

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

ในงานวิจัยนี้จะแบ่งออกเป็น 2 ตอนด้วยกันคือการวิเคราะห์ไนไตรท์ และการวิเคราะห์ไนเตรท โดยกระบวนการวิเคราะห์ไนไตรท์แบ่งออกเป็น 2 วิธีคือแบบเติม mediator และแบบนำอนุภาคขนาดนาโนของทองไปตรึงบนผิวของขั้วไฟฟ้า

3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย

1) เครื่องวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า (Electrochemical Analyzer) รุ่น 1230A ยี่ห้อ CH Instruments, Europe

2) เครื่องชั่งที่ตำแหน่ง (Balance Analytical) รุ่น AG 204 ยี่ห้อ Mettler Toledo, Switzerland

3) เครื่องวัดความกรด-เบส (pH meter) รุ่น MP 220 ยี่ห้อ Mettler Toledo, Switzerland

4) เครื่องแมกเนตริกสเตอร์เลอร์ (Magnetic Stirrer) รุ่น mini ยี่ห้อ VELP Scientifica, Europe

5) เตาเผา รุ่น ULE 500 ผลิตโดย Menmer Gmbh Germany

6) โถดูดความชื้น (Desiccator)

7) ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 10 100 และ 1000 ไมโครลิตร

8) ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 5 10 50 250 500 และ 1000 มิลลิลิตร

9) บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 5 10 50 100 และ 500 มิลลิลิตร

10) แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)

11) หลอดหยด (Dropper)

12) ขวดน้ำกลั่น (Wash bottle)

13) ช้อนตักสาร (Spatula)

14) ขั้วไฟฟ้า (Electrodes)

ขั้วไฟฟ้าทำงาน (WE): ไม้ดินสอดคาร์บอน 2B ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร
ยี่ห้อ Staedtler

ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง (RE): ซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์ (silver/silver chloride; Ag/AgCl) ยี่ห้อ CH Instruments, Europe

ขั้วไฟฟ้าช่วย (CE): ลวดแพลทินัม (Platinum; Pt)

3.2 สารเคมี

1) กรดซัลฟูริก 98% (Sulfuric acid 98%; H_2SO_4) ผลิตโดย Labscan analytical science, Thailand

2) กรดไฮโดรคลอริก 37% (Hydrochloric acid 37%; HCl), ผลิตโดย Merck, Germany

3) คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate; $CuSO_4$), MW = 159.54 g/mol ผลิตโดย Merck, Germany

4) โซเดียมซัลเฟต (Sodium sulfate; Na_2SO_4), MW = 119 g/mol Assay 99% Merck, Germany

- 5) โซเดียมฟอสเฟต ไดเบสิก โดเดคาไฮเดรต (Sodium phosphate dibasic dodecahydrate; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), MW = 358.14 g/mol, ผลิตโดย Fluka, Switzerland
- 6) โซเดียมฟอสเฟต โมโนเบสิก ไดไฮเดรต (Sodium phosphate monobasic dihydrate; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), MW = 156.01 g/mol ผลิตโดย Fluka, Switzerland
- 7) น้ำปราศจากไอออน (Deionized water ($R \geq 18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$)) จาก Milli-Q-gradient system ผลิตโดย Millipore, Sweden
- 8) โปแตสเซียมคลอไรด์ (Potassium Chloride; KCl), MW = 74.55 g/mol ผลิตโดย Ajax Finechem
- 9) โปแตสเซียมไนเตรต (Potassium nitrate; KNO_3), MW 101.10 g/mol ผลิตโดย Analytical grade purity, Sigma Chemical
- 10) โปแตสเซียมไนไตรท์ (Potassium nitrite; KNO_2), MW = 85.107 g/mol ผลิตโดย Carlo Erba
- 11) สารละลายมาตรฐานทองสำหรับ AAS 1001 mg/L (Gold Standard for AAS; Au) ผลิตโดย Fluka, Switzerland

3.3 ระเบียบวิธีวิจัยของการวิเคราะห์ไนไตรท์

3.3.1 การวิเคราะห์ไนไตรท์ที่วิเคราะห์ด้วยการเติม mediator ของสารละลาย $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$

3.3.1.1 ศึกษา Mediator ของสารละลาย $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงสีสารละลายไนไตรท์

ศึกษาความเข้มข้นของไนไตรท์ที่มีผลต่อ $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ mediator โดยสังเกตจากสีที่เปลี่ยนแปลงในขวด vial จำนวน 5 ขวด ที่มีการเติมสารละลายดังตารางที่ 3.1 เมื่อคิดเป็นความเข้มข้นของ $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ได้ 0.02 โมลาร์ ของทุกขวด และเมื่อคิดความเข้มข้นของ KNO_2 ได้เป็น 0.0 0.2 0.4 0.6 และ 0.8 โมลาร์ ตามลำดับขวดที่ 1 ถึง 5

ตารางที่ 3.1 ปริมาตรของสารละลายไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างกันใน $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ mediator

สารที่เติม	ขวดที่				
	1	2	3	4	5
0.1 โมลาร์ $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (มิลลิลิตร)	1	1	1	1	1
1 โมลาร์ KNO_2 (มิลลิลิตร)	0	1	2	3	4
บัฟเฟอร์ pH 7.5 (มิลลิลิตร)	4	3	2	1	0

3.3.1.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ไนไตรท์ด้วยการเติม mediator ของสารละลาย $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ โดยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า

ในงานวิจัยได้เลือกใช้ขั้วไฟฟ้าสแตนเลส 2B ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร ยี่ห้อ Staedtler เนื่องจากให้สัญญาณทางเคมีไฟฟ้าสูงสุดเมื่อเทียบกับสแตนเลสยี่ห้ออื่นๆ ที่สามารถหาซื้อได้ [5]

ประกอบกับมีราคาถูก และสามารถหาซื้อได้ง่าย จึงนำไลต์ดินสอยี่ห้าดังกล่าวมาทดสอบ โดยมีวิธีการเตรียมขั้วไฟฟ้าดังนี้

3.3.1.2.1 ศึกษาหาความเข้มข้นของ mediator ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดไนโตรเจนด้วยเทคนิคแอมเปอร์โรเมทรี โดยนำขั้วไฟฟ้าไลต์ดินสอยี่ห้ามาทดสอบตามขั้นตอนดังนี้

1) ใส่ $K_4[Fe(CN)_6]$ ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงไปในเซลล์ที่มีฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.5 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร

2) ต่อขั้วไฟฟ้า WE (ขั้วไฟฟ้าดินสอ) CE (ขั้วไฟฟ้าลวดแพลทินัม) และ RE (ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์) โดยจุ่มลงในเซลล์ พร้อมใส่แท่งแม่เหล็กกวนตลอดการทดลอง

3) ให้ศักย์ไฟฟ้ากับขั้วไฟฟ้าทำงาน 0.00 โวลต์ แล้วให้เครื่องเริ่มตรวจวัด เมื่อ baseline คงที่เต็ม 100 ไมโครลิตร ของ 0.1 โมลาร์ ไนโตรเจนลงในเซลล์ และเมื่อกระแสคงที่ให้เต็มสารละลายไนโตรเจนไปอีก 2 ครั้ง

4) ทำตามข้อที่ 1)-3) โดยเปลี่ยนปริมาตรการใส่ $K_4[Fe(CN)_6]$ เป็น 200 และ 300 ไมโครลิตร ในเซลล์ที่มีฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.5 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ตามลำดับ

3.3.1.2.2 ศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมสำหรับตรวจวัดไนโตรเจน และมี $K_4[Fe(CN)_6]$ mediator เป็นตัวเพิ่มสัญญาณด้วยเทคนิคแอมเปอร์โรเมทรี โดยนำขั้วไฟฟ้าไลต์ดินสอยี่ห้ามาทดสอบตามขั้นตอนดังนี้

1) ใส่ $K_4[Fe(CN)_6]$ ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงไปในเซลล์ที่มีฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.5 ปริมาตร 2.8 มิลลิลิตร อยู่

2) ต่อขั้วไฟฟ้า WE CE และ RE จุ่มลงในเซลล์ พร้อมใส่แท่งแม่เหล็กกวนตลอดการทดลอง

3) ให้ศักย์ไฟฟ้ากับขั้วไฟฟ้าทำงาน 0.00 โวลต์ แล้วให้เครื่องเริ่มตรวจวัด เมื่อ baseline คงที่เต็ม 100 ไมโครลิตร ของไนโตรเจนลงในเซลล์ และเมื่อกระแสคงที่ให้เต็มสารละลายไนโตรเจนเพิ่มลงไปอีก 2 ครั้ง

4) ทำตามข้อที่ 1)-3) โดยเปลี่ยนศักย์ไฟฟ้าในข้อ 3) เป็น -0.3 -0.2 -0.1 0.1 0.2 และ 0.3 โวลต์ ตามลำดับ

3.3.1.2.3 ศึกษาผลของกระแสพื้นของอิเล็กโทรไลต์ที่มีผลต่อการตรวจวัดไนโตรเจนในสารละลายที่ประกอบด้วย mediator ด้วยเทคนิคแอมเปอร์โรเมทรี โดยนำขั้วไฟฟ้าไลต์ดินสอยี่ห้ามาทดสอบตามขั้นตอนดังนี้

1) ใส่ $K_4[Fe(CN)_6]$ ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงไปในเซลล์ที่มีฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.5 ปริมาตร 2.8 มิลลิลิตร อยู่

2) ต่อขั้วไฟฟ้า WE CE และ RE จุ่มลงในเซลล์ พร้อมใส่แท่งแม่เหล็กกวนตลอดการทดลอง

3) ให้ศักย์ไฟฟ้ากับขั้วไฟฟ้าทำงาน 0.00 โวลต์ แล้วให้เครื่องเริ่มตรวจวัด เมื่อ baseline คงที่เต็ม 100 ไมโครลิตร ของอิเล็กโทรไลต์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.5 ลงในเซลล์ และเมื่อกระแสคงที่ให้เต็มสารละลายไนโตรเจนเพิ่มลงไปอีก 2 ครั้ง

4) ทำตามข้อที่ 1)-3) โดยเปลี่ยนศักย์ไฟฟ้าในข้อ 3) เป็น -0.3 -0.2 -0.1 0.1 0.2 และ 0.3 โวลต์ ตามลำดับ

3.3.1.2.3 ศึกษาหาความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงสำหรับตรวจวัดไนโตรเจน และมี $K_4[Fe(CN)_6]$ mediator เป็นตัวเพิ่มสัญญาณด้วยเทคนิคแอมเปอร์โรเมทรี ตามขั้นตอนดังนี้

1) ใส่ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.5 ปริมาตร 2.8 มิลลิลิตร ลงในเซลล์
2) ต่อขั้วไฟฟ้า WE CE และ RE จุ่มลงในเซลล์ พร้อมใส่แท่งแม่เหล็กกวนตลอดการทดลองทำการให้ศักย์ไฟฟ้ากับขั้วไฟฟ้าทำงาน 0.00 โวลต์ แล้วให้เครื่องเริ่มตรวจวัด เมื่อ baseline คงที่เติม $K_4[Fe(CN)_6]$ ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงไปในเซลล์ โดยเติมครั้งละ 100 ไมโครลิตร จำนวน 2 ครั้ง

4) จากนั้นทำการเติมไนโตรเจนความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 15 ไมโครลิตร และเมื่อกระแสคงที่ให้เพิ่มปริมาณไนโตรเจนเป็น 30 50 และ 100 ไมโครลิตร ต่อไปเรื่อยๆ จนกระแสคงที่

3.3.2 การวิเคราะห์ไนโตรเจนที่วิเคราะห์บนขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอดำที่ตรึงด้วยอนุภาคของขนาดนาโน

3.3.2.1 การศึกษาคุณลักษณะของอนุภาคของนาโนด้วยเครื่องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)

โดยนำแผ่นขั้วไฟฟ้าอินเดียมทินออกไซด์ (*Indium Tin Oxide; ITO*) มาตรึงอนุภาคของนาโนด้วยเทคนิคโซลคิกโวลแทมเมทรี ในสารละลาย $HAuCl_4$ ความเข้มข้น 10 ppm ช่วงของศักย์ไฟฟ้าระหว่าง -0.6 ถึง 1.2 โวลต์ จำนวน 1 รอบ ที่อัตราการสแกน 0.05 โวลต์/วินาที เพื่อนำไปส่องดูอนุภาคของนาโนด้วยเครื่อง SEM โดยการส่งตรวจที่มหาวิทยาลัยนครสวรรค์

3.3.2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ไนโตรเจนที่วิเคราะห์บนขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอดำที่ตรึงด้วยอนุภาคของขนาดนาโนด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า

3.3.2.2.1 จำนวนรอบของการตรึงอนุภาคของนาโนด้วยเทคนิคโซลคิกโวลแทมเมทรี

1) นำไส้ดินสอดำมาต่อเป็นขั้วไฟฟ้า WE ลวดแพลทินัมเป็นขั้วไฟฟ้า CE และซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์เป็นขั้วไฟฟ้า RE จากนั้นเชื่อมต่อกับเครื่อง Electrochemical Analyzer ให้ศักย์ไฟฟ้ากับขั้วไฟฟ้าทำงานด้วยเทคนิคโซลคิกโวลแทมเมทรี

2) ใส่สารละลาย $HAuCl_4$ ความเข้มข้น 10 ppm ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในเซลล์

3) ทำการตั้ง parameter เทคนิคโซลคิกโวลแทมเมทรีดังนี้ อัตราการสแกน 0.05 โวลต์/วินาที และช่วงของศักย์ไฟฟ้าที่สแกนระหว่าง -0.6 ถึง 1.2 โวลต์

4) กดปุ่มบนเครื่อง run ให้จำนวนรอบของการสแกนเทคนิคโซลคิกโวลแทมเมทรีเป็น 1 และ 10 รอบ ตามลำดับ จะได้ขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอดำที่มีอนุภาคของนาโนติดอยู่

5) ทำการตรวจวัดไนโตรเจนด้วยเทคนิคสแควเวฟ และเปรียบเทียบกระแสออกซิเดชันของไนโตรเจนของการตรึงอนุภาคของนาโน 1 รอบ และ 10 รอบ สแกนของเทคนิคโซลคิกโวลแทมเมทรี

3.3.2.2.2 การเลือก pH ของอิเล็กโทรไลต์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดไนไตรท์

- 1) ตั้งอุณหภูมิของนาโนตามข้อ 3.3.2.2.1 จำนวนรอบของการสแกน 1 รอบ
- 2) ทำการตรวจวัดในสารละลาย 1 มิลลิโมลาร์ ไนไตรท์ด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 2.0 ช่วงศักย์ไฟฟ้า 0.0 ถึง 1.4 โวลต์ กดปุ่มบนเครื่อง run และ save
- 3) เปลี่ยนสารละลายอิเล็กโทรไลต์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์จาก pH 2.0 เป็น pH 3.0 ถึง 9.0 ตามลำดับ เปรียบเทียบกระแส และศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

3.3.2.2.3 การเลือก parameter ที่เหมาะสมสำหรับเทคนิคสแควเวฟในการตรวจวัดไนไตรท์

3.3.2.2.3.1 amplitude ที่เหมาะสมของเทคนิคสแควเวฟ

- 1) ตั้งอุณหภูมิของนาโนตามข้อ 3.3.2.2.1 จำนวนรอบของการสแกน 1 รอบ
- 2) ทำการตรวจวัดไนไตรท์ด้วยเทคนิคสแควเวฟ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH เท่ากับที่เลือกได้จากข้อ 3.3.2.2.2 ตั้งพารามิเตอร์ amplitude เป็น 0.025 โวลต์ ช่วงศักย์ไฟฟ้าสแกน 0.0 ถึง 1.4 โวลต์ กดปุ่มบนเครื่อง run และ save
- 3) เปลี่ยนพารามิเตอร์ amplitude เป็น 0.050 โวลต์ เปรียบเทียบกระแส และศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

3.3.2.2.3.2 increasing potential ที่เหมาะสมของเทคนิคสแควเวฟ

- 1) ตั้งอุณหภูมิของนาโนตามข้อ 3.3.2.2.1 จำนวนรอบของการสแกน 1 รอบ
- 2) ทำการตรวจวัดไนไตรท์ด้วยเทคนิคสแควเวฟ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH เท่ากับที่เลือกได้จากข้อ 3.3.2.2.2 ตั้งพารามิเตอร์ amplitude เป็น 0.025 โวลต์ increasing potential เป็น 0.001 โวลต์ ช่วงศักย์ไฟฟ้าสแกน 0.0 ถึง 1.4 โวลต์ กดปุ่มบนเครื่อง run และ save
- 3) เปลี่ยนพารามิเตอร์ increasing potential เป็น 0.003 และ 0.005 โวลต์ และเปรียบเทียบกระแส และศักย์ไฟฟ้าที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

3.3.2.3 การหาประสิทธิภาพของการตรวจวัดไนไตรท์

- 1) ตั้งอุณหภูมิของนาโนตามข้อ 3.3.2.2.1 จำนวนรอบของการสแกน 1 รอบ
- 2) ทำการตรวจวัดไนไตรท์ด้วยเทคนิคสแควเวฟ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH เท่ากับ 4 ตั้งพารามิเตอร์ amplitude เป็น 0.025 โวลต์ increasing potential เป็น 0.003 โวลต์ ช่วงศักย์ไฟฟ้าสแกน 0.0 ถึง 1.4 โวลต์ กดปุ่มบนเครื่อง run และ save
- 3) เติมสารละลายไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน จนกระทั่งกระแสที่ได้ไม่เปลี่ยนแปลง และนำความเข้มข้นของไนไตรท์ กับกระแสที่ได้มาพลอตเป็นสมการเส้นตรง

3.3.2.4 การวิเคราะห์ไนไตรท์ในตัวอย่างน้ำดื่ม และน้ำผลไม้

- 1) ตั้งอุณหภูมิของนาโนตามข้อ 3.3.2.2.1 จำนวนรอบของการสแกน 1 รอบ
- 2) ทำการตรวจวัดไนไตรท์ด้วยเทคนิคสแควเวฟ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4 ปริมาตร 2,500 ไมโครลิตร ตั้งพารามิเตอร์ amplitude เป็น 0.025 โวลต์ และ increasing potential เป็น 0.003 โวลต์ ช่วงศักย์ไฟฟ้าสแกน 0.0 ถึง 1.4 โวลต์ กดปุ่มบนเครื่อง run และ save

- 3) เติมตัวอย่างปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในเซลล์เติม กดปุ่มบนเครื่อง run และ save
- 4) นำผลที่ได้แทนค่าในสมการเส้นตรงเพื่อหาปริมาณของไนโตรเจนในตัวอย่าง

3.3.2.5 การหาละยละลายการคืนกลับของการวิเคราะห์ไนโตรเจนในตัวอย่าง

- 1) เตรียมอนุภาคของนาโนตามข้อ 3.3.2.2.1 จำนวนรอบของการสแกน 1 รอบ
- 2) นำตัวอย่างน้ำดื่ม และน้ำผลไม้มา 10 mL เติมสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนให้ได้ความเข้มข้นเป็น 2 มิลลิโมลาร์
- 3) ทำการตรวจวัดไนโตรเจนด้วยเทคนิคแคววพ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4 ปริมาตร 2,500 ไมโครลิตร ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานปริมาตร 500 ไมโครลิตร ตั้งพารามิเตอร์ amplitude เป็น 0.025 โวลต์ และ increasing potential เป็น 0.003 โวลต์ ช่วงศักย์ไฟฟ้าสแกน 0.0 ถึง 1.4 โวลต์ กดปุ่มบนเครื่อง run และ save
- 4) เปรียบเทียบความเข้มข้นของไนโตรเจนโดยแทนในสมการเส้นตรง จากนั้นทำการหาค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนของตัวอย่าง และหาเปอร์เซ็นต์การคืนกลับของไนโตรเจน

3.4 ระเบียบวิธีวิจัยของการวิเคราะห์ไนเตรท

ในงานวิจัยส่วนของการวิเคราะห์ไนเตรทจะใช้ขั้วไฟฟ้าสแตนเลส 2B ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร ยี่ห้อ Staedtler เป็นขั้วไฟฟ้าทำงาน โดยมีขั้นตอนการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรวจวัดไนเตรทดังนี้

3.4.1 การศึกษาผลจากการเร่งปฏิกิริยาของ CuSO_4 ต่อไนเตรท

- 1) นำขั้วไฟฟ้าสแตนเลสคาร์บอน มาทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้เครื่อง Electrochemical Analyzer ด้วยขั้นตอนดังนี้
 - 1.1) ใส่สารละลายอิเล็กโทรไลต์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ของสารละลาย Na_2SO_4 (pH 2.0) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในเซลล์
 - 1.2) ต่อขั้วไฟฟ้า WE (ขั้วไฟฟ้าสแตนเลส) CE (ขั้วไฟฟ้าลวดแพลทินัม) และ RE (ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์) โดยจุ่มลงในเซลล์
 - 1.3) ทำการตั้ง parameter เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี ตั้งอัตราสแกน 0.05 โวลต์/วินาที และช่วงของศักย์ไฟฟ้าที่สแกนระหว่าง -0.4 ถึง 1 โวลต์ ทำการ run และ save ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้
 - 1.4) เติมสารละลาย KNO_3 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ลงในเซลล์ เติมที่มีสารละลายอิเล็กโทรไลต์อยู่และทำการคนให้สารละลายเข้ากัน จากนั้นทำตามข้อ 1.2) -1.3) อีกครั้ง นำผลที่ได้มาเปรียบเทียบค่ากระแสปฏิกิริยารีดักชัน
- 2) ทำตามข้อ 1) โดยเพิ่มการเติมสารละลาย CuSO_4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ลงในเซลล์ จากนั้นทำตามลำดับขั้นตอนดังกล่าว แล้วทำการเปรียบเทียบกระแส และตำแหน่งของการเกิดปฏิกิริยาระหว่างการเติมและไม่เติมสารละลาย CuSO_4
- 3) ทำตามข้อ 1) และข้อ 2) โดยเปลี่ยนขั้วไฟฟ้าสแตนเลสที่ไม่ผ่านการเผาเป็นขั้วไฟฟ้าสแตนเลสที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส

3.4.2 ศึกษาสถานะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ในเตรทด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้า

3.4.2.1 การเตรียมขั้วไฟฟ้าคาร์บอนจากไส้ดินสอด

- 1) นำไส้ดินสอดไปเผาที่อุณหภูมิ 100 200 300 400 และ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- 2) นำขั้วไฟฟ้าที่ผ่านและไม่ผ่านการเผา มาทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยใช้เครื่อง Electrochemical Analyzer ด้วยขั้นตอนดังนี้

2.1) ใส่สารละลายอิเล็กโทรไลต์ Na_2SO_4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย CuSO_4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ลงในเซลล์

2.2) ต่อขั้วไฟฟ้า WE (ขั้วไฟฟ้าดินสอดที่ไม่ผ่านการเผา) CE (ขั้วไฟฟ้าลวดแพลทินัม) และ RE (ขั้วไฟฟ้าซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์) โดยจุ่มลงในเซลล์

2.3) ทำการตั้ง parameter เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี ดังนี้ อัตราการสแกน 0.05 โวลต์/วินาที และช่วงของศักย์ไฟฟ้าที่สแกนระหว่าง -0.4 ถึง 1 โวลต์ ทำการ run และ save ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้

2.4) เติมสารละลาย KNO_3 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ลงในเซลล์เดิม และทำการคนให้สารละลายเข้ากัน จากนั้นทำตามข้อ 2.2)-2.3) อีกครั้ง นำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่ากระแสปฏิริยารีดักชัน

3) ทำตามข้อ 2) โดยเปลี่ยนขั้วไฟฟ้าดินสอดที่ไม่ผ่านการเผาเป็นขั้วไฟฟ้าที่ผ่านการเผา 100 200 300 และ 400 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เปรียบเทียบสัญญาณทางเคมีไฟฟ้า ของขั้วไฟฟ้าที่ให้กระแสรีดักชันสูงสุด

4) เลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมจากข้อ 3) แล้วนำไส้ดินสอดมาเผาที่เวลาต่างกัน คือ 30 60 90 และ 120 นาที จากนั้นทำตามข้อ 2) เปรียบเทียบสัญญาณที่ได้ เลือกเวลาที่ให้กระแสสูงที่สุด

5) นำไส้ดินสอดที่ให้สัญญาณกระแสสูงที่สุดไปส่องดูพื้นผิวด้วยเครื่อง SEM เปรียบเทียบกับพื้นผิวของไส้ดินสอดที่ไม่ได้ผ่านการให้อุณหภูมิ

3.4.2.2 หา pH ของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ในเตรท

ศึกษาหา pH ของอิเล็กโทรไลต์ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดในเตรทด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยนำขั้วไฟฟ้าไส้ดินสอดที่เลือกได้จากข้อ 3.4.2.1 มาทดสอบตามขั้นตอนดังนี้

1) ใส่สารละลายอิเล็กโทรไลต์ Na_2SO_4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 2.0 (ปรับ pH ด้วย H_2SO_4) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเติม CuSO_4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ลงในเซลล์

2) ต่อขั้วไฟฟ้า WE CE และ RE จุ่มลงในเซลล์

3) ทำการตั้ง parameter เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีดังนี้ อัตราการสแกน 0.05 โวลต์/วินาที และช่วงของศักย์ไฟฟ้าที่สแกนระหว่าง -0.4 ถึง 1 โวลต์ ทำการ run และ save ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้

4) เติมสารละลาย KNO_3 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ลงในเซลล์เดิมและทำการคนให้สารละลายเข้ากัน จากนั้นทำตามข้อ 2)-3) อีกครั้ง นำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่ากระแสปฏิริยารีดักชันสูงสุด

5) ทำตามข้อ 1)-4) โดยเปลี่ยนสารละลาย Na_2SO_4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 2.0 เป็น pH 3.0-5.0 ปรับ pH ด้วย H_2SO_4 และ HCl ตามลำดับ

3.4.2.3 ศึกษาปริมาณ CuSO_4 ที่เหมาะสมต่อการเร่งสำหรับการวิเคราะห์ไนเตรท

ศึกษาหาความเข้มข้นของสารละลาย CuSO_4 ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดไนเตรทด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี โดยนำขั้วไฟฟ้าใส่ดินสอด และ pH ของสารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เลือก มาทดสอบตามขั้นตอนดังนี้

- 1) ใส่สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เลือกได้จากข้อ 3.4.2.2 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเติม CuSO_4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในเซลล์
- 2) ต่อขั้วไฟฟ้า WE CE และ RE จุ่มลงในเซลล์
- 3) ทำการตั้ง parameter เทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรีดังนี้ อัตราการสแกน 0.05 โวลต์/วินาที และช่วงของศักย์ไฟฟ้าที่สแกนระหว่าง -0.4 ถึง 1 โวลต์ ทำการ run และ save ไซคลิกโวลแทมโมแกรมที่ได้
- 4) เติมสารละลาย 0.1 โมลาร์ KNO_3 30 ไมโครลิตร ลงในเซลล์เดิมและทำการคนให้สารละลายเข้ากัน จากนั้นทำตามข้อ 2) -3) อีกครั้ง นำผลที่ได้มาเปรียบเทียบหาค่ากระแสปฏิบัติยารีดักชัน
- 5) ทำตามข้อ 1)-4) โดยเพิ่มสารละลาย 0.1 โมลาร์ CuSO_4 เป็น 50 100 150 และ 200 ไมโครลิตร โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ตามลำดับ

3.4.3 ศึกษาหาความสัมพันธ์ของช่วงที่เป็นเส้นตรงของไนเตรท ด้วยเทคนิคสแคว-เวฟทางเคมีไฟฟ้า

ศึกษาหาความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงสำหรับการตรวจวัดไนเตรทด้วยเทคนิคสแควเวฟ โดยนำสภาวะที่เหมาะสมที่เลือกได้จากข้อ 3.4.2 มาทดสอบตามขั้นตอนดังนี้

- 1) ใส่สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เลือกได้จากข้อ 3.4.2 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และสารละลาย CuSO_4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงในเซลล์
- 2) ต่อขั้วไฟฟ้า WE CE และ RE โดยจุ่มลงในเซลล์
- 3) ทำการตั้ง parameter เทคนิคสแควเวฟ ดังนี้ช่วงของศักย์ไฟฟ้าที่สแกนระหว่าง -0.4 ถึง 1 โวลต์ ทำการ run และ save โวลแทมโมแกรมที่ได้
- 4) เติมสารละลาย KNO_3 ลงในเซลล์เดิมและทำการคนให้สารละลายเข้ากัน จากนั้นทำตามข้อ 2) -3) อีกครั้ง นำผลที่ได้มาเปรียบเทียบหาค่ากระแสปฏิบัติยารีดักชัน
- 5) จากนั้นทำการเติมสารละลาย KNO_3 เพิ่มจนกระทั่งความต่างของกระแสไม่เพิ่มขึ้นจากความเข้มข้นก่อนหน้า

3.4.4 การประยุกต์วิเคราะห์ไนเตรทในน้ำดื่มตัวอย่าง 3 ตัวอย่าง และการหาเปอร์เซ็นต์การคืนกลับ

3.4.4.1 การวิเคราะห์ไนเตรทในตัวอย่าง

- 1) ใส่สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เลือกได้จากข้อ 3.4.2 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร พร้อมทั้งสารละลาย CuSO_4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงในเซลล์
- 2) ต่อขั้วไฟฟ้า WE CE และ RE โดยจุ่มลงในเซลล์
- 3) ทำการตั้ง parameter เทคนิคสแคว-เวฟ ดังนี้ช่วงของศักย์ไฟฟ้าที่สแกนระหว่าง -0.4 ถึง 1 โวลต์ ทำการ run และ save โวลแทมโมแกรมที่ได้
- 4) เติมตัวอย่างปริมาตร 500 ไมโครลิตร ทำการ run และ save
- 5) นำผลที่ได้แทนค่าในสมการเส้นตรงเพื่อหาปริมาณของไนเตรทในตัวอย่าง

3.4.4.2 การหาล้อยละการคืนกลับของการวิเคราะห์ไนเตรทในตัวอย่าง

- 1) ใส่สารละลายอิเล็กโทรไลต์ที่เลือกได้จากข้อ 3.4.2 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร พร้อมทั้งสารละลาย CuSO_4 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงในเซลล์
- 2) ต่อขั้วไฟฟ้า WE CE และ RE โดยจุ่มลงในเซลล์
- 3) ทำการตั้ง parameter เทคนิคสแควเวฟ ดังนี้ช่วงของศักย์ไฟฟ้าที่สแกนระหว่าง -0.4 ถึง 1 โวลต์ ทำการ run และ save โวลแทมโมแกรมที่ได้
- 4) เติมตัวอย่างปริมาตร 500 ไมโครลิตร ทำการ run และ save
- 5) เติมสารละลายมาตรฐาน KNO_3 ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 45 ไมโครลิตร ทำการ run และ save
- 6) เที่ยงหาความเข้มข้นของไนเตรทโดยแทนในสมการเส้นตรง จากนั้นทำการหาค่าความเข้มข้นของไนเตรทของตัวอย่าง และหาเปอร์เซ็นต์การคืนกลับของไนเตรท