

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

1. วัสดุ อุปกรณ์

1.1 อ่างพลาสติก

1.2 ถังแช่เย็น

1.3 hot plate (Electrothermal)

1.4 porcelain crucible ขนาดความจุ 50 ml

1.5 ถ้วยบด

1.6 muffle furnace รุ่น 48000

1.7 ตู้ดูดควัน (fume hood)

1.8 ขวดแก้ว, ขวดพลาสติกชนิด HDPE

1.9 แผงอัดแห้ง

1.10 ถาดพลาสติก

1.11 กระดาษแข็ง

1.12 ผ้าขาวบาง

1.13 บีกเกอร์

1.14 กล้องถ่ายรูป

1.15 เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ของ Sartorius Model RC 210S

1.16 เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส ของ Index รุ่น I.D. 1001

1.17 เทอร์โมมิเตอร์

1.18 เครื่องวัดความเค็ม

1.19 Atomic Absorption Spectrophotometer Model. Analyst 100 ของ Perkin Elmer

1.20 น้ำกลั่นบริสุทธิ์ (Superpure Dionized)

1.21 เครื่องอบแห้งแบบทำคามเย็น (Freeze Dryer 5) ของ Yamato

1.22 โถดูดความชื้น (Dessicator)

1.23 ปีเปต และไมโครปีเปต

2. สารเคมี

2.1 Hydrochloric acid 10% AR grade

2.2 Nitric acid 10% AR grade

2.3 Ethyl alcohol 95%

2.4 Glacial acetic acid

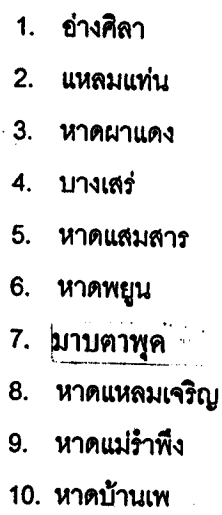
2.5 Formalin

2.6 Glycerine

2.7 Copper acetate

2.8 Acetylene gas ชนิด instrument grade

2.9 สารละลายมาตรฐานของโลหะสังกะสีและทองแดง



ภาพที่ 1 สถานีเก็บตัวอย่างสาหร่ายทะเล (O) บริเวณชายฝั่งจังหวัดชลบุรีและจังหวัดระยอง

วิธีดำเนินการ

1. สํารวจและกำหนดสถานีเก็บตัวอย่างสาหร่ายทะเลเพื่อนํามาวิจัย โดยเก็บตัวอย่างสาหร่ายทะเล 2 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดชลบุรี 5 สถานี (สถานีที่ 1-5) และจังหวัดระยอง 5 สถานี (สถานีที่ 6-10) จากการสำรวจพบตัวอย่างสาหร่ายทะเลแต่ละสถานียังนี้ คือ

- สถานีที่ 1 อ่างศิลา
- สถานีที่ 2 แหลมแท่น
- สถานีที่ 3 หาดผาแดง
- สถานีที่ 4 บางเสร่
- สถานีที่ 5 หาดแสมสาร
- สถานีที่ 6 หาดพุน
- สถานีที่ 7 มาบตาพุด
- สถานีที่ 8 หาดแหลมเจริญ
- สถานีที่ 9 หาดแม่รำพึง
- สถานีที่ 10 หาดบ้านเพ

2. เก็บตัวอย่างสาหร่ายทะเล ตั้งแต่เดือนมกราคม ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2543 โดยเก็บตัวอย่างสาหร่ายเดือนละ 1 ครั้ง การเก็บตัวอย่างสาหร่ายเก็บในช่วงน้ำลง โดยอาศัยมาตรน้ำของกรมอุทกศาสตร์ เพื่อสะดวกในการลงเก็บตัวอย่างสาหร่ายที่เก็บมาวิเคราะห์นั้นเก็บเฉพาะที่ติดกับโขดหินหรือสิ่งยึดเกาะอื่น ๆ

3. ตัวอย่างสาหร่ายที่เก็บมาแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ส่วนที่หนึ่งจะแช่เย็นไว้เนื่องจากไม่สามารถทำการทดลองได้ทันที ส่วนที่สองนำมากรองด้วยน้ำยากรองสาหร่าย (ภาคผนวก ก) ส่วนที่สามให้นำตัวอย่างสาหร่ายที่เหลือมาอัดแห้งในแผงอัดแห้ง เพื่อให้เป็นหลักฐานอ้างอิง

4. เก็บตัวอย่างสาหร่ายทะเลในแต่ละสถานี 3 จุดโดยไม่ซ้ำกัน ขณะน้ำลง

5. การวิเคราะห์และวิธีวิเคราะห์ตัวอย่างสาหร่ายทะเล เพื่อหาปริมาณโลหะหนัก สังกะสี และทองแดง ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer model analyst 100 โดยใช้วิธีการของ อดอง ชูทอง (2522) ซึ่งได้ดัดแปลงวิธีของฟอสเตอร์ (Foster, 1976) ไบรอัน และฮัมเมอร์สโตน (Bryan & Hummerstone, 1973) มีขั้นตอนดังนี้

5.1 นำสาหร่ายที่แช่เย็นไว้ล้างด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด

5.2 นำสาหร่ายไปอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบทำคามเย็น (freeze dry)

5.3 นำตัวอย่างสาหร่ายที่อบแห้งแล้วมาบดให้ละเอียดเป็นผง เก็บไว้ในถุงพลาสติก แล้วนำไปเก็บไว้ในโหลสุญญากาศอีกครั้ง เพื่อนำไปวิเคราะห์หาโลหะหนัก

5.4 ชั่งตัวอย่างสาหร่ายที่บดละเอียดแล้วมา 0.5000 ± 0.0005 g ใส่ porcelain crucible ที่มีความจุ 50.0 ml ย่อยสลายโดยใช้ HNO_3 10% จำนวน 5.0 ml โดยใช้ hot plate ช่วยในการย่อยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกรดแห้ง แล้วนำไปใส่ muffle furnace ที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จนได้เป็นเถ้าสีขาว (ไม่มีสีดำของคาร์บอนเหลืออยู่) แล้วนำออกจาก muffle furnace เติมน้ำ HCl 10% จำนวน 5.0 ml ทิ้งไว้ใน porcelain crucible นาน 72 ชั่วโมง เพื่อให้โลหะแยกออกจากตัวอย่างแล้วนำมาทำเป็นสารละลายโดยใช้ น้ำกลั่น dionized ให้ได้สารละลาย จำนวน 50.0 ml แล้วนำสารละลายมาเก็บไว้ในขวดพลาสติก ชนิด High Density Polyethylene : HDPE เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณโลหะต่าง ๆ ด้วยเครื่อง AAS

6. การวิเคราะห์โลหะหนัก

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน เตรียมสารละลายมาตรฐานของโลหะหนักสังกะสีและ ทองแดงที่มีความเข้มข้น 1000 mg/L จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐานของโลหะหนักในช่วงที่จะวัดตัวอย่าง โดยเตรียมดังนี้ เช่น ต้องการเตรียมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 100 ppm ปริมาตร 100 ml จากสารละลายมาตรฐานโลหะหนัก 1000 ppm ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{สูตรคำนวณ} \quad N_1 V_1 = N_2 V_2$$

$$\begin{aligned} \text{แทนค่า} \quad (1000 \text{ mg/L}) V_1 &= (100 \text{ mg/L}) (100 \text{ ml/L}) \\ V_1 &= \frac{(100 \text{ mg/L}) (100 \text{ ml/L})}{(1000 \text{ mg/L})} \\ V_1 &= 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

การเตรียมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 100 mg/L จากสารละลายมาตรฐาน 1000 mg/L ต้องปิเปตสารละลายมาตรฐาน 1000 mg/L จำนวน 10 ml ใส่ใน volumetric flask ปริมาตร 100 ml จากนั้นปรับปริมาตรให้ 100 ml ด้วย น้ำกลั่นบริสุทธิ์ สำหรับสารละลาย มาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ สามารถเตรียมได้ตามตัวอย่างข้างต้น

การสร้างกราฟมาตรฐาน เตรียมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้

$$\text{สังกะสี} = 0.10 \ 0.30 \ 0.50 \ 1.00 \ 3.00 \ \text{mg/L}$$

$$\text{ทองแดง} = 0.00 \ 1.00 \ 3.00 \ 5.00 \ 10.00 \ \text{mg/L}$$

จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer สำหรับทำกราฟมาตรฐาน เพื่อใช้เปรียบเทียบความเข้มข้นของโลหะหนักแต่ละชนิด หน่วยที่ใช้เป็นไมโครกรัมต่อกรัม ($\mu\text{g/g}$) ดังแสดงในภาคผนวก ข

สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

1. ค่าเฉลี่ย (mean) ตามวิธีของ ล้วน สายยศ และอังคณา สายยศ (2522)
2. ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ตามวิธีของ ล้วน สายยศ และอังคณา สายยศ (2522)
3. วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (two-way analysis of variance)
4. ถ้ามีความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงหาความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยใช้ q-statistic ตามวิธีของนิวแมน กูลต์ เทสต์ (Newman Keul Test) (Winer, 1971, pp. 210-218)