การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ด้วยวิธีการวัดสีอย่างง่าย

เกตุวรี ยศยิ่งยง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีศึกษา
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
มีนาคม 2560
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของ เกตุวรี ยศยิ่งยง ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ดร. อภิญญา นวคุณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธาน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรกฎ นวคุณ)

..... กรรมการ
(ดร. อภิญญา นวคุณ)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์ ศิริไชย)

..... กรรมการ
(ดร. ธนัสถา รัตนะ)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา ของมหาวิทยาลัยบูรพา

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกรัฐ ศรีสุข)
วันที่ 30 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2560

การวิจัยนี้ได้รับทุนการศึกษา
โครงการส่งเสริมการผลิตครูที่มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์
จากสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
ระดับปริญญาโท ปีการศึกษา 2556

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก ดร. อภิญญา นวคุณอาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วน และเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมา ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.) ที่ได้ให้ทุนการศึกษา และทุนวิจัยแก่ผู้วิจัย ตลอดหลักสูตร

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อไพบูลย์ - คุณแม่วนิดา ยศยิ่งยง และครอบครัว ตลอดจนเพื่อน ๆ หลักสูตร วท.ม.เคมีศึกษา ทุกคนที่ให้กำลังใจ และสนับสนุนผู้วิจัยเสมอมา

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตาแด่บุพการี บูรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษาและประสบความสำเร็จมาจนตราบเท่าทุกวันนี้

เกตุวรี ยศยิ่งยง

56920124: สาขาวิชา: เคมีศึกษา; วท.ม. (เคมีศึกษา)
คำสำคัญ: เอทานอล/ ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์/ โพแทสเซียมไดโครเมต/ การเตรียมตัวอย่าง

เกตุวรี ยศยิ่งยง: การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ด้วยวิธีการวัดสีอย่างง่าย (DETERMINATION OF ETHANOL IN ALCOHOLIC PRODUCTS BY THE SIMPLE COLORIMETRIC METHOD) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: อภิญญา นวคุณ, D.Sc. 67 หน้า. ปี พ.ศ. 2560.

การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยวิธีการวัดสีอย่างง่าย โดยอาศัยการให้ความร้อนระเหยเอทานอลเพื่อทำปฏิกิริยา กับโพแทสเซียมไดโครเมตที่เคลือบบนกระดาษกรอง การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยวิธีการวัดสีอย่างง่ายใช้เทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรี ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร สภาวะที่เหมาะสมในวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล คือ 120 ไมโครลิตร ของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตรในกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร ที่เคลือบบนกระดาษกรอง อุณหภูมิที่ให้ความร้อน 65 องศาเซลเซียส เวลาที่ให้ความร้อน 30 นาที ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ได้ช่วงความเป็นเส้นตรง 0.02 - 0.08 % v/v (r^2= 0.9924) ขีดจำกัดการตรวจวัดมีค่า 0.12 % v/v ขีดจำกัดการหาปริมาณมีค่า 0.43% v/v ร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วง 40.58- 70.02 % และได้นำวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลนี้ประยุกต์ใช้ในตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ ได้แก่ ไวน์แดง ไวน์ขาว เบียร์ ยาแก้ไอ ยาละลายเสมหะ ยาดองเหล้า และ ยาธาตุน้ำแดง

56920124: MAJOR: CHEMISTRY EDUCATION; M.Sc. (CHEMISTRY EDUCATION)
KEYWORDS: ETHANOL/ ALCOHOLIC PRODUCTS/ POTASSIUM DICHROMATE/ SAMPLE PREPARATION METHOD

KATEWAREE YOSYINGYONG: DETERMINATION OF ETHANOL IN ALCOHOLIC PRODUCTS BY THE SIMPLE COLORIMETRIC METHOD. ADVISORY COMMITTEE: APINYA NAVAKHUN, D.Sc. 67 P. 2017.

The determination of ethanol in alcoholic products was investigated by simple colorimetric method. The ethanol was evaporated and then reacted with potassium dichromate coated on glass microfiber filter. The amount of ethanol was determined by UV - Visible Spectrophotometry at 585 nm. The optimum conditions were 120 µL of 0.20 M potassium dichromate in 5.0 M sulfuric acid coated on glass microfiber filter, heating temperature of 65 °C and heating time of 30 minute. Under the optimum conditions, linear range of 0.02 - 0.08 % v/v (r^2= 0.9924) was achieved. The limit of detection and limit of quantification for ethanol were 0.12 %v/v and 0.43 %v/v, respectively. The present recovery was 40.58- 70.02 %. The proposed method was applied for determination of ethanol in alcoholic products such as red wine, white wine, beer, cough syrup, elixir, medicated spirit and stomachic mixture.

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย…… จ

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ…… ฉ

สารบัญ…….... ช

สารบัญตาราง…….. ฌ

สารบัญภาพ……..… ญ

บทที่

1 บทนำ……... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา…… 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย……..…... 2

ขอบเขตของการวิจัย…….…… 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย……..…... 2

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง……..…….. 3

เอทานอล……...……. 3

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอลกอฮอล์…….. 5

เครื่องดื่มแอลกอฮอล์……...……..……..……... 5

ยาที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์……...……..……..……... 7

งานวิจัยที่เกี่ยวข้…….…..... 8

3 วิธีดำเนินการวิจัย……..... 10

เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี……..... 10

แผนการดำเนินการวิจัย……...…… 11

การเตรียมสารเคมี……...……..... 12

การเคลือบโพแทสเซียมไดโครเมตบนกระดาษกรอง…….……..... 13

การหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล…….. 13

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล……..….. 14

ศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล (Method Validation).. 16

ศึกษาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ที่มีสี….. 17

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 ผลการวิจัย……..…….…..….	19
ผลการหาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล…...……	19
ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ด้วยวิธีการวัดสี...	20
ผลการศึกษาศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ (Method Validation)……	28
ผลการศึกษาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ที่มีสี……..	29
5 สรุปผลและอภิปรายผล…….……...…….……..	30
สรุปผลการวิจัย……..……..…..….	30
อภิปรายผลการวิจัย……..……..…	31
ข้อเสนอแนะ……...……	34
บรรณานุกรม……..	35
ภาคผนวก……..……...	37
ภาคผนวก ก……..……..	38
ภาคผนวก ข……..……..	55
ภาคผนวก ค……..……..	63
ประวัติย่อของผู้วิจัย……	67

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4-1 การเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองในการศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล…… 21

4-2 การเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองในการศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล…….. 23

4-3 การเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองในการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล……. 25

4-4 การเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองในการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล……. 27

4-5 ศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล (Method Validation)……. 28

4-6 ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เปรียบเทียบกับค่าที่ระบุไว้บนฉลากบรรจุภัณฑ์ 29

5-1 สภาวะที่เหมาะสม และความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล……..... 30

ก-1 ค่าการดูดกลืนแสงในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของโพแทสเซียมไดโครเมต…….. 39

ก-2 ค่าการดูดกลืนแสงในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆของกรดซัลฟิวริก…….. 43

ก-3 ค่าการดูดกลืนแสงในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่อุณหภูมิต่าง ๆ…..…….. 47

ก-4 ค่าการดูดกลืนแสงในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เวลาต่าง ๆ……..…… 51

ข-1 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง…… 56

ข-2 ผลการศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดการหาปริมาณ (LOQ)…….. 57

ข-3 ผลการศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision)…….... 57

ค-1 ผลกราฟมาตรฐานในการหาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์……. 64

ค-2 ค่าการดูดกลืนแสงในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์…..……. 65

ค-3 ผลร้อยละการกลับคืน (%recovery)…… 66

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2-1 Ethanol straight-chain ประกอบด้วยโมเลกุลของ Hydroxyl (-OH) ที่ยึดเหนี่ยว กับอะตอมของคาร์บอน (C)……..……...……..... 3

3-1 แผนการดำเนินการวิจัย……..……... 11

3-2 ฝาของขวดแก้วขนาด 30 มิลลิลิตร ที่มีกระดาษกรองที่เคลือบโพแทสเซียมไดโครเมต 14

3-3 การให้ความร้อนสารละลายมาตรฐานเอทานอลปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยฝาขวด มีกระดาษกรองที่เคลือบโพแทสเซียมไดโครเมต……. 15

4-1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต (Cr(VI)) และโครเมียมซัลเฟต (Cr(III))……..…… 20

4-2 ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอลในการศึกษา ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต……..….. 22

4-3 ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอลในการศึกษา ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก……..…… 24

4-4 ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอลในการศึกษา อุณหภูมิ……...……..…... 26

4-5 ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอลในการศึกษา ระยะเวลา……..……..…… 28

ก-1 ผลการทดลองที่ศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสม ในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร…… 40

ก-2 ผลการทดลองที่ศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสม ในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร…… 41

ก-3 ผลการทดลองที่ศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสม ในวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.20 โมลต่อลิตร……...……..... 42

ก-4 ผลการทดลองที่ศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ ปริมาณเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร……...……..…. 44

ก-5 ผลการทดลองที่ศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ ปริมาณเอทานอล ที่ความเข้มข้น 3 โมลต่อลิตร…… 45

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

ก-6 ผลการทดลองที่ศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่ความเข้มข้น 5 โมลต่อลิตร…… 46

ก-7 ผลการทดลองที่ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส…….. 48

ก-8 ผลการทดลองที่ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส…….. 49

ก-9 ผลการทดลองที่ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส…….. 50

ก-10 ผลการทดลองที่ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่เวลา 15 นาที……. 52

ก-11 ผลการทดลองที่ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่เวลา 30 นาที……. 53

ก-12 ผลการทดลองที่ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่เวลา 45 นาที……. 54

ข-1 ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอลในการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง……..…….....….. 56

ข-2 ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอลในการศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดการหาปริมาณ (LOQ)……..…. 57

ข-3 ผลการศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision) ที่ความเข้มข้นของเอทานอล 0.03 %v/v วันที่ 1……..……. 59

ข-4 ผลการศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision) ที่ความเข้มข้นของเอทานอล 0.06 %v/v วันที่ 1……...……. 60

ข-5 ผลการศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision) ที่ความเข้มข้นของเอทานอล 0.03 และ0.06 %v/v วันที่ 2 ……. 61

ข-6 ผลการศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision) ที่ความเข้มข้นของเอทานอล 0.03 และ0.06 %v/v วันที่ 3…….. 62

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

ค-1 กราฟมาตรฐานในการหาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสม ของแอลกอฮอล์..... 64

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เอทานอล (Ethanol) เป็นแอลกอฮอล์มีลักษณะของเหลวไม่มีสี เป็นส่วนผสมสำคัญในผลิตภัณฑ์หลายชนิดได้แก่ เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น สุรา เบียร์ วิสกี้ บรั่นดี และ ยาชนิดน้ำ เช่น ยาแก้ไอ ยาธาตุน้ำแดง ยาขับลม เป็นต้น ซึ่งจะมีปริมาณของเอทานอลแตกต่างกัน การบริโภคผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ ก่อให้เกิดผลเสียต่อร่างกาย ออกฤทธิ์กดประสาท มีผลเฉียบพลันและเรื้อรัง ในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์มีด้วยกันหลายวิธี เช่น เครื่อง Ebulliometer (กมลวรรณ โรจน์สุนทรกิตติ, 2549) อุปกรณ์ที่ใช้มีราคาแพง ต้องสั่งซื้อมาจากต่างประเทศ โดยมีผู้นำเข้ามาจำหน่ายในประเทศไทยเพียงไม่กี่ราย และการตรวจวัดโดยแก๊สโครมาโทรกราฟี (GC) (ประภาพรรณ เตชะเสาวภาคย์ และสรวงสุดา สุประภากร,2539) วิธีดังกล่าวสามารถวิเคราะห์แอลกอฮอล์ในตัวอย่างต่าง ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ใช้เครื่องมือราคาแพง สารตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ต้องสะอาดไม่มีสิ่งเจือปน และต้องใช้ผู้ที่มีความชำนาญสูงในการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ ด้วยวิธีการวัดสี (Colorimetric Method) อาศัยการเกิดปฏิกิริยาแล้วให้สี โดยปฏิกิริยาในการเกิดสีเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันของเอทานอลกับโพแทสเซียมไดโครเมตในสภาวะกรด ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย ไม่ซับซ้อน รวดเร็ว ในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ง่ายต่อการวิเคราะห์ ราคาถูก แต่มีข้อจำกัดคือ ในตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ที่มีสี พบว่าสีของผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ มีผลต่อการวัดค่าการดูดกลืนแสงในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี ดังนั้นจึงต้องเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลให้เป็นสารละลายไม่มีสีด้วยวิธีการ เช่น การกลั่นแยกเอทานอล (William & Horwitz, 2000) การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Tipparat, Lapanantnoppakhun, Jakmunee, & Grudpan, 2001) เป็นต้น ซึ่งมีความยุ่งยาก เกิดการสูญหายของเอทานอลระหว่างการเตรียมตัวอย่างได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้เสนอการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์และการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ที่มีสี ด้วยวิธีการวัดสี เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพการวิเคราะห์ที่ดีที่สุดและนำวิธีวิเคราะห์นี้ไปประยุกต์กับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ที่มีสี

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์
2. ศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล (Method Validation)
3. นำวิธีวิเคราะห์ประยุกต์ใช้กับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์

ขอบเขตของการวิจัย

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ด้วยวิธีการวัดสี สำหรับตัวแปรที่ทำการศึกษาได้แก่ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้นของเอทานอล อุณหภูมิ และเวลา
2. ศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ (Method Validation) ได้แก่ ความเป็นเส้นตรง(Linearity) ขีดจำกัดในการตรวจวัด (Limit of detection: LOD) ขีดจำกัดในการวิเคราะห์ปริมาณ (Limit of quantification: LOQ) การสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) การศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision) การศึกษาความแม่นในการวิเคราะห์ (Accuracy)
3. ทำการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ที่มีสี ได้แก่ ไวน์แดง ไวน์ขาว เบียร์ ยาแก้ไอ ยาละลายเสมหะ ยาดองเหล้า และ ยาธาตุน้ำแดง

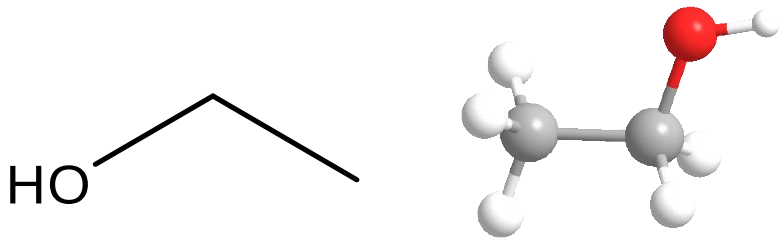
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ได้วิธีวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ ด้วยวิธีการวัดสี
2. ได้วิธีวิเคราะห์ที่ง่ายสำหรับการหาปริมาณเอทานอลในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ ด้วยวิธีการวัดสี
3. นำวิธีวิเคราะห์ที่ได้ไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ที่มีสี

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอทานอล

เอทานอล (Ethanol) หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) หรือ เกรนแอลกอฮอล์ (Grain alcohol) หรือ แอลกอฮอล์ เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ต่ออยู่กับสายโซ่ของไฮโดรคาร์บอน ดังแสดงในภาพที่ 2-1 มีสูตรทางเคมีคือ C_2H_5OH



ภาพที่ 2-1 แสดง Ethanol straight-chain ประกอบด้วยโมเลกุลของ Hydroxyl (-OH) ที่ยึดเหนี่ยวกับอะตอมของคาร์บอน (C)

เอทานอลได้จากการหมักแป้งในเมล็ดข้าว และมัน หรืออาจเตรียมจากการหมักกากน้ำตาลหรือโมลาซ (molasses) ด้วยยีสต์ ดังสมการ

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \xrightarrow{\text{yeast}} 4\,CH_3CH_2OH + 4\,CO_2$$

นอกจากนี้เอทานอลยังเตรียมได้จากเอทิลีน โดยการเติมน้ำและกรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยามีกำลังผลิตมากกว่า 1 ล้านตันต่อปี

$$CH_2{=}CH_2 + H_2O \xrightarrow{H_2SO_4} CH_3CH_2OH$$

สำหรับเอทานอลทั่วไปจะเป็น 95 % เอทานอล คือมีน้ำผสมอยู่ 5 % ซึ่งจะแยกจากกันโดยการกลั่นได้ยากมาก ดังนั้นถ้าต้องการเอทานอลที่ปราศจากน้ำ (absolute alcohol) ทำได้โดยใส่ CaO (quicklime) เพื่อให้ทำปฏิกิริยากับน้ำเป็น $Ca(OH)_2$ นอกจากนี้เอทานอลจะใช้ผสมเป็นเครื่องดื่มแล้วยังใช้เป็นยาฆ่าเชื้อโรค และเป็นเชื้อเพลิงที่เรียกว่าแก๊สโซฮอล์ (gasohol) ได้ด้วย

คุณสมบัติของเอทานอล

เอทานอลมีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี ระเหยง่าย ละลายได้ดีมาก และมีกลิ่นเฉพาะตัวมีน้ำหนักโมเลกุล 46.07 กรัม/โมล จุดเยือกแข็ง -114.1 องศาเซลเซียส จุดเดือด 78.32 องศาเซลเซียส จุดวาบไฟ 14 องศาเซลเซียส ความหนาแน่น 0.7893 กรัม/มิลลิลิตร (ขวัญใจ กนกเมธากุล, 2554, หน้า 160)

ประโยชน์จากเอทานอล

1. ใช้เป็นตัวทำละลาย ในอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง ผลิตน้ำหอม และอื่น ๆ

2. ใช้เป็นสารฆ่าเชื้อโรค เช่น น้ำยาฆ่าเชื้อ

3. ใช้ผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ

4. ใช้เป็นเชื้อเพลิง โดยนำเอทานอลกับน้ำมันเบนซินออกเทน 91 ในอัตราส่วนเอทานอล 10 ส่วน กับน้ำมันเบนซิน 90 ส่วน เป็นน้ำมันแก๊สโซฮอล์ (E10)

อันตรายจากเอทานอลคุณภาพต่ำ จะมีสารปนเปื้อนที่เป็นอันตรายดังนี้

1. แอลกอฮอล์ที่มีโมเลกุลใหญ่ หรือ Higher Alcohols ได้แก่ Amyl alcohol, Isobutyl alcohol และ 2-Phenyl ethanol สารเหล่านี้ เป็นสารกระตุ้นอาการแพ้ ระคายเคืองระบบทางเดินหายใจ รบกวนระบบประสาท เพิ่มความดัน และทำให้ปวดศีรษะ

2. แอลดีไฮด์ เป็นสารระคายเคืองเยื่อบุตา ทำให้น้ำตาไหล ระคายเคืองระบบทางเดินหายใจ เพิ่มความดัน ปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน และเป็นสารกระตุ้นอาการแพ้

3. สารฟูเซลออยล์ ได้แก่ แอลกอฮอล์มวลโมเลกุลสูง ๆ เช่น 1-Propanol, 1-butanol, 2-butanol, 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-1-butanol, 3-pentanol และ 1-hexanol สารเหล่านี้ เป็นสารกระตุ้นอาการแพ้ เป็นสารเร่งการก่อมะเร็ง

4. เมทานอล เมทานอลในเลือดกับอาการที่ปรากฏ ดังนี้

4.1 เมทานอลมากกว่า 20 มิลลิกรัม/ลิตร อาการที่ปรากฏ คือ ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน

4.2 เมทานอล 100 มิลลิกรัม/ลิตร อาการที่ปรากฏ คือ ตาพร่า ตามัว แพ้แสง ปวดศีรษะ เวียนศีรษะ อ่อนเพลีย

4.3 เมทานอล 100 -150 มิลลิกรัม/ลิตร อาการที่ปรากฏ คือ หายใจขัด โคม่า เกิดภาวะสะสมกรดแลคติกสูงขึ้นจนขาดออกซิเจน

4.4 เมทานอล 150 - 200 มิลลิกรัม/ลิตร อาการที่ปรากฏ คือ เสียชีวิต (องค์กรสุรา กรมสรรพสามิต กระทรวงการคลัง, 2555)

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอลกอฮอล์

ปฏิกิริยาออกซิเดชันแอลกอฮอล์ แอลกอฮอล์ปฐมภูมิและทุติยภูมิตัวรีดิวซ์ที่ดี จึงสามารถทำปฏิกิริยากับตัวออกซิไดซ์ได้หลายชนิด อัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นกับตัวแปรหลายชนิด เช่น โครงสร้างของแอลกอฮอล์ ความแรงของตัวออกซิไดซ์ อุณหภูมิ pH ของสารละลาย เป็นต้น ตัวออกซิไดซ์ที่นิยมใช้คือ โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ($KMnO_4$) และ โพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) เนื่องจากเมื่อโครเมียมถูกรีดิวซ์จะเกิดการเปลี่ยนสีซึ่งเห็นได้ชัดเจน แอลกอฮอล์ปฐมภูมิถูกออกซิไดซ์ได้เร็วที่สุดและได้แอลดีไฮด์เป็นผลิตภัณฑ์ ซึ่งมักจะถูกออกซิไดซ์ต่อไปภายใต้ภาวะของการทดลองได้เป็นกรดคาร์บอกซิลิกในที่สุด แอลกอฮอล์ทุติยภูมิทำปฏิกิริยาช้ากว่าและได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นคีโตน

แอลกอฮอล์ปฐมภูมิ : $RCH_2OH \xrightarrow{[O]} RCHO \xrightarrow{[O]} RCO_2H$

แอลกอฮอล์ทุติยภูมิ : $RR'CHOH \xrightarrow{[O]} RCOR'$

โดยทั่วไปแอลกอฮอล์ตติยภูมิไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายนัก นอกจากจะทำ ภายใต้ภาวะที่รุนแรง เช่น การใช้กรดเข้มข้นหรือที่อุณหภูมิสูง ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยากำจัดน้ำ (dehydration) ของแอลกอฮอล์เป็นอัลคีน แล้วเกิดปฏิกิริยาต่อไปกับตัวออกซิไดซ์ได้ผลิตภัณฑ์ซึ่งมักเป็นของผสม (เกษร พะลัง, 2551,หน้า 163)

ปฏิกิริยาของออกซิเดชันของเอทานอลกับโพแทสเซียมไดโครเมต ดังแสดงในสมการ (William C. Timmer, 1986)

$$2K_2Cr_2O_7 + 8H_2SO_4 + 3CH_3CH_2OH \longrightarrow 2Cr_2(SO_4)_3 + 2K_2SO_4 + 3CH_3COOH + 11\ H_2O$$

orange - yellow ethanol blue-green

เครื่องดื่มแอลกอฮอล์

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

ความหมายของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

สถาบันการแพทย์ด้านอุบัติเหตุและสาธารณภัย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ให้ความหมายไว้ว่า เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ หมายถึง เครื่องดื่มที่มีเอทิลแอลกอฮอล์ผสมอยู่ในปริมาณ

ไม่เกิน 60 ดีกรี ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่สามารถใช้บริโภคได้และแอลกอฮอล์จัดเป็นสิ่งเสพติดประเภทหนึ่งเมื่อบริโภคจนมีการสะสมในร่างกายเป็นเวลานานจะเกิดการติดแอลกอฮอล์เกิดขึ้น เมื่อหยุดการบริโภคร่างกายจะมีปฏิกิริยาการตอบสนอง

ตามพระราชบัญญัติควบคุมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ พ.ศ. 2551 ให้ความหมายของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ไว้ในมาตรา 3 ดังนี้ เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ หมายถึง สุราตามกฎหมายว่าด้วยสุรา ทั้งนี้ไม่รวมถึงยาวัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท ยาเสพติดให้โทษตามกฎหมายว่าด้วยการนั้น

กรมสุขภาพจิต กระทรวงสาธารณสุข ให้ความหมายของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ หมายถึง เครื่องดื่มที่ได้จากการหมักผลไม้หรือเมล็ดพืชชนิดต่าง ๆ โดยปกติแอลกอฮอล์จะไม่มีรส ไม่มีกลิ่นไม่มีสี ซึ่งรสหรือกลิ่นหรือสีในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จะมาจากส่วนประกอบในการหมักและการแต่งกลิ่น โดยเครื่องดื่มแอลกอฮอล์แต่ละชนิดจะมีระดับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่แตกต่างกัน สุรามีแอลกอฮอล์ประมาณร้อยละ 40 ไวน์ทั่วไปมีแอลกอฮอล์ประมาณร้อยละ 12 และเบียร์ทั่วไปมีแอลกอฮอล์ประมาณร้อยละ 5 หากบริโภคแอลกอฮอล์ในปริมาณมากจะมีฤทธิ์กดประสาท ทำให้สมองทำงานช้าลง พูดจาไม่ชัด เดินเซ สับสน มึนงง ถ้าบริโภคอย่างรวดเร็วในปริมาณมาก แอลกอฮอล์จะมีฤทธิ์กดระบบทางเดินหายใจ ทำให้ระบบการหายใจล้มเหลว โคม่าและเสียชีวิตได้จากความหมายของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ข้างต้น สรุปได้ว่า เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ หมายถึงเครื่องดื่มที่เอทิลแอลกอฮอล์ผสมอยู่ในเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เช่น สุราขาว วิสกี้ บรั่นดี เบียร์ ไวน์องุ่น แชมเปญ ไวน์คูลเลอร์ เป็นต้น โดยไม่รวมถึงยา วัตถุออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาท ซึ่งมีฤทธิ์กดระบบประสาทส่วนกลาง หากบริโภคในปริมาณที่มากเกินไปจะส่งผลกระทบต่อร่างกาย เช่น เสียการทรงตัว พูดไม่ชัด สับสน มึนงง หมดสติ เป็นต้น

ประเภทของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

แบ่งเป็น 2 ประเภท ตามกรรมวิธีในการผลิต ดังนี้

1. สุราที่ได้จากการแช่ หรือการหมัก (Fermentation) คือ สุราที่ได้จากการหมักวัตถุดิบกับราหรือยีสต์ ไม่ได้เกิดจากการกลั่น นอกจากนั้นยังรวมถึงสุราแช่ที่ได้ผสมกับสุรากลั่นแล้ว ซึ่งมีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี เช่น ไวน์ แชมเปญ สาโท อุ กระแช่ ไวน์คูลเลอร์ ไวน์ เบียร์ เป็นต้น

2. สุราที่ได้จากการกลั่น (Distillation) คือ การนำเอาสุราแช่มากลั่น เพื่อให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงขึ้น รวมถึงสุรากลั่นที่ผสมกับสุราแช่แล้ว ซึ่งมีปริมาณแอลกอฮอล์เกินกว่า 15 ดีกรี เช่น บรั่นดี วิสกี้ ยิน รัม วอดก้า เหล้าขาว เป็นต้น (รัตนาภรณ์ กิจเชื้อ, ขนิษฐา เทนอิสสระ, ธนะชัย ถิรศิลาเวทย์ และสุธัญลักษณ์ คณาศรี, 2555, หน้า 5-10)

ยาที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์

ยาที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ พบได้ในยารูปแบบที่เป็นของเหลว ที่มีตัวทำละลายเป็นส่วนผสมระหว่างน้ำกับแอลกอฮอล์ เนื่องจากตัวยาบางชนิดไม่สามารถละลายในตัวทำละลายที่เป็นน้ำหรือน้ำเชื่อมเพียงอย่างเดียวได้ ต้องใช้แอลกอฮอล์ร่วมเป็นตัวทำลายตัวยาด้วย หรือยาที่จำเป็นต้องใช้แอลกอฮอล์เพื่อแต่งกลิ่นรส ยาในรูปแบบของเหลวที่มักพบว่ามีส่วนผสมของตัวทำละลายที่เป็นแอลกอฮอล์หรือน้ำผสมกับแอลกอฮอล์ ได้แก่ อิลิกเซอร์ (Elixir) สปิริต (Spirit) ทิงเจอร์ (Tincture) เป็นต้น และมักจะพบกับตัวยาที่ละลายในน้ำได้ยาก ปัจจุบันนี้เราพบว่าตำรับยาที่มีส่วนประกอบของแอลกอฮอล์มีอยู่มากมายหลายชนิด เช่น สูตรยาน้ำหลายชนิดทั้งยาแก้ไอน้ำดำ ยาน้ำสีแดงสำหรับแก้ท้องอืดท้องเฟ้อ ยาแก้ไอหลายชนิด ยาน้ำพาราเซตามอล

รูปแบบยาที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ที่เป็นของเหลว ได้แก่

1. สปิริต (Spirit) เป็นยาน้ำที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ประมาณ 60 - 90% กับน้ำมันหอมระเหย เช่น น้ำมันผิวส้ม น้ำมันผิวมะนาว น้ำมันกานพลู น้ำมันมินต์ เป็นต้น ตัวอย่างที่ใช้กัน คือ เปปเปอร์มินต์สปิริต (เหล้าสระแหน่) ที่ใช้เป็นยาภายนอกสำหรับสูดดม คือ แอมโมเนียสปิริต (เหล้าแอมโมเนียหอม) เป็นต้น

2. อีลิกเซอร์ (Elixir) เป็นยาน้ำที่ใช้กัน มีรสหวาน และมีแอลกอฮอล์อยู่ประมาณ 4 - 40% ในกรณีเป็นยาที่ใช้สำหรับเด็กจะต้องมีแอลกอฮอล์อยู่ปริมาณน้อยหรือไม่มีแอลกอฮอล์ เช่น ไดมีเทนอีลิกเซอร์, เบนาดริล อีลิกเซอร์ เป็นต้น

3. ทิงเจอร์ (Tincture) เป็นยาที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์อยู่ปริมาณมาก ใช้เป็นยาแก้ท้องเสีย ได้แก่ ทิงเจอร์ฝิ่นการะบูร ที่ใช้ภายนอก ได้แก่ ทิงเจอร์ ไอโอดีน ทิงเจอร์ไธเมอราโซล เป็นต้น (สำลี ใจดี, สงกรานต์ ภาคโชคดี และนิยดา เกียรติยิ่งอังศุลี, 2558)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ประภาพรรณ เตชะเสาวภาคย์ และสรวงสุดา สุประภากร (2539) ได้ทำการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างแอลกอฮอล์ 6 ชนิด ได้แก่ เบียร์ ไวน์ สุรา ยิน คอนยัค และวิสกี้ เตรียมตัวอย่างโดยวิธี Headspace Sample ต่อกับเครื่อง GC (Gas chromatography) ดีเทคเตอร์ FID (Flame ionization detector) คอลัมน์ HP1 ความเร็วของก๊าซพา (He) เป็น 14.29 มิลลิลิตรต่อนาที สภาวะของเครื่อง headspace ให้อุณหภูมิ oven 60 องศาเซลเซียส equilibration time 30 นาที พบว่าได้ปริมาณเอทานอลเป็นเปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร 5.65 , 11.72, 33.61, 43.06, 36.01 และ 46.07 ตามลำดับ

สุภาวดี ดาวดี, จินดา หวังบุญสกุล และกนกวรรณ จารุกำจร (2542) ได้ศึกษาการหาปริมาณและชนิดแอลกอฮอล์ในยาธาตุน้ำแดงและยาขับลม โดยวิธี GC ร่วมกับเทคนิค MS (Mass-spectrometry) โดยเน้นตรวจการปนเปื้อนของเมทานอลในตำรับยา ปริมาณแอลกอฮอล์แคมเฟอร์และเมนทอล วิธีที่ใช้ในการวิจัยในครั้งนี้คือ เครื่อง GC ดีเทคเตอร์ FID และยืนยันผลผลด้วยเครื่องตรวจวัด Mass spectrometry จากการวิเคราะห์ตัวอย่างทั้ง 22 อย่าง พบว่ามีเพียงตัวอย่างที่มีเมทานอลปลอมปน โดยพบในระดับ 0.06 %v/v ซึ่งเป็นปริมาณน้อยมากและไม่น่าเป็นอันตรายต่อสุขภาพ มี 6 ตัวอย่าง ที่ตรวจพบปริมาณแคมเฟอร์และเมนทอลไม่ตรงตามที่บ่งบอกไว้บนฉลาก ตัวอย่างยากุมารที่ใช้สำหรับเด็กนั้นปรากฏว่า ตรวจพบปริมาณแอลกอฮอล์ในระดับ 0.6 %v/v ซึ่งเป็นระดับที่สูงพอสมควร ตัวอย่างยาสตรีพบแอลกอฮอล์ในระดับที่สูงมากคือประมาณ 13-17 %v/v เป็นระดับเดียวกับแอลกอฮอล์ที่มีในไวน์

Zhang , Lin , Chai , and Barnes (2015) ได้ทำการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล และเมทานอล ด้วยวิธี full evaporation headspace gas chromatographic (FE HS-GC) ในไวน์ โดยใช้ตัวอย่างปริมาณน้อย (10 ไมโครลิตร) ถูกบรรจุในขวดเครื่อง headspace และทำให้กลายเป็นไอใน 3 นาที ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถวัดปริมาณเอทานอล และเมทานอล ในตัวอย่างได้โดยเครื่อง GC ผลการวิจัย มีความแม่นยำและความเที่ยงตรงที่ดีเยี่ยมค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล และเมทานอลมีค่าน้อยกว่า 1.02 % และ 2.11 % ตามลำดับ ร้อยละการได้กลับคืนของเอทานอล และเมทานอล อยู่ในช่วง 96.1 – 1.04 % ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเป็นวิธีการที่มีความถูกต้องและมีประสิทธิภาพสำหรับการวิเคราะห์แอลกอฮอล์ในตัวอย่างไวน์

Seo et al. (2009) ได้ทำการศึกษาวิธีการวัดความเข้มข้นของเอทานอลโดยวิธีการสกัดสารละลายโดยใช้สารละลาย tri-*n*-butyl phosphate ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายมาตรฐานเอทานอลหรือตัวอย่าง ลงใน microplate เป็นเวลา 10 นาที และทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ของไดโครเมต การสกัดเอทานอลจากอาหารเลี้ยงเชื้อและการวัดความเข้มข้นของเอทานอลโดยใช้วิธีการออกซิเดชันไดโครเมต โดยพัฒนาการตรวจวัดโดยใช้ เครื่อง Microplate Photometer เมื่อวัดความเข้มข้นของเอทานอลจากอาหารเลี้ยงเชื้อความเข้มข้นสูงสุดที่ตรวจพบคือ 8 %v/v โดยใช้ 10 กรัมโพแทสเซียมไดโครเมต ใน 100 มิลลิลิตร 5 โมลต่อลิตรของกรดซัลฟิวริก

Lau and Luk (1994) ได้ทำการศึกษาวิธีที่ง่ายและรวดเร็วในการปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยอาศัยปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสีระหว่างเอทานอลและ Ce(IV) ในการเตรียมตัวอย่าง ทำได้โดยการกลั่นด้วยโลหะแอลคาไลและเมอร์คิวรีคลอไรด์เพื่อกำจัดสิ่งรบกวนในตัวอย่าง มีช่วงความเป็นเส้นตรงความเข้มข้นสูงกว่า 0.78 %v/v และผลการวิเคราะห์ที่ได้เปรียบเทียบกับ AOAC และวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี

Fletcher and Van Staden (2003) ได้ทำการศึกษาโดยเทคนิค sequential injection analysis method ใช้การตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรีที่ได้เคยพัฒนาการวิเคราะห์เอทานอลในตัวอย่างยาน้ำที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ประมาณ 60 - 90% กับน้ำมันหอมระเหย โดยใช้สารรีเอเจนต์คือ 0.2 โมลต่อลิตรโพแทสเซียมไดโครเมตและ 4 โมลต่อลิตรกรดซัลฟิวริก ปริมาณสารรีเอเจนต์ที่ใช้ปริมาตรน้อย 200 ไมโครลิตรต่อ 1 ตัวอย่าง มีช่วงความเป็นเส้นตรงความเข้มข้นสูงกว่า 6 %v/v (R^2= 0.9995) มีขีดจำกัดในการตัววัด 0.09 %v/v ในช่วงความเข้มข้น 1-6 %v/v มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า (n=10) 1% เวลาเฉลี่ยในการวิเคราะห์ตัวอย่าง 19 ตัวอย่างต่อ 1 ชั่วโมง

Sumbhate, Nayak, Goupale, Tiwari, and Jadon (2012) ได้ทำการศึกษาวิธีในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์โดยวิธีการเกิดปฏิกิริยาโดยตรงทำให้เกิดสีของเอทานอลกับโซเดียมไดโครเมต เตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์ ทำโดยนำตัวอย่างไหลผ่าน activated charcoal จากนั้นทำปฏิกิริยากับโซเดียมไดโครเมตความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1 นอร์มอล ปริมาตร 25 มิลลิลิตร และอะซิเตต บัฟเฟอร์ pH 4.3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดพบที่ 578 นาโนเมตร อิทธิพลของอะซิเตตบัฟเฟอร์ มีผลให้ เวลาการเกิดปฏิกิริยาและความไวในการตรวจวัดดี ขีดจำกัดในการตรวจวัด 0.6 mg/ml และ ขีดจำกัดในการวิเคราะห์ 1.9 mg/ml

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือและอุปกรณ์

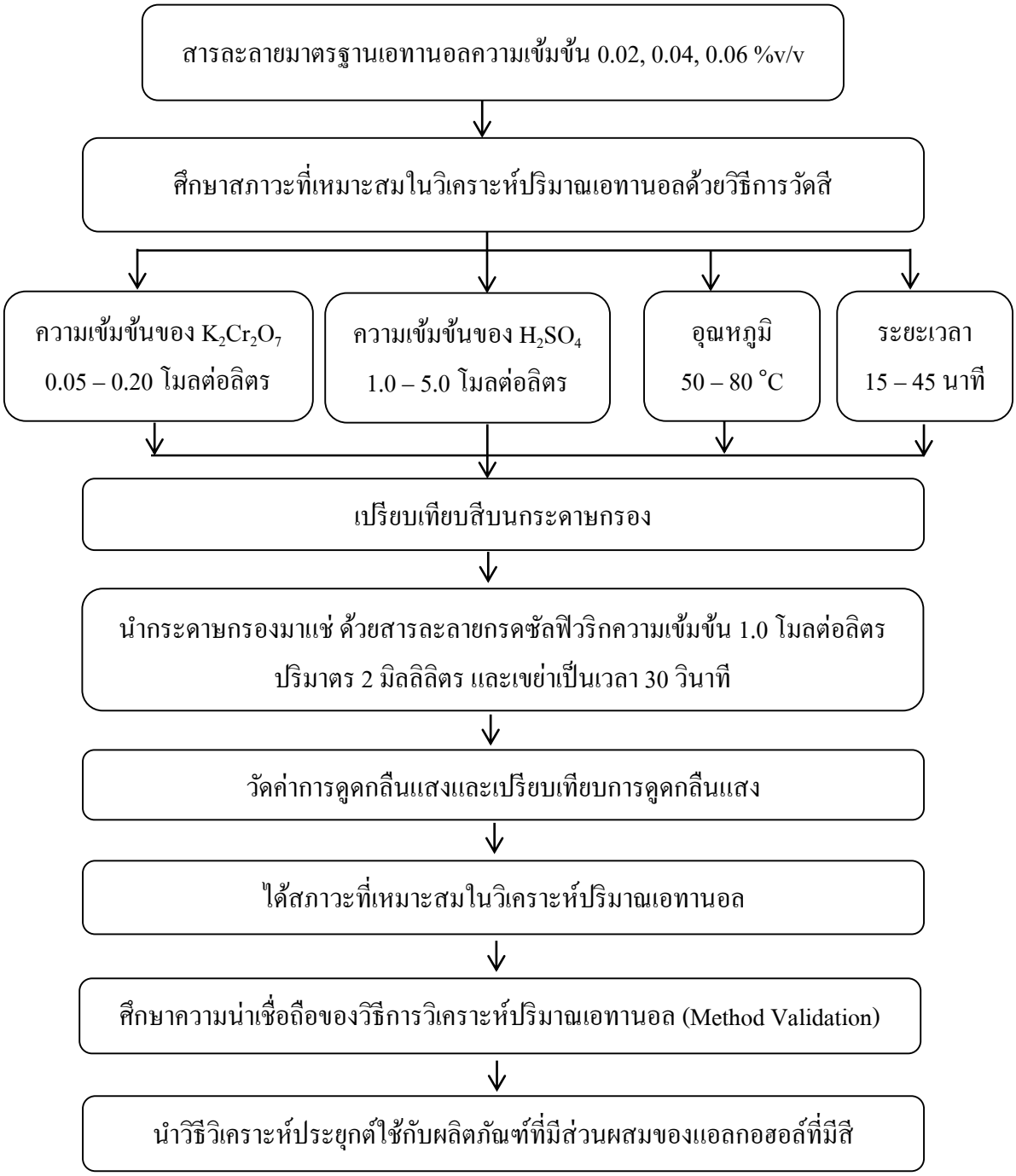
1. เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น 8453 บริษัท Hewlett Packard, U.S.A
2. เตาให้ความร้อน รุ่น M21/1 บริษัท Framo-Geratechnik, Norway
3. อ่างน้ำร้อน รุ่น CB –25 บริษัท Heto-Holten, Denmark
4. เครื่องกลั่นน้ำสองครั้ง บริษัท Hemilton, England
5. เครื่องทำน้ำปราศจากไอออน บริษัท Barnstead/Thermolyne, U.S.A
6. เครื่องชั่งแบบละเอียด รุ่น RC 250 S บริษัท Sartorius, Germany
7. เตาอบ รุ่น 1375 FX บริษัท Sheldon Manufacturing , U.S.A
8. เซลล์ใส่ตัวอย่าง ขนาด 1000 ไมโครลิตร ความกว้างทางเดินแสง 1 เซนติเมตร สำหรับเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ บริษัท Hellma, Germany
9. ไมโครปิเปต ขนาด 20, 300 และ1000 ไมโครลิตร บริษัท Therma Scientific, Finland
10. ขวดแก้วใส่ตัวอย่างพร้อมฝาขนาด 4 และ 30 มิลลิลิตร
11. เครื่องแก้ว

สารเคมี

1. เอทานอล Absolute (C_2H_5OH) 99.95% ความหนาแน่น 0.79 kg/L เกรด Analytical reagent บริษัท VWR Prolabo chemical, Ireland
2. โพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) (MW = 294.1846 g/mol) เกรด Analytical reagent บริษัท Merck, Germany
3. กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) 98 %w/w ความหนาแน่น 1.83 kg/L เกรด Analytical reagent บริษัท QRëC, New Zealand
4. กระดาษกรอง Glass microfiber filters เกรด GF/C ขนาด 25 มิลลิเมตร บริษัท Whatman, United Kingdom

แผนการดำเนินการวิจัย

แผนการดำเนินการวิจัยในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ ด้วยวิธีการวัดสี ดังภาพที่ 3-1



ภาพที่ 3-1 แผนการดำเนินการวิจัย

การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมสารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4)

1.1 ความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ตวงน้ำกลั่นลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตรปริมาตร 72.0 มิลลิลิตร ตวงกรดซัลฟิวริกเข้มข้น จำนวน 28.0 มิลลิลิตร เทลงในน้ำกลั่น คนสารละลายให้เข้ากัน

1.2 ความเข้มข้น 3.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ตวงน้ำกลั่นลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตรปริมาตร 83.0 มิลลิลิตร ตวงกรดซัลฟิวริกเข้มข้น จำนวน 17.0 มิลลิลิตร เทลงในน้ำกลั่น คนสารละลายให้เข้ากัน

1.3 ความเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ตวงน้ำกลั่นลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตรปริมาตร 96.0 มิลลิลิตร ตวงกรดซัลฟิวริกเข้มข้น จำนวน 4.0 มิลลิลิตร เทลงในน้ำกลั่น คนสารละลายให้เข้ากัน

2. การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$)

2.1 ความเข้มข้น 0.20 โมลต่อลิตร (Stock solution) ในกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร

ชั่งโพแทสเซียมไดโครเมต 1.47 กรัม ละลายในสารละลายกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร

2.2 ความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ในกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร

ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต (Stock solution) ปริมาตร12.50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร

2.3 ความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร ในกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร

ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ปริมาตร 12.50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอล (C_2H_5OH)

3.1 ความเข้มข้น 1 %v/v (Stock solution)

ปิเปตเอทานอลบริสุทธิ์ 99.95 % จำนวน 1.00 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.2 ความเข้มข้น 0.06 %v/v

ปิเปตสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้น 1 %v/v (Stock solution) จำนวน 6.00 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.3 ความเข้มข้น 0.04 %v/v

ปิเปตสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้น 1 %v/v (Stock solution) จำนวน 4.00 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

3.4 ความเข้มข้น 0.02 %v/v

ปิเปตสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้น 1 % v/v (Stock solution) จำนวน 2.00 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

วิธีการทดลอง

1. การเคลือบโพแทสเซียมไดโครเมตบนกระดาษกรอง

ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตในกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 120 ไมโครลิตร ใส่ลงบนกระดาษกรอง Glass microfiber filters ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร วางไว้ในอุณหภูมิห้องให้สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตซับบนกระดาษกรองทั่วทั้งแผ่น และแห้ง เก็บในภาชนะที่มีฝาปิด

2. การหาความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

2.1 สภาวะของเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2.1.1 ช่วงความยาวคลื่น : 190 – 1110 นาโนเมตร

2.1.2 ความกว้างของช่องแสง : 1 นาโนเมตร

2.1.3 เวลาอินทริเกรชัน : 0.5 วินาที

2.1.4 หลอดกำเนิดแสง : หลอดดิวเทอเรียม และหลอดทังสเตน

2.1.5 ตัวตรวจวัดสัญญาณ : ไดโอดอาร์เรย์ (Diode Array Detector)

2.2 การหาความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต (blank solution)

ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตรในกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00

มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นจากนั้นนำสารละลายที่ได้วัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2.3 การหาความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับเอทานอล

ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตรในกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายมาตรฐานเอทานอล (Absolute) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวัดสเปกตรัมการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวีวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยหาความยาวคลื่นที่มีค่าดูดกลืนแสงสูงสุด และนำความยาวคลื่นที่ได้ใช้ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

3.1 ศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

การศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล มีขั้นตอนดังนี้

3.1.1 นำกระดาษกรองที่เคลือบโพแทสเซียมไดโครเมตความเข้มข้น 0.20 โมลต่อลิตรในกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร ใส่ลงในฝาของขวดแก้วขนาด 30 มิลลิลิตร ดังภาพที่ 3-2

ภาพที่ 3-2 ฝาของขวดแก้วขนาด 30 มิลลิลิตร ที่มีกระดาษกรองที่เคลือบโพแทสเซียมไดโครเมต

3.1.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้น 0.02 %v/v 25.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดแก้วขนาด 30 มิลลิลิตร จำนวน 3 ขวด และนำฝาที่มีกระดาษกรองเคลือบโพแทสเซียมไดโครเมตความเข้มข้น 0.20 โมลต่อลิตร มาปิดขวดแก้ว

3.1.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้น 0.04 %v/v 25.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดแก้วขนาด 30 มิลลิลิตร จำนวน 3 ขวด และนำฝาที่มีกระดาษกรองเคลือบโพแทสเซียมไดโครเมตความเข้มข้น 0.20 โมลต่อลิตร มาปิดขวดแก้ว

3.1.4 ปิเปตสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้น 0.06 %v/v 25.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดแก้วขนาด 30 มิลลิลิตร จำนวน 3 ขวด และนำฝาที่มีกระดาษกรองเคลือบโพแทสเซียมไดโครเมตความเข้มข้น 0.20 โมลต่อลิตร มาปิดขวดแก้ว

3.1.5 นำขวดแก้วจากข้อ 3.1.2 – 3.1.4 ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ดังภาพที่ 3-3 สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีบนกระดาษกรอง และบันทึกผล

ภาพที่ 3-3 การให้ความร้อนสารละลายมาตรฐานเอทานอลปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยฝาขวดมีกระดาษกรองที่เคลือบโพแทสเซียมไดโครเมต

3.1.6 นำกระดาษกรองที่เกิดปฏิกิริยาแล้ว อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำกระดาษกรองที่อบแล้วใส่ลงในขวดแก้วขนาด 4 มิลลิลิตร แล้วปิเปตสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ปิดฝาและเขย่าเป็นเวลา 30 วินาที และใช้ปากคีบหยิบกระดาษกรองออกจากขวดแก้ว จากนั้นนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี – วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร บันทึกค่าการดูดกลืนแสง

3.1.7 ทำการทดลองซ้ำข้อ 3.1.1- 3.1.6 แต่เปลี่ยนกระดาษกรองที่เคลือบโพแทสเซียมไดโครเมตเป็นความเข้มข้น 0.05 และ 0.10 โมลต่อลิตรตามลำดับ

3.2 ศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

การศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ทำการทดลองซ้ำข้อ 3.1.1- 3.1.6 แต่เปลี่ยนกระดาษกรองที่เคลือบโพแทสเซียมไดโครเมตความเข้มข้น 0.20 โมลต่อลิตรในกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 1.0, 3.0 และ 5.0 โมลต่อลิตรตามลำดับ

3.3 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ทำการทดลองซ้ำข้อ 3.1.1- 3.1.6 โดยเปลี่ยนอุณหภูมิในข้อ 3.1.5 เป็นอุณหภูมิ 50, 65 และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

3.4 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ทำการทดลองซ้ำข้อ 3.1.1- 3.1.6 โดยเปลี่ยนเวลาในข้อ 3.1.5 เป็นเวลา 15, 30 และ 45 นาที ตามลำดับ

4. ศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล (Method Validation)

4.1 ความเป็นเส้นตรง(Linearity)

ทำการทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่ได้จากข้อ 3 โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้น 0.02 – 0.08 %v/v แต่ละความเข้มข้นทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี - วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง สร้างกราฟหาความสัมพันธ์เส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

4.2 ขีดจำกัดในการตรวจวัด (Limit of detection: LOD) และขีดจำกัดในการหาปริมาณ (Limit of quantification: LOQ)

ทำการทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่ได้จากข้อ 3 โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้น 0.01 – 0.07 %v/v แต่ละความเข้มข้นทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี - วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง สร้างกราฟมาตรฐาน ขีดจำกัดในการตรวจวัด (Limit of detection: LOD) และขีดจำกัดในการหาปริมาณ (Limit of quantification: LOQ) คำนวณได้จากสูตร

$$LOD = \frac{3SD_{slope} - y_{intercept}}{slope}$$

$$LOQ = \frac{3SD_{slope} - y_{intercept}}{slope}$$

4.3 การสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve)

ทำการทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่ได้จากข้อ 3 โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้น 0.02 – 0.08 %v/v แต่ละความเข้มข้นทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี - วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง นำผลการวิเคราะห์พลอตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอทานอลกับค่าการดูดกลืนแสง เพื่อนำสมการที่ได้คำนวณหาความเข้มข้นของเอทานอลที่มีในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์

4.4 การศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision)

ทำการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่ 2 ความเข้มข้น ในช่วงความเป็นเส้นตรง คือ 0.03 %v/v และ 0.06 %v/v ทำการทดสอบการทำซ้ำ โดยวิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้ง ของแต่ละความเข้มข้นในวันเดียว (repeatability) และ ระหว่างวัน (intermediate precision) โดยวิเคราะห์ซ้ำ 5 ครั้ง ของแต่ละความเข้มข้นจากนั้นคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)

4.5. การศึกษาความแม่นในการวิเคราะห์ (Accuracy)

ศึกษาความแม่นในการวิเคราะห์จากร้อยละการได้กลับคืน (% recovery) โดยเติมสารละลายมาตรฐานเอทานอล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ลงในตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์ด้วยสภาวะที่เหมาะสม แต่ละตัวอย่างวิเคราะห์ 3 ความเข้มข้น แต่ละความเข้มข้นวิเคราะห์ 3 ครั้ง คำนวณหาความเข้มข้นของเอทานอลที่มีในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์และนำความเข้มข้นที่หาได้คำนวณร้อยละการได้กลับคืน (% recovery) จากสูตร

$$\%\ \text{recovery} = \frac{(\text{ความเข้มข้นหลังเติมสารมาตรฐาน}) - (\text{ความเข้มข้นก่อนเติมสารมาตรฐาน})}{\text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

5. การหาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ที่มีสี ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้แก่ ไวน์แดง ไวน์ขาว เบียร์ ยาแก้ไอ ยาละลายเสมหะ ยาดองเหล้า และ ยาธาตุน้ำแดง โดยทำการศึกษาภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล เปรียบเทียบค่าที่ได้จากค่าที่ระบุในฉลากบรรจุภัณฑ์ โดยทดสอบ t - test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% สามารถคำนวณค่า t ได้จากสูตร

$$t = \frac{\overline{X} - \mu_0}{S/\sqrt{N}}$$

เมื่อ $\overline{X}$ คือ ค่าเฉลี่ยของปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์

μ_0 คือ ค่าปริมาณเอทานอลที่ระบุในฉลากบรรจุภัณฑ์

S คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

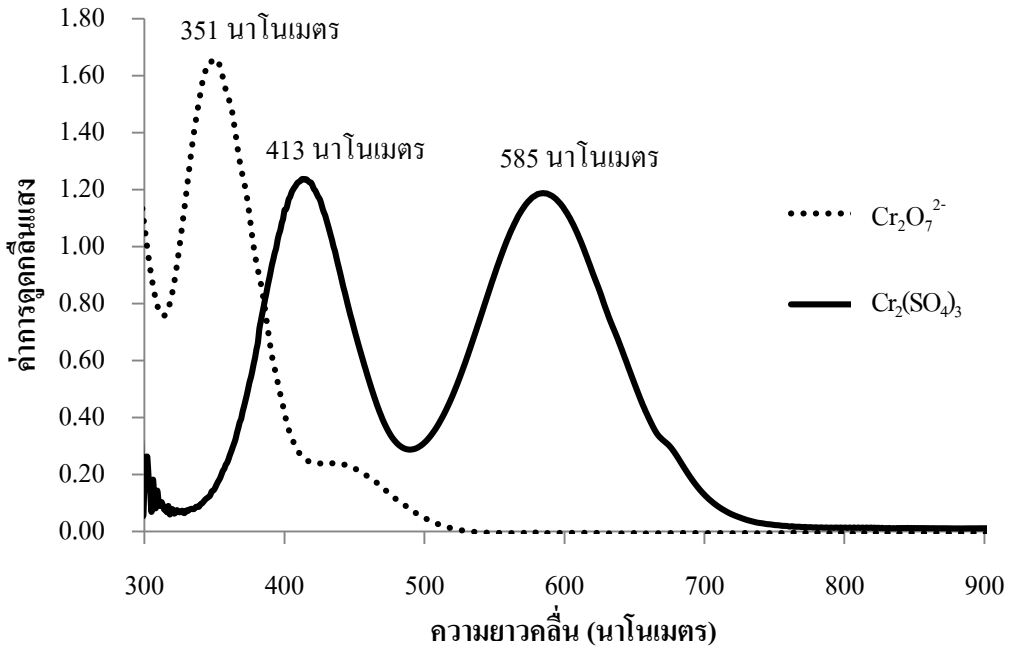
N คือ จำนวนครั้งที่ทำการทดลอง

บทที่ 4
ผลการวิจัย

การศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ด้วยวิธีการวัดสี (Colorimetric Method) โดยทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพการวิเคราะห์ที่ดีที่สุด และนำวิธีวิเคราะห์นี้ไปประยุกต์กับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ ได้ผลการทดลองดังนี้

4.1 ผลการหาความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

การศึกษาการหาความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยปิเปตสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตรในกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานเอทานอล (Absolute) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี -วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยหาความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงสูงสุด และนำความยาวคลื่นที่ได้วัดค่าการดูดกลืนแสงใช้ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล พบว่า สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต (Cr(VI)) ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 351 นาโนเมตร และสารละลายโครเมียมซัลเฟต(Cr(III)) ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 413 และ 585 นาโนเมตร พบว่าที่ความยาวคลื่น 413 นาโนเมตร มีการดูดกลืนแสงของ Cr(VI) ร่วมด้วยดังภาพที่ 4-1 ดังนั้นจึงเลือกที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร เป็นสภาวะที่เหมาะสมโดยเกิดเป็นสารสารละลายโครเมียมซัลเฟต (Cr(III))



ภาพที่ 4-1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต (Cr(VI)) และสารละลายโครเมียมซัลเฟต (Cr(III))

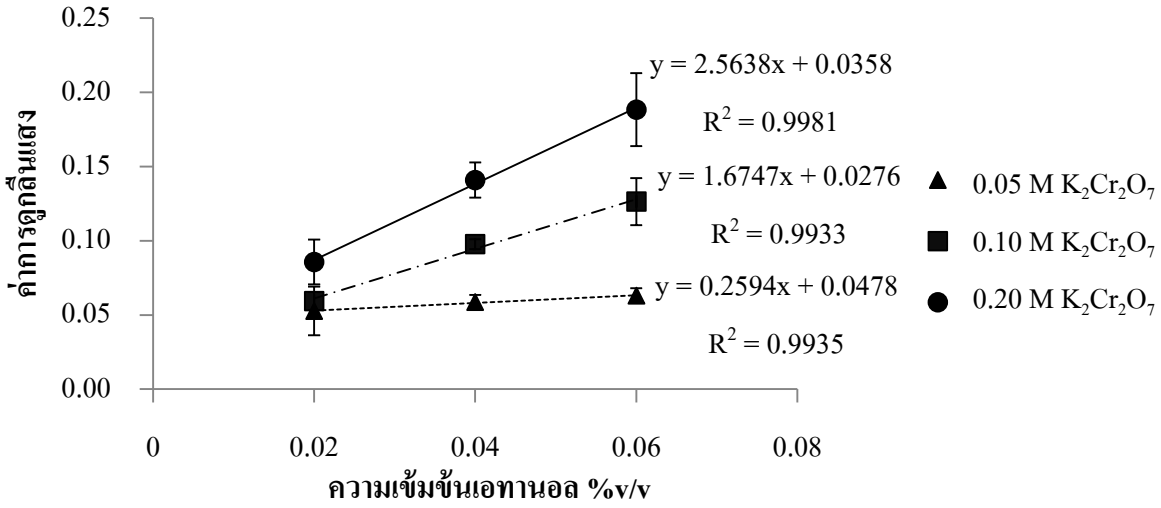
4.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ด้วยวิธีการวัดสี

4.2.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ด้วยวิธีการวัดสี

การศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ทำการศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.05 , 0.10 และ 0.20 โมลต่อลิตรตามลำดับ โดยผลการเปลี่ยนแปลงของสีบนกระดาษกรองแสดงดังตารางที่ 4-1 และภาพที่ ก-1, ก-2, ก-3 ในภาคผนวก และกราฟความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอลดังภาพที่ 4-2 พบว่า ที่ความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร ให้สมการเส้นตรง $y = 0.2594x + 0.0478$ ที่ความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร ให้สมการเส้นตรง $y = 1.6747x + 0.0276$ และที่ความเข้มข้น 0.20 โมลต่อลิตร ให้สมการเส้นตรง $y = 2.5638x + 0.0358$ จากผลการศึกษาดังกล่าว ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล คือ ที่ความเข้มข้น 0.20 โมลต่อลิตร

ตารางที่ 4-1 การเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองในการศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

ความเข้มข้นโพแทสเซียมไดโครเมต (โมลต่อลิตร)	ความเข้มข้นเอทานอล (%v/v)	สีและลักษณะของกระดาษกรอง
0.05	0.02	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองมีสีฟ้าจาง
	0.04	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองมีสีฟ้าอ่อน
	0.06	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองมีสีฟ้าอ่อน
0.10	0.02	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีฟ้าจาง
	0.04	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีฟ้าอ่อน
	0.06	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีฟ้าอ่อน
0.20	0.02	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองมีสีฟ้าเล็กน้อย
	0.04	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีเขียวฟ้าอ่อน
	0.06	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีเขียวฟ้าเข้ม



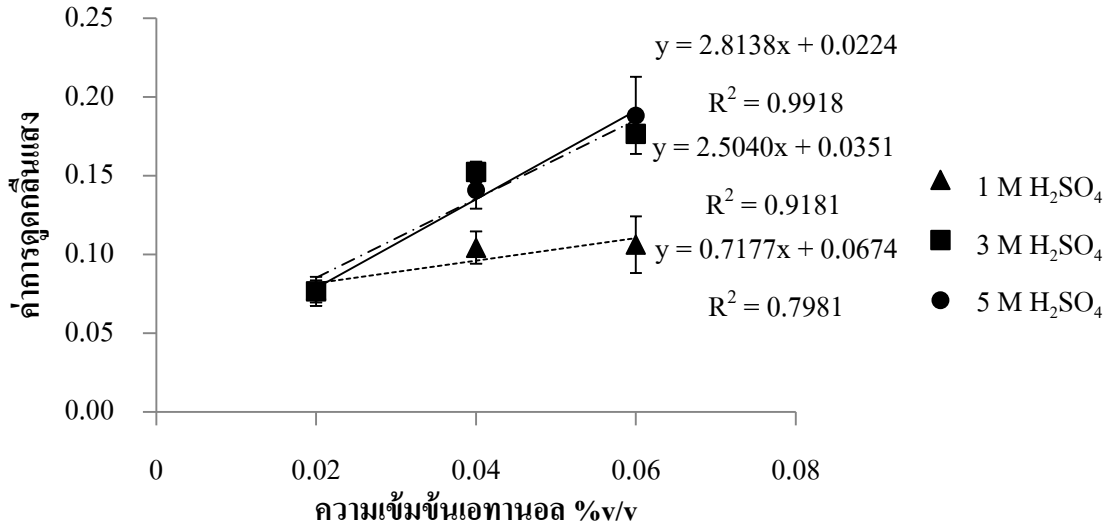
ภาพที่ 4-2 ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอลในการศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต

4.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยวิธีการวัดสี

การศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ทำการศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 1.0 , 3.0 และ 5.0 โมลต่อลิตรตามลำดับ โดยผลการเปลี่ยนแปลงของสีบนกระดาษกรองแสดงดังตารางที่ 4-2 และภาพที่ ก-4, ก-5, ก-6 ในภาคผนวก และกราฟความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอล ดังภาพที่ 4-3 พบว่าที่ความเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร ให้สมการเส้นตรง $y = 0.7177x + 0.0674$ ที่ความเข้มข้น 3.0 โมลต่อลิตร ให้สมการเส้นตรง $y = 2.5040x + 0.0351$ และที่ความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร ให้สมการเส้นตรง $y = 2.8138x + 0.0224$ จากผลการศึกษาดังกล่าว ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล คือ ที่ความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร

ตารางที่ 4-2 การเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองในการศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริก (โมลต่อลิตร)	ความเข้มข้นเอทานอล (%v/v)	สีและลักษณะของกระดาษกรอง
1.0	0.02	สีเหลืองส้ม
	0.04	สีเหลืองส้ม
	0.06	สีเหลืองส้ม
3.0	0.02	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองมีสีเหลืองเข้มเล็กน้อย
	0.04	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีสีเหลืองเข้ม
	0.06	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีเขียวฟ้าเล็กน้อย
5.0	0.02	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองมีสีฟ้าเล็กน้อย
	0.04	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีเขียวฟ้าอ่อน
	0.06	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีเขียวฟ้าเข้ม



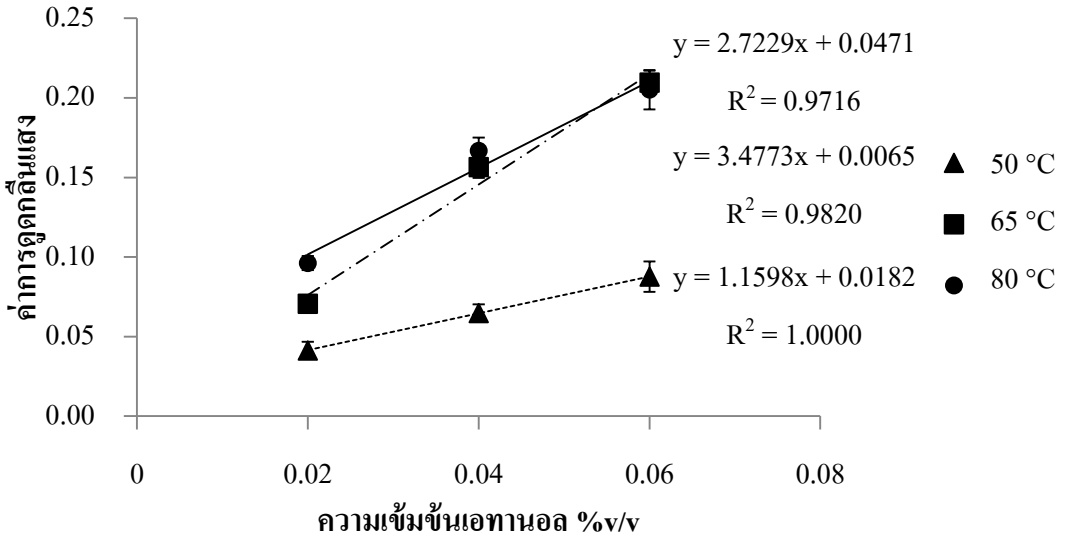
ภาพที่ 4-3 ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอลในการศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก

4.2.3 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ด้วยวิธีการวัดสี

การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ทำการศึกษาที่อุณหภูมิ 50, 65 และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยผลการเปลี่ยนแปลงของสีบนกระดาษกรองแสดงดังตารางที่ 4-3 และภาพที่ ก-7, ก-8 ,ก-9 ในภาคผนวก และกราฟความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอล ดังภาพที่ 4-4 พบว่า ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ให้สมการเส้นตรง $y = 1.1598x + 0.0182$ ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ให้สมการเส้นตรง $y = 3.4773x + 0.0065$ และที่อุณหภูมิ 80 องศา-เซลเซียส ให้สมการเส้นตรง $y = 2.7229x + 0.0471$ จากผลการศึกษาดังกล่าว อุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล คือ ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4-3 การเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองในการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเข้มข้นเอทานอล (%v/v)	สีและลักษณะของกระดาษกรอง
50	0.02	สีเหลืองส้ม
	0.04	สีเหลืองส้ม
	0.06	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองมีสีเหลืองเข้มเล็กน้อย
65	0.02	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองมีสีฟ้าเล็กน้อย
	0.04	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีเขียวฟ้าอ่อน
	0.06	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีเขียวฟ้าเข้ม
80	0.02	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองมีสีฟ้าเล็กน้อย กระดาษกรองเปื่อยยุ่ย
	0.04	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีฟ้า กระดาษกรองเปื่อยยุ่ย
	0.06	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีฟ้าเข้มกระดาษกรองเปื่อยยุ่ย



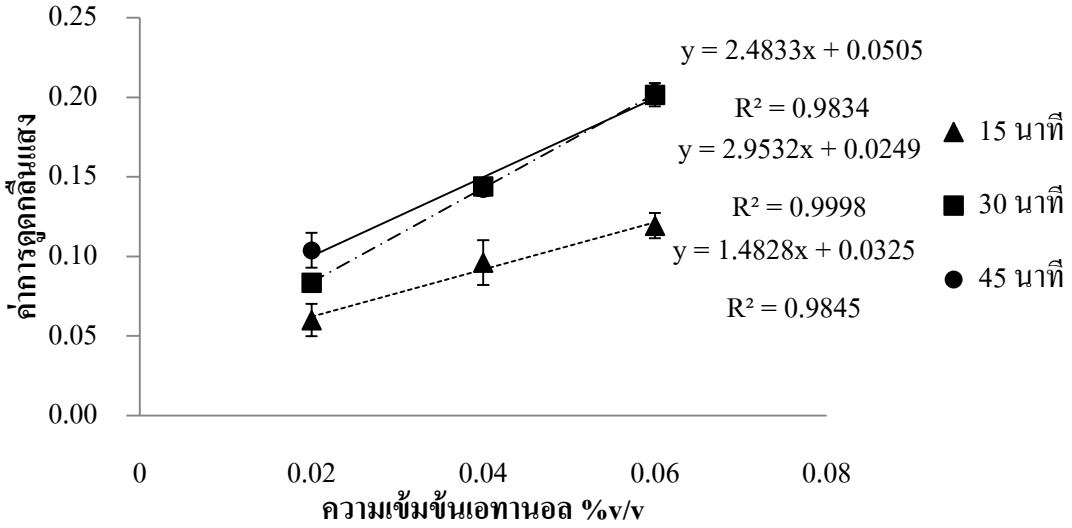
ภาพที่ 4-4 ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอลในการศึกษาอุณหภูมิ

4.2.4 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ด้วยวิธีการวัดสี

การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ทำการศึกษาที่ระยะเวลา 15, 30 และ 45 นาที ตามลำดับ โดยผลการเปลี่ยนแปลงของสีบนกระดาษกรองแสดงดังตารางที่ 4-4 และภาพที่ ก-10, ก-11, ก-12 ในภาคผนวก และกราฟความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอล ดังภาพที่ 4-5 พบว่าที่ระยะเวลา 15 นาที ให้สมการเส้นตรง $y = 1.4828x + 0.0325$ ที่ระยะเวลา 30นาที ให้สมการเส้นตรง $y = 2.9532x + 0.0249$ และที่ระยะเวลา 45 นาที ให้สมการเส้นตรง $y = 2.4833x + 0.0505$ จากผลการศึกษาดังกล่าว ระยะเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล คือ 30 นาที

ตารางที่ 4-4 การเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองในการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

เวลา (นาที)	ความเข้มข้นเอทานอล (%v/v)	สีและลักษณะของกระดาษกรอง
15	0.02	สีเหลืองส้ม
	0.04	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองมีสีเหลืองเข้มเล็กน้อย
	0.06	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีเขียวฟ้าอ่อน
30	0.02	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองมีสีเหลืองเข้มเล็กน้อย
	0.04	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีเขียวฟ้าอ่อน
	0.06	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีเขียวฟ้าเข้ม
45	0.02	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองมีสีเหลืองเข้มเล็กน้อย
	0.04	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีเขียวฟ้าอ่อน
	0.06	บริเวณตรงกลางของกระดาษกรองสีเขียวฟ้าเข้ม



ภาพที่ 4-5 ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอลในการศึกษาระยะเวลา

4.3 ศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล (Method Validation)

การศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ได้ทำการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง โดยทำการศึกษาในช่วงความเข้มข้นของเอทานอล 0.02 - 0.08 %v/v การหาค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดในการหาปริมาณ (LOQ) ความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision) รายงานในเทอมของร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) แสดงดังตารางที่ 4-5

ตารางที่ 4-5 ศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล (Method Validation)

	ผลที่ได้
ช่วงความเป็นเส้นตรง	$y = 2.1575x + 0.118$ $R^2 = 0.9924$
ขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD)	0.12 %v/v
ขีดจำกัดการหาปริมาณ (LOQ)	0.43 %v/v
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) (n = 15)	
- ที่ความเข้มข้น 0.03 %v/v	2.27
- ที่ความเข้มข้น 0.06 %v/v	1.89
ร้อยละการได้กลับคืน (% recovery)	40.58- 70.02 %

4.4 การหาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์

ในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์จำนวน 10 ตัวอย่าง ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4-6 เปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์กับค่าที่ระบุไว้บนฉลากบรรจุภัณฑ์ พบว่า ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ 4 ชนิด คือ ยาแก้ไอชนิดที่ 2 ไวน์แดงชนิดที่ 1 ไวน์ขาว และเบียร์ มีผลทดสอบ t - test พบว่ามีค่าที่ไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และตัวอย่างผลิตภัณฑ์ 6 ชนิดคือ ยาแก้ไอชนิดที่ 1 ยาแก้ไอชนิดที่ 3 ยาละลายเสมหะ ยาดองเหล้า ยาธาตุน้ำแดง ไวน์แดงชนิดที่ 2 มีผลทดสอบ t - test พบว่ามีค่าที่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (หมายเหตุ $t_{crit} = 4.30$, d.f = 2)

ตารางที่ 4-6 ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์เปรียบเทียบกับค่าที่ระบุไว้บนฉลากบรรจุภัณฑ์

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์	ลักษณะตัวอย่าง	ปริมาณเอทานอล %v/v		t_{stat}	t_{crit}
		วิเคราะห์ได้จาก	ฉลากบรรจุภัณฑ์		
ยาแก้ไอชนิดที่ 1	ของเหลวใส สีม่วง	2.22	2.40[a]	5.18	4.30
ยาแก้ไอชนิดที่ 2	ของเหลวใส สีชมพู	4.80	5.00[a]	2.06	4.30
ยาแก้ไอชนิดที่ 3	ของเหลว สีน้ำตาลเข้ม มีตะกอนแขวนลอย	11.98	3.00[a]	68.63	4.30
ยาละลายเสมหะ	ของเหลวใสหนืด สีส้ม	1.58	2.80[a]	30.65	4.30
ยาดองเหล้า	ของเหลว สีน้ำตาลแดง มีตะกอนแขวนลอย	25.10	13.75[a]	19.91	4.30
ยาธาตุน้ำแดง	ของเหลว สีน้ำตาลเข้ม มีตะกอนแขวนลอย	3.05	6.65[a]	44.39	4.30
ไวน์แดงชนิดที่ 1	ของเหลวใส สีแดง	4.77	5.00[b]	2.40	4.30
ไวน์แดงชนิดที่ 2	ของเหลว สีแดงเข้ม	6.61	11.50[b]	8.09	4.30
ไวน์ขาว	ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน	4.88	5.00[b]	1.60	4.30
เบียร์	ของเหลวใส สีเหลืองอ่อน	5.05	5.80[b]	2.43	4.30

หมายเหตุ a ปริมาณเอทานอลในยาที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ มีหน่วยเป็น %v/v

b ปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ มีหน่วยเป็น % Alc/vol

บทที่ 5
สรุปผลและอภิปรายผล

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ด้วยวิธีการวัดสี โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสม และความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ได้ผลแสดงดังตารางที่ 5-1 และนำวิธีวิเคราะห์นี้ไปประยุกต์กับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ของผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์จำนวน 10 ตัวอย่าง 7 ชนิดได้แก่ ยาแก้ไอ ยาละลายเสมหะ ยาดองเหล้า ยาธาตุน้ำแดง ไวน์แดง ไวน์ขาว และเบียร์

ตารางที่ 5-1 สภาวะที่เหมาะสม และความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

	สภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์
ความยาวคลื่นที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด	585 นาโนเมตร
ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต	0.20 โมลต่อลิตร
ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก	5.0 โมลต่อลิตร
อุณหภูมิ	65 องศาเซลเซียส
ระยะเวลา	30 นาที
	ผลความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์
ช่วงความเป็นเส้นตรง	$y = 2.1575x + 0.118$ $R^2 = 0.9924$
ขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD)	0.12 %v/v
ขีดจำกัดการหาปริมาณ (LOQ)	0.43 %v/v
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) (n = 15)	
- ที่ความเข้มข้น 0.03 %v/v	2.27
- ที่ความเข้มข้น 0.06 %v/v	1.89
ร้อยละการได้กลับคืน (% recovery)	40.58- 70.02 %

อภิปรายผลการวิจัย

5.1 การศึกษาความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

จากผลการศึกษาพบว่า เมื่อเอทานอลทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมไดโครเมต จะเกิดสารสีน้ำเงินเขียวของโครเมียมซัลเฟต (William C. Timmer, 1986) ดังสมการ

$$2K_2Cr_2O_7 + 8H_2SO_4 + 3CH_3CH_2OH \longrightarrow 2Cr(SO_4)_3 + 2K_2SO_4 + 3CH_3COOH + 11H_2O$$

สีส้มเหลือง สีน้ำเงินเขียว

สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต (Cr(VI)) ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 351 นาโนเมตร และสารละลายโครเมียมซัลเฟต (Cr(III)) ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 413 และ 585 นาโนเมตร พบว่าในช่วงความยาวคลื่น 413 นาโนเมตร มีการดูดกลืนแสงของ Cr(VI) ร่วมด้วย ดังนั้นจึงเลือกความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร เป็นความยาวคลื่นสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโครเมียมซัลเฟต (Cr(III)) ที่เกิดขึ้น ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Sumbhate, Nayak, Goupale, Tiwari and Jadon (2012) ที่รายงานความยาวคลื่นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 578 นาโนเมตร (λ_{max})

5.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ด้วยวิธีการวัดสี

5.2.1 การศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยวิธีการวัดสี

จากการศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลเบื้องต้น เมื่อใช้ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตน้อยกว่า 0.05 โมลต่อลิตร เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่ความเข้มข้น 0.02 - 0.06 %v/v พบว่าโครเมียมบนกระดาษกรองถูกรีดิวซ์หมดโดยสังเกตจากการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองเป็นสีฟ้าอ่อนเหมือนกันทุกความเข้มข้นของเอทานอลในช่วง 0.02 – 0.06 % v/v และเมื่อใช้ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตมากกว่า 0.20 โมลต่อลิตร วิเคราะห์ปริมาณเอทานอล พบว่าสีของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เคลือบบนกระดาษกรองมีสีส้มเข้ม และเมื่อทำปฏิกิริยากับเอทานอลแล้วจะทำให้สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีของกระดาษกรองจากสีส้มเหลืองเป็นสีน้ำเงินเขียวไม่ชัดเจน ดังนั้นจึงเลือกช่วงความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่ศึกษาคือ 0.05 - 0.20 โมลต่อลิตร และได้สภาวะที่เหมาะสมของความเข้มข้นโพแทสเซียมไดโครเมต คือ 0.20 โมลต่อลิตร เนื่องจากเมื่อวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองอย่างชัดเจน คือ สีของกระดาษกรองที่วิเคราะห์ที่ความเข้มข้นของเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v มีสีฟ้าเล็กน้อย สีเขียวฟ้าอ่อน และสีเขียวฟ้าเข้มตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาสภาพไวของการวิเคราะห์

จากความชันของกราฟความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอล คือ ที่ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.05, 0.10 และ 0.20 โมลต่อลิตร มีความชันของกราฟ 0.2594, 1.6747 และ 2.5638 ตามลำดับ พบว่าที่ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตร มีความชันสูงที่สุด

5.2.2 ศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยวิธีการวัดสี

เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างโพแทสเซียมไดโครเมตกับเอทานอล เกิดขึ้นได้ดีในสภาวะกรด จึงทำการศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก จากการศึกษางานวิจัยพบว่า ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา มีความเข้มข้น 4.0 โมลต่อลิตร (Philip J. Fletcher & Jacobus F. van Staden, 2003) และ ความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร (Hyun-Beom Seo et al., 2009) และในการศึกษาครั้งนี้เมื่อความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกมากกว่า 5.0 โมลต่อลิตร พบว่ากระดาษกรองที่ใช้ในการวิเคราะห์ เปื่อย ยุ่ย และเมื่อนำกระดาษกรองที่ทำปฏิกิริยาแล้วไปแช่ในสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร สารละลายที่ได้ขุ่น ทำให้ไม่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ จึงเลือกช่วงความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่ศึกษาคือ 1.0 - 5.0 โมลต่อลิตร และได้สภาวะที่เหมาะสมของความเข้มข้นกรดซัลฟิวริก คือ 5.0 โมลต่อลิตร เนื่องจากเมื่อวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองอย่างชัดเจน กล่าวคือ สีของกระดาษกรองที่วิเคราะห์ที่ความเข้มข้นของเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v มีสีฟ้าเล็กน้อย สีเขียวฟ้าอ่อน และสีเขียวฟ้าเข้มตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาสภาพไวของการวิเคราะห์จากความชันของกราฟความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอลกล่าวคือ ที่ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 1.0, 3.0 และ 5.0 โมลต่อลิตร มีความชันของกราฟ 0.7177, 2.5040 และ 2.8138 ตามลำดับ พบว่าที่ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร มีความชันสูงที่สุด

5.2.3 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ด้วยวิธีการวัดสี

เนื่องจากอุณหภูมิมีผลต่ออัตราการระเหยของเอทานอล จึงทำการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า เอทานอลมีจุดเดือดที่อุณหภูมิ 78.32 องศาเซลเซียส เมื่อใช้อุณหภูมิต่ำกว่า 50 องศาเซลเซียส ในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่ความเข้มข้น 0.02 - 0.06 %v/v พบว่าเอทานอลระเหยไปทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมไดโครเมตที่เคลือบบนกระดาษกรองได้น้อย โดยสังเกตจากการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองจากสีเหลืองส้มเป็นสีเหลืองส้มเข้ม และเมื่อใช้อุณหภูมิมากกว่า 80 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ปริมาณเอทานอล พบว่าไอน้ำจากอ่างน้ำร้อนจำนวนมากที่เกิดจากการให้ความร้อน ละลายโพแทสเซียมไดโครเมตที่เคลือบบนกระดาษกรอง โดยสังเกตจากสีของสารละลายมาตรฐานเอทานอลที่อยู่ภายใน

ขวดจากใสไม่มีสีเป็นสีเหลืองส้ม และเกิดแรงดันไอน้ำภายในขวดทำให้กระดาษกรองขาด ทำให้เอทานอลระเหยออกมาภายนอกผ่านกระดาษกรองที่ขาด ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลได้ ดังนั้นจึงเลือกช่วงอุณหภูมิที่ศึกษาคือ 50 - 80 องศาเซลเซียส และได้สภาวะที่เหมาะสมของอุณหภูมิในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล คือ 65 องศาเซลเซียส เนื่องจากเมื่อวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลสามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองอย่างชัดเจน กล่าวคือ สีของกระดาษกรองที่วิเคราะห์ที่ความเข้มข้นของเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v มีสีฟ้าเล็กน้อย สีเขียวฟ้าอ่อน และสีเขียวฟ้าเข้มตามลำดับ เมื่อพิจารณาสภาพไวของการวิเคราะห์จากความชันของกราฟความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอลกล่าวคือ ที่อุณหภูมิ 50, 65 และ 80 องศาเซลเซียส มีความชันของกราฟ 1.1598, 3.4773 และ 2.7229 ตามลำดับ พบว่าที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส มีความชันสูงที่สุด

5.2.4 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ด้วยวิธีการวัดสี

เนื่องจากระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของเอทานอลกับโพแทสเซียมไดโครเมตมีผลต่อปริมาณโครเมียมซัลเฟตที่เกิดขึ้น ดังนั้นจึงทำการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า เมื่อใช้ระยะเวลาน้อยกว่า 15 นาที พบว่าเอทานอลระเหยไปทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมไดโครเมตที่เคลือบบนกระดาษกรองได้น้อย โดยสังเกตจากการเปลี่ยนแปลงของสีของกระดาษกรองจากสีเหลืองส้มเป็นสีเหลืองส้มเข้ม และเมื่อใช้ระยะเวลาที่มากกว่า 45 นาที พบว่าสีของกระดาษกรองที่วิเคราะห์ที่ความเข้มข้นของเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v ไม่แตกต่างจากสีของกระดาษกรองระยะเวลา 45 นาที ดังนั้นจึงเลือกช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่ศึกษาคือ 15 - 45 นาที และได้สภาวะที่เหมาะสมของระยะเวลา คือ 30 นาที เนื่องจากเมื่อวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของกระดาษกรองอย่างชัดเจน กล่าวคือ สีของกระดาษกรองที่วิเคราะห์ที่ความเข้มข้นของเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v มีสีฟ้าเล็กน้อย สีเขียวฟ้าอ่อน และสีเขียวฟ้าเข้มตามลำดับ เมื่อพิจารณาสภาพไวของการวิเคราะห์โดยพิจารณาได้จากความชันของกราฟความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอลกล่าวคือ ระยะเวลา 15, 30 และ 45 นาที มีความชันของกราฟ 1.4828, 2.9532 และ 2.4833 ตามลำดับ พบว่าที่ระยะเวลา 30 นาที มีความชันสูงที่สุด

5.3 การหาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์

การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์จำนวน 10 ตัวอย่าง 7 ชนิด ได้แก่ ยาแก้ไอ ยาละลายเสมหะ ยาดองเหล้า ยาธาตุน้ำแดง ไวน์แดง ไวน์ขาว และเบียร์ เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลกับค่าที่ระบุไว้บนฉลากบรรจุภัณฑ์

ดังตารางที่ 4-6 พบว่าตัวอย่างผลิตภัณฑ์ 4 ชนิด คือ ยาแก้ไอชนิดที่ 2 ไวน์แดงชนิดที่ 1 ไวน์ขาว และเบียร์ มีค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 จากค่าที่ระบุไว้บนฉลากบรรจุภัณฑ์ และตัวอย่างผลิตภัณฑ์ 6 ชนิดคือ ยาแก้ไอชนิดที่ 1 ยาแก้ไอชนิดที่ 3 ยาละลายเสมหะ ยาดองเหล้า ยาธาตุน้ำแดง ไวน์แดงชนิดที่ 2 พบว่ามีค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 จากค่าที่ระบุไว้บนฉลากบรรจุภัณฑ์

สำหรับตัวอย่างที่ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลน้อยกว่าค่าที่ระบุไว้บนฉลากบรรจุภัณฑ์ได้แก่ ยาแก้ไอชนิดที่ 1 ยาละลายเสมหะ และไวน์แดงชนิดที่ 2 มีลักษณะเป็นของเหลวหนืด และยาธาตุน้ำแดงมีลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาลเข้มและมีตะกอนแขวนลอย จากลักษณะของตัวอย่างทั้ง 4 ชนิด คือ มีความหนืดและมีตะกอนแขวนลอย ทำให้การระเหยเอทานอลกลายเป็นไอได้ยากขึ้น มีผลทำให้ปริมาณเอทานอลที่วิเคราะห์ได้น้อยกว่าที่ระบุไว้บนฉลากผลิตภัณฑ์

สำหรับตัวอย่างที่ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลมากกว่าค่าที่ระบุไว้บนฉลากบรรจุภัณฑ์ได้แก่ ยาแก้ไอชนิดที่ 3 และยาดองเหล้า มีส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ที่เป็นสมุนไพรและสารอินทรีย์ ในผลิตภัณฑ์จำนวนมาก เช่น สารสกัดจากชะเอมเทศ (Glycyrrhiza fluidextract) ทิงเจอร์ฝิ่นการบูร (Camphorated Opium Tincture) เป็นต้น สมุนไพรและสารอินทรีย์ในตัวอย่างสามารถระเหยและทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมไดโครเมตเกิดเป็นโครเมียมซัลเฟต จึงทำให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลมีค่ามากกว่าที่ระบุไว้บนฉลากบรรจุภัณฑ์

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์ที่มีสี พบว่าสีของตัวอย่างไม่รบกวนการวิเคราะห์ เนื่องจากสีที่อยู่ในตัวอย่างเป็นสารเติมแต่งระเหยได้ยาก จึงไม่ระเหยไปทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมไดโครเมตที่อยู่บนกระดาษกรอง ซึ่งสอดคล้องผลการทดลองที่สังเกตพบว่าสีของสารละลายตัวอย่างก่อนและหลังการวิเคราะห์สีไม่เปลี่ยนแปลง

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล เช่น ทำการวิเคราะห์ได้รวดเร็วยิ่งขึ้นโดยวิธีการใช้คลื่นไมโครเวฟ หรือ คลื่นอัลตราโซนิก ช่วยในการระเหยเอทานอล

2. ควรทำการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยวิธีวิเคราะห์อื่นๆและเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ของแต่ละวิธีวิเคราะห์ เช่น เทคนิคแก๊สโครมาโทรกราฟี

บรรณานุกรม

กมลวรรณ โรจน์สุนทรกิตติ, รักษ์ ด่านดำรงรักษ์ และจันทิมา ทิมเครือจีน. (2549).การประเมินประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยเครื่อง Ebulliometer.*วารสารเกษตรนเรศวร*,*9*(1), 1-11.

เกษร พะลัง และสุนันท์ ชัยนะกุล. (2551). *เคมีอินทรีย์.* กรุงเทพฯ:สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ขวัญใจ กนกเมธากุล. (2554). *เคมีอินทรีย์เบื้องต้น*. ขอนแก่น:ขอนแก่นการพิมพ์.

ประภาพรรณ เตชะเสาวภาคย์ และสรวงสุดา สุประภากร. (2539). การวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์โดยเทคนิคเฮดสเปส. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา,4* (2), 19-29.

วรินดา แก้วมณีวงษ์. (2556). *การพัฒนาวิธีการหาปริมาณโครเมียมโดยใช้ตัวทำละลายปริมาณน้อย.* วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเคมี, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา

รัตนาภรณ์ กิจเชื้อ, ขนิษฐา เทนอิสสระ, ธนะชัย ถิรศิลาเวทย์ และสุธัญลักษณ์ คณาศรี.(2555). *พฤติกรรมการบริโภคแอลกอฮอล์ ผลกระทบจากการดื่ม และคุณภาพชีวิตของนิสิตมหาวิทยาลัยมหาสารคาม.* ปัญหาพิเศษ, คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

สุภาวดี ดาวดี, จินดา หวังบุญสกุล และกนกวรรณ จารุกำจร (2542).การหาปริมาณและชนิดแอลกอฮอล์ในยาธาตุน้ำแดงและยาขับลม โดยวิธีแกสโครมาโทกราฟีร่วมกับแมสสเปคโตรเมตรี.*วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 4*(2).

สำลี ใจดี, สงกรานต์ ภาคโชคดี และนิยดา เกียรติยิ่งอังศุลี (2558). *ความรู้ทั่วไปของยา*. เข้าถึงได้จาก http://www.healthcarethai.com/%E0%B8%84%E0%B8%A7%E0%B8%B2%E0%B8%A1%E0%B8%A3%E0%B8%B9%E0%B9%89%E0%B8%97%E0%B8%B1%E0%B9%88%E0%B8%A7%E0%B9%84%E0%B8%9B%E0%B9%80%E0%B8%A3%E0%B8%B7%E0%B9%88%E0%B8%AD%E0%B8%87%E0%B8%A2%E0%B8%B2/

องค์กรสุรา กรมสรรพสามิต กระทรวงการคลัง.(2555). *เอทานอล*. เข้าถึงได้จาก http://www.liquor.or.th/liquor/fileupload/Ethanol.pdf.

Chun-Yun Zhang , Neng-Biao Lin , Xin-Sheng Chai , Zhong-Li , & Donald G. Barnes. (2015). A rapid method for simultaneously determining ethanol and methanol content in wines by full evaporation headspace gas chromatography. *Food Chemistry, 183*, 169-172.

Hailong Li, Xin-Sheng Chaia, Yulin Dengc, Huaiyu Zhana, & Shiyu Fua. (2009). Rapid determination of ethanol in fermentation liquor by full evaporation headspace gas chromatography. *Journal of Chromatography A, 1216*, 169–172**.**

Oi - Wah Lau & Shiu - Fai Luk. (1994). Spectrophotometric method for the determination of ethanol in beverages and beer samples using cerium(IV) as reagent . *Internation Journal of Food Science and Technology, 29*, 469-472.

Philip J. Fletcher & Jacobus F van Staden. (2003). Determination of ethanol in distilled liquors using sequential injection analysis with spectrophotometric detection . *Analytica Chimica Acta, 499*, 123-128.

Prapatsorn Tipparat, Somchai Lapanantnoppakhun, Jaroon Jakmunee, & Kate Grudpan. (2001). Determination of ethanol in liquor by near-infrared spectrophotometry with flow injection. *Talanta, 53*, 1199–1204.

Sandip Sumbhate, Satish Nayak, Damodar Goupale, Ajay Tiwari, & Rajesh S Jadon. (2012). Colorimetric Method for the Estimation of Ethanol in Alcoholic-Drinks . *Journal of Analytical Techniques, 1*, 1-6.

William C. Timmer. (1986). An Experiment in Forensic Chemistry. *Journal of Chemical Education*, *63*, 897.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยวิธีการวัดสีอย่างง่าย

ตารางที่ ก-1 ค่าการดูดกลืนแสงในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของโพแทสเซียมไดโครเมต

ความเข้มข้นโพแทสเซียมไดโครเมต (โมลต่อลิตร)	ความเข้มข้นเอทานอล (%v/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร					
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
0.05	0	0.0615	-	-	-	-	-
	0.02	0.0296	0.0640	0.0647	0.0528	0.0164	31.0134
	0.04	0.0522	0.0598	0.0640	0.0587	0.0049	8.2893
	0.06	0.0580	0.0697	0.0617	0.0631	0.0049	7.7521
0.10	0	0.0819	-	-	-	-	-
	0.02	0.0510	0.0629	0.0646	0.0595	0.0061	10.1886
	0.04	0.1024	0.0963	0.0946	0.0977	0.0034	3.4376
	0.06	0.1478	0.1218	0.1098	0.1265	0.0159	12.5355
0.20	0	0.0727	-	-	-	-	-
	0.02	0.0723	0.1021	0.0830	0.0858	0.0151	17.5987
	0.04	0.1276	0.1502	0.1449	0.1409	0.0118	8.4103
	0.06	0.1788	0.1700	0.2162	0.1883	0.0245	13.0335

การศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

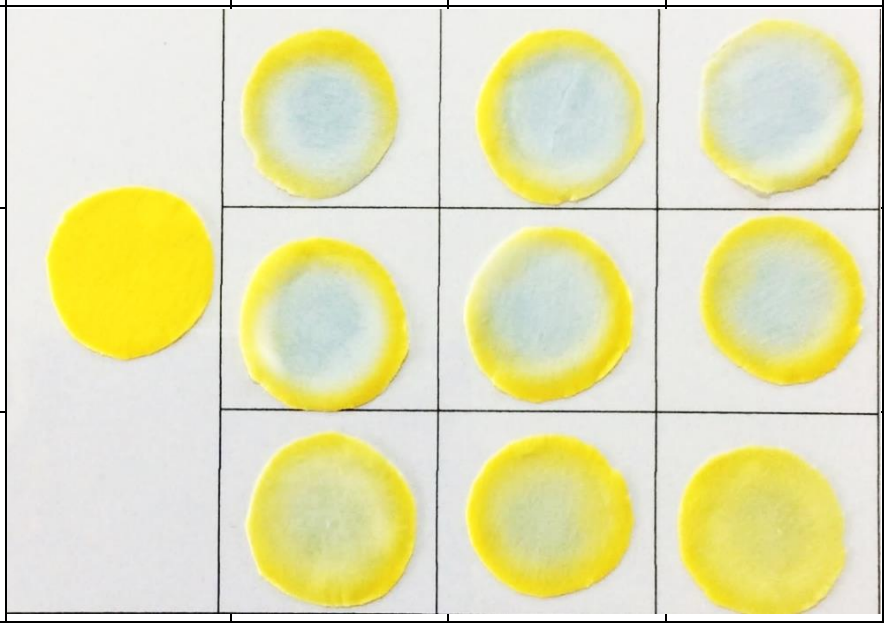
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.05 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

เวลา 30 นาที

ความเข้มข้นเอทานอล	blank	1	2	3
0.06 %v/v				
0.04 %v/v				
0.02 %v/v				

ภาพที่ ก-1 ผลการทดลองการศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสม
ในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.05 โมลต่อลิตร

การศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

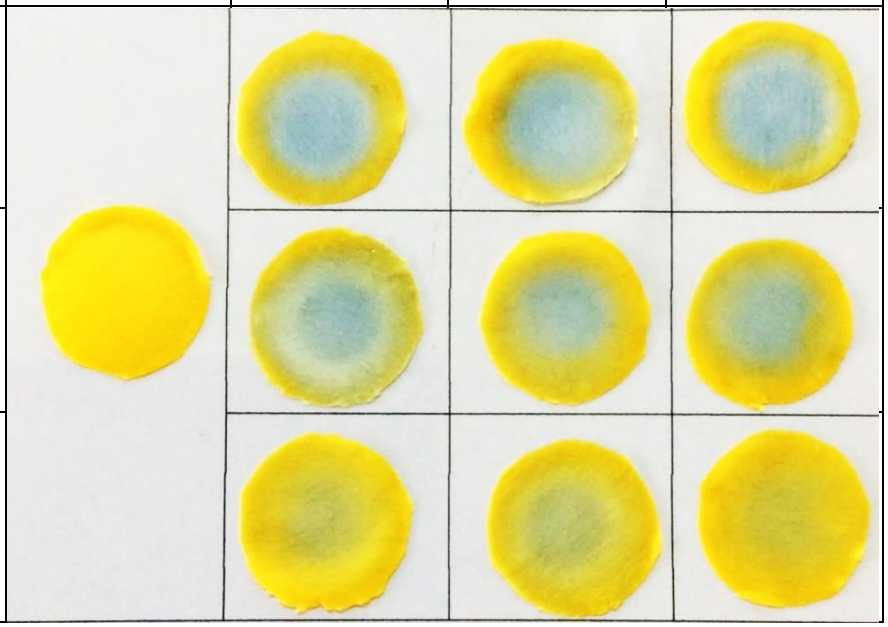
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.10 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

เวลา 30 นาที

ความเข้มข้นเอทานอล	blank	1	2	3
0.06 %v/v				
0.04 %v/v				
0.02 %v/v				

ภาพที่ ก-2 ผลการทดลองที่ศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสม
ในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.10 โมลต่อลิตร

การศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

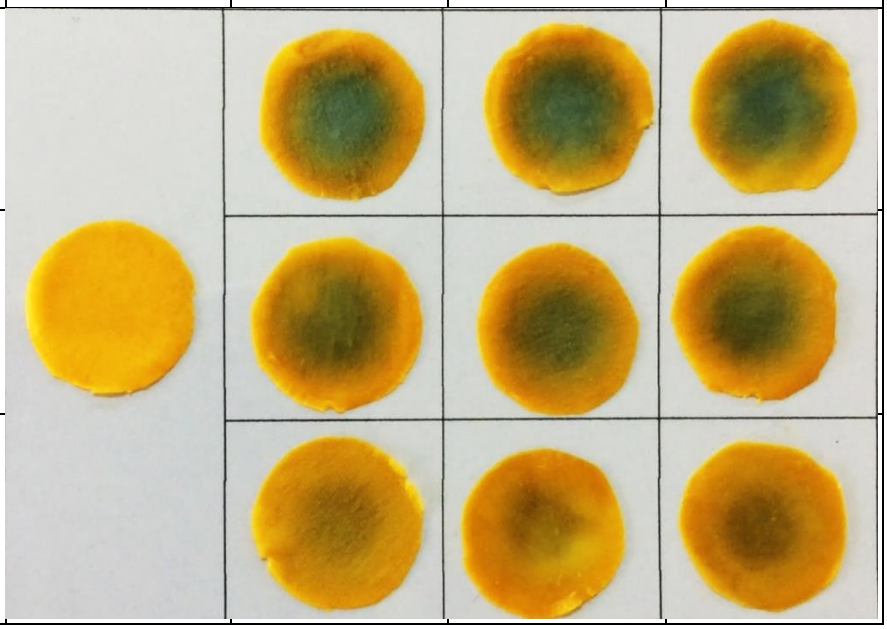
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

เวลา 30 นาที

ความเข้มข้นเอทานอล	blank	1	2	3
0.06 %v/v				
0.04 %v/v				
0.02 %v/v				

ภาพที่ ก-3 ผลการทดลองที่ศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหมาะสม
ในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่ความเข้มข้น 0.20 โมลต่อลิตร

ตารางที่ ก-2 ค่าการดูดกลืนแสงในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของกรดซัลฟิวริก

ความเข้มข้นโพแทสเซียมไดโครเมต (โมลต่อลิตร)	ความเข้มข้นเอทานอล (%v/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร					
		ครั้งที่1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
1.0	0	0.0433	-	-	-	-	-
	0.02	0.0825	0.0810	0.0691	0.0775	0.0060	7.7375
	0.04	0.1187	0.0996	0.0949	0.1044	0.0103	9.8536
	0.06	0.1221	0.0812	0.1154	0.1063	0.0179	16.8649
3.0	0	0.0563	-	-	-	-	-
	0.02	0.0651	0.0769	0.0877	0.0766	0.0092	12.0174
	0.04	0.1521	0.1449	0.1607	0.1525	0.0065	4.2420
	0.06	0.1716	0.1836	0.1750	0.1767	0.0050	2.8499
5.0	0	0.0727	-	-	-	-	-
	0.02	0.0723	0.0721	0.0830	0.0758	0.0062	8.2294
	0.04	0.1276	0.1502	0.1449	0.1409	0.0118	8.4103
	0.06	0.1788	0.1700	0.2162	0.1883	0.0245	13.0335

การศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

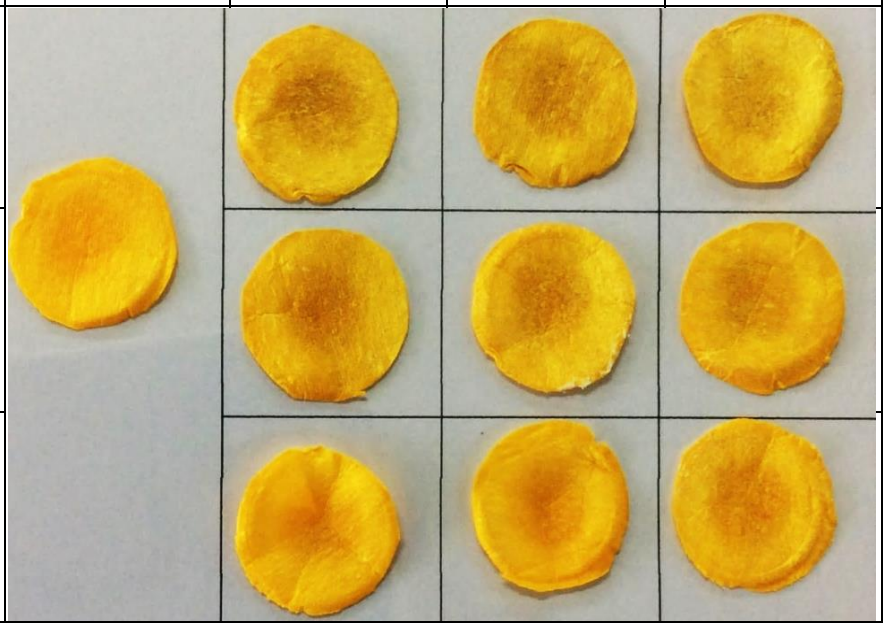
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 1.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

เวลา 30 นาที

ความเข้มข้นเอทานอล	blank	1	2	3
0.06 %v/v				
0.04 %v/v				
0.02 %v/v				

ภาพที่ ก-4 ผลการทดลองที่ศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่ความเข้มข้น 1.0 โมลต่อลิตร

การศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

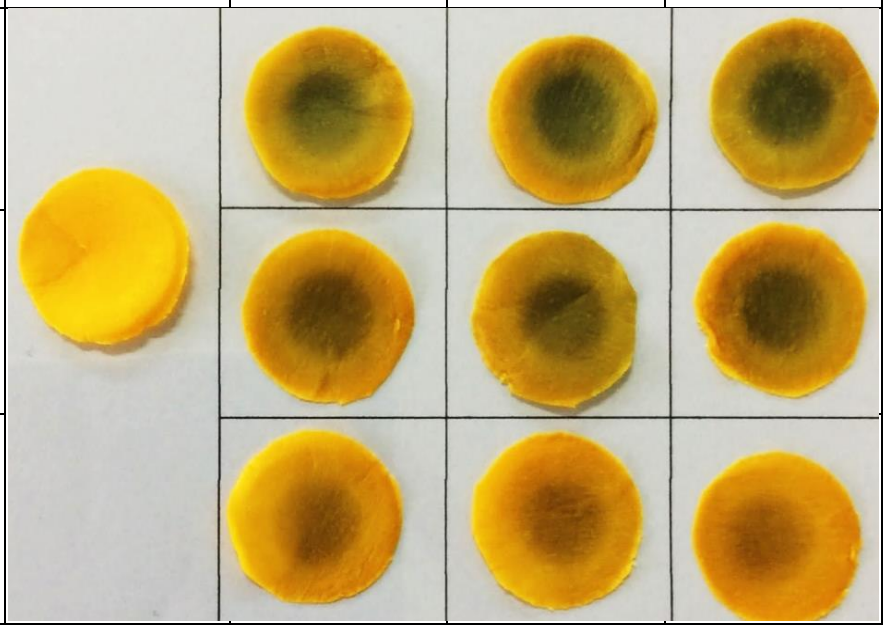
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 3.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

เวลา 30 นาที

ความเข้มข้นเอทานอล	blank	1	2	3
0.06 %v/v				
0.04 %v/v				
0.02 %v/v				

ภาพที่ ก-5 ผลการทดลองที่ศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่ความเข้มข้น 3.0 โมลต่อลิตร

การศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

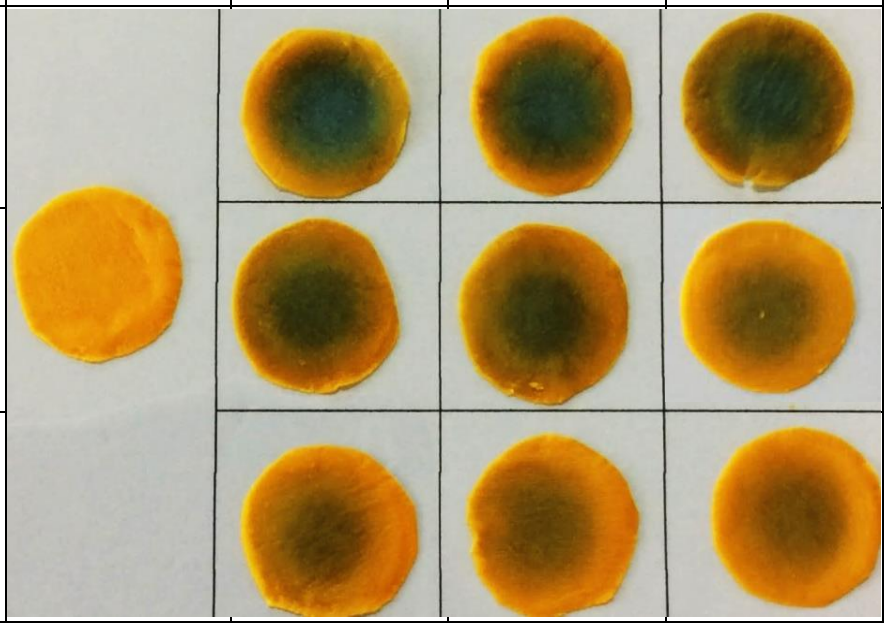
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

เวลา 30 นาที

ความเข้มข้นเอทานอล	blank	1	2	3
0.06 %v/v				
0.04 %v/v				
0.02 %v/v				

ภาพที่ ก-6 ผลการทดลองที่ศึกษาความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่ความเข้มข้น 5.0 โมลต่อลิตร

ตารางที่ ก-3 ค่าการดูดกลืนแสงในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่อุณหภูมิต่าง ๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเข้มข้นเอทานอล (%v/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร					
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
50	0	0.0485	-	-	-	-	-
	0.02	0.0366	0.0487	0.0386	0.0413	0.0053	12.8495
	0.04	0.0586	0.0721	0.0634	0.0647	0.0056	8.6201
	0.06	0.0930	0.0743	0.0958	0.0877	0.0095	10.8862
65	0	0.0532	-	-	-	-	-
	0.02	0.0734	0.0685	0.0700	0.0706	0.0020	2.8659
	0.04	0.1541	0.1657	0.1496	0.1565	0.0068	4.3241
	0.06	0.2140	0.2159	0.1993	0.2097	0.0074	3.5305
80	0	0.0390	-	-	-	-	-
	0.02	0.1006	0.0917	0.0964	0.0962	0.0045	4.6370
	0.04	0.1627	0.1763	0.1614	0.1668	0.0082	4.9359
	0.06	0.2167	0.1921	0.2066	0.2051	0.0123	6.0200

การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

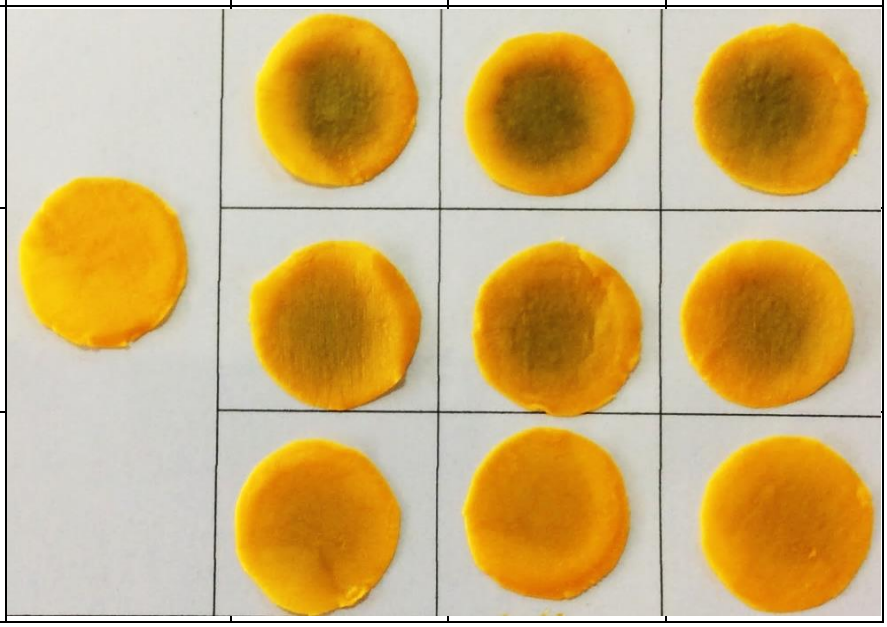
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v

อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

เวลา 30 นาที

ความเข้มข้นเอทานอล	blank	1	2	3
0.06 %v/v				
0.04 %v/v				
0.02 %v/v				

ภาพที่ ก-7 ผลการทดลองที่ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

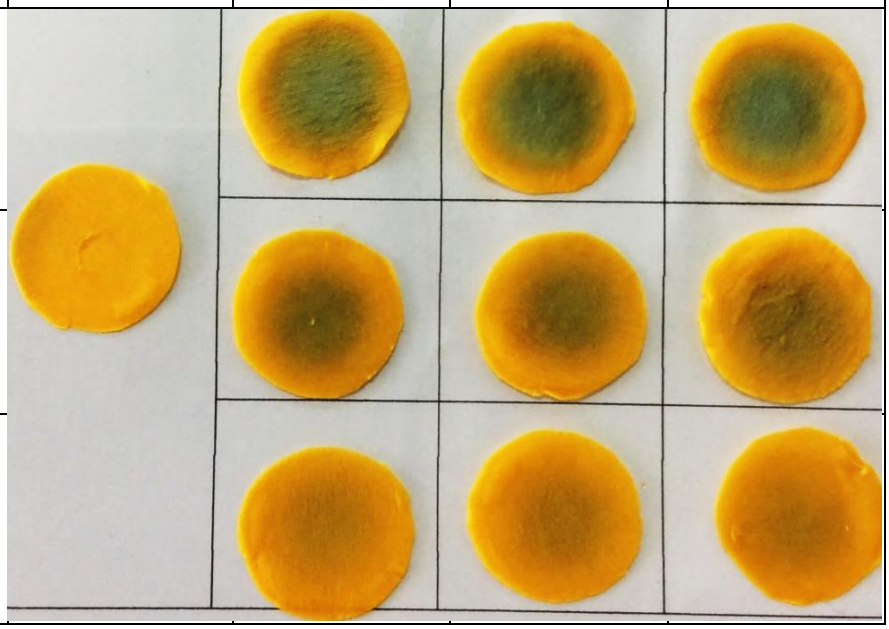
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

เวลา 30 นาที

ความเข้มข้นเอทานอล	blank	1	2	3
0.06 %v/v				
0.04 %v/v				
0.02 %v/v				

ภาพที่ ก-8 ผลการทดลองที่ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

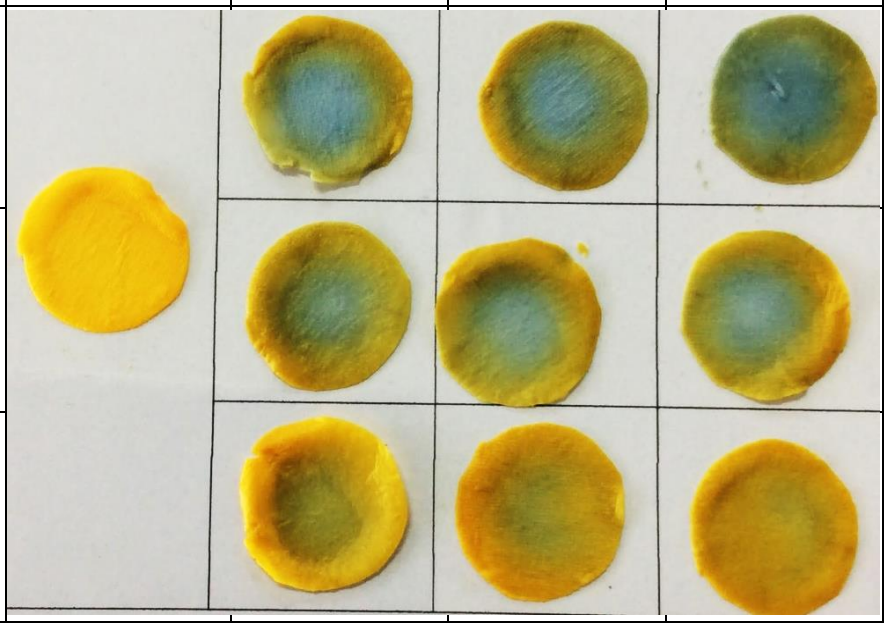
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v

อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

เวลา 30 นาที

ความเข้มข้นเอทานอล	blank	1	2	3
0.06 %v/v				
0.04 %v/v				
0.02 %v/v				

ภาพที่ ก-9 ผลการทดลองที่ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ตารางที่ ก-4 ค่าการดูดกลืนแสงในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลที่เวลาต่าง ๆ

เวลา (นาที)	ความเข้มข้นเอทานอล (%v/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร					
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
15	0	0.0620	-	-	-	-	-
	0.02	0.0549	0.0717	0.0535	0.0600	0.0101	16.8576
	0.04	0.0800	0.1059	0.1025	0.0961	0.0141	14.6564
	0.06	0.1242	0.1102	0.1236	0.1193	0.0079	6.6044
30	0	0.0614	-	-	-	-	-
	0.02	0.0883	0.0799	0.0822	0.0834	0.0035	4.2363
	0.04	0.1460	0.1443	0.1419	0.1440	0.0017	1.1727
	0.06	0.2058	0.2077	0.1912	0.2016	0.0074	3.6731
45	0	0.0614	-	-	-	-	-
	0.02	0.1047	0.1168	0.0901	0.1038	0.0109	10.5076
	0.04	0.1389	0.1396	0.1485	0.1423	0.0043	3.0532
	0.06	0.2078	0.1995	0.2023	0.2032	0.0035	1.6991

การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

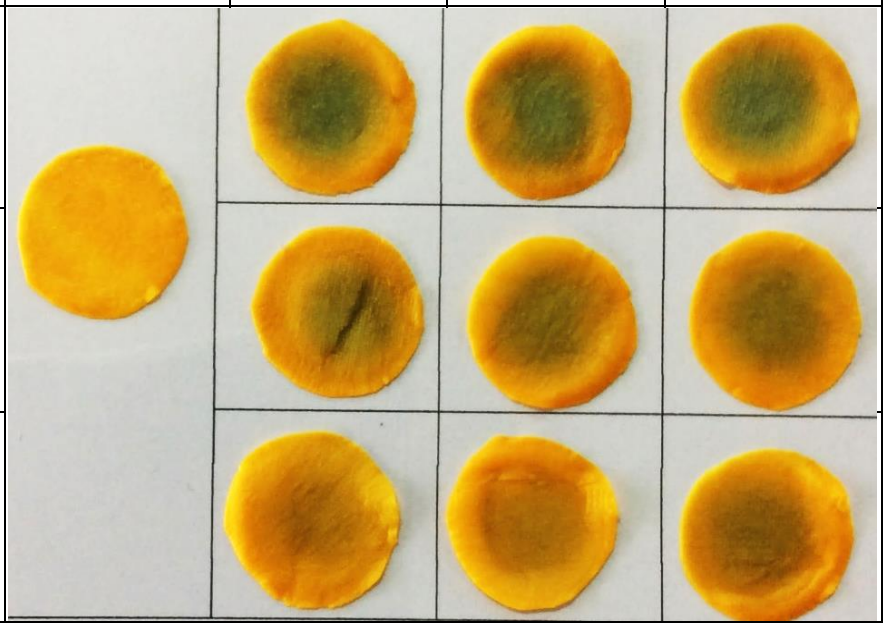
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

เวลา 15 นาที

ความเข้มข้นเอทานอล	blank	1	2	3
0.06 %v/v				
0.04 %v/v				
0.02 %v/v				

ภาพที่ ก-10 ผลการทดลองที่ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่เวลา 15 นาที

การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

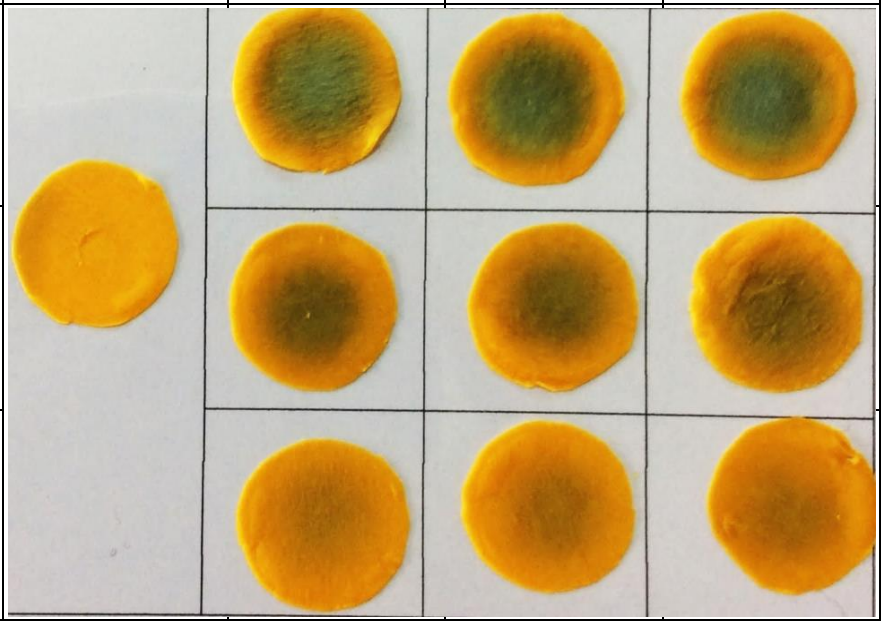
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

เวลา 30 นาที

ความเข้มข้นเอทานอล	blank	1	2	3
0.06 %v/v				
0.04 %v/v				
0.02 %v/v				

ภาพที่ ก-11 ผลการทดลองที่ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่เวลา 30 นาที

การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

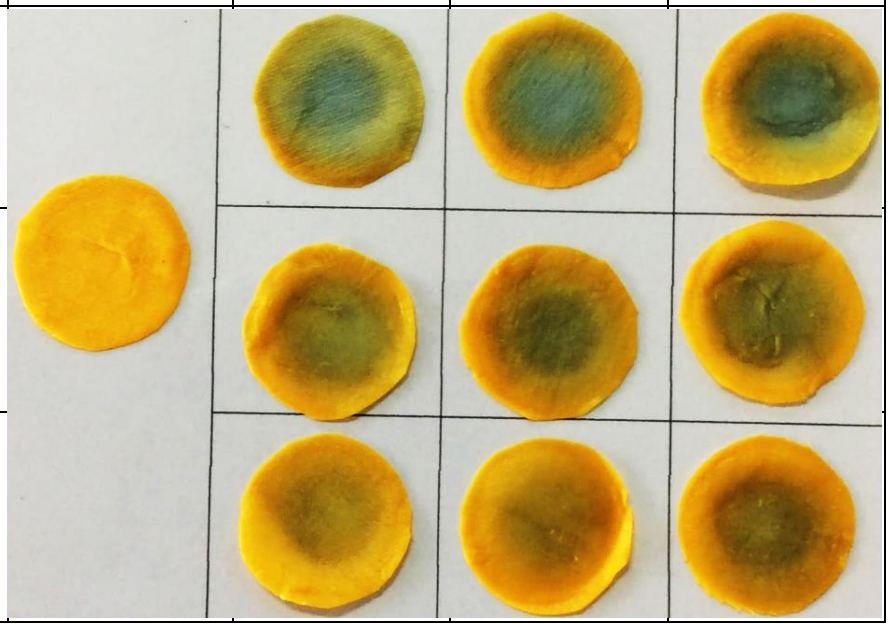
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.02, 0.04 และ 0.06 %v/v

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

เวลา 45 นาที

ความเข้มข้นเอทานอล	blank	1	2	3
0.06 %v/v				
0.04 %v/v				
0.02 %v/v				

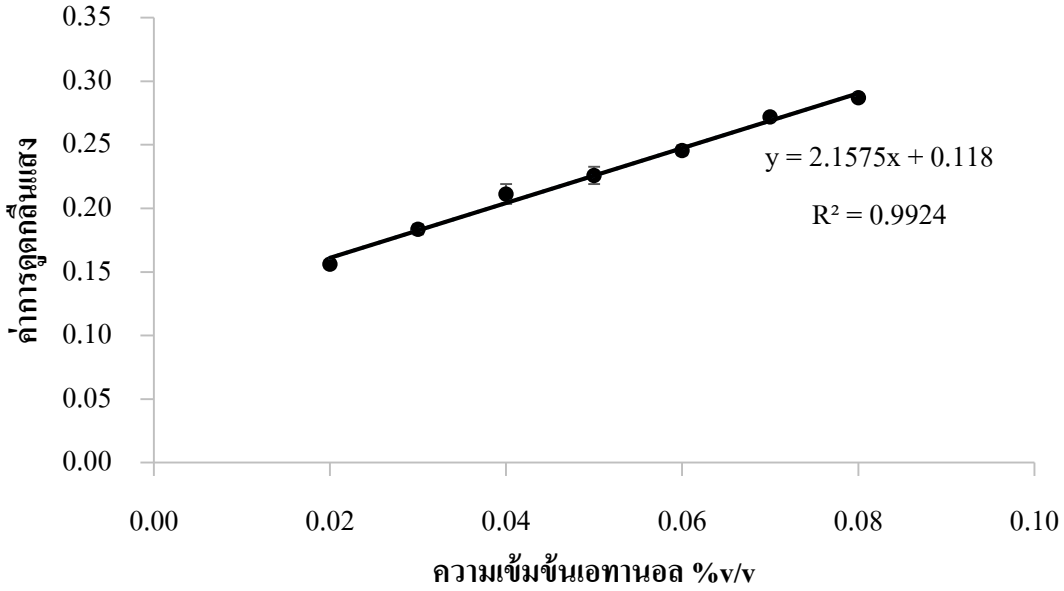
ภาพที่ ก-12 ผลการทดลองที่ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล ที่เวลา 45 นาที

ภาคผนวก ข

ศึกษาความน่าเชื่อถือของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล (Method Validation)

ตารางที่ ข-1 ผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง

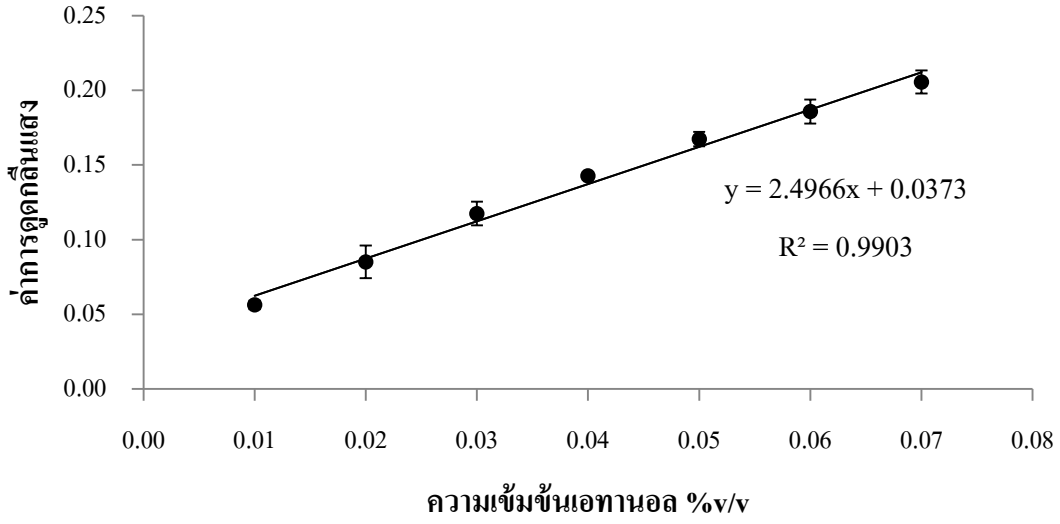
ความเข้มข้นเอทานอล (%v/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร					
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
0	0.0491	-	-	-	-	-
0.02	0.1587	0.1527	0.1568	0.1560	0.0031	1.9655
0.03	0.1814	0.1880	0.1813	0.1836	0.0039	2.0995
0.04	0.2024	0.2144	0.2170	0.2113	0.0078	3.6804
0.05	0.2237	0.2204	0.2335	0.2259	0.0068	3.0084
0.06	0.2437	0.2432	0.2501	0.2457	0.0039	1.5753
0.07	0.2726	0.2696	0.2737	0.2720	0.0021	0.7893
0.08	0.2892	0.2867	0.2851	0.2870	0.0021	0.7222



ภาพที่ ข-1 ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอล ในการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง

ตารางที่ ข-2 ผลการศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดการหาปริมาณ (LOQ)

ความเข้มข้นเอทานอล (%v/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร					
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
0	0.0635	-	-	-	-	-
0.01	0.0555	0.0539	0.0595	0.0563	0.0029	5.1335
0.02	0.0902	0.0926	0.0726	0.0851	0.0109	12.8150
0.03	0.1083	0.1221	0.1220	0.1175	0.0079	6.7197
0.04	0.1407	0.1421	0.1457	0.1428	0.0026	1.8089
0.05	0.1648	0.1730	0.1641	0.1673	0.0049	2.9453
0.06	0.1811	0.1951	0.1812	0.1858	0.0081	4.3370
0.07	0.2134	0.2055	0.1978	0.2056	0.0078	3.7870



ภาพที่ ข-2 ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของเอทานอลในการศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดการหาปริมาณ (LOQ)

ตารางที่ ข-3 ผลการศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision)

วันที่	ครั้งที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร	
		ความเข้มข้นเอทานอล 0.03 %v/v	ความเข้มข้นเอทานอล 0.06 %v/v
1	1	0.1744	0.2442
	2	0.1818	0.2532
	3	0.1823	0.2419
	4	0.1797	0.2419
2	5	0.1815	0.2440
	6	0.1709	0.2457
	7	0.1731	0.2514
	8	0.1842	0.2507
	9	0.1805	0.2499
3	10	0.1742	0.2514
	11	0.1752	0.2405
	12	0.1795	0.2539
	13	0.1833	0.2478
	14	0.1780	0.2531
	15	0.1794	0.2524
	ค่าเฉลี่ย	0.1785	0.2481
	SD	0.0041	0.0047
	%RSD	2.2698	1.8864

การศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision)

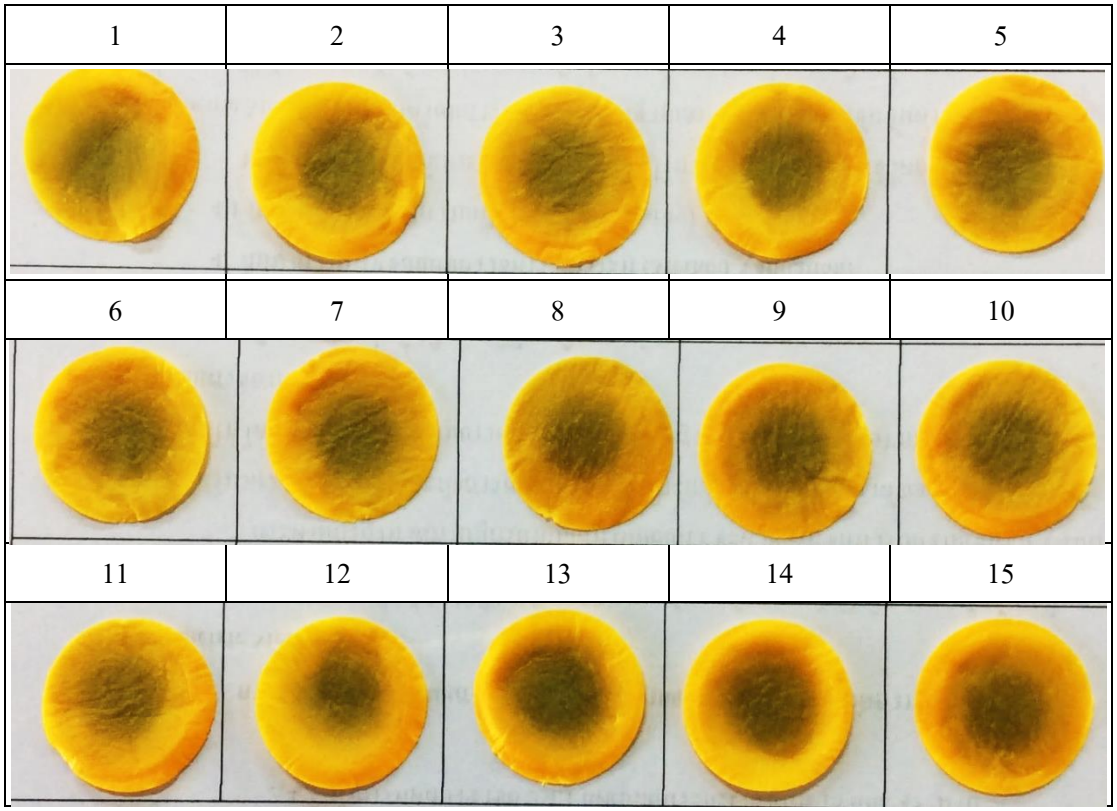
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.03 %v/v

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

เวลา 30 นาที



ภาพที่ ข-3 ผลการศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision)ที่ความเข้มข้นเอทานอล 0.03 %v/v วันที่ 1

การศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision)

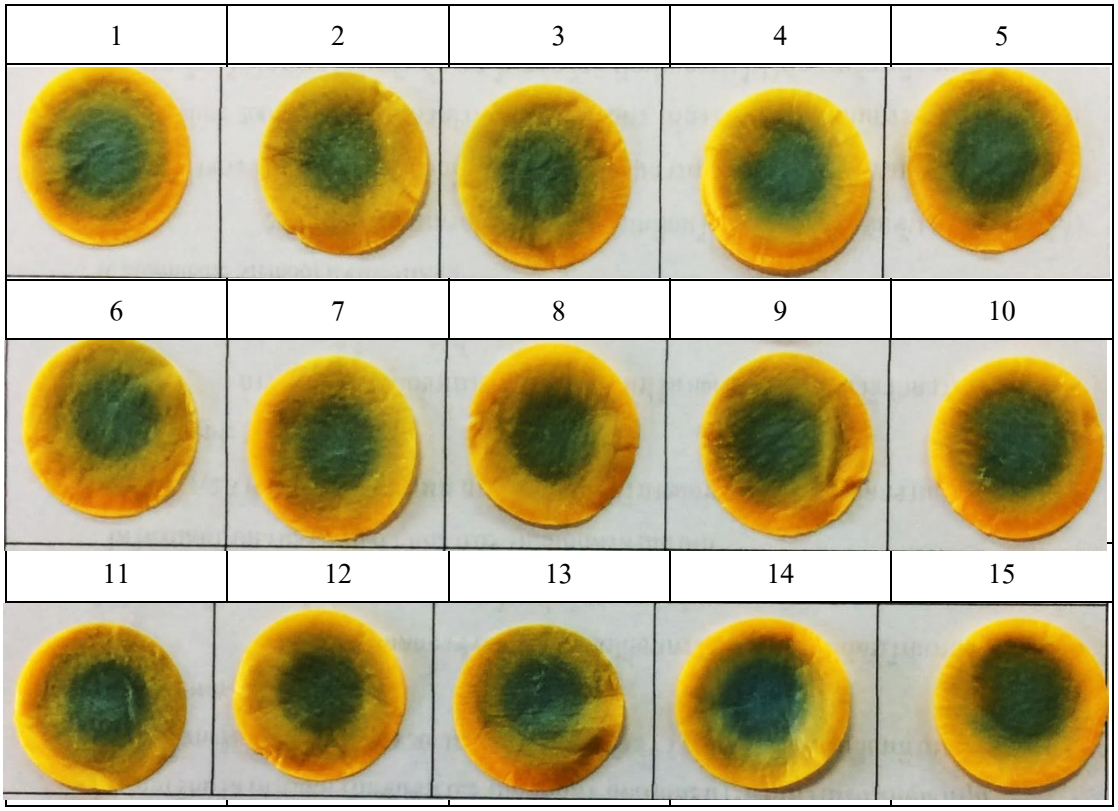
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.06 %v/v

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

เวลา 30 นาที



ภาพที่ ข-4 ผลการศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision)ที่ความเข้มข้นเอทานอล 0.06 %v/v วันที่ 1

การศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision)

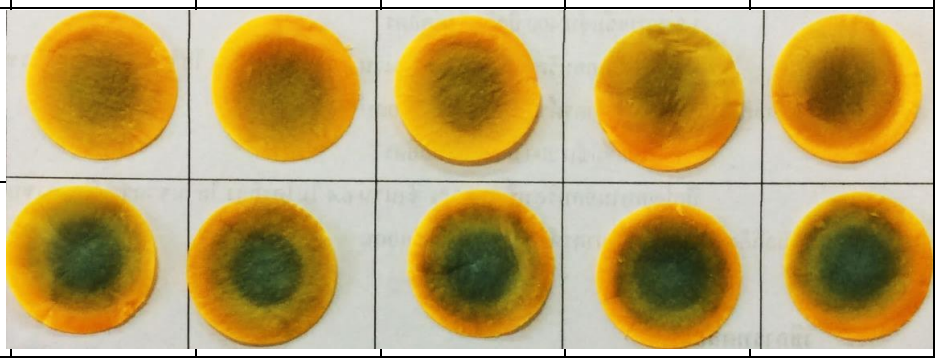
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.03 %v/v และ 0.06 %v/v

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

เวลา 30 นาที

ความเข้มข้นเอทานอล	1	2	3	4	5
0.03%v/v					
0.06%v/v					

ภาพที่ ข-5 ผลการศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision) ที่ความเข้มข้นของเอทานอลที่ 0.03 %v/v และ 0.06 %v/v วันที่ 2

การศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision)

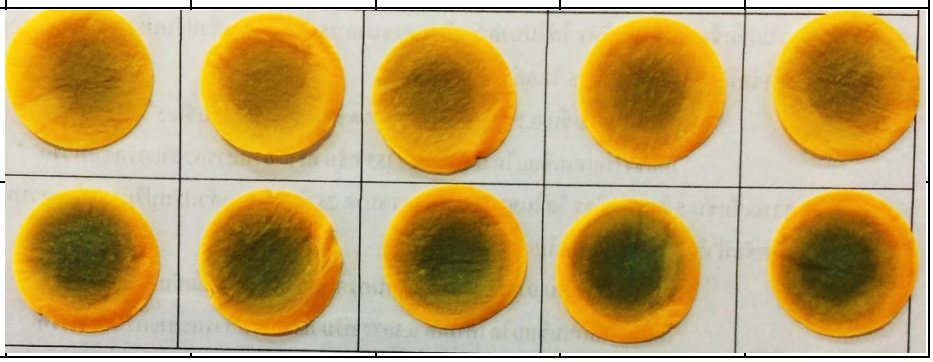
กำหนดสภาวะ ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดโครเมต 0.20 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นของกรดซัลฟิวริก 5.0 โมลต่อลิตร

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานเอทานอล 0.03 %v/v และ 0.06 %v/v

อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

เวลา 30 นาที

ความเข้มข้นเอทานอล	1	2	3	4	5
0.03%v/v					
0.06%v/v					

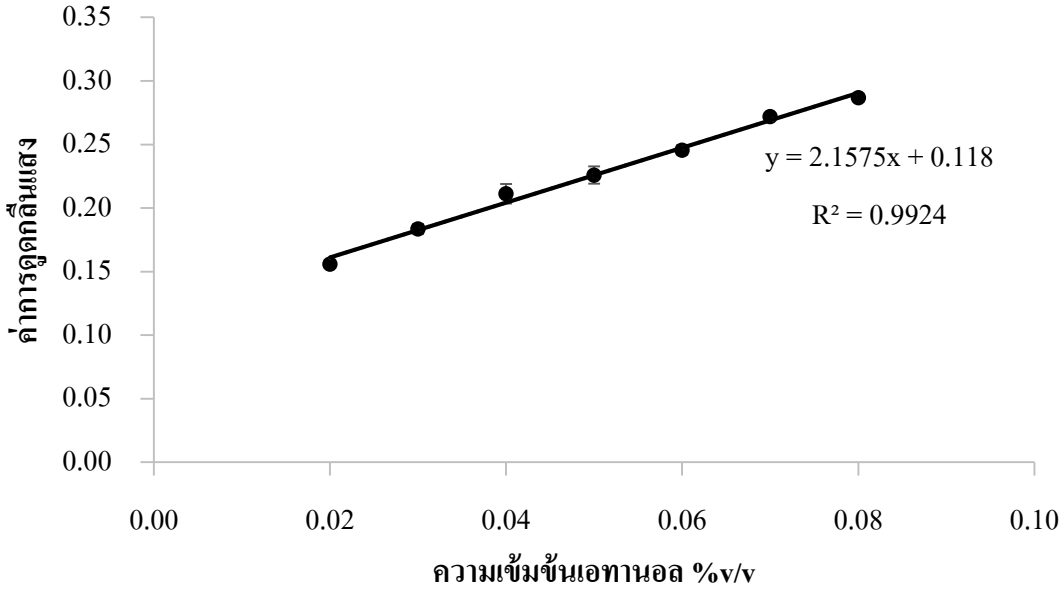
ภาพที่ ข-6 ผลการศึกษาความเที่ยงในการวิเคราะห์ (Precision) ที่ความเข้มข้นของเอทานอลที่ 0.03 %v/v และ 0.06 %v/v วันที่ 3

ภาคผนวก ค

การหาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์

ตารางที่ ค-1 ผลกราฟมาตรฐานในการหาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์

ความเข้มข้นเอทานอล (%v/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร					
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
0	0.0491	-	-	-	-	-
0.02	0.1587	0.1527	0.1568	0.1560	0.0031	1.9655
0.03	0.1814	0.1880	0.1813	0.1836	0.0039	2.0995
0.04	0.2024	0.2144	0.2170	0.2113	0.0078	3.6804
0.05	0.2237	0.2204	0.2335	0.2259	0.0068	3.0084
0.06	0.2437	0.2432	0.2501	0.2457	0.0039	1.5753
0.07	0.2726	0.2696	0.2737	0.2720	0.0021	0.7893
0.08	0.2892	0.2867	0.2851	0.2870	0.0021	0.7222



ภาพที่ ค-1 กราฟมาตรฐานในการหาปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์

ตารางที่ ค-2 ค่าการดูดกลืนแสงในวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างผลิตภัณฑ์

ตัวอย่าง ผลิตภัณฑ์	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร					
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD
ยาแก้ไอชนิดที่ 1	0.2139	0.2113	0.2165	0.2139	0.0026	1.2016
ยาแก้ไอชนิดที่ 2	0.2257	0.2201	0.2190	0.2216	0.0036	1.6214
ยาแก้ไอชนิดที่ 3	0.2502	0.2460	0.2458	0.2473	0.0025	0.9895
ยาละลายเสมหะ	0.1829	0.1878	0.1882	0.1863	0.0029	1.5923
ยาดองเหล้า	0.2273	0.2217	0.2300	0.2263	0.0043	1.8835
ยาธาตุน้ำแดง	0.1804	0.1861	0.1849	0.1838	0.0030	1.6494
ไวน์แดงชนิดที่ 1	0.2167	0.2230	0.2229	0.2209	0.0036	1.6381
ไวน์แดงชนิดที่ 2	0.2167	0.2230	0.2229	0.2209	0.0113	5.9573
ไวน์ขาว	0.2214	0.2265	0.2220	0.2233	0.0028	1.2566
เบียร์	0.2341	0.2136	0.2330	0.2269	0.0115	5.0884

ตารางที่ ค-3 ผลร้อยละการกลับคืน (%recovery)

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์	ความเข้มข้นเอทานอลที่เติมเข้าไป (%v/v)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร						ปริมาณเอทานอล (% v/v)		% recovery
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	SD	%RSD	ก่อนเติม	หลังเติม	
ยาแก้ไอ	0	0.2257	0.2201	0.2190	0.2216	0.0036	1.6214	4.80	-	-
ชนิดที่ 2	0.02	0.2419	0.2411	0.2398	0.2409	0.0011	0.4413	-	5.69	44.79
	0.03	0.2639	0.2633	0.2599	0.2624	0.0022	0.8308	-	6.69	62.97
	0.04	0.2795	0.2817	0.2745	0.2785	0.0037	1.3282	-	7.44	65.96
ไวน์	0	0.2167	0.2230	0.2229	0.2209	0.0036	1.6381	4.77	-	-
ชนิดที่ 1	0.02	0.2392	0.2384	0.2375	0.2384	0.0008	0.3548	-	5.58	40.58
	0.03	0.2558	0.2547	0.2533	0.2546	0.0013	0.4949	-	6.33	52.15
	0.04	0.2808	0.2795	0.2789	0.2797	0.0010	0.3471	-	7.50	68.19
ยาธาตุ	0	0.1804	0.1861	0.1849	0.1838	0.0030	1.6494	3.05	-	-
น้ำแดง	0.02	0.2037	0.2044	0.2033	0.2038	0.0005	0.2666	-	3.98	46.43
	0.03	0.2241	0.2242	0.2255	0.2246	0.0008	0.3562	-	4.94	63.09
	0.04	0.2444	0.2333	0.2550	0.2442	0.0109	4.4535	-	5.85	70.02