การเตรียมชุดทดสอบเพื่อตรวจวัดปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ในผลิตภัณฑ์สับปะรดกระป๋อง

นางสาวอัจฉริยา จิณะเสน

นางสาวอารียา ทองกล่ำ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2549

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การเตรียมชุดทดสอบเพื่อตรวจวัดปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ในผลิตภัณฑ์สับปะรดกระป๋อง

T107805

นางสาวอัจฉริยา จิณะเสน
นางสาวอารียา ทองกล่ำ

ว/ส
ส 613 ก
2549
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 107805
วัน,เดือน,ปี 14 พ.ค. 2553
b. 12212258
i.....

โครงงานพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2549

Preparation of test kit for determination of nitrate and nitrite in canned pineapple

Miss Achariya Jinasen

Miss Areeya Thongklam

A Special Project submitted in Partial Fulfillment of the Requirement forThe Degree of

Bachelor of Science

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2549

โครงงานพิเศษเรื่อง **การเตรียมชุดทดสอบเพื่อตรวจวัดปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ในผลิตภัณฑ์สับปะรดกระป๋อง**

นักศึกษา 1. นางสาวอัจฉริยา จิณะเสน

2. นางสาวอารียา ทองกล่ำ

ภาควิชา เคมี

สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์

ปีการศึกษา 2549

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. คณิตา ตังคณานุรักษ์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโนยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาล กรรมการ ผศ. พรรษวรรณ ศรีนาค กรรมการ ผศ. คณิตา ตังคณานุรักษ์	....

.....

(ผศ. ดร. ประยงค์ ดวงดี)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

โครงงานพิเศษเรื่อง การเตรียมชุดทดสอบเพื่อตรวจวัดปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ในผลิตภัณฑ์สับปะรดกระป๋อง

นักศึกษา 1. นางสาวอัจฉริยา จิณะเสน
2. นางสาวอารียา ทองกล่ำ

ภาควิชา เคมี

สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม-เครื่องมือวิเคราะห์

ปีการศึกษา 2549

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. คณิตา ตังคณานุรักษ์

บทคัดย่อ

จุดประสงค์ของโครงงานพิเศษนี้ คือ เตรียมชุดทดสอบเพื่อวัดปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ในผลิตภัณฑ์สับปะรดกระป๋อง การเกิดสีเหลืองและสีแดงอมชมพูในสารละลายตัวอย่างขึ้นกับการเกิดสารเชิงซ้อนของไนเทรตและสารเชิงซ้อนไนไทรต์ตามลำดับ และการวัดความเข้มข้นของไนเทรตและไนไทรต์โดยตรง ชุดทดสอบนี้สามารถตรวจวัดปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ได้ในช่วง 50-250 ppm. และ 0.1-0.9 ppm. ตามลำดับโดยไม่ต้องใช้เครื่องมือวัด (เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์) สำหรับการทดสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ทำได้โดยการตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไนเทรตและไนไทรต์ และตัวอย่างสับปะรดกระป๋อง 3 ยี่ห้อด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีเพื่อเปรียบเทียบผล ผลจากชุดทดสอบทั้งสองและวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี ให้ผลที่สอดคล้องกันอย่างน่าพอใจ ดังนั้นชุดทดสอบทั้งสองนี้มีความสะดวกและง่ายต่อการใช้งาน และให้ผลที่เที่ยงตรงและแม่นยำ

Special Project Title Preparation of test kit for determination of nitrate and nitrite in canned pineapple

Name Miss Achariya Jinasen
Miss Areeya Thongklam

Program Chemistry

Acedemic Year 2006

Special Project Advisor Asst.Prof Kanita Tangkananurak

ABSTRACT

The aim of this project is to prepare test kits for determination of nitrate and nitrite in canned pineapple. The developed pink and yellow color in the test sample solution is based on the nitrate-complex and nitrite-complex respectively and directly proportional to the concentration of nitrate and nitrite respectively. The prepared test kits can detect nitrate and nitrite in range 50-250 ppm. and 0.1-0.9 ppm. respectively without the use of instrument (UV-Visible spectrophotometer). For validation of this test kits, the nitrate and nitrite standard solution, the spiked sample and three brands of canned pineapple were determined by UV-Visible spectrophotometry for comparison. The results from both test kits and UV-Visible spectrophotometry showed satisfactory agreement. Therefore, these two test kits were convenient to use and gave precision and accurate results.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสะสมไนเทรตในพืช	3
-วัฏจักรของไนโตรเจน	4
-อิทธิพลของธาตุอื่นๆ ต่อการสะสมไนเทรตในพืช	5
2.2ความเป็นพิษของของไนเทรตและไนไทรต์	6
2.3ทฤษฎีและหลักการของเครื่องอัลตราไวโอเลต-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี	7
2.4งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	10
บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย	12
3.1สารเคมี เครื่องมือและอุปกรณ์	12
3.1.1สารเคมี	12
3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	12

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

3.2 วิธีดำเนินงานวิจัย.. 13

3.2.1 การเตรียมสารละลาย.. 13

3.2.2 การเตรียมตัวอย่าง.. 14

3.2.3 การตรวจวัดปริมาณไนเทรตด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี.. 14

3.2.4 การตรวจวัดปริมาณไนไทรต์ด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี.. 15

3.2.5 การเตรียมแผ่นเทียบสีมาตรฐาน... 16

3.2.6 การตรวจวัดปริมาณไนเทรตด้วยแผ่นเทียบสีมาตรฐาน.................... 16

3.2.7 การตรวจวัดปริมาณไนไทรต์ด้วยแผ่นเทียบสีมาตรฐาน.................. 16

3.3 การประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจสอบไนเทรตและไนไทรต์..................... 16

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล.. 17

4.1 ศึกษาการเตรียมแผ่นเทียบสีจากสารละลายมาตรฐานไนเทรต........................ 17

4.2 กราฟมาตรฐานไนเทรต... 17

4.3 ศึกษาการเตรียมแผ่นเทียบสีจากสารละลายมาตรฐานไนไทรต์........................ 18

4.4 กราฟมาตรฐานไนไทรต์... 19

4.5 การตรวจวัดปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ในผลิตภัณฑ์สับปะรดกระป๋อง โดยใช้แผ่นเทียบสีมาตรฐานเปรียบเทียบกับวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี... 19

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.. 21

5.1 การวิเคราะห์หาปริมาณไนเทรต.. 21

5.2 การวิเคราะห์หาปริมาณไนไทรต์... 22

5.3 ข้อเสนอแนะ.. 22

ภาคผนวก ก 24

1.ค่าการดูดกลืนของสารละลายมาตรฐาน.. 24

1.1 ค่าการดูดกลืนของสารละลายมาตรฐานไนเทรต............................. 24

1.2 ค่าการดูดกลืนของสารละลายมาตรฐานไนไทรต์.................................... 24

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ข..... 25

2.ตารางค่าการดูดกลืนแสงในสารละลายตัวอย่าง..... 25

2.1 ค่าการดูดกลืนแสงในการหาปริมาณไนเทรต..... 25

2.2 ค่าการดูดกลืนแสงในการหาปริมาณไนไทรต์..... 25

2.3ปริมาณไนเทรตในตัวอย่างสับปะรดกระป๋องด้วยการเทียบกราฟมาตรฐาน.... 26

2.4 ปริมาณไนไทรต์ในตัวอย่างสับปะรดกระป๋องด้วยการเทียบกราฟมาตรฐาน.. 27

2.5 ตารางตรวจวัดปริมาณไนเทรตในสารละลายตัวอย่างด้วยแผ่นเทียบสี... 28

2.6 ตารางตรวจวัดปริมาณไนไทรต์ในสารละลายตัวอย่างด้วยแผ่นเทียบสี... 29

บรรณาณุกรม

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 4.1 แผ่นเทียบสีจากสารละลายมาตรฐานไนเทรต..... 17
รูปที่ 4.2 กราฟมาตรฐานสารละลายมาตรฐานไนเทรต..... 18
รูปที่ 4.3 แผ่นเทียบสีจากสารละลายมาตรฐานไนไทรต์..... 18
รูปที่ 4.4 กราฟมาตรฐานสารละลายมาตรฐานไนไทรต์..... 19

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้สามารถลุล่วงไปด้วยดีในครั้งนี้ สืบเนื่องมาจากความร่วมมือและความกรุณาของทุกๆ ท่าน ทั้งอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.คณิตา ตังคณานุรักษ์ และคณะกรรมการ ที่ให้ความกรุณาช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ ช่วยแก้ปัญหา และให้ความกรุณาตรวจสอบดูแลและเอาใจใส่เป็นอย่างดีจนโครงงานพิเศษนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์ของท่านและขอขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องธุรการ เจ้าหน้าที่ปฏิบัติการ ภาควิชาเคมี รวมทั้งแม่บ้านที่คอยให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในทุกๆ ด้าน

สุดท้ายขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ญาติ พี่น้อง และเพื่อนๆ รวมถึงรุ่นพี่รุ่นน้องทุกๆ คนที่ให้กำลังใจและช่วยเหลือในทุกๆด้านจนโครงงานนี้สำเร็จในที่สุด

นางสาวอัจฉริยา จิณะเสน

นางสาวอารียา ทองกล่ำ

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ

ประเทศไทยเป็นประเทศผู้ส่งออกสับปะรดกระป๋องและน้ำสับปะรดเข้มข้นรายใหญ่ของโลก โดยเฉลี่ยปีละ 500,000 ตัน เป็นสับปะรดกระป๋องร้อยละ 80 และน้ำสับปะรดเข้มข้นร้อยละ 20 ในปี 2549 (ม.ค.-มี.ค.) ปริมาณการส่งออกสับปะรดและผลิตภัณฑ์สับปะรดรวม 201,789 ตัน มูลค่ารวม 5,450 ล้านบาท เปรียบเทียบกับปริมาณและมูลค่าการส่งออกในช่วงเดียวกันของปี 2548 ปริมาณและมูลค่าการส่งออกเพิ่มขึ้นในอัตราร้อยละ 34.95 และ 35.24 ตามลำดับ แต่ก็ยังมีปัญหาและอุปสรรคในการผลิตคือ คุณภาพผลผลิตบางส่วนไม่ได้มาตรฐานของโรงงาน เช่น การตกค้างของสารไนเทรตเกินระดับมาตรฐาน

พืชต้องการธาตุไนโตรเจนในปริมาณสูง เพื่อการเจริญเติบโตที่รวดเร็วเพื่อให้ลำต้นใบอ่อนและมีความกรอบ ดังนั้นในการปลูกพืชพวกนี้จึงต้องใส่ปุ๋ยที่ให้ธาตุไนโตรเจนสูง ซึ่งไนโตรเจนจัดเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญและจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่ม มหธาตุ (macronutrient elements) และเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของสารประกอบในเซลล์พืชหลายชนิด เช่น คลอโรฟิลด์,บอร์ไฟลิน เป็นต้น

โดยทั่วไปไนโตรเจนมิได้เป็นอันตรายโดยตรง แต่หากถูกเปลี่ยนเป็นไนไทรต์ และเข้าสู่ร่างกายของสิ่งมีชีวิตในปริมาณมากพอก็จะก่อให้เกิดโทษได้ ไนไทรต์เป็นสารพิษที่มีผลโดยตรงต่อร่างกายมนุษย์ และอีกเหตุผลหนึ่งคือไนเทรตที่เติมลงไปจะถูกเปลี่ยนเป็นไนไทรต์โดยแบคทีเรียที่มีอยู่ในสภาพแวดล้อมทั่วไป

ไนเทรตและไนไทรต์เป็นสารที่ก่อให้เกิดอันตรายและเป็นพิษต่อร่างกายถึงชีวิตได้ ถ้าได้รับในปริมาณมาก คือ ไนไทรต์สามารถไปออกซิไดซ์ฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง ทำให้เม็ดเลือดแดงหมดสภาพในการลำเลียงออกซิเจนได้อีก และช่วยก่อให้เกิดสารไนโทรซามีน (nitrosamine) ซึ่งเป็นสารก่อให้เกิดมะเร็ง (carcinogen) โดยปริมาณของโซเดียมไนเทรต (หรือโพแทสเซียมไนเทรต) และโซเดียมไนไทรต์ (หรือโพแทสเซียมไนไทรต์) ที่คณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข อนุญาตให้ใช้ได้ไม่เกิน 500 mg/kg และ 200 mg/kg ตามลำดับ จากความเป็นพิษของสารประกอบไนเทรตและไนไทรต์และความนิยมของการบริโภคผลิตภัณฑ์สับปะรดกระป๋อง จึงทำให้คณะผู้วิจัยได้เห็นความสำคัญของการศึกษาการตรวจวัดปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ในผลิตภัณฑ์สับปะรดกระป๋องด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี ซึ่งเทคนิควิธีสามารถวิเคราะห์ทั้งไนเทรตและไนไทรต์ได้พร้อมกัน

ทำได้ง่ายสะดวก รวดเร็วและให้ผลที่น่าเชื่อถือได้ ในงานวิจัยนี้คณะผู้วิจัยจะศึกษาเฉพาะการเตรียมชุดตรวจสอบไนเทรตและไนไทรต์

1.2 วัตถุประสงค์

1.เพื่อเตรียมชุดทดสอบที่สามารถตรวจวัดปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ได้อย่างง่ายสะดวกและให้ผลในเวลาอันรวดเร็ว

2. เพื่อให้ได้ชุดทดสอบปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ที่มีประสิทธิภาพและใช้งานได้จริง

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1. สืบค้นแหล่งข้อมูลที่เกี่ยวข้อง
2. เตรียมอุปกรณ์สารเคมี และเขียนแผนการทดลอง
3. เตรียมสารละลาย
4. เตรียมแผ่นสีมาตรฐานไนเทรตและไนไทรต์ในการตรวจวัด
5. เตรียมกราฟมาตรฐาน
6. เตรียมสารละลายตัวอย่างจากผลิตภัณฑ์สับปะรดกระป๋องยี่ห้อต่าง ๆ
7. ตรวจวัดปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ในสารละลายตัวอย่างด้วย
8. ประเมินผลด้วยวิธีทางสถิติ
9. สรุปผลและเขียนรายงาน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ชุดทดสอบปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ที่ใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพให้ผลที่มีความเที่ยงและความแม่น

2. ทราบปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ในผลิตภัณฑ์สับปะรดกระป๋อง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการเลือกบริโภค

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสะสมไนเทรตในพืช

สับปะรดเป็นพืชที่ต้องการปุ๋ยในปริมาณสูงเพื่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตตอบแทน ในระหว่างการเจริญเติบโตนั้นเราควรให้ปุ๋ยแก่สับปะรดเป็นระยะเพื่อมิให้ต้นสับปะรดชะงักการเจริญเติบโตและแกร็น ธาตุอาหารที่จำเป็นที่สุดเป็นอันดับแรกสำหรับสับปะรดก็คือไนโตรเจน ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตและผลิตผล

การสะสมไนเทรตในพืชเกี่ยวข้องกับหลายปัจจัย การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมากๆ ไม่ใช่ปัจจัยเดียวที่ทำให้ปริมาณไนไทรต์ในพืชสูงขึ้นแต่มีปัจจัยอื่นๆร่วมด้วย เช่น

1. แสง มีอิทธิพลต่อ nitrate reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่แปรสภาพไนเทรตให้เป็นไนไทรต์ได้แม้ในที่มีดไนเทรตก็กระตุ้นให้เอนไซม์ทำงานได้ แต่กิจกรรมที่เกิดขึ้นจะไม่สูงเท่าเมื่อมีแสงสว่างเพียงพอ กล่าวกันว่าแสงมีอิทธิพลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ทางอ้อม คือ ช่วยให้ไนเทรตซึมผ่านเซลล์เมมเบรนเข้าไปสู่บริเวณที่มีเอนไซม์ได้สะดวก nitrate reductase มีทั้งในรากและในใบพืช และจากการศึกษาพบว่าเมื่อลดความเข้มข้นของแสงที่ผิวใบลง กิจกรรมของเอนไซม์นี้จะลดลงอย่างมากพืชจึงสะสมไนเทรตมากขึ้นหากได้รับแสงสว่างน้อยลง

2. อุณหภูมิ มีอิทธิพลต่อการดูด การเคลื่อนย้ายและการใช้ไนเทรตของพืชแต่การเพิ่มหรือลดอุณหภูมิระดับหนึ่งจะมีผลต่อกระบวนการเหล่านี้ไม่เท่ากัน สำหรับพืชที่เจริญเติบโตโดยธรรม ชาติจะพบว่าในเวลาเที่ยงวันอุณหภูมิของยอดจะสูงกว่าราก ทำให้ยอดมีการสะสมของไนเทรตน้อยกว่าที่ราก ส่วนในเวลากลางคืนอุณหภูมิของรากจะสูงกว่ายอดเนื่องจากดินยังมีความอุ่นอยู่ ดังนั้นสรุปได้ว่าอุณหภูมิต่ำจะทำให้มีการสะสมของไนไทรต์สูงกว่าไนเทรต

3. ความชื้นของดินและความชุ่มชื้นของอากาศ พืชอาหารสัตว์ที่กระทบแล้งหรือดินมีความชื้นต่ำมักสะสมไนเทรตไว้มากกว่าปกติ เวลาที่อากาศแล้งจะมีการเคลื่อนย้ายของเกลือต่างๆ รวมทั้งไนเทรตจากดินล่างขึ้นมากับน้ำซับมาสะสมบนดิน ความชุ่มชื้นของอากาศก็มีอิทธิพลต่อการสะสมไนเทรตเช่นเดียวกัน เมื่ออากาศมีความชื้นสัมพันธ์สูงพืชจะสะสมไนเทรตได้มาก

4. ธาตุอาหารที่พืชได้รับ โดยเฉพาะไนโตรเจน รูปของไนโตรเจนในดินมีอยู่ในรูปของสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์สำหรับในรูปของสารอินทรีย์จะอยู่ในรูปของ molecular nitrogen ในอากาศและในดินแต่ไนโตรเจนในรูปนี้ไม่เป็นประโยชน์แก่พืชยกเว้นพืชตระกูลถั่วในรูปของ
สารประกอบอนินทรีย์ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของไนเทรต (NO_3^-) ไนไทรต์ (NO_2^-) แอมโมเนียม (NH_4^+) ไนตริก และไนตรัสออกไซด์ (N_2O) ซึ่งไนโตรเจนในรูปของไนเทรตและแอมโมเนียมจะมีอยู่มากที่สุด

ในดินที่มีการระบายอากาศ มีความชื้น อุณหภูมิและสภาพแวดล้อมอื่นๆ เหมาะสม แอมโมเนียม (NH_4^+) จะถูกจุลินทรีย์บางพวกเปลี่ยนให้เป็นไนไทรต์ (NO_2^-) และไนเทรต (NO_3^-) ตามลำดับ โดยกระบวนการที่เรียกว่า ไนตริฟิเคชัน (nitrification) เกิดจากการกระทำของจุลินทรีย์สองกลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. Chemoautotrophic microorganisms จุลินทรีย์พวกนี้ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียจากแบคทีเรียจำนวน 7 genus มีเพียง 2 genus เท่านั้นที่มักพบในดินโดยทั่วไป คือ Nitrosomonus เป็นแบคทีเรียที่สามารถเพิ่มออกซิเจนให้แก่แอมโมเนียมเป็นไนไทรต์ ส่วน Nitrobactor เป็นแบคทีเรียที่เพิ่มออกซิเจนแก่ไนไทรต์เป็นไนเทรต

2. Heterotrophic microorganisms จุลินทรีย์พวกนี้จะได้รับพลังงานจากการเพิ่มออกซิเจนให้กับอินทรียสารแต่ไม่ได้พลังงานจากแอมโมเนียมและสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน ผลที่ได้จากกระบวนการคือ ไนไทรต์

วัฏจักรของไนโตรเจน

ไนโตรเจนในดินมีการเปลี่ยนรูปอยู่เสมอ จากสารอนินทรีย์เป็นสารอินทรีย์หรืออยู่ในรูปก๊าซและมีการเปลี่ยนแปลงไปมาระหว่างสารต่างๆ เหล่านี้ตลอดเวลา โดยมีจุลินทรีย์บางชนิดเข้ามาเกี่ยวข้องในกระบวนการเปลี่ยนรูปนั้นๆ ก๊าซไนโตรเจนในบรรยากาศจะรวมกับไฮโดรเจนโดยกระบวนการตรึงไนโตรเจน ซึ่งจะเกิดโดยกรรมวิธีทางโรงงานอุตสาหกรรม หรือโดยการตรึงของจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนได้เปลี่ยนเป็นสารประกอบไนโตรเจน ซึ่งพืชนำไปใช้ในการสร้างเซลล์และการเจริญเติบโต เมื่อสัตว์กินพืชก็จะได้รับสารประกอบไนโตรเจนจากพืชภายหลังที่พืชและสัตว์ตายลง เกิดการสลายตัวของซากพืชซากสัตว์พร้อมกับมีการปล่อยสารประกอบไนโตรเจนออกมาซึ่งถูกย่อยสลายไปเป็นแอมโมเนีย โดยกระบวนการแอมโมนิฟิเคชัน (Ammonification) จุลินทรีย์บางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย (NH_3) แอมโมเนียที่เกิดขึ้นเหล่านี้พืชอาจนำไปใช้หรือถูกออกซิไดส์โดยจุลินทรีย์บางชนิด ในกระบวนการ ไนทริฟิเคชั่นให้เป็นพวกไนเทรต ซึ่งไนเทรตละลายน้ำได้ดีพืชจะดูดไปใช้ในการเจริญเติบโตและเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย โดยกระบวนการรีดิวซ์ไนเทรต ซึ่งไนเทรตบางส่วนจะถูกชะล้างไป

ไหลลง สู่ดินชั้นล่างหรือแม่น้ำลำคลองซึ่งอาจถูกเปลี่ยนเป็นก๊าซไนโตรเจนหรือไนตรัสออกไซด์ กระบวนการต่างๆ ดังกล่าวเรียกว่า วัฏจักรไนโตรเจน

ไนเทรตที่พืชดูดขึ้นไปส่วนใหญ่จะนำไปใช้ในการสร้างสารประกอบอินทรีย์หลายชนิด ส่วนที่เหลือยังคงเป็นไนเทรตไอออนที่สะสมอยู่ในเซลล์พืชนั้น ถ้าสภาพแวดล้อมในดินเหมาะแก่การสะสมไนเทรต พืชจะดูดไนเทรตจากดินเข้าไปมาก และถ้าพืชมีความสามารถในการเปลี่ยนไนเทรตให้เป็นอินทรียสารได้น้อยหรือสภาพแวดล้อมไม่อำนวยก็จะมีไนเทรตสะสมอยู่ในพืชมากขึ้น

สำหรับขั้นตอนที่ไนเทรตเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย ซึ่งต่อไปจะกลายเป็นโปรตีนในพืชนั้นเกี่ยวข้องกับเอนไซม์หลายชนิด เช่น ไนเทรตรีดักเทส (Nitrate reductase) และไนไทรต์รีดักเทส (Nitrite reductase)

$$NO_3^- + 2e^- \longrightarrow NO_2^- + 6e^- \longrightarrow NH_4^+$$

ในกระบวนการดังกล่าว ถ้ากระบวนการรีดักชันของไนเทรตเร็วกว่ากระบวนการรีดักชันของไนไทรต์ จะทำให้ไนไทรต์สะสมอยู่ในพืช ซึ่งไนไทรต์จะเป็นพิษกับเซลล์ของพืชมาก ในทางตรงกันข้ามถ้ากระบวนการรีดักชันของไนเทรตเกิดช้า ทำให้ไนเทรตสะสมในพืชมากขึ้น

อิทธิพลของธาตุอื่นๆ ต่อการสะสมไนเทรตในพืช

1. การใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัส ถึงแม้พืชจะขาดฟอสฟอรัสก็ไม่มีอิทธิพลต่อการสะสมไนเทรตอย่างเด่นชัด

2. พืชที่ขาดกำมะถันกิจกรรมของไนเทรตรีดักเทส จะลดลงเนื่องจากเอนไซม์ดังกล่าวจะทำงานได้ต้องมี sulfhydryl group ดังนั้นพืชขาดกำมะถันจึงสะสมไนเทรตมากกว่าปกติ

3. แคลเซียมมีอิทธิพลต่อการดูดไนเทรตของรากพืชและอาจมีผลกระทบต่อกระบวนการรีดิวซ์ไนเทรตด้วย

4. โมลิบดินัมเป็นธาตุที่จำเป็นต่อการทำงานของไนเทรตรีดักเทส พืชที่ขาดโมลิบดินัมอาจสะสมไนเทรตถึง 3% ของน้ำหนักแห้ง

5. คลอไรด์จัดเป็นอิออนประจุลบที่เป็นปฏิปักษ์ต่อการดูดไนเทรตของรากพืช หากสารละลายของดินมีคลอไรด์พอประมาณการดูดไนเทรตก็จะน้อยลง

6. แมงกานีส แม้ยังมาทราบแน่นอนถึงบทบาทต่อกระบวนการรีดิวส์ไนเทรตแต่มีรายงานว่าแมงกานีสมีความสำคัญต่อกระบวนการนี้ในข้าวสาลี

2.2 ความเป็นพิษของของไนเทรตและไนไทรต์

สารที่เป็นพิษโดยตรงต่อร่างกายคือไนไทรต์ แต่ไนเทรตก็มีโอกาสเปลี่ยนไปเป็นไนไทรต์ได้ด้วยกระบวนการรีดักชัน ทั้งก่อนการบริโภคและหลังจากที่อาหารเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารแล้ว ซึ่งไนเทรตเมื่อถูกรีดิวซ์จะได้ไนไทรต์ โดยที่ไนเทรตในสภาวะแวดล้อมทั่วๆ ไปในอาหารจะถูกเปลี่ยนแปลงเป็นไนไทรต์โดยจุลินทรีย์บางชนิด ดังสมการ

$$NO_3^- + NADPH_2 \xrightarrow[\text{in bacteria}]{\text{nitrate reductase}} NO_2^- + NADP^+ + H_2O$$

ถ้าบริโภคไนเทรตและไนไทรต์ในปริมาณที่สูงเกินกว่ากำหนด จะทำให้มีความเสี่ยงในการได้รับอันตรายจากการเป็นพิษของไนไทรต์ เพราะไนไทรต์ที่ทำให้เกิดอันตรายได้โดยตรงและโดยอ้อมต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์

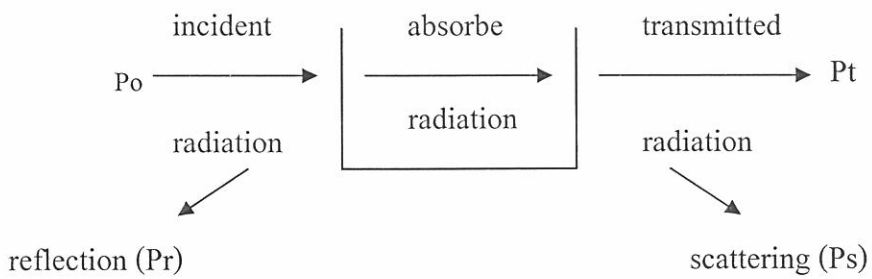
อันตรายโดยตรงเรียกว่าอาการเมทฮีโมโกลบินิเมีย (methemoglobinemia) ซึ่งจะมีอาการพิษตั้งแต่เล็กน้อย คือ ตัวเขียวเนื่องจากขาดออกซิเจน (cyanosis) และอาจถึงตายได้ในทารกที่อายุต่ำกว่า 6 เดือน โดยเฉพาะอย่างยิ่งทารกที่อายุต่ำกว่า 3 เดือน จะแสดงอาการพิษจากเมทฮีโมโกลบินิเมียที่รุนแรงกว่าเด็กโตและผู้ใหญ่ โดยที่อาการเมทฮีโมโกลบินิเมียเกิดเนื่องจากไนไทรต์จะออกซิไดซ์ (oxidise) Fe^{2+} ในโมเลกุลของฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ไปเป็น Fe^{3+} กลายเป็นเมทฮีโมโกลบิน (methemoglobin) ทำให้ไม่สามารถขนถ่ายออกซิเจนได้ตามปกติ ซึ่งถ้ารุนแรงผิวหนังของทารกจะมีสีเขียวคล้ำหรือสีเขียวน้ำเงิน จึงเรียกอาการนี้ว่า blue baby syndrome และไนไทรต์ยังเป็นสาเหตุของความผิดปกติในร่างกายอีกหลายอย่าง เช่น หัวใจเต้นเร็วกว่าปกติและหอบ เป็นต้น

อันตรายโดยอ้อมของไนเทรตและไนไทรต์ คือ การที่ไนเทรตทำปฏิกิริยาไนโทรเซชัน (nitrosation) กับสารประกอบเอมีนทุติยภูมิ (secondary amine) เอไมด์ (amide) กวานิดีน(guanidine) และยูเรีย (urea) ได้สารประกอบ N-nitroso คือ ไนโทรซามีน (nitrosamines) และไนโทรซาไมด์ (nitrosamides) ซึ่งสารทั้งสองเป็นสารก่อมะเร็งทั้งคู่ และพบว่าการเกิดสารไนโทรซามีนอาจเกิดจากไนทรัสออกไซด์ ที่เกิดจากการแตกตัวของไนเทรตและไนไทรต์ ดังนั้นการใช้ไนเทรตและไนไทรต์เติมลงในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ อาจก่อให้เกิดสารที่ทำให้เกิดมะเร็งขึ้นได้ในผู้บริโภค

2.3 ทฤษฎีและหลักการของเครื่องอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี

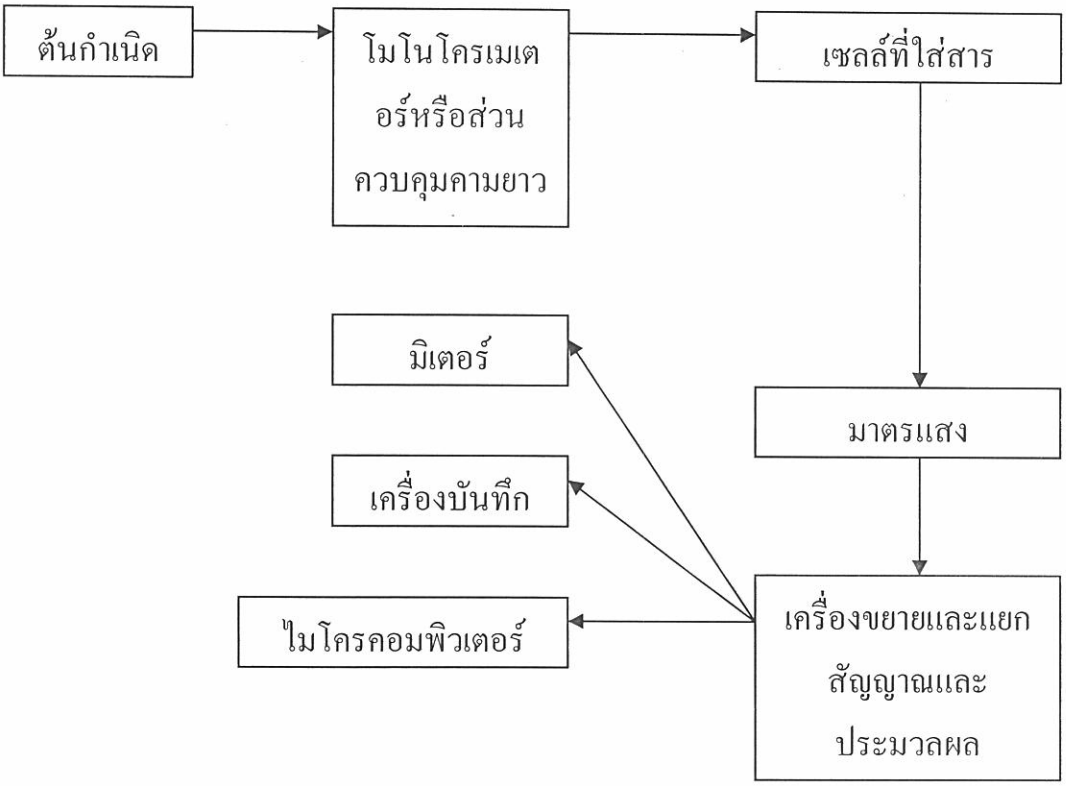
การดูดกลืนแสงหรือรังสีที่อยู่ในช่วงอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิล ซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190-800 นาโนเมตร (nm) ของสารเคมีนั้น ส่วนใหญ่ได้แก่พวกสารอินทรีย์ (organic compound) หรือสารประกอบเชิงซ้อน (complex compound) หรือสารอนินทรีย์ (inorganic compound) ทั้งที่มีสีและไม่มีสี สมบัติของสารดังกล่าวนี้ได้นำมาใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณอย่างก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

โดยทั่วไปเทคนิคการวิเคราะห์นี้บางครั้งนิยมเรียกว่า ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมทรี แต่ถ้าสารที่ทำการวิเคราะห์มีสีหรือทำให้เกิดสีขึ้น สารที่มีสีนั้นจะดูดกลืนแสงในช่วงวิสิเบิล อาจเรียกว่า คัลเลอริเมตรี (colorimetry)



รูปที่ 1 แสดงการเกิดอันตรกิริยาของสารเคมีกับการแผ่รังสีหรือแสง

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



1. แหล่งกำเนิดรังสี (light source)

ก) หลอดทังสเตน-ไอโอไดด์ ให้รังสีที่มีความยาวคลื่นตั้งแต่800-320 nmหลอดประเภทนี้มีราคาถูก

ข) หลอดดิวทีเรียม สามารถให้รังสีมีความยาวคลื่น 330-180 nm หลอดประเภทนี้มีราคาแพงมาก

2. โมโนโครเมเตอร์ (monochromator)

โมโนโครเมเตอร์เป็นชิ้นส่วนสำคัญในการกำหนดคุณภาพของสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ทำหน้าที่แยกลำรังสีที่มีความยาวคลื่นต่อเนื่องออกเป็นลำรังสีความยาวคลื่นเดียว ในช่วงแสงที่ตามองเห็นได้ออกจะใช้ปริซึมแก้ว ส่วนในช่วง UV จำเป็นต้องใช้ปริซึมที่ทำด้วยควอทซ์ สำหรับสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่มีราคาแพง มักใช้โมโนโครเมเตอร์แบบเกรดติงเลี้ยวเบน (diffraction gration) ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่มีร่องเป็นจำนวนมาก และความกว้างของร่องใกล้เคียงกับความยาวคลื่นของรังสี

3. เซลล์บรรจุสาร

สารที่นำมาวิเคราะห์โดยเครื่องยูวี สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่มีสถานะเป็นแก๊สจะมีภาชนะใส่เฉพาะส่วนสารละลายใช้บรรจุในเซลล์หนา 1 เซนติเมตร ถ้าใช้วัดในช่วงยูวีใกล้ เซลล์ต้องทำจากควอตซ์ แต่ถ้าใช้วัดในช่วงวิสิเบิลใช้เซลล์ที่ทำจากแก้วได้ เพราะแก้วดูดกลืนรังสีช่องยูวีแต่ไม่ดูดกลืนรังสีช่วงวิสิเบิล ส่วนเซลล์ที่ทำจากซิลิกาใช้กับช่วงยูวีไกล

การเตรียมสารละลายที่ใช้วัดในเครื่องยูวี สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ต้องเลือกตัวทำละลายที่มีความบริสุทธิ์ ไม่ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง และไม่ดูดกลืนรังสีในช่วงที่ตัวอย่างดูดกลืน สำหรับน้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายมีขั้วนิยมใช้กับสารอนินทรีย์แต่ไม่นิยมใช้กับสารอินทรีย์ที่นิยมใช้คือไซโคลเฮกเซน เอทานอลร้อยละ 95 ไอโซออกเทน และสารละลายที่ใช้วัดต้องมีความข้นน้อยกว่าร้อยละ 0.1

4. อุปกรณ์บันทึกสัญญาณ (recorder)

หลังจากที่ลำรังสีความยาวคลื่นเดียวผ่านสารที่ต้องการวัดการดูดกลืนแสงแล้ว รังสีนั้นจะไปตกที่อุปกรณ์รับสัญญาณซึ่งให้ข้อมูลการดูดกลืน สำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ราคาถูกข้อมูลนี้จะปรากฏออกมาในรูปการบ่ายเบนของเข็มบนหน้าปัดมิเตอร์ หรือปรากฏเป็นตัวเลขก็ได้ ในกรณีเช่นนี้ต้องบันทึกข้อมูลเหล่านี้สำหรับแต่ละความยาวคลื่นบนกระดาษกราฟ เส้นที่เชื่อมจุดต่างๆ ก็คือ สเปกตรัมนั่นเอง

สำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ราคาแพง จะมีอุปกรณ์บันทึกสัญญาณอยู่ด้วย สามารถเปลี่ยนความยาวคลื่นเองโดยอัตโนมัติ และบันทึกออกมาเป็นสเปกตรัมได้โดยตรง

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. Kazuaki Ito a and Yohichi Takayama a,b and Nobuyuki Makabea and Ryo Mitsui a and Takeshi Hirokawab (2005)

เทคนิค Ion chromatography ที่มีความรวดเร็ว และ ว่องไวสูง โดยใช้คอลัมน์ชนิด monolithic ODS ถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อหาปริมาณไนเทรต (NO_2^-) และ ไนไทรต์(NO_3^-)ในน้ำทะเล โดยใช้คอลัมน์ชนิด monolithic ODS 2 คอลัมน์(50 mm × 4.6 mm i.d. + 100 mm × 4.6 mm i.d.)เชื่อมต่อกัน ที่เคลือบ และ ทำให้สมดุลด้วยสารละลายเอเควียส 5 mM cetyltrimethylammonium chloride(CTAC) ซึ่งประสิทธิภาพของคอลัมน์เมื่อใช้ 0.5 M Nacl เป็นเฟสเคลื่อนที่จะไม่ลดลง ทั้งๆ ที่มีการเพิ่มอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ ฉะนั้นโครมาโทแกรมที่ดีจะได้มาภายใน 3 นาที สำหรับไนเทรต และ ไนไทรต์ในน้ำทะเลเทียมที่ปราศจากการรบกวนจากไอออนที่มีอยู่ และ มีดีเทคชันลิมิตที่วัดด้วยระบบยูวีดีเทคชันที่ 225 nm พบว่ามี 0.8 และ 1.6

μg/L ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมาการบรรยายถึงลักษณะเฉพาะของ monolithic CTA^+-coated ODS columns อีกด้วย ซึ่งวิธีการที่เสนอนี้สามารถนำมาใช้ได้เป็นอย่างดีในการวัดที่รวดเร็ว และ ว่องไวของไนเทรต และไนไทรต์ในตัวอย่างน้ำทะเลจริง

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

สารประกอบไนเทรตและไนไทรต์เป็นสารที่นิยมเติมลงไปในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์เพื่อที่จะป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเป็นพิษ ไนไทรต์สามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบเอมีนทุติยภูมิได้เป็นไนโทรซามีน ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งชนิดหนึ่ง ไนเทรตนั้นถึงแม้ว่าจะมีความเสถียรมากกว่าไนไทรต์ แต่ก็สามารถทำหน้าที่เป็นที่สะสมไนไทรต์ได้ ดังนั้นทั้งไนเทรตและไนไทรต์จึงต้องถูกตรวจสอบเพื่อคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ในงานวิจัยนี้วิธีที่มีความแม่นยำและว่องไวได้ถูกอธิบายไว้โดยที่ไนเทรตและไนไทรต์จะถูกสกัดออกจากตัวอย่างอาหาร จากนั้นก็ทำการวิเคราะห์โดยไอออนโครมาโทรกราฟ ตัวอย่างแฮมและซาลามีที่วางขายตามท้องตลาดถูกวิเคราะห์ด้วยไอออนโครมาโทรกราฟีโดยการตรวจวัดการดูดกลืนรังสี UV ซึ่งการดูดกลืนรังสี UV ซึ่งการดูดกลืนรังสี UV นี้จะเฉพาะเจาะจงสำหรับไนเทรตและไนไทรต์โดยที่สารรบกวนจากไอออนอื่น ๆ นั้นจะไม่ปรากฏที่ความเข้มสูง ๆ %Recoveries ของไนเทรตและไนไทรต์นั้นมีค่ามากกว่า 90% วิธีนี้ให้ผลการวิเคราะห์เป็นเส้นตรง ($r^2 > 0.999$) ในช่วงการวิเคราะห์ และ detection limit ของไนเทรตและไนไทรต์ คือ 50 μg/l และ 30 μg/l ตามลำดับ

3. Philip A. Marshall and V. Crige Trenerry (1999)

Capillary ion electrophoresis (CIE) นั้นได้ถูกใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ที่ใช้ในอาหาร ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ คือ ชีส น้ำซุปกะหล่ำปลี น้ำผลไม้ น้ำเปล่าและผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์หลากหลายชนิด ในการทดลองนี้ใช้ fused silica capillary column ที่มีขนาด 75 cm. 75 μm กับ OFM Anion-BT/sodium chloride electrolyte ปริมาณกระแสไฟฟ้าที่ใช้ คือ 20 kV อุณหภูมิ 28°C และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 210 nm ปริมาณไนเทรตที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์นั้นมาจากสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิต ในการทดลองตอนแรกนั้นใช้ไอโอไดด์และทังสเตนเป็นสารอ้างอิงภายในแต่ก็ต้องเปลี่ยนมาใช้ไทโอไซยาเนตเนื่องมาจากความสามารถการแยกที่ไม่ดีของคลอไรด์และไอโอไดด์ รูปร่างพีกที่ไม่ดีและพื้นที่พีกที่ไม่สอดคล้องกันของทังสเตน เมื่อใช้ไทโอไซยาเนตเป็นสารอ้างอิงภายใน แล้วจะได้ค่าคืนกลับของไนเทรตและไนไทรต์ที่ดี จากข้อมูลที่ได้รับนี้ชี้ให้เห็นว่าวิธีนี้เหมาะสมในการหาปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ในผลิตภัณฑ์อาหารที่หลากหลาย

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมี เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1.1 สารเคมี

1) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) เกรดวิเคราะห์ บริษัทCarlo Erba

2) กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba

3) กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid; H_2SO_4) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba

4) โซเดียมไนเทรต (Sodium nitrate; $NaNO_3$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba

5) โซเดียมไนไทรต์ (Sodium nitrite; $NaNO_2$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba

6) กรดซาลิไซลิก(Salicylic acid;$C_6H_4(OH)(COOH)$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba

7) ซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide; $C_6H_8N_2O_2S$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท Carlo Erba

8)แนฟทิลเอทิลีนไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์(N-1-Napthylethylenediaminedihydrochloride ; $C_{10}H_7NH_2CH_2CH_2NH_3Cl_2$) เกรดวิเคราะห์ บริษัท A.C.S.Xenon Limited Partnership

9) น้ำกลั่น

10) สับปะรดกระป๋องตัวอย่าง 4 ตัวอย่าง

- 10.1) สับปะรดกระป๋องยี่ห้อบรูท
- 10.2) สับปะรดกระป๋องยี่ห้อมาลี
- 10.3) สับปะรดสอดไส้เงาะกระป๋องยี่ห้อมาลี
- 10.4) สับปะรดสอดไส้เงาะกระป๋องยี่ห้อยูเอฟซี

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1) เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) รุ่น 6405 บริษัท Jenway พร้อมเซลล์

2) เตาให้ความร้อน (hot plate)

3) เครื่องอังไอน้ำ (water bath)

3) กระดาษกรอง filter paper "Whatman" No 42

4) เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometre)

5) เครื่องหมุนเหวี่ยงตะกอน

6) เครื่องปั่นผลไม้

7) เครื่องแก้ว

3.2 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การเตรียมสารละลาย

1) NED reagent : ละลาย N-1-naphthyl ethylene diamine dihydrochloride 0.3 กรัม ใน 0.12 N HCl 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา

2) รีเอเจนต์ซัลฟานิลาไมด์ : ละลายซัลฟานิลาไมด์ 0.5 กรัม ใน 2.4 N HCl 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา

3) กรดซาลิไซลิก : ละลายกรดซาลิไซลิก 5 กรัม ใน H_2SO_4 เข้มข้น จำนวน 95 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา

4) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 4 M : ละลาย NaOH 160 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

5) สารละลายมาตรฐานไนเทรต ($NaNO_3$)

5.1) stock solution : ละลาย $NaNO_3$ ที่ผ่านการอบเพื่อไล่ความชื้นแล้ว จำนวน 1 กรัมด้วยน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร จะได้ stock solution $NaNO_3$ เข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

5.2) intermediate solution : ปิเปต stock solution จำนวน 250 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนครบ 500 มิลลิลิตร จะได้ intermediate solution เข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

5.3) working solution : ปิเปต intermediate solution จำนวน 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 และ 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ขวดละความเข้มข้นปรับปริมาตรแต่ละขวดด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร จะได้ working solution เข้มข้น 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225 และ 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

6) สารละลายมาตรฐานไนไทรต์ ($NaNO_2$)

6.1) stock solution : ละลาย $NaNO_2$ ที่ผ่านการอบเพื่อไล่ความชื้นแล้ว จำนวน 1 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร จะได้ stock solution $NaNO_2$ เข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

6.2) intermediate solution : ปิเปต stock solution จำนวน 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร จะได้ intermediate solution เข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

6.3) working solution : ปิเปต intermediate solution จำนวน 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8 และ 0.9 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ขวดละความเข้มข้น ปรับปริมาตรแต่ละขวดด้วยน้ำกลั่นจนครบ 50 มิลลิลิตร จะได้ working solution เข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8 และ 0.9 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3.2.2 การเตรียมตัวอย่าง

3.2.2.1 การสกัดแยกไนเทรตและไนไทรต์จากเนื้อสับปะรด

นำตัวอย่างเนื้อสับปะรดกระป๋องปั่นให้ละเอียด แล้วสุ่มตักน้ำมาชั่งให้ได้ 10 กรัม แล้วนำไปปั่นในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรจนละเอียดด้วยเครื่องปั่นแล้วเทใส่บีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นอีก 150 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ นำไปตั้งบนเครื่องอังไอน้ำที่อุณหภูมิ80° C พร้อมทั้งคนด้วยแท่งแก้วเป็นระยะๆ ต้มบนเครื่องอังไอน้ำนาน 2 ชั่วโมง จึงยกออกจากเครื่องอังไอน้ำแล้วคนด้วยแท่งแก้วประมาณ 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่นให้ครบ 200 มิลลิลิตร แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง whatmann No.42

3.2.2.2 การสกัดแยกไนเทรตและไนไทรต์จากน้ำในสับปะรดกระป๋อง

นำตัวอย่างน้ำเชื่อมในสับปะรดกระป๋องนำไปกรอง แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง whatmann No.42 แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 200 มิลลิลิตร ได้สารละลายใส

3.2.3 การตรวจวัดปริมาณไนเทรตด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี

3.2.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐานของไนเทรต

1) ปิเปต working standard solution $NaNO_3$ เข้มข้น 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225 และ 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร อย่างละ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองหลอดละความเข้มข้น

2) เติม 5% salicylic acid จำนวน 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงตะกอน แล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

3) เติม 4M NaOH จำนวน 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงตะกอน แล้วตั้งทิ้งไว้ 20 นาที

4) นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีที่ความยาวคลื่น 410 nm.

5) พลอตกราฟระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของไนเทรต จะได้กราฟมาตรฐานของไนเทรต

3.2.3.2 การตรวจวัดปริมาณไนเทรตในตัวอย่าง

ตรวจวิเคราะห์ไนเทรตโดยปิเปต สารละลายที่สกัดได้จากตัวอย่างสับปะรดกระป๋อง จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติม 5% salicylic acid จำนวน 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงตะกอน แล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที เติม 4M NaOH จำนวน 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงตะกอน แล้วตั้งทิ้งไว้ 20 นาที จะได้สารละลายสีเหลือง-เขียว นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 nm. แล้วหาปริมาณความเข้มข้นของไนเทรตจากกราฟมาตรฐาน

3.2.4 การตรวจวัดปริมาณไนไทรต์ด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี

3.2.4.1 การสร้างกราฟมาตรฐานของไนไทรต์

1) ปิเปต working standard solution $NaNO_2$ เข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 ,0.7, 0.8 และ 0.9 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร อย่างละ 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองหลอดละความเข้มข้น

2) เติม sulfanilamide reagent จำนวน 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงตะกอน แล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

3) เติม N-1-naphthyl ethylene diamine dihydrochloride จำนวน 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงตะกอน แล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

4) นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm. แล้วสร้างกราฟมาตรฐานจากค่าดูดกลืนแสงและค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

3.2.4.2 การตรวจวัดปริมาณไนไทรต์ในตัวอย่าง

โดยปิเปตสารละลายที่สกัดได้จากตัวอย่างสับปะรดกระป๋องจำนวน 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติม sulfanilamide reagent จำนวน 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงตะกอน แล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที เติม N-1-naphthyl ethylene diamine dihydrochloride จำนวน 2 มิลลิลิตร

เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงตะกอน แล้วตั้งทิ้งไว้ 20 นาที จะได้สารละลายสีแดงอมชมพูนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm. แล้วหาปริมาณความเข้มข้นของไนไทรต์จากกราฟมาตรฐาน

3.2.5 การเตรียมแผ่นเทียบสีมาตรฐาน

3.2.5.1 การเตรียมแผ่นเทียบสีมาตรฐานของไนเทรต

นำสารละลายสีเหลืองที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.3.1 เทใส่เซลล์พลาสติกสี่เหลี่ยม เรียงลำดับจากสีเหลืองจางไปเข้มหรือจากความเข้มข้นไนเทรตน้อยไปมาก ทำการถ่ายภาพเพื่อนำไปทำแผ่นเทียบสีมาตรฐานต่อไป

3.2.5.2 การเตรียมแผ่นเทียบสีมาตรฐานของไนไทรต์

นำสารละลายสีชมพูที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.4.1 เทใส่เซลล์พลาสติกสี่เหลี่ยม เรียงลำดับจากสีชมพูจางไปเข้มหรือจากความเข้มข้นไนไทรต์น้อยไปมาก ทำการถ่ายภาพเพื่อนำไปทำแผ่นเทียบสีมาตรฐานต่อไป

3.2.6 การตรวจวัดปริมาณไนเทรตด้วยแผ่นเทียบสีมาตรฐาน

นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.3.2 มาเปรียบเทียบสีกับแผ่นสีมาตรฐานที่ได้จากข้อ 3.2.5.1 เพื่อหาความเข้มข้นข้นของไนเทรตในตัวอย่าง

3.2.7 การตรวจวัดปริมาณไนไทรต์ด้วยแผ่นเทียบสีมาตรฐาน

นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.4.2 มาเปรียบเทียบสีกับแผ่นสีมาตรฐานที่ได้จากข้อ 3.2.5.2 เพื่อหาความเข้มข้นข้นของไนไทรต์ในตัวอย่าง

3.3 การประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจสอบไนเทรตและไนไทรต์

นำปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ในตัวอย่างแต่ละชนิดที่ตรวจวัดได้จากแผ่นเทียบสี มาเปรียบเทียบกับปริมาณไนไทรต์ที่ตรวจวัดได้จากวิธีวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี โดยใช้หลักทางสถิติ

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ศึกษาการเตรียมแผ่นเทียบสีจากสารละลายมาตรฐานไนเทรต

แผ่นเทียบสีมาตรฐานของไนเทรต เตรียมได้จากการถ่ายภาพสีของสารละลายของสารประกอบเชิงซ้อนสีเหลือง ที่เตรียมได้จากสารละลายมาตรฐานไนเทรตที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน แต่เนื่องจากสีของสารละลายที่ความเข้มข้น 50, 75 ,100 , 125 ,150 , 175 , 200 , 225 และ 250 ppm. นั้นใกล้เคียงกันมาก เราจึงตัดสีที่ความเข้มข้น 75 , 125 , 175 และ 225 ppm. ออกไป แผ่นเทียบสีที่ได้จึงมีระดับความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm.

ดังนั้นความเข้มข้นของไนเทรตที่ให้สีเหลืองของสารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถแยกความแตกต่างได้ด้วยสายตา คือ 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm. ดังแสดงในรูปที่ 4.1

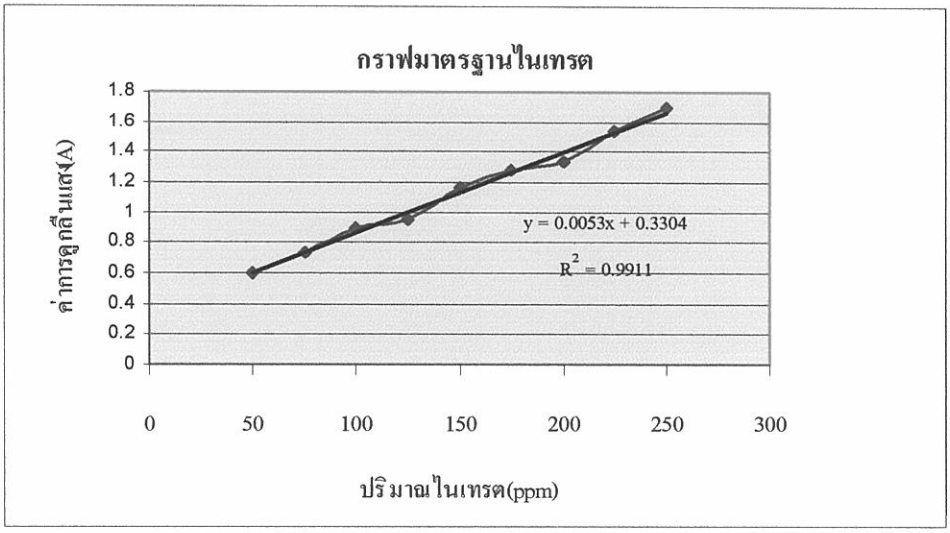
50 100 150 200 250 ppm.

รูปที่ 4.1 แผ่นเทียบสี

4.2 กราฟมาตรฐานไนเทรต

เมื่อนำสารละลายของสารประกอบเชิงซ้อนของไนเทรตที่ความเข้มข้นต่างๆไปวัดค่าดูดกลืนแสง แล้วนำไปพลอตกราฟกับความเข้มข้นของไนเทรต ได้กราฟแสดงในรูปที่ 4.2 ที่ความยาวคลื่น 410 nm ซึ่งสมการเส้นตรง คือ $y = 0.0053x + 0.3304$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9911

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

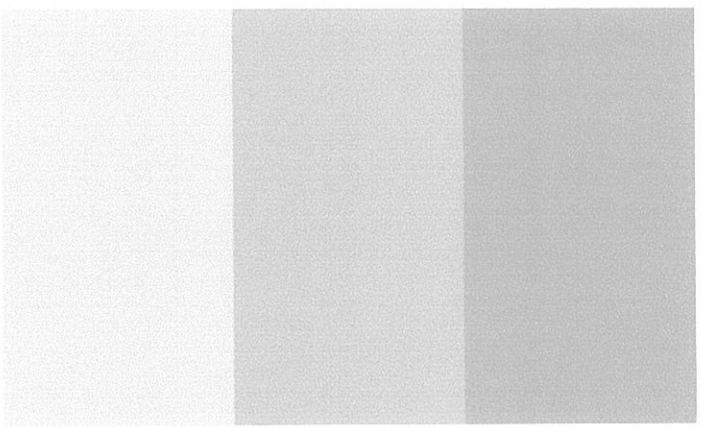


รูปที่ 4.2 กราฟมาตรฐานไนเทรต

4.3 การเตรียมแผ่นเทียบสีไนไทรต์

แผ่นเทียบสีมาตรฐานของไนไทรต์ เตรียมได้จากการถ่ายภาพสีของสารละลายของสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงอมชมพู ที่เตรียมได้จากสารละลายมาตรฐานไนไทรต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ แต่เนื่องจากสีของสารละลายที่ความเข้มข้น 0.1 , 0.3 ,0.4 , 0.5, 0.6 ,0.7 , 0.8 และ 0.9 ppm. นั้นใกล้เคียงกันมาก เราจึงตัดสีที่ความเข้มข้น 0.2 , 0.4 , 0.6 และ 0.8 ppm. ออกไป แผ่นเทียบสีที่ได้จึงมีระดับความเข้มข้น 0.1 , 0.3 , 0.5 , 0.7 และ 0.9 ppm.

ดังนั้นความเข้มข้นของไนเทรตที่ให้สีเหลืองของสารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถแยกความแตกต่างได้ด้วยสายตา คือ 0.1, 0.3 , 0.5 , 0.7 และ 0.9 ppm. ดังแสดงในรูปที่ 4.3

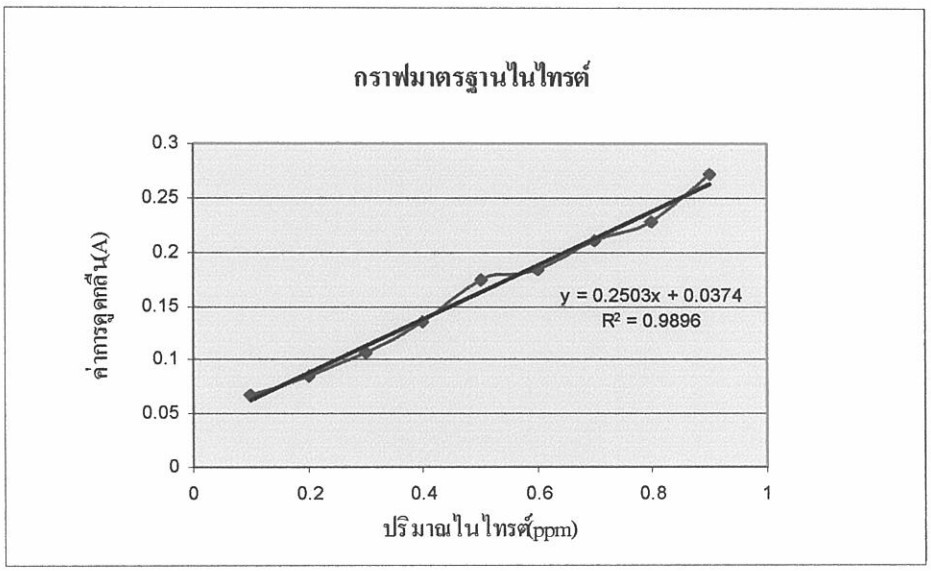


รูปที่ 4.3 แผ่นเทียบสี

107805

4.4 กราฟมาตรฐานไนไทรต์

เมื่อนำสารละลายของสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงอมชมพูของไนไทรต์ที่ความเข้มข้นต่างๆกันกับสารละลายแนฟทิลเอทิลีนไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ไปวัดค่าดูดกลืนแสง แล้วนำไปพลอตกราฟกับความเข้มข้นของไนไทรต์ ได้กราฟแสดงในรูปที่ 4.4 ที่ความยาวคลื่น 520 nm ซึ่งสมการเส้นตรง คือ $y = 0.2503x + 0.0374$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9896



รูปที่ 4.4 กราฟมาตรฐานไนไทรต์

4.5 การตรวจวัดปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ในผลิตภัณฑ์สับปะรดกระป๋อง โดยใช้แผ่นเทียบสีมาตรฐานเปรียบเทียบกับวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี

จากการตรวจวัดปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ในเนื้อสับปะรดและน้ำเชื่อมในสับปะรดกระป๋อง ด้วยวิธีใช้แผ่นเทียบสีที่เตรียมได้กับวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี ซึ่งจัดเป็นวิธีมาตรฐานได้ผลดังตารางที่ 4.1 และ 4.2 ซึ่งผลที่ได้จากการทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

ตารางที่ 4.1 ความเข้มข้นของไนเทรตและไนไทร์ตของตัวอย่างในเนื้อสับประรดกระป๋อง ด้วยวิธีเทียบแผ่นสีมาตรฐานและวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี

ยี่ห้อ	ความเข้มข้นของไนเทรต (ppm,mg/kg)		ความเข้มข้นของไนไทรต์ (ppm,mg/kg)	
	วิธีเทียบแผ่นสีมาตรฐาน	วิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี	วิธีเทียบแผ่นสีมาตรฐาน	วิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี
บรูท*	100	80.365±0.541	0.1	0.099±0.005
มาลี*	100	99.065±0.976	0.3	0.192±0.011
มาลี**	100	80.197±0.612	0.1	0.111±0.005
ยูเอฟซี**	100	97.681±0.650	0.3	0.146±0.001

ตารางที่ 4.2 ความเข้มข้นของไนเทรตและไนไทร์ตของตัวอย่างในน้ำสับประรดกระป๋อง ด้วยวิธีเทียบแผ่นสีมาตรฐานและวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี

ยี่ห้อ	ความเข้มข้นของไนเทรต (ppm,mg/kg)		ความเข้มข้นของไนไทรต์ (ppm,mg/kg)	
	วิธีเทียบแผ่นสีมาตรฐาน	วิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี	วิธีเทียบแผ่นสีมาตรฐาน	วิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี
บรูท*	200	188.855±0.337	0.1	0.118±0.004
มาลี*	250	248.017±0.771	0.3	0.223±0.002
มาลี**	250	233.342±0.953	0.3	0.161±0.004
ยูเอฟซี**	250	248.017±0.813	0.3	0.189±0.003

*แทนตัวอย่างสับประรดกระป๋อง

**แทนตัวอย่างเจาะสอดไส้สับประรดกระป๋อง

จากตารางที่ 4.1 และ 4.2 พบว่าจากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้งของทุกตัวอย่างด้วยแผ่นเทียบสีมาตรฐานที่เตรียมขึ้นให้ผลที่เหมือนกันแสดงว่าวิธีนี้มีความเที่ยงและเมื่อเปรียบเทียบวิธีมาตรฐานพบว่ามีค่าใกล้เคียงกันแสดงว่าวิธีใช้แผ่นเทียบสีมาตรฐานมีความแม่น

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

5.1 การวิเคราะห์หาปริมาณไนเทรต

งานวิจัยนี้เป็นการเตรียมแผ่นเทียบสีมาตรฐานสำหรับชุดตรวจสอบปริมาณไนเทรตในผลิตภัณฑ์สับปะรดกระป๋อง โดยการทำให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างไนเทรตที่ความเข้มข้นต่างๆ กันกับกรดซาลิไซลิกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ ได้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีเหลือง ซึ่งความเข้มของสีที่เกิดขึ้นจะแปรผันโดยตรงกับปริมาณไนเทรต แผ่นเทียบสีมาตรฐานของไนเทรตที่เตรียมขึ้นสามารถตรวจวัดปริมาณไนเทรตได้ในช่วงความเข้มข้น 0-250 ppm. สามารถประเมินประสิทธิภาพและทดสอบความใช้ได้ของวิธีการใช้แผ่นเทียบสีมาตรฐานไนเทรตทำได้โดยการตรวจวัดซ้ำในสารละลายมาตรฐานไนเทรต ตัวอย่างเนื้อสับปะรดและน้ำเชื่อมในผลิตภัณฑ์สับปะรดกระป๋องแล้วนำผลไปเปรียบกับการตรวจวัดด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี พบว่าค่าไนเทรตที่อ่านได้จากแผ่นเทียบสีในน้ำเชื่อมมีปริมาณไนเทรตเท่ากับ200, 250, 250 และ 250 ppm. สำหรับสับปะรดกระป๋องยี่ห้อบรูท,มาลีและเงาะสอดไส้สับปะรดกระป๋องยี่ห้อมาลี,ยูเอฟซี ตามลำดับ และในเนื้อสับปะรดกระป๋องมีปริมาณไนเทรตเท่ากับ 100, 100,100 และ 100 ppm. สำหรับสับปะรดกระป๋องยี่ห้อบรูท,มาลีและเงาะสอดไส้สับปะรดกระป๋องยี่ห้อมาลี,ยูเอฟซี ตามลำดับ ซึ่งค่าอยู่ในช่วงเดียวกันกับการวัดค่าไนเทรตด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีคือในน้ำเชื่อมมีปริมาณไนเทรตเท่ากับ 188.855±0.337, 248.071±0.771, 233.342±0.953 และ 248.017±0.813 ppm. สำหรับสับปะรดกระป๋องยี่ห้อบรูท,มาลีและเงาะสอดไส้สับปะรดกระป๋องยี่ห้อมาลี,ยูเอฟซี ตามลำดับ และในเนื้อสับปะรดกระป๋องมีปริมาณไนเทรตเท่ากับ 80.365±0.541, 99.085±0.976, 80.197±0.612 และ 97.681±0.650 ppm. สำหรับสับปะรดกระป๋องยี่ห้อบรูท, มาลีและเงาะสอดไส้สับปะรดกระป๋องยี่ห้อมาลี, ยูเอฟซี ตามลำดับ แสดงว่าวิธีใช้แผ่นเทียบสีมาตรฐานมีประสิทธิภาพดีคือให้ผลวิเคราะห์ที่มีความน่าเชื่อถือ จากการวิเคราะห์พบว่าในน้ำเชื่อมมีปริมาณไนเทรตมากกว่าในเนื้อสับปะรด

5.2 การวิเคราะห์หาปริมาณไนไทรต์

การเตรียมแผ่นเทียบสีมาตรฐานสำหรับชุดตรวจสอบปริมาณไนไทร์ตในผลิตภัณฑ์สับปะรดกระป๋อง โดยการทำให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างไนไทรต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กันกับแนฟทิลเอทิลีนไดอะมีนไดไฮโดรคลอไรด์ ได้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีแดงอมชมพู ซึ่งความเข้มของสีที่เกิดขึ้นจะแปรผันโดยตรงกับปริมาณไนไทรต์ แผ่นเทียบสีมาตรฐานของไนไทรต์ที่เตรียมขึ้นสามารถตรวจวัดปริมาณไนไทรต์ได้ในช่วงความเข้มข้น 0-0.9 ppm. สามารถประเมินประสิทธิภาพและทดสอบความใช้ได้ของวิธีการใช้แผ่นเทียบสีมาตรฐานไนไทรต์ ทำได้โดยการตรวจวัดซ้ำในสารละลายมาตรฐานไนไทรต์ ตัวอย่างเนื้อสับปะรดและน้ำเชื่อมในผลิตภัณฑ์สับปะรดกระป๋องแล้วนำผลไปเปรียบกับการตรวจวัดด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี พบว่าค่าไนไทรต์ที่อ่านได้จากแผ่นเทียบสีในน้ำเชื่อมมีปริมาณไนไทรต์เท่ากับ 0.1, 0.3, 0.3 และ 0.3 ppm. สำหรับสับประรดกระป๋องยี่ห้อบรูท,มาลีและเงาะสอดไส้สับปะรดกระป๋องยี่ห้อมาลี,ยูเอฟซี ตามลำดับ และในเนื้อสับประรดกระป๋องมีปริมาณไนไทรต์เท่ากับ 0.1, 0.3, 0.1 และ 0.3 ppm. สำหรับสับประรดกระป๋องยี่ห้อบรูท,มาลีและเงาะสอดไส้สับปะรดกระป๋องยี่ห้อมาลี,ยูเอฟซี ตามลำดับ ซึ่งค่าอยู่ในช่วงเดียวกันกับการวัดค่าไนไทรต์ด้วยวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรีคือในน้ำเชื่อมมีปริมาณไนไทรต์เท่ากับ 0.118±0.004, 0.223±0.002, 0.161±0.004 และ 0.189±0.003 ppm. สำหรับสับประรดกระป๋องยี่ห้อบรูท, มาลีและเงาะสอดไส้สับปะรดกระป๋องยี่ห้อมาลี,ยูเอฟซี ตามลำดับ และในเนื้อสับประรดกระป๋องมีปริมาณไนไทรต์เท่ากับ 0.099±0.005, 0.192±0.011, 0.111±0.005 และ 0.146±0.001 ppm. สำหรับสับประรดกระป๋องยี่ห้อบรูท, มาลีและเงาะสอดไส้สับปะรดกระป๋องยี่ห้อมาลี, ยูเอฟซี ตามลำดับ แสดงว่าวิธีใช้แผ่นเทียบสีมาตรฐานมีประสิทธิภาพดีคือ ให้ผลวิเคราะห์ที่มีความน่าเชื่อถือ จากการวิเคราะห์พบว่าในน้ำเชื่อมมีปริมาณไนไทรต์มากกว่าในเนื้อสับปะรด

5.3 ปัญหาและข้อเสนอแนะ

1.ควรเก็บสารละลายที่สกัดได้ไว้ในอุณหภูมิต่ำเพื่อป้องกันเชื้อราและแบคทีเรีย

2.เครื่องแก้วที่ใช้ต้องล้างด้วยน้ำกลั่นทุกครั้งและอบให้แห้ง เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากสารอื่น

3.สีของสารละลายมาตรฐานไนเทรตและไนไทรต์ จะเสถียรหลังจากเกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 15 นาที-2ชั่วโมง เราจึงควรทำการวัดค่าดูดกลืนแสงทันที หลังจากเตรียมสารละลายเสร็จ

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

1.ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน

1.1 ตารางค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไนเทรต

หลอดที่	ความเข้มข้นของไนเทรต (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย	ค่า SD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
1	50	0.603	0.592	0.590	0.595	0.006
2	75	0.728	0.733	0.744	0.735	0.007
3	100	0.904	0.895	0.898	0.899	0.004
4	125	0.953	0.956	0.956	0.955	0.001
5	150	1.159	1.163	1.161	1.161	0.002
6	175	1.270	1.268	1.293	1.277	0.011
7	200	1.296	1.330	1.373	1.333	0.032
8	225	1.542	1.537	1.535	1.538	0.003
9	250	1.698	1.703	1.707	1.703	0.004

1.2 ตารางค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไนไทรต์

หลอดที่	ความเข้มข้นของไนเทรต (ppm)	ค่าการดูดกลืนแสง			ค่าเฉลี่ย	ค่า SD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
1	0.1	0.058	0.069	0.074	0.067	0.007
2	0.2	0.082	0.089	0.084	0.085	0.003
3	0.3	0.101	0.108	0.112	0.107	0.005
4	0.4	0.140	0.131	0.134	0.135	0.004
5	0.5	0.172	0.177	0.175	0.175	0.002
6	0.6	0.180	0.190	0.182	0.184	0.004
7	0.7	0.207	0.218	0.208	0.211	0.005
8	0.8	0.226	0.239	0.219	0.228	0.008
9	0.9	0.266	0.279	0.268	0.271	0.006

ภาคผนวก ข

2.ตารางค่าการดูดกลืนแสงในสารละลายตัวอย่าง

2.1 ค่าการดูดกลืนแสงในการหาปริมาณไนเทรต

ตัวอย่างในเนื้อสับประรดกระป๋อง

ยี่ห้อ	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง			เฉลี่ย	ค่า SD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
บรูท*	1	0.757	0.755	0.756	0.756	0.0008
	2	0.76	0.759	0.761	0.760	0.0008
	3	0.753	0.752	0.754	0.753	0.0008
มาลี*	1	0.998	0.99	0.989	0.992	0.0040
	2	0.975	0.979	0.978	0.977	0.0017
	3	0.981	0.982	0.981	0.981	0.0005
มาลี**	1	0.76	0.761	0.765	0.762	0.0022
	2	0.755	0.758	0.757	0.757	0.0012
	3	0.749	0.751	0.753	0.751	0.0016
ยูเอฟซี**	1	0.855	0.854	0.857	0.855	0.0012
	2	0.844	0.846	0.843	0.844	0.0012
	3	0.849	0.847	0.846	0.847	0.0012

ตัวอย่างในน้ำเชื่อมสับประรดกระป๋อง

ยี่ห้อ	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง			เฉลี่ย	ค่า SD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
บรูท*	1	1.334	1.333	1.334	1.334	0.0005
	2	1.332	1.33	1.331	1.331	0.0008
	3	1.329	1.328	1.331	1.329	0.0012
มาลี*	1	1.65	1.649	1.651	1.650	0.0008
	2	1.649	1.641	1.644	1.645	0.0033
	3	1.639	1.638	1.643	1.640	0.0022
มาลี**	1	1.565	1.57	1.568	1.568	0.0021
	2	1.571	1.573	1.575	1.573	0.0016
	3	1.553	1.556	1.557	1.555	0.0017
ยูเอฟซี**	1	1.645	1.644	1.642	1.644	0.0012
	2	1.638	1.637	1.637	1.637	0.0005
	3	1.655	1.649	1.651	1.652	0.0025

2.2 ค่าการดูดกลืนแสงในการหาปริมาณไนไทรต์

ตัวอย่างในเนื้อสับประรดกระป๋อง

ยี่ห้อ	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง			เฉลี่ย	ค่า SD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
บรูท*	1	0.063	0.063	0.062	0.063	0.0005
	2	0.065	0.065	0.064	0.065	0.0005
	3	0.061	0.059	0.060	0.060	0.0008
มาลี*	1	0.087	0.086	0.086	0.086	0.0005
	2	0.081	0.079	0.080	0.080	0.0008
	3	0.089	0.088	0.088	0.088	0.0005
มาลี**	1	0.065	0.066	0.066	0.066	0.0005
	2	0.062	0.063	0.065	0.063	0.0012
	3	0.070	0.064	0.065	0.066	0.0026
ยูเอฟซี**	1	0.073	0.074	0.073	0.073	0.0005
	2	0.076	0.075	0.075	0.075	0.0005
	3	0.072	0.073	0.072	0.072	0.0005

ตัวอย่างในน้ำเชื่อมสับประรดกระป๋อง

ยี่ห้อ	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง			เฉลี่ย	ค่า SD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3		
บรูท*	1	0.066	0.067	0.069	0.067	0.0012
	2	0.065	0.066	0.066	0.066	0.0005
	3	0.068	0.067	0.068	0.068	0.0005
มาลี*	1	0.093	0.094	0.093	0.093	0.0005
	2	0.092	0.092	0.093	0.092	0.0005
	3	0.093	0.094	0.094	0.094	0.0005
มาลี**	1	0.080	0.079	0.078	0.079	0.0008
	2	0.075	0.076	0.075	0.075	0.0005
	3	0.080	0.081	0.081	0.081	0.0005
ยูเอฟซี**	1	0.086	0.085	0.086	0.086	0.0005
	2	0.084	0.085	0.085	0.085	0.0005
	3	0.084	0.083	0.084	0.084	0.0005

2.3 ปริมาณไนเทรตในตัวอย่างสับปะรดกระป๋องด้วยการเทียบกราฟมาตรฐาน

ชนิด	บรูท*(ppm)	มาลี*(ppm)	มาลี**(ppm)	ยูเอฟซี**(ppm)
เนื้อ	80.3019	100.3019	80.8049	98.5409
	81.0566	98.9811	80.4277	96.9686
	79.7359	97.9119	79.3585	97.5346
เฉลี่ย	80.3648	99.0650	80.1970	97.6814
SD	0.5411	0.9775	0.6126	0.6502
%RSD	0.6732	0.9867	0.7639	0.6657
น้ำ	189.2956	248.9811	233.4465	247.7862
	188.7925	247.9748	234.4528	247.1572
	188.4780	247.0943	232.1258	249.1069
เฉลี่ย	188.8554	248.0167	233.3417	248.0168
SD	0.3367	0.7709	0.9529	0.8125
%RSD	0.1783	0.3108	0.4084	0.3276

2.4 ปริมาณไนไทร์ตในตัวอย่างสับปะรดกระป๋องด้วยการเทียบกราฟมาตรฐาน

ชนิด	บรูท*(ppm)	มาลี*(ppm)	มาลี**(ppm)	ยูเอฟซี**(ppm)
เนื้อ	0.1049	0.1982	0.1129	0.1462
	0.0996	0.1766	0.1036	0.1476
	0.0930	0.2008	0.1156	0.1449
เฉลี่ย	0.0992	0.1919	0.1107	0.1462
SD	0.0049	0.0108	0.0051	0.0011
%RSD	4.9087	5.6535	4.6432	0.7539
น้ำ	0.1196	0.2234	0.1582	0.1928
	0.1129	0.2195	0.1595	0.1875
	0.1209	0.2248	0.1662	0.1875
เฉลี่ย	0.1178	0.2226	0.1613	0.1893
SD	0.0035	0.0022	0.0035	0.0025
%RSD	2.9756	1.0076	2.1731	1.3201

*แทนตัวอย่างสับประรดกระป๋อง

**แทนตัวอย่างเจาะสอดไส้สับประรดกระป๋อง

วิธีการคำนวณ

การหาความเที่ยงจากสูตร

หาได้จากสูตร

$$\%RSD = \frac{SDx100}{\overline{X}}$$

โดยที่ SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$\overline{X}$ = ค่าเฉลี่ย

2.5 ตารางตรวจวัดปริมาณไนเทรตในสารละลายตัวอย่างด้วยแผ่นเทียบสี

ตัวอย่างในเนื้อสับประรดกระป๋อง

ยี่ห้อ	หลอดที่	สีของสารละลาย	ช่วงความเข้มเข้ม (ppm)
บรูท*	1	สีเหลืองอ่อน	100
	2	สีเหลืองอ่อน	100
	3	สีเหลืองอ่อน	100
มาลี*	1	สีเหลืองอ่อน	150
	2	สีเหลืองอ่อน	150
	3	สีเหลืองอ่อน	150
มาลี**	1	สีเหลืองอ่อน	100
	2	สีเหลืองอ่อน	100
	3	สีเหลืองอ่อน	100
ยูเอฟซี**	1	สีเหลืองอ่อน	100
	2	สีเหลืองอ่อน	100
	3	สีเหลืองอ่อน	100

ตัวอย่างในน้ำเชื่อมสับประรดกระป๋อง

ยี่ห้อ	หลอดที่	สีของสารละลาย	ช่วงความเข้มเข้ม (ppm)
บรูท*	1	สีเหลืองเข้ม	200
	2	สีเหลืองเข้ม	200
	3	สีเหลืองเข้ม	200
มาลี*	1	สีเหลืองเข้ม	250
	2	สีเหลืองเข้ม	250
	3	สีเหลืองเข้ม	250
มาลี**	1	สีเหลืองเข้ม	250
	2	สีเหลืองเข้ม	250
	3	สีเหลืองเข้ม	250
ยูเอฟซี**	1	สีเหลืองเข้ม	250
	2	สีเหลืองเข้ม	250
	3	สีเหลืองเข้ม	250

2.6 ตารางตรวจวัดปริมาณไนไทร์ตในสารละลายตัวอย่างด้วยแผ่นเทียบสี

ตัวอย่างในเนื้อสับประรดกระป๋อง

ยี่ห้อ	หลอดที่	สีของสารละลาย	ช่วงความเข้มเข้ม (ppm)
บรูท*	1	สีชมพูอ่อน	0.1
	2	สีชมพูอ่อน	0.1
	3	สีชมพูอ่อน	0.1
มาลี*	1	สีชมพูอ่อน	0.3
	2	สีชมพูอ่อน	0.3
	3	สีชมพูอ่อน	0.3
มาลี**	1	สีชมพูอ่อน	0.3
	2	สีชมพูอ่อน	0.3
	3	สีชมพูอ่อน	0.3
ยูเอฟซี**	1	สีชมพูอ่อน	0.3
	2	สีชมพูอ่อน	0.3
	3	สีชมพูอ่อน	0.3

ตัวอย่างในน้ำเชื่อมสับประรดกระป๋อง

ยี่ห้อ	หลอดที่	สีของสารละลาย	ช่วงความเข้มเข้ม (ppm)
บรูท*	1	สีชมพูอ่อน	0.1
	2	สีชมพูอ่อน	0.1
	3	สีชมพูอ่อน	0.1
มาลี*	1	สีชมพูอ่อน	0.3
	2	สีชมพูอ่อน	0.3
	3	สีชมพูอ่อน	0.3
มาลี**	1	สีชมพูอ่อน	0.3
	2	สีชมพูอ่อน	0.3
	3	สีชมพูอ่อน	0.3
ยูเอฟซี**	1	สีชมพูอ่อน	0.3
	2	สีชมพูอ่อน	0.3
	3	สีชมพูอ่อน	0.3

บรรณานุกรม

กริชเพชร แสนบุญเวช. (2549). ผลของวัสดุคลุมดินต่อผลผลิต ปริมาณไนเทรตและไนไทรต์ในหน่อไม้ฝรั่งพันธ์อพอลโล. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จารุพันธ์ ทองแถม, ม.ล. (ม.ป.ป.)สับปะรดและอุตสาหกรรมสับปะรดในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ณัฐคุณ ขุนภักดี, ตรีพงศ์ ตั้งเติมทอง และพงศกร อังคทะวิวัฒน์. การเตรียมชุดทดสอบปริมาณในผลิตภัณฑ์ไส้กรอก. โครงงานพิเศษ สาขาวิชาเคมีเครื่องมือวิเคราะห์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เย็นหทัย แน่นหนา. (2549). สเปกโทรสโกปีสำหรับเคมีอินทรีย์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลักขณา อมรสิน. (2539).คู่มือประกอบการปฏิบัติการวิชาพิษวิทยาสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ลักขณา อมรสินและคณะ.(2544). "การปลูกผักกวางตุ้งให้ได้ผลผลิตสูงและลดปริมาณไนเทรตและไนไทรต์". วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 9 (2) : 19-24

ไนเตรทและไนไตรท์. (ม.ป.ป.). ค้นเมื่อวันที่ 2 ธันวาคม 2549, จาก http://www.dmsc.moph.go.th/webroot/food/files/news/nitrad.htm

สับปะรดและผลิตภัณฑ์สับปะรด (ม.ป.ป.). ค้นเมื่อวันที่ 2 ธันวาคม 2549, จาก http://www.dft.moc.go.th/the_files/$$16/level4/pineapple49.doc

อัญชนีย์ อุทัยพัฒนาชีพและคณะ. (2545). ผลกระทบของปุ๋ยต่อปริมาณไนเทรตและไนไทรต์. ค้นเมื่อวันที่ 2 ธันวาคม 2549, จาก http://www.rdi.ku.ac.th/foods/ Aunchanee/ index_Nitrate.html.10/7/46.

Association of Official Analytical Chemisis(AOAC).(1995). Official Method of Analysis of AOAC International.16th ed. vol 2. Verginia : International Suit 400.

American Academy of Pediatrics.(1970). Infant Methemoglobinemia : The Role of Dietary Nitrate(RE0004). ค้นเมื่อวันที่ 20 พฤศจิกายน 2549, จาก http://www.aap.org.policy/356.html.12/7/2003.

Central Science Laboratory.(2002). Nitrate and Nitrite in Foodstuffs. ค้นเมื่อวันที่ 20 พฤศจิกายน 2549,จาก http://www.csl.gov.uk/prodserv/ana/nutrition/nitrate/nitrate/cfm?CFID=231563&CFTOKEN=23579274.25/3/2003.

Spectroscopy. (ม.ป.ป.). ค้นเมื่อวันที่ 23 มกราคม 2550, จาก http://www.sc.chula.ac.th/matsci/Lab/spectroscopy.htm