# ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

# ภาคผนวก ก

## ปฏิกิริยาการเกิดสีของชุดทดสอบสารฟอร์มาลินที่มีในอาหาร

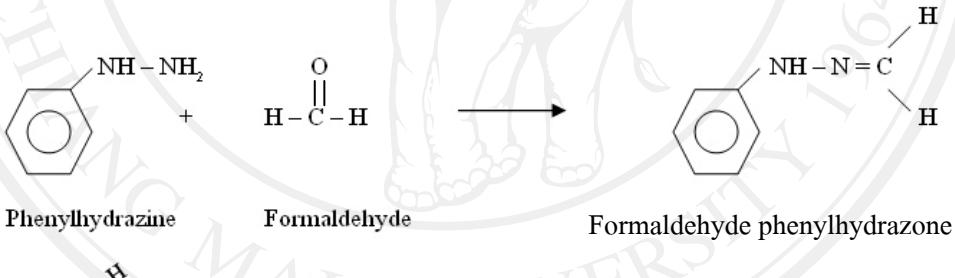
ชุดทดสอบสารฟอร์มาลินที่มีในอาหารนั้น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขได้ศึกษาและประยุกต์จากวิธีของ British Pharmacopoeia (BP) เพื่อทำเป็นชุดทดสอบ (Test Kit) โดยสารเคมีในชุดทดสอบประกอบด้วย

ขวดที่ 1 บรรจุ Phenylhydrazinehydrochloride

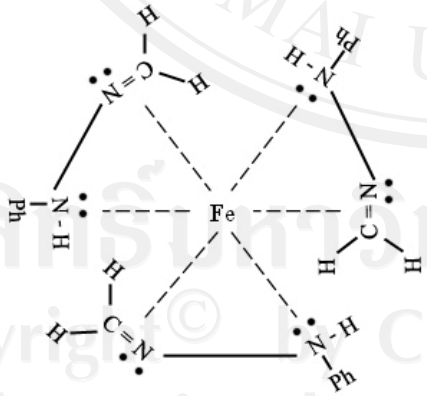
ขวดที่ 2 บรรจุ Potassium hexacyanoferrate (III)

ขวดที่ 3 บรรจุ Hydrochloric acid เข้มข้น

เมื่อสารฟอร์มาลินทำปฏิกิริยากับPhenylhydrazinehydrochloride และ Potassium hexacyanoferrate (III) ทำให้อยู่ในสภาวะเป็นกรดโดยการเติมสาร Hydrochloric acid เข้มข้นจะเกิดปฏิกิริยาดังนี้




Phenylhydrazine Formaldehyde Formaldehyde phenylhydrazone

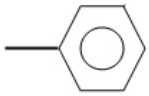



+

$K_3FeCN_6$

Potassium hexacyanoferrate (III)

Complex ของ ¶e⁻ กับ Lone Pair e⁻ ของ N

Ph = 

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

# ภาคผนวก ข

## การวิเคราะห์สารฟอร์มาลิน

**1) การทำกราฟมาตรฐานการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานสารฟอร์มาลิน**

1. เตรียมIntermediate Solution ที่มีความเข้มข้น36 ppmโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวเจือจาง

1.1 นำสารฟอร์มาลินของ union science company limitedเข้มข้นร้อยละ40 ซึ่งมีความเข้มข้นเทียบเท่า360,000 ppm ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตรใส่ลงใน Volumetric Flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบปริมาตร 100 มิลลิลิตรได้สารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 3,600 ppm

1.2 สารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 3,600 ppm ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetricflask ขนาด 100 มิลลิลิตรเติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบปริมาตร 100 มิลลิลิตร ได้สารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 36 ppm

2. เตรียม Working Solution ที่มีความ0.000.100.50 1.00 2.00 5.00 10.00 15.00 20.00 25.00และ 30.00 ppmโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวเจือจางสารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 36 ppm ดังนี้

2.1 Working Solution ที่มีความเข้มข้น 0.00 ppm คือ น้ำกลั่น

2.2 เตรียม Working Solution ที่มีความเข้มข้น 0.10 ppmนำสารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 36 ppm ปริมาตร 0.14 มิลลิลิตรใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบปริมาตร 50 มิลลิลิตรได้สารฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 0.10 ppm

2.3 เตรียม Working Solution ที่มีความเข้มข้น 0.20 ppmนำสารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 36 ppm ปริมาตร 0.28มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบปริมาตร 50 มิลลิลิตร ได้สารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 0.20 ppm

2.4 เตรียม Working Solution ที่มีความเข้มข้น 0.50ppmนำสารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 36 ppm ปริมาตร 0.70มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบปริมาตร 50 มิลลิลิตร ได้สารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 0.50 ppm

2.5 เตรียม Working Solution ที่มีความเข้มข้น 1.00ppmนำสารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 36 ppm ปริมาตร 1.39มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบปริมาตร 50 มิลลิลิตร ได้สารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 1.00 ppm

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.6 เตรียม Working Solution ที่มีความเข้มข้น 2.00 ppmนำสารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 36 ppm ปริมาตร 2.78 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบปริมาตร 50 มิลลิลิตร ได้สารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 2.00 ppm

2.7 เตรียม Working Solution ที่มีความเข้มข้น 5.00 ppmนำสารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 36 ppm ปริมาตร 6.94 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบปริมาตร 50 มิลลิลิตรได้สารฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 5.00 ppm

2.8 เตรียม Working Solution ที่มีความเข้มข้น 10.00 ppmนำสารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 36 ppm ปริมาตร 13.89 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบปริมาตร 50 มิลลิลิตรได้สารฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 10.00 ppm

2.9 เตรียม Working Solution ที่มีความเข้มข้น 15.00 ppmนำสารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 36 ppm ปริมาตร 20.83 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบปริมาตร 50 มิลลิลิตรได้สารฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 15.00 ppm

2.10 เตรียม Working Solution ที่มีความเข้มข้น 20.00 ppmนำสารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 36 ppm ปริมาตร 27.78 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบปริมาตร 50 มิลลิลิตรได้สารฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 20.00 ppm

2.11 เตรียม Working Solution ที่มีความเข้มข้น 25.00 ppmนำสารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 36 ppm ปริมาตร 34.73 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบปริมาตร 50 มิลลิลิตรได้สารฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 25.00 ppm

2.12 เตรียม Working Solution ที่มีความเข้มข้น 30.00 ppmนำสารฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 36 ppm ปริมาตร 41.67 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรจนครบปริมาตร 50 มิลลิลิตรได้สารฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้น 30.00 ppm

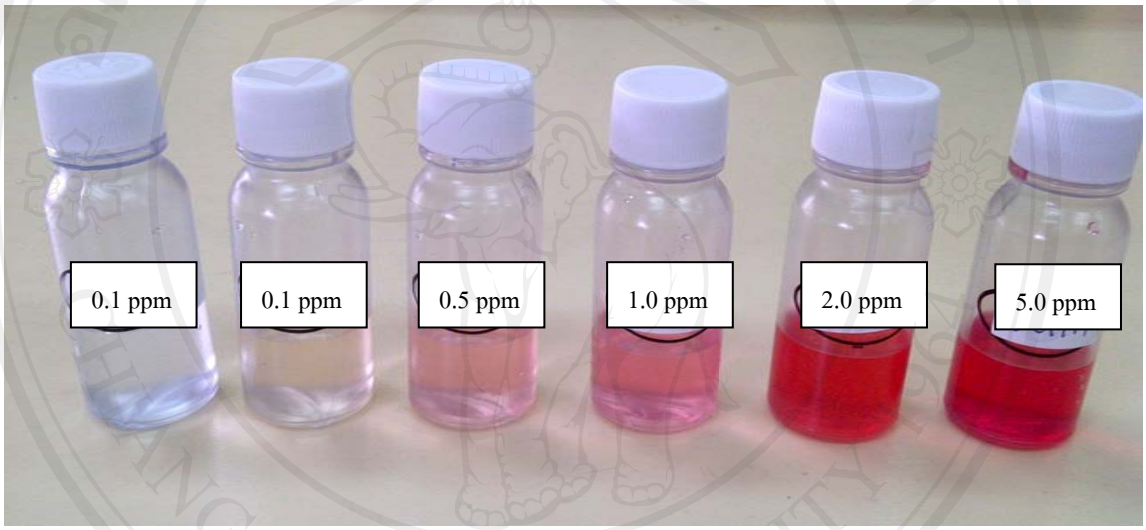
**2) การวัดค่าสีในทางปฏิบัติจริง**

จากค่าความเข้มข้นของ Working Solution ต่างๆ ใช้ Working Solution แทนน้ำแช่อาหารทะเลสด เมื่อนำไปผสมกับสารละลายในชุดทดสอบสารฟอร์มาลินในอาหาร แล้วปฏิบัติตามขั้นตอนในการทดลองข้อ 2.1 หลังเกิดการเปลี่ยนแปลงสีพบว่า เมื่อความเข้มข้นของ Working Solution ที่มีสารฟอร์มาลินมากขึ้น ค่าสีจะเปลี่ยนแปลงจากสีใสเป็นสีชมพูเข้มข้นมากยิ่งขึ้น (รูปที่ 1)เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 516 นาโนเมตร (รัฐพงษ์ กันสุทธิ,2553) พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของความเข้มข้นที่ต่ำกว่าสารละลายสีที่ได้จากสารฟอร์มาลินความเข้มข้น 5.0 ppm ได้ค่าการดูดกลืนแสงต่ำกว่า 1.00 ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในช่วงที่น่าเชื่อถือ (รูปที่ 1) แต่สารละลายสีที่ได้จาก Working Solution ที่มีความเข้มข้นสารฟอร์มาลิน เกินกว่า 5.0 ppm ได้ค่าการดูดกลืนแสง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มากกว่า 1.00 ดังนั้นจึงนำสารละลายที่ได้จากทุกความเข้มข้นของ Working Solution ไปเจือจางด้วยน้ำกลั่นลงไปอีกเป็น 5 เท่าตัว โดยที่นำสารละลายสีจาก Working Solution ที่ได้ 1 ส่วนปริมาตร เติมน้ำกลั่น 4 ส่วนปริมาตร จากนั้นจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ดำเนินการตั้งแต่ต้นเป็นจำนวน 3 ซ้ำ (ตาราง ข3) ไปสร้างกราฟมาตรฐาน (รูปที่ 2) ซึ่งจากกราฟมาตรฐานได้สมการเชิงเส้นคือ x = 37.88y – 1.88 และมีค่า $R^2$ = 0.9751 โดยที่ ค่า x คือ ความเข้มข้นสารฟอร์มาลิน (ppm) และค่า y คือ ค่าการดูดกลืนแสง

**รูปที่ 1**ตัวอย่างสีที่เกิดจากชุดทดสอบสารฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 0.1 – 5.0 ppm




ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

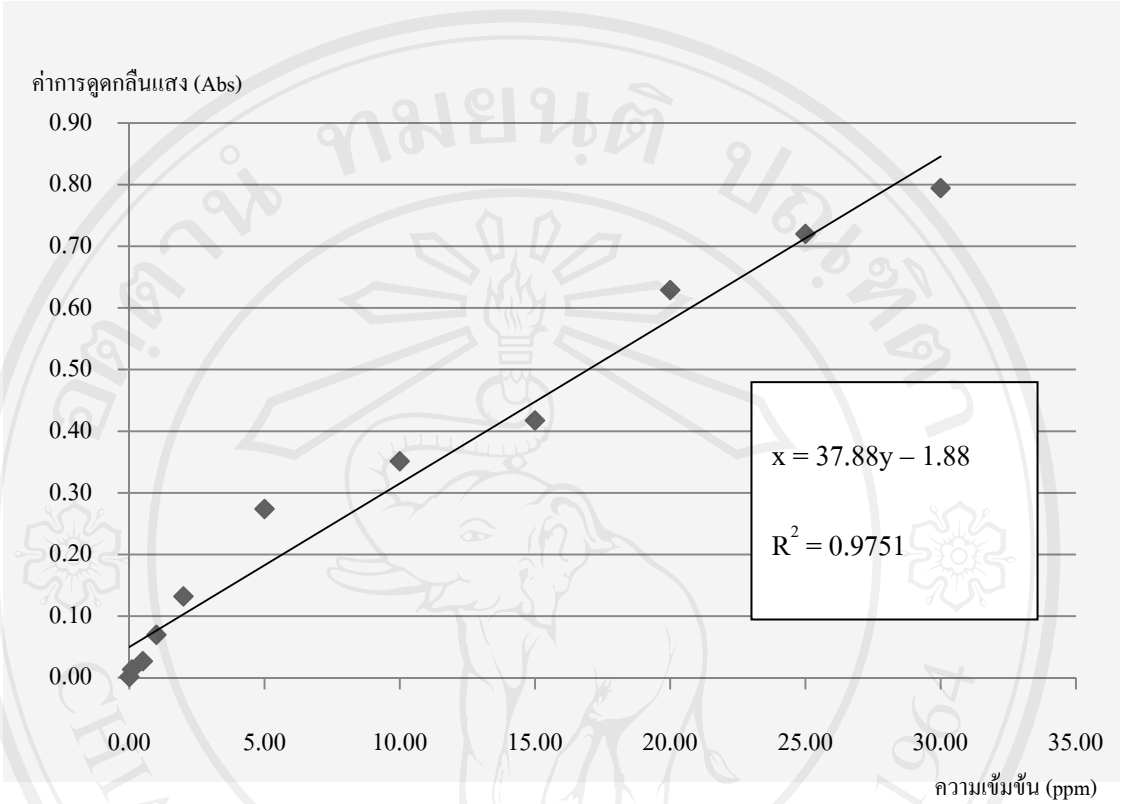
**ตารางที่ข 1** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 516 นาโนเมตรของสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลินที่ช่วง0.00 - 30.00 ppmและเจือจางด้วยน้ำกลั่น5 เท่าตัว

| ความเข้มข้น (ppm) | ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 1(Abs) | ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 2(Abs) | ค่าการดูดกลืนแสง ครั้งที่ 3(Abs) | ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย (Abs) |
|---|---|---|---|---|
| 0.00 | 0.0025 | 0.0007 | 0.0007 | 0.0013 |
| 0.10 | 0.0102 | 0.0144 | 0.0156 | 0.0134 |
| 0.50 | 0.0277 | 0.0259 | 0.0268 | 0.0268 |
| 1.00 | 0.0706 | 0.0698 | 0.0681 | 0.0695 |
| 2.00 | 0.1322 | 0.1304 | 0.1331 | 0.1319 |
| 5.00 | 0.2834 | 0.2517 | 0.2863 | 0.2738 |
| 10.00 | 0.3419 | 0.3604 | 0.3513 | 0.3512 |
| 15.00 | 0.4265 | 0.4004 | 0.4250 | 0.4173 |
| 20.00 | 0.6281 | 0.6297 | 0.6292 | 0.6290 |
| 25.00 | 0.7211 | 0.7202 | 0.7187 | 0.7200 |
| 30.00 | 0.8003 | 0.7956 | 0.7873 | 0.7944 |

นำค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 0.00 0.10 0.50 1.00 2.00 5.00 10.00 15.00 20.00 25.00 และ 30.00 ppmนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**รูปที่2**กราฟมาตรฐานค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลินที่ความ0.00 0.10 0.50 1.00 2.00 5.00 10.00 15.00 20.00 25.00 และ 30.00 ppm เจือจางด้วยน้ำกลั่น5 เท่าตัว




ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

# ภาคผนวก ค

## การตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานของเครื่อง Spectrophotometer และ ชุดทดสอบสารฟอร์มาลิน

### 1. การตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานของเครื่อง Spectrophotometer

เครื่อง Spectrophotometer ของ PerkinElmer Precisely รุ่น Lambda 35 ได้ผ่านการตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานของเครื่อง ดังนี้

ความถูกต้องของความยาวคลื่นมีค่า± 0.1 นาโนเมตร

ความถูกต้องของค่าการดูดกลืนแสงที่0 - 0.5 มีค่า ± 0.002

ความถูกต้องของค่าการดูดกลืนแสงที่ 0.5 - 1 มีค่า ± 0.003

ความแม่นยำของคามยาวคลื่นมีค่า ± 0.1 นาโนเมตร

ความแม่นยำของค่าการดูดกลืนแสงที่0 - 1 มีค่า±0.003

จากการตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานของเครื่อง ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพมีความคลาดเคลื่อนน้อยมาก และอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด สามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**2. การตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานของชุดทดสอบสารฟอร์มาลิน**

2.1 การทดสอบความแม่นยำ (Precision)ของการวิเคราะห์

เตรียมสารละลายฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 18.00 ppm เจือจางด้วยน้ำกลั่น 5เท่าตัวแล้วนำมาทดสอบกับชุดทดสอบสารฟอร์มาลินจนเกิดการเปลี่ยนแปลงสีทำซ้ำ 10 ครั้ง แต่ละซ้ำนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง หาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเพื่อคำนวณหาค่าร้อยละความแม่นยำจากการทดลองได้ค่าร้อยละความแม่นยำเท่ากับ 0.44 ซึ่งค่าร้อยละความแม่นยำมีค่าไม่เกินร้อยละ 10 แสดงว่าชุดทดสอบสารฟอร์มาลินมีความแม่นยำอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (ตารางที่ ข 2)

**ตารางที่ ข2**ค่าการดูดกลืนแสงสารละลายฟอร์มาลินที่ทดสอบกับชุดทดสอบสารฟอร์มาลิน

| **ครั้งที่** | **ค่าการดูดกลืนคลื่นแสง** |
|---|---|
| 1 | 0.5300 |
| 2 | 0.5324 |
| 3 | 0.5365 |
| 4 | 0.5365 |
| 5 | 0.5302 |
| 6 | 0.5322 |
| 7 | 0.5333 |
| 8 | 0.5311 |
| 9 | 0.5324 |
| 10 | 0.5304 |
| ค่าเฉลี่ย | 0.5325 |
| ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | 0.002373 |
| ร้อยละความแม่นยำ | 0.44 |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2 การทดสอบความถูกต้อง (Accuracy)ของการวิเคราะห์

เตรียมสารละลายฟอร์มาลินที่ความเข้มข้น 18.00 ppm เจือจางด้วยน้ำกลั่น 5เท่าตัวแล้วนำมาทดสอบกับชุดทดสอบสารฟอร์มาลินจำนวน 10 ครั้ง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (ตารางที่ ข 2) แล้วคำนวณหาความเข้มข้นจากสมการเชิงเส้น $x = 37.88y - 1.88$ เพื่อคำนวณหาค่า ร้อยละความถูกต้องจากการทดลองได้ค่า ร้อยละความถูกต้องเท่ากับ 101.22 ซึ่งค่าร้อยละความถูกต้อง มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 90 -110 แสดงว่าชุดทดสอบสารฟอร์มาลินมีความถูกต้องอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (ตารางที่ ข 3)

**ตารางที่ ข 3**ค่าการดูดกลืนแสงสารละลายฟอร์มาลินที่ทดสอบกับชุดทดสอบสารฟอร์มาลิน และค่าความเข้มข้นสารละลายฟอร์มาลิน

| **ครั้งที่** | **ความเข้มข้น (ppm)** |
|---|---|
| 1 | 18.12 |
| 2 | 18.21 |
| 3 | 18.37 |
| 4 | 18.37 |
| 5 | 18.13 |
| 6 | 18.20 |
| 7 | 18.25 |
| 8 | 18.16 |
| 9 | 18.21 |
| 10 | 18.14 |
| ค่าเฉลี่ย | 18.22 |
| ความเข้มข้นจริง | 18 |
| ร้อยละความถูกต้อง | 101.22 |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

# ประวัติผู้เขียน

**ชื่อ – สกุล** นายเศรษฐา คุณธรรม

**วัน เดือน ปี เกิด** 22 สิงหาคม 2529

**ประวัติการศึกษา**

2547 มัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนจักรคำคณาทร จังหวัดลำพูน

2551 วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์)
คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved