การหาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

DETERMINATION OF ETHANOL IN ALCOHOLIC BEVERAGES BY GAS CHROMATOGRAPHY

ณฐินี เรืองสุวรรณ
ณัฐฐา ศิลป์จิรานุวัฒน์
สุภาพร อินทนนท์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การหาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

DETERMINATION OF ETHANOL IN ALCOHOLIC BEVERAGES BY GAS CHROMATOGRAPHY

ณฐินี เรืองสุวรรณ
ณัฐฐา ศิลป์จิรานุวัฒน์
สุภาพร อินทนนท์

b 12858277
l
ตู้หมู่.....
เลขทะเบียน 149432
วัน.เดือน.ปี... 8 มี.ค. 2561

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DETERMINATION OF ETHANOL IN ALCOHOLIC BEVERAGES BY GAS CHROMATOGRAPHY

NATHINEE RUENGSUWAN
NUTTHA SINJIRANUWAT
SUPHAPHORN INTHANON

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การหาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี Determination of Ethanol in Alcoholic Beverages by Gas Chromatography
ชื่อนักศึกษา	นางสาวณฐินี เรืองสุวรรณ รหัสนักศึกษา 55050637 นางสาวณัฐฐา ศิลป์จิรานุวัฒน์ รหัสนักศึกษา 55050643 นางสาวสุภาพร อินทนนท์ รหัสนักศึกษา 55050843
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	เคมีอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ. ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ประธานกรรมการ	
ผศ. ดร. เสาวภาคย์ ธีราทรง กรรมการ	
ผศ. ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น กรรมการ/อาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การหาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี
ชื่อนักศึกษา	นางสาวณัฐินี เรืองสุวรรณ รหัสนักศึกษา 55050637 นางสาวณัฐฐา ศิลป์จิรานุวัฒน์ รหัสนักศึกษา 55050643 นางสาวสุภาพร อินทนนท์ รหัสนักศึกษา 55050843
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	เคมี
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น

บทคัดย่อ

โครงงานพิเศษนี้ได้ทำการศึกษาวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography) โดยใช้เครื่องวัดสัญญาณชนิดเฟลมไอออไนเซชัน (Flame Ionization Detector, FID) ใช้อะซิโตไนไทรล์เป็นสารมาตรฐานภายใน (Internal standard) ทำการสกัดเอทานอลในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์โดยใช้ออกทานอลเป็นตัวทำละลาย ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมโดยพิจารณาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล ได้แก่ อัตราการไหลของแก๊สพาปริมาตรของสารที่ใช้ฉีดเข้าสู่เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี และอัตราส่วนระหว่างปริมาตรตัวอย่างต่อปริมาตรออกทานอลที่ใช้ในการสกัด พบว่า อัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์เท่ากับ 1.5 (มิลลิลิตร/นาที) ปริมาตรที่เหมาะสมของสารที่ใช้ฉีดเท่ากับ 0.1 ไมโครลิตร อัตราส่วนระหว่างปริมาตรตัวอย่างต่อปริมาตรออกทานอลที่ใช้ในการสกัดที่เหมาะสมเท่ากับ 2 : 1 ให้ค่าความเที่ยงของการสกัด คิดเป็นค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 4.70 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ พบว่าให้ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 1.16 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ พบว่าให้ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับอยู่ในช่วง 101.45 - 113.80 ใช้สภาวะที่เหมาะสมทำการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เมื่อทดสอบด้วย Paired t-test พบว่าปริมาณเอทานอลที่วิเคราะห์ได้เทียบกับปริมาณเอทานอลที่ระบุไว้บนฉลากไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (t_{stat} = 1.94 , t_{cri} = 2.36)

คำสำคัญ : แก๊สโครมาโทกราฟี เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Determination of Ethanol in Alcoholic Beverages by Gas Chromatography
Students	Miss Nathinee Ruengsuwan Student ID 55050637
	Miss Nuttha Sinjiranuwat Student ID 55050643
	Miss Suphaphorn Inthanon Student ID 55050843
Degree	Bachelor of Science (Industrial Chemistry)
Department	Chemistry
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2015
Advisor	Asst. Prof. Dr. Nathawut Choengchan

Abstract

This work presents development of the method for the determination of ethanol in alcoholic beverages by gas chromatography using flame ionization detector (FID). Quantification was performed using acetonitrile as an internal standard (IS). The standard and sample solution were extracted by octanol prior to injection. The flow rate of carrier gas, the injection volume and the volume ratio of sample to octanol were optimized. Optimum conditions are listed as the following parameters: carrier gas flow rate of 1.5 ml/min, injection volume of 0.1 µl and volume ratio of sample to octanol of 2 : 1. Good precision of the extraction method was achieved (RSD = 4.70%). Good precision of the detection was also obtained (RSD = 1.16%). Analytical recoveries were observed in the range of 101.45 to 113.80 %. By paired t-test, results by the developed method and by the labeled value were not significant different at the 95% confidence level (t_{stat} = 1.94 , t_{cri} = 2.36).

Keywords : Gas chromatography, Alcoholic beverages, Ethanol.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ด้วยได้รับความกรุณาจาก อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น อาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาในทุกๆขั้นตอนของการทำโครงงานพิเศษนี้อย่างใกล้ชิด ซึ่งคณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ กรรมการสอบโครงงานพิเศษ จากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ได้แก่ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เสาวภาคย์ ธีราทรง ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ รวมถึงชี้แนะแนวทางในการจัดทำรูปเล่มโครงงานพิเศษให้ถูกต้องและเรียบร้อย

ขอขอบคุณ นางสาวพรรวี แท่นประมูล ที่ให้คำปรึกษา ตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ และให้กำลังใจคณะผู้จัดทำเสมอมา

ขอขอบคุณ นายวัฒนะ ตั้งศิริภิญโญ ที่ให้คำแนะนำและแก้ไขปัญหาต่างๆ ในส่วนของการใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

ขอขอบคุณ แขนงเคมีวิเคราะห์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ และหน่วยวิจัยเคมีวิเคราะห์เชิงประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง รวมถึงเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมี ตึกวิทยาศาสตร์ ที่ช่วยแนะนำเทคนิคการใช้เครื่องมือในการวิเคราะห์รวมทั้งอนุเคราะห์สารเคมี เครื่องมือ และสถานที่สำหรับทำการวิเคราะห์ในโครงงานพิเศษนี้

สุดท้ายนี้ คณะผู้จัดทำขอขอบคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่สนับสนุน เป็นกำลังใจตลอดจนเลี้ยงดู อบรมสั่งสอน และเป็นแรงผลักดันในการทำโครงงานพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี รวมถึงเพื่อนๆ และบุคคลอื่นๆ ที่ไม่ได้กล่าวมา คณะผู้จัดทำขอขอบคุณอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ณฐินี เรืองสุวรรณ
ณัฐฐา ศิลป์จิรานุวัฒน์
สุภาพร อินทนนท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข

กิตติกรรมประกาศ ..... ค

สารบัญ ..... ง

สารบัญตาราง ..... ช

สารบัญรูป ..... ซ

คำย่อ/สัญลักษณ์ ..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ 1

1.2 วัตถุประสงค์ 1

1.3 ขอบเขต 1

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 กระบวนการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ประเภทต่างๆ 3

2.1.1 สุรากลั่น 3

2.1.2 เบียร์ 7

2.1.3 ไวน์ 8

2.2 มาตรฐานคุณภาพเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ประเภทต่างๆ 10

2.3 หลักการเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี 12

2.3.1 ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี 13

2.4 เครื่องวัดสัญญาณชนิดเฟลมไอออไนเซชัน (Flame Ionization Detector, FID).. 14

2.2.1 คุณสมบัติจำเพาะของ FID 15

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 16

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 20

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง 20

3.1.1 สารเคมี 20

3.1.2 อุปกรณ์ 20

3.1.3 เครื่องมือและเครื่องตรวจวัด 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2 การเตรียมสารละลาย 21
3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) 21
3.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25, 30 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) โดยการเติมสารมาตรฐานภายใน (Internal standard) 21
3.2.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำ ความเข้มข้นร้อยละ 10, 25 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) 22
3.3 วิธีการดำเนินการทดลอง 23
3.3.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเครื่อง GC 23
3.3.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดตัวอย่าง 24
3.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ 24
3.3.4 การประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธี 25
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 27
4.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง 27
4.1.1 ผลการศึกษาอัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสม โดยใช้ Van deemter plot 27
4.1.2 ผลการศึกษาปริมาตรของสารที่ใช้ฉีด (Injection Volume) 29
4.1.3 ผลการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม 30
4.1.4 ผลการศึกษาความเป็นไปได้ของการสร้างกราฟมาตรฐาน แบบสารมาตรฐานภายใน (Internal standard) 31
4.2 ผลการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดตัวอย่าง 34
4.2.1 ผลการศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างต่อออกทานอล ที่เหมาะสมในการสกัด 34
4.2.2 ผลการศึกษาความเที่ยงของการสกัด 35
4.2.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ 36
4.3 การประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธี 37
4.3.1 ผลการศึกษาความแม่นของการวิเคราะห์ 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3.2 ผลการศึกษาความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์ 38

4.3.3 ผลศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (Limit of Detection,LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation,LOQ) 38

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 40

5.1 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 40

5.2 ข้อเสนอแนะ 40

เอกสารอ้างอิง 41

ภาคผนวก 43

ภาคผนวก ก ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง 44

ภาคผนวก ข ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดตัวอย่าง 57

ภาคผนวก ค การประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์ 66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ความแรงของแอลกอฮอล์หรือความเข้มข้นของเอทานอล (ต่อการบรรจุภาชนะ 1 ขวด)..... 11
2.2 คุณลักษณะทางเคมี วัตถุเจือปนอาหารและสารปนเปื้อนในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ 12
3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ 21
3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ
โดยใช้อะซิโตไนไทรเป็นสารมาตรฐานภายใน (Internal standard) 22
3.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำที่ความเข้มข้นต่างๆ..... 22
4.1 แสดงผลการทดลองของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล
ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) ที่อัตราการไหลของแก๊สพาต่างๆกัน 28
4.2 แสดงสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ เมื่อใช้ปริมาตรสารที่ฉีดแตกต่างกัน.... 29
4.3 แสดงผลการทดลองการหาปริมาณเอทานอลโดยใช้อัตราส่วนต่างๆ..... 35
4.4 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ..... 36
4.5 ผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับสำหรับการวิเคราะห์
หาปริมาณเอทานอล..... 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 กระบวนการผลิตเบียร์ 8

2.2 กระบวนการผลิตไวน์ 10

2.3 แสดงส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี 13

2.4 โครงสร้างทั่วไปของ Flame ionization detector 15

4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความสูงของเพลทของสารละลายมาตรฐานเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) ที่อัตราการไหลของแก๊สพาต่างๆกัน 28

4.2 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ฉีดเข้าสู่เครื่อง 29

4.3 โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับเวลาเฟสเคลื่อนที่ ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ 30

4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25, 30 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) 31

4.5 โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับเวลาเฟสเคลื่อนที่ โดยมีอะซิโตไนไทรล์เป็นสารมาตรฐานภายใน ของสารละลายมาตรฐานเอทานอล ในออกทานอล ที่ความเข้มข้นต่างๆ 32

4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานเอทานอล ในออกทานอลต่ออะซิโตไนไทรล์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25, 30 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) 33

4.7 กราฟแสดงผลของอัตราส่วนต่างๆ ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำต่อออกทานอล ในการสกัด 34

4.8 กราฟแสดงอัตราส่วนเอทานอลต่อออกทานอล โดยทำการสกัดซ้ำ 5 ครั้ง 36

4.9 กราฟแสดงสารสารละลายมาตรฐานเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) โดยทำการฉีดซ้ำ 10 ครั้ง 38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
GC	Gas Chromatography
FID	Flame Ionization Detector
RT	Retention time

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ

ในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ จะเกิดผลิตภัณฑ์หลัก คือ 'เอทิลแอลกอฮอล์' หรือ 'เอทานอล' ซึ่งผู้ผลิตจะระบุปริมาณในหน่วยดีกรี (เทียบเท่ากับหน่วยความเข้มข้นเป็นร้อยละโดยปริมาตร) ไว้ที่ฉลาก โดยปริมาณเอทานอลที่ระบุในฉลากนี้ นอกจากจะเพื่อแจ้งข้อมูลแก่ผู้บริโภคแล้ว ยังใช้เป็นข้อมูลในการชำระภาษีสุรา ซึ่งกำหนดและควบคุมโดยกรมสรรพสามิตอีกด้วย โดยจำนวนเงินภาษีที่ผู้ผลิตต้องชำระ จะมากหรือน้อย ขึ้นกับระดับดีกรีของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์นั้นๆ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ด้วยวิธีที่แม่นยำ เพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และเพื่อการเก็บภาษีอากรสุรา

จากที่ได้กล่าวมาจะเห็นได้ว่า การวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลและในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์เป็นเรื่องจำเป็นอย่างยิ่ง เทคนิคทางเคมีวิเคราะห์ที่ได้รับความนิยมสำหรับประยุกต์ใช้วิเคราะห์เอทานอลและในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์คือเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography,GC) เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถวิเคราะห์เอทานอลได้ และให้ผลวิเคราะห์แม่นยำ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจจะใช้เทคนิค GC เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography) โดยใช้ Flame ionized detector (FID) เป็นเครื่องตรวจวัด

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ในการดำเนินงานวิจัยนี้ เริ่มจากการสืบค้นงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณเอทานอลด้วยเทคนิคต่างๆ มุ่งเน้นไปที่เทคนิค (GC-FID) จากนั้นจึงทำการทดลอง โดยเริ่มจากการศึกษาอิทธิพลจากตัวแปรต่างๆของเครื่อง GC ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการแยกเอทานอลออกจากสารระเหยอื่นๆ ที่อาจมีในตัวอย่าง และส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์ โดยตัวแปรที่ศึกษา เช่น ปริมาตรสารตัวอย่างที่ฉีด อัตราเร็วของแก๊สตัวพา เป็นต้น จากนั้นจึงเลือกตัวแปรและสภาวะที่เหมาะสม เพื่อทำการทดสอบคุณลักษณะทางเคมีวิเคราะห์ของวิธี แล้วจึงประยุกต์ใช้วิธีดังกล่าว เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยจะทำการทดสอบความถูกต้องของวิธีในเบื้องต้น โดยเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธี (GC-FID) กับปริมาณที่ระบุข้างฉลาก ขั้นตอนต่อไป จะได้รวบรวมผลการศึกษาทั้งหมด เพื่อเตรียมเผยแพร่เป็นขั้นตอนสุดท้ายต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย เป็นดังนี้

1) สืบค้นงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหาปริมาณเอทานอลด้วยเทคนิคต่างๆ มุ่งเน้นไปที่เทคนิค (GC-FID)
2) ทำการทดลอง โดยเริ่มจากการศึกษาอิทธิพลจากตัวแปรต่างๆ ของเครื่อง GC ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการแยกเอทานอลออกจากกัน และส่งผลต่อความไวในการวิเคราะห์
3) เลือกตัวแปรและสภาวะที่เหมาะสม เพื่อทำการทดสอบคุณลักษณะทางเคมีวิเคราะห์ของวิธี
4) ประยุกต์ใช้วิธีดังกล่าว เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยจะทำการทดสอบความถูกต้องของวิธีในเบื้องต้น โดยเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่วิเคราะห์ได้กับปริมาณที่ระบุข้างฉลาก
5) รวบรวมผลการศึกษาทั้งหมด เพื่อเตรียมเผยแพร่งานวิจัย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธี GC-FID ที่สามารถประยุกต์ใช้วิเคราะห์เอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ได้อย่างถูกต้องแม่นยำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กระบวนการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ประเภทต่างๆ [1-3]

2.1.1 สุรากลั่น [1]

ขั้นตอนของกระบวนการผลิตสุรากลั่น

1) การหมักแอลกอฮอล์

ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลฟรุคโตสให้เป็นแอลกอฮอล์ และมีผลพลอยได้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยตามทฤษฎีจะได้แอลกอฮอล์ประมาณ 50 % จากปริมาณน้ำตาลที่ใช้ แต่ในทางปฏิบัติมักจะไม่ถึง เนื่องจากการจะเกิดผลพลอยได้เป็นสารให้กลิ่นรสอีกหลายชนิด หากเราหมักน้ำตาลที่มีปริมาณน้ำตาล 20 บริกส์ หรือ 200 (กรัม/ลิตร) จะได้แอลกอฮอล์ประมาณ 100 (กรัม/ลิตร) หรือ10 เปอร์เซ็นต์ หรือต่ำกว่านี้เล็กน้อย แต่เมื่อคำนวณเป็นปริมาณเป็นเปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เราจะต้องใช้ค่าความถ่วงจำเพาะของแอลกอฮอล์มาคำนวณ คือ 0.7893 ทำให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ เช่นถ้ามี แอลกอฮอล์ 96.3 (กรัม/ลิตร) จะได้ 12.2 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร (9.63 หาร 0.7893) ในการหมัก ยีสต์จะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วง 2 – 3 วันแรก หลังจากนั้นการเจริญเติบโต จะช้าลง จนถึงช่วงที่ไม่เพิ่มจำนวนขึ้น แต่ในช่วงนี้ก็ยังมีการเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ขึ้นเรื่อยๆ และปริมาณน้ำตาลก็ลดลง และมีการสร้างสารให้กลิ่นรสต่างๆ ในช่วงนี้ด้วย ดังนั้นจึงต้องหมักต่อไป แม้ยีสต์จะหยุดเพิ่มจำนวนแล้วก็ตาม

2) การกลั่นสุรา

การกลั่นคือการแยกสารตั้งแต่ 2 ชนิดที่อยู่ในของผสมออกจากกัน โดยอาศัยหลักความแตกต่างของจุดเดือด และหลักการแลกเปลี่ยนมวลสารระหว่างสองสถานะ คือสถานะของเหลว กับสถานะไอ สำหรับการกลั่นสุรา ของผสมนั้นคือน้ำส่าที่มีน้ำผสมอยู่กับแอลกอฮอล์และสารอื่นๆ เช่น เมธิลแอลกอฮอล์ และฟูเซลออยล์ น้ำบริสุทธิ์มีจุดเดือดที่ 100 องศาเซลเซียส แอลกอฮอล์มีจุดเดือดที่ 78.3 องศาเซลเซียส แต่น้ำผสมกับแอลกอฮอล์ จะมีจุดเดือดต่ำกว่าน้ำเดือด แต่สูงกว่าแอลกอฮอล์ ถ้าเรามีน้ำส่าที่มีแอลกอฮอล์ 10 เปอร์เซ็นต์ จะมีจุดเดือดที่ 93 องศาเซลเซียส แต่ไอที่ระเหยที่อุณหภูมิเดียวกันนี้ จะมีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่ 55 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำไอส่วนนี้มาควบแน่น ก็จะได้ของเหลวที่มีแอลกอฮอล์ 55 เปอร์เซ็นต์ เช่นกัน เมื่อนำแอลกอฮอล์ 55 เปอร์เซ็นต์ นี้มากลั่นอีกครั้งจะเดือดที่อุณหภูมิ 82.5 องศาเซลเซียส และจะได้ไอที่มีแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นเป็น 82 เปอร์เซ็นต์ นี่จึงเป็นสาเหตุที่โรงเหล้าจะกลั่นหลายครั้งเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์ความเข้มข้นสูงๆ แล้วจึงนำมาเจือน้ำให้ได้แรงแอลกอฮอล์ตามต้องการ ทั้งนี้เพื่อขจัดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ออกไป แต่การทำให้แอลกอฮอล์เข้มข้นสูงๆ สามารถใช้หอกลั่นแทนการกลั่นหลายๆ ครั้งได้ โดยเมื่อไอของสุราระเหยขึ้นไปแล้ว ก็นำไปควบแน่น และแบ่งของเหลวให้ไหลกลับลงมาในหอกลั่น เพื่อให้ไหลสวนทางกับไอที่ระเหยขึ้นมา

เอกสารนี้เป็นเอกสาร ที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอที่ระเหยขึ้นมาก็จะแลกเปลี่ยนความร้อนกับของเหลวที่ไหลลงมา ทำให้น้ำควบแน่นไปอยู่กับของเหลว และแอลกอฮอล์จะระเหยจากของเหลวไปอยู่ในส่วนไอ ทำให้ได้ผลเหมือนกับมีการกลั่นและควบแน่นหลายๆครั้งอยู่ในหอกลั่น โดยไม่ต้องนำไปกลั่นใหม่

หลักการกลั่นสุราให้มีคุณภาพ

- การแบ่งส่วนน้ำสุรา

เนื่องจากเป็นการแยกสารตามความสามารถในการระเหย ดังนั้นสารที่ระเหยง่าย ก็จะออกมาจากหอกลั่นก่อน สารที่ระเหยยากกว่าแอลกอฮอล์ก็จะออกมาทีหลัง จึงสามารถแยกสารพิษที่ไม่ต้องการออกได้ง่ายๆ โดยแบ่งน้ำสุราเป็นส่วนหัว ส่วนกลาง และส่วนหาง

ส่วนหัวคือเมธิลแอลกอฮอล์ เป็นสารพิษที่ทำให้ตาบอด และถ้าบริโภคในปริมาณมากทำให้เสียชีวิตได้ แต่ในสุราที่กลั่นจากกากน้ำตาลและข้าวจะมีน้อยมาก จนแทบไม่ต้องตัดส่วนหัวออกมาก เมธิลแอลกอฮอล์อาจมีมากได้ในสุราที่กลั่นจากผลไม้ที่ยืดหยุ่นเช่นสตรอเบอรี่ องุ่น

ส่วนกลางเป็นแอลกอฮอล์ที่เราต้องการ และเมื่ออุณหภูมิหม้อกลั่นสูงขึ้นเรื่อยๆ ในหม้อต้มแบบพื้นบ้าน ส่วนหางจะเริ่มออกมา จนอุณหภูมิใกล้ 100 องศาเซลเซียส โดยผู้ผลิตต้องฝึกดมกลิ่นและแยกส่วนนี้ออกไป ซึ่งมีส่วนผสมของฟูเซลออยล์ ที่ทำให้ปวดหัว และมีกลิ่นฉุน โดยเฉพาะถ้าหมักน้ำส่าที่อุณหภูมิสูงจะมีสารพวกนี้มาก

ปัจจัยที่ทำให้เกิดสารฟูเซลออยล์ได้แก่

1) สายพันธุ์ยีสต์
2) อุณหภูมิ (อุณหภูมิสูง ผลิตมาก)
3) การกวนและอากาศ (ไม่ควรกวนน้ำหมักหลังจากการหมักเริ่มต้นแล้ว)
4) องค์ประกอบของน้ำหมัก (ควรมีอาหารสมบูรณ์)

เครื่องกลั่นสุราชุมชนที่มีจำหน่ายอยู่นั้น มีข้อจำกัดหลายอย่าง โดยเฉพาะการใช้ฟืนหรือเตาแก๊สเป็นแหล่งให้ความร้อน ซึ่งทำให้ควบคุมอุณหภูมิการกลั่นได้ยาก หากใช้ความร้อนมากเกินไป จะทำให้น้ำส่าไหม้ และเกิดกลิ่นเหม็นไหม้ และทำให้สารพิษในส่วนหางปนออกมากับน้ำสุรา ดังนั้นจึงไม่ควรรีบร้อนเร่งไฟ เพื่อผลิตเร็วๆ เทอร์โมมิเตอร์ที่ใช้วัดอุณหภูมิในหม้อกลั่น ควรจะวัดอุณหภูมิของส่วนไอ เพื่อให้คนกลั่นสามารถปรับความร้อนได้อย่างเหมาะสม

เมื่อเริ่มต้นต้มน้ำส่าจนอุณหภูมิสูงขึ้นถึง 78 – 85 องศาเซลเซียส ก็เริ่มเก็บน้ำสุราได้ และพยายามคงอุณหภูมินี้ไว้ให้ได้นานๆ เมื่ออุณหภูมิเริ่มสูงเกิน 90 องศาเซลเซียส ให้คอยดมกลิ่นหาง โดยแบ่งสุราเป็นส่วนๆ เมื่อเริ่มได้กลิ่นส่วนหาง ให้นำส่วนนั้นไปรวมกับน้ำส่าชุดต่อไป เพื่อกลั่นใหม่

-การกลั่นหลายครั้ง

หากจะผลิตสุราพื้นบ้านธรรมดา การแยกหัวแยกหาง ก็จะช่วยให้สุราไม่มีกลิ่นเหม็น และปลอดภัยเพียงพอ แต่สำหรับสุราบางชนิด การแยกส่วนหัวหางออก ก็อาจยังไม่เพียงพอ เพราะเราอาจไม่ต้องการกลิ่นของวัตถุดิบเลย เช่นว็อดก้า และรัมแบบเบา หรือการทำสุราสำหรับจะนำไปปรุงแต่งรสชาติต่างๆ ในประเทศไทยเราอาจจะผลิตว็อดก้า หรือรัมไม่ได้ เพราะกฎหมายให้เรียกว่าสุรา

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขาว แต่เราอาจผลิตสุราในรูปแบบนั้นได้ โดยเรียกชื่อเป็นอย่างอื่น เพื่อย้ายจากตลาดล่าง การกลั่นสุราให้ไม่มีกลิ่นวัตถุดิบ ทำได้โดยกลั่น 2 ครั้งขึ้นไป หรือใช้เครื่องกลั่นแบบมีระบบรีฟลักซ์ และอาจนำสุรามากรองผ่านผงถ่านเพื่อดูดซับกลิ่น

ชนิดของเครื่องกลั่น

- เครื่องกลั่นแบบหม้อต้ม

เป็นแบบที่ใช้กันทั่วไป และในอุตสาหกรรมการกลั่นสุราของต่างประเทศ ก็ยังใช้เครื่องกลั่นแบบนี้ เพียงแต่มีการออกแบบและวัสดุแตกต่างกัน และมีขนาดใหญ่กว่าที่ใช้ในการผลิตสุราชุมชน หลักการก็คือมีหม้อต้ม ใช้ความร้อนจากไอน้ำ จากไฟฟ้า หรือจากก๊าซหุงต้ม ทำให้น้ำส่าร้อนขึ้น และเกิดไอระเหยขึ้นไป ส่งผ่านคอห่าน ไปยังคอนเดนเซอร์ควบแน่นให้เป็นของเหลวการใช้ทองแดงเป็นวัสดุ และปัจจุบันโรงกลั่นสุราทั้งวิสกี้และบรั่นดีของต่างประเทศ ก็ยังใช้หม้อทองแดงกันอยู่ ข้อดีของทองแดงได้แก่

1) ทองแดงช่วยสลายสารประกอบซัลเฟอร์และเอสเทอร์ที่เกิดในระหว่างการหมัก ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในสุรากลั่น (มีผลการวิจัยยืนยัน)
2) ทองแดงนำความร้อนได้ดีมาก ทำให้ช่วยป้องกันน้ำส่าไหม้
3) ทองแดงช่วยป้องกันการเกิดสารเอธิลคาร์บาเมทซึ่งเป็นสารพิษที่เกิดจากไซยาไนด์ (ไซยาไนด์พบในผลไม้ที่มีเมล็ดแข็ง)
4) ทองแดงช่วยทำให้กลิ่นของสุราดีขึ้น

ในมาตรฐานสุราของกรมสรรพสามิต มีการวิเคราะห์ทองแดง แต่ถึงแม้ทองแดงจะสามารถละลายได้เล็กน้อย (สุราที่กลั่นได้อาจมีสีเขียวอ่อนๆ) แต่ก็ยังมีทองแดงต่ำกว่ามาตรฐานน้ำดื่ม และการล้างหม้อกลั่นให้สะอาดทุกครั้ง จะช่วยชะทองแดงที่ละลายออกมาได้ หากเราใช้เครื่องกลั่นที่ทำจากสเตนเลสสตีล เราก็อาจใช้ทองแดงเป็นส่วนประกอบของเครื่อง โดยเฉพาะส่วนที่สัมผัสกับไอ เช่นข้อต่อบริเวณคอห่าน หรือบรรจุลวดทองแดงไว้ในท่อ เป็นต้น

- เครื่องกลั่นแบบหอกลั่น

หากไอระเหยมีโอกาสสัมผัสกับของเหลวอย่างเพียงพอ แอลกอฮอล์ในส่วนของเหลวก็จะถ่ายเทไปสู่ส่วนไอได้เต็มที่ แต่ในหม้อต้มกลั่นแบบพื้นบ้าน ไอมีโอกาสสัมผัสกับของเหลวน้อย ทำให้ต้องกลั่นหลายครั้งจึงจะได้แอลกอฮอล์ที่เข้มข้น ดังนั้นหากเราแบ่งส่วนของไอที่ควบแน่นจนกลายเป็นของเหลวแล้วให้ไหลกลับเข้าสู่หม้อกลั่นโดยไหลสวนทางกับไอที่ระเหยขึ้นมา จะทำให้มีโอกาสสัมผัสกันมากขึ้น เหมือนกับเกิดการกลั่นและควบแน่นกลับไปกลับมาหลายๆ ครั้ง ทำให้ไอที่ขึ้นมาสุดท้าย มีความบริสุทธิ์มากขึ้น ทำให้เราสามารถตัดหัวตัวหางได้อย่างแม่นยำมากขึ้น ของเหลวที่ควบแน่นจากไอ แล้วปล่อยให้ไหลกลับเข้ามานี้ เราเรียกว่า “รีฟลักซ์” ในหอกลั่นแอลกอฮอล์ที่ต้องการความบริสุทธิ์สูงๆ จะมีการวางถาดที่มีรูพรุนไว้เป็นชั้นๆ เพื่อให้ไอที่เคลื่อนที่ขึ้นมาบนหอกลั่น ไหลผ่านของเหลวที่ไหลลงมาขังอยู่ในถาด ทำให้ทั้งสองส่วนได้สัมผัสกันอย่างดี ยิ่งมีจำนวนถาดมากเท่าใด ยิ่งทำให้ได้แอลกอฮอล์ที่บริสุทธิ์มากขึ้น

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) การผสม บ่ม และปรุงแต่งสุรา

เทคนิคการผสม บ่ม และปรุงแต่งสุรานั้น เป็นศิลปะที่ผู้ผลิตต้องเรียนรู้ แต่เป็นขั้นตอนในการผลิตสุราที่สำคัญมาก สุราที่กลั่นได้ หากไม่มีการผสมหรือบ่ม ก็จะไม่มีคุณค่ามากไปกว่าแอลกอฮอล์เช็ดแผล

- การผสมสุรา

สุราที่กลั่นจากหม้อต้มธรรมดา จะมีดีกรีแอลกอฮอล์เปลี่ยนไปเรื่อยๆ ในระหว่างการกลั่น คือ ส่วนที่ออกมาแรกๆ จะมีดีกรีสูงกว่าส่วนที่ออกมาทีหลัง ดังนั้นจึงต้องนำสุราที่แบ่งเป็นส่วนๆ ไว้ มาผสมกันเพื่อให้ได้ดีกรีตามต้องการ (แต่ห้ามเกิน 40 ดีกรี) หรืออาจจะนำสุราดีกรีสูงๆ มาเจือน้ำเพื่อให้ได้ความแรงเหลือ 35 – 40 ดีกรี แต่บางครั้งเมื่อเติมน้ำลงไป กลับทำให้สุราขุ่น ทั้งนี้เนื่องจากน้ำที่ใช้มีแร่ธาตุต่างๆ อยู่ ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ เกิดเป็นตะกอนขึ้น จึงควรใช้น้ำกลั่นที่มีคุณภาพสูง เพื่อไม่ให้เกิดตะกอนดังกล่าว นอกจากนั้น อาจมีการผสมสุราที่กลั่นหลายครั้งจนไม่มีกลิ่นวัตถุดิบ กับสุราที่กลั่นครั้งเดียว เพื่อให้มีกลิ่นวัตถุดิบเท่าที่ต้องการ หรือผสมระหว่างสุราที่บ่มกับสุราที่ไม่บ่ม เป็นต้น

- การบ่มสุรา

สุราที่กลั่นได้ล้วนๆ กับสุราที่นำไปผสมน้ำ จะมีรสชาติต่างกัน แม้จะมีแอลกอฮอล์เท่ากัน ทั้งนี้เป็นเพราะสุราที่ผสมน้ำ ส่วนที่เป็นแอลกอฮอล์ ยังไม่เข้ากับน้ำอย่างสมบูรณ์ แม้จะไม่เห็นมันแยกชั้นกัน แต่ในระดับโมเลกุลเล็กๆ ที่มองไม่เห็น มันยังไม่เรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบ เหมือนที่เรียกว่าข้าวยังไม่เรียงเม็ด ดังนั้นสุราที่ผสมแล้ว จึงควรบ่มไว้สักระยะหนึ่ง เพื่อให้เกิดความกลมกล่อม ไม่จำเป็นต้องบ่มในไม้โอ๊ค อาจจะเก็บไว้ประมาณ 6 เดือน ลองชิมเทียบดูกับที่ผสมได้ใหม่ๆ สุราที่มีคุณภาพสูงๆ ของนานาชาติ ต้องบ่มไว้ในไม้โอ๊คทั้งสิ้น ทั้งวิสกี้ บรั่นดี รัม และ เทกิล่า แต่การบ่มในไม้โอ๊ค จะทำให้สุรามีสีเข้มขึ้น ซึ่งปัจจุบันกฎหมายไทยยังไม่อนุญาตให้ชุมชนผลิตได้ หากสามารถบ่มในไม้โอ๊คได้ จะทำให้สุรามีรสชาติดีขึ้นมาก

- การปรุงแต่ง

สุรายาดองของไทย เป็นภูมิปัญญาแต่โบราณที่ยังได้รับความนิยมอยู่จนปัจจุบัน แต่ยังถือว่ายาดองเป็นเหล้าเถื่อน เพราะกฎหมายห้ามนำสุรามาปรุงแต่ง ต้องจำหน่ายเป็นสุราขาวเท่านั้น หากใครมีสูตรยาดอง หรือสมุนไพร ก็อาจจำหน่ายแยกจากสุราให้ลูกค้านำไปดองเอง หรือแถมไปพร้อมสุรา การดองยาดื่มเองในบ้านเรือน ไม่ผิดกฎหมาย แต่ห้ามจำหน่ายจ่ายแจกอีกวิธีหนึ่งอาจจะหมักยาสมุนไพร ในระหว่างการหมักน้ำส่า หรือใส่ลงในหม้อกลั่น เพื่อให้กลิ่นระเหยไปพร้อมกับไอ ได้กลิ่นสมุนไพรอยู่ในน้ำสุราที่กลั่นได้การปรุงแต่งอีกรูปแบบคือการเติมกลิ่นลงไป แต่กฎหมายก็ยังไม่อนุญาตให้ทำ กลิ่นวิสกี้ กลิ่นรัม มีจำหน่ายทางการค้าในต่างประเทศ สำหรับนักดื่มสุราที่นิยมกลั่นสุราดื่มเอง โดยกลั่นสุราให้บริสุทธิ์ ไม่มีกลิ่นวัตถุดิบ แล้วจึงเติมกลิ่นที่ต้องการลงไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 เบียร์ [2]

ในการผลิตเบียร์นั้นวัตถุดิบที่สำคัญ คือ

1) ข้าวมอลต์ (malt) ได้มาจากข้าวบาร์เลย์ ซึ่งเป็นธัญพืช ที่นิยมปลูกในประเทศ ที่มีภูมิอากาศเย็นจะมีการปลูกกันมาก ในประเทศทางทวีปยุโรป เช่น เยอรมนี ออสเตรีย เดนมาร์ก และออสเตรเลีย ส่วนประเทศไทยมีการนำ สายพันธุ์ ข้าวบาร์เลย์เข้ามาปลูกในแถบ ภาคเหนือ ซึ่งมีภูมิอากาศเย็น

2) น้ำ เป็นวัตถุดิบที่สำคัญอีกตัวหนึ่ง เนื่องจากเบียร์มีส่วนประกอบที่เป็นน้ำ มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ คุณภาพของน้ำ ที่ใช้สำหรับการ ผลิตเบียร์ขึ้นอยู่กับ ลักษณะของเบียร์ที่จะผลิต ความอ่อน ความกระด้างของน้ำจะมีผลต่อ รสชาติของเบียร์ หรือมีผลต่อความ เปลี่ยนแปลง ที่จะเกิดขึ้นในกระบวนการผลิต ซึ่งน้ำที่ใช้ส่วนใหญ่ในโรงงานจะเป็นน้ำบาดาลที่ขุดขึ้นมาใช้และผ่านการบำบัดโดยการกรองและผ่านขบวนการทำ reverse osmosis แล้ว

3) ฮ็อป (hop) เป็นพืชเถาที่ต้องปลูกในพื้นที่ที่เย็นตลอดทั้งปี ดังนั้นจึงไม่สามารถปลูกได้ในประเทศ hop มีอยู่ 2 แบบ ได้แก่ aroma hop และ bitter hop เพราะฉะนั้น hop ที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิตจะนำเข้ามาจากต่างประเทศ 100 เปอร์เซ็นต์

4) เชื้อ yeast จะใช้เชื้อ yeast ที่เฉพาะในการผลิตเบียร์แต่ละประเภท ซึ่ง yeast ที่ใช้ในการผลิตจะมี 2 แบบ คือ bottom yeast และ top yeast สำหรับ yeast ที่ใช้ในบุญรอด ฯ จะเป็น yeast ที่นำเข้าจากต่างประเทศ และมาขยายเองที่ประเทศไทย

ขั้นตอนของกระบวนการผลิตเบียร์

1) การผสม

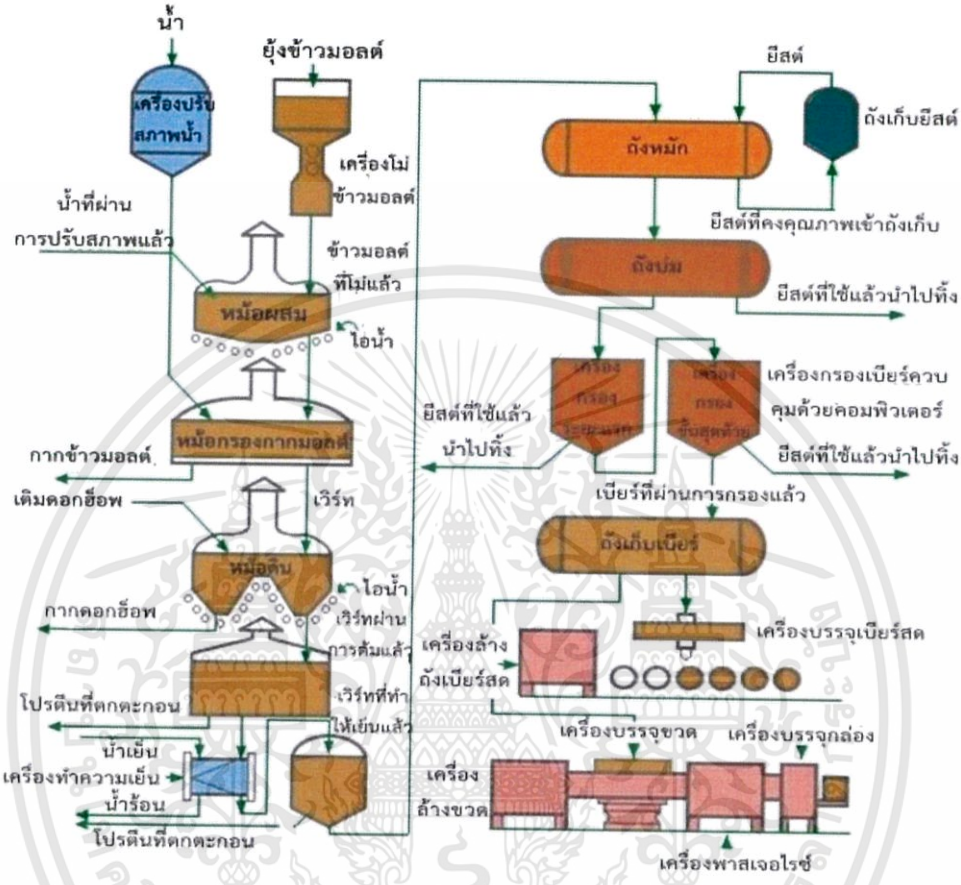
การผลิตเบียร์เริ่มจากการนำข้าวมอลต์มาบดให้เมล็ดแตก พร้อมทั้งใส่น้ำผสมลงไปในถังผสม ถังผสมต่างๆ ที่ใช้ในการผลิตเบียร์ในสมัยก่อนนั้น นิยมทำด้วยทองแดง ทำให้ความร้อนสามารถผ่านไปที่ ของผสมในถังผสมได้เร็วขึ้นเมื่อผสมข้าวและน้ำลงไปในถังผสมแล้ว จึงทำให้ความร้อนที่เหมาะสม เพื่อให้ เอนไซม์ที่มีอยู่ในข้าวมอลต์ เปลี่ยนแป้งไปเป็นน้ำตาลมอลโตส (Maltose) หลังจากนั้นจึงแยกเอาของเหลวออกจากกากข้าว ของเหลวดังกล่าวเรียกว่าเวิร์ท (Wort) ซึ่งจะมีความหวานของน้ำตาลมอลโตส อยู่ (ให้ได้ความหวานประมาณ 12 บริกซ์) จากนั้นจึงต้มเวิร์ทให้เดือดพร้อมทั้งใส่ดอกฮ็อพ เมื่อต้มเวิร์ทจนได้ที่แล้ว จะปล่อยให้ตกตะกอนก่อน หลังจากนั้นจึงทำให้เย็นลง พร้อมทั้งใส่ยีสต์และเติมอากาศเพื่อการเจริญของยีสต์ แล้วนำไปหมักในถังหมัก

2) การหมัก

อุณหภูมิของการหมักขึ้นอยู่กับชนิดของเบียร์และชนิดของยีสต์ที่ใช้ การหมักจะใช้เวลาประมาณ 5 วัน สำหรับท็อปยีสต์ ส่วนบ็อททอมยีสต์ใช้เวลา 7-10 วัน หลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการหมักแล้วจึงแยกยีสต์ออก เบียร์ที่ได้ในช่วงนี้เรียกว่า กรีนเบียร์ (Green beer) หรือ ยังเบียร์ (Young beer) ซึ่งจะต้อง นำไปเก็บบ่มต่อไปอีกระยะหนึ่งประมาณ 1 สัปดาห์ โดยการควบคุมความเย็นจะใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำยาแอมโมเนีย และแรงดันภายในถังบ่ม เพื่อให้เบียร์ใสขึ้นและมีรสชาติที่กลมกล่อม หลังจากนั้นนำไปกรองเพื่อแยกเอาตะกอนแขวนลอยและยีสต์ที่ตกค้างออกจึงจะได้เบียร์ที่ใส พร้อมดื่ม



รูปที่ 2.1 กระบวนการผลิตเบียร์

(อ้างอิงจาก http://www.vcharkarn.com/blog/37836)

2.1.3 ไวน์ [3]

ขั้นตอนของกระบวนการผลิตไวน์

1) การเตรียมวัตถุดิบในการหมัก

ในกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์ จะเริ่มต้นจากการเตรียมน้ำผลไม้หรือน้ำเชื่อม (สารละลายน้ำตาล) ให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเป็นอาหารของยีสต์ โดยมีกระบวนการเตรียมคือ ต้องนำผลไม้นั้นมาบีบหรือคั้นให้เป็นน้ำผลไม้เสียก่อน ในกรณีของแป้ง ต้องมีการย่อยเพื่อเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำเชื่อมก่อน เมื่อได้น้ำผลไม้หรือน้ำเชื่อมแล้ว จะต้องทำการวัดปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ เพื่อปรับปริมาณน้ำตาลในน้ำเชื่อมให้เหมาะสมต่อการหมัก นอกจากนี้จะต้องมีการปรับความเป็นกรด-ด่างให้มีความเหมาะสมต่อการทำงานของยีสต์ด้วย โดยน้ำผลไม้หรือน้ำเชื่อมที่นำมาใช้หมักจะต้องปรับให้มีปริมาณกรดประมาณ 0.60-0.75 เปอร์เซ็นต์ หรือค่าพีเอชประมาณ 3.3 - 4.5 ในน้ำผลไม้บางชนิดที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณธาตุอาหารน้อยอาจต้องมีการเติมธาตุอาหารเสริม จำพวกเกลือแอมโมเนีย เช่น แอมโมเนียฟอสเฟต แอมโมเนียมซัลเฟต และแอมโมเนียคาร์บอเนต เพื่อช่วยในการเจริญเติบโตของยีสต์ด้วย ซึ่งในกรณีของการหมักแอลกอฮอล์จากมันสำปะหลัง การเติมธาตุอาหารไม่จำเป็น เนื่องจากมีสารอาหารเพียงพอ เมื่อปรับปริมาณน้ำตาล ค่าความเป็นกรดให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมแล้ว จำเป็นต้องทำการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์อื่นที่มีในน้ำผลไม้หรือน้ำเชื่อม โดยการใช้ความร้อน เช่น ทำการต้มที่ 50 - 60 องศาเซลเซียส 2 - 3 นาที หรืออาจทำได้โดยการใช้สารเคมี เช่น สารโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ (Potassium metabisulphite) ซึ่งจะปลดปล่อยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ออกมา โดยโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ 1 กรัม จะมีปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 150 ส่วนในล้านส่วน ต่อน้ำหนึ่งแกลลอน ในทางปฏิบัติมักจะเติมลงในน้ำผลไม้ในอัตราส่วนก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 50 - 100 ส่วนในล้านส่วน นั่นคือเติมสารโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ 1 กรัม ต่อน้ำผลไม้ 3 แกลลอน โดยจะต้องทิ้งไว้อย่างน้อย 4 ชั่วโมงจึงจะเติมส่า (เชื้อยีสต์) ลงไปในถังหมักได้

2) การเตรียมส่าไวน์

การเตรียมส่าไวน์ หรือการเตรียมเชื้อยีสต์ให้พร้อมสำหรับการหมักนั้น ทำได้โดยการแบ่งน้ำผลไม้ที่ทำการปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง และปริมาณน้ำตาลเรียบร้อยแล้ว มาเติมลงในขวดโหลแก้วปากแคบประมาณหนึ่งในห้าของปริมาตรขวด จากนั้นถ่ายเชื้อยีสต์จากหลอดทดลองโดยการนำน้ำผลไม้ปริมาณเล็กน้อยลงไปกลั้ว เพื่อให้เชื้อยีสต์หลุดออกมาแล้วเทใส่ขวดโหล หรือถ้าใช้ยีสต์ผงก็เติมลงในขวดโหลได้โดยตรงตามอัตราส่วนที่กำหนดโดยผู้ผลิต กระบวนการนี้เป็นกระบวนการที่ต้องการอากาศเพื่อที่จะให้ยีสต์เกิดการแพร่พันธุ์อย่างรวดเร็ว มักมีความร้อนเกิดขึ้นสูง จึงควรวางในที่มีอากาศถ่ายเทได้สะดวก ปกติการเตรียมส่านี้มักใช้เวลาไม่เกิด 24 - 48 ชั่วโมง ก็จะได้ส่าที่พร้อมสำหรับการหมัก สังเกตได้ว่ามีการเจริญของยีสต์ได้จากฟองอากาศที่เกิดขึ้นอย่างมากในขวดแก้ว และอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น

3) การเติมส่าไวน์ลงในถังหมักและการหมัก

การใส่เชื้อส่าไวน์ คือการใส่เชื้อยีสต์บริสุทธิ์ เพื่อทำให้การหมักเป็นไปได้ด้วยดีและรวดเร็ว และเพื่อทำให้เชื้ออื่นๆ ปะปนได้น้อยลง เพราะเชื้ออื่นๆ เจริญเติบโตสู้เชื้อยีสต์ที่มีในเชื้อส่าไม่ได้ การเติมเชื้อส่าลงในกระบวนการหมักไวน์มักอธิบายได้ง่ายๆ

น้ำตาล + ยีสต์ Saccharomyces = แอลกอฮอลล์ + แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

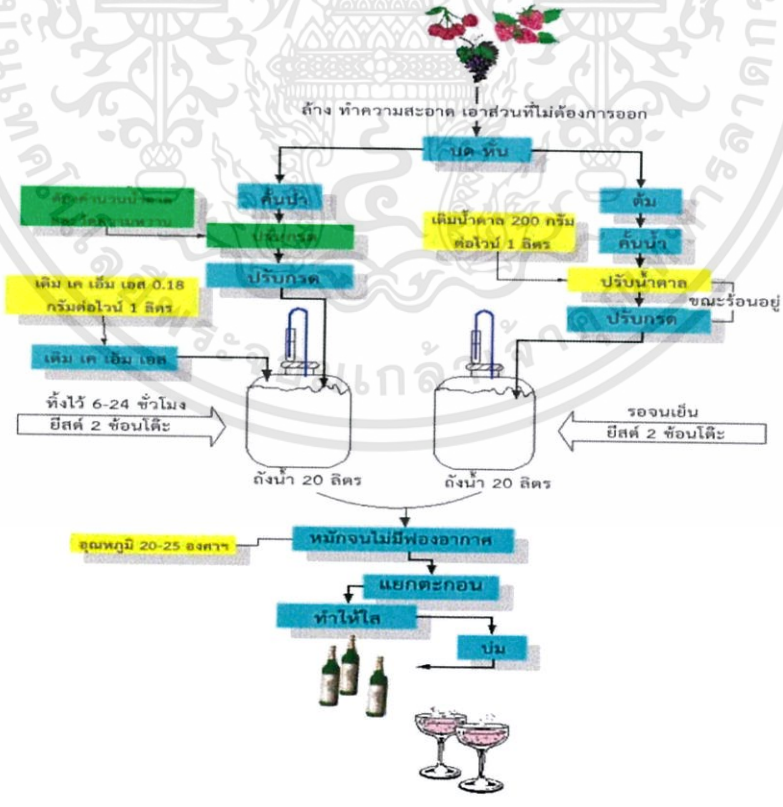
ในระหว่างการหมักนี้มักจะเกิดความร้อนขึ้นอย่างมากในช่วง 12 ชั่วโมงแรก หลักจากใส่เชื้อส่าความร้อนนี้เกิดจากการเจริญของยีสต์นั้นเอง ทำให้อุณหภูมิของไวน์สูงขึ้น ดังนั้นในการหมักจึงต้องระมัดระวังไม่ให้ไวน์มีอุณหภูมิที่สูงเกินไป ซึ่งจะทำให้เชื้อยีสต์ตายและการหมักหยุดชะงักลง ดังนั้นเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวภาชนะที่ใช้ในการหมักไวน์จึงควรวางในบริเวณที่มีการถ่ายเทความร้อนได้ดีเพื่อลดความร้อนที่เกิดจากการหมัก การหมักไวน์จะใช้เวลานานเท่าไรขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำผลไม้ที่ใช้และชนิดของเชื้อยีสต์ โดยที่ความเร็วของการหมักสามารถติดตามได้จากการติดตามการใช้น้ำตาลของยีสต์

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยวัดปริมาณน้ำตาลที่หายไปทุกวัน ด้วยเครื่องไฮโดรมิเตอร์หรือรีแฟกโตมิเตอร์ ถ้าปริมาณน้ำตาลลดลงจนคงที่แล้วและไม่ลดลงอีกเป็นเวลาหลายวัน แสดงว่าการหมักสิ้นสุดแล้ว แต่ถ้าการหมักสิ้นสุดโดยที่ปริมาณน้ำตาลยังเหลืออยู่มาก แสดงว่าเกิดปัญหาขึ้นทำให้การหมักหยุด อาจแก้ไขโดยการเติมส่าใหม่ลงในถังหมัก

4) การทำให้ใส

เมื่อการหมักสิ้นสุดแล้ว จะต้องถ่ายเอาน้ำไวน์ใสออกมาและทิ้งให้พวกเชลยีสต์ และสารแขวนลอยอื่นๆ ตกอยู่ที่ก้นถัง การถ่ายครั้งแรกควรทำอย่างทันทีที่ปริมาณน้ำตาลหมด เนื่องจากถ้าปล่อยทิ้งไว้ยีนต์อาจเกิดการสลายตัวเนื่องจากการขาดอาหารจึงตายลง ทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการ นอกจากนี้การที่ยีสต์ตายลงและสลายตัวจะกลายเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ทำให้ไวน์อาจเสียได้ เมื่อถ่ายไวน์ลงสู่ภาชนะใหม่แล้ว จำเป็นที่จะต้องทำให้ไวน์ใส เนื่องจากไวน์ที่ดีควรมีลักษณะใส ไม่มีตะกอน การที่ไวน์ขุ่นนั้นเนื่องมาจากสารสีและสารอื่นๆที่ปนอยู่ในน้ำผลไม้ วิธีการทำให้ใส มักนิยมใช้สารช่วยเร่งการตกตะกอน เช่น เจลาติน ไข่ขาว เบนโทไนต์ เป็นต้น โดยเบนโทไนต์ซึ่งต้องละลายน้ำให้มีลักษณะคล้ายโคลนเสียก่อน มักนิยมใช้ในปริมาณ 4 ออนซ์ ต่อไวน์ 1,000 แกลลอนจะช่วยให้ การตกตะกอนในไวน์เร็วขึ้น นอกจากนี้ยังนิยมใช้เครื่องกรองอีกหลายแบบเพื่อช่วยกำจัดตะกอนในไวน์อีกด้วย



รูปที่ 2.2 กระบวนการผลิตไวน์

(อ้างอิงจาก http://agro-industry.rmutsv.ac.th/agro/alcoholic/unit4/prodwine.htm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 มาตรฐานคุณภาพเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ประเภทต่างๆ [4]

จากมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมหรือ (มอก.) ซึ่งประกาศโดยกระทรวงอุตสาหกรรมได้กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ สุรากลั่น (มาตรฐานเลขที่ 2088 - 2544) ซึ่งภายในได้บอกถึงรายละเอียดของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ ปริมาณที่กำหนดของความแรงแอลกอฮอล์ คุณลักษณะทางเคมี วัตถุเจือปนอาหารและสารปนเปื้อนต่างๆภายในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ไว้ดังนี้

ตารางที่ 2.1 ความแรงของแอลกอฮอล์หรือความเข้มข้นของเอทานอล (ต่อการบรรจุภาชนะ 1 ขวด)

ชนิดของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (แบ่งตามกรรมวิธีการผลิต)	ปริมาณความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)
1.เบียร์	ไม่เกิน 8
2.สุราขาว	ไม่เกิน 40
3.ไลต์รัม	ไม่เกิน 40
4.ยิน	ไม่เกิน 45
5.ไวน์	ไม่เกิน 50
6.เกาเหลียง	ไม่เกิน 60
7.วิสกี้	ไม่เกิน 40
8.บรั่นดี	ไม่เกิน 38
9.วอดก้า	ไม่เกิน 38
10.รัม	ไม่เกิน 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 คุณลักษณะทางเคมี วัตถุเจือปนอาหารและสารปนเปื้อนในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (ต่อการบรรจุภาชนะ 1 ขวด)

คุณลักษณะและสารเจือปนในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์	เกณฑ์ที่กำหนด (มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร)
1.ฟูเซลล์ออยล์	ไม่เกิน 5500
2.เพอร์ฟิวรัล	ไม่เกิน 50
3.เอสเทอร์ (เอทิลแอลซิเทต)	ไม่เกิน 1200
4.แอลดีไฮด์ (แอซีทัลดีไฮด์)	ไม่เกิน 160
5.เมทิลแอลกอฮอล์	ไม่เกิน 420
6.ซัลเฟอร์ไดร์ออกไซด์	ไม่เกิน 350
7.สารหนู	ไม่เกิน 0.1
8.ตะกั่ว	ไม่เกิน 0.2
9.ทองแดง	ไม่เกิน 5

2.3 หลักการเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี [5]

แก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography, GC) เป็นเทคนิคการแยกองค์ประกอบของสารผสม โดยอาศัยความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของแต่ละองค์ประกอบของสารผสมบนเฟสคงที่ (Stationary phase) ภายใต้การพาของเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) สำหรับเครื่อง GC เฟสคงที่ คือสารที่อยู่ภายในคอลัมน์ ส่วนเฟสเคลื่อนที่ คือพวกแก๊สที่ไม่ว่องไวต่อปฏิกิริยา เมื่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านเข้าสู่เครื่อง GC สารดังกล่าวจะถูกเปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นแก๊สและส่วนแก๊สของสารผสมจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์โดยแก๊สที่ไม่ว่องไวต่อปฏิกิริยา ซึ่งภายในคอลัมน์จะเกิดการแยกสารผสม โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างสารที่อยู่ภายในคอลัมน์และในการแยกสารผสมจะอาศัยความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุล จุดเดือด โครงสร้างของสารและสมบัติทางเคมีในการทำปฏิกิริยากับสารที่อยู่ภายในคอลัมน์ ซึ่งหลังจากที่สารแต่ละชนิดถูกแยกจะเคลื่อนที่อยู่ภายในคอลัมน์ในเวลาที่ต่างกัน จากนั้นสารแต่ละชนิดจะผ่านเข้าสู่อุปกรณ์วัดสัญญาณ (Detector) และแปรผลออกมาเป็นโครมาโทแกรม (Chromatogram) ซึ่งสารแต่ละชนิดจะมีระยะเวลาที่อยู่ในคอลัมน์ (Retention time, RT) เฉพาะตัว ในการวิเคราะห์ผลจะนำพื้นที่ใต้พีค (Peak) ของแต่ละสารมาคำนวณผลเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) ก็จะทราบปริมาณของสารตัวอย่างได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 ส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้ เพื่อให้เข้าใจง่ายจึงขอแสดงองค์ประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) ดังรูป 2.3 และขั้นตอนการทำงานเพื่อจะได้มองเห็นภาพรวมของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี ดังนี้

1) ถังแก๊สที่ใช้บรรจุตัวพา (carrier gas) ทำหน้าที่นำพาไอของสารตัวอย่าง ผ่านเข้าไปยังคอลัมน์ ได้แก่ ไนโตรเจน ฮีเลียมและอาร์กอน เป็นต้น

2) ส่วนที่ใช้ควบคุมการไหลของแก๊ส (flow controller) ทำหน้าที่ควบคุมการไหลของแก๊สได้แก่ไฮโดรเจน อากาศ และไนโตรเจน เป็นต้น

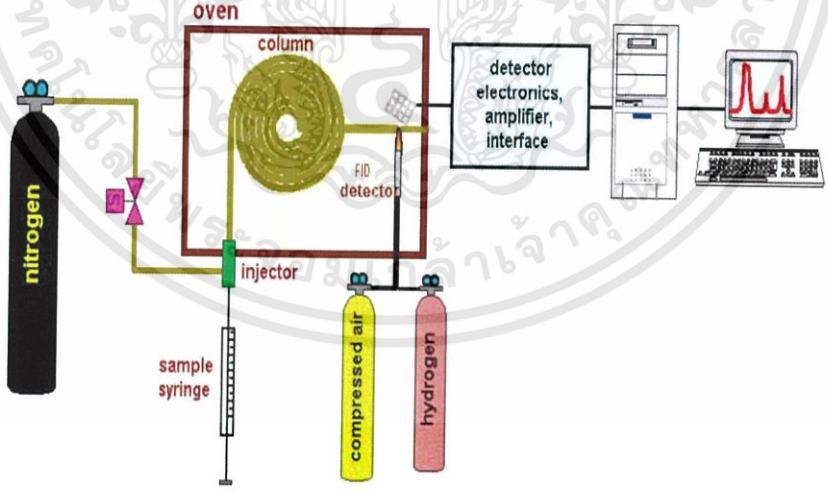
3) ส่วนที่จะฉีดสารตัวอย่าง (Injection port)

4) คอลัมน์ (column) ทำหน้าที่แยกสารผสมจึงเป็นส่วนที่สำคัญที่สุด

5) อุปกรณ์วัดสัญญาณ (Detector) ทำหน้าที่เป็นส่วนที่ใช้สำหรับการตรวจวัดสารแต่ละชนิดที่ถูกแยกออกมาจากคอลัมน์

6) ส่วนที่ใช้ควบคุมอุณหภูมิ (Temperature controller) ทำหน้าที่ควบคุมอุณหภูมิให้กับ column Detector และ Injection

7) ส่วนที่ประมวลผลและข้อมูล ทำหน้าที่ประมวลผลและข้อมูลเพื่อจะได้ทราบถึงปริมาณของสารตัวอย่าง ได้แก่ อินทิเกรเตอร์ เครื่องบันทึกโครมาโทแกรม หรือคอมพิวเตอร์



รูปที่ 2.3 แสดงส่วนประกอบของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี
(อ้างอิงจาก http://old.lf3.cuni.cz/chemie/english/practical_trainings/task_B2.htm)

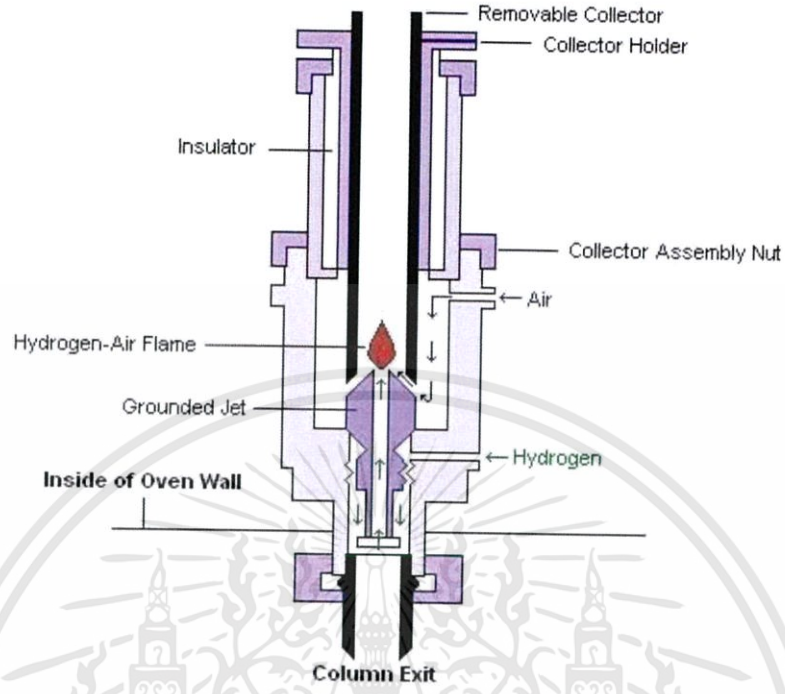
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 เครื่องวัดสัญญาณชนิดเฟลมไอออไนเซชัน (Flame Ionization Detector, FID)[6]

Flame Ionization Detector (FID) เป็นเครื่องตรวจวัดที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย มีความจำเพาะเจาะจงต่อสารอินทรีย์ มีความว่องไวสูง เหมาะสำหรับตรวจวัดสารที่สามารถถูกออกซิไดซ์ได้ภายใต้เปลวไฟของแก๊สไฮโดรเจนและอากาศ

หลักการทำงานเริ่มจาก แก๊สไฮโดรเจนจะถูกจุดให้ติดไฟด้วย heater ไฟฟ้า ซึ่งอยู่ใกล้กับ Flame jet ทำให้เกิดการเผาไหม้ของแก๊สไฮโดรเจนในบรรยากาศของแก๊สออกซิเจนหรืออากาศขึ้นตรงหัวเจ็ท (jet) ของ FID การจุดไฟนิยมใช้แก๊สไฮโดรเจนเป็นเชื้อเพลิง เนื่องจากการเผาไหม้แก๊สไฮโดรเจนไม่ทำให้เกิดเป็นอนุมูลมีประจุจึงทำให้ไม่มีสัญญาณรบกวน เปลวไฟของแก๊สไฮโดรเจนมีสีฟ้าอ่อนหรือแทบไม่มีสี การตรวจสอบเปลวไฟว่าติดหรือไม่จึงมักทดสอบด้วยการใช้กระจกหรือพื้นผิวโลหะที่เป็นมันวาวไปอังเหนือเปลวไฟ ถ้าพบว่ามีไอน้ำมาควบแน่นเป็นหยดน้ำบนพื้นผิวเหล่านั้นแสดงว่าการจุดไฟทำได้สมบูรณ์ แก๊สออกซิเจนหรืออากาศจะทำหน้าที่สองอย่าง คือ ช่วยในการเผาไหม้ของไฮโดรเจน และช่วยพาแก๊สที่เผาไหม้แล้วออกไป เมื่อแก๊สพาและสารตัวอย่างที่เป็นสารประกอบอินทรีย์ออกจากคอลัมน์ จะเข้าสู่ในเจ็ทของเปลวไฟที่มีอุณหภูมิสูงถึง 2100 องศาเซลเซียส เปลวไฟที่เกิดจากการลุกไหม้จะอยู่ระหว่างสนามไฟฟ้า เมื่อสารอินทรีย์เคลื่อนผ่านเปลวไฟจะเกิดการไอออไนเซชัน ได้อนุภาคที่มีประจุบวก (positive ions) หรือเรียกว่า คาร์บอเนียมไอออน (carbonium ions) และอิเล็กตรอน อิเล็กตรอนจะวิ่งไปยัง flame jet ส่วนอนุภาคที่มีประจุบวกจะวิ่งไปยังอิเล็กโทรดของตัวเก็บ (collector electrode) ที่อยู่รอบๆเปลวไฟ ทำให้เกิดความต่างศักย์ระหว่างเปลวไฟกับอิเล็กโทรดของตัวเก็บ ซึ่งจะวัดออกมาในรูปของกระแสไฟฟ้า (electric current) ประมาณ 10^{-14} แอมแปร์ กระแสไฟฟ้าดังกล่าวนี้ จะเป็นสัดส่วนกับจำนวนอะตอมของคาร์บอนที่เกิดขึ้นภายในเปลวไฟ กระแสไฟฟ้าจะถูกขยายด้วยตัวขยายสัญญาณ (amplifier) แล้วส่งสัญญาณไปยังอิเล็กโทรมิเตอร์และบันทึกสัญญาณเป็นโครมาโทแกรมออกมาโดยสารที่ต่างชนิดกันจะให้กระแสไฟฟ้าที่ต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 โครงสร้างทั่วไปของ Flame ionization detector
(อ้างอิงจาก http://www.chemistry.adelaide.edu.au/external/soc-rel/content/fid.htm)

2.4.1 คุณสมบัติจำเพาะของ FID

1) FID สามารถตรวจวัดสารที่ระเหยเป็นไอได้เกือบทุกชนิด ให้สภาพความไวที่ดีโดยเฉพาะสารประกอบอินทรีย์ สภาพความไวมีค่าเป็น 10-12 (กรัม/วินาที) แต่จะไม่ตอบสนองต่อสารประกอบหรือแก๊สต่างๆ ได้แก่ He, Ar, Kr, Ne, X, O2, N2, CS_2, CO_2, H_2S, SO_2, NO, N_2O, NO_2, NH_3, CO, SiCl, $SiHCl_3$ SiF_4

2) FID ไม่สามารถตรวจวัดสารอินทรีย์ที่ไม่สามารถลุกติดไฟได้ เช่น N_2, CO_2, H_2O, สารประกอบ organic halide ต่างๆ และสารที่ลุกติดไฟได้แต่ไม่เกิดการไอออไนเซชันเป็นไอออน เช่น CO,NH_3 ทำให้ FID มีความเหมาะสมมากสำหรับการนำมาใช้ในการวิเคราะห์สารอินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำ เนื่องจากไม่มีสัญญาณจากน้ำรบกวน

3) อัตราการไหลของแก๊สพา (carrier gas) หรืออุณหภูมิของตัวตรวจวัด FID มีผลต่อความแรงของสัญญาณน้อยซึ่งต่างจาก TCD ที่ความแรงของสัญญาณจะเปลี่ยนแปลงตามอัตราการไหลของแก๊สพาและอุณหภูมิของตัวตรวจวัดได้มาก

4) FID มีสภาพไวมากกว่า TCD ถึง 1000 เท่า จึงทำให้ FID เป็นตัวตรวจวัดที่เป็นทางเลือกแรกเมื่อต้องการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นสารอินทรีย์

5) FID สามารถใช้กับแก๊สพาได้ทุกชนิด นิยมใช้แก๊สไนโตรเจนเนื่องจากมีราคาถูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6) เครื่อง GC บางรุ่นสามารถทำการติดตั้ง TCD และ FID ร่วมกันโดยการต่ออนุกรมเข้าด้วยกัน โดยให้แก๊สที่ออกมาจากคอลัมน์ไหลผ่าน TCD ก่อน เพื่อวัด permanent gas ต่างๆ จากนั้นจึงเข้าสู่ FID เพื่อวัดสารอินทรีย์ต่างๆ ได้

ข้อควรระวังในการใช้ FID

1) FID ไม่ทนต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ อุณหภูมิขีดจำกัดเท่ากับ 400 องศาเซลเซียส

2) ใน FID จะเกิดกระบวนการสันดาบในเปลวไฟ ก่อให้เกิดไอน้ำขึ้น ดังนั้นจะต้องให้เปลวไฟมีอุณหภูมิมากกว่า 100 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการควบแน่นของน้ำ ถ้าไอน้ำถูกควบแน่นอาจรวมตัวกับตัวทำละลายหรือสารตัวอย่างที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบ อาจทำให้เกิดการกัดกร่อนขึ้นและทำให้สภาพความไวลดลงได้

3) เปลวไฟของไฮโดรเจน จะต้องปรับให้มีสัดส่วนที่พอเหมาะ เพื่อไม่ให้เกิดการระเบิดหรือจุดไม่ติด อัตราส่วนระหว่างแก๊สพาต่อแก๊สไฮโดรเจนต่ออากาศ เท่ากับ 1 : 1 : 10 จะมีสภาพไวสูง

4) อัตราการไหลของอากาศที่ใช้ จะต้องทำให้ปริมาณอากาศเพียงพอ และเหมาะสมต่อการลุกไหม้ของไฮโดรเจน และต้องเพียงพอต่อการลุกไหม้ของสารตัวอย่างด้วย เนื่องจากถ้าปริมาณอากาศน้อยเกินไปสารตัวอย่างจะเผาไหม้ได้ไม่สมบูรณ์ ส่งผลให้ความว่องไวของการตรวจวัดลดลงได้

5) ปริมาณอากาศที่ต่ำเกินไป อาจทำให้เกิดคราบสกปรก ที่เกิดจากการเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ของสารอินทรีย์เกาะติดที่ collector ซึ่งจะทำให้เกิดสัญญาณส่งออกมาจาก collector ตลอดเวลา เห็นได้จาก base line ไม่นิ่งเรียบ

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Akkarawat S. และ Weerachai S. [7] ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเหล้า โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี มีเครื่องตรวจวัด คือ เครื่องวัดสัญญาณชนิดเฟลมไอออไนเซชัน (Flame Ionization Detector, FID) สกัดเอทานอลด้วยคลอโรฟอร์ม แยกเอทานอลที่มีในเหล้าตัวอย่างเข้าสู่ชั้นคลอโรฟอร์ม ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมโดยพิจารณาถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล ได้แก่ อัตราการไหลของแก๊สพา อัตราส่วนระหว่างคลอโรฟอร์มต่อตัวอย่างเหลวที่ใช้ในการสกัด นอกจากนี้ยังเปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างสารละลายมาตรฐานเอทานอลที่เตรียมในน้ำกับที่เตรียมในคลอโรฟอร์ม พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างเหล้า จะใช้อัตราการไหลของแก๊สพาเท่ากับ 7 psi อัตราส่วนระหว่างคลอโรฟอร์มต่อเอทานอลที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 2 : 4 ให้ค่าความเที่ยงของการสกัดคิดเป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ ±3.94 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างเหล้า 10 ตัวอย่าง ให้ค่า paired *t*-test เท่ากับ 1.68 ซึ่งถือว่าผลการวิเคราะห์กับค่าที่ระบุไว้ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ งานวิจัยนี้สามารถหาปริมาณเอทานาลในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ได้อย่างถูกต้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

แม่นยำ แต่อย่างไรก็ตามการสกัดสารโดยใช้คลอโรฟอร์มมีความเป็นพิษสูง ก่อให้เกิดอันตรายได้หากสูดดมเข้าสู่ร่างกาย

Mei-Ling W. และคณะ [8] ได้ทำการศึกษาวิธีการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีโดยไม่ต้องทำการสกัดสารตัวอย่างก่อนฉีดเข้าสู่ระบบ เพื่อการวิเคราะห์หาปริมาณเมทานอลและเอทานอลในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ศึกษาควบคู่กับการทำ internal standard โดยใช้ 2-pentanol เป็นสารมาตรฐานภายใน (internal standard) สำหรับเมทานอล และใช้ acetonitrile เป็นสารมาตรฐานภายใน (internal standard) สำหรับเอทานอล ใช้คอลัมน์เป็น mega-pore capillary column (CP-Wax 58 CB) และใช้เครื่องตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชัน (Flame Ionization Detector, FID) จากการศึกษาพบว่าใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่า 12 นาที ค่า % Recovery ของแต่ละตัวอย่างแอลกอฮอล์พบว่าอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้คือ 93.8 – 103.2 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองระหว่างวันและภายในวันเดียวกันให้ค่า % RSD ต่ำกว่า 5 แสดงว่าวิธีวิเคราะห์มี reliability, accuracy และ precision ที่ดี นอกจากนี้ยังมีการนำผลการทดลองมาเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน AOAC พบว่าได้ผลการทดลองที่ใกล้เคียงกันและเป็นวิธีที่สามารถวิเคราะห์ได้รวดเร็วกว่า เนื่องจากเป็นการวิเคราะห์ทั้งเมทานอลและเอทานอลในคราวเดียวกัน งานวิจัยนี้มีความง่าย สะดวก และรวดเร็ว เนื่องจากสามารถวิเคราะห์ปริมาณเมทานอลและเอทานอลได้ในคราวเดียวกัน

Helena Pontes และคณะ [9] ได้นำเสนองานวิจัยในการตรวจวัดอะซิโตน อะซีทาลดีไฮด์ เอทานอลและเมทานอลในเนื้อเยื่อทางชีวภาพและเซลล์เพาะเลี้ยง ด้วยการฉีดสารโดยตรงเข้าสู่ระบบแก๊สโครมาโทกราฟีโดยมีเครื่องวัดสัญญาณ คือ Flame Ionization Detector (FID) ใช้ปริมาตรสารที่ฉีด 0.5 ไมโครลิตร ผลการทดลองที่ได้ให้ค่าความเป็นเส้นตรงที่ดี มีค่าความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 75 - 2400 (มิลลิกรัม/ลิตร) ผลการทดลองระหว่างวันให้ค่า % RSD ต่ำกว่า 15 และภายในวันเดียวกันให้ค่า % RSD ต่ำกว่า 10 แสดงว่าวิธีวิเคราะห์มีความแม่นและความเที่ยงที่ดี ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (LOD) ของอะซีทาลดีไฮด์และสารตัวอื่นๆที่มีในองค์ประกอบ เท่ากับ 0.85 และ 0.75 (มิลลิกรัม/ลิตร) ตามลำดับ ให้โครมาโทแกรมของสารในตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์แยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน เป็นคอลัมน์ที่มีประสิทธิภาพในการแยกดีทำให้มีความละเอียดและความไวสูง งานวิจัยนี้เป็นวิธีที่ง่ายสำหรับกิจวัตรประจำวันของชีวเคมีคลินิก และห้องปฏิบัติการทางนิติวิทยาศาสตร์ แต่อย่างไรก็ตาม วิธีดังกล่าวข้างต้นคงไม่เหมาะกับการตรวจวัดตัวอย่างที่ต้องทำการสกัดก่อนฉีดเข้าสู่เครื่อง (GC-FID)

Michael Zilly และคณะ [10] ได้ทำการศึกษาการหาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างปัสสาวะโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อการหาปริมาณเอทานอล โดยไม่ต้องทำการสกัดสารตัวอย่างก่อนฉีดเข้าสู่ระบบ มีเครื่องวัดสัญญาณชนิด คือ Flame Ionization Detector (FID) ใช้ปริมาตรสารที่ฉีด 2 ไมโครลิตร โดยมีอะซิโตไนไทรล์ เป็นสารมาตรฐานภายใน (internal standard) รีเทนชันไทม์ของเอทานอลและมีอะซิโตไนไทรล์ เท่ากับ 4.3 และ 5.4 นาที ตามลำดับ ได้ค่าความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 0.5 - 500 (มิลลิกรัม/ลิตร) มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.999 จากการทดลองโครมาโทแกรมของเอทานอล เมทานอล อะซิโตน 1-โพรพานอล และ 2-โพรพานอล แยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน และผลการทดลองระหว่างวันและภายในวันเดียวกัน ให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (Coefficient Variation; CV) ต่ำกว่าร้อยละ 8 และค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.25 (มิลลิกรัม/ลิตร) งานวิจัยนี้ประสบผลสำเร็จในการแยกสารเอทานอล เมทานอล อะซิโตน 1-โพรพานอล และ 2-โพรพานอล ออกจากตัวอย่างปัสสาวะได้อย่างมีความถูกต้อง แม่นยำและน่าเชื่อถือ แต่อย่างไรก็ตาม วิธีดังกล่าวข้างต้นคงไม่เหมาะกับการตรวจวัดตัวอย่างที่ต้องทำการสกัดก่อนฉีดเข้าสู่เครื่อง (GC-FID)

G. K. Buckee และคณะ [11] ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเบียร์ โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีโดยไม่ต้องทำการสกัดสารตัวอย่างก่อนฉีดเข้าสู่ระบบ ในงานวิจัยนี้จะใช้การฉีดสารแบบอัตโนมัติ (Auto-sampler) และใช้เครื่องตรวจวัดชนิดเฟลมไอออไนเซชัน (Flame Ionization Detector, FID) โดยทำการเตรียมเอทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆในน้ำ แล้วเติม n-butanol ซึ่งในเป็นสารมาตรฐานภายใน (Internal standard) จากนั้นซึ่งนำไปวิเคราะห์กับตัวอย่างเบียร์ที่ผ่านการไล่แก๊สและกรองแล้ว จะได้ค่า Repeatability และค่า Reproducibility เท่ากับ 0.061 และ 0.136 ตามลำดับ และได้ค่าความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วงร้อยละ 0.93 – 6.05 (ปริมาตร/ปริมาตร) เมื่อนำผลการทดลองที่ได้ไปเปรียบเทียบกับวิธีแก๊สโครมาโทกราฟีจะพบว่าทั้งสองวิธีมีความเที่ยงที่ใกล้เคียงกัน

Nantaka. T และคณะ [12] ได้ทำการศึกษาวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยสกัดเอทานอลเข้าสู่ชั้นคลอโรฟอร์ม และตรวจวัดด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีโดยมีเครื่องตรวจวัด คือ Flame Ionization Detector (FID) และเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ คือ อัตราส่วนระหว่างคลอโรฟอร์มกับสารตัวอย่าง เพื่อสกัดเอทานอลเข้าสู่ชั้นคลอโรฟอร์ม พบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสม คือ คลอโรฟอร์ม : สารตัวอย่าง เท่ากับ 5 : 10 มิลลิลิตร ความเที่ยงของการสกัดสารตัวอย่างขวดเดียวกัน มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ ±1.84 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค (GC-FID) และ ±2.03 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค (FT-IR) ตามลำดับ ความเที่ยงของการสกัดสารตัวอย่างต่างขวดกัน มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ ±1.84 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค (GC-FID) และ ±1.38 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค (FT-IR) ตามลำดับ ความเที่ยงของการฉีดและการวัด มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ ±2.92 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค (GC-FID) และ ±1.60 เปอร์เซ็นต์สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค (FT-IR) ตามลำดับ ใช้สภาวะที่เหมาะสมทำการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ 10 ตัวอย่าง พบว่าที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95ปริมาณเอทานอลที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธี (GC-FID) และวิธี (FT-IR) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับปริมาณเอทานอลที่ระบุไว้ที่ฉลาก การศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์พบว่า ให้ค่าร้อยละของการคืนกลับอยู่ในช่วง 85 – 111

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ibrahim A. Wasf และคณะ [13] ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเลือดโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปคสเปคโทรมิเตอร์ (GC-MS) และใช้ headspace ควบคู่ไปด้วยในโหมด isothermal ตลอดการทดลอง ในการทดลอง ใช้ n-propanol เป็นสารมาตรฐานภายใน (internal standard) วิธีการใช้ headspace เก็บเอาตัวอย่างเลือดที่เป็นสารระเหยนำมาตรวจวัดด้วยเวลา 2.6 นาที ได้ค่าความเป็นเส้นตรงที่สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.999 ในช่วงความเข้มข้น 5 - 200 มิลลิลิตรต่อเดซิลิตร และได้ค่าขีดจำกัด ของการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดของปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.2 และ 0.02 มิลลิลิตรต่อเดซิลิตร ตามลำดับ และได้ค่าสัมประสิทธิ์ของความผันแปร (%CV) น้อยกว่า 5เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นวิธีการนี้จึงถือว่ามีความรวดเร็วและมีความเที่ยงสูง แต่วิธีการนี้มีความซับซ้อนในการเตรียมสารตัวอย่างและต้องใช้ headspace เก็บตัวอย่างร่วมด้วย โดยฉีดเข้าโดยตรงไม่ได้จึงยังถือว่าไม่ใช่วิธีที่ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ความบริสุทธิ์ (99%)	ยี่ห้อและประเทศผู้ผลิต
เอทานอล (Ethanol)	C_2H_5OH	99.80	CARLO,FRANCE
1-ออกทานอล (1-octanol)	$C_8H_{18}O$	99.00	SIGMA,USA
อะซิโตไนไทรล์ (Acetonitrile)	CH_3CN	99.50	FISON,ENGLAND

3.1.2 อุปกรณ์

1) บีกเกอร์
2) ปิเปตและ ไมโครปิเปต
3) ขวดแก้วขนาดเล็ก (vial)
4) พาราฟิล์ม
5) นาฬิกาจับเวลา
6) ขวดวัดปริมาตร
7) เข็มฉีดสารตัวอย่าง 1(ไมโครลิตร)
8) กรวยแยก
9) ลูกยาง

3.1.3 เครื่องมือและเครื่องตรวจวัด

เครื่องมือและเครื่องตรวจวัด	บริษัทและประเทศผู้ผลิต
Gas chromatography รุ่น AERO A700	DYNAMIGA ,SWITZERLAND
Detector : flame ionizing detector (FID)	-
Column : MEGA-VOC 1	MEGA .INC,ITALY

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การเตรียมสารละลาย

3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร)

ปิเปตสารละลายเอทานอลจาก Stock Solution ร้อยละ 99.8 (ปริมาตร/ปริมาตร) มา 100, 250, 500, 1250 และ 2500 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยออกทานอลร้อยละ 99.0 (ปริมาตร/ปริมาตร) ให้มีปริมาตรเป็น 5 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) ดังตาราง 3.1

ตารางที่ 3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลร้อยละ (ปริมาตร/ปริมาตร)	ปริมาตรสารละลายเอทานอล* ที่ต้องปิเปต (ไมโครลิตร)	ปริมาตรสุดท้าย** (มิลลิลิตร)
2	100	5.0
5	250	5.0
10	500	5.0
25	1250	5.0
50	2500	5.0

* ปิเปตจากสารละลายเอทานอล (Stock Solution) ร้อยละ 99.8 (ปริมาตร/ปริมาตร)

** ปรับปริมาตรด้วยออกทานอล

3.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25, 30 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) โดยการเติมสารมาตรฐานภายใน (Internal standard)

ปิเปตสารละลายเอทานอลจาก Stock Solution ร้อยละ 99.8 (ปริมาตร/ปริมาตร) มา 100, 250, 500, 1250, 1500 และ 2500 ไมโครลิตร เติมสารละลายมาตรฐานภายใน (Internal standard) ขวดละ 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยออกทานอลร้อยละ 99.0 (ปริมาตร/ปริมาตร) ให้มีปริมาตรเป็น 5 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25, 30 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) ดังตาราง 3.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆโดยใช้อะซิโตไนไทรล์เป็นสารมาตรฐานภายใน (Internal standard)

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลร้อยละ (ปริมาตร/ปริมาตร)	ปริมาตรสารละลายเอทานอลที่ต้องปิเปต (ไมโครลิตร)	ปริมาตรสารละลาย* อะซิโตไนไทรล์ที่ต้องปิเปต (มิลลิลิตร)	ปริมาตรสุดท้าย** (มิลลิลิตร)
2	100	1	5.0
5	250	1	5.0
10	500	1	5.0
25	1250	1	5.0
30	1500	1	5.0
50	2500	1	5.0

* ปิเปตจากสารละลายเอทานอล (Stock Solution) ร้อยละ 99.8 (ปริมาตร/ปริมาตร)

** ปรับปริมาตรด้วยออกทานอล

3.2.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำ ความเข้มข้นร้อยละ 10, 25 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร)

ปิเปตสารละลายเอทานอลจาก Stock Solution ร้อยละ 99.8 (ปริมาตร/ปริมาตร) มา 2.5, 6.25 และ 12.50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized water) ให้มีปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 10, 25 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) ดังตาราง 3.3

ตารางที่ 3.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลร้อยละ (ปริมาตร/ปริมาตร)	ปริมาตรสารละลายเอทานอล* ที่ต้องปิเปต (มิลลิลิตร)	ปริมาตรสุดท้าย** (มิลลิลิตร)
10	2.50	25.0
25	6.25	25.0
50	12.50	25.0

* ปิเปตจากสารละลายเอทานอล (Stock Solution) ร้อยละ 99.8 (ปริมาตร/ปริมาตร)

** ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized water)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.3.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเครื่อง GC

3.3.1.1 การศึกษาอัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสมโดยใช้ Van deemter plot

1) นำสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) ฉีดเข้าสู่เครื่อง (GC-FID) ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร โดยทดลองฉีดที่อัตราการไหลของแก๊สพา 0.8, 1.4, 1.6, 3.0, 4.0 และ 6.0 (มิลลิลิตร/นาที) ตามลำดับ
2) คำนวณค่าจำนวนเพลท (N) และค่าความสูงของเพลท (H) ของแต่ละอัตราการไหลที่ศึกษา

3.3.1.2 ศึกษาปริมาตรของสารที่ใช้ฉีด (Injection volume)

1) นำสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) ฉีดเข้าสู่เครื่อง (GC-FID) ตามลำดับ ด้วยปริมาตร 0.01 ไมโครลิตร
2) ทำการทดลองในข้อ 1 ซ้ำ โดยเปลี่ยนปริมาตรของสารที่ใช้ฉีดเป็น 0.05 และ 0.1 ไมโครลิตร
3) นำผลที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล

3.3.1.3 การสร้างกราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

1) นำสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) ฉีดเข้าสู่เครื่อง (GC-FID) ตามลำดับ ด้วยปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร ที่อัตราการไหลของแก๊สพา 1.5 (มิลลิลิตร/นาที)
2) นำผลที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล

3.3.1.4 ศึกษาความเป็นไปได้ของการสร้างกราฟมาตรฐานแบบการเติมสารมาตรฐานภายใน(Internal standard)

1) นำสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25, 30 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) ที่เติมสารมาตรฐานภายใน ฉีดเข้าสู่เครื่อง (GC-FID) ตามลำดับ ด้วยปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร ที่อัตราการไหลของแก๊สพา 1.5 (มิลลิลิตร/นาที)
2) นำผลที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของเอทานอลต่ออะซิโตไนไทรล์กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดตัวอย่าง

3.3.2.1 ศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างต่อออกทานอลที่เหมาะสมในการสกัด

1) ปิเปตสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำ ความเข้มข้นร้อยละ 10, 25 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) มา 2 มิลลิลิตร ใส่ในกรวยแยกแต่ละกรวย จากนั้นปิเปตออกทานอล ลงไป 2 มิลลิลิตร อัตราส่วนเอทานอลต่อออกทานอล (1:1) ทำการสกัดเพื่อแยกเอทานอลเข้าสู่ชั้นออกทานอล
2) ไขกรวยแยกเพื่อเก็บสารละลายส่วนบน (ชั้นออกทานอล)
3) นำสารละลายชั้นออกทานอลที่สกัดได้ไปฉีดเข้าสู่เครื่อง (GC-FID) ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร
4) ทำการทดลองซ้ำข้อ 1-3 โดยเปลี่ยนปริมาตรสารละลายมาตรฐานเอทานอลเป็น 4 มิลลิลิตร อัตราส่วนเอทานอลต่อออกทานอล (2:1)

3.3.2.2 ศึกษาความเที่ยงของการสกัด

1) เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำ ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร)
2) ปิเปตสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำ ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) มา 4 มิลลิลิตร ใส่ในกรวยแยก จากนั้นปิเปตออกทานอล ลงไป 2 มิลลิลิตร ทำการสกัดเพื่อแยกชั้นเอทานอลเข้าสู่ชั้นออกทานอล
3) ไขกรวยแยกเพื่อเก็บสารละลายส่วนบน (ชั้นออกทานอล)
4) นำสารละลายส่วนบนที่สกัดได้ไปฉีดเข้าเครื่อง (GC-FID) ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร ฉีดซ้ำ 5 ครั้ง เพื่อหาปริมาณเอทานอล

3.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

1) ปิเปตสุราขาว 40 ดีกรี มา 4 มิลลิลิตร ใส่ในกรวยแยก จากนั้นปิเปตออกทานอลลงไป 2 มิลลิลิตร ทำการสกัดเพื่อแยกเอทานอลเข้าสู่ชั้นออกทานอล
2) ไขกรวยแยกเพื่อเก็บสารละลายส่วนบน (ชั้นออกทานอล)
3) นำสารละลายชั้นออกทานอลที่สกัดได้ไปฉีดเข้าสู่เครื่อง (GC-FID) ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร ฉีดซ้ำ 2 ครั้ง
4) ทำการทดลองซ้ำตั้งแต่ข้อ 1-3 โดยเปลี่ยนชนิดของตัวอย่างเป็นตัวอย่างไวน์แดง 13.9 ดีกรี ตัวอย่างไวน์ขาว 12.5 ดีกรี และตัวอย่างเบียร์ 5 ดีกรี
5) หาปริมาณเอทานอลที่มีในตัวอย่างโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.4 การประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธี

3.3.4.1 ศึกษาความแม่นของการวิเคราะห์

ในการหาความแม่นของการวิเคราะห์ จะพิจารณาโดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง ที่เติมสารละลายมาตรฐานเอทานอลลงไป จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน และคำนวณหาร้อยละของการคืนกลับ ตามสูตรดังนี้

$$\% \text{ Recovery} = \left[\frac{\text{Spiked sample} - \text{Sample}}{\text{Standard}}\right] \times 100$$

เมื่อ Spiked sample คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน

Sample คือ ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง

Standard คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป

3.3.4.2 ศึกษาความเที่ยงของวิธี

ในการหาความเที่ยงของวิธี จะพิจารณาจากค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ โดยทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) ฉีดซ้ำเป็นจำนวน 10 ครั้ง จากนั้นหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ตามสูตรดังนี้

$$\% \text{ RSD} = \frac{SD}{\overline{X}} \times 100$$

เมื่อ SD คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$\overline{X}$ คือ ค่าเฉลี่ย

3.3.4.3 ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) และขีดจำกัด ต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

ในส่วนนี้เป็นการหาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ของวิธี ซึ่งคำนวณได้ตามสูตรดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$LOD = y_B + 3S_B$$

$$LOQ = 10S_b$$

เมื่อ y_B, S_b คือ จุดตัดแกน y

S_B คือ $\sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$

y_i คือ ค่าจริงที่อ่านได้จากเครื่องมือ

$\hat{y}_i$ คือ ค่าที่ได้จากการแทนค่า x ลงในสมการเส้นตรง

n คือ จำนวนข้อมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษา การหาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มที่มีองค์ประกอบของแอลกอฮอล์ โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ในงานวิจัยได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี และการหาสภาวะในการสกัดตัวอย่างเพื่อให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องมากที่สุด

4.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเครื่อง GC

4.1.1 ผลการศึกษาอัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสมโดยใช้ Van deemter plot

จากการทดลองโดยการฉีดสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) เข้าสู่เครื่อง (GC-FID) ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร ที่อัตราการไหลของแก๊สพา 0.8, 1.4, 1.6, 3.0, 4.0, 6.0 (มิลลิลิตร/นาที) ตามลำดับแล้วนำมาคำนวณค่าจำนวนเพลท (N) และค่าความสูงของเพลท (H) ได้ผลการทดลองดังนี้

สมการการคำนวณค่า จำนวนเพลท (N)

$$N = 16\left(\frac{t_R}{W_b}\right)^2$$

เมื่อ t_r = retention time (min)

W = ความกว้างของฐานพีค (cm)

สมการการคำนวณหาค่า ความสูงของเพลท (H)

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

เมื่อ L = ความยาวของคอลัมน์ (cm)

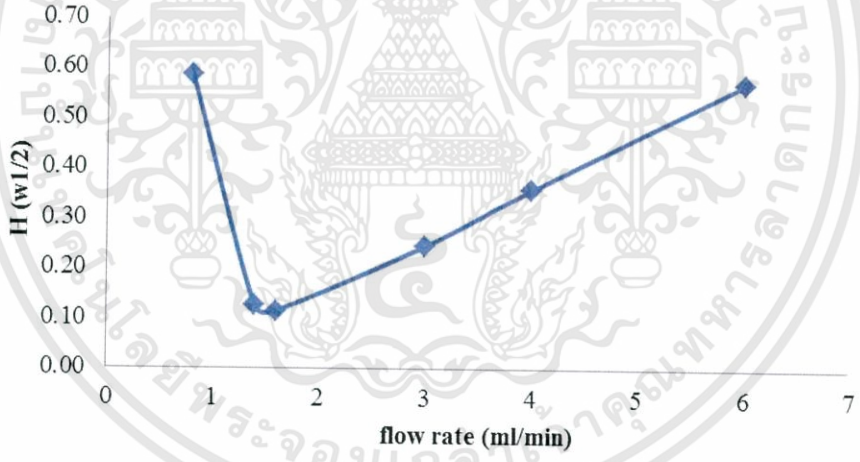
N = ครึ่งหนึ่งของจำนวนเพลท

ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.1 และ รูปที่ 4.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการทดลองของ สารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) ที่อัตราการไหลของแก๊สพาต่างๆกัน

อัตราการไหลของแก๊สพา (มิลลิลิตร/นาที)	รีเทนชันไทม์ (นาที)	ความกว้างของฐานพีค (เซนติเมตร)	จำนวนเพลท	ความยาวของคอลัมน์ (เซนติเมตร)	ความสูงของเพลท (เซนติเมตร)
0.8	5.318	1.35	3973	3000	0.7552
1.4	3.862	0.7	7792	3000	0.3850
1.6	3.445	0.45	15004	3000	0.2000
3	2.003	0.38	7113	3000	0.4218
4	1.947	0.4	6065	3000	0.4946
6	1.54	0.35	4956	3000	0.6053



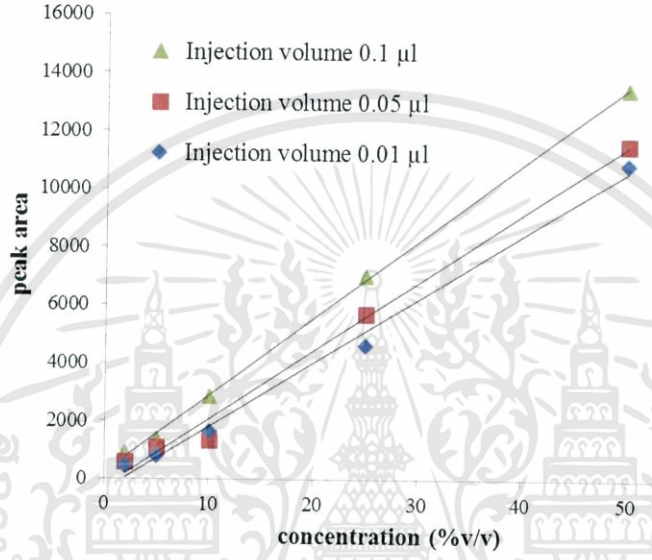
รูปที่ 4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความสูงของเพลทของสารละลายมาตรฐานเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) ที่อัตราการไหลของแก๊สพาต่างๆกัน

ผลการทดลองดังข้างต้น มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ศึกษาเกี่ยวกับ ประสิทธิภาพของคอลัมน ประสิทธิภาพของคอลัมนจะดีที่สุดเมื่อค่าความสูงของเพลทมีคานอยที่สุด และจำนวนเพลทมีจำนวนมากแสดงว่าคอลัมน์นั้นมีประสิทธิภาพในการแยกดี ดังนั้นจากผลการทดลองพบว่าที่อัตราการไหล 1.5 (มิลลิลิตร/นาที) เป็นสภาวะที่ให้ค่าความสูงของเพลทน้อยที่สุด จึงเลือกใช้ผลการทดลองดังกล่าวเป็นสภาวะที่ใช้ในการหาปริมาณเอทานอลต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 ผลการศึกษาปริมาตรของสารที่ใช้ฉีด (Injection Volume)

จากการทดลองโดยการฉีดสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) ปริมาตร 0.01 ไมโครลิตร ฉีดเข้าเครื่อง (GC-FID) เพื่อหาปริมาณเอทานอล และทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนปริมาตรของสารที่ใช้ฉีดเป็น 0.05 และ 0.1 ไมโครลิตรได้ผลการทดลองดังนี้ ผลการทดลองแสดงดังรูป 4.2 และตารางที่ 4.2



รูปที่ 4.2 แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ฉีดเข้าสู่เครื่อง (GC- FID) ที่ปริมาตร 0.1, 0.05 และ 0.01 ไมโครลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 0.2 แสดงสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อใช้ปริมาตรสารที่ฉีดแตกต่างกัน

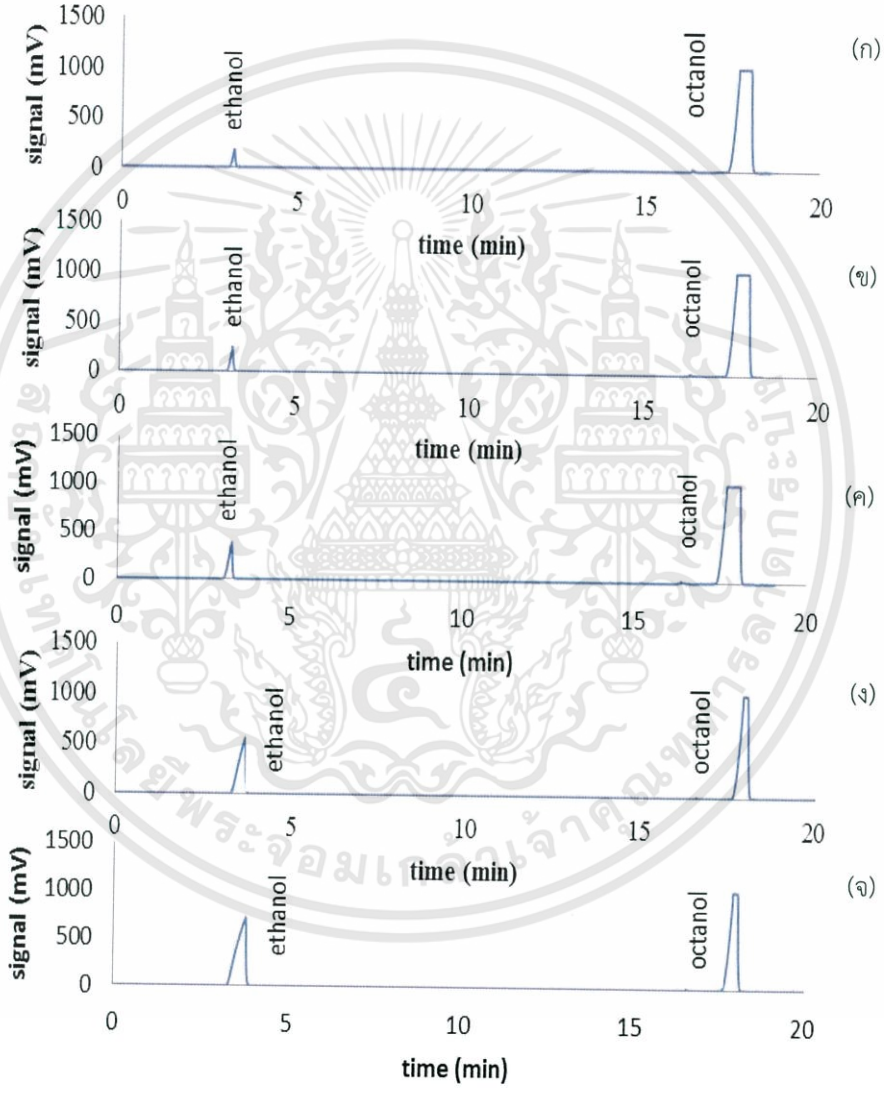
ปริมาตรของสารที่ใช้ฉีดเข้าเครื่อง (GC-FID) (ไมโครลิตร)	สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)
0.01	y = 219.04x - 359.28	0.9930
0.05	y = 235.03x - 275.33	0.9913
0.1	y = 265.01x + 238.38	0.9994

จากรูปที่ 4.1 และตารางที่ 4.2 จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาตรของสารละลายมาตรฐานเอทานอลให้มากขึ้น ค่าความชันจะเพิ่มขึ้นตามปริมาตรของสารละลายมาตรฐานเอทานอลที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงเลือกปริมาตรของสารละลายมาตรฐานเอทานอลที่ใช้ฉีดเท่ากับ 0.1 ไมโครลิตร เนื่องจากให้ค่าความชันและให้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 ผลการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

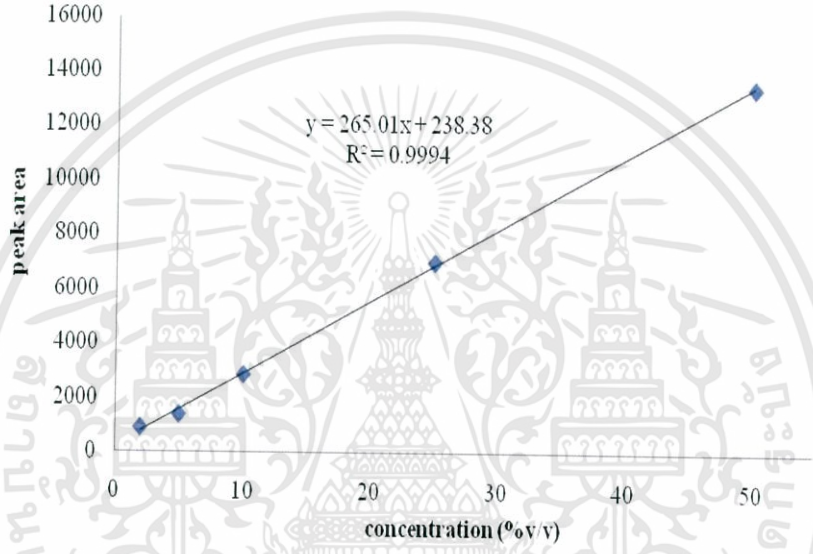
เมื่อได้ศึกษาอัตราเร็วและปริมาตรที่ใช้ในการฉีดของสารละลายมาตรฐานเอทานอล จากข้อ 4.1.1 และ 4.1.2 แสดงให้เห็นว่าที่อัตราเร็ว 1.5 (มิลลิลิตร/นาที) และที่ปริมาตรการฉีดเท่ากับ 0.1 ไมโครลิตร ให้ผลการทดลองที่ดีที่สุดตามลำดับ จึงได้ทำการสร้างกราฟมาตรฐานจากสภาวะดังกล่าว สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล แสดงตัวอย่างโครมาโทแกรมและกราฟมาตรฐานดังรูปที่ 4.3 และ 4.4 ตามลำดับ



รูปที่ 4.3 โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับเวลาเฟสเคลื่อนที่ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ (ก) ความเข้มข้นร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ข) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ค) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ง) ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) (จ) ความเข้มข้นร้อยละ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเอทานอลที่ความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้น สัญญาณที่ได้ก็จะสูงขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอล รวมถึงสภาวะที่ใช้ให้พีคสัญญาณสารละลายมาตรฐานเอทานอลที่แยกออกจากตัวทำละลายได้อย่างชัดเจน โดยมีรีเทนชันไทม์ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลและสารละลายออกทานอลเท่ากับ 3.438 และ 17.580 นาทีตามลำดับ เมื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐานก็ให้ค่าความเป็นเส้นตรงที่ดีโดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9994 ดังรูปที่ 4.4

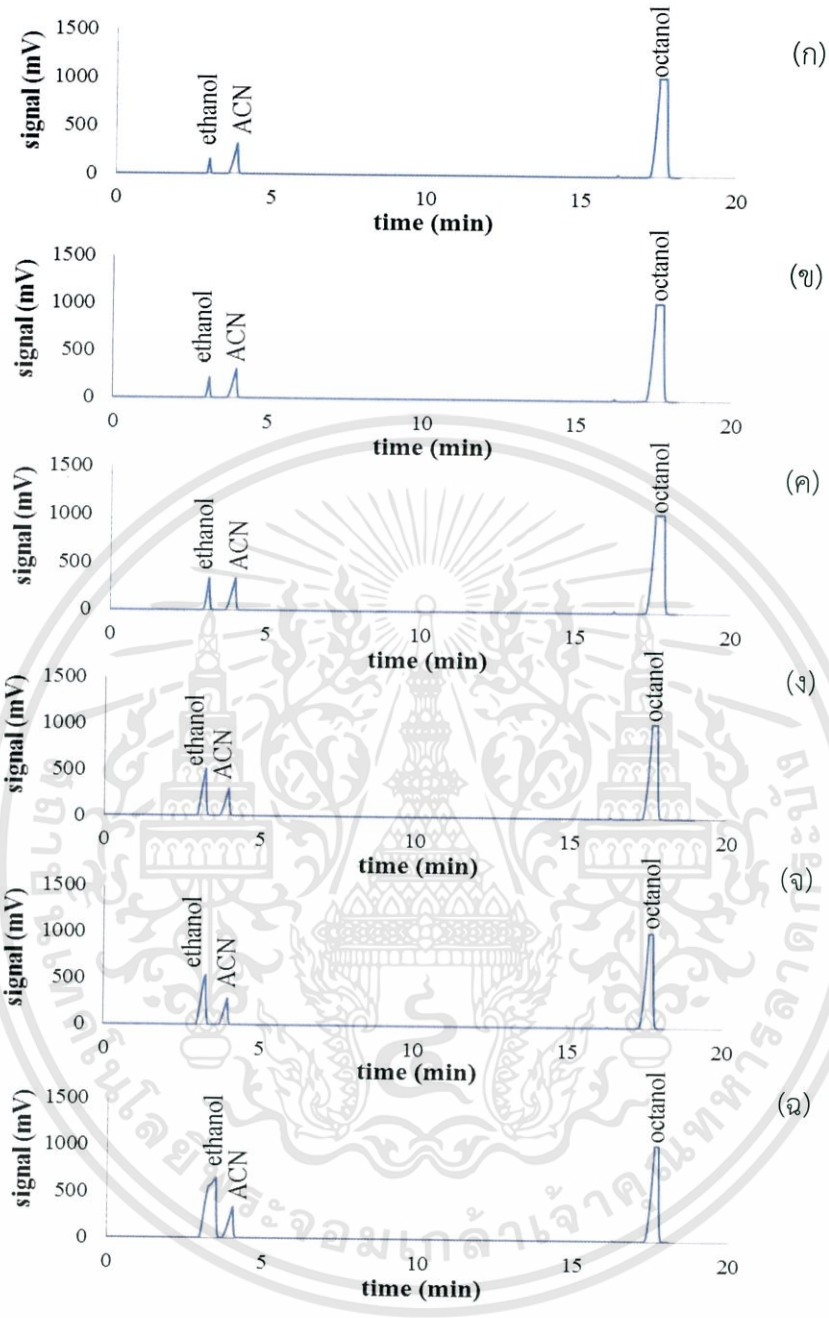


รูปที่ 4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25, 30 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร)

4.1.4 ผลการศึกษาความเป็นไปได้ของการสร้างกราฟมาตรฐานแบบ สารมาตรฐานภายใน (Internal standard)

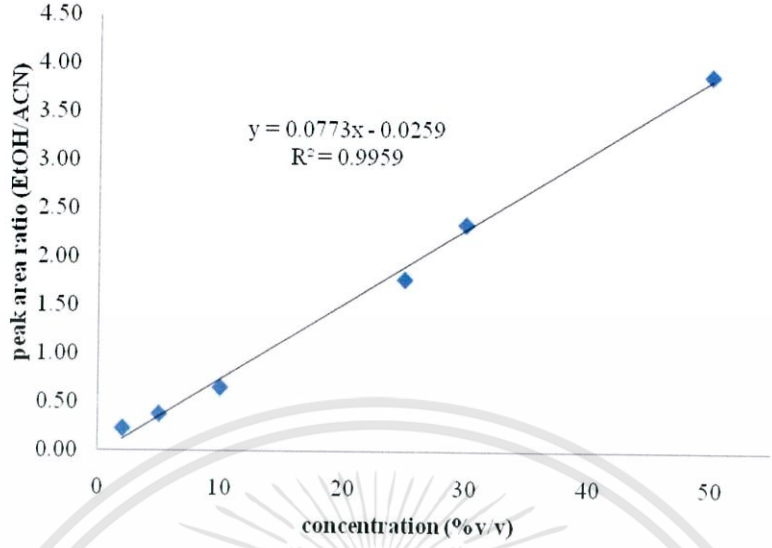
ทำการทดลองโดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล ความเข้มข้นร้อยละ2, 5, 10, 25, 30 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) โดยใช้อะซิโตไนไทรล์เป็นสารมาตรฐานภายในเนื่องจาก เป็นสารที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับเอทานอลที่เราต้องการศึกษา ไม่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอื่นรวมทั้งไม่พบเป็นองค์ประกอบในตัวอย่าง และพีคไม่ซ้อนทับกับพีคของสารละลายมาตรฐานเอทานอล นอกจากนั้นยังพบว่างานวิจัย[8] เลือกใช้อะซิโตไนไทรล์เป็นสารมาตรฐานภายในในการหาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์เช่นกัน ซึ่งให้ผลการวิเคราะห์ที่ดีให้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจที่ดี และในการทดลองนี้ให้ผลแสดงดังรูป 4.5 และ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับเวลาเฟสเคลื่อนที่ โดยมีอะซิโตไนไทรล์เป็นสารมาตรฐานภายใน ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ ความเข้มข้นต่างๆ (ก) ความเข้มข้นร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ข) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ค) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ง) ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) (จ) ความเข้มข้นร้อยละ 30 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ฉ) ความเข้มข้น ร้อยละ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง อัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลต่ออะซิโตไนไทรล์ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25, 30 และ 50 (ปริมาตร/ ปริมาตร)

จากรูปที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่า เมื่อความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลเพิ่มมากขึ้นค่าสัญญาณการตรวจวัดก็เพิ่มมากขึ้นตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานเอทานอลแยกออกจากอะซิโตไนไทรล์ได้อย่างชัดเจน โดยมีรีเทนชันไทม์ของเอทานอลและอะซิโตไนไทรล์ เท่ากับ 3.463 และ 4.435 นาที ตามลำดับ การสร้างกราฟมาตรฐานจะพลอต ระหว่างสัดส่วนจากพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานเอทานอลกับสารละลายมาตรฐานภายใน ดังแสดงในรูปที่ 4.6 พบว่า กราฟมาตรฐานที่ได้ให้ค่าความเป็นเส้นตรงที่ดีและมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9959

จากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้น แสดงให้เห็นว่าการสร้างกราฟมาตรฐานแบบสารละลายมาตรฐานภายในให้ค่าความเป็นเส้นตรงที่ดีเช่นเดียวกับการสร้างกราฟแบบสารมาตรฐานภายนอก จากรูปที่ 4.4 ในงานวิจัยนี้ได้เลือกการสร้างกราฟมาตรฐานแบบสารมาตรฐานภายในเป็นวิธีที่ใช้ในการหาปริมาณเอทานอลต่อไป เนื่องจากเมื่อเราทำการทดลองด้วยสภาวะการทดลองเดียวกัน หากพบว่าพื้นที่พีคของสารละลายมาตรฐานเอทานอนลดลง ก็จะพบว่าพื้นที่พีคของสารละลายมาตรฐานภายในก็จะลดลงด้วย เพราะฉะนั้นถ้าหากมีการกวัดแกว่งของพื้นที่พีคของสารมาตรฐานเอทานอล ก็จะมีพื้นที่พีคของสารละลายมาตรฐานภายในเป็นตัวเปรียบเทียบ ทำให้ช่วยลดความผิดพลาดที่เกิดขึ้นในการวิเคราะห์ได้

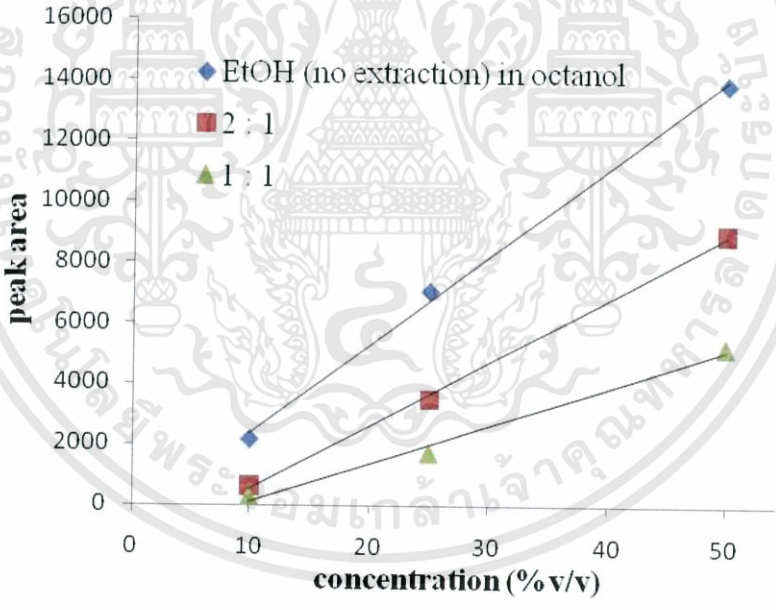
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดตัวอย่าง

ในการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดนั้น เนื่องจากในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มีน้ำเป็นองค์ประกอบ และคอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ไม่สามารถตรวจวัดสารละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบมากกว่า 35 เปอร์เซ็นต์ได้ ด้วยเหตุนี้การทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดตัวอย่างจึงจำเป็นต้องทำการสกัดเพื่อให้เอทานอลในตัวอย่างเข้าไปอยู่ในชั้นของออกทานอลทั้งหมด ก่อนฉีดเข้าสู่เครื่อง (GC-FID)

4.2.1 ผลการศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างต่อออกทานอลที่เหมาะสมในการสกัด

ทำการทดลองโดยการนำสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำ ความเข้มข้นร้อยละ 10, 25 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) มา 2 มิลลิลิตร มาสกัดกับออกทานอล ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.7 และตารางที่ 4.2



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงผลของอัตราส่วนต่างๆของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำต่อออกทานอลในการสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการทดลองการหาปริมาณเอทานอลโดยใช้อัตราส่วนเอทานอลต่อออกทานอลที่แตกต่างกัน

อัตราส่วนเอทานอลต่อออกทานอล	สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)
no extraction	y = 291.56x - 563.6	0.9977
2 : 1	y = 208.79x + 1562.5	0.9988
1 : 1	y = 124.94x - 1129.8	0.9917

จากรูปที่ 4.7 และจากตารางที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่า อัตราส่วน 2:1 ให้ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.9988 และความไวในการวิเคราะห์ที่ดีกว่า จึงเลือกอัตราส่วนนี้ในการสกัดเอทานอล ในตัวอย่างต่อไป

4.2.2 ผลการศึกษาความเที่ยงของการสกัด

ในการทดลองนี้จะทำการสกัดสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) ด้วยออกทานอล ทำการสกัดซ้ำ 5 ครั้ง เพื่อประเมินความที่ยงของการสกัด โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคที่ได้ คำนวณหาค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; SD) และร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%Relative Standard Deviation; %RSD) ของการสกัดแต่ละครั้งตามสมการดังด้านล่าง พบว่าได้ผลการทดลองดังรูปที่ 4.8

$$\bar{x} = \sum_{i=1}^{n} \frac{x_i}{n}$$

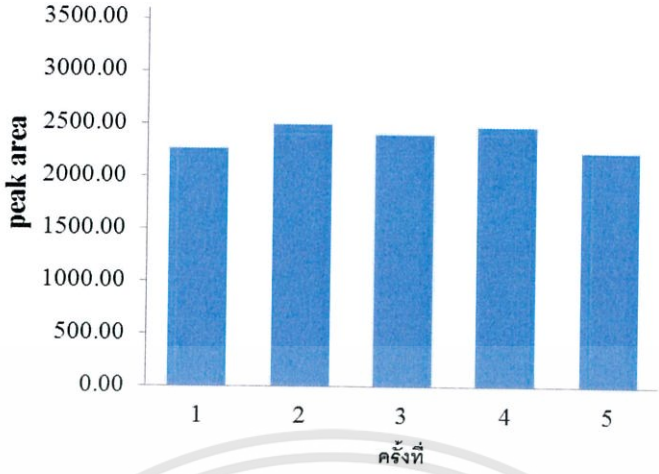
$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \hat{x})^2}{n-1}}$$

$$\%\ RSD = \frac{S}{\bar{X}} \times 100$$

เมื่อ X_i คือ ความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้

n คือ จำนวนครั้งในการสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงอัตราส่วนเอทานอลต่อออกทานอล โดยทำการสกัดซ้ำ 5 ครั้ง

จากรูปที่ 4.8 พบว่าจะได้ค่าร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของการวิเคราะห์มีค่าเท่ากับ 4.70 ซึ่งแสดงว่าในการสกัดแต่ละครั้งมีค่าใกล้เคียงกันแสดงว่าผลของการสกัดให้ความเที่ยงที่ดี

4.2.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

จากการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในสุราขาว ไวน์แดง ไวน์ขาว เบียร์ พบว่าปริมาณเอทานอลที่วิเคราะห์ได้มีค่าสูงกว่าปริมาณเอทานอลที่ระบุไว้ข้างฉลากเล็กน้อย ผลการทดลองที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ

ตัวอย่าง	ครั้งที่	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร)	
		งานวิจัยนี้	ฉลาก
สุราขาว	1	49.90±0.61	40
	2	43.95±0.61	40
ไวน์แดง	1	12.55±0.54	13.9
	2	13.20±0.54	13.9
ไวน์ขาว	1	14.95±0.08	12.5
	2	14.85±0.08	12.5
เบียร์	1	6.25±0.06	5
	2	6.25±0.06	5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณเอทานอลที่หาได้จากงานวิจัยนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลด้วยวิธีทางสถิติพบว่า t_{stat} และ t_{crit} เท่ากับ 1.94 และ 2.36 ตามลำดับ ($t_{stat} < t_{crit}$) ซึ่งแสดงว่าผลการวิเคราะห์ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อเทียบกับปริมาณเอทานอลที่ระบุบนฉลาก ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีนั้นสามารถไปประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ

4.3 การประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธี

4.3.1 ผลการศึกษาความแม่นของการวิเคราะห์

ในการหาความแม่นของวิธีวิเคราะห์จะประเมินจากค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน และค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ ซึ่งแสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.5 ผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล

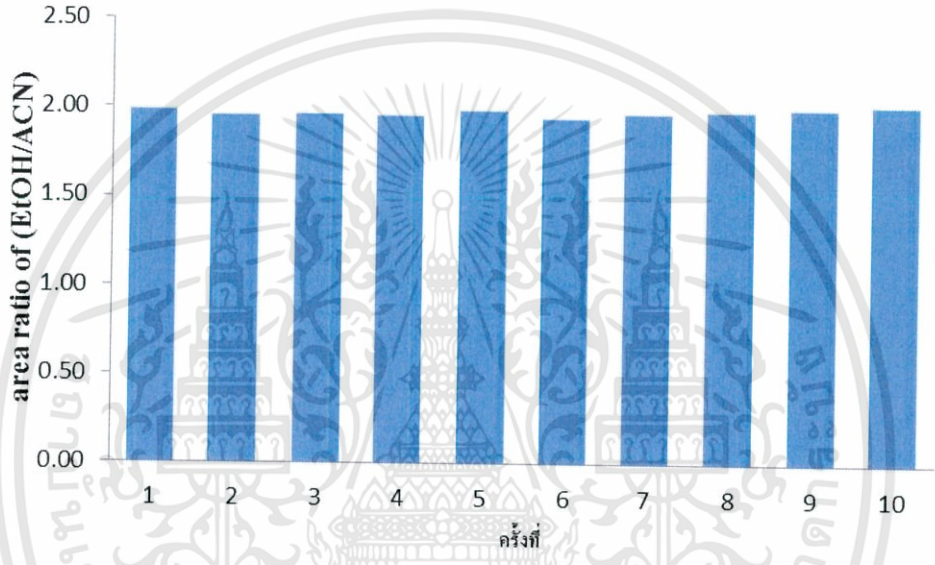
ตัวอย่าง	ครั้งที่	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร)			ร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ
		ที่มีอยู่เดิม	ที่เติมลงไป	ที่ตรวจพบ	
สุราขาว	1	49.90±0.61	50	100.63±0.61	101.45
	2	43.95±0.61	50	96.28±0.61	104.66
ไวน์แดง	1	12.55±0.54	50	66.27±0.54	107.44
	2	13.20±0.54	50	70.10±0.54	113.80
ไวน์ขาว	1	14.95±0.08	50	67.70±0.09	105.50
	2	14.85±0.08	50	67.05±0.09	104.40
เบียร์	1	6.25±0.06	50	61.75±0.07	111.00
	2	6.25±0.06	50	61.25±0.07	111.00

จากตารางที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล ร้อยละการคืนกลับอยู่ในช่วง 101.45 – 111.00 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมทริกซ์ในตัวอย่างไม่รบกวนการวิเคราะห์ จึงสรุปได้ว่าวิธีที่ใช้หาปริมาณเอทานอลด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีนี้มีความแม่นที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ผลการศึกษาความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์

ในการทดลองนี้จะทำการศึกษาความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ทำการวิเคราะห์สารสารละลายมาตรฐานเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ25 (ปริมาตร/ปริมาตร) นำมาฉีดซ้ำเป็นจำนวน 10 ครั้ง โดยนำค่าพื้นที่ใต้พีคที่คำนวณได้หาค่าเฉลี่ย ($\bar{x}$) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; SD) และร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%Relative Standard Deviation; %RSD) ตามสมการ ได้ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงสารสารละลายมาตรฐานเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) โดยทำการฉีดซ้ำ 10 ครั้ง

จากรูปที่ 4.9 พบว่าค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าเท่ากับ 1.16 จึงถือได้ว่าวิธีนี้มีความเที่ยงของการวิเคราะห์ที่ดี

4.3.3 ผลศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (Limit of Detection,LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation,LOQ)

ในส่วนนี้เป็นการหาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ของวิธี ซึ่งคำนวณได้ตามสูตรดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$LOD = y_B + 3S_B$$

$$LOQ = 10S_b$$

เมื่อ y_B, S_b คือ จุดตัดแกน y

S_B คือ $\sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$

y_i คือ ค่าจริงที่อ่านได้จากเครื่องมือ

$\hat{y}_i$ คือ ค่าที่ได้จากการแทนค่า x ลงในสมการเส้นตรง

n คือ จำนวนข้อมูล

เมื่อแทนค่าที่วิเคราะห์ได้ลงในสมการจะได้ LOD เท่ากับร้อยละ 0.6465 (ปริมาตร/ปริมาตร) และ LOQ เท่ากับร้อยละ 4.875 (ปริมาตร/ปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1.1 ในงานวิจัยนี้ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยอาศัยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีโดยใช้เครื่องวัดสัญญาณคือเฟรมไอโอไนเซชันดีเทคเตอร์ พบว่าได้สภาวะที่เหมาะสมดังต่อไปนี้

1) อัตราการไหลของแก๊สพา – 1.5 มิลลิลิตร/นาที
2) ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานเอทานอลที่ฉีดเข้าเครื่อง – 0.1 ไมโครลิตร
3) อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างเอทานอลต่อออกทานอลในการสกัด – 2 : 1

5.1.2 ผลจากการประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธี เป็นดังนี้

1) ช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับร้อยละ 2 – 50 (ปริมาตร/ปริมาตร)
2) สมการเชิงเส้นตรงเท่ากับ $y = 0.0773x - 0.0259$
3) สัมประสิทธ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9959
4) ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับอยู่ในช่วง 101.45 – 111.00
5) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ร้อยละ 1.16
6) ขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดและขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณเท่ากับร้อยละ 0.65 และ 4.88 (ปริมาตร/ปริมาตร) ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

1) ในการศึกษาการสกัดสารตัวอย่าง ปริมาตรสารตัวอย่างที่นำมาสกัดมีปริมาตรน้อย ควรใช้กรวยแยกขนาดเล็ก หรือขวดแก้วขนาดเล็ก (vial) ในการสกัดสารตัวอย่าง
2) ในการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัด ควรเพิ่มอัตราส่วนของสารละลายมาตรฐานเอทานอล และระยะเวลาในการสกัดสารตัวอย่างให้มากขึ้น เพื่อให้ปริมาณเอทานอลขึ้นมาอยู่ในชั้นออกทานอลได้ทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] สุราไทย. 2558. **การผลิตสุรากลั่นชุมชน** [online].
Available : https://surathai.wordpress.com/2011/05/15/thaidistill/.

[2] วิชาการ. 2551. **กระบวนการในการผลิตเบียร์** [online].
Available : http://www.vcharkarn.com/blog/37836.

[3] johnnywalker. 2554. **กระบวนการผลิตไวน์** [online].
Available : http://johnny-johnnywalker.blogspot.com/p/blog-page_8368.html.

[4] ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 2927. (พ.ศ.2544). **"เรื่องการกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมสุรากลั่น"**. เล่ม 118 ตอน 94ง.

[5] Environmental Engineering Chula. 2553. **หลักการของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี** [online]. Available : http://www.env.eng.chula.ac.th/?q=content%2F-gaschromatograph.

[6] MO Memoir. 2557. **หลักการของ FID** [online].
Available : http://tamagozzilla.blogspot.com/2009/08/mo-memoir-flame-ionisation-detector.html.

[7] วีรชัย สัมฤทธิ์ภาพ และ อัครวัฒน์ สิทธาพาณิช. (2548). **"การวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเหล้าใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี"**. คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

[8] Mei-ling Wang, Jih-Terng Wang, Youk-Meng Choong. 2004. **"Simultaneous quantification of methanol and ethanol in alcoholic beverages using a rapid gas chromatographic method coupling with dual internal standards"**. Food Chemistry. 86: 609-615.

[9] Helena Pontes, Paula Guedes de Pinho, Susana Casal, Helena Carmo, Agostinho Santos, Teresa Magalhães, Fernando Remião, Félix Carvalho1, and Maria Lourdes Bastos.2009. **"GC Determination of Acetone, Acetaldehyde, Ethanol, and Methanol in Biological Matrices and Cell Culture"**. Journal of Chromatographice Science. 47.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[10] Michael. Zilly, Peter. Langmann, Ulrike. Lenker, Verena. Satzinger, Diana. Schirmer and Hartwig. Klinker. 2003. **"Highly sensitive gas chromatographic determination of ethanol in human urine samples".** Journal of Chromatography B.798: 179-186.

[11] Buckee and Mundy. 1993. September-October, 381-384.

[12] นันทกา ไตรหัตถการ, พจมาน แสงนวล และ สราวุธ เหล็งเอี่ยม. (2549). **"การวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์".** คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

[13] Ibrahim Wasfi, Ahmed Hassan Al-Awadhi, Zainat Naser Al-Hatali, Fatima Juma Al-Rayami and Nawal Abdulla Al Katheeri. 2004. **"Rapid and sensitive static headspace gas chromatography–mass spectrometry method for the analysis of ethanol and abused inhalants in blood".** Journal of Chromatography B, 331–336.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลอง

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเครื่อง GC

1.1 ศึกษาอัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสมโดยใช้ Van deemter plot

ทำการศึกษาอัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสมโดยใช้ Van deemter plot โดยเลือกศึกษาที่อัตราการไหลของแก๊สพา 0.8, 1.4, 1.6, 3.0, 4.0, 6.0 (มิลลิลิตร/นาที) ตามลำดับ แล้วนำมาคำนวณค่าจำนวนเพลท (N) และค่าความสูงของเพลท (H)

ตารางที่ ก.1 (ก) แสดงผลการทดลองของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) ที่อัตราการไหลของแก๊สพาต่างๆกัน

อัตราการไหลของแก๊สพา (มิลลิลิตร/นาที)	รีเทนชันไทม์ (นาที)	ความกว้างของฐานพีค (เซนติเมตร)	จำนวนเพลท	ความยาวของคอลัมน์ (เซนติเมตร)	ความสูงของเพลท (เซนติเมตร)
0.8	5.318	1.35	3973	3000	0.7552
1.4	3.862	0.7	7792	3000	0.3850
1.6	3.445	0.45	15004	3000	0.2000
3	2.003	0.38	7113	3000	0.4218
4	1.947	0.4	6065	3000	0.4946
6	1.54	0.35	4956	3000	0.6053

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการคำนวณหาค่าความสูงของเพลท (H)

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

เมื่อ L = ความยาวของคอลัมน์ (cm)

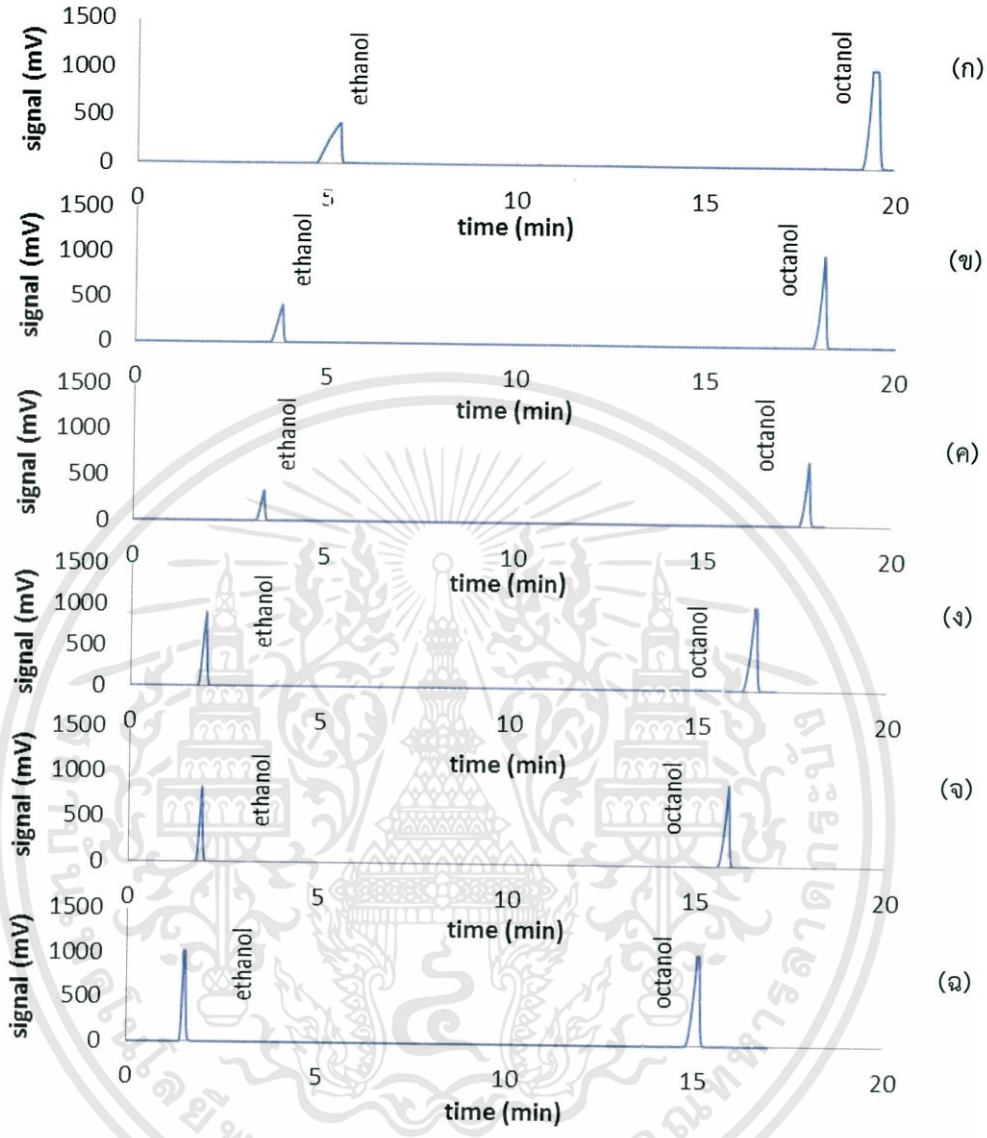
N = ครึ่งหนึ่งของจำนวนเพลท

แทนค่าในสูตรหาค่าความสูงของเพลทในกรณี เมื่ออัตราการไหลของแก๊สพาเท่ากับ 0.8 (มิลลิลิตร/นาที)

$$H = \frac{L}{N} = \frac{3000}{3973}$$

ดังนั้น H = 0.7552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก 1. (ก) โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับเวลาเฟสเคลื่อนที่ ที่ อัตราการไหลของแก๊สพาต่างๆ (ก) อัตราการไหล 0.8 (มิลลิลิตร/นาที) (ข) อัตราการไหล 1.4 (มิลลิลิตร/นาที) (ค) อัตราการไหล 1.6 (มิลลิลิตร/นาที) (ง) อัตราการไหล 3 (มิลลิลิตร/นาที) (จ) อัตราการไหล 4 (มิลลิลิตร/นาที) (ฉ) อัตราการไหล 6 (มิลลิลิตร/นาที)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ผลการศึกษาปริมาตรของสารที่ใช้ฉีด (Injection Volume)

ทำการศึกษาโดยการฉีดสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) ปริมาตร 0.01 ไมโครลิตร ตามลำดับ จากนั้นทำการทดลองซ้ำโดยเปลี่ยนปริมาตรของสารที่ใช้ฉีดเป็น 0.05 และ 0.1 ไมโครลิตร

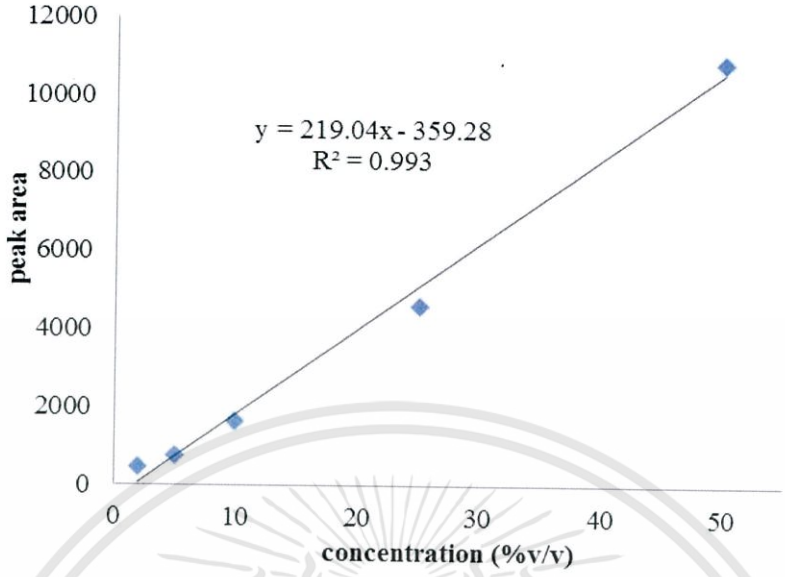
ตารางที่ ก.2 (ก) แสดงสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเมื่อใช้ปริมาตรสารที่ฉีดแตกต่างกัน

ปริมาตรของสารที่ใช้ฉีดเข้าเครื่อง (GC-FID) (ไมโครลิตร)	สมการเส้นตรง	ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2)
0.01	y = 219.04x - 359.28	0.9930
0.05	y = 235.03x - 275.33	0.9913
0.1	y = 265.01x + 238.38	0.9994

ตารางที่ ก.2 (ข) แสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร) กับพื้นที่ใต้พีค ที่ปริมาตร 0.01 ไมโครลิตร

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร)	พื้นที่ใต้พีค
2	461.810
5	781.750
10	1641.399
5	4602.213
50	10867.784

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

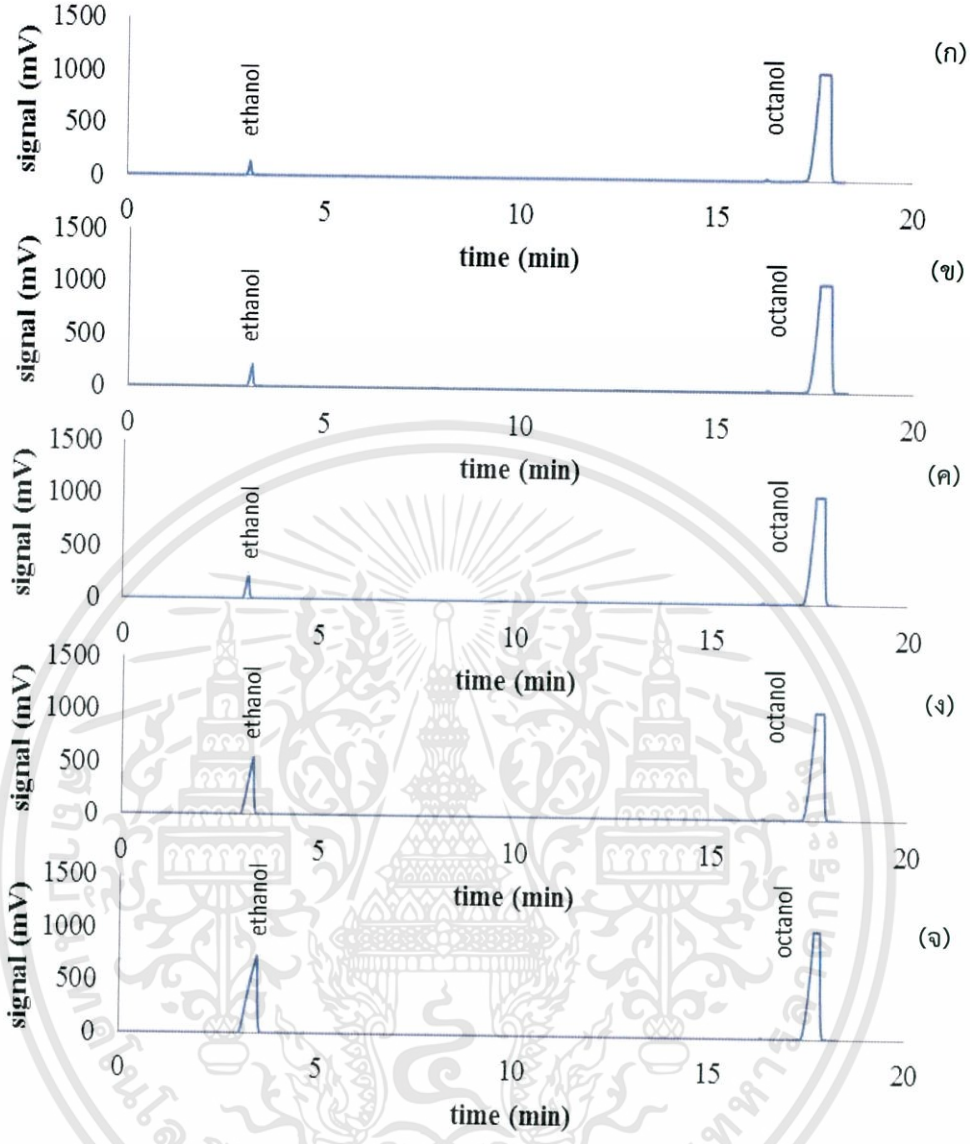


รูปที่ ก.2 (ข) แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ฉีดเข้าสู่เครื่อง (GC-FID) ที่ปริมาตร 0.01 ไมโครลิตร

ตารางที่ ก.2 (ค) แสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร) กับพื้นที่ใต้พีค ที่ปริมาตร 0.05 ไมโครลิตร

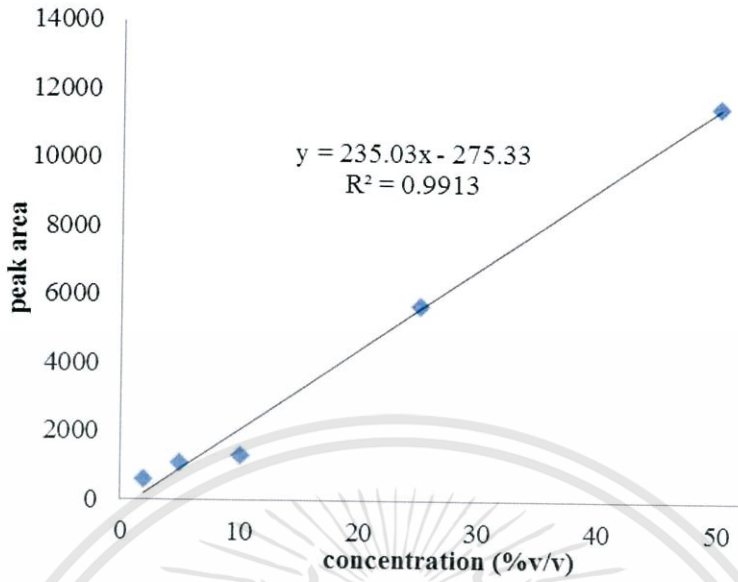
ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร)	พื้นที่ใต้พีค
2	584.843
5	1087.771
10	1332.534
25	5700.931
50	11539.911

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.2 (ค) โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับเวลาเฟสเคลื่อนที่ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ (ก) ความเข้มข้นร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ข) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ค) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ง) ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) (จ) ความเข้มข้นร้อยละ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

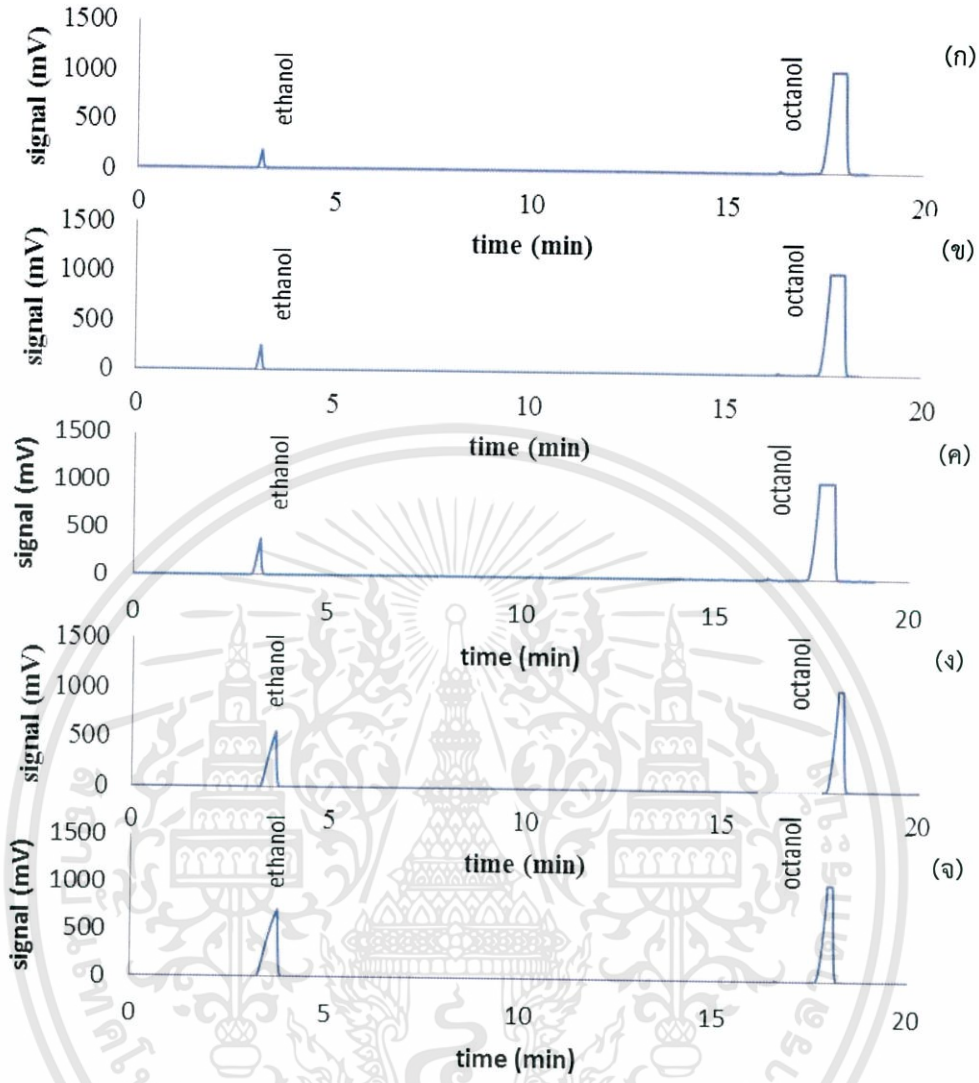


รูปที่ ก.2 (ง) แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ฉีดเข้าสู่เครื่อง (GC-FID) ที่ปริมาตร 0.05 ไมโครลิตร

ตารางที่ ก.2 (ง) แสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร) กับพื้นที่ใต้พีค ที่ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร

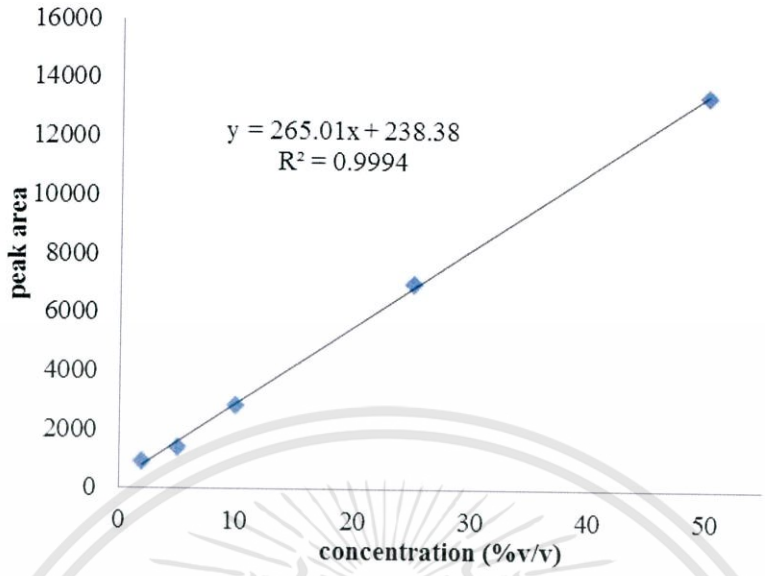
ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอล ในออกทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร)	พื้นที่ใต้พีค
2	899.055
5	1382.907
10	2851.803
25	6996.512
50	13442.727

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.2 (จ) โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับเวลาเฟสเคลื่อนที่ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ (ก) ความเข้มข้นร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ข) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ค) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ง) ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) (จ) ความเข้มข้นร้อยละ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

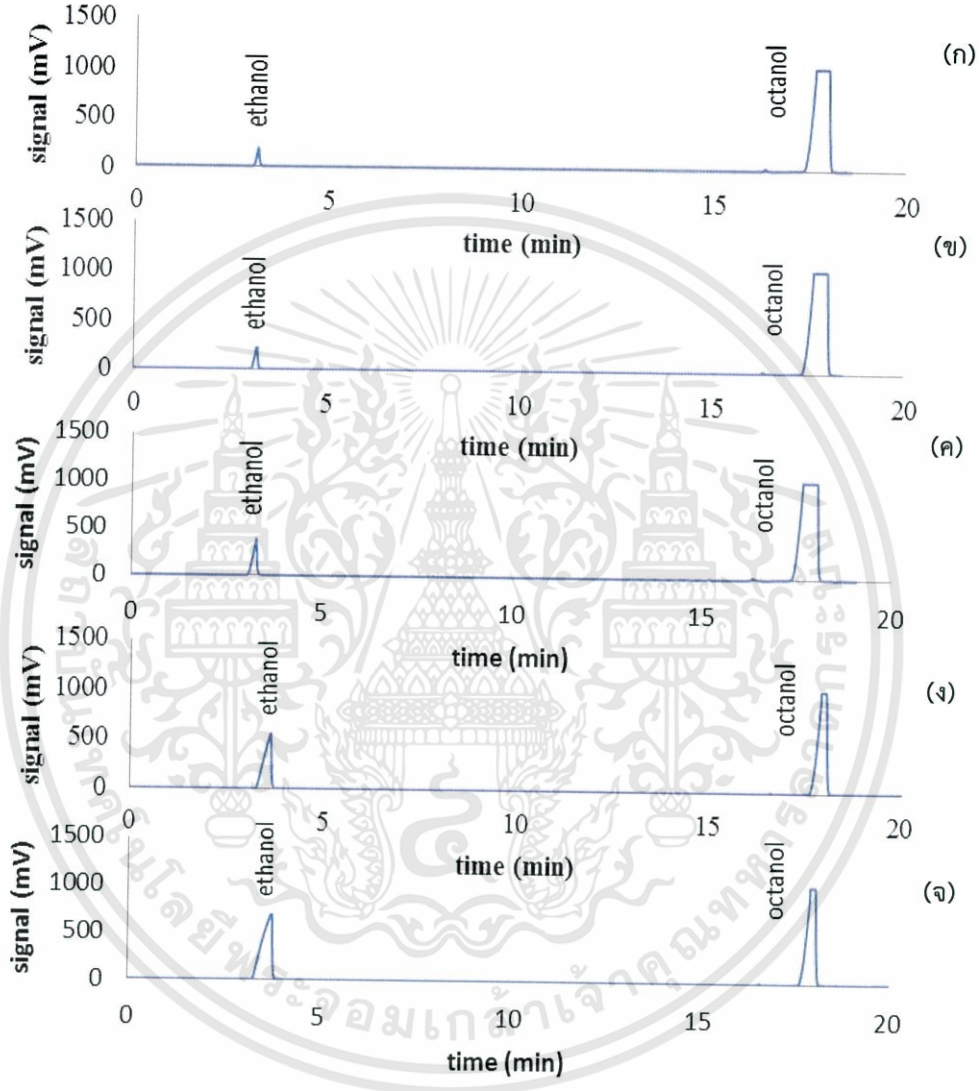


รูปที่ ก.2 (ฉ) แสดงกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ฉีดเข้าสู่เครื่อง (GC-FID) ที่ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

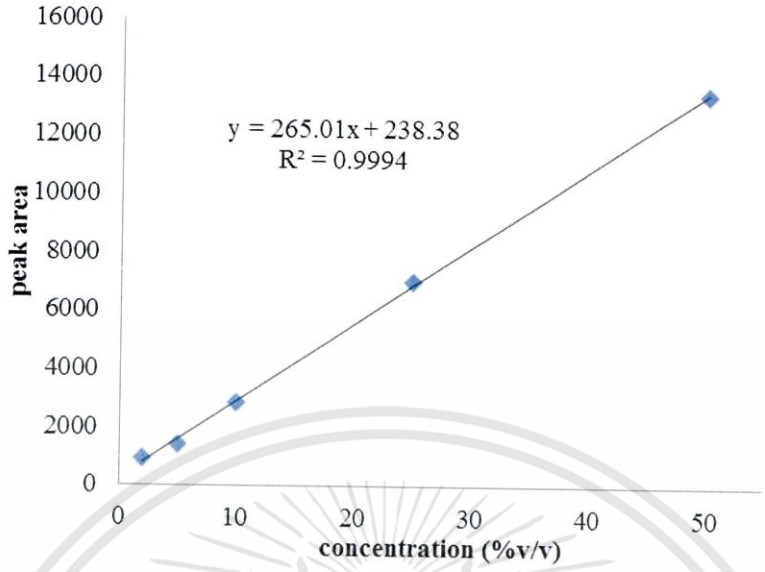
1.3 การสร้างกราฟมาตรฐานที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสม

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอออล์ แล้ว จึงได้ทำการสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล



รูปที่ ก.3 (ก) โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับเวลาเฟสเคลื่อนที่ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ (ก) ความเข้มข้นร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ข) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ค) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ง) ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) (จ) ความเข้มข้นร้อยละ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

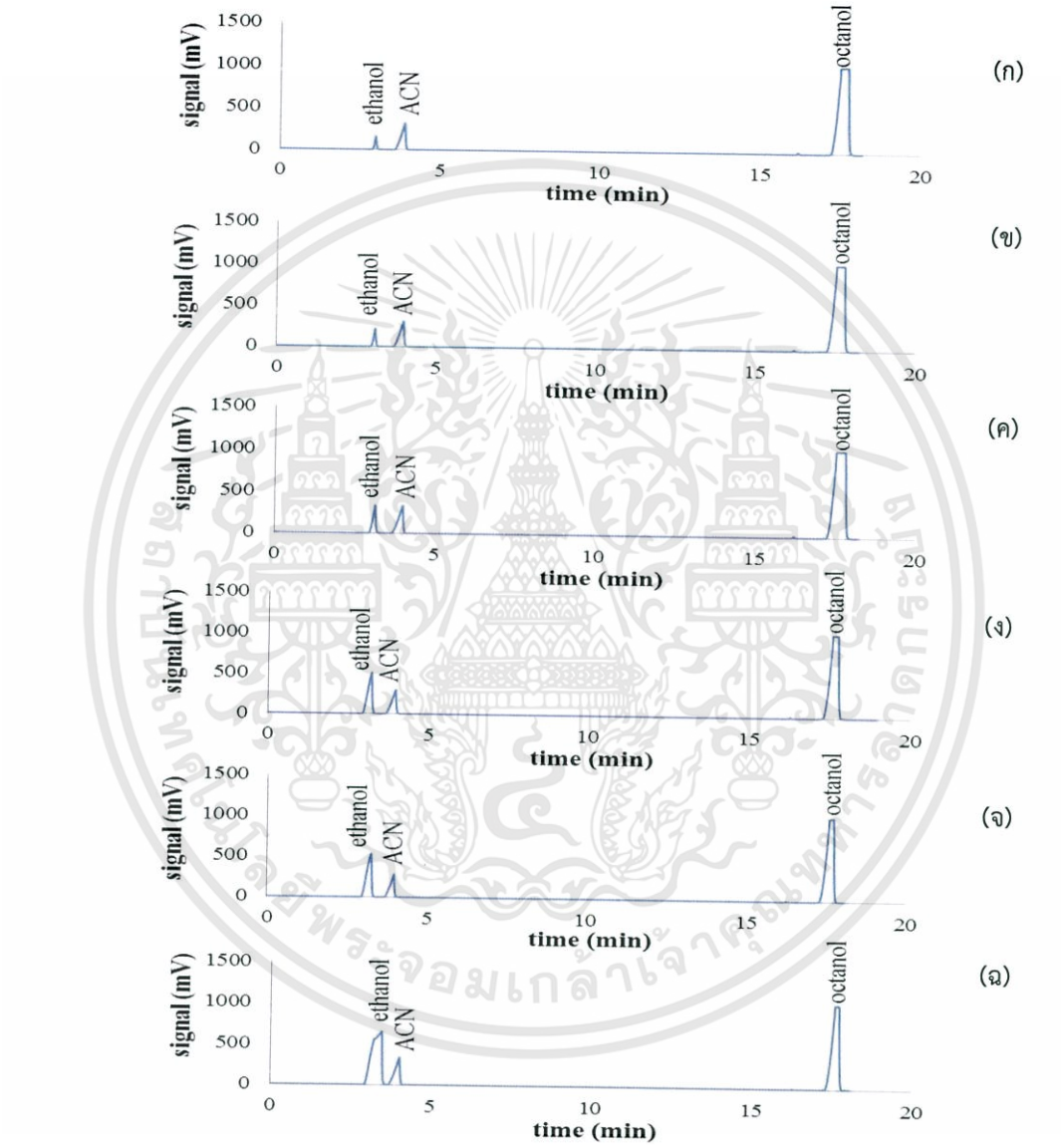


รูปที่ ก.3 (ข) กราฟมาตรฐานสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10,25, 30 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

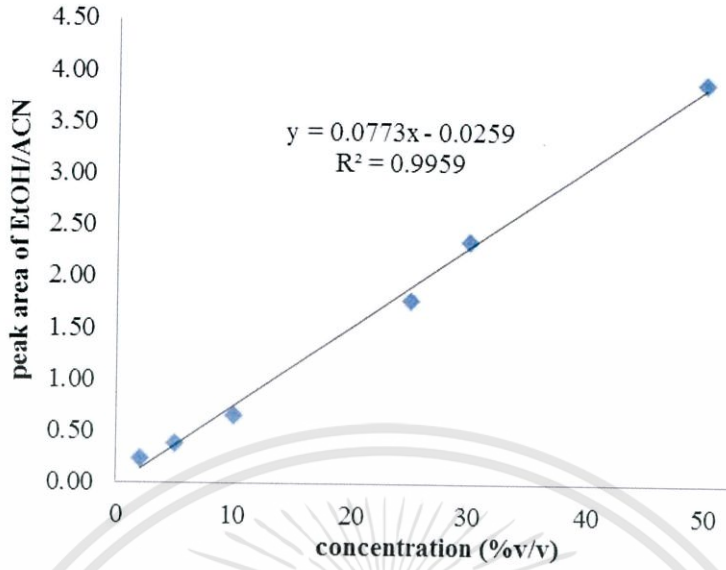
1.4 ศึกษาความเป็นไปได้ของการสร้างกราฟมาตรฐานแบบ (Internal standard)

ทำการทดลองโดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25, 30 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) โดยใช้อะซิโตไนไทรล์เป็นสารมาตรฐานภายใน ฉีดเข้าเครื่อง (GC-FID) ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร ได้ผลการทดลองแสดงดังรูป



รูปที่ ก.4 (ก) โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับเวลาเฟสเคลื่อนที่ โดยมีอะซิโตไนไทรล์เป็นสารมาตรฐานภายใน ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ (ก) ความเข้มข้นร้อยละ 2 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ข) ความเข้มข้นร้อยละ 5 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ค) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ง) ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) (จ) ความเข้มข้นร้อยละ 30 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ฉ) ความเข้มข้นร้อยละ 30 (ปริมาตร/ปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.4 (ข) แสดงกราฟมาตรฐานระหว่างอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) กับอะซิโตไนไทรล์

ตารางที่ ก.4 (ก) แสดงค่าอัตราส่วนพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 25 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) กับอะซิโตไนไทรล์

ความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลในออกทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร)	พื้นที่ใต้พีค		
	สารละลายมาตรฐานเอทานอล	สารละลายมาตรฐานออกทานอล	สารละลายมาตรฐานเอทานอลต่ออะซิโตไนไทรล์
2	663.619	2860.313	0.2320092
5	1055.462	2772.977	0.3806241
10	2155.245	3273.113	0.6584695
25	4831.626	2721.108	1.7756098
30	5813.770	2479.778	2.3444720
50	15278.639	3929.472	3.8882168

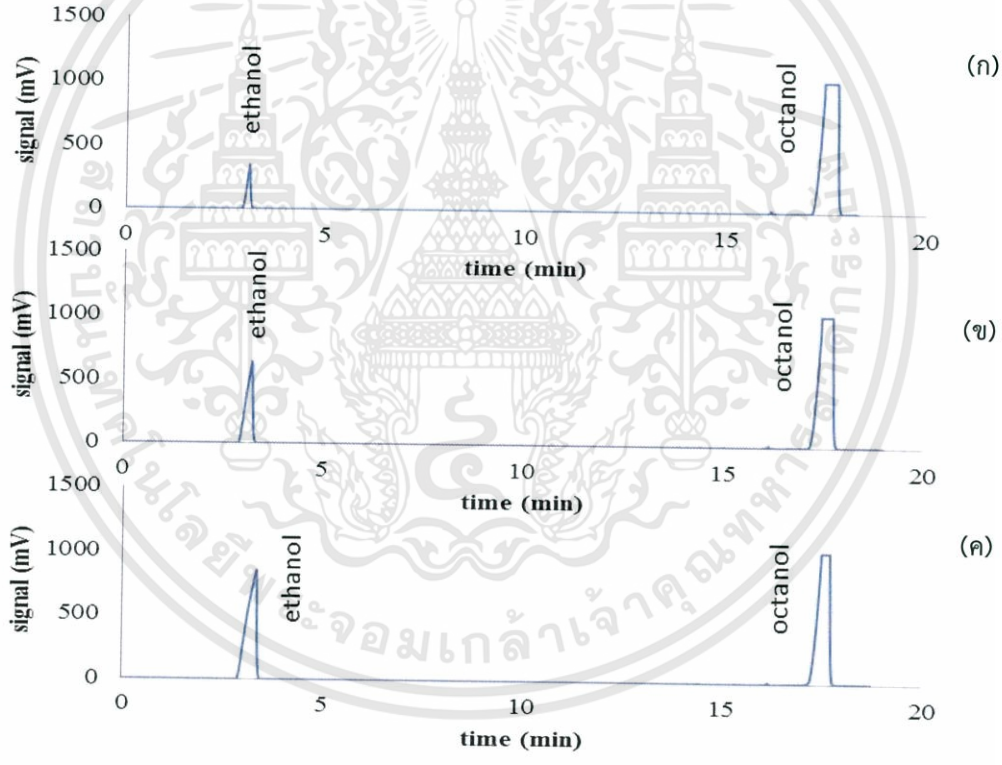
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดตัวอย่าง

2.1 ศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างต่อออกทานอลที่เหมาะสมในการสกัด

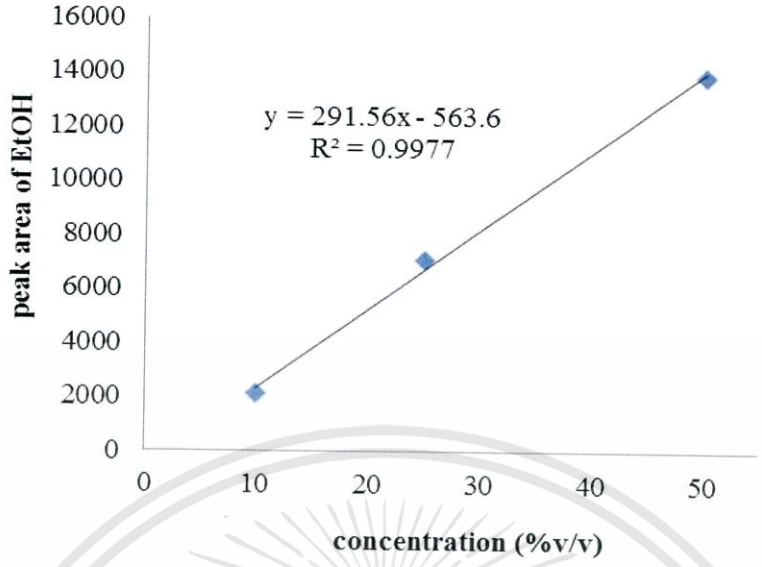
ทำการทดลองโดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 10, 25 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) มา 2 มิลลิลิตร นำมาสกัดกับออกทานอล ได้ผลการทดลองดังนี้

2.1.1 แสดงโครมาโทแกรมของ อัตราส่วนของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ไม่ได้สกัด



รูปที่ ข.1 (ก) โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับเวลาเฟสเคลื่อนที่ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ (ก) ความเข้มข้นร้อยละ10 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ข) ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ค) ความเข้มข้นร้อยละ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



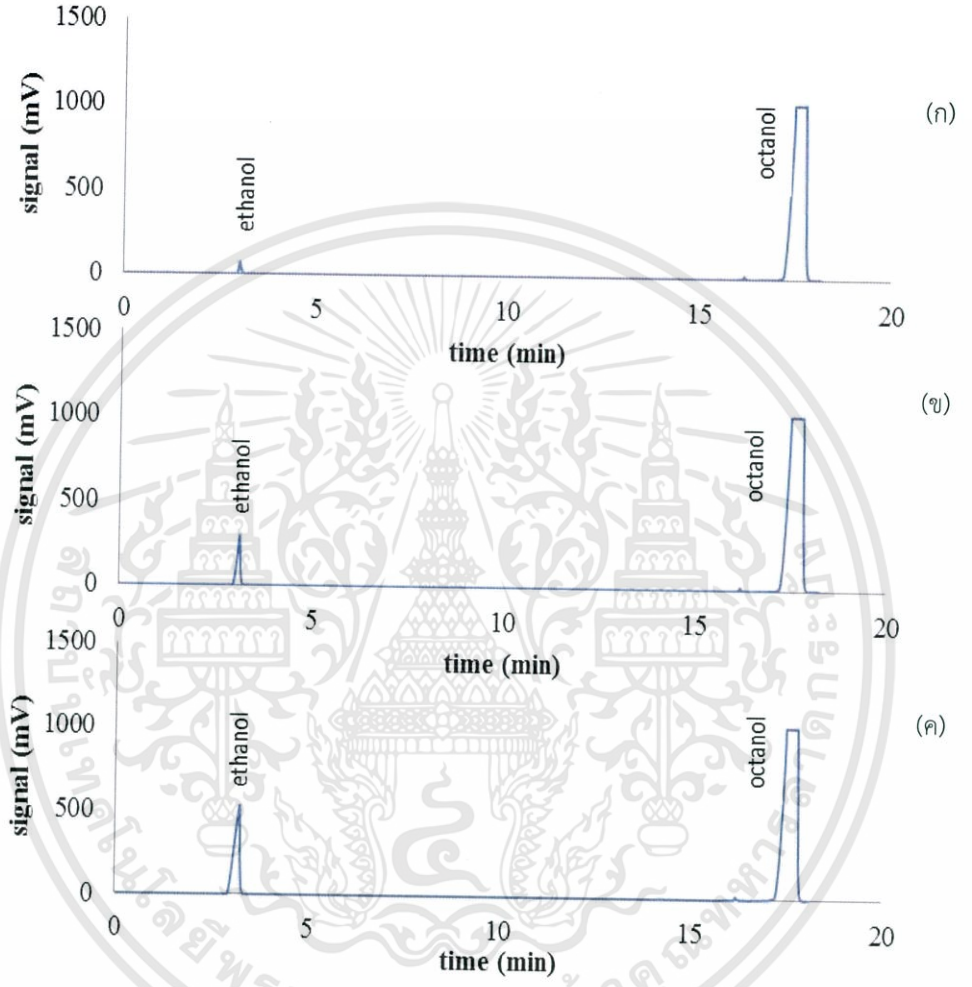
รูปที่ ข.1 (ข) กราฟแสดงผลของอัตราส่วนของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ไม่ได้สกัด

ตารางที่ ข.1 (ข) แสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลไม่ได้สกัด (ปริมาตร/ปริมาตร) กับพื้นที่ใต้พีค

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร)	พื้นที่ใต้พีค
10	2149.182
25	7049.766
50	13892.560

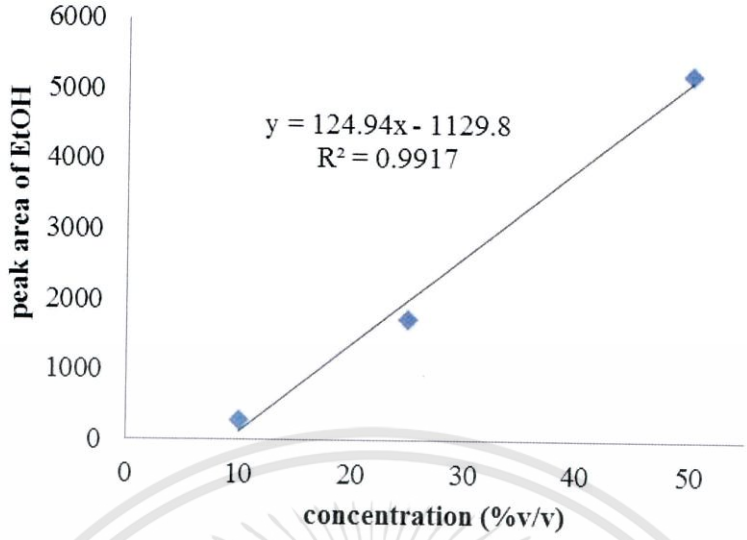
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 แสดงโครมาโทแกรมของอัตราส่วนของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล (1:1)



รูปที่ ข.1 (ค) โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับเวลาเฟสเคลื่อนที่ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ (ก) ความเข้มข้นร้อยละ10 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ข) ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ค) ความเข้มข้นร้อยละ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



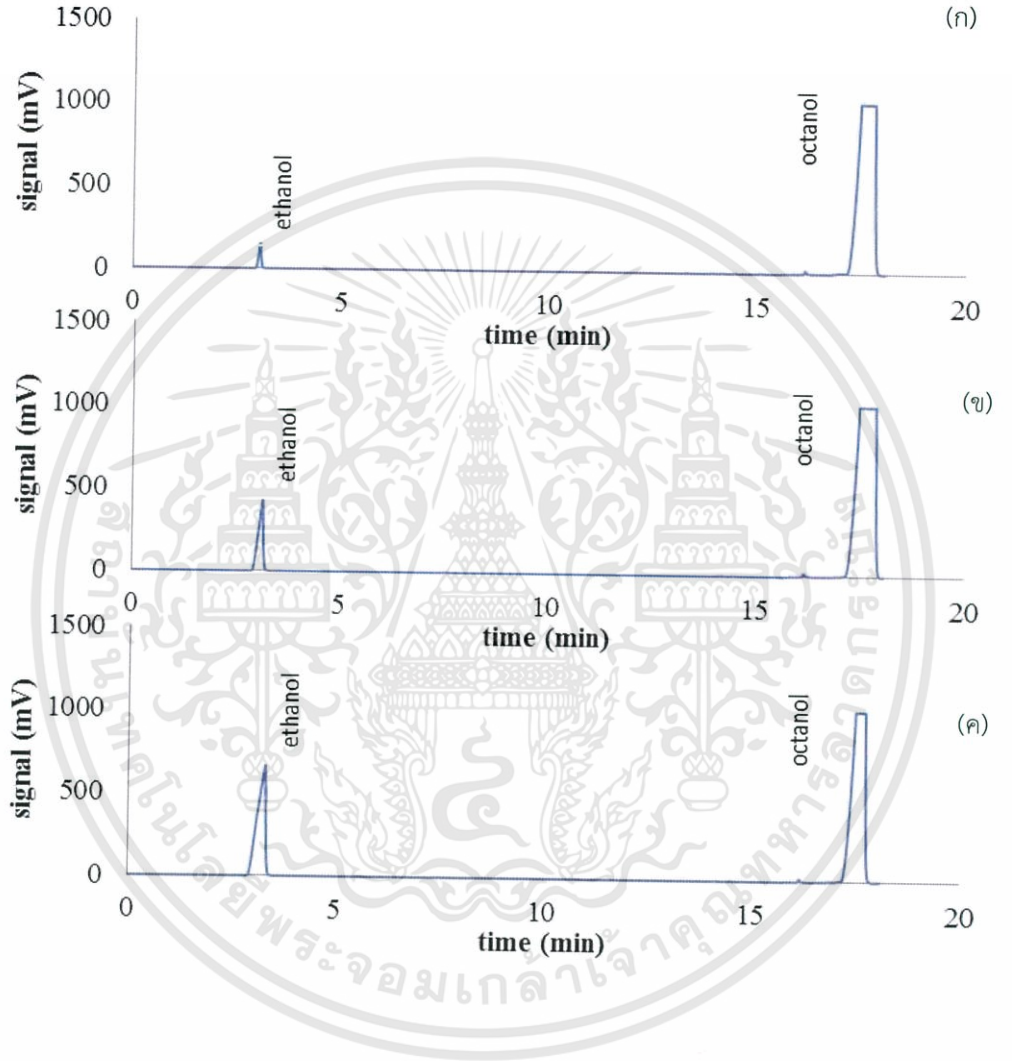
รูปที่ ข.1 (ง) กราฟแสดงผลของอัตราส่วน (1 : 1) ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำต่อออกทานอลในการสกัด

ตารางที่ ข.1 (ค) แสดงค่าความเข้มข้นของอัตราส่วน (1 : 1) ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำต่อออกทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร) กับพื้นที่ใต้พีค

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร)	พื้นที่ใต้พีค
10	284.790
25	1729.426
50	5216.408

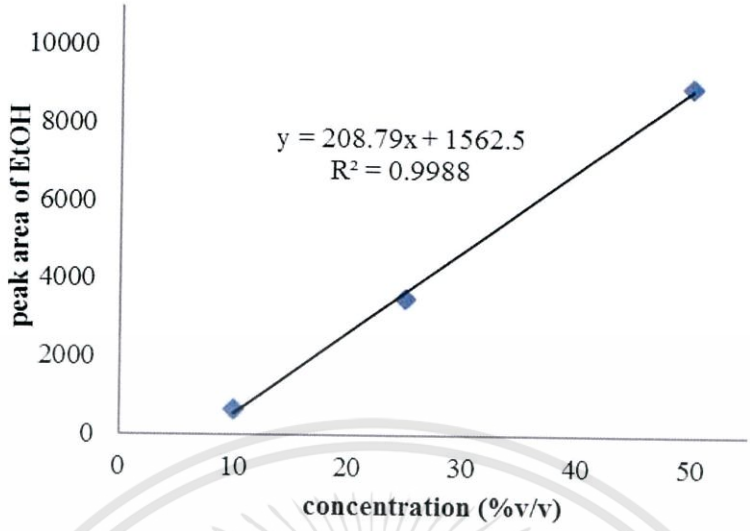
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 แสดงโครมาโทแกรมของอัตราส่วนของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล (2:1)



รูปที่ ข.1 (จ) โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับเวลาเฟสเคลื่อนที่ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ (ก) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ข) ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) (ค) ความเข้มข้นร้อยละ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.1 (ฉ) กราฟแสดงผลของอัตราส่วน (2 : 1) ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำต่อออกทานอลในการสกัด

ตารางที่ ข.1 (ง) แสดงค่าความเข้มข้นของอัตราส่วน (2 : 1) ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำต่อออกทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร) กับพื้นที่ใต้พีค

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอล ในออกทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร)	พื้นที่ใต้พีค
10	627.925
25	3493.438
50	8938.733

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ศึกษาความเที่ยงของการสกัด

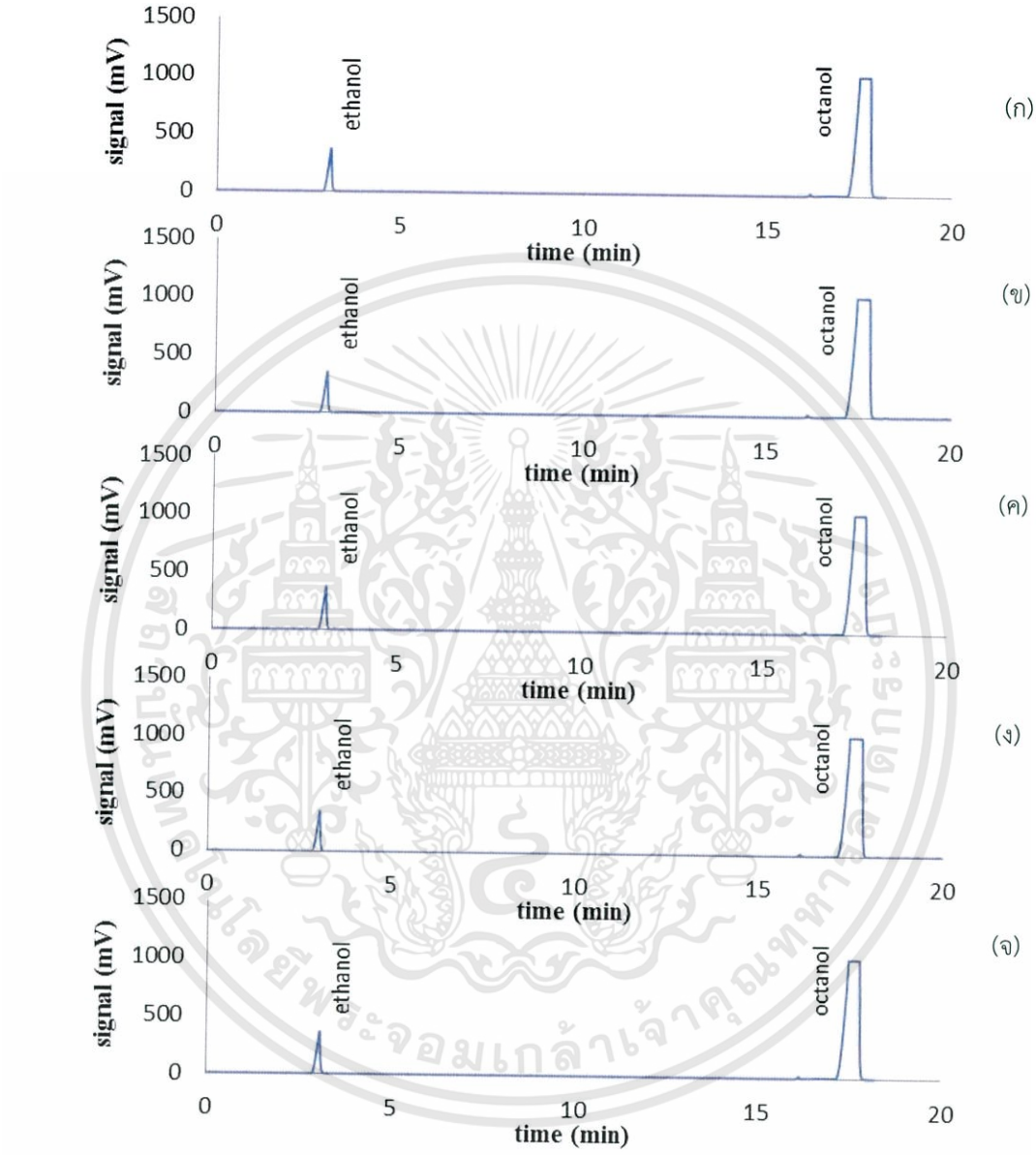
ในการทดลองจะทำการสกัดสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) ด้วยออกทานอล ทำการสกัดซ้ำ 5 ครั้ง เพื่อหาค่าความไม่แน่นอนของการสกัด โดยนำค่าความเข้มข้นที่ได้ คำนวณหาค่าเฉลี่ย ($\bar{x}$) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; SD) และร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%Relative Standard Deviation; %RSD) ของการสกัด

ตารางที่ ข.2 (ก) แสดงผลการทดลองอัตราส่วนเอทานอลต่อออกทานอล โดยทำการสกัดซ้ำ 5 ครั้ง

จำนวนครั้งครั้งที่ทำการสกัด	พื้นที่ใต้พีค	รีเทนชันไทม์ (นาที)
1	2262.40	3.112
2	2488.31	3.063
3	2400.55	3.145
4	2466.18	3.150
5	2228.84	3.130
ค่าเฉลี่ย	2369.26	3.120
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	111.24	0.033
%RSD	4.70	1.062

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 โครมาโทแกรมแสดงความเที่ยงของการสกัด อัตราส่วนสารละลายเอทานอลต่อออกทานอล (2:1) จำนวน 5 ครั้ง

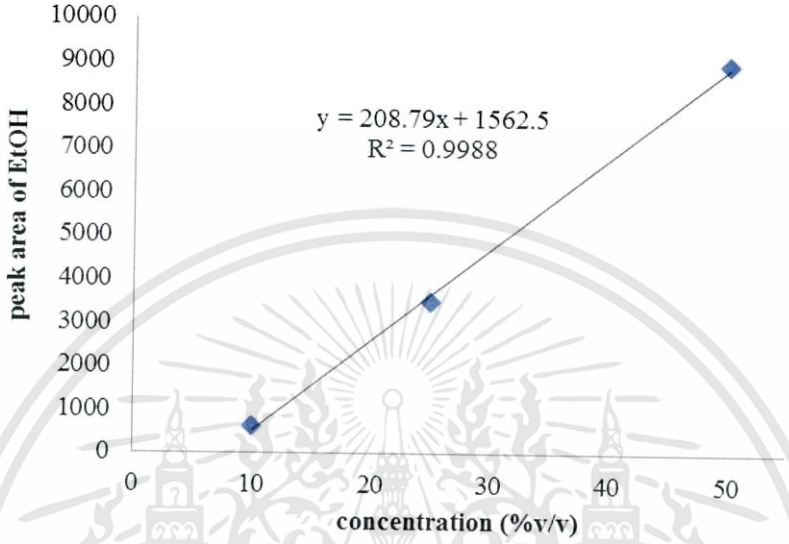


รูปที่ ข.2 (ข) โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับเวลาเฟสเคลื่อนที่โดยของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ทำการสกัดซ้ำ 5 ครั้งที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล ดังรูป



รูปที่ ข.3 (ก) กราฟแสดงผลของอัตราส่วน (2 : 1) ของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในน้ำต่อออกทานอลในการสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การประเมินคุณลักษณะเด่นของวิธีวิเคราะห์

3.1 ศึกษาความแม่นของการวิเคราะห์

ในการหาความแม่นของวิธีวิเคราะห์จะประเมินจากค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่มีการเติมสารละลายมาตรฐาน และค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ ซึ่งแสดงดังตาราง

ตารางที่ ค. (ก) ผลการคำนวณหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล

ตัวอย่าง	ครั้งที่	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอล (ปริมาตร/ปริมาตร)			ร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ
		ที่มีอยู่เดิม	ที่เติมลงไป	ที่ตรวจพบ	
สุราขาว	1	49.90±0.61	50	100.63±0.61	101.45
	2	43.95±0.61	50	96.28±0.61	104.66
ไวน์แดง	1	12.55±0.54	50	66.27±0.54	107.44
	2	13.20±0.54	50	70.10±0.54	113.80
ไวน์ขาว	1	14.95±0.08	50	67.70±0.09	105.50
	2	14.85±0.08	50	67.05±0.09	104.40
เบียร์	1	6.25±0.06	50	61.75±0.07	111.00
	2	6.25±0.06	50	61.25±0.07	111.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 ศึกษาความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์

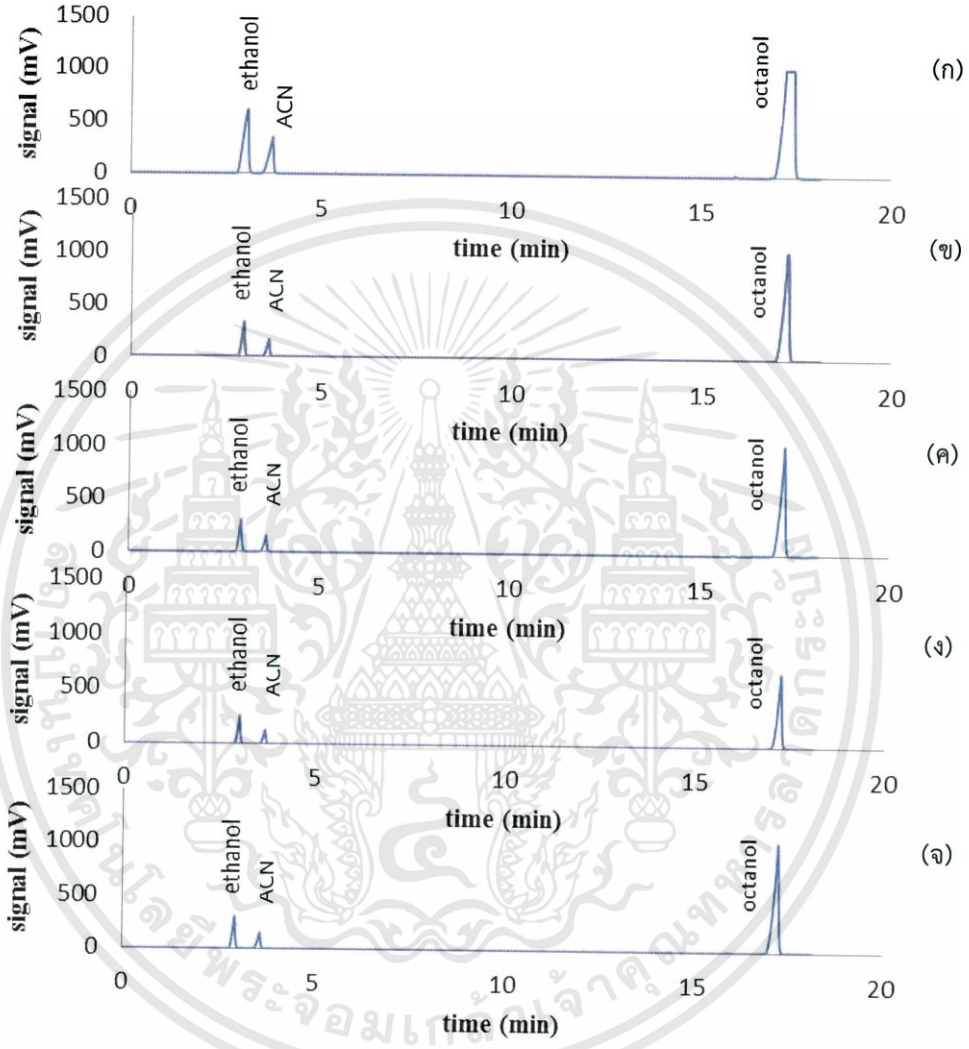
ในการทดลองจะทำการศึกษาความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) นำมาฉีดซ้ำเป็นจำนวน 10 ครั้ง

ตารางที่ ค.2 (ข) แสดงสารละลายมาตรฐานเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) กับพื้นที่ใต้พีค โดยทำการฉีดซ้ำ 10 ครั้ง

ครั้งที่ฉีด	พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานเอทานอลต่ออะซิโตไนไทรล์	พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานเอทานอล	พื้นที่ใต้พีคของอะซิโตไนไทรล์
1	1.99	5917.876	2979.744
2	1.96	1758.234	897.528
3	1.96	1559.218	795.59
4	1.96	1516.59	774.784
5	1.98	7108.899	3588.997
6	1.94	1327.904	683.531
7	1.97	1237.919	628.326
8	1.99	1715.606	863.045
9	2.00	1523.043	762.511
10	2.02	2171.929	1075.141
ค่าเฉลี่ย	1.98	-	-
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.02	-	-
%RSD	1.16	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.1 โครมาโทแกรมแสดงความเที่ยงของวิธีการวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร) นำมาฉีดซ้ำเป็นจำนวน 10 ครั้ง



รูปที่ ค.2 (ก) โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดกับเวลาเฟสเคลื่อนที่โดยมีอะซิโตไนไทรล์เป็นสารมาตรฐานภายในของสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ทำการฉีดซ้ำ 10 ครั้งที่ความเข้มข้นร้อยละ 25 (ปริมาตร/ปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 ศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

1) การหาค่า LOD เมื่อ blank ไม่มีสัญญาณ คำนวณได้จาก

$$LOD = y_B + 3S_B$$

เมื่อ y_B = จุดตัดแกน y

S_B = ค่าความคลาดเคลื่อนในแนวแกน y

โดยที่ ค่าความคลาดเคลื่อนในแนวแกน y (Random error in y-direction, $S_{y/x}$) คำนวณได้จาก

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$$

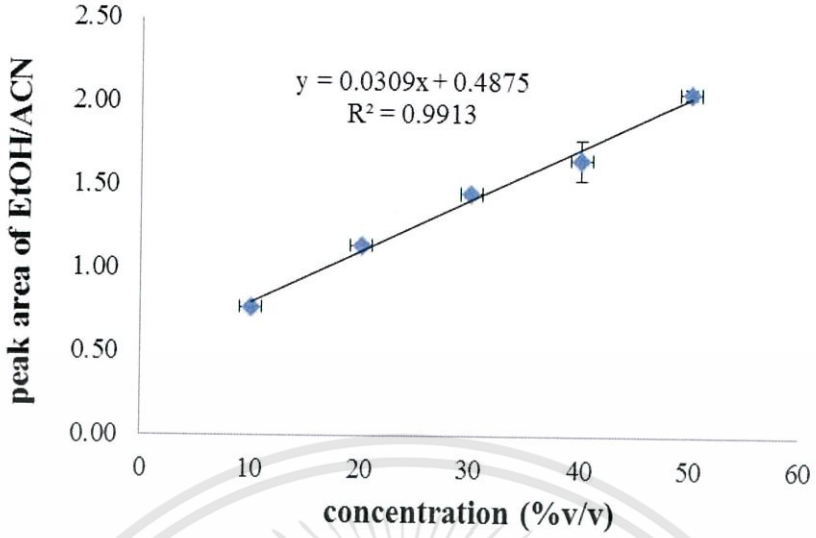
เมื่อ y = ค่าจริงที่อ่านได้จากเครื่องมือ

$\hat{y}$ = ค่าที่ได้จากการแทนค่า x ลงในสมการเส้นตรง

n = จำนวนจุดบนกราฟมาตรฐาน

จากการสร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 (ปริมาตร/ปริมาตร) จะได้สมการเส้นตรง y = 0.0309x + 0.4875 แสดงดังรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค.3 (ก) กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างมาตรสารละลายมาตรฐานเอทานอลในออกทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ ค.3 (ก) แสดงข้อมูลเพื่อนำไปคำนวณค่า $S_{y/x}$ โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel

concentration (%v/v)	y	$\hat{y}$	$y - \hat{y}$	$(y - \hat{y})^2$
10	0.7688	0.7965	-0.0277	0.0008
20	1.1394	1.1055	0.0339	0.0012
30	1.4490	1.4145	0.0345	0.0012
40	1.6540	1.7235	-0.0695	0.0048
50	2.0542	2.0325	0.0217	0.0005

แทนค่าลงในสมการเพื่อคำนวณหา S_B จะได้

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$$

$$= \sqrt{\frac{0.0085}{5-2}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$S_{y/x} - 0.05 = S_B$$

แทนค่าลงในสมการเพื่อคำนวณหา LOD จะได้

$$LOD = y_B + 3S_B$$

$$= 0.4875 + 3(0.05)$$

$$LOD = 0.6375$$

$$\approx 0.64\ \%v/v$$

2) การหาค่า LOQ เมื่อ blank ไม่มีสัญญาณ คำนวณได้จาก

$$LOQ = 10S_b$$

เมื่อ S_b = จุดตัดแกน y

แทนค่าลงในสมการเพื่อคำนวณหา LOQ จะได้

$$LOQ = 10S_b$$

$$= 10 \times 0.4875$$

$$LOQ = 4.875$$

ดังนั้นจากการวิเคราะห์จะได้ค่า LOD เท่ากับ 0.64 % (v/v) และค่า LOQ เท่ากับ 4.875 % (v/v)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้