

Rajabhat Journal of Sciences, Humanities & Social Sciences



Vol.16 No.1 January - June 2015

ISSN 1905 - 3193



RAJABHAT JOURNAL OF SCIENCES, HUMANITIES & SOCIAL SCIENCES

เจ้าของ : มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
 จัดทำโดย : สำนักงานอธิการบดี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
 ตำบลพลายชุมพล อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000
 โทรศัพท์ : 0-5526-7000 ต่อ 9224 หรือ 0-5526-7089 โทรสาร 0-5526-7058

บรรณาธิการที่ปรึกษา

ดร.พิศิษฐ์	วรอุไร	ประธานคณะที่ปรึกษาโครงการอนุรักษ์ พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี กองทัพบก กรมการสภามหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม และมหาวิทยาลัยมหิดล
ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.วิสุทธิ์	ใบไม้	กรมการสภามหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม และมหาวิทยาลัยมหิดล
ศาสตราจารย์ ดร.อานนท์	บุญยะรัตเวช	กรมการสภามหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม และประธานมูลนิธิพัฒนายั่งยืน
ดร. อธิปัตย์	คลี่สุนทร	กรมการสภามหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม และมหาวิทยาลัยอัสสัมชัญ

บรรณาธิการ

อาจารย์ ดร.มลณีภา	ศิลาอาสน์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
-------------------	-----------	------------------------------

รองบรรณาธิการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อันวดี	ศรีธาวีรัตน์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฏฐิรา	ทับทิม	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุ	เจริญวงศ์ระยับ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรพิน	เสละคร	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
อาจารย์ ดร.ราไฟ	โกฏสืบ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
อาจารย์ นริศรา	สุวิเชียร	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

กองบรรณาธิการ

สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ศาสตราจารย์ ดร.นายแพทย์ พูนพิศ	อมาตย์กุล	มหาวิทยาลัยมหิดล
ศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์	พันธุ์วัฒนา	มหาวิทยาลัยบูรพา
ศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์	ปัญหา	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ศาสตราจารย์ ดร.ณรงค์	ปันนัม	มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ศาสตราจารย์ ดร.สังวรณ	กิจทวี	มหาวิทยาลัยมหิดล
ศาสตราจารย์ ดร.ปราณี	อ่านเบรื่อง	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Professor Dr. Talib	Latif	Universiti Kebangsaan Malaysia
รองศาสตราจารย์ ดร.ธีรพร	กบงเกิด	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รองศาสตราจารย์ ดร.สัมฤทธิ์	ไม้พวง	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รองศาสตราจารย์ ดร.วิชัย	แหวนเพชร	มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เดิณศักดิ์	ศรีศิริรินทร์	มหาวิทยาลัยมหิดล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุริศักดิ์	ประสานพันธ์	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะ	โควินท์ทวีวัฒน์	มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นิวัตร	พัฒนะ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.คงศักดิ์	ศรีแก้ว	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยวรรณ	ศุภวิจิตพัฒนา	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธัชณิน	จงจิตวิมล	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิญญู	ธงไชย	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กิตติพงษ์	สุวรรณราช	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
อาจารย์ ดร.เฉลิมพร	ทองพูน	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

คณะทำงานฝ่ายประสานงานและ

นายสุรินทร์

นางสาวรัตนา

นายอรรถพงษ์

นายพิสุทธิ

ปีที่ 16 ฉบับที่ 1 :

จำนวน :

พิมพ์ที่ :

สาขามนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์

ศาสตราจารย์พิเศษ ดร.กาญจนา	เงารังษี	ข้าราชการบำนาญ
ศาสตราจารย์ ดร. สมบูรณ์	สุขสวัสดิ์	ราชบัณฑิตยสถาน
รองศาสตราจารย์ ดร. สุรพล	ราชภัฏทราธิราช	มหาวิทยาลัยรามคำแหง
รองศาสตราจารย์ ดร.เสมอ	ถ่าน้อย	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รองศาสตราจารย์ ดร.เหิรมจันทร์	พานิชย์ผลินไชย	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รองศาสตราจารย์ ดร.วัฒนา	พัตเกตุ	มหาวิทยาลัยนเรศวร
รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริณา	จิตต์จรัส	มหาวิทยาลัยศิลปากร
รองศาสตราจารย์ ดร.สมคิด	พรมจัย	มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมมาธิราช
รองศาสตราจารย์เบญจรัตน์	สีทองสุก	มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เดือนใจ	เกียวิซี	ข้าราชการบำนาญ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สายพิน	ชินตระกูลชัย	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
อาจารย์ ดร. เพชรศรี	นนท์ศิริ	มหาวิทยาลัยนเรศวร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สกล	เกิดผล	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุขแก้ว	คำสอน	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุลรัตน์	จันทร์เชื้อ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
อาจารย์ ดร.ปัญญา	สำรวยรีน	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
อาจารย์ ดร. อรุณี	ภาสยานนท์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
อาจารย์ ดร. คุณากร	คงชนะ	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
อาจารย์ ดร. วรารัตน์	วรวิรัช	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
Mr. Don	Hindle	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

คณะกรรมการฝ่ายประสานงานและจัดทำวารสารของมหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

นายสุรินทร์	วิจิตรพงษ์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
นางสาวรัตนา	นาคสิงห์	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
นายอรรถพงษ์	สุดแก้ว	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
นายพิสุทธิ์	ธัญแก้ว	มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

ปีที่ 16 ฉบับที่ 1 : มกราคม ถึง มิถุนายน 2558

จำนวน : 240 เล่ม

พิมพ์ที่ : บริษัท ไฟกัส พรินติ้ง จำกัด

110/212 ถนนพระองค์ดำ ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

โทร. 055-225037

สารบัญ

บทความวิชาการ	
• หลักปรัชญาของเศรษฐกิจพอเพียง: การพัฒนาสู่ความยั่งยืน Philosophy of Sufficiency Economy: Development for Sustainability อานนท์ บุญยรัตเวช	1
• ไก่ชนพระนครศรีอยุธยาขึ้นทะเบียนมรดกภูมิปัญญาทางวัฒนธรรมของชาติประจำปีพุทธศักราช 2557 นิสิต ดั่งตระกูลพงษ์	10
• ผู้นำการเปลี่ยนแปลงภายใต้ความขัดแย้งทางการเมือง Leader for Change Under the Political Conflict โชติ บดีรัฐ	20
• การจัดการศึกษาห้องเรียนพิเศษวิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์ และภาษาอังกฤษ (SME) Management of Special Education Classrooms for Science, Mathematics and English (SME) เกวลิน ไชยสวัสดิ์	32
บทความวิจัย	
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี	
• การตรวจวัดอย่างรวดเร็วพร้อมกันในเตรตและไนโตรดในผักด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง Simultaneous Rapid Determination of Nitrate and Nitrite in Vegetables by High-performance Liquid Chromatography อัญญา ปรีชาวรรณ ศิริวรรณ ทวีมนุญ และธิดารัตน์ จันดี	40
• การพัฒนามล็ดภัณฑ์ชาต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักพื้นบ้าน จังหวัดกำแพงเพชร Product Development of Teas with Antioxidant from Local Plants in Kamphaeng Phet Province ขวัญดาว แจ่มแจ้ง	50
• การส่งเสริมการเจริญของข้าวโดยแบคทีเรียเอนโดไฟต์ตรึงไนโตรเจนที่แยกได้จากข้าวปลูกและข้าวป่า Rice Growth Promotion by Diazotroph Endophytic Bacteria; Isolated from Cultivated Rice and Wild Rice ชนิกานต์ คุ่มนง	64
• ความสัมพันธ์ระหว่างการกระจายตัวของนกปรอดสวน (<i>Pycnonotus blanfordi</i>) กับความหนาแน่นของพืชอาหาร ในพื้นที่ลุ่มแม่น้ำป่าน เขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก Relationship between Population Distributions of Streak-eared Bulbuls (<i>Pycnonotus blanfordi</i>) and Densities of Its Food Plants in the Nan River Basin of Muang District, Phitsanulok ภาวิณี เสนาบุษ และสมบุรณ์ คำเตจา	76
• ภาวะเสี่ยงและความรู้เกี่ยวกับการเตือนของภาวะฉุกเฉินทางโรคหลอดเลือดสมอง Risk of Stroke and Knowledge Regarding Stroke Emergency Warning Sign (FAST) โรชนี อุปร และประภาภรณ์ แก้ว ธนสุวรรณ	87

มนุษยศาสตร์และสังคม

- การทำบทบาทของ
Role Performance of
Phitsanulok Province
เวียน โพทะกา
- การศึกษาสภาพและ
A Study of Condition
Provision of the Hire-
พัฒนาพันธ์ เขตต์กัน
- ความวิตกกังวลในภ
แบบผสมผสาน
English Reading Anxi
โสภณศ โนนทร์ และ:

การตรวจวัดอย่างรวดเร็วพร้อมกันของไนเตรตและไนไตรต์ในผัก ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง

อัญชา ปรีชาวรพันธุ์ ศิริวรรณ ทวีมนูญ และธิดารัตน์ จันดี
สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม
corresponding author e-mail: anchaph@yahoo.com

บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ไนเตรตและไนไตรต์ในตัวอย่างผักที่มีความเร็วสูงโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงแบบรีเวอร์สเฟส โดยคอลัมน์โมโนลิทิก C18 (100 x 4.6 มิลลิเมตร) เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายเดคระบิวทิลแอมโมเนียมไฮโดรเจนซัลเฟตความเข้มข้น 0.005 โมลาร์ พีเอช 8 ที่อัตราการไหล 4.0 มิลลิตรต่อนาที ใช้อัลตราไวโอเลตและวิจิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์เป็นตัวตรวจวัด ความยาวคลื่นที่ใช้ 202 นาโนเมตร ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่า 2 นาที ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของไนเตรตและไนไตรต์ที่ 0.001-500 พีพีเอ็ม และนำไปประยุกต์วิเคราะห์ในตัวอย่างผักที่สกัดด้วยน้ำ สำหรับการวิเคราะห์ร้อยละการคืนกลับวิเคราะห์โดยเติมโพแทสเซียมไนเตรต 200 และ 400 พีพีเอ็ม อยู่ระหว่าง 96-98% และโพแทสเซียมไนเตรด 50 และ 100 พีพีเอ็ม อยู่ระหว่าง 96-102% การวิเคราะห์ความเที่ยงจากค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์โดยวิเคราะห์ไนเตรตและไนไตรต์ในตัวอย่างซ้ำ 7 ครั้ง ภายในวันเดียวกันเท่ากับ 0.59 และ 0.77 ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวันจำนวน 5 วัน ได้ค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของไนเตรตและไนไตรต์เท่ากับ 2.36 และ 1.15 ตามลำดับ

คำสำคัญ: ไนเตรต ไนไตรต์ โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ผัก การสกัดด้วยน้ำ

Simultaneous Rapid Determination of Nitrate and Nitrite in Vegetables by High-performance Liquid Chromatography

Anchana Preechaworapun^{*} Siriwan Taweemanoonn and Tidarat Junttee
Program of Chemistry, Faculty of Science and Technology,
Pibulsongkram Rajabhat University
corresponding author e-mail: anchaph@yahoo.com

Abstract

A rapid reverse phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) was optimized and validated for quantification of nitrites and nitrates in vegetable samples. The chromatographic separation was achieved using a monolithic C18 chromatographic column and tetrabutylammonium hydrogen sulphate mobile phase under the following optimized conditions: isocratic elution with 0.005 M TBAS (pH 8.0) at flow rate

4.0 mL/min with minutes. A linear method was also water extraction. samples of 200 ± 100 ppm were obtained percent (n=7) and intra-d for inter-day (n=7

keywords: Nitrate

บทนำ

โซเดียมไนเตรตเป็นอาหารที่มีคุณสมบัติป้องกันการเน่าเสีย เนื้อปลาแห้งต่าง ๆ อนุญาตให้ใช้ในอาหารได้ไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่ออาหารบริโภค 1 กิโลกรัม แหล่งสำคัญของไนเตรตในไนโตรเจนที่พืชต้องการ และผักกินราก หลักรับประทานไม่ควรเกิน 4 ของพืช อายุพืช ฤดูปลูกเป็นเกณฑ์มาตรฐาน เนื้อน้อย ปากกัดเขียว และยังเป็นอีกสาเหตุไนโตรเจนออกไซด์ในใบสารสีแดงที่เราเห็นกับเนื้อสัตว์ ก็จะได้ประโยชน์จากโอกาสคณะผู้วิจัยจึงสนใจมีความรวดเร็วสูงและวิธีมาตรฐานสเปกโทรโฟโตเมตริกจากนั้นทำ

4.0 mL/min with detection at 202 nm. The time of HPLC analysis was lower than 2 minutes. A linear range of 0.001-500 ppm was obtained for both nitrite and nitrate. This method was also used for determination of nitrite and nitrate in vegetable samples by water extraction. Percentage recoveries for the solid standard nitrite spiked in real samples of 200 and 400 ppm were obtained between 96-98% and nitrate of 50 and 100 ppm were obtained between 96-102%. The precision of nitrite analysis was obtained percentage relative standard deviation (%RSD) as 0.59 and 2.39 for inter-day (n=7) and intra-day (n=5), respectively. In nitrate was received %RSD as 0.77 and 1.15 for inter-day (n=7) and intra-day (n=5), respectively.

keywords: Nitrate, Nitrite, HPLC, Vegetable, Water extraction

บทนำ

โซเดียมไนไตรต์และโซเดียมไนเตรดหรือชาวบ้านนิยมเรียกว่าดินประสิวจัดเป็นวัตถุเจือปนอาหาร มีคุณสมบัติ คือ ครีงสีของเนื้อสัตว์ให้มีสีแดงน่ารับประทาน ดังนั้นพ่อค้าแม่ค้าจึงมักนิยมใช้เพื่อปกปิดสภาพของเนื้อสัตว์ที่อาจผ่านมานานหลายวัน ให้มีสีแดงเหมือนสีธรรมชาติดูสดอยู่เสมอ และยังช่วยป้องกันการเน่าเสีย ผลิตภัณฑ์ที่นิยมใช้ ได้แก่ กุนเชียง ไส้กรอก หมูยอ ปลาเค็ม แสม เบคอน เนื้อปลาแห้งต่าง ๆ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 281 (พ.ศ. 2547) กำหนดปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ในอาหารของโซเดียมไนไตรต์ให้มีได้ไม่เกิน 125 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โซเดียมไนเตรดให้มีได้ไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ถ้ามีการใช้ในปริมาณที่พอดีตามที่สำนักงานประกาศกระทรวงสาธารณสุขกำหนดก็จะมีปัญหา แต่โดยทางปฏิบัติแล้วพบว่ามีการเติมลงไปให้มีปริมาณเกินมาตรฐาน แหล่งสำคัญของไนเตรดในอาหารของมนุษย์อีกอย่างคือ น้ำและผัก ทั้งนี้เพราะไนเตรดเป็นรูปของธาตุไนโตรเจนที่พืชต้องการสำหรับการเติบโต หากพืชได้รับมากเกินไปก็จะสะสมไว้โดยเฉพาะในผักกึ๋นใบและผักกึ๋นราก หลายประเทศจึงมีการกำหนดปริมาณสูงสุดของไนเตรดในผักสดและผลไม้ที่จะนำมาบริโภคต้องไม่เกิน 4000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักสด ปริมาณการสะสมของไนเตรดขึ้นกับชนิดของพืช อายุพืช ฤดูกาลปลูกและชนิดของปุ๋ยไนโตรเจนที่ให้กับพืช แต่โดยทางปฏิบัติแล้วพบว่ามีการปนเปื้อนเกินมาตรฐาน ดังนั้นเมื่อผู้บริโภครับประทานเข้าไปจึงเป็นเหตุให้ผู้บริโภคมีอาการหน้าซีด เหนื่อย ปากซีดเขียว อาเจียน ถ่ายเหลวเป็นน้ำ แพทย์วินิจฉัยว่าเกิดจากภาวะ methemoglobinemia และยังเป็นอีกสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคมะเร็งนั้น คือ เกิดจากการที่ไนเตรด และไนไตรต์สลายตัวเป็นไนตริกออกไซด์ ไนตริกออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับฮีโมโกลบินแดงเกิดเป็นไนโตรโซฮีโมโกลบินหรือสารสีแดงที่เราเห็นในอาหารตากแห้ง แต่ในขณะที่เดียวกันปฏิกิริยาระหว่างไนเตรด (ไนไตรต์) กับเนื้อสัตว์ ก็จะได้ไนโตรซามีนซึ่งสารตัวนี้คือสารก่อมะเร็ง เมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารเหล่านี้เป็นประจำจะมีโอกาสเป็นโรคมะเร็งได้สูง ดังนั้นเพื่อเป็นการเฝ้าระวังพิษภัยจากไนเตรด และไนไตรต์ คณะผู้วิจัยจึงสนใจการพัฒนาวิธีสำหรับตรวจวัดไนเตรดและไนไตรต์ให้สามารถตรวจวัดได้พร้อมกัน มีความรวดเร็วสูง และจำเพาะต่อการตรวจวัดขึ้นมา

วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ไนไตรต์และไนเตรดโดยทั่วไปจะวิเคราะห์ด้วยสเปกโตรโฟโตเมทรี โดยใช้คอลัมน์แคดเมียมที่เคลือบด้วยคอปเปอร์ เพื่อรีดิวซ์ไนเตรดเป็นไนไตรต์ จากนั้นทำให้เกิดอนุพันธ์ของ diazotizing nitrite (สีชมพู) ด้วย sulfanilamide ร่วมกับ

N-1-naphthylendiamine dihydrochloride แล้วตรวจวัดด้วยวิธีคลอโรเมทรี การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้มีความยุ่งยากมาก และต้องใช้คอลัมน์แคดเมียมซึ่งเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม และจากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีกลุ่มของนักวิจัยหลายกลุ่มด้วยกันที่ได้พัฒนาการตรวจวัดในเครื่องและในเครื่อง ให้สามารถตรวจวัดได้พร้อมกัน เช่น โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High-performance liquid chromatography; HPLC) (Ferreira & Silva., 2008; Jedlicková et al., 2002; Jobgen et al., 2007; Kodamatani et al., 2009) แก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography; GC) (Akyüz & Ata., 2009; Tsikas et al., 2010) การวิเคราะห์ด้วยระบบฉีดไหล (Flow injection analysis; FIA) (Andrade et al., 2003; Burakham et al., 2004; Yue et al., 2004) เคมีไฟฟ้า (Electrochemistry) (Boo et al., 2007; De et al., 2004; Katsounaros et al., 2009; Le Henanf et al., 2005) และคาปิลลารีอิเล็กโตรโฟเรซิส (Capillary electrophoresis; CE) (Barciela Alonso & Prego, 2000; Merusi et al., 2010; Öztekin et al., 2002; Shiddiky et al., 2006) แต่ละงานวิจัยพยายามพัฒนาให้การตรวจวัดในเครื่องและในเครื่อง ให้มีขีดจำกัดในการตรวจวัดที่ต่ำสุด มีความจำเพาะต่อการตรวจวัด มีความไวต่อการตรวจวัดสูง และง่ายต่อการตรวจวัด คณะของผู้วิจัยได้เลือกที่จะพัฒนาเทคนิค HPLC เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการแยกสูง ง่ายต่อการตรวจวัด โดยการเติมสาร หรือ ion polymer ลงไปในเฟสเคลื่อนที่ ซึ่งพัฒนาขึ้นจากงานวิจัยของ Ferreira & Silva (Ferreira & Silva., 2008) ปรับปรุง และหาสภาวะที่เหมาะสม ให้สามารถตรวจวัดได้รวดเร็วขึ้น และลดการใช้สารที่เติมลงในเฟสเคลื่อนที่ให้น้อยลง พร้อมทั้งประยุกต์ตรวจวัดในเครื่อง และในเครื่องในตัวอย่างผักสด ประกอบกับการใช้น้ำเป็นตัวสกัดในเครื่องและในเครื่อง จึงทำให้ช่วยลดปัญหามลพิษต่อสิ่งแวดล้อม

วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือและอุปกรณ์ เครื่อง HPLC (รุ่น LC-10 Advp) จากบริษัท SHIMADZU ประเทศญี่ปุ่น คอลัมน์โมโนลิทิก C18 (Monolithic HPLC columne C18) (100 × 4.6 มิลลิเมตร) (รุ่น CHO-7643) จากบริษัท Phenomenex

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง โพแทสเซียมไนไตรต์ (Potassium nitrite; KNO₂) โพแทสเซียมไนเตรต (Potassium nitrate; KNO₃) และเตตระบิวทิลแอมโมเนียมไฮโดรเจนซัลเฟต (Tetrabutylammonium hydrogensulphate; TBAS) จากบริษัท Sigma Chemical จากประเทศเยอรมนี เมทานอล (Methanol; CH₃OH) เกรด HPLC จากบริษัท LAB - SCAN ANALITICAL SCIENCES จากประเทศไอร์แลนด์ ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองผักกาดขาว แตงกวา และกะหล่ำปลีจากตลาดในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก โดยเลือกผักที่นิยมรับประทานสด

การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดในเครื่อง และในเครื่องด้วยเครื่อง HPLC

การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสม วิเคราะห์โดยการฉีดสารละลายมาตรฐานผสมของไนไตรต์และไนเตรต ความเข้มข้น 50 ppm ทำการวิเคราะห์หาความยาวคลื่นที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ คือ 190 202 และ 254 นาโนเมตร ใช้คอลัมน์โมโนลิทิก C18 ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ความเข้มข้นของเฟสเคลื่อนที่ 0.0025 โมลาร์ ของสารละลาย TBAS ที่ pH 6.5

การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย TBAS ที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ วิเคราะห์โดยการฉีดสารละลายมาตรฐานผสมของไนไตรต์และไนเตรตความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม ที่ความยาวคลื่น 202 นาโนเมตร ใช้คอลัมน์โมโนลิทิก C18 ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที เพื่อศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสม ดังนั้นคือ 0.001 0.0025 0.005 และ 0.010 โมลาร์

การหา pH คือ 4, 6.5 และ 8 วิ 50 พีพีเอ็ม ตรวจวัด การหาอัตราที่ โดยใช้ความย pH 8

การสร้าง HPLC ตั้งแต่ความ คอลัมน์โมโนลิทิก เฟสเคลื่อนที่สารละลาย 20 ไมโครลิตร น้ำ ความเข้มข้นระหว่าง 0.99

การหาชนิดที่สามารถวิเคราะห์ ตรวจวัดวิเคราะห์เหมือน

การเตรียม วิธีที่ 1

และเย็ด ซึ่งตัวอย่าง จำนวน 3 tube ต่อ 1 นาที นำไป Centrifuge ขนาด 0.5 มิลลิลิตร ปริมาตรด้วยน้ำ DI ไมโครเมตร นำสาร

วิธีที่ 2 สก

วิธีที่ 3 สก

ทำการสกัดซ้ำจำนวน

วิธีที่ 4 สก

การสกัดเพียงครั้งเดียว

การวิเคราะห์

C18 ที่ความยาวคลื่น 0.005 โมลาร์ pH 8 ที่เติมสารละลายมา การคืนกลับของสาร ในตัวอย่างผักสดที่

การหา pH ที่เหมาะสมของสารละลาย TBAS ที่ความเข้มข้น 0.005 โมลาร์ เพื่อค่าต่าง ๆ ดังนี้ คือ 4, 6.5 และ 8 วิเคราะห์โดยการฉีดสารละลายมาตรฐานผสมของไนไตรต์และไนเตรต ความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 202 นาโนเมตร อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

การหาอัตราการไหลที่เหมาะสมของ TBAS ที่อัตราการไหลต่างๆ คือ 1.0 ถึง 4.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้ความยาวคลื่น 202 นาโนเมตร และความเข้มข้น 0.0050 โมลาร์ ของสารละลาย TBAS pH 8

การสร้างกราฟมาตรฐานไนไตรต์และไนเตรต โดยนำสารละลายมาตรฐานผสมฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.001 ถึง 1000 พีพีเอ็ม จนครบความเข้มข้นที่กำหนดไว้ วิเคราะห์โดยใช้คอลัมน์โมโนลิทิก C18 ที่ความยาวคลื่น 202 นาโนเมตร ใช้อัตราการไหลที่ 4.0 มิลลิลิตรต่อนาที เฟสเคลื่อนที่สารละลาย TBAS ความเข้มข้น 0.005 โมลาร์ ที่ pH 8 และปริมาตรสารที่ฉีดเท่ากับ 20 ไมโครลิตร นำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานแต่ละตัวมาเขียนกราฟเพื่อหาค่า R^2 และสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับพื้นที่ใต้พีค โดยค่า R^2 ที่ได้นั้นไม่น้อยกว่า 0.99

การหาขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์ (Limit of Detection; LOD) และปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ (Limit of Quantitation; LOQ) โดยใช้ น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง และดำเนินการตรวจวิเคราะห์เหมือนการวิเคราะห์ตัวอย่างทุกขั้นตอนแล้วนำไปคำนวณผลการวิเคราะห์

การเตรียมตัวอย่างผักสด เตรียมต่างกัน 4 วิธี คือ

วิธีที่ 1 สกัดไนไตรต์และไนเตรต ด้วยน้ำ DI อุณหภูมิห้อง โดยปั่นตัวอย่างผักกาดขาวให้ละเอียด ซึ่งตัวอย่างผักกาดขาวที่ละเอียดจำนวน 0.2 กรัม ใส่ใน Micro tube ขนาด 0.5 มิลลิลิตร จำนวน 3 tube ต่อตัวอย่าง เดมน้ำ DI 200 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิห้อง ผสมตัวอย่างด้วยเครื่อง Vortex 1 นาที นำไป Centrifuged 15,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที ตูดสารละลายส่วนที่ใสใส่ใน Micro tube ขนาด 0.5 มิลลิลิตร และนำสารละลายส่วนที่ใสมารวมกัน (ทำการสกัดด้วยน้ำ DI ซ้ำ 2 ครั้ง) ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จนได้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร กรองด้วย nylon membrane filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ฉีดเข้าเครื่อง HPLC เพื่อทำการวิเคราะห์

วิธีที่ 2 สกัดเหมือน วิธีที่ 1 โดยเปลี่ยนน้ำ DI ที่สกัดจากอุณหภูมิห้องเป็น 60 องศาเซลเซียส

วิธีที่ 3 สกัดเหมือน วิธีที่ 1 โดยน้ำ DI ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เป็น 100 ไมโครลิตร และทำการสกัดซ้ำจำนวน 4 ครั้ง

วิธีที่ 4 สกัดเหมือน วิธีที่ 1 โดยน้ำ DI ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เป็น 400 ไมโครลิตร และทำการสกัดเพียงครั้งเดียว

การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรต์และไนเตรตในตัวอย่าง วิเคราะห์ด้วยคอลัมน์โมโนลิทิก C18 ที่ความยาวคลื่น 202 นาโนเมตร อัตราการไหลที่ 4.0 มิลลิลิตรต่อนาที อัตราส่วนของเฟสเคลื่อนที่ 0.005 โมลาร์ pH 8 และปริมาตรสารที่ฉีดเท่ากับ 20 ไมโครลิตร ทำการวิเคราะห์โดยนำตัวอย่างผักสดที่เตรียมสารละลายมาตรฐาน ไนไตรต์ และไนเตรตของทั้ง 4 วิธีการสกัดมาวิเคราะห์ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การคืนกลับของสารมาตรฐานที่เติมลงไป คำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของไนไตรต์และไนเตรตในตัวอย่างผักสดที่วิเคราะห์ได้โดยเปรียบเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐาน

ผลการวิจัย

การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์โดยในไดรต์และไนเตรดด้วยเทคนิค HPLC ในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดลองได้ทำการหาความยาวคลื่น ความเข้มข้น pH และ อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ TBAS ในการวิเคราะห์ ได้ผลของสภาวะที่เหมาะสมดังนี้

ในการเลือกการหาความยาวคลื่นที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณในไดรต์และไนเตรด โดยใช้สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไนไตรต์และโพแทสเซียมไนเตรดความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม ทำการทดลองที่ความยาวคลื่นต่าง ๆ คือ 190 202 และ 254 นาโนเมตร พบว่าความยาวคลื่น 202 นาโนเมตร มีปริมาณของพื้นที่ใต้พีคไนไตรต์และไนเตรดมากที่สุด

วิเคราะห์หาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่สารละลาย TBAS เพื่อใช้ในการแยกไนไตรต์และไนเตรด โดยใช้สารละลายมาตรฐานผสมระหว่างไนไตรต์และไนเตรดที่ความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม ความเข้มข้นของ TBAS ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 1 จากผลการทดลองพบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารละลาย TBAS เพิ่มขึ้นส่งผลให้ทั้งไนไตรต์และไนเตรดสามารถเคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์ได้เร็วขึ้นและมีพื้นที่ใต้พีคมากขึ้นนอกจากนี้ยังพบว่า ความสมมาตรของพีค (Asymmetry peak, A_s) จะเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารละลาย TBAS เพิ่มขึ้นจนถึงสารละลาย TBAS ความเข้มข้น 0.005 โมลาร์ ความสมมาตรของพีคจะเป็น 1 เท่าของไนไตรต์และไนเตรดเมื่อมีความเข้มข้นของ TBAS สูงขึ้นเป็น 0.01 โมลาร์ ทำให้ความสมมาตรของพีคลดลงเกิดพีคหางพีค ดังนั้นความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย TBAS คือ 0.005 โมลาร์ และ pH ของสารละลาย TBAS ในเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการแยกสารผสมไนไตรต์และไนเตรดความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 2 จากผลการทดลองพบว่า pH ของเฟสเคลื่อนที่สารละลาย TBAS ที่เหมาะสมคือ pH 8 เนื่องจากสารไนไตรต์และไนเตรดออกมาเร็วที่สุด ให้พื้นที่ใต้พีคสูงสุด และเมื่อเปรียบเทียบกับความสมมาตรของพีคดีที่สุด

อัตราการไหลที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่ โดยใช้สารละลายมาตรฐานผสมความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม ได้ผลการทดลองตารางที่ 3 จากผลการทดลองพบว่าอัตราการไหลที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้สารที่เราวิเคราะห์เคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์เร็วขึ้น ทำให้ในการวิเคราะห์ใช้เวลาน้อย และความสมมาตรของพีคดีขึ้นของทั้งไนไตรต์และไนเตรด ดังนั้นอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ คือ 4.0 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งทำให้การวิเคราะห์เสร็จภายใน 2 นาที

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์ไนไตรต์และไนเตรด 50 พีพีเอ็ม โดยมีความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.001 0.0025 0.005 และ 0.01 โมลาร์ ของสารละลาย TBAS (pH 8) โดยใช้คอลัมน์โมโนลิติก C18 ที่ความยาวคลื่น 202 นาโนเมตร และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

ความเข้มข้น ของ TBAS (โมลาร์)	ไนไตรต์			ไนเตรด		
	t_R (min)	พื้นที่ใต้พีค	A_s^*	t_R (min)	พื้นที่ใต้พีค	A_s^*
0.001	4.36	8,488,986	0.70	6.30	20,470,812	0.84
0.0025	4.22	8,569,581	1.04	6.50	20,455,345	0.85
0.005	3.81	8,813,110	1.00	6.26	20,800,283	1.00
0.01	3.08	9,573,396	1.39	5.12	22,602,307	1.23

* $A_s = B/A$ หาได้จากความกว้างของฐานพีคด้านหลัง (B) ค่อด้านหน้า (A) ที่ความสูงของพีค 10% จากฐานพีค

R_t

ตารางที่ 2 pH ที่เฟสเคลื่อนที่ 202 นาโนเมตรของเฟส

pH	t_R (นาที)	
	ไนไตรต์	ไนเตรด
4.0	3.87	6.30
6.5	3.62	6.50
8.0	3.21	5.12

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์เฟสเคลื่อนที่ C18 ความเข้มข้น 0.005 โมลาร์

อัตราการไหล (มิลลิลิตรต่อนาที)	ไนไตรต์	
	พื้นที่ใต้พีค	A_s
1.0	3.75	0.84
1.5	2.54	0.85
2.0	1.69	1.00
2.5	1.56	1.23
3.0	1.32	1.23
3.5	1.14	1.23
4.0	1.01	1.23

การสร้างกราฟมาตรฐานผสมความเข้มข้น แสดงความสัมพันธ์ที่ค่า $R^2 = 0.9938$ เท่ากับ 0.0001 และ 0 ไนเตรดเท่ากับ 0.004

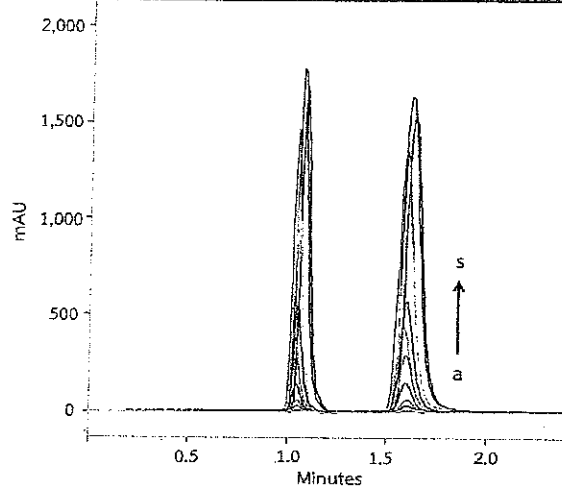
ตารางที่ 2 pH ที่เหมาะสมของเฟสเคลื่อนที่ในการวิเคราะห์ไนโตรเจนและไนเตรดความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม โดยมี pH ต่างๆ คือ 4 6.5 และ 8 โดยใช้คอลัมน์โมโนลิติก C18 ที่ความยาวคลื่น 202 นาโนเมตร ความเข้มข้นของสารละลาย TBAS เป็น 0.005 โมลาร์ และอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

pH	t_R (นาที)		พื้นที่ใต้พีค		A_s	
	ไนโตรเจน	ไนเตรด	ไนโตรเจน	ไนเตรด	ไนโตรเจน	ไนเตรด
4.0	3.87	6.70	8,817,350	24,606,516	1.50	1.51
6.5	3.62	5.76	8,774,997	22,656,439	1.33	1.40
8.0	3.21	4.93	10,387,688	34,861,735	0.90	1.00

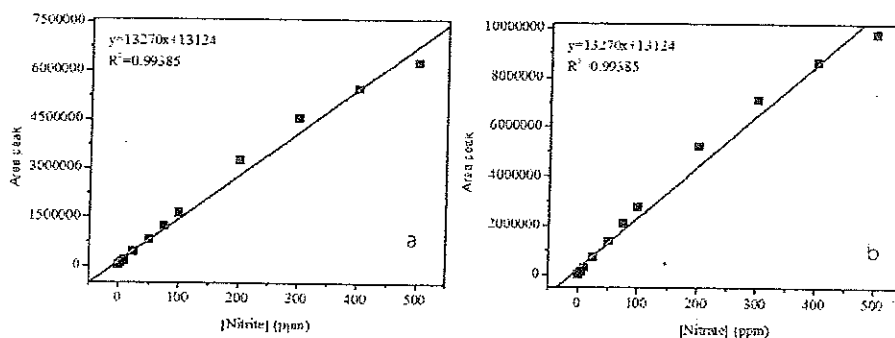
ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ไนโตรเจน และไนเตรดความเข้มข้น 50 พีพีเอ็ม โดยมีอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต่างๆ คือ 1 1.5 2 2.5 3 3.5 และ 4 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้คอลัมน์โมโนลิติก C18 ความยาวคลื่น 202 นาโนเมตร และความเข้มข้นของสารละลาย TBAS เป็น 0.005 โมลาร์ (pH 8)

อัตราการไหล (มิลลิลิตรต่อนาที)	t_R (นาที)		พื้นที่ใต้พีค		A_s	
	ไนโตรเจน	ไนเตรด	ไนโตรเจน	ไนเตรด	ไนโตรเจน	ไนเตรด
1.0	3.75	6.02	9,075,016	21,414,295	1.39	1.13
1.5	2.54	4.04	5,805,127	14,647,642	1.22	1.20
2.0	1.69	3.14	4,417,842	12,216,923	1.44	1.28
2.5	1.56	2.45	3,451,466	8,679,413	1.50	1.33
3.0	1.32	2.05	3,025,199	7,524,285	1.20	1.11
3.5	1.14	1.77	2,610,971	6,417,713	1.33	1.33
4.0	1.01	1.55	2,246,738	5,582,675	1.00	1.00

การสร้างกราฟมาตรฐานจากสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนและไนเตรด โดยฉีดสารละลายมาตรฐานผสมความเข้มข้นที่ต่างกันตั้งแต่ 0.001 ถึง 1000 พีพีเอ็ม แสดงโครมาโทแกรมดัง (ภาพที่ 1) แสดงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของไนโตรเจนและไนเตรดดัง (ภาพที่ 2) ในช่วง 0.001-500 พีพีเอ็ม ค่า $R^2 = 0.9938$ และ 0.9924 ตามลำดับ ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดของไนโตรเจนและไนเตรดเท่ากับ 0.0001 และ 0.0004 พีพีเอ็ม และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดเชิงปริมาณของไนโตรเจนและไนเตรดเท่ากับ 0.004 และ 0.001 พีพีเอ็ม ตามลำดับ



ภาพที่ 1 โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐานไนไตรต์และไนเตรดความเข้มข้น (a) 0.001 (b) 0.01 (c) 0.1 (d) 1 (e) 5 (f) 10 (g) 25 (h) 50 (i) 75 (j) 100 (k) 200 (l) 300 (m) 400 (n) 500 (o) 600 (p) 700 (q) 800 (r) 900 และ (s) 1,000 พีพีเอ็ม โดยใช้คอลัมน์ โมโนลิทิก C18 เฟสเคลื่อนที่สารละลาย TBAS ความเข้มข้น 0.005 โมลาร์ (pH 8) และใช้อัตราการไหล 4.0 มิลลิลิตรต่อนาที



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานของแสดงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของ a. ไนไตรต์ และ b. ไนเตรด

การวิเคราะห์ไนไตรต์และไนเตรดในตัวอย่างผักกาดขาวด้วยวิธีสกัด 4 วิธี พบว่าได้ผลดังตารางที่ 4 จากการสกัดวิธีที่ 1 และ 2 ต่างกันที่การใช้ น้ำสกัดที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ น้ำ 60 องศาเซลเซียส พบว่าวิธีที่ 1 ได้เปอร์เซ็นต์การคืนกลับของการเติมสารละลายมาตรฐานไนไตรต์ 200 และ 400 พีพีเอ็ม และไนเตรด 50 และ 100 พีพีเอ็ม ผลที่ได้ใกล้เคียง 100 ดังนั้นน้ำที่ใช้สกัดในงานวิจัยนี้จึงเลือกน้ำที่อุณหภูมิห้อง และผลของการสกัดโดยใช้น้ำปริมาตรรวม 400 ไมโครลิตร ด้วยวิธีการสกัดวิธีที่ 1 สกัดซ้ำ 2 ครั้งๆ ละ 200 ไมโครลิตร วิธีที่ 3 สกัดซ้ำ 4 ครั้งๆ ละ 100 ไมโครลิตร และวิธีที่ 4 สกัดครั้งเดียวปริมาตร 400 ไมโครลิตร ผลการวิจัยพบว่า การสกัดด้วยวิธีที่ 1 ดีที่สุด เมื่อทำการวิเคราะห์

Rc

หาความเที่ยง โดยวิเคราะห์ 0.59 และ 0.77 ตามลำดับ และไนเตรดเท่ากับ 2.3 ไนเตรดจึงใช้วิธีสกัดวิธีที่

ตารางที่ 4 ปริมาณไนไ

ช

ผักกาดขาวจากตลาด
ผักกาดขาวจากตลาด
ผักกาดขาวจากทะเลใกล้
แดงจากตลาดบ้าน
กะหล่ำปลีจากตลาดบ้

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบ

พารามิเตอร์

LOD (พีพีเอ็ม)

R²

ร้อยละการคืนกลับ

ช่วงของความสัมพันธ์ที่ได้
เส้นตรง (พีพีเอ็ม)

เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์

อภิปรายผล

จากผลการวิ

ของไนไตรต์และไนเตร
เป็นเส้นตรงกว้างกว่า
การวิเคราะห์ไนไตรต์
วิธีการสกัดที่ง่ายต่อการ
ยังในการวิเคราะห์ด้วย

สรุปผลการวิจัย

การพัฒนาวิธีการ
หลายๆ กลุ่มปรารถนา
เวลาเพียง 2 นาที ต่อ

หาความเที่ยง โดยวิเคราะห์ซ้ำ 7 ครั้ง ภายในวันเดียวกันได้ค่า % RSD ของไนโตรเจน และไนเตรตเท่ากับ 0.59 และ 0.77 ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์ซ้ำระหว่างวันจำนวน 5 วัน ได้ค่า %RSD ของไนโตรเจน และไนเตรตเท่ากับ 2.36 และ 1.15 ตามลำดับ ดังนั้นในผักตัวอย่างที่วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน และไนเตรตจึงใช้วิธีสกัดวิธีที่ 1 ได้ผลดังตารางที่ 5

ตารางที่ 4 ปริมาณไนโตรเจน และไนเตรตจากการวิเคราะห์ในตัวอย่างผักสด

ชนิดผัก	ความเข้มข้นที่ตรวจพบ (พีพีเอ็ม)	
	ไนโตรเจน	ไนเตรต
ผักกาดขาวจากตลาดบ้านคลอง	4	1,275
ผักกาดขาวจากตลาดสถานีรถไฟ	15	966
ผักกาดขาวจากเทศบาลใกล้เคียง	9	1,375
แตงกวาจากตลาดบ้านคลอง	44	147
กะหล่ำปลีจากตลาดบ้านคลอง	2	167

ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของงานวิจัยที่พัฒนาขึ้นกับงานวิจัยที่ผ่านมา

พารามิเตอร์	งานวิจัยนี้		(Ferreira & Silva, 2008)	
	ไนโตรเจน	ไนเตรต	ไนโตรเจน	ไนเตรต
LOD (พีพีเอ็ม)	0.0001	0.0004	0.0189	0.0477
R ²	0.9938	0.9924	0.9998	1.0000
ร้อยละการคืนกลับ	96-98	96-102	93.7-97.0	99.5-104
ช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง (พีพีเอ็ม)	0.001-500		0.0126-10	
เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ (นาที)	2		8	

อภิปรายผล

จากผลการวิจัยเมื่อทำการเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมาได้ดังตารางที่ 6 พบว่า ค่า LOD ของไนโตรเจนและไนเตรต มีค่าต่ำกว่าถึง 200 และ 100 เท่า ตามลำดับ มีค่าของช่วงของความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงกว้างกว่า และใช้เวลาน้อยกว่าถึง 4 เท่า ดังนั้นวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการวิเคราะห์ไนโตรเจน และไนเตรต ในตัวอย่างประเภทผักได้จริง และช่วยประหยัดเวลาในการวิเคราะห์ วิธีการสกัดก็ง่ายต่อการวิเคราะห์ ไม่มีการใช้ตัวทำละลายที่อันตรายที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมเหมาะสมอย่างยิ่งในการวิเคราะห์ตัวอย่างประเภทอื่นๆ ต่อไปในอนาคต

สรุปผลการวิจัย

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ไนโตรเจนและไนเตรตให้มีความเร็วสูงต่อการวิเคราะห์เป็นสิ่งที่น่าสนใจหลายๆ กลุ่มปรารถนา และในงานวิจัยนี้จัดได้ว่าเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ทำให้ความรวดเร็วในการวิเคราะห์ ซึ่งใช้เวลาเพียง 2 นาที ต่อการตรวจวัดตัวอย่างโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะ

สูง แยกโดยคอลัมน์โมโนลิทิก C18 (100 x 4.6 มิลลิเมตร) เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลาย TBAS ความเข้มข้น 0.005 โมลาร์ (pH 8) อัตราการไหล 4.0 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้ UV เป็นตัวตรวจวัดความยาวคลื่นที่ใช้ 202 นาโนเมตร จากผลการวิจัยได้ช่วงความเข้มข้นที่เป็นเส้นตรงของไนไตรต์และไนเตรดที่กว้าง ชัดจำกัดในการตรวจวัดที่ต่ำถึง 0.1 และ 0.4 พีพีบี ของไนไตรต์ และไนเตรดตามลำดับ นอกจากนี้ในงานวิจัยยังใช้น้ำเป็นตัวสกัด ซึ่งจะช่วยลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม และยังไปกว่านั้นสภาวะที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปวิเคราะห์ในผักสด คือ ผักกาดขาว แตงกวา และกะหล่ำปลีได้อย่างมีประสิทธิภาพ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ ที่สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2557 ผ่านทุนงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม และขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี และคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงครามที่สนับสนุนอุปกรณ์ และเครื่องมือในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Akyüz, M., & Ata, S., (2009). Determination of low level nitrite and nitrate in biological, food and environmental samples by gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography with fluorescence detection. *Talanta*, 79(3), 900-904.
- Andrade, R., Viana, C.O., Guadagnin, S.G., Reyes, F.G.R., & Ratha, S. (2003). A flow-injection spectrophotometric method for nitrate and nitrite determination through nitric oxide generation. *Food Chemistry*, 80(4), 597-602.
- Barciela Alonso, M.C., & Prego, R. (2000). Determination of silicate, simultaneously with other nutrients (nitrite, nitrate and phosphate), in river waters by capillary electrophoresis. *Analytica Chimica Acta*, 416(1), 21-27.
- Boo, Y.C., Tressel, S.L., & Jo, H. (2007). An improved method to measure nitrate/nitrite with an NO⁻ selective electrochemical sensor. *Nitric Oxide-Biology and Chemistry*, 16(2), 306-312.
- Burakham, R., Oshimab, M., Grudpan, K., & Motomizub, S. (2004). Simple flow-injection system for the simultaneous determination of nitrite and nitrate in water samples. *Talanta*, 64(5), 1259-1265.
- De, D., Kalu, E.E., Tarjan, P.P., & Englehardt, J.D. (2004). Kinetic studies of the electrochemical treatment of nitrate and nitrite ions on iridium-modified carbon fiber. *Chemical Engineering & Technology*, 27(1), 56-64.
- Ferreira, I.M.P.L.V.O., & Silva, S. (2008). Quantification of residual nitrite and nitrate in ham by reverse-phase high performance liquid chromatography/diode array detector. *Talanta*, 74, 1598-1602.
- Jedlicková, V., Paluch, Z., & Alusik, S. (2002). Determination of nitrate and nitrite by high-performance liquid chromatography in human plasma. *Journal of Chromatography B*, 780(1), 193-197.
- Jobgen, W.S., Jobgena, S.C., Lia, H., Meininger, C. J., & Wu, G. (2007). Analysis of nitrite and nitrate in biological samples using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 851, (1-2), 71-82.
- Katsounaros, I., Dortsiou, M., & Kyriacou, G. (2009). Electrochemical reduction of nitrate and nitrite in simulated liquid nuclear wastes. *Journal of Hazardous Materials*, 171(1-3), 323-327.

Kodamatani, H., Yama
method fo
liquid chro
detection.
Le Henanf, M., Le R
assisted co
SMe)(3)) c
eta(1),eta(1
Merusi, C., Corradini,
nitrites an
electroosm
Öztekin, N., Nutku, M
products a
Shiddiky, M.J.A., Wor
microfluidic
4554.
Tsikas, D., Mitschke, /
spectromet
plasma, sei
Yue, X-F., Zhang, Z.
determinat

- Kodamatani, H., Yamazaki, S., Saito, K., Tomiyasu, T., & Komatsu, Y. (2009). Selective determination method for measurement of nitrite and nitrate in water samples using high-performance liquid chromatography with post-column photochemical reaction and chemiluminescence detection. *Journal of Chromatography A*, 1216(15), 3163-3167.
- Le Henaf, M., Le Roy, C., Pétillon, Y.F., Schollhammer, P., & Talarmin, J. (2005). Nitrate- and nitrite-assisted conversion of an acetonitrile ligand into an amidato bridge at an $\{Mo-2(Cp)(2)(\mu-SMe)(3)\}$ core: Electrochemistry of the amidato complex $[Mo-2(Cp)(2)(\mu-SMe)(3)(\mu-eta(1),eta(1)-OC(Me)NH)]^{+}$. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 19, 3875-3883.
- Merusi, C., Corradini, C., Cavazza, A., Borromei, C., & Salvadeo, P. (2010). Determination of nitrates, nitrites and oxalates in food products by capillary electrophoresis with pH-dependent electroosmotic flow reversal. *Food Chemistry*, 120(2), 615-620.
- Öztekin, N., Nutku, M.S., & Erim, F.B. (2002). Simultaneous determination of nitrite and nitrate in meat products and vegetables by capillary electrophoresis. *Food Chemistry*, 76(1), 103-106.
- Shiddiky, M.J.A., Won, M.S., & Shim, Y.B. (2006). Simultaneous analysis of nitrate and nitrite in a microfluidic device with a Cu-complex-modified electrode. *Electrophoresis*, 27(22), 4545-4554.
- Tsikis, D., Mitschke, A., Gutzki, F., Engeli, S., & Jordan, J. (2010). Evidence by gas chromatography-mass spectrometry of ex vivo nitrite and nitrate formation from air nitrogen oxides in human plasma, serum, and urine samples. *Analytical Biochemistry*, 397(1), 126-128.
- Yue, X.-F., Zhang, Z.-Q., & Yan, H.-T. (2004). Flow injection catalytic spectrophotometric simultaneous determination of nitrite and nitrate. *Talanta*, 62(1), 97-101.

