บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบ

1. เปลือกหอยลาย
2. เปลือกหอยเชลล์

วัสดุอุปกรณ์

วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องแก้วพื้นฐาน

1. dropper
2. บีกเกอร์ ขนาด 25, 100 และ 250 มิลลิลิตร
3. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 และ 1,000 มิลลิลิตร
4. กระบอกตวง ขนาด 100 และ 1,000 มิลลิลิตร
5. ขวดพลาสติกโพลีเอทิลีน ขนาด 60, 125 และ 1,000 มิลลิลิตร
6. ปิเปต ขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
7. ช้อนตักสาร
8. แท่งคนสาร
9. ตะกร้า
10. ครก
11. ตะแกรงร่อน ขนาด 75 ไมโครเมตร
12. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
13. ถุงซิบล็อก
14. ตู้เย็น
15. น้ำยาล้างเครื่องแก้ว
16. เครื่องเขย่าสาร (Shaker)
17. ชุดเครื่องกรองสาร
18. เครื่องชั่งละเอียด มีความถูกต้อง ± 0.0001 กรัม
19. pH meter
20. นาฬิกาจับเวลา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เครื่องมือในการวิเคราะห์

1. กล้องจุลทรรศน์ Scanning electron microscopy (SEM) รุ่น LEO 1450 VP
2. เครื่อง X-ray diffractometer (XRD) รุ่น Bruker AXS D8 Advance
3.เครื่อง atomic absorption spectrometer (AAS) รุ่น Model 4100

สารเคมี

1. น้ำกลั่นปราศจากไอออน (De-ionized water)
2. Sodium hydroxide (NaOH) เข้มข้น 40 g/mol
3. Hydrochloric acid (HCl) เข้มข้น 36%
4. Nitric acid (conc. HNO_3)
5. Zinc sulphate ($ZnSO_4.7H_2O$)
6. Manganese (II) sulphate ($MnSO_4.H_2O$)
7. Copper (II) sulphate ($CuSO_4.5H_2O$)
8. Standard ของ Cu, Mn และ Zn (ใช้กับเครื่อง AAS)

ตัวอย่างเปลือกหอย

ตัวอย่างเปลือกหอยลาย และหอยเชลล์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นหอยที่อาศัยอยู่ตามธรรมชาติ ซึ่งได้มาจากการทำการประมงแล้วนำมาขาย โดยหอยลายได้มาจากบริเวณตำบลบางทราย อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี ส่วนหอยเชลล์ได้มาจากบริเวณช่องแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ซึ่งเปลือกหอยทั้ง 2 ชนิดเป็นเปลือกหอยที่เหลือทิ้งจากการประกอบอาหารรับประทาน

สถานที่ทำการทดลอง

1. ขั้นตอนการทำการวิจัย ที่ห้องปฏิบัติการ 5207 ชั้น 5 ตึกชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

2. ขั้นตอนการวิเคราะห์โลหะหนัก ที่ห้องปฏิบัติการ 7210 ชั้น 7 ตึกชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

3. ขั้นตอนศึกษาลักษณะทางกายภาพ ที่ศูนย์กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ห้อง MS 104 ชั้น 1 ตึกวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

4. ขั้นตอนศึกษาโครงสร้าง ที่ศูนย์วิจัยแห่งความเป็นเลิศทางเทคโนโลยีแก้วและวัสดุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วิธีการเตรียมตัวอย่างเปลือกหอยลายและหอยเชลล์

นำเปลือกหอยทั้ง 2 ชนิดที่ได้มาแกะส่วนที่เป็นเนื้อหอยและส่วนที่ติดค้างบนเปลือกหอยให้หลุดออกจนหมด หลังจากนั้นนำเปลือกหอยลาย และหอยเชลล์ที่ได้มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำ และตามด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วนำเปลือกหอยเหล่านั้นมาผึ่งลมจนแห้ง จากนั้นทำการลดขนาดเปลือกหอยลาย และหอยเชลล์ให้มีขนาดเล็กลงโดยการนำมาบดด้วยครกจนละเอียด แล้วร่อนด้วยตะแกรงขนาด 75 ไมครอน ทำการเก็บตัวอย่างเปลือกหอยลายและหอยเชลล์ที่มีขนาดเล็กกว่า 75 ไมโครเมตรมาเก็บในถุงซิบล็อกเพื่อนำไปใช้ในการดูโครงสร้างพื้นผิว และ ใช้ในการดูดซับโลหะหนักต่อไป

วิธีทำความสะอาดเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. ล้างด้วยน้ำยา (detergent) และน้ำกลั่น
2. แช่ด้วยกรดไนตริก ความเข้มข้น 10% อย่างน้อย 24 ชั่วโมงในถังที่มีฝาปิด
3. นำขึ้นมาแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน
4. นำมาผึ่งให้แห้ง

วิธีการเตรียมน้ำเสียสังเคราะห์ (Amarasinghe & Williams, 2007)

1. เตรียมน้ำเสียสังเคราะห์ของสังกะสี แมงกานีส และทองแดงที่ความเข้มข้น 100, 200, 300, 400 และ 500 mg/L โดยชั่ง $ZnSO_4.7H_2O$, $MnSO_4.H_2O$ และ $CuSO_4.5H_2O$ ในปริมาตรต่าง ๆ ดังตารางที่ 6

2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

3. เก็บน้ำเสียสังเคราะห์ของสังกะสี แมงกานีส และทองแดงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ได้ไว้ในขวดโพลีเอทิลีน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 6 ปริมาณของโลหะหนักที่ใช้เตรียมน้ำเสียสังเคราะห์ของโลหะหนักในแต่ละชนิด และความเข้มข้น ในการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน 1000 มิลลิลิตร

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาตรของโลหะหนัก (กรัม)		
	Zn	Mn	Cu
100	0.4396	0.3076	0.3929
200	0.8792	0.6153	0.7858
300	1.3188	0.9229	1.1787
400	1.7584	1.2306	1.5716
500	1.1980	1.5382	1.9645

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการปรับ pH

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 0.1 M (สำหรับปรับ pH)

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ในขวดปรับปริมาตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

2. กรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 0.1 M (สำหรับปรับ pH)

ปิเปตกรดไฮโดรคลอริกปริมาณ 8.54 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

สถิติที่ใช้ในการทดลอง

1. ค่าเฉลี่ย (Mean) คือ การหารผลรวมของข้อมูลทั้งหมดด้วยจำนวนข้อมูลทั้งหมด

$$\overline{X} = \Sigma N/N$$

เมื่อ $\overline{X}$ คือ ค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง

ΣN คือ ผลรวมของกลุ่มตัวอย่าง

N คือ จำนวนข้อมูลทั้งหมดของกลุ่มตัวอย่าง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation, SD) คือ ค่าที่ใช้แสดงความแม่นยำของการทดลอง เนื่องจากการทดลองเป็นกลุ่มตัวอย่างเดียวไม่มีการสุ่มตัวอย่างกลุ่มอื่น ๆ

$$SD = S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N}(X_i - \overline{X})^2}{N}}$$

เมื่อ S คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่าง

X_i คือ ค่าของข้อมูลแต่ละตัวหรือจุดกึ่งกลางชั้นแต่ละตัว

$\overline{X}$ คือ ค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง

N คือ จำนวนข้อมูลทั้งหมดของกลุ่มตัวอย่าง

การคำนวณในขั้นตอนการดูดซับ

1. เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการบำบัดโลหะหนัก

$$\% \text{ Removal} = \frac{Ci-Ce}{Ci} \times 100$$

เมื่อ Ci = initial concentration (mg/L)

Ce = equilibrium concentration (mg/L)

2. ความสามารถของสารดูดซับในการบำบัดโลหะหนัก

$$qe = \frac{(Ci-Ce)V}{W}$$

เมื่อ qe = The amount of heavy metal uptake per unit mass of adsorbent at equilibrium (mg/g)

Ci = initial concentration (mg/L)

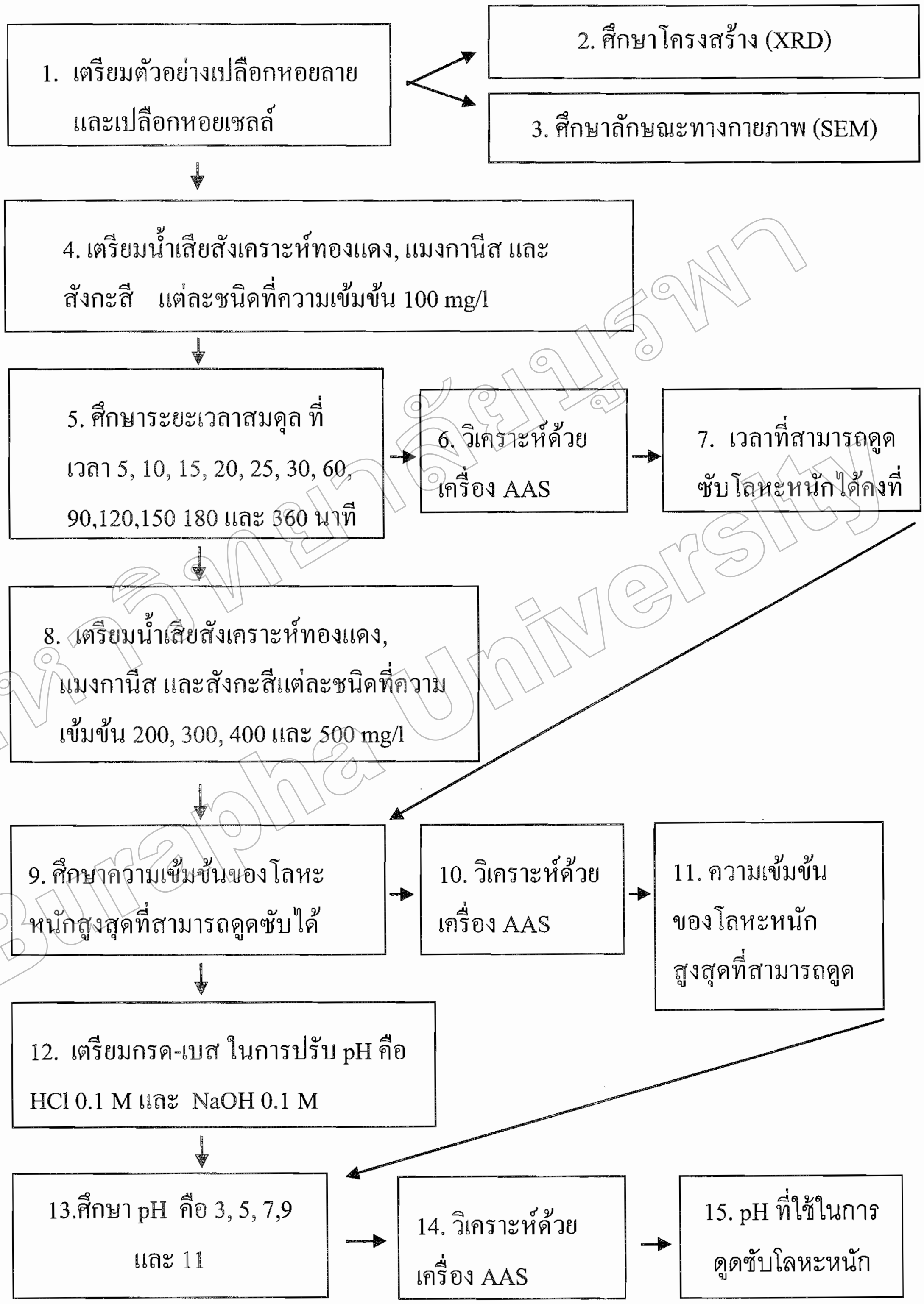
Ce = equilibrium concentration (mg/L)

V = volume of solution (L)

W = absorbent (g)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ขั้นตอนการศึกษา



ภาพที่ 15 ขั้นตอนการศึกษาด้วยเครื่องมือต่าง ๆ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ดัชนีอักษรย่อ

เนื่องจากงานวิจัยในส่วนของขั้นตอนของการดูดซับนี้มีตัวอย่างเป็นจำนวนมากจึงมีการใช้อักษรย่อเพื่อให้สามารถเข้าใจได้ง่ายยิ่งขึ้น จึงจำเป็นต้องใช้อักษรย่อดังนี้

VWxyz

V แทน ชนิดของเปลือกหอยที่ใช้ในการดูดซับ

A = เปลือกหอยเชลล์

P = เปลือกหอยลาย

W แทน ชนิดของโลหะหนัก

Cu = ทองแดง

Mn = แมงกานีส

Zn = สังกะสี

x แทน ระยะเวลาสมดุลที่เปลือกหอยสัมผัสกับโลหะหนัก

5 = เปลือกหอยสัมผัสกับโลหะหนักเป็นเวลา 5 นาที

10 = เปลือกหอยสัมผัสกับโลหะหนักเป็นเวลา 10 นาที

15 = เปลือกหอยสัมผัสกับโลหะหนักเป็นเวลา 15 นาที

20 = เปลือกหอยสัมผัสกับโลหะหนักเป็นเวลา 20 นาที

25 = เปลือกหอยสัมผัสกับโลหะหนักเป็นเวลา 25 นาที

30 = เปลือกหอยสัมผัสกับโลหะหนักเป็นเวลา 30 นาที

60 = เปลือกหอยสัมผัสกับโลหะหนักเป็นเวลา 60 นาที

90 = เปลือกหอยสัมผัสกับโลหะหนักเป็นเวลา 90 นาที

120 =เปลือกหอยสัมผัสกับโลหะหนักเป็นเวลา 120 นาที

150 =เปลือกหอยสัมผัสกับโลหะหนักเป็นเวลา 150 นาที

180 =เปลือกหอยสัมผัสกับโลหะหนักเป็นเวลา 180 นาที

360 =เปลือกหอยสัมผัสกับโลหะหนักเป็นเวลา 360 นาที

y แทน ความเข้มข้นของโลหะหนัก

100 = ความเข้มข้น 100 mg/l

200 = ความเข้มข้น 200 mg/l

300 = ความเข้มข้น 300 mg/l

400 = ความเข้มข้น 400 mg/l

500 = ความเข้มข้น 500 mg/l

z แทน pH ที่เหมาะสมในการดูดซับโลหะหนักชนิดต่าง ๆ

3 = pH 3

5 = pH 5

7 = pH 7

9 = pH 9

11 = pH 11

ภาพที่ 16 อักษรย่อที่ใช้ในการศึกษา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตัวอย่าง เช่น 1. การศึกษาลักษณะ และโครงสร้างของเปลือกหอย A คือ ตัวอย่างเปลือกหอยเชลล์บด ส่วน P คือ ตัวอย่างเปลือกหอยลายบด

2. การศึกษาสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมในการดูดซับโลหะหนักด้วยเปลือกหอย โดยแบ่งออกเป็น

2.1 การศึกษาระยะเวลาสมดุลที่เหมาะสมในการกำจัดโลหะหนักชนิดต่าง ๆ ด้วยเปลือกหอยลายและหอยเชลล์ โดย ACu5 คือ ตัวอย่างเปลือกหอยเชลล์ที่สัมผัสกับทองแดงในน้ำเสียสังเคราะห์เป็นเวลา 5 นาที

2.2 การศึกษาความเข้มข้นสูงสุดของโลหะหนักชนิดต่าง ๆ ในน้ำเสียสังเคราะห์ที่สามารถกำจัดได้ด้วยเปลือกหอยลาย และหอยเชลล์ โดย ACu100 คือ ตัวอย่างเปลือกหอยเชลล์ที่ดูดซับทองแดงในน้ำเสียสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 100 mg/L

2.3 การศึกษา pH ที่เหมาะสมในการดูดซับโลหะหนักชนิดต่าง ๆ ออกจากน้ำเสียสังเคราะห์ ด้วยเปลือกหอยลาย และหอยเชลล์ โดย ACu3 คือ ตัวอย่างเปลือกหอยเชลล์ที่ดูดซับทองแดงในน้ำเสียสังเคราะห์ที่มี pH 3

วิธีการศึกษา

1. การศึกษาลักษณะ และโครงสร้างของเปลือกหอยลาย และเปลือกหอยเชลล์

1.1 นำตัวอย่างเปลือกหอยมาศึกษาโครงสร้างลักษณะด้วยเครื่อง (X-ray diffractometer, XRD) โดยศึกษาโครงสร้างของเปลือกหอยโดยเปรียบเทียบลักษณะการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์กับแฟ้มข้อมูล JCPDs (Joint Committee on Powder Diffraction Standard) และศึกษาปริมาณของเฟสต่าง ๆ ด้วยวิธีแบบเรียทเวล และโปรแกรมคอมพิวเตอร์ FULLPROF SUITE-2000

1.2 นำตัวอย่างเปลือกหอยมาศึกษาลักษณะทางกายภาพ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning electron microscopy, SEM)

2. การศึกษาสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมในการดูดซับโลหะหนักออกจากน้ำเสียสังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ ด้วยเปลือกหอยลาย และเปลือกหอยเชลล์ โดยแบ่งออกเป็น

2.1 การศึกษาระยะเวลาการสัมผัสที่เหมาะสมในการกำจัดโลหะหนักออกจากน้ำเสียสังเคราะห์

2.1.1 เตรียมน้ำเสียสังเคราะห์ของทองแดงที่ความเข้มข้น 100 mg/L

2.1.2 ปรับ pH ของน้ำเสียสังเคราะห์ให้ได้ค่า pH 5 โดยใช้สารละลาย NaOH 0.1 M และ HCl 0.1 M ในการปรับค่า pH แล้วนำมาเก็บในขวด PE

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.1.3 นำน้ำเสียสังเคราะห์ของทองแดงมาปริมาณ 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวด PE ขนาด 125 มิลลิลิตร เป็นจำนวน 11 ขวด แล้วเติมตัวอย่างเปลือกหอยเชลล์ 1 กรัม ลงในขวด PE

2.1.4 จากนั้นนำมาเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

2.1.5 โดยเก็บสารตัวอย่างมาทุก ๆ เวลา 5, 10, 15, 20, 25, 30, 60, 90, 120, 150, 180 และ 360 นาที แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง ยี่ห้อ whatman เบอร์ 1

2.1.6 ทำการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในน้ำเสียสังเคราะห์ด้วยเครื่อง AAS และบันทึกผล

2.1.7 ทำการทดลองซ้ำตามข้อ 2.1.1-2.1.6 แต่เปลี่ยนชนิดของโลหะหนักในน้ำเสียสังเคราะห์ เป็น สังกะสี และแมงกานีส ตามลำดับ

2.1.8 ทำการทดลองซ้ำตามข้อ 2.1.1-2.1.7 แต่เปลี่ยนชนิดของตัวอย่างเปลือกหอยเป็น เปลือกหอยลาย

2.1.9 ทำการทดลองซ้ำตามข้อ 2.1.1-2.1.6 แต่เปลี่ยนแต่เปลี่ยนชนิดของโลหะหนักในน้ำเป็นแมงกานีส และปริมาณตัวดูดซับเปลือกหอยเชลล์และเปลือกหอยลายเป็น 5 กรัม

2.2 การศึกษาความเข้มข้นสูงสุดของโลหะหนักในน้ำเสียสังเคราะห์ที่สามารถกำจัดได้

2.2.1 เตรียมน้ำเสียสังเคราะห์ของทองแดงที่ความเข้มข้น 200, 300, 400 และ 500 mg/l

2.2.2 ปรับ pH ของน้ำเสียสังเคราะห์ให้ได้ค่า pH 5 โดยใช้สารละลาย NaOH 0.1 M และ HCl 0.1 M ในการปรับค่า pH แล้วนำมาเก็บในขวด PE

2.2.3 นำน้ำเสียสังเคราะห์ของทองแดงในแต่ละความเข้มข้นมาปริมาณ 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวด PE ขนาด 125 มิลลิลิตร เป็นจำนวน 4 ขวด แล้วเติมตัวอย่างเปลือกหอยเชลล์ปริมาณ 1 กรัม ลงในขวด PE

2.2.4 จากนั้นนำมาเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 90 นาที

2.2.5 จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1

2.2.6 ทำการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในน้ำเสียสังเคราะห์ด้วยเครื่อง AAS และบันทึกผล

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.2.7 ทำการทดลองซ้ำตามข้อ 2.2.1-2.2.6 แต่เปลี่ยนชนิดของโลหะหนักในน้ำเสียสังเคราะห์ เป็น สังกะสี และ แมงกานีส ตามลำดับ แต่ในการดูดซับแมงกานีสจะเพิ่มปริมาณตัวดูดซับเป็น 5 กรัม

2.2.8 ทำการทดลองซ้ำตามข้อ 2.2.1-2.2.7 แต่เปลี่ยนชนิดของตัวอย่างเปลือกหอยเป็น เปลือกหอยลาย

2.3 การศึกษา pH ที่เหมาะสมในการดูดซับโลหะหนักออกจากน้ำเสียสังเคราะห์

2.3.1 เตรียมน้ำเสียสังเคราะห์ของทองแดงโดยใช้ความเข้มข้นที่สูงที่สุดที่สามารถดูดซับทองแดงได้ ซึ่งได้มาจาก 2.2.6 แล้วนำมาเก็บในขวด PE

2.3.2 นำน้ำเสียสังเคราะห์ของทองแดงมาปริมาณ 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวด PE ขนาด 125 มิลลิลิตร เป็นจำนวน 4 ขวด

2.3.3 ปรับ pH ของน้ำเสียสังเคราะห์ให้ได้ค่า pH 3, 7, 9 และ 11 โดยใช้สารละลาย NaOH 0.1 M และ HCl 0.1 M ในการปรับค่า pH

2.3.4 เติมตัวอย่างเปลือกหอยเซลล์ปริมาณ 1 กรัม ลงในขวด PE

2.3.5 จากนั้นนำมาเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 90 นาที

2.3.6 จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1

2.3.7 ทำการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในน้ำเสียสังเคราะห์ด้วยเครื่อง AAS และบันทึกผล

2.3.8 ทำการทดลองซ้ำตามข้อ 2.3.1-2.3.7 แต่เปลี่ยนชนิดของโลหะหนักในน้ำเสียสังเคราะห์ เป็น สังกะสี และ แมงกานีส ตามลำดับ แต่ในการดูดซับแมงกานีสจะเพิ่มปริมาณตัวดูดซับเป็น 5 กรัม

2.3.9 ทำการทดลองซ้ำตามข้อ 2.3.1-2.3.8 แต่เปลี่ยนชนิดของตัวอย่างเปลือกหอยเป็น เปลือกหอยลาย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University