abst

ข้อมูลข่าวสาร วศ.

ข้อมูลข่าวสารของกรมวิทยาศาสตร์บริการ
ตาม พ.ร.บ. ข้อมูลข่าวสารของราชการ พ.ศ. 2540

วศ
กช
อว 17

เอกสารผลงานที่เสนอให้ประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรง
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 7 ว

เรื่องที่ 1

# การศึกษาวิธีหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างที่มีเกลือมาก

โดย

นางสาวสุจิตรา วิมลจิตต์

นักวิทยาศาสตร์ 6 ว

กลุ่มงานชีวเคมี กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

ข้อมูลสำ... ...วิทยาศาสตร์บริการ
ตาม พ.ร.บ. ข้อมูล... ...ข่าวสารของราชการ พ.ศ. 2540

เอกสารผลงานที่เสนอให้ประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรง
ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 7 ว

# เรื่องที่ 1

# การศึกษาวิธีหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างที่มีเกลือมาก

เลขหมู่ วน
ภช
ค317
เลขทะเบียน 9882
วันที่ 4 ...

โดย

นางสาวสุจิตรา วิมลจิตต์

นักวิทยาศาสตร์ 6 ว

ด้วยอภินันทนาการ
จาก
วน.
.....

กลุ่มงานชีวเคมี กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

# บทคัดย่อ

การหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างที่มีเกลือ (โซเดียมคลอไรด์)มาก ไม่สามารถเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ดังเช่นตัวอย่างอื่น ๆ ได้ จากการศึกษาทดลองพบว่าสิ่งที่รบกวน (interference) คือ โซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละมากกว่า 1 และศึกษาทดลองลดปริมาณสิ่งที่รบกวนให้เหลือน้อยที่สุดโดยการปรับสารละลายให้เป็นกรดด้วยกรดไนตริก แล้วปรับให้เป็นด่างด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (1+1) แล้วเติมให้มากเกินพอ เกิดตะกอนเฟอร์ริกไฮดรอกไซด์ ละลายตะกอนนี้ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (1+3) ได้สารละลายแล้วจึงนำไปวัดหาปริมาณเหล็กด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer จากการทดลองพบว่าได้ %recovery มีค่าตั้งแต่ 100.3–116.1 และ %RSD อยู่ในช่วง 0.17–0.58 ได้ศึกษาทดลองค่าความถูกต้อง (accuracy) และความแม่นยำ (precision) โดยการเติมสารละลายมาตรฐานเหล็กลงในตัวอย่างน้ำปลา พบว่า %recovery มีค่าตั้งแต่ 103.9–108.7 และ %RSD อยู่ในช่วง 0.55–1.84 และค่าต่ำสุดที่ตรวจวิเคราะห์เหล็กได้เท่ากับ 0.166 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นสามารถนำวิธีวิเคราะห์นี้ไปใช้กับตัวอย่างที่มีโซเดียมคลอไรด์มากเช่นเดียวกับน้ำปลา

# สารบัญ

หน้า


1. **บทนำ** ..... 1

*1.1 คำนำ* ..... 1

*1.2 ความเป็นมาของปัญหา* ..... 7

*1.3 วัตถุประสงค์* ..... 8

*1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ* ..... 8

*1.5 ระยะเวลาดำเนินการ* ..... 8

2. **วัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือ และวิธีดำเนินการ** ..... 9

*2.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาทดลอง* ..... 9

*2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์* ..... 9

*2.3 สารเคมี* ..... 9

*2.4 วิธีเตรียมตัวอย่าง* ..... 10

*2.5 วิธีดำเนินการทดลอง* ..... 12

*2.6 วิธีทดลอง* ..... 13

3. **ผลการทดลอง** ..... 15

4. **วิจารณ์** ..... 16

5. **สรุป** ..... 18

6. **เอกสารอ้างอิง** ..... 19

7. **กิตติกรรมประกาศ** ..... 20

# สารบัญภาคผนวก

หน้า


- *รูปที่ 6* ..... 22
- *ตารางที่ 1* ..... 23
- *รูปที่ 7* ..... 24
- *ตารางที่ 2* ..... 25
- *ตารางที่ 3* ..... 26
- *ตารางที่ 4* ..... 27
- *ตารางที่ 5* ..... 28
- *ตารางที่ 6* ..... 29
- *ตารางที่ 7* ..... 30

# ความหมายของอักษรย่อ (Abbreviations) ที่ใช้

| | | |
|---|---|---|
| $\bar{X}$ | = | ค่าเฉลี่ย |
| SD | = | Standard Deviation |
| %RSD | = | Percent Relative Standard Deviation |
| Thai RDI | = | Thai Recommended Daily Intakes |
| %Thai RDI | = | Percent Thai Recommended Daily Intakes |

# 1. บทนำ

## 1.1 คำนำ

เหล็กเป็นแร่ธาตุที่เป็นสารอาหารชนิดหนึ่งที่จำเป็นในการเสริมสร้างความเจริญเติบโตและควบคุมการทำงานส่วนประกอบต่าง ๆ ของร่างกาย ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่ร่างกายต้องการเป็นปริมาณมาก และเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของโปรตีน ในอาหารจะอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อนเหล็ก-โปรตีน (iron-protein complex) อาหารที่มีเหล็กปริมาณมาก เช่น เครื่องในสัตว์ เนื้อสัตว์ ปลาทุกชนิด

น้ำปลาเป็นอาหารสำหรับปรุงรสอาหารให้มีความเค็ม น้ำปลาเป็นของเหลวที่ได้จากการนำปลาตัวเล็ก ๆ ทั้งตัวหรือส่วนของปลาหมักกับเกลือ จนเนื้อปลาถูกย่อยสลายหมด ซึ่งใช้ระยะเวลาการหมักอย่างน้อย 6 เดือนขึ้นไป หรือมากกว่านี้ จนได้ของเหลวที่ไม่มีกลิ่นคาวของปลา นำของเหลวนี้ไปต้มแล้วกรอง ได้สารละลายใสสีน้ำตาลเรียกว่า "น้ำปลาชั้นที่ 1" [4] หรือหัวน้ำปลา ขบวนการต่อไปผู้ผลิตจะเตรียมน้ำกับเกลือต้มให้เดือดแล้วทิ้งไว้ให้เย็น นำมาผสมกับหัวน้ำปลาตามอัตราส่วนที่ต้องการ เรียกว่า "น้ำปลาชั้นที่ 2" ในน้ำปลาชั้นที่ 1 มีปริมาณเหล็กประมาณ 3 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และน้ำปลาชั้นที่ 2 มีปริมาณเหล็กประมาณ 1 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม คนไทยนิยมใช้น้ำปลาเพื่อปรุงอาหารให้มีรสชาติอร่อย

กรมอนามัยได้กำหนดแร่ธาตุเหล็กเป็นสารอาหารชนิดหนึ่งที่สำคัญ ควรได้รับประจำวันสำหรับคนไทย (Recommended Daily Dietary Allowances for Healthy Thais) [5] สารอาหารที่แนะนำให้บริโภคประจำวันสำหรับคนไทยอายุตั้งแต่ 6 ปีขึ้นไป (Thai RDI) สำหรับเหล็กปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวันคือ 15 มิลลิกรัม

**หลักการของอะตอมมิกแอบซอร์พชัน** (principle of atomic absorption)

อะตอมมิกแอบซอร์พชัน [3] เป็นกระบวนการที่เกิดจากอะตอมเสรีของธาตุดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นอันหนึ่งโดยเฉพาะ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของธาตุแต่ละชนิดจะมีระดับพลังงานแตกต่างกัน จึงมีการดูดกลืนแสงที่ต่างกัน ในการทำให้อะตอมของธาตุในสารประกอบเกิดเป็นอะตอมเสรีได้ ต้องมีการดูดกลืนพลังงานเข้าไป ซึ่งอยู่ในรูปต่าง ๆ กัน เช่น พลังงานความร้อนจากเปลวไฟ ความร้อนจากไฟฟ้า ความร้อนเหล่านี้จะทำให้เกิดการแตกตัว (dissociation) หรือเปลี่ยนให้เป็นไอ (vaporization) หรือแตกตัวเป็นอะตอม หรือทำให้อะตอมอยู่ในสถานะกระตุ้นหรืออาจกลายเป็นไอออนได้

เทคนิคต่าง ๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ธาตุต่าง ๆ นั้นสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่

1. Flame atomization technique
2. Flameless technique หรือ non flame atomization technique
3 Hydride generation technique
4. Cold vapor generation technique

Flame atomization technique เป็นเทคนิคที่ใช้กระบวนการทำให้สารตัวอย่างแตกตัวเป็นอะตอมด้วยเปลวไฟที่เหมาะสม กระบวนการทำให้ธาตุแตกตัวเป็นอะตอมเสรีด้วยเปลวไฟ (flame atomization) สารตัวอย่างจะต้องเป็นสารละลายที่เข้ากันเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีสารแขวนลอย ตัวทำละลายเป็นน้ำหรือสารอินทรีย์ก็ได้ กระบวนการ atomization แบ่งได้ ดังนี้

1. Nebulization เป็นกระบวนการเปลี่ยนของเหลวให้เป็นละอองเล็ก ๆ (mist) ด้วยเครื่องเรียกว่า nebulizer
2. Droplet precipitation เป็นกระบวนการที่ละอองเล็ก ๆ ของสารละลายรวมกันเป็นหยด สารละลายโตไม่สามารถจะลอยอยู่ในอากาศได้ จึงตกลงมาแล้วออกไปทางท่อน้ำทิ้ง (drain)
3. Mixing เป็นกระบวนการที่ละอองเล็ก ๆ ของสารละลายเกิดผสมกับแก๊สเชื้อเพลิง (fuel) และออกซิเดนท์ (oxidant) ใน spray chamber ของ nebulizer
4. Desolvation เป็นกระบวนการที่ตัวทำละลายที่อยู่ในละอองเล็ก ๆ นั้นถูกกำจัดออกไป ทำให้เกิดเป็นอนุภาคเล็ก ๆ ของสารประกอบ กระบวนการนี้จะเกิดขึ้นตอนล่างของเปลวไฟ
5. Compound decomposition เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในเปลวไฟ โดยที่พลังงานความร้อนจากเปลวไฟ จะไปทำให้สารประกอบเกิดการแตกตัวเป็นออกไซด์ เป็นโมเลกุล และเป็นอะตอมเสรี บางครั้งอาจเกิดการกระตุ้น หรือเกิดการไอออนไนเซชันได้

สารละลายตัวอย่างถูกดูดผ่าน nebulizer เข้าไปใน burner ซึ่งมีเปลวไฟของแก๊สอะเซทีลีนกับออกซิเจน (oxygen) เกิดเป็นอะตอมอิสระผ่านลำแสงจากหลอดกำเนิดแสง (hollow cathode lamp) ของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์ ที่ให้พลังงานที่ความยาวคลื่นเหมาะสม (resonance wavelength) ลำแสงจะผ่านกลุ่มอะตอมอิสระเหล่านั้น บางส่วนของพลังงานแสงจากหลอดกำเนิดแสงถูกดูดกลืนด้วยอะตอมอิสระ ส่วนที่เหลือผ่านออกมาเข้าเครื่องดีเทคเตอร์ (detector) ปริมาณที่อ่านได้ถูกนำไปเปรียบเทียบกับพลังงานแสงตอนแรก ปริมาณ

แสงที่ถูกดูดกลืนจะสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณอะตอมของธาตุที่ต้องการ

การหาปริมาณของธาตุเป็นไปตามทฤษฎี Lambert-Beer Law[1]

$A = \log I/I_o$

$A = abc$

A = แอบซอร์บชันของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์

I = ความเข้มของแสงก่อนผ่านอะตอมอิสระของธาตุ

$I_o$ = ความเข้มของแสงหลังผ่านอะตอมอิสระของธาตุ

a = ค่าคงที่ของแต่ละธาตุ

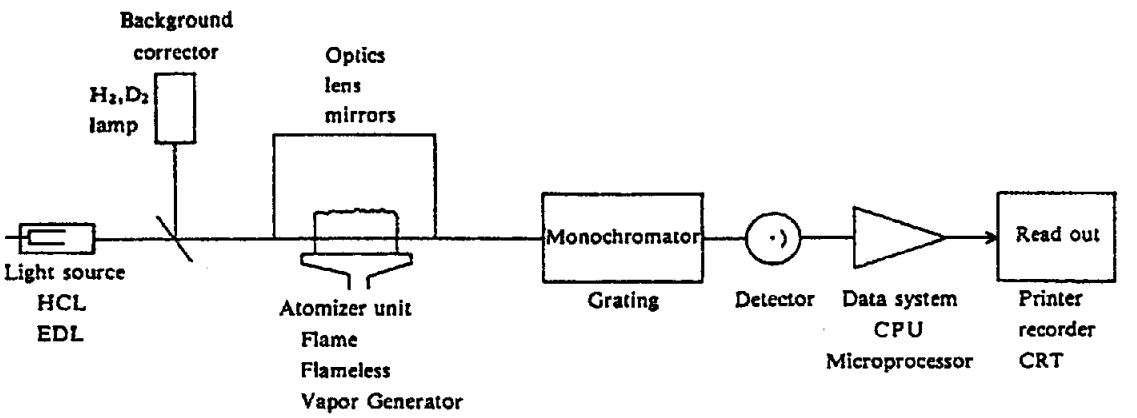
b = ความยาวของเซลที่แสงตัดผ่าน

c = ความเข้มของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์

จากความสัมพันธ์ดังกล่าวสามารถนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของธาตุได้

องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์[3] มี 5 ส่วน ดังนี้

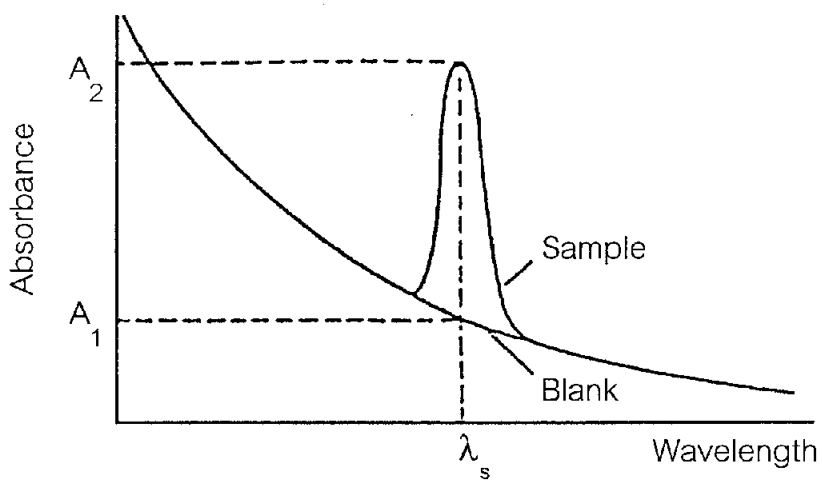
1. แหล่งกำเนิดแสง (light source)
2. ส่วนที่ทำให้ธาตุกลายเป็นอะตอมเสรี (atomizer)
3. โมโนโครเมเตอร์ (monochromater) ซึ่งแยกแสงให้ได้ความยาวคลื่นของแสงที่ต้องการ
4. ดีเทคเตอร์ (detector)
5. เครื่องประมวลผลและอ่านผล (data system and read out units)




*<u>รูปที่ 1</u>* *แสดงแผนภาพองค์ประกอบของเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer*

Background interference[1]

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชัน เป็นเทคนิคค่อนข้างเฉพาะมากทั้งแหล่งกำเนิดแสงและการดูดกลืนแสง โอกาสที่ spectrum ของธาตุอื่น ๆ ที่ปนอยู่รบกวนได้ง่าย สังเกตได้จากค่า absorbance ของสารละลายตัวอย่างที่วัดได้ มักมีค่าสูงกว่า absorbance จริง ซึ่งเกิดจากการดูดกลืนแสงโดยโมเลกุล หรือโดยการกระเจิงแสงของอนุภาคเล็ก ๆ ที่อยู่ในอะตอมเซลล์ สามารถแก้ไขได้โดยวิเคราะห์สารละลายแบลงค์ การดูดกลืนแสงที่เกิดขึ้นเมื่อนำสารละลายตัวอย่างเข้าไปในอะตอมเซลล์ ซึ่งเป็นอะตอมที่ไม่ใช่เกิดจากอะตอมที่ต้องการวิเคราะห์ แต่เกิดจาก matrix (หมายถึง species อื่น ๆ ในสารละลายตัวอย่าง แต่ไม่ใช่ธาตุที่ต้องการวิเคราะห์)



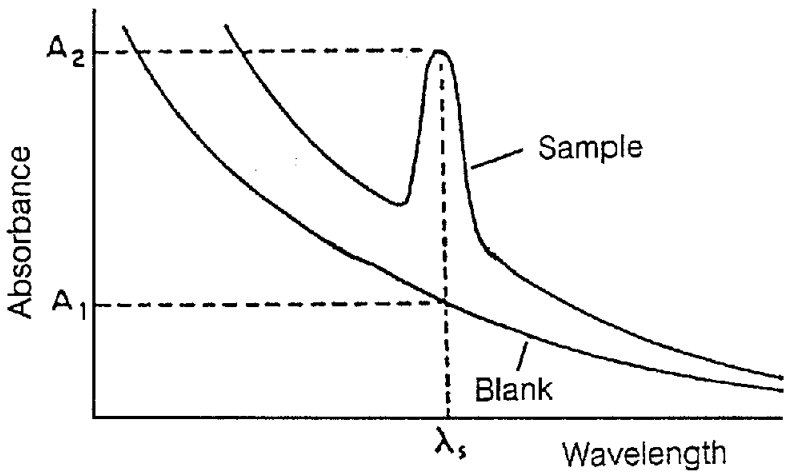

***รูปที่ 2*** *Absorption spectrum of sample and blank*

จากรูปที่ 2 ดู absorption spectrum เมื่อไม่มีการรบกวนจาก background แสดงการ plot ค่า absorbance กับความยาวคลื่น ($\lambda_s$) จะเห็นว่า atomic absorption line ยังมี background spectrum กว้าง ๆ ที่เกิดจาก molecular absorption และ lightscattering อย่างไรก็ตามสามารถวัดค่า absorbance ($A_s$) จริงของตัวอย่างโดยการลบค่า absorbance ($A_2$) ขณะมีตัวอย่างด้วย absorbance ($A_1$) ขณะไม่มีตัวอย่าง (blank sample) $A_s = A_2 - A_1$

Background absorption หรือ non specific absorption หรือ matrix effect ซึ่งเป็น broad-band absorption จะเกิดขึ้นตลอดเวลาที่ทำการวิเคราะห์เมื่อใช้ flame temperature ต่ำ ๆ ในการทำให้เกิดอะตอม ดังนั้นใน flame จึงมีสารที่มีอยู่ในรูปโมเลกุลทั้งโมเลกุลของสาร น้ำ และของเหลว จึงสามารถแอบซอร์พในช่วง UV ได้ดี แต่ในช่วง visible

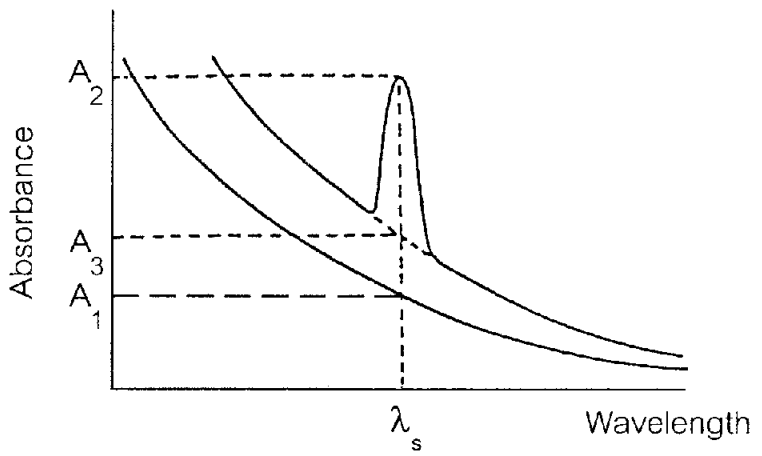
จะมี effect น้อยกว่า นอกจากนี้โมเลกุลของสารยังสามารถทำให้แสงจาก hollow cathode lamp เกิดการ scattering สิ่งรบกวนเหล่านี้จะเกิดขึ้นเสมอกับสารตัวอย่าง สามารถแก้ไขได้โดยทำให้ matrix เหมือนกัน เครื่องมือสมัยใหม่จะมีส่วนประกอบที่สามารถแก้ปัญหานี้ได้ เรียกว่า background corrector

ในทางปฏิบัติจะปรับค่า $A_1$ ให้เป็น ศูนย์ ค่าที่อ่านได้เป็นค่า absorbance จริงของตัวอย่าง




***รูปที่ 3*** *Absorption spectrum of sample and blank in the presence of background interference*

พิจารณารูปที่ 3 กรณีที่มี background interference จะเห็น background absorption จะแตกต่างไปจากรูปที่ 2 เมื่อสารละลายตัวอย่างถูกนำเข้าไปเกิดมี background absorption กรณีการจัดให้ $A_1$ เป็นศูนย์ก่อนวัด $A_2$ จะได้ค่า absorbance ของตัวอย่างผิดไป เพราะค่า $A_2 - A_1$ จะมากกว่าปกติหรือน้อยกว่าปกติ ค่า absorbance ที่สอดคล้องกับความเป็นจริงควรจะเป็น $A_2 - A_3$ ดังรูปที่ 4




***รูปที่ 4*** *Comparision of sample absorbance and measured absorbance in the presence of background interference*

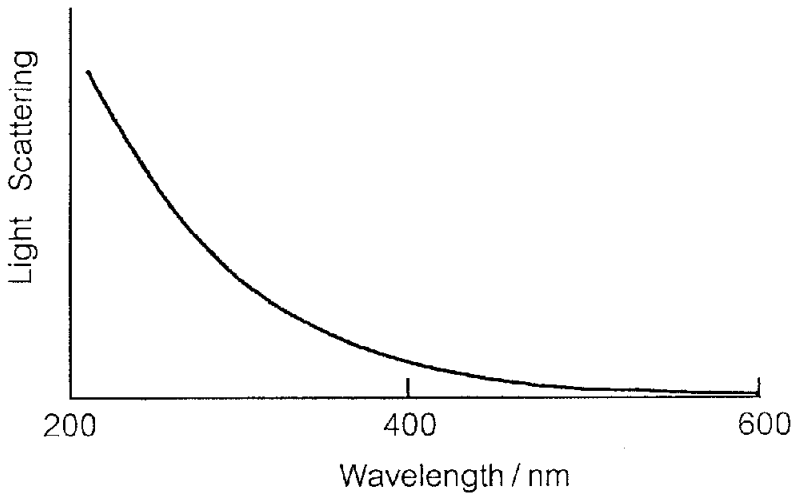
ค่า absorbance ที่เกิดจาก background interference คือ $A_3 - A_1$ ซึ่งเป็นค่า absorbance ที่ทำให้การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุของตัวอย่างมากเกินความจริง

สาเหตุที่ทำให้เกิด background interference

1. เกิดจากโมเลกุลของธาตุชนิดต่าง ๆ ที่เข้าไปในอะตอมเซลล์ (atom cell) พร้อมกับตัวอย่างเนื่องจากโมเลกุลดูดกลืนแสงความยาวคลื่นเดียวกับธาตุที่จะวิเคราะห์ และโมเลกุลที่อยู่ในตัวอย่างอาจมีความเข้มข้นมากกว่าความเข้มข้นของอะตอม ดังนั้นโมเลกุลที่มีอยู่ในตัวอย่างจึงมีผลต่อค่า absorbance ของตัวอย่าง เช่น สารตัวอย่างที่มีเกลือความเข้มข้นมาก ๆ

2. เกิดจากการดูดกลืนแสงจากอะตอมของธาตุที่มีอยู่ในตัวอย่างซึ่งมีความยาวคลื่นที่เท่ากันหรือใกล้เคียงกัน เช่น Ni มีความยาวคลื่นที่ 231.096 nm และ Sb มีความยาวคลื่น 231.147 nm

3. เกิดจากนำอนุภาคเข้าไปในอะตอม ทำให้เกิด light scattering เช่น ถ้าสารตัวอย่างมีเกลือเข้มข้นมากจะทำให้ดูเหมือนมีการดูดกลืนมาก เพราะแสงเข้าถึงหัววัดได้น้อยลง เกิดปรากฏการณ์ light scattering




*<u>รูปที่ 5</u>* *Wavelength dependence of light scattering*

**หลักการลดสิ่งที่รบกวน (interference) ให้เหลือน้อยที่สุด**[3]

1. ลดปริมาณคลอไรด์ในสารตัวอย่างเพราะมีธาตุหลายชนิดที่สามารถเกิดสารประกอบโควาเลนต์กับคลอไรด์ที่เสถียรมาก ๆ เมื่อได้รับความร้อนจะระเหยไปโดยไม่สลายตัว ทำให้สารตัวอย่างสูญเสียไป
2. สารตัวอย่างควรอยู่ในสารละลายกรดไนตริก เพราะว่าโลหะไนเตรตเมื่อได้รับความร้อนจะสลายตัวไปโดยไม่มีการระเหย
3. การละลาย standard และการละลายสารตัวอย่างให้มี matrix เหมือน ๆ กัน โดยใช้วิธี standard addition calibration
4. โดยการเติมสารเคมีบางชนิด ในระหว่าง drying และ ashing

## 1.2 ความเป็นมาของปัญหา

น้ำปลามีปริมาณเกลือ (โซเดียมคลอไรด์) ความเข้มข้นสูงอย่างน้อย 230 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร[4] จึงใช้น้ำปลาแทนตัวอย่างที่มีเกลือปริมาณสูง การเตรียมตัวอย่างโดยวิธีเผาให้เป็นเถ้า โซเดียมคลอไรด์ไม่ได้ถูกกำจัดออกซึ่งเป็นสิ่งที่รบกวน (interference) ต่อการวิเคราะห์โดยวิธี atomic absorption spectroscopy เนื่องจากโซเดียมคลอไรด์เป็นสารประกอบที่เสถียรสูง การแตกตัวให้อะตอมค่อนข้างยาก ซึ่งทำให้โมเลกุลหลุดออกไปบ้าง นอกจากนี้ยังทำให้ nebulizer อุดตันได้ ทำให้การดูดกลืนแสงไม่สม่ำเสมอ และผลการวิเคราะห์มีค่าผิดพลาดได้

## 1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 เพื่อศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างที่มีเกลือมาก ก่อนการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer

1.3.2 ศึกษาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กที่มีประสิทธิภาพ กรณีที่ตัวอย่างมีเกลือมาก

1.3.3 วิเคราะห์ปริมาณเหล็กในตัวอย่างน้ำปลา

## 1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ

1.4.1 ได้วิธีวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กในตัวอย่างที่มีเกลือมากอย่างมีประสิทธิภาพ

1.4.2 ใช้เป็นวิธีมาตรฐานวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

1.4.3 เป็นแนวทางแก่ผู้บริโภคในการเลือกผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการ

## 1.5 ระยะเวลาดำเนินการ

ธันวาคม 2541 – พฤษภาคม 2542

# 2. วัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือ และวิธีดำเนินการ

## 2.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาทดลอง

เป็นตัวอย่างน้ำปลาที่บริษัทเอกชนส่งมาวิเคราะห์เพื่อขึ้นทะเบียนอาหาร รวม 16 ตัวอย่าง

## 2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.2.1 เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer, Perkin Elmer รุ่น PC 5100, hollow cathode lamp of iron.

2.2.2 เครื่องชั่ง Mettler สามารถอ่านได้ละเอียดได้ถึง 0.0001 กรัม

2.2.3 ถ้วย vycor ขนาด 100 มิลลิลิตร

2.2.4 เครื่องอังไอน้ำ

2.2.5 แท่นความร้อน (hot plate)

2.2.6 เตาเผาอุณหภูมิสูง 1000° ซ

2.2.7 เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการชนิดต่าง ๆ

2.2.8 กระดาษกรอง Whatman No.42

2.2.9 น้ำหมายถึงน้ำดีไอออนไนซ์

2.2.10 แก๊สอะเซทิลีนและปั๊มลม

## 2.3 สารเคมีชนิดคุณภาพสำหรับวิเคราะห์ (analytical grade) และวิธีเตรียม

2.3.1 กรดไฮโดรคลอริก ความถ่วงจำเพาะ 1.19

2.3.2 กรดไฮโดรคลอริก (1+3) โดยปริมาตร

2.3.3 กรดไนตริก ความถ่วงจำเพาะ 1.40

2.3.4 กรดไนตริก 1 นอร์มอล
เจือจางกรดไนตริก (ข้อ 2.3.3) 70 มิลลิลิตรในน้ำปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

2.3.5 แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (1 +1) โดยปริมาตร

2.3.6 เมทิลเรดอินดิเคเตอร์
ละลายเมทิลเรด 0.2 กรัม ในเอทานอลร้อยละ 95 (โดยปริมาตร) 100 มิลลิลิตร

2.3.7 โซเดียมคลอไรด์

2.3.8 สารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว
ชั่งโซเดียมคลอไรด์ (ข้อ 2.3.7) ประมาณ 50 กรัม ละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร คนจนได้สารละลายอิ่มตัว

2.3.9 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5–3.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร
ชั่งโซเดียมคลอไรด์ (ข้อ 2.3.7) 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 และ 3.5 กรัม ใส่ขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จำนวน 7 ขวด ตามลำดับ เติมน้ำแล้วเขย่าจนโซเดียมคลอไรด์ละลายหมด เติมน้ำจนถึงขีดปริมาตร

2.3.10 สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต ความเข้มข้นประมาณ 0.1 นอร์มอล
ชั่งซิลเวอร์ไนเตรต 1.7 กรัม ละลายในน้ำแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

2.3.11 สารละลายมาตรฐานเหล็ก (iron standard solution) 1000 มิลลิกรัมต่อลิตรของ Merck

2.3.12 สารละลายมาตรฐานเหล็ก 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
ปิเปตสารละลายมาตรฐานเหล็ก (ข้อ 2.3.11) 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริก (ข้อ 2.3.2) 20 มิลลิลิตร เติมน้ำจนถึงขีดปริมาตร

2.3.13 สารละลายมาตรฐานเหล็ก 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ปิเปตสารละลายมาตรฐานเหล็ก (ข้อ 2.3.12) 2, 4, 6, 8 และ 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวด ปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จำนวน 5 ขวดตามลำดับ เติมกรดไฮโดรคลอริก (ข้อ 2.3.2) 20 มิลลิลิตร เติมน้ำจนถึงขีดปริมาตร

2.3.14 สารละลายแบลงค์
ปิเปตกรดไฮโดรคลอริก (ข้อ 2.3.2) 20 มิลลิลิตร ใส่ขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำจนถึงขีดปริมาตร

## 2.4 วิธีเตรียมตัวอย่าง

2.4.1 ชั่งตัวอย่างน้ำปลาให้ได้น้ำหนักแน่นอน 30 กรัม ใส่ถ้วย vycor (ข้อ 2.2.3) ระเหยบนเครื่องอังไอน้ำจนแห้ง แล้วนำไปให้ความร้อนต่อบนแท่นความร้อนจนตัวอย่างหมดควัน นำเข้าเตาเผาที่อุณหภูมิ $500 \pm 25^{\circ}$ ซ นาน 4 ชั่วโมง จนเถ้าขาวหรือสีเทา

2.4.2 เติมสารละลายกรดไนตริก (ข้อ 2.3.4) 20 มิลลิลิตร ตั้งบนแท่นความร้อนจนเกือบเดือด กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง (ข้อ 2.2.8) ลงในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ล้างกระดาษกรองด้วยน้ำร้อนครั้งละ 10 มิลลิลิตร จำนวน 4–5 ครั้ง ตั้งวางทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วเติมน้ำจนถึงขีดปริมาตร

2.4.3 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง (ข้อ 2.4.2) 50 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมกรดไนตริก (ข้อ 2.3.3) 1 มิลลิลิตร

2.4.4 ต้มให้เดือดบนแท่นความร้อน นาน 3 นาที ยกขึ้นแล้วตั้งไว้จนสารละลายตัวอย่างมีอุณหภูมิประมาณ 50° ซ หยดเมทิลเรดอินดิเคเตอร์ 3 หยด เติมสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ข้อ 2.3.5) ทีละหยด จนสารละลายเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง แล้วเติมมากเกินพออีก 1 มิลลิลิตร ตะกอนเฟอร์ริกไฮดรอกไซด์เกิดขึ้นนำไปต้มให้เดือดอีก 3 นาที วางทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง

2.4.5 กรองตะกอนด้วยกระดาษกรอง (ข้อ 2.2.8) ล้างตะกอนด้วยน้ำร้อนจนหมดคลอไรด์ [ทดสอบโดยใช้สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต (ข้อ 2.3.10) จะต้องไม่มีตะกอนขาวของซิลเวอร์คลอไรด์เกิดขึ้น]

2.4.6 ละลายตะกอนเฟอร์ริกไฮดรอกไซด์ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (ข้อ 2.3.2) 10 มิลลิลิตร ที่ร้อนลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ล้างกระดาษกรองด้วยน้ำร้อนครั้งละ 5 มิลลิลิตร จำนวน 10 ครั้ง

2.4.7 ระเหยสารละลาย (ข้อ 2.4.6) บนแท่นความร้อน เพื่อทำให้สารละลายตัวอย่างเหลือประมาณ 25 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เมื่อสารละลายเย็นถึงอุณหภูมิห้อง แล้วเติมน้ำจนถึงขีดปริมาตรใช้เป็นสารละลายสำหรับนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเหล็ก

2.4.8 เตรียมสารละลายแบลงค์ จำนวน 3 ขวด โดยปิเปตสารละลายกรดไนตริก (ข้อ 2.3.4) ใส่ในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จำนวน 3 ใบ ใบละ 20 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำจนถึงขีดปริมาตร ปิเปตสารละลายที่ได้มา 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 3 ใบ ตามลำดับ เติมกรดไนตริก (ข้อ 2.3.3) 1 มิลลิลิตร แล้วทำตามข้อ 2.4.4–2.4.7

## 2.5 วิธีดำเนินการทดลอง

2.5.1 ศึกษาปริมาณสูงสุดของโซเดียมคลอไรด์ที่รบกวนต่อการวิเคราะห์ โดยใช้เหล็กที่มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 และ 3.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

2.5.1.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานเหล็ก (ข้อ 2.3.12) ลงในขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ขวดละ 2 มิลลิลิตร จำนวน 8 ใบ ขวดที่ 1 เติมน้ำจนถึงขีดปริมาตร ขวดที่ 2 ถึง 8 เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (ข้อ 2.3.9) ตามลำดับ แล้วเติมน้ำจนถึงขีดปริมาตร

2.5.1.2 สารละลายแบลงค์เป็นน้ำ

2.5.2 ศึกษาการลดสิ่งที่รบกวนของโซเดียมคลอไรด์ โดยใช้เหล็กที่มีความเข้มข้น 2.0, 6.0, 8.0 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว

2.5.2.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานเหล็ก (ข้อ 2.3.12) 1, 3 และ 4 มิลลิลิตรลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 8 ใบ เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว (ข้อ 2.3.8) 50 มิลลิลิตร เติมกรดไนตริก (ข้อ 2.3.3) 1 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วทำตามข้อ 2.4.4–2.4.7 ได้สารละลายเหล็กความเข้มข้น 2.0, 6.0 และ 8.0 มิลลิลิตรต่อลิตร

2.5.2.2 เตรียมสารละลายแบลงค์ ปิเปตสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว 50 มิลลิลิตร ลงในบิกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมกรดไนตริก (ข้อ 2.3.3) 1 มิลลิลิตร แล้วทำตามข้อ 2.4.4–2.4.7

2.5.3 ศึกษาค่าความถูกต้อง (accuracy) และค่าความแม่นยำ (precision) โดยการเติมเหล็กความเข้มข้น 2.0, 4.0 และ 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตรในตัวอย่างน้ำปลา 3 ตัวอย่างความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ และวัดค่าความดูดกลืนแสง 10 ซ้ำ

2.5.3.1 ชั่งตัวอย่างน้ำปลาให้ได้น้ำหนักแน่นอน 15 กรัมลงในถ้วย vycor ปิเปตสารละลายมาตรฐานเหล็ก (ข้อ 2.3.12) 1, 2 และ 3 มิลลิลิตรลงในตัวอย่างน้ำปลาความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ ตามลำดับ แล้วระเหยแห้งบนเครื่องอังไอน้ำจนแห้ง แล้วนำไปให้ความร้อนต่อบนแท่นความร้อนจนตัวอย่างหมดควัน นำเข้าเตาเผาที่อุณหภูมิ 500 $\pm$ 25$^{\circ}$ซ นาน 4 ชั่วโมง จนเถ้าขาวหรือสีเทา

2.5.3.2 เติมสารละลายกรดไนตริก (ข้อ 2.3.4) 10 มิลลิลิตร ตั้งบนแท่นความร้อนจนเกือบเดือด กรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง (ข้อ 2.2.8) ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ล้างกระดาษกรองด้วยน้ำร้อน ครั้งละ 10 มิลลิลิตร จำนวน 4-5 ครั้ง ตั้งวางทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง เติมกรดไนตริก (ข้อ 2.3.3) 1 มิลลิลิตร แล้วทำตามข้อ 2.4.4–2.4.7 จะได้สารละลายตัวอย่างเหล็กความเข้มข้น 2.0, 4.0, และ 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

2.5.3.3 สารละลายแบลงค์ทำเหมือนข้อ 2.4.8

2.5.4 ศึกษาค่าต่ำสุดของวิธีที่ตรวจวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก โดยการวัดค่าความดูดกลืนแสงของสารละลายแบลงค์ (ข้อ 2.4.8) แล้วคำนวณหาค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่า 10 SD จะได้ค่าต่ำสุดของวิธีที่ตรวจวิเคราะห์เท่ากับ $\bar{X}+10\ SD$[8]

## 2.6 วิธีทดลอง

2.6.1 เครื่อง (ข้อ 2.2.1) ใส่หลอดกำเนิดแสง hollow cathode lamp ปรับที่ wavelength 248.3 nm, slit width 0.2 nm

2.6.2 นำสารละลายแบลงค์ (ข้อ 2.3.14) ปรับค่าความดูดกลืนแสงเท่ากับศูนย์

2.6.3 วัดค่าความดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเหล็ก (ข้อ 2.3.13) โดยทำซ้ำ 6 ซ้ำทุกความเข้มข้นด้วยเครื่อง Flame Atomic Absorption Spectrophotometer แล้วสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าความดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

2.6.4 นำสารละลายข้อ 2.5.1.2 ปรับค่าความดูดกลืนแสงเท่ากับศูนย์

2.6.5 นำสารละลายข้อ 2.5.1.1 วัดค่าความดูดกลืนแสง เครื่องจะประมวลผลออกมาในรูปความเข้มข้นมิลลิกรัมต่อลิตร ทำการวัดซ้ำ 10 ซ้ำ

2.6.6 นำสารละลายแบลงค์ข้อ 2.5.2.2 ปรับค่าความดูดกลืนเท่ากับศูนย์

2.6.7 นำสารละลายข้อ 2.5.2.1 วัดค่าความดูดกลืนแสง เครื่องจะประมวลผลออกมาในรูปความเข้มข้นมิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ทำการวัดซ้ำ 6 ซ้ำ

2.6.8 นำสารละลายแบลงค์ข้อ 2.5.3.3 ปรับค่าความดูดกลืนแสงเท่ากับศูนย์

2.6.9 นำสารละลายข้อ 2.5.3.2 วัดค่าความดูดกลืนแสง เครื่องจะประมวลผลออกมาในรูปความเข้มข้น มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการทดลองความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ ทำการวัดซ้ำ 10 ซ้ำ

2.6.10 นำสารละลายข้อ 2.4.8 ปรับค่าความดูดกลืนแสงเท่ากับศูนย์

2.6.11 นำสารละลายข้อ 2.4.7 วัดค่าความดูดกลืนแสง เครื่องจะประมวลผลออกมาในรูปความเข้มข้น มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการวัดซ้ำ 6 ซ้ำ

2.6.12 นำน้ำ ปรับค่าความดูดกลืนแสงเท่ากับศูนย์

2.6.13 นำสารละลายข้อ 2.4.8 วัดค่าความดูดกลืนแสง เครื่องจะประมวลผลออกมาในรูปความเข้มข้นมิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการวัดซ้ำ 10 ซ้ำ

2.6.14 สูตรการคำนวณ

$$\text{เหล็ก (ไมโครกรัมต่อกรัม)} = \frac{D \times A}{W}$$

$$\text{เหล็ก (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)} = \frac{D \times A}{10\ W}$$

D = อัตราการเจือจาง

A = ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่วัดได้ของสารละลาย

W = น้ำหนักของตัวอย่างเป็นกรัม

## 3. ผลการทดลอง

3.1 ผลการทดลองปริมาณเหล็ก 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0–1.0 ได้ค่า %RSD 0.67–1.95 และร้อยละ 1.5–2.5 ได้ค่า %RSD 3.95–61.99 (ตารางที่ 1 และกราฟรูปที่ 7)

3.2 ศึกษาการลดสิ่งที่รบกวน คือโซเดียมคลอไรด์ โดยการเติมปริมาณเหล็กความเข้มข้น 2.0, 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัวแล้วลดปริมาณโซเดียมคลอไรด์ให้เหลือน้อยที่สุดโดยการตกตะกอน ละลายตะกอนเฟ่อร์ริกไฮดรอกไซด์ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (1+3) พบว่าปริมาณเหล็กที่วัดได้ %recovery อยู่ในช่วง 100.3–116.1 และ %RSD อยู่ในช่วง 0.17-0.58 (ตารางที่ 2)

3.3 ศึกษาค่าความถูกต้อง (accuracy) โดยการเติมสารละลายมาตรฐานเหล็กความเข้มข้น 2.0, 4.0 และ 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตรในตัวอย่างน้ำปลาความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ ทำการวัดซ้ำ 10 ซ้ำ พบว่า %recovery อยู่ในช่วง 103.9–108.7 (ตารางที่ 3)

3.4 ศึกษาค่าความแม่นยำ (precision) โดยการเติมสารละลายมาตรฐานเหล็กความเข้มข้น 2.0, 4.0 และ 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในตัวอย่างน้ำปลาความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ ทำการวัดซ้ำ 10 ซ้ำ พบว่า %RSD อยู่ในช่วง 0.55–1.84 (ตารางที่ 4)

3.5 ได้ค่าต่ำสุดที่ตรวจวิเคราะห์เหล็กได้เท่ากับ 0.166 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 5)

3.6 ตัวอย่างน้ำปลา 16 ตัวอย่าง พบว่ามีปริมาณเหล็กตั้งแต่ 1.0–3.06 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (ตารางที่ 6) และได้คำนวณปริมาณเหล็กในตัวอย่างน้ำปลาต่อหนึ่งหน่วยบริโภค (ตารางที่ 7)

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

# 4. วิจารณ์

4.1 การตกตะกอนเฟอร์ริกไฮดรอกไซด์ควรจะหยดสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (1+1) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้ตกตะกอนไปอย่างช้า ๆ พร้อมทั้งคนสารละลายผสมอย่างสม่ำเสมอ และบิกเกอร์ที่นำมาใช้ไม่ควรมีรอยขูดขีด เพราะจะทำให้ตะกอนเข้าไปอยู่ในรอยขูดขีดเป็นสาเหตุทำให้ถ่ายตะกอนได้ไม่หมด นอกจากนี้การตกตะกอนไม่ควรกรองตะกอนทันที จะต้องทิ้งสารละลายไว้ระยะหนึ่งเพื่อปล่อยให้ของแข็งของตะกอนอยู่ในสมดุลกับสารละลายที่เหลือหลังจากการตกตะกอน และมวลอนุภาคของตะกอนที่มีขนาดเล็กจะลดน้อยลง โดยการละลายลงไปสู่สารละลายแล้วกลับไปตกตะกอนลงในอนุภาคที่ใหญ่กว่า ซึ่งเป็นการลดพื้นที่ผิวของตะกอน ทำให้ลดการปนเปื้อนบนตะกอนลงได้ ดังนั้นหลังจากตกตะกอนเรียบร้อยแล้ว ปิดบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา แล้วทิ้งตะกอนให้อยู่ในสมดุลกับสารละลายชั่วระยะเวลาหนึ่ง การกรองตะกอนของเฟอร์ริกไฮดรอกไซด์ก็มีความสำคัญมาก ถ้าเกิดผิดพลาดในการกรองตะกอน จะเป็นผลให้ปริมาณเหล็กที่วิเคราะห์ได้มีค่าผิดพลาด

4.2 โซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นมากอยู่ในสารละลายที่จะทดลอง จะทำให้เกิดการกระเจิงของแสงขณะมีละอองฝอยเกิดอยู่ในอะตอมเซลล์ สังเกตได้จากปริมาณเหล็ก 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0–2.5 พบว่าปริมาณที่วัดได้ 0.761–2.001 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงว่าสารละลายตัวอย่างที่มีโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นมากเป็นสิ่งที่รบกวน และโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 3.0 และ 3.5 ไม่สามารถวัดค่าความดูดกลืนแสงได้ เนื่องจาก nebulizer อุดตันไม่สามารถดูดสารละลายได้ ซึ่งต้องถอด nebulizer และ burner มาล้างก่อนที่จะทำการทดลองครั้งต่อไป

4.3 การทดลองวิธีนี้สามารถลดปริมาณของโซเดียมคลอไรด์ที่มารบกวนได้ ปริมาณเหล็กที่เติมมีความเข้มข้น 2.0, 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว พบว่าปริมาณเหล็กที่วัดได้มี %recovery อยู่ระหว่าง 100.3–116.1 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ[6] 80–120% และ %RSD 0.17-0.58 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ไม่เกินร้อยละ 2

4.4 เมื่อเติมสารละลายมาตรฐานเหล็กความเข้มข้น 2.0, 4.0 และ 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในตัวอย่างน้ำปลา ได้%recovery อยู่ระหว่าง 103.9–108.7 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ[6] 80–120% แสดงว่าวิธีการทดลองนี้มีค่าความถูกต้อง (accuracy) อยู่ในเกณฑ์ดีและค่าต่ำสุดที่ตรวจวิเคราะห์ได้เท่ากับ 0.166 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.5 การทดลองค่าความแม่นยำ (precision) โดยการเติมสารละลายมาตรฐานเหล็กความเข้มข้น 2.0, 4.0 และ 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในตัวอย่างน้ำปลาพบว่า %RSD อยู่ในช่วง 0.55–1.84 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ[6] ไม่เกินร้อยละ 2

4.6 ทดลองตัวอย่างน้ำปลา 16 ตัวอย่าง พบว่ามีปริมาณเหล็กตั้งแต่ 1.0–3.06 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม

# 5. สรุป

ผลการทดลองพบว่าโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นมากเป็นสิ่งที่รบกวนในการวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กโดยวิธี Atomic Absorption Spectroscopy และโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 1 เป็นสิ่งที่รบกวนและลดปริมาณได้โดยวิธีตกตะกอนแล้วละลายตะกอนเฟอร์ริกไฮดรอกไซด์ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (1+3) ได้สารละลายที่ไม่มี matrix เป็นโซเดียมคลอไรด์และวัดหาค่าปริมาณเหล็ก ผลการทดลองพบว่าค่าต่ำสุดที่ตรวจวิเคราะห์เหล็กได้เท่ากับ 0.166 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณเหล็กที่วัดได้ %recovery อยู่ในช่วง 100.3–116.1 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ[6] 80–120% และ %RSD อยู่ในช่วง 0.17–0.58 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ[6] ไม่เกินร้อยละ 2 ได้ศึกษาค่าความถูกต้อง (accuracy) และค่าความแม่นยำ (precision) โดยการเติมสารละลายมาตรฐานเหล็กลงในตัวอย่าง ได้ %recovery อยู่ในช่วง 103.9–108.7 และ %RSD อยู่ในช่วง 0.55–1.84 จึงได้นำวิธีนี้ไปวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำปลา 16 ตัวอย่าง วิเคราะห์หาปริมาณเหล็กพบว่ามีค่าตั้งแต่ 1.0–3.06 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม

ผลการทดลองตารางที่ 7 แสดงให้เห็นว่าใช้น้ำปลาปรุงรสอาหารหนึ่งช้อนโต๊ะมีค่าปริมาณเหล็กตั้งแต่ 0.18–0.56 มิลลิกรัม และร้อยละของปริมาณสารอาหารที่แนะนำใช้บริโภคต่อวัน (%Thai RDI) พบว่าปริมาณเหล็กอยู่ในช่วง 1–4

# 6. เอกสารอ้างอิง


1. โสภา จิระวงศ์อร่าม. 2534 Atomic Absorption Spectrophotometer ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หน้า 87–89.

2. ศุภชัย ใช้เทียมวงศ์. 2539 ปฏิบัติการเคมีปริมาณวิเคราะห์ พิมพ์ครั้งที่ 5 กรุงเทพฯ สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หน้า 89–90.

3. แม้น อมรสิทธิ และ อมร เพชรสม. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หน้า 322–364.

4. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำปลาพื้นเมือง มอก.3-2526.

5. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2541 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 182 เรื่องฉลากโภชนาการ.

6. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข หนังสือคู่มือเชิงปฏิบัติการ 10–13 มีนาคม 2541 AAS Technique for Food Analysis.

7. The JAPAN Tobacco & Salt Public Corporation (1982) JTS METHODS FOR SALT ANALYSIS, p 87–88.

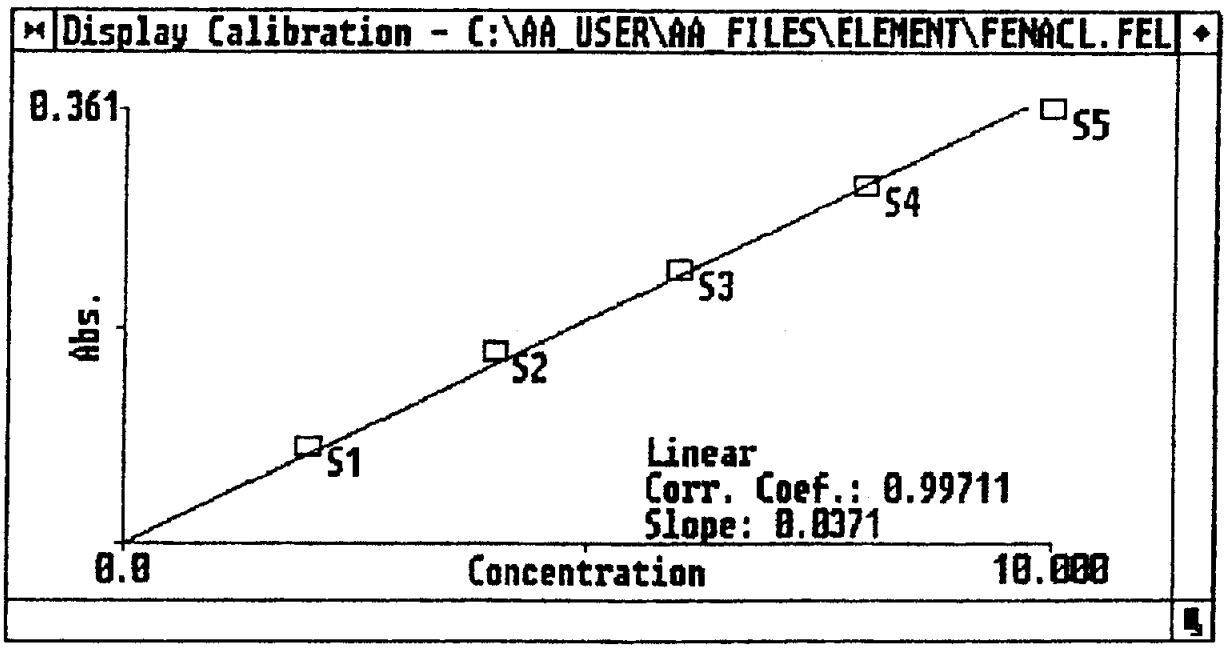
8. Eurachem Working Group. The fitness for purpose of analytical methods. UK : Eurachem, 1998.

## 7. กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ คุณสุจินต์ ศรีคงศรี ผู้อำนวยการกอง กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ และคุณสุนทรี เปรื่องการ หัวหน้ากลุ่มงานชีวเคมี ที่กรุณาให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์และขอขอบคุณทุกท่านในกลุ่มงานที่มีส่วนร่วมในการช่วยให้ผลงานสำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

❑

# ภาคผนวก

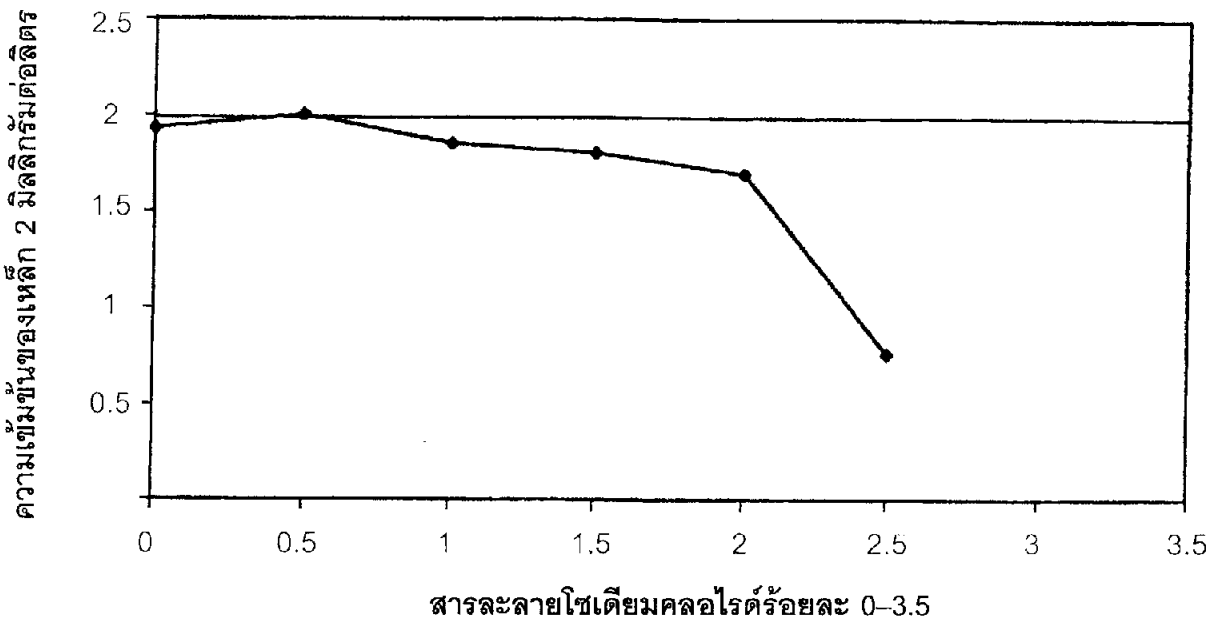



*<u>รูปที่ 6</u>* *แสดงกราฟมาตรฐานความเข้มข้นเหล็ก 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร*

**ตารางที่ 1** แสดงผลการทดลองปริมาณเหล็ก 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0 – 3.5

| ลำดับที่ | ปริมาณเหล็ก 2 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 % | 0.5 % | 1.0 % | 1.5 % | 2.0 % | 2.5 % | 3.0 % | 3.5 % |
| 1 | 1.951 | 1.990 | 1.921 | 1.895 | 1.856 | 1.329 | – | – |
| 2 | 1.929 | 2.018 | 1.857 | 1.866 | 1.815 | 1.309 | – | – |
| 3 | 1.959 | 2.021 | 1.865 | 1.799 | 1.754 | 1.276 | – | – |
| 4 | 1.936 | 2.019 | 1.895 | 1.803 | 1.767 | 1.042 | – | – |
| 5 | 1.942 | 2.025 | 1.844 | 1.764 | 1.759 | 0.828 | – | – |
| 6 | 1.923 | 1.967 | 1.828 | 1.715 | 1.701 | 0.746 | – | – |
| 7 | 1.924 | 2.027 | 1.870 | 1.683 | 1.693 | 0.435 | – | – |
| 8 | 1.915 | 1.998 | 1.810 | 1.800 | 1.595 | 0.348 | – | – |
| 9 | 1.931 | 1.976 | 1.830 | 1.872 | 1.484 | 0.223 | – | – |
| 10 | 1.945 | 1.965 | 1.810 | 1.874 | 1.518 | 0.078 | – | – |
| $\bar{X}$ | 1.935 | 2.001 | 1.853 | 1.807 | 1.695 | 0.761 | | |
| SD | 0.0129 | 0.0246 | 0.0361 | 0.0713 | 0.1234 | 0.4720 | | |
| %RSD | 0.67 | 1.23 | 1.95 | 3.95 | 7.28 | 61.99 | | |
| %recovery | 92.65 | 99.95 | 92.95 | 90.35 | 84.75 | 38.05 | | |

**หมายเหตุ** สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 3.0 และ 3.5 ไม่สามารถวัดค่าได้ เนื่องจาก nubulizer อุดตัน




*<u>รูปที่ 7</u> กราฟแสดงผลการทดลองปริมาณเหล็ก 2 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0–3.5*

**ตารางที่ 2** แสดงผลการทดลองปริมาณเหล็ก 2.0, 6.0 และ 8.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากลดสิ่งที่รบกวน

| ลำดับที่ | replicate | ปริมาณเหล็กที่วัดได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร) | SD | %RSD | %recovery |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 6 | 2.047 | 0.0119 | 0.58 | 102.4 |
| 2 | 6 | 2.322 | 0.0108 | 0.46 | 116.1 |
| 3 | 6 | 2.027 | 0.0102 | 0.50 | 101.4 |
| 4 | 6 | 6.386 | 0.0112 | 0.17 | 106.4 |
| 5 | 6 | 6.330 | 0.0196 | 0.31 | 105.5 |
| 6 | 6 | 6.264 | 0.0163 | 0.26 | 104.4 |
| 7 | 6 | 8.024 | 0.0276 | 0.34 | 100.3 |
| 8 | 6 | 8.294 | 0.0210 | 0.25 | 103.7 |
| 9 | 6 | 8.023 | 0.0200 | 0.26 | 102.5 |

Mean = $\bar{X} = \frac{\sum X}{N}$

$SD = \sqrt{\frac{\sum(X-\bar{X})^2}{n-1}}$

$\%RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$

$\%Recovery = \frac{100 \times (C_S - C_A)}{C_A^*}$

$C_S$ = ค่าความเข้มข้นของ Spike ตัวอย่าง

$C_A$ = ค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง

$C_A^*$ = ค่าความเข้มข้นของสารละลายเหล็กที่เติมลงในตัวอย่าง

$\bar{X}$ = ค่าเฉลี่ย

**ตารางที่ 3** แสดงการศึกษาค่าความถูกต้อง (accuracy)

| ลำดับที่ | replicate | ตัวอย่างน้ำปลา | ปริมาณเหล็กที่เติมในตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร) | ปริมาณเหล็กที่วัดได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร) | %recovery |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 | TV.761 | 2.00 | 2.24 | 106.7 |
| 2 | 10 | TV.761 | 2.00 | 2.172 | 108.6 |
| 3 | 10 | TV.761 | 2.00 | 2.175 | 108.7 |
| 4 | 10 | TV.765 | 2.00 | 2.169 | 108.4 |
| 5 | 10 | TV.765 | 2.00 | 2.123 | 106.1 |
| 6 | 10 | TV.765 | 2.00 | 2.141 | 107.0 |
| 7 | 10 | TT.761 | 4.00 | 4.288 | 107.2 |
| 8 | 10 | TT.761 | 4.00 | 4.296 | 107.4 |
| 9 | 10 | TT.761 | 4.00 | 4.336 | 108.4 |
| 10 | 10 | TT.762 | 4.00 | 4.236 | 105.9 |
| 11 | 10 | TT.762 | 4.00 | 4.220 | 105.5 |
| 12 | 10 | TT.762 | 4.00 | 4.252 | 106.3 |
| 13 | 10 | TZ.831 | 6.00 | 6.318 | 105.3 |
| 14 | 10 | TZ.831 | 6.00 | 6.330 | 105.5 |
| 15 | 10 | TZ.831 | 6.00 | 6.288 | 104.8 |
| 16 | 10 | UC.5 | 6.00 | 6.303 | 105.1 |
| 17 | 10 | UC.5 | 6.00 | 6.234 | 103.9 |
| 18 | 10 | UC.5 | 6.00 | 6.270 | 104.5 |

**ตารางที่ 4** แสดงการศึกษาค่าความแม่นยำ (precision)

| ลำดับที่ | replicate | หมายเลขปฏิบัติการ | ความเข้มข้นของเหล็กที่เติมในตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร) | ปริมาณเหล็กที่วัดได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 | TV.761 | 2.00 | 2.24 |
| 2 | 10 | TV.761 | 2.00 | 2.172 |
| 3 | 10 | TV.761 | 2.00 | 2.175 |
| 4 | 10 | TV.765 | 2.00 | 2.169 |
| 5 | 10 | TV.765 | 2.00 | 2.123 |
| 6 | 10 | TV.765 | 2.00 | 2.141 |
| $\bar{X}$ | | | | 2.17000 |
| %RSD | | | | 1.84 |
| 1 | 10 | TT.761 | 4.00 | 4.288 |
| 2 | 10 | TT.761 | 4.00 | 4.296 |
| 3 | 10 | TT.761 | 4.00 | 4.336 |
| 4 | 10 | TT.762 | 4.00 | 4.236 |
| 5 | 10 | TT.762 | 4.00 | 4.220 |
| 6 | 10 | TT.762 | 4.00 | 4.252 |
| $\bar{X}$ | | | | 4.27133 |
| %RSD | | | | 1.01 |
| 1 | 10 | TZ.831 | 6.00 | 6.318 |
| 2 | 10 | TZ.831 | 6.00 | 6.330 |
| 3 | 10 | TZ.831 | 6.00 | 6.288 |
| 4 | 10 | UC.5 | 6.00 | 6.303 |
| 5 | 10 | UC.5 | 6.00 | 6.234 |
| 6 | 10 | UC.5 | 6.00 | 6.270 |
| $\bar{X}$ | | | | 6.29050 |
| %RSD | | | | 0.55 |

**ตารางที่ 5** แสดงค่าต่ำสุดของวิธีตรวจวิเคราะห์เหล็กในตัวอย่างน้ำปลา

| ลำดับที่ | ค่าความดูดกลืนแสงของสารละลายแบลงค์ (Absorbance) | | | ความเข้มข้นของสารละลายแบลงค์ (มิลลิกรัมต่อลิตร) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ชุดที่ 1 | ชุดที่ 2 | ชุดที่ 3 | ชุดที่ 1 | ชุดที่ 2 | ชุดที่ 3 |
| 1 | 0.004 | 0.004 | 0.004 | 0.114 | 0.110 | 0.114 |
| 2 | 0.004 | 0.004 | 0.005 | 0.110 | 0.113 | 0.124 |
| 3 | 0.005 | 0.004 | 0.004 | 0.123 | 0.120 | 0.119 |
| 4 | 0.004 | 0.004 | 0.004 | 0.111 | 0.107 | 0.108 |
| 5 | 0.004 | 0.004 | 0.004 | 0.107 | 0.111 | 0.112 |
| 6 | 0.004 | 0.004 | 0.004 | 0.114 | 0.114 | 0.113 |
| 7 | 0.004 | 0.004 | 0.004 | 0.110 | 0.109 | 0.109 |
| 8 | 0.004 | 0.004 | 0.004 | 0.108 | 0.108 | 0.107 |
| 9 | 0.004 | 0.004 | 0.004 | 0.118 | 0.117 | 0.115 |
| 10 | 0.004 | 0.004 | 0.004 | 0.121 | 0.122 | 0.118 |
| $(\bar{X})$ | | | | 0.114 | 0.113 | 0.114 |
| SD | | | | 0.0055 | 0.0050 | 0.0050 |
| 10SD | | | | 0.055 | 0.050 | 0.050 |
| $\bar{X}_{เฉลี่ย}$ | | | | | | 0.114 |
| $10SD_{เฉลี่ย}$ | | | | | | 0.052 |
| $\bar{X}$+10SD | | | | | | 0.166 |

**ตารางที่ 6** แสดงผลการทดลองหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างน้ำปลา

| ลำดับที่ | Replicate | หมายเลขปฏิบัติการ | ปริมาณเหล็ก (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | ชุดที่ 1 | ชุดที่ 2 | ค่าเฉลี่ย |
| 1 | 6 | TT.759 | 1.77 | 1.78 | 1.77 |
| 2 | 6 | TT.760 | 0.99 | 1.01 | 1.0 |
| 3 | 6 | TT.761 | 1.99 | 1.88 | 1.94 |
| 4 | 6 | TT.762 | 2.14 | 2.05 | 2.10 |
| 5 | 6 | TT.763 | 1.85 | 1.71 | 1.78 |
| 6 | 6 | TT.766 | 0.97 | 1.05 | 1.01 |
| 7 | 6 | TU.980 | 1.28 | 1.21 | 1.25 |
| 8 | 6 | TV.10 | 1.93 | 1.90 | 1.92 |
| 9 | 6 | TV.327 | 1.63 | 1.58 | 1.76 |
| 10 | 6 | TV.761 | 2.12 | 2.18 | 2.15 |
| 11 | 6 | TV.765 | 2.07 | 2.10 | 2.12 |
| 12 | 6 | TV.859 | 3.07 | 3.05 | 3.06 |
| 13 | 6 | TZ.831 | 2.49 | 2.41 | 2.45 |
| 14 | 6 | UA.983 | 2.07 | 2.03 | 2.05 |
| 15 | 6 | UB.546 | 1.92 | 2.15 | 2.04 |
| 16 | 6 | UC.5 | 2.17 | 2.28 | 2.23 |

**ตารางที่ 7** ปริมาณเหล็กในตัวอย่างน้ำปลาต่อหนึ่งหน่วยบริโภค
(1 ช้อนโต๊ะ = 15 มิลลิลิตร = 18.3 กรัม)

| ลำดับที่ | หมายเลขปฏิบัติการ | ปริมาณเหล็ก (มิลลิกรัมต่อหนึ่งหน่วยบริโภค) | %Thai RDI |
|---|---|---|---|
| 1 | TT.759 | 0.32 | 2 |
| 2 | TT.760 | 0.19 | 1 |
| 3 | TT.761 | 0.36 | 2 |
| 4 | TT.762 | 0.38 | 3 |
| 5 | TT.763 | 0.33 | 2 |
| 6 | TT.766 | 0.18 | 1 |
| 7 | TU.980 | 0.23 | 2 |
| 8 | TV.10 | 0.35 | 2 |
| 9 | TV.327 | 0.32 | 2 |
| 10 | TV.761 | 0.39 | 3 |
| 11 | TV.765 | 0.39 | 3 |
| 12 | TV.859 | 0.56 | 4 |
| 13 | TZ.831 | 0.45 | 3 |
| 14 | UA.983 | 0.38 | 3 |
| 15 | UB.546 | 0.37 | 2 |
| 16 | UC.5 | 0.41 | 3 |

%Thai RDI : ร้อยละของปริมาณสารอาหารที่แนะนำใช้บริโภคต่อวัน คิดจากความต้องการพลังงานวันละ 2000 กิโลแคลอรี