

ข้อมูลข่าวสารของกรมวิทยาศาสตร์บริการ
ตาม พ.ร.บ. ข้อมูลข่าวสารของราชการ พ.ศ. 2540

วศ
กช
อว 31

เอกสารผลงานที่เสนอให้ประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง
นักวิทยาศาสตร์ 7 ว

เรื่องที่ 1

ศึกษาวิธีวิเคราะห์ทีบีเอชคิวในน้ำมันและไขมันบริโภค

โดย

นางธิดาดวง พลเลิศ
นักวิทยาศาสตร์ 6 ว

กลุ่มงานชีวเคมี
กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
กรมวิทยาศาสตร์บริการ

ข้อมูลค่าธรรมเนียมการสมัครบริการ
ตาม พ.ร.บ. ข้อมูลข่าวสารของราชการ พ.ศ. 2540

เอกสารผลงานที่เสนอให้ประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง
นักวิทยาศาสตร์ 7 ว

เรื่องที่ 1

เลขที่
เลขทะเบียน 10512
วันที่ 5 กพ 45

ศึกษาวิธีวิเคราะห์ที่บีเอชคิวในน้ำมันและไขมันบริโภคน

โดย

นางธิดาดวง พลเลิศ

นักวิทยาศาสตร์ 6 ว

กลุ่มงานชีวเคมี

กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

บทคัดย่อ

จากการศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณทีปีเอชคิว (วัตถุกันเหิน) ในน้ำมันและไขมัน สำหรับบริโภคน โดย High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ตัวอย่าง น้ำมันและไขมันสำหรับบริโภคประเภทต่าง ๆ ที่นำมาศึกษานั้น ได้แก่ น้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันข้าวโพด น้ำมันเบสึคทานตะวัน และไขมัน ใช้คอลัมน์ HYPERSIL H5 ODS (C_{18}) ตรวจสอบโดยใช้ UV - Detector ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ได้เปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ที่ใช้สารละลายเคลื่อนที่ 2 แบบ คือ แบบที่ใช้สารละลายเคลื่อนที่ที่เป็น เมทานอล กับกรดอะซิติกร้อยละ 10 ในน้ำ (อัตราส่วน 68.5 ต่อ 31.5) และแบบที่ใช้สารละลายเคลื่อนที่ที่เป็นอะซิโตน ไตรล็ก้าน้ำ (อัตราส่วน 40 ต่อ 60) พบว่าการเกิด peak ของทีปีเอชคิวของการใช้สารละลายเคลื่อนที่ที่เป็นอะซิโตน ไตรล็ก้าน้ำ (อัตราส่วน 40 ต่อ 60) ได้ peak ชนิด resolved ส่วนสารละลายเคลื่อนที่ที่เป็น เมทานอล กับกรดอะซิติกร้อยละ 10 ในน้ำ (อัตราส่วน 68.5 ต่อ 31.5) ได้ peak ชนิด fused ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการใช้สารละลายเคลื่อนที่ที่เป็นอะซิโตน ไตรล็ก้าน้ำ (อัตราส่วน 40 ต่อ 60) ดีกว่า คือมีค่าเพียง ± 3.95 ในขณะที่ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารละลายเคลื่อนที่ของเมทานอล กับกรดอะซิติกร้อยละ 10 ในน้ำ (อัตราส่วน 68.5 ต่อ 31.5) มีค่าสูงถึง ± 8.00 และจากการหาค่า recovery ของการใช้สารละลายเคลื่อนที่ที่เป็นอะซิโตน ไตรล็ก้าน้ำ (อัตราส่วน 40 ต่อ 60) ได้ค่าเฉลี่ย ร้อยละ 94.8 จึงได้นำวิธีการตรวจวิเคราะห์สารละลายเคลื่อนที่ที่เป็นอะซิโตน ไตรล็ก้าน้ำ (อัตราส่วน 40 ต่อ 60) มาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณทีปีเอชคิวในตัวอย่างน้ำมันสำหรับบริโภค

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
สารบัญ	ii
สารบัญตาราง	iii
สารบัญรูป	iv
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	6
ระยะเวลาในการดำเนินการ	6
ประโยชน์ที่ได้รับ	6
วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือและวิธีการ	7
ผลการทดลอง	11
วิจารณ์	20
สรุป	22
คำขอขอบคุณ	23
เอกสารอ้างอิง	24
ภาคผนวก	25

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	ปริมาณที่บีเอชคิว ตามวิธีวิเคราะห์ที่ 1	12
ตารางที่ 2	ปริมาณที่บีเอชคิว ตามวิธีวิเคราะห์ที่ 2	13
ตารางที่ 3	เปรียบเทียบปริมาณที่บีเอชคิวเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ระหว่าง วิธีวิเคราะห์ที่ 1 และวิธีวิเคราะห์ที่ 2	14
ตารางที่ 4	การทดสอบวิธีวิเคราะห์วิธีที่ 1	15
ตารางที่ 5	การทดสอบวิธีวิเคราะห์วิธีที่ 2	16
ตารางที่ 6	แสดงผลการทดลองและ <i>percentage recovery</i>	17
ตารางที่ 7	แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณที่บีเอชคิวในตัวอย่างน้ำมันบริโภค	18-19
ตารางที่ 8	ค่า t ที่ระดับความเชื่อมั่นต่าง ๆ (9)	26
ตารางที่ 9	แสดงค่า F (8)	27

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 1	สูตรโครงสร้างของทีบีเอชคิว	3
รูปที่ 2	สูตรโครงสร้างของวัตถุกันหื่นชนิดต่าง ๆ ที่ได้จากการสังเคราะห์	4
รูปที่ 3	โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิว วิธีที่ 1	28
รูปที่ 4	โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิว วิธีที่ 2	29
รูปที่ 5	โครมาโตแกรมของทีบีเอชคิวในตัวอย่างน้ำมัน วิธีที่ 1	30
รูปที่ 6	โครมาโตแกรมของทีบีเอชคิวในตัวอย่างน้ำมัน วิธีที่ 2	31
รูปที่ 7-12	โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิวที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กับและ calibration curve (วิธีที่ 2)	32-37

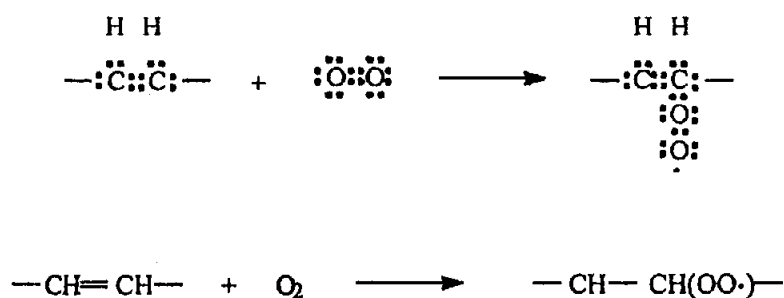
คำนำ

ปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (Oxidation-reduction reactions) ของสารกันหืน หรือวัตถุกันหืน (Antioxidants) เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในระบบชีววิทยาในอาหาร ปฏิกิริยาออกซิเดชันบางประเภทก็มีประโยชน์ต่ออาหาร บางประเภทก็ทำให้เกิดความเสียหาย เช่น ทำให้เกิดกลิ่นไม่ดี การควบคุมปฏิกิริยาออกซิเดชันอาจใช้กระบวนการควบคุม หรือใช้เทคโนโลยีในการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหารซึ่งกำจัดออกซิเจนออกจากระบบ หรือโดยการเติมสารเคมีที่ช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

แอนติออกซิแดนท์ คือสารที่ใช้ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยไม่คำนึงถึงว่าจะเกิดกลไกแบบใด

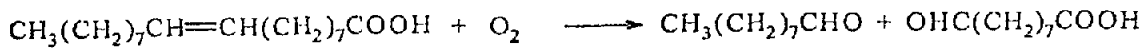
เมื่อเก็บไขมันและน้ำมันไว้นาน ๆ จะเกิดกลิ่นเหม็นหืน (rancid odor) เนื่องจากการเกิดออกซิเดชันของไขมันและน้ำมัน อัตราเร็วของปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิและความชื้น, ปริมาณของอากาศที่สัมผัสกับไขมันหรือน้ำมัน, แสงอัลตราไวโอเลต, โลหะ เช่น เหล็กหรือทองแดงและชนิดของไขมันและน้ำมัน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันมี 2 ขั้นตอนคือ ขั้นเริ่มแรก (initiation) และขั้นแพร่กระจาย (propagation) ขั้นเริ่มแรกนี้เป็นขั้นที่เกิดอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งไม่เสถียรและว่องไวต่อปฏิกิริยา ดังแสดงในสมการต่อไปนี้



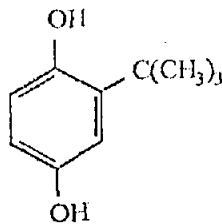
อนุมูลอิสระอาจทำปฏิกิริยากับคาร์บอนที่ติดกับพันธะคู่ เพื่อเกิดอนุมูลอิสระอีก

จะแตกสลายไปเป็นสารประกอบคาร์บอนิล เช่น อัลดีไฮด์หรือคีโตน ตัวอย่างการแตกสลายของกรดโอเลอิก (oleic acid) เป็นดังนี้

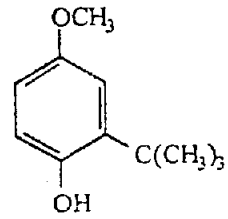
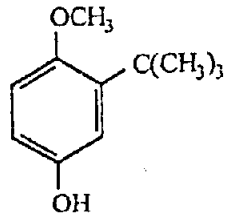


สารประกอบคาร์บอนิลเหล่านี้ เป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นหืนซึ่งเป็นกลิ่นรสที่ไม่ดี วิธีป้องกันการเกิดกลิ่นหืนทำได้โดยการเก็บน้ำมันและไขมันในภาชนะที่บดแสง หรือในขวดสีชาซึ่งปิดสนิท และเก็บไว้ในที่เย็นและแห้ง ถ้าใส่แอนติออกซิเดนต์ด้วย จะช่วยป้องกันการเกิดกลิ่นหืนได้ดี

แอนติออกซิเดนต์ที่เป็นสารธรรมชาติ เช่น tocopherols, coniferyl alcohol (พบในพืช), กรดแอสกอบิก, กรดซีตริก, guiaconic acid และ guaiac acid (จาก gum guaiac) ส่วนแอนติออกซิเดนต์สังเคราะห์ เช่น butylated hydroxyanisole (BHA,) butylated hydroxytoluene (BHT), propyl gallate, octyl gallate, dodecyl gallate และ t-butylhydroquinone (TBHQ) เป็นต้น สารฟีนอลเหล่านี้ใช้เป็นตัวยุติปฏิกิริยาจะช่วยกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น ด้วยการเข้าร่วมในปฏิกิริยาโดยมีการเกิดอนุมูลอิสระที่เสถียรโดยเรโซแนนซ์ (resonance-stabilized free-radical forms) (1)

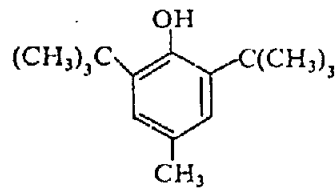


รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างของทีบีเอชคิว



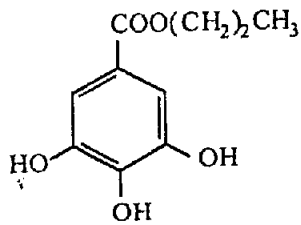
Butylated hydroxyanisole (BHA)

(สารผสมของ 2-t-butyl-4-hydroxyanisole และ 3-t-butyl-4-hydroxyanisole)

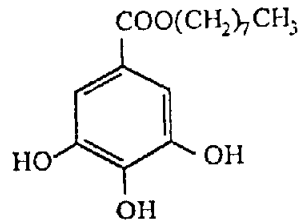


Butylated hydroxytoluene (BHT)

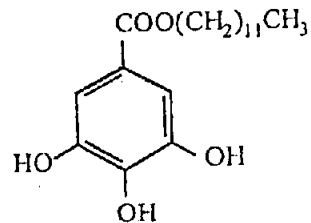
(2, 6 - di - t - butyl - 4 - methylphenol)



Propyl gallate



Octyl gallate



Dodecyl gallate

รูปที่ 2 สูตร โครงสร้างของวัตถุกันหืนชนิดต่าง ๆ ที่ได้จากการสังเคราะห์

ทีบีเอชคิว (TBHQ , tertiary - butyl - hydroquinone) มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{10}H_{14}O_2$ มีสูตรโครงสร้างตามรูปที่ 1 มีน้ำหนักโมเลกุล 166.22 มีจุดหลอมเหลวอยู่ระหว่าง $126.5^{\circ}C$. และ $128.5^{\circ}C$. (2) เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) ชนิดหนึ่ง ที่ใช้เป็นสารกันหืนในน้ำมันบริโภค ได้จากการสังเคราะห์ ไม่มีกลิ่น ไม่มีสี ละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ อีเทอร์ น้ำมันและไขมัน ไม่ละลายในน้ำ จัดเป็นวัตถุกันหืนที่ดีที่สุดสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารประเภททอด ช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงของสีและการเกิดออกซิเดชัน สารประกอบนี้อนุญาตให้ใช้ได้ในประเทศสหรัฐอเมริกา แต่ในบางประเทศยังไม่อนุญาต สำหรับประเทศไทยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 22 (พ.ศ. 2522) เรื่องน้ำมันและไขมัน และประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 56 (พ.ศ. 2524) เรื่อง น้ำมันปาล์ม อนุญาตให้ใช้ได้ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (3)

จากการที่บางประเทศไม่อนุญาตให้ใช้ และประเทศไทยให้ใช้ได้ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้น ในการส่งน้ำมันสำหรับบริโภคออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ โดยเฉพาะประเทศที่ห้ามใช้ทีบีเอชคิว หรือผลิตภัณฑ์ที่ขายในประเทศไทย จึงต้องมีการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ ทีบีเอชคิว ว่าในผลิตภัณฑ์ที่ส่งไปขายยังประเทศที่ห้ามใช้ทีบีเอชควุนั้น ผลิตภัณฑ์เหล่านั้นมีทีบีเอชคิวหรือไม่ ส่วนที่ขายในประเทศไทยมีปริมาณทีบีเอชคิวเกิน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือไม่

เนื่องจากวิธีวิเคราะห์ทีบีเอชคิวที่เป็นวิธีมาตรฐาน (4) ซึ่งใช้อยู่ในปัจจุบัน ไม่อาจแยก peak ของทีบีเอชคิวได้ชัดเจน ทำให้เกิดปัญหาในการคำนวณปริมาณทีบีเอชคิว จึงเป็นเหตุจูงใจให้ผู้ทำการศึกษาทดลองพยายามหาวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสม ไม่เกิดความสับสนในผลวิเคราะห์ที่ได้ ผู้ทำการศึกษาทดลองจึงได้ศึกษาจากเอกสาร (5) พบว่า ทีบีเอชคิวละลายได้ดีในสารละลายที่เป็น non polar ดังนั้น สารละลายเคลื่อนที่ ที่เหมาะสมควรเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็น non polar และอะซีโตไนไตรล์ก็เป็นสารละลายที่มีค่า polarity ต่ำกว่าสารละลายเคลื่อนที่ซึ่งใช้ยูเรียม จึงเป็นเหตุจูงใจให้ทำการศึกษาทดลองโดยใช้อะซีโตไนไตรล์เป็นสารละลายเคลื่อนที่

สำหรับวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ปริมาณทีบีเอชคิวในน้ำมันและไขมัน โดยใช้ HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ทำได้หลายวิธี ทำแบบ Isocratic (6) หรือแบบ Gradient (7) หรืออาจใช้สารละลายเคลื่อนที่แตกต่างกันออกไป ดังนั้น กลุ่มงานชีวเคมีจึงได้ทำการศึกษาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณทีบีเอชคิวโดยใช้ HPLC ใน

น้ำมันและไขมันสำหรับบริโภค ซึ่งจากการศึกษาถึงวิธีการที่เหมาะสมจะเป็นข้อมูลหนึ่งที่จะนำไปใช้เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับตรวจวิเคราะห์ปริมาณทีบีเอชคิวต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณทีบีเอชคิว โดย HPLC ดังนี้

1. เพื่อหาสารละลายเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่เหมาะสม
2. เพื่อศึกษาการใช้สารละลายเคลื่อนที่ให้ได้ผลดีที่สุดสำหรับการวิเคราะห์ทีบีเอชคิวในน้ำมันและไขมันสำหรับบริโภคโดยเครื่อง HPLC โดยใช้สารมาตรฐานทีบีเอชคิว
3. หาปริมาณทีบีเอชคิวในตัวอย่างน้ำมันและไขมันสำหรับบริโภคตามวิธีที่ได้ศึกษาไว้

ระยะเวลาในการดำเนินการ

กันยายน 2539 - ธันวาคม 2540

ประโยชน์ที่ได้รับ

1. ได้วิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมในการหาปริมาณวัตถุกันหืนในน้ำมันและไขมันสำหรับบริโภค
2. เป็นการเพิ่มขีดความสามารถของกรมวิทยาศาสตร์บริการสำหรับนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์วัตถุกันหืนในน้ำมันและไขมันสำหรับบริโภคได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือและวิธีการ

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาเป็นตัวอย่างน้ำมันและไขมันสำหรับบริโภครวม 20 ตัวอย่าง

1. เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1 เครื่อง High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) ประกอบด้วย

- คอลัมน์ (column) : HYPERSIL H50DS (C_{18}) ขนาด 4.6X250 มิลลิเมตร
- ปั๊ม (pump) : THERMOSEPARATION, Model P 4000
- Detector : THERMOSEPARATION, UV 2000 Dual UV/VIS Spectrophotometer
- Autosampler : Spectra System AS 3000
- คอมพิวเตอร์ : Computer

1.2 เครื่องเขย่า (shaker)

1.3 ชุดเครื่องกรองพร้อมเมมเบรน (membrane filter) ขนาด 0.45 ไมครอน

1.4 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ขนาดความเร็วรอบ 2,000 รอบ ต่อ นาที

1.5 เครื่องระเหยแห้งภายใต้ระบบสุญญากาศ (rotary vacuum evaporator)

1.6 เครื่องชั่งไฟฟ้า ชั่งได้ละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.7 เครื่องอังน้ำ (water bath)

1.8 ขวดแก้วปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 10 , 25, 100 และ 500 มิลลิลิตร

1.9 ปิเปตต์ (pipette) ขนาด 1, 5, 10 และ 50 มิลลิลิตร

1.10 กระจกตวง ขนาด 100 มิลลิลิตร

1.11 บีกเกอร์ (beaker)

1.12 ขวดแก้วสำหรับกลั่น ขนาด 250 มิลลิลิตร

1.13 ขวดแก้วหมุนเหวี่ยง ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. สารเคมีและวิธีเตรียม

2.1 สารมาตรฐานทีบีเอสคิว (Aldrich Chem.) ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่าร้อยละ 97

2.2 อะซีโตไนไตรล์ (Acetonitrile) HPLC grade

2.3 เมทานอล (Methanol) HPLC grade

2.4 กรดอะซิติกร้อยละ 10 ในน้ำ

นำ กรดอะซิติก 50 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 500 มิลลิลิตร ทำ ปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.5 เฮกเซน (n-Hexane) analytical grade

2.6 deionized water

สารละลายทุกตัวกรองผ่านเมมเบรน ขนาด 0.45 ไมครอน

3. วิธีการศึกษาทดลอง

3.1 การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมของการใช้ HPLC โดยการใช้สารละลาย มาตรฐานที่บีเอชคิว

การหาสภาวะที่เหมาะสม (ชนิดของสารละลายเคลื่อนที่ อัตราส่วนของสารละลายเคลื่อนที่และอัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่) โดยการฉีดสารละลายมาตรฐานที่บีเอชคิวที่มีความเข้มข้นจำนวนหนึ่งเข้าเครื่อง HPLC แล้วให้ได้ peak ของที่บีเอชคิวแยกออกมาชัดเจน ขนาดพอเหมาะ และมีค่า retention time และขนาดของ peak ที่เหมาะสม ทำการทดลองดังนี้

3.1.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน ที่บีเอชคิว ความเข้มข้น 524 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร ชั่งสารมาตรฐาน ที่บีเอชคิว (ข้อ 2.1) 0.0135 กรัม ละลายในเมทานอล (ข้อ 2.3) ถ่ายใส่ขวดแก้วปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตร

3.1.2 ปีเป็คต์สารละลายข้อ 3.1.1 จำนวน 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ใส่ขวดแก้ว ปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยข้อ 2.3 เพื่อทำ calibration curve ด้วยเครื่อง HPLC

3.1.3 การเตรียมเครื่อง HPLC ทำได้ดังนี้

- เปิด vacuum เพื่อไล่อากาศ เปิด pump B และ C แล้ว purge เพื่อไล่อากาศ ออกจากระบบโดยใช้น้ำ อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที ประมาณ 5 นาที

- ต่อ guard column และ คอลัมน์ (C_{18}) ตามลำดับ ด้วยอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้เวลาประมาณ 30 นาที

- เปลี่ยน mobile phase เป็นเมทานอลต่อ กรดอะซิติก ร้อยละ 10 อัตราส่วน 68.5 ต่อ 31.5 อัตราการไหลเท่าเดิมเป็นเวลา 30 นาที

- ปรับความยาวคลื่นไว้ที่ 280 นาโนเมตร

- run initial method จนบันทึกบนจอคอมพิวเตอร์ได้ค่า absorbance เป็น 0 โดยการ set auto zero

- ทำการฉีดสารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิวที่มีความเข้มข้น 524 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 20 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง HPLC จะได้ค่า RT ที่ 3.700

- ทำ calibration curve โดยฉีดสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 52.4, 104.8, 157.2, 209.6 และ 262 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 20 ไมโครลิตร

ปรากฏว่าที่ความเข้มข้น 52.4, 104.8, 157.2 และ 262 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ peak แบบ resolved ส่วนที่ความเข้มข้น 209.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ peak fused และเมื่อฉีดตัวอย่างก็ได้ peak fused (ดังรูปที่ 3)

3.1.4 เปลี่ยน mobile phase เป็น 40:60 อะซีโตไนไตรล์:น้ำ และทำการฉีดสารละลายมาตรฐานและตัวอย่างเหมือนเดิม ปรากฏว่าทั้งสารละลายมาตรฐานและตัวอย่างให้ peak ชนิด resolved และได้ค่า RT ที่ 8.263 (ดังรูปที่ 4)

3.2 การเตรียมตัวอย่าง

3.2.1 ตัวอย่างเป็นน้ำมันหรือไขมัน

- ชั่งตัวอย่าง 10-20 กรัม (น้ำหนักแน่นอน) ใส่ขวดแก้วหมุนเหวี่ยง (ข้อ 1.13) ละลายในเฮกเซน (ข้อ 2.5) ถ้าตัวอย่างเป็นไขมันต้องนำไปตั้งบนเครื่องอุ่นน้ำ (ข้อ 1.7) อุณหภูมิ 35 - 38 องศาเซลเซียส เดิม อะซีโตไนไตรล์ 100 มิลลิลิตร ปิดจุก เขย่าด้วยเครื่องเขย่า (ข้อ 1.2) นาน 30 นาที นำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง (ข้อ 1.4) ปิดปลั๊กส่วนบน 50 มิลลิลิตร ใส่ลงใน ขวดแก้วสำหรับกลั่น (ข้อ 1.12) ทำให้แห้งโดยใช้ เครื่องระเหยแห้งภายใต้ระบบสุญญากาศ (ข้อ 1.5) อุณหภูมิ 35 - 38 องศาเซลเซียส

- ละลาย residue ด้วยเมทานอล (ข้อ 2.3) ลงในขวดแก้วปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร

- กรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน

- ปรับเครื่องให้เป็น 0 แล้วฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC โดยใช้ auto sampler ปรับปริมาตรเป็น 20 ไมโครลิตร

3.3 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณทีบีเอชคิว (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)} = \frac{20A}{m}$$

เมื่อ

A = ปริมาณทีบีเอชคิวที่วัดได้ในสารละลายตัวอย่าง (ในเมทานอล) เป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

m = น้ำหนักตัวอย่าง เป็นกรัม

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพวิธี โดยการหา percentage recovery

3.4.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิว ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ซึ่งเตรียมได้โดยชั่งสารมาตรฐานทีบีเอชคิว (ข้อ 2.1) 0.1031 กรัม ละลายด้วยเมทานอล (ข้อ 2.3) ถ่ายใส่ขวดแก้วปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปริมาตรด้วยเมทานอล)

3.4.2 ชั่งตัวอย่างน้ำมันใส่ขวดแก้วหมุนเหวี่ยง (ข้อ 1.13) ขวดละ 10 กรัม (น้ำหนักแน่นอน) จำนวน 3 ขวด

ขวดที่ 1 เติมสารละลายข้อ 3.4.1 จำนวน 1 มิลลิลิตร

ขวดที่ 2 เติมสารละลายข้อ 3.4.1 จำนวน 5 มิลลิลิตร

ขวดที่ 3 เติมสารละลายข้อ 3.4.1 จำนวน 10 มิลลิลิตร

แต่ละขวดละลายในเฮกเซน (ข้อ 2.5) 10 มิลลิลิตร ตวงอะซีโตไนไตรต์

(ข้อ 2.2) 100 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่า (ข้อ 1.2) นาน 30 นาที นำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง (ข้อ 1.4) 15 นาที บีบอัดส่วนบน 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดแก้วสำหรับกลั่น (ข้อ 1.12) ทำให้แห้งโดยใช้เครื่องระเหยแห้งภายใต้ระบบสุญญากาศ (ข้อ 1.5)

- ละลาย residue ด้วยเมทานอล (ข้อ 2.3) จำนวน 10 มิลลิลิตร

- กรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน

- ปรับเครื่องให้เป็น 0 แล้วฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC โดยใช้ auto sampler ปรับปริมาตรเป็น 20 ไมโครลิตร

3.5 ทดลองหาปริมาณทีบีเอชคิวในตัวอย่างน้ำมันและไขมันสำหรับบริโภคน้ำมันที่มีจำหน่ายในท้องตลาด 29 ตัวอย่าง

ผลการทดลอง

1. การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐาน

1.1 จากการศึกษาทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ที่บีเอชคิว โดยใช้เมทานอลต่อ กรดอะซิติก ร้อยละ 10 ในอัตราส่วน 68.5 ต่อ 31.5 เป็น สารละลาย เคลื่อนที่ (วิธีที่ 1) เปรียบเทียบกับการใช้ อะซิโตไนโตรล์:น้ำ ในอัตราส่วน 40 ต่อ 60 เป็นสารละลายเคลื่อนที่ (วิธีที่ 2) ปรากฏว่าวิธีที่ 2 ได้ peak ชนิดresolved ในขณะที่วิธีที่ 1 ได้ peak ชนิด fused (ดังรูปที่ 4 และ 3 ตามลำดับ)

1.2 จากศึกษาทดลองเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ที่บีเอชคิวในตัวอย่างน้ำมันทั้ง 2 วิธี โดยการทำซ้ำวิธีละ 12 ครั้ง ปรากฏว่าวิธีที่ 1 ได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD) ± 8.00 ส่วนวิธีที่ 2 ได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD) ± 3.95 (ตามตารางที่ 3)

เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์

วิธีที่ 1 ใช้ สารละลายเคลื่อนที่ เป็นเมทานอลต่อ กรดอะซิติก ร้อยละ 10 ในอัตราส่วน 68.5 ต่อ 31.5 ปรากฏว่าได้ผลดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณที่บีบอัดตามวิธีวิเคราะห์ที่ 1

ครั้งที่	ปริมาณที่บีบอัด มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	ค่าเฉลี่ย (\bar{X}) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
1	179.9	187.85	± 8.00
2	193.9		
3	189.8		
4	190.1		
5	176.7		
6	177.3		
7	200.8		
8	201.1		
9	185.3		
10	185.0		
11	187.5		
12	186.8		

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

จากตารางที่ 1 ได้ค่าเฉลี่ย (mean) = 187.85

SD (s) = ± 8.00

ค่า t จากตารางที่ 8 = 2.205

$$\begin{aligned}
 95\% \text{ Confidence Interval} &= \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{N}} \\
 &= 187.85 \pm \left(\frac{2.205 \times 8}{\sqrt{N}} \right) \\
 &= 187.85 \pm \frac{17.64}{3.4641} \\
 &= 187.85 \pm 5.09
 \end{aligned}$$

วิธีที่ 2 ใช้ สารละลายเกลืออนที่ เป็น อะซิโตไนไตรด์ : น้ำ อัตราส่วน 40:60 ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 2 ปริมาณที่บีบเคี้ยว ตามวิธีวิเคราะห์ที่ 2

ครั้งที่	ปริมาณที่บีบเคี้ยว มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	ค่าเฉลี่ย (\bar{X}) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
1	175.7	178.49	± 3.95
2	177.6		
3	178.3		
4	177.2		
5	171.1		
6	180.9		
7	181.1		
8	180.3		
9	181.6		
10	182.9		
11	183.1		
12	186.8		

จากตารางที่ 2 ได้ค่า mean = 178.49

SD (s) = 3.95

ค่า t จากตารางที่ 8 = 2.205

95% Confidence Interval = $178.49 \pm \left(\frac{2.205 \times 3.95}{3.4641} \right)$

= 178.49 ± 2.51

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณที่บีเอชคิวเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัมระหว่างวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2

ครั้งที่	ปริมาณที่บีเอชคิว (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	
	วิธีที่ 1	วิธีที่ 2
1	179.9	175.7
2	193.9	177.6
3	189.8	178.3
4	190.1	177.2
5	176.7	172.1
6	177.3	171.1
7	200.8	180.9
8	201.1	181.1
9	185.3	180.3
10	185.0	181.6
11	187.5	182.9
12	186.8	183.1
ค่าเฉลี่ย	187.85	178.49
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	± 8.00	± 3.95

การทดสอบวิธีวิเคราะห์สองวิธีให้ผลแตกต่างกันหรือไม่

การทดสอบแบบเอฟ (F-Test)

เป็นการทดสอบผลการวิเคราะห์สองวิธีว่ามีความแตกต่างกันในเชิงสถิติหรือไม่ โดยพิจารณาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็นเกณฑ์ F เป็นอัตราส่วนของค่าแวนเรียนซ์ (variance) หรือ s ยกกำลังสอง (กำลังสองของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

$$F = s_1^2 \div s_2^2 \text{ โดยที่ } s_1^2 > s_2^2$$

เมื่อ s_1 เป็นค่า variance ของผลการทดลองโดยวิธีวิเคราะห์ที่ 1

s_2 เป็นค่า variance ของผลการทดลองโดยวิธีวิเคราะห์ที่ 2

v_1 เป็นค่า degree of freedom ของผลการทดลองโดยวิธีวิเคราะห์ที่ 1 = $n_1 - 1$

v_2 เป็นค่า degree of freedom ของผลการทดลองโดยวิธีวิเคราะห์ที่ 2 = $n_2 - 1$

ค่า F ที่ได้จากการคำนวณเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่าในตารางที่ 9 ถ้าค่าที่คำนวณได้มากกว่าค่าในตาราง ผลการวิเคราะห์ทั้งสองวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ถ้าค่าที่คำนวณได้มีค่าไม่มากกว่าค่าจากตาราง ผลของการวิเคราะห์ทั้งสองจะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (8)

ในการวิเคราะห์หาปริมาณที่บีบเคียวตามวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 ต่อสารตัวอย่างเดียวกัน ผลการวิเคราะห์ทั้งสองแบบจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (9)

ตารางที่ 4 การทดสอบวิธีวิเคราะห์ที่ 1

ครั้งที่	ปริมาณที่บีบเคียว (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (x_1)	$x_1 - \bar{x}_1$	$(x_1 - \bar{x}_1)^2$
1	179.9	-7.95	63.2025
2	193.9	6.05	36.6025
3	189.8	1.95	3.8025
4	190.1	2.25	5.0625
5	176.7	-11.15	124.3225
6	177.3	-10.55	111.3025
7	200.8	12.95	167.7025
8	201.1	1.025	175.5625
9	185.3	-2.55	6.5025
10	185.0	-2.85	8.1225
11	187.5	-0.35	0.1225
12	186.8	-1.05	1.1025
sum	2254.2		703.41

$$\bar{x}_1 = 2254.2 \div 12 = 187.8$$

$$s_1^2 = 703.41 \div (12 - 1) = 63.95$$

ตารางที่ 5 การทดสอบวิธีวิเคราะห์วิธีที่ 2

ครั้งที่	ปริมาณที่บีบเอชคิว (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (x_2)	$x_2 - \bar{x}_2$	$(x_2 - \bar{x}_2)^2$
1	175.7	-2.79	7.7841
2	177.6	-0.89	0.7921
3	178.3	-0.19	0.0361
4	177.2	-1.29	1.6641
5	172.1	-6.39	40.8321
6	171.1	-7.39	54.6121
7	180.9	2.41	5.8081
8	181.1	2.61	6.8121
9	180.3	1.81	3.2761
10	181.6	3.11	9.6721
11	182.9	4.41	19.4481
12	183.1	4.61	21.2521
sum	2141.9		171.9892

$$\bar{x}_2 = 2141.9 \div 12 = 178.9$$

$$s_2^2 = 171.99 \div (12-1) = 15.64$$

$$s_1^2 = 63.95$$

$$s_1^2 \div s_2^2 = 63.95 \div 15.64 = 4.09$$

$$F \text{ ที่ได้จากกรคำนวณ} = 4.09$$

$$F(11) \text{ ที่ได้จากตาราง (ตารางที่ 9)} = 2.82$$

จะเห็นว่าค่า F ที่คำนวณได้มีค่ามากกว่าในตาราง จึงสรุปได้ว่าผลที่ได้จากการวิเคราะห์ทั้งสองวิธีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และจากการที่ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของวิธีที่ 2 ดีกว่าวิธีที่ 1

ดังนั้นจึงใช้อะซิโตนไตรต์ : น้ำ (40:60) อัตราไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นสารละลายเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์ต่อไป

สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC เป็นดังนี้

- คอลัมน์ : HYPERSIL H5 ODS
 สารละลายเคลื่อนที่ : อะซิโตน:ไตรล์+น้ำ (40+60)
 อัตราการไหล : 1 มิลลิลิตรต่อนาที
 ความยาวคลื่น : 280 นาโนเมตร

2. การทดลองหาค่า percentage recovery

จากสูตร

$$\% \text{ recovery} = \frac{(\text{ปริมาณที่บีบเอชคิวที่วิเคราะห์ได้} - \text{ปริมาณที่บีบเอชคิวที่มีในตัวอย่าง}) \times 100}{\text{ปริมาณที่บีบเอชคิวที่เติม}}$$

ตารางที่ 6 แสดงผลการทดลองและ percentage recovery

ตัวอย่าง	ปริมาณที่บีบเอชคิว (มิลลิกรัม)				percentage recovery
	ในตัวอย่าง	ที่เติม	วิเคราะห์ได้	recovery	
น้ำมัน	57.0	1	57.997	0.997	99.7
		5	61.53	4.53	90.6
		10	66.41	9.41	94.1

ตารางที่ 7 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณที่บีเอชคิวในตัวอย่างน้ำมันบริโภค

ลำดับที่	หมายเลขปฏิบัติการ	ชื่อตัวอย่าง	ที่บีเอชคิว (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
1	SH. 967	น้ำมันปาล์ม	225.5
2	TB. 508	R.B.D. PALM OIL	197
3	TL. 425	R.B.D. PALM OIL	175.6
4	SU.35	R.B.D. PALM OIL	155.0
5	SM. 233	R.B.D. PALM OIL	162.6
6	SA. 101	R.B.D. PALM OIL	141.5
7	TB.671	Palm Olein	203.0
8	TB. 672	Palm Oil	757.2
9	TC. 411	Palm Oil	325.7
10	TC. 412	Palm Olein	342.8
11	TG. 643	น้ำมันถั่วเหลืองผ่านกรรมวิธี	57.3
12	TG. 644	น้ำมันเมล็ดข้าวโพดผ่านกรรมวิธี	61.5
13	TG. 645	น้ำมันเมล็ดคอกทานตะวันผ่านกรรมวิธี	61.5
14	SS. 562	Palm Oil	141.3
15	ST. 718	Palm Olein	95.7
16	SK. 704	น้ำมันปาล์มผ่านขบวนการ	128.4
17	SK. 705	น้ำมันปาล์มผ่านขบวนการ	151.5
18	SK. 706	น้ำมันปาล์มผ่านขบวนการ	211.5
19	SM. 320	น้ำมันปาล์มผ่านกรรมวิธี	127.3
20	SA. 117	น้ำมันปาล์มจากเนื้อปาล์มผ่านกรรมวิธี	239.0
21	SA. 118	น้ำมันปาล์มจากเนื้อปาล์มผ่านกรรมวิธี	266.6
22	TC. 885	R.B.D. PALM OIL (1302 R1/5)	157.6

ตารางที่ 7 (ต่อ)

ลำดับที่	หมายเลขปฏิบัติการ	ชื่อตัวอย่าง	ทีบีเอชคิว (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
23	TC. 886	R.B.D. PALM OIL (1302 R1/6)	179.7
24	TC.887	R.B.D. Palm Olein (0502 N1/1)	19.7
25	TC. 888	R.B.D. Palm Olein (0502 N1/2)	242.9
26	TG. 62	Palm Olein	157.7
27	TG. 63	Palm Olein	163.9
28	TG. 64	R.B.D. PALM OIL	170.6
29	TG. 65	R.B.D. PALM OIL	172.5

หมายเหตุ ข้อกำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 22 (พ.ศ. 2522) เรื่อง น้ำมันและไขมัน และฉบับที่ 56 (พ.ศ. 2524) เรื่องน้ำมันปาล์ม และตามมาตรฐานของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 47-2533 เรื่องน้ำมันและไขมันสำหรับบริโภค และตามมาตรฐานของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก.47-2533 เรื่องน้ำมันและไขมันสำหรับบริโภค และ มอก. 288-2535 เรื่องน้ำมันปาล์มสำหรับบริโภค (10) กำหนดให้ในน้ำมันและไขมันสำหรับบริโภคมีปริมาณทีบีเอชคิวได้ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

จากการทดลองตามตารางที่ 7 พบว่าในผลิตภัณฑ์น้ำมันและไขมันสำหรับบริโภค 29 ตัวอย่าง มีปริมาณทีบีเอชคิวต่ำกว่ามาตรฐาน 20 ตัวอย่าง และสูงกว่ามาตรฐาน 9 ตัวอย่าง

วิจารณ์

1. การทดลองหาภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิว

- 1.1 จากการทดลองฉีดสารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิว แล้วแปรผันอัตราส่วนระหว่าง อะซีโตไนไตรล์ กับน้ำ โดยใช้อัตราการไหลของสารผสมดังกล่าวเป็น 1 มิลลิลิตรต่อนาที จนกระทั่งได้ peak ทีบีเอชคิวออกมาชัดเจน ผลการทดลองพบว่าอัตราส่วนของสารละลายเคลื่อนที่ที่เหมาะสม คือ อะซีโตไนไตรล์ ต่อ น้ำ เป็น 40:60 ด้วยอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที โดยมี retention time 8.232
- 1.2 Chromatogram ของทีบีเอชคิวที่ได้แยกออกจาก peak อื่น ได้ชัดเจน เวลาในการได้ peak อยู่ในช่วงเวลาที่เหมาะสม มีการ integrate พื้นที่ใต้ peak โดยผ่าน base line
- 1.3 ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิว เพื่อลดความผิดพลาดเนื่องจากการคำนวณและการชั่ง จึงควรชั่งสารมาตรฐาน 0.1000 กรัม ทำเป็นสารละลาย 100 มิลลิลิตร ถ้าสารมาตรฐานมีความบริสุทธิ์ร้อยละ 97 สารมาตรฐานนี้ก็จะมีความเข้มข้น 970 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นต้น

2. การทดลองวิธีการเตรียมตัวอย่าง

- 2.1 จากการทดลองหาความเข้มข้นของทีบีเอชคิวในตัวอย่างน้ำมันทั้ง 2 วิธี พบว่าวิธีที่ 1 ซึ่งเป็นวิธีเดิม ได้ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน ± 8.00 และวิธีที่เลือกได้ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน ± 3.95 จึงเลือกใช้เป็นวิธีในห้องปฏิบัติการ
- 2.2 การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ที่เลือก โดยการวิเคราะห์ซ้ำ ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง ได้ค่า % RSD เท่ากับ 0.22
- 2.3 จากการศึกษาทดลอง พบว่า สารละลายเคลื่อนที่ที่ใช้เป็น อะซีโตไนไตรล์ ต่อ น้ำ อัตราส่วน 40:60 ไม่ควรผสม อะซีโตไนไตรล์กับน้ำก่อน เพราะจะทำให้อัตราส่วนเปลี่ยนแปลง เนื่องจากเกิดการระเหยของตัวทำละลาย ควรจะให้เครื่องเป็นตัวผสมสารละลายเคลื่อนที่ เพราะถ้าอัตราส่วนของสารละลายเคลื่อนที่เปลี่ยน เวลาที่เราทำการทดลองไปนาน ๆ จะทำให้ retention time หักเหไปจาก retention time ของสารละลายมาตรฐาน ทำให้เกิดความสงสัยว่าผลที่วิเคราะห์ได้อาจเป็นสารเคมีตัวอื่นได้ จึงเกิดความไม่มั่นใจในผลวิเคราะห์

- 2.4 การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อที่จะให้ผลวิเคราะห์ถูกต้องจึงควรเตรียมให้มีความเข้มข้นเป็นสัดส่วนเหมาะสมกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน กล่าวคือ เมื่อฉีดสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างเข้าเครื่อง HPLC ปริมาณที่บีบฉีดของตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานไม่ควรต่างกันมาก
- 2.5 ต้องระวังอย่าให้มีฟองอากาศเข้าไปในคอลัมน์และปั๊ม
- 2.6 ต้องกรองสารละลาย สารละลายเคลื่อนที่ และตัวอย่างทุกครั้งก่อนฉีด
- 2.7 การใช้สารละลายเคลื่อนที่ที่เป็นกรด (วิธีที่ 1) อาจทำให้อายุการใช้งานของคอลัมน์ สั้นกว่าการใช้อะซิโตนไนไตรล์ (วิธีที่ 2)

สรุป

จากการศึกษาทดลองเพื่อหาวิธีที่เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณทีบีเอชคิว ในตัวอย่างน้ำมันและไขมันโดย HPLC ได้ผลสรุปดังนี้

1. ใช้สารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิว 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นมาตรฐานในการวิเคราะห์ และได้สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง HPLC ดังนี้
 - 1.1 คอลัมน์ใช้ C_{18} ขนาด 4.6X250 มิลลิเมตร ความละเอียด 5 ไมครอน
 - 1.2 สารละลายเคลื่อนที่ใช้ อะซีโตไนไตรล์ : น้ำ อัตราส่วน 40:60
 - 1.3 อัตราการไหลของสารละลายเคลื่อนที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที
 - 1.4 ตรวจวัดความเข้มข้นในช่วง UV ที่ 280 นาโนเมตร
2. การวิเคราะห์ปริมาณทีบีเอชคิวในตัวอย่างน้ำมันและไขมันสำหรับบริโภคน 29 ตัวอย่าง ได้ผลดังนี้
 - 2.1 พบปริมาณทีบีเอชคิว 19.7 ถึง 757.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม
 - 2.2 มีตัวอย่างที่พบปริมาณทีบีเอชคิวเกินกำหนด ตามข้อกำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 22 (พ.ศ. 2522) เรื่องน้ำมันและไขมัน และฉบับที่ 56 (พ.ศ. 2524) เรื่องน้ำมันปาล์ม และตามมาตรฐานของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก.47-2533 เรื่องน้ำมันและไขมันสำหรับบริโภค และ มอก. 288-2535 เรื่องน้ำมันปาล์มสำหรับบริโภค คือไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 9 ตัวอย่าง จาก 29 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 30

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ผอ.ก.กช. คุณสุจินต์ ศรีคงศรี หัวหน้ากลุ่มงานชีวเคมี คุณสุนทร เป็รื่องการ หัวหน้ากลุ่มงานเทคโนโลยีอาหาร 1 คุณจรรยา วัฒนทวีกุล หัวหน้ากลุ่มงาน คุณค่าทางโภชนาการ คุณสุคนธ์ เนคมานุรักษ์ ดร.รวิวรรณ วงษ์สมุทร คุณประทุม พุทธิวินช์ และคุณสุมาลี ทั้งพิทยกุล ที่กรุณาให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะ ตลอดจนให้ ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ จนทำให้ผลงานนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. รศ. รัชณี ตันตะพานิชกุล. 2537. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 6. กรุงเทพฯ ฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง, หน้า 370-373.
2. Committee on codex specification. 1981. Food chemicals codex. Washington, D.C.: National academy press, p. 321.
3. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 22 (พ.ศ. 2522) เรื่องน้ำมันและไขมัน และฉบับที่ 56 (พ.ศ. 2524) เรื่องน้ำมันปาล์ม. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 96 ตอนที่ 163 ลงวันที่ 21 กันยายน 2522 และ เล่มที่ 98 ตอนที่ 46 ลงวันที่ 24 ธันวาคม 2524.
4. Fazio T. and Sherma J. 1987. Food Additives Analytical Manual Volume II. Arlington: AOAC, p. 144-156.
5. มาตรฐาน สหิทธิเดช. เคมีสารฉบับพิเศษ. สมาคมเคมี, กรกฎาคม - ตุลาคม, 2537, หน้า 3-53.
6. แม้น อมรสิทธิ์และอมร เพชรสม. 2534. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ. กรุงเทพฯ ฯ: โรงพิมพ์ชวนพิมพ์, หน้า 735-757.
7. Thomas Fazio, ed. 1997. Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. Arlington: AOAC., p. 2.
8. Dixon, W.J., and Massey, F.J.Jr. 1969. Introduction to statistical analysis. New York: McGraw-Hill,Inc., p. 150-184.
9. ศุภชัย ใช้เทียมวงศ์. 2539. ปฏิบัติการเคมีปริมาณวิเคราะห์. พิมพ์ครั้งที่ 5, กรุงเทพฯ ฯ : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, หน้า 6-42.
10. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำมันและไขมันสำหรับบริโภค มอก.47-2533 และ มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำมันปาล์มสำหรับบริโภค มอก.288-2535.

ภาคผนวก

ตารางที่ 8 ค่า t ที่ระดับความเชื่อมั่นต่างๆ (9)

Degree of Freedom	t Value for Confidence Limit (%)					
	50	80	90	95	99	99.8
1	1.00	3.08	6.31	12.7	63.7	318.0
2	0.82	1.89	2.92	4.30	9.92	22.3
3	0.76	1.64	2.35	3.18	5.84	10.2
4	0.74	1.53	2.13	2.78	4.60	7.17
5	0.73	1.48	2.02	2.57	4.03	5.89
6	0.72	1.44	1.94	2.45	3.71	5.21
7	0.71	1.42	1.90	2.36	3.50	4.78
8	0.71	1.40	1.86	2.31	3.36	4.50
9	0.70	1.38	1.83	2.26	3.25	4.30
10	0.70	1.37	1.81	2.23	3.17	4.14
12	0.70	1.36	1.78	2.18	3.06	3.93
15	0.69	1.34	1.75	2.13	2.95	3.73
20	0.69	1.32	1.72	2.09	2.84	3.55
30	0.68	1.31	1.70	2.04	2.75	3.38
60	0.68	1.30	1.67	2.00	2.66	3.23
"	0.67	1.29	1.64	1.96	2.58	3.09

A-7a F DISTRIBUTION, UPPER 5 PER CENT POINTS ($F_{.95}$)

ตารางที่ 9 แสดงค่า F (8)

DEGREES OF FREEDOM FOR NUMERATOR

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
1	161	200	216	225	230	234	237	239	241	242	244	246	248	249	250	251	252	253	254
2	18.5	19.0	19.2	19.2	19.3	19.3	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5
3	10.1	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.74	8.70	8.66	8.64	8.62	8.59	8.57	8.55	8.53
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.72	5.69	5.66	5.63
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.68	4.62	4.56	4.53	4.50	4.46	4.43	4.40	4.37
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.00	3.94	3.87	3.84	3.81	3.77	3.74	3.70	3.67
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.34	3.30	3.27	3.23
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.28	3.22	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.83	2.79	2.75	2.71
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.66	2.62	2.58	2.54
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.53	2.49	2.45	2.40
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.69	2.62	2.54	2.51	2.47	2.43	2.38	2.34	2.30
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.25	2.21
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.53	2.46	2.39	2.35	2.31	2.27	2.22	2.18	2.13
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.20	2.16	2.11	2.07
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.42	2.35	2.28	2.24	2.19	2.15	2.11	2.06	2.01
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.38	2.31	2.23	2.19	2.15	2.10	2.06	2.01	1.96
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	2.06	2.02	1.97	1.92
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	2.03	1.98	1.93	1.88
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.84
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.96	1.92	1.87	1.81
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.23	2.15	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.78
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.91	1.86	1.81	1.75
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.18	2.11	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.79	1.73
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.87	1.82	1.77	1.71
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.09	2.01	1.93	1.89	1.84	1.79	1.74	1.68	1.62
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.00	1.92	1.84	1.79	1.74	1.69	1.64	1.58	1.51
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.92	1.84	1.75	1.70	1.65	1.59	1.53	1.47	1.39
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.18	2.09	2.02	1.96	1.91	1.83	1.75	1.66	1.61	1.55	1.50	1.43	1.35	1.25
∞	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88	1.83	1.75	1.67	1.57	1.52	1.46	1.39	1.32	1.22	1.00

DEGREES OF FREEDOM FOR DENOMINATOR

Interpolation should be performed using reciprocals of the degrees of freedom. By permission of Prof. E. S. Pearson from M. Merrington, C. M. Thompson, "Tables of percentage points of the inverted beta (F') distribution," *Biometrika*, vol. 33 (1943), p. 73.

Mode: Acquired Data
 Original Results: C:\TSP\SYSTEM7\Data\Sequence1.RES

Reported On: 10-31-97 12:38:34

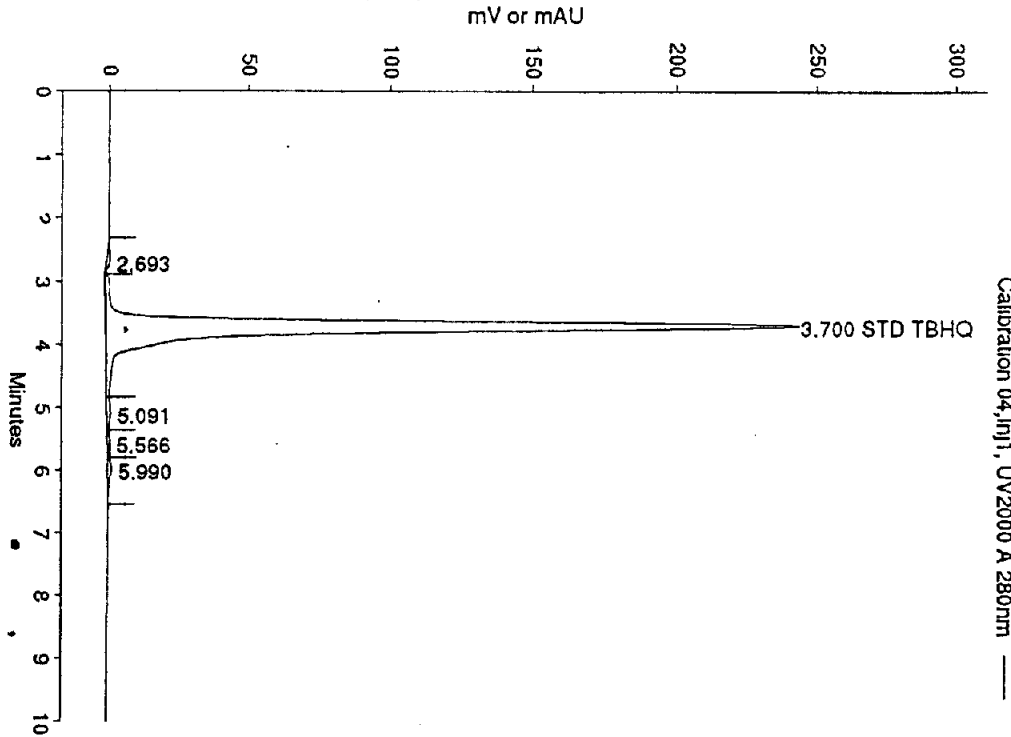
Analysis Report

Name: Calibration 04
 Type: Calibration
 Injection Volume: 20.0 uL

Vial: A05
 Level 4 of 5
 Injection: 1 of 1
 Injected On: 10-31-97 11:22:51

Acquisition Log
 Column Pressure (PSI): 2170 Column Temperature (C): 26 Pump Flow Stability: 4.0
 Noise (microAU): 8e+001 Drift (microAU/min): 2e+002

Run-Time Messages: None
 Signal 1: UV2000 A 280 nm
 Calculation Type: External Standard (Area)



Component	RT(min)	Area	Height	Conc	Peak Type
Ident0001	2.693	20526	1141	0.0	Fused
STD TBHQ	3.700	3095935	240833	209.6	Fused
Unident0003	5.091	36347	1329	0.0	Fused
Unident0004	5.566	23851	1042	0.0	Fused
Unident0005	5.990	28919	1580	0.0	Fused
Totals		3205578	245925	209.6	

System: SYSTEM7 on Comm Port 1 Analyst: THIDADUANG PC1000 Ver 3.0.1
 Acquisition Method: C:\TSP\SYSTEM7\Methods\TRAIN.AQM 10-31-97 10:52:22
 Calculation Method: C:\TSP\SYSTEM7\Methods\TRAIN.CAM 10-31-97 11:45:04
 Report Method: C:\TSP\SYSTEM7\Methods\TRAIN.RPM 10-31-97 10:43:00

รูปที่ 3 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิว วิธีที่ 1

Mode: Acquired Data
 Original Results: C:\TSP\SYSTEM6\Data\Sequence3.RES

Reported On: 10-28-97 12:51:39

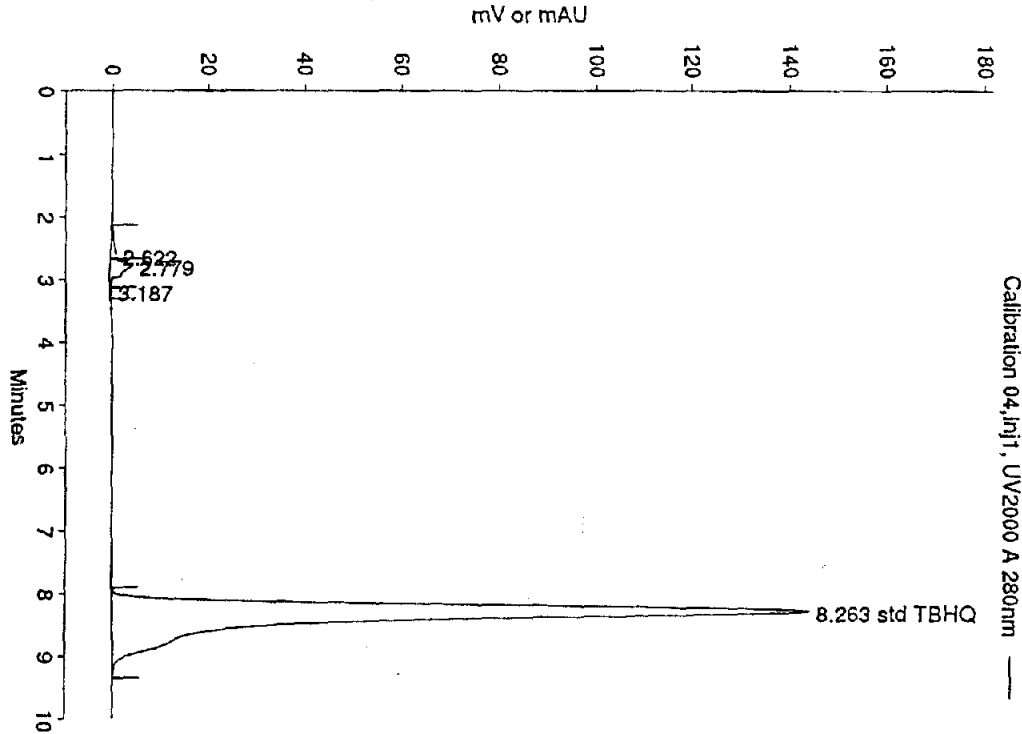
Analysis Report

Name: Calibration 04
 Type: Calibration
 Injection Volume: 20.0 uL

Vial: A06
 Level 4 of 5
 Injection: 1 of 2
 Injected On: 10-28-97 11:26:31

Acquisition Log
 Column Pressure (PSI): 1573 Column Temperature (C): 26 Pump Flow Stability: 2.7
 Noise (microAU): 5 Drift (microAU/min): -5e+001
 Run-Time Messages: None

Signal 1: UV2000 A 280 nm
 Calculation Type: External Standard (Area)



Component	RT(min)	Area	Height	ug/ml	Peak Type
Unident0001	2.622	20239	1152	0.0	Fused
Unident0002	2.779	59893	4809	0.0	Fused
Unident0003	3.187	2871	488	0.0	Fused
std TBHQ	8.263	2556211	144297	209.6	Resolved
Totals		2639214	150746	209.6	

System: SYSTEM6 on Comm Port 1 Analyst: NOI PC1000 Ver 3.0.1
 Acquisition Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.AQM 10-01-97 09:48:08
 Calculation Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\RESERCH.CAM 10-28-97 12:10:56
 Report Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.RPM 10-01-97 10:27:50

รูปที่ 4 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิว วิธีที่ 2

Mode: Acquired Data
Original Results: C:\TSP\SYSTEM7\Data\Sequence1.RES

Page 3
Reported On: 10-31-97 12:52:37

Analysis Report

Name: Sample 03
Type: Sample
Injection Volume: 20.0 uL

Vial: A09

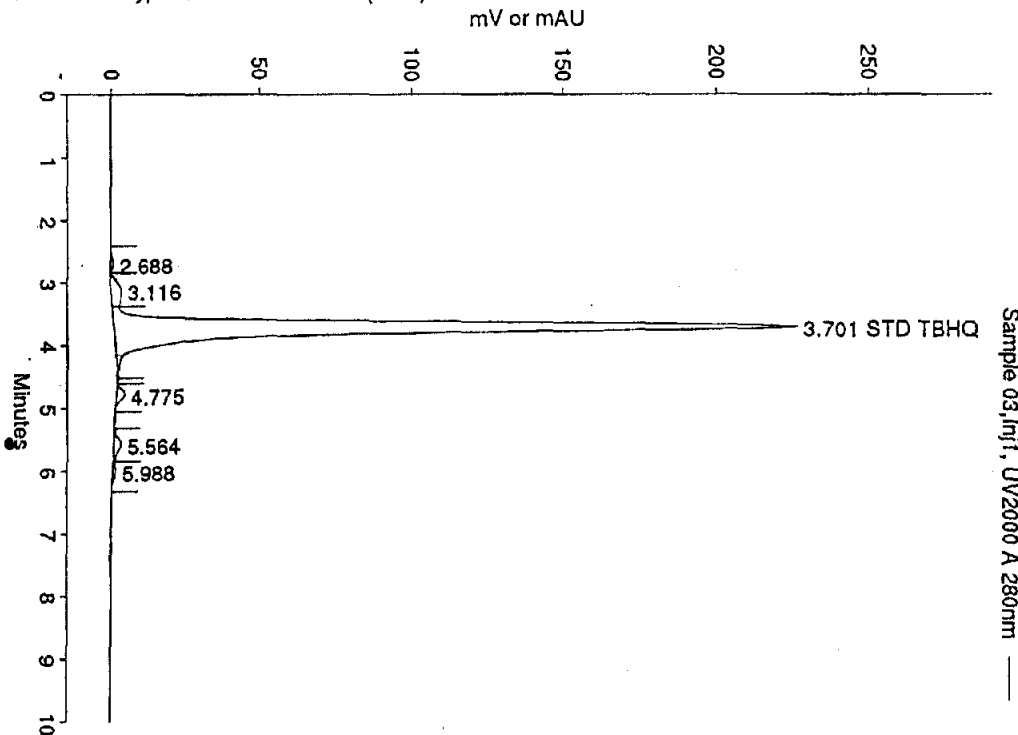
Injection: 1 of 2
Injected On: 10-31-97 12:29:28

Acquisition Log

Column Pressure (PSI): 2199 Column Temperature (C): 26 Pump Flow Stability: 1.5
Noise (microAU): 4e+001 Drift (microAU/min): -2e+002
Run-Time Messages: None

Signal 1: UV2000 A 280 nm

Calculation Type: External Standard (Area)



Component	RT(min)	Area	Height	Conc	Peak Type
Unident0001	2.688	11627	978	0.0	Fused
Unident0002	3.116	81806	3516	0.0	Fused
STD TBHQ	3.701	2782530	225868	195.9	Fused
Unident0004	4.775	32472	2822	0.0	Fused
Unident0005	5.564	37770	2493	0.0	Fused
Unident0006	5.988	14474	1117	0.0	Fused
Totals		2960679	236794	195.9	

System: SYSTEM7 on Comm Port 1

Analyst: THIDADUANG

PC1000 Ver 3.0.1

Acquisition Method: C:\TSP\SYSTEM7\Methods\TRAIN.AQM

10-31-97 10:52:22

Calculation Method: C:\TSP\SYSTEM7\Methods\TRAIN.CAM

10-31-97 11:45:04

Report Method: C:\TSP\SYSTEM7\Methods\TRAIN.RPM

10-31-97 10:43:00

รูปที่ 5 โครมาโตแกรมของทีบีเอชคิว ในตัวอย่างน้ำมัน วิธีที่ 1

Mode: Acquired Data
 Original Results: C:\TSP\SYSTEM6\Data\Sequence3.RES

Reported On: 10-28-97 13:54:11

Analysis Report

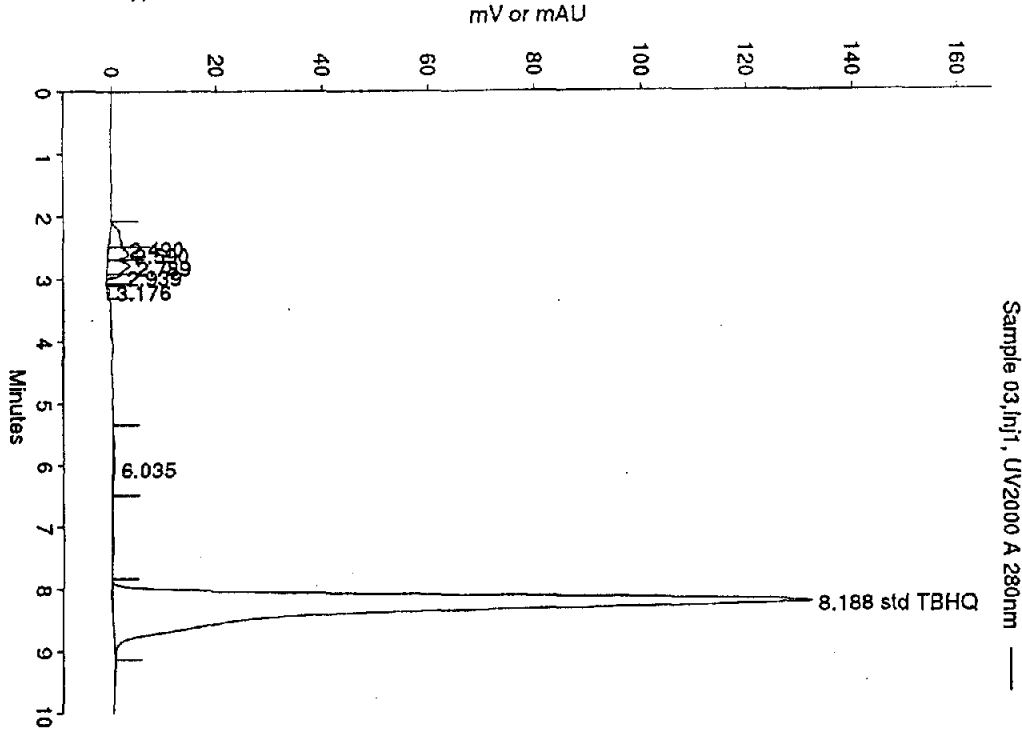
Name: Sample 03
 Type: Sample
 Injection Volume: 20.0 uL

Vial: A10

Injection: 1 of 2
 Injected On: 10-28-97 12:55:23

Acquisition Log
 Column Pressure (PSI): 1605 Column Temperature (C): 26 Pump Flow Stability: 4.3
 Noise (microAU): 9 Drift (microAU/min): -2e+002
 Run-Time Messages: None

Signal 1: UV2000 A 280 nm
 Calculation Type: External Standard (Area)



Component	RT(min)	Area	Height	ug/ml	Peak Type
Unident0001	2.490	40734	2721	0.0	Fused
Unident0002	2.590	39961	3818	0.0	Fused
Unident0003	2.789	45094	4366	0.0	Fused
Unident0004	2.939	10291	2644	0.0	Fused
Unident0005	3.176	3522	599	0.0	Resolved
Unident0006	6.035	8336	333	0.0	Resolved
std TBHQ	8.188	2376837	132342	190.72	Resolved
Totals		2524775	146823	190.72	

System: SYSTEM6 on Comm Port 1 Analyst: NOI PC1000 Ver 3.0.1
 Acquisition Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.AQM 10-01-97 09:48:08
 Calculation Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\RESERCH.CAM 10-28-97 12:10:56
 Report Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.RPM 10-01-97 10:27:50

รูปที่ 6 โครมาโตแกรมของทีบีเอชคิว ในตัวอย่างน้ำมัน วิธีที่ 2

Mode: Acquired Data
 Original Results: C:\TSP\SYSTEM6\Data\Sequence3.RES

Reported On: 10-28-97 12:40:44

Analysis Report

Name: Calibration 01
 Type: Calibration
 Injection Volume: 20.0 uL

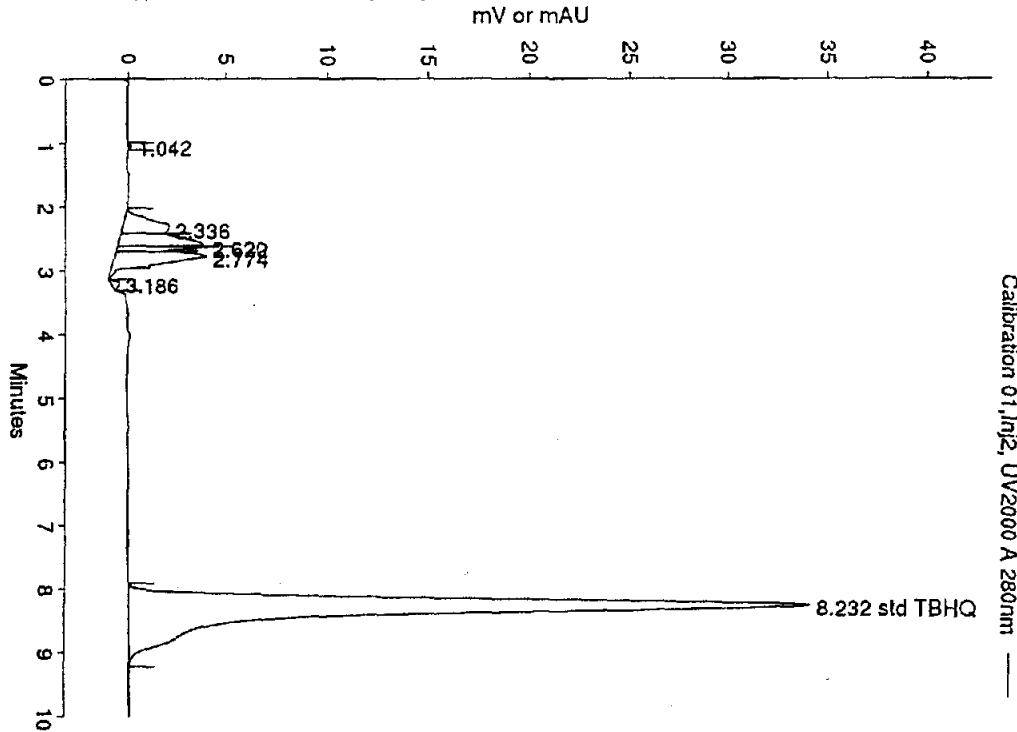
Vial: A03
 Level 1 of 5

Injection: 2 of 2
 Injected On: 10-28-97 10:30:59

Acquisition Log

Column Pressure (PSI): 1580 Column Temperature (C): 26 Pump Flow Stability: 5.0
 Noise (microAU): 6e+001 Drift (microAU/min): 6e+001
 Run-Time Messages: None

Signal 1: UV2000 A 280 nm
 Calculation Type: External Standard (Area)



Component	RT(min)	Area	Height	ug/ml	Peak Type
Unident0001	1.042	607	205	0.0	Resolved
Unident0002	2.336	33947	2446	0.0	Fused
Unident0003	2.622	43210	4549	0.0	Fused
Unident0004	2.622	17241	4552	0.0	Fused
Unident0005	2.774	53475	4740	0.0	Fused
Unident0006	3.186	2619	459	0.0	Fused
std TBHQ	8.232	585408	34077	52.4	Resolved
Totals		736507	51028	52.4	

System: SYSTEM6 on Comm Port 1 Analyst: NOI PC1000 Ver 3.0.1
 Acquisition Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.AQM 10-01-97 09:48:08
 Calculation Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\RESERCH.CAM 10-28-97 12:10:56
 Report Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.RPM 10-01-97 10:27:50

รูปที่ 7 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิว

Mode: Acquired Data
 Original Results: C:\TSP\SYSTEM6\Data\Sequence3.RES

Reported On: 10-28-97 12:51:37

Analysis Report

Name: Calibration 02
 Type: Calibration
 Injection Volume: 20.0 uL

Vial: A04
 Level 2 of 5

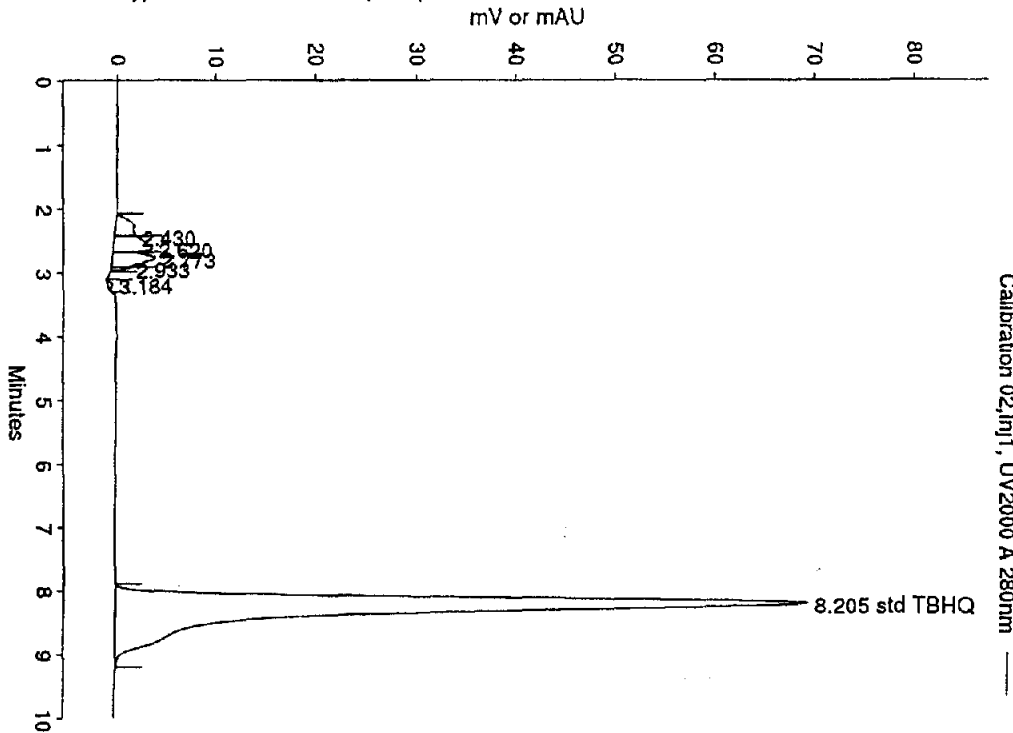
Injection: 1 of 2
 Injected On: 10-28-97 10:42:05

Acquisition Log

Column Pressure (PSI): 1572 Column Temperature (C): 26 Pump Flow Stability: 5.0
 Noise (microAU): 8 Drift (microAU/min): -5e+001
 Run-Time Messages: None

Signal 1: UV2000 A 280 nm

Calculation Type: External Standard (Area)



Component	RT(min)	Area	Height	ug/ml	Peak Type
Unident0001	2.430	30376	2175	0.0	Fused
Unident0002	2.620	50515	4019	0.0	Fused
Unident0003	2.773	44933	4454	0.0	Fused
Unident0004	2.933	4990	1955	0.0	Fused
Unident0005	3.184	3038	506	0.0	Resolved
std TBHQ	8.205	1214805	69658	104.8	Resolved
Totals		1348657	82767	104.8	

System: SYSTEM6 on Comm Port 1

Analyst: NOI

PC1000 Ver 3.0.1

Acquisition Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.AQM

10-01-97 09:48:08

Calculation Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\RESERCH.CAM

10-28-97 12:10:56

Report Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.RPM

10-01-97 10:27:50

รูปที่ 8 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานที่บีเชคคิว

Mode: Acquired Data
 Original Results: C:\TSP\SYSTEM6\Data\Sequence3.RES

Reported On: 10-28-97 12:51:38

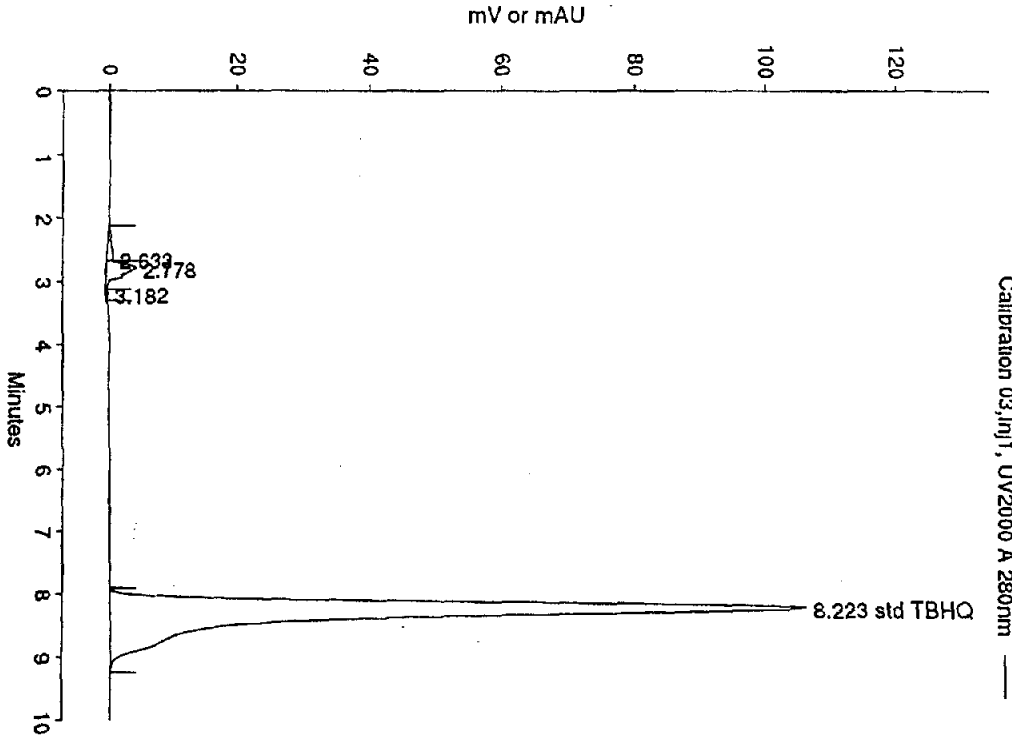
Analysis Report

Name: Calibration 03
 Type: Calibration
 Injection Volume: 20.0 uL

Vial: A05
 Level 3 of 5
 Injection: 1 of 2
 Injected On: 10-28-97 11:04:18

Acquisition Log
 Column Pressure (PSI): 1578 Column Temperature (C): 26 Pump Flow Stability: 5.3
 Noise (microAU): 3e+001 Drift (microAU/min): 9e+001
 Run-Time Messages: None

Signal 1: UV2000 A 280 nm
 Calculation Type: External Standard (Area)



Component	RT(min)	Area	Height	ug/ml	Peak Type
Unident0001	2.633	19563	1036	0.0	Fused
Unident0002	2.778	60795	4841	0.0	Fused
Unident0003	3.182	3319	551	0.0	Fused
std TBHQ	8.223	1873376	106524	157.2	Resolved
Totals		1957053	112952	157.2	

System: SYSTEM6 on Comm Port 1 Analyst: NOI PC1000 Ver 3.0.1
 Acquisition Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.AQM 10-01-97 09:48:08
 Calculation Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\RESERCH.CAM 10-28-97 12:10:56
 Report Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.RPM 10-01-97 10:27:50

รูปที่ 9 โคโรนาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิว

Mode: Acquired Data
 Original Results: C:\TSP\SYSTEM6\Data\Sequence3.RES

Reported On: 10-28-97 13:01:37

Analysis Report

Name: Calibration 04
 Type: Calibration
 Injection Volume: 20.0 uL

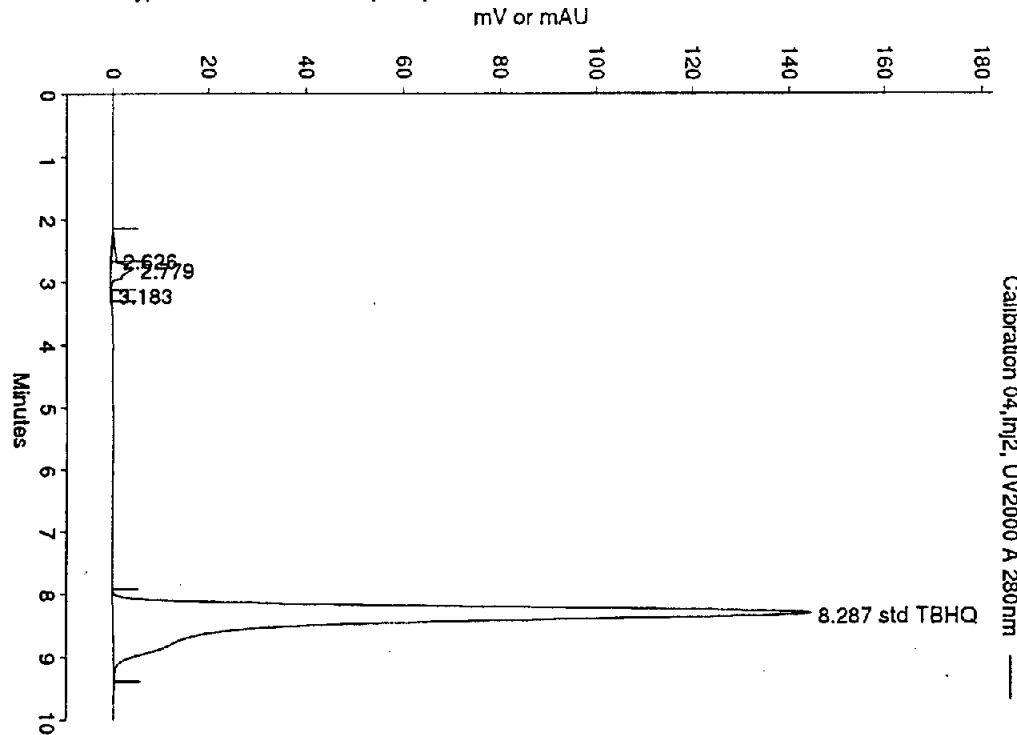
Vial: A06
 Level 4 of 5

Injection: 2 of 2
 Injected On: 10-28-97 11:37:38

Acquisition Log

Column Pressure (PSI): 1574 Column Temperature (C): 26 Pump Flow Stability: 4.4
 Noise (microAU): 5 Drift (microAU/min): -4e+001
 Run-Time Messages: None

Signal 1: UV2000 A 280 nm
 Calculation Type: External Standard (Area)



Component	RT(min)	Area	Height	ug/ml	Peak Type
Unident0001	2.626	19284	1134	0.0	Fused
Unident0002	2.779	59994	4825	0.0	Fused
Unident0003	3.183	2959	504	0.0	Fused
std TBHQ	8.287	2578190	144795	209.6	Resolved
Totals		2660427	151258	209.6	

System: SYSTEM6 on Comm Port 1 Analyst: NOI PC1000 Ver 3.0.1
 Acquisition Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.AQM 10-01-97 09:48:08
 Calculation Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\RESERCH.CAM 10-28-97 12:10:56
 Report Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.RPM 10-01-97 10:27:50

รูปที่ 10 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิว

Mode: Acquired Data
 Original Results: C:\TSP\SYSTEM6\Data\Sequence3.RES

Reported On: 10-28-97 13:01:39

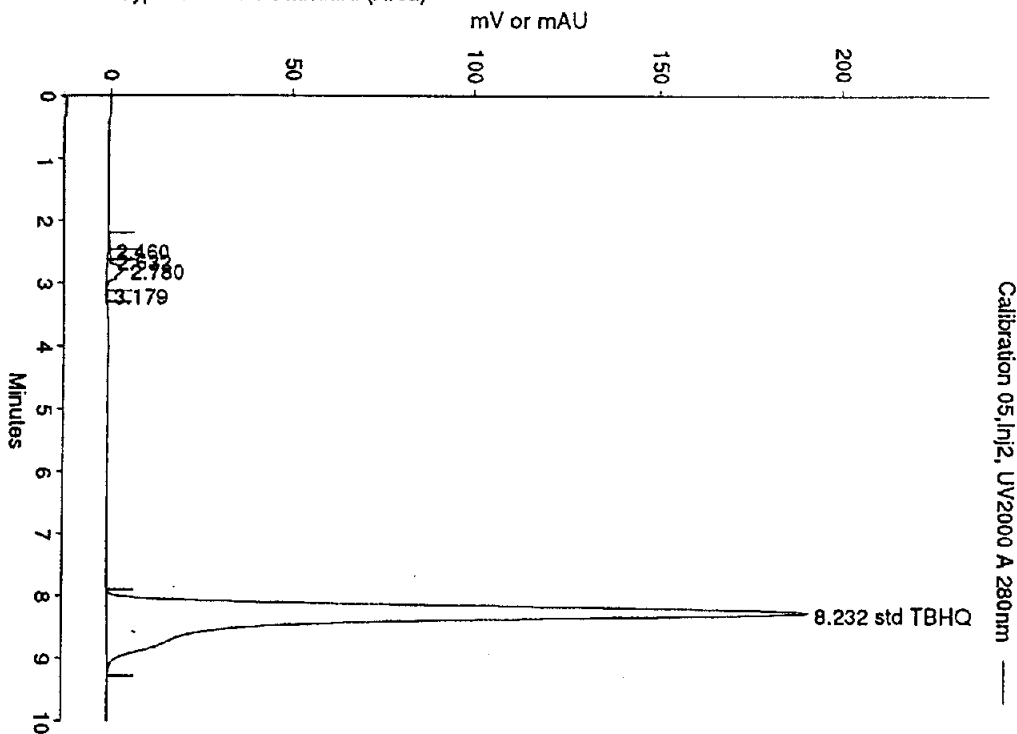
Analysis Report

Name: Calibration 05
 Type: Calibration
 Injection Volume: 20.0 uL

Vial: A07
 Level 5 of 5
 Injection: 2 of 2
 Injected On: 10-28-97 11:59:50

Acquisition Log
 Column Pressure (PSI): 1568
 Column Temperature (C): 26
 Pump Flow Stability: 2.2
 Noise (microAU): 5
 Drift (microAU/min): -3e+001
 Run-Time Messages: None

Signal 1: UV2000 A 280 nm
 Calculation Type: External Standard (Area)



Component	RT(min)	Area	Height	ug/ml	Peak Type
Unident0001	2.460	4089	491	0.0	Fused
Unident0002	2.632	7952	969	0.0	Fused
Unident0003	2.780	61390	4820	0.0	Fused
Unident0004	3.179	2976	514	0.0	Fused
std TBHQ	8.232	3397606	191012	262	Resolved
Totals		3474013	197806	262	

System: SYSTEM6 on Comm Part 1
 Acquisition Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.AQM
 Calculation Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\RESERCH.CAM
 Report Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.RPM

Analyst: NOI
 PC1000 Ver 3.0.1
 10-01-97 09:48:08
 10-28-97 12:10:56
 10-01-97 10:27:50

รูปที่ 11 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิว

Mode: Acquired Data
Original Results: C:\TSP\SYSTEM6\Data\Sequence3.RES

Reported On: 10-28-97 13:01:39

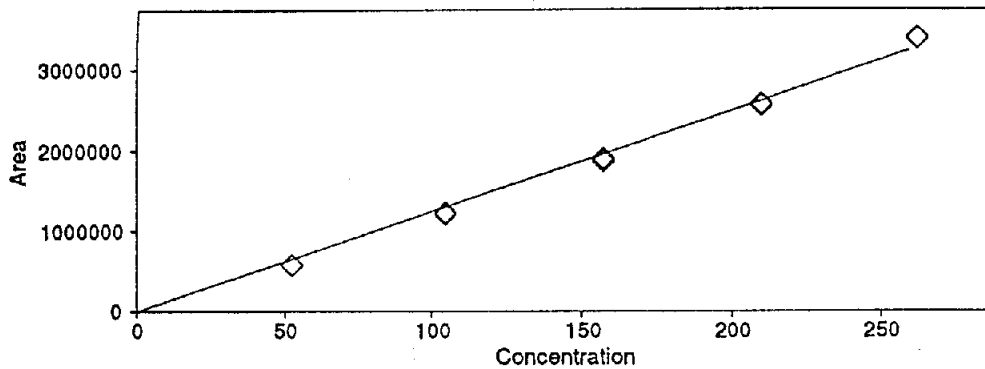
Calibration Report

Calculation Type: External Standard (Area)
Number of Calibration Levels: 5
Fit Type: Linear Fit through Origin
Weighting: None

Signal 1: UV2000 A 280 nm

Vial Name	Vial	Injections
Calibration 01	A03	2
Calibration 02	A04	2
Calibration 03	A05	2
Calibration 04	A06	2
Calibration 05	A07	2

std TBHQ



AREA = B * CONC

B = 1.2463e+004, RELIABILITY = 87.956%, CORR COEFF = 0.9993

Component	RT(min)	Linear Coeff	Const Coeff	%Rel	Corr
std TBHQ	8.232	1.24626e+004	0.00000e+000	87.956	0.9993

System: SYSTEM6 on Comm Port 1	Analyst: NOI	PC1000 Ver 3.0.1
Acquisition Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.AQM		10-01-97 09:48:08
Calculation Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\RESERCH.CAM		10-28-97 12:10:56
Report Method: C:\TSP\SYSTEM6\Methods\TRAIN.RPM		10-01-97 10:27:50

รูปที่ 12 Calibration curve ของสารละลายมาตรฐานทีบีเอชคิว