

## 2. วิธีการวิจัย

### เครื่องมือ

1. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่มีตัวตรวจวัดเป็น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส (GC-NPD) รุ่น HP 6890
2. ตู้แช่ -15 องศาเซลเซียส (SANYO)
3. เครื่องระเหยแห้ง BUCHI Rotavapor R-200/205
4. เครื่องชั่ง (Precisa 240A)
5. ชุดสกัดของแข็ง ( Solid Phase Extraction ) รุ่น Visiprep 24 ยี่ห้อ Supelco
6. คอลัมน์คอลลัมน์ชนิด Rtx-5MS ความยาว 30 เมตร ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร และความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร (5% ฟีนิล-95% เมทิล โพลีไซลออกเซน)
7. เครื่องอัลตราโซนิก CREST TRU-SWEEP™

### วัสดุอุปกรณ์

1. Pipette : 20  $\mu$ L, 200 $\mu$ L, 1,000  $\mu$ L และ 10 mL (Gilson, Villiers-le-bel, France)
2. กระจกบอควง : 25, 50, 100, 250, 500 และ 1,000 mL (Pyrex, USA)
3. Beaker : 50, 100, 200, 500 และ 1,000 mL (Pyrex, USA)
4. Flask : 250 mL (Pyrex, USA)
5. Filter paper ( Whatman No.1 )
6. Round bottle evaporate flask
7. Florisil Cartridge 3 mL (Applied Separation, USA)
8. C18 Cartridge : 3 mL (500 mg) และ 6 mL (1 g) (Supelco, USA)

### สารเคมี

สารมาตรฐานยาม่าแมลงชนิดออร์กาโนฟอสฟอรัส 6 ชนิด (10 $\mu$ g/ $\mu$ L, Germany)

- มาลธิออน (Malathion)
- เฟนไธออน (Fenthion)
- เมทามิโดฟอส (ethamidophos)
- พาราไธออน - เมทิล (Parathion-methyl)
- ไดคลอวอส (Dichlorvos)
- ไดเมทโทเอท (Dimethoate)

ตัวทำละลาย (AR grade, Thailand)

- อะซิโตไนไตรล์ (Acetonitrile)
- ไซโคลเฮกเซน (Cyclohexane)
- ไอโซออกเทน (Isooctane)
- เอทิลอะซิเตท (Ethylacetate)
- เมทานอล (Methanol)
- อะซิโตน (Acetone)
- เฮกเซน (Hexane)

## วิธีดำเนินการ

### 1. การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ ซึ่งมีตัวตรวจวัดเป็นไนโตรเจน ฟอสฟอรัส (GC-NPD)

#### 1.1 ศึกษาอัตราการไหลของแก๊สพาที่เหมาะสม (Optimum flow rate)

โดยพิจารณามาตรฐานออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยการเปลี่ยนอัตราการไหลของแก๊สพาที่แตกต่างกัน ตั้งแต่ 0.8 1.0 1.2 1.4 1.6 1.8 2.0 2.2 2.4 2.6 2.8 และ 3.0 มิลลิลิตรต่อนาที

1.2 ศึกษาการทำโปรแกรมอุณหภูมิของตู้อบ (Optimum oven temperature) ประกอบด้วย 5 ส่วนคือ อุณหภูมิเริ่มต้น ระยะเวลาที่อุณหภูมิเริ่มต้นคงที่ อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ อุณหภูมิสุดท้าย และ ระยะเวลาที่อุณหภูมิสุดท้ายคงที่

ขั้นตอนที่ 1 การศึกษาอุณหภูมิเริ่มต้น โดยพิจารณามาตรฐานออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยการศึกษาอุณหภูมิตั้งแต่ 40 50 60 70 80 90 และ 100 องศาเซลเซียส โดยคงที่อุณหภูมิเริ่มต้นไว้เป็นเวลา 2 นาที เพิ่มถึงอุณหภูมิที่ 2 เป็น 250 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 9 องศาเซลเซียสต่อนาที และเพิ่มอุณหภูมิสุดท้ายเป็น 300 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 20 องศาเซลเซียสต่อนาที และคงที่ที่อุณหภูมิสุดท้ายเป็นเวลา 1 นาที โดยใช้อัตราการไหลของแก๊สพาเป็น 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที (สภาวะที่ได้จากข้อ 1.1)

ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาระยะเวลาที่อุณหภูมิเริ่มต้นคงที่ โดยพิจารณามาตรฐานออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยคงที่อุณหภูมิเริ่มต้น 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 1 2 และ 3 นาที ใช้อัตราการไหลของแก๊สพาเป็น 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที สำหรับสภาวะอื่นๆ เหมือนกับขั้นตอนที่ 1

ขั้นตอนที่ 3 ศึกษาอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ โดยพิจารณามาตรฐานออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้อุณหภูมิเริ่มต้น เป็น 70 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของแก๊สพาเป็น 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที และระยะเวลาที่อุณหภูมิเริ่มต้นคงที่เป็น 2 นาที สภาวะอื่นๆ เหมือนกับขั้นตอนที่ 1 ศึกษาอัตราการเพิ่มอุณหภูมิตั้งแต่ 3 6 9 12 และ 15 องศาเซลเซียสต่อนาที

ขั้นตอนที่ 4 ศึกษาอุณหภูมิสุดท้าย โดยพิจารณามาตรฐานออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยศึกษาอุณหภูมิสุดท้ายตั้งแต่ 220 230 240 250 260 270 280 290 และ 300 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของแก๊สพาเป็น 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิเริ่มต้นเป็น 70 องศาเซลเซียส คงที่เป็นเวลา 2 นาที และอัตราการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 9 องศาเซลเซียสต่อนาที (สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 2 และ 3)

ขั้นตอนที่ 5 ศึกษาระยะเวลาที่อุณหภูมิสุดท้ายคงที่ โดยพิจารณามาตรฐานออร์กาโนฟอสฟอรัส ทั้ง 6 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยศึกษาระยะเวลาที่อุณหภูมิสุดท้ายคงที่ 0 1 2 3 4 5 และ 6 นาที อัตราการไหลของแก๊สพาเป็น 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้สภาวะต่างๆที่ได้จากการศึกษาจากขั้นตอนที่ 1 2 3 และ 4

#### 1.3 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมของหัวฉีด (Optimum injector temperature)

โดยพิจารณามาตรฐานออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 สารประกอบ ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้สภาวะของโปรแกรมอุณหภูมิของตู้อบ คือ อุณหภูมิเริ่มต้น 70 องศาเซลเซียส คงอุณหภูมิไว้ 2 นาที เพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตราเร็ว 9 องศาเซลเซียสต่อนาที ไปยังอุณหภูมิสุดท้ายที่ 250 องศาเซลเซียส โดยไม่มีการคงอุณหภูมิสุดท้ายไว้ และอัตราการไหลของแก๊สพาเป็น 1.2 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งทำการศึกษาอุณหภูมิหัวฉีดตั้งแต่ 240 250 260 270 280 290 และ 300 องศาเซลเซียส

#### 1.4 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมของตัวตรวจวัด (Optimum detector temperature)

โดยนิตสารมาตรฐานของออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 ชนิด ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้อัตราการไหลของแก๊สพา 1.2 มิลลิตรต่อนาที อุณหภูมิหัวฉีด 270 องศาเซลเซียส สำหรับสภาวะของโปรแกรมอุณหภูมิของผู้อบ คือ อุณหภูมิเริ่มต้น 70 องศาเซลเซียส คงอุณหภูมิไว้ 2 นาที เพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตราเร็ว 9 องศาเซลเซียส ต่อนาที ไปยังอุณหภูมิสุดท้ายที่ 250 องศาเซลเซียส โดยไม่มีการคงอุณหภูมิสุดท้ายไว้ ซึ่งทำการศึกษาอุณหภูมิตัวตรวจวัดที่เหมาะสมตั้งแต่ 260 270 280 290 และ 300 องศาเซลเซียส

#### 2 ศึกษาช่วงการตอบสนองความเป็นเส้นตรง (Linearity)

ศึกษาช่วงการตอบสนองความเป็นเส้นตรง (Linearity) โดยการใช้สารมาตรฐานออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ กันตั้งแต่ 0.05 0.1 0.5 1.0 1.5 3.0 5.0 และ 50.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่ได้จากการศึกษาในข้อที่ 1 แล้วดูผลการตอบสนองที่เป็นเส้นตรงโดยดูจากการพลอตกราฟระหว่างค่าการตอบสนองของตัวตรวจวัด (พื้นที่พีค-แกน Y) กับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (แกน X)

#### 3 ศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of Detection)

ศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of Detection) ทำการนิตสารมาตรฐานของออร์กาโนฟอสฟอรัสทั้ง 6 ชนิด ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.01 0.05 0.1 0.5 1 1.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่ได้จากการศึกษาในข้อที่ 1 แล้วดูอัตราส่วนระหว่างค่าการตอบสนองของตัวตรวจวัดต่อสัญญาณรบกวน (signal to noise ratio) ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน แล้วเลือกความเข้มข้นที่ให้อัตราการตอบสนองของตัวตรวจวัดต่อสัญญาณรบกวนที่เท่ากับ 3 เป็นขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of Detection)

#### 4 ศึกษาการสกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลาย (Liquid - liquid extraction) เปรียบเทียบกับการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิคอัลตราโซนิค (Ultrasonic extraction)

##### 4.1 ศึกษาการสกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลาย (Liquid - liquid extraction)

##### 4.1.1 ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของตัวทำละลาย

ชั่งตัวอย่างน้ำมันปาล์มดิบ 5 กรัม เติมนิตสารมาตรฐานออร์กาโนฟอสฟอรัส เมทนามิโคฟอส ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ สารมาตรฐานออร์กาโนฟอสฟอรัสอีก 5 ชนิด ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมน้ำมันละลายอะซิโตไนไตรล์ (acetonitrile) ที่ใช้สกัดตัวอย่างโดยศึกษาปริมาณที่ใช้สกัดที่แตกต่างกันคือ 20 25 และ 30 มิลลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่อง Shaker ที่ความเร็วเบอร์ 5 เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำไปแช่เย็นที่ -15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำส่วนสกัดปริมาตร 10 มิลลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ใส่ขวดกั้นกลมที่ทราบน้ำหนักขวด นำไปประเหยแห้งเอาตัวทำละลายออก ชั่งน้ำหนักขวดกั้นกลมเพื่อนำมาหาปริมาณ oil co-extracted จากนั้นนำมาปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายไซโคลเฮกเซน (cyclohexane) 900 ไมโครลิตร นำไปฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่มีตัวตรวจวัดเป็นไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่ได้จากการศึกษาในข้อที่ 1 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับที่ ปริมาตรต่างๆของตัวทำละลาย สภาวะที่เหมาะสมจะเลือกจากสภาวะที่ให้เปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับใกล้เคียง 100 % มากที่สุด

#### 4.1.2 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัด

วิธีการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 4.1.1 โดยใช้ปริมาตรตัวทำละลายที่ใช้สกัดตัวอย่างที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 4.1.1 ศึกษาระยะเวลาการสกัด โดยนำไปแช่ด้วยเครื่อง Shaker ที่เวลาแตกต่างกันคือ 10 20 30 และ 40 นาที เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การ ได้คืนกลับที่ระยะเวลาต่างๆของการสกัดด้วยตัวทำละลาย

#### 4.3 ศึกษาการสกัดตัวอย่างด้วยเทคนิคอัลตราโซนิค (Ultrasonic extraction)

##### 4.3.1 ศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของตัวทำละลาย

ชั่งตัวอย่างน้ำมันปาล์มดิบ 5 กรัม เติมสารมาตรฐานออร์กาโนฟอสฟอรัส เมททามิโคฟอส ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ สารมาตรฐานออร์กาโนฟอสฟอรัสอีก 5 ชนิด ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมตัวทำละลายอะซิโตไนไตรล์ (acetonitrile) สำหรับใช้สกัดตัวอย่าง ศึกษาปริมาตรที่ใช้สกัดแตกต่างกันคือ 20 25 และ 30 มิลลิตร นำไป sonicate ด้วยเครื่อง Ultrasonic bath เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นแช่เย็นที่ -15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำส่วนสกัดปริมาตร 10 มิลลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ใต้วัดก้นกลมที่ทราบน้ำหนักชวด นำไประเหยแห้งเอาตัวทำละลายออก ชั่งน้ำหนักชวดก้นกลมเพื่อนำมาหาปริมาณ oil co-extracted จากนั้นนำมาปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายไซโคลเฮกเซน (cyclohexane) 900 ไมโครลิตร นำไปฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่มีตัวตรวจวัดเป็นไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่ได้จากการศึกษาในข้อที่ 1 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การ ได้คืนกลับที่ปริมาตรต่างๆของตัวทำละลาย

##### 4.3.2 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัด

วิธีการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 4.2.1 ใช้ปริมาตรตัวทำละลายที่ใช้สกัดตัวอย่างที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 4.2.2 ศึกษาระยะเวลาที่นำไป Sonicate ด้วยเครื่อง Ultrasonic bath ที่เวลาแตกต่างกันคือ 5 10 15 และ 20 นาที เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การ ได้คืนกลับที่ระยะเวลาต่างๆกันของการสกัดด้วยเทคนิคอัลตราโซนิค

#### 5 ศึกษาการทำความสะอาดส่วนสกัดด้วยการแช่เย็น

##### 5.1 ศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการแช่เย็น

ชั่งตัวอย่างน้ำมันปาล์มดิบ 5 กรัม เติมสารมาตรฐานออร์กาโนฟอสฟอรัส เมททามิโคฟอส ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ สารมาตรฐานออร์กาโนฟอสฟอรัสอีก 5 ชนิด ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมตัวทำละลายอะซิโตไนไตรล์ (acetonitrile) ที่ใช้สกัดตัวอย่างปริมาตร 30 มิลลิตร นำไป sonicate ด้วยเครื่อง Ultrasonic bath เป็นเวลา 5 นาที (สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากขั้นตอนที่ 4) นำไปแช่เย็นที่ อุณหภูมิที่แตกต่างกันคือ -15 และ -60 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการแช่เย็นที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำส่วนสกัด ปริมาตร 10 มิลลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ใต้วัดก้นกลมที่ทราบน้ำหนักชวด แล้วนำไประเหยแห้งเอาตัวทำละลายออก แล้วชั่งน้ำหนักชวดก้นกลมเพื่อนำมาหาปริมาณ oil co-extracted จากนั้นนำมาปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายไซโคลเฮกเซน (cyclohexane) 900 ไมโครลิตร นำไปฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่มีตัวตรวจวัดเป็นไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่ได้จากการศึกษาในข้อที่ 1 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การ ได้คืนกลับที่อุณหภูมิแช่เย็นที่ต่างกัน

##### 5.2 ศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการแช่เย็น

วิธีการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 5.1 ใช้อุณหภูมิที่แช่เย็นที่เหมาะสมที่ได้จากขั้นตอนที่ 5.1 ศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการแช่เย็นที่แตกต่างกันคือ 3 6 9 12 15 18 และ 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การ ได้คืนกลับที่ระยะเวลาแช่เย็นต่างกัน

## 6 ศึกษาการทำความสะอาดส่วนสกัดด้วยชุดสกัดของแข็ง (Solid phase extraction)

### 6.1 ศึกษาการทำความสะอาดส่วนสกัดด้วยชุดสกัดของแข็งโดยใช้ Florisil cartridge + C18 cartridge

(3 mL, 500 mg) เปรียบเทียบกับ Florisil cartridge + C18 cartridge (6 mL, 1 g)

เตรียมตัวอย่างด้วยสภาวะที่เหมาะสมตามขั้นตอนที่ 4 และ 5 เมื่อนำส่วนสกัดไประเหยแห้งเอาตัวทำละลายออก ซึ่งน้ำหนักขวดกันกลมเพื่อนำมาหาปริมาณ oil co-extract นำมาปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายไซโคลเฮกเซน (cyclohexane) 3 มิลลิลิตร เพื่อทำความสะอาดส่วนสกัดด้วยชุดสกัดของแข็งที่แตกต่างกันคือ Florisil cartridge + C18 cartridge (3 mL, 500 mg) และ Florisil cartridge + C18 cartridge (6 mL, 1 g)

นำ cartridge ต่อกับชุดสกัดของแข็ง แล้วปรับสภาวะ Florisil cartridge ด้วย ไอโซออกเทน (Isooctane) และ C18 cartridge ทั้ง (3 mL, 500 mg) และ (6 mL, 1 g) ด้วยเมทานอล (Methanol) และ อะซิโตไนไตรล์ (acetonitrile) ตามลำดับ จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างที่อยู่ในตัวทำละลายไซโคลเฮกเซน (cyclohexane) 3 มิลลิลิตร load ผ่าน Florisil cartridge โดยใช้ gravity flow แล้วทำแห้ง Florisil cartridge ด้วย แก๊สไนโตรเจน แล้วนำ Florisil cartridge ที่แห้งแล้วต่อเข้ากับ C18 cartridge (3 mL, 500 mg) หรือ C18 cartridge (6 mL, 1 g) (แสดงคังรูป Figure 1) ทำการชะด้วย 15 มิลลิลิตร อะซิโตไนไตรล์ที่อ้อมตัวด้วยเฮกเซน โดยใช้ gravity flow เก็บส่วนที่ชะได้ในขวดกันกลมที่ทราบน้ำหนักขวด นำไประเหยแห้งเอาตัวทำละลายออก ซึ่งน้ำหนักขวดกันกลมเพื่อนำมาหาปริมาณ oil co-extracted จากนั้นนำมาปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายไซโคลเฮกเซน (cyclohexane) 900 ไมโครลิตร นำไปฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่มีตัวตรวจวัดเป็นไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่ได้จากการศึกษาในข้อที่ 1 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับเมื่อใช้ cartridge ที่แตกต่างกัน

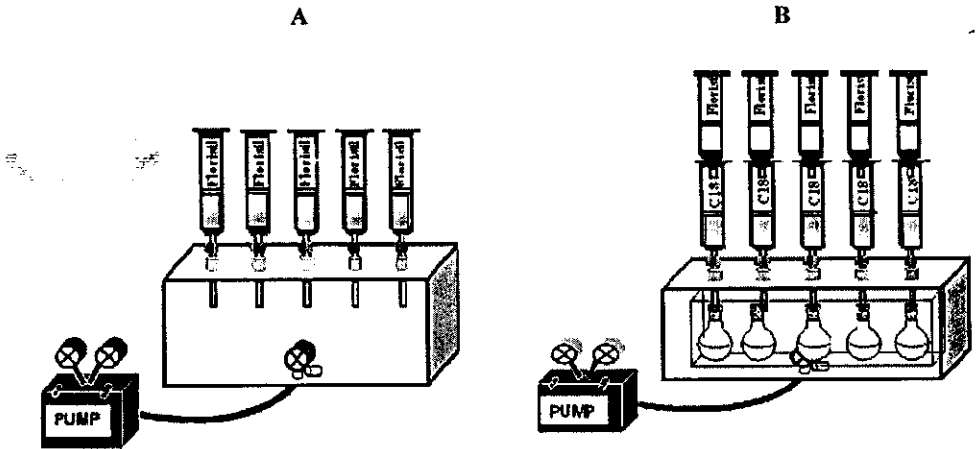


Figure 1. A = Solid phase extraction of florisil cartridges (3 ml, 500 mg)

B = Solid phase extraction of florisil cartridges (3 ml, 500 mg) coupled with C18 cartridges (6 ml, 1 g)

6.2 ศึกษาชนิดของตัวชะที่เหมาะสม ระหว่าง 25 มิลลิลิตร อะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซน (acetonitrile saturated with hexane) และ 15 มิลลิลิตร อะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซน (acetonitrile saturated with hexane) ตามด้วย 10 มิลลิลิตร เมทานอล (methanol)

เตรียมตัวอย่าง ปรับสภาวะ Forisil cartridge และ C18 cartridge (ได้จากข้อ 6.1) และทำความสะอาดตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 6.1 ศึกษาตัวชะที่ต่างกันคือ 25 มิลลิลิตร อะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซน (acetonitrile saturated with hexane) เป็นตัวชะ เปรียบเทียบกับการใช้ 15 มิลลิลิตร อะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซน (acetonitrile saturated with hexane) ตามด้วย 10 มิลลิลิตร เมทานอล (methanol) เป็นตัวชะ โดยใช้ gravity flow เก็บส่วนที่ชะได้ในขวดก้นกลมที่ทราบน้ำหนักขวด แล้วนำไปประเหยแห้งเอาตัวทำละลายออก ชั่งน้ำหนักขวดก้นกลมเพื่อนำมาหาปริมาณ oil co-extracted จากนั้นนำมาปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายไซโคลเฮกเซน (cyclohexane) 900 ไมโครลิตร นำไปฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่มีตัวตรวจวัดเป็นไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่ได้จากการศึกษาในข้อที่ 1 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับเมื่อใช้ตัวชะที่แตกต่างกัน

6.3 ศึกษาปริมาตรที่เหมาะสมของตัวชะ ระหว่าง 15 และ 25 มิลลิลิตร ของ อะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซน (acetonitrile saturated with hexane)

เตรียมตัวอย่างและทำความสะอาดตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 6.2 ศึกษาปริมาตรตัวชะคืออะซิโตไนไตรล์ที่อิ่มตัวด้วยเฮกเซน (acetonitrile saturated with hexane) ที่แตกต่างคือ 15 และ 25 มิลลิลิตร โดยใช้ gravity flow เก็บส่วนที่ชะได้ในขวดก้นกลมที่ทราบน้ำหนักขวด แล้วนำไปประเหยแห้งเอาตัวทำละลายออก แล้วชั่งน้ำหนักขวดก้นกลมเพื่อนำมาหาปริมาณ oil co-extracted จากนั้นนำมาปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายไซโคลเฮกเซน (cyclohexane) 900 ไมโครลิตร นำไปฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่มีตัวตรวจวัดเป็นไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมของเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟที่ได้จากการศึกษาในข้อที่ 1 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับเมื่อใช้ตัวชะปริมาตรที่ต่างกัน