บทที่ 5

การวิเคราะห์หาปริมาณแอสเบสทอสในน้ำ

การวิเคราะห์หาปริมาณแอสเบสทอสในน้ำที่ใช้ยึดถือเป็นหลักปฏิบัติในโครงการศึกษาวิจัยนี้ เป็นวิธีการที่หน่วยงาน Environmental Research Laboratory Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency ได้พัฒนาขึ้นมาตีพิมพ์เป็นเอกสารชื่อ Interim Method for Determining Asbestos in Water โดย Anderson และ Long(30) ซึ่งเหมาะสำหรับนำไปใช้หาปริมาณแอสเบสทอสในน้ำสะอาด น้ำดื่ม หรือน้ำประปา โดยการวิเคราะห์หาดังกล่าวเป็นการหา

1. จำนวนเส้นใยแอสเบสทอสในหน่วย จำนวนเส้นใยต่อน้ำ 1 ลิตร
2. หาขนาดของเส้นใย (ความยาวและความกว้าง)
3. ลักษณะการกระจายของขนาดเส้นใย
4. ปริมาณมวลรวมของเส้นใย
5. ระบุแยกแอสเบสทอสชนิดคริสโซไทล์จากชนิดแอมฟิโบล

สำหรับเรื่องขีดจำกัดของการตรวจวัด (Detection Limit) นั้นจะแปรเปลี่ยนไปตามปริมาณของสารแขวนลอยในน้ำ อย่างไรก็ตาม หากอยู่ในภาวะที่ดีจะสามารถตรวจวัดปริมาณเส้นใยที่น้อยเพียง 0.01 ล้านเส้นใยต่อน้ำหนึ่งลิตร (MFL) ได้ ในส่วนที่เกี่ยวกับขีดจำกัดของการตรวจวัดมวลรวมของเส้นใยแอสเบสทอสนั้น จะแปรเปลี่ยนไปตามขนาดของเส้นใย และการกระจายของขนาดเส้นใย หากอยู่ในภาวะที่ดีสามารถตรวจวัดปริมาณเส้นใยแอสเบสทอสได้น้อยถึง 0.1 นาโนกรัมต่อน้ำหนึ่งลิตร (ng/L) ได้

5.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแอสเบสทอสในน้ำนั้น เป็นของสถาบันวิจัยสภาวะแวดล้อม และศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งเป็นเครื่องมือทันสมัยที่ใช้ในการวิเคราะห์งานวิจัยต่าง ๆ สำหรับงานวิเคราะห์นี้ เครื่องมือที่สำคัญที่ต้องใช้ในการวิเคราะห์ คือ

5.1.1 Transmission Electron Microscope (TEM) เป็นกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนที่ต้องใช้แรงดันไฟฟ้าอย่างต่ำถึง 80 กิโลโวลต์ มีกำลังความสามารถที่จะส่องเห็นของขนาดเล็กถึง 1.0 นาโนเมตร หรือที่มีขนาดเล็กกว่าได้ โดยมีกำลังขยายอยู่ในช่วงตั้งแต่ 300 ถึง 20,000 เท่า และเป็นกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนที่สามารถทำ Electron Diffraction ได้ เพื่อใช้ส่องฟิสูจน์ว่าเป็นเส้นใยแอสเบสทอสหรือไม่ และเป็นชนิดใด

5.1.2 Vacuum Evaporator เป็นเครื่องสำหรับทำคาร์บอนให้เป็นผงฟุ้งไปเคลือบบนแผ่นกรองนิวคลีพอร์ และเคลือบบน grid เพื่อเตรียมไว้ใช้งาน

5.1.3 Jaffe Wick Washer เป็นชุดเครื่องมือทดลองใช้ในการละลายแผ่นกรองนิวคลีพอร์ ซึ่งเตรียมได้โดย (ตามรูป 5.1)

1) นำกระจกสไลด์ของกล้องจุลทรรศน์ (75 มม. × 22 มม.) จำนวน 3 แผ่นวางซ้อนกันใน petri dish (100 มม. × 15 มม.) ตามแนวเส้นผ่าศูนย์กลาง

2) นำกระดาษกรองมาวางบนกระจกสไลด์

3) วาง copper mesh screen support (12 มม. × 12 มม.) จำนวน 3 ชิ้นบนกระดาษกรองให้เหนือตามแนวของกระจกสไลด์ เพื่อใช้สำหรับเป็นที่รองรับ

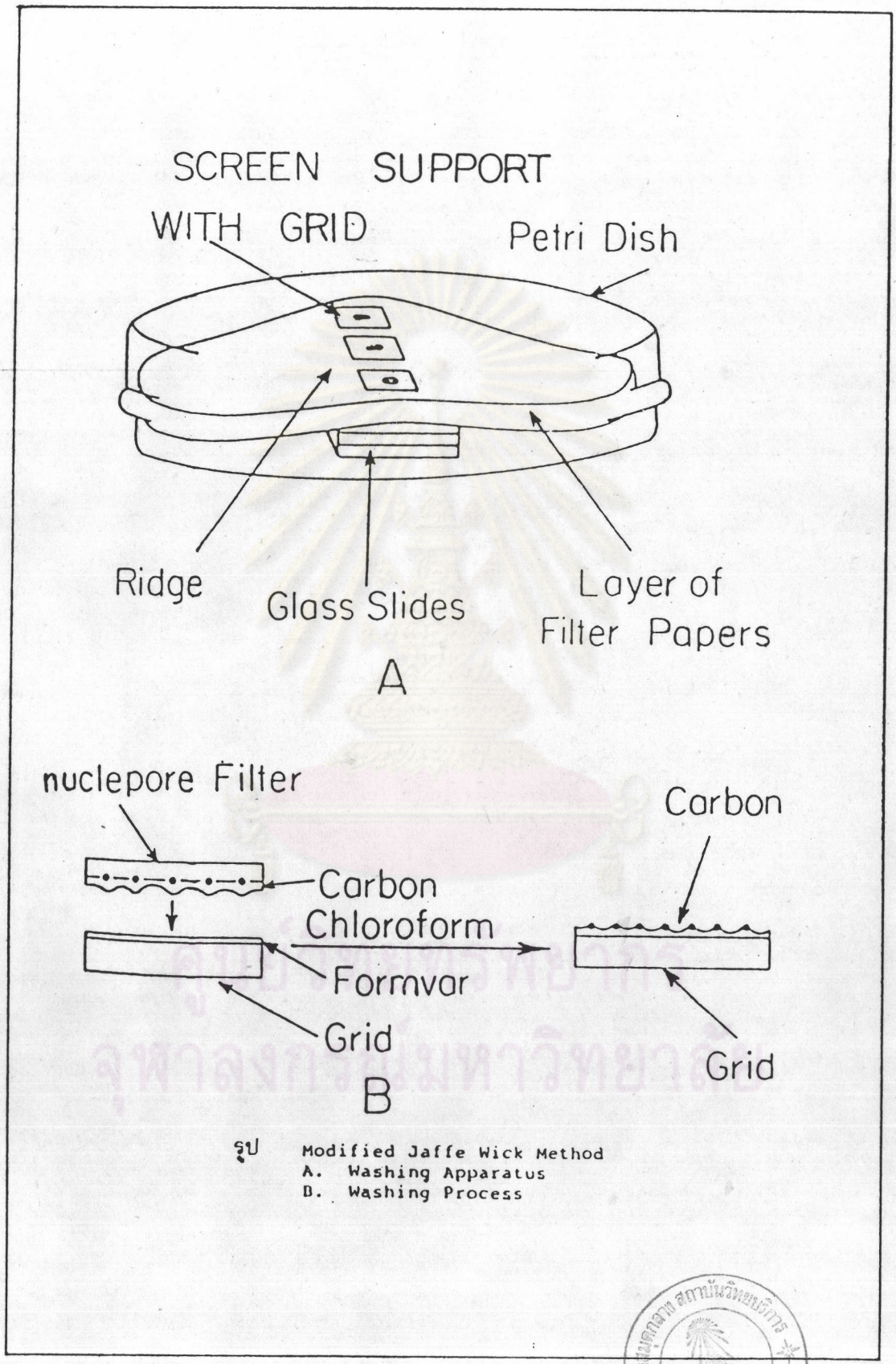
5.1.4 Vacuum Filtration Unit เป็นเครื่องกรองสูญญากาศที่ประกอบขึ้นสำหรับการกรองที่ใช้แผ่นกรองนิวคลีพอร์โดยเฉพาะ ประกอบดังรูป 5.2 คือ

1) นำ glass frit ประกอบเข้ากับส่วนล่างของกรวยกรองที่ต่อเข้ากับเครื่องดูดลมสูญญากาศ (Vacuum pump)

2) นำแผ่นกรองมิลลิพอร์ (Millipore membrane filter) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 47 มม. ขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน มาวางลงบน glass frit เพื่อใช้เป็นแผ่นรองกรอง

3) นำแผ่นกรองนิวคลีพอร์ (Nuclepore membrane filter) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 47 มม. ขนาดรูพรุน 0.1 ไมครอน มาวางทับบนแผ่นกรองมิลลิพอร์ โดยให้หน้ามันของแผ่นกรองนิวคลีพอร์หงายขึ้นมา แผ่นกรองนิวคลีพอร์จะทำหน้าที่เป็นแผ่นกรองตัวอย่างน้ำ

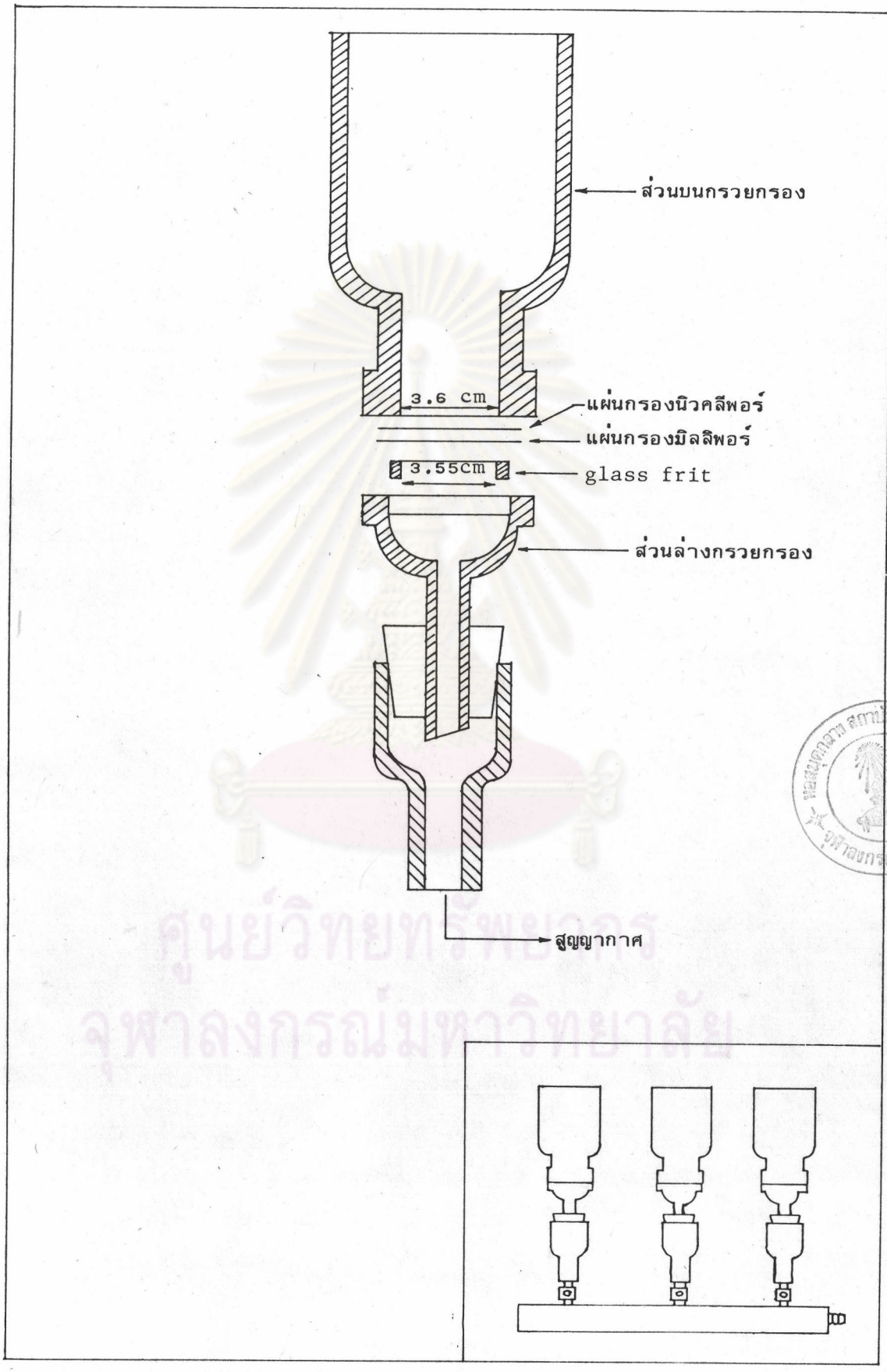
4) เมื่อจัดวางแผ่นกรองซ้อนกันตรงเรียบร้อยแล้ว จึงเปิดเครื่องดูดลมสูญญากาศ



รูป Modified Jaffe Wick Method
A. Washing Apparatus
B. Washing Process

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูป 5.1 Jaffe Wick Washer



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูป 5.2 Vacuum filtration unit

เพื่อดูดแผ่นกรองให้ติดแนบกับ glass frit

5) นำส่วนบนของกรวยกรองมาประกอบยึดติดกับกรวยกรองส่วนล่างในข้อ 4 ให้เรียบร้อย แล้วจึงปิดเครื่องดูดลมสูญญากาศเพื่อรอใช้งานต่อไป

5.2 วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำ

5.2.1 ภาชนะบรรจุน้ำตัวอย่าง ภาชนะที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างจะต้องสะอาด มีจุกเกลียวปิด เป็นขวดแก้วหรือขวดพลาสติกโพลีเอทีลีนขนาดความจุอย่างน้อย 1 ลิตร ก่อนใช้เก็บบรรจุตัวอย่างน้ำควรล้างด้วยน้ำที่จะเก็บเป็นตัวอย่างอย่างน้อยที่สุด 2 ครั้ง

5.2.2 ปริมาณตัวอย่างน้ำ ปริมาณตัวอย่างน้ำที่เก็บควรจะมีปริมาณอย่างน้อย 1 ลิตร ภายในภาชนะบรรจุต้องเหลือที่ว่างเหนือระดับน้ำภายในภาชนะบรรจุเสมอ เพื่อให้สามารถเขย่าตัวอย่างน้ำภายในภาชนะได้ การเก็บตัวอย่างน้ำจากแต่ละตำแหน่งควรจะเก็บ 2 ตัวอย่าง เพื่อนำผลวิเคราะห์มาเปรียบเทียบกัน

5.2.3 วิธีการเก็บรักษาตัวอย่างน้ำ หากตัวอย่างน้ำที่เก็บมาสามารถกรองได้ภายใน 48 ชั่วโมงก็ไม่มีความจำเป็นใด ๆ ที่จะต้องเติมสารจำพวก Preservatives โดยเฉพาะสารจำพวกกรด แต่ถ้าหากไม่สามารถกรองได้ภายใน 48 ชั่วโมง ก็อาจจะต้องเติม Mercuric Chloride ($HgCl_2$) เข้มข้น 2.71% ในปริมาณ 1 มิลลิลิตร ต่อตัวอย่างน้ำ 1 ลิตร ซึ่งทำให้มี Mercuric (Hg) อยู่ 20 ppm. เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย การเก็บตัวอย่างน้ำไว้ในที่มืดและที่อุณหภูมิประมาณ 5°C ก็เป็นการลดหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียหรือสาหร่าย (Algae) ได้ด้วย

5.3 ขั้นตอนการกรองตาม Modified Jaffe Wick Technique

5.3.1 การกรอง นำตัวอย่างน้ำเขย่าอย่างแรงภายในภาชนะบรรจุก่อน แล้วตวงน้ำจำนวน 250 มิลลิลิตร (โดยทั่วไปใช้ปริมาณอยู่ในช่วงตั้งแต่ 50 - 500 มิลลิลิตร) มากรองผ่านเครื่องกรองนิวคลีพอร์ที่เตรียมไว้ในข้อ 5.1.4 การกรองนี้เป็นการแยกวัสดุที่ไม่ละลายน้ำ รวมทั้งเส้นใยแอสเบสทอสออกจากน้ำให้ตกค้างสะสมอยู่บนเยื่อกรองนิวคลีพอร์ซึ่งมีขนาดรูพรุน 0.1 ไมครอน วัตถุประสงค์ในการกรองนี้ไม่เพียงแต่ต้องการแยกเอาวัสดุแขวนลอยออกมาเท่านั้น แต่ยังเป็นการกระจายอนุภาคของวัสดุให้เป็นไปอย่างสม่ำเสมอ เพื่อให้อนุภาควัสดุแต่ละชิ้นปรากฏเด่นชัดและมีโอกาสซ้อนทับกันบนแผ่นกรองได้น้อยที่สุด ดังนั้นจึงรองแผ่นกรองมิลลิพอร์ขนาดรูพรุน

0.45 ไมครอนไว้ใต้แผ่นกรองนิวคลีพอร์ เพื่อให้น้ำที่ไหลอ่านแผ่นกรองสามารถไหลกระจายได้อย่างสม่ำเสมอ

การกรองเริ่มโดยเทตัวอย่างน้ำลงในกรวยกรอง แล้วจึงเปิดเครื่องดูดลมสูญญากาศ โดยความเป็นสูญญากาศต้องมาก เพียงพอที่จะทำให้น้ำถูกดูดผ่านแผ่นกรองได้ แต่ต้องไม่มากเกินไปจนทำให้เกิดน้ำวน (Vortex) หลังจากน้ำไหลผ่านแผ่นกรองช้า ๆ อย่างสม่ำเสมอจนหมดแล้วจึงปิดเครื่องดูดลมสูญญากาศ

5.3.2 หลังจากกรองเสร็จแล้ว ถอดเครื่องกรองเพื่อนำแผ่นกรองนิวคลีพอร์มาทำให้แห้ง โดยนำมาใส่ใน petri dish ปิดฝาครอบไว้หลวม ๆ ทิ้งไว้ให้แห้งเอง แต่ถ้าต้องการให้แห้งเร็วยิ่งขึ้น ให้อบในเตาอบที่ปลอดจากเส้นใยแอสเบสทอสที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 30 นาที

5.3.3 นำแผ่นกรองที่แห้งแล้วจากข้อ 5.3.2 มาตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาดประมาณ 3 มม. × 15 มม. ด้วยกรรไกรขนาดเล็ก หรือด้วย scalpel ทั้งนี้ต้องระวังไม่ดึงให้แผ่นกรองยืดด้วย แล้วเลือกนำแผ่นกรองที่ตัดแล้วบางส่วนมาวางบนแผ่นสไลด์ ใช้เทปติดปลายทั้งสองข้างให้ติดกับแผ่นสไลด์แล้วนำไปบรรจุใน Vacuum evaporator เพื่อเคลือบแผ่นกรองด้วยผงคาร์บอนให้หนาประมาณ 30 - 50 นาโนเมตร ในการเคลือบผงคาร์บอนควรถือแผ่นกรองห่างจากแท่งคาร์บอนประมาณ 7.5 เซนติเมตร และจุดระเบิดแท่งคาร์บอนให้เป็นผงเป็นช่วงระยะเวลาสั้น ๆ หลาย ๆ ครั้ง ไม่ควรทำต่อเนื่องเพียงครั้งเดียว เพราะการจุดระเบิดแท่งคาร์บอนมีความร้อนเกิดขึ้นด้วย และถ้าผิวแผ่นกรองนิวคลีพอร์ได้รับความร้อนมากเกินไป จะทำให้ผิวย่นและละลายในคลอโรฟอร์มได้ยาก

5.3.4 นำแผ่นกรองที่เคลือบผงคาร์บอนแล้วมาตัดให้มีขนาดเล็กลง ให้มีขนาดประมาณ 3 มม. × 3 มม. เพื่อนำไปวางลงบน specimen grid ได้ โดยคว่ำแผ่นกรองด้านที่เคลือบคาร์บอนลง แล้วนำไปวางลงบน support ที่ได้เตรียมไว้แล้วใน Jaffe Wick Washer ตามข้อ 5.1.3

5.3.5 ใช้ไมโครไซริง (Microsyringe) หยดคลอโรฟอร์ม 1 หยด (ประมาณ 10 ไมโครลิตร) ลงบนแผ่นกรองที่อยู่บน specimen grid และหยดคลอโรฟอร์มลงบนกระดาษกรองที่เตรียมไว้ใน Jaffe Wick Washer จนชุ่ม ปิดฝาครอบ petri dish ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง เพื่อให้คลอโรฟอร์มละลายเนื้อแผ่นกรองนิวคลีพอร์ออก (หลังจากแผ่นกรองนิวคลีพอร์ละ

ลายหมดแล้ว ควรจะยังมีคลอโรฟอร์มเหลืออยู่ ยังระเหยไปไม่หมด)

5.3.6 หลังจากแผ่นกรองนิวคลีพอร์ละลายจนหมดแล้ว นำ grid ขึ้นมา และปล่อยให้คลอโรฟอร์มที่อาจติดมากับ grid ระเหยไปจนหมด แล้วนำ gridไปตรวจวัดและวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยแอสเบสทอสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนต่อไป

5.4 <u>การตรวจนับเส้นใยแอสเบสทอสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน</u>

ก่อนการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนต้องปรับเครื่องก่อนเสมอ เพื่อให้ผลการตรวจวัดได้ค่าถูกต้องที่สุด โดยการปรับต้องกระทำตามหนังสือคำแนะนำของผู้ผลิตกล้อง หลังจากปรับกล้องและเตรียมการเสร็จเรียบร้อยแล้ว จึงเริ่มต้นวิเคราะห์ตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

5.4.1 นำ specimen grid จากข้อ 5.3 มาสอดเข้าในกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน ปรับกำลังขยายของกล้องให้อยู่ระหว่าง 300 - 1,000 เท่า เพื่อจะได้เห็นช่องจัตุรัส (Grid square) ทั้งหมดก่อน (ช่องจัตุรัสเป็นช่องสี่เหลี่ยมของตะแกรงบน grid เมื่อขยายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนทำให้รู้ขนาดพื้นที่ที่กำลังดูอยู่ ขนาดพื้นที่ช่องจัตุรัสจะแล้วแต่ชนิด grid ที่ใช้) แล้วตรวจพิจารณาจากช่องจัตุรัสอย่างน้อย 10 ช่อง เพื่อดูปริมาณเส้นใยที่ติดค้างอยู่ ทั้งนี้หากเส้นใยมีปริมาณหนาแน่นเกินไปหรือลักษณะการกระจายไม่สม่ำเสมอ หรือมีการแปดเปื้อนจากอนุภาคฝุ่นผงมากเกินไป หรือฟิล์มคาร์บอนที่เคลือบมีลักษณะแตกเป็นส่วนใหญ่แล้ว จะต้องเตรียม specimen grid ขึ้นมาใหม่

5.4.2 หลังจากนั้นจึงปรับกำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนให้เป็น 20,000 เท่า เพื่อทำการตรวจวัดนับจำนวนเส้นใยแอสเบสทอสโดยละเอียด วิธีการตรวจนับหาปริมาณมีอยู่ 2 วิธี คือ

1) นับเส้นใยให้ครบ 100 เส้นใย โดยเลือกพื้นที่ที่เห็นว่าเป็นตัวแทนของพื้นที่ทั้งหมดขึ้นมาตรวจนับ วิธีการนี้ จะต้องรู้พื้นที่ที่เส้นใย 100 เส้นใยนี้ปรากฏอยู่ เพื่อนำค่านี้ไปใช้ในการคำนวณ

2) กำหนดจำนวนช่องจัตุรัส 20 ช่องหรือมากกว่า เพื่อตรวจนับจำนวนเส้นใยซึ่งปริมาณเส้นใยที่ตรวจนับไม่ควรต่ำกว่า 100 เส้นใย วิธีการนี้ต้องทราบจำนวนช่องจัตุรัสที่ตรวจนับและพื้นที่เฉลี่ยของหนึ่งช่องจัตุรัส เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณ

5.4.3 ตรวจวิเคราะห์ด้วยการทำ Electron Diffraction เพื่อหาว่าเส้นใยนั้นเป็นแอสเบสทอสหรือไม่ และเป็นแอสเบสทอสชนิดใด แอสเบสทอสชนิดคริสโซไทล์ และชนิดแอมฟิโบลมีลักษณะ Diffraction Pattern แน่นอนตามชนิดของมัน เมื่อต้องการทราบว่าเส้นใยนั้นเป็นชนิดไหนก็นำเส้นใยนั้นมาทำ Electron Diffraction เพื่อดูลักษณะ Diffraction Pattern หากมีลักษณะเหมือน Diffraction Pattern ของแอสเบสทอสชนิดไหน แสดงว่าเป็นแอสเบสทอสชนิดนั้น ดังนั้นการทำ Electron Diffraction จึงสามารถแยกเส้นใยได้ว่าเป็นแอสเบสทอสชนิดคริสโซไทล์หรือเป็นชนิดแอมฟิโบล หรือไม่ใช่แอสเบสทอส หรือที่ยังคลุมเครืออยู่

5.5 <u>การคำนวณ</u>

5.5.1 ปริมาณเส้นใยแอสเบสทอส ปริมาณความเข้มข้นของเส้นใยแอสเบสทอสสามารถคำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$C = (\overline{F} \times A_f)/(A \times V \times 1000) \qquad (5.1)$$

โดย C = ความเข้มข้นของเส้นใย (MFL)

$\overline{F}$ = ค่าจำนวนเส้นใยเฉลี่ยในพื้นที่ A

A_f = พื้นที่การกรองที่เกิดขึ้นบนแผ่นกรองนิวคลีพอร์ (mm^2)

A = พื้นที่ตรวจนับเส้นใย $\overline{F}$ (mm^2)

V = ปริมาณตัวอย่างน้ำที่นำมากรอง (ml)

จากสูตรการคำนวณดังกล่าว และใช้ค่าตามหน่วยที่ระบุไว้ ค่าความเข้มข้นของเส้นใยแอสเบสทอสที่คำนวณได้มีหน่วยเป็น ล้านเส้นใยต่อลิตร

5.5.2 การประมาณความเข้มข้นเป็นมวล ถ้าหากปริมาณของแอสเบสทอสส่วนใหญ่เป็นชนิดคริสโซไทล์แล้ว คริสโซไทล์มีลักษณะรูปร่างเป็นเส้นยาวทรงกระบอก จึงมีสูตรการคำนวณดังนี้

$$M = \frac{\pi}{4} \times W^2 \times L \times D \times 10^{-6}$$

โดย M = มวล (μg)

W = ความกว้างของเส้นใย (μm)

L = ความยาวของเส้นใย (μm)

D = ความหนาแน่นของเส้นใย (g/cm^3)

ส่วนเส้นใยแอมฟิโบลจะคำนวณหามวลจากสูตรได้ดังนี้

$$M = W^2 \times L \times D \times 10^{-6}$$

ทั้งนี้เพราะเส้นใยแอมฟิโบลมีพื้นที่หน้าตัดเป็นสี่เหลี่ยม และส่วนใหญ่จะเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้ามากกว่าสี่เหลี่ยมจัตุรัส ด้านที่มองเห็นมักจะเป็นหน้ากว้างมากกว่าหน้าแคบ ดังนั้นการคำนวณหาน้ำหนักเส้นใยแอสเบสทอสชนิดแอมฟิโบลจึงมักมีค่าสูงกว่าที่เป็นจริง โดยที่ความหนาแน่นของแอสเบสทอสชนิดคริสโซไทล์มีค่าประมาณ 2.5 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร และชนิดแอมฟิโบลมีค่าประมาณ 3.25 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร การคำนวณตามสูตรและหน่วยระบุดังกล่าวได้หน่วยมวลของเส้นใยแอสเบสทอสเป็น ไมโครกรัม

จากมวลเส้นใยแอสเบสทอสที่คำนวณได้ เมื่อนำมาคำนวณหาความเข้มข้นในหน่วยไมโครกรัมต่อลิตร ต้องใช้สูตรการคำนวณ ดังนี้

$$M_c = C \times \overline{M}_f \times 10^6$$

โดย M_c = ความเข้มข้นมวล ($\mu g/l$)

C = ความเข้มข้นเส้นใย (MFL)

$\overline{M}_f$ = มวลเฉลี่ยต่อเส้นใย (μg)

สำหรับมวลเฉลี่ยต่อเส้นใย คำนวณได้จาก

$$\overline{M}_f = \sum_{i=1}^{n} \frac{M_i}{n}$$

โดย M_i = มวลของแต่ละเส้นใยที่นับ

n = จำนวนเส้นใยที่นับ