

บทที่ 4

วิจารณ์ สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

4.1.1 วิจารณ์ผลการทดลอง

ในการทดลองได้ศึกษาเปรียบเทียบการเตรียมตัวอย่างนม ด้วยวิธีการย่อยสลายเปียกและการเผาแห้งก่อนวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิค hydride generation atomic absorption spectrophotometry (HG-AAS) ได้ทำการศึกษาปัจจัยต่างๆเพื่อให้เหมาะสมที่มีผลต่อการทดลองดังต่อไปนี้

4.1.1.1 การหาสภาวะที่เหมาะสมการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีการย่อยสลายเปียก

ก่อนวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิค HG-AAS

- 1) การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก ซึ่งจะเป็นตัวทำหน้าที่ในการรีดิวซ์ปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนซีลีเนียม(+6)ให้เป็นซีลีเนียม(+4) ในการทดลองได้ใช้สารละลายมาตรฐานซีลีเนียมเข้มข้น 20 ng/mL เป็นสารตัวอย่าง ซึ่งได้เติมกรดไฮโดรคลอริกลงไปในแต่ละตัวอย่างจะที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันคือ 0.00, 4.17, 6.25 และ 7.50 mol/L เมื่อนำสารตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.89, 8.09, 17.98 และ 13.93 ng/mL ตามลำดับ ซึ่งได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 3.2 จากผลการทดลองจะพบว่าเมื่อเติมกรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้น 6.25 mol/L จะได้ค่าเฉลี่ยปริมาณซีลีเนียมเท่ากับ 17.98 ng/mL และค่าเปอร์เซ็นต์ relative error เท่ากับ 10.10 จะมีความเข้มข้นเหมาะสมที่สุดในการเติมกรดไฮโดรคลอริกที่เกิดปฏิกิริยารีดิวซ์ซีลีเนียม(+6)ให้เป็นซีลีเนียม(+4) ได้สมบูรณ์ ดังจะเห็นได้ว่าผลการทดลองสามารถวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียม ในตัวอย่างสารละลายมาตรฐานซีลีเนียม 20 ng/mL ได้ผลการทดลองที่ใกล้เคียงกับค่าที่เป็นจริงมากกว่าการเติมกรดไฮโดรคลอริกลงไปในแต่ละตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกในตัวอย่างนมขมิ้นแสดแอดวานซ์ที่มีปริมาณซีลีเนียมเข้มข้น 18 ng/mL โดยทำการทดลองเติมกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0, 4.17, 6.25, 7.50 และ 8.33 mol/L ลงไปในนมตัวอย่าง เมื่อวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในสารตัวอย่างได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.28, 15.37, 19.12, 17.22 และ 14.94 ng/mL ตามลำดับ ซึ่งได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 3.4 จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6.25 mol/L สามารถวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในตัวอย่างได้เท่ากับ 19.12 ng/mL

และเปอร์เซ็นต์ relative error ได้เท่ากับ 6.22 จะเห็นว่าการเติมกรดไฮโดรคลอริก ที่ความเข้มข้นนี้ให้ผลการทดลองที่มีค่าใกล้เคียงกับค่าเป็นจริง ซึ่งจะให้ผลการทดลองมีความถูกต้องสูงกว่าการเติมกรดไฮโดรคลอริก ที่ความเข้มข้นระดับอื่นๆ และผลการวิเคราะห์ปริมาณซิติเนียมในตัวอย่างนมขมิ้นแสดแอดวานซ์

สอดคล้องกับการวิเคราะห์ตัวอย่างสารละลายมาตรฐานซิติเนียม 20.0 ng/mL ในการทดลองครั้งแรกอีกด้วย และนอกจากนี้ยังมีการรายงานของ Olivas *et al.* ⁽¹⁵⁾ ที่ได้รวบรวมงานวิจัยต่างๆ มักจะใช้เหมาะสมที่สุดเพื่อรีดิวซ์ปฏิกิริยาเปลี่ยนซิติเนียม (+6) ให้เป็นซิติเนียม(+4) จะใช้ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่เหมาะสมระหว่าง 4 ถึง 7 mol/L และ Haygarth ⁽⁴⁰⁾ ได้เตรียมสารตัวอย่างสิ่งแวดล้อมด้วยการย่อยสลายเปียกโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้น 4 mol/L ในการรีดิวซ์ปฏิกิริยาซิติเนียม(+6) ให้เป็นซิติเนียม(+4) ก่อนที่จะศึกษาเปรียบเทียบวิธีการวัดปริมาณซิติเนียมโดยเทคนิคต่างๆ เช่น HG-AAS , HG-ICP-AES และ HG-ICP-MS ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบเทคนิคในการวิเคราะห์ปริมาณซิติเนียม

- 2) การทดลองศึกษาเปลี่ยนแปลงเวลาในการ incubation ปฏิกิริยารีดิวซ์ซิติเนียม(+6) ให้เป็นซิติเนียม(+4) ในการทดลองได้ใช้นมขมิ้นแสดแอดวานซ์เป็นสารตัวอย่างที่มีปริมาณซิติเนียมเข้มข้น 18 ng/mL โดยได้ทำการทดลองเปลี่ยนแปลงเวลาที่ใช้ในการ incubation ปฏิกิริยารีดิวซ์ ซิติเนียม (+6) ให้เป็นซิติเนียม(+4) ที่เวลา 10 , 20 , 30 และ 40 นาที ซึ่งได้ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยปริมาณซิติเนียมในตัวอย่างเท่ากับ 14.38, 15.84 , 16.34 , 16.52 และ 15.91 ng/mL ตามลำดับ ได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 3.6 จากผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้เวลาในการ incubation ช่วงเวลาที่ 20 และ 30 นาที จะได้ผลการวิเคราะห์ปริมาณซิติเนียมในตัวอย่างมีค่าใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นการใช้เวลา incubation ปฏิกิริยารีดิวซ์ซิติเนียม(+6) ให้เป็นซิติเนียม(+4) ในช่วงเวลาที่ 30 นาที น่าจะเหมาะสมที่สุด เพราะให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณซิติเนียมได้ถูกต้องใกล้เคียงกับค่าที่เป็นจริงและยังได้ค่าเปอร์เซ็นต์ relative error เท่ากับ 6.83 ซึ่งจะมีค่าน้อยกว่าการใช้เวลาในการ incubation ที่เวลาอื่นๆ จากรายงานของ Olivas *et al.* ⁽¹⁵⁾ ได้รวบรวมงานวิจัยต่างๆ มักจะใช้เวลาในการ incubation ปฏิกิริยารีดิวซ์ซิติเนียม(+6) ให้เป็นซิติเนียม(+4) ที่เวลา 20 ถึง 40 นาที
- 3) การทดลองศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ใช้ในการ incubation ปฏิกิริยารีดิวซ์ซิติเนียม(+6) ให้เป็นซิติเนียม(+4) การทดลองจะใช้นมขมิ้นแสดแอดวานซ์เป็นสารตัวอย่างที่เตรียมขึ้นมีความเข้มข้นเท่ากับ 18 ng/mL โดยได้ทำการทดลองเปลี่ยน

แปลงอุณหภูมิ ในการเกิดปฏิกิริยารีดิวซ์ซัลไฟเนียม(+6)ให้เป็นซัลไฟเนียม(+4) ที่อุณหภูมิต่างๆกันคือ 60, 70, 75, 80, 85, 90 และ 95 องศาเซลเซียส ซึ่งได้ผลการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟเนียมในสารตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 14.44, 13.50, 15.03, 17.16, 14.36, 12.62 และ 15.45 ng / mL ตามลำดับ ซึ่งได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 3.8 จากการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ได้ผลการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟเนียมในนมขมิ้นแฉกแฉกความเข้มข้นที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 17.16 ng / mL และได้ค่าเปอร์เซ็นต์ relative error เท่ากับ 0.83 ซึ่งจะเป็นการใช้อุณหภูมิในการ incubation ปฏิกิริยารีดิวซ์ซัลไฟเนียม(+6)ให้เป็นซัลไฟเนียม(+4)เกิดปฏิกิริยาได้สมบูรณ์ ดังจะเห็นได้ว่าผลการทดลองสามารถวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟเนียมมีความถูกต้องสูงกว่าการใช้อุณหภูมิที่จุดอื่นๆ จากรายงานของ Olivas *et al.* ⁽¹⁵⁾ ได้รวบรวมงานวิจัยต่าง ๆ มักจะใช้อุณหภูมิเพื่อรีดิวซ์ปฏิกิริยาซัลไฟเนียม(+6)ให้เป็นซัลไฟเนียม(+4)ระหว่าง 90 ถึง 100 องศาเซลเซียส Anderson *et al.* ⁽¹⁴⁾ ได้วิเคราะห์ปริมาณซัลไฟเนียมในอาหารคนไข้ที่เสริมธาตุซัลไฟเนียมในรูปซัลไฟเนต ซึ่งได้เตรียมตัวอย่างอาหารด้วยวิธีการย่อยสลายเปียกก่อน วิเคราะห์ปริมาณซัลไฟเนียมโดยวิธี HG-ICP-AES ได้ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสในการรีดิวซ์ปฏิกิริยาซัลไฟเนียม(+6)ให้เป็นซัลไฟเนียม(+4) จะเห็นได้ว่าการใช้อุณหภูมิในการรีดิวซ์ต่างกัน จะขึ้นกับวิธีการวิเคราะห์และปริมาณซัลไฟเนียมในตัวอย่าง

- 4) การทดลองวัดอัตราการไหลของสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ ในการทดลองจะใช้ก๊าซไนโตรเจนมีความดัน 36 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ทำหน้าที่เป็นตัวพาสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ จากขวดบรรจุสารละลายไหลลงไปในหลอดเกิดปฏิกิริยา (reaction flask) วิธีการทดลองจะกดปุ่ม plunger ที่เวลา 0, 2, 5, 10 และ 15 นาทีตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าวัดอัตราการไหลของสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ มีค่าคงที่เท่ากับ 0.9 มิลลิลิตร/วินาที การที่อัตราการไหลของสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์คงที่ จะมีผลต่อการเติมปริมาตรสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ลงในหลอดเกิดปฏิกิริยานั้นมีปริมาตรถูกต้อง ก็จะทำให้ผลการวิเคราะห์มีความถูกต้องและความแม่นยำสูงด้วย
- 5) ผลการทดลองเปลี่ยนแปลงการเติมปริมาตรของตัวรีดิวซ์ (สารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์) ในการทดลองได้ใช้สารละลายมาตรฐานซัลไฟเนียมเข้มข้น 20 ng/mL เป็นสารตัวอย่าง ทำการทดลองเปลี่ยนแปลงการเติมปริมาตรสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์เข้มข้น 3.0 % ใน 1.0 % NaOH โดยจะเติมลงไปในหลอดเกิดปฏิกิริยาที่มี

ปริมาตรต่างกัน ในทางปฏิบัติจะกดปุ่ม plunger ควบคุมการเติมปริมาตรของสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์โดยจะกดแซ่ไว้ที่เวลา 2, 5, 10 และ 15 วินาทีตามลำดับ ก็จะได้สารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ที่มีปริมาตรเท่ากับ 2.25, 4.50, 9.00 และ 13.50 mL เติมนลงไปในหลอดเกิดปฏิกิริยา ได้ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตาราง 3.11 จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเติมสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์เข้มข้น 3.0% ใน 1.0 % NaOH ที่มีปริมาตรเท่ากับ 4.50, 9.00 และ 13.50 mL จะได้ผลการวิเคราะห์ที่มีค่าเฉลี่ยปริมาณซิลิเนียมได้เท่ากับ 22.04, 23.02 และ 21.78 ng/mL ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันและใกล้เคียงกับค่าที่เป็นจริง ดังนั้นการเติมสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ที่มีเข้มข้น 3.0% ใน 1.0 % NaOH ที่เหมาะสมจะมีปริมาตรระหว่าง 4.50 mL ถึง 13.50 mL แต่ที่เลือกเติมสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ปริมาตรเท่ากับ 4.50 mL นั้นก็เพียงพอในการเกิดปฏิกิริยารีดิวซ์ซิลิเนียม(+4) ไปเป็นซิลิเนียมไฮไดรด์ได้อย่างสมบูรณ์ และจะเป็นการประหยัดสารเคมีอีกด้วย

- 6) การทดลองเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ ซึ่งสารละลายนี้จะเติมนลงไปในหลอดเกิดปฏิกิริยารีดิวซ์ซิลิเนียม(+4) ให้เป็นซิลิเนียมไฮไดรด์ ในการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานซิลิเนียมเข้มข้น 20 ng/mL เป็นสารตัวอย่าง โดยเติมสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ ที่มีความเข้มข้น 1% , 2% , 3% , 4% และ 5% (ใน 1 % NaOH) ลงไปทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง ซึ่งได้ผลการทดลองดังแสดงตาราง 3.13 จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเติมสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ ที่ความเข้มข้น 2, 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์จะได้ค่าเฉลี่ยการวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมเท่ากับ 20.61, 20.46 และ 20.21 ng/mL และค่าเปอร์เซ็นต์ relative error 3.05, 2.30, 4.50 ตามลำดับจะเห็นได้ว่าผลการวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมและค่าเปอร์เซ็นต์ relative error นั้นจะมีค่าใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นการเติมสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ที่สถานะเหมาะสมคือความเข้มข้น 2 ถึง 4 เปอร์เซ็นต์ แต่ที่เลือกความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ที่ 3 เปอร์เซ็นต์จะเหมาะสมที่สุด เพราะเป็นความเข้มข้นที่เมื่อเติมสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ลงไปในหลอดเกิดปฏิกิริยาแล้วเกิดปฏิกิริยาได้สมบูรณ์ ดังพิจารณาได้จากผลการทดลองจะได้ค่าเปอร์เซ็นต์ relative error เท่ากับ 2.30 ซึ่งมีค่าที่ต่ำกว่าการเติมสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ มีรายงานวิจัยฉบับต่างๆ ได้ใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ที่ต่าง ๆ กันเช่น Tinggi *et al.* ⁽⁶⁾ ได้เตรียมตัวอย่างอาหารชนิดต่างๆ ด้วยวิธีการย่อยสลายเปียกและใช้ 5 % NaBH₄ ใน 1%

NaOH ในการรีดิวซ์ปฏิกิริยาซัลเฟอร์ (+6) ให้เป็นซัลเฟอร์ (+4) ก่อนวิเคราะห์ ปริมาณซัลเฟอร์ โดยเทคนิค HG-AAS ซึ่งพบอาหารแต่ละชนิดมีปริมาณซัลเฟอร์ แตกต่างกัน Anderson *et al.* ⁽¹⁴⁾ ได้วิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ในตัวอย่างอาหารสัตว์ ที่เสริมธาตุซัลเฟอร์ ได้เตรียมตัวอย่างอาหารสัตว์ชนิดต่างๆ ด้วยวิธีการย่อยสลาย เปียกและใช้ 6% NaBH₄ ใน 1% NaOH ในการรีดิวซ์ปฏิกิริยาซัลเฟอร์ (+6) ให้เป็นซัลเฟอร์ (+4) ก่อนวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ โดยเทคนิค HG-ICP-AES Nielsen *et al.* ⁽³⁷⁾ ได้วิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ในสารตัวอย่าง ที่มีระดับความเข้มข้นปริมาณน้อย (Ultra-trace) ได้ใช้ 0.3% NaBH₄ ใน NaOH เข้มข้น 0.05 mol / L ในการรีดิวซ์ปฏิกิริยาซัลเฟอร์ (+6) ไปเป็นซัลเฟอร์ (+4) ก่อนวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ โดยเทคนิค FI-HG-AAS และ Holak ⁽⁴³⁾ ได้เตรียมตัวอย่างอาหารด้วยวิธีย่อยสลายเปียกด้วยกรด ในตริกภายในความดันต่ำและใช้ 4 % NaBH₄ ใน 4% NaOH ในการรีดิวซ์ปฏิกิริยาซัลเฟอร์ (+6) ไปเป็นซัลเฟอร์ (+4) ก่อนวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ โดยเทคนิค HG-AAS จะเห็นได้ว่าการใช้ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมในการรีดิวซ์ปฏิกิริยาซัลเฟอร์ (+6) ให้เป็นซัลเฟอร์ (+4) จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของปริมาณซัลเฟอร์ในตัวอย่าง และเทคนิคในการวิเคราะห์

7) ในการหาสถานะที่เหมาะสมของการเตรียมตัวอย่างนม ด้วยวิธีย่อยสลายเปียกก่อนวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ โดยเทคนิค HG-AAS นั้นพอจะสรุปในการศึกษาปัจจัยต่างๆ ได้ดังตาราง 4.1

ตาราง 4.1 สถานะที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีการย่อยสลายเปียก ก่อนวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ โดยเทคนิค HG – AAS

การเปลี่ยนแปลงปัจจัยต่างๆ	สถานะการทดลองที่เหมาะสม
1. กรดไฮโดรคลอริก	6.25 mol / L
2. เวลาในการ incubation	30 นาที
3. อุณหภูมิในการ incubation	80 C ⁰
4. ปริมาตรสารละลาย 3 % NaBH ₄	4.5 mL
5. ความเข้มข้นสารละลาย NaBH ₄	3 % NaBH ₄ ใน 1% NaOH

4.1.2 ในการตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิคการเตรียมตัวอย่างนมโดยวิธีการย่อย สลายเปียกก่อนวิเคราะห์ ปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิค HG - AAS

ได้ทำการศึกษาความถูกต้องของเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมใน
ตัวอย่างนม ดังต่อไปนี้

- 1) standard reference material (SRM) จำนวน 2 ตัวอย่าง คือ non fat milk powder NBS 1549 และ bovine liver NBS 1577 a ซึ่งมีค่า certified ปริมาณซีลีเนียมเท่ากับ 0.11 ± 0.10 และ 0.71 ± 0.07 ng/mL ตามลำดับ จากการทดลองสามารถวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในสารตัวอย่างทั้ง 2 ได้ค่า NBS 1549 เท่ากับ 0.10 และ NBS 1577 a เท่ากับ 0.67 ng/mL และค่าเปอร์เซ็นต์ relative error เท่ากับ 9.09 และ 5.63 ตามลำดับดังแสดงในตาราง 3.15 เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์สารตัวอย่าง SRM ทั้ง 2 ตัว จะให้ผลการทดลองสอดคล้องกับค่า certified ปริมาณซีลีเนียมคือผลการวิเคราะห์อยู่ในช่วง $\text{mean} \pm 2 \text{SD}$ ^(34,35) แสดงว่าเทคนิคนี้สามารถนำมาใช้วิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในสารตัวอย่างนมชนิดต่างๆ ได้อย่างถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และนอกจากนี้ Tinggi *et al.* ⁽⁶⁾ ได้วิเคราะห์ SRM non fat milk powder NBS 1549 และ SRM bovine liver NBS 1577 a โดยเตรียมตัวอย่างสารทั้งสองตัวด้วยวิธีการย่อยสลายเปียก ก่อนวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิค HG-AAS ได้ค่าเท่ากับ 0.11 ± 0.2 (n = 4) และ 0.70 ± 0.03 (n = 4) ng / mL ตามลำดับ
- 2) การทดลองหาค่าเปอร์เซ็นต์ recovery ของตัวอย่างนมซีมิแลค แอดวานซ์ โดยได้เติมสารละลายมาตรฐานซีลีเนียมที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ลงไปในสารตัวอย่างเพื่อให้เกิดความแตกต่างของปริมาณซีลีเนียมในสารตัวอย่างให้มีระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน จากผลการทดลองเมื่อนำสารตัวอย่าง(นมซีมิแลค แอดวานซ์ + สารละลายมาตรฐานซีลีเนียม) ที่มีความเข้มข้นของซีลีเนียม 12.29 , 21.46 และ 32.93 ng/mL ไปวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิคนี้ ได้ค่าปริมาณซีลีเนียมเฉลี่ยเท่ากับ 13.33, 20.64 และ 31.48 ng/mL ซึ่งได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 3.17 จากการทดลองเมื่อนำผลการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมมาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ recovery จะได้ผลการวิเคราะห์อยู่ในช่วง 86.67 ถึง 114.08 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 100.08 ± 8.82 (n = 2 , % CV = 8.82) ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเตรียมตัวอย่างนม ด้วยวิธีการย่อยสลายเปียกก่อนวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิค HG - AAS นั้นได้ผลการทดลองที่ถูกต้องสูง นอกจากนี้ค่าเปอร์เซ็นต์ recovery นั้นยังขึ้นกับความเข้มข้น

ของปริมาณซัลไฟเนียมในตัวอย่างและปริมาตรทั้งหมดของสารละลายที่เตรียมจากการทดลอง

4.1.3 การทดลองหาความแม่นยำ ของการเตรียมสารตัวอย่างด้วยวิธีการย่อยสลายเปียก ก่อนการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟเนียมโดยเทคนิค HG – AAS

ในการทดลองได้ใช้นมขมิ้นแกลบ แอควานซ์

ทดลองดังแสดงในตาราง 3.19 ได้ค่าปริมาณซัลไฟเนียมเฉลี่ยเท่ากับ $15.28 \pm 1.04 \text{ ug/100 g}$ ($n = 11$) และค่าเปอร์เซ็นต์สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation) เท่ากับ 6.81 ซึ่งจะเห็นได้ว่าวิธีเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการย่อยสลายเปียก นั้นมีความแม่นยำในการทดลองสูง อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้คือมีค่าเปอร์เซ็นต์สัมประสิทธิ์ความแปร

ปรวนน้อยกว่า 10 เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์ทั้งหมดจำนวน 11 ครั้งนั้นอยู่ในช่วง $\text{mean} \pm 2 \text{ SD}$ ซึ่งเป็นไปตามรายงานของ Analytical Method Committee⁽³⁵⁾ และ International Union Of Pure And Applied Chemistry⁽³⁶⁾ ได้กำหนดเกณฑ์ อนุญาตให้ 0.3 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนครั้งการทดลองอยู่นอกเขต $\text{mean} \pm 3\text{SD}$ และอนุญาตให้ 5.0 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนครั้งการทดลองอยู่นอกเขต $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ ได้ นอกจากนี้ Tinggi⁽⁶⁾ ได้เสนอความแม่นยำของเทคนิคยังสามารถปรับปรุงได้ โดยการเพิ่มปริมาณสารตัวอย่างหรือเพิ่มปริมาตรสารตัวอย่างอีกด้วย

4.1.4 ในการวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟเนียมในนมชนิดต่างๆ ที่เตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการย่อยสลายเปียกก่อนวิเคราะห์โดยเทคนิค HG-AAS

ได้เก็บตัวอย่างนมชนิดต่างๆ คือ นมโคสด นมปรุงแต่ง นมผงสูตรสำหรับทารกและเด็ก นมถั่วเหลือง และนมมารดา รวมทั้งหมดจำนวน 46 ตัวอย่างนำมาวิเคราะห์โดยการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการย่อยสลายเปียก ก่อนวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟเนียมโดยเทคนิค HG-AAS ซึ่งได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 3.21 ถึง 3.25 นั้นซึ่งจะมีปริมาณซัลไฟเนียมในตัวอย่างนมชนิดต่างๆ อยู่ในช่วง 0 ถึง 35.16 ng / mL เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติได้ค่าปริมาณซัลไฟเนียมที่อยู่ในนมชนิดต่างๆ ดังนี้ นมโคสด นมปรุงแต่ง นมผงสูตรสำหรับทารกและเด็ก นมถั่วเหลือง และ นมมารดา เท่ากับ $22.25 \pm 6.11 (n = 10)$, $9.64 \pm 6.34 (n = 10)$, $8.54 \pm 4.71 (n = 5)$, 5.01 ± 2.88

($n = 2$) และ 7.10 ± 5.66 ($n = 19$) ตามลำดับ จากผลการทดลองจะพบว่าน้ำนมโคจะมีค่าปริมาณซัลไฟเนียมสูงกว่านมปรุงแต่ง นมผงสูตรสำหรับทารกและเด็ก นมถั่วเหลือง และ นมมารคา โดยนำผลการทดลองมาทดสอบ $t - test$ (independen) ดังแสดงในตาราง 3.51 จะพบว่าให้ค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

4.1.5 ปัญหาการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีย่อยสลายเปียก

- 1) การเตรียมตัวอย่างนมโดยวิธีการย่อยสลายเปียกด้วยกรดผสมชนิดต่างๆ นั้นในขณะที่ทำการย่อยสลายปรากฏว่าสารตัวอย่างเกิดสีดำ(charing) แสดงว่าการเติมกรดลงไปย่อยสลายสารตัวอย่างไม่เพียงพอ ดังนั้นเราสามารถแก้ไขได้โดยการเติมกรดในตริกประมาณ 0.5 ถึง 1.0 มิลลิลิตรลงไปเพื่อย่อยสลายส่วนที่เหลือBellanger⁽⁸⁾ ได้รายงานว่าการที่สารตัวอย่างเกิดสีดำ (charing) จะทำให้เกิดการสูญเสียซัลไฟเนียมไปในขั้นตอนการย่อยสลายดังนั้นจึงควรต้องระมัดระวังในจุดนี้ด้วย และการใช้อุณหภูมิสูงก็มีส่วนทำให้เกิดการสูญเสียซัลไฟเนียมไปในขั้นตอนการย่อยสลายเช่นเดียวกัน ซึ่งสามารถแก้ไขได้โดยการย่อยสลายภายใต้ความดันสูงหรือย่อยสลายโดยการ reflux ต่อชุดอุปกรณ์ย่อยสลายเข้ากับระบบcondenser สามารถป้องกันการสูญเสียซัลไฟเนียมได้
- 2) การใช้กรดเปอร์คลอริก ซึ่งเป็นกรดที่สามารถออกซิไดซ์แรงไม่ควรใช้กรดชนิดนี้ย่อยสลายสารตัวอย่างอินทรีย์โดยตรงเพราะอาจเกิดการระเบิดได้ ซึ่งส่วนมากจะใช้กรดตัวนี้ย่อยสลายร่วมกับกรดตัวอื่นๆ เช่น กรดไนตริก กรดซัลฟิวริก หรือถ้าหากหลีกเลี่ยงได้ก็จะใช้กรดตัวอื่นแทนหรือไม่ก็เปลี่ยนวิธีวิเคราะห์ไปเลย การใช้กรดเปอร์คลอริกในการย่อยสลายสารตัวอย่างนั้น จะต้องมีความรู้เฉพาะของมัน⁽⁸⁾ ซึ่งมีราคาค่อนข้างแพงมาก Reamer *at al.*⁽³⁹⁾ ได้เสนอแนะให้ใช้กรดชนิดอื่นๆแทน เช่น H_3PO_4 / HNO_3 / H_2O_2 ที่ใช้ทำการเตรียมตัวอย่างย่อยสลายเปียกสารตัวอย่างพวก Biological ซึ่งสามารถวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟเนียมได้ รวดเร็วและปลอดภัย

4.1.6 การหาสถานะที่เหมาะสมการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีการย่อยสลายเปียกก่อนวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟเนียมโดยเทคนิค HG – AAS

ในการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีเผาแห้ง ก่อนวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟเนียมโดยเทคนิคHG – AAS จึงจำเป็นต้องหาสถานะที่เหมาะสมของการทดลองก่อนที่

จะวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในตัวอย่างนม โดยได้ทำการหาสภาวะที่เหมาะสมของปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยมีดังต่อไปนี้

- 1) การทดลองเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกที่เติมลงไปเพื่อละลายเถ้าและเกิดปฏิกิริยารีดิวซ์ซีลีเนียม(+6)ให้เป็นซีลีเนียม(+4) ในการทดลองได้ใช้นมซีมิแลคแอควานซ์เป็นสารตัวอย่างที่มีปริมาณซีลีเนียมเข้มข้น $12 \text{ ug} / 100\text{g}$ โดยทำการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริกที่เติมลงไปในแต่ละตัวอย่างเท่ากับ 2.0, 5.0, 7.5 และ $10.0 \text{ mol} / \text{L}$ ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในตัวอย่างได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.98, 8.22, 17.80 และ $14.87 \text{ ug} / 100\text{g}$ ซึ่งได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 3.27 จากผลการทดลองพบว่าการเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น $7.5 \text{ mol} / \text{L}$ ลงไปในสารตัวอย่าง จะได้ผลการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมที่สูงกว่าการเติมกรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้นอื่นๆ ซึ่งก็แสดงว่าเกิดปฏิกิริยารีดิวซ์ได้สมบูรณ์ และนอกจากนี้ Tam *et al.* ⁽⁴¹⁾ ได้วิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในตัวอย่างอาหาร โดยเตรียมสารตัวอย่างด้วยวิธีการเผาแห้ง และทำการละลายเถ้าด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น $4 \text{ mol} / \text{L}$ แล้วคัมสารละลายให้เดือดประมาณ 20–30 นาทีเพื่อรีดิวซ์ซีลีเนียม(+6)ให้เป็นซีลีเนียม(+4) ก่อนวัดปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิค hydride generation atomic absorption spectrophotometry (HG–AAS)
- 2) ในการทดลองเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ ในการทดลองได้ใช้สารละลายมาตรฐานซีลีเนียมเข้มข้น $20 \text{ ng} / \text{mL}$ เป็นสารตัวอย่าง โดยทำการเติมสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ที่มีความเข้มข้น 1, 2, 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ใน 1 % NaOH ลงไปในสารละลายตัวอย่างเพื่อรีดิวซ์ซีลีเนียม(+6)ไปเป็นซีลีเนียมไฮไดรด์ เมื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 15.94, 19.08, 19.73, 21.97 และ $22.68 \text{ ng} / \text{mL}$ ตามลำดับ ซึ่งได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 3.29 เมื่อพิจารณาผลการทดลองจะพบว่าการใช้สารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ ที่มีความเข้มข้นในช่วง 2 ถึง 5 เปอร์เซ็นต์ได้ผลการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมที่มีค่าที่ใกล้เคียงกันมาก แต่ที่เลือกการเติมสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ที่มีความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ลงไปในสารละลายตัวอย่างนั้น ก็เพราะสารละลายนี้ในการเกิดปฏิกิริยารีดิวซ์ซีลีเนียม(+6)ให้เป็นซีลีเนียม(+4)ได้อย่างสมบูรณ์ ดังสังเกตได้จากค่าเปอร์เซ็นต์ relative error ได้เท่ากับ 1.35 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าการเติมสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ที่มีความเข้มข้นอื่นๆ และนอกจากนี้ Tam *et al.* ⁽¹⁴⁾ ได้วิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในตัวอย่างอาหาร โดยเตรียมสาร

ตัวอย่างด้วยวิธีการเผาแห้ง และใช้สารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ใน 0.5 % NaOH ในการเกิดปฏิกิริยารีดิวซ์ซิลิเนียม(+4) ให้เป็นซิลิเนียมไฮไดรด์ก่อนวัดปริมาณซิลิเนียมโดยเทคนิค HG-AAS

- 3) สภาพการทดลองที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีเผาแห้งก่อนวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมโดยเทคนิค HG-AAS พอสรุปได้ดังนี้

ตาราง 4.2 สภาพที่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการเผาแห้ง
ก่อนวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียม โดยเทคนิค HG-AAS

การเปลี่ยนแปลงปัจจัยต่างๆ	สภาพการทดลองที่เหมาะสม
1. กรดไฮโดรคลอริก	7.50 mol / L
2. เวลาในการ incubation	-
3. อุณหภูมิในการ incubation	204 C ⁰
4. ปริมาตรสารละลาย 3 % NaBH ₄	4.5 mL
5. ความเข้มข้นสารละลาย NaBH ₄	3 % NaBH ₄ ใน 1% NaOH

4.1.7 ในการตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิคการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีการเผาแห้งก่อนวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิค HG - AAS

ได้ทำการตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิคการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีการเผาแห้งก่อนวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิค HG-AAS ดังต่อไปนี้

- 1) standard reference material (SRM) จำนวน 2 ตัวอย่างคือ non fat milk powder NBS 1549 และ bovine liver NBS 1577 a ซึ่งมีค่า certified เท่ากับ 0.11 ± 0.10 และ $0.71 \pm 0.07 \mu\text{g}/100\text{g}$ ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในสารตัวอย่างทั้ง 2 ได้ค่า NBS 1549 เท่ากับ $0.12 \mu\text{g}/100\text{g}$ และ NBS 1577 a เท่ากับ $0.64 \mu\text{g}/100\text{g}$ และค่าเปอร์เซ็นต์ relative error เท่ากับ 9.09 และ 10.94 ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 3.31 เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์สารตัวอย่าง SRM ทั้ง 2 ตัว จะให้ผลการทดลองสอดคล้องกับค่า certified คือผลการทดลองอยู่ในช่วง $\text{mean} \pm 2\text{SD}$. แสดงว่าเทคนิคนี้สามารถนำมาใช้วิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในสารตัวอย่างอื่นๆ ได้อย่างถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ นอกจากนี้ Cook⁽²⁰⁾ ได้วิเคราะห์สารตัวอย่าง SRM 1549 ที่เตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการเผาแห้งก่อนวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิค graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF-AAS) ได้ค่าเท่ากับ $0.117 \pm 0.004 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ ซึ่งก็สอดคล้องกับค่า cetified
- 2) การตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิคโดยการหาค่าเปอร์เซ็นต์ recovery ในการทดลองจะใช้นมขมิ้นแกลดแอคควันซ์เป็นสารตัวอย่าง โดยได้เติมสารละลายมาตรฐานซีลีเนียมลงไปเป็นสารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นระดับต่างๆ เพื่อให้เกิดความแตกต่างของปริมาณซีลีเนียม ผลการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมที่เตรียมตัวอย่างด้วยวิธีนี้ได้ค่าเปอร์เซ็นต์ recovery อยู่ในช่วง 90.32 ถึง 109.50 และมีค่าเปอร์เซ็นต์ recovery เฉลี่ยเท่ากับ 99.54 ± 7.77 ($n = 7$) ซึ่งได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 3.33 จะเห็นได้ว่าการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการเผาแห้งก่อนวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียม โดยเทคนิค HG-AAS นั้นได้ผลการทดลองที่ถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ นอกจากนี้ Brumbaugh *et al.*⁽¹³⁾ ได้เสนอแนะถ้าเติมกรดไฮโดรคลอริกเพียงเล็กน้อยในชั้น

- 3) การใช้ ashing aid ช่วยในการเผาสารตัวอย่างที่อุณหภูมิสูงเพื่อให้ได้เถ้าที่สมบูรณ์ คือสารตัวอย่างจะมีสีขาวทั้งหมด ถ้าหากสารตัวอย่างมีสีดำปะปนอยู่แสดงว่าการเผาแห้งสารตัวอย่างนั้นไม่สมบูรณ์ ซึ่งจะต้องแก้ไขโดยการเพิ่มเวลาที่ใช้ในการเผาสารตัวอย่าง หรือลดปริมาณสารตัวอย่าง หรือเติมสารเคมีอื่นๆ ดังเช่น Brumbaugh *et al.* ⁽¹³⁾ ได้เสนอแนะถ้าเติมกรดไฮโดรคลอริกเพียงเล็กน้อยในขั้นตอนแรกของการเผาแห้งจะช่วยทำให้การเผาแห้งสมบูรณ์ และช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ recovery สำหรับ ashing aid ที่ใช้กันส่วนมากได้แก่ แมกนีเซียมในเครทร่วมกับ แมกนีเซียมออกไซด์ ที่เตรียมสารเคมีอยู่ในรูปสารละลาย ^(8,20,41) ซึ่งก่อนจะใช้จะต้องทำการเขย่าสารละลายให้เข้ากันให้ดีเพราะเนื้อสารจะจับตัวเป็นก้อน

4.1.8 การทดสอบหาความแม่นยำของการเตรียมสารตัวอย่างด้วยวิธีการเผาแห้ง

ก่อนการวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมโดยเทคนิค HG-AAS

ในการทดลองได้ใช้นมขมิ้นแลคแอคควานซ์เป็นสารตัวอย่างเมื่อวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ $18.22 \pm 1.62 \text{ ug} / 100 \text{ g}$ ($n = 11$) และค่าเปอร์เซ็นต์สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation) เท่ากับ 8.89 ซึ่งได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 3.35 จะเห็นได้ว่าการเตรียมสารละลายตัวอย่างด้วยวิธีการเผาแห้ง นั้นเป็นวิธีที่มีความแม่นยำในการทดลองสูงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้คือค่าเปอร์เซ็นต์ coefficient of variation น้อยกว่า 10 และผลการวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมในนมขมิ้นแลคแอคควานซ์ทั้งหมดจำนวน 11 ครั้งอยู่ในช่วง $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ ซึ่งเป็นไปตามรายงานของ Analytical Method Committee ⁽³⁵⁾ และ International Union Of Pure And Applied Chemistry. ⁽³⁶⁾ ได้กำหนดเกณฑ์อนุญาตให้ 0.3 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนครั้งการทดลองอยู่นอกเขต $\text{mean} \pm 3\text{SD}$ และอนุญาตให้ 5.0 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนครั้งการทดลองอยู่นอกเขต $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ ได้ นอกจากนี้ความแม่นยำของเทคนิคยังสามารถปรับปรุงได้ โดยการเพิ่มปริมาณสารตัวอย่างหรือเพิ่มปริมาตรสารตัวอย่างให้เหมาะสม

4.1.9 ในการทดลองวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในนมชนิดต่างๆที่เตรียมตัวอย่าง ด้วยวิธีย่อยสลายเปียกก่อนวิเคราะห์โดยเทคนิค HG-AAS

ในการทดลองได้เก็บนมชนิดต่างๆ คือ นมโคสด นมปรุงแต่งรส นมผงสูตรสำหรับทารกและเด็ก นมถั่วเหลืองและนมมารดา รวมทั้งหมดจำนวน 46 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์โดยการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการเผาแห้ง ก่อนวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิค HG-AAS ซึ่งได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 3.37 ถึง 3.41 จากการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในนมชนิดต่างๆจะมีค่าอยู่ในช่วง 1.90 ถึง 34.42 ng / mL เมื่อนำข้อมูลผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติ จะได้ค่าเฉลี่ยของปริมาณซีลีเนียมในนมโคสด นมปรุงแต่งรส นมผงสูตรสำหรับทารกและเด็ก นมถั่วเหลือง และนมมารดา เท่ากับ 22.73 ± 6.82 (n = 10) , 11.28 ± 6.89 (n = 10) , 9.99 ± 7.04 (n = 5) , 4.74 ± 1.56 (n = 2) และ 11.25 ± 2.33 (n = 19) ตามลำดับ จากผลการทดลองจะพบว่า นมโคสดเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีเผาแห้งจะมีค่าปริมาณซีลีเนียมสูงกว่า นมปรุงแต่งรส นมผงสูตรสำหรับทารกและเด็ก นมถั่วเหลือง และนมมารดา เมื่อนำผลการทดลองมาทดสอบ t – test (independent) ดังแสดงในตาราง 3.52 จะพบว่า นมโคสดมีปริมาณซีลีเนียมค่าแตกต่างจากนมชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

4.1.10 ปัญหาการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีย่อยสลายเปียก

- 1) การเกิด interference จากแร่ธาตุตัวอื่นๆ เช่น อาร์เซนิก (As) Brumbaugh *et al.* ⁽¹⁶⁾ ได้เสนอแนะว่า การวิเคราะห์ซีลีเนียมที่มีปริมาณน้อยหรือความเข้มข้นต่ำกว่า 10 ng/ mL มักจะถูก interference จากแร่ธาตุตัวอื่นๆ ซึ่งเมื่อวิเคราะห์จะต้องพิจารณาจุดนี้ด้วย
- 2) ในขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่างให้แห้งก่อน ที่จะนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิสูงนั้น Reamer *et al.* ⁽³⁹⁾ ได้แนะนำสามารถทำได้ 3 วิธีคือเผาสารตัวอย่างโดยตรงบนเตาเผาไฟฟ้าเครื่อง Lyophilizer และใช้เตาอบไฟฟ้า การใช้เตาเผาสารตัวอย่างโดยตรงบนไฟฟ้า นั้นจะรวดเร็วแต่ต้องระมัดระวังไม่ให้เกิด charring ซึ่งจะเป็นสาเหตุให้เกิดการสูญเสียซีลีเนียม⁽⁸⁾ ส่วนการทำให้สารตัวอย่างแห้งด้วยเครื่อง Lyophilizer นั้นจะไม่เกิดการสูญเสียซีลีเนียมแต่จะใช้เวลานาน 2 ถึง 3 วัน ซึ่งถ้าจะเลือกวิธีการทำสารตัวอย่างให้แห้งก่อนที่จะนำสารตัวอย่างมาเผาในเตาเผาอุณหภูมิสูง จะต้องพิจารณาเรื่องปัจจัยการใช้เวลาให้เหมาะสมด้วย

4.1.11 การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณซิติเนียมในนมที่เตรียมตัวอย่างทั้ง 2 วิธี

- 1) จากการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณซิติเนียมในนมซิติแลคแอควานซ์ ที่วิเคราะห์โดยการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีย่อยสลายเปียกและการเผาแห้ง ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ $15.28 \pm 1.04 \text{ ug/100 g}$ ($n = 11$, $\%CV = 6.81$) และ $18.22 \pm 1.62 \text{ ug/100 g}$ ($n = 11$, $\%CV = 8.89$) ตามลำดับ จากผลการทดลองจะเห็นว่าการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีเผาแห้งจะให้ค่าผลการวิเคราะห์สูงกว่าการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีย่อยสลายเปียก เมื่อนำผลการทดลองมาทดสอบ t -test ดังแสดงในตารางที่ 3.48 จะพบว่าการเตรียมตัวอย่างทั้งสองวิธีให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณซิติเนียม ในนมตัวอย่างซิติแลคแอควานซ์มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ($p < 0.05$) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณซิติเนียมในนมซิติแลคแอควานซ์ที่เตรียมตัวอย่างทั้ง 2 วิธีนั้นมีความสูงกว่าค่าที่ระบุบนฉลากข้างกระป๋อง อาจเนื่องในการผลิตนมผงมักจะทำในปริมาณที่มากเป็นแบบอุตสาหกรรม ซึ่งจะเกิดปัญหาปริมาณสารอาหารกระจายไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ดังนั้นจึงทำให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณซิติเนียมแตกต่างไปบ้างเล็กน้อยจากค่าที่ระบุไว้ที่ข้างกระป๋อง และปัญหานี้อาจแก้ไขได้โดยการช้อนนมผงซิติแลคแอควานซ์มาวิเคราะห์หลายๆกระป๋อง แล้วหาค่าเฉลี่ยซึ่งจะได้ค่าที่ถูกต้องมากกว่า แต่ในการทดลองครั้งนี้ได้ช้อนนมซิติแลคแอควานซ์เพียง 1 กระป๋อง ซึ่งมีจุดประสงค์เพื่อใช้เป็นสารตัวอย่างอันเดียวกัน เพื่อเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างนมก่อนวิเคราะห์ปริมาณซิติเนียม โดยทั้งสองวิธีจะให้ผลการทดลองที่แตกต่างกันหรือไม่
- 2) จากการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณซิติเนียมในตัวอย่างนมชนิดต่างๆ จำนวนทั้งหมด 46 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีการย่อยสลายเปียกและการเผาแห้ง ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ $11.20 \pm 8.12 \text{ ng/mL}$ ($n = 46$) และ $13.33 \pm 7.23 \text{ ng/mL}$ ($n = 11$) ตามลำดับ จากผลการทดลองจะเห็นว่าการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีเผาแห้งจะให้ค่าผลการวิเคราะห์สูงกว่าการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีย่อยสลายเปียก เมื่อนำผลการทดลองมาทดสอบ t -test ดังแสดงในตาราง 3.49 จะพบว่าการเตรียมตัวอย่างทั้งสองวิธีให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณซิติเนียมในนมชนิดต่างๆ มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ($p < 0.05$)
- 3) จากการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณซิติเนียมในตัวอย่างนมมารดาจำนวนทั้งหมด 19 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีการย่อยสลายเปียกและการเผาแห้ง ได้ค่าปริมาณซิติเนียมอยู่ในช่วง 0 ถึง 17.87 และ 6.76 ถึง 17.04 ng/mL ค่าเฉลี่ย

เท่ากับ $7.10 \pm 5.62 \text{ ng / mL}$ ($n = 19$) และ $11.25 \pm 2.33 \text{ ng / mL}$ ($n = 19$) ตามลำดับ จากผลการทดลองจะเห็นว่าการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีเผาแห้งจะให้ค่าผลการวิเคราะห์สูงกว่าการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีย่อยสลายเปียก เมื่อนำผลการทดลองมาทดสอบ t-test ดังแสดงในตาราง 3.50 จะพบว่าการเตรียมตัวอย่างทั้งสองวิธีให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในนมมารดา มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณซีลีเนียมในน้ำนมมารดาของประเทศสหรัฐอเมริกา เยอรมันตะวันตก ญี่ปุ่น และจีน⁽⁷⁾ พบว่ามีปริมาณซีลีเนียมในน้ำนมเฉลี่ยเท่ากับ 18 ± 0.4 (17 state, $n = 241$), 18 ± 8 ($n = 19$), 18 (ช่วง 16 – 33, $n = 15$), $2 - 6$ ($n = 5$) $\mu\text{g / L}$ ตามลำดับ จะเห็นว่าในตัวอย่างนมมารดาในการทำวิจัยครั้งนี้มีจำนวนทั้งหมด 19 ตัวอย่าง จะมีค่าปริมาณซีลีเนียมในน้ำนมต่ำกว่าประเทศอื่นๆ ยกเว้นประเทศจีน ซึ่งน้ำนมมารดาของประเทศจีนบริเวณพื้นที่นั้นจะมีความชุกของโรค Keshan (สาเหตุมาจากการขาดธาตุซีลีเนียม) และจะมีค่าปริมาณซีลีเนียมในน้ำนมมารดาต่ำกว่ามารดาที่ประเทศอื่นๆ การที่ปริมาณซีลีเนียมในน้ำนมมารดาที่อาศัยอยู่ในประเทศต่างๆ มีปริมาณแตกต่างกัน เนื่องมาจากความแตกต่างในด้านที่อยู่อาศัย ปริมาณสารอาหารที่กิน และระยะเวลาการให้นมบุตรในช่วงเวลาต่างๆ กัน⁽¹³⁾

- 4) จากการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีการย่อยสลายเปียกและการเผาแห้งก่อนวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิค HG-AAS เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในสารนมขมิ้น แลคแอคควานซ์ และนมชนิดต่างๆ จำนวน 46 ตัวอย่าง ซึ่งพบว่าการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีการย่อยสลายเปียกให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมต่ำกว่าการเผาแห้ง โดยเฉพาะในนมตัวอย่างบางชนิดที่มีปริมาณซีลีเนียมน้อยหรือความเข้มข้นต่ำกว่า 10 ng/mL เมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยวิธีการย่อยสลายเปียกให้ผลการวิเคราะห์เท่ากับ 0 (อาจจะมีค่าเท่ากับ 0 หรือไม่สามารถตรวจวัดได้) แต่ถ้าวิเคราะห์ด้วยวิธีการเผาแห้งนั้นสามารถตรวจวัดปริมาณซีลีเนียมได้ ซึ่งก็ได้ผลสอดคล้องกับข้อเสนอแนะของ Tinggi *et al.*⁽⁶⁾ คือในการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยวิธีการย่อยสลายเปียกที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 10 ng/mL นั้นจะต้องทำการทดลองซ้ำหลายๆ ครั้งหรือให้ใช้สารตัวอย่างปริมาณมากขึ้น จะได้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้องกว่า และ Brumbaugh *et al.*⁽¹⁶⁾ ได้เสนอแนะว่าการวิเคราะห์ซีลีเนียมน้อยหรือความเข้มข้นต่ำกว่า 10 ng / mL มักจะถูก interference จากอาเซนิก (As) ซึ่งในการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมจะต้องพิจารณาจุดนี้ด้วย

4.1.12 การบริโภคนมเพื่อที่จะได้รับปริมาณไขมันให้เพียงพอในแต่ละวัน

จากข้อเสนอแนะของ Food And Nutrition Board(USA)⁽¹³⁾ และข้อกำหนดสารอาหารที่คนไทยควรได้รับประจำวันและแนวทางการบริโภคอาหารสำหรับคนไทย⁽⁴⁾ ได้กำหนดให้เด็กที่อายุ 0 ถึง 6 เดือนไปควรได้รับปริมาณไขมันเท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อวัน เมื่อใช้เกณฑ์ที่ได้รับปริมาณไขมันต่ำสุดคือ 10 ไมโครกรัมต่อวัน มาคำนวณ โดยสมมุติให้เด็กนั้นบริโภคนมชนิดต่างๆเพียงอย่างเดียวในแต่ละวัน จะได้ค่าปริมาณการบริโภคไขมันโคสด นมปรุงแต่งรสต่างๆ นมผงสูตรสำหรับทารกและเด็ก นมถั่วเหลือง และนมมารดา ในปริมาณเท่ากับ 0.44 , 0.96 , 2.05 และ 1.09 ลิตร ตามลำดับดังในตาราง 3.53 จะเห็นว่าในทางปฏิบัติไม่สามารถบริโภคนมอย่างเดียวยังให้ได้ปริมาณสารอาหารตามที่ต้องการเพราะจะต้องบริโภคนมในปริมาณมากเกินไป ซึ่ง Whitehead *et al.*⁽⁷⁾ ได้สมมุติว่าเด็กแต่ละคนจะบริโภคนมประมาณ 0.80 ลิตร ถ้าคำนวณในน้ำนมมารดาที่เก็บมาวิจัยในครั้งนี้ทั้งหมด 19 คนจะมีค่าเฉลี่ยปริมาณที่ได้รับไขมันเท่ากับ 7.34 ไมโครกรัมต่อวัน ซึ่งมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ปริมาณที่เด็กต้องการ (10 ไมโครกรัมต่อวัน) ดังนั้นเด็กจึงควรบริโภคอาหารชนิดอื่นๆเสริมนอกจากน้ำนมมารดาเพียงอย่างเดียว ซึ่งอาหารที่มีปริมาณไขมันสูงเช่น เนื้อสัตว์ ปลา ไข่ ผัก และผลิตภัณฑ์จากข้าวสาลี เป็นต้น⁽⁶⁾ ควบคู่กับการบริโภคน้ำนมมารดา ก็จะช่วยให้ร่างกายได้รับปริมาณไขมันที่เพียงพอ

4.1.13 การควบคุมคุณภาพของการทดลอง

ได้ใช้สารตัวอย่างมาตรฐาน standard reference material (SRM) จำนวน 2 ตัวอย่างคือ non fat milk powder NBS 1549 และ bovine liver NBS 1577 a และนมไขมันต่ำ เนื่องจากสาร standard reference material นั้นมีราคาแพง ดังนั้นจึงใช้นมไขมันต่ำมาเป็นสารควบคุมคุณภาพแทนเพราะมีองค์ประกอบของเนื้อสารใกล้เคียงกับสารตัวอย่างนมชนิดต่างๆ มีราคาถูกและสามารถซื้อหาได้ง่าย ในการทดลองจะวิเคราะห์นมไขมันต่ำจำนวน 11 ครั้ง (ทำในขั้นตอนการทดสอบความแม่นยำของวิธีเตรียมตัวอย่าง) ในการควบคุมคุณภาพการทดลองครั้งนี้ จะทำการวิเคราะห์สารตัวอย่างจำนวน 10 ตัวอย่างนั้นจะมีสารควบคุมคุณภาพ 1 ตัวอย่างเสมอ^(35,36) และนอกจากนี้ยังได้เตรียมสารละลายมาตรฐานไขมันที่ทราบความเข้มข้น โดยจะเตรียมคล้ายๆกับสารตัวอย่างนมชนิดต่างๆนำมาวิเคราะห์คล้ายกับสารตัว

อย่างเรียกว่าการทำ reslope ซึ่งจะเป็นการตรวจสอบความถูกต้องของผลการวิเคราะห์ ปริมาณซีลีเนียมอีกทางหนึ่งอีกด้วย สารตัวอย่างที่ใช้สารควบคุมคุณภาพเช่น Cook⁽²⁰⁾ ได้ใช้สารตัวอย่าง non fat milk powder NBS 1549เป็นตัวควบคุมคุณภาพของการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการเผาแห้งก่อนวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิค graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF-AAS)

4.1.14 จิตความสามารถในการตรวจวัดปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิค HG-AAS

การตรวจวัดปริมาณซีลีเนียมโดยเทคนิคHG-AAS มีค่าเท่ากับ 2 ng/mL⁽²⁷⁾ ดังนั้นในการวัดปริมาณซีลีเนียมในตัวอย่างที่มีความเข้มข้นระดับต่ำกว่านี้สามารถทำได้โดยการนำเอาระบบflow injectionมาต่อเข้ากับระบบ hydride generation atomic absorption spectrophotometry(HG-AAS)ซึ่งเรียกว่าflow injection hydride generation atomic absorption spectrophotometry (FI-HG-AAS) เช่น Toa และHansen(1994)⁽²¹⁾ ได้วิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในตัวอย่างน้ำประปาและน้ำบาดาล โดยFI-HG-AASที่ระดับความเข้มข้น 0.5 ng / mL ได้ค่า % RSD เท่ากับ 0.7 และสามารถตรวจวัดได้ค่าต่ำสุด (detection limit ; 3 SD) เท่ากับ 0.001 ug / mL และสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่าง 33 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

4.1.15 ในการเปรียบเทียบข้อดีและข้อด้อยของการเตรียมตัวอย่างนมด้วย

วิธีการย่อยสลายเปียกและวิธีการเผาแห้ง

การเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีการย่อยสลายเปียกและวิธีการเผาแห้งในการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในนมชนิดต่างๆ พิจารณาสรุปการเปรียบเทียบข้อดีและข้อด้อยได้ดังตาราง 4.3

ตาราง 4.3 สรุปข้อดีข้อเสียของการเตรียมตัวอย่างนมโดยวิธีการ
ย่อยสลายเปียกและวิธีการเผาแห้ง

การย่อยสลายเปียก	การเผาแห้ง
สามารถวิเคราะห์ปริมาณซิติเนียมในระดับ ng / mL ได้ถูกต้องและแม่นยำสูง	1 สามารถวิเคราะห์ปริมาณซิติเนียมในระดับ ng / mL ได้ถูกต้องและแม่นยำสูง
2. ความสามารถตรวจวัดปริมาณซิติเนียมต่ำสุด 2 ng / mL	2. ความสามารถตรวจวัดปริมาณซิติเนียมต่ำสุด 2 ng / mL
3. สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ 40 ตัวอย่างต่อครั้งต่อ 3 วัน	3. สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ 17 ตัวอย่างต่อครั้งต่อ 3 วัน
4. ใช้กรรณชนิดต่างๆ เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน	4. สารเคมีที่ใช้ไม่เป็นอันตรายและปลอดภัยในการปฏิบัติงาน
5. ต้องดูแลในขั้นตอนในย่อยสลายตลอดเวลา อย่างสม่ำเสมอ	5 ดูแลอุณหภูมิตามโปรแกรมเวลาที่กำหนดไว้ขั้นตอนไม่ยุ่งยาก

4.2 สรุปการทดลอง

จากการศึกษาการเปรียบเทียบวิธีการเตรียมตัวอย่างนมโดยวิธีการย่อยสลายเปียกและวิธีการเผาแห้งในการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในนมชนิดต่างๆ โดยเทคนิค hydride generation atomic absorption spectrophotometry พบว่าเทคนิคการเตรียมตัวอย่างนมทั้งสองวิธีนั้นสามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในตัวอย่างได้ถูกต้องและแม่นยำ โดยพิจารณาได้จากการตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิคของการวิเคราะห์คือ non fat milk powder NBS 1549 และ bovine liver NBS 1577 a และการหาเปอร์เซ็นต์ recovery ซึ่งจะพบว่าการเตรียมตัวอย่างด้วยทั้งสองวิธีนั้นสามารถวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมได้ค่าถูกต้องอยู่เกณฑ์ที่ยอมรับได้ นอกจากนี้ยังได้ตรวจสอบความแม่นยำของเทคนิค โดยวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในนมจิ๋วแลคแอควานซ์ ซึ่งพบว่าวิธีการเตรียมตัวอย่างทั้งสองวิธีนั้นให้ความแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และเมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในตัวอย่างนมชนิดต่างๆ จำนวน 46 ตัวอย่าง จะพบว่าการเตรียมตัวอย่างนมด้วยวิธีการเผาแห้งให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมที่สูงกว่าการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการย่อยสลายเปียกเล็กน้อย นอกจากนี้ยังพบว่านมโคสดมีปริมาณซีลีเนียมสูงกว่านมปรุงแต่งรส นมผงสูตรสำหรับทารกและเด็กนมถั่วเหลือง และนมมารคา

4.3 ข้อเสนอแนะ

- 4.3.1 ในการเตรียมตัวอย่างนมโดยวิธีการเผาแห้ง จะมีขีดจำกัดในด้านความจุของปริมาตรของเตาเผาไฟฟ้าอุณหภูมิสูง เช่น ขนาดเตาเผาที่ใช้ในการทำการทดลองครั้งนี้เท่ากับ $10 \times 10 \times 20$ เซนติเมตร ซึ่งสามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างได้เท่ากับ 17 ตัวอย่างต่อครั้ง ดังนั้นถ้าหากใช้เตาเผาไฟฟ้าอุณหภูมิสูงที่มีขนาดความจุมากขึ้น ก็จะทำให้สามารถวิเคราะห์สารตัวอย่างได้รวดเร็ว ประหยัดเวลามากขึ้น ในปัจจุบันจะมีเตาเผาขนาดใหญ่และสามารถตั้งเวลาทำโปรแกรมอุณหภูมิได้ ซึ่งทำการทดลองได้สะดวกยิ่งขึ้น
- 4.3.2 การเตรียมตัวอย่างนมโดยวิธีการย่อยสลายเปียกด้วยกรดผสมชนิดต่างๆ นั้นจำเป็นที่ต้องเตรียมสารตัวอย่างให้ผสมกับกรดที่ใช้ในการย่อยสลายก่อนเป็นเวลา 1 คืน ซึ่งจะเป็นการย่อยสลายในขั้นแรก จะทำให้การย่อยสลายสารตัวอย่างได้ง่าย และรวดเร็วขึ้นสำหรับอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายนั้นก็สำคัญ ถ้าหากเราเพิ่มอุณหภูมิให้สูงเร็วเกินไปจะทำให้สารตัวอย่างเดือดแรงเกินไป และสารตัวอย่างจะกระเด็นออกจากหลอดทดลองจะทำให้ผลการทดลองผิดพลาดไป ดังนั้นในทางปฏิบัติจะค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิให้สูงกว่าจุดเดือดของกรดผสมแต่ละตัว แล้วปล่อยให้กรดที่มีจุดเดือดต่ำระเหยออกมาก่อน แล้วจึงค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นเพื่อให้กรดตัวต่อไป จนได้สารละลายใสหรือสีเหลืองอ่อนแสดงว่าการย่อยสลายเกิดสมบูรณ์
- 4.3.3 การเตรียมตัวอย่างนมโดยวิธีการย่อยสลายเปียกด้วยกรดผสมชนิดต่างๆ นั้นจำเป็นต้องมีผู้ดูแลวันที่สามารถกำจัดไอกรด ถ้าหากปล่อยไอกรดออกไปสู่สิ่งแวดล้อมก็จะเป็นผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมซึ่งไม่ควรปฏิบัติ
- 4.3.4 ในการตัดสินใจเลือกเทคนิคที่จะใช้วิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมในสารตัวอย่าง นั้นจะต้องพิจารณาก็คือ
 - 1) ระดับปริมาณซิลิเนียมที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง เช่น ถ้าวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมที่เสริมในอาหารสัตว์ซึ่งมีความเข้มข้นของซิลิเนียมในระดับ $100-10000 \text{ ug/g}$ มักจะใช้เทคนิคคลอโรเมตรี(colorimetry) หรือวิเคราะห์ปริมาณซิลิเนียมในระดับความเข้มข้นต่ำระดับ ng / mL ก็จะใช้เทคนิคHG-AASหรือspectrofluorometry เป็นต้น
 - 2) องค์ประกอบของสารตัวอย่าง เช่น สูตรโครงสร้างทางเคมีของซิลิเนียม สารตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกัน และสารตัวอย่างระเหยง่ายหรือไม่

- 3) การเก็บตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของสารตัวอย่างทั้งหมดและการเก็บรักษาตัวอย่างให้เหมาะสม จนกว่าจะวิเคราะห์
- 4) เครื่องมือและสิ่งอำนวยความสะดวก
- 5) เวลาและทุนในการทำการวิจัย

ซึ่งข้อมูลเหล่านี้นำไปสู่การตัดสินใจในการเลือกเทคนิควิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมกับการนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการนั้นๆ