บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มารับบริการตรวจรักษาที่โรงพยาบาลตากสิน กรุงเทพมหานคร และกลุ่มคนปกติที่มาบริจาคโลหิต ณ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติสภากาชาดไทย โครงการวิจัย (research protocol) และแบบฟอร์มการยินยอมเข้าร่วมการวิจัยของกลุ่มศึกษา ผ่านการพิจารณาโดยคณะกรรมการพิจารณาและควบคุมการวิจัยในคน สำนักการแพทย์ กรุงเทพมหานคร (ภาคผนวก ค)

1. ลักษณะตัวอย่างหรือประชากรที่ทำการศึกษา

1.1 กลุ่มตัวอย่าง ประกอบด้วย

1.1.1 กลุ่มคนปกติ เป็นบุคคลที่มาบริจาคเลือด ณ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ในช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2548 โดยเลือกจากชายจำนวน 30 คนและหญิง จำนวน 30 คน

1.1.2 กลุ่มผู้ป่วยนอกโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มารับบริการรักษาในคลินิกเบาหวาน โรงพยาบาลตากสิน กรุงเทพมหานคร จำนวน 57 คน

2. หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่าง

2.1 กลุ่มคนปกติจำนวน 60 คนที่บริจาคเลือด ณ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย โดยมีหลักเกณฑ์ในการคัดเลือกดังนี้ (Inclusion criteria)

(1) สุขภาพดี

(2) อายุ 30 ปีขึ้นไป

(3) รับประทานอาหารครบ 5 หมู่ ไม่ได้รับประทานอาหารมังสวิรัติ หรืออาหารเจเป็นประจำ

กลุ่มคนที่มีคุณสมบัติในข้อใดข้อหนึ่งต่อไปนี้จะถูกคัดออกจากการวิจัย (Exclusion criteria)

(1) รับประทานผลิตภัณฑ์เสริมอาหารวิตามินเกลือแร่ใดๆหรือรับประทานโครเมียมในช่วงหนึ่งเดือนก่อนเข้าร่วมการวิจัย

(2) มีโรคประจำตัวหรือมีประวัติการรับประทานยาบางชนิดซึ่งมีผลต่อระดับโครเมียม (เช่นคอร์ติโคสเตียรอยด์ เพนิซิลามีน เอสโตรเจน)

(3) สูบบุหรี่และ/หรือดื่มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์

(4) บริจาคเลือดภายในสามเดือนก่อนที่จะทำการศึกษา

2.2 กลุ่มผู้ป่วยเป็นผู้ป่วยนอกโรคเบาหวานที่มาพบแพทย์ตามนัดที่คลินิกเบาหวาน โรงพยาบาลตากสินและมีคุณสมบัติตามเกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการวิจัย (Inclusion criteria) ดังนี้

(1) เป็นผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์ว่าเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งได้รับการวินิจฉัยว่าป่วยเป็นโรคเบาหวานไม่เกิน 10 ปี และได้รับการรักษาด้วยยาลดน้ำตาลในเลือดชนิดรับประทานกลุ่มซัลโฟนิลยูเรีย (Sulfonylurea) และกลุ่มไบกัวไนด์ (Biguanide)

(2) ผู้ป่วยมีระดับน้ำตาลในพลาสมาหลังจากอดอาหาร (Fasting plasma glucose ; FPG) 140-250 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร หรือไกลโคไซเลทฮีโมโกลบิน (Glycosylated hemoglobin ; HbA1c) มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 7

(3) มีอายุระหว่าง 30 - 70 ปี ทั้งเพศชายและเพศหญิง

(4) ผู้ป่วยยินดีเข้าร่วมการวิจัยตามหนังสือให้ความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย

ผู้ป่วยที่มีคุณสมบัติในข้อใดข้อหนึ่งต่อไปนี้จะถูกคัดออกจากการวิจัย (Exclusion criteria)

(1) ผู้ป่วยมีภาวะแทรกซ้อน หรือโรคที่เป็นอุปสรรคต่อการเข้าร่วมโครงการ เช่น โรคหัวใจ โรคต้อกระจก โรคตับ โรคไต เป็นต้น

(2) ผู้ป่วยรับประทานผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร วิตามินและเกลือแร่ใดๆ หรือ รับประทานโครเมียมในช่วง 1 เดือนก่อนเข้าร่วมโครงการวิจัย

(3)ผู้ป่วยที่มีความผิดปกติด้านการได้ยิน อ่านและเขียนไม่ได้ ไม่สามารถเข้าใจหรือรับรู้ได้

2.3 ขนาดตัวอย่าง

การศึกษานี้ต้องการผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษารวมทั้งสิ้น 60 คน (จำนวน 2 กลุ่มๆ ละ 30 คน) โดยมีสูตรคำนวณกลุ่มตัวอย่างดังนี้

$$N = 2\left[(Z_\alpha + Z_\beta)\, SD / D\right]^2$$ (เติมศรี ชำนิจารกิจ, 2544)

เมื่อ N = จำนวนผู้เข้าร่วมการศึกษาต่อกลุ่ม

D = ขนาดความแตกต่าง (effect size) ซึ่งเป็นผลจากการศึกษาแบบ randomized, double-blind, cross-over ที่พบว่าผลของการเสริมโครเมียม พิโคลิเนต ขนาด 400 ไมโครกรัมต่อวัน ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าระดับโครเมียมในซีรัมหลังอดอาหารอย่างน้อย 8 ชั่วโมงเพิ่มขึ้นเท่ากับ 4.6 nmol/L (Ghosh และคณะ, 2002)

SD = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับของระดับโครเมียมซีรัมหลังอดอาหารอย่างน้อย 8 ชั่วโมงเท่ากับ 7.1 nmol/L (Ghosh และคณะ, 2002)

Z_α = 1.64 เมื่อกำหนดให้ α = 0.05 (one-sided)

Z_β = 0.84 เมื่อกำหนดให้ β = 0.20

$$N = 2\left[(1.64 + 0.84) \times 7.1 / 4.6\right]^2$$

$$= 29.30 \text{ คน / กลุ่ม}$$

ดังนั้นจำนวนผู้ป่วยต่อกลุ่ม = 30 คน

3. เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.1 เอกสารให้ความรู้เกี่ยวกับโครเมียม (ภาคผนวก ข)

3.2 แบบบันทึกประวัติผู้ป่วย สำหรับศึกษาข้อมูลผู้ป่วยได้แก่ ชื่อ สกุล เพศ อายุ น้ำหนัก ส่วนสูง เลขประจำตัวผู้ป่วย ที่อยู่ ภูมิลำเนา (ภาคผนวก ช)

หอสมุดกลาง ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโครเมียมในซีรัม

3.3.1 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Automatic High Speed Refrigerated Centrifuge, Model CR 20B2, Hitachi®, Japan)

3.3.2 Plastic VACUETTE® Z Serum Clot Activator tube ขนาด 9 มิลลิลิตร

3.3.3 Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

3.3.4 Volumetric flask ขนาด 10 50 และ 100 มิลลิลิตร

3.3.5 Micro-pipette ขนาด 20 200 และ1000 ไมโครลิตร

3.3.6 Pipette tips

3.3.7 เครื่องปั่นผสมไฟฟ้า (Electrical mixer, Vortex)

3.3.8 กล่องรักษาความเย็น (Ice box)

3.3.9 เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Deep freezer -35 องศาเซลเซียส)

3.3.10 ตู้อบแห้ง (Hot air oven)

3.3.11 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์วัดการดูดกลืนของแสงโดยอะตอม

(Graphite Furnance Atomic Absorption Spectrophotometer, Hitachi Model Z-8200 Polarized Zeeman, Japan)

4. สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

4.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์โครเมียม

4.1.1 สารละลายมาตรฐานโครเมียม (Stock standard chromium solution)

ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (Merck Co., Germany)

4.1.2 กรดไนตริกเข้มข้น (Concentrated Nitric Acid, AR Grade , Merck Co., Germany)

4.1.3 Seronorm® Trace element, Serum (a certified reference serum, Sero Co., Norway) (ภาคผนวก ญ)

4.1.4 น้ำขจัดไอออน (deionized water)

4.1.5 Ultrapure Water (Milli-Q Water)

5. ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

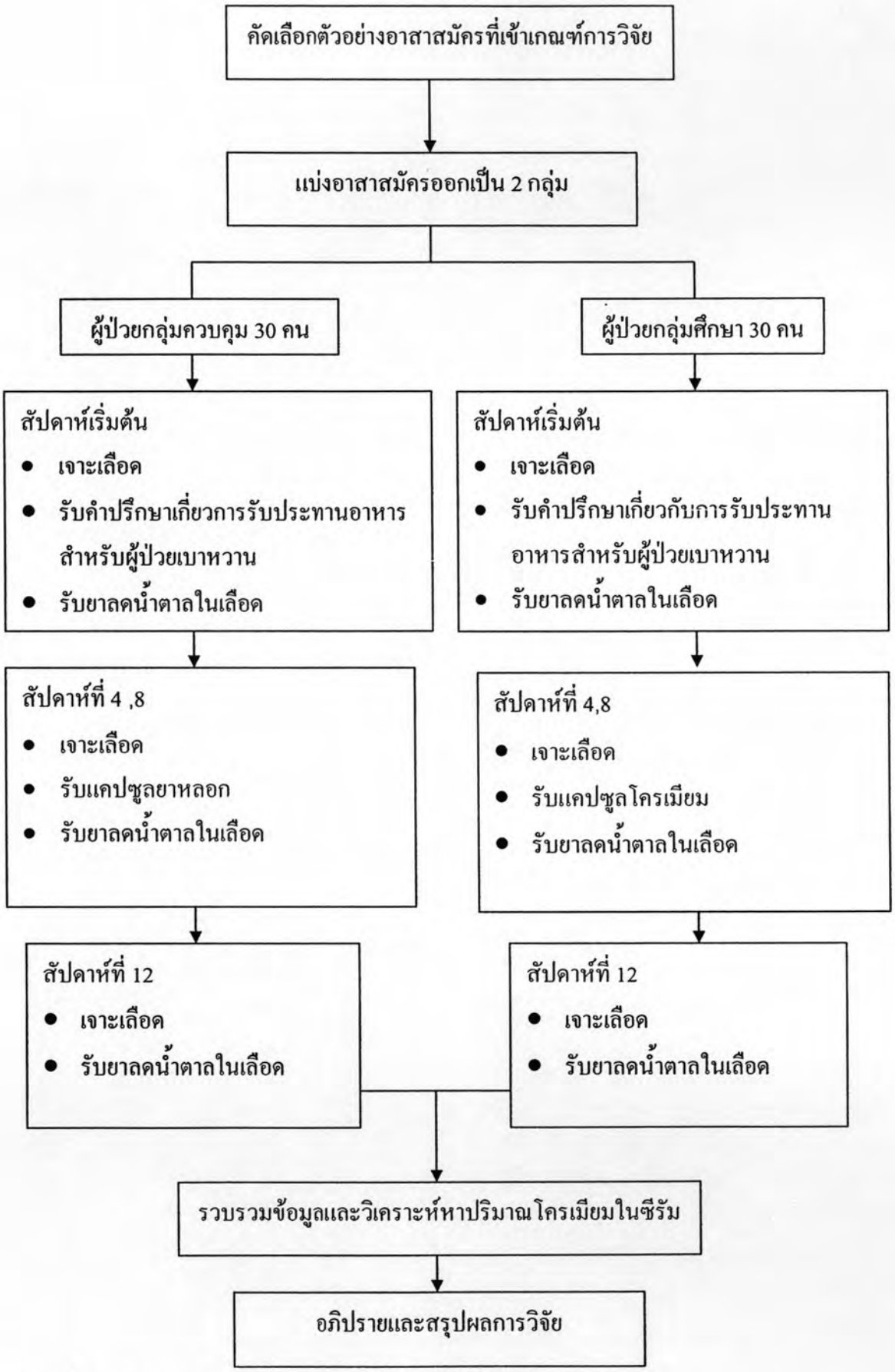
5.1 ในคนปกติ เก็บตัวอย่างเลือดของอาสาสมัครสุขภาพดี ณ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยในช่วงเดือน ตุลาคม 2548 โดยการสัมภาษณ์อาสาสมัครสุขภาพดีที่มาบริจาคเลือดตามหลักเกณฑ์การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างที่ระบุไว้ในข้อ 2 เก็บเลือดจากอาสาสมัครรายละ 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด Plastic VACUETTE® Z Serum Clot Activator ขนาด 9 มิลลิลิตร สำหรับการวิเคราะห์หาระดับโครเมียม ตั้งหลอดทิ้งไว้ที่กล่องรักษาความเย็น ให้ลิ่มเลือดหดตัว นำเลือดที่หดตัวได้ที่แล้ว ไปปั่นแยกซีรัมด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ความเร็ว 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ปิเปตซีรัมส่วนบนใส่หลอดเซนตริฟิวจ์ชนิดพลาสติก ขนาด 1.5 มิลลิลิตร จำนวน 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -35 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์หาระดับโครเมียมในซีรัม

5.2 ในผู้ป่วยเบาหวานซึ่งเป็นผู้ป่วยที่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการวิจัยผู้ป่วยจะได้รับการชี้แจงเกี่ยวกับวัตถุประสงค์ วิธีการวิจัย และประโยชน์ที่ผู้ป่วยจะได้รับพร้อมทั้งให้ผู้ป่วยลงนามในแบบฟอร์มแสดงความยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย (ภาคผนวก จ) แล้วแบ่งผู้ป่วยด้วยวิธี Simple Random Sampling ใช้ตารางเลขสุ่ม (random number table) เป็น 2 กลุ่มคือ

5.2.1 **กลุ่มควบคุม** เป็นผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยาเม็ดลดระดับน้ำตาลในเลือดตามปกติที่ผู้ป่วยเคยได้รับและได้รับแคปซูลยาหลอก รับประทานครั้งละ 2 เม็ดวันละ 2 ครั้งหลังอาหารเช้าและเย็น ผู้ป่วยได้รับคำแนะนำ และคู่มือเกี่ยวกับโภชนบำบัดในผู้ป่วยเบาหวาน เอกสารให้ความรู้เกี่ยวกับโครเมียม บัตรประจำตัวผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการวิจัย และนัดหมายวันที่จะให้ผู้ป่วยมาเจาะเลือดตามกำหนดเวลาที่แสดงในภาพที่ 3

5.2.2 **กลุ่มศึกษา** เป็นผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยาเม็ดลดระดับน้ำตาลในเลือดตามปกติที่ผู้ป่วยเคยได้รับ และได้รับแคปซูลโครเมียมนิโคติเนต 100 มิลลิกรัม รับประทานครั้งละ 2 เม็ดวันละ 2 ครั้งหลังอาหารเช้าและเย็น ผู้ป่วยได้รับคำแนะนำ และคู่มือเกี่ยวกับโภชนบำบัดในผู้ป่วยเบาหวาน เอกสารให้ความรู้เกี่ยวกับโครเมียม บัตรประจำตัวผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการวิจัย และนัดหมายวันที่จะให้ผู้ป่วยมาเจาะเลือดตามกำหนดเวลาที่แสดงในภาพที่ 2

นอกจากนี้ยังบันทึก ประเมินอาหารที่รับประทานย้อนหลัง 24 ชั่วโมง และบันทึกการใช้ยาของผู้ป่วยของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มอีกด้วย (ภาคผนวก ฉ)



ภาพที่ 2 แผนผังการดำเนินการวิจัยสำหรับกลุ่มผู้ป่วยเบาหวาน

5.3 ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างเลือด

ผู้ป่วยงดอาหารหลังเที่ยงคืน ก่อนที่จะมาตรวจในตอนเช้า เก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำที่ข้อพับแขน ระหว่างเวลา 7.00-8.00 น. ใช้กระบอกฉีดยาขนาด 5 มิลลิลิตร และเข็มเบอร์ 20 เก็บเลือดจากอาสาสมัครรายละ 5 มิลลิลิตร สำหรับการวิเคราะห์หาระดับโครเมียม โดยนำเลือดใส่ในหลอด Plastic VACUETTE® Z Serum Clot Activator ขนาด 9 มิลลิลิตร ตั้งหลอดทิ้งไว้ที่กล่องรักษาความเย็น ให้ลิ่มเลือดหดตัว นำเลือดที่หดตัวได้ที่แล้ว ไปปั่นแยกซีรัมด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ความเร็ว 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ปิเปตซีรัมส่วนบนใส่หลอดเซนตริฟิวจ์ชนิดพลาสติก ขนาด 1.5 มิลลิลิตร จำนวน 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -35 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์หาระดับโครเมียมในซีรัม

6. การวิเคราะห์หาระดับโครเมียมในตัวอย่างเลือด

6.1 การเตรียมเครื่องแก้ว และอุปกรณ์พลาสติก

เครื่องแก้วและอุปกรณ์พลาสติก (โพลีเอธิลีน) ทุกชิ้นที่ใช้ในการวิเคราะห์หลังจากล้างให้สะอาดด้วยน้ำยาทำความสะอาด Pyronex® แล้ว ต้องแช่ในสารละลายกรดไนตริกความเข้มข้นร้อยละ 20 เป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง จากนั้นล้างให้สะอาดด้วย deonized water และ ultrapure water ตามลำดับ เพื่อให้ปราศจากการปนเปื้อนของแร่ธาตุทุกชนิด นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเก็บในภาชนะที่ปิดสนิทเพื่อให้ปราศจากฝุ่น (Association of Official Analytical Chemists, 1995 ; Eller และ Cassinelli, 1994; Milne, 1994)

6.2 การวิเคราะห์หาระดับโครเมียมในซีรัม

นำซีรัมที่เตรียมไว้ (ข้อ 5.1 และ5.3) มาทำการวิเคราะห์หาระดับโครเมียมด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์วัดการดูดกลืนแสงโดยอะตอม (Graphite Furnance Atomic Absorption Spectrophotometer) ในแต่ละครั้งที่ทำการวิเคราะห์จะใช้ Seronorm® เป็นสารมาตรฐานควบคุม (Milne, 1994) ความเข้มข้นของระดับโครเมียมในซีรัมตัวอย่างคำนวณจากกราฟมาตรฐานตามขั้นตอนดังนี้ (Hitachi , 1989; Yoshiro, 1991)

1. เตรียม กรดไนตริก 0.02 นอร์มัล โดยปิเปตกรดไนตริกเข้มข้น 1.36 มิลลิลิตร ลงใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร เติม ultrapure water ให้ครบปริมาตร
2. เตรียม สารละลายมาตรฐานของโครเมียม (working standard chromium solution) ตามขั้นตอนดังนี้
   2.1 Stock standard chromium solution : เป็นสารละลายมาตรฐานโครเมียมเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ของบริษัท Merck Co., Germany
   2.2 Intermediate standard chromium solution (10 มิลลิกรัมต่อลิตร) ปิเปต stock standard chromium solution 1 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมกรดไนตริก 0.02 นอร์มัล ให้ครบปริมาตร ผสมให้เข้ากัน
   2.3 Working standard chromium solution (100 ไมโครกรัมต่อลิตร) ปิเปต Intermediate standard chromium solution 1 มิลลิลิตร ลงใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร เติม กรดไนตริก 0.02 นอร์มัลให้ครบปริมาตร ผสมให้เข้ากัน
   2.4 Pull serum ปิเปต Pull serum ปริมาณ 5 มิลลิลิตรใส่ในหลอดสำหรับเครื่องหมุนเหวี่ยงขนาดปริมาตร 10 มิลลิลิตรจากนั้นปิเปตกรดไนตริกเข้มข้น จำนวน 250 ไมโครลิตร ลงในซีรัมผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นผสมไฟฟ้าอีกครั้งก่อนนำไปวางบนเครื่องอังน้ำ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที ปิเปตซีรัมส่วนใส ใส่ในหลอดสำหรับเครื่องหมุนเหวี่ยงขนาดเล็กปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร
3. เตรียมซีรัมเพื่อนำไปวิเคราะห์ ดังนี้

นำซีรัมที่เตรียมไว้ (ข้อ5.3) ออกมาจากอุณหภูมิ –35 องศาเซลเซียสแล้วทิ้งไว้ให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง นำมาปั่นบนเครื่องปั่นผสมไฟฟ้าเพื่อผสมให้เข้ากัน จากนั้นปิเปตกรดไนตริกเข้มข้น จำนวน 50 ไมโครลิตร ลงในซีรัมผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นผสมไฟฟ้าอีกครั้งก่อนนำไปวางบนเครื่องอังน้ำ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที ปิเปตซีรัมส่วนใส ใส่ในหลอดสำหรับเครื่องหมุนเหวี่ยงขนาดเล็กปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -35 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์

4. การเตรียมสารละลายมาตรฐานโครเมียม (Standard chromium solution)

เตรียมสารละลายมาตรฐานโครเมียมความเข้มข้น 0.00 1.00 2.00 3.00 ไมโครกรัมต่อลิตร ในหลอดสำหรับเครื่องหมุนเหวี่ยงขนาดเล็กปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร โดยใช้ส่วนผสมตามตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ปริมาณสารละลายที่ใช้ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานโครเมียม

Concentration of Standard Chromium Solution (µg/l)	Working standard Chromium solution (µl)	Pull Serum* (µl)	Total Volume (µl)
0.00	0.00	1000	1000
1.00	10.00	990	1000
2.00	20.00	980	1000
3.00	30.00	970	1000

* ซีรัมของคนปกติจำนวน 100 คน

5. การเตรียมตัวอย่างควบคุม (Control sample)

เตรียมตัวอย่างควบคุมโดยปิเปต Seronorm® Trace element serum (Reference serum) ปริมาณ 1 มิลลิลิตร และปิเปตกรดไนตริกเข้มข้นปริมาณ 50 ไมโครลิตรลงใน Seronorm® Trace element serum ผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นผสมไฟฟ้า แล้วนำไปวางบนเครื่องอังไอน้ำที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที ปิเปตซีรัมส่วนใส ใส่ในหลอดสำหรับเครื่องหมุนเหวี่ยงขนาดเล็กปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปเป็นตัวอย่างควบคุม

6. วิเคราะห์หาปริมาณโครเมียมโดยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์วัดการดูดกลืนแสงโดยอะตอมโดยเครื่องสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโครเมียมที่ความเข้มข้น 0 1 2 และ 3 ไมโครกรัมต่อลิตรตามภาพที่ 3

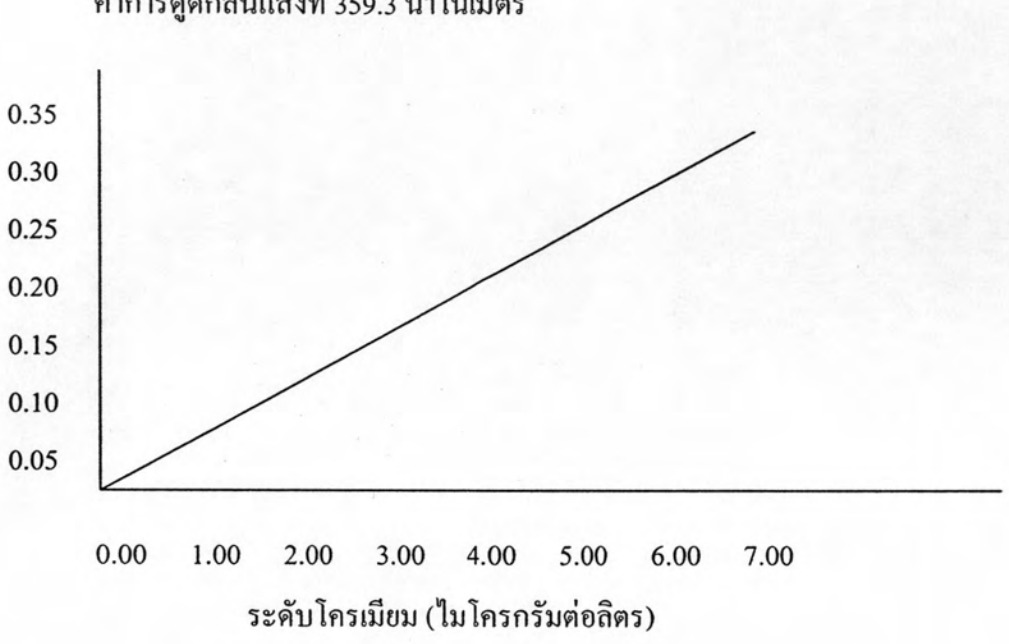
7. นำซีรัมส่วนใส ที่ได้จากข้อ 3 มาปั่นบนเครื่องปั่นผสมไฟฟ้าให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วใส่ลงใน Autosampler ของเครื่องเพื่อวิเคราะห์โดยทันที การควบคุมคุณภาพ ความถูกต้องและแม่นยำของเครื่องในการวิเคราะห์โดยใช้ Seronorm ® Trace element serum (Reference serum) ก่อนการวัดตัวอย่างจริงและวัดทุก 10 ตัวอย่าง ระดับโครเมียมในซีรัมของแต่ละตัวอย่างจะถูกคำนวณอัตโนมัติจากค่าการดูดกลืนแสงโดยอะตอม อ่านผลจากกราฟมาตรฐานซึ่งจะแสดงเป็นหน่วย ไมโครกรัมต่อลิตร

8. สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์หาระดับโครเมียม ในซีรัม

Wavelength	:	359.3 nm
Photo multiplier (PMT) Voltage	:	330 V
Slit width	:	1.30 nm200
Lamp current	:	10.0 mA
Injection volume	:	20 µl
Temperature control	:	Optional
Time constant	:	0.05 second

ตารางที่ 7 Furnance Program (โปรแกรมที่ทำให้เกิดกระบวนการอะตอมไมเซชั่น)

Stage No.	Stage	Temp (°C)		Time (s)		Gas flow
		start	End	Ramp	Hold	(ml/min)
1	Dry	80	130	40	-	200
2	Ash	450	450	30	-	200
3	Atom	2900	2900	-	10	-
4	Clean	3000	3000	-	5	200
5	Cool	-	-	-	7	200



ภาพที่ 3 กราฟมาตรฐานของระดับโครเมียม (ไมโครกรัมต่อลิตร) กับ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 359.3 นาโนเมตร

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ใช้โปรแกรม SPSS for windows 13 Version
(ฐิตินันท์, 2548; เติมศรี, 2544 และ กัลยา, 2549)

หลังจากการทดสอบการแจกแจงของข้อมูลระดับโครเมียมในซีรัมของกลุ่มคนปกติและกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานแล้วพบว่าการแจกแจงข้อมูลไม่ได้มีการแจกแจงแบบปกติ จึงต้องใช้การทดสอบที่ไม่ใช้พารามิเตอร์ ดังนี้

1.เปรียบเทียบความแตกต่างค่ามัธยฐานระดับโครเมียมในซีรัมระหว่างกลุ่มคนปกติและกลุ่มผู้ป่วยเบาหวาน โดยใช้ Mann-Whitney Test

2. เปรียบเทียบความแตกต่างค่ามัธยฐานระดับโครเมียมในซีรัมของกลุ่มผู้ป่วยเบาหวาน กลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษา โดยใช้ Mann-Whitney Test, Kruskal-Wallis Test

3. เปรียบเทียบความแตกต่างค่ามัธยฐานระดับระดับโครเมียมในซีรัมภายในกลุ่มของผู้ป่วยเบาหวานกลุ่มควบคุม และกลุ่มศึกษาโดยใช้ Friedman's test และ Wilcoxon Signed Ranks Test