บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การสุ่มตัวอย่าง

สุ่มตัวอย่างมะยมดอง, มะม่วงดอง, พุทราดอง, ผักกาดดอง และหัวไชโป๊ว จำนวน 3 ร้าน เก็บตัวอย่าง 1 ครั้ง

เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1 เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น Genesys 20 ของบริษัท Thermo Spectronic

1.2 เครื่องอังไอน้ำ

1.3 เตาเผาอุณหภูมิสูง

1.4 เครื่องชั่งไฟฟ้า

1.5 เครื่องปั่นไฟฟ้า

1.6 ปิเปต

1.7 บีกเกอร์

1.8 ขวดวัดปริมาตร

1.9 แท่งแก้วคนสาร

1.10 ช้อนตักสาร

1.11 กระบอกตวง

1.12 ชุดกรองสาร

1.13 กระดาษกรอง

1.14 กระจกนาฬิกา

1.15 ชามกระเบื้อง

2. สารเคมี

2.1 กรดบอริก (Boric acid) AR Grade ของ CARLO ERBA

2.2 กรดออกซาลิก (Oxalic acid) AR Grade ของ CARLO ERBA

2.3 เคอร์คูมิน (Curcumin)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.4 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) AR Grade ของ CARLO ERBA

2.5 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid) AR Grade ของ J.T. Baker

2.6 95% เอทานอล (Ethanol) AR Grade ของ J.T. Baker

2.7 น้ำกลั่น (Distilled water)

การเตรียมสารละลาย

1. การเตรียมสารละลายกรดบอริกมาตรฐาน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งกรดบอริก 0.01 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

2. การเตรียมสารละลายกรดบอริกมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

2.1 การเตรียมสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายกรดบอริก 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 0.125 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตร

2.2 การเตรียมสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายกรดบอริก 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 0.25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตร

2.3 การเตรียมสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายกรดบอริก 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 0.75 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตร

2.4 การเตรียมสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายกรดบอริก 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 1.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตร

2.5 การเตรียมสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 9.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายกรดบอริก 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 2.25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตร

2.6 การเตรียมสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 12.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายกรดบอริก 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 3.0 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.7 การเตรียมสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 15.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายกรดบอริก 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 3.75 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตร

3. การเตรียมสารละลายเคอร์คูมิน

ชั่งเคอร์คูมินมา 0.04 กรัม และกรดออกซาลิก 5.00 กรัม ละลายด้วย 95 % เอทานอล ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 4 มิลลิลิตร ลงไป แล้วปรับปริมาตรด้วย 95 % เอทานอล ให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร และเก็บสารละลายเคอร์คูมินไว้ในตู้เย็น สารละลายที่เตรียมได้ดังกล่าวมีอายุการใช้งาน 2-3 วัน

4. เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 1% โดยมวลต่อปริมาตร

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วใส่ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นปรับให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

5. การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง เข้มข้น 2.4 โมลาร์

ตวงกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น มา 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตร

6. การเตรียมสารละลายแบล็งค์

นำสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 1 % ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ใส่ในชามกระเบื้องแล้วนำไประเหยแห้งบนเครื่องอังไอน้ำที่อุณหภูมิ 50 ± 1°C เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเจือจางเข้มข้น 2.4 โมลาร์ 2 มิลลิลิตร และเติมสารละลายเคอร์คูมินลงไป 4 มิลลิลิตร นำชามกระเบื้องไประเหยอีกครั้ง บนเครื่องอังไอน้ำที่อุณหภูมิ 50 ± 1°C จนแห้งสนิท ล้างส่วนที่ติดอยู่ชามกระเบื้องโดยใช้ 95% เอทานอล แล้วกรองลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตรด้วย 95 % เอทานอล

การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดบอริกมาตรฐาน

1. นำสารละลายมาตรฐานกรดบอริกที่ความเข้มข้นต่างๆ ใส่ในชามกระเบื้อง เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 1 % 4 มิลลิลิตร นำไประเหยแห้งบนเครื่องอังไอน้ำที่อุณหภูมิ 50 ± 1 °C

2. เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง เข้มข้น 2.4 โมลาร์ 2 มิลลิลิตร และเติมสารละลายเคอร์คูมินลงไป 4 มิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3. นำชามกระเบื้องไประเหยอีกครั้ง บนเครื่องอังไอน้ำที่อุณหภูมิ 50 ± 1°C จนแห้งสนิท

4. ล้างส่วนที่ติดอยู่ชามกระเบื้องโดยใช้ 95% เอทานอล แล้วกรองใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตรด้วย 95 % เอทานอล

5. นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร และสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดบอริก

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณบอแรกซ์

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 นำตัวอย่างมะยมดอง มะม่วงดอง พุทราดอง ผักกาดดอง และหัวไชโป๊วมาปั่นให้ละเอียด ชั่งตัวอย่างชนิดละ 10 กรัม ใส่ในครูสิเบิล

1.2 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 1 % ลงไป 4 มิลลิลิตรนำไประเหยบนเครื่องอังไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 50 ± 1 °C จนแห้งสนิท

1.3 เผาในเตาเผาอุณหภูมิสูง 550-600 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนได้เถ้าสีขาว

1.4 นำเถ้าที่ได้มาละลายโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเจือจาง 2 มิลลิลิตร แล้วกรองด้วยกระดาษกรองจากนั้นเติมสารละลายเดอร์คูมิน 4 มิลลิลิตร แล้วนำไประเหยบนเครื่องอังไอน้ำ จนแห้งสนิท

1.5 ละลายส่วนที่เหลือด้วย 95% เอทานอล แล้วกรองด้วยกระดาษกรองแล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร โดยใช้ 95% เอทานอล

1.6 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปหาความเข้มข้นของบอแรกซ์ในสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐาน

การทดสอบความเที่ยง

1. การวิเคราะห์หาร้อยละของการได้กลับคืน

1.1 นำตัวอย่างมะยมดอง มะม่วงดอง พุทราดอง ผักกาดดอง และหัวไชโป๊วมาปั่นให้ละเอียด ชั่งตัวอย่างชนิดละ 10 กรัม ใส่ลงในครูสิเบิล เติมสารละลายมาตรฐานกรดบอริกเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.2 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 1 % ลงไป 4 มิลลิลิตรนำไประเหยบนเครื่องอังไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 50 ± 1 °C จนแห้งสนิท

1.3 เผาในเตาเผาอุณหภูมิสูง 550-600 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนได้เถ้าสีขาว

1.4 นำเถ้าที่ได้มาละลายโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเจือจาง 2 มิลลิลิตร แล้วกรองด้วยกระดาษกรองจากนั้นเติมสารละลายเคอร์คูมิน 4 มิลลิลิตร แล้วนำไประเหยบนเครื่องอังไอน้ำ จนแห้งสนิท

1.5 ละลายส่วนที่เหลือด้วย 95% เอทานอล แล้วกรองด้วยกระดาษกรองแล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร โดยใช้ 95% เอทานอล

1.6 นำสารละลายที่เตรียมได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

1.7 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณ ดังสูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{C_S - C_U}{C} \times 100$$

เมื่อ C_S = ความเข้มข้นที่วัดได้ของ spike sample

C_U = ความเข้มข้นที่วัดได้ของ unspike sample

C = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University