

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การสกัดด้วยสารละลายน้ำสองวัฏภาคเพื่อหาปริมาณเบนโซเอท
ในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าวด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี

AQUEOUS TWO-PHASE EXTRACTION FOR DETERMINATION
OF BENZOATE IN RICE NOODLE BY SPECTROPHOTOMETRY



T110617

สิริพร มิตรโกสม

SIRIPORN MITKOSUM

วพ.
สว 31 ก
2553

ตงหมู่.....
เลขทะเบียน.....110617
วัน,เดือน,ปี.....- 9. 7. 2553

b.....12255920
i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2553

KMITL-2010-SC-M-012-032

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**AQUEOUS TWO-PHASE EXTRACTION FOR DETERMINATION
OF BENZOATE IN RICE NOODLE BY SPECTROPHOTOMETRY**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN CHEMISTRY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

2010

KMITL-2010-SC-M-012-032

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2010

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การสกัดด้วยสารละลายน้ำสองวัฏภาคเพื่อหาปริมาณเบนโซเอท ในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าวด้วยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี
นักศึกษา	นางสาวสิริพร มิตรโกสม
รหัสประจำตัว	50067806
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เคมี (เคมีวิเคราะห์)
พ.ศ.	2553
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์หลักเพื่อพัฒนาระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (Aqueous two-phase systems : ATPS) ที่มีองค์ประกอบของโพลีเอททิลีนไกลคอล (PEG) กับเกลืออนินทรีย์ เพื่อสกัดเบนโซเอทจากผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าวและตรวจวัดวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี ทำการศึกษาแผนภาพวัฏภาค (phase diagram) ของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคของ PEG – เกลือ – น้ำ ด้วยวิธีการไทเทรตแบบ turbidometry ศึกษาอิทธิพลจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น น้ำหนักโมเลกุลของ PEG และชนิดของเกลืออนินทรีย์ที่มีผลต่อลักษณะของแผนภาพวัฏภาค สัดส่วนเชิงปริมาตรของการสกัดที่ดีที่สุด คือ 1 : 1 : 1 (สารละลายตัวอย่าง : สารละลาย PEG1000 (50%w/v) : สารละลายแอมโมเนียมซัลเฟต (50%w/v)) โดยให้ประสิทธิภาพการสกัดในช่วง 94.36 – 103.21% เตรียมตัวอย่างโดยหั่นผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าวให้มีขนาดเล็ก และนำมาแช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกหรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นในช่วง 1.0 - 6.0 โมลาร์ พบว่าสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ สามารถละลายตัวอย่างได้ดีที่สุด จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างมาสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค โดยใช้สารละลายตัวอย่าง 5.0 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย PEG (50% w/v) 5.0 มิลลิลิตร และสารละลายแอมโมเนียมซัลเฟต (50%w/v) 5.0 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์ ซึ่งจะเกิดตะกอนมีลักษณะเป็นแผ่นสีขาวเกิดขึ้นระหว่างวัฏภาคบนและวัฏภาคล่าง นำสารละลายวัฏภาคบนไปวิเคราะห์หาปริมาณเบนโซเอทด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์โดยสแกนสเปกตรัมการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 200-400 นาโนเมตร กำหนดหาปริมาณเบนโซเอทโดยอาศัย baseline technique จากสมการ $Abs_{269.5} - [(Abs_{265.5} + Abs_{275.5})/2]$ ช่วงการวิเคราะห์เบนโซเอทมีความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 25 – 600 มิลลิกรัมต่อลิตร ($r^2 = 0.9999$) ขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) และขีดจำกัดของการตรวจวัดปริมาณ (LOQ) มีค่า 8.80 มิลลิกรัมต่อลิตรและ 29.34 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ร้อยละการกลับคืน (%Recovery) มีค่าในช่วง 90.24 - 104.19% และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Aqueous two-phase extraction for determination of benzoate in rice noodle by spectrophotometry
Student	Miss Siriporn Mitkosum
Student ID	50067806
Degree	Master of science
Program	Chemistry (Analytical Chemistry)
Year	2010
Thesis Advisor	Dr. Wiboon Praditweangkum

ABSTRACT

The aim of this research was to develop a system of aqueous two-phase system (ATPS) of polyethylene glycol (PEG) and inorganic salt for extraction and spectrophotometric determination of benzoate in rice noodle. The phase diagrams of the aqueous two-phase system of PEG-salt-water were determined by turbidometric titration method. Factors such as molecular weight of PEG and type of inorganic salt were studied of influence on the phase diagram. It was found that the best volume ratio of 1:1:1 (sample solution : PEG1000 solution (50%w/v) : $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ solution (50%w/v)) gave 94.36-103.21% extraction efficiency, and therefore this ratio was selected in the method development. Rice noodle sample was chopped into small pieces. Various concentrations of NaOH and HCl solutions were tested to make slurries of the samples in the concentration range of 1.0-6.0 M, and 1.0 M NaOH solution was chosen. At the optimum condition, 5.0 mL of the slurry sample solution was mixed thoroughly with 5.0 mL of PEG1000 solution (50%w/v) and 5.0 mL $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ solution (50%w/v) in a test tube. Two clear phases and a layer of white precipitate between the phases were formed. Spectrum of the upper PEG-rich phase was scanned from 200 to 400 nm. The corrected absorbance, $\text{Abs}_{269.5} - [(\text{Abs}_{265.5} + \text{Abs}_{275.5})/2]$, was calculated using baseline technique. The calibration graph of benzoate (as sodium benzoate) was linear in the range of 25 to 600 mg/L with coefficient of determination (r^2) was 0.9999. The limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) for sodium benzoate were 8.80 mg/L and 29.34 mg/L, respectively. The recoveries of the spiked standards for the analytes were 90.24-104.19% with relative standard deviation of 0.11-2.52%. The t-test results compared with AOAC method (43.3.03) showed no significant difference at 95% confidence level ($t_{\text{observed}} = -0.14$, $t_{\text{critical}} = 2.57$, $n = 6$). This developed aqueous two-phase extraction method can be applied for

determination of benzoate in rice noodle with rapidly and environmentally friendly procedure using non-toxic organic solvent.

Keyword : Aqueous two-phase extraction, benzoate, rice noodle, spectrophotometry



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา IV ละต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาเสียสละเวลาอันมีค่าให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ ข้อคิดเห็น ตลอดจนพิจารณาตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้สมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล ประธานกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ ดร.ณัฐวุฒิ เจริญชั้น และดร.งามเนตร วรกิจเจริญชัย กรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ และให้ข้อเสนอแนะ ข้อคิดเห็น พร้อมทั้งหลักการที่เป็นประโยชน์ต่อการทำวิทยานิพนธ์

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวที่ให้ความรัก ใ้การศึกษา และให้กำลังใจผู้วิจัยตลอดมา และขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่านของสาขาวิชาเคมี ตลอดจนเพื่อน ๆ นักศึกษาปริญญาโท สาขาเคมี (เคมีวิเคราะห์)ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอบแต่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

สิริพร มิตรโกสุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาไทย.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	IX
สารบัญรูป.....	XII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 ผลិតภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว.....	4
2.1.1 ลักษณะของผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าวชนิดต่าง ๆ.....	4
2.2 กรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอท.....	5
2.2.1 คุณสมบัติของกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอท.....	6
2.2.2 ประสิทธิภาพของกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอท.....	6
2.2.3 การใช้กรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอท.....	7
2.2.4 ความปลอดภัยในการใช้.....	8
2.3 การแยกวัตถุกันเสียออกจากอาหาร.....	9
2.3.1 วิธีการแยกวัตถุกันเสียออกจากอาหาร.....	9
2.3.2 หลักของการทดสอบทางเคมีที่ใช้เป็นวิธีตรวจเอกลักษณ์ของกรดเบนโซอิก...10	
2.3.3 การหาปริมาณวัตถุกันเสียที่อนุญาตให้ใช้ได้ตามพระราชบัญญัติอาหาร.....11	
2.3.4 การหาปริมาณกรดเบนโซอิก.....12	
2.4 ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค.....14	
2.4.1 แผนภาพวัฏภาค.....18	
2.4.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค.....24	
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....28	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา VI ละต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	33
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี.....	33
3.1.1 สารเคมี.....	33
3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	33
3.2 วิธีการวิจัย.....	34
3.2.1 การเตรียมสารละลาย.....	34
3.2.2 การศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค.....	35
3.2.3 การศึกษาระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค.....	36
3.2.4 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแยกด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค.....	36
3.2.5 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์.....	39
3.2.6 การศึกษาหาชนิดและความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสมต่อการเตรียมตัวอย่าง.....	41
3.2.7 การวิเคราะห์หาปริมาณโซเดียมเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว.....	42
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	45
4.1 ผลการศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค.....	45
4.2 ผลการศึกษาระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค.....	47
4.2.1. ผลการศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์.....	47
4.2.2 ผลการสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve).....	48
4.3 ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแยกด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค.....	50
4.3.1 ผลการศึกษาน้ำหนักโมเลกุลของโพลีเอททิลีน ไกลคอล.....	50
4.3.2 ผลการศึกษานิวตริกของเกลือ.....	52
4.3.3 ผลการศึกษาของปริมาณ โพลีเอททิลีน ไกลคอล.....	54
4.3.4 ผลการศึกษาของปริมาณเกลือ.....	56
4.3.5 ผลการศึกษาความเข้มข้นกรด-ด่าง.....	58
4.3.6 ผลการรบกวนของโพแทสเซียมซอร์เบทและ โซเดียมซัลไฟต์.....	60
4.4 ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์.....	63
4.4.1 ผลการทดสอบพิสัยและความเป็นเส้นตรง (Range and Linearity).....	63
4.4.2 ผลขีดจำกัดในการตรวจวัด (Limit of detection, LOD).....	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการเรียนการสอน ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา VII นี้ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.4.3 ผลขีดจำกัดในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of quantification, LOQ)	64
4.4.4 ผลความเที่ยง (Precision)	64
4.4.5 ผลความแม่นยำ (Accuracy)	65
4.5 ผลการศึกษาหาชนิดและความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสมต่อการเตรียมตัวอย่าง	66
4.6 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ โซเดียมเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว	68
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	70
เอกสารอ้างอิง	72
ภาคผนวก	78
ภาคผนวก ก. การศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคของโพลีเอททิลีนไกลคอล (PEG) เกลือ และน้ำ	79
ภาคผนวก ข. การคำนวณค่าความเป็นเส้นตรง (Linearity)	85
ภาคผนวก ค. การคำนวณค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด (LOD)	89
ภาคผนวก ง. การคำนวณค่าขีดจำกัดในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ)	90
ภาคผนวก จ. การคำนวณค่าความเที่ยง (Precision)	91
ภาคผนวก ฉ. การคำนวณค่าความแม่นยำ (Accuracy)	93
ภาคผนวก ช. การคำนวณหาปริมาณเบนโซเอทในตัวอย่างจริง	95
ภาคผนวก ซ. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง วัตถุเจือปนในอาหาร	101
ภาคผนวก ฌ. วิธีมาตรฐานของ AOAC ข้อ 47.3.03 สำหรับการหาปริมาณกรดเบนโซอิก	108
ประวัติผู้เขียน	109

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 การละลายของกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอท.....	7
2.2 แสดงวิธีการแยกและหาปริมาณวัตถุกันเสียในตัวอย่างอาหาร.....	11
2.3 ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค.....	15
2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกตัวถูกละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค.....	23
2.5 เวลาโดยประมาณสำหรับการแยกวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของระบบต่างกัน.....	27
2.6 การวิเคราะห์ปริมาณเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอทด้วยวิธีการต่างๆ.....	28
3.1 น้ำหนักของสารละลายเกลือและสารละลายโพลิเอททิลีนไกลคอลสำหรับเตรียมระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค.....	35
4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ของสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้นต่างๆ.....	49
4.2 แสดงผลของน้ำหนักโมเลกุลโพลิเอททิลีนไกลคอลและชนิดสารละลายเกลือต่อประสิทธิภาพการสกัด (n=6).....	51
4.3 แสดงผลของปริมาณโพลิเอททิลีนไกลคอลต่อประสิทธิภาพการสกัด ซึ่งมีองค์ประกอบของสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต (n=6).....	54
4.4 แสดงผลของปริมาณโพลิเอททิลีนไกลคอลต่อประสิทธิภาพการสกัด ซึ่งมีองค์ประกอบของสารละลายเกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (n=6).....	55
4.5 ผลของปริมาณสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ต่อประสิทธิภาพการสกัด (n=6).....	56
4.6 ผลของปริมาณสารละลายเกลือ ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ต่อประสิทธิภาพการสกัด (n=6).....	57
4.7 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทแต่ละความเข้มข้นในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์.....	58
4.8 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้เมื่อทำการวัดสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (n = 10).....	60
4.9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ของเบนโซเอท เมื่อมีสารรบกวนจากสารละลายโพแทสเซียมซอร์เบท.....	61
4.10 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ของเบนโซเอท เมื่อมีสารรบกวนจากสารละลายโซเดียมซัลไฟต์.....	62

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.11 แสดงระดับปริมาณของสารรบกวนที่สามารถปนอยู่ในสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้โดยไม่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสง ที่คำนวณได้เปลี่ยนแปลงไป (Tolerance limit)	63
4.12 แสดงผลความเที่ยงสำหรับการตรวจวัดปริมาณสารละลายมาตรฐานเบนโซเอท.....	64
4.13 ผลการคำนวณค่าความแม่นยำของการทดสอบของสารมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท.....	65
4.14 แสดงปริมาณเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์แปรรูปจากข้าว.....	68
4.15 ผลการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์เบนโซเอทด้วยวิธีมาตรฐานและวิธีที่พัฒนาขึ้น.....	69
5.1 คุณสมบัติของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค.....	70
ก.1 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำ สองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 และ เกลือแอมโมเนียมซัลเฟต $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	79
ก.2 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำ สองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 และเกลือ ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	80
ก.3 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำ สองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 และเกลือ แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต $(\text{NH}_4)_3\text{HPO}_4$	80
ก.4 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำ สองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 และเกลือ โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4)	82
ก.5 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำ สองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 และเกลือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	81
ก.6 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำ สองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 4000 และ เกลือ แอมโมเนียมซัลเฟต $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	82
ก.7 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำ สองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 4000 และเกลือ ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	82

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตในการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา X จะต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ก.8 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำ สองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 4000 และเกลือ แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ((NH ₄) ₂ HPO ₄)	83
ก.9 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำ สองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 4000 และเกลือ โซเดียมซัลเฟต (Na ₂ SO ₄)	83
ก.10 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำ สองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 4000 และเกลือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	84
ข.1 แสดงผลการศึกษาความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท (n = 3).....	85
จ.1 แสดงค่า expected %RSD _r ที่คำนวณจาก Horwitz' equation ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ.....	91
จ.2 แสดงเกณฑ์ค่า HORRAT ที่ยอมรับ.....	92
จ.3 การคำนวณค่าความเที่ยงของการทดสอบสาร โซเดียมเบนโซเอทที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	92
ฉ.1 เกณฑ์การยอมรับร้อยละการคืนกลับตามมาตรฐาน AOAC มีเกณฑ์มาตรฐาน	93
ฉ.2 เกณฑ์การยอมรับร้อยละการคืนกลับตามมาตรฐาน โคเด็กซ์.....	94
ฉ.3 ผลการคำนวณค่าความแม่นยำของการทดสอบของสารมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร.....	94
ช.1.1 แสดงการละลายของตัวอย่างเมื่อเตรียมในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก.....	95
ช.1.2 แสดงการละลายของตัวอย่างเมื่อเตรียมในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์.....	95
ช.2 แสดงผลการคำนวณหาปริมาณเบนโซเอทในตัวอย่างจริง	96
ช.3 ผลการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์เบนโซเอทด้วยวิธีมาตรฐานและวิธีที่พัฒนาขึ้น.....	97
ช.4 ผลการคำนวณค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) ของการทดสอบของสารมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอทที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตรในตัวอย่าง ซึ่งใช้วิธีการสกัดด้วยสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่พัฒนาขึ้น.....	99
ช.5 ผลการคำนวณค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) ของการทดสอบของสารมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอทที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตรในตัวอย่าง ซึ่งใช้วิธีมาตรฐานของ AOAC ข้อ 47.3.03.....	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา XI ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1	สูตรโครงสร้างของกรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอท.....6
2.2	แสดงกลไกในการกำจัดความเป็นพิษของกรดเบนโซอิก.....8
2.3	ปฏิกิริยาการทดสอบกรดเบนโซอิกด้วยเฟอร์ริกคลอไรด์.....10
2.4	ปฏิกิริยาการทดสอบกรดเบนโซอิกด้วยวิธีเมอร์เลอร์.....11
2.5	แสดงลักษณะสเปกตรัมการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตของกรดเบนโซอิก เมื่ออยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์.....13
2.6	แผนภาพวิภูภาคแบบสามเหลี่ยมด้านเท่าของระบบที่ประกอบด้วย dextran 70-Ficoll 400-น้ำ.....18
2.7	แผนภาพวิภูภาคแบบสามเหลี่ยมมุมฉากของระบบที่ประกอบด้วย dextran 70-Ficoll 400-น้ำ.....19
2.8	แผนภาพวิภูภาคของการผสมพอลิเมอร์ชนิด P และ Q ในน้ำ.....19
2.9	แสดงลักษณะของระบบสารละลายน้ำสองวิภูภาคที่มีองค์ประกอบ ของพอลิเมอร์กับเกลือ.....20
2.10	แผนภาพวิภูภาคที่วิภูภาคล่างเป็นพอลิเมอร์ X หรือเกลือ และวิภูภาคบนเป็นพอลิเมอร์ Y.....20
2.11	แผนภาพวิภูภาคของระบบที่มีองค์ประกอบของ PEG-(NH ₄) ₂ SO ₄ -น้ำ โดย PEG มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน.....24
2.12	แผนภาพวิภูภาคของระบบที่มีองค์ประกอบของ PEG200-เกลือชนิดต่าง ๆ25
2.13	แผนภาพวิภูภาคของระบบที่มีองค์ประกอบของ PEG-เด็กซ์แทรน -น้ำ ที่อุณหภูมิต่าง ๆ.....26
4.1	แสดงแผนภาพวิภูภาคของระบบ PEG 1000- เกลืออนินทรีย์-น้ำ (ก) แผนภาพวิภูภาคของ ระบบ PEG 4000- เกลืออนินทรีย์-น้ำ (ข) และแผนภาพวิภูภาคของระบบ PEG – เกลืออนินทรีย์-น้ำ (ค).....46
4.2	แสดงสเปกตรัมของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอทในชั้น โพลีเอททิลีน ไกลคอลที่ได้จากการสแกนสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 200-400 นาโนเมตร (ก) และช่วงความยาวคลื่น 250-300 นาโนเมตร (ข).....48
4.3	แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอทในช่วงความเข้มข้น 25-1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) และช่วงความเข้มข้น 25-600 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข).....49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา XII นี้ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.4 แสดงผลของปริมาณโพลีโอททีลินไกลคอลต่อประสิทธิภาพการสกัดเบนโซเอท โดยใช้สารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต.....	51
4.5 แสดงผลของปริมาณโพลีโอททีลินไกลคอลต่อประสิทธิภาพการสกัดเบนโซเอท โดยใช้สารละลายเกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	51
4.6 แสดงผลของชนิดเกลือต่อประสิทธิภาพการสกัดเบนโซเอทโดยใช้สารละลาย PEG 1000	53
4.7 แสดงผลของชนิดเกลือต่อประสิทธิภาพการสกัดเบนโซเอทโดยใช้สารละลาย PEG 4000	53
4.8 แสดงผลของปริมาณโพลีโอททีลินไกลคอลต่อประสิทธิภาพการสกัดเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟต.....	54
4.9 แสดงผลของปริมาณสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ต่อประสิทธิภาพการสกัด เบนโซเอท.....	56
4.10 แสดงผลของปริมาณสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ต่อประสิทธิภาพการสกัด เบนโซเอท	56
4.11 แสดงผลของปริมาณสารละลายเกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ต่อ ประสิทธิภาพการสกัดเบนโซเอท	57
4.12 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม ต่อลิตรในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์.....	59
4.13 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทความเข้มข้น 600 มิลลิกรัม ต่อลิตรในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์.....	59
4.14 ลักษณะของสารละลายตัวอย่างเมื่อเตรียมในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ก) และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (ข).....	66
4.15 ลักษณะของสารละลายตัวอย่างเมื่อนำมากรองผ่านสำลี (ก) กรองด้วยกระดาษกรอง wathman เบอร์ 1(ข) และนำมาเซนติฟิวส์ (ค).....	67
4.16 ลักษณะของสารละลายตัวอย่าง (ก) สารละลายตัวอย่างเมื่อเติมสารละลาย PEG (ข) และสารละลายตัวอย่างเมื่อเติมสารละลาย PEG และสารละลายเกลือ (ค).....	67
ข.1 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท อันดับที่ 1.....	86
ข.2 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท อันดับที่ 2.....	86
ข.3 แสดงResidual plot ของสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท.....	88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา XIII ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กล้วยเดี่ยวและขนมจีนเป็นอาหารปรุงสำเร็จที่นิยมบริโภคทั่วไปในประเทศไทย เนื่องจากมีรสชาติอร่อย ใช้เวลาปรุงไม่นาน และหารับประทานง่าย มีจำหน่ายทั่วไปตามแหล่งชุมชน ในกระบวนการผลิตเส้นกล้วยเดี่ยวจะมีการเติมวัตถุกันเสีย เพื่อให้เก็บได้นานไม่เสียง่ายก่อนบริโภค สารเคมีที่ใช้เป็นวัตถุกันเสีย เช่น กรดเบนโซอิก โซอิก โซเดียมเบนโซเอท และโซเดียม หรือโพแทสเซียมเมทาซัลไฟต์ [1] ซึ่งกรดเบนโซอิก และโซเดียมเบนโซเอท จะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในอาหาร [2] กรดเบนโซอิกสามารถละลายน้ำได้น้อยกว่าโซเดียมเบนโซเอท จึงทำให้โซเดียมเบนโซเอทนิยมนำมาใช้เป็นวัตถุกันเสียในอาหาร [3] การใช้วัตถุกันเสียในอาหารจะมีข้อจำกัดซึ่งอยู่ภายใต้การควบคุมของกระทรวงสาธารณสุข ซึ่งตามข้อกำหนดในประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 281) พ.ศ.2547 เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร ข้อ 6 กรดเบนโซอิก หรือโซเดียมเบนโซเอท อนุญาตให้ใช้ได้ไม่เกิน 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม [4] ถ้ากินโซเดียมเบนโซเอท 5-10 กรัม เป็นเวลาหลายวัน จะไม่พบความเป็นพิษ ด้วยเหตุผลที่มีความเป็นพิษน้อย ร่างกายสามารถกำจัดกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอทออกจากร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยการรวมตัวกับไกลซีนในตับอยู่ในรูปกรดฮิปปูริก และจะถูกขับออกทางปัสสาวะ [2-3] จึงทำให้มีการนำมาใช้เป็นวัตถุกันเสียในอาหารหลากหลายชนิด

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอทในอาหาร ตามวิธีมาตรฐานของ Association of Official Analytical Chemists (AOAC) ปี ค.ศ.1995 ข้อที่ 47.3.03 เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่มีหลายขั้นตอน และต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณมากในการสกัด [5] จึงมีผู้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอท เช่น วิธีทางสเปกโทรโฟโตเมตรี [6-8] วิธีแก๊สโครมาโทกราฟี [9-13] และวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง [14-18] เป็นต้น

การสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (Aqueous two-phase systems : ATPS) เป็นเทคนิคการสกัดที่มีประโยชน์ โดยการผสมสารละลายสองชนิดที่มีพอลิเมอร์ต่างชนิดกัน หรือพอลิเมอร์กับเกลือ [19] ข้อดีที่สำคัญของระบบนี้ คือ มีความจุสูง วัฏภาคมีแรงตึงผิวต่ำ เปรอร์เซ็นต์การกลับคืนสูง ใช้เวลาน้อย ประหยัด ไม่เป็นพิษ ไม้ไวไฟ และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม [20-21] สามารถใช้แยกผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ และเพิ่มความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ได้ในขั้นตอนเดียว [20] เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างวิธีการสกัดแบบเดิมที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์กับระบบสารละลายน้ำสอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิทยาศาสตร์พบว่า ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคมีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม เนื่องจากไม่มีตัวทำละลายอินทรีย์ระเหยง่าย (volatile organic solvents: VOCs) ดังนั้นจึงมีแนวโน้มในการนำระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคมาประยุกต์ใช้งานในการแยกสารชีวเคมี เริ่มตั้งแต่ปี ค.ศ. 1956 และมีการใช้กันอย่างกว้างขวาง [22-23] ส่วนใหญ่แล้วระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคจะใช้ในการเพิ่มความเข้มข้นและการแยกโปรตีนให้บริสุทธิ์ สกัดเอนไซม์ต่างๆ รวมทั้งกรดนิวคลีอิก จุลินทรีย์ เซลล์สัตว์ และเซลล์พืช [23] ปัจจุบันระบบนี้ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในส่วนอื่นๆ เช่น นำมาใช้ในการกำจัดสีจากของเสียที่เป็นวัตถุขี้ผึ้ง [24] สกัดโลหะไอออน [24-26] สีย้อม [27] ของเสียอินทรีย์จากสิ่งแวดล้อม [28] สารอะโรมาติกจากน้ำมันดิบ [24] สกัดและแยกสเตรอยด์ในปัสสาวะมนุษย์ [29-30] และสกัดยาชนิดที่เป็นไฮโดรฟิลิกจากเลือด [31] เป็นต้น

อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีรายงานการนำระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคมาใช้ในการสกัดกรดเบนโซอิก หรือโซเดียมเบนโซเอท งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์หลักเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าวโดยพัฒนาระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของโพลีเอททิลีนไกลคอล (Polyethylene glycol : PEG) กับเกลืออนินทรีย์ เพื่อสกัดเบนโซเอท จากผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว และตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค ซึ่งมีองค์ประกอบของพอลิมอร์และเกลืออนินทรีย์
2. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแยกของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค และประสิทธิภาพในการสกัดโซเดียมเบนโซเอท
3. เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว โดยใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคในการสกัด และตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาแผนภาพวัฏภาคของการเกิดระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคซึ่งมีองค์ประกอบระหว่างพอลิมอร์มีน้ำหนักโมเลกุล 400 1000 และ 4000 กับสารละลายเกลือชนิดต่างๆ คือ แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) ไดโทแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ศึกษาการสกัดเบนโซเอทด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคและตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี โดยสแกนสเปกตรัมเพื่อหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการตรวจวัด ในช่วงความยาวคลื่น 200-400 นาโนเมตร ซึ่งพิจารณาค่าการดูดกลืนแสงโดยอาศัย baseline technique

3. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดเบนโซเอทด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค โดยพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษา คือ น้ำหนักโมเลกุลของโพลีเอททิลีนไกลคอล ชนิดของเกลือ ปริมาณของโพลีเอททิลีนไกลคอลและเกลือ และความเป็นกรด-ด่าง (pH) รวมทั้งศึกษาประสิทธิภาพการสกัดเบนโซเอท โดยพิจารณาจากค่าประสิทธิภาพการสกัด (Extraction efficiency : %E)

4. ทำการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ โดยศึกษาข้อมูลเชิงสถิติเพื่อบ่งบอกถึงความ เป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ช่วงความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ ขีดจำกัดในการตรวจวัด ขีดจำกัดในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ ความเที่ยง และความแม่นยำ

5. ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว ได้แก่ ขนมหินและเส้นก๋วยเตี๋ยว ก่อนการสกัดเบนโซเอท ด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

6. วิเคราะห์หาปริมาณเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น คือ สกัดเบนโซเอทด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค และตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมทรี เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถนำระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคซึ่งประกอบด้วยสารละลายโพลีเอททิลีนไกลคอล และเกลือที่เหมาะสม เป็นสารละลายในการสกัดแยกและวิเคราะห์หาปริมาณเบนโซเอททดแทนการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ได้

2. เพิ่มประสิทธิภาพในการแยกและวิเคราะห์หาปริมาณเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว ที่สะดวก รวดเร็ว และให้ผลน่าเชื่อถือ

3. สามารถนำวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้ในงานประจำได้

4. ลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว [1]

ผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปมาจากข้าว ที่ผลิตในประเทศไทย แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ผลิตภัณฑ์เส้นไม่หมัก และผลิตภัณฑ์เส้นหมัก ผลิตภัณฑ์เส้นไม่หมักมี 4 ประเภท คือ ก๋วยเตี๋ยวเส้นใหญ่ เส้นเล็ก เส้นหมี่ และเส้นก๋วยจั๊บ สำหรับผลิตภัณฑ์เส้นหมัก ได้แก่ ขนمجลิน และแป้งแผ่น (ใบเมี่ยงญวน)

2.1.1 ลักษณะของผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว

2.1.1.1 ก๋วยเตี๋ยวเส้นใหญ่ เป็นก๋วยเตี๋ยวที่ได้จากการนำแผ่นก๋วยเตี๋ยวดมมาหั่นเป็นเส้นตามขนาดที่ต้องการ โดยไม่ผ่านขั้นตอนการทำแห้ง ปกติจะมีความชื้นประมาณ ร้อยละ 60 – 64 เป็นเส้นก๋วยเตี๋ยวดมที่เก็บได้ไม่นานต้องรับประทานภายใน 1 – 2 วัน

2.1.1.2 ก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็ก ได้จากการนำแผ่นก๋วยเตี๋ยวดมมาผึ่งลมหรืออบในตู้อบลมร้อน เพื่อลดปริมาณความชื้น ก่อนนำมาตัดเป็นเส้นขนาด 3-4 มิลลิเมตร ก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กสดมีความชื้นประมาณร้อยละ 35 – 37 เก็บได้นานประมาณ 3 วัน สำหรับก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กแห้งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแผ่นก๋วยเตี๋ยวที่ผ่านการผึ่งลมและลดความชื้นแล้ว นำมาตัดเป็นเส้นตามขนาดที่ต้องการและทำให้แห้งที่อุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส ให้ผลิตภัณฑ์มีความชื้นประมาณร้อยละ 11 – 13 ซึ่งสามารถเก็บได้นานเป็นปีในสภาวะที่เหมาะสม

2.1.1.3 เส้นหมี่ เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการอัดแป้งข้าวเจ้ากึ่งสุกประมาณร้อยละ 40-50 ของแป้งทั้งหมด และมีความชื้นร้อยละ 35-40 ผ่านหน้าแปลนของเครื่อง Hydraulic press extruder ซึ่งมีรูขนาดเล็ก หนึ่งให้สุกอีกครั้ง ผลิตภัณฑ์จะเป็นเส้นหมี่สดมีความชื้นประมาณร้อยละ 18-33 สำหรับเส้นหมี่แห้ง เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเส้นหมี่สดมาอบแห้งอุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส ให้มีความชื้นสุดท้ายไม่เกินร้อยละ 12

2.1.1.4 ก๋วยจั๊บ เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนึ่งแผ่นก๋วยเตี๋ยวให้สุกเพียงครั้งเดียวของความหนา นำมาผึ่งลมหรืออบในตู้อบลมร้อนเพื่อลดปริมาณความชื้นให้เหลือประมาณร้อยละ 12 โดยทั่วไปจะตัดให้มีลักษณะเป็นแผ่น รูปสามเหลี่ยม เมื่อนำมาต้มสุกจะม้วนเป็นหลอด

2.1.1.5 ขนمجลิน เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำแป้งข้าวเจ้ากึ่งสุกหรือมีส่วนสุกประมาณร้อยละ 27- 34 ของแป้งทั้งหมดมาผัดและปรับความชื้นให้ได้ ร้อยละ 70 – 75 บีบผ่านแว่นที่มีลักษณะเป็นแผ่น โลหะกลมซึ่งเจาะรูเล็กๆ ตามขนาดที่ต้องการลงในน้ำเดือด เมื่อเส้นลอยจึงตักขึ้นแช่ในน้ำเย็นและจับเส้น ผลิตภัณฑ์ขนمجลินจะมีความชื้นประมาณร้อยละ 70 – 77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1.6 แป้งแผ่น (ใบเมี่ยงญวน) เป็นผลิตภัณฑ์จากแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการหมักแป้ง 2 – 3 วัน เติมน้ำเกลือไม่เกินร้อยละ 5 นำมาทำให้เป็นแผ่นบาง หนึ่งให้สุกและทำให้แห้งมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 16

2.1.2 วัตถุดิบหลักของการผลิตผลิตภัณฑ์เส้น [1]

ประกอบด้วย ข้าวสารหักและน้ำ หรือแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการปรับปรุงลักษณะให้เหมาะสมกับการผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยวหรือเส้นขนมจีน และสารเคมีบางชนิดที่อนุญาตให้ใช้ในอาหารเพื่อวัตถุประสงค์ต่าง ๆ กัน

2.1.2.1 ข้าวสารหัก หรือ ปลายข้าว หรือ ข้าวเจ้า 50 เปอร์เซ็นต์ (ข้าวท่อน) เป็นข้าวสารที่ได้มาจากข้าวเจ้าชนิดที่มีปริมาณอะมิโลส (amylose) สูง ระหว่าง 27 – 33 เปอร์เซ็นต์ ควรเป็นข้าวเก่าที่เก็บไว้เป็นระยะเวลานานอย่างน้อย 4 เดือนและผ่านการขัดสีสูงได้เป็นข้าวขาวพิเศษ ทำให้เส้นก๋วยเตี๋ยวขาวไม่ติดเครื่องหนึ่ง เหนียว ไม่อมน้ำ เมื่อนำไปปรุงอาหารและผ่านการทำความสะอาดเพื่อลดสิ่งปนเปื้อน เช่น หิน ดิน ทราย เปลือกข้าว เมล็ดพืช แมลง รังมอด เป็นต้น

2.1.2.2 น้ำ น้ำที่ใช้ในการผลิตควรเป็นน้ำสะอาดเหมาะสมสำหรับบริโภค ปราศจากสารแขวนลอย มีความกระด้างต่ำ มีคลอรีน 0.2 – 0.5 ส่วนในล้านส่วน (ppm) ความเป็นกรด-ด่าง (pH) มีค่าระหว่าง 5.0 – 7.0 กรณีเป็นน้ำบาดาลควรสูบขึ้นมาพักไว้เพื่อให้แร่ธาตุต่างๆ ตกตะกอนก่อนนำไปใช้ จากนั้นกรองทรายและผ่านเครื่องกำจัดความกระด้าง ความเป็นกรด-เบสของน้ำและเกลือของแคลเซียม หรือ แมกนีเซียมมีผลต่อความเหนียวของผลิตภัณฑ์ น้ำที่มีเหล็ก และสารแขวนลอยปะปนจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีคล้ำ

2.1.2.3 สารเคมี เช่น การใช้โซเดียมหรือโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์มีจุดมุ่งหมายเพื่อคงสีของอาหารมากกว่าจัดเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งซัลเฟอร์มีผลต่อสปอร์เชื้อราและแบคทีเรียมากกว่า ยีสต์ ดังนั้นการใช้ร่วมกับโซเดียมเบนโซเอทซึ่งมีผลต่อยีสต์ จึงทำหน้าที่เป็นวัตถุกันเสียได้ดี โดยทั่วไปซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะระเหยไปกับไอน้ำถึงร้อยละ 90 สำหรับปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่อนุญาตให้มีได้ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายไม่เกิน 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กรดเบนโซอิกหรือโซเดียมเบนโซเอท เป็นสารเคมีใช้ป้องกันการเน่าเสียที่อยู่ในสภาพของเกลือจะละลายน้ำได้ดีกว่าในสภาพกรด กรดเบนโซอิกจะช่วยชะขวางการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียแต่จะทำให้สีอาหารเปลี่ยนแปลงเร็วขึ้น แก้ไขโดยใช้ร่วมกับซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ปริมาณกรดหรือเกลือเบนโซเอทที่อนุญาตให้ใช้โดยทั่วไปไม่เกินร้อยละ 0.1

2.2 กรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอท

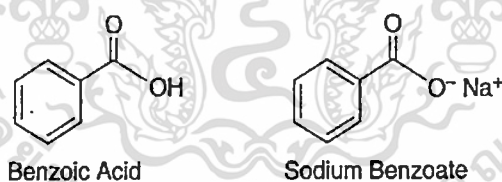
กรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอทเป็นวัตถุกันเสียที่ใช้ในการถนอมอาหารมานาน และปัจจุบันก็ยังนิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมการผลิตอาหาร กรดเบนโซอิกจะพบอยู่ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานภายในเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่หรือใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พืชบางชนิดตามธรรมชาติในรูปไกลโคไซด์ (Glycoside) เช่น แครนเบอร์รี่ พลัม อบเชย เซอร์กันพลู และลูกพรุน มีกรดเบนโซอิกอยู่มากและสูงกว่าขีดสูงสุดที่อนุญาตให้ใช้ในโรงงานผลิตอาหาร (เกินร้อยละ 1) [32] กรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอทที่จำหน่ายในท้องตลาดจะอยู่ในรูปผงผลึกสีขาวหรือเป็นเกล็ด [33]

2.2.1 คุณสมบัติของกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอท

กรดเบนโซอิก เป็นชื่อตาม IUPAC และมีชื่อทั่วไป คือ คาร์บอกซีเบนซีน (Carboxybenzene) สูตรโมเลกุล คือ C_6H_5COOH มีสถานะเป็นผลึกของแข็ง กลิ่นฉุน มีจุดเดือด 249 องศาเซลเซียส จุดหลอมเหลว 122 องศาเซลเซียส น้ำหนักโมเลกุล 122.2 ความถ่วงจำเพาะ 1.32 [32] ที่อุณหภูมิห้อง น้ำ 100 กรัม สามารถละลายกรดได้ 0.34 กรัม หรือน้ำมัน 100 กรัม ละลายกรดได้ 1-2 กรัม กรดเบนโซอิกสามารถละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ที่ปราศจากน้ำจึงมีปัญหาเมื่อใช้กับอาหารที่มีน้ำอยู่ในปริมาณสูง การปฏิบัติทั่วไปมักใช้กรดนี้ในความเข้มข้นประมาณ 0.05-0.10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับสารประกอบอื่น เช่น กรดซอร์บิกและพาราเบนส์ ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของกรดนี้ในรูปของเอสเทอร์ เช่น Methyl p-hydroxybenzoate สำหรับเกลือเบนโซเอท เช่น โซเดียมเบนโซเอท สูตรโมเลกุล คือ C_6H_5COONa มีน้ำหนักโมเลกุล 144.11 เป็นผลึกสีขาวสามารถละลายได้ดีกว่ากรดเบนโซอิกในอัตรา 63 กรัมต่อน้ำ 100 กรัม ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในอุตสาหกรรมอาหารจึงนิยมใช้เกลือของกรดนี้มากกว่า แต่ละลายได้น้อยในแอลกอฮอล์ในอัตรา 1.3 กรัมต่อน้ำ 100 กรัม [34] กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอทที่ใช้เป็นวัตถุกันเสียซึ่งมีสูตร โครงสร้างดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 สูตรโครงสร้างของกรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอท [34]

2.2.2 ประสิทธิภาพของกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอท

ประสิทธิภาพของกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอทต่อการขัดขวางการทำงานของจุลินทรีย์ ขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่าง โมเลกุลของกรดเบนโซอิกที่เป็นอิสระที่ไม่แตกตัวให้อิออนเท่านั้นที่จะออกฤทธิ์ปฏิชีวนะยับยั้งจุลินทรีย์ ซึ่งกรดที่ไม่แตกตัวนี้จะซึมผ่านเซลล์ของจุลินทรีย์ทำให้การทำงานของระบบเอนไซม์ผิดปกติไป ไม่สามารถนำเอาสารอาหารไปใช้ในเซลล์ได้ สามารถป้องกันการเจริญเติบโตและการออกของสปอร์ของจุลินทรีย์ได้ เนื่องจากกรดจะทำให้ความเป็นกรดและด่างของอาหารนั้นไม่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่างๆ [33] กรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เบนโซอิกและเกลือเบนโซเอทมีช่วงความเป็นกรด-ด่างที่ออกฤทธิ์ดีที่สุดอยู่ระหว่าง 2.5-4.0 ซึ่งต่ำกว่ากรดซอร์บิกและกรดโพรพิรอนิก และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์และราได้ดีกว่าแบคทีเรีย [33]

ตารางที่ 2.1 การละลายของกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอท (กรัมต่อ 100 กรัมตัวทำละลาย) [35]

	กรดเบนโซอิก	โซเดียมเบนโซเอท
น้ำ 25 องศาเซลเซียส	0.33	60.00
น้ำ 50 องศาเซลเซียส	1.00	60.00
น้ำ 160 องศาเซลเซียส	2.50	70.50
ร้อยละ 5 (v/v) เอทานอล 25 องศาเซลเซียส	0.29	56.60
ร้อยละ 20 (v/v) เอทานอล 25 องศาเซลเซียส	1.50	50.00
ร้อยละ 50 (v/v) เอทานอล 25 องศาเซลเซียส	10.00	40.00
ร้อยละ 10 (v/v) เอทานอล 25 องศาเซลเซียส	0.30	50.00
ไขมันและน้ำมัน 25 องศาเซลเซียส	3-4	-
กลีเซอริน 25 องศาเซลเซียส	0.40	-

2.2.3 การใช้กรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอท

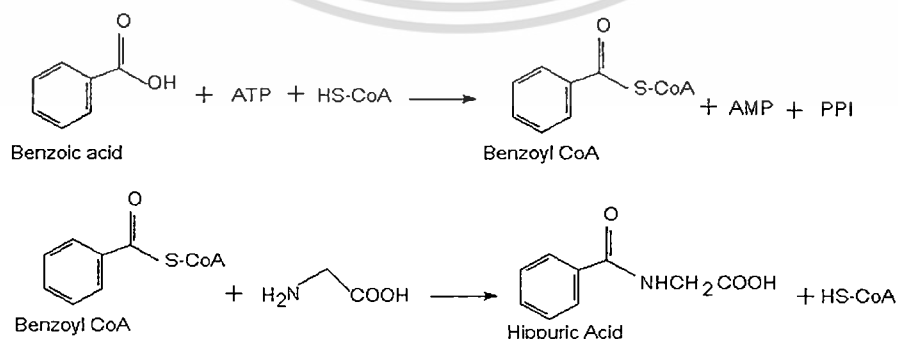
กรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอทจะมีประสิทธิภาพสูงที่ความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 4.5 ฉะนั้นอาหารที่ควรใช้วัตถุกันเสียนี้ เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บนั้นจึงควรเป็นอาหารที่มีความเป็นกรดสูง [33] นิยมใช้กับพวกน้ำผลไม้ ผลไม้สด แยม เยลลี่ พวกผักต่างๆ เช่น หัวหอม ผักดอกตามฤดูกาลใช้กับพวกอาหารโปรตีนสูง พวกผลิตภัณฑ์จากปลา ปู หอย ไข่ ตามข้อกำหนดในประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 281) พ.ศ.2547 เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร ข้อ 6 กำหนดการใช้วัตถุเจือปนอาหาร ต้องใช้ตามชนิดวัตถุเจือปนอาหาร ชนิดของอาหาร และปริมาณสูงสุดของที่ใช้ได้ ซึ่งกรดเบนโซอิกหรือโซเดียมเบนโซเอทอนุญาตให้ใช้ได้ไม่เกิน 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม [4] ซึ่งปริมาณการใช้กรดเบนโซอิกในผลิตภัณฑ์เส้นก๋วยเตี๋ยว ตามมาตรฐานทั่วไปสำหรับการใช้วัตถุเจือปนอาหารของโคเด็กซ์ (Codex General Standard for food additives) กำหนดการใช้กรดเบนโซอิกไม่เกิน 1,000 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

การใช้เกลือเบนโซเอทร่วมกับเกลือแกง (Sodium chloride) พบว่า ช่วยเสริมฤทธิ์กัน ปริมาณการใช้เกลือเบนโซเอทกับสารละลายที่มีความเป็นกรด-ด่าง 2.3-3.4 จะใช้เพียงร้อยละ 0.02-0.03 ก็ป้องกันการเสียจากการหมักที่เกิดจากยีสต์ได้ แต่ถ้าเป็นอาหารที่มีความเป็นกรด-ด่าง 3.5-4.0

ควรรใช้ที่ปริมาณสูงขึ้นไปร้อยละ 0.06-0.10 เช่น ในน้ำผลไม้ แต่สิ่งที่ควรรระวัง คือ ถ้าใส่โซเดียมเบนโซเอท ในปริมาณร้อยละ 0.1 จะทำให้กลิ่นรสของน้ำผลไม้เปลี่ยนไป [35]

2.2.4 ความปลอดภัยในการใช้

ความเป็นพิษของกรดเบนโซอิกจัดอยู่ในประเภทปานกลางขนาดที่เกิดอาหารเป็นพิษประมาณ 6 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม อาการเป็นพิษได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และท้องเสีย ถ้าใช้ในปริมาณที่ถูกต้องจะไม่ก่อความเป็นพิษและไม่สะสมในร่างกาย [35] โดยพบว่ากรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอทมีความปลอดภัย ซึ่ง United States Food and Drug Administration (U.S.FDA) ได้อนุญาตให้ใช้เป็นสารถนอมอาหาร และโซเดียมเบนโซเอทได้รับการรับรองจาก Good Agricultural Practice (GAP) ว่าเป็นสารถนอมอาหารที่ใช้ได้สูงสุด 0.1 เปอร์เซ็นต์ แต่ในปัจจุบันให้ใช้ได้มากถึง 0.15-0.25 เปอร์เซ็นต์ ส่วนความเป็นพิษ Food and Agriculture Organization (FAO) และ World Health Organization (WHO) ได้เสนอว่า โซเดียมเบนโซเอท มีความเป็นพิษในคนและสัตว์น้อยมาก พบว่าถ้าฉีดเข้าใต้ผิวหนัง 6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว จะมีพิษ แต่ถ้ากินโซเดียมเบนโซเอท 5-10 กรัม เป็นเวลาหลายวัน ไม่พบความเป็นพิษ [34] เนื่องจากการศึกษาทดลองพบว่า ร่างกายมีกลไกในการขจัดความเป็นพิษ โดยกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอทที่บริโภคเข้าไปจะไปรวมตัวกับโคเอนไซม์เอ (Coenzyme A) เกิดเป็นเบนโซอิลโคเอนไซม์เอ จะรวมกับไกลซีน (Glycine) เกิดเป็นกรดฮิปพิวริก (Hippuric acid) โดยมีเอนไซม์อะซิลทรานสเฟอเรส (Acyltransferase) เป็นตัวเร่งและถูกขับออกทางปัสสาวะ และส่วนที่เหลือที่มีได้ถูกร่างกายขับออกในรูปกรดฮิปพิวริกนั้น จะถูกขจัดออกจากร่างกาย โดยการรวมตัวกับกรดไกลคูโรนิก (Glycuronic acid) แล้วขับออกทางปัสสาวะในรูปของกรดเบนโซอิลไกลคูโรนิก (Benzoyl Glycuronic Acid) โดยทั่วไปการขับถ่ายของกรดฮิปพิวริกทางปัสสาวะ ในคนจะประมาณ 1.0-2.5 กรัมต่อวัน ซึ่งจะเท่ากับกรดเบนโซอิกที่บริโภคเข้าไป 0.7-1.0 กรัม สำหรับความสามารถในการขจัดกรดเบนโซอิกนั้น จะแปรผันตามชนิดของสัตว์ด้วย [32-33]



รูปที่ 2.2 แสดงกลไกในการขจัดความเป็นพิษของกรดเบนโซอิก [34]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การแยกวัตถุดิบเสียออกจากอาหาร [36,37]

วัตถุดิบเสียที่ใช้กันส่วนมากมีคุณสมบัติเป็นกรด เมื่อนำมาใช้มักอยู่ในรูปของเกลือโซเดียมหรือโพแทสเซียม จุดประสงค์ก็เพื่อให้ละลายน้ำได้ดีและผสมเข้ากับอาหารได้ทุกส่วน วัตถุดิบเสียเหล่านี้เมื่ออยู่ในอาหารอาจอยู่ได้ในหลายลักษณะ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเป็นกรด-ด่างของอาหารนั้นๆ คือ

1. อยู่ในรูปเกลือซึ่งรวมกับองค์ประกอบอาหาร (Salt form bound with food)
2. อยู่ในรูปของกรดอิสระที่แตกตัวและไม่ได้รวมกับองค์ประกอบของอาหาร (Dissociate acid, unbound form)
3. อยู่ในรูปของกรดอิสระซึ่งไม่แตกตัวและไม่ได้รวมกับองค์ประกอบของอาหาร (Undissociate acid, unbound form)

ดังนั้น การสกัดและการทำให้วัตถุดิบเสียที่ได้มีความบริสุทธิ์ (Extraction and Clean-Up method) เราจึงต้องคำนึงถึง ลักษณะของอาหาร และคุณสมบัติของวัตถุดิบเสียที่จะตรวจหา

2.3.1 วิธีการการแยกวัตถุดิบเสียออกจากอาหาร [36,37]

สามารถทำได้โดยใช้วิธีใดวิธีหนึ่ง หรือหลายวิธีร่วมกัน ดังนี้

2.3.1.1 วิธีการละลาย (Solubilizing method)

1. ถ้าวัตถุดิบเสียที่จะตรวจหาละลายน้ำได้ง่าย ให้นำตัวอย่างอาหารมาผสมหรือปั่นกับน้ำ อาจใช้ความร้อน อุณหภูมิไม่สูงมากช่วยในการสกัดด้วย ตัวอย่างเช่น การสกัดไนไตรท์ และ ไนเตรต ออกจากอาหารประเภทเนื้อสัตว์

2. ถ้าวัตถุดิบเสียละลายน้ำได้ดี แต่มีคุณสมบัติในการรวมตัวกับอาหารได้ดีเช่นกัน เราต้องพยายามสกัดวัตถุดิบเสียออกจากตัวอย่างให้หมด โดยนำตัวอย่างมาย่อยกับตัวอย่างเช่น การแยกซัลเฟอร์ไดออกไซด์ หรือ ซัลไฟต์ ออกจากอาหารที่มีแอลกอฮอล์หรือน้ำตาลผสมอยู่ด้วย

3. สำหรับวัตถุดิบเสียอินทรีย์ มักอยู่ในรูปเกลือของกรดอินทรีย์ เพื่อให้ผสมกับองค์ประกอบของอาหารได้ดี ดังนั้น จึงแยกออกได้โดยทำให้อาหารเป็นกรด ได้วัตถุดิบเสียรูปอิสระ ซึ่งละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เราจึงสกัดแยกออกมาได้ (Solvent extraction) วิธีนี้ใช้กับอาหารที่มีองค์ประกอบไม่ซับซ้อนและมักใช้ร่วมกับวิธีการเติมเกลือ (Salting out method) ตัวอย่างเช่น การสกัดกรดเบนโซอิก หรือ พาราบิน ออกจากตัวอย่าง แยม เยลลี่ น้ำผลไม้ ผลไม้กวน ซอสชนิดข้น (Catsup) ซึ่งได้ผ่านวิธีการเติมเกลือมาแล้ว

2.3.1.2. วิธีการเติมเกลือ (Salting out method)

หลักของวิธีนี้ คือ ใช้สารละลายอิมตัวของอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyte) ไปแย่งที่

การละลายของสารอาหารประเภทที่เป็นสารประกอบที่ไม่เป็นอิเล็กโทรไลต์ (Non-electrolyte

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น มิอนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

compound) ให้ตกตะกอนลงมา อิเล็กโทรไลต์ที่นิยมใช้ คือ โซเดียมคลอไรด์ แคลเซียมคลอไรด์ เพราะสารทั้งสองชนิดนี้ละลายน้ำได้ดีมาก วิธีนี้มักใช้กับอาหารประเภทที่มีแป้ง น้ำตาล เซลลูโลส เป็นองค์ประกอบ

2.3.1.3. วิธีการกลั่น (Distillation method)

วิธีนี้ใช้กับวัตถุดิบเสียที่สามารถทำให้ระเหยออกจากกันได้ง่าย เมื่อทำการทดลองให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสม และใช้กับตัวอย่างอาหารที่ใช้วิธีอื่นแยกได้ไม่ดี ตัวอย่างเช่น การแยกกรดเบนโซอิกออกจากตัวอย่างที่มีลักษณะข้นเหนียว (Viscous food) การแยกกรดซอร์บิกออกจากอาหารประเภทแป้ง การแยกซัลเฟอร์ไดออกไซด์ออกจากอาหารทุกประเภทที่ใช้วัตถุดิบเสียชนิดนี้ ยกเว้น ประเภทที่มีแอลกอฮอล์ผสมอยู่ด้วย การแยกกรดโพธิออนิกออกจากขนมปัง

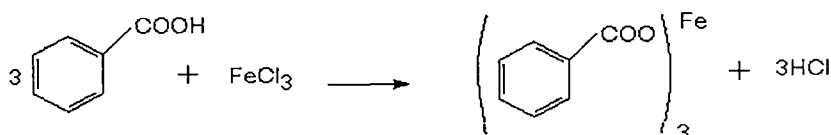
2.3.1.4. วิธีการเติมสารเคมี (Using clarifying agents)

วิธีนี้ใช้สารเคมีบางตัวแยกสารอาหารที่ละลายน้ำได้ เช่น โปรตีน หรือ น้ำตาล ให้ตกตะกอนออกมา ใช้กับวัตถุดิบเสียชนิดละลายน้ำ สารเคมีที่นิยมใช้ เช่น สารละลายอิมัลชันเมอร์คิวริกคลอไรด์ (Saturated mercuric chloride) ซิงค์เฟอร์โรไซยานเนต อะลูมินา บอร์แรกซ์ โซเดียมทังสเตต (Sodium tungstate) กรดฟอสโฟทังสติก (Phosphotungstic acid) เลดอะซีเตต (ในรูปของ Basic and neutral solution) ซาโคล (Activated and animal charcoal) ตัวอย่างเช่น การตกตะกอนโปรตีนในอาหารประเภทเนื้อสัตว์ด้วยสารละลายอิมัลชันเมอร์คิวริกคลอไรด์

2.3.2 หลักของการทดสอบทางเคมีที่ใช้เป็นวิธีตรวจเอกลักษณ์ของกรดเบนโซอิก [36, 38-39]

2.3.2.1. การทดสอบด้วยเฟอร์ริกคลอไรด์ (Ferric chloride test)

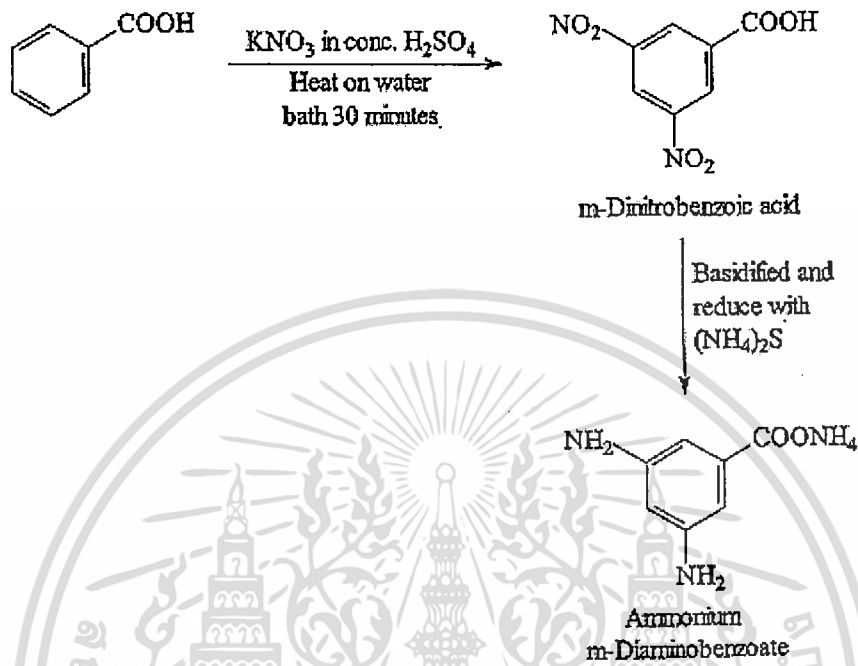
เฟอร์ริกคลอไรด์ (FeCl_3) ทำปฏิกิริยากับสารประกอบต่อไปนี้ ได้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีต่างๆ กัน (Various color complexes) คือ ฟีนอล อินอล กรดไฮโดรซามิก ออกซิม กรดไฮดรอกซี สารประกอบอินอลไลเซชัน สำหรับกรดเบนโซอิกทำปฏิกิริยากับเฟอร์ริกคลอไรด์ ได้เป็นเกลือเฟอร์ริกเบนโซเอท ซึ่งเป็นตะกอนสีเนื้อ ความไวของวิธีทดสอบนี้ต่ำ ต้องใช้กรดเบนโซอิกปริมาณพอสมควร จึงจะเห็นผลชัดเจน



รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาการทดสอบกรดเบนโซอิกด้วยเฟอร์ริกคลอไรด์ [36]

2.3.2.2 การทดสอบด้วยวิธีเมอร์เลอร์ (Modified Mohler's test)

อาศัยหลักการทำไนเตรชัน (Nitration) ของ อะโรมาติกกรดคาร์บอกซิลิก และรีดิวซ์หมู่ไนโตรที่ได้และต่อให้เป็นสารประกอบอะมิโนได้สารประกอบตัวใหม่ ซึ่งมีสี



รูปที่ 2.4 ปฏิกริยาการทดสอบกรดเบนโซอิกด้วยวิธีเมอร์เลอร์ [36]

2.3.3. การหาปริมาณวัตถุกันเสียที่อนุญาตให้ใช้ได้ตามพระราชบัญญัติอาหาร (Determination of permitted food Preservatives) [36]

วิธีการแยกและหาปริมาณวัตถุกันเสียในตัวอย่างอาหาร (Isolation and determination method of permitted food preservatives) ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงวิธีการแยกและหาปริมาณวัตถุกันเสียในตัวอย่างอาหาร [36]

วัตถุกันเสีย	วิธีการแยกวัตถุกันเสียออกจากตัวอย่างอาหาร	วิธีหาปริมาณ
กรดเบนโซอิก	1. วิธีการเติมเกลือ และวิธีการละลาย แล้วทำการสกัดด้วยทำละลาย 2. วิธีการกลั่น (ใช้กับอาหารที่ขึ้นเหนียว)	1. วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง (Ultraviolet absorption method) 2. วิธีการไทเทรตกรด-เบส (Acid-Base titration)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์และห้ามการเผยแพร่โดยไม่อนุญาตให้ทำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

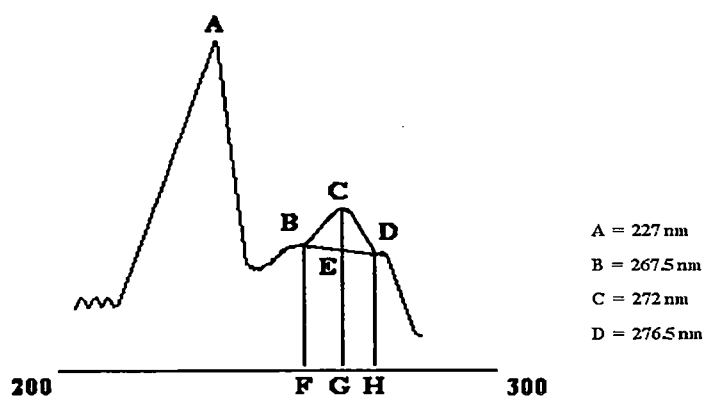
ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

วัตถุอันตราย	วิธีการแยกวัตถุอันตรายออกจากตัวอย่างอาหาร	วิธีหาปริมาณ
เมทิล และ โฟพิล พาราเบน	วิธีการเติมเกลือ และวิธีการละลาย แล้วทำการสกัดด้วยทำละลาย	วิธีการทำให้เกิดสี (Colorimetric method) โดยทำให้เกิดสารประกอบที่มีสีด้วย Millon's reagent
กรดซอร์บิก	1. วิธีการเติมเกลือ และวิธีการละลาย และทำการสกัดด้วยทำละลาย (ใช้กับตัวอย่างทั่วไป) 2. วิธีการกลั่น (ใช้กับไวน์)	1. วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง (Ultraviolet absorption method) 2. วิธีออกซิเดชัน (Oxidation method) โดยทำให้เกิดสารประกอบที่มีสีด้วยสารละลาย Thiobabituric acid
กรดโพรพอนิก	วิธีการกลั่น	วิธีแก๊สลิควิด โครมาโทกราฟี (Gas-liquid chromatography)
ไนไตรท์	วิธีการละลาย	วิธีการทำให้เกิดสี (Colorimetric method) ด้วย 1. Azo dye formation 2. Xylenol method
ไนเตรต	วิธีการละลาย	เหมือนกับการหาปริมาณ ไนไตรท์
ซัลเฟอร์ไดออกไซด์	1. วิธีการกลั่น 2. วิธีการละลาย (ใช้กับน้ำผลไม้ หรือไวน์)	ปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox reaction) ด้วยไอโอดีน หรือสารละลาย ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (ในรูปของซัลไฟต์)	วิธีการละลาย (ใช้กับผลิตภัณฑ์ที่เป็นเนื้อสัตว์)	วิธีทางโพลาร์กราฟี (Differential pulse polarographic method)

2.3.4 การหาปริมาณกรดเบนโซอิก [36,40-41]

2.3.4.1 วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง (Ultraviolet absorption method)

กรดเบนโซอิก มีคุณสมบัติในการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) ที่มีลักษณะเฉพาะตัว เมื่ออยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ ได้ดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 แสดงลักษณะสเปกตรัมการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ต ของกรดเบนโซอิก เมื่ออยู่ใน
ตัวทำละลายอินทรีย์ [36]

การหาปริมาณสารโดยวัดปริมาณการดูดกลืนแสงเรานิยมวัดค่าที่ให้ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{MAX}) กรณีของกรดเบนโซอิกความยาวคลื่นนั้นคือ 227 นาโนเมตร ซึ่งก็มีผู้ที่เลือกใช้ความยาวคลื่นนี้ แต่ไม่นิยม เท่ากับการวัดปริมาณการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 267.5 (B), 272 (C), 276.5 (D) นาโนเมตร แล้วหาปริมาณการดูดกลืนแสง CE (ดังรูป) โดยอาศัย Baseline technique คือ

$$CE = CG - \left(\frac{BF + DH}{2} \right) \quad (2.1)$$

เมื่อ	CE	=	ค่าการดูดกลืนแสง
	CG	=	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 272 นาโนเมตร
	BF	=	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 267.5 นาโนเมตร
	DH	=	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 276.5 นาโนเมตร

นำค่า CE ที่ได้ไปเทียบกับปริมาณการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดเบนโซอิกที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนจากกราฟมาตรฐาน (Calibration curve)

สาเหตุที่ไม่นิยมใช้ความยาวคลื่น 227 นาโนเมตร เพราะที่ความยาวคลื่นจุดนี้ค่าปริมาณการดูดกลืนแสงที่ได้อาจไม่ถูกต้องนัก เนื่องจาก

1. ที่ความยาวคลื่น 227 นาโนเมตร ใกล้กับความยาวคลื่นช่วง Far UV ซึ่งอาจเกิด stray radiation ได้ง่ายจากความชื้น ออกซิเจน ไนโตรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศ ทำให้ค่าปริมาณการดูดกลืนแสงที่ได้ผิดไป

2. ตัวทำละลายที่ใช้มีค่า Cut-Off Point อยู่ที่ความยาวคลื่นต่ำกว่านี้ หรือที่ความยาวคลื่นบริเวณนี้ ในกรณีที่ตัวทำละลายที่ใช้เป็นเกรดสเปกโทร (Spectro grade) หรือ เกรดวิเคราะห์ (Analytical grade) และถ้าใช้ตัวทำละลายที่มีเกรดต่ำกว่านี้ อาจมีสิ่งเจือปนอื่นที่ทำให้การดูดกลืนแสงในช่วงนี้ได้เช่นกัน เมื่อรวมกับค่าปริมาณการดูดกลืนแสงของกรดเบนโซอิกที่สูงมาก ทำให้เราไม่สามารถวัดปริมาณการดูดกลืนแสงทั้งหมดที่จุดนี้ได้เลย

สำหรับตัวอย่างอาหารที่ใช้วิธีนี้วิเคราะห์ ได้แก่ ซอสชนิดคั้น ผลิตภัณฑ์มะเขือเทศ แยม เยลลี่ เครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์ น้ำผลไม้ โดยการแยกกรดเบนโซอิกออกจากตัวอย่างวิธีการเดิมเกลือ และวิธีการละลาย และทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย

2.3.4.2 วิธีการไทเทรตกรด-เบส (Acid-Base titration method)

อาศัยคุณสมบัติในการเป็นกรดของกรดเบนโซอิก ($pK_a = 4.2$) ซึ่งมีความแรงมากพอ นำมาทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ และเนื่องจากกรดเบนโซอิกละลายน้ำได้ไม่ดี จึงทำการไทเทรตในตัวทำละลายผสมระหว่างแอลกอฮอล์กับน้ำ (Aqueous alcoholic solvent) และทำการทดลองเพื่อยืนยันอีกครั้ง โดยนำตัวอย่างที่แยกได้บริสุทธิ์แล้ว (ด้วยวิธีเดียวกับการไทเทรตกรด-เบส) ไปทำการระเหิด (sublimation) ที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงครึ่ง และชั่งน้ำหนักของสารที่ได้เทียบกับผลการไทเทรต ถ้านำวิธีวิเคราะห์นี้ไปใช้กับตัวอย่างอาหารที่มีลักษณะขุ่นเหนียว จำเป็นต้องแยกกรดเบนโซอิกออกโดยใช้วิธีการกลั่น โดยกลั่นกับกรดฟอสฟอริก

2.4 ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (Aqueous two-phase systems, ATPS) [42-43]

การแยกสารออกจากของผสมเนื้อเดียวกันอาจมีข้อจำกัดจากคุณสมบัติทางเคมี การสร้างวัฏภาคที่สองซึ่งไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกับวัฏภาคแรกจะสามารถแยกสารออกมาได้ เนื่องจากองค์ประกอบของสารในระบบมีค่าสัมประสิทธิ์ในการกระจาย (distribution coefficient) ระหว่างวัฏภาคทั้งสองต่างกัน การสกัดด้วยของเหลวจึงใช้แยกสารละลายที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันได้ โดยการเติมตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งไม่ผสมกันหรือแยกออกจากสารละลายชนิดแรกได้ และเกิดการกระจายขององค์ประกอบของของผสมระหว่างวัฏภาคทั้งสอง

ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (ATPS) เป็นระบบหนึ่งของการสกัดของเหลวด้วยของเหลว ซึ่งเป็นที่รู้จักมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1896 มี 2 ระบบ คือ ระบบที่เป็นพอลิเมอร์ 2 ชนิด และระบบที่เป็นพอลิเมอร์กับเกลือ โดยน้ำเป็นตัวทำละลายในทั้งสองวัฏภาค ดังนั้นจึงได้สารละลายน้ำสองวัฏภาคที่แยกชั้นกันอยู่ เนื่องจากความแตกต่างทางกายภาพและเคมีของวัฏภาค โดยวัฏภาคหนึ่งจะประกอบด้วยพอลิเมอร์ชนิดหนึ่งอยู่มาก ส่วนพอลิเมอร์อีกชนิดหนึ่งหรือเกลือจะประกอบ

อยู่มากในวัฏภาคที่สอง จากความแตกต่างทางกายภาพและเคมีของวัฏภาคทำให้สามารถแยกตัว

ถูกละลายเป้าหมายออกจากสารละลายได้ เนื่องจากตัวถูกละลายแต่ละชนิดจะสามารถกระจายและละลายในแต่ละวัฏภาคได้แตกต่างกัน

ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคนี้สามารถจำแนกชนิดของระบบได้ตามลักษณะของสารที่ทำให้เกิดการแยกวัฏภาค ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (Aqueous two-phase systems, ATPS) [44]

1. Nonionic polymer (P) – Nonionic polymer (Q) - Water	
Nonionic polymer (P)	Nonionic polymer (Q)
Polypropylene glycol	Methoxypolyethylene glycol Polyethylene glycol Polyvinyl alcohol Hydroxypropyl dextran Dextran
Polyethylene glycol	Polyvinyl alcohol Polyvinylpyrrolidone Dextran Arabinogalactan Hydroxypropyl starch Ficoll
Polyvinyl alcohol	Methylcellulose Hydroxypropyl dextran Dextran
Polyvinylpyrrolidone	Methylcellulose Maltodextrin Dextran
Methylcellulose	Hydroxypropyl dextran Dextran
Ethylhydroxyethylcellulose	Dextran
Hydroxypropyl dextran	Dextran
Ficoll	Dextran

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 (ต่อ)

2. Polyelectrolyte (P) – Nonionic polymer (Q) - Water	
Polyelectrolyte (P)	Nonionic polymer (Q)
Sodium dextran sulphate	Polypropylene glycol Methoxypolyethylene glycol NaCl Polyethylene glycol NaCl Polyvinylpyrrolidone NaCl Methylcellulose NaCl Ethylhydroxyethylcellulose NaCl Hydroxypropyl dextran NaCl Dextran NaCl
DEAE dextran-hydrochloric acid	Polypropylene glycol NaCl Polyethylene glycol Li ₂ SO ₄ Polyvinyl alcohol Methylcellulose
Casein	Dextran Pectin Ficoll Amylopectin
Sodium carboxymethyl dextran	Methoxypolyethylene glycol NaCl Polyethylene glycol NaCl Polyvinyl alcohol NaCl Polyvinylpyrrolidone NaCl Methylcellulose NaCl Ethylhydroxyethylcellulose NaCl Hydroxypropyl dextran NaCl
Sodium carboxymethylcellulose	Polypropylene glycol NaCl Methoxypolyethylene glycol NaCl Polyethylene glycol NaCl Polyvinylpyrrolidone NaCl Methylcellulose NaCl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตารางที่ 2.3 (ต่อ)

3. Polyelectrolyte (P) – Polyelectrolyte (Q) - Water	
Polyelectrolyte (P)	Polyelectrolyte (Q)
Sodium dextran sulphate	Sodium carboxymethyl-dextran DEAE dextran-hydrochloric acid NaCl Sodium carboxymethylcellulose
Sodium carboxymethyl-dextran	Sodium carboxymethylcellulose
Casein	Sodium alginate, 0.1 M NaOH Sodium carboxymethylcellulose, 0.1 M NaOH
Ovalbumin (pH 6.6)	Soybean globulins Ovalbumin thermotropic aggregates Casein
4. Polymer (P) – Low molecular weight component (Q) - Water	
Polymer (P)	Low molecular weight component (Q)
Polypropylene glycol	Potassium phosphate Glycerol Glucose
Methoxypolyethylene glycol	Potassium phosphate
Polyethylene glycol	Inorganic salts, e.g., K^+ , Na^+ , Li^+ , $(NH_4)^+$, etc.) PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , etc. Glucose, maltose, cellobiose, iso-maltose, maltotriose, iso-maltotriose, β -cyclodextrin
Polyvinylpyrrolidone	Butylcellosolve Potassium phosphate
Polyvinyl alcohol	Butylcellosolve
Dextran	Butylcellosolve Propyl alcohol, Iso-propyl alcohol
Sodium dextran sulphate	Sodium chloride (0°C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

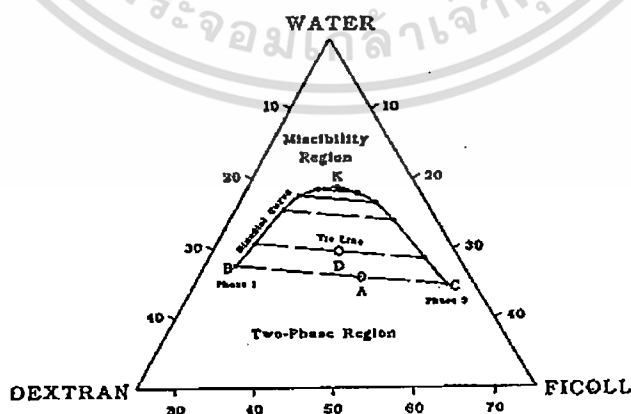
110617

2.4.1 แผนภาพวัฏภาค (Phase diagram) [42-44]

องค์ประกอบของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค แสดงได้ในแผนภาพวัฏภาค การเขียนแผนภาพวัฏภาค สามารถเขียนได้ 2 ลักษณะ คือ เขียนแบบสามเหลี่ยมด้านเท่า และเขียนแบบสามเหลี่ยมมุมฉาก การเขียนแผนภาพวัฏภาคแบบสามเหลี่ยมด้านเท่า (รูปที่ 2.6) เมื่อจุดปลายของสามเหลี่ยมในแผนภาพวัฏภาคนั้น คือ พอลิเมอร์ทั้งสองชนิด (Ficoll และเด็คซ์แทรน) และตัวทำละลาย (น้ำ) จุดต่างๆ ที่อยู่ภายในพื้นที่สามเหลี่ยมจะแสดงถึงของผสม 3 องค์ประกอบ ซึ่งผลบวกขององค์ประกอบในแต่ละจุดที่แสดงในแผนภาพวัฏภาคนี้อาจมีค่าเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์เสมอ โดยทั่วไปแล้วองค์ประกอบดังกล่าวจะแสดงในรูปของเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

การเขียนแผนภาพวัฏภาคในลักษณะที่เป็นแกนมุมฉาก (รูปที่ 2.7) จะนิยมใช้มากกว่าแบบแรก โดยแกน y (แนวตั้ง) จะแสดงเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของพอลิเมอร์ที่มีมากในวัฏภาคบน ส่วนแกน x (แนวนอน) แสดงเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของพอลิเมอร์อีกชนิดหนึ่งหรือเกลือที่มีมากในวัฏภาคล่าง ดังนั้นทุกจุดบนแผนภาพวัฏภาคจะมีค่าโดยน้ำหนักเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์เสมอ แผนภาพวัฏภาครูปแกนมุมฉาก จะไม่แสดงความเข้มข้นของตัวทำละลายน้ำ ซึ่งแตกต่างจากแผนภาพวัฏภาครูปสามเหลี่ยมด้านเท่า

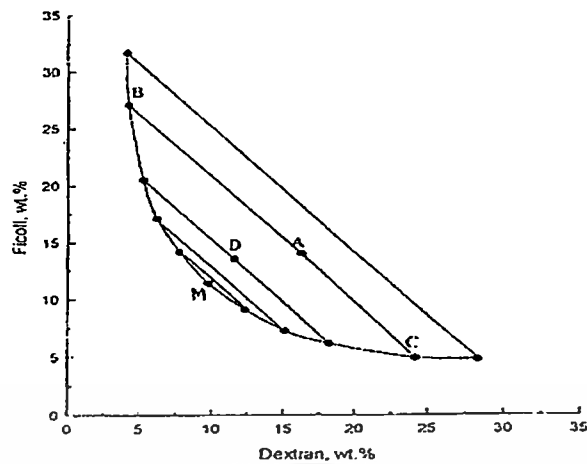
ในวัฏภาคบนจะมีความเข้มข้นของ Ficoll อยู่มาก ส่วน Dextran จะสะสมอยู่ในวัฏภาคล่าง ซึ่งสารละลายผสม A จะมีองค์ประกอบของวัฏภาคบนเหมือนองค์ประกอบในจุด B และในวัฏภาคล่างจะมีองค์ประกอบเหมือนองค์ประกอบในจุด C เมื่อเรียกจุด B และ C ว่า nodes เส้นที่เชื่อมระหว่างจุดทั้งสองนี้ คือ เส้นผูก (tie line) สารละลายที่แสดงบนเส้นผูกเดียวกันจะมีองค์ประกอบในแต่ละวัฏภาคเหมือนกัน แต่สัดส่วนของปริมาตรในวัฏภาคบนต่อปริมาตรในวัฏภาคล่าง (V_T/V_B) จะแตกต่างกัน ดังรูปที่ 2.7 โดยสัดส่วนเชิงปริมาตรดังกล่าวจะมีความสัมพันธ์กับสัดส่วนของเส้นผูก (AB/BC)



รูปที่ 2.6 แผนภาพวัฏภาคแบบสามเหลี่ยมด้านเท่าของระบบที่ประกอบด้วย dextran 70-

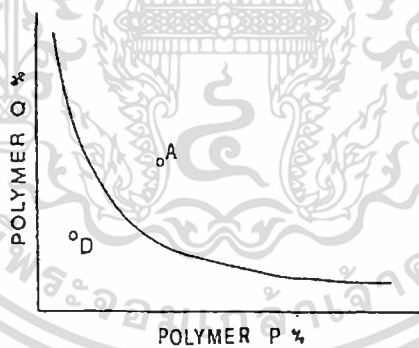
Ficoll 400-น้ำ [44]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 แผนภาพวิภูภาคแบบสามเหลี่ยมมุมฉากของระบบที่ประกอบด้วย dextran 70-Ficoll 400-น้ำ ที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส [44]

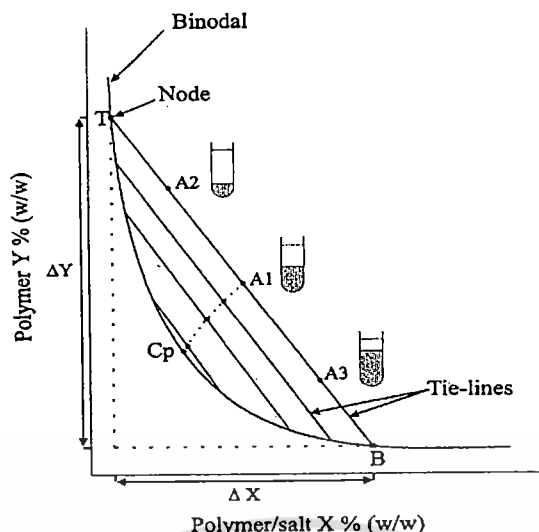
เมื่อผสมพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำกับพอลิเมอร์อีกชนิดหนึ่งหรือเกลือ องค์ประกอบของสารในแต่ละวิภูภาค และช่วงของความเข้มข้นของสารทั้งสองชนิดที่ทำให้เกิดการแยกวิภูภาคสามารถอธิบายได้จากแผนภาพวิภูภาค [42,45] ดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 แผนภาพวิภูภาคของการผสมพอลิเมอร์ชนิด P และ Q ในน้ำ [45]

เมื่อผสมพอลิเมอร์ P และ Q ในน้ำ ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน จะได้กราฟเส้นโค้ง ดังแสดงในรูปที่ 2.8 เรียกเส้นโค้งนี้ว่า เส้นแบ่งวิภูภาค (binodal curve) โดยที่เส้นโค้งดังกล่าวจะเป็นเส้นแบ่งลักษณะของวิภูภาคที่เกิดขึ้นในระบบ ถ้าสารละลายผสมนี้มีองค์ประกอบอยู่เหนือเส้นโค้ง (จุด A) ระบบนี้จะมีลักษณะเป็นของเหลวสองวิภูภาค ในขณะที่จุด D ซึ่งมีส่วนประกอบของสารละลายผสมอยู่ใต้เส้นโค้ง จะมีลักษณะเป็นของเหลววิภูภาคเดียว [43,46]

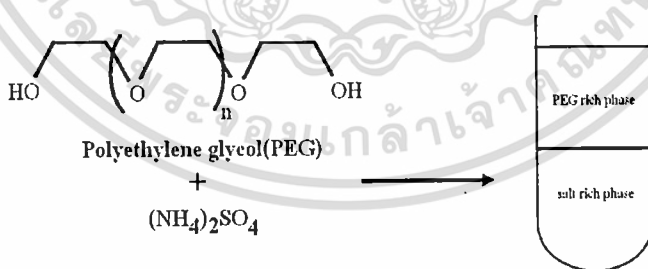
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 แผนภาพวัฏภาคที่วัฏภาคล่างเป็นพอลิเมอร์ X หรือเกลือ และวัฏภาคบนเป็นพอลิเมอร์

[24]

โดยทั่วไป รูปแบบของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคของโพลีเอทิลีน ไกลคอล กับเกลืออนินทรีย์ สามารถอธิบายบนพื้นฐานการแข่งขันของการไฮเดรชันระหว่างทั้งสององค์ประกอบ [46] การเติมเกลืออนินทรีย์จะเพิ่มดีไฮเดรชันของโซ่พอลิเมอร์ เนื่องจากปรากฏการณ์ salting-out และเกิดการแยกวัฏภาค ด้วยเหตุนี้ จึงเกิดการแยกเป็นสองวัฏภาคที่ไม่ผสมกัน วัฏภาคบนจะมีโพลีเอทิลีน ไกลคอลอยู่มาก เหมือนกับวัฏภาคของสารอินทรีย์ในระบบการสกัดแบบเดิม และวัฏภาคล่างจะมีเกลืออนินทรีย์อยู่มาก (รูปที่ 2.10)



รูปที่ 2.10 แสดงลักษณะของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของพอลิเมอร์

กับเกลืออนินทรีย์ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ [26]

สอดคล้องกับงานวิจัยที่อธิบายถึงการแยกของตัวถูกละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคซึ่งขึ้นอยู่กับลักษณะของรูปแบบของระบบ (ธรรมชาติ ความเข้มข้นของเกลืออนินทรีย์ น้ำหนักโมเลกุลและความเข้มข้นของพอลิเมอร์) และคุณสมบัติการไฮเดรชันของตัวถูกละลาย เอกสารนี้เป็นเอกสารทูลงวนไวสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยามให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(การสกัดตัวถูกละลายจะเพิ่มขึ้นพร้อมกับการลดลงของไฮเดรชันของตัวถูกละลาย) ความเข้มข้นขององค์ประกอบของรูปแบบวิภูภาคจะเลือกจากแผนภาพวิภูภาคของระบบ ระบบจะยังคงเป็นสองวิภูภาคตลอดการทดลอง และจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความเข้มข้นขององค์ประกอบทั้งสองระหว่างทั้งสองวิภูภาค [47-50]

การหาความยาวของเส้นผูก (tie line length, TLL) [42] สามารถหาค่าได้โดยการคำนวณจากความเข้มข้นของพอลิเมอร์หรือเกลือที่มีในแต่ละวิภูภาค ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{TLL} &= \{[C(P)_1 - C(P)_2]^2 + [C(Q)_1 - C(Q)_2]^2\}^{0.5} \\ &= \{[\Delta C(P)]^2 + [\Delta C(Q)]^2\}^{0.5} \end{aligned} \quad (2.2)$$

เมื่อ $C(P)$ คือ ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ P ในวิภูภาคนั้นๆ

$C(Q)$ คือ ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ Q ในวิภูภาคนั้นๆ

ตัวห้อย 1 และ 2 คือ วิภูภาคบนและวิภูภาคล่าง ตามลำดับ

$\Delta C(P)$ และ $\Delta C(Q)$ คือ ความแตกต่างของความเข้มข้นของพอลิเมอร์ P และ Q

ในทั้งสองวิภูภาค

จุด M ที่อยู่ในรูปที่ 2.7 เรียกว่า จุดวิกฤติ (critical point) ซึ่งจะมีองค์ประกอบและปริมาตรของทั้งสองวิภูภาคไม่แตกต่างกัน สำหรับองค์ประกอบของระบบที่มีค่าใกล้จุด M จะมีความแตกต่างระหว่างวิภูภาคทั้งสองน้อยมาก

ระบบสารละลายน้ำสองวิภูภาคส่วนใหญ่ที่นิยมใช้ คือ ระบบที่ใช้โพลีเอททิลีนไกลคอลกับเด็กซ์แทรน และระบบที่ใช้โพลีเอททิลีนไกลคอลกับเกลือ ในระดับอุตสาหกรรมระบบที่ใช้ โพลีเอททิลีนไกลคอลกับเด็กซ์แทรนมีข้อจำกัด เนื่องจากเด็กซ์แทรนมีราคาสูง และจำเป็นต้องมีความจำเพาะเจาะจงต่อ โปรตีนที่ต้องการสกัด [50] นอกจากนี้การใช้เด็กซ์แทรนจะทำให้วิภูภาคล่างมีความหนืดค่อนข้างสูง ซึ่งอาจเกิดเป็นเจล ทำให้ยากต่อการผลิต ดังนั้นระบบที่ใช้โพลีเอททิลีนไกลคอลกับเกลือ จึงเป็นระบบที่มีการพัฒนาเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมต่อไป เนื่องจากเกิดวิภูภาคได้ง่ายกว่าระบบของโพลีเอททิลีนไกลคอลกับเด็กซ์แทรน ในระบบโพลีเอททิลีนไกลคอลกับเกลือ จะมีโพลีเอททิลีนไกลคอลปริมาณมากหรือเกือบทั้งหมดในวิภูภาคบน และเกลือจะมามากในวิภูภาคล่าง อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของเกลือก็ยังสูงในทั้งสองวิภูภาค โดยเกลือที่เหมาะสมต่อการเกิดวิภูภาคกับโพลีเอททิลีนไกลคอลได้แก่ เกลือฟอสเฟต และเกลือซัลเฟต [42]

P.Å. Albertsson (1986) [21] พบว่าวิธีการสกัดสารทางชีวภาพด้วยระบบสารละลายน้ำสองวิภูภาค ซึ่งมีองค์ประกอบที่มีความสามารถละลายน้ำได้ เช่น พอลิเมอร์สองชนิด (เช่น เด็กซ์แทรน และ PEG) หรือพอลิเมอร์ชนิดหนึ่งกับเกลือ (เช่น PEG และ โปแทสเซียมฟอสเฟต) โดยโมเลกุลของสารทั้งสองชนิดจะถูกล้อมรอบด้วยโมเลกุลของน้ำเป็นตัวทำละลาย และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีโครงสร้างแตกต่างกันตามพันธะที่เกิดขึ้นกับสารชนิดนั้น ๆ ส่วนที่สามารถผสมกันได้จะเกิดการรวมตัวกัน ในขณะที่ส่วนที่รวมกันไม่ได้จะทำให้เกิดความขุ่น เกิดการแยกวัฏภาคขึ้น ระบบจึงมีลักษณะเป็นสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่ไม่ผสมกันซึ่งมีลักษณะคล้ายกับการใช้ตัวทำละลายสองชนิดที่ไม่ผสมกันเอง

ลักษณะทางเคมีฟิสิกส์ ที่ใช้บอกลักษณะที่แตกต่างกันของวัฏภาคทั้งสอง [42] ได้แก่

1. ความมีขั้วของตัวทำละลาย (solvent polarity) ขึ้นกับความเข้มข้นของพอลิเมอร์ (เกลือ) ที่มีในวัฏภาค ซึ่งความมีขั้วของวัฏภาคทั้งสองจะแตกต่างกันน้อยลง เมื่อความเข้มข้นของพอลิเมอร์ลดลง ดังนั้นระบบที่ใช้พอลิเมอร์และเกลือต่างชนิดกัน จึงมีความเป็นขั้วต่างกัน ลักษณะของตัวทำละลายในทั้งสองวัฏภาคจึงต่างกันด้วย

2. ความสามารถในการเคลื่อนที่ของน้ำ (water mobility) โดย Zaslavsky (1995) [44] กล่าวว่า การเคลื่อนที่ของน้ำระหว่างวัฏภาคทั้งสองวัฏภาคที่มีความเข้มข้นของ PEG, PVP และ Ficoll อยู่มาก (มีขั้วน้อย) กับวัฏภาคที่มีความเข้มข้นของเด็กซ์แทรนอยู่มาก (มีขั้วมาก) จะมีค่าเท่ากับ 0.7×10^{-12} วินาที ซึ่งแตกต่างจากความสามารถในการเคลื่อนที่ของน้ำบริสุทธิ์ที่มีค่าเท่ากับ 8.25×10^{-12} วินาที แสดงว่า สมบัติของน้ำที่มีพอลิเมอร์ผสมอยู่ในวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคจะแตกต่างจากสมบัติเดิมของน้ำบริสุทธิ์

3. ลักษณะไฮโดรโฟบิกของวัฏภาค มีผลต่อโครงสร้างของน้ำในวัฏภาคทั้งสองของระบบ ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของพอลิเมอร์ในวัฏภาคทั้งสองด้วย สำหรับระบบที่ใช้พอลิเมอร์และเกลือจะมีค่าไฮโดรโฟบิกของวัฏภาคทั้งสองจะเพิ่มขึ้นในระบบดังนี้ (เด็กซ์แทรน/Ficoll) < (เด็กซ์แทรน/PVP) < (เด็กซ์แทรน/PEG) < (PEG/ แอมโมเนียมซัลเฟต) < (PEG/ โปแทสเซียมฟอสเฟต) < (PEG/ แมกนีเซียม) [44] อย่างไรก็ตามลักษณะไฮโดรโฟบิกของวัฏภาคทั้งสองในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคจะมีค่าแตกต่างกันน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับระบบของน้ำกับตัวทำละลายอินทรีย์

การแยกวัฏภาคที่เกิดขึ้นในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคจะถูกควบคุมโดยลักษณะของโครงสร้างของน้ำภายในระบบ ซึ่งความสามารถของการละลายของพอลิเมอร์สองชนิดหรือ พอลิเมอร์กับเกลือในน้ำขึ้นกับพารามิเตอร์ 2 ชนิด คือ ลักษณะโมเลกุลของพอลิเมอร์หรือเกลือ (structural parameters) และแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของพอลิเมอร์หรือเกลือกับน้ำ (interaction parameter) ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของน้ำ จึงทำให้ระบบที่มีพารามิเตอร์ทั้งสองต่างกันจะเกิดการแยกวัฏภาคต่างกันด้วย นอกจากนี้ยังมีปัจจัยที่มีผลต่อการรบกวนโครงสร้างของน้ำในระบบ เช่น อุณหภูมิ ชนิดของตัวถูกละลาย น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ สารเติมแต่งที่เป็นเกลืออนินทรีย์ เช่น โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) [42,44] ดังนั้นปัจจัยดังกล่าวจึงมี

อิทธิพลต่อการแยกวัฏภาคของระบบด้วย โดยมีแผนภาพวัฏภาคเป็นสิ่งที่ใช้ในการอธิบายโครงสร้างของระบบที่เป็นสองวัฏภาคที่เกิดขึ้น

พฤติกรรมการแยกตัวถูกละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค อธิบายได้ใน 2 กลไก [42] ดังนี้

1. การแยกตัวถูกละลายเกิดจากแรงดึงดูดหรือการผลักระหว่างโมเลกุลของตัวถูกละลายกับพอลิเมอร์ (และเกลือ) ที่มีวัฏภาค [44]
2. การแยกตัวถูกละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคเกิดจากความแตกต่างของแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของตัวถูกละลายกับสารละลายน้ำที่แตกต่างกัน ในวัฏภาคทั้งสองของระบบ [44]

แรงที่กระทำระหว่างโมเลกุลของตัวถูกละลายที่ไม่มีขั้วกับสารละลายน้ำเป็นแรงแวนเดอวาล ส่วนตัวถูกละลายที่มีขั้วจะมีแรงกระทำต่อน้ำซึ่งมีความจำเพาะเจาะจงสูง เช่น แรงไดโพล-ไดโพล ไดโพล-อินดิวิดูอัลไดโพล พันธะไฮโดรเจน ฯลฯ สำหรับตัวถูกละลายหรืออนุภาคทางชีวภาพ ส่วนมากจะถูกแยกในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มีประจุ ตัวถูกละลายที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ เช่น เอนไซม์ จะมีแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของตัวถูกละลายกับตัวทำละลายเป็นแรงทางไฟฟ้าระหว่างไอออน-ไอออน และไอออน-ไดโพล รวมอยู่ด้วย ซึ่งแรงที่กระทำระหว่างโมเลกุลของตัวถูกละลายกับตัวทำละลายที่แตกต่างกันในระบบนี้ จะทำให้พฤติกรรมการแยกของตัวถูกละลายในระบบแตกต่างกันด้วย

พฤติกรรมการแยกตัวถูกละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายชนิดด้วยกัน ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการแยกตัวถูกละลายดังกล่าวแบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ ปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะของตัวทำละลายในทั้งสองวัฏภาค และปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติของตัวถูกละลายที่มีความสำคัญต่อแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของตัวถูกละลายกับตัวทำละลายน้ำที่มีในวัฏภาคทั้งสอง[42] ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกตัวถูกละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค [42]

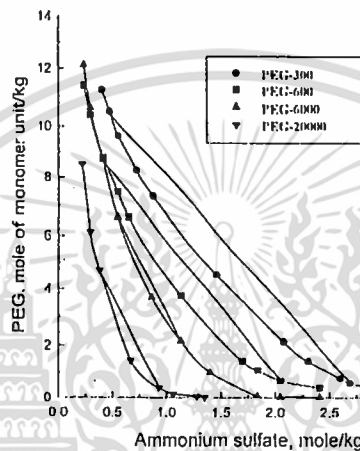
ปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะของตัวทำละลาย	ปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติของตัวถูกละลาย
ชนิดของพอลิเมอร์	ค่าความเป็นกรด-ด่าง
น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์	ชนิดของสารเติมแต่ง
ความเข้มข้นของพอลิเมอร์	ความเข้มข้นของสารเติมแต่ง
ชนิดของสารเติมแต่ง	การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของสารเติมแต่ง
ความเข้มข้นของสารเติมแต่ง	การปรับโครงสร้าง
อุณหภูมิ	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการแยกวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

2.4.2.1. น้ำหนักโมเลกุลและความเข้มข้นของพอลิเมอร์

การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่ใช้ในระบบมีผลต่อลักษณะโครงสร้างของน้ำ และแรงที่กระทำระหว่าง โมเลกุลของสารที่อยู่ในระบบ ซึ่งทำให้ความสามารถในการสกัดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการมีความแตกต่างกันไป น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์เป็นปัจจัยหนึ่งที่กำหนดลักษณะของวัฏภาค และปฏิสัมพันธ์ต่อผลิตภัณฑ์ ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การแยกเปลี่ยนแปลงได้ [42]



รูปที่ 2.11 แผนภาพวัฏภาคของระบบที่มีองค์ประกอบของ PEG-(NH₄)₂SO₄ – น้ำ โดย PEG มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน [44]

ในรูปที่ 2.11 แผนภาพวัฏภาคจะแสดงการเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่มีผลต่อการแยกซึ่งจากรูป พบว่า เมื่อน้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้นจะทำให้ต้องการความเข้มข้นของเกลือลดลงเพื่อให้เกิดการแยกวัฏภาค [45] เส้นแบ่งวัฏภาคจะไม่สมมาตร ถ้ามีความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลระหว่างทั้งสองเพิ่มขึ้น [51] ถ้าพอลิเมอร์มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ความแตกต่างของคุณสมบัติระหว่างวัฏภาคจะเพิ่มขึ้น (รวมทั้งเส้นผูก จะยาวขึ้น) ดังนั้น ความหนาแน่นจะมีแตกต่างกัน ดัชนีการหักเห (refractive index) และความหนืดจะเพิ่มขึ้น [51]

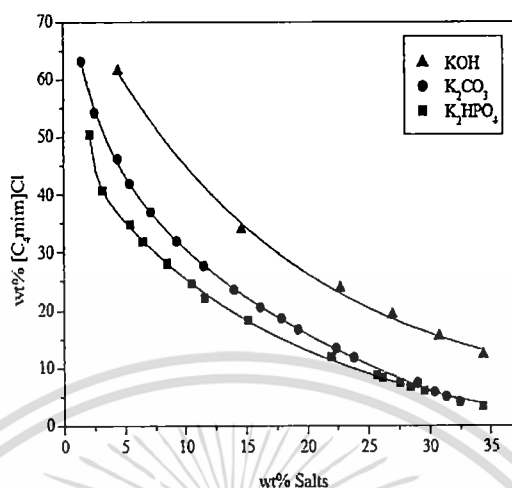
2.4.2.2. ชนิดและความเข้มข้นของเกลือ

ความสามารถของการ salting-out ของเกลือประจุบวกและประจุลบจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดเกลือ ซึ่งเกลือแต่ละชนิดมีผลต่อลักษณะของแผนภาพวัฏภาคและความยาวของเส้นผูก [52] ดังรูปที่ 2.12 พฤติกรรมการแยกวัฏภาคของระบบโพลิเอททีลิน ไกลคอลและเกลือ จะขึ้นอยู่กับชนิดของเกลือ ซึ่งจะใช้พิจารณาารูปแบบของวัฏภาค เกลือที่นิยมนำมาใช้ คือ โพแทสเซียมฟอสเฟต แอมโมเนียมซัลเฟต แมกนีเซียมซัลเฟต โซเดียมซัลเฟต และ โซเดียมคาร์บอเนต [21] โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปกติเกลือ โซเดียมฟอสเฟตจะใช้ในการเตรียมระบบที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ (น้อยกว่า 6) สำหรับความเป็นกรด-ด่างของระบบที่มีค่าตั้งแต่ 6-7 ขึ้นไป จะใช้โพแทสเซียมฟอสเฟต [42]



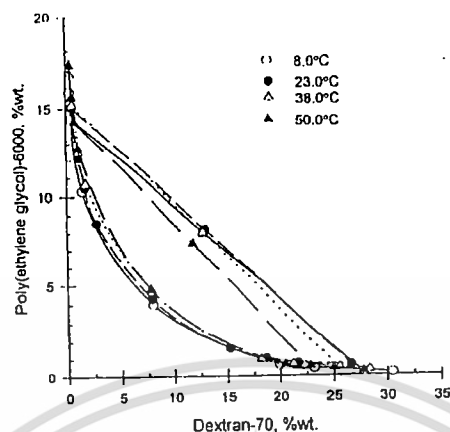
รูปที่ 2.12 แผนภาพวัฏภาคของระบบที่มีองค์ประกอบของ PEG200-เกลือต่างชนิดกัน [29]

การเติมเกลือที่ความเข้มข้นพอเหมาะจะมีผลต่อแผนภาพวัฏภาคของระบบพอลิเมอร์กับพอลิเมอร์ชนิด nonionic ซึ่งจะแตกต่างกับพฤติกรรมของวัฏภาคในระบบที่ประกอบด้วยโพลีอิเล็กโทรไลต์ (polyelectrolytes) เช่น ระบบที่เป็น DEAE - dextrane เกลือไอออนิกจะไม่มีผลต่อองค์ประกอบของระบบ โดยทั่วไประบบที่มีความเข้มข้นของพอลิเมอร์ต่ำจะทำให้เกิดการแยกวัฏภาคโดยการเพิ่มความเข้มข้นของเกลือลงไป [51] เมื่อแรงไอออนิก (ionic strength) สูงขึ้น จะทำให้เกิดการตกตะกอนของโปรตีนซึ่งเป็นผลจากการเกิด salting-out และเมื่อเติมเกลือที่เป็นกลางลงไปในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคจะทำให้แรงไอออนิกเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะวัฏภาคที่มีเกลืออยู่มาก แรงไอออนิกทำให้เกิดการตกตะกอนของสารชีวโมเลกุลหรือเกิดการแยกระหว่างวัฏภาคของพอลิเมอร์และเกลือ รวมทั้งสามารถทำให้สารชีวโมเลกุลเข้าไปในวัฏภาคของพอลิเมอร์มากขึ้น โดยการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นมากกว่า 12 เปอร์เซ็นต์ [53]

2.4.2.3. อุณหภูมิของระบบ [42,44]

การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิของระบบมีผลต่อสมบัติทางกายภาพของวัฏภาคของเหลว เช่น ความหนืด ความหนาแน่น ซึ่งองค์ประกอบของวัฏภาคทั้งสองเปลี่ยนแปลงไป สำหรับระบบที่ประกอบด้วยพอลิเมอร์ทั้งสองชนิด เช่น ระบบ โพลีเอทิลีน ไกลคอลกับเด็กซ์แทรน การเพิ่มอุณหภูมิของระบบจะมีผลต่อแผนภาพวัฏภาค โดยที่การเพิ่มอุณหภูมิจะทำให้เส้นแบ่งวัฏภาคเข้าใกล้จุดกำเนิดมากขึ้น นั่นคือ เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจะต้องใช้ความเข้มข้นของ

พอลิเมอร์ในการเกิดการแยกวัฏภาคน้อยลงดังรูปที่ 2.13 ส่วนในระบบ โพลีเอททิลีนไกลคอลกับเกลือจะให้ผลตรงกันข้าม



รูปที่ 2.13 แผนภาพวัฏภาคของระบบที่มีองค์ประกอบของ PEG-เด็คซ์แทรน-น้ำ ที่อุณหภูมิต่างๆ

[44]

2.4.2.4. ความเป็นกรด-ด่างของระบบ [43]

การปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค จะพบว่าการส่งผลต่อคุณสมบัติสองประการของวัฏภาค ประการแรก คือ คุณสมบัติทางกายภาพของวัฏภาค ทำให้องค์ประกอบของระบบและวัฏภาคเปลี่ยน โดยปริมาณของเกลือที่เพิ่มขึ้นทำให้ความหนาแน่นของวัฏภาคต่ำมีค่ามากขึ้น ส่งผลให้การแยกตัวของวัฏภาคเร็วขึ้น นอกจากนี้ปริมาณของน้ำที่เอนไซม์หรือผลิตภัณฑ์สามารถละลายอยู่ได้น้อยลง และส่งผลให้เอนไซม์หรือผลิตภัณฑ์ถูกผลักไปอยู่ในวัฏภาคบนมากขึ้น ตามปรากฏการณ์ salting out ประการที่สอง คือ คุณสมบัติทางเคมี นั่นคือค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนแปลงไป จะเหนี่ยวนำให้ประจุรวมรวมของโมเลกุลของตัวถูกละลายเปลี่ยนไปด้วย ซึ่งจะส่งผลต่อแรงกระทำระหว่างตัวถูกละลายแต่ละชนิด และแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของตัวถูกละลายและ โมเลกุลของพอลิเมอร์ หรือเกลือที่มีในวัฏภาคเปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นจากเหตุผลที่คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของวัฏภาคเปลี่ยนแปลงไป จึงส่งผลให้การแยกของตัวถูกละลายต่างชนิดกันที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่างกัน มีความแตกต่างกัน ดังนั้นจะเห็นได้ว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นปัจจัยสำคัญซึ่งมีอิทธิพลต่อค่าสัมประสิทธิ์การแยก

2.4.2.5. เวลาในการแยกวัฏภาค

เวลาที่ใช้ในการแยกขึ้นอยู่กับชนิดของพอลิเมอร์ ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ สัดส่วนเชิงปริมาตร อัตราการรวมตัวของหยด (droplets) และรวมทั้งองค์ประกอบของระบบ[51] ดังตารางที่

2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 เวลาโดยประมาณสำหรับการแยกวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของระบบต่างกัน [45]

องค์ประกอบของระบบ	เวลา
Salt-Polyethylene glycol	5-10 นาที
Dextran-Polyethylene glycol	5-60 นาที
Dextran sulfate-Polyethylene glycol	5-60 นาที
Dextran -methylcellulose	1-12 ชั่วโมง
Dextran sulfate-methylcellulose	1-12 ชั่วโมง
Dextran-Polyvinylalcohol	$\frac{1}{2}$ - 6 ชั่วโมง
Dextran sulfate- Polyvinylalcohol	$\frac{1}{2}$ - 6 ชั่วโมง
Dextran -Hydroxypropyl-dextran	$\frac{1}{2}$ - 6 ชั่วโมง
Dextran sulfate- Hydroxypropyl-dextran	$\frac{1}{2}$ - 6 ชั่วโมง

เวลาในการตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดการแยกวัฏภาคขึ้นอยู่กับสัดส่วนเชิงปริมาตรของทั้งสองวัฏภาค และความหนืดที่แตกต่างกัน ถ้าวัฏภาคหนึ่งมีความหนืดมาก และมีปริมาตรมากกว่าอีกวัฏภาคหนึ่ง เวลาในการตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดการแยกวัฏภาคจะใช้เวลาานานมาก ถ้าวัฏภาคหนึ่งมีความหนืดมาก และมีปริมาตรเท่ากับหรือน้อยกว่าอีกวัฏภาคหนึ่ง เวลาในการตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดการแยกวัฏภาคจะใช้นเวลาน้อย เช่น ระบบเด็กซ์แทรนกับโพลีเอททิลีนไกลคอล วัฏภาคบนมีความหนืดน้อยกว่าวัฏภาคล่าง เมื่อวัฏภาคล่างมีปริมาณมากจะใช้เวลาในการแยกน้อยกว่าวัฏภาคล่างที่มีปริมาตรเท่ากับหรือมากกว่าวัฏภาคบน [45]

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ได้มีผู้ศึกษาและพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอท ด้วยวิธีการต่าง ๆ สรุปได้ในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 การวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอทด้วยวิธีการต่าง ๆ

วิธีการ	ชนิดของวัตถุดิบและตัวอย่างอาหาร	เอกสารอ้างอิง
Amperometry	กรดเบนโซอิกในน้ำมะนาว ผลไม้ และน้ำใต้ดิน	Mustafa และ คณะ, 2005 [55]
Micellar electrokinetic capillary chromatography	กรดเบนโซอิกและอนุพันธ์เอสเทอร์ในยาชนิดน้ำ	Yoo และ Kong-joo, 1998 [56]
Capillary electrophoresis	ซอร์เบท และเบนโซเอท ในเครื่องดื่ม	Ana carolina และ คณะ, 2008 [57]
Gas chromatography	สารต้านอนุมูลอิสระและวัตถุดิบเสีย (กรดซอร์บิก กรดเบนโซอิก และอนุพันธ์เอสเทอร์) ในอาหารที่มีไขมัน	M.González และ คณะ, 1999 [10]
Gas chromatography	กรดเบนโซอิกในเครื่องดื่ม	Zaifa และคณะ, 2005 [11]
Gas chromatography (GC-FID)	กรดซอร์บิกและกรดเบนโซอิกในเครื่องดื่ม	Chunzhou และ Wenfang, 2006 [12]
Gas chromatography	วัตถุดิบเสีย (กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก เมทิล เอทิล และ โพรพิลเอสเทอร์ ของ p-hydroxybenzoic acid) ในเครื่องดื่ม โยเกิร์ต และซอส	Lili และคณะ, 2006 [13]
High performance liquid chromatography (HPLC)	โซเดียมเบนโซเอท และโพแทสเซียมซอร์เบท ในน้ำแอปเปิล ซอสแอปเปิล ซอสถั่วเหลือง และเนยผสมถั่วลิสงบด	Harry และ Maureen, 2000 [14]
High performance liquid chromatography (HPLC)	กรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิกในแยมควิน	Isabel และคณะ, 2000 [15]
High performance liquid chromatography (HPLC)	กรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิกในอาหารบราซิล	S.A.V. Tfouni และ M.C.F. Toledo, 2002 [16]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ลงนามไว้แล้วให้กับโรงเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 (ต่อ)

วิธีการ	ชนิดของวัตถุกันเสียและตัวอย่างอาหาร	เอกสารอ้างอิง
High-performance liquid chromatography และ High-performance liquid chromatography–mass spectrometry	เบนโซอิล เพอร์ออกไซด์ และ กรดเบนโซอิกในแป้งสาลี	Yukiko และคณะ, 2004 [17]
High performance liquid chromatography (HPLC)	วัตถุกันเสีย (กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก เมทิลพาราบีน และ โพรพิลพาราบีน) ในอาหาร	Bahrudin และ คณะ, 2005 [18]
Spectrophotometry	ซูโดอีพีดินไฮโดรคลอไรด์ เคกโทรมีโทรพานไฮโดรโบรไมด์ และโซเดียมเบนโซเอท ในยาน้ำเชื่อม	Mohsen และ Siavash, 2004 [6]
Spectrophotometry	กรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิกในครีม	Iqbal และ Faiyaz , 2009 [7]
Spectrophotometry	วัตถุกันเสีย (กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก เมทิลพาราบีน และ โพรพิลพาราบีน) ในอาหาร	Yan และ Yong, 2009 [8]

จากตารางที่ 2.6 พบว่าวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิกและโซเดียมเบนโซเอทมีหลายวิธีด้วยกัน การเลือกใช้วิธีการต่างๆ ต้องทราบถึงข้อดี-ข้อเสีย และต้องคำนึงถึงความเหมาะสมกับชนิดของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ด้วย วิธีทางสเปกโตรโฟโตเมทรี [6-8] มีข้อเสียคือ ตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์จำเป็นต้องผ่านกระบวนการสกัด ไม่มีความจำเพาะเจาะจง และใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณมาก และตัวทำละลายอินทรีย์ดังกล่าวเป็นอันตรายอย่างมาก วิธีแก๊สโครมาโทกราฟี [9-13] เป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะเจาะจงแต่ต้องใช้เวลาในการเตรียมตัวอย่างนาน และต้องมีการเตรียมอนุพันธ์ และวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง [14-18] เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง ใช้เวลาเตรียมตัวอย่างน้อย และไม่จำเป็นต้องมีการเตรียมอนุพันธ์ แต่มีปัจจัยหลายชนิดที่มีผลต่อการวิเคราะห์ รวมทั้งตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นตัวหะมีคุณสมบัติเป็นสารระเหยได้ ไวไฟ เกิดอาการระคายเคืองต่อดวงตา และระบบหายใจซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

การใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคในการสกัดเบนโซเอทจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ เป็นวิธีการหนึ่งที่ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางในการแยกผลิตภัณฑ์ต่างๆ เนื่องจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใช้เห็นประโยชน์ในการนำเอกสารนี้ไปใช้ กรุณาแจ้งให้ทราบถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นระบบที่ทำได้ง่าย มีประสิทธิภาพสูง และสะดวกในการดำเนินการ และมีสภาวะแวดล้อมเหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ที่เสื่อมสภาพได้ง่าย เนื่องจากมีน้ำเป็นตัวทำละลาย โดยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคสามารถทำให้ผลิตภัณฑ์มีความบริสุทธิ์หรือเข้มข้นขึ้น เนื่องจากการเลือกที่จะละลายในวัฏภาคใดวัฏภาคหนึ่งมากกว่าอีกวัฏภาคหนึ่ง และระบบนี้มีแรงดึงผิวต่ำ ดังนั้นเมื่อมีการกวนระบบเกิดขึ้น จะทำให้หยดของวัฏภาคมีขนาดเล็กได้ง่ายและมีพื้นที่ผิวสัมผัสได้มากขึ้น จึงช่วยลดปัญหาเรื่องการถ่ายเทมวล [43] และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่นที่ใช้ในการสกัดแล้ว ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคให้ค่าความจุ throughput และได้ผลสูงสุด ในขณะที่ค่าใช้จ่ายด้านแรงงานและพลังงานมีค่าต่ำสุด [54]

Tone Agasøster (1998) [58] : ได้นำระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคมาใช้ในการเตรียมตัวอย่างก่อนนำไปทำการตรวจวัดด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูงเพื่อวิเคราะห์ปริมาณยาในเลือด ทำการสกัดโดยใช้เลือด 500 มิลลิลิตร เติมลงใน PEG 300 จำนวน 2 กรัม และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 18 กรัม ทำให้วัฏภาคผสมกันและเมื่อเกิดการแยกเฟสอย่างสมบูรณ์ นำตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร มากรองและฉีดเข้าไปโดยตรงในระบบลิควิด โครมาโทกราฟี เปรียบเทียบกับการ X-ray ซึ่งให้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (RSD) ของ iohexol เท่ากับ 2.0 เปอร์เซ็นต์ และ 1.2 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของ iohexol ตามลำดับ

Nellie Gulyaeva และคณะ(2000) [59] : ได้ทำการศึกษาการแยกสารประกอบอินทรีย์ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของยารักษาโรคต่าง ๆ ทำการทดลองโดยใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคซึ่งประกอบด้วย dextran-polyethylene glycol (Dex-PEG) และ 0.15 M NaCl ใน 0.01 M sodium phosphate buffer pH 7.3 และใน octanol-buffer (0.15 M NaCl ใน 0.01 M sodium phosphate buffer pH 7.3) ทำการศึกษาความเป็นไปได้ในการแยกสารในระบบนี้ด้วย dimethyl sulfoxide และศึกษาผลของตัวทำละลายต่อการแยก ซึ่งสารประกอบที่เป็นไฮโดรโฟบิก จะประเมินค่าจากจำนวนที่สมดุลกับ methylene units จากผลการทดลอง พบว่า octanol-buffer ในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคนี้ สามารถแยกสารประกอบที่เป็นไฮโดรโฟบิกได้ดี

Alireza Salabat (2001) [52] : ทำการศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคซึ่งประกอบด้วยโพลิเอทิลีน ไกลคอล น้ำหนักโมเลกุล 6000 กับเกลือชนิดต่าง ๆ ซึ่งเกลือที่ใช้ทำการศึกษา คือ magnesium sulfate, sodium sulfate และ ammonium sulfate ความแรงของการ salting-out ของเกลือแต่ละชนิดเรียงลำดับ ตามประจุบวก ดังนี้ $Mg^{2+} > Na^{2+} > NH_4^+$ ซึ่งจากแบบจำลองทางสถิติที่พัฒนาขึ้น โดย Cabezas และคณะ จะช่วยทำนายสมดุลของระบบ แบบจำลองนี้จะรวมถึงผลของน้ำหนักโมเลกุลต่อพฤติกรรมของวัฏภาค และสามารถคำนวณผลการทดลองได้

I-Horng Pan และคณะ (2002) [60] : ประสบความสำเร็จในการสกัด geniposide จากลูก

พุด (gardenia fruit) โดยใช้ PE 62 (ethylene oxide-propylene oxide, 20:80) โพลีเอทิลีนไฮโดรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟอสเฟต และเอทานอล ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมพลวัตการแยก geniposide ในระบบ สารละลายน้ำสองวัฏภาค รวมทั้งทำการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อระบบสารละลายน้ำสอง วัฏภาค เช่น ความเข้มข้นของเกลือ ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ ปริมาตรของตัวอย่าง และการเติม เอทานอล ซึ่งจากผลการทดลอง พบว่า เมื่อความเข้มข้นของเกลือเพิ่มหรือความเข้มข้นของ PE62 ลดลงจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการแยก geniposide ในวัฏภาคของเกลือ องค์ประกอบของระบบ ที่เหมาะสม คือ PE62 5 เปอร์เซ็นต์ โพลีเอทิลีนไกลคอล 7.5 เปอร์เซ็นต์ และเอทานอล 10 เปอร์เซ็นต์ ผลผูกพัน 500 กรัม สามารถสกัดผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายได้ 39 กรัม (ในรูปของผง) มีความบริสุทธิ์ของ geniposide 77 เปอร์เซ็นต์ และสามารถนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้

Yoshifumi Akama และ Ahat Sali (2002) [61] : ทำการศึกษาระบบสารละลายน้ำสอง วัฏภาคที่ประกอบด้วย tetrabutylammonium bromide (TBAB) and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ เพื่อทำการเพิ่มความ เข้มข้นและแยกสารประกอบต่างๆ ซึ่งความเข้มข้นของ TBAB จะมีอยู่ในวัฏภาคบนมากกว่าวัฏภาค ล่าง และมีความจำเพาะเจาะจงต่อการสกัด Cr^{6+} จาก Cr^{3+} ซึ่ง Cr^{6+} จะถูกสกัดเข้ามาในวัฏภาคบนของ TBAB เกิด ion pair ของ $\text{HCrO}_4^- \cdot \text{TBAB}^+$ การสกัดจะมีประสิทธิภาพในช่วงความเป็นกรด-ด่าง 1- 5 และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในตัวอย่างที่เป็นน้ำเสียได้ ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน 3.2 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนไม่ต่ำกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ชัดจำกัดการตรวจพบเท่ากับ 60 กรัม ต่อลิตร ในตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร

Nobutaka Yoshikuni และคณะ (2005) [62] : ทำการศึกษาโดยใช้ polyethylene glycol (PEG) และ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ในการสกัดสารประกอบเชิงซ้อนของ Ni-dimethylglyoximate ซึ่งถูกเตรียม โดยการเติม sodium tartrate และ $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ที่ความเป็นกรด-ด่าง ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นนำมาทำ การสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค และวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารประกอบเชิงซ้อน จากวัฏภาคบนที่มีความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.26–2.1 ส่วนในล้าน ส่วนของนิกเกิล และนำวิธีการนี้มาสกัดนิกเกิลจากเหล็กกล้าที่เป็นวัสดุอ้างอิงรับรอง (certified reference material) ซึ่งตัวอย่างจะทำการเตรียมโดยเติม H_3PO_4 ลงไป ถ้ามีเหล็กหรือทองแดงมาก จะ กำจัดโดยทำให้ตกตะกอน และใช้ BaCO_3 ในการควบคุมความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่าง ซึ่งจาก การวิเคราะห์ให้ผลค่าดีเมื่อเทียบกับค่าที่ระบุไว้ของวัสดุอ้างอิงรับรอง

Qing Cao และคณะ (2007) [63] : ได้ทำการพัฒนาระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคซึ่ง ประกอบด้วย polyethylene glycol (PEG) และ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ สำหรับสกัดและตรวจวัด papaverin ใน pericarpium papaveris ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง ทำการศึกษาอิทธิพลที่มี ผลต่อการแยกวัฏภาค และกลไกการแยกวัฏภาค ในสภาวะที่เหมาะสม ประสิทธิภาพการสกัด papaverin สูงถึง 93–96 เปอร์เซ็นต์ และให้เปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนจากการเติมสารมาตรฐาน เท่ากับ 97–106 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ 1.8–2.5 เปอร์เซ็นต์ ชัดจำกัดของ การตรวจพบ เท่ากับ 2 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.1–10 กรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยระบบของเหลว หรือ solid-phase extraction พบว่าวิธีนี้มีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ราคาถูก และง่ายต่อการวิเคราะห์

S. Chethana และคณะ (2007) [64] : ได้นำระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคมาใช้ในการสกัด betalains จากน้ำตาล ทำการศึกษาผลของพารามิเตอร์ต่างๆ เช่น ความยาวของเส้นผุก สัดส่วนเชิงปริมาตรของวัฏภาค ความเข้มข้นของวัฏภาคที่มีผลต่อการแยก betalains ความแตกต่างของการแยก betalains และน้ำตาลในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคจะทำให้เส้นผุกเพิ่มขึ้น 34 เปอร์เซ็นต์ และมี betalains ประมาณ 70-75 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาล มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ในวัฏภาคบนและวัฏภาคล่าง

Shehong Li และคณะ (2007) [65] : ได้พัฒนาระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคซึ่งประกอบด้วย polyethylene glycol (PEG) และ K_2HPO_4 ร่วมกับโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC) ในการแยกและวิเคราะห์หมอร์ฟินในเซแอม โดยทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการแยก เช่น ชนิดและความเข้มข้นของเกลือ น้ำหนักโมเลกุลของ PEG อุณหภูมิ และ pH ซึ่งพบว่าชนิดของเกลือมีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดของหมอร์ฟินและสารอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับหมอร์ฟิน ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแรงไฮโดรโฟบิกของพันธะไฮโดรเจนมีอิทธิพลระหว่างสารที่ต้องการวิเคราะห์และวัฏภาค ซึ่งสำคัญมากต่อกระบวนการสกัด สภาวะที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ ประกอบด้วย PEG 2000 จำนวน 0.5 กรัม และ K_2HPO_4 จำนวน 1.5 กรัม และให้เปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนจากการเติมสารมาตรฐานเท่ากับ 91.7–100.3 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ 1.0–3.0 เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยระบบของเหลว หรือ วิธีการสกัดด้วยระบบของแข็ง (solid-phase extraction) พบว่า วิธีการนี้ราคาถูก กระบวนการสกัดไม่มีสารอินทรีย์และเป็นเทคนิคใหม่ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 สารเคมี

1. โพลีเอททิลีน ไกลคอล น้ำหนัก โมเลกุลเฉลี่ย 400 (PEG 400) ของบริษัท Fluka
2. โพลีเอททิลีน ไกลคอล น้ำหนัก โมเลกุลเฉลี่ย 1000 (PEG 1000) ของบริษัท

Panreac sintesis

3. โพลีเอททิลีน ไกลคอล น้ำหนัก โมเลกุลเฉลี่ย 4000 (PEG 4000) ของบริษัท Asia

Pacific Specialty Chemical Limited

4. แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) ความบริสุทธิ์ 99.5% ของบริษัท Rankem
5. ไดโทเทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) ความบริสุทธิ์ 99 % ของบริษัท

Fisher Scientific

6. แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) ความบริสุทธิ์ 99.4 % ของ

บริษัท J.T. Baker

7. โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) ความบริสุทธิ์ 99.5 % ของบริษัท Rankem
8. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความบริสุทธิ์ 97 % ของบริษัท Carlo Erba
9. กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ของบริษัท Carlo Erba
10. โซเดียมเบนโซเอต (CH_3COONa) ความบริสุทธิ์ 99 % ของบริษัท Fluka
11. น้ำปราศจากไอออน (Deionized water)

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis spectrophotometer) บริษัท

Analytical lab science รุ่น Jasco V-630

2. เครื่องชั่งทศนิยม 5 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BP21QD บริษัท Scientific

promotion

3. เครื่อง Magnetic stirrer รุ่น Fisherrand บริษัท Fisher scientific

4. เครื่อง Vortex mixer รุ่น Vortex Genie2 บริษัท Sciencetific Industries

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีกรวิจัย

3.2.1 การเตรียมสารละลาย

3.2.1.1 สารละลายโพลีเอททิลีนไกลคอล น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 400 1000 และ 4000 (PEG 400 1000 และ 4000) ที่เข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (%w/w)

ชั่งโพลีเอททิลีนไกลคอลแต่ละชนิด จำนวน 125 กรัม และเติมน้ำปราศจากไอออนลงไปจนได้สารละลายหนัก 250 กรัม

3.2.1.2 สารละลายเกลือชนิดต่าง ๆ คือ แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) ไดโทเทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่เข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (%w/w)

ชั่งเกลือแต่ละชนิด จำนวน 75 กรัม และเติมน้ำปราศจากไอออนลงไปจนได้สารละลายหนัก 250 กรัม

3.2.1.3 สารละลายโพลีเอททิลีนไกลคอล น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 400 1000 และ 4000 (PEG 400 1000 และ 4000) ที่เข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (%w/v)

ชั่งโพลีเอททิลีนไกลคอลแต่ละชนิด จำนวน 125 กรัม แล้วปรับปริมาตรจนครบ 250 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.2.1.4 สารละลายเกลือชนิดต่าง ๆ คือ แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) ไดโทเทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่เข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (%w/v)

ชั่งเกลือแต่ละชนิด จำนวน 125 กรัม แล้วปรับปริมาตรจนครบ 250 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.2.1.5 สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้นเข้มข้น 6 โมลาร์

ตวงสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (Conc.HCl) จำนวน 125 มิลลิลิตร เทลงในบีกเกอร์ซึ่งบรรจุน้ำปราศจากไอออนอยู่ 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรสารละลายจนครบ 250 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.2.1.6 เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 6 โมลาร์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 60 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนในบีกเกอร์ แล้วปรับปริมาตรสารละลายจนครบ 250 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.2.1.7 สารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอทเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 100 มิลลิลิตร

ซึ่งสารมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท ให้ได้น้ำหนักแน่นอนใกล้เคียง 1.0000 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนในบีกเกอร์ แล้วปรับปริมาตรสารละลายจนครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.2.2 การศึกษาแผนภาพวัฏภาคของการเกิดระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

การศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคของ โพลีเอททิลีน ไกลคอลไกลีออล และน้ำ ด้วยวิธีการไทเทรตแบบ turbidometry เพื่อหาเส้นแบ่งวัฏภาค (binodal curve)

1. ซึ่งสารละลายไกลีออล ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (%w/w) และสารละลายโพลีเอททิลีนไกลคอล ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (%w/w) ให้มีน้ำหนักของสารละลายแต่ละชนิด ดังตารางที่ 3.1 ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันจะได้สารละลายที่มีลักษณะขุ่น

ตารางที่ 3.1 น้ำหนักของสารละลายไกลีออลและสารละลายโพลีเอททิลีนไกลคอลสำหรับเตรียมระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

หลอดที่	น้ำหนัก (กรัม)		น้ำหนักรวม (กรัม)
	สารละลายไกลีออล	สารละลายโพลีเอททิลีนไกลคอล	
1	0.5	4.5	5.0
2	1.5	3.5	5.0
3	2.5	2.5	5.0
4	3.5	1.5	5.0
5	4.5	0.5	5.0

2. เติมน้ำปราศจากไอออนทีละน้อย ผสมให้เข้ากันจนได้สารละลายที่มีลักษณะใส

3. นำหลอดทดลองไปชั่งน้ำหนักอีกครั้ง เพื่อหาน้ำหนักของน้ำปราศจากไอออนที่เติมลงไป

4. คำนวณหาความเข้มข้นของ โพลีเอททิลีนไกลคอล และไกลีออลที่มีในสารละลายนั้น เพื่อเป็นค่าหนึ่งบนเส้นแบ่งวัฏภาค จากนั้นเปลี่ยน โพลีเอททิลีนไกลคอลที่น้ำหนักโมเลกุลต่าง ๆ และชนิดของไกลีออล เพื่อหาจุดอื่นๆ ที่อยู่บนเส้นแบ่งวัฏภาคต่อไป

3.2.3 การศึกษาาระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

3.2.3.1. การศึกษาเพื่อหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 50, 100, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง

2. ปิเปตสารละลาย PEG (50 %w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายเกลือ (50 %w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ใส่ผสมลงในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์

3. นำสารละลายวัฏภาคบนซึ่งมีเบนโซเอทที่ถูกสกัดเข้าสู่ชั้นของโพลิเอทิลีนไกลคอลไปสแกนสเปกตรัมเพื่อหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ ในช่วงความยาวคลื่น 200-400 นาโนเมตร และเลือกวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เหมาะสม โดยอาศัย baseline technique

3.2.3.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve)

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 25, 50, 100, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง

2. ปิเปตสารละลาย PEG (50 %w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายเกลือ (50 %w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ใส่ผสมลงในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์

3. นำสารละลายวัฏภาคบนซึ่งมีเบนโซเอทที่ถูกสกัดเข้าสู่ชั้นของโพลิเอทิลีนไกลคอลไปวิเคราะห์หาปริมาณเบนโซเอท ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer โดยอาศัย baseline technique จากสมการ $Abs_{269.5} - [(Abs_{265.5} + Abs_{275.5})/2]$ ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้แต่ละระดับความเข้มข้น

4. พล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้น (แกน X) และค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ (แกน Y) และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination, r^2)

3.2.4 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแยกด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

โดยพิจารณาประสิทธิภาพการสกัดสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ซึ่งผ่านกระบวนการสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค และนำสารละลายวัฏภาคบนไปวิเคราะห์หาปริมาณเบนโซเอท ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer โดยอาศัย baseline technique จากสมการ $Abs_{269.5} - [(Abs_{265.5} + Abs_{275.5})/2]$ ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้แต่ละระดับความเข้มข้น สามารถหาประสิทธิภาพการสกัด (Extraction efficiency, %E) โดยคำนวณจาก

$$E = V_1 c_1 / m_2$$

เมื่อ	V_1	=	ปริมาตรของวัฏภาคบน (mL)
	c_1	=	ความเข้มข้นของโซเดียมเบนโซเอทในวัฏภาคบน (mg/L)
	m_2	=	ปริมาณของโซเดียมเบนโซเอทที่เติมลงไป (mL. mg/L)

3.2.4.1 การศึกษาผลของน้ำหนักโมเลกุลโพลีเอททิลีนไกลคอล

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 50, 100, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง
2. ปิเปตสารละลาย PEG 1000 (50 %w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายเกลือ (50 %w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ใส่ผสมลงในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์
3. นำสารละลายวัฏภาคบนซึ่งมีเบนโซเอทที่ถูกสกัดเข้าสู่ชั้นของโพลีเอททิลีนไกลคอลไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 265.5 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร
4. จากนั้นทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1-3 โดยเปลี่ยนน้ำหนักโมเลกุลของ PEG เป็น 4000 และคำนวณหาประสิทธิภาพการสกัด

3.2.4.2 การศึกษาผลของชนิดเกลือ

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 50, 100, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง
2. ปิเปตสารละลาย PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 (50 %w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต (50 %w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ใส่ผสมลงในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์
3. นำสารละลายวัฏภาคบนซึ่งมีเบนโซเอทที่ถูกสกัดเข้าสู่ชั้นของโพลีเอททิลีนไกลคอลไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 265.5 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร
4. จากนั้นทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1-3 โดยเปลี่ยนชนิดของเกลือเป็นสารละลายเกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และคำนวณหาประสิทธิภาพการสกัด

3.2.4.3 การศึกษาผลของปริมาณโพลีเอททิลีนไกลคอล

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง
2. ปิเปตสารละลาย PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 (50 %w/v) โดยแปรค่าปริมาณเป็น 4.0, 5.0, 6.0, 8.0 และ 10.0 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายเกลือ (50 %w/v) ปริมาณคงที่ 5.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตร ใส่ผสมลงในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์

3. นำสารละลายวัฏภาคบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 265.5 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และคำนวณหาประสิทธิภาพการสกัด

3.2.4.4 การศึกษาผลของปริมาณเกลือ

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง

2. ปิเปตสารละลาย PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 (50 %w/v) ปริมาณคงที่ 5.0 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายเกลือ (50 %w/v) โดยแปรค่าปริมาณเป็น 4.0, 5.0, 6.0, 8.0 และ 10.0 มิลลิลิตร ใส่ผสมลงในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์

3. นำสารละลายวัฏภาคบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 265.5 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และคำนวณหาประสิทธิภาพการสกัด

3.2.4.5 การศึกษาผลของความเข้มข้นของกรด-ด่าง

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 และ 600 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยให้ความเข้มข้นของกรดและเบสเป็น 0.02, 0.04, 0.06, 0.5, และ 1.0 โมลาร์

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ปิเปตสารละลาย PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 (50 %w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายเกลือ (50 % w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์

3. นำสารละลายวัฏภาคบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 265.5 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร

4. เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของกรดและเบสต่าง ๆ

3.2.4.6 การศึกษาผลรบกวนของโพแทสเซียมซอร์เบท และโซเดียมซัลไฟต์

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายโพแทสเซียมซอร์เบท ความเข้มข้นในช่วง 50,100, 200 และ400 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ ความเข้มข้นในช่วง 5, 10, 15 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (ไม่มีสารรบกวน) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ปิเปตสารละลาย PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 (50 %w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายเกลือ (50 %w/v) จำนวน 5.0

มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์

3. นำสารละลายวัฏภาคบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 265.5 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำ 10 ครั้ง เพื่อหาค่า $\pm 3SD$

4. ปิเปตสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีสารรบกวนความเข้มข้นต่าง ๆ จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ปิเปตสารละลาย PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 (50 %w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายเกลือ (50 %w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์

5. นำสารละลายวัฏภาคบนค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 265.5 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และคำนวณค่าการดูดกลืนแสง

4. เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีสารรบกวนจากสารละลายโพแทสเซียมซอร์เบท และสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอทที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (ไม่มีสารรบกวน)

3.2.5 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

นำสถานะที่เหมาะสมจากผลการทดลอง มาดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของการทดสอบหาปริมาณเบนโซเอท ดังนี้

3.2.5.1 การทดสอบพิสัยและความเป็นเส้นตรง (Range and Linearity)

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 25, 50, 100, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารละลายเบสจืด จำนวน 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

2. ปิเปตสารละลาย PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 (50 %w/v) จำนวน (5.0 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายเกลือ (50 % w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์ (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)

3. นำสารละลายวัฏภาคบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 265.5 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร

4. หาค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้แต่ละระดับความเข้มข้น พลอตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (แกน X) และค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้ (แกน Y) และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination, r^2)

3.2.5.2 ขีดจำกัดในการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)

สามารถหาได้โดยการคำนวณจากกราฟมาตรฐาน โดยใช้สูตร

$$y = y_b + 3 S_B$$

เมื่อ y_b = จุดตัดแกน $y(a)$ ที่คำนวณได้จากสมการเส้นถดถอย
 S_B = ค่า standard error of estimate, $s_{y/x}$

3.2.5.3 ขีดจำกัดในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of quantification, LOQ)

สามารถหาได้โดยการคำนวณจากกราฟมาตรฐาน โดยใช้สูตร

$$y = y_b + 10 S_B$$

เมื่อ y_b = จุดตัดแกน $y(a)$ ที่คำนวณได้จากสมการเส้นถดถอย
 S_B = ค่า standard error of estimate, $s_{y/x}$

3.2.5.4 ความเที่ยง (Precision)

- เตรียมสารละลายตัวอย่าง และสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ให้มีความเข้มข้น 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ปิเปตสารละลายตัวอย่าง สารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน และสารละลายเบสค์ จำนวน 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
- ปิเปตสารละลาย PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 (50 %w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายเกลือ (50 % w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์ (ทำซ้ำ 6 ครั้ง)
- นำสารละลายวัฏภาคบน ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 265.5 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร
- หาค่าเฉลี่ยของปริมาณเบนโซเอทที่คำนวณได้ และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (%RSD)

สำหรับการทดสอบความเที่ยง จะประเมินความสามารถในการทดสอบซ้ำ (repeatability) โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Relative standard deviation, %RSD) ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นที่เติมลงไป

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 \bar{x} = ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์

โดยใช้เกณฑ์การประเมินด้วย HORRAT โดยนำค่าความเข้มข้นที่ให้ผล %Recovery มาคำนวณหา %RSD, โดยใช้ Horwitz's equation

สำหรับ Repeatability $RSD_r = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)}$

RSD_r = ค่า RSD จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเดียวกัน (repeatability); จัดเป็น Predicted RSD

C = Concentration ratio (ไม่มีหน่วย)

3.2.5.5 ความแม่นยำ (Accuracy)

- เตรียมสารละลายตัวอย่าง และสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท ให้มีความเข้มข้น 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร
- ปิเปตสารละลายตัวอย่าง สารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน และสารละลายเบสค์ จำนวน 5 มิลลิตร ลงในหลอดทดลอง
- ปิเปตสารละลาย PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 (50 %w/v) จำนวน 5.0 มิลลิตร และปิเปตสารละลายเกลือ (50 % w/v) จำนวน 5.0 มิลลิตร ในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์ (ทำซ้ำ 6 ครั้ง)
- นำสารละลายวัฏภาคบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 265.5 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร และคำนวณหาปริมาณเบนโซเอท
- หาค่าเฉลี่ยของปริมาณเบนโซเอทที่คำนวณได้ จากนั้นประเมินความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ในรูปของการหาร้อยละการกลับคืน (% Recovery) ซึ่งสามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\% \text{ Recovery} = \frac{(C_1 - C_2) \times 100}{C_3}$$

C_1 = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน

C_2 = ความเข้มข้นของตัวอย่าง (Unfortified sample)

C_3 = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ยืมเอกสารนี้ไปใช้ควรปฏิบัติตามเงื่อนไขการยืม
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.6 การศึกษาหาชนิดและความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสมต่อการเตรียมตัวอย่าง

1. นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว ได้แก่ เส้นก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็ก เส้นใหญ่ ขนมหุ้น มาหั่นให้มีขนาดเล็กๆ ชั่งตัวอย่างละ 20 กรัม ลงในกระบอกตวง
2. เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก หรือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในตัวอย่างให้มีความเข้มข้นในช่วง 1.0 - 6.0 โมลาร์ ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ครบ 100 มิลลิลิตร
3. สังเกตการละลายของตัวอย่าง รวมทั้งระยะเวลาที่ใช้ในการละลายตัวอย่าง จนกระทั่งตัวอย่างสามารถละลายได้หมด จดบันทึกผลการทดลอง
4. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง จำนวน 25 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน
5. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ปิเปตสารละลาย PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 (50 % w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต (50 % w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์
6. สังเกตการแยกวัฏภาคว่าสารละลายตัวอย่างที่เตรียมด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกหรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นใด สามารถเกิดการแยกวัฏภาคได้ดี และมีปริมาตรของวัฏภาคบนเพียงพอที่จะนำไปวิเคราะห์ต่อไปได้

3.2.7 การวิเคราะห์หาปริมาณโซเดียมเบนโซเอท ในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว

1. นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว ได้แก่ เส้นก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็ก เส้นใหญ่ ขนมหุ้น มาหั่นให้มีขนาดเล็กๆ ชั่งตัวอย่างละ 20 กรัม ลงในกระบอกตวง
2. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ครบ 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที พร้อมทั้งคนสารละลายตัวอย่างเป็นครั้งคราว เพื่อให้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ผสมกับตัวอย่างได้ดีขึ้น
3. ปิเปตสารละลายตัวอย่างจำนวน 25 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน
4. ปิเปตสารละลายตัวอย่างจำนวน 5.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ปิเปตสารละลาย PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 (50 % w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต (50 % w/v) จำนวน 5.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์
5. นำสารละลายวัฏภาคบนไปวิเคราะห์หาปริมาณเบนโซเอท ด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer และเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐานของ AOAC ข้อ 47.3.03

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีมาตรฐานของ AOAC ข้อ 47.3.03

วิธีการสร้างกราฟมาตรฐานของกรดเบนโซอิก

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิก (Stock standard solution) ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ในตัวทำละลายอีเทอร์
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิก (Stock standard solution) มา 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร แล้วปรับปริมาตรจนครบ 50 มิลลิลิตร ด้วยตัวทำละลายอีเทอร์ สารละลายที่ได้มีความเข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100 และ 120 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ
3. นำสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ไปสแกนสเปกตรัมความยาวคลื่นในช่วง 250 – 360 นาโนเมตร เพื่อหาตำแหน่งการดูดกลืนแสง
4. นำสารละลายมาตรฐานข้อ 2 วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 267.5, 272 และ 276.5 นาโนเมตร และคำนวณหาปริมาณการดูดกลืนแสง CE โดยอาศัย Baseline technique คือ

$$CE = CG - \left(\frac{BF + DH}{2} \right)$$

เมื่อ

CE	=	ค่าการดูดกลืนแสง
CG	=	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 272 นาโนเมตร
BF	=	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 267.5 นาโนเมตร
DH	=	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 276.5 นาโนเมตร

5. พล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้น (แกน X) และค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้ (แกน Y) และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination, r^2)

วิธีการเตรียมตัวอย่างและวิธีการตรวจวัดปริมาณกรดเบนโซอิก

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักแน่นอน 10.0 กรัม หรือปิเปตตัวอย่างให้มีปริมาตรแน่นอน 10.0 มิลลิลิตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะของตัวอย่าง
2. เจือจางตัวอย่างให้มีปริมาตรครบ 200 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายอิมัลชันของโซเดียมคลอไรด์ ซึ่งจะช่วยตกตะกอนสารอาหารที่ไม่ต้องการออกไป สำหรับกรดเบนโซอิก หรือโซเดียมเบนโซเอท ยังคงละลายอยู่ในสารละลาย เพราะใช้สารละลายเกลืออิมัลชันของเกลือแอมโมเนียมมาก
3. ทำสารละลายตัวอย่างให้เป็นกรดด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นและทดสอบความเป็นกรดด้วยกระดาษลิตมัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. สกัดสารละลายตัวอย่างด้วยอีเทอร์ 4 ครั้ง โดยใช้ปริมาตร 70, 50, 40 และ 30 มิลลิลิตร ตามลำดับ

5. นำสารละลายทั้งหมดที่สกัดด้วยอีเทอร์รวมกัน และล้างด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้นเท่ากับ 1+1000 จำนวน 3 ครั้ง โดยใช้ปริมาตร 50, 40 และ 30 มิลลิลิตร ตามลำดับ และทิ้งสารละลายกรดที่ใช้ล้างทิ้งไป

6. นำสารละลายที่สกัดด้วยอีเทอร์ จากข้อ 5 ใสลงในขวดวัดปริมาตร แล้วปรับปริมาตรจนครบ 200 มิลลิลิตร ด้วยอีเทอร์

7. นำสารละลายในข้อ 6 วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 267.5, 272 และ 276.5 นาโนเมตร และคำนวณหาปริมาณการดูดกลืนแสง โดยอาศัย Baseline technique

8. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน กรดเบนโซอิก ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนจากกราฟมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาปริมาณกรดเบนโซอิก หากต้องการคำนวณให้อยู่ในรูปเบนโซเอท สามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\text{กรดเบนโซอิก} \times 1.18 = \text{โซเดียมเบนโซเอท}$$

บทที่ 4

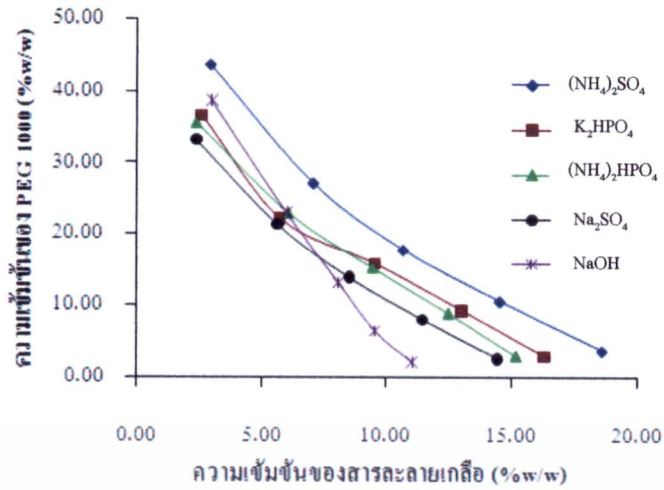
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคซึ่งมีองค์ประกอบของโพลีเอททิลีน ไกลคอล (PEG) กับเกลืออนินทรีย์ เพื่อสกัดเบนโซเอทจากผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว และตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี ซึ่งการทดลองหาภาวะที่เหมาะสมของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคในการสกัดเบนโซเอท มีขั้นตอน 2 หลัก คือ ขั้นตอนแรกเป็นการศึกษาหาแผนภาพวัฏภาค (phase diagram) ของระบบโพลีเอททิลีนไกลคอล (PEG) - เกลืออนินทรีย์-น้ำ ขั้นตอนที่สองเป็นการศึกษาระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค เพื่อให้ได้ภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดเบนโซเอทโดยศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด

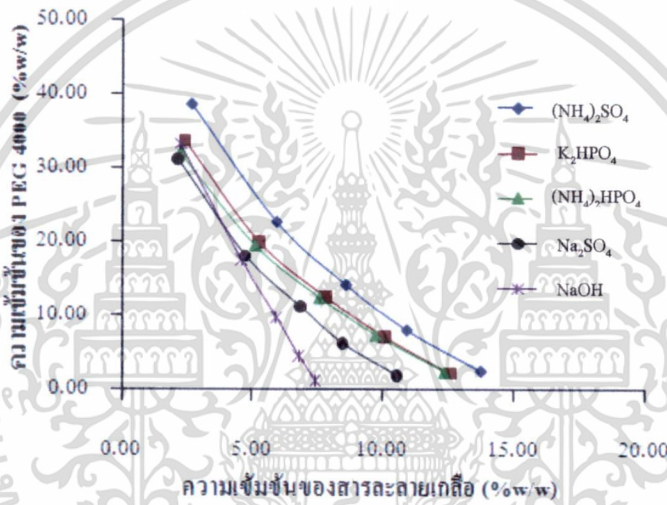
4.1 ผลการศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

การศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคของโพลีเอททิลีน ไกลคอล เกลืออนินทรีย์ และน้ำ ด้วยวิธีการไทเทรตแบบ turbidometry ซึ่งเป็นการไทเทรตสารละลายสองวัฏภาค (มีลักษณะขุ่น) ให้เป็นสารละลายวัฏภาคเดียว (มีลักษณะใส) เพื่อหาเส้นแบ่งวัฏภาค ทำการแปรค่าโพลีเอททิลีนไกลคอลน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 400 1000 และ 4000 และชนิดของเกลือ 5 ชนิด คือ แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ซึ่งในแต่ละภาวะการทดลองจะทำการศึกษาจุดที่เป็นเส้นแบ่งวัฏภาค (binodal curve) ทั้งหมด 5 จุด รูปที่ 4.1 แสดงแผนภาพวัฏภาคของระบบ PEG 1000 - เกลืออนินทรีย์ - น้ำ ที่ได้จากการทดลอง

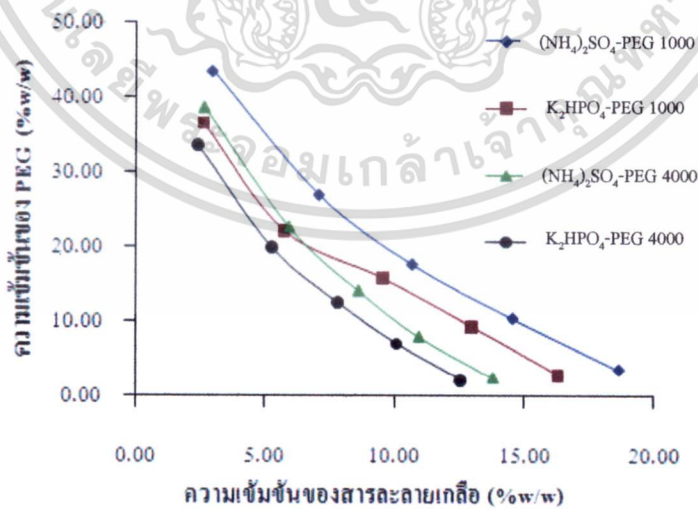
จากการศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค พบว่า ในวัฏภาคบนจะมีองค์ประกอบของ PEG อยู่มาก ในขณะที่วัฏภาคล่างจะมีองค์ประกอบของเกลืออนินทรีย์ชนิดต่าง ๆ อยู่มาก ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลมีผลต่อความหนืดและการเกิดวัฏภาค ความหนืดของโพลีเอททิลีนไกลคอลจะแปรผันตามน้ำหนักโมเลกุล เมื่อน้ำหนักโมเลกุลของโพลีเอททิลีนไกลคอลเพิ่มขึ้นจะทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น จากการทดลอง พบว่า ในภาวะการทดลองเหมือนกัน โพลีเอททิลีนไกลคอลน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 400 ไม่สามารถทำให้เกิดการแยกวัฏภาคได้ เนื่องจากโพลีเอททิลีนไกลคอลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำมีโครงสร้างโมเลกุลขนาดเล็กและมีสภาพขั้วที่สามารถมีแรงกระทำกับโมเลกุลของน้ำได้ดีกว่าโพลีเอททิลีนไกลคอลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลของโพลีเอททิลีนไกลคอลจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่กำหนดลักษณะของวัฏภาค [42]



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 4.1 แสดงแผนภาพวัฏภาคของระบบ PEG 1000- เกลืออนินทรีย์-น้ำ (ก) แผนภาพวัฏภาคของ

ระบบ PEG 4000- เกลืออนินทรีย์-น้ำ (ข) และแผนภาพวัฏภาคของระบบ PEG – เกลือ

อนินทรีย์-น้ำ (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลของโพลีเอททิลีนไกลคอลที่มีผลต่อการเกิดวิกฤต พบว่า เมื่อน้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้นจะทำให้ต้องการความเข้มข้นของเกลือลดลงเพื่อให้เกิดการแยกวิกฤต [45] รวมทั้งทำให้เส้นแบ่งวิกฤตจะไม่สมมาตร

โดยการศึกษาแผนภาพวิกฤตของระบบที่ประกอบด้วยโพลีเอททิลีนไกลคอลและเกลืออนินทรีย์ พบว่าความสามารถของเกลืออนินทรีย์ต่อการแยกวิกฤตมีลำดับ ดังนี้ $\text{Na}_2\text{SO}_4 > (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 \approx \text{K}_2\text{HPO}_4 > (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shehong Li และคณะ (2007) [65] เมื่อเปรียบเทียบเกลือที่มีประจุบวกเป็นแอมโมเนียมไอออนเหมือนกัน พบว่าเมื่อเกลือนั้นมีไอออนลบเป็น HPO_4^{2-} ให้ประสิทธิภาพของการเกิดการแยกเป็นสองวิกฤตดีกว่าเมื่อไอออนลบเป็น SO_4^{2-} เมื่อเปรียบเทียบเกลือที่มีไอออนลบเป็น HPO_4^{2-} เหมือนกัน พบว่าเกลือที่มีประจุบวกเป็น NH_4^+ และ K^+ จะให้ประสิทธิภาพของการเกิดการแยกเป็นสองวิกฤตใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบเกลือที่มีไอออนลบเป็น SO_4^{2-} เหมือนกัน พบว่าเกลือที่มีประจุบวกเป็น Na^+ จะให้ประสิทธิภาพของการเกิดการแยกเป็นสองวิกฤตดีกว่าเกลือที่มีประจุบวกเป็น NH_4^+ โดยที่เกลือแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเกิดการไฮโดรไลซิสได้ง่ายและจะปลดปล่อยแก๊สแอมโมเนียออกมา ส่วนเกลือโซเดียมซัลเฟตละลายน้ำได้น้อย (19.5 กรัมต่อน้ำ 100 กรัม ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ไม่เหมาะต่อการเกิดระบบสารละลายน้ำสองวิกฤต เพราะมีเกิดตะกอนสีขาวขึ้น ในขณะที่เกิดการแยกวิกฤต ดังนั้นการทดลองนี้จึงเลือกใช้ระบบสารละลายน้ำสองวิกฤตที่ประกอบด้วยโพลีเอททิลีนไกลคอลน้ำหนักโมเลกุล 1000 และ 4000 กับเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต และเกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต เพื่อใช้ในการศึกษาในขั้นต่อไป

4.2 ผลการศึกษาาระบบสารละลายน้ำสองวิกฤต

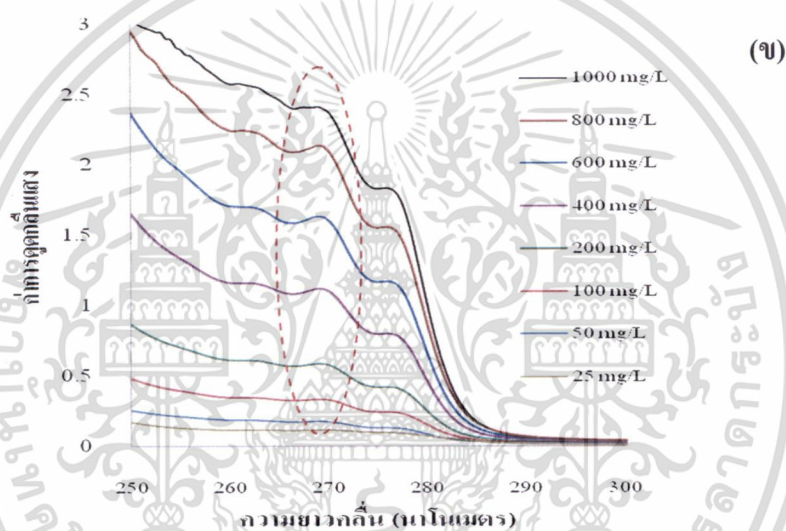
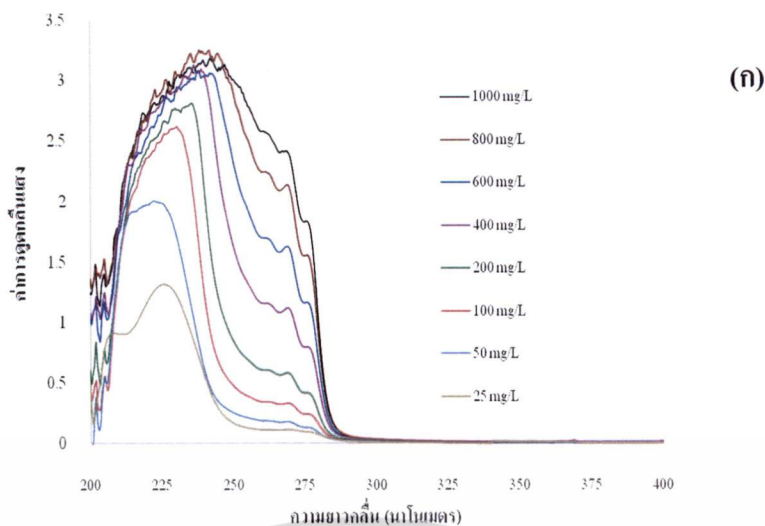
4.2.1. ผลการศึกษาเพื่อหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

ทำการทดลองเพื่อหาค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ โดยอาศัย baseline technique ซึ่งทำการสแกนสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 200-400 นาโนเมตร ของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทที่ความเข้มข้น 50 100 200 400 600 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่สกัดได้ในวิกฤตบนซึ่งเป็นชั้นของโพลีเอททิลีนไกลคอลเปรียบเทียบสารละลายเบสค์ คือ น้ำปราศจากไอออนที่ผ่านกระบวนการสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวิกฤต

จากสเปกตรัมที่ได้ในรูปที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าสารละลายโซเดียมเบนโซเอทในชั้นโพลีเอททิลีนไกลคอลให้ค่าการดูดกลืนแสงและเป็นพีคในช่วงความยาวคลื่น 265.5 ถึง 275.5 นาโนเมตร โดยมียอดพีคที่ความยาวคลื่น 269.5 นาโนเมตรในการทดลองนี้เลือกใช้ baseline technique เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทในชั้นโพลีเอททิลีนไกลคอล โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงเป็นไปตามสมการ $\text{Abs}_{269.5} - [(\text{Abs}_{265.5} + \text{Abs}_{275.5})/2]$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงสเปกตรัมของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอทในชั้น โพลีเอททิลีน ไกลคอลที่ได้จากการสแกนสเปกตรัมในช่วงความยาวคลื่น 200-400 นาโนเมตร (ก) และช่วงความยาวคลื่น 250-300 นาโนเมตร (ข)

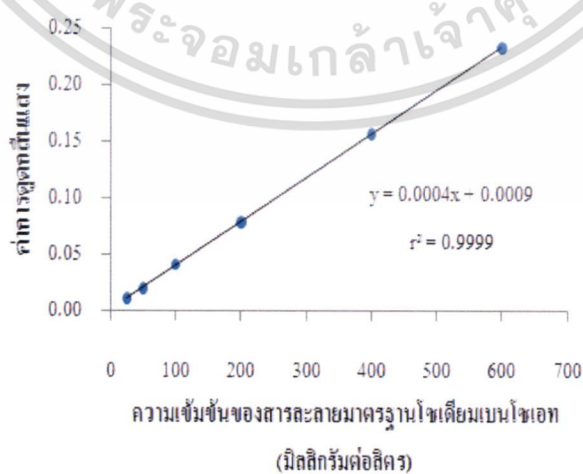
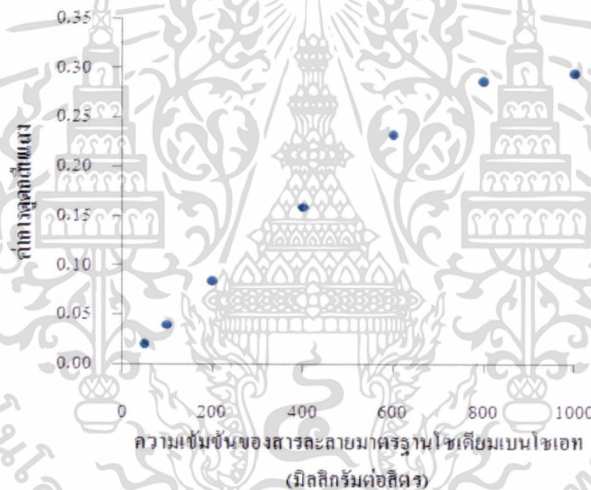
4.2.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve)

ทำการสกัดสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท ในช่วงความเข้มข้น 50, 100, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้สารละลายมาตรฐาน 5.0 มิลลิลิตร ผสมกับ สารละลาย PEG (50 % w/v) 5.0 มิลลิลิตร และสารละลายเกลือ (50 % w/v) 5.0 มิลลิลิตร เมื่อถึง วัฏจักรเกิดการแยกชั้นของวัฏภาคสมบูรณ์แล้ว นำสารละลายวัฏภาคส่วนบนไปทำการวัดค่าการ ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 265.5, 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร คำนวณหาค่าการดูดกลืนแสง ของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทแต่ละความเข้มข้น ตามสมการ $Abs_{269.5} - [(Abs_{265.5} + Abs_{275.5})/2]$

ดังแสดงในตารางที่ 4.1 สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ ของสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของโซเดียมเบนโซเอท (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้
25	0.0109 ± 0.0002
50	0.0197 ± 0.0005
100	0.0409 ± 0.0001
200	0.0738 ± 0.0004
400	0.1570 ± 0.0008
600	0.2333 ± 0.0023
800	0.2832 ± 0.1570
1000	0.3042 ± 0.2334



รูปที่ 4.3 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอทในช่วงความเข้มข้น
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
25-1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (ก) และช่วงความเข้มข้น 25-600 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข)
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานที่พลอตระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท (แกน X) และค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ (แกน Y) และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination, r^2) ได้กราฟมาตรฐานแสดงในรูปที่ 4.3 จากผลการทดลองได้กราฟมาตรฐานของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทในช่วงความเข้มข้น 25-600 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีสมการเส้นตรง คือ $y = 0.0004x + 0.0009$ และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (r^2) เท่ากับ 0.9999

4.3 ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการแยกด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

ทำการศึกษาประสิทธิภาพการสกัดสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ซึ่งพฤติกรรมของการแยกของตัวถูกละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคจะขึ้นอยู่กับลักษณะของระบบ เช่น ความเข้มข้นของเกลือ ชนิดของเกลือ น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ และขึ้นอยู่กับคุณสมบัติการไฮเดรชันของตัวถูกละลาย ซึ่งการสกัดของตัวถูกละลายจะเพิ่มขึ้นเมื่อการไฮเดรชันของตัวถูกละลายลดลง [47-50] ถ้าในระบบเกิดปฏิกิริยาไฮโดรโฟบิกระหว่างเบนโซเอทและโพลีเอททิลีนไกลคอล การสกัดเบนโซเอทจะให้ประสิทธิภาพการสกัดสูง และถ้าในระบบเกิดพันธะไฮโดรเจนของเบนโซเอทและน้ำ ประสิทธิภาพการสกัดจะต่ำ ซึ่งเมื่อโซโพรพิลของเบนโซเอทจับโซโพรพิลของโพลีเอททิลีนไกลคอลได้มากขึ้น แรงยึดเหนี่ยวของพันธะไฮโดรเจนที่จับกับน้ำน้อยลง ดังนั้นจึงทำให้เบนโซเอทง่ายที่เข้าไปอยู่ในชั้นของโพลีเอททิลีนไกลคอล

4.3.1 ผลการศึกษาผลของน้ำหนักโมเลกุลโพลีเอททิลีนไกลคอล

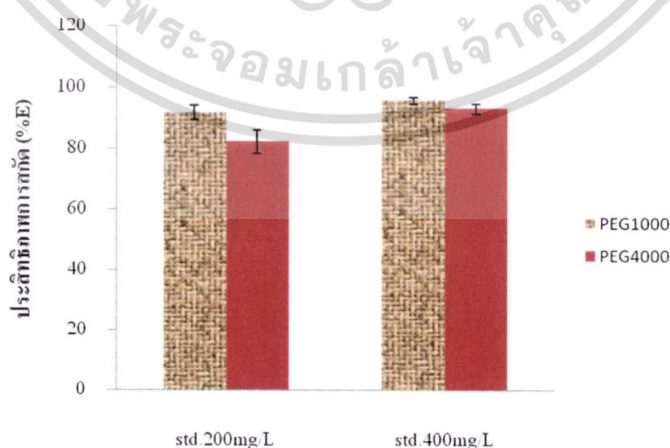
ทำการสกัดสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ในช่วงความเข้มข้น 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้สารละลายมาตรฐาน 5.0 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย PEG 1000 (50 %w/v) 5.0 มิลลิลิตร และสารละลายเกลือ (50 %w/v) 5.0 มิลลิลิตร ทำการทดลองซ้ำ โดยเปลี่ยนน้ำหนักโมเลกุลเป็น 4000 เมื่อถึงไว้นั้นเกิดการแยกชั้นของวัฏภาคสมบูรณ์ นำสารละลายวัฏภาคส่วนบนไปทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 265.5 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร คำนวณหาค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอท แต่ละความเข้มข้น และคำนวณหาประสิทธิภาพการสกัด ผลของน้ำหนักโมเลกุลโพลีเอททิลีนไกลคอลต่อประสิทธิภาพการสกัด ดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.4 - 4.5

ตารางที่ 4.2 แสดงผลของน้ำหนักโมเลกุลโพลีเอททิลีนไกลคอลและชนิดสารละลายเกลือต่อประสิทธิภาพการสกัด (n=6)

น้ำหนักโมเลกุล โพลีเอททิลีนไกลคอล	ชนิด สารละลาย เกลือ	ประสิทธิภาพการสกัด (%E)	
		ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท	
		200 มิลลิกรัมต่อลิตร	400 มิลลิกรัมต่อลิตร
1000	(NH ₄) ₂ SO ₄	94.36 ± 0.26	103.21 ± 0.78
4000	(NH ₄) ₂ SO ₄	68.87 ± 1.32	95.14 ± 0.31
1000	K ₂ HPO ₄	92.04 ± 2.32	92.04 ± 3.79
4000	K ₂ HPO ₄	82.42 ± 0.98	82.42 ± 1.58



รูปที่ 4.4 แสดงผลของน้ำหนัก โมเลกุล โพลีเอททิลีน ไกลคอลต่อประสิทธิภาพการสกัดเบนโซเอท โดยใช้สารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต



รูปที่ 4.5 แสดงผลของน้ำหนัก โมเลกุล โพลีเอททิลีน ไกลคอลต่อประสิทธิภาพการสกัดเบนโซเอท โดยใช้สารละลายเกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

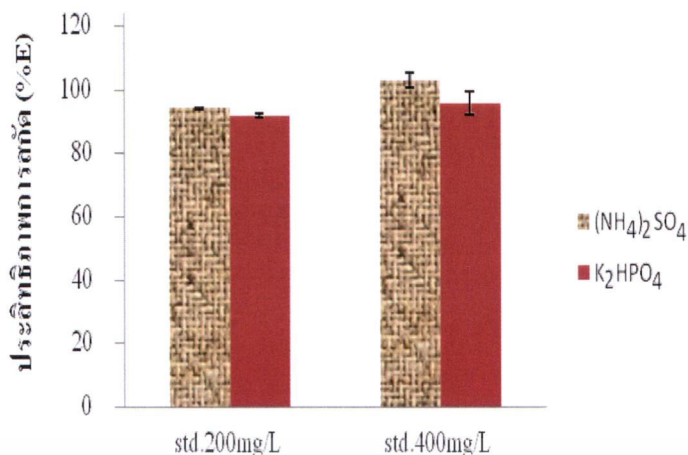
จากรูปที่ 4.4 – 4.5 แสดงให้เห็นว่าโพลีเอททิลีนไกลคอลน้ำหนักโมเลกุล 1000 (PEG 1000) ให้ประสิทธิภาพการสกัดสูงกว่าโพลีเอททิลีนไกลคอลน้ำหนักโมเลกุล 4000 (PEG 4000) ซึ่งโดยปกติแล้วน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์จะมีผลของต่อประสิทธิภาพการสกัด การกระจายตัวของไซโทโคร โฟบิกจะเพิ่มขึ้นเมื่อน้ำหนักโมเลกุลของโพลีเอททิลีนไกลคอลเพิ่มขึ้น ซึ่งแนวโน้มของผลดังกล่าวจะทำให้ประสิทธิภาพการสกัดสูงขึ้นเมื่อน้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม ในสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) ที่เกิดจากเบสอ่อนกับกรดแก่จะมีสถานะเป็นกรดทำให้เบนโซเอทอยู่ในรูปโมเลกุลกรดเบนโซอิกซึ่งสามารถเกิดเป็นไดเมอร์ได้ โมเลกุลของกรดเบนโซอิกที่เป็นไดเมอร์นั้นมีทั้งส่วนที่เป็นไซโคร โฟบิกและส่วนที่เป็นไฮโดรฟิลิกซึ่งน่าจะมีสภาพขั้วใกล้เคียงกันกับ PEG 1000 มากกว่า PEG 4000 โดยที่ PEG 4000 มีส่วนของสายไซโทโครคาร์บอนซึ่งเป็นส่วนของไซโคร โฟบิกยาวมากกว่า PEG 1000 ทำให้ PEG 4000 มีสภาพขั้วน้อยกว่า PEG 1000 ดังนั้น เบนโซเอทจึงถูกสกัดเข้าสู่ของสารละลาย PEG 1000 ได้ดีกว่าในสารละลาย PEG 4000 ส่วนสารละลายเกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) ที่เกิดจากเบสแก่กับกรดอ่อนจะมีสถานะเป็นเบส เบนโซเอทจะอยู่ในรูปเบนโซเอทไอออน ซึ่งจะถูกสกัดเข้าสู่ชั้นของโพลีเอททิลีนไกลคอลได้เหมือนกัน ดังนั้นไม่ว่าจะใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตหรือเกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตก็จะให้ผลการทดลองเหมือนกัน คือ การใช้ PEG 1000 ในการสกัดจะให้ประสิทธิภาพการสกัดดีกว่าการใช้ PEG 4000 โดยที่เมื่อน้ำหนักโมเลกุลของโพลีเอททิลีนไกลคอลเพิ่มขึ้นจะทำให้แนวโน้มของความหนืดของสารละลายพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น ซึ่งความหนืดที่เพิ่มขึ้นนี้อาจจะมีผลทำให้เบนโซเอทถูกสกัดเข้าไปในชั้นของสารละลายพอลิเมอร์ได้ยากขึ้น ดังนั้นการทดลองนี้ จึงเลือกใช้โพลีเอททิลีนไกลคอลน้ำหนักโมเลกุล 1000 เพื่อใช้ศึกษาในขั้นต่อไป

4.3.2 ผลการศึกษาผลของชนิดเกลือ

ทำการสกัดสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ในช่วงความเข้มข้น 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้สารละลายมาตรฐาน 5.0 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย PEG 1000 (50 % w/v) 5.0 มิลลิลิตร และสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต (50 % w/v) 5.0 มิลลิลิตร ทำการทดลองซ้ำ โดยเปลี่ยนชนิดของเกลือเป็นไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟส เมื่อถึงไวจีนเกิดการแยกชั้นของวัฏภาคสมบูรณ์ นำสารละลายวัฏภาคส่วนบนไปทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 265.5, 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร คำนวณหาค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทแต่ละความเข้มข้น และคำนวณหาประสิทธิภาพการสกัด ผลของชนิดสารละลายเกลือต่อประสิทธิภาพการสกัด ดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.6 - 4.7 ความสามารถของการ salting-out ของเกลือประจุบวกและประจุลบแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน ในระบบของสารละลายน้ำสองวัฏภาคซึ่งมีองค์ประกอบของโพลีเอททิลีนไกลคอลและเกลือ ชนิดของเกลือจะมีผลอย่างมากต่อพฤติกรรมของการแยกวัฏภาคและประสิทธิภาพการสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับของงานวิจัยที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่ควรนำเอกสารนี้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 แสดงผลของชนิดเกลือต่อประสิทธิภาพการสกัดเบนโซเอทโดยใช้สารละลาย PEG 1000



รูปที่ 4.7 แสดงผลของชนิดเกลือต่อประสิทธิภาพการสกัดเบนโซเอทโดยใช้สารละลาย PEG 4000

การเปลี่ยนชนิดของเกลือจะมีอิทธิพลต่อพฤติกรรมแยกของตัวถูกละลาย จากรูปที่ 4.6-4.7 แสดงให้เห็นว่าชนิดของเกลือนั้นมีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดเบนโซเอท ซึ่งเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต และไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต จะให้ประสิทธิภาพการสกัดใกล้เคียงกัน โดยให้ประสิทธิภาพการสกัดจะอยู่ในช่วง 94.36-103.21 % และ 92.04-95.9 % ตามลำดับ และประสิทธิภาพการสกัดจะให้ผลดี เมื่อน้ำหนักโมเลกุลของโพลีเอททิลีนไกลด์ เท่ากับ 1000 โดยที่การสกัดด้วยเบนโซเอทด้วยเกลือทั้งสองชนิดให้ประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน ซึ่งสภาพของสารละลายขณะทำการสกัดอยู่ในสภาวะกรดเหมือนกัน เพราะทั้งเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต และเกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต เป็นเกลือที่เกิดจากเบสอ่อนกับกรดแก่เมื่อละลายน้ำ จะเกิดไฮโดรไลซิสให้สารละลายที่มีสภาพเป็นกรดและเบนโซเอทถูกสกัดในรูปโมเลกุลกรดเบน

โซอิกเข้าสู่ในสารละลาย PEG 1000 ซึ่งมีสภาพขั้วใกล้เคียงกันได้ ดังนั้นจะใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟต และเกลือ ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตในการศึกษาต่อไป

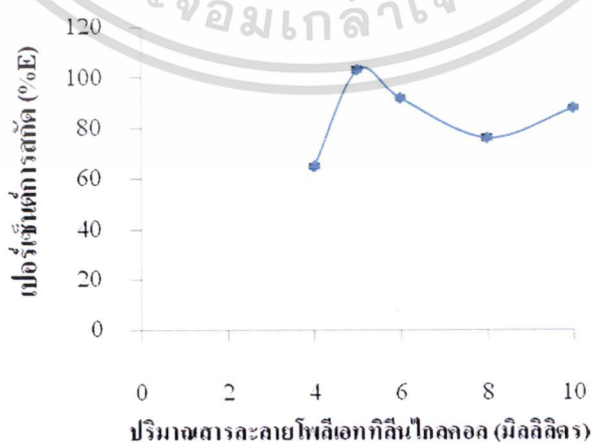
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3 ผลของปริมาณโพธิ์เอททีลินไกลคอลล

ทำการศึกษาผลของปริมาณโพธิ์เอททีลินไกลคอลลต่อประสิทธิภาพการสกัด โดยแปรค่าปริมาณสารละลายโพธิ์เอททีลินไกลคอลลในช่วง 4 - 10 มิลลิลิตร โดยให้ปริมาณของสารละลายเกลือทั้งสองชนิด และสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม มีปริมาณคงที่ 5.0 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์ นำสารละลายวัฏภาคบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 265.5 269.5 และ 275.5 และคำนวณหาประสิทธิภาพการสกัด ผลของปริมาณ โพธิ์เอททีลิน ไกลคอลลต่อประสิทธิภาพการสกัด ซึ่งมีองค์ประกอบของสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.8 ส่วนผลของปริมาณโพธิ์เอททีลินไกลคอลลต่อประสิทธิภาพการสกัด ซึ่งมีองค์ประกอบของสารละลายเกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.9

ตารางที่ 4.3 แสดงผลของปริมาณ โพธิ์เอททีลิน ไกลคอลลต่อประสิทธิภาพการสกัด ซึ่งมีองค์ประกอบของสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต (n=6)

ปริมาณของสารละลาย (มิลลิลิตร)		ปริมาณของวัฏภาค (มิลลิลิตร)		ประสิทธิภาพการสกัด (%E)
สารละลาย PEG	สารละลาย (NH ₄) ₂ SO ₄	วัฏภาคบน	วัฏภาคล่าง	
4	5	5.0	9.0	65.25 ± 0.38
5	5	6.5	8.5	103.18 ± 0.42
6	5	8.0	8.0	91.99 ± 0.34
8	5	10.0	8.0	76.33 ± 0.34
10	5	12.5	7.5	88.15 ± 0.34



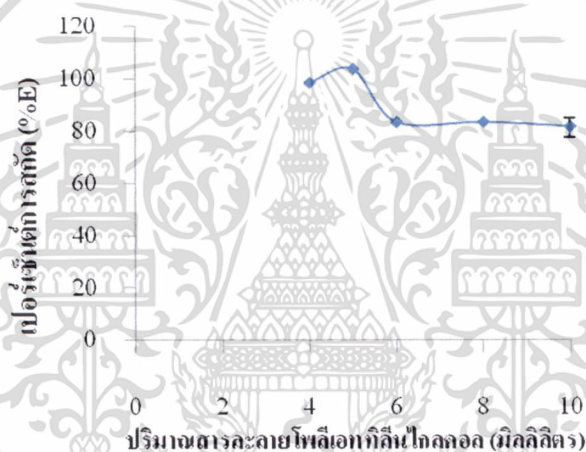
รูปที่ 4.8 แสดงผลของปริมาณ โพธิ์เอททีลิน ไกลคอลลต่อประสิทธิภาพการสกัดเบนโซเอท

ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟต

ตารางที่ 4.4 แสดงผลของปริมาณ โพลีเอททิลีน ไกลคอลต่อประสิทธิภาพการสกัด

ซึ่งมีองค์ประกอบของสารละลายเกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (n=6)

ปริมาณของสารละลาย (มิลลิลิตร)		ปริมาณของวัฏภาค (มิลลิลิตร)		ประสิทธิภาพการสกัด (%E)
สารละลาย PEG	สารละลาย K_2HPO_4	วัฏภาคบน	วัฏภาคล่าง	
4	5	5.0	9.0	98.39 ± 0.31
5	5	6.5	8.5	103.76 ± 0.22
6	5	7.5	8.5	83.37 ± 0.20
8	5	9.5	8.5	83.37 ± 0.25
10	5	12.0	8.0	81.66 ± 3.60



รูปที่ 4.9 แสดงผลของปริมาณ โพลีเอททิลีน ไกลคอลต่อประสิทธิภาพการสกัดเบนโซเอท

ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.8-4.9 แสดงให้เห็นว่า เมื่อใช้ปริมาณของโพลีเอททิลีน ไกลคอล 4 มิลลิลิตรทำให้ประสิทธิภาพการสกัดลดลง เนื่องจากวัฏภาคบนซึ่งเป็นชั้นของโพลีเอททิลีน ไกลคอลมีปริมาตรน้อย ทำให้มีปริมาตรไม่เพียงพอที่จะสกัดเบนโซเอทเข้าไปอยู่ในชั้นของโพลีเอททิลีน ไกลคอลได้ทั้งหมด และเมื่อใช้ปริมาณโพลีเอททิลีน ไกลคอลในช่วง 6-10 มิลลิลิตร จะทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดลดลงเช่นกัน ทั้งนี้อาจเกิดจากปริมาตรของวัฏภาคบนที่เพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณเบนโซเอทที่สกัดเข้าไปในชั้นของโพลีเอททิลีน ไกลคอลได้น้อยลง เมื่อพิจารณาปริมาณโพลีเอททิลีน ไกลคอลที่ใช้ในการสกัดร่วมกับเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต และเกลือไดโพแทสเซียมฟอสเฟต พบว่า ปริมาณโพลีเอททิลีน ไกลคอลที่เหมาะสมต่อการสกัด คือ 5 มิลลิลิตร โดยอัตราส่วนเชิงปริมาตรของโพลีเอททิลีน ไกลคอลต่อสารละลายเกลือ และสาร

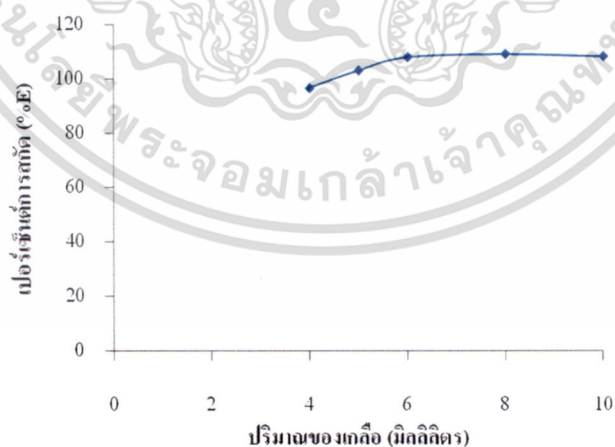
ไม่ต่างเท่ากับ 1 : 1 เนื่องจากให้เปอร์เซ็นต์การสกัดสูง

4.3.4 ผลของปริมาณเกลือ

ทำการศึกษาผลของปริมาณเกลือต่อประสิทธิภาพการสกัด โดยแปรค่าปริมาณสารละลายเกลือในช่วง 4 - 10 มิลลิลิตร โดยให้ปริมาณของสารละลายโพลิเอททิลีนไกลคอล และสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม มีปริมาณคงที่ 5.0 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์ นำสารละลายวัฏภาคบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 265.5 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร และคำนวณหาประสิทธิภาพการสกัด ผลของปริมาณสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ดังแสดงในตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.10 และผลของปริมาณสารละลายเกลือไดโทเทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ต่อประสิทธิภาพการสกัด ดังแสดงในตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.11

ตารางที่ 4.5 ผลของปริมาณสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ต่อประสิทธิภาพการสกัด (n=6)

ปริมาณของสารละลาย (มิลลิลิตร)		ปริมาณของวัฏภาค (มิลลิลิตร)		ประสิทธิภาพการสกัด (%E)
สารละลาย PEG	สารละลาย $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	วัฏภาคบน	วัฏภาคล่าง	
5	4	7.5	6.5	96.69 ± 0.37
5	5	6.5	8.5	103.18 ± 0.16
5	6	5.5	10.5	108.08 ± 0.43
5	8	5.5	12.5	109.23 ± 0.42
5	10	5.0	15.0	108.39 ± 0.32

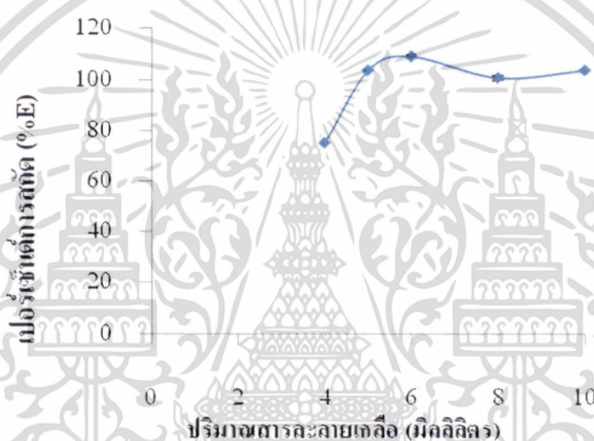


รูปที่ 4.10 แสดงผลของปริมาณสารละลายเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ต่อประสิทธิภาพการสกัด เบนโซเอท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลของปริมาณสารละลายเกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตต่อประสิทธิภาพการสกัด (n=6)

ปริมาณของสารละลาย (มิลลิลิตร)		ปริมาณของวัฏภาค (มิลลิลิตร)		ประสิทธิภาพการสกัด (%E)
สารละลาย PEG	สารละลาย K_2HPO_4	วัฏภาคบน	วัฏภาคล่าง	
5	4	6.50	7.50	75.06 ± 0.02
5	5	6.50	8.50	103.76 ± 0.22
5	6	6.00	10.00	109.18 ± 0.67
5	8	6.00	12.00	100.85 ± 0.75
5	10	6.00	14.00	103.82 ± 0.12



รูปที่ 4.11 แสดงผลของปริมาณสารละลายเกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตต่อประสิทธิภาพการสกัดเบนโซเอท

จากผลการทดลองในรูปที่ 4.10 เป็นการศึกษาปริมาณเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตต่อประสิทธิภาพการสกัด พบว่า เมื่อปริมาณเกลือเพิ่มขึ้นจะให้ประสิทธิภาพในการสกัดสูงขึ้นตามลำดับ ส่วนผลการศึกษาปริมาณเกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตต่อประสิทธิภาพการสกัด ดังรูปที่ 4.11 แสดงให้เห็นว่า ประสิทธิภาพการสกัดจะต่ำเมื่อใช้เกลือปริมาณน้อย และเมื่อใช้ปริมาณของเกลือมากขึ้นในช่วงปริมาณเกลือ 5-10 มิลลิลิตร จะทำให้ประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น และประสิทธิภาพจะใกล้เคียงกัน ถึงแม้ว่าปริมาณโพแทสเซียมไทโอไกลโคไลต์จะเพิ่มสูงขึ้นก็ตาม ประสิทธิภาพสกัดก็ไม่แตกต่างกัน ดังนั้น เมื่อพิจารณาปริมาณเกลือที่เหมาะสมต่อการสกัดแล้ว ปริมาณเกลือ 5 มิลลิลิตรมีความเหมาะสมมากที่สุด เนื่องจากใช้ปริมาณเกลือน้อยแต่ให้เปอร์เซ็นต์การสกัดสูง

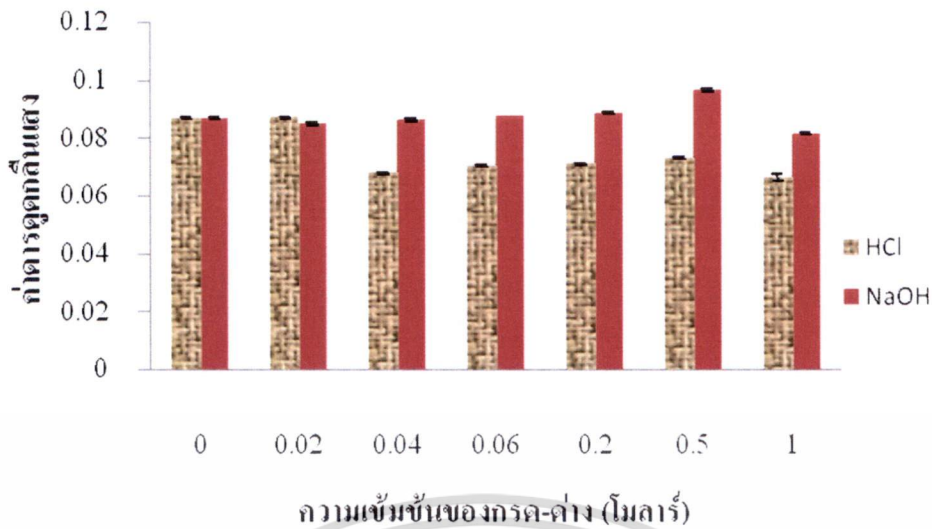
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.5 ผลการศึกษาความเข้มข้นของกรด-ด่างที่มีต่อการดูดกลืนแสงของเบนโซเอท

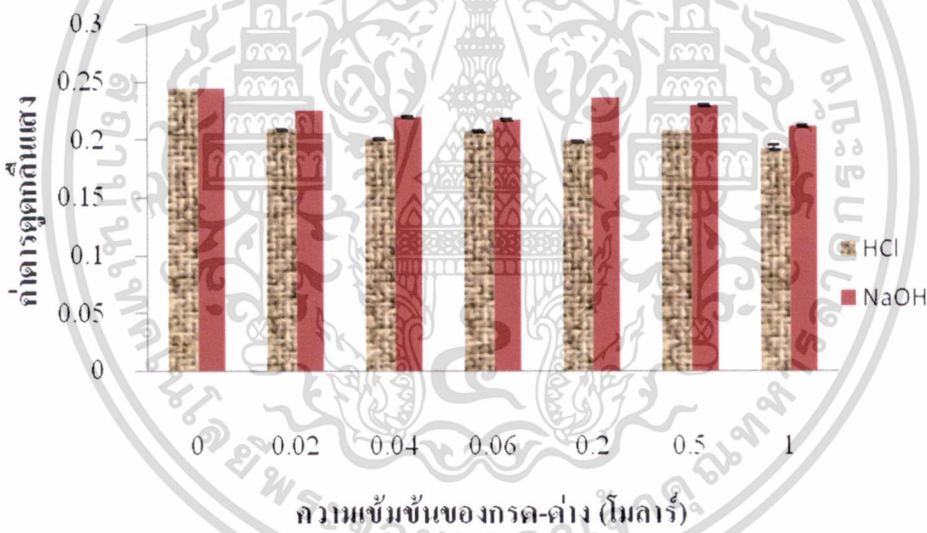
ทำการสกัดสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอทที่ความเข้มข้น 200 และ 600 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเตรียมในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้มีความเข้มข้นของกรดและเบสเป็น 0.02, 0.04, 0.06, 0.5, และ 1.0 โมลาร์ โดยใช้สารละลายมาตรฐาน 5.0 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย PEG (50 % w/v) 5.0 มิลลิลิตร และสารละลายเกลือ (50 % w/v) 5.0 มิลลิลิตร เมื่อทิ้งไว้จนเกิดการแยกชั้นของวัฏภาคสมบูรณ์แล้ว นำสารละลายวัฏภาคส่วนบนไปทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 265.5, 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร คำนวณหาค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทแต่ละความเข้มข้น ตามสมการ $Abs_{269.5} - [(Abs_{265.5} + Abs_{275.5})/2]$ ดังแสดงในตารางที่ 4.7 และเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นของกรด-เบสต่าง ๆ ดังรูปที่ 4.12-4.13

ตารางที่ 4.7 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทแต่ละความเข้มข้นในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (n=3)

ความเข้มข้น ของกรด-เบส (โมลาร์)	ค่าการดูดกลืนแสง			
	ความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐาน ใน HCl		ความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐาน ใน NaOH	
	200 มิลลิกรัมต่อ ลิตร	600 มิลลิกรัมต่อ ลิตร	200 มิลลิกรัมต่อ ลิตร	600 มิลลิกรัมต่อ ลิตร
0	0.0874 ± 0.0001	0.2448 ± 0.0001	0.0874 ± 0.0002	0.2448 ± 0.0001
0.02	0.0876 ± 0.0002	0.2099 ± 0.0003	0.0855 ± 0.0003	0.2263 ± 0.0002
0.04	0.0684 ± 0.0002	0.2017 ± 0.0003	0.0869 ± 0.0003	0.2209 ± 0.0004
0.06	0.0708 ± 0.0003	0.2085 ± 0.0003	0.0881 ± 0.0001	0.2186 ± 0.0002
0.2	0.0715 ± 0.0002	0.1997 ± 0.0002	0.0893 ± 0.0002	0.2375 ± 0.0002
0.5	0.0736 ± 0.0002	0.2092 ± 0.0001	0.0971 ± 0.000	0.2311 ± 0.0003
1	0.0668 ± 0.0012	0.1933 ± 0.0032	0.0820 ± 0.0001	0.2128 ± 0.0005



รูปที่ 4.12 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์



รูปที่ 4.13 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทความเข้มข้น 600 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

รูปที่ 4.12 - 4.13 เป็นการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทความเข้มข้น 200 และ 600 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เตรียมในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทที่เตรียมในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกจะให้ค่าการดูดกลืนแสงต่ำกว่าที่เตรียมในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการสกัดเบนโซเอทในสภาวะที่

เบส คืออยู่ในรูปเบนโซเอทไอออนจะมีประสิทธิภาพมากกว่าการสกัดที่อยู่ในสภาวะที่เป็นกรดซึ่งเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษานานาชาติ โดยอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าอยู่ในรูปโมเลกุลของกรดเบนโซอิก เบนโซเอทไอออนมีสภาพขั้วใกล้เคียงกับ PEG 1000 มากกว่าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่อยู่ในสภาพโมเลกุลกรดเบนโซอิก ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทที่เตรียมในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จะลดต่ำลงอย่างมาก เมื่อเตรียมสารละลายมาตรฐานเบนโซเอทในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 1 โมลาร์ ทั้งนี้เนื่องจากค่าความเป็นกรด-ด่างที่มากเกินไป จะเหนี่ยวนำให้ประจุมวลรวมของโมเลกุลของตัวถูกละลายเปลี่ยนไป ด้วย ซึ่งจะส่งผลต่อแรงกระทำระหว่างตัวถูกละลายแต่ละชนิด และแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของตัวถูกละลายและโมเลกุลของโพสิเทททีลิน ไกลคอล หรือเกลือที่มีในวัฏภาคเปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นจะเห็นได้ว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นปัจจัยหนึ่งซึ่งมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการสกัด ในการทดลองนี้เลือกทำการสกัดเบนโซเอทในสถานะที่เป็นเบส ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ในการทำการทดลองต่อไป

4.3.6 ผลการรบกวนของโพแทสเซียมซอร์เบท และโซเดียมซัลไฟด์

เนื่องจากในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าวอาจมีวัตถุกันเสียชนิดอื่น ๆ ปนเปื้อนอยู่ เช่น โพแทสเซียมซอร์เบท และโซเดียมซัลไฟด์ จึงจำเป็นต้องศึกษาผลการรบกวนของสารดังกล่าวซึ่งอาจมีผลต่อวิธีวิเคราะห์ โดยทำการสกัดสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลอง 10 ซ้ำ เพื่อหาค่า $\pm 3SD$ ดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้เมื่อทำการวัดสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ($n = 10$)

ครั้งที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้
1	0.0818
2	0.0817
3	0.0815
4	0.0839
5	0.0840
6	0.0838
7	0.0811
8	0.0822
9	0.0820
10	0.0796
ค่าเฉลี่ย	0.0822
SD	0.0014
3SD	0.0042

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับงานเพื่อการศึกษานานาชาติ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่เนื้อหา และต้องอ้างอิงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการสกัดสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายโพแทสเซียมซอร์เบท ความเข้มข้นในช่วง 50,100, 200 และ400 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ ความเข้มข้นในช่วง 5, 10, 15 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ของเบนโซเอท เมื่อมีสารรบกวนจากสารละลายโพแทสเซียมซอร์เบท และสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ ดังตารางที่ 4.9-4.10

ตารางที่ 4.9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ของเบนโซเอท เมื่อมีสารรบกวนจากสารละลายโพแทสเซียมซอร์เบท

ความเข้มข้นของโพแทสเซียมซอร์เบท (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ครั้งที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้	ค่าเฉลี่ย	SD
50	1	0.0832	0.0834	0.0004
	2	0.0839		
	3	0.0831		
100	1	0.0858	0.0856	0.0002
	2	0.0855		
	3	0.0856		
200	1	0.0879	0.0877	0.0002
	2	0.0877		
	3	0.0876		
400	1	0.0902	0.0897	0.0005
	2	0.0892		
	3	0.0896		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ของเบนโซเอท เมื่อมีสารรบกวนจาก
สารละลายโซเดียมซัลไฟด์

ความเข้มข้นของ โซเดียมซัลไฟด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ครั้งที่	ค่าการดูดกลืนแสง ที่คำนวณได้	ค่าเฉลี่ย	SD
5	1	0.0800	0.0803	0.0007
	2	0.0799		
	3	0.0811		
10	1	0.0792	0.0796	0.0006
	2	0.0793		
	3	0.0802		
15	1	0.0757	0.0756	0.0001
	2	0.0756		
	3	0.0756		
20	1	0.0724	0.0725	0.0002
	2	0.0728		
	3	0.0724		

เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ของสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีสารรบกวนจากสารละลายโพแทสเซียมซอร์เบท และสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ของสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอทที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (ไม่มีสารรบกวน) เพื่อทำการศึกษาระดับปริมาณของสารรบกวนที่สามารถปนอยู่ในสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้โดยไม่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้เปลี่ยนแปลงไป (Tolerance limit) ในการศึกษาเรื่องนี้ได้ใช้หลักที่ว่าปริมาณของสารรบกวนที่สามารถปนอยู่แล้วทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้เปลี่ยนไปเท่ากับ บวกลบสามเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\pm 3SD$) ของสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอทที่ไม่มีสารรบกวน

ตารางที่ 4.11 แสดงระดับปริมาณของสารรบกวนที่สามารถปนอยู่ในสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้โดยไม่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้เปลี่ยนแปลงไป (Tolerance limit)

สารรบกวนที่เติม	Tolerance limit
โพแทสเซียมซอร์เบท	100 มิลลิกรัมต่อลิตร
โซเดียมซัลไฟด์	10 มิลลิกรัมต่อลิตร

เมื่อพิจารณาค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้เริ่มต้นของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร กับค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อมีสารรบกวนของโพแทสเซียมซอร์เบท และโซเดียมซัลไฟด์ พบว่า ระดับปริมาณของสารรบกวนที่สามารถปนอยู่ในสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้โดยไม่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้เปลี่ยนแปลงไป (Tolerance limit) คือ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมซอร์เบทเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของโซเดียมซัลไฟด์ เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.4 ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

4.4.1 ผลการทดสอบพิสัยและความเป็นเส้นตรง (Range and Linearity)

ทำการสกัดสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท ในช่วงความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25, 50, 100, 200, 400, 600, 800 และ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้สารละลายมาตรฐาน 5.0 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย PEG (50 % w/v) 5.0 มิลลิลิตร และสารละลายเกลือ (50 % w/v) 5.0 มิลลิลิตร เมื่อทิ้งไว้จนเกิดการแยกชั้นของวัฏภาคสมบูรณ์แล้ว นำสารละลายวัฏภาคส่วนบนไปทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 265.5, 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร คำนวณหาค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทแต่ละความเข้มข้น ตามสมการ $Abs_{269.5} - [(Abs_{265.5} + Abs_{275.5})/2]$ นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานที่พล็อตระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท (แกน X) และค่าการดูดกลืนแสงที่คำนวณได้ (แกน Y) ได้กราฟมาตรฐานแสดงดังรูปที่ 4.3 (วิธีคำนวณดังแสดงในภาคผนวก ข)

จากการทดสอบช่วงการทดสอบหรือพิสัย และความเป็นเส้นตรงพบว่า สารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท มีความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 25-600 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้สมการเส้นตรง คือ $y = 0.0004x + 0.0009$ และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (r^2) เท่ากับ 0.9999 ซึ่งช่วงความเข้มข้นของตัวอย่างจะอยู่ระหว่างค่าต่ำสุดและค่าสูงสุด ที่เป็นเส้นตรง

4.4.2 ผลขีดจำกัดในการตรวจวัด (Limit of detection, LOD)

สามารถหาขีดจำกัดในการตรวจวัด ได้โดยการคำนวณจากกราฟมาตรฐาน ในช่วงความเข้มข้น 25-600 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจากการคำนวณตามสมการ $y = y_B + 3S_B$ ความเข้มข้นน้อยที่สุดของเบนโซเอทที่สามารถตรวจพบได้ เท่ากับ 8.80 มิลลิกรัมต่อลิตร (วิธีคำนวณดังแสดงในภาคผนวก ก)

4.4.3 ผลขีดจำกัดในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of quantification, LOQ)

สามารถหาขีดจำกัดในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ ได้โดยการคำนวณจากกราฟมาตรฐาน ในช่วงความเข้มข้น 25-600 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจากการคำนวณตามสมการ $y = y_B + 10S_B$ ความเข้มข้นน้อยที่สุดของเบนโซเอทที่สามารถวัดปริมาณได้ เท่ากับ 29.34 มิลลิกรัมต่อลิตร (วิธีคำนวณ ดังแสดงในภาคผนวก ง)

4.4.4 ผลความเที่ยง (Precision)

ความเที่ยงของการวิเคราะห์ ศึกษาโดยการนำสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอทที่ความเข้มข้น 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการตรวจวัดซ้ำ 6 ครั้ง นำผลที่ได้มาคำนวณหาร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และเพื่อหาค่า %RSD, โดยใช้ Horwitz's equation ในแต่ละความเข้มข้นเพื่อประเมินการยอมรับความเที่ยงโดยใช้ $HORRAT = \text{Experimental RSD} / \text{Predicted RSD}$, ดังแสดงในตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 แสดงผลความเที่ยงสำหรับการตรวจวัดปริมาณสารละลายมาตรฐานเบนโซเอท

ครั้งที่	ความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	ความเข้มข้นที่เดิม 200 มิลลิกรัมต่อลิตร	ความเข้มข้นที่เดิม 400 มิลลิกรัมต่อลิตร
1	190.47	416.78
2	192.96	412.75
3	205.16	411.59
4	200.70	395.25
5	204.29	402.49
ค่าเฉลี่ย	198.71	407.77
% RSD	3.35	1.92
Horwitz equation (RSD _p)	4.76	4.28
HORRAT target	0.70	0.45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation พบว่ามีค่ามีค่าเท่ากับ 0.70 และ 0.45 อยู่ในเกณฑ์น้อยกว่า 2 ตามมาตรฐานโคเด็กซ์ ดังนั้นวิธีการสกัดดังกล่าว จึงมีความเที่ยงที่ยอมรับได้ (วิธีคำนวณ ดังแสดงในภาคผนวก จ)

4.4.5 ผลความแม่นยำ (Accuracy)

ทำการศึกษาโดยปีเปิดสารละลายมาตรฐานของโซเดียมเบนโซเอท จาก stock standard solution 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมนลงในตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมตัวอย่างและผ่านการสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค และวิเคราะห์หาปริมาณโซเดียมเบนโซเอท ทดสอบ 6 ซ้ำ จากนั้นประเมินความถูกต้องในรูปของการหาร้อยละการกลับคืน (%Recovery) ผลความแม่นยำของวิธีแสดงค่าเฉลี่ยของร้อยละการกลับคืนของสาร ดังตารางที่ 4.13 (วิธีคำนวณ ดังแสดงในภาคผนวก จ)

ตารางที่ 4.13 ผลการคำนวณค่าความแม่นยำของการทดสอบของสารมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของ เบนโซเอทที่เติม (mg/L)	ความเข้มข้นของ เบนโซเอทที่ตรวจพบ (mg/L)	ร้อยละการกลับคืน (% Recovery)
1	-	ND	-
	200	180.47	90.24
	400	416.78	104.19
2	-	77.87	-
	200	270.83	96.48
	400	490.62	103.54
3	-	43.64	-
	200	248.80	102.58
	400	455.23	102.90
4	-	51.42	-
	200	252.12	100.35
	400	446.67	98.81
5	-	82.46	-
	200	286.75	101.91
	400	384.96	100.67
		ค่าเฉลี่ย	100.17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอทที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าเฉลี่ยของร้อยละการกลับคืนของสารเท่ากับ 100.70 ตามลำดับ ซึ่งร้อยละการกลับคืนของสารอยู่ในเกณฑ์ตามมาตรฐานโคเด็กซ์

4.5 ผลการศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสมต่อการเตรียมตัวอย่าง

ทำการศึกษาสารละลายกรดไฮโดรคลอริก หรือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นในช่วง 1.0 - 6.0 โมลาร์ เพื่อเตรียมตัวอย่างก่อนนำมาทำการสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ ข.1.1-ข.1.2 พบว่าสารละลายกรดไฮโดรคลอริกสามารถละลายตัวอย่างได้ดี ที่ความเข้มข้น 5-6 โมลาร์ ลักษณะของตัวอย่างที่ได้เป็นสารละลายมีตะกอนสีขาวขุ่น เวลาที่เหมาะสมต่อการละลายตัวอย่าง คือ ประมาณ 25-30 นาที ส่วนสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถละลายตัวอย่างได้ดี ที่ความเข้มข้น 1-2 โมลาร์ ลักษณะของตัวอย่างที่ได้เป็นสารละลายสีขาวขุ่นมีตะกอนลักษณะเหมือนแป้งเปียกสีเหลือง เวลาที่เหมาะสมต่อการละลายตัวอย่าง คือ ประมาณ 25-30 นาที ลักษณะของสารละลายตัวอย่าง ดังรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.14 ลักษณะของสารละลายตัวอย่างเมื่อเตรียมในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ก) และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (ข)

นำสารละลายตัวอย่างที่ได้มากรองด้วยต่าง ๆ ดังนี้ กรองด้วยกระดาษกรองความละเอียด 0.45 ไมโครเมตร กระดาษกรอง wathman เบอร์ 1 กรองผ่านสำลี รวมทั้งนำมาเซนติฟิวส์ เพื่อแยกตะกอน ปรากฏว่าสารละลายตัวอย่างไม่สามารถกรองด้วยกระดาษกรองความละเอียด 0.45 ไมโครเมตร รวมทั้งวิธีการอื่น ๆ ไม่สามารถแยกตะกอนที่เกิดขึ้นได้ เนื่องจากตะกอนของสารละลายตัวอย่างมีลักษณะเป็นคอลลอยด์ของพอลิเมอร์ ดังรูปที่ 4.15

จากนั้นนำตัวอย่างที่เตรียมได้โดยไม่ผ่านการกรองหรือเซนติฟิวส์ มาผ่านการสกัดด้วยเอกซเรย์เป็นเอกซเรย์ที่ส่งผ่านไว้สำหรับวิเคราะห์งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใช้เห็นประโยชน์ในการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ พงษ์ อธิคุณหาหมวกที่แบงค็อก และห้องวิจัยของเอกซเรย์ที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สามารถเกิดการแยกวัฏภาคได้ เนื่องจากสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่เป็นกรดแก่ มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่ำมาก ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของระบบทำส่งผลต่อการแยกของวัฏภาค ซึ่งเกิดจากความแตกต่างทางกายภาพและเคมีของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค ส่วนสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถเกิดการแยกวัฏภาคได้ และเกิดตะกอนมีลักษณะเป็นแผ่นสีขาวเกิดขึ้นตรงผิวระหว่างวัฏภาค (interface layer) ดังรูปที่ 4.16 เนื่องจากเกิดการตกตะกอนของสารปนเปื้อนอื่นๆที่อยู่ในตัวอย่าง ทำให้วัฏภาคบนใส และมีปริมาณของวัฏภาคบนเพียงพอสามารถนำไปวิเคราะห์ในขั้นต่อไปได้



รูปที่ 4.15 ลักษณะของสารละลายตัวอย่างเมื่อนำมากรองผ่านสำลี (ก) กรองด้วยกระดาษกรอง wathman เบอร์ 1(ข) และนำมาชนติฟิวส์ (ค)



รูปที่ 4.16 ลักษณะของสารละลายตัวอย่าง (ก) สารละลายตัวอย่างเมื่อเติมสารละลาย PEG (ข)

และสารละลายตัวอย่างเมื่อเติมสารละลาย PEG และสารละลายเกลือ (ค) ซึ่งประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการทดลองนี้เลือกใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ เพื่อใช้ในการเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าวโดยนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าวมาหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วแช่ให้ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ เป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปผ่านการสกัดเบนโซเอทด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคต่อไป

4.6 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณโซเดียมเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว

4.6.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเบนโซเอทในตัวอย่าง

ทำการตรวจวัดปริมาณเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว 3 ชนิด ประกอบด้วย ขนมหิน 10 ตัวอย่าง ก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็ก 10 ตัวอย่าง ก๋วยเตี๋ยวเส้นใหญ่ 10 ตัวอย่าง เตรียมตัวอย่างโดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ทำการสกัดโดยปีเปตสารละลายตัวอย่าง 5.0 มิลลิลิตร ผสมกับ PEG (50% w/v) 5.0 มิลลิลิตร และเกลือ (50% w/v) 5.0 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง เขย่าสารละลายให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเกิดการแยกวัฏภาคอย่างสมบูรณ์ นำสารละลายวัฏภาคบนค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 265.5 269.5 และ 275.5 นาโนเมตร และคำนวณหาปริมาณเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าวด้วยวิธีเทียบกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) ดังตารางที่ 4.14 ผลการตรวจวิเคราะห์พบปริมาณเบนโซเอทอยู่ในช่วง 0.00-1,305.34 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเมื่อเทียบกับปริมาณที่กำหนดเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าวไม่เกิน 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex) พบตัวอย่างเกินเกณฑ์มาตรฐานจำนวน 2 ตัวอย่าง ในตัวอย่างขนมหิน 1 ตัวอย่าง และก๋วยเตี๋ยวเส้นใหญ่ 1 ตัวอย่าง ซึ่งผลจากการศึกษาการใช้วัตถุดิบเสียบชนิดเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าวนี้สามารถนำไปเป็นข้อมูลเพื่อให้ผู้ประกอบการได้ปรับปรุงพัฒนาสินค้าให้ได้คุณภาพมาตรฐาน ซึ่งจะส่งผลให้ผู้บริโภคมีความปลอดภัยในการบริโภคผลิตภัณฑ์ดังกล่าว

ตารางที่ 4.14 แสดงปริมาณเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์แปรรูปจากข้าว

ชนิดของตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	ปริมาณเบนโซเอทที่ตรวจพบ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
ขนมหิน	10	0.00-1305.34
เส้นเล็ก	10	27.08-742.69
เส้นใหญ่	10	240.14-1062.78

4.6.2 ผลการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์เบนโซเอทด้วยวิธีมาตรฐานและวิธีที่พัฒนาขึ้น

การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณเบนโซเอทระหว่างวิธีมาตรฐานของ AOAC ข้อ 47.3.03 กับวิธีที่พัฒนาขึ้น โดยการสกัดด้วยสารละลายน้ำสองวัฏภาคและทำการตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี ดังแสดงในตารางที่ 4.15

ตารางที่ 4.15 ผลการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์เบนโซเอทด้วยวิธีมาตรฐานและวิธีที่พัฒนาขึ้น

ชนิดของตัวอย่าง	ปริมาณเบนโซเอทที่วิเคราะห์ได้ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	
	วิธีที่พัฒนา (ATPS)	วิธีมาตรฐานของ AOAC
ขนมจีน 1	516.41 ± 0.43	513.28 ± 0.32
ขนมจีน 2	580.59 ± 0.05	577.27 ± 0.28
เส้นเล็ก 1	440.57 ± 0.30	437.27 ± 0.03
เส้นเล็ก 2	ND	ND
เส้นใหญ่ 1	721.37 ± 0.46	726.13 ± 0.21
เส้นใหญ่ 2	822.80 ± 0.47	826.52 ± 0.10

หมายเหตุ ND = Not detected

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเบนโซเอทในตัวอย่างทั้งหมด 6 ตัวอย่าง แบ่งเป็นขนมจีน 2 ตัวอย่าง ก๋วยเตี๋ยวเส้นใหญ่ 2 ตัวอย่าง และก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็ก 2 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าที่ได้จากวิธีมาตรฐานของ AOAC ข้อ 47.3.03 และวิธีการสกัดด้วยสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่พัฒนาขึ้น ดังตารางที่ 4.14 จะเห็นได้ว่าค่าปริมาณที่ตรวจพบทั้งสองวิธีมีค่าใกล้เคียงกัน โดยเมื่อเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสถิติ คือ *paired t-test* พบว่า ผลลัพธ์ของการวิเคราะห์ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($t_{\text{observed}} = -0.14, t_{\text{critical}} = 2.57$)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้สามารถพัฒนาระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคซึ่งมีองค์ประกอบของ โพลีเอททิลีนไกลคอล (PEG) กับเกลืออนินทรีย์ เพื่อสกัดเบนโซเอทจากผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูป จากข้าว และตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี ซึ่งการทดลองหาภาวะที่เหมาะสมของ ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคในการสกัดเบนโซเอท โดยการศึกษาหาแผนภาพวัฏภาค (phase diagram) ของระบบโพลีเอททิลีนไกลคอล (PEG) - เกลืออนินทรีย์-น้ำ และจากการศึกษาปัจจัย ต่างๆ ที่มีผลต่อระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค พบว่าองค์ประกอบของระบบที่เหมาะสมต่อการ สกัดเบนโซเอทการใช้ น้ำหนักโมเลกุล โพลีเอททิลีนไกลคอล 1000 และสารละลายเกลือ แอมโมเนียมซัลเฟตหรือเกลือโคโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต เนื่องจากให้ประสิทธิภาพการ สกัดสูง และจากการศึกษาเพื่อหาค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ พบว่า ค่าการ ดูดกลืนแสงและเป็นพีคในช่วงความยาวคลื่น 265.5 ถึง 275.5 นาโนเมตร โดยมียอดพีคที่ความ ยาวคลื่น 269.5 นาโนเมตร ในการทดลองนี้เลือกใช้ baseline technique เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสง ของสารละลายโซเดียมเบนโซเอทในชั้น โพลีเอททิลีนไกลคอล โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงเป็นไป ตามสมการ $Abs_{269.5} - [(Abs_{265.5} + Abs_{275.5})/2]$ ปริมาณของสารละลายตัวอย่าง สารละลายโพลี เอททิลีนไกลคอล และสารละลายเกลือที่เหมาะสมต่อการสกัด คืออัตราส่วน 1:1:1 ซึ่งถ้าเตรียม สารตัวอย่างในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกจะมีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าการเตรียมใน สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ นอกจากนี้ยังทำการศึกษารอบกวนของ โพลีเอททิลีนซอร์เบท และโซเดียมซัลไฟต์ พบว่าที่ความเข้มข้นต่างๆ จะไม่รบกวนการวิเคราะห์ ซึ่งระบบสารละลายน้ำ สองวัฏภาคมีคุณสมบัติดังนี้

ตารางที่ 5.1 คุณสมบัติของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค

พารามิเตอร์	ค่า
สมการเส้นตรง	$y = 0.0004x + 0.0009$ ($r^2 = 0.9999$)
ช่วงความเป็นเส้นตรง	25-600 มิลลิกรัมต่อลิตร
ขีดจำกัดในการตรวจวัด (LOD)	8.80 มิลลิกรัมต่อลิตร
ขีดจำกัดในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ)	29.34 มิลลิกรัมต่อลิตร
ร้อยละการคืนกลับ (%Recovery)	90.24 - 104.19%
R.S.D (n=3)	0.11 - 2.52%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ทำแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีกรนำไปใช้

ทำการตรวจวัดปริมาณเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าว 3 ชนิด ประกอบด้วย ขนมจีน 10 ตัวอย่าง ก่วยเตี๋ยเส้นเล็ก 10 ตัวอย่าง ก่วยเตี๋ยเส้นใหญ่ 10 ตัวอย่าง และคำนวณหาปริมาณเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าวด้วยวิธีเทียบกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) พบว่า เมื่อเทียบกับปริมาณที่กำหนดเบนโซเอทในผลิตภัณฑ์เส้นแปรรูปจากข้าวไม่เกิน 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex) พบตัวอย่างเกินเกณฑ์มาตรฐานจำนวน 2 ตัวอย่าง ในตัวอย่างขนมจีน 1 ตัวอย่าง และก่วยเตี๋ยเส้นใหญ่ 1 ตัวอย่าง และเมื่อเปรียบเทียบค่าที่ได้จากวิธีมาตรฐานของ AOAC ข้อ 47.3.03 และวิธีการสกัดด้วยสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่พัฒนาขึ้น พบว่าค่า ปริมาณที่ตรวจพบทั้งสองวิธีมีค่าใกล้เคียงกัน การใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคจะช่วยลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ซึ่งโดยทั่วไปการวิเคราะห์เบนโซเอทในเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรีจะใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เป็นตัวทำละลาย นอกจากนี้วิธีการดังกล่าวยังง่ายในการปฏิบัติงาน

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. งานวิจัยนี้ใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของโพลิเอททีลินไกลคอลและเกลืออินทรีย์ เพื่อหาปริมาณเบนโซเอท และยังไม่มียางานการใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค เพื่อทำการสกัดเบนโซเอท จึงเป็นไปได้ที่จะพัฒนาระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคระบบอื่น ๆ เพื่อให้ประสิทธิภาพในการสกัดเบนโซเอทสูงขึ้น
2. ควรศึกษาขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างก่อนการสกัดด้วยระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคเพิ่มเติมเพื่อลดขั้นตอนการเตรียมให้สะดวก ง่าย และรวดเร็วขึ้น
3. สามารถนำระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคนี้ไปประยุกต์ใช้งานผลิตภัณฑ์อื่นๆ เพื่อเป็นการพัฒนาระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคให้ใช้งานด้านต่าง ๆ ได้อย่างกว้างขวางขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- [1] Sagee S. and Boontrita R. "Production of noodle and fermented rice noodle from Rice" Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, 2006.
- [2] Branen A.L., Davidson P.M. and Salminen S. **Food Additives**. New York : Marcel Dekker. 1990.
- [3] Branen A.L., Davidson P.M., Salminen S. and Thorngate III J. H. **Food Additives**. New York : Marcel Dekker. 2002.
- [4] กระทรวงสาธารณสุข. "วัตถุเจือปนอาหาร" ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, ฉบับที่ 281, 2547.
- [5] AOAC International. **Official Methods of Analysis Vol II**. 16th Ed. Cunniff P.(ed). 1995.
- [6] Kompany-Zareh M. and Mirzae S. I. "Spectrophotometric resolution of ternary mixtures of pseudoephedrine hydrochloride, dextromethorphan hydrobromide, and sodium benzoate in syrups using wavelength selection by net analyte signals calculated with hybrid linear analysis" **Analytica Chimica Acta**, vol. 526, 2004. pp. 83–94.
- [7] Ahmad I. and Vaid F. H. "Determination of benzoic acid and salicylic acid in commercial benzoic and salicylic acids ointments by spectrophotometric method" **J. Pharm. Sci**, vol. 22, 2009. pp. 18-22.
- [8] Chen Y.Q. and Ni Y.N. "Simultaneous spectrophotometric determination of four preservatives in foodstuffs by multivariate calibration and artificial neural networks" **Chinese chemical letters**, vol. 20, 2009. pp. 615–619.
- [9] Guerra R.M., Mar'in M.I., Nchezb S. and Nezc J. "Analysis of citrates and benzoates used in poly(vinyl chloride) by supercritical fluid extraction and gas chromatography" **J. Chromatogr.A**, vol. 950, 2002. pp. 31–39.
- [10] Gonza'lez M., Gallego M. and Valca' rcel M. "Gas chromatographic flow method for the preconcentration and simultaneous determination of antioxidant and preservative additives in fatty foods" **J. Chromatogr.A**, vol. 848, 1999. pp. 529–536.
- [11] Pan Z., Wang l., Mo W., Wang C., Hu W. and Zhang J. "Determination of benzoic acid in soft drinks by gas chromatography with on-line pyrolytic methylation technique" **Analytica chimica acta**, vol. 545, 2005. pp. 218–223.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [12] Dong C., Wang W., Dong C. and Wang W. "Headspace solid-phase microextraction applied to the simultaneous determination of sorbic and benzoic acids in beverages" **Analytica Chimica Acta**, vol.562, 2006. pp. 23–29.
- [13] Wang L., Zhang X., Wang Y. and Wang W. "Simultaneous determination of preservatives in soft drinks, yogurts and sauces by a novel solid-phase extraction element and thermal desorption-gas chromatography" **Analytica chimica acta**, vol. 577, 2006. pp. 62–67.
- [14] Pylypiw H.M. and Grether M.T. "Rapid high-performance liquid chromatography method for the analysis of sodium benzoate and potassium sorbate in foods" **J. Chromatogr.A**, vol. 883, 2000. pp. 299–304.
- [15] Ferreira I.M., Mendes E.L., Brito P. and Ferreir M.A. "Simultaneous determination of benzoic and sorbic acids in quince jam by HPLC" **Food research international**, vol.33, 2000. pp. 113-117.
- [16] Tfouni S.A.V. and Toledo M.C.F. "Determination of benzoic and sorbic acids in Brazilian food" **Food Control**, vol. 13, 2002. pp. 117–123.
- [17] Abe-onishi Y., Yomota C., Sugimoto N., Kubota H. and Tanamoto K. "Determination of benzoyl peroxide and benzoic acid in wheat flour by High-performance liquid chromatography and its identification by High-performance liquid chromatography–mass spectrometry" **J. Chromatogr.A**, vol. 1040, 2004. pp. 209–214.
- [18] Saada B., Baria md. F., Saleh M.I., Ahmad K., Khairuddin M. and Talibb M. "Simultaneous determination of preservatives in foodstuffs using High-performance liquid chromatography" **J. Chromatogr.A**, vol. 1073, 2005. pp. 393–397.
- [19] Diamond A. D. and Hsu J. T. **Aqueous two-phase systems for biomolecule separation. Advances of biochemical engineering and biotechnology.** vol. 47. 1992. pp. 89–133.
- [20] Chethana S., Nayak C.A. and Raghavarao K.S.M.S. **Proceedings of the International Conference.** 2004. pp. 309–311.
- [21] Albertsson P.Å. **Partition of cell particles and macromolecules.** New York : Wiley. 1986.
- [22] Walter H., Brooks D.E. and Fisher D. **Partitioning in Aqueous Two Phase Systems: Theory, Methods, Uses and Applications to Biotechnology.** Orlando : Academic Press. 1985.
- [23] Huddleston J.G., Willauer H.D., Boaz K.R. and Rogers R.B. **J. Chromatogr. B**, vol. 711, 1998. pp. 237–244.

- [24] Hatti-Kaul R. **Aqueous Two Phase Systems: Methods and Protocols**. New Jersey : Humanae Press. 2000.
- [25] Akama Y. and Sali A. **Talanta**. vol. 57, 2002. pp. 681.
- [26] Bulgariu L. and Bulgari D. “The extraction of Zn(II) in aqueous PEG(1550) – (NH₄)₂SO₄ two-phase system using Cl⁻ ions as extracting agent” **J. Serb. Chem. Soc.** vol. 72, 2007. pp. 289–297.
- [27] Tong A.J., Dong J.J. and Li L.D. **Anal. Chim. Acta**, vol. 390, 1999. pp. 125.
- [28] Rogers R.B., Willauer H.D., Griffin S.T. and Huddleston J.G. **J. Chromatogr.B**, vol. 711, 1998. pp. 255–263.
- [29] He C.Y., Li S.H., Liu H.W., Li K.A. and Liu F. “Ionic Liquid-salt Aqueous Two-phase System, a novel system for the extraction of abused drugs” **J. Chromatogr.A**, vol. 1082, 2005. pp. 143.
- [30] Liu H.L., He C.Y., Wen D.W., Liu H.W., Liu F. and Li K.A. **Anal. Chim. Acta**, vol. 557, 2006. pp. 329.
- [31] Agasøster T. **J. Chromatogr.B**, vol. 716, 1998. pp. 293.
- [32] Davidson P. M., Sofos J.N. and Branen A.L. **Antimicrobials in food**. Taylor & Francis. 2005.
- [33] ศิวาพร ศิวเวช. **วัตถุเจือปนอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. นครปฐม : โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริม และ ฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2546.**
- [34] Wibbertmann A., Kielhorn J., Koennecker G., Mangelsdorf I., and Melber C. **Benzoic acid and sodium benzoate**. World Health Organization Geneva. 2000.
- [35] คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. **วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2539.**
- [36] เกษร นันทจิต. **การวิเคราะห์วัตถุเจือปนและสารปนเปื้อนในอาหาร. เชียงใหม่ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2551.**
- [37] Person D. **Laboratory technique in food analysis**. London and Boston : Butterworths. 1975. pp. 78-84.
- [38] AOAC International. **Official Methods of Analysis**, 13th Ed, V.A.AOAC, 1980.
- [39] Person D. **The chemical analysis of food**. London and New York : Churchill Livingston. 1976. pp. 29-43.

- [40] Welcher F.J. **Standard method of chemical analysis**. Van Nostrand Reinhold Company. 1966.
- [41] Goo R.K.S., Wakatsuki H. and Kanai H. **J.Asso.Off.Anal.Chem**, vol. 62, 1979. pp. 119-121.
- [42] นันทิญา วงษ์มงคล. “ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคสำหรับการสกัดแอลคาไลโนไฟรทีเอส” วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2543.
- [43] วิไลวรรณ ช่วยยก. “การสกัดแอลคาไลโนไฟรทีเอสจากน้ำหมักโดยใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคในหอสกัด” วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2544.
- [44] Zaslavsky B. Y. **Aqueous two-phase partitioning : physical chemistry and bioanalytical applications**. New York : Marcel Dekker. 1995.
- [45] Albertsson P. A. **Partition of cell particles and macromolecules : distribution and fractionation of cells, viruses, microsomes, proteins, nucleic acids, and antigen-antibody complexes in aqueous polymer two-phase systems**. New York : Wiley. 1960.
- [46] Cabezas H. **J. Chromatogr.B**, vol. 680, 1996. pp. 3.
- [47] Visser A. E., Griffin S. T., Ingenito C. C., Hartman D. H., Huddleston J. G. and Rogers R. D. **Metal Sep. Technol**, 2000. pp. 119.
- [48] Regers R. D., Bond A. H., Bauer C. B., Zhang J. and Griffin S. T. **J. Chromatogr.B**, vol. 680, 1996. pp. 221.
- [49] Zaslavsky B. Yu., Gulaeva N. D., Djafarov S., Masimov E. A. and Miheeva L. M. **J. Coll. Interface Sci**, vol. 137, 1991. pp. 147.
- [50] Gupta V., Nath S. and Chand S. **Polymer**, vol. 43, 2002. pp. 3387–3390.
- [51] Walter H. and Johansson G. **Aqueous two-phase systems**. San Diego : Academic Press. 1994.
- [52] Salabat A. “The influence of salts on the phase composition in aqueous two-phase systems : experiments and predictions” **Fluid Phase Equilibria**, vol. 187–188, 2001. pp. 489–498.
- [53] Azevedo A. M., Rosa P. A.J., Ferreira I. F. and Aires-Barros M. R. **Trends in Biotechnology**. vol. 27.
- [54] Tjerneld F. **Aqueous two-phase partitioning on an industrial scale**. New York : Plenum Press. 1992. pp. 85-102.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [55] Sezgintürk M. K., Göktug T. and Dinçkaya E. “Detection of benzoic acid by an amperometric inhibitor biosensor based on mushroom tissue homogenate” **Food Technol. Biotechnol.**, vol. 43, 2005. pp. 329–334.
- [56] Heo Y. J. and Lee K.J. “Application of micellar electrokinetic capillary chromatography for the determination of benzoic acid and its esters in liquid formula medicines as preservatives” **Pharm. Biomed. Anal.**, vol. 17, 1998. pp.1371–1379.
- [57] Costa A.C.O., Perfeito L., Tavares M. and Micke G. A. “Determination of sorbate and benzoate in beverage samples by Capillary electrophoresis-optimization of the method with inspection of ionic mobilities” **J. Chromatogr. A**, vol. 1204, 2008. pp. 123–127.
- [58] Agasøster T. “Aqueous two-phase partitioning sample preparation prior to liquid chromatography of hydrophilic drugs in blood” **J. Chromatogr.B**, vol. 716, 1998. pp. 293 –298.
- [59] Gulyaeva N., Zaslavsky A., Lechner P., Chait A. and Zaslavsky B. “Relative hydrophobicity of organic compounds measured by partitioning in aqueous two-phase systems” **J. Chromatogr.B**, vol. 743, 2000. pp. 187–194.
- [60] Pan I.H., Chiub H.H., Lub C. H., Leeb L.T. and Lia Y. “A queous two-phase extraction as an effective tool for isolation of geniposide from gardenia fruit” **J. Chromatogr.A**, vol. 977, 2002. pp. 239–246.
- [61] Akama Y. and Sali A. “Extraction mechanism of Cr(VI) on the aqueous two-phase system of tetrabutylammonium bromide and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ mixture” **Talanta**, vol. 57, 2002 pp. 681–686.
- [62] Yoshikuni N., Baba T., Tsunoda N. and Oguma K. “Aqueous two-phase extraction of nickel dimethylglyoximato complex and its application to spectrophotometric determination of nickel in stainless steel” **Talanta**, vol. 66, 2005. pp. 40–44.
- [63] Cao Q., Li S., He C., Li K. and Liu F. “Extraction and determination of papaverin in pericarpium papaveris using aqueous two-phase system of poly(ethylene glycol)– $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ coupled with high-performance liquid chromatography” **Analytica Chimica Acta**, vol. 590, 2007. pp. 187–194.
- [64] Chethana S., Nayak C. A. and Raghavarao K.S.M.S. “Aqueous two phase extraction for purification and concentration of betalains” **Journal of Food Engineering**, vol. 81, 2007. pp. 679–687.

- [65] Li S., He C., Gao F., Li D., Chen Z., Liu H., Li K. and Liu F. "Extraction and determination of morphine in compound liquorice using an aqueous two-phase system of poly(ethylene glycol)/K₂HPO₄ coupled with HPLC" *Talanta*, vol. 71, 2007. pp.784–789.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

การศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคของโพลีเอททิลีน
ไกลคอลคอล (PEG) เกลือ และน้ำ

วิธีการคำนวณความเข้มข้นของสารละลายเกลือ

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลายเกลือ} = \frac{\text{น้ำหนักของเกลือ} \times \text{ความเข้มข้นของเกลือ}}{\text{น้ำหนักรวม} + \text{น้ำหนักของน้ำ}}$$

วิธีการคำนวณความเข้มข้นของสารละลายโพลีเอททิลีนไกลคอล

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลาย PEG} = \frac{\text{น้ำหนักของ PEG} \times \text{ความเข้มข้นของ PEG}}{\text{น้ำหนักรวม} + \text{น้ำหนักของน้ำ}}$$

สารละลายเกลือความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (%w/w) และสารละลายโพลีเอททิลีนไกลคอล ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (%w/w)

ก.1 การศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคของโพลีเอททิลีนไกลคอล (PEG) น้ำหนักโมเลกุล 1000 เกลือแอมโมเนียมซัลเฟต $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ และน้ำ

ตารางที่ ก.1 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มีองค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 และ เกลือแอมโมเนียมซัลเฟต $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

น้ำหนัก (กรัม)		น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักของน้ำ (กรัม)	ความเข้มข้นของสารละลาย % (w/w)	
สารละลาย $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	สารละลาย PEG			สารละลาย $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	สารละลาย PEG
0.5122	4.5157	5.0279	0.1546	2.96	43.57
1.5269	3.5003	5.0272	1.4454	7.08	27.04
2.5229	2.5100	5.0329	2.0527	10.68	17.71
3.5046	1.5177	5.0223	2.2055	14.55	10.50
4.5213	0.5268	5.0481	2.2320	18.63	3.62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.2 การศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคของโพลีเอททิลีน ไกลคอล (PEG) น้ำหนักโมเลกุล 1000 เกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) และน้ำ

ตารางที่ ก.2 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มี องค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 และเกลือไดโพแทสเซียมไฮโดรเจน ฟอสเฟต (K_2HPO_4)

น้ำหนัก (กรัม)		น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนัก ของน้ำ (กรัม)	ความเข้มข้นของสารละลาย % (w/w)	
สารละลาย K_2HPO_4	สารละลาย PEG			สารละลาย K_2HPO_4	สารละลาย PEG
0.5307	4.4798	5.0105	1.1116	2.60	36.59
1.5173	3.5197	5.0370	2.9031	5.73	22.16
2.5332	2.5164	5.0496	2.9140	9.54	15.80
3.5231	1.5085	5.0316	3.1022	12.99	9.27
4.5542	0.4709	5.0251	3.3480	16.32	2.81

ก.3 การศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคของโพลีเอททิลีน ไกลคอล (PEG) น้ำหนักโมเลกุล 1000 เกลือแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($(NH_4)_3HPO_4$) และน้ำ

ตารางที่ ก.3 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มี องค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 และเกลือแอมโมเนียมไฮโดรเจน ฟอสเฟต ($(NH_4)_3HPO_4$)

น้ำหนัก (กรัม)		น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนัก ของน้ำ (กรัม)	ความเข้มข้นของสารละลาย % (w/w)	
สารละลาย $(NH_4)_3HPO_4$	สารละลาย PEG			สารละลาย $(NH_4)_3HPO_4$	สารละลาย PEG
0.5069	4.5195	5.0263	1.3257	2.39	35.58
1.5311	3.4771	5.0082	2.5553	6.07	22.99
2.5481	2.4671	5.0152	3.0714	9.45	15.25
3.5295	1.5041	5.0336	3.4494	12.48	8.87
4.5107	0.5199	5.0306	3.8847	15.18	2.92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.4 การศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคของโพลีเอททิลีน ไกลคอล (PEG) น้ำหนักโมเลกุล 1000 เกลือโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) และน้ำ

ตารางที่ ก.4 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มี องค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 และเกลือโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4)

น้ำหนัก (กรัม)		น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนัก ของน้ำ (กรัม)	ความเข้มข้นของสารละลาย % (w/w)	
สารละลาย Na_2SO_4	สารละลาย PEG			สารละลาย Na_2SO_4	สารละลาย PEG
0.5350	4.4788	5.0138	1.7303	2.38	33.21
1.5355	3.4895	5.0250	3.1438	5.64	21.36
2.5372	2.4770	5.0142	3.9258	8.51	13.85
3.5377	1.4747	5.0124	4.2559	11.45	7.96
4.5206	0.4819	5.0025	4.3877	14.44	2.57

ก.5 การศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคของโพลีเอททิลีน ไกลคอล (PEG) น้ำหนักโมเลกุล 1000 เกลือโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และน้ำ

ตารางที่ ก.5 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มี องค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 1000 และเกลือโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

น้ำหนัก (กรัม)		น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนัก ของน้ำ (กรัม)	ความเข้มข้นของสารละลาย % (w/w)	
สารละลาย NaOH	สารละลาย PEG			สารละลาย NaOH	สารละลาย PEG
0.5777	4.4410	5.0187	0.7221	3.02	38.68
1.5255	3.5001	5.0256	2.5800	6.02	23.01
2.5424	2.4760	5.0183	4.4134	8.09	13.13
3.5758	1.4455	5.0212	6.2312	9.53	6.42
4.5128	0.4881	5.0009	7.2670	11.04	1.99

ก.6 การศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคของโพลีเอททิลีน ไกลคอล (PEG) น้ำหนักโมเลกุล 4000 เกลือแอมโมเนียมซัลเฟต $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ และน้ำ

ตารางที่ ก.6 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มี องค์ประกอบของ PEG น้ำหนัก โมเลกุล 4000 และ เกลือแอมโมเนียมซัลเฟต $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

น้ำหนัก (กรัม)		น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนัก ของน้ำ (กรัม)	ความเข้มข้นของสารละลาย % (w/w)	
สารละลาย $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	สารละลาย PEG			สารละลาย $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	สารละลาย PEG
0.5189	4.5358	5.0547	0.80939	2.65	38.67
1.5278	3.5049	5.0327	2.6949	5.93	22.68
2.5367	2.5058	5.0425	3.8038	8.60	14.16
3.5020	1.5330	5.0350	4.5715	10.94	7.98
4.5233	0.4868	5.0101	4.8397	13.78	2.47

ก.7 การศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคของโพลีเอททิลีน ไกลคอล (PEG) น้ำหนักโมเลกุล 4000 เกลือไดโพเทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) และน้ำ

ตารางที่ ก.7 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มี องค์ประกอบของ PEG น้ำหนัก โมเลกุล 4000 และเกลือไดโพเทสเซียมไฮโดรเจน ฟอสเฟต (K_2HPO_4)

น้ำหนัก (กรัม)		น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนัก ของน้ำ (กรัม)	ความเข้มข้นของสารละลาย % (w/w)	
สารละลาย K_2HPO_4	สารละลาย PEG			สารละลาย K_2HPO_4	สารละลาย PEG
0.5342	4.4806	5.0148	1.6404	2.41	33.66
1.5371	3.5076	5.0446	3.7443	5.25	19.95
2.5583	2.4629	5.0212	4.8086	7.81	12.53
3.5380	1.4839	5.0219	5.5135	10.07	7.04
4.5376	0.4713	5.0089	5.8291	12.56	2.17

ก.8 การศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคของโพลีเอททิลีน ไกลคอล (PEG) น้ำหนักโมเลกุล 4000 เกลือแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต $((\text{NH}_4)_3\text{HPO}_4)$ และน้ำ

ตารางที่ ก.8 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มี องค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 4000 และเกลือแอมโมเนียมไฮโดรเจน ฟอสเฟต $((\text{NH}_4)_3\text{HPO}_4)$

น้ำหนัก (กรัม)		น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนัก ของน้ำ (กรัม)	ความเข้มข้นของสารละลาย % (w/w)	
สารละลาย $(\text{NH}_4)_3\text{HPO}_4$	สารละลาย PEG			สารละลาย $(\text{NH}_4)_3\text{HPO}_4$	สารละลาย PEG
0.5280	4.5049	5.0329	1.9987	2.25	32.03
1.5282	3.4990	5.0271	3.9519	5.11	19.48
2.5349	2.4977	5.0326	5.0194	7.57	12.42
3.5120	1.5753	5.0873	5.7564	9.72	7.26
4.5025	0.5047	5.0072	5.9426	12.34	2.30

ก.9 การศึกษาแผนภาพวัฏภาคของระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคของโพลีเอททิลีน ไกลคอล (PEG) น้ำหนักโมเลกุล 4000 เกลือโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) และน้ำ

ตารางที่ ก.9 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่มี องค์ประกอบของ PEG น้ำหนัก โมเลกุล 4000 และเกลือ โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4)

น้ำหนัก (กรัม)		น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนัก ของน้ำ (กรัม)	ความเข้มข้นของสารละลาย % (w/w)	
สารละลาย Na_2SO_4	สารละลาย PEG			สารละลาย Na_2SO_4	สารละลาย PEG
0.5140	4.4952	5.0092	2.2026	2.14	31.17
1.5226	3.4833	5.0060	4.6359	4.74	18.06
2.5238	2.4974	5.0212	6.0696	6.83	11.26
3.5057	1.5351	5.0408	7.3808	8.47	6.18
4.5380	0.4962	5.0342	7.8776	10.54	1.92

ก.10 การศึกษาแผนภาพวิภูภาคของระบบสารละลายน้ำสองวิภูภาคของโพลีเอททิลีน ไกลคอล (PEG) น้ำหนักโมเลกุล 4000 เกลือโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และน้ำ

ตารางที่ ก.10 แสดงน้ำหนักและความเข้มข้นของสารละลายในระบบสารละลายน้ำสองวิภูภาคที่มี องค์ประกอบของ PEG น้ำหนักโมเลกุล 4000 และเกลือโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

น้ำหนัก (กรัม)		น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักของน้ำ (กรัม)	ความเข้มข้นของสารละลาย % (w/w)	
สารละลาย NaOH	สารละลาย PEG			สารละลาย NaOH	สารละลาย PEG
0.5062	4.5092	5.0153	1.7598	2.24	33.28
1.5272	3.5007	5.0280	4.9568	4.59	17.53
2.5368	2.5025	5.0393	7.8116	5.92	9.74
3.5805	1.4333	5.0138	10.8312	6.78	4.52
4.5583	0.4648	5.0232	13.4215	7.41	1.26

ภาคผนวก ข.

การคำนวณค่าความเป็นเส้นตรง (Linearity)

ผลการคำนวณค่าความเป็นเส้นตรง (Linearity)

การคำนวณค่าความเป็นตรงของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท

ตารางที่ ข.1 แสดงผลการศึกษาความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท

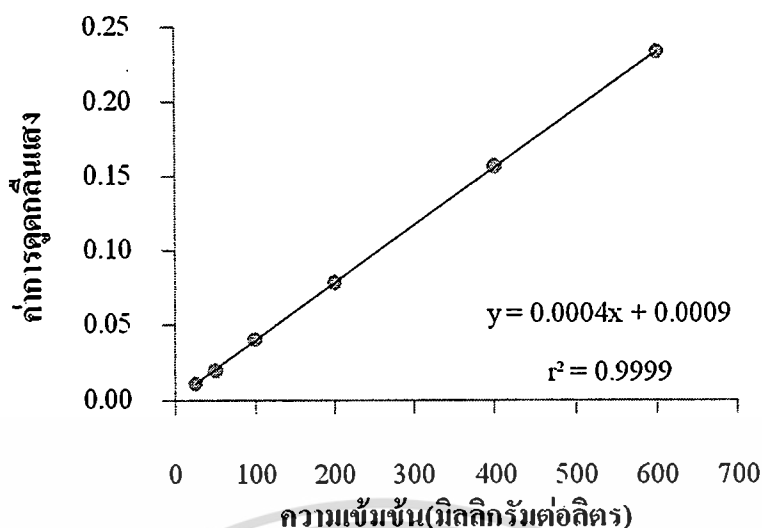
(n = 3)

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมเบนโซเอท (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง
0	0.0000 ± 0.0001
25	0.0109 ± 0.0002
50	0.0197 ± 0.0005
100	0.0409 ± 0.0001
200	0.0738 ± 0.0004
400	0.1570 ± 0.0008
600	0.2334 ± 0.0023

Regression Statistics	
Multiple R	0.999964
R Square	0.999927
Adjusted R Square	0.999913
Standard Error	0.000816
Observations	7

	Coefficients	Standard		P-value	Lower		Upper	
		Error	t Stat		95%	95%	95.0%	95.0%
Intercept	0.000928	0.000424	2.187461	0.080353	-0.00016	0.002019	-0.00016	0.002019
X Variable 1	0.000388	1.48E-06	261.9404	1.54E-11	0.000385	0.000392	0.000385	0.000392

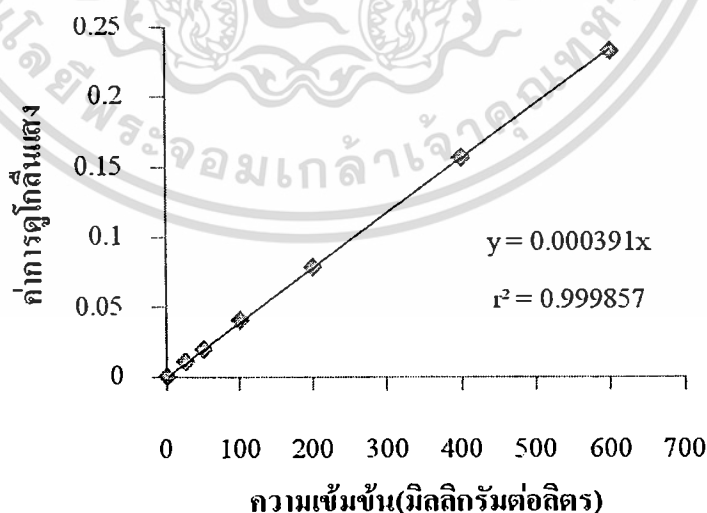
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.1 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท อันดับที่ 1

จากข้อมูลข้างต้นได้สมการเส้นตรง คือ $y = 0.0004x + 0.0009$

จากนั้นพิสูจน์ว่าจุดตัดแกน $y(a)$ มีค่าแตกต่างจาก 0 อย่างมีนัยสำคัญหรือไม่โดยใช้ t-test ซึ่งมีสูตรดังนี้ $t_{cal} = (a)/s_a$; $t_{cal} = (0.000928/0.000424) = |2.19|$ โดยค่า t จากตาราง ($t_{critical}$) ที่ระดับชั้นความเสรี (degree of freedom; $df (n-2)$; $7-2 = 5$) ที่ระดับความมั่นใจ 95% มีค่า = 2.57 จะเห็นว่าค่า $t_{cal} < t_{critical}$ หมายความว่า จุดตัดแกน $y(a)$ ไม่แตกต่างจาก 0 อย่างมีนัยสำคัญ เพราะฉะนั้นค่า a จะไม่อยู่ในสมการเส้นตรง จะได้สมการเส้นตรงเป็น $y = 0.000391x$



รูปที่ ข.2 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท อันดับที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งความชัน(b) อาจเกิดความคลาดเคลื่อน เพราะฉะนั้นต้องรายงานค่าความเชื่อมั่น โดยมี
สูตรการคำนวณดังต่อไปนี้

$$S_{y/x} = \left(\frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2} \right)^{1/2}$$

คำนวณหาส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความชัน(s_b) จากสูตรต่อไปนี้

$$S_b = \frac{S_{y/x}}{\left\{ \sum (x_i - \bar{x})^2 \right\}^{1/2}}$$

ดังนั้น ช่วงความเชื่อมั่นของความชัน คือ $b \pm t S_b$ (เมื่อ t-value เลือกที่ระดับความเชื่อมั่น
95% และ ระดับขั้นเสรี เท่ากับ $(n-2)$; $7-2 = 5$ ซึ่ง มีค่า = 2.57

x_i	x_i^2	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	y_i	\hat{y}_i	$(y_i - \hat{y}_i)$	$(y_i - \hat{y}_i)^2$
0	0	-196.429	38584.19	0	0	0.000000	0.000000
25	625	-171.429	29387.76	0.010890	0.009775	0.001115	0.000001
50	2500	-146.429	21441.33	0.019743	0.01955	0.000193	0.000000
100	10000	-96.4286	9298.475	0.040871	0.0391	0.001771	0.000003
200	40000	3.5714	12.7549	0.078798	0.0782	0.000598	0.000000
400	160000	203.5714	41441.31	0.156952	0.1564	0.000551	0.000000
600	360000	403.5714	162869.9	0.233375	0.2346	-0.001225	0.000002
ผลรวม	1375	573125	303035.7				0.000007
ค่าเฉลี่ย	196.43						

$$S_{y/x} = 0.001147$$

$$S_b = 2.08360E^{-06}$$

$$S_b * 2.45 = 5.35486E^{-06}$$

สมการเส้นตรง คือ $y = 0.000391x$ โดยที่ $b \pm t S_b$; $0.000391 \pm 5.35486E^{-06}$ $a = 0$

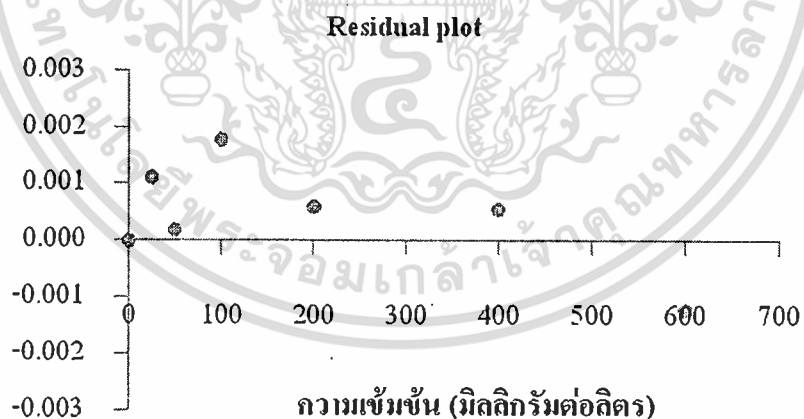
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจสอบความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานโดยใช้ Residual analysis จากสูตร

$$d_i = y_i - \hat{y}_i$$

เมื่อ $i = 1, \dots, n$
 y_i = ค่าที่ได้จากการทดลอง
 \hat{y}_i = ค่าที่ได้จากสมการเส้นตรง (Regression line; $y = 0.000391x + 0$)

x_i	y_i	\hat{y}_i	$(y_i - \hat{y}_i)$
0	0.000000	0.000000	0.000000
25	0.010890	0.009775	0.001115
50	0.019743	0.01955	0.000193
100	0.040871	0.0391	0.001771
200	0.078798	0.0782	0.000598
400	0.156952	0.1564	0.000551
600	0.233375	0.2346	-0.001225



รูปที่ ข.3 แสดง Residual plot ของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท

จากรูปที่ ข.3 พบว่า Residual (d) มีการกระจายตัวแบบปกติ หมายความว่า กราฟมาตรฐาน
 นี้มีความเป็นเส้นตรงที่ยอมรับได้ในช่วงความเข้มข้น 25 – 600 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

การคำนวณค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด (LOD)

ผลการคำนวณค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด (LOD) ของโซเดียมเบนโซเอท

สามารถหาได้จากข้อมูลการทำ system linearity

LOD หาได้สูตร

$$y = y_B + 3S_B \quad \dots\dots\dots(1)$$

โดยที่ $y_B = a; 0$

$$S_B = S_{y/x}; = 0.001147$$

แทนค่าลงในสมการที่ 1 จะได้

$$\begin{aligned} y &= 0 + (3 \times 0.001147) \\ &= 0.003441 \end{aligned}$$

จากนั้นนำค่า y ที่ได้ไปแทนในสมการเส้นตรงที่ได้จากการทำ system linearity

$$\begin{aligned} y &= 0.000391x \\ x &= \frac{0.003441}{0.000391} \\ &= 8.80 \quad \text{มิลลิกรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

ภาคผนวก ง.

การคำนวณค่าขีดจำกัดในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ)

การคำนวณค่าขีดจำกัดในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ (LOQ) ของโซเดียมเบนโซเอท

สามารถหาได้จากข้อมูลการทำ system linearity

LOQ หาได้สูตร

$$y = y_B + 10S_B \quad \dots\dots\dots(1)$$

โดยที่ $y_B = a; 0$

$$S_B = S_{y/x}; = 0.001147$$

แทนค่าลงในสมการที่ 1 จะได้

$$\begin{aligned} y &= 0 + (10 \times 0.001147) \\ &= 0.011470 \end{aligned}$$

จากนั้นนำค่า y ที่ได้ไปแทนในสมการเส้นตรงที่ได้จากการทำ system linearity

$$\begin{aligned} y &= 0.000391x \\ x &= \frac{0.011470}{0.000391} \\ &= 29.34 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร} \end{aligned}$$

ภาคผนวก จ.

การคำนวณค่าความเที่ยง (precision)

การคำนวณค่าความเที่ยง (precision) ของวิธีทดสอบ

เกณฑ์การยอมรับความเที่ยงประเมินโดยการเปรียบเทียบกับค่าที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation และHORRAT (Horwitz ratio) ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่าง %RSD กับความเข้มข้นโดยไม่คำนึงถึงวิธีวิเคราะห์ที่ใช้และตัวอย่างที่วิเคราะห์ เนื่องจากวิธีวิเคราะห์และลักษณะตัวอย่างไม่มีอิทธิพลต่อ %RSD

การคำนวณ %RSD

$$\%RSD = \left(\frac{SD \times 100}{\bar{x}} \right) \dots\dots\dots(1)$$

Horwitz equation

สำหรับ reproducibility : $RSD_R = 2^{(1-0.5 \log C)} = 2C^{-0.1505}$

สำหรับ repeatability : $RSD_r = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)} = 0.66 \times 2C^{-0.1505}$

โดย C เป็น Concentration ratio (ไม่มีหน่วย)

ตารางที่ จ.1 แสดงค่า expected %RSD_r ที่คำนวณจากHorwitz' equation ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของ analyte	C	Expected %RSD _r
100% (100g/100g)	1	$0.66 \times 2 \times (1^{-0.1505}) = 1.3$
10% (10g/100g)	0.1	$0.66 \times 2 \times (0.1^{-0.1505}) = 1.8$
1% (1g/100g)	0.01	$0.66 \times 2 \times (0.01^{-0.1505}) = 2.6$
0.1% (0.1g/100g)	0.001	$0.66 \times 2 \times (0.001^{-0.1505}) = 3.7$
100 ppm(100mg/kg)	$1 \times 10^{-4} = 0.0001$	$0.66 \times 2 \times (10^{-4})^{-0.1505} = 5.2$
10 ppm(10mg/kg)	$1 \times 10^{-5} = 0.00001$	$0.66 \times 2 \times (10^{-5})^{-0.1505} = 7.4$
1ppm(1mg/kg)	$1 \times 10^{-6} = 0.000001$	$0.66 \times 2 \times (10^{-6})^{-0.1505} = 10.5$
0.1 ppm หรือ 100 ppb	$1 \times 10^{-7} = 0.0000001$	$0.66 \times 2 \times (10^{-7})^{-0.1505} = 14.9$
0.01 ppm หรือ 10 ppb	$1 \times 10^{-8} = 0.00000001$	$0.66 \times 2 \times (10^{-8})^{-0.1505} = 21.1$
0.001 ppm หรือ 1 ppb	$1 \times 10^{-9} = 0.000000001$	$0.66 \times 2 \times (10^{-9})^{-0.1505} = 29.8$

เกณฑ์การยอมรับ

ใช้เกณฑ์ AOAC และ Codex กับ EU กำหนดไว้ทั่วไป ดังนี้

ตารางที่ จ.2 แสดงเกณฑ์ค่า HORRAT ที่ยอมรับ

Reference	ค่า HORRAT ที่ยอมรับ
AOAC	<2
Codex, EU	≤2

โดย HORRAT หรือ Horwitz ratio คือ อัตราส่วนระหว่างค่า RSD ที่คำนวณได้จากผลการทดลอง (RSD_{obs}) กับค่า RSD ที่คำนวณจาก Horwitz's equation ($RSD_{expected}$) ใช้ประเมินการยอมรับความเที่ยงได้ สำหรับ repeatability; $HORRAT = RSD_{obs} / RSD_{expected}$ ความเที่ยงเป็นคุณลักษณะเฉพาะของวิธีที่แสดงถึงความใกล้เคียงกันของผลการทดสอบซ้ำ ภายใต้ภาวะที่กำหนด

ตารางที่ จ.3 การคำนวณค่าความเที่ยงของการทดสอบสาร โซเดียมเบนโซเอทที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร

ครั้งที่	ความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	ความเข้มข้นที่เดิม 200 มิลลิกรัมต่อลิตร	ความเข้มข้นที่เดิม 400 มิลลิกรัมต่อลิตร
1	190.47	416.78
2	192.96	412.75
3	205.16	411.59
4	200.70	395.25
5	204.29	402.49
ค่าเฉลี่ย	198.71	407.77
% RSD	3.35	1.92
Horwitz equation (RSD_p)	4.76	4.28
HORRAT target	0.70	0.45

โซเดียมเบนโซเอทระดับความเข้มข้น 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อประเมินด้วยความเที่ยง พบว่า HORRAT มีค่าเท่ากับ 0.70 และ 0.45 อยู่ในเกณฑ์น้อยกว่า 2 ตามมาตรฐานโคเด็กซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ.

การคำนวณค่าความแม่นยำ (accuracy)

การคำนวณค่าความแม่นยำ (accuracy) ของวิธีทดสอบ

ค่าความแม่นยำ คือการแสดงความใกล้เคียงของค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบค่าความถูกต้อง
คำนวณได้จากร้อยละการกลับคืน (%Recovery)

$$\text{ร้อยละการกลับคืน} = \frac{(C_1 - C_2) \times 100}{C_3} \dots\dots\dots(1)$$

เมื่อ C_1 = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน

C_2 = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่ไม่เติมสารละลายมาตรฐาน

C_3 = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติม

The AOAC Manual for the Peer Verified Methods Program (1993) ได้กำหนดแนวทาง
สำหรับการยอมรับ ร้อยละการกลับคืน (%Recovery) โดยทั่วไปตามตารางที่ จ.1

ตารางที่ จ.1 เกณฑ์การยอมรับร้อยละการกลับคืนตามมาตรฐาน AOAC มีเกณฑ์มาตรฐาน

ความเข้มข้นของ analyte	ร้อยละการกลับคืน
10-100%	98-102
$\geq 1\%$ (10,000 ppm)	97-103
$> 0.1\%$ (1,000 ppm)	95-105
100 ppm	90-107
10 ppm, 1 ppm, 100 ppb	80-110
10 ppb	60-115
1 ppb	40-120

เกณฑ์การยอมรับร้อยละการกลับคืนของสารตามมาตรฐาน โคเด็กซ์ ได้กำหนดงานด้าน
สารตกค้างจากยาฆ่าแมลงและยาสัตว์ตกค้างในอาหาร มีเกณฑ์มาตรฐาน ดังตารางที่ จ.2

ตารางที่ ๑.๒ เกณฑ์การยอมรับร้อยละการกลับคืนตามมาตรฐาน โคเด็กซ์

ความเข้มข้นของ analyte	ร้อยละการกลับคืน
< 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	50-120
> 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ \leq 0.001 mg/kg	60-120
> 0.01 mg/kg \leq 0.1 mg/kg	70-120
> 0.1 mg/kg < 1 mg/kg	70-110
>10 mg/kg	70-110

ตารางที่ ๑.๓ ผลการคำนวณค่าความแม่นยำของการทดสอบของสารมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอท ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของ เบนโซเอทที่เติม (mg/L)	ความเข้มข้นของ เบนโซเอทที่ตรวจพบ (mg/L)	ร้อยละการกลับคืน (% Recovery)
1	-	ND	-
	200	180.47	90.24
	400	416.78	104.19
2	-	77.87	-
	200	270.83	96.48
	400	490.62	103.54
3	-	43.64	-
	200	248.80	102.58
	400	455.23	102.90
4	-	51.42	-
	200	252.12	100.35
	400	446.67	98.81
5	-	82.46	-
	200	286.75	101.91
	400	384.96	100.67
		ค่าเฉลี่ย	100.17

โซเดียมเบนโซเอทระดับความเข้มข้น 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อประเมินด้วย ความแม่นยำ พบว่า ร้อยละการกลับคืนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 100.17 อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน โคเด็กซ์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การคำนวณหาปริมาณเบนโซเอทในตัวอย่างจริง

ข.1 ผลการศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสมต่อการเตรียมตัวอย่าง

ตารางที่ ข.1.1 แสดงการละลายของตัวอย่างเมื่อเตรียมในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

ความเข้มข้น ของ HCl	ระยะเวลา(นาที)					
	5	10	15	20	25	30
1	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย
2	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย
3	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย
4	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ละลายได้เล็กน้อย
5	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ละลายหมด
6	ไม่ละลาย	ละลายได้เล็กน้อย	ละลายได้เพิ่มขึ้น	ละลายหมด	ละลายหมด	ละลายหมด

ตารางที่ ข.1.2 แสดงการละลายของตัวอย่างเมื่อเตรียมในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ความเข้มข้น ของ NaOH	ระยะเวลา(นาที)					
	5	10	15	20	25	30
1	ไม่ละลาย	ละลายได้เล็กน้อย	ละลายได้เล็กน้อย	ละลายหมด	ละลายหมด	ละลายหมด
2	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ละลายหมด
3	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย
4	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย
5	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย
6	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.2 ผลการคำนวณหาปริมาณเบนโซเอทในตัวอย่างจริง

ตารางที่ ข.2 แสดงผลการคำนวณหาปริมาณเบนโซเอทในตัวอย่างจริง

ชนิดของ ตัวอย่าง	ชื่อ	น้ำหนักของ ตัวอย่าง(กรัม)	ปริมาณเบนโซเอท ที่ตรวจพบ (mg/L)	ปริมาณเบนโซเอท ที่ตรวจพบ (mg/kg)
ขนมจีน	A1	20.04792	42.87	427.72
	A2	20.12913	77.87	773.68
	A3	20.07228	43.64	434.87
	A4	20.04347	51.42	513.08
	A5	20.02200	58.12	580.59
	A6	10.00200	ND	ND
	A7	20.15900	68.79	682.44
	A8	20.00430	130.56	1305.34
	A9	20.00211	87.58	875.75
	A10	20.00500	ND	ND
เส้นเล็ก	B1	20.00047	ND	ND
	B2	20.01646	37.45	374.24
	B3	20.03037	ND	ND
	B4	20.02508	41.10	410.53
	B5	20.01160	ND	ND
	B6	20.00810	74.30	742.69
	B7	20.00770	60.99	609.70
	B8	20.01270	38.46	384.34
	B9	20.03980	43.38	432.96
	B10	20.00680	ND	ND

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 แสดงผลการคำนวณหาปริมาณเบนโซเอทในตัวอย่างจริง (ต่อ)

ชนิดของตัวอย่าง	ชื่อ	น้ำหนักของตัวอย่าง(กรัม)	ปริมาณเบนโซเอทที่ตรวจพบ (mg/L)	ปริมาณเบนโซเอทที่ตรวจพบ (mg/kg)
เส้นใหญ่	C1	20.00600	49.48	494.32
	C2	20.00660	57.71	576.88
	C3	20.05900	37.72	376.11
	C4	20.06820	70.45	702.11
	C5	20.01340	106.35	1062.78
	C6	20.00766	36.97	369.57
	C7	20.16300	ND	ND
	C8	20.02080	40.43	403.84
	C9	20.04810	72.31	721.37
	C10	20.04470	82.46	822.80

ข.3 ผลการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์เบนโซเอทด้วยวิธีมาตรฐานและวิธีที่พัฒนาขึ้น

ตารางที่ ข.3 ผลการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์เบนโซเอทด้วยวิธีมาตรฐานและวิธีที่พัฒนาขึ้น

ชนิดของตัวอย่าง	วิธีที่พัฒนา (ATPS)		วิธีมาตรฐานของ AOAC	
	น้ำหนักของตัวอย่าง(กรัม)	ปริมาณเบนโซเอทที่ตรวจพบ (mg/L)	น้ำหนักของตัวอย่าง(กรัม)	ปริมาณเบนโซเอทที่ตรวจพบ (mg/L)
ขนมจีน 1	20.04347	516.41	20.03560	513.28
ขนมจีน 2	20.02200	580.59	20.00330	577.27
เส้นเล็ก 1	20.03980	440.57	20.03140	437.27
เส้นเล็ก 2	20.00680	ND	20.06080	ND
เส้นใหญ่ 1	20.04810	721.37	20.06330	726.13
เส้นใหญ่ 2	20.04470	822.80	20.08510	826.52

หมายเหตุ ND = Not detected

t-Test: Paired Two Sample for Means

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	513.4112	513.6227
Variance	83351.28	82478.23
Observations	6	6
Pearson Correlation	0.999932	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	5	
t_{Stat}	-0.14057	
P(T<=t) one-tail	0.44685	
$t_{Critical}$ one-tail	2.015048	
P(T<=t) two-tail	0.893699	
$t_{Critical}$ two-tail	2.570582	

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเบนโซเอทในตัวอย่างทั้งหมด 6 ตัวอย่าง แบ่งเป็นขนมจีน 2 ตัวอย่าง ก๋วยเตี๋ยวเส้นใหญ่ 2 ตัวอย่าง และก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็ก 2 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าที่ได้จากวิธีมาตรฐานของ AOAC ข้อ 47.3.03 และวิธีการสกัดด้วยสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่พัฒนาขึ้น ดังตารางที่ ข.2 จะเห็นได้ว่าค่าปริมาณที่ตรวจพบทั้งสองวิธีมีค่าใกล้เคียงกัน โดยเมื่อเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสถิติ คือ *paired t-test* พบว่า ผลลัพธ์ของการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($t_{observed} = -0.14$, $t_{critical} = 2.57$)

ตารางที่ ข.4 ผลการคำนวณค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) ของการทดสอบของสารมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอทที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตรในตัวอย่าง ซึ่งใช้วิธีการสกัดด้วยสารละลายน้ำสองวัฏภาคที่พัฒนาขึ้น

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของ เบนโซเอทที่เติม (mg/L)	ความเข้มข้นของ เบนโซเอทที่ตรวจพบ (mg/L)	ร้อยละการคืนกลับ (% Recovery)
ขนมจัน 1	-	51.75	-
	200	252.12	100.35
	300	345.72	98.10
ขนมจัน 2	-	58.12	-
	200	253.53	97.70
	300	362.82	101.57
เส้นเล็ก 1	-	44.14	-
	200	240.60	98.61
	300	350.27	102.30
เส้นเล็ก 2	-	ND	-
	200	204.39	102.20
	300	311.28	103.76
เส้นใหญ่ 1	-	72.31	-
	200	276.36	102.02
	300	360.94	96.21
เส้นใหญ่ 2	-	82.46	-
	200	286.75	102.15
	300	384.96	100.83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.5 ผลการคำนวณค่าร้อยละการคืนกลับ (%Recovery) ของการทดสอบของสารมาตรฐาน โซเดียมเบนโซเอทที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตรในตัวอย่าง ซึ่งใช้วิธีมาตรฐานของ AOAC ข้อ 47.3.03

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของ เบนโซเอทที่เติม (mg/L)	ความเข้มข้นของ เบนโซเอทที่ตรวจพบ (mg/L)	ร้อยละการคืนกลับ (% Recovery)
ขนมจีน 1	-	51.42	-
	200	250.02	99.30
	300	347.53	98.70
ขนมจีน 2	-	57.74	-
	200	254.01	98.14
	300	352.56	98.27
เส้นเล็ก 1	-	43.80	-
	200	242.08	99.14
	300	340.93	99.04
เส้นเล็ก 2	-	ND	-
	200	204.07	102.04
	300	309.09	103.03
เส้นใหญ่ 1	-	72.84	-
	200	270.83	99.00
	300	367.38	98.18
เส้นใหญ่ 2	-	83.00	-
	200	282.11	99.55
	300	380.62	99.21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง วัตถุเจือปนในอาหาร

(สำเนา)

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

(ฉบับที่ 281) พ.ศ. 2547

เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง สีสผสมอาหาร วัตถุที่ใช้ปรุงแต่งรสอาหาร และวัตถุเจือปนอาหาร ให้เหมาะสมกับสภาวะการณ์ในปัจจุบันและเพิ่มประสิทธิภาพในการคุ้มครองผู้บริโภคยิ่งขึ้น

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา 5 และมาตรา 6(1)(2)(4)(5)(6)(7)(9) และ (10) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 อันเป็นพระราชบัญญัติที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา 29 ประกอบกับมาตรา 35 มาตรา 39 มาตรา 48 และมาตรา 50 ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทยบัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมาย รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ 1 ให้ยกเลิก

(1) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 21 (พ.ศ.2522) เรื่อง กำหนดสีผสมอาหาร เป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน การใช้ การผสม และฉลาก ลงวันที่ 13 กันยายน พ.ศ.2522

(2) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 38 (พ.ศ.2522) เรื่อง กำหนดวัตถุที่ใช้ปรุงแต่งรสอาหาร เป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน ลงวันที่ 13 กันยายน พ.ศ.2522

(3) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 55 (พ.ศ.2524) เรื่อง แก้ไขเพิ่มเติมประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 21 (พ.ศ.2522) ลงวันที่ 2 มกราคม พ.ศ.2524

(4) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 66 (พ.ศ.2525) เรื่อง แก้ไขเพิ่มเติมประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 55 (พ.ศ.2524) ลงวันที่ 11 มกราคม พ.ศ.2525

(5) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 84 (พ.ศ.2527) เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร ลงวันที่ 25 ธันวาคม พ.ศ.2527

(6) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 119 (พ.ศ.2532) เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 8 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2532

ข้อ 2 ให้วัตถุเจือปนอาหาร (Food Additive) เป็นอาหารควบคุมเฉพาะ

ข้อ 3 วัตถุเจือปนอาหาร หมายความว่า วัตถุที่ตามปกติมิได้ใช้เป็นอาหารหรือเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหาร ไม่ว่าวัตถุนั้นจะมีคุณค่าทางอาหารหรือไม่ก็ตาม แต่ใช้เจือปนในอาหารเพื่อประโยชน์ทางเทคโนโลยีการผลิต การแต่งสีอาหาร การปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร การบรรจุ การเก็บรักษา หรือการขนส่ง ซึ่งมีผลต่อคุณภาพหรือมาตรฐานหรือลักษณะของอาหาร ทั้งนี้ให้หมายความรวมถึงวัตถุที่มีได้เจือปนในอาหาร แต่มีภาชนะบรรจุไว้เฉพาะแล้วใส่รวมอยู่กับอาหารเพื่อประโยชน์ดังกล่าวข้างต้นด้วย เช่น วัตถุกันชื้น วัตถุดูดออกซิเจน เป็นต้น

ความในวรรคหนึ่ง ไม่รวมถึงสารอาหารที่เติมเพื่อเพิ่มหรือปรับให้คงคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน เกลือแร่

ข้อ 4 วัตถุเจือปนอาหาร ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามเงื่อนไขใดเงื่อนไขหนึ่ง ดังต่อไปนี้

(1) ตามที่กำหนดไว้ใน Codex Advisory Specification for the Identity and Purity of Food Additives

(2) ตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา โดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

(3) ตามที่ได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการเพื่อศึกษาวิเคราะห์ปัญหาและวินิจฉัยในเชิงวิชาการเกี่ยวกับอาหาร โดยผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าจะต้องส่งมอบผลการประเมินความปลอดภัยของวัตถุเจือปนอาหารชนิดนั้น พร้อมรายละเอียดข้อมูลประกอบการยื่นขอ ดังนี้

(3.1) การระบุส่วนประกอบและลักษณะทางเคมีของวัตถุเจือปนอาหารที่นำมาประเมินความปลอดภัยโดยมีรายละเอียด ดังนี้

(3.1.1) เอกลักษณ์และความบริสุทธิ์ของวัตถุเจือปนอาหารที่ใช้ในการทดสอบความเป็นพิษ เพื่อประเมินความปลอดภัย (Identity and Purity)

(3.1.2) ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นและวิถีของวัตถุเจือปนอาหารนั้น ๆ ในอาหาร (Reactions and Fate of Food Additives in Food)

(3.1.3) ข้อกำหนดคุณลักษณะเฉพาะของวัตถุเจือปนอาหาร (Specifications)

(3.2) กระบวนการทดสอบและการประเมินความปลอดภัย โดยแสดงรายละเอียดดังนี้

(3.2.1) ระบุตัวชี้วัดในการทดลองและการศึกษาข้อมูลเรื่องการเกิดพิษ ดังต่อไปนี้

(ก) ผลกระทบต่อหน้าที่การทำงานของร่างกาย (Functional Manifestations)

(ข) การก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะ (Morphological Manifestations)

(ค) การก่อมะเร็ง (Neoplasms)

(ง) ความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์และการพัฒนาการของร่างกาย (Reproduction and Developmental Toxicity)

(จ) ผลการศึกษาออกสัตว์ทดลอง (*In Vitro* Studies)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(3.2.2) การนำข้อมูลด้านการเปลี่ยนแปลงในร่างกายและเภสัชจลนศาสตร์ของวัตถุเจือปนอาหารนั้น ๆ มาใช้ในการประเมินความปลอดภัย (The Use of Metabolic and Pharmacokinetic Studies in Safety Assessment) โดยกล่าวถึงในประเด็น ดังต่อไปนี้

- (ก) ชนิดของสัตว์ที่นำมาใช้ในการศึกษาทดลองว่ามีความเทียบเคียงกับมนุษย์ได้หรือไม่ อยู่น้อยเพียงใด (Identifying Relevant Animal Species)
- (ข) กลไกการเกิดพิษของวัตถุเจือปนอาหารที่ประเมิน (Determining the Mechanisms of Toxicity)
- (ค) การเปลี่ยนแปลงของวัตถุเจือปนอาหารนั้น ๆ ในร่างกาย (Metabolism into Normal Body Constituents)
- (ง) ผลกระทบของจุลินทรีย์ที่อยู่ในทางเดินอาหารต่อวัตถุเจือปนอาหารนั้น ๆ และผลกระทบของวัตถุเจือปนอาหารนั้น ๆ ต่อจุลินทรีย์ที่อยู่ในทางเดินอาหาร (Effects of the Gut Microflora on the Chemical and Effects of the Chemical on the Gut Microflora)

(3.2.3) อิทธิพลของอายุ ภาวะโภชนาการ และภาวะสุขภาพของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ศึกษาทดลองต่อการแปลผลการศึกษา และลักษณะของการออกแบบการศึกษาทดลอง (Influence of Age, Nutritional Status, and Health Status in the Design and Interpretation of Studies)

(3.2.4) ข้อมูลการศึกษาในมนุษย์ที่นำมาใช้ในการประเมินความปลอดภัย ดังต่อไปนี้

- (ก) การศึกษาทางระบาดวิทยา (Epidemiological Studies)
- (ข) อาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นจากการรับประทานอาหารที่มีวัตถุเจือปนอาหารนั้น ๆ เป็นส่วนประกอบอยู่ (Food Intolerance)

(3.2.5) การกำหนดค่าที่ปลอดภัยสำหรับมนุษย์ในการรับสัมผัสโดยการรับประทานต่อวัน (Acceptable Daily Intake: ADI) โดยกล่าวถึงข้อมูลที่นำมาใช้ในการกำหนดค่า ดังต่อไปนี้

- (ก) ค่าของขนาดสูงสุดที่ให้แก่สัตว์ทดลองแล้วไม่สังเกตเห็นความผิดปกติ (No-observed-effect level: NOEL) ที่ใช้
- (ข) การใช้องค์ประกอบความปลอดภัย (Safety factor) ในการคำนวณ
- (ค) การพิจารณาถึงความเป็นพิษและปฏิกิริยาการตอบสนองของร่างกาย (Toxicological versus physiological responses)

(ง) การเปรียบเทียบค่าที่ปลอดภัยสำหรับมนุษย์ในการรับสัมผัสโดยการรับประทานต่อวัน (ADI) ที่กำหนดขึ้นกับแนวโน้มที่มนุษย์จะมีโอกาสได้รับสัมผัสวัตถุเจือปนอาหารนั้น ๆ จริง

ข้อ 5 วัตถุเจือปนอาหารต้องมีวิธีการตรวจวิเคราะห์เป็นไปตามที่กำหนดไว้ใน Codex Advisory Specification for the Identity and Purity of Food Additives กรณีการใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ที่แตกต่างไปจากข้อกำหนดดังกล่าว ต้องเป็นวิธีการตรวจวิเคราะห์ตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา โดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

ข้อ 6 การใช้วัตถุเจือปนอาหาร ต้องใช้ตามชนิดวัตถุเจือปนอาหาร ชนิดของอาหาร และ ปริมาณสูงสุดที่ให้ได้ ตามเงื่อนไขใดเงื่อนไขหนึ่ง ดังต่อไปนี้

6.1 ตามมาตรฐานทั่วไปสำหรับการใช้วัตถุเจือปนอาหารของโคเด็กซ์ (Codex General Standard for Food Additives) ฉบับล่าสุด

6.2 ตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา โดยความเห็นชอบของ คณะกรรมการอาหาร

6.3 การใช้วัตถุเจือปนอาหารนอกเหนือจากข้อ 6.1 และ 6.2 ต้องได้รับความเห็นชอบจาก สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

ข้อ 7 การใช้วัตถุเจือปนอาหารที่แตกต่างไปจากที่กำหนดไว้ในข้อ 6 และได้รับความเห็นชอบ จากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาไปก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ ให้ผู้ที่ได้รับความเห็นชอบดังกล่าว ต้องแก้ไขปรับปรุงการใช้วัตถุเจือปนอาหารให้เป็นไปตามประกาศฉบับนี้ ภายในหนึ่งปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ ใช้บังคับ

ข้อ 8 ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าวัตถุเจือปนอาหารเพื่อจำหน่าย ต้องปฏิบัติตามประกาศกระทรวง สาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร

ข้อ 9 การใช้ภาชนะบรรจุวัตถุเจือปนอาหาร ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ว่าด้วยเรื่อง ภาชนะบรรจุ

ข้อ 10 การแสดงฉลากวัตถุเจือปนอาหาร ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วย เรื่อง ฉลาก

ข้อ 11 ประกาศฉบับนี้ ไม่ใช่บังคับกับวัตถุแต่งกลิ่นรส (flavoring agents) ตามประกาศ กระทรวงสาธารณสุขว่าด้วย เรื่อง วัตถุแต่งกลิ่นรส

ข้อ 12 ใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับอาหาร ฉลากอาหาร หรือเลขสารบบอาหาร ซึ่งได้ออก ไว้แล้วและไม่ขัดหรือแย้งกับประกาศนี้ให้คงใช้ต่อไปได้ กรณีที่ขัดหรือแย้งกับประกาศนี้ให้ใช้ได้ไม่เกินหนึ่งปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 13 ประกาศนี้ ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ 18 สิงหาคม พ.ศ. 2547

(ลงชื่อ) สุดารัตน์ เกตุราพันธ์

(นางสุดารัตน์ เกตุราพันธ์)

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

(คัดจากราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 121 ตอนพิเศษ 97 ง. ลงวันที่ 6 กันยายน พ.ศ.2547)

รับรองสำเนาถูกต้อง

สิริรัตน์ เทะเศศิลป์

(นางสาวสิริรัตน์ เทะเศศิลป์)

นักวิชาการอาหารและยา 6ว.

มาตรฐานทั่วไปสำหรับการใช้วัตถุเจือปนอาหารของเด็กซ์

(Codex General Standard for food Additives)

BENZOATES				
Benzoic acid	INS: 210	Sodium benzoate	INS: 211	
Potassium benzoate	INS: 212	Calcium benzoate	INS: 213	
Function: preservative				
FoodCatNo	FoodCategory	MaxLevel	Notes	Year Adopted
01.7	Dairy-based desserts (e.g., pudding, fruit or flavoured yoghurt)	300 mg/kg	13	2001
02.2.2	Fat spreads, dairy fat spreads and blended spreads	1000 mg/kg	13	2001
02.3	Fat emulsions mainly of type oil-in-water, including mixed and/or flavoured products based on fat emulsions	1000 mg/kg	13	2001
02.4	Fat-based desserts excluding dairy-based dessert products of food category 01.7	1000 mg/kg	13	2001
04.1.2.2	Dried fruit	800 mg/kg	13	2003
04.1.2.3	Fruit in vinegar, oil, or brine	1000 mg/kg	13	2001
04.1.2.5	Jams, jellies, marmelades	1000 mg/kg	13	2001
04.1.2.6	Fruit-based spreads (e.g., chutney) excluding products of food category 04.1.2.5	1000 mg/kg	13	2001
04.1.2.7	Candied fruit	1000 mg/kg	13	2001
04.1.2.8	Fruit preparations, including pulp, purees, fruit toppings and coconut milk	1000 mg/kg	13	2001
04.1.2.9	Fruit-based desserts, including fruit-flavoured water-based desserts	1000 mg/kg	13	2001
04.1.2.10	Fermented fruit products	1000 mg/kg	13	2001
04.1.2.11	Fruit fillings for pastries	1000 mg/kg	13	2001
04.1.2.12	Cooked fruit	1000 mg/kg	13	2001
04.2.2.2	Dried vegetables (including mushrooms and fungi, roots and tubers, pulses and legumes, and aloe vera), seaweeds, and nuts and seeds	1000 mg/kg	13	2003
04.2.2.3	Vegetables (including mushrooms and fungi, roots and tubers, pulses and legumes, and aloe vera), and seaweeds in vinegar, oil, brine, or soybean sauce	2000 mg/kg	13	2001
04.2.2.5	Vegetable (including mushrooms and fungi, roots and tubers, pulses and legumes, and aloe vera), seaweed, and nut and seed purees and spreads (e.g., peanut butter)	1000 mg/kg	13	2001
04.2.2.6	Vegetable (including mushrooms and fungi, roots and tubers, pulses and legumes, and aloe vera), seaweed, and nut and seed pulps and preparations (e.g., vegetable desserts and sauces, candied vegetables) other than food category 04.2.2.5	3000 mg/kg	13	2001
04.2.2.7	Fermented vegetable (including mushrooms and fungi, roots and tubers, pulses and legumes, and aloe vera) and seaweed products, excluding fermented soybean products of food categories 06.8.6, 06.8.7, 12.9.1, 12.9.2.1 and 12.9.2.3	1000 mg/kg	13	2001
04.2.2.8	Cooked or fried vegetables (including mushrooms and fungi, roots and tubers, pulses and legumes, and aloe vera), and seaweeds	1000 mg/kg	13	2001
05.1.3	Cocoa-based spreads, including fillings	1500 mg/kg	13	2003
05.1.5	Imitation chocolate, chocolate substitute products	1500 mg/kg	13	2003
05.2	Confectionery including hard and soft candy, nougats, etc. other than food categories 05.1, 05.3 and 05.4	1500 mg/kg	13	2003

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BENZOATES

Function: preservative

FoodCatNo	FoodCategory	MaxLevel	Notes	Year Adopted
05.3	Chewing gum	1500 mg/kg	13	2005
05.4	Decorations (e.g., for fine bakery wares), toppings (non-fruit) and sweet sauces	1500 mg/kg	13	2003
06.4.3	Pre-cooked pastas and noodles and like products	1000 mg/kg	13	2004
06.5	Cereal and starch based desserts (e.g., rice pudding, tapioca pudding)	1000 mg/kg	13	2003
07.0	Bakery wares	1000 mg/kg	13	2004
08.2.1.2	Cured (including salted) and dried non-heat treated processed meat, poultry, and game products in whole pieces or cuts	1000 mg/kg	3 & 13	2005
08.3.1.2	Cured (including salted) and dried non-heat treated processed comminuted meat, poultry, and game products	1000 mg/kg	3 & 13	2005
09.2.4.2	Cooked mollusks, crustaceans, and echinoderms	2000 mg/kg	13 & 82	2003
09.2.5	Smoked, dried, fermented, and/or salted fish and fish products, including mollusks, crustaceans, and echinoderms	200 mg/kg	13 & 121	2004
09.3	Semi-preserved fish and fish products, including mollusks, crustaceans, and echinoderms	2000 mg/kg	13 & 120	2003
10.2.1	Liquid egg products	5000 mg/kg	13	2003
10.4	Egg-based desserts (e.g., custard)	1000 mg/kg	13	2003
11.4	Other sugars and syrups (e.g., xylose, maple syrup, sugar toppings)	1000 mg/kg	13	2003
11.6	Table-top sweeteners, including those containing high-intensity sweeteners	2000 mg/kg	13	2003
12.2.2	Seasonings and condiments	1000 mg/kg	13	2003
12.3	Vinegars	1000 mg/kg	13	2003
12.4	Mustards	1000 mg/kg	13	2003
12.5	Soups and broths	500 mg/kg	13	2001
12.6	Sauces and like products	1000 mg/kg	13	2003
12.7	Salads (e.g., macaroni salad, potato salad) and sandwich spreads excluding cocoa- and nut-based spreads of food categories 04.2.2.5 and 05.1.3	1500 mg/kg	13	2003
13.3	Dietetic foods intended for special medical purposes (excluding products of food category 13.1)	1500 mg/kg	13	2003
13.4	Dietetic formulae for slimming purposes and weight reduction	1500 mg/kg	13	2003
13.5	Dietetic foods (e.g., supplementary foods for dietary use) excluding products of food categories 13.1 - 13.4 and 13.6	2000 mg/kg	13	2003
13.6	Food supplements	2000 mg/kg	13	2003
14.1.2.1	Fruit juice	1000 mg/kg	13, 91 & 122	2004
14.1.2.3	Concentrates for fruit juice	1000 mg/kg	13, 91, 122 & 127	2004
14.1.3.1	Fruit nectar	1000 mg/kg	13, 91 & 122	2004
14.1.3.3	Concentrates for fruit nectar	1000 mg/kg	13, 91, 122 & 127	2004
14.1.3.4	Concentrates for vegetable nectar	600 mg/kg	13	2004
14.1.4	Water-based flavoured drinks, including "sport," "energy," or "electrolyte" drinks and particulated drinks	600 mg/kg	13, 123 & 301	2004
14.1.5	Coffee, coffee substitutes, tea, herbal infusions, and other hot cereal and grain beverages, excluding cocoa	1000 mg/kg	13	2004
14.2.2	Cider and perry	1000 mg/kg	13 & 124	2004
14.2.4	Wines (other than grape)	1000 mg/kg	13	2003
14.2.5	Mead	1000 mg/kg	13	2004

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BENZOATES

Function: preservative

FoodCatNo	FoodCategory	MaxLevel	Notes	Year Adopted
14.2.7	Aromatized alcoholic beverages (e.g., beer, wine and spirituous cooler-type beverages, low alcoholic refreshers)	1000 mg/kg	13	2003
15.1	Snacks - potato, cereal, flour or starch based (from roots and tubers, pulses and legumes)	1000 mg/kg	13	2004
16.0	Composite foods - foods that could not be placed in categories 01 - 15	1000 mg/kg	13	2004



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวสิริพร มิตรโกสม
วัน เดือน ปีเกิด	9 กรกฎาคม 2526
ที่อยู่	11 ม. 2 ต.ปากน้ำ อ.บางคล้า จ.ฉะเชิงเทรา 24120
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2544-2548 ครุศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ 1) สาขาวิทยาศาสตร์ทั่วไป มหาวิทยาลัยราชภัฏราชชนครินทร์
ประวัติการทำงาน	พ.ศ. 2548-2550 เจ้าหน้าที่ปฏิบัติการเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏราชชนครินทร์
ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่	

Praditweangkum W., Mitkosum S., "Aqueous Two-Phase Extraction And Spectrophotometric Determination Of Benzoate In Fermented Rice Noodle (Knomjeen)" **Pure And Applied Chemistry International Conference 2010**, 2010. pp.15-18.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

two-phase system. The partition of the solute in such an aqueous two-phase system depends both on the characteristics of the formed system (nature and concentration of the inorganic salt, molecular mass and concentration of the polymer) and the hydration properties of the solute (the solute extraction increase with decreasing of the solute hydration) [17]. The effect of polymer molecular mass on extraction efficiency (%E) was examined with the aqueous two-phase conditions of 5.0 mL of benzoate solution (200 and 400 mg/L sodium benzoate), 5.0 mL of 50%(w/v)PEG and 5.0 mL of 50% (w/v)(NH₄)₂SO₄. As shown in Figure 2, PEG1000 gave higher extraction efficiency of benzoate than that of PEG4000.

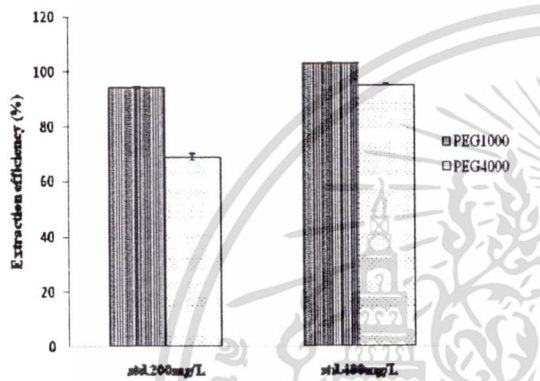


Figure 2. Effect of the PEG molecular mass on extraction efficiency (n=3), extraction conditions: 5.0 mL of sodium benzoate 200 and 400 mg/L, 5.0 mL of 50%(w/v)PEG solution and 50%(w/v)(NH₄)₂SO₄ solution.

The effect of polymer molecular mass on extraction efficiency is usually attributed to increasing hydrophobic chains on PEG molecular mass increase. Due to the effect, the general tendency expected would be and increase of extraction efficiency as the PEG molecular mass increase. However, benzoate had hydrophilic head and may be form dimer molecule but no longer hydrocarbon chain. This short hydrophobic chain of benzoate should interact with lower PEG molecular mass (PEG1000) than that of higher PEG molecular mass (PEG4000). Another tendency should be bear in mind that increase of PEG molecular mass will strengthen the viscosity of system and result in bad reproducibility. Therefore, PEG1000 was chosen as the phase separation polymer in following study.

Extraction of benzoate: Benzoate was extracted into the upper phase of an aqueous two-phase system. Absorbance of the upper PEG-rich phase was scanned from 200 to 400 nm. Absorption spectra of benzoate standard solution was shown in Figure 3(A). The corrected absorbance, $Abs_{269.5} - [(Abs_{265.5} + Abs_{275.5})/2]$, was calculated using baseline technique. The calibration graph was a plot of corrected absorbance vs. benzoate concentration, as shown in Figure 4.

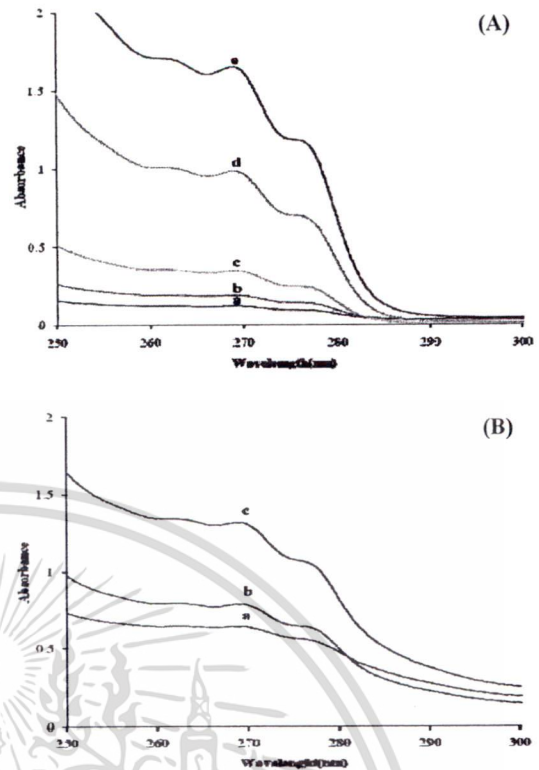


Figure 3. Absorption spectra of extracted benzoate in PEG-rich phase. (A) benzoate standard solution. a: 50, b: 100, c: 200, d: 600 and e: 1000 mg/L. (B) fermented rice noodle sample. a: sample, b: spiked sample 100mg/L and c: spiked sample 200 mg/L.

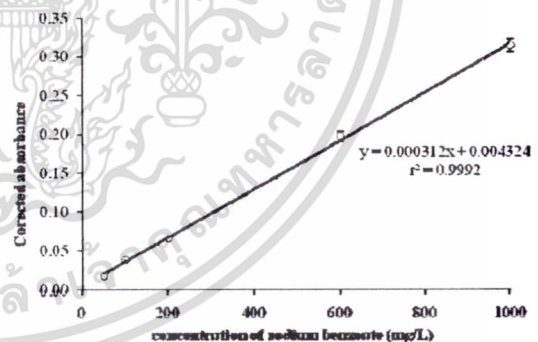


Figure 4. Calibration graph of benzoate.

Dissolving of sample: Chopped sample of fermented rice noodle was soaked in various concentrations of HCl and NaOH solutions in order to test the dissolving of sample. The samples were dissolved to suspendible powder form in 5.0 M and 6.0 M HCl, but cannot dissolve in 1.0 M to 4.0 M HCl. This suspended sample should be filtered before the extraction process was done. The slurry samples can be done in 1.0 M and 2.0 M NaOH, but cannot dissolve in concentration of NaOH higher than 3.0 M. As this result, 1.0 M NaOH was selected to hydrolyze fermented rice noodle sample. The extraction of this slurry sample can be processed without the filtration step.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา 17 และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
 PACCON2010 (Pure and Applied Chemistry International Conference)