

### บทที่ 3

## วิธีดำเนินการวิจัย

ในบทนี้จะกล่าวถึงวิธีการดำเนินการวิจัย ซึ่งประกอบด้วย อุปกรณ์ เครื่องมือ สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูล ขั้นตอนการดำเนินงาน วิธีการทดลอง ดังรายละเอียดต่อไปนี้

#### 1. แผนการวิจัย

แผนการวิจัยทั้งหมดดำเนินการที่อาคาร 11 ชั้น 6 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต

#### 2. วัสดุและอุปกรณ์

- 2.1 ขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มล.
- 2.2 ขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มล.
- 2.3 บีกเกอร์ ขนาด 100 มล.
- 2.4 กระจกนาฬิกา
- 2.5 กระจกตวง ปริมาตร 50 มล.
- 2.6 บีเปตมีขีดบอกปริมาตร 1, 5 และ 10 มล.
- 2.7 กรวยแก้วก้านสั้น
- 2.8 กระจกทรง ขนาด 11 ซม.
- 2.9 เต้าไฟฟ้า 1500 วัตต์
- 2.10 หลอดหยด ยาว 10 ซม.
- 2.11 ลูกยางบีเปต
- 2.12 เครื่องวิเคราะห์ธาตุโลหะหนักชนิด Flame Ionization Detection ยี่ห้อ Avanta
- 2.13 แท่งแก้วคนสาร
- 2.14 ขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มล.
- 2.15 ขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มล.
- 2.16 บีกเกอร์ ขนาด 100 มล.
- 2.17 กระจกนาฬิกา
- 2.18 กระจกตวง ปริมาตร 50 มล.
- 2.19 บีเปตมีขีดบอกปริมาตร 1, 5 และ 10 มล.

2.20 กรวยแก้วก้านสั้น

2.21 กระจกทรง ขนาด 11 ซม.

2.22 หลอดหยด ยาว 10 ซม.

2.23 ลูกยางบีบเปิด

2.24 แท่งแก้วคนสาร

2.25 เครื่องวิเคราะห์ด้วยแสงฟลูออเรสเซนซ์ (Spectrofluorophotometer) ยี่ห้อ

Shimadshu รุ่น RF 5301 PC

### 3. สารเคมี

3.1 กรดไนตริก

3.2 สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม

3.3 น้ำกลั่น

3.4 สารละลายมาตรฐานวิตามินบี 12

3.5 น้ำกลั่น



ภาพที่ 15 เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS)



ภาพที่ 16 เครื่อง Spectrofluorophotometer (RF)



ภาพที่ 17 ชุดกรวยกรอง

#### 4. วิธีดำเนินการทดลอง

##### การเตรียมตัวอย่างน้ำนมแพะ

4.1 นำตัวอย่างน้ำนมแพะที่จะนำมาวิเคราะห์ โดยเป็นน้ำนมแพะที่มีขายกันตามท้องตลาด ยี่ห้อศิริชัย มาจำนวน 500 มิลลิลิตร

4.2 การเตรียมตัวอย่างนมแพะ เพื่อวิเคราะห์ปริมาณธาตุโพแทสเซียม โดยนำตัวอย่างน้ำนมแพะที่ได้ในข้อ 3.4.1 มาใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 10 บีกเกอร์ เพื่อทำการย่อยสกัดธาตุโพแทสเซียม โดยผ่านความร้อนจากเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 40 - 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

4.3 นำตัวอย่างน้ำนมแพะที่ผ่านการย่อยเพื่อสกัดธาตุโพแทสเซียมมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

4.4 จากนั้นนำตัวอย่างน้ำนมที่ได้ในข้อ 4.3 มาผ่านการกรองโดยชุดกรอง เพื่อกรองสิ่งสกปรกและอนุพันธ์ที่ไม่ย่อยของตัวอย่างน้ำนมแพะ แล้วบรรจุลงในขวดวัดปริมาตร 50 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

4.5 การเตรียมตัวอย่างนมแพะ เพื่อวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 12 โดยนำตัวอย่างน้ำนมแพะที่ได้ในข้อ 4.1 มาใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 10 บีกเกอร์ มาผ่านการกรองโดยชุดกรอง เพื่อกรองสิ่งสกปรกและอนุพันธ์ที่ไม่ย่อยของตัวอย่างน้ำนมแพะ แล้วบรรจุลงในขวดวัดปริมาตร 50 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

##### การวิเคราะห์ปริมาณธาตุโพแทสเซียมในตัวอย่างน้ำนมแพะ

4.6 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำนมแพะจะแบ่งออกเป็น 2 พารามิเตอร์ คือการหาปริมาณธาตุโพแทสเซียม และปริมาณวิตามินบี 12

4.7 ทำการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุโพแทสเซียมในตัวอย่างน้ำนมแพะเป็นอันดับแรกโดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานธาตุโพแทสเซียมที่มีความเข้มข้น 0.05 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm

4.8 นำสารละลายมาตรฐานธาตุโพแทสเซียมที่ได้ในข้อ 4.7 มาทำกราฟมาตรฐานโดยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer โดยใช้เทคนิค Flame Ionization Detection

4.9 นำตัวอย่างน้ำนมแพะที่เตรียมไว้ในข้อ 4.4 มาทำการวิเคราะห์ทีละตัวอย่าง โดยวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ จนครบ 10 ตัวอย่าง

4.10 ทำการรวบรวมและสรุปผลการวิเคราะห์โดยวิธีทางสถิติ

### การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 12 ในตัวอย่างน้ำนมแพะ

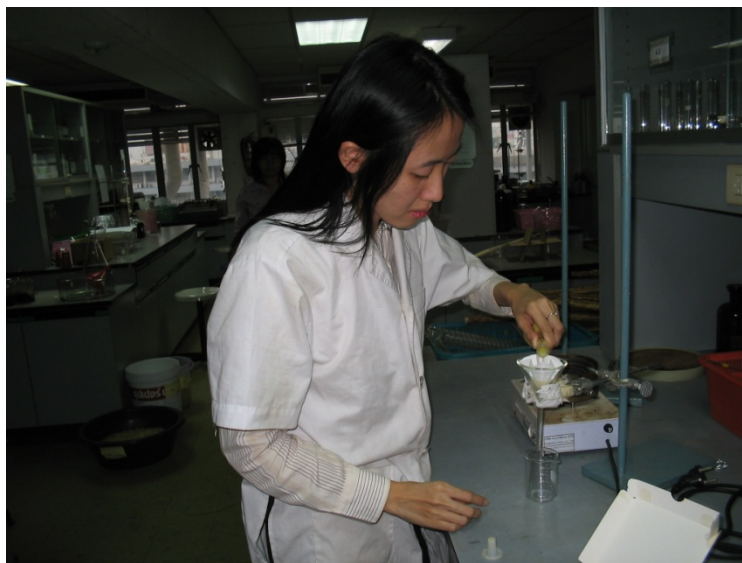
- 4.11 การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี 12 ในตัวอย่างน้ำนมแพะ
- 4.12 เตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 12 ที่มีความเข้มข้น 0.0001 ppm, 0.001 ppm, 0.003 ppm, 0.005 ppm และ 0.007 ppm
- 4.13 นำสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 12 ดังกล่าวมาทำกราฟมาตรฐานโดยเครื่อง Spectrofluorophotometer โดยใช้เทคนิค fluorophoto method
- 4.14 ทำการรวบรวมและสรุปผลการวิเคราะห์โดยวิธีทางสถิติ

### ระยะที่ 2

- 4.15 นำตัวอย่างน้ำนมแพะที่เหลือจากข้อ 3.4.1 มาเติมวิตามินบี 12 และธาตุโพแทสเซียม
- 4.16 ดำเนินการตามข้อ 4.2 ถึง 4.5 อีกครั้งหนึ่ง
- 4.17 การเติมคุณค่าทางโภชนาการตัวอย่างน้ำนมแพะจะแบ่งออกเป็น 2 พารามิเตอร์ คือ การหาปริมาณธาตุโพแทสเซียม และปริมาณวิตามินบี 12
- 4.18 วิตามินบี 12 ที่ใช้เตรียมได้ จากการสังเคราะห์โดยจุลินทรีย์ *Bacillus megaterium* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจะเติมวิตามินบี 12 ลงไปในน้ำนมแพะให้ได้ค่าความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (เติมวิตามินบี 12 จำนวน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อ น้ำนมแพะ 50 มิลลิลิตร)
- 4.19 ทำการเติมธาตุโพแทสเซียมเกรดอาหารลงไปในน้ำนมแพะให้ได้ค่าความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตร เจือจางน้ำนมแพะ 10 เท่า (เติมธาตุโพแทสเซียม 0.025 มิลลิกรัมต่อลิตรต่อ น้ำนมแพะ 50 มิลลิลิตร )
- 4.20 ทำการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุโพแทสเซียมที่เติมในตัวอย่างน้ำนมแพะโดยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer โดยใช้เทคนิค Flame Ionization Detection
- 4.21 เตรียมสารละลายมาตรฐานธาตุโพแทสเซียมที่มีความเข้มข้น 0.1 ppm, 0.5 ppm, 1 ppm, และ 2 ppm
- 4.22 นำตัวอย่างน้ำนมแพะที่เตรียมไว้ในข้อ 4.19 มาทำการวิเคราะห์ที่ละตัวอย่าง โดยวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ จนครบ 10 ตัวอย่าง
- 4.23 ลำดับต่อมา ทำการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี 12 ในตัวอย่างน้ำนม
- 4.24 เตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 12 ที่มีความเข้มข้น 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm และ 20 ppm

4.25 นำสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 12 ดังกล่าวมาทำกราฟมาตรฐานโดยเครื่อง Spectrofluorophotometer โดยใช้เทคนิค fluorophoto method

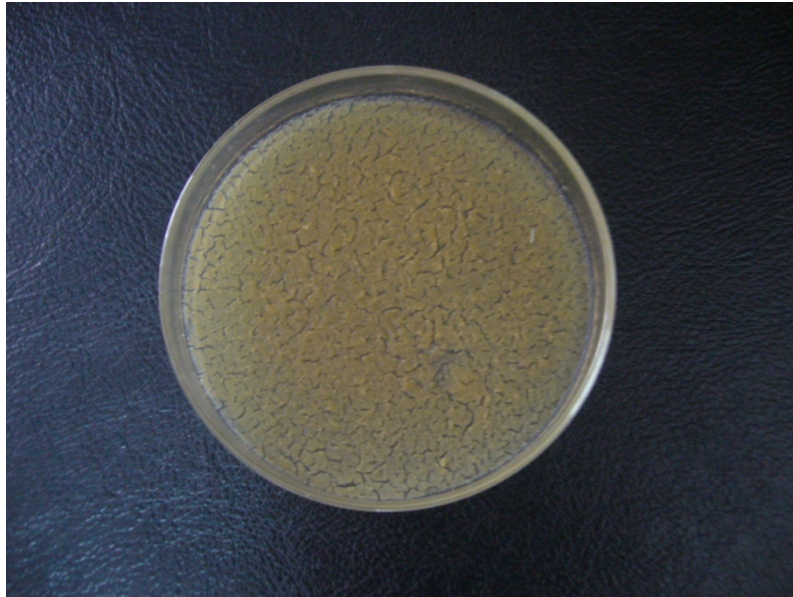
4.26 ทำการรวบรวมและสรุปผลการวิเคราะห์โดยวิธีทางสถิติ



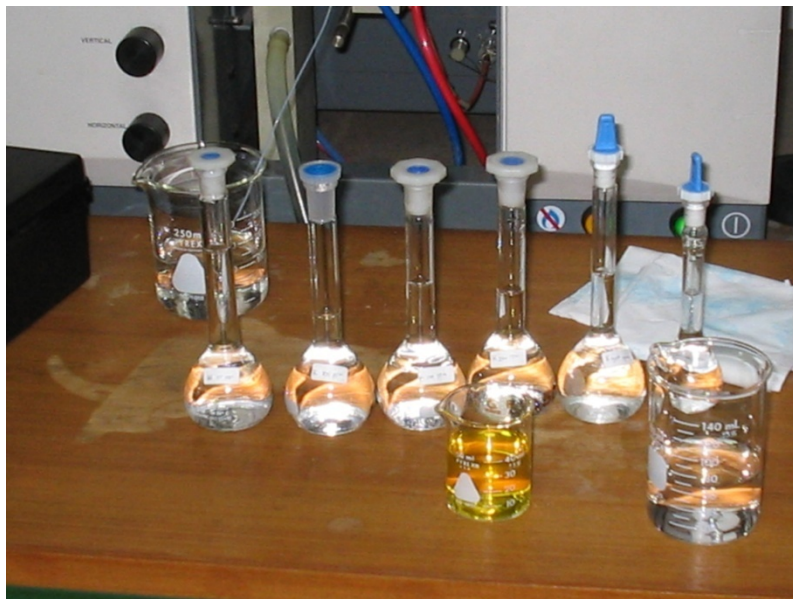
ภาพที่18 การกรองตัวอย่างนมแพะที่สกัดแล้ว



ภาพที่19 การกรองตัวอย่างนมแพะผ่านกระดาษกรอง



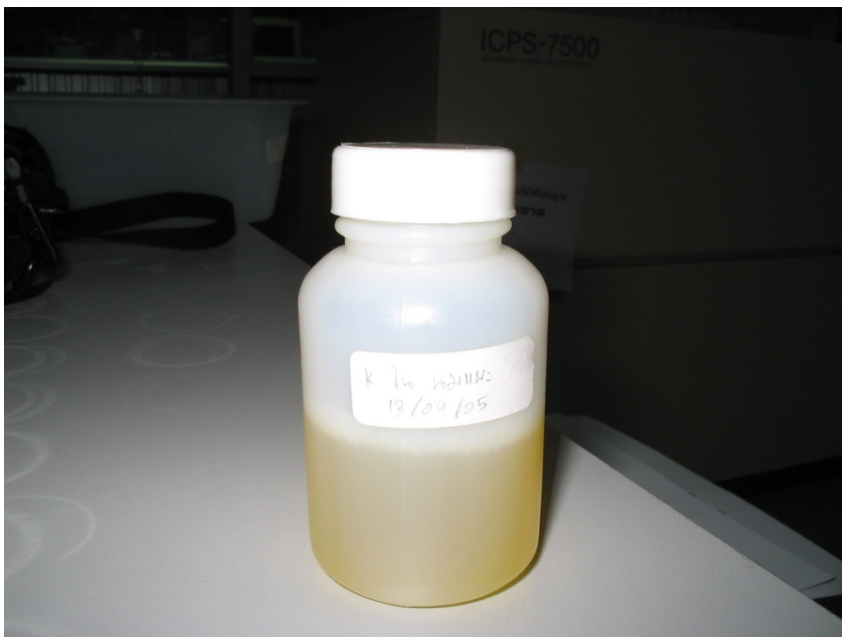
ภาพที่ 20 การสังเคราะห์วิตามินบี 12 โดยจุลินทรีย์ *Bacillus megaterium*



ภาพที่ 21 การเตรียมตัวอย่างสารละลายมาตรฐานธาตุโพแทสเซียมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



ภาพที่ 22 การทำกราฟมาตรฐานธาตุโพแทสเซียมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



ภาพที่ 23 ตัวอย่างน้ำนมแพะ



ภาพที่ 24 การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุโพแทสเซียมในตัวอย่งน้ำนมแพะ

## 5. การวิเคราะห์ข้อมูล

ค่าเฉลี่ย ( $\bar{X}$ ) ปริมาณธาตุโพแทสเซียมและวิตามินบี 12 ของตัวอย่างน้ำนมแพะที่ทำการวิเคราะห์

ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ปริมาณธาตุโพแทสเซียมและวิตามินบี 12 ของตัวอย่างน้ำนมแพะที่ทำการวิเคราะห์

เปอร์เซ็นต์ค่าการกระจายตัว (%RSD) ปริมาณธาตุโพแทสเซียมและวิตามินบี 12 ของตัวอย่างน้ำนมแพะที่ทำการวิเคราะห์

เปอร์เซ็นต์การได้คืนกลับของสารมาตรฐานที่ spike เข้าไป (% recovery) ปริมาณของสารมาตรฐานที่ทราบค่าแน่นอนที่ใส่เข้าไปในตัวอย่างแล้ววิเคราะห์ดูว่าได้ปริมาณสารมาตรฐานนั้นคงอยู่ในตัวอย่างเท่าใด