

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การเตรียมชุดตรวจสอบปริมาณไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์ใส่กรอก



นาย ธีรคุณ ขุนภักดี

นาย ตรีพงษ์ ตั้งเต็มทอง

นาย พศกร อังกะวิวัฒน์

ขพ.
ฉ.3227
2048

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 107713
วันเดือนปี 10 พ.ค. 2553

b. 12211023
i.

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์
บัณฑิต

ภาควิชาเคมี สาขา เคมีอุตสาหกรรม เครื่องมือวิเคราะห์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Preparation of testing kits for nitrite in sausage products

Mr. Nuttakun Kunpakdee

Mr. Threepong Tangtermong

Mr. Posakorn Angkatawiwat

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for
the Degree of Bachelor of Science

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง การเตรียมชุดตรวจสอบปริมาณไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก

นักศึกษา นายณัฐคุณ ขุนภักดี
นายตรีพงศ์ ตั้งเต็มทอง
นายพศกร อังคะวิวัฒน์

ภาควิชา เคมี
สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรมเครื่องมือวิเคราะห์
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. คณิตา ตั้งคณานุกรักษ์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ	
กรรมการ ผศ. นงนุช ศิวะภิญโญยศ	
กรรมการ ผศ. คณิตา ตั้งคณานุกรักษ์	


.....

(ผศ. ดร. ประยงค์ ดวงดี)
หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษ เรื่อง การเตรียมชุดตรวจสอบปริมาณไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก

นักศึกษา นาย ธีรัฐคุณ จุนภักดี
นาย ตรีพงษ์ ตั้งเต็มทอง
นาย พศกร อังคทะวิวัฒน์

ภาควิชา เคมี คณะวิทยาศาสตร์

สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรมเครื่องมือวิเคราะห์

ปีการศึกษา 2548

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. คณิดา ตั้งคณานุรักษ์

กรรมการ ดร. วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

ผศ. นงนุช ศิวะภิญโญยศ

บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้เป็นการศึกษาการเตรียมชุดตรวจสอบไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่ง่ายและรวดเร็ว ชุดตรวจสอบนี้ได้ประยุกต์และพัฒนามาจากวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีและปฏิกิริยาดiazo-coupling ระหว่างไนโตรเจนกับ N-1-Naphthyl ethylene diamine dihydrochloride (NEDA) ตัวอย่างไส้กรอกถูกกำจัดโปรตีนออกโดยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และถูกกรอง จากนั้นก็เติมสารละลายซัลฟานิลาไมด์และเม็DNEDAที่ผสมกับโซเดียมคลอไรด์ลงในสารละลายที่กรองได้ จะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงอมชมพูขึ้นแล้วเปรียบเทียบสีของสารละลายที่เกิดขึ้นกับแผ่นเทียบสีที่เตรียมมาจากสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนความเข้มข้นต่างๆกัน 5 ความเข้มข้นคือ 0 , 20 , 50 , 100 , 200 ppm ผลที่ได้จากชุดตรวจสอบนี้แสดงให้เห็นถึงความน่าเชื่อถือ (ส่วนเบี่ยงเบนเฉลี่ยสัมพัทธ์ = 5.674, 3.437, 2.753)และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (โดยวิธีทางสถิติ t-test และ f-test) เมื่อเปรียบเทียบกับผลที่ได้รับจากวิธีทางยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Preparation of testing kits for nitrite in sausage products	
Name	Mr. Nuttakun Kunpakdee Mr. Threepong Tangtermtong Mr. Posakorn Angkatawivat	
Department	Chemistry	Faculty of Science
Prpgram	Analytical Instruments for Industrail Chemistry	
Acedemic Year	2548	
Special Project Advisor	Asst. Prof. Kanita Tangkananurak	
Referee	Dr. Viboon Praditviangkum Asst. Prof. Nongnuch Sivapinyoyot	

Abstract

This special project was aimed to study the preparation of testing kits for simple and rapid quantification of nitrite in sausage products. This test kits was applied and developed from UV-Visible Spectrophotometry and the di-azo coupling reaction of nitrite with N-1-Naphthyl ethylene diamine dihydrochloride (NEDA). Sausage sample were deprotienized by sodium hydroxide solution and filtering, then adding sulfanilamide solution and NEDA-sodium chloride tablet into filtrate. The red-pink complexs were obtained and compared the colour of solution with the colour plate which prepared form standard nitrite solution ay 5 different concentrations (0 , 20 , 50 , 100 , 200 ppm). The obtained result from test kits showed a good reproducibility (RSD= 5.674, 3.437, 2.753) and no significant difference (by t-test and f-test) when compared to the obtained result with UV-Visible spectrophotometric method.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การที่โครงการพิเศษนี้สามารถลุล่วงไปได้ด้วยดี สืบเนื่องมาจากความร่วมมือและความกรุณาของทุกๆท่าน ทั้งอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. คณิดา ตังคณานุรักษ์ และคณะกรรมการ ที่กรุณาติดตามตรวจสอบดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดี จนโครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องธุรการ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาคเคมี รวมทั้งแม่บ้านที่ได้คอยให้คอยความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในทุกๆด้าน

ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่น้อง และเพื่อนๆ รวมถึงรุ่นพี่ รุ่นน้องทุกคนที่ทำให้กำลังใจ และช่วยเหลือในทุกๆด้านจนโครงการพิเศษนี้สำเร็จในที่สุด



นาย ธีรัฐคุณ ขุนภักดี
นาย ตรีพงษ์ ตั้งเต็มทอง
นาย พศกร อังคทะวิวัฒน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูป	ฉ
สารบัญตาราง	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีดำเนินงาน	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง	
2.1 วัตถุประสงค์ของการเติมสารประกอบไนเตรตและไนไตรต์	3
2.2 การเกิดสี	3
2.3 ปริมาณไนเตรตและไนไตรต์ที่เหมาะสมในการใช้	4
2.4 ความเป็นพิษของไนเตรตและไนไตรต์	5
2.5 หลักการเกิดสารประกอบมีสีของไนเตรตและไนไตรต์	7
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	8
บทที่ 3 การดำเนินการทดลอง	
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	10
3.2 สารเคมี	10
3.3 วิธีการเตรียมสารละลาย	10
3.4 วิธีทดลอง	
3.4.1 ศึกษาการเตรียมแผ่นเทียบสีจากสารละลายมาตรฐานไนไตรต์	12
3.4.2 ศึกษาการตรวจวัดปริมาณไนไตรต์ในสารละลายตัวอย่าง	13
3.4.3 การตรวจวัดปริมาณไนไตรต์ในสารละลายตัวอย่างด้วยแผ่นเทียบสี	
ก. ใช้สารละลาย NEDA	13
ข. ใช้ NEDA อัดเม็ด	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4 การตรวจวัดปริมาณไนโตรเจนในสารละลายตัวอย่างด้วยวิธีกราฟมาตรฐาน	14
3.4.5 การประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ	14
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	
4.1 ศึกษาการเตรียมแผ่นเทียบสีจากสารละลายมาตรฐานไนโตรเจน	15
4.2 ศึกษาการตรวจวัดปริมาณไนโตรเจนในสารละลายตัวอย่างด้วยแผ่นเทียบสี	16
4.3 ศึกษาการตรวจวัดปริมาณไนโตรเจนในสารละลายตัวอย่างด้วยวิธีมาตรฐาน	17
4.4 การประเมินผลทางสถิติ	18
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	
5.1 สรุปผลการทดลอง	19
5.2 ปัญหาและข้อเสนอแนะ	20
เอกสารอ้างอิง	21
ภาคผนวก	



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ 1 แผ่นเทียบสี

หน้า

15

รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานไนไตรต์

16



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงปริมาณไนไตรต์เฉลี่ยของไส้กรอกยี่ห้อต่างๆ	17
ตารางที่ 2 ตารางเปรียบเทียบปริมาณไนไตรต์ระหว่างวิธีมาตรฐานกับชุดตรวจสอบ	17
ตารางที่ 3 ตารางประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ	18



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโรงงานพิเศษ

สารประกอบไนเตรตและไนไตรต์จัดเป็นวัตถุเจือปนที่นิยมเติมในอาหาร เพื่อวัตถุประสงค์ในการถนอมอาหารหรือเป็นวัตถุกันเสีย (preservatives) และช่วยให้เกิดสี (ชมพูหรือแดง) และกลิ่นซึ่งเป็นที่ถูกใจของผู้บริโภค โดยเฉพาะอาหารประเภทผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น แฮม เบคอน ไส้กรอก แหนม และกุนเชียง หรือที่เรียกผลิตภัณฑ์รวมๆประเภทนี้ว่า “cured meat” รวมทั้งอาหารประเภทผักและผลไม้หมักดอง

เนื่องจากสารประกอบไนเตรตและไนไตรต์ที่เติมลงไปจะทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนคือ ซีสทีน (cysteine) หรือหมู่ซัลไฟด์ (sulfhydryl group) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ป้องกันหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ และนอกจากนี้ส่วนหนึ่งของเกลือไนไตรต์จะสลายตัวให้ไนตริกออกไซด์ (NO) และไนตรัสออกไซด์ (N₂O) ซึ่งไนตริกออกไซด์จะไปทำปฏิกิริยากับรงควัตถุฮีม (heme pigment) ในเนื้อคือ ไมโอโกลบิน (myoglobin) เกิดเป็นไนโตรโซไมโอโกลบิน (nitrosomyoglobin) ให้สีแดงสดและเมื่อนำผลิตภัณฑ์เนื้อนั้นไปผ่านความร้อนจะได้สารไนโตรโซฮีโมโครม (nitrosohemochrome) ซึ่งให้สีชมพูอ่อนเป็นสีเฉพาะที่เกิดขึ้นใน cured meat และสีนี้จะคงตัวได้ดี ดังนั้นด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงเป็นสาเหตุให้ผู้ผลิตนิยมเติมเกลือโซเดียมไนไตรต์ลงในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเนื้อสัตว์

ผู้ผลิตอาหารมักเข้าใจผิดว่ายิ่งใส่สารประกอบไนเตรตและไนไตรต์ในปริมาณมากก็ยิ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีแดงน่ารับประทาน แต่ไนเตรตและไนไตรต์เป็นสารที่ก่อให้เกิดอันตรายและเป็นพิษต่อร่างกายถึงชีวิตได้ ถ้าได้รับในปริมาณมาก คือ ไนไตรต์สามารถไปออกซิไดส์ฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง ทำให้เม็ดเลือดแดงหมดสภาพในการลำเลียงออกซิเจนได้อีก และช่วยก่อให้เกิดสารไนโตรซามีน (nitrosamine) ซึ่งเป็นสารก่อให้เกิดมะเร็ง (carcinogen) โดยปริมาณของโซเดียมไนเตรต (หรือโพแทสเซียมไนเตรต) และโซเดียมไนไตรต์ (หรือโพแทสเซียมไนไตรต์) ที่คณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข อนุญาตให้ใช้ได้ไม่เกิน 500 mg/kg และ 125 mg/kg ตามลำดับ

จากความเป็นพิษของสารประกอบไนเตรตและไนไตรต์และความนิยมของการใช้ จึงทำให้คณะผู้วิจัยได้เห็นความสำคัญของการศึกษาการเตรียมชุดตรวจสอบไนไตรต์ที่สามารถใช้ง่ายและให้ผลรวดเร็ว โดยไม่ต้องทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเคมี นอกจากนี้ผู้ตรวจสอบไม่จำเป็นต้องมีความเชี่ยวชาญหรือมีประสบการณ์สูง แต่ในงานวิจัยนี้คณะผู้วิจัยจะศึกษาเฉพาะการเตรียมชุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจสอบไนไตรต์ เนื่องจากไนไตรต์เป็นสารพิษที่มีผลโดยตรงต่อร่างกายมนุษย์ และอีกเหตุผลหนึ่งคือไนเตรตที่เติมลงไปจะถูกเปลี่ยนเป็นไนไตรต์โดยแบคทีเรียที่มีอยู่ในสภาพแวดล้อมทั่วไป

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อเตรียมชุดตรวจสอบปริมาณไนไตรต์ที่ใช้งานง่าย สะดวก ให้ผลรวดเร็ว และน่าเชื่อถือ
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการใช้งานของชุดตรวจสอบที่เตรียมกับตัวอย่างที่เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ โดยเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน ในที่นี้ใช้เทคนิควิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมทรี

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาวิธีการเตรียมชุดตรวจสอบไนไตรต์จากสารละลายมาตรฐานไนไตรต์
2. เตรียมกราฟมาตรฐานจากวิธีมาตรฐานยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมทรี
3. ศึกษาประสิทธิภาพในการตรวจวัดของชุดตรวจสอบในตัวอย่างไส้กรอกและเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน โดยใช้หลักทางสถิติในการพิจารณา

1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีดำเนินงาน

ระยะเวลา	พ.ค. มิ.ย. ก.ค. ส.ค. ก.ย. ต.ค. พ.ย. ธ.ค. ม.ค. ก.พ. มี.ค.
วิธีดำเนินงาน	
1.เก็บและรวบรวมข้อมูล	←→
2.เก็บตัวอย่าง	←→
3.เตรียมสารมาตรฐานและสารตัวอย่าง	←→
4.เตรียมชุดตรวจสอบ	←→
5.ทำการทดลอง	←→
6.ประเมินชุดตรวจสอบ	←→

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ชุดตรวจสอบไนไตรต์ในผลิตภัณฑ์อาหารเนื้อสัตว์ที่มีความสะดวกรวดเร็ว
2. เป็นแนวทางในการศึกษาเพื่อผลิตชุดตรวจสอบที่ใช้ตรวจวัดสารชนิดอื่นๆที่จัดเป็นสารพิษและวัตถุเจือปนในผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง

2.1 วัตถุประสงค์ของการเติมสารประกอบไนเตรตและไนไตรต์

สารประกอบไนเตรตและไนไตรต์จัดเป็นวัตถุเจือปนในอาหารที่นิยมเติมลงในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เพื่อวัตถุประสงค์ดังต่อไปนี้

1. ช่วยเพิ่มรสชาติ (taste) และกลิ่นรส (flavor) แก่ผลิตภัณฑ์ ทำให้มีกลิ่นเฉพาะตัวเป็นที่ยอมรับสำหรับผู้บริโภคมากกว่าการใช้เกลือในการหมักเนื้อเพียงอย่างเดียว
2. ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
3. ช่วยยับยั้งการเหม็นหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยไปยับยั้งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนของไขมัน (oxidative rancidity)
4. ทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อมีสีแดงและรักษาสีแดงของผลิตภัณฑ์ ทำให้มีความน่ารับประทานเพิ่มขึ้น

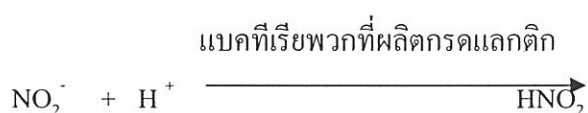
2.2 การเกิดสีในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก

การเกิดสีแดงสดขึ้นในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ทุกประเภทที่เติมสารไนเตรตหรือไนไตรต์เป็นผลมาจากปฏิกิริยาเคมีระหว่างไนเตรตและไนไตรต์ที่เติมลงไปกับเนื้อสัตว์ ดังกระบวนการดังต่อไปนี้

1. แบคทีเรียที่รีดิวซ์ไนเตรตได้ จะดึงออกซิเจนออกจาก NO_3^- เกิดเป็น NO_2^- ขึ้น

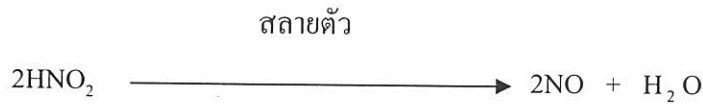


2. แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติกจะทำให้ NO_2^- เกิดเป็น HNO_2 ดังปฏิกิริยา



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. HNO_2 สลายตัวให้ NO และน้ำ



4. ไมโอโกลบินเสียอิเล็กตรอนในสภาพที่เหมาะสมได้เมทไมโอโกลบิน



5. เมทไมโอโกลบินได้รับอิเล็กตรอนในสภาพที่เหมาะสมได้ไนทริกออกไซด์ไมโอโกลบิน



6. ความร้อนในการอบและการรมควันจะทำให้ไนทริกออกไซด์ไมโอโกลบินกลายเป็นไนทริกออกไซด์ฮีโมโกลบิน



การใช้สารประกอบไนเตรตและไนไตรต์ แต่เดิมจะนิยมใช้เฉพาะดินประสิวซึ่งให้เกลือไนเตรต ต่อมาพบว่าการแตกตัวของไนเตรตให้ไนทริกออกไซด์เข้ามาทำ และต้องอาศัยจุลินทรีย์บางชนิดในเนื้อสัตว์ช่วยให้ผลิตภัณฑ์เกิดสีแดง ต้องใช้เวลานานในกระบวนการผลิต ต่อมาพบว่าการใช้ไนเตรตและไนไตรต์ร่วมกันมีผลต่อการเร่งการแตกตัวของไนเตรต ทำให้เกิดการแตกตัวของไนเตรตเร็วและมากขึ้น จึงทำให้เกิดสีเร็วและมีไนเตรตเหลือตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์น้อยลง

2.3 ปริมาณไนเตรตและไนไตรต์ที่เหมาะสมในการใช้

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 20 (2517) อนุญาตให้ใช้ในเนื้อสัตว์ได้ในปริมาณที่ไม่เกิน 500 ส่วนในล้านส่วน (โดยคิดคำนวณเป็นโซเดียมไนเตรต) และไนไตรต์ให้ใช้ได้ปริมาณที่ไม่เกิน 125 ส่วนในล้านส่วน (โดยคิดคำนวณเป็นโซเดียมไนไตรต์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับ Federal meat inspection regulation ของสหรัฐอเมริกา อนุญาตให้ใช้ในเทรตและไนไตรต์ได้ในปริมาณดังต่อไปนี้

1. การใช้ในเทรต ในน้ำหมักให้ใช้ได้ 7 ปอนด์ ต่อ 100 แกลลอน สำหรับเนื้อสัตว์ที่หมักแบบแห้ง ใช้ในเทรต 3 ออนซ์ ต่อ เนื้อ 100 ปอนด์ และถ้าเป็นเนื้อบดที่มีการเติมไนไตรต์โดยตรง ใช้ 2 – ¼ ออนซ์ ต่อเนื้อบด 100 ออนซ์
2. การใช้ไนไตรต์ ในน้ำหมักให้ใช้เพียง 2 ออนซ์ ต่อ น้ำหนัก 100 แกลลอนที่ระดับที่มีการฉีดเข้าเนื้อประมาณร้อยละ 10 กรณีเนื้อหมักแบบแห้ง ใช้ไนไตรต์ 1 ออนซ์ ต่อเนื้อ 100 ออนซ์ และถ้าเป็นเนื้อบด ใช้ไนไตรต์ ¼ ออนซ์ ต่อเนื้อบด 100 ออนซ์

กรณีที่ใช้ไนไตรต์และไนไตรต์ร่วมกัน ต้องมีไนไตรต์เหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายได้ไม่เกิน 125 ส่วนต่อล้านส่วน

2.4 ความเป็นพิษของไนไตรต์และไนไตรต์

สารที่เป็นพิษโดยตรงต่อร่างกายคือไนไตรต์ แต่ไนไตรต์ก็มีโอกาสเปลี่ยนไปเป็นไนไตรต์ได้ด้วยกระบวนการรีดักชัน ทั้งก่อนการบริโภคและหลังจากที่อาหารเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารแล้ว ซึ่งไนไตรต์เมื่อถูกรีดิวซ์จะได้ไนไตรต์ โดยที่ไนไตรต์ในสถานะแวดล้อมต่างๆ ในอาหารจะถูกเปลี่ยนแปลงเป็นไนไตรต์โดยจุลินทรีย์บางชนิด ดังสมการ



ถ้าบริโภคไนไตรต์และไนไตรต์ในปริมาณที่สูงเกินกำหนด จะทำให้มีความเสี่ยงในการได้รับอันตรายจากการเป็นพิษของไนไตรต์ เพราะไนไตรต์ทำให้เกิดอันตรายได้โดยตรงและโดยอ้อมต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์

อันตรายโดยตรงเรียกว่าอาการเมทฮีโมโกลบินิเมีย (methemoglobinemia) ซึ่งจะมีอาการพิษตั้งแต่เล็กน้อย คือ ตัวเขียวเนื่องจากขาดออกซิเจน (cyanosis) และอาจถึงตายได้ในทารกที่อายุต่ำกว่า 6 เดือน โดยเฉพาะอย่างยิ่งทารกที่อายุต่ำกว่า 3 เดือน จะแสดงอาการพิษจากเมทฮีโมโกลบินิเมียที่รุนแรงกว่าเด็กโตและผู้ใหญ่ โดยที่อาการเมทฮีโมโกลบินิเมียเกิดเนื่องจากไนไตรต์จะออกซิไดซ์ (oxidise) Fe^{2+} ในโมเลกุลของฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ไปเป็น Fe^{3+} กลายเป็นเมทฮีโมโกลบิน (methemoglobin) ทำให้ไม่สามารถขนถ่ายออกซิเจนได้ตามปกติ ซึ่งถ้ารุนแรงผิวหนัง

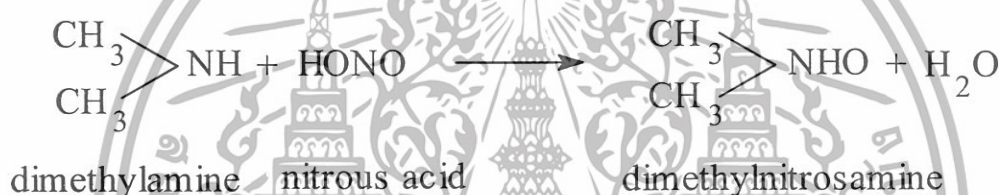
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของทารกจะมีสีเขียวคล้ำหรือสีเขียวน้ำเงิน จึงเรียกอาการนี้ว่า blue baby syndrome และไนโตรซัสยังเป็นสาเหตุของความผิดปกติในร่างกายอีกหลายอย่าง เช่น หัวใจเต้นเร็วกว่าปกติและหอบ เป็นต้น

อันตรายโดยอ้อมของไนเตรตและไนไตรต์ คือ การที่ไนเตรตทำปฏิกิริยาไนโตรเซชัน (nitrosation) กับสารประกอบเอมีนทุติยภูมิ (secondary amine) เอไมด์ (amide) กวานิดีน (guanidine) และยูเรีย (urea) ได้สารประกอบ N – nitroso คือ ไนโตรซามีน (nitrosamines) และไนโตรซามายด์ (nitrosamides) ซึ่งสารทั้งสองเป็นสารก่อมะเร็งทั้งคู่ และพบว่าการเกิดสารไนโตรซามีนอาจเกิดจากไนทรีซอกไซด์ ที่เกิดจากการแตกตัวของไนเตรตและไนไตรต์ ดังนั้นการใช้ไนเตรตและไนไตรต์เติมลงในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ อาจก่อให้เกิดสารที่ทำให้เกิดมะเร็งขึ้นได้ในผู้บริโภค

สารไนโตรซามีนอาจเกิดขึ้นได้ 2 กรณี คือ

1. กรดไนทรีซัสทำปฏิกิริยากับสารประกอบเอมีนทุติยภูมิที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์ ทำให้เกิดสารไนโตรซามีน ดังแสดงในปฏิกิริยา



2. ปฏิกิริยาการเติมกลุ่มไนทริกออกไซด์กับ โพรลีนอิสระ (Free proline) ที่มีอยู่มากในเนื้อหมูสามชั้น ทำให้เกิดสารไนโตรซามีน ดังแสดงในปฏิกิริยา



ปฏิกิริยานี้จะเกิดได้ดีเมื่อนำอาหารมาผ่านกระบวนการทอด

แต่อย่างไรก็ตาม สถาบันเนื้อสัตว์ของอเมริกาโดย Nitrite Safety Council (1980) ได้ทำการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารที่ทำจากเนื้อหมักตามโรงงานต่างๆ ในสหรัฐอเมริกาตรวจสอบ

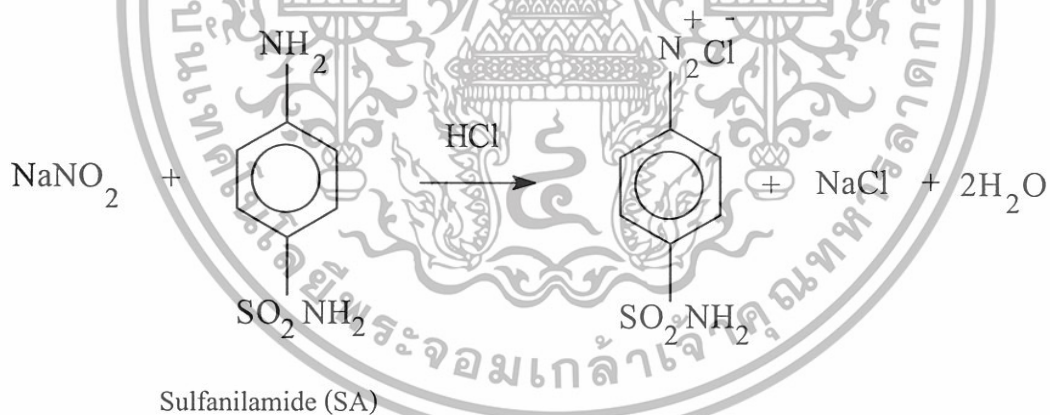
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่า ถ้ามีการใช้สารไนโตรต์และไนเตรตในปริมาณที่ไม่มากกว่ามาตรฐานที่กำหนดแล้วจะไม่พบสารไนโตรซามีนในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แทบทุกชนิด ดังนั้นการที่มีผู้กล่าวถึงสารไนโตรซามีนที่อาจเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้สารไนเตรตและไนโตรต์เพื่อช่วยในการผลิต จึงเป็นเพียงเพื่อเตือนให้ทราบถึงผลของการใช้สารเหล่านี้ในปริมาณที่มากเกินไป

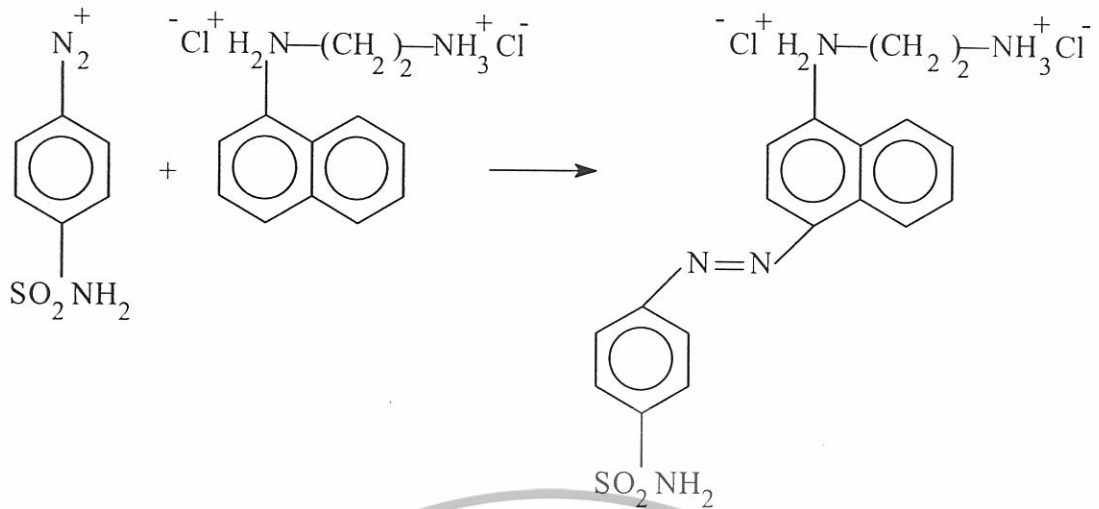
นอกจากนี้ยังมีการศึกษาความเป็นพิษของไนเตรตและไนโตรต์ในโภชนาการของสัตว์เลี้ยง ซึ่งให้เห็นความผิดปกติของสัตว์ทดลองที่ได้รับไนเตรตหรือไนโตรต์ในปริมาณมาก คือ สัตว์มีอาการขาดวิตามิน A เนื่องจากความเป็นพิษของไนเตรตที่มีต่อเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของวิตามิน A นอกจากนี้ ไนโตรต์ยังทำลายแคโรทีน ขณะที่สารดังกล่าวอยู่ในระบบทางเดินอาหารอีกด้วย และสัตว์มีความต้องการไอโอดีนมากขึ้น แต่เดิมเคยมีความต้องการเพียง 35 ppb หากร่างกายรับไนเตรตมากๆ ความต้องการไอโอดีนของสัตว์จะเพิ่มเป็น 200 ppb

2.5 หลักการเกิดสารประกอบมีสีของไนเตรตและไนโตรต์

การเกิดสารประกอบมีสีของไนเตรตและไนโตรต์อาศัยปฏิกิริยา diazo – coupling กับ N – 1 – Naphthyl ethylene diamine dihydrochloride (NEDA) มีสูตรเคมี $C_{12}H_{16}Cl_2N_2$ และผลที่ได้เกิดสารประกอบสีแดง ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. Daniel C. Siu and Alan Henshall (1998)

สารประกอบไนเตรดและไนไตรต์เป็นสารที่นิยมเติมลงไปในการผลิตเนื้อสัตว์เพื่อที่จะป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเป็นพิษ ไนไตรต์สามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบเอมีนทุติยภูมิได้เป็นไนโตรซามีน ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งชนิดหนึ่ง ไนเตรดนั้นถึงแม้ว่าจะมีความเสถียรมากกว่าไนไตรต์ แต่ก็สามารถทำหน้าที่เป็นที่สะสมไนไตรต์ได้ ดังนั้นทั้งไนเตรดและไนไตรต์จึงต้องถูกตรวจสอบเพื่อคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ในงานวิจัยวิธีที่มีความแม่นยำและรวดเร็วได้ถูกอธิบายไว้โดยที่ไนเตรดและไนไตรต์จะถูกสกัดออกจากตัวอย่างอาหาร จากนั้นก็ทำการวิเคราะห์ด้วยไอออนโครมาโทกราฟี ตัวอย่างแฮมและซาลามีที่วางขายตามท้องตลาดถูกวิเคราะห์ด้วยไอออนโครมาโทกราฟีโดยการตรวจวัดการดูดกลืนรังสี UV ซึ่งการดูดกลืนรังสี UV นี้จะเฉพาะเจาะจงสำหรับไนเตรดและไนไตรต์โดยที่สารรบกวนจากไอออนอื่นๆ นั้นจะไม่ปรากฏที่ความเข้มข้นสูงๆ %Recoveries ของไนเตรดและไนไตรต์นั้นมีมากกว่า 90% วิธีนี้ให้ผลการวิเคราะห์เป็นเส้นตรง ($r^2 > 0.999$) ในช่วงการวิเคราะห์ และ detection limit ของไนเตรดและไนไตรต์ คือ $50 \mu\text{g/l}$ และ $30 \mu\text{g/l}$ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. Philip A. Marshall and V. Craig Trenerry (1999)

Capillary ion electrophoresis (CIE) นั้นได้ถูกใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรตและไนไตรต์ที่ใช้ในอาหาร ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ คือ ชีส น้ำซूपกะหล่ำปลี น้ำผลไม้ น้ำเปล่า และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์หลากหลายชนิด ในการทดลองนี้ใช้ fused silica capillary column ที่มีขนาด $75 \text{ cm} \times 75 \mu\text{m}$ กับ OFM Anion-BT/sodium chloride electrolyte ปริมาณกระแสไฟฟ้าที่ใช้ คือ 20 kV อุณหภูมิ $28 \text{ }^{\circ}\text{C}$ และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 210 nm ปริมาณไนเตรตที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์นั้นมาจากสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิต ในการทดลองตอนแรกนั้นใช้ไอโอไดด์และทังสเตนเป็น internal standard แต่ก็ต้องเปลี่ยนมาใช้ไทโอไซยาเนต เนื่องจาก resolution ที่ไม่ดีของกลอไรด์และไอโอไดด์ รูปร่างพีกที่ไม่ดีและพื้นที่พีกที่ไม่สอดคล้องกันของทังสเตน เมื่อใช้ไทโอไซยาเนตเป็น internal standard แล้วจะได้ค่า recoveries ของไนเตรตและไนไตรต์ที่ดี จากข้อมูลที่ได้รับนี้ชี้ให้เห็นว่าวิธีนี้เหมาะสมในการหาปริมาณไนเตรตและไนไตรต์ในผลิตภัณฑ์อาหารที่หลากหลาย

3. M.J. Ahmed, C.D. Stalikas, S.M. Tzouvara-Karayanni and M.I. Karayannis (1998)

วิธี automatic direct spectrophotometric สำหรับการวิเคราะห์ไนเตรตและไนไตรต์อย่างต่อเนื่องด้วย flow = injection ได้ถูกพัฒนาขึ้น ไนไตรต์จะทำปฏิกิริยากับ 3-ไนโตรอนิสตินในกรดไฮโดรคลอริก ($0.96 - 1.8 \text{ M HCl}$ หรือ $\text{pH } 0.5 - 0.7$) กลายเป็น diazonium cation ซึ่งจะเชื่อมต่อกับ N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride กลายเป็นสารสีม่วงที่เสถียรที่สามารถวัดการดูดกลืนแสงได้ที่ 535 nm ไนเตรตจะถูกรีดิวซ์ให้เป็นไนไตรต์ในคอลัมน์แคดเมียมที่เคลือบด้วยทองแดงและค่าการดูดกลืนเนื่องจากผลรวมของไนเตรตและไนไตรต์ได้ถูกวัด ไนเตรตได้ถูกวิเคราะห์จากความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสง การทดลองนี้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการวิเคราะห์ ได้แก่ ค่า pH , อัตราการไหล , ขนาดของตัวอย่าง , สัมประสิทธิ์การกระจาย , อุณหภูมิ , เวลา , ความเข้มข้นของสาร และสารรบกวน กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงสำหรับไนเตรตที่ความเข้มข้น $0.1 - 3.5 \mu\text{g/ml}$ และไนไตรต์ที่ความเข้มข้น $10 \text{ ng/ml} - 2.2 \mu\text{g/ml}$ วิธีนี้สามารถใช้ได้ดีกับตัวอย่างอาหารบางชนิด (เนื้อสัตว์ , แป้ง และชีส) , น้ำจากสิ่งแวดลอม , เบียร์ และตัวอย่างดิน การวิเคราะห์นี้สามารถวิเคราะห์ได้มากถึง 30 ตัวอย่าง/ชั่วโมง โดยที่มีค่า relative precision ประมาณ $0.1 - 2\%$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัยทดลอง

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) รุ่น 6405 บริษัท Jenway
2. เครื่องอ่างไอน้ำ (Water bath)
3. เครื่องวัดพีเอช (pH-meter)
4. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)
5. เครื่องอัดเม็ดของเครื่อง FT-IR
6. เครื่องแก้ว

3.2 สารเคมี

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide: NaOH) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba
2. แอมโมเนียมอะซิเตต (Ammonium acetate: $\text{CH}_3\text{COONH}_4$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท ITALMAR (THAILAND) CO., LTD.
3. ซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide: $\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba
4. แนฟทิลเอทิลีน ไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (N-1-Naphthylethylene diamine dihydrochloride: $(\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2)_2\text{Cl}_2$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท A.C.S.Xenon Limited Partnership
5. ซิงค์ซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต (Zinc sulfate heptahydrate: $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba
6. ไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid: HCl) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba
7. โซเดียมไนไตรต์ (Sodium Nitrite: NaNO_2) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba
8. โซเดียมคลอไรด์ (Sodium Chloride: NaCl) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba
9. ตัวอย่างไส้กรอก

3.3 วิธีการเตรียมสารละลาย

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 นอร์มัล
ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. สารละลายซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต 12 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร
ละลายซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต 12 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
3. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (1:1)
รินกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 50 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร
4. สารละลายซัลฟานิลไมด์ 0.5 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร
ละลายซัลฟานิลไมด์ 0.5 กรัม ในกรดไฮโดรคลอริก (1:1) ที่อุ่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (1:1)
5. สารละลายแนฟทิลเอทีลินไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ 0.12% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร
ละลายแนฟทิลเอทีลินไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ 0.12 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร (เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิไม่เกิน 10°C และในภาชนะที่ป้องกันแสง)
6. แนฟทิลเอทีลินไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ชนิดอัดเม็ด
ชั่งแนฟทิลเอทีลินไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ 0.12 กรัม ผสมกับ โซเดียมคลอไรด์ให้ได้ น้ำหนักรวม ประมาณ 1 กรัม ในบีกเกอร์ นำไปอัดเม็ดด้วยเครื่องอัดเม็ดของเครื่อง FT-IR
7. สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 10 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร
ละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
8. สารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 9 เข้มข้น 1 %
ชั่งแอมโมเนียมอะซิเตต 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH เป็น 9 ด้วย สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 10 % ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น
9. สารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 9 เข้มข้น 10 %
ชั่งแอมโมเนียมอะซิเตต 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร แล้วปรับ pH เป็น 9 ด้วย สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 10 % ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
10. สารละลายมาตรฐานไนไตรต์ 100 มิลลิกรัม / ลิตร
นำโซเดียมไนไตรต์ประมาณ 5 กรัม มาดูความชื้นในเคสซิเคเทอร์นานประมาณ 24 ชั่วโมง ชั่งโซเดียมไนไตรต์ที่ดูความชื้นแล้วหนักประมาณ 0.1233 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ ขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ล้างบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่น รวมน้ำล้างใส่ในขวดวัดปริมาตร และปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไนไตรต์ในขวดที่สะอาดและมีจุกปิดสนิท เก็บในตู้เย็น อุณหภูมิไม่เกิน 10°C ได้นาน 6 เดือน
11. สารละลายมาตรฐานไนไตรต์ 0.2 มิลลิกรัม / ลิตร
ปิเปตสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้จากข้อ 10 จำนวน 200 ไมโครลิตร ด้วยไมโครปิเปต ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 9 1%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อยู่ 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 9 1%

12. สารละลายตัวอย่าง

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างใส่กรอกละเอียดมาประมาณ 10 กรัม ใส่ลงขวดรูปกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นอุณหภูมิประมาณ 80°C จำนวน 50 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างใช้แท่งแก้วคน ไม่ควรให้ปริมาตรเกิน 150 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 N จำนวน 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติมสารละลายซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต เข้มข้น 12 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำขวดรูปกรวยที่มีตัวอย่างไปแช่ในเครื่องอังไอน้ำที่อุณหภูมิประมาณ 80°C เป็นเวลานาน 20 นาที เขย่าเป็นครั้งคราว นำขวดรูปกรวยที่มีตัวอย่างไปแช่ในน้ำเย็น ให้สารละลายเย็นจัดเพื่อให้ไขมันจับเป็นก้อน ง่ายต่อการกรอง แล้วเติมสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์พีเอช 9 เข้มข้น 10% จำนวน 20 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที เพื่อให้ตัวอย่างตกตะกอน กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 ฟังสารละลายที่กรองได้ในระยะแรกประมาณ 20 มิลลิลิตร

3.4 วิธีทดลอง

3.4.1 ศึกษาการเตรียมแผ่นเทียบสีจากสารละลายมาตรฐานในไตรด์

1. ปิเปิดสารละลายมาตรฐานในไตรด์เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม / ลิตร จำนวน 0, 2.5, 10, 15 และ 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายแอมโมเนียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 9 เข้มข้น 1% ลงในขวดวัดปริมาตร แต่ละใบ เพื่อปรับปริมาตรเป็น 20 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลายซัลฟาไมด์ เข้มข้น 0.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงใน

ขวดวัดปริมาตร ทุกใบเขย่าให้เข้ากัน

4. เติมสารละลายแนฟทิลเอทิลีนไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ เข้มข้น 0.12% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร ทุกใบเขย่าให้เข้ากันปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน

5. ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที เติมสารละลายใส่หลอดแก้วทดลอง เรียงลำดับความเข้มข้นจากมากไปน้อยและถ่ายภาพเก็บไว้เพื่อใช้เป็นแผ่นเทียบสีมาตรฐาน เนื่องจากความเข้มของสีจะคงที่ หลังจากเกิดปฏิกิริยา 10 นาที ถึง 2 ชั่วโมง

6. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสทิเบล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาโนเมตร โดยใช้ $0 \mu\text{g}$ ของสารละลายมาตรฐานไนไตรต์ เป็น blank แล้วนำไปพลอตกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสง กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรต์

3.4.2 ศึกษาการตรวจวัดปริมาณไนไตรต์ในสารละลายตัวอย่าง

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง จำนวน 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร (หมายเหตุ Test solution ของแต่ละตัวอย่างทำซ้ำ 7 ครั้ง)
2. เติมสารละลายซัลฟานิลไมด์ เข้มข้น 0.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 1 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลายแนฟทิลเอทีลินไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ เข้มข้น 0.12% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 1 มิลลิลิตร
4. ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที
5. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสทิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำเป็นสารอ้างอิง

3.4.3 การตรวจวัดปริมาณไนไตรต์ในสารละลายตัวอย่างด้วยแผ่นเทียบสี

ก ใช้สารละลาย NEDA

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง จำนวน 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร (หมายเหตุ สารละลายตัวอย่างของแต่ละตัวอย่างทำซ้ำ 7 ครั้ง)
2. เติมสารละลายซัลฟานิลไมด์ เข้มข้น 0.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 1 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลายแนฟทิลเอทีลินไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ เข้มข้น 0.12% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 1 มิลลิลิตร
4. ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที นำไปเปรียบเทียบกับแผ่นเทียบสี และประมาณปริมาณไนไตรต์เป็นหน่วย ไมโครกรัม (หมายเหตุ ถ้าสารละลายตัวอย่างมีสีเข้มกว่าชุดตรวจสอบ ให้เจือจางจนกระทั่งมีสีอยู่ในช่วงของชุดตรวจสอบ และต้องนำแฟกเตอร์ของการเจือจางมาคำนวณด้วย)
5. แต่ละตัวอย่างทำซ้ำ 7 ครั้ง

ข ใช้ NEDA อัดเม็ด

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง จำนวน 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร (หมายเหตุ สารละลายตัวอย่างของแต่ละตัวอย่างทำซ้ำ 7 ครั้ง)
2. เติมสารละลายซัลฟานิลไมด์ เข้มข้น 0.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 1 มิลลิลิตร
3. ใส่แนฟทิลเอทีลินไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์อัดเม็ด ลงไป 1 เม็ด คนให้ละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที นำไปเปรียบเทียบกับแผ่นเทียบสี และประมาณปริมาณไนไตรต์เป็นหน่วย ไมโครกรัม

(หมายเหตุ ถ้าสารละลายตัวอย่างมีสีเข้มกว่าชุดตรวจสอบ ให้เจือจางจนกระทั่งมีสีอยู่ในช่วงของชุดตรวจสอบ และต้องนำแฟกเตอร์ของการเจือจางมาคำนวณด้วย)

5. แต่ละตัวอย่างทำซ้ำ 7 ครั้ง

3.4.4 การตรวจวัดปริมาณไนไตรต์ในสารละลายตัวอย่างด้วยวิธีกราฟมาตรฐาน

1. ปิเปิดสารละลายตัวอย่าง จำนวน 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร (หมายเหตุ สารละลายตัวอย่างทำซ้ำ 7 ครั้ง)

2. เติมสารละลายซัลฟานิลไมด์ เข้มข้น 0.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 1 มิลลิลิตร

3. เติมสารละลายแนฟทิลเอทีลินไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ เข้มข้น 0.12% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จำนวน 1 มิลลิลิตร

3. ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที

4. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 nm และนำผลที่ได้ไปพลอตเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อหาความเข้มข้นของปริมาณไนไตรต์ในสารละลายตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างทำซ้ำ 7 ครั้ง

3.4.5 การประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ

นำปริมาณไนไตรต์ ในตัวอย่างแต่ละชนิดที่ตรวจวัดได้จากแผ่นเทียบสี มาเปรียบเทียบกับปริมาณ ไนไตรต์ ที่ตรวจวัดได้จากวิธีกราฟมาตรฐาน โดยใช้หลักทางสถิติทำได้ 2 วิธีดังนี้คือ

1. วิธี T - test โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณไนไตรต์ในตัวอย่างแต่ละชนิด ที่ได้จากวิธีการเทียบสีกับแผ่นเทียบสี กับ ที่ได้จากวิธีกราฟมาตรฐาน

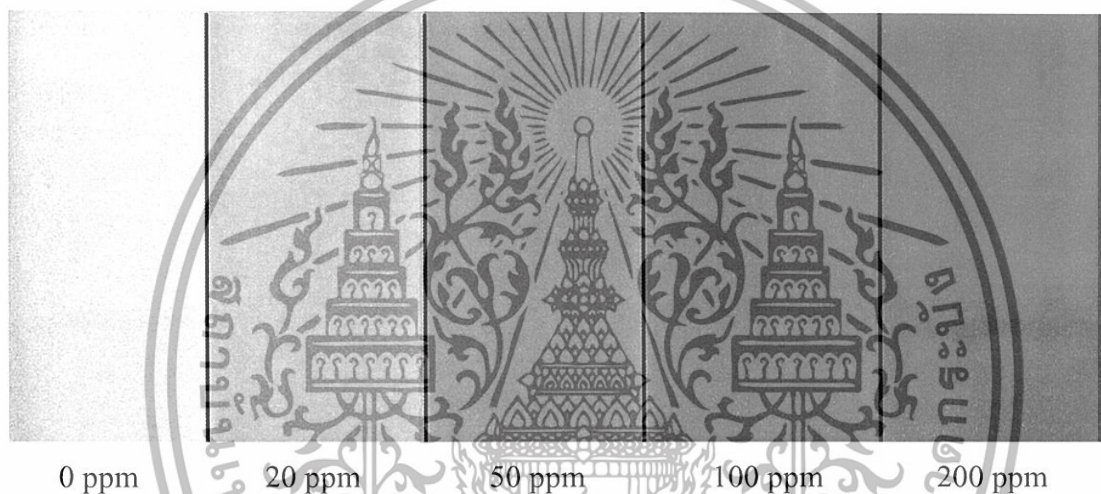
2. วิธี F - test โดยเปรียบเทียบค่าความแปรปรวนปริมาณไนไตรต์ในตัวอย่างแต่ละชนิด ที่ได้จากวิธีการเทียบสีกับแผ่นเทียบสี กับ ที่ได้จากวิธีกราฟมาตรฐาน

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ศึกษาการเตรียมแผ่นเทียบสีจากสารละลายมาตรฐานไนไตรต์

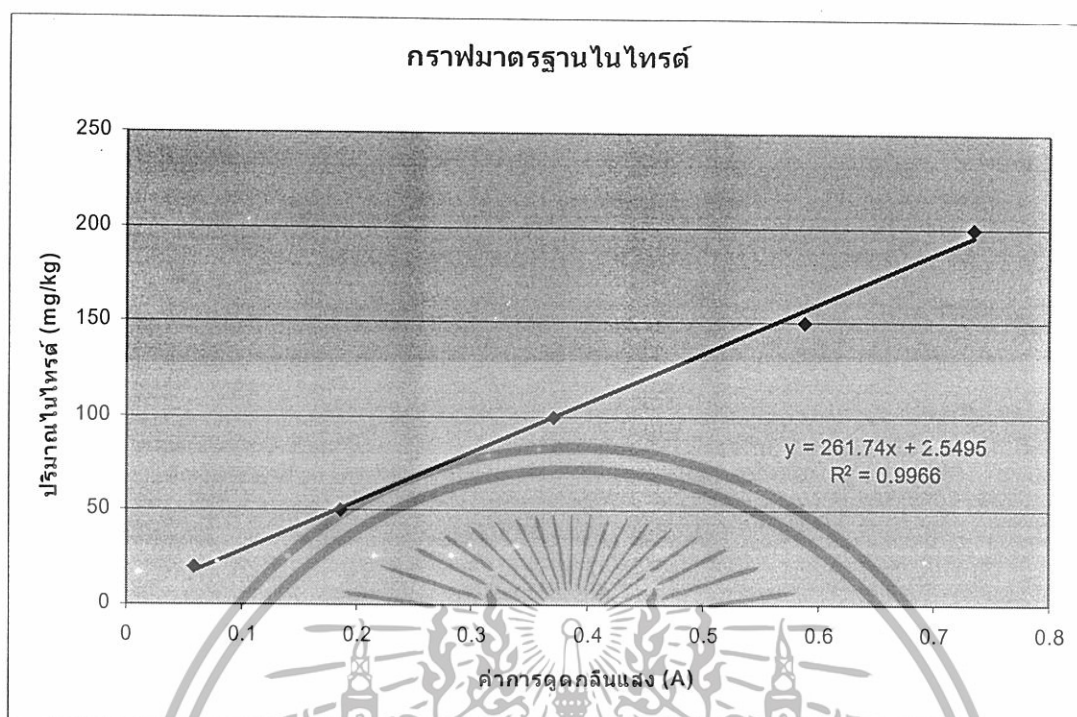
เนื่องจากสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงอมชมพูระหว่างไนไตรต์กับสารละลายแอฟทิลเอทิลีนไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ ไม่เสถียร ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงถ่ายภาพของสารประกอบเชิงซ้อนที่เตรียมจากสารละลายมาตรฐานไนไตรต์ ความเข้มข้น 0, 20, 50, 100, และ 200 ppm ไว้โดยเรียงลำดับจากความเข้มข้นน้อยไปมาก เพื่อใช้เป็นแผ่นเทียบสี ได้ภาพดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 แผ่นเทียบสี

เมื่อนำสารละลายของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไนไตรต์กับสารละลายแอฟทิลเอทิลีนไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง แล้วนำไปพลอตกราฟระหว่างความเข้มข้นของไนไตรต์กับค่าการดูดกลืน ได้กราฟแสดงในรูปที่ 2 ซึ่งสมการเส้นตรง คือ $y = 267.74x + 2.5495$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9966

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานไนไตรต์

4.2 ศึกษาการตรวจวัดปริมาณไนไตรต์ในสารละลายตัวอย่างด้วยแผ่นเทียบสี

การศึกษานี้แบ่งเป็น 2 ตอน คือ ตอน ก ใช้สารละลายแนฟทิลเอทิลีนไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ แต่ตอน ข ใช้แนฟทิลเอทิลีนไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์อค์เม็ด เนื่องจากสารละลายแนฟทิลเอทิลีนไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์เป็นสารละลายที่ไม่เสถียร ต้องมีการเตรียมใช้ใหม่ๆ ในการตรวจวัดแต่ละครั้ง ซึ่งทำให้ยุ่งยากในการใช้ชุดตรวจสอบ คณะผู้วิจัยจึงคิดแปลงใช้แนฟทิลเอทิลีนไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์อค์เม็ด เพื่อการทดลองตามในขั้นตอนที่ 3.4.3

นำสีของสารละลายเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นมาอ่านปริมาณไนไตรต์จากแผ่นเทียบสี โดยแต่ละตัวอย่างทำซ้ำ 7 ครั้ง ได้ผลดังแสดงในตาราง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณไนโตรเจนเฉลี่ยของไส้กรอกยี่ห้อต่างๆ

ตัวอย่าง	ปริมาณไนโตรเจนเฉลี่ย (ppm)	
	ตอน ก	ตอน ข
ไส้กรอกแดง	50-100	50-100
ไส้กรอกยี่ห้อแหลมทอง	50-100	50-100
ไส้กรอกยี่ห้อCPF	20-50	20-50

พบว่า ปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากวิธีตอน ก และ ตอน ข มีปริมาณเท่ากัน แสดงว่าสามารถใช้แฟลทิลอเททีนไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์อัดเม็ดแทนสารละลายแฟลทิลอเททีนไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ได้

4.3 ศึกษาการตรวจวัดปริมาณไนโตรเจนในสารละลายตัวอย่างด้วยวิธียูวี-วิสิเบิล สเปกโทรสโกปี

เพื่อตรวจสอบว่าผลที่ได้จากชุดตรวจสอบที่ทราบปริมาณไนโตรเจนจากแผ่นเทียบสีที่คณะผู้วิจัยเตรียมขึ้น มีความถูกต้องและน่าเชื่อถือได้เพียงใด จึงตรวจวัดปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างเดียวกันกับในตอนที่ 3.4.3 ด้วยวิธีมาตรฐาน คือ นำสารประกอบเชิงซ้อนไนโตรเจนกับแฟลทิลอเททีนไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร แล้วนำมาเทียบกับกราฟมาตรฐานรูปที่ 2 ได้ปริมาณไนโตรเจน ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ตารางเปรียบเทียบปริมาณไนโตรเจนระหว่างวิธีมาตรฐานกับชุดตรวจสอบ

ตัวอย่าง	ปริมาณไนโตรเจน (ppm)	
	วิธีมาตรฐาน	ชุดตรวจสอบใช้ NEDA อัดเม็ด
ไส้กรอกแดง	97.37	79.49
ไส้กรอกยี่ห้อแหลมทอง	69.62	63.91
ไส้กรอกยี่ห้อCPF	38.58	35.45

พบว่า เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากการใช้ชุดตรวจสอบกับวิธีมาตรฐาน มีค่าใกล้เคียงกัน แสดงว่า การใช้ชุดตรวจสอบโดยการทราบปริมาณไนโตรเจนจากแผ่นเทียบสีมีประสิทธิภาพในการตรวจวัดอยู่ในเกณฑ์ที่เชื่อถือได้

4.4 การประเมินผลทางสถิติเทียบวิธีมาตรฐานกับวิธีชุดตรวจสอบ

เพื่อประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ ทางหลักสถิติในที่นี้ทำการทดสอบแบบ T - test และ F - test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ค่า t จากตาราง = 1.895 และค่า t จากการคำนวณ = 1.523 ค่า f จากตาราง = 3.79 และค่า f จากการคำนวณ = 3.54

ตารางที่ 3 ตารางประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจสอบ

ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %	t_{cal}	t_{table}
t-test	1.672	1.895
F-test	3.54	3.79

หมายเหตุ t_{cal} คือ t ที่ได้จากการคำนวณ
 t_{table} คือ t จากตาราง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

การทดลองนี้เป็นการเตรียมชุดตรวจสอบปริมาณไนโตรเจนในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก ด้วยการทำให้เกิดปฏิกิริยากับแนฟทิลเอทีลินไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์และซัลฟานิลาไมด์ ได้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีแดงอมชมพู ซึ่งความเข้มของสีที่เกิดขึ้นจะแปรผันตรงกับปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่ และนำผลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานและแผ่นเทียบสี

การทำกราฟมาตรฐาน สามารถทำได้โดย เตรียมสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนที่รู้ความเข้มข้นที่แน่นอน คือ 0, 20, 50, 100, 150, 200 ppm นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร แล้วนำผลที่ได้ไปพลอตกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง

ส่วนสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนที่เตรียมได้ นำมาทำเป็นแผ่นเทียบสีสำหรับชุดตรวจสอบ โดยที่เรียงลำดับความเข้มข้นของปริมาณไนโตรเจนตามลำดับสีจากสีชมพูอ่อนไปสีชมพูเข้มและถ่ายภาพเก็บไว้ นำมาทำเป็นแผ่นเทียบสี แต่เนื่องจากสีของสารละลายที่ความเข้มข้น 150 และ 200 ppm นั้นใกล้เคียงกันมาก เราจึงตัดสีที่ความเข้มข้น 150 ppm ออกไป แผ่นเทียบสีได้จึงมีระดับความเข้มข้น 0, 20, 50, 100, 200 ppm

เนื่องจากสารละลาย แนฟทิลเอทีลินไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ที่ใช้ในชุดตรวจสอบไม่เสถียร ต้องเก็บไว้ในตู้เย็นและไม่ถูกแสงแดด เราจึงต้องทำการเปลี่ยนรูปของแนฟทิลเอทีลินไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ให้สามารถใช้งานได้ในสภาพแวดล้อมปกติ โดยนำมาอัดเป็นเม็ดด้วยเครื่องอัดเม็ดของ FT-IR และใช้โซเดียมคลอไรด์เป็น binding agent ซึ่งเมื่อเรานำแนฟทิลเอทีลินไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์แบบอัดเม็ดนี้ไปทำการทดลอง โดยเปรียบเทียบกับการใช้สารละลายแนฟทิลเอทีลินไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ปกติ ผลที่ได้พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นั้นต่างกันไม่มากนัก (ประมาณ 0.1-0.2)

เราได้นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอก 3 ยี่ห้อ มาตรวจสอบหาปริมาณไนโตรเจนด้วยชุดตรวจสอบ แล้วนำไปเปรียบเทียบผลที่ได้กับวิธีมาตรฐาน เพื่อหาความแม่นยำของชุดตรวจสอบ โดยใช้วิธีทางสถิติ t-test และ f-test ทดสอบ ได้ผลดังนี้ คือ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ค่า t จากตาราง = 1.895 และค่า t จากการคำนวณ = 1.523 ค่า f จากตาราง = 3.79 และค่า f จากการคำนวณ = 3.54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ปัญหาและข้อเสนอแนะ

1. สีของสารละลายมาตรฐานไนไตรต์นั้น จะเสถียรหลังเกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 10 นาที – 2 ชั่วโมง เท่านั้น เราจึงควรทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงทันที หลังจากเตรียมสารละลายเสร็จ
2. ในการเตรียมตัวอย่าง ผลิตภัณฑ์ใส่กรอกที่ใช้ไม่ควรผ่านการทอด เนื่องจากไขมันจะทำให้การกรองนั้นยากขึ้น มีผลต่อการเกิดสี จึงควรรอให้ไขมันจับตัวเป็นก้อนแล้วจึงนำไปกรอง
3. การทดลองนี้ไม่สามารถคำนวณหาค่า % Recovery ได้ เนื่องจากไม่ทราบปริมาณไนไตรต์ที่แท้จริงในผลิตภัณฑ์ใส่กรอก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- ลักขณา อมรสิน. คู่มือประกอบการปฏิบัติการวิชาพืชวิทยาสิ่งแวดล้อม. ภาควิชาเทคโนโลยีการ
จัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร. หน้า 18 - 23.
- วิไลลักษณ์ ประทุมศรีสาคร และอดิพร มณีเทศ. 2538. การศึกษาปริมาณของไนเตรตและ
ไนโตรเจนในไส้กรอกหมูที่ผลิตขายในห้างสรรพสินค้าและที่ผลิตขายในตลาด. ปรินญา
นิพนธ์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร.
หน้า 3 - 12.
- เวณิกา เบญจพงษ์. 2538. อันตรายจากสารกันบูด. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์
อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ปีที่ 25 ฉบับที่ 1: หน้า 8 - 14.
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิเชียร. 2532. “ไส้กรอก” เทคโนโลยีเนื้อสัตว์แล้วผลิตภัณฑ์ ภาควิชา
อุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ
ทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร. หน้า 97 - 109.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

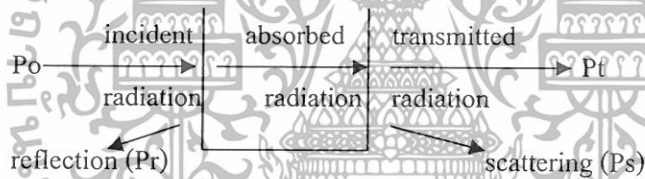


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก. หลักการอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

การดูดกลืนแสงหรือรังสีที่อยู่ในช่วงอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิล ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190-800 นาโนเมตร (nm) ของสารเคมีนั้น ส่วนใหญ่ได้แก่พวกสารอินทรีย์ (organic compound) หรือสารประกอบเชิงซ้อน (complex compound) หรือสารอนินทรีย์ (inorganic compound) ทั้งที่มีสีและไม่มีสีสมบัติของสารดังกล่าวนี้ได้นำมาใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณอย่างกว้างขวาง เพราะวิธีนี้ให้ความถูกต้องแม่นยำดี และมีสภาพไว (sensitivity) สูง โดยอาจทำการวิเคราะห์อยู่ในรูปของธาตุหรือโมเลกุลก็ได้ แต่ในกรณีที่จะนำไปใช้พิสูจน์ว่าสารตัวอย่างนั้นเป็นสารอะไร มีโครงสร้างอย่างไร อาจจะต้องใช้เทคนิคอย่างอื่นเข้าช่วยด้วย เพื่อให้เกิดความแน่ใจ เช่น ใช้เทคนิคทาง IR หรือ NMR spectroscopy เป็นต้น

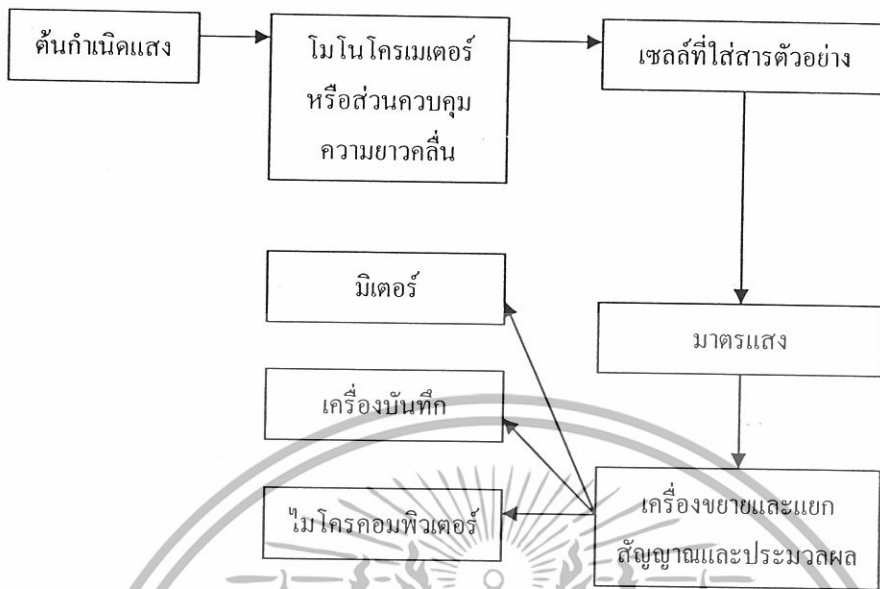
โดยทั่วไป เทคนิคการวิเคราะห์นี้บางครั้งนิยมเรียกว่า ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมตรี แต่ถ้าสารที่ทำการวิเคราะห์มีสีหรือทำให้เกิดสีขึ้น สารที่มีสีนั้นจะดูดกลืนแสงในช่วงวิสิเบิล อาจเรียกว่า คัลเลอร์ิเมตรี (colorimetry)



รูปที่ 1 แสดงการเกิดอันตรกิริยาของสารเคมีกับการแผ่รังสีหรือแสง

เมื่อให้ลำแสงที่เคลื่อนที่อย่างต่อเนื่องกัน (continuous beam of radiation) ผ่านเข้าไปในวัตถุใส จะพบว่าแสงบางส่วนถูกดูดกลืน บางส่วนเกิดการสะท้อน บางส่วนกระเจิง และบางส่วนผ่านทะลุออกไป ดังแสดงในรูปที่ 3.1 ถ้าให้แสงที่ทะลุออกไปนั้นผ่านเข้าเครื่องกระจายแสง (เช่น ปริซึม หรือเกรตติง) จะเห็นว่าสเปกตรัมหายไปส่วนหนึ่ง ส่วนที่หายไปนี้เรียกว่า absorption spectrum พลังงานที่ถูกดูดกลืนไปนั้นจะทำให้โมเลกุลหรืออะตอมเปลี่ยนระดับของพลังงานจากสถานะพื้น (ground state) ไปยังสถานะกระตุ้น (excited state)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



1. แหล่งกำเนิดรังสี (light source)

- ก) หลอดทั้งสแตน-ไอโอไดค์ ให้รังสีที่มีความยาวคลื่นตั้งแต่ 800-320 nm หลอดประเภทนี้มีราคาสูง
- ข) หลอดควิที่เรียม สามารถให้รังสีมีความยาวคลื่น 330-180 nm หลอดประเภทนี้มีราคาแพงมาก

2. โมนโครเมเตอร์ (monochromator)

โมนโครเมเตอร์เป็นชิ้นส่วนสำคัญในการกำหนดคุณภาพของสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ทำหน้าที่แยกลำรังสีที่มีความยาวคลื่นต่อเนื่องออกเป็นลำรังสีความยาวคลื่นเดี่ยว ในช่วงแสงที่ตามองเห็นได้ออกจะใช้ปริซึมแก้ว ส่วนในช่วง UV จำเป็นต้องใช้ปริซึมที่ทำด้วยควอทซ์ สำหรับสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่มีราคาแพง มักใช้โมนโครเมเตอร์แบบเกรตติงเลี้ยวเบน (diffraction gration) ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่มีร่องเป็นจำนวนมาก และความกว้างของร่องใกล้เคียงกับความยาวคลื่นของรังสี

3. อุปกรณ์บันทึกสัญญาณ (recorder)

หลังจากที่ลำรังสีความยาวคลื่นเดี่ยวผ่านสารที่ต้องการวัดการดูดกลืนแล้ว รังสีนั้นจะไปตกที่อุปกรณ์รับสัญญาณซึ่งให้ข้อมูลการดูดกลืน สำหรับสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ราคาถูกข้อมูลนี้จะปรากฏออกมาในรูปการป้ายเบนของเข็มบนหน้าปัดมิเตอร์ หรือปรากฏเป็นตัวเลขก็ได้ ในกรณี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่นนี้ต้องบันทึกข้อมูลเหล่านี้สำหรับแต่ละความยาวคลื่นบนกระดาษกราฟ เส้นที่เชื่อมจุดต่าง ๆ ก็คือ สเปกตรัม นั่นเอง

สำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ราคาแพง จะมีอุปกรณ์บันทึกสัญญาณอยู่ด้วย สามารถเปลี่ยนความยาวคลื่นเองโดยอัตโนมัติ และบันทึกออกมาเป็นสเปกตรัมได้โดยตรง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข. ผลการทดลอง

1. ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไนไตรต์

ขวดที่	1	2	3	4	5
ความเข้มข้นไนไตรต์ (mg/kg)	20	50	100	150	200
ค่าการดูดกลืนแสง	0.059	0.185	0.371	0.558	0.735

2. ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างได้กรอกเมื่อใช้สารละลาย NEDA

ตัวอย่างได้กรอกแดง

ขวดที่	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
1.	0.368	0.400	0.363	0.377
2.	0.396	0.405	0.389	0.387
3.	0.362	0.356	0.346	0.354
4.	0.389	0.327	0.392	0.336
5.	0.366	0.312	0.325	0.334
6.	0.421	0.381	0.383	0.395
7.	0.358	0.323	0.379	0.353

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างใส่กรอกข้อห้อยแหลมทอง

ขวดที่	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
1.	0.228	0.251	0.186	0.221
2.	0.230	0.249	0.219	0.232
3.	0.230	0.235	0.221	0.228
4.	0.229	0.223	0.281	0.244
5.	0.231	0.230	0.240	0.233
6.	0.230	0.256	0.239	0.241
7.	0.231	0.244	0.251	0.242

ตัวอย่างใส่กรอกข้อห้อยCPF

ขวดที่	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
1.	0.109	0.121	0.121	0.137
2.	0.141	0.144	0.135	0.140
3.	0.133	0.138	0.153	0.142
4.	0.148	0.141	0.137	0.142
5.	0.147	0.146	0.150	0.147
6.	0.167	0.163	0.155	0.141
7.	0.148	0.145	0.133	0.142

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างไส้กรอกเมื่อใช้เมตNEDAผสมกับโซเดียมคลอไรด์
ตัวอย่างไส้กรอกแดง

ขวดที่	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
1	0.285	0.301	0.296	0.294
2	0.313	0.281	0.273	0.289
3	0.254	0.310	0.284	0.282
4	0.327	0.253	0.271	0.283
5	0.312	0.324	0.306	0.314
6	0.356	0.295	0.314	0.321
7	0.231	0.275	0.321	0.275

ตัวอย่างไส้กรอกยี่ห้อแหลมทอง

ขวดที่	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
1	0.258	0.276	0.268	0.267
2	0.242	0.248	0.251	0.247
3	0.252	0.281	0.269	0.267
4	0.235	0.242	0.247	0.241
5	0.262	0.264	0.273	0.266
6	0.258	0.266	0.257	0.260
7	0.251	0.243	0.245	0.246

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างไส้กรอกซี่หื้อCPF

ขวดที่	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
1	0.106	0.109	0.108	0.128
2	0.121	0.154	0.115	0.130
3	0.103	0.108	0.103	0.120
4	0.125	0.121	0.123	0.123
5	0.127	0.115	0.130	0.124
6	0.137	0.133	0.115	0.128
7	0.123	0.125	0.128	0.125

4. ปริมาณไนไตรต์ในตัวอย่างไส้กรอก(mg/kg)

เมื่อใช้NEDAที่เป็นสารละลาย

ขวดที่	ไส้กรอกแดง	ไส้กรอกซี่หื้อแหลมทอง	ไส้กรอกซี่หื้อCPF
1	101.225	72.434	33.173
2	103.843	67.199	39.193
3	95.205	72.434	39.717
4	90.494	65.629	39.717
5	89.971	72.122	41.025
6	105.937	70.602	39.455
7	94.944	66.938	39.717
เฉลี่ย	97.374	69.623	38.857

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อใช้NEDAที่ผสมกับโซเดียมคลอไรด์แล้วอัดเม็ด

ขวดที่	ใส่กรอกแดง	ใส่กรอกยี่ห้อแหลม ทอง	ใส่กรอกยี่ห้อCPF
1	79.501	60.394	36.052
2	78.192	63.273	36.572
3	76.360	62.226	33.958
4	76.622	66.414	34.744
5	84.736	63.535	35.005
6	86.568	65.629	36.052
7	74.528	65.891	35.267
ค่าเฉลี่ย	79.492	63.908	35.445
SD	4.511	2.194	0.976

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้