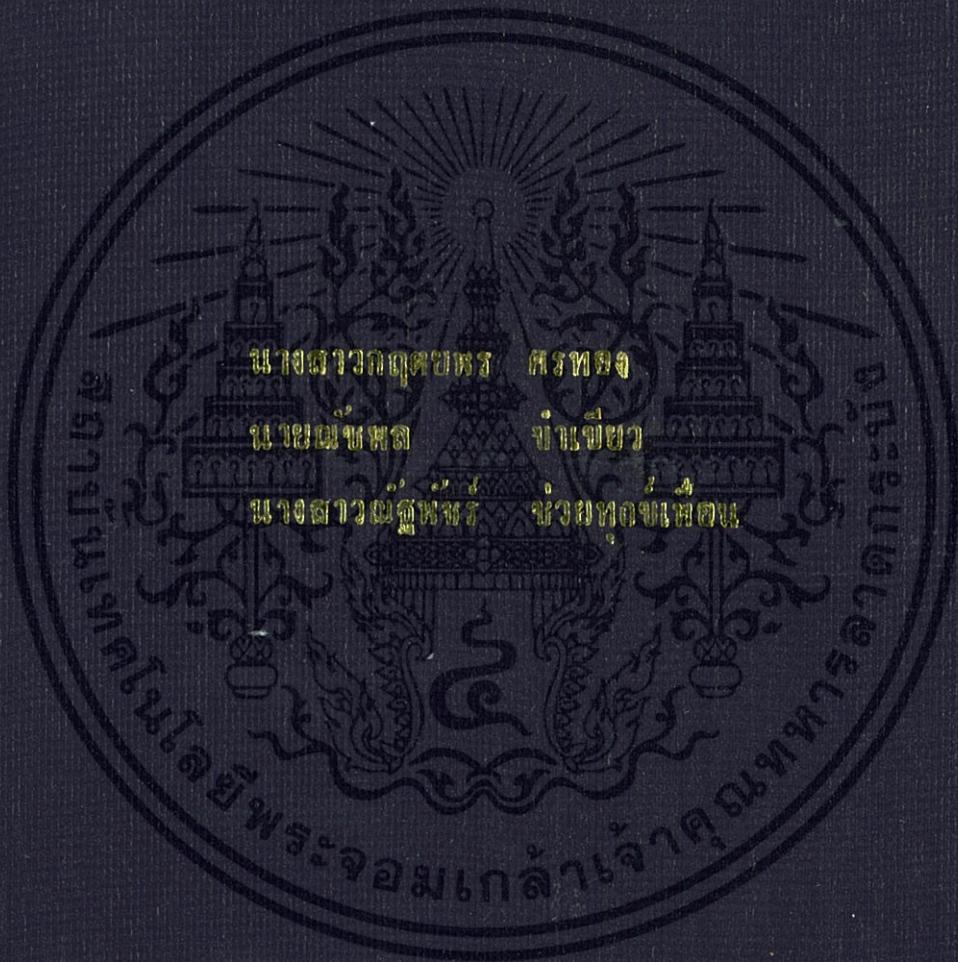


ชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษสำหรับวิเคราะห์ไนไตรท์

SPOT TEST KIT ON FILTER PAPER FOR DETERMINATION OF  
NITRITE



โครงการพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาด้านหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2556

ชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษสำหรับวิเคราะห์ไนไตรท์  
SPOT TEST KIT ON FILTER PAPER FOR DETERMINATION OF  
NITRITE



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต  
สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม  
คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2556

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**SPOT TEST KIT ON FILTER PAPER FOR DETERMINATION OF  
NITRITE**



**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE  
IN INDUSTRIAL CHEMISTRY  
FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2013**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ ชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษสำหรับวิเคราะห์ไนไตรท์  
Spot Test Kit on Filter Paper for Determination of Nitrite

ชื่อนักศึกษา นางสาวกฤตยพร ศรีทอง  
นายณัชพล ชำเจียว  
นางสาวณัฐพัชร์ ช่วยทุกข์เพื่อน

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต  
สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม  
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต  
สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2556

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น	
ดร.เสาวภาคย์ ธีราทรง	
ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	ชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษสำหรับวิเคราะห์ไนไตรท์	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกฤตยพร	ศรทอง
	นายณัชพล	ขำเจียว
	นางสาวณัฐพัชร์	ช่วยทุกข์เพื่อน
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต	
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม	
ปีการศึกษา	2556	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ	

### บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้ได้ทำการศึกษาชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ สำหรับวิเคราะห์ไนไตรท์ โดยการเตรียมจุดรีเอเจนต์บนกระดาษด้วยวิธีโซล-เจล ใช้ซัลฟานิลลาไมด์เป็นรีเอเจนต์ เมื่อหยดสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ลงบนจุดรีเอเจนต์ ไนไตรท์จะทำปฏิกิริยากับซัลฟานิลลาไมด์ได้สารประกอบ Diazonium ซึ่งจะทำปฏิกิริยาต่อกับแนฟทิลเอธิลีนไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (NED) ได้สีชมพูของสารประกอบ Azo dye สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมจุดรีเอเจนต์ คือเตรียมโซล-เจลโดยใช้สารละลายผสมของเตตระเอทิลออลโทซิลิเกต กรดไฮโดรคลอริก (0.1 M) และสารละลายซัลฟานิลลาไมด์ (0.058 M) ในอัตราส่วน 2:1:2 มิลลิลิตร และเติมไตรตัน เอ็กซ์-100 7 หยด หยดโซล-เจลที่ได้ปริมาตร 10  $\mu$ l ลงบนกระดาษกรอง เพื่อใช้เป็นจุดรีเอเจนต์ ทำการวิเคราะห์ไนไตรท์โดยหยดสารละลายมาตรฐานไนไตรท์หรือสารละลายตัวอย่างปริมาตร 5  $\mu$ l และสารละลาย NED (0.0039 M) ปริมาตร 3  $\mu$ l ลงบนจุดรีเอเจนต์ตามลำดับ กราฟมาตรฐานที่ได้มีความเป็นเส้นตรงในช่วง 2 ถึง 10 mg-N/L ตามสมการ  $ED = 14.53[NO_2^-] + 8.160$  ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOQ) เท่ากับ 1.66 และ 5.55 mg-N/L ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ในตัวอย่างผักบึงจีน กวางตุ้ง และผักคะน้า พบว่ามีไนไตรท์เท่ากับ 1.66, 0.41 และ 1.61 mg-N/kg ตามลำดับ วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ให้ค่าวิเคราะห์คืนกลับ (%recovery) อยู่ในช่วง 100.34-105.22% และค่า %RSD อยู่ในช่วง 0.55-0.93%

**คำสำคัญ:** วิธีโซล-เจล, ไนไตรท์, ซัลฟานิลลาไมด์, แนฟทิลเอธิลีนไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์, สารประกอบ Azo dye, สเปกโทรโฟโตเมทรี

<b>Special Project Title</b>	Spot Test Kit on Filter Paper for Determination of Nitrite	
<b>Name</b>	Miss Kittayaporn	Sorntong
	Mr. Nutchaphon	Kemkeao
	Miss Nattapat	Chuaytookpuen
<b>Degree</b>	Bachelor of Science	
<b>Major Program</b>	Industrial Chemistry	
<b>Academic Year</b>	2556	
<b>Adviser</b>	Asst. Prof. Dr. Wiboon Praditweangkum	

### Abstract

This special project is purposed to study the spot test kit on filter paper for nitrite analysis. A reagent spot is prepared on filter paper by sol-gel technique using sulfanilamide as reagent. When nitrite standard solution is dropped onto a reagent spot, nitrite reacts with sulfanilamide to form diazonium compound. This compound reacts with naphthyl ethylenediamine dihydrochloride (NED) and pick colour of azo dye compound is formed. The optimum condition of sol-gel for reagent spot is prepared by mixing solutions of tetraethyl orthosilicate, hydrochloric acid (0.1 M) and sulfanilamide (0.058 M) in ratio of 2:1:2 milliliters, and 7 drops of Triton X-100 is added. 10  $\mu$ l of this sol-gel is dropped on filter paper. Nitrite is analyzed; each 5  $\mu$ l of standard or sample solution and following by 3  $\mu$ l of NED solution is dropped on a reagent spot. The calibration curve is linear in range of 2 to 10 mg-N/L according to the equation  $ED = 14.53 [NO_2] + 8.160$ . The lower limit of detection (LOD) and lower limit of quantitation (LOQ) is 1.66 and 5.55, respectively. Nitrite found in vegetable samples; cantonese, chinese cabbage and kale is 1.66, 0.41 and 1.61 mg-N/kg, respectively. The recovery ranged from 100.34 to 105.22% and % RSD ranges from 0.55% to 0.93% are reported in this developed method.

**Key word** : sol-gel technique, nitrite, sulfanilamide, naphthyl ethylenediamine dihydrochloride, azo dye compound, Spectrophotometry

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีตามวัตถุประสงค์ เนื่องจากได้ได้รับความช่วยเหลือและความกรุณาจากทุก ๆ ท่าน ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วิบูลย์ ประดิษฐ์เวียงคำ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการที่คอยให้คำแนะนำ และข้อคิดมาเป็นแนวทางในการปฏิบัติได้อย่างถูกต้อง รวมทั้งให้คำปรึกษามาโดยตลอด รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมีทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในทุกด้าน และกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และบุคคลภายในครอบครัวที่ให้ความรัก ความเข้าใจ และคอยให้กำลังใจมาโดยตลอด รวมถึงขอใจเพื่อน ๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดีตลอดการทำโครงการพิเศษนี้

คณะผู้จัดทำสำนึกในพระคุณของทุก ๆ ท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจจนโครงการพิเศษนี้สำเร็จได้ด้วยดี จึงขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

คณะผู้จัดทำ

นางสาวกฤตยพร สรทอง

นายณัชพล จำเริญ

นางสาวณัฐพัชร ช่วยทุกข์เพื่อน

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	IX
สารบัญรูป	XI
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ขั้นตอนดำเนินการวิจัย	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>4</b>
2.1 ไนโตรที	4
2.2 รีเอเจนต์	6
ซัลฟานิลลาไมด์	6
แนฟทิลเอริสทินไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์	7
2.3 กระบวนการ โซล-เจล (sol-gel Technology)	8
2.4 ระบบสี	11
2.4.1 ระบบสี RGB	11
2.4.1 ระบบสี CMYK	11
2.5 การทำงานของสแกนเนอร์	13
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	14

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
<b>บทที่ 3</b> วิธีการดำเนินการทดลอง	<b>15</b>
3.1 อุปกรณ์ และสารเคมี	15
3.1.1 สารเคมี	15
3.1.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์	15
3.2 การเตรียมสารละลาย	16
3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนโตรเจน 200 mg-N/L (Stock standard solution)	16
3.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนโตรเจน 10 mg-N/L (Intermediate standard solution)	17
3.2.3 การเตรียมสารละลายซัลฟานิลไมด์ 0.058 M	17
3.2.4 การเตรียมสารละลายเนฟทิลเอธิลีน ไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (NED) 0.0039 M	17
3.2.5 การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.10 M	17
3.2.6 การเตรียมน้ำยาเคมีผสม (Mixed reagent)	17
3.2.7 การเตรียมสารละลาย โซล-เจดแบบเจือน้ำยาเคมีผสมทั้งหมด	17
3.2.8 การเตรียมสารละลาย โซล-เจดแบบแยกน้ำยาเคมีผสมออกทั้งหมด	18
3.2.9 การเตรียมสารละลาย โซล-เจดแบบเจือด้วยซัลฟานิลไมด์	18
3.3 วิธีดำเนินการทดลอง	18
3.3.1 วิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ	18
3.3.1.1 การเตรียมจุดรีเอเจนต์บนกระดาษ โดยวิธี โซล-เจด	18
3.3.1.2 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการทำชุดทดสอบแบบจุด บนกระดาษ	19
- การทำโซล-เจดแบบเจือน้ำยาเคมีผสมทั้งหมด	19
- การทำโซล-เจดแบบแยกน้ำยาเคมีผสมออกทั้งหมด	19
- การทำโซล-เจดแบบเจือซัลฟานิลไมด์	19

## สารบัญ (ต่อ)


	หน้า
- การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของปริมาณสารละลาย ซัลฟานิลลาไมด์ที่ใช้ และช่วงความเข้มข้นของสารละลาย มาตรฐานไนไตรท์ที่จะใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐาน สำหรับวิธีชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ	20
3.3.1.3 การสร้างกราฟมาตรฐาน โดยวิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ	21
3.3.1.4 การศึกษาความใช้ได้ของชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษที่ หยด โซล-เจดทิ้งไว้ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน	21
3.3.1.5 การวิเคราะห์ตัวอย่าง	22
- การเตรียมสารละลายตัวอย่างผกเจือ ไนไตรท์ 2.00 mg-N/L	22
- การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารตัวอย่าง	22
3.3.1.6 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Validation)	23
- ช่วงความเป็นเส้นตรง	23
- LOD และ LOQ	23
- Accuracy	23
- Precision	24
- T-test	24
3.3.2 วิธี Spectrophotometry	24
3.3.2.1 การเตรียมกราฟมาตรฐาน	24
3.3.2.2 การวิเคราะห์ตัวอย่าง	25
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล</b>	<b>26</b>
4.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ	26
4.1.1 ผลการทำโซล-เจด แบบเจือน้ำยาเคมีผสมทั้งหมด	26
4.1.2 ผลการทำโซล-เจด แบบแยกน้ำยาเคมีผสมออกทั้งหมด	27
4.1.3 ผลการทำโซล-เจด แบบเจือซัลฟานิลลาไมด์	27

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.1.4 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์ ที่ใช้ และช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่จะใช้ใน การสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับวิธีหาค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง โดยวิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ	28
4.2 ผลการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐานโดยวิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ	33
4.3 ผลการศึกษาความใช้ได้ของชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษที่หาค่าโซล-เจดทั้ง ไว้ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน	34
4.4 ผลการศึกษาการหาค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง โดยวิธีทดสอบแบบจุดบน กระดาษ	36
4.5 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Validation)	37
- ช่วงความเป็นเส้นตรง	37
- LOD และ LOQ	37
- Accuracy	38
- Precision	39
- T-test	39
4.6 ผลการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐาน โดยวิธี spectrophotometry	40
4.7 ผลการศึกษาการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของตัวอย่างผัก โดยวิธี spectrophotometry	41
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>	<b>43</b>
5.1 สรุปผลการวิจัย	43
5.2 ข้อเสนอแนะ	43
<b>เอกสารอ้างอิง</b>	<b>44</b>
<b>ภาคผนวก</b>	<b>46</b>
<b>ภาคผนวก ก</b>	<b>47</b>
การคำนวณผลการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ในตัวอย่าง โดยวิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ	47
วิธีการคำนวณค่าความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance; ED)	48
วิธีการคำนวณความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง	50

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
วิธีการคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้น และเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง	51
วิธีการคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนในสารละลายตัวอย่าง	52
<b>ภาคผนวก ข</b>	<b>54</b>
การคำนวณผลการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง โดยวิธี Spectrophotometry	54
วิธีการคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง	55
วิธีการคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้น และเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง	56
วิธีการคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนในสารละลายตัวอย่าง	57
<b>ภาคผนวก ค</b>	<b>59</b>
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	59
ค่า T-test	59



## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 4.1 ความแตกต่างความเข้มแสง (ED) เมื่อใช้ปริมาณสารละลายซัลฟานิลาไมด์ที่แตกต่างกัน	28
ตารางที่ 4.1 ความแตกต่างความเข้มแสง (ED) เมื่อใช้ปริมาณสารละลายซัลฟานิลาไมด์ที่แตกต่างกัน (ต่อ)	29
ตารางที่ 4.2 ค่า $R^2$ ของโซล-เจล ที่เจือสารละลายซัลฟานิลาไมด์ในปริมาณที่แตกต่างกัน บนช่วงความเข้มข้นของไนไตรท์ทั้งสองช่วง	31
ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า ED	33
ตารางที่ 4.4 ค่า ED ของกราฟมาตรฐานที่ระยะเวลาโซล-เจลที่แตกต่างกัน	34
ตารางที่ 4.5 ค่า $R^2$ ของกราฟมาตรฐานไนไตรท์ที่มีระยะเวลาในการหยด โซล-เจลทั้งไว้แตกต่างกัน	34
ตารางที่ 4.6 แสดงค่า ED ของตัวอย่างผัก ที่ได้จากการทดสอบด้วยชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ	36
ตารางที่ 4.7 ตารางแสดงปริมาณไนไตรท์ (mg) ที่มีในตัวอย่างผักอบแห้ง 1 kg ที่ได้จากการทดสอบด้วยชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ	36
ตารางที่ 4.8 ตารางแสดงปริมาณไนไตรท์ (mg) ที่มีในตัวอย่างผักสด 1 kg ที่ได้จากการทดสอบด้วยชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ	37
ตารางที่ 4.9 ตารางค่า % Recovery ของวิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ	38
ตารางที่ 4.10 ตารางค่า % RSD ของวิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ	39
ตารางที่ 4.11 ตารางการทดสอบ T-test	39
ตารางที่ 4.12 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่าการดูดกลืนแสง (Abs) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร	40
ตารางที่ 4.13 แสดงค่า Abs ของตัวอย่างผัก ด้วยวิธี spectrophotometry	41
ตารางที่ 4.14 ปริมาณไนไตรท์ (mg) ในตัวอย่างผักอบแห้ง 1 kg ด้วยวิธี Spectrophotometry	42
ตารางที่ 4.15 ปริมาณไนไตรท์ (mg) ในตัวอย่างผักสด 1 kg ด้วยวิธี Spectrophotometry	42
ตารางที่ ก-1 ตารางการวัดค่า RGB ของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ	46
ตารางที่ ก-2 ตารางการวัดค่า RGB ของตัวอย่างผัก	47

## สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางที่ ก-3 แสดงค่า ED ของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์	48
ตารางที่ ก-4 แสดงค่า ED ของสารละลายตัวอย่าง	48
ตารางที่ ก-5 แสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง	49
ตารางที่ ก-6 แสดงน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ 2 ชั่วโมง	50
ตารางที่ ก-7 แสดงเปอร์เซ็นต์ความชื้น และเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง	50
ตารางที่ ก-8 ตารางแสดงน้ำหนักผักแห้งที่ใช้เตรียมตัวอย่าง (g)	51
ตารางที่ ก-9 ตารางแสดงปริมาณไนไตรท์ (mg) ที่มีในตัวอย่างผักอบแห้ง 1 kg	51
ตารางที่ ก-10 น้ำหนักผักอบแห้ง และน้ำหนักผักสด	52
ตารางที่ ก-11 ตารางแสดงปริมาณไนไตรท์ (mg) ที่มีในตัวอย่างผักสด 1 kg	52
ตารางที่ ข-1 ตารางการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ	53
ตารางที่ ข-2 แสดงค่า Abs ของตัวอย่างผัก	54
ตารางที่ ข-3 แสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง	55
ตารางที่ ข-4 แสดงน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ	55
ตารางที่ ข-5 แสดงเปอร์เซ็นต์ความชื้น และเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง	56
ตารางที่ ข-6 ตารางแสดงปริมาณไนไตรท์ (mg) ที่มีในตัวอย่างผักอบแห้ง 1 kg	56
ตารางที่ ข-7 ตารางแสดงปริมาณไนไตรท์ (mg) ที่มีในตัวอย่างผักสด 1 kg	57
ตารางที่ ค-1 ตาราง T-test	58

# สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1.1 แสดงการหมุนเวียนของไนโตรเจน	1
รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของ Nitrite	4
รูปที่ 2.2 พืชจากไนไตรท์	5
รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของSulfanilamide	6
รูปที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของ NED	7
รูปที่ 2.5 การเกิดสารประกอบ Azo dye หรือ Azo chromophore	7
รูปที่ 2.6 ปฏิกริยาไฮโดรไลซิส	8
รูปที่ 2.7 Water Condensation Reaction	9
รูปที่ 2.8 Alcohol Condensation Reaction	9
รูปที่ 2.9 ปฏิกริยาโพลีคอนเดนเซชัน	9
รูปที่ 2.10 กระบวนการ โชล-เจล	10
รูปที่ 2.11 ระบบสี RGB	11
รูปที่ 2.12 ระบบสี CMYK	12
รูปที่ 4.1 ผลการทำ โชล-เจล แบบใช้น้ำยาเคมีผสมทั้งหมด	26
ก. เมื่อ โชล-เจลที่หยดไว้บนชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษแห้ง	26
ข. เมื่อหยดสารละลายมาตรฐานไนไตรท์	26
รูปที่ 4.2 ผลการทำ โชล-เจล แบบแยกน้ำยาเคมีผสมออกทั้งหมด	27
รูปที่ 4.3 ผลการทำ โชล-เจล แบบเจือซัลฟานิลลาไมด์	27
รูปที่ 4.4 ผลการทำ โชล-เจลแบบเจือซัลฟานิลลาไมด์ปริมาณต่างๆ	29
ก. ปริมาณสารละลายซัลฟานิลลาไมด์ 1.00 มิลลิลิตร	29
ข. ปริมาณสารละลายซัลฟานิลลาไมด์ 1.50 มิลลิลิตร	29
ค. ปริมาณสารละลายซัลฟานิลลาไมด์ 2.00 มิลลิลิตร	29
ง. ปริมาณสารละลายซัลฟานิลลาไมด์ 2.50 มิลลิลิตร	29
รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารละลายซัลฟานิลลาไมด์ (ml) กับค่า ED	30
รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า ED	31
รูปที่ 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า ED ของ โชล-เจล ที่เจือสารละลายซัลฟานิลลาไมด์ปริมาณที่แตกต่างกัน (ช่วงความเข้มข้นของไนไตรท์ 0.1 ถึง 1 mg-N/L)	32

## สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า ED ของโซล-เจล ที่เจือสารละลายซัลฟานิลลา ไมค์ปริมาณที่แตกต่างกัน (ช่วงความเข้มข้นของไนไตรท์ 2 ถึง 10 mg-N/L)	32
รูปที่ 4.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า ED	33
รูปที่ 4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า ED ของการทิ้ง โซล-เจลไว้ที่เวลาต่างๆ	35
รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า Abs ที่ $\lambda = 540$ nm	41
รูปที่ ก-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า ED	48
รูปที่ ข-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า Abs ที่ $\lambda = 540$ nm	53

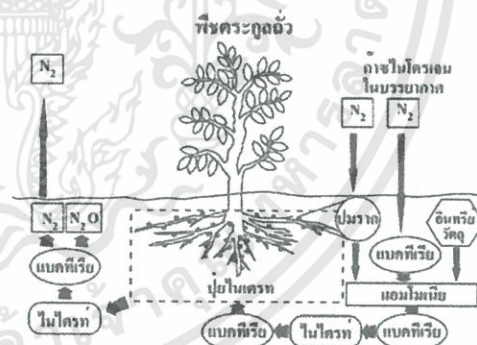
## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ไนโตรเจนเป็นกลุ่มสารอาหารอนินทรีย์ การเปลี่ยนรูปของไนโตรเจนในสิ่งแวดล้อมตามวัฏจักรไนโตรเจนมีความสำคัญต่อสิ่งแวดล้อม เพราะหากมีสารประกอบไนโตรเจนที่มากเกินไปที่ผิวน้ำดินของพื้นที่การเกษตร การระบายน้ำทิ้งจากแหล่งอาศัยในเมือง น้ำโสโครก และน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม อาจทำให้เกิดเป็นแหล่งมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมได้ ปริมาณไนเตรทในแหล่งน้ำเกิดจากการเน่าเปื่อยของซากพืชซากสัตว์ อุจจาระ น้ำเน่า ปุ๋ย น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม และสารเคมีจากเกษตรกรรม เมื่อแบคทีเรียย่อยสลายอินทรีย์ไนโตรเจนจากน้ำเสีย อุจจาระ และสารประกอบโปรตีน เปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนีย ( $\text{NH}_3$ ) จากนั้นเป็นไนไตรท์ ( $\text{NO}_2^-$ ) และสุดท้ายไปเป็นไนเตรท ( $\text{NO}_3^-$ ) ซึ่งสามารถละลายได้ดีในน้ำ จึงไหลซึมผ่านการกรองของชั้นดินลงสู่ใต้ดินและสู่แหล่งน้ำบาดาล แต่บางส่วนพืชใช้เป็นอาหารเนื่องจากไนเตรทเป็นสารอาหารของพืชผักและจำเป็นต่อสิ่งมีชีวิต ดังรูปที่ 1.1 [1]

ตั้งแต่ในอดีตจนถึงปัจจุบันการบริโภคผักเป็นแหล่งสำคัญที่ทำให้มนุษย์ได้รับไนเตรทจากอาหาร เนื่องจากในการปลูกผักนิยมใช้ปุ๋ยเคมีปริมาณมาก เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพ ทำให้เกิดการตกค้างของไนเตรทสูง และอาจส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคได้ [2] ซึ่งมีการกำหนดปริมาณสูงสุดของไนเตรทในผักสดและผลไม้ที่จะนำมาบริโภคไว้ว่าต้องไม่เกิน 4000 มก./กก. น้ำหนักสด [3]



รูปที่ 1.1 แสดงการหมุนเวียนของไนโตรเจน [1]

ไนโตรเจนการวิจัยนี้จึงได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทในผักกินใบ 3 ชนิดที่คนไทยนิยมนำมารับประทาน คือ ผักบุ้งจีน กวางตุ้ง และผักคะน้า โดยใช้ Sulfanilamide และ N-(1-Naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride (NED) เป็นรีเอเจนต์ในการวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสเปกโทรโฟโตเมตรี และพัฒนาเป็นชุดทดสอบแบบจุดสีบนกระดาษด้วยโซล-เจล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

พัฒนาชุดทดสอบแบบจุดสีบนกระดาษโดยใช้วิธีโซล-เจล ในการเตรียมจุนรีเอเจนต์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมชุดทดสอบแบบจุดสี โดยใช้เทคนิคโซล-เจลในการเตรียมจุนรีเอเจนต์บนกระดาษกรอง สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์

1.3.2 ทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นสำหรับหาปริมาณไนไตรท์ในตัวอย่างผัก โดยใช้ไนไตรท์เป็นรีเอเจนต์ โดยใช้ Sulfanilamide และ N-(1-Naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride (NED) เป็นรีเอเจนต์

1.3.3 ทดสอบวิธีวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ที่พัฒนาขึ้น โดยประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ในตัวอย่างผัก

## 1.4 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

1.4.1 สืบค้นข้อมูลจากแหล่งข้อมูล

1.4.2 วางแผนทำการทดลอง

1.4.3 จัดหาสารเคมี ตัวอย่าง อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1.4.4 ดำเนินการทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมชุดทดสอบแบบจุดสีด้วยโซล-เจล สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ในตัวอย่างผัก

1.4.5 ทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น

1.4.6 นำวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาได้ไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ในตัวอย่างผัก

## 1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ชุดทดสอบแบบจุดสีที่เตรียมด้วยวิธี โชล-เจด โดยมี Sulfanilamide และ N-(1-Naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride (NED) เป็นรีเอเจนต์ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ ในตัวอย่างผัก

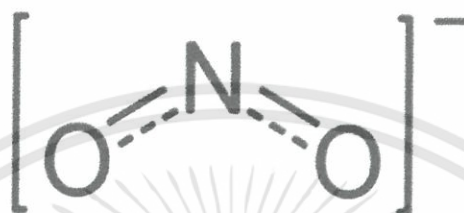


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ไนไตรท์ [4]



รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของ Nitrite [5]

Nitrite คือหนึ่งในอนุพันธ์ของสารประกอบ Nitrous acid เกือบของกรดไนตริกเป็นสารประกอบไอออนิกประกอบด้วย Nitrite ion ( $\text{NO}_2^-$ ) และ ไอออนบวกเช่น  $\text{Na}^+$  ใน Sodium nitrite ( $\text{NaNO}_2$ ) เอสเทอร์ของกรดไนตริกเป็นสารประกอบโควาเลนต์มีโครงสร้างเป็น R-O-N-O โดย R เป็นสัญลักษณ์ของ Carbon ที่เป็นหมู่มาสร้างพันธะเช่น Ethyl ( $\text{C}_2\text{H}_5$ ) ใน Ethyl nitrite ไนไตรท์โควาเลนต์เหล่านี้เป็น Isomer ของสารประกอบไนโตร ตัวอย่างเช่น Nitro ethane ที่ซึ่งได้รับการพิจารณาเป็นอนุพันธ์ของกรดไนตริกมากกว่ากรดไนตริก

สารไนเตรทและสารไนไตรท์ หรือ ดินประสิว เป็นสารเคมีที่ถูกนำมาใช้ในกระบวนการผลิตแปรรูปอาหารอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน โดยเฉพาะอาหารประเภทเนื้อสัตว์ เพื่อให้เนื้อสัตว์มีสีแดงสด คงสภาพอยู่ได้นาน ผลิตภัณฑ์อาหารที่มักใช้สารไนไตรท์ ได้แก่ กุนเชียง ไส้กรอก เบคอน เนื้อเค็ม ลูกชิ้น แหนมสด ปลาแห้ง เนื้อแห้ง เป็นต้น ซึ่งอาหารเหล่านี้ มีจำหน่ายอย่างแพร่หลายและหาซื้อได้ง่าย หากใช้สารไนเตรทและไนไตรท์ในปริมาณที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์อาหาร จะช่วยป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium botulinum* ซึ่งมักจะเจริญได้ดีในภาชนะที่ปิดสนิท หรือ ไม่มีอากาศ เช่น อาหารกระป๋อง แหนม หมูยอที่ห่อด้วยพลาสติก ปิดแน่น ซึ่งเป็นเชื้อที่มีฤทธิ์ค่อนข้างรุนแรง ทำให้เสียชีวิตได้ง่าย แต่หากใช้สารไนเตรทและไนไตรท์ในปริมาณมากๆ หรือเกินเกณฑ์ที่กำหนด อาจทำให้เป็นอันตรายต่อสุขภาพได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

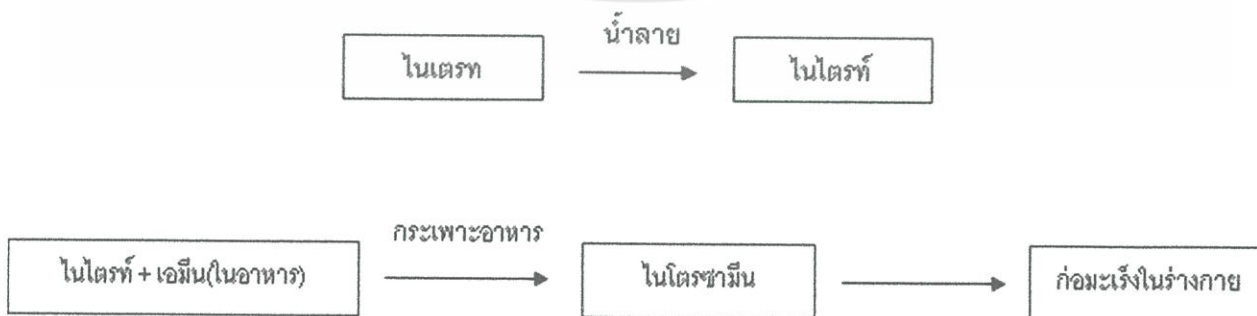
## ไนโตรเจนในอาหาร

1. ในเนื้อสัตว์ นิยมใช้ในเนื้อหมู เนื้อปลา เนื้อเค็ม ปลาเค็ม กุนเชียง ไส้กรอก เบคอน แหนม เนื้อสวรรค์ ไตปลาดิบ ปลาร้า เป็นต้นทำให้เนื้อสัตว์คู่สนับรับประทานหรืออีกในแง่หนึ่งนั้นใส่เพื่อเป็นการถนอมอาหารและกันบูดหรือเพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแต่เมื่อผู้บริโภครับประทานเข้าไปอาจจะทำให้เกิดอาการท้องร่วงรุนแรงหายใจไม่ออก โดยเฉพาะเด็กจะไวต่อสารเคมีมากกว่าผู้ใหญ่ ดังนั้นท่านผู้อ่านควรระมัดระวังในการรับประทานอาหาร ที่มีไนโตรท์เจือปนในทางการค้าพ่อค้า-แม่ค้าบางรายที่ไม่รู้ถึงอันตรายที่เกิดขึ้นจึงได้ทำการใส่ไนโตรท์ที่ต้องการขายสินค้าได้มากขึ้นและมีราคาสูง

2. ในผัก มักจะพบมากในผักที่รับประทานใบเพราะไนเตรท(ไนเตรทจะถูกรีดิวส์เป็นไนโตรท์ในภายหลังเมื่อถูกรับเข้าสู่ร่างกาย)เป็นรูปของธาตุไนโตรเจนที่พืชต้องการสำหรับการเติบโต หากพืชได้รับมากเกินไปก็จะสะสมไว้โดยเฉพาะในผักกินใบและผักกินราก ซึ่งในส่วนของใบนั้นการสะสมไนเตรทของพืชก็จะมีค่าแตกต่างกันในแต่ละเนื้อเยื่อ โดยพบว่า เส้นใบ จะมีการสะสมของไนเตรทน้อยกว่า ก้านใบ กับลำต้น ส่วนใบแก่จะมีการสะสมไนเตรทมากกว่าใบอ่อน เนื่องจากไนเตรทเป็นอันตรายต่อร่างกายประเทศในเขตยุโรปจึงมีการกำหนดปริมาณสูงสุดของไนเตรทในผักสดและผลไม้ที่จะนำมาบริโภคต้องไม่เกินปริมาณสูงสุดที่กำหนดไว้ คือไม่เกินไม่เกิน 4000 มิลลิกรัม-ไนเตรทต่อกิโลกรัมน้ำหนักสด

### พิษจากไนโตรท์

สารไนเตรทสามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบในอาหารและสิ่งแวดล้อมเกิดเป็นสารชนิดใหม่ที่เรียกว่าสารไนโตรซามีนเป็นสารเคมีที่ก่อให้เกิดมะเร็งในอวัยวะต่างๆของร่างกายได้



รูปที่ 2.2 พิษจากไนโตรท์ [4]

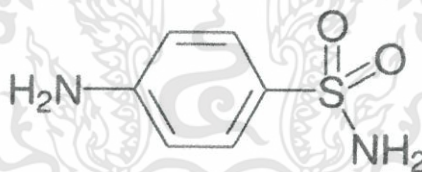
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การได้รับไนเตรท ไนไตรท์ ในรูปของเกลือโปตัสเซียมไนเตรท ปริมาณ 30-35 กรัม/กก. หรือ โซเดียมไนไตรด ปริมาณ 20-23 มก/กก. ครั้งเดียว (Single dose) ทำให้เสียชีวิตได้ทันที การได้รับพิษในปริมาณเพียงเล็กน้อยอาจทำให้เกิดอาการเขียวคล้ำตามร่างกาย ที่เรียกว่า Methemoglobinemia เป็นภาวะที่ร่างกายมี Methemoglobin เกินกว่าที่จะกำจัดได้ (US. Food and Drug Administration, 1972) EPA ได้กำหนดให้ค่ามาตรฐานของไนเตรทและไนไตรท์ ในน้ำดื่ม เท่ากับ 10 ppm และ 1 ppm ตามลำดับและ US. FDA กำหนดค่าไนไตรทสูงสุด ในอาหารจำพวก ปลา และเนื้อสัตว์ รมควัน ย่าง หรือ แปรรูปอื่น ๆ ประมาณ 200 ppm European Food Safety Authority (EFSA) ได้บ่งชี้ว่า การใช้โซเดียมไนไตรท์ ปริมาณ 50 - 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้

สำหรับประเทศไทย กระทรวงสาธารณสุข ได้ออกประกาศกระทรวงฉบับที่ 281 กำหนด ปริมาณการใช้เกลือไนเตรทหรือไนไตรท์ ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก โดยให้ใช้เกลือโซเดียมไนไตรท์ ได้ปริมาณ 125 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และโซเดียมไนเตรท 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

## 2.2 รีเอเจนต์

### ซัลฟานิลาไมด์[6]



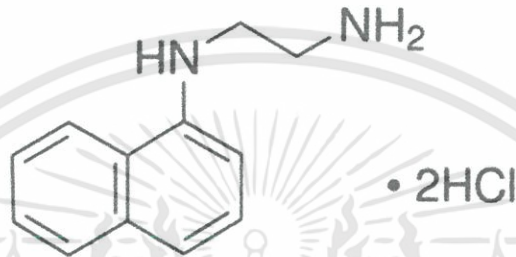
รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของ Sulfanilamide [6]

Sulfanilamide อยู่ในกลุ่มของ sulfonamide ซึ่งเป็นยาต่อต้านแบคทีเรีย โมเลกุลประกอบด้วย หมู่ฟังก์ชันของ sulfonamide ต่อกับ aniline และ Sulfanilamide ทำหน้าที่เหมือนกับหน้าที่ของยาปฏิชีวนะ sulfonamide คือทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งปฏิกิริยาของ para-aminobenzoic acid (PABA) ซึ่ง PABA เป็นสิ่งจำเป็นในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่ผลิตกรดโฟลิก ซึ่งทำหน้าที่เป็น โคเอนไซม์ ในการสังเคราะห์ purine, pyrimidine และ amino acids ชนิดอื่นๆ

Sulfanilamide เตรียมครั้งแรกในปี 1908 โดย Paul Gelmo เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ของเขาสำหรับปริญญาเอกจาก Technische Hochschule of Vienna, Austria และมันได้รับการจดสิทธิบัตรในปี 1909

แนฟทิลเอธิลีนไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์;

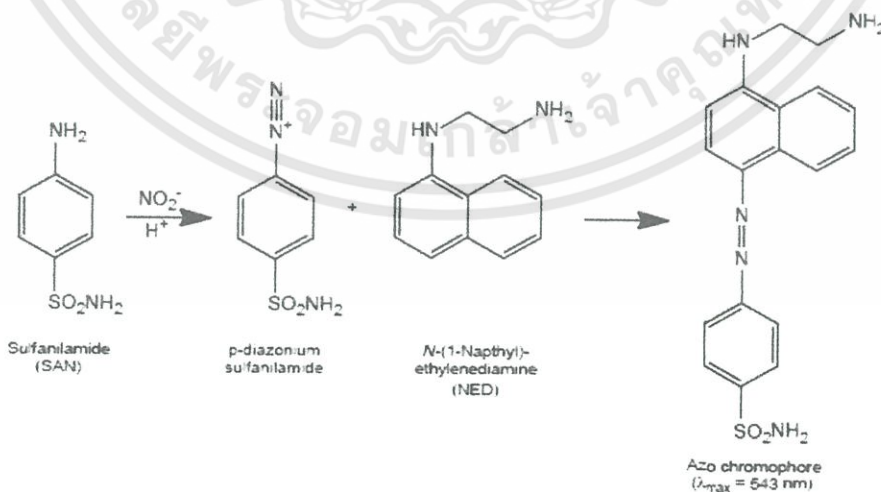
**N-(1-Naphthyl)ethylenediaminedihydrochloride (NED) [7]**



รูปที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของ NED [7]

เป็นสารประกอบที่สามารถเกิดสีได้เมื่อเกิดปฏิกิริยากับ Sulfanilamide เรียกกระบวนการนี้ว่า Bratton-Marshall reaction และเนื่องจากเป็นปฏิกิริยาที่เกิดสี จึงเป็นเรื่องง่ายที่จะทำการตรวจวัดด้วยวิธี spectrophotometric

โดยเมื่อ Sulfanilamide ทำปฏิกิริยากับ ไนไตรท์ และ N-(1-Naphthyl)ethylenediamine (NED) ก็จะมีการฟอร์มตัวเป็นสีชมพู และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุด 543 nm



รูปที่ 2.5 การเกิดสารประกอบ Azo dye หรือ Azo chromophore [8]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.3 กระบวนการโซล-เจล (sol-gel Technology) [9]

กระบวนการโซล-เจล เป็นกระบวนการผลิตที่มีประโยชน์หลายอย่างในการผลิตเซรามิก และแก้ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งวัสดุที่ต้องการความบริสุทธิ์สูง โดยทั่วไปกระบวนการโซล-เจลเป็นกระบวนการเปลี่ยนสถานะจากของเหลวที่เรียกว่า “sol” ซึ่งส่วนมากอยู่ในรูปของสารแขวนลอย ที่มีขนาดอนุภาคประมาณ 0.1-1 ไมครอน เป็นของแข็งที่เรียกว่า “Gel”

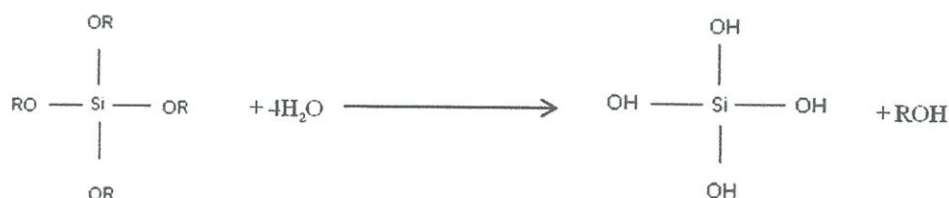
ปฏิกิริยาที่สำคัญในกระบวนการโซล-เจล มี 3 ปฏิกิริยา คือ



เมื่อ M แทน โลหะ ได้แก่ Si, Zr, Ti, Al, Sn, Ce และ OR แทน Alkoxy group

ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา คือ pH ,ตัวเร่งปฏิกิริยา ,อัตราส่วน โมลของน้ำและโลหะ และอุณหภูมิ ดังนั้นการควบคุมปัจจัยเหล่านี้ ในสถานะที่ต่างกันจะทำให้โซล-เจลที่ได้มีสมบัติและโครงสร้างต่างกัน

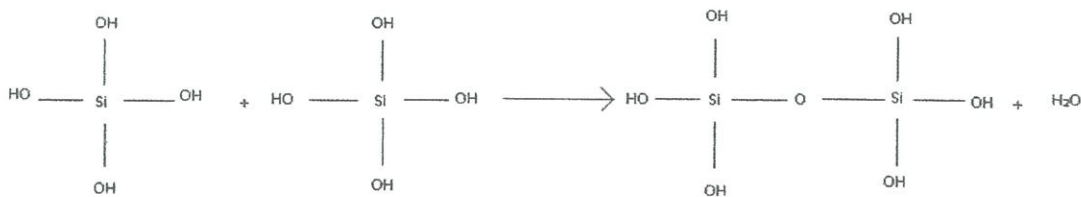
ขั้นตอนแรกของการทำโซล-เจล คือการผสมสารตั้งต้นกับน้ำ สารตั้งต้นที่นิยมใช้ในกระบวนการโซล-เจล เป็นสารประกอบโลหะและกึ่งโลหะที่ล้อมรอบด้วยลิแกนด์ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา เช่น Metal Alkoxide เป็นสารตั้งต้นที่ได้รับความนิยมสูง เนื่องจากทำปฏิกิริยากับน้ำได้ดี เช่น Tetramethoxysilane (TMOS) และ Tetraethoxysilane (TEOS) ส่วน alkoxine ชนิดอื่น เช่น Aluminate, Titanate และ Borate มีใช้กันแพร่หลายโดยมักจะใช้ร่วมกับ TEOS เช่น  $\text{Si}(\text{OR})_4$  ซึ่ง R คือ  $\text{CH}_3$  (TMOS),  $\text{C}_2\text{H}_5$  (TEOS) จะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ดังสมการ



### รูปที่ 2.6 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส [9]

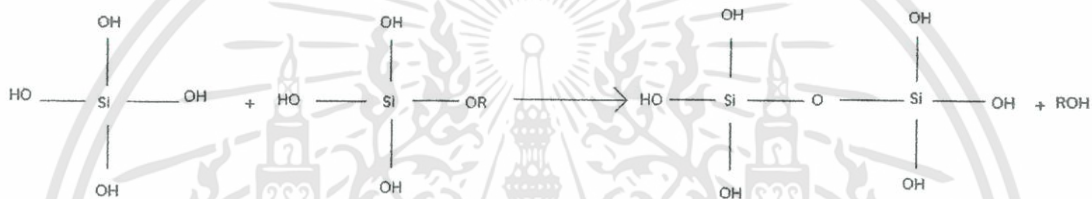
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และในขณะเดียวกันก็จะเกิดปฏิกิริยาคอนเดนเซชัน : Water Condensation Reaction



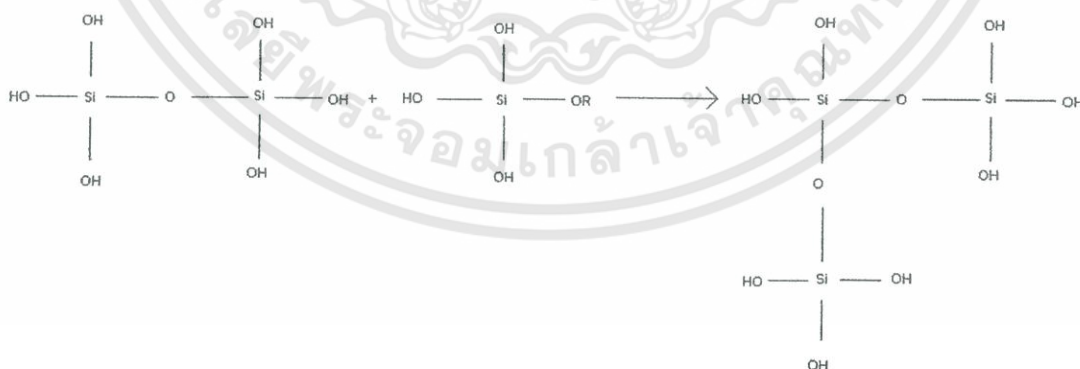
รูปที่ 2.7 Water Condensation Reaction [9]

หรือปฏิกิริยา Alcohol Condensation Reaction



รูปที่ 2.8 Alcohol Condensation Reaction [9]

สารประกอบที่เกิดขึ้นจะเกิดปฏิกิริยาคอนเดนเซชันต่อไปเรื่อยๆ กลายเป็น Silica Network อยู่ในสภาวะที่เรียกว่า Gel จึงเรียกปฏิกิริยาดังกล่าวว่า ปฏิกิริยาโพลีคอนเดนเซชัน

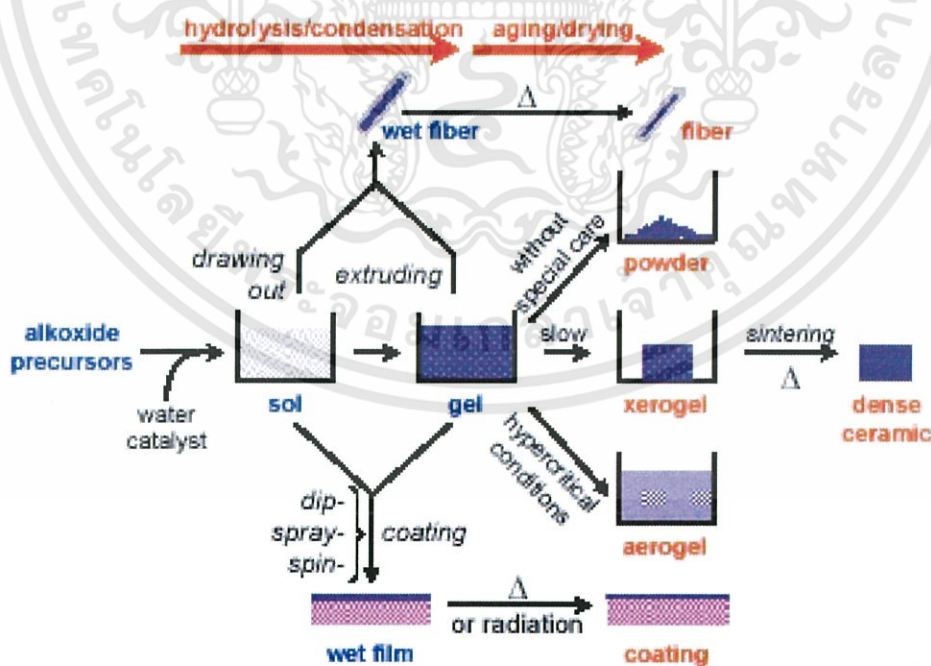


รูปที่ 2.9 ปฏิกิริยาโพลีคอนเดนเซชัน[9]

ในกระบวนการผลิต เมื่อเข้าสู่กระบวนการทำให้แห้งจะ ได้ผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่างๆ เช่น fiber, aerogel, xerogel, poeder และ coating film เป็นวัสดุพิเศษสำหรับอุตสาหกรรมอื่นๆต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การนำเทคโนโลยีโซล-เจล มาใช้ประโยชน์ สามารถทำได้หลายรูปแบบ เช่น ผงละเอียด ฟิล์มบาง เส้นใย และวัสดุก้อน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆต่อไป เช่น แก้ว ซิลิกา สารเคลือบป้องกันการสึกกร่อน การสะท้อนแสง และการเกาะติดผิวของน้ำ เป็นต้น เทคโนโลยีโซล-เจลจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการผลิตสารหรือวัสดุที่มีสมบัติเฉพาะตัวหรือต้องการความบริสุทธิ์สูง หรือแม้แต่การผลิตสารหรือวัสดุทดแทนการใช้แร่หรือทรัพยากรธรรมชาติหายาก และมีอยู่จำกัดเป็นวัตถุดิบ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการโซล-เจล มีความบริสุทธิ์สูงเนื่องจากการเตรียมสารหรือวัสดุในระดับโมเลกุล ทำให้สามารถกำหนดสมบัติต่างๆที่ต้องการได้ง่าย นับเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมเคมี เทคโนโลยีพลังงาน อุตสาหกรรมรถยนต์ และอุตสาหกรรมเซรามิก เป็นต้น การนำเทคโนโลยีโซล-เจล มาใช้ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรม ยังต้องศึกษาในรายละเอียดเกี่ยวกับสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมและลักษณะหรือสมบัติของสารหรือวัสดุที่ต้องการ ซึ่งมีความแตกต่างกันในแต่ละผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตาม แนวโน้มการนำเทคโนโลยีดังกล่าวมาใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์มีความเป็นไปได้สูง เนื่องจากกระบวนการโซล-เจลเป็นเทคโนโลยีการผลิตที่ทำได้ที่อุณหภูมิห้อง สามารถทำได้ตั้งแต่ระดับห้องปฏิบัติการจนถึงระดับอุตสาหกรรม ซึ่งสามารถตอบสนองความต้องการ ผู้บริโภคได้จริง



รูปที่ 2.10 กระบวนการโซล-เจล [9]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.4 ระบบสี [10]

ระบบสีสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

### 2.4.1 ระบบสี RGB

RGB ย่อมาจาก red, green และ blue คือ กระบวนการผสมสีจากแม่สี 3 สี คือสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน การใช้สัดส่วนของสี 3 สีนี้ต่างกัน จะทำให้เกิดสีต่างๆ ได้อีกมากมาย ระบบสี RGB เป็นระบบสีที่เกิดจากการรวมกันของแสงสีแดง เขียว และน้ำเงิน โดยมีการรวมกันแบบ Additive ซึ่งโดยปกติจะนำไปใช้ในจอภาพแบบ CRT (Cathode ray tube)



รูปที่ 2.11 ระบบสี RGB

### 2.4.2 ระบบสี CMYK

ระบบสี CMYK เป็นระบบสีที่ใช้กับเครื่องพิมพ์ CMYK ย่อมาจาก cyan (ฟ้าอมเขียว) magenta (แดงอมม่วง) yellow (เหลือง) key (ดำ) ซึ่งเป็นชื่อสีที่นำมาใช้ การผสมสีทั้งสี่นี้ จะทำให้เกิดสีได้อีกหลายร้อยสี นำมาใช้ในการพิมพ์สีต่างๆ ซึ่งปกติการเลือกใช้สีนั้น จะมีด้วยกันอยู่ 2 แบบคือ CMYK และ RGB สามารถแบ่งแยกประเภทการใช้งานได้ง่ายๆ นั่นก็คือ ถ้าเป็นสีที่ต้องพิมพ์ออกมา ไม่ว่าจะพิมพ์ในรูปแบบใดก็ตาม จะต้องใช้ค่าสีของ CMYK แต่ถ้าต้องการสีที่แสดงผลออกทางหน้าจอ ก็จะเลือกใช้ RGB เท่านั้น ซึ่งหลักการดังกล่าว ในปัจจุบัน ยังมีผู้มีความเข้าใจในส่วนนี้น้อยมาก เนื่องจากว่า นักออกแบบมือสมัครเล่น หรือ มือใหม่ เวลาต้องการจะทำงานประเภทสิ่งพิมพ์ ก็มักตั้งค่าสีเป็น RGB เพราะค่าสีดังกล่าวสีสดกว่า แต่เมื่อสั่งพิมพ์แล้ว ทำให้ค่าสีที่ออกมาผิดเพี้ยน มากหรือน้อย ก็ขึ้นอยู่กับสีที่เลือก เช่น เลือกสีแดง อาจจะได้สีชมพู เหลืองอมม่วง อาจจะได้สีน้ำเงิน ดังนั้นผู้ที่ใช้โหมคสีควรจะทำความเข้าใจของงานให้มาก เพื่องานที่ออกมาจะได้ค่าสีที่ตรงกับความต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การกำหนดค่าสี RGB ในส่วนของ RGB การเลือกสีต่างๆ นั้น สามารถเลือกได้ถึง 2 ล้านสี - 16 ล้านสี (ข้อมูลอ้างอิงจากกระทรวงศึกษาธิการ หลักสูตรการศึกษาด้านเทคโนโลยีสารสนเทศ ฉบับปี 2545) โดยการเข้ารหัสสี สามารถเลือกเฉดสีได้ด้วยลักษณะของชุดรหัสตัวเลข 0-9 และ A-F ปนกันไปจนครบ 6 ตัวอักษรเท่านั้น เช่น 000000 = สีดำ FFFFFFFF = สีขาว FF0000 = สีแดง ดังนั้น ผู้ใช้สีสามารถกำหนดสีได้ต่างๆ มากมาย โดยใช้ตัวอักษรปะปนกันไป เพราะสามารถสร้างรูปแบบหรือกำหนดสีได้มากกว่า 16 ล้านรูปแบบ (เช่น AC01B22, 522AA6, F2D3A0 โดยชุดดังกล่าวจะเป็นสีต่างๆ เพียงแค่กฎการใช้คือใช้ตัวเลขใดๆ ก็ได้ 0-9 จะกี่ตัวก็ได้ แต่ต้องไม่เกิน 6 ตัวอักษร แต่ถ้าจะมีอักษรภาษาอังกฤษผสมด้วย ก็สามารถเอามาใช้ได้ แต่จะเลือกใช้ได้ตั้งแต่ A-B-C-D-E-F เท่านั้น นับตั้งแต่ตัว G ขึ้นไปจะไม่สามารถประเมินผลได้

ในส่วนของ CMYK จะใช้หลักการเลือกรูปแบบเดียวกับ RGB แต่ว่าค่าสีจะถูกตัดออกไปเป็นจำนวนเยอะมาก ทำให้มีค่าสีอยู่แค่หลักร้อย หรือ พันกว่าสีเท่านั้น โดยที่ค่าสีของ CMYK จะตัดค่าสีที่ตาเรามองไม่เห็น หรือ ไม่สามารถแยกแยะออกถึงความใกล้เคียงกันมากเกินไปได้อย่างในกรณีของใบไม้ ที่เราอาจจะมองว่าเป็นสีเขียว แต่ถ้าจะให้ระบุสีในใบไม้เดียวกันให้ใกล้เคียงที่สุด อาจจะได้คำตอบที่เป็น สีเขียว, เขียวแก่, เขียวแก่กว่า, เขียวอ่อน, เขียวอมเหลือง, เขียวแถมฟ้า ฯลฯ อย่างหาข้อสรุปไม่ได้ เพราะในสายตาคคนเรามักจะมองรูปแบบสีหลักๆ เท่านั้น ดังนั้นปัญหาเรื่องของสีโหมด CMYK จึงจะตัดค่าสีที่ห่างกันไม่มากออกไปเพียงเท่านั้น



รูปที่ 2.12 ระบบสี CMYK

## 2.5 การทำงานของสแกนเนอร์ [11]

สแกนเนอร์ มีหลักการทำงาน คือ เครื่องอ่านภาพ จะทำการอ่านภาพโดยอาศัยการสะท้อนหรือการส่องผ่านของแสง กับภาพต้นฉบับที่ทึบแสง หรือ โปร่งแสง ให้ตกกระทบกับ แถบของอุปกรณ์ไวแสง (Photosensitive) ซึ่งมีชื่อในทางเทคนิคว่า Charge-Couple Device (CCD) ตัว CCD จะรับแสงดังกล่าวลง ไปเก็บไว้บน เส้นเล็กของเซลล์ และจะแปลงคลื่นแสง ของแต่ละเซลล์เล็กๆ ให้กลายเป็นคลื่นความต่างศักย์ ซึ่งจะแตกต่างกันไปตามอัตราส่วน ของระดับความเข้มของแสงแต่ละจุด ตัวแปลงสัญญาณอะนาล็อก เป็นดิจิทัล (Analog to Digital Converter) จะแปลงคลื่นความต่างศักย์ ให้เป็นข้อมูล ในรูปแบบที่คอมพิวเตอร์เข้าใจ ในเวลาเดียวกัน โปรแกรมในการอ่าน จะควบคุมการทำงานของเครื่องอ่านภาพ ให้รับข้อมูลเข้า และจัดรูปแบบเป็นเพิ่มข้อมูลของภาพ ในระบบคอมพิวเตอร์ต่อไป

ความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance; ED) จากสมการทางคณิตศาสตร์ที่เรียกว่า “สมการเชิงเส้นแบบยูคลิด”

$$ED = \sqrt{(\Delta I_R)^2 + (\Delta I_G)^2 + (\Delta I_B)^2}$$

โดยที่  $\Delta$  คือ ผลต่างของแสงที่จุด Blank กับค่าความเข้มแสง ณ จุดที่เกิดปฏิกิริยากับไนโตรที่ที่เข้มขึ้น ต่างๆกัน

R คือ ค่าความเข้มแสงสีแดง

G คือ ค่าความเข้มแสงสีเขียว

B คือ ค่าความเข้มแสงสีน้ำเงิน

หมายเหตุ แสงสีขาวจะประกอบด้วยแสงสีแดง สีเขียวและสีน้ำเงิน ซึ่งมีค่าความเข้มแสงสูงสุดเท่ากับ 255, 255, 255 (R, G, B) และแสงสีดำจะมีค่าความเข้มแสงต่ำสุดเท่ากับ 0, 0, 0

## 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

E. Hugo Seymour, Nathan S. Lawrence, MalingappagariPandurangappa, และ Richard G. Compton[12] ศึกษาการเกิดเกลือไดอะโซเนียมจากปฏิกิริยาของไนไตรท์กับอะโรมาติกเอมีนซึ่งเป็นกระบวนการที่ได้รับการยอมรับสำหรับการวิเคราะห์ไนไตรท์ด้วยเทคนิคUV/Vis spectroscopy ในงานวิจัยนี้ได้มีการดัดแปลงใช้ขั้นตอนการตรวจสอบทางเคมีไฟฟ้าโดยใช้อะโรมาติกเอมีนที่ไม่เกิดปฏิกิริยามาใช้เป็นตัวบ่งชี้สำหรับไนไตรท์โดยโครงสร้างไอโซเมอร์ที่แตกต่างกันของกรด sulfanilic และอะโรมาติกเอมีนอื่นๆรวมถึงค่า pH ในระบบได้ดูรายงานและประเมินไว้ว่ามีผลกระทบในระบบการวิเคราะห์ผลการทดลองพบว่าในช่วงความเป็นเส้นตรงของไนไตรท์คือ 20-80  $\mu\text{M}$  มีขีดจำกัดในการตรวจวัด คือ 0.7  $\mu\text{M}$  ประสิทธิภาพของวิธีได้ค่า Recovery 95.7% (RSD = 6.4%, N = 5) จากการเติมไนไตรท์ในน้ำเสีย 4.89  $\mu\text{M}$

V. Raman , O.P. Bahl และ V.K. Parashar [13] ศึกษาโซลเจลที่ถูกพัฒนามาจากซิลิกาเจลซึ่งถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการสังเคราะห์วัสดุหลากหลายชนิด มีการพูดถึงจากผู้แต่งหลายๆท่านว่าซิลิกาเจลที่ได้มาจากกระบวนการโซลเจลนั้นสามารถใช้เป็นวัสดุเสริมความแข็งแรงของวัสดุประเภทซิลิกา โดยทั่วไปแล้วเจลเหล่านี้หมายถึงโซลเจลที่ผ่านการเจือมาแล้ว และสามารถเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา อินคิเคเตอร์ และ ตัวทำปฏิกิริยาได้ และด้วยเหตุนี้ จึงทำให้ผู้แต่งศึกษาลักษณะจำเพาะของโซลเจลที่มีสารเจือปนอยู่เพื่อใช้ในการหาไนไตรท์ หรือไนโตรเจนไดออกไซด์

V. Hugo Marques Luiz, L.Pezza, H.RedigoloPezza [14] ศึกษาการตรวจวัดไนไตรท์ที่ง่ายพกพาสะดวก และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยจะเป็นการรวมกันของการทดสอบแบบจุดกับวิธีทางสเปกโทรสโคปีให้อยู่บนกระดาษกรอง วิธีการนี้มีพื้นฐานอยู่บนปฏิกิริยาการเกิดสีของ dapsone (4,40-diamino-diphenylsulphone, DAP) และ (naphthyl)ethylenediaminehydrochloride (NED) กับไนไตรท์ในสถานะที่เป็นกรด จะเกิดสารประกอบที่ให้สีบนกระดาษกรองวิธีการออกแบบการทดลองถูกนำมาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพสถานะในการตรวจวัด สามารถวัดค่าดัชนีหักเหของแสงได้ที่ 545 นาโนเมตรและช่วงความเป็นเส้นตรงที่ได้คือ 0.29-5.0 mg/L ของไนไตรท์ (R = 0.997) LODและ LOQ เท่ากับ 0.09 และ0.29 ตามลำดับ วิธีนี้ประสบความสำเร็จเป็นอย่างดีในการตรวจวัดไนไตรท์ในเนื้อสัตว์และในน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการทดลอง

#### 3.1 อุปกรณ์ และสารเคมี

##### 3.1.1 สารเคมี

1. กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCL) เกรดคุณภาพวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA Reagents ประเทศฝรั่งเศส

2. โซเดียมไนไตรต์ (Sodium Nitrite;  $\text{NaNO}_2$ ) เกรดคุณภาพวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA Reagents ประเทศฝรั่งเศส

3. ซัลฟานิลาไมด์ (Sulphanilamide;  $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ ) เกรดคุณภาพวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA Reagent ประเทศ ฝรั่งเศส

4. แนฟทิลเอธิลีนไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (N-1(Naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride; NED) เกรดคุณภาพวิเคราะห์ บริษัท CARLO ERBA Reagent ประเทศ ฝรั่งเศส

5. เตตระเอทิลออร์โธซิลิเกต (Tetraethyl orthosilicate, TEOS) ความบริสุทธิ์ 98% บริษัท ACROS Organics ประเทศเบลเยียม

6. ไตรตัน เอ็กซ์ 100 (Triton X-100) บริษัท Fisher ประเทศสหรัฐอเมริกา

##### 3.1.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์

1. ปิเปต (สเกล)	ขนาด	1 ml	2 อัน
	ขนาด	2 ml	2 อัน
	ขนาด	5 ml	2 อัน
2. ขวดวัดปริมาตร	ขนาด	25 ml	12 ขวด
	ขนาด	50 ml	12 ขวด
	ขนาด	250 ml	2 ขวด
	ขนาด	500 ml	2 ขวด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- |   |   |       |
|---|---|-------|
| 3. บีกเกอร์                               | ขนาด 100 ml                                       | 3 ใบ  |
|   | ขนาด 500 ml                                       | 1 ใบ  |
| 4. บีกเกอร์พลาสติก                        | ขนาด 25 ml  | 1 ใบ  |
| 5. ซ้อนตักสาร                             |   | 2 อัน |
| 6. กระจกบอกรน้ำกลั่น                      |   | 1 อัน |
| 7. หลอดหยด                                |   | 2 อัน |
| 8. แท่งแก้วคนสาร                          |   | 2 อัน |
| 9. Cuvette (Quartz)                       |   | 1 คู่ |
| 10. กระจกกรองเบอร์ 2 ยี่ห้อ Advantec      |   |       |
|   | เบอร์ 42 ยี่ห้อ whatman                           |       |
| 11. ไมโครปิเปต                            | ขนาด 2-20 ไมโครลิตร                               |       |
| 12. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง          | รุ่น CP224S ของบริษัท ไชแอนติฟิค โพร โมชั่น จำกัด |       |
| 13. เครื่องกวนสารละลายพร้อมเตาให้ความร้อน | (Hotplate and Magnetic Stirrer)                   |       |
| 14. ชุดเครื่องกรองลดความดัน               |   |       |
| 15. ตู้อบสารเคมี                          |   |       |
| 16. UV-VIS Spectrophotometer              | รุ่น UV-1800 ของบริษัท SHIMADZU                   |       |
| 17. เครื่องสแกนเนอร์                      | รุ่น HP scanjet 8270                              |       |

### 3.2 การเตรียมสารละลาย

#### 3.2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ 200 mg-N/L (Stock standard solution)

ละลายโซเดียมไนไตรท์ ( $\text{NaNO}_2$ ) ที่อบแห้ง 105-110 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง (อบนาน 24 ชั่วโมงก็ได้) 0.496 กรัม ในน้ำกลั่น ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

**\*\*เก็บสารละลายนี้ไว้ในขวดสีชาแล้วแช่เย็นไว้ สารละลายมีอายุการใช้งานประมาณ 1 ถึง 2 เดือน**

### 3.2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ 10 mg-N/L (Intermediate standard solution)

ปิเปต Stock standard solution 25.0 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

### 3.2.3 การเตรียมสารละลายซัลฟาไนลาไมด์ 0.058 M

ละลายซัลฟาไนลาไมด์ 2.5 กรัม ในสารละลายผสมของกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร กับน้ำกลั่นประมาณ 150 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

### 3.2.4 การเตรียมสารละลายแนฟทิลเอธิลีนไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (NED) 0.0039 M

ละลายแนฟทิลเอธิลีนไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ 0.25 กรัม ในน้ำกลั่น ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

### 3.2.5 การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.10 M

ปิเปตสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

### 3.2.6 การเตรียมน้ำยาเคมีผสม (Mixed reagent)

ผสมสารละลายซัลฟาไนลาไมด์ 0.058 M เข้ากับสารละลายแนฟทิลเอธิลีนไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (NED) 0.0039 M ในอัตราส่วน 1:1

### 3.2.7 การเตรียมสารละลายโซล-เจดแบบเจื่อน้ำยาเคมีผสมทั้งหมด

1. ปิเปตสารละลายเตตระเอทิลอโทซิลิเกต 2.00 มิลลิลิตร และสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 โมลาร์ 1.00 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์พลาสติกขนาด 10 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายน้ำยาเคมีผสม 0.058 โมลาร์ 2.00 มิลลิลิตร จากนั้นหยดไตรตันเอ็กซ์ 100

7 หยด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ปั่นกวนสารละลายจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneous) ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง จะได้สารละลายโซล-เจลเจือด้วยซัลฟานิลาไมด์

### 3.2.8 การเตรียมสารละลายโซล-เจลแยกเจือน้ำยาเคมีผสมออกทั้งหมด

1. ปิ่เปิดสารละลายเตตระเอทิลออลโทซิลิเกต 2.00 มิลลิลิตร และสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 โมลาร์ 1.00 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์พลาสติกขนาด 10 มิลลิลิตร

2. หยดไตรตันเอ็กซ์ 100<sup>®</sup> 7 หยด

3. ปั่นกวนสารละลายจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneous) ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง จะได้สารละลายโซล-เจลเจือด้วยซัลฟานิลาไมด์

### 3.2.9 การเตรียมสารละลายโซล-เจลแบบเจือด้วยซัลฟานิลาไมด์

1. ปิ่เปิดสารละลายเตตระเอทิลออลโทซิลิเกต 2.00 มิลลิลิตร และสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 โมลาร์ 1.00 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์พลาสติกขนาด 10 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายซัลฟานิลาไมด์ 0.058 โมลาร์ 2.00 มิลลิลิตร จากนั้นหยดไตรตันเอ็กซ์ 100<sup>®</sup> 7 หยด

3. ปั่นกวนสารละลายจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneous) ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง จะได้สารละลายโซล-เจลเจือด้วยซัลฟานิลาไมด์

## 3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

### 3.3.1 วิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ

#### 3.3.1.1 การเตรียมจุดรีเอเจนต์บนกระดาษโดยวิธีโซล-เจล

หยดสารละลายโซล-เจลแบบเจือซัลฟานิลาไมด์ ที่เตรียมได้ จำนวน 10.00 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง whatman เบอร์ 2 จากนั้นทิ้งเอาไว้ให้แห้งประมาณ 30 นาที

### 3.3.1.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ

#### การทำโซล-เจด แบบเจื่อน้ำยาเคมีผสมทั้งหมด

1. หยดสารละลายโซล-เจดแบบเจื่อน้ำยาเคมีผสมทั้งหมด ที่เตรียมได้ ปริมาณ 10.00 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง whatman เบอร์ 2 จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 30 นาที
2. หยดสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ 5.00 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 15 นาที
3. หยดสารละลายเนฟทิลเอธิลีนไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (NED) 0.0039 M ปริมาณ 3.00 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 1 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีบนจุดรีเอเจนต์

#### การทำโซล-เจด แบบแยกน้ำยาเคมีผสมออกทั้งหมด

1. หยดสารละลายโซล-เจดแบบแยกน้ำยาเคมีผสมทั้งหมด ที่เตรียมได้ ปริมาณ 10.00 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง whatman เบอร์ 2 จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 30 นาที
2. หยดสารละลายซัลฟานิลไมด์ 0.058 M 5.00 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 15 นาที
3. หยดสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ 5.00 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 15 นาที
4. หยดสารละลายเนฟทิลเอธิลีนไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (NED) 0.0039 M ปริมาณ 3.00 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 1 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีบนจุดรีเอเจนต์

#### การทำโซล-เจด แบบเจือซัลฟานิลไมด์

1. หยดสารละลายโซล-เจดแบบเจือซัลฟานิลไมด์ ที่เตรียมได้ ปริมาณ 10.00 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง whatman เบอร์ 2 จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 30 นาที
2. หยดสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ 5.00 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 15 นาที
3. หยดสารละลายเนฟทิลเอธิลีนไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (NED) 0.0039 M ปริมาณ 3.00 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 1 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีบนจุดรีเอเจนต์

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของปริมาณสารละลายซัลฟานิลาไมด์ที่ใช้ และช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนโตรที่ที่จะใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับวิธีหาค่าทดสอบแบบจุดบนกระดาษ

1. ปิเปตสารละลายเตตระเอทิลออลโทซิลิเกต 2.00 มิลลิลิตร และสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 โมลาร์ 1.00 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์พลาสติกขนาด 10 มิลลิลิตร ทั้ง 4 ใบ

2. เติมสารละลายซัลฟานิลาไมด์ 0.058 โมลาร์ 1.00, 1.50, 2.00 และ 2.50 มิลลิลิตร จากนั้นหยดไตรตันเอ็กซ์ 100 7 หยด

3. บั่นกวนสารละลายจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneous) ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง จะได้สารละลายโซล-เจลเจือด้วยซัลฟานิลาไมด์ 1.00, 1.50, 2.00 และ 2.50 มิลลิลิตร ตามลำดับ

4. หยดสารละลายโซล-เจลแบบเจือซัลฟานิลาไมด์ 1.00, 1.50, 2.00 และ 2.50 มิลลิลิตร ที่เตรียมได้ ปริมาณ 10.00 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง whatman เบอร์ 2 จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 30 นาที

2. หยดสารละลายมาตรฐานไนโตรที่ความเข้มข้น 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.50, 0.60, 0.70, 0.80, 0.90, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00, 6.00, 7.00, 8.00, 9.00 และ 10.00 ปริมาณ 5.00 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 15 นาที

3. หยดสารละลายเนฟทิลเอธิลีนไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (NED) 0.0039 M ปริมาณ 3.00 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 1 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีบนจุดรีเอเจนต์ ที่เอามาไว้ประมาณ 1 นาที บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด ใช้เครื่องสแกนเนอร์และนำภาพที่ได้มาบันทึกค่าความเข้มแสง (RGB) ด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS5 นำค่าความเข้มแสงดังกล่าวมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไนโตรกับความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance; ED)

### 3.3.1.3 การสร้างกราฟมาตรฐานโดยวิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ

1. หยดสารละลายโซล-เจลแบบเจือซัลฟานิลาไมด์ ที่เตรียมได้ ปริมาณ 10.00 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง whatman เบอร์ 2 จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 30 นาที

2. หยดสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 mg-N/L ปริมาณ 5.00 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 15 นาที

3. หยดสารละลายแนฟทิลเอธิลีนไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (NED) 0.0039 M ปริมาณ 3.00 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 1 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีบนจุดรีเอเจนต์ ที่เอามาไว้ประมาณ 1 นาที บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด ใช้เครื่องสแกนเนอร์และนำภาพที่ได้มาบันทึกค่าความเข้มแสง (RGB) ด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS5 นำค่าความเข้มแสงดังกล่าวมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไนไตรท์ (แกน y) กับความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance; ED) (แกน x)

### 3.3.1.4 การศึกษาความใช้ได้ของชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษที่หยดโซล-เจลทิ้งไว้ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

1. หยดสารละลายโซล-เจลแบบเจือซัลฟานิลาไมด์ ที่เตรียมได้ ปริมาณ 10.00 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง whatman เบอร์ 2 จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 30, 60, 120 นาที 1, 2, 3 วัน และ 1 สัปดาห์

2. หยดสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 mg-N/L ปริมาณ 5.00 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 15 นาที

3. หยดสารละลายแนฟทิลเอธิลีนไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (NED) 0.0039 M ปริมาณ 3.00 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 1 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีบนจุดรีเอเจนต์ ที่เอามาไว้ประมาณ 1 นาที บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบบนกระดาษแบบจุด ใช้เครื่องสแกนเนอร์และนำภาพที่ได้มาบันทึกค่าความเข้มแสง (RGB) ด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS5 นำค่าความเข้มแสงดังกล่าวมาพลอตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไนไตรท์ (แกน y) กับความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance; ED) (แกน x)

### 3.3.1.5 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

#### การเตรียมสารละลายตัวอย่างผักเจือไนโตรเจน 2.00 mg-N/L [15]

1. นำตัวอย่างผักมาล้างทำความสะอาด ผึ่งพอแห้ง แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 70-80°C ประมาณ 2-3 วัน
2. นำตัวอย่างผักที่แห้งแล้วมาบดให้เป็นผงละเอียด
3. ชั่งตัวอย่างผักประมาณ 2.0 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70-80 °C เป็นเวลา 45 นาที
4. กรองสารละลายด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 ด้วยชุดกรองลดความดัน
5. นำสารละลายที่กรองได้ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
6. เปิดสารละลายจากข้อ 5 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร
7. เติมสารละลาย Intermediate standard solution ปริมาณ 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

#### การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารตัวอย่าง

1. หยดสารละลายตัวอย่างผักเจือไนโตรเจน 2.00 mg-N/L ที่เตรียมได้ ปริมาณ 3.00 ไมโครลิตร ลงบนจตุรีเอเจนต์ ทิ้งเอาไว้ประมาณ 15 นาที
2. หยดหยดสารละลายแนฟทิลเอธิลีนไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (NED) 0.0039 M ปริมาณ 3.00 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 1 นาที บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงสีของชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ โดยใช้เครื่องสแกนเนอร์ และนำภาพที่ได้มาบันทึกค่าความเข้มแสง (RGB) ด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS5 นำความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance; ED) ไปคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนโดยเทียบค่าจากกราฟมาตรฐาน

### 3.3.1.6 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Validation)

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษที่เตรียมโดยวิธี โพล-เจลที่พัฒนาขึ้น โดยศึกษาจากปัจจัยต่างๆ ดังนี้

#### ช่วงความเป็นเส้นตรง

ความสามารถของวิธีทดสอบที่ให้ค่าสัญญาณของเครื่องมือวัดที่แปรสัดส่วน โดยตรงกับ ความเข้มข้นของสารที่ต้องการศึกษา

#### LOD และ LOQ

ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) หมายถึง ความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องสามารถตรวจพบได้ โดยคำนวณได้จากสมการ

$$LOD = Y_B + 3S_B$$

ขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOQ) หมายถึง ความเข้มข้นต่ำสุดที่เครื่องสามารถตรวจพบและอ่านค่าได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ สามารถรายงานค่าได้ โดยคำนวณได้จากสมการ

$$LOQ = Y_B + 10S_B$$

#### Accuracy

ค่าที่ได้จากการวัดมีค่าใกล้เคียงกับค่าจริงมากน้อยเพียงใด ซึ่งสามารถดูได้จากค่าการวิเคราะห์คืนกลับ (% Recovery) ถ้ามีค่าใกล้ 100% หมายถึงวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวมีความแม่นยำ โดย % Recovery สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\% \text{ Recovery} = [C_1 - C_2 / C_3] \times 100$$

เมื่อ  $C_1$  = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่เดิมสารมาตรฐาน

$C_2$  = ความเข้มข้นของตัวอย่าง

$C_3$  = ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เดิมลงไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### Precision

การทดสอบซ้ำๆ ภายใต้สภาวะคงที่ ซึ่งการทดสอบจะต้องทำโดยห้องปฏิบัติการเดียวกัน ตัวเดียวกัน ภาวะแวดล้อมเดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน และภายใต้เวลาใกล้เคียงกัน ซึ่งสามารถดูได้จากค่า %RSD โดยยังมีค่าน้อยเท่าใดก็แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นั้นมีความแม่นยำมากเท่านั้น

### T- test

สามารถคำนวณหาได้ในลักษณะที่แตกต่างกัน ไปจากที่คำนวณมาแล้วเล็กน้อย หาความแตกต่างกันระหว่างผลการทดลองทั้งสองวิธีของแต่ละสารตัวอย่าง แล้วหาค่าเฉลี่ยของผลต่าง ( $\bar{D}$ ) ของสารตัวอย่างทั้งหมด หาค่าเบี่ยงเบนของผลต่างที่เกิดขึ้นของสองวิธีวิเคราะห์ที่มีต่อสารตัวอย่างแต่ละสารกับค่า  $\bar{D}$  ทั้งหมดนี้นำมาคำนวณหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ( $S_d$ ) และหาค่า  $t$  ได้ ดังนี้

$$t = \frac{\bar{D}}{S_d} \sqrt{N}$$

$$S_d = \sqrt{\frac{\sum(D_i - \bar{D})^2}{N-1}}$$

$D_i$  ความแตกต่างของผลการทดลองโดยวิธีทดลองโดยวิธีวิเคราะห์ทั้งสอง ต่อสารตัวอย่างแต่ละสาร (ต้องคิดเครื่องหมายบวกลบด้วย)

$\bar{D}$  เป็นค่าเฉลี่ยของ  $D_i$  (คิดเครื่องหมายบวกลบด้วย)

$N$  จำนวนสารตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

### 3.3.2 วิธี Spectrophotometry

#### 3.3.2.1 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

1) ปิเปต Intermediate Standard Solution 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 50 มิลลิลิตร สารละลายมีความเข้มข้น 0.002, 0.01, 0.02, 0.04 0.06, 0.08, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 mg-N/L ตามลำดับ สำหรับแบลนด์ใช้น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 2) เติมสารละลายซัลฟานิลลาไมด์ 1 มิลลิลิตร ทั้ง 13 ขวด เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 2 นาที
- 3) เติม NED 1 มิลลิลิตร ทั้ง 13 ขวด เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที ถึง 2 ชั่วโมง
- 4) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร จดบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ได้

### 3.3.2.2 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

- 1) นำตัวอย่างผัก 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
- 2) เติมสารละลายซัลฟานิลลาไมด์ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 2 นาที เติม NED 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที ถึง 2 ชั่วโมง
- 3) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร จดบันทึกค่าการดูดกลืนแสง (Abs) ที่ได้แล้วนำค่า Abs (แกน x) มาพลอตกราฟความสัมพันธ์กับความเข้มข้นไนโตรท์ (mg-N/L) (แกน y)

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

#### 4.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ

##### 4.1.1 ผลการทำโซล-เจล แบบเจื่อน้ำยาเคมีผสมทั้งหมด

จากการศึกษาการทำโซล-เจล แบบใช้น้ำยาเคมีผสมทั้งหมด ให้ผลการทดสอบที่เกิดสีที่ไม่ชัดเจนบนชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ เนื่องจากโซล-เจลที่หยดไว้บนชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษนั้นแห้งก็เกิดสีชมพูขึ้นก่อนหยดสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ และเมื่อหยดสารละลายมาตรฐานไนไตรท์จะเกิดการกระจายตัวของสีทำให้เกิดให้สีที่ไม่ชัดเจนบนชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ



รูปที่ 4.1 ผลการทำโซล-เจล แบบใช้น้ำยาเคมีผสมทั้งหมด

- ก. เมื่อโซล-เจลที่หยดไว้บนชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษแห้ง
- ข. เมื่อหยดสารละลายมาตรฐานไนไตรท์

#### 4.1.2 ผลการทำโซล-เจล แบบแยกน้ำยาเคมีผสมออกทั้งหมด

จากการศึกษาการทำโซล-เจล แบบแยกน้ำยาเคมีผสมออกทั้งหมด ให้ผลการทดลองที่ไม่เกิดสีบนชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ และมีสารละลายบางส่วนไหลออกนอกวงโซล-เจล เนื่องจาก เมื่อหยดน้ำยาเคมีผสมทั้งหมดและสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ ลงบนชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ หลังจากหยดโซล-เจลแล้ว จะไม่เกิดปฏิกิริยาเนื่องจากโซล-เจลแห้งเกินไป



รูปที่ 4.2 ผลการทำโซล-เจล แบบแยกน้ำยาเคมีผสมออกทั้งหมด

#### 4.1.3 ผลการทำโซล-เจล แบบเจือซัลฟานิลไมด์

จากการศึกษาการทำโซล-เจลแบบเจือซัลฟานิลไมด์ ให้ผลการทดสอบที่เกิดสีบนชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ เนื่องจากสารละลายซัลฟานิลไมด์ที่ผสมอยู่ในโซล-เจลทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานไนไตรท์หรือสารตัวอย่างที่มีไนไตรท์เจือปนอยู่ จากนั้นทำปฏิกิริยากับสารละลายแอฟทิลเอริสทินไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ จึงเกิดเป็น Diazonium ion และ Azo Dye ซึ่งมีสีชมพู ตามลำดับ



รูปที่ 4.3 ผลการทำโซล-เจล แบบเจือซัลฟานิลไมด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.1.4 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์ที่ใช้ และช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่จะใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับวิธีหาคทดสอบแบบจุดบนกระดาษ

จากการศึกษาปริมาณน้ำยาเคมีผสมที่ใช้ในการทำโซล-เจด ได้ทดลองใช้ปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์ ดังนี้ และช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่จะใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับวิธีหาคทดสอบแบบจุดบนกระดาษ

- 1) ปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์ 1.00 มิลลิลิตร
- 2) ปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์ 1.50 มิลลิลิตร
- 3) ปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์ 2.00 มิลลิลิตร
- 4) ปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์ 2.50 มิลลิลิตร

จากการศึกษาการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าความเข้มแสง (ED) เมื่อใช้ปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์ที่แตกต่างกัน กับช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ 0.01 ถึง 10 mg-N/L ได้ผลดังตารางที่ 4.1

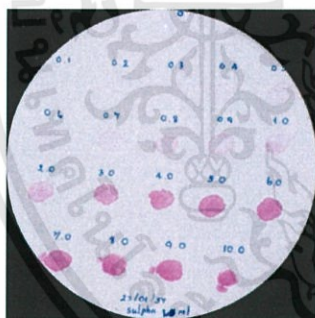
ตารางที่ 4.1 ความแตกต่างความเข้มแสง (ED) เมื่อใช้ปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์ที่แตกต่างกัน

ปริมาณซัลฟานิลไมด์ (ml)	1.00	1.50	2.00	2.50
ความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L)	ED			
0.00	0	0	0	0
0.10	0	0	0	0
0.20	0.67	0.58	0	0
0.30	3.00	3.50	0.94	0
0.40	7.41	7.16	6.57	2.49
0.50	14.38	15.58	13.47	6.37
0.60	15.21	16.02	13.73	4.77
0.70	23.33	18.03	19.61	7.19
0.80	25.67	20.16	22.89	7.70
0.90	26.04	23.74	23.60	19.85

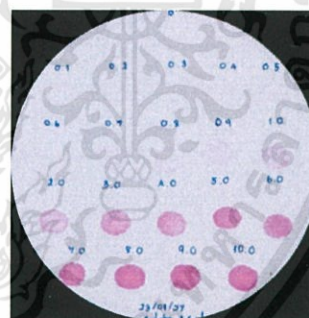
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ความแตกต่างความเข้มแสง (ED) เมื่อใช้ปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์  
ที่แตกต่างกัน (ต่อ)

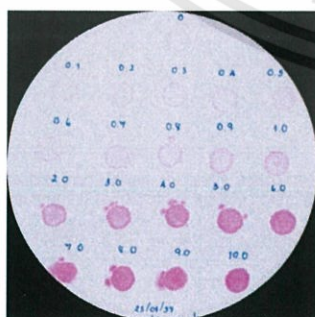
ปริมาณซัลฟานิลไมด์ (ml)	1.00	1.50	2.00	2.50
ความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L)	ED			
1.00	33.45	34.18	35.01	28.92
2.00	53.56	61.50	57.07	42.40
3.00	87.02	87.74	67.97	76.53
4.00	123.60	105.71	88.33	82.21
5.00	130.78	124.4	95.94	101.38
6.00	145.59	133.61	113.27	113.74
7.00	147.59	146.59	131.90	115.30
8.00	155.87	152.84	133.68	123.42
9.00	162.17	157.38	155.26	131.91
10.00	163.45	160.58	160.37	139.63



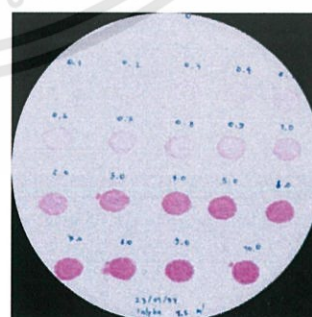
ก. ปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์ 1.00 ml



ข. ปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์ 1.50 ml



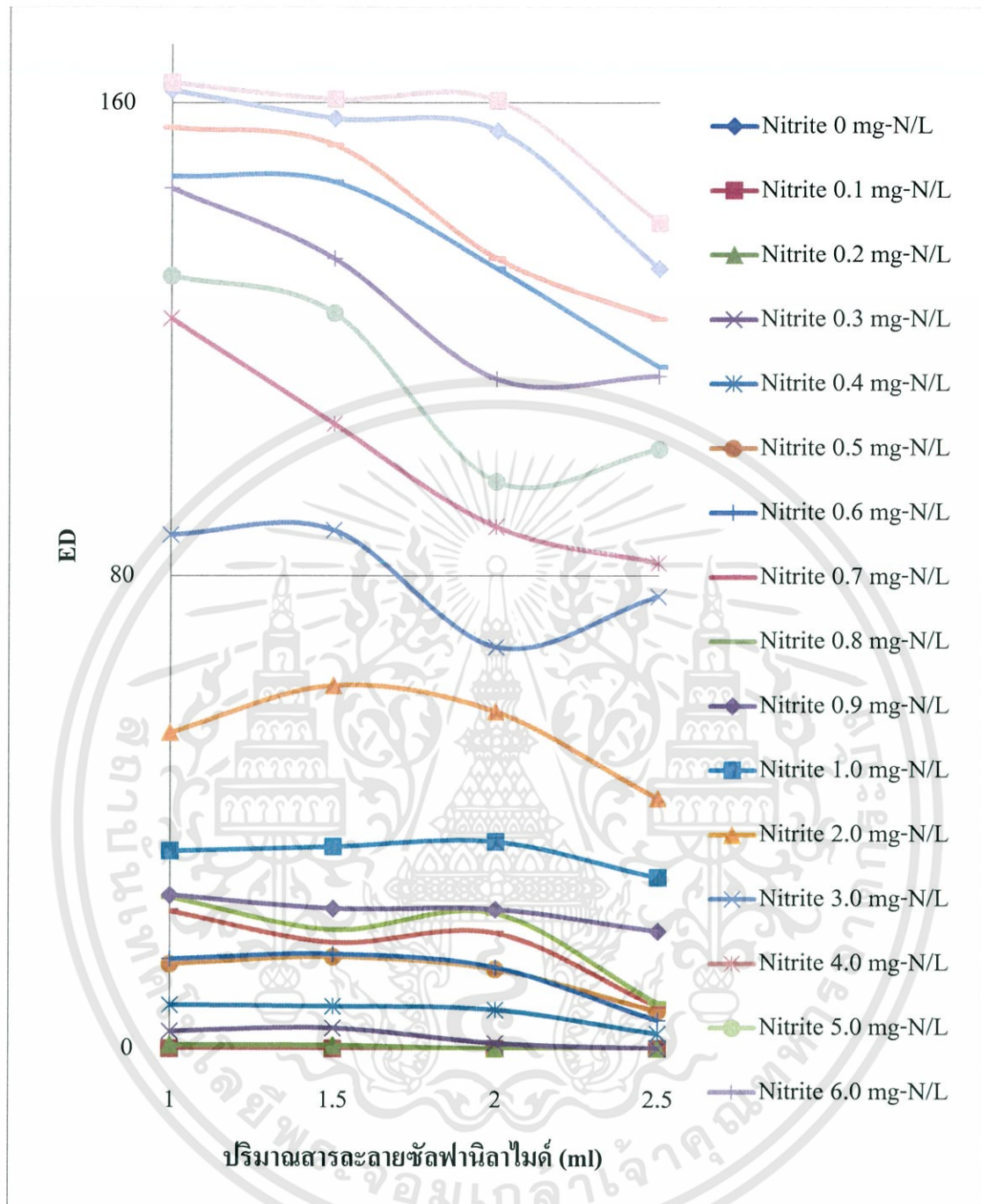
ค. ปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์ 2.00 ml



ง. ปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์ 2.50 ml

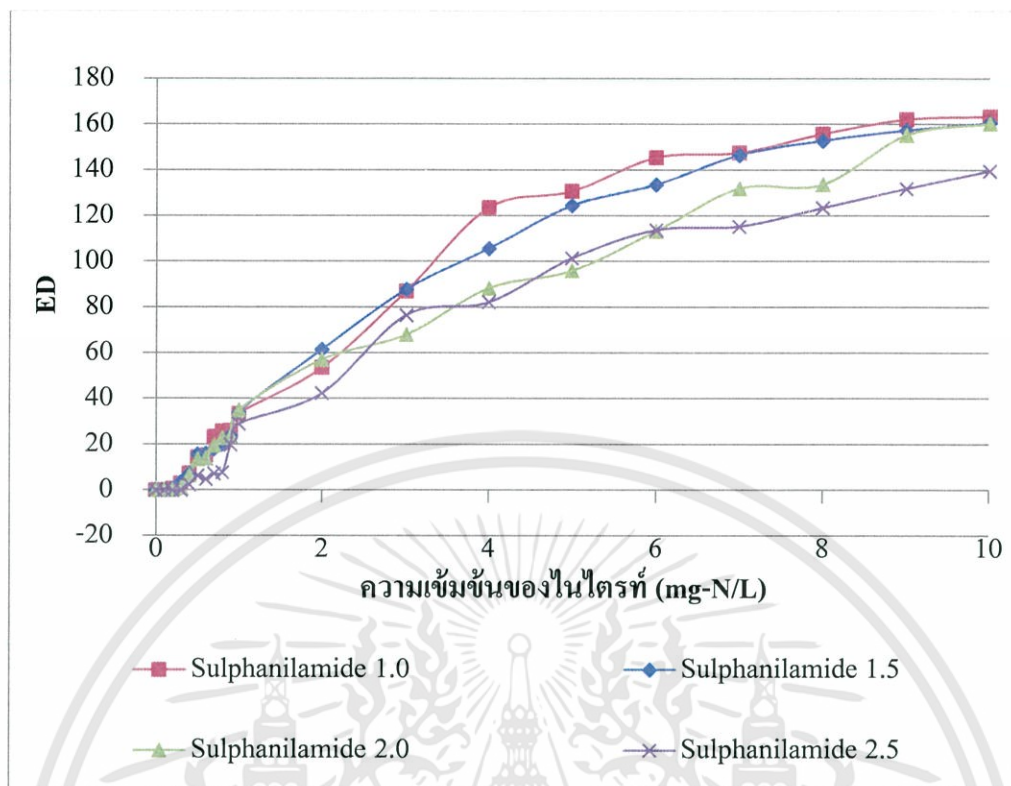
#### รูปที่ 4.4 ผลการทำโซล-เจด แบบเจือซัลฟานิลไมด์ปริมาณต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารละลายฟีนอล (ml) กับค่า ED

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



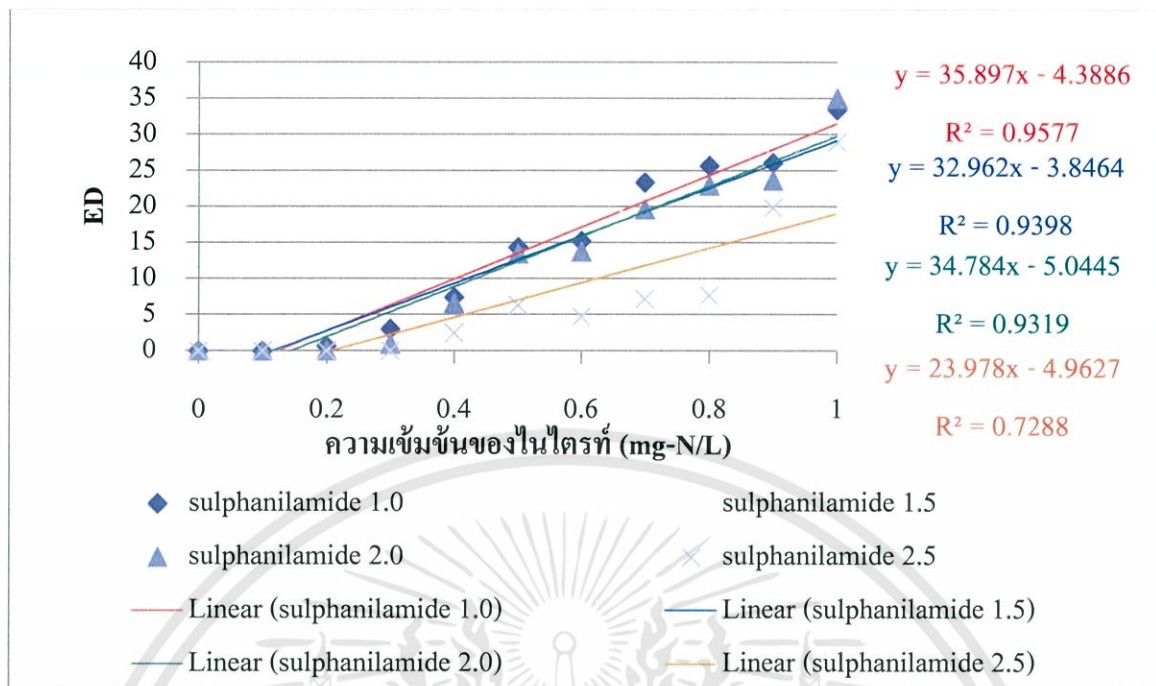
รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนโตรเจน (mg-N/L) กับค่า ED

จากรูปที่ 4.4 ถึง 4.6 เห็นได้ว่ากราฟมาตรฐานของไนโตรเจนนั้นสามารถแบ่งช่วงความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ออกได้เป็นสองช่วง คือช่วงความเข้มข้น 0 ถึง 1 mg-N/L และช่วงความเข้มข้น 2 ถึง 10 mg-N/L และเมื่อสร้างกราฟมาตรฐานของทั้งสองช่วงจะได้ค่า  $R^2$  ดังตารางที่ 4.2

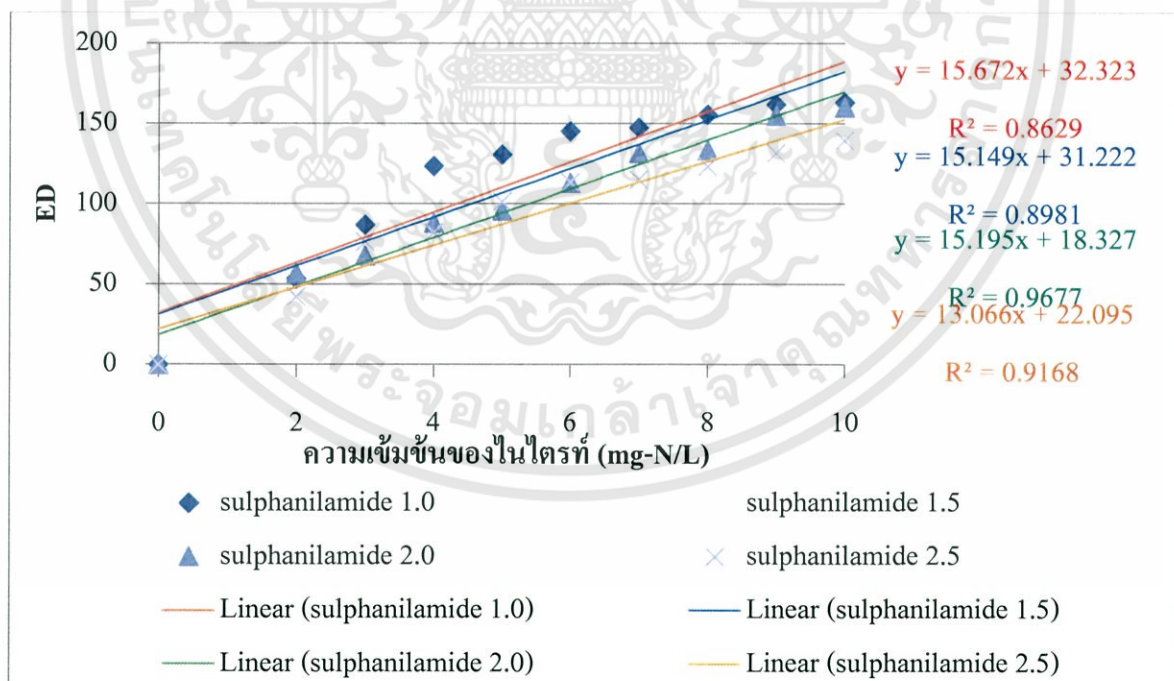
ตารางที่ 4.2 ค่า  $R^2$  ของโซล-เจส ที่เจือสารละลายซัลฟาไมด์ไนโตรเจนในปริมาณที่แตกต่างกัน บนช่วงความเข้มข้นของไนโตรเจนทั้งสองช่วง

ช่วงความเข้มข้นของไนโตรเจน (mg-N/L)	0 - 1		2 - 10	
	สมการเส้นตรง	$R^2$	สมการเส้นตรง	$R^2$
1.00	$y = 35.89x - 4.388$	0.957	$y = 15.67x + 32.32$	0.862
1.50	$y = 32.96x - 3.846$	0.939	$y = 15.14x + 31.22$	0.898
2.00	$y = 16.79x + 7.025$	0.931	$y = 16.79x + 7.025$	0.967
2.50	$y = 15.60x + 3.778$	0.728	$y = 15.60x + 3.778$	0.916

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า ED ของโซล-เจล ที่เจือสารละลายซัลฟานิลาไมด์ปริมาณที่แตกต่างกัน (ช่วงความเข้มข้นของไนไตรท์ 0.1 ถึง 1 mg-N/L)



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า ED ของโซล-เจล ที่เจือสารละลายซัลฟานิลาไมด์ปริมาณที่แตกต่างกัน (ช่วงความเข้มข้นของไนไตรท์ 2 ถึง 10 mg-N/L)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

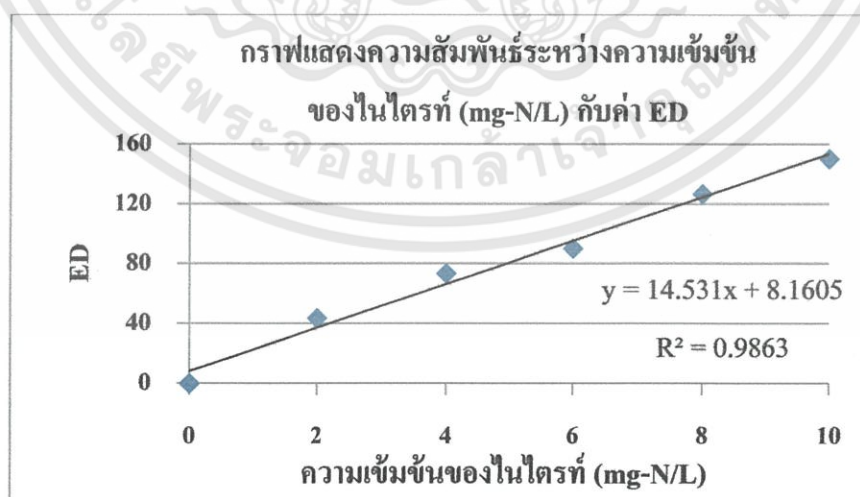
จากผลการการศึกษาการทำโซล-เจลที่ใช้ปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์ที่แตกต่างกัน กับช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ทั้งสองช่วง พบว่าที่ปริมาณสารละลายซัลฟานิลไมด์ 2.00 มิลลิลิตร ช่วงความเข้มข้นของไนไตรท์ 2 ถึง 10 mg-N/L ได้ค่า  $R^2$  ของกราฟมาตรฐานสูงสุด เท่ากับ 0.967

#### 4.2 ผลการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐานโดยวิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ

จากการศึกษาการวัดค่า ED ของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ซึ่งมีความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 mg-N/L ตามลำดับ ได้ค่า ED ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า ED

ความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L)	ED
0	0
2	43.72
4	73.77
6	90.38
8	126.71
10	150.31



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า ED

จากกราฟได้สมการการถดถอยเชิงเส้นตรง  $y = 14.53x + 8.160$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3 ผลการศึกษาความใช้ได้ของชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษที่หยดโซล-เจลทิ้งไว้ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

จากการศึกษาความใช้ได้ของชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษที่หยดโซล-เจลทิ้งไว้ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน ได้ค่า ED ดังตารางที่ 4.4

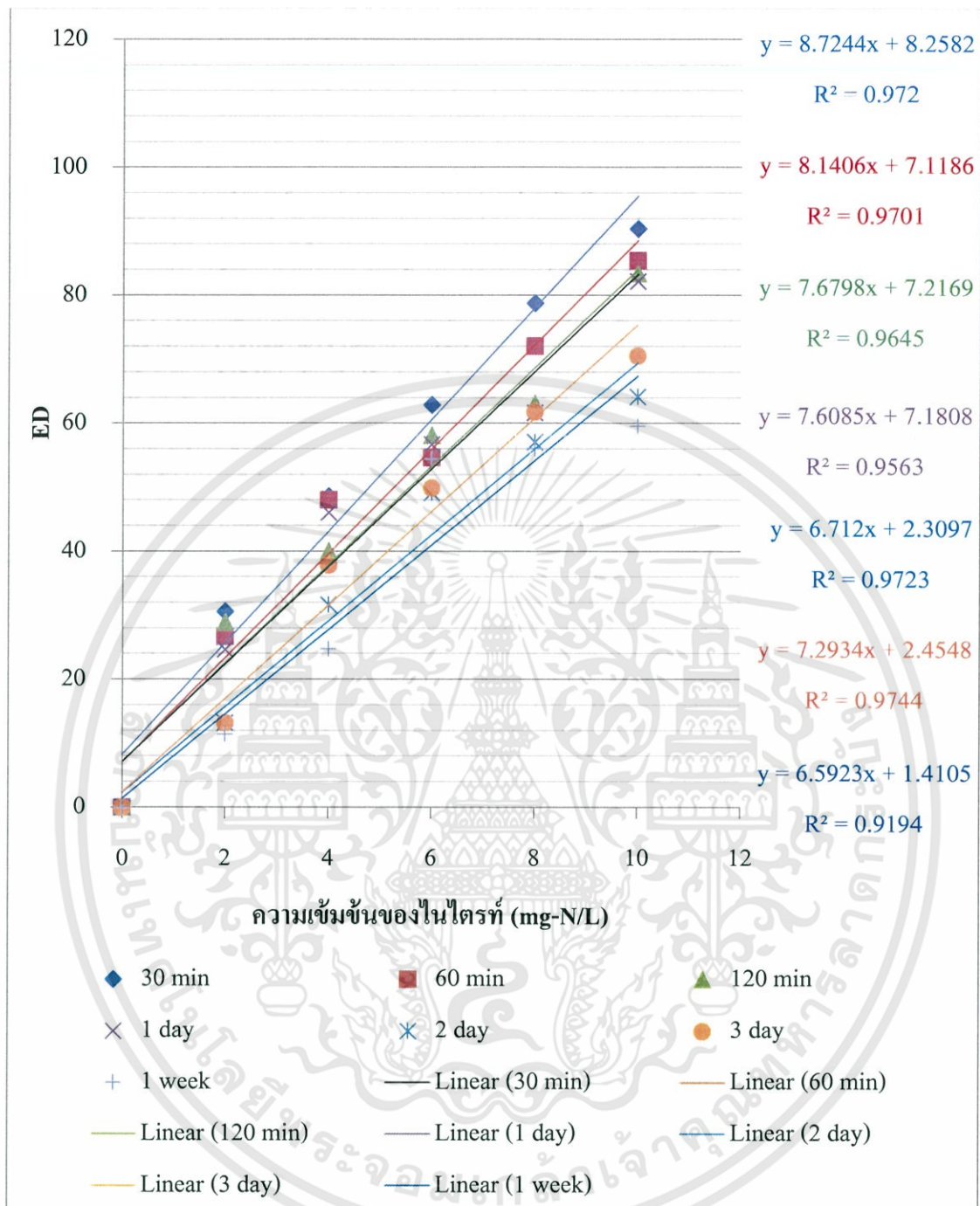
ตารางที่ 4.4 ค่า ED ของกราฟมาตรฐานที่ระยะเวลาโซล-เจลที่แตกต่างกัน

ระยะเวลาที่หยดโซล-เจลทิ้งไว้	30 นาที	60 นาที	120 นาที	1 วัน	2 วัน	3 วัน	1 สัปดาห์
ความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L)	<b>ED</b>						
0	0	0	0	0	0	0	0
2	30.63	26.72	28.95	37.39	13.2	13.27	11.42
4	48.62	48.05	40.08	64.24	31.66	37.92	24.75
6	62.87	54.65	58.14	81.31	49.14	49.95	54.43
8	78.76	72.07	63.12	95.04	57.05	61.82	56.07
10	90.41	85.44	89.41	122.3	64.17	70.57	59.57

เมื่อนำค่าจากตาราง 4.4 ไปสร้างกราฟมาตรฐานของไนไตรท์ ได้ค่า  $R^2$  ดังตารางที่ 4.5  
 ตารางที่ 4.5 ค่า  $R^2$  ของกราฟมาตรฐานไนไตรท์ที่มีระยะเวลาในการหยดโซล-เจลทิ้งไว้แตกต่างกัน

ระยะเวลาที่หยดโซล-เจลทิ้งไว้	สมการเส้นตรง	$R^2$
30 นาที	$y = 8.724x + 8.258$	0.972
60 นาที	$y = 8.140x + 7.118$	0.970
120 นาที	$y = 7.679x + 7.216$	0.964
1 วัน	$y = 11.44x + 9.471$	0.974
2 วัน	$y = 6.712x + 2.309$	0.972
3 วัน	$y = 7.293x + 2.454$	0.974
1 สัปดาห์	$y = 6.592x + 1.410$	0.919

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า ED ของการทิ้งโซล-เจลไว้ที่เวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.4 ผลการศึกษาการหาค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง โดยวิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ

จากการศึกษาการหาค่าความเข้มข้นของตัวอย่างโดยวิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ ได้ค่า ED ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.6 แสดงค่า ED ของตัวอย่างผัก ที่ได้จากการทดสอบด้วยชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ

ตัวอย่างผัก	ED	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
ผักบุ้งจีน	38.97	38.56
กวาดู้ง	37.58	37.35
คะน้า	38.84	39.24

หมายเหตุ นำค่า ED แทนลงในสมการการถดถอยเชิงเส้นตรงตามครั้งที่ระบุเป็นครั้งเดียวกัน

เมื่อแทนค่า ED ลงในสมการ  $y = 14.53x + 8.160$  แล้วลบด้วย 2.00 mg-N/L (ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป) และคำนวณย้อนกลับได้ค่าความเข้มข้นของไนไตรท์ในตัวอย่างผัก ดังตารางที่ 4.7 และ 4.8

ตารางที่ 4.7 ตารางแสดงปริมาณไนไตรท์ (mg) ที่มีในตัวอย่างผักอบแห้ง 1 kg ที่ได้จากการทดสอบด้วยชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ

ตัวอย่างผัก	ปริมาณไนไตรท์ (mg) ในตัวอย่างผักอบแห้ง 1 kg			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	SD
ผักบุ้งจีน	14.96	11.49	13.22	1.74
กวาดู้ง	3.05	1.10	2.08	0.98
คะน้า	13.85	17.29	15.57	1.72

ตารางที่ 4.8 ตารางแสดงปริมาณไนโตรเจน (mg) ที่มีในตัวอย่างผักสด 1 kg ที่ได้จากการทดสอบด้วยชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษ

ตัวอย่างผัก	ปริมาณไนโตรเจน (mg) ในตัวอย่างผักสด 1 kg			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	SD
ผักบุ้งจีน	1.87	1.44	1.66	0.22
กวาดำ	0.60	0.22	0.41	0.19
คะน้า	1.43	1.79	1.61	0.25

จากการศึกษาการหาค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง โดยวิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ ได้ค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในตัวอย่างผักสด ได้แก่ ผักบุ้งจีน กวาดำ และคะน้า เท่ากับ 1.44, 0.41 และ 1.61 mg-N/kg ตามลำดับ

#### 4.5 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Validation)

ผลตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษที่เตรียมโดยวิธีโชนเจตที่พัฒนาขึ้น จากปัจจัยต่างๆ ดังนี้

##### ช่วงความเป็นเส้นตรง

วิธี ทดสอบแบบจุดบนกระดาษ มีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 1.0-10.0 mg-N/L และได้ค่า  $R^2 = 0.9863$  สำหรับวิธี Spectrophotometry มีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 0.002-1.0 mg-N/L และได้ค่า  $R^2 = 0.9981$

##### LOD และ LOQ

$$\text{จากสมการ } \text{LOD} = Y_B + 3S_B$$

$$\text{LOQ} = Y_B + 10S_B$$

จากการแทนค่า  $x = 0$  ในสมการ  $y = 14.531x + 8.1605$  ได้ค่า  $Y_B$  เท่ากับ 8.1605

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

เมื่อ  $y$  คือ ค่าจริงที่อ่านได้จริง

$\hat{y}$  คือ ค่าที่ได้จากการ แทน  $x$  ลงในสมการเส้นตรง

$n$  คือ จำนวนจุด

ได้ค่า  $S_B$  เท่ากับ 8.06

จากสมการ  $LOD = Y_B + 3S_B$  ดังนั้น ค่า  $LOD = 8.1605 + 3(8.06) = 32.34$  และ คิดเป็นค่าความเข้มข้นจากสมการ  $y = 14.531x + 8.1605$  ได้ค่า  $LOD$  ในหน่วยความเข้มข้น (mg-N/L) เท่ากับ 1.66

จากสมการ  $LOQ = Y_B + 10S_B$  ดังนั้น ค่า  $LOQ = 8.1605 + 10(8.06) = 88.76$  และ คิดเป็นค่าความเข้มข้นจากสมการ  $y = 14.531x + 8.1605$  ได้ค่า  $LOQ$  ในหน่วยความเข้มข้น (mg-N/L) เท่ากับ 5.55

#### Accuracy

จากสมการ  $\% Recovery = [C_1 - C_2 / C_3] \times 100$  ได้ค่า  $\% Recovery$  ดังตารางที่ 4.9 ตารางที่ 4.9 ตารางค่า  $\% Recovery$  ของวิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ

ตัวอย่าง	% Recovery		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย
ผักนึ่งจิ้น	104.86	103.47	104.16
กวาดุ้ง	100.92	100.34	100.63
ผักคะน้า	104.17	105.22	104.69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Precision**

จากสมการ  $\% \text{RSD} = \frac{\text{SD}}{\bar{X}} \times 100$  ได้ค่า % RSD ดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.10 ตารางค่า % RSD ของวิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ

ตัวอย่าง	% RSD
ผักบุ้งจีน	0.93
กวาดั่ง	0.55
ผักคะน้า	0.93

**T-test**

ตารางที่ 4.11 ตารางการทดสอบ T-test

ตัวอย่าง	วิธีที่พัฒนาขึ้นใหม่	วิธีมาตรฐาน	$D_i$	$D_i - \bar{D}$	$(D_i - \bar{D})^2$
ผักบุ้งจีน	0.0924	0.0241	0.0684	-0.0006	0.0000
กวาดั่ง	0.0168	0.0028	0.0140	0.0140	0.0002
คะน้า	0.1252	0.0006	0.1245	0.1245	0.0155
		SUM	0.2068	$\sum (D_i - \bar{D})^2$	0.0157

$$\bar{D} = \frac{0.2068}{3} = 0.0689$$

$$S_d = \sqrt{\frac{0.0157}{3-1}}$$

$$= 0.0886$$

$$t = \frac{0.0689}{0.0886} \sqrt{3} = 1.3469$$

จากตารางที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ  $n = 2$  ค่า  $t$  จากตาราง เท่ากับ 4.303 ดังนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างผลการวิเคราะห์ทั้งสองวิธี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.6 ผลการศึกษาการสร้างกราฟมาตรฐานโดยวิธี Spectrophotometry

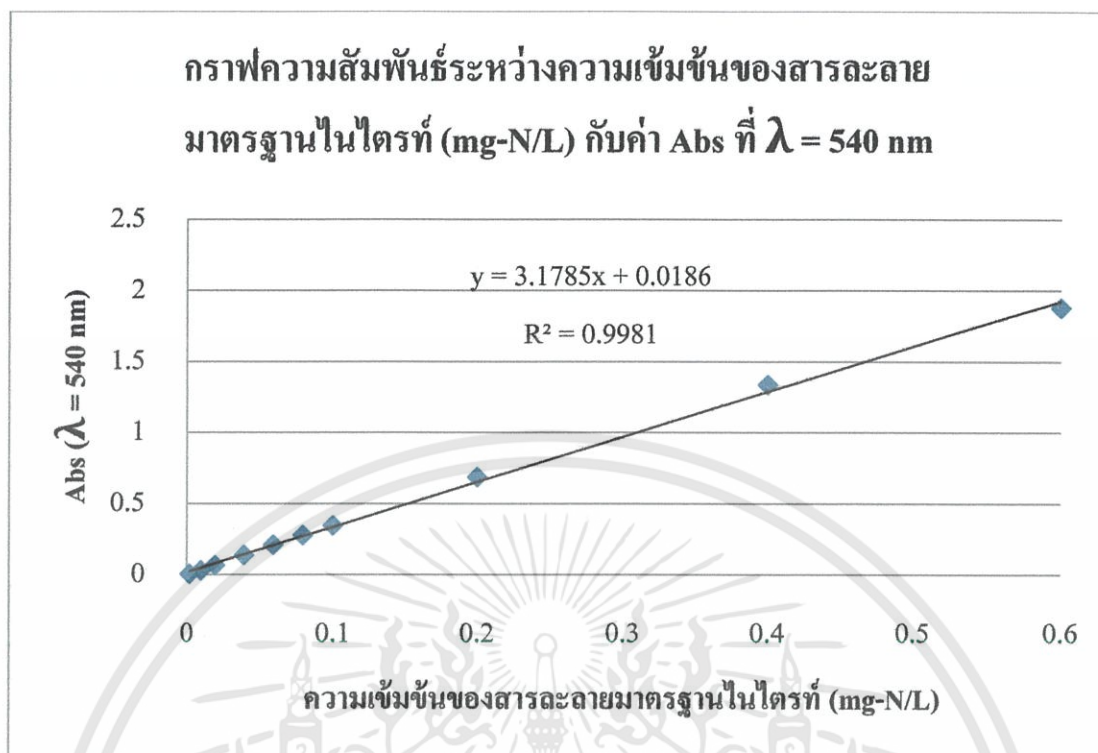
จากการศึกษาการวัดค่าการดูดกลืนแสง ของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ ซึ่งมีความเข้มข้น 0.002, 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 mg-N/L ตามลำดับ ได้ค่าการดูดกลืนแสง ดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.12 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่าการดูดกลืนแสง (Abs) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

ความเข้มข้น (mg-N/L)	Abs ( $\lambda= 540 \text{ nm}$ )
0.002	0.006
0.01	0.031
0.02	0.068
0.04	0.141
0.06	0.212
0.08	0.28
0.1	0.347
0.2	0.688
0.4	1.339
0.6	1.88
0.8	2.224
1	2.311

เมื่อนำไปสร้างกราฟมาตรฐานของไนไตรท์จะได้กราฟดังรูปที่ 4.11 ซึ่งมีค่า  $R^2$  เท่ากับ 0.998 และมีสมการการถดถอยเชิงเส้นตรง คือ  $y = 3.178x + 0.018$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า Abs ที่  $\lambda = 540$  nm

#### 4.7 ผลการศึกษาการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของตัวอย่างผักโดยวิธีspectrophotometry

จากการศึกษาการหาความเข้มข้นของตัวอย่าง โดยวิธี Spectrophotometry ได้ค่าการดูดกลืนแสง ดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.13 แสดงค่า Abs. ของตัวอย่างผัก ด้วยวิธี Spectrophotometry

ตัวอย่างผัก	Abs	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
ผักบุ้งจีน	0.094	0.095
กวาดั่ง	0.026	0.028
คะน้า	0.021	0.019

เมื่อแทนค่า Abs ลงในสมการ  $y = 3.178x + 0.018$  และคำนวณย้อนได้ค่าความเข้มข้นของไนไตรท์ในตัวอย่างผัก ดังตารางที่ 4.14 และ ตารางที่ 4.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 ปริมาณไนโตรเจน (mg) ในตัวอย่างฝักอบแห้ง 1 kg ด้วยวิธี Spectrophotometry

ตัวอย่างฝัก	ปริมาณไนโตรเจน (mg) ในตัวอย่างฝักอบแห้ง 1 kg			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	SD
ฝักบุงจิ้น	2.98	3.02	3.00	0.02
กวางตุ้ง	0.31	0.39	0.35	0.04
คะน้ำ	0.12	0.04	0.08	0.04

ตารางที่ 4.15 ปริมาณไนโตรเจน (mg) ในตัวอย่างฝักสด 1 kg ด้วยวิธี Spectrophotometry

ตัวอย่างฝัก	ปริมาณไนโตรเจน (mg) ในตัวอย่างฝักสด 1 kg			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	SD
ฝักบุงจิ้น	0.373	0.378	0.375	0.003
กวางตุ้ง	0.062	0.077	0.0695	0.011
คะน้ำ	0.012	0.004	0.008	0.006

จากการศึกษาการหาค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง โดยวิธี Spectrophotometry ได้ค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในตัวอย่างฝักสด ได้แก่ ฝักบุงจิ้น กวางตุ้ง และคะน้ำ เฉลี่ยเท่ากับ 0.375, 0.0695 และ 0.008 mg-N/kg ตามลำดับ

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาและพัฒนาชุดทดสอบแบบจุดบนกระดาษด้วยวิธีโซล-เจล นั้นพบว่าสถานะที่เหมาะสมในการเตรียมจุดรีเอเจนต์ คือ ประกอบด้วยสารละลายเตตระเอทิลออลโทซิลิเกต 2.00 มิลลิลิตร สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.10 โมลาร์ ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร สารละลายซัลฟานิลไมด์เข้มข้น 0.058 โมลาร์ 2.00 มิลลิลิตร และไตรตันเอ็กซ์-100 7 หยด แล้วหยดทิ้งไว้ 30 นาที แต่อย่างไรก็ตามจุดรีเอเจนต์นี้สามารถหยดทิ้งไว้ได้นานถึง 3 วัน ชุดทดสอบแบบจุดสีบนกระดาษสำหรับวิเคราะห์ไนโตรที่ที่พัฒนาขึ้นนี้มีช่วงความเป็นเส้นตรง 2-10 mg-N/L มีสมการการถดถอยเชิงเส้นตรง คือ  $y = 14.53x + 8.160$  ( $R^2 = 0.986$ ) มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (LOQ) เท่ากับ 1.664 และ 5.547 ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์หาไนโตรที่ในตัวอย่างผักพบว่ามีไนโตรที่ในตัวอย่างผักบุงจิ้น กวางตุ้ง และผักคะน้า เท่ากับ 1.66, 0.41 และ 1.61 mg-N/kg ตามลำดับ ซึ่งไม่เกินปริมาณมาตรฐานที่กำหนดไว้ (400 mg-N/kg น้ำหนักผักสด) วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้มีค่าวิเคราะห์คืนกลับ (%Recovery) อยู่ในช่วง 100.34 - 105.22% และมีค่า %RSD ของการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรที่ในตัวอย่างผักบุงจิ้น และผักคะน้า ได้เท่ากับ 0.93% สำหรับตัวอย่างกวางตุ้ง ได้เท่ากับ 0.55% แสดงให้เห็นว่าวิธีชุดทดสอบแบบจุดสีบนกระดาษสำหรับวิเคราะห์ไนโตรที่ที่พัฒนาขึ้นนี้ มีความแม่นยำและความเที่ยงที่ดีสามารถนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรที่ในตัวอย่างผักบุงจิ้น กวางตุ้ง และผักคะน้า ได้สำเร็จ

#### 5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาอุณหภูมิ และความเร็วในการปั่นกวนสารละลาย ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ไนโตรที่โดยชุดทดสอบแบบจุดสีบนกระดาษ และควรทำการทดลอง 2-3 ซ้ำสำหรับหัวข้อการศึกษาความใช้ได้ของชุดทดสอบที่หยดโซล-เจล หรือ จุดรีเอเจนต์ทิ้งไว้ระยะเวลาต่างๆ

## เอกสารอ้างอิง

- [1] เทพวิฑูรย์ ทองศร. ผลกระทบของไนโตรเจนต่อสิ่งแวดล้อม (2555) สืบค้นเมื่อ 12 กันยายน 2556 จาก [http://lib3.dss.go.th/fulltext/dss\\_j/2555\\_190\\_60\\_p12-14.pdf](http://lib3.dss.go.th/fulltext/dss_j/2555_190_60_p12-14.pdf)
- [2] การตกค้างของสารไนเตรทและไนไตรท์ ในผักต่างชนิด ที่เพาะปลูกแบบเคมีแบบปลอดภัย จากสารพิษและแบบอินทรีย์ สืบค้นเมื่อ 13 ตุลาคม 2556 จาก <http://www.li.mahidol.ac.th/thesis/2549/cd388/4637161.pdf>
- [3] พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, เกียรติคุณและ นิธิยา รัตนานนท์. nitrite/ไนไตรท์ สืบค้นเมื่อ 10 ตุลาคม 2556 จาก <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1115/nitrite-ไนไตรท์>
- [4] สำนักโรคควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. ไนไตรท์ (2555) สืบค้นเมื่อ 12 มีนาคม 2557 จาก [http://epid.moph.go.th/wesr/file/y55/F55231\\_1295.pdf](http://epid.moph.go.th/wesr/file/y55/F55231_1295.pdf)
- [5] Nitrit-Ion2 สืบค้นเมื่อ 14 ตุลาคม 2556 จาก <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Nitrit-Ion2.svg>
- [6] Sulfanilamide (2555) สืบค้นเมื่อ 12 มีนาคม 2557 จาก <http://en.wikipedia.org/wiki/Sulfanilamide>
- [7] N-(1-Naphthyl)ethylenediaminedihydrochloride สืบค้นเมื่อ 12 มีนาคม 2557 จาก <http://www.scbt.com/datasheet-203148-n-1-naphthylethylenediamine-dihydrochloride.html>
- [8] Colorimetric Determination of Nitrate Plus Nitrite in Water by Enzymatic Reduction, Automated Discrete Analyzer Methods สืบค้นเมื่อ 10 ตุลาคม 2556 จาก <http://pubs.usgs.gov/tm/05b08/contents/TM5-B8.pdf>
- [9] ปาณิศ ธรรมศรี และ สุทัตตา เซ็นโซ, “การวิเคราะห์คุณภาพน้ำด้วยการทดสอบแบบจุดสี”, กรุงเทพฯ ;สาขาเคมีอุตสาหกรรม-เคมีเครื่องมือวิเคราะห์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 2555.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [10] ระบบสี สืบค้นเมื่อ 31 มีนาคม 2557 จาก  
[http://th.wikipedia.org/wiki/ระบบสี\\_RGB](http://th.wikipedia.org/wiki/ระบบสี_RGB)  
[http://th.wikipedia.org/wiki/ระบบสี\\_CMYK](http://th.wikipedia.org/wiki/ระบบสี_CMYK)
- [11] การทำงานของสแกนเนอร์ สืบค้นเมื่อ 31 มีนาคม 2557 จาก  
[http:// http://blog.eduzones.com/banny/2799](http://blog.eduzones.com/banny/2799)
- [12] E. Hugo Seymour, Nathan S. Lawrence, MalingappagariPandurangappa, and Richard G. Compton. (2002). *Indirect Electrochemical Detection of Nitrite via Diazotization of Aromatic Amines*. *Microchimica Acta* 140, 211–217.
- [13] V. raman, O. P. bahl, V. K, Parashar. (1994). *Sol-gel doped with analytical reagent for nitrite/nitrogen dioxide*. *Journal of materials science letters* 13, 579-581.
- [14] V. Hugo M. Luiz, L. Pezza, H. RedigoloPezza. (2012). *Determination of nitrite in meat products and water using dapsone with combined spot test/diffuse reflectance on filter paper*. *Elsevier* 134, 2546–2551.
- [15] Ali A. Ensafi \*, Maryam Amini. (2012). *Highly selective optical nitrite sensor for food analysis based on Lauth's violet-triacetyl cellulose membrane film*. *Food Chemistry* 132, 1600–1606.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### การคำนวณผลการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน โดยวิธีทดสอบแบบจุดบนกระดาษ

ตารางที่ ก-1 ตารางการวัดค่า RGB ของสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของไนโตรเจน (mg-N/L)		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	R	204	204	204	204
	G	206	206	206	206
	B	203	203	203	203
2	R	210	211	211	210.67
	G	171	168	159	166
	B	216	221	221	219.33
4	R	213	214	218	215
	G	133	136	138	135.67
	B	220	222	225	222.33
6	R	217	218	213	216
	G	120	116	122	119.33
	B	227	225	225	225.67
8	R	210	210	215	211.67
	G	82	82	78	80.667
	B	221	219	220	220
10	R	207	206	207	206.67
	G	51	61	56	56
	B	210	214	213	212.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-2 ตารางการวัดค่า RGB ของตัวอย่างผัก

ตัวอย่าง		ครั้งที่ 1			ค่าเฉลี่ย	ครั้งที่ 2			ค่าเฉลี่ย
		ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3		ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	
Blank Std. 2 ppm	R	204	204	204	204	204	204	204	204
	G	206	206	206	206	206	206	206	206
	B	203	203	203	203	205	205	205	205
ผักบุ้งจีน	R	210	207	212	209.67	212	212	214	212.67
	G	172	174	176	174	180	168	168	172
	B	219	221	220	220	221	219	217	219
กวาดุ้ง	R	218	212	214	214.67	207	206	206	206.33
	G	168	175	173	172	168	174	167	169.67
	B	217	216	215	216	212	211	211	211.33
คะน้า	R	212	212	210	211.33	211	212	216	213
	G	169	175	171	171.67	172	168	171	170.33
	B	215	218	215	216	219	219	212	216.67

### วิธีการคำนวณค่าความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance; ED)

$$\text{จากสมการ} \quad \text{ED} = \sqrt{(\Delta I_R)^2 + (\Delta I_G)^2 + (\Delta I_B)^2}$$

โดยที่  $\Delta$  คือ ผลต่างของแสงที่จุด Blank กับค่าความเข้มแสง ณ จุดที่เกิดปฏิกิริยากับไนไตรท์ที่เข้มขึ้นต่าง ๆ กัน

R คือ ค่าความเข้มแสงสีแดง

G คือ ค่าความเข้มแสงสีเขียว

B คือ ค่าความเข้มแสงสีน้ำเงิน

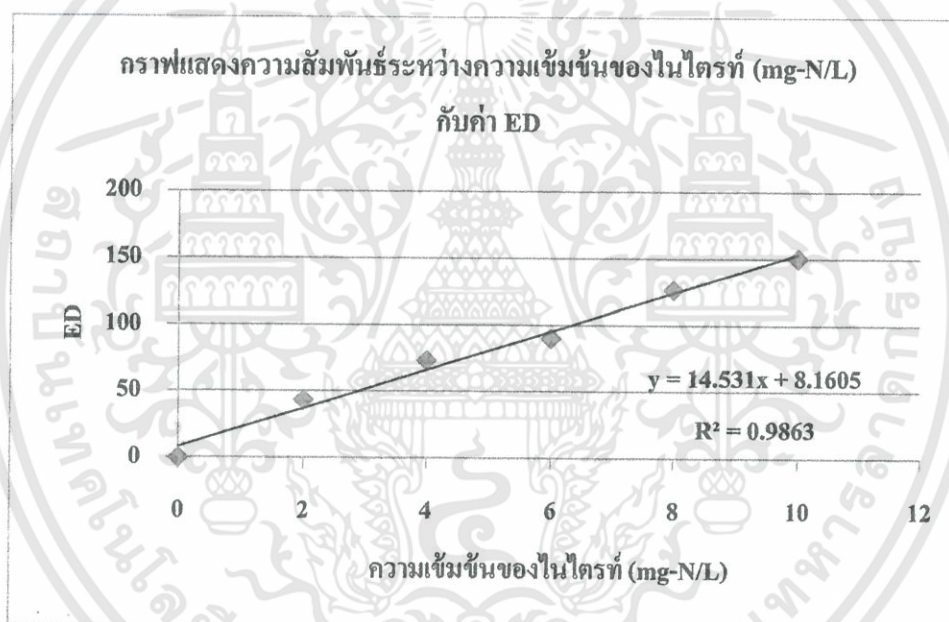
### ตัวอย่างการคำนวณค่า ED ของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ 2 ppm

$$\begin{aligned} \text{จากสมการ} \quad \text{ED} &= \sqrt{(\Delta I_R)^2 + (\Delta I_G)^2 + (\Delta I_B)^2} \\ &= \sqrt{(210.67 - 204)^2 + (166 - 206)^2 + (219.33 - 203)^2} \\ &= 43.72 \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-3 แสดงค่า ED ของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์

ความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L)	ED
0	0
2	43.72
4	73.77
6	90.38
8	126.71
10	150.31



รูปที่ ก-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์ (mg-N/L) กับค่า ED

ตารางที่ ก-4 แสดงค่า ED ของสารละลายตัวอย่าง

ตัวอย่างผัก	ED	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
ผักบุ้งจีน	38.97	38.56
กวาดู้ง	37.58	37.35
คะน้า	38.84	39.24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### วิธีการคำนวณความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง

จากสมการ  $y = 14.531x + 8.1605$

โดยที่  $y$  คือ ค่าความแตกต่างความเข้มแสง (Euclidean distance; ED)

$x$  คือ ความเข้มข้น

### ตัวอย่างการคำนวณความเข้มข้นของตัวอย่างผักนึ่งจีน

ค่า ED ของตัวอย่างผักนึ่งจีน เท่ากับ 38.967

จากสมการ

$$y = 14.531x + 8.1605$$

$$38.967 = 14.531(x) + 8.1605$$

$$x = 2.1201 \quad \text{mg-N/L}$$

ลบด้วย 2.00 mg-N/L (ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เดิมลงไป) จะให้ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างเท่ากับ 0.1201 mg-N/L

จากขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างโดยการกรองสารละลายตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 5 มิลลิลิตรใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร หากความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างเริ่มต้นได้จากสมการ  $C_1V_1 = C_2V_2$

จะได้

$$C_1(5) = (0.1201)(25)$$

ดังนั้น สารละลายตัวอย่างเริ่มต้นมีความเข้มข้น = 0.60 mg-N/L

ตารางที่ ก-5 แสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง

ตัวอย่างผัก	ความเข้มข้น (mg-N/L)	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
ผักนึ่งจีน	0.60	0.46
กวาดู้ง	0.123	0.045
คะน้า	0.56	0.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### วิธีการคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง

$$\text{จากสมการ} \quad \% \text{ ความชื้น} = \frac{(w_1 - w_2) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

โดยที่  $w_1$  คือ น้ำหนักของจาน และตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

$w_2$  คือ น้ำหนักของจาน และตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

ตารางที่ ก-6 แสดงน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ

ตัวอย่าง	น้ำหนักจาน	น้ำหนักจาน + ผัก (ก่อนอบ)	น้ำหนักจาน + ผัก (หลังอบ)
ผักบุงจิ้น	40.2001	52.0311	41.6819
กวางตุ้ง	48.0153	58.8055	50.1406
คะน้ำ	49.3730	59.4213	50.4111

ตัวอย่างการคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นของผักบุงจิ้น

$$\begin{aligned} \text{จากสมการ} \quad \% \text{ ความชื้น} &= \frac{(w_1 - w_2) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \\ &= \frac{(52.0311 - 41.6819) \times 100}{52.0311 - 40.2001} \\ &= 87.48 \% \\ \% \text{ วัตถุแห้ง} &= 100 - 87.48 \\ &= 12.52 \% \end{aligned}$$

ตารางที่ ก-7 แสดงเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง

ตัวอย่าง	% ความชื้น	% วัตถุแห้ง
ผักบุงจิ้น	87.48	12.52
กวางตุ้ง	80.30	19.70
คะน้ำ	89.67	10.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิธีการคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนในสารละลายตัวอย่าง

ตารางที่ ก-8 ตารางแสดงน้ำหนักผักแห้งที่ใช้เตรียมตัวอย่าง (g)

ตัวอย่าง	น้ำหนักผักแห้งที่ใช้เตรียมตัวอย่าง (g)	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
ผักบุงจิ้น	2.0065	2.0068
กวาดุ้ง	2.0049	2.0031
คะน้า	2.0036	2.0088

ตัวอย่างการคำนวณปริมาณไนโตรเจนของผักบุงจิ้น

จากสารละลายตัวอย่าง 1000 มิลลิลิตร จะมีปริมาณไนโตรเจน = 0.6003 มิลลิกรัม

$$\begin{aligned} \text{ถ้า สารละลายตัวอย่าง } 50 \text{ มิลลิลิตร จะมีปริมาณไนโตรเจน} &= \frac{0.6003 \times 50}{1000} \\ &= 0.03 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$

จากน้ำหนักตัวอย่างผักบุงจิ้นอบแห้ง 2.0065 กรัม มีปริมาณไนโตรเจน = 0.03 มิลลิกรัม

$$\begin{aligned} \text{ถ้า ในตัวอย่างผักบุงจิ้นแห้ง 1 กิโลกรัม จะมีปริมาณไนโตรเจน} &= \frac{0.03 \times 1000}{2.0065} \\ &= 14.98 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$

ตารางที่ ก-9 ตารางแสดงปริมาณไนโตรเจน (mg) ที่มีในตัวอย่างผักอบแห้ง 1 kg

ตัวอย่างผัก	ปริมาณไนโตรเจน (mg) ในตัวอย่างผักอบแห้ง 1 kg			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	SD
ผักบุงจิ้น	14.98	11.49	13.23	1.74
กวาดุ้ง	3.05	1.10	2.08	0.98
คะน้า	13.85	17.29	15.57	1.72

จากเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง สามารถนำมาคำนวณหาน้ำหนักผักสดจากน้ำหนักตัวอย่างผักอบแห้ง ได้ดังตารางที่ ก-10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่าง การคำนวณน้ำหนักผักสดจากเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งของผักบุงจิ้น

$$\begin{aligned} \text{น้ำหนักผักสด} &= \frac{100 \times \text{น้ำหนักตัวอย่างผักอบแห้ง}}{\% \text{ วัตถุแห้ง}} \\ &= \frac{100 \times 2.0065}{12.52} \\ &= 16.02 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

ตารางที่ ก-10 น้ำหนักผักอบแห้ง และน้ำหนักผักสด

ตัวอย่าง	น้ำหนักผักอบแห้ง (g)		น้ำหนักผักสด (g)	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4
ผักบุงจิ้น	2.0065	2.0068	16.0206	16.0230
กวาดุ้ง	2.0049	2.0031	10.1789	10.1698
คะน้า	2.0036	2.0088	19.3939	19.4442

จากน้ำหนักตัวอย่างผักบุงจิ้นสด 16.02 กรัม มีปริมาณไนไตรท์ = 0.03 มิลลิกรัม

$$\begin{aligned} \text{ถ้า ในตัวอย่างผักบุงจิ้นสด 1 กิโลกรัม จะมีปริมาณไนไตรท์} &= \frac{0.03 \times 1000}{16.02} \\ &= 1.87 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$

ตารางที่ ก-11 ตารางแสดงปริมาณไนไตรท์ (mg) ที่มีในตัวอย่างผักสด 1 kg

ตัวอย่างผัก	ปริมาณไนไตรท์ (mg) ในตัวอย่างผักสด 1 kg			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	SD
ผักบุงจิ้น	1.87	1.44	1.66	0.22
กวาดุ้ง	0.60	0.22	0.41	0.19
คะน้า	1.43	1.79	1.61	0.18

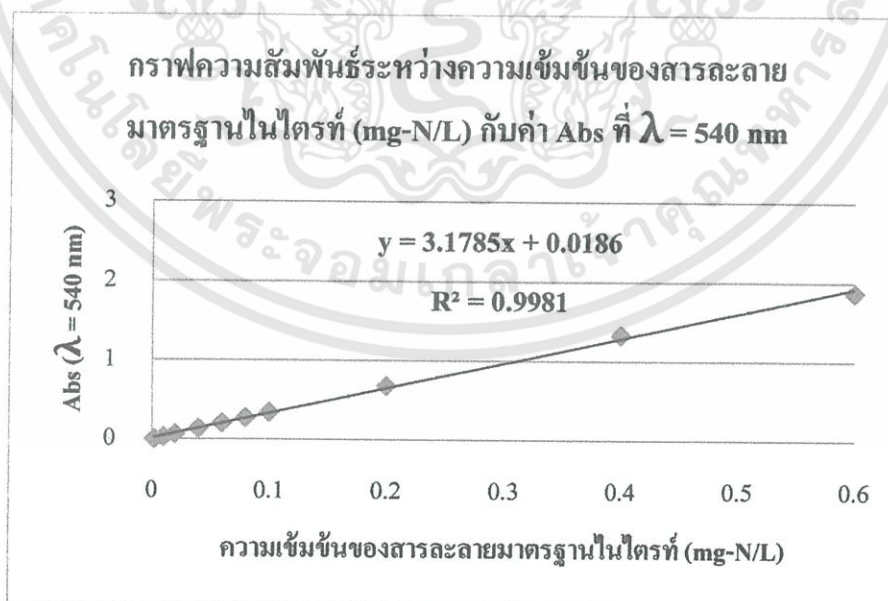
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

### การคำนวณผลการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในไตรท์ โดยวิธี Spectrophotometry

ตารางที่ ข-1 ตารางการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนในไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (mg-N/L)	Abs ( $\lambda = 540 \text{ nm}$ )
0.002	0.006
0.01	0.031
0.02	0.068
0.04	0.141
0.06	0.212
0.08	0.28
0.1	0.347
0.2	0.688
0.4	1.339
0.6	1.88



รูปที่ ข-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนในไตรท์ (mg-N/L) กับค่า Abs ที่  $\lambda = 540 \text{ nm}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-2 แสดงค่า Abs ของตัวอย่างผัก

ตัวอย่างผัก	Abs	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
ผักบุ้งจีน	0.094	0.095
กวางตุ้ง	0.026	0.028
คะน้า	0.021	0.019

วิธีการคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง

จากสมการ  $y = 3.1785x + 0.0186$

โดยที่  $y$  คือ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

$x$  คือ ความเข้มข้น

ตัวอย่างการคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างผักบุ้งจีน

ค่า Abs ของตัวอย่างผักบุ้งจีน เท่ากับ 0.094

จากสมการ  $y = 3.1785x + 0.0186$

$$0.094 = 3.1785x + 0.0186$$

$$x = 0.0237 \quad \text{mg-N/L}$$

จากขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างโดยการกรองสารละลายตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นปีเปิดสารละลายตัวอย่างมา 10 มิลลิลิตรใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร หาความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างเริ่มต้นได้จากสมการ  $C_1V_1 = C_2V_2$

จะได้ 
$$C_1(10) = (0.0237)(50)$$

ดังนั้น สารละลายตัวอย่างเริ่มต้นมีความเข้มข้น = 0.1196 mg-N/L

ตารางที่ ข-3 แสดงค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง

ตัวอย่างฝัก	ความเข้มข้น (mg-N/L)	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
ฝักบุงจิ้น	0.1196	0.1211
กวางตุ้ง	0.0126	0.0157
คะน้ำ	0.0047	0.0016

วิธีการคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง

$$\text{จากสมการ } \% \text{ ความชื้น} = \frac{(w_1 - w_2) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

โดยที่  $w_1$  คือ น้ำหนักของจาน และตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

$w_2$  คือ น้ำหนักของจาน และตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

ตารางที่ ข-4 แสดงน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ

ตัวอย่าง	น้ำหนักจาน	น้ำหนักจาน + ฝัก (ก่อนอบ)	น้ำหนักจาน + ฝัก (หลังอบ)
ฝักบุงจิ้น	40.2001	52.0311	41.6819
กวางตุ้ง	48.0153	58.8055	50.1406
คะน้ำ	49.3730	59.4213	50.4111

ตัวอย่างการคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้น

$$\text{จากสมการ } \% \text{ ความชื้น} = \frac{(w_1 - w_2) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

$$= \frac{(52.0311 - 41.6819) \times 100}{52.0311 - 40.2001}$$

$$= 87.48 \%$$

$$\% \text{ วัตถุแห้ง} = 100 - 87.48$$

$$= 12.52 \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-5 แสดงเปอร์เซ็นต์ความชื้นและเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง

ตัวอย่าง	% ความชื้น	% วัตถุแห้ง
ผักบุงจีน	87.48	12.52
กวางตุ้ง	80.30	19.70
คะน้ำ	89.67	10.33

#### วิธีการคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนในสารละลายตัวอย่าง

จากสารละลายตัวอย่าง 1000 มิลลิลิตร จะมีปริมาณไนโตรเจน = 0.1196 มิลลิกรัม

$$\begin{aligned} \text{ถ้า สารละลายตัวอย่าง } 50 \text{ มิลลิลิตร จะมีปริมาณไนโตรเจน} &= \frac{0.1196 \times 50}{1000} \\ &= 0.00598 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$

จากน้ำหนักตัวอย่างผักบุงจีนอบแห้ง 2.0065 กรัม มีปริมาณไนโตรเจน = 0.00598 มิลลิกรัม

$$\begin{aligned} \text{ถ้า ในตัวอย่างผักบุงจีนแห้ง 1 กิโลกรัม จะมีปริมาณไนโตรเจน} &= \frac{0.00598 \times 1000}{2.0065} \\ &= 2.98 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$

ตารางที่ ข-6 ตารางแสดงปริมาณไนโตรเจน (mg) ที่มีในตัวอย่างผักอบแห้ง 1 kg

ตัวอย่างผัก	ปริมาณไนโตรเจน (mg) ในตัวอย่างผักอบแห้ง 1 kg			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	SD
ผักบุงจีน	2.98	3.02	3.00	0.02
กวางตุ้ง	0.31	0.39	0.35	0.04
คะน้ำ	0.12	0.04	0.08	0.04

#### ตัวอย่าง การคำนวณปริมาณไนโตรเจนในน้ำหนักผักสด

จากน้ำหนักตัวอย่างผักบุงจีนสด 16.02 กรัม มีปริมาณไนโตรเจน = 0.00598 มิลลิกรัม

$$\begin{aligned} \text{ถ้า ในตัวอย่างผักบุงจีนสด 1 กิโลกรัม จะมีปริมาณไนโตรเจน} &= \frac{0.00598 \times 1000}{16.02} \\ &= 0.37 \text{ มิลลิกรัม} \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-7 ตารางแสดงปริมาณไนไตรท์ (mg) ที่มีในตัวอย่างผักสด 1 kg

ตัวอย่างผัก	ปริมาณไนไตรท์ (mg) ในตัวอย่างผักสด 1 kg			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย	SD
ผักบุ้งจีน	0.373	0.378	0.375	0.003
กวางตุ้ง	0.062	0.077	0.695	0.011
คะน้า	0.012	0.004	0.008	0.006



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

## การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ค่า T-test

ตารางที่ ก-1 ตาราง t-test

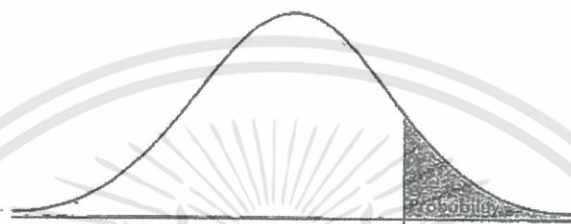


TABLE B: t-DISTRIBUTION CRITICAL VALUES

df	Tail probability p											
	.25	.20	.15	.10	.05	.025	.02	.01	.005	.0025	.001	.0005
1	1.000	1.376	1.963	3.078	6.314	12.71	15.89	31.82	63.66	127.3	318.3	636.6
2	.816	1.061	1.386	1.886	2.920	4.303	4.849	6.965	9.925	14.09	22.33	31.60
3	.765	.978	1.250	1.638	2.353	3.182	3.482	4.541	5.841	7.453	10.21	12.92
4	.741	.941	1.190	1.533	2.132	2.776	2.999	3.747	4.604	5.598	7.173	8.610
5	.727	.920	1.156	1.476	2.015	2.571	2.757	3.365	4.032	4.773	5.893	6.869
6	.718	.906	1.134	1.440	1.943	2.447	2.612	3.143	3.707	4.317	5.208	5.959
7	.711	.896	1.119	1.415	1.895	2.365	2.517	2.998	3.499	4.029	4.785	5.408
8	.706	.889	1.108	1.397	1.860	2.306	2.449	2.896	3.355	3.833	4.501	5.041
9	.703	.883	1.100	1.383	1.833	2.262	2.398	2.821	3.250	3.690	4.297	4.781
10	.700	.879	1.093	1.372	1.812	2.228	2.359	2.764	3.169	3.581	4.144	4.587
11	.697	.876	1.088	1.363	1.796	2.201	2.328	2.718	3.106	3.497	4.025	4.437
12	.695	.873	1.083	1.356	1.782	2.179	2.303	2.681	3.055	3.428	3.930	4.318
13	.694	.870	1.079	1.350	1.771	2.160	2.282	2.650	3.012	3.372	3.852	4.221
14	.692	.868	1.076	1.345	1.761	2.145	2.264	2.624	2.977	3.326	3.787	4.140
15	.691	.866	1.074	1.341	1.753	2.131	2.249	2.602	2.947	3.286	3.733	4.073
16	.690	.865	1.071	1.337	1.746	2.120	2.235	2.583	2.921	3.252	3.686	4.015
17	.689	.863	1.069	1.333	1.740	2.110	2.224	2.567	2.898	3.222	3.646	3.965
18	.688	.862	1.067	1.330	1.734	2.101	2.214	2.552	2.878	3.197	3.611	3.922
19	.688	.861	1.066	1.328	1.729	2.093	2.205	2.539	2.861	3.174	3.579	3.883
20	.687	.860	1.064	1.325	1.725	2.086	2.197	2.528	2.845	3.153	3.552	3.850
21	.686	.859	1.063	1.323	1.721	2.080	2.189	2.518	2.831	3.135	3.527	3.819
22	.686	.858	1.061	1.321	1.717	2.074	2.183	2.508	2.819	3.119	3.505	3.792
23	.685	.858	1.060	1.319	1.714	2.069	2.177	2.500	2.807	3.104	3.485	3.768
24	.685	.857	1.059	1.318	1.711	2.064	2.172	2.492	2.797	3.091	3.467	3.745
25	.684	.856	1.058	1.316	1.708	2.060	2.167	2.485	2.787	3.078	3.450	3.725
26	.684	.856	1.058	1.315	1.706	2.056	2.162	2.479	2.779	3.067	3.435	3.707
27	.684	.855	1.057	1.314	1.703	2.052	2.158	2.473	2.771	3.057	3.421	3.690
28	.683	.855	1.056	1.313	1.701	2.048	2.154	2.467	2.763	3.047	3.408	3.674
29	.683	.854	1.055	1.311	1.699	2.045	2.150	2.462	2.756	3.038	3.396	3.659
30	.683	.854	1.055	1.310	1.697	2.042	2.147	2.457	2.750	3.030	3.385	3.646
40	.681	.851	1.050	1.303	1.684	2.021	2.123	2.423	2.704	2.971	3.307	3.551
50	.679	.849	1.047	1.299	1.676	2.009	2.109	2.403	2.678	2.937	3.261	3.496
60	.679	.848	1.045	1.296	1.671	2.000	2.099	2.390	2.660	2.915	3.222	3.460
80	.678	.846	1.043	1.292	1.664	1.990	2.088	2.374	2.639	2.887	3.195	3.416
100	.677	.845	1.042	1.290	1.660	1.984	2.081	2.364	2.626	2.871	3.174	3.390
1000	.675	.842	1.037	1.282	1.646	1.962	2.056	2.330	2.581	2.813	3.098	3.300
∞	.674	.841	1.036	1.282	1.645	1.960	2.054	2.326	2.576	2.807	3.091	3.291
	50%	60%	70%	80%	90%	95%	96%	98%	99%	99.5%	99.8%	99.9%
	Confidence level C											

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้