

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1.1 เครื่อง อะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Atomic Absorption Spectrophotometer, FAAS) ของบริษัท PERKIN ELMER INSTRUMENT MODEL ANALYST 3110
- 1.2 แท่นให้ความร้อน (Hot plate) รุ่น CB-162 ของบริษัท Stuart®
- 1.3 เตาเผาอุณหภูมิสูง (Muffle Furnace) รุ่น GEFRA 1001 ของบริษัท Fratelli Galli
- 1.4 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ของบริษัท Memmert
- 1.5 เครื่องชั่งละเอียดชนิด 4 ตำแหน่ง รุ่น JB 3002-G/FACT ของบริษัท METTLER TOLEDO
- 1.6 โวลูเมตริกปิเปต (Volumetric pipette) ขนาด 1, 2, 5 มิลลิลิตร
- 1.7 บีกเกอร์ (Beaker)
- 1.8 ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)
- 1.9 กระดาษกรอง ของ Whatman เบอร์ 42
- 1.10 ขามกระเบื้อง
- 1.11 ขวดพลาสติก

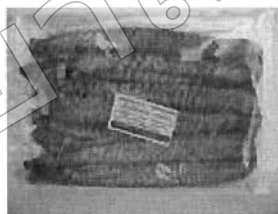
2. สารเคมี

- 2.1 กรดไนตริกเข้มข้น ชนิด AR grade ($\text{Nitric acid, HNO}_3$) บริษัท J.T. Baker
- 2.2 กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ชนิด AR grade ($\text{Hydrochloric acid 37 \% V/V, HCl}$) บริษัท J.T. Baker
- 2.3 สารละลายมาตรฐานแคดเมียม (Cadmium Standard Solution) 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ชนิด AR grade บริษัท Merck
- 2.4 น้ำกลั่น (Distilled water)

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างโดยการซื้อผลิตภัณฑ์ปลาหมึกจากร้านค้าในจังหวัดชลบุรี โดยผลิตภัณฑ์ปลาหมึกที่เก็บแบ่งออกเป็น 3 ประเภทดังนี้

1. ปลาหมึกแห้ง เป็นปลาหมึกกล้วยขนาดความยาวของลำตัวประมาณ 3-4 นิ้ว เป็นปลาหมึกที่มีส่วนของหัว ติดอยู่กับลำตัว แสดงดังรูปที่ 3.1
2. ปลาหมึกแผ่นอบกรอบ เป็นปลาหมึกกล้วยที่มีการเอาส่วนหัวและอวัยวะภายในออกทั้งหมดและผ่านการบดลำตัวให้มีลักษณะเป็นแผ่นบางยาวประมาณ 10 นิ้ว แสดงดังรูปที่ 3.2
3. ปลาหมึกตัวปรุงรส เป็นปลาหมึกกล้วยที่มีการเอาส่วนของอวัยวะภายในออกแล้วทำการปรุงรส ซึ่งพบว่าผลิตภัณฑ์แบบนี้มีปริมาณน้ำตาลอยู่มาก แสดงดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.1 ปลาหมึกแห้ง

รูปที่ 3.2 ปลาหมึกแผ่นอบกรอบ

รูปที่ 3.3 ปลาหมึกตัวปรุงรส

การทำความสะอาดเครื่องแก้ว

นำเครื่องแก้วมาล้างด้วยน้ำยาล้างเครื่องแก้ว ล้างออกด้วยน้ำประปา แล้วนำเครื่องแก้วมาแช่ในกรดไนตริกเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ โดยแช่อย่างน้อย 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเครื่องแก้วมาล้างครั้งสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นก่อนใช้

การเตรียมสารละลาย

1. การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 6 โมลต่อลิตร

เติมน้ำกลั่นลงในบีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร ประมาณ 500 มิลลิลิตร ตวงกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น จำนวน 500 มิลลิลิตร เทลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร

2. การเตรียมสารละลายกรดไนตริก เข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร

เติมน้ำกลั่นลงในบีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร ประมาณ 500 มิลลิลิตร ตวงกรดไนตริกเข้มข้น จำนวน 7 มิลลิลิตร เทลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐานแคดเมียม

3.1 สารละลายมาตรฐานแคดเมียมเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานแคดเมียมเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย สารละลายกรดไนตริก 0.1 โมลต่อลิตร

3.2 สารละลายมาตรฐานแคดเมียมเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานแคดเมียมเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย สารละลายกรดไนตริก 0.1 โมลต่อลิตร

3.3 เจือจางสารละลายมาตรฐานแคดเมียม 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้มีความเข้มข้น 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีการเตรียมดังนี้

การเตรียมสารละลายมาตรฐานแคดเมียม 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปิเปตสารละลายมาตรฐานแคดเมียม 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายกรดไนตริก 0.1 โมลต่อลิตร ทำการเตรียมสารเหมือนกันที่ความเข้มข้นอื่นๆ ซึ่งมีการเตรียมดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงปริมาตรของสารละลายมาตรฐานแคดเมียม 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ปิเปตมาเพื่อใช้ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานแคดเมียมที่ความเข้มข้นต่างๆดังตาราง โดยแต่ละความเข้มข้นมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแคดเมียม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาตรสารละลายมาตรฐานแคดเมียม 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (มิลลิลิตร)
0.1	1
0.3	3
0.5	5
0.7	7
1.0	10

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณแคดเมียม

1. การสร้างกราฟมาตรฐาน

นำสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Flame Atomic Absorption Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 228.8 นาโนเมตร และสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแคดเมียม

2. การหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดการ

วิเคราะห์ปริมาณ (Limit of Quantification, LOQ)

นำสารละลายกรดไนตริกเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร (Blank Solution) นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Flame Atomic Absorption Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 228.8 นาโนเมตร ทั้งหมด 10 ครั้ง

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.1 นำตัวอย่างปลาหมึกแห้ง มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า ชั่งตัวอย่างประมาณ 10 กรัม 3 ชุด (ให้รู้น้ำหนักแน่นอนถึงทศนิยมตำแหน่งที่ 4) ใส่ในชามระเหย นำไประเหยจนแห้งบนอ่างน้ำร้อน

3.2 นำตัวอย่างทั้ง 3 ชุด มาเผาบนเตาไฟฟ้า โดยค่อยๆ เพิ่มความร้อนแล้วเผาต่อไปจนหมดควัน

3.3 นำตัวอย่างทั้ง 3 ชุด เข้าเผาในเตาเผาอุณหภูมิสูง 450-500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมงจนได้เถ้าสีขาว ทิ้งไว้ให้เย็น

3.4 นำเถ้าที่ได้มาละลายด้วย 5 มิลลิลิตร กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลต่อลิตร นำไประเหยบนอ่างน้ำร้อนจนแห้ง

3.5 ละลายส่วนที่เหลือด้วย 20 มิลลิลิตร กรดไนตริก 0.1 โมลต่อลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1-2 ชั่วโมง กรอง ด้วยกระดาษกรอง แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยกรดไนตริก 0.1 โมลต่อลิตร เก็บในขวดพลาสติก

3.6 นำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณแคดเมียมด้วยเครื่อง Flame Atomic Absorption Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 228.8 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้วัด 3 ครั้ง ต่อ 1 ชุดนำมาคำนวณหาความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานใน ข้อ 1

3.7 ทำซ้ำ ข้อ 3.1 – 3.6 กับตัวอย่างปลาหมึกแผ่นอบกรอบ และปลาหมึกตัวปรุงรส

4. การวิเคราะห์หาร้อยละของการได้กลับคืน

4.1 นำตัวอย่างปลาหมึกแห้ง ปลาหมึกแผ่นอบกรอบ และปลาหมึกตัวปรุงรส จากตลาดวัดกลาง มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า ซึ่งตัวอย่างชนิดละ 10 กรัม ใส่ในชามระเหย เติมน้ำกลั่นมาตรฐานแคลเซียมเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิตร นำไปประเหยจนแห้งบนอ่างน้ำร้อน

4.2 นำตัวอย่างมาเผาบนเตาไฟฟ้า โดยค่อยๆ เพิ่มความร้อนแล้วเผาต่อไปจนหมดควัน

4.3 นำเข้าเผาในเตาเผาอุณหภูมิสูง 450-500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมงจนได้เถ้าสีขาว ทิ้งไว้ให้เย็น

4.4 นำเถ้าที่ได้มาละลายด้วย 5 มิลลิตร กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลต่อลิตร นำไปประเหยบนอ่างน้ำร้อนจนแห้ง

4.5 ละลายส่วนที่เหลือด้วย 20 มิลลิตร กรดไนตริก 0.1 โมลต่อลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1-2 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรอง แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิตร ด้วยกรดไนตริก 0.1 โมลต่อลิตร เก็บในขวดพลาสติก

4.6 นำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม ด้วยเครื่อง Flame Atomic Absorption Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 228.8 นาโนเมตร วัดซ้ำ 3 ครั้ง และนำค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยที่วัดได้ของแต่ละตัวอย่างมาคำนวณหาความเข้มข้น นำค่าที่ได้มาคำนวณ ดังสูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{C_s - C_u}{C} \times 100$$

เมื่อ C_s = ความเข้มข้นของสารตัวอย่างหลังเติมสารมาตรฐาน (spiked sample)

C_u = ความเข้มข้นของสารตัวอย่างก่อนเติมสารมาตรฐาน (unspiked sample)

C = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป

2
664.07
(6.8117)

27 06 4 0