โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การวิเคราะห์ปริมาณสารกันบูดในเครื่องดื่มโดยการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งและเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี

Determination of Preservatives in Beverages using Solid-Phase Microextraction and High Performance Liquid Chromatography

ชื่อนิสิต นางสาวนิโลบล ทองดอนแอ

ภาควิชา เคมี

ปีการศึกษา 2560

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวิเคราะห์ปริมาณสารกันบูดในเครื่องดื่มโดยการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งและเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี

Determination of Preservatives in Beverages using Solid-Phase Microextraction and High Performance Liquid Chromatography

โดย

นางสาวนิโลบล ทองดอนแอ

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2560

โครงการ การวิเคราะห์ปริมาณสารกันบูดในเครื่องดื่มโดยการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งและเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี

โดย นางสาวนิโลบล ทองดอนแอ

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.บัญชา พูลโภคา)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พุทธรักษา วรานุศุภากุล)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร.ภัสสร์พล งามอุโฆษ)

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

..... หัวหน้าภาควิชาเคมี
(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่ ..... เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561

คุณภาพของการเขียนรายงานเล่มนี้อยู่ในระดับ ☑ ดีมาก ☐ ดี ☐ พอใช้

ชื่อโครงการ การวิเคราะห์ปริมาณสารกันบูดในเครื่องดื่มโดยการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งและเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี
ชื่อนิสิตในโครงการ นางสาวนิโลบล ทองดอนแอ เลขประจำตัว 5733118023
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พุทธรักษา วรานุศุภากุล
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2560

บทคัดย่อ

กรดอินทรีย์มีการใช้เป็นสารกันบูดในอาหาร โดยกรดอินทรีย์ที่นิยมใช้ ได้แก่ กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก และ กรดโพรพิโอนิก อย่างไรก็ตามปริมาณสารกันบูดในอาหารมีปริมาณมากเกินระดับที่กำหนดให้ใช้จะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดนี้ โดยการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส (HS-SPME) และรวมกับเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดด้วยเทคนิค HS-SPME ได้แก่ ชนิดของไฟเบอร์ SPME อุณหภูมิ เวลาในการสกัดและการเติมเกลือ พบว่าประสิทธิภาพในการสกัดดีที่สุดเมื่อใช้ไฟเบอร์ SPME ชนิด CAR/PDMS (เคลือบหนา 85 ไมโครเมตร) อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัด 40 นาที และการเติมเกลือโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส 4 กรัม แต่พบว่าสามารถวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ได้เพียง 2 ชนิดเท่านั้น คือกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก

คำสำคัญ: การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง, เฮดสเปส, สารกันบูด, ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี

Project Title Determination of Preservatives in Beverages using Solid-Phase Microextraction and High Performance Liquid Chromatography
Student Name Miss NilobonThongdonae Student ID 5733118023
Advisor Name Assist.Prof.Dr. Puttaruksa Varanusupakul
Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2017

Abstract

Organic acids are generally used as preservatives in food. The common organic acid preservatives are benzoic acid, sorbic acid and propionic acid. However, the amount of preservatives in food larger than the limited level can be harmful to consumers. Therefore, the determination of these organic acid preservatives was studied by using headspace solid phase microextraction (HS-SPME) combined with high performance liquid chromatography. The HS-SPME parameters which are types of SPME fiber, extraction temperature, extraction time and addition of salt were optimized. The maximum extraction efficiency was obtained when using SPME fiber coated with 85 micrometers CAR/PDMS, extraction temperature of 50°C, 40 min of extraction time and additional of 4 grams of sodium sulfate anhydrous. However, only two organic acids which are benzoic acid and sorbic acid can be analyzed.

Keywords: solid phase microextraction, headspace, preservative, high performance liquid chromatography

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ด้วยความช่วยเหลือของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พุทธรักษา วรานุศุภากุล อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยนี้ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดี อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำวิจัย อีกทั้งยังช่วยแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงานอีกด้วย ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริงและความทุ่มเทของอาจารย์ และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. บัญชา พูลโภคา และอาจารย์ ดร. ภัสสร์พล งามอุโฆษ ที่ให้ความอนุเคราะห์เป็นกรรมการตรวจเล่มงานวิจัยในครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้เงินทุนสำหรับสนับสนุนบางส่วนในการทำวิจัย ขอขอบคุณ คุณณัฐนี ตั้งกิจอนันต์สิน รุ่นพี่ในห้องปฏิบัติการสำหรับข้อแนะนำและความช่วยเหลือ ดูแล และคอยให้คำแนะนำ ตลอดมา

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว ซึ่งเปิดโอกาสให้ได้รับการศึกษาเล่าเรียนตลอดจนคอยช่วยเหลือและให้กำลังใจผู้วิจัยเสมอมา รวมทั้งเพื่อนๆ ที่คอยให้ความช่วยเหลือ สนับสนุน และให้กำลังใจมาโดยตลอด

นิโลบล ทองดอนแอ

ผู้วิจัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ง
กิตติกรรมประกาศ จ
สารบัญ ฉ
สารบัญรูปภาพ ซ
สารบัญตาราง ฌ
สัญลักษณ์และคำย่อ ญ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ 1
1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย 2
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 2
1.4 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง 3
1.4.1 สารกันบูด 3
1.4.2 ลิควิดโครมาโทกราฟี 4
1.4.3 การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง 4
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 6
บทที่ 2 การทดลอง 7
2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ 7
2.2 สารเคมี 7
2.3 วิธีการทดลอง 8
2.3.1 การเตรียมสารละลาย 8
2.3.2 การวิเคราะห์สารกันบูดด้วยเทคนิค HPLC-UV 9
2.3.3 การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส 10
2.3.4 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส 11
บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง 12
3.1 การวิเคราะห์กรดโพรพิโอนิก กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกด้วยเทคนิค HPLC 12
3.2 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส 14

หน้า

3.2.1 ชนิดของไฟเบอร์ SPME 14
3.2.2 อุณหภูมิในการสกัด 15
3.2.3 เวลาในการสกัด 16
3.2.4 การเติมเกลือ 17
บทที่ 4 สรุปผลการทดลอง 19
บรรณานุกรม 20
ภาคผนวก 22
ประวัติผู้วิจัย 26

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1.1	อุปกรณ์ SPME: (a) ด้ามจับที่ใช้ร่วมกับไฟเบอร์ (b) ภาพตัดขวางอุปกรณ์	5
รูปที่ 1.2	การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง (a) แบบโดยตรง (b) แบบเฮดสเปส	5
รูปที่ 2.1	การตั้งอุปกรณ์สำหรับสกัดสารตัวอย่างด้วยเทคนิค HS-SPME	10
รูปที่ 3.1	โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก 50 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดโพรพิโอนิก 500 มิลลิกรัมต่อลิตร	12
รูปที่ 3.2	กราฟมาตรฐาน ของ (a.) กรดโพรพิโอนิก และ (b.) กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก	13
รูปที่ 3.3	ผลของชนิดของไฟเบอร์ SPME ต่อประสิทธิภาพการสกัดสารกันบูดกลุ่มกรดอินทรีย์ด้วยเทคนิค HS-SPME	14
รูปที่ 3.4	ผลของอุณหภูมิที่ใช้ต่อประสิทธิภาพการสกัดสารกันบูดกลุ่มกรดอินทรีย์ด้วยเทคนิค HS-SPME	15
รูปที่ 3.5	ผลของเวลาที่ใช้ต่อประสิทธิภาพการสกัดสารกันบูดกลุ่มกรดอินทรีย์ด้วยเทคนิค HS-SPME	16
รูปที่ 3.6	ผลของเกลือต่อต่อประสิทธิภาพการสกัดสารกันบูดกลุ่มกรดอินทรีย์ด้วยเทคนิค HS-SPME	17
รูปที่ 3.7	โครมาโทแกรมของการสกัดสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก 50 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดโพรพิโอนิก 500 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ด้วยเทคนิค HS-SPME ที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร	18

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1.1	คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของกรดอินทรีย์บางชนิดที่ใช้เป็นสารกันบูด	3
ตารางที่ 2.1	การเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ	8
ตารางที่ 2.2	ภาวะการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก และกรดโพรพิโอนิกด้วยเทคนิค HPLC-UV	10
ตารางที่ 3.1	ภาวะต่างๆที่เหมาะสมในการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส (HS-SPME)	18
ตารางที่ ก.1	ผลการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส(HS-SPME)โดยไฟเบอร์ SPME ที่แตกต่างกัน 4 ชนิด	22
ตารางที่ ก.2	ผลการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส (HS-SPME) โดยใช้ไฟเบอร์ชนิด CAR/PDMS และทำการสกัดที่อุณหภูมิแตกต่างกัน	23
ตารางที่ ก.3	ผลการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส (HS-SPME) โดยใช้ไฟเบอร์ชนิด CAR/PDMS ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และใช้ระยะเวลาในการสกัดที่แตกต่างกัน	24
ตารางที่ ก.4	ผลการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส (HS-SPME) ใช้ไฟเบอร์ชนิด CAR/PDMS ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาในการสกัด 40 นาที โดยเติมปริมาณเกลือที่แตกต่างกัน	25

สัญลักษณ์และคำย่อ

ชื่อเต็ม	คำย่อ
Carboxen/polydimethylsiloxane	CAR/PDMS
Divinylbenzene/Carboxen on polydimethylsiloxane	DVB/CAR/PDMS
Gas chromatography	GC
Headspace solid phase microextraction	HS-SPME
High performance liquid chromatography	HPLC
Liquid-liquid extraction	LLE
Micellar electrokinetic chromatography	MEKC
Polyacrylate	PA
Polydimethylsiloxane/divinylbenzene	PDMS/DVB
Solid phase microextraction	SPME
Stir bar sorptive extraction	SBSE

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจ

สารกันบูดหรือสารกันเสีย เป็นสารเคมีที่ช่วยในการถนอมอาหารหรือยืดอายุ และช่วยให้สามารถเก็บอาหารได้นานยิ่งขึ้น โดยมีฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสียมากกว่าออกฤทธิ์ยับยั้ง สารกันบูดที่นิยมนำมาใช้เป็นสารกลุ่มกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอท กรดโพรพิโอนิกและเกลือโพรพิโอเนต กรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบต เป็นต้น

กรดเบนโซอิกและเกลือเบนโซเอท มีราคาถูก เมื่อเติมลงในอาหารทำให้รสชาติไม่เปลี่ยนแปลง มักเติมในเครื่องดื่ม เช่น น้ำผลไม้ ซอส ผักดอง แยม ผลไม้แช่อิ่ม ฯลฯ ส่วนกรดซอร์บิกและเกลือซอร์เบตใช้ได้ดีกับสารที่เป็นกรดและอาหารที่ปรับให้เป็นกรด เช่น น้ำผลไม้และผลไม้ดอง สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของสารอินทรีย์ได้โดยไม่มีผลต่อรสชาติของอาหาร นอกจากนี้ยังพบการใช้ในอาหารพวกเนยแข็ง เนยเทียม ขนมปังที่ใช้ผงฟู เครื่องดื่ม ขนมเค้ก และกรดโพรพิโอนิกเป็นทั้งสารกันเสีย สารกันเชื้อรา สารกันบูด และเป็นวัตถุดิบที่ใช้ในการแต่งรสอาหารด้วย กรดชนิดนี้มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ประเภทรา สารกันบูดทั้ง 3 ชนิดที่กล่าวมาจัดเป็นสารกันบูดประเภทกรดอินทรีย์ ซึ่งไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย เนื่องจากร่างกายสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นสารอื่นที่ไม่มีพิษและขับถ่ายออกจากร่างกายได้ แต่หากได้รับในปริมาณที่มากเกินไปก็สามารถเป็นอันตรายแก่ผู้บริโภคได้ ดังนั้นในการใส่สารกันบูดในอาหารจึงควรใส่ในปริมาณที่เหมาะสม ไม่เกินค่ามาตรฐานที่กระทรวงสาธารณสุข หรือสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากำหนดไว้ ความเข้มข้นของสารกันบูดที่ใส่ในอาหารจะขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร เช่น ปริมาณสารกันบูดในเครื่องดื่มและน้ำผลไม้ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นต้น ดังนั้น การหาปริมาณสารกันบูดในอาหารที่มีปริมาณน้อยจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อให้ผู้บริโภคมั่นใจว่าอาหารที่รับประทานมีปริมาณสารกันบูดที่เหมาะสม และไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

มีงานวิจัยหลายฉบับศึกษาการวิเคราะห์สารกันบูดกลุ่มกรดอินทรีย์ในอาหารด้วยเทคนิคต่างๆ เช่น เทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งระดับจุลภาคแบบเฮดสเปส (HS-SPME)[1,2] เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลาย (LLE)[3] และการสกัดด้วยแท่งแม่เหล็กดูดซับ (SBSE)[4] แล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี เช่น โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)[7,5,6] แก๊สโครมาโทกราฟี (GC)[2,7,8] และไมเซลล์อิเล็กโทรไคเนติกโครมาโทกราฟี (MEKC)[9] เป็นต้น

เนื่องจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ไม่ได้วิเคราะห์หาปริมาณของกรดทั้งสามชนิดพร้อมกัน ในงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการสกัดกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิกและกรดโพรพิโอนิก โดยเทคนิค HS-SPME รวมทั้งเพิ่มความเข้มข้นของสารทั้งสามชนิด และนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์และขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิกและกรดโพรพิโอนิก โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งระดับจุลภาคแบบเฮดสเปส (HS-SPME)
2. ศึกษาการหาปริมาณกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก และกรดโพรพิโอนิก ในเครื่องดื่มโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งระดับจุลภาคแบบเฮดสเปส (HS-SPME) และ วิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยก่อนหน้านี้ทำการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก และกรดโพรพิโอนิก โดยเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งระดับจุลภาคแบบเฮดสเปส (HS-SPME) เช่น

ในปี ค.ศ. 2006 Dong และคณะ[1] ทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในน้ำสลัดโดยเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งระดับจุลภาคแบบเฮดสเปส (HS-SPME) ศึกษาปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัด ได้แก่ ชนิดของ SPME fiber ระยะเวลาในการสกัดด้วย SPME รวมทั้งอุณหภูมิที่ใช้ขณะทำการสกัด ผลของการเติมกรดและเกลือรวมทั้งอุณหภูมิและเวลาในการคายซับเป็นต้น และนำมาวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี และสามารถหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัด HS-SPME

ในปี ค.ศ .2003 Ibáñez และคณะ[2] ทำการวิเคราะห์กรดโพรพิโอนิกในอาหารโดยเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งระดับจุลภาคแบบเฮดสเปส (HS-SPME) ศึกษาปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัด ได้แก่ ชนิดของ SPME fiber ผลของการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ ระยะเวลาในการสกัดด้วย SPME รวมทั้งอุณหภูมิที่ใช้ขณะทำการสกัด และนำมาวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทรกราฟี

ในปี ค.ศ. 2013 Xu, J. และคณะ[4] ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารกันบูดที่มีสมบัติความมีขั้วต่างกัน 6 ชนิด ได้แก่ กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก เมทิล พารา-ไฮดรอกซิเบนโซเอต เอทิล พารา-ไฮดรอกซิเบนโซเอต โพรพิล พารา-ไฮดรอกซิเบนโซเอต และ บิวทิล พารา-ไฮดรอกซิเบนโซเอต โดยการสกัดด้วยแท่งแม่เหล็กดูดซับ (SBSE) และวิเคราะห์รวมกับเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)
และงานวิจัยก่อนหน้านี้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก และกรดโพรพิโอนิก โดยอาศัยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) เช่น

ในปี ค.ศ. Tfouni และคณะ[7] ได้ทำการวิเคราะห์กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในอาหาร Brazilian ประเภทต่างๆ เช่น มากาซีน น้ำผลไม้ โยเกิร์ต ชีส เป็นต้น โดยอาศัยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ที่ตรวจวัดด้วย Photodiode array detector และสามารถวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในอาหาร Brazilian ได้

ในปี ค.ศ.2005 Saad และคณะ[5] ทำการวิเคราะห์สารกันบูดได้แก่ กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก เมทิลพาราเบนและโพรพิลพาราเบนในอาหารแช่แข็งนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโดยอาศัยเทคนิคโครมาโทกราฟี

ของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ศึกษาปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการแยกของสารกันบูดทั้ง 4 ชนิด เช่น การเปลี่ยนอัตราส่วน mobile-phase ระหว่าง เมทานอลและอะซิเตทบัฟเฟอร์ เป็นต้น

ใน ปี ค.ศ. 2016 Özcelik, S.และคณะ[6] ทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอินทรีย์ได้แก่ กรดแลคติก กรดอะซิติก กรดซักซินิก กรดโพรพิโอนิก กรดฟอร์มิก และกรดบิวทิริกโดยอาศัยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

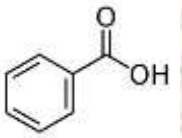
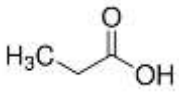
ในปี ค.ศ.2015 Ding, M. และคณะ[3] ทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกในซอสถั่วเหลือง เทคนิคการสกัด ด้วยตัวทำละลาย (LLE) และเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)

1.4 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1.4.1 สารกันบูด

สารกันบูด คือ สารเคมีที่ใส่ลงไปในอาหาร เพื่อช่วยยืดอายุของอาหาร และถนอมคุณค่าทางโภชนาการ สารกันบูดมีฤทธิ์ในการยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์หรือเชื้อราที่เป็นสาเหตุหลักในการทำให้อาหารหมดอายุหรือเสียโดยสารเคมีที่นิยมใช้ คือ กรดอินทรีย์[15] เช่น กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก และกรดโพรพิโอนิก

ตารางที่ 1.1 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของกรดอินทรีย์บางชนิดที่ใช้เป็นสารกันบูด

ชื่อสารเคมี	กรดเบนโซอิก	กรดซอร์บิก	กรดโพรพิโอนิก
	Benzoic acid	Sorbic acid	Propionic Acid
สูตรโครงสร้าง			
ลักษณะทางกายภาพ	ผลึกของแข็ง รูปเข็มหรือเกล็ดสีขาว ไม่มีกลิ่นหรือมีกลิ่นฉุนอ่อนๆ	ของแข็งผงสีขาว	ของเหลวใสมีกลิ่นฉุน
จุดเดือด (°C)	249	228	141
จุดหลอมเหลว (°C)	122	135	-21
มวลโมเลกุล (g/mol)	122.12	112.128 [10]	74.079
pKa	4.2	4.76	4.88[11]
ความหนาแน่น	1.27 g/mL ที่ 20 °C	1.2 g/mL ที่ 20 °C	0.992 -0.994 g/mL ที่ 25 °C
การละลายในน้ำ	0.1–1 g/ 100 mL ในน้ำที่อุณหภูมิ 20 °C	1.6 g/L ที่อุณหภูมิ 20 °C	8.19 g/g ที่–28.3 °C 34.97 g/g ที่–23.9 °C ละลายที่อุณหภูมิ ≥–19.3 °C
การละลายในเมทานอล	71.5 g/L[12]	129 g/L	-
ค่าความดันไอ	2.9 hPa	0.0133 hPa	0.001 hPa

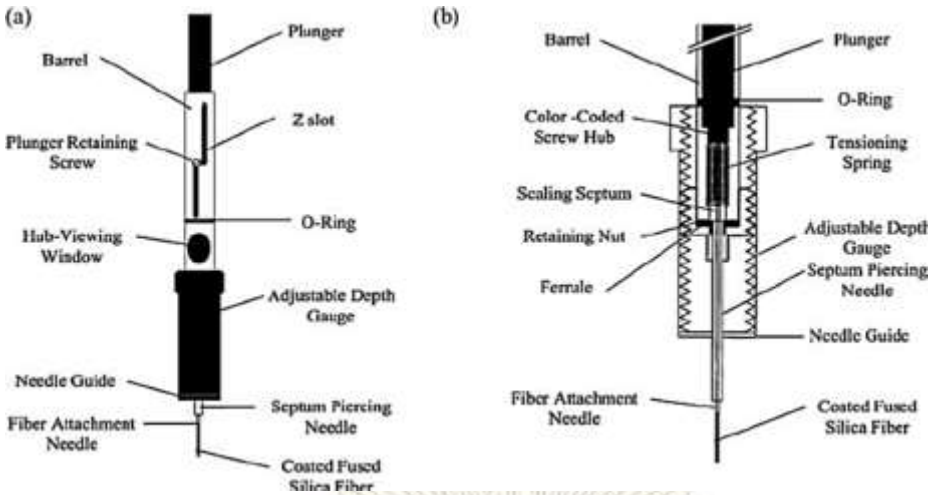
1.4.2 ลิควิดโครมาโทกราฟี (liquid chromatography)

ลิควิดโครมาโทกราฟี คือ เทคนิคทางโครมาโทกราฟีอย่างหนึ่งที่ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่มีสถานะเป็นของเหลว และวัฏภาคนิ่ง (stationary phase) เป็นของแข็งหรือของเหลวก็ได้ ในการแยกจะอาศัยความแตกต่างของการเข้ากันได้ดีของสารแต่ละชนิดกับวัฏภาคนิ่งและวัฏภาคเคลื่อนที่ หากสารชนิดใดเข้ากันได้ดีกับวัฏภาคเคลื่อนที่สารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อน โดยโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงจัดอยู่ในเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีอย่างหนึ่งด้วย

โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography) คือ เครื่องมืออย่างหนึ่งที่ใช้ในการแยกสารอาศัยหลักการของเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี โดยอาศัยความแตกต่างของการเข้ากันได้ดีของสารแต่ละชนิดที่ไม่เท่ากันกับวัฏภาคนิ่งและวัฏภาคเคลื่อนที่[17] เหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ระเหย (non-volatile organic compounds) หรือ กลุ่มสารประกอบอินทรีย์ที่สามารถระเหยได้ปานกลาง (semi-volatile organic compounds) โดยวัฏภาคเคลื่อนที่ที่ใช้จะมีสถานะเป็นของเหลว ส่วนวัฏภาคนิ่งจะมีสถานะเป็นของแข็งซึ่งบรรจุในคอลัมน์ (column) หากวัฏภาคนิ่งที่ใช้มีความเป็นขั้วที่สูงกว่าวัฏภาคเคลื่อนที่ เรียกว่า “normal phase chromatography” แต่ในทางกลับกันถ้าใช้คอลัมน์ ที่มีความเป็นขั้วที่ต่ำกว่าวัฏภาคเคลื่อนที่จะเรียกว่า “reversed phase chromatography” หลักการทำงานเริ่มจากให้วัฏภาคเคลื่อนที่ซึ่งเป็นของเหลวขับเคลื่อนด้วยความดันสูงพาสารที่ต้องการวิเคราะห์เคลื่อนที่เข้าคอลัมน์ที่บรรจุวัฏภาคนิ่ง เนื่องจากความแตกต่างของสารแต่ละชนิดทั้งมวลโมเลกุล โครงสร้าง รวมทั้งสมบัติทางเคมีต่างๆของสาร ทำให้สารเกิดอันตรกิริยากับวัฏภาคนิ่งไม่เท่ากัน สารแต่ละชนิดจึงออกจากคอลัมน์ได้ในเวลาที่แตกต่างกัน จึงเกิดการแยกของสารแต่ละชนิดขึ้น เมื่อสารเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ จะเข้าสู่อุปกรณ์ตรวจวัดสัญญาณแปรผลออกมาเป็นโครมาโทแกรมและสามารถนำข้อมูลดังกล่าว มาหาปริมาณของสารชนิดต่างๆ ได้ต่อไป

1.4.3 การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง (Solid phase microextraction, SPME)

การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งเป็นขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างหรือเป็นเทคนิคที่ใช้ในการเตรียมสารตัวอย่างก่อนที่ทำการวิเคราะห์ ซึ่งรวมขั้นตอนการสกัด (extraction) และการเพิ่มความเข้มข้น (preconcentration) ไว้ในขั้นตอนเดียว โดยในการสกัดสารจะใช้ตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อยและมีอุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งดังรูปที่ 1.1

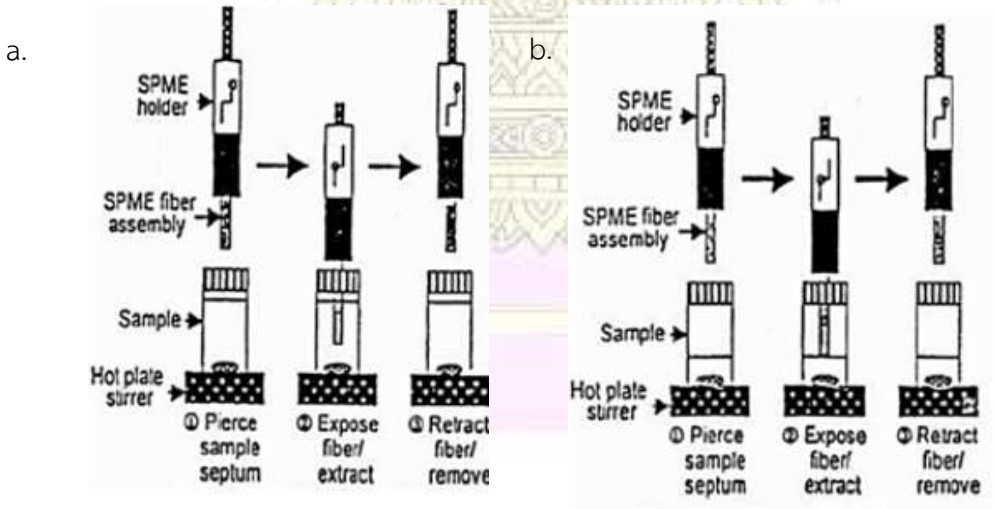


รูปที่ 1.1 อุปกรณ์ SPME: (a) ด้ามจับที่ใช้ร่วมกับไฟเบอร์ (b) ภาพตัดขวางอุปกรณ์[13]

ในการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งมีอยู่ 2 แบบ คือ การสกัดแบบโดยตรง (direct immersion, DI-SPME) และการสกัดแบบบริเวณเฮดสเปส

-การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งโดยตรง (direct immersion SPME, DI-SPME)

หลักการการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคอาศัยหลักการแพร่ของสารที่ต้องการวิเคราะห์ในสารตัวอย่างจากบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงไปสู่บริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า (ซึ่งคือบริเวณตัวดูดซับ) จนกระทั่งการแพร่เข้าสู่สมดุล ดังรูป 1.2 (a) โดยการสกัดจะทำการจุ่มไฟเบอร์ลงไปโดยตรง



รูปที่ 1.2 การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็ง (a) โดยตรง (b) โดยตรงแบบเฮดสเปส [14]

-การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส (headspace solid phase microextraction, HS-SPME)

เป็นการสกัดที่ให้สารที่สนใจวิเคราะห์ แพร่จากบริเวณความเข้มข้นสูง (phase ของเหลว) ไปสู่บริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า (เฟสของแก๊สหรือบริเวณเฮดสเปส) จากนั้นสารที่สนใจจะวิเคราะห์จากบริเวณเฮดสเปส จะแพร่ไปยังตัวดูดซับของแข็งปริมาณน้อยซึ่งเป็นบริเวณที่มีความเข้มข้นที่ต่ำกว่า โดยการแพร่จะเกิดขึ้นจนเข้าสู่สภาวะสมดุล ซึ่งการสกัดแบบเฮดสเปสเป็นดังภาพที่ 1.2 (b)

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก และกรดโพรพิโอนิก โดยการสกัดด้วยเทคนิค HS-SPME และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

บทที่ 2
การทดลอง

2.1 เครื่องมือ และอุปกรณ์

1. เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1260 Infinity II ตรวจวัดด้วย UV-visible detector
2. เครื่องให้ความร้อน (hot plate stirrer)
3. เครื่องวัดพีเอช
4. เครื่องชั่งสาร
5. ชุดกรองสุญญากาศ
6. ขวด Vial ขนาด 1 มิลลิลิตร
7. เทอร์โมมิเตอร์
8. ขวดสีชาสำหรับสกัดขนาด 10 มิลลิลิตร
9. SPME fiber ได้แก่ polyacrylate (PA), carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS), divinylbenzene/carboxen on polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS), polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB)
10. SPME holder
10. filter nylon membrane 0.45 ไมโครเมตรขนาด 47 มิลลิเมตร
11. syringe filter กรองสารที่สกัด

2.2 สารเคมี

1. กรดเบนโซอิก (Benzoic acid, CARLO ERBA, France)
2. กรดโพรพิโอนิก (Propionic acid 98%, CARLO ERBA, France)
3. กรดซอร์บิก (Sorbic acid 99%, Fluka, Germany)
4. แอมโมเนียมอะซิเตด (Ammonium acetate, Merck, Germany)
5. กรดอะซิติก (Acetic acid, Merck, Germany)
6. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, CARLO ERBA, France)
7. กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid, Merck, Germany)
8. เกลือโซเดียม ซัลเฟต แอนไฮดรัส) (Sodium sulfate anhydrous, Ajax finechem, Australia)
8. เมทานอล (Methanol HPLC grade, Merck, Germany)
9. น้ำบริสุทธิ์ Milli-Q

2.3 วิธีการทดลอง

2.3.1 การเตรียมสารละลาย

- สารละลายมาตรฐานผสมเข้มข้น (stock solution)

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมของกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิกและกรดโพรพิโอนิก ที่ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตรของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกและ 10 กรัมต่อลิตรของกรดโพรพิโอนิก โดยชั่งกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกอย่างละ 0.05 กรัมและกรดโพรพิโอนิก 0.5 กรัมละลายในสารละลายผสมของน้ำ Milli-Q กับ Methanol (อัตราส่วน 40:60) ปรับปริมาตรจนมีปริมาตรรวม 50 มิลลิลิตร ในขวดกำหนดปริมาตร

- สารละลายมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้นต่างๆ (standard solution)

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังตารางที่ 2.1 สำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน โดยกราฟมาตรฐานของกรดโพรพิโอนิกใช้สารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร (สารละลายมาตรฐาน 1-5) ส่วนกราฟมาตรฐานของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกใช้สารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 10, 20, 50, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (สารละลายมาตรฐาน 2, 4, 6-8)

ตารางที่ 2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

สารละลายมาตรฐาน	ความเข้มข้นกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก(มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นกรดโพรพิโอนิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาตร stock solution (ไมโครลิตร)	ปริมาตรน้ำ : methanol (40:60) (ไมโครลิตร)	ปริมาตรรวม (ไมโครลิตร)
1	5	50	5	995	1000
2	10	100	10	990	1000
3	15	150	15	985	1000
4	20	200	20	980	1000
5	25	250	25	975	1000
6	50	500	50	950	1000
7	80	800	80	920	1000
8	100	1000	100	900	1000

- สารละลายแอมโมเนียมอะซิเตท 0.01 โมลาร์

ชั่งแอมโมเนียมอะซิเตท 0.1928 กรัมละลายด้วยน้ำ Milli-Q และปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร

- สารละลายกรดอะซิติก 0.01 โมลาร์

  ตวงกรดอะซิติกเข้มข้น 100 ไมโครลิตรและเติมน้ำ Milli-Q จนมีปริมาตรรวม 250 มิลลิลิตร

- สารละลายกรดซัลฟิวริก 10 โมลาร์

  ตวงกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 13.8 มิลลิลิตรและเติมน้ำ Milli-Q จนมีปริมาตรรวม 25 มิลลิลิตร

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลาร์

  ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.015 กรัมละลายด้วยน้ำปริมาตร 25 มิลลิลิตร

- สารละลายแอมโมเนียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.5 ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์

  เตรียมสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ pH 4.5 โดยผสมสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตทเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 125 มิลลิลิตร กับสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:2) ปรับ pH ของสารละลายจนมีค่า 4.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมลาร์ กรองสุญญากาศผ่าน filter nylon membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตรก่อนนำไปใช้เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่สำหรับการวิเคราะห์ด้วย HPLC-UV

- สารละลายเมทานอล

  นำเมทานอลกรองสุญญากาศผ่าน filter nylon membrane ขนาด 0.45 ไมโครเมตรก่อนนำไปใช้เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่สำหรับการวิเคราะห์ด้วย HPLC-UV

- สารละลายมาตรฐานผสมสำหรับการสกัดด้วย HS-SPME

  เตรียมสารละลายกรดผสมของกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรและกรดโพรพิโอนิก 500 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับการสกัดด้วย HS-SPME โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานผสมเข้มข้น (stock solution) 500 ไมโครลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 10 โมลาร์ 50 ไมโครลิตร และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำ Milli-Q

2.3.2 การวิเคราะห์สารกันบูดด้วยเทคนิค HPLC-UV

ภาวะสำหรับการวิเคราะห์สารกันบูด 3 ชนิด ได้แก่ กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก และกรดโพรพิโอนิก ด้วยเทคนิค HPLC แสดงในตารางที่ 2.2

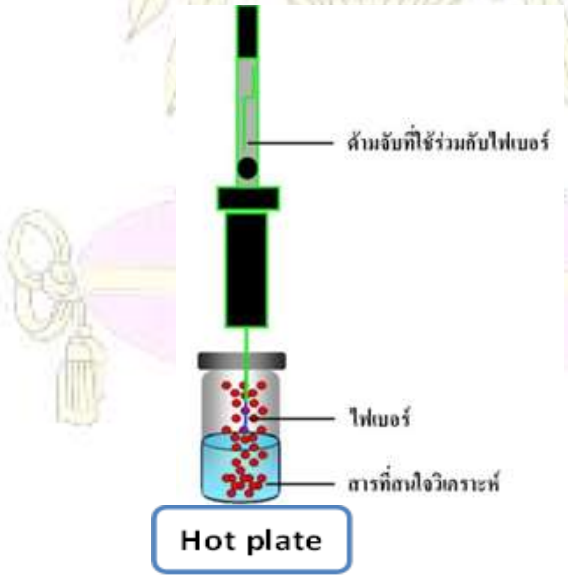
ตารางที่ 2.2 ภาวะการวิเคราะห์กรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก และกรดโพรพิโอนิกด้วยเทคนิค HPLC-UV

Column	C18 Zorbax Eclipese XDB (4.6 มิลลิเมตร x 250 มิลลิเมตร i.d.), particle size 5 ไมโครเมตร
Column temperature	30 องศาเซลเซียส
Mobile phase	Ammonium acetate buffer pH 4.5 : Methanol (55:45) Isocratic mode
Flow rate	1.2 มิลลิลิตรต่อนาที
Injection volume	10 ไมโครลิตร
เวลาในการวิเคราะห์สาร	6 นาที
Detector	UV-visible ที่ความยาวคลื่น 205 และ 230 นาโนเมตร

2.3.3 การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส

ตั้งอุปกรณ์การสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส ดังรูปที่ 2.1 โดยขวดสีชาบรรจุสารละลายตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริก และเกลือโซเดียมแอนไฮดรัส ให้ความร้อนสารละลายและสกัดสารที่ขึ้นมาบริเวณเฮดสเปสด้วย SPME fiber ตามเวลาที่กำหนด

หลังการสกัดชะสารออกจาก SPME fiber โดยนำไปแช่ในสารละลายผสมของน้ำ : เมทานอล (อัตราส่วน 40:60 โดยปริมาตร) ปริมาตร 0.7 มิลลิลิตรเป็นเวลา 5 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเทคนิค HPLC-UV



รูปที่ 2.1 การตั้งอุปกรณ์สำหรับสกัดสารตัวอย่างด้วยเทคนิค HS-SPME

2.3.4 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส

2.3.4.1 ชนิดของ SPME fiber ที่ใช้ในการสกัด

ทำการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปสตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.3 ใช้กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.05 โมลาร์ เติมเกลือโซเดียมซัลเฟต 2 กรัม ตั้งสกัดเป็นเวลา 40 นาที และอุณหภูมิสำหรับสกัด 50 องศาเซลเซียส โดย SPME fiber ที่ทำการศึกษามี 4 ชนิด ได้แก่ 85 μm polyacrylate (PA), 85 μm Carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS), 50/30 μm divinylbenzene/Carboxen on polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) และ 65 μm polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB)

2.3.4.2 อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

ทำการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปสตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.3 โดยใช้ SPME fiber ชนิด CAR/PDMS, กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.05 โมลาร์, เติมเกลือโซเดียมซัลเฟต 2 กรัม ตั้งสกัดเป็นเวลา 40 นาที และทำการสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ ดังนี้ 40,50,60,70,80 องศาเซลเซียส

2.3.4.3 เวลาที่ใช้ในการสกัด

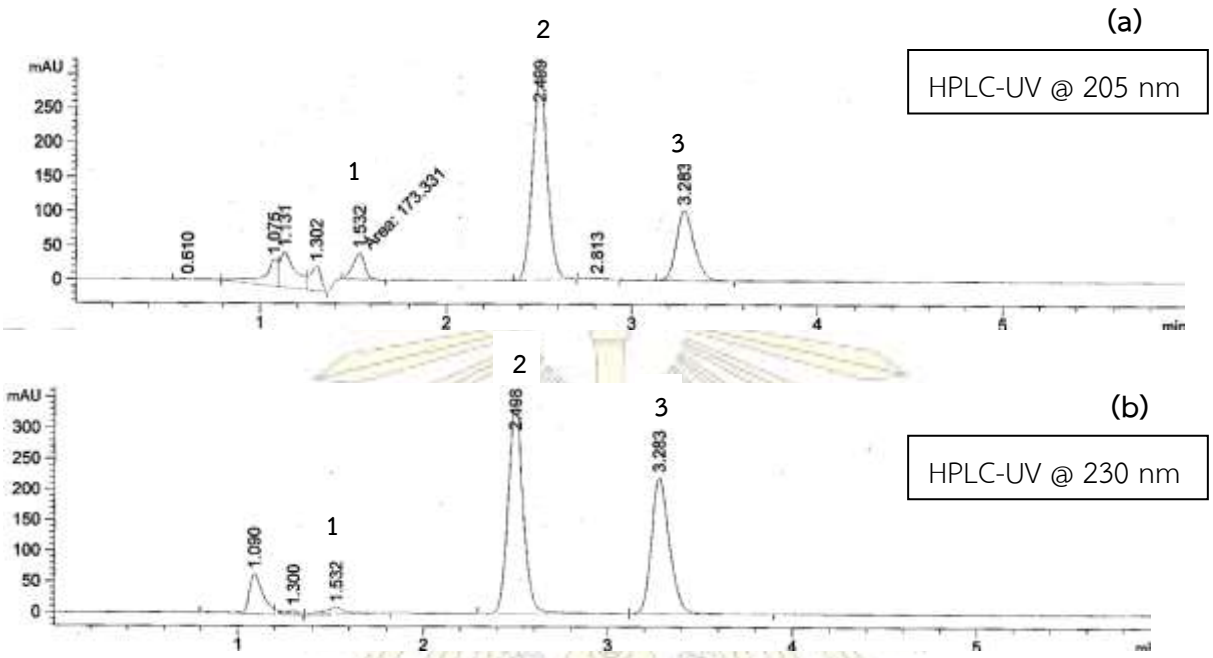
ทำการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปสตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.3 โดยใช้ SPME fiber ชนิด CAR/PDMS, กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.05 โมลาร์ เติมเกลือโซเดียมซัลเฟต 2 กรัม และทำการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการสกัด 30,40,50 และ 60 นาที

2.3.4.4 การเติมเกลือ

ทำสกัดการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปสทำตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.3 โดยใช้ SPME fiber ชนิด CAR/PDMS, กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ตั้งสกัดเป็นเวลา 40 นาที และทำการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยเติมเกลือโซเดียมซัลเฟตปริมาณที่แตกต่างกัน คือ 1,2,3,4 และ 5 กรัม

บทที่ 3
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

3.1 การวิเคราะห์กรดโพรพิโอนิก กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกด้วยเทคนิค HPLC

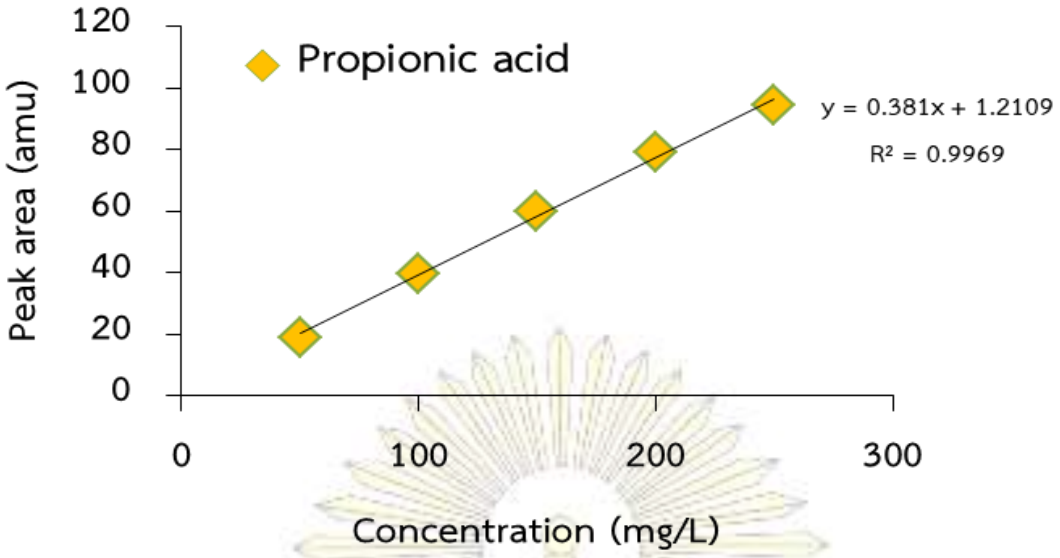


รูปที่ 3.1 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก 50 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดโพรพิโอนิก 500 มิลลิกรัมต่อลิตร (a) ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 205 นาโนเมตร และ (b) ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร (พีคในโครมาโทแกรม: 1 - กรดโพรพิโอนิก, 2 – กรดเบนโซอิก, 3 - กรดซอร์บิก)

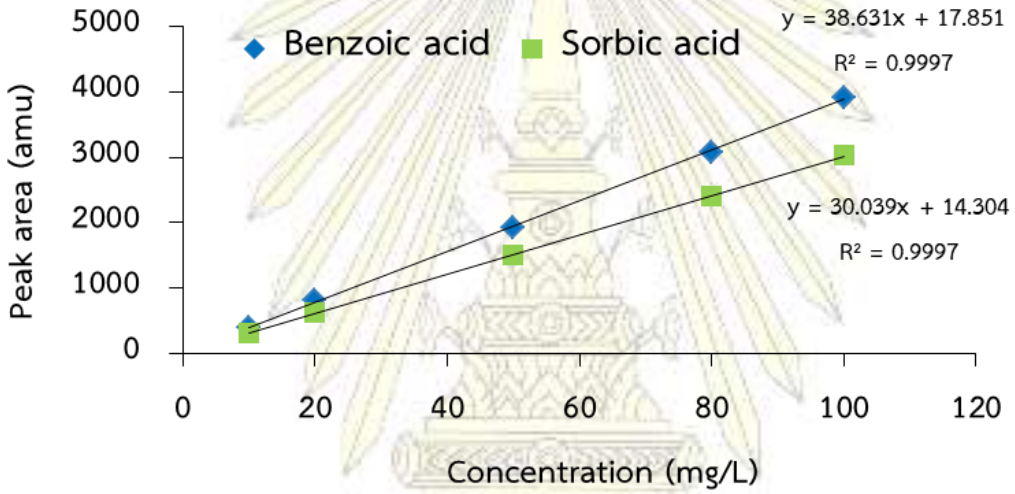
จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานผสม กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดโพรพิโอนิกเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตรด้วยเทคนิค HPLC-UV ได้โครมาโทแกรมดังรูปที่ 3.1 โดยใช้เวลาในการวิเคราะห์ 6 นาที ลำดับพีคของสารที่แยกออกมา คือ กรดโพรพิโอนิก กรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิก ที่เวลา 1.53, 2.50 และ 3.28 นาที ตามลำดับ โดยตัวตรวจวัดที่ใช้คือ UV-visible ที่ความยาวคลื่น 205 นาโนเมตร สำหรับการดูสัญญาณพีคของกรดโพรพิโอนิก และที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร สำหรับดูสัญญาณพีคกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก วัฏภาคเคลื่อนที่ที่ใช้คือ แอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ (pH 4.5) กับเมทานอล ในอัตราส่วน 55:45 ที่อัตราเร็ว 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที

เมื่อทำกราฟมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ของกรดเบนโซอิก กรดซอร์บิก และกรดโพรพิโอนิก ได้กราฟมาตรฐาน ดังรูปที่ 3.2

a.



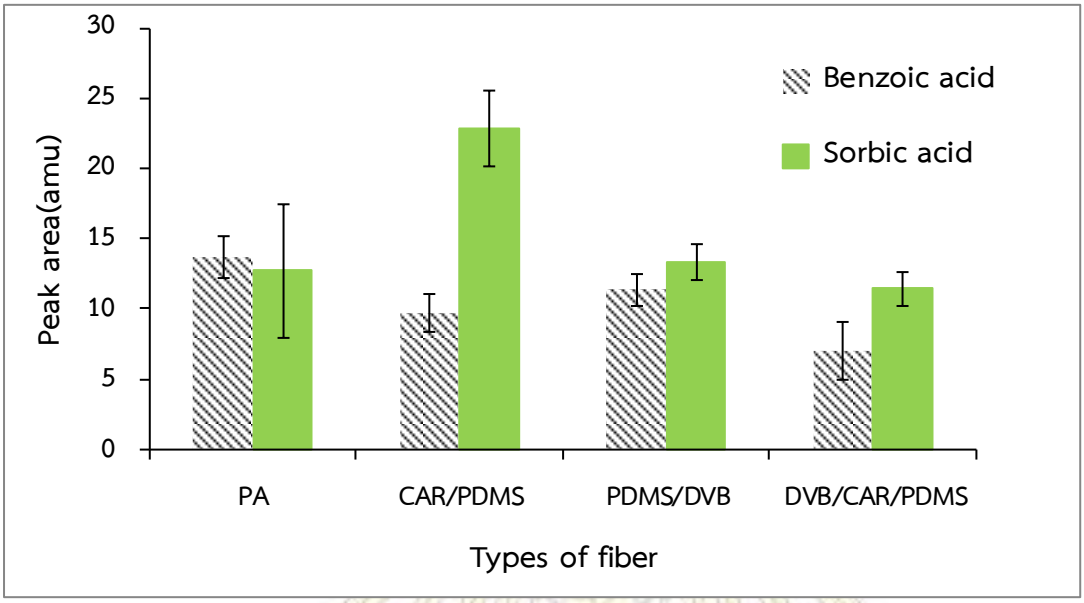
b.



รูปที่ 3.2 กราฟมาตรฐาน ของ (a.) กรดโพรพิโอนิก และ (b.) กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก

3.2 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส

3.2.1 ชนิดของไฟเบอร์ SPME ที่ใช้ในการสกัด



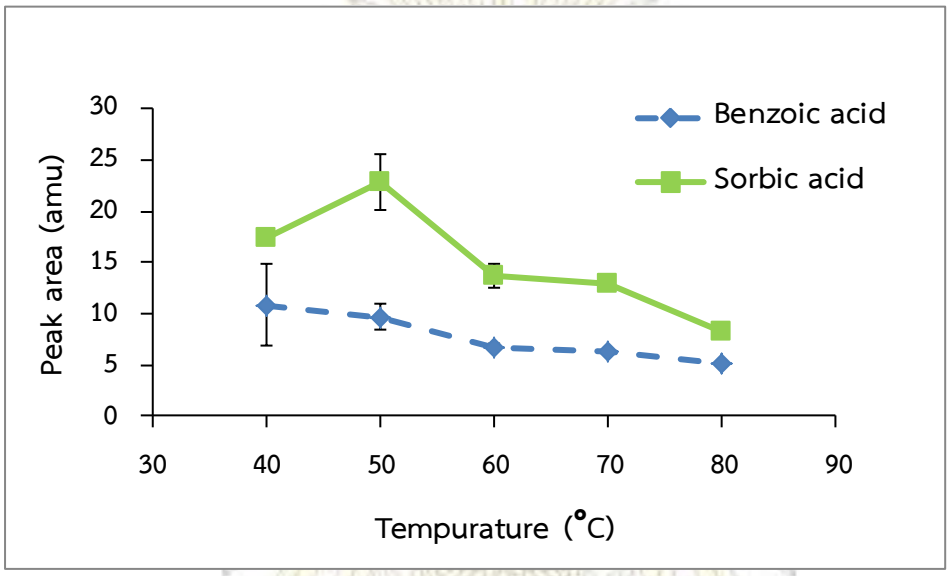
รูปที่ 3.3 ผลของชนิดของไฟเบอร์ SPME ต่อประสิทธิภาพการสกัดสารกันบูดกลุ่มกรดอินทรีย์ด้วยเทคนิค HS-SPME

จากการทดลองการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส (HS-SPME) โดยทำการศึกษา SPME fiber 4 ชนิด ได้แก่ 85 µm polyacrylate (PA), 85 µm Carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS), 65 µm polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB) และ 50/30 µm divinylbenzene/Carboxen on polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) โดยการเลือกใช้ SPME fiber ในการสกัดสารขึ้นอยู่กับมวลโมเลกุล ขนาด และความมีขั้วของสารที่ต้องการวิเคราะห์[20] เนื่องจากสารกันบูดที่ต้องการสกัดมีความเป็นขั้ว จึงเลือกชนิดไฟเบอร์ที่มีความมีขั้วเพื่อให้สามารถสกัดสารประเภทที่มีขั้วได้ โดยไฟเบอร์แต่ละชนิดมีคุณสมบัติความเป็นขั้วที่ไม่เท่ากัน จากรูปที่ 3.3 พบว่าไฟเบอร์ที่มีประสิทธิภาพในการสกัดกรดเบนโซอิกได้ดีที่สุดคือ PA ส่วนไฟเบอร์ที่มีประสิทธิภาพในการสกัดกรดซอร์บิกได้ดีที่สุด คือ CAR/PDMS อย่างไรก็ตาม การสกัดกรดเบนโซอิกด้วย SPME fiber CAR/PDMS ให้ประสิทธิภาพในการสกัดต่ำกว่า PA เล็กน้อย ในขณะที่การสกัดกรดซอร์บิกด้วย CAR/PDMS มีประสิทธิภาพในการสกัดที่ดีกว่า PA อย่างเห็นได้ชัด ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกไฟเบอร์ที่มีประสิทธิภาพในการสกัดที่ดีทั้งกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก จึงเลือกใช้ไฟเบอร์ชนิด CAR/PDMS ในการศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อไป

นอกจากนี้ในการสกัด HS-SPME สามารถสกัดสารกันบูดกลุ่มกรดอินทรีย์ได้เพียงสองชนิด คือกรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิก แต่ไม่สามารถตรวจพบกรดโพรพิโอนิกได้ เนื่องจากการสกัดด้วยเทคนิค HS-SPME

สามารถสกัดสารได้ปริมาณน้อย และความไวในการตรวจวัดกรดโพรพิโอนิกด้วยเทคนิค HPLC-UV ค่อนข้างต่ำ พิจารณาได้จากกราฟมาตรฐานในรูปที่ 3.3 ที่ช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดโพรพิโอนิกสูงกว่ากรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิกมากทำให้ไม่สามารถเห็นสัญญาณของการสกัดกรดโพรพิโอนิกด้วย HS-SPME ดังนั้นในการศึกษาปัจจัยอื่นๆ ของ การสกัดสารกันบูดด้วยเทคนิค HS-SPME จะพิจารณาจากประสิทธิภาพการสกัดของกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกเท่านั้น

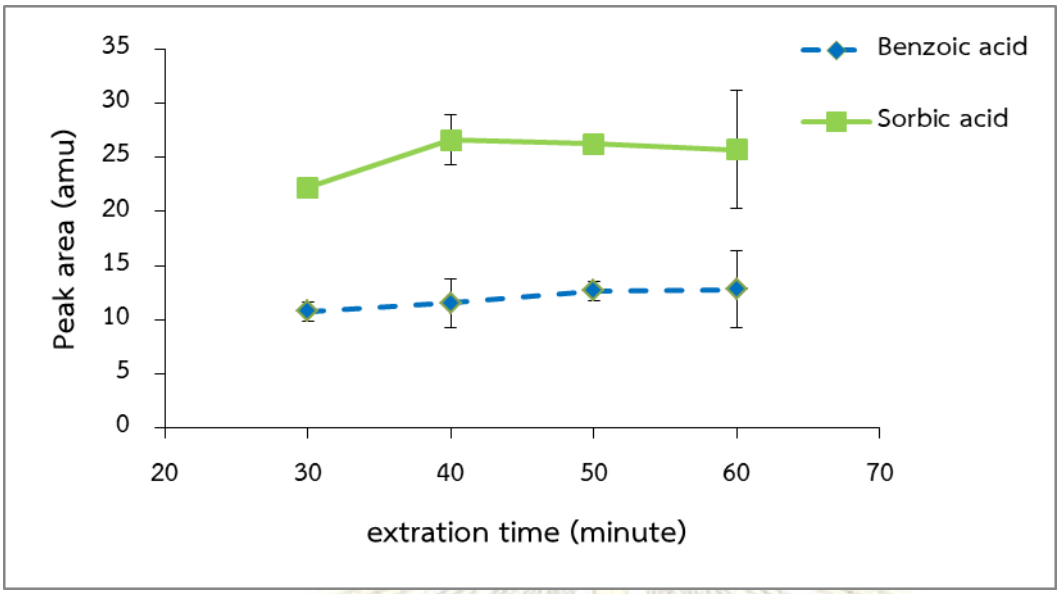
3.2.2 อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด



รูปที่ 3.4 ผลของอุณหภูมิที่ใช้ต่อประสิทธิภาพการสกัดสารกันบูดกลุ่มกรดอินทรีย์ด้วยเทคนิค HS-SPME

จากรูปที่ 3.4 พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิของการสกัดจาก 40 องศาเซลเซียสเป็น 50 องศาเซลเซียส ประสิทธิภาพในการสกัดกรดซอร์บิกจะเพิ่มขึ้น ส่วนประสิทธิภาพในการสกัดกรดเบนโซอิกลดลงเล็กน้อย แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเป็น 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ พบว่าประสิทธิภาพในการสกัดทั้งกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกจะลดลง จึงเลือกอุณหภูมิที่ทำให้มีประสิทธิภาพในการสกัดได้ทั้งกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกดีที่สุด คือ 50 องศาเซลเซียส เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจะช่วยให้สารเข้าสู่สมดุลการแพร่ระหว่างสถานะของเหลวและสถานะแก๊สในขวดสีชาได้ดีขึ้น ทำให้เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 40 เป็น 50 องซาเซลเซียส มีประสิทธิภาพในการสกัดดีขึ้น เพราะสารมีการย้ายมาอยู่ในสถานะแก๊สมากขึ้น จึงสามารถดูดซับบนไฟเบอร์ได้มากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มอุณภูมิในการสกัดเป็นเป็น 60 70 และ 80 องศาเซลเซียสพบว่าประสิทธิภาพกลับลดลงอย่างเห็นได้ชัด เนื่องมาจากมีไอน้ำมาเกาะที่ไฟเบอร์ SPME ทำให้ไฟเบอร์ SPME ดูดซับสารที่ต้องการวิเคราะห์ (กรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก) ลดลง เป็นผลให้ประสิทธิภาพของการสกัดสารลดลง

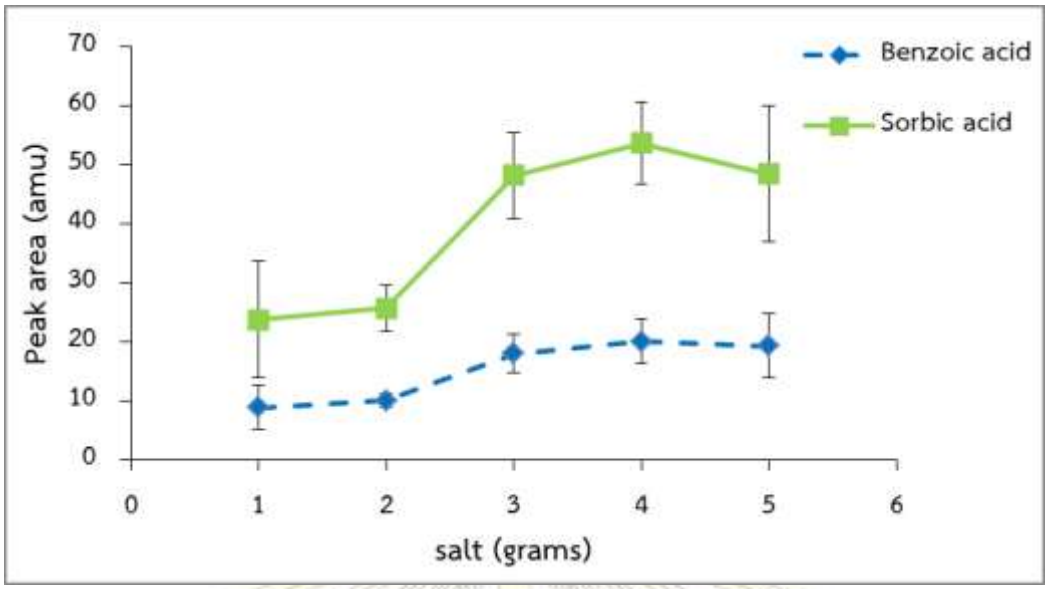
3.2.3 เวลาที่ใช้ในการสกัด



รูปที่ 3.5 ผลของเวลาที่ใช้ต่อประสิทธิภาพการสกัดสารกันบูดกลุ่มกรดอินทรีย์ด้วยเทคนิค HS-SPME

จากการทดลอง ศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดที่ 30, 40, 50 และ 60 นาที ตามรูปที่ 3.5 พบว่าประสิทธิภาพในการสกัดจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดจาก 30 เป็น 40 นาที แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดเป็น 50 และ 60 นาที ประสิทธิภาพในการสกัดกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกไม่เปลี่ยนแปลงจึงเลือกระยะเวลาในการสกัดที่ทำให้มีประสิทธิภาพในการสกัดได้ทั้งกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกดีที่สุด คือ 40 นาที เพราะเป็นเวลาที่สารเข้าสู่สมดุลระหว่างสถานะของเหลวกับสถานะแก๊สในขวดสีชาแล้วทำให้แม้จะเพิ่มระยะเวลาในการสกัด สารที่ดูดซับบนไฟเบอร์จึงมีปริมาณไม่ต่างจากเดิม ดังนั้นจึงเลือกที่ระยะเวลาในการสกัดที่ให้ประสิทธิภาพการสกัดดีที่สุดแต่ใช้เวลาน้อยที่สุด

3.2.4 การเติมเกลือ



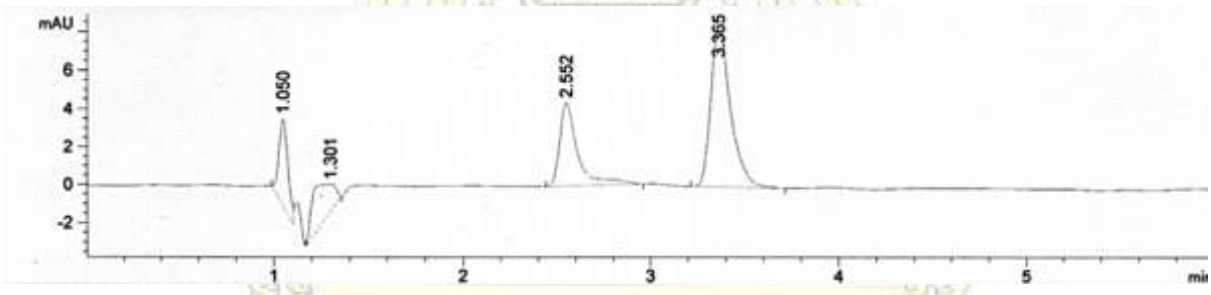
รูปที่ 3.6 ผลของเกลือต่อต่อประสิทธิภาพการสกัดสารกันบูดกลุ่มกรดอินทรีย์ด้วยเทคนิค HS-SPME

จากการทดลอง ศึกษาการเติมเกลือที่ปริมาณต่างๆ ตามรูปที่ 3.6 พบว่าเมื่อเติมเกลือเพิ่มมากขึ้นจะทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากการเติมเกลือมีส่วนช่วยทำให้ค่า ionic strength ของสารละลายเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้สารที่ต้องการวิเคราะห์ละลายในน้ำได้ลดลง จึงสามารถเปลี่ยนจากสถานะของเหลวไปสถานะของแก๊สได้มากขึ้น เป็นผลทำให้สารถูกดูดซับที่ SPME fiber มากขึ้น ประสิทธิภาพในการสกัดจึงดีขึ้น โดยปริมาณเกลือที่เหมาะสมที่สุดคือ 4 กรัม เพราะให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีที่สุด แต่เมื่อเติมเกลือปริมาณ 5 กรัม พบว่าประสิทธิภาพในการสกัดลดลง อาจเนื่องมาจากเกลือที่เติมลงไปละลายไม่หมดและส่งผลกระทบต่อการแพร่ของสารจากสถานะของเหลวไปสถานะแก๊สในขวดสีชาจึงทำให้ประสิทธิภาพการสกัดลดลง

จากการศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ ในหัวข้อ 3.2.1-3.2.4 ได้แก่ ชนิดของไฟเบอร์ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัดและการเติมเกลือ ได้ภาวะการสกัดสารกันบูดด้วยเทคนิค HS-SPME ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด ดังตารางที่ 3.1 และจากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานผสมด้วยกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก 50 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดโพรพิโอนิก 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ทำการสกัดแบบการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปสด้วยเทคนิค HPLC ได้โครมาโทแกรมของการสกัดดังรูปที่ 3.7

ตารางที่ 3.1 ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส (HS-SPME)

ปริมาตรสารตัวอย่าง	10 มิลลิลิตร
ความเป็นกรด-เบสของสารตัวอย่าง	ในสภาวะ 0.05 โมลาร์ H_2SO_4
ชนิดของไฟเบอร์ SPME	85 µm Carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS)
อุณหภูมิในการสกัด	50 องศาเซลเซียส
เวลาที่ใช้ในการสกัด	40 นาที
ปริมาณเกลือ Na_2SO_4 ที่เติม	4 กรัม
ตัวทำละลายสำหรับชะ	เมทานอล-น้ำ (40:60)
ปริมาตรตัวชะ	0.7 มิลลิลิตร
ระยะเวลาในการชะไฟเบอร์ SPME	5 นาที



รูปที่ 3.7 โครมาโทแกรมของการสกัดสารละลายมาตรฐานกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก 50 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดโพรพิโอนิก 500 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ด้วยเทคนิค HS-SPME ที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร

<u>หมายเหตุ</u> ทำการสกัดแบบการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส (HS-SPME) โดยใช้ภาวะที่เหมาะสม ดังตารางที่ 3.1

บทที่ 4
สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานผสมกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิก 50 มิลลิกรัมต่อลิตรและกรดโพรพิโนอิก 500 มิลลิกรัมต่อลิตรด้วยเทคนิค HPLC-UV พบว่า สามารถแยกสารทั้งสามชนิดได้ โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่คือ เมทานอล ต่อ อะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 4.5 ในอัตราส่วน 55:45 และความยาวคลื่นที่ใช้ในการวิเคราะห์กรดโพรพิโอนิก คือ 205 นาโนเมตร ส่วนกรดเบนซิกอิกและกรดซอร์บิก คือ 230 นาโนเมตร เมื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดโพรพิโอนิก กรดเบนโซอิก และกรดซอร์บิก โดยการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส (HS-SPME) และเทคนิค HPLC ได้แก่ ชนิดของ SPME fiber อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด และการเติมเกลือ พบว่า ชนิดของไฟเบอร์ที่ให้ประสิทธิภาพดีที่สุด คือ CAR/PDMS เนื่องจากกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดเป็นสารมีขั้ว จึงสามารถสกัดได้ดีเมื่อใช้ SPME fiber ที่มีขั้ว ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดคือ 50 องศาเซลเซียส เนื่องจากจะช่วยให้สารเข้าสู่สมดุลการแพร่ระหว่างสถานะของเหลวและสถานะแก๊สในขวดได้ดีขึ้น ส่วนเวลาที่ใช้ในการสกัดที่เหมาะสมคือ 40 นาที เนื่องจากเป็นระยะเวลาในการสกัดน้อยที่สุดที่มีการเข้าสู่สมดุลระหว่างสถานะของเหลวและแก๊ส ส่วนการเติมเกลือโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส เพื่อเพิ่มค่า ionic strength ของสารละลาย ซึ่งช่วยให้สารระเหยจากสถานะของเหลวไปสู่สถานะแก๊สได้มากขึ้น ได้ประสิทธิภาพการสกัดดีที่สุดเมื่อเติมเกลือ 4 กรัม จากการศึกษาพบว่าทั้ง 4 ปัจจัยนี้มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส (HS-SPME) ทั้งหมด โดยภาวะการสกัดที่เหมาะสมเป็นดัง ตารางที่ 3.1

เนื่องด้วยระยะเวลาในการทำงานวิจัยที่จำกัด ทั้งในเรื่องของเครื่องมือ สารเคมี และการทดลองที่ผิดพลาดทำให้ผู้ทำวิจัยไม่ได้ศึกษาปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส (HS-SPME) เช่น การเติมกรด ปริมาณสารละลายที่ใช้ชะ เวลาในการชะสารที่ต้องการวิเคราะห์ เป็นต้น รวมทั้งปัญหาจากการทดลองทำให้ไม่สามารถสกัดกรดโพรพิโอนิกออกมาพร้อมกรดเบนโซอิกและกรดซอร์บิกได้ และควรได้ทดลองกับสารตัวอย่างจริง เช่น เครื่องดื่มด้วย

บรรณานุกรม

1. Dong, C.; Mei, Y.; Chen L.; Simultaneous determination of sorbic and benzoic acids in food dressing by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography. *Journal of Chromatography A.* **2006**, *1117*, 109-114.
2. Ibáñez, C.; Analysis of total propionic acid in feed using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. **2003**, *1017*(1-2), 161-166.
3. Ding, M.; Peng, J.; Ma, S.; Zhang, Y.; An environment-friendly procedure for the high performance liquid chromatography determination of benzoic acid and sorbic acid in soy sauce. *Food Chemistry*. **2015**, *183*, 26-29.
4. Xu, J.; Chen, B.; He, M.; Hu, B.; Analysis of preservatives with different polarities in beverage samples by dual-phase dual stir bar sorptive extraction combined with high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. **2013**, *1278*, 8-15.
5. Saad, B.; Bari, M.; Saleh, M.; Ahmad, M.; Talibb, M.; Simultaneous determination of preservatives (benzoic acid, sorbic acid, methylparaben and propylparaben) in foodstuffs using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. **2005**, *1073*(1-2), 393-397.
6. Özcelik, S.; Kuley, E.; Özogul, F.; Formation of lactic, acetic, succinic, propionic, formic and butyric acid by lactic acid bacteria. *LWT - Food Science and Technology*. **2016**, *73*, 536-542.
7. Tfouni, S.; Toledo, m.; Determination of benzoic and sorbic acids in Brazilian food. *Food Control*. **2002**, *13*(2), 117-123.
8. Sagandykova, G.; Alimzhanova, M.; Nurzhanova, Y.; Kenessov, B.; Determination of semi-volatile additives in wines using SPME and GC-MS. *Food Chemistry*. **2017**, *220*, 162-167.
9. Ding, X.; Xie, N.; Zhao, S.; Wu, Y.; Li, J.; Wang, Z.; Simultaneous determination of ten preservatives in ten kinds of foods by micellar electrokinetic chromatography. *Food Chemistry.* **2015,** *181*, 207-214.
10. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/sorbic_acid (accessed April 4, 2018)
11. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/benzoic_acid#section=Top (accessed April 4, 2018)
12. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/propionic_acid (accessed April 4, 2018)

13. https://www.researchgate.net/figure/Commercial-SPME-device-a-SPME-fiber-holder-and-b-cross-section-of-SPME-fiber_fig3_221936049 (accessed April 3, 2018)
14. https://www.researchgate.net/figure/a-Headspace-and-b-direct-immersion-SPME-Kataoka-et-al-2000-Reprinted-with_fig2_221936049 (accessed April 3, 2018)
15. http://elib.fda.moph.go.th/library/default.asp?page2=subdetail&id_L1=27&id_L2=15799&id_L3=3075 (accessed April 6, 2018)
16. http://elib.fda.moph.go.th/library/default.asp?page2=subdetail&id_L1=27&id_L2=15799&id_L3=3076 (accessed April 6, 2018)
17 http://share.psu.ac.th/blog/science-equipment/945 (accessed April 9, 2018)
18. http://www.siamchemi.com/ (accessed April 9, 2018)
19. http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1132/benzoic-acid- (accessed April 13, 2018)
20. Solid Phase Microextraction: Recent Developments and Applications Page 160 (accessed April 13, 2018)
21. https://www.chemipan.com/home/index.php/635 (accessed April 16, 2018)
22. http://amprohealth.com/nutrition/propionic-acid/ (accessed April 16, 2018)
23. http://specialfood.co.th/item/544-preservative-for-bakery (accessed April 16, 2018)
24. http://thaifoodrecipesmake.blogspot.com/2014/12/blog-post_17.html (accessed April 16, 2018)
25. https://guru.sanook.com/4320/ (accessed April 16, 2018)

ภาคผนวก

ตารางที่ ก.1 ผลการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส (HS-SPME) โดยไฟเบอร์ SPME ที่แตกต่างกัน 4 ชนิด

ชนิดของไฟเบอร์ SPME	พื้นที่ใต้กราฟของกรดเบนโซอิก (amu)			Average	SD	% RSD	พื้นที่ใต้กราฟของกรดซอร์บิก (amu)			average	SD	% RSD
	1	2	3				1	2	3			
PA	12.80	15.40	12.80	13.67	±1.50	11.0	15.40	15.60	7.20	12.73	±4.79	37.6
CAR/PDMS	9.00	11.26	8.90	9.72	±1.33	13.7	21.00	21.70	25.90	22.87	±2.65	11.6
PDMS/DVB	10.30	11.10	12.60	11.33	±1.17	10.3	12.10	13.20	14.60	13.30	±1.25	9.42
CAR/DVB/PDMS	5.55	6.04	9.39	7.00	±2.09	29.8	10.12	12.44	11.79	11.45	±1.20	10.4

หมายเหตุ

<u>ภาวะการสกัด HS-SPME</u> : ปริมาตรสารตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร, ความเข้มข้นของสารที่สกัด 50 มิลลิกรัมต่อลิตร, ความเป็นกรด-เบสของสารตัวอย่างในสภาวะ 0.05 โมลาร์ H_2SO_4, อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส, เวลาที่ใช้ในการสกัด 40 นาที, ปริมาณเกลือ Na_2SO_4 ที่เติม 2 กรัม

ตารางที่ ก. 2 ผลการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส (HS-SPME) โดยใช้ไฟเบอร์ชนิด CAR/PDMS และทำการสกัดที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

อุณหภูมิ	พื้นที่ใต้กราฟของกรดเบนโซอิก (amu)			Average	SD	% RSD	พื้นที่ใต้กราฟของกรดซอร์บิก (amu)			average	SD	% RSD
	1	2	3				1	2	3			
40	11.60	14.50	6.50	10.87	±4.05	37.3	17.90	16.80	17.36	17.35	±0.55	3.2
50	9.00	11.26	8.90	9.72	±1.33	13.7	21.00	21.70	25.90	22.87	±2.65	11.6
60	7.00	6.50	6.90	6.80	±0.26	3.9	14.70	14.00	12.40	13.70	±1.18	8.6
70	6.30	6.30	6.30	6.30	0	0	13.10	12.20	13.30	12.87	±0.59	4.6
80	5.25	5.30	5.03	5.20	±0.14	2.8	8.40	8.80	7.70	8.30	±0.56	6.7

หมายเหตุ

<u>ภาวะการสกัด HS-SPME</u> : ปริมาตรสารตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร, ความเข้มข้นของสารที่สกัด 50 มิลลิกรัมต่อลิตร, ความเป็นกรด-เบสของสารตัวอย่างในสภาวะ 0.05 โมลาร์ H_2SO_4, ไฟเบอร์ที่ใช้ในการสกัด คือ 85 μm Carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS), เวลาที่ใช้ในการสกัด 40 นาที, ปริมาณเกลือ Na_2SO_4 ที่เติม 2 กรัม

ตารางที่ ก.3 ผลการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส (HS-SPME) โดยใช้ไฟเบอร์ชนิด CAR/PDMS ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และใช้ระยะเวลาในการสกัดที่แตกต่างกัน

เวลาในการสกัด	พื้นที่ใต้กราฟกรดเบนโซอิก (amu)			average	SD	% RSD	พื้นที่ใต้กราฟกรดซอร์บิก (amu)			average	SD	% RSD
	1	2	3				1	2	3			
30	11.80	10.20	10.30	10.77	±0.90	8.3	22.10	22.40	22.10	22.20	±0.17	0.8
40	14.10	10.10	10.30	11.50	±2.25	19.6	25.70	29.60	24.60	26.63	±2.63	9.87
50	12.90	11.70	13.40	12.67	±0.87	6.9	26.70	26.10	25.90	26.23	±0.42	1.6
60	16.50	9.40	12.40	12.77	±3.56	27.9	25.20	20.50	31.40	25.70	±5.47	21.3

หมายเหตุ

ภาวะการสกัด HS-SPME : ปริมาตรสารตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร, ความเข้มข้นของสารที่สกัด 50 มิลลิกรัมต่อลิตร, ความเป็นกรด-เบสของสารตัวอย่างในสภาวะ 0.05 โมลาร์ H_2SO_4, ไฟเบอร์ที่ใช้ในการสกัด คือ 85 µm Carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS), อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส, ปริมาณเกลือ Na_2SO_4 ที่เติม 2 กรัม

ตารางที่ ก. 4 ผลการสกัดระดับจุลภาคด้วยวัฏภาคของแข็งแบบเฮดสเปส(HS-SPME) ใช้ไฟเบอร์ชนิด CAR/PDMS ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาในการสกัด 40 นาที โดยเติมปริมาณเกลือที่แตกต่างกัน

ปริมาณเกลือ (กรัม)	พื้นที่ใต้กราฟกรดเบนโซอิก (amu)			average	SD	% RSD	พื้นที่ใต้กราฟกรดซอร์บิก (amu)			average	SD	% RSD
	1	2	3				1	2	3			
1	5.17	8.80	12.60	8.86	±3.72	42.0	13.40	24.90	33.00	23.77	±9.85	41.4
2	8.90	10.10	11.26	10.09	±1.18	11.7	25.90	29.60	21.70	25.73	±3.95	15.4
3	15.40	17.12	21.60	18.04	±3.20	17.7	40.60	48.88	55.10	48.19	±7.27	15.1
4	24.30	16.80	19.37	20.16	±3.81	18.9	59.76	46.10	55.00	53.62	±6.94	12.9
5	16.09	25.63	16.20	19.30	±5.48	28.4	44.44	61.40	39.40	48.41	±11.53	23.8

หมายเหตุ

ภาวะการสกัด HS-SPME : ปริมาตรสารตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร, ความเข้มข้นของสารที่สกัด 50 มิลลิกรัมต่อลิตร, ความเป็นกรด-เบสของสารตัวอย่างในสภาวะ 0.05 โมลาร์ H_2SO_4, ไฟเบอร์ที่ใช้ในการสกัด คือ 85 µm Carboxen/polydimethylsiloxane (CAR/PDMS), อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส, เวลาที่ใช้ในการสกัด 40 นาที

ประวัติผู้วิจัย

นางสาวนิโลบล ทองดอนแอ เกิดเมื่อวันที่ 16 เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2539 ที่ จังหวัดพิษณุโลก สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนจุฬาภรณราชวิทยาลัย จังหวัดพิษณุโลก เมื่อปีการศึกษา 2556 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2557 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 196/1 ตำบลวังโพรง อำเภอเนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลก รหัสไปรษณีย์ 65190 อีเมล nuhinbb@outlook.com