

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การวิเคราะห์ไนไตรท์ในไส้กรอกโดยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION  
OF NITRITE IN SAUSAGES



T117282

ชมพูช เยี่ยมไหม

ชมัยพร พรหมสุวรรณ

ณัฐยา สันทัศน์

สหพ  
เลขทะเบียน 117282  
วัน,เดือน,ปี 20 ก.ค. 2554

b. 1233a81x  
i.

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ปีการศึกษา 2553  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION  
OF NITRITE IN SAUSAGES**



**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE  
IN INDUSTRIAL CHEMISTRY-ANALYTICAL INSTRUMENTATION  
FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
**ACADEMIC YEAR 2010**  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ      การวิเคราะห์ไนไตรท์ในไส้กรอกโดยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี  
 Spectrophotometric Determination of Nitrite in Sausages

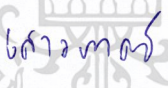
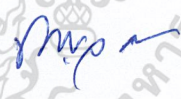

ชื่อนักศึกษา                    นางสาว ชมพูนุช    เสียมไหม  
     นางสาว ชมัยพร    พรหมสุวรรณ  
     นางสาว ณิชญา    สันทัดนา

ปริญญา                            วิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชา                        เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์

อาจารย์ที่ปรึกษา                ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้  
 โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต  
 สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม - เครื่องมือวิเคราะห์ ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร.เสาวภาคย์ ชีราทรง	
ดร.ณิชวุฒิ เจริญชัย	
ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับภายในของคณะวิทยาศาสตร์ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามนำไปเผยแพร่และอ้างถึงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้  
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

โครงการพิเศษ	การวิเคราะห์ไนไตรท์ในไส้กรอกโดยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี
ชื่อนักศึกษา	นางสาวชมพูนุช เสียมไหม นางสาวมัชพร พรหมสุวรรณ นางสาวณัฐยา สันตटना
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขา	เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์
ปีการศึกษา	2553
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

### บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้ได้นำวิธีวิเคราะห์ไนไตรท์ด้วยวิธีวานาเดตมาประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างไส้กรอก โดยไนไตรท์ทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียมเมตาวานาเดตและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ได้กราฟมาตรฐานของไนไตรท์ที่มีความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น  $0.20-0.75 \mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$  สมการเชิงเส้นคือ  $y=-0.0117x+0.8282$  ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.9989 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) เท่ากับ  $0.012 \mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$  ขีดจำกัดที่ตรวจวัดปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ  $0.040 \mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$  ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์แสดงด้วยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) มีค่าอยู่ในช่วง 2.41-12.98 % ความแม่นยำของวิธีนี้แสดงด้วยค่าร้อยละการคืนกลับ (recovery) อยู่ในช่วง 50-80 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<b>Special Project Title</b>	Spectrophotometric Determination of Nitrite in Sausages
<b>Students</b>	Miss Chompoonuch Seammai Miss Chamaiphorn Phromsuwan Miss Nattaya Santadna
<b>Degree</b>	Bachelor of Science
<b>Major Program</b>	Industrial Chemistry-Analytical Instrumentation
<b>Academic Year</b>	2010
<b>Advisor</b>	Dr.Wiboon Praditweangkum

### ABSTRACT

The purpose of this special project was to optimize method for determination of nitrite in sausage samples by applying the vanadate method. The method was based on the reaction of nitrite with ammonium metavanadate and measuring the absorbance at wavelength 470 nm. The linear range of the calibration graph was over 0.20-0.75  $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ . The linear equation was  $y = -0.0117x + 0.8282$  and the coefficient of determination was 0.9989. Limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were 0.012 and 0.040  $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ , respectively. Precision of this method represented by the relative standard deviation was 2.41-12.98%. Accuracy of this method was showed by the percentage recovery was 50-80%.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้สำเร็จไปได้อันเป็นผลมาจากความร่วมมือของสมาชิกและความช่วยเหลือจากทุกท่าน ขอขอบพระคุณ ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ เป็นอย่างยิ่งซึ่งท่านเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาที่คอยแนะแนวแนวทางการปฏิบัติการต่าง ๆ อีกทั้งให้คำปรึกษาที่ดีตลอดมารวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่คอยช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในทุก ๆ ด้าน สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณครอบครัวและเพื่อนที่รักทุกท่าน ที่คอยเป็นกำลังใจให้เสมอมาตลอดระยะเวลาในการทำโครงการพิเศษนี้เสมอมา

คณะผู้จัดทำรู้สึกซึ่งใจทุกท่านที่กล่าวมา จึงขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยและดำเนินงาน	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ</b>	
2.1 ไนไตรท์ (Nitrite)	3
2.2 ไม้สรอก	6
2.3 แอมโมเนียมเมตาวานาเดต	9
2.4 เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี (Spectrophotometry)	11
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย</b>	
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	27
3.2 การเตรียมตัวอย่างและสารละลายเคมี	28
3.3 วิธีดำเนินการทดลอง	29
<b>บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล</b>	
4.1 การทำกราฟมาตรฐานโดยวิธีมาตรฐาน	33
4.2 การทำกราฟมาตรฐานโดยวิธีที่พัฒนาขึ้น	34
4.3 การศึกษาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้และการหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้โดยมีความถูกต้องและความเที่ยงที่ยอมรับได้	35
4.4 การหาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างใส่กรอกโดยวิธีมาตรฐาน	36
4.5 การหาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างใส่กรอกโดยวิธีที่พัฒนาขึ้น	37
4.6 การหาความเที่ยงของการวิเคราะห์ (Precision)	38
4.7 ความแม่นยำของการวิเคราะห์ (Accuracy)	39
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>	40
<b>เอกสารอ้างอิง</b>	42
<b>ภาคผนวก ก</b>	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 แสดงเลขออกซิเดชันและสีต่างๆของสารละลาย	9
ตารางที่ 2.2 แสดงความยาวคลื่นของแสงสีต่างๆในแสงขาว	22
ตารางที่ 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายไนไตรท์	33
ตารางที่ 4.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของแอมโมเนียมเมตาวานาเดต	34
หลังจากทำปฏิกิริยากับไนไตรท์	
ตารางที่ 4.4 แสดงความเข้มข้นของไนไตรท์ในไส้กรอกโดยวิธีมาตรฐาน	36
ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงความเข้มข้นของไนไตรท์ในตัวอย่างไส้กรอกโดยวิธีที่พัฒนาขึ้น	37
ตารางที่ 4.6 ตารางแสดงความเที่ยงของการหาปริมาณไนไตรท์ในไส้กรอกโดยวิธีที่พัฒนาขึ้น	38
ตารางที่ 4.7 แสดงค่าความแม่นยำของการหาปริมาณไนไตรท์ในไส้กรอกโดยวิธีที่พัฒนาขึ้น	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างของไนไตรท์	3
รูปที่ 2.2 แสดง เนื้อสัตว์ เบคอนที่มีสีชมพู / แดง	3
รูปที่ 2.3 แสดงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการวิเคราะห์หาไนไตรท์	5
รูปที่ 2.4 แสดง isosbestic point	13
รูปที่ 2.5 แสดงผลของแสงที่มีหลายความยาวคลื่นต่อการเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์	14
รูปที่ 2.6 อิทธิพลของคลื่นแสงรบกวน (stray light)	15
รูปที่ 2.7 แสดงแผนภาพเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์อย่างง่าย	16
รูปที่ 2.8 แสดงการแยกแสงของปริซึม	17
รูปที่ 2.9 แสดงทรานสมิซชันเกรตติง	17
รูปที่ 2.10 แสดงรีเฟลกชันเกรตติง	18
รูปที่ 2.11 ตัวอย่าง cuvettes แบบต่างๆ	19
รูปที่ 2.12 แสดงภาพตัดขวางของหลอด PMT และลักษณะหลอด PMT ในสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	20
รูปที่ 2.13 สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์เป็นตัวตรวจจับสัญญาณ	21
รูปที่ 2.14 แสดงเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer	22
รูปที่ 2.15 แสดงสีของสเปกตรัม	23
รูปที่ 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายไนไตรท์มาตรฐาน	34
รูปที่ 4.2 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของสารละลายแอมโมเนียมเมตาวานาเดต หลังจากทำปฏิกิริยากับไนไตรท์	35
รูปที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ กับค่าความเข้มข้นของไนไตรท์ที่ตรวจวัดได้	36
รูปที่ 4.4 กราฟแสดงความเข้มข้นของไนไตรท์ในตัวอย่างไส้กรอกโดยวิธีมาตรฐาน	37
รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความเข้มข้นของไนไตรท์ในตัวอย่างไส้กรอกโดยวิธีที่พัฒนาขึ้น	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการพิเศษ

อาหารเป็นปัจจัยหนึ่งในการดำรงชีวิตของมนุษย์ ซึ่งปัจจุบันได้มีการแปรรูปและดัดแปลงอาหารเพื่อตอบสนองต่อความต้องการในการบริโภค ซึ่งการถนอมอาหารก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพดีเป็นเวลานาน อาหารที่ถูกนำมาถนอมที่พบทั่วไปและมีความสนใจคือ ไส้กรอกซึ่งได้จากผลิตภัณฑ์เนื้อ และอื่นๆ ซึ่งมีความจำเป็นต้องใส่สารเคมีลงไป สารเคมีที่ว่าคือ “เกลือไนไตรท์”

เกลือไนไตรท์ ของโซเดียม ใช้เป็นสารเติมแต่งในอุตสาหกรรมไส้กรอก ทำหน้าที่เป็นสารกันเสีย ป้องกันเชื้อ Clostridium botulinum และ Clostridium สปีชีส์อื่นๆ อีกทั้งยังมีบทบาททำให้ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกมีสีแดงและรักษาสีแดงของผลิตภัณฑ์ ทำให้มีความน่ารับประทานเพิ่มขึ้น ช่วยเพิ่มรสชาติ และกลิ่นรสแก่ผลิตภัณฑ์ ทำให้มีกลิ่นเฉพาะตัวเป็นที่ยอมรับสำหรับผู้บริโภค ยับยั้งการหืนของไขมันในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกโดยจะ ไปยับยั้งปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนของไขมัน (oxidative rancidity)

ระดับสูงสุดของเกลือไนไตรท์ เพื่อใช้ในการป้องกันเชื้อ Clostridium botulinum ขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต สำหรับไส้กรอก เกลือของไนไตรท์ของโซเดียมที่สามารถเติมได้สูงสุดคือ 125 mg/kg

ปัญหาที่มีไนไตรท์ในอาหารมากเกินไปจะก่อให้เกิดปัญหาของความปลอดภัยในการบริโภคอาหารไนไตรท์จะเป็นตัวทำให้เกิดปัญหาแก่ผู้ป่วย เช่น 1) ไปขยายหลอดเลือดให้โตขึ้นทำให้ความดันเลือดต่ำลงทำให้รู้สึกเหมือนเป็นลมหมดสติ 2) ทำให้ตับไม่สามารถสะสมวิตามินเอได้ตามปกติ 3) ปัญหาสำคัญคือจะเป็นอันตรายต่อสุขภาพของเด็กเนื่องจากไนไตรท์จะขัดขวางการพ

ออกซิเจนฮีโมโกลบินในเลือดกล่าวคือเมื่อไนไตรท์ถูกดูดซึมเข้ากระแสเลือดแล้วจะเข้าจับกับฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงได้ดีกว่าออกซิเจน ได้สารประกอบสีน้ำเงินจะทำให้เด็กตัวเขียวคล้ำ ขาดอากาศหายใจและอาจตายในที่สุด อาการเช่นนี้เรียกว่า โรคนูเบบี้ (Blue baby syndrome หรือ โรคมะทีโมโกลบินเนเมีย (Methemoglobinemia) สารไนเตรตและไนไตรท์ที่กินเข้าไปอาจถูก

แบคทีเรียในลำไส้บางชนิดเปลี่ยนไปเป็นสารที่ก่อให้เกิดสารก่อโรคมะเร็งหรือคาร์ซิโนเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า (Carcinogen) เช่นหากเปลี่ยนไปเป็นไนโตรซามีน (Nitrosamine) แล้วอาจจะเป็นสารที่ก่อให้เกิดไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคมะเร็งกระเพาะอาหาร ดังนั้นจึงทำให้คณะผู้วิจัยได้เห็นถึงความสำคัญของไนไตรท์และการบริโภค จึงได้ศึกษาหาปริมาณตกค้างในอาหาร ซึ่งวิธีที่ใช้มีความน่าเชื่อถือ ท่าง่าย และสะดวก รวดเร็ว [1,2]

## 1.2 วัตถุประสงค์

นำวิธีวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของแอมโมเนียมเมตาวานาเดตที่ใช้วิเคราะห์สำหรับตัวอย่างน้ำมาประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์ตัวอย่างไนไตรท์ในตัวอย่างไส้กรอก โดยใช้วิธีสเปกโทรโฟโตเมตรี

## 1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

1. นำวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้หาปริมาณไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้
2. ทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกที่พัฒนาขึ้น
3. นำวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้หาปริมาณไนไตรท์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของแอมโมเนียมเมตาวานาเดตที่พัฒนาสำหรับตัวอย่างน้ำ ไปประยุกต์ใช้สำหรับหาปริมาณไนไตรท์ในตัวอย่างไส้กรอก

## 1.4 ขั้นตอนการทำการวิจัยและดำเนินงาน

1. สืบค้นข้อมูลจากแหล่งข้อมูลที่เกี่ยวข้อง
2. วางแผนการทดลองโดยจัดหาอุปกรณ์ สารเคมี สารตัวอย่าง และเครื่องมือที่ใช้
3. ดำเนินการทดลองเพื่อประยุกต์วิธีหาปริมาณไนไตรท์ให้เหมาะสมกับตัวอย่างไส้กรอก

## 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

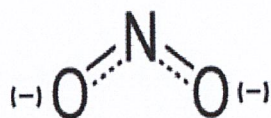
1. ทำให้ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์โดยวิธีสเปกโทรโฟโตเมตรีที่ทำให้เกิดประสิทธิภาพดีที่สุด
2. สามารถนำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

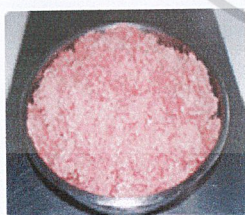
### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ไนไตรท์ (Nitrite)



รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างของไนไตรท์

ไนไตรท์เป็นสารที่เติมลงในอาหารเพื่อป้องกันการเสียดินของอาหาร สารนี้จะไปควบคุมการเจริญเติบโต หรือทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมคุณภาพของอาหาร วัตถุประสงค์ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายซึ่งสารประกอบไนไตรท์ เติมลงในอาหารเนื้อสัตว์เพื่อให้เนื้อสัตว์มีสีชมพู / แดง ที่คงที่ ไนไตรท์ที่สามารถรักษาสีของเนื้อสัตว์ให้ดูสด อยู่เสมอได้ โดยการทำปฏิกิริยากับสีของเม็ดเลือดแดง ทำให้สีคงทนอยู่ได้นานและเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ Clostridium botulinum ซึ่งสามารถผลิตสารพิษ botulinum toxin ที่เป็นอันตรายถึงแก่ชีวิต อาหารที่มักพบว่าใส่สารประกอบไนไตรท์ ได้แก่ เนื้อเค็ม เนื้อแดดเดียว ปลาแดดเดียว ไส้กรอก หมูแฮม เบคอน ส่วนเชื้อ Clostridium botulinum เป็นแบคทีเรียที่สร้างสปอร์และเจริญได้ในสภาวะไม่มีออกซิเจน (Anaerobic Bacteria) มีรูปร่างเป็นท่อน ดิสก์แกรมบวกสร้างสปอร์รูปไข่อยู่ก่อนทางปลายเซลล์ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 25-40 องศาเซลเซียส ในสภาวะไม่มีออกซิเจนซึ่งเชื้อนี้สามารถสร้างสารพิษโบทูลิน ที่มีอันตรายร้ายแรงมาก เชื้อโรคนี้นี้มักเจริญเติบโตในอาหารที่เก็บในภาชนะปิดสนิทอากาศผ่านเข้าออกไม่ได้



รูปที่ 2.2 เนื้อสัตว์ เบคอนที่มีสีชมพู / แดง

อีกทั้งเป็นแบคทีเรียสำคัญที่สุดในอุตสาหกรรมอาหาร กระบอชนิดที่มีความเป็นกรด

ต่ำ เช่น อาหารหมักดองกระป๋อง ผักผลไม้กระป๋อง ไส้กรอก เป็นต้น [3]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### พิษของ Clostridium botulinum และอาการของโรค

เนื่องจากเชื้อสามารถสร้างสารพิษที่มีผลต่อการทำลายระบบประสาท หากบริโภคอาหารที่มีสารพิษชนิดนี้ปนเปื้อนในปริมาณเพียง 1 ไมโครกรัม หรือ 0.000001 กรัม จะทำให้เกิดอาการป่วยที่เรียกว่า “ botulism ” ซึ่งมีลักษณะอาการ กลืนลำบาก พูดไม่ชัด ปากแห้ง หนังตาตก เสียงแหบ แขนขาอ่อนแรง คลื่นไส้ อาเจียน เจ็บคอ เห็นภาพซ้อน ปวดท้อง และอุจจาระร่วง หน้ามืด เป็นอัมพาต หายใจขัด และเสียชีวิตเนื่องจากระบบหายใจล้มเหลว โดยอาการจะเกิดภายใน 12-36 ชั่วโมง หลังการบริโภคอาหารและอาจเสียชีวิตภายใน 3-6 วัน การสร้างสารพิษของ Clostridium botulinum มีผลกระทบต่อระบบประสาทส่วนปลายโดยสารพิษจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิตและไปสู่เซลล์ของระบบประสาทส่วนกลาง สารพิษออกฤทธิ์ที่ neuromuscular junction โดยจะไปสกัดการหลั่งสารสื่อประสาท acetylcholine หรือขัดขวางการสร้าง acetylcholine ทำให้กระแสประสาทไม่สามารถผ่านจากประสาทสู่กล้ามเนื้อได้ จึงเกิดการหดเกร็งกล้ามเนื้อ เป็นสาเหตุของการเกิดอัมพาต ถ้าเกิดอัมพาตของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการหายใจส่งผลทำให้ระบบการหายใจล้มเหลวซึ่งเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตได้ [4]

### ผลกระทบจากไนโตรท์

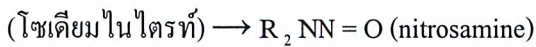
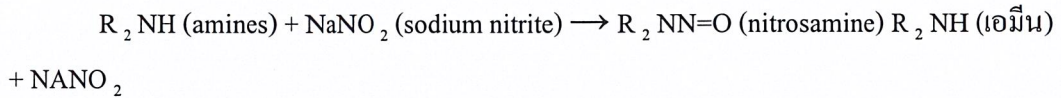
เป็นสารก่อมะเร็ง สามารถทำปฏิกิริยากับสารเอมีน (amine) ในปลาหรือในร่างกายของมนุษย์ โดยมีน้ำย่อยในกระเพาะอาหารเป็นตัวช่วยทำให้เกิดสารประกอบหลายชนิดที่มีโครงสร้างคล้ายกัน เรียกว่า "ไนโตรซามีน" สารเหล่านี้บางชนิดไม่มีอันตรายต่อสุขภาพ แต่บางชนิดจะร้ายแรงมากทำให้เป็นมะเร็งได้ ถ้ารับประทานไนโตรท์เข้าไปมาก ๆ อาจทำให้เกิดอาการท้องร่วงรุนแรงมาก อาจเกิดอาการตัวเขียว หายใจไม่ออกได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเด็ก ๆ จะยิ่งไวต่อสารเคมีชนิดนี้มากกว่าผู้ใหญ่

ปัจจุบันยังพบว่าสารไนโตรท์สามารถจะทำปฏิกิริยากับสารประกอบบางอย่างในอาหาร และสิ่งแวดล้อมโดยทั่วไป แล้วเกิดเป็นสารประกอบชนิดใหม่ขึ้น เรียกว่าสาร ไนโตรซามีนซึ่งเป็นสารเคมีกลุ่มที่อาจทำให้เกิดเป็นมะเร็งในอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายได้ การเกิดไนโตรซามีนนั้นอาจเกิดมาจากไนเตรต เปลี่ยนเป็นไนโตรท์ โดยเชื้อแบคทีเรียบางชนิด แล้วไนโตรท์ก็จะทำปฏิกิริยากับเอมีนที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์บางชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสภาวะที่เป็นกรด จะเกิดปฏิกิริยาได้ไนโตรซามีน ซึ่งเป็นสารที่ก่อมะเร็งได้อย่างรวดเร็วในระยะหลังพบว่าไนโตรซามีนสามารถ เกิดขึ้นได้ในร่างกาย โดยเฉพาะในกระเพาะอาหารที่มีสภาวะเป็นกรด เมื่อเราได้รับไนโตรท์เข้าไปในร่างกาย

แล้ว ภายใน 1-2 ชม. ร่างกายขับไนเตรตและบางส่วนเปลี่ยนเป็นไนโตรท์ออกมาทางน้ำลายสูง เมื่อเรากลืนน้ำลายผสมกับอาหารที่มีเอมีนสูงจะเกิดปฏิกิริยาในกระเพาะอาหาร ได้ ดังนั้นถ้าเรากิน

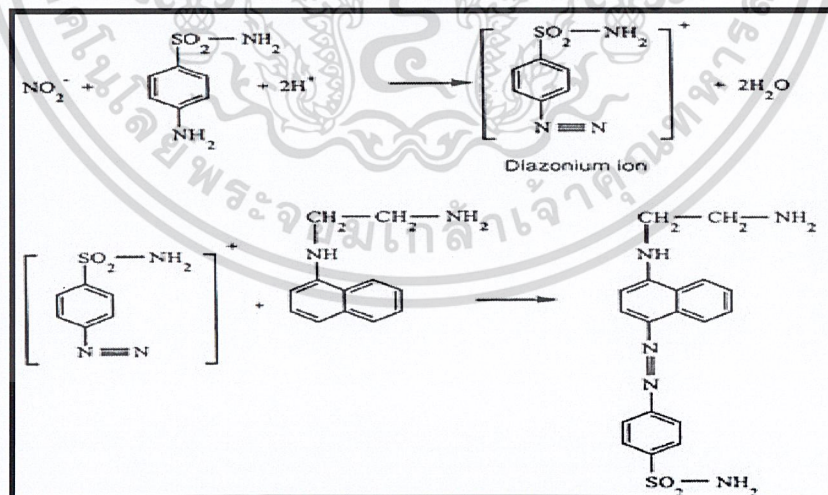
อาหารที่มีดินประสิวหรือไนเตรดและสารไนไตรท์สูง แล้วกินอาหารที่มีอามีนในมือถัดไปก็จะได้รับไนโตรซามีนที่เกิดขึ้นในกระเพาะอาหารได้ [5]

กลไกการออกฤทธิ์



การวิเคราะห์หาไนไตรท์[20]

การหาไนไตรท์ในสารละลายใช้กรอกด้วยวิธี diazotization เหมาะสำหรับสารละลายใส กรอกทุกประเภท โดยหลักการของวิธีนี้ไนไตรท์ในตัวอย่างสารละลายใช้กรอกจะทำปฏิกิริยากับ ซัลฟานิลาไมด์ในสารละลายที่เป็นกรดได้สารประกอบ diazonium ซึ่งสารประกอบดังกล่าวจะทำปฏิกิริยากับ N-(1-naphthyl)-ethylenediamine ได้สารประกอบ azo dye ที่มีสีชมพูเข้ม สารประกอบ azo dye ดังกล่าวมี molar absorptivity ประมาณ 46000 ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ความขุ่นอาจรบกวนการวิเคราะห์หาไนไตรท์โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นต่ำๆ ตัวอย่างใช้กรอกจึงควรกรองด้วยแผ่นกรอง GF/C หรือแผ่นกรอง millipore ก็ได้ นอกจากความขุ่นแล้วยังมีซิลิโคไดออกไซด์รบกวนการวิเคราะห์หาไนไตรท์เช่นกันกรณีที่ตัวอย่างมีไฮโดรเจนซัลไฟด์ หลังจากเติมซัลฟานิลาไมด์แล้วใช้แก๊สไนโตรเจนเป็นตัวไล่ไฮโดรเจนซัลไฟด์



รูปที่ 2.3 แสดงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการวิเคราะห์หาไนไตรท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2 ไส้กรอก (sausage)

มีรากศัพท์มาจากภาษาละตินว่า "salsus" หมายถึง เนื้อสัตว์ที่มีการเก็บรักษาโดยใช้เกลือ สำหรับภาษาเยอรมันมาจากคำว่า "wurst" เป็นภาษาเยอรมัน หมายถึง เนื้อที่เตรียมโดยการ บดละเอียด ผสมเกลือ เครื่องเทศและเครื่องปรุงรสอื่นๆ บรรจุในไส้หรือแบบ เนื้อที่ใช้ส่วนใหญ่ได้จากเนื้อวัว เนื้อหมู เนื้อแกะ เนื้อไก่หรือเนื้อปลา

ไส้กรอกสามารถแบ่งออกได้เป็นหลายชนิดขึ้นกับวิธีการทำ ขนาดของชิ้นเนื้อ สัดส่วนของ เนื้อและไขมัน ชนิดของเนื้อ ชนิดของเครื่องเทศที่ใช้ การรมควัน รวมทั้งการใช้ความร้อนในการแปรรูป โดยทั่วไปจะนิยมแบ่งไส้กรอกตามวิธีการทำซึ่งแบ่งออกเป็นประเภทใหญ่ๆ ได้ 5 ชนิดคือ

### 1. ไส้กรอกสด (fresh sausage)

อาจทำจากเนื้อสดหรือเนื้อแช่แข็ง โดยเฉพาะเนื้อหมูหรือเนื้อวัว หรืออาจทำจากผลพลอยได้จากสัตว์ (meat by-products) ซึ่งเนื้อไม่ต้องผ่านขั้นตอนของการหมัก (curing) ผสมเครื่องปรุงต่างๆ มักบรรจุในไส้ที่สามารถรับประทานได้ นิยมเก็บในตู้เย็น และทำให้สุกก่อนรับประทาน ไส้กรอกชนิดนี้มีรสชาติ เนื้อสัมผัส ความนุ่มและสี เกี่ยวข้องโดยตรงกับอัตราส่วนของไขมันและเนื้อแดง ไส้กรอกชนิดนี้เน่าเสียง่ายถ้าเก็บรักษาที่อุณหภูมิไม่เหมาะสม ได้แก่

ไส้กรอกหมูสด (fresh pork sausage) ทำจากเนื้อหมูผสมเครื่องปรุงรสธรรมดา บรรจุใส่ ผูกเป็นปล้องๆหรืออัดใส่พิมพ์

บราทเวอร์สต์ (bratwurst) ทำจากเนื้อลูกวัวหรือเนื้อหมู ใช้ผิวหรือน้ำมันาวปรุงรส บรรจุใน ไส้ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 3/8 นิ้ว ยาว 4 นิ้ว นิยมลวกน้ำก่อนจำหน่าย

ไส้กรอกหมูสดแบบชนบท (fresh country-style pork sausage) ทำจากเนื้อหมูบดหยาบ ผสมเครื่องปรุง บรรจุในไส้ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 3/8 นิ้ว ยาว 8-10 นิ้ว

บ็อคเวอร์สต์ (bockwurst) ทำจากเนื้อลูกวัวจำนวนมากกว่าเนื้อหมู บางสูตรผสมนมสด เครื่องปรุงรสและขนาดคล้ายเวียนนา นิยมลวกน้ำก่อนจำหน่าย

### 2. ไส้กรอกรมควันแต่ไม่สุก (uncooked, smoked sausage)

ไส้กรอกชนิดนี้มีลักษณะคล้ายกับไส้กรอกสด แต่จะใช้เนื้อที่ผ่านการหมักแล้วและผ่านการ รมควัน จึงทำให้สีและรสชาติเปลี่ยนแปลงไปจากไส้กรอกสด ต้องเก็บในตู้เย็น เมื่อจะรับประทาน ต้องนำมาทำให้สุกเสียก่อน ยกเว้นใช้เนื้อที่ผ่านกรรมวิธีพิเศษด้วยการทำลายพยาธิ *Trichinella spiralis* แล้ว ได้แก่

เมทเวอร์สต์ (Mettwurst) ทำจากเนื้อวัวร้อยละ 60-70 และ เนื้อหมูร้อยละ 30-40 หมักและ ผสมเครื่องเทศพริกไทย ลูกผักชี บรรจุไส้วุ้นขนาดเล็ก เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 1/2 - 1 3/4 นิ้ว

คิลบาซา (Kielbasa) ทำจากเนื้อหมูบดหยาบ ปรุงรสด้วยกระเทียม บรรจุในไส้ ผูกเป็น ปล้องยาว 4-5 นิ้วหรือ 8-10 นิ้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3. ไส้กรอกรมควันสุก (cooked, smoked sausage)

เป็นไส้กรอกที่ทำจากเนื้อที่ผ่านการหมักแล้ว ผ่านการรมควันจนสุกพร้อมที่จะรับประทานได้ทันที ได้แก่

แฟรงค์เฟอ์เตอร์ (frankfurters) ทำจากเนื้อวัวและเนื้อหมูอัตราส่วน 40 ต่อ 60 หมักปรุงรสด้วยเครื่องเทศ เป็นที่นิยมมากที่สุด มีชื่อเรียกต่างกันไปตามขนาดคือ บรรจุในไส้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้ว ยาว 4 นิ้วเรียกแฟรงค์เฟอ์เตอร์ บรรจุในไส้เส้นผ่านศูนย์กลาง  $\frac{3}{4}$  นิ้ว ยาว 4 - 5  $\frac{1}{2}$  นิ้ว เรียกเวียนนา (vienna) ถ้าบรรจุในไส้ขนาดเล็ก ขนาดสั้นๆเรียก แฟรงค์เฟอ์เตอร์แบบคอกเทล (cocktail style frankfurters) แนกเวอร์สต์ (knackwurst) หรือไส้กรอกกระเทียม (knoblauch) คล้ายแฟรงค์เฟอ์เตอร์แต่มีกระเทียมมากและบรรจุในไส้ขนาดเล็กยาวท่อนละ 3-4 นิ้ว

โบโลญา (bologna) คล้ายแฟรงค์เฟอ์เตอร์ บรรจุในไส้เส้นผ่านศูนย์กลาง 1  $\frac{1}{2}$  นิ้ว ขดเป็นวงแหวนหรือบรรจุในไส้ส่วนปลายของลำไส้ใหญ่ มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3  $\frac{1}{2}$  ถึง 5 นิ้ว ยาว 12-15 นิ้ว มอทาเคลลา (Mortadella)

เบอร์ลินเนอร์ (Berliner) ทำจากเนื้อหมูบดหยาบและเนื้อวัวบดละเอียด หมักในน้ำหมักเจือจาง บรรจุในไส้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 นิ้ว

### 4. ไส้กรอกสุก (cooked sausage)

อาจทำจากเนื้อสดหรือเนื้อที่ผ่านการหมักก็ได้ บด ผสมเครื่องปรุง บรรจุในไส้ นิยมทำให้สุกโดยการต้ม เก็บในตู้เย็น พร้อมทั้งรับประทานได้ทันทีโดยไม่ต้องรมควัน แต่บางชนิดจะรมควันภายหลังจากที่ทำให้อสุกแล้ว ได้แก่

ไส้กรอกตับ (liver sausage) ทำจากการบดมันหมูแข็ง ตับหมู ผสมเจลาติน ปรุงรสด้วยหัวหอมและเครื่องเทศ บรรจุในไส้และทำให้สุก มีรสชาติดีและคุณค่าทางโภชนาการสูง

ไส้กรอกเลือด (blood sausage หรือ blutwurst) ทำจากมันหมูแข็งต้มสุก หั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมและเนื้อบดละเอียด ผสมเจลาตินรวมกับเลือดวัวและเครื่องเทศ บรรจุในไส้เส้นผ่านศูนย์กลาง 1  $\frac{1}{4}$  นิ้ว ถ้าผสมมันหมูและดินแกะลงไปด้วยเรียกว่าไส้กรอกเลือดและดิน

### 5. ไส้กรอกแห้งและไส้กรอกกึ่งแห้ง (dry and semidry sausage)

ไส้กรอกชนิดนี้ผลิตจากการหมัก โดยใช้เชื้อที่มีตามธรรมชาติหรือเชื้อบริสุทธิ์ที่เติมลงไป ซึ่งจะไปเปลี่ยนน้ำตาลชั้นเดียวไปเป็นกรดแลคติก (lactic acid) การเกิดกรดแลคติกในไส้กรอกจะช่วยให้การถนอมรักษาโดยไปลด pH ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการและช่วยให้ไส้กรอกมีรสเปรี้ยว ถ้าเป็นไส้กรอกแห้งอาจผ่านการรมควันเล็กน้อยหรือไม่ผ่านเลย จะได้ผลผลิตประมาณร้อยละ 60-70 ของน้ำหนักเดิม มีลักษณะแห้งกว่า แน่นกว่าและราคาแพงกว่าไส้กรอกกึ่งแห้ง ส่วนไส้กรอกกึ่งแห้งจะทำให้สุกโดยการรมควัน โดยทั่วไปมีผลผลิตประมาณร้อยละ 70-80 ของน้ำหนักเดิม มีลักษณะค่อนข้างนุ่ม เนื่องจากมีความชื้นค่อนข้างสูง ได้แก่

### 5.1 เซอเวลัทส์ (cervelats) หมายถึงไส้กรอกแห้งทั่วๆ ไป มีหลายชนิดคือ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซาลามิ (salami) ทำจากหมูเนื้อแดงบดหยาบ หมัก บางครั้งใช้เนื้อวัวบด ละเอียด หมัก เติมน้ำมันแดงหรือเหล้าองุ่น กระเทียมและเครื่องเทศหลายชนิด บรรจุในไส้เส้นผ่านศูนย์กลาง 13/8 นิ้ว ทำให้แห้งด้วยแสงแดด

ลีโอองส์ (leyons) ทำครั้งแรกในฝรั่งเศส ประกอบด้วยเนื้อหมูปดละเอียด 4 ส่วน มันแข็ง 1-2 ส่วน หั่นสี่เหลี่ยมเล็กๆ ผสมเครื่องเทศและกระเทียม บรรจุในไส้ขนาดใหญ่ หมักและทำให้แห้งด้วยวิธีธรรมชาติ

มอทาเดลลา (mortadella) ทำจากเนื้อหมูและเนื้อวัวบดละเอียด หมัก ผสมด้วย มันหมูแข็ง หั่นเป็นรูปสี่เหลี่ยมเล็กๆ ปูร่งรสด้วยเครื่องเทศ บรรจุในกระเพาะปัสสาวะขนาดกลาง ร่มควันที่อุณหภูมิสูง และทำให้แห้งในอากาศ

แคปปริโคลา (capricola) ทำจากเนื้อหมูส่วนไหล่ ปูร่งรสด้วยพริกเกลือ น้ำตาล บรรจุในไส้และทำให้แห้งในอากาศ

เปปเปอร์โรนี (pepperoni) ทำจากเศษเนื้อหมูหมักอาจผสมเนื้อวัวในบางครั้ง พร้อมกับมันแข็ง หั่นสี่เหลี่ยมผสมพริกป่นบด พร้อมเครื่องปูร่งรสอื่นๆ บรรจุในไส้เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 1/3 นิ้ว ผึ่งให้แห้งในอากาศ

มัม (mum) ทำในภาคอีสานของไทยโดยใช้เนื้อวัวส่วนสะโพกบดละเอียด ผสม ม้าม ดับและกระเทียม บรรจุในไส้วัวและไส้หมู หมักและทำให้แห้งในอากาศ

ซัมเมอร์ (summer) ทำจากเนื้อหมูและเนื้อวัวในปริมาณเท่าๆกัน บดหยาบ ผสมกับเครื่องปูร่ง รสไม่จัดนัก หมัก บรรจุในไส้เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 1/2 นิ้ว

โฮลสไตเนอร์ (holsteiner) คล้ายซัมเมอร์ซอสเซสแต่บรรจุไส้สดเป็นรูปวงแหวน

ทูริงเจอร์ (thuringer) อยู่ในประเภทเดียวกับซัมเมอร์ซอสเซส แต่ไม่แห้งมาก มีรสเปรี้ยวคล้ายมะขาม

ก๊อตทิงเจอร์ (gottinger) เป็นไส้กรอกแห้งชนิดดี เนื้อแน่น แข็ง มีกลิ่นรสของ เครื่องเทศ นำมารับประทาน

5.2 กุนเชียง (Chinese sausage) เป็นไส้กรอกแห้งที่มีที่มาจากประเทศจีน ใช้เนื้อหมูหรือเศษเนื้อหมูผสมมันแข็ง หั่นชิ้นสี่เหลี่ยมเล็กๆ ปูร่งรสด้วยน้ำเกลือ น้ำตาล ซีอิ้วขาว บรรจุในไส้หมูตากแห้งหรือทำให้แห้งโดยใช้แสงแดด ก่อนนำมารับประทานต้องนำมาทำให้สุกก่อน

3. ไส้กรอกชนิดใหม่ (new condition sausage) เป็นไส้กรอกประเภทกึ่งเปียกกึ่งแห้งต่างจากไส้กรอกแห้งตรงวิธีการทำ และทำให้สุกในตู้รมควัน ทำจากเนื้อหมูปดผสมเครื่องปูร่ง และหมักไว้ให้เปรี้ยวประมาณ 24 ชั่วโมง ก่อนทำให้สุก ไส้กรอกชนิดนี้ได้แก่

ซาลามิ-คอตโต (salamiccotto)

โคเซอร์ซาลามิ (Kosher salami)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เฮดชีส (head cheese) ทำจากหัวหมูและเนื้อหมูหมัก ผสมเครื่องปรุง บรรจุในไส้ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 นิ้วหรือในกระเพาะหมู ในประเทศไทยรู้จักกันในรูปหมูตั้ง ไม่บรรจุในไส้แต่อัดไส้พิมพ์หรือแบบ

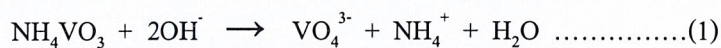
ซุซึ (sausage) คล้ายเฮดชีส แต่มีการเติมน้ำส้มให้เปรี้ยว

มีทโลฟ (meat loaves) ทำจากเนื้อบดผสมเครื่องปรุงต่างๆ เช่น หัวหอมใหญ่ ไข่ เครื่องเทศ มะกอกฝรั่ง แป้งและนมผง บรรจุในแบบหรือพิมพ์ นำไปอบให้สุกหรือบรรจุกระป๋อง

### 2.3 แอมโมเนียมเมตาวานาเดต (ammonium metavanadate)

แอมโมเนียมเมตาวานาเดต (ammonium metavanadate) เป็นสารประกอบตัวหนึ่งของวานาเดียม โดยที่โลหะวานาเดียมเป็นธาตุทรานซิชันที่มีจำนวนอิเล็กตรอนทั้งหมด 23 อิเล็กตรอน และมีการจัดเรียงตัวของอิเล็กตรอน ดังนี้  $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^3$  หรือ  $[Ar] 3d^3 4s^2$  จากการจัดเรียงตัวของอิเล็กตรอนจะเห็นว่า เลขออกซิเดชันที่สูงที่สุดที่เป็นไปได้คือ +5 ถ้าต้องการให้วานาเดียมมีเลขออกซิเดชันอื่นๆอีก ก็สามารถทำได้โดยการรีดิวซ์วานาเดียมที่มีเลขออกซิเดชัน +5 โดยใช้ตัวรีดิวซ์ที่มีความแรงต่างๆกัน เช่น  $SO_2$  เป็นตัวรีดิวซ์ ก็สามารถรีดิวซ์วานาเดียมที่มีเลขออกซิเดชัน +5 ให้เป็น +4 และ +3 ได้ แต่ถ้าต้องการให้มีเลขออกซิเดชันต่ำๆลงไปอีกก็ทำได้โดยใช้ตัวรีดิวซ์ที่มีความแรงกว่า  $SO_2$  เป็นตัวรีดิวซ์ เช่น ใช้ซิงก์อามัลกัม (Zn/Hg) เป็นตัวรีดิวซ์

ในการทดลองนี้จะเริ่มต้นจากสารประกอบของวานาเดียมคือ  $NH_4VO_3$  (ammonium metavanadate) ซึ่งเป็นวานาเดียมที่มีเลขออกซิเดชันเป็น +5 และตัวรีดิวซ์ที่เหมาะสมอีกหลายชนิด จะทำให้ได้สารประกอบของวานาเดียมที่มีเลขออกซิเดชันตั้งแต่ +4, +3 และ +2 โดยจะมีสีแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งวานาเดียมที่มีเลขออกซิเดชันเป็น +5 นี้ เมื่ออยู่ในสารละลายที่มีค่า pH มากกว่า 12 แอมโมเนียมเมตาวานาเดต จะเกิดปฏิกิริยาได้กับ ไฮดรอกไซด์ไอออน ( $OH^-$ ) ทำให้วานาเดียม +5 อยู่ในรูปของ  $VO_4^{3-}$  ซึ่งเป็นสารละลายไม่มีสี ดังสมการที่ 1

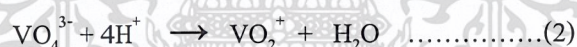


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 แสดงเลขออกซิเดชันและสีต่าง ๆ ของสารละลาย

ออกซิเดชัน	ไอออนในสารละลายที่เป็นกรด	สี
+5	$\text{VO}_2^+$	เหลือง
+4	$\text{VO}^{2+}$	น้ำเงิน
+3	$\text{V}^{3+}$	เขียว
+2	$\text{V}^{2+}$	ม่วง

ถ้าเลขออกซิเดชัน +5 นี้ อยู่ในสารละลายที่มี pH น้อยกว่า 2 แล้ววานาเดียมเลขออกซิเดชัน+5จะอยู่ในรูปของ  $\text{VO}_2^+$  ซึ่งเป็นสารละลายสีเหลือง แต่ถ้านำแอมโมเนียมเมตวานาเตไปละลายกรดโดยตรง จะเกิด  $\text{V}_2\text{O}_5$  (vanadium pentoxide) ซึ่งเป็นตะกอนส้มแดงซึ่งละลายได้น้อยมากในน้ำ จะไม่ทำให้เกิด  $\text{VO}_2^+$  ขึ้นตามต้องการ ดังนั้นในการเตรียมสารละลาย  $\text{VO}_2^+$  ทำได้โดยการละลายแอมโมเนียมเมตวานาเต ในสารละลายเบสแก่ที่มี pH มากกว่า 12 ให้ได้วานาเดียมเลขออกซิเดชัน +5 ในรูปของ  $\text{VO}_4^{3-}$  ตามต้องการ ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นดังสมการที่ 2



ปฏิกิริยา (2) จะเกิดขึ้นเร็วมากไม่สามารถทำให้  $\text{VO}_4^{3-}$  กลายเป็น  $\text{V}_2\text{O}_5$  ได้แต่ถ้าในการสะเทินเบสด้วยกรดแล้วทำให้ pH ของสารละลายอยู่ในช่วงปานกลาง วานาเดียมของเลขออกซิเดชัน+5 จะอยู่ในรูปของ polymeric oxyanion เช่น  $[\text{VO}_3(\text{OH})]^{2-}$ ,  $[\text{V}_2\text{O}_6(\text{OH})]^{3-}$  และ  $[\text{VO}_2(\text{OH})_2]^-$  เป็นต้น วานาเดียมที่มีเลขออกซิเดชัน +2, +3 และ +4 เมื่ออยู่ในสารละลายน้ำวานาเดียมเลขออกซิเดชัน +4 จะอยู่ในรูปของแคตไอออน  $\text{VO}^{2+}$  (vanadyl ion) ส่วนเลขออกซิเดชัน +3 และ +2 จะอยู่ในรูปของ hydrate ion คือซึ่งจะถูกล้อมรอบด้วยโมเลกุลของน้ำ [7]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.4 เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี (spectrophotometry)

หลักการของเครื่องสเปกโทรโฟโตเมทรี

สเปกโทรสโคปี (spectroscopy) เป็นศาสตร์ที่ศึกษาเกี่ยวกับการวัดการดูดกลืน (absorption) หรือการคาย (emission) รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic radiation) ของสาร โดยเฉพาะสารส่วนใหญ่สามารถดูดกลืนคลื่นในช่วงอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet UV) และช่วงแสงที่มองเห็นได้ (visible) ได้จากสมบัตินี้จึงนำมาใช้เป็นเทคนิควิเคราะห์ที่เรียกว่า ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรสโคปี (UV-Vis spectroscopy)

การดูดกลืนแสงหรือรังสีที่อยู่ในช่วงอัลตราไวโอเล็ตและวิสิเบิล ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190 – 800 นาโนเมตร ของสารเคมี สมบัติของสารดังกล่าวนี้ได้นำมาใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณอย่างกว้างขวาง เพราะวิธีนี้ให้ความถูกต้องแม่นยำและมีสภาพไว (sensitivity) สูง โดยอาจทำการวิเคราะห์ที่อยู่ในรูปของธาตุหรือโมเลกุลก็ได้ แต่การที่จะพิสูจน์ว่าสารตัวอย่างเป็นสารอะไร มีโครงสร้างอย่างไร จำเป็นต้องใช้เทคนิคอื่นเข้าช่วยเพื่อให้เกิดความถูกต้องแม่นยำ

เครื่อง UV-Vis spectrophotometer สามารถแบ่งได้เป็น 2 ระบบ คือ แบบลำแสงเดี่ยว และแบบลำแสงคู่ สำหรับเครื่องแบบ ลำแสงเดี่ยวเป็นเครื่องที่ใช้ลำแสงเดี่ยวจากแหล่งกำเนิดผ่านไปยังตัวอย่าง เครื่องมือนี้ได้รับการออกแบบให้สามารถใช้งานได้ง่ายสะดวก และมีราคาไม่แพงมากนัก สำหรับเครื่องแบบลำแสงคู่ นั้น แสงจะถูกแยกออกเป็น 2 ลำ ก่อนที่จะไปตกลงบนตัวอย่าง โดยแสงลำหนึ่งจะใช้เป็นลำแสงอ้างอิงขณะที่อีกลำจะผ่านไปยังตัวอย่าง เครื่องมือที่เป็นแบบลำแสงคู่บางรุ่นจะมีเครื่องตรวจวัด 2 ตัวเพื่อที่จะตรวจวัดแสงอ้างอิงและแสงที่มาจากตัวอย่างได้พร้อมกัน แต่ในบางรุ่นจะมีเครื่องตรวจวัดเพียงตัวเดียว โดยแสงทั้งสองลำจะผ่านตัว beam chopper ซึ่งจะทำหน้าที่กักแสงลำหนึ่งไว้ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง เครื่องตรวจวัดจึงสามารถตรวจวัดความแตกต่างของแสงทั้งสองลำได้

กฎของเบียร์และแลมเบิร์ต (Beer-Lambert law)

กฎของแลมเบิร์ต (Lambert's law) มีใจความว่า “เมื่อมีแสงที่มีความยาวคลื่นเดี่ยว (monochromatic light) ผ่านตัวกลางเนื้อเดียว สัดส่วนของความเข้มของแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มของแสงที่กระทบตัวกลางนั้น และความเข้มของแสงจะถูกแต่ละชั้นของตัวกลางดูดกลืนไว้ในสัดส่วนที่เท่ากัน”

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กฎของเบียร์ (Beer's law) มีใจความว่า “เมื่อแสงที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว สัดส่วนของความเข้มของแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้จะแปรผันโดยตรงกับปริมาณของตัวกลางที่ดูดกลืนแสงนั้น”

เมื่อเราวัดการดูดกลืนแสงของสารละลาย ปริมาณความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะขึ้นอยู่กับทั้งความเข้มข้นของสารละลายและความหนาของสารละลายที่ลำแสงต้องผ่าน จึงจำเป็นต้องรวมกฎของเบียร์และกฎของแลมเบิร์ต เรียกเป็น กฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert law)

การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเราสามารถทำได้โดยให้ลำแสงผ่านเข้าไปในตัวตัวอย่าง (Incident light:  $I_0$ ) แล้ววัดปริมาณแสงที่เหลือผ่านออกมา ( $I$ ) โดยเทียบกับแสงที่ผ่านออกมาเมื่อไม่มีสารตัวอย่าง

ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้น

เบียร์และแลมเบิร์ต ได้ศึกษากระบวนการดูดกลืนแสงพบความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลาย กฎของเบียร์มีใจความว่า ค่าการดูดกลืนของสารละลายเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มข้น ดังสมการ

ดังนั้น

$$A = abc$$

โดยที่

$A$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสาร (absorbance)

$a$  = แอ็บซอร์ปติวิตี (ลิตรต่อกรัมเซนติเมตร)

$b$  = ความกว้างของเซลล์ (เซนติเมตร)

$c$  = ความเข้มข้นเป็น กรัม/ลิตร

และเมื่อสารละลายที่ศึกษามีความเข้มข้นในหน่วยโมลต่อลิตร สามารถหาค่าแอ็บซอร์ปแทนซ์

จากสมการ

$$A = \epsilon bc$$

โดยที่

$A$  = ค่าการดูดกลืนแสง

$\epsilon$  = โมลาร์แอ็บซอร์ปติวิตี (ลิตรต่อโมลเซนติเมตร)

$B$  = ความกว้างของเซลล์ (เซนติเมตร)

$c$  = ความเข้มข้น (กรัมต่อลิตร)

ค่าแอ็บซอร์ปติวิตีเป็นค่าคงที่แสดงลักษณะของสารที่มีความยาวคลื่นและตัวทำละลาย

หนึ่งๆ เมื่อเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นกราฟที่ได้จะ  
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์โดยกรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์ เมื่อผู้ใดเห็นชอบที่จะนำเอกสารนี้ไปใช้  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเส้นตรง เรียกว่า กราฟมาตรฐาน (Calibration curve) ซึ่งสามารถคำนวณเพื่อหาความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ในสารตัวอย่างได้

การเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ (deviation from Beer's law)

เราทราบมาแล้วจากกฎของเบียร์ว่า ค่าการดูดกลืนจะแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้น ดังนั้นเมื่อเราพล็อตกราฟระหว่างค่าการดูดกลืน (A) กับความเข้มข้น (c) เมื่อความหนาของเซลล์คงที่ จะได้กราฟเส้นตรง แต่ในบางครั้งพบว่าอาจจะเกิดการเบี่ยงเบนได้ความสัมพันธ์ที่ไม่เป็นเส้นตรง ซึ่งอาจเป็นการเบี่ยงเบนในเชิงบวก (positive deviation) คือค่าการดูดกลืนให้แนวโน้มสูงกว่าปกติ ทำให้กราฟที่ได้โค้งขึ้นหรือเป็นการเบี่ยงเบนเชิงลบ (negative deviation) คือค่าการดูดกลืนมีแนวโน้มต่ำลงทำให้กราฟโค้งลง

ซึ่งการเบี่ยงเบนดังกล่าวมาจากสาเหตุหลัก 2 ประการ ได้แก่

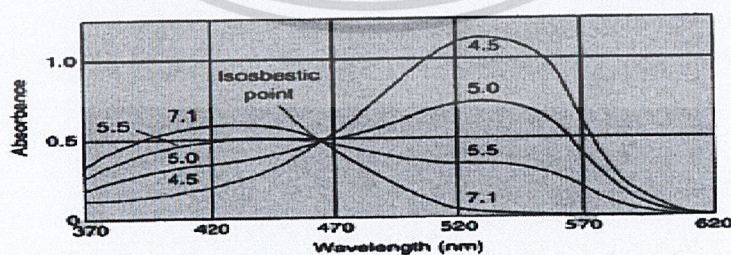
1. การเบี่ยงเบนทางเคมี (chemical deviation)
2. การเบี่ยงเบนจากเครื่องมือ (instrumental deviation)

การเบี่ยงเบนทางเคมี (chemical deviation)

เกิดจากสารที่ต้องการวิเคราะห์เกิดการสลายตัว การรวมตัว หรือทำปฏิกิริยากับตัวทำละลาย แล้วกลายเป็นสารตัวอื่นที่ให้ absorption spectrum ต่างจากสารที่ต้องการจะวิเคราะห์ ทำให้ผลเบี่ยงเบนออกจากกฎของเบียร์ ยกตัวอย่างเช่น การรวมตัวกันของโมเลกุล ทำให้การดูดกลืนแสงต่อโมเลกุลลดลง ดังนั้นจึงเกิดการเบี่ยงเบนเชิงลบ

Isosbestic point

บ่อยครั้งที่การวัดค่าการดูดกลืนเกิดขึ้นในขณะที่สารนั้นสามารถ อยู่ในรูปร่างที่ดูดกลืนแสงได้หลายความยาวคลื่น



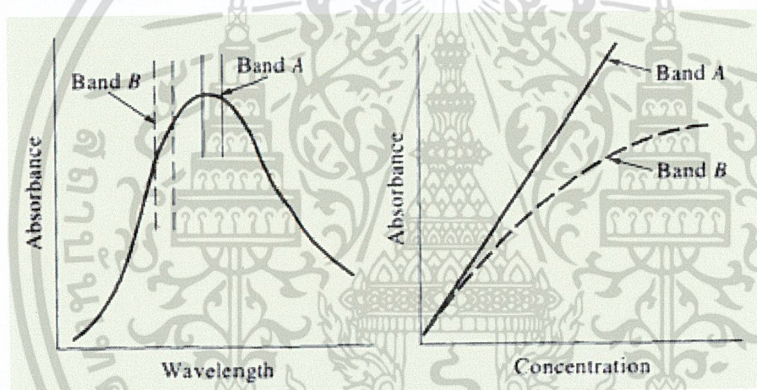
รูปที่ 2.4 แสดง isosbestic point

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเบี่ยงเบนจากเครื่องมือ (instrumental deviation)

1. ความไม่แม่นยำของเครื่องมือวัด ในทางปฏิบัติพบว่าการวัดค่าการดูดกลืนของสารให้มีความแม่นยำในช่วง  $A = 0.1-1.0$  จะมีความคลาดเคลื่อนของการวัดความเข้มข้นน้อยมากประมาณ 1-2% ดังนั้นในปฏิบัติการจริงจะมีการปรับความเข้มข้นของสารละลายให้อยู่ในช่วง  $A = 0.1-1.0$  ถ้าค่าการดูดกลืน อยู่ในช่วงที่มากกว่าหรือน้อยกว่านี้แสงที่ผ่านออกมาซึ่งเครื่องตรวจวัดจะน้อยหรือมากเกินไป ดังนั้นความคลาดเคลื่อนจึงมีสูง

2. แสงที่มีหลายความยาวคลื่น (polychromatic light) จากกฎของเบียร์ฮูมมานว่า ความยาวคลื่นที่ผ่านสารละลายเป็นความยาวคลื่นเดียว แต่ในทางปฏิบัติ ตัวแยกความยาวคลื่น (monochromator) อาจแยกความยาวคลื่นให้เป็นคลื่นเดียวไม่ได้ มีความยาวคลื่นอื่นปนมาด้วย ดังนั้นการวัดค่าการดูดกลืน อาจคลาดเคลื่อนได้ ถ้าความยาวคลื่นอื่นที่ปนมา มีค่า molar ( $\epsilon$ ) ของสารเปลี่ยนแปลงไปจากความยาวคลื่นที่เราเลือกมา



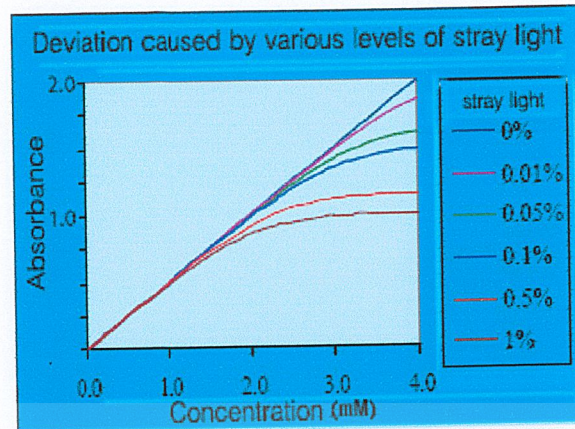
รูปที่ 2.5 ผลของแสงที่มีหลายความยาวคลื่นต่อการเบี่ยงเบนจากกฎของเบียร์ :

แถบ A เป็นไปตามกฎของเบียร์เพราะเปลี่ยนแปลงไม่มาก

แถบ B ไม่เป็นไปตามกฎของเบียร์ เพราะเปลี่ยนแปลงอย่างมาก

3. คลื่นแสงรบกวน (stray light) คือ การรบกวนของความยาวคลื่นที่เราไม่ได้เลือกผ่านเข้าไปตกกระทบบนตัวตรวจจับสัญญาณ (detector) อาจเกิดจากการกระเจิงแสง (scattering) หรือการสะท้อน (reflection) หลายๆ ครั้งบนผิวของเกรตติงเลนส์ หรือฟิลเตอร์ เป็นต้น ผลของแสงรบกวนทำให้ค่าการดูดกลืนลดลง โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นสูงๆ ถ้าค่าการดูดกลืนมีค่ามาก แสงที่ผ่านออกมาตกบนตัววัดมีน้อย ดังนั้นแสงรบกวนจึงส่งผลได้มากขึ้น ทำให้ได้กราฟที่ไม่เป็นเส้นตรง [8,9]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 อิทธิพลของคลื่นแสงรบกวน (stray light)

ส่วนประกอบของเครื่อง [10]

1.แหล่งกำเนิดแสง (Light source)

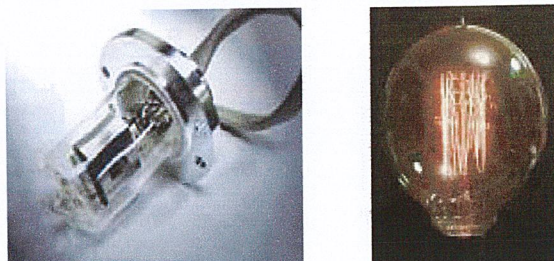
ต้นกำเนิดแสงที่ใช้ในงานทางสเปกโทรโฟโตเมตรีนั้น ควรจะต้องมีลักษณะดังนี้

- (1) จะต้องให้ลำแสง (beam of radiation) ที่มีกำลังพอที่วัดได้ด้วยมาตรแสง (photometer)
- (2) จะต้องให้การแผ่รังสี (radiation) ออกมาตลอดเวลาในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการ
- (3) จะต้องให้การแผ่รังสีที่คงที่ตลอดเวลา นั่นคือ Po ต้องคงที่ มิฉะนั้นแล้วผลของการวิเคราะห์จะไม่แม่นยำหรือไม่มีความเที่ยง

แหล่งกำเนิดแสงในเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะต้องให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการอย่างต่อเนื่องและคงที่ตลอดเวลา รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากพอด้วย

สำหรับความยาวคลื่นในช่วงอัลตราไวโอเล็ตจะใช้หลอดควิเทอเรียม (deuterium lamp) เป็นแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งให้แสงในช่วง 185-375 nm หลักการคือทำให้อะตอมควิเทอเรียมที่อยู่ในสภาวะเร้าคายพลังงานออกมา หลอดทังสเตน (tungsten filament lamp) จะให้ความยาวคลื่นครอบคลุมช่วงแสงที่มองเห็นได้ คือตั้งแต่ 320-2500 nm หลักการจะคล้ายกับหลอดไฟทังสเตนธรรมดาคือให้กระแสไฟฟ้าผ่านเข้าไปจนกระทั่งหลอดทังสเตนร้อนและเปล่งรังสีออกมา

โดยปกติจะเปิดเครื่องทิ้งไว้ก่อนใช้งานประมาณ 30 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าหลอดควิเทอเรียมหรือหลอดทังสเตนให้แสงที่มีความเข้มสม่ำเสมอ



รูปที่ 2.7 แผนภาพเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์อย่างง่าย

## 2. โมโนโครเมเตอร์ (Monochromator)

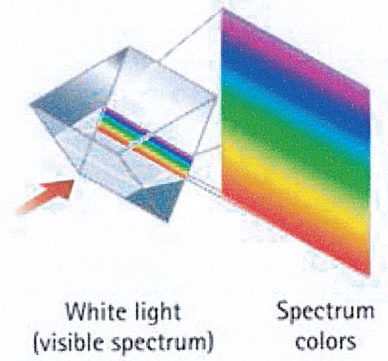
เป็นส่วนประกอบที่ถือว่าเป็นหัวใจของเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เพราะเป็นส่วนที่ใช้ควบคุมแสง โดยจะทำให้แสงที่ออกมาจากคั่นกำเนิดแสง ซึ่งเป็นพอลิโครเมติก (คือแสงที่ประกอบด้วยแสงที่มีความยาวคลื่นต่าง ๆ) ให้เป็นแสงโมโนโครเมติก โมโนโครเมเตอร์จะประกอบไปด้วย

- (1) ช่องที่ปล่อยให้แสงเข้า (entrance slit) เพื่อให้แสงที่เข้ามาแรงพอที่จะผ่านออกไปยังสารตัวอย่าง โดยยึดต่อพื้นที่ที่แสงผ่าน
- (2) กระจกและเลนส์ (mirror และ lens) เพื่อทำให้แสงเกิดการสะท้อนไปมาในเครื่อง บางครั้งทำให้แสงเกิดการรวมกันและบางครั้งทำให้แสงกลายเป็นลำแสงขนาน
- (3) ส่วนที่ใช้ทำให้แสงกระจายออกเป็นความยาวคลื่นต่าง ๆ กัน เพื่อให้เหมาะแก่การเลือกใช้หรืออาจเป็นส่วนที่คัดแสงบางช่วงออกไปให้เหลือเฉพาะช่วงคลื่นแสงที่ต้องการอุปกรณ์ส่วนนี้อาจประกอบไปด้วย

ฟิลเตอร์ (filters) ประกอบด้วยกระจกสีต่างๆ ทำให้เป็นแผ่นกลม เพื่อให้สะดวกแก่การเปลี่ยนด้วยการหมุนแผ่นกลมนั้นหรืออาจใช้วิธีเลื่อนไปตามแนวนอนก็ได้ฟิลเตอร์ชนิดนี้จะให้ความกว้างของแถบคลื่นแสงขนาด 25nm

ปริซึม (prism) ปริซึมสามารถแยกแสงออกเป็นความยาวคลื่นต่างๆ โดยอาศัยหลักการหักเหและการสะท้อนของแสงที่มีความยาวคลื่นต่างกันแต่ปัจจุบันเลิกใช้แล้วเพราะมีปัญหาหลายอย่าง

**ถ้ำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง**



**รูปที่ 2.8** แสดงการแยกแสงของปริซึม

เกรตติง (grating) เกรตติงที่ใช้กันอยู่มี 2 แบบ

- ทรานสมิซชันเกรตติง (transmission grating) ทำด้วยวัสดุโปร่งใสที่สามารถให้แสงผ่านได้ เป็นกระจกแล้วนำมาขีดให้เป็นร่องขนานกัน เกรตติงชนิดนี้ไม่ค่อยนิยมใช้กันแล้ว



**รูปที่ 2.9** แสดงทรานสมิซชันเกรตติง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- รีเฟล็กซ์เกรตติง (reflection grating) หรือเกรตติงแบบสะท้อนแสงเป็นเกรตติงที่ใช้การสะท้อนแสง ดังนั้นผิวหน้าของร่องวัสดุที่ใช้ทำจะต้องเรียบและสะท้อนแสงได้เกรตติงที่ใช้ในช่วงอัลตราไวโอเล็ตและวิสิเบิลจะต้องมีจำนวนร่อง 300-2000 ร่อง (grooves) ต่อมิลลิเมตร แต่ที่ใช้กันทั่วไปจะอยู่ในราว 1200 ร่องต่อมิลลิเมตร



รูปที่ 2.10 แสดง รีเฟล็กซ์เกรตติง

(4) ช่องแสงออก (exit slit) ความยาวคลื่นที่ออกมาจากแหล่งกำเนิดแสงซึ่งเป็นแสงที่มีหลายๆความยาวคลื่น (polychromatic wavelength) ให้เป็นแถบแสงในช่วงแคบๆหรือเป็นความยาวคลื่นเดี่ยว (monochromatic wavelength) เครื่องมือสมัยก่อนจะใช้ปริซึมหรือฟิลเตอร์สำหรับแยกความยาวคลื่นแต่ปัจจุบันเปลี่ยนมาใช้โมโนโครเมเตอร์ (monochromator) แบบเกรตติง (grating) สะท้อนแสงซึ่งมีลักษณะเป็นร่องเล็กๆ ขนานกันจำนวนมาก แสงจากแหล่งกำเนิดแสงจะตกกระทบลงบนผิวหน้าของร่อง แล้วสะท้อนออกมาที่มุมต่างๆ เฉพาะความยาวคลื่นที่เราเลือกเท่านั้นจึงจะผ่านช่องแสงออก (exit slit) ไปสู่ตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3. ภาชนะใส่สารตัวอย่าง (cell หรือ cuvette)

ภาชนะใส่สารตัวอย่างสำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะเรียกว่า เซลล์หรือคิวเวทท์ (cuvette) มีหลายแบบหลายขนาดด้วยกันขึ้นกับการใช้งาน หลักสำคัญในการเลือกใช้ก็คือ การวัดในช่วงแสงอัลตราไวโอเล็ต จะต้องใช้เซลล์ที่ทำจากควอตซ์ (quartz) เท่านั้น เนื่องจากแก้วสามารถดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ตได้ ส่วนเซลล์ที่ทำจากแก้วจะใช้วัดในช่วงแสงที่มองเห็นได้ นั้นหมายความว่าถ้าเราต้องการวัดสารในช่วงแสงที่มองเห็นได้ก็ควรจะใช้เซลล์ที่ทำจากแก้ว การใช้เซลล์ควอตซ์ไม่ได้มีผลให้การวัดแสงดีขึ้น แต่จะสิ้นเปลืองเปล่า ประโยชน์เพราะควอตซ์ราคาแพงกว่าแก้วมาก



รูปที่ 2.11 ตัวอย่าง cuvettes แบบต่างๆ

นอกจากนี้การวิเคราะห์โดยใช้ spectrophotometric detection ถ้างานวิเคราะห์นั้นมีความไว (sensitivity) ต่ำ เราสามารถเพิ่มความไวให้สูงขึ้นได้ง่ายๆ โดยใช้เซลล์ที่มีความกว้างมากขึ้นเพราะจากกฎของเบียร์-แลมเบิร์ตค่าการดูดกลืนแสงของสารยังขึ้นกับความหนาของตัวกลางที่แสงเดินทางผ่าน ดังสมการ  $A = \epsilon cl$  ซึ่งเซลล์ที่ใช้ในงานทั่วไปมีความกว้างตั้งแต่ 1-10 cm หรือถ้าสารมีราคาแพงและปริมาณน้อย ก็มีเซลล์ขนาดเล็กที่ปริมาตรต่ำกว่า 1 mL

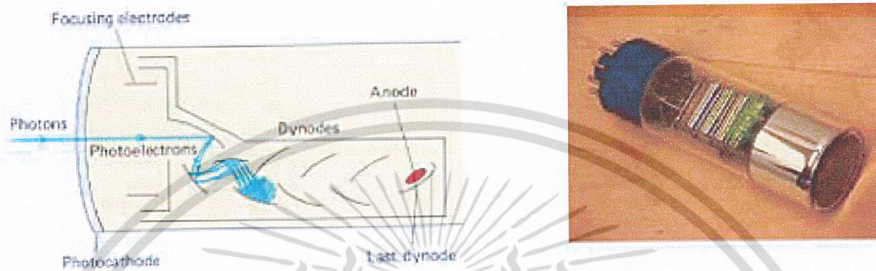
ส่วนการทำความสะอาดเซลล์เพียงแค่งล้างด้วยน้ำกลั่นหรือกลั้วด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมตามด้วยน้ำกลั่นก็เพียงพอ ห้ามขัดถูเพราะจะทำให้เซลล์มีรอยขีดข่วน

### 4. ตัวตรวจจับสัญญาณ (detector)

เครื่องตรวจจับสัญญาณที่ดีต้องมีสภาพไวสูงคือแม้ปริมาณแสงจะเปลี่ยนไปเล็กน้อยก็สามารถตรวจจับสัญญาณความแตกต่างได้ ปัจจุบันเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ส่วนใหญ่ นิยมใช้ตัวตรวจจับสัญญาณ 2 ชนิดคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

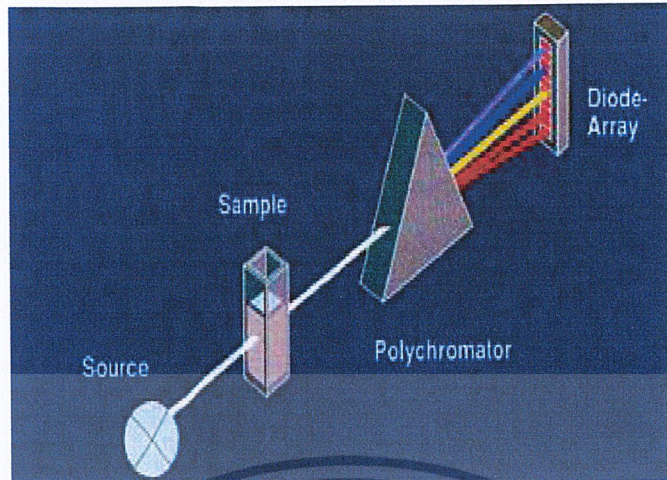
(1) หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier tube; PMT) หลอด PMT ประกอบไปด้วยแคโทด(cathode)ที่ฉาบผิวด้วยสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้เมื่อถูกแสงจำนวน 9 ชุดเรียกว่าไดโนด (dynode) แต่ละไดโนดจะมีศักย์ไฟฟ้าสูงขึ้นเรื่อยๆเมื่อแสงตกกระทบกับไดโนดตัวที่หนึ่ง สารที่ฉาบผิวจะเกิดอิเล็กตรอนขึ้นแล้ววิ่งไปกระทบไดโนดที่สอง สาม สี่ จนครบทั้งเก้าตัว ดังนั้นปริมาณอิเล็กตรอนจะเพิ่มขึ้นถึง  $10^6-10^7$  เท่า แล้วจึงชนแอโนดให้กระแสไฟฟ้าออกมาเข้าเครื่องขยายสัญญาณต่อไป



รูปที่ 2.12 (ซ้าย) ภาพตัดขวางของหลอด PMT (ขวา) ลักษณะหลอด PMT ในสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

(2) โฟโตไดโอดอาร์เรย์ (photodiode arrays; PDA) ตัวตรวจจับสัญญาณชนิดนี้สามารถจับสัญญาณได้ครอบคลุมทั้งสเปกตรัมโดยใช้ไดโอดนี้ มาเรียงต่อกันเป็นแถว ซึ่งสามารถวัดครอบคลุมสเปกตรัมได้ตั้งแต่ 200-1100 nm ตัวตรวจจับสัญญาณนี้ประกอบไปด้วยโฟโตไดโอดและตัวเก็บประจุ (capacitor) ประมาณ 200- 4000 ตัวเรียงต่อกันเป็นแถว หลักการเริ่มต้นด้วยการให้ประจุผ่านผิวหน้าไดโอด ซึ่งไดโอดก็จะเก็บประจุไว้ที่ตัวเก็บประจุ เมื่อแสงตกลงบนไดโอดจะทำให้เกิดประจุไฟฟ้าไปทำลายประจุที่เก็บไว้ที่ตัวเก็บประจุ ทำให้ต้องใส่ประจุเพิ่มเข้าไปใหม่ซึ่งเป็นช่วงของการสแกนแต่ละครั้งนั่นเอง ปริมาณของประจุที่ต้องใส่เข้าไปใหม่ จะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มแสงที่วัดได้ของแต่ละไดโอด ดังนั้นจากการวัดปริมาณแสงที่แตกต่างกันตลอดช่วงความยาวคลื่นจะได้เป็นสเปกตรัมการดูดกลืนของสารนั้นออกมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.13 สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่มีไดโอดอาร์เรย์เป็นตัวตรวจจับสัญญาณ

#### 5. เครื่องขยาย-แยกสัญญาณและประมวลผล (Signal Processors and Data Read Out)

สัญญาณที่ได้จากเครื่องวัดจะนำไปเข้ากระบวนการของระบบอิเล็กทรอนิกส์ เช่น ขยายสัญญาณให้มากขึ้น หรืออาจเปลี่ยนสัญญาณ D.C. เป็น A.C. เป็น D.C. อาจมีการกรองสัญญาณที่ไม่ต้องการออกไป หรือนำสัญญาณที่ได้ไปแยกออกจากรันสัญญาณที่ได้ซึ่งเป็นผลของการวิเคราะห์ จึงได้เสนอกว่ามีหลายรูปแบบ โดยต่อเข้ากับ

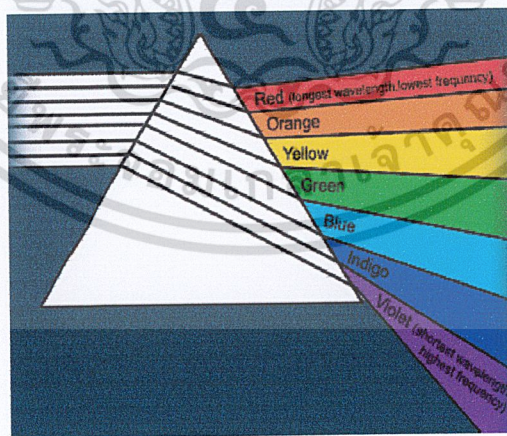
- มิเตอร์ มีสเกลอ่านทั้งที่เป็น linear scale และ logarithm scale บอกค่า absorbance และ %transmittance
- ดิจิตัลมิเตอร์(digital meter) โดยเสนอค่าที่วัดได้ออกมาเป็นตัวเลข บอกค่า absorbance หรือ concentration
- เครื่องบันทึกเรคคอร์ดเตอร์หรือพริ้นเตอร์ ซึ่งสามารถเขียนสเปกตรัม พิมพ์ข้อมูลที่ต้องการได้หรือเขียนกราฟก็ได้
- เครื่องไมโครคอมพิวเตอร์เป็นเครื่องที่สามารถควบคุมการทำงานต่างๆของเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ใช้ในการคำนวณผลการทดลอง พิมพ์ข้อมูลและผลการทดลองทั้งหมดได้ ตลอดจนชี้สาเหตุของการขัดข้องได้ด้วย [11,12]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 แสดงความยาวคลื่นของแสงสีต่าง ๆ ในแสงขาว

สีของสเปกตรัม	ความยาวคลื่น (nm)	ความถี่คลื่น	พลังงานคลื่น
สีม่วง	380 - 420	สูง	มาก
สีคราม	420 - 460		
สีน้ำเงิน	460 - 490		
สีเขียว	490 - 580		
สีเหลือง	580 - 590		
สีแสด	590 - 650		
สีแดง	650 - 700	ต่ำ	น้อย

แสงที่มองเห็น เป็นแสงที่นัยน์ตาของเราสัมผัสได้ ซึ่งประกอบไปด้วย สเปกตรัมทั้ง 7 สเปกตรัม ได้แก่ แอมแสงสีม่วง คราม น้ำเงิน เขียว เหลือง แสด และแดง ซึ่งปกตินัยน์ตาของเราจะไม่สามารถแยกแสงออกเป็นสเปกตรัมได้ เพียงแต่มองเห็นเป็นแสงสว่าง ซึ่งเรียกว่า แสงขาว



รูปที่ 2.14 แสดงสีของสเปกตรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ตัวอย่างเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ในปัจจุบัน



รูปที่ 2.15 UV-Vis Spectrophotometer ของ Shimadzu สามารถวัดการดูดกลืนได้ทั้งในช่วงแสงอัลตราไวโอเล็ตและแสงที่มองเห็นได้ และสามารถสแกนสเปกตรัมได้

#### ข้อควรปฏิบัติในการใช้งาน [13]

เพื่อให้การใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงมีความผิดพลาดน้อยที่สุดควรปฏิบัติตามนี้

1. เลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสม
2. เลือกสารตัวอย่างที่เหมาะสม (ไม่ขุ่นหรือมีสีอื่นๆเจือปนมาก)
3. ตั้งเครื่องมือให้มีฝุ่นน้อย ความชื้นต่ำ อุณหภูมิไม่สูง
4. ใช้เครื่องควบคุม โวลต์ ถ้าโวลต์ของกระแสไฟฟ้าที่จ่ายให้กับเครื่องมือมีการเปลี่ยนแปลงเกิน 10% (198-242 โวลต์)
5. อุ่นเครื่องให้เพียงพอก่อนการใช้งาน
6. ตรวจสอบสภาพความเสื่อมของหลอดไฟกำเนิดแสงเป็นระยะๆ
7. ปิดหลอดไฟกำเนิดแสงเมื่อไม่ได้ใช้งาน
8. ปิดช่องแสงออกเมื่อไม่ได้วัดความเข้มของแสง
9. ใช้ควมวที่สะอาดและมีค่าความแตกต่าง %T ต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

I.M.P.L.V.O.Ferreira และ S.Silva [2] ได้ทำการตรวจหาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทตกค้างที่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตแฮมเพื่อให้แฮมมีสีแดงสด มีรสชาติ และเพื่อการถนอมอาหาร โดยทำหน้าที่เป็น สารกันเสีย โดยเฉพาะการป้องกันแบคทีเรียจำพวกคลอสทริเดียมบอ툴ินัม ซึ่งมีอันตรายต่อร่างกาย วิธีดั้งเดิมที่ใช้ตรวจหาไนไตรท์และไนเตรทคือ Colorimetric method แต่วิธีนี้มีปัญหาในเรื่องของตัวรบกวนรวมถึงสารพิษการใช้แคดเมียมรวมอยู่ด้วย ส่วนการนำวิธีโครมาโตกราฟี RP-HPLC กับเครื่องตรวจวัด diode array มาใช้ในการตรวจวัดนั้นมีความเร็วกว่า มีความไว มีความจำเพาะเจาะจง มีความน่าเชื่อถือและถูกต้องกว่า ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ตรวจวัดได้ของไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.0125-10.0 mg/L และไนเตรทอยู่ในช่วง 0.0300-12.5 g/Lขีดจำกัดการตรวจวัดคือ 0.019และ0.050mg/kg ตามลำดับ ความถูกต้องและความแม่นยำถูกประเมินด้วยค่าสัมประสิทธิ์การแปรผันนั้นค่าที่ได้ต่ำกว่า 2.89% และ 5.47% ของไนไตรท์และไนเตรทตามลำดับ ค่าการคืนกลับของไนไตรท์และไนเตรทตกค้างอยู่ระหว่างช่วง 93.0% และ 104.3% การวิเคราะห์ตัวอย่างแฮมสุกและแฮมแห้งและผลที่ได้นั้นเป็นไปตามข้อตกลงในกระบวนการอ้างอิง

C.Merusi และคณะ[14] ได้ศึกษางานวิจัยวิธีวิเคราะห์ที่รวดเร็วของเทคนิค capillary electrophoresis สำหรับการวิเคราะห์ ไนเตรท,ไนไตรท์และออกซาลเลท ในขณะเดียวกันเทคนิคนี้อาศัยการไหลแบบ reversing the electroosmotic flow โดยปราศจากการเติมบัฟเฟอร์ใดๆ หรือ การใช้ capillary coating แต่ใช้วิธีบัฟเฟอร์ที่ค่า pH ต่ำเพียงแค่นั้นสภาวะในการวิเคราะห์ที่เหมาะสมนำมาทดสอบความถูกต้องตามวิธี EURACHEM งานวิจัยนี้นำมาประยุกต์ใช้สำหรับตัวอย่างผักหลายชนิด นอกจากนี้ปริมาณไนเตรทที่พบเป็นที่น่าพอใจเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

K.Tirumalesh [15] ได้กล่าวถึงเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟีแบบใหม่โดยใช้ Low-capacity anion exchange column ร่วมกับการตรวจวัดแบบแอมเพอโรเมทรีและการวัดค่าการดูดกลืนแสงสำหรับตรวจวัดไอออนโบรไมด์และไนเตรทพร้อมกันในน้ำปนเปื้อนอย่างรวดเร็ว ในกรณีที่ไอออนหนึ่งมีปริมาณมากกว่าอีกไอออนหนึ่งมากๆ การใช้การตรวจวัดด้วยสองดีเทคเตอร์นี้ช่วยแก้ปัญหาค่าการแยกที่ baseline ของฟิค โบรไมด์และไนเตรทออกจากกันเพื่อให้การวิเคราะห์หาปริมาณให้ผลถูกต้องขึ้นซึ่ง โดยปกติมักจะเป็นปัญหาเมื่อใช้ Low-capacity anion exchange column

และตรวจวัดค่าการนำไฟฟ้าในแบบ suppressed mode วิธีนี้ให้ผลการวิเคราะห์ไอออนโบรไมด์และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ควบคุม UN GEMS/Water PE Study No.6 ด้วยวิธีนี้ให้ความถูกต้อง 2.8 ซัดจำกัดการตรวจวัดของโบรไมด์และไนเตรดเท่ากับ 20 และ 6  $\mu\text{g/L}$  (ตัวอย่าง 25  $\mu\text{L}$ ) ตามลำดับ ช่วงความเป็นเส้นตรงของทั้งสองไอออนกว้างกว่า  $10^3$  เท่า ด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์มากกว่า 0.998 ได้ศึกษาอิทธิพลของการรบกวนจากไอออนอื่นๆ และใช้วิธีนี้เพื่อตรวจวัดไอออนโบรไมด์และไนเตรดในน้ำทะเล, unsaturated zone water สารสกัดจากดินและน้ำบาดาล

M.S. Abdul และคณะ [16] ได้มีการนำเทคนิคสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ มาวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ในตัวอย่างน้ำ ดิน และในรากของพืช วิธีนี้เป็นวิธีพื้นฐานที่ใช้ศึกษาการขจัดสีของไนไตรท์ โดยการจذبแบบเชิงซ้อนระหว่างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับวานาเดตในสถานะที่เป็นกรด การขจัดสีของสารประกอบเชิงซ้อนดังกล่าว จะนำมาหาปริมาณไนไตรท์ได้โดยนำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 470 นาโนเมตร วิธีนี้จะศึกษาผลของความเข้มข้นแอมโมเนียมเมตาวานาเดต ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กรดซัลฟูริก กรดชนิดต่างๆ การเติมรีเอเจนต์ในปริมาณต่างๆ และความเสถียรของสี สีของสารประกอบเชิงซ้อนนี้มีความเสถียรประมาณ 2 วัน และค่าคงที่ความเสถียรของสารประกอบเชิงซ้อนคำนวณได้จากวิธีของ Job's Method ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานจะอยู่ในช่วงความเข้มข้นไนไตรท์ 6.67-66.7  $\mu\text{g/mL}$  ซึ่งมีค่า molar absorptivity  $0.276 \times 10^3 \text{ mol}^{-1} / \text{cm}^{-1}$  และมีค่า sensitivity  $0.1667 \mu\text{gcm}^{-2}$  วิธีนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ในตัวอย่างดิน น้ำเสีย และรากของพืช

A. Aydina และคณะ [17] ได้เสนอวิธี solid phase spectrophotometry ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและมีความไว สำหรับการวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรทในน้ำ โดยอาศัยปฏิกิริยาของ Griess เพื่อดูดซับสีของสีที่มาจากไนไตรท์เข้าไปยังชั้นบางๆ ที่ทำจากโพลีโพลียูรีเทน (PUF) ที่มีค่า preconcentration factor มากกว่า 140 ก่อนที่จะนำตัวอย่างน้ำไปทำปฏิกิริยา Griess จะต้องทำให้ปริมาณของไนเตรทลดลงก่อนโดยใช้หลอดใส่โลหะแคดเมียม การตรวจวัด spectrophotometric ของสีของสีโดยตรงในเฟสโพลีเมอร์ของแข็ง จะตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทได้เล็กน้อย คือ 5 และ 40  $\text{ng/mL}$  ตามลำดับ ในการวิเคราะห์จะต้องคำนึงถึงค่าพารามิเตอร์ต่างๆ เพราะจะมีผลกระทบต่อองค์ประกอบและการดูดซับสีของสีเข้าไปยัง PUF จึงมีการนำวิธีมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างน้ำธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

M.N. Abbas และคณะ [18] ได้ทำการพัฒนาเทคนิค spectrophotometric ให้มีความรวดเร็ว ง่าย และมีความจำเพาะเจาะจงในการวิเคราะห์ไนโตรเจนในน้ำ โดยอาศัยค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่ได้จากการวิเคราะห์ ในสถานะที่เป็นกรด ไนโตรเจนจะทำปฏิกิริยากับกรดบารบิบูริก เกิดเป็นอนุพันธ์ของไนโตรโซกับกรดไวลอลูริก จากกฎของเบียร์ จะวิเคราะห์ในช่วงความเข้มข้น 0.00-3.22 ppm ที่ความยาวคลื่น 310 นาโนเมตร จะได้ค่า molar absorptivity  $15330 \pm 259.7$  หรือประมาณ 95% ได้ค่า SD เท่ากับ 355.57 และ %RSD เท่ากับ 2.32% วิธีนี้จะไวต่อการเปลี่ยนแปลงของสาร มีความจำเพาะเจาะจง และทนต่อสิ่งรบกวน จึงนำวิธีนี้มาประยุกต์ใช้ในการหาไนโตรเจนในน้ำธรรมชาติ โดยทำการหาปริมาณมาตรฐานของ ปริมาณไนโตรเจน  $1.66 \mu\text{gNO}_2$  จากสารละลายที่นำมาวิเคราะห์ 100 mL ซึ่งค่าที่ได้จะสอดคล้องกับปริมาณไนโตรเจนปริมาณไนโตรเจนไนโตรเจน 9.5 ppb ซึ่งเป็นค่าต่ำสุดที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำ ไนโตรเจนที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า  $3.0 \mu\text{gNO}_2/\text{L}$  เมื่อนำมาเจือจางด้วยตัวอย่างจะให้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องขึ้น โดยค่า %RSD ที่ได้จะมีค่าน้อยกว่า 0.5% จากผลการทดลอง เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับผลของวิธีมาตรฐาน N-(1- naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride พบว่าค่าที่ได้จากทั้ง 2 วิธีให้ผลเหมือนกัน แต่วิธีนี้จะง่ายต่อการประยุกต์ใช้ในงานจริงมากกว่าวิธีมาตรฐาน

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการวิจัย

#### 3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

##### สารเคมี

1. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เกรดวิเคราะห์ จากบริษัท Fluka
2. กรดซัลฟิวริก เกรดวิเคราะห์ จากบริษัท Fluka
3. โซเดียมไนไตรท์ ( $\text{NaNO}_2$ ) เกรดวิเคราะห์ จากบริษัท Fluka
4. แอมโมเนียมเมตาวานาเดต ( $\text{NH}_4\text{VO}_3$ ) เกรดวิเคราะห์ จากบริษัท Fluka
5. ซัลฟานิลไมด์ เกรดวิเคราะห์ จากบริษัท Fluka
6. N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride (NED) เกรดวิเคราะห์จากบริษัท Fluka

##### อุปกรณ์

1. บีกเกอร์
2. ปีเปต
3. ขวดวัดปริมาตร
4. ขวดรูปชมพู่
5. แท่งแก้วคนสาร
6. กระจกบดสาร
7. เซลล์ควอตซ์
8. หลอดหยด
9. ซ้อนตักสาร
10. ขวดสีชา
11. กระบอกล้างน้ำกลั่น
12. ลูกยาง
13. กระจกยทึบ

##### 14. กระจกยทึบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่อง UV-visible Spectrophotometer รุ่น UV-160 ยี่ห้อ Shimadzu
2. เครื่องชั่งน้ำหนัก รุ่น Sartorius AC 210
3. centrifuge
4. เตาให้ความร้อน

## 3.2 การเตรียมสารละลายเคมี

### 3.2.1 การเตรียมสารละลายซัลฟานิลาไมด์

ซัลฟานิลาไมด์ 10 กรัม ละลายในน้ำ 350 ml จากนั้นเติมกรดฟอสฟอริก 25 ml เจือจางด้วยน้ำให้ถึงปริมาตร 500 ml

### 3.2.2 การเตรียม N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride (NED)

เตรียม 0.5 % NED 100 ml ( เก็บไว้ในตู้เย็นอย่างน้อย 1 เดือน และเก็บไว้ให้พ้นแสง)

เนื่องจากเป็นสารอันตรายดังนั้นควรสวมถุงมือก่อนทำการทดลอง

### 3.2.3 การเตรียมสารละลายสต็อกแอมโมเนียมเมตาเวนาเดตความเข้มข้น 0.010 M

1. ชั่งแอมโมเนียมวาเดตาเดมา 0.2925 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 200 มิลลิลิตร
2. นำไปละลายด้วยน้ำอุ่น คนจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
3. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำ

กลั่น

### 3.2.4 การเตรียมสารละลายสต็อกไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0.025% v/v

1. ปิเปตสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีความเข้มข้น 50% มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
2. ปิเปตสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ 1 มา 2.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
3. เก็บสารละลายที่เตรียมเอาไว้ในตู้เย็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2.5 การเตรียมสารละลายสต็อกกรดซัลฟูริกเข้มข้น 2 M

1. ปิเปตสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 18 M มา 27.7 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ที่เติมน้ำกลั่นไว้แล้วประมาณครึ่งขวด ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
2. ถ่ายสารละลายลงในขวดสีชา

### 3.2.6 การเตรียมสารละลายสต็อกโซเดียมไนไตรท์ที่มีความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g/ml}$

1. ชั่งโซเดียมไนไตรท์มา 0.148 กรัม โดยใช้เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่งใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย
3. ถ่ายสารละลายลงในขวดสีชา แล้วเก็บให้พ้นแสง

## 3.3 วิธีการดำเนินการทดลอง

### 3.3.1 การทำกราฟมาตรฐานโดยวิธีมาตรฐาน

1. ปิเปตสารละลายไนไตรท์มาตรฐานเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5  $\mu\text{g/ml}$  อย่างละ 1ml ใส่ในบีกเกอร์แต่ละใบ
2. เติมซัลฟานิลไมด์ 5 ml ใส่ในบีกเกอร์ แต่ละใบ ทิ้งไว้อย่างน้อย 3 นาที
3. หลังจากนั้นเติม NED 0.5 ml ใส่ในบีกเกอร์ แต่ละใบ ทิ้งไว้อย่างน้อย 20 นาที
4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-visible Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
5. สร้างกราฟมาตรฐาน โดย plot ระหว่างค่าดูดกลืนแสงและความเข้มข้น จากนั้นคำนวณหาความเข้มข้นของไนไตรท์ในไส้กรอง

### 3.3.2 การเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอง

1. เตรียมตัวอย่างไส้กรอง 3 ชนิด
2. ชั่งไส้กรองที่เตรียมไว้ 3.0000 กรัม
3. ทำการบดไส้กรองให้ละเอียดด้วยเครื่องบดหรือครกบดสาร
4. เติมน้ำ 30 ml แล้วทำการบดให้เป็นเนื้อเดียวกันอย่างต่อเนื่อง
5. ทิ้งไว้ให้ตกตะกอน จากนั้นนำของเหลวที่ได้จากการตกตะกอน ไปกรองด้วย centrifuge
6. นำสารละลายชั้นบน(ส่วนใส) ไปวิเคราะห์ต่อไป
7. ทำซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสาร 8. ทำซ้ำข้อ 1-7 แต่เปลี่ยนชนิดของตัวอย่างเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรที่โดยวิธีมาตรฐาน

1. ปิเปตตัวอย่างที่ทำการกรองแล้วมา 1 ml ใส่ในบีกเกอร์ ขนาด 25 ml
2. เติมซัลฟานิลาไมด์ 5 ml ใส่ในบีกเกอร์ แต่ละใบ ทิ้งไว้อย่างน้อย 3 นาที
3. หลังจากนั้นเติม NED 0.5 ml ใส่ในบีกเกอร์ แต่ละใบ ทิ้งไว้อย่างน้อย 20 นาที
4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-visible Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น

540 นาโนเมตร

### 3.3.4 การทำกราฟมาตรฐานโดยวิธีพัฒนาขึ้น

1. ปิเปตสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.025 % v/v มา 2 ml ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 ml จำนวน 5 ขวด
2. ปิเปตสารละลายสต็อกโซเดียมไนไตรท์ ปริมาตร 0.1,0.2,0.3,0.4,0.5 ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรแต่ละขวด ตามลำดับ
3. เติมแอมโมเนียมเมตาวานาเดตที่ความเข้มข้น 0.01 M ปริมาตร 3 ml และกรดซัลฟิวริก ที่ความเข้มข้น 2 M ปริมาตร 3 ml ลงในขวดวัดปริมาตรทุกขวด
4. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-visible Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

### 3.3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรที่ในตัวอย่างไส้กรอกโดยวิธีพัฒนาขึ้น

1. ปิเปตสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.025 % v/v มา 2 ml ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 ml
2. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 1.0 ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร
3. เติมแอมโมเนียมเมตาวานาเดตที่ความเข้มข้น 0.01 M ปริมาตร 3 ml และกรดซัลฟิวริก ที่ความเข้มข้น 2 M ปริมาตร 3 ml ลงในขวดวัดปริมาตร
4. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-visible Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3.6 การหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (Limit of Detection;LOD)และการหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้โดยมีความถูกต้อง และความเที่ยงที่ยอมรับได้(Limit of Quatitation;LOQ)

ศึกษาโดยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ นำค่าการดูดกลืนแสงเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานจะได้ความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้และนำมาสร้างกราฟเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์

### 3.3.7 การหาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ (Precision)

ศึกษาโดยนำความเข้มข้นของตัวอย่างไนไตรท์ในสี่กรอก ที่ทำการตรวจวัดซ้ำ 3 ซ้ำ นำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean;X) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน(Standard deviation;SD)และร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์(% Relative Standard deviation;%RSD)ของแต่ละความเข้มข้นจากผลการ



$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$$

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

$$\% RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3.8 การหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ (Accuracy)

ศึกษาโดยนำข้อมูลที่ได้จากการตรวจวัดไนโตรเจนในสารละลาย spike sample และสารละลายตัวอย่างใส่กรอก แล้วนำมาคำนวณหาร้อยละของการคืนกลับได้ (% recovery) จากสมการ

$$\% \text{Recovery} = \frac{(C_{\text{Spiked sample}} - C_{\text{Sample}})}{C_{\text{Standard}}} \times 100$$

เมื่อ  $C_{\text{Spiked sample}}$  คือ ความเข้มข้นเฉลี่ยของไนโตรเจนในสารละลาย Spiked sample  
 $C_{\text{Sample}}$  คือ ความเข้มข้นเฉลี่ยของสารละลายตัวอย่าง  
 $C_{\text{Standard}}$  คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่ใช้เติม

การตรวจวัดปริมาณไนโตรเจนในสารละลาย Spiked sample

1. เปิดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่มีความเข้มข้น 0.025% มา 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร
2. เปิดสารละลายโซเดียมไนโตรเจนเข้มข้น 1000 ppm ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรแต่ละขวด
3. เติมแอมโมเนียมเมตาฟอสเฟตที่มีความเข้มข้น 0.01 M ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้น 2 M ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร
4. เติมตัวอย่างสารละลายใส่กรอก 1 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร
5. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-visible Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและอภิปรายผล

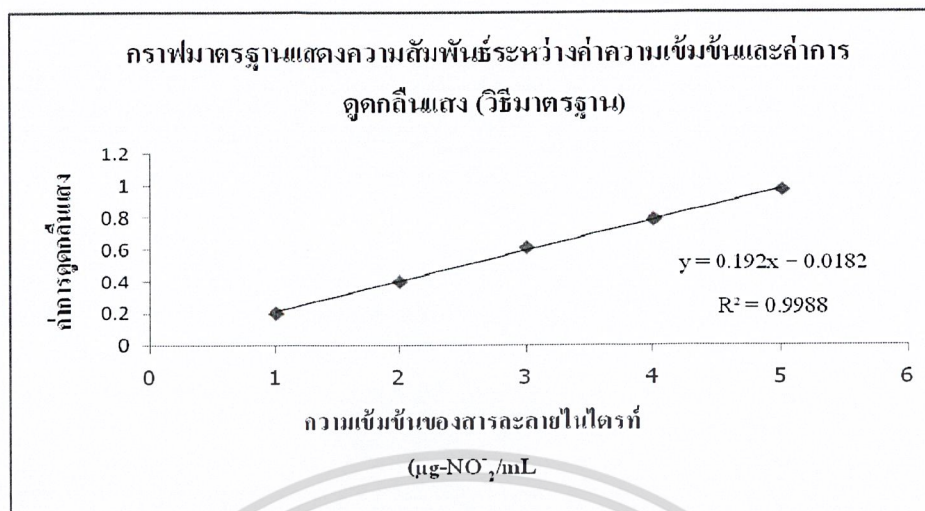
ได้นำวิธีวิเคราะห์หารปริมาณไนไตรท์โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของแอมโมเนียมเมตาวานาเดตที่พัฒนาขึ้นสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ [19] มาประยุกต์ใช้สำหรับหาปริมาณไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก ได้ผลการทดลองดังนี้

#### 4.1 การทำกราฟมาตรฐานโดยวิธีมาตรฐาน

โดยนำสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่มีความเข้มข้น 10,20,30,40 และ 50 ( $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ ) ตามลำดับ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm ตารางที่ 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายไนไตรท์

ความเข้มข้นของสารละลายไนไตรท์ ( $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ )	ค่าการดูดกลืนแสง
10	0.203
20	0.40
30	0.612
40	0.786
50	0.970

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายไนเตรตมาตรฐาน

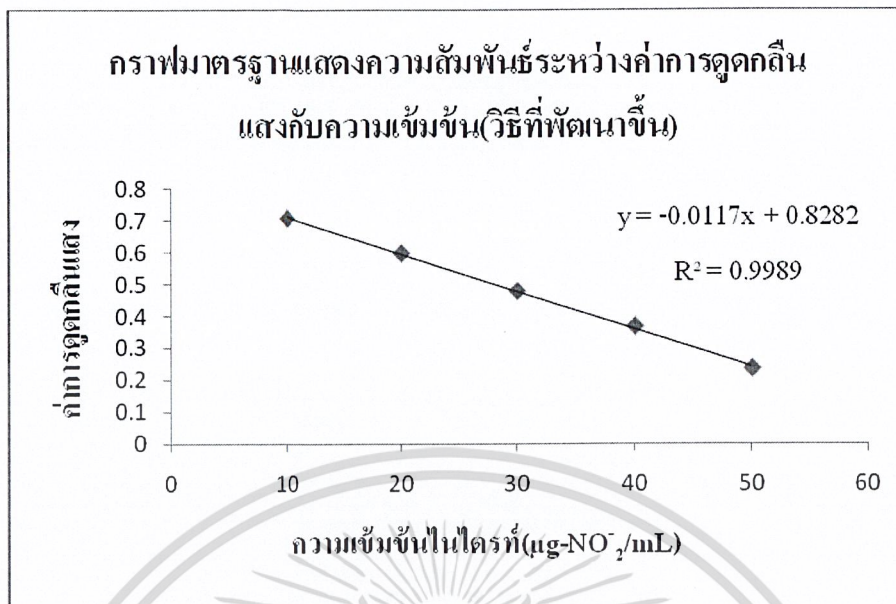
#### 4.2 การทำกราฟมาตรฐานโดยวิธีที่พัฒนาขึ้น

โดยนำสารละลายมาตรฐานไนเตรตที่มีความเข้มข้น 10,20,30,40 และ50 ( $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ ) ตามลำดับ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 nm

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของแอมโมเนียมเมตาวันาเดตหลังจากทำปฏิกิริยากับไนเตรต

ความเข้มข้นของสารละลายไนเตรต ( $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ )	ค่าการดูดกลืนแสง
10	0.706
20	0.597
30	0.478
40	0.367
50	0.235

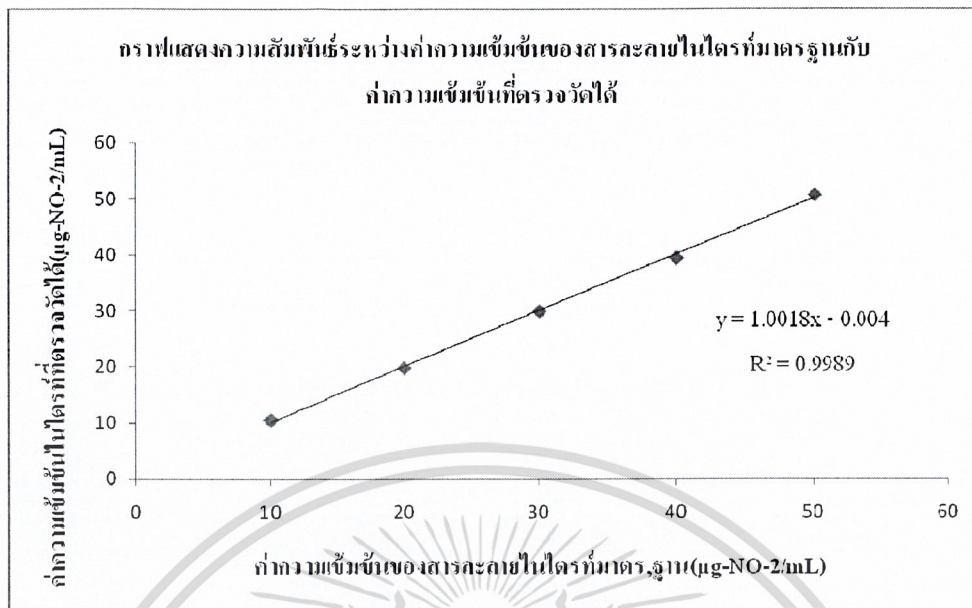
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของสารละลายแอมโมเนียมเมตาแวนาเดตหลังจากทำปฏิกิริยากับไนไตรท์

#### 4.3 การศึกษาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (Limit of Detection; LOD) และการหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้โดยมีความถูกต้อง และความเที่ยงที่ยอมรับได้ (Limit of Quatitation; LOQ)

ค่า LOD ศึกษาโดยการตรวจวัดปริมาณไนไตรท์ ในสารละลายมาตรฐาน จะได้ความเข้มแสง นำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานจะได้ค่าความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้และนำมาสร้างกราฟเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ ได้กราฟดังแสดงในรูปที่ 4.2 นำค่าที่ได้จากกราฟ(ค่าจุดตัดบนแกนตั้งและค่าความชัน)มาคำนวณค่า LOD และ LOQ ได้ดังแสดงในภาคผนวก ซึ่งได้ค่า LOD เท่ากับ 0.012 และค่า LOQ เท่ากับ 0.040



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์กับค่าความเข้มข้นไนไตรท์ที่ตรวจวัดได้

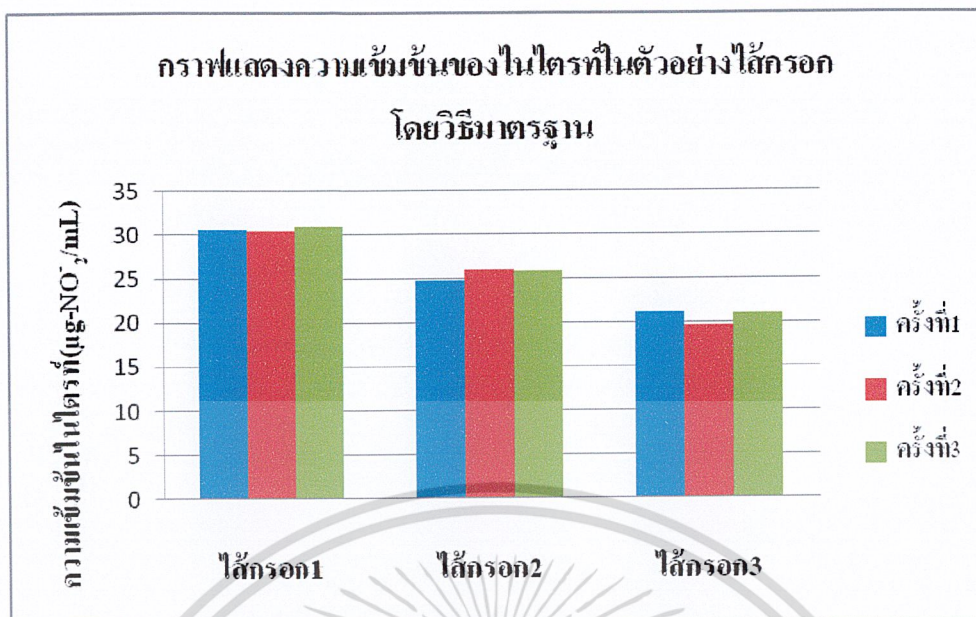
#### 4.4 การหาปริมาณไนไตรท์ในตัวอย่างไส้กรอกโดยวิธีมาตรฐาน

โดยการนำตัวอย่างไส้กรอกที่ผ่านการเตรียมเป็นสารละลายแล้ว เติมสารละลายซัลฟานิลไมด์ และ NED นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm

ตารางที่ 4.4 แสดงความเข้มข้นของไนไตรท์ในไส้กรอกโดยวิธีมาตรฐาน

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น ( $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ )				ปริมาณไนไตรท์ (mg/g)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
1	30.6	30.35	30.92	30.62	5.97
2	24.78	26.03	25.82	25.54	4.98
3	21.08	19.63	20.97	20.56	4.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 กราฟแสดงความเข้มข้นของไนโตรเจนในตัวอย่างไส้กรอกโดยวิธีมาตรฐาน

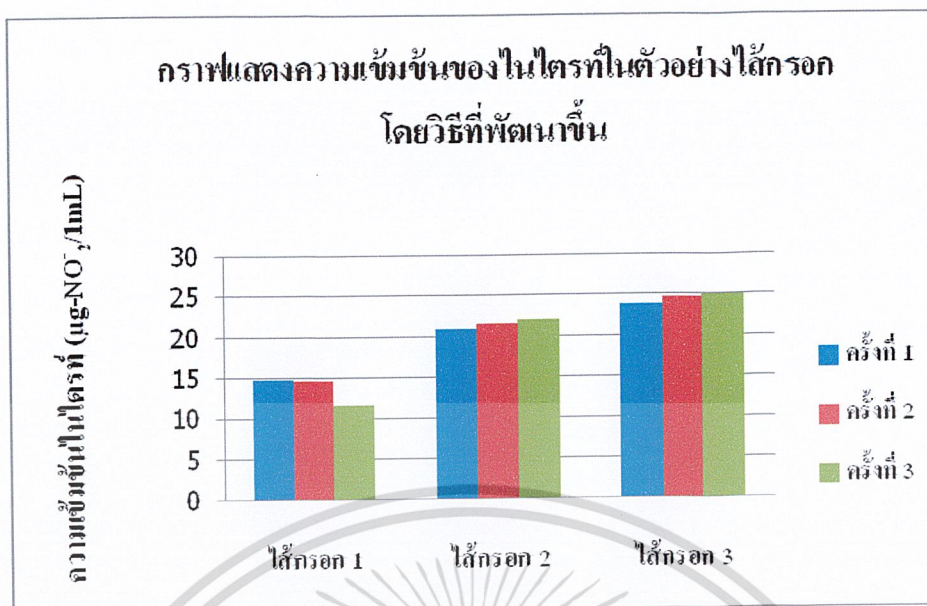
#### 4.5 การหาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างไส้กรอกโดยวิธีที่พัฒนาขึ้น

โดยการนำตัวอย่างไส้กรอกที่ผ่านการเตรียมเป็นสารละลายแล้ว เคมีสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแอมโมเนียมเมตาวานาเดต ทำการปรับปริมาตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 nm

ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงความเข้มข้นของไนโตรเจนในตัวอย่างไส้กรอกโดยวิธีที่พัฒนาขึ้น

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น( $\mu\text{g-NO}_3^-/\text{mL}$ )				ปริมาณไนโตรเจน (mg/g)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย	
1	14.80	14.63	11.64	13.69	5.89
2	20.95	21.56	21.98	21.49	9.24
3	23.78	24.72	25.06	24.52	7.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความเข้มข้นของไนโตรเจนในตัวอย่างไม้กรอกโดยวิธีที่พัฒนาขึ้น

#### 4.6 การหาความเที่ยงของการวิเคราะห์ (Precision)

โดยนำความเข้มข้นของตัวอย่างไนโตรเจนในไม้กรอก ที่ทำการตรวจวัดซ้ำ 3 ซ้ำนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean; X) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation; SD) และร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% Relative Standard deviation; %RSD) ของแต่ละความเข้มข้น ตารางที่ 4.6 ตารางแสดงความเที่ยงของการหาปริมาณไนโตรเจนในไม้กรอก โดยวิธีที่พัฒนาขึ้น

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น(µg-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /mL)				SD	CV	%RSD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย			
1	14.80	14.63	11.64	13.69	1.7774	0.1298	12.98
2	20.95	21.56	21.98	21.49	0.5179	0.0241	2.41
3	23.78	24.72	25.06	24.52	0.6630	0.0270	2.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.7 ความแม่นยำของการวิเคราะห์(Accuracy)

โดยนำข้อมูลที่ได้จากการตรวจวัดไนโตรท์ ในสารละลาย spike sample และสารละลาย ตัวอย่างไส้กรองแล้วนำมาคำนวณหาร้อยละของการคืนกลับได้ (% recovery) จากสมการ ตารางที่ 4.7 แสดงค่าความแม่นยำของการหาปริมาณไนโตรท์ในไส้กรองโดยวิธีที่พัฒนาขึ้น

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น sample เฉลี่ย ( $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ )	ความเข้มข้น standard ที่เติม ( $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ )	ความเข้มข้น spike sample เฉลี่ย ( $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ )	%Recovery
1	13.69	30	35.97	74.27
2	21.49	30	37.14	52.17
3	24.52	30	40.21	52.30

ค่ามาตรฐานของ%Recovery จะอยู่ในช่วง70-120ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้ซึ่งผลการทดลองดังแสดงในตาราง จะเห็นได้ว่าได้%Recovery อยู่ในช่วงที่ต่ำ ซึ่งแสดงว่าอาจมีสาเหตุมาจากแอมโมเนียมเมตาวันาคเตอาจไปทำปฏิกิริยากับสารตัวอื่น ทำให้เกิดตัวรบกวนมากขึ้นผลที่ได้จึงไม่ค่อยดีนัก

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

การทดลองนี้เป็นการนำวิธีวิเคราะห์ไนไตรต์ด้วยวิธีวานาเดมาประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างไส้กรอก โดยไนไตรต์ทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียมเมตาวานาเดตและวัดค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ผลการทดลองสรุปได้ดังนี้

ในการทดลองนี้ได้อ้างอิงถึงสภาวะที่เหมาะสมจากโครงการงานพิเศษเรื่องการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรต์ในตัวอย่างน้ำโดยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี[20] สภาวะที่เหมาะสมที่ใช้คือ สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เข้มข้น 0.025% สารละลายแอมโมเนียมเมตาวานาเดตที่มีความเข้มข้น 0.01 M และกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้น 2 M ในอัตราส่วน 2:3:3 มิลลิลิตร ตามลำดับ

สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างไส้กรอก ได้กราฟมาตรฐานโดยวิธีที่พัฒนาขึ้นของไนไตรต์ที่มีความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.20 - 0.75  $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$  มีสมการเชิงเส้นคือ  $y = -0.0117x + 0.8282$  ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.9989 และกราฟมาตรฐานโดยวิธีมาตรฐาน มีสมการเชิงเส้นคือ  $y = 0.0192 + 0.0182x$  ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.9988

ขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) เท่ากับ 0.012  $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$  และขีดจำกัดที่ตรวจวัดปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 0.040  $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$

ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์แสดงด้วยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) มีค่าอยู่ในช่วง 2.41-12.98 %

ความแม่นยำของวิธีนี้แสดงค่าร้อยละการคืนกลับ (Recovery) เท่ากับ 50-80 %

สรุปได้ว่า ความเป็นเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจอยู่ในช่วงที่ดีและยังสามารถตรวจวัดปริมาณไนไตรต์ได้ในระดับต่ำ ( $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ ) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของวิธีวานาเดตและความแม่นยำของวิธีนี้มีค่าน้อยแสดงให้เห็นว่าค่า Accuracy นั้นมีน้อย อาจมีสาเหตุมาจากแอมโมเนียมเมตาวานาเดตอาจไปทำปฏิกิริยากับสารตัวอื่น ทำให้เกิดตัวรบกวนมากขึ้นผลที่ได้จึงไม่ค่อยดีนักแต่วิธีนี้เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว

### ข้อเสนอแนะ

1. สารละลายที่เตรียมมาตรวจวัดจะต้องเป็นสารละลายใส ไม่มีตะกอนเจือปนทำได้โดยการกรองสารละลายกับกระดาษกรอง เพราะถ้าสารละลายที่เตรียมไว้ไม่ใสจะทำให้ค่าที่ได้จากการตรวจวัดเกิดความผิดพลาดเนื่องจากเกิดการกระเจิงของแสง
2. ก่อนการตรวจวัดทุกครั้งจะต้องมีการวัดแบล็กเพื่อเป็นการตรวจสอบเครื่องและความบริสุทธิ์ของแบล็กที่ใช้
3. ก่อนการวัดสารตัวอย่างจะต้องมีการกลั่นด้วยน้ำกลั่นก่อนทุกครั้งที่จะทำการตรวจวัด
4. อุปกรณ์และเครื่องแก้วทุกชนิดก่อนใช้งานต้องผ่านการกลั่นด้วยน้ำกลั่น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- [1] <http://th.wikipedia.org/wiki/%>
- [2] I.M.P.L.V.O.Ferreira and S.Silva, Talanta,74, 2008, 1598-1602.
- [3] <http://en.wikipedia.org/wiki/Nitrite>
- [4] [www.dmhc.moph.go.th/.../Clostridium%20%20botulinum.doc](http://www.dmhc.moph.go.th/.../Clostridium%20%20botulinum.doc)
- [5] <http://www.fisheries.go.th/cf-chan/visit-water-room/nitrite/nitrite-page.htm>
- [6] [http://brain.itac.co.th/index.php?option=com\\_content&view=article&id=188:make-sausage&catid=60:food-drink&Itemid=62](http://brain.itac.co.th/index.php?option=com_content&view=article&id=188:make-sausage&catid=60:food-drink&Itemid=62)
- [7] พรทิพย์ ศัพท์อนันต์. ปฏิบัติการเคมีทั่วไป. โครงการตำรา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะวิทยาศาสตร์, พิมพ์ครั้งที่ 4, 2541.
- [8] <http://www.diw.go.th/km/article/head.asp?no=33>
- [9] [http://www.atom.rmutphysics.com/charud/oldnews/0/286/12/6/CD/colorandLight/page2\\_4.htm](http://www.atom.rmutphysics.com/charud/oldnews/0/286/12/6/CD/colorandLight/page2_4.htm)
- [10] ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์ และ เปรมใจ จรัสดำรงนิตย์. อุปกรณ์และเทคนิคห้องปฏิบัติการ. พิมพ์ครั้งที่ 5, 2542.
- [11] เขียนหทัย แน่นหนา. สเปกโทรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, พิมพ์ครั้งที่ 1, 2549.
- [12] ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. เครื่องมือวิทยาศาสตร์. โรงพิมพ์ศิริกัณฑ์ออฟเซต, พิมพ์ครั้งที่ 2, 2539.
- [13] [http://www.aquatoyou.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=532:uv-vis-spectrophotometer&catid=54:2010-03-29-03-57-47&Itemid=61.](http://www.aquatoyou.com/index.php?option=com_content&view=article&id=532:uv-vis-spectrophotometer&catid=54:2010-03-29-03-57-47&Itemid=61)
- [14] C. Merusi, C. Corradini, A. Caraza, C. Borromei and P. Salvadeo, Journal of the food chemistry, 120, 2010, 615-620.
- [15] K. Tirumalesh, Talanta, 74, 2008, 1428-1434.
- [16] M.S.A Galil, Mahadevaiah, M.S.Y. Kumar and G. Nagendrappa, Spectrochimica Acta Part A, 67, 2007, 76-82.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- [17] A. Aydin, O. Ercan and S. Tascioglu, *Talanta*, 66, 2005, 1181-1186.
- [18] M.N. Abbas and G.A. Mostafa, *Analytica Chimica Acta*, 410, 2000, 185-192.
- [19] อมิตา นูญมาก และ อัมพิกา จงเจริญสุข. การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ในตัวอย่างน้ำโดยวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี. หน่วยงานพิเศษระดับปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2550.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

ตารางที่ ก.1 ค่าการดูดกลืนแสงของไนไตรท์ในตัวอย่างไส้กรอก โดยวิธีที่พัฒนาขึ้น

ครั้งที่	ค่าการดูดกลืนแสง		
	ไส้กรอก 1	ไส้กรอก 2	ไส้กรอก 3
1	0.655	0.583	0.550
2	0.657	0.576	0.539
3	0.692	0.571	0.535

ตารางที่ ก.2 แสดงความเข้มข้นของไนไตรท์ในตัวอย่างไส้กรอก โดยวิธีที่พัฒนาขึ้น

ครั้งที่	ความเข้มข้นไนไตรท์( $\mu\text{g-NO}_2/\text{mL}$ )		
	ไส้กรอก 1	ไส้กรอก 2	ไส้กรอก 3
1	14.80	25.23	23.78
2	14.63	24.46	24.72
3	11.64	24.72	25.06
เฉลี่ย	13.69	21.49	24.52

ข.คำนวณค่าความเข้มข้น

$$\text{จาก } y = -0.0117x + 0.8282 \quad R^2 = 0.9988$$

ค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่างไส้กรอก 1 ครั้งที่ 1

$$0.655 = -0.0117x + 0.8282$$

$$x = 14.80$$

# ค่าการดูดกลืนแสงอื่นคำนวณเช่นเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของไนไตรท์ในตัวอย่างไส้กรอกในการศึกษาความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีการวิเคราะห์โดยวิธีที่พัฒนาขึ้น

ครั้งที่	ค่าการดูดกลืนแสง		
	ไส้กรอก 1	ไส้กรอก 2	ไส้กรอก 3
1	0.410	0.392	0.354
2	0.406	0.401	0.368
3	0.406	0.388	0.351

ตารางที่ ก.4 แสดงความเข้มข้นของไนไตรท์ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไส้กรอกแต่ละชนิด

ครั้งที่	ความเข้มข้นไนไตรท์( $\mu\text{g-NO}_2/\text{mL}$ )		
	ไส้กรอก 1	ไส้กรอก 2	ไส้กรอก 3
1	35.74	37.28	40.53
2	36.09	36.51	39.63
3	36.09	37.62	40.18
เฉลี่ย	35.97	37.14	40.21

คำนวณความเข้มข้น เช่นเดียวกับ ข.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### การศึกษาความถูกต้อง (Accuracy) ของวิธีการวิเคราะห์

ตารางที่ ก.5 แสดงผลการวัดปริมาณไนโตรเจนใน sample กับ spike sample และค่า % Recover

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น sample ( $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ )	ความเข้มข้น sample เฉลี่ย ( $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ )	ความเข้มข้น standard ที่เติม ( $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ )	ความเข้มข้น spike sample ( $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ )	ความเข้มข้น spike sample เฉลี่ย ( $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ )	% Recovery
1	14.80			35.74		74.27
	14.63	13.69	30	36.09	35.97	
	11.64			36.09		
2	20.95			37.28		52.17
	21.56	21.49	30	36.51	37.14	
	21.98			37.62		
3	23.78			40.53		52.30
	24.72	24.52	30	39.63	40.21	
	25.06			40.18		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณหาร้อยละของการกลับคืนได้ % Recovery ตัวอย่างที่ 1 จาก

$$\% \text{Recovery} = \frac{(C_{\text{Spiked sample}} - C_{\text{Sample}})}{C_{\text{Standard}}} \times 100$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{(35.97 - 13.69)}{30} \times 100$$

30

$$\% \text{Recovery} = 74.27$$

\*ตัวอย่างอื่นๆทำเช่นเดียวกัน

การศึกษาความเที่ยง (Precision) ของการวิเคราะห์

ตารางที่ ก.6 แสดงค่าความเที่ยงของการวิเคราะห์

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น( $\mu\text{g-NO}_2/\text{mL}$ )				SD	CV	%RSD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย			
1	14.80	14.63	11.64	13.69	1.7774	0.1298	12.98

คำนวณความเข้มข้นเฉลี่ย

$$\text{จาก } \bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$$

$$\bar{X} = \frac{14.80 + 14.63 + 11.64}{3}$$

3

$$\bar{X} = 13.69$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จาก

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

$$SD = \sqrt{\frac{(14.80-13.69)^2+(14.63-13.69)^2+(11.64-13.69)^2}{3-1}}$$

$$SD = 1.7774$$

คำนวณร้อยละของการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

$$\% RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

$$\% RSD = \frac{1.7774}{13.69} \times 100$$

$$\% RSD = 12.98$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (Limit of Detection;LOD) และการหาค่าขีดจำกัดต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้โดยมีความถูกต้อง และความเที่ยงที่ยอมรับได้ (Limit of Quatitation;LOQ)

ตารางที่ ก.7 แสดงผลการวัดความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเพื่อหาค่า LODและLOQ

ความเข้มข้นของสารละลายไนโตรที่มาตรฐาน ( $\mu\text{g-NO}_2^-/1\text{mL}$ )	ความเข้มข้นที่วัดได้( $\mu\text{g-NO}_2^-/\text{mL}$ )
10	10.44
20	19.76
30	29.93
40	39.42
50	50.70

คำนวณค่าความเข้มข้นเฉลี่ยเช่นเดียวกับ ข.

คำนวณ LOD และ LOQ

นำค่าเฉลี่ยมาสร้างกราฟดังรูปที่ 4.2 ที่มีสมการเส้นตรงเท่ากับ  $y=1.0018-0.004$

จาก

$$\text{LOD} = \frac{3S_{x/y}}{\text{Slope}}$$

Slope

$$\text{LOD} = \frac{3 \times 0.004}{1.0018}$$

1.0018

$$\text{LOD} = 0.012$$

$$\text{LOQ} = \frac{10S_{x/y}}{\text{Slope}}$$

Slope

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times 0.004}{1.0018}$$

1.0018

$$\text{LOQ} = 0.040$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน



นางสาว ชมพูนุช เสียมไหม รหัสนักศึกษา 50050610

ที่อยู่ 147/7 หมู่ 1 ต. สุโสะ อ. ปะเหลียน จ. ตรัง 92120

โทร 089-1177714 e-mail : nature\_sine@hotmail.com

เข้าศึกษาที่ คณะวิทยาศาสตร์ สาขาเคมีอุตสาหกรรม – เครื่องมือวิเคราะห์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2553

ฝึกงานที่ SITIPORN ASSOCIATE CO.,LTD. ระหว่างเดือนเมษายน ถึง พฤษภาคม 2553

ลายมือชื่อ ชมพูนุช เสียมไหม



นางสาว ชนัยพร พรหมสุวรรณ รหัสนักศึกษา 50050611

ที่อยู่ 17/6 หมู่ 4 ต. คลิงชัน อ. ท่าศาลา จ. นครศรีธรรมราช 80160

โทร 085-920-4894 e-mail : lover\_promiss\_152@hotmail.com

เข้าศึกษาที่ คณะวิทยาศาสตร์ สาขาเคมีอุตสาหกรรม – เครื่องมือวิเคราะห์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2553

ฝึกงานที่ กรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ ระหว่างวันที่ 20 มีนาคม 2553 ถึง 20 พฤษภาคม 2553

ลายมือชื่อ ชนัยพร พรหมสุวรรณ



นางสาว อัญญา สันตัดนา รหัสนักศึกษา 50050621

ที่อยู่ 381 ถ. ราษฎร์นารี ต. บ้านใหม่ อ. ครบุรี จ. นครราชสีมา 30250

โทร 085-903-9086 e-mail : eve198944@hotmail.com

เข้าศึกษาที่ คณะวิทยาศาสตร์ สาขาเคมีอุตสาหกรรม – เครื่องมือวิเคราะห์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2553

ฝึกงานที่ กรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ ระหว่างวันที่ 20 มีนาคม 2553 ถึง 20 พฤษภาคม 2553

ลายมือชื่อ อัญญา สันตัดนา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้