การใช้สีจากธรรมชาติแทนสารเคมีสำหรับผลิตสื่อการเรียนการสอน และการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

โดย
นางสาวธนิกานต์ สุขอร่าม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีศึกษา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาเคมี
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การใช้สีจากธรรมชาติแทนสารเคมีสำหรับผลิตสื่อการเรียนการสอน และการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

โดย
นางสาวธนิกานต์ สุขอร่าม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีศึกษา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาเคมี
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

UTILIZATION OF NATURAL DYES AS A CHEMICAL REAGENT FOR INSTRUCTIONAL MATERIAL AND FOR QUANTITATIVE ANALYSIS

By

MISS Thanikan SUKARAM

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science (CHEMICAL STUDIES)

Department of CHEMISTRY

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2017

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ	การใช้สีจากธรรมชาติแทนสารเคมีสำหรับผลิตสื่อการเรียนการสอน และการวิเคราะห์เชิงปริมาณ
โดย	ธนิกานต์ สุขอร่าม
สาขาวิชา	เคมีศึกษา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ดร. สุมนมาลย์ จันทร์เอี่ยม

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทานิช)

พิจารณาเห็นชอบโดย

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชีวิตา สุวรรณชวลิต)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ดร. สุมนมาลย์ จันทร์เอี่ยม)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ดร. จิตนภา ศิริรักษ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ดร. ณัฐวรรณ วรวรรโณทัย)

..... ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เสาวภาคย์ ธีราทรง)

59301202 : เคมีศึกษา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
คำสำคัญ : ชุดสื่อการเรียนการสอน, สารสกัดจากธรรมชาติ, ดอกกล้วยไม้, แอนโทไซยานิน, การไทเทรต, ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติก, ระบบการไหลอัตโนมัติแบบโฟลอินเจคชัน, อุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน, แอมโมเนียมไนโตรเจน

นางสาว ธนิกานต์ สุขอร่าม: การใช้สีจากธรรมชาติแทนสารเคมีสำหรับผลิตสื่อการเรียนการสอน และการวิเคราะห์เชิงปริมาณ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ดร. สุมนมาลย์ จันทร์เอี่ยม

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็นสองส่วน ในส่วนแรกผู้วิจัยได้สร้างกิจกรรมการเรียนรู้เรื่องเคมีกรดเบส โดยใช้ชุดสื่อการเรียนการสอนเรื่องกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากสารสกัดธรรมชาติ ที่มีราคาถูก ปลอดภัย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม กิจกรรมการเรียนรู้นี้สอดคล้องกับเนื้อหาการเรียนของนักเรียนในระดับมัธยมศึกษาปีที่ 1 กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ ผู้วิจัยได้ประเมินคะแนนประสิทธิภาพกิจกรรมการเรียนรู้โดยมีกลุ่มตัวอย่างเป็นนักเรียนมัธยมศึกษาปีที่ 1 จากสองโรงเรียน จำนวน 62 คน โดยการสุ่มแบบกลุ่มจากการจัดค่ายวิทยาศาสตร์ พบว่านักเรียนที่เรียนโดยใช้กิจกรรมการเรียนรู้ที่ผู้วิจัยได้พัฒนาขึ้นมีผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนสูงกว่านักเรียนที่เรียนด้วยการสอนแบบปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 งานวิจัยส่วนที่สองเป็นการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาประยุกต์เพื่อวิเคราะห์เชิงปริมาณ โดยนำสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญคือสารประกอบในกลุ่มแอนโทไซยานิน ซึ่งให้สีแดงในสภาวะกรด สีม่วงในสภาวะกลาง และสีเขียวเหลืองในสภาวะเบส มาใช้เป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์บอกจุดยุติของการไทเทรตเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูตัวอย่าง ผลการทดลองพบว่าปริมาณกรดอะซิติกที่วิเคราะห์ได้เปรียบเทียบกับการไทเทรตด้วยวิธีมาตรฐาน AOAC โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีน และวิธีการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ANOVA test) นอกจากนี้ผู้วิจัยได้นำสารสกัดจากดอกกล้วยไม้มาใช้เป็นรีเอเจนท์สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน โดยอาศัยหลักการวิเคราะห์ด้วยระบบการไหลอัตโนมัติแบบโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน โดยการฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าระบบเพื่อให้ทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์เกิดเป็นแก๊สแอมโมเนีย แก๊สที่เกิดขึ้นจะแพร่ผ่านไฮโดรโฟบิคเมมเบรนของอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน และละลายลงในกระแสตัวรับซึ่งเป็นสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ ทำให้ความเป็นกรด-เบสของสารละลายเปลี่ยนแปลง ส่งผลให้สีของสารละลายเปลี่ยนไปด้วย และสามารถตรวจวัดด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เมื่อใช้สภาวะที่เหมาะสม พบว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้ให้ค่าความไวในการวิเคราะห์และความเป็นเส้นตรงดี จึงนำวิธีนี้ไปประยุกต์เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีและในน้ำทิ้งจากการเกษตร ผลการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนเปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิงโอพีเอพบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (*t*-test)

59301202 : Major (CHEMICAL STUDIES)

Keyword : Instructional material, Natural dyes, Orchid, Anthocyanin, Titration, Acetic acid, Flow injection analysis, Gas diffusion unit, Ammonium nitrogen

MISS THANIKAN SUKARAM : UTILIZATION OF NATURAL DYES AS A CHEMICAL REAGENT FOR INSTRUCTIONAL MATERIAL AND FOR QUANTITATIVE ANALYSIS THESIS ADVISOR : DR. SUMONMARN CHANEAM

This work consists of two main parts. The first part describes the development of learning activities on acid-base chemistry. An instructional material, which uses natural dyes as acid-base indicators, is incorporated in the learning activities. This kit is cheap, safe, and environmentally-friendly. These learning activities conform to lessons in the seventh-grade science course in Thailand. Sixty-two seventh-grade students from two schools, who attended a science camp, were drawn by cluster random sampling for the evaluation of the developed learning activities. The results showed that learning achievement scores of students who learned under the developed learning activities were higher than those of students who learned by a traditional teaching method at 0.05 level of significance. The second part describes an employment of natural extract as a reagent for quantitative analysis. In this work, water extract from orchid flower was used. The orchid extract, containing anthocyanins, which appear red in acidic solution, purple in neutral solution and greenish-yellow in alkaline solution, was used as an acid-base indicator in titration experiments for determination of acetic acid content in vinegar samples. The results of sample analysis obtained from our method, compared to the AOAC method using phenolphthalein and potentiometric titration, were not significantly different at 95% confidence level (ANOVA test). Furthermore, the orchid extract was used as a reagent in flow injection analysis (FIA) with a gas diffusion unit (GD) for determination of ammonium nitrogen. The sample solutions, containing ammonium ions, were injected into the carrier stream and mixed with sodium hydroxide in order to generate ammonia gas. The gas subsequently diffused through the PTFE hydrophobic membrane at GD unit and dissolved into an acceptor stream of orchid reagent, resulting in a change of the pH and the color of the orchid reagent which could be monitored spectrophotometrically at 600 nm. At the optimum condition, our method showed good sensitivity and linearity. The proposed method was applied in the determination of ammonium nitrogen in chemical fertilizer and wastewater from agricultural areas. The results from our method were not significantly different from the reference OPA method at 95% confidence level (*t*-test).

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเพราะได้รับความกรุณาจากอาจารย์ ดร. สุมนมาลย์ จันทร์เอี่ยม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก อาจารย์ ดร. จิตนภา ศิริรักษ์ และอาจารย์ ดร. ณัฐวรรณ วรวรรโณทัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อผู้วิจัยรวมทั้ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชีวิตา สุวรรณชวลิต ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เสาวภาคย์ ธีราทรง ผู้ทรงคุณวุฒิ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัย ส่งผลให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณในความกรุณาของทุกท่านเป็นอย่างสูง ขอขอบพระคุณคณาจารย์และบุคลากรภาควิชาเคมีทุกท่านที่ให้ความรู้ ให้คำแนะนำ และให้ประสบการณ์อันมีค่ายิ่งแก่ผู้วิจัย ขอบพระคุณผู้เขียนหนังสือ วารสาร เอกสาร และวิทยานิพนธ์ทุกเล่ม ที่ช่วยให้วิทยานิพนธ์มีความสมบูรณ์ ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคนที่ให้คำแนะนำ และกำลังใจตลอดมา สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอน้อมบูชาแด่พระคุณบิดา มารดา ครู และอาจารย์ที่อบรมสั่งสอน ให้คำแนะนำ รวมทั้งให้การสนับสนุน และให้กำลังใจอย่างดียิ่งเสมอมา

หวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์นี้จะเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจ

ธนิกานต์ สุขอร่าม

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญ ..... ช
สารบัญรูปภาพ ..... ฎ
สารบัญตาราง ..... ฒ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ที่มาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา 3
1.3 สมมติฐานของการวิจัย 3
1.4 ขอบเขตการวิจัย 4
1.5 แนวทางและขั้นตอนงานวิจัย 5
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 6
2.1 สีจากธรรมชาติ 6
2.2 แอนโทไซยานินในกล้วยไม้ 7
2.3 สื่อการเรียนการสอนเรื่องสารละลายกรดเบส 9
2.4 การวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยอาศัยสารสกัดจากธรรมชาติ 10
2.5 หลักการของระบบไหลอัตโนมัติแบบโฟลอินเจคชัน (Flow Injection Analysis, FIA) 11
2.5.2 อุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน (Gas diffusion unit, GD) 12
2.6 กรดอะซิติก 12
2.7 แอมโมเนียมไนโตรเจน 14

บทที่ 3 เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการดำเนินงานวิจัย 18
3.1 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย 18
3.2 วัสดุ อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย 18
3.3 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย 19
3.4 การเตรียมสารละลายและสารตัวอย่าง 20
3.4.1 การเตรียมสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สำหรับวิเคราะห์เชิงปริมาณ 20
3.4.2 สารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกด้วยวิธีไทเทรต 20
3.4.3 สารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนด้วยระบบ GD-FIA 21
3.5 วิธีการดำเนินงานวิจัย 23
3.5.1 กิจกรรมการเรียนรู้เรื่องเคมีกรดเบสโดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติ 23
3.5.1.1 แหล่งข้อมูลที่ใช้ในการทดลอง 23
3.5.1.2 ตัวแปรที่ศึกษา 23
3.5.1.3 ออกแบบกิจกรรมให้ครอบคลุมเนื้อหาเรื่องเคมีกรดเบส 23
3.5.2 การเตรียมสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สำหรับใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ 33
3.5.2.1 ศึกษาพันธุ์กล้วยไม้ 33
3.5.2.2 ศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินรวม (Total anthocyanin content, TAC) ... 33
3.5.2.3 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับใช้สกัดดอกกล้วยไม้ 36
3.5.2.4 ศึกษาอิทธิพลของพีเอชต่อการเปลี่ยนแปลงของสารสกัดกล้วยไม้ 37
3.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกด้วยวิธีการไทเทรตโดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นอินดิเคเตอร์ 38
3.5.3.1 การเทียบมาตรฐานสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 38
3.5.3.2 การไทเทรตกรดแก่และเบสแก่ 39
3.5.3.3 การไทเทรตกรดอ่อนและเบสแก่ 39

3.5.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในตัวอย่างน้ำส้มสายชู โดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติเป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์ 39

3.5.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในตัวอย่างน้ำส้มสายชู ด้วยวิธีมาตรฐาน AOAC 40

3.5.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในตัวอย่างน้ำส้มสายชู ด้วยวิธีการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี 40

3.5.4 การวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนโดยใช้สารสกัดจากกล้วยไม้ร่วมกับเทคนิค GD-FIA 41

3.5.4.1 การจัดอุปกรณ์ทดลอง 41

3.5.4.2 อุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน (Gas diffusion unit, GD) 44

3.5.4.3 ศึกษาพีเอชของสารสกัดจากกล้วยไม้เพื่อนำไปใช้วิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน 45

3.5.4.4 ศึกษาความยาวคลื่นในการตรวจวัด 45

3.5.4.5 อัตราเร็วในการลำเลียงสาร 46

3.5.4.6 ศึกษาผลของปริมาตรสารตัวอย่าง 46

3.5.4.7 ศึกษาอายุการใช้งานของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ 46

3.5.4.8 การวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีและน้ำทิ้งโดยใช้วิธีที่พัฒนาขึ้น 47

3.5.4.9 การวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีและน้ำทิ้งโดยใช้วิธีอ้างอิง 47

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง 48

4.1 กิจกรรมการเรียนรู้เรื่องเคมีกรดเบสโดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติ 48

4.1.1 ศึกษาวิธีเตรียมสารสกัดจากธรรมชาติสำหรับสื่อการเรียนการสอนกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากสารสกัดธรรมชาติ 48

4.1.2. ผลการศึกษาการดึงดูดความสนใจและกระตุ้นให้นักเรียนคิด 49

4.1.3 ผลการศึกษาการทดสอบความรู้ก่อนเรียน 49

4.1.4 ผลการศึกษาการทบทวนความรู้ 49
4.1.5 ผลการศึกษาการบรรยาย 50
4.1.6 ผลการศึกษาปฏิบัติการโดยใช้ชุดสื่อการเรียนการสอนกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ 51
4.1.6.1 ขั้นตอนที่ 1 : การเตรียมกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ 51
4.1.6.2 ขั้นตอนที่ 2 : การเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติเมื่อทดสอบด้วยสารละลายพีเอชต่างๆ 51
4.1.6.3 ขั้นตอนที่ 3 : การทดสอบความเป็นกรด-เบสของตัวอย่างในชีวิตประจำวัน 52
4.1.7 ศึกษาผลสัมฤทธิ์การเรียน 53
4.1.8 ความพึงพอใจที่มีต่อสื่อการเรียนการสอน 54
4.1.9 ความคิดเห็นของผู้ใช้สื่อการเรียนการสอน 55
4.2 การเตรียมสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สำหรับใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ 59
4.2.1 ผลการศึกษาพันธุ์กล้วยไม้ 59
4.2.2 ผลการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานิน (Total anthocyanin content, TAC) 59
4.2.3 ผลการศึกษาตัวสกัดที่เหมาะสมกับดอกกล้วยไม้ 60
4.2.4 ผลการศึกษาอิทธิพลของพีเอชต่อการเปลี่ยนแปลงของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ 62
4.3 ศึกษาการไทเทรตกรด-เบสโดยใช้สารสกัดจากกล้วยไม้เป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์ 63
4.3.1 การไทเทรตกรดแก่ด้วยเบสแก่ 63
4.3.2 การไทเทรตเบสแก่ด้วยกรดแก่ 63
4.3.3 การไทเทรตกรดอ่อนด้วยเบสแก่ 63
4.3.4 การไทเทรตเบสแก่ด้วยกรดอ่อน 64
4.3.5 การศึกษาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกโดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์ 65
4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนด้วยระบบการไหล GD-FIA โดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นสารละลายตัวรับ 66

4.4.1 ศึกษาพีเอชของสารสกัดจากกล้วยไม้เพื่อนำไปใช้วิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน 66
4.4.2 ศึกษาความยาวคลื่นในการตรวจวัดด้วยระบบ GD-FIA..... 67
4.4.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หาแอมโมเนียมไนโตรเจนที่ช่วงความเข้มข้นสูงด้วยระบบ GD – FIA 68
4.4.4 อายุการใช้งานของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ 69
4.4.5 กราฟมาตรฐานและคุณลักษณะการวิเคราะห์สำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี 70
4.4.6 การศึกษาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยตัวอย่าง 72
4.4.7 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสำหรับวิเคราะห์หาแอมโมเนียมไนโตรเจนในน้ำทิ้งจากการเกษตรที่ความเข้มข้นต่ำด้วยระบบ GD – FIA 74
4.4.8 กราฟมาตรฐานและคุณลักษณะการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนที่ช่วงความเข้มข้นต่ำและการศึกษาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในน้ำทิ้งจากการเกษตร 75
4.4.9 การเปรียบเทียบคุณลักษณะการวิเคราะห์ระบบ GD-FIA ทั้งสองระบบที่พัฒนาขึ้น.... 77
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 79
รายการอ้างอิง 81
ภาคผนวก 89
ประวัติผู้เขียน 105

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีทั่วไปของรงควัตถุที่มักพบในธรรมชาติ 6

รูปที่ 2.2 ดอกกล้วยไม้พันธุ์ “*Dendrobium Sonia earsakul*” 7

รูปที่ 2.3 โครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานิน 8

รูปที่ 2.4 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างแอนโทไซยานินที่สภาวะกรดและเบส 8

รูปที่ 2.5 การแพร่ผ่านของแก๊สภายในอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน 12

รูปที่ 2.6 แผนผังระบบการไหลอัตโนมัติแบบโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชันสำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย (Schmitt *et al.*, 1993) 16

รูปที่ 2.7 ระบบ GD-FIA โดยใช้ส่วนตรวจวัดค่ากรนำไฟฟ้า (Henríquez *et al.*, 2013) 17

รูปที่ 3.1 สีสารละลายสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ 20

รูปที่ 3.2 วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำ (สำนักงานและพัฒนากรมชลประทาน, 2550) 22

รูปที่ 3.3 ต้นแบบชุดสื่อการเรียนการสอนและอุปกรณ์ต่างๆ 25

รูปที่ 3.4 แผ่นสร้างแบบสีอ้างอิง 28

รูปที่ 3.5 แผ่นการทดสอบตัวอย่าง 29

รูปที่ 3.6 การดูดกลืนแสงของสารสกัดแอนโทไซยานินในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.0 และ 4.5 (Lee, Durst, & Wrolstad, 2005) 34

รูปที่ 3.7 โครงสร้างของแอนโทไซยานินที่ pH ต่างๆ (Lee *et al.*, 2005) 35

รูปที่ 3.8 แผนภาพจำลองอุปกรณ์สำหรับไทเทรตกรด-เบส 38

รูปที่ 3.9 ตัวอย่างกราฟไทเทรชันของการไทเทรตกรดแก่ด้วยเบสแก่แบบโพเทนชิโอเมตรี 40

รูปที่ 3.10 แผนภาพจำลองการทำงานของระบบ GD-FIA สำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน . 41

รูปที่ 3.11 อุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน ชนิด spiral groove 45

รูปที่ 3.12 ระบบไหลอัตโนมัติของวิธีอ้างอิง OPA method..... 47

รูปที่ 4.1 สีสารละลายจากสารสกัดของพืชชนิดต่างๆ คือ กล้วยไม้ อัญชัน กะหล่ำม่วง มันม่วง และขมิ้น เมื่อใช้อัตราส่วนตัวทำละลายแตกต่างกัน..... 48

รูปที่ 4.2 สื่อ Packman model สำหรับอธิบายการทำงานของกรด-เบสอินดิเคเตอร์ 51

รูปที่ 4.3 ผลการระบุคุณสมบัติกรดเบสของสิ่งของในชีวิตประจำวันพร้อมระบุพีเอชของสารละลายจากนักเรียน..... 53

รูปที่ 4.4 กราฟการดูดกลืนแสงของกล้วยไม้พันธุ์ขาวสนาน พันธุ์มีสเวิลด์ พันธุ์โจจีด พันธุ์ซ็อคกิ้งพิ้งค์ และพันธุ์เอียสกุล 59

รูปที่ 4.5 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้แต่ละสายพันธุ์..... 60

รูปที่ 4.6 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำต้มเดือด (1) น้ำที่อุณหภูมิห้อง (2) 5% เอทานอล(3) 10% เอทานอล (4) 20% เอทานอล (5) 40% เอทานอล (6) 60% เอทานอล (7) 80% เอทานอล (8) และเอทานอลบริสุทธิ์ (9). 61

รูปที่ 4.7 โครงสร้างทางเคมีของไซยานิดิน (cyanidin)..... 61

รูปที่ 4.8 สีของสารละลายที่สกัดได้เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำกลั่นต้มเดือด (1) น้ำที่อุณหภูมิห้อง (2) 5% เอทานอล(3) 10% เอทานอล (4) 20% เอทานอล (5) 40% เอทานอล (6) 60% เอทานอล (7) 80% เอทานอล (8) และเอทานอลบริสุทธิ์ (9) 61

รูปที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานินที่ได้จากโปรแกรม Guassian 09. 62

รูปที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงสีของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่พีเอชแตกต่างกัน 62

รูปที่ 4.11 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่พีเอชแตกต่างกัน..... 62

รูปที่ 4.12 แสดงกราฟการไทเทรตกรดแก่เบสแก่โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นไทแทรนต์ (ก) การไทเทรตกรดแก่เบสแก่โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเป็นไทแทรนต์ (ข) การไทเทรตกรดอ่อนเบสแก่โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นไทแทรนต์ (ค) การไทเทรตกรดอ่อนเบสแก่โดยใช้โดยใช้สารละลายกรดอะซิติกเป็นไทแทรนต์ (ง)..... 64

รูปที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงสีและโครงสร้างทางเคมีของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สำหรับใช้ระบุจุดยุติของการไทเทรตกรดแก่ด้วยเบสแก่ (ก) การไทเทรตเบสแก่ด้วยกรดแก่ (ข)..... 65

รูปที่ 4.14 สัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยระบบ GD-FIA ที่สภาวะพีเอชของสารสกัดจากกล้วยไม้ต่างกัน 67

รูปที่ 4.15 กราฟเปรียบเทียบความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) เมื่อศึกษาผลของความยาวคลื่นสำหรับการตรวจวัดวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน 68

รูปที่ 4.16 กราฟเปรียบเทียบความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) เมื่อศึกษาผลของอัตราการลำเลียงสารของสารละลายตัวให้ (ก.) สารละลายตัวรับ (ข.) และปริมาตรการฉีดสารตัวอย่าง (ค.) 69

รูปที่ 4.17 อายุการใช้งานของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้พันธุ์ *“Dendrobium Sonia earsakul”* . 69

รูปที่ 4.18 สัญญาณที่ได้ของสารมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์กับเวลา โดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นสารละลายตัวรับด้วยระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน เมื่อใช้อัตราการลำเลียงสาร 1.0 mL/min และปริมาตรตัวอย่าง 100 µL 70

รูปที่ 4.19 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์กับความสูงของสัญญาณจากรูปที่ 4.18 โดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นสารละลายตัวรับด้วยระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน 71

รูปที่ 4.20 กราฟสัญญาณของตัวรบกวนการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี 72

รูปที่ 4.21 กราฟเปรียบเทียบความสูงของสัญญาณที่วิเคราะห์ได้ที่ความเข้มข้น 1 mM เมื่อศึกษาผลของอัตราการลำเลียงสาร (ก.) และปริมาตรตัวอย่าง (ข.) 74

รูปที่ 4.22 สัญญาณที่ได้ของสารมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์กับเวลา โดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นสารละลายตัวรับด้วยระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน เมื่อใช้อัตราการลำเลียงสาร 0.3 mL/min และปริมาตรตัวอย่าง 1000 µL .. 75

รูปที่ 4.23 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์กับความสูงของสัญญาณจากรูปที่ 4.22 โดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นสารละลายตัวรับด้วยระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน 76

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย 19

ตารางที่ 3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ 21

ตารางที่ 3.3 ตัวอย่างแหล่งน้ำทิ้งจากการเกษตรที่นำมาวิเคราะห์ 22

ตารางที่ 3.4 ดอกกล้วยไม้แต่ละสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองนี้ 36

ตารางที่ 4.1 ผลการทำนายคุณสมบัติ กรด เบส จากนักเรียน 50

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบผลการเรียนรู้เรื่องเคมีกรดเบสของนักเรียนก่อนและหลังเรียนผ่านการจัดกิจกรรมการเรียนรู้โดยใช้สื่อการเรียนการสอน 53

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนเทียบกับเกณฑ์ร้อยละ 70 54

ตารางที่ 4.4 ความพึงพอใจของนักเรียนที่มีต่อการการจัดกิจกรรมการเรียนรู้ผ่านชุดสื่อการเรียนการสอน ของนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 1 55

ตารางที่ 4.5 ความคิดเห็นของผู้ใช้ที่มีต่อการจัดการเรียนรู้ด้วยชุดสื่อการเรียนการสอน 58

ตารางที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำส้มสายชูโดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นอินดิเคเตอร์เทียบกับวิธีมาตรฐาน AOAC และวิธีการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี 66

ตารางที่ 4.7 ผลการทดลองที่สภาวะพีเอชของสารสกัดจากกล้วยไม้ต่างกัน 67

ตารางที่ 4.8 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยเคมีโดยใช้ระบบ GD-FIA ที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้เปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิง OPA 73

ตารางที่ 4.9 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างจากแหล่งน้ำทิ้งโดยใช้ระบบ GD-FIA ที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้เปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิง OPA 77

ตารางที่ 4.10 เปรียบเทียบคุณลักษณะการวิเคราะห์ของสองระบบที่พัฒนาขึ้น 78

ตารางที่ 4.11 เปรียบเทียบระบบ GD-FIA สำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนกับงานวิจัยอื่นๆ 80

วิทยานิพนธ์นี้

ได้รับทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์ จากเงินรับฝากโครงการบริการวิชาการ

(โครงการอบรมภาษาอังกฤษเข้ม)

ของบัณฑิตวิทยาลัย ประจำปีงบประมาณ 2561

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ปัจจุบันการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์และการทำงานวิจัยโดยเฉพาะสาขาเคมีนั้นมีการใช้สารเคมีในปริมาณมาก ซึ่งสารเคมีบางกลุ่มก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย และหากกำจัดทิ้งโดยไม่มีการบำบัดที่ถูกต้องอาจก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้สารเคมีบางชนิดยังมีราคาสูงและเป็นอันตรายต่อเด็กและเยาวชนอีกด้วย ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการรณรงค์ให้ลดการใช้สารเคมีแล้วหันมาใช้สารจากธรรมชาติแทน ซึ่งสารจากธรรมชาติอาจพบได้ทั้งในพืช เนื้อเยื่อสัตว์ สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังและแร่ธาตุ โดยมีการนำไปใช้งานที่หลากหลายเช่น เป็นส่วนประกอบของเซลล์แสงอาทิตย์ สีย้อมผม เครื่องสำอางค์ สีผสมอาหาร พืชแต่ละชนิดจะมีสีที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับสารให้สี (รงควัตถุ) ของพืชนั้นๆ ซึ่งข้อดีของการใช้สีจากธรรมชาติเหล่านี้คือ มีความปลอดภัย มีต้นทุนต่ำ และมีขั้นตอนการเตรียมง่าย งานวิจัยนี้จึงมุ่งพัฒนาการใช้สีจากธรรมชาติมาสร้างชุดสื่อการเรียนการสอนและใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

การพัฒนาความรู้ด้านวิทยาศาสตร์ถือเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งเนื่องจากเป็นวิชาที่ทำให้มนุษย์ได้พัฒนาวิธีคิด ทั้งความคิดเป็นเหตุเป็นผล คิดสร้างสรรค์ คิดวิเคราะห์ วิจารณ์ มีความสามารถในการแก้ปัญหาอย่างเป็นระบบสามารถตัดสินใจโดยใช้ข้อมูลที่หลากหลายและมีประจักษ์พยานที่ตรวจสอบได้ (สำนักวิชาการและมาตรฐานการศึกษา., 2551) โดยกลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์มุ่งหวังให้ผู้เรียนได้เรียนรู้วิทยาศาสตร์ที่เน้นการเชื่อมโยงความรู้กับกระบวนการ มีทักษะสำคัญในการค้นคว้าและสร้างองค์ความรู้โดยใช้กระบวนการในการสืบเสาะหาความรู้ และการแก้ปัญหาที่หลากหลาย ให้ผู้เรียนมีส่วนร่วมในการเรียนรู้ทุกขั้นตอน มีหลากหลายกิจกรรมที่ทำการลงมือปฏิบัติอย่างจริงจังเหมาะสมกับระดับชั้นเพื่อพัฒนาผู้เรียนทุกคนให้สามารถเรียนรู้และพัฒนาตนเองได้เต็มศักยภาพ (สำนักวิชาการและมาตรฐานการศึกษา., 2551) โดยการดำเนินการสอนของครูเพื่อให้บรรลุตามจุดประสงค์ที่กำหนดไว้ จำเป็นต้องมีวิธีการสอนที่หลากหลายผสมผสานกัน อย่างเช่น การนำนวัตกรรมใหม่ๆ ผสานกับเทคโนโลยีที่ทันสมัยทางการศึกษามาช่วยในการจัดการเรียนการสอนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการศึกษาให้สูงขึ้น จากการศึกษาพบว่าชุดกิจกรรมวิทยาศาสตร์เป็นนวัตกรรมที่มีความเหมาะสม เพราะเป็นสื่อประสมที่มีการจัดระบบเนื้อหาสาระให้มีความสอดคล้องกัน โดยเสนอเนื้อหาสาระเฉพาะเรื่อง มีความเบ็ดเสร็จในตัวเอง ช่วยให้ผู้สอนถ่ายทอดเนื้อหาที่มีความเป็นนามธรรม เร้าความสนใจของผู้เรียน สร้างคุณลักษณะอันพึงประสงค์ให้กับผู้เรียน สร้างความพร้อมและความมั่นใจให้กับผู้สอน (วาสนา ทวีกุลทรัพย์, 2541) ผู้วิจัยได้เล็งเห็นถึงความสำคัญของการพัฒนาชุดกิจกรรมการเรียนการสอนดังกล่าว และจากการสำรวจความคิดเห็นของนักเรียนชั้น

มัธยมศึกษาปีที่ 3 จำนวน 60 คน จากโรงเรียนสตรีศรีสุริโยทัยต่อเนื้อหาวิชาวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับเคมีในระดับมัธยมศึกษาตอนต้นพบว่าเรื่องสารละลายกรด-เบส เป็นเนื้อหาที่มีความซับซ้อนและควรมีรูปแบบการเรียนการสอนในลักษณะการบรรยายร่วมไปกับทำการทดลอง หรืออาจมีการเรียนผ่านสื่อช่วยสอนที่มีเนื้อหาความรู้ มีการใช้ภาษาที่เข้าใจง่าย และมีหลากหลายการทดลองในสื่อนั้นซึ่งจะสามารถช่วยให้นักเรียนเข้าใจและรู้สึกอยากเรียนเนื้อหาส่วนนี้มากยิ่งขึ้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจพัฒนาชุดสื่อการเรียนการสอนให้สะดวกต่อผู้สอนและผู้เรียนได้ความรู้ครอบคลุมเนื้อหาเรื่อง เคมีกรดเบสตามหนังสือเรียนรายวิชาวิทยาศาสตร์ 1 สำหรับชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 1 เล่ม 1 ตามหลักสูตรแกนกลางการศึกษาขั้นพื้นฐาน พุทธศักราช 2551 โดยเนื้อหาประกอบด้วย สารละลายกรด สารละลายเบส การทดสอบความเป็นกรด-เบสของสารละลายที่พบในชีวิตประจำวัน เป็นต้น เพื่อให้เกิดการพัฒนาทักษะกระบวนการวิทยาศาสตร์ให้กับนักเรียนอย่างเต็มประสิทธิภาพ มีความปลอดภัย และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม งานวิจัยนี้จึงสร้างชุดสื่อการเรียนการสอนที่ใช้สารสกัดจากธรรมชาติชนิดต่างๆ มาใช้เป็น กรด-เบสอินดิเคเตอร์ ซึ่งจะเป็นการเสริมทักษะการเรียนรู้และความเข้าใจให้แก่นักเรียนจากการทำการทดลอง ทั้งขั้นตอนสกัดสารจากธรรมชาติและขั้นตอนการทดสอบความเป็นกรด-เบสของสารละลายจากการทดลอง โดยใช้เพียงอุปกรณ์และสารละลายในชุดสื่อการเรียนการสอนนี้ ทั้งยังสะดวกต่อการจัดกิจกรรมการเรียนรู้ของผู้สอนอีกด้วย

จากนั้นผู้วิจัยได้นำผลการทดลองที่ได้จากการใช้งานชุดสื่อการเรียนการสอนมาประยุกต์ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ เพื่อหาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติก โดยอาศัยเทคนิคการไทเทรตและใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้ พันธุ์ *“Dendrobium Sonia earsakul”* เป็นอินดิเคเตอร์ระบุจุดยุติของการไทเทรตแทนการใช้อินดิเคเตอร์จากสารสังเคราะห์ที่มีราคาแพง โดยสารสกัดจากดอกกล้วยไม้มีรงควัตถุที่สำคัญคือแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) (Fossen & Øvstedal, 2003) และแอนโทไซยานินจะมีโครงสร้างทางเคมีและสีของสารละลายแตกต่างกันขึ้นกับพีเอชของสารละลายนั้น (Jiangrong & Yueming, 2007) พบว่าแอนโทไซยานินมีสีแดงในสารละลายกรด สีม่วงในสารละลายกลาง และสีเขียวเหลืองในสารละลายเบส ดังนั้นสารสกัดจากกล้วยไม้นี้จึงสามารถนำมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์สำหรับกรด-เบสได้ จากนั้นนำผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในตัวอย่างน้ำส้มสายชูที่ได้จากวิธีที่เสนอในงานวิจัยนี้ไปเปรียบเทียบกับการไทเทรตด้วยวิธีมาตรฐาน AOAC และการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี

นอกจากนี้ผู้วิจัยนี้ได้นำวิธีอ้างอิงในการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนที่มีการใช้สารสังเคราะห์ (H. Mana & Spohn, 1996) มาประยุกต์โดยเสนอการใช้รีเอเจนท์ใหม่ที่สกัดได้จากดอกกล้วยไม้พันธุ์ *“Dendrobium Sonia earsakul”* ดังกล่าว อาศัยการทำงานของระบบการไหลอัตโนมัติแบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส (Flow injection analysis, FIA) ร่วมกับอุปกรณ์คัดเลือกแก๊สแบบแก๊สดิฟฟิวชัน (Gas diffusion unit, GD) โดยฉีดสารละลายตัวอย่างที่ประกอบด้วยแอมโมเนียม

ไอออนเข้าสู่ระบบ แอมโมเนียมไอออนในตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์เกิดเป็นแก๊สแอมโมเนีย แก๊สที่เกิดขึ้นจะแพร่ผ่านไฮโดรโฟบิคเมมเบรนของอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน และละลายลงในกระแสตัวรับซึ่งเป็นสารสกัดจากกล้วยไม้ทำให้ค่าความเป็นกรด-เบส เปลี่ยนแปลงและเกิดการเปลี่ยนสีของสารสกัดจากกล้วยไม้ สามารถติดตามสัญญาณด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร สุดท้ายได้นำวิธีที่ประยุกต์ขึ้นมาวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีและน้ำทิ้งจากการเกษตรแล้วเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ที่ได้กับการใช้วิธีอ้างอิงโดยอาศัย *o*-Phthalaldehyde (OPA) เป็นรีเอเจนท์

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อสร้างสื่อการเรียนการสอนโดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติเป็นอินดิเคเตอร์ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของกิจกรรมการเรียนรู้ในหัวข้อเรื่องเคมีกรดเบส
2. เพื่อเปรียบเทียบผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนของนักเรียนก่อนเรียนและหลังเรียนผ่านกิจกรรมที่พัฒนาขึ้นและศึกษาระดับความพึงพอใจและความคิดเห็นของนักเรียนที่มีต่อการจัดการเรียนรู้เรื่องเคมีกรดเบสของนักเรียนผ่านกิจกรรมที่พัฒนาขึ้น
3. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูด้วยการไทเทรตโดยใช้สารสกัดจากกล้วยไม้เป็นอินดิเคเตอร์และเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน
4. เพื่อสร้างระบบการไหลแบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซิสสำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนโดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นรีเอเจนท์ และวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นและเปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิง

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

1. นักเรียนที่เรียนผ่านกิจกรรมการเรียนรู้เรื่องเคมีกรดเบสมีผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนหลังเรียนสูงกว่าก่อนเรียน

2. การเปลี่ยนสีของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่พีเอชต่างๆ สามารถใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการไทเทรตหาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูได้

3. การเปลี่ยนสีของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่พีเอชต่างๆ สามารถใช้เป็นรีเอเจนท์ในระบบการไหลอัตโนมัติแบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซิสร่วมกับอุปกรณ์คัดเลือกแก๊สแบบแก๊สดิฟฟิวชันเพื่อหาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีและน้ำทิ้งจากการเกษตรได้

1.4 ขอบเขตการวิจัย

ขอบเขตงานวิจัย	รายละเอียดขอบเขตงานวิจัย
1. สร้างสื่อการเรียนการสอนในหัวข้อเรื่องกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ	• ออกแบบกิจกรรมและผลิตต้นแบบสื่อการเรียนการสอน • นำกิจกรรมและสื่อการเรียนการสอนไปทดลองใช้จริงกับนักเรียนกลุ่มเป้าหมายประเมินผลการใช้งาน
2. ศึกษาวิธีเตรียมสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สำหรับใช้เพื่อวิเคราะห์เชิงปริมาณ	• ศึกษาพันธุ์กล้วยไม้ที่เหมาะสม • ศึกษาตัวสกัดที่เหมาะสม • ศึกษาอายุการใช้งานของสารสกัดจากกล้วยไม้ • ศึกษาอิทธิพลของพีเอชต่อการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้
3. การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกด้วยวิธีการไทเทรตโดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นอินดิเคเตอร์บอกจุดยุติ	• การไทเทรตกรดแก่และเบสแก่ • การไทเทรตกรดอ่อนและเบสแก่ • วิเคราะห์ความเข้มข้นของกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูตัวอย่างโดยใช้สารสกัดจากกล้วยไม้เป็น กรด-เบสอินดิเคเตอร์ • เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับวิธีมาตรฐาน AOAC และการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี
4. การวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนด้วยระบบการไหล (GD-FIA) โดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นสารละลายตัวรับ	• ศึกษาพีเอชของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน • ศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ • ศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวรับ (Acceptor stream) • ศึกษาอัตราการไหลของกระแสตัวให้ (Donor stream) • ศึกษาปริมาณการฉีดสารตัวอย่าง (Injection volume) • ศึกษาคุณลักษณะการวิเคราะห์ (Analytical features) • ศึกษาผลของตัวรบกวน (Interference study) • ศึกษาร้อยละการกลับคืนของการวิเคราะห์ (%Recovery) • วิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีและน้ำทิ้งจากการเกษตรด้วยวิธี GD-FIA โดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นสารละลายตัวรับ (Acceptor stream) • เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับวิธีอ้างอิง (OPA method)

1.5 แนวทางและขั้นตอนงานวิจัย

1.5.1 การใช้สารสกัดจากธรรมชาติสำหรับสร้างชุดสื่อการเรียนการสอน

1. ศึกษาหัวข้อสำหรับสื่อการเรียนการสอนที่เหมาะสมกับกลุ่มเป้าหมาย
2. ออกแบบกิจกรรมการเรียนรู้ให้ครอบคลุมเนื้อหา
3. สร้างชุดสื่อการเรียนการสอนให้สอดคล้องกับกิจกรรมที่ออกแบบไว้
4. ดำเนินการจัดกิจกรรมเพื่อประเมินประสิทธิภาพการใช้งานชุดสื่อการเรียนการสอน
5. รวบรวม วิเคราะห์ผลการประมิน และเขียนรายงาน

1.5.2 การใช้สารสกัดจากธรรมชาติอย่างดอกกล้วยไม้สำหรับวิเคราะห์เชิงปริมาณ

1. ศึกษาและรวบรวมผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
2. ดำเนินการทดลอง
    - ศึกษาวิธีเตรียมสารสกัดจากกล้วยไม้เพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์เชิงปริมาณ
    - วิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกโดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นอินดิเคเตอร์สำหรับบอกจุดยุติของการไทเทรต
    - สร้างระบบ GD-FIA โดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นตัวตรวจวัดปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนและวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมีและน้ำทิ้งจากการเกษตรด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น
3. รวบรวมข้อมูล และวิเคราะห์ผลการทดลอง

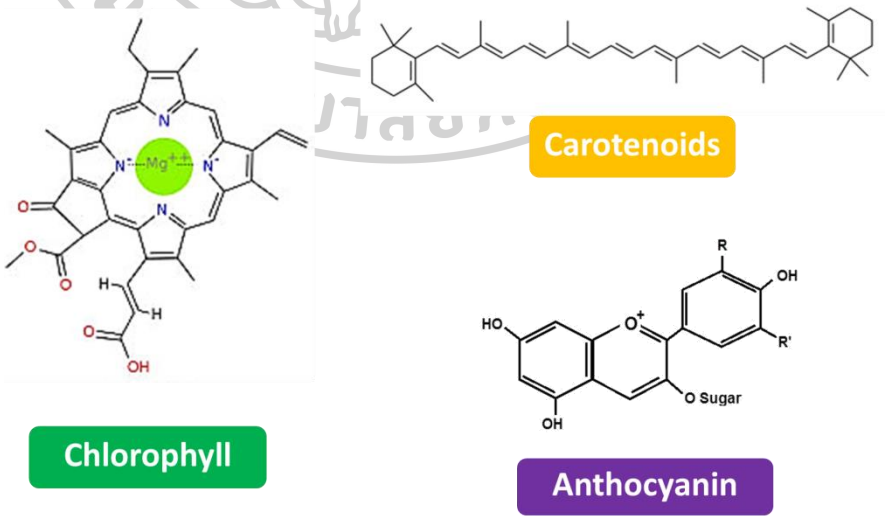
1.5.3 เขียนรายงานวิทยานิพนธ์

1.5.4 นำเสนอผลงานวิจัยในงานประชุมวิชาการ และตีพิมพ์ผลงานในวารสารวิชาการ

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สีจากธรรมชาติ

ในอดีตกาลมนุษย์มีการใช้สีจากธรรมชาติในกิจกรรมต่างๆ เช่น ประกอบอาหาร ทาสีตามร่างกาย เป็นสีของภาชนะเครื่องปั้นดินเผา ย้อมสิ่งทอ เครื่องใช้ เครื่องนุ่งห่ม สร้างภาพวาดฝาผนัง นอกจากนี้ยังมีการนำสีจากธรรมชาติมาใช้เป็นส่วนประกอบในพิธีกรรมต่างๆ ตามความเชื่อของแต่ละท้องถิ่น เป็นต้น (จิตนภา ศิริรักษ์, ชัชฎาภรณ์ พันธ์พิน, สุธินี เกิดเทพ, สุพรรณี ฉายะบุตร, & ชีวิตา สุวรรณชวลิต, 2559) เนื่องจากสีจากธรรมชาติเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และใช้งานได้อย่างปลอดภัย งานวิจัยในปัจจุบันจึงมีการใช้งานสีจากธรรมชาติอย่างหลากหลาย เช่น ใช้ทำ Dye sensitized solar cell (Hamadanian, Safaei-Ghomi, Hosseinpour, Masoomi, & Jabbari, 2014) เครื่องสำอางค์ สีย้อมผม สีผสมอาหาร (Bouvier, Dogbo, & Camara, 2003) และใช้เป็น กรด-เบสอินดิเคเตอร์ (Chaipradit, Priprem, Nualkaew, & Preeprame, 2012) เป็นต้น สีจากธรรมชาติจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสารให้สี (รงควัตถุ) เช่น คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) ให้สีเขียว แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) ให้สีส้ม และแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) ให้สีแดง ม่วง น้ำเงิน เป็นต้น โครงสร้างทางเคมีของรงควัตถุที่มักพบในธรรมชาติแสดงดังรูปที่ 2.1. (Cortez, Luna-Vital, Margulis, & Gonzalez de Mejia, 2017) โดยวัตถุดิบจากธรรมชาติที่ให้สีอาจมาจาก พืช สัตว์ และแมลง เช่น แก่นฝาง ลูกคำแสด ครั่ง จะให้สีแดง แก่นขนุน ใบมะม่วง ขมิ้น ให้สีเหลือง ใบของต้นคราม ให้สีคราม อัญชัน กะหล่ำม่วง ให้สีม่วง เป็นต้น (Tubwong, 2014)

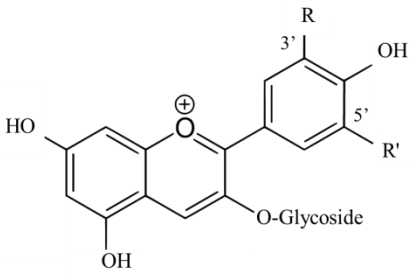


รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีทั่วไปของรงควัตถุที่มักพบในธรรมชาติ

2.2 แอนโทไซยานินในกล้วยไม้

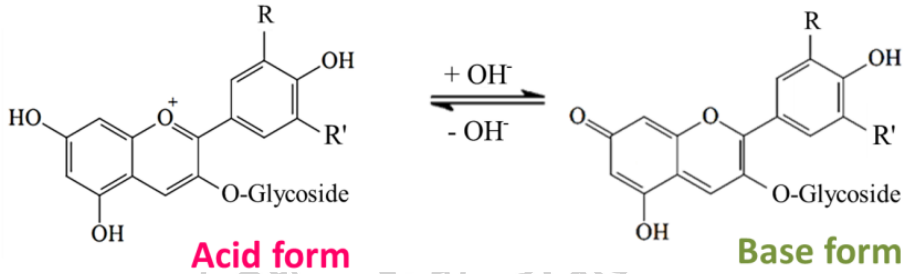
แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่พบในดอกและผลของพืชที่ให้สีแดง สีน้ำเงิน และสีม่วง (Duangmal, Saicheua, & Sueeprasan, 2004) (Ersus & Yurdagel, 2007) เช่น กะหล่ำม่วง กระเจี๊ยบ รวมถึงดอกกล้วยไม้ กล้วยไม้ถือเป็นพืชเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งของประเทศไทยโดยเฉพาะกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์ *'Dendrobium'* ซึ่งมีการส่งออกประมาณ 54% ของกล้วยไม้ที่ผลิตในประเทศและที่เหลือจากการส่งออก 46% จำหน่ายภายในประเทศ นอกจากนี้กล้วยไม้สายพันธุ์นี้เป็นที่นิยมเพื่อการค้าเนื่องจากมีสีสันสวยงาม ออกดอกง่าย ปลูกง่าย ราคาถูก และเลี้ยงในประเทศไทยได้ง่ายที่สุด (Peyachoknagul, Mongkolsiriwatana, Wannapinpong, Huehne, & Srikulnath, 2014) แหล่งปลูกกล้วยไม้ที่สำคัญอยู่ในภาคกลางเนื่องจากมีสภาพภูมิอากาศดี โดยพื้นที่หลักที่มีการปลูกกล้วยไม้มีอยู่สามจังหวัดคือ จังหวัดสมุทรสาคร กรุงเทพมหานคร และนครปฐม (Thammasiri, 2016) ลักษณะภายนอกของสกุลหวายพันธุ์ *'Dendrobium Sonia earsakul'* จะมีสีม่วงเข้มชัดเจนดังรูปที่ 2.2 ซึ่งมีแอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่สำคัญ โครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานินแสดงดังรูปที่ 2.3 ส่วนมากที่พบในธรรมชาติจะประกอบด้วย Glycoside ซึ่งมีโครงสร้างหลักคือ อะไกลโคน (Aglycone) หรือแอนโทไซยานิดิน โครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานิดินนั้น ประกอบด้วย คาร์บอน 6 อะตอม คาร์บอน 3 อะตอม คาร์บอน 6 อะตอม (C-6-C-3-C-6) เชื่อมต่อกันดังรูปที่ 2.3 แอนโทไซยานิดินแต่ละชนิดนั้นจะแตกต่างที่หมู่แทนที่ตรงตำแหน่ง 3' และ 5' (Markwell, Curtright, & Rynearson, 1996) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานิดินจะขึ้นอยู่กับพีเอชของสารละลาย ส่งผลให้สารละลายมีสีที่แตกต่างกันดังรูปที่ 2.4 (Li & Jiang, 2007) โดยให้สีแดงในสารละลายกรด สีม่วงในสารละลายกลาง และสีเขียวเหลืองในสารละลายเบส (Castaneda-Ovando, de Lourdes Pacheco-Hernández, Páez-Hernández, Rodríguez, & Galán-Vidal, 2009)

รูปที่ 2.2 ดอกกล้วยไม้พันธุ์ "*Dendrobium Sonia earsakul*"



Anthocyanidins	ตำแหน่ง R_1	ตำแหน่ง R_2
Pelargonidin	H	H
Cyanidin	H	OH
Delphinidin	OH	OH
Peonidin	OCH_3	H
Petunidin	OCH_3	OH
Malvidin	OCH_3	OCH_3

รูปที่ 2.3 โครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานิน



รูปที่ 2.4 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างแอนโทไซยานินที่สภาวะกรดและเบส

งานวิจัยก่อนหน้านี้ Torgils Fossen และคณะ (Fossen & Øvstedal, 2003) ศึกษาการสกัดแอนโทไซยานินจากดอกกล้วยไม้โดยอาศัยเมทานอลบริสุทธิ์เป็นตัวทำละลายและวิเคราะห์ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) พบว่าอนุพันธ์หลักของแอนโทไซยานินในดอกกล้วยไม้ประกอบด้วย cyanidin 3-O-(6”-O-malonyl-β-glucopyranoside), cyaniding 3-O-(6”-O-malonyl-β-rhamnopyranoside-β-glucopyranoside), caynidin 3-O-β-glucopyranoside, peonidin3-O-(6”-O-∝rhamnopyranosyl-β-glucopyranoside) และ peonidin3-O-(6”-*O*-malonyl-β-glucopyranoside). นอกจากนี้ Adelheid R. Kuehnle และคณะ (Kuehnle *et al.*, 1997) ศึกษาอนุพันธ์ของแอนโทไซยานินจากกล้วยไม้ 28 สายพันธุ์รวมถึงพันธุ์ลูกผสมด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) พบว่าดอกกล้วยไม้ที่มียีนส์แสดงออกเป็นสีฟ้าน้ำเงิน *D. gouldii* K280-6, *D. biggibum* และ *D. Kultana* มีอนุพันธ์ cyanidin และดอกกล้วยไม้ที่มีสีโอรสหรือแดง มีอนุพันธ์ anthocyanin คือ Pelargonidin เป็นต้น ปัจจุบันการเพาะปลูกกล้วยไม้พันธุ์ *“Dendrobium”* ในประเทศไทยสามารถทำได้ง่าย และราคาถูก (Peyachoknagul *et al.*, 2014) อย่างไรก็ตามการส่งขายดอกกล้วยไม้จำเป็นต้องคัดเลือกให้ได้ตามมาตรฐาน ทำให้มีดอกกล้วยไม้ที่ไม่ได้มาตรฐานถูกคัดทิ้งก่อนส่งขายตามท้องตลาดซึ่งสามารถนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ได้อีก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้นี้มาประยุกต์ในการวิเคราะห์ทางเคมี

2.3 สื่อการเรียนการสอนเรื่องสารละลายกรดเบส

สื่อการเรียนการสอนเป็นเครื่องมือส่งเสริมและสนับสนุนการจัดการกระบวนการเรียนรู้ให้ผู้เรียนเข้าถึงความรู้ ทักษะกระบวนการ และคุณลักษณะตามมาตรฐานของหลักสูตรได้อย่างมีประสิทธิภาพ สื่อการเรียนรู้มีหลากหลายประเภททั้งสื่อธรรมชาติ สื่อสิ่งพิมพ์ สื่อเทคโนโลยี และเครือข่ายการเรียนรู้ต่างๆ ที่มีในท้องถิ่น การเลือกใช้สื่อควรเลือกให้มีความเหมาะสมกับระดับพัฒนาการ และลีลาการเรียนรู้ที่หลากหลายของผู้เรียน ในการจัดทำ การเลือกใช้ และการประเมินคุณภาพสื่อการเรียนรู้ที่ใช้ในสถานศึกษาควรคำนึงถึงหลักการสำคัญของสื่อการเรียนรู้ เช่น ความสอดคล้องกับหลักสูตร วัตถุประสงค์การเรียนรู้ การออกแบบกิจกรรมการเรียนรู้ การจัดประสบการณ์ให้ผู้เรียน เนื้อหามีความถูกต้องและทันสมัย มีรูปแบบการนำเสนอที่เข้าใจง่าย และน่าสนใจ (ภาณุ วัตน์ เปรมปรี, 2014) ซึ่งหัวข้อเคมีกรดเบสถือเป็นอีกหนึ่งเนื้อหาที่มีความสำคัญ และถูกจัดให้เป็นส่วนหนึ่งในเนื้อหาการเรียนของนักเรียนในระดับมัธยมศึกษาปีที่ 1 กลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ เล่มที่ 1 โดยเนื้อหาประกอบด้วย สารละลายกรด สารละลายเบส การทดสอบความเป็นกรด-เบสของสารละลายที่พบในชีวิตประจำวัน เป็นต้น ซึ่งการทดสอบความเป็นกรด-เบสของสารละลายนี้ อาจใช้กระดาษลิตมัส (Litmus paper) หรือกระดาษยูนิเวอร์แซล (Universal paper) (สสวท., 2551) นอกจากการบรรยายเนื้อหาให้นักเรียนเข้าใจแล้ว การทำปฏิบัติการควบคู่กันไปก็ถือเป็นอีกหนึ่งวิธีที่ทำให้การเรียนการสอนมีประสิทธิภาพมากขึ้น อย่างไรก็ตามการจัดปฏิบัติการ ผู้สอนต้องเตรียมสารเคมีและอุปกรณ์อื่นๆ อีกมากมายให้เพียงพอกับผู้เรียน จึงอาจเป็นอีกหนึ่งเหตุผลที่ผู้สอนทำได้เพียงปฏิบัติการแบบสาธิตเท่านั้น ทำให้ผู้เรียนขาดโอกาสพัฒนาทักษะและกระบวนการคิดวิเคราะห์ ปัจจุบันจึงมีการผลิตสื่อการเรียนการสอนเรื่อง กรด-เบส หลากหลายเพื่อลดภาระของผู้สอน เช่น ชุดทดลองสำเร็จรูปเรื่องความเป็นกรด-เบส (pH Test Kit, Gammaco, Thailand) (Gammoco) โดยในชุดการทดลองนี้จะใช้กระดาษลิตมัสทดสอบ แม้จะบอกความเป็นกรด-เบสของสารละลายได้ แต่ยังไม่สามารถระบุค่าพีเอชของสารละลายนั้นๆ ได้ นอกจากนี้ยังมีชุดทดลองกรด-เบสอินดิเคเตอร์ (Acid-Base, Labbox, Thailand) (LABBOX) ซึ่งใช้กระดาษลิตมัสร่วมกับกระดาษยูนิเวอร์แซล ชุดการทดลอง Acids and Bases ของ Kemtec (Acids and Bases, Kemtec, USA) (innovative) การใช้กระดาษยูนิเวอร์แซลร่วมกับสารละลายยูนิเวอร์แซลอินดิเคเตอร์ อนุสิทธิบัตร 4476 เลขที่คำขอหมายเลข 0803000046 ได้กล่าวถึงชุดทดสอบความเป็นกรดด่างโดยใช้สารละลายยูนิเวอร์แซลอินดิเคเตอร์ ได้แก่ บรอมไทมอลบลู ครีซอลเพอร์เพิล ไทมอลบลู ฟีนอฟทาลีน ("ชุดทดสอบความเป็นกรดด่าง ", 2551) และชุดการทดลอง Properties of Acids and Bases Experiment ของ LAB-AIDS® Inc (Properties of Acids and Bases Experiment, Lab-Aids® Inc., USA) ประกอบด้วยชุดการทดลองปฏิกิริยาระหว่างกรด เบส และโลหะบางชนิด จากนั้นติดตามสารผลิตภัณฑ์ด้วยกระดาษลิตมัส

(Lab-Aids) จะเห็นว่าชุดการทดลองที่มีจำหน่ายอยู่ในปัจจุบันนี้ล้วนอาศัยกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากสารสังเคราะห์ทั้งสิ้น ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อเด็กนักเรียนหากไม่ได้อยู่ภายใต้การดูแลจากผู้สอนอย่างใกล้ชิด นอกจากนี้ชุดสื่อการเรียนการสอนดังกล่าวมีราคาสูง อาจไม่สามารถจัดหาให้เพียงพอต่อจำนวนนักเรียน จึงอาจปิดกั้นการเรียนรู้ขั้นพื้นฐานสำหรับนักเรียน งานวิจัยนี้จึงออกแบบกิจกรรมการเรียนรู้เรื่องเคมีกรดเบสและสร้างสื่อการเรียนการสอนเรื่องกรด-เบสอินดิเคเตอร์ โดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติ ซึ่งมีความปลอดภัย ลดการใช้สารเคมีที่อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย และการใช้สารจากธรรมชาตินี้ก็ส่งผลให้ชุดสื่อการเรียนการสอนมีราคาถูกลงด้วย

2.4 การวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยอาศัยสารสกัดจากธรรมชาติ

งานวิจัยที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมีความสำคัญในการพัฒนาที่ยั่งยืนของระบบการวิเคราะห์ทางเคมีที่ทันสมัย ปัจจุบันพบว่าสารเคมีสังเคราะห์บางกลุ่มก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย และหากกำจัดทิ้งโดยไม่มีการบำบัดที่ถูกต้องก็จะเป็นมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมด้วย จากปัญหาดังกล่าวจึงมีนักวิจัยหลายกลุ่มหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีสังเคราะห์มาใช้สารจากธรรมชาติแทน เช่น ใช้เป็นรีเอเจนท์เพื่อวิเคราะห์โลหะบางชนิด W. Khaodee และคณะ (Khaodee, Aeungmaitrepirom, & Tuntulani, 2014) นำสีที่สกัดจากกะหล่ำม่วงมาใช้ในการตรวจจับหา Cu(II), Pb(II), Al(III) และ Fe(III) ในขณะที่ S. Yang และคณะ (Yang *et al*., 2016) นำสีที่สกัดจากใบแปะก๊วยมาใช้ในการตรวจจับหา Cu(II) และ Asuquo E.D. และคณะ (Asuquo & Martin, 2016) ได้นำสีที่สกัดจากมันม่วงมาใช้ในการกำจัด Cd(II) นอกจากนี้การใช้สารสกัดจากธรรมชาติเป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์ก็เป็นที่นิยมเช่นกัน N. Chigurupati และคณะ (Chigurupati, Saiki, Gayser Jr, & Dash, 2002) นำสีที่สกัดจากกะหล่ำม่วงมาใช้เป็นเซนเซอร์วัดค่าความเป็นกรด-เบส ในกระบวนการสลายตัวของ chlorbutol พบว่าสี ที่สกัดได้มีประสิทธิภาพดีแม้จะใช้ความเข้มข้นเพียงแค่ 0.015% w/v เท่านั้น V.C. Bhagat และคณะ (Bhagat, Patil, Channekar, Shetty, & Akarte, 2008) ใช้น้ำสกัดสีจากดอกกุหลาบ (Rosa indica) โดยใช้เมทานอลเป็นตัวสกัดมาทดสอบการเป็นอินดิเคเตอร์สาหรับกรด-เบส

จากคุณสมบัติการเป็นกรด-เบส อินดิเคเตอร์ของสารจากธรรมชาตินี้สามารถนำมาใช้บอกจุดยุติของการไทเทรตได้ เช่น S. Singh และคณะ (Singh, Bothara, & Singh, 2011) ศึกษาคุณสมบัติของสีที่สกัดได้จากดอกไม้จำพวก Cassia aungostifolia Linn., Thevetiaperuviana (Pers.) K. Schum และThevetiathvetiodes (Kunth) K. Schum โดยใช้เอทานอลเป็นตัวสกัด พบว่าสามารถใช้เป็นพีเอชอินดิเคเตอร์บอกจุดยุติในการไตเตรทได้ F. O. Nwosu และคณะ (Nwosu, Adekola, & Ihedioha, 2004) นำสารสกัดจากพืชธรรมชาติอย่าง ชบาพันธ์สีแดง ดอกเฟื่องฟ้า และดอกกุหลาบมาใช้เป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ S.B. Patil และคณะ (Patil, Kondawar, Ghodke, Naikwade, & Magdum, 2009) อาศัยสารสกัดจากดอกยี่โถและดอกโพทะเล และ K.S. Pathade

และคณะ (Pathade, Patil, Kondawar, Naikwade, & Magdum, 2009) อาศัยสารสกัดจากหม่อนเป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์ ข้อดีของงานวิจัยที่มีการใช้สารจากธรรมชาติเหล่านี้คือ มีต้นทุนการวิเคราะห์ต่ำ และมีขั้นตอนการเตรียมง่าย และเพื่อให้การวิเคราะห์มีความเป็นอัตโนมัติมากขึ้น จึงมีงานวิจัยที่นำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ร่วมกับระบบการไหลอีกด้วย

2.5 หลักการของระบบไหลอัตโนมัติแบบโฟลอินเจคชัน (Flow Injection Analysis, FIA)

ระบบการไหลอัตโนมัติแบบโฟลอินเจคชัน (flow Injection Analysis, FIA) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์แบบอัตโนมัติอย่างต่อเนื่องโดยอาศัยปั๊มลูกรีด (peristaltic pump) ทำหน้าที่ลำเลียงสารละลายภายในระบบและเกิดปฏิกิริยาเคมีระหว่างสารที่ต้องการวิเคราะห์ (Analyte) ในตัวอย่างและรีเอเจนท์ ทำการทดลองโดยการฉีดสารตัวอย่างผ่านวาล์ว (injection valve) ที่ปริมาตรคงที่เข้าสู่รีเอเจนท์ หรือกระแสตัวพา (carrier stream) ที่มีการไหลของสารละลายอย่างต่อเนื่องและทำให้เกิดท่อนโซนปฏิกิริยาที่บริเวณท่อผสมสาร (mixing coil) เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ ซึ่งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพหรือทางเคมี จากนั้นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะถูกส่งผ่านเข้าสู่โฟลเซล (Flow cell) ของส่วนตรวจวัดต่างๆ (detector system) เช่น วัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer, atomic absorption spectrometer) วัดการวาวแสงและการเรืองแสง (spectrofluorometer) และวัดสัญญาณทางไฟฟ้า เป็นต้น ซึ่งงานวิจัยนี้ใช้ spectrophotometer ตรวจวัดสัญญาณการดูดกลืนแสง spectrophotometer ทำงานโดยอาศัยหลักการดูดกลืนรังสีของสารที่อยู่ในช่วง Ultra violet (UV) และ Visible (VIS) ความยาวคลื่นประมาณ 190-1000 nm ส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน หรือสารอนินทรีย์ ทั้งที่มีสีและไม่มีสี สารแต่ละชนิดจะดูดกลืนรังสีในช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกันและปริมาณการดูดกลืนรังสีก็ขึ้นอยู่กับความเข้มของสารนั้น การดูดกลืนแสงของสารต่างๆ เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสาร จึงสามารถวิเคราะห์ได้ในเชิงคุณภาพและปริมาณ เป็นเทคนิคที่ให้สภาพไวที่ดี และใช้กันอย่างแพร่หลาย ใช้งานง่ายและเป็นเครื่องมือพื้นฐานของห้องปฏิบัติการทั่วไป

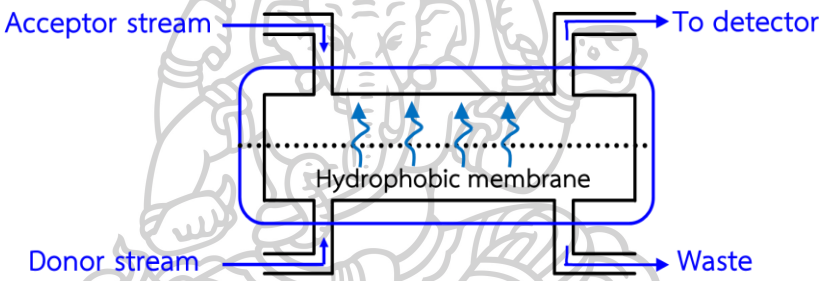
2.5.1 การใช้สารสกัดจากธรรมชาติร่วมกับระบบการไหล

ปัจจุบันงานวิจัยที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมีความสำคัญในการพัฒนาที่ยั่งยืนของระบบการวิเคราะห์ทางเคมีที่ทันสมัย งานวิจัยก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่ามีการใช้สารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ในงานวิเคราะห์ทางเคมีร่วมกับระบบการไหล เช่น นำสารสกัดจากใบฝรั่ง ดอกกล้วยไม้ อัญชันและบีทรูท มาใช้เป็นรีเอเจนท์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก (Settheeworrarit *et al., 2005)* (Grudpan, Hartwell, Wongwilai, Grudpan, & Lapanantnoppakhun, 2011) T. Sopa และคณะ (Tontrong, Khonyoung, & Jakmunee, 2012) นำสารสกัดจากรากยอมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณอลูมิเนียมในชาตัวอย่าง S. Sam-ang และคณะ (Supharoek, Ponhong, &

Grudpan, 2017) นำสารสกัดจากฟักทองวิเคราะห์หาปริมาณ Benzoyl peroxide ในผลิตภัณฑ์รักษาสิว และ P. Sysay และคณะนำสารสกัดจากพืชใบเขียววิเคราะห์ปริมาณ Doxycycline ในผลิตภัณฑ์ยา (Palamy & Ruengsitagoon, 2017) เป็นต้น

2.5.2 อุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน (Gas diffusion unit, GD)

เพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจงสำหรับการวิเคราะห์ด้วยระบบการไหลจึงมีการนำอุปกรณ์คัดเลือกแก๊ส (gas diffusion unit, GD) มาใช้ร่วมกับระบบ FIA ภายใน GD ประกอบด้วยเมมเบรนชนิด hydrophobic ทำมาจาก polytetrafluoroethylene (PTFE, Teflon) ขนาด 47 mm และขนาดรูพรุน 0.45 µm ซึ่งมีคุณสมบัติคือ ยอมให้สารที่มีขั้วน้อยหรือไม่มีขั้วแพร่ผ่าน รวมถึงสารโมเลกุลนั้นต้องมีขนาดเล็กกว่ารูพรุนของเมมเบรนด้วย การแพร่ผ่านของแก๊สภายในอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชันเป็นดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 การแพร่ผ่านของแก๊สภายในอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน

เมื่อฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าสู่ระบบการไหลอัตโนมัติแบบโฟลอินเจคชัน สารละลายตัวอย่างจะทำปฏิกิริยาเกิดเป็นแก๊สที่กระแสตัวให้ (Donor stream) จากนั้นแก๊สที่เกิดขึ้นจะแพร่ผ่านไฮโดรโฟบิคเมมเบรนของอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน และละลายลงในกระแสตัวรับ (Acceptor stream) ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีหรือกายภาพของสารละลายตัวรับ และไหลเข้าสู่ส่วนตรวจวัดแล้วแสดงผลไปยังหน้าจอคอมพิวเตอร์ งานวิจัยที่ผ่านมานิยมใช้อุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชันร่วมกับระบบการไหลอัตโนมัติแบบโฟลอินเจคชัน เพื่อวิเคราะห์หาคาร์บอนไดออกไซด์ (Ljunggren & Karlberg, 1995) ซัลเฟอไดออกไซด์หรือซัลไฟด์ (Thanh, Decnop-Weever, & Kok, 1994) รวมถึงแอมโมเนีย (Hong, Sun, & Wang, 2009) (Chaneam *et al.*, 2018) เป็นต้น

2.6 กรดอะซิติก

กรดอะซิติก (Acetic acid) หรือกรดน้ำส้มเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่เป็นของเหลวใสไม่มีสี มีสูตรทางเคมี คือ CH_3COOH มีการนำกรดอะซิติกไปใช้อย่างหลากหลายเช่น ทางด้านการผลิตพลาสติก สีย้อม ยาฆ่าแมลง กาว และการสังเคราะห์โพลิเมอร์ เป็นต้น ในทางอุตสาหกรรมกรดอะซิติกถูกนำมาเป็นตัวทำละลายในกระบวนการผลิตสารการบูร (Camphor) ทางเภสัชกรรมกรด

อะซิติกสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรียได้ในระดับหนึ่ง ในทางอุตสาหกรรมอาหารมีการนำกรดอะซิติกมาใช้ในการควบคุมระดับพีเอชเพื่อปรับรสชาติของอาหาร อย่างไรก็ตามกรดอะซิติกมีฤทธิ์ในการกัดกร่อนซึ่งอาจทำให้เกิดโรคกระเพาะอาหารได้ ในประเทศไทยมีการกำหนดระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูจากกระทรวงสาธารณสุข พบว่าเกณฑ์ความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่นควรมีความเข้มข้นของกรดอะซิติกไม่น้อยกว่า 4% w/v ในขณะที่น้ำส้มสายชูเทียมควรมีความเข้มข้นของกรดอะซิติกอยู่ระหว่าง 4% ถึง 7% w/v (Health, 2000) ปัจจุบันมีการผลิตชุดตรวจสอบปริมาณกรดน้ำส้มในน้ำส้มสายชู (enterprise.co.Ltd) และยังถูกจัดให้เป็นเนื้อหาการเรียนแบบปฏิบัติการเพื่อสอดแทรกเทคนิคการใช้เครื่องแก้วต่างๆ รวมไปถึงการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชู (Mendham, 2009) งานวิจัยก่อนหน้านี้ได้มีการวิเคราะห์หาปริมาณของกรดอะซิติก เช่น R. Ghorbani และคณะ (Ghorbani, Ghasemi, & Abdollahi, 2006) วิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติก monochloroacetic และ trichloroacetic พร้อมกันโดยอาศัยการไทเทรตและติดตามการเปลี่ยนแปลงโดยการวัดค่าการนำไฟฟ้า (conductometric titration) Andoni Zuriarain และคณะ (Zuriarrain, Zuriarrain, Puertas, Dueñas, & Berregi, 2015) วิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติกและกรดแลกติกในตัวอย่างเครื่องดื่มแฮลกอฮอลล์โดยอาศัยเทคนิค NMR Spectrometry และ Dandan Zhou และคณะ (Zhou, Hou, Liu, & Ren, 2017) วิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติกและกรดฟอร์มิกในชีวมวลโดยอาศัยเทคนิค Headspace gas chromatography นอกจากนี้ได้มีการวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกโดยอาศัยระบบไหลอัตโนมัติ เช่น Kittipong Choojit และคณะ (Choojit) วิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติกในน้ำหมักน้ำส้มสายชู Narong Lenghor และคณะ (Lenghor *et al.*, 2002) วิเคราะห์ปริมาณของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูตัวอย่างและกรดแอสคอร์บิกในยาวิตามินซีตัวอย่างโดยอาศัยเทคนิคการไทเทรตร่วมกับระบบไหลอัตโนมัติแบบซีเควนเชียลอินเจคชัน (Sequential injection analysis, SIA) และตรวจวัดด้วยวิธีทางแสง (Spectrophotometric method) Fumio Mizutani และคณะ (Mizutani, Hirata, Yabuki, & Iijima, 2003) วิเคราะห์หาปริมาณของกรดอะซิติกในตัวอย่างอาหารโดยอาศัยส่วนตรวจวัดแบบอิเล็กโทรดที่มีเมมเบรนสองชั้นทำมาจาก trienzyme/poly (dimethylsiloxane) นอกจากนี้ C.S. Tavares Araújo และคณะ (Araújo, De Carvalho, Mota, De Araujo, & Coelho, 2005) วิเคราะห์หาปริมาณของซัลไฟต์และกรดอะซิติกในตัวอย่างอาหารโดยอาศัยระบบไหลอัตโนมัติร่วมกับอุปกรณ์คัดเลือกแก๊ส และ Sam-ang และคณะ (Supharoek, Ponhong, Siriangkhawut, & Grudpan, 2018) นำสารสกัดจากขมิ้นชันผสมกับปูนขาวโดยอาศัยคุณสมบัติ กรด-เบส อินดิเคเตอร์และติดตามการเปลี่ยนแปลงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 455 nm โดยอาศัย

ระบบไหลอัตโนมัติแบบซีเควนเชียลอินเจคชัน (Sequential injection analysis, SIA) สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูตัวอย่าง

การวิเคราะห์หาปริมาณของกรดอะซิติกด้วยวิธีมาตรฐาน AOAC คือการไทเทรทแบบแบทช์ (Batch) จะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างกรดอะซิติกกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์และใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ซึ่งวิธีมาตรฐานนี้เป็นวิธีที่สะดวก วิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็ว และมีความน่าเชื่อถือ (Horwitz, 2000) นอกจากการใช้สารสังเคราะห์เป็นอินดิเคเตอร์ สามารถใช้การไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี ซึ่งอาจมีการใช้เครื่องมือสำหรับระบุพีเอชของสารละลายในการไทเทรตอย่างพีเอชมิเตอร์ (pH meter) แต่อย่างไรก็ตามหากสามารถหลีกเลี่ยงการใช้อินดิเคเตอร์ที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์และหลีกเลี่ยงการใช้เครื่องมือที่ราคาสูงมาใช้สารสกัดจากธรรมชาติ นอกจากจะทำให้การวิเคราะห์มีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และยังช่วยลดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ให้ถูกลงมากอีกด้วย ผู้วิจัยจึงสนใจใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้พันธุ์ *“Dendrobium Sonia earsakul”* ซึ่งมีรงควัตถุแอนโทไซยานินมาเป็นอินดิเคเตอร์เพื่อบอกจุดยุติของการไทเทรตเพื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติก

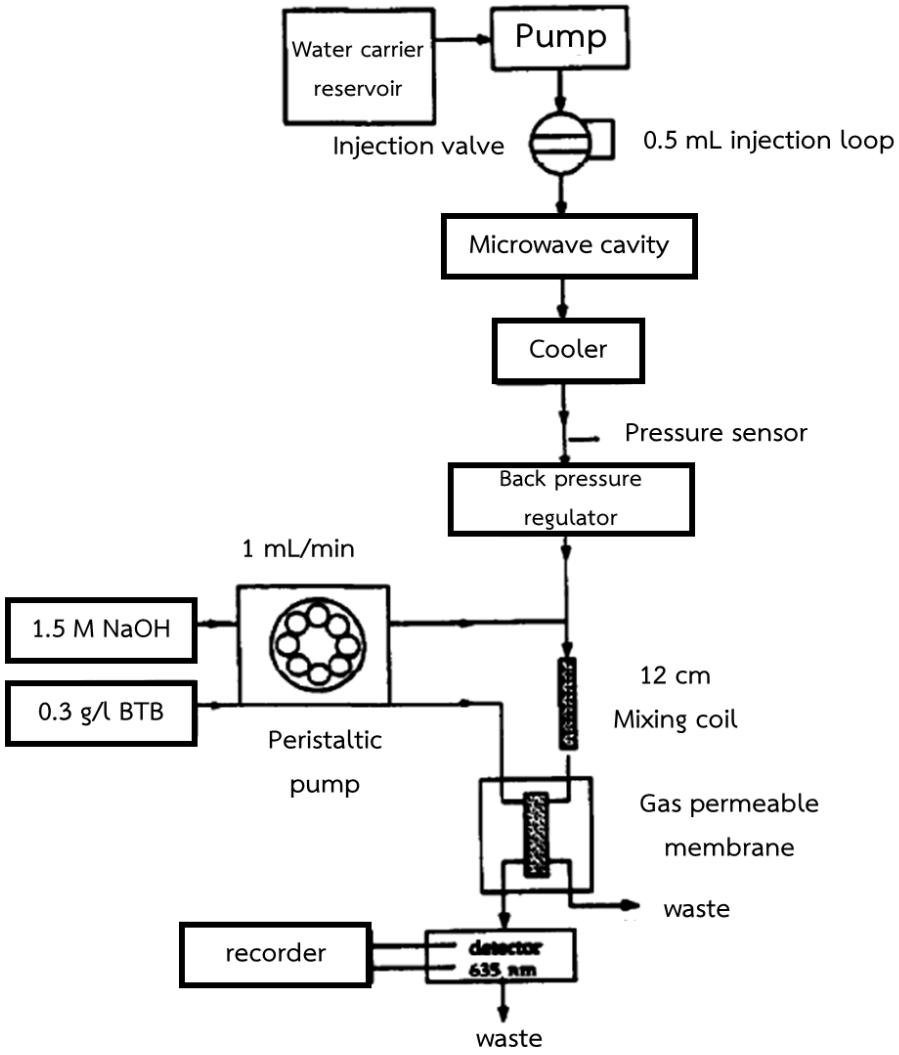
2.7 แอมโมเนียมไนโตรเจน

แอมโมเนียมไนโตรเจนสามารถพบได้ทั้งในรูปของ แอมโมเนีย (NH_3) และแอมโมเนียม (NH_4^+) ขึ้นกับพีเอชของสารละลาย โดยแอมโมเนียที่พบในสิ่งแวดล้อมนั้นสามารถเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติจากการสลายตัวของสารอินทรีย์จากการเผาผลาญโปรตีนและการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียบางชนิด นอกจากนี้ด้านอุตสาหกรรมมีผลิตแอมโมเนียโดยอาศัยกระบวนการฮาเบอร์ผ่านปฏิกิริยาระหว่างไนโตรเจนและไฮโดรเจน ซึ่งแอมโมเนียที่ผลิตได้สามารถนำไปใช้งานต่างๆ อย่างแพร่หลาย เช่น นำไปใช้เป็นสารอัลคาไลน์สำหรับใช้ทำความสะอาด หรือนำไปใช้เป็นสารหล่อเย็นและใช้ในการผลิตปุ๋ยไนโตรเจน

ปุ๋ยไนโตรเจนเป็นปุ๋ยเคมีที่ให้ธาตุไนโตรเจนเป็นธาตุหลัก จะทำหน้าที่ช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ดี มีลำต้นและใบที่แข็งแรง ส่วนใหญ่จะพบในรูปของเกลือแอมโมเนียม ปุ๋ยเคมีแบ่งได้เป็น 3 ประเภทคือ 1. ปุ๋ยเดี่ยวหรือแม่ปุ๋ย (straight fertilizer) เป็นสารประกอบที่มีธาตุอาหารของพืชอยู่หนึ่งหรือสองธาตุ และมีปริมาณธาตุอาหารคงที่ เช่น ปุ๋ยยูเรียและปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต เช่น ปุ๋ยสูตร 46-0-0, 15-0-0 และ 21-0-0 เป็นต้น 2. ปุ๋ยผสม (mixed fertilizer) เป็นปุ๋ยที่ได้จากการนำปุ๋ยเดี่ยวแต่ละชนิดมาผสมกันเพื่อให้ได้สัดส่วนของธาตุอาหาร N P และ K ตามต้องการ เช่น ปุ๋ยสูตร 15-15-15, 16-20-0 และ 15-20-15 เป็นต้น 3. ปุ๋ยเชิงประกอบ (compound fertilizer) เป็นปุ๋ยเคมีที่ผลิตขึ้นด้วยกระบวนการทางเคมีที่ประกอบ ด้วยธาตุปุ๋ยอย่างน้อยสองธาตุขึ้นไป ซึ่งธาตุปุ๋ยชนิดต่างๆจะอยู่รวมกันในสารประกอบเดียวกัน เช่น สารประกอบหรือ แม่ปุ๋ยโพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3)

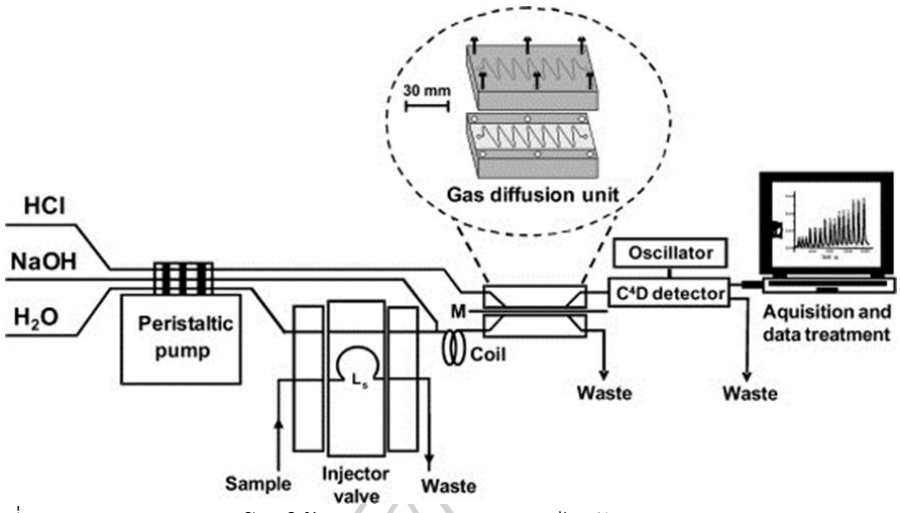
ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต [$(NH_4)_2HPO_4$] และโพแทสเซียมเมตาฟอสเฟต (KPO_3) เป็นต้น โดยปัจจุบันมีการผลิตปุ๋ยปริมาณมากและเป็นที่ต้องการสำหรับใช้ในเกษตรกรรม จึงส่งผลทำให้มีการผลิตและการค้าปุ๋ยปลอม รวมไปถึงปุ๋ยที่มีคุณภาพต่ำ ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในประเทศเกษตรกรรม เช่น กัมพูชา เวียดนามและจีน นอกจากนี้เมื่อมีการใช้ปุ๋ยในปริมาณมากขึ้นจากกิจกรรมทางการเกษตรย่อมทำให้เกิดการตกค้างของแอมโมเนียมในดิน และถูกชะล้างลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ นำไปสู่การปนเปื้อนของแอมโมเนียมในแหล่งน้ำทางธรรมชาติบริเวณพื้นที่ใกล้เคียงได้ ส่งผลต่อสุขภาพและปัญหาสิ่งแวดล้อม (WHO 1996 Guidelines for Drinking Water Quality, 1989)

ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีวิธีสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน วิธีมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์หาไนโตรเจนทั้งหมดเรียกว่า Kjeldahl method อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีขั้นตอนยุ่งยาก ใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย และใช้เป็นเวลานาน จึงมีหลายงานวิจัยพัฒนาวิธีมาตรฐาน Kjeldahl method ยกตัวอย่างเช่น D. Abrams และคณะ นำคอปเปอร์ซัลเฟตมาใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) เพื่อช่วยลดระยะเวลาในการวิเคราะห์ นอกจากนี้การวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียด้วยวิธีวิเคราะห์ทางแสงสามารถทำได้โดยใช้วิธีเนสเลอร์ (Nessler's method) โดยใช้เนสเลอร์รีเอเจนท์ทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียได้ตะกอนสีเหลืองส้ม หรือน้ำตาล ขึ้นกับปริมาณแอมโมเนียที่มีอยู่ และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นในช่วง 400-425 นาโนเมตร (Jeong, Park, & Kim, 2013) หรือใช้วิธีฟีเนต (Phenate method) โดยการเติมสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์และฟีนอลลงในตัวอย่างเพื่อให้ทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียที่ละลายอยู่ และมีโซเดียมไนโตรปรัสไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เพื่อให้เกิดสารละลายสีฟ้าหรือน้ำเงินเข้ม วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร (จำรูญ จิรัฏฐิติ, อรดี แจ่มอุลิตรัตน์, & นภาพร วิศวกุล) และเพื่อให้วิธีวิเคราะห์เป็นอัตโนมัติมากขึ้น มีการใช้ระบบการไหลมาวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียเช่นกัน โดยติดตามการเปลี่ยนสีของอินโดฟีนอล (indophenol) (Oliveira, da Silva Lopes, Tóth, & Rangel, 2009) หรือติดตามแสงฟลูออเรสเซนท์โดยใช้วิธีโอพีเอ (*o*-phthaldehyde, OPA) (H. Mana & Spohn, 2000) (H. Mana & Spohn, 1996) การวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียสามารถทำได้โดยโดยใช้ระบบการไหลแบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส (Luo, Al-Othman, Christian, & Ruzicka, 1995) และวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียในยูเรีย เลือด เบียร์ วัสดุก่อสร้าง และแหล่งน้ำตัวอย่าง (Walcerz, Glab, & Koncki, 1998) (Chow, Lane, Yeow, Davey, & Mulcahy, 1997) (Wang, Cardwell, Cattrall, Luque de Castro, & Kolev, 2003) (Šraj, Almeida, Swearer, Kolev, & McKelvie, 2014) (Timofeeva, Bulatov, Moskvin, & Kolev, 2015) (Liang, Yan, Guo, Xu, & Hu, 2016) นอกจากนี้มีการใช้ระบบการไหลอัตโนมัติแบบโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชันโดยอาศัย bromothymolblue เป็นรีเอเจนท์ (Schmitt, Buttle, & Uglow, 1993) แสดงแผนผังอย่างง่ายของระบบที่ใช้ดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 แผนผังระบบการไหลอัตโนมัติแบบโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย (Schmitt *et al.*, 1993)

และ Henrique L. และคณะ (Henríquez, Horstkotte, & Cerdà, 2013) นำอุปกรณ์คัดเลือกแก๊ส (Gas diffucsion unit, GD) ร่วมกับระบบไหลอัตโนมัติ (Flow injection analysis, FIA) เพื่อวิเคราะห์สารประกอบไนโตรเจน ได้แก่ การหาปริมาณแอมโมเนียมไอออนในน้ำฝน โดยศึกษาจากการเปลี่ยนแปลงของแอมโมเนียมไอออนเป็นแอมโมเนียในสารละลายเบสจากนั้นแอมโมเนียแพร่ผ่าน GD แล้วละลายใน acceptor stream ที่เป็นสารละลายกรดแล้วตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าที่เกิดขึ้น ระบบ FIA และ GD แสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 ระบบ GD-FIA โดยใช้ส่วนตรวจวัดค่าการนำไฟฟ้า (Henríquez *et al.*, 2013)

จากงานวิจัยทั้งหมดที่กล่าวมาจะเห็นว่าระบบไหลอัตโนมัติ และอุปกรณ์คัดเลือกแก๊สทำให้การวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนมีความสะดวก เป็นอัตโนมัติ และมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามยังไม่มีการใช้สารสกัดจากธรรมชาติร่วมกับระบบไหลดังกล่าว ผู้วิจัยจึงสนใจใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้พันธุ์ *“Dendrobium Sonia earsakul”* เป็นรีเอเจนท์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนโดยอาศัยหลักการวิเคราะห์ด้วยระบบไหลอัตโนมัติแบบโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน

บทที่ 3
เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

- เครื่อง Spectrofluorometer
  (ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น LS55, สหรัฐอเมริกา)
- เครื่อง UV-Visible spectrophotometer
  (ยี่ห้อ Agilent รุ่น HP-8453, สหรัฐอเมริกา)
- เครื่อง UV-Visible spectrophotometer
  (ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Lambda 35, สหรัฐอเมริกา)
- เครื่อง UV-Visible spectrophotometer
  (ยี่ห้อ Agilent รุ่น Cary 60, สหรัฐอเมริกา)
- เครื่องกวนแม่เหล็ก (Magnetic stirrer)
  (ยี่ห้อ Diligent รุ่น ST-EC, ไทย)
- เครื่องกวนแม่เหล็กพร้อมควบคุมอุณหภูมิ (Hot plate stirrer)
  (ยี่ห้อ IKA รุ่น C-MAG HS7, สาธารณรัฐประชาชนจีน)
- เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
  (ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น PB303, สวิตเซอร์แลนด์)
- เครื่องวัด pH (pH meter)
  (ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น F20, สวิตเซอร์แลนด์)
- เครื่อง Peristaltic pumps
  (ยี่ห้อ Ismatec REGLO Analog 4-Ch Var-Speed pump, สวิตเซอร์แลนด์)

3.2 วัสดุ อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

- Injection valve (ยี่ห้อ Upchurch Scientific®(V-540), สาธารณรัฐอเมริกา)
- Gas Diffusion Unit: PTFE membrane เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 47 mm และรูพรุนขนาด 0.45μm (ยี่ห้อ Sartorius, เยอรมนี)
- Quartz cell ขนาด 3 mL, optical length = 1cm
- Flow through cell ปริมาตร 80 μL (ยี่ห้อ Helima, เยอรมนี)
- กระดาษกรอง (Filter paper No.1) (ยี่ห้อ Wintech, ญี่ปุ่น)
- กระบองตวง (Measuring cylinder) ขนาด 10 และ 100 mL

- กรวยกรอง (Glass funnel)
- ขาตั้ง (Metal stand)
- เข็มฉีดยา (Syring) ขนาด 1 mL
- ขวดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 50.00, 100.00, 250.00 mL
- ช้อนตักสาร (Spatula)
- ที่จับบิวเรต (Burette clamp)
- แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)
- นาฬิกาจับเวลา (Watch)
- บิวเรต (Burette) ขนาด 50.00 mL
- บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50, 100, 250, 500 mL
- ปิเปต (Pipette) ขนาด 5.00, 10.00 mL
- ผ้าขาวบาง (Cheesecloth)
- ไมโครปิเปตของ RAININ รุ่น Pipet-Lite XLS ขนาด 500-5000 µL
- ไมโครปิเปตของ RAININ รุ่น Pipet-Lite XLS ขนาด 100-1000 µL
- ไมโครปิเปตของ RAININ รุ่น Pipet-Lite XLS ขนาด 20-200 µL
- ลูกยางสำหรับปิเปต (Pipette bulb)
- หลอดหยด (Dropper)

3.3 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

ตารางที่ 3.1 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

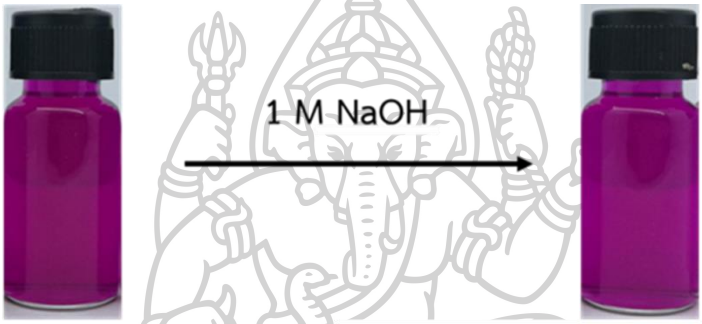
สารเคมี	มวลโมเลกุล	บริษัทผู้ผลิต	เกรด
NH_4Cl	53.49	CARLO ERBA	Analytical Reagent
NaOH	40.00	CARLO ERBA	Analytical Reagent
H_2SO_4	98.078	FLUKA	Reagent grade
$NaHCO_3$	84.01	FLUKA	ACS reagent
o-Phthalaldehyde	134.13	TCI	HPLC grade
Mercaptoethanal	78.13	FLUKA	Analytical Reagent
Boric acid	61.83	UNIVAR	Analytical Reagent
HCl	36.47	RCI Labscan	Reagent grade
Acetic acid	60.05	SIGMA-ALDRICH	99.98%

3.4 การเตรียมสารละลายและสารตัวอย่าง

3.4.1 การเตรียมสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สำหรับวิเคราะห์เชิงปริมาณ

- การเตรียมสารสกัดจากกล้วยไม้

ชั่งดอกกล้วยไม้ที่ตากแห้งด้วยโรงอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ (Kaewkiew, Nabnean, & Janjai, 2012) (Janjai, Intawee, Kaewkiew, Sritus, & Khamvongsa, 2011) มา 10.00 g นำมาต้มกับน้ำปริมาตร 100.0 mL ให้เดือดเป็นเวลา 15 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองจะได้สารละลายใสสีม่วงสด นำไปใช้สำหรับไทเทรตหาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติก สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนด้วยระบบ GD-FIA ให้นำสารสกัดจากกล้วยไม้ที่สกัดได้ขั้นต้นทำการเจือจางสารละลาย 10 เท่า ด้วยน้ำกลั่นและปรับพีเอชให้ได้ 5.0 ด้วย 1 M โซเดียมไฮดรอกไซด์



สีของสารสกัดหลังจากเจือจาง 10 เท่า **สีของสารสกัดหลังจากเจือจาง 10 เท่าและปรับพีเอชของสารละลายเท่ากับ 5**

รูปที่ 3.1 สีสารละลายสารสกัดจากดอกกล้วยไม้

3.4.2 สารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกด้วยวิธีไทเทรต

- สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนทาเลต (Potassium hydrogen phthalate, KHP)

เตรียมโดยชั่งสารละลายมาตรฐาน KHP 7.6583 g ละลายน้ำแล้วปรับปริมาตรเป็น 250.00 mL จะได้สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนทาเลตเข้มข้น 0.1500 M

- สารละลาย 0.15 M โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH)

เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.50 g ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 250.00 mL

- สารละลาย 0.150 M กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl)

เตรียมโดยปิเปตสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้น 12 M ปริมาตร 3.13 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 250.00 mL

- สารละลาย 0.150 M กรดอะซิติก (Acetic acid, CH_3COOH)

เตรียมโดยปิเปตสารละลายกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 6 M ปริมาตร 6.25 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 250.00 mL

- การเตรียมน้ำส้มสายชูตัวอย่าง (Vinegar sample)

งานวิจัยนี้มีตัวอย่างสองประเภท ประเภทแรกคือ น้ำส้มสายชูตัวอย่างซื้อจากร้านค้าทั่วไป เตรียมโดยปิเปตสารละลายตัวอย่าง 10.00 mL จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชู และประเภทสองคือ น้ำส้มสายชูตัวอย่างที่มาจากเครื่องปรุงจากร้านก๋วยเตี๋ยว เตรียมโดยนำสารละลายตัวอย่างไปกรองด้วยกระดาษกรองก่อนปิเปตสารละลายตัวอย่าง 10.00 mL เพื่อนำไปไทเทรตวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด

3.4.3 สารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนด้วยระบบ GD-FIA

- สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammomium chloride, NH_4Cl)

เตรียมโดยชั่งแอมโมเนียมคลอไรด์ 1.3373 g ละลายน้ำแล้วปรับปริมาตรเป็น 250.00 mL จะได้สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์เข้มข้น 1.0000 M จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 30 และ 40 mM สำหรับสร้างกราฟมาตรฐานดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ปริมาตรที่ปิเปตจากสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ 1.0 M (mL)	ปริมาตรสุดท้าย (mL)	ความเข้มข้นสุดท้าย (mM)
2.50	50.00	5.00
5.00		10.00
7.50		15.00
10.00		20.00
15.00		30.00
20.00		40.00

- สารละลาย 0.1 M sodium hydroxide (NaOH)

เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.00 g ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 250.00 mL

- สารละลาย *o*-Phthalaldehyde (OPA) สำหรับวิธีอ้างอิง

นำ 7.5 mM OPA ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ 0.4 M sodium borate ปริมาตร 250.00 mL จากนั้นทำการปรับพีเอชของสารละลายให้เท่ากับ 10.6 และเติม 30 mmol mercaptoethanal และปรับพีเอชของสารละลายให้เท่ากับ 10.6 อีกครั้งด้วย 5M sodium hydroxide (NaOH) และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 250.00 mL

- การเตรียมตัวอย่างปุ๋ย

ตัวอย่างปุ๋ยเคมีซื้อจากร้านขายปุ๋ยทั่วไป เตรียมโดยชั่งปุ๋ย 0.1xxx g ละลายน้ำ กรองด้วยกระดาษกรอง แล้วปรับปริมาตรเป็น 50.00 mL

- การเก็บน้ำตัวอย่างน้ำทิ้งจากการเกษตร

การเก็บน้ำตัวอย่างในงานวิจัยนี้จะใช้การเก็บน้ำแบบจ้วงตัก (Grab Sample) ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกที่สุด โดยจะเก็บน้ำตัวอย่าง ณ สถานที่และเวลาใดเวลาหนึ่ง วิธีการเก็บน้ำตัวอย่างมีขั้นตอนดังรูปที่ 3.2

รูปที่ 3.2 วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำ (สำนักงานและพัฒนากรมชลประทาน, 2550)

ตารางที่ 3.3 ตัวอย่างแหล่งน้ำทิ้งจากการเกษตรที่นำมาวิเคราะห์

ตัวอย่าง	แหล่งที่มาของน้ำทิ้งจากการเกษตร
1	น้ำทิ้งจากฟาร์มเลี้ยงไก่
2	น้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรร่อง 1
3	น้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรร่อง 2
4	บ่อน้ำเลี้ยงปลาดุก
5	บ่อพักน้ำเลี้ยงสุกร
6	บ่อน้ำหมักเข้มข้น
7	น้ำทิ้งบ่อพักฟาร์มสุกร
8	สระแก้ว มหาวิทยาลัยศิลปากร

- การเตรียมตัวอย่างน้ำทิ้งจากการเกษตร

เมื่อเก็บตัวอย่างจากแหล่งน้ำทิ้งจากการเกษตรโดยวิธีดังรูปที่ 3.2 ก่อนนำมาวิเคราะห์ต้องกรองน้ำตัวอย่างด้วยกระดาษกรองก่อนเพื่อกำจัดตะกอนและสารแขวนลอยอื่นๆ ในน้ำที่อาจรบกวนการวิเคราะห์ โดยการเตรียมตัวอย่างน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรร่อง1 (2) น้ำทิ้งจากฟาร์มสุกรร่อง2 (3) และบ่อน้ำหมักเข้มข้น (6) จะทำการเจือจางตัวอย่าง 10 เท่า เพื่อให้อยู่ช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้น

3.5 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.5.1 กิจกรรมการเรียนรู้เรื่องเคมีกรดเบสโดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติ

งานวิจัยส่วนนี้มุ่งศึกษาประสิทธิภาพการจัดกิจกรรมผ่านการใช้สื่อการเรียนการสอนและศึกษาผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนเรื่องเคมีกรดเบสของนักเรียนโดยมีวิธีการดำเนินงานดังนี้

3.5.1.1 แหล่งข้อมูลที่ใช้ในการทดลอง

ประชากรคือ นักเรียนเข้าร่วมโครงการค่ายวิทยาศาสตร์ (Chemistry in school)

กลุ่มตัวอย่างคือ นักเรียนที่เข้าร่วมโครงการค่ายวิทยาศาสตร์ (Chemistry in school) จาก 2 โรงเรียนคือ โรงเรียนวัดห้วยจระเข้ จังหวัดนครปฐม สังกัดสำนักงานเขตพื้นที่การศึกษาประถมศึกษานครปฐม เขต 2 และโรงเรียนอรุณประดิษฐ์ จังหวัดเพชรบุรีที่ได้มาจากการสุ่มแบบกลุ่ม (Cluster random sampling) โดยใช้โรงเรียนเป็นหน่วยของการสุ่มรวมทั้งหมดจำนวน 62 คน ซึ่งนักเรียนทั้งหมดผ่านการเรียนเรื่องสารละลายกรดและเบสโดยการสอนจากครูที่โรงเรียนมาแล้ว

3.5.1.2 ตัวแปรที่ศึกษา

ตัวแปรต้น ได้แก่ การจัดกิจกรรมการเรียนรู้ผ่านชุดสื่อการเรียนการสอนที่สร้างขึ้น

ตัวแปรตาม ได้แก่ ผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนเรื่องเคมีกรดเบส

3.5.1.3 ออกแบบกิจกรรมให้ครอบคลุมเนื้อหาเรื่องเคมีกรดเบส

ประกอบด้วยหัวข้อดังต่อไปนี้

1. ดึงความสนใจและกระตุ้นให้คิด ทำการศึกษาโดยเริ่มต้นกิจกรรมด้วยการแสดง Science Show ที่มีเนื้อหาเกี่ยวกับกรด-เบสอินดิเคเตอร์ที่จะสามารถเปลี่ยนสีจากสารละลายใสไม่มีสีไปเป็นสีต่างๆ คล้ายการแสดงมายากลเพื่อสร้างความตื่นเต้นและดึงดูดความสนใจจากนักเรียน

2. ทดสอบความรู้ก่อนเรียน ทำการศึกษาโดยให้นักเรียนทำแบบทดสอบก่อนเรียน (Pre-test) เพื่อให้ทราบความรู้พื้นฐานของผู้เรียนในหัวข้อเรื่องเคมีกรดเบส โดยแบบทดสอบที่สร้างขึ้นประกอบไปด้วย 3 ส่วน คือ แบบทดสอบวัดผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนด้านการจำและการนำไปใช้ในรูปแบบทั้งอัตนัยและปรนัย รวมทั้งหมด 7 ข้อ ระยะเวลาทำแบบทดสอบ 10 นาทีจากนั้นวิเคราะห์ข้อมูลแบบทดสอบก่อนเรียนโดยใช้ค่าเฉลี่ย ($\overline{X}$) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

3. ทบทวนความรู้ ทำการศึกษาโดยอาศัยการถาม-ตอบเกี่ยวกับคุณสมบัติกรดเบสกับนักเรียน จากนั้นผู้วิจัยจะให้ผู้เรียนแบ่งเป็นกลุ่มๆละ 3-5 คน โดยจะให้แต่ละกลุ่มได้ระดมความคิดเกี่ยวกับคุณสมบัติกรดเบส แล้วให้ผู้เรียนนำคุณสมบัติที่ได้มาใช้ทำนายความเป็น กรด กลาง เบส ของสิ่งของที่พบในชีวิตประจำวัน ได้แก่ กาแฟ น้ำส้มสายชู น้ำอัดลม น้ำยาล้างห้องน้ำ เลือด ไข่ไก่ อมยิ้ม นม น้ำปลา น้ำเกลือ ผงชูรส ยาสีฟัน แชมพูสระผม ยาลดกรด และปุ๋ยแอมโมเนีย ผ่านเกมส์ที่ผู้วิจัยจัดขึ้น

4. การบรรยาย ผู้วิจัยจะเป็นคนให้ความรู้กับนักเรียนเกี่ยวกับเนื้อหาของเคมีกรดเบสรวมไปถึงกรด-เบสอินดิเคเตอร์ ซึ่งในส่วนของเนื้อหา กรด-เบสอินดิเคเตอร์ ผู้วิจัยจะอาศัย Packman model ที่จัดทำขึ้นมาเป็นสื่อช่วยบรรยายเพื่อใช้ในการอธิบายถึงการเปลี่ยนสีของสารละลายอินดิเคเตอร์ที่สภาวะต่างๆ

5. ปฏิบัติการ ผู้เรียนจะทำการทดลองโดยใช้ชุดสื่อการเรียนการสอนที่ผู้วิจัยสร้างขึ้นโดยมีขั้นตอนการสร้างชุดสื่อการเรียนการสอนเรื่องกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ ดังนี้

5.1 วิเคราะห์หลักสูตรแกนกลางการศึกษาขั้นพื้นฐาน พ.ศ. 2551

- โครงสร้างด้านเนื้อหา

สำหรับเนื้อหาเรื่อง กรด-เบสอินดิเคเตอร์ ที่ใช้ในการสร้างสื่อช่วยสอน ผู้วิจัยได้ศึกษาวิเคราะห์เนื้อหาและจุดประสงค์ตามหลักสูตรในกลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ของนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 1 เล่มที่ 1 เรื่อง สารละลายกรดและเบสในหัวข้อ กรด-เบสอินดิเคเตอร์ โดยเนื้อหาในสื่อช่วยสอนประกอบไปด้วยการสกัดสารจากธรรมชาติ การสร้างแบบสีอ้างอิงจากสารสกัดธรรมชาติที่พีเอชต่างๆ และการทดสอบความเป็นกรด-เบสของสารละลายตัวอย่างในชีวิตประจำวัน ดังจะกล่าวต่อไปนี้

- สาระสำคัญ

1. การตรวจสอบความเป็นกรดและเบสของสารละลาย
2. พีเอชของสารละลายกรดและเบส
3. กรดและเบสในชีวิตประจำวัน

- จุดประสงค์ของการเรียนรู้

1. ทดลองและอธิบายสมบัติความเป็นกรดและเบสของสารละลาย
2. ทดสอบและอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างค่าพีเอช (pH) กับสมบัติความเป็นกรดและเบสของสารละลายโดยใช้อินดิเคเตอร์
3. สำรวจและอธิบายสมบัติของสารละลายกรดและสารละลายเบสที่ใช้ในชีวิตประจำวัน
4. อธิบายประโยชน์ของสารละลายกรดและสารละลายเบส

5.2 ศึกษาตัวทำละลายสำหรับสกัดพืชแต่ละชนิดที่นำมาใช้เป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์

การทดลองนี้ทำเพื่อเลือกอัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับใช้สกัดสารสกัดจากธรรมชาติทำการทดลองโดยชั่งพืชตากแห้ง 0.6x g จากนั้นนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีอัตราส่วนที่ 1%(v/v) Ethanol:water ทำการทดลองเช่นเดิมแต่เปลี่ยนอัตราส่วนของตัวทำละลายสำหรับใช้สกัดเป็น 5%(v/v) Ethanol:water และ 20%(v/v) Ethanol:water ตามลำดับ และทำการเปรียบเทียบสีของสารละลายที่สกัดได้จากพืชแต่ละชนิดพร้อมกับเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่สกัดได้

5.3 ออกแบบสื่อการเรียนการสอน

ชุดสื่อการเรียนการสอนสารละลายกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติตามการประดิษฐ์นี้สามารถทำการทดลองได้ 3 การทดลอง โดยใช้อุปกรณ์และสารละลายต่างๆ ในชุดนี้แสดงในรูปที่ 3.3 และภายในจะประกอบด้วยอุปกรณ์และสารเคมีดังนี้

รูปที่ 3.3 ต้นแบบชุดสื่อการเรียนการสอนและอุปกรณ์ต่างๆ

1. ขวดน้ำยาสำหรับสกัดสีจากพืช แสดงดังรูปที่ 3.3ก. จำนวน 6 ขวด แต่ละขวดบรรจุสารละลายประเภทแอลกอฮอล์ เพื่อเตรียมเป็นสารละลาย กรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ ซึ่งแอลกอฮอล์เลือกได้จากเอทานอลจึงสามารถสกัดสีออกจากพืชได้ที่อุณหภูมิห้องได้และใช้ระยะเวลาในการสกัดลดลงเหลือเพียง 2-3 นาทีเท่านั้น ขวดน้ำยาสำหรับสกัดสีจากพืชนี้เป็นขวดพลาสติก ฝา 2 ชั้น ฝาชั้นนอกเชื่อมกับขวดแบบริ้วเชื่อมและเฟืองล้อ ปิดเพื่อป้องกันไม่ให้สารละลายภายในขวดหกออกมา ชั้นในเป็นฝาที่มีจะงอยปาก เมื่อบีบขวดสารละลายภายในจะหยอดออกมาทีละหยดจากปลายจะงอยปากนี้

2. ซองซิปล็อคอะลูมิเนียมใสหนึ่งด้านบรรจุพืชตากแห้ง จำนวน 6 ซอง แสดงดังรูปที่ 3.3ข. แต่ละซองบรรจุพืชตากแห้งสำหรับเตรียมสารละลาย กรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ โดยต้องเป็นพืชที่สามารถสกัดแล้วได้รงควัตถุสีต่างๆ และสามารถเปลี่ยนสีได้เมื่อความเป็นกรด-เบสของสารละลายเปลี่ยนไป ซึ่งพืชตากแห้งได้แก่ ดอกอัญชัน กะหล่ำปลีม่วง ดอกกระเจี๊ยบแดง ดอกกล้วยไม้ หัวมันม่วง หัวขมิ้น และผนึกปากถุงด้วยความร้อนเพื่อป้องกันความชื้น

3. ขวดสารละลายมาตรฐาน จำนวน 9 ขวด แสดงดังรูปที่ 3.3ค. บรรจุสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 2-10 สำหรับทดสอบการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติชนิดต่างๆ เมื่อมีค่าพีเอชแตกต่างกัน

4. ซองซิปล็อคใสทั้งสองด้าน บรรจุแท่งผสมสารขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.25 เซนติเมตร และยาว 6.50 เซนติเมตร จำนวน 6 แท่ง แสดงดังรูปที่ 3.3ง. ซึ่งแท่งผสมสารนี้ใช้สำหรับช่วยผสมสารละลาย กรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ ที่เตรียมได้ และสารละลายที่ต้องการทดสอบค่าพีเอชให้เข้ากัน รวมถึงช่วยผสมสารละลาย กรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติกับสารตัวอย่างในชีวิตประจำวันที่ต้องการทดสอบ

5. ขวดเปล่าสำหรับบรรจุสารละลายตัวอย่าง จำนวน 5 ขวด แสดงดังรูปที่ 3.3จ. สำหรับบรรจุสารละลายตัวอย่างและใช้ในการตรวจสอบความเป็นกรด-เบสของสารละลายตัวอย่างด้วยอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ

6. แผ่นสร้างแบบสีอ้างอิง แสดงดังรูปที่ 3.4 โดยแผ่นทดสอบนี้ทำจากกระดาษเคลือบด้วยพลาสติกใส ออกแบบเป็นตารางประกอบด้วย ช่องแนวตั้งคืออินดิเคเตอร์จากธรรมชาติที่สกัดได้จากพืชต่างๆ และช่องแนวนอนคือสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอช 2-10 สำหรับศึกษาการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติเมื่อทดสอบด้วยสารละลายพีเอชต่างๆ

11.50 cm.

18.20 cm.

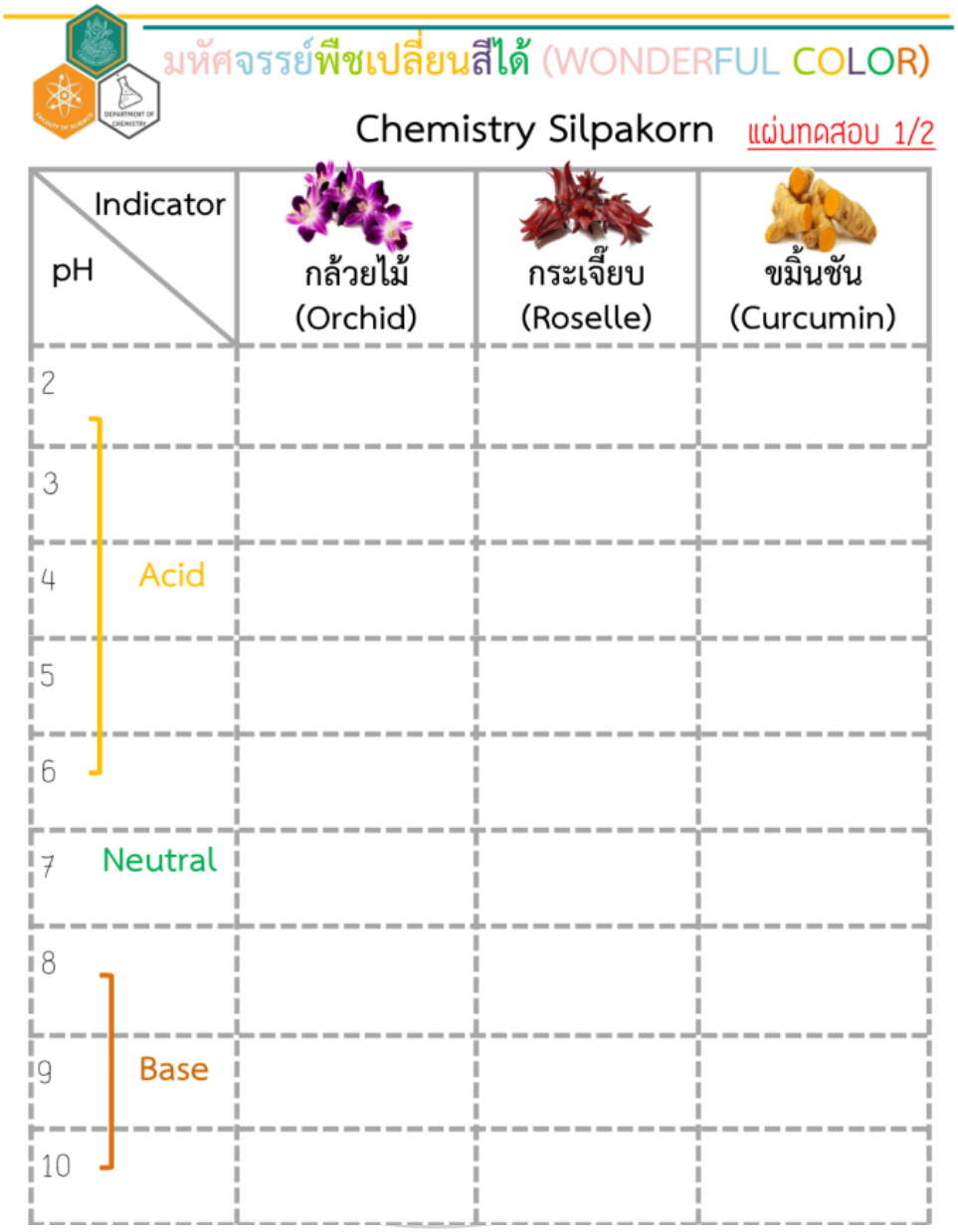
มหัศจรรย์พืชเปลี่ยนสีได้ (WONDERFUL COLOR)

Chemistry Silpakorn แผ่นทดสอบ 1/1

Indicator / pH	กะหล่ำปลีม่วง (Red cabbage)	อัญชัน (Butterfly pea)	มันม่วง (Sweet potato)
2			
3			
4			
5			
6			
7 Neutral			
8			
9			
10			

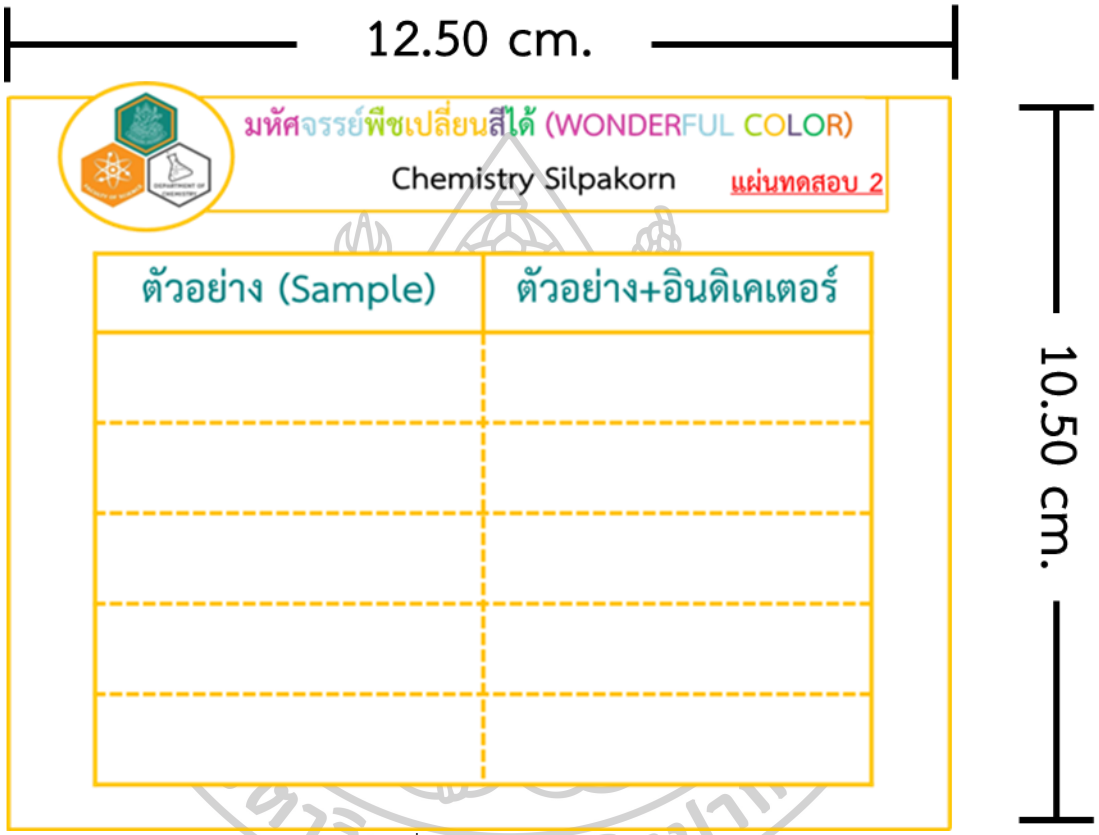
Acid

Base



รูปที่ 3.4 แผ่นสร้างแบบสีอ้างอิง

7. แผ่นทดสอบตัวอย่าง แสดงดังรูปที่ 3.5 โดยแผ่นทดสอบนี้ทำจากกระดาษเคลือบด้วยพลาสติกใส ออกแบบให้เป็นตารางประกอบด้วยช่อง “ตัวอย่าง” เป็นช่องสำหรับหยดสารละลายตัวอย่าง เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบสีของสารละลาย และช่อง “ตัวอย่าง + อินดิเคเตอร์” เป็นช่องสำหรับหยดสารละลายตัวอย่างผสมกับอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ สำหรับตรวจสอบความเป็นกรด-เบส และระบุพีเอชของสารละลายตัวอย่างที่ทดสอบนั้น



รูปที่ 3.5 แผ่นการทดสอบตัวอย่าง

ซึ่งแผ่นสร้างแบบสีอ้างอิง (รูปที่ 3.4) และแผ่นทดสอบตัวอย่าง (รูปที่ 3.5) นั้นทำจากกระดาษเคลือบด้วยพลาสติกใส จึงมีความคงทนและใช้ทดแทนจานหลุม กระจกนาฬิกา หรือหลอดทดลองได้ หลังจากใช้งานเสร็จ สามารถทำความสะอาดแผ่นทดสอบได้ง่ายและรวดเร็วโดยใช้กระดาษชำระชุบน้ำแล้วเช็ดให้สะอาดเพื่อเก็บไว้ใช้งานต่อ โดยอุปกรณ์ทั้งหมดจะบรรจุรวมกันในกล่องพลาสติกใสแบบแข็งเพื่อความคงทนและช่วยให้ผู้สอนและผู้เรียนสามารถมองเห็นอุปกรณ์ภายในกล่องและสะดวกต่อการเคลื่อนย้าย

5.4 การใช้งานชุดสื่อการเรียนการสอนกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1: การเตรียมกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ โดยอาศัยการสกัดด้วยน้ำยาสกัดแอลกอฮอล์ที่อุณหภูมิห้อง การทดลองประกอบด้วยขวดน้ำยาสำหรับสกัดสีจากพืช (รูปที่ 3.3ก.) พืชตากแห้งบรรจุในถุงซิปล็อคอะลูมิเนียมใสหนึ่งด้านและผนึกปากถุงด้วยความร้อนเพื่อป้องกันความชื้น (รูปที่ 3.3ข.) สำหรับสกัดสารจากพืชแต่ละชนิด ทำการสกัดโดยเปิดปากถุงซิปล็อคอะลูมิเนียมแล้วเทน้ำยาสกัดใส่ถุงทั้งหมดให้ตรงตามชนิดของพืช ปิดปากถุงแล้วใช้มือบีบพืชที่อยู่ในถุงให้สัมผัสกับน้ำยาสกัดมากที่สุดเป็นเวลา 5 นาที จะได้สารสกัดที่มีสีต่างๆ โดยนักเรียนสามารถสังเกตสีได้จากด้านใสของถุงซิปล็อค หลังจากสกัดเสร็จนำสารสกัดที่ได้บรรจุคืนใส่ขวดขวดน้ำยาสกัดพืชจากธรรมชาติ (รูปที่ 3.3ข.) เช่นเดิม เพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป เรียกสารที่ได้นี้ว่า “กรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ”

ขั้นตอนที่ 2: การเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติเมื่อทดสอบด้วยสารละลายพีเอชต่างๆ การทดลองประกอบด้วยขวดสารละลายกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ สารละลายมาตรฐานบัฟเฟอร์พีเอช 2-10 (รูปที่ 3.3ค.) แท่งผสมสาร (รูปที่ 3.3ง.) และแผ่นสร้างแบบสีอ้างอิง (รูปที่ 3.4) ทำการทดลองโดยหยดสารละลายบัฟเฟอร์ลงบนแผ่นสร้างแบบสีอ้างอิง (รูปที่ 3.4) ตามช่องในแนวตั้งให้ตรงช่องที่ระบุไว้ช่องละ 1 หยด จากนั้นหยดสารละลายกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติลงไปอีก 1 หยด ให้ครบทุกช่องแล้วใช้แท่งผสมสารคนให้เข้ากัน สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติที่พีเอชต่างๆ ทำเช่นนี้ไปจนครบทุกอินดิเคเตอร์ เรียกแผ่นทดสอบที่เสร็จสมบูรณ์แล้วนี้ว่า “แผ่นสร้างแบบสีอ้างอิง” ซึ่งต้องเก็บไว้ใช้ในการทดลองที่ 3

ขั้นตอนที่ 3: การทดสอบความเป็นกรด-เบสของตัวอย่างในชีวิตประจำวันซึ่งถือเป็นขั้นตอนที่นักเรียนจะสามารถนำความรู้ที่ได้จากการทำขั้นตอนที่1 และขั้นตอนที่ 2 มาคิดวิเคราะห์เพื่อเลือกชนิดของอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติที่เหมาะสมสำหรับนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติกรด กลาง เบส ของสารตัวอย่าง การทดลองนี้ประกอบด้วยขวดเปล่าสำหรับบรรจุสารละลายตัวอย่าง (รูปที่ 3.3จ.) ซึ่งผู้สอนสามารถให้ผู้เรียนมีส่วนร่วมได้โดยนำสารละลายตัวอย่างที่ผู้เรียนสนใจมาทดสอบ และใช้ร่วมกับแผ่นทดสอบตัวอย่าง (รูปที่ 3.5) ทำการทดลองโดยหยดสารละลายตัวอย่างที่พบในชีวิตประจำวัน 1 หยดในช่อง “ตัวอย่าง” เพื่อใช้สังเกตสีดั้งเดิมของตัวอย่าง และอีก 1 หยดในช่อง “ตัวอย่าง+อินดิเคเตอร์” เพื่อใช้ทดสอบกับอินดิเคเตอร์ จากนั้นเลือกกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติมา 1 ชนิด แล้วหยดผสมกับสารตัวอย่างในช่อง “ตัวอย่าง+อินดิเคเตอร์” แล้วใช้แท่งผสมสาร คนให้เข้ากัน สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติในช่อง “ตัวอย่าง+อินดิเคเตอร์” พิจารณาสีที่เปลี่ยนไปจากเดิมโดยเปรียบเทียบกับช่อง “ตัวอย่าง” แล้วจำแนกว่าสาร

นั้นเป็นกรดหรือเบส และมีค่าพีเอชเท่าไร โดยเปรียบเทียบกับสีในแผ่นสร้างแบบสีอ้างอิง (รูปที่ 3.4) ของกรด-เบสอินดิเคเตอร์ที่เลือกใช้ และนอกจากนี้นักเรียนยังสามารถเลือกใช้กรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติได้มากกว่า 1 ชนิด ในการตรวจสอบพีเอชของสารละลายตัวอย่างเพื่อยืนยันความถูกต้องในการระบุพีเอชของสารละลาย

5.5 ทดสอบความรู้หลังเรียนทำการศึกษาโดยการทำแบบทดสอบหลังเรียน (Post-test) สร้างแบบทดสอบเพื่อวัดความสามารถในการคิดวิเคราะห์ของผู้เรียนในหัวข้อเรื่องเคมีกรดเบส โดยแบบทดสอบที่สร้างขึ้นประกอบไปด้วย 3 ส่วนคือ แบบทดสอบวัดผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนด้านการจำ การคิดวิเคราะห์และการนำไปใช้ ในรูปแบบทั้งอัตนัยและปรนัย รวมทั้งหมด 7 ข้อ ระยะเวลาทำแบบทดสอบ 10 นาที

5.5.1 เปรียบเทียบผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนวิชาเคมีพื้นฐานเรื่องเคมีกรดเบสของนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 1 ก่อนและหลังการจัดกิจกรรมการเรียนรู้ จากการใช้ชุดสื่อการเรียนการสอน โดยการทดสอบค่าทีแบบกลุ่มตัวอย่างสองกลุ่มที่ไม่เป็นอิสระต่อกัน (*t*-test Dependent) (ล้วน สายยศ & อังคณา สายยศ, 2540)

5.5.2 เปรียบเทียบผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนวิชาเคมีพื้นฐานเรื่องเคมีกรดเบส ของนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 1 หลังการจัดกิจกรรมการเรียนรู้จากการใช้ชุดสื่อการเรียนการสอนกับเกณฑ์ร้อยละ 70 โดยการทดสอบค่าทีแบบกลุ่มเดียว (*t*-test One – Sample) (บุญเรียง ขจรศิลป์, 2547) สถิติที่ใช้ในการทดสอบสมมติฐาน

***t*-test Dependent**

$$t = \frac{\sum D}{\sqrt{\frac{n\sum D^2 - (\sum D)^2}{n-1}}}$$

เมื่อ t คือ ค่าสถิติที่ใช้ในการพิจารณา t-distribution

D คือ ความแตกต่างของคะแนนแต่ละคู่

$\sum D^2$ คือ ผลรวมความแตกต่างของคะแนนแต่ละคู่แต่ละตัวยกกำลังสอง

$(\sum D)^2$ คือ ผลรวมความแตกต่างของคะแนนแต่ละคู่ทั้งหมดยกกำลังสอง

n คือ จำนวนคู่

***t*-test One – Sample**

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{S/\sqrt{n}}$$

เมื่อ t คือ ค่าสถิติที่ใช้ในการพิจารณา *t*-distribution

$\bar{x}$ คือ ค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่วัดได้จากกลุ่มตัวอย่าง

μ คือ ค่าคะแนนของกลุ่มตัวอย่างที่คาดว่าจะเป็น

S คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลที่วัดได้จากกลุ่มตัวอย่าง

n คือ จำนวนข้อมูลที่รวบรวมได้ในกลุ่มตัวอย่าง

6. ประเมินผลและสรุปผล

6.1 ศึกษาความพึงพอใจที่มีต่อสื่อการเรียนการสอน

การสร้างแบบทดสอบความพึงพอใจของนักเรียนชั้นประถมศึกษาปีที่ 1 ที่มีต่อการจัดกิจกรรมโดยใช้สื่อการเรียนการสอนที่สร้างขึ้น ซึ่งองค์ประกอบของแบบทดสอบความพึงพอใจประกอบด้วย 3 ด้าน คือ ด้านกระบวนการ/ขั้นตอนการจัดกิจกรรม ด้านผลิตภัณฑ์ และความสะดวกต่อการใช้ชุดสื่อการเรียนการสอนเรื่อง กรด-เบสอินดิเคเตอร์ และด้านคุณภาพของกิจกรรม จากนั้นผู้วิจัยนำแบบทดสอบความพึงพอใจที่ผ่านการตรวจสอบจากอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ไปทดสอบโดยให้นักเรียนทำแบบทดสอบความพึงพอใจหลังสิ้นสุดการจัดกิจกรรม โดยแบบทดสอบความพึงพอใจจะมีระดับความพึงพอใจ 5 ระดับคือ

ระดับ 5 หมายถึง มีความพึงพอใจมากที่สุด

ระดับ 4 หมายถึง มีความพึงพอใจมาก

ระดับ 3 หมายถึง มีความพึงพอใจปานกลาง

ระดับ 2 หมายถึง มีความพึงพอใจน้อย

ระดับ 1 หมายถึง มีความพึงพอใจน้อยที่สุด

มีสมมติฐานการวิจัยคือ นักเรียนที่เรียนผ่านสื่อการเรียนการสอนเรื่องกรด-เบสอินดิเคเตอร์มีความพึงพอใจต่อสื่อการเรียนการสอนอยู่ในระดับดีด้วยเกณฑ์ในการแปลความหมาย ดังนี้

4.50-5.00 หมายถึง ความพึงพอใจในระดับมากที่สุด

3.50-4.49 หมายถึง ความพึงพอใจในระดับมาก

2.50-3.49 หมายถึง ความพึงพอใจในระดับปานกลาง

1.50-2.49 หมายถึง ความพึงพอใจในระดับน้อย

1.00-1.50 หมายถึง ความพึงพอใจในระดับน้อยที่สุด

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำคะแนนที่ได้จากแบบสอบถามความพึงพอใจของนักเรียนชั้นประถมศึกษาปีที่ 1 จากทั้งสองโรงเรียนที่มีต่อการจัดกิจกรรมด้วยชุดสื่อการเรียนการสอนมาวิเคราะห์โดยใช้ค่าเฉลี่ย ($\overline{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

6.2 แบบสอบถามความคิดเห็นของผู้ใช้สื่อการเรียนการสอน

การสร้างแบบสอบถามความคิดเห็นของคุณครูชั้นประถมศึกษาปีที่ 1 ที่มีต่อการจัดการเรียนรู้โดยใช้สื่อการเรียนการสอนโดยมีขั้นตอนการสร้างดังนี้

6.2.1 ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ ศึกษาหนังสือและเอกสารที่เกี่ยวข้องกับเกณฑ์ในการสร้างแบบสอบถาม

6.2.2. สร้างแบบสอบถามให้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้

6.2.3. ตรวจสอบแบบทดสอบที่สร้างขึ้นโดยอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และผู้เชี่ยวชาญ

6.2.4. นำแบบสอบถามที่สร้างขึ้นและผ่านการตรวจสอบมาศึกษาความคิดเห็นของคุณครูที่มีต่อสื่อช่วยสอนเรื่องกรด-เบส อินดิเคเตอร์โดยทำการประเมินความคิดเห็นของคุณครูจากใช้สื่อการเรียนการสอนหลังสิ้นสุดการจัดกิจกรรม เพื่อเตรียมวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

3.5.2 การเตรียมสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สำหรับใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

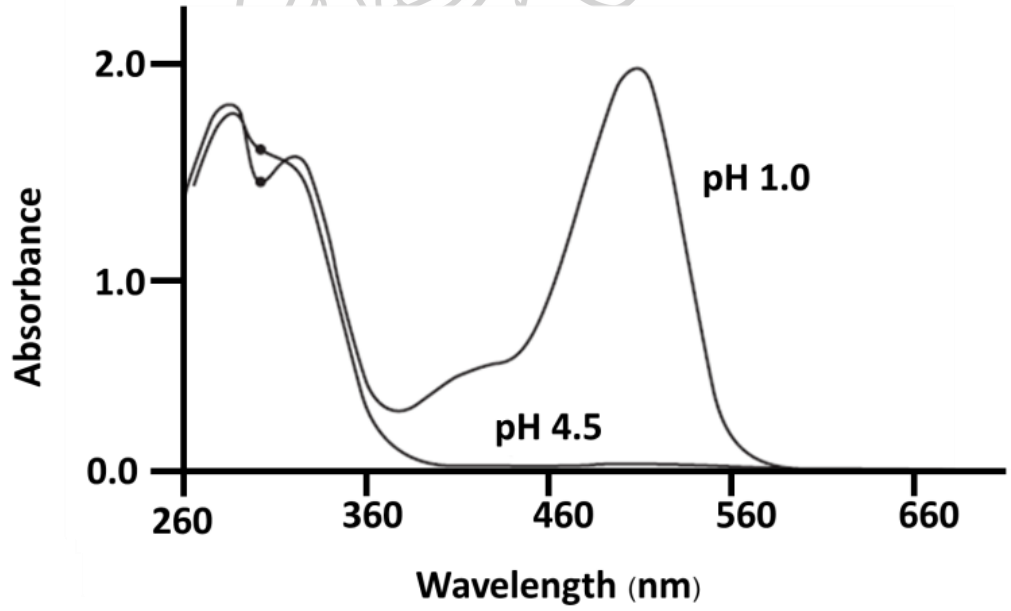
3.5.2.1 ศึกษาพันธุ์กล้วยไม้

การทดลองนี้ทำเพื่อเลือกพันธุ์กล้วยไม้ที่สามารถให้สารละลายสีม่วงได้ดีที่สุดและควบคุมประสิทธิภาพของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ การทดลองทำได้โดยสกัดสารจากดอกกล้วยไม้ 5 พันธุ์คือ พันธุ์ขาวสนาน พันธุ์มีสเวิลด์ พันธุ์โจจืด พันธุ์ช็อคกิ้งพิ้งค์ และพันธุ์เอียสกุล โดยนำกล้วยไม้แต่ละสายพันธุ์ไปตากให้แห้งด้วยโรงอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ (Kaewkiew *et al.*, 2012) (Janjai *et al.*, 2011) ชั่งน้ำหนักพืชแต่ละชนิดอย่างละ 10.0 กรัม ต้มด้วยน้ำเดือด 15 นาที กรองด้วยผ้าขาวบาง และกระดาษกรองจากนั้นเจือจาง 10 เท่า แล้วนำไปวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

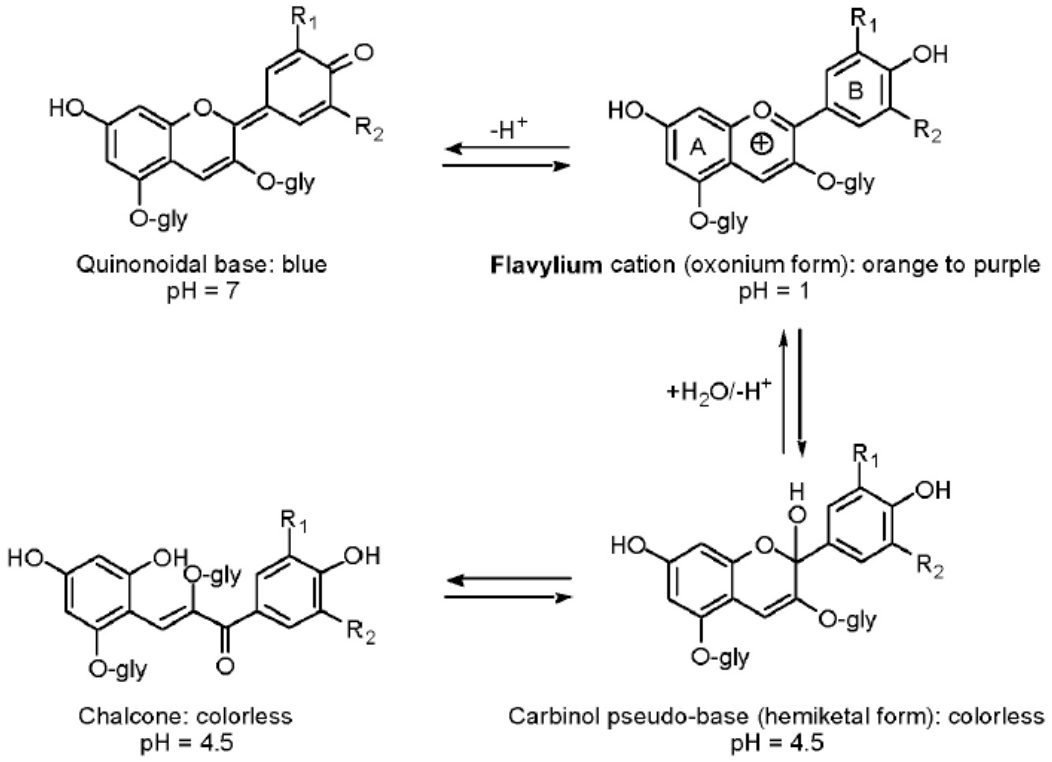
3.5.2.2 ศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินรวม (Total anthocyanin content, TAC)

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าดอกกล้วยไม้แต่ละสายพันธุ์จะมีลักษณะสีดอกที่แตกต่างกัน เนื่องจากมีอนุพันธ์แอนโทไซยานินและปริมาณแอนโทไซยานินแตกต่างกัน (Fossen & Øvstedal, 2003) ดังนั้นปริมาณแอนโทไซยานิน ถือเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการวิเคราะห์อย่างมาก โดยวิธีมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน (Total anthocyanin content, TAC) คือ pH differential method เป็นวิธีที่อาศัยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมี

ของแอนโทไซยานินที่พีเอชของสารละลายแตกต่างกันจึงทำให้เกิดการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลง แสดงดังรูปที่ 3.6 ทำการทดลองโดยการนำสารสกัดจากดอกกล้วยไม้แต่ละชนิดทั้งหมด 5 ชนิด ซึ่งได้แก่พันธุ์ขาวสนาน พันธุ์มีสเวิร์ด พันธุ์โจจืด พันธุ์ช็อคกิ้งพิ้งค์ และพันธุ์เอียสกุล แสดงดังตารางที่ 3.4 ที่ผ่านการสกัดตามขั้นตอนในหัวข้อ 3.3 จากนั้นนำสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ขวดแรกมาปรับพีเอชของสารละลายให้เท่ากับ 1 ด้วย 0.0025 M สารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์และอีกขวดนำสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ปรับพีเอชของสารละลายให้เท่ากับ 4.5 ด้วย 0.4 M สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตทจากนั้นนำสารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกกล้วยไม้แต่ละสายพันธุ์ที่ถูกปรับพีเอชให้เป็น 1 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นระหว่าง 260-700 นาโนเมตรและเมื่อนำสารสกัดแอนโทไซยานินจากดอกกล้วยไม้ที่ถูกปรับพีเอชให้เป็น 4.5 จะทำให้การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นดังกล่าวหายไปเนื่องจากที่ pH 1 โครงสร้างของแอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปออกโซเนียม (Oxonium form) และที่ pH 4.5 โครงสร้างแอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปเฮมิคีทอล (Hemiketal form) แสดงดังรูปที่ 3.7 ในขณะที่ถ้าในตัวอย่างมีสารอื่นๆ ที่ดูดกลืนแสงช่วงเดียวกับแอนโทไซยานิน เมื่อเปลี่ยน pH เป็น 4.5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารอื่นๆ จะเท่าเดิมในขณะที่ค่าการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานินจะหายไป (อรุษา เชาวนลิขิต, 2554)



รูปที่ 3.6 การดูดกลืนแสงของสารสกัดแอนโทไซยานินในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.0 และ 4.5 (Lee, Durst, & Wrolstad, 2005)



รูปที่ 3.7 โครงสร้างของแอนโทไซยานินที่ pH ต่างๆ (Lee *et al.*, 2005)

จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานินที่ได้ของพีเอช 1 และ 4.5 มาหักลบกันตามสมการที่ 1 เพื่อกำจัดการดูดกลืนแสงจากสารอื่นๆ ที่ไม่ใช่รงควัตถุแอนโทไซยานินและการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรเพื่อหักลบค่าความขุ่นที่อาจเกิดขึ้น จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงทั้งหมดไปหาปริมาณแอนโทไซยานิน ตามสมการที่ 2

$$\text{Monomeric anthocyanin (mg/liter)} = \frac{\boldsymbol{Absorbance \times Molecular\ weight \times Dilution\ factor \times 100}}{\boldsymbol{\varepsilon \times 100}} \quad (1)$$

$$\text{Absorbance (A)} = (A_{\lambda vis\ max} - A_{700nm})_{pH\ 1.0} - (A_{\lambda vis\ max} - A_{700nm})_{pH\ 4.5} \quad (2)$$

ผลการทดลองจะรายงานเป็นมิลลิกรัมของ cyanidin-3-O-glucoside equivalents (CGE) ต่อลิตร และคำนวณผลโดยอาศัยโมลาร์แอบซอบติวิตี้ (Molar absorptivity, ϵ) ของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ (Cyanidin-3-glucoside) ซึ่งเท่ากับ 26,900 M^{-1} cm^{-1} และมวลโมเลกุลเท่ากับ 449.2 g/mol เมื่อ Monomeric anthocyanin มีค่ามาก หมายถึงดอกกล้วยไม้สายพันธุ์นั้นมีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่มาก จากนั้นนำผลการคำนวณที่ได้มาเปรียบเทียบปริมาณของแอนโทไซยานินทั้หมดในกล้วยไม้แต่ละสายพันธุ์

ตารางที่ 3.4 ดอกกล้วยไม้แต่ละสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองนี้
(เรียกชื่อตามคำแนะนำจากผู้เชี่ยวชาญ)

สายพันธุ์กล้วยไม้	ลักษณะของดอกกล้วยไม้
พันธุ์ขาวสนาน (*Den. Khao Jiranand*)	
พันธุ์มีสเวิลด์ (*Den. Miss World*)	
พันธุ์โจจืด	
พันธุ์ซ็อคกิ้งพิ้งค์	
พันธุ์เอียสกุล (*Den. Sonia earsakul*)	

มหาวิทยาลัยศิลปากร

3.5.2.3 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับใช้สกัดดอกกล้วยไม้

ทำการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการสกัดสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ โดยใช้ตัวทำละลายแต่ละชนิดที่มีสภาพขั้วที่แตกต่างกัน ทำการสกัดโดยชั่งน้ำหนักของดอกกล้วยไม้พันธุ์เอียสกุล “*Dendobium Sonia earsakul*” 10.0 g ที่ผ่านการตากแห้งด้วยโรงอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ มาสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ คือ น้ำที่อุณหภูมิห้อง น้ำต้มเดือด สารละลายผสมเอทานอลและน้ำ ความเข้มข้นเป็นร้อยละโดยปริมาตรที่ 5% เอทานอล 10% เอทานอล 20% เอทานอล 40% เอทานอล 60% เอทานอล 80% เอทานอล และเอทานอลบริสุทธิ์ โดยจะแช่ดอกกล้วยไม้แห้งไว้ในสารละลายดังกล่าว นาน 15 นาทีหลังจากนั้นกรองให้ใส แล้วนำไปวัดการ

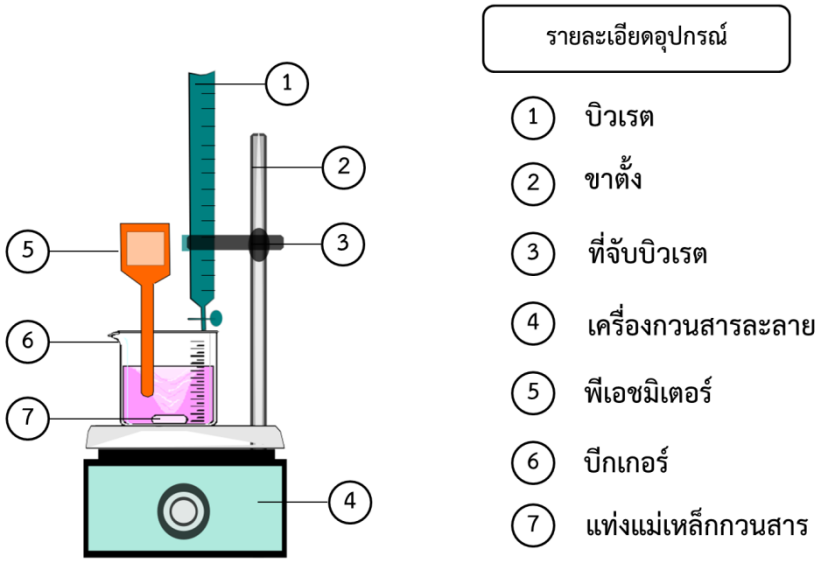
ดูดกลืนแสงโดยใช้สเปกโทรโฟโตมิเตอร์และทำการทดลองเช่นเดียวกัน ยกเว้นน้ำกลั่นต้มจนเดือดนาน 15 นาที เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่สกัดได้

3.5.2.4 ศึกษาอิทธิพลของพีเอชต่อการเปลี่ยนแปลงของสารสกัดกล้วยไม้

เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้เมื่อพีเอชของสารละลายเปลี่ยนแปลงไปโดยศึกษาที่พีเอชตั้งแต่ 1-10 ทำการทดลองโดยการนำสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่ผ่านการเตรียมตามหัวข้อที่ 3.3 มาปรับพีเอชของสารละลายด้วย 0.1 M NaOH และ 0.1 M HCl ให้มีพีเอช 1-10 จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนสีของสารละลายและศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานินในสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ด้วยโปรแกรม Gaussian 09 ซึ่งโปรแกรม ดังกล่าวเป็นซอฟแวร์สำหรับใช้ในการคำนวณทางเคมีเชิงควอนตัม ตลอดจนความเข้าใจในเรื่องของอิเล็กโทรนิกสทรัคเจอร์เทียรี (electronic structure theory) สามารถใช้ทำนายสมบัติของโมเลกุล ยกตัวอย่างเช่น พลังงานของโมเลกุล ความหนาแน่นของกลุ่มหมอกอิเล็กตรอนไดโพลโมเมนต์ (dipole moment) หรือ โครงสร้างโมเลกุล โปรแกรมในทางเคมีเชิงควอนตัม ที่ถือได้ว่าเป็นที่ยอมรับในระดับสากล (Khamla & Chachiyo, 2555)

3.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกด้วยวิธีการไทเทรตโดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นอินดิเคเตอร์

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สำหรับใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการบอกจุดยุติของการไทเทรตและทำการเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน AOAC และวิธีการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี โดยทำการศึกษาการไทเทรตของสองระบบคือ การไทเทรตกรดแก่-เบสแก่ และการไทเทรตกรดอ่อน-เบสแก่ รวมไปถึงการวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูตัวอย่าง จัดอุปกรณ์ดังรูปที่ 3.8



รูปที่ 3.8 แผนภาพจำลองอุปกรณ์สำหรับไทเทรตกรด-เบส

3.5.3.1 การเทียบมาตรฐานสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

เพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (สารมาตรฐานอันดับสอง) จัดอุปกรณ์การไทเทรตดังรูปที่ 3.8 ทำการทดลองโดยการปิเปตสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนทาเลต (KHP) ความเข้มข้น 0.1500 M ปริมาตร 25.00 mL ลงในบีกเกอร์ทรงสูงขนาด 100 mL หยดฟีนอล์ฟทาลีนลงในสารละลาย 2 หยด ผสมสารละลายในบีกเกอร์ให้เข้ากันด้วยแท่งแม่เหล็กสารและเครื่องกวนสาร จากนั้นนำมาไทเทรตด้วย 0.15xx M สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นไทแทรนต์ที่บรรจุอยู่ในบิวเรตจนกระทั่งสารละลายในบีกเกอร์เปลี่ยนจากสารละลายใสไม่มีสีเป็นสารละลายสีชมพูอ่อนอย่างถาวร ทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้งและนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาความเข้มข้นของ NaOH ที่ได้จากการไทเทรตแต่ละครั้งแล้วหาค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ NaOH ที่ได้ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแสดงดังปฏิกิริยา 1

$$C_8H_5O_4K_{(aq)} + NaOH_{(aq)} \longrightarrow C_8H_4O_4KNa_{(aq)} + H_2O_{(l)} \quad \textbf{(ปฏิกิริยา 1)}$$

3.5.3.2 การไทเทรตกรดแก่และเบสแก่

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สำหรับใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการบอกจุดยุติของการไทเทรต จัดอุปกรณ์การไทเทรตดังรูปที่ 3.8 ทำการทดลองโดยการปิเปต 0.15xx M สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเป็นไทแทรนด์ปริมาตร 25.00 mL ลงในบีกเกอร์ทรงสูงขนาด 100 mL เติมสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ 1.00 mL ผสมสารละลายในบีกเกอร์ให้เข้ากันด้วยแท่งแม่เหล็กกวนสารและเครื่องกวนสาร จากนั้นนำมาไทเทรตด้วย 0.15xx M สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นไทแทรนต์ที่บรรจุอยู่ในบิวเรต ซึ่งผ่านการเทียบมาตรฐานด้วย 0.1500 M สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (Potassium hydrogen phthalate, KHP) จนกระทั่งสารละลายในบีกเกอร์เปลี่ยนจากสารละลายสีแดงเป็นสารละลายสีเขียวถาวร ทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง จากนั้นทำการไทเทรตในทำนองเดียวกันแต่ใช้ 0.15xx M สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเป็นไทแทรนต์ และ 0.15xx M สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นไทแทรนด์ ทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้งเช่นกัน ขณะที่ไทเทรตให้จดบันทึกค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลงจากเครื่องพีเอชมิเตอร์ด้วย (วิธีการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี) แล้วนำข้อมูลดังกล่าวไปสร้างกราฟการไทเทรตเพื่อพิจารณาว่าจุดยุติที่บันทึกสอดคล้องกันหรือไม่ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแสดงดังปฏิกิริยา 2

$$HCl_{(aq)} + NaOH_{(aq)} \longrightarrow NaCl_{(aq)} + H_2O_{(l)} \quad \textbf{(ปฏิกิริยา 2)}$$

3.5.3.3 การไทเทรตกรดอ่อนและเบสแก่

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.5.3.2 แต่เปลี่ยนจากสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.15xx M เป็นสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 0.15xx M ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแสดงดังปฏิกิริยา 3

$$CH_3COOH_{(aq)} + NaOH_{(aq)} \longrightarrow CH_3COONa_{(aq)} + H_2O_{(l)} \quad \textbf{(ปฏิกิริยา 3)}$$

3.5.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในตัวอย่างน้ำส้มสายชูโดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติเป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์

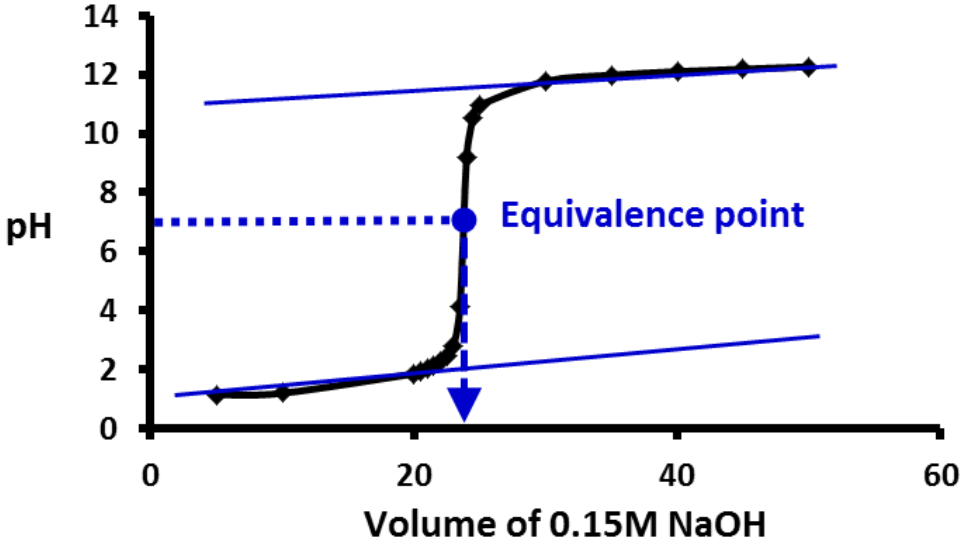
นำสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่ผ่านการเตรียมตามหัวข้อ 3.3 มาใช้เป็นอินดิเคเตอร์สำหรับระบุจุดยุติของการไทเทรตในการวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูตัวอย่างจัดอุปกรณ์การไทเทรตดังรูปที่ 3.8 ทำการทดลองโดยการปิเปตน้ำส้มสายชูตัวอย่าง (ไทแทรนด์) ปริมาตร 10.00 mL ลงในบีกเกอร์ทรงสูงขนาด 100.0 mL เติมสารสกัดจากกล้วยไม้ 1.00 mL ผสมสารละลายในบีกเกอร์ให้เข้ากัน จากนั้นนำมาไทเทรตด้วย 1.00xx M สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่บรรจุอยู่ในบิวเรตจนกระทั่งสารละลายในบีกเกอร์เปลี่ยนจากสารละลายสีแดงเป็นสารละลายสีเขียวถาวร ทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง และเปรียบเทียบความเข้มข้นที่คำนวณได้กับวิธีมาตรฐาน AOAC และวิธีการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี

3.5.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในตัวอย่างน้ำส้มสายชูด้วยวิธีมาตรฐาน AOAC

วิธีมาตรฐาน AOAC (Horwitz, 2000) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกจะอาศัยปฏิกิริยาระหว่างกรดอะซิติกกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์และใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ จัดอุปกรณ์การไทเทรตดังรูปที่ 3.8 ทำการทดลองโดยการปิเปตน้ำส้มสายชูตัวอย่าง (ไทแทรนด์) ปริมาตร 10.00 mL ลงในบีกเกอร์ทรงสูงขนาด 100.0 mL หยดฟีนอล์ฟทาลีนลงในสารละลาย 2 หยด ผสมสารละลายในบีกเกอร์ให้เข้ากัน จากนั้นนำมาไทเทรตด้วย 1.00xx M สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่บรรจุอยู่ในบิวเรตจนกระทั่งสารละลายในบีกเกอร์เปลี่ยนจากสารละลายใสไม่มีสีเป็นสารละลายสีชมพูอ่อนอย่างถาวรทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง

3.5.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในตัวอย่างน้ำส้มสายชูด้วยวิธีการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี

จากวิธีการทดลองในหัวข้อ 3.5.3 จะได้ค่าพีเอชของสารละลายที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อทำการไทเทรตด้วยปริมาตรไทแทรนต์ต่างๆ นำผลการทดลองที่ได้มาสร้างกราฟไทเทรชันพร้อมหาปริมาตรที่จุดสมมูล แสดงดังรูปที่ 3.9 จากนั้นนำปริมาตรที่จุดสมมูลนี้มาคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในตัวอย่างต่อไป

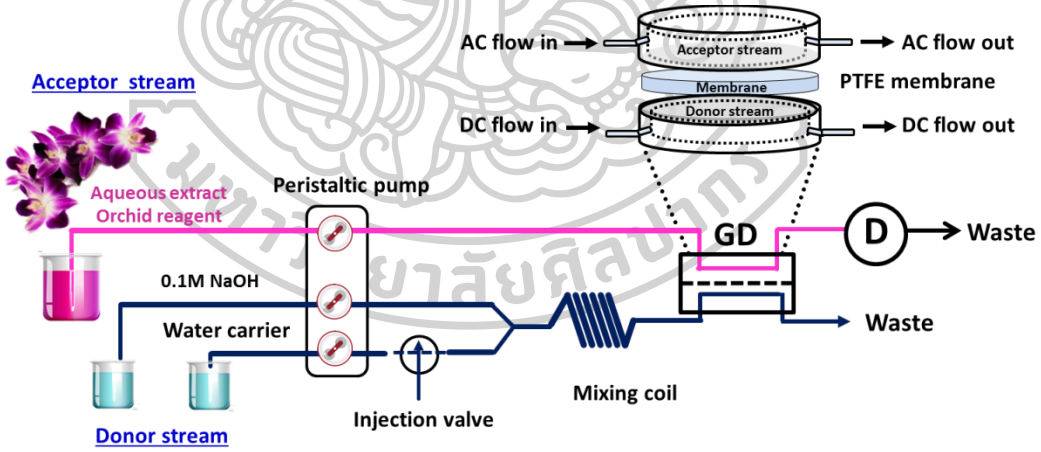


รูปที่ 3.9 ตัวอย่างกราฟไทเทรชันของการไทเทรตกรดแก่ด้วยเบสแก่แบบโพเทนชิโอเมตรี

3.5.4 การวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนโดยใช้สารสกัดจากกล้วยไม้ร่วมกับเทคนิค GD-FIA

3.5.4.1 การจัดอุปกรณ์ทดลอง

เพื่อให้การวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนสามารถวิเคราะห์ได้อย่างรวดเร็วและต่อเนื่องอย่างเป็นอัตโนมัติ ในงานวิจัยนี้จึงใช้ระบบการไหลแบบโฟลอินเจคชัน (Flow injection analysis, FIA) ร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน (gas diffusion unit, GD) ในการวิเคราะห์ ซึ่งต่อไปจะเรียกระบบนี้ว่า “GD-FIA” ทำการทดลองโดยฉีดสารละลายตัวอย่าง เข้าสู่กระแสตัวพา ซึ่งในงานวิจัยนี้เป็นน้ำกลั่นเพื่อให้ไหลไปผสมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์บริเวณท่อผสม แอมโมเนียมในตัวอย่างจะเกิดปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์เกิดเป็นแก๊สแอมโมเนีย เมื่อไหลเข้าสู่อุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน แก๊สแอมโมเนียนี้จะแพร่ผ่านไฮโดรโฟบิคเมมเบรนแล้วไปละลายในกระแสตัวรับ (Acceptor steam, AC) ซึ่งเป็นสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ทำให้ค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายเปลี่ยนไป จึงส่งผลให้สีของสารละลายเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเขียว และไหลเข้าสู่ส่วนตรวจวัด จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 600 nm โดยสัญญาณที่วิเคราะห์ได้จะแสดงผลไปยังหน้าจอคอมพิวเตอร์และบันทึกสัญญาณที่ได้โดยใช้โปรแกรม Lamda 35 (Time drive) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพล็อตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (แกน X) กับ ความสูงของสัญญาณ (แกน Y) เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน



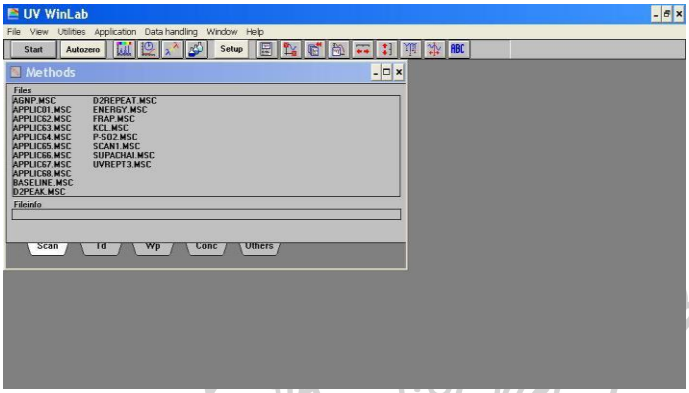
รูปที่ 3.10 แผนภาพจำลองการทำงานของระบบ GD-FIA สำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน

การตั้งค่าโปรแกรมเครื่อง UV-Vis spectrophotometer เมื่อใช้กับระบบการไหลแบบ FIA

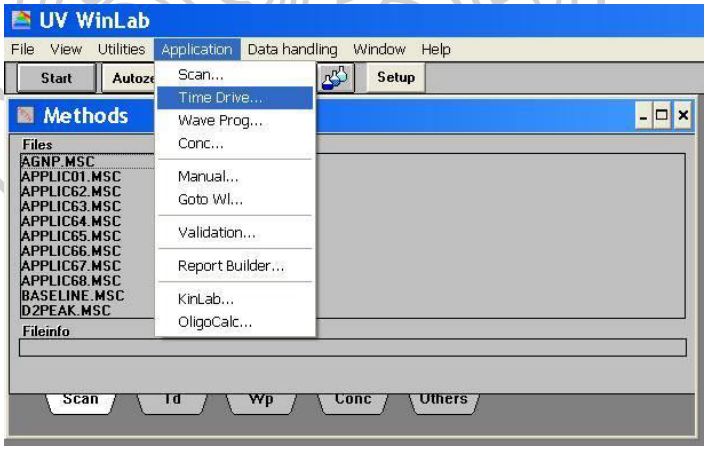
1. เปิดเครื่อง UV-Vis spectrophotometer และเครื่องคอมพิวเตอร์ตามลำดับ

2. เข้าโปรแกรม Lambda 35

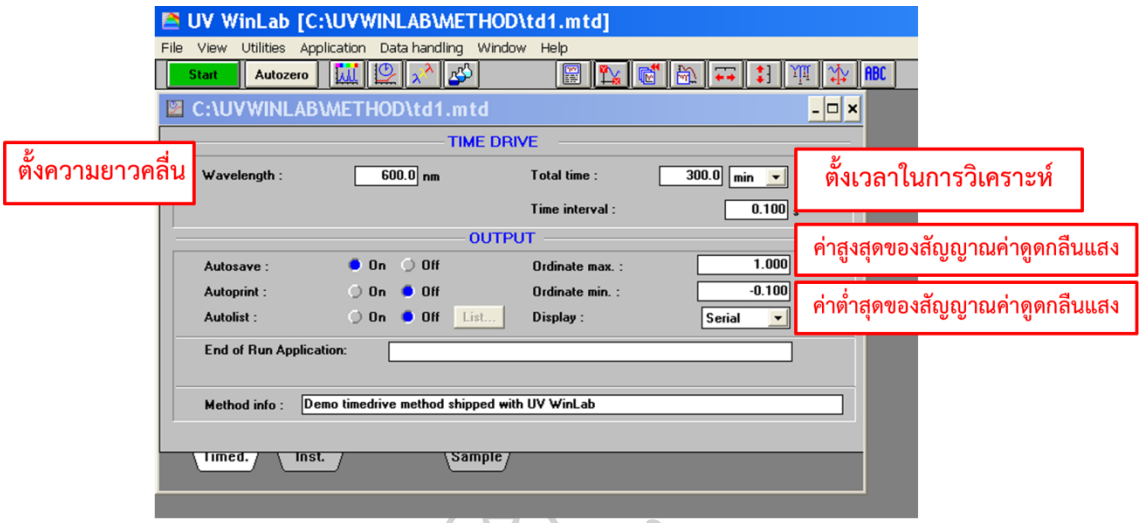
3. หน้าจอการทำงานของโปรแกรมจะปรากฏขึ้น



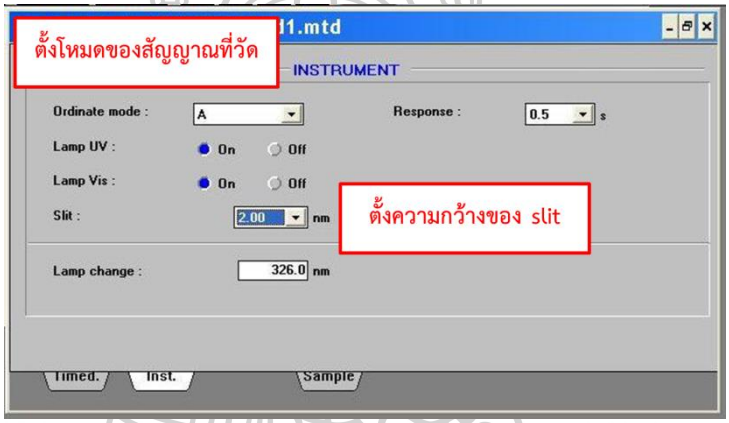
4. ทำการตั้งค่าโปรแกรมสำหรับการวิเคราะห์ระบบการไหลแบบ FIA โดยเข้าที่แถบเมนู Application แล้วเลือกโหมด Time Drive



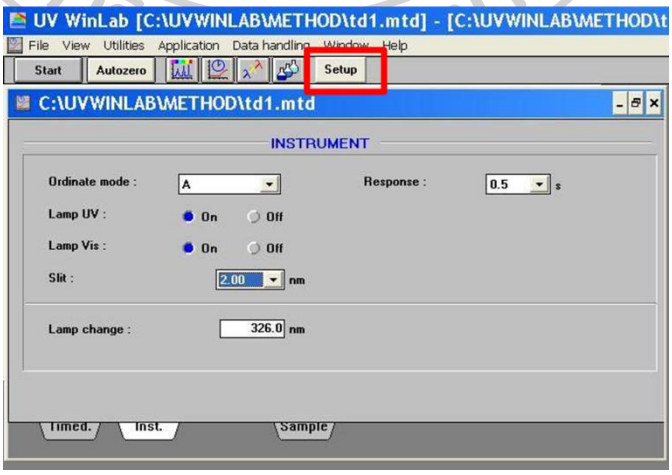
เมื่อเข้าสู่โหมด Time drive จะมีหน้าต่างย่อยประกอบไปด้วย Time Drive กับ Output และ Instrument โดยหน้าต่างย่อย Time Drive กับ Output ประกอบไปด้วย

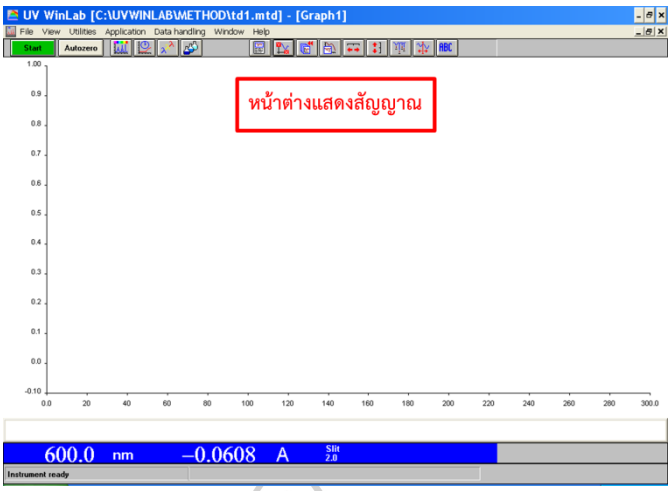


หน้าต่างย่อย Instrument ประกอบไปด้วย

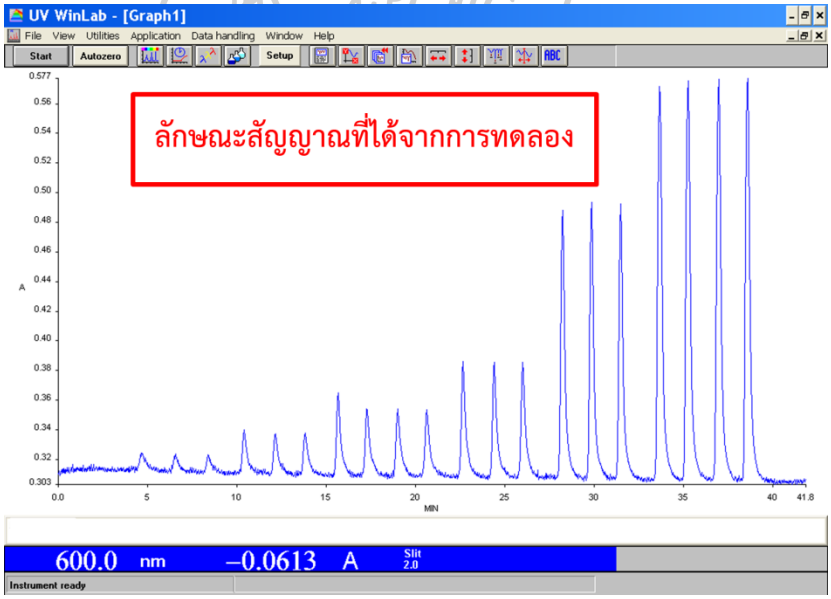


5. เมื่อตั้งค่าเสร็จเรียบร้อยแล้วให้กดปุ่ม set up จากนั้นจะปรากฏหน้าต่างแสดงสัญญาณขึ้นมา





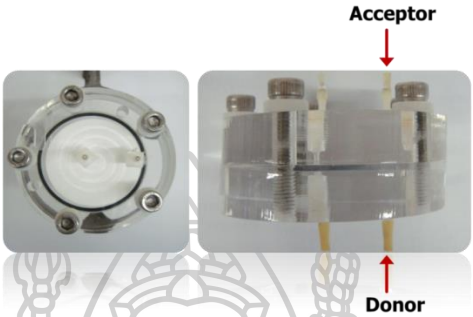
6. จากนั้นเปิดระบบการไหลแบบ FIA ให้สารละลายไหลจนเต็มระบบและไหลผ่านหน่วยวัดสัญญาณเป็นระยะเวลาหนึ่ง (ระวังเรื่องฟองอากาศใน flow cell) แล้วกด Autozero เพื่อตั้งค่า blank โดยควรมีค่า blank ที่มีค่าใกล้เคียงศูนย์และสามารถเริ่มทำการวิเคราะห์โดยการกด Start จากนั้นโปรแกรมจะทำการวัดค่าดูดกลืนแสงและแสดงสัญญาณการตรวจวัดบนหน้าต่างโปรแกรม



3.5.4.2 อุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน (Gas diffusion unit, GD)

ในงานวิจัยนี้ใช้อุปกรณ์คัดเลือกแก๊สหรืออุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน แบบร่องเกลียว (Spiral groove) ดังแสดงในรูปที่ 3.11 ขนาดร่อง กว้าง 2 mm × ยาว 257mm × ลึก 0.5 mm และ PTFE membrane มีขนาดรูพรุน 0.45 µm และเส้นผ่านศูนย์กลาง membrane ยาว 47 mm ใช้อุปกรณ์นี้ร่วมกับระบบไหลอัตโนมัติแบบโฟลอินเจคชันเพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจงในการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน เมื่อฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าสู่ระบบการไหลอัตโนมัติแบบ

โฟลอินเจคชัน แอมโมเนียมไอออนในตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์เกิดเป็นแก๊สแอมโมเนีย (ปฏิกิริยาที่ 4) แก๊สที่เกิดขึ้นจะแพร่ผ่านไฮโดรโฟบิค เมมเบรนของอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชันและละลายลงในกระแสตัวรับซึ่งเป็นสารสกัดจากกล้วยไม้ทำให้ค่าความเป็นกรดเบสเปลี่ยนแปลง (ปฏิกิริยาที่ 5) และเกิดการเปลี่ยนสีของสารสกัดจากกล้วยไม้ สามารถติดตามสัญญาณด้วยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์แล้วแสดงผลไปยังหน้าจอคอมพิวเตอร์



รูปที่ 3.11 อุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชันชนิด spiral groove

ปฏิกิริยาที่กระแสตัวให้ (Donor stream)

$$NH_4^+{}_{(aq)} + OH^-{}_{(aq)} \rightleftharpoons NH_{3(g)} + H_2O_{(l)} \qquad \textbf{(ปฏิกิริยาที่ 4)}$$

ปฏิกิริยาที่กระแสตัวรับ (Acceptor stream)

$$NH_{3(g)} + H_2O_{(l)} \rightleftharpoons NH_4^+{}_{(aq)} + OH^-{}_{(aq)} \qquad \textbf{(ปฏิกิริยาที่ 5)}$$

3.5.4.3 ศึกษาพีเอชของสารสกัดจากกล้วยไม้เพื่อนำไปใช้วิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน

การทดลองนี้ทำเพื่อศึกษาพีเอชของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้เพื่อให้มีความไวในการวิเคราะห์ที่ดีที่สุด (sensitivity) และเพื่อควบคุมประสิทธิภาพของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สำหรับใช้เป็นรีเอเจนท์ในการวิเคราะห์หาปริมาณของแอมโมเนียมไนโตรเจน ทำการทดลองโดยปรับค่าพีเอชของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ให้มีพีเอช 3, 5, 7 และ 9 โดยใช้ 0.1 M NaOH และ 0.1 M HCl ในการปรับพีเอชของสารละลาย จากนั้นนำสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ในแต่ละพีเอชที่เตรียมได้มาใช้เป็นรีเอเจนท์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนด้วยระบบ GD-FIA โดยการฉีดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมเข้มข้น 5-40 mM และวัดความสูงของสัญญาณที่ได้แล้วนำไปสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบความไวในการวิเคราะห์

3.5.4.4 ศึกษาความยาวคลื่นในการตรวจวัด

เป็นการศึกษาความยาวคลื่นที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน ในระบบ GD -FIA โดยใช้อัตราการไหล 1.0 mL/min ปริมาตรตัวอย่าง

100 µL และใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นสารละลายตัวรับ (Acceptor stream) จากนั้นทำการฉีดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 30 และ 40 mM เข้าสู่ระบบ GD-FIA และตั้งค่าเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จากนั้นอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580 nm บันทึกสัญญาณตลอดเวลา จากนั้นทำการทดลองเช่นเดิมแต่เปลี่ยนความยาวคลื่นที่ใช้ตรวจวัดเป็น 600, 620 และ 640 nm

3.5.4.5 อัตราเร็วในการลำเลียงสาร

เพื่อให้ระบบมีความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) สูงที่สุดและวิเคราะห์ตัวอย่างได้รวดเร็ว ผู้วิจัยจึงศึกษาอัตราการไหลของสารที่ดีที่สุดกำหนดค่าความเร็วด้วยปั๊มลูกรีดให้อัตราเร็วในการลำเลียงสารของสารละลายตัวรับคงที่เท่ากับ 1.0 mL/min (สารละลายตัวรับ หรือ acceptor stream, AC หมายถึง orchid reagent ในรูปที่ 3.10) ใช้อัตราเร็วในการลำเลียงสารของสารละลายตัวให้เป็น 0.5 mL/min (สารละลายตัวให้ หรือ donor stream, DO หมายถึง water carrier และ NaOH ในรูปที่ 3.10) ฉีดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมเข้มข้น 5-40 mM วัดความสูงของสัญญาณที่ได้แล้วนำไปสร้างกราฟมาตรฐาน เพื่อเปรียบเทียบความไวในการวิเคราะห์ จากนั้นทำการทดลองเช่นเดียวกันแต่เปลี่ยนอัตราเร็วในการลำเลียงสารของสารละลายตัวให้เป็น 1.0 และ 1.5 mL/min ตามลำดับ จากนั้นกำหนดอัตราเร็วในการลำเลียงสารของสารละลายตัวให้คงที่ แล้วเปลี่ยนอัตราเร็วในการลำเลียงสารของสารละลายตัวรับเป็น 0.5, 1.0 และ 2.2 mL/min ฉีดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมเข้มข้น 5-40 mM วัดความสูงของสัญญาณที่ได้แล้วนำไปสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบความไวในการวิเคราะห์เช่นเดียวกัน

3.5.4.6 ศึกษาผลของปริมาตรสารตัวอย่าง

ทำการศึกษาโดยกำหนดอัตราเร็วในการลำเลียงสารที่ดีที่สุดจากการศึกษาในข้อก่อนหน้านี้และใช้ปริมาตรตัวอย่าง 100 µL ทำการทดลองโดยการฉีดสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมเข้มข้น 5-40 mM บันทึกค่าสัญญาณที่ได้ จากนั้นทำการทดลองเช่นเดิมแต่เปลี่ยนปริมาตรตัวอย่างเป็น 300 และ 500 µL นำข้อมูลมาสร้างกราฟมาตรฐานและเปรียบเทียบความไวในการวิเคราะห์

3.5.4.7 ศึกษาอายุการใช้งานของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้

เริ่มต้นทำการศึกษาความสามารถในการสกัดซ้ำของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงและเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่ได้ในแต่ละครั้งเป็นจำนวน 5 ครั้ง จากนั้นทำการศึกษาอายุการใช้งานของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ ทำการทดลองโดยนำสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่ผ่านการเตรียมในหัวข้อ 3.3. มาใช้เป็นรีเอเจนท์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนด้วยระบบ GD-FIA และจัดระบบดังรูปที่ 3.10 และประเมินอายุการใช้งานโดยเปรียบเทียบค่าความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) ทุกวันเป็น

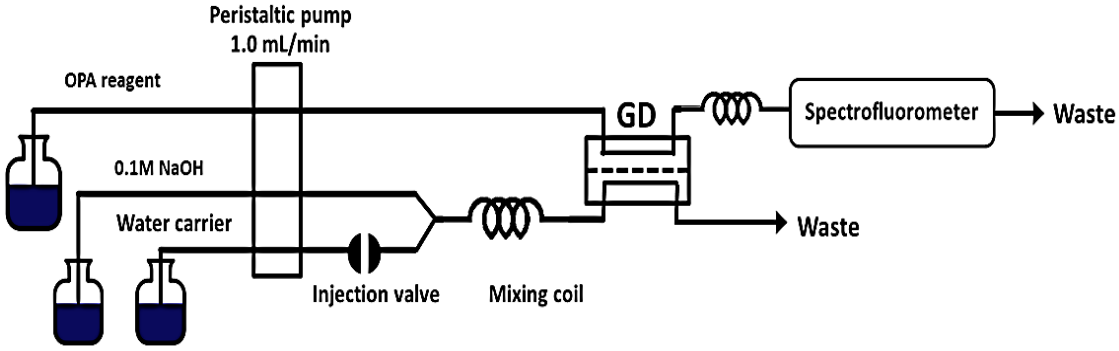
เวลา 5 วัน ซึ่งสารสกัดจากดอกกล้วยไม้จะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 ºC ก่อนนำมาใช้ในวิเคราะห์ในวันต่อไป

3.5.4.8 การวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีและน้ำทิ้งโดยใช้วิธีที่พัฒนาขึ้น

นำระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชันที่พัฒนาขึ้นมาประยุกต์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีและน้ำทิ้งจากการเกษตร โดยฉีดสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมในหัวข้อ 3.4.3 เข้าสู่ระบบโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน (GD-FIA) ด้วยสภาวะการทดลองที่เหมาะสมและทำการวัดค่าความสูงของสัญญาณ จากนั้นนำมาคำนวณความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนโตรเจนและรายงานในหน่วย % Nitrogen (w/w) และ mg N/L สำหรับปุ๋ยเคมี และน้ำทิ้งตามลำดับ พร้อมเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับวิธีอ้างอิงโอพีเอ

3.5.4.9 การวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีและน้ำทิ้งโดยใช้วิธีอ้างอิง

วิธีอ้างอิงโอพีเอ (*o*-phthaldehyde, OPA) (H. Mana & Spohn, 2000) ประยุกต์จากงานวิจัยในก่อนหน้าจะอาศัยหลักการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GD-FIA ดังแสดงในรูปที่ 3.12 ทำการทดลองโดยการฉีดสารละลายตัวอย่างเข้าสู่กระแสตัวพา (carrier stream) ซึ่งในงานวิจัยนี้เป็นน้ำกลั่นเพื่อไหลแอมโมเนียมไอออนในตัวอย่างไปผสมและทำปฏิกิริยากับ NaOH เกิดเป็นแก๊สแอมโมเนียเกิดขึ้น จากนั้นแก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจะแพร่ผ่านเมมเบรนซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชันและทำปฏิกิริยากับรีเอเจนท์ OPA ซึ่งสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงได้ด้วยเครื่องสเปกโทรฟลูออโรมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นแสงตกกระทบ (excitation wavelength) 415 nm และความยาวคลื่นที่ต้องการวัด (emission wavelength) ที่ 485 nm



รูปที่ 3.12 แสดงระบบไหลอัตโนมัติของวิธีอ้างอิง OPA method

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 กิจกรรมการเรียนรู้เรื่องเคมีกรดเบสโดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติ

งานวิจัยนี้ออกแบบกิจกรรมการเรียนรู้เรื่องเคมีกรดเบสสำหรับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาตอนต้น ซึ่งผู้วิจัยเสนอผลการวิเคราะห์ข้อมูลตามลำดับ จำแนกได้ดังนี้

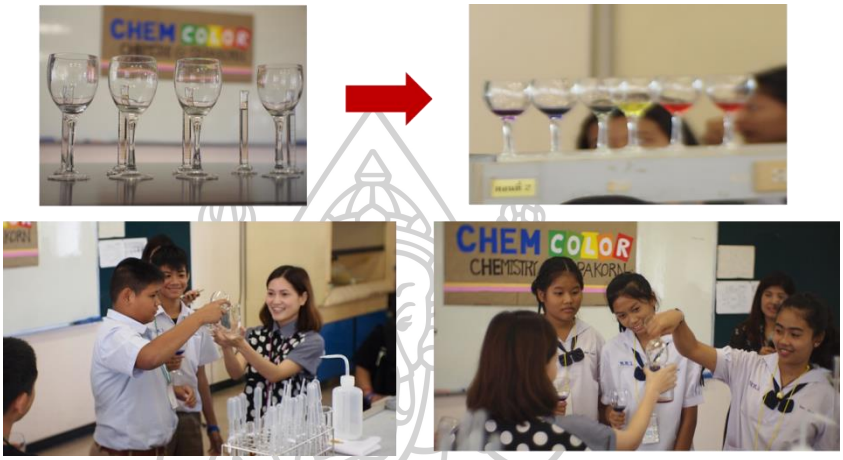
4.1.1 ศึกษาวิธีเตรียมสารสกัดจากธรรมชาติสำหรับสื่อการเรียนการสอนกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากสารสกัดธรรมชาติ

จากผลการทดลองการศึกษาอัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการสกัดสารสกัดจากธรรมชาติ พบว่าอัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมคือ 5% (v/v) Ethanol : water เนื่องจากสามารถสกัดสารจากธรรมชาติได้ดีที่สุดโดยมีสีสารละลายที่ชัดเจนที่สุดเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าและให้ค่าการดูดกลืนแสงที่สูงที่สุดเมื่อวัดด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ดังแสดงในรูปที่ 4.1

รูปที่ 4.1 สีสารละลายจากสารสกัดของพืชชนิดต่างๆ คือ กล้วยไม้ อัญชัน กะหล่ำม่วง มันม่วง และขมิ้น เมื่อใช้อัตราส่วนตัวทำละลายแตกต่างกัน

4.1.2. ผลการศึกษาการดึงดูดความสนใจและกระตุ้นให้นักเรียนคิด

ทำการทดลองผ่านการแสดง Science Show ก่อนเริ่มทำกิจกรรมซึ่งมีเนื้อหาเกี่ยวกับ กรด-เบสอินดิเคเตอร์โดยอาศัยการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์แต่ละชนิดจากสารละลายใสไม่มีสีเป็นสีต่างๆ นอกจากนี้ในการแสดงในส่วนนี้นักเรียนจะได้เข้าร่วมทำกิจกรรมดังกล่าว จากผลการสำรวจพบว่านักเรียนส่วนใหญ่ให้ความสนใจและตื่นเต้นกับการแสดงทางวิทยาศาสตร์ที่จัดขึ้น นอกจากนี้การแสดงดังกล่าวยังช่วยให้นักเรียนเกิดการคิดตามกับสิ่งที่เกิดขึ้นในการแสดงอีกด้วย



4.1.3 ผลการศึกษาการทดสอบความรู้ก่อนเรียน

ผู้วิจัยทำการทดลองโดยนำคะแนนผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนจากแบบทดสอบก่อนเรียนเรื่องเคมีกรดเบส ที่ผู้วิจัยจัดทำขึ้นเพื่อศึกษาความรู้พื้นฐานของนักเรียนจากผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนของนักเรียนซึ่งมีคะแนนเต็มเท่ากับ 10 อยู่ในเกณฑ์ปานกลางโดยมีคะแนนเฉลี่ยอยู่ที่ $\overline{X}$ = 5.79 , S.D. = 1.48

4.1.4 ผลการศึกษาการทบทวนความรู้

กิจกรรมในส่วนนี้นักเรียนจะได้ความรู้เกี่ยวกับสมบัติความเป็นกรดและเบสของสารละลายโดยผู้วิจัยจะทำการถาม-ตอบเพื่อกระตุ้นการคิดของนักเรียนและให้นักเรียนทำการระดมความคิดเกี่ยวกับคุณสมบัติของกรดและเบสซึ่งคุณสมบัติที่ได้แสดงดังตารางที่ 4.1 จากนั้นนักเรียนจะได้นำ

คุณสมบัติดังกล่าวมาใช้ทำนายคุณสมบัติ กรด กลาง เบส ของใช้ในชีวิตประจำวันในรูปแบบของเกมส์ที่ผู้วิจัยจัดทำขึ้น โดยการเล่นเกมส์ครั้งนี้ผู้วิจัยได้แบ่งนักเรียนออกเป็นกลุ่มๆ ละ 3-5 คน และให้เวลาสำหรับคิดวิเคราะห์ 5 นาที จากนั้นผู้วิจัยจะทำการเฉลยคุณสมบัติของใช้ในชีวิตประจำวันต่างๆ จากผลการสำรวจพบว่านักเรียนส่วนใหญ่มีความเข้าใจผิด ซึ่งพิจารณาได้จากการทำนายของใช้ในชีวิตประจำวัน เช่น นักเรียนคิดว่า ยาลดกรด น้ำปลา น้ำเกลือ ปุ๋ยแอมโมเนีย มีสมบัติเป็นกรด ไข่ไก่ นม มีคุณสมบัติเป็นเบส และกาแฟมีคุณสมบัติเป็นกลาง เป็นต้น โดยกิจกรรมในส่วนนี้ผู้วิจัยจะชี้ให้นักเรียนเข้าใจว่าสิ่งของบางอย่างเราสามารถที่จะตรวจสอบความเป็นกรดเบสได้โดยการสัมผัส ชิม หรือสูดดมได้โดยตรง แต่ของบางอย่างไม่สามารถทำได้ ดังนั้นจำเป็นต้องใช้กรด-เบสอินดิเคเตอร์เป็นตัวช่วยสำหรับระบุความเป็นกรด กลาง เบส ของสารละลาย

ตารางที่ 4.1 ผลการทำนายคุณสมบัติ กรด เบส จากนักเรียน

คุณสมบัติของกรด	คุณสมบัติของเบส
• นำไฟฟ้าได้ • เปลี่ยนสีกระดาษลิตมัสจากสีน้ำเงินเป็นสีแดง • มีรสเปรี้ยว • ระคายเคืองผิว • มีพีเอชต่ำกว่า 7	• นำไฟฟ้าได้ • เปลี่ยนสีกระดาษลิตมัสจากสีแดงเป็นสีน้ำเงิน • มีรสชาติฝาด • มีผิวสัมผัสที่สี่น • มีพีเอชสูงกว่า 7

4.1.5 ผลการศึกษาการบรรยาย

ผู้วิจัยจัดกิจกรรมสำหรับให้ความรู้โดยใช้ Packman model แสดงดังรูปที่ 4.2 อธิบายการเปลี่ยนสีของกรด-เบส อินดิเคเตอร์ที่พีเอชต่างๆ อย่างง่าย ยกตัวอย่างเช่น ในสภาวะกรดสีของสารละลายเริ่มต้นเป็นสีเหลือง แต่เมื่อสารละลายมีความเป็นเบสที่เพียงพอสีของอินดิเคเตอร์ในสารละลายก็จะมีสีที่เปลี่ยนแปลงไป คล้ายกันกับในสภาวะเบส การทบทวนความรู้ในลักษณะนี้จะเป็นการสรุปเนื้อหาเพื่อให้นักเรียนเข้าใจถึงประเด็นสำคัญของการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ จากผลการสำรวจพบว่านักเรียนนักเรียนส่วนใหญ่มีความเข้าใจเมื่ออธิบายเนื้อหาจากการใช้ Packman model

โดยพิจารณาจากการถาม-ตอบและทำการทดลองในขั้นตอนที่ 2 ซึ่งนักเรียนเข้าใจถึงการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ในสภาวะแตกต่างกัน และสามารถอธิบายให้เชื่อมโยงกับการแสดง Science show ข้างต้นได้

รูปที่ 4.2 สื่อ Packman model สำหรับอธิบายการทำงานของกรด-เบสอินดิเคเตอร์

4.1.6 ผลการศึกษาปฏิบัติการโดยใช้ชุดสื่อการเรียนการสอนกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ

กิจกรรมในส่วนของการปฏิบัติการโดยใช้ชุดสื่อการเรียนการสอนนี้ผู้วิจัยทำการแบ่งกลุ่มนักเรียนออกเป็นกลุ่มๆ ละ 3 คน ต่อชุดสื่อการเรียนการสอน 1 ชุดและทำการทดลองประกอบด้วย 3 ขั้นตอนดังนี้

4.1.6.1 ขั้นตอนที่ 1 : การเตรียมกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ

กิจกรรมในขั้นตอนนี้นักเรียนจะได้ทำการสกัดพืชทั้งหมด 6 ชนิด ซึ่งประกอบด้วยดอกอัญชัน กะหล่ำปลีม่วง ดอกกระเจี๊ยบแดง ดอกกล้วยไม้ หัวมันม่วง และหัวขมิ้น สำหรับนำมาใช้เป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติด้วยตนเองซึ่งจะช่วยให้นักเรียนเข้าใจถึงวิธีและขั้นตอนการสกัดของพืชแต่ละชนิด

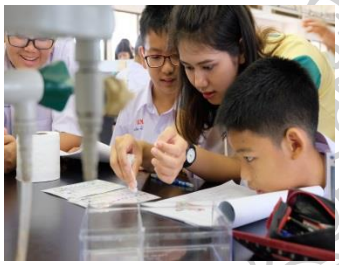
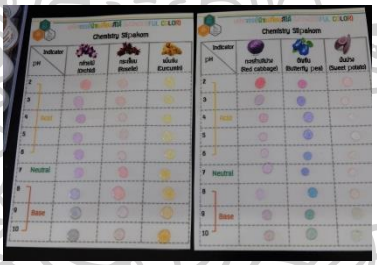
4.1.6.2 ขั้นตอนที่ 2 : การเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติเมื่อทดสอบด้วยสารละลายพีเอชต่างๆ

ขั้นตอนนี้นักเรียนจะนำกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติที่สกัดได้จากขั้นตอนที่ 1 มาทดสอบกับสารละลายทีพีเอชต่างๆตั้งแต่พีเอช 2-10 และทำการสร้างแผ่นสีอ้างอิงหรือ indicator chart สำหรับนำไปใช้ในขั้นตอนที่ 3 ถัดไป โดยในขั้นตอนนี้นักเรียนจะเห็นถึงการเปลี่ยนสีของพืชแต่

ละชนิดซึ่งสามารถจัดกลุ่มการเปลี่ยนสีของสารละลายกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติที่สภาวะต่างๆ ได้ดังนี้

สารสกัดจากกลุ่มรงควัตถุแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) ได้แก่ กะหล่ำปลีม่วง อัญชัน หัวมันม่วง ดอกกระเจี๊ยบแดง และกล้วยไม้สารสกัดในกลุ่มนี้จะสามารถเปลี่ยนสีของสารละลายโดยจะให้สีแดงในสภาวะกรด สีม่วงในสภาวะกลาง และสีเขียวอมน้ำเงินในสภาวะเบส ถึงแม้ว่าดอกกระเจี๊ยบแดงจะถูกจัดอยู่ในกลุ่มรงควัตถุแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) แต่จากผลการทดลองพบว่าดอกกระเจี๊ยบแดงจะสามารถเปลี่ยนสีของสารละลายโดยจะให้สีแดงในสภาวะกรด สีแดงในสภาวะกลาง และสีน้ำตาลอมแดงในสภาวะเบส

สกัดสารที่มีรงควัตถุเคอร์คูมินอยด์ (Curcuminoid) ได้แก่ขมิ้นชันสารสกัดในกลุ่มนี้จะสามารถเปลี่ยนสีของสารละลายโดยจะให้สีเหลืองในสภาวะกรดและกลาง และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอมเหลืองในสภาวะเบส

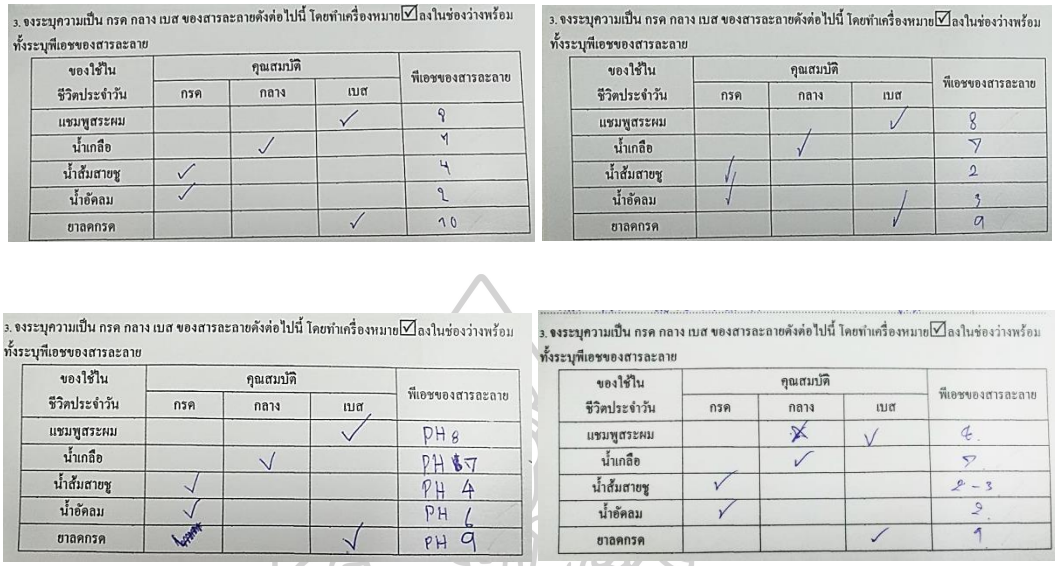



จากผลการทดลองในส่วนนี้นักเรียนจะได้คิด วิเคราะห์ สำหรับการเลือกใช้กรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติที่ดีที่สุดเพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนที่ 3 ถัดไป โดยจากผลการทดลองนักเรียนจะเห็นถึงว่าคุณสมบัติของกรด-เบสอินดิเคเตอร์ที่ดีนั้นจะต้องให้สีในภาวะ กรด กลาง เบสได้แตกต่างกันและต้องให้สีที่เข้มชัดที่สุดเพื่อง่ายต่อการสังเกตอีกด้วย จึงจะสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์คุณสมบัติกรด กลาง เบส ของสารละลายตัวอย่างในตอนที่ 3 ได้

4.1.6.3 ขั้นตอนที่ 3 : การทดสอบความเป็นกรด-เบสของตัวอย่างในชีวิตประจำวัน

หลักจากการทดลองขั้นตอนที่ 2 เสร็จสิ้นนักเรียนจะทำการเลือก กรด-เบส อินดิเคเตอร์จากธรรมขาติที่ดีที่สุดใน 6 ขนิดนั้นมาใช้ในการทดสอบความเป็นกรด-เบสของตัวอย่างในชีวิตประจำวัน โดยนักเรียนส่วนใหญ่จะเลือกใช้กรด-เบส อินดิเคเตอร์จากธรรมขาติ 2 ชนิด ได้แก่ สารสกัดอัญชันและดอกกล้วยไม้มาใช้เป็น กรด-เบส อินดิเคเตอร์ จากธรรมชาติ เนื่องจากสารสกัดจากพืชทั้งสองชนิดนี้สามารถให้สีที่ชัดเจนมากที่สุดและมีสีที่แตกต่างกันทั้งใน กรด กลาง เบส โดยสารละลายตัวอย่างจะประกอบด้วย แชมพูสระผม น้ำเกลือ น้ำส้มสายชู น้ำอัดลม และยาลดกรด จากผลการ

ทดลองที่ได้พบว่านักเรียนสามารถระบุพีเอชของสารละลายตัวอย่างและบอกความเป็นกรดเบสของสารละลายแต่ละชนิดได้อย่างถูกต้อง ดังแสดงในรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 ผลการระบุคุณสมบัติกรดเบสของสิ่งของในชีวิตประจำวันพร้อมระบุพีเอชของสารละลายจากนักเรียน

4.1.7 ศึกษาผลสัมฤทธิ์การเรียน

ตอนที่ 1 ผู้วิจัยได้นำคะแนนผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนเรื่องเคมีกรดเบสของนักเรียนทั้งก่อนเรียนและหลังเรียนที่เรียนผ่านกิจกรรมที่ผู้วิจัยออกแบบขึ้นโดยใช้สื่อการเรียนการสอน มาทำการเปรียบเทียบผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนด้วยวิธีการทางสถิติโดยใช้ *t*-test dependent for sample ผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบผลการเรียนรู้เรื่องเคมีกรดเบสของนักเรียนก่อนและหลังเรียนผ่านการจัดกิจกรรมการเรียนรู้โดยใช้สื่อการเรียนการสอน

แบบทดสอบ	จำนวนนักเรียน (n)	คะแนนเต็ม	$\overline{X}$	S.D.	t	Sig.
ก่อนเรียน	62	10	5.79	1.48	-6.995	.000
หลังเรียน	62	10	7.65	1.53		

จากตารางที่ 4.2 การเปรียบเทียบผลการเรียนรู้เรื่องเคมีกรดเบสของนักเรียนโดยใช้สื่อการเรียนการสอนก่อนและหลังการกิจกรรมการเรียนรู้พบว่าพบว่า ค่าสถิติ (*t* =-6.995, Sig. (2tailed) = 0.000) ซึ่งน้อยกว่านัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 แสดงให้เห็นว่าผลการเรียนรู้ก่อนและหลังการกิจกรรมการเรียนรู้ด้วยสื่อการเรียนการสอนของนักเรียนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสาคัญทางสถิติ

ที่ระดับ 0.05 โดยมีผลการเรียนรู้หลังการจัดกิจกรรมการเรียนรู้ ($\overline{X}$ = 7.65, S.D. =1.53) สูงกว่าก่อนจัดกิจกรรมการเรียนรู้ ($\overline{X}$ = 5.79 , S.D. = 1.48) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ซึ่งสอดคล้องกับสมมติฐานการวิจัยคือ ผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนของนักเรียนหลังการจัดการเรียนรู้ผ่านสื่อการเรียนกรสอนที่สร้างขึ้นสูงกว่าก่อนการจัดการเรียนรู้

ตอนที่ 2 ผลการเปรียบเทียบผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนเรื่องเคมีกรดเบสของนักเรียนหลังการจัดกิจกรรมการเรียนรู้ผ่านการสื่อการเรียนการสอนเทียบกับเกณฑ์ร้อยละ 70 โดยวิธีการทางสถิติโดยใช้ *t*-test one sample ผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนแสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนเทียบกับเกณฑ์ร้อยละ 70

แบบทดสอบ	N	$\overline{X}$	S.D.	t	Sig.
หลังเรียน	62	7.65	1.53	39.428	.00

จากตารางที่ 4.3 พบว่า ผลเปรียบเทียบผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนเรื่องเคมีกรดเบสของนักเรียน หลังการจัดกิจกรรมการเรียนรู้ผ่านสื่อการเรียนการสอนมีผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนสูงกว่าเกณฑ์ร้อยละ 70 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยมีคะแนนเฉลี่ย 7.65 คะแนน

4.1.8 ความพึงพอใจที่มีต่อสื่อการเรียนการสอน

แบบสอบถามวัดความพึงพอใจของนักเรียนที่มีต่อชุดสื่อการเรียนการสอนทำการศึกษาภายหลังจากกลุ่มตัวอย่างผ่านการใช้ชุดสื่อการเรียนการสอนที่พัฒนาขึ้น โดยกลุ่มตัวอย่างได้แสดงความพึงพอใจต่อชุดสื่อการเรียนการสอน ด้วยแบบทดสอบวัดความพึงพอใจที่มีระดับความพึงพอใจ 5 ระดับ คือ

ระดับ 5 หมายถึง มีความพึงพอใจมากที่สุด
ระดับ 4 หมายถึง มีความพึงพอใจมาก
ระดับ 3 หมายถึง มีความพึงพอใจปานกลาง
ระดับ 2 หมายถึง มีความพึงพอใจน้อย
ระดับ 1 หมายถึง มีความพึงพอใจน้อยที่สุด

ผู้วิจัยนำข้อมูลที่ได้มาหาค่าน้ำหนักจากนั้นนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติเป็นคะแนนเฉลี่ยเพื่อประเมินผลตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ความพึงพอใจของนักเรียนที่มีต่อการการจัดกิจกรรมการเรียนรู้ผ่านชุดสื่อการเรียนการสอน ของนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 1

รายการประเมิน	($\overline{X}$)	S.D.	ระดับความพึงพอใจ
ด้านกระบวนการขั้นตอนการจัดกิจกรรม	4.01	0.86	มาก
ด้านชุดสื่อการเรียนการสอน	4.00	0.93	มาก
ด้านคุณภาพ	4.10	1.00	มาก
รวม	**4.04**	**0.93**	**มาก**

จากตารางที่ 4.4 แสดงผลความพึงพอใจของนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 1 ที่มีต่อการจัดกิจกรรมการเรียนรู้ผ่านชุดสื่อการเรียนการสอนที่สร้างขึ้น พบว่าด้านกระบวนการขั้นตอนการจัดกิจกรรมมีระดับความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก ($\overline{X}$ =4.01, S.D. = 0.86) ด้านชุดสื่อการเรียนการสอนมีระดับความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก ($\overline{X}$ =4.00, S.D. = 0.93) และด้านคุณภาพมีระดับความพึงพอใจอยู่ในระดับมาก ($\overline{X}$ =4.10, S.D. = 1.00) ดังนั้นระดับความพึงพอใจของนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 1 ที่มีต่อการการจัดการเรียนรู้ผ่านชุดสื่อการเรียนการสอนอยู่ในระดับมาก ($\overline{X}$ =4.04, S.D. = 0.93)

4.1.9 ความคิดเห็นของผู้ใช้สื่อการเรียนการสอน

จากผลการศึกษาความคิดเห็นของคุณครูที่เคยใช้ชุดสื่อการเรียนการสอนจาก 2 โรงเรียนต่อการจัดการเรียนรู้ผ่านการจัดกิจกรรมการเรียนรู้ผ่านสื่อการเรียนการสอนได้ผลการศึกษาแต่ละคำถามดังรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. โดยปกติแล้วท่านมีรูปแบบการสอนเรื่องสารละลายกรดเบสอย่างไร

☐ บรรยาย ☐ ทำการทดลอง ☐ ค้นคว้าด้วยตนเอง

☐ ทั้งบรรยายและทำการทดลอง ☐ เรียนรู้ผ่าน e-learning ☐ อื่นๆ .....

จากแบบสอบถามก่อนใช้ชุดสื่อการเรียนการสอนในรูปแบบการวิเคราะห์ข้อมูลแบบการแจกแจงความถี่พบว่าการเรียนการสอนในปัจจุบันนิยมใช้รูปแบบการสอนผ่านการบรรยายอย่างเดียวคิดเป็นร้อยละ 33.3% ส่วนการแบบบรรยายควบคู่กับทำการทดลอง คิดเป็นร้อยละ 66.7% และทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ที่นักเรียนควรได้รับหลังจากเรียนส่วนมากประกอบด้วย การสังเกต การสื่อความหมายข้อมูล การทดลอง การกำหนดนิยามเชิงปฏิบัติ การจำแนกประเภท การลงความเห็นจากข้อมูล การตั้งสมมติฐาน การตีความหมาย และการกำหนดควบคุมตัวแปร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าจาก

เนื้อหาการเรียนที่มีความซับซ้อนในระดับมัธยมศึกษาปีที่ 1 จึงควรมีการจัดการเรียนการสอนควบคู่ไปกับการทำการทดลองหรือใช้ชุดสื่อการเรียนการสอนเพื่อช่วยเพิ่มผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนและทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์

2. ท่านคิดว่าหัวข้อเรื่องเคมีกรดเบสนี้มีความจำเป็นต่อนักเรียนหรือไม่เพราะเหตุใด
☐ จำเป็น เพราะ.....
☐ ไม่จำเป็น เพราะ.....

จากผลการศึกษาแบบสอบถามความคิดเห็นก่อนใช้ชุดสื่อการเรียนการสอนเมื่อพิจารณาจากการวิเคราะห์ข้อมูลแบบการแจกแจงความถี่แสดงให้เห็นว่าเนื้อหาวิชาวิทยาศาสตร์ในหัวข้อเรื่องเคมีกรดเบสมีความจำเป็นต่อนักเรียน คิดเป็น 100% ของกลุ่มตัวอย่างด้วยเหตุผลดังต่อไปนี้

“เพราะใช้ในการจำแนกของใช้ในชีวิตประจำวัน/สารเคมีที่ใช้ชีวิตประจำวันจะได้เลือกใช้ให้เหมาะสม”

“เพราะเป็นสิ่งที่พบเจอในชีวิตประจำวัน”

“เพราะการเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับร่างกายต้องมีความเป็นกรดและเบสที่เหมาะสมเพื่อไม่ให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย”

3. ท่านคิดว่าการเพิ่มส่วนของการทดลองให้กับเรื่องสารละลายกรดเบสด้วยสื่อการเรียนการสอนจะสามารถช่วยเพิ่มความเข้าใจให้กับนักเรียนได้หรือไม่เพราะเหตุใด
☐ ได้ เพราะ.....
☐ ไม่ได้ เพราะ.....

จากผลการศึกษาแบบสอบถามความคิดเห็นเมื่อพิจารณาจากการวิเคราะห์ข้อมูลแบบการแจกแจงความถี่แสดงให้เห็นว่าสื่อการเรียนการสอนสามารถช่วยเพิ่มความเข้าใจให้กับนักเรียนได้ คิดเป็น 100% ของกลุ่มตัวอย่างด้วยเหตุผลดังต่อไปนี้

“เพราะได้สัมผัสและปฏิบัติจริงทุกคน”

“เพราะการทดลองทำให้เกิดการเรียนรู้จากการลงมือทำได้อย่างชัดเจน”

“เพราะช่วยทำให้นักเรียนมีความเข้าใจมากขึ้น”

4. ท่านคิดว่าสื่อการเรียนการสอนนี้สามารถช่วยสร้างทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ขั้นบูรณาการ 5 ทักษะและเพิ่มความเข้าใจในเนื้อหาเรื่องนี้ให้กับนักเรียนได้หรือไม่ เพราะเหตุใด

.....

.....

จากผลการศึกษาแบบสอบถามความคิดเห็นเมื่อพิจารณาจากการวิเคราะห์ข้อมูลแบบการแจกแจงความถี่แสดงให้เห็นว่าสื่อการเรียนการสอนสามารถช่วยสร้างทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ขั้นบูรณาการ 5 ทักษะและเพิ่มความเข้าใจในเนื้อหาเรื่องนี้ให้กับนักเรียนได้ คิดเป็น 100% ของกลุ่มตัวอย่างด้วยเหตุผลดังต่อไปนี้

“เพราะทำให้เกิดกระบวนการเรียนรู้/ทักษะในด้านต่างๆ ของกระบวนการทาง วิทยาศาสตร์และได้ประสบการณ์ตรงที่ได้จากการลงมือปฏิบัติจริง”

“เพราะทดลองเปรียบเทียบเห็นผลชัดเจน”

5. ท่านมีความคิดเห็นโดยภาพรวมอย่างไรเกี่ยวกับสื่อการเรียนการสอนเรื่องกรด-เบสอินดิเคเตอร์ชิ้นนี้

.....

.....

จากผลการศึกษาแบบสอบถามความคิดเห็นแสดงให้เห็นว่าชุดสื่อการเรียนการสอนรื่องกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติเป็นชุดสื่อการเรียนการสอนที่มีประสิทธิภาพมีวิธีใช้งานง่ายและยังเป็นสื่อที่เข้าใจง่ายอีกด้วย เมื่อพิจารณาจากเหตุผลดังต่อไปนี้

“เป็นสื่อการเรียนการสอนที่มีประสิทธิภาพ”

“เป็นสื่อการเรียนการสอนที่ดี มีความเข้าใจง่าย”

“ดีมาก เหมาะสมแก่การเรียนรู้ของนักเรียนมัธยมศึกษาตอนต้น/ ใช้งานง่ายและเข้าใจง่าย”

6.ท่านมีแผนจะซื้อสื่อการเรียนการสอนนี้ใช้ในอนาคตอย่างต่อเนื่องอีกหรือไม่

☐ ซื้อ ☐ ไม่ซื้อ เพราะ.....

จากผลการศึกษาแบบสอบถามความคิดเห็นเมื่อพิจารณาจากการวิเคราะห์ข้อมูลแบบการแจกแจงความถี่แสดงให้เห็นว่า 100% ของกลุ่มตัวอย่างมีแผนจะซื้อสื่อการเรียนการสอนกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาตินี้ใช้ในอนาคตและคิดเป็นร้อยละ 66.7% ที่คิดว่าจะซื้อสื่อการเรียนการสอนกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาตินี้ใช้อย่างต่อเนื่องและอีกร้อยละ 33.3% ไม่ซื้อต่อ

“เพราะมีงบสนับสนุนน้อย”

7.ท่านคิดว่าจะแนะนำสื่อการเรียนการสอนนี้ให้กับท่านอื่นหรือไม่

☐ แนะนำ ☐ ไม่แนะนำ เพราะ.....

จากผลการศึกษาแบบสอบถามความคิดเห็นเมื่อพิจารณาจากการวิเคราะห์ข้อมูลแบบการแจกแจงความถี่แสดงให้เห็นว่า 100% ของกลุ่มตัวอย่างพบว่าจะแนะนำสื่อการเรียนการสอนนี้ให้กับท่านอื่นด้วยเหตุผลดังต่อไปนี้

“เพราะใช้งานง่าย”

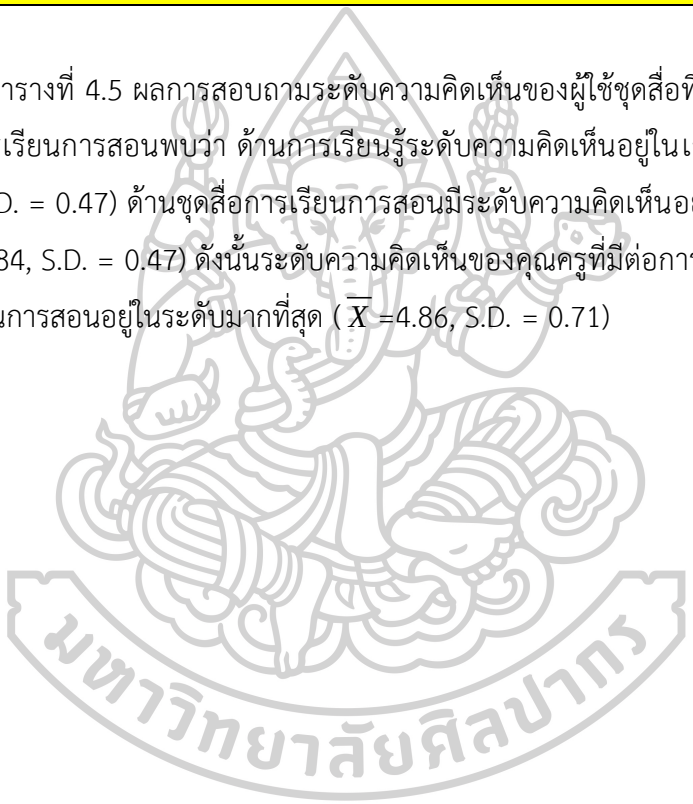
“เพราะเข้าใจง่าย/ ทำการทดลองง่าย เห็นผลการทดลองชัดเจน”

นอกจากนี้ผู้วิจัยทำการศึกษาระดับความคิดเห็นของผู้ใช้ที่มีต่อการจัดการเรียนรู้ด้วยชุดสื่อการเรียนการสอนได้ผลดังรายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลการศึกษาความคิดเห็นของผู้ใช้ที่มีต่อการจัดการเรียนรู้ด้วยชุดสื่อการเรียนการสอน

รายการประเมิน	**($\overline{X}$)**	**S.D.**	**ระดับความคิดเห็น**
ด้านการเรียนรู้	4.87	0.47	มากที่สุด
ด้านชุดสื่อการเรียนการสอน	4.84	0.47	มากที่สุด
รวม	**4.86**	**0.71**	**มากที่สุด**

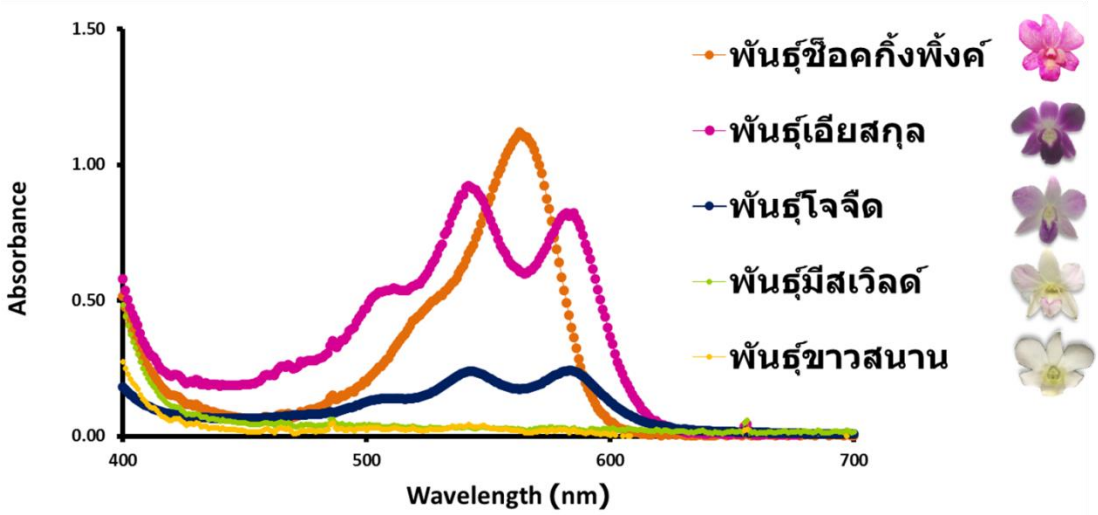
จากตารางที่ 4.5 ผลการสอบถามระดับความคิดเห็นของผู้ใช้ชุดสื่อที่มีต่อการจัดการเรียนรู้ด้วยชุดสื่อการเรียนการสอนพบว่า ด้านการเรียนรู้ระดับความคิดเห็นอยู่ในเกณฑ์เห็นด้วยมากที่สุด ($\overline{X}$ =4.87, S.D. = 0.47) ด้านชุดสื่อการเรียนการสอนมีระดับความคิดเห็นอยู่ในเกณฑ์เห็นด้วยมากที่สุด ($\overline{X}$ =4.84, S.D. = 0.47) ดังนั้นระดับความคิดเห็นของคุณครูที่มีต่อการการจัดการเรียนรู้ผ่านชุดสื่อการเรียนการสอนอยู่ในระดับมากที่สุด ($\overline{X}$ =4.86, S.D. = 0.71)



4.2 การเตรียมสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สำหรับใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

4.2.1 ผลการศึกษาพันธุ์กล้วยไม้

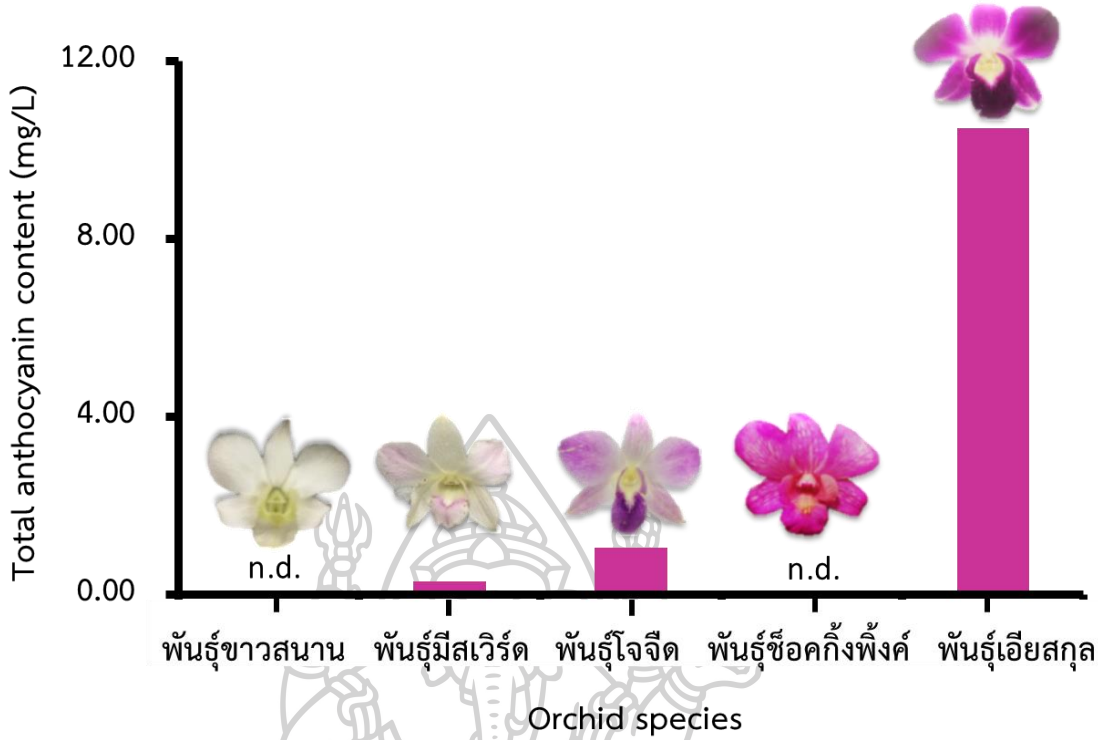
จากผลการทดลองพบว่าดอกกล้วยไม้พันธุ์ช็อคกิ้งพิ้งค์ และพันธุ์เอียสกุล ให้สารละลายที่มีสีชัดเจนมากที่สุดซึ่งสอดคล้องกับสีของดอกกลีบกล้วยไม้ที่มีสีเข้มและชัดเจนมากที่สุด ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 กราฟการดูดกลืนแสงของกล้วยไม้พันธุ์ขาวสนาน พันธุ์มีสเวิลด์ พันธุ์โจจืด พันธุ์ช็อคกิ้งพิ้งค์ และพันธุ์เอียสกุล

4.2.2 ผลการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานิน (Total anthocyanin content, TAC)

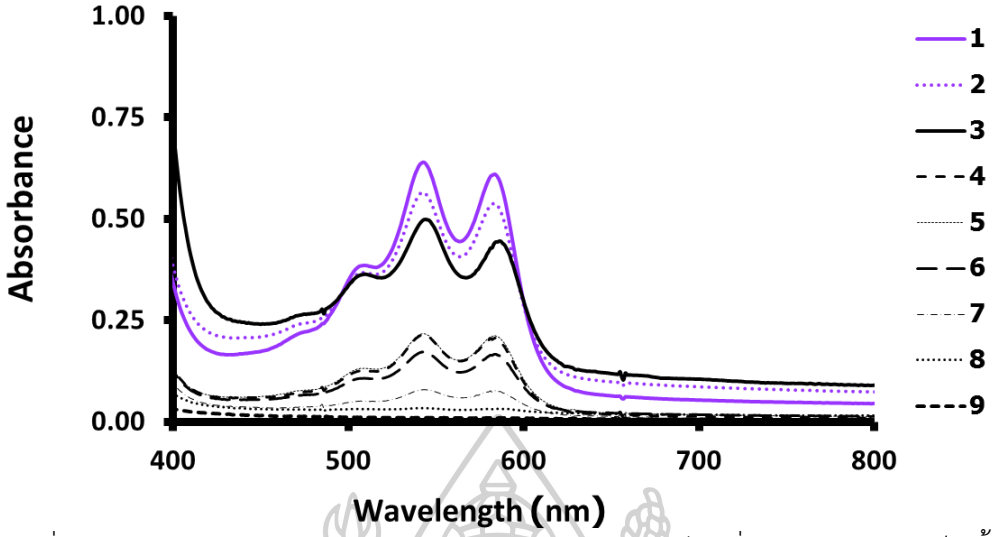
จากผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ (4.5) พบว่าไม่พบปริมาณแอนโทไซยานิน (Total anthocyanin content, TAC) ในกล้วยไม้พันธุ์ขาวสนานและมีสเวิลด์ ในขณะที่พันธุ์โจจืดมีปริมาณ TAC อยู่เล็กน้อย สอดคล้องกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่สกัดได้ (รูป 4.4) เมื่อพิจารณาสารสกัดจากกล้วยไม้พันธุ์ช็อคกิ้งพิ้งค์ที่ให้สารละลายสีชมพูแดงเข้ม แต่กลับไม่พบปริมาณ TAC อยู่เลย ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการย้อมสีกลีบดอกโดยใช้สีย้อมสังเคราะห์ที่ดูดผ่านก้านดอกเพื่อเพิ่มมูลค่าทางการค้า และเมื่อพิจารณาจากค่า TAC ของกล้วยไม้สายพันธุ์เอียสกุล พบว่ามีสูงกว่ากล้วยไม้สายพันธุ์อื่นๆ อย่างมากสอดคล้องกับสีของสารละลายที่สกัดได้จากดอกกล้วยไม้พันธุ์นี้ ซึ่งจะสามารถนำมาใช้เป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์ได้ดีที่สุด ดังนั้นในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงเลือกใช้กล้วยไม้สายพันธุ์เอียสกุล *“Dendrobium Sonia earsakul”* เป็นรีเอเจนท์สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน



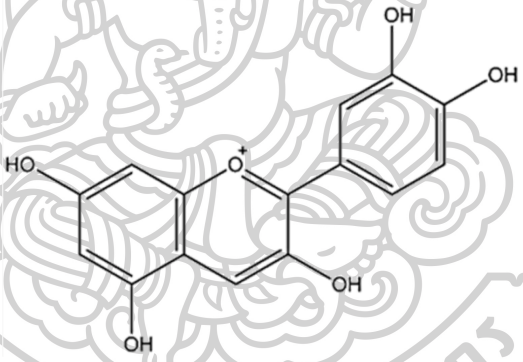
รูปที่ 4.5 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้แต่ละสายพันธุ์

4.2.3 ผลการศึกษาตัวสกัดที่เหมาะสมกับดอกกล้วยไม้

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายและต้มจนเดือดนาน 15 นาที มีค่าการดูดกลืนแสงดีที่สุดเมื่อเทียบกับตัวทำละลายชนิดอื่นๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.6 ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดจากดอกกล้วยไม้มีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญซึ่งเป็นอนุพันธ์ของแอนโทไซยานินที่สามารถพบได้ในกล้วยไม้สกุล *“Dendrobium”* ที่มีสีม่วงคือ ‘ไซยานิดิน’ (cyanidin) (Kuehnle. *et al*., 1997) ซึ่งมีโครงสร้างแสดงดังรูปที่ 4.7 จะเห็นว่าไซยานิดินเป็นโมเลกุลที่มีสภาพขั้วสูง จึงถูกสกัดด้วยน้ำได้ดีกว่าตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ และเมื่อให้ความร้อนโดยการต้มจนเดือดพบว่าสารละลายมีค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มมากขึ้นด้วย ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการทดลองสอดคล้องกับสีของสารละลายในรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.6 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำกลั่นต้มเดือด (1) น้ำที่อุณหภูมิห้อง (2) 5% เอทานอล(3) 10% เอทานอล (4) 20% เอทานอล (5) 40% เอทานอล (6) 60% เอทานอล (7) 80% เอทานอล (8) และเอทานอลบริสุทธิ์ (9)

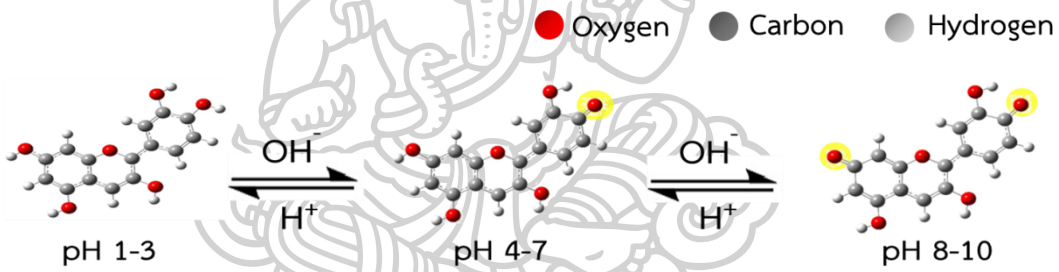


รูปที่ 4.7 โครงสร้างทางเคมีของไซยานิดิน (cyanidin)

รูปที่ 4.8 สีของสารละลายที่สกัดได้เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำกลั่นต้มเดือด (1) น้ำที่อุณหภูมิห้อง (2) 5% เอทานอล(3) 10% เอทานอล (4) 20% เอทานอล (5) 40% เอทานอล (6) 60% เอทานอล (7) 80% เอทานอล (8) และเอทานอลบริสุทธิ์ (9)

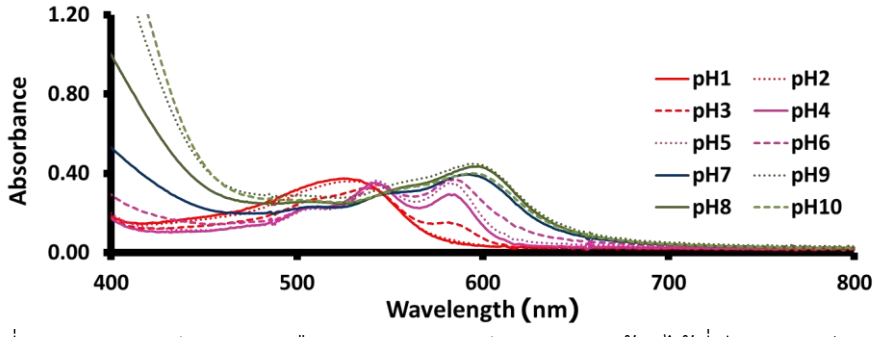
4.2.4 ผลการศึกษาอิทธิพลของพีเอชต่อการเปลี่ยนแปลงของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้

การทดลองนี้ทำนายโครงสร้างของแอนโทไซยานินโดยใช้ไซยานิดินเป็นตัวแทนเมื่อใช้โปรแกรม Guassian 09 และปรับสภาวะความเป็นกรดเบสจะได้โครงสร้างทางเคมีที่เป็นไปได้ดังรูปที่ 4.9 เมื่อนำสารสกัดจากดอกกล้วยไม้มาปรับค่าพีเอช พบว่าสารสกัดจากดอกกล้วยไม้จะให้สารละลายสีแดงในสภาวะกรด (pH 1-3) และมีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 500-550 nm จากนั้นเมื่อทำการเพิ่มพีเอชของสารละลายให้สูงขึ้น (pH 4-7) พบว่ามีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเลื่อนไปที่ความยาวคลื่นยาวขึ้นประมาณ 550-600 nm และให้สารละลายสีม่วงและเมื่อปรับพีเอชของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ให้อยู่ในภาวะเบส (pH 8-10) พบว่าสีของสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเขียวและมีค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุดในช่วงความยาวคลื่น 580-640 nm ดังรูปที่ 4.10 และ 4.11 จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากดอกกล้วยไม้มีคุณสมบัติเป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์ได้เป็นอย่างดี เนื่องจากให้สีในสภาวะ กรด กลาง เบส ที่แตกต่างกันและยังสามารถเห็นการเปลี่ยนสีของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ได้อย่างชัดเจน ดังนั้นจะเห็นว่าสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สามารถนำมาใช้วิเคราะห์เชิงปริมาณได้



รูปที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานินที่ได้จากโปรแกรม Guassian 09

รูปที่ 4.10 การเปลี่ยนแปลงสีของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่พีเอชแตกต่างกัน



รูปที่ 4.11 สเปกตรัมการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่พีเอชแตกต่างกัน

4.3 ศึกษาการไทเทรตกรด-เบสโดยใช้สารสกัดจากกล้วยไม้เป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์

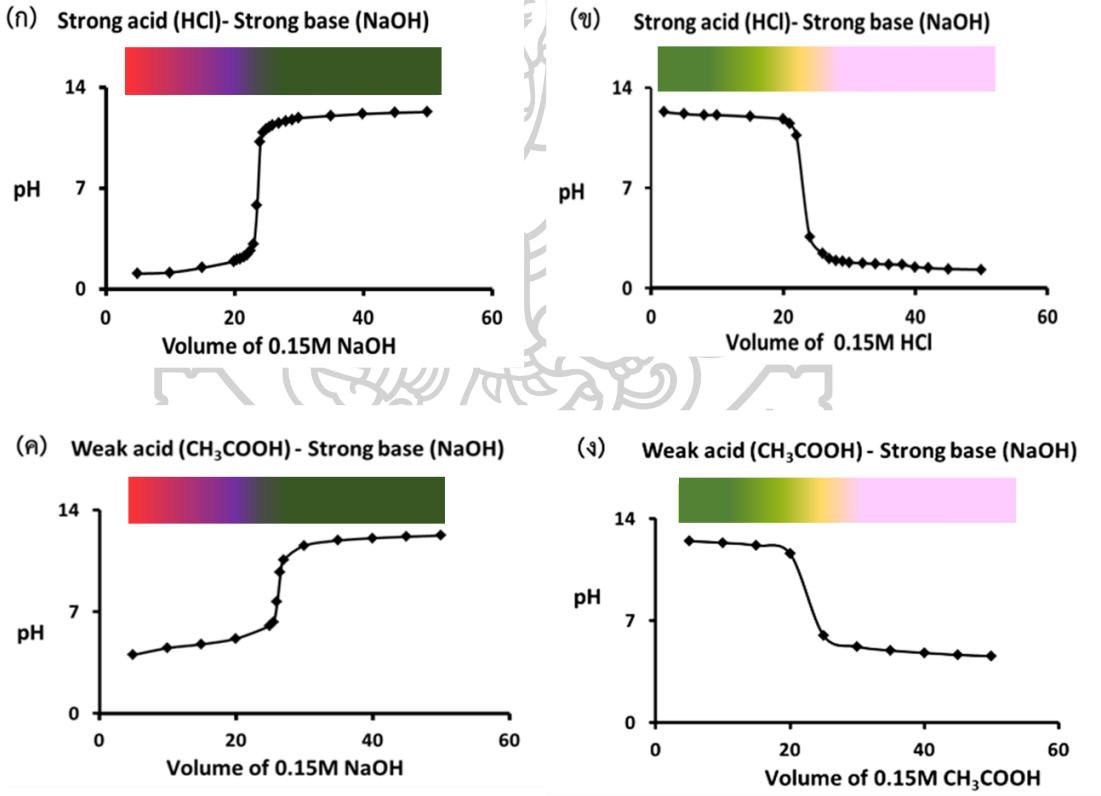
4.3.1 การไทเทรตกรดแก่ด้วยเบสแก่ โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเป็นไทแทรนด์ จัดระบบการไทเทรตดังรูปที่ 3.8 ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.12ก. พบว่าสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สามารถนำมาใช้ในการบอกยุติของการไทเทรตได้จริงเนื่องจากมีช่วงการเปลี่ยนสีที่ค่าพีเอชใกล้เคียงกับจุดสมมูลของการไทเทรตกรดแก่ด้วยเบสแก่และมีการเปลี่ยนสีของสารละลายอย่างชัดเจนเมื่อถึงจุดยุติของการไทเทรตโดยเกิดการเปลี่ยนสีของสารละลายจากสีแดง (acid form : Flavylium ion) ไปเป็นสีเขียว (base form : Quinoidal base) ดังแสดงในรูปที่ 4.13ก. ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของรงควัตถุแอนโทไซยานินที่อยู่ในดอกกล้วยไม้เมื่อพีเอชของสารละลายเปลี่ยนและที่จุดสมมูลของการไทเทรตมีค่าพีเอชเท่ากับ 7.00 สอดคล้องกับกราฟการไทเทรตที่ได้จากการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี

4.3.2 การไทเทรตเบสแก่ด้วยกรดแก่ โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นไทแทรนด์ จัดระบบการไทเทรตดังรูปที่ 3.8 เช่นกัน ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.12ข. พบว่าเมื่อนำสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ผ่านการเติมสารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นอินดิเคเตอร์ไทเทรตกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกไปเรื่อยๆ จะทำให้สีของสารละลายในบีกเกอร์ค่อยๆ เปลี่ยนจากสีเขียวเหลืองไปเป็นสารละลายสีชมพู ทั้งนี้เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงพีเอชของสารละลายส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานินและที่จุดยุติของการไทเทรตที่เกิดการเปลี่ยนสารละลายเป็นสีชมพู เนื่องจากเริ่มต้นการไทเทรตในสภาวะเบสที่แรงมากอาจส่งผลต่อการทำลายระบบคอนจูเกชันของโครงสร้างแอนโทไซยานินให้อยู่ในรูป Carbinol pseudo-base ซึ่งเป็นฟอร์มที่ให้สารละลายใสไม่มีสี และเมื่อทำการไทเทรตจนถึงจุดยุติ แอนโทไซยานินจะอยู่ในรูป Flavylium ion (ดังแสดงในรูปที่ 4.13ข.) จึงทำให้สารละลายเริ่มต้นมีสีเขียวอ่อน ในขณะที่จุดยุติจะเห็นสารละลายเป็นสีชมพู (Jiangrong & Yueming, 2007) แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สามารถใช้เป็นอินดิเคเตอร์ในการบอกจุดยุติของการไทเทรตเบสแก่ด้วยกรดแก่ได้ และที่จุดสมมูลของการไทเทรตมีค่าพีเอชเท่ากับ 7.00 สอดคล้องกับกราฟการไทเทรตที่ได้จากการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี

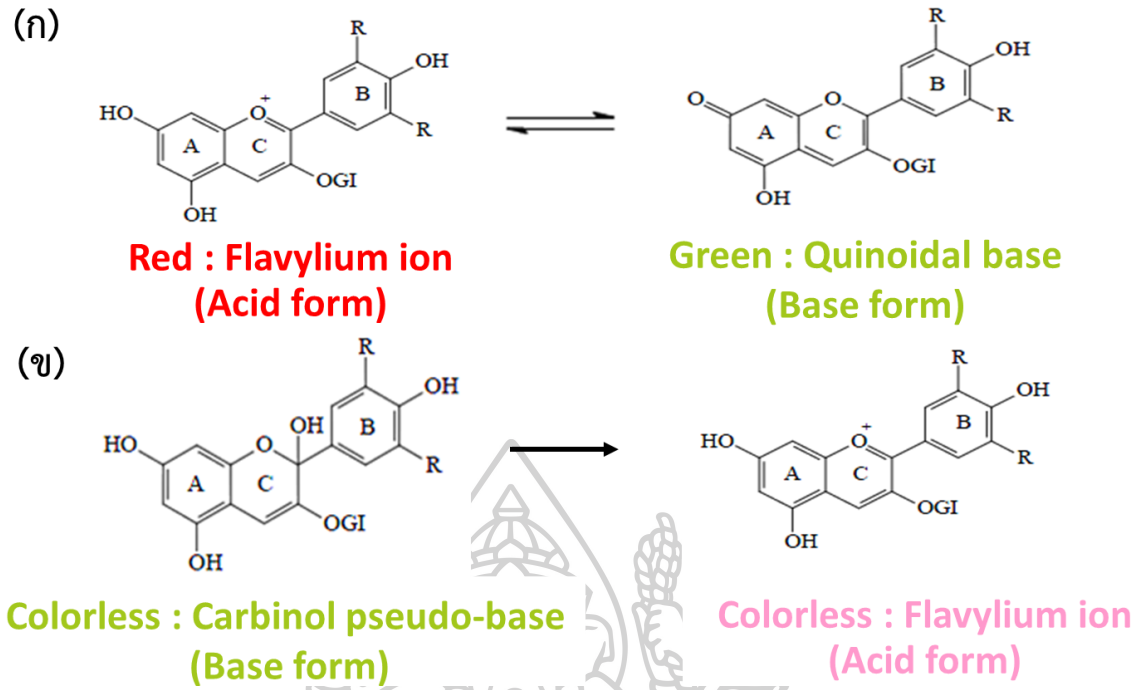
4.3.3 การไทเทรตกรดอ่อนด้วยเบสแก่ โดยใช้สารละลายกรดอะซิติกเป็นไทแทรนด์ จัดระบบการไทเทรตดังรูปที่ 3.8 และผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.12ค. พบว่ากรด-เบสอินดิเคเตอร์จากสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สามารถนำมาใช้ในการบอกจุดยุติของการไทเทรตได้จริงเนื่องจากมีช่วงการเปลี่ยนสีที่ค่าพีเอชใกล้เคียงกับจุดสมมูลของการไทเทรตกรดอ่อนด้วยเบสแก่โดยเกิดการเปลี่ยนจากสีแดงไปเป็นสีเขียวซึ่งสามารถสังเกตได้อย่างชัดเจนเมื่อถึงจุดยุติของการไทเทรตโดยมีจุดสมมูลของการไทเทรตมีค่าพีเอชเท่ากับ 8.81 ซึ่งให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี

4.3.4 การไทเทรตเบสแก่ด้วยกรดอ่อน โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นไทแทรนด์ พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงในทำนองเดียวกับการไทเทรตเบสแก่ด้วยกรดแก่ ซึ่งจะทำให้สารละลายเมื่อเติมสารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นอินดิเคเตอร์สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเหลืองไปเป็นสารละลายสีชมพูเมื่อถึงจุดยุติของการไทเทรตและมีจุดสมมูลของการไทเทรตอยู่ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 8.80 ซึ่งให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับการไทเทรตแบบโพเทนซิโอเมตรีผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.12ง.

จากผลการทดลองการไทเทรตกรด-เบสทั้งสองระบบคือ การไทเทรตกรดแก่-เบสแก่ และการไทเทรตกรดอ่อน-เบสแก่ พบว่าสารสกัดจากดอกกล้วยไม้พันธุ์ *“Dendrobium Sonia earsakul”* สามารถนำมาใช้เป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์ได้ดี เนื่องจากมีช่วงการเปลี่ยนสีที่ค่าพีเอชใกล้เคียงกับจุดสมมูลของการไทเทรต นอกจากนี้ยังมีการเปลี่ยนสีที่ชัดเจนเมื่อถึงจุดยุติของการไทเทรตอีกด้วยและสามารถใช้วิเคราะห์ความเข้มข้นของกรดอะซิติกในตัวอย่างน้ำส้มต่อไปได้



รูปที่ 4.12 แสดงกราฟการไทเทรตกรดแก่เบสแก่โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นไทแทรนต์ (ก) การไทเทรตกรดแก่เบสแก่โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเป็นไทแทรนต์ (ข) การไทเทรตกรดอ่อนเบสแก่โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นไทแทรนต์ (ค) การไทเทรตกรดอ่อนเบสแก่โดยใช้โดยใช้สารละลายกรดอะซิติกเป็นไทแทรนต์ (ง)



รูปที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงสีและโครงสร้างทางเคมีของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สำหรับใช้ระบุจุดยุติของการไทเทรตกรดแก่ด้วยเบสแก่ (ก) การไทเทรตเบสแก่ด้วยกรดแก่ (ข)

4.3.5 การศึกษาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกโดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์

การทดลองนี้ทำขึ้นเพื่อแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากดอกกล้วยไม้พันธุ์ *"Dendrobium Sonia earsakul"* สามารถนำไปประยุกต์เพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของกรดตัวอย่างได้จริงซึ่งผู้วิจัยสนใจวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูตัวอย่างที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดทั่วไป ผลการวิเคราะห์รายงานเป็น % (w/v) acetic acid แสดงดังตารางที่ 4.6 ซึ่งพบว่าการไทเทรตเมื่อใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นอินดิเคเตอร์ เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน AOAC และการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี มีค่าใกล้เคียงกัน เมื่อทดสอบด้วยวิธีทางสถิติ ANOVA (Single Factor) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าค่า F_{stat} มีค่าเท่ากับ 0.002 ซึ่งน้อยกว่า $F_{critical}$ ที่มีค่าเท่ากับ 3.89 ดังนั้นผลการวิเคราะห์จากทั้งสามวิธีนี้จึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (Miller. & Miller., 2018)

ตารางที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำส้มสายชูโดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นอินดิเคเตอร์เทียบกับวิธีมาตรฐาน AOAC และวิธีการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี

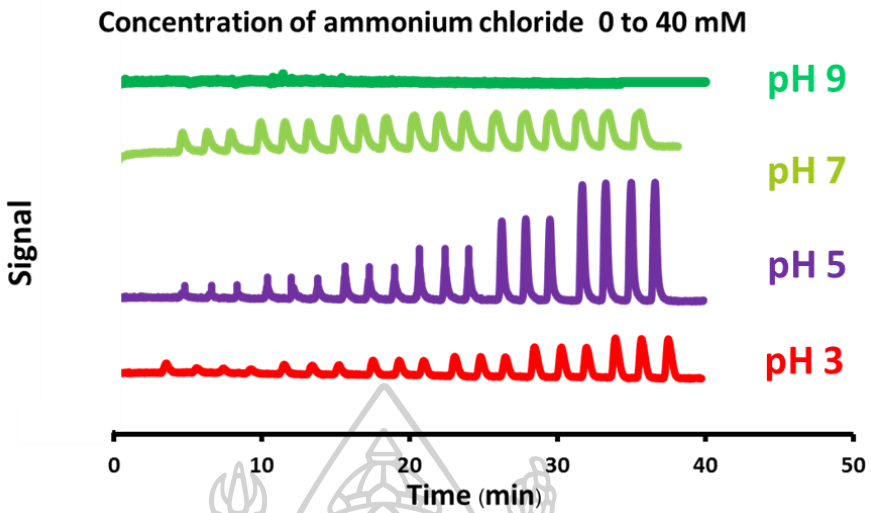
Vinegar sample	% acetic acid (w/v)[a]		
	Acid base titration using orchid as an indicator	AOAC Method	Potentiometric titration
1	5.29 ± 0.15	5.38 ± 0.05	5.26 ± 0.12
2	5.32 ± 0.12	5.38 ± 0.05	5.43 ± 0.02
3	5.32 ± 0.06	5.34 ± 0.12	5.48 ± 0.03
4	4.59 ± 0.05	4.30 ± 0.03	4.39 ± 0.15
5	3.00 ± 0.06	3.04 ± 0.04	2.81 ± 0.09

[a] mean ± sd ของการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนด้วยระบบการไหล GD-FIA โดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นสารละลายตัวรับ

4.4.1 ศึกษาพีเอชของสารสกัดจากกล้วยไม้เพื่อนำไปใช้วิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน

จากผลการทดลองเพื่อศึกษาพีเอชของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่ทำให้ได้ความไวในการวิเคราะห์ดีที่สุด และเพื่อควบคุมประสิทธิภาพของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่จะใช้เป็นรีเอเจนท์ในการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจน โดยใช้ระบบ GD-FIA และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 600 nm พบว่าสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่พีเอช 5 มีค่าความไวในการวิเคราะห์สูงที่สุด ซึ่งสัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์แสดงดังรูปที่ 4.14 และมีค่าความไวในการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.7 สามารถอธิบายได้ว่าที่ความยาวคลื่น 600 nm นี้จะเป็นการติดตามสารละลายสีเขียวที่เกิดขึ้น ซึ่งหากใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เริ่มต้นที่พีเอช 7 และ 9 สีของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่ได้เริ่มต้นจะเป็นสีเขียวจึงไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงสีที่ชัดเจน และหากเลือกใช้พีเอชของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้เริ่มต้นที่พีเอช 3 สีของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่ได้เริ่มต้นจะเป็นสีแดง แก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้นอาจมีความเข้มข้นเพียงเล็กน้อย ส่งผลทำให้พีเอชของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้เปลี่ยนแปลงไปไม่มากนัก และไม่สามารถตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 600 nm ได้ ดังนั้นการเลือกใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เริ่มต้นที่พีเอช 5 สีของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ที่ได้เริ่มต้นจะเป็นสีม่วงและหลังเกิดปฏิกิริยาแก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้นจะละลายลงในสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ส่งผลทำให้พีเอชของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้เปลี่ยนแปลงไปในสภาวะเบสที่สามารถให้สารละลายสีเขียว และสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงของสีเขียวที่เกิดขึ้นที่ 600 nm ได้ดีที่สุด



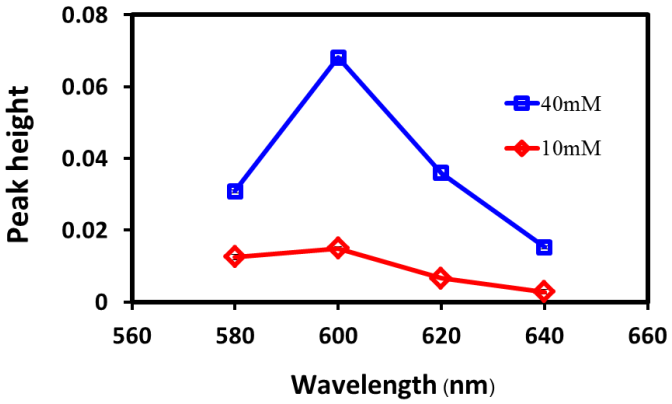
รูปที่ 4.14 สัญญาณที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยระบบ GD-FIA ที่สภาวะพีเอชของสารสกัดจากกล้วยไม้ต่างกัน

ตารางที่ 4.7 ผลการทดลองที่สภาวะพีเอชของสารสกัดจากกล้วยไม้ต่างกัน

พีเอช	สมการเส้นตรง	ความเป็นเส้นตรง (r^2)
3	y = (2.2837±0.03)x - (0.0007±0.00)	0.9996
5	y = (7.9668±0.12)x - (0.0544±0.00)	0.9993
7	y = (0.381±0.15)x + (0.0651±0.00)	0.6734

4.4.2 ศึกษาความยาวคลื่นในการตรวจวัดด้วยระบบ GD-FIA

จากผลการทดลองพบว่าหลังจากแก๊สแอมโมเนียแพร่ผ่านเมมเบรนของแก๊สดิฟฟิวชันและละลายลงในสารสกัดจากดอกกล้วยไม้จะทำให้สารละลายมีความเป็นเบสมากขึ้น ส่งผลให้สีของสารสกัดจากกล้วยไม้เปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเขียวซึ่งมีพีเอชเท่ากับ 9 (วัดค่าพีเอชของสารละลาย waste จากระบบ GD-FIA) และมีค่าการดูดกลืนแสงที่สูงที่สุดอยู่ในช่วง 580-640 nm (ดังรูป 4.11) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาความยาวคลื่นในการตรวจวัดที่ 580, 600, 620 และ 640 nm เพื่อให้เหมาะสมกับระบบ GD-FIA โดยทำการศึกษาที่สารมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 10 mM และ 40 mM จากผลการทดลองในรูปที่ 4.15 แสดงให้เห็นว่าที่ความยาวคลื่น 600 nm ให้สัญญาณที่สูงที่สุด เนื่องจากมีความแตกต่างกันของค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ pH 5 (เริ่มต้น) และ pH 9 (หลังจากเกิดปฏิกิริยา) จึงเลือกที่ความยาวคลื่น 600 nm ในการตรวจวัดสำหรับวิเคราะห์หาแอมโมเนียมไนโตรเจนด้วยระบบ GD-FIA

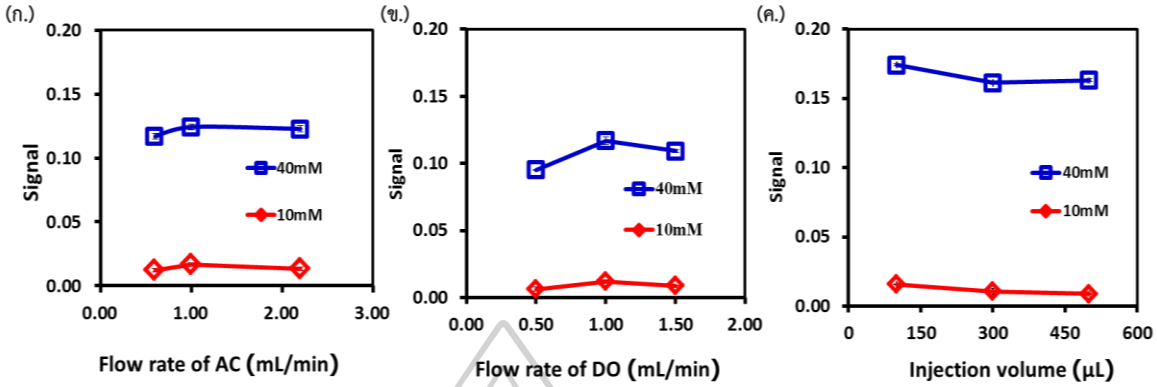


รูปที่ 4.15 กราฟเปรียบเทียบความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) เมื่อศึกษาผลของความยาวคลื่นสำหรับการตรวจวัดวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน

4.4.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หาแอมโมเนียมไนโตรเจนที่ช่วงความเข้มข้นสูงด้วยระบบ GD – FIA

ศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน ซึ่งได้แก่ อัตราเร็วการลำเลียงสารทั้งสารละลายตัวรับ (Acceptor stream, AC) สารละลายตัวให้ (Donor stream, DO) และปริมาณการฉีดสารตัวอย่าง (Injection volume) โดยทำการศึกษาความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่ำคือ 10 mM และสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นสูงคือ 40 mM ผลของอัตราเร็วการลำเลียงสาร แสดงดังรูปที่ 4.16 เมื่อกำหนดให้อัตราการไหลของระบบ GD-FIA สารละลายตัวรับ (AC) คงที่ และเปลี่ยนอัตราการไหลของสารละลายตัวให้ (DO) พบว่า ความไวในการวิเคราะห์สูงที่สุดเมื่อใช้อัตราเร็วการลำเลียงสาร 1.0 mL/min (รูปที่ 4.16ก.) จากนั้นกำหนดให้อัตราการลำเลียงสารของ DO เท่ากับ 1.0 mL/min แล้วเปลี่ยนอัตราการลำเลียงสารของ AC พบว่าที่ 1.0 mL/min ให้ความไวในการวิเคราะห์ที่ดีที่สุดเช่นกัน (รูปที่ 4.16ข.) สามารถอธิบายได้ว่าเมื่อใช้อัตราการไหลช้าเกินไปจะทำให้สารละลายเกิดการเจือจางและกระจายตัวในระบบมากเกินไป ในขณะที่เมื่อใช้อัตราการไหลของสารละลายเร็วเกินไปจะทำให้เวลาในการเกิดปฏิกิริยาของสารลดลงรวมถึงเวลาที่ท่อนโซนของสารไหลผ่านส่วนตรวจวัดก็เร็วเกินไปด้วย ดังนั้นจึงเลือกใช้อัตราเร็วการลำเลียงสาร 1.0 mL/min ในการทดลองอื่นๆ ต่อไป จากนั้นทำการทดลองเพื่อศึกษาผลของปริมาตรการฉีดสารตัวอย่างต่อระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน แสดงผลการทดลองในรูปที่ 4.16ค. พบว่าความไวในการวิเคราะห์สูงที่สุดเมื่อใช้ปริมาตร 100 µL ผลการทดลองพบว่าที่ปริมาตร 300 µL และ 500 µL สัญญาณของพีคกว้างมาก (broad) และความไวในการวิเคราะห์ลดลง อีกทั้งสัญญาณของความเข้มข้นสูงๆ ก็ไม่แปรผันตามความเข้มข้นอีกด้วย ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาตรตัวอย่างที่ฉีดเข้าระบบมีมากจนเกินไปอีกทั้งเมื่อใช้ปริมาตร 100

µL ยังใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยที่สุดอีกด้วย ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาตรตัวอย่างขนาด 100 µL ในการทดลองต่อไป

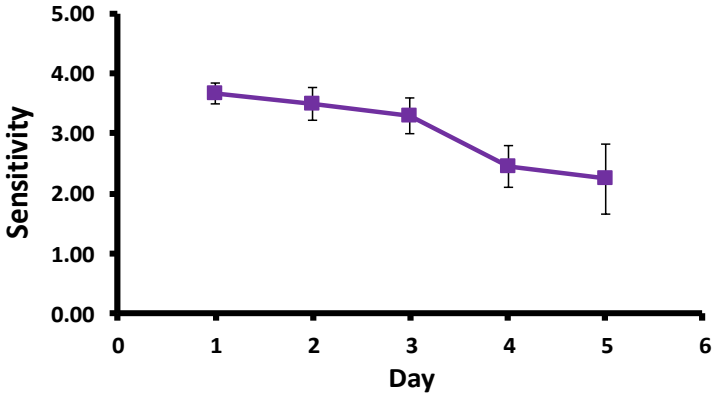


รูปที่ 4.16 กราฟเปรียบเทียบความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) เมื่อศึกษาผลของอัตราการลำเลียงสารของสารละลายตัวให้ (ก.) สารละลายตัวรับ (ข.) และปริมาตรการฉีดสารตัวอย่าง (ค.)

4.4.4 อายุการใช้งานของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้

จากการตรวจสอบความสามารถในการสกัดซ้ำแต่ละครั้งพบว่ามีค่าความแม่นยำ (%RSD) ที่ดีเมื่อเปรียบเทียบจากค่าการดูดกลืนแสงของการสกัดในแต่ละครั้งโดยมีค่าน้อยกว่า 5%

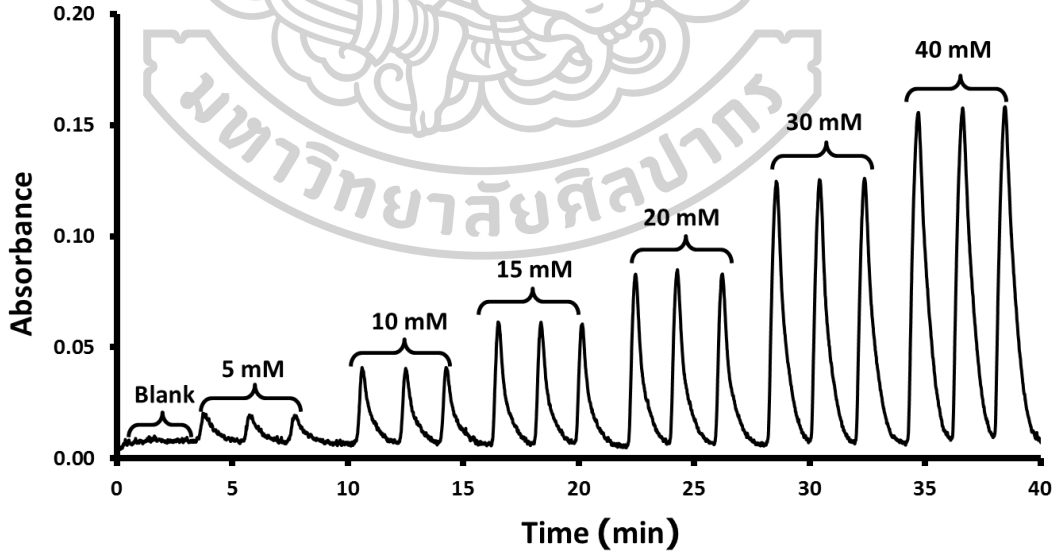
จากผลการทดลองการสกัดสารจากดอกกล้วยไม้โดยใช้น้ำต้มเดือดที่ผ่านเตรียมตามหัวข้อ 3.3 และนำมาใช้ในการวิเคราะห์ด้วยระบบไหลอัตโนมัติแบบโฟลอิเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชันเมื่อพิจารณาจากค่าความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) พบว่าสารที่สกัดจากดอกกล้วยไม้นี้มีอายุการใช้งานประมาณ 3 วัน เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 ºC โดยในวันที่ 4 พบว่าความไวและความแม่นของการวิเคราะห์ลดลง สังเกตได้จากแถบค่าคลาดเคลื่อนในรูปที่ 4.17 นอกจากนี้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้ยังมีกลิ่นเน่าเสียเกิดขึ้นด้วย



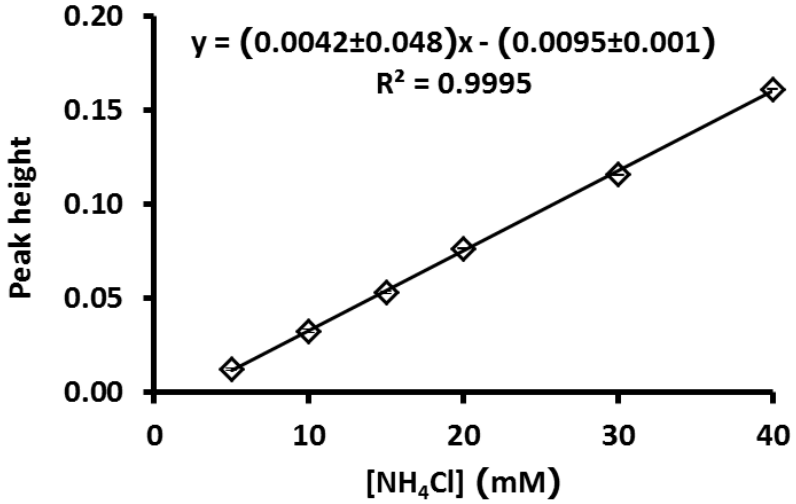
รูปที่ 4.17 อายุการใช้งานของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้พันธุ์ *“Dendrobium Sonia earsakul”* เมื่อทำการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

4.4.5 กราฟมาตรฐานและคุณลักษณะการวิเคราะห์สำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี

งานวิจัยนี้นำผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน แสดงดังรูปที่ 3.10 โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมคือ อัตราการลำเลียงสารเท่ากับ 1.0 mL/min และปริมาตรการฉีดสารตัวอย่างเท่ากับ 100 µL มาสร้างกราฟมาตรฐานและคุณลักษณะการวิเคราะห์ทำการทดลองโดยฉีดสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 5-40 mM และบันทึกสัญญาณด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 600 nm จะได้กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์กับความสูงของสัญญาณแสดงในรูปที่ 4.19 ได้สมการเส้นตรงคือ y=(0.0042± 0.0478)x - (0.007± 0.0010) และมีค่า r^2 เท่ากับ 0.9995 ความแม่นในการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันเท่ากับ 0.48% (n=10, 20 mM NH_4Cl) โดยมีขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 2.12 mM และระบบนี้สามารถทำการวิเคราะห์ได้ 48 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ผลการทดลองทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากดอกกล้วยไม้พันธุ์ *“Dendrobium Sonia earsakul”* สามารถนำมาใช้เป็นรีเอเจนท์โดยอาศัยระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชันที่พัฒนาขึ้นได้ดีและสามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างต่อไปได้



รูปที่ 4.18 สัญญาณที่ได้ของสารมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์กับเวลา โดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นสารละลายตัวรับด้วยระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน เมื่อใช้อัตราการลำเลียงสาร 1.0 mL/min และปริมาตรตัวอย่าง 100 µL

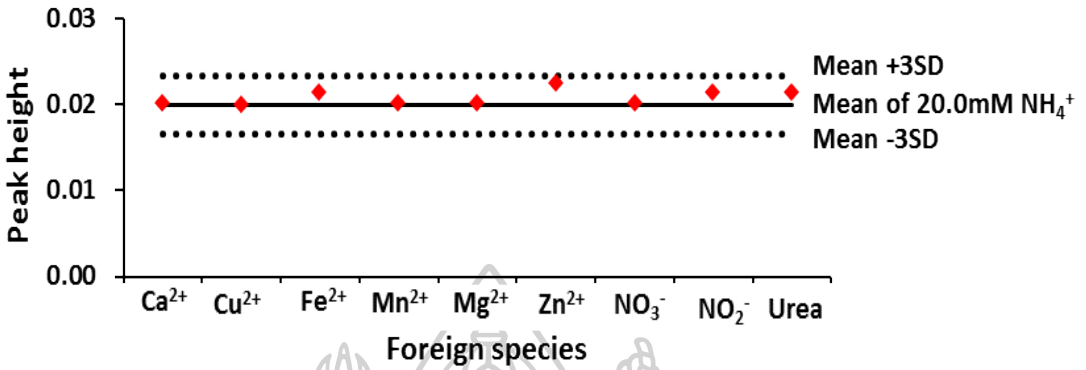


รูปที่ 4.19 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์กับความสูงของสัญญาณจากรูปที่ 4.18 โดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นสารละลายตัวรับด้วยระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน

เนื่องจากปุ๋ยตัวอย่างมีสารอื่นๆ หลายชนิดที่อาจส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์ซึ่งได้แก่ แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}), ไอออนทองแดง (Cu^{2+}), ไอออนของเหล็ก (Fe^{2+}), ไอออนของแมงกานีส (Mn^{2+}), แมกนีเซียมไอออน (Mg^{2+}), สังกะสีไอออน (Zn^{2+}), ไนเตรต (NO^{3-}), ไนไตรท์ (NO^{2-}) และยูเรีย ดังนั้นสารเหล่านี้อาจส่งผลกระทบต่อความไวในการวิเคราะห์ของวิธีที่พัฒนาขึ้น ผู้วิจัยจึงทำการศึกษาตัวรบกวนการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ทำการทดลองโดยเติม 200 mM สารละลายต่างๆ ที่อาจส่งผลต่อการวิเคราะห์ลงใน 20 mM สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ ผลการทดลองที่ได้หลังจากทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง (mean ± 3SD) โดยนำสัญญาณของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์และสัญญาณของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่มีการเติมสารละลายที่อาจส่งผลต่อการวิเคราะห์มาเปรียบเทียบกัน ผลการทดลองที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.20 พบว่าสัญญาณของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์และสัญญาณของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ที่มีการเติมสารละลายที่อาจส่งผลต่อการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนด้วยวิธีนี้ไม่มีผลการรบกวนอันเนื่องมาจากพื้นหลังของตัวอย่างและสารอื่นๆ ทั้งนี้เนื่องมาจากความจำเพาะของปฏิกิริยาและอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชันที่ใช้

นอกจากนี้ได้ศึกษาการรบกวนอันเนื่องจากสารประกอบเอมีนที่สามารถระเหยได้ เช่น เมทิลเอมีน (Methylamine) พบว่าระบบการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนนี้สามารถทนต่อการรบกวนของเมทิลเอมีนได้ถึงความเข้มข้น 100 mM (Tolerance limit) ซึ่งโดยปกติจะสามารถพบเมทิลเอมีนในแหล่งน้ำได้ที่ระดับความเข้มข้น nM เท่านั้นและไม่พบสารประกอบประเภทนี้ในปุ๋ยเคมี

ดังนั้น วิธีวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนด้วยวิธีนี้จะไม่มีผลการรบกวนของเมทิลเอมีนและสารอื่นๆ จากพื้นหลังของตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นที่ทดสอบ



รูปที่ 4.20 กราฟสัญญาณของตัวรบกวนการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี

4.4.6 การศึกษาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยตัวอย่าง

การทดลองนี้เป็นการศึกษาความน่าเชื่อถือของผลการวิเคราะห์และแสดงให้เห็นว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปประยุกต์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างได้จริงด้วยระบบ GD-FIA ที่เสนอ โดยใช้กราฟมาตรฐานที่แสดงในรูปที่ 4.19 ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนถูกคำนวณและรายงานเป็นเปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจน (% Nitrogen, w/w) ซึ่งพบว่าระบบโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชันโดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้ และ *o*-phthaldehyde เป็นสารละลายตัวรับสามารถตรวจวัดปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนที่มีอยู่ในปุ๋ยเคมีได้และเมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนพบว่าทั้งสองวิธีมีค่าใกล้เคียงกันแสดงดังตารางที่ 4.8 เมื่อทดสอบด้วยวิธีทางสถิติ *t*-test (paired two sample for means) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าค่า t_{stat} มีค่าเท่ากับ 0.49 ซึ่งน้อยกว่า $t_{critical}$ ที่มีค่าเท่ากับ 2.06 ดังนั้นผลการวิเคราะห์จากทั้งสองวิธีนี้จึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้จากการศึกษาร้อยละการกลับคืนของของวิธี GD-FIA ที่พัฒนาขึ้นทำการทดลองโดยการเติม 20.0 mM สารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์ลงในสารละลายตัวอย่างปุ๋ย เมื่อพิจารณาร้อยละการกลับคืน (% recovery) มีค่า 97.70-107.60% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระบบ GD-FIA ที่พัฒนาขึ้นโดยการใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมีได้อย่างถูกต้องและเชื่อถือได้

ตารางที่ 4.8 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างปุ๋ยเคมีโดยใช้ระบบ GD-FIA ที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้เปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิง OPA

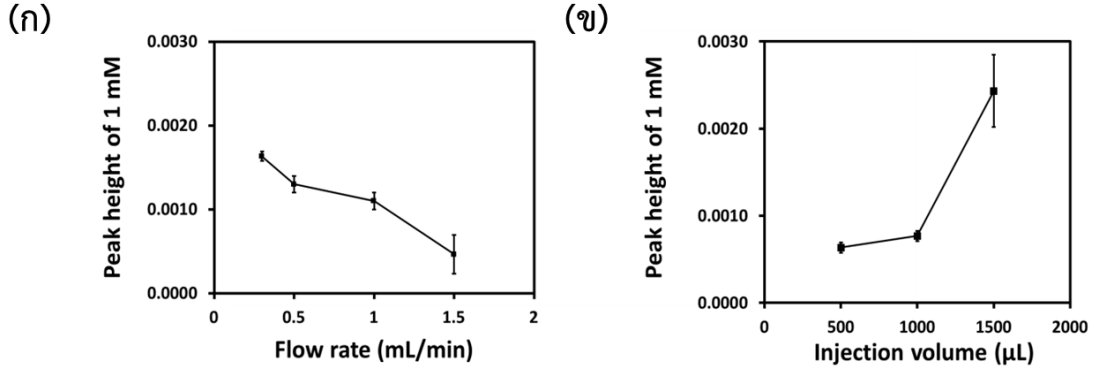
Sample	Formular	% Nitrogen (w/w)[a]	
		Purpose method	Reference OPA method
1	8-24-24	8.06 ± 0.23	8.40 ± 0.42
2	12-12-17	7.48 ± 0.07	7.77 ± 0.06
3	13-0-46	n.d. [b]	n.d.
4	13-13-21	7.49 ±0,06	7.08 ± 0.15
5	15-0-0	n.d.	n.d.
6	15-0-0	n.d.	n.d.
7	15-15-15	7.77 ± 0.11	7.88 ± 0.46
8	15-15-15	7.61. ± 0.39	6.75 ± 0.16
9	15-15-15	11.13 ± 0.02	10.72 ± 0.17
10	15-15-15	13.76 ± 0.27	12.60 ± 0.35
11	16-16-16	8.16 ± 0.017	8.34 ± 0.21
12	16-16-16	10.27 ± 0.11	9.62 ± 0.23
13	16-16-16	9.36 ± 0.09	9.25 ± 0.02
14	20-10-10	10.84 ± 0.06	9.47 ± 0.34
15	21-0-0	22.18 ± 0.03	21.60 ± 0.17
16	25-7-7	12.33 ± 0.04	12.06 ± 0.25
17	25-7-7	12.84 ± 0.05	11.96 ± 0.28
18	25-7-7	12.06 ± 0.08	11.12 ± 0.50
19	46-0-0	n.d.	n.d.
20	46-0-0	n.d.	n.d.

[a] mean ± sd ของการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

[b] n.d. = not detectable

4.4.7 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสำหรับวิเคราะห์หาแอมโมเนียมไนโตรเจนในน้ำทิ้งจากการเกษตรที่ความเข้มข้นต่ำด้วยระบบ GD – FIA

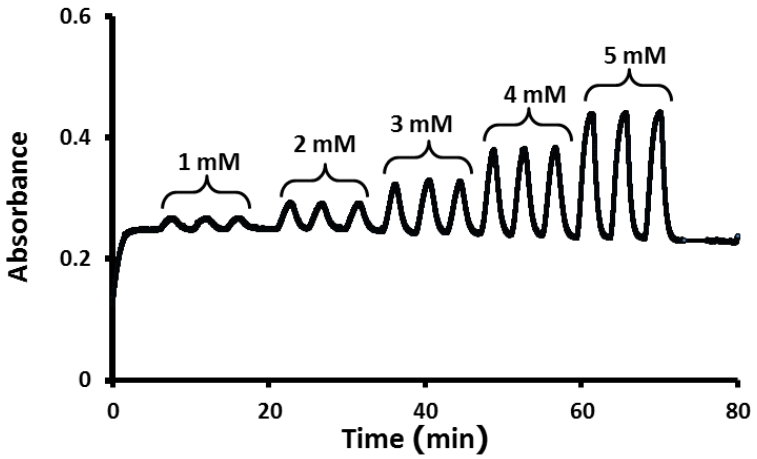
เพื่อให้งานวิจัยที่พัฒนาสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยจึงทำการศึกษาระบบการไหล GD-FIA สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนทั้งระดับความเข้มข้นต่ำและความเข้มข้นสูงเพื่อให้ระบบที่พัฒนาขึ้นสามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้หลากหลายมากยิ่งขึ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาเพิ่มประสิทธิภาพของระบบ GD-FIA ให้สามารถวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (1-5 mM) สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างน้ำทิ้งได้ และเพื่อให้ระบบมีความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) สูงที่สุด ผู้จัยจึงทำการศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน (GD-FIA) ซึ่งได้แก่ อัตราเร็วการลำเลียงสารและปริมาตรการฉีดสารตัวอย่าง (Injection volume) โดยอัตราเร็วการลำเลียงสารที่ใช้ทำการศึกษาคือ 0.3, 0.5, 1.0 และ 1.5 mL/min จากผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้อัตราเร็วการลำเลียงสาร 0.3 mL/min ให้ความไวในการวิเคราะห์สูงที่สุด แสดงดังรูปที่ 4.21ก. จากนั้นทำการทดลองเพื่อศึกษาผลของปริมาตรสารตัวอย่างที่เหมาะสมต่อระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน โดยปริมาตรการฉีดสารตัวอย่างที่ใช้ทำการศึกษาคือ 500, 1000 และ 1500 µL จากผลการทดลองพบว่าที่ปริมาตรการฉีดสารตัวอย่างสูงขึ้น 1500 µL สัญญาณของพีคกว้างมาก (broad) และความไวในการวิเคราะห์ลดลง และความแม่นยำในการวิเคราะห์ก็ลดลงด้วย อีกทั้งสัญญาณของความเข้มข้นสูงๆ ก็ไม่แปรผันตามความเข้มข้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาตรตัวอย่างที่ฉีดเข้าสู่ระบบมีมากจนเกินไป ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาตรการฉีดสารตัวอย่างขนาด 1000 µL ในการทดลองต่อไป แสดงผลการทดลองในรูปที่ 4.21ข.



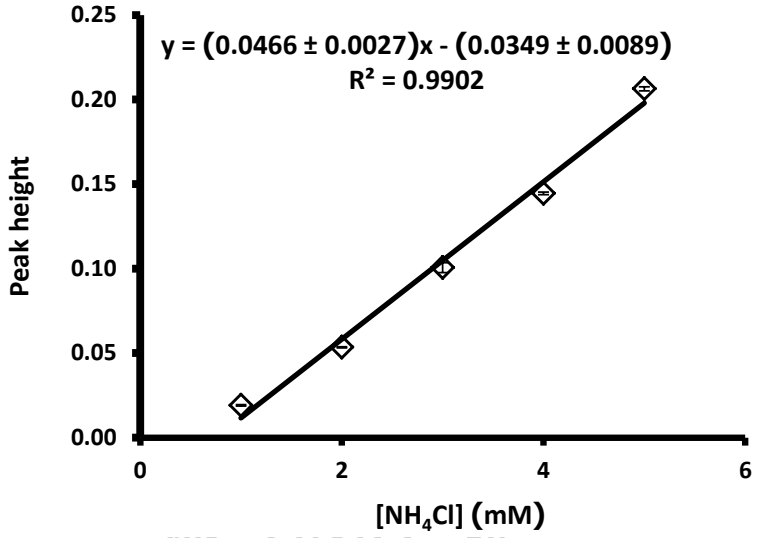
รูปที่ 4.21 กราฟเปรียบเทียบความสูงของสัญญาณที่วิเคราะห์ได้ที่ความเข้มข้น 1 mM เมื่อศึกษาผลของอัตราการลำเลียงสาร (ก.) และปริมาตรตัวอย่าง (ข.)

4.4.8 กราฟมาตรฐานและคุณลักษณะการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนที่ช่วงความเข้มข้นต่ำและการศึกษาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในน้ำทิ้งจากการเกษตร

งานวิจัยนี้นำผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน แสดงดังรูปที่ 3.10 โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมคือ อัตราการลำเลียงสารเท่ากับ 0.3 mL/min และปริมาตรการฉีดสารตัวอย่างเท่ากับ 1000 µL มาสร้างกราฟมาตรฐานและคุณลักษณะการวิเคราะห์ ทำการทดลองโดยฉีดสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1-5 mM และบันทึกสัญญาณด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 600 nm จะได้กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์กับความสูงของสัญญาณแสดงในรูปที่ 4.23 ได้สมการเส้นตรงคือ y=(0.0466 ± 0.0027)x - (0.0349± 0.089) และมีค่า r^2 เท่ากับ 0.9902 ความแม่นในการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันเท่ากับ 2.29% (n=10, 3 mM NH_4Cl) โดยมีขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 0.76 mM ซึ่งเพียงพอสำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนแหล่งน้ำทิ้ง และระบบนี้สามารถทำการวิเคราะห์ได้ 15 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ผลการทดลองทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากดอกกล้วยไม้พันธุ์ *“Dendrobium Sonia earsakul”* สามารถนำมาใช้เป็นรีเอเจนท์ร่วมกับระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชันที่พัฒนาขึ้นได้ดีและสามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างน้ำทิ้งต่อไปได้



รูปที่ 4.22 สัญญาณที่ได้ของสารมาตรฐานแอมโมเนียมคลอไรด์กับเวลา โดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นสารละลายตัวรับด้วยระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน เมื่อใช้อัตราการลำเลียงสาร 0.3 mL/min และปริมาตรตัวอย่าง 1000 µL



รูปที่ 4.23 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายแอมโมเนียมคลอไรด์กับความสูงของสัญญาณจากรูปที่ 4.22 โดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้เป็นสารละลายตัวรับด้วยระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชัน

จากนั้นผู้วิจัยจึงนำระบบโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชันโดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้ และ *o*-phthaldehyde เป็นสารละลายตัวรับสามารถตรวจวัดปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนที่มีอยู่ในแหล่งน้ำทิ้งได้ โดยในตัวอย่างที่ 2, 3 และ 6 นั้นมีความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนโตรเจนที่สูงเกินมาตรฐาน เมื่อพิจารณาจากกรมควบคุมมลพิษพบว่าปริมาณของแอมโมเนียไนโตรเจนในแหล่งน้ำทิ้งจากการเกษตรควรมีค่าสูงสุดไม่เกิน 120 mg N/L ทั้งนี้การปนเปื้อนของแอมโมเนียมไนโตรเจนในแหล่งน้ำตัวอย่างอาจเกิดจากการสะสมของมูลสัตว์ รวมไปถึงการเน่าเสียอันเนื่องมาจากอาหารของสัตว์เหล่านั้น อย่างไรก็ตามจากการสอบถามข้อมูลจากเกษตรกร ทราบว่าจะมีการบำบัดน้ำทิ้งก่อนปล่อยน้ำสู่แหล่งธรรมชาติ ซึ่งจะสามารถช่วยลดปริมาณของแอมโมเนียมไนโตรเจนในแหล่งน้ำได้ และเมื่อคำนวณความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนโตรเจนจากทั้งสองวิธีพบว่าทั้งสองวิธีมีค่าใกล้เคียงกัน แสดงดังตารางที่ 4.9 เมื่อทดสอบด้วยวิธีทางสถิติ *t*-test (paired two sample for means) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าค่า t_{stat} มีค่าเท่ากับ 0.56 ซึ่งน้อยกว่า $t_{critical}$ ที่มีค่าเท่ากับ 2.36 ดังนั้นผลการวิเคราะห์จากทั้งสองวิธีนี้จึงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4.9 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างจากแหล่งน้ำทิ้งโดยใช้ระบบ GD-FIA ที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้เปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิง OPA

Sample	Nitrogen content (mg N/L) [a]	
	Purpose method	Reference OPA method
1	18.63 ± 1.17	12.57 ± 1.03
2	353.57 ± 6.76	409.39 ± 7.35
3	133.78 ± 17.88	133.56 ± 5.15
4	n.d. [b]	n.d.
5	n.d.	n.d.
6	477.80 ± 6.76	347.24 ± 23.13
7	50.65 ± 5.41	49.06 ± 0.4
8	n.d.	n.d.

[a] mean ± sd ของการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

[b] n.d. = not detectable

4.4.9 การเปรียบเทียบคุณลักษณะการวิเคราะห์ระบบ GD-FIA ทั้งสองระบบที่พัฒนาขึ้น

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นว่างานวิจัยนี้ทำการศึกษาระบบ GD-FIA สำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนทั้งสองช่วงความเข้มข้นคือ ช่วงความเข้มข้นต่ำ (1-5 mM) และช่วงความเข้มข้นสูง (5-40 mM) โดยการนำสภาวะที่เหมาะสมของทั้งสองระบบมาใช้ในการวิคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างปุ๋ยเคมีและตัวอย่างน้ำทิ้งจากการเกษตร ทำการทดลองโดยการนำกราฟมาตรฐานที่ได้มาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่าง จากผลการทดลองที่ได้เมื่อทำการเปรียบเทียบของทั้งสองระบบ จะเห็นว่าที่ระบบ GD-FIA สำหรับวิคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนที่ช่วงความเข้มข้นต่ำ ทำได้โดยเพิ่มปริมาตรตัวอย่างเป็น 1000 µL และลดอัตราการลำเลียงสารเท่ากับ 0.3 mL/min จะทำให้มีค่าความไวในการวิเคราะห์สูงขึ้นเป็นสิบเท่าของระบบวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนที่ควาเข้มข้นสูง อย่างไรก็ตามการลดอัตราการลำเลียงสารและเพิ่มปริมาตรตัวอย่างก็ทำให้ความเร็วในการวิเคราะห์ลดลงจาก 48 ตัวอย่างต่อชั่วโมง เหลือ 15 ตัวอย่างต่อชั่วโมงด้วย ผลการเปรียบเทียบแสดงดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 เปรียบเทียบคุณลักษณะการวิเคราะห์ของสองระบบที่พัฒนาขึ้น

Analytical features	**GD-FIA system for high level ammonium nitrogen**	**GD-FIA system for low level ammonium nitrogen**
Flow rate (mL/min)	1.0	0.3
Injection volume (µL)	100	1000
Linear range (mM)	5-40	1-5
Equation	y = (0.0042±0.0005)x - (0.0095±0.0011)	y = (0.0466±0.0027)x - (0.0349±0.0089)
Linearity (r^2)	0.9995	0.9902
Precision (%RSD, n=10)	0.48 (20 mM NH_4Cl)	2.29 (3 mM NH_4Cl)
LOD (3S/N, mM)	2.12	0.76
Analysis time (s)	75	240
Sample throughput (sample/h)	48	15

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็นสองส่วน ส่วนแรกคือ ผู้วิจัยทำการออกแบบกิจกรรมผ่านชุดสื่อการเรียนการสอนที่พัฒนาขึ้นและประเมินผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนทั้งก่อนและหลังจัดกิจกรรม ผลการทดลองพบว่าผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนของนักเรียนหลังเรียนผ่านชุดสื่อการเรียนการสอนที่พัฒนาขึ้นสูงกว่าก่อนเรียนและมีผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนหลังเรียนมากกว่าร้อยละ 70 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 นอกจากนี้สื่อการเรียนการสอนที่พัฒนาขึ้นมีระดับความพึงพอใจอยู่ในเกณฑ์ดีมาก จึงสรุปได้ว่าชุดสื่อการเรียนการสอนเรื่อง กรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ สามารถนำไปใช้เป็นสื่อช่วยสอนเพื่อเพิ่มผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนหรือเป็นเครื่องมือช่วยสำหรับคุณครูที่สอนในหัวเรื่องเคมีกรดเบสได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จากนั้นนำความรู้เรื่องสารสกัดจากธรรมชาติมาประยุกต์เป็นงานวิจัยขั้นสูงโดยใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้พันธุ์ *“Dendrobium Sonia earsakul”* ที่มีคุณสมบัติเป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์สำหรับวิเคราะห์ทางเคมีโดยการนำมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์สำหรับระบุจุดยุติของการไทเทรต จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากดอกกล้วยไม้สามารถนำมาใช้เป็นอินดิเคเตอร์แทนสารสังเคราะห์อย่างฟีนอล์ฟทาลีนได้และเมื่อนำวิธีที่พัฒนาขึ้นวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูตัวอย่างโดยเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน AOAC และการไทเทรตแบบโพเทนชิโอเมตรี พบว่า F_{stat} มีค่าเท่ากับ 0.002 ซึ่งน้อยกว่า $F_{critical}$ ที่มีค่าเท่ากับ 3.89 แสดงให้เห็นว่าผลการวิเคราะห์ที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ANOVA)

นอกจากนี้ผู้วิจัยพัฒนาการใช้สารสกัดจากดอกกล้วยไม้มาใช้เป็นรีเอเจนท์สำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนโดยใช้ระบบการไหลโฟลอินเจคชันร่วมกับอุปกรณ์แก๊สดิฟฟิวชันอาศัยหลักการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายตัวรับซึ่งจะทำให้สีของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้เปลี่ยนไป และสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไปได้โดยมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนโตรเจน จากผลการทดลองพบว่าวิธีวิเคราะห์ที่ใช้รีเอเจนท์จากดอกกล้วยไม้ที่พัฒนาขึ้นนี้ให้ค่าความเป็นเส้นตรงดี ขีดจำกัดของการตรวจวัดเพียงพอสำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในปุ๋ยเคมีและในน้ำทิ้งจากการเกษตรและผลการวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนในตัวอย่างเปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิง OPA พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (*t*-test) ข้อดีของงานวิจัยในส่วนนี้คือ ง่าย สะดวก อัตโนมัติ นอกจากนี้การนำสารสกัดจากดอกกล้วยไม้มาใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมีถือเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและยังสามารถประยุกต์กับปฏิกิริยาอื่นๆ ที่มีการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดเบสและมีแนวโน้มที่จะพัฒนาในเชิงพาณิชย์ได้

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจนที่พัฒนาขึ้นกับวิธีอื่นที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้พบว่าแม้ LOD ของระบบที่พัฒนาขึ้นจะยังไม่ต่ำมากนักแต่ก็เพียงพอต่อการประยุกต์ใช้งานแล้ว และระบบที่พัฒนาขึ้นยังวิเคราะห์ตัวอย่างได้รวดเร็วถึง 48 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ซึ่งมากกว่างานวิจัยที่เคยมีรายงานมาก่อนหน้านี้ แสดงดังตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4. 11 เปรียบเทียบระบบ GD-FIA สำหรับวิเคราะห์แอมโมเนียมไนโตรเจนกับงานวิจัยอื่นๆ

Analyte	Sample	Detection method	LOD	Throughput (sample/h)	Ref
Ammonia	Beer	Spectrophotometry (Berthelot)	0.05 mg/L	11	(Henríquez et al., 2013)
Ammonium	Sea water	Spectrofluorometry (OPA)	7 nM	30	(Luo et al., 1995)
Ammonium	River water	Spectrofluorometry (OPA)	0.3 µM	15	(Watson, Butler, Clementson, & Berry, 2005)
Ammonia	Organic nitrogen compound	Spectrofluorometry (OPA)	0.1 µM	15	(H. Mana & Spohn, 2000)
Ammonium	Building material	Spectrophotometry (Cresol red and thymol blue)	8 µg/kg	10	(Šraj, Almeida, McKelvie, & Kolev, 2017)
Ammonia	Industrial effluents	Spectrophotometry (Cresol red and thymol blue)	0.1 mg/L	11	(Gray, Ellis, Grace, & McKelvie, 2006)
Ammonium	Rainwater	C^4D	0.8 mM	35	(Braz, Ito, da Silva, Do Lago, & Pedrotti, 2011)
Ammoniacal nitrogen	Tap water, river water, estuarine water and marine water	C^4D	1.85 µM	20	(Chaneam *et al.*, 2018)
Ammonium nitrogen	Wastewater and fertilizer	Spectrophotometry (Orchid extract)	0.76 mM 2.12 mM	15 48	This work

รายการอ้างอิง

Araújo, C. T., De Carvalho, J. L., Mota, D. R., De Araujo, C., & Coelho, N. (2005). Determination of sulphite and acetic acid in foods by gas permeation flow injection analysis. *Food chemistry,* 92(4), 765-770.

Asuquo, E. D., & Martin, A. D. (2016). Sorption of cadmium (II) ion from aqueous solution onto sweet potato (Ipomoea batatas L.) peel adsorbent: characterisation, kinetic and isotherm studies. *Journal of environmental chemical engineering,* 4(4), 4207-4228.

Bhagat, V. C., Patil, R. D., Channekar, P., Shetty, S., & Akarte, A. S. (2008). Herbal indicators as a substituent to synthetic indicators. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP),* 2(3).

Bouvier, F., Dogbo, O., & Camara, B. (2003). Biosynthesis of the food and cosmetic plant pigment bixin (annatto). *Science,* 300(5628), 2089-2091.

Braz, H. L., Ito, D. T., da Silva, J. A. F., Do Lago, C. L., & Pedrotti, J. J. (2011). Trace Levels Determination of Ammonium by Flow Injection Analysis Using Gas‐Diffusion and Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection. *Electroanalysis,* 23(11), 2594-2600.

Castaneda-Ovando, A., de Lourdes Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food chemistry,* 113(4), 859-871.

Chaipradit, K., Priprem, A., Nualkaew, S., & Preeprame, S. (2012). The study of the stability of the gel formula and the absorption in the hair of blue pea extract gel and crc extract gel. 10(2).

Chaneam, S., Inpota, P., Saisarai, S., Wilairat, P., Ratanawimarnwong, N., Uraisin, K., . . . Nacapricha, D. (2018). Green analytical method for simultaneous determination of salinity, carbonate and ammoniacal nitrogen in waters using flow injection coupled dual-channel C4D. *Talanta*.

Chigurupati, N., Saiki, L., Gayser Jr, C., & Dash, A. K. (2002). Evaluation of red cabbage dye as a potential natural color for pharmaceutical use. *International journal of pharmaceutics,* 241(2), 293-299.

Choojit, K. *Determination of Acetic Acid in Vinegar Fermentation Broth by Flow Injection Analysis.* (master degree chemistry), chaingmai university.

Chow, C. W. K., Lane, R., Yeow, T. C. W., Davey, D. E., & Mulcahy, D. E. (1997). Development of an automated flow-injection system for the determination of trace level ammonia. *Laboratory Automation and Information Management,* 33, 129-136.

Cortez, R., Luna-Vital, D. A., Margulis, D., & Gonzalez de Mejia, E. (2017). Natural pigments: stabilization methods of anthocyanins for food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety,* 16(1), 180-198.

Duangmal, K., Saicheua, B., & Sueeprasan, S. (2004). *Roselle anthocyanins as a natural food colorant and improvement of its colour stability.* Paper presented at the Proceedings of the AIC.

enterprise.co.Ltd, H. ชุดตรวจสอบปริมาณกรดน้ำส้มในน้ำส้มสายชู.

Ersus, S., & Yurdagel, U. (2007). Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (Daucus carota L.) by spray drier. *Journal of Food Engineering,* 80(3), 805-812.

Fossen, T., & Øvstedal, D. O. (2003). Anthocyanins from flowers of the orchids Dracula chimaera and D. cordobae. *Phytochemistry,* 63(7), 783-787.

Gammoco. ชุดทดลองสำเร็จรูปเรื่องความเป็นกรด - เบส

Ghorbani, R., Ghasemi, J., & Abdollahi, B. (2006). Conductometric simultaneous determination of acetic acid, monochloroacetic acid and trichloroacetic acid using orthogonal signal correction-partial least squares. *Journal of Hazardous materials,* 131(1-3), 13-18.

Gray, S. M., Ellis, P. S., Grace, M. R., & McKelvie, I. D. (2006). Spectrophotometric Determination of Ammonia in Estuarine Waters by Hybrid Reagent-Injection Gas-Diffusion Flow Analysis. *Spectroscopy letters,* 39(6), 737-753.

Grudpan, K., Hartwell, S. K., Wongwilai, W., Grudpan, S., & Lapanantnoppakhun, S. (2011). Exploiting green analytical procedures for acidity and iron assays employing flow analysis with simple natural reagent extracts. *Talanta,* 84(5), 1396-1400.

Hamadanian, M., Safaei-Ghomi, J., Hosseinpour, M., Masoomi, R., & Jabbari, V. (2014). Uses of new natural dye photosensitizers in fabrication of high potential dye-

sensitized solar cells (DSSCs). *Materials Science in Semiconductor Processing,* 27, 733-739.

Health, M. o. P. (2000). Notification of the Ministry of Public Health : vinegar. Bangkok: Prachachon; . *(No.* 204).

Henríquez, C., Horstkotte, B., & Cerdà, V. (2013). Conductometric determination of ammonium by a multisyringe flow injection system applying gas diffusion. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry,* 93(12), 1236-1252.

Hong, L., Sun, X., & Wang, L. (2009). Determination of ammonia in water using flow injection analysis with automatic pervaporation enrichment. *Analytical Letters,* 42(15), 2364-2377.

Horwitz, W. (2000). Official methods of analysis of the Association of Official analytical Chemists (AOAC) International. *Maryland: AOAC International*.

innovative, K. o. Acids and Bases

Janjai, S., Intawee, P., Kaewkiew, J., Sritus, C., & Khamvongsa, V. (2011). A large-scale solar greenhouse dryer using polycarbonate cover: Modeling and testing in a tropical environment of Lao People's Democratic Republic. *Renewable Energy,* 36(3), 1053-1062.

Jeong, H., Park, J., & Kim, H. (2013). Determination of NH_4^+ in Environmental Water with interfering substances using the modified Nessler Method. . *Journal of Chemistry*, 1-9.

Jiangrong, L., & Yueming, J. (2007). Litchi flavonoids: isolation, identification and biological activity. *Molecules,* 12(4), 745-758.

Kaewkiew, J., Nabnean, S., & Janjai, S. (2012). Experimental investigation of the performance of a large-scale greenhouse type solar dryer for drying chilli in Thailand. *Procedia Engineering,* 32, 433-439.

Khamla, T., & Chachiyo, T. (2555). Siam Quantum Program: Molecular Studying Using Hartree-Fock Method, Siam Quantum Program: Molecular Studying Using Hartree-Fock Method. วารสารวิจัย มข. (บศ.), 12 (3), 8-28.

Khaodee, W., Aeungmaitrepirom, W., & Tuntulani, T. (2014). Effectively simultaneous naked-eye detection of Cu (II), Pb (II), Al (III) and Fe (III) using cyanidin extracted from red cabbage as chelating agent. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular*

and Biomolecular Spectroscopy, 126, 98-104.

Kuehnle, A. R., Lewis, D. H., Markham, K. R., Mitchell, K. A., Davies, K. M., & Jordan, B. R. (1997). Floral flavonoids and pH in Dendrobium orchid species and hybrids. *Euphytica,* 95(2), 187-194.

Kuehnle., A. R., Lewis., D. H., Markham., K. R., Mitchell., K. A., Davies., K. M., & Jordan., B. R. (1997). Floral flavonoids and pH in Dendrobium orchid species and hybrids. *Euphytica,* 95(2), 187-194.

Lab-Aids. ชุดการทดลอง Properties of Acids and Bases Experiment

LABBOX. ชุดทดลองกรดเบสอินดิเคเตอร์ กลน้ำเปลี่ยนสีระเบิดได้.

Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC international,* 88(5), 1269-1278.

Lenghor, N., Jakmunee, J., Vilen, M., Sara, R., Christian, G. D., & Grudpan, K. (2002). Sequential injection redox or acid–base titration for determination of ascorbic acid or acetic acid. *Talanta,* 58(6), 1139-1144.

Li, J., & Jiang, Y. (2007). Litchi flavonoids: isolation, identification and biological activity. *Molecules,* 12(4), 745-758.

Liang, Y., Yan, C., Guo, Q., Xu, J., & Hu, H. (2016). Spectrophotometric determination of ammonia nitrogen in water by flow injection analysis based on NH3- o-phthalaldehyde -Na2SO3 reaction. *Analytical Chemistry Research,* 10, 1-8.

Ljunggren, E., & Karlberg, B. (1995). Determination of total carbon dioxide in beer and soft drinks by gas diffusion and flow injection analysis. *Journal of Analytical Methods in Chemistry,* 17(3), 105-108.

Luo, Y., Al-Othman, R., Christian, G. D., & Ruzicka, J. (1995). Flow/sequential injection determination of gaseous ammonia with a glass diffusion denuder. *Talanta,* 42(10), 1545-1551.

Mana, H., & Spohn, U. (1996). Selective flow injection procedures for the determination of nitrogen containing analytes by gasdialytic-fluorimetric detection of enzymatically generated ammonia. *Analytica chimica acta,* 325(1-2), 93-104.

Mana, H., & Spohn, U. (2000). Rapid and selective determination of ammonium by

fluorimetric flow injection analysis. *Fresenius' journal of analytical chemistry,* 366(8), 825-829.

Markwell, J., Curtright, R., & Rynearson, J. A. (1996). Anthocyanins: model compounds for learning about more than pH. *Journal of chemical education,* 73(4), 306.

Mendham, J. (2009). *Determination of acetic acid in vinegar by titration*: Vogel's Quantitative Chemical Analysis.

Miller., J., & Miller., J. C. (2018). *Statistics and chemometrics for analytical chemistry*: Pearson Education.

Mizutani, F., Hirata, Y., Yabuki, S., & Iijima, S. (2003). Flow injection analysis of acetic acid in food samples by using trienzyme/poly (dimethylsiloxane)-bilayer membrane-based electrode as the detector. *Sensors and Actuators B: Chemical,* 91(1-3), 195-198.

Nwosu, F., Adekola, F., & Ihedioha, K. (2004). Simple titrimetric colour indicators from some natural flower petals. *Centrepoint (Science Edition),* 12(1), 74-89.

Oliveira, S. M., da Silva Lopes, T. I. M., Tóth, I. V., & Rangel, A. O. S. S. (2009). Determination of ammonium in marine waters using a gas diffusion multicommuted flow injection system with in-line prevention of metal hydroxides precipitation. *Journal of Environmental Monitoring,* 11(1), 228-234.

Palamy, S., & Ruengsitagoon, W. (2017). A novel flow injection spectrophotometric method using plant extracts as green reagent for the determination of doxycycline. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy,* 171, 200-206.

Pathade, K., Patil, S., Kondawar, M., Naikwade, N., & Magdum, C. (2009). Morus alba fruit-herbal alternative to synthetic acid base indicators. *International Journal of ChemTech Research,* 1(3), 549-551.

Patil, S. B., Kondawar, M., Ghodke, D., Naikwade, N., & Magdum, C. (2009). Use of flower extracts as an indicator in acid-base titrations. *Research J. Pharm. and Tech,* 2(2), 421-422.

Peyachoknagul, S., Mongkolsiriwatana, C., Wannapinpong, S., Huehne, P. S., & Srikulnath, K. (2014). Identification of native Dendrobium species in Thailand by PCR-RFLP of rDNA-ITS and chloroplast DNA. *ScienceAsia,* 40(2), 113-120.

Schmitt, A., Buttle, L., & Uglow, R. (1993). An integrated reduction method for the determination of urea as ammonia in fresh water samples. . *Analytica chimica acta,* 284 249-255.

Settheeworrarit, T., Hartwell, S. K., Lapanatnoppakhun, S., Jakmunee, J., Christian, G. D., & Grudpan, K. (2005). Exploiting guava leaf extract as an alternative natural reagent for flow injection determination of iron. *Talanta,* 68(2), 262-267.

Singh, S., Bothara, S., & Singh, S. (2011). Acid-Base Indicator Properties of Dyes from Local Flowers: Cassia aungostifolia Linn., Thevetia peruviana (Pers.) K. Schum and Thevetia thvetiodes (Kunth) K. Schum. *Pharmacognosy Journal,* 3(19), 35-39.

Šraj, L. O. C., Almeida, M. I. G., McKelvie, I. D., & Kolev, S. D. (2017). Determination of trace levels of ammonia in marine waters using a simple environmentally-friendly ammonia (SEA) analyser. *Marine Chemistry,* 194, 133-145.

Šraj, L. O. C., Almeida, M. I. G., Swearer, S. E., Kolev, S. D., & McKelvie, I. D. (2014). Analytical challenges and advantages of using flow-based methodologies for ammonia determination in estuarine and marine waters. *TrAC Trends in Analytical Chemistry,* 59, 83-92.

Supharoek, S.-a., Ponhong, K., & Grudpan, K. (2017). A green analytical method for benzoyl peroxide determination by a sequential injection spectrophotometry using natural reagent extracts from pumpkin. *Talanta,* 171, 236-241.

Supharoek, S.-a., Ponhong, K., Siriangkhawut, W., & Grudpan, K. (2018). Employing natural reagents from turmeric and lime for acetic acid determination in vinegar sample. *Journal of Food and Drug Analysis,* 26(2), 583-590.

Thammasiri, K. (2016). Thai orchid genetic resources and their improvement. *Horticulturae,* 2(3), 9.

Thanh, N., Decnop-Weever, L., & Kok, W. T. (1994). Determination of sulphite in wine by flow injection analysis with indirect electrochemical detection. *Fresenius' journal of analytical chemistry,* 349(6), 469-472.

Timofeeva, I. I., Bulatov, A., Moskvin, A., & Kolev, S. (2015). A gas-diffusion flow injection method coupled with online solid–liquid Extraction for the determination of ammonium in solid samples. *Talanta,* 142, 140–144.

Tontrong, S., Khonyoung, S., & Jakmunee, J. (2012). Flow injection spectrophotometry

using natural reagent from Morinda citrifolia root for determination of aluminium in tea. *Food chemistry,* 132(1), 624-629.

Tubwong, S. (2014). Study on dyeing cotton fabrie with coffec.

Walcerz, I., Glab, S., & Koncki, R. (1998). Potentiometric enzyme electrode in a flow injection system. . *Analytica chimica acta,* 369, 129-137.

Wang, L., Cardwell, T. J., Cattrall, R. W., Luque de Castro, M. D., & Kolev, S. D. (2003). Determination of ammonia in beers by pervaporation flow injection analysis and spectrophotometric detection. *Talanta,* 60, 1269-1275.

Watson, R. J., Butler, E. C., Clementson, L. A., & Berry, K. M. (2005). Flow-injection analysis with fluorescence detection for the determination of trace levels of ammonium in seawater. *Journal of Environmental Monitoring,* 7(1), 37-42.

WHO 1996 Guidelines for Drinking Water Quality. (1989). Summary review of health effects associated with ammonia. Washington, DC, US Environmental Protection Agency. *World Health Organization, Geneva, Switzerland, (addendum to Vol.* 2).

Yang, S., Jiang, W., Zhao, F., Xu, L., Xu, Y., Gao, B., . . . Cao, F. (2016). A highly sensitive and selective fluorescent sensor for detection of copper ions based on natural Isorhamnetin from Ginkgo leaves. *Sensors and Actuators B: Chemical,* 236, 386-391.

Zhou, D., Hou, Q., Liu, W., & Ren, X. (2017). Rapid determination of formic and acetic acids in biomass hydrolysate by headspace gas chromatography. *Journal of industrial and engineering chemistry,* 47, 281-287.

Zuriarrain, A., Zuriarrain, J., Puertas, A. I., Dueñas, M. T., & Berregi, I. (2015). Quantitative determination of lactic and acetic acids in cider by 1H NMR spectrometry. *Food Control,* 52, 49-53.

จำรูญ จิรัฏฐิติ, อรดี แจ่มอุลิตรัตน์, & นภาพร วิศวกุล. คู่มือการตรวจวิเคราะห์หาค่าแอมโมเนียโดยวิธีฟีเนต (Phenate Method). 1-19.

ชุดทดสอบความเป็นกรดด่าง (2551).

บุญเรียง ขจรศิลป์. (2547). 69-70.

ภาณุวัตน์ เปรมปรี. (2014). การพัฒนาชุดกิจกรรมการเรียนรู้เรื่องระบบนิเวศน้ำจืดสำหรับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่4 โรงเรียนประเทียบวิทยาทาน จังหวัดสระบุรี. (มหาบัณฑิต), มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

ล้วน สายยศ, & อังคณา สายยศ. (2540). 248.

วาสนา ทวีกุลทรัพย์. (2541). “ชุดการสอน”ในเอกสารการสอนชุดวิชาสื่อกับการศึกษาขั้นพื้นฐาน หน่วยที่ 14 มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช สาขาวิชาศึกษาศาสตร์ นนทบุรี. 2-13.

สสวท. (2551). คู่มือครู รายวิชาพื้นฐาน วิทยาศาสตร์ ชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 1 เล่ม 1.

สำนักงานและพัฒนากรมชลประทาน. (2550). คู่มือปฏิบัติงานวิเคราะห์น้ำ.

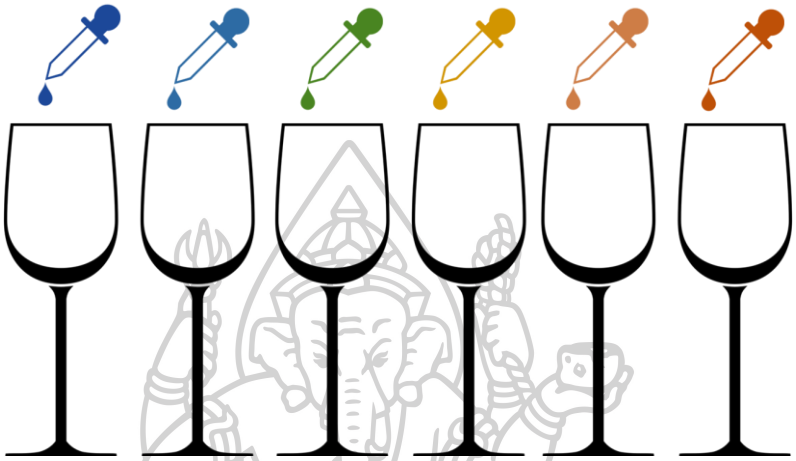
สำนักวิชาการและมาตรฐานการศึกษา. (2551). ตัวชี้วัด และสาระการเรียนรู้แกนกลาง กลุ่มสาระการเรียนรู้ วิทยาศาสตร์ ตามหลักสูตรแกนกลางการศึกษาขั้นพื้นฐาน พุทธศักราช 2551. กรุงเทพมหานคร.

อรุษา เชาวนลิขิต. (2554). การสกัดและวิธีการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน. วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) ปีที่ 3, 6, 1-37.

ภาคผนวก

1. การแสดงวิทยาศาสตร์ (Science show)

ทำการแสดงโดยนำแก้วไวน์เปล่าจำนวน 6 แก้ว และหยดสารละลายอินดิเคเตอร์สีต่างๆ ลงในแต่ละแก้ว จำนวน 2 หยด

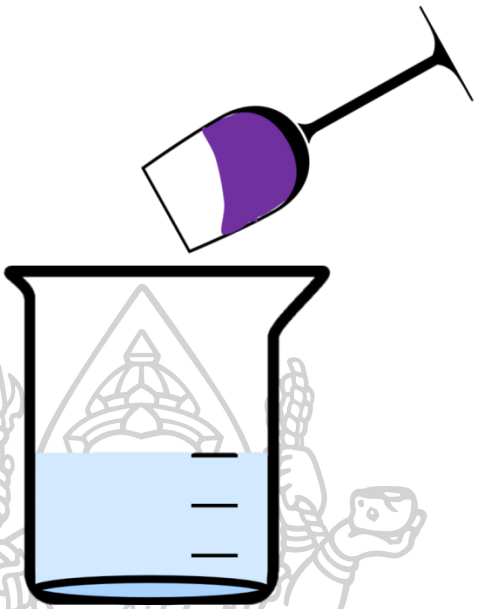


อินดิเคเตอร์สี : ม่วง น้ำเงิน เขียว เหลือง ส้ม แดง

จากนั้นเติมสารละลาย 0.128 M NaOH ปริมาตร 10.00 mL ลงในแก้วไวน์ที่สารละลายอินดิเคเตอร์แล้ว จะสังเกตเห็นการเปลี่ยนสีของสารละลายจากสารละลายใสไม่มีสีเป็นสารละลายสีต่างๆ แสดงดังรูปที่ 1

รูปที่ 1 การเปลี่ยนสีของสารละลายที่สารละลายอินดิเคเตอร์ต่างชนิดกัน

จากนั้นนำสารละลายในแต่ละแก้วไวน์เทลงในบีกเกอร์ขนาดใหญ่ที่ผ่านการหยด H_2SO_4 (conc.) จำนวน 10 หยด จะสังเกตเห็นการเปลี่ยนสีของสารละลายกลับมาเป็นสารละลายใสไม่สีเหมือนเดิม



2. การเตรียมสารละลายสำหรับ Science show

2.1 การเตรียมสารละลาย indicator

- 0.128 M สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

  ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1g นำมาละลายด้วยน้ำกลั่นและทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 200.00 mL
- สารละลายอินดิเคเตอร์สีม่วงเตรียมโดย 0.9g Phenolphtalein ผสมกับ 0.4g p-nitrophenol ละลายด้วย 20.0 mL 95% Ethanol
- สารละลายอินดิเคเตอร์สีน้ำเงินเตรียมโดย 1.5g thymolphtalein ละลายด้วย 20.0 mL 95% Ethanol
- สารละลายอินดิเคเตอร์สีเขียวเตรียมโดย 0.06g thymolphtalein ผสมกับ 0.6g p-nitrophenol ละลายด้วย 20.0 mL 95% Ethanol
- สารละลายอินดิเคเตอร์สีเหลืองเตรียมโดย 0.6g Phenolphtalein ละลายด้วย 20.0 mL 95% Ethanol
- สารละลายอินดิเคเตอร์สีส้มเตรียมโดย 0.045g Phenolphtalein ผสมกับ 0.6g p-nitrophenol ละลายด้วย 20.0 mL 95% Ethanol
- สารละลายอินดิเคเตอร์สีแดง เตรียมโดยชั่ง 0.15g Phenolphtalein ผสมกับ 0.3g p-nitrophenol ละลายด้วย 20.0 mL 95% Ethanol

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐานพีเอช 2-10 เพื่อใช้ในชุดสื่อการเรียนการสอนเรื่องกรด-เบส อินดิเคเตอร์

ตารางที่ 1 แสดงการเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 2-10

ช่วงพีเอชของสารละลาย	เตรียมสารละลาย
2-3	0.2M KCl + 0.2M HCl
4-6	0.2M CH_3COOH + 0.2M CH_3COONa
7-10	0.2M Boric acid powder + 0.2M NaOH

จากนั้นทำการปรับพีเอชของสารละลายด้วย 0.2 M NaOH หรือ 0.2 M HCl เพื่อให้ได้พีเอชของสารละลายตามที่ต้องการ

4. แบบประเมินคุณภาพของชุดสื่อการเรียนการสอน

ผู้วิจัยทำการประเมินคุณภาพของชุดสื่อการเรียนการสอนโดยการออกแบบทดสอบวัดผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนทั้งก่อนเริ่มกิจกรรม (Pre-test) และหลังการจัดกิจกรรม (Post-test) แสดงรายละเอียดดังต่อไปนี้

มหาวิทยาลัยศิลปากร

4.1 แบบทดสอบก่อนเริ่มกิจกรรม (Pre-test)

เรื่อง กรด-เบสอินดิเคเตอร์

โครงการ Chemistry in school (Wonderful colors)

ณ อาคารวิทยาศาสตร์ 4 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

****

คำชี้แจง แบบทดสอบความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับกรด-เบสอินดิเคเตอร์ (Pre-test)

1.แบบทดสอบนี้เพื่อประเมินประสิทธิภาพของสื่อการเรียนการสอนในหัวเรื่อง กรด-เบสอินดิเคเตอร์

2.ให้นักเรียนพยายามตอบคำถามให้มากที่สุดเท่าที่เป็นไปได้โดยไม่ต้องคำนึงว่าคำตอบจะถูกต้องหรือไม่

3.เวลาที่ใช้ในการทำแบบทดสอบ 10 นาที

คำสั่ง ให้นักเรียนทำเครื่องหมาย $\surd$ ลงในช่องที่ถูกต้อง

1.นักเรียนคิดว่าคุณสมบัติของกรดและเบสคืออะไร (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

กรด ☐ เปลี่ยนสีกระดาษลิตมัสจากสีน้ำเงินเป็นแดง ☐ มีค่าพีเอชน้อยกว่า 7

☐ เปลี่ยนสีกระดาษลิตมัสจากสีแดงเป็นน้ำเงิน ☐ มีค่าพีเอชมากกว่า 7

☐ รสชาติฝาด ☐ มีผิวสัมผัสที่ลื่น

☐ รสชาติเปรี้ยว ☐ มีฤทธิ์กัดกร่อน

☐ สารฟอกจากสีไอโอดีน ☐ ทำปฏิกิริยากับน้ำแป้งแล้วได้สีม่วง

เบส ☐ เปลี่ยนสีกระดาษลิตมัสจากสีน้ำเงินเป็นแดง ☐ มีค่าพีเอชน้อยกว่า 7

☐ เปลี่ยนสีกระดาษลิตมัสจากสีแดงเป็นน้ำเงิน ☐ มีค่าพีเอชมากกว่า 7

☐ รสชาติฝาด ☐ มีผิวสัมผัสที่ลื่น

☐ รสชาติเปรี้ยว ☐ มีฤทธิ์กัดกร่อน

☐ สารฟอกจากสีไอโอดีน ☐ ทำปฏิกิริยากับน้ำแป้งแล้วได้สีม่วง

2. หากระดับความเป็นกรดเพิ่มมากขึ้นนักเรียนคิดว่าค่าพีเอชจะเป็นอย่างไร

☐ ค่าพีเอชเท่าเดิม ☐ ค่าพีเอชลดลง

☐ ค่าพีเอชเพิ่มขึ้น ☐ ค่าพีเอชอาจเพิ่มขึ้นหรือลดลงก็ได้

3. สารที่มีคุณสมบัติเป็นกลางจะมีค่าพีเอชเป็นเท่าไร

☐ เท่ากับ 7 ☐ มากกว่า 7

☐ น้อยกว่า 7 ☐ ระหว่าง 5-6

4. นักเรียนคิดว่าสารใดต่อไปนี้มีคุณสมบัติเป็นเบสทั้งหมด

☐ น้ำยาซักผ้า แชมพู ยาสีฟัน ☐ น้ำส้ม น้ำอัดลม น้ำยาซักผ้า
☐ น้ำโซดา น้ำอัดลม น้ำมะขาม ☐ สีทาบ้าน ยาสีฟัน น้ำส้มสายชู

5. หากนักเรียนต้องการตรวจสอบความเป็นกรด-เบสของสารละลายนักเรียนคิดว่าสามารถใช้อะไรบ่บอกได้บ้าง (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

☐ กระดาษลิตมัส ☐ ยูนิเวอร์ซัลอินดิเคเตอร์
☐ กรด-เบสอินดิเคเตอร์ ☐ พีเอชมิเตอร์
☐ น้ำอัญชัน ☐ น้ำกะหล่ำปลีม่วง
☐ น้ำเกลือ ☐ น้ำส้มสายชู

6. นักเรียนคิดว่ากรด-เบสอินดิเคเตอร์เป็นสารที่ใช้ในการทดสอบอะไร

☐ สารที่ใช้ทดสอบความเป็นกรด-เบส ☐ สารที่ใช้ทดสอบความเข้มข้นของกรด
☐ สารที่ใช้ทดสอบความเข้มข้นของเบส ☐ สารที่ใช้ทดสอบความเป็นสารละลาย

8. เครื่องดื่มชนิดมีความเป็นกรดน้อยที่สุด

☐ นมถั่วเหลือง ☐ ไวน์ข้าวเหนียว
☐ นมเปรี้ยว ☐ น้ำสับปะรด

7. นักเรียนทราบหรือไม่ว่าของจากธรรมชาติอะไรบ้างที่อาจมีคุณสมบัติกรด-เบสอินดิเคเตอร์ได้ (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

☐ ดอกอัญชัน ☐ ดอกกระเจี๊ยบ
☐ แตงกวา ☐ ดอกกล้วยไม้

มหาวิทยาลัยศิลปากร

4.2 แบบทดสอบหลังกิจกรรม (Post-test)

แบบทดสอบวัดผลสัมฤทธิ์ทางการเรียน

เรื่อง กรด-เบสอินดิเคเตอร์

โครงการ Chemistry in school (Wonderful colors)

ณ อาคารวิทยาศาสตร์ 4 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

****

คำชี้แจง : แบบทดสอบความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับกรด-เบสอินดิเคเตอร์ (Post-test)

1.แบบทดสอบนี้เพื่อประเมินประสิทธิภาพของสื่อการเรียนการสอนในหัวเรื่อง กรด-เบสอินดิเคเตอร์

2.ให้นักเรียนพยายามตอบคำถามให้มากที่สุดเท่าที่เป็นไปได้โดยไม่ต้องคำนึงว่าคำตอบจะถูกต้องหรือไม่

3.เวลาที่ใช้ในการทำแบบทดสอบ 10 นาที

คำสั่ง ให้นักเรียนทำเครื่องหมาย √ ลงในช่องที่ถูกต้อง

1. นักเรียนทราบได้อย่างไรว่ากรด-เบสอินดิเคเตอร์นี้สามารถใช้ในการทดสอบความเป็นกรด-เบสได้

.....

.....

2. นักเรียนคิดว่าการเลือกใช้กรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาตินั้นมีข้อดีและข้อเสียอย่างไรเมื่อเปรียบเทียบกับพีเอชมิเตอร์

.....

.....

3. จงระบุความเป็น กรด กลาง เบส ของสารละลายดังต่อไปนี้ โดยทำเครื่องหมาย☑ลงในช่องว่างพร้อมทั้งระบุพีเอชของสารละลาย

ของใช้ในชีวิตประจำวัน	คุณสมบัติ			พีเอชของสารละลาย
	กรด	กลาง	เบส	
แชมพูสระผม				
น้ำเกลือ				
น้ำส้มสายชู				
น้ำอัดลม				
ยาลดกรด				

4. ข้อใดต่อไปนี้มีสมบัติต่างจากพวก

☐ น้ำยาล้างห้องน้ำ ☐ น้ำส้มสายชู ☐ น้ำมะขาม ☐ น้ำยาซักผ้า

5. สารละลายมีพีเอชเท่ากับ 5 นักเรียนคิดว่าสารนี้มีคุณสมบัติตรงกับข้อใด

☐ เป็นเบส ☐ เป็นกรด ☐ เป็นกลาง ☐ ไม่สามารถบอกได้

6. นักเรียนสามารถทำกระดาษในการตรวจสอบความเป็นกรด-เบสของสารละลายโดยอาศัยสีที่มีคุณสมบัติอย่างไรแทนการใช้กระดาษลิตมัส

☐ เปลี่ยนสีในสภาวะที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

☐ เปลี่ยนสีที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

☐ เปลี่ยนสีในสภาวะกรด-เบสแตกต่างกัน

☐ เปลี่ยนสีในสภาวะที่ค่าการนำไฟฟ้าแตกต่างกัน

7. นักเรียนคิดว่าสารสกัดจากธรรมชาติชนิดใดมีคุณสมบัติที่ดีที่สุดในการนำมาใช้เป็นกรด-เบสอินดิเคเตอร์

สารสกัดจากธรรมชาติ	สีของสารละลาย		
	กรด	กลาง	เบส
☐ ขมิ้นชัน	เหลือง	เหลือง	น้ำตาลอมส้ม
☐ กระเจี๊ยบ	แดง	แดง	น้ำตาลอมแดง
☐ กล้วยไม้	แดง	ม่วง	น้ำเงินอมเขียว

5. ผลการเปรียบเทียบผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนทั้งก่อนและหลังการจัดกิจกรรม

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการเปรียบเทียบคะแนนการทดสอบก่อนและหลังเรียนผ่านชุดสื่อการเรียนการสอนเรื่อง กรด-เบส อินดิเคเตอร์ โดยอาศัยสถิติ (t-test Dependent) แสดงผลการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Pretest	5.7863	62	1.47926	.18787
	Posttest	7.6452	62	1.52677	.19390

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Pretest & Posttest	62	.031	.810

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference Lower	Upper			
Pair 1	Pretest - Posttest	-1.85887	2.09244	.26574	-2.39025	-1.32749	-6.995	61	.000

6. ผลการเปรียบเทียบผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนทั้งก่อนและหลังการจัดกิจกรรมกับเกณฑ์ร้อยละ 70

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการเปรียบเทียบคะแนนแบบทดสอบหลังเรียนผ่านชุดสื่อการเรียนการสอนเรื่อง กรด-เบส อินดิเคเตอร์ เทียบกับเกณฑ์ร้อยละ 70 โดยอาศัย (t-test One – Sample) ผลการเปรียบเทียบแสดงดังต่อไปนี้

One-Sample Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
หลังเรียน	62	7.6452	1.52677	.19390

One-Sample Test

	Test Value = 0					
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference Lower	Upper
หลังเรียน	39.428	61	.000	7.64516	7.2574	8.0329

7. แบบประเมินความพึงพอใจของนักเรียน

ผู้วิจัยทำการออกแบบประเมินและวิเคราะห์การประเมินความพึงพอใจของนักเรียนหลังจากเสร็จสิ้นการจัดกิจกรรมการเรียนรู้ผ่านชุดสื่อการเรียนการสอนเรื่อง กรด-เบส อินดิเคเตอร์ แสดงรายละเอียดดังต่อไปนี้

คำชี้แจง ให้นักเรียนทำเครื่องหมาย ✓ลงในช่องที่ตรงกับระดับความพึงพอใจดังนี้

5 หมายถึง ความพึงพอใจในระดับมากที่สุด

4 หมายถึง ความพึงพอใจในระดับมาก

3 หมายถึง ความพึงพอใจในระดับปานกลาง

2 หมายถึง ความพึงพอใจในระดับน้อย

1 หมายถึง ความพึงพอใจในระดับน้อยที่สุด

แบบประเมินโครงการ Chemistry in school (Wonderful colors)

ณ อาคารวิทยาศาสตร์ 4 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

****

คำชี้แจง : แบบประเมินระดับความพึงพอใจของของนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 1 ที่มีต่อชุดสื่อการเรียนการสอนเรื่อง กรด-เบสอินดิเคเตอร์ เพื่อประเมินความพึงพอใจของนักเรียนที่มีต่อชุดสื่อการเรียนการสอน โดยได้กำหนดเกณฑ์ในการพิจารณาคุณภาพ

ระดับความพึงพอใจ 5 หมายถึง มีความพึงพอใจในระดับมากที่สุด

ระดับความพึงพอใจ 4 หมายถึง มีความพึงพอใจในระดับมาก

ระดับความพึงพอใจ 3 หมายถึง มีความพึงพอใจในระดับปานกลาง

ระดับความพึงพอใจ 2 หมายถึง มีความพึงพอใจในระดับน้อย

ระดับความพึงพอใจ 1 หมายถึง มีความพึงพอใจในระดับน้อยที่สุด

โปรดเขียนเครื่องหมาย √ ลงในช่องระดับความพึงพอใจตามความคิดเห็นของท่าน

การดำเนินงาน	($\overline{X}$)	S.D.	ระดับความพึงพอใจ
ด้านกระบวนการ / ขั้นตอนการจัดกิจกรรม			
1. การรับรู้ข้อมูลเกี่ยวกับกิจกรรม	4.09	0.82	มาก
2. ความเหมาะสมของรูปแบบการจัดกิจกรรม	4.09	0.82	มาก
3. ความเหมาะสมของช่วงเวลาในการจัดกิจกรรม	3.98	0.85	มาก
4. ได้รับความรู้หรือประโยชน์จากกระบวนการจัดกิจกรรมทุกขั้นตอน	3.87	0.94	มาก
ด้านชุดสื่อการเรียนการสอน			
5. ความสะดวกในการใช้งานของผลิตภัณฑ์	4.16	1.00	มาก
6. วัสดุที่ใช้มีความเหมาะสม	4.09	0.82	มาก
7. ความสวยงามของผลิตภัณฑ์	3.84	0.92	มาก
8. ขนาดของผลิตภัณฑ์มีความเหมาะสม	3.91	1.02	มาก
9. คำอธิบายการใช้งานมีความชัดเจน ละเอียด เข้าใจง่าย	4.07	0.90	มาก
ด้านคุณภาพ			
10. ความรู้ / ประโยชน์ที่ได้รับก่อนเข้าร่วมโครงการ	4.04	1.01	มาก
11. ความรู้ / ประโยชน์ที่ได้รับหลังเข้าร่วมโครงการ	4.16	0.98	มาก
รวม	**4.04**	**0.93**	**มาก**

หมายเหตุ เกณฑ์ในการแปลความหมาย ดังนี้

4.50 - 5.00 หมายถึง ความพึงพอใจในระดับมากที่สุด

3.50 - 4.49 หมายถึง ความพึงพอใจในระดับมาก

2.50 - 3.49 หมายถึง ความพึงพอใจในระดับปานกลาง

1.50 - 2.49 หมายถึง ความพึงพอใจในระดับน้อย

1.00 - 1.50 หมายถึง ความพึงพอใจในระดับน้อยที่สุด

8.แบบประเมินความคิดเห็นของคุณครู

ผู้วิจัยทำการออกแบบประเมินความคิดเห็นและศึกษาระดับความเห็นด้วยของคุณครูทั้งก่อนและหลังเสร็จสิ้นการจัดกิจกรรมการเรียนรู้ผ่านชุดสื่อการเรียนการสอนเรื่อง กรด-เบส อินดิเคเตอร์ แสดงรายละเอียดแผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติดังต่อไปนี้

8.1 แบบประเมินความคิดเห็นชุดสื่อการเรียนการสอนก่อนเริ่มกิจกรรม

แบบประเมินความคิดเห็นชุดสื่อการเรียนการสอนเรื่อง กรด-เบสอินดิเคเตอร์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาพระราชวังสนามจันทร์

****

คำชี้แจง : แบบประเมินความคิดเห็นของคุณครูชุดสื่อการเรียนการสอนที่มีต่อผลสัมฤทธิ์ทางการเรียน เรื่อง กรด-เบสอินดิเคเตอร์ ของนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 1 เพื่อประเมินความพึงพอใจของนักเรียนที่มีต่อชุดสื่อการเรียนการสอน ความคิดเห็นเกี่ยวกับสื่อการเรียนการสอน

แบบประเมินก่อนใช้สื่อการเรียนการสอน กรด-เบสอินดิเคเตอร์

1. โดยปกติแล้วท่านมีรูปแบบการสอนเรื่องกรด-เบสอินดิเคเตอร์อย่างไร

☐ บรรยาย ☐ ทำการทดลอง ☐ ค้นคว้าด้วยตนเอง

☐ ทั้งบรรยายและทำการทดลอง ☐ เรียนรู้ผ่าน e-learning ☐ อื่นๆ .....

2.ท่านคิดว่านักเรียนควรได้ทักษะอะไรหลังจากเรียนเรื่องกรด-เบสอินดิเคเตอร์
(ตอบได้มากกว่า 1 คำตอบ)

- ☐ ทักษะการสังเกต
- ☐ ทักษะการวัด
- ☐ ทักษะการคำนวณ
- ☐ ทักษะการจำแนกประเภท
- ☐ ทักษะการสื่อความหมายข้อมูล
- ☐ ทักษะการลงความเห็นจากข้อมูล
- ☐ ทักษะการพยากรณ์
- ☐ ทักษะการตั้งสมมติฐาน
- ☐ ทักษะการการทดลอง
- ☐ การตีความหมายข้อมูล และการลงข้อมูล
- ☐ ทักษะการกำหนดนิยามเชิงปฏิบัติการ
- ☐ ทักษะการกำหนด และควบคุมตัวแปร
- ☐ ทักษะการหาความสัมพันธ์ระหว่างสเปสกับสเปส และสเปสกับเวลา

3. ท่านคิดว่าหัวข้อเรื่องกรดเบสในชีวิตประจำวันนี้มีความจำเป็นต่อนักเรียนหรือไม่เพราะเหตุใด

- ☐ จำเป็น เพราะ.....
- ☐ ไม่จำเป็น เพราะ.....

4. โดยปกติแล้วท่านมีรูปแบบการวัดผลสัมฤทธิ์ทางเรียนรู้ในหัวข้อกรด-เบสอินดิเคเตอร์ของนักเรียนอย่างไร

- ☐ ทำรายงาน
- ☐ พรีเซนต์งานกลุ่ม
- ☐ สอบ
- ☐ อื่นๆ .....

5. จากรูปแบบการสอนโดยปกติที่ท่านใช้คิดว่านักเรียนได้ทักษะที่ต้องการไปมากน้อยแค่ไหนประมาณออกมาเป็นร้อยละเท่าใด

.....

6. ท่านคิดว่ามีทักษะด้านใดที่นักเรียนของท่านยังไม่ได้รับหรือขาดหายไปในหัวข้อกรด-เบสอินดิเคเตอร์

.....

.....

7. ท่านคิดว่าการเพิ่มส่วนของการทดลองให้กับเรื่องกรด-เบสอินดิเคเตอร์ด้วยสื่อการเรียนการสอนจะสามารถช่วยเพิ่มความเข้าใจให้กับนักเรียนได้หรือไม่เพราะเหตุใด

- ☐ ได้ เพราะ.....
- ☐ ไม่ได้ เพราะ.....

8. โดยปกติแล้วหากสนใจในการใช้ชุดปฏิบัติการเพื่อสอนในหัวข้อเรื่องกรด-เบสอินดิเคเตอร์ท่านมีงบประมาณเท่าไหร่ในการสนับสนุนการซื้อชุดปฏิบัติการนี้

.....

8.2 แบบประเมินความคิดเห็นชุดสื่อการเรียนการสอนหลังเสร็จสิ้นกิจกรรม

1. ท่านคิดว่าสื่อการเรียนการสอนนี้สามารถช่วยสร้างทักษะกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ขั้นบูรณาการ 5 ทักษะและเพิ่มความเข้าใจในเนื้อหาเรื่องนี้ให้กับนักเรียนได้หรือไม่ เพราะเหตุใด

.....

.....

2. ท่านมีความคิดเห็นโดยภาพรวมอย่างไรเกี่ยวกับสื่อการเรียนการสอนเรื่องกรด-เบสอินดิเคเตอร์ชิ้นนี้

.....

.....

เมื่อท่านลองใช้สื่อการเรียนการสอนเรื่องกรด-เบสอินดิเคเตอร์ และสังเกตพฤติกรรมนักเรียนของท่านแล้วท่านเห็นด้วยกับข้อความเหล่านี้หรือไม่ โปรดทำเครื่อง ☑ ลงในช่องว่างตามคิดเห็นของท่าน เมื่อนักเรียนใช้สื่อการเรียนการสอนนี้โดยที่แต่ละหมายเลขมีความหมายดังนี้

5 =มากที่สุด 4 =มาก 3 =ปานกลาง 2 =น้อย 1 =น้อยที่สุด

ทักษะ (ประเมินทักษะการเรียนรู้)	**ระดับความเห็นด้วย**				
	5	4	3	2	1
สื่อการเรียนการสอนชุดนี้ช่วยให้นักเรียนเพิ่มทักษะการสังเกต					
สื่อการเรียนการสอนชุดนี้ช่วยให้นักเรียนเพิ่มทักษะการตั้งคำถาม					
สื่อการเรียนการสอนชุดนี้ช่วยให้นักเรียนเพิ่มทักษะการตั้งสมมติฐาน					
สื่อการเรียนการสอนชุดนี้ช่วยให้นักเรียนเพิ่มทักษะการออกแบบการทดลอง					
สื่อการเรียนการสอนชุดนี้ช่วยให้นักเรียนเพิ่มทักษะการสรุปผลการทดลอง					

ด้านสิ่งอำนวยความสะดวก (ประเมินสื่อการเรียนการสอน)	ระดับความเห็นด้วย				
	5	4	3	2	1
ความคุ้มค่าและราคา					
วัสดุที่ใช้มีความเหมาะสม					
ความสวยงามของสื่อการเรียนการสอน					
ขนาดของสื่อการเรียนการสอนมีความเหมาะสม					

3.ท่านมีแผนจะซื้อสื่อการเรียนการสอนกรดเบสอินดิเคเตอร์นี้ใช้ในอนาคตอีกหรือไม่

☐ ซื้อ ☐ ไม่ซื้อ เพราะ.....

4.ท่านคิดว่าจะซื้อสื่อการเรียนการสอนกรดเบสอินดิเคเตอร์นี้ใช้อย่างต่อเนื่องหรือไม่

☐ ซื้อ ☐ ไม่ซื้อ เพราะ.....

5. ท่านมีงบประมาณในการสนับสนุนการซื้อสื่อการเรียนการสอนเรื่องกรด-เบสอินดิเคเตอร์หรือไม่

☐ ใช่ ☐ ไม่ใช่ เพราะ.....

6.ท่านคิดว่าจะแนะนำสื่อการเรียนการสอนกรดเบสอินดิเคเตอร์นี้ให้กับท่านอื่นหรือไม่

☐ แนะนำ ☐ ไม่แนะนำ เพราะ.....

7.ท่านมีหัวข้อไหนที่อยากให้มีการทำสื่อการสอนใหม่ๆขึ้นมาอีกหรือไม่

.....

.....

8.3 แสดงผลแบบประเมินความคิดเห็นของคุณครู

ผู้วิจัยนำแบบประเมินที่ได้จากการจัดกิจกรรมการเรียนรู้ เรื่อง กรด-เบสอินดิเคเตอร์ ผ่านชุดสื่อการเรียนการสอนเพื่อศึกษาแนวโน้มความคิดเห็นของคุณครูผ่านการวิเคราะห์ข้อมูลแบบแจกแจงความถี่ที่มีต่อชุดสื่อการเรียนการสอน โดยได้กำหนดเกณฑ์ในการพิจารณาคุณภาพ

ระดับความพึงพอใจ 5 หมายถึง มีความพึงพอใจในระดับมากที่สุด

ระดับความพึงพอใจ 4 หมายถึง มีความพึงพอใจในระดับมาก

ระดับความพึงพอใจ 3 หมายถึง มีความพึงพอใจในระดับปานกลาง

ระดับความพึงพอใจ 2 หมายถึง มีความพึงพอใจในระดับน้อย

ระดับความพึงพอใจ 1 หมายถึง มีความพึงพอใจในระดับน้อยที่สุด

โปรดเขียนเครื่องหมาย √ ลงในช่องระดับความพึงพอใจตามความคิดเห็นของท่าน

ทักษะ **(ประเมินทักษะการเรียนรู้)**	($\overline{X}$)	S.D.	ระดับความเห็นด้วย
สื่อการเรียนการสอนชุดนี้ช่วยให้นักเรียนเพิ่มทักษะการสังเกต	5	0	มาก
สื่อการเรียนการสอนชุดนี้ช่วยให้นักเรียนเพิ่มทักษะการตั้งคำถาม	5	0	มาก
สื่อการเรียนการสอนชุดนี้ช่วยให้นักเรียนเพิ่มทักษะการตั้งสมมติฐาน	4.67	0.47	มาก
สื่อการเรียนการสอนชุดนี้ช่วยให้นักเรียนเพิ่มทักษะการออกแบบการทดลอง	4.67	0.47	มาก
สื่อการเรียนการสอนชุดนี้ช่วยให้นักเรียนเพิ่มทักษะการสรุปผลการทดลอง	5	0	มาก
รวม	**4.87**	**0.19**	**มาก**

ด้านสิ่งอำนวยความสะดวก **(ประเมินสื่อการเรียนการสอน)**	($\overline{X}$)	S.D.	ระดับระดับความเห็นด้วย
ความคุ้มค่าและราคา	4.67	0.47	มาก
วัสดุที่ใช้มีความเหมาะสม	5	0	มาก
ความสวยงามของสื่อการเรียนการสอน	5	0	มาก
ขนาดของสื่อการเรียนการสอนมีความเหมาะสม	4.67	0.47	มาก
รวม	**4.84**	**0.24**	**มาก**

หมายเหตุ เกณฑ์ในการแปลความหมาย ดังนี้

4.50 - 5.00 หมายถึง ความเห็นด้วยในระดับมากที่สุด

3.50 - 4.49 หมายถึง ความเห็นด้วยในระดับมาก

2.50 - 3.49 หมายถึง ความเห็นด้วยในระดับปานกลาง

1.50 - 2.49 หมายถึง ความเห็นด้วยในระดับน้อย

1.00 - 1.50 หมายถึง ความเห็นด้วยในระดับน้อยที่สุด

9. ผลการทดสอบ ANOVA test ของชุดตัวอย่างน้ำส้มสายชูในตารางที่ 4.6

Anova: Single Factor

SUMMARY

Groups	Count	Sum	Average	Variance
Column 1	5	23.52	4.704	1.00473
Column 2	5	23.44	4.688	1.06232
Column 3	5	23.37	4.674	1.27993

ANOVA

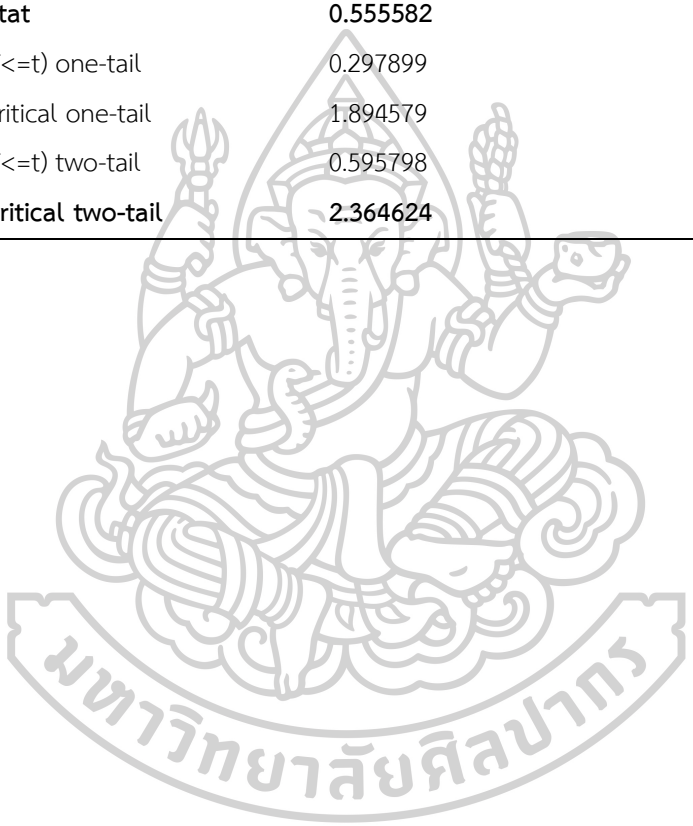
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0.002253	2	0.001127	0.00101	0.998991	3.885294
Within Groups	13.38792	12	1.11566			
Total	13.39017	14				

10. ผลการทดสอบ *t*-test ของชุดตัวอย่างปุ๋ยเคมีในตารางที่ 4.8

	Proposed method	**Reference method**
Mean	10.95711	10.24222
Variance	20.10936	11.64036
Observations	15	15
Hypothesized Mean Difference	0	
df	14	
t Stat	**0.491376**	
P(T<=t) one-tail	0.313641	
t Critical one-tail	1.705618	
P(T<=t) two-tail	0.627283	
t Critical two-tail	**2.055529**	

11. ผลการทดสอบ *t*-test ของชุดตัวอย่างน้ำทิ้งจากการเกษตรในตารางที่ 4.9

	Proposed method	Reference method
Mean	129.3045	118.9774
Variance	34336.91	27904.83
Observations	8	8
Pearson Correlation	0.960735	
Hypothesized Mean		
Difference	0	
df	7	
t Stat	**0.555582**	
P(T<=t) one-tail	0.297899	
t Critical one-tail	1.894579	
P(T<=t) two-tail	0.595798	
t Critical two-tail	**2.364624**	



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล ธนิกานต์ สุขอร่าม

วัน เดือน ปี เกิด 16 มกราคม 2536

สถานที่เกิด อ.เมือง จ.นครราชสีมา

วุฒิการศึกษา ปีการศึกษา 2550 สำเร็จการศึกษาในระดับมัธยมต้น
จากโรงเรียนสุรนารีวิทยา จังหวัดนครราชสีมา
ปีการศึกษา 2553 สำเร็จการศึกษาในระดับมัธยมปลาย
จากโรงเรียนสุรนารีวิทยา จังหวัดนครราชสีมา
ปีการศึกษา 2558 สำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรี
สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2560 สำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาโท
สาขาวิชาเคมีศึกษา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยศิลปากร
ประสบการณ์ : ผู้ช่วยคุมปฏิบัติการรายวิชา
General chemistry laboratory (513 105)

ที่อยู่ปัจจุบัน บ้านเลขที่ 401/4 ถนนสุรนารายณ์ ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

ผลงานตีพิมพ์ Sukaram T, Sirisakwisut P, Chaneam S. Use of Natural Pigment from Orchid as a Reagent for Quantitative Analysis of Ammonia in Chemical Fertilizers. Burapha Science Journal (special volume 2017); 22: 366-376.

อนุสิทธิบัตร :

2018 อนุสิทธิบัตรเลขที่คำขอ 1803001166 เรื่องชุดสื่อการเรียนการสอนกรด-เบสอินดิเคเตอร์จากธรรมชาติ

การนำเสนอผลงานวิจัย :

2018 ธนิกานต์ สุขอร่าม และ สุมนมาลย์ จันทร์เอี่ยม. การใช้สารสกัด

จากธรรมชาติสร้างสื่อการเรียนการสอนในหัวข้อเคมีกรดเบสในชีวิตประจำวัน, นำเสนอในรูปแบบของโปสเตอร์ การนำเสนอผลงานนวัตกรรมการเรียนการสอน มหาวิทยาลัยศิลปากร วันที่ 19 มิถุนายน 2561.

2018 Sukaram T., Sirisakwisut P., Sirirak J., Chaneam S., Utilization of orchid extract for on-line green analysis, poster presentation at the 2018 Chemistry Research Symposium (ChRS 2018), 26-27 May 2018, Kasetsart University, Kamphaeng saen campus, Thailand.

2017 Chaneam S., Sukaram T., Manthong N., Sirisakwisut P., Utilization of orchid extract for on-line and on-site green analysis of copper (II) ion, oral and poster presentation at Workshop on PiCOANALYSIS II, 28-29 July, 2017 Chiang Mai, Thailand.

2017 Sukaram T., Sirisakwisut P., Chaneam S., Use of natural pigment from orchid as a reagent for quantitative analysis of ammonia in chemical fertilizers, poster presentation at the 9th Science Research Conference, 25-26 May 2017, Burapha University, Chonburi, Thailand.

2017 Sirisakwisut P.t, Sukaram T., and Chaneam S., Utilization of orchid extract for determination of copper (II) ion using flow injection analysis system, poster presentation at Pure and Applied Chemistry International Conference 2017 (PACCON2017), 2-3 Fabuary 2017, The Government Complex Commemorating His Majesty the King's 80th Birthday Anniversary, 5th December, B.E. 2550 (2007), Bangkok, Thailand

2016 Sukaram T., Nacapricha D., and Chaneam S., Use of natural pigment as a reagent for determination of ammonia, oral presentation at the 13th Asian Conference on Analytical Sciences (ASIANALYSIS XIII), 8-11 December 2016, Chiang Mai, Thailand

รางวัลที่ได้รับ

2017 Commemorative certificate for achievement a good research from Faculty of Science, Silpakorn University, 21 September 2017.

2017 Best presentation award from the Workshop on PiCOANALYSIS II, entitled utilization of orchid extract for on-line and on-site green analysis of copper (II) ion, 28-29 July 2017, Chiang Mai University, Thailand.

2017 Best poster award from 9th Science Research Conference, entitled use of natural pigment from orchid as a reagent for quantitative analysis of ammonia in chemical fertilizers, 25-26 May 2017, Burapha University, Chonburi, Thailand.