

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการศึกษา

#### 3.1 การกำหนดกลุ่มตัวอย่าง

##### 3.1.1 การเลือกกลุ่มตัวอย่าง

ผักพื้นบ้านในตลาดเขตอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 10 ชนิด โดยเลือกผักที่มีตลอดปีจากความนิยมในการบริโภคของประชาชน และผักที่ออกตามฤดูกาลในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ.2545 โดยเลือกผักที่มีตลอดปี จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ ผักปลัง มะระขี้นก ผักชะอม ผักเชียงดา ผักที่มีตามฤดูกาล จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ผักกูด ผักขี้หูด สะแล ผักชงโค ยอดผักทอง ผักโสม

##### 3.1.2 สถานที่เก็บตัวอย่าง

สถานที่เก็บตัวอย่างผักพื้นบ้าน คือ ตลาดที่จำหน่ายผักในเขตอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 4 แห่ง ได้แก่ ตลาดเมืองใหม่ ตลาดต้นลำไย ตลาดข้างเผือก ตลาดประตูเชียงใหม่ โดยทำการเก็บตัวอย่างผักพื้นบ้านทุกร้านที่วางจำหน่าย

#### 3.2 การเก็บตัวอย่างผักพื้นบ้าน

เก็บตัวอย่างผักพื้นบ้าน โดยใช้ ASEAN FOOD GUIDE LINE โดยวิธี single composite sampling กล่าวคือ เก็บตัวอย่างผักพื้นบ้านแต่ละชนิด จากตลาด 4 แห่ง โดยแต่ละตลาดทำการเก็บตัวอย่างผักพื้นบ้านจากทุกร้านที่วางจำหน่าย หลังจากนั้นจะเลือกส่วนที่กินได้ของผักพื้นบ้านมาล้างด้วยน้ำประปา และล้างด้วยน้ำกลั่น ผึ่งให้น้ำแห้ง แล้วทำการชั่งน้ำหนักผักพื้นบ้านในแต่ละตลาดให้มีน้ำหนักเท่ากัน คือ 60 กรัม

### 3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุสังกะสีและทองแดงในผักพื้นบ้าน ได้ทำการควบคุมคุณภาพในการวิเคราะห์แร่ธาตุสังกะสีและแร่ธาตุทองแดงในผักพื้นบ้าน ทำการวิเคราะห์โดยใช้ นมผงดูเม็กซ์ (Dumex) ที่ทราบปริมาณแร่ธาตุสังกะสีและแร่ธาตุทองแดงที่แน่นอน ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก

#### 3.3.1 การเตรียมตัวอย่างผักพื้นบ้านก่อนวิเคราะห์ปริมาณธาตุสังกะสีและธาตุทองแดง

นำผักสดมาเลือกส่วนที่กินได้จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำประปา ตามด้วยน้ำกลั่น (demineralized distilled water , DDW) ผึ่งให้แห้งประมาณ 2 ชั่วโมง นำผักไปชั่งน้ำหนักและบันทึกไว้ จากนั้นนำผักที่ชั่งน้ำหนักแล้วไปหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ และทำการปั่นโดยใช้เครื่องปั่นและเติมน้ำกลั่นในปริมาตรที่เหมาะสม เช่น 100 – 250 มิลลิลิตร ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของผักตัวอย่างและบันทึกปริมาตรน้ำกลั่นไว้ หลังจากนั้นเทใส่ขวดพลาสติกประมาณ 1/3 ของขวด จำนวน 2 ขวด ทำการชั่งพร้อมบันทึกน้ำหนักผักสดที่ปั่น (AOAC , 1995) นำขวดผักสดไปแช่แข็ง (deep freezer) ที่อุณหภูมิ  $-20^{\circ}\text{C}$  อย่างน้อย 24 ชั่วโมง นำไปทำให้แห้งโดยเครื่อง Lyophilizer และชั่งน้ำหนักแห้ง เพื่อนำไปคำนวณหาความชื้น และปริมาณแร่ธาตุสังกะสีหรือแร่ธาตุทองแดงในตัวอย่างผักพื้นบ้านโดยใช้ AAS ต่อไป

#### 3.3.2 การย่อยสลายตัวอย่างผักพื้นบ้าน

การย่อยสลายตัวอย่างผักพื้นบ้านด้วยกรดไนตริกเข้มข้น โดยเร่งปฏิกิริยาด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้สารละลายใส นำไปปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ก่อนนำไปวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุสังกะสีและแร่ธาตุทองแดง (Government Chemical Laboratory , 1994) ดังรายละเอียดแต่ละขั้นตอนต่อไปนี้

- (1) ชั่งผักแห้งที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน แล้วเทใส่ digestion tube
- (2) เติมกรดไนตริกเข้มข้น 30 มิลลิลิตร เติมเม็ดแก้ว 4 เม็ด แล้วปิดปาก tube ด้วยพาราฟิล์ม ทิ้งสารละลายตัวอย่างไว้ข้ามคืน
- (3) เติมน้ำกลั่นประมาณ 100 มิลลิลิตร นำสารละลายตัวอย่างมาใส่ใน digestion block heater เริ่มต้นที่อุณหภูมิประมาณ  $95^{\circ}\text{C}$  แล้วค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิไปจนถึงประมาณ  $160^{\circ}\text{C}$  ต้มสารละลายตัวอย่างจนกระทั่งเหลือประมาณ 5 มล.แล้วยกออกจาก digestion block heater
- (4) ทิ้งสารละลายตัวอย่างให้เย็น แล้วเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 2 มิลลิลิตร
- (5) นำสารละลายตัวอย่างมาต้มบน digestion block heater จนกระทั่งเหลือสารละลายใส

(6) ต้มสารละลายตัวอย่างใสจนกระทั่งเหลือสารละลายประมาณ 1 มิลลิลิตร (ระวังอย่าให้สารละลายแห้ง) แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

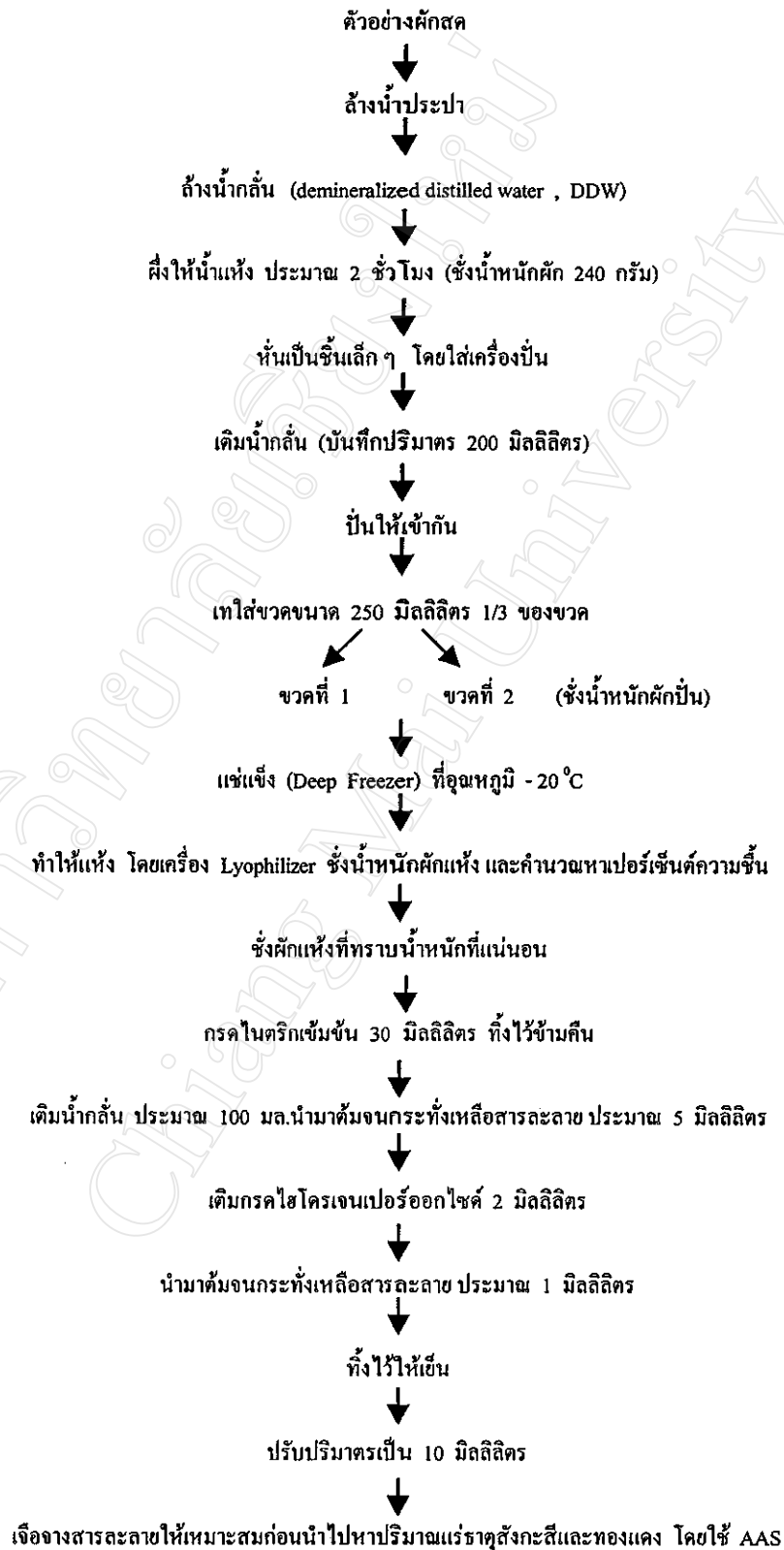
(7) ดูดสารละลายตัวอย่างใสใสใน graduated tube แล้วปรับปริมาตรสารละลายด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร

(8) วิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุสังกะสีโดยใช้ Atomic absorption spectrophotometry โดยนำสารละลายในข้อ (7) มาทำการเจือจาง 25 เท่า

(9) วิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุทองแดงโดยใช้ Atomic absorption spectrophotometry โดยนำสารละลายในข้อ (7) มาทำการเจือจาง 5 เท่า

ซึ่งขั้นตอนดังกล่าวเบื้องต้นได้สรุปเป็นแผนภูมิการทดลองดังนี้

แผนภูมิที่ 3.1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างผักพื้นบ้านและการวิเคราะห์ผักแห้ง



สำหรับสารเคมี อุปกรณ์ และการเตรียมสารละลายมาตรฐานสังกะสีและทองแดง ดูรายละเอียดได้ในภาคผนวก ข

### 3.4 วิธีการคำนวณวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุสังกะสีและทองแดงในผักพื้นบ้าน

วิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุสังกะสีและทองแดงในผักพื้นบ้าน โดยใช้ Atomic absorption spectrophotometry สำหรับรายละเอียดของ Atomic absorption spectrophotometry ดูได้ในภาคผนวก ก

#### 3.4.1 การหาความชื้นของตัวอย่างผักพื้นบ้าน

$$\text{โดยคำนวณจาก อาหารแห้ง (กรัม \%)} = \frac{W_1 \times W_4 \times 100}{W_2 \times W_3}$$

โดยที่  $W_1$  = น้ำหนักผักสดทั้งหมดรวมกับน้ำหนักของน้ำกลั่นที่เติม (กรัม) =  $V + W_2$

$V$  = น้ำหนักของน้ำกลั่นที่เติม (กรัม)

$W_2$  = น้ำหนักผักสดทั้งหมดก่อนปั่น (กรัม)

$W_3$  = น้ำหนักผักสดหลังปั่นก่อนเข้าเครื่อง Lyophilizer (กรัม)

$W_4$  = น้ำหนักผักแห้งหลังออกจากเครื่อง Lyophilizer (กรัม)

$$\text{ความชื้น (กรัม \%)} = 100 - \text{อาหารแห้ง (กรัม \%)}$$

#### 3.4.2 การหาปริมาณแร่ธาตุสังกะสีและทองแดงในผักสด

(ไมโครกรัม ต่อ 100 กรัม)

ปริมาณแร่ธาตุสังกะสีและทองแดงในผักสด (ไมโครกรัม ต่อ 100 กรัม)

$$= \frac{10 \times X \times D \times (100 - \% M)}{W}$$

W

โดยที่  $X$  = ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)

$D$  = dilution factor

$W$  = น้ำหนักผักแห้งที่ใช้ในการย่อย (กรัม)

$\% M$  = ความชื้นเฉลี่ยของตัวอย่างผักพื้นบ้าน (%)

3.4.3 การหาปริมาณแร่ธาตุสังกะสีและทองแดงในผักแห้ง  
(ไมโครกรัม ต่อ 100 กรัม)

ปริมาณแร่ธาตุสังกะสีและทองแดงในผักแห้ง (ไมโครกรัม ต่อ 100 กรัม)

$$= \frac{1000 \times X \times D}{W}$$

โดยที่ X = ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)

D = dilution factor

W = น้ำหนักผักแห้งที่ใช้ในการย่อย (กรัม)