

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง

3.1.1.1 ขวดเก็บตัวอย่างน้ำ (พลาสติกโพลีเอทิลีน) ขนาด 500 มิลลิลิตร

3.1.1.2 ถังพลาสติก/ ถังซีป

3.1.1.3 กระบอกเก็บน้ำตามแนวตั้ง (Kemmerer)

3.1.1.4 ช้อนพลาสติกสำหรับตักดินตะกอน

3.1.1.5 เครื่องตักตะกอนดินพื้นท้องน้ำ แบบ Ekman Bottom Grab sampler

3.1.2 สารเคมีสำหรับเตรียมตัวอย่างและใช้ในการวิเคราะห์

3.1.2.1 potassium iodide (KI: AR grade, Ajax Finechem, Australia)

3.1.2.2 sodium hydroxide (NaOH: AnalaR grade, BDH, England)

3.1.2.3 sodium tetra-boro-hydride (NaBH_4 : AR grade, Fluka, Switzerland)

3.1.2.4 conc. Hydrochloric acid (37% HCl: AR grade, Merck, Germany)

3.1.2.5 conc. Nitric acid (69% HNO_3 : AR grade, Merck, Germany)

3.1.2.6 hydrogen peroxide (H_2O_2 : AR grade, Merck, Germany)

3.1.2.7 arsenic stock standard (As^{3+} : Spectrascan, Teknolab, Norway)

3.1.2.8 arsenic pentoxide stock standard (As_2O_5 : Spectrosol, BDH, England)

3.1.2.9 ascorbic acid ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$: AnalaR grade, BDH, England)

3.1.2.10 de-ionized water (ค่าความต้านทานไฟฟ้า 18.2 $\text{M}\Omega/\text{cm}$ หรือค่าความนำไฟฟ้า 0.055 $\mu\text{S}/\text{cm}$)

3.1.2.11 acetylene gas (C_2H_2 99.5%, Instrument grade, TIG, Thailand)

3.1.2.12 MESS3 (Certified Reference Materials; CRMs, Canada)

3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์

3.1.3.1 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง

3.1.3.2 ตู้แช่แข็ง (Deep Freezer)

3.1.3.3 เครื่องอบแห้งระบบทำความเย็น (Freeze Dryer)

3.1.3.4 เครื่อง microwave digester ยี่ห้อ Milestone 1200 mega

3.1.3.5 ตู้ดูดควัน

3.1.3.6 เครื่องกลั่นกรด

3.1.3.7 เตาเผาสาร (Furnace Muffle)

3.1.3.8 ครุฑเปิด (Crucible)

3.1.3.9 ปิเปตอัตโนมัติ (Automatic Pipette)

3.1.3.10 โถดูดความชื้น (Desiccators)

3.1.3.11 ขวดปริมาตร (Volumetric Flask)

3.1.3.12 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask หรือ Conical Flask)

3.1.3.13 กระบอกตวง (Cylinder)

3.1.3.14 ซ้อนตักสาร

3.1.3.15 ตะแกรงร่อนตะกอน ขนาดตา 125 ไมโครเมตร

3.1.4 เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์

เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์ปชัน สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Atomic Absorption

Spectrophotometer; AAS) ร่วมกับระบบไฮไดรด์ (Hydride Generation System) ของ Varian รุ่น spectrAA 50 ใช้สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำผิวดิน ดินตะกอนในทะเลและลำคลอง ซึ่งโดยทั่วไปมีค่าอยู่ในช่วงกว้าง ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของสารหนูกับสภาพทางธรณีเคมีในบริเวณนั้น (Matschullat, 2000; Mandal & Suzuki 2002; Follow et al., 2007) และใช้เครื่องอะตอมมิกฟลูออเรสเซนซ์ สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Atomic Fluorescence Spectrophotometer; AFS) ร่วมกับระบบไฮไดรด์ (Hydride Generation System) ของ PS Analytical รุ่น 10.055 Millennium Excalibur system ซึ่งมีความไว (Sensitivity) ในการวิเคราะห์มากกว่าที่ MDL (Method Detection Limit) ต่ำกว่า 10 นาโนกรัมต่อลิตร (P S Analytical Ltd., 1997) จึงใช้สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำใต้ดิน

(จากบ่อน้ำ/ บ่อน้ำบาดาล) และน้ำทะเล ที่โดยทั่วไปมีค่าต่ำกว่า 10 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 4 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Smedley & Kinniburgh, 2002)

3.2 การเก็บตัวอย่างน้ำและดินตะกอน

3.2.1 เก็บตัวอย่างน้ำใต้ดิน จากบ่อน้ำตื้น และบ่อน้ำบาดาล (11 จุด) ที่ระดับกึ่งกลางน้ำ จากบริเวณพื้นที่นิคม ฯ มาบตาพุด จังหวัดระยองในเดือนมีนาคม 2553 (ตารางที่ 4 และภาพที่ 3-1)

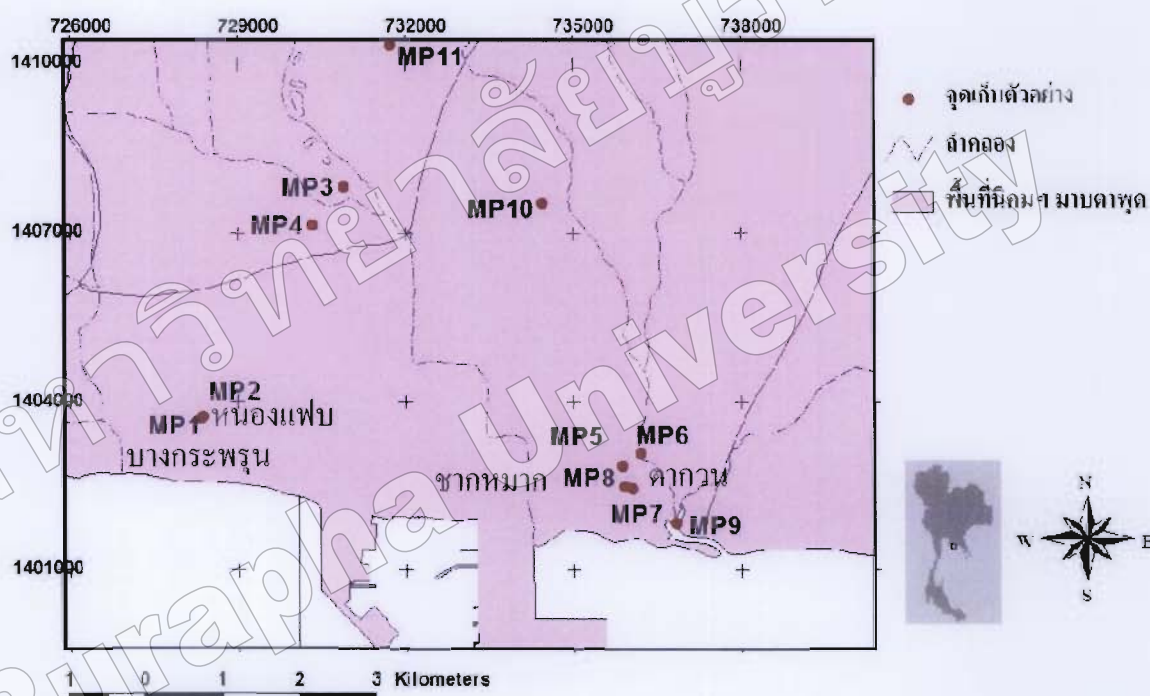
3.2.2 เก็บตัวอย่างน้ำผิวดินที่ระดับ 1-2 เมตร จากผิวน้ำ และดินตะกอนจากลำคลอง ในช่วงฤดูแล้ง ระหว่างวันที่ 28 มีนาคม ถึง 1 เมษายน 2553 จำนวน 37 สถานี เป็นจุดเดียวกับจุดเก็บตัวอย่างของกรมควบคุมมลพิษ ซึ่งสามารถแบ่งจุดเก็บตัวอย่างตามลำคลองแยกได้เป็น 4 ลำคลอง แสดงดังตารางที่ 5 และภาพที่ 3-2

3.2.3 เก็บตัวอย่างน้ำทะเลที่ระดับผิวน้ำ (1 เมตร จากผิวน้ำ) จากบริเวณพื้นที่ชายฝั่งทะเล หน้านิคม ฯ มาบตาพุด จังหวัดระยอง ครั้งที่ 1 (25 จุด) ในเดือนกุมภาพันธ์ 2553 แสดงดังตารางที่ 6 และภาพที่ 3-3 ซึ่งเป็นจุดเดียวกับจุดเก็บตัวอย่างของกรมควบคุมมลพิษ เก็บตัวอย่างน้ำทะเล ครั้งที่ 2 และดินตะกอนในทะเล (23 จุด) ในเดือนพฤษภาคม 2553 แสดงดังตารางที่ 7 และภาพที่ 3-4 เป็นจุดเดียวกับจุดเก็บตัวอย่างของศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงทะเลอ่าวไทยฝั่งตะวันออก (ระยอง) และมีลักษณะกระจายตัวออกไกลฝั่งมากกว่าจุดเก็บตัวอย่างน้ำทะเลในการศึกษาครั้งที่ 1

การเก็บตัวอย่างดินตะกอนจากชายฝั่งทะเล (พร้อมการเก็บตัวอย่างน้ำทะเลครั้งที่ 2) และดินตะกอนจากลำคลอง เก็บจุดละ 1 ข้ว ใส่ในถุงซิปล็อค และสำหรับตัวอย่างน้ำทะเลและน้ำผิวดิน จุดละ 2 ข้ว ด้วยกระบอกเก็บน้ำแบบตามแนวดิ่ง (แบบ Kemmerer) และแบบจ้วงตัก ซึ่งตัวอย่างน้ำจะถูกเก็บใส่ขวดเก็บน้ำพลาสติกโพลีเอทิลีนขนาด 500 มิลลิลิตร และเก็บรักษาในสถานะที่เป็นกรด ค่า pH < 2 ด้วยการเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร และเก็บรักษาไว้จนถึงขั้นตอนการวิเคราะห์ ตามวิธีการของ Coelho et al. (2002) ซึ่งเป็นขั้นตอนเพื่อการรักษาสภาพ ป้องกันการดูดซับที่ผิวของภาชนะ ป้องกันการตกตะกอนและยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ แต่อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างจะถูกนำกลับห้องปฏิบัติการและเติมกรดทันที (ภายในไม่เกิน 12 ชั่วโมง) เพื่อลดขั้นตอนหรือความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นต่อผลการวิเคราะห์ได้ กรณีการเติมสารในภาคสนาม และเก็บจาก

การตรวจสอบการปนเปื้อนจากสภาพแวดล้อมในภาคสนาม (Filed Blank; DI water) และการตรวจสอบการปนเปื้อนของภาชนะบรรจุตลอดการขนส่ง (Trip Blank; DI water)

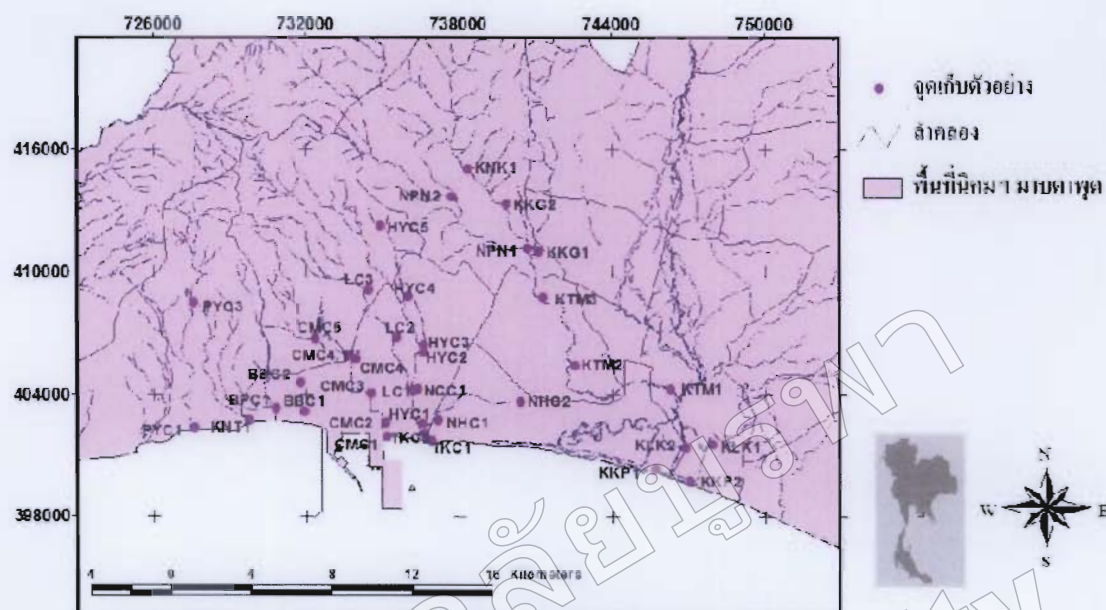
ทุกสถานีเก็บตัวอย่างจะถูกเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำทั่วไป แบบภาคสนาม ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด ด่าง และเครื่องวัดแบบ Multi-Parameter (วัดปริมาณออกซิเจนในน้ำ ค่าการนำไฟฟ้า อุณหภูมิ และความเค็ม)



ภาพที่ 3-1 จุดเก็บตัวอย่างน้ำใต้ดิน (น้ำบ่อดิน/ บ่อบาดาล) บริเวณนิคมฯ มาบตาพุด

ตารางที่ 4 แสดงพิกัดทางภูมิศาสตร์ ของสถานีเก็บตัวอย่างน้ำใต้ดิน จากบ่อน้ำตื้นและบ่อน้ำบาดาล
บริเวณนิคม ฯ มาบตาพุด

รหัสสถานี	ชื่อจุดเก็บตัวอย่าง	ลักษณะบ่อ	Northern	Eastern
MP4	บ้านคุณสายทอง	บ่อน้ำตื้น	0731325	1405877
MP5	ตากวน1	บ่อน้ำตื้น	0735346	1402761
MP6	ตากวน2	บ่อน้ำตื้น	0735589	1402924
MP7	ตากวน3	บ่อน้ำตื้น	0735488	1402465
MP8	ตากวน4	บ่อน้ำตื้น	0735384	1402502
MP9	ตากวน5 (ร.ร.วัดตากวน)	บ่อน้ำตื้น	0736035	1402022
MP10	สุสานสันติสุข	บ่อน้ำตื้น	0734316	1406158
MP1	หนองแฟบ	บ่อน้ำบาดาล	0729859	1403385
MP2	หนองแฟบ (ใหม่)	บ่อน้ำบาดาล	0729859	1403385
MP3	สวนภูมิรักษ์	บ่อน้ำบาดาล	0731738	1406356
MP11	สถานพินิจ	บ่อน้ำบาดาล	0732341	1408191



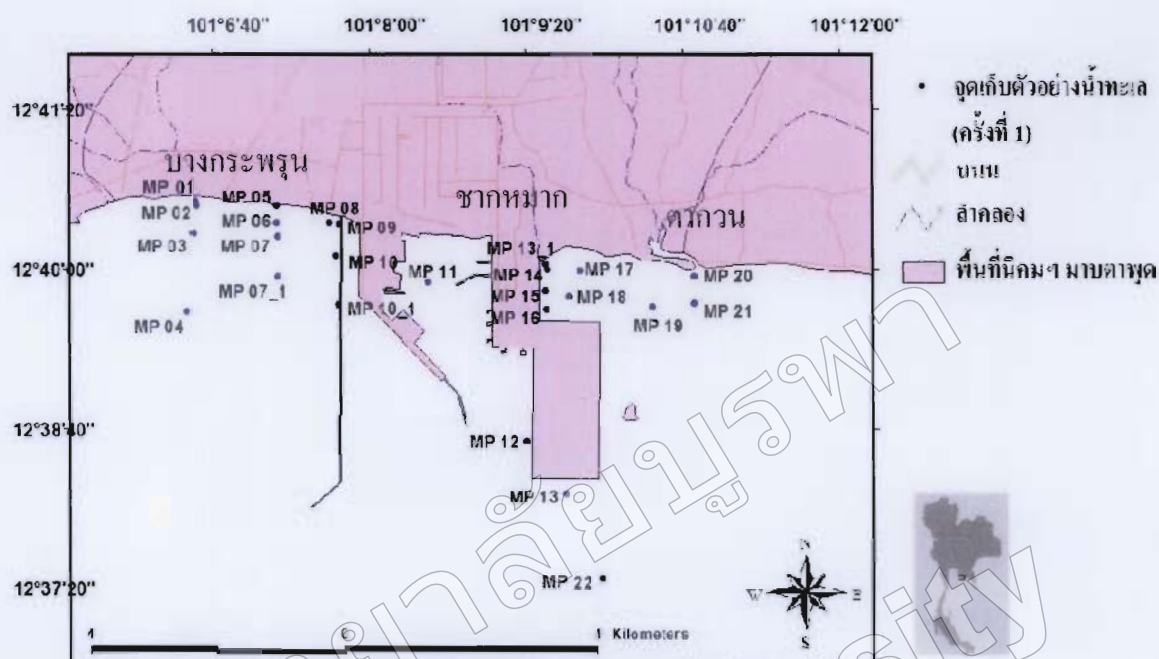
ภาพที่ 3-2 จุดเก็บตัวอย่างน้ำผิวดินและดินตะกอนจากลำคลอง บริเวณนิคม ๔ มาบตาพุด

ตารางที่ 5 แสดงพิกัดทางภูมิศาสตร์ ของสถานีเก็บน้ำผิวดินและดินตะกอน จาก 4 ลำคลอง
บริเวณนิคม ๔ มาบตาพุด

รหัสสถานี	ชื่อกลุ่มคลอง	ชื่อคลองย่อย	Northern	Eastern
BBC1	คลองพะยูง	คลองบางเบ็ด	730282	1403094
BBC2	คลองพะยูง	คลองบางเบ็ด	730085	1404560
BPC1	คลองพะยูง	คลองบางกะพูน	728839	1403243
PYC1	คลองพะยูง	คลองพะยูง	724828	1402289
PYC3	คลองพะยูง	คลองพะยูง	724774	1408397
KNT1	คลองพะยูง	คลองน้ำตก	727550	1402687
CMC1	คลองซากหมาก	คลองซากหมาก	734410	1401859
CMC2	คลองซากหมาก	คลองซากหมาก	734306	1402595
CMC3	คลองซากหมาก	คลองซากหมาก	733570	1404029
CMC4	คลองซากหมาก	คลองซากหมาก	732849	1405698
CMC4.1	คลองซากหมาก	คลองซากหมาก	732510	1405911
CMC5	คลองซากหมาก	คลองซากหมาก	730832	1406707

ตารางที่ 5 (ต่อ)

รหัสสถานี	ชื่อกลุ่มคลอง	ชื่อคลองย่อย	Northern	Eastern
KTM1	คลองทับมา	คลองทับมา	748471	1404223
KTM2	คลองทับมา	คลองทับมา	743761	1405374
KTM3	คลองทับมา	คลองทับมา	742132	1408697
KLK1	คลองทับมา	คลองทับมา	750563	1401507
KLK2	คลองทับมา	คลองทับมา	749204	1401331
KKP1	คลองทับมา	คลองคา/คลองกันปัก	747746	1400261
KKP2	คลองทับมา	คลองคา/คลองกันปัก	749442	1399690
KKG1	คลองทับมา	คลองกระเจด	741934	1410934
KKG2	คลองทับมา	คลองกระเจด	740344	1413239
NPN1	คลองทับมา	คลองหนองผักหนาม	741402	1411055
NPN2	คลองทับมา	คลองหนองผักหนาม	737645	1413612
KNK1	คลองทับมา	คลองหนองกล้า	738450	1414974
LC1	คลองห้วยใหญ่	คลองหลอด	735658	1404179
LC2	คลองห้วยใหญ่	คลองหลอด	734855	1406790
LC3	คลองห้วยใหญ่	คลองหลอด	733484	1409047
HYC1	คลองห้วยใหญ่	คลองห้วยใหญ่	736135	1402503
HYC2	คลองห้วยใหญ่	คลองห้วยใหญ่	736171	1406013
HYC3	คลองห้วยใหญ่	คลองห้วยใหญ่	736203	1406382
HYC4	คลองห้วยใหญ่	คลองห้วยใหญ่	735456	1408728
HYC5	คลองห้วยใหญ่	คลองห้วยใหญ่	734056	1412212
TKC1	คลองห้วยใหญ่	คลองตากวน	736614	1401679
TKC2	คลองห้วยใหญ่	คลองตากวน	736272	1401971
NHC1	คลองห้วยใหญ่	คลองน้ำหู	736920	1402667
NHC2	คลองห้วยใหญ่	คลองน้ำหู	741033	1403573
NCC1	คลองห้วยใหญ่	คลองน้ำชา	735933	1404210



ภาพที่ 3-3 จุดเก็บตัวอย่างน้ำทะเล (ครั้งที่ 1) บริเวณนิคมฯ มาบตาพุด

ตารางที่ 6 แสดงพิกัดทางภูมิศาสตร์ ของสถานีเก็บน้ำทะเล (ครั้งที่ 1) บริเวณหน้านิคมฯ มาบตาพุด

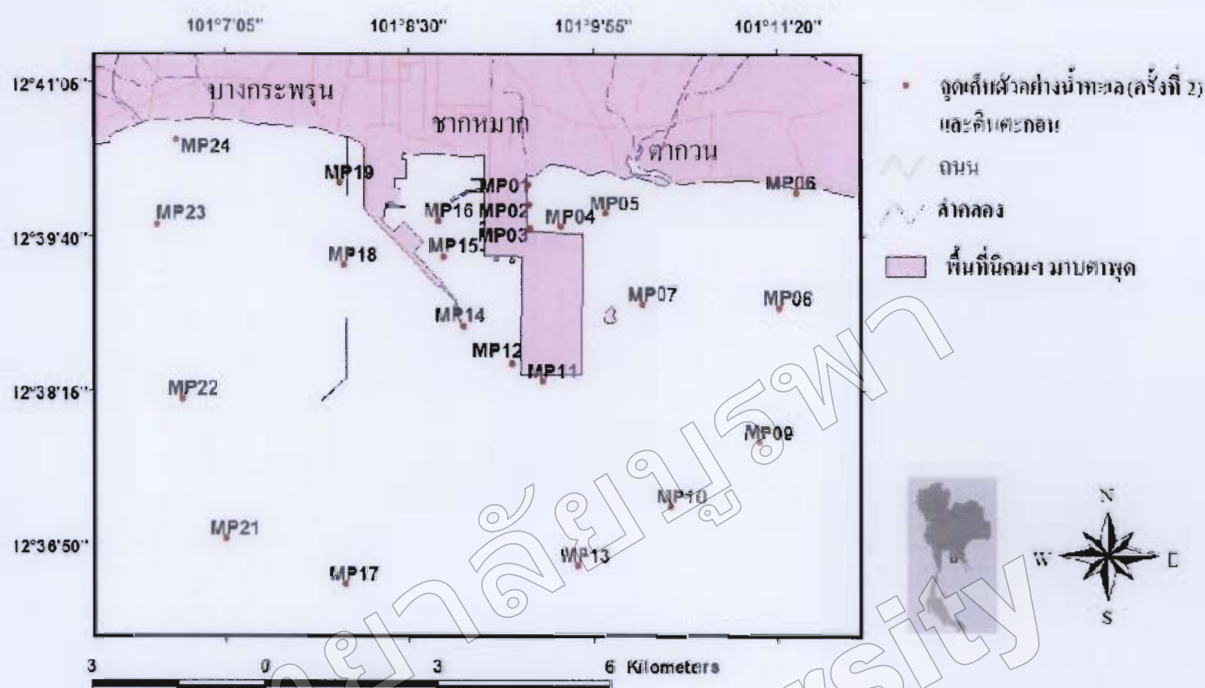
รหัสสถานี	Northern	Eastern	ระยะห่างชายฝั่ง (เมตร)
MP01	12.67833	101.10948	85
MP02	12.67772	101.10960	154
MP03	12.67382	101.10921	579
MP04	12.66296	101.10824	1775
MP05	12.67771	101.12094	20
MP06	12.67532	101.12107	285
MP07	12.67336	101.12109	504
MP07_1	12.66780	101.12109	1120
MP08	12.67528	101.12831	145
MP09	12.67506	101.12978	135

ตารางที่ 6 (ต่อ)

รหัสสถานี	Northern	Eastern	ระยะทางชายฝั่ง (เมตร)
MP10	12.67064	101.12934	631
MP10_1	12.66399	101.12970	1360
MP11	12.66695	101.14247	756
MP12	12.64488	101.15625	2891
MP13	12.63758	101.16186	3819
MP13_1	12.66951	101.15907	86
MP14	12.66872	101.15931	179
MP15	12.66577	101.15909	495
MP16	12.66329	101.15925	769
MP17	12.66861	101.16395	362
MP18	12.66512	101.16244	758
MP19	12.66354	101.17424	722
MP20	12.66784	101.18020	147
MP21	12.66407	101.18012	564
MP22	12.62568	101.16699	5083

ตารางที่ 7 แสดงพิกัดทางภูมิศาสตร์ ของสถานีเก็บน้ำทะเล (ครั้งที่ 2) และดินตะกอน บริเวณ
หน้านิคม ฯ มาบตาพุด

รหัสสถานี	Northern	Eastern	ระยะห่างชายฝั่ง (เมตร)
MP01	12.66894	101.15829	180
MP02	12.66578	101.15839	520
MP03	12.66222	101.15862	910
MP04	12.66246	101.16337	1070
MP05	12.66445	101.17034	730
MP06	12.66774	101.20022	112
MP07	12.65052	101.17616	2160
MP08	12.65000	101.19739	2110
MP09	12.62943	101.19424	4450
MP10	12.61952	101.18053	5520
MP11	12.63884	101.16046	3580
MP12	12.64156	101.15571	3400
MP13	12.61041	101.16560	6780
MP14	12.64721	101.14825	2920
MP15	12.65786	101.14501	1770
MP16	12.66334	101.14436	1170
MP17	12.60756	101.12954	7650
MP18	12.65653	101.12935	2180
MP19	12.66918	101.12881	820
MP21	12.61464	101.11082	7150
MP22	12.63627	101.10424	4720
MP23	12.66290	101.10024	1790
MP24	12.67580	101.10342	320



ภาพที่ 3-4 จุดเก็บตัวอย่างน้ำทะเล (ครั้งที่ 2) และดินตะกอน บริเวณหน้านิคม ฯ มาบตาพุด

3.3 วิธีการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์

3.3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานสารหนู

3.3.1.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานสารหนูความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และเจือจางตามลำดับ ให้ได้ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 และ 10 ไมโครกรัมต่อลิตร เป็นช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารหนูด้วยเครื่อง HG AFS ซึ่งสารละลายมาตรฐานสารหนูละลายอยู่ใน 30% (v/v) HCl และ 1% KI ตามคู่มือวิธีการวิเคราะห์สารหนูในน้ำของเครื่อง HG AFS ของ PS Analytical

3.3.1.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานสารหนูความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร และเจือจางตามลำดับ ให้ได้ความเข้มข้น 5, 10, 20, 30 และ 50 ไมโครกรัมต่อลิตร ช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารหนูด้วยเครื่อง HG AAS ซึ่งจะละลายอยู่ใน 1% KI และ 3 M HCl ตามคู่มือแนะนำวิธีการวิเคราะห์สารหนู ด้วยเครื่อง AAS ของ Varian และการศึกษาของ Correia et al. (2010), William and Nobbins (1982) และ Munoz et al. (1999)

สร้างกราฟมาตรฐาน (Standard Calibration Curve) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (สำหรับเครื่อง AAS) หรือการเรืองแสง (สำหรับเครื่อง AFS) โดยแปลงค่าของการวิเคราะห์ (Method Blank หรือ De-ionized Water) และสารละลายมาตรฐานสารหนูที่เตรียมไว้ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ตามวิธีการที่อธิบายไว้ในข้อ 2.1 และ 2.2 นำมาสร้างกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ หาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานสารหนูและค่า peak ที่ได้ เพื่อใช้ในการคำนวณค่าความเข้มข้นของตัวอย่างน้ำบ่อต้น/ น้ำบาดาล น้ำทะเลและน้ำผิวดิน โดยกราฟมาตรฐานที่ได้เป็นช่วงเส้นตรง (Linear Range) มีค่า Correlation coefficient > 0.995

3.3.2 การเตรียมตัวอย่างน้ำบ่อต้น/ น้ำบาดาล น้ำทะเลและน้ำผิวดิน

3.3.2.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำบ่อต้น/ น้ำบาดาล และน้ำทะเลสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HG-AFS ของ PSA โดยการเตรียมตัวอย่างน้ำละลายอยู่ใน 30% ของกรด HCl เข้มข้น (37%) และ 1% KI โดยเติม 15 มิลลิลิตร ของกรด HCl เข้มข้น และสารละลาย 50% (m/v) KI ใน 10% (m/v) ascorbic acid ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในขวดปริมาตร 50 มิลลิลิตร ซึ่งปรับปริมาตรด้วยตัวอย่างน้ำ และตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยา อย่างน้อย 30 นาที ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ตามคู่มือวิธีการวิเคราะห์สารหนูในน้ำของเครื่อง HG AFS ของ PS Analytical

3.3.2.2 การเตรียมตัวอย่างน้ำผิวดินสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Flame-AAS ระบบ hydride generation (HG) โดยการเติมสารละลาย 2% KI ใน 6 M HCl ต่อตัวอย่างน้ำผิวดินที่ต้องการวิเคราะห์ในอัตราส่วน 1 : 1 ในขวดรูปชมพู่ที่สะอาด ความเข้มข้นสุดท้ายในน้ำตัวอย่างเป็น 1% KI และ 3 M HCl ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยากันอย่างน้อย 30 นาที ก่อนทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Flame-AAS ร่วมกับระบบ Hydride Generation (HG)

การวิเคราะห์ปริมาณสารหนูด้วยเครื่อง AFS และ Flame AAS ร่วมกับเทคนิค Hydride Generation ซึ่งปริมาณสารหนูทั้งหมดในตัวอย่าง ทั้งรูป As^{3+} และ As^{5+} (ละลายอยู่ในสารละลาย 1% KI) จะถูกเปลี่ยนรูปเป็นสารหนูไฮไดรด์ AsH_3 (g) โดยใช้สารละลาย $NaBH_4$ เป็นตัวรีดิวซ์สารหนูในสถานะกรด เกิดปฏิกิริยาขึ้นในส่วนหนึ่งของระบบแยกแก๊สกับของเหลว (Gas-Liquid Separation System) หรือระบบ Hydride Generation และสารหนูไฮไดรด์ที่ได้ จะถูกพาโดย Carrier Gas (Argon gas) ไปวิเคราะห์ในส่วนของการ Detection System หรือเครื่อง AFS และ Flame AAS ต่อไป

ค่า Limit of Detection (LOD) ของการวิเคราะห์สารหนูในตัวอย่างน้ำ ได้จากการคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของเบี่ยงเบนของการวิเคราะห์ จำนวนอย่างต่ำ 8 ซ้ำแล้วคูณด้วย 3 (ตารางที่ 8)

ค่า Limit of Quantification (LOQ) ของการวิเคราะห์สารหนูในตัวอย่างน้ำ ทำได้โดยการเติมสารมาตรฐานสารหนูใน method blank ให้ได้ค่าความเข้มข้นเท่ากับ (ประมาณ) 10 เท่าของค่า LOD แล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณสารหนูที่ได้ ทำอย่างต่ำ 8 ซ้ำ ค่าความเฉลี่ยเป็นค่า LOQ (Clesceri et al., 1989, pp.1-18)

3.3.3 การเตรียมตัวอย่างดินตะกอน

การเตรียมตัวอย่างดินตะกอนจากชายฝั่งทะเลหน้านิคม ฯ มาบตาพุด (ในการเก็บตัวอย่างน้ำทะเลครั้งที่ 2) และดินตะกอนจากลำคลองต่าง ๆ โดยรอบบริเวณพื้นที่นิคม ฯ มาบตาพุด ทำการย่อยดินตะกอนก่อนนำไปทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ดังต่อไปนี้

3.3.3.1 นำตัวอย่างดินตะกอนแช่แข็งในตู้แช่ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อให้อนุภาคน้ำแข็งเป็นผลึกน้ำแข็ง ดินตะกอนตัวอย่างจะมีลักษณะแข็งตัว แล้วจึงทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze Dryer ประมาณ 3-5 วัน หรือจนกระทั่งดินแห้งและปราศจากน้ำ จากนั้นจึงนำไปชั่งน้ำหนัก โดยกระบวนการของ Freeze Dryer คือ “กระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง” หรือ “การทำแห้งแบบระเหิด” เป็นการลดปริมาณน้ำ จากการระเหิดน้ำแข็งให้กลายเป็นไอ ด้วยการลดความดันบรรยากาศ และการทำแห้ง เพื่อดึงเอาความชื้นที่เหลืออยู่ออก ด้วยการเพิ่มอุณหภูมิ (ปิ่นฉัตร ภัทรสถาพรกุล, 2547)

3.3.3.2 นำดินไปร่อนผ่านตะแกรงขนาดตา 125 ไมโครเมตร เพื่อนำดินตะกอนที่มีขนาดเล็กกว่า 125 ไมโครเมตร มาใช้ทำการวิเคราะห์ โดยเก็บใส่ถุงซิปล็อค และนำไปใส่ในโถดูดความชื้นไว้ จนถึงขั้นตอนการย่อยตัวอย่าง

3.3.3.3 ย่อยดินตะกอนด้วยเครื่อง Microwave Digester ยี่ห้อ Milestone 1200 mega ซึ่งจะทำการล้างหลอดเทพลอนสำหรับย่อยตัวอย่าง (Digester Vessel) ก่อนด้วยกรด HCl, HNO₃ และ De-ionized water (DI water) เติมลงใน Digester Vessel และนำเข้าเครื่อง Microwave Digester เมื่อครบตามระยะเวลาของโปรแกรม จึงนำออกมาล้างด้วยน้ำ DI water และปล่อยให้แห้งในตู้กรองอากาศ (Clean Bench)

3.3.3.4 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างดินแห้งที่ร่อนแล้วประมาณ 0.4 กรัม ใส่ลงใน Digester Vessel จดบันทึก และทำการย่อยโดยเติม HNO_3 : HCl : H_2O_2 อัตราส่วน 8 : 2 : 2 มิลลิลิตร (ใช้กรด HNO_3 และ HCl ที่ผ่านการกลั่นแล้ว) เขย่าให้เข้ากันก่อนนำเข้าเครื่อง Microwave Digester ที่ ความดัน 250 PSI อุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 80 นาที

3.3.3.5 นำตัวอย่างที่ย่อยแล้วใส่ขวดปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย De-Ionized water ให้ได้ 50 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารหนูรวมด้วยเครื่อง HG-AAS

สำหรับการเตรียมตัวอย่างสารละลายดินตะกอนและบนลงค์ (DI water) ที่ผ่านการย่อย แล้ว ก่อนนำไปวิเคราะห์ต้องทำการเติมสารละลาย 2% KI ใน 6 M HCl ต่อสารละลายตัวอย่าง ดินตะกอนที่ต้องการวิเคราะห์ในอัตราส่วน 1 : 1 ในขวดรูปชมพู่ที่สะอาด ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1% KI และ 3 M HCl ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยากันอย่างน้อย 30 นาที แล้วจึงทำการวิเคราะห์ ด้วย เครื่อง HG-AAS

ตารางที่ 8 แสดงค่า Limit of Detection (LOD) และค่า Limit of Quantification (LOQ) ของ

การวิเคราะห์ปริมาณสารหนูรวม ด้วยเครื่อง HG AFS และ HG AAS

เครื่องมือวิเคราะห์	LOD	LOQ
HG AFS	0.015 $\mu\text{g/L}$	0.09 $\mu\text{g/L}$
HG AAS	0.24 $\mu\text{g/L}$	2.97 $\mu\text{g/L}$
HG AAS (sediment)	0.51 $\mu\text{g/g}$	-
หมายเหตุ: $\mu\text{g/L}$ =ไมโครกรัมต่อลิตร, $\mu\text{g/g}$ =ไมโครกรัมต่อกรัม		

3.3.4 การตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิควิเคราะห์สารหนูในน้ำและดินตะกอน

ทำการตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิคการวิเคราะห์สารหนูในน้ำโดยการเลือก ตัวอย่างน้ำ จำนวนร้อยละ 10 ของตัวอย่างจากแต่ละแหล่งเก็บ (น้ำบ่อตื้น/ น้ำบาดาล น้ำทะเล และ น้ำผิวดิน) แบ่งแต่ละตัวอย่างเป็น 2 ส่วน คือ ตัวอย่าง non-spike sample และ spike sample โดย ตัวอย่าง spike sample จะถูกเติมสารละลายมาตรฐานสารหนู เพื่อให้ได้ความเข้มข้นเป็น

1 ไมโครกรัมต่อลิตร สำหรับน้ำบ่อตื้น/ น้ำบาดาลและน้ำทะเล และความเข้มข้นเป็น 5 และ 10

ไมโครกรัมต่อลิตร สำหรับน้ำผิวดิน โดยตัวอย่าง non-spike sample และ spike sample จะถูกนำมาตรวจสอบความเข้มข้นของสารหนู โดยใช้กระบวนการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ แล้วหาค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับของวิธีการวิเคราะห์ (ค่า % recovery) โดยนำค่าความเข้มข้นของสารหนูใน spike sample ลบด้วย non-spike sample ของตัวอย่างนั้น ๆ ที่วัดได้ในหน่วยไมโครกรัมต่อลิตร แล้วหารด้วยความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานสารหนูที่เติมแล้วคูณด้วย 100 โดยค่าที่ทดสอบได้ แสดงในตารางที่ 9

$$\% \text{ Recovery} = [(C_{sp} - C_s) / C_a] \times 100$$

โดยที่ C_{sp} = ความเข้มข้นของตัวอย่างน้ำที่เติมสารมาตรฐาน (spike sample)

C_s = ความเข้มข้นของตัวอย่างน้ำที่ไม่ได้เติมสารมาตรฐาน (non-spike sample)

C_a = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมในตัวอย่างน้ำ

ทำการตรวจสอบความถูกต้องของเทคนิคการวิเคราะห์สารหนูในดินตะกอน ทำได้โดยใช้ Certified Reference Materials (CRMs) สำหรับตัวอย่างดินตะกอน MESS3 จาก National Research Council Canada มาผ่านกระบวนการวิเคราะห์ เพื่อตรวจสอบความเข้มข้นของสารหนู โดยใช้กระบวนการเตรียมตัวอย่าง การย่อย และการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่างดินตะกอน แล้วหาค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับของการวิเคราะห์ (ค่า % Recovery) โดยนำค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของสารหนูใน MESS 3 ในหน่วย ไมโครกรัมต่อกรัม ที่ตรวจวัดได้มาหารด้วยค่าความเข้มข้นสารหนูที่ได้รับการรับรองใน Certified Reference materials สำหรับ MESS 3 แล้วคูณด้วย 100 โดยค่าที่ทดสอบได้ แสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงค่า % Recovery ของการวิเคราะห์ปริมาณสารหนูรวมในน้ำและดินตะกอน

การตรวจสอบความถูกต้อง	ความเข้มข้น ของสารหนู ^{1,2}	ค่าที่ตรวจวัดได้	% Recovery
น้ำบ่อดิน/ น้ำบาดาล และน้ำทะเล	1.0 ¹ µg/L	0.86 µg/L	86.12%
น้ำผิวดิน	5.0 ¹ µg/L	5.23 µg/L	104.69%
น้ำผิวดิน	10.0 ¹ µg/L	9.70 µg/L	97.02%
MESS3 (สำหรับตัวอย่างดินตะกอน)	21.2 ² µg/g	20.49 µg/g	96.65%

หมายเหตุ: µg/L=ไมโครกรัมต่อลิตร, µg/g=ไมโครกรัมต่อกรัม

¹ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานสารหนูที่เติมในตัวอย่างน้ำ

² ความเข้มข้นของสารหนูที่ได้รับการรับรองใน Certified Reference materials; CRMs

3.3.5 การหาค่า % Ignition loss หรือปริมาณสารอินทรีย์ในดินตะกอน (ขนาด < 125

ไมโครเมตร)

3.3.5.1 เเป่า crucible ที่ 450 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก และจดบันทึกเป็น W1

3.3.5.2 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างดินตะกอนที่ผ่านการร่อนแล้ว ประมาณ 1-2 กรัม ใส่ crucible ที่เตรียมไว้ (จากข้อ 5.1) และจดบันทึกเป็น W2

3.3.5.3 นำไปเผาที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น ใ้ดูดความชื้น และนำมาชั่งน้ำหนัก จดบันทึกเป็น W3

3.3.5.4 นำน้ำหนักที่ได้มาหักลบกับน้ำหนัก crucible และคำนวณหาค่า % Ignition loss หรือปริมาณสารอินทรีย์

วิธีการคำนวณ

$$\% \text{ Ignition loss} = [(W3-W1)/W2]*100$$

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิจัยครั้งนี้ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Package for Social Science; SPSS

3.4.1 สถิติเชิงพรรณนา วิเคราะห์หาค่าเฉลี่ย (Mean) ค่าพิสัย (Range) เพื่ออธิบายปริมาณสารหนูในตัวอย่างน้ำและดินตะกอน จากชายฝั่งทะเลและลำคลอง โดยรอบนิคม ฯ มาบตาพุด จังหวัดระยอง

3.4.2 สถิติเชิงอนุมาน

3.4.2.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน

- ใช้ t-test วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยปริมาณสารหนูรวมในน้ำใต้ดินจากบ่อน้ำตื้นและบ่อบาดาล โดยมีสถานเป็นปัจจัย

- ใช้ t-test วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยปริมาณสารหนูรวมในน้ำและดินตะกอน จากบริเวณหน้าชายฝั่งทะเล โดยมีสถานเป็นปัจจัย

- ใช้ One way ANOVA วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยปริมาณสารหนูรวมในน้ำและดินตะกอน จาก 4 กลุ่มคลอง (คลองทับมา คลองห้วยใหญ่ คลองซากหมากและคลองพะยูน) ซึ่งอยู่ห่างจากนิคม ฯ มาบตาพุดต่างกัน หรือมีกลุ่มคลองเป็นปัจจัย ในการวิเคราะห์

- ใช้ Student Newman Keuls (SNK) และ Turkey HSD ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณสารหนูรวมในน้ำและดินตะกอน จาก 4 กลุ่มคลอง (คลองทับมา คลองห้วยใหญ่ คลองซากหมากและคลองพะยูน)

3.4.2.2 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณสารหนูรวมและปริมาณสารอินทรีย์ (% Ignition loss) ในดินตะกอนขนาดเล็กกว่า 125 ไมโครเมตร โดยใช้ค่าสถิติ Pearson Correlation Coefficient