ข้อมูลข่าวสารของกรมวิทยาศาสตร์บริการ
ตาม พ.ร.บ. ข้อมูลข่าวสารของราชการ พ.ศ. 2540

วศ วช
ผว 2

เอกสารผลงานที่เสนอให้ประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 8ว

ของ

นางสาวนงนุช เมธียนต์พิริยะ
นักวิทยาศาสตร์ 7ว

เรื่องที่ 1

การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ไนเตรทในน้ำสับปะรดกระป๋อง โดย Flow Injection Analyzer

โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
กรมวิทยาศาสตร์บริการ
กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

พ.ศ. 2547

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

ข้อมูลข่าวสารของกรมวิทยาศาสตร์บริการ
ตาม พ.ร.บ. ข้อมูลข่าวสารของราชการ พ.ศ. 2540

เอกสารผลงานที่เสนอให้ประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 8ว

ของ

นางสาวนงนุช เมธียนต์พิริยะ
นักวิทยาศาสตร์ 7ว

เรื่องที่ 1

การศึกษาวิธีการวิเคราะห์ไนเตรทในน้ำสับปะรดกระป๋องโดย Flow Injection Analyzer

เลขหมู่ วศ/วช
ลว 2
เลขทะเบียน 13906
วันที่ 25/ส.ค./44

โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
กรมวิทยาศาสตร์บริการ
กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

พ.ศ. 2547

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

บทคัดย่อ

สับปะรดกระป๋องเป็นสินค้าส่งออกระดับต้นๆของประเทศไทย แต่มักมีปัญหาด้านคุณภาพสินค้าอันเนื่องมาจากการกัดกร่อนของกระป๋องก่อนเวลา แนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหานี้ คือ การกำหนดปริมาณไนเตรทในสับปะรดก่อนนำมาผลิต คือ ไม่เกิน 10 พีพีเอ็ม ซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำ แต่วิธีวิเคราะห์ที่เป็นมาตรฐานสากลเป็นวิธีที่ใช้วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์เนื้อ วิธีที่ศึกษาได้ดัดแปลงจากวิธีดังกล่าวมาใช้ในการวิเคราะห์ไนเตรทในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง และได้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โดยวิธีนี้ โดยศึกษาหาค่าความแม่น ความเที่ยง และความสัมพันธ์เชิงเส้นของการวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์ จากการศึกษาพบว่า การวิเคราะห์ไนไตรทและไนตรท์ มีความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของสารวิเคราะห์กับค่าดูดกลืนแสงเป็นแบบเส้นตรง และเมื่อศึกษาหาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง พบว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวิเคราะห์ไนเตรทเท่ากับ 10.67 และมีค่า %RSD เท่ากับ 1.40 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการวิเคราะห์ไนไตรท์เท่ากับ 0 และมีค่า %RSD เท่ากับ 0 ส่วนค่าความแม่นของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์ ได้ค่าร้อยละของปริมาณคืนกลับอยู่ในช่วงร้อยละ 96.7-105.5 สำหรับการวิเคราะห์ไนเตรท และร้อยละของปริมาณคืนกลับของไนไตรท์ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง อยู่ในช่วงร้อยละ 96.9-102 และค่าต่ำสุดของการตรวจวัดไนเตรทเท่ากับ 0.10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ส่วนค่าต่ำสุดของการตรวจวัดไนไตรท์เท่ากับ 0.14 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

จากผลการศึกษาสรุปได้ว่า วิธีวิเคราะห์ไนเตรทนี้มีความเที่ยงและความแม่น ให้ผลการวิเคราะห์ที่น่าเชื่อถือ จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างน้ำผลไม้ได้ เนื่องจากไม่ต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์มาก ใช้สารเคมีน้อย ทำให้มีความปลอดภัยสูง

ส่วนการหาปริมาณไนเตรทในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋องเมื่อเก็บไว้ในช่วงเวลาต่างๆ ตั้งแต่วันแรก ถึง 8 เดือน พบว่าปริมาณของไนเตรทลดลงดังนี้ ปริมาณไนเตรทในวันแรก อยู่ในช่วง 14-25.8 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และหลังจากเก็บไว้ 8 เดือน อยู่ในช่วง 0.52 –1.83 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ดังนั้นผู้บริโภคจะได้รับไนเตรทในปริมาณที่ลดลงในน้ำสับปะรดกระป๋องที่เก็บไว้นาน 8 เดือน อนึ่งการสลายตัวของไนเตรทนี้อาจเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างไนเตรทและสารในกระป๋อง เช่น ดีบุกที่เคลือบบนกระป๋อง ดังนั้นเพื่อยืนยันถึงผลดังกล่าว ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องนี้ต่อไป

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อ		**i**
สารบัญ		**ii**
ภาคผนวก		**iii**
บทที่ 1	**บทนำ**	**1**
	1.1 คำนำ	1
	1.2 ปัญหาและที่มา	1
	1.3 วัตถุประสงค์และเป้าหมายของการวิจัย	2
	1.4 ขอบเขตของการวิจัย	2
	1.5 ระยะเวลาดำเนินงาน	2
	1.6 ประโยชน์ที่ได้รับ	2
บทที่ 2	**วารสารปริทัศน์**	**3**
	สับปะรดกระป๋อง	3
	ปัจจัยที่มีผลกับการกัดกร่อนของอาหารกระป๋อง	3
	วิธีวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์	6
บทที่ 3	**วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการ**	**9**
	3.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาทดลอง	9
	3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	9
	3.3 สารเคมีและวิธเตรียม	9
	3.4 การดำเนินงาน	12
	3.5 การศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทด้วยเครื่อง Flow Injection Analyzer	14
	3.6 การศึกษาปริมาณไนเตรทในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋องที่เก็บไว้ในช่วงเวลาต่าง ๆ	16
บทที่ 4	**ผลการทดลอง**	**17**
บทที่ 5	**สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง**	**17**
กิตติกรรมประกาศ		**21**
เอกสารอ้างอิง		**22**
ภาคผนวก		**24**

ภาคผนวก

ตารางที่ 1	แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity test) ระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่าดูดกลืนแสง ในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนเตรท ที่ระดับความเข้ม 0,0.2, 0.4, 0.6,0.8 และ 1 พีพีเอ็ม จำนวน 2 ซ้ำ	24
ตารางที่ 2	แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity test) ระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่าดูดกลืนแสง ในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ ที่ระดับความเข้ม 0,0.2, 0.4, 0.6,0.8 และ 1 พีพีเอ็ม จำนวน 2 ซ้ำ	25
ตารางที่ 3	แสดงผลการศึกษาหาค่าความเที่ยงในการวิเคราะห์ไนเตรท ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง จำนวน 10 ซ้ำ	26
ตารางที่ 4	แสดงผลการศึกษาหาค่าความเที่ยงในการวิเคราะห์ไนไตรท์ ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง จำนวน 10 ซ้ำ	27
ตารางที่ 5	แสดงผลการศึกษาความแม่นในการวิเคราะห์ไนเตรท ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง และเติมสารมาตรสารมาตรฐานไนไตรท์ ความเข้มข้น 0.2 0.4 และ 0.6 พีพีเอ็ม เอ็น	28
ตารางที่ 6	แสดงผลการศึกษาความแม่นในการวิเคราะห์ไนเตรท ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง และเติมสารมาตรสารมาตรฐานไนไตรท์ ความเข้มข้น 0.2 0.4 และ 0.6 พีพีเอ็ม เอ็น	29
ตารางที่ 7	ค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์โซเดียมไนเตรทได้	30
ตารางที่ 8	ค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์โซเดียมไนไตรท์ได้	31
ตารางที่ 9	แสดงผลปริมาณไนเตรทในน้ำสับปะรดกระป๋อง ในวันที่ 1 และเมื่อเก็บไว้ 1, 2, 3, 5 และ 8 เดือน	32
กราฟที่ 1	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานไนเตรท (แกน X) และค่าดูดกลืนแสง (Abs) ที่วัดได้ (แกน Y)	24
กราฟที่ 2	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานไนไตรท์ (แกน X) และค่าดูดกลืนแสง (Abs) ที่วัดได้ (แกน Y)	25
กราฟที่ 3	แสดงปริมาณไนเตรทในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋องเมื่อเก็บไว้ ในช่วงเวลาตั้งแต่ 1 วัน 1 เดือน 2 เดือน 3 เดือน 5 เดือน และ 8 เดือน	32

บทที่ 1
บทนำ

1. คำนำ

อาหารเป็นสินค้าส่งออกของไทยที่มีมูลค่าสูงในระดับต้นๆของโลก คือมีมูลค่ามากกว่า 3 หมื่นล้านบาท แต่การส่งออกอาหารในปัจจุบันมักมีปัญหาด้านคุณภาพของอาหาร ทำให้มูลค่าการส่งออกลดลง เช่น การระบาดของไข้หวัดนกเมื่อต้นปี 2547 เป็นต้น ในบรรดาสินค้าส่งออกสับปะรดกระป๋องเป็นหนึ่งในสิบของสินค้าอาหารส่งออกของไทยเป็นเวลานาน ปี พ.ศ. 2542 สามารถส่งออกเป็นมูลค่าถึง 11,432.75 ล้านบาท แต่ในปี พ.ศ.2543 มีมูลค่าลดลงเป็น 7,876.82 ล้านบาท (export statistic, 2001)[15] คิดเป็นปริมาณของการส่งออกร้อยละ 36.8 ของปริมาณการส่งออกสินค้าอาหารของไทยทั้งหมด ปัญหาในด้านคุณภาพเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การส่งออกของสับปะรดกระป๋องลดลง โดยเฉพาะปริมาณดีบุกที่เกินกว่าเกณฑ์ที่มาตรฐานกำหนดไว้ ซึ่งมีผลมาจากการกัดกร่อนภายในกระป๋องโลหะ ทำให้มีปริมาณดีบุกในผลิตภัณฑ์อาหารมีปริมาณเกินเกณฑ์กำหนดที่ประเทศคู่ค้ายอมรับ และยังทำให้คุณภาพของอาหารทางด้าน สี กลิ่น และรสชาติเปลี่ยนไป อันเป็นอุปสรรคต่อการส่งออก

1.2 ปัญหาและที่มา

ปัจจุบันมาตรการด้านคุณภาพและความปลอดภัยของสินค้าอาหารของประเทศคู่ค้าแต่ละราย เข้มงวดมากขึ้นและก่อให้เกิดต้นทุนการบริหารจัดการเพิ่มขึ้น การพัฒนาคุณภาพมาตรฐานให้เป็นที่ยอมรับของประเทศคู่ค้าจึงเป็นสิ่งที่หลีกเลี่ยงไม่ได้ ในการผลิตสับปะรดกระป๋องส่งออกผู้ผลิตจึงมีการควบคุมคุณภาพตั้งแต่วัตถุดิบ ส่วนผสม และกระป๋องที่นำมาบรรจุ โดยเฉพาะสับปะรดซึ่งเป็นวัตถุดิบจะต้องมีปริมาณไนเตรทไม่เกิน 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เนื่องจากมีรายงานการศึกษาว่าปริมาณไนเตรทเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่ออัตราการกัดกร่อนของกระป๋องโลหะ [2] โดยปริมาณไนเตรทนี้มาจากปุ๋ยซึ่งใช้ในการปลูกสับปะรด ซึ่งถ้ามีปริมาณมากเกินควร จะเป็นสารเร่งให้กระป๋องเกิดการกัดกร่อนได้ วิธีการตรวจสอบไนเตรทของผู้ผลิตก่อนรับวัตดิบนั้น นิยมใช้ชุดตรวจสอบแบบรวดเร็ว ซึ่งใช้วิธีเทียบสีและระบุปริมาณของไนเตรทเป็นช่วงๆ เช่น ปริมาณไนเตรทระดับ 0-10 พีพีเอ็ม 20-25 พีพีเอ็ม ซึ่งเป็นแบบกึ่งปริมาณ ในกรณีที่สับปะรดมีปริมาณประมาณ 14 พีพีเอ็ม ชุดตรวจสอบอาจแสดงค่าอยู่ในช่วง 10-20 พีพีเอ็ม ทำให้ผู้ผลิตไม่รับซื้อสับปะรดจากเกษตรกร ดังนั้นเกษตรกรผู้ปลูกสับปะรดไม่สามารถจำหน่ายสับปะรดได้ และอาจต้องนำสับปะรดนั้นไปใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตภัณฑ์อื่นๆ ซึ่งทำให้เกษตรกรเสียรายได้ซึ่งสมควรได้ เป็นการสูญเสียอย่างมากของเศรษฐกิจไทย

โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ กรมวิทยาศาสตร์บริการ เป็นหน่วยงานที่ปฏิบัติงานเกี่ยวกับการวิเคราะห์ทดสอบด้านอาหารมานาน โดยเฉพาะวัตถุเจือปนหรือวัตถุปนเปื้อนในอาหาร จึงได้นำเครื่อง Flow Injection Analyzer มาใช้ในการหาปริมาณไนเตรทในสับปะรดกระป๋อง ซึ่งเป็นวิธีที่หาปริมาณไนเตรทที่แม่นยำและใช้เวลาไม่นาน นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาผลของการเก็บในช่วงเวลาต่างๆ ที่มีต่อปริมาณไนเตรทในสับปะรดกระป๋อง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่ออัตราการกัดกร่อนของสับปะรดกระป๋องต่อไป

1.3 วัตถุประสงค์และเป้าหมายของการวิจัย

1.3.1 ศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทในตัวอย่างน้ำผลไม้กระป๋อง

1.3.2 ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณไนเตรทในน้ำสับปะรดกระป๋องที่เก็บไว้ในระยะเวลาต่างๆ

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1.4.1 เพื่อตรวจสอบพารามิเตอร์ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทด้วย Flow Injection Analyzer

1.4.2 ศึกษาปริมาณไนเตรทในตัวอย่างสับปะรดกระป๋องเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 1,2, 3, 5 และ 8 เดือน

1.5 ระยะเวลาดำเนินงาน กันยายน 2546 - เมษายน 2547 (8 เดือน)

1.6 ประโยชน์ที่ได้รับ

1.6.1 เพื่อให้ประชาชนได้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณไนเตรทที่ได้จากการบริโภคน้ำสับปะรดกระป๋อง เพื่อคุณภาพชีวิตที่ดีของคนไทย

1.6.2 ได้วิธีวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมสำหรับนำไปใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต่อไป

1.6.3 เป็นข้อมูลในการกำหนดปริมาณไนเตรทในผลิตภัณฑ์อาหารกระป๋องได้เหมาะสม

1.6.4 เป็นข้อมูลในการศึกษาอัตราการกัดกร่อนของแผ่นเคลือบดีบุกที่นำมาใช้ในการทำภาชนะบรรจุภัณฑ์

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

สับปะรดกระป๋อง หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากสับปะรด สารที่ใช้บรรจุ อาจมีวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) และส่วนประกอบอื่น (ingredient) รวมบรรจุอยู่ในกระป๋อง และผ่านกรรมวิธีใช้ความร้อน เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตและทำลายการขยายพันธุ์ของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นที่นิยมผลิตมากทั้งในและต่างประเทศ

กรมมวิธีการผลิตสับปะรดกระป๋องมีดังนี้

- สับปะรดที่ใช้ควรจะแก่พอเหมาะเพื่อให้ได้กลิ่นและรสดี
- เข้าเครื่องคัดขนาด ปอกเปลือกและเจาะแกน ในช่วงนี้สับปะรดจะมีลักษณะเป็นทรงกระบอกกลวง
- ตัดหัวท้ายและตัดแต่ง
- เข้าเครื่องหั่นเป็นแว่นตามความหนาที่ได้กำหนดไว้
- บรรจุลงในกระป๋อง ส่วนเปลือกซึ่งมีเนื้อติดอยู่มากจะนำไปคว้านเอาเนื้อออกเพื่อใช้ทำน้ำสับปะรด
- สับปะรดที่บรรจุกระป๋องจะผ่านเข้าเครื่องสูบอากาศออกใช้สุญญากาศ 25 นิ้วปรอท เวลา 5- 10 นาที การสูบอากาศออกนอกจากจะลดแก๊สภายในเนื้อผลไม้ ยังทำให้สับปะรดมีความสม่ำเสมอและใส
- เติมน้ำเชื่อมหรือน้ำสับปะรดผสมน้ำเชื่อม น้ำสับปะรดจะต้องทำให้ใสก่อนใช้ ขั้นตอนปิดฝาอาจใช้ระบบสุญญากาศ ภายในกระป๋องหลังปิดฝาประมาณ 15 นิ้วปรอท
- นำไปสเตอริไลซ์และทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว
- หลังจากทำให้เย็นควรนำมาวางเรียงบนตะแกรงผึ่งให้แห้ง หรืออาจใช้พัดลมช่วยเป่าให้แห้งเร็วขึ้น

ปัจจัยที่มีผลกับการกัดกร่อนของผลิตภัณฑ์อาหารกระป๋อง [2]

การกัดกร่อน คือ การเสื่อมสภาพของโลหะ โดยโลหะเกิดปฏิกิริยากับสิ่งแวดล้อมแล้วกลายเป็นสารประกอบ ทำให้สมบัติของโลหะลดลง สิ่งแวดล้อมที่ส่งผลให้เกิดการกัดกร่อน ได้แก่ ความชื้น น้ำ ออกซิเจน ก๊าซต่างๆ เป็นต้น ลักษณะการกัดกร่อนของกระป๋องบรรจุอาหารเกิดขึ้นได้ทั้งภายในและภายนอกกระป๋อง โดยอาจเกิดขึ้นระหว่างการเก็บรักษา กระป๋องเปล่า การฆ่าเชื้อ การลำเลียงขนส่งและการเก็บรักษากระป๋องที่บรรจุและฆ่าเชื้อแล้ว และเมื่อนำอาหาร โดยเฉพาะอาหารที่มีความเป็นกรด เช่น สับปะรดมาบรรจุในภาชนะที่ทำจากแผ่นเหล็กเคลือบดีบุก อาหารจะทำปฏิกิริยากับภาชนะที่บรรจุ ทำให้โลหะที่เคลือบละลายลงมาในอาหาร

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการกัดกร่อนของผลิตภัณฑ์อาหารกระป๋อง มีหลายปัจจัย เช่น ปัจจัยที่มาจากคุณภาพของวัสดุที่ใช้ผลิตกระป๋องและกระบวนการผลิตกระป๋อง กระบวนการผลิตอาหารกระป๋อง อุณหภูมิและอายุการเก็บ ชนิดและสมบัติของอาหาร โดยเฉพาะไนเตรทซึ่งอาจปนเปื้อนจากน้ำ การใช้ปุ๋ยและธรรมชาติของผลิตผล

เมื่อมีไนเตรทปนเปื้อนในอาหารกระป๋อง ไนเตรทจะทำหน้าที่รับอิเล็กตรอน ซึ่งต่อมาจะถูกเปลี่ยนเป็นไนไตรท์ และสารประกอบแอมโมเนีย ดังสมการ

$$2\ SnO_2 \longrightarrow 2Sn + 4e + O_2$$

$$NO_3 + 2e + 2H \longrightarrow NO_2 + H_2O$$

$$NO_2 + 7e + 8H \longrightarrow NH_4 + 2\ H_2O$$

ในความเป็นจริงแล้วจะเกิดสารประกอบอื่นอีกด้วย เช่น ไนตริกออกไซด์ ไนตรัสออกไซด์ ก๊าซไนโตรเจน และไฮกรอกซิลเอมีน ซึ่งเป็นตัวเร่งอัตราการกัดกร่อน จึงเป็นปัญหาอย่างมากในปัจจุบัน Johnson, H.T. (1970) [12] แนะนำว่าไม่ควรมีปริมาณไนเตรทเกินกว่า 7-8 พีพีเอ็ม (ppm) ในเครื่องดื่มกระป๋อง

Quraishi, M.A. และ Jaya Rawat (2000) [14] ได้ศึกษาพฤติกรรมของการกัดกร่อนของแผ่นเหล็กเคลือบดีบุกในกรดซิตริกที่มีและไม่มีความเข้มข้นของไนเตรทและซูโครสต่างๆ กัน และศึกษาผลของไกลซีนต่ออัตราการเกิดการกัดกร่อนของดีบุกในน้ำผลไม้ 3 ชนิด ได้แก่ น้ำส้ม น้ำมะม่วง และน้ำสับปะรด พบว่า ปริมาณไนเตรทที่มีผลในการยับยั้งการกัดกร่อนได้น้อยมากที่ 50 และ 125 มิลลิกรัม/ลิตร และไม่มีผลในการยับยั้งการกัดกร่อนเมื่อมีกรดซิตริก 250 มิลลิกรัม/ลิตร น้ำตาลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการกัดกร่อนที่ความเข้มข้น ร้อยละ 42 และร้อยละ 15 นอกจากนั้น ยังพบว่าไกลซีนเป็นตัวยับยั้งการกัดกร่อนที่ดีมากสำหรับแผ่นเหล็กเคลือบดีบุก โดยมีประสิทธิภาพมากกว่า ร้อยละ 90 ในน้ำผลไม้ที่ศึกษา 3 ชนิด

นอกจากนี้ Iwamoto, Y. และคณะ (1970) [11] ศึกษาปริมาณดีบุกในกล้วยบรรจุกระป๋อง ซึ่งมีซึ่งมีปริมาณไนเตรทประมาณ 4-30 พีพีเอ็ม ในกล้วยนั้น อัตราการกัดกร่อนจะถูกเร่งเมื่อมีปริมาณไนเตรทสูง โดยพบดีบุกในช่วง 121-587 และ 135-702 พีพีเอ็ม หลังจากเก็บไว้ 90 วัน ที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และพบดีบุกที่ละลายลงมาในกล้วยประมาณ 30 พีพีเอ็ม/ พีพีเอ็มไนเตรทคำนวณเป็นไนโตรเจน ดังนั้นควรตรวจสอบปริมาณไนเตรทก่อนนำไปผลิต

ไนเตรทเป็นสารประกอบเคมี ประกอบด้วยไนโตรเจนและออกซิเจน มีสมบัติเป็นสารออกซิไดซ์ ไนโตรเจนปรากฏในธรรมชาติทั้งในภาวะอิสระและในภาวะเป็นสารประกอบกับธาตุอื่น ที่มีปรากฏอยู่ในภาวะอิสระ คือ ในบรรยากาศ ร้อยละ 78.06 โดยปริมาตร ที่มีปรากฏเป็นสาร

ประกอบ เช่น โซเดียมไนเตรท เซลล์ของมนุษย์ สัตว์และพืช เช่น วิตามิน เอนไซม์ ฮอร์โมน โปรตีน สำหรับพืชมีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบหลักทั้งในส่วนของต้น ราก ใบ ดอก และผล พืชต้องการสารประกอบของไนโตรเจนในรูปของเกลือไนเตรทและแอมโมเนียเป็นส่วนใหญ่ การเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรจึงทำได้โดยการใส่ปุ๋ยที่มีไนโตรเจนนั่นเอง โดยสภาพความเป็นจริงพืชไม่สามารถใช้ปุ๋ยที่เติมลงไปได้ทั้งหมด จึงมีบางส่วนตกค้างในดินและเมื่อมีฝนชะล้างก็จะไหลลงสู่น้ำใต้ดิน แม่น้ำ ลำคลอง ถ้าเป็นแหล่งปศุสัตว์ สัตว์ที่เลี้ยงในทุ่งหญ้าหรือใกล้แหล่งน้ำจึงอาจได้รับในปริมาณสูง และผลที่ได้รับคือ ทำให้ผลผลิตลดลง [8]

ไนเตรท มีสูตรทางเคมี NO_3^- น้ำหนักโมเลกุล 62 มีสมบัติเป็นสารออกซิไดซ์ ละลายน้ำได้ดี เกลือไนเตรทที่รู้จักกันดี ได้แก่ โพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) พบในธรรมชาติ ในสิ่งมีชีวิต ทั้งพืชและสัตว์ สารประกอบไนเตรทมีบทบาทสำคัญคือ ใช้เป็นปุ๋ยในทางการเกษตร ดังนั้นนักวิชาการอาหารจึงให้ความสนใจในเรื่องปริมาณไนเตรทในผักและผลไม้มากยิ่งขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเกษตรกรมีการใช้ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยเคมี ที่มีไนเตรทอยู่เป็นจำนวนมาก อาจทำให้มีการตกค้างในผักและผลไม้ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าผลิตภัณฑ์ผักบรรจุกระป๋อง มักจะมีการกัดกร่อนภายในกระป๋องได้เร็วกว่าผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น ๆ เช่น เนื้อ ปลา และตัวเร่งปฏิกิริยาการกัดกร่อนของโลหะ คือ สารประกอบของไนเตรทนั่นเอง

สำหรับโครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ กรมวิทยาศาสตร์บริการ มีหน้าที่ที่จะต้องปฏิบัติเป็นงานประจำคือ การตรวจวิเคราะห์คุณภาพอาหาร วัตถุดิบ รวมถึงวัตถุเจือปนอาหาร ทั้งที่เป็นงานวิจัยและบริการ ฉนั้นจึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาการดำเนินการและปฏิบัติงานวิจัยให้ทันสมัยและมีประสิทธิภาพสูงตลอดเวลาเพื่อให้ผลงานได้รับความเชื่อถือมากที่สุดจากผู้ใช้บริการ และเพื่อให้งานด้านการศึกษาหาข้อมูลมีคุณภาพ ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญมาก สารประกอบไนเตรทและไนไตรท์ซึ่งจัดเป็นวัตถุเจือปนอาหารประเภทวัตถุกันเสีย ใช้ในการเก็บรักษาอาหารที่เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อสดต่าง ๆ ถ้าบริโภคอาหารที่มีวัตถุกันเสียประเภทนี้เข้าไปจะทำให้เกิดสารประกอบกลุ่มไนโตรซามีนซึ่งบางชนิดเป็นสารก่อมะเร็ง เนื่องจากวิธีวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันและเป็นวิธีมาตรฐานคือ AOAC[5] นั้นเป็นวิธีวิเคราะห์ในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อซึ่งเป็นวิธีที่มีขั้นตอนยุ่งยากและสิ้นเปลืองสารเคมีมาก การศึกษาหาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในผักและผลไม้ที่สะดวก รวดเร็วได้ผลที่แม่นยำและปลอดภัยต่อผู้วิเคราะห์ เพื่อที่จะสามารถนำมาใช้เป็นวิธีตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการแทนวิธีวิเคราะห์เดิมที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ในผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยจะทำให้งานวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์ในอาหารอื่น ๆ มีความรวดเร็ว แม่นยำและปลอดภัยต่อผู้วิเคราะห์

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีมีหลายวิธี [7] ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมและวิธีวิเคราะห์นั้นๆ ถ้าเป็นวิธีการทดสอบที่ปฏิบัติอยู่เป็นประจำ ก็อาจใช้วิธีการทดสอบหาค่าความเที่ยง

(precision) ความแม่น (accuracy) การหาค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (LOD) ก็เพียงพอ แต่ถ้าเป็นวิธีที่ดัดแปลงหรือพัฒนาขึ้นใหม่ ก็อาจทดสอบความใช้ได้ของวิธีโดยการหาค่าความเที่ยง ความแม่น ค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ และความสัมพันธ์เชิงเส้น (linearity)

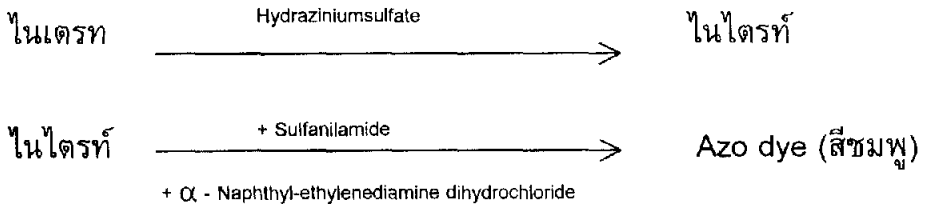
การหาค่าความเที่ยง เป็นการตรวจสอบความใกล้เคียงของกลุ่มค่าที่ทดสอบหลายครั้งหรือค่าความแตกต่างระหว่างการวิเคราะห์แต่ละครั้ง ความเที่ยงแสดงด้วย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) หรือค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation, RSD) หรือ coefficient of variance (CV) การหาค่าความเที่ยงสามารถทำโดยการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกัน 6 - 10 ซ้ำ คำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ %RSD หรือ %CV โดยเกณฑ์การยอมรับขึ้นอยู่กับปริมาณของสารที่ต้องการทดสอบ เช่นถ้าความเข้มข้นของสารอยู่ในช่วง 1 พีพีเอ็ม %CV ไม่เกิน 10 เป็นต้น

การหาค่าความแม่น เป็นการวัดความใกล้เคียงระหว่างค่าที่ได้จากการวิเคราะห์และค่าที่มีอยู่จริง ทดสอบได้โดยการวิเคราะห์หาร้อยละของปริมาณที่คืนกลับได้ (% recovery) โดยการเติมสารมาตรฐานของสารที่ต้องการทดสอบลงในตัวอย่าง ในปริมาณที่แน่นอน ที่ความเข้มข้น 3-5 ระดับ โดยให้ครอบคลุมช่วงใช้งาน แต่ละความเข้มข้นทำการวิเคราะห์ 6-10 ซ้ำ คำนวณหาร้อยละของปริมาณที่คืนกลับได้ เกณฑ์การยอมรับขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่างและปริมาณสารในตัวอย่าง โดยทั่วไปไม่เกินร้อยละ 10

ค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (Limit of detection, LOD) เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่เราสามารถตรวจวัดสารนั้นได้ โดยอาจดูจากปริมาณสารที่ให้สัญญาณ (signal, S) เป็น 3 เท่าของสัญญาณรบกวน (noise, N) นอกจากนี้อาจตรวจวัดได้โดยการนำสารละลายแบลงค์ของตัวอย่าง มาทำการวิเคราะห์ จำนวน 10 ซ้ำ หาค่าความเข้มข้นหรือปริมาณ คำนวณค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดได้เท่ากับค่าเฉลี่ยของสารละลายแบลงค์ของตัวอย่าง +3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน [7]

วิธีวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์

ปัจจุบันยังไม่มีวิธีเฉพาะสำหรับการวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์ ในผักและผลไม้ วิธีที่มีอยู่เป็นวิธีวิเคราะห์ในเนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ ซึ่งเป็น วิธี Colorimetric Method โดยอาศัยหลักการของ The Hydrazinium Reduction Method [13] ซึ่งมีปฏิกิริยาดังนี้



แล้ววัดความเข้มของสีชมพูที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ ตามวิธีดังกล่าวเป็นวิธีที่มีความคลาดเคลื่อนได้มาก เนื่องจากจะมีสารรบกวนในการวิเคราะห์ถ้าในตัวอย่างมีเหล็กและคลอไรด์ เพื่อขจัดปัญหาสารรบกวนจึงได้มีผู้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์ขึ้นโดยเรียกวิธีนี้ว่า Cadmium Reduction Method ซึ่งมีหลักการ ดังนี้ [16]

ไนเตรท $\xrightarrow[\text{Reduction}]{\text{Copper-Cadmium}}$ ไนไตรท์

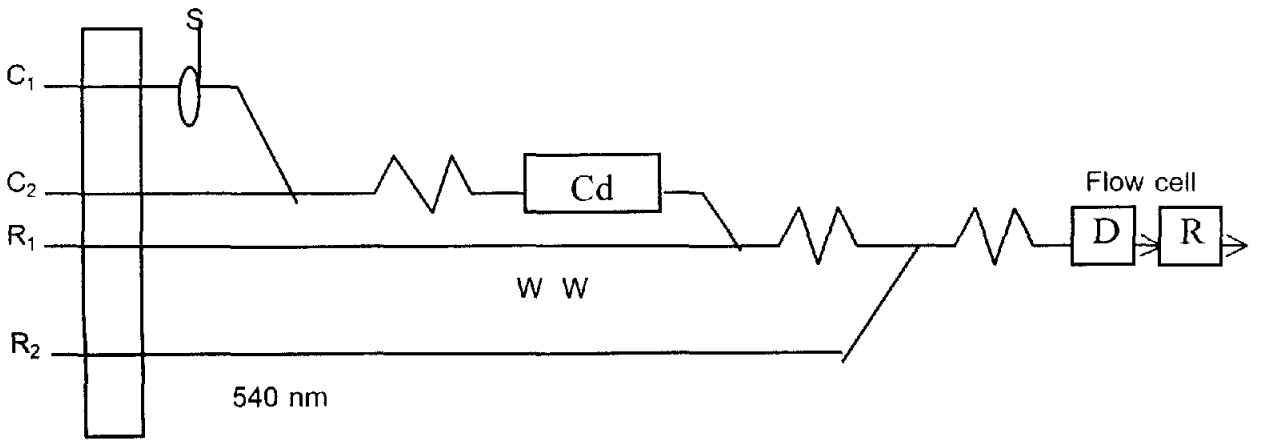
ไนไตรท์ $\xrightarrow[+\ \alpha\text{ - Naphthyl-ethylenediamine dihydrochloride}]{+\ \textit{Sulfanilamide}}$ Azo dye (สีชมพู)

ต่อมามีการศึกษาเทคนิคการวิเคราะห์โดยนำหลักการ Flow Injection Analysis (FIA) [6] เพื่อช่วยให้วิธีการวิเคราะห์ทำได้รวดเร็วและมีประสิทธิภาพสูงขึ้น

การวิเคราะห์โดยเทคนิค Flow Injection Analysis (FIA) โดยวิเคราะห์ปริมาณผลรวมของไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่าง โดยให้ผ่านคอลัมน์แคดเมียมแล้วคำนวณเป็นผลรวมของไนไตรท์ เมื่อหาปริมาณไนไตรท์โดยไม่ผ่านคอลัมน์แคดเมียมแล้วนำผลลัพธ์ทั้งสองมาหักลบกัน ส่วนต่างจะเป็นปริมาณไนไตรท์ที่ได้จากการรีดิวซ์ไนเตรท

<u>วิธีการ</u> สารตัวอย่างจะถูกฉีดเข้าไปในตัวพา (น้ำกลั่น) และไปผสมกับตัวพาตัวที่สอง (แอมโมเนียมคลอไรด์ บัฟเฟอร์) ไนเตรทจะถูกรีดิวซ์ให้เป็นไนไตรท์ ในคอลัมน์แคดเมียม หลังจากนั้นจะทำปฏิกิริยากับสารละลายซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide) ได้สารประกอบไดอะโซ (diazo compound) จากนั้นสารนี้ทำปฏิกิริยากับแอลฟา แนปทิลเอทิลีน ไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (α - Naphthyl-ethylenediamine dihydrochloride , NED) ได้ สารประกอบอะโซ (Azo compound) สีม่วงอมชมพู ซึ่งจะวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

<u>รูปที่ 1</u> แสดงระบบการวิเคราะห์หาผลรวมของไนเตรทและไนไตรท์ โดย Flow IA



S : Storage vessel of liquid (sample, reagents)

D : Detector

R : Recorder

C_1 : Sample carrier

C_2 : ammonium chloride buffer solution (pH 8.5)

R_1 : Sulfanilamide solution

R_2 : α - Naphthyl-ethylenediamine dihydrochloride solution

W : waste

Cd : Cadmium column

สำหรับการวิเคราะห์ไนไตรท์ทำเช่นเดียวกัน แต่ไม่ต้องต่อแคดเมียมคอลัมน์ในระบบ

บทที่ 3
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการ

3.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาทดลอง

3.1.1 การศึกษาความแม่น ความเที่ยง ค่าต่ำสุดและความสัมพันธ์เชิงเส้นของเครื่องมือที่ใช้ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทโดย Flow inection analyzer หรือ เครื่อง Auto analyzer (SKALAR) ใช้ตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง

3.1.2 การศึกษาปริมาณไนเตรทในสับปะรดกระป๋องที่เก็บในระยะเวลาต่าง ๆกัน ใช้ตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋องจำนวน 6 ตัวอย่าง เก็บไว้เป็นเวลา ตั้งแต่ 1 – 8 เดือน

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 เครื่อง Auto Analyzer (Flow Injection Analyzer) (Flow diagram ภาคผนวก)

3.2.2 เครื่องชั่งละเอียด 0.1 มิลลิกรัม

3.2.3 อ่างน้ำชนิดควบคุมอุณหภูมิได้

3.2.4 เครื่องบดปั่น (waring blender)

3.2.5 แท่นทำความร้อน (hot plate)

3.2.6 ตู้อบ (oven) ควบคุมอุณหภูมิได้ในช่วง 0-200 $^{\circ}$ซ

3.2.7 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

3.2.8 คอลัมน์แก้วรูปตัวยู (U-shape) ขนาดความยาว 17 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์-กลาง 2 มิลลิเมตร บรรจุ

3.2.9 อุปกรณ์และเครื่องแก้วต่าง ๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทดลอง

3.3 สารเคมี สารละลายและวิธีเตรียม

- สารเคมีเป็นชนิด คุณภาพสำหรับวิเคราะห์
- น้ำกลั่น หมายถึง deionized water

3.3.1 บริจด์ 35 (Brij 35)

3.3.2 แอมโมเนียม คลอไรด์

3.3.3 แอมโมเนียม ไฮดรอกไซด์

3.3.4 เอทธิลีน ไดอะมีน เตตรา อะซีติก แอซิด ไดโซเดียม (อีดีทีเอ)

3.3.5 กรดออโธฟอสฟอริก (ความเข้มข้น ร้อยละ 85)

3.3.6 ซัลฟานิลามีน ($C_6H_8N_2O_2S$)

3.3.7 แอลฟา - แนปทิลเอทธิลีน ไดอะมีน ไดคลอไรด์ ($C_{12}H_{16}Cl_2N_2$)

3.3.8 โปแทสเซียม เฟอร์โรไซยาไนด์ ไตรไฮเดรท [$K_4Fe(CN)_6.3H_2O$]

3.3.9 ซิงค์อะซีเตท ไดไฮเดรท [$Zn(CH_3COO)_2.2H_2O$]

3.3.10 บอแรกซ์ [ไดโซเดียม เตตราบอเรท เดคาไฮเดรท ($Na_2B_4O_7.10H_2O$)]

3.3.11 โซเดียมไนเตรท

3.3.12 โซเดียมไนไตรท์

3.3.13 ผงแคดเมียม ขนาดอนุภาค 0.3 – 1.0 มิลลิเมตร (sieve)

3.3.14 กรดไฮโดรคลอริก ความถ่วงจำเพาะ 1.16 (ความเข้มข้น ร้อยละ 37)

3.3.15 คิวปริก ซัลเฟต เพนตะ ไฮเดรท ($CuSO_4.5H_2O$)

3.3.16 กรดอะซีติก เกลเชียล (ความเข้มข้น ร้อยละ 99.8)

3.3.17 สารละลายร้อยละ 30 บริดจ์ 35

ปิเปต 1 มิลลิลิตร บริดจ์ 35 (ข้อ 3.3.1) ใส่ลงในขวดแก้วปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.3.18 สารละลายร้อยละ 10 แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์

ตวงแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ข้อ 3.3.3) จำนวน 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดแก้วปริมาตร ขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.3.19 สารละลายบัฟเฟอร์

ชั่งแอมโมเนียมคลอไรด์ (ข้อ 3.3.2) 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร แล้วเติม อีดีทีเอ (ข้อ 3.3.4) 1 กรัม ปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 8.2 ด้วย สารละลายร้อยละ 10 แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ข้อ 3.3.18) แล้วเติมสารละลายร้อยละ 30 บริดจ์ 35 (ข้อ 3.3.17) 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร (ควรเก็บไว้ในตู้เย็น)

3.3.20 สารให้สี (colour reagent)

ตวงกรดออโธฟอสฟอริก (ข้อ 3.3.5) จำนวน 150 มิลลิลิตร ค่อย ๆ รินลงในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติมซัลฟานิลามีน (ข้อ 3.3.6) 10 กรัม และ แอลฟา - แนปทิล เอทธิลีน ไดอะมีน ไดคลอไรด์ (ข้อ 3.3.7) จำนวน 0.5 กรัม เขย่าให้ละลาย แล้วเติมน้ำกลั่นทำเป็น 1000 มิลลิลิตร (สารละลายใส่ในขวดสีชาและเก็บในตู้เย็น)

3.3.21 สารละลายชนิดที่ 1

ชั่งโปแทสเซียม เฟอร์โรไซยาไนด์ ไตรไฮเดรท (ข้อ 3.3.8) จำนวน 106 กรัม แล้วเติมน้ำทำเป็น 1000 มิลลิลิตร

3.3.22 สารละลายชนิดที่ 2

ชั่ง ซิงค์อะซีเตท ไดไฮเดรท (ข้อ 3.3.9) จำนวน 220 กรัม เติมกรดอะซีติก เกลเชียล (ข้อ 3.3.16) 30 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำทำเป็น 1000 มิลลิลิตร

3.3.23 สารละลายบอแรกซ์

ชั่งบอแรกซ์ (ข้อ 3.3.10) จำนวน 50 กรัม ละลายในน้ำอุ่น ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมน้ำทำเป็น 1000 มิลลิลิตร

3.3.24 สารละลายมาตรฐาน 1000 พีพีเอ็มเอ็น (ppm N) มีความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรนและโซเดียมไนไตรท์ คิดเป็นไนโตรเจน 1000 ไมโครกรัม/1 มิลลิลิตร

ก. ชั่งโซเดียมไนเตรท (ข้อ 3.3.11) จำนวน 6.0710 กรัม ใส่ขวดแก้วปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร ใช้เป็นสารละลายมาตรฐานตั้งต้น (stock standard solution) ในการวิเคราะห์ไนเตรท สารละลายนี้ 1 มิลลิลิตร มีโซเดียมไนเตรทคิดเป็นไนโตรเจน (N) 1000 ไมโครกรัม (1000 ppmN)

ข. ชั่งโซเดียมไนไตรท์ (ข้อ 3.3.12) จำนวน 4.9286 กรัม ใส่ขวดแก้วปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร ใช้เป็นสารละลายมาตรฐานตั้งต้น (stock standard solution) ในการวิเคราะห์ไนไตรท์ สารละลายนี้ 1 มิลลิลิตร มีโซเดียมไนไตรท์คิดเป็นไนโตรเจน (N) 1000 ไมโครกรัม (1000 ppmN)

3.3.25 4 นอร์มัล กรดไฮโดรคลอริก

ตวงกรดไฮโดรคลอริก (ข้อ 3.3.14) 400 มิลลิลิตร รินลงในขวดแก้วปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตรที่มีน้ำกลั่น 600 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนถึงขีด

3.3.26 สารละลายร้อยละ 2 คิวปริก ซัลเฟต

ชั่ง คิวปริก ซัลเฟต (ข้อ 3.3.15) จำนวน 20 กรัม ใส่ลงในขวดแก้วปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.3.27 แอคติเวต แคดเมียม (Activated cadmium)

ชั่งผงแคดเมียม (ข้อ 3.3.13) จำนวน 2.5 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตรเติม 4 นอร์มัลกรดไฮโดรคลอริก (ข้อ 3.3.25) จำนวน 30 มิลลิลิตร กวนด้วยแท่งแก้ว 1 นาที ค่อย ๆ รินน้ำทิ้ง แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นจนหมดกรด เติมสารละลายร้อยละ 2 คิวปริก ซัลเฟต (ข้อ 3.3.26) จำนวน 50 มิลลิลิตร กวนด้วยแท่งแก้ว 5 นาที แล้วเทน้ำออกให้หมด เทผงแคดเมียมลงบนกระดาษกรองแล้วซับให้แห้ง

นำผงแคดเมียมที่แห้งแล้วบรรจุในคอลัมน์แก้ว เคาะเบาๆให้ผงที่บรรจุแน่น โดยให้ผงแคดเมียมต่ำจากปลายสุดข้างละประมาณ 5 มิลลิเมตร แล้วปิดด้วยจุกพลาสติกเพื่อกันผงแคดเมียมหลุดออกมา

3.4 การดำเนินงาน

3.4.1 การเตรียมตัวอย่าง

สุ่มตัวอย่างให้มีปริมาณ 1000 มิลลิลิตร แบบ random

เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน

3.4.2 การสกัดตัวอย่าง

3.4.2.1 ชั่งตัวอย่างน้ำสับปะรด ประมาณ 5 กรัม ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนใส่ลงในขวดชมพู่ 250 มิลลิลิตร

3.4.2.2 เติมสารละลายบอแรกซ์ (ข้อ 3.3.23) 5 มิลลิลิตร และน้ำ 100 มิลลิลิตร

3.4.2.3 นำไปตั้งบนอ่างน้ำ ที่ 70 °ซ นาน 15 นาที (เขย่าเป็นระยะๆ)

3.4.2.4 ยกลง แล้วปล่อยให้เย็นในอ่างน้ำเย็น

3.4.2.5 เติมสารละลายชนิดที่ 1 (ข้อ 3.3.21) จำนวน 2 มิลลิลิตร และ สารละลายชนิดที่ 2 (ข้อ 3.3.22) จำนวน 3 มิลลิลิตร ตามลำดับ

3.4.2.6 ถ่ายใส่ขวดปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

3.4.2.7 เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน

3.4.2.8 กรองด้วยกระดาษกรองวัตต์แมนเบอร์ 2 สารละลายที่ได้นำไปวิเคราะห์ไนเตรท/ไนไตรท์

3.4.2.9 ตัวอย่างก่อนจะนำไปวิเคราะห์ควรจะใส เตรียมโดยการกรองผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร

3.4.3 วิธีเตรียมกราฟมาตรฐานไนเตรท

3.4.3.1 สารละลายมาตรฐานไนเตรทความเข้มข้น 100 พีพีเอ็มเอ็น (ppmN) มีความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรทคิดเป็นไนโตรเจน 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานไนเตรท (ข้อ 3.3.24 ก.) 10 มิลลิลิตร ใส่ขวดแก้วปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.4.3.2 สารละลายมาตรฐานไนเตรทความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานไนเตรท ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ข้อ 3.4.3.1) มาจำนวน 0.2 0.4 0.8 และ 1.0 มิลลิลิตร ใส่ขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตรแต่ละใบ (รวม 5 ใบ) แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.4.3.2 นำสารละลายมาตรฐานข้อ 3.4.3.1 ไปดำเนินการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทตามข้อ 3.4.5 โดยใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์ เขียนกราฟความสัมพันธ์

ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Abs) และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนเตรท (ppm)

3.4.4 วิธีเตรียมกราฟมาตรฐานไนไตรท์

3.4.4.1 สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็มเอ็น (ppmN) มีความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์คิดเป็นไนโตรเจน 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (ข้อ 3.3.24 ข.) 10 มิลลิลิตร ใส่ขวดแก้วปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.4.4.2 สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ข้อ 3.4.4.1) มาจำนวน 0.2 0.4 0.8 และ 1.0 มิลลิลิตร ใส่ขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตรแต่ละใบ (รวม 5 ใบ) แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3.4.4.2 นำสารละลายมาตรฐานข้อ 3.4.4.2 ไปดำเนินการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ ตามข้อ 3.4.6 โดยใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์ เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Abs) และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนเตรท (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

3.4.5 วิธีวิเคราะห์ไนเตรท

3.4.5.1 ต่อคอลัมน์แคดเมียมเข้ากับ Flow diagram ของการวิเคราะห์โดย FIA (รูปที่ 1) และปรับสภาพการทำงานของเครื่อง ดังนี้

อัตราการไหลของตัวอย่าง	0.6	มิลลิลิตร/นาที
สารละลายบัฟเฟอร์	1.2	มิลลิลิตร/นาที
สารให้สี (colour reagent)	0.42	มิลลิลิตร/นาที
อัตราของปฏิกิริยา (reaction rate)	10	นาที
วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (Abs)	540	นาโนเมตร

3.4.5.2 วิธีคำนวณผลรวมของปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในสารละลายตัวอย่าง

$$\text{ไนเตรท คำนวณเป็นโซเดียมไนเตรท (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)} = (C-B) \times \frac{200}{W} \times \frac{85}{14} \times D$$

B = ปริมาณเป็นไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ppm) ของแบลงค์ที่อ่านจากกราฟ

C = ปริมาณ N เป็น ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ppm) ในตัวอย่างที่อ่านจากกราฟ

W = น้ำหนักของตัวอย่างเป็นกรัม

D = dilution factor (ถ้ามีการเจือจาง)

3.4.6 วิธีวิเคราะห์ไนไตรท์

3.4.6.1 ปฏิบัติเช่นเดียวกับข้อ 3.4.5.1 เว้นแต่ถอดคอลัมน์แคดเมียมออก

3.4.6.2 วิธีคำนวณปริมาณไนไตรท์ในสารละลายตัวอย่าง

$$\text{ไนไตรท์ คำนวณเป็นโซเดียมไนไตรท์ (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)} = (C-B) \times \frac{200}{W} \times \frac{69}{14} \times D$$

B = ปริมาณเป็นไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ppm) ของแบลงค์ที่อ่านจากกราฟ

C = ปริมาณ N เป็น ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ppm) ในตัวอย่างที่อ่านจากกราฟ

W = น้ำหนักของตัวอย่างเป็นกรัม

D = dilution factor (ถ้ามีการเจือจาง)

3.4.7 การคำนวณปริมาณไนเตรทในสารละลายตัวอย่าง

ผลต่างระหว่างปริมาณไนเตรทที่ได้จากการวิเคราะห์ไนเตรทของสารละลายตัวอย่างและปริมาณไนไตรท์ที่ได้จากการวิเคราะห์ในสารละลายตัวอย่างเดียวกัน

3.5 การศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทด้วยเครื่อง Flow Injection Analyzer (หรือ Auto Analyzer) ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง โดยดำเนินการดังต่อไปนี้ [7,10]

3.5.1 ศึกษาหาความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์กับค่าการดูดกลืนแสงของเครื่อง (linearity test) โดยดูค่า coefficient of variance (CV) โดยดำเนินการดังต่อไปนี้

3.5.1.1 ทดลองหา linearity ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรท โดยนำสารละลายมาตรฐานไนเตรทความเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ข้อ 3.4.3.2) มาดำเนินการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทตามข้อ 3.4.5 ทดลองซ้ำ 7 ครั้ง ในแต่ละความเข้มข้น แต่ละความเข้มข้นทดลองทำสองซ้ำ แล้วบันทึกค่า Abs ของแต่ละความเข้มข้น

3.5.1.2 การทดลองหา linearity ของวิธีวิเคราะห์ไนไตรท์ ดำเนินการเช่นเดียวกับไนเตรท แต่ใช้สารละลายมาตรฐานตามข้อ 3.4.4.2 และวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ตามข้อ 3.4.6 แล้วบันทึกค่า Abs

3.5.2 ศึกษาค่าความเที่ยง (precision) และค่าความแม่น (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรท/ไนไตรท์ [7,10] ดังนี้

3.5.2.1 นำตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋องมาดำเนินการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท/ไนไตรท์ ตามข้อ 3.4.5 และ 3.4.6 โดยทดลอง 7 ซ้ำ (เป็น control sample or original sample)

3.5.2.2 เติมสารมาตรฐานไนเตรท จำนวน 3 ระดับ ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 0.4 และ 0.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานไนเตรท (ข้อ 3.4.3.2) จำนวน 2, 4, 6 มิลลิลิตรลงในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง ระดับความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ

3.5.2.3 ดำเนินการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรท ตามข้อ 3.4.5

3.5.2.3 เติมสารมาตรฐานไนไตรท์ จำนวน 3 ระดับ ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 0.4 และ 0.6 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (ข้อ 3.4.4.2) จำนวน 2, 4, 6 มิลลิลิตรลงในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง ระดับความเข้มข้นละ 7 ซ้ำ

3.5.2.4 คำนวณค่าความเที่ยงของวิธีโดย

- นำผลการวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างน้ำสับปะรด (ข้อ 3.5.2.1) คำนวณหาปริมาณไนเตรท และ ไนไตรท์ แล้วคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลทั้งหมด
- เกณฑ์ค่าความเที่ยงของแต่ละความเข้มข้นจะต้องมีค่า Relative standard deviation (RSD) หรือ Coefficient of variance (CV) $\leq$ 10 % [1]

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

เมื่อ RSD = เป็นค่าความเที่ยงของวิธี

SD = เป็นค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Mean = เป็นค่าเฉลี่ยของปริมาณไนเตรท/ไนไตรท์

3.5.2.5 คำนวณค่าความแม่นของวิธีโดยคำนวณร้อยละของปริมาณที่คืนกลับของไนเตรทและไนไตรท์ (% recovery)

- นำผลการวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างน้ำสับปะรดและน้ำสับปะรดที่เติมสารมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์ระดับต่างๆ (ข้อ 3.5.2.2 และข้อ 3.5.2.3) มาคำนวณปริมาณไนเตรทและไนไตรท์
- คำนวณหาร้อยละของปริมาณคืนกลับของไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างข้อ 3.5.2.2 และ 3.5.2.3
- เกณฑ์การยอมรับค่าร้อยละของปริมาณคืนกลับ จะต้องอยู่ในช่วง ร้อยละ 90-100 [1]

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

การคำนวณร้อยละของปริมาณคืนกลับของไนเตรท

$$\%recovery = \frac{(\text{ค่าความเข้มข้นของไนเตรท ในตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานไนเตรท} - \text{ค่าความเข้มข้นของไนเตรทในตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารมาตรฐาน}) \times 100}{\text{ค่าความเข้มข้นของไนเตรทในตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานไนเตรท}}$$

การคำนวณร้อยละของปริมาณคืนกลับของไนไตรท์

$$\%recovery = \frac{(\text{ค่าความเข้มข้นของไนเตรท ในตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานไนไตรท์} - \text{ค่าความเข้มข้นของไนไตรท์ในตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารมาตรฐาน}) \times 100}{\text{ค่าความเข้มข้นของไนเตรทในตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานไนไตรท์}}$$

3.5.3 ศึกษาหาค่าต่ำสุดของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทในตัวอย่างสับปะรดกระป๋อง [7] โดย

3.5.3.1 เตรียมสารละลายแบลงค์ (blank reagent)และสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ทำกราฟมาตรฐานคือ 0.2 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร

3.5.3.2 ดำเนินการวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง แต่ไม่ต้องใช้ตัวอย่าง แล้วดำเนินการวิเคราะห์ (แต่ละชุดวิเคราะห์ 10 ซ้ำ) ตามข้อ 3.3.1.4.5 และ 3.3.1.4.6 ตามลำดับ

3.5.3.3 คำนวณค่าดังนี้

ค่าต่ำสุดที่ตรวจ (Limit of determination, LOD) = $0 + 3\,S_s$ [7]

S_s = Standard deviation calculated from standard 0.2 ppm

3.6 การศึกษาปริมาณไนเตรทในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋องที่เก็บไว้ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน

โดยนำตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋องจำนวน 6 ตัวอย่าง ที่เก็บไว้ 1 วัน 1 เดือน 2 เดือน 3 เดือน 5 เดือน และ 8 เดือน มาวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทตามข้อ 3.4.5 และ 3.4.6

บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์โดยเทคนิค Flow Injection Analyzer

4.1.1 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรทกับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ได้ผลตามตารางที่ 1 และเมื่อนำมาเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ (แกน X) และค่าดูดกลืนแสง (Abs) ที่วัดได้ (แกน Y) จะได้กราฟเป็นเส้นตรง (กราฟที่ 1) ทำนองเดียวกันความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์กับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ได้ผลตามตารางที่ 2 และกราฟที่ 2 แสดงความเข้มข้นของสาร (แกน X) และค่าดูดกลืนแสง (แกน Y) โดยได้กราฟเส้นตรง

4.1.2 ผลการศึกษาทดลองความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง (ตารางที่ 3) จำนวน 10 ซ้ำ พบว่าได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 10.67 และค่า % RSD เท่ากับ 1.40 ส่วนผลการทดลองหาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ไนไตรท์ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง (ตารางที่ 4) จำนวน 10 ซ้ำ ได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0 และค่า % RSD เท่ากับ 0

4.1.3 ผลการศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ไนเตรท โดยการเติมสารมาตรฐานไนเตรทความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.2 0.4 และ 0.6 พีพีเอ็มเอ็น ลงในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋องตามลำดับ ทดลอง 7 ซ้ำ พบว่าค่าร้อยละของปริมาณกลับคืน (% recovery) อยู่ในช่วง ร้อยละ 96.7-105.5 (ตารางที่ 5) ในทำนองเดียวกัน ร้อยละของปริมาณกลับคืนของไนไตรท์ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง อยู่ในช่วงร้อยละ 96.9-102 (ตารางที่ 6)

4.1.4 ผลการศึกษาค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรท โดยการหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรท (S_s) ได้ค่า S_s เท่ากับ 0.0025 และคำนวณค่า LOD เท่ากับ 0.0075 และเมื่อคำนวณเป็นไนโตรเจนได้กับ 0.17 มิลลิกรัม/กิโลกรัม คำนวณเป็นโซเดียมไนเตรทได้ 0.10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ในทำนองเดียวกันค่าต่ำสุดของการตรวจวัดได้ของวิธีวิเคราะห์ไนไตรท์ ได้ค่า S_s เท่ากับ 0.005 และคำนวณค่า LOD เท่ากับ 0.015 เมื่อคำนวณเป็นไนโตรเจน ได้เท่ากับ 0.029 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และคำนวณเป็นโซเดียมไนไตรท์ได้ 0.14 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ดูตารางที่ 7 และ 8)

4.2 ผลการศึกษาปริมาณไนเตรทในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋องที่เก็บไว้ในช่วงเวลาต่าง ๆ

ตารางที่ 9 แสดงปริมาณของไนเตรทในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋องจำนวน 6 ตัวอย่าง เมื่อเริ่มต้น (1 วัน) และหลังจากเก็บไว้ 1 เดือน 2 เดือน 3 เดือน 5 เดือน และ 8 เดือน โดยในวันแรก (1 วัน) จะมีปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 14.0 – 25.8 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และเมื่อเก็บไว้ 1 เดือน จะมีไนเตรทอยู่ในช่วง 12.4 - 23.8 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สำหรับปริมาณไนเตรทหลังจากเก็บน้ำสับปะรดกระป๋อง 2 เดือน จะมีไนเตรทอยู่ในช่วง 4.55 – 13.9 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ปริมาณไนเตรทหลังจากเก็บตัวอย่างไว้ 3 เดือน จะอยู่ในช่วง 3.62 - 5.44 มิลลิกรัม/กิโลกรัม หลังจากเก็บตัวอย่างไว้ 5 เดือน จะมีปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 1.38 – 11.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เมื่อเก็บตัวอย่างไว้ 8 เดือน จะพบปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 0.52 – 1.83 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และเมื่อนำผลการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรททั้งหมดไปเขียนกราฟ (กราฟที่ 3) จะได้กราฟที่มีแนวโน้มลดลงของปริมาณไนเตรท

บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์โดยเทคนิค Flow Injection Analyzer

5.1.1 จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรทกับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร พบว่าความสัมพันธ์ดังกล่าวเป็นแบบเส้นตรง โดยมีเส้นแนวโน้ม มีค่า R-square เท่ากับ 1 และเมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์กับค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร พบว่าความสัมพันธ์ดังกล่าวเป็นเส้นตรงเช่นเดียวกัน โดยมีเส้นแนวโน้ม มีค่า R-square เท่ากับ 0.9999 แสดงว่ากราฟของสารมาตรฐานของทั้งไนเตรทและไนไตรท สามารถนำใช้เป็นกราฟมาตรฐานที่ดี ให้ค่าไนเตรทและไนไตรท์ถูกต้อง

5.1.2 การศึกษาทดลองความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง จำนวน 10 ซ้ำ พบว่าในการวิเคราะห์ไนเตรทได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 10.67 และค่า %RSD เท่ากับ 1.40 ส่วนการวิเคราะห์ไนไตรท์ได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0 และค่า %RSD เท่ากับ 0 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์กำหนด แสดงว่าทั้งสองวิธีมีความเที่ยงมาก

5.1.3 การศึกษาความแม่นของวิธีวิเคราะห์ไนเตรท โดยการเติมสารมาตรฐานไนเตรทความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.2 0.4 และ 0.6 พีพีเอ็มเอ็น ลงในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋องตามลำดับ ทดลอง 7 ซ้ำ ผลการทดลองพบว่าค่าร้อยละของปริมาณกลับคืน (% recovery) อยู่ในช่วง ร้อยละ 96.7-105.5 สำหรับวิธีวิเคราะห์ไนเตรท และร้อยละของปริมาณกลับคืนของไนไตรท์ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง อยู่ในช่วงร้อยละ 96.9-102 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์กำหนดทั้งคู่ แสดงว่าวิธีมีความแม่นสูงในการวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์

5.1.4 การศึกษาค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วย Flow Injection Analyzer ได้ค่าต่ำสุดของการวิเคราะห์ไนเตรทเท่ากับ 0.17 มิลลิกรัม/กิโลกรัม คำนวณเป็นโซเดียมไนเตรท ส่วนค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ของการวิเคราะห์ไนไตรท์เท่ากับ 0.14 มิลลิกรัม/กิโลกรัม คำนวณเป็นโซเดียมไนไตรท์ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ด้วย Flow Injection Analyzer นี้ มีความไวสูง สามารถตรวจวัดปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ได้ต่ำมาก

5.2 การศึกษาปริมาณไนเตรทในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋องที่เก็บไว้ในช่วงเวลาต่าง ๆ

พบว่าปริมาณของไนเตรทในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋องจำนวน 6 ตัวอย่าง ในวันแรก (1 วัน) จะมีปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 14.0 – 25.8 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และเมื่อเก็บไว้ 1 เดือน จะมีไนเตรทอยู่ในช่วง 12.4 - 23.8 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สำหรับปริมาณไนเตรทหลังจากเก็บน้ำสับปะรดกระป๋อง 2 เดือน จะมีไนเตรทอยู่ในช่วง 4.55 – 13.9 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ปริมาณไนเตรทหลังจากเก็บตัวอย่างไว้ 3 เดือน จะอยู่ในช่วง 3.62 - 5.44 มิลลิกรัม/กิโลกรัม หลังจากเก็บตัวอย่างไว้ 5 เดือน จะมีปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 1.38 – 11.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และเมื่อเก็บตัวอย่างไว้ 8 เดือน จะพบปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 0.52 – 1.83 มิลลิกรัม/กิโลกรัม นอกจากนี้เมื่อนำผลการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรททั้งหมดไปเขียนกราฟ พบว่ากราฟที่มีแนวโน้มลดลงของปริมาณไนเตรท แสดงว่าอายุการเก็บน้ำสับปะรดกระป๋องมีผลต่อปริมาณไนเตรทในกระป๋อง แม้ว่าการทดลองนี้จะไม่สามารถสรุปได้ว่าไนเตรทเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการกัดกร่อนของกระป๋อง เนื่องจากไม่ได้ศึกษาหาปริมาณดีบุกและสารประกอบแอมโมเนียมในตัวอย่าง (ดังปฏิกิริยาที่แสดงในหน้าที่ 4) ผลการทดลองนี้ก็อาจเป็นประโยชน์ในการสนับสนุนว่าปริมาณไนเตรทจะลดลงเมื่อมีอายุการเก็บมากขึ้นและอาจเป็นสาเหตุหนึ่งของการกัดกร่อนของกระป๋อง จึงควรศึกษาเพิ่มเติมถึงปัจจัยอื่นที่มีต่อการกัดกร่อนของอาหารกระป๋อง

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ คุณปรีชา ธรรมนิยม ผู้อำนวยการ โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คุณสุนทรี เปรื่องการ คุณธิดาดวง ฟอลเล็ต คุณสุจิตรา วิมลจิตต์ ที่กรุณาให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ คุณวราภรณ์ กิจชัยนุกูล คุณสุภัตรา เจริญเกษมวิทย์ คุณสมภพ ลาภวิบูลย์สุข ที่มีส่วนร่วมในการช่วยให้ผลงานสำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. นวพร อนันตสินกุล การใช้สถิติในงานวิเคราะห์ทดสอบ เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร สถิติสำหรับงานวิเคราะห์ทดสอบและวิจัย ศูนย์ฝึกอบรมและพัฒนาเทคนิคทางวิทยาศาสตร์ กองการศึกษาเคมีปฏิบัติ กรมวิทยาศาสตร์บริการ วันที่ 20-21 ธันวาคม 2544 หน้า 42-43

2. พรรัตน์ สินชัยพานิช. การกัดกร่อนของกระป๋องบรรจุอาหาร. อาหาร. กรกฎาคม-กันยายน, 2541 ปีที่ 28, ฉบับที่ 3, หน้า 170-178

3. An Introduction to the use of Flow Injection Analysis, Tecator AB.

4. Analysis Nitrate & Nitrite SKALAR Analytical Manual SA20/40

5. AOAC (2000) Chapter 39 p.8

6. Determination of the sum of nitrate and nitrite in water by Flow Injection Analysis, Tecator Application Note ASN 110-01/92 and ASN 112-01/92

7. Eurachem working group. The fitness for purpose of analytical methods : A laboratory guide to method validation and related topics. LGC (Teddington) U.K., English version 1st ed. 1998

8. FAO Nutrition Meetings Report Series, No.38, 1965

9. Indian standard. METHODS OF TEST FOR MEAT AND MEAT PRODUCTS , Part VIII Determination of Nitrate content IS : 5960 (Part VIII) - 1974

10. In-House Method Validation, Joint FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMM , Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling , 22th Session , Hungary , 1998

11. Iwamoto,Y. et al. Studies on abnormal detinning of tin can with nitrate in foods. III. Nitrate in banana and internal corrosion of can containing banana drink. Journal of the Japanese Society of Food and Nutrition [Eiyo to Shokuryo], 23 (3), 1970, p.213-217

12. Johnson, H.T. The corrosion action of nitrates in canned soft drinks measured by polarization techniques. American Soft Drink Journal. 124 (897), 1970, p.83-86

13. Kempers, A.J.,Luft, A.G. "Re-examination of the determination of environmental Nitrate as Nitrite by reduction with hydrazine". Analyst, vol. 113, July, 1988, p.1117-1120

14. Quraishi, M.A., and Rawat, J. Corrosion of tin cans and its inhibition. Journal of Food Science and Technology, India. 2000, vol.37, no.5, p.529-532

15. Thaifood Processor Association. Export Statistic. Available : http://www.Thaifood.org. 2001

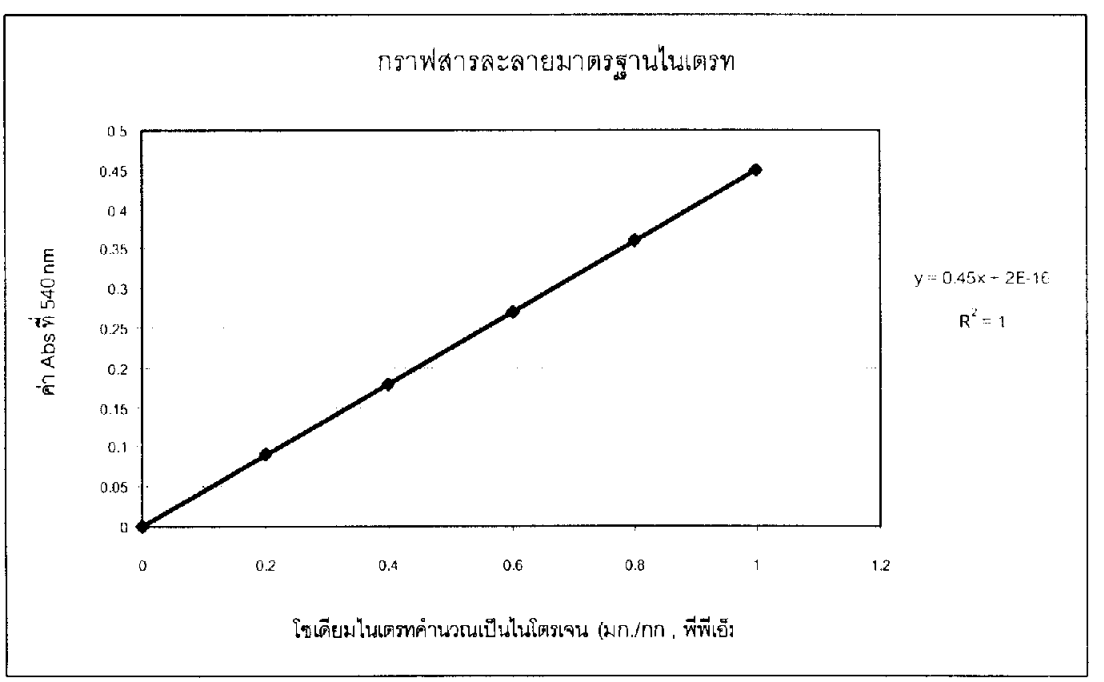
16. Zhu, Z.L. and Gu, Z.C. Simultaneous determination of iodine and nitrite by catalytic kinetic. Analyst. 118, 1993, p.105-118

ภาคผนวก

<u>ตารางที่ 1</u> แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity test) ระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่าดูดกลืนแสง ในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนเตรทที่ระดับความเข้ม 0,0.2, 0.4, 0.6,0.8 และ 1 พีพีเอ็ม จำนวน 2 ซ้ำ

ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2		
โซเดียมไนเตรท คำนวณเป็นไนโตรเจน ppm	Abs ที่ 540 nm	Abs/ 1 ppm	โซเดียมไนเตรท คำนวณเป็นไนโตรเจน ppm	Abs ที่ 540 nm	Abs/ 1 ppm
0	0	0	0	0	0
0.2	0.09	0.45	0.2	0.09	0.45
0.4	0.18	0.45	0.4	0.18	0.45
0.6	0.27	0.45	0.6	0.27	0.45
0.8	0.36	0.45	0.8	0.36	0.45
1.0	0.45	0.45	1	0.45	0.45
		N = 5 mean = 0.45 SD = 0 % RSD = 0			N = 5 mean = 0.45 SD = 0 %RSD = 0

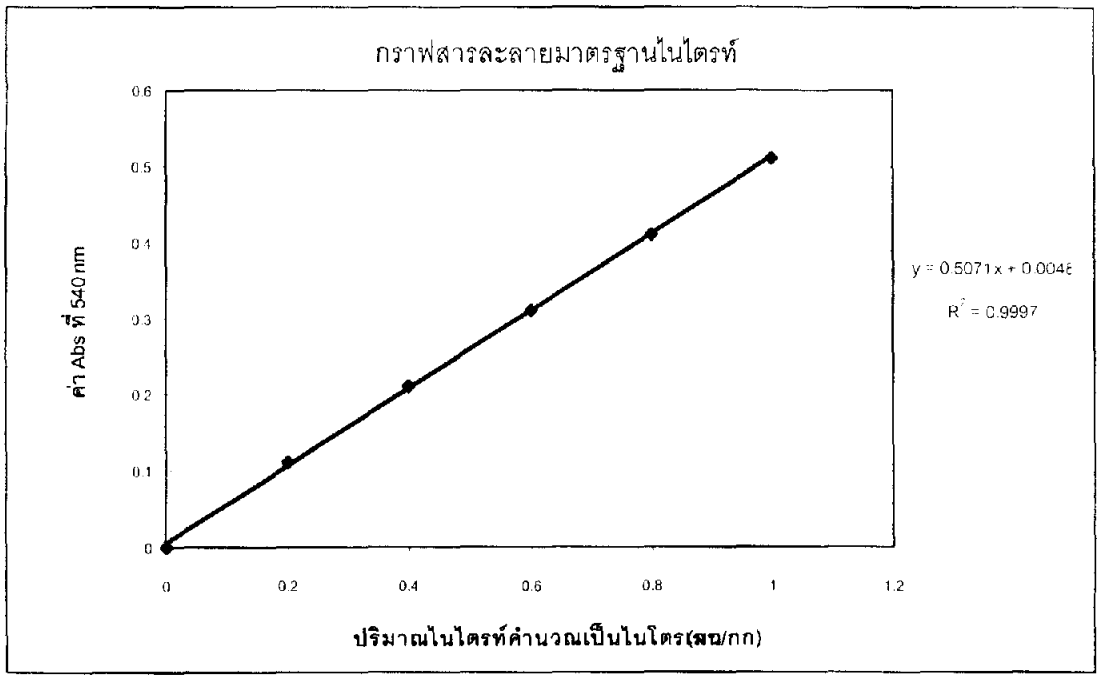
<u>กราฟที่ 1</u> แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานไนเตรท (แกน X) และค่าดูดกลืนแสง (Abs) ที่วัดได้ (แกน Y) โดยจะได้กราฟเป็นเส้นตรง



ตารางที่ 2 แสดงความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity test) ระหว่างความเข้มข้นของสารกับค่าดูดกลืนแสง ในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ระดับความเข้ม 0,0.2, 0.4, 0.6,0.8 และ 1 พีพีเอ็ม จำนวน 2 ซ้ำ

ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2		
โซเดียมไนไตรท์ คำนวณเป็นไนโตรเจน ppm	Abs ที่ 540 nm	Abs/ 1 ppm	โซเดียมไนไตรท์ คำนวณเป็นไนโตรเจน ppm	Abs ที่ 540 nm	Abs/ 1 ppm
0	0	0	0	0	0
0.2	0.11	0.550	0.2	0.11	0.550
0.4	0.21	0.525	0.4	0.21	0.525
0.6	0.31	0.517	0.6	0.31	0.517
0.8	0.41	0.513	0.8	0.41	0.513
1.0	0.51	0.510	1.0	0.51	0.510
		N = 5 mean = 0.523 SD = 0.161 %RSD = 3.08			N = 5 mean= 0.523 SD = 0.0161 %RSD = 3.08

กราฟที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (แกน X) และค่าดูดกลืนแสง (Abs) ที่วัดได้ (แกน Y) โดยจะได้กราฟเป็นเส้นตรง



ตารางที่ 3 แสดงผลการศึกษาหาค่าความเที่ยงในการวิเคราะห์ไนเตรทในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง จำนวน 10 ซ้ำ

ลำดับที่	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			ค่าเฉลี่ย
	Abs ที่ 540 nm	ค่าที่อ่านได้จากกราฟ (ppm)	โซเดียมไนเตรท มก./กก.	Abs ที่ 540 nm	ค่าที่อ่านได้จากกราฟ (ppm)	โซเดียมไนเตรท มก./กก.	
1	0.15	0.333	766.6	0.14	0.311	716.0	741.3
2	0.15	0.333	766.6	0.15	0.333	766.6	766.6
3	0.15	0.333	766.6	0.15	0.333	766.6	766.6
4	0.15	0.333	766.6	0.14	0.311	716.0	741.3
5	0.15	0.333	766.6	0.15	0.333	766.6	766.6
6	0.15	0.333	766.6	0.15	0.333	766.6	766.6
7	0.15	0.333	766.6	0.15	0.333	766.6	766.6
8	0.15	0.333	766.6	0.15	0.333	766.6	766.6
9	0.15	0.333	766.6	0.15	0.333	766.6	766.6
10	0.15	0.333	766.6	0.15	0.333	766.6	766.6
						mean =	761.5
						SD =	10.67
						% RSD =	1.40

ได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 10.67

และค่า % RSD = 1.40 ซึ่งไม่เกิน 10%

ตารางที่ 4 แสดงผลการศึกษาหาค่าความเที่ยงในการวิเคราะห์ไนไตรท์ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง จำนวน 10 ซ้ำ

ลำดับที่	ครั้งที่ 1			ครั้งที่ 2			ค่าเฉลี่ย
	Abs ที่ 540 nm	ค่าที่อ่านได้จากกราฟ (ppm)	โซเดียมไนไตรท์ มก./กก.	Abs ที่ 540 nm	ค่าที่อ่านได้จากกราฟ (ppm)	โซเดียมไนไตรท์ มก./กก.	
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0
						mean =	0
						SD =	0
						% RSD =	0

ได้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 0

และค่า % RSD = 0 ซึ่งไม่เกิน 10%

ตารางที่ 5 แสดงผลการศึกษาความแม่นในการวิเคราะห์ไนเตรท ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง และเติมสารมาตรฐานไนเตรทความเข้มข้น เข้มข้น 0.2 0.4 และ 0.6 (พีพีเอ็ม) (วิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 3 ครั้ง)

	Blank	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4
น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	0	5.00	5.00	5.00	5.00
โซเดียมไนเตรทที่เติม คำนวณเป็นไนโตรเจน (ppm N)	-	-	200	400	600
ปริมาตรทั้งหมด (มิลลิลิตร)	500	500	500	500	500
ค่า Abs ที 540nm (เฉลี่ยจาก 3 ค่า)	0	0.19	0.238	0.28	0.32
ไนโตรเจนคำนวณจากกราฟมาตรฐาน (ppm)	0	0.422	0.533	0.617	0.712
ปริมาณไนโตรเจนที่ตรวจพบ (ppm)	0	844	1055	1233	1424
ปริมาณที่ต่างกัน (ppm)	-	-	211	389	580
คิดเป็นร้อยละ (% Recovery)			105.5	97.25	96.7
ค่าเฉลี่ยของร้อยละของปริมาณคืนกลับ			99.8		
SD			0.0866		
%RSD			0.08		

ได้ค่าร้อยละของปริมาณที่คืนกลับเฉลี่ย ร้อยละ 99.8 ซึ่งไม่เกินเกณฑ์กำหนด (ร้อยละ 90-110) โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.0866 และมีค่า %RSD เท่ากับ 0.08

ตารางที่ 6 แสดงผลการศึกษาความแม่นในการวิเคราะห์ไนไตรท์ ในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋อง และเติมสารมาตรสารมาตรฐานไนไตรท์ ความเข้มข้น 0.2 0.4 และ 0.6 พีพีเอ็ม เอ็น (วิเคราะห์ซ้ำความเข้มข้นละ 3 ครั้ง)

	Blank	ชุดที่ 1	ชุดที่ 2	ชุดที่ 3	ชุดที่ 4
น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	0	5.00	5.00	5.00	5.00
โซเดียมไนไตรท์ที่เติม คำนวณเป็นไนโตรเจน (ppmN)	-	-	200	400	600
ปริมาตรทั้งหมด (มล.)	200	200	200	200	200
ค่า Abs ที่ 540nm (เฉลี่ยจาก 3 ค่า)	0	0	0.14	0.29	0.40
ไนโตรเจนคำนวณจากกราฟมาตรฐาน (ppm)	0	0	0.255	0.527	0.727
ปริมาณไนโตรเจนที่ตรวจพบ (ppm)	0	0	204.0	423.7	581.6
คิดเป็นร้อยละของปริมาณคืนกลับ (% Recovery)			102.0	105.9	96.9
ค่าเฉลี่ยของร้อยละของปริมาณคืนกลับ			101.3		
SD			0.1732		
% RSD			0.17		

ได้ค่าร้อยละของปริมาณที่คืนกลับเฉลี่ย ร้อยละ 101.3 ซึ่งไม่เกินเกณฑ์กำหนด (ร้อยละ 90-110) โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.1732 และมีค่า %RSD เท่ากับ 0.17

ตารางที่ 7 ค่าต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์โซเดียมไนเตรทได้

ครั้งที่	ค่าดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร	
	สารละลายแบลงค์	สารละลายมาตรฐานโซเดียมไนเตรท คำนวณความเข้มข้นเป็นไนโตรเจน = 0.2 ppm
1	0	0.090
2	0	0.095
3	0	0.090
4	0	0.090
5	0	0.090
6	0	0.095
7	0	0.090
8	0	0.090
9	0	0.095
10	0	0.095
ค่าเฉลี่ย	0	0.0917
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, SD	0	S_s = 0.0025

ค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (Limit of detection, LOD) = $0 + 3S_s$

S_s = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าดูดกลืนแสงของไนเตรท (Standard deviation of Abs nitrate)

ดังนั้น

Abs ต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ = 0 + (3 x 0.0025) = 0.0075

คำนวณเป็นไนโตรเจน (ppm) = 0.017

คำนวณเป็นโซเดียมไนเตรท (ppm) = $0.017 \times \frac{85}{14}$ = 0.10

ตารางที่ 8 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ไนไตรท์ได้

ครั้งที่	ค่าดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร	
	สารละลายแบลงค์	สารละลายมาตรฐานโซเดียมไนไตรท์ คำนวณความเข้มข้นเป็นไนโตรเจน = 0.2 ppm
1	0	0.10
2	0	0.11
3	0	0.11
4	0	0.11
5	0	0.10
6	0	0.11
7	0	0.11
8	0	0.11
9	0	0.10
10	0	0.10
ค่าเฉลี่ย	0	0.1067
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, SD		S_s = 0.005

ค่าต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ (Limit of detection, LOD) = $0 + 3S_s$

S_s = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าดูดกลืนแสงของไนไตรท์ (Standard deviation of Abs nitrite)

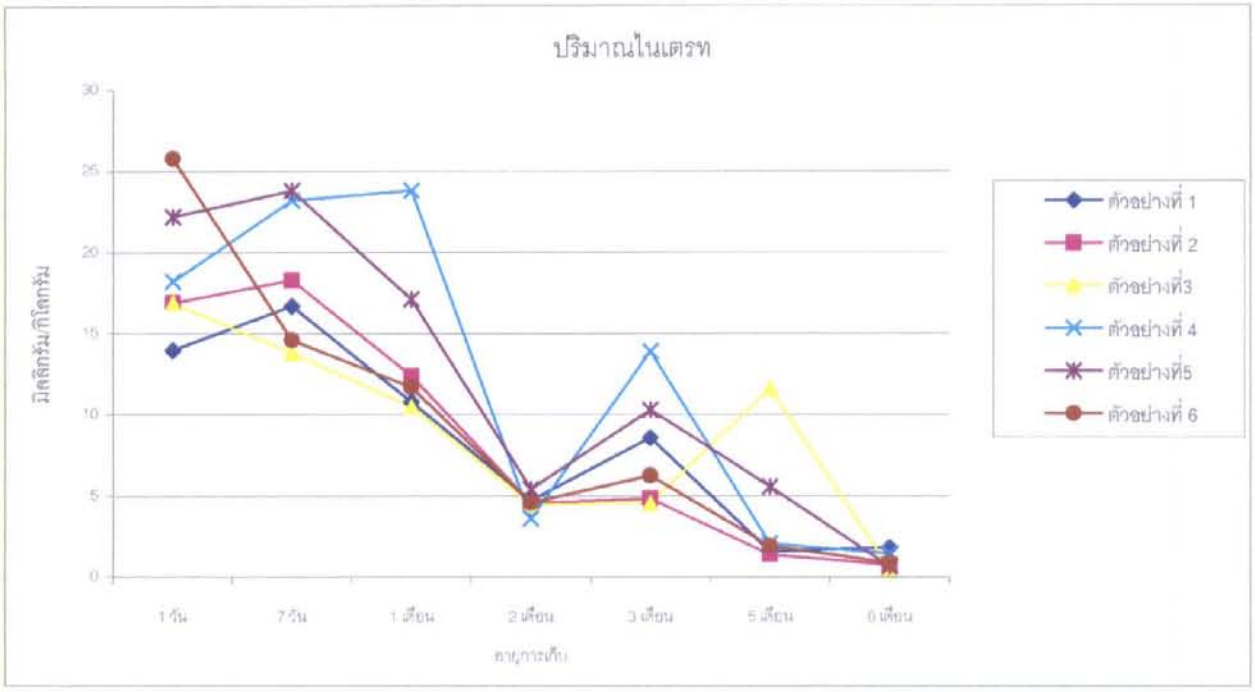
ดังนั้น

Abs ต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ = 0 + (3 x 0.005) = 0.015

คำนวณเป็นไนโตรเจน (ppm) = 0.029

คำนวณเป็นโซเดียมไนไตรท์ (ppm) = $0.029 \times \frac{69}{14}$ = 0.14

ตารางที่ 9 แสดงผลปริมาณไนเตรทในน้ำสับปะรดกระป๋อง ในวันที่ 1 และเมื่อเก็บไว้ 1, 2, 3, 5 และ 8 เดือน

ตัวอย่าง	1 วัน	1 เดือน	2 เดือน	3เดือน	5 เดือน	8 เดือน
1	14.0	10.8	8.57	4.73	1.59	1.83
2	16.9	12.4	4.84	4.57	1.38	0.76
3	16.9	10.5	4.55	4.49	11.6	0.52
4	18.2	23.8	13.9	3.62	2.06	1.47
5	22.2	17.1	10.3	5.44	5.58	0.65
6	25.8	11.7	6.25	4.59	1.92	0.89

กราฟที่ 3 แสดงปริมาณไนเตรทในตัวอย่างน้ำสับปะรดกระป๋องเมื่อเก็บไว้ในช่วงเวลาตั้งแต่ 1 วัน 1 เดือน 2 เดือน 3 เดือน 5 เดือน และ 8 เดือน