การตรวจวัดฐานกระดาษสำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียในน้ำ โดยใช้สารสกัดธรรมชาติจากกะหล่ำปลีสีม่วง

PAPER-BASED DETECTION FOR AMMONIA IN WATER USING NATURAL EXTRACTS FROM RED CABBAGE

จุไรรัตน์ จงประกอบกิจ

วรรณกานต์ วิสัยชนม์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PAPER-BASED DETECTION FOR AMMONIA IN WATER USING NATURAL EXTRACTS FROM RED CABBAGE

JURAIRAT JONGPRAKOBKIT
WANNAKAN WISAICHON

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL CHEMISTRY)
DEPARTMENT OF CHEMISTRY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การตรวจวัดฐานกระดาษสำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียในน้ำ โดยใช้สารสกัดธรรมชาติจากกะหล่ำปลีสีม่วง Paper-Based Detection for Ammonia in Water Using Natural Extracts from Red Cabbage
ชื่อนักศึกษา	นางสาวจุไรรัตน์ จงประกอบกิจ รหัสนักศึกษา 58050449 นางสาววรรณกานต์ วิสัยชนม์ รหัสนักศึกษา 58050539
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น กรรมการ	
ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การตรวจวัดฐานกระดาษสำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียในน้ำ โดยใช้สารสกัดธรรมชาติจากกะหล่ำปลีสีม่วง

ชื่อนักศึกษา นางสาวจุไรรัตน์ จงประกอบกิจ รหัสนักศึกษา 58050449
นางสาววรรณกานต์ วิสัยชนม์ รหัสนักศึกษา 58050539

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชา เคมี

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

บทคัดย่อ

โครงงานพิเศษนี้พัฒนาวิธีวิเคราะห์แอมโมเนียในน้ำ โดยใช้การตรวจวัดสีฐานกระดาษ ทำการสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงโดยใช้น้ำปราศจากไอออนเป็นตัวทำละลาย ด้วยอัตราส่วน 1:1 (น้ำหนัก:ปริมาตร) เตรียมกระดาษก่อนการตรวจวัดโดยใช้กระดาษกรองขนาด 1x1 เซนติเมตร ชุบด้วยสารละลายแอนโทไซยานินเป็นเวลา 10 นาที ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ใส่สารตัวอย่างลงไปทำปฏิกิริยากับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่บรรจุในหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม หยดน้ำปราศจากไอออน 1 หยดลงบนกระดาษชุบแอนโทไซยานินที่เตรียมไว้ และนำไปวางบนหลุมปฏิกิริยาแก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจะแพร่ไปทำปฏิกิริยากับแอนโทไซยานินบนกระดาษเป็นเวลา 20 นาที นำกระดาษที่ทดสอบแล้วไปสแกนด้วยเครื่องสแกน และประมวลผลความเข้มสี (ระบบสี RGB) ด้วยโปรแกรม Image J™ แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้สมการ $A = -\log (I/I_0)$ กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของแอมโมเนียให้ความเป็นเส้นตรงช่วง 1 - 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร มีสมการเชิงเส้นคือ $A = 0.0082[N] - 0.0086$ และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9999 ค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) มีค่าเท่ากับ 0.29 และ 0.98 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ตามลำดับ นำวิธีที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้ตรวจวัดแอมโมเนียในตัวอย่างน้ำ ได้ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบกับวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี ซึ่งทดสอบด้วย Paired t-test ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P=0.05)

คำสำคัญ : การตรวจวัดสีฐานกระดาษ แอนโทไซยานิน แอมโมเนีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Paper-Based Detection for Ammonia in Water Using Natural Extracts from Red Cabbage
Students	Miss Jurairat Jongprakobkit Student ID 58050449
	Miss Wannakan Wisaichon Student ID 58050539
Degree	Bachelor of Science (Industrial Chemistry)
Department	Chemistry
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2018
Advisor	Asst. Prof. Dr. Wiboon Praditweangkum

Abstract

This special project aims to develop a paper-baesd colorimetric detection for determination of ammonia in water samples. Anthocyanin was extracted from red cabbage with deionized water as solvent by the ratio of 1:1 (w:v). A filter paper with 1x1 cm size of which was dipped in anthocyanin solution for 10 min and drying at room temperature was prepared as a pre-detection paper. The sample was introduced into the calcium hydroxide filled in a hole of 96-well plates. A pre-detection paper moistened with a drop of deionized water was put on a reaction hole and produced ammonia was diffused to react with anthocyanin on paper for 20 min. The tested paper was scanned by a scanner and the color intensity (RGB) was evaluated by Image J™ program. The red intensity was converted to absorbance by the relation of $A = -\log (I/I_0)$. The calibration graph plotted between absorbance and concentration of ammonia was linear in range of 1 – 25 mg-N/L and the linear equation, $A = 0.0082[N] - 0.0086$ with coefficient of determination (R^2) = 0.9999 was obtained. The limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were 0.29 and 0.98 mg-N/L, respectively. The develored method was applied for determination of ammonia in water samples and the results compared with spectrophotometric method were not significant difference at 95% confidence by paired t-test.

Keywords : Paper-Based Detection, Anthocyanin, Ammonia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ศึกษาการตรวจวัดฐานกระดาษสำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียในน้ำ โดยใช้สารสกัดธรรมชาติจากกะหล่ำปลีสีม่วง ซึ่งจัดทำขึ้นเพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเคมีอุตสาหกรรม แขนงเคมีวิเคราะห์

โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีตามวัตถุประสงค์ของโครงงาน เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็น เพื่อเป็นแนวทางในการปฏิบัติได้อย่างถูกต้อง ตลอดจนการแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงาน ขอขอบคุณ ผศ.ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง และ ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น กรรมการสอบโครงงานพิเศษที่กรุณาตรวจสอบและแก้ไขโครงงานพิเศษนี้ให้ถูกต้องมากขึ้น นอกจากนี้ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมี ชั้น 5 อาคารวิทยาศาสตร์ และเจ้าหน้าที่ ชั้น 5 อาคารจุฬาภรณวลัยลักษณ์ 1 ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือทั้งในเรื่องอุปกรณ์ และสารเคมีตลอดจนเครื่องมือวิเคราะห์ต่าง ๆ ในการจัดทำโครงการพิเศษเล่มนี้

จุไรรัตน์ จงประกอบกิจ
วรรณกานต์ วิสัยชนม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญรูป ..... ฌ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2
1.4 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย 2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 แอมโมเนีย (Ammonia) 3
2.2 แอนโทไซยานิน 7
2.3 เครื่องสแกน 9
2.4 ระบบสี RGB 11
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 12
2.5.1 การวิเคราะห์แอมโมเนียโดยใช้เครื่องมือ 12
2.5.2 การวิเคราะห์แอมโมเนียโดยใช้อุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระดาษ 13
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 15
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ 15
3.1.1 สารเคมี 15
3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ 15
3.2 การเตรียมสารละลาย 16
3.2.1 สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ 16
3.2.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 17
3.2.3 สารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 17
3.2.4 สารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:2 17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง..... 18
3.3.1 การศึกษาการทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์..... 18
3.3.1.1 การศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดแอนโทไซยานิน
จากกะหล่ำปลีสีม่วง..... 18
3.3.1.2 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์..... 18
3.3.1.3 การศึกษาลักษณะของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทดลอง.. 19
3.3.1.3.1 การศึกษาการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ใน
ลักษณะเป็นสารละลาย..... 19
3.3.1.3.2 การศึกษาการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ใน
ลักษณะชุบบนกระดาษกรอง..... 20
3.3.2 การศึกษาการทำปฏิกิริยากับแคลเซียมออกไซด์ 20
3.3.2.1 การศึกษาปริมาณของแคลเซียมออกไซด์..... 20
3.3.2.2 การศึกษาปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน
แอมโมเนียมคลอไรด์..... 21
3.3.2.3 การศึกษาเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา..... 22
3.3.2.4 การศึกษาสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัด..... 22
3.3.2.4.1 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดแบบเปียก..... 23
3.3.2.4.2 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดแบบแห้ง-ชุบน้ำ..... 23
3.3.3 การศึกษาการทำปฏิกิริยากับแคลเซียมไฮดรอกไซด์..... 24
3.3.3.1 การศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดแอนโทไซยานิน
จากกะหล่ำปลีสีม่วง..... 24
3.3.3.2 การศึกษาปริมาณของแคลเซียมไฮดรอกไซด์..... 24
3.3.3.3 การศึกษาปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน
แอมโมเนียมคลอไรด์..... 25
3.3.3.4 การศึกษาเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา..... 26
3.3.3.5 การศึกษาสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัด..... 26
3.3.2.4.1 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดแบบเปียก..... 27
3.3.2.4.2 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดแบบแห้ง..... 27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3.4 การสร้างกราฟมาตรฐาน 28
3.3.5 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ 29
3.3.5.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำ 29
3.3.5.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำโดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี 29
3.3.5.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำโดยวิธีตรวจวัดบนกระดาษ 30
3.3.6 การทดสอบความใช้ได้ของวิธี 31
3.3.6.1 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) 31
3.3.6.2 ขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) 31
3.3.6.3 ความเที่ยง (Precision) 31
3.3.6.4 ความแม่น (Accuracy) 32
3.3.6.4.1 ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (Recovery, %) 32
3.3.6.4.2 การทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 33
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 34
4.1 ผลศึกษาการทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์ 34
4.1.1 ความเข้มข้นของสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วง 34
4.1.2 ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 35
4.1.3 ลักษณะของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทดลอง 36
4.2 ผลศึกษาการทำปฏิกิริยากับแคลเซียมออกไซด์ 38
4.2.1 ปริมาณของแคลเซียมออกไซด์ 38
4.2.2 ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ 39
4.2.3 เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา 40
4.2.4 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัด 41
4.2.5 เปรียบเทียบสภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา 42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3 ผลศึกษาการทำปฏิกิริยากับแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 43
4.3.1 ความเข้มข้นของสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วง 43
4.3.2 ปริมาณของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 44
4.3.3 ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ 45
4.3.4 เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา 46
4.3.5 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัด 47
4.3.6 เปรียบเทียบสภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา 49
4.4 การสร้างกราฟมาตรฐาน 50
4.5 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) 51
4.6 ขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) 52
4.7 ความเที่ยง (Precision) 52
4.8 ความแม่น (Accuracy) 53
4.8.1 ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (Recovery, %) 53
4.8.2 การทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 56
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 58
5.1 สรุปผลการวิจัย 58
5.2 ข้อเสนอแนะ 58
เอกสารอ้างอิง 59
ภาคผนวก 61
ภาคผนวก ก 62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ปริมาณแอนโทไซยานินในพืชแต่ละชนิด 8

4.1 แสดงค่า y_i , $\hat{y}_i$ และ $(y_i - \hat{y}_i)^2$ ที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียม-คลอไรด์เท่ากับ 1, 5, 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร 52

4.2 แสดงผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำและค่าร้อยละการคืนกลับ 54

4.3 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณของแอมโมเนียตัวอย่างเดียวกันเมื่อวิเคราะห์โดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรีและวิเคราะห์วิธีตรวจวัดบนกระดาษและค่าความแตกต่างระหว่างผลที่ได้จาก 2 วิธี (d) 56

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 โครงสร้างของแอมโมเนีย 3

2.2 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน 7

2.3 สีของแอนโทไซยานิน 8

2.4 เครื่อง CanoScan LiDE 210 9

2.5 วงจรสีของแสง 12

3.1 การตักแคลเซียมไฮดรอกไซด์ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม 28

3.2 ลักษณะการนำกระดาษกรองชุบอินดิเคเตอร์มาอังบนปากหลุม 29

4.1 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับอัตราส่วนระหว่างกะหล่ำปลีสีม่วงกับน้ำปราศจากไอออน 35

4.2 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โมลาร์) 36

4.3 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทดลอง 37

4.4 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาณของแคลเซียมออกไซด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (กรัม) 38

4.5 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาตรสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (มิลลิลิตร) 39

4.6 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา (นาที) 40

4.7 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัด 41

4.8 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา 42

4.9 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับอัตราส่วนระหว่างกะหล่ำปลีสีม่วงกับน้ำปราศจากไอออน 44

4.10 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาณของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (กรัม) 45

4.11 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาตรสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (มิลลิลิตร) 46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.12 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา (นาที) 47

4.13 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัด..... 48

4.14 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะระหว่างแคลเซียมออกไซด์กับแคลเซียมไฮดรอกไซด์..... 49

4.15 การเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรอง..... 50

4.16 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ (มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร)... 51

ก.1 การเลือกพื้นที่ในการวิเคราะห์..... 62

ก.2 วิธีการเปิดหน้าต่างวิเคราะห์ค่าความเข้มสี RGB..... 62

ก.3 หน้าต่าง Results แสดงผลการวิเคราะห์..... 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันนี้มีโรงงานอุตสาหกรรมเกิดขึ้นมากมาย ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการใช้แอมโมเนีย เช่น อุตสาหกรรมการผลิตปุ๋ยใช้แอมโมเนียในการผลิตแอมโมเนียมไนเตรทและปุ๋ยยูเรีย การใช้แอมโมเนียเป็นสารทำความเย็นในอุตสาหกรรมห้องเย็น การใช้แอมโมเนียในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียบางชนิด การใช้แอมโมเนียเป็นสารตั้งต้นในการผลิตกรดไนตริก และการใช้แอมโมเนียในอุตสาหกรรมยางเพื่อช่วยป้องกันการแข็งตัวของน้ำยาง เป็นต้น โดยอุตสาหกรรมเหล่านี้อาจมีการทิ้งของเสียที่เกิดจากการผลิตลงในแม่น้ำ ลำคลอง ทำให้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และสุขภาพของผู้ที่อาศัยอยู่ในบริเวณใกล้เคียง ซึ่งแอมโมเนียนั้นถือเป็นแก๊สพิษที่ไม่มีสี แต่มีกลิ่นที่รุนแรง และสามารถละลายน้ำได้ดี หากมนุษย์ได้รับแอมโมเนียจากการสูดดม หรือการบริโภค แอมโมเนียจะทำปฏิกิริยากับน้ำหล่อเลี้ยงเยื่อบุได้สารที่มีฤทธิ์เป็นด่าง สามารถกัดกร่อนและทำลายเนื้อเยื่ออ่อนของร่างกายได้ จึงมีความจำเป็นอย่างมากที่จะต้องตรวจสอบและหาปริมาณของแอมโมเนียในสิ่งแวดล้อม โดยการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียนั้นสามารถวิเคราะห์ได้หลายวิธี เช่น การวิเคราะห์หาแอมโมเนียโดยใช้วิธี Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC - MS) [1] ซึ่งมีการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ที่มีราคาแพง นอกจากนี้ยังมีการวิเคราะห์แอมโมเนียโดยใช้วิธี Flow Injection Analysis (FIA) [2] ซึ่งมีความซับซ้อนน้อยลง แต่ต้องมีการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ อีกทั้งผู้ทดลองต้องมีความชำนาญในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือนั้น ๆ จึงไม่เหมาะที่จะนำวิธีดังกล่าวไปวิเคราะห์ในภาคสนาม

จากที่กล่าวมาข้างต้น ผู้วิจัยจึงคิดค้นและพัฒนาวิธีการตรวจวัดฐานกระดาษสำหรับการหาปริมาณแอมโมเนียในน้ำ ซึ่งสามารถระบุความเข้มข้นของแอมโมเนียในตัวอย่างน้ำด้วยเครื่องมือและอุปกรณ์ที่พกพาได้สะดวกและไม่ซับซ้อน โดยมีเป้าหมายของงานวิจัยคือ เพื่อศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจวัดฐานกระดาษสำหรับการหาปริมาณแอมโมเนียและนำวิธีที่พัฒนาขึ้นมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียในน้ำ โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแคลเซียมไฮดรอกไซด์กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียซึ่งทำการวิเคราะห์ได้โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์ที่สกัดจากกะหล่ำปลีสีม่วง โดยนำกระดาษกรองที่ชุบอินดิเคเตอร์ไปอังบนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ซึ่งมีการบรรจุแคลเซียมไฮดรอกไซด์ และทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ เกิดแก๊สแอมโมเนียแพร่ไปดูดซับบนกระดาษกรองทำให้สีของกระดาษกรองเกิดการเปลี่ยนแปลงจากสีม่วงเป็นสีฟ้า ซึ่งแปรผันตามปริมาณของแก๊สแอมโมเนีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจวัดสีฐานกระดาษที่ใช้สารสกัดธรรมชาติจากกะหล่ำปลีสีม่วงเป็นรีเอเจนต์สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย และนำวิธีที่พัฒนาขึ้นมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียในน้ำ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียในน้ำ โดยใช้วิธีการตรวจวัดสีฐานกระดาษซึ่งมีสารสกัดธรรมชาติจากกะหล่ำปลีสีม่วงเป็นรีเอเจนต์

1.3.2 ประเมินคุณลักษณะของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น

1.3.3 ทดสอบวิธีวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียที่พัฒนาขึ้น โดยประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียในตัวอย่างน้ำ

1.4 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

1.4.1 สืบค้นข้อมูลจากแหล่งข้อมูล

1.4.2 วางแผนทำการทดลอง

1.4.3 จัดหาสารเคมี ตัวอย่าง อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1.4.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย โดยใช้สารสกัดธรรมชาติจากกะหล่ำปลีสีม่วงเป็นรีเอเจนต์ในการตรวจวัดสีฐานกระดาษ

1.4.5 ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย

1.4.6 นำวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียในน้ำ

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีการตรวจวัดสีฐานกระดาษโดยใช้สารสกัดธรรมชาติจากกะหล่ำปลีสีม่วงเป็นรีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียในตัวอย่างน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แอมโมเนีย (Ammonia) [3]

แอมโมเนีย (Ammonia) เป็นสารประกอบเคมีชนิดหนึ่ง มีสูตรเคมีเป็น NH_3 โมเลกุลของแอมโมเนียมีลักษณะเป็นทรงสี่หน้า (tetrahedrol) หรือพีระมิดฐานสามเหลี่ยม ซึ่งตามทฤษฎี VSEPR รูปร่างโมเลกุลในลักษณะนี้จะมีลักษณะเป็นไดโพล (dipole) และมีความเป็นขั้ว ดังนั้นแอมโมเนียจึงละลายในน้ำได้ดี และอะตอมไนโตรเจนในโมเลกุลแอมโมเนียนั้นจะมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว (lone electron pair) ทำให้แอมโมเนียมีฤทธิ์เป็นเบสในสารละลาย และที่เป็นกรดหรือเป็นกลางสามารถเกิดพันธะกับไฮโดรเนียมไอออน (H_3O^+) แล้วปลดปล่อยโมเลกุลของน้ำ (H_2O) เกิดเป็นประจุบวกของแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) โครงสร้างของแอมโมเนียแสดงดังรูปที่ 2.1

รูปที่ 2.1 โครงสร้างของแอมโมเนีย [4]

คุณสมบัติทางเคมี และปฏิกิริยาเคมีของแอมโมเนีย

1. มีฤทธิ์กัดกร่อน และเป็นด่างสูง สารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 1.0 N มี pH 11.6 สารละลายแอมโมเนียความเข้มข้น 0.1 N มี pH 11.1

2. สามารถทำปฏิกิริยากับน้ำ เกิดแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ และให้ความร้อน (Exothermic)

3. เกิดการสลายตัวเมื่อได้รับความร้อน พร้อมเกิดละอองฟูมกัดกร่อน (Corrosive fume of ammonia) และแก๊สพิษออกไซด์ของไนโตรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. สามารถทำปฏิกิริยากัดกร่อนโลหะตะกั่ว ดีบุก ทองแดง อะลูมิเนียม หรือโลหะผสมทองแดง เช่น ทองเหลือง สังกะสี เหล็ก

5. สามารถทำปฏิกิริยากับสารออกซิไดซ์ สารประกอบที่มีธาตุหมู่ฮาโลเจน เช่น เงิน ปรอท โบรอน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม ทำให้เกิดการลุกไหม้และระเบิดรุนแรง

6. สามารถติดไฟได้เมื่อทำปฏิกิริยากับกรดไนตริกและระเบิดได้ในที่อับอากาศเมื่อมีการติดไฟ

7. สามารถทำปฏิกิริยารุนแรงกับเอไมด์และกรดได้

8. แอมโมเนียทำปฏิกิริยากับยาง พลาสติก และสารเคลือบผิว ทำให้เกิดบูดบวม และหมดสภาพสารได้

ประโยชน์ของแอมโมเนีย

1. แอมโมเนียเป็นสารที่นิยมใช้สำหรับการทำความเย็น ซึ่งมีราคาถูกเมื่อเปรียบเทียบกับสารอื่น ๆ

2. แอมโมเนียมีการใช้งานอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมย้อมผ้า ยา เส้นใยสังเคราะห์ พลาสติก ปุ๋ย วัตถุระเบิด อาหารแช่แข็ง โรงกลั่นน้ำมัน และไอศกรีม

3. ใช้ในวงการแพทย์สำหรับสูดดม ช่วยอาการเป็นลม หน้ามืด วิงเวียนศีรษะ

ข้อมูลความเป็นอันตรายของแอมโมเนีย

1. จัดจำแนกหมวดหมู่สินค้าอันตราย (Hazardous Goods Classification) จัดอยู่ใน Class 2.3 คือ เป็นก๊าซพิษ และกัดกร่อน

2. จัดเป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 3 ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ.2535 รหัสทะเบียน วอ.3005

3. ติดไฟได้ที่ความเข้มข้น 16 – 25 %

4. ติดไฟได้เองที่อุณหภูมิ 650 องศาเซลเซียส

5. แก๊สแอมโมเนียเหลว เมื่อมีการรั่วไหลจะรวมตัวกับความชื้นในอากาศทำให้เกิดเป็นหมอกควันสีขาวของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ อัตราการขยายตัวกลายเป็นแก๊สแอมโมเนียในอัตราส่วน 1:850 นั่นคือสามารถขยายตัวเป็นแก๊สได้ 850

6. แอมโมเนียที่เป็นของเหลวมีจุดเดือดที่ -28 องศาฟาเรนไฮต์ ซึ่งที่อุณหภูมินี้สามารถทำให้เกิดการไหม้จากความเย็นเมื่อสัมผัสทำให้เนื้อเยื่อตายเนื่องจากความเย็นจัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ถึงแม้ไอของแอมโมเนียบริสุทธิ์จะไม่ติดไฟที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 16 % แต่ก็สามารถทำให้เกิดการระเบิดหรือติดไฟได้ที่ความเข้มข้นระหว่าง 16 – 25 % แอมโมเนียที่มีน้ำมันหล่อลื่นผสมอยู่จากระบบอาจจะติดไฟหรือระเบิดได้ที่ความเข้มข้น 8 % เช่น ในอุตสาหกรรมอาหารและไอศกรีม

8. แอมโมเนียแห้งจะไม่กัดกร่อนโลหะ แต่แอมโมเนียเหลวและแอมโมเนียแห้งที่สัมผัสกับน้ำหรือความชื้นจะออกฤทธิ์กัดกร่อนโลหะได้ง่าย

พิษของแอมโมเนีย

1. พิษต่อสุขภาพ

– มีฤทธิ์กัดกร่อน และระคายเคืองต่อผิวหนังที่สัมผัส

– หากสูดดมเพียงเล็กน้อยจะทำให้น้ำตาไหล

– หากสูดดมมากจะกระตุ้นหัวใจ และเสียงต่อหัวใจวายได้ง่าย

– การสูดดมจะทำให้เกิดการระคายเคืองเนื้อเยื่อ มีอาการแสบร้อน

– การสัมผัสกับแอมโมเนียเข้มข้นจะทำให้เวียนศีรษะ ตาลาย และเกิดอาการทางระบบประสาทส่วนกลาง

ผลการสัมผัสแอมโมเนียของมนุษย์

– ความเข้มข้น 5 ppm : บางคนอาจสัมผัสกลิ่นได้

– ความเข้มข้น 25 ppm : บางคนอาจสัมผัสกลิ่นได้ สามารถทำงานได้ตลอด 8 ชั่วโมง

– ความเข้มข้น 35 ppm : คนส่วนใหญ่อาจสัมผัสกลิ่นได้ สามารถทำงานได้ในระยะสั้น 15 นาที

– ความเข้มข้น 50 - 100 ppm : คนส่วนใหญ่อาจสัมผัสกลิ่นได้ ทนต่อกลิ่นได้นานสูงสุด 2 ชั่วโมง สำหรับคนที่ไม่เคยรับกลิ่น

– ความเข้มข้น 400 ppm : ระคายเคืองปานกลางต่อตา จมูก และลำคอ หากสัมผัสที่ 0.5 - 1 ชั่วโมง ยังไม่เป็นสาเหตุที่ทำให้บาดเจ็บรุนแรง

– ความเข้มข้น 1,000 - 2,000 ppm : ทำให้ระคายเคือง และไออย่างรุนแรง มีอาการแสบที่ตา จมูก และลำคอ สามารถทำลายเนื้อเยื่อตา จมูก อวัยวะในระบบทางเดินหายใจ หากสัมผัสนาน 30 นาที

– ความเข้มข้น 3,000 - 4,000 ppm : ทำให้ระคายเคือง และไออย่างรุนแรง มีอาการแสบที่ตา จมูก และลำคอ สามารถทำให้เสียชีวิตได้ใน 30 นาที

– ความเข้มข้น 5,000 - 12,000 ppm : เกิดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อหัวใจ เกิดภาวะขาดออกซิเจนอย่างเฉียบพลัน สามารถทำให้เสียชีวิตได้ในไม่กี่นาที

2. พิษแอมโมเนียต่อสิ่งแวดล้อม

– หากลงสู่แหล่งน้ำจะทำให้ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของน้ำสูงขึ้น ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ลดลง ห่วงโซ่อาหารในระบบนิเวศเกิดการเปลี่ยนแปลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

– หากปนเปื้อนในอากาศ แอมโมเนียจะเปลี่ยนเป็นสารประกอบกลุ่มไนโตรเจน NO_x และละอองไอของแอมโมเนียมีฤทธิ์กัดกร่อนโลหะได้

3. พิษแอมโมเนียต่อสัตว์ และสัตว์น้ำ

แอมโมเนียที่พบในแหล่งน้ำจะเกิดจากการย่อยสลายอินทรีย์ไนโตรเจน ปุ๋ย และเศษอาหาร จนกลายเป็นแอมโมเนียอิสระ (NH_3) และแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) เรียกว่า Ammonification ซึ่งเป็นกระบวนการผลิตแอมโมเนียในแหล่งน้ำ โดยปกติแอมโมเนียในน้ำ จะหมายถึงแอมโมเนียทั้งหมด (Total Ammonia) คือผลรวมของแอมโมเนียอิสระ (NH_3) และแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) ซึ่งมีสมดุลเคมีดังนี้

$$NH_3 + H_2O = NH_4^+ + OH^-$$

แอมโมเนียอิสระมีความเป็นพิษมากกว่าแอมโมเนียไอออน โดยสัตว์น้ำส่วนใหญ่เมื่อสัมผัสกับแอมโมเนียอิสระ 1 - 2 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 1 ชั่วโมง มักทำให้สัตว์น้ำตายอย่างเฉียบพลัน เนื่องจากระดับแอมโมเนียในกระแสเลือดและเนื้อเยื่อสูงขึ้น ทำให้ค่าความเป็นกรด – ด่างในเลือดจึงสูงขึ้น ซึ่งส่งผลต่อปฏิกิริยาชีวเคมีทำงานผิดปกติ ลดความสามารถในการลำเลียงออกซิเจนและทำให้เสียชีวิต

ความเข้มข้นของแอมโมเนียต่อสัตว์น้ำ

– ความเข้มข้น 0.1 – 0.4 ppm : สัตว์เจริญเติบโตช้า

– ความเข้มข้น 0.5 – 1 ppm : สัตว์มีอาการเครียด หายใจเร็ว

– ความเข้มข้น 2 – 3 ppm : สัตว์มีอาการเครียด หายใจเร็ว อ่อนแอเกิดการติดเชื้อจากแบคทีเรีย และเริ่มตาย

– ความเข้มข้น 4 – 5 ppm : อัตราการตายเพิ่มขึ้น

– ความเข้มข้น 6 – 7 ppm : อัตราการตายเพิ่มขึ้น

ไนโตรเจนในน้ำสามารถพบได้ในรูปของแก๊สไนโตรเจน ไนเตรท (NO_3^-) ไนไตรต์ (NO_2^-) แอมโมเนียอิสระ (NH_3) แอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) และสารอินทรีย์ไนโตรเจน

การวิเคราะห์แอมโมเนียในน้ำโดยทั่วไป ใช้วิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี [5,22] ซึ่งทำได้โดย

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย หรือตัวอย่างน้ำ 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดแก้ว
2. เติมน้ำยาฟีนอล 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
3. เติมน้ำยาโซเดียมไนโตรปรัสไซด์ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
4. เติมน้ำยาออกซิไดซ์ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
5. ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้สีเกิดสมบูรณ์
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

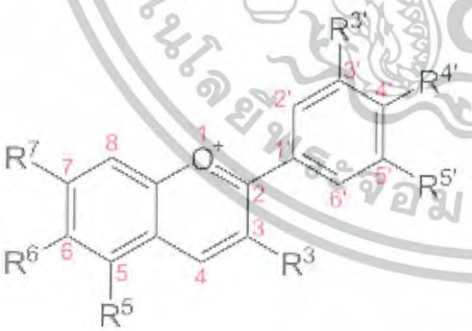
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 แอนโทไซยานิน [6]

แอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุหรือสารสี (Pigment) ที่ให้สีแดง ม่วง และน้ำเงิน พบได้ทั่วไปในดอกไม้ ผลไม้บางชนิด ใบหรือลำต้นของพืชบางชนิด ใช้เป็นสารให้สี (Coloring agent) ธรรมชาติในอาหาร สารสกัดแอนโทไซยานินมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ ช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและเส้นเลือดอุดตันในสมอง โดยการยับยั้งไม่ให้เลือดจับตัวเป็นก้อน ชะลอความเสื่อมของดวงตา ช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (Pathogen) อีโคไล (Escherichia coli) ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงและอาหารเป็นพิษ

แอนโทไซยานินเป็นไกลโคไซด์ (Glycosides) ของแอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidins) ซึ่งโครงสร้างของแอนโทไซยานิน ประกอบด้วยสารประกอบ 2 หรือ 3 ชนิด ได้แก่

- แอนโทไซยานิดิน หรืออะไกลโคน (Aglycone) มีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วย คาร์บอนเชื่อมต่อกันในรูป C-6-C-3-C-6 เชื่อมต่อกัน ซึ่งแอนโทไซยานิดินที่พบในปัจจุบันมี 550 ชนิด แต่มี 6 ชนิดที่พบมาก คือ เพลาโกนิดิน ไซยานิดิน เดลฟินิดิน พีโอนิดิน เพทูนิดิน และมอลวิดิน
- น้ำตาล ซึ่งเกิดพันธะกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 หรือตำแหน่งที่ 3 และ 5 โดยน้ำตาลที่เกิดพันธะได้ เช่น กลูโคส กาแลกโตส รูติโนส แรมโนส เป็นต้น
- โครงสร้างที่เป็นกรด ซึ่งมีหรือไม่มีก็ได้ แอนโทไซยานินที่มีกรดเป็นองค์ประกอบเรียกว่า นอนอะซิเลตเทต แอนโทไซยานิน ถ้าไม่มีกรดเป็นองค์ประกอบเรียกว่า อะซิเลตเทต แอนโทไซยานิน โดยกรดจะเกิดเอสเทอริฟิเคชันกับน้ำตาล กรดที่เกิดพันธะเอสเทอร์กับน้ำตาล เช่น กรดคูมาริก กรดเฟอร์รูริก กรดคาร์โฟอิก เป็นต้น โครงสร้างของแอนโทไซยานินแสดงดังรูปที่ 2.2



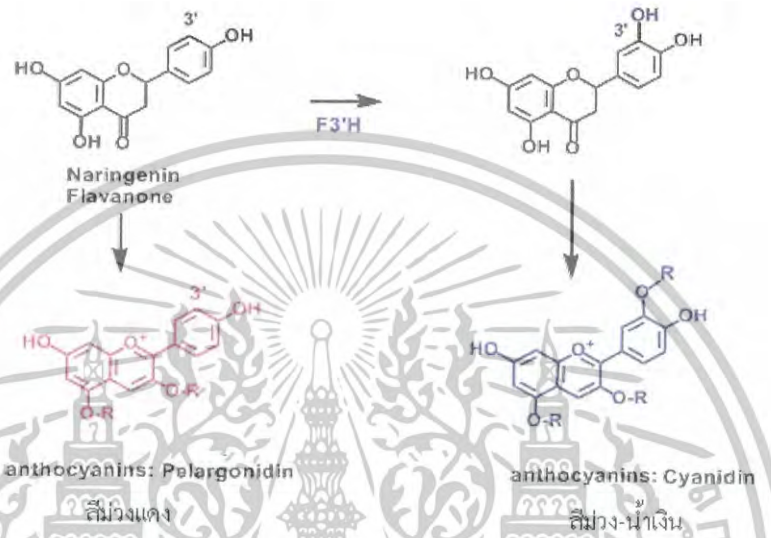
Anthocyanidin	R_3'	R_4'	R_5'	R_3	R_5	R_6	R_7
Aurantinidin	-H	-OH	-H	-OH	-OH	-OH	-OH
Cyanidin	-OH	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Delphinidin	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-H	-OH
Europinidin	$-OCH_3$	-OH	-OH	-OH	$-OCH_3$	-H	-OH
Pelargonidin	-H	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Malvidin	$-OCH_3$	-OH	$-OCH_3$	-OH	-OH	-H	-OH
Peonidin	$-OCH_3$	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Petunidin	-OH	-OH	$-OCH_3$	-OH	-OH	-H	-OH
Rosinidin	$-OCH_3$	-OH	-H	-OH	-OH	-H	$-OCH_3$

รูปที่ 2.2 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน [7]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินเป็นสารสีที่ในสภาพที่เป็นกรดมีค่า pH ต่ำกว่า 3 (เป็นกรดสูง) จะทำให้แอนโทไซยานินมีสีแดง ในสภาพที่ค่อนข้างเป็นกลางหรือมีค่า pH ประมาณ 7 - 8 แอนโทไซยานินจะมีสีม่วง และเมื่อสภาพเป็นเบสหรือมีค่า pH มากกว่า 11 (เป็นเบสสูง) แอนโทไซยานินจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน แสดงดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 สีของแอนโทไซยานิน [8]

ตารางที่ 2.1 ปริมาณแอนโทไซยานินในพืชแต่ละชนิด [9]

ชนิดของพืช	ปริมาณสารแอนโทไซยานิน ต่อ 100 กรัม (มิลลิกรัม)	ชนิดของพืช	ปริมาณสารแอนโทไซยานิน ต่อ 100 กรัม (มิลลิกรัม)
กะหล่ำปลีสีม่วง	113	บลูเบอร์รี่	529
แรดิช	116	แบล็คเคอร์แรนท์	533
ราสเบอร์รี่		มะเขือม่วง	750
เชอร์รี่หวาน	177	ราสเบอร์รี่สีดำ	845
องุ่นม่วง	192	ข้าวโพดสีม่วง	1,642
เกรปฟรุท	200	อัลเดอร์เบอร์รี่	1,993
แบล็คเบอร์รี่	353	โช้คเบอร์รี่	2,147
มาเรียนเบอร์รี่	433		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

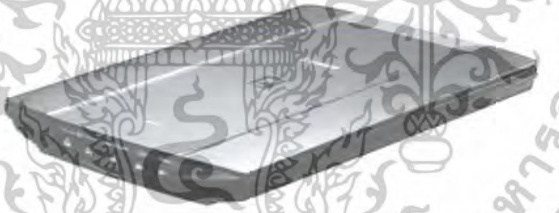
การสกัดแอนโทไซยานิน

ยุพาพร ผลาขจรศักดิ์ [10] ทำการศึกษาวิธีการสกัดแอนโทไซยานินจากเปลือกมังคุดด้วยอัตราส่วนระหว่างเปลือกมังคุดกับตัวทำละลายต่าง ๆ คือ 1:10, 1:25, 1:50, 1:100 และ 1:250 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งตัวทำละลายในการศึกษานี้เป็นไฮโดรคลอริกในเมทานอล จากการศึกษาพบว่าการสกัดแอนโทไซยานินจากเปลือกมังคุดด้วยอัตราส่วน 1:25 เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการสกัดสูงที่สุด

สุภาพร ฟักเงิน และศิรประภา มีรอด [11] ทำการศึกษาการสกัดแอนโทไซยานินจากมะม่วงหาว มะนาวโห่ ด้วยตัวทำละลาย 3 ความเข้มข้น คือ 0.1, 0.5 และ 1.0 % ไฮโดรคลอริกในเมทานอล โดยใช้เวลาในการสกัด 24, 36 และ 48 ชั่วโมง จากการศึกษาพบว่ามะม่วงหาว มะนาวโห่ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 1.0 % ไฮโดรคลอริกในเมทานอลมีปริมาณสารแอนโทไซยานินมากที่สุด

Soulful Bogart [12] ทำการศึกษาการสกัดสารละลายจากกะหล่ำปลีสีม่วง โดยนำไปต้มด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นนำมากรองด้วยผ้าขาวบางจะได้สารละลายอินดิเคเตอร์จากกะหล่ำปลีสีม่วง

2.3 เครื่องสแกน [13]



รูปที่ 2.4 เครื่อง CanoScan LiDE 210 [14]

เครื่องสแกน เป็นอุปกรณ์ต่อเชื่อมคอมพิวเตอร์แบบกราฟิกมีหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงภาพต้นฉบับ เช่น รูปถ่าย ตัวอักษรบนหน้ากระดาษ ภาพวาดให้เป็นข้อมูลเพื่อให้คอมพิวเตอร์สามารถนำข้อมูลดังกล่าวมาใช้ประโยชน์ในการแสดงผล แก้ไข ตกแต่งเพิ่มเติม และจัดเก็บข้อมูลได้

ส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่องแสกน คือ แหล่งกำเนิดแสง ซึ่งจะทำหน้าที่ฉายแสงไปที่กระดาษที่วางอยู่บนกระจก พื้นที่สีขาวที่ฝาปิดจะช่วยให้การสะท้อนของแสงดีขึ้น เมื่อสแกนเนอร์ทำงาน มอเตอร์จะขับเคลื่อนหัวสแกนผ่านใต้กระดาษ โดยในระหว่างที่เคลื่อนที่นี้หัวสแกนจะจับแสงที่สะท้อนมาจากแต่ละพื้นที่ของกระดาษด้วย ซึ่งพื้นที่นี้จะมีขนาดประมาณ 1/90,000 ตารางนิ้ว แสงจากกระดาษจะสะท้อนผ่านระบบกระจก เพื่อทำให้ลำแสงนั้นไปยังเลนส์แล้วรวมแสงผ่านไดโอดแสงเพื่อแปลงข้อมูลแสงนี้ให้อยู่ในรูปของกระแสไฟฟ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ้าเป็นสแกนเนอร์แบบสี แสงที่สะท้อนนี้จะผ่านไปยังฟิลเตอร์แดง เขียว หรือน้ำเงินที่อยู่หน้าไดโอด ADC จะเก็บข้อมูลแอนะล็อกแต่ละส่วนนี้ไว้ ซึ่งข้อมูลแต่ละส่วนนี้เรียกว่า พิกเซล ซึ่งในความยาวหนึ่งนิ้วจะประกอบด้วยพิกเซลประมาณ 300 - 1,200 พิกเซล

ภาพจากการสแกนจะอยู่ในรูปแบบดิจิทัลคอมพิวเตอร์แทนส่วนเล็ก ๆ ของภาพที่เรียกว่า พิก-เซล (pixels) ขนาดของไฟล์รูปภาพจะประกอบด้วยจำนวนพิกเซลหลายร้อยพันพิกเซล คอมพิวเตอร์จะบันทึกค่าความเข้มและค่าสีของพิกเซลแต่ละพิกเซล ด้วยจำนวน 1 บิต หรือหลาย ๆ บิต จำนวนของพิกเซล จะเป็นตัวแสดงถึงความละเอียด ถ้ามีจำนวนบิตต่อพิกเซลมาก สีที่ได้ก็จะมากขึ้น

รูปแบบการเก็บข้อมูล มีหลายระบบ เช่น 1 บิต 8 บิต และ 24 บิต โดยถ้าเป็นข้อมูลแบบ 1 บิต จะใช้สำหรับเก็บข้อมูลต่อพิกเซล 2 สถานะ คือ 1 และ 0 ซึ่งจะแสดงสีได้เฉพาะขาวกับดำ แต่ถ้าเป็น 8 บิต จะใช้ความแตกต่างของสีถึง 256 ระดับ การรวมแม่สีมีเทคนิคที่เรียกว่า Dithering ซึ่งจะแสดงสีได้ไม่เหมือนกับความจริงที่เรามองเห็นได้ สำหรับระบบ 24 บิตจะให้ภาพที่มีสีใกล้เคียงจริงมากที่สุด เรียกว่า Photo-realistic โดยจะแบ่ง 24 บิต เป็น 3 ส่วน คือ แดง, เขียว, น้ำเงิน ส่วนละ 8 บิต เมื่อรวมทั้ง 3 ส่วนเข้ากันแล้ว จะสามารถแสดงสีได้ถึง 16.7 ล้านสี

ประเภทของภาพที่เกิดจากการสแกน [15] แบ่งเป็นประเภทดังนี้

1. ภาพ Single Bit

ภาพ Single Bit เป็นภาพที่มีความหยาบมากที่สุด ใช้พื้นที่ในการเก็บข้อมูลน้อยที่สุดและนำมาใช้ประโยชน์อะไรไม่ค่อยได้ แต่ข้อดีของภาพประเภทนี้คือ ใช้ทรัพยากรของเครื่องน้อยที่สุดใช้พื้นที่ในการเก็บข้อมูลน้อยที่สุด ใช้ระยะเวลาในการสแกนภาพน้อยที่สุด Single bit แบ่งออกได้สองประเภทคือ

- Line Art ได้แก่ ภาพที่มีส่วนประกอบเป็นภาพขาวดำ ตัวอย่างของภาพพวกนี้ ได้แก่ ภาพที่ได้จากการสเก็ต

- Halftone ภาพพวกนี้จะให้สีที่เป็นโทนสีเทามากกว่า แต่โดยทั่วไปยังถูกจัดว่าเป็นภาพประเภท Single-bit เนื่องจากเป็นภาพหยาบ ๆ

2. ภาพ Gray Scale

ภาพพวกนี้จะมีส่วนประกอบมากกว่าภาพขาวดำ โดยจะประกอบด้วยเฉดสีเทาเป็นลำดับขั้น ทำให้เห็นรายละเอียดด้านแสง - เงา ความชัดลึกมากขึ้นกว่าเดิม ภาพพวกนี้แต่ละพิกเซลหรือแต่ละจุดของภาพอาจประกอบด้วยจำนวนบิตมากกว่า และต้องการพื้นที่เก็บข้อมูลมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ภาพสี

หนึ่งพิกเซลของภาพสีนั้นประกอบด้วยจำนวนบิตมหาศาลและใช้พื้นที่เก็บข้อมูลมาก ความามสามารถในการสแกนภาพออกมาได้ละเอียดขนาดไหนนั้นขึ้นอยู่กับว่าใช้สแกนเนอร์ขนาดความละเอียดเท่าไร

4. ตัวหนังสือ

ตัวหนังสือ ได้แก่ เอกสารต่าง ๆ เช่น ต้องการเก็บเอกสารโดยไม่ต้องพิมพ์ลงในแฟ้มเอกสารของเวิร์ดโปรเซสเซอร์ก็สามารถใช้สแกนเนอร์สแกนเอกสารดังกล่าว และเก็บไว้เป็นแฟ้มเอกสารได้ นอกจากนี้ด้วยเทคโนโลยีปัจจุบันสามารถใช้โปรแกรมที่สนับสนุน OCR (Optical Characters Reconize) มาแปลงแฟ้มภาพเป็นเอกสารดังกล่าวออกมาเป็นแฟ้มข้อมูลที่สามารถแก้ไขได้

2.4 ระบบสี RGB [16]

ระบบสี RGB เป็นระบบสีของแสง ซึ่งเกิดจากการหักเหของแสงผ่านแท่งแก้วปริซึม เกิดแถบสีที่เรียกว่า สีรุ้ง (Spectrum) ซึ่งแยกสีตามที่สายตามองเห็นได้ 7 สี คือ แดง แสด เหลือง เขียว น้ำเงิน คราม ม่วง ซึ่งเป็นพลังงานอยู่ในรูปของรังสีที่มีช่วงคลื่นที่สายตาสามารถมองเห็นได้ แสงสีม่วงมีความถี่คลื่นสูงที่สุด คลื่นแสงที่มีความถี่สูงกว่าแสงสีม่วง เรียกว่า อัลตราไวโอเลต (Ultra Violet) และคลื่นแสงสีแดงมีความถี่คลื่นต่ำที่สุด คลื่นแสงที่ต่ำกว่าแสงสีแดงเรียกว่า อินฟราเรด (InfraRed) คลื่นแสงที่มีความถี่สูงกว่าสีม่วงและต่ำกว่าสีแดงนั้นสายตาของมนุษย์ไม่สามารถรับได้ และแสงสีทั้งหมดเกิดจากแสงสี 3 สี คือ สีแดง (Red) สีเขียว (Green) และสีน้ำเงิน (Blue) ซึ่งทั้งสามสีจะถือเป็นแม่สีของแสง เมื่อนำมาฉายรวมกันจะทำให้เกิดสีใหม่ขึ้นได้แก่

สีแดง+สีเขียว ได้ สีเหลือง Yellow

สีเขียว+น้ำเงิน ได้ สีฟ้า Cyan

สีแดง+สีน้ำเงิน ได้ สีแดงอมชมพู Magenta

เมื่อนำแม่สีของแสงทั้ง 3 มารวมกันในปริมาณแสงสว่างเท่ากันจะได้เป็นแสงสีขาว แต่ถ้าผสมกันระหว่างแสงระดับความสว่างต่างกัน จะได้ผลเป็นแสงสีมากมายเป็นล้านสี โดยส่วนใหญ่การใช้สีลักษณะนี้จะใช้ในอุปกรณ์ที่เกี่ยวกับแสง เช่น จอภาพ กล้องดิจิตอล สแกนเนอร์ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.5 วงจรสีของแสง [17]

การแปลงค่า RGB เป็นค่าการดูดกลืนแสง สามารถคำนวณได้ดังสมการ

$$\text{Absorbance} = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right)$$

เมื่อ I คือ ค่าความเข้มแสงของสารมาตรฐานหรือตัวอย่าง

I_0 คือ ค่าความเข้มแสงของแบลงก์

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.5.1 การวิเคราะห์แอมโมเนียโดยเครื่องมือ

Kelvin N. Andrew และคณะ [2] ได้พัฒนาวิธีแบบฉีดไหลออนไลน์สำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียในน้ำเสียจากอุตสาหกรรม โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นบัฟเฟอร์ สารละลายโบรโมไทมอลบลูเป็นอินดิเคเตอร์ และมีเซลล์สำหรับแยกแก๊สเพื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 635 นาโนเมตร

Amirmostafa Amirjani และ Davoud Haghshenas Fatmehsari [18] ได้พัฒนาวิธีตรวจวัดสีสำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียด้วยสมาร์ทโฟน โดยอาศัยหลักการโลคอลไลซ์เซอร์เฟส-พลาสมอนเรโซแนนซ์ของอนุภาคนาโนของเงิน ในการทดลองจะสังเคราะห์อนุภาคนาโนของเงินขึ้นด้วยวิธีโพลีออล (Polyol method) ได้อนุภาคนาโนของเงินเป็นรูปทรงกลม ขนาดประมาณ 40 – 50 นาโนเมตร ลักษณะเป็นสารคอลลอยด์สีเหลืองเข้ม ดูดกลืนแสงความยาวคลื่นสูงสุดที่ 400 นาโนเมตร การเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอมโมเนียกับอนุภาคนาโนของเงินในสารละลาย เกิดเป็นสารเชิงซ้อนไดแอมมีนซิลเวอร์ (I) ไอออน $[Ag(NH_3)_2^+]$ ซึ่งมีสีเหลือง วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงสีโดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และสมาร์ทโฟน คำนวณหาปริมาณของแอมโมเนียจากสมการ $\text{Absorbance} = -\log(I_{channel}/I_0)$ ค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดอยู่ที่ 180 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ให้ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับอยู่ในช่วง 92 – 112 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 การวิเคราะห์แอมโมเนียโดยใช้อุปกรณ์ฐานกระดาษ

Badra Manori Jayawardane และคณะ [19] ได้ทำการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ด้วยการไหลขนาดเล็กฐานกระดาษที่อาศัยการแพร่ผ่านของแก๊สสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียในน้ำ ทำการประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระดาษ โดยใช้กระดาษกรองขนาด 78 มิลลิเมตร x 58 มิลลิเมตร จำนวน 2 แผ่น แต่ละแผ่นประกอบด้วยโซนที่ชอบน้ำรูปวงกลม 15 จุด แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงบนจุดโซนที่ชอบน้ำของแผ่นแรกและเติมอินดิเคเตอร์ลงบนจุดโซนที่ชอบน้ำของแผ่นที่สอง จากนั้นนำมาประกบเป็น 3 ชั้น ได้แก่ ชั้นกระดาษกรองโซเดียมไฮดรอกไซด์มีจุดโซนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 มิลลิเมตร, ชั้นเมมเบรน PTFE 3 แถบ (แต่ละแถบมีขนาด 12 มิลลิเมตร x 78 มิลลิเมตร, หนา 0.1 มิลลิเมตร วางตามแนวจุดโซน) และชั้นกระดาษกรองอินดิเคเตอร์มีจุดโซนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตรซึ่งใช้เป็นโซนตรวจวัด ประกบปิดด้านโซนตรวจวัดด้วยเทปใสและประกบปิดอีกด้านด้วยเทปใสซึ่งเจาะรูให้ตรงกับช่องสำหรับใส่สารตัวอย่าง ขั้นตอนการวิเคราะห์ทำโดยการหยดสารตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร บริเวณโซนตัวอย่างของอุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระดาษ หลังจากนั้นปิดด้วยเทปเพื่อป้องกันไม่ให้สารระเหยออกไป แก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจะแพร่ผ่านเมมเบรนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีอินดิเคเตอร์โบรโมไทมอลบลู หรือ 3-nitrophenol ที่โซนตรวจวัด หลังจากครบเวลาที่กำหนดจึงนำไปสแกนด้วยความละเอียด 600 dpi และแปลงค่าจุดสีที่ได้เป็นค่าการดูดกลืนแสงดังสมการ Absorbance = $-\log(I/I_o)$ ได้ค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด 0.8 และ 1.8 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อตรวจวัดโดยใช้โบรโมไทมอลบลู และ 3-nitrophenol ตามลำดับ

Yeong Beom Cho และคณะ [20] ได้ทำการพัฒนาวิธีตรวจวัดสีที่มีความเลือกจำเพาะสำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียที่ละลายอยู่ในน้ำ โดยอาศัยปฏิกิริยาของ Berthelot บนกระดาษ ทำการทดลองโดยใส่สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์หรือสารตัวอย่าง 12 มิลลิลิตรในขวดทรงกระบอก จากนั้นปิดด้วย Quartz window โดยมีกระดาษที่เคลือบด้วยรีเอเจนต์ของปฏิกิริยา Berthelot วางอยู่ด้านในระหว่าง Quartz window และสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ แก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้นในสภาวะสมดุลจะทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์บนกระดาษทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสี วิเคราะห์ความเข้มสี RGB บนกระดาษด้วยโปรแกรม MATLAB

Piyawan Phansi และคณะ [21] ได้ทำการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์ด้วยการไหลขนาดเล็กฐานกระดาษที่อาศัยการแพร่ผ่านของแก๊สโดยไม่ใช้เมมเบรนสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารประกอบที่ระเหยได้และระเหยไม่ได้ อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียมไอออนประดิษฐ์จากกระดาษกรองเบอร์ 4 มีลักษณะเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้า 2 แผ่น คือ แผ่น Acceptor (พิมพ์ลายเส้นรูปวงกลมกับตัวอักษร A ด้วยหมึกกันน้ำ) และแผ่น Donor (พิมพ์ลายเส้นรูปวงกลม 2 รูปต่อกัน กับตัวอักษร D ด้วยหมึกกันน้ำ) ทำการประกบแผ่น Acceptor (A) กับแผ่น Donor (D) เข้าด้วยกันโดยมีแผ่น Spacer ที่เจาะรูเป็นวงกลมตรงกับรูปวงกลมบนแผ่น A และแผ่น D ปิดขอบรอบทุกด้านด้วยเทปใส ได้อุปกรณ์ตรวจวัดฐานกระดาษที่มีความหนา 1.2 มิลลิเมตร หยดสารละลายมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอมโมเนียมไอออนหรือสารตัวอย่างบนวงกลมที่อยู่ตำแหน่งตรงกับ 3 ชั้น บนแผ่น D แล้วปิดวงกลมตำแหน่งนี้ด้วยเทปใส พลิกด้านแผ่น A ขึ้น หยดรีเอเจนต์ Nessler หรือรีเอเจนต์ NTP บนวงกลมแผ่น A แล้วปิดวงกลมนี้ด้วยเทปใส พลิกด้านแผ่น D ขึ้น หยดสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์บนวงกลมที่อยู่ติดกัน แก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์บนแผ่น A เมื่อเกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์นำไปถ่ายภาพแล้วทำการวิเคราะห์ค่าความเข้มสี ได้ค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด 3.14 และ 8.99 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อใช้รีเอเจนต์ Nessler และรีเอเจนต์ NTP ตามลำดับ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

1. กะหล่ำปลีสีม่วง (ท็อปส์ ซูเปอร์มาร์เก็ต สาขาเซ็นทรัลพระราม 2, กรุงเทพมหานคร)

2. แอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium Chloride (NH_4Cl); A.R. grade – Loba chemie, India)

3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide (NaOH); A.R. grade 98% – Loba chemie, India)

4. แคลเซียมออกไซด์ (Calcium oxide (CaO); A.R. grade – Carlo erba, Canada)

5. แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Calcium hydroxide ($Ca(OH)_2$; A.R. grade – Carlo erba, Canada)

6. น้ำปราศจากไอออน (Deionzed water (H_2O) – Milli Q)

7. โซเดียมไนโตรปรัสไซด์ (Sodium nitroprusside ($Na_2Fe(CN)_5NO.2H_2O$); A.R. grade – Carlo erba, Canada)

8. ฟีนอล (Phenol crystals (C_6H_5OH); A.R. grade – Carlo erba, Canada)

9. โซเดียมซิเตรท (Tri-Sodium citrate ($Na_3C_6H_5O_7.2H_2O$); A.R. grade – Fisher scientific, USA)

10. น้ำยาซักผ้าขาวไฮเตอร์ (Sodium Hypochlorite 6%w/w – บริษัท คาโอ อินดัสเตรียล (ประเทศไทย) จำกัด)

11. ตัวอย่างน้ำ

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. มีด
2. เขียง
3. บีกเกอร์ขนาด 25, 50 และ 250 มิลลิลิตร
4. กระบอกตวง 250 มิลลิลิตร
5. ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
6. แท่นให้ความร้อน
7. กระดาษกรองเบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 125 มิลลิเมตร (Whatman™ – GE Healthcare UK limited, UK)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. กระดาษกรองเบอร์ 41 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70 มิลลิเมตร (Whatman™ – GE Healthcare UK limited, UK)

9. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (Sartorius MC 1 Analytic AC 201 S – scientific promotion co.,LTD)

10. เข็มฉีดยา 1 มิลลิลิตร (NIPRO U-100 Insulin 1 – บริษัท นิโปร (ประเทศไทย) จำกัด)

11. ไม้แคะหู

12. จานเพาะเชื้อ

13. ถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม แบบก้นแบน

14. หลอดหยด

15. เครื่องสแกน (CanoScan LiDE 210 – Canon, Thailand)

16. ไมโครปิเปต ปริมาตร 1 – 10 ไมโครลิตร (Finnpipette F3 1-10 µl µTip – Thermoscientific, Finland)

17. หลอดแก้วขนาด 20 มิลลิลิตร

18. เซลล์สำหรับใส่สารตัวอย่าง

19. เครื่องยูวี - วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น HITACHI U - 2900

3.2 การเตรียมสารละลาย

3.2.1 สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์

1.สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

ชั่งแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) 0.1910 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นเทลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน

2.สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 5.00 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน

3.สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1, 5, 10, 25 และ 50 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.50, 2.50, 5.00, 12.50 และ 25.00 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ตามลำดับ และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

3.2.2.1 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 2.00 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 25 มิลลิลิตร

3.2.2.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 4 โมลาร์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 4.00 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 25 มิลลิลิตร

3.2.2.3 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 6 โมลาร์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 6.00 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 25 มิลลิลิตร

3.2.2.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 8 โมลาร์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 8.00 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 25 มิลลิลิตร

3.2.2.5 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 10 โมลาร์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 10.00 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน 25 มิลลิลิตร

3.2.3 สารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1

1. หั่นกะหล่ำปลีสีม่วงให้ละเอียด
2. ชั่งกะหล่ำปลีสีม่วง 100 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ 250 มิลลิลิตร
3. เติมน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตรโดยใช้กระบอกตวง
4. นำไปให้ความร้อนโดยแท่นให้ความร้อนเป็นเวลา 30 นาที
5. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และเก็บสารละลายที่กรองได้ นำไปใช้เป็นอินดิเคเตอร์

3.2.3 สารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:2

1. หั่นกะหล่ำปลีสีม่วงให้ละเอียด
2. ชั่งกะหล่ำปลีสีม่วง 100 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ 250 มิลลิลิตร
3. เติมน้ำปราศจากไอออน 200 มิลลิลิตรโดยใช้กระบอกตวง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. นำไปให้ความร้อนโดยแท่นให้ความร้อนเป็นเวลา 30 นาที

5. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และเก็บสารละลายที่กรองได้ นำไปใช้เป็นอินดิเคเตอร์

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 การศึกษาการทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์

3.3.1.1 การศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วง

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 8.0 โมลาร์ เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาวางในจานเพาะเชื้อและนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

2. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 10 นาที

3. ใส่ชิ้นกระดาษกรองที่ชุบโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เตรียมได้จากข้อ 1 ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม หลุมละ 1 แผ่น โดยวางราบไปกับก้นหลุม

4. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุชิ้นกระดาษกรองที่ชุบโซเดียมไฮดรอกไซด์อยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่เตรียมได้ในข้อ 2 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

5. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 2 - 4 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 50 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

6. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

7. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

8. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1 - 7 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงจากอัตราส่วนการสกัด 1:1 เป็นอัตราส่วนการสกัด 1:2

3.3.1.2 การศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม

3. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์อยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่เตรียมได้ในข้อ 1 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

4. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1 - 3 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 50 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

5. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

6. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

7. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1 - 6 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์เป็น 4, 6, 8 และ 10 โมลาร์ ตามลำดับ

3.3.1.3 การศึกษาลักษณะของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทดลอง

เป็นการศึกษาลักษณะของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทดลอง โดยจะแบ่งได้เป็น 2 ลักษณะ คือ ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ลักษณะเป็นสารละลาย และใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ลักษณะชุบบนกระดาษกรอง

3.3.1.3.1 การศึกษาการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ลักษณะเป็นสารละลาย

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 10 นาที

2. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 8 โมลาร์ ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม

3. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 8 โมลาร์อยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่เตรียมได้ในข้อ 1 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

4. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1 - 3 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 50 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

6. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

3.3.1.3.2 การศึกษาการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ลักษณะชุบบนกระดาษกรอง

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 8 โมลาร์ เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาวางในจานเพาะเชื้อ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

2. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 10 นาที

3. ใส่ชิ้นกระดาษกรองที่ชุบโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เตรียมได้จากข้อ 1 ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม หลุมละ 1 แผ่น โดยวางราบไปกับก้นหลุม

4. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุชิ้นกระดาษกรองชุบโซเดียมไฮดรอกไซด์อยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่เตรียมได้ในข้อ 2 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

5. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 2 - 4 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 50 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

6. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

7. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

3.3.2 การศึกษาการทำปฏิกิริยากับแคลเซียมออกไซด์

3.3.2.1 การศึกษาปริมาณของแคลเซียมออกไซด์

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ชั่งแคลเซียมออกไซด์ประมาณ 0.0150 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นเทลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม

3. นำกระดาษกรองที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาชุบในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร

4. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมออกไซด์ 0.0150 กรัมอยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่ได้ในข้อ 3 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

5. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 2 - 4 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

6. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

7. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

8. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1 - 7 โดยปรับเปลี่ยนปริมาณของแคลเซียมออกไซด์เป็น 0.0200 และ 0.0250 กรัม ตามลำดับ

3.3.2.2 การศึกษาปริมาตรของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน

2. ใช้ไม้แคะหูตักแคลเซียมออกไซด์ประมาณ 0.0200 กรัม ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม

3. นำกระดาษกรองที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาชุบในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร

4. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมออกไซด์ 0.0200 กรัมอยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่ได้ในข้อ 3 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

5. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 2 - 4 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

6. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

8. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1 - 7 โดยปรับเปลี่ยนปริมาตรของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 0.20 มิลลิลิตร

3.3.2.3 การศึกษาเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน

2. ใช้ไม้แคะหูตักแคลเซียมออกไซด์ประมาณ 0.0200 กรัม ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม

3. นำกระดาษกรองที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาชุบในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร

4. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมออกไซด์ 0.0200 กรัมอยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่ได้ในข้อ 3 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 15 นาที

5. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 2 - 4 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

6. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

7. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

8. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1 - 7 โดยปรับเปลี่ยนเวลาที่ใช้ในการทดลองเป็น 20 และ 25 นาที ตามลำดับ

3.3.2.4 การศึกษาสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัด

เป็นการศึกษาสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดบนกระดาษกรอง โดยจะแบ่งสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดเป็น 2 ลักษณะ คือ การตรวจวัดแบบเปียก (เตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานิน พัก 10 นาทีและนำไปใช้ตรวจวัดทันที) และการตรวจวัดแบบแห้ง-ชุบน้ำ (เตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานิน พักไว้ให้แห้ง 1 วัน และนำไปชุบน้ำก่อนการตรวจวัด)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2.4.1 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดแบบเปียก

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 10 นาที

2. ใช้ไม้แคะหูตักแคลเซียมออกไซด์ประมาณ 0.0200 กรัม ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม

3. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมออกไซด์ 0.0200 กรัมอยู่ จากนั้นนำกระดาษที่เตรียมได้ในข้อ 1 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

4. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1 - 3 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

5. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

6. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

3.3.2.4.2 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดแบบแห้ง-ชุบน้ำ

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน

2. ใช้ไม้แคะหูตักแคลเซียมออกไซด์ประมาณ 0.0200 กรัม ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม

3. นำกระดาษกรองที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาชุบในน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร

4. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมออกไซด์ 0.0200 กรัมอยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่ได้ในข้อ 3 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

5. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 2 - 4 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

6. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

3.3.3 การศึกษาการทำปฏิกิริยากับแคลเซียมไฮดรอกไซด์

3.3.3.1 การศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วง

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน

2. ใช้ไม้แคะหูตักแคลเซียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 0.0200 กรัม ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม

3. นำกระดาษกรองที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาหยดน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร

4. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 0.0200 กรัมอยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่ได้ในข้อ 3 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

5. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 2 - 4 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

6. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

7. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

8. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1 - 7 โดยปรับเปลี่ยนสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงจากอัตราส่วนการสกัด 1:1 เป็นอัตราส่วนการสกัด 1:2

3.3.3.2 การศึกษาปริมาณของแคลเซียมไฮดรอกไซด์

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน

2. ชั่งแคลเซียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 0.0150 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นเทลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. นำกระดาษกรองที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาหยดน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร

4. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมออกไซด์ 0.0150 กรัมอยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่ได้ในข้อ 3 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

5. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 2 - 4 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

6. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

7. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

8. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1 - 7 โดยปรับเปลี่ยนปริมาณแคลเซียมออกไซด์เป็น 0.0200 และ 0.0250 กรัม ตามลำดับ

3.3.3.3 การศึกษาปริมาตรของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน

2. ใช้ไม้แคะหูตักแคลเซียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 0.0200 กรัม ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม

3. นำกระดาษกรองที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาหยดน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร

4. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 0.0200 กรัมอยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่ได้ในข้อ 3 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

5. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 2 - 4 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

6. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

7. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1 - 7 โดยปรับเปลี่ยนปริมาตรของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 0.14 มิลลิลิตร

3.3.3.4 การศึกษาเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน

2. ใช้ไม้แคะหูตักแคลเซียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 0.0200 กรัม ใส่ลงในถาดทดลองขนาด 96 หลุม

3. นำกระดาษกรองที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาหยดน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร

4. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 0.0200 กรัมอยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่ได้ในข้อ 3 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 15 นาที

5. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 2 - 4 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

6. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

7. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

8. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1 - 7 โดยปรับเปลี่ยนเวลาที่ใช้ในการทดลองเป็น 20 และ 25 นาที ตามลำดับ

3.3.3.5 การศึกษาสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัด

เป็นการศึกษาสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดบนกระดาษกรอง โดยจะแบ่งสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดเป็น 2 ลักษณะ คือ การตรวจวัดแบบเปียก (เตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานิน พัก 10 นาทีและนำไปใช้ตรวจวัดทันที) และการตรวจวัดแบบแห้ง ซึ่งการตรวจวัดแบบแห้งนั้นจะสามารถแบ่งได้อีก 4 ลักษณะ คือ การตรวจวัดแบบแห้ง (เตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานิน พักไว้ให้แห้ง 1 วันและนำไปใช้ตรวจวัด) การตรวจวัดแบบแห้ง - หยดน้ำปราศจากไอออน 0.01 มิลลิลิตรก่อนใช้งาน (เตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานิน พักไว้ให้แห้ง 1 วันและนำไปหยดน้ำ 0.01 มิลลิลิตรก่อนตรวจวัด) การตรวจวัดแบบแห้ง - หยดน้ำปราศจากไอออน 0.05 มิลลิลิตรก่อนใช้งาน (เตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานิน พักไว้ให้แห้ง 1 วันและนำไปหยดน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.05 มิลลิลิตรก่อนตรวจวัด) และการตรวจวัดแบบแห้ง - ชุบน้ำปราศจากไอออนก่อนใช้งาน (เตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานิน พักไว้ให้แห้ง 1 วันและนำไปชุบน้ำก่อนตรวจวัด)

3.3.3.5.1 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดแบบเปียก

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 10 นาที

2. ใช้ไม้แคะหูตักแคลเซียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 0.0200 กรัม ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม

3. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 0.0200 กรัมอยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่เตรียมไว้ในข้อ 1 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

4. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1 - 3 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

5. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

6. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

3.3.3.5.2 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดแบบแห้ง

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน

2. ใช้ไม้แคะหูตักแคลเซียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 0.0200 กรัม ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม

3. นำกระดาษกรองที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาหยดน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.00 มิลลิลิตร

4. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 0.0200 กรัมอยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่ได้ในข้อ 3 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 2 - 4 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

6. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

7. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

8. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 1 - 7 โดยปรับเปลี่ยนปริมาตรของน้ำปราศจากไอออนที่ใช้เป็น 0.01 มิลลิลิตร, 0.05 มิลลิลิตร และนำไปชุบในน้ำปริมาตร 10.00 มิลลิตร ตามลำดับ

3.3.4 การสร้างกราฟมาตรฐาน

การสร้างกราฟมาตรฐานทำได้โดย

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1×1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน

2. ใช้ไม้แคะหูตักแคลเซียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 0.0200 กรัม ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ดังแสดงในรูปที่ 3.1

รูปที่ 3.1 การตักแคลเซียมไฮดรอกไซด์ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม

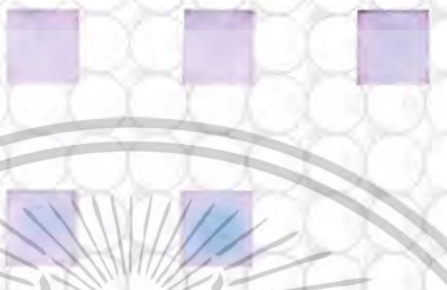
3. นำกระดาษกรองที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาหยดน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร

4. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียม-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฮดรอกไซด์ 0.0200 กรัมอยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่ได้ในข้อ 3 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

5. ทำการทดลองซ้ำ ข้อ 2 - 4 โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 5, 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ตามลำดับ จะได้ดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 ลักษณะการนำกระดาษกรองชุบอินดิเคเตอร์มาอังบนปากหลุม

6. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

7. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

8. ทำการทดลอง ข้อ 2 - 7 ซ้ำ 4 ครั้ง

3.3.5 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ

3.3.5.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำ

เก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่าง ๆ จากนั้นนำมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1

3.3.5.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำโดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี [5,22]

1. ปิเปตตัวอย่างน้ำ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดแก้ว

2. เติมน้ำยาฟีนอล (เตรียมโดยละลายฟีนอล 2.5 กรัม ในเอทานอล 95% ปริมาตร 25.00 มิลลิลิตร) ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

3. เติมน้ำยาโซเดียมไนโตรปรัสไซด์ (เตรียมโดยละลายโซเดียมไนโตรปรัสไซด์ 0.25 กรัม ในน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 50 มิลลิลิตร) ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. เติมน้ำยาออกซิไดซ์ (เตรียมโดยละลายโซเดียมซิเตรท 10 กรัม ผสมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 กรัม ในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายที่ได้ 20 มิลลิลิตรใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตน้ำยาซักผ้าขาวไฮเตอร์ 5 มิลลิลิตร ลงไปผสมในบีกเกอร์) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

5. ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้สีเกิดสมบูรณ์

6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตร-โฟโตมิเตอร์

3.3.5.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำโดยวิธีตรวจวัดบนกระดาษ

1. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโท-ไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน

2. ใช้ไม้แคะหูตักแคลเซียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 0.0200 กรัม ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม

3. นำกระดาษกรองที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาหยดน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร

4. ใช้เข็มฉีดยาดูดตัวอย่างน้ำ ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 0.0200 กรัมอยู่ จากนั้นนำกระดาษกรองที่ได้ในข้อ 3 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

5. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

6. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

7. ทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.6 การทดสอบความใช้ได้ของวิธี

3.3.6.1 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD)

ขีดจำกัดของการตรวจวัด คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจวัดได้ สามารถหาได้จากกราฟมาตรฐาน โดยใช้สูตร

$$LOD = Y_B + 3S_B$$

เมื่อ Y_B คือ จุดตัดแกน y ที่ได้จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

S_B คือ ค่าความคลาดเคลื่อนในแนวแกน y ซึ่งหาได้จาก

$$S_B = \sqrt{\frac{\Sigma(y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}}$$

เมื่อ y_i คือ ค่าจริงที่อ่านได้จากเครื่องมือ

$\hat{y}_i$ คือ ค่าที่ได้จากการแทนค่า x ในสมการเส้นตรง

3.3.6.2 ขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

ขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถวิเคราะห์ได้ สามารถหาได้จากกราฟมาตรฐาน โดยใช้สูตร

$$LOQ = Y_B + 10S_B$$

เมื่อ Y_B คือ จุดตัดแกน y ที่ได้จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

S_B คือ ค่าความคลาดเคลื่อนในแนวแกน y

3.3.6.3 ความเที่ยง (Precision)

ความเที่ยงเป็นค่าที่ระบุความใกล้เคียงของผลการวิเคราะห์แต่ละครั้ง โดยความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์สามารถประเมินได้จาก ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation, RSD %) ถ้าค่าที่ได้มีค่าน้อยกว่า 5% แสดงว่าวิธีวิเคราะห์มีความเที่ยงสูง สามารถคำนวณได้ โดยใช้สูตร

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

เมื่อ SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; SD)

$\bar{X}$ คือ ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ (mean; $\bar{X}$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.6.4 ความแม่น (Accuracy)

3.3.6.4.1 ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (Recovery, %)

ความแม่นของวิธีวิเคราะห์ สามารถพิจารณาได้จากค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (Recovery, %) ซึ่งค่า Recovery เป็นค่าที่ใช้บอกว่าองค์ประกอบอื่น ๆ ในตัวอย่างนั้นรบกวนการวิเคราะห์หรือไม่ ถ้าค่าที่ได้มีค่าใกล้เคียง 100 % แสดงว่าวิธีวิเคราะห์มีความแม่นสูง องค์ประกอบอื่น ๆ ไม่รบกวนการวิเคราะห์

สามารถคำนวณได้ โดยใช้สูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{C1 - C2}{C3} \times 100$$

เมื่อ C1 คือ ความเข้มข้นของตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน

C2 คือ ความเข้มข้นของตัวอย่าง

C3 คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติม

การศึกษาร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ

1. ปิเปตตัวอย่างน้ำ ปริมาตร 25.00 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 5 ขวด

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.00, 0.50, 2.50, 5.00 และ 12.50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรที่มีตัวอย่างน้ำอยู่ ตามลำดับ

3. ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายตัวอย่างน้ำที่เติมสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

4. ตัดกระดาษกรองเบอร์ 41 ให้มีขนาด 1x1 เซนติเมตร นำไปแช่ในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน

5. ใช้ไม้แคะหูตักแคลเซียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 0.0200 กรัม ใส่ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม

6. นำกระดาษกรองที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาหยดน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร

7. ใช้เข็มฉีดยาดูดสารละลายตัวอย่างน้ำ ที่เติมสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในถาดหลุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการศึกษาเพื่อประโยชน์ทางการศึกษาเท่านั้น
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 0.0200 กรัมอยู่ จากนั้นนำกระดาษที่กรองที่ได้ในข้อ 6 มาอังไว้บนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที

8. นำกระดาษกรองที่ทำการทดลองแล้ว ไปบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกน

9. ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

10. ทำการทดลอง ข้อ 5 - 9 ซ้ำทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างน้ำที่เติมสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ เป็น 1, 5, 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ตามลำดับ

3.3.6.4.2 การทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

การทดสอบด้วย Paired t-test

เป็นการทดสอบสำหรับข้อมูล 2 กลุ่มที่มีความสัมพันธ์กัน โดยใช้การทดสอบด้วยวิธี Paired t-test แบบ Two tailed test ซึ่งสามารถทดสอบความความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญได้จากสูตร

$$t_{cal} = \frac{\bar{d}}{SD/\sqrt{n}}$$

เมื่อ $\bar{d}$ คือ ค่าเฉลี่ยความแตกต่างระหว่างผลที่ได้จาก 2 วิธี

SD คือ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; SD)

n คือ จำนวนการวิเคราะห์ซ้ำ

ถ้า $t_{cal} < t_{critical}$ แสดงว่าผลวิเคราะห์จากทั้ง 2 วิธีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P=0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

โครงงานพิเศษเรื่องนี้ทำการศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจวัดฐานกระดาษสำหรับการหาปริมาณแอมโมเนียในน้ำ โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแคลเซียมไฮดรอกไซด์กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้โดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์ที่สกัดจากกะหล่ำปลีสีม่วง โดยการนำกระดาษกรองชุบอินดิเคเตอร์ไปอังบนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่มีการบรรจุแคลเซียมไฮดรอกไซด์ และทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ เกิดเป็นแก๊สแอมโมเนียแพร่ไปดูดซับบนกระดาษกรองชุบอินดิเคเตอร์ ทำให้สีของกระดาษกรองเกิดการเปลี่ยนแปลงจากสีม่วงเป็นสีฟ้า ซึ่งแปรผันตามปริมาณของแก๊สแอมโมเนีย ผลการศึกษาเป็นดังนี้

4.1 ผลศึกษาการทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์

4.1.1 ความเข้มข้นของสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วง

ทำการแช่กระดาษกรองขนาด 1x1 เซนติเมตร ลงในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 และ 1:2 ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที นำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 10 นาที และนำไปอังบนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุกระดาษกรองชุบโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เตรียมไว้ จำนวน 1 ชิ้น กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 และ 50 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน และนำภาพที่ได้ไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ ทำการวิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และนำค่าที่ได้มาสร้างเป็นแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับอัตราส่วนการสกัดสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วง ดังรูปที่ 4.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

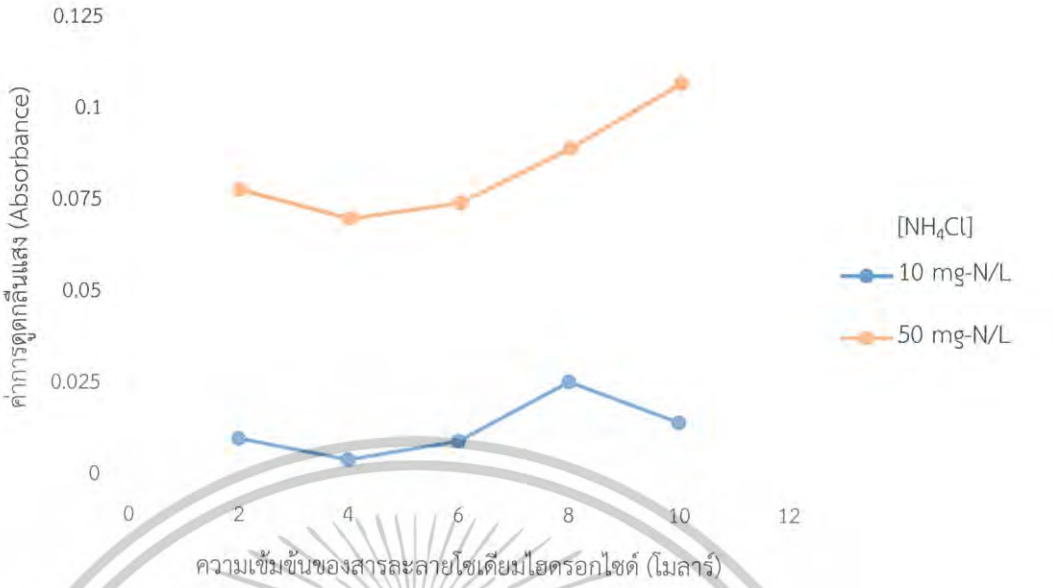
รูปที่ 4.1 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับอัตราส่วนการสกัดสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วง

จากรูปที่ 4.1 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับอัตราส่วนการสกัดสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วง พบว่า ที่อัตราส่วนการสกัดสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงเป็น 1:1 ให้ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) สูงกว่าที่อัตราส่วนการสกัดสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงเป็น 1:2 เป็นผลมาจากการสกัดด้วยอัตราส่วน 1:1 จะได้แอนโทไซยานินที่มีความเข้มข้นมากกว่า ทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงสีที่ชัดเจนมากกว่า ในการทดลองนี้จึงเลือกใช้อัตราส่วนการสกัดสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงที่ 1:1 ในการทำการทดลองต่อไป

4.1.2 ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ทำการทดลองโดยนำกระดาษกรองที่เตรียมโดยแช่ลงในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 เป็นเวลา 10 นาที และนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 10 นาที ไปอังบนปากหลุมของถาดหลุม ทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 โมลาร์ ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร และสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน และนำภาพที่ได้ไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ ทำการวิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และนำค่าที่ได้มาสร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โมลาร์) ดังรูปที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โมลาร์)

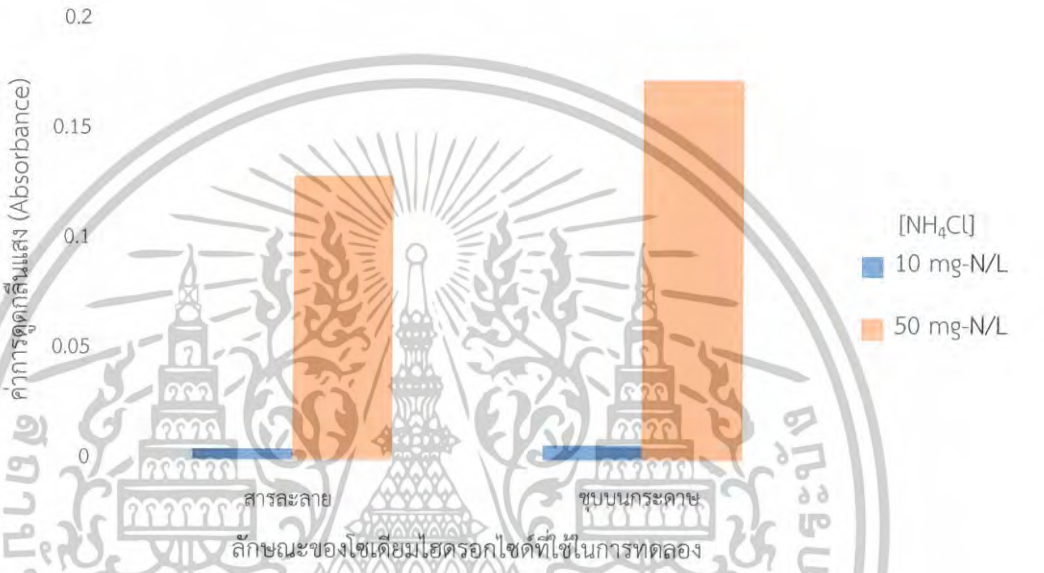
จากรูปที่ 4.2 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (โมลาร์) พบว่าค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และเริ่มเห็นการเปลี่ยนแปลงเมื่อใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 10 โมลาร์ ซึ่งให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลงสำหรับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ในการทดลองนี้จึงเลือกใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 8 โมลาร์ในการทำการทดลองต่อไป เนื่องจากให้ค่าความเข้มสีแดงที่สูงและให้การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่แปรผันไปตามความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์

4.1.3 ลักษณะของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทดลอง

ทำการทดลองโดยนำกระดาษกรองที่เตรียมโดยการแช่ลงในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 เป็นเวลา 10 นาที และนำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 10 นาที ไปอังบนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่มีลักษณะของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทดลองแตกต่างกัน โดยแบ่งเป็นการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ในลักษณะเป็นสารละลาย ซึ่งบรรจุสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 8 โมลาร์ ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 และ 50 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร และการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ในลักษณะชุบบนกระดาษ ซึ่งบรรจุกระดาษกรองขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตรชุบโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เตรียมไว้ จำนวน 1 ชิ้น กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอ-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไรด์ความเข้มข้น 10 และ 50 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร โดยทั้ง 2 ลักษณะนี้จะทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทำการบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีบนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน และนำภาพที่ได้ไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ ทำการวิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และนำค่าที่ได้มาสร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับลักษณะของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทดลอง ดังรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับลักษณะของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทดลอง

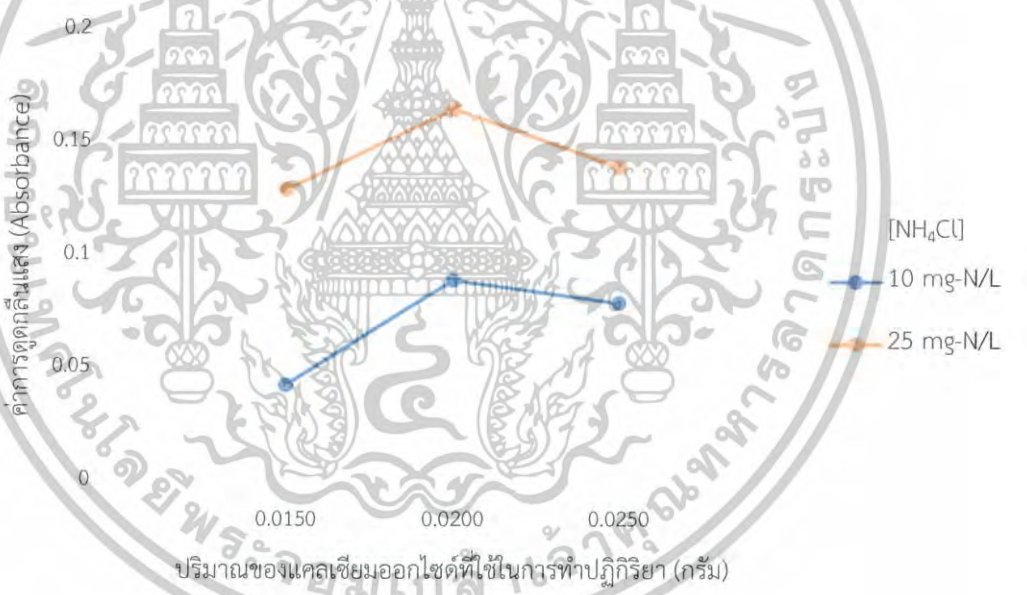
จากรูปที่ 4.3 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับลักษณะของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทดลอง พบว่าการทดลองโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ในลักษณะชุบบนกระดาษให้ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) สูงกว่าการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ในลักษณะสารละลาย เนื่องจากการชุบโซเดียมไฮดรอกไซด์ไว้บนกระดาษทำให้มีพื้นที่ผิวที่พร้อมสำหรับการเกิดปฏิกิริยา เมื่อหยดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ลงไปบนกระดาษจะเกิดปฏิกิริยาให้แก๊สแอมโมเนียเกิดขึ้น และแพร่ไปยังกระดาษตรวจวัดในปริมาณที่มากกว่าการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ในลักษณะสารละลาย ซึ่งแก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้นบางส่วนยังคงละลายอยู่ในสารละลาย ทำให้การแพร่ไปยังกระดาษตรวจวัดเกิดได้ในปริมาณที่น้อยกว่า ในการทดลองนี้จึงเลือกใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ในลักษณะชุบบนกระดาษสำหรับทำการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลศึกษาการทำปฏิกิริยากับแคลเซียมออกไซด์

4.2.1 ปริมาณของแคลเซียมออกไซด์

ทำการแช่กระดาษกรองขนาด 1x1 เซนติเมตรที่เตรียมไว้ ลงในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 เป็นเวลา 10 นาที พักทิ้งไว้ 1 วัน นำกระดาษกรองที่เตรียมได้ชุบในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และนำไปอังบนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมออกไซด์ปริมาณ 0.0150, 0.0200 และ 0.0250 กรัม กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน และนำภาพไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และนำค่าที่ได้มาสร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาณของแคลเซียมออกไซด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (กรัม) ดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาณของแคลเซียมออกไซด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (กรัม)

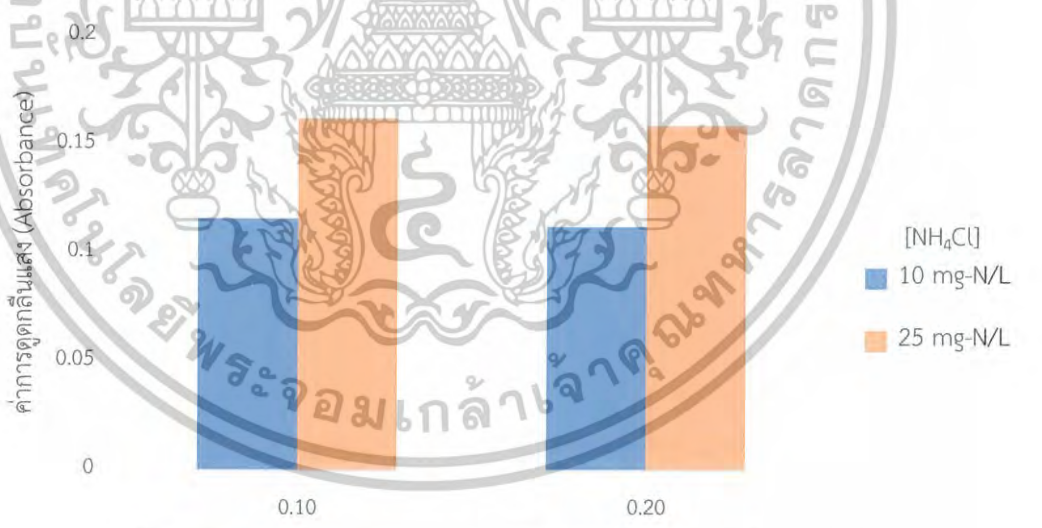
จากรูปที่ 4.4 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาณของแคลเซียมออกไซด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (กรัม) พบว่า ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) เพิ่มขึ้นตามปริมาณของแคลเซียมออกไซด์ไปจนถึงปริมาณ 0.0200 กรัม และมีค่าลดลงเมื่อใช้แคลเซียมออกไซด์ในปริมาณ 0.0250 กรัม การใช้แคลเซียมออกไซด์ในปริมาณที่มากเกินไปไม่เหมาะสมกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ เนื่องจากสารละลายที่ใส่ลงไปมีปริมาณน้อย ทำให้เกิดปฏิกิริยาไม่ทั่วถึงกับผงแคลเซียมออกไซด์ทั้งหมด และแก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้นบางส่วนอาจถูกดูดซับไว้กับผงแคลเซียมออกไซด์ ในการทดลองนี้จึงเลือกใช้แคลเซียมออกไซด์ปริมาณ 0.0200 กรัมสำหรับทำการทดลองต่อไป

4.2.2 ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์

ทำการแช่กระดาษกรองขนาด 1x1 เซนติเมตรที่เตรียมไว้ ลงในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 เป็นเวลา 10 นาที พักทิ้งไว้ 1 วัน นำกระดาษกรองที่เตรียมได้ชุบในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และนำไปอังบนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมออกไซด์ปริมาณ 0.0200 กรัม กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 และ 0.20 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน และนำภาพที่ได้ไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และนำค่าที่ได้มาสร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาตรสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (มิลลิลิตร) ดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาตรสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.5 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาตรสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (มิลลิลิตร) พบว่า ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) มีค่าไม่แตกต่างกันมาก จึงเลือกใช้สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียม-คลอไรด์ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตรในการทำการทดลองต่อไป เพื่อเป็นการลดการใช้ปริมาณสารเคมีที่ใช้และลดของเสียที่จะเกิดขึ้นจากการทดลอง

4.2.3 เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

ทำการแช่กระดาษกรองขนาด 1x1 เซนติเมตรที่เตรียมไว้ ลงในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 เป็นเวลา 10 นาที พักทิ้งไว้ 1 วัน นำกระดาษกรองที่เตรียมได้ชุบในน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และนำไปอังบนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมออกไซด์ปริมาณ 0.0200 กรัม กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 15, 20 และ 25 นาที จากนั้นบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน และนำภาพที่ได้ไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และนำค่าที่ได้มาสร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา (นาที) ดังรูปที่ 4.6

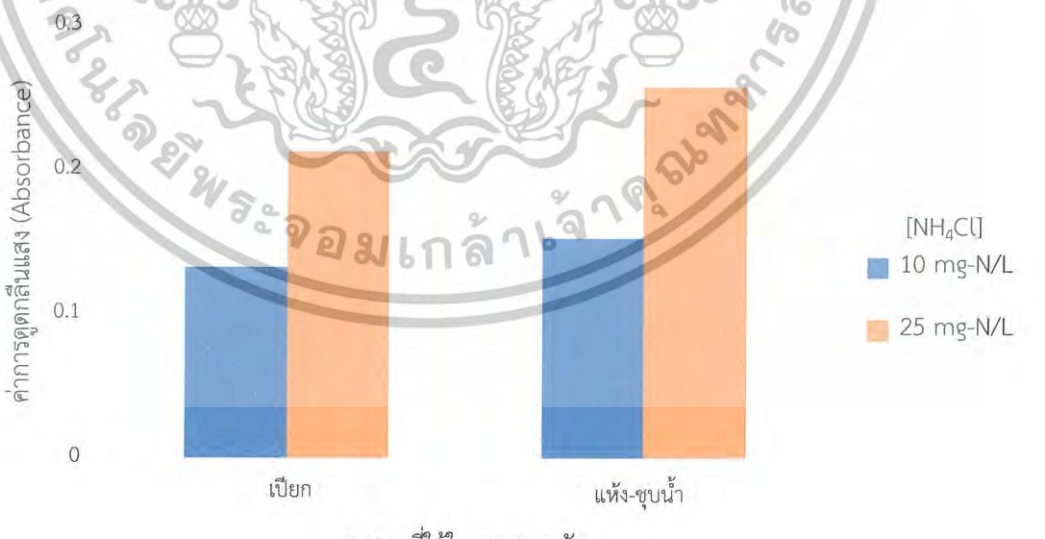
รูปที่ 4.6 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา (นาที)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.6 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา (นาที) พบว่า ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) เพิ่มขึ้นตามเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาในช่วง 15 ถึง 20 นาที หลังจากนั้นมีค่าลดลงเมื่อเวลาเป็น 25 นาที จึงเลือกเวลาในการทำการทดลองต่อไปเป็น 20 นาที เนื่องจากการทิ้งให้เกิดปฏิกิริยานาน 20 นาที ให้ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) สูงที่สุด และถ้าทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาในเวลาที่นานขึ้นจะมีผลทำให้น้ำบนกระดาษกรองระเหยออกไปมากขึ้นทำให้กระดาษตรวจวัดแห้งซึ่งมีผลทำให้เห็นสีจางลง

4.2.4 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัด

เป็นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัด โดยมีการศึกษาสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัด 2 ลักษณะ คือ การตรวจวัดแบบเปียก (เตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานิน พัก 10 นาทีและนำไปใช้ตรวจวัดทันที) และการตรวจวัดแบบแห้ง - ชุบน้ำ (เตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานิน พักไว้ให้แห้ง 1 วัน และนำไปชุบน้ำก่อนการตรวจวัด) ซึ่งในการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมนั้นทำโดยการนำกระดาษกรองที่เตรียมในลักษณะต่าง ๆ มาอังไว้บนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมออกไซด์ปริมาณ 0.0200 กรัม กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน และนำภาพที่ได้ไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และนำค่าที่ได้มาสร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดดังรูปที่ 4.7



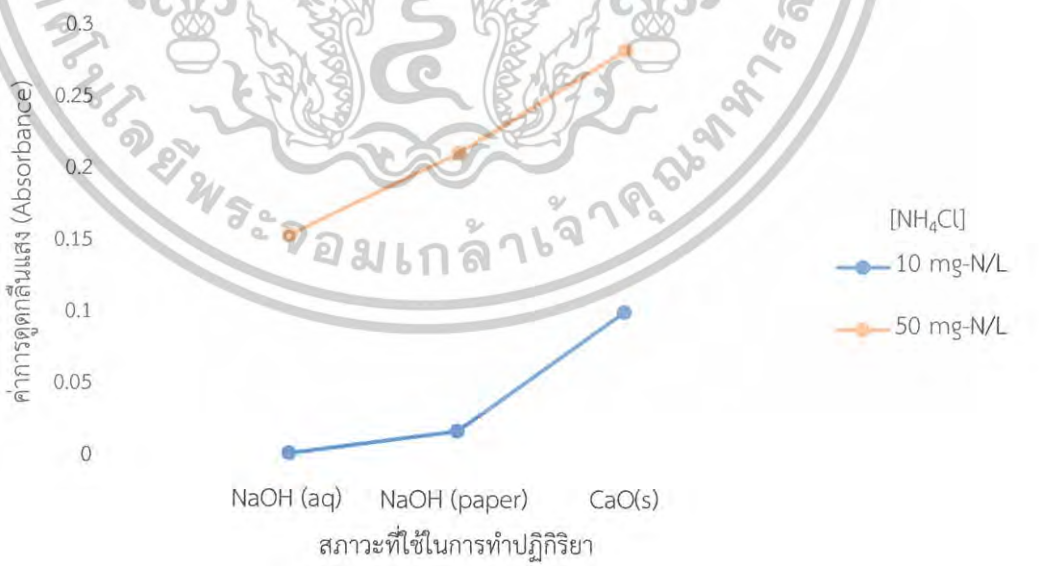
รูปที่ 4.7 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.7 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัด พบว่า สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดทั้ง 2 สภาวะ ให้ค่าการดูดกลืนแสงไม่แตกต่างกันมาก ในการทดลองนี้จึงเลือกใช้สภาวะแบบแห้ง – ชุบน้ำ เนื่องจากการสภาวะแบบแห้ง - ชุบน้ำสามารถเตรียมกระดาษตรวจวัดไว้ล่วงหน้าก่อนที่จะทำการทดลองได้ ซึ่งทำให้มีความสะดวกต่อการใช้งานภาคสนามมากกว่าสภาวะแบบเปียก

4.2.5 เปรียบเทียบสภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา

เป็นการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม ในการทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียม-คลอไรด์เพื่อให้เกิดเป็นแก๊สแอมโมเนีย โดยจะทำการใส่สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 8 โมลาร์ ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร เพื่อเปรียบเทียบกับการใส่กระดาษชุบโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 8 โมลาร์ที่เตรียมไว้ 1 ชิ้น และการใส่แคลเซียมออกไซด์ปริมาณ 0.0200 กรัม ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม จากนั้นทำการใส่สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 และ 50 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ลงไปในแต่ละหลุมตามลำดับ นำกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานินที่พักไว้ 1 วันไปชุบในน้ำปราศจากไอออน 10 มิลลิลิตร และนำไปอังบนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม เป็นเวลา 20 นาที ทำการบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน นำภาพที่ได้ไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และนำค่าที่ได้มาสร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาดังรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.8 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา พบว่าสภาวะที่ใช้ผงแคลเซียมออกไซด์ ให้ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) สูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ใน 2 ลักษณะ การใช้แคลเซียมออกไซด์ในลักษณะเป็นผงของแข็ง สามารถทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ เกิดเป็นแก๊สแอมโมเนียได้ดี เนื่องจากสารละลายที่ใส่ลงไปจะสัมผัสกับผงของแข็งและเกิดปฏิกิริยาได้โดยตรง อีกทั้งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นแบบคายความร้อนจะช่วยทำให้แก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้นเกิดการแพร่ได้มากขึ้น ในการทดลองนี้จึงเลือกใช้แคลเซียมออกไซด์ในการทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ในการทดลองต่อไป

4.3 ผลศึกษาการทำปฏิกิริยากับแคลเซียมไฮดรอกไซด์

4.3.1 ความเข้มข้นของสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วง

ทำการแช่กระดาษกรองขนาด 1x1 เซนติเมตรที่เตรียมไว้ ลงในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 และ 1:2 ในจานเพาะเชื้อเป็นเวลา 10 นาที นำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน หยดน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร ใส่กระดาษกรองที่เตรียมได้ และนำไปอังบนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 0.0200 กรัม กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียคลอไรด์ความเข้มข้น 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน และนำภาพที่ได้ไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และนำค่าที่ได้มาสร้างแผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับอัตราส่วนการสกัดสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วง ดังรูปที่ 4.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.9 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับอัตราส่วนการสกัดสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วง

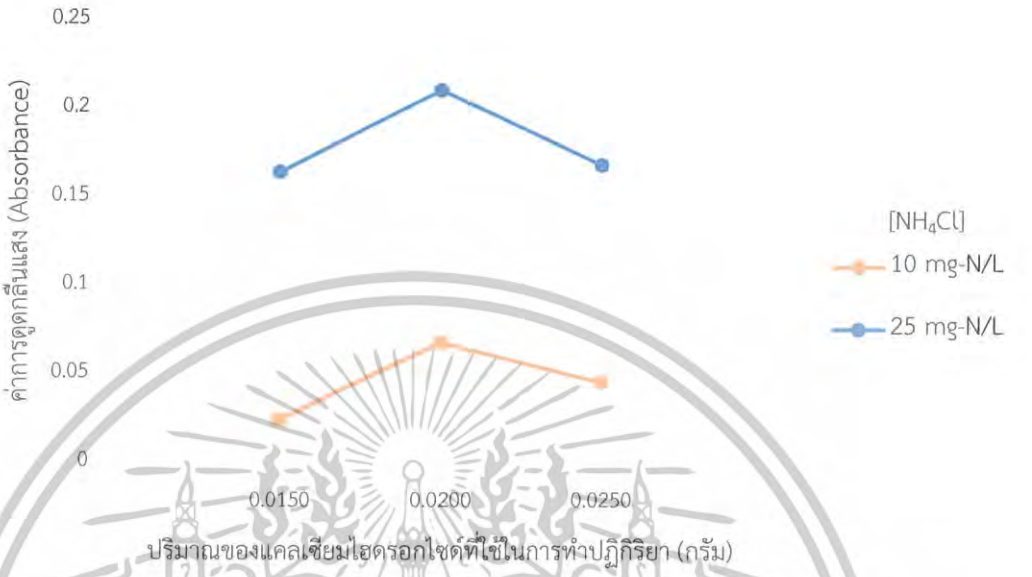
จากรูปที่ 4.9 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับอัตราส่วนการสกัดสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วง พบว่า ที่อัตราส่วนการสกัดสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงเป็น 1:1 ให้ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) สูงกว่าที่อัตราส่วนการสกัดสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงเป็น 1:2 เนื่องจากการสกัดด้วยอัตราส่วน 1:1 จะได้แอนโทไซยานินที่มีความเข้มข้นมากกว่า ส่งผลทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงสีที่ชัดเจนขึ้น ในการทดลองนี้จึงเลือกใช้อัตราส่วนการสกัดสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงเป็น 1:1 สำหรับทำการทดลองต่อไป

4.3.2 ปริมาณของแคลเซียมไฮดรอกไซด์

ทำการแช่กระดาษกรองขนาด 1x1 เซนติเมตรที่เตรียมไว้ ลงในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 เป็นเวลา 10 นาที นำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน หยดน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร ใส่กระดาษกรองที่เตรียมได้ และนำไปอังบนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 0.0150, 0.0200 และ 0.0250 กรัม กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน และนำภาพไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และนำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าที่ได้มาสร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาณของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (กรัม) ดังรูปที่ 4.10



รูปที่ 4.10 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาณของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (กรัม)

จากรูปที่ 4.10 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาณของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (กรัม) พบว่า ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) เพิ่มขึ้นตามปริมาณของแคลเซียมไฮดรอกไซด์ไปจนถึงปริมาณ 0.0200 กรัมและมีค่าลดลงเมื่อใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 0.0250 กรัม การใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ในปริมาณที่มากเกินไปไม่เหมาะสมกับปริมาตรของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ เนื่องจากสารละลายที่ใส่ลงไปมีปริมาณน้อยทำให้เกิดปฏิกิริยาไม่ทั่วถึงกับผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์ทั้งหมด และแก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้นบางส่วนอาจถูกดูดซับไว้กับผงแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ในการทดลองนี้จึงเลือกใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 0.0200 กรัมในการทำการทดลองต่อไป

4.3.3 ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์

ทำการแช่กระดาษกรองขนาด 1x1 เซนติเมตรที่เตรียมไว้ ลงในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 เป็นเวลา 10 นาที นำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน หยดน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร ใส่กระดาษกรองที่เตรียมได้ และนำไปอังบนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 0.0200 กรัม กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 และ 0.14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน และนำภาพที่ได้ไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และนำค่าที่ได้มาสร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาตรสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (มิลลิลิตร) ดังรูปที่ 4.11

รูปที่ 4.11 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาตรสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (มิลลิลิตร)

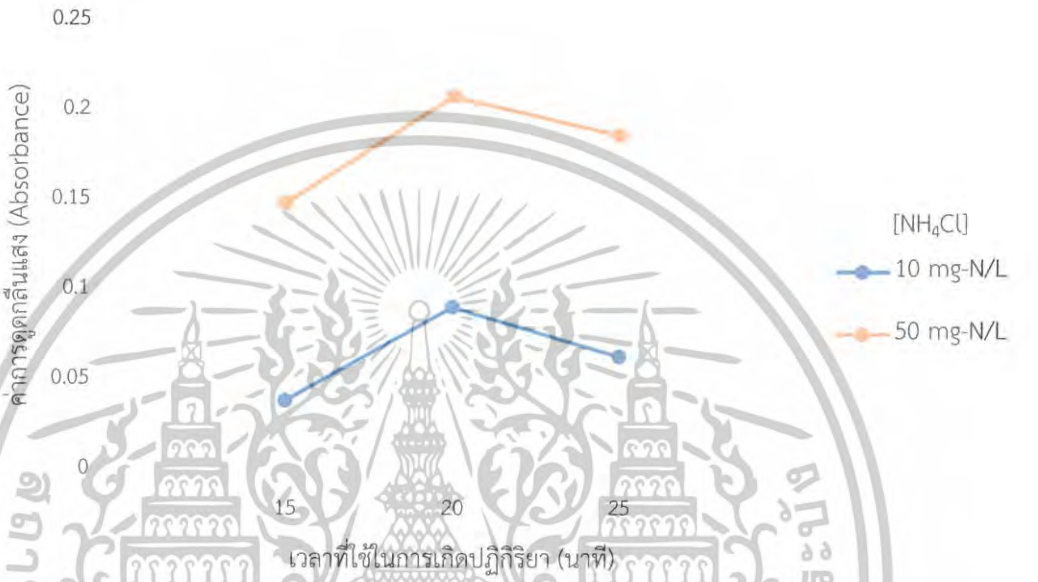
จากรูปที่ 4.11 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับปริมาตรสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (มิลลิลิตร) พบว่า ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ปริมาณเป็น 0.10 มิลลิลิตรมีค่าสูงกว่าสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ปริมาณเป็น 0.14 มิลลิลิตร จึงเลือกใช้สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ปริมาณ 0.10 มิลลิลิตรในการทำการทดลองต่อไป

4.3.4 เวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา

ทำการแช่กระดาษกรองขนาด 1x1 เซนติเมตรที่เตรียมไว้ ลงในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 เป็นเวลา 10 นาที นำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน หยดน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร ใส่กระดาษกรองที่เตรียมได้ และนำไปอังบนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 0.0200 กรัม กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเวลา 15, 20 และ 25 นาที จากนั้นบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน และนำภาพที่ได้ไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และนำค่าที่ได้มาสร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา (นาที) ดังรูปที่ 4.12



รูปที่ 4.12 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา (นาที)

จากรูปที่ 4.12 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา (นาที) พบว่า ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) เพิ่มขึ้นตามเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาในช่วง 15 ถึง 20 นาที หลังจากนั้นมีค่าลดลงเมื่อเวลาเป็น 25 นาที จึงเลือกเวลาในการทำการทดลองต่อไปเป็น 20 นาที เนื่องจากการทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 20 นาที ให้ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) สูงที่สุด และถ้าทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลาที่นานขึ้นจะมีผลทำให้น้ำบนกระดาษกรองระเหยออกไปมากขึ้นทำให้กระดาษตรวจวัดแห้งไปซึ่งมีผลทำให้เห็นสีจางลง

4.3.5 สภาวะที่ใช้ในการตรวจวัด

เป็นการศึกษาสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดบนกระดาษกรอง โดยจะแบ่งสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดเป็น 2 ลักษณะ คือ การตรวจวัดแบบเปียก (เตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานินพัก 10 นาทีและนำไปใช้ตรวจวัดทันที) และการตรวจวัดแบบแห้ง ซึ่งการตรวจวัดแบบแห้งนั้นจะสามารถแบ่งได้อีก 4 ลักษณะ คือ การตรวจวัดแบบแห้ง (เตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซ-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยานิน พักไว้ให้แห้ง 1 วันและนำไปใช้ตรวจวัด) การตรวจวัดแบบแห้ง - หยดน้ำปราศจากไอออน 0.01 มิลลิลิตรก่อนใช้งาน (เตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานิน พักไว้ให้แห้ง 1 วันและนำไปหยดน้ำ 0.01 มิลลิลิตรก่อนตรวจวัด) การตรวจวัดแบบแห้ง - หยดน้ำปราศจากไอออน 0.05 มิลลิลิตรก่อนใช้งาน (เตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานิน พักไว้ให้แห้ง 1 วันและนำไปหยดน้ำ 0.05 มิลลิลิตรก่อนตรวจวัด) และการตรวจวัดแบบแห้ง - ชุบน้ำปราศจากไอออนก่อนใช้งาน (เตรียมกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานิน พักไว้ให้แห้ง 1 วันและนำไปชุบน้ำก่อนตรวจวัด) ซึ่งในการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมนั้นทำโดยนำกระดาษกรองที่เตรียมในลักษณะต่าง ๆ มาอังไว้บนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 0.0200 กรัม กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน และนำภาพที่ได้ไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และนำค่าที่ได้มาสร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัดดังรูปที่ 4.13

รูปที่ 4.13 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัด

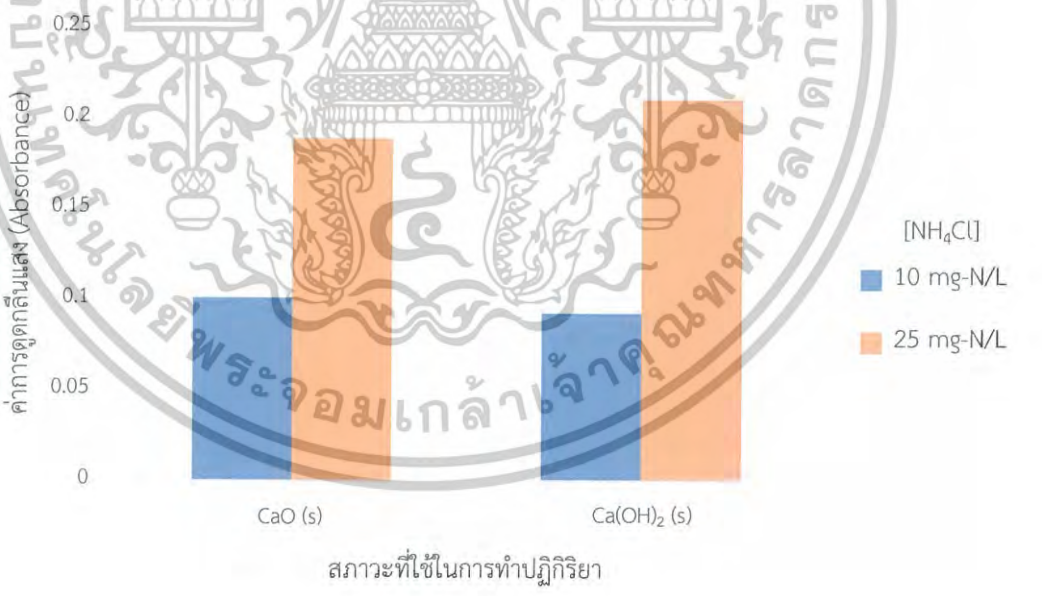
จากรูปที่ 4.13 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะที่ใช้ในการตรวจวัด พบว่าสภาวะที่ใช้ในการทดลองแบบแห้ง - หยดน้ำ 0.05 มิลลิลิตร ให้ค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การดูดกลืนแสง (Absorbance) สูงที่สุด เมื่อเทียบกับสภาวะการทดลองแบบต่าง ๆ จึงเลือกใช้สภาวะแบบแห้ง - หยดน้ำ 0.05 มิลลิลิตรในการทดลองต่อไป เนื่องจากเป็นไปได้ว่าเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์ที่เกิดขึ้นบนกระดาษกรอง

4.3.6 เปรียบเทียบสภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา

เป็นการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม ในการทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เพื่อให้เกิดเป็นแก๊สแอมโมเนียขึ้น โดยทำการใส่แคลเซียมออกไซด์ปริมาณ 0.0200 กรัม เปรียบเทียบกับการใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 0.0200 กรัม ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม จากนั้นทำการใส่สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 และ 25 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ลงไปในแต่ละหลุม ตามลำดับ หยดน้ำปราศจากไอออน 0.05 มิลลิลิตร ลงบนกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานินที่พักไว้ 1 วัน และนำไปอังบนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม เป็นเวลา 20 นาที ทำการบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน และนำภาพที่ได้ไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และนำค่าที่ได้มาสร้างแผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาดังรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.14 แผนภาพแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

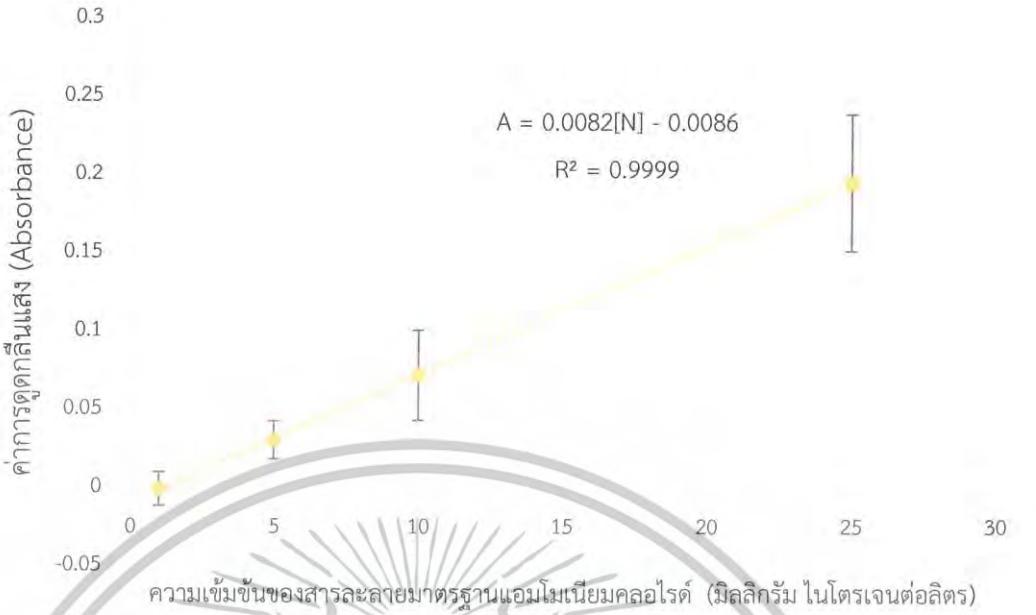
จากรูปที่ 4.14 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับสภาวะที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา พบว่า ทั้ง 2 สภาวะให้ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ไม่แตกต่างกันมาก ทั้งแคลเซียมออกไซด์และแคลเซียมไฮดรอกไซด์สามารถทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ เกิดเป็นแก๊สแอมโมเนียได้ดีเท่า ๆ กัน จึงเลือกใช้แคลเซียมไฮดรอกไซด์ในการทำการทดลองต่อไป เนื่องจากแคลเซียมไฮดรอกไซด์เป็นสารเคมีที่สามารถพบได้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป ง่ายกว่าและมีราคาถูกกว่าแคลเซียมออกไซด์

4.4 การสร้างกราฟมาตรฐาน

ทำการแช่กระดาษกรองขนาด 1x1 เซนติเมตรที่เตรียมไว้ ลงในสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอัตราส่วนการสกัด 1:1 เป็นเวลา 10 นาที นำขึ้นมาพักทิ้งไว้ 1 วัน หยดน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร ใส่กระดาษกรองที่เตรียมได้ และนำไปอังบนปากหลุมของถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม ที่บรรจุแคลเซียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 0.0200 กรัม กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1, 5, 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที จะเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรอง ดังรูปที่ 4.15 จากนั้นบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองนี้ด้วยเครื่องสแกน และนำภาพที่ได้ไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และนำค่าที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ (มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร) ดังรูปที่ 4.16

รูปที่ 4.15 การเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ (มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร)

จากรูปที่ 4.16 พบว่ากราฟมาตรฐานที่ได้มีสมการเชิงเส้นเป็น A = 0.0082[N] - 0.0086 และมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9999 แสดงว่ากราฟที่ได้มีความเป็นเส้นตรง ซึ่งจะเห็นว่าค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) แปรผันตามความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียม-คลอไรด์ในช่วงความเข้มข้น 1 – 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

4.5 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD)

ค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) สามารถหาได้จากกราฟมาตรฐาน จากรูปที่ 4.16 ซึ่งมีสมการเชิงเส้นเป็น A = 0.0082[N] - 0.0086

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงค่า y_i , $\hat{y}_i$ และ $(y_i - \hat{y}_i)^2$ ที่ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียม-คลอไรด์เท่ากับ 1, 5, 10 และ 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ (มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร)	y_i	$\hat{y}_i$	$(y_i - \hat{y}_i)^2$
1	0.000329	-0.0004	5.31×10^{-7}
5	0.031610	0.0324	6.24×10^{-7}
10	0.073047	0.0734	1.24×10^{-7}
25	0.196402	0.1964	3.84×10^{-12}
		Total	1.28×10^{-6}
		S_B	0.0008

ทำการแทนค่า ในสูตร LOD = $Y_B + 3S_B$ จากนั้นนำค่าที่ได้ไปแทนค่าเป็น A ในสมการเชิงเส้น จะได้ค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 0.29 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

4.6 ขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

ค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) สามารถหาได้จากกราฟมาตรฐาน จากรูปที่ 4.16 ซึ่งมีสมการเส้นตรงเป็น A = 0.0082[N] - 0.0086 ทำการแทนค่า ในสูตร LOQ = $Y_B + 10S_B$ จากนั้นนำค่าที่ได้ไปแทนค่าเป็น A ในสมการเชิงเส้นจะได้ค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.98 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร

4.7 ความเที่ยง (Precision)

ความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์สามารถประเมินได้จาก ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation, RSD %)

ในการทดลองเพื่อศึกษาหาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ ทำได้โดยการใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ปริมาณ 0.0200 กรัม และสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตรลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม หยดน้ำปราศจากไอออน 0.05 มิลลิลิตร ลงบนกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานินที่พักไว้ 1 วัน นำไปอังบนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที ทำทั้งหมด 11 ซ้ำ จากนั้นทำการบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน นำภาพที่ได้ไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB แปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) นำค่าที่ได้ไปหาค่าเฉลี่ย($\overline{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และนำไปแทนค่าในสูตร

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

จะได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation, RSD %) เท่ากับ 4.20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 5% แสดงว่าวิธีวิเคราะห์มีความเที่ยงสูง

4.8 ความแม่น (Accuracy)

4.8.1 ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (Recovery, %)

ความแม่นของวิธีวิเคราะห์ สามารถพิจารณาได้จาก ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (Recovery, %) ซึ่งค่า Recovery เป็นค่าที่ใช้บอกว่าองค์ประกอบอื่น ๆ ในตัวอย่างนั้นรบกวนการวิเคราะห์หรือไม่ ถ้าค่าที่ได้มีค่าใกล้เคียง 100% แสดงว่าวิธีวิเคราะห์มีความแม่นสูง องค์ประกอบอื่น ๆ ไม่รบกวนการวิเคราะห์

การศึกษาร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ

ในการทดลองศึกษาหาค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับของวิธีวิเคราะห์ ทำได้โดยการใส่แคลเซียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 0.0200 กรัม ลงในถาดหลุมทดลองขนาด 96 หลุม และใส่สารละลายตัวอย่างน้ำที่เติมสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 25 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อลิตร ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ลงไปในแต่ละหลุม หยดน้ำปราศจากไอออน 0.05 มิลลิลิตร ลงบนกระดาษกรองชุบสารสกัดแอนโทไซยานินที่พักไว้ 1 วัน และนำไปอังบนปากหลุมเป็นเวลา 20 นาที ทำการบันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงของสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรองด้วยเครื่องสแกน และนำภาพที่ได้ไปตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) แสดงผลดังตารางที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำและค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ

ตัวอย่าง	ปริมาณแอมโมเนีย (มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร)		ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ
	ที่เติมลงไป	ที่ตรวจพบ	
1	0	1.11 ± 0.81	-
	1	2.03 ± 2.49	91.83
	5	5.32 ± 2.43	84.09
	10	10.25 ± 3.64	91.37
	25	20.58 ± 4.92	77.86
2	0	2.50 ± 1.96	-
	1	3.43 ± 0.46	92.91
	5	6.31 ± 0.55	76.15
	10	11.46 ± 0.57	89.59
	25	25.08 ± 4.93	90.31
3	0	5.87 ± 1.83	-
	1	6.63 ± 1.92	75.72
	5	11.21 ± 1.03	106.71
	10	14.39 ± 5.99	85.18
	25	25.51 ± 1.41	78.55
4	0	*N.D	-
	1	1.21 ± 0.91	120.54
	5	5.53 ± 0.73	110.51
	10	10.70 ± 1.40	106.96
	25	20.81 ± 2.33	83.25
5	0	*N.D	-
	1	1.24 ± 2.32	124.30
	5	4.66 ± 0.63	93.26
	10	9.24 ± 2.12	92.42
	25	22.93 ± 2.92	91.73

*N.D หมายถึง Not Detected

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำและค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ (ต่อ)

ตัวอย่าง	ปริมาณแอมโมเนีย (มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร)		ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับ
	ที่เติมลงไป	ที่ตรวจพบ	
6	0	1.27 ± 2.33	-
	1	2.26 ± 1.76	99.16
	5	6.10 ± 0.47	96.60
	10	9.59 ± 0.68	82.73
	25	24.32 ± 1.59	92.23
7	0	0.84 ± 1.61	-
	1	1.83 ± 0.18	98.94
	5	4.86 ± 0.47	80.54
	10	11.15 ± 0.57	103.18
	25	21.78 ± 1.54	83.77
8	0	4.17 ± 0.90	-
	1	5.08 ± 1.46	90.44
	5	8.82 ± 2.06	92.93
	10	13.98 ± 0.97	98.06
	25	27.27 ± 1.83	92.38
9	0	2.29 ± 0.47	-
	1	3.16 ± 0.74	86.23
	5	7.56 ± 1.28	105.36
	10	11.28 ± 0.92	89.83
	25	27.59 ± 6.53	101.20
10	0	6.27 ± 1.20	-
	1	7.11 ± 1.23	83.92
	5	10.92 ± 0.60	92.93
	10	14.39 ± 2.56	81.20
	25	26.13 ± 0.64	79.45
* N.D หมายถึง Not Detected		$\bar{X}$ ± SD	92.36 ± 11.26

จากตารางที่ 4.2 สามารถสรุปได้ว่าการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียในน้ำตัวอย่างได้ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับเท่ากับ 92.36 ± 11.26 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.8.2 การทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

การทดสอบด้วย Paired t-test

การทดสอบด้วย Paired t-test แบบ Two tailed test เนื่องจากเป็นการเปรียบเทียบข้อมูล 2 กลุ่ม แบบที่ข้อมูลจากกลุ่มหนึ่งมีทั้งค่าที่มากกว่าและค่าที่น้อยกว่าอีกกลุ่มหนึ่งดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงการเปรียบเทียบปริมาณของแอมโมเนียตัวอย่างเดียวกันเมื่อวิเคราะห์โดยวิธีสเปก-โตรโฟโตเมทรีและวิเคราะห์วิธีตรวจวัดบนกระดาษและค่าความแตกต่างระหว่างผลที่ได้จาก 2 วิธี (d)

ตัวอย่าง	ปริมาณของแอมโมเนีย (มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร)		ค่าความแตกต่างระหว่างผลที่ได้จาก 2 วิธี *(d)*
	วิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี	วิธีตรวจวัดบนกระดาษ	
1	1.10	1.73	- 0.63
2	5.23	4.64	0.59
3	6.39	4.68	1.71
4	*N.D	*N.D	0.00
5	*N.D	*N.D	0.00
6	2.40	2.32	0.08
7	*N.D	0.75	- 0.75
8	8.85	8.42	0.43
9	3.75	4.53	- 0.78
10	9.43	8.63	0.80

*N.D หมายถึง Not Detected

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.3 สามารถคำนวณค่าเฉลี่ยค่าเฉลี่ยความแตกต่างระหว่างผลที่ได้จาก 2 วิธี ได้เท่ากับ 0.15 และคำนวณค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ได้เท่ากับ 0.78 แทนค่าลงในสูตร

$$t_{cal} = \frac{\bar{d}}{SD/\sqrt{n}}$$

จะได้ t_{cal} เท่ากับ 0.61 จากตาราง t ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และที่ degree of freedom เป็น 9 จะได้ค่า $t_{critical}$ เท่ากับ 2.26 แสดงว่า $t_{cal} < t_{critical}$ กล่าวคือ ผลวิเคราะห์จากทั้ง 2 วิธีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P=0.05) แสดงว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความแม่นสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การตรวจวัดสีฐานกระดาษสำหรับวิเคราะห์หาแอมโมเนียในน้ำ โดยใช้สารสกัดธรรมชาติจากกะหล่ำปลีสีม่วงเป็นอินดิเคเตอร์ เป็นการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์บนกระดาษกรอง เนื่องมาจากการทำปฏิกิริยาระหว่างแคลเซียมไฮดรอกไซด์ 0.0200 กรัม กับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อให้เกิดแก๊สแอมโมเนียขึ้น ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมในการทดลองนี้คือ สารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงใช้อัตราส่วนการสกัดเป็น 1:1 ปริมาณแคลเซียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 0.0200 กรัม ปริมาตรสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เป็น 0.10 มิลลิลิตร เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาเป็น 20 นาที และการตรวจวัดใช้สภาวะกระดาษกรองชุบอินดิเคเตอร์แบบแห้ง-หยดน้ำปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร บันทึกภาพสีของกระดาษชุบอินดิเคเตอร์หลังเกิดปฏิกิริยาด้วยเครื่องสแกน ทำการตรวจวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J™ วิเคราะห์สีด้วยระบบสี RGB และแปลงค่าความเข้มสีแดงเป็นค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) จากการศึกษาพบว่าการใช้เครื่องสแกนจะช่วยลดความผิดพลาด และควบคุมแสงได้ดีกว่าการบันทึกภาพด้วยกล้องของสมาร์ทโฟน เนื่องจากการบันทึกภาพด้วยเครื่องสแกนเป็นการบันทึกภาพที่ไม่มีแสงจากภายนอกรบกวน และการใช้โปรแกรม Image J™ จะช่วยลดความผิดพลาดในการเลือกพื้นที่ในการตรวจวัดค่า RGB การวิเคราะห์แอมโมเนียในน้ำสามารถทำได้โดยการสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ใช้ในการทดสอบความเป็นเส้นตรง คือช่วงความเข้มข้น 1 - 25 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร มีสมการเชิงเส้นคือ A = 0.0082[N] - 0.0086 ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9999 ขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 0.29 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (LOQ) เท่ากับ 0.98 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร ความเที่ยงของการวิเคราะห์ทดสอบกับสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อลิตร จำนวน 11 ครั้ง ให้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) เท่ากับ 4.20 เปอร์เซ็นต์ การวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียในน้ำตัวอย่างได้ค่าร้อยละของการวิเคราะห์คืนกลับเท่ากับ 92.36 ± 11.26 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบผลวิเคราะห์กับวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรีด้วยวิธี Paired t-test ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P=0.05)

5.2 ข้อเสนอแนะ

การเตรียมสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำปลีสีม่วงอาจเกิดความแปรผันจากวัตถุดิบที่ใช้สกัดในแต่ละครั้ง ดังนั้นผลการทดลองเพื่อเปรียบเทียบแต่ละปัจจัยควรเตรียมสารสกัดแอนโทไซยานินให้เพียงพอสำหรับการทดลองเปรียบเทียบในชุดนั้น ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] Christopher J. Katilie, Alison G. Simon and Lauryn E. DeGreeff. **"Quantitative analysis of vaporous ammonia by online derivatization with gas chromatography - mass spectrometry with applications to ammonium nitrate-based explosives"** Talanta (2019) : 87 - 92.

[2] Kelvin N. Andrew, Paul J. Worsfold and Michael Comber. **"On-line flow injection monitoring of ammonia in Industrial liquid effluents"** Analytica Chimica Acta 314 (1995) : 33 - 43.

[3] **แอมโมเนีย (Ammonia).** [online]. Available : https://www.siamchemi.com/แอมโมเนีย; Search : 4 May 2019.

[4] **โครงสร้างของแอมโมเนีย.** [online]. Available : https://www.needpix.com/photo/524269; Search : 4 May 2019.

[5] **การวิเคราะห์แอมโมเนียในน้ำด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี.** [online]. Available : https://www.fisheries.go.th/cf; Search : 4 May 2019.

[6] **แอนโทไซยานิน.** [online]. Available : http://www.foodnetworksolution.com; Search : 4 May 2019.

[7] **โครงสร้างของแอนโทไซยานิน.** [online]. Available : https://en.wikipedia.org/wiki/Anthocyanin; Search : 4 May 2019.

[8] **สีของแอนโทไซยานิน.** [online]. Available : http://www.foodnetworksolution.com; Search : 4 May 2019.

[9] **ปริมาณแอนโทไซยานินในพืช.** [online]. Available : https://amprohealth.com/nutrition; Search : 4 May 2019.

[10] ยุพาพร ผลาขจรศักดิ์. 2547. **"การสกัดและความคงตัวของแอนโธไซยานินส์ที่สกัดได้จากเปลือกมังคุด"** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยศิลปากร.

[11] สุภาพร ฟักเงิน และศิรประภา มีรอด. 2560. **"การสกัดแยกหาปริมาณแอนโทไซยานินจากลูกมะม่วงหาว มะนาวโห่"** คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.

[12] **การสกัดสารละลายจากกะหล่ำปลีสีม่วง.** [online]. Available : http://elife-news.blogspot.com; Search : 4 May 2019.

[13] **เครื่องสแกน.** [online]. Available : https://il.mahidol.ac.th/e-media; Search : 4 May 2019.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[14] **เครื่อง CanoScan LiDE 210.** [online]. Available : https://softfamous.com; Search : 4 May 2019.

[15] **ประเภทของภาพจากการสแกน.** [online]. Available : https://web.ku.ac.th/schoolnet; Search : 4 May 2019.

[16] **ระบบสี RGB.** [online]. Available : http://www.infinityprinting.co.th/main; Search : 4 May 2019.

[17] **วงจรสีของแสง.** [online]. Available : https://cdn.shopify.com; Search : 4 May 2019.

[18] Amirmostafa Amirjani and Davoud Haghshenas Fatmehsari. **"Colorimetric detection of ammonia using smartphones based on localized surface plasmon resonance of silver nanoparticles Industrial liquid effluents"** Talanta 176 (2018) : 242 – 246.

[19] Badra Manori Jayawardane, Ian D. Mckelvie and Spas D. Kolev. **"Development of a Gas-Diffusion Microfluidic Paper-Based Analytical Device (μPAD) for the Determination of Ammonia in Wastewater Samples"** Analytical Chemistry (2015) : 4621 - 4626.

[20] Yeong Beom Cho, Seung Hwa Jeong, Hyungphil Chun and Youg shin Kim. **"Selective colorimetric detection of dissolved ammonia in water via modified Berthelot's reaction on porous paper"** Sensors and Actuators B 256 (2018) : 167 - 175.

[21] Piyawan Phansi, Saichon Sumantakul, Thinnapong Wongpakdee, Nutnaree Fukana, Nuanlaor Ratanawimarnwong, Jirayu Sitanurak and Duangjai Nacapricha. **"Membraneless Gas-Separation Microfluidic Paper-Based Analytical Device for Direct Quantitation of Volatile and Nonvolatile Compounds"** Analytical Chemistry (2016) : 8749 - 8756.

[22] **4500-NH_3 F Phenate method.** [online]. Available : https://www.edgeanalytical.com/wp-content; Search : 30 May 2019.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

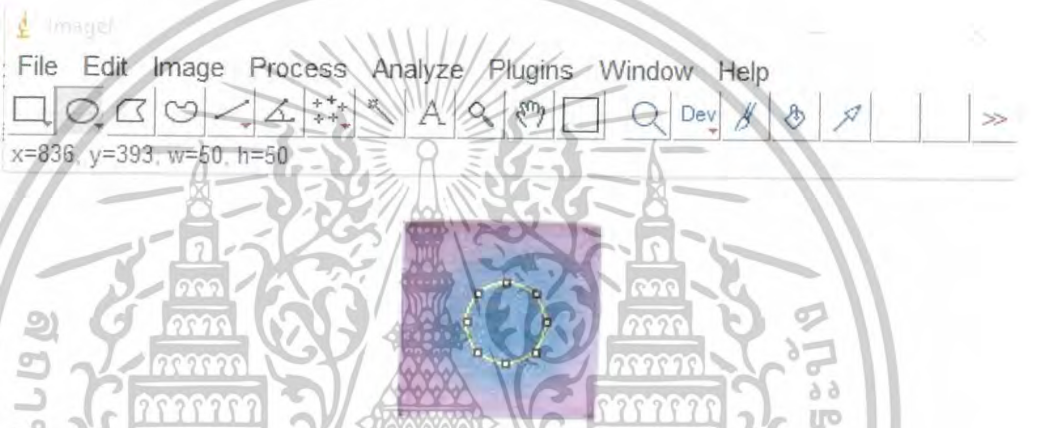
การวิเคราะห์ค่าความเข้มสีจากโปรแกรม Image J™

1. ติดตั้งโปรแกรม Image J™

2. เปิดโปรแกรม Image J™ จากนั้นเลือกเมนู File > Open เพื่อเปิดภาพที่ต้องการ

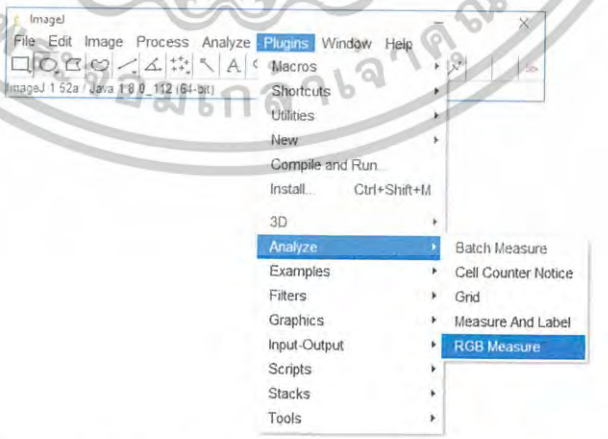
3. กำหนดพื้นที่ในการวิเคราะห์เป็นวงกลม

4. กด Shift พร้อมคลิกเมาส์และลากที่รูปภาพเพื่อสร้างกรอบวงกลมที่มีความกว้าง (w) เท่ากับ 50 และความสูง (h) เท่ากับ 50 บริเวณกลางจุดสีที่เกิดขึ้นบนกระดาษกรอง ดังรูป ก.1



รูป ก.1 การเลือกพื้นที่ในการวิเคราะห์

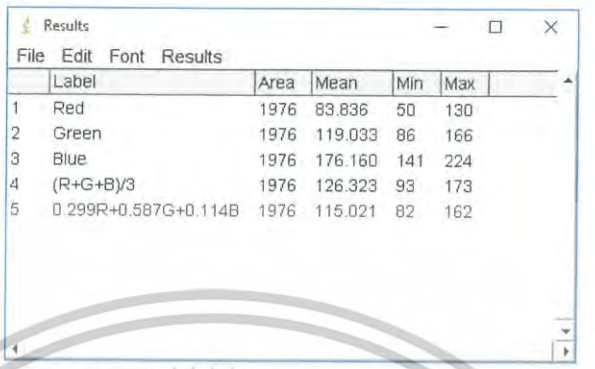
5. เลือกที่เมนู Plugins > Analyzw > RGB measure เพื่อทำการวิเคราะห์ค่าความเข้มสี RGB ดังรูป ก.2



รูป ก.2 วิธีการเปิดหน้าต่างวิเคราะห์ค่าความเข้มสี RGB

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. เมื่อกดเมนู RGB measure ในข้อ 5 จะปรากฏหน้าต่าง Result เพื่อแสดงผลการวิเคราะห์ ดังรูป ก.3



	Label	Area	Mean	Min	Max
1	Red	1976	83.836	50	130
2	Green	1976	119.033	86	166
3	Blue	1976	176.160	141	224
4	(R+G+B)/3	1976	126.323	93	173
5	0.299R+0.587G+0.114B	1976	115.021	82	162

รูป ก.3 หน้าต่าง Results แสดงผลการวิเคราะห์

7. เลือกค่า Mean ของสีแดงไปคำนวณหาค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ตามสมการ

$$\text{Absorbance} = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right)$$

เมื่อ I คือ ค่าความเข้มสีแดงของสารตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน

I_0 คือ ค่าความเข้มสีแดงของแบลงก์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้