

การพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างผักสดและ
ผักแปรรูปโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
เมษายน 2558

การพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างผักสดและ
ผักแปรรูปโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

เมษายน 2558

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างผักสดและ
ผักแปรรูปโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
เมษายน 2558

ปิยะทิพย์ หนูแก้ว. (2558). การพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างผักสดและผักแปรรูปโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (เคมี). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: รองศาสตราจารย์ ดร. พรพิมล ม่วงไทย.

กรดอินทรีย์เป็นกรดที่พบได้ในผัก และผลไม้ กรดอินทรีย์จัดว่ามีประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมอาหาร และเครื่องสำอาง กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก จัดเป็นกลุ่มกรดอินทรีย์กลุ่มหนึ่งที่น่าสนใจ ในงานวิจัยนี้มีจุดประสงค์ที่จะศึกษาหาปริมาณกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดข้างต้นในผักสดและผักแปรรูป ทั้งนี้ได้ศึกษาและพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ด้วยเทคนิคการสกัดบนวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) โดยทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่าง ได้แก่ ชนิดของวัฏภาคของแข็ง อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็ง ระยะเวลาในการบดตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็ง ชนิดของตัวชะ ปริมาตรของตัวชะ และนำไปประยุกต์ในวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้ง 3 ชนิดในตัวอย่างผักสดและผักแปรรูปโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ผลการศึกษาพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างของวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ได้แก่ ชนิดสารวัฏภาคของแข็งที่เหมาะสม คือ สารผสมระหว่าง C_{18} : ซิลิกา ในอัตราส่วน 1:1 ในการผสมตัวอย่างจะใช้อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งเท่ากับ 1:1 ทำการผสมตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งใช้เวลา 30 วินาที ใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตรเป็นสารชะกรดอินทรีย์ จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดกรดอินทรีย์ข้างต้น เมื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้คอลัมน์เป็น C_{18} เป็นวัฏภาคอยู่หนึ่ง และใช้สารละลายกรดซัลฟิวริก 1×10^{-3} โมลาร์ และเมทานอล ในอัตราส่วน 98:2 ปริมาตรต่อปริมาตร เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ ควบคุมอัตราการไหลเท่ากับ 1.00 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดสัญญาณที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 210 นาโนเมตร จากสภาวะข้างต้นสามารถแยกกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ได้ภายใน 5.5 นาที ผลการศึกษาประสิทธิภาพวิธีการทดลอง พบว่า ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) กรดทาร์ทาริก กรดมาลิกและกรดซิตริก เท่ากับ 0.18 0.52 และ 0.55 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ (LOQ) เท่ากับ 0.62 1.74 และ 1.83 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ค่าร้อยละการกลับคืนของกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด อยู่ในช่วง 85.70-99.37 ค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ในช่วง 1.34-6.86 ปริมาณกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ในตัวอย่างผักสดอยู่ในช่วง 5.01-120.31 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และในตัวอย่างผักแปรรูปอยู่ในช่วง 3.03-80.69 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ วิธีการเตรียมตัวอย่างที่พัฒนาขึ้นนั้นเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว ใช้สารละลายปริมาณน้อย สามารถสกัด และทำความสะอาดได้ในขั้นตอนเดียว และสามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับสกัดตัวอย่าง และการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างผักและผลไม้

METHOD DEVELOPMENT OF SAMPLE PREPARATION AND DETERMINATION OF ORGANIC ACID
CONTENTS IN FRESH VEGETABLES AND PROCESSED VEGETABLES USING HIGH
PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY



Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Master of Science Degree in Chemistry
at Srinakharinwirot University
April 2015

Piyatip Nookaew. (2015). *Method development of sample preparation and determination of organic acid contents in fresh vegetables and processed vegetables using high performance liquid chromatography*. Master Thesis M.Sc. (Chemistry). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Thesis Advisor: Associate Professor Dr. Pornpimol Muangthai.

Organic acids were naturally found in vegetables and fruits. It widespread uses in food and cosmetic industries. Tartaric acid, malic acid and citric acid are an interesting organic acids. In this study, the optimal condition for sample preparation of above three organic acids analyzed by matrix solid phase dispersion (MSPD) were studied such as type of adsorbent, type of eluent solvent, eluent solvent volume and time for blending sample with adsorbent and also applied for analysis three organic acids in fresh vegetables and processed vegetables using high performance liquid chromatography. The results showed that the optimum extraction conditions of matrix solid phase dispersion (MSPD) were using C₁₈ mixed with silica in the ratio 1:1 as the adsorbent, blending sample with adsorbent as 1:1 within 30 seconds, using 3 ml of 5×10^{-4} M sulfuric acid as eluent. The optimum extraction conditions were applied to analyse three organic acids by high performance liquid chromatography. The chromatographic analysis of organic acids was carried out using C₁₈ as stationary phase. Sulphuric acid solution (1×10^{-3} M) : methanol (98:2) was used as mobile phase. The flow rate was controlled at 1.00 ml/min. and detected all acids by diode array detector at 210 nm. Three organic acids were eluted in 5.5 minutes. The limits of detections (LOD) for analysis of tartaric acid, malic acid and citric acid were 0.18 0.52 and 0.55 mg/L, respectively. The limit of quantitation (LOQ) for analysis of tartaric acid, malic acid and citric acid were 0.62, 1.74 and 1.83 mg/L, respectively. The percentage recoveries of three organic acid were in the range of 85.70-99.37. The relative standard deviations (%RSD) were in the range of 1.34-6.86 mg/L. Three organic acids were in the range of 5.01-120.31 mg/100g in fresh vegetables and 3.03-80.69 mg/100g in processed vegetables. This method was simple, rapid, consumed less organic solvent for extraction and clean up in one step. The proposed method can be used for routine analysis of acids in fruits and vegetables.

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการทำปริญญานิพนธ์สำหรับนิสิตในระดับบัณฑิตศึกษาจากงบประมาณ
เงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2557

ปริญญานิพนธ์
เรื่อง
การพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างผักสดและ
ผักแปรรูปโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
ของ
ปิยะทิพย์ หนูแก้ว

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.สมชาย สันติวัฒนกุล)
วันที่..... เดือน..... พ.ศ. 2558

อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ คณะกรรมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์

..... ที่ปรึกษา ประธาน
(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย) (อาจารย์ ดร.วินัย อวงพิพัฒน์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.วีณา เสียงเพราะ)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี ผู้วิจัยได้รับคำแนะนำ ความช่วยเหลือ และความอนุเคราะห์จากคณาจารย์ในภาควิชาเคมี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.พรพิมล ม่วงไทย อาจารย์ที่ปริญญานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษา ชี้แนะข้อบกพร่องต่าง ๆ และแก้ไข ปัญหาในการทำงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ ดร. วินัย อวงพิพัฒน์ ประธานกรรมการในการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. วิณา เสียงเพระ กรรมการควบคุมการสอบปากเปล่าปริญญานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนชี้แนะข้อบกพร่อง เพื่อให้ปริญญานิพนธ์มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเคมีทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ทางเคมี ขอขอบคุณเจ้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเคมีทุกคน ที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกแก่ผู้วิจัย

ผู้วิจัยน้อมรำลึกถึงพระคุณของบิดา มารดาและญาติสนิททุกท่านที่ให้คำแนะนำ และกำลังใจ รวมถึงสนับสนุนผู้วิจัยในด้านการศึกษา และขอบพระคุณทุกท่านที่ได้กล่าวนามใน ณ ที่นี้ ที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ จนปริญญานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จลุล่วงด้วยดี

ปิยะทิพย์ หนูแก้ว

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
ภูมิหลัง	1
ความมุ่งหมายงานวิจัย	3
ความสำคัญของงานวิจัย	3
ขอบเขตของงานวิจัย	3
ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
ผักสด.....	5
กรดอินทรีย์	7
ประโยชน์ของกรดอินทรีย์	11
กระบวนการแปรรูปผัก	12
การเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์	16
วิธีการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD)	19
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	21
3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	28
อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย.....	28
ตอนที่ 1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างกรดอินทรีย์	30
ตอนที่ 2 การเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างโดยใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วย วัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ที่พัฒนาขึ้นกับ วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็ง และใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วย วัฏภาคของเหลว	31
ตอนที่ 3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ โดยใช้ เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	33
ตอนที่ 4 ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ที่ พัฒนาขึ้น ...	33

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3 (ต่อ)	
ตอนที่ 5 การศึกษาผลของสารรบกวนการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์	36
ตอนที่ 6 วิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างผักสดและผักแปรรูป	36
4 ผลการทดลอง	37
ตอนที่ 1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างกรดอินทรีย์	37
ผลการศึกษาชนิดของภูมิภาคของแข็งที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่าง	37
ผลการศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับภูมิภาคของแข็งที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่าง	38
ผลการศึกษาเวลาในการบดตัวอย่างกับภูมิภาคของแข็ง.....	39
ผลการศึกษาชนิดของตัวชะสารที่เหมาะสมในการชะกรดอินทรีย์.....	40
ผลการศึกษาปริมาตรของสารละลายอัลพิวริกที่เหมาะสมในการชะกรดอินทรีย์..	42
ตอนที่ 2 ผลการเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างโดยใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยตัวภูมิภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ที่พัฒนาขึ้นกับวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยตัวดูดซับของแข็ง และใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยของเหลว	43
ตอนที่ 3 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	45
ผลการศึกษาชนิดและองค์ประกอบของภูมิภาคเคลื่อนที่	45
ผลการศึกษาอัตราการไหลของภูมิภาคเคลื่อนที่	49
ตอนที่ 4 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ที่พัฒนาขึ้น	52
การสร้างกราฟมาตรฐาน	52
การหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณได้ (LOQ)	54
การหาค่าความถูกต้อง	54

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 (ต่อ)	
การหาความแม่นยำของวิธีการตรวจวิเคราะห์ (precision)	56
ตอนที่ 5 ผลการศึกษาผลของสารรบกวนการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์	56
ตอนที่ 6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างผักสดและผักแปรรูป	58
5 สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	62
บรรณานุกรม	66
ภาคผนวก	72
ภาคผนวก ก	73
ภาคผนวก ข	75
ภาคผนวก ค	82
ประวัติย่อผู้วิจัย	85

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 ปริมาณและชนิดของกรดอินทรีย์ที่พบในผลิตภัณฑ์ 11	11
2 ผักที่นิยมนำมาแปรรูปด้วยกระบวนการดอง 14	14
3 ปริมาณกรดอินทรีย์ในผักกาดขาวปลีกิมจิ 15	15
4 การสกัดตัวอย่างด้วยวิธีการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) 20	20
5 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณได้ (LOQ) 54	54
6 ค่าร้อยละส่วนของเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของกรดทาร์ทาริก กรดมาลิกและกรดซิตริก 56	56
7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ในตัวอย่างผักสดและผักแปรรูป 58	58

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 โครงสร้างทางเคมีของกรดทาร์ทาริก	8
2 โครงสร้างทางเคมีของกรดมาลิก	9
3 โครงสร้างทางเคมีของกรดซิตริก	9
4 การสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของเหลว	17
5 การสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็ง	17
6 ขั้นตอนการสกัดแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD)	19
7 ผลการศึกษาวัฏภาคของแข็งที่เหมาะสม	38
8 ผลการศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งที่เหมาะสม.....	39
9 ผลการศึกษาเวลาในการบดตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งที่เหมาะสม	40
10 ผลการศึกษาชนิดของตัวชะที่เหมาะสม	41
11 ผลการศึกษาปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟิวริก	42
12 ผลการศึกษาการเปรียบเทียบเทคนิคการสกัด	44
13 โคโรมาโทแกรมจากผลการศึกษาชนิดของวัฏภาคเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์	46
14 โคโรมาโทแกรมจากผลการศึกษาองค์ประกอบของวัฏภาคเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์ ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก	48
15 ผลของระยะเวลาที่แช่ตัวอย่างต่อการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่	50
16 โคโรมาโทแกรมที่ได้จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณกรด ทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก	52
17 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้ เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	53
18 โคโรมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก และตัวอย่างกะหล่ำปลีสด ที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion	55
19 โคโรมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริกที่ เติมสารละลายผสมของสารรบกวน 6 ชนิด	57
20 โคโรมาโทแกรมของตัวอย่างขิงสด และขิงดอง	61

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
21 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างด้วยสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD)	74
22 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในกะหล่ำปลีสด A	76
23 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในกะหล่ำปลีสด A1	76
24 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในผักกาดสด B	77
25 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในผักกาดดอง B1	77
26 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในแตงกวาสด C	78
27 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในแตงกวาดอง C1	78
28 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในเห็ดหอมสด F	79
29 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในเห็ดหอมสด F1	79
30 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในแฮมปิญองสด G	80
31 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในแฮมปิญอง G1	80
32 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในหางหงส์สด I	81
33 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในหางหงส์สด I1	81

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
34 เครื่องกรองน้ำปราศจากไอออน	83
35 เครื่องชั่งอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง	83
36 ชุดกรองที่ใช้ในการกรองสารละลายมาตรฐานและตัวอย่างก่อนฉีดเข้าสู่ระบบโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	83
โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	84
37 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงและใช้ตัวตรวจวัดแบบไดโอดแอรเรย์ ...	84



บทที่ 1

บทนำ

ภูมิหลัง

ผัก และผลไม้เป็นกลุ่มพืชอาหารที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีพของมนุษย์โลกเรามาช้านาน มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ใช้ในการประกอบอาหารทั้งบำรุงร่างกาย และเป็นพืชสมุนไพรใช้รักษาโรคต่างๆ ช่วยล้างพิษ บำรุงรักษาสมดุลร่างกาย ช่วยลดปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งได้ ช่วยในการขับถ่ายให้เป็นปกติ ในผักและผลไม้ยังมีกรดอินทรีย์ในรูปต่างๆ ที่ให้กลิ่นรส กลิ่นของกรดอินทรีย์มีส่วนช่วยลดกรดที่เกิดจากการย่อยอาหารประเภทเนื้อสัตว์และอาหารให้พลังงานสูงในร่างกายได้รส และยังเป็นสารที่ต้านอนุมูลอิสระ ผักสดเป็นแหล่งสำคัญของวิตามิน และเกลือแร่ที่จำเป็นต่อร่างกาย แต่เนื่องจากผักสดจากผลผลิตทางการเกษตรนั้นมักเกิดปัญหาการเน่าเสียได้ง่าย หรือมีอายุในการเก็บรักษาได้สั้น ดังนั้นจึงมีวิธีการเก็บรักษาให้นานมากขึ้นโดยการแปรรูปซึ่งมีหลายวิธี ได้แก่ การแปรรูปออกมาเป็นผลิตภัณฑ์ และการแปรรูปเพื่อการเก็บรักษาให้นานมากยิ่งขึ้น ซึ่งกรรมวิธีในการแปรรูปนั้นสามารถทำได้หลายวิธีไม่ว่าจะเป็นการแปรรูปในครัวเรือนแบบดั้งเดิม เช่น การดอง การอบแห้ง เป็นต้น หรือการแปรรูปในระดับอุตสาหกรรม ได้แก่ การแปรรูปโดยใช้ความร้อน เช่น การทำน้ำผักแบบพาสเจอร์ไรส์ การแปรรูปโดยใช้ความเย็น เช่น การอบแห้งแบบเยือกแข็ง การแปรรูปนั้นนอกจากเป็นการยืดอายุการใช้งานแล้วยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์นั้นอีกด้วย (สุวรรณ. 2554: 55-56)

องค์ประกอบหลักของผัก ได้แก่ น้ำ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตามิน เกลือแร่ และกรดอินทรีย์ ปริมาณขององค์ประกอบเหล่านี้แตกต่างกันไปตามชนิดพันธุ์และแหล่งปลูกของผัก กรดอินทรีย์สามารถพบได้มากในผลไม้ต่างๆ แต่จะพบปริมาณน้อยในผัก กรดอินทรีย์ที่พบโดยทั่วไป เช่น กรดซิตริก กรดมาลิก กรดทาร์ทาริก ซึ่งกรดซิตริกเป็นกรดอินทรีย์ที่พบมากที่สุดในทุกผัก กรดอินทรีย์ที่พบในผักเป็นกรดอินทรีย์ที่รวมๆ กันอยู่หลายชนิด (นิตยา รัตนานนท์. 2557: 335-381)

กรดอินทรีย์เป็นส่วนประกอบหลักในผัก และผลไม้ นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ในน้ำมัน โยเกิร์ต ไวน์ เป็นสารกลุ่มที่นำมาใช้กับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ใช้กับผิวหนัง ที่ช่วยควบคุมสภาพสมดุลของผิวหนังช่วยลดความเสี่ยงของผิว นอกจากนี้ กรดอินทรีย์ยังมีความสำคัญที่ดีอีกหลายประการ เช่น สามารถให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวโดยไม่ทำให้เกิดอาการระคายเคืองหรือแพ้เหมือนสารในกลุ่มอื่นๆ ที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้น ช่วยในการผลัดเซลล์ผิว นอกจากนี้ยังช่วยทำให้สีผิวจางลงและช่วยลดการอุดตันของรูขุมขน ในปัจจุบันกรดอินทรีย์นิยมใช้กันมากในวงการแพทย์ผิวหนัง โดยนิยมเพื่อใช้ในการรักษาสิว ฝ้า รอยด่างดำ ริ้วรอยเหี่ยวย่น โดยพบว่ากรดอินทรีย์ที่นิยมใช้มากใน

อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น กรดซิตริก กรดมาลิก กรดไกลโคลิก กรดแลคติก กรดทาร์ทาริก (พงศิริ วินิจัย และคณะ. 2555: 2)

จะเห็นได้ว่ากรดอินทรีย์นั้นมีประโยชน์ในหลายด้าน ในงานวิจัยนี้จึงให้ความสนใจที่จะศึกษาหาปริมาณกรดอินทรีย์ ในตัวอย่างผักสด และผักผ่านการแปรรูป โดยได้พัฒนาวิธีการเตรียมสารตัวอย่างจากผัก โดยเน้นการเตรียมในเวลาสั้น ปกติการเตรียมตัวอย่างจากการสกัดสารที่สนใจ ตรวจสอบออกจากพืชตัวอย่างจัดเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญอย่างมากในกระบวนการวิเคราะห์ โดยทั่วไปการสกัดกรดอินทรีย์นั้นนิยมใช้วิธีการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว (liquid liquid extraction) วิธีนี้มีข้อดีคือสามารถทำได้ง่าย แต่ข้อเสียคือต้องใช้สารละลายปริมาณมากในการสกัดและใช้เวลานาน และอีกวิธีที่นิยมในการสกัดกรดอินทรีย์คือ การสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (solid phase extraction) ข้อดีของเทคนิคนี้คือสามารถกำจัดสารรบกวนออกจากสารที่สนใจ และช่วยเพิ่มความเข้มข้นของสารที่สนใจวิเคราะห์โดยใช้ตัวทำละลายในปริมาณน้อย แต่ข้อเสียของเทคนิคนี้คือนิยมใช้กับกับตัวอย่างที่เป็นของเหลวได้ดี แต่ในกรณีตัวอย่างเป็นของแข็งหรือกึ่งแข็งนั้นอาจทำได้ยาก เพราะตัวอย่างไม่ได้สัมผัสกับพื้นผิวของวัฏภาคของแข็งโดยตรง ทำให้สกัดแยกสารที่สนใจออกมาได้น้อย นอกจากวิธีการสกัดข้างต้นยังมีวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion extraction (MSPD) ซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะสมกับตัวอย่างที่มีลักษณะแข็งหรือกึ่งแข็ง เพราะวิธีนี้นำตัวอย่างมาผสมกับตัวดูดซับ ทำให้ตัวอย่างกับพื้นผิวของตัวดูดซับสัมผัสกัน ส่งผลทำให้สามารถสกัดแยกสารที่สนใจออกจากสารรบกวนอื่นๆได้ และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดให้ดียิ่งขึ้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้สนใจพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับการสกัดกรดอินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริกด้วยวิธีวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion extraction (MSPD) ในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูปแล้วตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ด้วยเทคนิคของโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography) รวมถึงศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด และการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์

ความมุ่งหมายของงานวิจัย

1. เพื่อพัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก โดยใช้วิธีสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD)
2. เพื่อศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อวิธีสกัดกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD)
3. เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก
4. วิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริกในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูป

ความสำคัญของการวิจัย

1. ทราบวิธีการเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก
2. ทราบวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ ได้แก่ ทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริกโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
3. ทราบปัจจัยที่มีผลต่อการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ ตลอดจนปัจจัยที่ส่งผลต่อวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก
4. ทราบปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก
5. ได้ข้อมูลปริมาณกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริกในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูป

ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก
 - 1.1 ชนิดของวัฏภาคของแข็ง ที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่าง
 - 1.2 เวลาที่เหมาะสมใช้ในการสกัดกรดอินทรีย์
 - 1.3 ชนิดของตัวชะสารที่เหมาะสมในการชะกรดอินทรีย์
2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
 - 2.1 ชนิด และองค์ประกอบของวัฏภาคเคลื่อนที่
 - 2.2 อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่

3. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ที่พัฒนาขึ้น
 - 3.1 ช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีที่ทำการวิเคราะห์
 - 3.2 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD)
 - 3.3 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณได้ (LOQ)
 - 3.4 ค่าความถูกต้อง รายงานในค่าร้อยละการคืนกลับ (%recovery)
 - 3.5 ความแม่นยำของวิธีการตรวจวิเคราะห์ (precision) รายงานในค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)
4. ศึกษาผลของสารรบกวนของการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ดังนี้
 - น้ำตาลซูโครส
 - กรดอะซิติก
 - โซเดียมคลอไรด์
 - สังกะสี
 - พรอท
 - แคลเซียม
5. วิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูป

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก โดยใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion
2. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
3. ศึกษาหาปริมาณกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริกในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูป

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้เกี่ยวข้องกับการศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูป โดยผู้ทำการวิจัยได้ทำการศึกษาค้นคว้าเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ตามหัวข้อดังต่อไปนี้

- ผักสด
- กรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก
- ผักแปรรูป
- วิธีการเตรียมตัวอย่าง
- วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD)
- งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดตัวอย่างและการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูป

ผักสด

ผักเป็นกลุ่มพืชอาหารที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีพของมนุษย์ ปัจจุบันมนุษย์นิยมบริโภคอาหารสดจากธรรมชาติเพราะมีคุณค่าทางโภชนาการสูง แต่ด้วยยุคสมัยที่เปลี่ยนไปผู้บริโภคคำนึงถึงความสะดวกสบาย และง่ายต่อการบริโภค จึงมีการนำผักมาผ่านกระบวนการแปรรูปเพื่อรักษาความสดของผักไว้ให้มากที่สุด ตามธรรมชาติของผักนั้นนับว่าการบริโภคผักสดจะทำให้ผู้บริโภคได้รับคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าผักที่ผ่านกระบวนการแปรรูป แต่ต้องระวังในเรื่องการปนเปื้อนของสารเคมีที่ใช้ในการกำจัดศัตรูพืช และในกระบวนการเก็บรักษาเพื่อรักษาคุณภาพความสดไว้ได้เป็นเวลานาน ประโยชน์ของผัก ได้แก่ เป็นแหล่งเส้นใยอาหารซึ่งทำหน้าที่ช่วยในการขับถ่ายให้เป็นปกติ และนอกจากนี้กรดอินทรีย์ในรูปต่างๆ ให้กลิ่นรส และรสชาติที่แตกต่างกันตามชนิดของผัก กรดอินทรีย์มีส่วนช่วยลดกรดที่เกิดจากการย่อยอาหารประเภทเนื้อสัตว์และนอกจากนี้ผักยังเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยของวิตามินและเกลือแร่หลากหลายชนิดที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย (กองศึกษา กรมสนับสนุนบริการสุขภาพ 2554: 1-2)

ส่วนประกอบหลักของผัก ได้แก่ น้ำ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตามิน และเกลือแร่ รงควัตถุ และกรดอินทรีย์ ปริมาณขององค์ประกอบต่างๆ แตกต่างไปตามชนิดพันธุ์ และแหล่งปลูกของผัก จะเห็นได้ว่าผักจัดเป็นแหล่งอาหารที่ให้พลังงานและอุดมไปด้วย วิตามินซี วิตามินเอ เกลือแร่ นอกจากนี้ยังมีเส้นใยที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยจะกล่าวถึงแต่ละส่วนประกอบพอสังเขป

น้ำ เป็นองค์ประกอบหลักที่พบในผัก มีปริมาณมากกว่าร้อยละ 70 ของน้ำหนักทั้งหมด ความแตกต่างของปริมาณน้ำในผักขึ้นอยู่กับชนิดและอายุผัก พบว่า ผักประเภทหัว ได้แก่ มันเทศ มันฝรั่ง ผือก มีแป้งเป็นองค์ประกอบปริมาณมาก และมีน้ำเป็นองค์ประกอบร้อยละ 70-75 ส่วนผักประเภทใบจะมีน้ำเป็นองค์ประกอบสูงกว่าร้อยละ 85 (นิตยา รัตนพานนท์. 2557: 335-381)

คาร์โบไฮเดรต พืชสีเขียวสามารถสังเคราะห์แสง และผลิตคาร์โบไฮเดรต เริ่มจากคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลเดี่ยว เช่น น้ำตาลกลูโคสจนถึงโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ เช่น แป้ง เซลลูโลส ผักมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบตั้งแต่ร้อยละ 2 จนถึงร้อยละ 30 ส่วนมากมีคาร์โบไฮเดรตที่เป็นเซลลูโลส ได้แก่ ผักประเภทใบ หน่อ และลำต้น ซึ่งเป็นแหล่งของเส้นใย ส่วนพืชผักที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบปริมาณมากกว่าร้อยละ 20 ได้แก่ มันเทศ ผือก มันฝรั่ง พืชที่มีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นองค์ประกอบไม่เกินร้อยละ 5 ได้แก่ ผักสดต่างๆ ไป คาร์โบไฮเดรตที่เป็นองค์ประกอบสำคัญอีกชนิดหนึ่งที่พบมากในผักได้แก่ เพกติน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของโครงสร้าง (นิตยา รัตนพานนท์. 2557: 335-381)

โปรตีน ในผักจะมีปริมาณโปรตีนน้อยซึ่งโปรตีนที่พบในผักนั้นจะเป็นโปรตีนที่คุณภาพต่ำกว่าโปรตีนในเนื้อสัตว์ เป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 1 โดยน้ำหนักสด น้ำที่ของโปรตีนในผักนั้นจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ของผักภายหลังการเก็บเกี่ยว และนอกจากนี้ยังทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ที่ช่วยเร่งการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาล การเปลี่ยนสี และการย่อยสลายตัวของผนังเซลล์ ที่ทำให้ผลไม้อ่อนนุ่มลง สามารถพบโปรตีนได้ในผักประเภทใบที่มีสีเขียวเข้ม เช่น ใบกระถิน ซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 8 เนื่องจากโปรตีนในผักจะขาดไลซีน และเมทไธโอนีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย (นิตยา รัตนพานนท์. 2557: 335-381)

ไขมัน ในผักไขมันมีอยู่น้อยมากไม่เกินร้อยละ 0.1 ยกเว้นในผลไม้บางชนิด เช่น ทูเรียน และเมล็ดเคี้ยวมันต่างๆ ไขมันในผักนั้นมีอยู่ 3 รูปแบบ ได้แก่ ไขมันในรูปอาหารสะสม ไขมันในรูปสารปกคลุมผิว และไขมันในเยื่อหุ้มผักจะมีองค์ประกอบของไขมันต่ำมาก ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกับปริมาณโปรตีน (โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว. ม.ป.ป: ออนไลน์)

วิตามิน เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ทำหน้าที่ต่างๆ ในร่างกาย ผักเป็นแหล่งสารอาหารวิตามิน โดยเฉพาะวิตามินอี วิตามินเอ และวิตามินซี ซึ่งร่างกายได้รับวิตามินจากการบริโภคผักประมาณร้อยละ 87 ของความต้องการของร่างกาย ผักสดอ่อนจะมีปริมาณของวิตามินซีที่สูงกว่าผักสดแก่ วิตามินซีในผักนั้นสามารถถูกทำลายได้ง่ายประมาณร้อยละ 40-80 เมื่อผ่านกระบวนการแปรรูป และนอกจากนี้มีการรายงานว่าหอมหัวใหญ่เป็นแหล่งอาหารที่มีปริมาณของวิตามินซี

วิตามินเอไม่พบในพืชแต่พบสารประกอบที่เรียกว่า โปรวิตามินเอ ได้แก่ สารในกลุ่มแคโรทีน เมื่อร่างกายได้รับสารประกอบแคโรทีนจะเปลี่ยนไปเป็นวิตามินเอได้ ผักใบเขียวทุกชนิดจะมีสารประกอบแคโรทีนสูง เช่น ผักคะน้า ผักกวางตุ้ง ประเภทหัว ราก และผลอื่นๆ เช่น ฟักทอง บวบ พริก มันเทศ (นิตยา รัตนานนท์. 2557: 335-381)

เกลือแร่ เป็นสารอนินทรีย์ และเป็นสารอาหารที่จำเป็นในการเสริมสร้างความแข็งแรงของร่างกาย และควบคุมการทำงานของส่วนประกอบต่างๆ ของร่างกายซึ่งเกลือแร่เป็นสารที่พบได้ในผัก เกลือแร่ที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของร่างกาย เช่น แคลเซียม เหล็ก ปริมาณของเกลือแร่จะแตกต่างกันตามชนิด และแหล่งที่ปลูก แคลเซียมเป็นแร่ธาตุที่พบมากในผักประเภทใบ เช่น ผักคะน้า ผักชี ต้นหอม ถั่วลันเตา กะหล่ำปลี แตงกวา ฝรั่ง องุ่น มะละกอ มะขาม เป็นต้น (นิตยา รัตนานนท์. 2557: 335-381)

รงควัตถุ ในผักยังมีองค์ประกอบอื่นๆ เช่น รงควัตถุ สามารถพบได้ตามธรรมชาติซึ่งมีบทบาททำให้ผักนั้นมีสีที่แตกต่างกันออกไป เม็ดสีที่พบในผัก ได้แก่

1. รงควัตถุแอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุที่พบมากในเซลล์ของพืช อยู่ในรูปไกลโคไซด์ พบปริมาณมากในผักที่มีสีแดง น้ำเงิน และม่วง เช่น กะหล่ำปลีพันธุ์สีม่วงแดง กระเจี๊ยบแดง ลูกหว้า ซึ่งจะมีสีที่แตกต่างตามค่า pH ในเซลล์ผักแต่ละชนิด

2. กลุ่มสีแคโรทีนอยด์เป็นกลุ่มรงควัตถุที่พบในพืช ให้สีเหลือง ส้ม และแดง ประกอบด้วยสารประกอบไฮโดรคาร์บอน เป็นเม็ดสีที่ละลายได้ในไขมันหรือน้ำมัน หรือสารละลายอื่นๆ ยกเว้นน้ำ เป็นเม็ดสีที่พบทั่วไปในผัก เช่น ฟักทอง มันเทศ มะเขือเทศ รงควัตถุแคโรทีนอยด์พบในอาหาร มีความสำคัญต่อร่างกาย สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ เช่น บีตาแคโรทีน เป็นต้น แคโรทีนอยด์มีสมบัติสามารถถูกออกซิไดส์ได้ง่าย

3. คลอโรฟิลล์ เป็นรงควัตถุสีเขียวที่สำคัญที่สุดในพืชชั้นสูงอยู่ในคลอโรพลาสต์ เป็นรงควัตถุที่พบมากที่สุดผักใบเขียวและผลไม้ดิบบางชนิด มีสมบัติช่วยในกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืช ซึ่งเป็นกระบวนการที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของพืช (นิตยา รัตนานนท์. 2557: 405-448)

กรดอินทรีย์ สามารถพบได้มากในผัก และผลไม้ กรดอินทรีย์เป็นองค์ประกอบที่ส่งผลทำให้ผัก และผลไม้มีรสเปรี้ยว และกลิ่นที่เฉพาะตัว ปริมาณของกรดอินทรีย์จะมากหรือน้อยขึ้นกับชนิดของพันธุ์พืช และแหล่งที่ปลูก โดยทั่วไปจะพบปริมาณของกรดอินทรีย์ในผลไม้มากกว่าในผัก กรดอินทรีย์ที่พบในผัก เช่น กรดมาลิก กรดทาร์ทาริก และกรดซิตริก เป็นต้น กรดซิตริกเป็นกรดอินทรีย์ที่พบมากที่สุดทั้งในพืชทั่วไป และพบมากที่สุดผลไม้ตระกูลส้ม เช่น มะนาว ส้มเขียวหวาน ส้มโอ กรดมาลิกพบมากในผลไม้เชตอบอุ้น เช่น แอปเปิล ส่วนกรดทาร์ทาริกพบมากในผลไม้

เช่น องุ่น มะขาม กรดอินทรีย์ที่พบในผักนั้นจะประกอบไปด้วยกรดอินทรีย์หลายชนิดอยู่รวมกัน ปริมาณกรดอินทรีย์ที่พบในผักประมาณร้อยละ 0.35-0.65 (ปรรัตน์ ศุภมิตรโยธิน. 2556: 69-70)

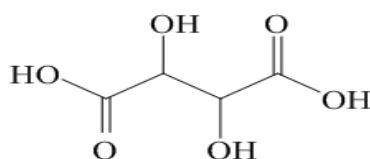
กรดอินทรีย์ เป็นส่วนประกอบหลักในพืชอาหารสามารถพบปริมาณของกรดอินทรีย์ในผลไม้มากกว่าในผัก กรดอินทรีย์จะมีกลุ่มคาร์บอกซิล ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่ทำให้ผักและผลไม้มีความเป็นกรด โดยอาจมีกลุ่มของคาร์บอกซิล 1 2 หรือ 3 หมู้อยู่ในโครงสร้างของกรดอินทรีย์แต่ละชนิด ซึ่งกรดอินทรีย์อาจอยู่ในรูปของกรดอิสระ (free acid) หรือ รูปคาร์บอกซิเลตแอนไอออน หรือรวมเป็นเกลือ เอสเทอร์ ไกลโคไซด์ หรือสารประกอบอื่นๆ กรดอินทรีย์มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเมแทบอลิซึม รวมทั้งมีความสำคัญต่อคุณภาพของผลิตผลโดยเฉพาะในผลไม้หลายชนิด (ชลธิชา นิवासประกฤต และคณะ. 2555: 2354-2360)

การแบ่งกลุ่มกรดอินทรีย์

การแบ่งกรดอินทรีย์สามารถแบ่งเป็นกลุ่มต่างๆ ดังนี้

1. อะลิฟาติก มอนอคาร์บอกซิลิกแอซิก ได้แก่ กรดฟอร์มิก กรดน้ำส้ม
2. อะลิฟาติก มอนอคาร์บอกซิลิกแอซิกซึ่งมีกลุ่มแอลกอฮอล์ คีโตนหรืออัลดีไฮด์ร่วมอยู่ด้วย เช่น ไกลโคลิก กรดฟอสโฟกลีเซอริก กรดเมวาโลนิค กรดไพรูวิก กรดไกลออกซิลิก
3. กรดที่เป็นอนุพันธ์ของน้ำตาล เช่น กรดแซ็กคาริก กรดมิวซิก และกรดกาแลกทูโรนิค เป็นต้น
4. อะโรมาติก แอซิก เช่น กรดเบนโซอิก กรดซาลิไซลิก กรดคูมาริก กรดคลอโรจีนิค กรดคาร์เฟอิก เป็นต้น
5. อะลิฟาติก ไดหรือไตร คาร์บอกซิลิกแอซิก เช่น กรดซัคซินิก กรดมาลิก กรดซิตริก และกรดทาร์ทาริก เป็นต้น

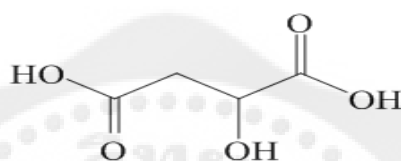
กรดทาร์ทาริก (tartaric acid) มีลักษณะเป็นผลึกของแข็งสีขาว สามารถละลายได้ในน้ำ เป็นกรดอินทรีย์ที่พบตามธรรมชาติในผลไม้บางชนิด เช่น องุ่น มะขาม และเป็นกรดที่พบในไวน์ มีสูตรทางเคมีคือ $C_4H_6O_6$ น้ำหนักโมเลกุล 150.087 กรัมต่อโมล อยู่ในรูป แอลทาร์ทาริก มีค่า $pK_{a1} = 3.03$ และ $pK_{a2} = 4.45$ (Haken; et al. 2005: 1-6)



ภาพประกอบ 1 โครงสร้างทางเคมีของกรดทาร์ทาริก

กรดทาร์ทาริกในธรรมชาติพบมากในมะขามโดยเฉพาะมะขามเปรี้ยว และกรดนี้ใช้เป็น ส่วนผสมของผงฟู (baking powder) เป็นสารที่เสริมฤทธิ์กันหืนอีมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ปรับความเป็นกรดในอาหาร และเครื่องดื่ม และนอกจากนี้ยังเป็นกรดอินทรีย์อีกชนิดที่อยู่ในกลุ่มของ แอลฟาไฮดรอกซีแอซิก ที่นิยมใช้ในวงการแพทย์ผิวหนัง

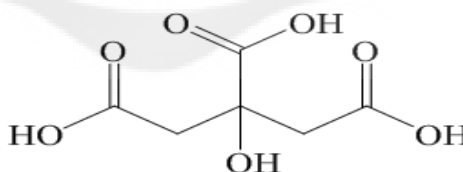
มาลิก (malic acid) กรดมาลิกมีลักษณะเป็นผลึกของแข็งสีขาว เป็นกรดที่สกัดได้จากธรรมชาติ สามารถละลายน้ำได้ทั้งหมด เป็นสารประกอบที่มีรสเปรี้ยว มีสูตรทางเคมี คือ $C_4H_6O_5$ มีน้ำหนักโมเลกุล 134.09 กรัมต่อโมล มีค่า $pK_{a1} = 3.40$ และ $pK_{a2} = 5.20$ เป็นองค์ประกอบของ เนื้อเยื่อและเป็นสารตัวกลางในวัฏจักรเครบส์



ภาพประกอบ 2 โครงสร้างทางเคมีของกรดมาลิก

กรดมาลิกเป็นกรดอินทรีย์ที่พบได้มากในผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ กล้วย พลับ และแอปเปิล เป็นต้น นิยมใช้กรดมาลิกเป็นตัวเพิ่มความเปรี้ยวให้กับผลิตภัณฑ์อาหาร (Haken; et al. 2005: 1-6)

กรดซิตริก (citric acid) มีลักษณะเป็นผลึกของแข็งสีขาวเป็นกรดอินทรีย์ มีสมบัติเป็นกรดอ่อน (weak acid) มีสูตรโมเลกุล $C_6H_{10}O_8$ มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 210.14 กรัมต่อโมล มีค่า pK_{a1} เท่ากับ 3.13 pK_{a2} เท่ากับ 4.76 และ pK_{a3} เท่ากับ 6.39 (Haken; et al. 2005: 1-6)



ภาพประกอบ 3 โครงสร้างทางเคมีของกรดซิตริก

กรดซิตริกสามารถพบได้ตามธรรมชาติในพืช ได้แก่ พืชตระกูลส้ม (citrus) เช่น ส้ม มะนาว และ ผลไม้หลายชนิด มะนาวมีกรดซิตริกเป็นส่วนประกอบประมาณ 7-9 เปอร์เซ็นต์ ในอดีต กรดซิตริกเคยผลิตได้จากน้ำมะนาว แต่ในปัจจุบันกรดซิตริกส่วนใหญ่สามารถผลิตได้โดยวิธีการสังเคราะห์กรดซิตริกจากน้ำตาลกลูโคสผ่านวิถีไกลโคไลซิส (glycolysis pathway) ได้เป็นสาร

ออกซาโลอะซิเตท (oxaloacetate) แล้วสะสมเป็นกรดซิตริก โดยจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในการผลิตแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ เชื้อรา และยีสต์ การนำกรดซิตริกไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น เป็นสารเติมแต่งอาหาร (food additive) ที่ใช้อย่างกว้างขวางในอาหาร และเครื่องดื่ม (กรดซิตริก. ม.ป.ป: ออนไลน์)

กรดอินทรีย์ที่พบในผัก และผลไม้

1. กรดอินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึม กรดอินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมส่วนใหญ่อยู่ในวัฏจักรเครบส์ เป็นโมเลกุลสำคัญในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ เป็นต้นกำเนิดของโมเลกุลอื่นๆ เช่น กรดอะมิโน (amino acids) ชนิดต่างๆ และทำหน้าที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) และกรดอินทรีย์บางตัวยังทำหน้าที่หลายๆ อย่างในพืช บางเนื้อเยื่อซึ่งพบกรดอินทรีย์ในปริมาณสูง จะเป็นแหล่งอาหารสะสม (stored energy) และนำไปใช้เป็นแหล่งของพลังงานเมื่อจำเป็น กรดอินทรีย์ที่เป็นอาหารสะสมมักจะถูกเก็บไว้ในแวคิวโอลในปริมาณมาก เช่น มอลเลตประมาณร้อยละ 70 อยู่ในส่วนของแวคิวโอล ที่เหลืออีกประมาณร้อยละ 30 อยู่ในไมโทคอนเดรีย สำหรับกระบวนการเมแทบอลิซึมในเซลล์พืชบางชนิดกรดอินทรีย์จะอยู่ในรูปของเกลือที่ไม่ละลายจะเห็นได้ว่าการดอินทรีย์นั้นถูกสะสมไว้ในเซลล์ต่างๆ ของพืช โดยทั่วไปกรดอินทรีย์พบปริมาณมากในพวกผลไม้ซึ่งปริมาณกรดอินทรีย์ที่พบในผลไม้แต่ละชนิดจะมีปริมาณที่แตกต่างกันออกไป กรดอินทรีย์ที่พบมากในผลไม้กลุ่มนี้ ได้แก่ กรดซิตริก กรดมาลิก และกรดคิวนิค

2. กรดอินทรีย์ที่มีผลต่อรสชาติของผัก และผลไม้ ในผัก และผลไม้จะมีรสชาติที่ต่างกักัน พบว่าผลไม้ส่วนใหญ่จะมีปริมาณกรดอินทรีย์ที่ลดลงเมื่อผลไม้สุก เพราะในช่วงผลไมสุกนั้นนำกรดอินทรีย์ไปใช้ในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ และกรดอินทรีย์บางส่วนเปลี่ยนรูปเป็นน้ำตาลซูโครส

ปริมาณกรดอินทรีย์จะเพิ่มขึ้นหรือลดลงในระหว่างการแก่ และสุก กรดอินทรีย์จะมีปริมาณลดลงเมื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาลซูโครสส่งผลทำให้น้ำตาลซูโครสมีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วงผลไมสุก ทำให้ผลไม้มีรสหวาน แต่ในผลไม้บางชนิดจะมีปริมาณกรดอินทรีย์เพิ่มขึ้นเมื่อผลไม้นั้นแก่เต็มที่ เช่น กล้วยหอม แต่อย่างไรก็ตามปริมาณกรดอินทรีย์ในผัก และผลไม้แต่ละชนิดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมในการการเพาะปลูก เช่น น้ำ สภาพอากาศ พันธุ์และการให้ปุ๋ย แสดงดังตาราง 1 (ปรรัตน์ ศุภมิตรโยธิน 2556: 69)

ตาราง 1 ปริมาณและชนิดของกรดอินทรีย์ที่พบในผลิตภัณฑ์บางชนิด

ผลไม้	กรดอินทรีย์ (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)			
	กรดซิตริก	กรดมาลิก	กรดทาร์ทาริก	กรดแอสคอร์บิก
แอปเปิล	-	518	-	-
เชอร์รี่	-	727	-	-
องุ่น	-	285	162	-
ส้ม	730	501	-	114
ลูกพีช	140	383	-	-
ลูกแพร์	109	358	-	-
ลูกเกด	-	371	-	-
กีวี	-	294	-	-
สตอเบอรี่	207	199	-	56
ทับทิม	7	30	-	-
ราสพ์เบอรี่	-	24	-	-
กล้วย	-	4	-	-
สับปะรด	-	20	-	-
สาลี่	2	-	-	-
ฝรั่ง	-	20	-	-
พลัม	-	6	-	-

ที่มา: ปรรัตน์ ศุภมิตรโยธิน. (2556). เทคโนโลยีผักและผลไม้. หน้า 69

ประโยชน์ของกรดอินทรีย์

1. อุตสาหกรรมอาหาร ในผลิตภัณฑ์อาหารกรดอินทรีย์มีส่วนสำคัญในการให้ กลิ่น และรสชาติ เอสเทอร์ของกรดอินทรีย์หลายชนิดมีส่วนสำคัญในกลิ่นหอมระเหย

2. อุตสาหกรรมเครื่องสำอางซึ่งมีประโยชน์ในหลายด้าน ได้แก่ ช่วยควบคุมสภาพความสมดุลของผิวหนังไม่ให้เกิดความแก่ของผิว สามารถให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวโดยไม่ทำให้เกิดการระคายเคืองหรือแพ้เหมือนสารในกลุ่มอื่นๆ ที่ได้จากการสังเคราะห์ ดังนั้นจึงใช้บรรเทาอาการผิวแห้งและอาการผิวลอกเป็นสะเก็ด และช่วยทำให้ผิวหนังดูอ่อนกว่าวัยเสมอ นอกจากนี้ยังช่วยทำให้สีผิวจางลง และช่วยลดการอุดตันสามารถทำความสะอาดรูขุมขน เนื่องจากแอลฟาไฮดรอกซีแอซิก จะมีผลทำให้ผิวบริเวณรูขุมขนเปิดกว้างจึงทำความสะอาดได้ดียิ่งขึ้น ไม่เกิดการอุดตันของสารตกค้าง

แอลฟาไฮดรอกซีแอซิก ที่ใช้กันมากในทางเครื่องสำอางมีหลายตัว เช่น กรดไกลคอลิก กรดแลกติก กรดทาทรริก และกรดซิตริก (ชลธิชา นิवासประกฤติ; และคณะ. 2550: 2354-2560)

จากองค์ประกอบหลักของผักและผลไม้ ที่ประกอบด้วย น้ำ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน รงควัตถุ และกรดอินทรีย์ เมื่อองค์ประกอบเหล่านี้มีการเปลี่ยนแปลงทำให้เกิดการเสื่อมสภาพและเน่าเสีย เกิดจากสาเหตุหลายประการ ได้แก่ การเก็บรักษาในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม การสูญเสียหรือการได้รับความชื้น เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ การเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับออกซิเจน แสง สาเหตุการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ รา และแบคทีเรีย จุลินทรีย์ทุกชนิดจะสร้างเอนไซม์ขึ้นมาทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาในผัก และผลไม้ เอนไซม์จะย่อยสลายสารที่เป็นองค์ประกอบหลักในผัก และผลไม้ เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ทำให้ผัก และผลไม้ สูญเสียรูปร่าง กลิ่น รส และลักษณะเนื้อสัมผัส ดังนั้นกระบวนการแปรรูปอาหารผัก และผลไม้ จึงมีความสำคัญทำให้ผัก และผลไม้เก็บรักษาได้นานขึ้น โดยไม่ทำให้เกิดการเน่าเสีย และคงอยู่ในสภาพที่ยอมรับของผู้บริโภค ทำให้ผู้บริโภคสามารถบริโภคได้อย่างปลอดภัย หรือเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ที่สามารถเก็บรักษาอาหารไว้นานขึ้น (ชมภู ยิ้มโต. 2550: 1-2)

การแปรรูปผัก

ประเทศไทยสมบูรณ์ไปด้วยผัก และผลไม้หลากหลายชนิด ผัก และผลไม้สามารถเกิดเสื่อมเสียได้ง่าย ต้องมีการวิธีการที่เหมาะสมในการลดการเน่าเสียของผัก และผลไม้ คือการกระบวนการแปรรูปผัก และผลไม้ ให้สามารถลดการเน่าเสีย และสามารถเก็บรักษาได้นานยิ่งขึ้น การแปรรูปมีหลายวิธี ได้แก่

1. การแปรรูปโดยทำให้แห้ง มีวัตถุประสงค์เพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ และเอนไซม์ มีผลให้กระบวนการเมตาบอลิซึม และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์นั้นเกิดได้ช้าลง และเป็นการลดปริมาณน้ำที่มีอยู่ในอาหารโดยให้ระเหยออกไปให้มากที่สุด การทำให้แห้งมี 2 วิธี คือ

1.1 การทำให้แห้งโดยอาศัยแสงแดดจากธรรมชาติเป็นวิธีที่ง่ายและประหยัดมากที่สุด

1.2 การทำให้แห้งโดยอาศัยวิธีการ เป็นการนำหลักการทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเข้ามาช่วยทำให้อาหารแห้งด้วยเครื่องจักรอื่นๆ เช่น ตู้อบลมร้อน

2. การแปรรูปใช้อุณหภูมิสูง เป็นวิธีการถนอมอาหารโดยใช้ความร้อน ในการทำลายจุลินทรีย์ และเอนไซม์ที่มีอยู่ในอาหารมี 3 วิธี ได้แก่

2.1 การพาสเจอร์ไรส์ เป็นกระบวนการให้ความร้อนเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ และจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย การพาสเจอร์ไรส์ให้ความร้อนแก่อาหารที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส สามารถยืดการเก็บรักษาอีกหลายเดือน เช่น การทำน้ำผักหรือน้ำผลไม้ เป็นต้น

2.2 การสเตอริไลส์ เป็นกระบวนการให้ความร้อนแก่อาหารที่อุณหภูมิสูงกว่า 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานเพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ และเอนไซม์ ทำให้อาหารนั้นสามารถเก็บรักษาได้อย่างน้อย 6 เดือน และสามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิห้อง กระบวนการสเตอริไลส์นั้นทำ

ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของรงควัตถุ การเปลี่ยนแปลงเนื้อสัมผัส ทำให้เนื้อสัมผัสนี้ลดลงเกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของสารประกอบเพกทิน และการเกิดเจลของแป้ง

2.3 กระบวนการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิสูง หรือเรียกว่า กระบวนการ UHT เป็นการสเตอริไลส์ในบรรยากาศที่ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิที่อุณหภูมิ 140-150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 นาที ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร การใช้อุณหภูมิสูงในการฆ่าเชือนิยมใช้กับน้ำผลไม้

3. การแปรรูปใช้อุณหภูมิต่ำ เป็นการใช้อย่างมีประสิทธิภาพทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และกิจกรรมของเอนไซม์เกิดได้ช้าลง โดยการลดอุณหภูมิของอาหารให้ต่ำลง ได้แก่

3.1 การแช่เย็น เป็นการลดอุณหภูมิของอาหารให้อยู่ระหว่าง -1 ถึง 8 องศาเซลเซียส เพื่อลดการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ และจุลินทรีย์ ทำให้สามารถยืดระยะเวลาในการเก็บรักษา การแช่เย็นจะทำงานร่วมกับกระบวนการอื่น เช่น การหมักดอง การพาสเจอร์ไรส์ เป็นต้น

3.2 การแช่เยือกแข็ง เป็นการลดอุณหภูมิของอาหาร และผลิตภัณฑ์ให้ต่ำจนจุลินทรีย์ไม่สามารถดำเนินปฏิกิริยาทางเคมีได้ โดยลดอุณหภูมิให้ถึง -18 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า ทำให้น้ำในอาหารเปลี่ยนเป็นของแข็ง

4. การใช้สารเคมี หรือสารปรุงแต่งอาหาร สารเคมีที่ใช้เพื่อการถนอมอาหารมีจุดประสงค์เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย รวมถึงการปรับปรุงลักษณะสัมผัส กลิ่น รส และป้องกันการเหม็นหืนของอาหาร สารที่นิยมใช้ในการถนอมอาหาร ได้แก่ น้ำตาล น้ำส้มสายชู เกลือ สารกันเสีย แอลกอฮอล์ (ปรัดต์ ศุภมิตรโยธิน. 2556: 110-170)

5. การใช้การฉายรังสี เป็นวิธีการถนอมอาหารที่ต้องการเลี่ยงการใช้ความร้อน เนื่องจากความร้อนนั้นสามารถเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านประสาทสัมผัสของอาหารได้การใช้รังสีในช่วงที่เหมาะสมสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และการทำงานของเอนไซม์ การเจริญเติบโตของไข่และตัวหนอนของแมลง นอกจากนี้ยังป้องกันการงอกของเมล็ดพืช และยังคงคุณค่าทางโภชนาการ ลักษณะ และรสชาติของอาหารได้ดี รังสีที่ใช้ในการถนอมอาหารมี 3 ชนิด คือ รังสีแกมมา รังสีเอกซ์ และอิเล็กตรอนกำลังสูง (ไพบูลย์ ธรรมรัตน์. 2532: 178-181)

6. การหมักดอง เป็นกระบวนการแปรรูปอาหารที่อาศัย การทำงานของจุลินทรีย์ซึ่งที่สามารถสร้างเอนไซม์ออกมาเปลี่ยนสารอาหารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบเริ่มต้นให้เป็นแอลกอฮอล์ กรดอินทรีย์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ส่งผลทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีเนื้อสัมผัส ส่วนประกอบทางเคมี และรสชาติเปลี่ยนไปจากวัตถุดิบเริ่มต้น ทำให้อาหารนั้นมีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น การหมักดองมีหลายประเภท ได้แก่

6.1 การหมักดองโดยใช้เกลือที่มีความเข้มข้นต่ำ (processed pickles) เป็นการดองที่ต้องใช้ระยะเวลาในการดองหลายสัปดาห์ โดยที่ผักที่ผ่านกระบวนการดองนั้นมีความกรอบ และมีกลิ่นรสชาติที่เฉพาะตัว ความเข้มข้นของน้ำเกลือที่ใช้ประมาณ 4-8 % โดยเป็นความเข้มข้นในระดับที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ และเป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ทำให้

จุลินทรีย์ในกลุ่มที่ผลิตกรดแลคติกสามารถเจริญเติบโตได้ดี วิธีการดองแบบนี้จะนิยมใช้กับผักหลายชนิด เช่น แตงกวา กะหล่ำปลี ผักกาด เป็นต้น

6.2 การหมักดองโดยไม่ใช้เชื้อจุลินทรีย์เข้ามาเกี่ยวข้อง (unfermented pickle) นิยมใช้กับการหมักผักที่มีความเป็นกรดสูง เช่น แตงกวา ดอกกะหล่ำ หัวหอม แครอท นิยมใช้เกลือที่มีความเข้มข้นสูงประมาณ 20-25%

6.3 การหมักดองในน้ำส้มสายชู วิธีการดองแบบนี้อาจใช้ร่วมกับการดองด้วยเกลือทั้งที่ใช้และไม่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ เป็นกระบวนการหมักที่แช่ผักในน้ำส้มสายชูโดยตรง

6.4 การหมักดองในน้ำมัน โดยการนำผักนั้นมาคลุกกับเกลือ และเครื่องเทศแล้วนำไปบรรจุขวด จากนั้นนำไปตากแดดไว้ประมาณ 4-8 วัน จึงเติมน้ำมันลงไป นิยมในบางประเทศ เช่น อินเดีย อังกฤษ เป็นต้น (ปรัดน์ ศุภมิตรโยธิน. 255: 197-198)

ผักที่นิยมนำมาแปรรูปอาหารด้วยการหมักดองที่สามารถพบได้ทั่วไปตามท้องตลาด แสดงดังตาราง 2 วิธีการดองที่นิยมใช้ได้แก่ การดองโดยใช้เกลือที่มีความเข้มข้นต่ำ การหมักดองผักที่มีความเป็นกรดสูง และการดองในน้ำส้มสายชู

ตาราง 2 ผักที่นิยมนำมาแปรรูปด้วยกระบวนการหมักดอง

ผัก	ชื่อวิทยาศาสตร์
เห็ดหอม	<i>Lentinus edodes</i> (Berk) Singer
เห็ดแชมปิญอง	<i>Agaricus bisporus</i> var. <i>albida</i>
แตงกวา	<i>Cucumis sativus</i> L.
กะหล่ำปลี	<i>Brassica oleracea</i> L. cv. Group Cabbage
ผักกาด	<i>Brassica rapa</i> L. cv. group Chinese cabbage
ผักกาดหางหงส์	<i>Brassica campestris</i> var. <i>pekinensis</i>
ขิง	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe.
หอมแดง	<i>Allium cepa</i> cv. group <i>Aggregatum</i>
กระเทียม	<i>Allium sativum</i>
หัวไชเท้า	<i>Raphanus sativus</i> Linn., Cv group Chinese radish

ที่มา: ดัชนีชื่อพืช. (2552). ออนไลน์

การหมักดองผัก และผลไม้เป็นประโยชน์อย่างมาก เช่น ทำให้ยืดระยะเวลาในการเก็บรักษา ทำให้อาหารมีรสชาติ สีส และกลิ่น ที่ดีขึ้น ทำให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ เช่น แอลกอฮอล์ น้ำส้มสายชู ทำให้อาหารมีความปลอดภัยมากยิ่งขึ้น ผัก และผลไม้บางชนิดมีองค์ประกอบที่มีความ

เป็นพิษ จุลินทรีย์ในกระบวนการต้องช่วยทำให้องค์ประกอบเหล่านั้นหายไป และนอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของผักและผลไม้ (ปรรัตน์ ศุภมิตรโยธิน. 2556: 192-195)

ในกระบวนการหมักดองนั้นมีการเติมสารลงไป เช่น เกลือ น้ำตาล น้ำส้มสายชู เป็นต้น ทำให้องค์ประกอบภายในผัก และผลไม้มีการเปลี่ยนแปลง ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี เช่นรสชาติ สี และกลิ่น มีการเปลี่ยนแปลงไปจากวัตถุดิบเริ่มต้น

การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในกระบวนการหมัก

1. สารให้กลิ่นรสที่ระเหยได้ พบสารให้กลิ่นที่แตกต่างกันไปในผักและผลไม้แต่ละชนิดซึ่งสารให้กลิ่นหลักที่พบคือ เอทานอล (ethanol) เมธิลอัลลิลซัลไฟด์ (methyl allyl sulfide) กรดอะซิติก (acetic acid) ไดเมทิลไดซัลไฟด์ (dimethyl disulfide) แคมเฟน (camphene) เฟลแลนดรีน (1-phellandrene) ไดอัลลิล ไดซัลไฟด์ (diallyl disulfide) เมทิลอัลลิลไตรซัลไฟด์ (methyl allyl trisulfide) อัลฟาซิงิเบรีน (α -zingibirene) เป็นต้น แหล่งของสารประกอบซัลเฟอร์ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นรสที่ระเหยได้มาจากผักกาดขาวปลี หัวผักกาด พริก กระเทียม ขิง และต้นหอม

2. สารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นรส กรดอินทรีย์เป็นสารที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักซึ่งเป็นสารหลักที่ทำให้เกิดกลิ่นรส พบว่ากรดอินทรีย์ที่พบในกระบวนการหมัก ได้แก่ กรดแลคติก (lactic acid) และกรดอะซิติก มีปริมาณเพิ่มขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก ส่วนกรดอินทรีย์ชนิดอื่นที่เป็นองค์ในผัก และผลไม้ นั้น มีแนวโน้มลดลงในระหว่างกระบวนการหมัก ได้แก่ กรดซัคซินิก กรดฟูมาริก และกรดมาลิก เป็นต้น ปริมาณกรดอินทรีย์ที่พบในกระบวนการหมักนั้นจะมีปริมาณแตกต่างกันไปตามชนิดของผักและแหล่งที่ปลูกจากตาราง 3 แสดงปริมาณกรดอินทรีย์ในผักกาดขาวปลีที่หมักกิมจิ (การหมักดองกิมจิ. 2550. ออนไลน์.)

ตาราง 3 ปริมาณกรดอินทรีย์ในผักกาดขาวปลีที่หมักกิมจิ

กรดอินทรีย์	ปริมาณกรดอินทรีย์ (มิลลิกรัมต่อ100 กรัม)		
	1 วัน	4 วัน	7 วัน
กรดแลคติก	0.07	0.14	0.33
กรดซัคซินิก	0.70	0.35	0.29
กรดฟูมาริก	0.48	-	-
กรดมาลิก	3.25	1.24	-
กรดฟอร์มิก	-	-	-
กรดแอสติติก	0.27	0.64	1.84

ที่มา ดัดแปลงจาก การหมักดองกิมจิ. 2550. ออนไลน์.

การเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

การเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์ปริมาณด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง เป็นเรื่องที่มีความสำคัญเพราะในการวิเคราะห์สารที่สนใจวิเคราะห์นั้นนั้นมีปริมาณต่ำ หรือมีสารรบกวนการวิเคราะห์ ดังนั้นขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสมก่อนการวิเคราะห์จึงมีความสำคัญ เช่น การทำให้สารที่สนใจวิเคราะห์มีความเข้มข้นขึ้น หรือการกำจัดสารรบกวนออกไปทำให้ตัวอย่างสะอาด (clean sample) ขึ้น (พัฒนา เหล่าไพบูลย์. 2554: 228)

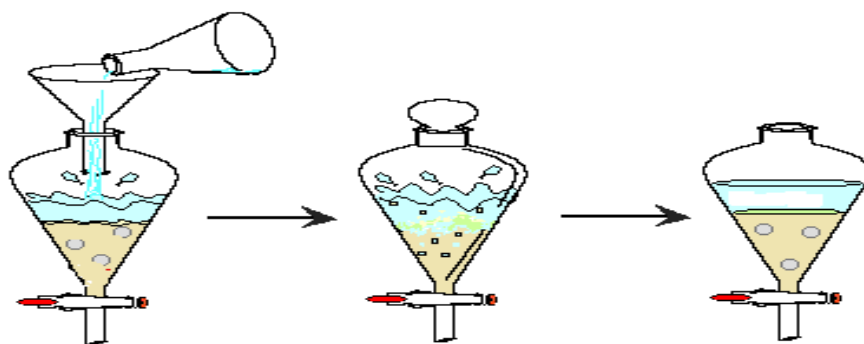
วิธีการเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

วิธีในการเตรียมตัวอย่างอาจเกี่ยวข้องกับการแยกโดยใช้วิธีการสกัด การกลั่น การแลกเปลี่ยนไอออน หรือใช้วิธีการทางโครมาโทกราฟี การเลือกใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างนั้นจะต้องเหมาะสมกับเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ วิธีการสกัดที่นิยมใช้สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง คือวิธีการสกัดตัวอย่าง เป็นเทคนิคที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการแยกสาร ทำความสะอาดหรือกำจัดสารรบกวนออกไป การเพิ่มความเข้มข้น (รศ. แม้น อมรสิทธิ์ และคณะ. 2553: 182-185)

การเตรียมตัวอย่างด้วยการสกัด (extraction)

เป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญในกระบวนการวิเคราะห์ การสกัดเป็นการดึงเอาสารที่ต้องการมาอยู่ในตัวสกัด โดยจะขึ้นกับสมดุลของการกระจายตัวของตัวถูกละลายระหว่างวัฏภาค 2 วัฏภาคที่ไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน วิธีการสกัดสารที่สนใจวิเคราะห์ให้บริสุทธิ์จึงเป็นวิธีที่ดีและเหมาะสมกับการวิเคราะห์ (พัฒนา เหล่าไพบูลย์. 2554: 231-232) เทคนิคการสกัดที่ใช้ในปัจจุบันอาจแบ่งตามวัฏภาคของตัวสกัด

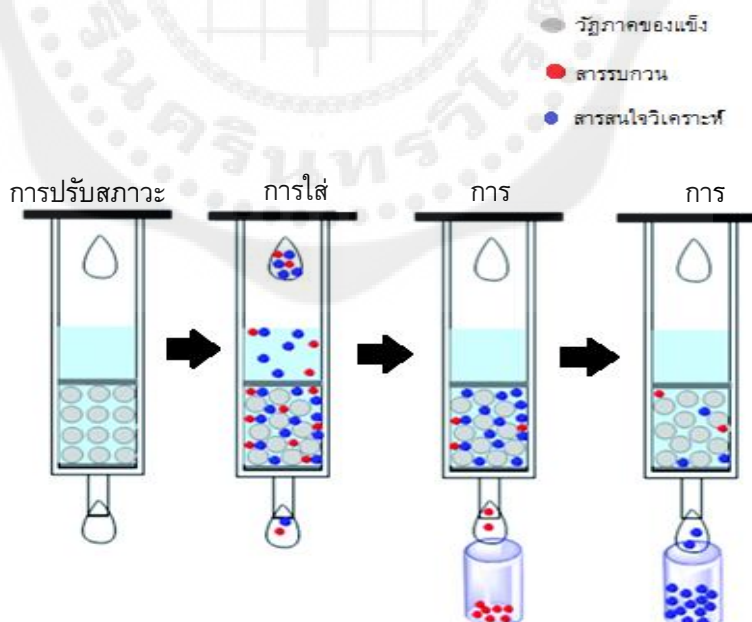
การสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว (liquid-Liquid Extraction, LLE) เป็นการสกัดด้วยตัวทำละลาย กระบวนการแยกนั้นอาศัยหลักการละลายของสารที่สนใจในตัวทำละลายที่แตกต่างกันระหว่างวัฏภาคสองวัฏภาคคือ วัฏภาคตัวอย่างและวัฏภาคของตัวทำละลายที่ใช้ แสดงขั้นตอนการสกัดดังภาพประกอบ 4 ข้อดีของเทคนิคนี้ สามารถทำได้ง่าย และราคาถูก แต่ข้อเสียคือ ต้องใช้ตัวทำละลายปริมาณมากในสกัด ซึ่งตัวทำละลายอินทรีย์เหล่านี้มักมีความเป็นพิษทั้งต่อผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อม และใช้เวลานาน (พัฒนา เหล่าไพบูลย์. 2554: 231-232)



ภาพประกอบ 4 การสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของเหลว

ที่มา เมกุมิ และคณะ. 2550. ออนไลน์

การสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (solid phase extraction, SPE) เป็นการการแยกสารที่สนใจจากสารละลายบนวัฏภาคของแข็ง อาศัยแรงกระทำระหว่างสารที่สนใจกับวัฏภาคของแข็ง แล้วใช้สารละลายที่เหมาะสมในการชะสารที่สนใจออกจากวัฏภาคของแข็งได้ แสดงขั้นตอนการสกัดดังภาพประกอบ 5 ข้อดีของเทคนิคนี้คือสามารถกำจัดสารรบกวนออกจากสารที่สนใจและเพิ่มความเข้มข้นของสารสารที่สนใจโดยใช้ตัวทำละลายที่มีปริมาตรน้อยๆ (Nigel J.K. Simpson. 2553: 1-4)



ภาพประกอบ 5 ขั้นตอนของเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง

ที่มา ดัดแปลงจาก Ping S. Ruoyu; et al. 2014: 704-708

กระบวนการดูดซับของวัฏภาคของแข็ง

การดูดซึม (absorption) เป็นการจับใน 3 มิติ คือสารสนใจเข้าไปอยู่ในวัฏภาคของแข็ง เหมือนกับน้ำที่ซึมเข้าไปอยู่ในฟองน้ำอาศัยการแพร่กระจายตัว (partitioning) เข้าไปในวัฏภาคของแข็ง แรงกระทำของการจับค่อนข้างอ่อน การดูดซึมของสารจะไม่มีการแข่งขันของพื้นที่ของการดูดซึม

การดูดซับ (adsorption) เป็นการจับใน 2 มิติ คือสารสนใจจะอยู่แค่ที่ผิวของวัฏภาคของแข็ง ใช้แรงดึงดูด (attraction) ระหว่างสารสนใจกับพื้นผิวของเฟสของแข็ง การดูดซับของสารสนใจจะมีการแข่งขันในการเข้าจับกับพื้นที่ผิวบนพื้นผิวของวัฏภาคของแข็งที่ใช้เรียกว่าตัวดูดซับ (ดร.พุทธรักษา วรานุศากุล. 2550.)

คุณสมบัติวัฏภาคของแข็งที่ใช้ในการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง

สมบัติของวัฏภาคของแข็งที่สำคัญในกระบวนการสกัดสารจะใช้การดูดซับ ความเป็นรูพรุนของของแข็งที่ใช้ซึ่งประสิทธิภาพของการสกัดจะขึ้นกับขนาดอนุภาค เส้นผ่านศูนย์กลางของรูพรุน (pore diameter) ความจุของรูพรุน (pore volume) พื้นที่ผิว (surface area) ความสม่ำเสมอของขนาดอนุภาค (particle size distribution) ของแข็งที่เคลือบด้วยวัฏภาคของเหลว (solid supported liquid sorbent) การสกัดสารจะใช้การดูดซึม จัดว่าวัฏภาคที่ใช้สกัดเป็นของแข็ง แต่การสกัดสารจริงๆ เป็นของเหลวที่เคลือบอยู่และใช้หลักการสกัดเหมือนการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว (liquid liquid extraction) ของเหลวที่เคลือบแบบ bonded phase จะมีกระบวนการจับสารทั้งการดูดซับและการดูดซึม (ดร.พุทธรักษา วรานุศากุล. 2550.)

วัฏภาคของแข็งที่นิยมใช้ในเทคนิคนี้โดยส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นอนุภาคทรงกลมขนาดเล็ก ระดับไมโครเมตร เช่น อนุภาคซิลิกา อนุภาคอะลูมินา เบนโทไนต์ อนุภาคคาร์บอน หรืออาจอยู่ในรูปของฟิล์มบางที่เคลือบไว้บนวัสดุรองรับชนิดต่างๆ ซึ่งสภาพผิวของวัฏภาคของแข็งจะมีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดที่ต้องการวิเคราะห์ โดยใช้หลักการ สิ่งที่เหมาะสมกันย่อมละลายซึ่งกันและกัน (like dissolve like) โดยในการเลือกใช้สภาพผิวของวัฏภาคของแข็งให้เหมาะสมกับสภาพผิวของสารที่ต้องการวิเคราะห์นั้นเป็นสิ่งที่มีความสำคัญ และนอกจากนี้การทำให้ตัวอย่างสามารถสัมผัสกับพื้นที่ผิวของวัฏภาคของแข็งได้มากขึ้นเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด ดังนั้นจึงมีการพัฒนาเทคนิคการสกัดคือ การสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ขึ้นมาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดให้ดียิ่งขึ้น (จบดี ธรรมเขต และ เพรตพิชญ์ คณาธารณา. 2556: 513-524.)

วิธีการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD)

วิธีการการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) เป็นวิธีการเตรียมตัวอย่างที่พัฒนามาจากการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งเพื่อแก้ไขข้อเสียของเทคนิคดังกล่าวคือการสัมผัสระหว่างตัวอย่างกับพื้นผิวของตัวดูดซับของแข็งเกิดได้น้อย ส่งผลทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดตัวอย่างลดลง แต่หลักการแยกสารที่สนใจวิเคราะห์และปัจจัยในการแยกนั้นจะเหมือนกับการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแต่การสกัดแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) จะนิยมใช้ในกรณีที่ตัวอย่างมีลักษณะแข็งหรือกึ่งแข็ง เทคนิคนี้ได้นำเสนอครั้งแรกในปี 1998 โดยจะนำตัวอย่างนั้นมาบดรวมกับกับเฟสของแข็งเพื่อให้สารที่สนใจวิเคราะห์นั้นสามารถกระจายตัวบนวัฏภาคของแข็งได้ดียิ่งขึ้น ส่งผลทำให้ตัวอย่างสามารถสัมผัสกับวัฏภาคของแข็งได้ดียิ่งขึ้น ส่งผลทำให้การสกัดสารที่สนใจวิเคราะห์มีประสิทธิภาพในการสกัดสูงขึ้น จากนั้นนำสารผสมนี้บรรจุลงในคาร์ทริดจ์ แล้วใช้สารละลายที่เหมาะสมชะสารที่สนใจออกจากคาร์ทริดจ์ ส่วนสารรบกวนอื่นๆ ก็จะถูกดูดซับอยู่บนพื้นผิวของวัฏภาคของแข็ง แสดงขั้นตอนการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) แสดงดังภาพประกอบ 6 (Garcia; Canosa; & Rodriguez. 2008: 963–974)

เทคนิคการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) มีข้อดีเช่น ง่ายทำให้สามารถนำสารละลายที่ไหลออกจากคาร์ทริดจ์ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือที่เหมาะสมได้ทันที ประหยัดเวลาสามารถทำการสกัดและทำความสะอาด (clean up) ได้ในขั้นตอนเดียว จึงทำให้ช่วยลดขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่างที่เป็นของแข็งลงได้ นอกจากนี้ยังช่วยลดปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ในการชะสารออกจากคอลัมน์และทำให้สารนั้นมีความบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้นวิเคราะห์ (จงดี ธรรมเขต และ เพริศพิชญ์ คณาธารณา. 2556: 513-524)



ภาพประกอบ 6 ขั้นตอนการสกัดแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD)

ที่มา ดัดแปลง จาก (Qiun; et al. 2000: 115-127)

วิธีการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องต่อผลการสกัด

ชนิดของวัฏภาคของแข็ง วัฏภาคของแข็งควรเลือกใช้ให้เหมาะสมกับสารที่สนใจวิเคราะห์ วัฏภาคของแข็งที่นิยมใช้ในการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ได้แก่ อะลูมินา ซิลิกา ออกตะเดคซิล ฟลอริซิล เป็นต้น ขนาดอนุภาคเส้นผ่านศูนย์กลางของรูพรุนช่วยให้สารที่สนใจวิเคราะห์สามารถเกิดอันตรกิริยากับวัฏภาคของแข็งได้มากขึ้น ทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดสูงขึ้น (Steven. 2000: 1-20)

ชนิดของตัวชะที่เหมาะสม การเลือกใช้สารละลายที่เหมาะสมในการชะสารที่สนใจวิเคราะห์ออกจากพื้นผิวของวัฏภาคของแข็ง โดยใช้สมบัติสิ่งๆ ที่เหมือนกันย่อมละลายซึ่งกัน และกัน (Alica; Eva; & Eva. 2003: 271-275)

นอกจากนี้ปัจจัยที่มีความสำคัญสำหรับวิธีการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) คืออัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับวัฏภาค ปริมาณของวัฏภาคของแข็งจะต้องเพียงพอสำหรับให้สารที่สนใจวิเคราะห์เกิดอันตรกิริยากับพื้นที่ผิวของวัฏภาคของแข็ง โดยในงานวิจัยส่วนใหญ่ศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งในช่วงอัตราส่วนเท่ากับ 1:1 ถึง 1:4 พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 1:1 (Anna; et al. 2010: 2521-2532)

การสกัดตัวอย่างด้วยวิธีการสกัดตัวอย่างแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) มีการนำไปประยุกต์ใช้ในการเตรียมตัวอย่างหลากหลายชนิด ซึ่งตัวอย่างที่นิยมใช้วิธีการดังกล่าวเป็นตัวอย่างที่มีลักษณะแข็งหรือกึ่งแข็ง แสดงดังตาราง 4

ตาราง 4 การสกัดตัวอย่างด้วยวิธีการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion

สารที่สนใจวิเคราะห์	ตัวอย่าง	วัฏภาคของแข็ง	สารละลายที่ใช้ชะตัวอย่าง
ยากำจัดแมลง	แอปเปิล มันสำปะหลัง	ออกตะเดคซิล	อะซีโตนและเฮกเซน อัตราส่วน 50:50
พอลิไซคลิกอะโรติก ไฮโดรคาร์บอน	ฝู่น	อะลูมินา	ไดคลอโรมีเทน
ยากำจัดศัตรูพืช	ถั่วเหลือง	ซิลิกา	ไดคลอโรมีเทน
สารประกอบฟีนอลิก	ไวน์	ซิลิกา	เอทิลอะซีเตต
กรดมาเลอิก	มันเทศ	ออกตะเดคซิล	ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ น้ำ และโซเดียมไดไฮโดรเจน
กรดไกลโฟเลทอะมิโน เมทิลฟอสฟอนิก	ผลไม้และ มันเทศ	ซิลิกา	ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.005 โมลาร์

ที่มา ดัดแปลงจาก แอนนา และคณะ. 2010. หน้า 2521-2532.

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องการนำวิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ **matrix solid phase dispersion (MSPD)** ไปใช้ในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง

ในปี ค.ศ. 1999 เจา และคณะ (Zhao; Vander; & Voogt. 1999: 129-138) การสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ **matrix solid phase dispersion (MSPD)** ในการสกัดสาร แอลคิลฟีนอลเอทอกไซเลต (alkylphenolethoxylates) และแอลคิลฟีนอล (alkylphenols) ในตัวอย่างเนื้อเยื่อของปลาและหอยแมลงภู่ โดยใช้วัฏภาคของแข็งเป็นออกตะเดคซิล (octadecyl) ขนาดอนุภาค 40 ไมครอน และใช้เมทานอลปริมาตร 5 มิลลิลิตรเป็นตัวชะสารออกจากคอลัมน์ และทำการวิเคราะห์ปริมาณสารแอลคิลฟีนอลเอทอกไซเลต (alkylphenolethoxylates) และแอลคิลฟีนอล (alkylphenols) โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูงโดยใช้ตัวตรวจวัดเป็นยูวี-วิสิเบิล ทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 278 นาโนเมตรและใช้คอลัมน์ออกตะเดคซิล ขนาด 150 x 4.6 มิลลิเมตร บรรจุขนาดอนุภาค 5 ไมครอน วัฏภาคเคลื่อนที่คือเมทานอล และน้ำในอัตราส่วน 80:20 ปริมาตรต่อปริมาตร อัตราการไหล 1.00 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ค่าร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 90

ในปี ค.ศ. 1999 วาเลนซุเอลา และคณะ (Valenzuela; et al. 1999: 101-107) ศึกษาการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ **matrix solid phase dispersion (MSPD)** ในการสกัดสารตกค้างของยาฆ่าแมลงในตัวอย่างพืชตระกูลส้ม ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาวัฏภาคของแข็งที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่างสารในกลุ่มคาบาเมตโดยทำการศึกษาวัฏภาคของแข็ง 4 ชนิด ได้แก่ ออกตะเดคซิล ออกซิลไซเลน ซิลิกา และเซลลูโลส พบว่าวัฏภาคของแข็งที่เหมาะสมในการสกัดคือออกซิลไซเลน และใช้ไดคลอโรมีเทน ปริมาตร 15 มิลลิลิตรเป็นตัวชะสารออกจากคอลัมน์ วิเคราะห์ปริมาณสารตกค้างยาฆ่าแมลงในตัวอย่างพืชตระกูลส้มโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูงโดยใช้ตัวตรวจวัดเป็นยูวี-วิสิเบิล ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร และใช้คอลัมน์ออกตะเดคซิลบรรจุขนาดอนุภาค 5 ไมครอน เฟสเคลื่อนที่เป็นน้ำและอะซิโตนในอัตราส่วน 12:88 อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 74-84 ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานอยู่ในช่วง 2.0-4.0 และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง อยู่ในช่วง 0.15-0.25 ไมโครกรัมต่อกรัม

ในปี ค.ศ. 2000 สตีเวน (Steven; 2000: 115-127) ศึกษาเทคนิคการเตรียมตัวอย่างโดยใช้การสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ **matrix solid phase dispersion (MSPD)** โดยทำการศึกษาวัฏภาคของแข็ง 2 ชนิดคือ ซิลิกา และออกตะเดคซิล ศึกษาลักษณะพื้นผิวของเฟสของแข็งโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (scanning electron micrograph) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่ ชนิดของวัฏภาคของแข็ง ขนาดอนุภาคของวัฏภาคของแข็ง ชนิดของตัวชะที่เหมาะสมเป็นการยืนยันว่าสามารถนำเทคนิคการสกัด **matrix solid phase dispersion (MSPD)** เป็นเทคนิคที่

เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างที่มีลักษณะแข็งหรือกึ่งแข็ง และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเตรียมตัวอย่างได้

ในปี 2000 เฟอแนนเดซ และคณะ (Fernandez; Pico; & Manes. 2000: 43-56) ทำการสกัดสารในกลุ่มคาบาเมต 13 ชนิด เช่น คาร์บาริล (carbaryl) คาร์โบฟิวแรน (carbofuran) เป็นต้น ในตัวอย่างส้ม และองุ่นโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยภาควัภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษานิตของภาควัภาคของแข็งที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่างสารในกลุ่มคาบาเมตโดยทำการศึกษาภาควัภาคของแข็ง 5 ชนิด ได้แก่ ออกตะเดคซิล ออกซิลไซเลน ไซยาโน (cyano) เอมีน (amine) และฟีนิล (phenyl) และใช้สารผสมระหว่าง ไดคลอโรมีเทนและอะซีโตนในอัตราส่วน (60:40) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เป็นตัวชะสารออกจากคอลัมน์ และทำการวิเคราะห์ปริมาณสารในกลุ่มคาบาเมตโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงโดยใช้ตัวตรวจวัดแมสสเปกโตรมิเตอร์ ให้ค่าร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 64-106 ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานอยู่ระหว่าง 5-15 และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ถูกต้อง เท่ากับ 0.001-0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ในปี ค.ศ 2003 เอลิกา และคณะ (Alica; Eva; & Eva. 2003: 271-275) ทำวิจัยเกี่ยวกับการสกัดกรดฟีนอลิก (phenolic) ในตัวอย่างใบสะระแหน่ (*Melissa officinalis*) โดยเทคนิคการการเตรียมตัวอย่างแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษานิตของภาควัภาคของแข็งที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่าง โดยทำการศึกษาภาควัภาคของแข็ง 2 ชนิด ได้แก่ ออกตะเดคซิล ฟลอริซิล และศึกษานิตของสารละลายที่ชะสารออกจากคอลัมน์ที่เหมาะสมโดยทำการศึกษาที่ 3 สภาวะ ได้แก่ สภาวะที่ 1 เมทานอล สารผสมระหว่างเมทานอลกับกรดฟอริกเข้มข้น 0.2 % สภาวะที่ 2 เมทานอล : น้ำในอัตราส่วนร้อยละ 80:20 และสภาวะที่ 3 เมทานอล : น้ำ pH 2.5 ในอัตราส่วน 60:40 จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดกรดฟีนอลิก ภาควัภาคของแข็งคือ ออกตะเดคซิล และสารละลายที่ชะกรดฟีนอลิก คือเมทานอลและน้ำ ในอัตราส่วนร้อยละ 80:20 วิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกในตัวอย่างสะระแหน่ โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงโดยใช้ตัวตรวจวัดเป็นยูวี-วิสิเบิล และใช้คอลัมน์ C₁₈ ขนาด 150 x 3.9 มิลลิเมตร ขนาดอนุภาค 5 ไมครอน ภาควัภาคเคลื่อนที่เมทานอลกับน้ำ อัตราการไหล 0.4 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ค่าร้อยละการกลับคืนมากกว่า 90

ในปี ค.ศ 2005 คาร์เมน และคณะ (Carmen; et al. 2005: 183-194) ทำการสกัดสารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในตัวอย่างมะกอก และน้ำมันมะกอกโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยภาควัภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ในงานวิจัยนี้ใช้ภาควัภาคของแข็งเป็นอะมิโนโพรพิล (aminopropyl) และใช้อะซีโตนในอัตราส่วน 10 มิลลิลิตร เป็นตัวชะสารออกจากคาร์ทริดจ์

และทำการวิเคราะห์ปริมาณสารสารกำจัดศัตรูพืชตกค้างในตัวอย่างมะกอกและน้ำมันมะกอก โดยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้ตัวตรวจวัดแมสสเปกโตรมิเตอร์ ให้ค่าร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 85-115 ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานต่ำกว่า 10 และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ถูกต้องเท่ากับ 5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

ในปี ค.ศ 2010 แซนโดร และคณะ (Sandro; Adriano; & Debora. 2010: 1-5) ทำวิจัยเกี่ยวกับการสกัดสารกำจัดศัตรูพืชในตัวอย่างมะม่วง และมะละกอโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) โดยในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาวัฏภาคของแข็งที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่างสารกำจัดศัตรูพืช โดยทำการศึกษาเฟสของแข็ง 3 ชนิด ได้แก่ ซิลิกา อะลูมินา และฟลูออไรด์ ใช้สารผสมระหว่างไดคลอโรมีเทน และเอทิลอะซิเตตเป็นตัวชะสารตัวอย่างออกจากคาร์ทริดจ์ โดยศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสม 4 อัตราส่วน ดังนี้ 4:1 1:4 1:1 และ 2:3 จากการวิจัยพบว่าการใช้ซิลิกาเจลเป็นวัฏภาคของแข็ง และใช้สารผสมระหว่างไดคลอโรมีเทน และเอทิลอะซิเตตในอัตราส่วน 1:1 เป็นตัวชะสารตัวอย่างออกจากคาร์ทริดจ์ ให้ประสิทธิภาพในการสกัดสูงสุด ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืช โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีโดยใช้ตัวตรวจวัดแมสสเปกโตรมิเตอร์ ให้ค่าร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 80-146 ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานอยู่ระหว่าง 1.0-28 และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ถูกต้องเท่ากับ 0.01-0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ในปี ค.ศ. 2011 ลูเซีย และคณะ (Lucia; et al. 2011: 3293-3304) ได้ทำการศึกษาการเตรียมตัวอย่างสารกันเสียในตัวอย่างเครื่องสำอางค์ โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ในการสกัดนี้ใช้วัฏภาคของแข็งเป็นฟลูออไรด์ และใช้สารผสมระหว่างเฮกเซนและอะซิโตนในอัตราส่วน 1:1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เป็นตัวชะสารตัวอย่างออกจากคาร์ทริดจ์ ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารกันเสียในเครื่องสำอาง โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้ตัวตรวจวัดแมสสเปกโตรมิเตอร์ ให้ค่าร้อยละการกลับคืนมากกว่า 78 และค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 4.2

ในปี ค.ศ. 2012 มารินา และคณะ (Marina. 2012: 648–657) ศึกษาการเตรียมสารตัวอย่างของสารตกค้างของยากำจัดศัตรูพืชในตัวอย่างผลไม้โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) โดยในการสกัดนี้ใช้วัฏภาคของแข็งเป็นไดอะตอมไมต์ และใช้ไดคลอโรมีเทนเป็นตัวชะสารตัวอย่างออกจากคาร์ทริดจ์ ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในผลไม้โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้ตัวตรวจวัดแมสสเปกโตรมิเตอร์ ให้ค่าร้อยละการกลับคืน เท่ากับ 70-120 และค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานน้อยกว่า 20

ในปี ค.ศ. 2012 เอนริเควส และคณะ (Enriques; et al. 2012: 193-198) ศึกษาการเตรียมตัวอย่างสีย้อม ในตัวอย่างซอสโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ศึกษาวัฏภาคของแข็งที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่างสีย้อม โดยทำการศึกษาวัฏภาคของแข็ง 5 ชนิดได้แก่ ซิลิกา อะลูมินา ออกตะเดคซิล ไดอะตอมไมต์ และใช้อะซิโตรไนไทรเป็นตัวชะสีย้อมออกจากคาร์ทริดจ์ จากการศึกษาพบว่าวัฏภาคของแข็งที่เหมาะสมในการสกัดสีย้อมในตัวอย่างซอสคือ ฟลอริซิล วิเคราะห์ปริมาณสีย้อมในตัวอย่างซอสโดยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้ตัวตรวจวัดเป็น ยูวี-วิสิเบิล ความยาวคลื่น 484 นาโนเมตร และ 510 นาโนเมตร ใช้คอลัมน์ C_{18} ขนาด 150 x 4.6 มิลลิเมตร บรรจุขนาดอนุภาค 5 ไมครอน เฟสเคลื่อนที่เมทานอลอะซิโตรไนไทรและน้ำ ในอัตราส่วน 65:20:1 อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ค่าร้อยละการกลับคืน 60-99 ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานอยู่ในช่วง 2.0-10.0 และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง อยู่ในช่วง 0.05-0.09 ไมโครกรัมต่อกรัม

ในปี ค.ศ. 2014 โรดริกuez และคณะ (Rodriguez; et al. 2015: 291-296) ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณไตรอะซีน ในตัวอย่างหอย ใช้วิธีการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดดังนี้ ศึกษาวัฏภาคของแข็ง 5 ชนิดได้แก่ ออกตะเดคซิล ซิลิกา ฟลอริซิล สารผสมระหว่างซิลิกา และอะลูมินา จากการศึกษาพบว่าการใช้ ออกตะเดคซิลให้ประสิทธิภาพการสกัดสูงสุด โดยใช้สารละลายอะซิโตรไนไทร 5 มิลลิลิตร ในการชะไตรอะซีนออกมาจากพื้นผิวของออกตะเดคซิล และทำการวิเคราะห์ปริมาณไตรอะซีนโดยใช้ ไดโอดแอเรย์ ดีเทคเตอร์ ให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 79-99

ในปี ค.ศ. 2014 เชียน และคณะ (Chien; et al. 2014: 286-292) ศึกษาการเตรียมตัวอย่างโดยใช้วิธีการสกัดตัวอย่างแบบ MSPD เพื่อสกัดแยก ไดคลอเรนในตัวอย่างเนื้อปลา จากการศึกษาได้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดตัวอย่างคือ ใช้ตัวอย่างเนื้อปลา 1 กรัม กับ ซิลิกา 1 กรัมและใช้สารละลายเฮกเซน ปริมาตร 20 มิลลิลิตรในการชะตัวอย่างออกจากพื้นผิวของซิลิกา ให้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง อยู่ในช่วง 9-15 พิโกกรัมต่อกรัม ตรวจพบปริมาณไดคลอเรนในตัวอย่างเนื้อปลาอยู่ในช่วง 0.15-1.3 นาโนกรัมต่อกรัม

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ในตัวอย่างผักสดและผักแปรรูป

ในปี ค.ศ. 1996 ฟาลคู และคณะ (Falque; & Fernandez. 1996: 254-257) ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอินทรีย์ น้ำตาล กลีเซอรอล และเมทานอล ในตัวอย่างไวน์ขาว และองุ่น โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้ตัวตรวจวัดเป็นไดโอดแอรย์ ดีเทคเตอร์ที่มีความยาวคลื่น 214 นาโนเมตร และใช้คอลัมน์ Aminex HPX-87H ขนาด 300x7.8 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนที่คือกรดซัลฟิวริก 0.65 มิลลิโมลาร์ อัตราการไหล 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ค่าร้อยละการกลับคืนของกรดอินทรีย์อยู่ในช่วง 97.9 -106 ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานอยู่ในช่วง 0.9-6.45

ในปี ค.ศ. 2002 โกงโฮ และคณะ (Gauangho; Lai. 2002: 89-96) ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอินทรีย์ และกรดฟีนอลิก ในตัวอย่างน้ำผลไม้พร้อมดื่ม โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้ตัวตรวจวัดเป็นไดโอดแอรย์ดีเทคเตอร์ที่มีความยาวคลื่นเท่ากับ 215 นาโนเมตร และใช้คอลัมน์ C₁₈ ขนาด 150x4.6 มิลลิเมตร บรรจุขนาดอนุภาค 5 ไมครอน เฟสเคลื่อนที่ 0.2 % TFA และ อะซิโตนไนโตร อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานน้อยกว่า 5

ในปี ค.ศ. 2002 โซฮา และคณะ (Zohar; Ben-ami; & Yizhar. 2004: 211-215) ทำการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอินทรีย์ และกรดฟีนอลิก ในตัวอย่างไวน์แดง โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้ตัวตรวจวัดเป็นไดโอดแอรย์ดีเทคเตอร์ที่มีความยาวคลื่น 215 นาโนเมตร และใช้คอลัมน์ C₁₈ ขนาด 150x4.6 มิลลิเมตร บรรจุอนุภาค ขนาด 5 ไมครอน เฟสเคลื่อนที่ ใช้ซัลฟิวริก pH 2.5 และเมทานอล อัตราการไหล 0.35 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ค่าร้อยละการกลับคืนของกรดอินทรีย์อยู่ในช่วง 85-106 และค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานน้อยกว่า 5

ในปี ค.ศ. 2002 ฮาซิล และคณะ (Hasil. 2002: 207-201) การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอินทรีย์ ในตัวอย่างบ๊วย (*Prunus armeniaca* L.) โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้ตัวตรวจวัดเป็นไดโอดแอรย์ดีเทคเตอร์ที่มีความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร และใช้คอลัมน์ C₁₈ ขนาด 250x4.6 มิลลิเมตร เฟสเคลื่อนที่ ใช้กรดฟอสฟอริก pH 2.15 อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ค่าร้อยละการกลับคืนของกรดอินทรีย์อยู่ในช่วง 95.7-103.5 และค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานน้อยกว่า 3.2

ในปี ค.ศ. 2005 ฟาบีโอ และคณะ (Fabio; Umberto; & Claudio. 2005: 121-130) ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างน้ำผลไม้ ทำการเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว โดยใช้สารละลายกรดฟอสฟอริกเป็นวัฏภาคของเหลว จากนั้นวัดปริมาณโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้ตัวตรวจวัดเป็นไดโอดแอรีย์ดีเทคเตอร์ที่มีความยาวคลื่น 215 นาโนเมตร และใช้คอลัมน์การแลกเปลี่ยนไอออนบวก (cation exchanger) เฟสเคลื่อนที่ใช้กรดฟอสฟอริก เข้มข้น 0.001 อัตราการไหล 0.4 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ค่าร้อยละการกลับคืนของกรดอินทรีย์อยู่ในช่วง 70-80 และค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานน้อยกว่า 1.8-7.3

ในปี ค.ศ. 2005 อาแคน และคณะ (Hakan; et al. 2005: 1-6) ทำการวิเคราะห์กรดคาร์บอกซิลิก มวลโมเลกุลต่ำในตัวอย่างน้ำแอปเปิ้ล เตรียมตัวอย่างโดยใช้การสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว ใช้สารละลายซัลฟิวริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์ ปริมาตร 150 มิลลิลิตรเป็นสารละลายในการสกัด โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ใช้ไฟโตไดโอดแอรีย์ดีเทคเตอร์ ตรวจวัดที่มีความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร และใช้คอลัมน์อ็อกทิลแอซิก ขนาด 150x4.6 มิลลิเมตร บรรจุอนุภาคนาโน 5 ไมครอน โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นกรดซัลฟิวริก pH 3 อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

ในปี ค.ศ. 2005 เดสแตนด์ และคณะ (Destandau; et al. 2005: 49-56) ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างสารผสมในอุตสาหกรรม เตรียมตัวอย่างโดยใช้การสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว ใช้สารละลายเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์เป็นสารละลายในการสกัด จากนั้นตรวจวัดปริมาณกรดอินทรีย์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้ตัวตรวจวัดเป็นยูวี-วิสิเบิล ตรวจวัดที่มีความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร และใช้คอลัมน์ C_{18} ขนาด 150x4.6 มิลลิเมตร โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 0.001 โมลาร์ และอะซิโตนในไตรให้ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.29-3.38

ในปี ค.ศ. 2006 คอกชี และคณะ (Cocchi; et al. 2006: 1166-1175) ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล และกรดอินทรีย์ในตัวอย่างน้ำส้มสายชู โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง (solid phase extraction) ในการเตรียมตัวอย่างโดยใช้วัฏภาคของแข็งเป็นออกตะเดคซิล และใช้สารละลายผสมระหว่างน้ำ และเมทานอลในอัตราส่วน 9:1 เป็นตัวชะน้ำตาล และกรดอินทรีย์ออกจากคาร์ทริดจ์ วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล และกรดอินทรีย์ในตัวอย่างน้ำส้มสายชูโดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้ตัวตรวจวัดแมสสเปกโตรเมตรีให้ผลการวิเคราะห์ดังนี้ ให้ค่าร้อยละการกลับคืนของกรดอินทรีย์อยู่ในช่วง 64-128

ในปี ค.ศ. 2006 ไอแนส และคณะ (Ines; et al. 2006: 190-197) ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในเครื่องดื่ม โดยใช้เทคนิค capillary zone electrophoresis โดยใช้ตัวตรวจวัด

เป็นยูวี-วิสเบิลตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 185 นาโนเมตร โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นโพแทสเซียม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟส เข้มข้น 0.75 โมลาร์ โดยให้ศักย์ไฟฟ้าที่ -2.5 กิโลโวลต์ ให้ค่าร้อยละของส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.92-2.23 และค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดอยู่ในช่วง 0.01-0.94 มิลลิกรัมต่อลิตร

ในปี ค.ศ. 2012 โรดริโก และคณะ (Rodrigo; et al. 2012: 150-154) ได้ทำการวิเคราะห์ ปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างผลไม้ และน้ำผลไม้ ทำการสกัดตัวอย่างโดยใช้เทคนิควัฏภาค ของเหลว ตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร ใช้สารละลายซัลฟิวริก pH 2.5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในการสกัด และวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้ตัว ตรวจวัดเป็นยูวี-วิสเบิลตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร และใช้คอลัมน์ C₁₈ ขนาด 150 x 4.6 มิลลิเมตร โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นซัลฟิวริก pH 2.5 และเมทานอล อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ค่าร้อยละการกลับคืนของกรดอินทรีย์อยู่ในช่วง 82-110 โดยมีค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดอยู่ใน ช่วง 0.11-11.30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ใน ช่วง 0.29-3.38

ในปี ค.ศ. 2012 ชลธิชา นิवासประกฤต และคณะ (ชลธิชา นิवासประกฤต; และคนอื่นๆ. 2012: 2354-1360) นำเสนอวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในผลตะคร้อจากจังหวัดต่างๆ ใน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยใช้ตัว ตรวจวัดเป็นโฟโตไดโอดแอเรย์ดีเทคเตอร์ (photo diode array detector) ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร และใช้คอลัมน์การแลกเปลี่ยนไอออนขนาด 150x4.6 มิลลิเมตร บรรจุอนุภาคขนาด 5 ไมครอน โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็นโพแทสเซียม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟส ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ pH 2.5 และอัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ค่าร้อยละการกลับคืนของกรดอินทรีย์อยู่ในช่วง 95.02-104.08

สำหรับการศึกษาการเตรียมตัวอย่างโดยใช้เทคนิคการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็ง แบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) สำหรับการเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ กรดอินทรีย์ในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูปไม่มีรายงานมาก่อน นอกจากนี้กรดอินทรีย์นั้นสามารถ นำไปใช้ประโยชน์ได้ในอุตสาหกรรมอาหาร และเครื่องสำอาง ดังนั้นการพัฒนานิ่ววิธีการเตรียม ตัวอย่างให้ได้กรดอินทรีย์ที่บริสุทธิ์ และการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอินทรีย์นั้นจึงเป็นสิ่งสำคัญ

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

อุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

- เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงและใช้ตัวตรวจวัดแบบไดโอดแอรเรย์ จาก บริษัท Hewlett-Packard รุ่น HP 1100) โดยใช้คอลัมน์ C₁₈ (4.6x150 mm) (บริษัท Agilent)
- เครื่องชั่งอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง (บริษัท Mettler Toledo รุ่น AB104-S)
- เครื่อง pH meter (บริษัท Mettler Toledo)
- ไมโครปิเปตต์ขนาด 200 และ 1000 ไมโครลิตร (จากบริษัท Gilson)
- ปิเปตต์ขนาด 1 5 10 และ 25 มิลลิลิตร
- ชุดเยื่อกรองเซลลูโลสอะซิเตต ขนาด 0.45 ไมครอน (จากบริษัท International Scientific)
- กระบอกลดยา ปริมาตร 3 มิลลิลิตร (จากบริษัท Nitro)

2. สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

- สารมาตรฐานกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก เกรดแอนาลาร์ (จากบริษัท Fluka)
- สารละลายกรดซัลฟิวริก เกรดห้องปฏิบัติการ (บริษัท Carlo Erbra)
- สารละลายกรดแอซติก เกรดแอนาลาร์ (บริษัท Carlo Erbra)
- สารละลายกรดไฮโดรคลอริก เกรดห้องปฏิบัติการ (บริษัท Carlo Erbra)
- โซเดียมคลอไรด์ เกรดแอนาลาร์ (บริษัท Carlo Erbra)
- โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟส (บริษัท Carlo Erbra)
- น้ำตาลซูโครส (จากบริษัท Fluka)
- สารละลายสังกะสี (บริษัท Carlo Erbra)
- สารละลายแคดเมียม (บริษัท Carlo Erbra)
- สารละลายปรอท (บริษัท Carlo Erbra)
- ซิลิกา (จากบริษัท Merck)
- อะลูมินา (จากบริษัท Merck)
- เบนโทไนท์ (จากบริษัท Fluka)
- ออกตะเตดซิล (จากบริษัท Vertical)
- เมทานอล (HPLC grade) (จากบริษัท Merck)

3. ตัวอย่างผักสด และผักแปรรูป

- กะหล่ำปลีสด A
- กะหล่ำปลีสดอง A1
- ผักกาดสด B
- ผักกาดดอง B1
- ผักกาดดอง B2
- แตงกวาสด C
- แตงกวาดองชนิดเปรี้ยว C1
- แตงกวาดองชนิดหวาน C2
- แตงกวาดองชนิดหวาน C3
- กระเทียมสด D
- กระเทียมดอง D1
- กระเทียมโทนสด E
- กระเทียมโทนดอง E1
- เห็ดหอม F
- เห็ดหอมดอง F1
- เห็ดหอมดอง F2
- เห็ดแชมปิญอง G
- เห็ดแชมปิญองดอง G1
- เห็ดแชมปิญองดอง G2
- หัวไชเท้า H
- หัวไชเท้าดอง H1
- หัวไชเท้าดอง H2
- หัวไชเท้าดอง H3
- หางหงส์ I
- หางหงส์ดอง I1
- หางหงส์ดอง I2
- ขิง J
- ขิงดอง J1
- ขิงดอง J2
- ขิงดอง J3
- หน่อไม้ K
- หน่อไม้ดอง K1

- หอมแดง L
- หอมแดงดอง L1

วิธีการดำเนินงานวิจัย

ตอนที่ 1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการสกัดกรดอินทรีย์ (กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก) ด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD)

1.1 การศึกษาชนิดของวัฏภาคของแข็งที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่าง

1.1.1 นำตัวอย่างมา 0.5xxx กรัม เติมสารละลายกรดอินทรีย์มาตรฐานแต่ละชนิดเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมกับวัฏภาคของแข็ง 0.5xxx กรัม โดยศึกษาชนิดของวัฏภาคของแข็ง ที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างมี 7 ชนิด ได้แก่ ออกตะเดคซิล เบนโทไนด์ ซิลิกา อะลูมินา สารผสมระหว่าง ออกตะเดคซิล และซิลิกา อัตราส่วน 1:1 สารผสมระหว่าง ออกตะเดคซิล และเบนโทไนด์ อัตราส่วน 1:1 สารผสมระหว่างออกตะเดคซิล และอะลูมินา อัตราส่วน 1:1 แล้วผสมให้เข้ากัน

1.1.2 นำสารผสมจากข้อ 1.1.1 มาบรรจุลงในกระบอกฉีดยา

1.1.3 ใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร สะกัดกรดอินทรีย์ออกจากกระบอกฉีดยา

1.1.4 เก็บสารละลายที่ออกจากกระบอกฉีดยา และนำสารละลายที่เตรียมได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน และฉีดสารละลายเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง บันทึกค่าพื้นที่พีคที่ระยะเวลาริเทนชันของกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด เพื่อนำไปคำนวณต่อไป (ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง)

1.2 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างมา 0.5xxx กรัม เติมสารละลายกรดอินทรีย์มาตรฐานแต่ละชนิดเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมกับสารผสมระหว่าง ออกตะเดคซิล และซิลิกา อัตราส่วน 1:1 โดยศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็ง 0.5:1 1:1 1: 2 1:3 และ 1:4 ผสมให้เข้ากัน นำสารผสม ทดลองต่อตามข้อ 1.1.2-1.1.4 (ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง)

1.3 การศึกษาเวลาในการบดตัวอย่างกับตัวดูดซับ

นำตัวอย่างมา 0.5xxx กรัม เติมน้ำสารละลายกรดอินทรีย์มาตรฐานแต่ละชนิดเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมกับสารผสมระหว่างออกตะเดคซิล และซิลิกา อัตราส่วน 1:1 ทำการศึกษาเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการบดตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็ง ได้แก่ 10 20 30 60 120 180 และ 300 วินาที ตามลำดับ นำสารผสม ทดลองต่อตามข้อ 1.1.2-1.1.4 (ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง)

1.4 การศึกษาชนิดของตัวชะสารที่เหมาะสมในการชะกรดอินทรีย์

นำตัวอย่างมา 0.5xxx กรัม เติมน้ำสารละลายกรดอินทรีย์มาตรฐานแต่ละชนิดเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมกับสารผสมระหว่าง ออกตะเดคซิล และซิลิกา อัตราส่วน 1:1 แล้วผสมให้เข้ากัน นำสารผสมทดลองต่อตามข้อ 1.1.2-1.1.3 โดยในการชะกรดอินทรีย์ออกจากกระบอกฉีดยา โดยศึกษาชนิดของตัวชะกรดอินทรีย์ที่เหมาะสม 5 ชนิด ได้แก่ น้ำ สารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์ สารละลายกรดอะซิติก 1×10^{-1} โมลาร์ สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1×10^{-2} โมลาร์ และสารละลายผสมระหว่างสารละลายกรดซัลฟิวริก และเมทานอล อัตราส่วน 95:5 ตามลำดับ และทดลองต่อตามข้อ 1.1.4 (ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง)

1.5 การศึกษาปริมาตรของตัวชะสารที่เหมาะสมในการชะกรดอินทรีย์

นำตัวอย่างมา 0.5xxx กรัม เติมน้ำสารละลายกรดอินทรีย์มาตรฐานแต่ละชนิดเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมกับสารผสมระหว่างออกตะเดคซิล และซิลิกา อัตราส่วน 1:1 แล้วผสมให้เข้ากัน นำสารผสมทดลองตามข้อ 1.1.2 -1.1.4 ทั้งนี้ในการทดลองตามข้อ 1.1.4 ใช้สารละลายกรดซัลฟิวริก โดยเปลี่ยนปริมาตรของกรดซัลฟิวริกต่างๆ ได้แก่ 1 2 3 5 และ 10 มิลลิลิตร ชะกรดอินทรีย์ออกจากกระบอกฉีดยา ก่อนที่จะทดลองตามข้อ 1.1.4 (ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง)

ตอนที่ 2 การเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างโดยใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ที่พัฒนาขึ้นกับวิธี การสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็ง และใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของเหลว

2.1 วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD)

2.1.1 นำตัวอย่างมา 0.5xxx กรัม เติมน้ำสารละลายกรดอินทรีย์มาตรฐานแต่ละชนิดเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมกับสารผสมระหว่าง ออกตะเดคซิล และซิลิกา อัตราส่วน 1:1 แล้วผสมให้เข้ากัน

2.1.2 นำสารผสมจากข้อ 2.1.1 มาบรรจุลงในกระบอกฉีดยา

2.1.3 ใช้สารละลายกรดซัลฟิวริก 5×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ชะกรดอินทรีย์ออกจากกระบอกลดน้ำ

2.1.4 เก็บสารละลายที่ออกจากกระบอกลดน้ำปริมาตร และนำสารละลายที่เตรียมได้ไปกรองผ่านไซริงจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน และฉีดสารละลายเข้าเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง บันทึกค่าพื้นที่พีคที่ระยะเวลาที่เทนชันของกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด เพื่อนำไปคำนวณต่อไป (ทำการทดลองซ้ำ 10 ครั้ง)

2.2 วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็ง

2.2.1 บรรจุสารผสมระหว่าง ออกตะเดคซิล และซิลิกา อัตราส่วน 1:1 ลงในกระบอกลดน้ำ เติมตัวอย่าง 0.5xxx กรัม ที่มีการเติมสารละลายกรดอินทรีย์มาตรฐานแต่ละชนิดเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงไป

2.2.2 ใช้สารละลายกรดซัลฟิวริก 5×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ชะกรดอินทรีย์ออกจากกระบอกลดน้ำ

2.2.3 เก็บสารละลายที่ออกจากกระบอกลดน้ำปริมาตร และนำสารละลายที่เตรียมได้ไปกรองผ่านไซริงจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน และฉีดสารละลายเข้าสู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง บันทึกค่าพื้นที่พีคที่ระยะเวลาที่เทนชันของกรดทั้ง 3 ชนิด เพื่อนำไปคำนวณต่อไป (ทำการทดลองซ้ำ 10 ครั้ง)

2.3 วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคเหลว

2.3.1 ใส่ตัวอย่าง 0.5xxx กรัม เติมสารละลายกรดอินทรีย์มาตรฐานแต่ละชนิดเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงไปในหลอดทดลอง

2.3.2 เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก 5×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และเขย่านาน 1 นาที

2.3.3 นำสารที่ได้ไปเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที

2.3.4 นำสารละลายใสขึ้นบนมากรองผ่านไซริงจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน และฉีดสารละลายเข้าสู่เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง บันทึกค่าพื้นที่พีคที่ระยะเวลาที่เทนชันของกรดทั้ง 3 ชนิด เพื่อนำไปคำนวณต่อไป (ทำการทดลองซ้ำ 10 ครั้ง)

ตอนที่ 3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ (กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก) โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

3.1 การศึกษาชนิดและองค์ประกอบของวัฏภาคเคลื่อนที่

3.1.1 เตรียมสารละลาย กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.1.2 นำสารละลายที่เตรียมได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน

3.1.3 ฉีดสารละลายมาตรฐานกรดอินทรีย์ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เข้าสู่ระบบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง มีสภาวะของระบบวัฏภาคเคลื่อนที่ 2 สภาวะดังนี้

สภาวะที่ 1 สารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟส 1×10^{-2} โมลาร์

สภาวะที่ 2 สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ และเมทานอล ในอัตราส่วนร้อยละ 98:2 ปริมาตรต่อปริมาตร

ใช้อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที โดยทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณด้วยตัวตรวจวัดแบบยูวีวิสิเบิลที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร บันทึกโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด

3.2 การศึกษาอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่

ฉีดสารละลายมาตรฐานกรดอินทรีย์ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เข้าสู่ระบบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ในสภาวะที่เหมาะสมในข้อ 2.1 ทำการศึกษาอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ 7 สภาวะ ได้แก่ 0.30 0.50 0.70 0.80 0.90 1.00 และ 1.20 มิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ บันทึกโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด

ตอนที่ 4. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ที่พัฒนาขึ้น

4.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

4.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดทาร์ทาริก ที่ความเข้มข้น 0 ถึง 300 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดมาลิก ที่ความเข้มข้น 0 ถึง 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดซิตริก ที่ความเข้มข้น 0 ถึง 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.1.2 นำสารละลายมาตรฐานกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ที่เตรียมได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน

4.1.3 ฉีดสารละลายมาตรฐานกรดอินทรีย์ ทุกระดับความเข้มข้นเข้าสู่ระบบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

4.2 การหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณได้ (LOQ)

4.2.1 ชั่งน้ำปราศจากไอออน 0.5xxx กรัม เติมวัฏภาคของแข็ง คือสารผสมระหว่างออกตะเดคซิล และซิลิกา อัตราส่วน 1:1 กรัม แล้วผสมให้เข้ากัน

4.2.2 นำสารผสมจากข้อ 4.2.1 มาบรรจุลงในกระบอกฉีดยา

4.2.3 ใช้สารละลายกรดซัลฟิวริก 5×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ชะสารออกจากกระบอกฉีดยา

4.2.4 เก็บสารละลายที่ออกจากกระบอกฉีดยาปริมาตร และนำสารละลายที่เตรียมได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน

4.2.5 ฉีดสารละลายเข้าสู่ระบบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง แล้วนำมาคำนวณค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD; 3S/N) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ปริมาณได้ (LOQ; 10S/N) (ทำการทดลองซ้ำ 10 ครั้ง)

4.3 ร้อยละการคืนกลับ (percentage recovery)

4.3.1 บดตัวอย่างให้ละเอียด ชั่งตัวอย่าง 0.5xxx กรัม เติมสารละลายมาตรฐานกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก เข้มข้น 5 30 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมสารผสมระหว่างออกตะเดคซิล และซิลิกา อัตราส่วน 1 : 1 แล้วผสมให้เข้ากัน

4.3.2 นำสารผสมจากข้อ 4.3.1 มาบรรจุลงในกระบอกฉีดยา

4.3.3 ใช้สารละลายกรดซัลฟิวริก 5×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ชะกรดอินทรีย์ออกจากกระบอกฉีดยา

4.3.4 เก็บสารละลายที่ออกจากกระบอกฉีดยา และนำสารละลายที่เตรียมได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน

4.3.5 ฉีดสารละลายเข้าสู่ระบบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง บันทึกโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานกรดอินทรีย์แล้วนำมาคำนวณร้อยละการคืนกลับ (%recovery) (ทำการทดลองซ้ำ 10 ครั้ง) การคำนวณร้อยละการกลับคืนคำนวณได้จาก สมการที่ 1

$$\text{ค่าร้อยละการกลับคืน} = \frac{(C_A \text{ in sample} + C_A \text{ added}) - C_A \text{ in sample} \times 100}{C_A \text{ added}} \quad \text{.....1)}$$

หมายเหตุ $C_A \text{ in sample}$ = ความเข้มข้นของสารสนใจวิเคราะห์ในตัวอย่าง

$C_A \text{ added}$ = ความเข้มข้นของสารสนใจวิเคราะห์ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนที่เติมลงไปในระบบ

4.4 การหาความแม่นยำของวิธีการตรวจวิเคราะห์ (precision)

4.4.1 บดตัวอย่างให้ละเอียด ชั่งตัวอย่าง 0.5xxx กรัม เติมวัฏภาคของแข็ง คือสารผสมระหว่าง ออกตะเดคซิล และซิลิกา อัตราส่วน 1:1 กรัม แล้วผสมให้เข้ากัน

4.4.2 นำสารผสมจากข้อ 4.4.1 มาบรรจุลงกระบอกฉีดยา

4.4.3 ใช้สารละลายกรดซัลฟิวริก 5×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ชะกวดอินทรีย์ออกจากกระบอกฉีดยา

4.4.4 เก็บสารละลายที่ออกจากกระบอกฉีดยาปริมาตร และนำสารละลายที่เตรียมได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน

4.4.5 ฉีดสารละลายเข้าสู่ระบบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง บันทึกโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานกรดอินทรีย์ แล้วนำมาคำนวณค่าร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)

- intra-day คือ การทำการทดลองซ้ำภายในวันเดียวกัน โดยทำการทดลองซ้ำ 10 ครั้ง
- inter-day คือ การทำการทดลองซ้ำกันระหว่างวันเป็นเวลา 3 วัน โดยทำการทดลองซ้ำวันละ 10 ครั้ง

$$\text{ร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน} = \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน} \times 100}{\text{ค่าเฉลี่ย}} \quad \text{.....2)}$$

ตอนที่ 5 การศึกษาผลของสารรบกวนการวิเคราะห์ปริมาณกรดกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก

5.1 ผลการรบกวนจากไอออนอื่น

5.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมสารรบกวน ได้แก่ สารละลายมาตรฐานปรอทเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สารละลายแคดเมียมเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารละลายสังกะสี 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

5.1.2 นำสารละลายมาตรฐานกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ที่เตรียมได้ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน

5.1.3 ฉีดสารละลาย เข้าสู่ระบบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และบันทึกโครมาโทแกรมของที่ได้จากการศึกษาผลของสารรบกวนการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก

5.2 ผลการรบกวนจากสารละลายเกลือ กรดอะซิติก และน้ำตาล

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมสารรบกวน ได้แก่ เกลือ 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 20 กรดอะซิติก 0.1 โมลาร์ และน้ำตาลซูโครส 0.1 โมลาร์ แล้วทดลองตามข้อ 5.1.2-5.1.3

ตอนที่ 6 วิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างผักสดและผักแปรรูป

6.1 บดตัวอย่างแต่ละชนิด ตั้งแต่ A – L1 ให้ละเอียด ชั่งตัวอย่าง 0.5xxx กรัม เติมสารผสมระหว่าง ออกตะเดคซิล และซิลิกา อัตราส่วน 1:1 ผสมให้เข้ากัน

6.2 นำสารผสมจากข้อ 6.1 มาบรรจุลงในกระบอกฉีดยา

6.3 ใช้สารละลายกรดซัลฟิวริก 5×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ชะกรดอินทรีย์ออกจากกระบอกฉีดยา

6.4 เก็บสารละลายที่ออกจากกระบอกฉีดยา ไปกรองผ่านไซรินจ์ฟิลเตอร์เมมเบรนของเซลลูโลสอะซิเตตขนาด 0.45 ไมครอน และฉีดสารละลายเข้าสู่ระบบของเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง บันทึกโครมาโทแกรมของสารมาตรฐานกรดอินทรีย์ เพื่อไปเทียบกราฟมาตรฐาน และคำนวณหาปริมาณกรดอินทรีย์แต่ละชนิดต่อไป

บทที่ 4

ผลการทดลอง

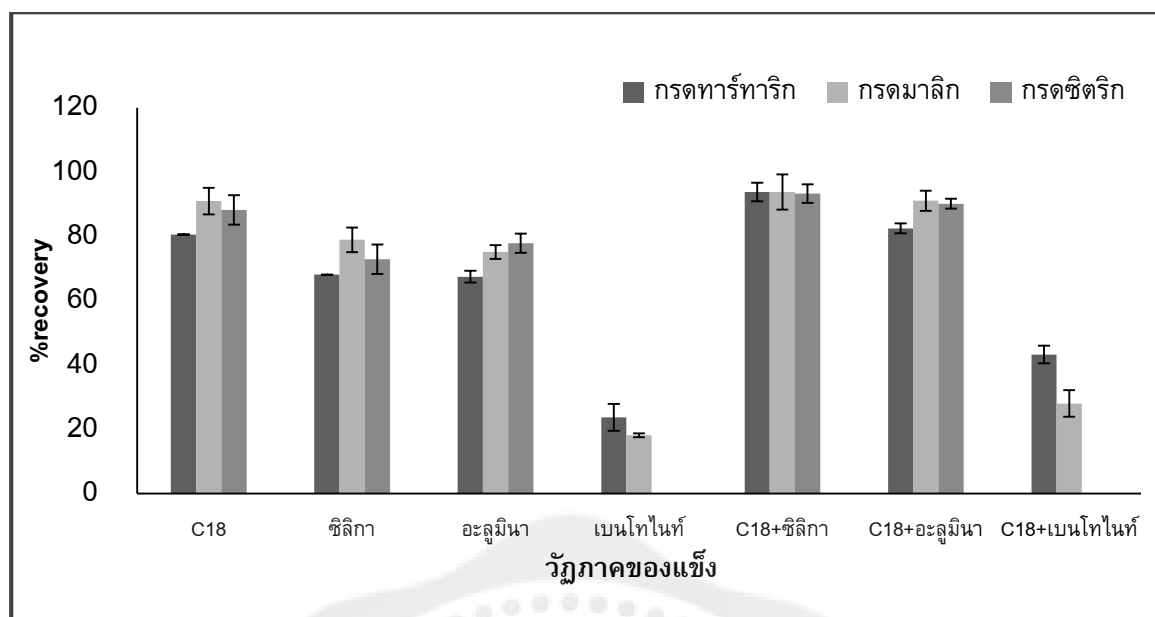
การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ขอเสนอผลการวิจัยตามลำดับดังนี้

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) สำหรับการสกัดกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก
2. การเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างโดยใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ที่พัฒนาขึ้นกับวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็ง และใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของเหลว
3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
4. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริกที่พัฒนาขึ้น
5. การศึกษาผลของสารรบกวนการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก
6. วิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูป

ตอนที่ 1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) สำหรับการสกัดกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก

1.1 ผลการศึกษาชนิดของวัฏภาคของแข็งที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่าง

ในการศึกษาชนิดของวัฏภาคของแข็งที่เหมาะสมในการสกัดกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริกจากตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) โดยได้ศึกษาชนิดของวัฏภาคของแข็ง 7 ชนิด ได้แก่ ออกตะเดคซิล ซิลิกา อะลูมินา เบนโทไนท์ สารผสมระหว่างออกตะเดคซิล และซิลิกา ในอัตราส่วน 1:1 สารผสมระหว่างออกตะเดคซิล และอะลูมินา ในอัตราส่วน 1:1 สารผสมระหว่างออกตะเดคซิล และเบนโทไนท์ ในอัตราส่วน 1:1 ทั้งนี้เมื่อตรวจสอบกับสารมาตรฐานกรดแต่ละชนิด และวิเคราะห์ปริมาณร้อยละการกลับคืน ที่ทดลองด้วยวัฏภาคของแข็งแต่ละชนิด ได้แสดงผลการดังภาพประกอบ 7



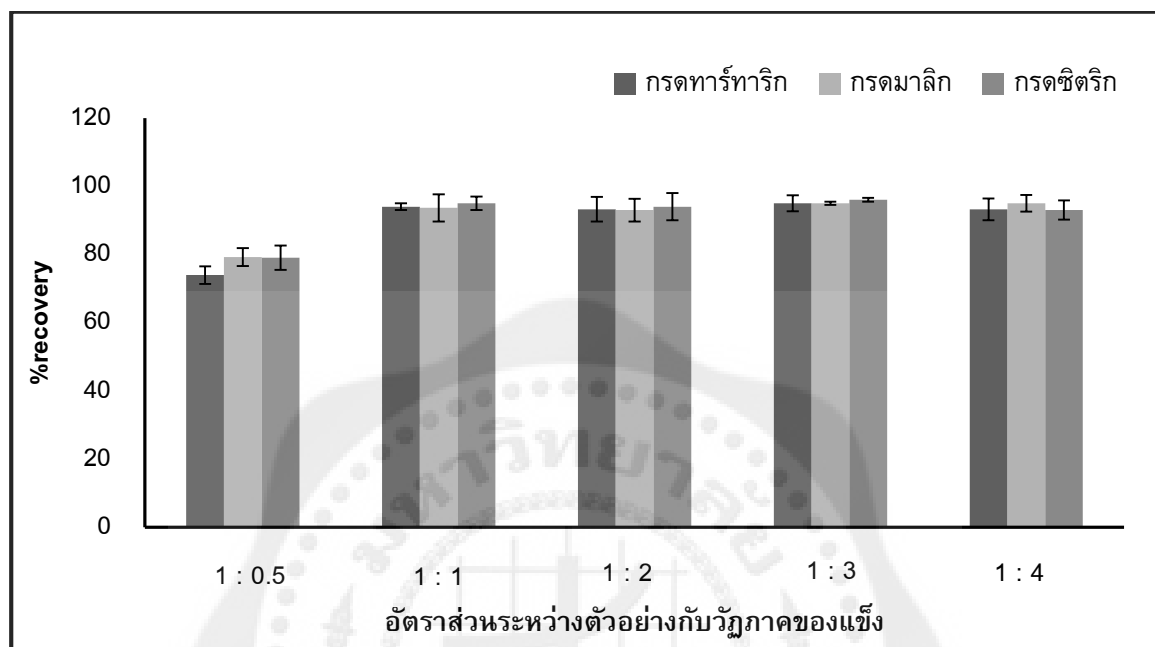
ภาพประกอบ 7 ผลการศึกษาวัสดุของแข็งที่เหมาะสม

จากผลการศึกษาพบว่าการใช้วัสดุของแข็งออกตะเดคซิลนั้นให้ค่าประสิทธิภาพในการสกัดสูง ดังนั้นจึงนำออกตะเดคซิลมาผสมกับวัสดุของแข็งชนิดอื่น ได้แก่ ซิลิกา อะลูมินา และ เบนโทไนท์ ในอัตราส่วน 1:1 อันเนื่องมาจากวัสดุของแข็งออกตะเดคซิลนั้นเป็นวัสดุของแข็งที่มีสมบัติความเป็นขั้วต่ำ ทำให้กรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดเกิดการดูดซับบนพื้นผิวออกตะเดคซิลด้วยแรงดึงดูดอ่อนๆ และสามารถชะกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ออกมาได้ง่าย ส่วนวัสดุของแข็งชนิดอื่น ได้แก่ ซิลิกา อะลูมินา และเบนโทไนท์ นั้นมีความเป็นขั้วสูง ซึ่งสภาพขั้วนั้นมีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัด ซิลิกานั้นเป็นวัสดุของแข็งที่มีสมบัติความเป็นกรดดังนั้นทำให้กรดอินทรีย์เกิดการดูดซับบนพื้นผิวของซิลิกาได้ดี การชะกรดอินทรีย์ออกมาจากพื้นผิวของซิลิกานั้นเกิดได้ยาก ดังนั้นเมื่อนำวัสดุของแข็งที่เป็นออกตะเดคซิล และซิลิกามาผสมกันทำช่วยทำให้สามารถแยกกรดอินทรีย์จากตัวอย่างได้ดีขึ้นจึงมีกรดอินทรีย์เข้มข้นมากขึ้นด้วยมาเกาะบนผิวของวัสดุของแข็ง และเมื่อชะกรดอินทรีย์ออกจากพื้นผิวของวัสดุของแข็ง ส่งผลทำให้ได้ค่าประสิทธิภาพการสกัดสูง ดังนั้น วัสดุของแข็งที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่างด้วยวัสดุของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) คือสารผสมระหว่างออกตะเดคซิล และซิลิกาในอัตราส่วน 1:1

1.2 ศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับวัสดุของแข็งที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่าง

ในงานวิจัยได้ศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับวัสดุของแข็งที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สกัดกรดทาร์ทริก กรดมาลิก และกรดซิตริกจากตัวอย่างด้วยวัสดุของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ได้ทำการศึกษา 5 สภาวะ ได้แก่ 1:0.5 1:1 1:2 1:3 และ 1:4 ตามลำดับ แสดงผลการวิเคราะห์ ดังภาพประกอบ 8

จากผลการศึกษาพบว่า การเพิ่มอัตราส่วนของวัฏภาคของแข็งในช่วง 1:1 ถึง 1:4 นั้นให้ค่าร้อยละการกลับคืนคงที่ โดยให้ค่าร้อยละการกลับคืนของกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดอยู่ในช่วง 93.32 ± 3.21 ถึง 96.34 ± 0.56

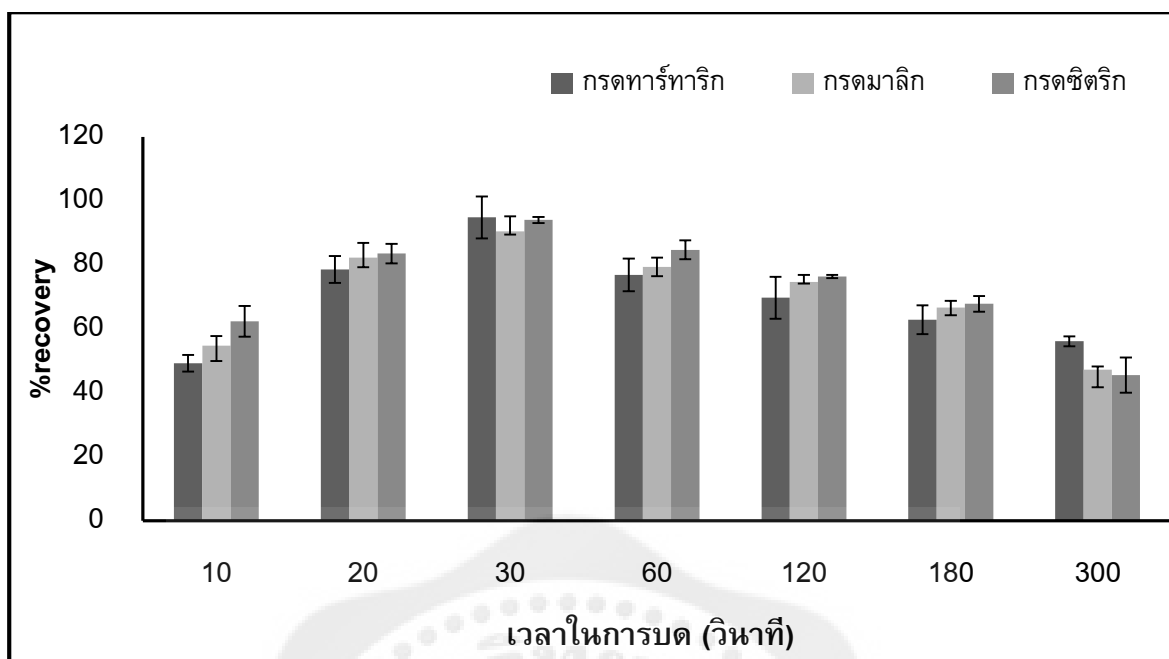


ภาพประกอบ 8 ผลการศึกษ้อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็ง

จากภาพประกอบ 8 พบว่า พื้นที่ผิวของวัฏภาคของแข็งเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญในวิธีการสกัดสารด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งที่เหมาะสมในวิธีการสกัดกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก คือ อัตราส่วน 1:1 โดยผลการวิจัยสอดคล้องกับงานวิจัยของแอนนา และคณะ ที่ทำการศึกษ้อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็ง (Anna; et al. 2010: 2521-2532)

1.3 เวลาในการบดตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็ง

การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการบดตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งในวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ตัวอย่างกับพื้นที่ผิวของวัฏภาคของแข็งนั้นสามารถสัมผัสกันได้อย่างยิ่งยั้ง โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการบดตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็ง ดังนี้ 10 20 30 60 120 180 และ 300 วินาที แสดงผลการวิเคราะห์ ดังภาพประกอบ 9



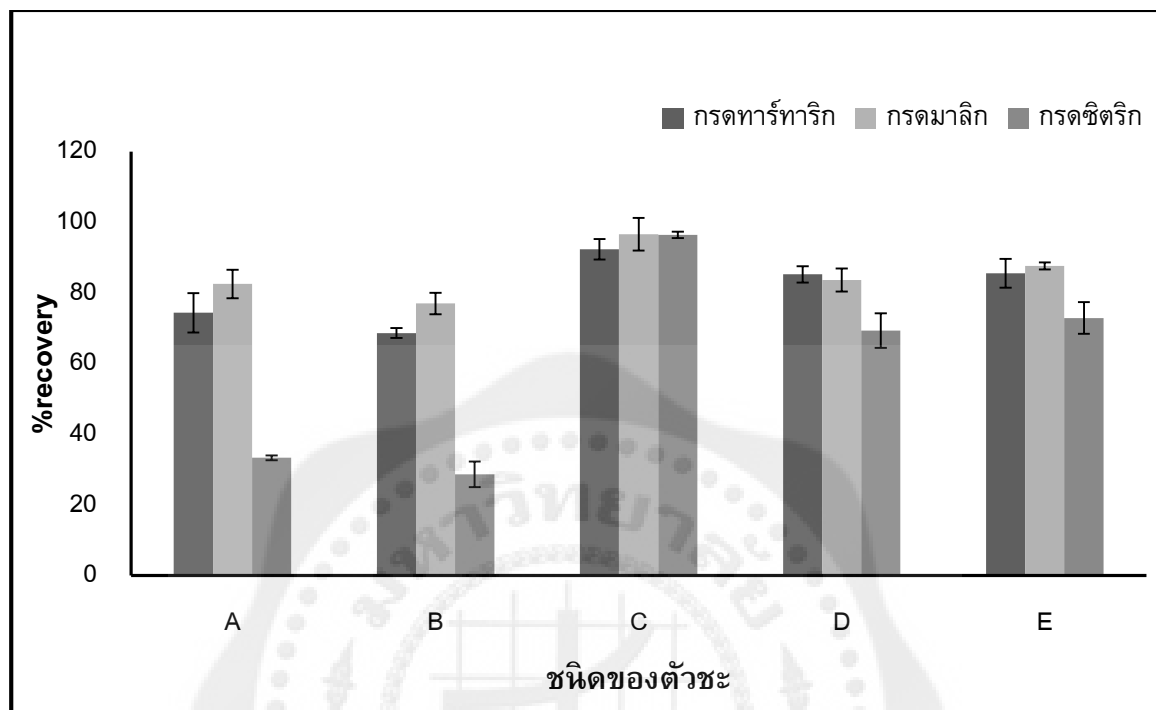
ภาพประกอบ 9 ผลการศึกษาเวลาในการบดตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งที่เหมาะสม

จากภาพประกอบ 9 จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการบดตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งจาก 10 วินาที จนถึง 30 วินาที จะทำให้ค่าร้อยละการกลับคืนเพิ่มมากขึ้น และหลังจาก 30 วินาที พบว่าเมื่อเพิ่มเวลาบดตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งจะทำให้ค่าร้อยละการกลับคืนของกรดทาร์ทริก กรดมาลิก และกรดซิตริกนั้นมีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการใช้เวลาในการบดตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งนานมากขึ้นอาจทำให้เกิดความร้อนขึ้นจากการเสียดสี จึงส่งผลทำให้กรดอินทรีย์ที่มีโอกาสสลายตัวไปได้จากการได้รับความร้อนในการบดเป็นเวลานาน ฉะนั้นไม่ควรทำการบดตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งโดยใช้เวลานานเกินไป การทดลองในตอนนี้จึงกล่าวได้ว่าเวลาที่เหมาะสมในการบดตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งคือ 30 วินาที

1.4 ชนิดของตัวชะสารถิที่เหมาะสมในการชะกรดอินทรีย์

การศึกษาสารละลายที่เหมาะสมในการชะสารถิที่สนใจวิเคราะห์ออกจากพื้นผิวของวัฏภาคของแข็งเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญในวิธีการสกัดสารด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาสารละลายที่เหมาะสมในการชะกรดทาร์ทริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ออกจากพื้นผิวของวัฏภาคของแข็ง ซึ่งวัฏภาคของแข็งนั้นเป็นสารผสมระหว่างออกตะเดคซิล และซิลิกาในอัตราส่วน 1:1 โดยทำการศึกษาตัวชะที่เหมาะสม 5 สภาวะ ได้แก่ น้ำ สารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 1×10^{-1} โมลาร์ สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์ สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1×10^{-2} โมลาร์ และสารละลายผสมระหว่าง กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์

และเมทานอลในอัตราส่วน 95:5 ปริมาตรต่อปริมาตร ตามลำดับ โดยแสดงผลการศึกษาหาลำดับการกลับคืนของกรดอินทรีย์ที่ทดลอง จากการใช้สารชะ ชนิดต่างๆ ตามแสดงในภาพประกอบ 10



ภาพประกอบ 10 ผลการศึกษาชนิดของตัวชะที่เหมาะสม

หมายเหตุ A แทน น้ำ (Katie. 2012: 57-62)

B แทน กรดอะซิติก 1×10^{-1} โมลาร์ (Yuegang; et al 2002: 307-316)

C แทน กรดซัลฟิวริก 5×10^{-4} โมลาร์ (Rodrigo; et al. 2012: 150-154)

D แทน กรดไฮโดรคลอริก 1×10^{-2} โมลาร์ (Yoshiaki; et al. 2000: 87-97)

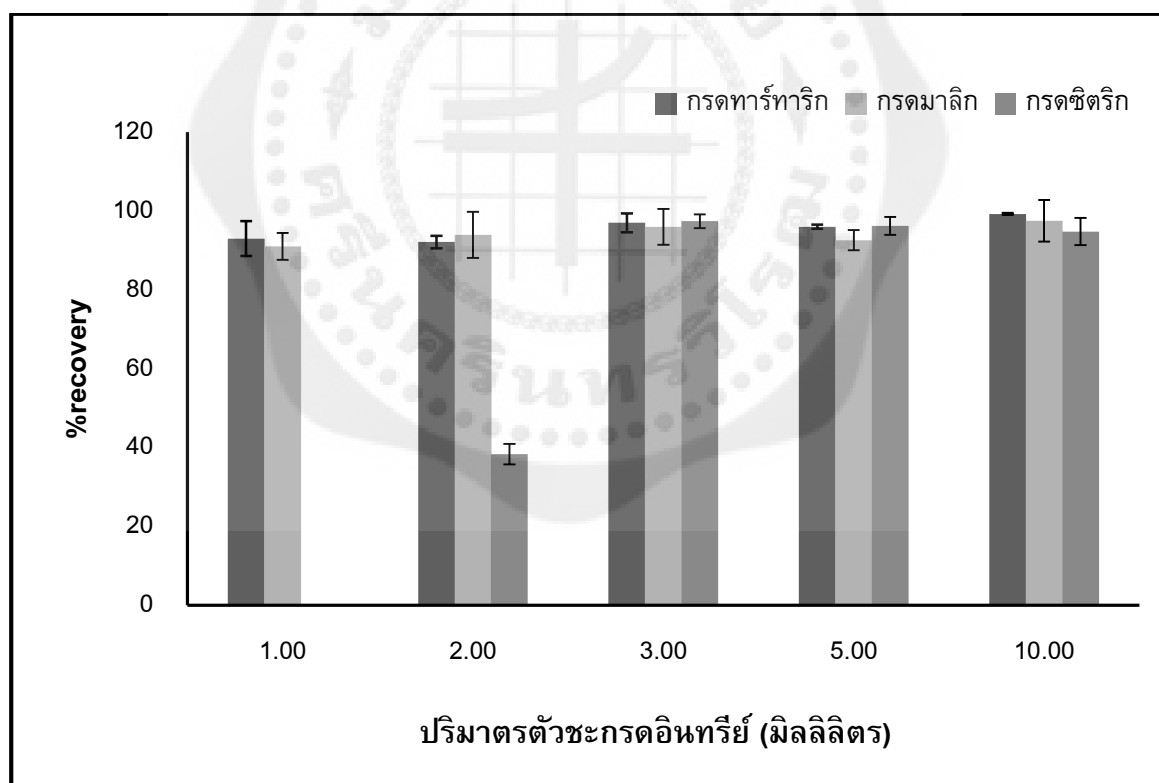
E แทน กรดซัลฟิวริก 5×10^{-4} โมลาร์ : เมทานอล อัตราส่วน 95 : 5 (Yean; & Philip. 2006: 524-530)

จากผลการศึกษาพบว่า สารละลายที่ให้ค่าร้อยละการกลับคืนที่สูงสำหรับการชะกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก คือ สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์ และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1×10^{-2} โมลาร์ สามารถชะกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริกออกมาได้ดี อันเนื่องมาจากการที่ชะเอาสารที่สนใจออกมาจากพื้นผิวของวัสดุของแข็ง อาศัยหลักการสารที่มีคุณสมบัติความเป็นขั้วเหมือนกันย่อมละลายซึ่งกัน และกันได้ดี จึงเป็นผลให้การชะสารตัวอย่างกรดอินทรีย์ ด้วยกรดแก่นั้นให้ค่าร้อยละการกลับคืนสูงกว่าการชะด้วยกรดอ่อน ดังนั้น สารละลายกรดซัลฟิวริก และไฮโดรคลอริกมีความเป็นกรดแก่จึง สามารถชะกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และ

กรดซิตริก ออกมาได้ดีกว่ากรดอ่อน เช่น กรดอะซิติก นอกจากนี้กรดอินทรีย์ตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด สามารถถูกดูดซับบนพื้นผิวของสารผสมระหว่างผสมระหว่างออกตะเดคซิล และซิลิกา ด้วยแรงดึงดูดสูง และเกาะที่พื้นผิวของวัสดุของแข็งได้ดี จึงต้องใช้สารละลายที่มีความเป็นกรดสูงถึงกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ออกจากพื้นผิวของวัสดุของแข็ง ดังนั้นสารละลายที่เหมาะสมในการชะกรดทาร์ทริก กรดมาลิก และกรดซิตริก คือ สารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์ เพราะให้ค่าประสิทธิภาพการสกัดสูง

1.5 ปริมาตรของสารละลายซัลฟิวริก ที่เหมาะสมในการชะกรดอินทรีย์

การศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์ ในการชะกรดทาร์ทริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ออกจากพื้นผิวของวัสดุของแข็ง โดยทำการศึกษา 5 สภาวะ ได้แก่ 1 2 3 5 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ ผลจากการศึกษาแสดงในคำร้อยละการกลับคืนของกรดอินทรีย์ 3 ชนิดที่ถูกชะออกมากับสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ปริมาตรต่างๆ แสดงดังภาพประกอบ 11



ภาพประกอบ 11 ผลการศึกษาปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟิวริก

จากผลการศึกษาพบว่า การใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกปริมาตร 1 มิลลิลิตร สามารถชะกรดทาร์ทริก และกรดมาลิก ออกจากวัสดุของแข็งได้ดีส่งผลทำให้ได้คำร้อยละการกลับคืนที่สูง

แต่ไม่สามารถชะกวดชิตริกออกจากพื้นผิวของวักฎภาคของแข็งได้ ปริมาตรเท่ากับ 2 มิลลิลิตรให้ค่าร้อยละการกลับคืนที่ใกล้เคียงกับ 1 มิลลิลิตร และสามารถชะกวดชิตริก ออกมาจากวักฎภาคของแข็งได้เล็กน้อย ที่ปริมาตรเท่ากับ 3 มิลลิลิตร ให้ค่าร้อยละการกลับคืนที่สูงของกรดทาร์ทริก กรดมาลิก และกรดชิตริก อันเนื่องมาจากปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟิวริกปริมาตร 3 5 และ 10 มิลลิลิตร นั้นให้ค่าร้อยละการกลับคืนของกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดใกล้เคียงกัน ซึ่งให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 92.58 ± 4.56 ถึง 99.24 ± 0.21 ดังนั้นปริมาตรที่เหมาะสมของสารละลายกรดซัลฟิวริกในการชะกวดทาร์ทริก กรดมาลิก และกรดชิตริก ออกจากพื้นผิวของวักฎภาคของแข็ง เท่ากับ 3 มิลลิลิตร

จากผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวักฎภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) สำหรับการสกัดกรดทาร์ทริก กรดมาลิก และกรดชิตริก ได้สภาวะที่เหมาะสมดังต่อไปนี้

ชนิดวักฎภาคของแข็ง คือ สารผสมระหว่างออกตะเดคซิล และซิลิกา ในอัตราส่วน 1:1

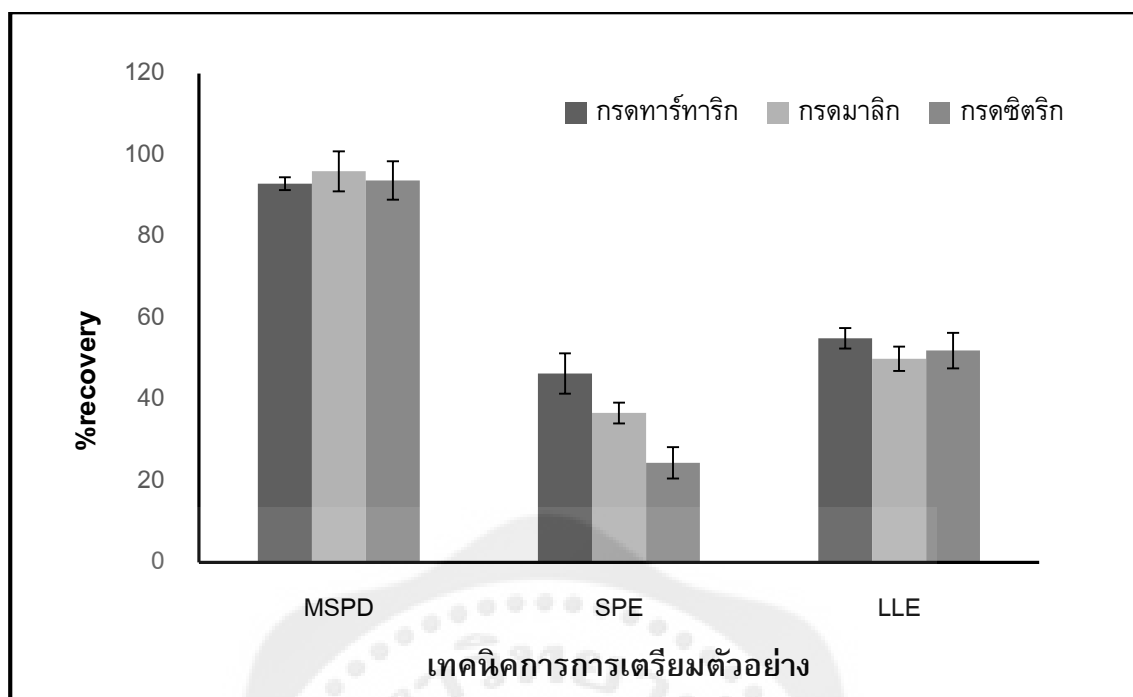
อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับวักฎภาคของแข็ง คือ อัตราส่วน 1:1

เวลาที่ใช้ในการบดตัวอย่างกับวักฎภาคของแข็ง คือ 30 วินาที

ชนิดของสารละลายที่ใช้ชะ คือ สารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร

ตอนที่ 2 การเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างโดยใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวักฎภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ที่พัฒนาขึ้นกับวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวักฎภาคของแข็ง และใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวักฎภาคของเหลว

ในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างนั้นเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณ ในงานวิจัยได้ศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่าง 3 วิธี ได้แก่ วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวักฎภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ที่พัฒนาขึ้นกับวิธี การสกัดด้วยวักฎภาคของเหลว และการสกัดด้วยวักฎภาคของแข็ง แสดงผลการวิเคราะห์ดังภาพประกอบ 12



ภาพประกอบ 12 ผลการศึกษาการเปรียบเทียบเทคนิคการสกัด

โดยทั่วไปนิยมใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างวิธีการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลวแต่วิธีดังกล่าวมีข้อด้อยคือ จะต้องใช้สารละลายในการสกัดปริมาณมาก และสกัดกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดออกมาได้น้อยทำให้ได้สัญญาณการวิเคราะห์นั้นค่อนข้างต่ำ และให้ค่าร้อยละการกลับคืนที่น้อย ส่วนวิธีการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็งนั้นเป็นวิธีที่สามารถกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดได้น้อย เนื่องจากตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัยมีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว ทำให้การสัมผัสตัวอย่างกับพื้นผิวของวัฏภาคของแข็งเกิดได้น้อย ส่งผลทำให้สกัดกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดได้น้อย ดังนั้นจึงมีการพัฒนาวิธีสกัดตัวอย่างด้วย วัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ขึ้นมาเพื่อแก้ไขปัญหาในวิธีการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง ซึ่งเป็นวิธีที่นำตัวอย่างมาบดรวมกันกับวัฏภาคของแข็ง ทำให้การสัมผัสกันระหว่างตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งเกิดได้ดียิ่งขึ้น ส่งผลทำให้สามารถสกัดกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดออกมาได้ปริมาณมากและให้ค่าร้อยละการกลับคืนที่สูงกว่าวิธีการสกัดด้วยวัฏภาคของเหลว และการสกัดด้วยวัฏภาคของแข็ง แสดงผลการวิเคราะห์ดังภาพประกอบ 12 ซึ่งผลการวิจัยนั้นสอดคล้องกับงานวิจัยของโบเซนา และคณะ ทำการเปรียบเทียบวิธีการสกัดตัวอย่างพบว่าการใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ให้ค่าประสิทธิภาพการสกัดที่สูงกว่าวิธีการสกัดแบบวัฏภาคของเหลว (Bozena; et al. 2012: 973-992)

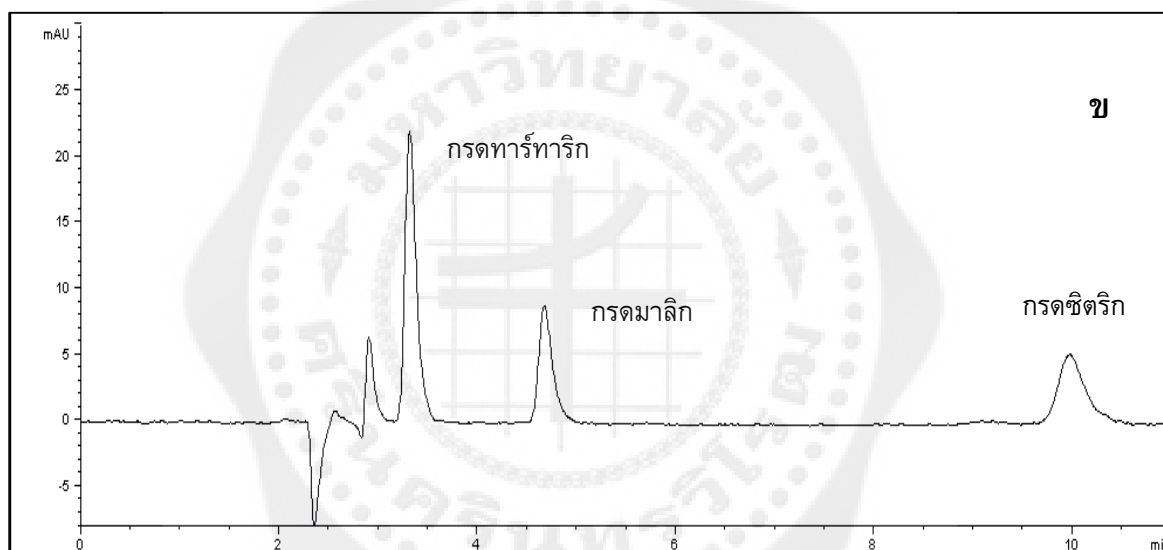
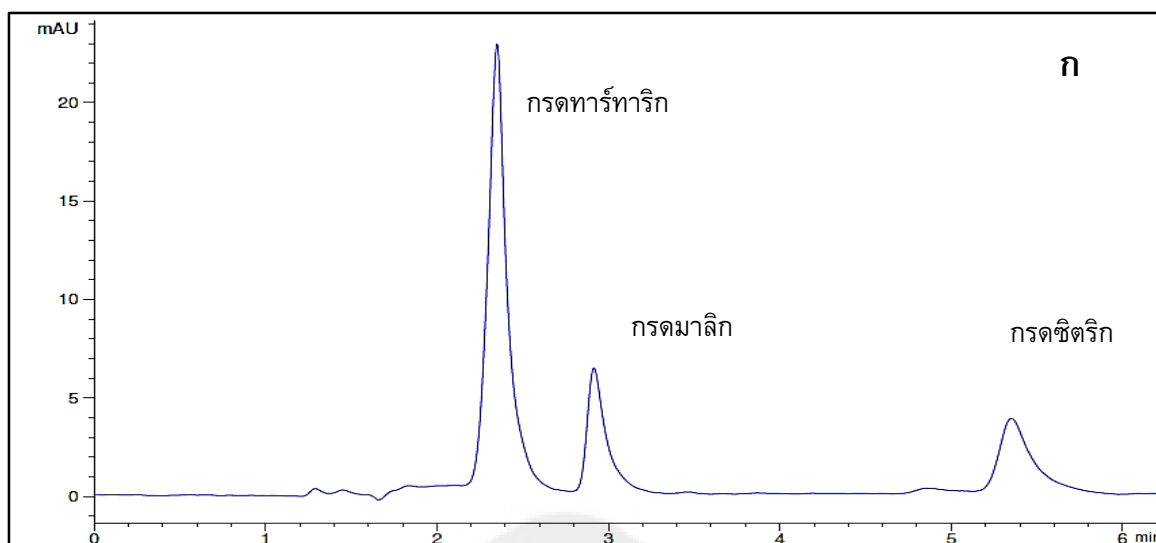
ตอนที่ 3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

3.1 ชนิด และองค์ประกอบของวัฏภาคเคลื่อนที่

3.1.1 ชนิดของวัฏภาคเคลื่อนที่

โดยทั่วไปชนิดตัวทำละลายในวัฏภาคเคลื่อนที่ของเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง เป็นตัวแปรที่มีความสำคัญมากในการกระบวนการแยกสารในเทคนิคทางด้านโครมาโทกราฟี ส่งผลทำให้ความสามารถในการแยก และรูปร่างของของพีกในโครมาโทแกรม ซึ่งพบว่าการใช้ชนิดของวัฏภาคเคลื่อนที่ที่ต่างกันส่งผลทำให้ระยะเวลาที่เพนชัน (retention time) ลักษณะของพีก เช่น ความกว้าง และความแคบของสัญญาณ ดังนั้นการศึกษาผลของชนิดของวัฏภาคเคลื่อนที่จึงมีความสำคัญต่อระบบโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษานิตของวัฏภาคเคลื่อนที่ 2 สภาวะ ดังนี้ สภาวะที่ 1 สารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1×10^{-2} โมลาร์ (Ines; et al. 2006: 190-197) และ สภาวะที่ 2 สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ และเมทานอล (Rodrigo; et al. 2012: 150-154) ในอัตราส่วน ร้อยละ 98 : 2 ปริมาตรต่อปริมาตรแสดงผลการวิเคราะห์ดังภาพประกอบ 13



ภาพประกอบ 13 โครมาโทแกรมจากการศึกษาชนิดของวัฏภาคเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์

ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก

ก แทน สารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ ต่อเมทานอลอัตราส่วน 98:2 ปริมาตร ต่อปริมาตร

ข แทน สารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟส เข้มข้น 1×10^{-2} โมลาร์

จากภาพประกอบ 13 จากผลการศึกษพบว่าชนิดของวัฏภาคเคลื่อนที่นั้นส่งผลต่อระยะเวลา รีเทนชัน ลักษณะของพีคที่เกิดขึ้นในโครมาโทแกรมอย่างชัดเจน โดยพบว่าการใช้สภาวะสารละลาย โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟส 1×10^{-2} โมลาร์ ใช้ระยะเวลานานในกระบวนการแยก กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ซึ่งกรดอินทรีย์แต่ละชนิดมีค่าระยะเวลารีเทนชันเท่ากับ 3.3 4.6 และ 10.0 นาที ตามลำดับ และนอกจากนี้สภาวะดังกล่าวนี้สัญญาณของสารรบกวนเกิดขึ้นใน

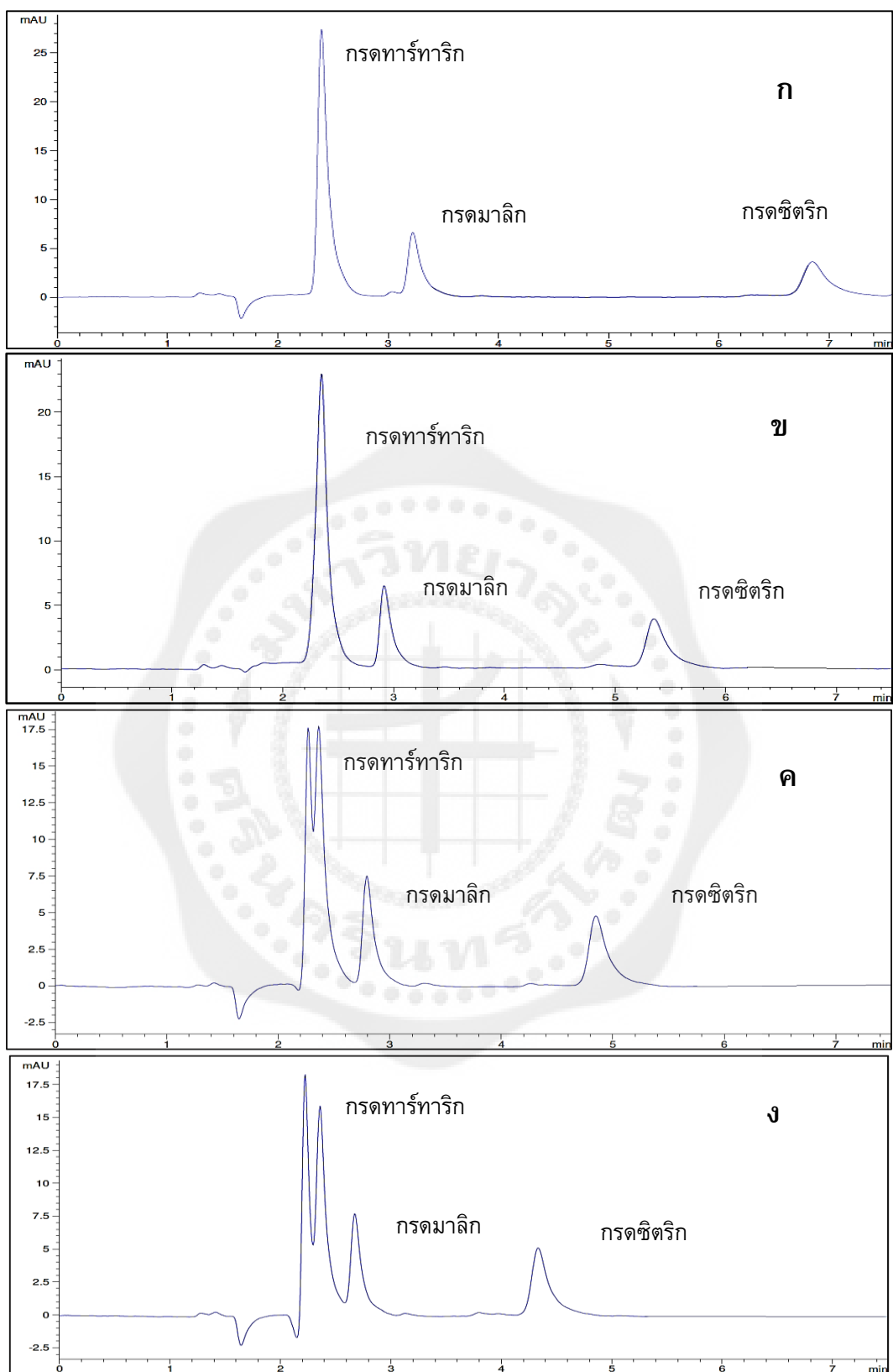
โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ในสภาวะสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ และเมทานอล ในอัตราส่วนร้อยละ 98:2 ปริมาตรต่อปริมาตร นั้นใช้ระยะเวลาในการกระบวนการแยกของกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก มีค่าระยะเวลารีเทนชัน เท่ากับ 2.3 2.9 และ 5.5 นาที ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการใช้สภาวะที่ 2 สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ และเมทานอล ในอัตราส่วนร้อยละ 98:2 ปริมาตรต่อปริมาตร ใช้เวลาในกระบวนการแยกกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดเพียงแค่ 5.5 นาทีเท่านั้น

จากผลการศึกษาพบว่าสภาวะสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ และเมทานอล ในอัตราส่วนร้อยละ 98:2 ปริมาตรต่อปริมาตร นั้นใช้ระยะเวลาในการกระบวนการแยกของกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก เพียงแค่ 5.5 นาทีเท่านั้น ก็สามารถแยกพีคของกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดได้อย่างชัดเจน และเป็นการลดเวลาในกระบวนการวิเคราะห์อีกด้วย ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการแยกกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก คือ สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์และเมทานอล ในอัตราส่วนร้อยละ 98:2 ปริมาตรต่อปริมาตร

3.1.2 องค์ประกอบของวัฏภาคเคลื่อนที่

องค์ประกอบของตัวทำละลายในวัฏภาคเคลื่อนที่ของเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงนั้นเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญ ซึ่งจะส่งผลถึงความสามารถในการแยกและลักษณะของพีคในโครมาโทแกรม โดยการเพิ่มอัตราส่วนของตัวทำละลายอินทรีย์ในระบบรีเวิร์สเฟสของเทคนิคทางด้านโครมาโทกราฟีนั้นจะส่งผลทำให้ความแรงของวัฏภาคเคลื่อนที่เพิ่มขึ้น ทำให้กระบวนการแยกสารสามารถเกิดได้เร็วขึ้น การชะลอออกจากวัฏภาคนิ่งหรือคอลัมน์สามารถเกิดได้เร็วยิ่งขึ้น การเพิ่มอัตราส่วนของตัวทำละลายอินทรีย์ในวัฏภาคเคลื่อนที่ส่งผลกระทบต่อตัวแปรทางด้านโครมาโทกราฟี คือ ค่าการแยกทางโครมาโทกราฟี (separation factor) มีค่าลดลง ดังนั้นการศึกษาองค์ประกอบของตัวทำละลายในวัฏภาคเคลื่อนที่ของเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญ ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาองค์ประกอบของตัวทำละลายในวัฏภาคเคลื่อนที่ในระบบสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ และเมทานอล ในช่วงร้อยละ 100:0 98:2 97:3 95:5 90:10 ปริมาตรต่อปริมาตร ตามลำดับ

จากการศึกษาพบว่า องค์ประกอบของวัฏภาคเคลื่อนที่นั้นส่งผลต่อระยะเวลารีเทนชันและรูปร่างของพีคในโครมาโทแกรม แสดงดังภาพประกอบ 14



ภาพประกอบ 14 โครมาโทแกรมจากผลการศึกษาองค์ประกอบของวัฏภาคเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก

ก แทน องค์ประกอบของสารละลายกรดซัลฟิวริกต่อเมทานอลอัตราส่วน 100:0 ปริมาตรต่อปริมาตร

ข แทน องค์ประกอบของสารละลายกรดซัลฟิวริกต่อเมทานอลอัตราส่วน 98:2 ปริมาตรต่อปริมาตร

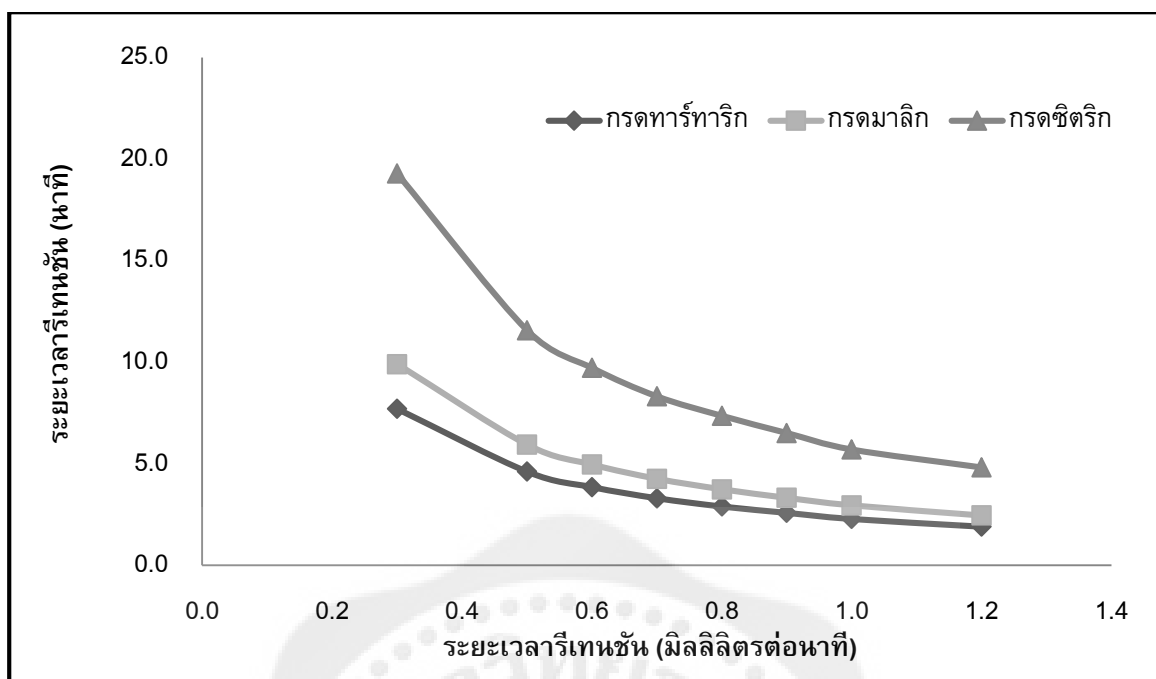
ค แทน องค์ประกอบของสารละลายกรดซัลฟิวริกต่อเมทานอลอัตราส่วน 97:3 ปริมาตรต่อปริมาตร

ง แทน องค์ประกอบของสารละลายกรดซัลฟิวริกต่อเมทานอลอัตราส่วน 95:5 ปริมาตรต่อปริมาตร

จากภาพประกอบ 14 พบว่าระบบของอัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ที่เหมาะสมในกระบวนการแยกกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ต้องแยกพีคของสารอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดได้อย่างชัดเจนและลักษณะพีคต้องแคบ (sharp) จะเห็นได้ว่าเมื่อเลือกใช้สภาวะสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ และเมทานอล ในอัตราส่วน 98:2 นั้นทำให้สามารถแยกกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดออกจากกันได้อย่างชัดเจน เมื่อทำการศึกษาผลของอัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่กับระยะเวลาที่เทนชัน แสดงดังภาพประกอบ 15 จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของตัวทำละลายอินทรีย์คือเมทานอลนั้นจะทำให้ระยะเวลาที่เทนชันนั้นมีค่าลดลง เป็นการลดระยะเวลาในการวิเคราะห์แต่การเพิ่มอัตราส่วนของตัวทำละลายอินทรีย์เมทานอลมากเกินไปจะส่งผลทำให้กรดทาร์ทาริกนั้นพีคแตก ส่วนสัญญาณของกรดมาลิกออกมารวมกับสัญญาณของกรดทาร์ทาริก ดังนั้นสภาวะของอัตราส่วนของวัฏภาคเคลื่อนที่ที่เหมาะสมในกระบวนการแยกกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก และมีระยะเวลาที่เทนชันที่เหมาะสม คือ สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1×10^{-3} มิลลิโมลาร์ และเมทานอล ในอัตราส่วน 98:2 โดยเมื่อคำนวณค่าประสิทธิภาพในการแยก (resolution, R_s) ซึ่งเป็นพารามิเตอร์ที่มีความสำคัญในการบอกประสิทธิภาพทางด้านโครมาโทกราฟีจากสภาวะดังกล่าวให้ค่าประสิทธิภาพในการแยกที่ดี อยู่ในช่วง 1.09 ถึง 3.66

3.2 อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่

การศึกษาอัตราการไหลที่เหมาะสมของวัฏภาคเคลื่อนที่ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาในช่วงอัตราการไหล 0.3 ถึง 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที โดยจะรายงานผลการทดลองในความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาที่เทนชันจากโครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก กับอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ จากผลการศึกษาจะเห็นว่าเมื่อเพิ่มอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่จะทำให้ระยะเวลาที่เทนชันนั้นลดลง แสดงดังภาพประกอบ 15



ภาพประกอบ 15 ผลของระยะเวลารีเทนชันต่ออัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่

จากผลการศึกษาอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่นั้นมีความสัมพันธ์กับหลักการในทฤษฎี plate theory ซึ่งอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ที่มีความสัมพันธ์แบบผกผันกับค่าความสูงของแต่ละโซนของการแยกคือค่า Height equivalent to a theoretical plate (HETP หรือ H) เป็นค่าที่สมมุติขึ้นมา ซึ่งแต่ละชั้นจะเกิดสมดุลของการกระจายตัวของสารระหว่างเฟสคงที่กับเฟสเคลื่อนที่ การอธิบายด้วยทฤษฎี plate theory มักจะใช้บอกถึงประสิทธิภาพของคอลัมน์ แต่ไม่สามารถอธิบายตัวแปรอื่นๆทางโครมาโทกราฟีได้ ดังนั้นจึงใช้ทฤษฎีอัตราเร็ว (rate theory) มาอธิบายผลของอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ โดยทฤษฎีอัตราเร็วนี้ใช้สามารถอธิบายได้จากสมการที่เรียกว่า Van Deemter Equation ดังสมการที่ 3 ซึ่งแสดงสาเหตุต่างๆ ที่มีความสัมพันธ์ต่อค่า H ซึ่งจากสมการดังกล่าวมีตัวแปรเข้ามาเกี่ยวข้อง 3 ตัวแปรด้วยกันเพื่ออธิบายการแยกสารทางด้านโครมาโทกราฟี ได้แก่ กระบวนการแพร่กระจาย (multiple path effect หรือ eddy diffusion) เป็นการแพร่ที่เกิดจากการมีวิถีในการเดินทางที่แตกต่างกัน การแพร่กระจายแบบธรรมดา (ordinary diffusion) เป็นการแพร่กระจายที่มีผลมาจากความแตกต่างระหว่างบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงกับบริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำในทิศทางตามคอลัมน์ และกระบวนการถ่ายเทมวล (mass transfer)

$$H = A + \frac{B}{\mu} + C \cdot \mu \quad \dots\dots\dots 3)$$

H = Height equivalent to a theoretical plate term

A = eddy diffusion term

B = longitudinal diffusion term

μ = linear velocity

C = Resistance to mass transfer coefficient

การเพิ่มอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่นั้นทำให้สามารถลดระยะเวลาที่เทนชัน ทำให้การวิเคราะห์นั้นเร็วขึ้น อันเนื่องมาจากการเพิ่มอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่นั้นทำให้การถ่ายเทมวลระหว่างวัฏภาคคงที่กับวัฏภาคเคลื่อนที่ลดลง ทำให้เกิดสมดุลระหว่างสารที่สนใจวิเคราะห์กับระหว่างวัฏภาคคงที่และวัฏภาคเคลื่อนที่ลดลง ส่งผลทำให้ค่าสัมประสิทธิ์ของการแพร่กระจาย (Distribution Coefficient, K) ด้วยเช่นกัน ในงานวิจัยทำการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ 3 ชนิดได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ดังนั้นความการพัฒนาให้สามารถวิเคราะห์ได้เร็วขึ้นจึงเป็นสิ่งสำคัญเพื่อประหยัดเวลาในการวิเคราะห์ การเพิ่มอัตราการไหลก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนทำให้การวิเคราะห์เกิดได้เร็วขึ้น

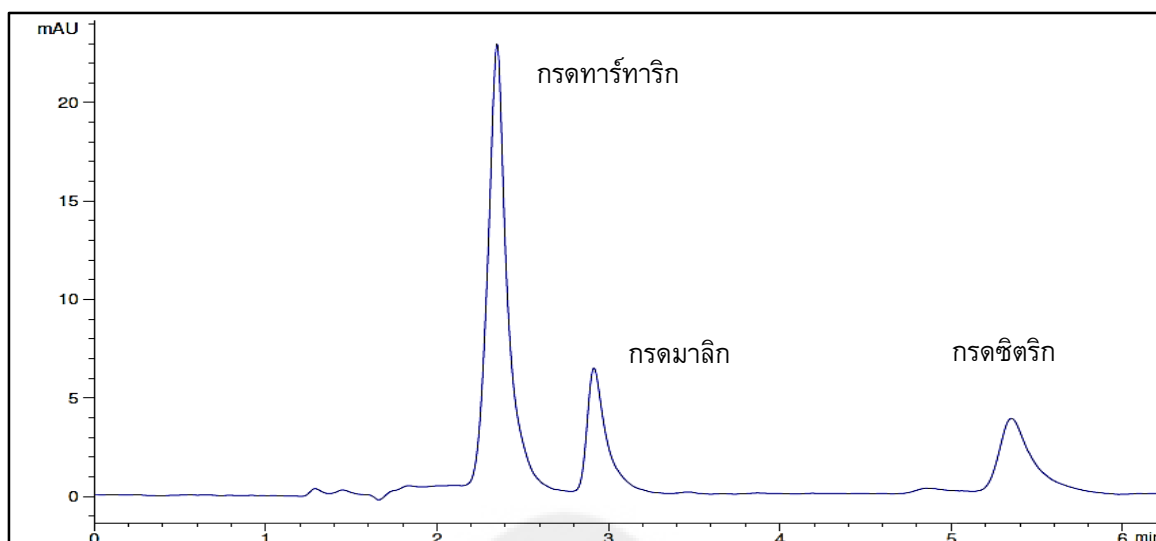
จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่นั้นทำให้สารถูกชะออกจากคอลัมน์เร็วขึ้นทำให้ระยะเวลาในการวิเคราะห์ลดลง เพราะว่าการเพิ่มอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่สูงขึ้นนั้นทำให้ลดระยะเวลาในการวิเคราะห์แต่ถ้าอัตราการไหลที่สูงเกินไปจะทำให้แรงดันภายในระบบสูงขึ้น อาจส่งผลกระทบต่อคอลัมน์จนเกิดความเสียหายได้ ดังนั้นจึงเลือกอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ เท่ากับ 1.00 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นสภาวะที่เหมาะสม สำหรับการวิเคราะห์กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตรวจวัดที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 210 นาโนเมตร ได้สภาวะที่เหมาะสม ดังนี้

วัฏภาคเคลื่อนที่ คือ สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ และเมทานอล ในอัตราส่วน 98:2 ปริมาตรต่อปริมาตร

อัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่ เท่ากับ 1.00 มิลลิลิตรต่อนาที

จากการใช้สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ให้ค่าระยะเวลาที่เทนชัน เท่ากับ 2.3 3.0 และ 5.5 ตามลำดับ โดยจากโครมาโทแกรมจะเห็นได้ว่าสามารถวิเคราะห์กรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ภายในเวลา 5.5 นาที แสดงดังภาพประกอบ 16 ซึ่งจะเห็นได้ว่าจากสภาวะที่พัฒนาขึ้นสามารถทำให้ประหยัดเวลาในการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด



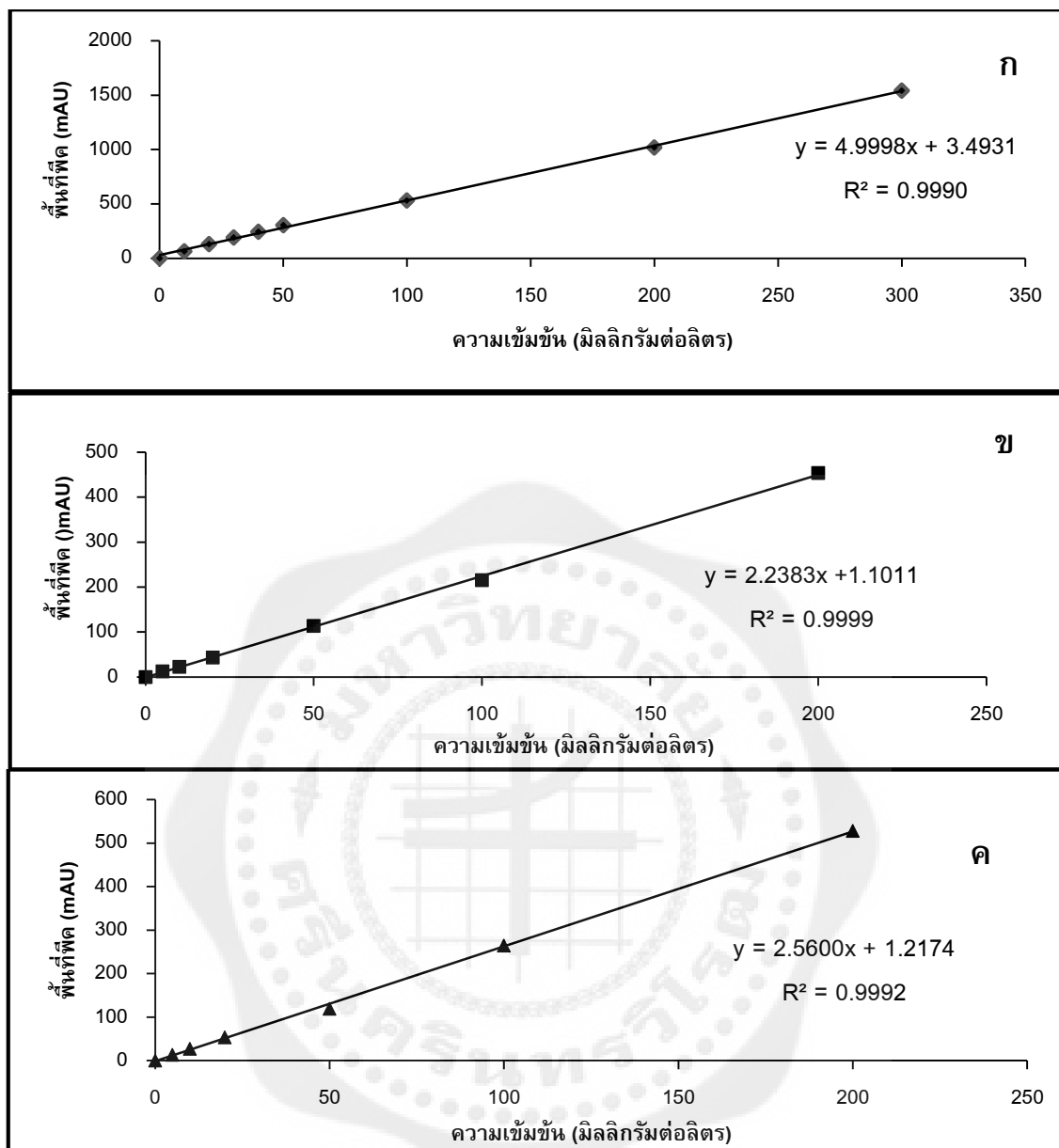
ภาพประกอบ 16 โครมาโทแกรมที่ได้จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ดังนี้ วัฏภาคเคลื่อนที่ สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ และเมทานอล อัตราส่วน 98:2 อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 210 นาโนเมตร

ตอนที่ 4 ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ที่พัฒนาขึ้น

4.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน

การสร้างกราฟมาตรฐานนั้นเพื่อบอกความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่ให้ผลการวิเคราะห์เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ทำการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานของกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด เพื่อใช้สำหรับหาปริมาณของกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูป จากการทดลองพบว่าในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูปจะมีปริมาณในกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงมีการสร้างกราฟมาตรฐานของกรดอินทรีย์แต่ละชนิดในช่วงความเข้มข้นที่ต่างกัน ดังนี้ กรดทาร์ทาริก สร้างที่ความเข้มข้นในช่วง 0 ถึง 300 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดมาลิกสร้างที่ความเข้มข้นในช่วง 0 ถึง 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดซิตริก สร้างที่ความเข้มข้นในช่วง 0 ถึง 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

ในการสร้างกราฟมาตรฐานนั้นสร้างจากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน และสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง จากความสัมพันธ์สามารถคำนวณหาสมการความเป็นตรงของกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด แสดงดังภาพประกอบ 17



ภาพประกอบ 17 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

ก แทน กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดทาร์ทาริก

ข แทน กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดมาลิก

ค แทน กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดซิตริก

จากภาพประกอบ 17 เป็นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดอินทรีย์ และสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์ โดยกรดทาร์ทาริก มีสมการเส้นตรง $y = 4.9998x + 3.4931$ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ $R^2 = 0.9990$ กรดมาลิก มีสมการเส้นตรง

$y = 2.2383x + 1.1011$ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ $R^2 = 0.9999$ และกรดซิตริก มีการเส้นตรง
 $y = 2.5600x + 1.2174$ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ $R^2 = 0.9992$

4.2 การหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณได้ (LOQ)

การหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD, 3S/N) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ สามารถรายงานค่าได้ (LOQ, 10S/N) เป็นอีกตัวแปรที่มีความสำคัญในกระบวนการวิเคราะห์ แสดงดังตาราง 5

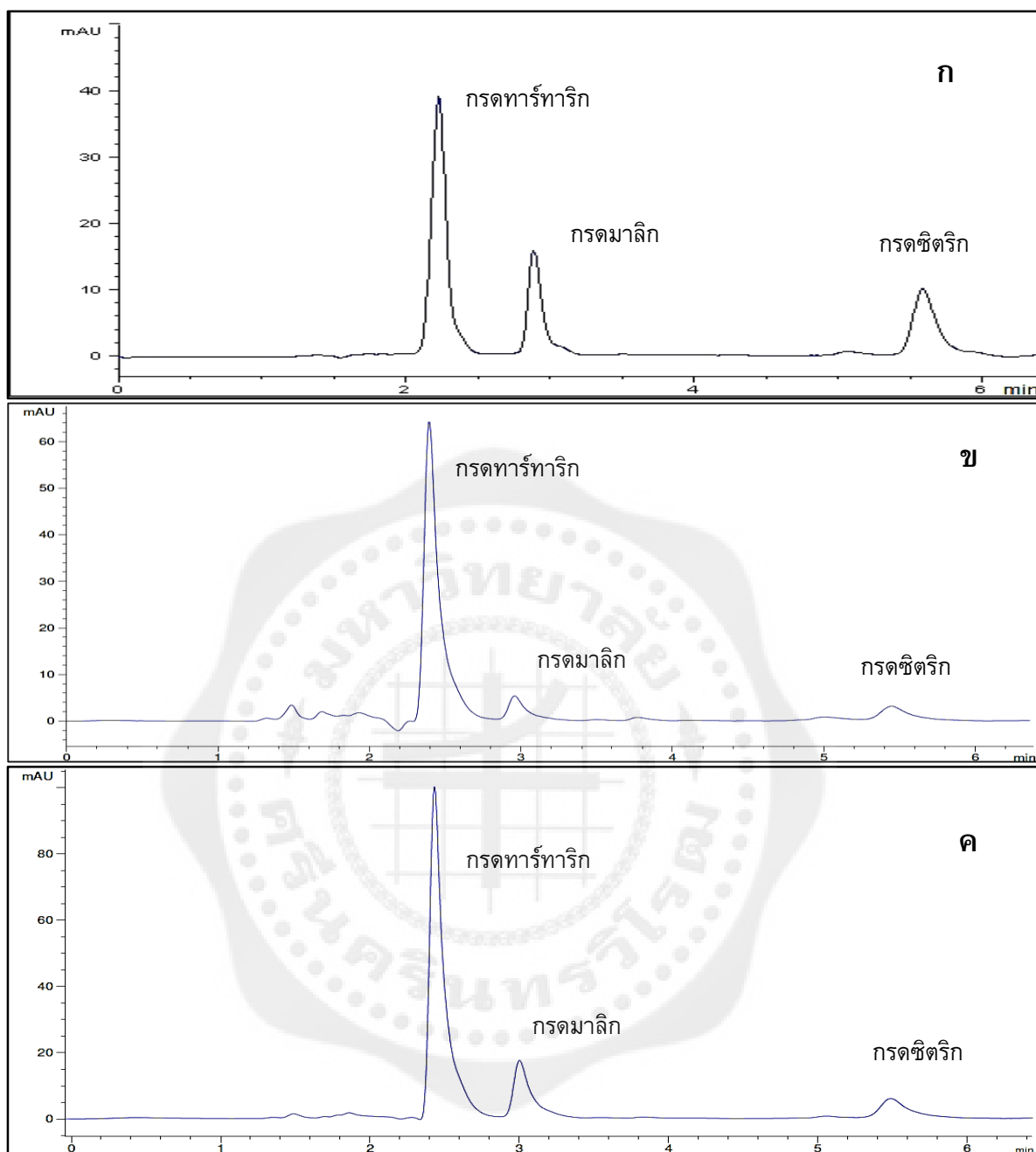
ตาราง 5 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณได้ (LOQ)

สารที่วิเคราะห์	LOD (มิลลิกรัมต่อลิตร)	LOQ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
กรดทาร์ทาริก	0.18	0.62
กรดมาลิก	0.52	1.74
กรดซิตริก	0.55	1.83

4.3 การหาค่าความถูกต้อง

ความถูกต้อง (accuracy) หมายถึง ความสามารถของวิธีการวิเคราะห์ที่วัดในสารตัวอย่างได้ออกมาตรงกับหรือใกล้เคียงค่าที่แท้จริงมากที่สุด จะรายงานเป็นค่าร้อยละการคืนกลับ (percentage recovery) ซึ่งการคำนวณหาค่าร้อยละการคืนกลับคืนทำการทดสอบโดยการเติมความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ที่รู้ค่าที่แน่นอนลงไปในตัวอย่างไม่เพื่อดูค่าคืนกลับของสารมาตรฐานนั้นๆ แสดงดังภาพประกอบ 18

จากการทดลองพบว่าค่าร้อยละการคืนกลับเฉลี่ยของกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริกอยู่ในช่วง 90.34 ± 4.48 ถึง 96.30 ± 4.48 87.79 ± 6.27 ถึง 91.65 ± 5.67 และ 85.70 ± 4.91 ถึง 99.37 ± 2.93 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ AOAC, 2002 ซึ่งให้ค่าร้อยละการคืนกลับคืนอยู่ในช่วง 80-115



ภาพประกอบ 18 แสดงโครมาโทแกรม ดังนี้

ก แทน โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก

ข แทนโครมาโทแกรมของตัวอย่างกะหล่ำปลีสด ที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion

ค แทน โครมาโทแกรมของตัวอย่างกะหล่ำปลีสด เติมสารละลายมาตรฐานกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ลงไป ที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion

4.4 การหาความแม่นยำของวิธีการตรวจวิเคราะห์

การหาความแม่นยำของวิธีการตรวจวิเคราะห์ หมายถึง การวัดซ้ำหลายๆ ครั้งแล้วดูว่าค่าที่ได้ใกล้เคียงกันหรือไม่ ซึ่งการหาค่าความแม่นยำนั้นรายงานอยู่ในค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ จากการทดลองสามารถหาค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของกรดทาร์ทาริก กรดมาลิกและกรดซิตริก แสดงดังตาราง 6

ตาราง 6 ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก

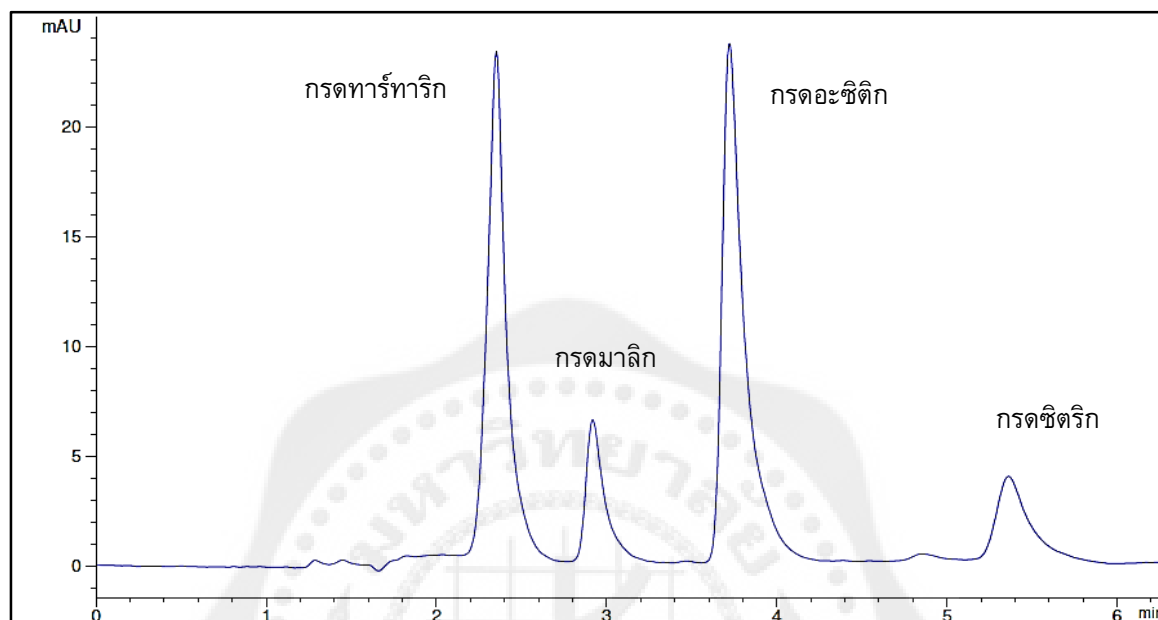
สารมาตรฐาน	%RSD intra day (n=10)	%RSD inter day (n=10)
กรดทาร์ทาริก	1.34 ± 0.33	2.02 ± 0.48
กรดมาลิก	4.40 ± 0.97	5.71 ± 0.92
กรดซิตริก	6.15 ± 0.81	6.86 ± 0.79

ตอนที่ 5 การศึกษาผลของสารรบกวนการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก

ตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริกเป็นตัวอย่างผักสด และผักแปรรูป ซึ่งในองค์ประกอบพื้นฐานของผักสดนั้นจะประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ กรดอินทรีย์อื่นๆ และรงควัตถุ องค์ประกอบในตัวอย่างผักแปรรูปนั้นอาจสารอื่นเจือปน เช่น น้ำตาล โซเดียมคลอไรด์ กรดอะซิติก โลหะหนัก พรอท สังกะสี แคลเซียม เป็นต้น ดังนั้นกระบวนการเตรียมตัวอย่างจึงเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญที่สามารถช่วยลดสารรบกวนได้ ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการเตรียมตัวอย่างโดยใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) โดยจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดได้ใช้ สารผสมระหว่างออกตะเดคซิล และซิลิกาเป็นวัฏภาคของแข็ง และทำการชะกรดอินทรีย์ออกจากพื้นผิวของวัฏภาคของแข็งโดยใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์ จากนั้นนำสารที่ผ่านกระบวนการสกัดด้วยเทคนิคดังกล่าวไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดอินทรีย์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง แต่อาจจะมีสารรบกวนบางชนิดที่สามารถละลายได้ในสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์ เจือปนอยู่ เช่น น้ำตาล โซเดียมคลอไรด์ กรดอะซิติก โลหะหนัก พรอท สังกะสี แคลเซียม เป็นต้น

ดังนั้นในงานวิจัยได้ศึกษาผลของสารรบกวนในการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก เป็นตัวอย่างผักสด และผักแปรรูป โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงได้แก่ น้ำตาล โซเดียมคลอไรด์ กรดอะซิติก พรอท สังกะสี แคลเซียม โดยทำการเติม

ตัวรบกวนทั้ง 6 ชนิดลงในสารละลายมาตรฐานกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร แสดงผลการทดลองดังภาพประกอบ 19



ภาพประกอบ 19 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ที่เติมสารละลายผสมของสารรบกวน 6 ชนิด

จากภาพประกอบ 19 จะเห็นได้ว่าตัวรบกวนทั้ง 6 ชนิดไม่รบกวนสัญญาณของกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก จะปรากฏสัญญาณพีคของกรดอะซิติกที่ระยะเวลาที่แน่นอนเท่ากับ 3.42 นาที ซึ่งสัญญาณของกรดอะซิติกไม่รบกวนการวิเคราะห์ของกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก และจากการผลการทดลองพบว่าตัวรบกวนทั้ง 6 ชนิดนั้นไม่ทำให้สัญญาณการวิเคราะห์ของกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดลดลง

ตอนที่ 6 วิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ในตัวอย่าง ผักสด และผักแปรรูป

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง โดยใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) และสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณของกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ทำการตรวจวัดสัญญาณของกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ที่ความยาวคลื่น เท่ากับ 210 นาโนเมตร ทำให้ได้สภาวะเหมาะสมมาประยุกต์ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง และวิเคราะห์ปริมาณของกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูป ในงานวิจัยนี้ได้เก็บตัวอย่างผักสด และผักแปรรูปที่มีขายในตลาด และห้างสรรพสินค้า โดยใช้ตัวอย่างผักสดและตัวอย่างผักแปรรูป และนอกจากนี้ยังศึกษาปริมาณของกรดอินทรีย์ ทั้ง 3 ชนิด ที่ผ่านกระบวนการแปรรูปอาหารด้วยกระบวนการหมักดอง แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูป ดังตาราง 7

ตาราง 7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ในตัวอย่างผักสดและผักแปรรูป

ตัวอย่าง	กรดทาร์ทาริก mg/100g±SD	กรดมาลิก mg/100g±SD	กรดซิตริก mg/100g±SD
กะหล่ำปลีสด A	49.96 ± 0.76	11.99 ± 0.40	8.88 ± 0.65
กะหล่ำปลีดอง A1	35.97 ± 3.28	8.15 ± 0.77	6.90 ± 0.62
ผักกาดสด B	108.25 ± 3.57	nd	23.30±1.61
ผักกาดดอง B1	10.87 ± 0.88	3.72 ± 0.98	5.78 ± 0.44
ผักกาดดอง B2	18.77±1.31	4.32±1.45	5.77±0.18
แตงกวาสด C	17.17 ± 1.20	nd	nd
แตงกวาดองชนิดหวาน C1	21.82 ± 0.73	nd	nd
แตงกวาดองชนิดเปรี้ยว C2	23.23 ± 0.77	nd	nd
แตงกวาดอง C3	46.95 ± 2.57	nd	nd
กระเทียมสด D	11.61 ± 0.57	23.86±1.16	nd
กระเทียมดอง D1	8.77 ± 0.61	8.52±1.96	nd

หมายเหตุ nd หมายถึง ไม่สามารถตรวจพบสารด้วยวิธีที่ทดลองในงานวิจัย

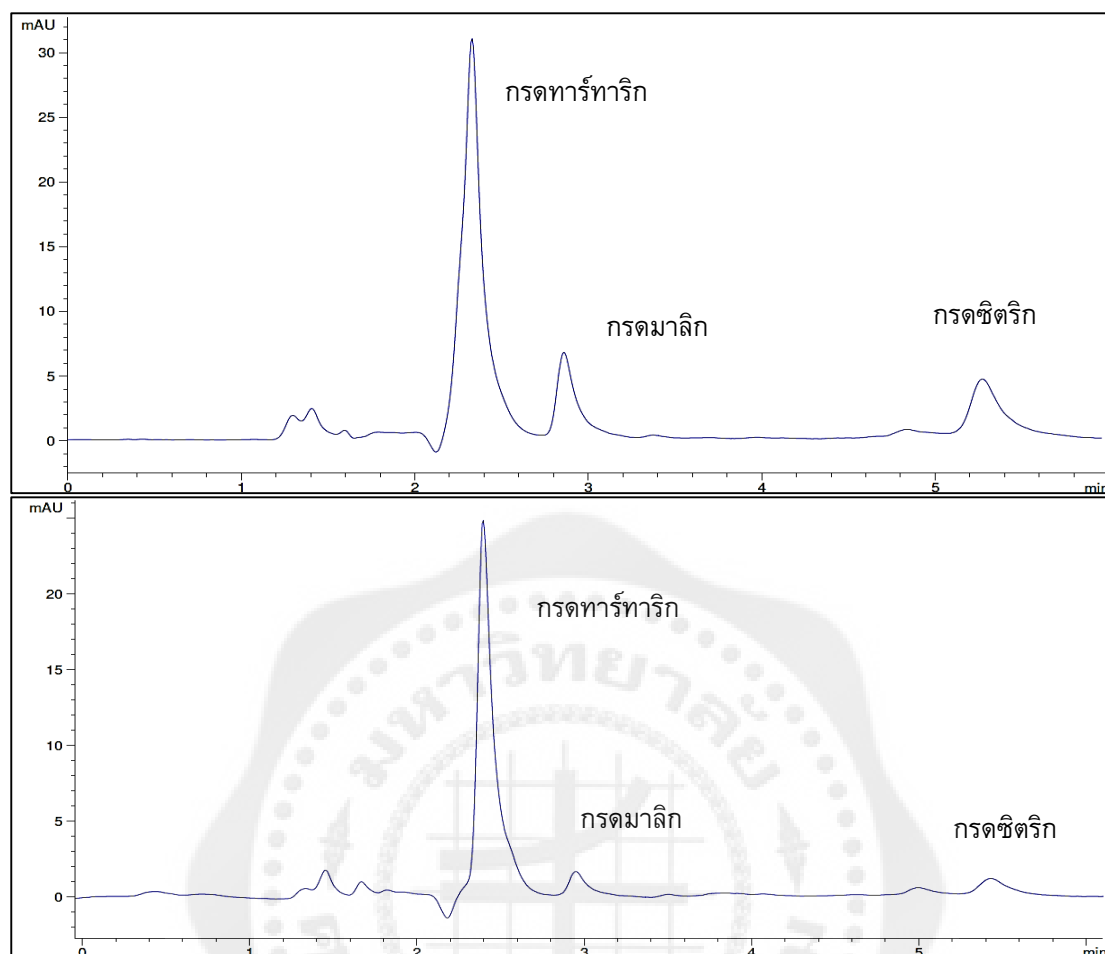
ตาราง 7 (ต่อ)

ตัวอย่าง	กรดทาร์ทาริก mg/100g±SD	กรดมาลิก mg/100g±SD	กรดซิตริก mg/100g±SD
กระเทียมโทนสด E	37.59 ± 0.37	nd	nd
กระเทียมโทนดอง E1	31.54 ± 1.16	nd	nd
เห็ดหอมสด F	16.33 ± 0.76	5.01 ± 0.85	21.98 ± 1.47
เห็ดหอมดอง F1	28.90 ± 0.42	nd	4.91 ± 0.40
เห็ดหอมดอง F2	13.72 ± 1.14	nd	6.74 ± 1.34
เห็ดแชมปิญองสด G	25.63 ± 0.73	5.67 ± 0.40	8.09 ± 0.44
เห็ดแชมปิญองดอง G1	23.28 ± 0.39	nd	nd
เห็ดแชมปิญองดอง G2	21.12 ± 1.25	nd	nd
หัวไชเท้าสด H	120.31±0.64	nd	nd
หัวไชเท้าดอง H1	72.28±1.10	nd	nd
หัวไชเท้าดอง H2	54.09±3.73	nd	nd
หัวไชเท้าดอง H3	45.82±0.85	nd	nd
หางหงส์สด I	97.43±1.58	55.31±3.85	16.02±0.87
หางหงส์ดอง I1	80.69±2.58	nd	nd
หางหงส์ดอง I2	44.29±0.99	12.52±0.79	12.12±1.04
ขิงสด J	29.48±1.29	11.76±1.27	10.83±0.65
ขิงดอง J1	5.36±0.29	5.36±0.29	9.21±0.24
ขิงดอง J2	4.29±0.31	3.03±0.64	5.98±0.10
ขิงดอง J3	10.94±0.35	nd	6.93±0.33
หน่อไม้สด K	36.11±1.13	nd	nd
หน่อไม้ดอง K1	19.45±0.60	nd	nd
หอมแดงสด L	23.44±0.06	nd	nd
หอมแดงดอง L1	21.96±1.08	nd	nd

หมายเหตุ nd หมายถึง ไม่สามารถตรวจพบสารด้วยวิธีที่ทดลองในงานวิจัย

จากตาราง 7 ผลการทดลองนั้น พบว่าปริมาณของกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ในตัวอย่างผักสดอยู่ในช่วง 11.61 ± 0.57 ถึง 120.31 ± 0.64 5.01 ± 0.85 ถึง 55.31 ± 3.85 และ 8.88 ± 0.65 ถึง 23.30 ± 1.61 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ และในตัวอย่างผักแปรรูป 4.29 ± 0.31 ถึง 80.69 ± 2.58 3.03 ± 0.64 ถึง 12.52 ± 0.79 และ 4.91 ± 0.40 ถึง 12.12 ± 1.04 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ กรดทาร์ทาริกนั้นเป็นกรดอินทรีย์ที่พบปริมาณมากที่สุดตัวอย่างหัวไชเท้าสด กรดมาลิกพบปริมาณมากในตัวอย่างผักหางหงส์สด และกรดซิตริกพบปริมาณมากในตัวอย่างผักกาดสด

ปริมาณกรดอินทรีย์แต่ละชนิดนั้นจะมีปริมาณแตกต่างกันไปตามพื้นที่เพาะปลูก สอดคล้องกับงานวิจัยของไซเยอร์ และคณะ ที่ทำการศึกษาปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างในพื้นที่ที่แตกต่างกัน พบว่าปริมาณกรดอินทรีย์นั้นมีปริมาณที่แตกต่างกันตามสภาพแวดล้อม และพื้นที่ในการเพาะปลูก (Soyer; et al. 2003: 629-636) เมื่อนำผักสดแต่ละชนิดมาผ่านกระบวนการแปรรูปอาหาร ในงานวิจัยนี้ใช้ตัวอย่างที่ผ่านการหมักดอง เช่น การหมักดองแบบเปรี้ยว โดยใช้ น้ำส้มสายชูในการหมักดอง การหมักดองหวานใช้น้ำตาล และการหมักดองแบบเค็มใช้เกลือในการดอง จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อนำตัวอย่างผักสดมาผ่านกระบวนการ หมักดองนั้นจะทำให้ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก นั้นมีแนวโน้มลดลง แสดงดังภาพประกอบ 20 จากผลการทดลองพบว่าปริมาณกรดอินทรีย์ที่พบในตัวอย่างปริมาณสูงสุดคือ กรดทาร์ทาริก ส่วนปริมาณกรดมาลิก และกรดซิตริกจะพบในปริมาณที่ใกล้เคียงกันอันเนื่องมาจากการดองนั้นเป็นกรดที่พบได้มากในผักหรือผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว จากตัวอย่างที่ใช้ทดสอบในงานวิจัยนี้มีความเปรี้ยวน้อยทำให้มีปริมาณของกรด ซิตริกในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูปน้อย



ภาพประกอบ 20 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ดังนี้

ก แทน โครมาโทแกรมของตัวอย่างของซิงสด

ข แทนโครมาโทแกรมของตัวอย่างซิงสด ที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

การศึกษาการพัฒนาวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) สำหรับการสกัดกรดอินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก โดยปกติกรดอินทรีย์หรือเรียกว่ากรดผลไม้ นั้นสามารถพบได้มากในผลไม้ทั่วไป เช่น กรดทาร์ทาริก สามารถพบได้มากใน แอปเปิ้ล กรดมาลิกสามารถพบได้ในผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ กรดซิตริกสามารถพบได้ในผลไม้ที่รสเปรี้ยว เช่น มะนาว แต่ปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างผักนั้นพบได้ปริมาณน้อย ดังนั้นการพัฒนาวิธีการสกัดกรดอินทรีย์จึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญเพื่อให้ได้กรดอินทรีย์ที่มีความบริสุทธิ์ ในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิธีการสกัดกรดอินทรีย์ด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง และการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีที่พัฒนาขึ้น และการประยุกต์ใช้วิธีการสกัด และหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณของกรดอินทรีย์ในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูปที่จำหน่ายทั่วไปในท้องตลาด เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอินทรีย์เมื่อผ่านกระบวนการแปรรูป

สรุปผล อภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่ผลต่อการสกัดกรดอินทรีย์ด้วยตัวดูดซับของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) และวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง สรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมวิธีการสกัดกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) จากผลการศึกษาได้สภาวะที่เหมาะสมดังนี้

- 1.1 สารผสมระหว่างออกตะเดคซิลกับซิลิกา ในอัตราส่วน 1:1 เป็นวัฏภาคของแข็ง
- 1.2 อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็ง คือ อัตราส่วน 1:1
- 1.3 ใช้เวลา 30 วินาที ในการบดตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งให้ผสมกัน
- 1.4 สารละลายซัลฟิวริกเข้มข้น 5×10^{-4} โมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร

จากสภาวะการสกัดดังกล่าวสามารถสกัดกรดอินทรีย์ได้แก่ กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริกในตัวอย่างผักซึ่งให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 90.34 ± 4.48 ถึง 96.30 ± 4.48 87.79 ± 6.27 ถึง 91.65 ± 5.67 และ 85.70 ± 4.91 ถึง 99.37 ± 2.93 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าจากวิธีการสกัดนั้นให้ค่าร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วงที่สามารถยอมรับได้

2. การเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างโดยใช้วิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ที่พัฒนาขึ้นกับวิธี การเตรียมตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็ง และใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างด้วยวัฏภาคเหลว จากผลการศึกษาพบว่าวิธีการเตรียมตัวอย่างแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) ที่พัฒนาขึ้นนั้นให้ค่าร้อยละการกลับคืนที่สูงกว่าการเตรียมตัวอย่าง 2 วิธีข้างต้น

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก พร้อมกันโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ตรวจวัดที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 210 นาโนเมตร ได้แก่

3.1 วัฏภาคเคลื่อนที่ใช้เป็นสารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ และเมทานอล ในอัตราส่วน 98:2 ปริมาตรต่อปริมาตร

3.2 ควบคุมอัตราการไหลของวัฏภาคเคลื่อนที่เท่ากับ 1.00 มิลลิลิตรต่อนาที

จากผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก พบว่าสามารถวิเคราะห์กรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด ภายในเวลา 5.5 นาที จะเห็นได้ว่าจากสภาวะที่พัฒนาขึ้นสามารถทำการวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว และนอกจากนี้การวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก โดยใช้สภาวะดังกล่าวนี้สามารถทำการตรวจวัดได้โดยตรงไม่ต้องทำอนุพันธ์ และการใช้วัฏภาคเคลื่อนที่เป็นสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1×10^{-3} โมลาร์ และเมทานอลในอัตราส่วน 98:2 ปริมาตรต่อปริมาตร สามารถดูแลรักษาคอลัมน์ได้ง่ายกว่าการใช้สารละลายบัฟเฟอร์เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่

4. ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการสกัด และวิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ที่พัฒนาขึ้น จากผลการทดลองได้สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน และสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์กรดทาร์ทาริก มีสมการเส้นตรง $y = 4.9998x + 3.4931$ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ $R^2 = 0.9990$ กรดมาลิก มีสมการเส้นตรง $y = 2.2383x + 1.1011$ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ $R^2 = 0.9999$ และกรดซิตริก มีสมการเส้นตรง $y = 2.5600x + 1.2174$ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ $R^2 = 0.9992$ ซึ่งจากการสร้างกราฟมาตรฐานให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ R^2 ที่สูง อันเนื่องมาจากกรดอินทรีย์นั้นมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานของกรดอินทรีย์แต่ละชนิด ค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) 0.18 0.52 และ 0.55 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 0.62 1.74 และ 1.83 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ให้ค่าร้อยละการคืนกลับเฉลี่ยของกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก อยู่ในช่วง 90.34 ± 4.48 ถึง 96.30 ± 4.48 87.79 ± 6.27 ถึง 91.65 ± 5.67 และ 85.70 ± 4.91 ถึง 99.37 ± 2.93 ตามลำดับ ค่าร้อยละ

ของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในวันเดียวกัน เท่ากับ 1.34 ± 0.33 4.40 ± 0.97 และ 6.15 ± 0.81 ตามลำดับ ค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในระหว่างวัน เท่ากับ 2.02 ± 0.48 5.71 ± 0.92 และ 6.86 ± 0.79 ตามลำดับ และค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ระหว่างวัน ค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์นั้นบอกถึงความแม่นยำของวิธีการตรวจวิเคราะห์

5. ในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูปนั้นการศึกษาผลของสารรบกวนการวิเคราะห์ปริมาณกรดกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก จากการศึกษาปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูป ซึ่งโดยในตัวอย่างผักสดมีองค์ประกอบพื้นฐานเป็นสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ กรดอินทรีย์อื่นๆ และรงควัตถุ เป็นต้น และในตัวอย่างผักแปรรูปนั้นอาจสารอื่นเจือปน เช่น น้ำตาล โซเดียมคลอไรด์ กรดอะซิติก โลหะหนักจำพวกปรอท สังกะสี แคดเมียม เป็นต้น สารเหล่านี้จึงอาจเป็นสารรบกวนสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ได้ ดังนั้นในงานวิจัย ทำการศึกษาโดยการเติมสารรบกวน น้ำตาล โซเดียมคลอไรด์ กรดอะซิติก ปรอท สังกะสี แคดเมียม ลงไป จากการทดลองพบว่าสารเหล่านี้ไม่รบกวนสัญญาณการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด

6. การวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในตัวอย่างผักสด และผักแปรรูปที่มีจำหน่ายในท้องตลาด พบว่าปริมาณของกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ในตัวอย่างผักสดอยู่ในช่วง 11.61 ± 0.57 ถึง 120.31 ± 0.64 5.01 ± 0.85 ถึง 55.31 ± 3.85 และ 8.88 ± 0.65 ถึง 23.30 ± 1.61 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ และในตัวอย่างผักแปรรูป 4.29 ± 0.31 ถึง 80.69 ± 2.58 3.03 ± 0.64 ถึง 12.52 ± 0.79 และ 4.91 ± 0.40 ถึง 12.12 ± 1.04 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ และนอกจากในตัวอย่างผักที่ผ่านกระบวนการหมักโดยใช้ น้ำส้มสายชูจะสามารถพบสัญญาณของกรดอะซิติกด้วย ปริมาณกรดอินทรีย์ของตัวอย่างผักแต่ละชนิดนั้นจะมีปริมาณที่แตกต่างกันออกไปตามแหล่งที่ปลูก และสภาพแวดล้อม

7. การพัฒนาวิธีการสกัดกรดอินทรีย์ด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) และวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างผักสดและผักแปรรูป จากขั้นตอนการสกัดนั้นเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย รวดเร็ว และมีขั้นตอนไม่ยุ่งยากซับซ้อน โดยกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ให้ค่าร้อยละการกลับคืนที่สูง และส่วนของการพัฒนาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์นั้นพบว่าเวลาในการวิเคราะห์เพียงแค่ 5.5 นาทีต่อหนึ่งตัวอย่าง โดยวิธีที่พัฒนาขึ้นนั้น ประหยัดเวลาในการวิเคราะห์

ข้อเสนอแนะ

1. การวิเคราะห์ปริมาณกรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และกรดซิตริก ไม่ควรเก็บสารละลายมาตรฐานเกิน 2 สัปดาห์ เพราะกรดอินทรีย์ทั้ง 3 นี้มีความคงตัวต่ำสามารถสลายตัวได้ง่ายอาจทำให้ผลการวิเคราะห์นั้นผิดพลาดได้

2. จากวิธีการสกัดกรดอินทรีย์ด้วยตัวดูดซับของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD) และวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างอาหารอื่นๆหรือตัวอย่างที่มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลวได้ และการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงสามารถนำไปประยุกต์ในการวิเคราะห์กรดอินทรีย์ที่โครงสร้างมีขนาดเล็กมีสมบัติละลายน้ำได้ เช่น กรดแอสคอบิก กรดแล็กติก กรดอะซิติก เป็นต้น





บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- การเปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยว. (ม.ป.ป.). สืบค้นเมื่อ 15 ธันวาคม 2556, จาก kanchanapisek.or.th/kp6/sub/book/book.
- ข้อมูลกรดซิตริก. (ม.ป.ป.). สืบค้นเมื่อ 21 ธันวาคม 2556, จาก www.ocsb.go.th/upload/journal/fileupload/146-603.pdf.
- แคโรทีนอยด์. (ม.ป.ป.). สืบค้นเมื่อ 21 ธันวาคม 2556, จาก www.kasetpibul.net/lms/claroline/backends/download.php.url.
- ชมภู ยิ้มโต. (2550). การถนอมอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: โอเอสพริ้นติ้งเฮ้าส์.
- ดัชนีข้อพิข. (ม.ป.ป.). สืบค้นเมื่อ 20 มกราคม 2558, จาก www.sc.mahidol.ac.th/wiki/doku.php.
- นิตยา รัตนพานนท์. (2557). เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ: โอเอสพริ้นติ้งเฮ้าส์.
- บทที่ 1 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับผักและผลไม้. สืบค้นเมื่อ 20 ธันวาคม 2556, จาก file.snru.ac.th/download.aspx.130.pdf.
- ปฏิบัติการแปรรูปอาหารจาก. (ม.ป.ป.). สืบค้นเมื่อ 20 ธันวาคม 2556, จาก www.agro.kmutnb.ac.th/pdf/521209.pdf.
- ปรรัตน์ สุภมิตรโยธิน. (2556). เทคโนโลยีผักและผลไม้. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: โอเอสพริ้นติ้งเฮ้าส์.
- ผศ. ศิริพร จัทรศิริ. (2552). เคมีวิเคราะห์(การวิเคราะห์เชิงปริมาณ). สงขลา: นาคิลป์โฆษณา.
- พัฒนา เหล่าไพบูลย์. (2554). โครมาโทกราฟีของเหลวแรงดันสูงและการประยุกต์ใช้. ขอนแก่น: ขอนแก่นการพิมพ์.
- พุทธรักษา วรานุกุล. (2550). เอกสารประกอบการสอน Separation Techniques. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ไพบูลย์ ธรรมรัตน์वासिक. (2532). กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: โอเอสพริ้นติ้งเฮ้าส์.
- เมกุมิ และคณะ. (2550). การสกัดตัวอย่าง. สืบค้นเมื่อ 20 ธันวาคม 2556 จาก www.chem.ualberta.ca/orglabs/Interactive/Tutorials/separation/Theory/theory/html.
- ระบบสารสนเทศเพื่อการจัดการ (MIS). องค์ประกอบทางเคมีของผักและผลไม้. (ม.ป.ป.). สืบค้นเมื่อ ธันวาคม 2556, จาก mis.agri.cmu.ac.th/download/course/lec_359705_Physi%202.ppt.
- รศ. แมน อมรสิทธิ์ และคณะ. (2553). หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: บริษัท ชวนพิมพ์ 50 การพิมพ์.
- วิตามินและแร่ธาตุ. (ม.ป.ป.). สืบค้นเมื่อ 21 ธันวาคม 2556, จาก coursewares.mju.ac.th:81/e-learning/FT320/pdf/07.pdf.
- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. เทคโนโลยีอาหารผักกระป๋อง. (ม.ป.ป.). สืบค้นเมื่อ 17 ธันวาคม 2556, จาก http://www.tistr-foodprocess.net/vegetable_can.html.
- ศุภลักษณ์ ศรีจรรย์. (2552). โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

- ชลธิชา นีवासประกฤต และคณะ. การวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในผลตะคร้อจากจังหวัดต่างๆในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง. *การประชุมวิชาการแห่งชาติมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์กำแพงแสนครั้งที่ 9*. 2012: 2354-2360.
- พงษ์ศิริ วินิจฉัย และคณะ. (2012). การวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ในผักผลไม้และสมุนไพรเมืองร้อนบางชนิดด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดของเหลวประสิทธิภาพ. *การประชุมวิชาการแห่งชาติมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 40*.
- Alica, Z.; & Eva, B. (2003). Matrix solid phase dispersion for the liquid chromatographic determination of phenolic acids in *Melissa officinalis*. *Journal of Chromatography A*. 983: 271–27.
- AOAC International. (2002). AOAC guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. from www.aoac.org/official_methods/slv_guidelines.pdf.
- Bozena, L.; et al. (2012). Comparison of extraction techniques by matrix solid phase dispersion and liquid liquid for screening 150 pesticides from soil and determination by gas chromatography. *Poland journal environment study*. 21: 973-992.
- Carmen, F.; et al. (2005). Determination of pesticide residues in olives and olive oil by matrix solid phase dispersion followed by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography tandem mass spectrometer. *Journal of Chromatography A*. 1069: 183-194.
- Castellari, M.; et al. (2000). An improved HPLC method for the analysis of organic acids, carbohydrate and alcohols in grape musts and wine. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 23: 2047–2056.
- Castineira, A. (2002). Analysis of organic Acids in Wine by capillary electrophoresis with direct UV detection. *Journal of food composition and analysis*. 15: 319–331.
- Cocchi, M. (2006). Simultaneous determination of sugars and organic acids in aged vinegars and chemometric data analysis. *talanta*. 69: 1166–1175.
- Chien, L. C.; Dung, Y. T.; & Wang, H. D. (2014). Optimisation of matrix solid phase dispersion for the determination of Dieldrin compounds in marketed fish. *Food chemistry*. 164: 286-292.
- Destandau, E.; et al. (2005). Development and validation of a reversed phase liquid chromatography method for the quantitative determination of carboxylic acids in industrial reaction mixtures. *Journal of Chromatography A*. 1088: 49–56.

- Enriquez, G. L.; et al. (2012). Interference free determination of illegal dyes in sauces and condiments by matrix solid phase dispersion (MSPD) and liquid chromatography (HPLC–DAD). *Food Chemistry*. 135: 193-198.
- Fabio, C.; et al. (2005). Optimization of the determination of organic acids and sugars in fruit juices by ion exclusion liquid chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis*. 18: 121–130.
- Falque, L.; & Fernandez, E. (1996). Simultaneous determination of the major organic acids sugars, glycerol, and ethanol by HPLC in grape musts and white wines. *Journal of Chromatography Science*. 34: 254-257.
- Fernandez, M.; Pico, Y.; & Manes, J. (2000). Determination of carbamate residues in fruits and vegetables by matrix solid phase dispersion and liquid chromatography mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 871: 43–56.
- Garcia, L. M.; Canosa, P.; & Rodriguez, I. (2008). Trends and recent applications of matrix solid phase dispersion. *Anal Bioanal Chem*. 391: 963–974.
- Guanghou, S.; & Lai, P. L. (2002). Separation and determination of organic acids and phenolic compounds in fruit juices and drinks by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 977: 89-96.
- Hakan, A. A.; et al. (2005). Determination of carboxylic acid in apple juice by RP HPLC. *Iran Journal Chem & chemeng*. 24: 1-5.
- Hasib, A.; et al. (2002). HPLC determination of organic acids in Moroccan apricot. *Cienc Tecnol Aliment*. 3: 207-211.
- Ines, M.; et al. (2006). Simultaneous determination of organic acids in beverages by capillary zone electrophoresis. *Analytica Chimica Acta*. 565: 190–197.
- Katie, W. (2012). Determination of citric acid in fruit juices using HPLC. *Concordia College Journal of Analytical Chemistry*. 3: 57-62.
- Lucia, S. P.; et al. (2011). Analysis of multi-class preservatives in leave-on and rinse-off cosmetics by matrix solid-phase dispersion. *Anal Bioanal Chem*. 401: 3293–3304.
- Marina, M. R.; et al. (2012). Application of matrix solid-phase dispersion and liquid chromatography–ion trap Mass Spectrometry for the analysis of pesticide residues in fruits. *Food Analytical Methods*. 6: 648–657.
- Maureen, T. C.; Philipa, C. O.; & Chidi, F. E. (2012). Effect of fermentation period on the organic acid and amino acid contents of Ogirifrom castor oil bean seeds. *Malaysian Journal of Microbiology*. 9: 201-212.

- Nigel, J. K.; & Simpson. (2000). *Solid Phase extraction Principles Techniques and Applications*. Switzerland. The united state of America.
- Pelin, G.; & Cevpet, N. (2010). Determination of organic acid in olive fruit by HPLC. *Gzech journal food science*. 28: 202-205.
- Ping, S.; et al. (2014). Microwave assisted synthesis of ionic liquid-modified silica as a sorbent for the solid phase extraction of phenolic compounds from water. *Analytical methods*. 67: 704-709.
- Rodrigo, S.; et al. (2012). Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices. *Food Chemistry*. 135: 150-154.
- Rodriguez, G.; et al. (2015). Development of a matrix solid phase dispersion methodology for the determination of triazine herbicides in mussels. *Food chemistry*. 173: 391-396.
- Sandro, N.; Adriano, A.; & Debora, S. B. (2010). Matrix solid phase dispersion method for the extraction of seven pesticides from mango and papaya. *Journal of Chromatography Science*. 48: 1-5.
- Steven, A. B. (2000). Matrix solid phase dispersion. *Journal of Chromatography A*. 885: 115-127.
- Valenzuela, A. I. et al. (1999). Matrix solid-phase dispersion microextraction and determination by high performance liquid chromatography with UV detection of pesticide residues in citrus fruit. *Journal of Chromatography A*. 839: 101-107.
- Violeta, N.; et al. (2010). HPLC organic acid analysis in different citrus juices under reversed phase conditions. *Academic press*. 38: 44-48.
- Weikle, K. (2012). Determination of citric acid in fruit juices using HPLC. Concordia College *Journal of Analytical Chemistry*. 3: 57-62.
- Yean, Y. S.; & Philip, J. B. (2006). Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity. *Food Chemistry*. 206: 524–530.
- Yoshiaki, A.; et al. (2000). High performance liquid chromatographic determination with photodiode array detection of ellagic acid in fresh and processed fruits. *Journal of Chromatography A*. 20: 87–93.
- Yuegang, Z.; et al. (2002). Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, Oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta*. 57: 307-316.
- Zhao, M.; Vander, W.F.; & Voogt, P. (1999). Optimization of a matrix solid phase dispersion method with sequential clean up for the determination of alkylphenol ethoxylates in biological tissues. *Journal of Chromatography A*. 837: 129–138.

Zohar, K.; et al. (2004). Rapid liquid chromatography ultraviolet determination of organic acids and phenolic compounds in red wine and must. *Journal of Chromatography A*. 1052: 211–215.



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก

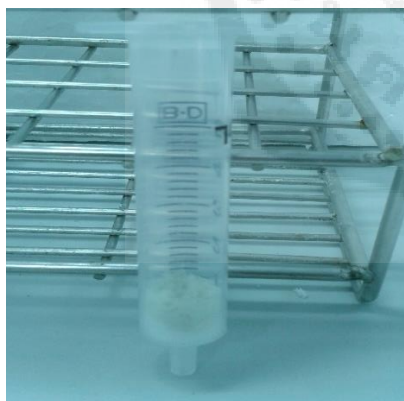
การเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ
matrix solid phase dispersion (MSPD)



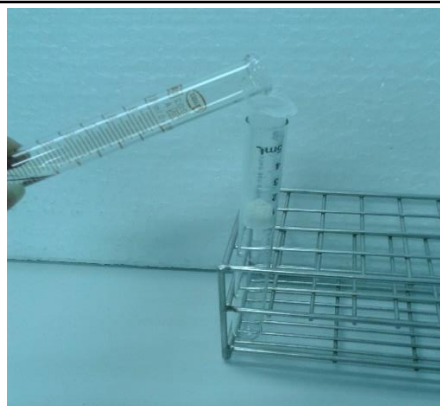
1. นำตัวอย่างกับวัฏภาคของแข็งมา
อย่างละ 0.5xxx กรัม



2. บดให้เป็นเนื้อเดียวกัน



3. บรรจุสารผสมลงคาร์ตริดจ์



4. ะด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก
ปริมาตร 3 มิลลิลิตร.



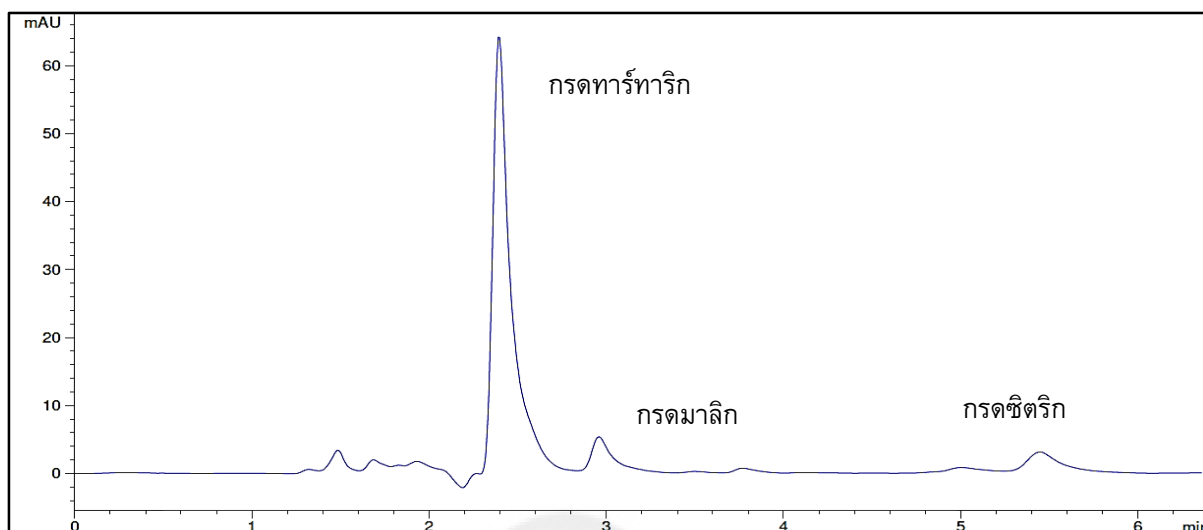
5. เก็บสารละลาย

ภาพประกอบ 21 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างด้วยสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion (MSPD)

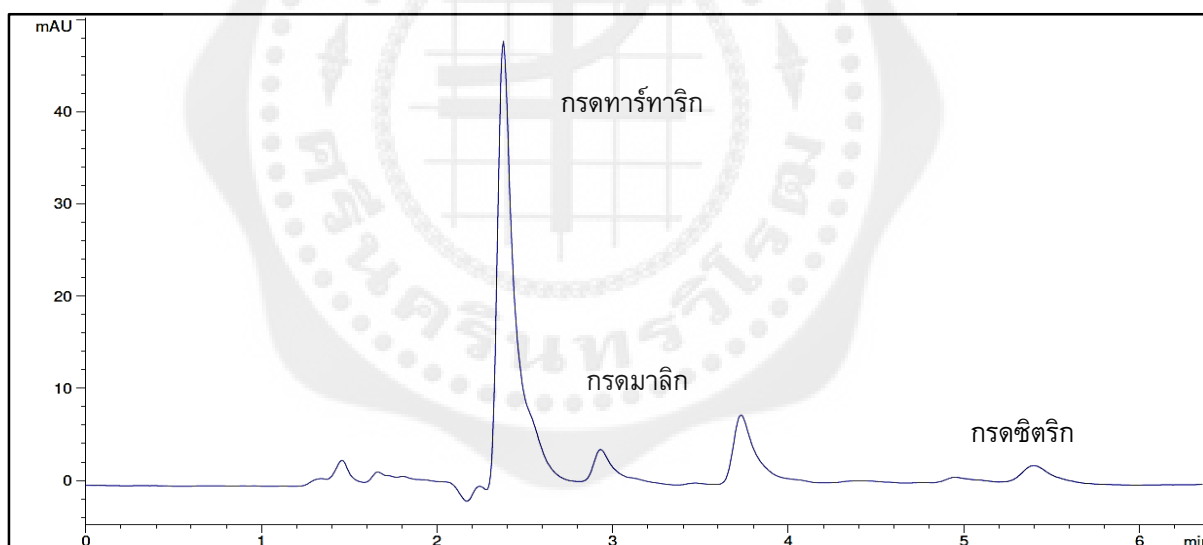
ภาคผนวก ข

โครมาโทแกรมของตัวอย่างผักสด และผักแปรรูป

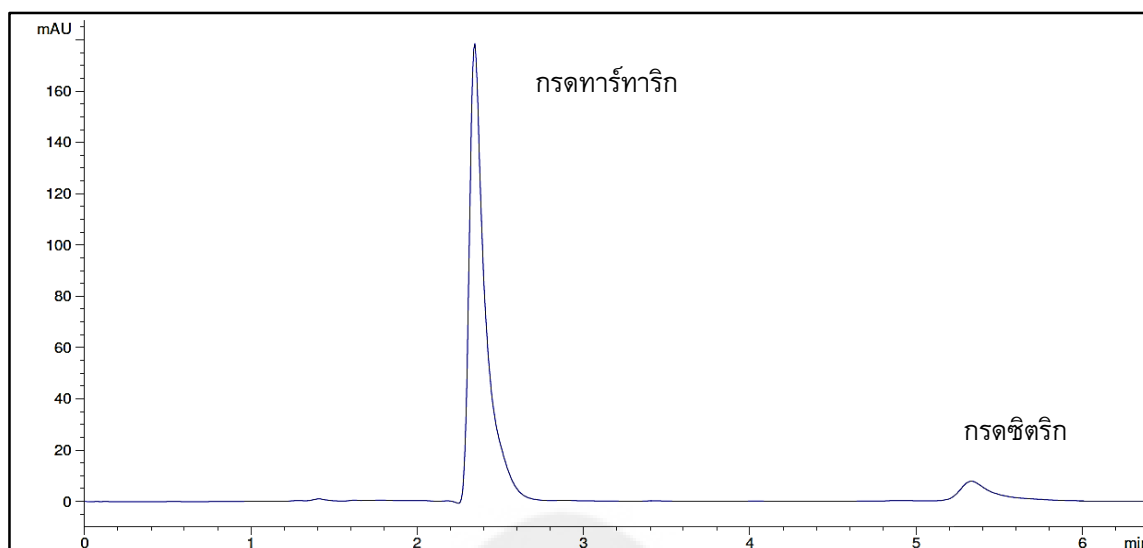




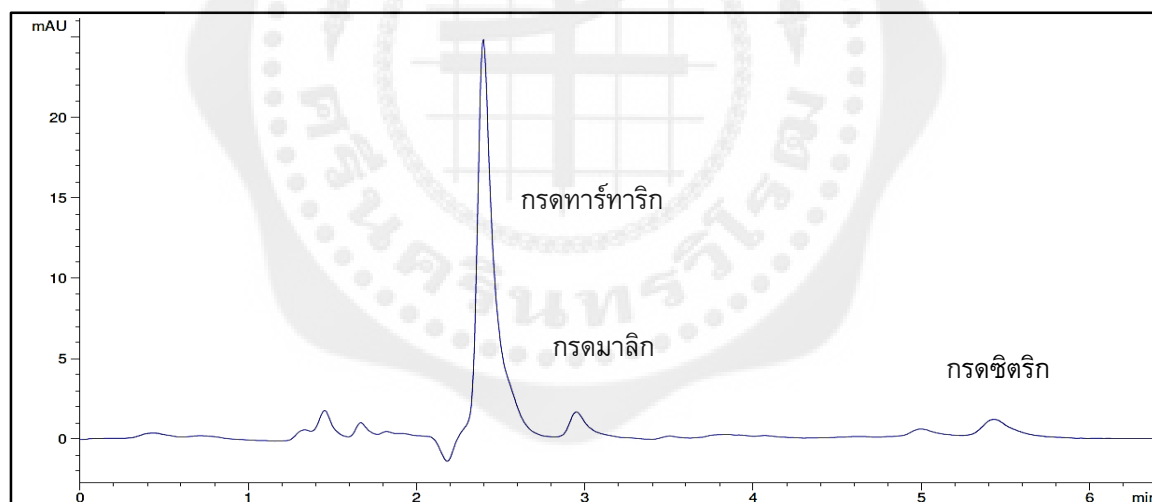
ภาพประกอบ 22 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวิธีการของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในกะหล่ำปลีสต A



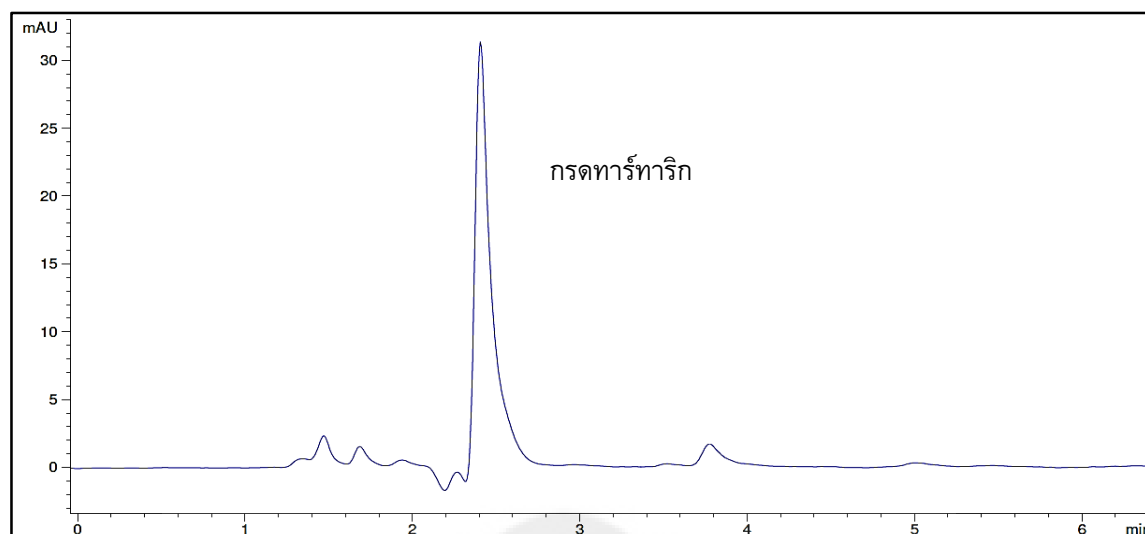
ภาพประกอบ 23 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวิธีการของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในกะหล่ำปลีสตอง A1



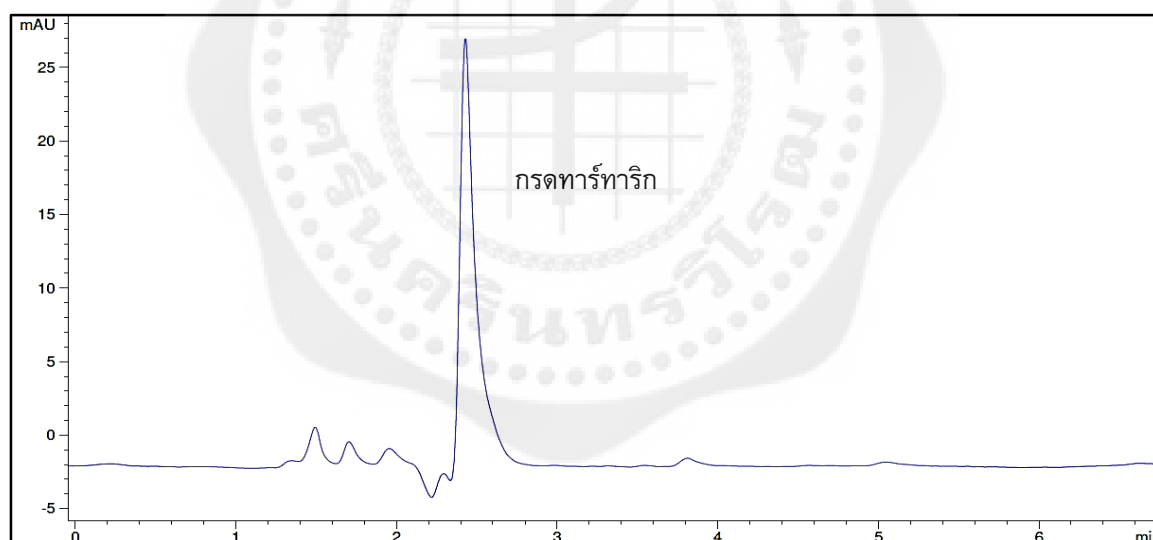
ภาพประกอบ 24 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในผักกาดสด B



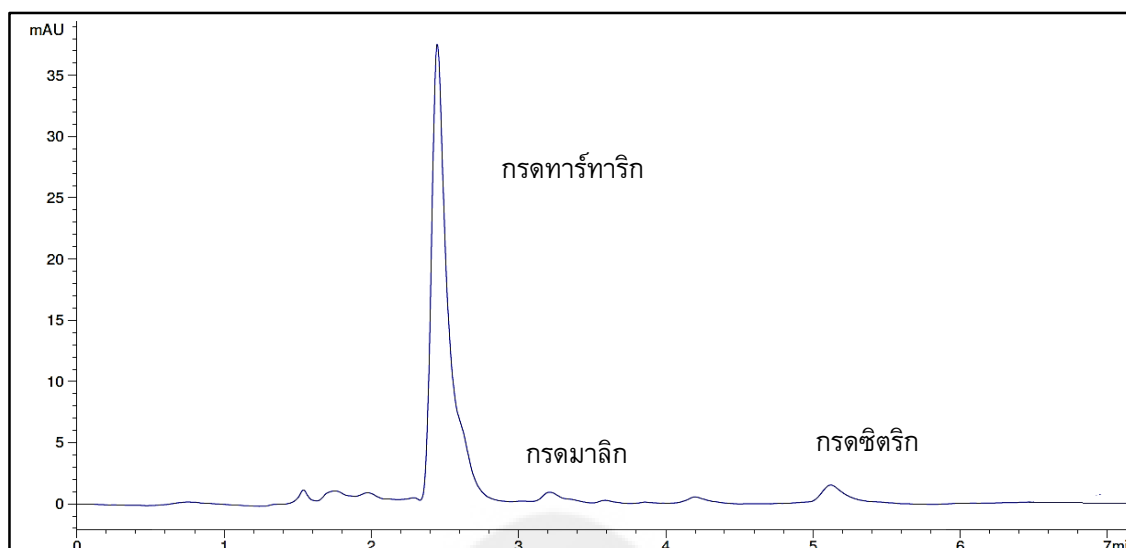
ภาพประกอบ 25 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในผักกาดดอง B1



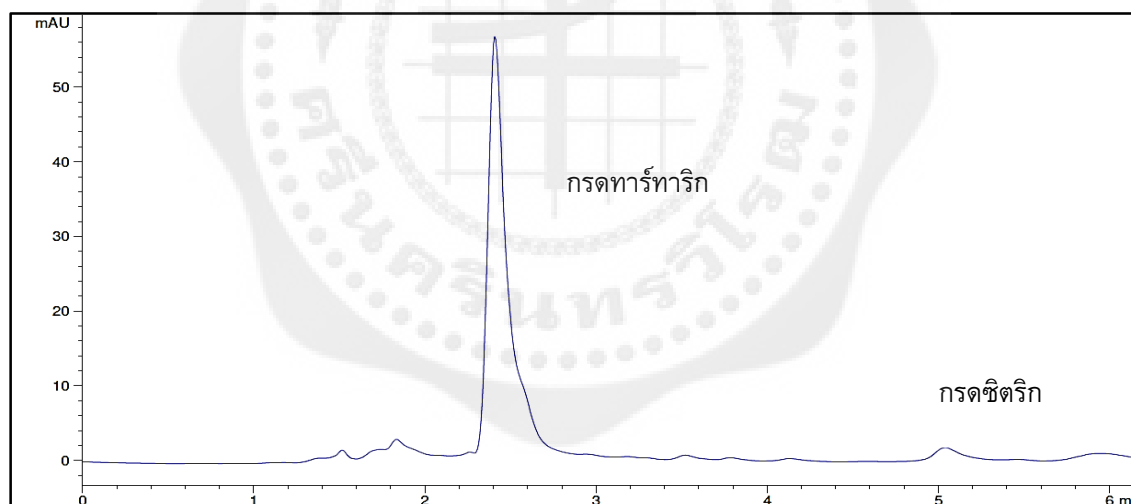
ภาพประกอบ 26 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวิธีการของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในแตงกวาสด C



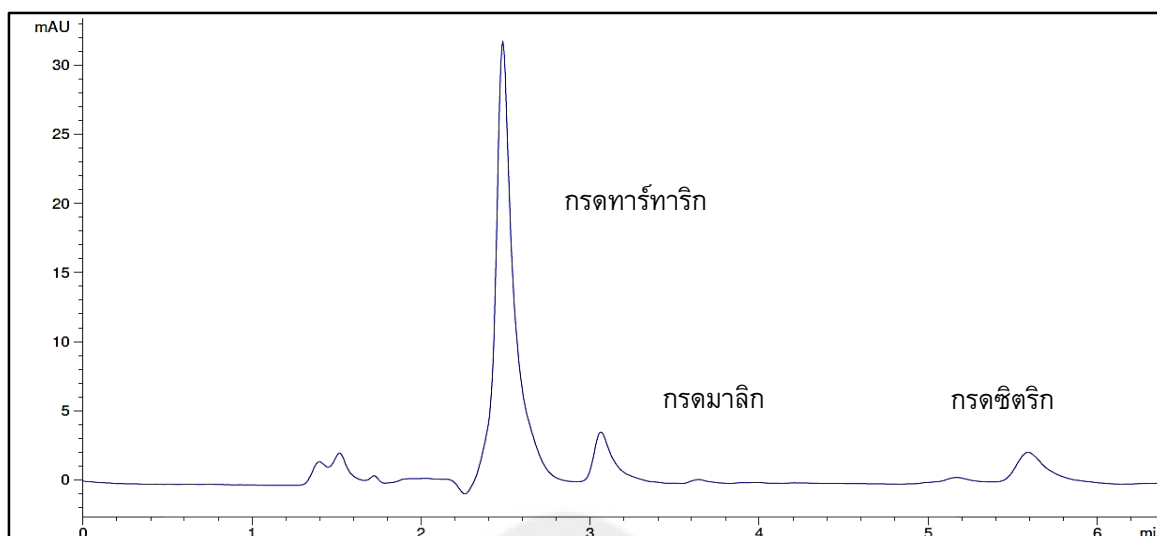
ภาพประกอบ 27 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวิธีการของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในแตงกวาดอง C1



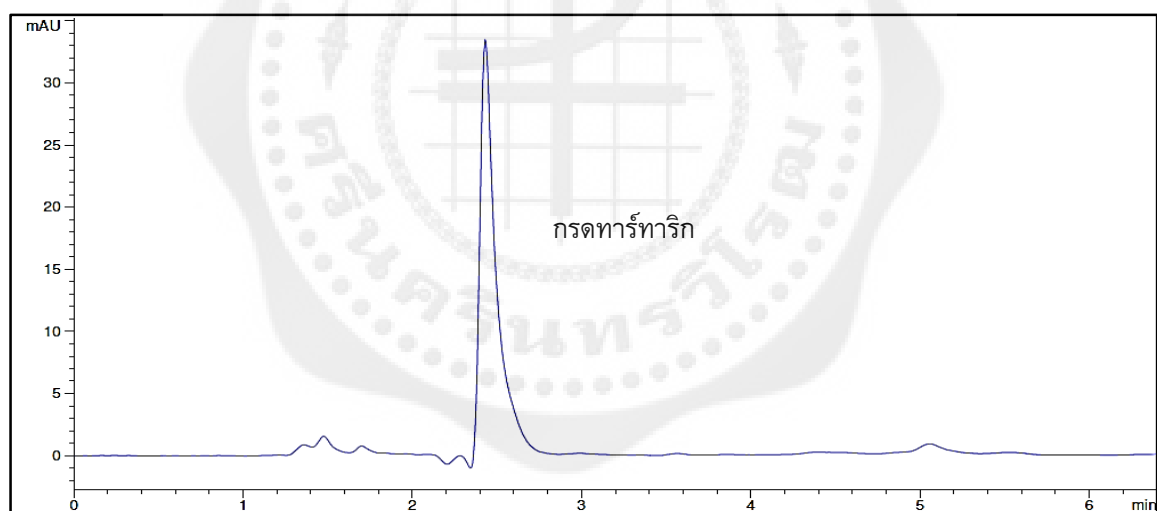
ภาพประกอบ 28 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวิธีการของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในเห็ดหอมสด F



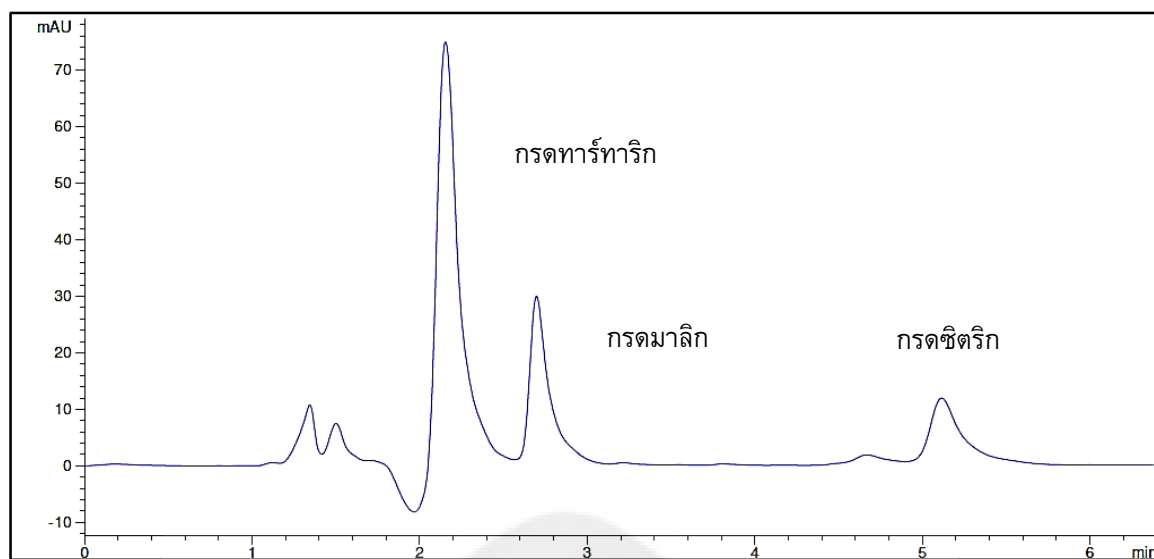
ภาพประกอบ 29 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวิธีการของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในเห็ดหอมดอง F1



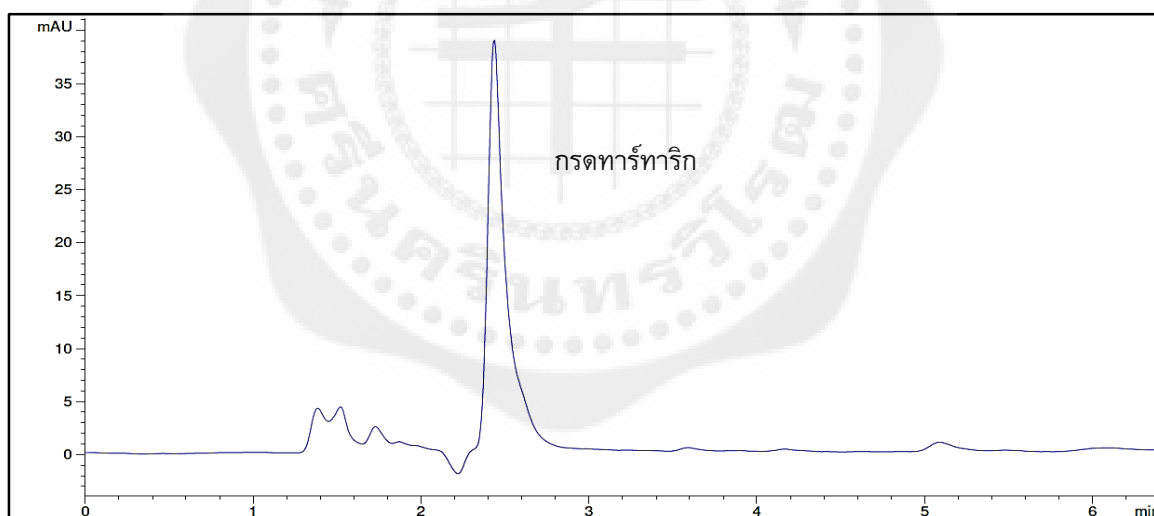
ภาพประกอบ 30 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ในเห็ดแชมปิญองสด G



ภาพประกอบ 31 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวัฏภาคของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ใน เห็ดแชมปิญองดอง G1



ภาพประกอบ 32 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวิธีการของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ใน ทางหงส์สด I



ภาพประกอบ 33 โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดตัวอย่างด้วยวิธีการของแข็งแบบ matrix solid phase dispersion ใน ทางหงส์ตอง I1



ภาคผนวก ค

เครื่องมือ และอุปกรณ์



ภาพประกอบ 34 เครื่องกรองน้ำปราศจากไอออน



ภาพประกอบ 35 เครื่องชั่งอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง



ภาพประกอบ 36 ชุดกรองที่ใช้ในการกรองสารละลายมาตรฐานและตัวอย่างก่อนฉีดเข้าสู่ระบบโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง



ภาพประกอบ 37 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงและใช้ตัวตรวจวัดแบบไดโอดแอรเรย์ (จาก บริษัท Hewlett-Packard รุ่น HP 1100)



ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล

นางสาวปิยะทิพย์ หนูแก้ว

วันเดือนปีเกิด

26 เมษายน 2532

สถานที่เกิด

บ้านเลขที่ 69 หมู่ 5 ตำบลมะกอกเหนือ อำเภอกวนขนุน
จังหวัดพัทลุง 93150

ประวัติการศึกษา

มัธยมปลาย จากโรงเรียนพัทลุง

พ.ศ. 2551

วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเคมี

พ.ศ. 2555

จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพมหานคร

พ.ศ. 2558

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพมหานคร

