บทที่ 3

วิธีดำเนินการศึกษา

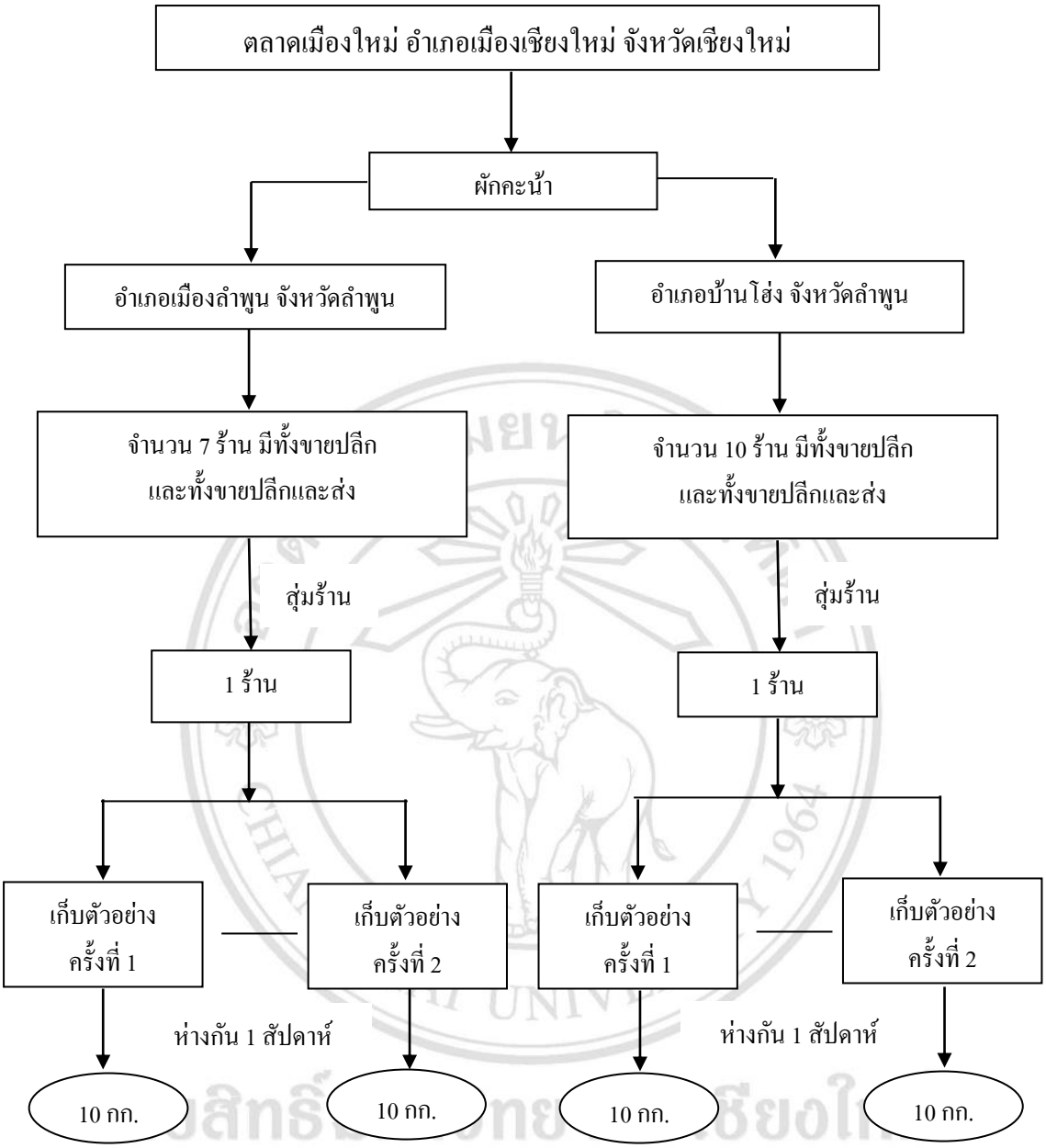
การศึกษาเรื่อง ปริมาณแคลเซียมในผักคะน้าก่อนและหลังการล้างด้วยน้ำผสมน้ำส้มสายชู น้ำผสมด่างทับทิม น้ำผสมโซเดียมไบคาร์บอเนตและน้ำผสมเกลือ มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบปริมาณแคลเซียมในผักคะน้าก่อนและหลังการล้างด้วยวิธีต่างกัน 4 วิธีดังกล่าว ซึ่งมีรายละเอียดในวิธีดำเนินการศึกษาดังนี้

3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ ผักคะน้า ที่จำหน่ายในตลาดเมืองใหม่ อำเภอเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา จากการสำรวจตลาดในวันที่ 9-15 มิถุนายน 2558 พบว่า มีจำนวนร้านที่จำหน่ายผักคะน้าทั้งหมด 17 ร้าน มี 10 ร้าน ที่รับซื้อผักคะน้ามาจาก อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน และอีก 7 ร้าน รับซื้อผักคะน้ามาจาก อำเภอเมืองลำพูน จังหวัดลำพูน

กลุ่มตัวอย่าง คือ ผักคะน้าที่สุ่มโดยการจับสลาก (Lottery) มาจะเป็นตัวแทนร้านค้าทั้งหมด จำนวน 2 ร้าน ผักคะน้าของแต่ละร้านจะมาจากแหล่งที่แตกต่างกัน ทำการเก็บตัวอย่างทั้งหมด 2 ครั้ง แต่ละครั้งจะห่างกัน 1 สัปดาห์ การสุ่มจะสุ่มด้วยวิธีการจับสลากจากหมายเลขร้าน (รายละเอียดแสดงในแผนภูมิที่ 3.1 หน้า 23) เนื่องจากสมาชิกของทุกหน่วยประชากรมีลักษณะคล้ายคลึงกันและมีจำนวนไม่มาก จึงใช้การสุ่มอย่างง่ายด้วยการจับสลากหมายเลขร้าน จากนั้นทำการส่งผักคะน้าดังกล่าวให้ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหารของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมด้วยวิธีการทางเคมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แผนภูมิที่ 3.1 แสดงวิธีการสุ่มตัวอย่างผักคะน้าด้วยวิธีการจับสลากจากหมายเลขร้าน

3.2 การตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือ

การตรวจสอบคุณภาพของเครื่องมือ ได้แก่ เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometry และเครื่อง Lyophilizer ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ประกอบด้วย

3.2.1 การทดสอบความถูกต้อง (Accuracy) ของการวิเคราะห์สำหรับห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหาร ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ใช้สารอ้างอิงมาตรฐาน (SMR) 1577C Borvine liver และ นมผง Dumex ซึ่งสามารถคำนวณหาค่า % ความถูกต้อง (Percentage Relative Accuracy) ได้จากสูตร (NATA Technical Note 17, 2013)

สูตร % ความถูกต้อง = (ค่าที่วิเคราะห์ได้/ค่าที่กำหนด) x 100

โดยค่า % ความถูกต้องที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ต้องมีค่าอยู่ในช่วง 90-110%

สำหรับการทดสอบความถูกต้องในการวิเคราะห์ของการศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์ปริมาณปริมาณความชื้นและปริมาณแคลเซียมเท่านั้น ซึ่งผลตรวจสอบ พบว่าวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและปริมาณแคลเซียม มีความถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ความถูกต้องของการวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหาร (มิลกรัมเปอร์เซ็น)

รายการวิเคราะห์	สารตัวอย่างมาตรฐาน	ค่าที่กำหนด*	ค่าที่วิเคราะห์ได้	เปอร์เซ็นต์ความถูกต้อง
ปริมาณความชื้น	นม Foremost UHT	88.50	88.16	99.62
ปริมาณแคลเซียม (ครั้งที่ 1)	นมผง Dumex (mg%)	322.00	346.00	107.45
	Bovine liver (mg%)	131.00	123.90	94.58
ปริมาณแคลเซียม (ครั้งที่ 2)	นมผง Dumex (mg%)	322.00	350.00	108.70
	Bovine liver (mg%)	131.00	120.80	92.21
ปริมาณแคลเซียม (ครั้งที่ 3)	นมผง Dumex (mg%)	322.00	354.00	109.94
	Bovine liver (mg%)	131.00	119.90	91.53
ปริมาณแคลเซียม (ครั้งที่ 4)	นมผง Dumex (mg%)	322.00	342.00	106.21
	Bovine liver (mg%)	131.00	128.10	97.79

ที่มา : The National Institute of Standards and Technology (2010)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2.2 การทดสอบความแม่นยำ (Precision) ของการตรวจปริมาณแคลเซียม ทำการวิเคราะห์ ณ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหารของ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มีวิธีทดสอบความแม่นยำของการวิเคราะห์ คือ นมผง ทำการวิเคราะห์จำนวน 20 ซ้ำ นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากนั้นนำผลที่ได้ไปคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (% coefficient of variance, %CV) ได้จากสูตร (NATA Technical Note 17, 2013)

สูตร %CV = (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน/ค่าเฉลี่ย) × 100

โดยค่าความแม่นยำที่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ต้องได้ค่า %CV ไม่เกิน 10%

สำหรับการทดสอบความแม่นยำในการวิเคราะห์ของการศึกษาในครั้งนี้ ได้ทดสอบความแม่นยำของการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและปริมาณแคลเซียมเท่านั้น ซึ่งผลการตรวจสอบพบว่า วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและปริมาณแคลเซียมมีความแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ความแม่นยำของการวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหาร (มิลกรัมเปอร์เซ็น)

รายการวิเคราะห์	**สารตัวอย่างมาตรฐาน**	**ค่าเฉลี่ย****	**ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน**	**เปอร์เซ็นต์สัมประสิทธิ์ความแปรผัน**
ปริมาณความชื้น	นม Foremost UHT	88.16	0.02	0.02
ปริมาณแคลเซียม (ครั้งที่ 1)	นมผง Dumex (mg%)	346.00	3.54	1.02
	Bovine liver (mg%)	123.90	6.37	5.14
ปริมาณแคลเซียม (ครั้งที่ 2)	นมผง Dumex (mg%)	350.00	7.78	2.22
	Bovine liver (mg%)	120.80	0.71	0.59
ปริมาณแคลเซียม (ครั้งที่ 3)	นมผง Dumex (mg%)	354.00	1.41	0.40
	Bovine liver (mg%)	119.90	6.79	5.66
ปริมาณแคลเซียม (ครั้งที่ 4)	นมผง Dumex (mg%)	342.00	1.41	0.41
	Bovine liver (mg%)	128.10	9.90	7.73

ที่มา : The National Institute of Standards and Technology (2010)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3 การเก็บตัวอย่าง

ผู้ศึกษาเก็บตัวอย่างด้วยตนเอง ประกอบด้วย การกำหนดปริมาณตัวอย่างและการคัดเลือกตัวอย่างผักคะน้าสดที่สมบูรณ์ พร้อมระบุวันเวลาที่เก็บตัวอย่าง ระบุราคาที่ซื้อ จดบันทึกชื่อตัวอย่าง ถ่ายรูป (เก็บตัวอย่างผักคะน้า 500 กรัม ต่อ 1 วิธีการล้าง) นำผักคะน้าแช่ตู้เย็นเพื่อนำไปเตรียมตัวอย่างในขั้นตอนต่อไป

3.4 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างผักคะน้าที่ได้จากข้อ 3.3 ไปทำการเตรียมตัวอย่าง ณ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหาร ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยผู้ศึกษาได้เตรียมตัวอย่างร่วมกับนักวิทยาศาสตร์ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ ขั้นตอนการดำเนินการมีรายละเอียด ดังนี้

นำผักคะน้าที่ซื้อมาจากตลาดเมืองใหม่ อำเภอเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งรับมาจาก 2 แหล่ง คือ อำเภอเมืองลำพูนและอำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน โดยทำทีละแหล่ง ในที่นี้ทำของอำเภอเมืองลำพูนก่อน นำผักคะน้าใส่ถาดแล้วผสมผักคะน้าโดยการหยิบสลับกันไปมาจำนวน 20 ครั้ง จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก แบ่งผักคะน้าออกเป็น 8 กอง แต่ละกองมีน้ำหนัก 500 กรัม

นำผักคะน้ากองที่ 1-8 มาคัดเลือกเฉพาะส่วนที่บริโภคได้ จากนั้นนำผักแต่ละกอง ไปล้างทำความสะอาด เพื่อเอาเศษดิน สิ่งปนเปื้อนออก โดยผ่านน้ำไหลเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำปราศจากอิออน และนำไปผึ่งให้แห้ง

นำผักคะน้ากองที่ 1–4 ไปเป็นตัวอย่างผักคะน้า ก่อนล้างแต่ละวิธี โดยให้ผักคะน้ากองที่ 1 คู่กับกองที่ 5 2 คู่ 6 3 คู่ 7 และ4 คู่ 8

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การล้างผักคะน้าด้วยน้ำผสมน้ำส้มสายชู

นำผักคะน้ากองที่ 5 ไปล้างด้วยน้ำผสมน้ำส้มสายชู โดยใช้น้ำส้มสายชูที่มีกรดน้ำส้มความเข้มข้น 5% ปริมาณ 400 มิลลิลิตรผสมกับน้ำ 4,000 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:10)

นำผักคะน้าแช่ลงในน้ำผสมน้ำส้มสายชู ทิ้งไว้นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำอีกครั้งหนึ่ง จากนั้นนำผักคะน้าขึ้นให้สะเด็ดน้ำและผึ่งให้แห้ง

การล้างผักคะน้าด้วยน้ำผสมด่างทับทิม

นำผักคะน้ากองที่ 6 ไปล้างด้วยน้ำผสมด่างทับทิม โดยใช้ด่างทับทิมปริมาณ 30 เกล็ด หรือ 0.0553 กรัม ผสมกับน้ำ 4,000 มิลลิลิตร

แช่ผักคะน้าทิ้งไว้ 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำอีกครั้งหนึ่ง นำผักคะน้าขึ้นให้สะเด็ดน้ำ และนำไปผึ่งให้แห้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
by Chiang Mai University
All rights reserved

การล้างผักคะน้าด้วยน้ำผสมโซเดียมไบคาร์บอเนต

นำผักคะน้ากองที่ 7 ไปล้างด้วยน้ำผสมโซเดียมไบคาร์บอเนต โดยใช้โซเดียมไบคาร์บอเนต 1 ช้อนโต๊ะ หรือ 20.85 กรัม ผสมกับน้ำอุ่น 1 กะละมัง (20 ลิตร)

แช่ผักคะน้าไว้ 15 นาที แล้วนำไปล้างด้วยน้ำอีก 2 ครั้ง นำผักคะน้าขึ้นให้สะเด็ดน้ำและผึ่งให้แห้ง

การล้างผักคะน้าด้วยน้ำผสมเกลือ

นำผักคะน้ากองที่ 8 ไปล้างด้วยน้ำผสมเกลือ โดยใช้เกลือป่น 1 ช้อนโต๊ะ หรือ19.03 กรัม ผสมน้ำ 4,000 มิลลิลิตร

แช่ผักคะน้าทิ้งไว้นาน 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำอีกครั้ง นำผักคะน้าขึ้นให้สะเด็ดน้ำและผึ่งให้แห้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
by Chiang Mai University
All rights reserved

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในตัวอย่างผักคะน้า โดยการใช้เครื่อง Lyophilizer

3.5.1 หลักการ (Principle)

การทำตัวอย่างให้แห้งด้วยเครื่อง Lyophilizer อาศัยกระบวนการ freeze-drying โดยตัวอย่างก่อนเข้าเครื่อง จะต้องปั่นให้ละเอียดจนเป็นเนื้อเดียวกันและนำไปแช่แข็ง จากนั้นนำตัวอย่างไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Lyophilizer ซึ่งน้ำในตัวอย่างที่อยู่ในสภาพของแข็งจะระเหิดกลายเป็นก๊าซภายใต้สภาวะความกดดันสุญญากาศ ซึ่งเวลาที่ใช้ในกระบวนการทำให้แห้งขึ้นอยู่กับความหนาของตัวอย่างที่ติดภายในภาชนะที่ใส่และขนาดรูปร่างผลึกอาหารในสภาพแข็ง

3.5.2 วิธีดำเนินการ (Procedure)

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในตัวอย่างผักคะน้าแบบปั่นเปียก ผักคะน้าเป็นของแข็งจึงต้องเติมน้ำปราศจากอิออน 100 มิลลิลิตร โดยมีรายละเอียดดังนี้

1) ชั่งตัวอย่างผักคะน้า (W1) นำไปปั่นในเครื่องปั่น โดยเติมน้ำปราศจากอิออน 100 มิลลิลิตร (W2)จากนั้นปั่นให้ละเอียดจนเป็นเนื้อเดียวกัน ดังนั้นน้ำหนักรวมเท่ากับ (W1+W2)

2) เทตัวอย่างลงในขวดพลาสติก Polyethylene (ชั่งน้ำหนักขวดพร้อมฝาไว้ก่อนแล้ว W3) ประมาณ 1 ใน 3 ของขวด แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W4) จดบันทึกน้ำหนักลงข้างขวด

3) ปิดปากขวดด้วยผ้าก๊อซ รัดด้วยหนังยางให้แน่นแล้วนำไปแช่ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นเอียงขวดประมาณ 45 องศา เพื่อให้ภายในขวดมีพื้นที่ผิวสัมผัสมากที่สุด เป็นเวลา 1 คืน

4) เปิดฝาขวดพลาสติก Polyethylene ที่ได้จากข้อ 3 ออก นำเข้าเครื่อง Lyophilizer จนกระทั่งตัวอย่างแห้งสนิทใช้เวลา 5 วัน

5) นำขวดตัวอย่างผักคะน้าออกจากเครื่อง Lyophilizer แล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่างผักคะน้าพร้อมขวด (W5) จดบันทึกน้ำหนักลงฉลากข้างขวด จากนั้นแคะตัวอย่างออกจากขวด และใส่ลงในถุงพลาสติก

6) ไล่อากาศออกจากถุงให้หมด ปิดปากถุงซิปให้สนิท และแกะฉลากข้างขวดพลาสติก Polyethylene ที่บันทึกน้ำหนักมาติดที่ถุงพลาสติก นำตัวอย่างไปวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณปริมาณความชื้น

Moisture (g %) = 100 - [{(W1+W2) (W5-W3) × 100}/ {W1 × (W4-W3)}]

W1 = น้ำหนักอาหารเริ่มต้น (อาหารสด, กรัม)

W2 = น้ำที่เติม (มิลลิลิตร=กรัม)

W3 = น้ำหนักขวดเปล่า (กรัม)

W4 = น้ำหนักขวดเปล่า + อาหารปั่นสด (กรัม)

W5 =น้ำหนักขวดเปล่า + อาหารปั่นแห้ง (กรัม)

(รายละเอียดปริมาณความชื้นของผักคะน้าแสดงในภาคผนวก ง หน้า 58)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.5.3 สรุปการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

เครื่องมือในการใช้วิเคราะห์หาปริมาณความชื้น คือ เครื่อง Lyophilizer ยี่ห้อ Christ รุ่น Alphal-4 มีขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างผักคะน้าที่หั่นแล้ว บันทึกน้ำหนัก (W1)

↓

ตวงน้ำปราศจากอิออน ประมาณ 100 มิลลิลิตร (W2)

↓

ใส่ตัวอย่างผักคะน้าและน้ำปราศจากอิออนที่ตวงแล้ว (W1+W2) ลงในเครื่องปั่น ปั่นจนละเอียด

↓

เทตัวอย่างลงในขวดพลาสติก ประมาณ 1 ใน 3 ของขวด (ซึ่งมีน้ำหนักขวดเปล่า W3)

↓

ชั่งน้ำหนักผักคะน้าที่ได้จากการปั่น จดบันทึกน้ำหนัก (W4)

↓

ปิดปากขวดพลาสติกด้วยผ้าก๊อซ รัดด้วยหนังยางให้แน่น

↓

แช่ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส โดยเอียงขวดประมาณ 45 องศา (แช่เป็นเวลา 1 คืน)

↓

นำไปเข้าเครื่อง Lyophilizer จนกระทั่งตัวอย่างแห้งสนิท (ใช้เวลาประมาณ 5 วัน)

↓

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างผักคะน้าแห้งพร้อมขวด จดบันทึกน้ำหนัก (W5)

↓

แคะตัวอย่างออกจากขวด ใส่ลงในถุงซิปไล่อากาศออกจากถุงให้หมด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

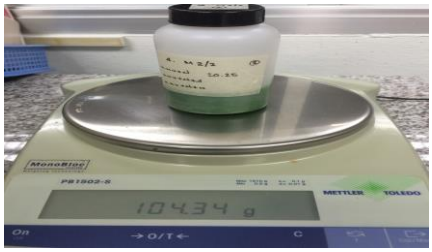
3.5.4 รูปภาพประกอบการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

นำผักคะน้าที่ได้จากการล้างแต่ละวิธี ทั้งก่อน (กองที่ 1-4) และหลังล้าง (กองที่ 5-8) หั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ เพื่อให้ง่ายต่อการนำเข้าเครื่องปั่นและปั่นได้ละเอียดเร็วขึ้น

สุ่มหยิบตัวอย่าง 5 จุด ให้ผสมกันทั้งใบและก้าน ใส่ลงในถุงพลาสติก ชั่งและจดบันทึกน้ำหนัก (W1)

นำผักคะน้าที่เตรียมไว้ มาเข้าเครื่องปั่น เติมน้ำปราศจากอิออนลงไป 100 มิลลิลิตร (W2) ปั่นจนละเอียดให้เป็นเนื้อเดียวกัน (น้ำหนักรวมทั้งสิ้น W1+W2)

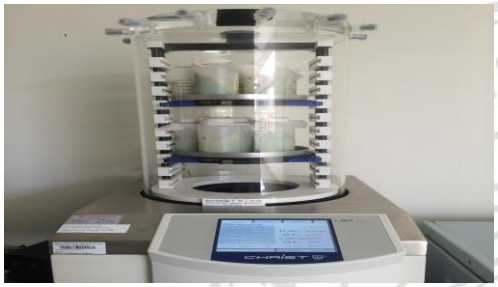
เทลงขวดพลาสติก Polyethylene ที่เตรียมไว้แล้ว (ชั่งน้ำหนักขวด+ฝา (W3)) ประมาณ 1 ส่วน 3 ของขวด และปิดฝาให้สนิท



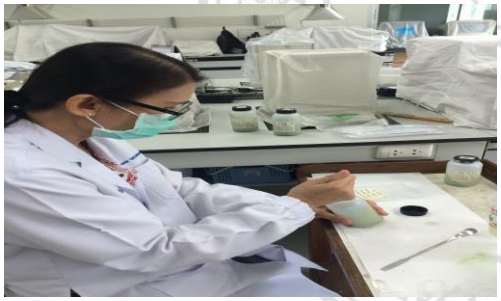
นำมาชั่งน้ำหนัก จดบันทึกน้ำหนักลงข้างขวด (W4)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
by Chiang Mai University
All rights reserved

ปิดปากขวดด้วยผ้าก๊อซ รัดด้วยหนังยางให้แน่น แล้วนำไปแช่ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นเอียงขวดประมาณ 45 องศา เพื่อให้ภายในขวดมีพื้นที่ผิวสัมผัสมากที่สุด เป็นเวลา 1 คืน



เปิดฝาขวดพลาสติก Polyethylene ออก จากนั้นนำไปเข้าเครื่อง Lyophilizer จนกระทั่งตัวอย่างแห้งสนิทโดยใช้เวลา 5 วัน



นำขวดตัวอย่างผักคะน้าออกจากเครื่อง Lyophilizer แล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่างผักคะน้าแห้งพร้อมขวด พร้อมทั้งจดบันทึกน้ำหนักลงฉลากข้างขวด (W5) จากนั้นแคะตัวอย่างออกจากขวดและใส่ลงในถุงซิป

ไล่อากาศออกจากถุงให้หมด ปิดปากถุงซิปให้สนิท และแกะฉลากข้างขวดพลาสติ Polyethylene ที่บันทึกน้ำหนักมาติดลงที่ถุงพลาสติก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University
ts reserved

3.6 การวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม ในตัวอย่างผักคะน้า โดยการใช้เครื่อง AAS

3.6.1 หลักการ (Principle)

Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์แร่ธาตุที่อยู่ในตัวอย่างทดสอบ ด้วยเทคนิค Atomic Absorption Spectroscopy ซึ่งเป็นกระบวนการที่อะตอมอิสระ (free atom) ของแร่ธาตุ ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นระดับหนึ่งโดยเฉพาะ ซึ่งขึ้นอยู่กับแร่ธาตุแต่ละตัว เนื่องจากแร่ธาตุแต่ละชนิดมีระดับของพลังงานแตกต่างกันจึงมีการดูดกลืนพลังงานได้แตกต่างกัน พลังงานที่พอดีกับคุณสมบัติเฉพาะของแร่ธาตุจะทำให้อิเล็กตรอนของแร่ธาตุนั้นๆ เปลี่ยนสถานะจากสถานะพื้น (ground state) ไปเป็นสถานะกระตุ้น (exited state) ดังนั้นการวิเคราะห์ด้วย AAS จึงจำเป็นต้องเปลี่ยนสารละลายหรือตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ให้เป็นอะตอมอิสระ จากนั้นอะตอมอิสระจะดูดกลืนพลังงานที่ระดับพลังงานจำเพาะยิ่งมีอะตอมอิสระมาก ยิ่งมีค่าการดูดกลืน (absorbance) มาก จึงใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณของแร่ธาตุนั้นๆ ได้

3.6.2 วิธีดำเนินการ (Procedure)

3.6.2.1 การย่อยสลายตัวอย่างอาหาร

ในการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุนั้นจำเป็นจะต้องย่อยสลายผักคะน้าก่อน สำหรับการวิเคราะห์ต่อไปนี้จะใช้วิธีการย่อยสลายตัวอย่างอาหารแบบเปียก (Wet digestion) โดยใช้กรดผสมของกรดไนตริกและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ มีรายละเอียดดังนี้

1) นำตัวอย่างผักคะน้าแห้งในถุงซิปไปชั่งน้ำหนักให้ได้ปริมาณ 0.50 กรัม ใส่ในขวด Erlenmeyer flask

2) เติม Glass bead 3 เม็ด เพื่อเป็นตัวช่วยกระจายความร้อนและป้องกันการเดือดขณะต้มและเติมกรดไนตริก 10 มิลลิลิตร เขย่าผสมสารให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2 ชั่วโมง

3) ปิดขวด Erlenmeyer flask ด้วยพาราฟิล์มแล้วตั้งสารผสมทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน

4) นำขวด Erlenmeyer flask มาต้มบนเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 120-160 องศาเซลเซียสจนกระทั่งควันสีน้ำตาลระเหยออกหมด ยกขวดออกจากเตาไฟฟ้าแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

5) เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 2 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายไปต้มต่อจนเหลือปริมาตรประมาณ 0.50 มิลลิลิตร ให้ยกออกจากเตาไฟฟ้าและทิ้งสารละลายไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

6) ใช้ Pasture pipette ดูดสารละลายที่ย่อยสลายแล้วใส่หลอด Graduate centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร หลังจากนั้นใช้ขวดบรรจุน้ำบริสุทธิ์ปราศจากอิออนฉีดเพื่อล้างสารที่ติดข้างภาชนะขวด Erlenmeyer flask แล้วเขย่าผสมสารและดูดสารละลายใส่หลอด Graduated centrifuge tube และล้างซ้ำอีก 2-3 ครั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7) เติมน้ำบริสุทธิ์ปราศจากอิออนลงไปในหลอดวัดปริมาตรจนกระทั่งสารละลายมีปริมาตร 10 มิลลิลิตร และปิดปากหลอดวัดปริมาตรด้วยพาราฟิล์มและเขย่าผสมสารละลายให้เข้ากัน (Wet digestion solution)

8) นำสารละลายที่เตรียมได้ไปเจือจางให้มีความเข้มข้นเหมาะสมสำหรับการวัดปริมาณแร่ธาตุแคลเซียม ด้วยเครื่อง AAS

3.6.2.2 วิธีวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม (Ca)

ก. สารเคมี

1) สารละลาย stock standard calcium solution 1,000±2 มิลลิกรัม/ลิตร

2) สารละลาย 5% lanthanum (50,000 มิลลิกรัม/ลิตร) ชั่ง La2O3 29.325 g ละลายในสารละลายเข้มข้น HCL 55 มิลลิลิตร เขย่าผสมสารให้เข้ากันแล้วทิ้งสารละลายจนเย็น เติมน้ำบริสุทธิ์ปราศจากอิออนจนครบ 500 มิลลิลิตร แล้วเขย่าผสมสารให้เข้ากันอีกครั้ง

3) สารละลาย 1% Lanthanum in 1% nitric acid เติมกรด nitric acid เข้มข้น 10 มิลลิลิตร เทใส่ขวด volumetric flask 1,000 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุน้ำบริสุทธิ์ปราศจากอิออนประมาณครึ่งขวด เขย่าผสมสารให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมสารละลาย 5% Lanthanum 200 มิลลิลิตร และเติมน้ำบริสุทธิ์ปราศจากอิออนจนถึงขีดปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เขย่าผสมสารให้เข้ากันอีกครั้ง

ข. การเตรียมสารละลายมาตรฐานแคลเซียม

1) การเตรียม Intermediate standard Ca 100 มิลลิกรัม/ลิตร ปิเปต stock standard Ca (1,000 มิลลิกรัม/ลิตร) 2.50 มิลลิลิตร เทใส่ขวด volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำบริสุทธิ์ปราศจากอิออนจนถึงขีดปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วเขย่าผสมสารให้เข้ากัน

2) การเตรียม working standard Ca ปิเปตสารละลายชนิดต่างๆ ใส่ในขวด Volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร (รายละเอียดดังตาราง 3.3 หน้า 35)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.3 การเตรียม working standard Ca และสารละลายชนิดต่างๆ

Working standard Ca (mg/l)	Ca 100 mg/l (ml)	1% lanthanum in 1% Nitric acid (ml)	Total volume (ml)
0	0	25.00	25.00
0.50	0.13	24.88	25.00
1.00	0.25	24.75	25.00
2.00	0.50	24.50	25.00
3.00	0.75	24.25	25.00
0.80 (Sensitivity check)	0.40	49.60	50.00

ค. Working condition สาหรับธาตุ Ca

Wavelength = 422.7 นาโนเมตร

Slid width = 0.5 นาโนเมตร

Lamp current = 10 มิลลิแอมป์

Sensitivity check = 0.80 มิลลิกรัม/ลิตร

ง. สูตรคำนวณปริมาณแคลเซียมจากการวัดด้วยเครื่อง AAS

Ca (mg% dry wt.) = (X-B) x D/W

X = Concentration (mg/L), B = Blank, D = Dilution, M = Moisture,

W = Weight of dried sample for mixed acids digestion (gram)

Ca (mg% wet wt.) = (Ca (mg% dry wt.)) x (100-M)/100

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.6.3 สรุปการวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม

เครื่องมือในการใช้วิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียม คือ เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) ยี่ห้อ Varian รุ่น SpectrAA-640 ขั้นตอนการดำเนินการดังนี้

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างผักคะน้าแห้งปริมาณ 0.05 กรัม ใส่ลงใน Erlenmeyer flask

↓

เติม Glass bead 3 เม็ด (เพื่อช่วยกระจายความร้อนและป้องกันการเดือดขณะต้ม)

↓

เติมกรดไนตริกปริมาณ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน (ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2 ชั่วโมง)

↓

ปิด Erlenmeyer flask ด้วยพาราฟิล์มแล้ว (ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน)

↓

ต้มบนเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 120-160 องศาเซลเซียส จนกระทั่งควันสีน้ำตาลระเหยออกหมด

↓

ยก Erlenmeyer flask ออกจากเตาไฟฟ้าแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

↓

เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 2 มิลลิลิตร นำไปต้มต่อจนเหลือปริมาตรประมาณ 0.50 มิลลิลิตร

↓

ยก Erlenmeyer flask ออกจากเตาไฟฟ้าและทิ้งสารละลายไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

↓

ล้างสารที่ติดข้าง Erlenmeyer flask ด้วยน้ำปราศจากอิออนเล็กน้อย เขย่าให้เข้ากัน

↓

ใช้ Pasture pipette ดูดสารละลายใส่ในหลอดวัดปริมาตร ปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร

↓

ดูดสารละลายใส่ใน Test tube ปิดด้วยพาราฟิล์ม เขย่าให้เข้ากัน

↓

นำสารละลายที่เตรียมได้ไปเจือจางให้มีความเข้มข้นเหมาะสมสำหรับการวัดปริมาณแคลเซียม

↓

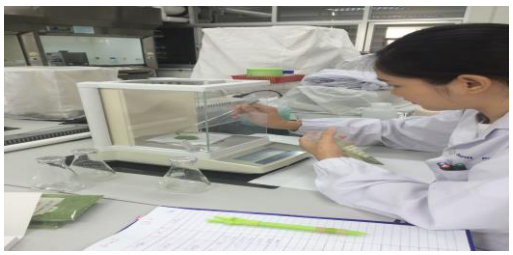
วัดปริมาณแคลเซียม (มิลลิกรัม/ลิตร) ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer

↓

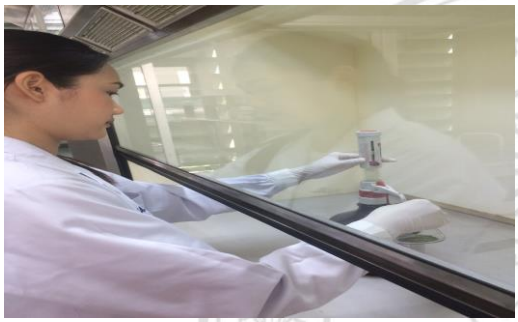
ปริมาณแคลเซียมในผักคะน้า (มิลลิกรัม/น้ำหนักสด 100 กรัม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.6.4 รูปภาพประกอบการวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม

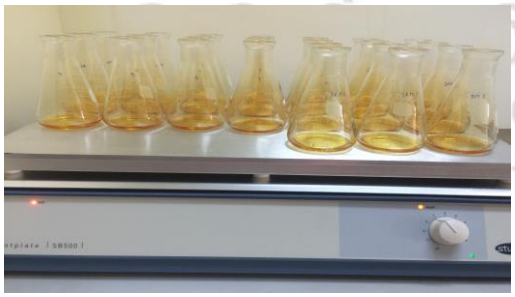


นำตัวอย่างผักคะน้าแห้งในถุงซิปไปชั่งน้ำหนักให้ได้ปริมาณ 0.05 กรัม ใส่ลงในขวด Erlenmeyer flask



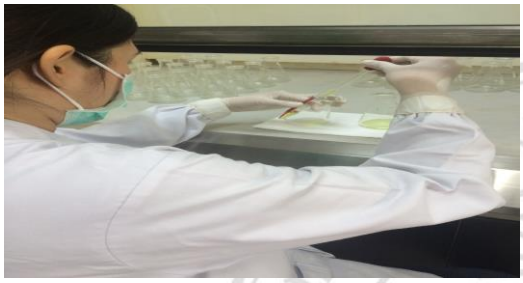
เติม Glass bead 3 เม็ด เพื่อเป็นตัวช่วยกระจายความร้อนและป้องกันการเดือดขณะต้ม จากนั้นเติมกรดไนตริกปริมาณ 10 มิลลิลิตร เขย่าผสมสารให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2 ชั่วโมง

ปิดขวด Erlenmeyer flask ด้วยพาราฟิล์มแล้วตั้งสารผสมทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน

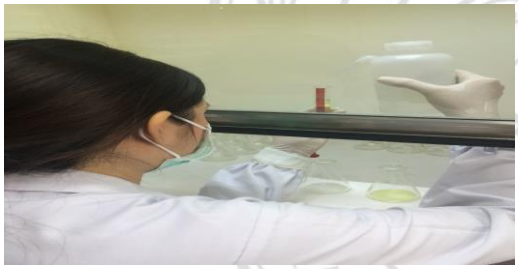


นำขวด Erlenmeyer flask มาต้มบนเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 120-160 องศาเซลเซียส จนกระทั่งควันสีน้ำตาลระเหยออกหมด ยกขวดออกจากเตาไฟฟ้าแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซค์ 2 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายไปต้มต่อจนเหลือปริมาตรประมาณ 0.50 มิลลิลิตร ให้ยกออกจากเตาไฟฟ้าและทิ้งสารละลายไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง



ใช้ขวดบรรจุน้ำปราศจากอิออนฉีดเพื่อล้างสารที่ติดข้างภาชนะขวด Erlenmeyer flask แล้วเขย่าผสมสาร ใช้ Pasture pipette ดูดสารละลายที่ย่อยสลายแล้วใส่หลอดวัดปริมาตรขนาด 15 มิลลิลิตร หลังจากนั้นล้างซ้ำอีก 2-3 ครั้ง



เติมน้ำบริสุทธิ์ปราศจากอิออนลงไปในหลอดวัดปริมาตรจนกระทั่งสารละลายมีปริมาตร 10 มิลลิลิตร และปิดปากหลอดวัดปริมาตรด้วยพาราฟิล์มและเขย่าผสมสารละลายให้เข้ากัน

นำสารละลายที่เตรียมได้ไปเจือจางให้มีความเข้มข้นเหมาะสมสำหรับการวัดปริมาณแคลเซียม ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University
All rights reserved

3.7 การเก็บรวบรวมข้อมูล

ผู้ศึกษาเก็บรวบรวมข้อมูลด้วยตนเอง ส่วนการวิเคราะห์ข้อมูลครั้งนี้ผู้ศึกษาทำงานร่วมกับนักวิทยาศาสตร์ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล และสถิติที่ใช้

การวิเคราะห์ข้อมูลปริมาณแคลเซียมในผักคะน้าก่อนและหลังการล้างด้วยน้ำผสมน้ำส้มสายชู น้ำผสมด่างทับทิม น้ำผสมโซเดียมไบคาร์บอเนตและน้ำผสมเกลือ แบ่งการวิเคราะห์ออกเป็น 2 ส่วน คือ

1. สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม Microsoft Excel ใช้วิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมในผักคะน้าที่เก็บจากตลาดเมืองใหม่ อำเภอเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ก่อนและหลังการล้างด้วยวิธีต่างๆ แล้วทำการเปรียบเทียบว่ามีปริมาณแคลเซียมก่อนและหลังล้างในแต่ละวิธีเหลือปริมาณมากน้อยเพียงใด

2. สถิติเชิงอนุมาน ได้แก่ การทดสอบค่าวิลคอกซัน วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปใช้เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณแคลเซียมในผักคะน้าก่อนและหลังการล้างด้วยน้ำผสมน้ำส้มสายชู น้ำผสมด่างทับทิม น้ำผสมโซเดียมไบคาร์บอเนตและน้ำผสมเกลือ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved