

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์และสารเคมี

1. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์

- 1.1 เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง
- 1.2 ตู้แช่แข็ง (Deep Freezer)
- 1.3 เครื่องอบแห้งระบบทำความเย็น (Freez Dryer)
- 1.4 ตู้ดูดควัน
- 1.5 ซ้อนดักสาร
- 1.6 เครื่องกั่นกรด
- 1.7 เครื่อง Microwave Digester
- 1.8 เทาเผาสาร
- 1.9 บีกเกอร์ (Beaker)
- 1.10 ครุฑบีบ
- 1.11 ปิเปตอัตโนมัติ (Automatic Pipette)
- 1.12 โถดูดความชื้น (Dessicator)
- 1.13 เครื่องทำความร้อน (Hot Plate)

2. สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์

- 2.1 กรดไนตริกเข้มข้น (HNO_3) Redistilled Grade
- 2.2 กรดไฮโดรคลอริก (HCl) Redistilled Grade
- 2.3 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) Analytical Grade
- 2.4 สแตนนัส คลอไรด์ Stannous Chloride (SnCl_2)
- 2.5 โพแทสเซียม โบรไมด์ Potassium Bromide (KBr)
- 2.6 โพแทสเซียม โบรเมต Potassium Bromate (KBrO_3)
- 2.7 ไฮดรอกซีแอมโมเนียม คลอไรด์ Hydroxyammonium Chloride
- 2.8 สารละลายมาตรฐานของปรอท (Standard Solution) (ASS Grade)
- 2.9 อาร์กอน แก๊ส (Argon Gas)
- 2.10 น้ำกลั่น (Deionized Water)

3. เครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์

เครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS) ของ PS Analytical

รุ่น Merlin

วิธีดำเนินการวิจัย

ทำการเก็บตัวอย่างตั้งแต่ ตำบลนาเกลือ ถึง ตำบลอ่างศิลา รวมทั้งสิ้น 14 จุดเก็บตัวอย่าง ดังแสดงใน ภาพที่ 5 ซึ่งในแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง ได้มีกิจกรรมที่แตกต่างกัน ดังแสดงใน ตารางที่ 9

ตารางที่ 9 กิจกรรมจุดเก็บตัวอย่างตั้งแต่บริเวณ ตำบลนาเกลือ ถึง ตำบลอ่างศิลา

สถานี	ชุมชน	ประมง	ท่องเที่ยว	ทำเรือ	อุตสาหกรรม
1. ปากท่อน้ำทิ้ง (ตำบลนาเกลือ)	✕	✕			
2. ปากท่อน้ำทิ้งบริเวณหาดเจ้าสำราญ	✕	✕	✕		
3. ปากท่อน้ำทิ้งบริเวณโรงโม่	✕	✕			
4. ปากคลองบางละมุง	✕	✕			✕
5. สะพานปลาบ้านแหลมฉิมบึง	✕	✕			✕
6. ปากคลองชุมชนบ้านแหลมฉิมบึง	✕	✕			✕
7. อ่าวอุดม (โรงกลั่นไทยออยล์)	✕	✕			✕
8. ปากท่อน้ำทิ้งบริเวณนาวาซายหาด	✕	✕			✕
9. ปากท่อน้ำทิ้งจากชุมชนอำเภอศรีราชา	✕	✕	✕	✕	✕
10. บริเวณสถานีวิจัยประมง	✕	✕			
11. บริเวณชายหาดอำเภอบางพระ	✕	✕	✕		
12. บริเวณปากท่อน้ำทิ้งจากชุมชนบางพระ	✕	✕			
13. บริเวณชายหาดวอนนภา	✕	✕	✕		
14. บริเวณปากคลองบางโปรง	✕	✕			

ในแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง มีความแตกต่างของกิจกรรมที่แตกต่างกัน ดังแสดงใน ภาพที่ 6 จึงได้มีการแบ่งกลุ่มของกิจกรรม เป็น 4 กลุ่มกิจกรรม เพื่อศึกษาหาความแตกต่างของการสะสมปรอท ในแต่ละกลุ่มกิจกรรม ดังแสดงใน ตารางที่ 10

ตารางที่ 10 การแบ่งกลุ่มกิจกรรมในจุดเก็บตัวอย่างตั้งแต่บริเวณ ตำบลนาเกลือ ถึง ตำบลอ่างศิลา

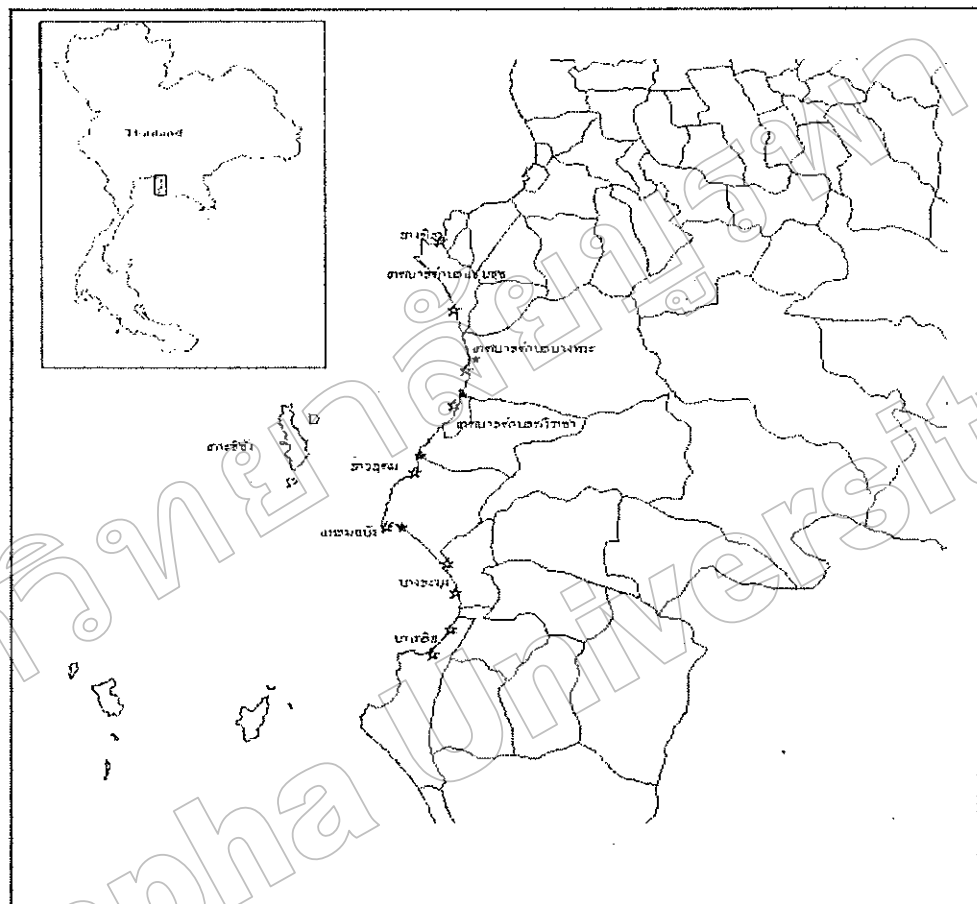
สถานี	ชุมชน	ประมง	ท่องเที่ยว	ท่าเรือ	อุตสาหกรรม
1. ปากท่อน้ำทิ้ง (ตำบลนาเกลือ)	+	+			
3. ปากท่อน้ำทิ้งบริเวณโรงโม่	+	+			
10. บริเวณสถานีวิจัยประมง	+	+			
12. บริเวณปากท่อน้ำทิ้งจากชุมชนบางพระ	+	+			
14. บริเวณปากคลองบางโพง	+	+			
2. ปากท่อน้ำทิ้งบริเวณหาดเจ้าสำราญ	+	+	+		
11. บริเวณชายหาดอำเภอบางพระ	+	+	+		
13. บริเวณชายหาดวอนนภา	+	+	+		
4. ปากคลองบางละมุง	+	+			+
5. สะพานปลาบ้านแหลมฉะบับ	+	+			+
6. ปากคลองชุมชนบ้านแหลมฉะบับ	+	+			+
7. อ่าวอุดม (โรงกลั่นไทยออยล์)	+	+			+
8. ปากท่อน้ำทิ้งบริเวณเนาวาชายหาด	+	+			+
9. ปากท่อน้ำทิ้งจากชุมชนอำเภอสัตหิรา	+	+	+	+	+

ในการเก็บตัวอย่างจะทำการเก็บตัวอย่างในบริเวณเขตพื้นที่ตั้งแต่ ตำบลนาเกลือ ถึง ตำบลอ่างศิลาตามพิกัดจุดจากเครื่อง Global Positioning System (GPS) ดังแสดงข้อมูลใน ตารางที่ 11

ตารางที่ 11 พิกัดจุดจากเครื่อง Global Positioning System (GPS)

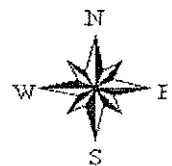
สถานี	Latitude	Longitude
1. ปากท่อน้ำทิ้ง (ต.นาเกลือ)	12.96863	100.91283
2. ปากท่อน้ำทิ้งบริเวณหาดเจ้าสำราญ	12.97066	100.91541
3. ปากท่อน้ำทิ้งบริเวณโรงโม่	12.98444	100.92322
4. ปากคลองบางละมุง	12.98910	100.92539
5. สะพานปลาบ้านแหลมฉะบับ	13.02002	100.93011
6. ปากคลองชุมชนบ้านแหลมฉะบับ	13.02341	100.93120
7. อ่าวอุดม (โรงกลั่นไทยออยล์)	13.04421	100.92732
8. ปากท่อน้ำทิ้งบริเวณนาเวียงหาด	13.572011	100.88036
9. ปากท่อน้ำทิ้งจากชุมชนอำเภอศรีราชา	13.12100	100.90113
10. บริเวณสถานีวิทยุประมง	13.15236	100.91300
11. บริเวณชายหาดอำเภอบางพระ	13.17091	100.9278
12. บริเวณปากท่อน้ำทิ้งจากชุมชนบางพระ	13.18436	100.92987
13. บริเวณชายหาดวอนนภา	13.20625	100.93819
14. บริเวณปากคลองบางโปรง	13.21365	100.93487

แผนที่แสดงจุดเก็บตัวอย่าง

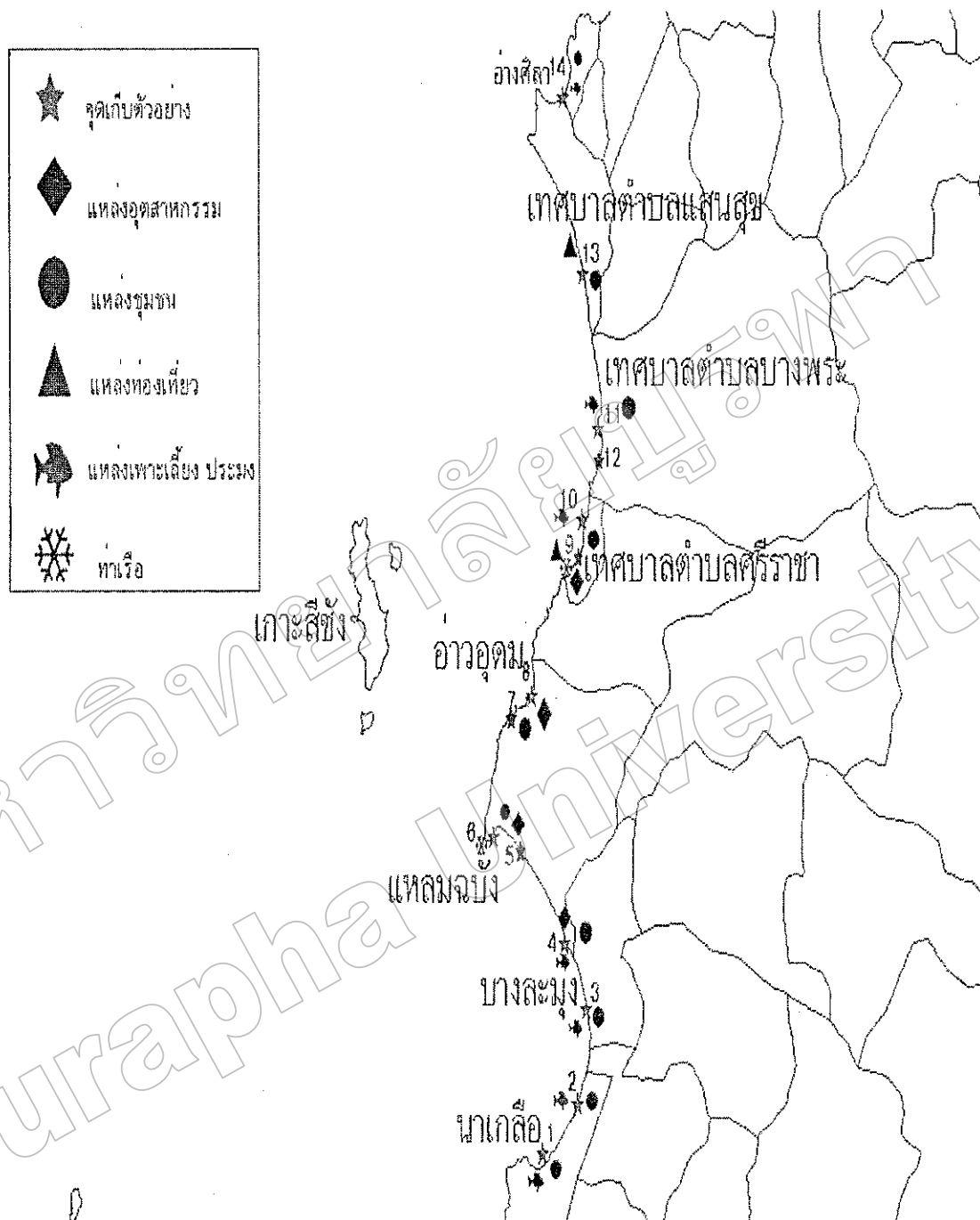


★ แสดงจุดเก็บตัวอย่าง

10 0 10 20 Kilometers



ภาพที่ 5 แผนที่แสดงจุดเก็บตัวอย่าง



ภาพที่ 6 แผนที่แสดงจุดเก็บตัวอย่าง และสัญลักษณ์กิจกรรมในแต่ละพื้นที่

1. อุปกรณ์และการเก็บตัวอย่าง

1.1 ตัวอย่างน้ำชายฝั่งทะเล

อุปกรณ์

1.1.1 ขวดบรรจุแก้วตัวอย่าง (Borosilicate Glass) ผ่านการแช่ KBr, KBrO_3 0.1 N เป็นเวลา 1 คืน

1.1.2 ถุงพลาสติก (Polyethylene Bag)

1.1.3 ถุงมือยาง

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำทะเล วันที่ 21 มกราคม 2548 บริเวณชายฝั่งทะเลในพื้นที่ที่มีการปล่อยน้ำเสียลงสู่สิ่งแวดล้อม เก็บในช่วงน้ำลง ทั้งหมด 14 สถานี โดยเก็บ 3 จุด จุดละ 1 ซ้ำ ระยะห่างระหว่างจุด จุดละ 10 เมตร ก่อนการเก็บตัวอย่าง ต้องกลั้วขวดด้วยน้ำทะเลบริเวณที่เก็บตัวอย่าง อย่างน้อย 2 - 3 ครั้ง ปิดผนึกด้วยถุงพลาสติก แช่น้ำแข็งก่อนนำไปวิเคราะห์

1.2 ตัวอย่างดินตะกอน

อุปกรณ์

1.2.1 ที่ตักตะกอนดิน ต้องหุ้มด้วยพลาสติกชนิด Polyethylene และเปลี่ยนทุกครั้งในการเก็บตัวอย่างแต่ละสถานี

1.2.2 ถุงพลาสติก (Polyethylene Bag)

1.2.3 ถุงมือยาง

ทำการเก็บตัวอย่างดินตะกอน วันที่ 21 มกราคม 2548 โดยเก็บตัวอย่างผิวหน้าดิน ตะกอน บริเวณชายฝั่งทะเล ในพื้นที่ที่มีการปล่อยน้ำเสียลงสู่สิ่งแวดล้อม เก็บในช่วงน้ำลง ทั้งหมด 14 สถานี สถานีละ 3 จุด จุดละ 1 ซ้ำ ระยะห่างระหว่างจุดละ 10 เมตร อุปกรณ์ทุกชิ้นต้องล้างด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 10 เปอร์เซ็นต์ เพื่อป้องกันการปนเปื้อน และเก็บตัวอย่างดินตะกอนในถุงพลาสติก (Polyethylene Bag)

1.3 ตัวอย่างแม่เฟรียง

อุปกรณ์

1.3.1 ถุงพลาสติก (polyethylene bag)

1.3.2 ปากคีบตัวอย่าง

1.3.3 ถุงมือยาง

ทำการเก็บตัวอย่างแม่เฟรียง วันที่ 22 มกราคม 2548 บริเวณชายหาดในพื้นที่ที่มีการปล่อยน้ำเสียลงสู่สิ่งแวดล้อมในช่วงน้ำลง ทั้งหมด 7 สถานี อุปกรณ์ทุกชิ้นต้องล้างด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 10 เปอร์เซ็นต์ เพื่อป้องกันการปนเปื้อน และนำตัวอย่างมาแช่น้ำแข็งรอการวิเคราะห์

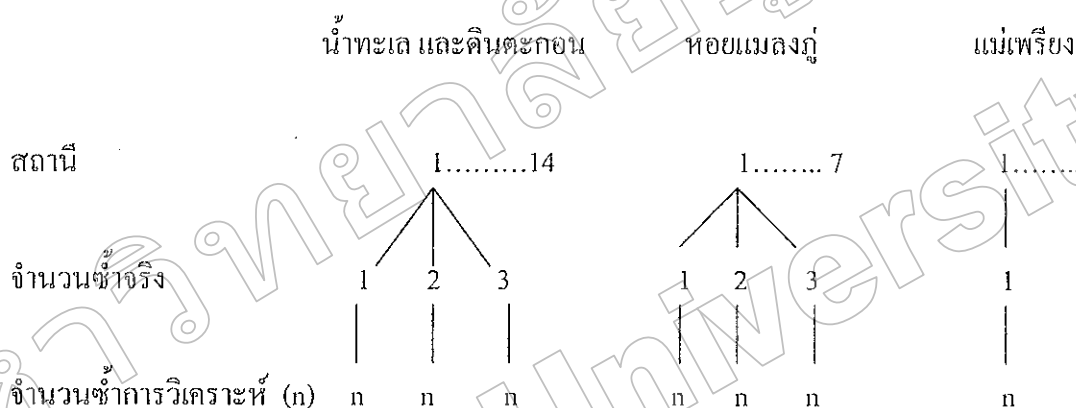
1.4 ตัวอย่างหอยแมลงภู

อุปกรณ์

1.4.1 ถุงพลาสติก (Polyethylene Bag)

1.4.2 ถุงมือยาง

ทำการเก็บตัวอย่างหอยแมลงภูวันที่ 22 มกราคม 2548 บริเวณชายหาดในพื้นที่ที่มีการเลี้ยงหอยแมลงภูทั้งหมด 7 สถานี โดยเก็บ 3 จุด จุดละ 1 ชั่วโมง อุปกรณ์ทุกชิ้นต้องล้างด้วยกรดกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 10 เปอร์เซ็นต์ เพื่อป้องกันการปนเปื้อน และนำตัวอย่างที่เก็บมาแช่ในน้ำแข็งเพื่อรอการวิเคราะห์



(ตัวอย่างน้ำทะเล $n = 2$)

(ตัวอย่างดินตะกอน $n = 3$)

(ตัวอย่างหอยแมลงภู $n = 3$)

(ตัวอย่างสัตว์หน้าดิน $n = 3$)

จำนวนตัวอย่างทั้งหมด = 303

ภาพที่ 7 แผนการศึกษาตัวอย่าง น้ำทะเล ดินตะกอน หอยแมลงภู และแม่เพรียง

ตัวอย่างน้ำทะเล ดินตะกอน และสิ่งมีชีวิต ที่เก็บในแต่ละกลุ่มกิจกรรม ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ตัวอย่างที่ทำการเก็บในแต่ละกลุ่มกิจกรรม

สถานี	น้ำ	ดิน	หอยแมลงภู่	แม่เพรียง
1. ปากท่อน้ำทิ้ง (ต.นาเกลือ)	+	+	+	+
3. ปากท่อน้ำทิ้งบริเวณโรงโม่	+	+	+	
10. บริเวณสถานีวิจัยประมง	+	+		
12. บริเวณปากท่อน้ำทิ้งจากชุมชนบางพระ	+	+		
14. บริเวณปากคลองบางโพร่ง	+	+	+	+
2. ปากท่อน้ำทิ้งบริเวณหาดเจ้าสำราญ	+	+	+	
11. บริเวณชายหาดอำเภอบางพระ	+	+		+
13. บริเวณชายหาดวอนนภา	+	+	+	+
4. ปากคลองบางละมุง	+	+	+	
5. สะพานปลาบ้านแหลมฉะเชิง	+	+		+
6. ปากคลองชุมชนบ้านแหลมฉะเชิง	+	+		
7. อ่าวอุดม (โรงกลั่นไทยออยล์)	+	+	+	+
8. ปากท่อน้ำทิ้งบริเวณนาชายหาด	+	+		
9. ปากท่อน้ำทิ้งจากชุมชนอำเภอสัตหีบ	+	+	+	+

2. การเก็บรักษาตัวอย่าง

ตัวอย่างสิ่งมีชีวิตจะนำมาวิเคราะห์โดยใช้น้ำหนักเปียก ส่วนตัวอย่างดินตะกอน จะวิเคราะห์โดยใช้น้ำหนักแห้ง โดยนำตัวอย่างดินตะกอนมาเข้าตู้แช่แข็ง (Deep Freezer) อุณหภูมิ - 40 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างแข็ง แล้วนำตัวอย่างมาเข้าเครื่องอบแห้งระบบทำความเย็น (Freeze Dryer) ที่อุณหภูมิ - 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 - 3 วัน จนตัวอย่างแห้งปราศจากความชื้น นำตัวอย่างที่แห้งใส่ถุงพลาสติกที่ใส่ผงซิลิกาความชื้น (Silica) ปิดถุงให้สนิท แล้วนำมาเข้าตู้แช่แข็ง อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส เพื่อรอการย่อยตัวอย่าง

3. การย่อยตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ปรอท (digestion)

3.1 ตัวอย่างน้ำชายฝั่งทะเล

3.1.1 เติมน้ำตัวอย่างที่ไม่กรองปริมาตร 25 ml ในขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask) ขนาด 25 ml ปริมาตร 25 ml

3.1.2 เติมกรด HCl ที่กลั่นแล้ว 1 ml และ KBr, KBrO_3 0.1 N ปริมาตร 0.5 ml

3.1.3 ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมงจนน้ำตัวอย่างเปลี่ยนสีเป็นสีเหลือง

3.1.4 ใส่ Hydroxyammonium Chloride กระทั่งสีเหลืองหายไป

3.1.5 นำตัวอย่างที่ได้จากการย่อยแล้วไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS) PS Analytical รุ่น Merlin

3.2 ตัวอย่างดินตะกอน

3.2.1 ร่อนตัวอย่างดินตะกอนด้วยผ้ากรองขนาด 125 ไมครอน

3.2.2 ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดให้ได้น้ำหนัก 0.3 กรัม

3.2.3 เติมสารละลายกรด $\text{HNO}_3:\text{HCl}$ ด้วยอัตรา 2:6

3.2.4 นำเข้าเครื่อง Microwave Digester ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการย่อย 40 นาที

3.2.5 ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรให้ได้ 50 ml ด้วยน้ำกลั่น De-Ionized

3.2.6 นำตัวอย่างที่ได้จากการย่อยแช่เย็นเพื่อรอการวัดปริมาณปรอท

3.2.7 นำตัวอย่างที่ได้จากการย่อยสลายไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Cold Vapor

Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS) PS Analytical รุ่น Merlin

3.3 ตัวอย่าง หอยแมลงภู่ และแม่เพรียง

3.3.1 ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดให้ได้น้ำหนัก 0.25 กรัม

3.3.2 เติมสารละลายกรด $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}_2$ อัตราส่วน 10:4

3.3.3 นำเข้าเครื่อง Microwave Digester ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 นาที

3.3.4 ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรให้ได้ 50 ml ด้วยน้ำกลั่น De-ionized

3.3.5 นำตัวอย่างที่ได้จากการย่อยสลายไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Cold Vapor

Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS) PS Analytical รุ่น Merlin

นำน้ำตัวอย่าง 25 ml ใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 ml



เติมกรด HCl ที่กลั่นแล้ว 1 ml และ KBr, KBrO_3 0.1 N ปริมาตร 0.5 ml



ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมงจนน้ำตัวอย่างเปลี่ยนสีเป็นสีเหลือง



ใส่ Hydroxylammonium Chloride จนกระทั่งสีเหลืองหายไป แล้วจึงทำการวัดปริมาณปรอท



นำตัวอย่างที่ได้จากการย่อยสลายไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS) PS Analytical รุ่น Merlin

ภาพที่ 8 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปรอทในตัวอย่างน้ำชายฝั่งทะเล

นำตัวอย่างดินตะกอนมาร่อนด้วยผ้ากรองขนาด 125 ไมครอน



ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียด 0.3 กรัม



เติมกรด HNO_3 : HCl ด้วยอัตรา 2 : 6



นำเข้าเครื่อง Microwave Digester ที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการย่อย 40 นาที



นำตัวอย่างที่ได้จากการย่อยแช่เย็นเพื่อรอการวัดปริมาณปรอท



นำตัวอย่างที่ได้จากการย่อยสลายไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS) PS Analytical รุ่น Merlin

ภาพที่ 9 ขั้นตอนการย่อยตัวอย่างดินตะกอน และการวิเคราะห์สารปรอท

ชั่งตัวอย่างหอยแมลงภู่มะพร้าว และแม่เพรียง ที่บดละเอียด 0.25 กรัม



เติมกรด $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}_2$ ด้วยอัตรา 10:4



นำเข้าเครื่อง Microwave Digester ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการย่อย 35 นาที



ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรให้ได้ 50 ml ด้วยน้ำกลั่น De-ionized



นำตัวอย่างที่ได้จากการย่อยสลายไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS) PS Analytical รุ่น Merlin

ภาพที่ 10 ขั้นตอนการย่อยตัวอย่างและการวิเคราะห์ปรอทในเนื้อเยื่อ หอยแมลงภู่มะพร้าว และแม่เพรียง

4. การวิเคราะห์ปรอท

การวิเคราะห์ปรอทด้วยเทคนิค Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS) ของ PS Analytical รุ่น Merlin เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทด้วยหลักการวาวแสงเมื่อปรอทที่ถูกรีดิวซ์ จาก Stannous Chloride (SnCl_2) จนมีสภาพกลายเป็นปรอท Hg^0 ถูกพาเข้าสู่เซลล์จะถูกวัดค่าการวาวแสง ที่ความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตร

สมการการเปลี่ยนรูปแบบของปรอทจาก Hg^{2+} เป็น Hg^0



4.1 การเตรียมสารละลายปรอทมาตรฐานที่ความเข้มข้น 1, 0.5, 0.1 ไมโครกรัม

ต่อลิตร

สารละลายปรอทมาตรฐานความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อลิตร

นำสารละลายปรอทมาตรฐานความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อลิตร มา 5 ml แล้วปรับปริมาตรด้วย Standard Base (ใช้ในการเตรียม Series Mercury Standard) 5 ml จนได้ปริมาตรสุดท้ายที่ 10 ml

สารละลายปรอทมาตรฐานความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อลิตร

นำสารละลายปรอทมาตรฐานความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อลิตร มา 5 ml แล้วปรับปริมาตรด้วย Standard Base 5 ml จนได้ปริมาตรสุดท้ายที่ 10 ml

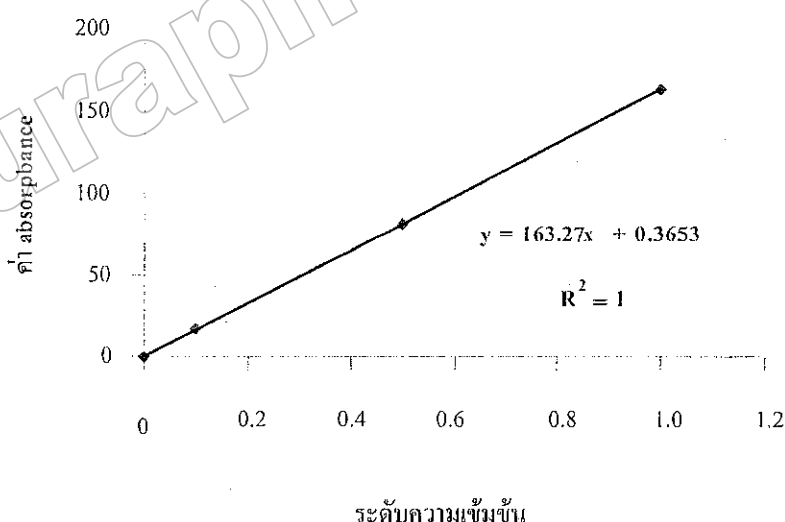
สารละลายปรอทมาตรฐานความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อลิตร

นำสารละลายปรอทมาตรฐานความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อลิตร มา 1 ml แล้วปรับปริมาตรด้วย Standard Base 9 ml จนได้ปริมาตรสุดท้ายที่ 10 ml

4.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน (Standard Calibration Curve)

ในการวัดตัวอย่างเพื่อหาปริมาณของปรอท ด้วยเครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS) ก่อนการวัดทุกครั้งจะต้องมีการทำกราฟมาตรฐาน เพื่อเป็นการตรวจสอบความเที่ยงตรงของเครื่องมือ ที่ใช้ในการวัดตัวอย่างปรอท

ก่อนการวัดตัวอย่าง จะต้องทำการวัดค่า Blank ซึ่งในเทคนิคนี้จะใช้ Standard Base เป็น Blank ใช้เป็นตัวลบกับค่ามาตรฐาน (Standard) ในแต่ละความเข้มข้น เพื่อที่จะได้ค่าของความเข้มข้นที่แท้จริงในแต่ละความเข้มข้น โดยการทำกราฟมาตรฐาน (Standard Calibration Curve) จะใช้ความเข้มข้นต่างกันที่ 0.1, 0.5 และ 1 ไมโครกรัมต่อลิตร เมื่อเครื่องตรวจวัดในแต่ละค่าแล้ว จะทำการคำนวณออกมาเป็นกราฟมาตรฐาน



ภาพที่ 11 กราฟมาตรฐานความเข้มข้นของปรอทที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1 ไมโครกรัมต่อลิตร

4.3 การคำนวณหาความเข้มข้นของปรอท

การคำนวณค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS) เมื่อทำการวัดตัวอย่างในแต่ละตัวอย่าง เครื่องจะบอกปริมาณของปรอทออกมาในรูปของ Peak Height นำค่า Peak Height นั้นมาเทียบกับค่าของกราฟมาตรฐาน ก็จะได้ค่าปริมาณของปรอทในแต่ละตัวอย่างในระดับไมโครกรัม

5. การตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่องมือ และวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์

ในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทจากตัวอย่าง น้ำทะเล ดินตะกอน และสิ่งมีชีวิต จะต้องมีการตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่องมือและวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์ (% Recovery) โดยตรวจสอบจากตัวอย่างที่ทราบความเข้มข้น ดังนี้

5.1 ตัวอย่างดินตะกอน

ตรวจสอบโดย วัดปริมาณดินตะกอนที่ทราบความเข้มข้น คือ MESS-3 Marine Sediment Certified Reference Material หน่วยงานที่เป็นเจ้าของ National Research Council of Canada โดยมีค่าปริมาณปรอทรับรองเท่ากับ 0.092 ± 0.002 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง

5.2 ตัวอย่างสิ่งมีชีวิต

ตรวจสอบโดยเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิตที่ทราบความเข้มข้น คือ DORM-2 Dogfish Muscle Certified Reference Material หน่วยงานที่เป็นเจ้าของ National Research Council of Canada โดยมีค่าปรอทที่รับรอง 4.64 ± 0.002 ไมโครกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง

วิธีการคำนวณตัวอย่างดินตะกอน และสิ่งมีชีวิต

นำผลของตัวอย่างสารมาตรฐาน ที่ทำการวัดจำนวน 8 ซ้ำ มาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยเทียบกับความเข้มข้นมาตรฐาน ดังนี้

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้นของปรอทที่วัดได้} \times 100}{\text{ความเข้มข้นของปรอทในสารมาตรฐาน}}$$

ผล % Recovery ของปรอทใน Reference Material MESS - 3 ที่ทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS)

Heavy metal	No. of test	Mean	Std.Dev.	Certified Values	% Recovery
Hg	8	0.097	1.2	0.092	105.43

ผล % Recovery ของปรอทใน Reference Material DORM-2 ทำการตรวจวัดด้วย
เครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS)

Heavy metal	No. of test	Mean	Std.Dev.	Certified Values	% Recovery
Hg	8	4.67	0.19	4.64	98.65

5.3 ตัวอย่างน้ำทะเล

ทำการตรวจวิเคราะห์สารปรอทในน้ำ ด้วยวิธีการ Spike Recovery Test โดยเติม
สารละลายปรอทความเข้มข้น 1, 0.1 และ 0.01 ไมโครกรัมต่อลิตร ลงในน้ำทะเล ที่ทราบความ
เข้มข้นจากการตรวจวัด โดยเครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS) เมื่อ
วิเคราะห์หาความเข้มข้นของปรอทจากน้ำตัวอย่างที่เติมสารละลาย แล้วนำผลมาคำนวณหา
% Recovery โดยมีสูตรคำนวณดังนี้

$$\% \text{ Recovery} = (B-A/C) \times 100$$

เมื่อ A คือ ความเข้มข้นของปรอทจากน้ำทะเลปกติที่ไม่เติมสารละลายปรอท

B คือ ความเข้มข้นของปรอทจากน้ำทะเลที่เติมสารละลายปรอท

C คือ ความเข้มข้นของปรอทที่เติมลงไป

% Recovery ของสารปรอทในน้ำทะเล โดยวิธีเติมสารละลายปรอทมาตรฐานที่ความ
เข้มข้น 1, 0.1 และ 0.01 ไมโครกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้น(ไมโครกรัมต่อลิตร)			
ปริมาณที่เติม	ค่าที่วัดในน้ำก่อน เติมสารปรอท	ค่าที่วัดในน้ำหลัง เติมสารปรอท	% Recovery
0.01	0.0201	0.0301	96
0.1	0.0201	0.1183	98
1	0.0196	1.0797	106

5.4 Limit of Detection

5.4.1 Limit of Detection ของการวิเคราะห์ปรอทในน้ำทะเล ค่า Detection Limit ของการวิเคราะห์ปรอทในน้ำทะเล คำนวณจาก 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ Blank จำนวน 8 ซ้ำ โดยทำการวัดด้วยเครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS)

$$\begin{aligned}\text{Mean of Blank} &= 0.0041 \mu\text{g/L} \\ \text{SD of Blank} &= 0.0024 \mu\text{g/L} \\ \text{Limit of Detection} &= 3 \text{ SD of Blank} \\ &= 3 \times 0.0024 \mu\text{g/L} \\ &= 0.0072 \mu\text{g/L}\end{aligned}$$

5.4.2 Limit of Detection ของการวิเคราะห์ปรอทในดินตะกอน ค่า Detection Limit ของการวิเคราะห์ปรอทในดินตะกอน คำนวณจาก 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ Blank จำนวน 8 ซ้ำ โดยทำการวัดด้วยเครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS)

$$\begin{aligned}\text{Mean of Blank} &= 0.0058 \mu\text{g/g} \\ \text{SD of Blank} &= 0.0031 \mu\text{g/g} \\ \text{Limit of Detection} &= 3 \text{ SD of Blank} \\ &= 3 \times 0.0031 \mu\text{g/g} \\ &= 0.0093 \mu\text{g/g}\end{aligned}$$

5.4.3 Limit of Detection ของการวิเคราะห์ปรอทในเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิต ค่า Detection Limit ของการวิเคราะห์ปรอทในเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิต คำนวณจาก 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ Blank จำนวน 8 ซ้ำ โดยทำการวัดด้วยเครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS)

$$\begin{aligned}\text{Mean of Blank} &= 0.0041 \mu\text{g/g} \\ \text{SD of Blank} &= 0.0025 \mu\text{g/g} \\ \text{Limit of Detection} &= 3 \text{ SD of Blank} \\ &= 3 \times 0.0025 \mu\text{g/g} \\ &= 0.0075 \mu\text{g/g}\end{aligned}$$

การวิเคราะห์คุณสมบัติดินตะกอน

1. การวิเคราะห์หาปริมาณสารอินทรีย์ในดินตะกอน (% Ignition Loss)

- 1.1 เเผา crucible (Crucible) เปลาที่ 450 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 450 ชั่วโมง
- 1.2 ทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccator (Dessicator) แล้วชั่งน้ำหนักใน crucible ชั่งน้ำหนักดินเปียก ประมาณ 2.5 กรัม ใส่ใน crucible
- 1.3 นำไปอบที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก Crucible คำนวณหา % Water Content
- 1.4 นำไปเผาที่ 450 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก crucible คำนวณหา % Ignition Loss

วิธีคำนวณหา % Ignition Loss

$$\% \text{ Ignition Loss} = \frac{\text{น้ำหนักดินที่หายไป} \times 100}{\text{น้ำหนักดินก่อนเผาที่ 450 องศาเซลเซียส}}$$

2. การวิเคราะห์หาอนุภาคของดินตะกอน (Median Grain Size)

- 2.1 นำดินตะกอนที่ผ่านการอบในอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน มาชั่งน้ำหนักให้ได้ปริมาตร 100 กรัม
- 2.2 นำดินตะกอนที่ผ่านการชั่งน้ำหนักให้ได้ปริมาตร 100 กรัม มาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 63, 120, 250 และ 500 ไมครอน ตามลำดับ จะได้ดินตะกอน 4 ขนาด
- 2.3 นำดินตะกอนทั้ง 4 ขนาด ไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน แล้วบันทึกค่า
- 2.4 คำนวณค่าร้อยละของอนุภาคดินตะกอน
- 2.5 นำค่าร้อยละคำนวณหาขนาดอนุภาคดินตะกอน

$$\text{ค่าร้อยละของอนุภาคดินตะกอน} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของแต่ละอนุภาคดินตะกอน} \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งรวมทั้งหมดของอนุภาคดินตะกอน}}$$

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิจัยครั้งนี้ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์โดยอาศัยโปรแกรมสำเร็จรูป

SPSS (Statistical Package for Social Science) for Windows 10

1. สถิติเชิงพรรณนา ใช้ค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าพิสัย (Range) อธิบายการปนเปื้อนปรอทในตัวอย่างที่ทำการศึกษา

2. สถิติเชิงอนุมาน

2.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน

2.1.1 วิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้ One - Way ANOVA ทดสอบการปนเปื้อนปรอทในน้ำทะเล และดินตะกอน ในแต่ละกลุ่มกิจกรรม และสถานีย่อยในแต่ละกลุ่มกิจกรรม

2.1.2 ใช้สถิติ Duncan New Multiple Test (DMRT) ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการปนเปื้อนปรอทในน้ำทะเล และดินตะกอน ในแต่ละกลุ่มกิจกรรม และสถานีย่อยในแต่ละกลุ่มกิจกรรม

2.2 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์

2.2.1 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของการปนเปื้อนปรอทใน น้ำทะเล ดินตะกอน สิ่งมีชีวิต ปริมาณสารอินทรีย์ในดินตะกอน และขนาดอนุภาคของดินตะกอน โดยใช้ค่าสถิติ Pearson Correlation Coefficient

2.2.2 วิเคราะห์องค์ประกอบพื้นฐาน โดยใช้วิธีทางสถิติ (Principle Component Analysis – PCA) เพื่อหาความสัมพันธ์ของแต่ละปัจจัย