

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการวิจัย

#### อุปกรณ์และสารเคมี

##### 1. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง

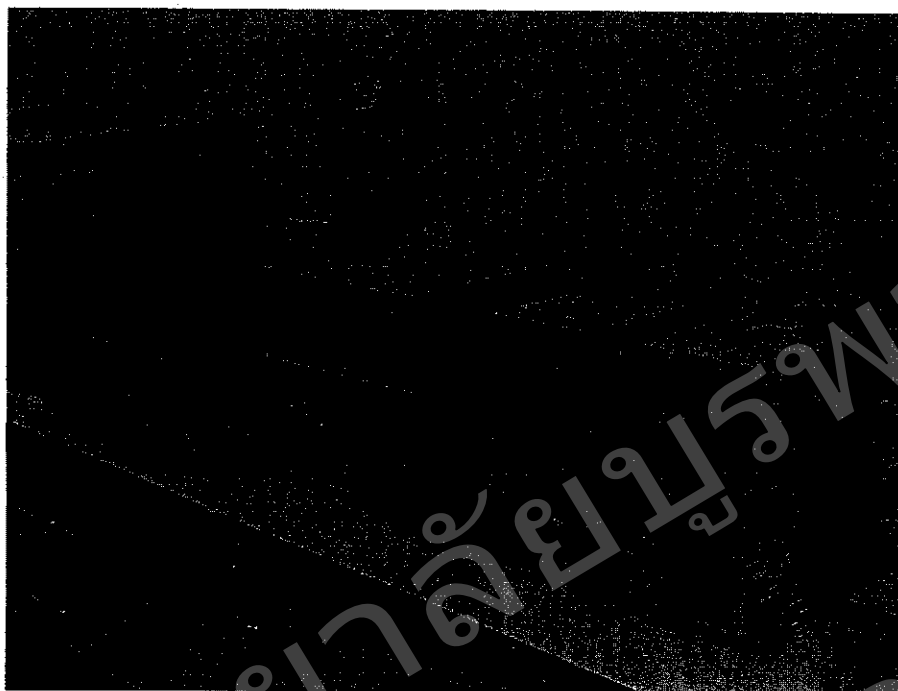
- 1.1 Sediment Core สำหรับเก็บตัวอย่างดินตะกอน
- 1.2 Global Positioning System (GPS)

##### 2. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์

- 2.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง
- 2.2 ตู้แช่แข็ง (Deep Freezer)
- 2.3 เครื่องอบแห้งระบบทำความเย็น (Freezer Dryer)
- 2.5 ตู้ดักควัน
- 2.6 เครื่องกลั่นกรด
- 2.7 เครื่องย่อยตัวอย่าง (Microwave Digester)
- 2.8 เตาเผา
- 2.9 Automatic Pipette
- 2.10 Teflon Bottle
- 2.11 ครูซิเบิลสำหรับเผาสารเคมี

##### 3. เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่าง

- 3.1 เครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS) โดยใช้เครื่อง Atomic Fluorescence ของ PSA analytical รุ่น Merlin สำหรับการวิเคราะห์ปรอทรวม (ดังในภาพที่ 10)
- 3.2 เครื่อง Atomic Absorption Spectroscopy ยี่ห้อ VARIAN รุ่น 55B สำหรับการวิเคราะห์เหล็ก, แมงกานีส และอะลูมิเนียม



ภาพที่ 11 เครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS)

4. สารเคมีสำหรับย่อยดินตะกอน และวิเคราะห์ตัวอย่าง

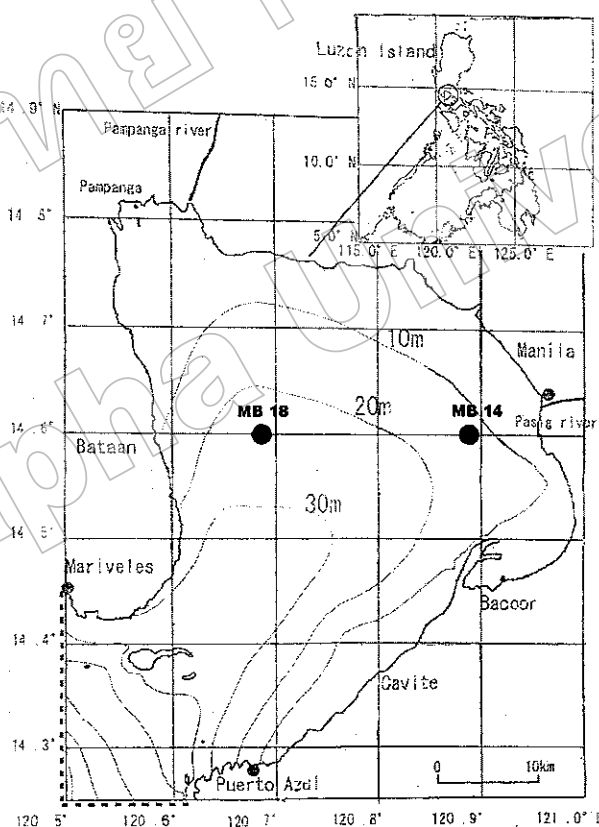
- 4.1 กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (HCl) (Redistilled Grade)
- 4.2 กรดไนตริกเข้มข้น (HNO<sub>3</sub>) (Redistilled Grade)
- 4.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) (A.R. Grade)
- 4.4 Stannous Chloride (SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O)
- 4.5 สารละลายมาตรฐานของปรอท (Standard Solution) (ASS Grade)
- 4.6 สารละลายมาตรฐานของเหล็ก (Standard Solution) (ASS Grade)
- 4.7 สารละลายมาตรฐานของอะลูมิเนียม (Standard Solution) (ASS Grade)
- 4.8 สารละลายมาตรฐานของแมงกานีส (Standard Solution) (ASS Grade)
- 4.9 Argon Gas
- 4.10 Deionized Water
- 4.11 Distilled Water
- 4.12 0.2 N Potassium Bromate (KBrO<sub>3</sub>)
- 4.13 0.2 N Potassium Bromide (KBr)
- 4.14 Hydroxyammonium Chloride

## วิธีดำเนินการ

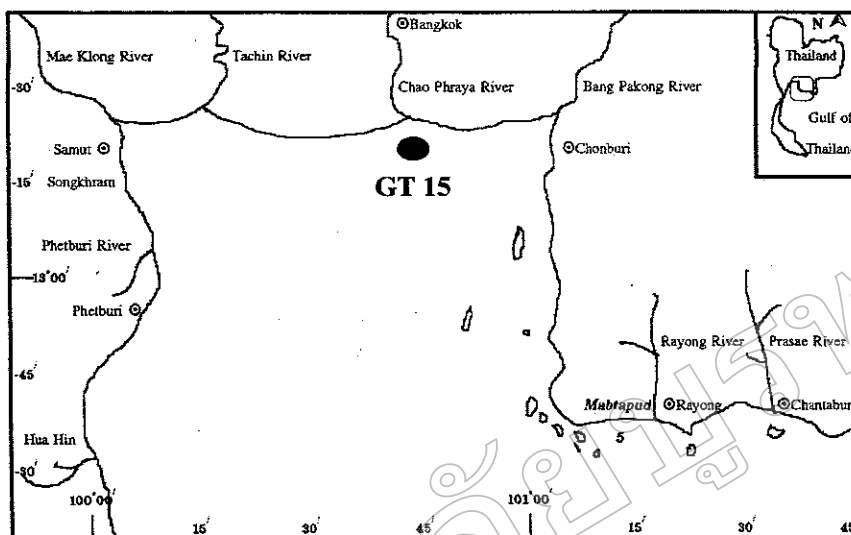
### 1. สถานีเก็บตัวอย่าง

พื้นที่ศึกษา คือ เก็บตัวอย่างแท่งดินตะกอนจาก อ่าวมะนิลา โดยทำการเก็บตัวอย่าง จำนวน 2 สถานี สถานีละ 1 แท่ง โดยแต่ละ แท่งมีความยาว 82 และ 92 เซนติเมตร ตามลำดับ และทำการเก็บตัวอย่างแท่งดินตะกอนจาก อ่าวไทย โดยทำการเก็บตัวอย่าง 1 สถานี จำนวน 1 แท่ง ทำให้มีแท่งดินตะกอนตัวอย่างทั้งหมด 3 แท่ง

โดยจุดเก็บตัวอย่างจาก อ่าวมะนิลา สถานีที่ 1 (MB 14) อยู่ที่ตำแหน่งละติจูด 14 องศา 6 ลิปดาเหนือ และลองจิจูด 120 องศา 9 ลิปดาตะวันออก และจุดเก็บตัวอย่างสถานีที่ 2 (MB 18) อยู่ที่ตำแหน่งละติจูด 14 องศา 6 ลิปดาเหนือ และลองจิจูด 120 องศา 7 ลิปดาตะวันออก (ดังในภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 จุดเก็บตัวอย่างแท่งดินตะกอนจากอ่าวมะนิลา ประเทศฟิลิปปินส์



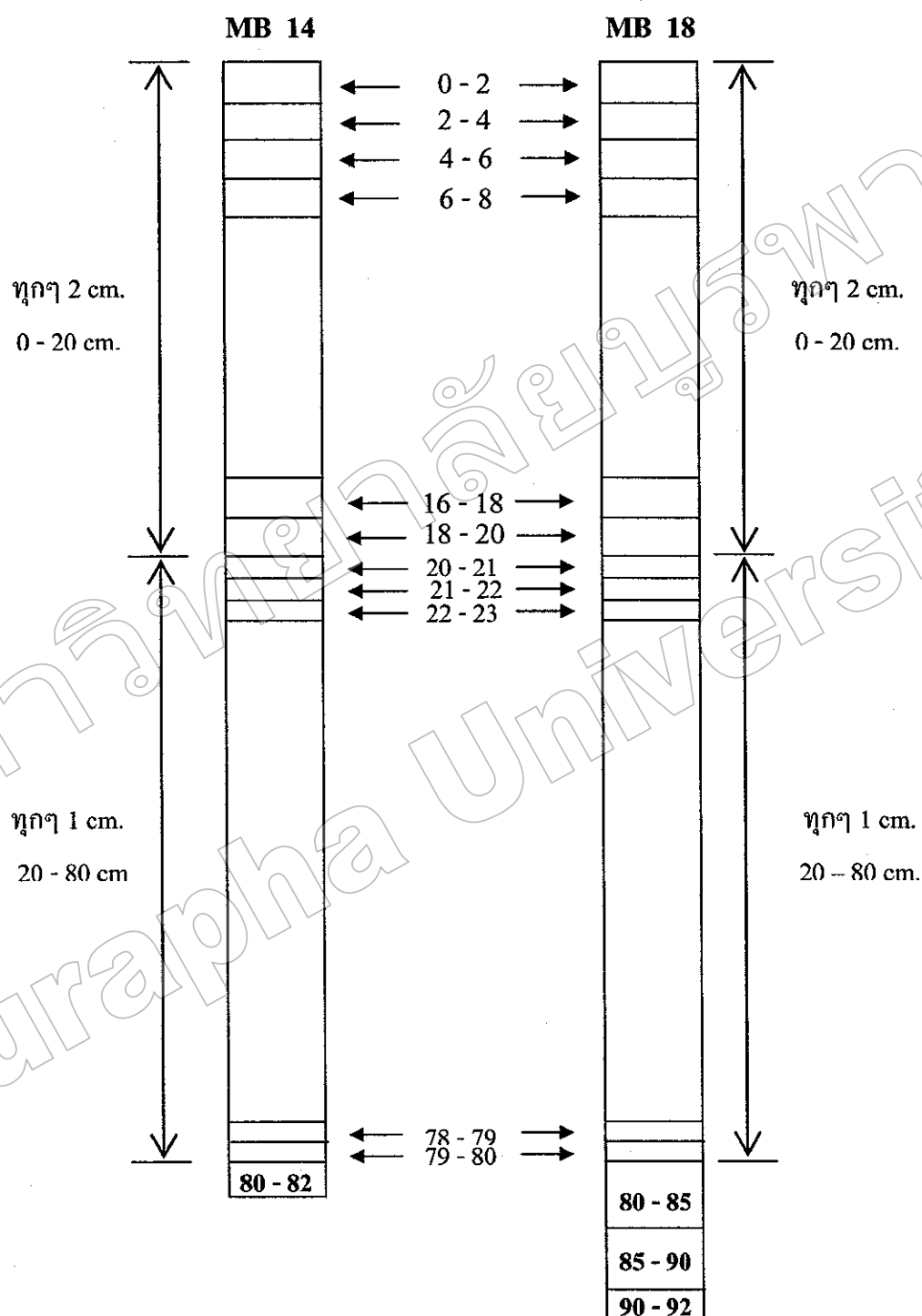
ภาพที่ 13 จุดเก็บตัวอย่างแท่งดินตะกอนจากอ่าวไทย ประเทศไทย

## 2. การศึกษาการสะสมของปรอทตามระดับความลึก

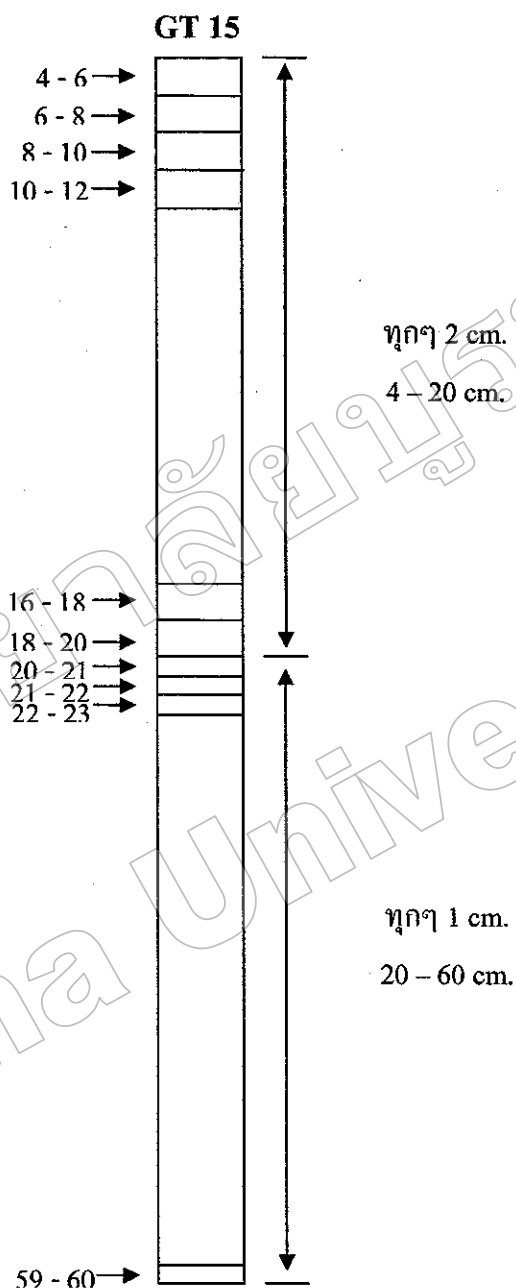
การศึกษาการสะสมของปรอท ตามระดับความลึกของตะกอนจากอ่าวมะนิลา ประเทศฟิลิปปินส์ โดยใช้ชุดเก็บดินแบบแท่งดินตะกอน (Sediment Core) ซึ่งทำจากวัสดุ Plaxigrass แท่งดินตะกอนที่ถูกเก็บขึ้นมาจะถูกปิดด้านหัวด้านท้ายด้วยจุกยาง

แท่งดินตะกอนจากอ่าวมะนิลา จะถูกนำมาตัดเป็นชั้น ๆ โดยที่ระดับความลึก 1-20 เซนติเมตรแรก จะตัดตามระดับความลึกทุก ๆ 2 เซนติเมตร และที่ความลึก 20 – 80 เซนติเมตร จะตัดตามระดับความลึกทุก ๆ 1 เซนติเมตร จนถึงความลึกประมาณ 80 เซนติเมตร (ดังในภาพที่ 14) โดยใช้มีดพลาสติก และใส่ลงในถุงพลาสติก แล้วจะนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส และจะถูกนำมาทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งระบบความเย็น (Freeze Dry) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณปรอทรวม ในดินตะกอนต่อไป

สำหรับแท่งดินตะกอนจากอ่าวไทย จะถูกนำมาตัดเป็นชั้น ๆ โดยที่ระดับความลึก 4-20 เซนติเมตรแรก จะตัดตามระดับความลึกทุก ๆ 2 เซนติเมตร และที่ความลึก 20-60 เซนติเมตร จะตัดตามระดับความลึกทุก ๆ 1 เซนติเมตร จนถึงความลึกประมาณ 60 เซนติเมตร (ดังในภาพที่ 15) โดยใช้มีดพลาสติก และใส่ลงในถุงพลาสติก แล้วจะนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส และจะถูกนำมาทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งระบบความเย็น (Freeze Dry) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณปรอทรวม ในดินตะกอนต่อไป



ภาพที่ 14 การตัดดินตะกอนตามระดับความลึกของแท่งดินตะกอนตัวอย่างจากอ่าวมะนิลา  
ประเทศฟิลิปปินส์



ภาพที่ 15 การตัดดินตะกอนตามระดับความลึกของแท่งดินตะกอนตัวอย่างจากอ่าวไทย  
ประเทศไทย

### 3. การเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ปรอท

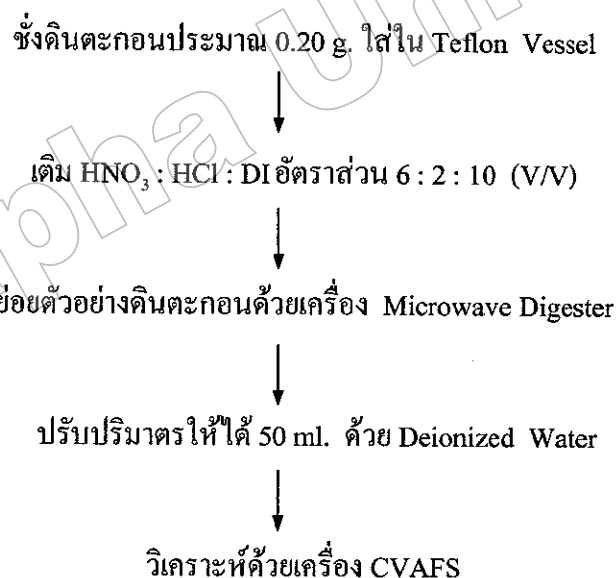
ดินตะกอนที่แบ่งออกในแต่ละส่วน จะทำการคลุกเคล้าให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วแยกเปลือกหอยออก และเก็บในถุงพลาสติก ก่อนนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จากนั้นนำดินตะกอนที่ชั่งน้ำหนักแล้ว ใส่ลงในภาชนะพลาสติกที่ปิดสนิท แล้วนำไปเข้าสู่ขั้นแจ้ง

ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 วัน แล้วนำตัวอย่างดินตะกอนออกจากตู้แช่แข็งไปเข้าเครื่องอบแห้งระบบทำความเย็นที่อุณหภูมิ -55 องศาเซลเซียส (ประมาณ 1-2 วัน) หลังจากนั้นจึงนำตัวอย่างดินตะกอนออกจากเครื่องอบแห้งระบบทำความเย็น แล้วทำการชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ก่อนเก็บตัวอย่างดินตะกอนไว้ในภาชนะพลาสติกที่มีเม็ดดูดความชื้น (Silica Gel) รองอยู่ด้านล่าง ทำการปิดให้สนิท แล้วนำเข้าตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อรอขั้นตอนการย่อยดินตะกอน ที่จะกล่าวถึงในหัวข้อวิธีวิเคราะห์ปรอทในดินตะกอน

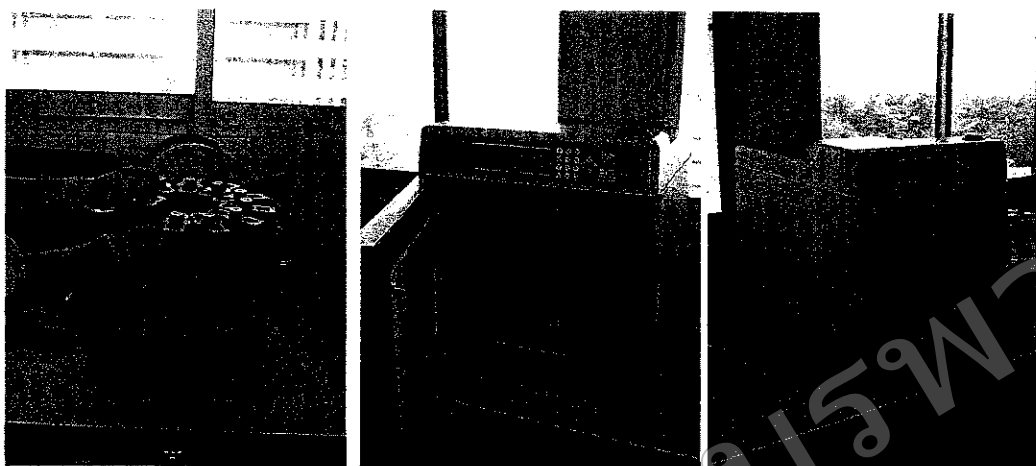
## การวิเคราะห์ปรอท

### 1. การย่อยตัวอย่างดินตะกอน

ทำการวิเคราะห์ Total Hg โดยการย่อยตัวอย่างดินตะกอนด้วยเครื่อง Microwave Digester (ดังในภาพที่ 17) โดยใช้  $\text{HNO}_3$  :  $\text{HCl}$  : DI อัตราส่วน 6 : 2 : 10 (V/V) นำตัวอย่างดินตะกอนที่ย่อยเสร็จแล้ว มาปรับปริมาตรด้วย Deionized Water ให้ได้ 50 ml แล้วนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry ขั้นตอนการวิเคราะห์ (ดังภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปรอทในดินตะกอน



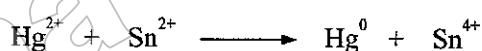
ภาพที่ 17 เครื่อง Microwave Digester สำหรับทำการย่อยตัวอย่าง

## 2. การวิเคราะห์ปริมาณปรอทด้วยเครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry

### Spectrometry

#### 2.1 การวิเคราะห์

วิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยใช้เครื่อง Cold vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS) โดยใช้เครื่อง Atomic Fluorescence ของ PSA analytical รุ่น Merlin โดยในการวิเคราะห์จะใช้ Stannous Chloride ( $\text{SnCl}_2$ ) เป็นตัวรีดิวซ์ให้  $\text{Hg}^{2+}$  กลายเป็น  $\text{Hg}^0$  ซึ่งสามารถระเหยกลายเป็นไอได้ ดังสมการ



เมื่อไอของปรอทเกิดขึ้นจะถูกขับเข้าไปใน Fluorescence Cell โดยมีก๊าซอาร์กอนเป็น ตัวพา อะตอมอิสระที่ผ่านไปตามความยาวของ Fluorescence Cell จะถูกวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยลำแสงจากหลอดฮาโลเจนที่มีความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตร

#### 2.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน (Standard Calibration Curve)

การสร้างกราฟมาตรฐานของปรอทโดยทำการวัดแปลงค่าด้วยเครื่อง อะตอมมิค แอ็บซอร์ปชัน แล้วจึงทำการวัดสารละลายมาตรฐานของปรอทตามความเข้มข้นที่เตรียมไว้คือ 0, 0.1, 0.5 และ 1  $\mu\text{g/L}$  ตามลำดับ เครื่องจะทำการคำนวณและสร้างกราฟมาตรฐานของปรอท

#### 2.3 การคำนวณ

สร้างกราฟมาตรฐานโดยเขียนกราฟระหว่างความสูงของพีคของสารละลายมาตรฐานกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน วัดความสูงของพีคที่อ่านได้จากสารตัวอย่าง นำไป



เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน และอ่านความเข้มข้นจากกราฟ นำความเข้มข้นที่ได้ซึ่งมีหน่วยเป็น  $\mu\text{g/L}$  และนำไปแทนค่าในสูตรคำนวณความเข้มข้นของปรอทในดินตะกอนในหน่วย  $\mu\text{g/g}$

สูตรการคิดคำนวณ

$$A = \frac{(B-C) \times D}{1000 \times E}$$

A = ความเข้มข้นของปรอทในตัวอย่างดินตะกอน ( $\mu\text{g/g}$ )

B = ความเข้มข้นของปรอทในสารละลายที่ได้จากการย่อยตัวอย่างดินตะกอน ( $\mu\text{g/L}$ )

C = ความเข้มข้นของปรอทใน Blank ( $\mu\text{g/L}$ )

D = ปริมาตรสุดท้ายในการเตรียมตัวอย่าง (ml)

E = น้ำหนักตัวอย่างดินตะกอน (g)

## 2.4 Limit of Detection

### 2.4.1 Limit of Detection ของการวิเคราะห์ปรอทในดินตะกอน

ค่า Detection Limit ของการวิเคราะห์ปรอทในดินตะกอน คำนวณจาก 3 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ Blank จำนวน 8 ซ้ำ โดยมีวิธีการเตรียมตัวอย่าง เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่าง เพื่อการวิเคราะห์ปรอทในดินตะกอน ตามรายละเอียดในหัวข้อการวิเคราะห์ปรอทในดินตะกอน และวิเคราะห์ความเข้มข้นของปรอทด้วยเครื่อง Cold Vapor Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS)

$$\text{Mean of Blank} = 0.0016$$

$$\text{SD of Blank} = 0.0005$$

$$\text{Limit of Detection} = 3 \text{ SD of Blank}$$

$$= 0.0005 \times 3$$

$$= 0.0015 \mu\text{g/g}$$

## 3. การวิเคราะห์เหล็ก อะลูมิเนียม และแมงกานีส ด้วยเครื่อง Flame Atomic

### Spectrometry

การวิเคราะห์เหล็ก, อะลูมิเนียม และแมงกานีส โดยนำสารละลายที่ได้ไปวัดหาปริมาณของโลหะหนักเหล็ก, อะลูมิเนียม และแมงกานีส ด้วยเครื่อง AAS (Atomic Absorption Spectroscopy)

สูตรคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของเหล็ก, อะลูมิเนียม, แมงกานีส

$$\text{Conc. } (\mu\text{g/g}) = \text{Absorbance} \times \text{Slope ของสมการ Y}$$

สมการ Y = สมการที่ได้จากกราฟ Standard

ในการวิเคราะห์ครั้งนี้ใช้ปริมาตร 50 ml จะต้องหาปริมาณโลหะหนักใน 50 ml

ปริมาณโลหะหนักใน 50 ml =  $\text{Conc.}(\mu\text{g/g}) \times 50 / 1000$

ดังนั้น น้ำหนักดินตะกอนตัวอย่าง 1 กรัม ควรมีปริมาณโลหะหนักปนเปื้อนอยู่

ปริมาณโลหะหนัก ใน 1 กรัม = ปริมาณโลหะหนักใน 50 ml ( $\mu\text{g/g}$ ) / น้ำหนักที่ใช้

ในการ Digest

### การตรวจวัด % recovery เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่องมือ

#### 1. ปริมาณปรอทในดินตะกอน

การหา % Recovery เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องมือและกระบวนการวิเคราะห์ ปริมาณปรอทรวมในดินตะกอน โดยใช้ตัวอย่างดินตะกอนมาตรฐาน (Marine Sediment Reference Material; MASS-3) ของ National Research Council Canada โดยมีค่าปริมาณปรอทรับรองเท่ากับ 0.091  $\mu\text{g/g}$  น้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์ Recovery ของอะลูมิเนียม แมงกานีส เหล็ก และปรอทใน Reference Material; MESS-3

| Heavy metal            | No. of Test | Mean   | Std. Dev. | Certified Values | % Recovery |
|------------------------|-------------|--------|-----------|------------------|------------|
| Al (%)                 | 5           | 8.03   | 0.30      | 8.59             | 93.48%     |
| Mn ( $\mu\text{g/g}$ ) | 5           | 295.95 | 1.23      | 324              | 91.34%     |
| Fe (%)                 | 5           | 4.35   | 0.10      | 4.34             | 100.23%    |
| Hg ( $\mu\text{g/g}$ ) | 5           | 0.09   | 0.001     | 0.091            | 98.90%     |

### การวิเคราะห์หา % Ignition Loss

1. เตา Crucible เปลาที่ 450 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง
2. ทิ้งให้เย็นใน Desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก Crucible
3. ชั่งตัวอย่างดินตัวอย่าง ประมาณ 0.50 กรัม ใส่ใน Crucible นำไปเผาที่

450 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน Desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก Crucible คำนวณหา

% Ignition loss

วิธีคำนวณ

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

### การวิเคราะห์หา % Water Content

1. ชั่งน้ำหนักดินเปียกตัวอย่าง
2. นำตัวอย่างดินเปียกตัวอย่างไปแช่แข็งที่อุณหภูมิประมาณ -80 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง
3. นำตัวอย่างที่แช่แข็งแล้วไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freezer Dryer เป็นเวลาประมาณ 64 ชั่วโมง แล้วทำการชั่งน้ำหนักดินแห้ง แล้วคำนวณหาค่า % Water Content

วิธีคำนวณ

$$\% \text{ Water Content} = \frac{\text{น้ำหนักดินที่หายไป} \times 100}{\text{น้ำหนักดินเปียกก่อนแช่แข็งที่ -80 องศาเซลเซียส}}$$

### วิธีการวิเคราะห์ค่า Enrichment Factor (EF)

สูตรการคำนวณค่า Enrichment Factor EF = (M/ Al) Sediment/ (M/ Al) Crust

หมายเหตุ M = ความเข้มข้นของโลหะหนัก

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยธาตุต่าง ๆ บริเวณ Upper Continental Crust

| Element  |       | ที่มา          |
|----------|-------|----------------|
| Al (%)   | 7.74  | Wedepohl, 1995 |
| Mn (ppm) | 527   | Wedepohl, 1995 |
| Fe (%)   | 3.09  | Wedepohl, 1995 |
| Hg (ppb) | 56.00 | Wedepohl, 1995 |

## ตารางที่ 9 วิธีการวิเคราะห์

| คุณสมบัติ       | วิธีการวิเคราะห์                       | เอกสารอ้างอิง                                                                                                                                   |
|-----------------|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Total Mercury   | Reduce $Hg^{2+}$ to $Hg^0$ by $SnCl_2$ | EPA Method 245.5 Mercury in sediments by CVAA                                                                                                   |
| % Ignition Loss | Loss on Ignition                       | <a href="http://ag.udel.edu/extension/information/prod_agric/chap8_95.htm">http://ag.udel.edu/extension/information/prod_agric/chap8_95.htm</a> |

### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิจัยครั้งนี้นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์โดยอาศัยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistical Package for Social Science) for Windows