

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการศึกษา

การศึกษาเรื่อง ปริมาณสารฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารทะเล ที่จำหน่ายในตลาดเมืองใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ครั้งนี้เป็นการศึกษาเชิงวิเคราะห์ มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารทะเล ที่จำหน่ายในตลาดเมืองใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ โดยมีวิธีดำเนินการศึกษา ดังนี้

#### กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือ อาหารทะเล ที่มีจำหน่ายในร้านค้าขายส่ง จำนวน 8 ร้าน ในตลาดเมืองใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ตัวอย่างอาหารที่ใช้ศึกษาคือ กุ้งขาว และ ปลาหมึกกล้วย เนื่องจากเป็นอาหารทะเลที่ทุกร้านมีจำหน่ายเช่นเดียวกัน

#### เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือ

1. ชุดทดสอบสารฟอร์มาลีนที่มีในอาหาร ที่ผลิตโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข
2. เครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV 2101 PC

#### คุณสมบัติของเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

1. ชุดทดสอบสารฟอร์มาลีนที่มีในอาหาร ที่ผลิตโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข สามารถตรวจสอบหาสารฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหาร ระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบประมาณ 5 นาที ระดับต่ำสุดที่สามารถตรวจได้ 0.5 ppm ชุดทดสอบจะสามารถตรวจสอบได้ โดยจะเปลี่ยนจากของเหลวใส เป็นสีชมพูจนถึงสีแดง ชุดทดสอบสารฟอร์มาลีนที่มีในอาหารนั้น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ได้ศึกษาและประยุกต์จากวิธีของ British Pharmacopoeia (BP) เพื่อทำเป็นชุดทดสอบ (Test Kit) โดยสารเคมีในชุดทดสอบประกอบด้วย

ขวดที่ 1 บรรจุ phenylhydrazine hydrochloride

ขวดที่ 2 บรรจุ potassium hexacyanoferrate (III)

ขวดที่ 3 บรรจุ hydrochloric acid เข้มข้น

จากวิธีการของ British Pharmacopoeia (BP) ปฏิกริยาที่เกิดจะเป็นสองขั้นตอนคือ  
 ฟอรัมาลดีไฮด์ทำปฏิกริยากับ phenylhydrazine hydrochloride เกิดเป็น formaldehyde  
 phenylhydrazone จากนั้นจึงเข้าทำปฏิกริยากับ potassium hexacyanoferrate (III) ทำให้อยู่ในสภาวะ  
 เป็นกรดโดยการเติมสาร hydrochloric acid เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีชมพูจนถึงแดง  
 มีการศึกษาถึงความไวของวิธีการนี้ โดยทำการทดลอง 3 ครั้ง เพื่อสังเกตสีชมพูที่เกิดขึ้น ว่าสีชมพู  
 จะเริ่มสังเกตเห็นด้วยตาเปล่าที่ความเข้มข้นใด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบสารละลายมาตรฐานฟอรัมาลดีไฮด์โดยวิธี British Pharmacopoeia (BP)

ความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐาน ฟอรัมาลดีไฮด์ (ppm)	สังเกตด้วยตาเปล่า		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
0.05	-	-	-
0.10	-	-	-
0.50	+	+	+
0.80	+	+	+
1.00	++	++	++
2.00	+++	+++	+++

หมายเหตุ: เครื่องหมาย - หมายถึง ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

เครื่องหมาย + หมายถึง เกิดการเปลี่ยนแปลง, จำนวน + ที่เพิ่มขึ้นแสดงถึงความ  
เข้มของสีที่เพิ่มขึ้น

จากตารางผลการทดสอบสารละลายมาตรฐานฟอรัมาลดีไฮด์โดยวิธี British  
 Pharmacopoeia (BP) โดยการสังเกตด้วยตาเปล่า ได้ผล positive สีชมพูอ่อนที่ความเข้มข้น 0.5 ppm  
 ทั้ง 3 ครั้ง ดังนั้นความไวของวิธีนี้เท่ากับ 0.5 ppm

2. เครื่อง Spectrophotometer ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV 2101 PC เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการเปรียบเทียบสีที่เกิดขึ้นจากตัวอย่างส่งตรวจกับสีของน้ำยามาตรฐาน โดยอาศัยหลักของการดูดกลืนแสง (absorbition) ในช่วงความยาวคลื่นต่างๆ โดยเครื่อง Spectrophotometer เครื่องนี้ ได้ผ่านการตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานของเครื่อง ดังนี้

ความถูกต้องของความยาวคลื่น มีค่า  $\pm 0.3$  nm

ความถูกต้องของค่าการดูดกลืนแสงที่ 0-0.5 มีค่า  $\pm 0.002$

ความถูกต้องของค่าการดูดกลืนแสงที่ 0.5-1 มีค่า  $\pm 0.004$

ความแม่นยำของความยาวคลื่น มีค่า  $\pm 0.1$  nm

ความแม่นยำของค่าการดูดกลืนแสงที่ 0-1 มีค่า  $\pm 0.002$

จากการตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานของเครื่อง ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพมีความคลาดเคลื่อนน้อยมาก และอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด สามารถนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการได้

### ขั้นตอนการศึกษา

1. ทดสอบความไวของชุดทดสอบฟอร์มาลินที่มีในอาหาร ก่อนที่จะทำการทดสอบหาปริมาณสารฟอร์มาลดีไฮด์ในอาหารทะเล ผู้ศึกษาได้ ทำการตรวจสอบความไวของชุดทดสอบเพื่อสังเกตว่าสีชมพูที่เกิดขึ้น จะเริ่มสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่าที่ความเข้มข้นใด โดย ทดลองเตรียมสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ ที่มีความเข้มข้น 0.0 ppm 0.1 ppm 0.2 ppm 0.3 ppm 0.4 ppm 0.5 ppm 1.0 ppm 1.5 ppm 2.0 ppm และ 5.0 ppm ตามลำดับ มาทดสอบกับชุดทดสอบฟอร์มาลินที่มีในอาหาร พบว่า เริ่มสังเกตเห็นสีชมพูอ่อนๆ ที่ความเข้มข้น 0.1 ppm ขึ้นไป ซึ่งมีความไวกว่าข้อมูลจากชุดทดสอบฟอร์มาลินที่มีในอาหารที่กำหนดไว้ว่า ระดับต่ำสุดที่สามารถตรวจสอบได้คือ 0.5 ppm จะเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อนๆ ส่วนความเข้มข้น 5.0 ppm สีที่เกิด จะเป็นสีแดงเลือดนก

2. คัดกรองตัวอย่างอาหารทะเลด้วยชุดทดสอบฟอร์มาลินที่มีในอาหาร โดยใช้น้ำแช่ตัวอย่างอาหารทะเล เพื่อนำน้ำแช่ตัวอย่างที่อาหารทะเลเกิดสีชมพูไปวิเคราะห์หาปริมาณสารฟอร์มาลดีไฮด์ต่อไป โดยขั้นตอนการเตรียมน้ำแช่ตัวอย่างอาหารทะเลเพื่อนำมาคัดกรองด้วยชุดทดสอบฟอร์มาลินที่มีในอาหารมีดังนี้

2.1 ขั้นตอนการเตรียมน้ำแช่ตัวอย่างอาหารทะเลเพื่อนำมาคัดกรองด้วยชุดทดสอบฟอร์มาลิน

2.1.1 เตรียมตัวอย่างอาหารทะเลที่จะทำการทดสอบ จำนวน 100 กรัม ใส่ไว้ในภาชนะ โดยไม่ผ่านการล้าง

2.1.2 เติมน้ำ 100 มิลลิลิตร ลงในภาชนะที่บรรจุตัวอย่างอาหารทะเล

2.1.3 คนให้ทั่วประมาณ 30 วินาที และทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง

เมื่อครบ 1 ชั่วโมงแล้ว นำน้ำแช่ตัวอย่างอาหารทะเล มาทดสอบโดยใช้ชุดทดสอบสารฟอร์มาลินที่มีในอาหาร มีขั้นตอนดังนี้

2.2 วิธีการใช้ชุดทดสอบสารฟอร์มาลินที่มีในอาหาร

2.2.1 เทน้ำที่แช่ตัวอย่างอาหารทะเลที่เตรียมไว้ลงในขวดสารทดสอบที่ 1 ปริมาณ 6 มิลลิลิตร จากนั้นปิดฝาขวดเขย่าจนสารทดสอบในขวดละลายจนหมด

2.2.2 ถ่ายของเหลวจากขวด สารทดสอบที่ 1 ลงขวด สารทดสอบ 2 ปิดฝาขวดเขย่าจนสารทดสอบในขวดละลายจนหมด

2.2.3 ถ่ายของเหลวจากขวดสารทดสอบที่ 2 ลงขวดสารทดสอบ 3 แล้วรีบปิดฝาขวด แกว่งเบาๆ ให้ของเหลวเข้ากัน สังเกตสีที่เกิดขึ้น

2.2.4 ถ้ามีสีเกิดขึ้นตั้งแต่ สีชมพูจนถึงสีแดง แสดงว่าน้ำแช่ตัวอย่างอาหารทะเลนั้นมีสารฟอร์มาลดีไฮด์

3. วิเคราะห์หาปริมาณสารฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer มีวิธีการดังต่อไปนี้

1.เตรียมน้ำแช่ตัวอย่างอาหารทะเลที่เกิดสี จากการใช้ชุดทดสอบสารฟอร์มาลินที่มีในอาหารและผ่านการกรองด้วย syringe filter ความละเอียด 0.45 ไมครอน และ สารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ ที่ความเข้มข้น 0.0 ppm 0.5 ppm 1.0 ppm และ 2.0 ppm ที่เตรียมไว้ในขั้นตอนแรก

2. เลือกความยาวคลื่นที่ 516 nm

3. วัดค่าดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์ ที่ความเข้มข้น 0.0 ppm 0.5 ppm 1.0 ppm และ 2.0 ppm

4. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอร์มาลดีไฮด์

5. วัดค่าดูดกลืนแสงของน้ำแช่ตัวอย่างอาหารทะเลที่เกิดสี

6. อ่านค่าความเข้มข้นของสารฟอร์มาลดีไฮด์ที่มีในน้ำแช่ตัวอย่างอาหารทะเล จากกราฟมาตรฐาน

### วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

ผู้ศึกษาเก็บตัวอย่างอาหารทะเล ที่มีจำหน่ายในร้านค้าขายส่ง จำนวน 8 ร้าน ในตลาดเมืองใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ เก็บตัวอย่างอาหารทะเล 3 ครั้ง โดยแต่ละครั้งห่างกัน 10 วัน โดยผู้ศึกษาทำการเก็บตัวอย่างอาหารทะเล เวลา 5.00 นาฬิกา ของทุกวันที่ทำการศึกษา เพื่อให้ได้ตัวอย่างอาหารที่ยังคงสภาพเดิมที่สุด ยังไม่ถูกน้ำแข็งและน้ำที่แช่อาหารทะเลชะล้างสารฟอร์มาลดีไฮด์ออกไป จากนั้นจึงนำตัวอย่างอาหารทะเลมาคัดกรองหาสารฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยชุดทดสอบสารฟอร์มาลีนในอาหาร หากตัวอย่างน้ำแช่อาหารทะเลเปลี่ยนเป็นสีชมพู แสดงว่าตัวอย่างอาหารทะเลนั้นมีสารฟอร์มาลดีไฮด์ จากนั้นจึงนำมาตรวจหาปริมาณสารฟอร์มาลดีไฮด์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ต่อไป

### การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้

ผู้ศึกษาวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ค่าสถิติ คือ ค่าความถี่ และค่าร้อยละ

### สถานที่ดำเนินการศึกษา

สถานที่เก็บตัวอย่าง คือ ร้านขายส่งอาหารทะเลจำนวน 8 ร้าน ในตลาดเมืองใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

สถานที่ดำเนินการตรวจวิเคราะห์ หาปริมาณสารฟอร์มาลดีไฮด์ คือ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ จังหวัดเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved