สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ระบบโฟลอินเจคชันอาศัยการวัดการเรืองแสงเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อมโดยใช้ปฏิกิริยาเควนชิ่งของควินินด้วยไตรไอโอไดด์

Spectrofluorometric-Flow Injection System for Indirect Determination of Ethanol by using Quinine Quenching Reaction with Tri-iodide

T117279

นาย โชตินัย ประชานุกูล
นางสาวตุลาพร รื่นรวย
นางสาวนคภร แก้วมณี

สหมู่.....
เลขทะเบียน 117279
วันเดือน,ปี 20 ก.ค. 2554

b.....
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาเคมีอุตสาหกรรม - เครื่องมือวิเคราะห์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Spectrofluorometric-Flow Injection System for Indirect Determination of Ethanol by using Quinine Quenching Reaction with Tri-iodide

Mr. Chotinai Prachanukul

Miss Tulaporn Ruenruey

Miss Nakhaporn Kaewmanee

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULEILLMENT

OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN INDUSTRIAL CHEMIATRY – ANALYTICAL INSTRUMENTATION

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	ระบบโฟลอินเจคชันอาศัยการวัดการเรืองแสงเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อมโดยใช้ปฏิกิริยาเควนชิ่งของควินินด้วยไตรไอโอไดด์		
นักศึกษา	นาย โชตินัย	ประชานุกูล	50050617
	นางสาวตุลาพร	รื่นรวย	50050623
	นางสาวนคภร	แก้วมณี	50050633
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต		
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์ ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล	
ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง	
ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น	

ลิขสิทธิ์คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ระบบโฟลอินเจคชันอาศัยการวัดการเรืองแสงเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อมโดยใช้ปฏิกิริยาเควนชิ่งของควินินด้วยไตรไอโอไดด์

ชื่อนักศึกษา นาย โชตินัย ประชานุกูล 50050617
นางสาวตุลาพร รื่นรวย 50050623
นางสาวนคภร แก้วมณี 50050633

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์

ปีการศึกษา 2553

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

บทคัดย่อ

โครงงานพิเศษนี้เป็นการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลทางอ้อมด้วยเทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างเอทานอลกับสารละลายไตรไอโอไดด์ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่มากเกินพอ จากนั้นสารละลายไอโอดีนในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่เหลือจากการทำปฏิกิริยาจะเกิดปฏิกิริยาเควนชิ่งต่อกับสารละลายควินินในสภาวะกรดของกรดซัลฟิวริก โดยที่สารละลายไอโอดีนจะไปลดการเรืองแสงของสารละลายควินิน ซึ่งสามารถติดตามความเข้มแสงที่ความยาวคลื่นกระตุ้น 350 นาโนเมตร และความยาวคลื่นที่คายพลังงานแสง 450 นาโนเมตร ค่าความเข้มแสงจะเพิ่มขึ้นอย่างเป็นเส้นตรงเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้น ความเป็นเส้นตรงระหว่างความเข้มแสงกับความเข้มข้นของเอทานอลตั้งแต่ร้อยละ 5 ถึง 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และมีสมการเส้นตรงเป็น (ความเข้มแสง = 0.8923 [เอทานอล] + 24.403) มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) = 0.991)

จากการทดลองพบว่าความเข้มแสงขึ้นกับความเข้มข้นของสารละลายไตรไอโอไดด์ที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับสารละลายเอทานอลและกรดซัลฟิวริก

คำสำคัญ : ไตรไอโอไดด์, ควินิน, เควนชิ่ง, เอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title Spectrofluorometric-Flow Injection System for Indirect Determination of Ethanol by using Quinine Quenching Reaction with Tri-iodide

Name Mr. Chotinai Prachanukul 50050617

Miss Tulaporn Ruenruey 50050623

Miss Nakhaporn Kaewmanee 50050633

Degree Bachelor of Science

Program Industrial Chemistry – Analytical Instrumentation

Academic Year 2010

Adviser Dr. Nathawut Cheongchan

ABSTRACT

This work presents application of spectrofluorometric flow injection system for indirect determination of ethanol. Detection principle is based on employing reaction between ethanol and excess tri-iodide in alkaline solution. Subseguently, quinine is quenched by remaining tri-iodide. Fluorescence (FL) intensity of quinine (λ_{ex} = 350 nm, λ_{em} = 450 nm) is monitored. The intensity was increased linearly when concentration of ethanol was increased. The linear correlation between FL intensity and ethanol concentration was achieved in range of 5%v/v to 50% v/v (FL intensity = 0.8923 [Ethanol] + 24.403, R^2 = 0.991). It was also found that FL intensity was strongly depended on concentration of tri-iodide and sulfuric acid.

Keywords : Tri-iodide, Quinine, Quenching, Ethanol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์ของ ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาของโครงงานพิเศษ ทั้งให้ความรู้ ให้คำปรึกษา ตรวจสอบข้อบกพร่อง และช่วยเหลือดูแลลูกศิษย์เป็นอย่างดี

กราบขอบพระคุณ รศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาล ที่กรุณาสอบโครงงานพิเศษ ให้คำแนะนำและตรวจทานแก้ไขในส่วนที่บกพร่องของโครงงานพิเศษฉบับนี้

กราบขอบพระคุณ ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง ที่กรุณาสอบโครงงานพิเศษ ให้คำแนะนำและตรวจทานแก้ไขในส่วนที่บกพร่องของโครงงานพิเศษฉบับนี้

กราบขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาเคมีและเจ้าหน้าที่คณะวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความรู้และให้คำปรึกษาสิ่งต่างๆ มาโดยตลอด

ขอขอบคุณพี่ๆ ที่คอยให้ความรู้ ให้คำปรึกษา และค่อยให้ความช่วยเหลือดูแลเป็นอย่างดีในเรื่องต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ที่คอยให้คำปรึกษา ห่วงใยและเป็นกำลังใจทั้งยามสุขหรือทุกข์ให้กันเสมอมาในทุกๆเรื่อง

สุดท้ายนี้กราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้โอกาสทางการศึกษาแก่ผู้จัดทำคุณความดีที่ได้ขอมอบให้กับบุพการี อาจารย์ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

นาย โชตินัย ประชานุกูล
นางสาวตุลาพร รื่นรวย
นางสาวนครภร แก้วมณี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	1
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	1
1.4 ขั้นตอนของการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	3
2.1 เครื่องดื่มแอลกอฮอล์	3
2.2 สุรา	3
2.2.1 สุรากลั่นชุมชนและสุราแช่ชุมชน	3
2.2.2 สุรากลั่นและสุราแช่	4
2.3 การผลิตเอทานอล	5
2.3.1 กระบวนการสังเคราะห์	5
2.3.2 กระบวนการหมัก	5
2.4 เทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาไลซิสหรือเอฟเอไอ	6
2.5 เทคนิคฟลูออโรเมทรี	13
2.6 ส่วนประกอบของเครื่องฟลูออโรเมทรี	15
2.6.1 แหล่งกำเนิดแสง (Ligh Source)	15
2.6.1.1 หลอด	16
2.6.1.2 เลเซอร์	16
2.6.2 ตัวเลือกความยาวคลื่น	17
2.6.2.1 ฟิลเตอร์	17
2.6.2.2 โมโนโครเมเตอร์	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.6.2.3 โพลาไรเซอร์	17
2.6.3 เซลล์บรรจุสารตัวอย่าง	17
2.6.4 เครื่องวัดแสง	18
2.6.4.1 Photomultiplier tube (PMT)	18
2.6.4.2 Photodiode (PD)	18
2.6.5 ส่วนประมวลผลและบันทึก	19
2.7 หลักการวิเคราะห์	19
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	20
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	21
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้	21
3.2 การเตรียมสารละลาย	22
3.2.1. สารละลายกรดซัลฟิวริก	22
3.2.2 สารละลายมาตรฐานควินิน	22
3.2.3 สารละลายไอโอดีนในสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์	22
3.2.4 สารละลายไตรไอโอไดด์	22
3.2.5 สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์	22
3.2.6 สารละลายเอทานอล	22
3.3 วิธีการดำเนินการทดลอง	23
3.3.1 การศึกษาหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมของสารละลายควินิน	23
3.3.2 การศึกษาหาระบบโฟลอินเจคชันที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อม	24
3.3.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์	26
3.3.3.1 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายไตรไอโอไดด์	26
3.3.3.2 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายควินิน	26
3.3.3.3 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดซัลฟิวริก	27
3.3.3.4 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์	28
3.3.3.5 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ด้วยเครื่อง pH meter	28
3.3.3.6 อิทธิพลของอัตราการไหล	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3.3.7 อิทธิพลของปริมาณสารตัวอย่างที่เข้าสู่ระบบ 30

3.3.3.8 อิทธิพลของความยาวท่อผสม 31

3.3.4 การศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน 32

บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล 34

4.1 การศึกษาเบื้องต้น 34

4.2 การศึกษาหาระบบโฟลอินเจคชันที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อม 35

4.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมของระบบโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส 38

4.3.1 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายไตรไอโอไดด์ 38

4.3.2 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายควินิน 39

4.3.3 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดซัลฟิวริก 40

4.3.4 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 41

4.3.5 อิทธิพลของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ด้วยเครื่อง pH meter 42

4.3.6 อิทธิพลของอัตราการไหล 43

4.3.7 อิทธิพลของปริมาณสารตัวอย่างที่เข้าสู่ระบบ 46

4.3.8 อิทธิพลของความยาวท่อผสม 47

4.4 การศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน 51

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 54

5.1 สรุปผลการทดลอง 54

5.2 ข้อเสนอแนะ 56

ภาคผนวก 57

เอกสารอ้างอิง 58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3.1 แสดงการเตรียมสารละลายเอทานอล 23

ตารางที่ 4.1 ตารางสรุปผลของระบบทั้ง 5 ระบบ 38

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงค่า pH ของสารละลายควินินที่ผสมกับสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ 43

ตารางที่ 4.3 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ 51

ตารางที่ 4.4 แสดงผลของการศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน 52

ตาราง ก. แสดงผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายไตรไอโอไดด์ 57

ตาราง ข. แสดงสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ของสารละลายไตรไอโอไดด์แต่ละความเข้มข้น 57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงส่วนของสารตัวอย่างและรูปแบบสัญญาณที่ได้จากเครื่องบันทึกผล 7
รูปที่ 2.2 แสดงแบบทั่วไปของการเคลื่อนย้ายในท่อปิด 7
รูปที่ 2.3 แสดงการจัดตั้งเครื่องมือเอฟไอเออย่างง่าย 9
รูปที่ 2.4 แสดงเพอร์ริสตาลติกปั๊ม 10
รูปที่ 2.5 แสดงท่อที่ขดเป็นเกลียว 11
รูปที่ 2.6 แสดงตัวอย่างเทคนิคการใช้เมมเบรน 12
รูปที่ 2.7 แสดงกระบวนการการเกิดพลังงานกระตุ้น 13
รูปที่ 2.8 แสดงองค์ประกอบของเครื่องฟลูออเรสเซนซ์ 15
รูปที่ 3.1 แสดงระบบที่ 1 สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อม 24
รูปที่ 3.2 แสดงระบบที่ 2 สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อม 24
รูปที่ 3.3 แสดงระบบที่ 3 สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อม 25
รูปที่ 3.4 แสดงระบบที่ 4 สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อม 25
รูปที่ 3.5 แสดงระบบที่ 5 สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อม 25
รูปที่ 4.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงและการคายแสงของสารละลายควินินที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร 34
รูปที่ 4.2 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์เอทานอลด้วยระบบที่ 1 35
รูปที่ 4.3 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์เอทานอลด้วยระบบที่ 2 35
รูปที่ 4.4 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์เอทานอลด้วยระบบที่ 3 36
รูปที่ 4.5 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์เอทานอลด้วยระบบที่ 4 37
รูปที่ 4.6 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์เอทานอลด้วยระบบที่ 5 37
รูปที่ 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงกับความเข้มข้นของสารละลายไตรไอโอไดด์ (โมลต่อลิตร) 39
รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงกับความเข้มข้นของสารละลายควินิน (มิลลิกรัมต่อลิตร) 40
รูปที่ 4.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงกับความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก (โมลต่อลิตร) 41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงของ baseline กับความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (โมลต่อลิตร) 42

รูปที่ 4.11 แสดงผลของอัตราการไหลของสารละลายไตรไอโอไดด์ที่มีผลต่อค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์ 44

รูปที่ 4.12 แสดงผลของอัตราการไหลของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่มีต่อค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์ 44

รูปที่ 4.13 แสดงผลของอัตราการไหลของสารละลายควินินที่มีต่อค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์ 45

รูปที่ 4.14 แสดงผลของปริมาณสารตัวอย่างที่มีต่อค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์ 46

รูปที่ 4.15 แสดงผลของความยาว Mc_1 ที่มีต่อค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์ 47

รูปที่ 4.16 แสดงผลของความยาว Mc_2 ที่มีต่อค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์ 48

รูปที่ 4.17 แสดงผลของความยาว Mc_3 ที่มีต่อค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์ 49

รูปที่ 4.18 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายเอทานอลเข้มข้น 51

รูปที่ 4.19 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงและความเข้มข้นของสารละลายเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

ในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่อาศัยกระบวนการหมักน้ำตาล (เช่น ข้าว องุ่น ข้าวโพด) กับยีสต์ จะได้สารที่เรียกว่า เอทานอล (ethanol) เป็นองค์ประกอบหลัก แอลกอฮอล์ที่บริโภคเข้าไปนั้นประมาณร้อยละ 90 จะถูกดูดซึมอย่างรวดเร็ว และภายในเวลา 30-90 นาทีระดับแอลกอฮอล์ในเลือดจะขึ้นสูงสุด แอลกอฮอล์จะกระจายในร่างกายอย่างรวดเร็ว ผลที่เห็นได้อย่างชัดเจนลำดับแรกคือ ฤทธิ์ต่อสมอง ส่งผลต่อการตัดสินใจ การพูด ความว่องไวในการทำงานของระบบประสาทและกล้ามเนื้อจะช้าลง ทำให้มีผลต่อการขับขี่ยานพาหนะ ซึ่งจะเห็นได้ว่าในปัจจุบันมีผู้บาดเจ็บและเสียชีวิตจากอุบัติเหตุบนท้องถนนเป็นจำนวนมาก โดยสาเหตุส่วนใหญ่มาจากการที่ผู้ขับขี่ดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จนมึนเมา ทำให้ขาดสติในการใช้รถใช้ถนน

พระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม พ.ศ.2511 ได้มีการกำหนดมาตรฐานเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ 1) มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม : สุรากลั่น มอก. 2088-2544 2) มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม : ไวน์มอก.2089-2544 3) มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม : เบียร์มอก.2090-2544

จากความสำคัญที่กล่าวมา โครงงานพิเศษนี้จึงได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลที่สะดวกและรวดเร็ว โดยใช้เทคนิคโฟลอินเจคชันร่วมกับการตรวจวัดด้วยฟลูออโรเมทรี ซึ่งในการวิเคราะห์จะอาศัยการหาปริมาณเอทานอลทางอ้อมโดยใช้ปฏิกิริยาเควนชิงของควิ นีนด้วยไตร-ไอโอไดด์ที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับ เอทานอล

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

เพื่อศึกษาและพัฒนาวิธีวิเคราะห์เอทานอล โดยใช้เทคนิคโฟลอินเจคชันและร่วมกับการตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1.3.1 พัฒนาหลักการวิเคราะห์เอทานอลด้วยเทคนิคทางสเปกโทรฟลูออโรเมทรี

1.3.2 พัฒนาวิธีวิเคราะห์แบบอัตโนมัติ สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล โดยใช้เทคนิคโฟลอินเจคชัน ร่วมกับทางสเปกโทรฟลูออโรเมทรีในการตรวจวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ขั้นตอนการวิจัยและการดำเนินงาน

1.4.1 สืบค้นแหล่งข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการทำโครงงานวิจัย

1.4.2 ออกแบบระบบโฟลอินเจคชันสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลทางอ้อมที่อาศัยปฏิกิริยาไอโอโดฟอร์มและการเดวนชิ่งควินินด้วยไตรไอโอไดด์

1.4.3 ทดสอบระบบที่ออกแบบโดยนำมาวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลทางอ้อม

1.4.4 ศึกษาหาค่าที่เหมาะสมของพารามิเตอร์ต่างๆ ทั้งทางด้านเคมี และฟิสิกส์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์

1.4.5 สรุปผลและรายงานผลการทดลอง

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อมที่มีความอัตโนมัติ ใช้สารเคมีน้อย มีอัตราเร็วในการวิเคราะห์สูง และมีประสิทธิภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 เครื่องดื่มแอลกอฮอล์

สุรา หรือ เหล้า หมายถึงเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบที่สำคัญผสมอยู่ในปริมาณไม่เกิน 60 % ซึ่งเป็นเกณฑ์กำหนดของสากลทั่วไปที่คนสามารถดื่มได้ แต่เกณฑ์ของคนไทยจะครอบคลุมถึงปริมาณไม่เกิน 80 %

การแบ่งประเภทของสุราตามวิธีการผลิตสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ดังนี้

1. สุราแช่ (Fermented beverages) หมายถึง สุราที่ไม่ได้ทำการกลั่นและครอบคลุมถึงสุราแช่ที่ผสมกับสุรากลั่นมีแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี สุราแช่เป็นสุราที่ได้จากการหมักผลผลิตทางการเกษตร เช่น ธัญพืช หรือผลไม้ต่างๆ ได้แก่ เบียร์ สาเก ไวน์ เป็นต้น

2. สุรากลั่น (Distilled or Spirit beverages) หมายถึง สุราที่ได้จากการกลั่นสุราแช่และครอบคลุมถึงสุรากลั่นที่ได้ผสมกับสุราแช่ที่มีแอลกอฮอล์เกินกว่า 15 ดีกรี ได้แก่ วิสกี้, วอดก้า, รัม, บรั่นดี และเตกิลา ฯลฯ เป็นต้น

2.2 สุรา

ในพระราชบัญญัติสุรา พ.ศ. 2493 ได้กำหนดความหมายของสุราไว้ว่า “สุรา หมายความรวมถึงวัตถุทั้งหลายหรือของผสมที่มีแอลกอฮอล์ ซึ่งสามารถดื่มกินได้ เช่นเดียวกับน้ำสุราหรือซึ่งดื่มกินไม่ได้ แต่เมื่อผสมกับน้ำหรือของเหลวอย่างอื่นแล้วสามารถดื่มกินได้ เช่นเดียวกับน้ำสุรา”

กฎหมายของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้ให้ความหมายของสุราหรือเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ (Alcoholic Beverages) ไว้ว่า “สุราหรือเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ (Alcoholic Beverages) หมายความรวมถึงเครื่องดื่มใดๆ ในรูปของเหลวที่มีเอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl Alcohol) เป็นองค์ประกอบไม่น้อยกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และสามารถบริโภคได้”

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมสุรากลั่น มอก. 2088-2544 ได้ให้คำนิยามของสุราไว้ว่า “สุรา หมายถึง เครื่องดื่มทีมีแรงแอลกอฮอล์เกิน 0.5 ดีกรี แต่ไม่เกิน 80 ดีกรี”

2.2.1 สุรากลั่นชุมชน และสุราแช่ชุมชน

ในประกาศกระทรวงการคลัง เรื่องวิธีการบริหารงานสุรา พ.ศ. 2544 (ฉบับที่ 3) เรื่องวิธีการบริหารงานสุรา พ.ศ. 2546 (ฉบับที่ 4) และประกาศกรมสรรพสามิต เรื่อง หลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขการอนุญาตให้ทำและขายสุราแช่ชนิดผลไม้ สุราแช่พื้นเมือง และสุราแช่อื่นนอกจากเบียร์ พ.ศ. 2546 ได้กำหนดความหมายของสุราต่างๆไว้ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

"สุราแช่และผลิตภัณฑ์" หมายถึง สุราแช่ชนิดสุราผลไม้ สุราแช่พื้นเมือง สุราแช่อื่นๆ นอกจากเบียร์

"สุรากลั่นชุมชน" หมายถึง สุรากลั่นชนิดสุราขาว ทำจากวัตถุดิบจำพวกข้าวหรือแป้ง หรือผลไม้หรือน้ำผลไม้ หรือผลผลิตทางการเกษตรอื่นๆ มีแรงแอลกอฮอล์เกินกว่า 15 ดีกรี แต่ไม่เกิน 40 ดีกรี

2.2.2 สุรากลั่นและสุราแช่

ตามพระราชบัญญัติสุรา พ.ศ. 2493 ได้ให้คำจำกัดความของสุราแช่และสุรากลั่นไว้ ซึ่งอนุโลมไว้ว่ามีการแบ่งประเภทสุราไว้ 2 ประเภทดังนี้ คือ

1. สุราแช่ หมายถึง สุราที่ไม่ได้กลั่นให้ความหมายรวมถึงสุราที่ได้ผสมกับสุรากลั่นแล้วแต่ยังมีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรีด้วย

2. สุรากลั่น หมายถึง สุราที่ได้กลั่นแล้วและให้ความหมายรวมถึงสุรากลั่นที่ได้ผสมกับสุราแช่แล้วแต่แรงแอลกอฮอล์เกินกว่า 15 ดีกรีด้วย

นอกจากนี้ได้มีการกำหนดชนิดของสุรากลั่นเป็น 5 ชนิด ตามกฎกระทรวง ฉบับที่ 46 แห่งพระราชบัญญัติสุรา พ.ศ. 2493 และกฎกระทรวงกำหนดชนิดของสุราและอัตราภาษีของสุรา พ.ศ. 2546 ดังนี้ ชนิดสุราสามทับ คือ

- สุรากลั่นที่มีแรงแอลกอฮอล์ตั้งแต่ 80 ดีกรี
- ชนิดสุราขาว คือ สุรากลั่นที่ปราศจากเครื่องย้อมหรือสิ่งผสมปรุงแต่งมีแรงแอลกอฮอล์ต่ำกว่า 80 ดีกรี
- ชนิดสุราผสม คือ สุรากลั่นที่ใช้สุราขาวหรือสุราสามทับมาปรุงแต่งมีแรงแอลกอฮอล์ต่ำกว่า 80 ดีกรี
- ชนิดสุราปรุงพิเศษ คือ สุรากลั่นที่ใช้สุราสามทับมาปรุงแต่งมีแรงแอลกอฮอล์ต่ำกว่า 80 ดีกรี
- ชนิดสุราพิเศษ คือ สุรากลั่นที่ทำขึ้นโดยใช้กรรมวิธีพิเศษมีแรงแอลกอฮอล์ต่ำกว่า 80 ดีกรี แบ่งออกเป็น 2 ประเภท

ก. ประเภทวิสกี้, บรั่นดี, รัม, ยิน หรือสุราแบบต่างประเทศอย่างอื่น

ข. ประเภทเกาเหลียง เชี่ยงชุน ปุ้นกุ่ยโล่ว หรือสุราแบบจีนอย่างอื่น

สำหรับสุราแช่มีการกำหนดชนิดไว้ในกฎกระทรวง เรื่องกำหนดชนิดของสุราและอัตราภาษีสุรา พ.ศ. 2546 ลงวันที่ 21 มกราคม 2546 แห่งพระราชบัญญัติสุรา พ.ศ. 2493 กล่าวถึงสุราแช่ไว้ 4 ชนิด ได้แก่ เบียร์, ไวน์, สปาร์กกลิ้งไวน์ที่ทำจากองุ่น, สุราแช่พื้นเมือง (อุ, สาโท และน้ำตาลเมา) และสุราแช่อื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การผลิตเอทานอล

กระบวนการผลิตเอทานอลแบ่งออกได้เป็น 2 วิธี คือ

2.3.1 กระบวนการสังเคราะห์ (Synthesis)

คือ การนำเอทิลีนมาละลายในกรดซัลฟิวริกทำปฏิกิริยากันได้เอทิลซัลเฟต แล้วนำไปไฮโดรไลซีสจะได้เอทิลแอลกอฮอล์ออกมา ดังสมการ

$$3C_2H_4 + 2H_2SO_4 \longrightarrow CH_3CH_2OSO_3H + (CH_3CH_2)_2SO_4$$

$$CH_3CH_2OSO_3H + H_2O \longrightarrow CH_3CH_2OH + H_2SO_4$$

และได้เอทิลอีเทอร์เป็นผลิตภัณฑ์ร่วม ดังสมการ

$$CH_3CH_2OH - (CH_3CH_2)_2SO_4 \longrightarrow CH_3CH_2OSO_3 + (CH_3CH_2)_2O$$

หรือจะผลิตโดยใช้กระบวนการไฮเดรชันโดยตรงกับสารประกอบเอทิลีนโดยใช้กรดซัลฟิวริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส ความดัน 6.8 เมกะปาสคาล ดังสมการ

$$C_2H_4 + H_2O \xrightarrow[\text{300 องศาเซลเซียส, 6.8 เมกะปาสคาล}]{H_2SO_4} C_2H_5OH$$

2.3.2 กระบวนการหมัก (Fermentation)

คือ การใช้จุลินทรีย์เป็นตัวเปลี่ยนวัตถุดิบประเภทน้ำแป้ง น้ำตาล หรือวัสดุที่เป็นเซลลูโลสให้กลายเป็นเอทานอลภายใต้สภาวะที่ขาดออกซิเจน โดยวัตถุดิบประเภทแป้งและเซลลูโลสจะถูกย่อยด้วยกรดหรือเอนไซม์ให้กลายเป็นน้ำตาลก่อน จุลินทรีย์ที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตเอทานอลได้แก่ ยีสต์, เอนไซม์ไซเมส, เอนไซม์อินเวอร์เทส และเอนไซม์ไดเอสเทส ซึ่งส่วนใหญ่จะนิยมใช้ยีสต์ กระบวนการหมักเป็นไปดังสมการ

$$(C_6H_{12}O_5)_n + nH_2O \xrightarrow{\text{เอนไซม์}} nC_6H_{12}O_6$$

$$nC_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{ยีสต์}} \underset{\text{51.1 เปอร์เซ็นต์}}{2nC_2H_5OH} + \underset{\text{48.9 เปอร์เซ็นต์}}{2nCO_2}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามทฤษฎียีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 51.1 และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 48.9 โดยน้ำหนัก และมีความร้อนเกิดขึ้น ในทางปฏิบัติน้ำตาลเพียงร้อยละ 95 เท่านั้น ที่จะเปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์ ส่วนที่เหลือจุลินทรีย์จะใช้ในการเจริญเติบโตของตัวมันเองและเปลี่ยนเป็นผลพลอยได้อื่นๆ เช่น อะซิตัลดีไฮด์, กรดแอซิติก และกรดแลกติก เป็นต้น

การหมักเชิงอุตสาหกรรมจะมีการควบคุมสิ่งแวดล้อมของการหมักในทุกขั้นตอนเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพของการหมักสูงสุด และต้องมีความสอดคล้องกับลักษณะของยีสต์ที่ใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลถ้ามีความเข้มข้นสูงจะเกิดการยับยั้งการเจริญและการหมักเอทานอล ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับลักษณะของยีสต์ที่ใช้ อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักจะอยู่ที่ 25-30 องศาเซลเซียส ค่า pH ที่เหมาะสมในการหมักอยู่ในช่วง 4.5 ในกระบวนการหมักที่มีเอทานอลที่ความเข้มข้นสูงการเจริญและการหมักของยีสต์จะถูกยับยั้ง เมื่อเปอร์เซ็นต์เอาทานอลมากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก มีผลทำให้การเจริญลดลงและจะหยุดลงเมื่อมีเอทานอล 4.7-7.8 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ต่อจากนั้นจะเป็นการหมักเอทานอลจนเอทานอลถึงความเข้มข้น 14 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

2.4 เทคนิคโฟลอินเจคชันอะนาไลซิสหรือเอฟไอไอ (Flow Injection Analysis : FIA)

หลักการวิเคราะห์ของเอฟไอเอ

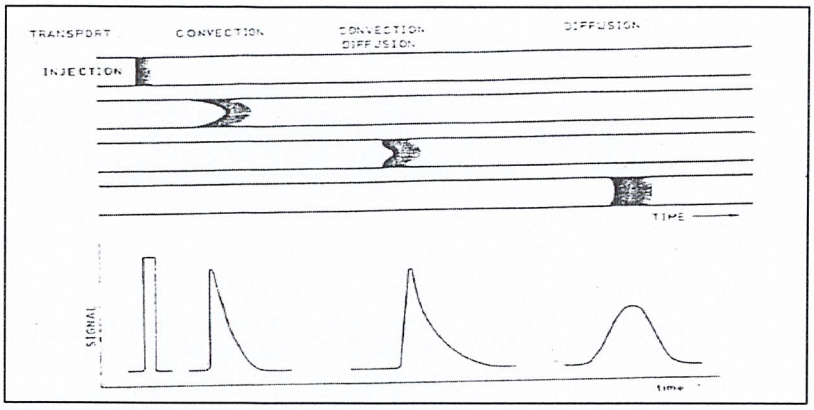
เอฟไอเอเป็นเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์สารปริมาณต่ำมีพื้นฐานจากการฉีดสารตัวอย่างที่เป็นของเหลวเข้าไปในกระแสตัวพา (carrier) ที่ไหลโดยไม่มีฟองอากาศคั่น แล้วส่วนของสารตัวอย่าง (sample zone) จะถูกพาไปตามสายแคบๆ (narrow tube) ที่ซึ่งอาจจะเกิดการเปลี่ยนแปลงด้วยปฏิกิริยาเคมี หรือการกระทำทางฟิสิกส์ก่อนที่จะถูกผ่านไปยังตัวตรวจวัด (detector)

ขณะที่ส่วนของสารตัวอย่างเคลื่อนผ่านสายไป จะเกิดการแพร่กระจาย (dispersion) ของสารตัวอย่างในระดับต่างๆ กัน เพราะส่วนของสารตัวอย่างถูกกระทบกระเทือนจากการพา (convection) และ/หรือการแพร่ (diffusion) อันเนื่องมาจากอัตราการไหลของสารละลาย เส้นผ่านศูนย์กลางและความยาวของสายหรือท่อ (tube) ที่สารละลายไหลไป

ข้อดีของการไม่มีฟองอากาศคั่น (non-segment)

1. การวิเคราะห์มีอัตราเร็วสูง
2. ใช้เวลาในการตรวจวัดน้อย (น้อยกว่า 1 นาที นับจากฉีดสารจนถึงการตรวจวัด)
3. ยืดอายุการใช้งานของเครื่องมือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงส่วนของสารตัวอย่าง
และรูปแบบสัญญาณที่ได้จากเครื่องบันทึกผลเมื่อเกิดการแพร่กระจาย

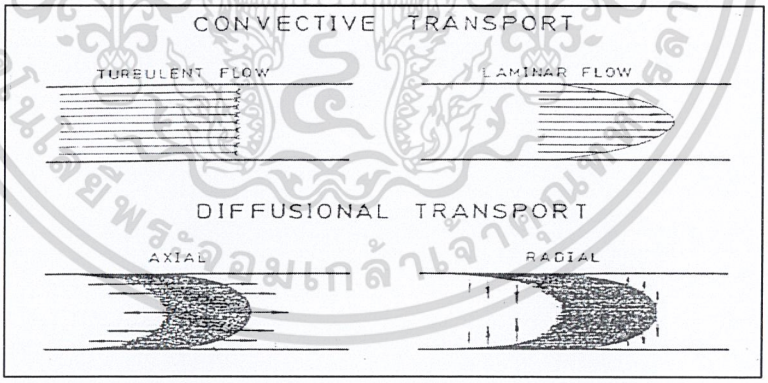
ปกติการแพร่กระจายในระบบเอฟไอเออาจจะเกิดขึ้นเนื่องจากการพา (convection) และการแพร่อย่างมีขอบเขต (radial diffusion) ตามรูป

-การพา (Convection) อันเนื่องจากบริเวณที่สารละลายไหลภายในท่อ สารละลายที่อยู่กลางท่อจะเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าสารละลายที่ติดผนังท่อ ทั้งนี้เนื่องจากแรงเสียดทาน

-การแพร่ (Diffusion) มี 2 แบบ คือ

1. Radial diffusion (perpendicular to the flow direction) เกิดขึ้นแม้ว่าจะใช้ท่อขนาดเล็กและถ้าใช้อัตราเร็วต่ำ ก็จะเกิดมากขึ้น

2. Longitudinal diffusion (parallel to the flow) จะไม่ค่อยมีผลนักถ้าใช้ท่อขนาดเล็ก



รูปที่ 2.2 แสดงแบบทั่วไปของการเคลื่อนย้ายในท่อปิด

ซึ่งเป็นผลให้ไม่เกิดการทับหรือผสมกันระหว่างสารตัวอย่าง และในส่วนของสารตัวอย่างจะมีการยืดขยายออกแล้วทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบบางอย่างในกระแสตัวพา (reagent) เกิดสปีชีส์บางอย่างขึ้น ซึ่งสามารถตรวจวัดบันทึกผลได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การประยุกต์ใช้ระบบเอฟไอเอกับงานประเภทต่างๆ ขึ้นอยู่กับการแพร่กระจาย (dispersion) ดังนี้

-การกระจายตัวแบบจำกัด (Limited dispersion syetem)

จะมีการกระจายตัวของโซนตัวอย่างน้อยมาก ระยะห่างระหว่างส่วนที่ฉีดสารกับตัวตรวจวัดให้สั้นที่สุด รวมทั้งต้องเพิ่มปริมาณสารในการฉีด สารที่ใช้เป็นกระแสตัวพานั้นไม่มีผลกระทบต่อการวิเคราะห์สารตัวอย่างแต่อย่างใด เพียงทำหน้าที่พาเข้าสู่เครื่องตรวจวัด เหมาะกับการใช้งานทางด้าน

- วิเคราะห์องค์ประกอบเดิม โดยไม่มีปฏิกิริยาเคมีเกิดขึ้น เช่น หาค่าความเป็นกรดเป็นด่าง การนำไฟฟ้า

-การกระจายตัวแบบปานกลาง (Medium dispersion system)

จะมีการกระจายตัวบ้างในระดับปานกลาง ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดการผสมของสารตัวอย่างกับกระแสตัวพา และสารละลายรีเอเจนต์ เหมาะกับการใช้งานทางด้าน

- การหาแคลเซียมในเซรั่ม นม และน้ำดื่ม โดยคัลเลอร์รีเมทรี
- การหาปริมาณคาเฟอีนด้วยการสกัดด้วยคลอโรฟอร์มแล้ววัดการดูดกลืนแสง
- การหาปริมาณ Fe^{3+} โดยทำปฏิกิริยากับ 1,10-Phenanthroline ให้สารประกอบเชิงซ้อนสีแดง แล้วจึงเข้าสู่เครื่องตรวจวัด

-การกระจายตัวแบบกว้าง (Large dispersion system)

จะมีการกระจายตัวอย่างมากของ Sample Zone ในกระแสตัวพา เหมาะสำหรับ FIA-Titrimetry

สิ่งที่สำคัญ

สภาวะที่ใช้ในการทดลองทั้งของสารละลายมาตรฐานและสารตัวอย่างต้องเหมือนกันทุกประการ คือ Residence time, อุณหภูมิ, การแพร่ของสารต้องคงที่

โดยทั่วไปเทคนิคเอฟไอเอที่ดีจะเน้นหลักการ 3 ประการ คือ

1. การฉีดสารตัวอย่าง (sample injection)

เป็นการนำสารตัวอย่างที่มีปริมาตรเท่ากันทุกครั้งเข้าไปสู่กระแสตัวพา โดยไม่รบกวนการไหลของกระแส

2. เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ต้องเท่ากันทุกครั้ง (reproducible time)

เป็นเวลาที่ใช้ในการส่งผ่านสารตัวอย่างจากจุดฉีดไปยังตัวตรวจวัด ต้องมีระยะเวลาเท่ากันทุกครั้ง

3. การควบคุมการแพร่กระจายของสารตัวอย่าง (controlled dispersion)

เนื่องจากสัญญาณเอฟไอเอที่ได้จากการบันทึกจะเป็นฟังก์ชันของการแพร่กระจาย (D) เป็นอัตราส่วนของความเข้มข้นสารที่ต้องการวิเคราะห์หรือผลตอบสนองก่อนและหลังขบวนการแพร่กระจายเกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$D = C_0/C_m = R_0/R_m$$

C_0, C_m = ความเข้มข้นของสารก่อนและหลังขบวนการแพร่กระจายตามลำดับ

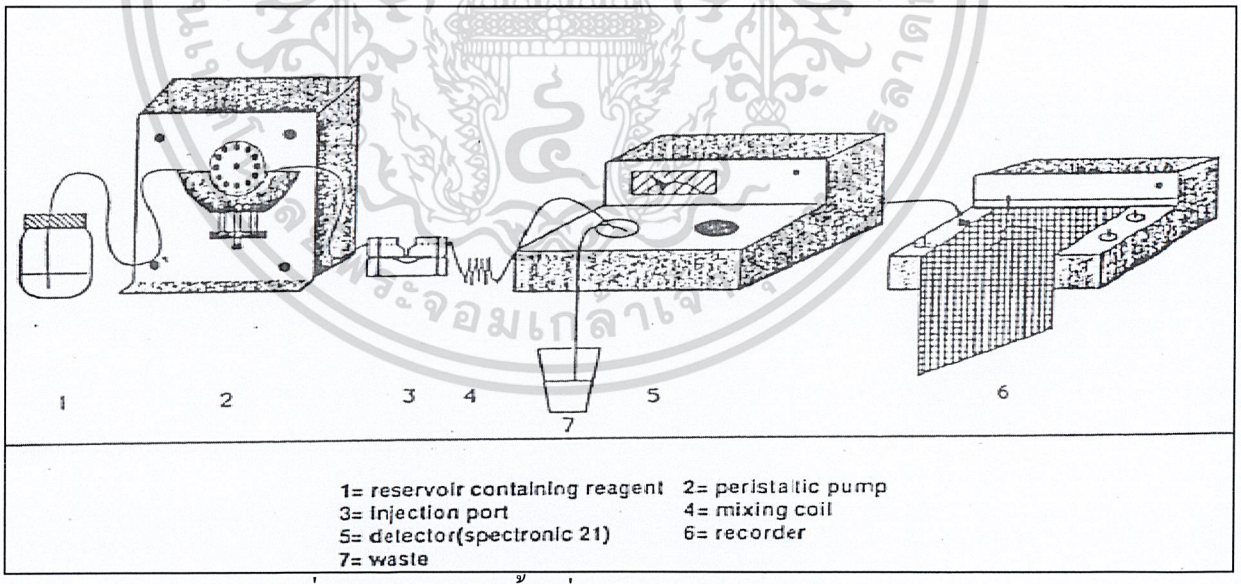
R_0, R_m = ผลตอบสนองของสารที่ต้องการวิเคราะห์ก่อนและหลังขบวนการแพร่กระจายตามลำดับ

การแพร่กระจายสามารถูกควบคุมดดยความยาว รูปร่าง และขนาดของสายหรือท่อที่ใช้ รวมทั้งอัตราการไหลของสารละลายที่สภาวะต่างๆ เช่นการเพิ่มความยาวของท่อ (tube) จะทำให้ตัวอย่างถูกเจือจางมากขึ้น ตัวอย่างจึงมีการแพร่กระจายมากขึ้น (dispersion) จากข้างต้น เมื่อควบคุมหลักการ 3 ประการนี้ จะทำให้สามารถได้ผลการทดลองที่มีความแม่นยำ

อนึ่ง เอฟไอเอ มีลักษณะต่างไปจากเครื่องมืออื่นๆ คือ สารตัวอย่างที่ฉีดเข้าไปอาจจะเกิดการทำปฏิกิริยาทันที หรือเกิดไดแอลิซิส เกิดการสกัดของของเหลว (liquid-liquid extraction) เกิดการแลกเปลี่ยนไอออน หรือเกิดการกระทำอื่นใดก็ได้ขณะที่ถูกส่งผ่านไปยังตัวตรวจวัดประการหนึ่ง อีกประการหนึ่งคือ ปฏิกิริยาเคมีจะเกิดขึ้นขณะที่ตัวอย่างแพร่กระจายไปยังรีเอเจนต์ และเกิดการผสมกัน หรือการเกิดปฏิกิริยาไม่จำเป็นต้องเกิดอย่างสมบูรณ์ก็สามารถตรวจวัดได้ เพราะความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์จะขึ้นอยู่กับเวลา

ส่วนประกอบพื้นฐานของระบบเอฟไอเอ

หากพิจารณาอย่างง่ายที่สุดระบบเอฟเอไอคล้ายกับระบบ HPLC ที่ปราศจากคอลัมน์ ซึ่งอาจแสดงเครื่องมืออย่างง่ายตามรูป



รูปที่ 2.3 แสดงการจัดตั้งเครื่องมือเอฟไอเออย่างง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนประกอบที่สำคัญของเอฟไอเอ มี 4 ส่วน คือ

1) ระบบการขับเคลื่อน (Propelling System)

รูปที่ 2.4 แสดงเพอร์ริสตาลติกปั๊ม

ใช้ในการนำกระแสตัวพาให้ไหลไปยังส่วนต่างๆ ของระบบ ระบบการขับเคลื่อนอาจอาศัยความดันของแก๊ส เช่น air pump หรือใช้ความดันจากแรงโน้มถ่วง หรือใช้เพอร์ริสตาลติกปั๊ม ซึ่งเมื่อท่อสายยางถูกบีบโดยชุดของลูกกลิ้งจะทำให้เกิดการไหลของกระแส ปั๊มชนิดหลังนี้นิยมใช้ในระบบเอฟไอเอ เพราะไม่ทำให้เกิดพัลส์ และให้อัตราการไหลของกระแสคงที่ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีของระบบขับเคลื่อน

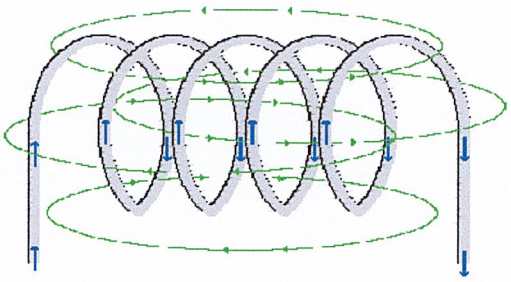
2) ระบบการฉีด (injection port)

เป็นส่วนนำสารที่มีปริมาตรเท่ากันทุกครั้งเข้าสู่กระแสตัวพาโดยไม่รบกวนการไหลของกระแส ระบบการฉีดควรกระทำได้ง่ายและรวดเร็ว เพื่อให้มีอัตราเร็วในการนำตัวอย่างเข้าสู่ระบบ อุปกรณ์ที่ใช้ เช่น เข็มฉีดยา หรือโรตารีวาล์ว

3) ระบบในการส่ง (transport system)

นอกจากมีหน้าที่หลักในการนำกระแสไหลไปตามระบบ ยังใช้เพื่อเชื่อมต่อส่วนต่างๆ ของระบบเอฟไอเอเข้าด้วยกัน และทำให้สารตัวอย่างเกิดการแร่กระจายหรือเกิดการผสมเมื่อเคลื่อนที่ผ่านระบบขนส่งที่เหมาะสม อุปกรณ์ที่ใช้ในระบบนี้ เช่น สายท่อ (tube) และท่อที่ขดเป็นเกลียว (mixing coil)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 แสดงท่อที่ขดเป็นเกลียว (mixing coil)

4) ระบบในการตรวจวัด (detector system)

ใช้ตรวจวัดความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นโดยอาศัยคุณสมบัติบางประการของสารตัวอย่าง เช่น พีเอช หรือการนำไฟฟ้า สำหรับการวัดพีเอช การวัดการนำไฟฟ้า และการวัดการดูดกลืนแสงของอะตอม สารตัวอย่างจะต้องไม่ถูกเจือจางลงในระหว่างการขนส่งไปยังตัวตรวจวัด ส่วนการตรวจวัดโดยวิธีสเปคโทรโฟโตเมทรี ฟลูออโรเมทรี สารที่ต้องการวิเคราะห์จะต้องถูกเปลี่ยนเป็นสารประกอบที่สามารถตรวจวัดได้โดยที่ส่วนของสารตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ด้วยเวลาที่เหมาะสมในระหว่างการส่ง เกิดเป็นสารที่สามารถตรวจวัดได้ อนึ่งในการวิเคราะห์ที่ดีช่วงความเข้มข้นของสารจะต้องเหมาะสมกับช่วงสารตรวจวัดของตัวตรวจวัดด้วย ซึ่งในระบบเอฟไอเอหากต้องการเจือจางสารตัวอย่าง กระทำได้โดยการเพิ่มการแพร่กระจายของระบบ แต่หากต้องการให้สารมีความเข้มข้นขึ้นอาจทำได้โดยต่อระบบการสกัดด้วยของเหลว หรือการแลกเปลี่ยนไอออน หรือแก๊สดิฟฟิวชัน เป็นต้น อย่างไรก็ดี ตัวตรวจวัดที่ดีต้องใช้สารตัวอย่างปริมาณน้อย ให้สัญญาณการรบกวนต่ำและต้องให้ผลตอบสนองต่อความเข้มข้นของสารเป็นแบบเส้นตรง

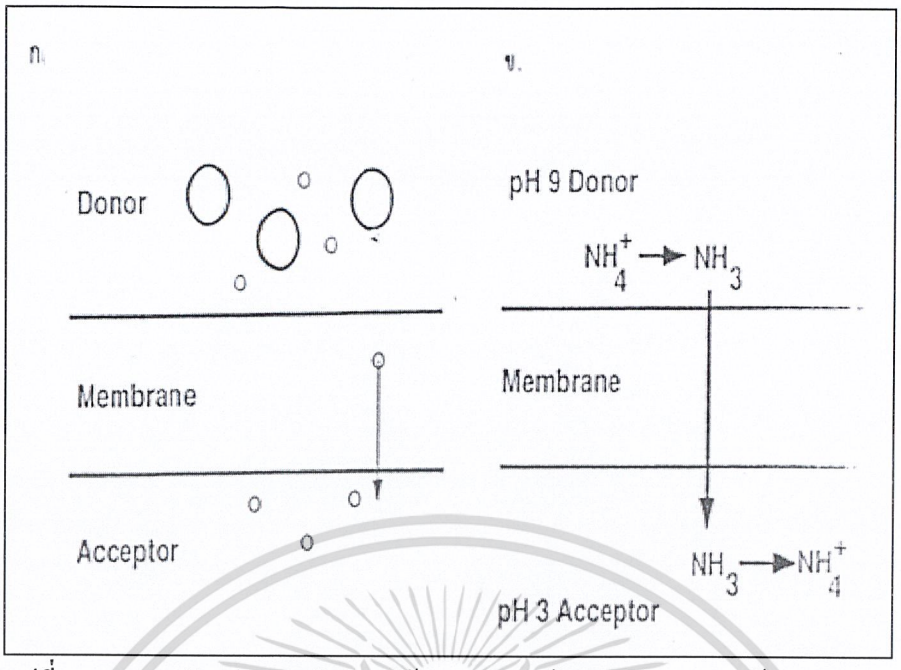
การใช้เมมเบรนกับระบบเอฟไอเอ

เมมเบรนถูกนำมาใช้ในระบบเอฟไอเอด้วยวัตถุประสงค์ 2 ประการคือ

1.ใช้แยกสารที่สนใจออกจากเมทริกทั้งหมด (bulk matrix) ซึ่งอาจเป็นสปีชีส์ปนเปื้อนหรืออนุภาคต่างๆ

2. ใช้เป็นวิธีในการทำให้เจือจางหรือเพิ่มความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 แสดงตัวอย่างเทคนิคการใช้เมมเบรน ก.ไดแอลิซิส ข. แก๊สดิฟฟิวชัน

หลักการคือสารตัวอย่างที่เข้าสู่ระบบจะถูกนำไปที่เมมเบรนโดยกระแสตัวให้ (donor stream) ซึ่งกระแสตัวให้นี้อาจเกิดหรือไม่เกิดปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง แล้วเมมเบรนจะทำหน้าที่คัดแยกองค์ประกอบในสารละลายตัวอย่างบางส่วน ตามรูป ผ่านเข้าไปในกระแสตัวรับ (acceptor stream) ซึ่งประกอบด้วยรีเอเจนต์ ที่จะทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการวิเคราะห์เกิดเป็นสปีชีส์ที่สามารถตรวจวัดได้

- **ไดแอลิซิส (Dialysis)**

ไดแอลิซิส เป็นเทคนิคหนึ่งที่นำเอาเมมเบรนมาใช้งาน เพื่อวัตถุประสงค์ในการแยกสารที่สนใจจะวิเคราะห์ออกจากเมทริกอื่นๆ ใช้เพื่อการเจือจาง และเพื่อเพิ่มความจำเพาะของวิธีการวิเคราะห์ เมมเบรนที่นิยมใช้คือ เซลลูโลสอะซีเตต (cellolose acetate) ซึ่งเมมเบรนชนิดนี้จะทำการคัดเลือกโดยอาศัยขนาดของสารเป็นหลัก ซึ่งขนาดของโมเลกุลที่สามารถผ่านเมมเบรนออกมาได้จะขึ้นอยู่กับขนาดรูพรุน (pore size) ของเมมเบรนที่ใช้

ส่วนการใช้ไดแอลิซิสในระบบเอฟไอเอเพื่อเจือจางสารตัวอย่าง เกิดขึ้นขณะที่สารตัวอย่างไหลผ่านไดแอลิซิสเมมเบรน และโดยที่การแพร่เป็นกระบวนการแบบอิสระ ดังนั้นจะมีไอออนหรือโมเลกุลของตัวถูกละลายประมาณ 3-30 เปอร์เซ็นต์ แพร่ผ่านออกจากเมมเบรนเข้าสู่กระแสตัวรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ของเทคนิคเอฟไอเอ

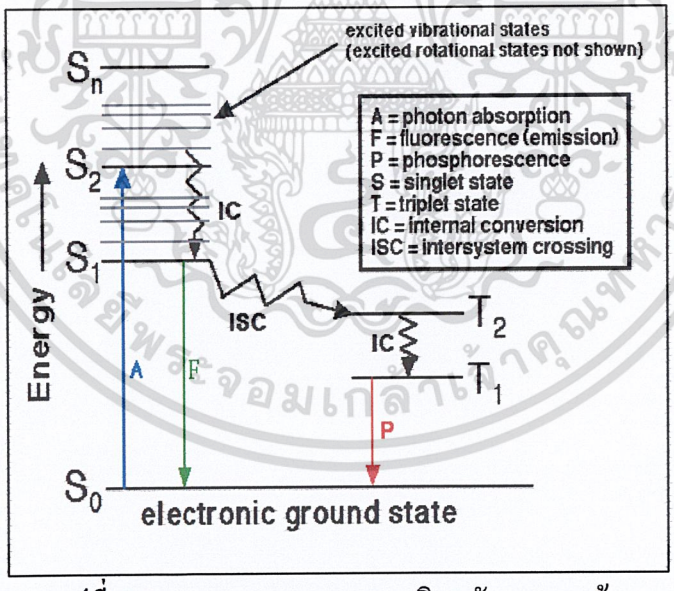
จากหลักการของเอฟไอเอจะเห็นว่าเทคนิคนี้สามารถใช้วิเคราะห์สารตัวอย่างจำนวนมากให้เสร็จได้ในเวลาอันรวดเร็ว โดยมีความถูกต้อง ความแม่นยำสูง ใช้วิเคราะห์สารตัวอย่างปริมาณน้อยๆ ได้ สามารถทำให้สารตัวอย่างมีความเข้มข้นขึ้นหรือเจือจางลงภายในระบบจึงไม่เสียเวลาในการเตรียมตัวอย่าง และที่สำคัญเทคนิคนี้ช่วยประหยัดสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ได้มาก ซึ่งคุณสมบัติที่กล่าวมาล้วนเป็นประโยชน์และเป็นข้อดีในงานเคมีวิเคราะห์อย่างมาก

2.5 เทคนิคฟลูออโรเมทรี

โมเลกุลเมื่อดูดกลืนแสงยูวีหรือวิสิเบิลจะถูกกระตุ้นให้ขึ้นไปอยู่ในสภาวะกระตุ้น เมื่อโมเลกุลตกกลับสู่สภาวะพื้นจะคายพลังงานส่วนเกินออกมาเรียกว่า ลูมิเนสเซนส์ (Luminescence) ลูมิเนสเซนส์ (Luminescence) แบ่งออกเป็น 2 แบบ ได้แก่

1. ฟลูออเรสเซนต์ (fluorescence) หมายถึง แสงช่วงที่แลเห็นได้ที่ปล่อยออกมาหลังจากสารนั้นดูดกลืนแสงที่ผ่านเข้าไปในโมเลกุล เป็นเวลานานประมาณ1 $x10^{-6}$ วินาที

2. ฟอสฟอเรสเซนต์ (phosphorescence) หมายถึง แสงช่วงที่แลเห็นได้ที่ปล่อยออกมาหลังจากสารนั้นดูดกลืนแสงที่ผ่านเข้าไปในโมเลกุลเป็นเวลานานกว่ากรณีฟลูออเรสเซนต์ คือประมาณ ($1 x10^{-12}$ - 100) วินาที



รูปที่ 2.7 แสดงกระบวนการการเกิดพลังงานกระตุ้น

กระบวนการกระตุ้น (Excitation Process)

เมื่อโมเลกุลดูดกลืนแสงยูวีหรือวิสิเบิลจะถูกกระตุ้นให้ขึ้นไปยัง S_1 หรือ S_2 ซึ่งขึ้นอยู่กับพลังงานที่ดูดกลืน โดยการดูดกลืนเป็นไปตามกฎของเบียร์ (Beer) คือ $A = \log (I_0/I) = abc$

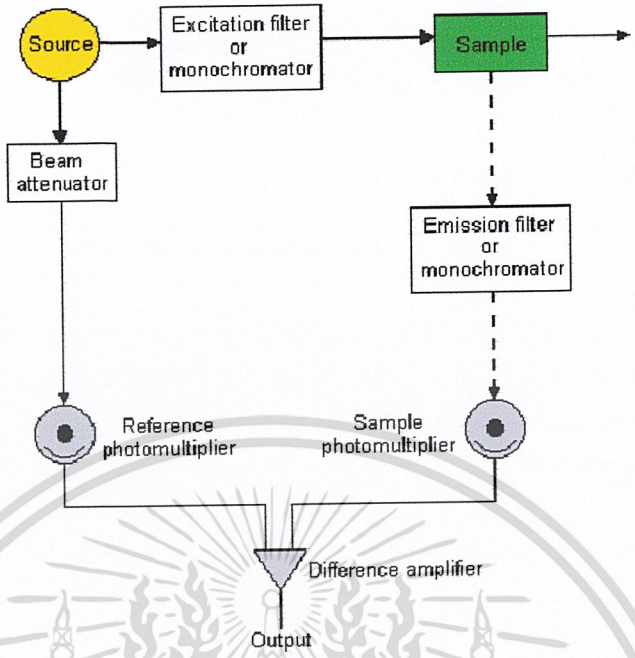
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการลดระดับพลังงาน (Deactivation process)

สมมุติว่าโมเลกุลถูกกระตุ้นไปสู่สถานะกระตุ้น (Excited state) S_2 การที่โมเลกุลจะกลับลงมาอยู่สถานะพื้นนั้นต้องมีกลไกลต่างๆ เกิดขึ้นหลายขั้นตอน ถ้าโมเลกุลนั้นอยู่ในสารละลาย โมเลกุลนั้นสามารถลด vibrational energy ที่เกินไปลงด้วยการชนกับโมเลกุลของตัวทำละลาย กลายเป็นความร้อนโดยผ่านกระบวนการที่เรียกว่า Vibrational Relaxation (VR) ในขณะเดียวกัน โมเลกุลที่อยู่ S_2 จะมีระดับพลังงาน vibrational energy ลดต่ำลงมาอยู่เดียวกันกับ vibrational energy ที่สูงของ excited singlet แรก S_1 นั้นคือ S_2 พลังงานต่ำกลายเป็น S_1พลังงานสูง เรียกว่า การเกิดกระบวนการ Internal Conversion (IC) กระบวนการลดพลังงานของทั้ง (VR) และ (IC) เกิดขึ้นรวดเร็ว (ประมาณ 10^{-12} วินาที) จนโมเลกุลลงมาสู่สถานะ S_1 โดยไม่มีการแผ่รังสี ดังนั้นจะเห็นว่า การ Deexcite จากสถานะสูงกว่า S_1 มาสู่ Vibrational energy ต่ำ (V=0) โดยมีการแผ่รังสีจะพบน้อย มีเพียงไม่กี่โมเลกุลที่ทำให้เกิดแบบนี้ เช่น azulene และอนุพันธ์ เมื่อโมเลกุลลงมาสู่ระดับพลังงาน s_1 ที่มีระดับพลังงานต่ำแล้วก็จะเกิด deexcited ไปสู่ S_0 โดยมีการให้โฟตอนเรียกว่าเกิดฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence) ซึ่งเกิดรวดเร็วมาก (ประมาณ 10^{-9} - 10^{-7} วินาที) จะเห็นจากแผนภาพ มีอยู่ระดับหนึ่งที่พลังงานที่สารดูดกลืนเข้าไปทำให้เกิดสถานะกระตุ้นเท่ากับพลังงานที่สารนั้นให้ออกมา เมื่อกลับสู่สถานะพื้น เรียกว่า "0 – 0" transitions แต่ในทางปฏิบัติ พลังงานอาจแตกต่างกันเล็กน้อย Band ของสเปกตรัมอาจเคลื่อนที่บ้างเนื่องจาก solvent effects สำหรับในกรณีที่โมเลกุลกำลังอยู่ในสถานะกระตุ้น อิเล็กตรอนตัวหนึ่งอาจเกิด spin กลับทาง (reverse spin) ทำให้ค่า มัลติพลีซีตีเป็น 3 ดังได้กล่าวมาแล้ว โมเลกุลนั้นจะเปลี่ยนจาก singlet state ไปเป็น triplet state โดยกระบวนการนี้ไม่มีการให้รังสีออกมา เรียกว่า Intersystem crossing (ISC) Triplet state นั้นจึงมีพลังงานต่ำกว่า singlet state เดิม ขอให้เข้าใจอีกครั้งหนึ่งว่า โมเลกุลของสารอินทรีย์นั้นมีโมเลกุลเป็นเลขคู่ ทำให้โมเลกุลนั้นไม่มี (ground triplet state) เนื่องจากอิเล็กตรอนที่อยู่ในออร์บิทัล มีพลังงานต่ำที่สุด และ spin paired ตามกฎของฮุนด์ (Hund's rule) เกี่ยวกับมัลติพลิตี หลังจากที่เปลี่ยนไปเป็น triplet state ที่มีพลังงานสูงแล้วเกิดกระบวนการ VR เพื่อลดพลังงานให้เป็น triplet state (T_1) ที่มีพลังงานต่ำ แล้วเกิดกระบวนการลดระดับพลังงานจาก T_1 ไปยัง S_0 โดยให้โฟตอนเกิดขึ้นเรียกว่า ฟอสฟอเรสเซนซ์ (Phosphorescence)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 ส่วนประกอบของเครื่องฟลูออโรเมทรี



รูปที่ 2.8 แสดงองค์ประกอบของเครื่องฟลูออเรสเซนซ์

ส่วนประกอบของเครื่อง

1. Light Source
2. Filter and Monochromator
3. Sample cell or Cuvette
4. Detector
5. Signal Processor and Data Read Out

2.6.1 แหล่งกำเนิดแสง (Light Source)

เนื่องจากค่าความเข้มการฟลูออเรสเซนซ์ เป็นสัดส่วนโดยตงกับความเข้มของแสงที่ตกกระทบ ดังนั้นการเพิ่มความเข้มของแสงจากแหล่งกำเนิดจะทำให้สัญญาณที่วัดใหญ่ขึ้นสำหรับช่วงความเข้มข้นที่ใช้วัด และทำให้ความไวของการวัดเพิ่มขึ้น ทั้งหลอดไส้ทังสเตนและหลอดดิวเทอร์เรียม ไม่สามารถใช้สำหรับวัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ เพราะไม่สามารถให้ความเข้มของแสงที่เหมาะสมได้

แถบของการดูดกลืนแสงที่ทำให้เกิดฟลูออเรสเซนซ์ส่วนใหญ่มีลักษณะกว้างครอบคลุมความยาวคลื่นเป็นช่วง การให้แสงที่ความยาวคลื่นใดๆ เพียงให้อยู่ในช่วงดังกล่าวก็ทำให้เกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้ ดังนั้นแหล่งกำเนิดแสงสำหรับวัดการเกิดฟลูออเรสเซนซ์ไม่จำเป็นต้องเป็นแหล่งกำเนิดแสงแบบต่อเนื่อง แหล่งกำเนิดแสงแบบหลอดที่ใช้ทั่วไปมี 4 ชนิด ดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.1.1 หลอด

1. Mercury discharge lamps

เป็นแหล่งกำเนิดแสงที่ใช้ในเครื่องมือฟลูออโรมิเตอร์แบบง่าย หลอดชนิดนี้ให้เส้นสเปกตรัมที่เข้มซ้อนอยู่บนแถบสเปกตรัมต่อเนื่องที่กว้างแต่มีความเข้มข้นต่ำในช่วงอัลตราไวโอเลตย่านใกล้ (near ultraviolet) และเป็นอันตรายต่อตาจึงไม่ควรมองโดยตรงที่แหล่งกำเนิดแสงอัตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่นสั้น

2. Xenon arc lamps

หลอดชนิดนี้เป็นแหล่งกำเนิดแสงที่ใช้สำหรับเครื่องมือที่ยุ่งยากซับซ้อนและสามารถสแกนความยาวคลื่นต่างๆ ได้ หลอดชนิดนี้ให้แสงความเข้มสูงอย่างต่อเนื่องระหว่างความยาวคลื่น 250-600 นาโนเมตร เครื่องมือสเปกโทรฟลูออมิเตอร์ส่วนมากจะใช้ Xenon arc lamps ขนาด 150 วัตต์ หรือ 250 วัตต์ (บางครั้งสูงถึง 450 วัตต์) ความดันไอภายในหลอด 5 ความดันบรรยากาศ ขณะเย็นและส่วนมากมีความดันไอ 20 ความดันบรรยากาศ เมื่อทำให้ร้อนเป็นหลอดที่มีความดันสูง หลอดชนิดนี้มีราคาแพงจึงมักใช้ในเครื่องที่ออกแบบสำหรับงานลักษณะเฉพาะที่ไม่ใช้งานประจำ

3. Xenon – Mercury lamps

Xenon – Mercury lamps ประกอบด้วยแก๊ส xenon กับปรอทที่เติมลงไป 2-3 ไมโครลิตร สัญญาณการฟลูออเรสเซนซ์ที่กระตุ้นด้วยหลอดชนิดนี้เพิ่มเป็น 10-50 เท่าของหลอด xenon ถ้ากระตุ้นที่การดูดกลืนแสงสูงสุดของสาร

4. Pulsed – Xenon lamp

Pulsed – Xenon lamp โดยทั่วไปใช้ในช่วงอัตราไวโอเลตและไม่จำเป็นต้องวัดที่การดูดกลืนแสงสูงสุด พลังงานในช่วงอัตราไวโอเลต ผ่านต่ำของหลอดแบบ Pulsed – Xenon จะสูงกว่าหลอดแบบ continuous xenon และมีอายุการใช้งานนานกว่า

2.6.1.2 เลเซอร์

เลเซอร์เป็นแหล่งกำเนิดแสงที่มีพลังงานสูงมาก สามารถขีดจำกัดการตรวจวัดให้ต่ำลงได้ เลเซอร์ชนิดที่มีความถี่คงที่ (fixed-frequency lasers) มีความเข้มสูงแต่ให้ช่วงของแถบแสงที่แคบมาก เลเซอร์ชนิดหมุนปรับได้ (tunable laser) จึงมีประโยชน์มากกว่า

คุณสมบัติของเลเซอร์ขึ้นกับตัวกลาง การจัดองค์ประกอบของ optical resonator และ pumping mode ทำให้มีเลเซอร์หลายชนิด

แหล่งกำเนิดแสงชนิดเลเซอร์มีข้อดีหลายประการคือ

1. เมื่อตัวอย่างมีขนาดเล็กมาก เช่น โครมาโทกราฟีชนิดท่อขนาดเล็กมาก (microbore chromatography) และแคปิลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส (capillary electrophoresis,CE) ที่ตัวอย่างมีปริมาณเป็นไมโครลิตรหรือน้อยกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2. ใช้สำหรับการรับรู้จากระยะไกล (remote sensing) เช่นการตรวจวัดเชิงฟลูออโรเมทรีของไฮดรอกซิลแรดิคอล (hydroxyl radical) ที่อยู่ในอากาศ หรือการวัดคลอโรฟิลด์ในน้ำ

3. เมื่อต้องการการกระตุ้นที่สูงมากเพื่อลดผลของสิ่งรบกวนที่สามารถเกิดฟลูออเรสเซนซ์ได้

2.6.2 ตัวเลือกความยาวคลื่น

เครื่องมือสำหรับวัดค่าความเข้มของการฟลูออเรสเซนซ์ต้องมีตัวเลือกความยาวคลื่นสองส่วน คือ ตัวเลือกความยาวคลื่นอันแรก (primary wavelength selector) หรือ ตัวเลือกความยาวคลื่นการกระตุ้น (excitation wavelength selector) และ ตัวเลือกความยาวคลื่นอันที่สอง (secondary wavelength selector) หรือตัวเลือกความยาวคลื่นการคายแสง (emission wavelength selector)

หน้าที่ของตัวเลือกความยาวคลื่นการกระตุ้น คือการเลือกแสงความยาวคลื่นเดียว หรือแถบแสงที่แคบสำหรับกระบวนการกระตุ้นสารตัวอย่าง หรือ P_0 ตัวเลือกความยาวคลื่นนี้สามารถใช้ได้ทั้งฟิลเตอร์และเกรตติงโมโนโครเมเตอร์ แต่โมโนโครเมเตอร์จะให้ผลดีกว่าฟิลเตอร์ เพราะการกระตุ้นด้วยแถบแสงที่กว้างจะมีโอกาสเกิดการรบกวนมากขึ้นกว่าแถบแสงที่แคบ

ส่วนตัวเลือกความยาวคลื่นการคายแสง มีระบบของตัวเลือกความยาวคลื่นที่คล้ายกับตัวเลือกความยาวคลื่นการกระตุ้น เนื่องจากตัวเลือกความยาวคลื่นส่วนนี้ทำหน้าที่วัดแสงที่เปล่งออกมา โดยทั่วไปวางในตำแหน่งที่ทำมุม 90 องศา กับแกนของตัวเลือกความยาวคลื่นการกระตุ้น เพื่อลดการรบกวนจากแสงที่ผ่านออกมาหลังการดูดกลืนแสง หรือแสงที่เกิดการกระเจิงจากการกระตุ้น ในกรณีของเครื่องมือที่ใช้ฟิลเตอร์นั้นแถบความกว้างของฟิลเตอร์อันแรก (primary filter) และฟิลเตอร์อันที่สอง (secondary filter) ไม่ควรซ้อนทับกัน

2.6.2.1 ฟิลเตอร์

ฟิลเตอร์ที่ใช้มี 3 ชนิด คือ narrow–bandpass filter, shar–cut filter และ interference filter ชนิดที่นิยมใช้มากที่สุดในเครื่องมือฟิลเตอร์ฟลูออโรมิเตอร์ คือ shar–cut filter

2.6.2.2 โมโนโครเมเตอร์

โมโนโครเมเตอร์ที่ใช้มี 2 ชนิด คือ ควอทซ์ปริซึมโมโนโครเมเตอร์ และเกรตติงโมโนโครเมเตอร์ ซึ่งโดยทั่วไปมีการใช้ทั้งสองชนิด

2.6.2.3 โพลาไรเซอร์

โพลาไรเซอร์ใช้เมื่อต้องการผลิตหรือวิเคราะห์แสงโพลาไรซ์เชิงเส้นตรง (linear polarized light) หรือเชิงวงกลม (circulary polarized light) โพลาไรเซอร์เชิงเส้นตรงใช้ dichroism, Brewster angle reflection หรือ birefringence โพลาไรเซอร์ที่นิยมมากที่สุดคือ Polaroid film polarizer

2.6.3 เซลล์บรรจุสารตัวอย่าง

เซลล์บรรจุสารตัวอย่างจะมีทั้งแบบทรงกระบอกและทรงสี่เหลี่ยม เซลล์ที่นิยมใช้มากที่สุดเป็นขนาด 1 ตารางเซนติเมตร ทำจากวัสดุประเภทซิลิกาหลอมหรือควอทซ์ สิ่งสำคัญของเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
117279

สำหรับวัดการฟลูออเรสเซนซ์คือผนังทั้ง 4 ด้านของเซลล์ต้องมีคุณสมบัติให้แสงผ่านไปโดยไม่รบกวนการดูดกลืนหรือการปล่อยแสง จึงต้องเป็นผนังที่ใสทั้ง 4 ด้านเนื่องจากมีความถูกต้องของความหนาและระนาบคู่ขนานที่ผนังเซลล์ที่กำลังส่งผ่าน การเปล่งแสงในวิธีฟลูออโรเมทรีนั้นออกไปทุกทิศทาง ทำให้การวัดการฟลูออเรสเซนซ์ของคิวเวตเหมาะกับการตรวจวัดการฟลูออเรสเซนซ์ที่มุมด้านขวาของแสงกระตุ้นเพื่อลดแสงจากการกระเจิงแสงให้มีน้อยที่สุด ในขณะที่ฟลูออโรโฟโตมิเตอร์มีการใช้เซลล์ทรงกลมบ่อยมากกว่าคิวเวต

2.6.4 เครื่องวัดแสง (Detector)

สัญญาณจากการฟลูออเรสเซนซ์จะมีความเข้มต่ำ การขยายสัญญาณให้ใหญ่ขึ้นจึงมีความจำเป็นในการวัด ตัวตรวจวัดที่ใช้ในฟลูออโรมิเตอร์มี 2 ชนิด คือ

2.6.4.1 Photomultiplier tube (PMT)

ส่วนใหญ่ PMT ที่ใช้ในฟลูออโรมิเตอร์นั้นจะมีความไวต่อแสง ในช่วง 300-600 นาโนเมตร และอาจมีแบบพิเศษที่มีความไวต่อแสงมากกว่า 600 นาโนเมตร (จำเป็นสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์บางประเภท เช่น การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์) PMT เป็นตัวตรวจวัดแสง ซึ่งวัดด้วยการปรับแรงดันไฟฟ้า โดยจะแปลสัญญาณจากสัญญาณแสงเป็นสัญญาณไฟฟ้า ซึ่งการเพิ่มแรงดันไฟฟ้าของ PMT นี้ จะช่วยเพิ่มสัญญาณขาออก ทำให้สามารถรับปริมาณแสงให้มากขึ้นได้ ข้อจำกัดอย่างหนึ่งของ PMT คือ อุณหภูมิมีผลต่อการทำงานของ PMT ดังนั้น เมื่อใช้งานติดต่อกันเป็นเวลานาน อาจทำให้ผลการตรวจวัดผิดพลาดได้ จึงจำเป็นต้องพักเครื่องบ้างหากต้องใช้งานติดต่อกัน วิธีแก้ปัญหานี้อย่างหนึ่งคือ เลือกใช้ closed-loop ฟลูออโรมิเตอร์ เพราะมี stabilizing reference circuitry อยู่ภายใน ซึ่งสามารถช่วยให้การอ่านผลสามารถทำงานได้อย่างถูกต้องมากขึ้นได้

2.6.4.2 Photodiode (PD)

ตัววัดชนิดนี้เหมาะสำหรับการใช้ประโยชน์กับระดับแสงที่ต่ำหรือปานกลางใช้ได้ทั้งในช่วงอุลตร้าไวโอเล็ต หรือ near-infraed ตัวตรวจวัด photodiode นี้เป็นอุปกรณ์ประเภท semiconductor ที่ใช้เพื่อตรวจจับแสงและก่อให้เกิดเป็นสัญญาณไฟฟ้า ซึ่งโดยทั่วไปมักจะใช้ในการตรวจการกระจายของแสง (forward scatter detection: FSC) และด้วยเหตุที่ตัวตรวจวัดชนิดนี้มีขนาดเล็ก ทนทาน และใช้พลังงานต่ำ ความแตกต่างของตัวตรวจวัดของฟลูออโรมิเตอร์ กับ ยูวี-วิสิเบิล คือ ฟลูออโรมิเตอร์จะมีตัวตรวจวัด 2 ตัว ตัวหนึ่งวัดฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นจากสารตัวอย่าง อีกตัวหนึ่งเรียกตัวตรวจวัดอ้างอิง เพื่อใช้สำหรับทำ spectral correction อันเนื่องจากข้อบกพร่องหรือข้อจำกัดต่างๆ ทำให้สามารถผลิตเครื่องให้มีขนาดเล็กได้ ซึ่งเหมาะสำหรับการนำไปใช้งานนอกสถานที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติที่สำคัญของเครื่องวัดแสงฟลูออโรเมทรีคือ

1. มีความไวสูง
2. วัดได้ครอบคลุมช่วงความยาวคลื่นที่วัด
3. ให้สัญญาณต่อสัญญาณรบกวนสูง
4. ให้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

2.6.5 ส่วนประมวลผลและบันทึก

สัญญาณที่ได้จากเครื่องวัดจะผ่านเข้ากระบวนการอิเล็กโทรนิกแล้วแสดงผลออกมาอาจเป็นอย่างใดอย่างหนึ่งหรือหลายอย่างก็ได้ต่อไปนี้

- Meter or Digital Meter
- Recorder or Printer
- Computer or Microprocessor

2.7 หลักการวิเคราะห์

โครงงานวิจัยนี้ ปฏิกิริยาการเควนชิ่งสารละลายควินินโดยไตรไอโอไดด์สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณเอทานอลโดยทางอ้อมได้ ในการวิเคราะห์จะอาศัย 2 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้แก่ ปฏิกิริยาระหว่างเอทานอลกับไตรไอโอไดด์ที่มากเกินพอ หรือปฏิกิริยาไอโอโดฟอร์ม และปฏิกิริยาการเควนชิ่งสารละลายควินินโดยไตร-ไอโอไดด์ที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับเอทานอล ซึ่งความเข้มแสงของสารละลายควินินจะลดลงเป็นความสัมพันธ์แบบแปรผกผันกับความเข้มข้นของไตรไอโอไดด์ นั่นคือเมื่อความเข้มข้นของไตรไอโอไดด์ที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับเอทานอลมากความเข้มแสงหรือการเรืองแสงของสารละลายควินินจะน้อยลงมาก ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากไตรไอโอไดด์สามารถลดการเรืองแสงของสารละลายควินินทำให้ความเข้มแสงของสารละลายควินินลดลง จะเห็นได้ว่าปฏิกิริยาทั้ง 2 มีความสัมพันธ์เชื่อมโยงกัน นั่นคือเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลในตัวอย่างน้อยไตรไอโอไดด์จะเข้าปฏิกิริยาน้อยทำให้เหลือความเข้มข้นของไตรไอโอไดด์มาก ดังนั้นสารละลายควินินจึงถูกเควนชิ่งน้อยความเข้มแสงจึงมาก

ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอทานอลกับความเข้มข้นของไตรไอโอไดด์

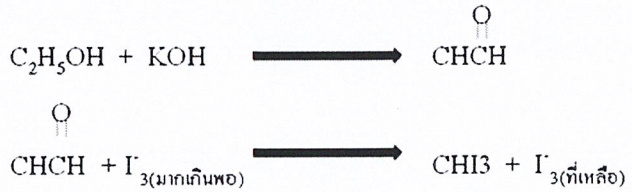
$[C_2H_5OH]$ น้อย ⟶ $[I_3^-]$ เหลือมาก ⟶ การเรืองแสงของสารละลายควินินน้อย

$[C_2H_5OH]$ มาก ⟶ $[I_3^-]$ เหลือน้อย ⟶ การเรืองแสงของสารละลายควินินมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

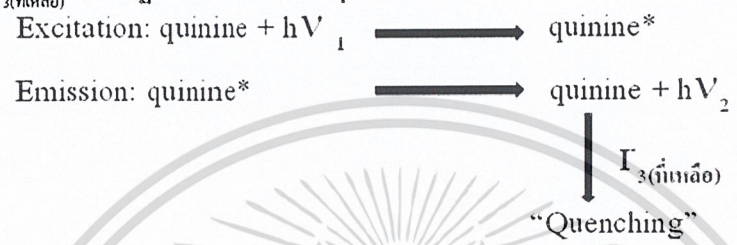
ปฏิกิริยาที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล

ปฏิกิริยาที่ 1 ปฏิกิริยาไอโอโดฟอร์ม



ปฏิกิริยาที่ 2

นำ $I_{3(ที่เหลือ)}$ ไปทำปฏิกิริยากับสารละลาย quinine



2,8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Prapatsorn Tipparat , Somchai Lapanantnoppakhun, Jaroon Jakmunee และ Kate Grudpan ได้นำเสนอขั้นตอนอย่างง่ายในการตรวจวัดปริมาณเอทานอลในสุรากลั่น โดยใช้เทคนิครังสีช่วงใกล้ ร่วมกับ ระบบโฟลอินเจคชัน ซึ่งจะทำการสกัดเอาเอทานอล เข้าไปในชั้นสารอินทรีย์ โดยฉีดไอน้ำพาของคลอโรฟอร์มผ่านไปที่ home–made flow througn cell (ขนาด 1 มิลลิเมตร) มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 2305 หรือ 2636 นาโนเมตร ปริมาณของเอทานอล สามารถหาได้จากการเทียบกับมาตรฐาน ระหว่าง ค่าการดูดกลืนแสง กับ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอลกอฮอล์ เส้นตรงของกราฟมาตรฐาน มีความเป็นเส้นตรงในช่วง 20-50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

Tao Qin, Xiaobai Xu, Tomas Polak, Vera Pacakova, Karel Stulik และ Libor Jech ได้ใช้เทคนิคอย่างง่าย ที่พัฒนาสำหรับวิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ในสถานะแก๊สที่ถูกดูดซับบนตัวดูดซับที่เป็นของแข็งก่อนแล้ววิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยระบบได้รับการทดสอบกับถ่านที่ใช้ตัวดูดซับและซิลิกาเจล ซึ่งมีเพนเทน, เมทานอล, เอทานอล และอะซิโตนเป็นแบบอย่างของสารที่ต้องการวิเคราะห์ ขั้นตอนในการวิเคราะห์เป็นไปอย่างรวดเร็ว, ขีดจำกัดในการตรวจวัดต่ำที่ระดับนาโนโมลต่อลิตร ต่ำกว่า 0.1 นาโนโมลต่อลิตร (ไม่กี่พีพีบี), ค่าความเข้มข้นจะอยู่ที่ระดับนาโนโมลต่อลิตร และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เป็น 10 เปอร์เซ็นต์ จะได้รับการแสดงให้เห็นว่าวิธีการใช้ง่ายใช้กับการกำหนดความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ทันทีในบรรยากาศธรรมชาติและอุตสาหกรรมและเพื่อการตรวจสอบในลมหายใจของมนุษย์ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญสำหรับการประกอบวิชาชีพเวชกรรมและเกี่ยวกับสุขภาพ โดยทั่วไปแล้วขั้นตอนนี้จะใช้กับการระเหยสารประกอบอินทรีย์โมเลกุลต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้

3.1.1 สารเคมี

1. เอทานอล C_2H_5OH (99.80%) เกรดวิเคราะห์ของ CARLO ERSA
2. ไอโอดีน I, (99.99%) เกรดวิเคราะห์ของ CARLO ERSA
3. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น,H_2SO_4 (98%) เกรดวิเคราะห์ของ BDH laboratory supplies
4. โพแทสเซียมไอโอไดด์, KI (99.50%) เกรดวิเคราะห์ของ MERCK
5. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์,KOH (85.00%) เกรดวิเคราะห์ของ MERCK
6. ควินินซัลเฟตดีไฮเดรต $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$, เกรดวิเคราะห์

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. บีกเกอร์
2. ปิเปต
3. ขวดวัดปริมาตร
4. ลูกยาง
5. กระบอกน้ำกลั่น
6. กระบอกตวง
7. หลอดหยด
8. แท่งแก้วคนสาร
9. กรวยกรอง
10. กระจกนาฬิกา
11. แท่งแม่เหล็ก
12. เครื่องปั่นกวน
13. ช้อนตักสาร
14. นาฬิกาจับเวลา
15. กระดาษฟรอยด์
16. ขวดพลาสติกพร้อมฝาปิด
17. เครื่อง Spectrofluorometer รุ่น FP - 6300 Jasco พร้อม cell
18. เพอร์ริสตาลติกปั๊ม
19. อินเจกชันวาล์ว (six port valve)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20. ท่อ

21. เครื่อง pH meter

3.2 การเตรียมสารละลาย

3.2.1. สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 2.8 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ 1000 มิลลิลิตร และเจือจางด้วยน้ำปราศจากไอออน จนได้ปริมาตรครบ 1000 มิลลิลิตร

3.2.2. สารละลายควินิน เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร

ชั่งควินินซัลเฟตดีไฮเดรต 0.015 กรัม ละลายด้วย 0.05 โมลต่อลิตรของกรดซัลฟิวริก จนถึงขีดบอกปริมาตร 250 มิลลิลิตร

3.2.3. สารละลายไอโอดีนในสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (Tri - iodide) ความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

ชั่งไอโอดีนหนัก 0.635 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 20 มิลลิลิตร ปั่นกวนสารโดยใช้แท่งแม่เหล็ก จากนั้นเติมโพแทสเซียมไอโอไดด์ลงไปจนกระทั่งไอโอดีนละลายหมด ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร จะได้สารละลายไอโอดีนในโพแทสเซียมไอโอไดด์ (Tri-iodide) ความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำกระดาษฟรอยด์มาห่อเพื่อป้องกันแสงแดด

3.2.4. สารละลายไตรไอโอไดด์ (Tri - iodide) ความเข้มข้น $1.0x10^{-3}$ โมลต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายไอโอดีนในสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (Tri - iodide) ความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร มา 1.25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 250 มิลลิลิตร

3.2.5. สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

ชั่งโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์มา 0.28055 กรัม นำมาละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรจนครบ 500 มิลลิลิตร

3.2.6. สารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 5, 10, 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ตามลำดับ

โดยใช้น้ำปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลาย เก็บใส่ขวดพลาสติกปิดฝาให้สนิท เตรียมดังตารางดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 แสดงการเตรียมสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 5, 10, 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ตามลำดับ

ความเข้มข้นของเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร)	ปริมาตรรวม (มิลลิลิตร)	ปริมาตรน้ำ (มิลลิลิตร)	ปริมาตรเอทานอลเข้มข้น 99.8%v/v (มิลลิลิตร)
5	25.00	23.75	1.25
10	25.00	22.50	2.50
30	25.00	17.50	7.50
50	25.00	12.50	12.50

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 การศึกษาหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมของสารละลายควินิน

1. ปิเปตสารละลายควินิน 100 มิลลิกรัมต่อลิตรในกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร มา 2.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เจือจางด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร จนถึงขีดบอกปริมาตร จะได้สารละลายควินินเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตรในกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร

2. นำสารละลายควินินเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตรในกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร ไปสแกนหา excitation wavelength (λ_{ex}) โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปคโทรโฟโตมิเตอร์

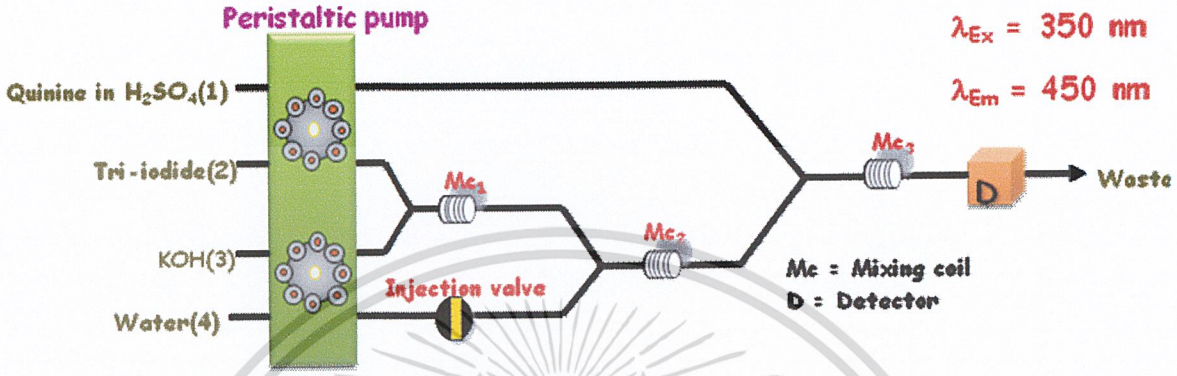
3. นำ λ_{ex} ที่ได้จากการสแกนโดยเครื่องสเปคโทรมาป้อนใส่เครื่องสเปกโทรฟรูออโรมิเตอร์แล้วทำการสแกนหา emission wavelength (λ_{em})

4. เมื่อได้ λ_{em} จากการสแกนโดยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์แล้วให้นำค่า λ_{em} ที่ได้มาป้อนใส่เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ แล้วทำการสแกนหา λ_{ex} เพื่อเช็คความถูกต้องอีกครั้ง

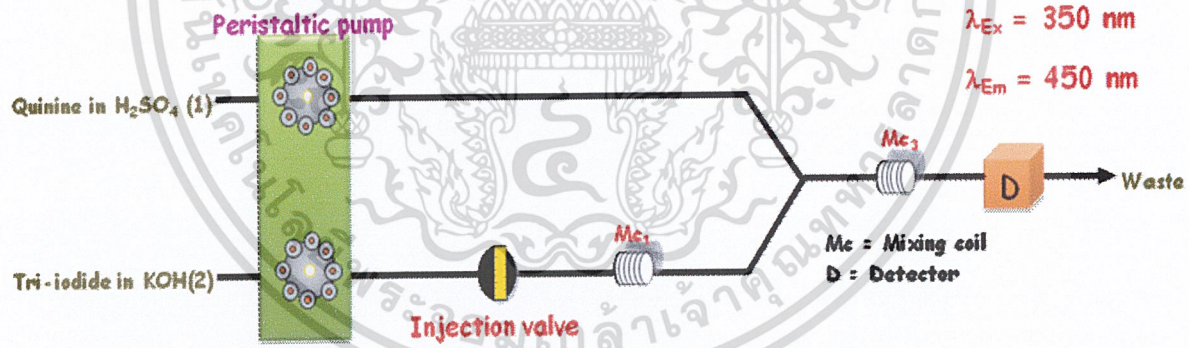
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การศึกษาหาระบบโฟลอินเจคชันที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อม

ในการทดลองได้ออกแบบระบบโฟลอินเจคชันที่มีรูปแบบแตกต่างกันทั้งหมด 5 ระบบดังแสดงในรูปที่ 3.1-3.5

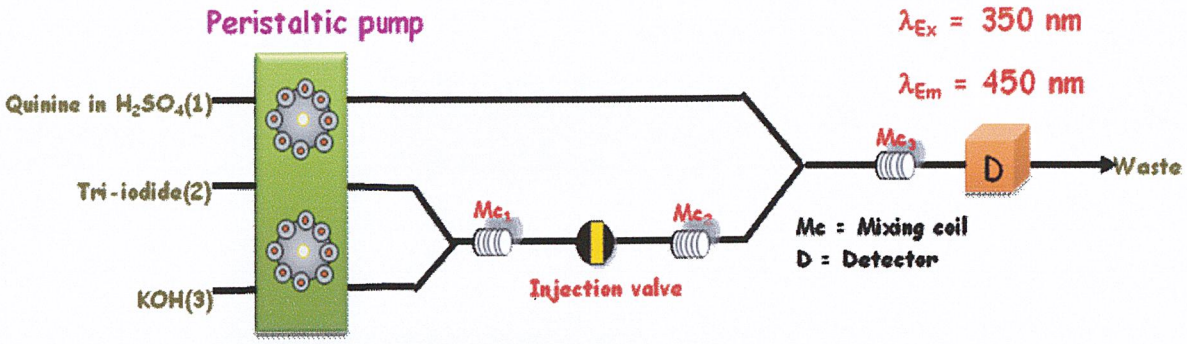


รูปที่ 3.1 แสดงระบบที่ 1 สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อม ; สารละลายควินิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร, สาระลายไตรไอโอไดด์ $5x10^{-4}$ โมลต่อลิตร, สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลต่อลิตร และน้ำกลั่นปราศจากไอออน

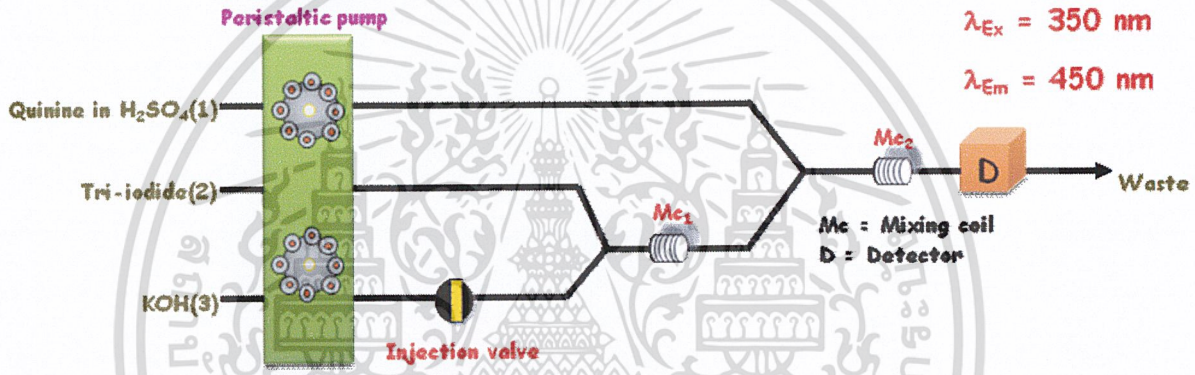


รูปที่ 3.2 แสดงระบบที่ 2 สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อม ; สารละลายควินิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร และสาระลายไตรไอโอไดด์ $5x10^{-4}$ โมลต่อลิตร ผสมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลต่อลิตร

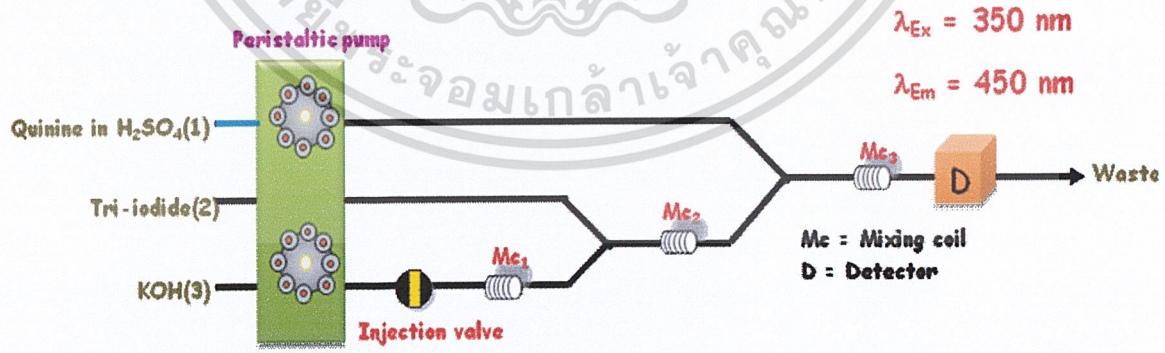
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.3 แสดงระบบที่ 3 สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อม ; สารละลายควินิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร, สาระลายไตรไอโอไดด์ $5x10^{-4}$ โมลต่อลิตร และสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลต่อลิตร



รูปที่ 3.4 แสดงระบบที่ 4 สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อม ; สารละลายควินิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร, สาระลายไตรไอโอไดด์ $5x10^{-4}$ โมลต่อลิตร และสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลต่อลิตร



รูปที่ 3.5 แสดงระบบที่ 5 สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อม ; สารละลายควินิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร, สาระลายไตรไอโอไดด์ $5x10^{-4}$ โมลต่อลิตร และสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนในการทดลองทั้ง 5 ระบบ มีลักษณะเหมือนกันดังนี้

1.ปั๊มกรดซัลฟิวริกเข้าสู่ระบบ โดยผ่านเข้ามาทุกสายเพื่อ Auto Zero

2.ปั๊มสารเคมีทุกตัวที่ใช้ทำปฏิกิริยาเข้าสู่ระบบ

3.ฉีดสารละลายมาตรฐานเอทานอลเข้าสู่ระบบผ่านทางอินเจคชันวาล์ว

4.ได้ค่าความเข้มแสงของสารละลายควินินที่ถูกเควนชิ่งโดยสารละลายไตรไอโอไดด์ที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับเอทานอล

3.3.3 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์

3.3.3.1 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายไตรไอโอไดด์

ปรับเปลี่ยนหาความเข้มข้นของสารละลายไตรไอโอไดด์ที่มากเกินพอจะทำปฏิกิริยากับเอทานอลและเหลือพอสำหรับระงับการเรืองแสงของสารละลายควินิน โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ คงที่ดังนี้ สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลต่อลิตร, สารละลายเอทานอล 10, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และสารละลายควินิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร

1. เตรียมสารละลายไตรไอโอไดด์เข้มข้น 5×10^{-4}, 1.0×10^{-3} และ 1.5×10^{-3} โมลต่อลิตร

2. Auto Zero ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกทุกสาย จากนั้นปล่อยให้สารละลายรีเอเจนต์แต่ละตัวไหลตามรูปที่ 3.5 แต่สารละลายไตรไอโอไดด์ใช้ความเข้มข้น 5×10^{-4} โมลต่อลิตร

3. ฉีดน้ำกลั่นปราศจากไอออน และสารละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 10 และ 75 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ

4. วัดความเข้มแสง โดยตั้ง λ_{ex} = 350 นาโนเมตร และ λ_{em} = 450 นาโนเมตร

5. ทำการทดลองซ้ำ ตั้งแต่ข้อ 2-4 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายไตรไอโอไดด์ 5×10^{-4} โมลต่อลิตร เป็น 1.0×10^{-3} และ 1.5×10^{-3} โมลต่อลิตร ตามลำดับ

3.3.3.2 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายควินิน

ปรับเปลี่ยนหาความเข้มข้นของสารละลายควินินที่เหมาะสมที่ให้ค่าความเข้มของสัญญาณสูง โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ คงที่ดังนี้ สารละลายไตรไอโอไดด์ 1×10^{-3} โมลต่อลิตร, สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลต่อลิตร, สารละลายเอทานอล 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. เตรียมสารละลายควินินเข้มข้น 30, 50 และ 70 มิลลิกรัมต่อลิตรในกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร

2. Auto Zero ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกทุกสาย จากนั้นปล่อยให้สารละลายรีเอเจนต์แต่ละตัวไหลตามรูปที่ 3.5 แต่สารละลายควินินใช้ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตรในกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร

3. ฉีดน้ำกลั่นปราศจากไอออน และสารละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ

4. วัดความเข้มแสง โดยตั้ง λ_{ex} = 350 นาโนเมตร และ λ_{em} = 450 นาโนเมตร

5. ทำการทดลองซ้ำอีกครั้งตั้งแต่ข้อ 2-4 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายควินินเป็น 50 และ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

3.3.3.3 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดซัลฟิวริก

ปรับเปลี่ยนหาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสม ที่ทำให้สารละลายควินินเกิดการเรืองแสงให้ความเข้มของสัญญาณสูง โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ คงที่ดังนี้ สารละลายไตรไอโอไดด์ 1×10^{-3} โมลต่อลิตร, สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลต่อลิตร และสารละลายควินิน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

1. เตรียมสารละลายควินินเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตรในกรดซัลฟิวริก 0.05, 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร

2. Auto Zero ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตรทุกสาย จากนั้นปล่อยให้สารละลายรีเอเจนต์แต่ละตัวไหลตามรูปที่ 3.5 แต่สารละลายควินินใช้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตรในกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร

3. วัดความเข้มแสง โดยตั้ง λ_{ex} = 350 นาโนเมตร และ λ_{em} = 450 นาโนเมตร

4. ทำการทดลองซ้ำ ตั้งแต่ข้อ 2-3 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกในการ Auto Zero จาก 0.05 โมลต่อลิตร เป็น 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร ตามลำดับ และเปลี่ยนสารละลายควินินจากความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรในกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร เป็นสารละลายควินินจากความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรในกรดซัลฟิวริก 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3.4 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์

ปรับเปลี่ยนหาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่เหมาะสมที่ทำให้ปฏิกิริยาระหว่างเอทานอลและสารละลายไตรไอโอไดด์เกิดได้ดีที่สุด โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ คงที่ดังนี้ สารละลายไตรไอโอไดด์ 1×10^{-3} โมลต่อลิตร, สารละลายเอทานอล 10, 50 และ 75 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร, สารละลายควินิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร

1. เตรียมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.01, 0.05, 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร

2. Auto Zero ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกทุกสาย จากนั้นปล่อยให้สารละลายรีเอเจนต์แต่ละตัวไหลตามรูปที่ 3.6 แต่สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ใช้ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร

3. ฉีดน้ำกลั่นปราศจากไอออน และสารละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 10,50 และ 75 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ

4. วัดความเข้มแสง โดยตั้ง λ_{ex} = 350 นาโนเมตร และ λ_{em} = 450 นาโนเมตร

5. ทำการทดลองซ้ำ ตั้งแต่ข้อ 2-4 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลต่อลิตร เป็น 0.05, 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร ตามลำดับ

3.3.3.5 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ด้วยเครื่อง pH meter

เป็นการศึกษาอิทธิพลของค่าความเป็นเบสด้วยเครื่อง pH meter ว่ามีผลต่อค่าความเข้มแสงหรือไม่ โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ คงที่ดังนี้ สารละลายไตรไอโอไดด์ 1×10^{-3} โมลต่อลิตร, สารละลายควินิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร

1. ปรับสภาพเครื่อง pH meter ด้วย pH 4 และ pH 7

2. เตรียมสารละลาย control quinine โดยปิเปตสารละลายควินินมา 5 มิลลิลิตร และน้ำปราศจากไอออน 5 มิลลิลิตร

3. วัดค่า pH ของสารละลาย control quinine ด้วยเครื่อง pH meter วัดซ้ำ 2 ครั้ง บันทึกผล

4. ปิเปตสารละลายควินิน 5 มิลลิลิตร สารละลายกรดซัลฟิวริก 5 มิลลิลิตร และสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 5 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร

5. วัดค่า pH ของสารละลาย control quinine ด้วยเครื่อง pH meter วัดซ้ำ 2 ครั้ง บันทึกผล

6. ทำซ้ำข้อ 4-5 แต่ปรับความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เป็น 0.05, 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ปิเปตสารละลายควินิน 5 มิลลิลิตร และสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 5 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร

8. วัดค่า pH ของสารละลาย control quinine ด้วยเครื่อง pH meter วัดซ้ำ 2 ครั้ง บันทึกผล

9. ทำซ้ำข้อ 7-8 แต่ปรับความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เป็น 0.05, 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร

3.3.3.6 อิทธิพลของอัตราการไหล

อัตราการไหลของรีเอเจนต์มีผลต่อสัญญาณการวิเคราะห์ เนื่องมาจากการแพร่ (dispersion) เมื่อทำการวิเคราะห์สารด้วยอัตราการไหลที่แตกต่างกัน อาจส่งผลต่อปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ดังนั้นเราจึงมีการปรับเปลี่ยนอัตราการไหลของรีเอเจนต์แต่ละสาย โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ คงที่ดังนี้ สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลต่อลิตร, สารละลายเอทานอล 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร, สารละลายควินิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร และสารละลายไตรไอโอไดด์ $1x10^{-3}$ โมลต่อลิตร

3.3.3.6.1 อิทธิพลของอัตราการไหลสารละลายไตรไอโอไดด์

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลเข้มข้น 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

2. Auto Zero ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกทุกสาย จากนั้นปล่อยให้สารละลายรีเอเจนต์แต่ละตัวไหลด้วยอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที สำหรับสารละลายไตรไอโอไดด์ และ 1 มิลลิลิตรต่อนาที สำหรับสารละลายควินินและสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์

3. ฉีดน้ำกลั่นปราศจากไอออน และสารละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ

4. วัดความเข้มแสง โดยตั้ง λ_{ex} = 350 นาโนเมตร และ λ_{em} = 450 นาโนเมตร

5. ทำซ้ำข้อ 2-4 แต่เปลี่ยนอัตราการไหลของสารละลายไตรไอโอไดด์เป็น 1.0 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ

6. นำค่าความเข้มแสงที่บันทึกไปพลอตกราฟ โดยแกน Y ให้เป็นค่าความเข้มแสง และแกน X เป็นอัตราการไหล

3.3.3.6.2 อิทธิพลของอัตราการไหลสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลเข้มข้น 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

2. Auto Zero ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกทุกสาย จากนั้นปล่อยให้สารละลายรีเอเจนต์แต่ละตัวไหลด้วยอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที สำหรับสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตรต่อนาที สำหรับสารละลายควินิน ส่วนสารละลายไตรไอโอไดด์ใช้อัตราการไหลที่ได้เลือกในข้อ 3.3.3.6.1

3. ฉีดน้ำกลั่นปราศจากไอออน และสารละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ

4. วัดความเข้มแสง โดยตั้ง λ_{ex} = 350 นาโนเมตร และ λ_{em} = 450 นาโนเมตร

5. ทำซ้ำข้อ 2-4 แต่เปลี่ยนอัตราการไหลของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เป็น 1.0 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ

6. นำค่าความเข้มแสงที่บันทึกไปพลอตกราฟ โดยแกน Y ให้เป็นค่าความเข้มแสง และแกน X เป็นอัตราการไหล

3.3.3.6.3 อิทธิพลของอัตราการไหลสารละลายควินิน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลเข้มข้น 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

2. Auto Zero ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกทุกสาย จากนั้นปล่อยให้สารละลายรีเอเจนต์แต่ละตัวไหลด้วยอัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที สำหรับสารละลายควินิน ส่วนสารละลายไตรไอโอไดด์และสารละลายโพแทสเซียมใช้อัตราการไหลที่ได้เลือกในข้อ 3.3.3.6.1 และ 3.3.3.6.2 ตามลำดับ

3. ฉีดน้ำกลั่นปราศจากไอออน และสารละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ

4. วัดความเข้มแสง โดยตั้ง λ_{ex} = 350 นาโนเมตร และ λ_{em} = 450 นาโนเมตร

5. ทำซ้ำข้อ 2-4 แต่เปลี่ยนอัตราการไหลของสารละลายควินินเป็น 1.0 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ

6. นำค่าความเข้มแสงที่บันทึกไปพลอตกราฟ โดยแกน Y ให้เป็นค่าความเข้มแสง และแกน X เป็นอัตราการไหล

3.3.3.7 อิทธิพลของปริมาณสารตัวอย่างที่เข้าสู่ระบบ (Injection volume)

การศึกษาอิทธิพลของปริมาณสารตัวอย่างต่อค่าการดูดกลืนแสงของสารผลิตภัณฑ์ ทำได้โดยเปลี่ยนความยาวท่อที่ใช้สำหรับเก็บสารตัวอย่างให้สัมพันธ์กับช่วงปริมาตรที่ศึกษา โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ คงที่ดังนี้ สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลต่อลิตร, สารละลายเอทานอล 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร, สารละลายควินิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร และสารละลายไตรไอโอไดด์ $1x10^{-3}$ โมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลเข้มข้น 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

2. Auto Zero ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกทุกสาย จากนั้นปล่อยให้สารละลายรีเอเจนต์แต่ละตัวไหลตามรูปที่ 3.5

3. ทำการฉีดสารละลายมาตรฐานเอทานอลเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ผ่านทางอินเจคชันวาล์วที่มีท่อเก็บสารตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร

4. วัดความเข้มแสง โดยตั้ง λ_{ex} = 350 นาโนเมตร และ λ_{em} = 450 นาโนเมตร

5. ทำซ้ำข้อ 2-4 แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร โดยทำซ้ำ 2 ครั้ง และ เปลี่ยนท่อเก็บสารตัวอย่างให้มีปริมาตรเท่ากับ 300 และ 50 ไมโครลิตร ตามลำดับ

6. นำค่าความเข้มแสงที่บันทึกไปพลอตกราฟ โดยแกน Y ให้เป็นค่าความเข้มแสง และปริมาตรของ Injection loop (ไมโครลิตร) ให้เป็นแกน X

3.3.3.8 อิทธิพลของความยาวท่อผสม (mixing coils)

ในการทดลองได้ศึกษาอิทธิพลของความยาวท่อผสมตรงตำแหน่งท่อผสม 1 (Mc_1), ท่อผสม 2 (Mc_2) และท่อผสม 3 (Mc_3) โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ คงที่ดังนี้ สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลต่อลิตร, สารละลายเอทานอล 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร, สารละลายควินิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร และสารละลายไตรไอโอไดด์ $1x10^{-3}$ โมลต่อลิตร

1) ท่อผสม 1 (Mc_1)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลเข้มข้น 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

2. Auto Zero ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกทุกสาย จากนั้นปล่อยให้สารละลายรีเอเจนต์แต่ละตัวไหลตามรูปที่ 3.5 ใช้ความยาวของท่อผสม 0 เซนติเมตร

3. ฉีดน้ำกลั่นปราศจากไอออน และสารละลายเอทานอลเข้มข้น 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ

4. วัดความเข้มแสง โดยตั้ง λ_{ex} = 350 นาโนเมตร และ λ_{em} = 450 นาโนเมตร

5. ทำซ้ำข้อ 2-4 แต่เปลี่ยนความยาวของท่อผสมเป็น 50 และ 100 เซนติเมตร ตามลำดับ

6. นำค่าความเข้มแสงที่บันทึกไปพลอตกราฟ โดยให้เป็นแกน Y และความยาวท่อผสม (เซนติเมตร) ให้เป็นแกน X

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) ท่อผสม 2 (Mc_2)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลเข้มข้น 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

2. Auto Zero ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกทุกสาย จากนั้นปล่อยให้สารละลายรีเอเจนต์แต่ละตัวไหลตามรูปที่ 3.5 ใช้ความยาวของท่อผสม 0 เซนติเมตร

3. ฉีดน้ำกลั่นปราศจากไอออน และสารละลายเอทานอลเข้มข้น 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ

4. วัดความเข้มแสง โดยตั้ง λ_{ex} = 350 นาโนเมตร และ λ_{em} = 450 นาโนเมตร

5. ทำซ้ำข้อ 2-4 แต่เปลี่ยนความยาวของขดลวดผสมเป็น 100, 200 และ 300 เซนติเมตร ตามลำดับ

6. นำค่าความเข้มแสงที่บันทึกไปพลอตกราฟ โดยให้เป็นแกน Y และความยาวท่อผสม (เซนติเมตร) ให้เป็นแกน X

3) ท่อผสม 3 (Mc_3)

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลเข้มข้น 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

2. Auto Zero ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกทุกสาย จากนั้นปล่อยให้สารละลายรีเอเจนต์แต่ละตัวไหลตามรูปที่ 3.5 ใช้ความยาวของท่อผสม 0 เซนติเมตร

3. ฉีดน้ำกลั่นปราศจากไอออน และสารละลายเอทานอลเข้มข้น 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ

4. วัดความเข้มแสง โดยตั้ง λ_{ex} = 350 นาโนเมตร และ λ_{em} = 450 นาโนเมตร

5. ทำซ้ำข้อ 2-4 แต่เปลี่ยนความยาวของท่อผสมเป็น 100, 200 และ 300 เซนติเมตร ตามลำดับ

6. นำค่าความเข้มแสงที่บันทึกไปพลอตกราฟ โดยให้เป็นแกน Y และความยาวท่อผสม (เซนติเมตร) ให้เป็นแกน X

3.3.4 การศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

นำสภาวะที่เหมาะสมมาใช้ในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานเอทานอล และสร้างเป็นกราฟมาตรฐาน จากนั้นพิจารณาความเป็นเส้นตรงของกราฟด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายต่างๆ คงที่ดังนี้ สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลต่อลิตร, สารละลายเอทานอล 5, 10, 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร, สารละลายควินิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

50 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร และสารละลายไตรไอโอไดด์ $1x10^{-3}$ โมลต่อลิตร

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้น 5, 10, 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

2. Auto Zero ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกทุกสาย จากนั้นปล่อยให้สารละลายรีเอเจนต์แต่ละตัวไหลตามรูปที่ 3.5

3. ฉีดน้ำกลั่นปราศจากไอออนผ่านทางอินเจคชันวาล์ว เพื่อวิเคราะห์สัญญาณรีเอเจนต์แบลงค์

4. วัดความเข้มแสง โดยตั้ง λ_{ex} = 350 นาโนเมตร และ λ_{em} = 450 นาโนเมตร

5. ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้งตั้งแต่ข้อ 3-4

6. จากนั้นทำการทดลองโดยเปลี่ยนน้ำกลั่นปราศจากไอออนเป็นสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้น 5, 10, 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

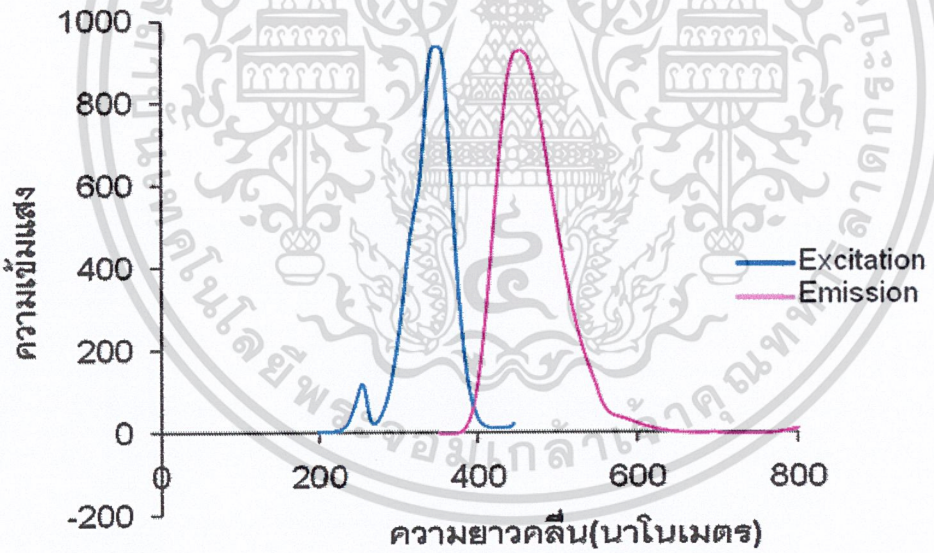
บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การศึกษาเบื้องต้น

4.1.1 การศึกษาหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมของสารละลายควินิน

เพื่อหาความยาวคลื่นที่สารละลายควินินดูดกลืนแสงและคายแสงสูงสุด นำสารละลายควินิน ไปสแกนหา excitation wavelength (λ_{ex}) โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ นำ λ_{ex} ที่ได้จากการสแกนโดยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ มาป้อนใส่เครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ แล้วทำการสแกนหา emission wavelength (λ_{em}) ค่า λ_{ex} ที่ได้คือ 350 นาโนเมตร และ λ_{em} ที่ได้คือ 450 นาโนเมตร ดังรูป 4.1

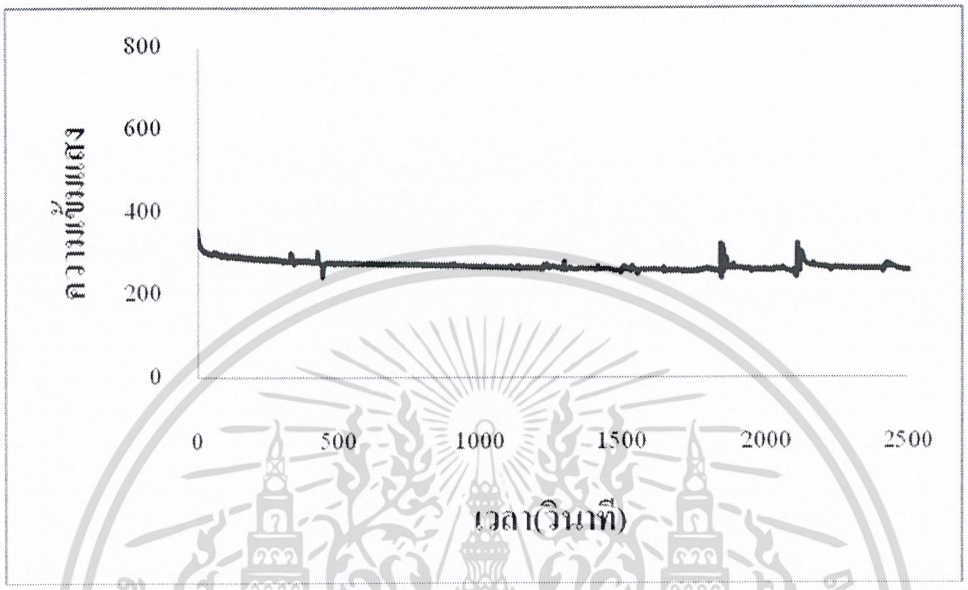


รูปที่ 4.1 แสดงสเปกตรัมการดูดกลืนแสงและการคายแสงของสารละลายควินิน ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

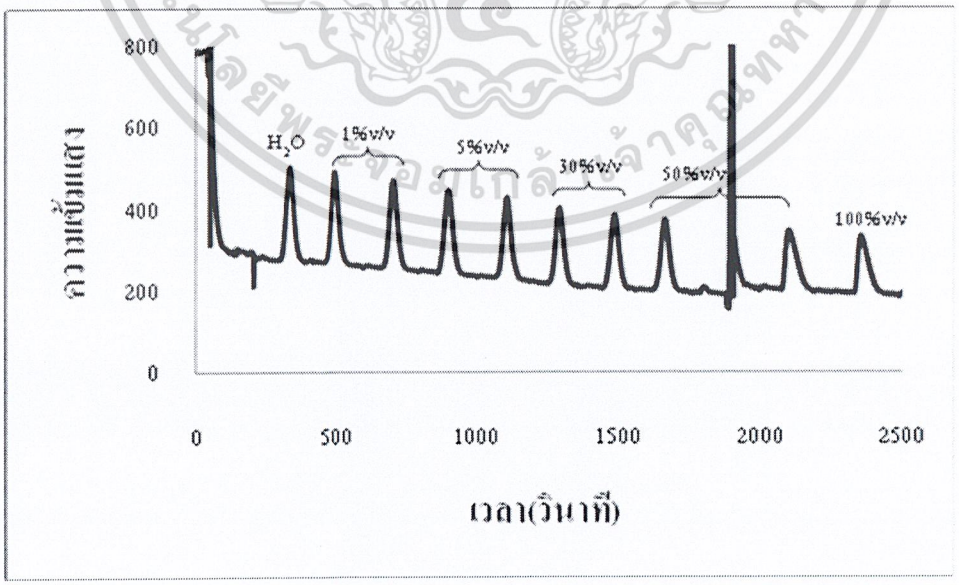
4.2 การศึกษาหาระบบโฟลอินเจคชันที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อม

เมื่อทำการทดลองวิเคราะห์เอทานอลแบบทางอ้อมโดยใช้ระบบทั้ง 5 ระบบ ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.2-4.6 ดังนี้



รูปที่ 4.2 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์เอทานอลด้วยระบบที่ 1

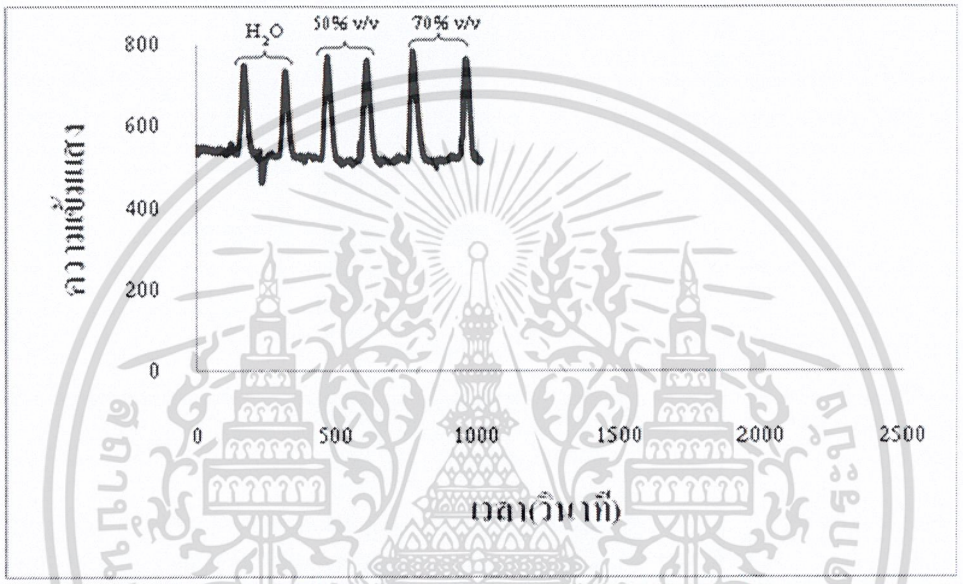
จากรูปที่ 4.2 จะเห็นว่า ไม่มีสัญญาณเกิดขึ้นเนื่องมาจากในระบบนี้มีการฉีดสารละลายเอทานอลเข้าสู่กระแสของน้ำทำให้สารละลายเอทานอลเกิดการเจือจาง



รูปที่ 4.3 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์เอทานอลด้วยระบบที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

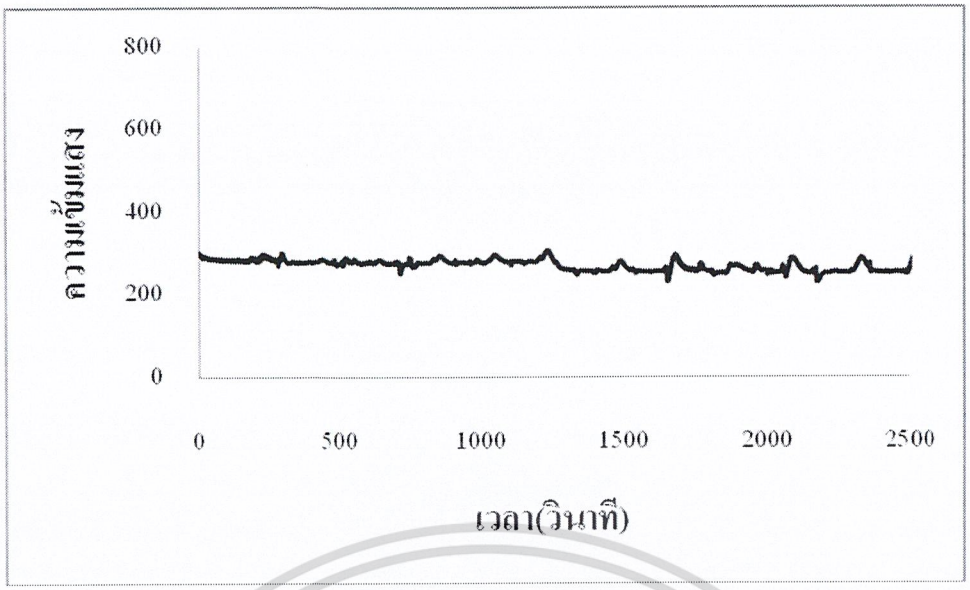
จากข้อเสียเนื่องจากระบบที่ 1 ดังนั้นในระบบที่ 2 นี้ จึงทำการปรับเปลี่ยนระบบให้เหลือเพียง 2 สาย โดยเอาสายน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ใช้เป็นตัวพาเอทานอลออก และให้เอทานอลเข้าสู่กระแสของสารผสมระหว่างสารละลายไตรไอโอไดด์กับสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ จากรูปที่ 4.3 พบว่าเกิดสัญญาณของน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ใช้เป็นสารละลายแบลงค์ และที่แต่ละความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลมีค่าความเข้มแสงไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ baseline มีการเลื่อนขึ้น เนื่องจากสารละลายเกิดปฏิกิริยากันไม่สมบูรณ์



รูปที่ 4.4 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์เอทานอลด้วยระบบที่ 3

ในระบบที่ 3 ทำการแยกสายของสารละลายไตรไอโอไดด์กับสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ออกจากกัน มีทั้งหมด 3 สาย คือสายสารละลายควินินในกรดซัลฟิวริก,สายสารละลายไตรไอโอไดด์, สายสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ โดยสารละลายไตรไอโอไดด์กับสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์จะทำการผสมกันก่อนที่ Mc_1 แล้วจึงไปเจอกับสารละลายเอทานอลที่อินเจคชันวาล์วดังรูปที่ 3.3 จากรูปที่ 4.4 พบว่าเกิดสัญญาณของน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ใช้เป็นสารละลายแบลงค์ และที่แต่ละความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลมีค่าความเข้มแสงไม่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์เอทานอลด้วยระบบที่ 4

ในระบบที่ 4 ทำการแยกสายของสารละลายไตรไอโอไดด์กับสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ออกจากกัน มีทั้งหมด 3 สาย คือ สายสารละลายควินินในกรดซัลฟิวริก สายสารละลายไตรไอโอไดด์ และสายสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ในระบบนี้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์จะไปเจอกับสารละลายเอทานอลที่อินเจคชันวาล์ว แล้วจึงไปทำปฏิกิริยากับสารละลายไตรไอโอไดด์ที่ Mc_1 ดังรูปที่ 3.4 จากรูปที่ 4.5 พบว่าไม่เกิดพีกขึ้น

รูปที่ 4.6 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์เอทานอลด้วยระบบที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในระบบที่ 5 ทำการแยกสายของสารละลายไตรไอโอไดด์กับสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ออกจากกัน มีทั้งหมด 3 สาย คือ สายสารละลายควินินในกรดซัลฟิวริก สายสารละลายไตรไอโอไดด์ และสายสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ มีการเพิ่ม Mc_1 เพื่อสารละลายโพแทสเซียมทำปฏิกิริยากับสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ ให้สมบูรณ์ก่อน แล้วจึงไปทำปฏิกิริยากับสารละลายไตรไอโอไดด์ที่ Mc_2 ดังรูป 3.5 จากรูปที่ 4.6 จะเห็นว่าความเข้มแสงเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายเอทานอล และไม่เกิดพีกของน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่ใช้เป็นสารละลายแบลงค์ในการวิเคราะห์เอทานอล นอกจากนี้ลำดับการเกิดปฏิกิริยาถูกต้องตามหลักการ ดังนั้นจึงเลือกใช้ระบบที่ 5 นี้

ตารางที่ 4.1 ตารางสรุปผลของระบบทั้ง 5 ระบบ

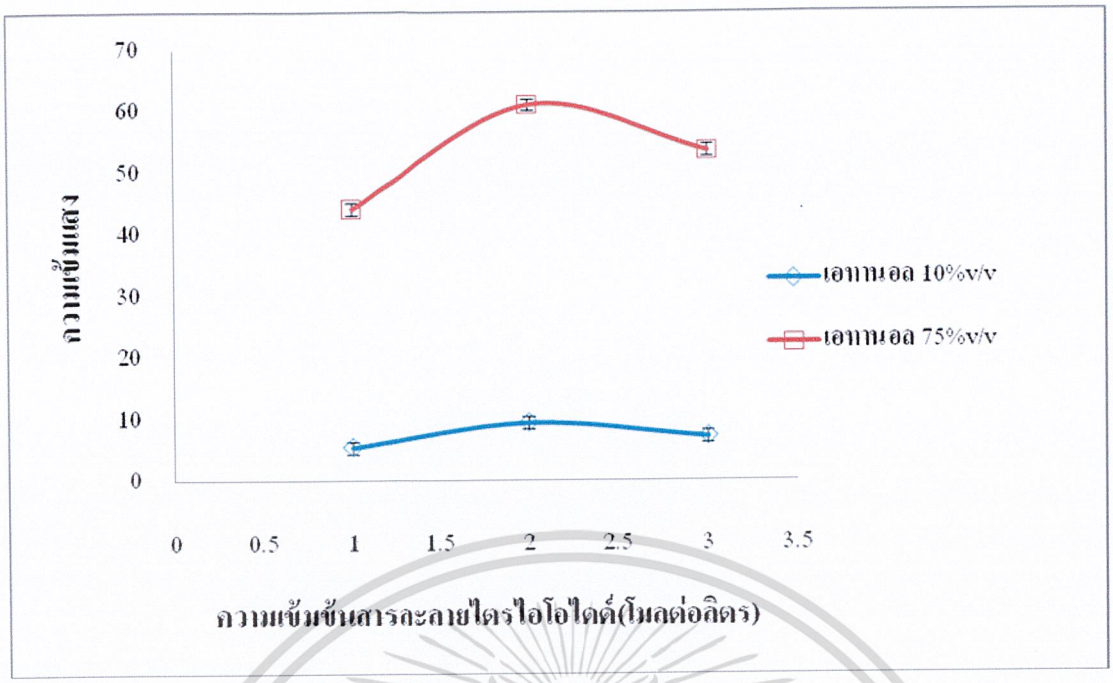
ระบบ	ผลที่ได้
ระบบที่ 1	-สารละลายเอทานอลเกิดการเจือจางด้วยน้ำ จึงทำให้ไม่เกิดพีก
ระบบที่ 2	-เกิดพีกของสารละลายแบลงค์ -ที่แต่ละความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลมีค่าความเข้มแสงไม่แตกต่างกัน -baseline drift เนื่องจากสารละลายเกิดปฏิกิริยากันไม่สมบูรณ์
ระบบที่ 3	-เกิดพีกของสารละลายแบลงค์ -ที่แต่ละความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลมีค่าความเข้มแสงไม่แตกต่างกัน
ระบบที่ 4	-ไม่เกิดพีกขึ้น
ระบบที่ 5	-ลำดับการเกิดปฏิกิริยาถูกต้องตามหลักการ -ความเข้มแสงเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายเอทานอล -ไม่เกิดพีกของสารละลายแบลงค์

4.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมของระบบโฟลอินเจกชันอะนาไลซิส

4.3.1 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายไตรไอโอไดด์

ปรับเปลี่ยนหาความเข้มข้นของสารละลายไตรไอโอไดด์ที่มากเกินพอ ทำปฏิกิริยากับเอทานอลความเข้มข้น 10 และ 75 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และเหลือพอสำหรับระงับการเรืองแสงของสารละลายควินิน โดยเตรียมสารละลายไตรไอโอไดด์ความเข้มข้น 5.0×10^{-4}, 1.0×10^{-3} และ1.5×10^{-3} โมลต่อลิตร โดยตั้ง λ_{ex} = 350 นาโนเมตร และ λ_{em} = 450 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



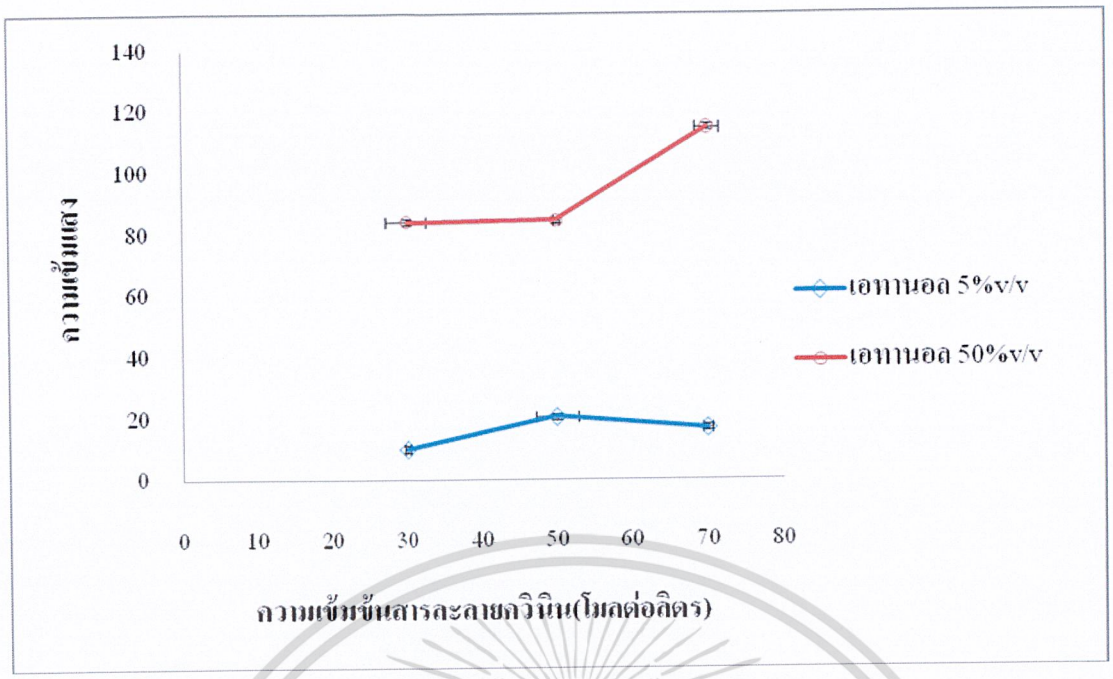
รูปที่ 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงกับความเข้มข้นของสารละลายไตรไอโอไดด์ (โมลต่อลิตร)

จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายไตรไอโอไดด์ที่เหมาะสม ผลคือที่ความเข้มข้น 1.0×10^{-3} โมลต่อลิตรเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสม มีค่าความไวของการวิเคราะห์ (sensitivity) สูงกว่าสารละลายไตรไอโอไดด์ที่ความเข้มข้น 5×10^{-4} และ 1.5×10^{-3} โมลต่อลิตร (จากตาราง ข.ในภาคผนวก)

4.3.2 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายควินิน

ปรับเปลี่ยนหาความเข้มข้นของสารละลายควินินที่ให้ค่าความเข้มของสัญญาณที่เหมาะสม ใช้สารละลายควินินที่ความเข้มข้น 30, 50 และ 70 มิลลิกรัมต่อลิตรในกรดซัลฟิวริก 0.05 โมลต่อลิตร โดยฉีดสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เพื่อดูค่าแนวโน้มความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงกับความเข้มข้นของสารละลายควินิน นำไปวัดค่าความเข้มแสง โดยตั้ง $\lambda_{ex} = 350$ นาโนเมตร และ $\lambda_{em} = 450$ นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



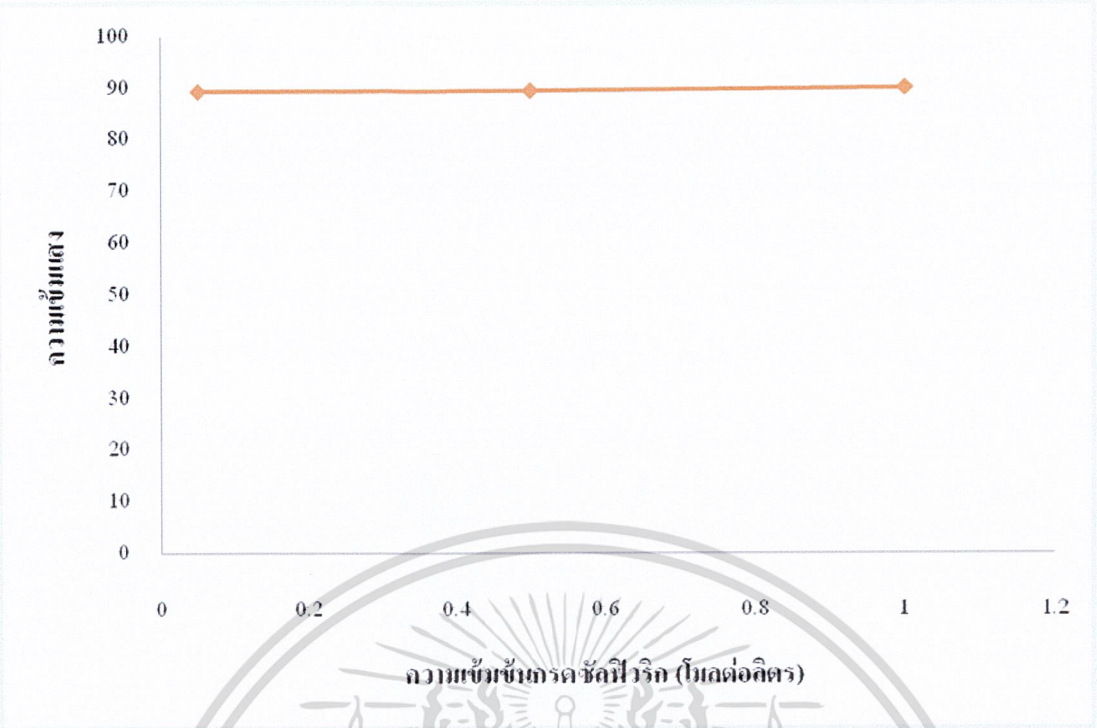
รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงกับความเข้มข้นของสารละลายควินิน (มิลลิกรัมต่อลิตร)

ผลการทดลองพบว่าสารละลายควินินเข้มข้น 70 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเกิดปฏิกิริยาเควนชิ่งของสารละลายควินินด้วยสารละลายไตรไอโอไดด์ จะให้ค่าความเข้มแสงที่สูง แต่คุณสมบัติทางเคมีของสารละลายควินินที่ความเข้มข้นสูงๆ จะเกิดปฏิกิริยาเควนชิ่งด้วยตัวมันเอง (self quenching) ค่าความเข้มแสงที่ได้จึงไม่เป็นค่าที่ได้จากการเควนชิ่งด้วยไตรไอโอไดด์ทั้งหมด ดังนั้นเพื่อป้องกันปัญหากล่าว จึงเลือกสารละลายควินินที่เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าความเข้มแสงที่ได้ก็อยู่ในระดับปริมาณที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

4.3.3 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายกรดซัลฟิวริก

ปรับเปลี่ยนหาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสม ที่ทำให้สารละลายควินินเกิดการเรืองแสงให้ความเข้มของสัญญาณสูง โดยเตรียมสารละลายผสมที่มีสารละลายควินินเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตรในกรดซัลฟิวริก 0.05, 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร นำสารละลายผสมที่ได้ไปวัดค่าความเข้มแสง โดยตั้ง λ_{ex} = 350 นาโนเมตร และ λ_{em} = 450 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



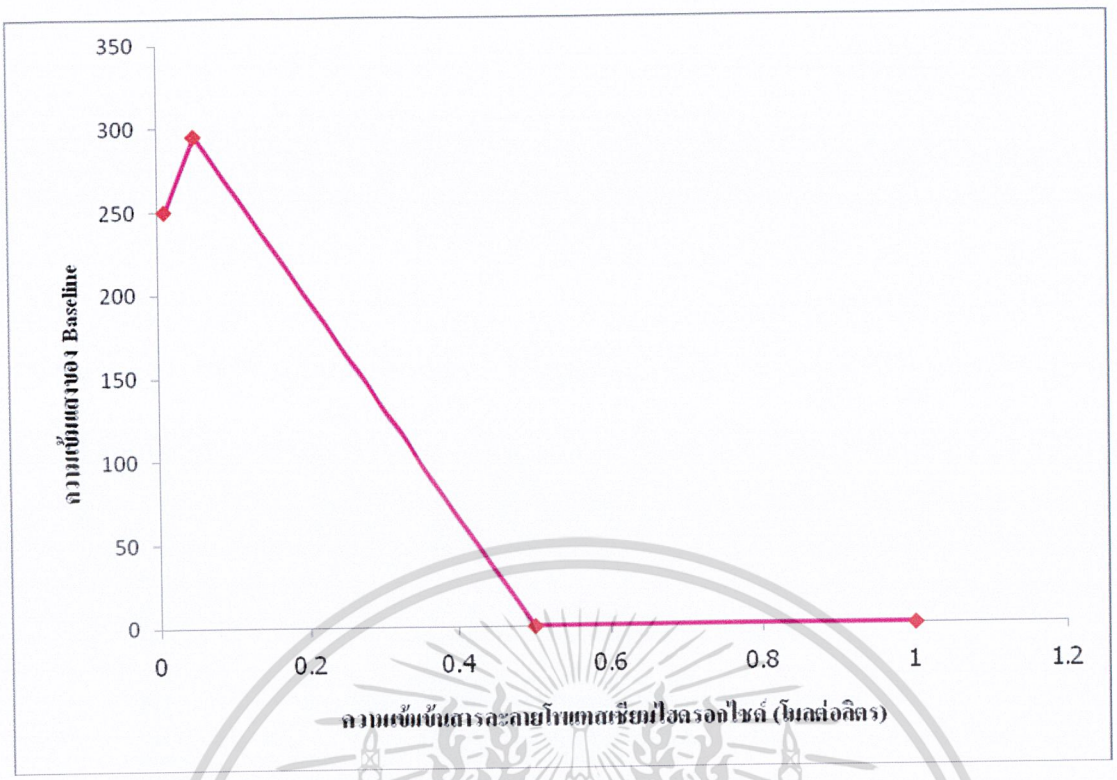
รูปที่ 4.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงกับความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก (โมลต่อลิตร)

จากกราฟเห็นว่า ความเข้มแสงจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก แต่แนวโน้มในการเพิ่มขึ้นของความเข้มแสงนั้น เพิ่มเพียงเล็กน้อยซึ่งถือว่าไม่มีความแตกต่างกัน จึงเลือกใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร เพราะไม่สิ้นเปลืองสารเคมี

4.3.4 การศึกษาอิทธิพลของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์

ปรับเปลี่ยนหาความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่เหมาะสม ที่ทำให้ปฏิกิริยาระหว่างเอทานอลและสารละลายไอโอดีนในสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์เกิดได้ดีที่สุด โดยปรับเปลี่ยนสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตรนำสารละลายผสมที่ได้ไปวัดค่าความเข้มแสง โดยตั้ง λ_{ex} = 350 นาโนเมตร และ λ_{em} = 450 นาโนเมตร เพื่อจะดูว่าถ้าความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้น จะทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารละลายเอทานอลทำให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ขึ้นหรือไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงของ baseline กับความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (โมลต่อลิตร)

ผลการทดลองพบว่าสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.01 และ 0.05 โมลต่อลิตร ได้ค่าความเข้มแสงของ baseline ใกล้เคียงกัน ส่วนสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 โมลต่อลิตร ความเข้มแสงของ baseline อยู่ที่ศูนย์ แสดงว่าความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่มากเกินไป จะทำให้ไปทำปฏิกิริยาสะเทินกับกรดซัลฟิวริกซึ่งมีผลต่อการเรืองแสงของสารละลายควินิน ทำให้ baseline ลดต่ำลง ดังนั้นจึงเลือกใช้สารละลายที่ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร เพราะจะไม่เป็นการสิ้นเปลืองในการเตรียมสารละลาย

4.3.5 อิทธิพลของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ด้วยเครื่อง pH meter

การศึกษาอิทธิพลของค่าความเป็นเบสด้วยเครื่อง pH meter เมื่อเบสที่เข้าไปทำปฏิกิริยาจะมีผลกับค่าความเข้มแสง เนื่องจากสารละลายควินินจะเรืองแสงได้ดีในสภาวะกรด เมื่อความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์มากขึ้น ก็จะไปสะเทินกับสารละลายกรดซัลฟิวริกจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมด ทำให้สารละลายควินินไม่เกิดการเรืองแสง ซึ่งจะสอดคล้องกับ รูปที่ 4.10 ค่า pH ของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์แต่ละความเข้มข้นแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงค่า pH ของสารละลายควินินที่ผสมกับสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารละลาย	ค่า pH	
	1	2
Quinine pure	1.486	1.479
Quinine + KOH 0.01 M	1.521	1.521
Quinine + KOH 0.05 M	1.740	1.745
Quinine + KOH 0.5 M	12.860	12.866
Quinine + KOH 1.0 M	13.195	13.199

หมายเหตุ : Quinine pure = Quinine (5 mL) + DI water (5mL)

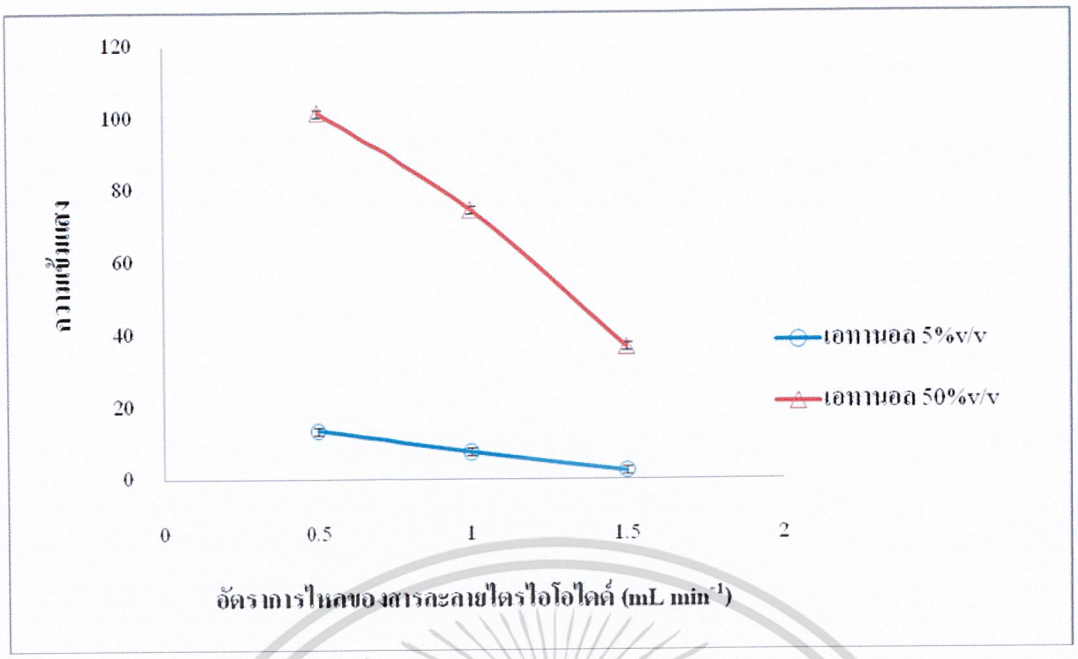
Quinine + KOH = Quinine (5 mL) + KOH (5 mL)

ผลการทดลองพบว่า ค่า pH จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ และเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้น ก็จะไปทำปฏิกิริยาสะเทินกับกรดซัลฟิวริกจนหมด ทำให้สารละลายควินินไม่เกิดการเรืองแสง ดังนั้นเราจึงเลือกใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร เพื่อให้ได้ค่าความเข้มแสงที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

4.3.6 อิทธิพลของอัตราการไหล

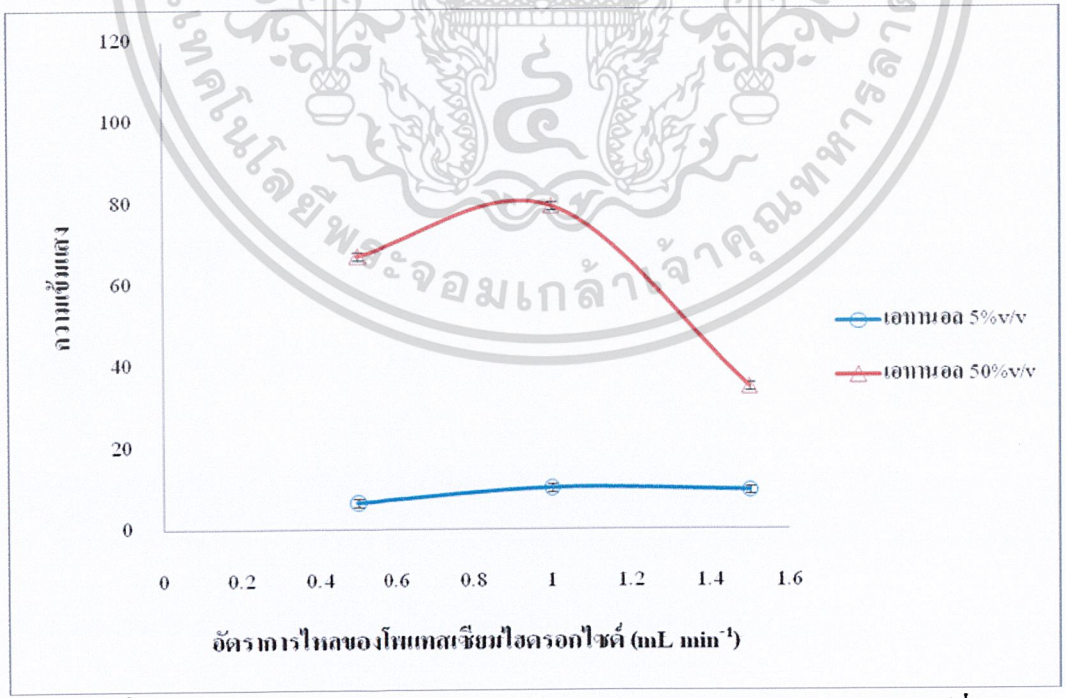
การที่อัตราการไหลของรีเอเจนต์มีผลต่อสัญญาณการวิเคราะห์ เนื่องมาจากการแพร่ (dispersion) เมื่อทำการวิเคราะห์สารด้วยอัตราการไหลสูงจะทำให้สารตัวอย่างผ่านระบบไปอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้สารที่ต้องการวิเคราะห์และรีเอเจนต์ทำปฏิกิริยากันไม่สมบูรณ์และใช้ปริมาณรีเอเจนต์มาก ในขณะที่การวิเคราะห์สารด้วยอัตราการไหลต่ำจะทำให้สารตัวอย่างคงอยู่ในระบบนานเกิดการแพร่กระจายมาก โดยจะส่งผลทำให้ความไวและอัตราเร็วในการวิเคราะห์สูง ฉะนั้นจึงได้ทำการศึกษาผลจากอัตราการไหลของสารละลายสารไตรไอโอไดด์, สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ และสารละลายควินินซึ่งเป็นสารละลายตัวพาที่มีต่อค่าความเข้มแสง ในช่วง 0.5 ถึง 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.11 ,4.12 และ 4.13ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 แสดงผลของอัตราการไหลของสารละลายไตรไอโอไดด์ที่มีผลต่อค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์

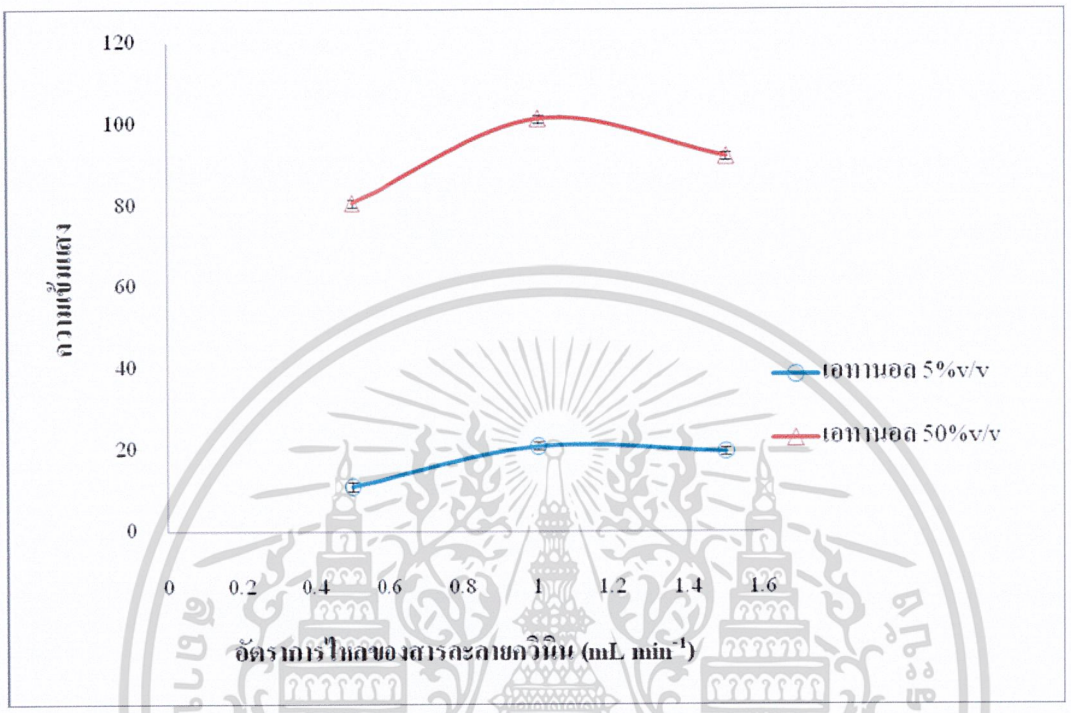
จากผลการทดลองที่ได้พบว่าที่อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที เกิดปฏิกิริยาได้ดี และมีค่าความเข้มแสงสูงกว่าอัตราการไหลที่ 1 และ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที จึงทำให้ที่อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นอัตราการไหลที่เหมาะสมสำหรับสารละลายไตรไอโอไดด์



รูปที่ 4.12 แสดงผลของอัตราการไหลของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่มีต่อค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองที่ได้พบว่าค่าความเข้มแสงจะเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราการไหลเพิ่มขึ้นจนถึง 1 มิลลิลิตรต่อนาที จากนั้นค่าความเข้มแสงจะลดลงเมื่ออัตราการไหลเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากอัตราการไหลสูงจะทำให้สารตัวอย่างคงอยู่ในระบบไม่นาน ไม่เกิดการแพร่กระจายหรืออาจเกิดได้น้อย ดังนั้นจึงเลือกอัตราการไหลที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นอัตราการไหลที่เหมาะสม



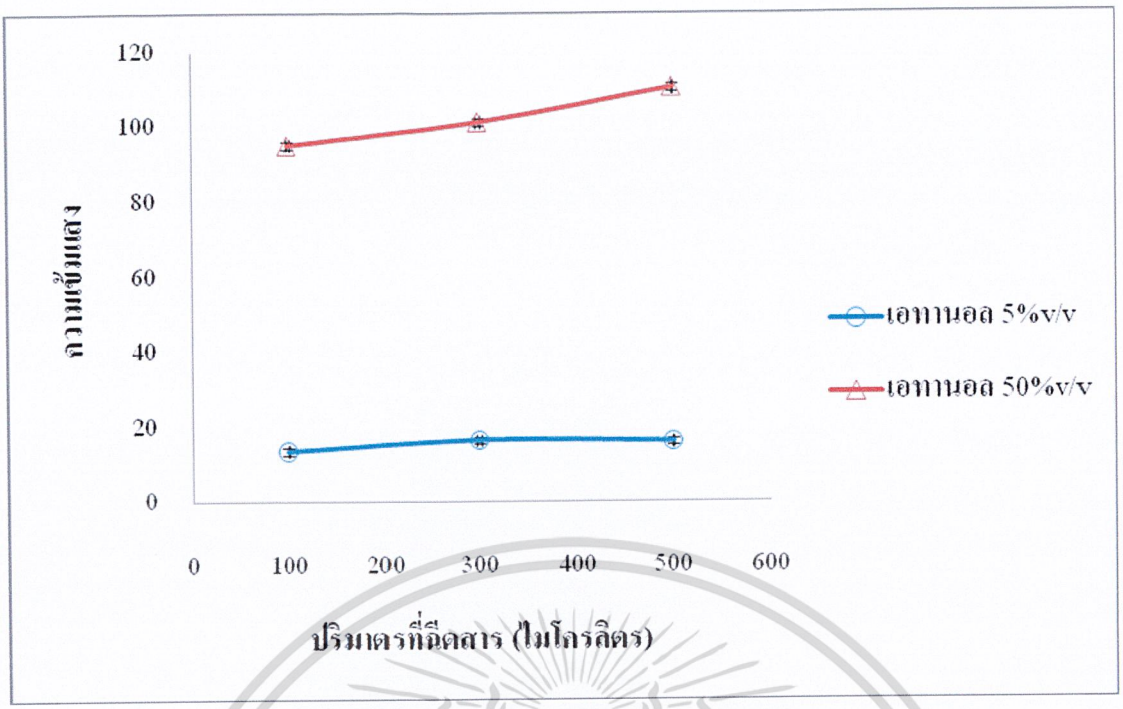
รูปที่ 4.13 แสดงผลของอัตราการไหลของสารละลายควินินที่มีต่อค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์

จากผลการทดลองที่ได้พบว่าค่าความเข้มแสงจะเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราการไหลเพิ่มขึ้น จากนั้นค่าความเข้มแสงจะลดลงเมื่ออัตราการไหลเพิ่มสูงขึ้น ที่อัตราการไหล 1 กับ 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที ไม่ค่อยต่างกัน ดังนั้นจึงเลือก อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที เนื่องจากเป็นการประหยัดสารเคมี

4.3.7 อิทธิพลของปริมาณสารตัวอย่างที่เข้าสู่ระบบ (Injection volume)

การศึกษาอิทธิพลของปริมาณสารตัวอย่างที่มีต่อค่าความเข้มแสง ทำได้โดยเปลี่ยนความยาวท่อที่ใช้สำหรับเก็บสารตัวอย่างที่ช่วงปริมาตร 100, 300 และ 500 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 แสดงผลของปริมาณสารตัวอย่างที่มีต่อค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์

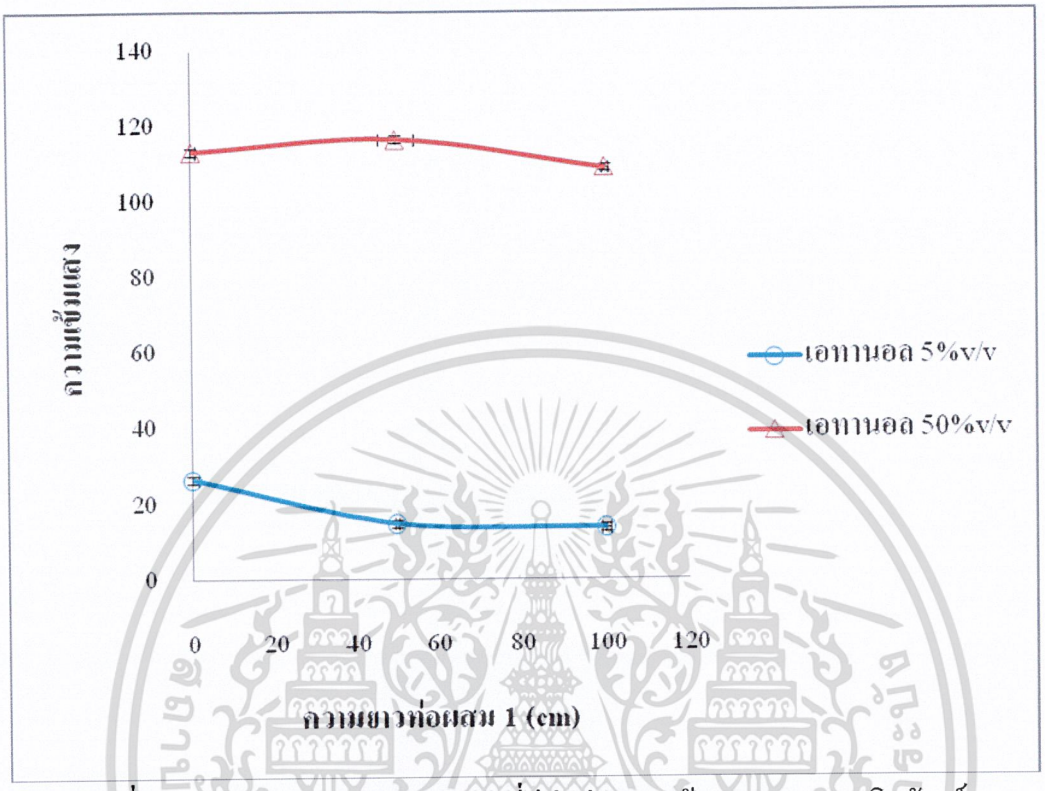
ผลการทดลองที่ได้พบว่าค่าความเข้มแสงจะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณสารตัวอย่างเพิ่มขึ้น เป็นผลมาจากสารตัวอย่างสามารถเกิดปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ได้มากขึ้นทำให้มีสารผลิตภัณฑ์เกิดมากขึ้นด้วย ถึงแม้ว่าปริมาณสารตัวอย่างที่ 500 ไมโครลิตร จะให้ค่าความเข้มแสงสูงที่สุด แต่ปริมาณที่ 300 ไมโครลิตร นี้ให้ค่าความเข้มแสงที่พอเหมาะสำหรับการวิเคราะห์ และใช้ปริมาณสารตัวอย่างน้อยเมื่อเทียบกับที่ปริมาณ 500 ไมโครลิตร ดังนั้นจึงเลือกปริมาณที่ 300 ไมโครลิตร เป็นปริมาณที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

4.3.8 อิทธิพลของความยาวท่อผสม (mixing coils)

ความยาวของท่อผสมมีผลต่อค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์ โดยถ้าในระบบใช้ความยาวของท่อผสมสั้นจะทำให้สารละลายผสมกันไม่ดี แต่ถ้าใช้ความยาวมากเกินไปจะทำให้เกิดการแพร่กระจายมากส่งผลให้ค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์ที่ได้มีค่าต่ำ ในการทดลองได้ศึกษาอิทธิพลของความยาวท่อผสมตรงตำแหน่งที่สารตัวอย่างและสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ผสมกันแทนด้วย Mc_1 และตรงตำแหน่งที่สารละลายผสม (สารผสมระหว่างสารตัวอย่างและสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์) และสารละลายไตรไอโอไดด์ที่มากเกินพอทำปฏิกิริยากันซึ่งแทนด้วย Mc_2 และตรงตำแหน่งที่สารละลายไตรไอโอไดด์ที่เหลือทำปฏิกิริยาเควนชิ่งสารละลายควินินซึ่งแทนด้วย Mc_3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการศึกษาความยาวของท่อผสมตรงตำแหน่งที่สารตัวอย่างและสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ผสมกัน จะศึกษาในช่วง 0, 50 และ 100 เซนติเมตร ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.15

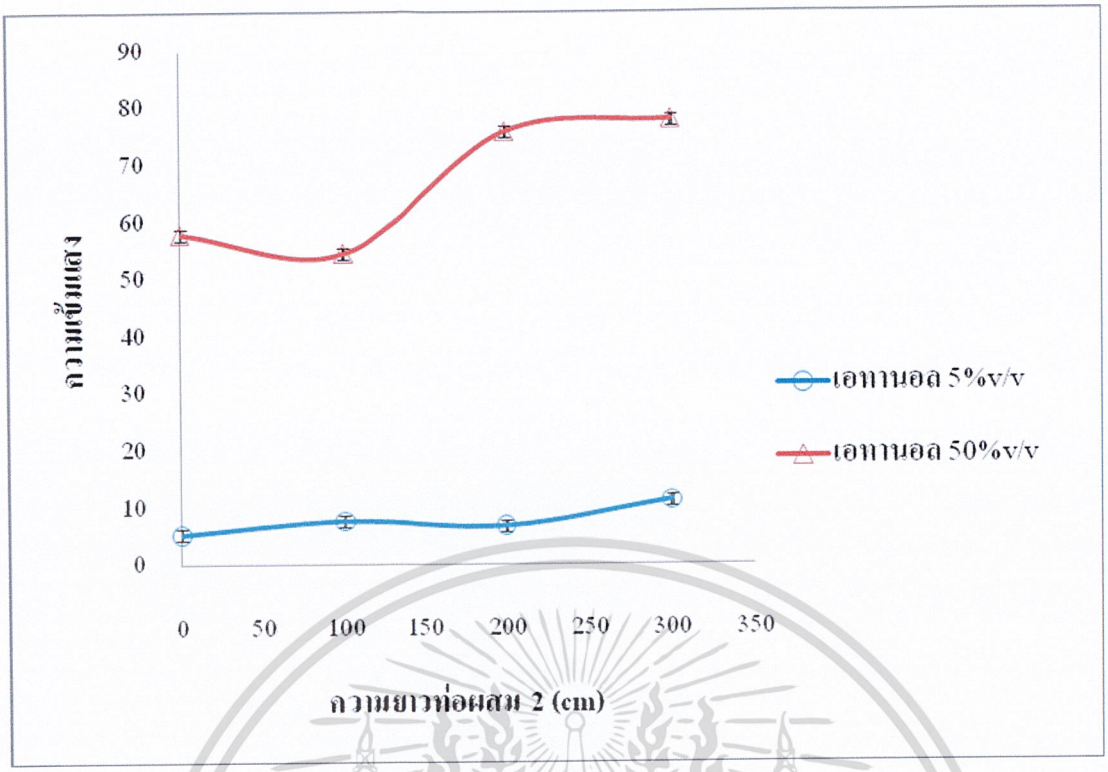


รูปที่ 4.15 แสดงผลของความยาว Mc_1 ที่มีต่อค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์

ผลการทดลองที่ได้พบว่าเมื่อความยาว Mc_1 เพิ่มขึ้น ค่าความเข้มแสงไม่ต่างกัน ดังนั้นจึงเลือกความยาวที่ 0 เซนติเมตร เป็นความยาวที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ เพราะจะทำให้การวิเคราะห์เร็วขึ้น

ในการศึกษาความยาวของท่อผสมตรงตำแหน่งที่สารละลายผสม (สารผสมระหว่างสารตัวอย่างและสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์) และสารละลายไตรไอโอไดด์ที่มากเกินพอทำปฏิกิริยากัน จะศึกษาในช่วง 0, 100, 200 และ 300 เซนติเมตร ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

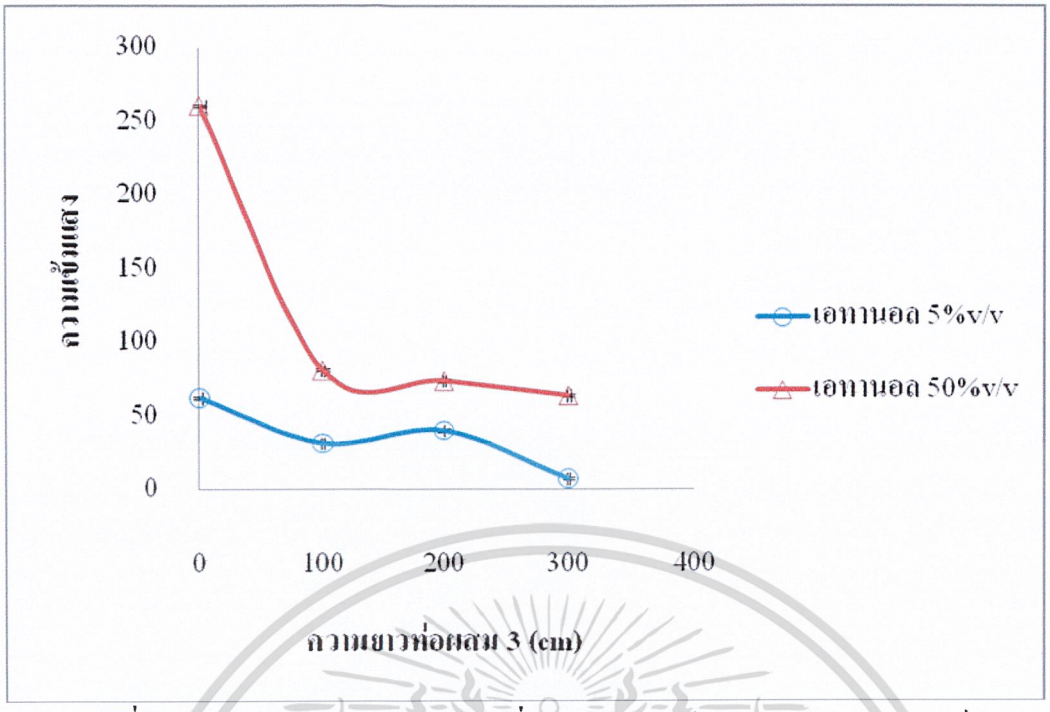


รูปที่ 4.16 แสดงผลของความยาว Mc_2 ที่มีต่อค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์

ผลการทดลองที่ได้พบว่าค่าความเข้มแสงมีค่าสูงสุดเมื่อความยาว Mc_2 เท่ากับ 200 และ 300 เซนติเมตร เพื่อให้การวิเคราะห์นั้นเร็วขึ้น จึงเลือกความยาวที่ 200 เซนติเมตร เป็นความยาวที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

ในการศึกษาความยาวของท่อผสมและตรงตำแหน่งที่สารละลายไตรไอโอไดด์ที่เหลือทำปฏิกิริยาเควนชิ่งสารละลายควินิน จะศึกษาในช่วง 0, 100, 200 และ 300 เซนติเมตร ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.17 แสดงผลของความยาว Mc_3 ที่มีต่อค่าความเข้มแสงของสารผลิตภัณฑ์

ผลการทดลองที่ได้พบว่าค่าความเข้มแสงมีค่าสูงสุดเมื่อความยาว Mc_3 เท่ากับ 0 เซนติเมตร เนื่องจากสารละลายไตรไอโอไดด์ไม่ทำปฏิกิริยาเคมีชิ่งกับสารละลายควินิน ค่าความเข้มแสงที่ได้คือ ค่าความเข้มแสงของสารละลายควินินทั้งหมด ดังนั้นจึงเลือกท่อผสมความยาว 200 เซนติเมตร เป็นความยาวที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ เพราะ baseline เรียบ และพีกหัวไม่แตก เมื่อเทียบกับที่ท่อผสมความยาว 100 และ 300 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

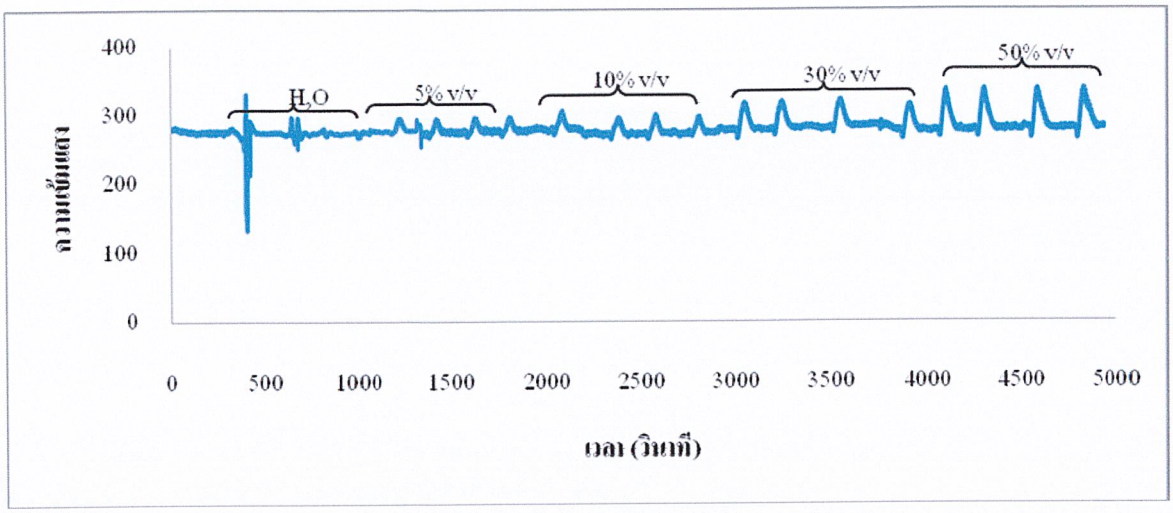
ตารางที่ 4.3 สรุปสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

พารามิเตอร์	สภาวะที่เหมาะสม
ระบบที่ใช้	ระบบที่ 5
λ_{ex} และ λ_{em}	350 ,450 นาโนเมตร
ความเข้มข้นของสารละลายไตรไอโอไดด์	1.0×10^{-3} โมลต่อลิตร
ความเข้มข้นของสารละลายควินิน	50 มิลลิกรัมต่อลิตร
ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก	0.05 โมลต่อลิตร
ความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์	0.01 โมลต่อลิตร
ความยาวท่อผสมที่ตำแหน่งที่ 1, 2 และ 3	0, 200 และ 200 เซนติเมตร
อัตราการไหลของสายสารละลายควินิน	1 มิลลิลิตรต่อนาที
อัตราการไหลของสายสารละลายไตรไอโอไดด์	0.5 มิลลิลิตรต่อนาที
อัตราการไหลของสายสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์	1 มิลลิลิตรต่อนาที
ปริมาตรที่ฉีดสารละลาย	300 ไมโครลิตร
ความเร็วในการวิเคราะห์ (นับจากเวลาที่พีกขึ้นจนถึง baseline)	20 ฉีดต่อชั่วโมง
ความเร็วในการวิเคราะห์ (นับจากเวลาที่พีกขึ้นจนถึงจุดสูงสุดของพีก)	30 ฉีดต่อชั่วโมง

4.4 การศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

นำสภาวะที่เหมาะสมมาใช้ในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานเอทานอล และสร้างเป็นกราฟมาตรฐาน จากนั้นพิจารณาความเป็นเส้นตรงของกราฟด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

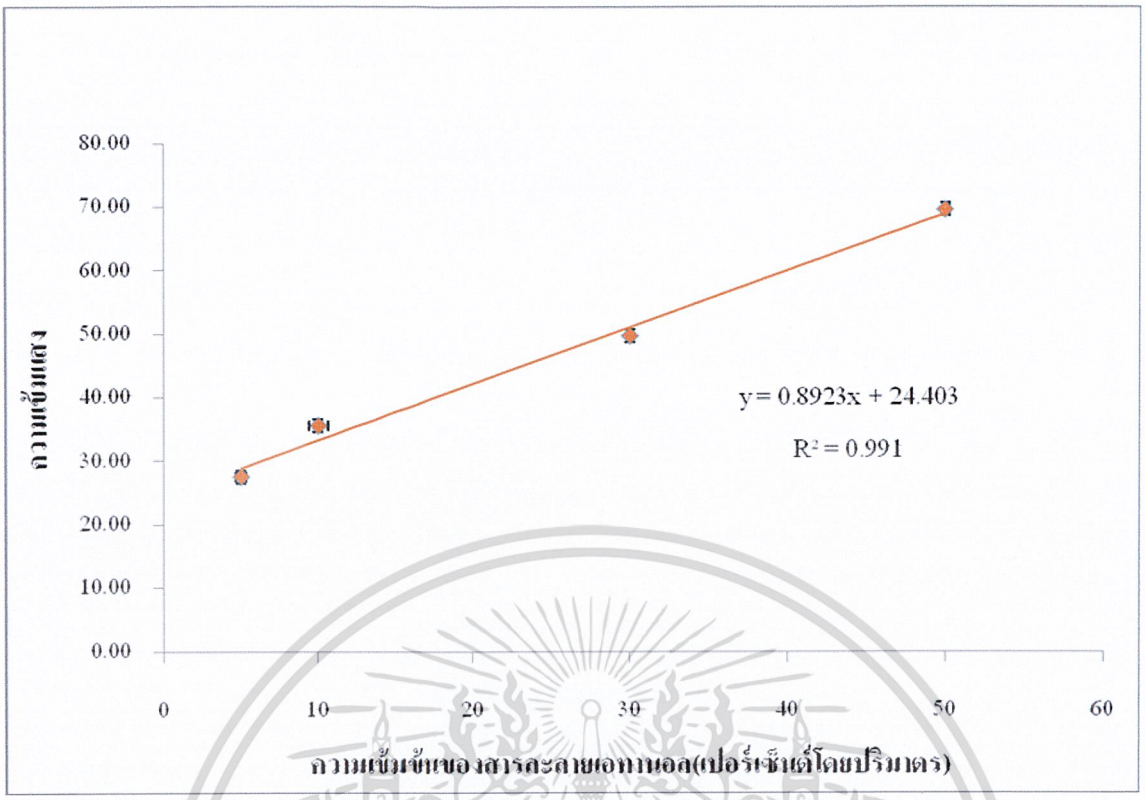


รูปที่ 4.18 แสดงสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์สารละลายเอทานอลเข้มข้น 5, 10, 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

ตารางที่ 4.4 แสดงผลของการศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

ความเข้มข้นสารละลายเอทานอล (%v/v)	ความเข้มแสง		ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
	1	2			
5	27.75	27.27	27.51	0.34	1.24
10	35.97	35.16	35.56	0.57	1.61
30	49.87	49.60	49.74	0.19	0.38
50	69.73	69.41	69.57	0.23	0.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.19 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงและความเข้มข้นของสารละลายเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) $R^2 = 0.991$

จากผลการทดลองแสดงว่า วิธีนี้สามารถวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลได้ในช่วงความเข้มข้น 5 ถึง 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และเมื่อสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าความเข้มแสงของสารละลายมาตรฐานเอทานอลกับความเข้มข้นจะได้ ค่า $R^2 = 0.991$ สมการเส้นตรง คือ $y = 0.8923x + 24.403$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลด้วยเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรี ด้วยระบบโฟลอินเจกชันอาศัยการวัดการเรืองแสงของสารละลายควินินเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลแบบทางอ้อม โดยใช้ปฏิกิริยาเควนชิ่งของควินินด้วยไตรไอโอไดด์

จากการทดลองพบว่าไตรไอโอไดด์สามารถระงับการเรืองแสงของสารละลายควินินได้ ยิ่งปริมาณความเข้มข้นของสารละลายไตรไอโอไดด์เหลือจากการทำปฏิกิริยากับสารละลายเอทานอลมากเท่าไหร่ ก็จะไปเควนชิ่งกับสารละลายควินินมากเท่านั้น ทำให้ความเข้มแสงของสารละลายควินินลดลง ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าปริมาณความเข้มข้นของสารละลายไตรไอโอไดด์ที่เหลือมีความสัมพันธ์แบบแปรผกผันของความเข้มแสงของสารละลายควินิน จากผลการทดลองในการศึกษาเบื้องต้นจึงสามารถสรุปได้ว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้วิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลได้ ในการศึกษาเบื้องต้นจะเริ่มจากการหาค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ ซึ่งจากการทดลองสแกนความยาวคลื่นของสารละลายควินินที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า excitation wavelength (λ_{ex}) ที่ได้คือ 350 นาโนเมตรและ emission wavelength (λ_{em}) ที่ได้คือ 450 นาโนเมตร ซึ่งค่า λ_{ex} และλ_{em} นี้ให้ค่าความเข้มแสงสูงที่สุดจึงเหมาะสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป จากนั้นจะเป็นการออกแบบระบบโฟลอินเจคชันเพื่อหาระบบที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ จากการออกแบบทั้งหมด 5 ระบบ พบว่าระบบที่ 5 เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการวิเคราะห์ จากนั้นจะนำระบบที่เลือกใช้มาหาสภาวะที่เหมาะสม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์โดยจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การหาสภาวะที่เหมาะสมทางเคมี และทางกายภาพ ดังนี้

การหาสภาวะที่เหมาะสมทางเคมี

- ความเข้มข้นของสารละลายไตรไอโอไดด์
- ความเข้มข้นของสารละลายควินิน
- ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก
- ความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหาสภาวะที่เหมาะสมทางกายภาพ

- อัตราการไหล
- ปริมาตรสารตัวอย่าง
- ความยาวท่อผสม

ในการทดลองนี้ เราจะใช้สารละลายไตรไอโอไดด์เข้มข้น $1x10^{-3}$ โมลต่อลิตร สารละลายควินินเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร อัตราการไหลของสารละลายควินินกับสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที อัตราการไหลของสารละลายไตรไอโอไดด์เท่ากับ 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาตรสารตัวอย่าง 300 ไมโครลิตร และความยาวท่อผสม 1, 2 และ 3 เท่ากับ 0, 200 และ 200 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งสภาวะเหล่านี้เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์

ในขั้นตอนต่อไปเป็นการสร้างกราฟมาตรฐานโดยพลอตกราฟระหว่างค่าความเข้มแสงและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอล ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ได้มีค่าเท่ากับ 0.991 สมการเส้นตรง คือ $y = 0.8923x + 24.403$ และช่วงความเป็นเส้นตรงตั้งแต่ 5-50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

จากผลการทดลอง ทำให้เราได้หลักการตรวจวัดเอทานอลวิธีใหม่ โดยอาศัยปฏิกิริยาไอโอโดฟอร์มและปฏิกิริยาเควนชิ่งควินินด้วยไตรไอโอไดด์และได้ระบบโฟลอินเจคชันร่วมกับเทคนิคสเปกโทรฟลูออโรเมทรีที่สามารถวิเคราะห์เอทานอลได้อย่างรวดเร็วและเป็นระบบอัตโนมัติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

- สารละลายควินินที่ใช้ต้องเก็บไว้ให้มิดชิดเพื่อไม่ให้สารละลายควินินเกิดการสลายตัว เนื่องจากสารละลายควินินมีผลทำให้เกิดการทดลองที่ผิดพลาดได้

- สารละลายตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ต้องเป็นสารที่ไม่เรืองแสงและเป็นสารที่ไม่ไประงับการเรืองแสงของสารละลายควินิน เนื่องจากสารละลายตัวอย่างอาจไปเพิ่มการเรืองแสงของสารละลายควินินหรือไประงับการเรืองแสงของสารละลายควินิน

- ไอของไตรไอโอไดด์เป็นสารที่อันตรายก่อให้เกิดโรคหมันได้ เพราะฉะนั้นในการเตรียมต้องมีผ้าปิดจมูกทุกครั้ง

- ต้องระวังสิ่งปนเปื้อนเป็นพิเศษทั้งจากเครื่องแก้วและสภาพแวดล้อมระหว่างทำการทดลอง เนื่องจากมีผลทำให้ผลการทดลองที่ได้ผิดพลาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตาราง ก. แสดงผลการศึกษาอิทธิพลของสารละลายไตรไอโอไดด์

ความเข้มข้นของสารละลายไตรไอโอไดด์ (โมลต่อลิตร)	ความเข้มข้นของสารละลายเอทานอล (% โดยปริมาตร)	ความเข้มแสง		Mean	SD	%RSD
		1	2			
$5.0x10^{-4}$	10	17.80	18.70	18.25	0.64	3.49
	75	61.90	61.80	61.85	0.07	0.11
$1.0x10^{-3}$*	10	10.00	9.60	9.80	0.28	2.89
	75	64.00	65.00	64.50	0.71	1.10
$1.5x10^{-3}$	10	7.50	7.70	7.60	0.14	1.86
	75	46.40	45.90	46.20	0.35	0.77

หมายเหตุ : * เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลายไตรไอโอไดด์ (โมลต่อลิตร) ที่เลือกใช้ในการทดลอง

ตาราง ข. แสดงสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) ของสารละลายไตรไอโอไดด์แต่ละความเข้มข้น

ความเข้มข้นของสารละลายไตรไอโอไดด์ (โมลต่อลิตร)	สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2)
$5.0x10^{-4}$	y=0.725x+16.90	0.758
$1.0x10^{-3}$	y=0.851x+2.388	0.992
$1.5x10^{-3}$	y=0.592x+1.629	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] การผลิตเอทานอล. นันทกา ไตรหัตถการ, พจมาน แสงนวล, สราวุธ เหล็งเอี่ยม. (2549). การวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์. วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

[2] ไอโอโดฟอร์ม. ประมวล สันป่าแก้ว, เปรมยุดา จันทร์ชนะ, สรณ์ภัช สะอาดนัก. (2550). การวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์. วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

[3] วิธีสเปกโทรโฟโตเมทรีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์. นางสาวกรเกต พบพืช, นางสาวอรนิภา สีสด. (2551). วิธีสเปกโทรโฟโตเมทรีสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์. วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

[4] ประวัติความเป็นมาของแอลกอฮอล์. จาก http://www.thaitambon.com และ http://lab.excise.go.th,

[5] เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์. จาก http://siamhealth.net และ http://www.school.net.th

[6] สุรา. จาก http://www.uttaradit.police.go.th

[7] สุรากลั่นชุมชน และสุราแช่ชุมชน. จาก http://aec.suru.ac.th

[8] สุรากลั่น และสุราแช่. จาก http://acc.suru.ac.th

[9] แอลกอฮอล์. จาก http://lab.excise.go.th

[10] ผลกระทบของสุราต่อสุขภาพร่างกาย. จาก http://siamhealth.net

[11] สารละลายมาตรฐาน. จาก http://www.chemguide.co.uk

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้