

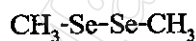
บทที่ 1

บทนำ

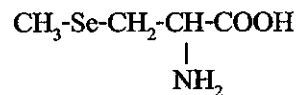
ธาตุซีลีเนียมเป็นธาตุในหมู่ที่ 6 ของตารางธาตุ ซึ่งได้ค้นพบคนแรกโดยBerzelius⁽¹⁾ ในปีคริสต์ศักราช 1818 สมบัติของธาตุซีลีเนียมจะคล้าย ๆ กับธาตุซัลเฟอร์แต่ธาตุซีลีเนียมจะมีค่าอิเล็กโตรเนกาติวิตี(electronegativity)สูงกว่า ธาตุซีลีเนียมนั้นมีเลขออกซิเดชันอยู่หลายค่า เช่น ซีลีเนตหรือ Se^{+6} ซีลีไนต์หรือ Se^{+4} ซีลีไนต์หรือ Se^{+2} และซีลีเนียมหรือ Se^0 เป็นต้น สารประกอบของธาตุซีลีเนียมที่พบบ่อยมากที่สุด在地และน้ำ⁽²⁾ ได้แก่ ซีลีเนต(SeO_4^{2-}) และซีลีไนต์(SeO_3^{2-}) สำหรับในสิ่งมีชีวิตมักจะพบธาตุซีลีเนียมอยู่ในรูปสารประกอบอินทรีย์⁽¹⁵⁾ เช่น dimethyl selenide (DMSe) , dimethyl diselenide (DMDSe) , dimethyl selenone , selenomethionine (SeME) , selenocysteine(SeCYS)และtrimethyl selenonium(TMSe^+)ไอออน⁽²⁾ ซึ่งเกิดจากขบวนการเมตาบิซึมของสารประกอบซีลีเนียมและจะถูกขับออกมาทางปัสสาวะ สำหรับสูตรโครงสร้างสารประกอบอินทรีย์ซีลีเนียมพอนั้นจะยกตัวอย่างแสดงได้ดังต่อไปนี้



dimethyl selenide
(DMSe)



dimethyl diselenide
(DMDSe)



selenomethionine
(SeME)

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหานำไปสู่การค้นคว้าวิจัย

ธาตุซีลีเนียมจัดเป็นธาตุปริมาณน้อย (trace mineral)^(3,5) ที่มีความจำเป็นสำหรับร่างกาย ในปัจจุบันยังไม่ทราบแน่ชัดว่าร่างกายของคนเราต้องการปริมาณซีลีเนียมวันละเท่าใด ซึ่งในที่ประชุม Food And Nutrition Board (USA.)⁽¹³⁾ และข้อกำหนดสารอาหารที่คนไทยควรได้รับประจำวันและแนวทางการบริโภคอาหารสำหรับคนไทย⁽⁴⁾ ได้เสนอค่าปริมาณซีลีเนียมที่ร่างกายของคนเราควรได้รับในแต่ละวันโดยอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัยดังแสดงในตาราง 1.1

ตาราง 1.1 ค่าปริมาณซิลิเนียมที่ร่างกายต้องการในช่วงอายุต่างๆ

อายุ	ปริมาณซิลิเนียม (ไมโครกรัมต่อวัน)
0 - 6 เดือน	10
6 เดือน - 1 ปี	15
1 - 3 ปี	20-80
4 - 6 ปี	30-120
มากกว่า 7 ปี	50-200

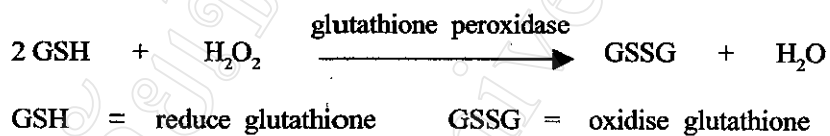
ดังนั้นจะเห็นได้ว่าธาตุซิลิเนียมมีความจำเป็นสำหรับร่างกาย ถ้าหากร่างกายได้รับปริมาณธาตุซิลิเนียมจากอาหารที่เพียงพอและเหมาะสม ก็จะทำให้ร่างกายทำงานเป็นปกติสุขไม่เป็นโรคภัยไข้เจ็บ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณซิลิเนียมในเลือดและเนื้อเยื่อ จะมีความสัมพันธ์กับการบริโภคอาหารที่มีซิลิเนียมเป็นองค์ประกอบอีกด้วย⁽⁸⁾ สำหรับปริมาณซิลิเนียมในอาหารชนิดต่างๆซึ่งจะมีปริมาณซิลิเนียมมีอยู่ในอาหารแตกต่างกัน เช่น Tinggi⁽⁶⁾ ได้รายงานการวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมในอาหารชนิดต่างๆของประเทศออสเตรเลียจำนวน 283 ตัวอย่าง พบว่าอาหารที่มีปริมาณซิลิเนียมสูงได้แก่ธัญพืช เนื้อสัตว์ ปลา และผลิตภัณฑ์จากข้าวสาลี อาหารที่มีปริมาณซิลิเนียมต่ำได้แก่ นมและผลิตภัณฑ์นม ส่วนผักและผลไม้แทบจะไม่มีปริมาณซิลิเนียมเลย นอกจากนี้ยังมีการรายงานของAlaejois⁽¹³⁾ ได้รวบรวมการวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมในน้ำนมมารดาที่มีคนอื่นๆทำไว้ เช่น ปริมาณซิลิเนียมในน้ำนมมารดาที่ ประเทศสหรัฐอเมริกา และเยอรมันตะวันตก มีปริมาณซิลิเนียมในน้ำนมเฉลี่ยเท่ากับ 18 และ 28 ug/L ตามลำดับ ปัจจุบันในประเทศไทยยังไม่มีรายงานการวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมในตัวอย่างนมชนิดต่างๆ ซึ่งจะเห็นได้ว่าทางกระทรวงสาธารณสุขได้สนับสนุนและรณรงค์ให้บริโภคนมกันมาก ดังนั้นการวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมในนมชนิดต่างๆ จึงมีความสำคัญมากจะสามารถนำความรู้ไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อแก้ไขปัญหาทางสุขภาพ ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อไป

1.2 ความสำคัญและหน้าที่ของธาตุซีลีเนียมต่อร่างกาย

ธาตุซีลีเนียมเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์กลูตาไรโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) ซึ่งมีหน้าที่เป็นตัวเร่ง(catalyze)ปฏิกิริยาการกำจัดสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาเคมีของกรดไขมันต่าง ๆ ในร่างกาย ดังนั้นจึงเสมือนว่าธาตุซีลีเนียมทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้เนื้อเยื่อถูกทำลาย

สำหรับปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นในร่างกายที่สำคัญ⁽⁹⁾ ได้แก่ปฏิกิริยาในสมการเคมีต่อไปนี้

1.2.1 ปฏิกิริยาการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)



1.2.2 ปฏิกิริยาการกำจัดกรดไขมัน ($ROOH$)



1.2.3 สารประกอบซีลีเนียมทำหน้าที่เป็นยับยั้งขบวนการเมตาบอลิซึม(metabolism)⁽¹⁰⁾ ที่เกิดจากผลกระทบของสาร โลหะหนักที่เป็นพิษต่อร่างกายเช่น อาเซนิก(arsenic) แคดเมียม(cadmium)ปรอท(mercury) และดีบุก(tin)

1.2.4 จากการศึกษาทางด้านระบาดวิทยา พบความสัมพันธ์ระหว่างการที่ร่างกายได้รับปริมาณซีลีเนียมต่ำจะเพิ่มปัจจัยเสี่ยงของการเป็นโรคมะเร็งสูงขึ้น⁽¹³⁾

1.3 ผลจากการที่ร่างกายได้รับปริมาณซีลีเนียม น้อยเกินไป

จากการที่ธาตุซีลีเนียมเป็นธาตุที่สำคัญและจำเป็นต่อร่างกาย ดังนั้นถ้าหากร่างกายได้รับปริมาณน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการร่างกาย ก็จะทำให้ร่างกายได้รับความบกพร่องทำให้ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ ดังเช่นรายงานการวิจัยต่างๆดังต่อไปนี้

1.3.1 มีรายงานการวิจัยของ Diplock(1987)⁽¹¹⁾ พบว่าประชากรกลุ่มหนึ่งของประเทศจีน

ขาดธาตุซีลีเนียมอย่างรุนแรง เนื่องจากได้รับปริมาณซีลีเนียมในอาหารต่ำคือน้อยกว่า 3 ไมโครกรัมต่อวัน และปริมาณซีลีเนียมในเลือดน้อยกว่า 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร⁽¹¹⁾

จะทำให้เกิดโรค Keshan^(1,4) ถ้าหากเกิดขึ้นในวัยเด็กจะมีอาการหัวใจล้มเหลว กล้ามเนื้อหัวใจและกล้ามเนื้อลายทำงานผิดปกติ ทำให้เป็นสาเหตุการตายของเด็กในประเทศจีนที่ขาดธาตุซีลีเนียม

1.3.2 Clark (1985) , Comb and Clark (1985) , Yu et al .(1985) และ Levander (1987)

ได้ศึกษางานวิจัยด้านระบาดวิทยา⁽¹²⁾ พบว่าถ้าร่างกายของคนเราได้รับปริมาณธาตุซิลิเนียมต่ำจะเพิ่มปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็ง

1.3.3 Stuenzi (1988) และ Olson (1986)⁽³⁾ ได้ศึกษางานวิจัยด้านอาหารสัตว์ พบว่าถ้าหากสัตว์เลี้ยงได้รับปริมาณธาตุซิลิเนียมน้อยกว่า 0.1 ฟิฟตีเอ็มหรือได้รับปริมาณธาตุซิลิเนียมมากกว่า 10 ฟิฟตีเอ็มจะทำให้เกิดปัญหากับสัตว์เลี้ยง เช่น ถ้าสัตว์เลี้ยงได้รับปริมาณซิลิเนียมน้อยเกินไปจะทำให้สัตว์เลี้ยงเป็น โรคปากและเท้าเปื่อย ซึ่งโดยปกติมักจะมีการเสริมธาตุซิลิเนียมในรูปโซเดียมซิลิเนตหรือโซเดียมซิลิไนท์ในอาหารสัตว์เพื่อจะช่วยลดการเกิดโรคปากและเท้าเปื่อยได้⁽¹⁴⁾ สำหรับเกณฑ์ที่กฎหมายกำหนดอนุญาตให้เติมสารซิลิเนียมในอาหารสัตว์ได้ไม่เกิน 0.3 ฟิฟตีเอ็ม⁽³⁾ โดยมักจะเติมลงไปในการอาหารสำหรับสัตว์พวก ไก่ เป็ด วัว ควาย เป็นต้น

1.4 ผลจากการที่ร่างกายได้รับปริมาณซิลิเนียมมากเกินไป

จากรายงานวิจัยของ Foster และ Sumar⁽¹⁾ พบว่าประชากรของประเทศจีน เวเนซุเอลา และสหรัฐอเมริกา กลุ่มที่อาศัยอยู่บริเวณสิ่งแวดล้อมที่มีซิลิเนียมในดิน น้ำและอากาศสูง เมื่อร่างกายได้รับปริมาณซิลิเนียมสูงถึง 5 มิลลิกรัมต่อวันและมีปริมาณซิลิเนียมในเลือด 320 ไมโครกรัมต่อวันต่อมิลลิกรัมจะมีอาการผื่นร่วน เล็บมือเล็บเท้าหยاب คลื่นไส้ และอ่อนเพลีย สำหรับความเป็นพิษของธาตุซิลิเนียมขึ้นอยู่กับ ความเข้มข้น สูตรทางเคมีและพีเอช (pH)^(2,15) เช่นถ้าหากสารละลายมีสภาพเป็นกรดจะสามารถรีดิวซ์ซิลิเนียม ทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนร่วมกับโลหะอื่นๆได้แก่ อาเซนิก เงิน และทองแดง จะอยู่ในรูปสารประกอบที่เป็นพิษ สำหรับเกณฑ์ที่กฎหมายกำหนดให้มีปริมาณซิลิเนียมสูงสุดในอากาศเท่ากับ 0.1 ถึง 0.2 และในน้ำ 8 ถึง 10 มิลลิกรัมต่อลิตร⁽¹⁵⁾

1.5 ตัวอย่างการวิเคราะห์ซิลิเนียมในสารตัวอย่างโดยเทคนิคต่างๆ

จากรายงานการวิจัยต่างๆ ได้วิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมในตัวอย่างอาหารหรือสารตัวอย่างอื่นๆ ที่มี matrix ต่างๆ กัน นั้นมีหลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดและธรรมชาติของตัวอย่างนั้นดังต่อไปนี้

1.5.1 Watkinson(1966)⁽¹⁶⁾ และ Olson(1969)⁽¹⁷⁾ ได้ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมในสารตัวอย่างสารชีวภาพ(biological material) โดยทำการย่อยสลายสารตัวอย่างด้วยวิธีย่อยสลายเปียกแล้วสกัดสารตัวอย่างด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ นำสารละลายที่สกัดได้มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย 2,3-diaminonaphthalene(DAN)

3,3'-diaminobenzidine(DAB) แล้ววัดปริมาณซัลไฟเนียมในรูปสารประกอบ paizselenol โดยเทคนิคสเปกโตรฟลูออโรเมตรี(spectrofluorometry)

1.5.2 Ebert *et al.*(1984) ; McOrist *et al.*(1987) ;Lavi and Alfassi(1990) ; Cumming *et al.*(1992a) ⁽¹⁾ ได้วิเคราะห์ซัลไฟเนียม โดยเทคนิค neutron activation analysis ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความไว(sensitive) แต่ไม่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย อาจเนื่องมาจากต้นทุนการซื้อเครื่องมือสูง และความจำเป็นที่ห้องปฏิบัติการจะใช้เครื่องมือที่มีน้อย

1.5.3 Brumbaugh และ Walther(1991)⁽¹⁸⁾ ได้เสนอวิธีการคัดแปลงการย่อยสลาย สารตัวอย่าง สำหรับวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟเนียมในสารตัวอย่างพวกเนื้อเยื่อชีวภาพ (biological tissue) ด้วยเทคนิค hydride generation atomic absorption spectrophotometry (HG-AAS) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ได้ลดปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกที่เดิมเพื่อย่อยสลายสารตัวอย่างปริมาณเล็กน้อย(2มิลลิลิตร)ในตอนเริ่มทำการย่อยสลายครั้งแรกด้วยกรดไนตริกและแมกนีเซียมไนเตรท เพื่อลดการสูญเสียซัลไฟเนียมในขั้นตอนการย่อยสลายเปียก นำสารตัวอย่างมา reflux คลอดทั้งคืน และเพิ่มอุณหภูมิจนสารตัวอย่างระเหยแห้งนำมาเผาที่อุณหภูมิ500องศาเซลเซียสจนได้เถ้าสีขาว แล้วนำเถ้าที่ได้ไปละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริก แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นำสารละลายตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟเนียมโดยใช้เทคนิค hydried generation ต่อไป เทคนิคที่ได้ดัดแปลงมานี้ได้ผลการทดลองที่มีค่าร้อยละของการกลับคืนสูงกว่าเทคนิคเดิม 3 ถึง 4 เปอร์เซ็นต์

1.5.4 Hurlbut *et al.*(1992) ⁽¹⁹⁾ ได้วิเคราะห์ปริมาณซัลไฟเนียมในอาหาร premixes ซึ่งมีการเติมซัลไฟเนียมลงไปในการผสมที่มีความเข้มข้นในช่วง 100 ถึง 10000 นาโนกรัมของซัลไฟเนียมต่อ 1 กรัมสารตัวอย่างโดยใช้เทคนิคคัลเลอร์ิเมตรี (colorimetric) ซึ่งวิธีการเตรียมตัวอย่างอาหารโดยการย่อยสลายเปียกด้วยกรดซัลฟิวริก กรดเปอร์คลอริก และ sodiummolybdate จนสารตัวอย่างย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ นำสารละลายไปทำปฏิกิริยากับกรดฟอสฟอริก และhydroxylamine hydrochloride-EDTAที่pHที่เหมาะสม ได้สารประกอบเชิงซ้อน 3,3'-diaminobenzidine ที่มีสีแล้วสกัดสารตัวอย่างด้วยโทลูอีน นำสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร ซึ่งสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างซัลไฟเนียมเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อ 1 กรัมของตัวอย่าง ได้ค่า

เปอร์เซ็นต์กลับคืนอยู่ในช่วง 88 ถึง 104 % (ค่าเฉลี่ย 97 %) และเปอร์เซ็นต์สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน(coefficient of variation) ในช่วง 1.6 ถึง 6.9 % (ค่าเฉลี่ย 4.2 %)

1.5.5 Anderson และ Isaacs(1993)⁽¹⁴⁾ ได้ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในอาหารคนไข้แบบชนิดต่าง ๆ เช่น อาหารเสริมแบบป้อนและอาหารในรูปสารละลายแบบฉีด อาหารเหล่านี้จะเติมซีลีเนียมในรูปซีลีเนตหรือซีลีไนท์ โดยกำหนดเกณฑ์สูงสุดที่อนุญาตให้เติมไม่น้อยกว่า 10 ppm (ug/g) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องควบคุมคุณภาพของอาหารที่เติมซีลีเนียม โดยจะเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีย่อยสลายเปียก ในตอนแรกจะย่อยสลายสารตัวอย่างด้วยกรดไนตริกก่อน แล้วตามด้วยกรดเปอร์คลอริกและกรดซัลฟิวริกจนกระทั่งสารตัวอย่างย่อยสลายได้สมบูรณ์ เติมกรดไฮโดรคลอริกแล้วนำมาต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสเพื่อออกซิไดซ์ซีลีเนียมในรูปซีลีเนตหรือ Se(+6)ให้เป็นซีลีไนท์ หรือSe(+4) และเติมสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์จะเกิดไฮโดรเจนซีลีไนด์ สามารถวัดปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิค HG-ICP-AES ที่ความยาวคลื่น 196.026 นาโนเมตร ซึ่งเทคนิคนี้สามารถตรวจวัดปริมาณซีลีเนียมได้ต่ำสุดเท่ากับ 0.0005 ug/g Se

1.5.6 Tao และHansen(1994)⁽²¹⁾ ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณซีลีเนียม (+4) ในระดับความเข้มข้นต่ำๆ ในน้ำโดยต่อระบบ flow injection เข้ากับhydride generation atomic absorption spectrophotometry(HG-AAS) ซึ่งเทคนิค flow injectionจะเป็นเทคนิคที่ช่วยเพิ่มความเข้มข้นให้กับสารตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ สำหรับวิธีการทดลองนั้นจะนำตัวอย่างมาเติมด้วยสารละลายทาทัมในเตรทเข้มข้น 20 ug/L แล้วฉีดเข้าไปในระบบ flow injectionที่มี ammonium buffer (pH 9.1)ซีลีเนียม (+4) จะเกิดปฏิกิริยากับ lanthanumhydroxide ได้ตะกอนที่ถูกตรึงไว้ที่ผนังของ microline reactor แล้วทำการชะตะกอนที่เกิดขึ้นด้วยกรดไฮโดรคลอริก ก็จะได้สารละลายไหลเข้าสู่ระบบ HG - AAS โดยตรง ซึ่งเทคนิคนี้สามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างได้จำนวน33ตัวอย่างต่อชั่วโมง สามารถตรวจวัดได้ต่ำสุดเท่ากับ (3 SD) เท่ากับ 0.001 mg /L และ ความแม่นยำ (%RSD.) เท่ากับ 0.7 (n =11) ที่ระดับความเข้มข้น0.5 mg/Lเทคนิคสามารถที่จะนำมาใช้ในการวิเคราะห์ซีลีเนียมในน้ำประปา และน้ำบาดาลได้

1.5.7 Oernemark และOlin(1994)⁽²²⁾ ได้วิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในตัวอย่างน้ำดื่ม โดยใช้เทคนิค flow injection ต่อเข้ากับระบบ hydride generation atomic

absorption spectrophotometry(HG-AAS) ทำการทดลองโดยนำน้ำตัวอย่างมา
ย่อยสลายด้วยเปอร์มังกาเนตแล้วนำสารตัวอย่างที่เตรียมเสร็จแล้วมาผ่านคอลัมน์
dowex 1 x 8 ที่ต่อเข้ากับระบบ HG - AAS จากการทดลองจะให้ผลสอดคล้อง
กับการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิค HG-AAS ที่ไม่ได้ต่อเข้ากับระบบ
flow injection จะเห็นได้ว่าเทคนิคที่เขาพัฒนาขึ้นมานั้นมีข้อดีคือสามารถ
วิเคราะห์สารตัวอย่างได้ต่อเนื่องและรวดเร็วกว่าวิธีแรกมาก

1.5.8 Rajananda และ Watlers(1994) ⁽²³⁾ ได้มีการพัฒนาระบบ flow injection มาใช้ใ
การวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในผักขมและใบมะเขือเทศ ซึ่งมีจุดประสงค์จะใช้
สารตัวอย่างเหล่านี้เป็นสารมาตรฐาน(standard reference material) ในการ
ประเมินความน่าเชื่อถือ ของการวิเคราะห์ผลผลิตทางการเกษตร ได้เตรียมสาร
ตัวอย่างด้วยวิธีย่อยสลายเปียกด้วยกรดผสม กรดไนตริก กรดซัลฟิวริก และเปอร์
คลอริก โดยใช้ reflux สารตัวอย่างในคอลัมน์จนย่อยสลายได้อย่างสมบูรณ์ แล้ว
วิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยระบบ FI-HG-AAS ซึ่งได้ผลการทดลองค่าที่ได้
สอดคล้องกับค่า certified ของ SRM 15709(ใบผักขม)และSRM15739(ใบมะเขือ
เทศ) สามารถตรวจวัดปริมาณซีลีเนียมได้ต่ำสุดเท่ากับ 0.17 ng /mL Se

1.5.9 Foster และ Sumar(1995) ⁽¹⁾ ได้รวบรวมวารสารงานวิจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการ
วิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในน้ำนมและนมผงสูตรสำหรับเด็ก พบว่าได้มีการนำ
เอาวิธีวิเคราะห์ซีลีเนียมในน้ำนมและนมผงสูตรสำหรับเด็กวิธีต่างๆ มาใช้เป็น
งานวิเคราะห์ประจำในห้องปฏิบัติการหลายๆแห่งตั้งแต่ปีค.ศ.1980 โดยส่วนมาก
มักจะเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีย่อยสลายเปียก(wet digestion) เพื่อที่จะสลายพันธะ
เคมีของซีลีเนียมให้อยู่ในรูปแบบสารประกอบซีลีเนียม ที่สามารถตรวจวัด
ปริมาณซีลีเนียมได้

1.5.10 Bellanger(1995) ⁽⁸⁾ ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในสารตัวอย่างที่มีปริมาณ
ไขมันสูง ซึ่งจะเป็นสารตัวอย่างที่ย่อยสลายได้ยาก ในการทดลองครั้งนี้ได้ดัด
แปลงวิธีการเตรียมตัวอย่างของ Brumbaugh และ Walther ⁽⁴²⁾ ได้เตรียมตัวอย่าง
ด้วยวิธีการย่อยสลายเผาแห้งก่อนวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยฟลูออโรเมตรี
โดยนำสารตัวอย่างมาเติมเอทานอล 1.5 มิลลิลิตรสารต้านการเกิดฟอง 3 หยด
แมกนีเซียมไนเตรท กรดไฮโดรคลอริกกรดไนตริก นำสารละลายผสมไปแช่
ใน water bath อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จนได้สารผสมมีสีเขียว นำไปต้มที่
อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสตลอดคืนจนได้สารที่แห้ง แล้วนำมาเข้าเตาเผาอุณหภูมิ

สูง โดยทำการเพิ่มอุณหภูมิแบบตั้งโปรแกรม เมื่อเผาเสร็จแล้วจะได้ซี้ถั่วสีขาว นำมาละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริก และให้อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีก็จะได้สารละลายที่พร้อมจะไปวิเคราะห์โดยเทคนิคฟลูออโรเมตรี ซึ่งเทคนิคนี้มีข้อดีคือทำได้ง่าย และหลีกเลี่ยงการใช้กรดเปอร์คลอริก ในการย่อยสลายสารพวกไขมันสูงซึ่งอันตรายมาก จากผลการทดลองได้ค่าร้อยละการกลับคืน และความแม่นยำดี สามารถตรวจวัดปริมาณซีลีเนียมได้ต่ำสุดเท่ากับ 4 ppb.

1.5.11 Cook(1996)⁽²⁰⁾ ได้ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในนมผงสูตรสำหรับทารก (infant formula) โดยใช้เทคนิค graphite furnace วิธีการทดลองโดยนำตัวอย่างนมผงสูตรสำหรับเด็ก ที่จำหน่ายในท้องตลาดชนิดต่างๆ มาเติมแมกนีเซียมในเตาและกรดไนตริกแล้วทำให้ร้อนจนสารละลายแห้ง ให้นำมาเผาในเตาเผาอุณหภูมิสูง (muffle furnace) ที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีจนได้ถั่วสีขาว นำถั่วมาละลายในกรดไฮโดรคลอริกแล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เพื่อเปลี่ยนซีลีเนียม(+6)ให้อยู่ในรูปซีลีเนียม(+4) เติม ascorbic acid ลงไปเพื่อรีดิวซ์ซีลีเนียม(+4)ให้เป็นซีลีเนียม (0) เก็บตัวอย่างซีลีเนียมบน membrane filter แล้วนำตัวอย่างมาย่อยด้วยกรดไนตริกปริมาณเล็กน้อยในเตาอบไมโครเวฟ(microwave oven) นำภาชนะที่เก็บตัวอย่างไปทำให้สารละลายเจือจางและทำการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียม โดยเทคนิค graphite furnace atomic absorption spectrometry และการทดลองได้ค่าร้อยละการกลับคืน (percentage recovery) 85 ถึง 127% เมื่อวิเคราะห์ reference materials ได้ผลการทดลองอยู่ในช่วงค่า certified value และสามารถตรวจวัดปริมาณซีลีเนียมได้ต่ำสุดเท่ากับ 0.44 ng /g Se ซึ่งสามารถนำเอาเทคนิคนี้ไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในอาหารอื่นได้

1.5.12 จากการค้นคว้ารายงานการวิจัย การวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในตัวอย่างน้ำนมที่เกี่ยวข้องกับการเตรียมตัวอย่างนมก่อนการวิเคราะห์ เทคนิคต่างๆ พอสรุปได้ดังแสดงใน ตาราง 1.2

ตาราง 1.2 วิธีเตรียมตัวอย่าง detection limit % RSD % recovery ของเทคนิคต่างๆ

method	sample treatment	detection limit (ng / mL)	%RSD between-assay (with in-assay)	%recovery	ref.
1. SPF:	HNO ₃ / HClO ₄ digestion ; HCl reduction ; EDTA ,DAN , cyclohexane extraction	-	10 (2)	100 ± 2.2 (97 – 100)	24
2. EAAS:	HNO ₃ / HClO ₄ / H ₂ SO ₄ / H ₂ O ₂ digestion : NH ₂ OH reduction ; 4-chloro-1,2-diaminobenzene; toluene extraction ; Ni(NO ₃) ₂ modifier	50	4.0	102 – 107	25
3. EASS :	with D ₂ lamp ; HNO ₃ / HClO ₄ / H ₂ SO ₄ / H ₂ O ₂ Digestion: EDtA , Cu ²⁺ complexation ; APDC-MIBK extraction	0.6	7.3	98.4	26
4. HG–AAS :	Oxygen combustion/ silicic acid ; dissolution in acid medium ; NaBH ₄	2 ng	1.6	-	27
5. GC – ECD:	HNO ₃ digestion ; urea ; HCl reduction ; toluene extraction ; 1,2-diamino-4-nitrobenzene or 1,2-diamino-3,5-dibromobenzene ; toluene extraction	5 ng	1.7	94-106	28
6. GC – ECD :	HNO ₃ / HClO ₄ digestion ; HCl reduction ; 4-trifluoromethyl- <i>o</i> -phenylenediamine ; toluene extraction	5	-	-	29

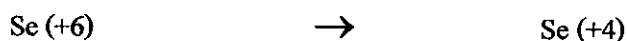
1.6 วิธีวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมในตัวอย่างโดยเทคนิคต่าง ๆ

1.6.1 hydride generation atomic absorption spectrophotometry (HG-AAS)

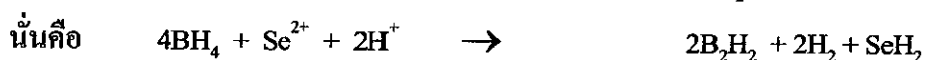
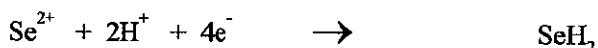
1) หลักการวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมโดยเทคนิค HG-AAS

เทคนิคHG-AASจะใช้สำหรับวิเคราะห์ปริมาณธาตุซิลิเนียม ซึ่งเป็นธาตุที่มีปริมาณน้อยมากในตัวอย่างชนิดต่างๆ โดยวิธีวิเคราะห์อาศัยหลักการที่ธาตุซิลิเนียมสามารถเกิดสารประกอบไฮไดรด์กับสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ได้สารซิลิเนียมไฮไดรด์ ซึ่งตัวมันเป็นสารประกอบที่ระเหยง่ายมีจุดเดือดที่ -42 องศาเซลเซียส สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมในตัวอย่างน้ำนมหรือนมผงนั้นจำเป็นจะต้องเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการย่อยสลายสารตัวอย่างก่อนเช่นวิธีย่อยสลายเปียก(wet digestion) ด้วย กรดผสมของกรดไนตริก กรดเปอร์คลอริก และกรดซัลฟิวริก หรือย่อยสลายด้วยวิธีเผาแห้ง (dry ashing) ในเตาเผาไฟฟ้าอุณหภูมิสูงที่ 450 องศาเซลเซียสจนได้เถ้าที่สมบูรณ์ เมื่อย่อยสลายสารตัวอย่างสมบูรณ์แล้ว จะต้องรีดิวซ์สารประกอบซิลิเนียม (+6) ให้เป็นซิลิเนียม(+4) ด้วยกรดไฮโดรคลอริก ภายใต้สภาวะอุณหภูมิที่เหมาะสม และสารประกอบซิลิเนียม(+4)จะถูกรีดิวซ์ต่อไปด้วยสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ (NaBH_4) ในสภาพที่เป็นกรดก็จะได้สารประกอบซิลิเนียมไฮไดรด์ ซึ่งสารประกอบตัวนี้จะระเหยกลายเป็นไอได้ง่าย และถูกพาดด้วยกระแสของก๊าซไนโตรเจนเข้าสู่เปลวไฟที่ควอตซ์เซลล์(quartz cell) ของเครื่อง AAS และสารประกอบซิลิเนียมจะสลายตัวกลายเป็นอะตอมอิสระ ซึ่งจะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเฉพาะและทำให้สามารถวัดปริมาณธาตุซิลิเนียมในสารตัวอย่างได้ สำหรับปฏิกิริยาเคมีจะเกิดขึ้นตามสมการต่อไปนี้

1.1) การรีดิวซ์ สารประกอบซิลิเนียม(+6)ให้เป็นซิลิเนียม(+4) ด้วยกรดไฮโดรคลอริก



1.2) สารประกอบซิลิเนียม(+4)จะถูกรีดิวซ์ด้วยสารละลายโซเดียมโบโรไฮไดรด์ (NaBH_4) ในสภาพที่เป็นกรด

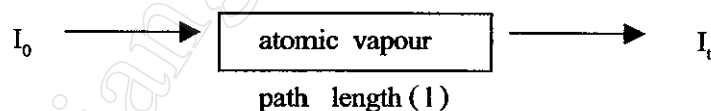


ในทางปฏิบัติการวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียม ซึ่งเป็นธาตุที่มีเลขออกซิเดชัน (oxidation state) หลายค่า ดังนั้นในการรีดิวซ์ให้เกิดสารประกอบซิลิเนียมไฮไดรด์ จะมีผลกระทบต่อ การวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียม จึงต้องพิจารณาจุดนี้ด้วย สำหรับเทคนิค HG-AAS สามารถวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมได้ค่าต่ำสุด 2.0 ng / mL ซึ่งรายละเอียดวิธีวิเคราะห์จะกล่าวในบทที่สองของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

2) หลักการของอะตอมมิกแอบซอร์พชัน (atomic absorption) ^(16, 17)

อะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตรี (atomic absorption spectrophotometry) โดยทั่วไปมักจะเรียก “ AA หรือ AAS ” เป็นวิธีวิเคราะห์ที่เกี่ยวกับการดูดกลืนแสงในย่านอุลตราไวโอเลตหรือวิสิเบิลเมื่อสเปรย์ (spray) สารละลายตัวอย่างเข้าไปในเปลวไฟหรือเตาไฟฟ้า สารจะถูกทำลายเปลี่ยนไปเป็นไออะตอม (อะตอมอิสระ) จะดูดกลืนแสงเฉพาะของธาตุที่จะวิเคราะห์ที่เปล่งแสงมาจาก hollow cathode lamp ซึ่งประกอบด้วยธาตุที่จะวิเคราะห์เป็นแหล่งกำเนิดแสง และสามารถวัดปริมาณรังสีที่ดูดกลืนได้ด้วยเครื่องตรวจวัด (detector) ธาตุชนิดต่างๆที่สามารถวิเคราะห์โดยเทคนิค AAS ซึ่งส่วนมากมีความยาวคลื่นอยู่ระหว่าง 190 – 850 นาโนเมตร

การดูดกลืน (absorption) จะเป็นไปตามกฎของเบียร์ (Beer ' law)



ถ้า I_0 เป็นความเข้มของการแผ่รังสีที่มาถึงเครื่องตรวจวัด เมื่อไม่มีไออะตอมและ I_t เป็นความเข้มของการแผ่รังสีที่มาถึงเครื่องตรวจวัด หลังเกิดการดูดกลืนโดยไออะตอมดังรูปข้างบน จากกฎของเบียร์จะได้สมการดังต่อไปนี้

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I_t} = kcl$$

เมื่อ A เป็นค่าการดูดกลืนแสง(absorbance)
 k เป็นค่าคงที่
 c เป็นความเข้มข้นของอะตอมที่อยู่ในสถานะพื้น(ground state atom)
 l เป็น path length ของ absorbing atom vapour
 absorbance จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับ path length ของเปลวไฟ ซึ่งจะ
 เป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่จะวิเคราะห์ในตัวอย่าง

3) ส่วนประกอบของเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชัน

3.1) แหล่งกำเนิดแสง (light source) เครื่อง AAS โดยทั่วไปที่ใช้กันจะมี 2
 แบบคือ

3.1.1) hollow cathode lamps (HCLs)

ลักษณะของHCLจะประกอบด้วยขั้วแคโทด (cathod) ซึ่งเป็นโลหะรูปทรงกระบอกกลวงที่ฉาบด้วยโลหะหรือเป็นผงโลหะของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์ เมื่อถูกกระตุ้นด้วยพลังงานจากกระแสไฟฟ้าก็จะได้สเปกตรัมที่มี resonance เฉพาะธาตุนั้นๆ ขั้วแอโนด(anode)ทำด้วยโลหะนิเกิลหรือทังสเตนหรือเซอร์โคเนียมเป็นแท่งเล็กๆภายในหลอดแก้วบรรจุด้วยก๊าซนีออนหรือก๊าซอาร์กอนที่ความดันประมาณ 4 ถึง 10 torr. ส่วนหน้าต่าง(window)ทำมาจากแก้วไฟร็อกซ์หรือควอร์ตซ์ จะใช้ในช่วงสเปกตรัมวิสิเบิล แต่ถ้าทำด้วยควอร์ตซ์หรือซิลิกาจะให้สเปกตรัมอยู่ในช่วงยูวีและหน้าต่างจะต้องสะอาดอยู่เสมอในการใช้ HCL ควรจะใช้กระแสไฟฟ้าให้ถูกต้องตามคำแนะนำที่เขียนไว้ข้างหลอดเช่น หลอด HCL สำหรับวิเคราะห์ธาตุซิลิเนียมจะใช้กระแสไฟฟ้า 16 mA เมื่อใช้กระแสไฟฟ้ามากเกินไปจะทำให้หลอดอายุสั้นเข้าแต่จะได้แสงที่มีความเข้มสูงเป็นการเพิ่มอัตราส่วน S/N สำหรับหลอดHCLที่เป็นแบบmulti-element lamp คือหลอดเดียวสามารถใช้วิเคราะห์ได้หลายธาตุ เช่น Ca / Mg , Na / K หรือ Co / Cr / Cu / Fe / Mn / Ni ทำให้สะดวกในการวิเคราะห์หลายๆธาตุโดยไม่ต้องเปลี่ยนหลอดแต่ก็มีข้อเสียหลายอย่างเหมือนกัน HCLทุกหลอดเมื่อจะใช้งานจะต้อง warm up 5-10 นาทีเสมอเพื่อให้ได้แสงที่เปล่งออกมาคงที่

3.1.2) electrodeless discharge lamps (EDLs)

หลอดชนิดนี้ได้รับความนิยมมาก ซึ่งจะใช้เป็น แหล่งกำเนิดแสงในการวิเคราะห์ปริมาณธาตุ Bi, Cd, Hg, As, P, Pb, Sb, Se, Sn, Te, Tl และ Zn โดยเฉพาะอย่างยิ่ง หลอดชนิดนี้ได้รับการแนะนำให้ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณธาตุ As, Se, Hg เพราะจะให้สภาพไว (sensitivity) ดีกว่า เพราะความเข้มของแสงสูง ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มความจำเพาะของการตรวจหาได้อีกด้วย และการใช้หลอด EDL จะให้ค่าแอมป์แบนซ์ที่สูงกว่าหลอด HCL

3.1.3) ส่วนที่ทำให้ธาตุกลายเป็นอะตอมเสรี (atomizer)

จะใช้เปลวไฟในการทำให้สารตัวอย่างเกิดการแตกตัวเป็นอะตอมอิสระ เช่น โดยทั่วไปจะใช้เปลวไฟ อากาศ-อะเซทิลีน (air-acetylene flame) ที่มี lamina flow slot burner ที่มี path length ยาวเท่ากับ 12 เซนติเมตรจะให้อุณหภูมิ 2600 ถึง 2800 องศาเซลเซียส สำหรับการวิเคราะห์ nitrous oxide-acetylene จะใช้ความยาว slot มีความยาวเท่ากับ 5 เซนติเมตรจะให้อุณหภูมิ 2600 ถึง 2800 องศาเซลเซียสเหมาะสำหรับใช้วิเคราะห์ธาตุที่เกิดออกไซด์ที่ทนไฟ (refractory oxide) หรือ cooler less reducing flames ได้แก่ Al, Be, Ti และ V เป็นต้นเมื่อละอองของสารละลายหยดเล็กๆ มาถึงเปลวไฟ ตัวทำละลายจะระเหยไปจะเหลือแต่ของแข็ง ซึ่งจะหลอมเหลว และกลายเป็นไอแล้วเกิดอะตอมอิสระในที่สุด

ในปัจจุบันการใช้ non-flames atomisation เป็นสิ่งสำคัญมากเพราะเป็นการเพิ่มสภาพไวทำให้สามารถวิเคราะห์ธาตุที่ปริมาณน้อยได้ สำหรับ non-flames atomisation ที่มีใช้กันอยู่ปัจจุบัน ได้แก่ graphite rod atomiser, cold vapour mercury detector และ hydride generator

3.1.4) โมโนโครเมเตอร์ (monochromator)

เครื่องมือที่ใช้ประกอบด้วยเครื่องกระจายแสง (หรือ เครื่องแยกแสง) ที่มีคุณภาพดีจะให้แถบคลื่นที่แคบสามารถแยก

เส้นสเปกตรัมของแสงที่จะถูกดูดกลืน โดยอะตอมอิสระของธาตุที่จะวิเคราะห์ได้ โดยปรกติมักจะใช้ grating monochromator เป็นเครื่องแยกแสง แต่สำหรับการวิเคราะห์ธาตุอัลคาไล ซึ่งมีเส้นสเปกตรัมที่แคบเพียงไม่กี่เส้นปรากฏในช่วงวิสิเบิลอาจจะใช้ฟิลเตอร์ที่ทำด้วยแก้วแทนโมโนโครมาเตอร์ได้และนิยมใช้แบบ interference filter ซึ่งสามารถเปลี่ยนได้

3.1.5) ดีเทคเตอร์และเครื่องบันทึก (detector and recorder)

เครื่องตรวจวัดปริมาณแสงมักจะใช้โฟโตมัลติไฟเออร์ (photomultiplier) เป็นตัววัดปริมาณความเข้มของรังสีที่แผ่ออกมา ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่จะวิเคราะห์ในสารละลาย รังสีที่ตรวจวัดได้จะผ่านเครื่องขยายสัญญาณแบบ logarithmic เพื่อจะได้ผลลัพธ์ของการดูดกลืนแสงเป็นเส้นตรงและเครื่องบันทึกอ่านค่าตัวเลขบนเครื่องหรือพิมพ์ค่าออกมา ในปัจจุบันจะมีเครื่องคอมพิวเตอร์ควบคุมเครื่องมือทำหน้าที่ประมวลผล และสามารถพิมพ์ค่าผลการทดลองออกมา

4) ส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่องมือ HG – AAS

- 4.1) เครื่องกำเนิดไฮโดรด์ (analyzer assembly) เป็นชุดอุปกรณ์ที่เป็นตัวกำเนิดสารประกอบไฮโดรด์ โดยจะต่อเข้ากับเครื่อง AAS
- 4.2) ก๊าซเฉื่อย (inert gas) จะใช้ก๊าซไนโตรเจน (บริสุทธิ์ 99.99%) หรือก๊าซอาร์กอน (บริสุทธิ์ 99.996%) ทำหน้าที่เป็นตัวพาสารละลายไฮเดรียมบอโรไฮโดรด์เข้าสู่หลอดเกิดปฏิกิริยา (reaction flask) เมื่อสารตัวอย่างเกิดปฏิกิริยาจะได้สารประกอบซิลิเนียมไฮโดรด์ ซึ่งเป็นสารประกอบที่ระเหยง่ายจะถูกก๊าซเฉื่อยพัดพาเข้าสู่เปลวไฟที่ควอร์ตซ์เซลล์ของเครื่อง AAS
- 4.3) ปุ่ม plunger จะทำหน้าที่ควบคุมการเติมปริมาตรหรืออัตราการไหลของสารละลายไฮเดรียมบอโรไฮโดรด์ จากขวดบรรจุสารละลาย (reductant reservoir) เข้าไปยังหลอดเกิดปฏิกิริยา (reaction flask) โดยการทดลองจะกดปุ่ม plunger กดแช่ไว้ตามเวลาที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาที่สมบูรณ์

- 4.4) ขวคบรรจุสารละลาย(reductant reservoir) จะเป็นขวดภาชนะพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนใช้บรรจุสารละลาย reductant เช่น สารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์สารประกอบซิลิเนียมให้เป็นซิลิเนียมไฮไดรด์
- 4.5) หลอดเกิดปฏิกิริยา(reaction flask)เป็นหลอดพลาสติกที่ใช้บรรจุสารตัวอย่าง ภายในหลอดมีท่อ immersion tube ซึ่งเป็นทางผ่านของสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ ที่จะเข้ามาทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างหลอดเกิดปฏิกิริยานั้นสามารถถอดเข้าและออกเมื่อเปลี่ยนสารตัวอย่าง
- 4.6) ควอร์ตซ์เซลล์(quartz cell) เป็นแก้วทรงกระบอกกลวงมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง12mm. และมีความยาว 165 mm. เป็นบริเวณที่เกิดการเผาไหม้ทำให้สารประกอบซิลิเนียมสลายตัวเป็นอะตอมอิสระ และสามารถเกิดการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่นเฉพาะ ให้สัญญาณที่สามารถตรวจวัดปริมาณธาตุนั้นได้



รูป 1.1 เครื่องมือ HG – AAS ซีรีส์ Perkin Elmer รุ่น AA 3100

1.6.2 สเปกโทรฟลูออโรเมตรี(spectrofluorometry)

เป็นเทคนิคที่สามารถตรวจวัดความเข้มข้นปริมาณซีลีเนียมได้ต่ำสุด 2.0 ng / mL สำหรับในรายงานการวิจัยของ Tinggi *et al.* ⁽⁶⁾ ซึ่งมีวิธีทำการทดลองดังต่อไปนี้

- 1) ชั่งตัวอย่างอาหารแห้งน้ำหนักที่แน่นอน 2.0 กรัมใส่ในหลอดย่อยสลาย และเติมเม็ดแก้วลงไป 4 เม็ด
- 2) เติมกรดผสม กรดไนตริกเข้มข้น 10.0 mL และกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 2.0 mL ใส่ในหลอดย่อยสลายแต่ละหลอดทดลอง
- 3) นำไปต้มบนเตาไฟฟ้า โดยค่อยๆเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นถึง 160 องศาเซลเซียสแล้วต้มต่อไปจนกระทั่งได้สารละลายใสเหลือประมาณ 0.5 mL ให้ยกออกจากเตาไฟฟ้าแล้วตั้งสารละลายทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- 4) เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.0 mL
- 5) นำสารละลายไปต้มบนเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 ถึง 20 นาทีเพื่อเปลี่ยน Se(+6) ให้เป็น Se(+4) ตั้งสารละลายให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเทสารละลายจากหลอดย่อยสลายใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาเกลียว เติมสารละลาย EDTA-HONH₂·HCl 1.0 mL และ methyl orange 1 หยด
- 6) เติมสารละลาย 25%v/v แอมโมเนียที่ละหยดอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งสารละลายเกิดสีเหลืองจางๆ แล้วเติมสารละลาย 1.0 โมล HCl ที่ละหยดอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งสารละลายเกิดสีชมพู แสดงว่าสารละลายจะมีค่า pH ประมาณ 3.0
- 7) เติมสารละลาย 2,3-diaminonaphthalene(DAN) 5.0 mL แล้วเติมกรด HCl เข้มข้น 1.0 โมลลงไปเพื่อให้สารละลายมีค่า pH ประมาณ 2
- 8) นำหลอดทดลองไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาได้สารประกอบ Se-DAN complex แล้วตั้งสารละลายให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- 9) เติม cyclohexane 5.0 mL แล้วปิดจุกหลอดทดลองด้วยฝาชนิดแบบมีเกลียว และเขย่าละลายให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า(vortex mixer) เป็นเวลา 60 ถึง 90 วินาทีและตั้งสารละลายทิ้งไว้ 5 นาที ก็จะเกิดการแยกชั้นของสารละลายเป็น 2 ชั้น

- 10) นำสารละลายชั้นของ cyclohexane 2.0 mL ใส่ในควอร์ตซ์เซลล์ แล้วนำไปวัด fluorescence สำหรับกราฟมาตรฐานซีลีเนียมจะพลอตระหว่างค่า fluorescence intensity กับความเข้มข้นของซีลีเนียม

1.6.3 คัลเลอริเมตริก(colorimetric)

เป็นเทคนิคที่ใช้วัดปริมาณซีลีเนียมที่ใช้ต้นทุนต่ำ รวดเร็วและสะดวก วิธีนี้สามารถวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมได้ในช่วงความเข้มข้น 100 ถึง 10000 ug/g Se ซึ่งจะใช้วิเคราะห์ตัวอย่างที่มีการเสริมสารประกอบซีลีเนียมในอาหารสัตว์ สำหรับวิธีนี้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารเสริมแร่ธาตุซีลีเนียมที่มีความเข้มข้นเข้มข้น 10000 ug/g ได้คำร้อยละการกลับคืนอยู่ในช่วง 88 ถึง 104 (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 97 เปอร์เซ็นต์) และค่าสัมประสิทธิ์การแปรปรวน(coefficient of variation) ระหว่าง 1.6 ถึง 6.9 เปอร์เซ็นต์ (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.2 เปอร์เซ็นต์) สำหรับเทคนิคคัลเลอริเมตริกที่ Hurlbut *et al.* ⁽³⁾ ได้ทำการทดลองนั้นมี มีวิธีทำการทดลองดังต่อไปนี้

- 1) ชั่งสารตัวอย่างอาหารเสริมแร่ธาตุซีลีเนียม(premix supplement) 1.00 g ใส่ในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 250 mL แล้วเติมเม็ดแก้ว(boiling chip) 1 เม็ด
- 2) เติมสารละลายกรดผสม 10.0 mL (sodiummolybdate 10.0g ; น้ำกลั่น ปราศจากอ็อกโซน 150.0 mL ; กรดซัลฟิวริก 18 โมล 150.0 mL ; 70 % กรดเปอร์คลอริก 200.0 mL)
- 3) นำสารละลายไปต้มบนเตาไฟฟ้าให้เดือดเป็นเวลา 15 ถึง 20 นาที แล้วตั้งสารละลายทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- 4) เติมน้ำกลั่นปราศจากอ็อกโซนปริมาตร 10.0 mL และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 10 เปอร์เซ็นต์ 30.0 mL และต้มสารละลายให้เดือดเบาๆ เป็นเวลา 1.0 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- 5) นำสารละลายมาปรับ pH 9 โดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 เปอร์เซ็นต์ประมาณ 7.0 mL ถ้าสารละลายเกิดสารเฟอร์ริกไฮดรอกไซด์ (ferric hydroxide) ก็จะเกิดสารละลายสีน้ำตาลให้นำสารละลายที่ได้ไปเข้าเครื่องปั่น(centrifuge) แล้วให้แยกเอาตะกอน สีน้ำตาลทิ้ง
- 6) เติมสารละลายกรดฟอร์มิก(formic) 5.0 mL และเติมสารละลาย diaminobenzidine (DAB) 0.50 % ปริมาตร 10.0 mL

- 7) ปรับ pH ของสารละลายให้อยู่ระหว่าง 2 ถึง 3 โดยเติมสารละลายกรดฟอร์มิก 90% หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่า pH ของสารละลายนั้น สามารถตรวจวัดโดยเครื่อง pH มิเตอร์
- 8) นำสารละลายไปต้มที่อุณหภูมิ 60.0 องศาเซลเซียสในที่มืด เป็นเวลา 20 ถึง 30 นาที แล้วเติมสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ammonium hydroxide) 15.0 mL จะ ได้สารละลายที่มี pH มากกว่า 8 และตรวจสอบ pH ของสารละลายโดยใช้ pH มิเตอร์
- 9) นำสารละลายมาใส่กรวยแยกขนาด 250 mL และเติมสารละลายโทลูอีน 50 mL เป็นตัวสกัด แล้วเขย่าอย่างรุนแรงอย่างแรงๆ เป็นเวลา 1 นาที แล้วตั้งสารละลายทิ้งไว้ให้แยกชั้นเป็น 2 ชั้น
- 10) นำสารละลายชั้นโทลูอีนไปกรองผ่าน anhydrous sodium sulfate 15.0 กรัม และนำสารละลายที่ได้เทใส่ในคิวเวต (cuvette) ขนาด 1 เซนติเมตร แล้วไปวัดการดูดกลืนแสง โดยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

1.6.4 hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry.

เป็นเทคนิคที่ Anderson *et al.*⁽¹⁴⁾ ได้วิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในอาหารสัตว์ที่มีความเข้มข้นระหว่าง 0.01 ถึง 30000 ug /g Se ในรายงานวิจัยฉบับนี้ จะใช้เทคนิคนี้วิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในอาหารสัตว์ที่อยู่ในรูป feed supplement, premixes , mineral mixes และ injectable solution เทคนิคนี้สามารถวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมได้ ความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 0.0005 ug /g Se สำหรับวิธีวิเคราะห์ มีขั้นตอน ดังต่อไปนี้

- 1) ชั่งอาหารตัวอย่าง 0.25 กรัม ใส่ในหลอดย่อยสลาย
- 2) เติมกรดไนตริกเข้มข้น 3.0 mL และเติมเม็ดเทพลอน (ultrapure teflon boiling chip) 1 เม็ดลงไป ในหลอดทดลอง
- 3) นำหลอดทดลองทั้งหมดไปต้มบนไฟในเตาไฟฟ้า โดยค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิถึง 175 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 90 นาที แล้วตั้งสารละลายทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จะเป็นการย่อยสลายสารตัวอย่างครั้งที่ 1
- 4) เติมกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 1.0 mL และกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1.0 mL แล้วนำไปต้มบนเตาไฟฟ้าอีก โดยค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิให้ถึง 310 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 25 นาที แล้วตั้งสารละลายทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งเป็นการย่อยสลายสารตัวอย่างครั้งที่ 2 จะได้สารละลายที่ย่อยสลาย

สมบูรณ์ โดยจะเก็บสารละลายตัวอย่างเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4.0 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ โดยเทคนิค HG-ICP-AES ในเวลาต่อมาเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5 โมลปริมาตร 8.0 mL และเขย่าสารละลายให้เข้ากันนำสารละลายไปวางบนเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 15 นาทีตั้งสารละลายทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรสารละลายให้เหมาะสมและสามารถเก็บสารละลายตัวอย่างไว้เพื่อวิเคราะห์ภายในเวลา 24 ชั่วโมง

- 5) นำสารละลายไปวิเคราะห์หาปริมาณซิลิเนียมด้วยเครื่อง HG-ICP-AES โดยดูดสารละลายตัวอย่างเข้าสู่เครื่องทางช่องดูดสารละลาย (nebulizer) ของเครื่อง

1.7 นมและผลิตภัณฑ์จากนม ⁽³²⁾

นํ้านมหมายถึงส่วนของเหลวสีขาวที่ออกมาจากนมคนและสัตว์ ใช้สำหรับเลี้ยงลูกมนุษย์เราสามารถบริโภคนํ้านมจากสัตว์ต่างๆ ได้แก่ นํ้านมจากโค นมแพะ นมแกะ นมอูฐ นมควา ฯลฯ แต่นํ้านมที่มนุษย์เรานิยมบริโภคคือนํ้านมโค สำหรับในหัวข้อต่อไปนี้จะขอกล่าวเฉพาะนมโคเท่านั้น ซึ่งนํ้านมโคจะมีส่วนประกอบของสารอาหารคือ ไขมัน โปรตีน แลคโตส เกลือ และส่วนที่เป็นของแข็งคิดเป็น 4.00 , 3.50 , 4.90 , 0.70 และ 13.16 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สัดส่วนคุณค่าทางอาหารเหล่านี้จะเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับ พันธุ์วัว อาหาร ฤดูกาล เวลาการรีดนม และช่วงเวลาให้นม เป็นต้น

1.7.1 การจำแนกนมชนิดต่างๆ มีดังต่อไปนี้

1) นํ้านมโคสด

เป็นนํ้านมที่รีดออกมาใหม่ ๆ จะมีกลิ่นหอมเฉพาะตัวและมีรสหวานอันเนื่องมาจากน้ำตาลในนม โดยทั่วไปนํ้านมสดที่รีดออกมามักจะมีจุลินทรีย์ปะปนอยู่ด้วย ดังนั้น นํ้านมโคสดทุกชนิดจะต้องนำมาผ่านกรรมวิธีดังต่อไปนี้

1.1) พลาสเจอร์ไลส์

วิธีทำโดยการนำนํ้านมมาต้มที่อุณหภูมิ 61 ถึง 62 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 30 นาทีหรือต้มที่อุณหภูมิ 72 ถึง 73 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 16 วินาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีถึงอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่านั้น

1.2) นมสเตอริไลส์

วิธีการผลิตจะนำน้ำนมดิบมาทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน ก่อนบรรจุในภาชนะที่สะอาดปิดสนิทเพื่อกันรั่ว แล้วให้ความร้อน อุณหภูมิ 105 ถึง 107 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 25 ถึง 30 นาที ซึ่งนม ชนิดนี้สามารถเก็บไว้ได้นานที่อุณหภูมิห้องได้

2) นมผงธรรมชาติ

คือน้ำนมที่ผ่านกรรมวิธีที่ระเหยน้ำออกเกือบหมดเหลือน้ำอยู่ เพียงไม่เกินร้อยละ 5 นมผงที่มีขายอยู่ในปัจจุบันมักจะมีไขมันเพียงร้อยละ 2 ถึง 3 ซึ่งมีลักษณะเป็นผงสีขาวและเบาคลายแบ่งเรียกว่า “แป้งนม” นมผง ธรรมชาติจะดูดความชื้นได้ง่ายจะกลายเป็นก้อนแข็งและเหม็นหืนเร็ว ดังนั้นจะต้องเก็บในภาชนะที่แห้งสะอาดและมีฝาปิดมิดชิด มีวิธีทำ 2 แบบ

- 1) โดยการพ่นนมพาสเจอร์ไรส์ลงไปในลูกกลิ้งที่ร้อน ซึ่งวิธีนี้จะใช้ ความร้อนสูง ทำให้นมมีรสชาติไม่ดีและละลายยาก
- 2) โดยการพ่นนมลงในถังใหญ่ที่มีอากาศร้อน

1.7.3 นมผงขาดมันเนย

คือน้ำนมสดหรือน้ำนมพร่องมันเนยที่ได้แยกมันเนยออกแล้วจน เกือบหมด ไขมันนมธรรมชาติไม่รวมมันเนยไม่น้อยกว่าร้อยละ 8.8 มันเนยไม่ถึงร้อยละ 0.1 นมผงชนิดนี้จะเก็บได้นาน เพราะไม่มีไขมัน จึงเหม็นหืนได้ยากและมีราคาถูกกว่า นมผงธรรมชาติโดยปกติคนทั่วไปมักจะเรียกนมผงขาดมันเนยว่า “หางนม” นมชนิดนี้ มีคุณค่าทางอาหารเหมือนนมผงธรรมชาติ เพียงแต่มีไขมันและวิตามินที่ละลายในไขมัน น้อยกว่าเท่า ดังนั้นนมชนิดนี้จึงเหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการจำกัดพลังงานและลดไขมัน แต่ไม่ควรใช้นมผงชนิดนี้เลี้ยงทารกเพราะจะขาดวิตามินเอที่จำเป็นสำหรับร่างกาย

1.7.4 นมผงพร่องมันเนย

คือน้ำนมที่ทำมาจากน้ำนมที่ได้แยกมันเนยบางส่วนออกไป จึงมี มันเนยอยู่ไม่น้อยกว่าร้อยละ 1.5 แต่ไม่เกินร้อยละ 26

1.7.5 นมผงดัดแปลงสำหรับทารก

นมโคจะมีโปรตีน วิตามินบีสอง และคัลเซียมมากกว่า แต่จะมีแลค โทสเพียงครึ่งเดียวของนมมารดา เด็กที่กินนมวัวโดยไม่ดัดแปลงมักท้องเสีย เพราะได้ โปรตีนมากเกินไป ฉะนั้นเมื่อใช้นมวัวเลี้ยงทารกจะต้องดัดแปลง ให้เหมือนนมมารดา มากที่สุด ในปัจจุบันบริษัทนมได้ผลิตนมผงชนิดดัดแปลงให้เหมือนนมมารดาออกมา

จำหน่ายเพียงแต่ละลายน้ำก็เลียงทารกได้โดยไม่ต้องดัดแปลงอีกเลย นมผง บางอย่าง ยังเติมเกลือแร่และวิตามินที่มีน้อยในนมมารดาให้เหมาะกับความต้องการของทารกมากขึ้นได้แก่ วิตามินซี เหล็ก และวิตามินซี เป็นต้น นมผงดัดแปลงจึงมีราคาแพงกว่านมชนิดอื่นเพราะนมที่ดัดแปลงมากก็ยังมีราคาแพงมาก ดังนั้นผู้ที่มิรายได้น้อยจึงไม่จำเป็นต้องเลียงทารกด้วยนมชนิดนี้ ควรซื้อนมผงชนิดธรรมดาและดัดแปลงส่วนผสมเอง สำหรับทารกที่อายุเกิน 6 เดือนที่กินอาหารเสริมได้หลายอย่างแล้ว ก็ไม่จำเป็นต้องกินนมผงดัดแปลงต่อไป ควรเปลี่ยนเป็นนมผงธรรมดาหรือนมข้นชนิดจืดแทน

1.7.6 นมข้นจืด หรือนมสละเหย (evaporated milk)

นมข้นจืด คือนมที่ระเหยน้ำออกประมาณร้อยละ 60 โดยมากมักใช้น้ำนม สด 2.25 ถึง 2.6 ส่วนมาระเหยเพื่อให้ได้นมข้นจืด 1 ส่วน นำน้ำนมผ่านเข้าเครื่องโฮโมเจนไนส์ เพื่อให้ไขมันกระจายเป็นหยดเล็กๆปนกับน้ำและจึงบรรจุกระป๋องผ่านหรืออุณหภูมิต่ำด้วยความร้อนสูงในช่วงระยะเวลาสั้น นมข้นจืดจะต้องมีธาตุน้ำนม (ของแข็งในน้ำนมไม่รวมไขมัน) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 17.7 และมีไขมันไม่น้อยกว่าร้อยละ 7.8 นมข้นจืดที่มีจำหน่ายในท้องตลาดมักเติมวิตามินดีลงไปด้วย เมื่อต้องการใช้นมข้นจืดแทนนมสดจะต้องเติมน้ำ 1 เท่าตัว จะได้น้ำนมที่คุณค่าทางโภชนาการคล้ายคลึงกับนมสดมาก แต่วิตามินบีหนึ่งและวิตามินซีเท่านั้นที่สูญเสียไปบ้างเมื่อผ่านความร้อน จึงใช้เลียงทารกได้เหมือนนมผงธรรมดา นมข้นจืดผ่านความร้อนสูงขั้นสเตอริไลซ์มาแล้ว จึงสามารถเก็บไว้ได้นานโดยไม่ต้องใส่ตู้เย็น คนไทยก็นิยมใส่นมข้นจืดในเครื่องดื่มประเภทน้ำชา กาแฟ แทนครีม ทั้งที่มีความเข้มข้นสูง โดยไม่เติมน้ำเลย นมข้นจืดมีราคาถูกกว่าน้ำนมสด นับเป็นแหล่งโปรตีน คัลเซียม และไรโบฟลาวินที่ราคาถูกมาก ถ้ามีไขมันอยู่ครบใช้เลียงทารกได้ แต่ถ้าขาดไขมันก็จะขาดวิตามินเอที่จำเป็นสำหรับการเติบโตของทารกด้วย ดังนั้นบนสลากจะมีอักษรสีแดงว่า “อย่าใช้เลียงทารก”

1.7.7 นมข้นหวาน (sweetened condensed milk)

นมข้นหวาน คือนมที่ระเหยน้ำออกประมาณครึ่งหนึ่งแล้วเติมน้ำตาลลงไปประมาณร้อยละ 40 เพื่อป้องกันมิให้เหม็นเสีย นมข้นหวานมีธาตุน้ำนมไม่น้อยกว่าร้อยละ 20 และไขมันไม่น้อยกว่าร้อยละ 8

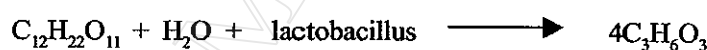
วิธีทำ ใช้น้ำนม 2.5 ส่วน ระเหยเพื่อให้ได้นมข้นหวาน 1 ส่วน น้ำตาลที่ใช้ ได้แก่ ซูโครส และเด็กโตรส (dextrose) เมื่อบรรจุกระป๋องแล้วจะผ่านความร้อนขั้นต่ำคือ เพียงขึ้นพาสเจอร์ไรส์เท่านั้น ไม่จำเป็นต้องถึงขั้นสเตอริไลส์ เพราะน้ำตาลที่เติมลงไปมีความเข้มข้นพอที่จะป้องกันมิให้เหม็นเสียแล้ว

นมข้นหวานยังคงมีสารอาหารคล้ายนมสด ยกเว้นวิตามินบางตัว น้อยลง เพราะผ่านความร้อนมาแล้ว แต่เนื่องจากมีปริมาณน้ำตาลสูง ถ้าจะเติมน้ำ ให้ได้น้ำนมที่มีคุณค่าทางโภชนาการเหมือนนมสด จะมีรสหวานจัดจนกินไม่ได้ เวลาใช้จึงต้องเติมน้ำมากเพื่อให้ได้ความหวานที่เหมาะสมปริมาณโปรตีนและไขมัน เจือจางเกินไปจึงไม่ควรใช้เลี้ยงทารกและเด็ก ถ้าใช้เลี้ยงทารกแรกเกิดจะทำให้ ทารกเป็นโรคขาดโปรตีน ซึ่งมีผลกระทบกระเทือนการเจริญเติบโตของร่างกาย และการพัฒนาทางปัญญา ดังนั้นบนกระป๋องนมข้นหวานทั้งชนิดที่มีและขาด ไขมันแข็งต้องมีอักษรสีแดงว่า “อย่าใช้เลี้ยงทารก”

1.7.8 นมเปรี้ยว (sour milk)

นมเปรี้ยวคือนมที่ได้จากการเพาะด้วยจุลินทรีย์ โดยมีการควบคุม ชนิดของจุลินทรีย์และจัดอุณหภูมิให้เหมาะสม

วิธีผลิตนมเปรี้ยวเริ่มต้นด้วยการนำนมพาสเจอร์ไรส์ชนิดที่มีไขมันเยื่อ หรือขาดมันเนยมาอุ่นให้ได้อุณหภูมิที่พอเหมาะคือประมาณ 45 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่านี้ แล้วเติมเชื้อแบคทีเรียพวกแลคโตบาซิลลัส (lactobacillus) ลงไป แบคทีเรียชนิดนี้ เปลี่ยนน้ำตาลแลคโตสให้เป็นกรดแลคติก ดังสมการ



แลคโตส + น้ำ + แบคทีเรีย → กรดแลคติก

นมเปรี้ยวมีสองชนิดคือชนิดที่ยังเป็นของเหลวและชนิดที่แข็งตัวเป็น นมเปรี้ยวชนิดที่เป็นของเหลวจะใช้เป็นเครื่องดื่มใช้ประกอบอาหารคาวและทำขนม ส่วนชนิดที่เป็นลิ้มจะใช้เป็นของหวาน และมักเติมผลไม้ต่างๆลงไปให้รสชาติ แปลกๆ

คนส่วนใหญ่เข้าใจว่านมเปรี้ยวเป็นอาหารที่มีประโยชน์มาก เป็นยา แก่สารพัดโรคทำให้อายุยืน ช่วยลดน้ำหนัก ช่วยให้อ้วนเนื้อเต่งตึง แม้จะนมเปรี้ยวจะมี รสชาติดีกว่านมสด นมเปรี้ยวที่มีขายส่วนใหญ่ทำจากนมที่ขาดหรือพร่องมันเนย จึง ให้พลังงานต่ำ เหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการลดน้ำหนัก ประโยชน์ของนมเปรี้ยวที่นอก เหนือจากนมชนิดอื่นๆ ก็เพียงย่อยง่าย และมีฤทธิ์เป็นยาระบายอ่อนๆ เป็นประโยชน์ สำหรับผู้ที่ท้องผูกหรือท้องอืดเป็นประจำ

1.7.9 เนยแข็ง (cheese)

การทำเนยแข็งเป็นวิธีถนอมอาหารอย่างเก่าแก่อีกวิธีหนึ่ง ทำกันมาหลายศตวรรษแล้ว ในฤดูร้อนวัวให้นมมากกว่าฤดูหนาวจึงมีนมวัวเหลือเป็นจำนวนมากชาวนาจึงนำนมส่วนที่เหลือกินมาทำเป็นเนยแข็ง

กรรมวิธีผลิตเนยแข็งมีดังนี้ เริ่มต้นด้วยการทำให้นมตกตะกอน โดยใช้กรดหรือเรนเนต (rennet) ตะกอนนมซึ่งมีลักษณะเป็นลิ่ม (curd) ประกอบด้วยคัสเซียมเคซีนท ไขมันวิตามินที่ละลายในไขมันและน้ำบางส่วน น้ำที่เหลือซึ่งมีแลคโตส วิตามินที่ละลายในน้ำ เกลือแร่ และแลคตัลบูมิน เรียกรวมว่า เวย์ (whey) ต่อจากนั้นก็แยกตะกอนนมออกโดยนำไปผ่านความร้อนและบีบให้น้ำออกไปแล้วจึงเค็มสี้ เกลือ และกลั่นที่ต้องการ สิ่งที่ได้คือเนยแข็ง

1.7.10 ครีม (cream)

ครีมคือไขมันในนมเมื่อตั้งนมทิ้งไว้ไขมันที่เบากว่าจะลอยตัวขึ้นข้างบนก็ตักครีมออกได้หากทำเป็นอุตสาหกรรมต้องใช้เครื่องแยกนม (centrifugal separator) เพื่อให้ได้ครีมที่มีไขมันปริมาณเท่ากัน ครีมต้องผ่านขบวนการพาสเจอร์ไรส์ เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เช่นเดียวกับนมอื่น

1.8 วัตถุประสงค์การทดลอง

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างอาหาร โดยวิธีการย่อยสลายเปียก และวิธีการเผาแห้งในการวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมในนมชนิดต่าง ๆ โดยเทคนิค hydride generation atomic absorption spectrophotometry