลายของผสมได้และเพื่อให้บรรลุเป้าหมายนั้นควรจะสามารถวัดในเชิงปริมาณของการแยกให้ได้ หรือการแยก (resolution) จะต้องประสบผลสำเร็จ

นิยามของการแยก (Rs)แถบ (Band) 2แถบที่อยู่ใกล้กัน คือ ระยะห่างกันของแถบทั้ง 2 หารด้วยความกว้างเฉลี่ยของแถบทั้งสอง ดังแสดงในรูปที่ 13.8 นั่นคือ



รูปที่ 13.8 แสดงการแยก (resolution) ใน LC

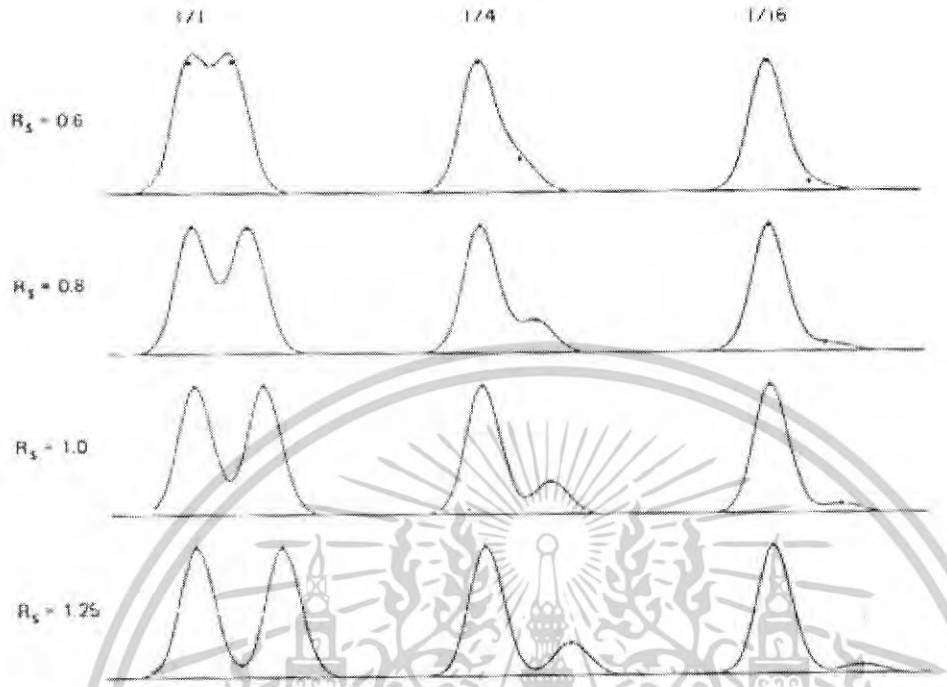
$$R_s = \frac{(t_2 - t_1)}{[1/2(w_1 + w_2)]}$$

เมื่อ t_1 และ t_2 คือค่า t_r ของ band 1 และ band 2

w_1 และ w_2 คือความกว้างของ band 1 และ band 2

ถ้า $R_s = 1$ หมายความว่า bands ทั้งสองแยกออกจากกันประมาณ 98% เหลืออีก 2% นั้นเป็นส่วนที่ bands ทั้งสองทับกัน ค่า R_s ยิ่งมีค่ามากเท่าใดแสดงว่าการแยกยิ่งดีขึ้นเท่านั้น ดังแสดงในรูปที่ 13.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 13.9 แสดงการแยกที่ขึ้นอยู่กับค่า R_s และอัตราส่วนของความสูงของพีก

สำหรับค่า R_s ที่กำหนดให้การซ้อนกันของ band หนึ่งเล็ก ดังรูปที่ 13.9 ค่า R_s นี้ได้ถูกนำมาใช้ในการให้ความหมายของการแยก ในการควบคุมการแยกจะต้องเข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงค่า R_s กับพารามิเตอร์ต่างๆ ของการทดลอง เช่น ค่า k' และ N อย่างไรก็ตาม เราทราบแล้วว่าค่า R_s มีความสัมพันธ์กับค่า k', N และ α ดังสมการ 13.8

$$R_s = (1/4)(\alpha\text{-}1)\, N^{1/2} [k'/(1+k')] \qquad ...(13.8)$$

(i) (ii) (iii)

สมการนี้เป็นสมการพื้นฐานใน LC ซึ่งใช้ในการควบคุมการแยก โดยการเปลี่ยนแปลงค่าต่างๆ คือ α จะต้องมีค่ามากด้วย ซึ่งการเพิ่มค่า α ทำได้โดยการเปลี่ยนส่วนประกอบของเฟสเคลื่อนที่หรือแลกเปลี่ยนเฟสคงที่ เทอม (ii) เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพของคอลัมน์ ซึ่งพารามิเตอร์ที่ใช้ในการวัดคือค่า N ถ้าจะให้ค่า R_s เพิ่มขึ้นจะต้องเปลี่ยนความยาวของคอลัมน์ และความเร็วของเฟสเคลื่อนที่ (v) ส่วนเทอม (iii) คือ R_s การเปลี่ยนแปลงค่า k' นี้ทำได้โดยการเปลี่ยนแปลงความแรงของตัวละลาย (solvent strength) ซึ่งจะทำให้ค่า k' เพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ โดยทั่วไปค่าที่เหมาะสมที่สุดของ k'ใน LC จะอยู่ในช่วง 2-10 ในบางกรณีที่ค่า t1 << t2 และค่า α มีค่ามาก สมการ 13.8 จะแตกต่างไปจากเดิมเล็กน้อย เป็นสมการ 13.9

$$R_s = (1/4)\,[(\alpha\text{-}1)/\alpha]\, N^{1/2} [k'/(1+k')] \qquad ...(13.9)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4 ความจุสารของเฟสคงที่ (Sample Capacity)

จากที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นเกี่ยวกับค่าสัมประสิทธิ์การกระจาย (distribution coefficient) และจากสมมติฐานที่ว่าสัมประสิทธิ์การกระจายจะแปรเปลี่ยนเป็นแบบเส้นตรงกับความเข้มข้นของสารตัวอย่างนั่นคือ จะเป็น linear sorption isotherm อย่างไรก็ตาม บางครั้งจะพบว่าเป็น non-linear isotherms เช่นกัน โดยเฉพาะในกรณีการใช้ปริมาณสารตัวอย่างในการแยกทางโครมาโทกราฟี ความจุสารตัวอย่างของเฟสคงที่มีความสำคัญที่ควรนำมาพิจารณาในทางปฏิบัติ ความจุสารตัวอย่างจะสอดคล้องกับปริมาณของสารตัวอย่างที่ถูกดูดซับไว้บนเฟสคงที่ก่อนที่จะเกิดการ overload การใช้ปริมาณของสารมากเกินกว่าความจุสาร จะเป็นผลทำให้เกิดรูปร่างของพีกไม่สมมาตร การเปลี่ยนแปลง retention time และทำให้การแยกไม่ดี ความจุสารตัวอย่างโดยทั่วไปแสดงเป็นปริมาณสารตัวอย่างคิดเป็น มิลลิกรัมต่อกรัมของเฟสคงที่ ซึ่งจะเป็นสัดส่วนกับค่า V_s ปริมาตรของเฟสคงที่สำหรับตัวดูดซับที่มีรูพรุนใน LSC ความจุสารตัวอย่างจะอยู่ช่วง 2-5 mg/g ความจุสารตัวอย่างมีความสำคัญอย่างมากใน preparative LC เพราะว่าเทคนิคนี้ให้ผลการแยกเป็นที่น่าสนใจ

2.4.5 เฟสคงที่ (Stationary Phase)

เฟสคงที่ที่ใช้ใน ion exchange อาจเป็นสารอนินทรีย์ที่เป็นของแข็งซึ่งได้มาจากธรรมชาติ เช่น sodium aluminosilicate และ clays เช่น montmorillonite หรือที่ได้จากการสังเคราะห์ เช่น Zirconium phosphate นอกจากนั้นยังมีพวก resin ซึ่งได้จากการสังเคราะห์โดยวิธี copolymerization ของสาร stynern และ divinyl benzene ปริมาณของ divinyl benzene ที่ใช้ในการสังเคราะห์จะเป็นตัวควบคุม % cross- linking ใน resin ถ้า cross-linking ใน resin มีมากจะไปลดการละลายของ poly-styrene และช่วยทำให้โครงสร้างของมันแข็งขึ้น ซึ่งเหมาะแก่การนำมาใช้ที่ความดันสูง เช่น HPLC อย่างไรก็ตาม การเพิ่ม cross-linking ใน resin มีผลในการลดความพรุน (porosity) ใน resin ให้น้อยลง ซึ่งไปมีผลทำให้ mass transfer ที่เกิดขึ้นไม่ดีพอ แต่ขณะเดียวกันถ้าใช้ cross-linking ใน resin ต่ำ resin นั้นจะบวมได้ เนื่องจากดูดซับเอาเฟสเคลื่อนที่เข้าไป ปริมาณของ cross-linking แสดงในรูปของเปอร์เซ็นต์ divinyl benzene ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 2-12% ค่าเฉลี่ยโดยทั่วไปจะอยู่ราว 8%

คอลัมน์ที่บรรจุด้วย resin จะมีประสิทธิภาพต่ำกว่าคอลัมน์ที่บรรจุด้วย ion exchanger ที่มีแกน (core) เป็น silica อย่างที่ใช้ใน LC ด้วยเหตุผลนี้ group ที่มีประจุจะต่อเป็นพันธะเคมีเข้ากับอนุภาคเล็กๆ ของ silica gel และ ion exchanger ชนิดนี้จะแสดงลักษณะเฉพาะที่ดีของ mass transfer และสามารถใช้ได้ที่ห้องอุณหภูมิ คอลัมน์ที่บรรจุด้วย resin ส่วนใหญ่จะใช้อุณหภูมิสูง เช่น ที่-อุณหภูมิ 60-80°C เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพให้ดีขึ้น อีกประการหนึ่ง resin คอลัมน์ยังใช้ได้กับ pH ในช่วงกว้าง (เช่น 0-14 ในหลายๆกรณี) กว่า silica (pH 1- 7.5) และมีการใช้งานมากกว่า แม้จะใช้งานแล้ว ก็สามารถนำมาใช้ได้อีก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยปกติแล้ว ionic group จะถูกเติมเข้าไปใน resin โดยใช้ปฏิกิริยาเคมีแล้วทำให้เกิด cross-linking ทั้ง cation และ anion resin ยังแบ่งออกเป็น strong และ weak อีกด้วย ซึ่งขึ้นอยู่กับความแรงของกรดและด่างของฟังก์ชั่นนัลกรุ๊ปที่อยู่บน resin นั้น strong cation exchanger โดยทั่วไปจะมี sulphonic group ($-SO_3H$) ซึ่งเตรียมได้โดยใช้วิธี sulphonation resin ส่วน weak cation-exchanger จะมี carbonyl group (-COOH) สำหรับ strong anion exchange จะมี tetraalkyl ammonium group เช่น ($-CH_2-N(CH_3)_3^+Cl^-$และ weak anion exchange จะมี $NH_3^+Cl^-$หรือ$NHR_2^+Cl^-$

ตัวแปรอีกตัวหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อพฤติกรรมของเฟสคงที่ใน ion exchanger คือ ขนาดของรูพรุนบนผิวของอนุภาคที่ใช้บรรจุในคอลัมน์ โดยเฉพาะเมื่อต้องการนำไปใช้แยกสารที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ๆเช่น โปรตีน และ oligonucleotides อนุภาคที่ใช้บรรจุคอลัมน์เพื่อแยกสารประกอบประเภทนี้ควรจะมีรูขนาดใหญ่ เพื่อทำให้ขนาดโมเลกุลของสารเหล่านั้นสามารถแพร่เข้าไปในอนุภาคแล้วเกิดอันตรกิริยากับ ionic group ได้สำหรับ silica based packing ที่ใช้ในงานนี้ควรจะมีรูขนาดกว้าง 300-500A^o เพื่อใช้ในการแยกโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่

2.4.6 Exchange Capacity

จำนวนและความแรงของกลุ่มของไอออนที่อยู่บนผิวของอนุภาคของแข็งที่ใช้บรรจุอยู่ในคอลัมน์จะเป็นตัวกำหนดความจุของการเปลี่ยนแปลง (exchanger capacity) เนื่องจากความจุของการแลกเปลี่ยนไอออนจะมีผลต่อการชะ (elute) ของตัวถูกละลายออกจากคอลัมน์ ดังนั้น ion exchange ที่อ่อน (weak) ซึ่งจะถูกนำมาใช้แยกพวกเบสแก่ กรดแก่ หรือสารประกอบที่มีฟังก์ชันนัลกรุ๊ปที่เป็นไอออนหลายกรุ๊ป โดยสารประกอบประเภทนี้จะยึดเกาะติดได้อย่างเหนียวแน่นกับ ion exchanger ที่แก่ (strong) เพราะฉะนั้น weak ion exchanger จึงถูกนำมาใช้ในการแยกสารประกอบประเภทโปรตีน เปปไทด์ และพวกsulphonateสำหรับ resin ที่มีรูพรุนและถูกจัดอยู่ในประเภท strong resin จะมีความจุของมันอยู่ในช่วง 3-10meq/g สำหรับพวก ion exchanger ที่ใช้ silica gel เป็นแกน จะมีความจุของต่ำกว่า 5-10 เท่า ส่วน resin ที่แก่และจัดอยู่ในประเภท pellicular จะมีความจุต่ำกว่ามาก คือ 5-10 μeq/g

2.4.7 อิทธิพลที่เกี่ยวกับ Distribution Coefficients และ Selectivity

ion exchange Chromatography เกี่ยวข้องกับตัวแปรมากกว่า LC เทคนิคอื่นๆ Distribution Coefficient และ selectivities เป็นฟังก์ชันของ pH ประจุและขนาดรัศมีของตัวถูกละลายความพรุนของ resin ionic strength และชนิดของบัฟเฟอร์ ชนิดของตัวละลาย อุณหภูมิ และอื่นๆ จำนวนตัวแปรของการทดลองทำให้ ion exchange chromatography เป็นเทคนิคที่ใช้ได้กว้างขวาง เนื่องจากตัวแปรแต่ละตัวสามารถนำมาใช้ในการปรับให้การแยกนั้นดีขึ้น แต่ข้อยุ่งยากก็มีเนื่องจากเวลาที่ต้องการทำให้การแยกดีมีขีดจำกัด เมื่อนำเอา polystyrene-divinyl benzene resin มาใช้ การดูดซับพวก organic ions(โดยเฉพาะพวก aromatic) จะเป็นแบบ ionic force กับกลุ่มที่มีประจุบน resin และเป็นการเกิดอันตรกิริยากับองค์ประกอบของ resin ตัวอย่างเช่น phenol จะถูกได้อย่างแข็งแรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใน anion exchange ทั้งที่การแตกตัวของ phenol เกิดขึ้นน้อยมาก ทั้งนี้เนื่องจากตัวทำลายมีผลต่อ matrix ของ resin ที่ใช้ นอกจากนั้นพวกสารประกอบที่ไม่มีประจุสารสามารถที่จะแยกได้โดยใช้ resin ทั้งนี้เนื่องจากว่ากลไกในการแยกอาจเป็นแบบ patition ในกรณีเหล่านี้ การใช้บัฟเฟอร์จะช่วยลดการละลายของสารประกอบในเฟสเคลื่อนที่ จึงเป็นการเพิ่มสัมพรรคภาพ (affinity) ระหว่างสารประกอบกับ resin ซึ่งวิธีการนี้บางครั้งเรียกว่า "salting-out"Chromatography และนำมาใช้ในการแยกแอลกอฮอล์ได้ตามลำดับของขนาดโมเลกุลหรือน้ำหนักโมเลกุล

สารประกอบที่มีประจุเป็นกลางซึ่งเกิดสารเชิงซ้อนกับไอออนได้สามารถใช้กระบวนการแลกเปลี่ยนไอออนแยกออกจากกันได้ ตัวอย่างที่รู้จักกันดี คือ การแยกน้ำตาลโดยผ่านขั้นตอนการรวมตัวของน้ำตาลกับ borate buffer ที่ใช้ในการชะสารประเภทนี้ การแยก ligands สามารถทำได้โดยการผ่านขั้นตอนของการเกิดอันตรกิริยาระหว่าง ligands กับไอออนที่ถูกดูดซับบน resin นั้น

การนำเอาผงเซลลูโลสมาผ่านขั้นตอนทางเคมีเพื่อทำให้มันมี ion exchange group จะได้มีประโยชน์สำหรับทำ TLC และ column chromatagraphy เนื่องจากโครงสร้างของมันไม่แข็ง (lackrigidity) การนำมาใช้จึงมีขีดจำกัดสำหรับทำคอลัมน์ที่ใช้ความดันต่ำ แผ่นเซลลูโลสที่ผ่านขั้นตอนการปรับปรุงทางเคมีเพื่อให้มี ion exchange group จะหาซื้อได้จากทั่วไป และสามารถนำมาใช้เป็น ion exchange ได้ใน paper chromatography

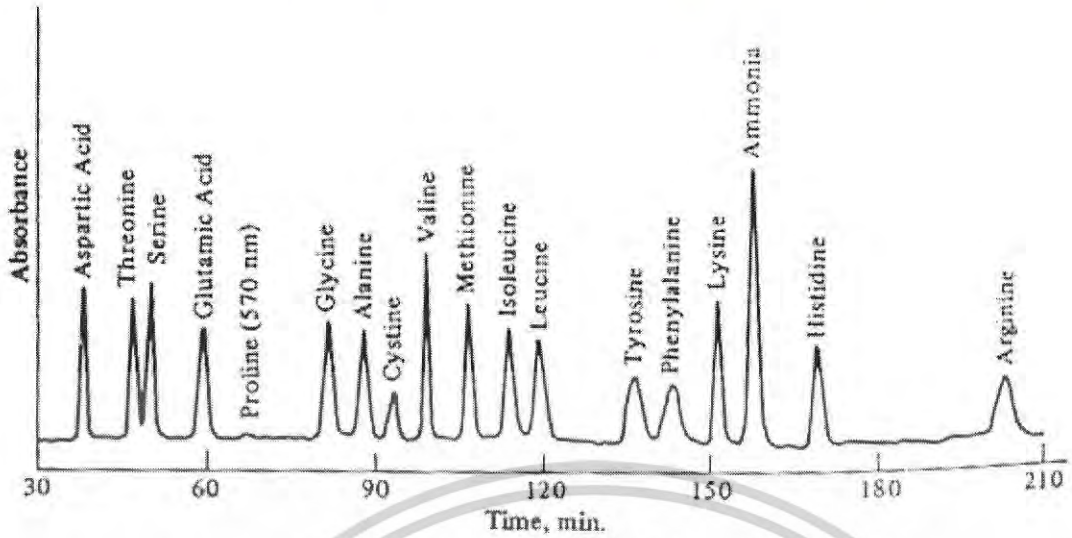
2.4.8 <u>การใช้ Ion Exchange Chromatography</u>

ไอออนเอกซ์เชนจ์เรซินจะประกอบด้วยโมเลกุลที่ใหญ่ของสารอินทรีย์ชนิด high polymer มีน้ำหนักโมเลกุลสูงและไม่ละลายน้ำ โมเลกุลเหล่านี้ประกอบด้วยหมู่แอคตีฟ (active) ซึ่งสามารถดึงเอาไอออนจากสารละลายมาแลกเปลี่ยนกับไอออนที่มีประจุแบบเดียวกันที่มีอยู่บนเรซินได้ เราแบ่งเรซินออกเป็น 2 พวกใหญ่ๆ คือ แคทไอออนเอกซ์เชนจ์เรซิน(cation exchange resins)เป็นเรซินที่สามารถแลกเปลี่ยนกับไอออนที่มีประจุบวก (cation) ในสารละลายได้ และแอนไอออนเอกซ์เชนจ์เรซิน(anion exchange resins)เป็นเรซินที่สามารถแลกเปลี่ยนกับไอออนที่มีประจุลบ (anion) ในสารละลายได้

เทคนิค Ion Exchange Chromatography ส่วนมากจะใช้ในอนินทรีย์เคมีและชีวเคมี ในทางชีวเคมีมักจะเกี่ยวข้องกับการแยกสารที่มีขั้วที่ละลายน้ำได้ เช่น โปรตีนและกรดอะมิโน ไอออนของโลหะสามารถแยกออกจากกันได้โดยใช้ cation exchanger โดยอาศัยลักษณะเฉพาะของอัตราส่วนของประจุต่อรัศมีของ hydrated ions ภายใต้สภาวะที่ใช้เปรียบเทียบกัน พวกไอออนที่มีประจุมากจะถูกยึดไว้ในคอลัมน์ได้ดีกว่าพวกไอออนที่มีประจุน้อย ในกรณีการแยกไอออนที่มีประจุเท่ากัน สัมพรรคภาพของไอออนจะลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



รูปที่ 13.37 แสดงการแยกกรดอะมิโนโดยเทคนิคทาง ion-exchange chromatography ตามขนาดของ hydrated ion ที่เพิ่มขึ้น

ในการใช้ ion exchanger chromatography นั้น ได้มีการพัฒนาไปอย่างมากในการแยกสารผสมที่ค่อนข้างยุ่งยากและซับซ้อน เช่น แยก fission products จาก atomic reactors หรือแยกสารผสมทาง biochemical field เพื่อหาโครงสร้างของโปรตีนและ nucleic acids เป็นต้น รูปที่ 13.37 แสดงการแยกกรดอะมิโนโดยใช้ flow-through colorimetric detector

Resin เป็น durrum DC-1A ซึ่งเป็น sulphonated polystyrene-divinyl benzene cation exchanger มี dp = 8 μm 10^{-9} mole mixture flow rate 70 mL/hr

2.5 ไอออนโครมาโทกราฟี (Ion Chromatography,IC)

เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (IC) เป็นวิธีการแยกสารวิธีหนึ่งในเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC) โดยเทคนิค IC มีความว่องไวเฉพาะเจาะจงในการแยกและวิเคราะห์พวกไอออน เช่น พวกไอออนบวก (cation) โดยเฉพาะไอออนของโลหะอัลคาไลน์และอัลคาไลน์เอริทธ์ ตลอดจนไอออนของโลหะทรานซิชันบางตัว แอนไอออน (anion) เช่น พวกเฮไลด์ไอออน,อนุมูลออกซีของธาตุฮาโลเจน เป็นต้น และสารประกอบอินทรีย์ที่มีขั้ว เช่น กรดอินทรีย์ โมโนแซคคาไรด์ ไดแซคคาไรด์ และ sugar alcohols เป็นต้น

เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (IC) แยกสารได้โดยอาศัยหลักการการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่างไอออนของสารตัวอย่าง (analyte) กับไอออนที่ปลายของตัวแลกเปลี่ยนไอออน (Ion-exchanger) ซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) และมีสารละลายบัฟเฟอร์หรือสารละลายกรดเป็นตัวชะ (eluent) หรือเป็นเฟสเคลื่อนที่

ตัวแลกเปลี่ยนไอออนที่นิยมใช้เป็นสารอินทรีย์ที่สังเคราะห์ขึ้นคือ พวก copolymer ซึ่งเรียกกันว่า resin เช่น Polystyrene/divinylbenzene (Styrene-divinyl benzene resin) และ Polymethacrylate/divinylbenzene copolymer เป็นต้น โคพอลิเมอร์เหล่านี้ทำหน้าที่เป็น carrier

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
61928

material คือ เป็นวัสดุให้หมู่ฟังก์ชันหรือหมู่ไอออนิกที่สามารถทำหน้าที่แลกเปลี่ยนไอออน(ion exchanger group) ถ้าหมู่ไอออนิกที่เติมเข้าไปสามารถแลกเปลี่ยนแคทไอออนได้จัดเป็น Cation exchanger เช่น การเติม sulfonate group ถ้าเติมหมู่ไอออนิกที่สามารถแลกเปลี่ยนแอนไอออนได้จัดเป็น Anion exchanger เช่น การเติมหมู่ quaternary ammonium group (-NR3+)

สมการการแลกเปลี่ยนแคทไอออนและแอนไอออนของ cation exchanger และ anion exchanger ตามลำดับ เขียนได้ดังนี้

$$Resin - SO^-_3H^+_{stat} + A^+_{mob} \rightleftharpoons Resin - SO^-_3A^+_{stat} + H^+_{mob}$$

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

$$Resin - NR^+_3Cl^-_{stat} + A^-_{mob} \rightleftharpoons Resin - NR^+_3A^-_{stat} + Cl^-_{stat}$$

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

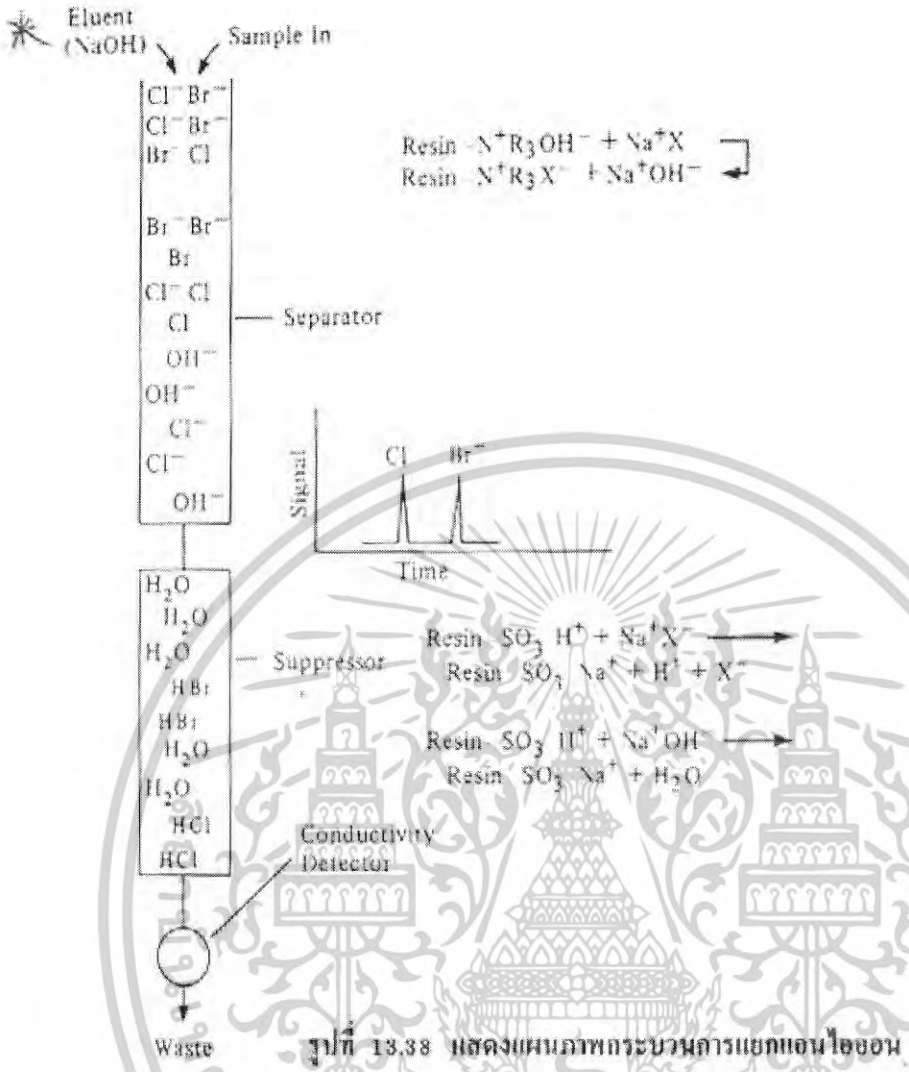
และถ้าสารตัวอย่างมีองค์ประกอบของไอออนหลายชนิดปะปนกัน ไอออนเหล่านี้สามารถแยกออกจากกันได้โดยอาศัยหลักที่ว่า ไอออนแต่ละชนิดมีแอฟฟินิตี (affinities) กับเฟสที่อยู่กับที่ต่างกัน หรือมีค่าคงที่สมดุลของสัมประสิทธิ์การกระจาย (K) แตกต่างกันนั่นเอง และถูกชะออกจากคอลัมน์ตามลำดับดังนี้ ไอออนที่มีขนาดเล็กจะถูกชะออกก่อนไอออนที่มีขนาดใหญ่ และไอออนที่มีความหนาแน่นประจุน้อยกว่า (monovalent ions) จะถูกชะออกก่อนไอออนที่มีความหนาแน่นประจุมากกว่า (di and trivalent ions)

เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (IC) ใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาสารอนินทรีย์ที่มีประจุโดยทั่วไป การวิเคราะห์สารปริมาณน้อยๆ ในทางปฏิบัติแล้วมักนิยมใช้เทคนิคนี้ในการวิเคราะห์หาแอนไอออนที่มีปริมาณต่ำๆ ในสารละลาย การใช้คอลัมน์ที่มีความจุต่ำจะเหมาะกับการใช้บัฟเฟอร์ที่มี ionic strength ต่ำเป็นเฟสเคลื่อนที่ ระบบของเครื่อง ion chromatography ที่ใช้งานสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ระบบ คือ

1.ระบบที่มี suppressor column หรือระบบคอลัมน์คู่ (dual column IC)

2. ระบบที่ไม่มี suppressor column หรือระบบคอลัมน์เดี่ยว (single column IC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 13.38 แสดงแผนภาพกระบวนการแยกแอนไอออน

ในทางปฏิบัติแล้ว เทคนิคที่ใช้คอลัมน์ 2 ชนิดต่อกันแบบอนุกรมจะมีลักษณะดังรูปที่ 13.38 ซึ่งเป็นการวิเคราะห์คลอไรด์และโบรไมด์ด้วยเทคนิคทางไอออนโครมาโทกราฟี คอลัมน์บน ทำหน้าที่เป็นคอลัมน์ที่มีการแยกเกิดขึ้น เรียกว่า separating column จะบรรจุ anion exchange resin ทำหน้าที่แยก Cl^-และ Br^- ส่วนคอลัมน์ล่าง บรรจุตัวแลกเปลี่ยนไอออนที่ตรงข้ามกับคอลัมน์บน คือ เป็น cation exchange resin ทำหน้าที่แลกเปลี่ยนไอออน H^+กับแคทไอออน อื่นๆ เพื่อลดค่าการนำไฟฟ้าของเฟสเคลื่อนที่ในกรณีใช้สารละลาย NaOH ซึ่งทำให้ค่าการนำไฟฟ้าที่วัดได้เป็นของ Cl^- และ Br^- เท่านั้น และเป็นการเพิ่มสภาพไวของดีเทคเตอร์ได้อีกด้วย

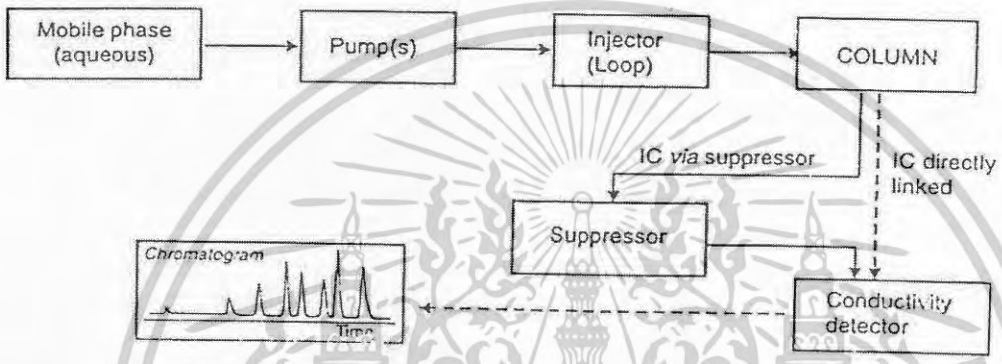
ข้อเสียของเทคนิคนี้คือ จะต้องมีการ regenerate suppressed column เป็นครั้งคราว และบางทีก็มีส่วนทำให้พีกกว้างขึ้น

ใน nonsuppressed IC เทคนิค คอลัมน์ที่ใช้ได้มีเพียงคอลัมน์เดียว และเฟสเคลื่อนที่จะผ่าน separation column คือ anion column แล้วเข้าสู่ conductivity detector โดยตรงเลย ข้อดีของเทคนิคนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก็คือง่ายและประสิทธิภาพในการแยกดี ข้อเสียของเทคนิคนี้คือ ความยากของไอออนที่มีปริมาณน้อยๆในสารตัวอย่างที่อยู่ในตัวกลาง ซึ่งนำไฟฟ้าได้ดีและมีข้อจำกัดในการเลือกเฟสเคลื่อนที่ด้วย

การตรวจวัดปริมาณไอออนที่แยกออกจากคอลัมน์ด้วยเทคนิค IC นี้นิยมใช้การวัดค่าการนำไฟฟ้า (Conductivity detection) ถ้าใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายบัฟเฟอร์หรือสารละลายกรดจำเป็นต้องมีอุปกรณ์ที่ช่วยลดค่าการนำไฟฟ้าของเฟสเคลื่อนที่ก่อนจะเข้าสู่ตัวตรวจวัด ซึ่งเรียกว่า Ion Suppressors แทรกอยู่ระหว่าง seperating column กับตัวตรวจวัด ดังแสดงในรูป



รูปที่ 4 แผนภาพแสดงองค์ประกอบของเครื่อง Ion Chromatograph

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Zerbinati และคณะ (2000) ได้ทำการวิเคราะห์ลิเทียมไอออนในไวน์โดยวิธีไอออนโครมาโทกราฟี ซึ่งลิเทียมไอออนปรากฏในไวน์เนื่องจากรากของพืชหรือการเก็บในขวดแก้ว ความเข้มข้นของธาตุนี้อยู่ในช่วง 5-50 µg /l ลิเทียมถูกใช้เป็นตัวที่ทำให้คุณสมบัติของไวน์เปลี่ยนไปไม่เหมาะสมสำหรับการบริโภค การควบคุมของสิ่งที่ไม่อนุญาตทำการวิเคราะห์โดยวิธี flame atomic emission spectroscopy with nebulizationซึ่งเป็นวิธีที่เป็นทางการซึ่งถูกพัฒนาขึ้นเพื่อการหาสารที่ทำให้ไวน์มีคุณสมบัติเปลี่ยนไปและช่วยทำให้ไวน์นั้นถูกกฎหมายอีกด้วย และใช้วิธี Ion chromatograaphy(IC) อีกวิธีหนึ่งทดสอบเปรียบเทียบกันเพื่อเป็นทางเลือกสำหรับการควบคุมให้ไวน์อยู่ในกฎหมายที่ยอมรับ

Baluja-Santos และคณะ (1987) ได้ทำการวิเคราะห์ลิเทียมไอออนในไวน์ โดยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโตรสโคปี ซึ่งลิเทียมไอออน (10-150 ng/ml) ในไวน์ถูกตรวจวัดโดยวิธี atomic absorption spectroscopy with direct nebulisation หลังจากการ digest กับกรดผสม ผลที่ได้ของวิธีอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโตรสโคปีนี้เหมือนกัน จากไวน์ 34 ชนิด ที่มีการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1.สารละลายมาตรฐานลิเทียม เข้มข้น 1000 ppm เกรดวิเคราะห์ IC

2.กรดทาทาลิก (Tartaric Acid) ชนิดผง เกรดวิเคราะห์

3.กรดไดพิโคลินิก (Dipicolinic Acid) ชนิดผง เกรดวิเคราะห์

4.สารละลายอะซีโตน

5.น้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูง (Ultrapure Water)

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1.เครื่องไอออนโครมาโทกราฟี แบบ Modular anion and cation system with chemical suppression and conductivity รุ่น MIC-3 (Metrohm) ประกอบด้วย

1) 709 IC Pump

2) 754 IC seperation center

3) IC cation column(Metrosep C2_150,150 mm × 4.00 mm I.D)

4) 762 IC Interface

5) 732 IC Conductivity detector

6) Metrohm data system(Ic Net 2.3)

2.เข็มฉีดพลาสติก

3.เครื่องกรองบุชเนอร์

4.เครื่องดูดสุญญากาศ พร้อมขวดสุญญากาศขนาด 1000 mm

5.membrane ที่มีขนาดรูพรุน 0.45 μm

6.กระดาษกรอง

7.เครื่องอุลตราโซนิก รุ่น KLSC 09 FISHER SCIENTIFIC

8.เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

9.ไมโครปิเปต

10.ปิเปต ขนาด 2 ml

11.บีกเกอร์ ขนาด 50 และ 100 ml

12.ขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 ml

13.กระบอกตวง ขนาด 100 ml

14.ช้อนตักสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15.หลอดหยด

16.แท่งแก้ว

17.กระบอกฉีดน้ำกลั่น

3.3 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.3.1 การเตรียมสารละลายเฟสเคลื่อนที่ (Mobile Phase) ระหว่างกรดทาทาลิก (Tartaric Acid) ผสมกับกรดไดพิโคลินิก (Dipicolinic Acid) ที่มีความเข้มข้น 4.0 และ 0.75 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ

1.ชั่งกรดทาทาลิกและกรดไดพิโคลินิกมา 1.2007 กรัม และ 0.2507 กรัม ตามลำดับ ละลายด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงประมาณ 80-100 มิลลิลิตร

2.เติมอะซีโตน จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงจนได้ 2 ลิตรในขวดวัดปริมาตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

3.นำสารละลายที่ได้ไปไล่ก๊าซที่อาจมีอยู่ในสารละลายโดยแช่ในเครื่องอุลตราโซนิกนาน 30 นาที

4.นำมาผ่านการกรองด้วยเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศแบบลดความดัน

5.นำมาแช่ในเครื่องอุลตราโซนิคนาน 5 นาที

6.นำมาถ่ายใส่ในขวดสารละลายเคลื่อนที่เพื่อทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ (Mobile Phase)

3.3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานลิเทียมสำหรับการทำกราฟมาตรฐาน (Calibration Curve Method)

1.ปิเปตสารละลายมาตรฐานลิเทียมเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตรมา 2,3,4,5 และ 6 ไมโครลิตร ตามลำดับด้วยไมโครปิเปต ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

2.ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงจนถึงขีดบอกปริมาตร จะได้สารละลายมาตรฐานลิเทียมที่มีความเข้มข้น 20,30,40,50 และ 60 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

3.3.3 การเตรียมสารละลายตัวอย่างไวน์

1.นำตัวอย่างไวน์ชนิดที่ 1 (ไวน์มังคุด) มาทำการกรองด้วยเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร

2.ทำการเตรียมสารตัวอย่าง โดยการปิเปตสารตัวอย่างไวน์ที่กรองแล้วมา 2 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

3.ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.นำตัวอย่างไวน์ชนิดที่ 2 (ไวน์ลิ้นจี่) และไวน์ชนิดที่ 3 (ไวน์มะขามป้อม) มาทำการเตรียมตัวอย่างไวน์ เช่นเดียวกับข้อ 1-3

3.3.4 การเตรียมสารละลายตัวอย่างไวน์สำหรับการสร้างกราฟมาตรฐานแบบเติม (Standard Addition Method)

1.นำตัวอย่างไวน์ชนิดที่ 1 (ไวน์มังคุด) มาทำการกรองด้วยเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร

2.ทำการเตรียมสารตัวอย่าง เข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยการปิเปตสารตัวอย่างไวน์ที่กรองแล้วมา 2 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

3.ปิเปตสารละลายมาตรฐานลิเทียมเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร มา 2 ไมโครลิตรลงในขวดวัดปริมาตรในข้อ 2

4.ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

5.ทำการเตรียมความเข้มข้นของสารตัวอย่าง 30,40,50 และ 60 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยการเปลี่ยนปริมาตรของสารละลายมาตรฐานลิเทียมเป็น 3,4,5 และ 6 ไมโครลิตร ตามลำดับ

6.นำตัวอย่างไวน์ชนิดที่ 2 (ไวน์ลิ้นจี่)และไวน์ชนิดที่ 3 (ไวน์มะขามป้อม)มาทำการเตรียมตัวอย่างไวน์ เช่นเดียวกับข้อ 1-5

3.3.4 การตรวจวัดปริมาณลิเทียมด้วยเครื่องไอออนโครมาโทกราฟี

1.นำสารละลายเคลื่อนที่กรดทาทาลิก (Tartaric Acid) กับกรดไดพิโคลินิก (Dipicolinic Acid) ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.1.1 ใส่บนถาดรองในชุดเครื่องไอออนโครมาโทกราฟ ทำการไล่ฟองอากาศออกจากภายในเส้นท่อ

2.เปิด Switch power เครื่องไอออนโครมาโทกราฟี ตรวจสอบการต่ออุปกรณ์ให้เรียบร้อย

3.เปิดคอมพิวเตอร์ตามปกติ เข้าโปรแกรม IC Net 2.3

4.ทำการตรวจสอบเส้นโครมาโทแกรมของสารละลายเคลื่อนที่(Run base line)จนเส้นโครมาโทแกรมเรียบ โดยดูสัญญาณที่แกน Y (ค่ากระแส mV อยู่ระหว่าง -1ถึง 1 mV) และแกน X(เวลาที่ผ่านไป ช่วง 10 นาที) ทำการตรวจสอบเส้นโครมาโทแกรมอย่างน้อย 40 นาที

5.เข้า system และ method ที่ต้องการวิเคราะห์(flow rate : 1.0 ml/min)

6.ล้างท่อเทฟลอนที่เป็นส่วนที่ดูดสารเข้าสู่ sample loop ด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูง จุ่มปลายท่อเทฟลอนลงในสารละลายมาตรฐานตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.1.2 และใช้เข็มฉีดพลาสติกดูดสารละลายมาตรฐานตัวอย่างเข้าไปในหลอด capillary และดูดสารละลายนั้นทิ้งลงในภาชนะบรรจุของเสีย 2-3 ครั้ง หรืออย่างน้อย 0.5 มิลลิลิตร ต้องไม่ให้มีฟองอากาศหลงเหลือใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลอด capillary จึงกด fill ที่ตู้เครื่องซึ่งบรรจุคอลัมน์ รอค่า conductivity เป็น 0.000 mVใช้ดูดสารละลายด้วยเข็มพลาสติกซ้ำอีกครั้ง และกด inject ที่ตู้เครื่อง

7.ทำการบันทึกโครมาโทแกรมที่ได้ของสารละลายมาตรฐานลิเทียมที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.2 มาสร้างกราฟมาตรฐานของลิเทียม (Calibration Curve Method)

8.ทำการบันทึกโครมาโทแกรมของสารละลายในตัวอย่างไวน์ทั้ง 3 ชนิดจากการเตรียมในข้อ 3.3.3 มาหาความเข้มข้นจากการสร้างกราฟมาตรฐาน(Calibration Curve Method) ของลิเทียมในข้อ 7

9.ทำการบันทึกโครมาโทแกรมของสารละลายในข้อ 3.3.4 มาหาความเข้มข้นจากการสร้างกราฟมาตรฐานแบบเติม (Standard Addition Method) ในตัวอย่างไวน์ทั้ง 3 ชนิด

3.4 การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

3.4.1 ทำการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (Linearity)

1.นำสารละลายมาตรฐานลิเทียมไอออนทั้ง 5 ระดับความเข้มข้น คือ 20,30,40,50 และ 60 ppb ซึ่งเตรียมได้จากข้อ 3.3.2 มาฉีดซ้ำความเข้มข้นละ 9 ครั้ง โดยเรียงลำดับจากความเข้มข้นต่ำไปสูง และระหว่างแต่ละความเข้มข้นต้องทำการล้างท่อเทฟลอนด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของไอออนที่อาจค้างอยู่ภายในคอลัมน์

2.คำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean) ของพื้นที่ใต้พีกแล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐานลิเทียมโดยพลอตกราฟ ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีกของสารละลายมาตรฐานลิเทียม และคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์(Regression Coefficient; r^2)

3.4.2 ทำการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection; LOD)

1.นำข้อมูลจากการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (Linearity) ของสารละลายมาตรฐานลิเทียมไอออนมาทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น คือ 20, 40 และ 60 ppb

2.คำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean) ของพื้นที่ใต้พีกแล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐานลิเทียมโดยพลอตกราฟ ระหว่างความเข้มข้นกับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของสารละลายมาตรฐานลิเทียม และคำนวณหาค่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection; LOD)

3.4.3 ทำการศึกษาความเที่ยงตรง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

1.นำข้อมูลจากการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (Linearity) ของสารละลายมาตรฐานลิเทียมไอออนมาทั้ง 5 ระดับความเข้มข้น คือ 20,30,40,50 และ 60 ppb ที่ทำการฉีดความเข้มข้นละ 3 ครั้ง ภายในวันเดียวกันและต่างวันกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.คำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของสารละลายมาตรฐานลิเทียม แล้วนำมาหาค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของแต่ละความเข้มข้น

3.4.4 ทำการศึกษาความแม่นยำ (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์

1.ศึกษาโดยใช้สารละลายตัวอย่างไวน์ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.4 ทั้ง 5 ระดับความเข้มข้น คือ 20,30,40,50 และ 60 ppb มาฉีดซ้ำความเข้มข้นละ 9 ครั้งโดยเรียงลำดับจากความเข้มข้นต่ำไปสูง และระหว่างแต่ละความเข้มข้นต้องทำการล้างท่อเทฟลอนด้วยน้ำกลั่นความบริสุทธิ์สูงเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของไอออนที่อาจค้างอยู่ภายในคอลัมน์

2. คำนวณหาค่าร้อยละของการได้คืนกลับ (%Recovery) ของสารละลายมาตรฐานลิเทียม

3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์

1.นำข้อมูลจากการศึกษาความแม่นยำ (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ของสารละลายตัวอย่างไวน์มาทั้ง 5 ระดับความเข้มข้น คือ 20,30,40,50 และ 60 ppb

2.คำนวณหาค่าความเข้มข้นของลิเทียมที่มีอยู่ในตัวอย่างไวน์แต่ละชนิด โดยการลากเส้นกราฟไปตัดที่แกน X จะได้ค่าความเข้มข้น จากนั้นนำความเข้มข้นที่อ่านได้จากกราฟไปคำนวณหาความเข้มข้นของลิเทียม

3.คำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean) ,ค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของความเข้มข้นลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์แต่ละชนิด

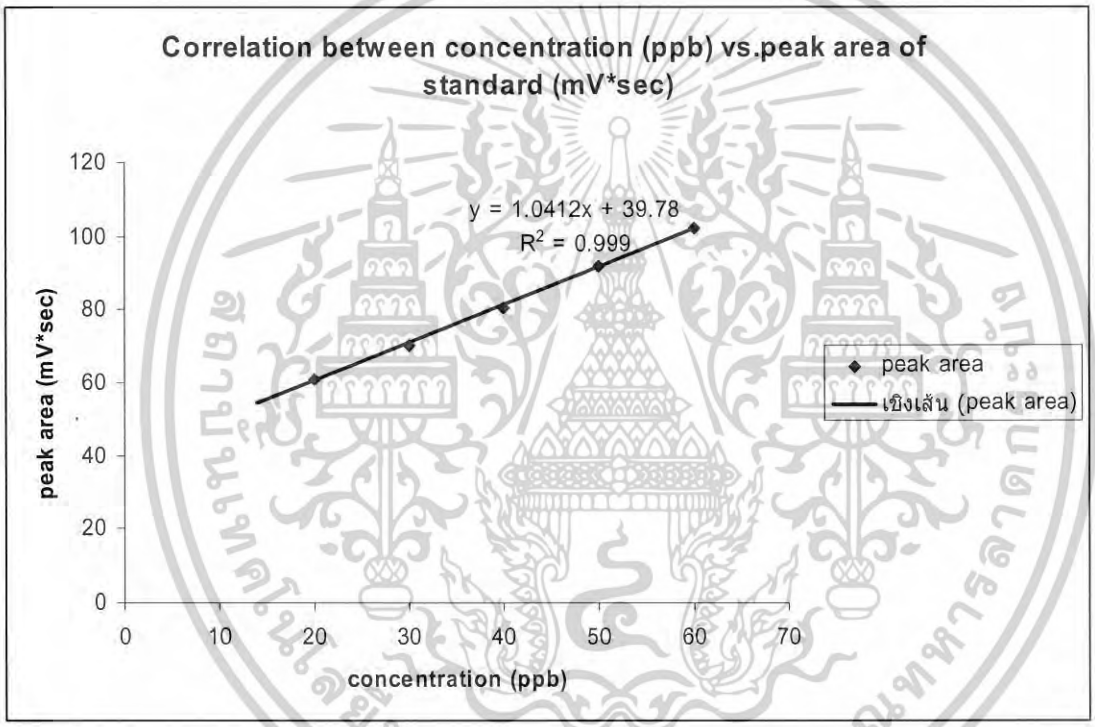
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายลิเทียม (Calibration Curve Method)

ศึกษาโดยใช้สารละลายมาตรฐานลิเทียมไอออนทั้ง 5 ระดับความเข้มข้น คือ 20,30,40,50 และ 60 ppb ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.2 มาฉีดซ้ำความเข้มข้นละ 3 ครั้งต่อวัน โดยหาค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้พีกภายในวันเดียวกันแล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐานลิเทียมโดยพลอตกราฟระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีกของสารละลายมาตรฐานลิเทียม (Calibration Curve Method)



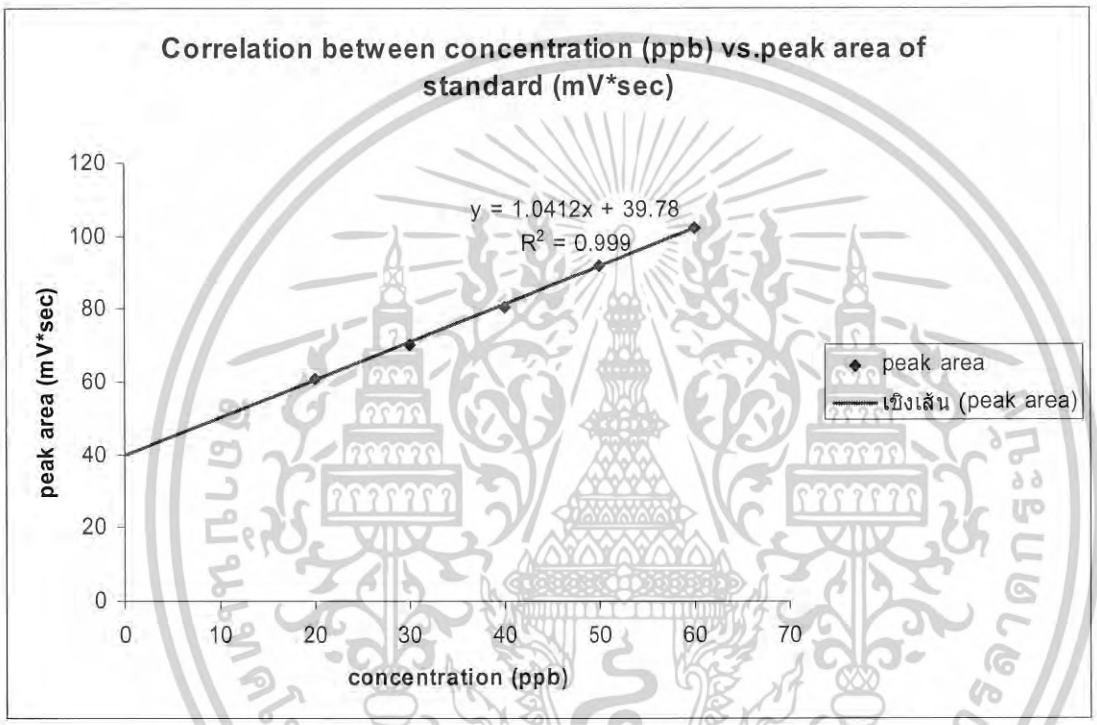
รูปที่ 4.1 แสดงผลการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายลิเทียม (Calibration Curve Method)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

4.2.1 การตอบสนองเป็นเส้นตรง (Linearity)

ศึกษาโดยใช้สารละลายมาตรฐานลิเทียมไอออนทั้ง 5 ระดับความเข้มข้น คือ 20,30,40,50 และ 60 ppb ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.2 มาฉีดซ้ำความเข้มข้นละ 9 ครั้งแล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐานลิเทียมโดยพลอตกราฟระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีกของสารละลายมาตรฐานลิเทียม และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ (Regression Coefficient; r^2) ดังแสดงในรูป



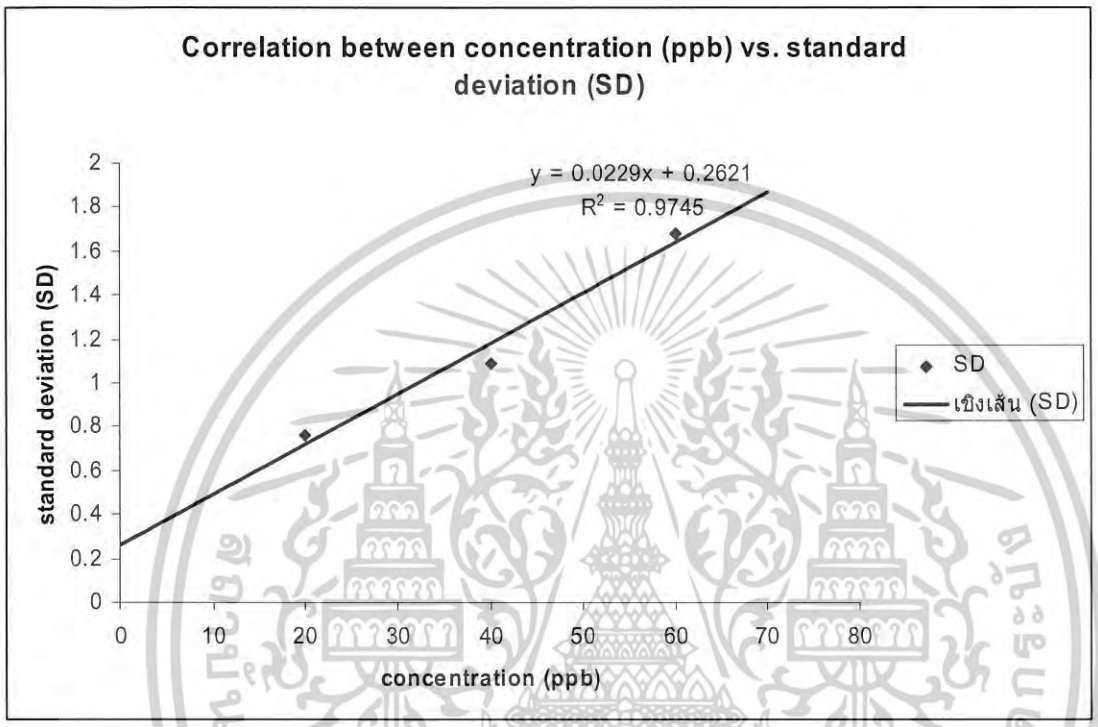
รูปที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานลิเทียม

จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.2 พบว่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานลิเทียมเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 20-60 ppb โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ 0.999 โดยทั่วไปจะยอมรับค่าสัมประสิทธิ์ที่ 0.999 ถึง 0.995 ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์นี้แสดงถึงความสามารถของระบบที่ให้ผลการทดลองเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานลิเทียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Detection:LOD)

ศึกษาโดยใช้ข้อมูลจากการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (Linearity) ของสารละลายมาตรฐานลิเทียมไอออนมาทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น คือ 20, 40 และ 60 ppbแล้วนำมาสร้างกราฟโดยพลอตกราฟระหว่างค่าความเข้มข้นที่วัดได้กับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ดังแสดงในรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.3 แสดงผลการศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้(limit of detection) ของลิเทียม

จากผลการศึกษา ดังแสดงในรูปที่ 4.3 มีค่า limit of detection เท่ากับ mean blank + 3 S_0 (S_0 คือ ค่า SD ที่อ่านได้จากจุดตัดของกราฟที่แกน Y) พบว่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ของลิเทียมเท่ากับ 0.792 ppb

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 ความเที่ยงตรง (Precision) ของวิธีวิเคราะห์

ศึกษาโดยใช้ข้อมูลจากการศึกษาการตอบสนองเป็นเส้นตรง (Linearity) ของสารละลายมาตรฐานลิเทียมไอออนมาทั้ง 5 ระดับความเข้มข้น คือ 20,30,40,50 และ 60 ppb ที่ทำการฉีดความเข้มข้นละ 3 ครั้ง ภายในวันเดียวกันและต่างวันกันแล้วนำมาหาค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของแต่ละความเข้มข้น

ตารางที่ 4.1 แสดงผลค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของการทำ Repeatability และ Reproducibility

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานลิเทียม (ppb)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)	
	Repeatability	Reproducibility
20	± 1.784	± 1.035
30	± 0.975	± 1.161
40	± 2.005	± 1.452
50	± 1.347	± 2.442
60	± 1.367	± 2.697

จากตารางที่ 4.1 แสดงผลค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของการทำ Repeatability และ Reproducibility ของสารละลายมาตรฐานลิเทียมโดยความเข้มข้นที่ 20,30,40,50 และ 60 ppb มีค่า Repeatability เท่ากับ ± 1.784, ± 0.975, ± 2.005, ± 1.347 และ ± 1.367 ppb ตามลำดับ ซึ่งมีค่า Reproducibility เท่ากับ ± 1.035, ± 1.161, ± 1.452, ± 2.442 และ ± 2.697 ppb ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 ความแม่นยำ (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์

ศึกษาโดยใช้สารละลายตัวอย่างไวน์ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.4 ทั้ง 5 ระดับความเข้มข้น คือ 20,30,40,50 และ 60 ppb มาฉีดซ้ำความเข้มข้นละ 9 ครั้งและคำนวณหาค่าร้อยละของการได้คืนกลับ (%Recovery) ของสารละลายมาตรฐานลิเทียม

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาความแม่นยำ (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์

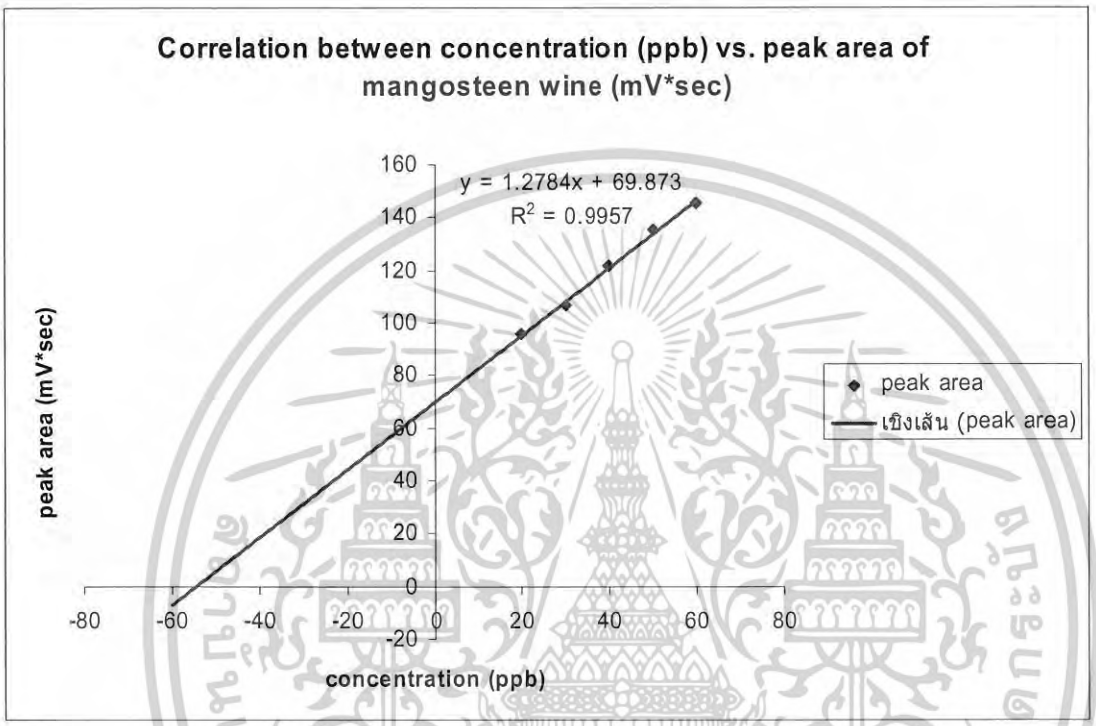
ความเข้มข้น (ppb)	ค่าร้อยละของการได้คืนกลับ (%recovery)		
	ไวน์มังคุด	ไวน์ลิ้นจี่	ไวน์มะขามป้อม
20	101	97	102
30	96	93	93
40	102	100	104
50	102	101	102
60	98	97	98

จากตารางที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาความแม่นยำ (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ไวน์มังคุดที่ความเข้มข้น 20,30,40,50 และ 60 ppb พบว่ามีค่าร้อยละของการได้คืนกลับ (%Recovery) เท่ากับ 101,96,102,102 และ 98% ตามลำดับ, ไวน์ลิ้นจี่ที่ความเข้มข้น 20,30,40,50 และ 60 ppb พบว่ามีค่าร้อยละของการได้คืนกลับ (%Recovery) เท่ากับ 97,93,100,101 และ 97% ตามลำดับ และไวน์มะขามป้อมที่ความเข้มข้น 20,30,40,50 และ 60 ppb พบว่ามีค่าร้อยละของการได้คืนกลับ (%Recovery) เท่ากับ 102,93,104,102 และ 98% ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

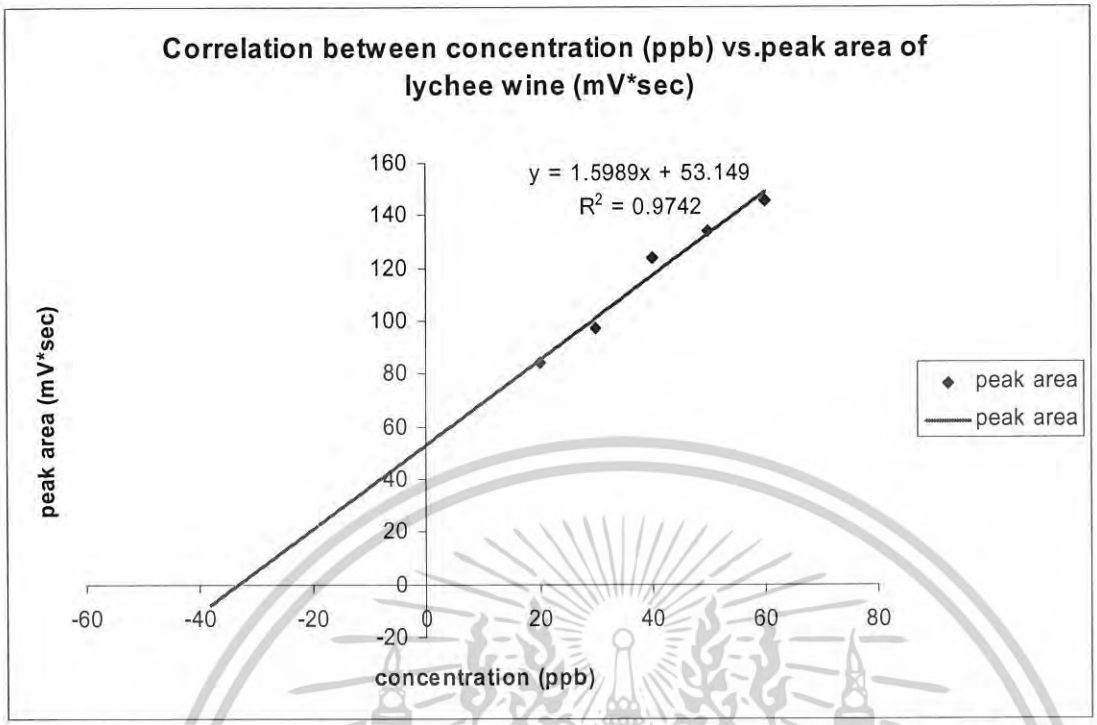
4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์

ศึกษาโดยใช้ข้อมูลจากการศึกษาความแม่นยำ (Accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ของสารละลายตัวอย่างไวน์มาทั้ง 5 ระดับความเข้มข้น คือ 20,30,40,50 และ 60 ppb และหาค่าความเข้มข้นของลิเทียมที่มีอยู่ในตัวอย่างไวน์แต่ละชนิด ดังแสดงในรูปที่ 4.4-4.6

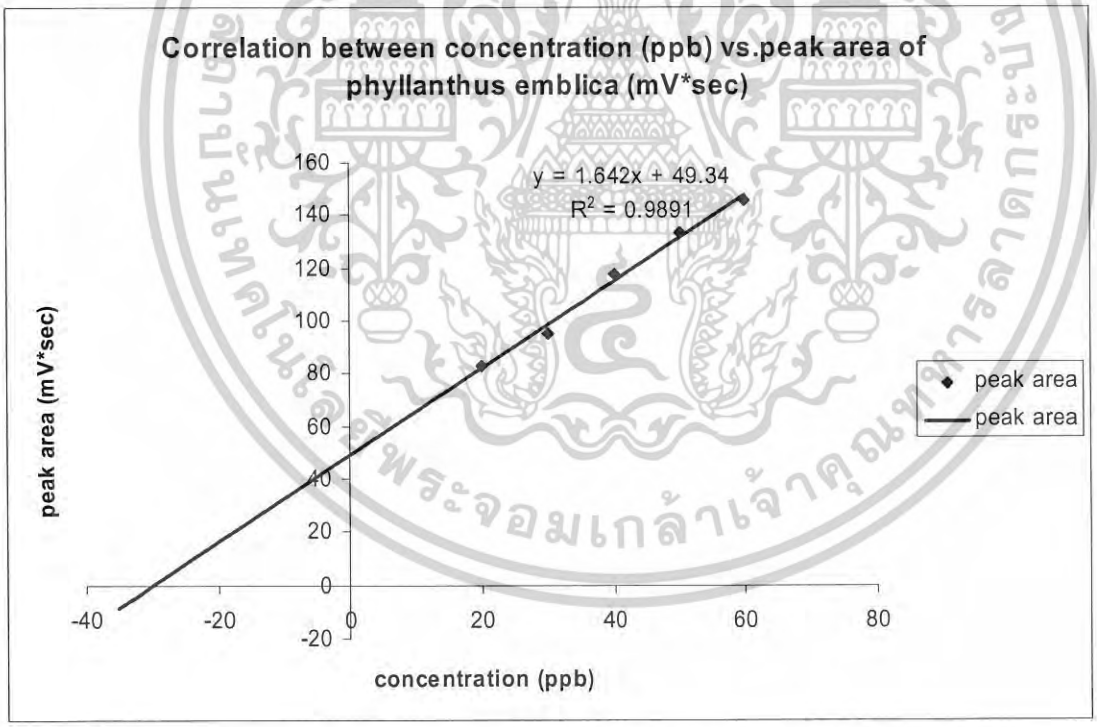


รูปที่ 4.4 แสดงผลการศึกษาหาความเข้มข้นของลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์มังคุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 แสดงผลการศึกษาหาความเข้มข้นของลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ลิ้นจี่



รูปที่ 4.6 แสดงผลการศึกษาหาความเข้มข้นของลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์มะขามป้อม

จากรูปที่ 4.4-4.6 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ไวน์มังคุด,ไวน์ลิ้นจี่ และไวน์มะขามป้อมพบว่ามีความเข้มข้นเท่ากับ 56.364, 34.286 และ 30.000 ppb ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

การตรวจวัดลิเทียมไอออนในไวน์โดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี ด้วยเครื่อง ion chromatograph รุ่น MIC-3 (Metrohm) สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

- สำหรับการตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (method validation) พบว่า

1. การตอบสนองเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานลิเทียมเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 20-60 ppb โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ 0.999

2. ความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (limit of detection) ของลิเทียมเท่ากับ 0.792 ppb

3. ความเที่ยงตรง (precision) ของวิธีวิเคราะห์ โดยรายงานในรูปค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของสารละลายมาตรฐานลิเทียมโดยความเข้มข้นที่ 20,30,40,50 และ 60 ppbมีค่า Repeatability เท่ากับ ± 1.784, ± 0.975, ± 2.005, ± 1.347 และ ± 1.367 ppb ตามลำดับ ซึ่งมีค่า Reproducibility เท่ากับ ± 1.035, ± 1.161, ± 1.452, ± 2.442 และ ± 2.697 ppb ตามลำดับ

4. ความแม่นยำ (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ โดยรายงานในรูปค่าร้อยละของการได้คืนกลับ (% recovery) ในตัวอย่างไวน์ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ไวน์มังคุดที่ความเข้มข้น 20,30,40,50 และ 60 ppb พบว่ามีค่าร้อยละของการได้คืนกลับ (%Recovery) เท่ากับ 101,96,102,102 และ 98% ตามลำดับ, ไวน์ลิ้นจี่ที่ความเข้มข้น 20,30,40,50 และ 60 ppb พบว่ามีค่าร้อยละของการได้คืนกลับ (%Recovery) เท่ากับ 97,93,100,101 และ 97% ตามลำดับ และไวน์มะขามป้อมที่ความเข้มข้น 20,30,40,50 และ 60 ppb พบว่ามีค่าร้อยละของการได้คืนกลับ (%Recovery) เท่ากับ 102,93,104,102 และ 98% ตามลำดับ

- สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์พบว่า

1. **ตัวอย่างไวน์มังคุด** พบปริมาณลิเทียมไอออนมีความเข้มข้นเท่ากับ 2.818 ppm
2. **ตัวอย่างไวน์ลิ้นจี่** พบปริมาณลิเทียมไอออนมีความเข้มข้นเท่ากับ 1.714 ppm
3. **ตัวอย่างไวน์มะขามป้อม** พบปริมาณลิเทียมไอออนมีความเข้มข้นเท่ากับ 1.500ppm

- สำหรับการวิเคราะห์ผลจากการเก็บไวน์ไว้ในภาชนะที่เป็นแก้ว พบว่าถ้าเราเก็บไวน์ไว้ในภาชนะที่เป็นแก้วเป็นเวลานานจะมีผลทำให้มีปริมาณลิเทียมที่มีความเข้มข้นมากขึ้น แสดงว่าภาชนะที่เป็นแก้วที่บรรจุไวน์มีผลต่อปริมาณลิเทียมไอออน

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาปริมาณลิเทียมไอออนในไวน์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟีควรมีการศึกษาปริมาณไอออนตัวอื่นๆที่มีอยู่ในไวน์ด้วยว่ามีผลอย่างไรกับคุณภาพของไวน์เพื่อความปลอดภัยของผู้ที่ชอบบริโภคไวน์และยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์กับตัวอย่างไวน์อื่นๆได้อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

คณิตา ตังคณานุรักษ์.(ม.ป.ป.).**การควบคุมคุณภาพ (Quality Control) และการประกันคุณภาพ(quality Assurance)**. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ธวัชชัย ศรีวิบูลย์,ดร.สมบูรณ์ แก้วปิ่นทอง, (2541.).**ปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ 2 Analytical Chemistry Laboratory II CH334(H)**. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง

นิพนธ์ ตังคณานุรักษ์.(ม.ป.ป.).**เทคนิคการแยกสารโดยเทคนิคโครมาโทกราฟี**.ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แม้น อมรสิทธิ์, อมร เพชรสม. (2539.).**หลักการและเทคนิควิเคราะห์เชิงเครื่องมือ(Principles and Techniques of Instrumental Analysis)**—กรุงเทพฯ,ชวนพิมพ์,886หน้า

วรายุ ลี้ประเสริฐ (2545).**การทำไวน์**.พิมพ์ครั้งแรก สุวีริยาสาส์น

สามารถ พรหมศิริ, (ม.ป.ป.).**การทำไวน์**.โครงการหนังสือเกษตรชุมชน,กรุงเทพมหานคร

ศิริลักษณ์ สินธวาลัย, (ม.ป.ป.).**ทฤษฎีอาหาร เล่ม 2 หลักการถนอมอาหารและการควบคุมคุณภาพอาหาร(ฉบับปรับปรุง)**.กส.บ.คหกรรมศาสตร์(มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์)พ.ม.

ศุภชัย ใช้เทียมวงศ์, (ม.ป.ป.).**ปฏิบัติการเคมีปริมาณวิเคราะห์**.สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อรุณี คงศักดิ์ไพศาล, (ม.ป.ป.).**ปฏิบัติการประยุกต์ใช้เครื่องมือเคมีวิเคราะห์**,ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

C.Baluja-Santos.(1987).**Determination of Lithium in Wines by Atomic Absorption Spectroscopy**.Analytica Chimica Acta.P.283-286

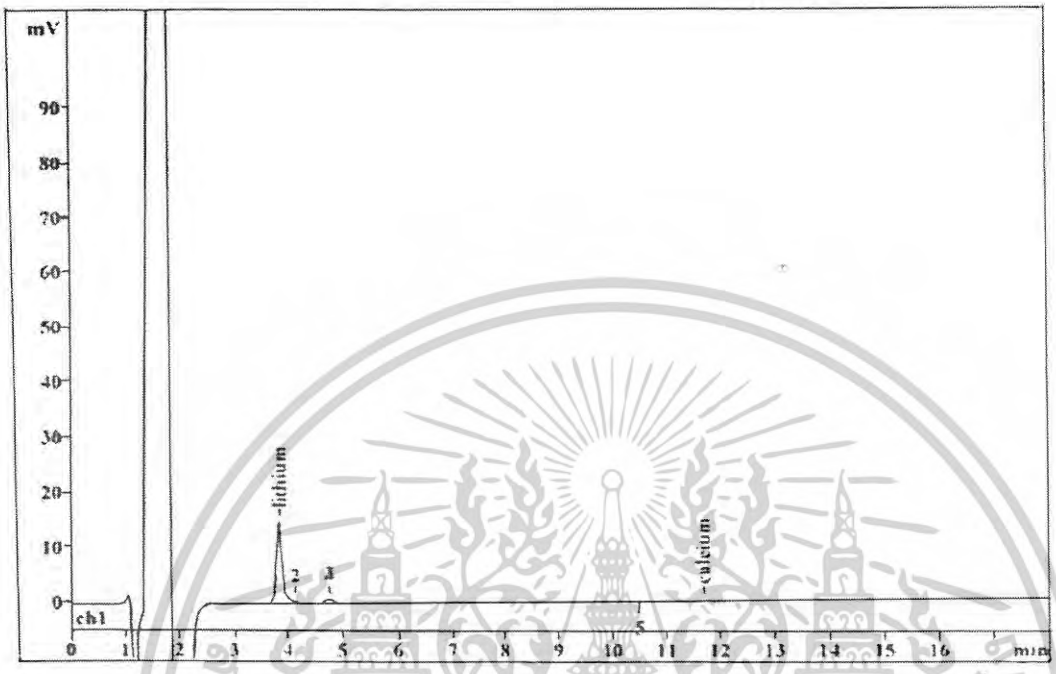
O.Zerbinati et al.(2000) **Determination of Lithium in Wines by Ion Chromatography**. Journal of ChromatographyA.P.645-650

Skoog/Leary(1991).**Principal of Instrumental Analysis**.Forth Edition.United States of America

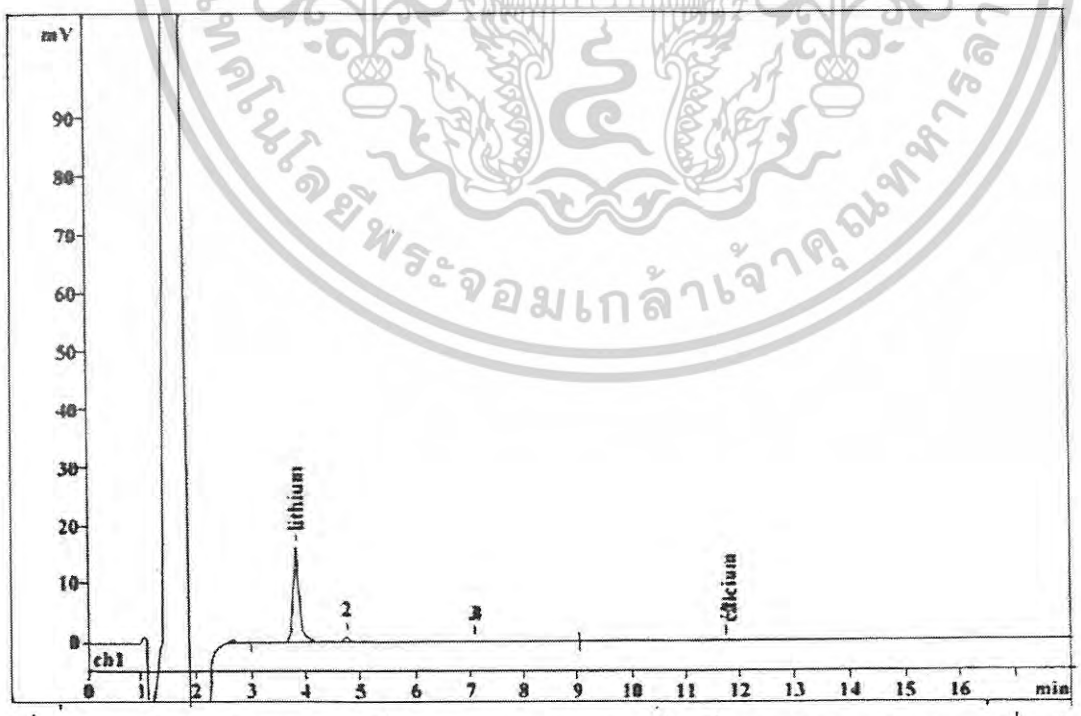
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

แสดงผลการทดลอง

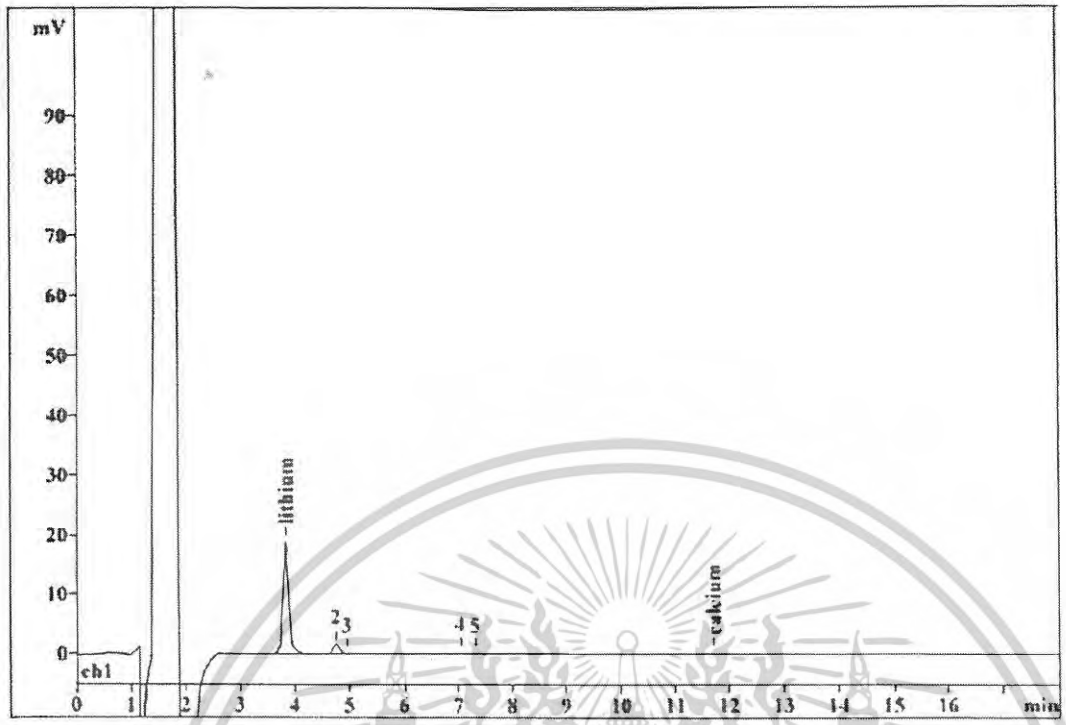


รูปที่ ก.1 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการตอบสนองการเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 20 ppb

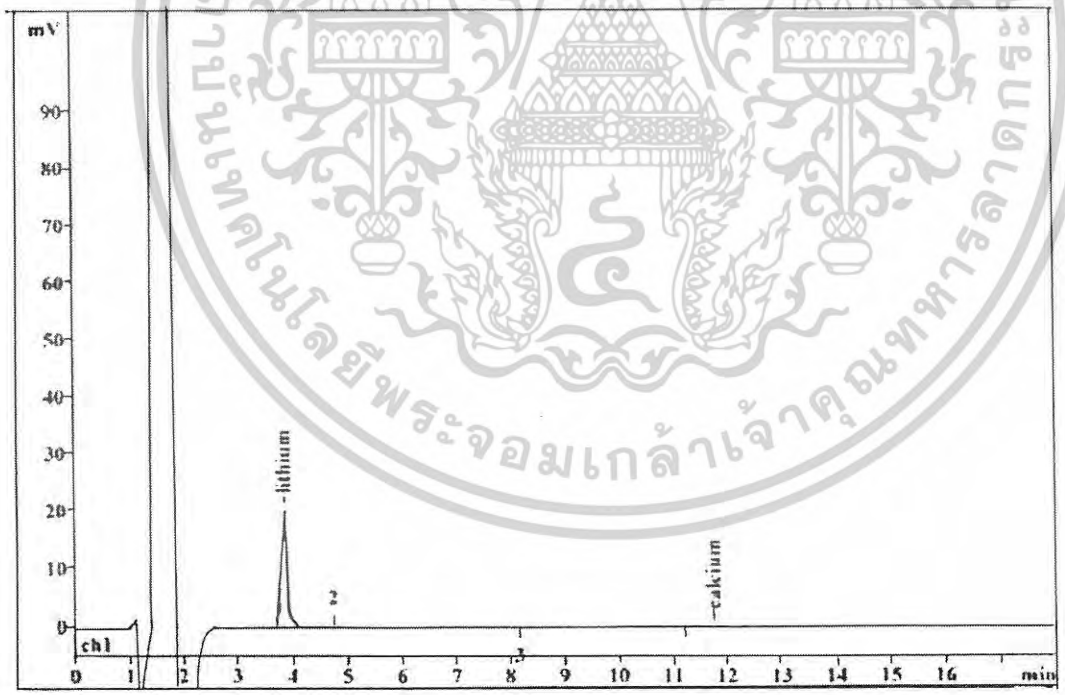


รูปที่ ก.2 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการตอบสนองการเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 30 ppb

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

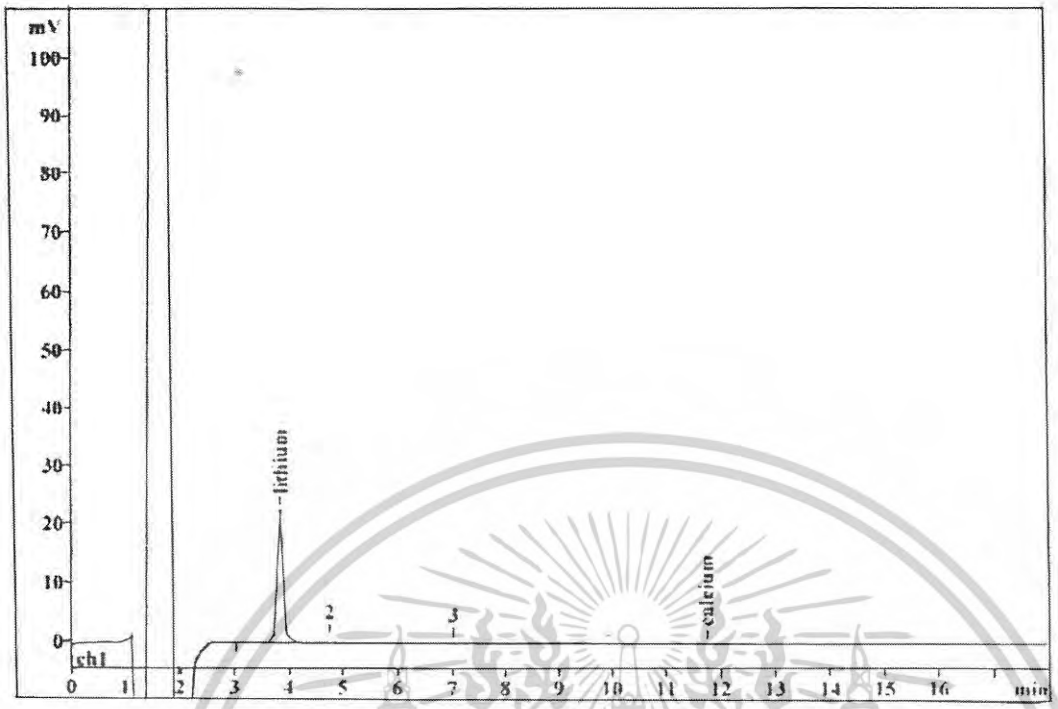


รูปที่ ก.3 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการตอบสนองการเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb

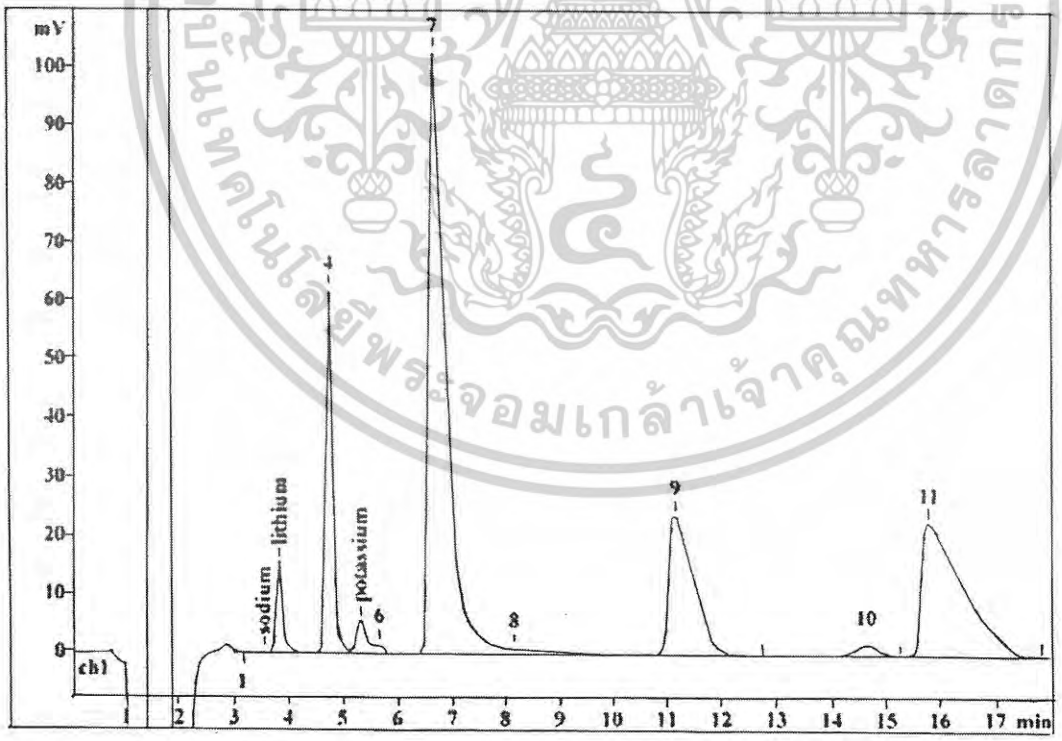


รูปที่ ก.4 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการตอบสนองการเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 50 ppb

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

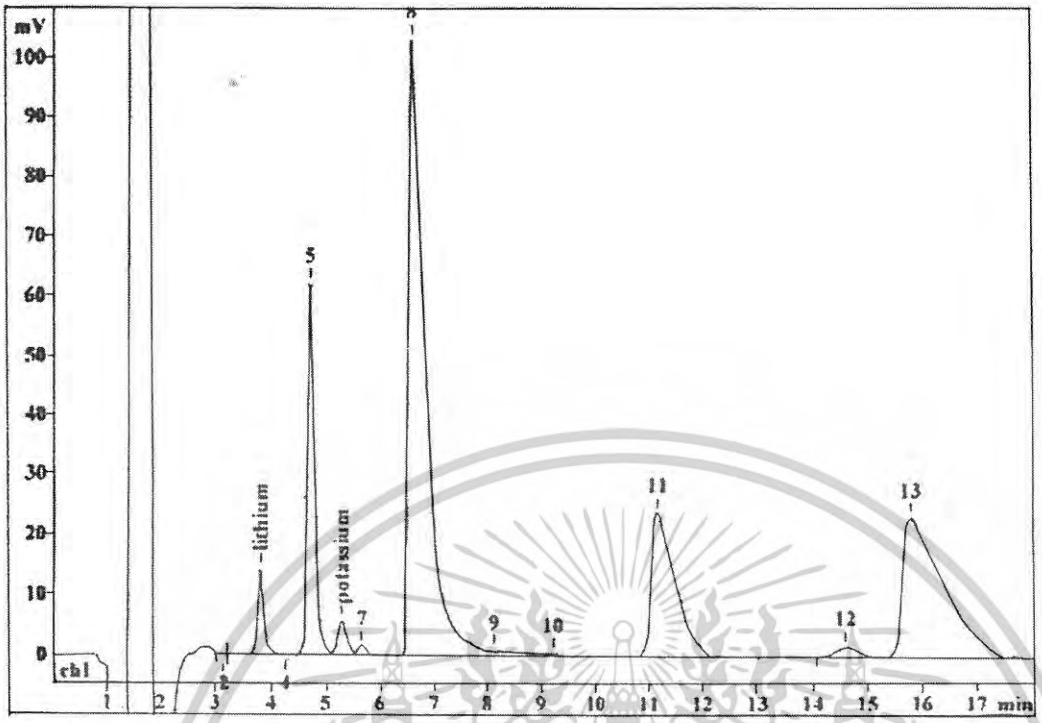


รูปที่ ก.5 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการตอบสนองการเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 60 ppb

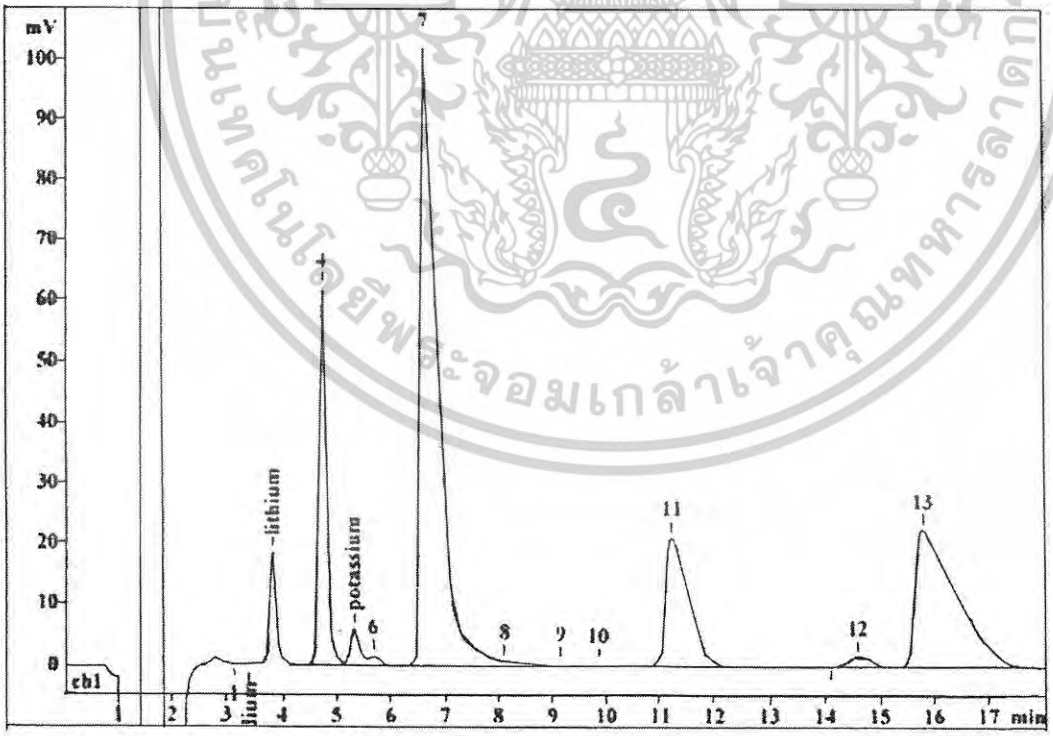


รูปที่ ก.6 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์มังคุดที่ระดับความเข้มข้น 20 ppb

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

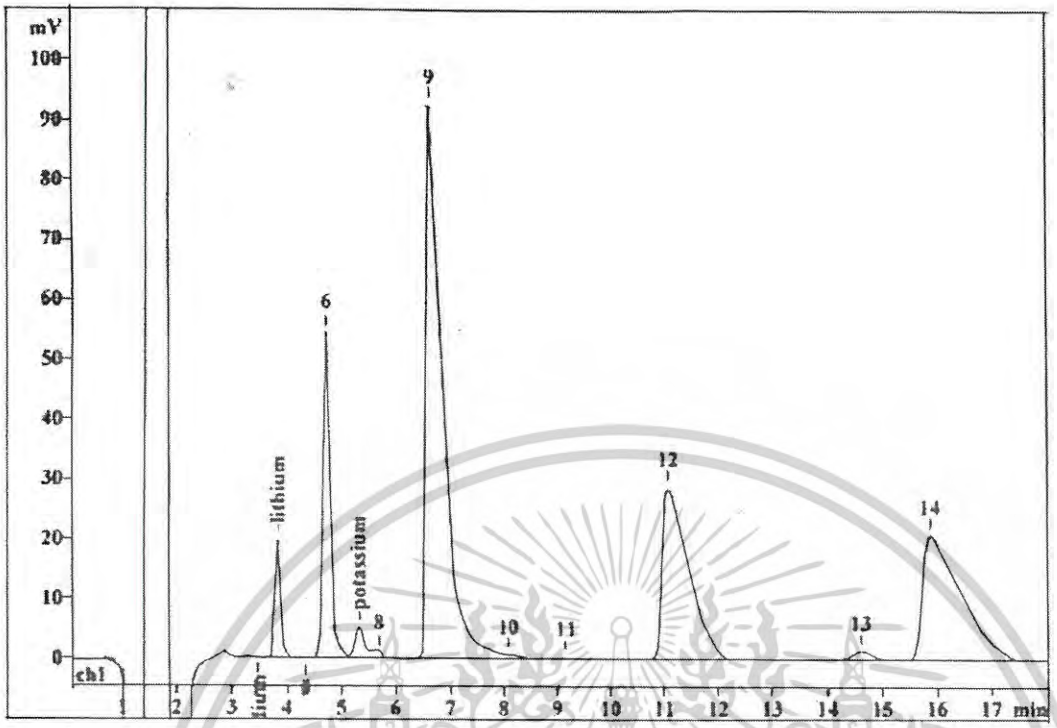


รูปที่ ก.7 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์มังคุดที่ระดับความเข้มข้น 30 ppb

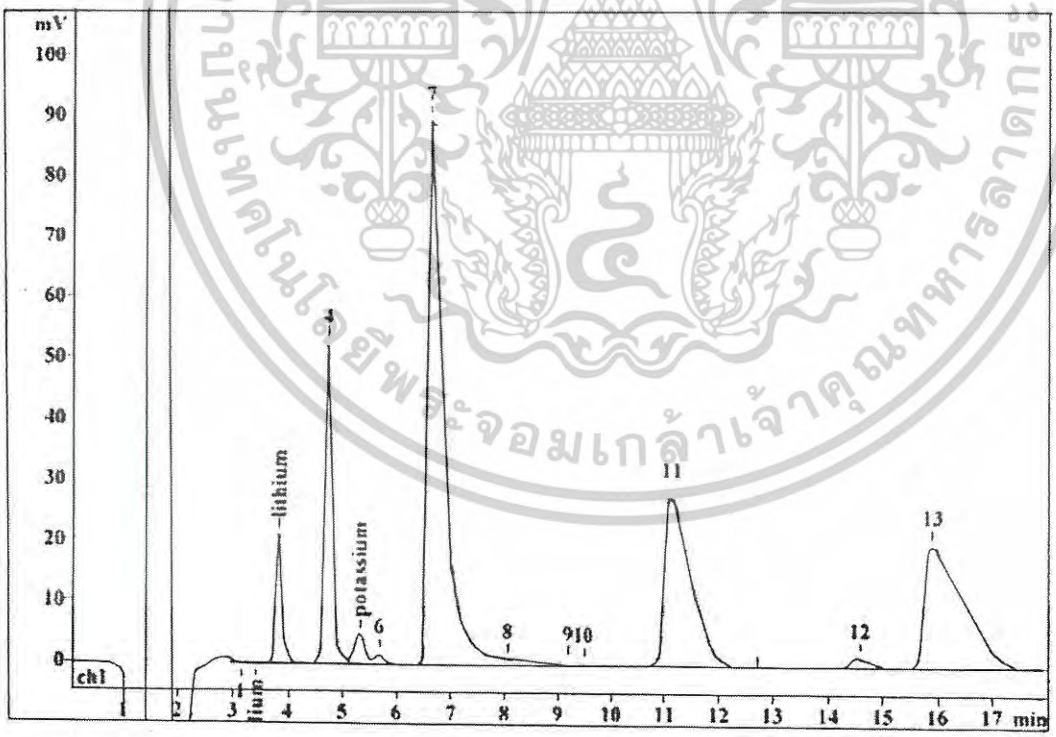


รูปที่ ก.8 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์มังคุดที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

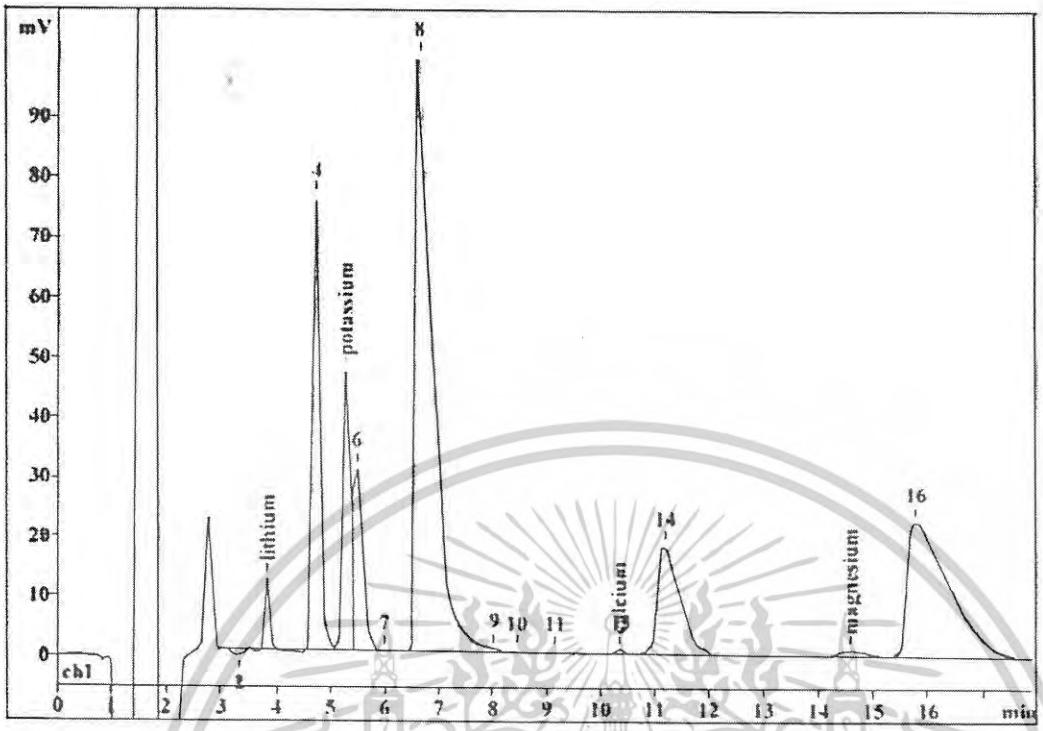


รูปที่ ก.9 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ มังคุดที่ระดับความเข้มข้น 50 ppb

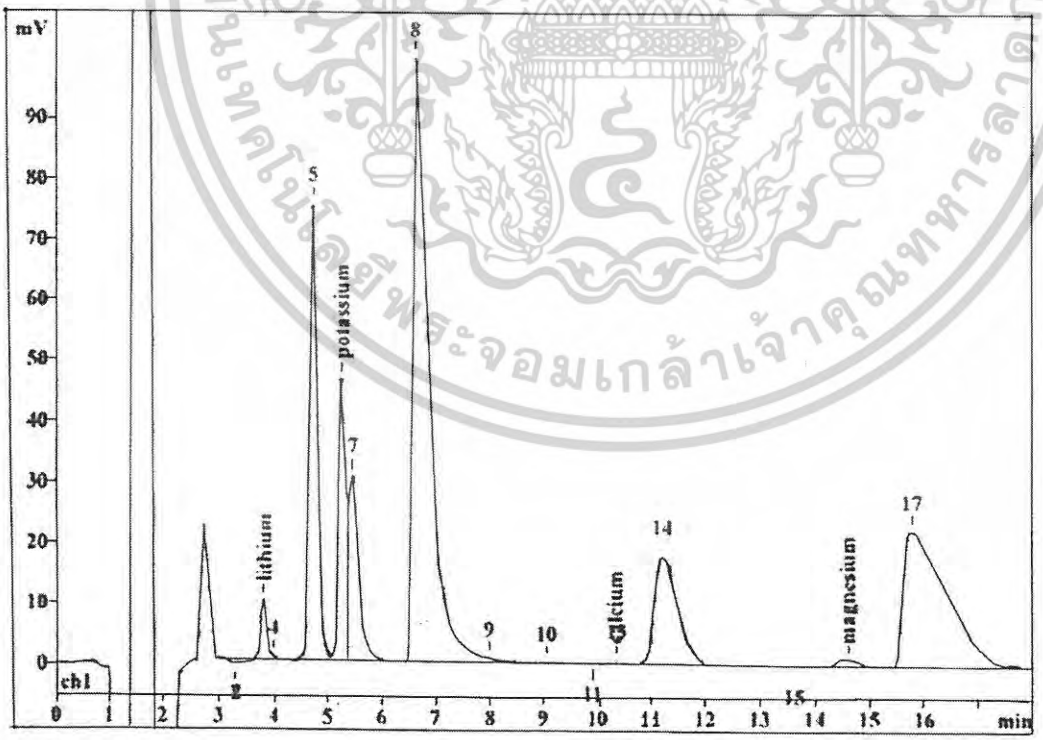


รูปที่ ก.10 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ มังคุดที่ระดับความเข้มข้น 60 ppb

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

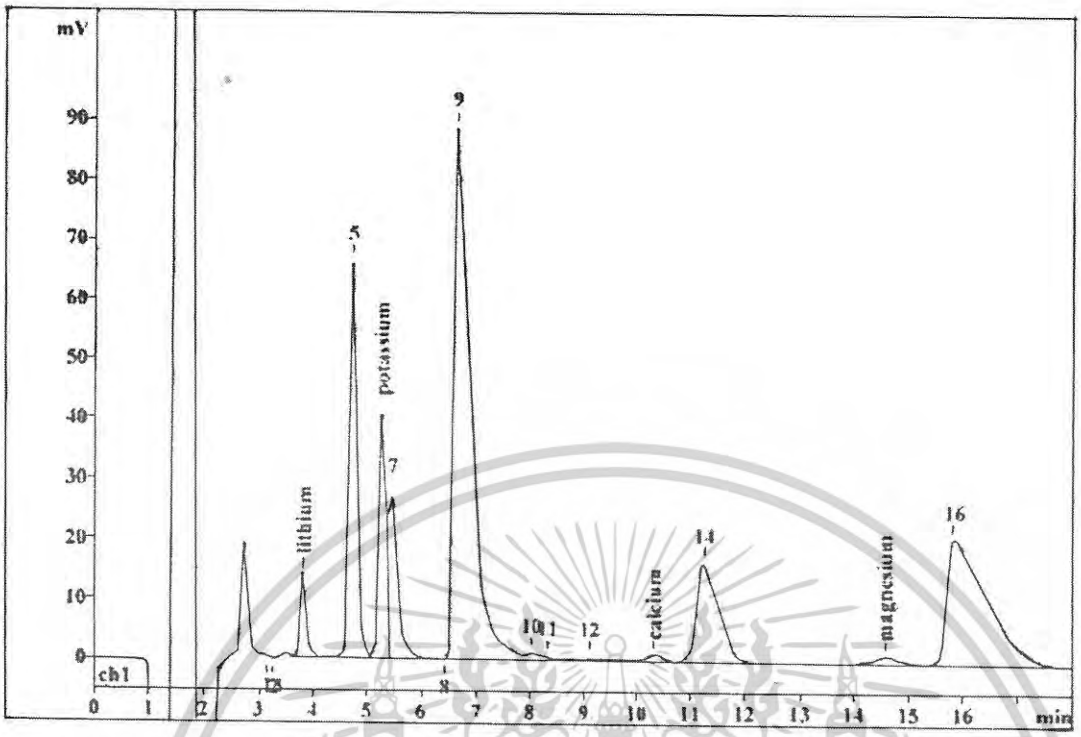


รูปที่ ก.11 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ ลิ้นจี่ที่ระดับความเข้มข้น 20 ppb

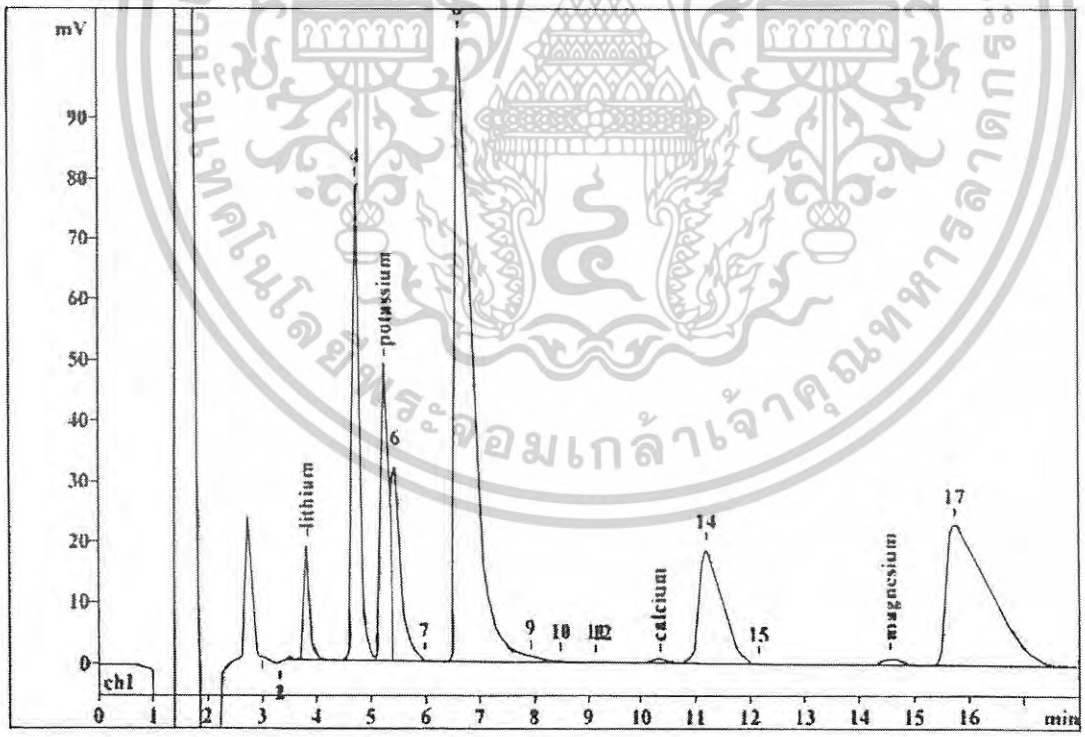


รูปที่ ก.12 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ ลิ้นจี่ที่ระดับความเข้มข้น 30 ppb

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

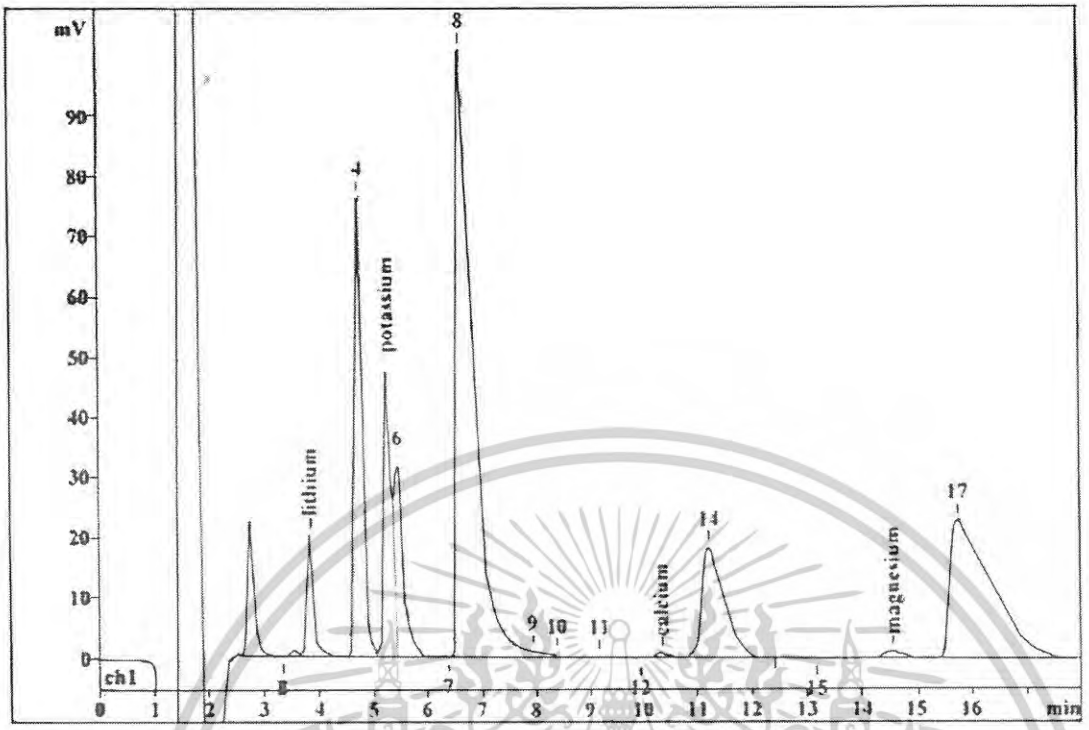


รูปที่ ก.13 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ลิ้นจี่ที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb

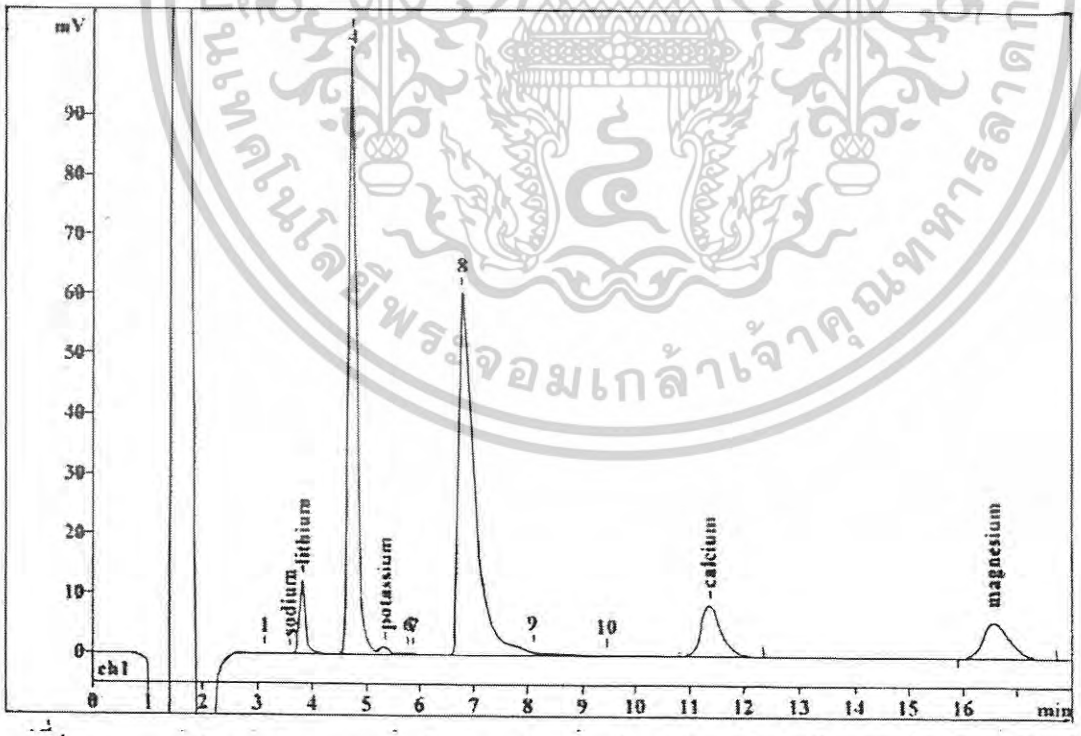


รูปที่ ก.14 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ลิ้นจี่ที่ระดับความเข้มข้น 50 ppb

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

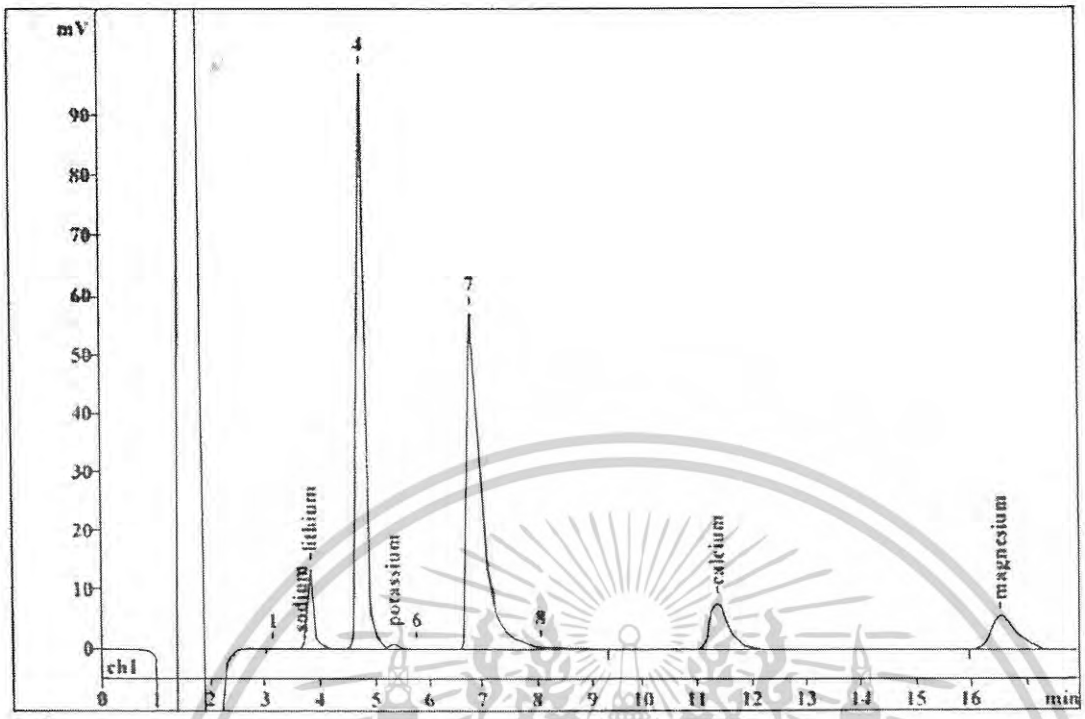


รูปที่ ก.15 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ลิ้นจี่ที่ระดับความเข้มข้น 60 ppb

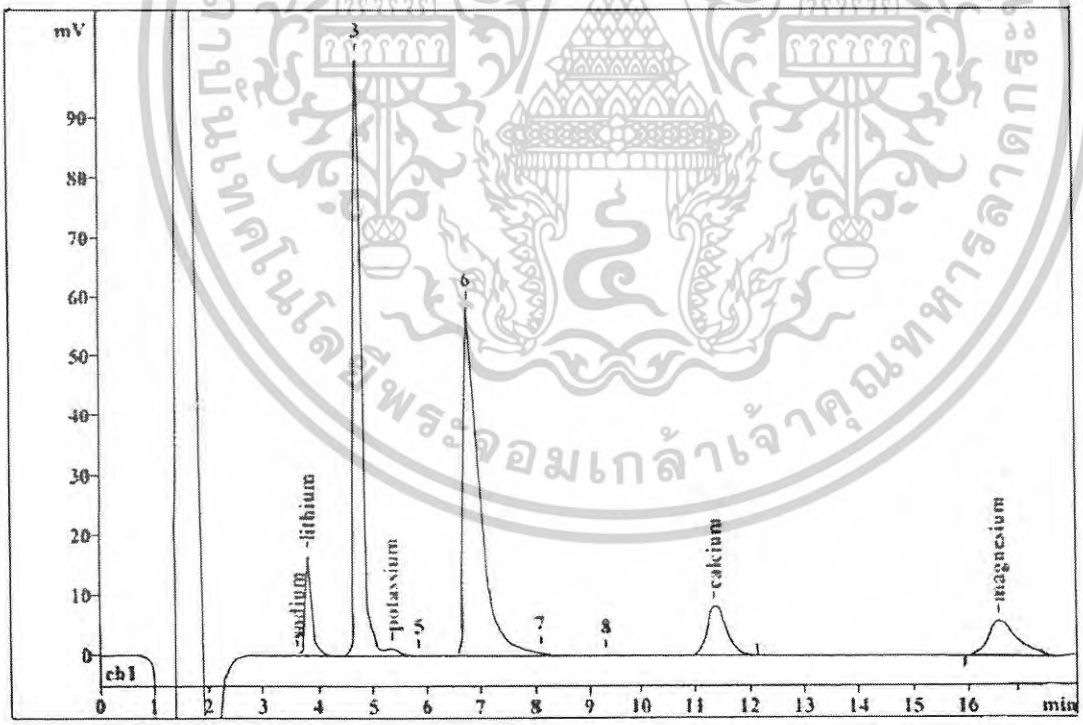


รูปที่ ก.16 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์มะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้น 20 ppb

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

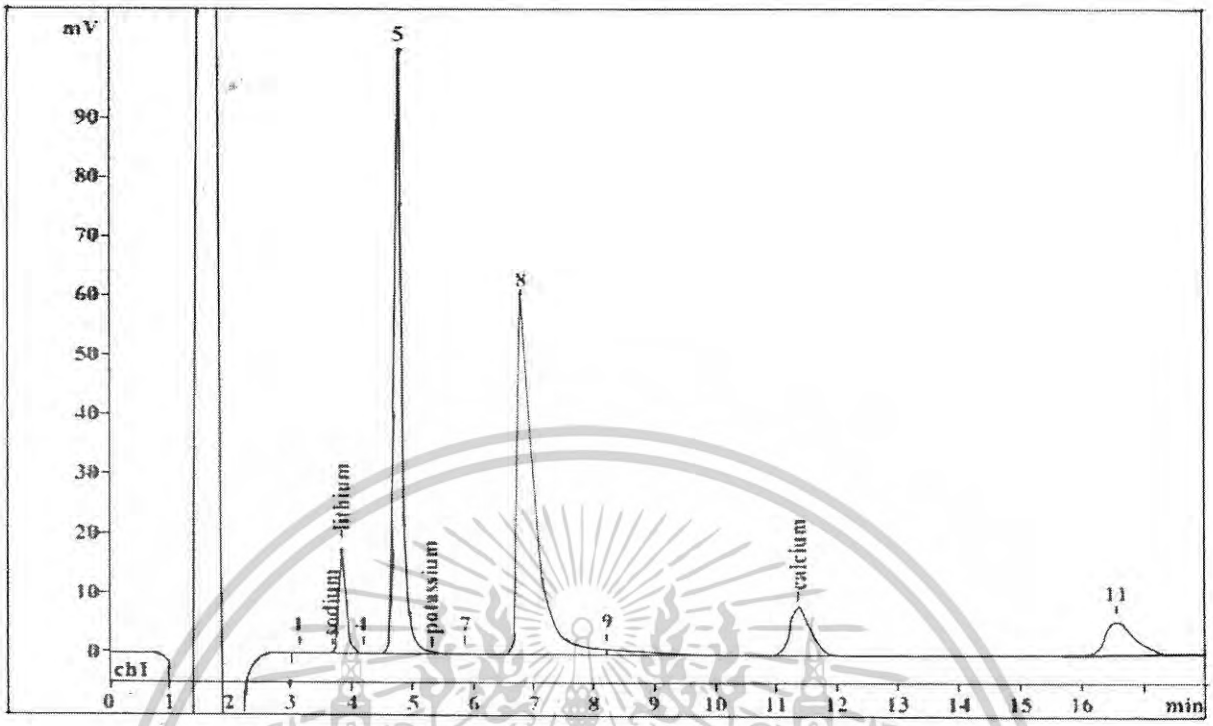


รูปที่ ก.17 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์มะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้น 30 ppb

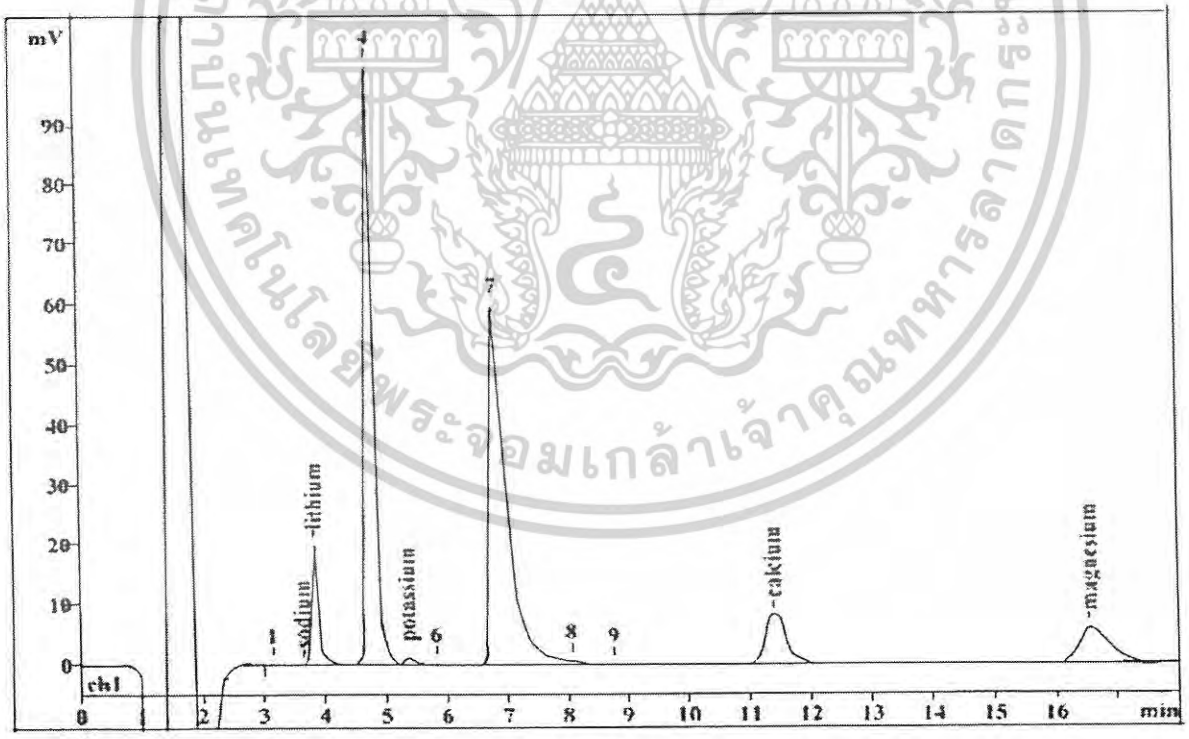


รูปที่ ก.18 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์มะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้น 40 ppb

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

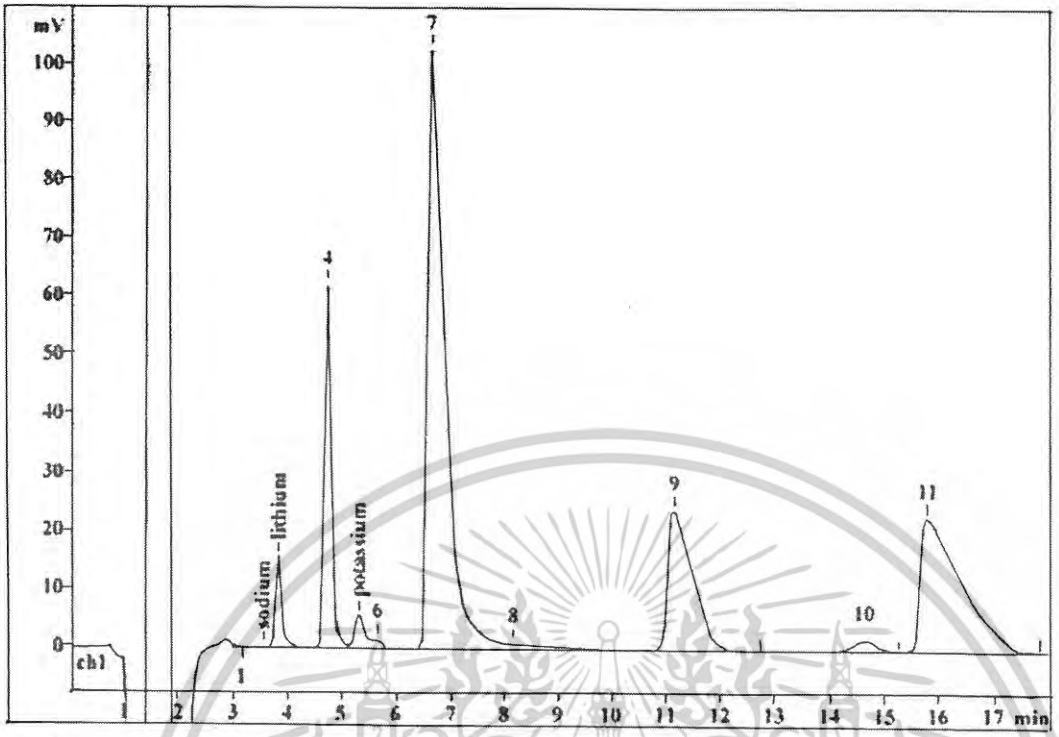


รูปที่ ก.19 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์มะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้น 50 ppb

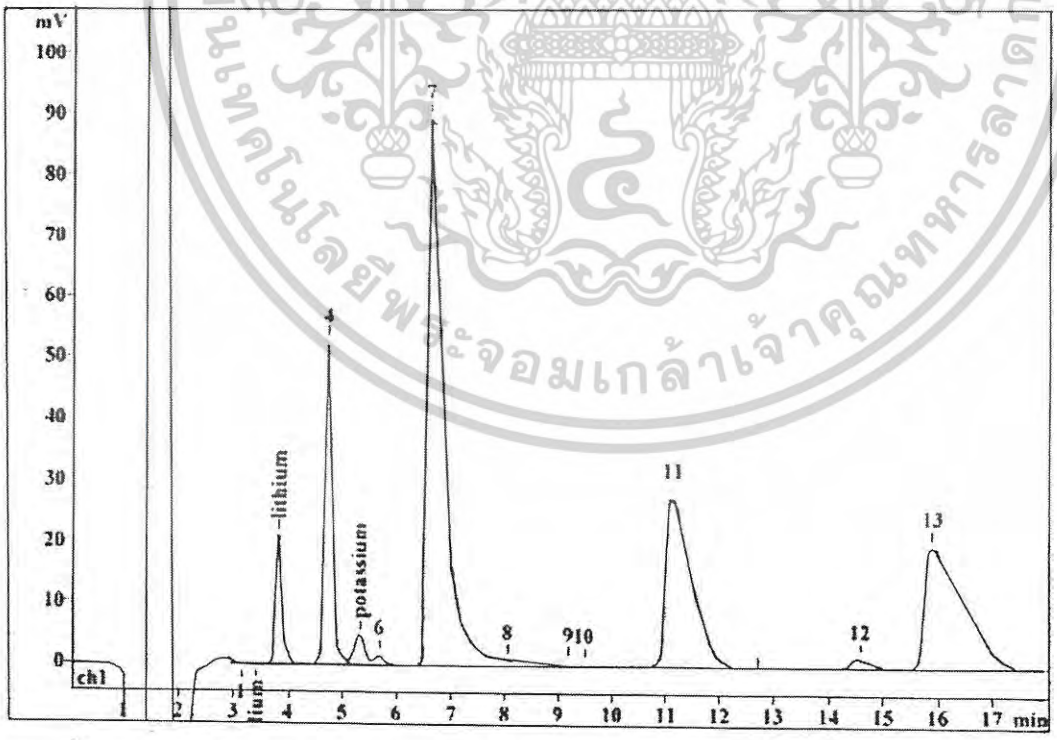


รูปที่ ก.20 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์มะขามป้อมที่ระดับความเข้มข้น 60 ppb

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

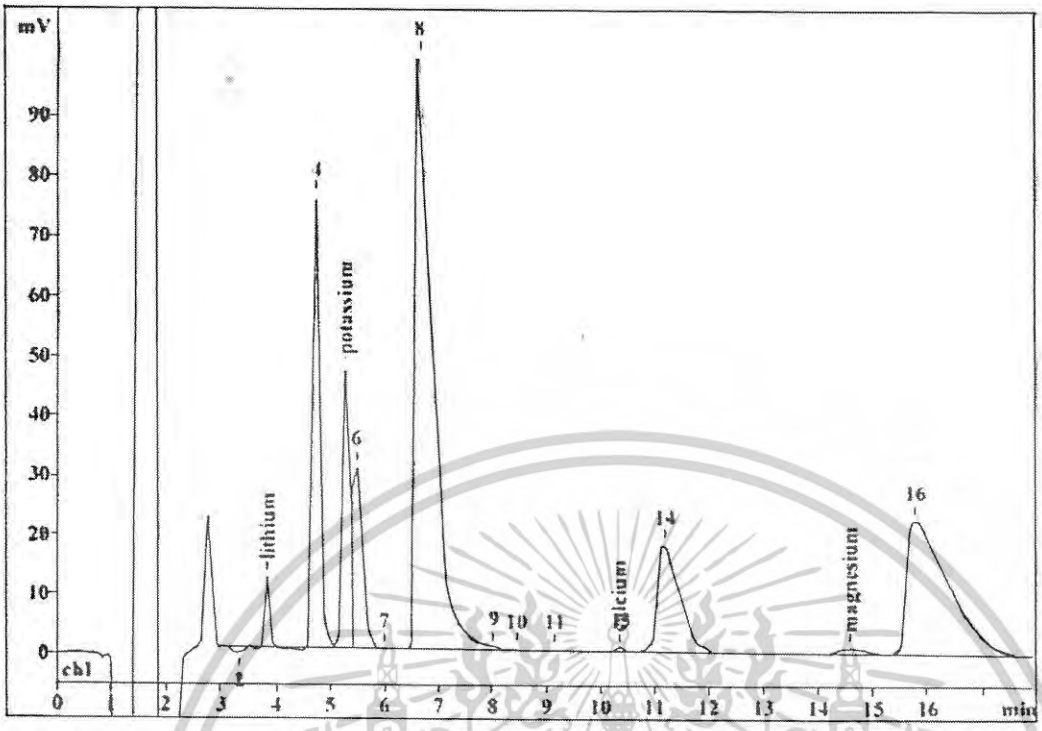


รูปที่ ก.21 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างไวน์มังคุดที่ยังไม่ได้ทำการเติมสารมาตรฐานลงไป)

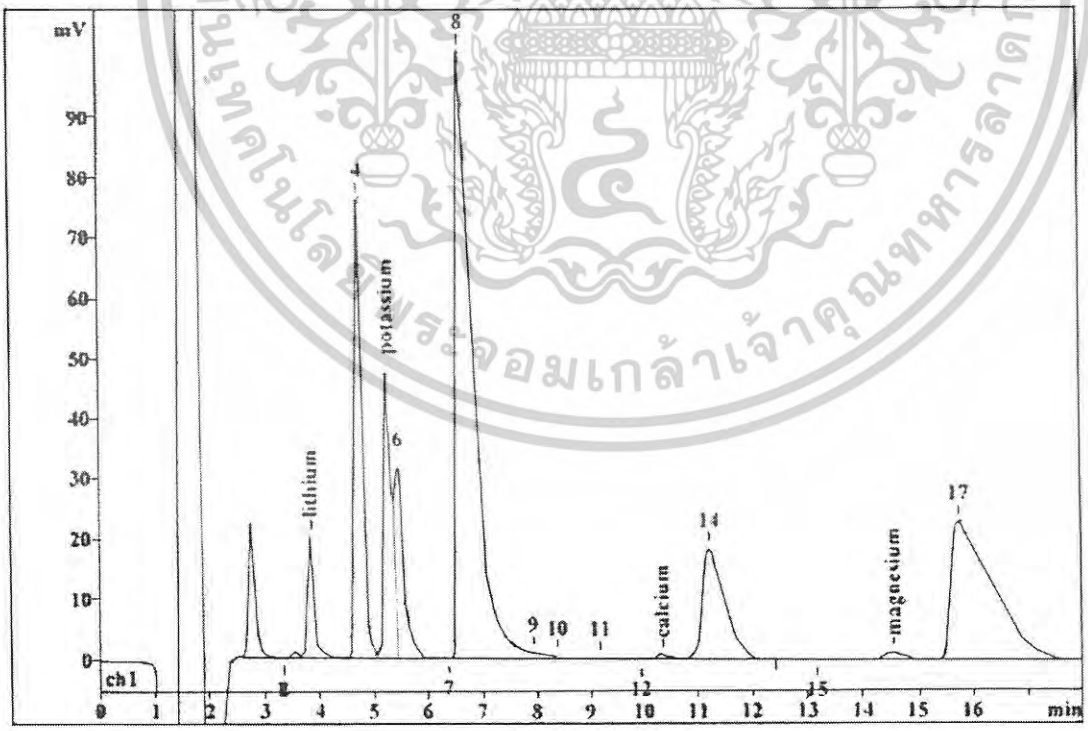


รูปที่ ก.22 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างไวน์มังคุดที่ได้ทำการเติมสารมาตรฐานลงไป)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

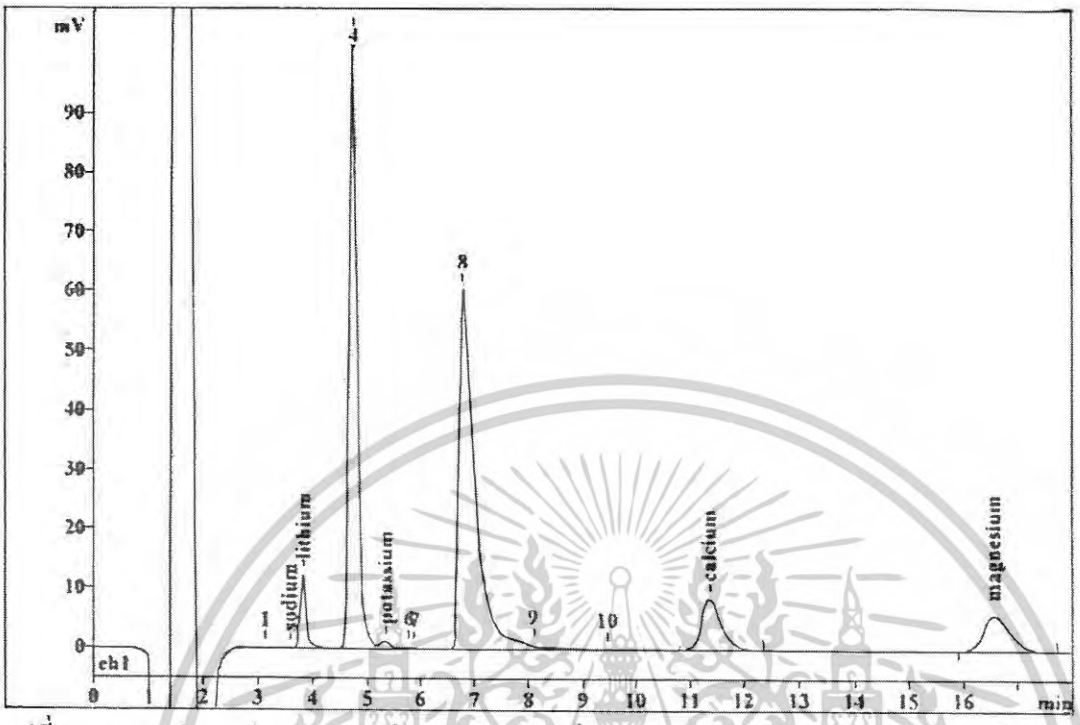


รูปที่ ก.23 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างไวน์ลิ้นจี่ที่ยังไม่ได้ทำการเติมสารมาตรฐานลงไป)

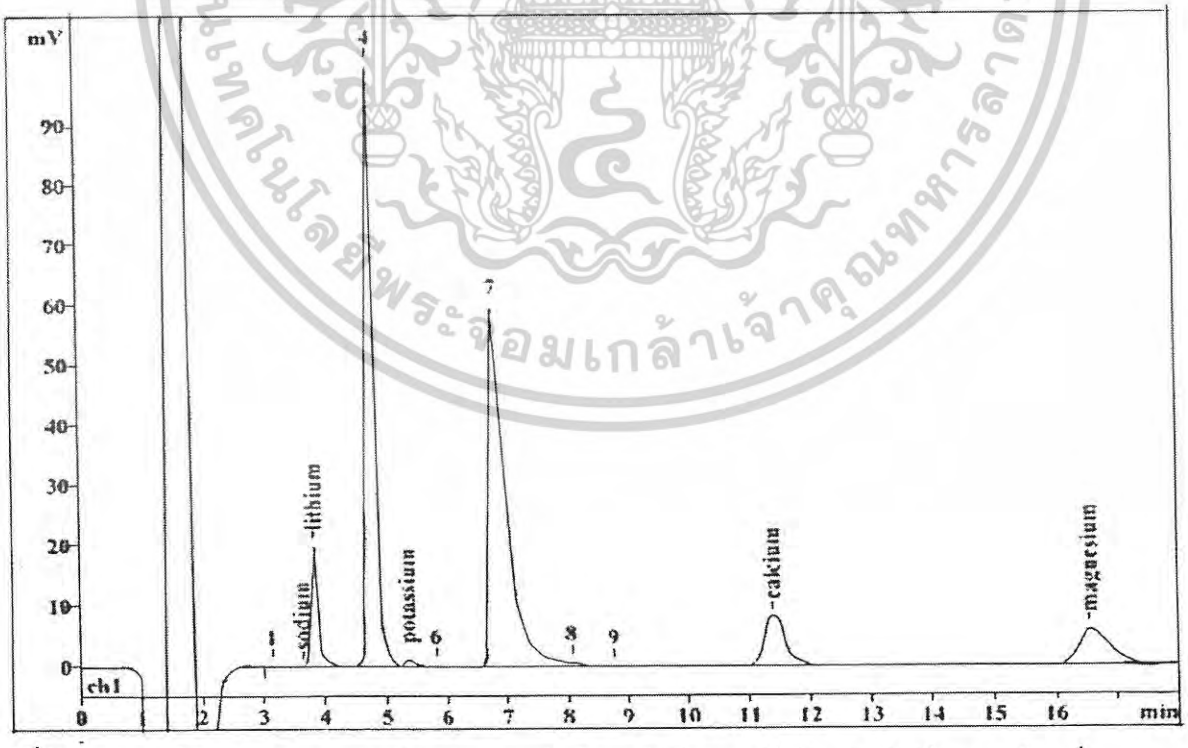


รูปที่ ก.24 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างไวน์ลิ้นจี่ที่ได้ทำการเติมสารมาตรฐานลงไป)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.25 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างไวน์มะขามป้อมที่ยังไม่ได้ทำการเติมสารมาตรฐานลงไป)



รูปที่ ก.26 แสดงโครมาโทแกรมการศึกษาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (ตัวอย่างไวน์มะขามป้อมที่ได้ทำการเติมสารมาตรฐานลงไป)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.1 แสดงผลการศึกษาการตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (method validation)

standard	Date	Concentration (ppb)				
		20	30	40	50	60
Peak area (mV*sec)	3/12/2004	62.325	71.233	82.242	90.732	100.815
		60.145	69.901	81.325	92.818	102.98
		61.130	70.274	79.089	92.942	103.434
	13/12/2004	61.388	69.771	82.005	91.173	102.247
		60.864	71.324	81.315	93.839	104.65
		61.126	70.548	81.660	92.506	103.449
	24/1/2005	62.618	71.149	80.086	94.835	106.183
		61.026	70.400	79.944	93.625	104.825
		61.822	70.775	80.015	94.230	105.504
total		552.444	635.374	727.681	836.700	934.087
mean		**61.383**	**70.597**	**80.853**	**92.967**	**103.787**
SD		**±0.764**	**±0.568**	**±1.094**	**±1.357**	**±1.681**
%RSD		**±1.244**	**±0.805**	**±1.353**	**±1.459**	**±1.620**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2 แสดงผลการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์มังคุด

Mangosteen wine	Date	Concentration (ppb)				
		20	30	40	50	60
Peak area (mV*sec)	16/12/2004	83.811	94.318	110.893	124.253	136.625
		83.795	96.269	109.862	123.176	138.425
		83.803	95.294	110.378	123.715	137.525
	27/1/2005	96.095	110.170	119.098	137.470	145.966
		95.421	108.743	121.509	139.074	146.468
		95.758	109.457	120.304	138.272	146.217
	11/3/2005	107.883	115.162	132.76	145.159	152.648
		109.007	112.901	136.149	142.805	152.710
		106.564	117.877	135.385	144.475	151.713
total		862.137	960.190	1096.337	1218.399	1308.297
mean		**95.793**	**106.688**	**121.815**	**135.378**	**145.366**
SD		**±10.418**	**±9.021**	**±10.678**	**±9.143**	**±6.477**
%RSD		**±10.876**	**±8.456**	**±8.766**	**±6.753**	**±4.456**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.3 แสดงผลการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ลิ้นจี่

Lychee wine	Date	Concentration (ppb)				
		20	30	40	50	60
Peak area (mV*sec)	9/12/2004	69.724	85.908	112.907	129.78	138.864
		71.502	84.196	113.328	127.264	140.382
		70.750	83.397	116.262	129.108	136.653
	10/1/2005	84.292	98.724	122.266	133.013	142.669
		86.177	96.502	123.464	134.875	146.462
		85.235	97.613	122.865	133.944	144.566
	10/2/2005	95.612	110.604	133.438	139.698	156.522
		98.025	110.626	134.501	139.904	152.446
		96.819	110.615	133.970	139.801	154.484
total		758.135	878.185	1113.001	1207.387	1313.048
mean		**84.237**	**97.576**	**123.667**	**134.154**	**145.894**
SD		**±11.387**	**±11.340**	**±8.654**	**±4.869**	**±7.136**
%RSD		**±13.518**	**±11.622**	**±6.998**	**±3.627**	**±4.891**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.4 แสดงผลการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์มะขามป้อม

Phyllanthus emblica wine	Date	Concentration (ppb)				
		20	30	40	50	60
Peak area (mV*sec)	7/12/2004	68.090	83.877	106.258	126.176	136.892
		69.835	85.280	108.179	124.543	136.799
		68.963	84.579	107.219	125.360	136.846
	11/1/2005	84.528	94.532	117.306	132.643	144.896
		84.284	94.284	116.380	134.806	146.635
		84.406	94.408	116.843	133.725	145.766
	6/2/2005	95.500	105.604	128.917	139.671	155.966
		95.390	107.101	130.537	143.418	155.303
		95.287	105.305	130.754	138.806	153.992
total		746.283	854.970	1062.393	1199.147	1313.094
mean		**82.920**	**94.997**	**118.044**	**133.239**	**145.899**
SD		**±11.507**	**±9.307**	**±9.963**	**±6.770**	**±7.927**
%RSD		**±13.877**	**±9.797**	**±8.440**	**±5.081**	**±5.434**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
แสดงวิธีการคำนวณ

ข.1 วิธีการคำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean , $\overline{X}$)

$$\overline{X} = \frac{\sum Xi}{n}$$

ข.2 วิธีการคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน(Standard Deviation, SD)

$$SD = \frac{\sum(Xi - \overline{X})}{(n-1)}$$

ข.3 วิธีการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ (Regression Coefficient, r^2) ของกราฟมาตรฐาน

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

ข.4 วิธีการคำนวณหาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (limit of detection)

$$LOD = \text{mean blank} + 3SD_0$$

เมื่อ LOD = ความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้

SD_0 = ค่า SD ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0 (ค่า SD ที่อ่านได้จากจุดตัดของกราฟ)

แทนค่า $LOD = 0.006 + 3\ (0.2621)$

$= 0.792$ ppb

ข.5 วิธีการคำนวณหาค่าร้อยละของการได้กลับคืน (% recovery)

$$\%\ \text{recovery} = \frac{(\text{Mean จากการทดลอง} - \text{Mean จาก blank})}{\text{ค่าจริง}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$= \frac{\overline{C}_{found} - \overline{C}_{blank}}{\overline{C}_{CRM}} \times 100$$

แทนค่า $$\% \text{ recovery} = \frac{95.793 - 69.873}{20.000 \times 1.278} \times 100$$

$$= 101\ \%$$

ข.6 วิธีการคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์

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

เมื่อ V_1 = ปริมาตรเริ่มต้นของสารละลายตัวอย่างที่ปิเปตมา

V_2 = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างสุดท้ายที่ปรับปริมาตรแล้ว

C_1 = ความเข้มข้นเริ่มต้นของลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์

C_2 = ความเข้มข้นของลิเทียมไอออนในตัวอย่างไวน์ที่ได้จากการวิเคราะห์

แทนค่า $$C_1 = \frac{56.364 \text{ ppb} \times 100.000 \text{ ml}}{2.000 \text{ ml}}$$

$$= 2818.200 \text{ ppb}$$

$$= 2.818 \text{ ppm}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้