บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องยูวี–วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible spectrophotomater), รุ่น 160A, บริษัท SHIMADZU

2. เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้า (Analytical balance) ความละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง, รุ่น AE 200, บริษัท เมทท์เลอร์ โทเลโต (Mettler Toledo)

3. เครื่องปั่นเนื้อ บริษัท Ronic

4. อ่างควบคุมอุณหภูมิ รุ่น SBD50-1 บริษัท ไซแอนติฟิกโปรโมชั่น จำกัด (Heto)

5. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)

6. ปิเปต (Pipette)

7. บีกเกอร์ (Beaker)

8. ขวดแก้วสีชา

9. กระดาษกรองเบอร์ 40 บริษัท Whatman

สารเคมี

1. โซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$), เกรด AR , บริษัท Merck

2. ซัลฟานิลาไมด์ ($C_6H_8N_2SO_2$), เกรด AR , บริษัท Fluka

3. เอ็น-(1-แนฟทีล) เอทธิลีนไดเอมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ ($C_{12}H_{14}N_2.2HCl$: NED), เกรด AR, บริษัท Fluka

4. กรดอะซิติก (CH_3COOH), gacial acetic acid, บริษัท J.T. Baker

5. น้ำขจัดไอออน

การเตรียมสารละลาย

1. เอ็น-(1-แนฟทีล) เอทธิลีนไดเอมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ เข้มข้น 0.01 โมลาร์ เตรียมโดยการชั่ง เอ็น-(1-แนฟทีล) เอทธิลีนไดเอมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (MW 259 $gmol^{-1}$) หนัก 0.26 กรัม ใส่ลงในขวดแก้วสีชา ละลายด้วยกรดอะซิติกเข้มข้น 15% โดยปริมาตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. สารละลายซัลฟานิลาไมด์ เข้มข้น 0.04 โมลาร์ เตรียมโดยการชั่งซัลฟานิลาไมด์ (MW 172 $gmol^{-1}$) หนัก 0.70 กรัม ใส่ลงในขวดแก้วสีชา ละลายด้วยกรดอะซิติกเข้มข้น 15% โดยปริมาตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3. สารละลายกรดอะซิติก เข้มข้น 15% โดยปริมาตร เตรียมโดยตวงกรดอะซิติก 15 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำขจัดไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

4. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) เข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยชั่งโซเดียมไนไตรท์ 0.1 กรัม ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำขจัดไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

5. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) เข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยปิเปตสารละลายโซเดียมไนไตรท์เข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำขจัดไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

การสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานโซเดียมไนไตรท์เข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายซัลฟานิลาไมด์เข้มข้น 0.04 โมลาร์ ปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร แกว่งให้สารละลายเข้ากัน

3. ตั้งสารละลายไว้ประมาณ 5 นาที เติมสารละลายเอ็น-(1-แนฟทีล) เอทิลีนไดเอมีนไดไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำขจัดไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

4. ตั้งสารละลายไว้ให้สีคงตัวประมาณ 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร บันทึกผล วัดซ้ำอีก 2 ครั้ง บันทึกผล

5. ทำการทดลองตามข้อ 1-4 โดยใช้สารละลายมาตรฐานโซเดียมไนไตรท์เข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.25, 0.5, 1, 2, 4 และ 5 มิลลิลิตร

6. ทำการทดลองตามข้อ 1-4 เพื่อเตรียมสารละลายแบลงค์ โดยใช้น้ำขจัดไอออนปริมาตร 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายมาตรฐานโซเดียมไนไตรท์

7. เขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไนไตรท์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณโซเดียมไนไตรท์ในสารตัวอย่างไส้กรอกอีสาน

พื้นที่ศึกษาที่ผู้วิจัยเลือกในครั้งนี้ คือ อำเภอเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา โดยเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานซึ่งเป็นอาหารพื้นเมืองและมีปริมาณมาก ผลิตขึ้นเพื่อเป็นรายได้เสริมตลอดปี และเป็นของฝากของชาวนครราชสีมา การเก็บสารตัวอย่าง ทำโดยซื้อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานจากแหล่งผลิตขนาดใหญ่ ที่มีวันผลิตและขนาดใกล้เคียงกัน ทั้งหมด 5 แหล่งผลิต

ขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่าง

1. นำผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานจากแหล่งผลิตที่ 1 มาปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นเนื้อ ชั่งผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานที่ปั่นละเอียดแล้วหนัก 20 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. เติมน้ำขจัดไอออนปริมาตร 70 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ นำบีกเกอร์ไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง คนด้วยแท่งแก้วจนเนื้อแตกเป็นเนื้อเดียวกัน

3. กรองสารละลายผ่านกระดาษกรองเบอร์ 40 ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำขจัดไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

4. ปิเปตสารละลายที่กรองได้ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายซัลฟานิลาไมด์ ($C_6H_8N_2SO_2$) เข้มข้น 0.04 โมลาร์ ปริมาตร 3.75 มิลลิลิตร แกว่งให้สารละลายผสมกัน

5. ตั้งสารละลายไว้ประมาณ 5 นาที เติมสารละลายเอ็น-(1-แนฟทิล) เอทิลีนไดเอมีนไดไฮโดรคลอไรด์เข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 3.75 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำขจัดไอออนจนถึงขีดบอกปริมาตร

6. ตั้งสารละลายไว้ให้สีคงตัวประมาณ 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร บันทึกผล วัดซ้ำอีก 2 ครั้ง บันทึกผล

7. ทำการทดลองตามข้อ 1-6 อีก 1 ครั้ง บันทึกผล

8. ทำการทดลองตามข้อ 1-7 สำหรับผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานจากแหล่งผลิตที่ 2-5

9. ทำการทดลองตามข้อ 4-7 เพื่อเตรียมสารละลายแบลงค์ โดยปิเปตน้ำขจัดไอออนปริมาตร 30 มิลลิลิตร แทนสารละลายที่กรองได้

10. คำนวณค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงและคำนวณหาความเข้มข้นของโซเดียมไนไตรท์ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกอีสานจาก 5 แหล่งผลิต โดยใช้ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงและสมการเส้นตรงในกราฟมาตรฐาน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การคำนวณเชิงสถิติ

1. ค่าเฉลี่ย (Mean, $\bar{x}$)

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^{n} x_i}{n}$$

เมื่อ $\bar{x}$ = ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่วัดได้จำนวน n ครั้ง

x_i = ค่าการดูดกลืนแสงจากการวัดครั้งที่ i

n = จำนวนครั้งของการวัด

2. ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

เมื่อ SD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)

$\bar{x}$ = ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่วัดได้จำนวน n ครั้ง

x_i = ค่าการดูดกลืนแสงจากการวัดครั้งที่ i

n = จำนวนครั้งของการวัด

3. ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation, RSD)

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

เมื่อ RSD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์
(Relative standard deviation)

SD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)

$\bar{x}$ = ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงที่วัดได้จำนวน n ครั้ง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University