บทที่ 3

วิธีดำเนินการศึกษา

การศึกษาเรื่อง การวิเคราะห์หาปริมาณสารซีลีเนียมในผักพื้นบ้านภาคเหนือครั้งนี้ เป็นการศึกษาเชิงพรรณนา (descriptive study) มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารซีลีเนียมในผักพื้นบ้านภาคเหนือ มีวิธีดำเนินการศึกษา ดังต่อไปนี้

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรในการศึกษาครั้งนี้ คือ ผักพื้นบ้านภาคเหนือที่ วางจำหน่ายในตลาด ที่มี ตลอดปี และมีในช่วงเดือนกุมภาพันธ์-สิงหาคม คือ ดอกงิ้ว ชะอม บอน ผักคราด ผักคาวตอง ผักเซียงดา ผักปลังขาว ผักไผ่ ผักสีเสียด ผักแส้ว มะระขี้นก สะแล ส้มป่อย และหูเสือ รวมทั้งหมดเป็นจำนวน 14 ชนิด

กลุ่มตัวอย่างได้จากการสุ่มตัวอย่างตลาดที่เป็นตัวแทนของแต่ละชุมชนในแต่ละตำบลรวม 7 ตลาด ตามรายละเอียดในตาราง 3.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 3.1 กลุ่มตัวอย่างจำแนกตามแผงจำหน่ายทั้ง 7 แห่ง

ชนิดผัก	ตลาด						
	ตลาดสามแยกสันทราย	ตลาดรวมโชค	ตลาดรุ่งเจริญ	ตลาดป่าเหมือด	ตลาดสดแม่โจ้	ตลาดสดเจ้ศรีย์แม่ครัว	ตลาดแม่แก้ด
ชะอม **	/	/	/	/	/	/	/
ผักเซียงดา **	/	/	/	/	/	/	/
ผักปลัง **	/	/	/	/	/	/	/
ดอกงิ้ว *	/	/	/	/	/	/	/
บอน *	/	/	/	/	/	/	/
ผักคราด *	/	/	/	/	/	/	/
ผักคาวตอง *	/	/	/	/	/	/	/
ผักไผ่ *	/	/	/	/	/	/	/
ผักสีเสียด *	/	/	/	/	/	/	/
ผักแส้ว *	/	/	/	/	/	/	/
มะระขี้นก *	/	/	/	/	/	/	/
ผักสะแล *	/	/	/	/	/	/	/
ผักส้มป่อย *	/	/	/	/	/	/	/
ผักหูเสือ *	/	/	/	/	/	/	/

/ ผักมีจำหน่ายในตลาด

** ผักชนิดนั้นมีจำหน่าย ทั้ง 2 แบบ คือ ปลูกและมีการดูแล กับ ปลูกและปล่อยตามธรรมชาติ

* ผักชนิดนั้นมีจำหน่ายเฉพาะผักที่ปลูกและปล่อยตามธรรมชาติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 3.2 กลุ่มตัวอย่างจำแนกตามการปลูกและปล่อยตามธรรมชาติ

ลำดับ	ผักพื้นบ้านที่ปลูกและปล่อยตามธรรมชาติ		
	ชนิดผัก	จำนวนตัวอย่าง	
		เก็บครั้งที่ 1	เก็บครั้งที่ 2
1	ชะอม	1 กก.	1 กก.
2	ผักเซียงดา	1 กก.	1 กก.
3	ผักปลัง	1 กก.	1 กก.
4	ดอกงิ้ว	1 กก.	1 กก.
5	บอน	1 กก.	1 กก.
6	ผักคราด	1 กก.	1 กก.
7	ผักคาวตอง	1 กก.	1 กก.
8	ผักไผ่	1 กก.	1 กก.
9	ผักสีเสียด	1 กก.	1 กก.
10	ผักแส้ว	1 กก.	1 กก.
11	มะระขี้นก	1 กก.	1 กก.
12	ผักสะแล	1 กก.	1 กก.
13	ผักส้มป่อย	1 กก.	1 กก.
14	ผักหูเสือ	1 กก.	1 กก.
รวม		14 กก.	14 กก.

จากตาราง 3.2 พบว่าผักพื้นบ้านภาคเหนือปลูกและ ปล่อยตามธรรมชาติแต่ละชนิดจากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 ได้จำนวน 14 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1 กิโลกรัม ครั้งที่ 2 ได้ 14 ตัวอย่างตัวอย่างละ 1 กิโลกรัม รวมทั้งหมด 28 ตัวอย่าง รวม 28 กิโลกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 3.3 กลุ่มตัวอย่างจำแนกตามการปลูกและมีการดูแล

ลำดับ	ผักพื้นบ้านที่ปลูกและมีการดูแล		
	ชนิดผัก	จำนวนตัวอย่าง	
		เก็บครั้งที่ 1	เก็บครั้งที่ 2
1	ชะอม	1 กก.	1 กก.
2	ผักเซียงดา	1 กก.	1 กก.
3	ผักปลัง	1 กก.	1 กก.
รวม		3 กก.	3 กก.

จากตาราง 3.3 พบว่าผักพื้นบ้านภาคเหนือที่ปลูกและมีการ ดูแลแต่ละชนิดจากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 ได้จำนวน 3 ตัวอย่างตัวอย่างละ 1 กิโลกรัม ครั้งที่ 2 ได้ 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1 กิโลกรัม รวมทั้งหมด 6 ตัวอย่าง รวม 6 กิโลกรัม

เมื่อซื้อผักตัวอย่างตามรายการ ได้ทำการออกรหัสประจำตัวอย่าง หากผักในแต่ละแผงมีที่มาจากแหล่งเดียวกันผู้ศึกษาเลือกซื้อจากแผงเดียว ถ้าผักมีแหล่งที่มาต่างกันจึงซื้อทุกแผง จากนั้นนำผักชนิดนั้น มาผสมกันในสัดส่วนเท่ากัน แล้วนำมาวิเคราะห์ทางเคมีเพียง 1 ตัวอย่าง เมื่อได้ตัวอย่างครบนำไปสู่ขั้นตอนการวิเคราะห์ต่อไป

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา ประกอบด้วย

1.เครื่องเก็บตัวอย่างและเตรียมตัวอย่าง ประกอบด้วย ภาชนะใส่อาหารชนิดต่างๆ เช่น จานและถ้วย ขนาดต่างๆไว้สำหรับการเก็บและเตรียมผักพื้นบ้านแต่ละชนิดก่อนนำมาผสมและคละกัน ถ้วยเก็บตัวอย่างแบบมีฝาปิดใช้เก็บผักพื้นบ้านเพื่อรอเข้าเครื่องวิเคราะห์ทางเคมี, ตู้แช่แข็งใช้เก็บผักพื้นบ้านเพื่อให้คงคุณค่าในเรื่องความสดและลดการเน่าเสียของผักพื้นบ้านในขณะที่รอเข้าเครื่องวิเคราะห์ทางเคมี

2.เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

2.1 เครื่องมือในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ คือ ICP (Inducticely Coupled Plasma) และแบบฟอร์มการบันทึกผลการวิเคราะห์

ICP เป็นเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของโลหะและแร่ธาตุในสารตัวอย่าง เป็นชื่อย่อของ Inductively Coupled Plasma หลักการทำงานของเครื่องมือและวิธีการตรวจวิเคราะห์ มีขั้นตอน ดังนี้ นำตัวอย่าง ที่จะวิเคราะห์ มาผ่านกระบวนการเผาจนกลายเป็นขี้เถ้าสีขาว (dry ashing) หรือการย่อยด้วยกรดที่เรียกว่าการย่อยเปียก (wet digestion) เพื่อทำลายสารอินทรีย์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในตัวอย่าง ให้หมดไป รวมทั้งการกำจัดปริมาณน้ำที่มีใน ตัวอย่าง ออกให้หมดไป เหลือแต่พวกโลหะหรือแร่ธาตุ จากนั้นนำมาละลายด้วยกรดเจือจางให้กลายเป็นสารละลายพร้อมกับผ่านการกรอง จากนั้นจะฉีดเข้าเครื่องมือ ICP ผ่านเข้าไปในส่วนของพลาสม่า (plasma) ซึ่งทำหน้าที่เป็นแหล่งของพลังงาน จากนั้นสารละลายที่ถูกฉีดเข้าไปจะถูกเผาด้วยก๊าซอาร์กอนที่มีอุณหภูมิสูง เมื่อสารละลายถูกเผาที่ความร้อนสูง จะมีการสูญเสียพลังงาน ในช่วงของการสูญเสียพลังงานนั้นจะมีการเปล่งรังสี (emission) ที่ช่วงความยาวคลื่นเฉพาะ และมีหลายค่า ค่าของความยาวคลื่นและปริมาณหรือความเข้มของการเปล่งรังสีจะสัมพันธ์กับปริมาณของอะตอม (atom) หรือประจุไฟฟ้า (ion) ที่มีอยู่ ดังนั้นการเปล่งรังสีดังกล่าวจะสามารถบอก ชนิดของแร่ธาตุและปริมาณของแร่ธาตุได้ เครื่อง ICP สามารถตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของแร่ธาตุในสารละลายของตัวอย่างได้ เนื่องจากแร่ธาตุแต่ละชนิดจะเปล่งรังสีที่ มีความยาวคลื่นแตกต่างกัน และความยาวคลื่นมีหลายค่า ดังนั้นจึงสามารถเลือกความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน เพื่อวิเคราะห์แร่ธาตุหลายๆชนิด ได้ในคราวเดียวกัน

2.2 อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง (Electronic balance, Mettle-Toledo : AG204, Switzerland)
2. เครื่องปั่นผสมอาหาร (Blender : National MX897GM, Malaysia)
3. เตาเผาอุณหภูมิสูง (Muffle Furnace)
4. ตู้ดูดควัน
5. คลูซิเบิล ใช้สำหรับเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปเผา
6. ขวดโพลิเอทีลินขนาด 50 มิลลิลิตร
7. บีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
8. ฮอตเพลท
9. ตัวดูดสารละลาย (Micropipette)
10. ขวดวอลลูมเมตริกซ์ ฟลาส ขนาด 250 มิลลิลิตร (Volumetric flask 250 ml)

3.สารเคมีประกอบด้วย กรดไฮโดรคลอริก หรือ กรดเกลือ (Hydrochloric acid conc.) เป็นสารประกอบเคมีประเภทกรดละลายในน้ำ เป็นสารละลายของไฮโดรเจนคลอไรด์ (HCl) เป็นกรดแก่ เป็นส่วนประกอบหลักของ กรดกระเพาะ (gastric acid) เป็นของเหลวที่มีพลังการกัดกร่อน สูงจึงนำมาใช้ในการละลายอาหารและผักพื้นบ้านเพื่อให้เป็นเนื้อเดียวกัน น้ำ (deionize water)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการ วิเคราะห์หาปริมาณซีลีเนียม ในงานศึกษาครั้งนี้ได้รับการดัดแปลงมาจากวิธีการ AOAC (AOAC, 2000) โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. หั่นผักเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปอบ ที่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสทิ้งไว้ 1 คืน เพื่อไล่น้ำออกจากผักจนแห้ง เนื่องจากผักมีปริมาณของน้ำเป็นองค์ประกอบ มากเกินไป (Robert Thomas, 2008) เพื่อทำเป็นตัวอย่างแห้ง

2. ผักที่ผ่านการอบจนแห้ง ปริมาณ 1 กรัมนำมาระเหย โดยการวางบนฮอตเพลท (hot plate) เพื่อไล่ควันให้ควันหายไป เวลาที่เอาไปเข้าเตาเผาจะได้ไม่ระเบิด

3. ผักที่ผ่านการระเหยจนไม่มีควัน ถูกนำไปเข้าเครื่องเตาเผาที่ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลาสองชั่วโมง เผาจนกลายเป็นขี้เถ้าขาว แต่ถ้าหากว่า เผาไปแล้วครั้งแรก ยังมีสีดำหรือไม่กลายเป็นขี้เถ้าขาวแบบสมบูรณ์ จะทำการเผาอีกรอบ และต้องมีการเพิ่มเติมสารบางอย่างก่อนการนำไปเผาจนได้ขี้เถ้าขาวแบบสมบูรณ์

5. เมื่อได้ผักที่ผ่านการเผาจนเป็นขี้เถ้าสีขาวแบบสมบูรณ์แล้ว ก็จะละลายขี้เถ้ากับ HCl (1+1) : น้ำ 10 ml จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายด้วยน้ำ 50 ml แล้วฉีดเข้าเครื่อง ICP เพื่อวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในผักได้เลย (AOAC, 2000)

6. ดูดสารละลายด้วยวิธีปิเปตจากตัวอย่างที่ได้จากการย่อยตามวิธีการใส่ขวดวอลลูมเมตริกหรือขวดที่เตรียมไว้ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น นำไปวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียม ด้วยเครื่อง ICP สารละลายของตัวอย่างที่เตรียมได้จะถูกเผาด้วยพลาสมาจากก๊าซอาร์กอน ที่อุณหภูมิสูง อะตอมของซีลีเนียมในสารละลายเมื่อได้รับพลังงานจากพลาสมาก็จะเปลี่ยนสภาวะจากสภาวะพื้น (ground state) ไปอยู่ในสภาวะกระตุ้น (excited state) ตามธรรมชาติอะตอมของธาตุจะพยายามกลับสู่สภาวะพื้น โดยการคายพลังงานที่ได้รับจากการกระตุ้น ซึ่งอะตอมของธาตุแต่ละชนิดจะคายพลังงานออกมาในรูปของแสงที่มีความยาวคลื่นเฉพาะตัว ตัวตรวจวัดก็จะสามารถตรวจวัดชนิดและปริมาณของธาตุได้ (Robert Thomas, 2008)

7. รวบรวมข้อมูลและสรุปผลการวิเคราะห์

การเก็บรวบรวมข้อมูล

ผู้ศึกษาเก็บรวบรวมข้อมูลด้วยตนเองส่วนการวิเคราะห์ข้อมูลครั้งนี้ผู้ศึกษา ทำงานร่วมกับนักวิทยาศาสตร์ของสถาบันบริการตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

การวิเคราะห์ข้อมูล และสถิติที่ใช้

วิเคราะห์ข้อมูลในห้องปฏิบัติการ โดยใช้สถิติ คือหาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(อุเทน ปัญโญ,2449)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved