หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

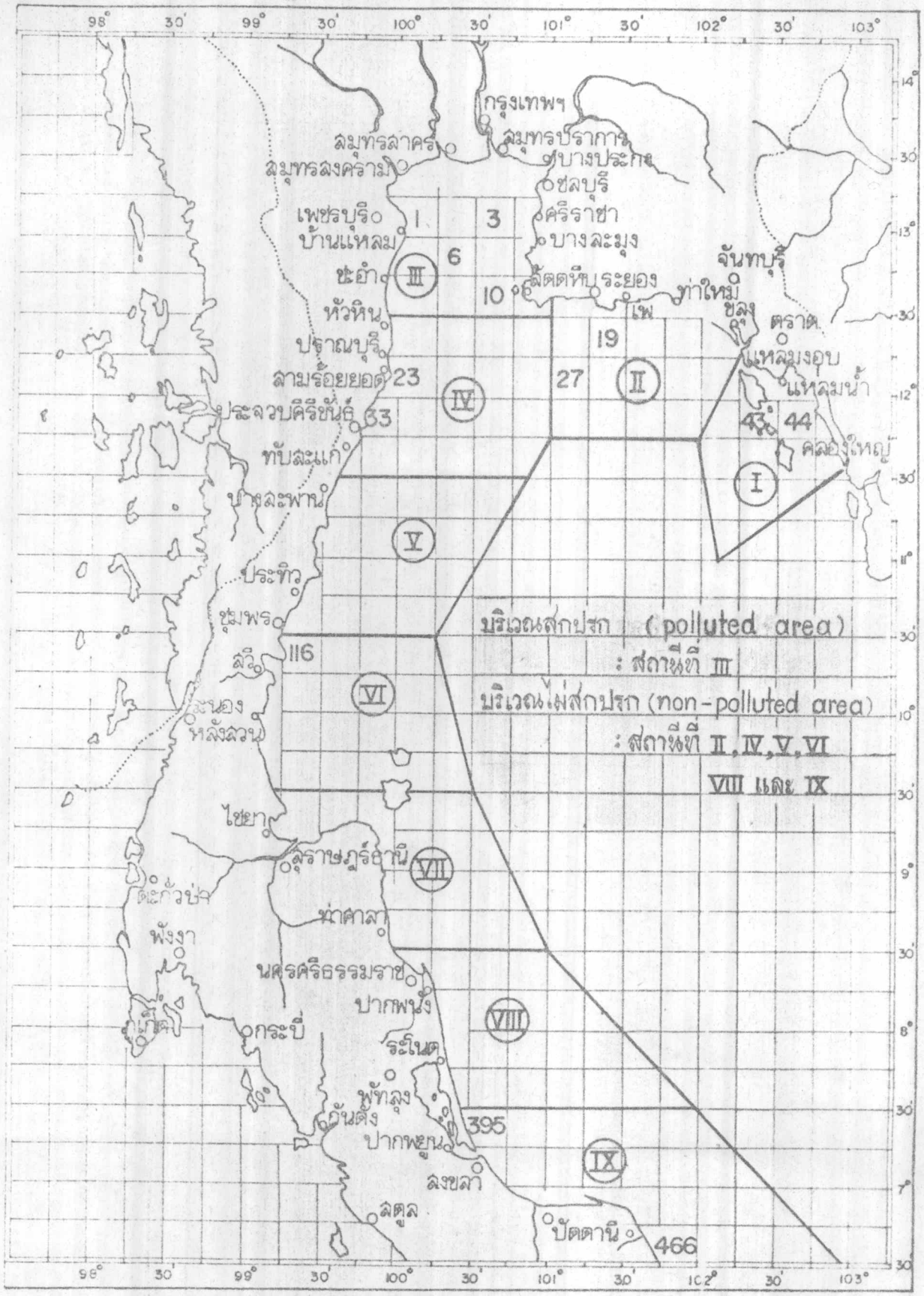
บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 สารตัวอย่าง การเตรียมสารตัวอย่างและสารมาตรฐาน การอาบรังสีนิวตรอน

3.1.1 สารตัวอย่าง ตัวอย่างปลาทะเลสามัญที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้รับความอนุเคราะห์จากกองประมงทะเล กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ โดยเก็บตัวอย่างจากเขตต่าง ๆ ของอ่าวไทย ตามแผนที่ (รูปที่ 1) เขตที่ทำการเก็บตัวอย่างคือ เขต II III IV V VI VIII และ IX ตามลำดับ ปลาตัวอย่างที่เก็บมาวิเคราะห์เป็นปลาหน้าดิน ช่วงเวลาของการเก็บตัวอย่างตั้งแต่เดือน กรกฎาคม 2520 ถึงเดือน เมษายน 2521 โดยจัดให้เดือน มกราคม เมษายน กรกฎาคม และตุลาคม ตรงกับฤดูมรสุมที่ 1 2 3 และ 4 ของปี ตามลำดับ รายชื่อของปลาทะเลที่ทำการวิเคราะห์ และเขตที่เก็บตัวอย่าง แสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 รายชื่อชนิดปลาทะเลสามัญ และเขตที่เก็บตัวอย่างในน่านน้ำไทย ซึ่งใช้ทำการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารหนูและแคดเมียม

ชื่อสามัญ		เขตที่ทำการเก็บตัวอย่าง
ภาษาไทย	ภาษาอังกฤษ	
ปลาตาโต	Bigeye fish	II III IV VI VIII IX
ปลาข้างเหลือง	Scad	III IV VI VIII IX
ปลาทรายแดง	Thread fin bream	II III IV VIII IX
ปลาหมึกกล้วย	Squid	II III IV V VI VIII IX

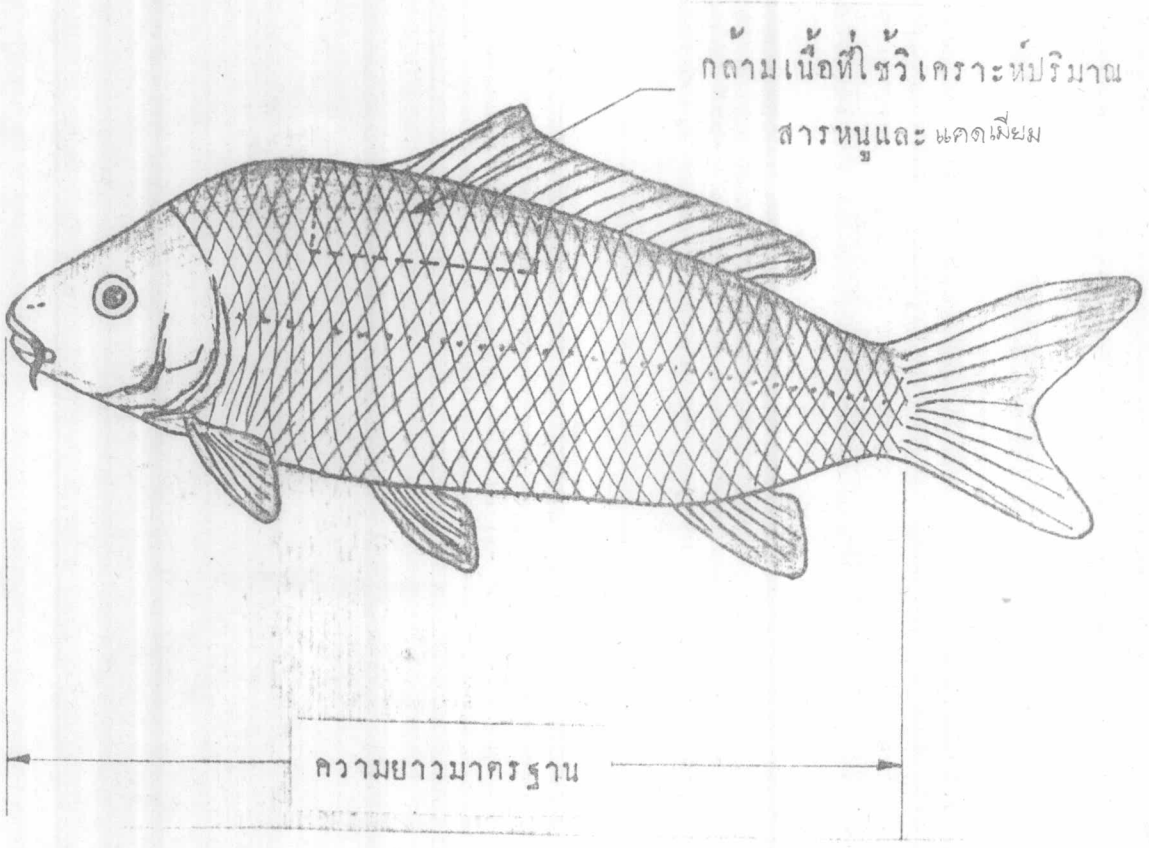


รูปที่ 1 แผนที่แสดงเขตสำรวจปลาทะเลในอ่าวไทย

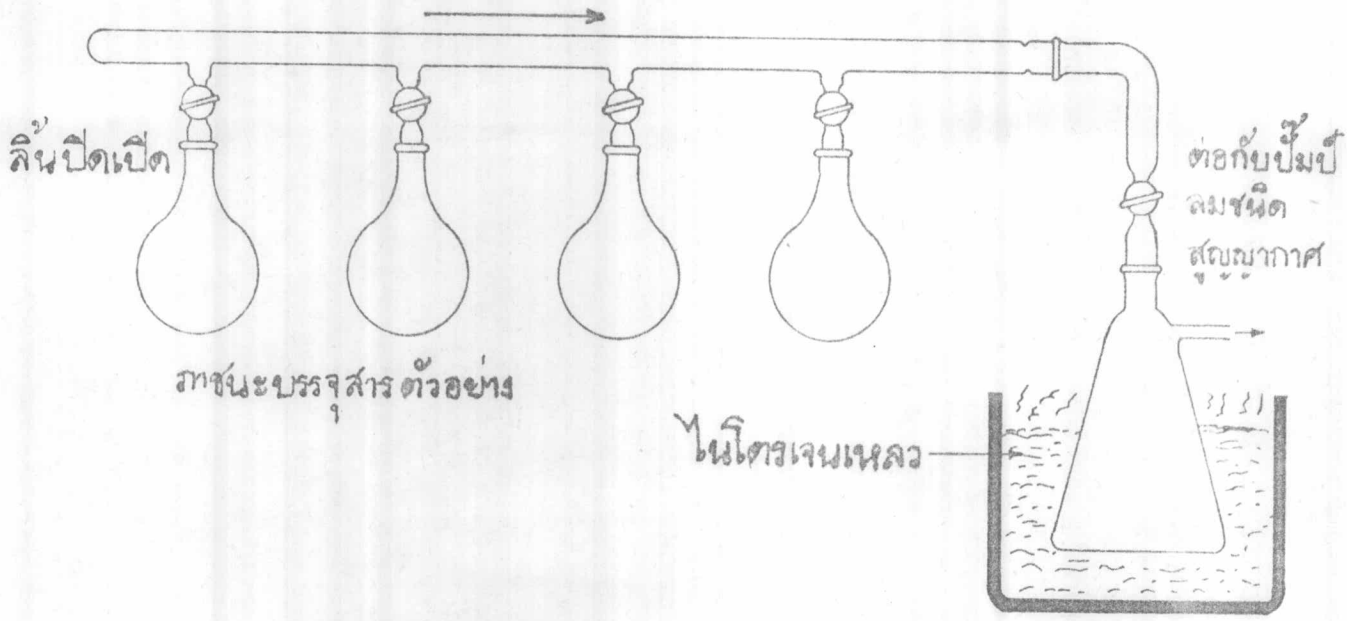
คัดเลือกและแบ่งชนิดของปลาที่มีขนาด และอายุใกล้เคียงกันมากที่สุดเก็บไว้ในตู้แช่เมื่อเรือถึงห้องปฏิบัติการบนฝั่งแล้ว จึงนำปลาออกมาชำแหละเนื้อเยื่อของกล้ามเนื้อส่วนหลัง (รูปที่ 2) เพื่อเป็นตัวแทนของปลาทั้งหมดในส่วนที่รับประทานได้ เตรียมไว้เป็นตัวอย่างที่จะนำมาวิเคราะห์ เก็บเนื้อปลาไว้ในขวดแก้วที่สะอาด นำเข้าตู้แช่อีกครั้งหนึ่ง

เนื่องจากสารหนูและแคดเมียมเป็นธาตุพิษจำนวนน้อยที่มีอยู่ในปลา ดังนั้นเพื่อให้สามารถวิเคราะห์ธาตุจำนวนน้อยนี้ได้ โดยให้มีความเที่ยงตรง และความแน่นอนในการวิเคราะห์สูง จึงจำเป็นต้องเพิ่มความเข้มข้น (enrichment) ของปริมาณธาตุดังกล่าว ด้วยวิธีทำให้สารตัวอย่างแห้งโดยเทคนิคการเยือกแข็ง

วิธีทำให้แห้งโดยการเยือกแข็ง เป็นเทคนิคของการกำจัดน้ำออกจากสารตัวอย่างที่มีธาตุซึ่งระเหยหรือถูกเติมออกซิเจน (oxidise) ได้ง่าย กรรมวิธีกระทำโดยการลดอุณหภูมิของสารตัวอย่างจนต่ำกว่าจุดเยือกแข็งในขณะที่ลดความดันไปพร้อมกัน น้ำในสารตัวอย่างจะระเหิดกลายเป็นไอ วิธีนี้จะไม่ก่อให้เกิดการสูญหายของธาตุที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง วิธีทำให้แห้งโดยการเยือกแข็งที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารหนูและแคดเมียมในตัวอย่างปลาทะเลนี้ ได้กระทำโดยใช้เครื่องมือที่ประกอบขึ้นอย่างง่าย ๆ (รูปที่ 3) เครื่องมือประกอบด้วย หลอดแก้วยาว ปลายด้านหนึ่งเปิด อีกปลายหนึ่งปิด มีทางออกอยู่ 4 ทาง ในแต่ละทางมีลิ้น (valve) สำหรับ ปิด-เปิด บังคับการไหลของอากาศ ปลายข้างที่เปิดสวมไว้ด้วยหลอดแก้วที่งอเป็นมุมฉากโดยที่ปลายอีกด้านหนึ่งมีลิ้นปิด-เปิด เช่นกัน ปลายด้านนี้จะสวมอยู่กับขวดดูด (suction flask) ที่มีช่องดูดอากาศได้ วิธีปฏิบัติกระทำโดยนำขวดแก้วกลมซึ่งบรรจุสารตัวอย่าง และแช่แข็งไว้ก่อนแล้ว มาสวมเข้ากับปลายของหลอดแก้ว แช่ขวดดูดลงในภาชนะบรรจุไนโตรเจนเหลว ดูดอากาศในหลอดแก้วออกโดยใช้ปั๊มพ์ลมสูญญากาศในขณะที่เปิดลิ้นทั้ง 5 ตัว น้ำจากสารตัวอย่างจะระเหิดกลายเป็นไอ มาสะสมในขวดดูด สารตัวอย่างที่แห้งแล้วจะมีลักษณะเป็นรูพรุน พร้อมที่จะดูดไอน้ำจากอากาศกลับคืนได้ง่าย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเก็บสารตัวอย่างที่แห้งแล้วในภาชนะป้องกันความชื้น (desiccator)



รูปที่ 2 รูปแสดงส่วนตัดของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อส่วนหลังของปลาที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณสารหนู และแคดเมียม



รูปที่ 3 เครื่องมือของวิธีทำสารตัวอย่างให้แห้งโดยการเยือกแข็ง

3.1.2 การเตรียมสารตัวอย่าง และสารมาตรฐาน

ชั่งสารตัวอย่างซึ่งทำให้ปราศจากน้ำแล้วให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน โดยมีน้ำหนัก 1 กรัม โดยประมาณ ห่อสารตัวอย่างด้วยแผ่นอลูมิเนียมบาง ๆ (aluminium foil) บันทึกแต่ละห่อว่าเป็นตัวอย่างปลาประเภทใด เตรียมไว้สำหรับการอาบรังสีนิวตรอน

กรณีของสารมาตรฐาน ใช้สารละลายของสารหนูออกไซด์ (As_2O_3) และ แคดเมียมออกไซด์ (CdO) เป็นสารมาตรฐาน สารมาตรฐานของสารหนู เตรียมโดยชั่ง As_2O_3 ที่มีความบริสุทธิ์สูง หนัก 0.01320 กรัม แล้วละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น ปริมาตร 0.5 ลบ.ซม. ให้ความร้อนสักเล็กน้อย จนกระทั่ง As_2O_3 ละลายหมด ปรับปริมาตรของสารละลายเป็น 100 ลบ.ซม. ด้วยน้ำกลั่นขจัดแร (Deminerized water) ดังนั้นสารละลาย 1 ลบ.ซม. จะมีปริมาณของสารหนู 100.000 ไมโครกรัม นำสารละลายที่ได้จำนวน 1 ลบ.ซม. ทำให้มีปริมาตรเป็น 10 ลบ.ซม. จะได้สารละลายของสารหนูออกไซด์ที่มีความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมของสารหนูต่อ ลบ.ซม. สำหรับสารมาตรฐานของแคดเมียม เตรียมได้โดยชั่ง CdO ที่มีความบริสุทธิ์สูง หนัก 0.02856 กรัมแล้วนำมาละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น 0.5 ลบ.ซม. ปรับปริมาตรของสารละลายเป็น 100 ลบ.ซม. ด้วยน้ำกลั่นขจัดแร ดังนั้นสารละลาย 1 ลบ.ซม. จะมีปริมาณของแคดเมียม 250.000 ไมโครกรัม นำสารละลายที่ได้จำนวน 1 ลบ.ซม. ทำให้มีปริมาตรเป็น 10 ลบ.ซม. จะได้สารละลายของแคดเมียมออกไซด์ที่มีความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมของแคดเมียมต่อ ลบ.ซม.

บรรจุสารมาตรฐานแต่ละชนิดปริมาตร 1.5 ลบ.ซม. ลงในหลอดแก้วควอร์ซ (quartz) ที่แห้งและสะอาด ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางภายในของหลอดแก้ว 0.7 ซม. โดยบรรจุแยกกันคนละหลอด เชื่อมปลายอีกด้านหนึ่งของหลอดแก้วควอร์ซให้สนิท ห่อหลอดแก้วควอร์ซที่บรรจุสารมาตรฐานด้วยแผ่นอลูมิเนียม บันทึกแต่ละหลอดว่าเป็นสารมาตรฐานชนิดใด เตรียมไว้สำหรับการอาบรังสีนิวตรอน

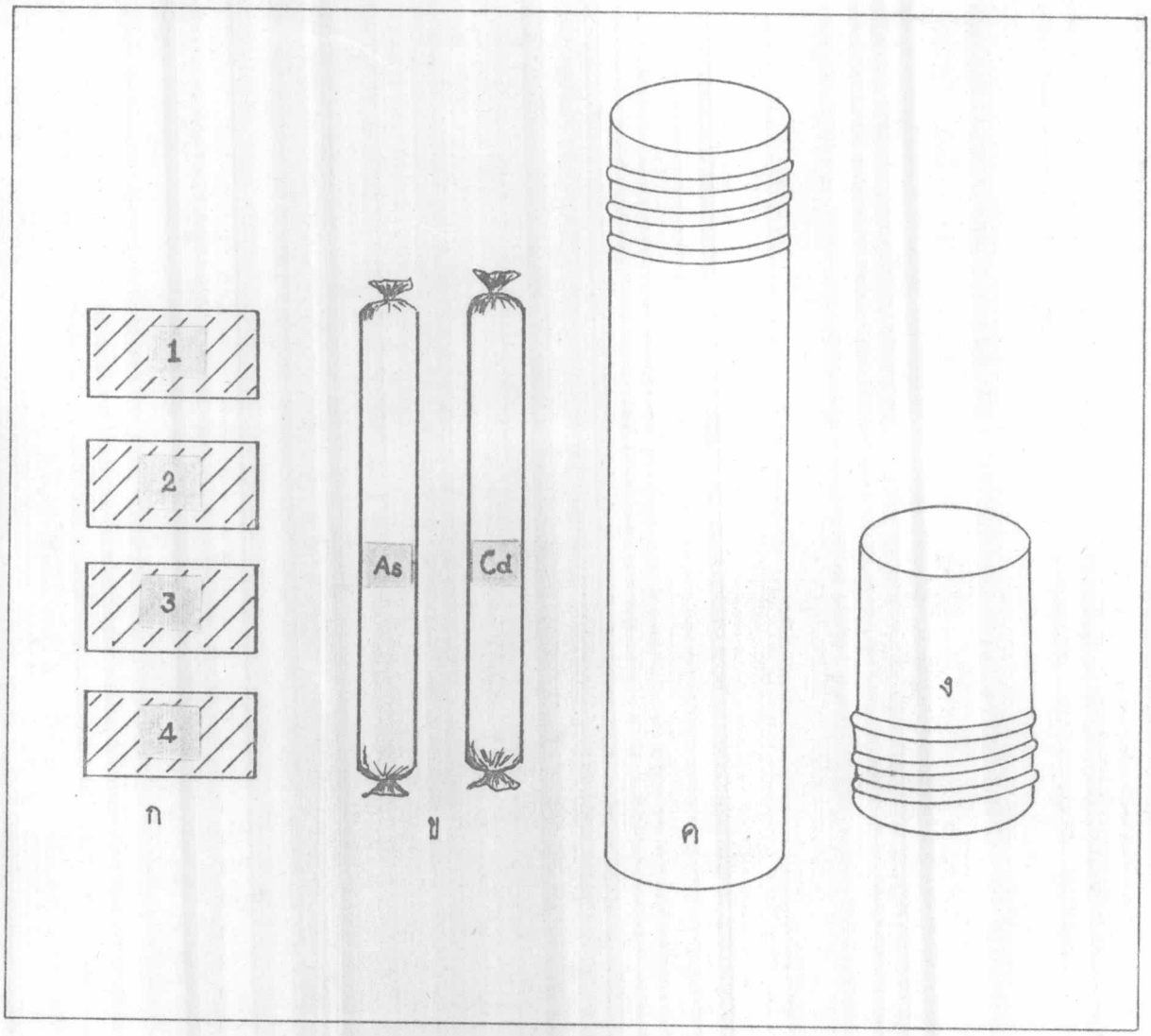
3.1.3 การอาบรังสีนิวตรอน

บรรจุสารตัวอย่าง จำนวน 4 ห่อ สารมาตรฐานของสารหนูและแคดเมียมที่เตรียมไว้อย่างละ 1 หลอด ลงในภาชนะอลูมิเนียมรูปทรงกระบอก (aluminium container) สำหรับนำตัวอย่างเข้าอาบรังสีนิวตรอน (รูปที่ 4) ปิดฝาเกลียวให้แน่นนำภาชนะอลูมิเนียมที่บรรจุสารตัวอย่างและสารมาตรฐานดังกล่าวเข้าอาบรังสีนิวตรอนในอุปกรณ์อาบรังสีแบบแกนหมุนรอบแกนเชื้อเพลิง (rotary specimen rack หรือ Lazy Susan) ของเครื่องปฏิกรณ์ปรมาณูวิจัย-1/ปรับปรุงครั้งที่ 1 (ปปว-1/1) ชนิดทริกา (TRIGA MARK III) ของสำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ ในตำแหน่งที่มีความเข้มของนิวตรอน 3 x 10^{12} นิวตรอนต่อ ตร.ซม. ต่อวินาที เป็นเวลานาน 5 วัน (ประมาณ 25 ชั่วโมง) หลังจากการอาบรังสีนิวตรอนแล้วปล่อยทิ้งไว้เพื่อลดปริมาณรังสีของเรดิโอไอโซโทปที่มีครึ่งชีวิตสั้นประมาณ 1-2 วัน ก่อนนำไปผ่านขบวนการแยกหมู่ธาตุทางเคมี

อนึ่ง ในการอาบรังสีนิวตรอนเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารหนูและแคดเมียมในตัวอย่างปลาทะเลนี้ ได้ใช้แผ่นทองแดงเป็นตัวเปรียบเทียบ (comparator) ความเข้มของนิวตรอนในแต่ละท่อที่นำสารเข้าอาบรังสีด้วย

3.2 คุณสมบัติทางนิวเคลียร์ของสารหนูและแคดเมียม

ในการอาบรังสีนิวตรอนของสารหนูและแคดเมียม เพื่อให้เกิดปฏิกริยานิวเคลียร์ ชนิด นิวตรอน-แกมมานั้น เรดิโอไอโซโทปของสารหนูที่เกิดขึ้น คือ สารหนู-76 เรดิโอไอโซโทปของแคดเมียมที่เกิดขึ้นมีหลายตัว แต่ชนิดที่เกิดขึ้นได้มากและเหมาะสมที่สุดคือแคดเมียม-115 ซึ่งจะสลายตัวให้อินเดียม-115m ตลอดเวลา (ตารางที่ 3) จากการศึกษาของลำพอง (103) พบว่าสภาวะสมดุลย์ (equilibrium) ของอัตราการสลายตัวของแคดเมียม-115 และอัตราการเกิดของอินเดียม-115 m จะมีขึ้นภายหลัง 14 ชั่วโมง ของการสลายตัวของแคดเมียม-115 ดังนั้นในการวิเคราะห์ปริมาณสารหนูและแคดเมียมนี้จึงคำนวณปริมาณจากความแรงรังสีของ



รูปที่ 4 สารตัวอย่าง สารมาตรฐาน และภาชนะอลูมิเนียมรูปทรงกระบอก ก่อนเข้าอาบรังสีนิวตรอน

ก. สารตัวอย่าง จำนวน 4 ห่อ

ข. สารมาตรฐานของสารหนูและแคดเมียมอย่างละ 1 หลอด

ค. ภาชนะอลูมิเนียมรูปทรงกระบอกสำหรับนำตัวอย่างเข้าอาบรังสีนิวตรอน

ง. ฝาเกลียวอลูมิเนียมสำหรับปิดภาชนะในข้อ ค.

สารหนู-76 ซึ่งมีครึ่งชีวิต 26.4 ชั่วโมง พลังงานของแกมมา 0.559 MeV (43 %) และอินเดียม-115 m ครึ่งชีวิต 4.5 ชั่วโมง พลังงานของแกมมา 0.335 MeV (50 %) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามในการวิเคราะห์ปริมาณธาตุโดยการอาบรังสีนิวตรอนของสารตัวอย่างทางชีววิทยาทั่ว ๆ ไป จะพบการรบกวนของเรดิโอไอโซโทปของธาตุต่าง ๆ ที่มีพลังงานแกมมาใกล้เคียงกันเสมอ (ตารางที่ 3) ดังนั้นจึงต้องกำจัดการรบกวนของเรดิโอไอโซโทปของธาตุอื่นนอกเหนือจากธาตุที่จะวิเคราะห์ออกไปเสียก่อน สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารหนูและแคดเมียมนี้ จะต้องกำจัดโบรมีน-82 ซึ่งเป็นเรดิโอไอโซโทปที่รบกวน อันอาจทำให้การวิเคราะห์ปริมาณสารหนูผิดพลาดได้ ทั้งนี้เนื่องจากพลังงานแกมมาอันหนึ่งของโบรมีน-82 มีค่า 0.554 MeV (66 %) ซึ่งใกล้เคียงกับพลังงานแกมมาของสารหนู-76 ที่ใช้ในการวิเคราะห์ นอกจากนี้ยังต้องขจัดการรบกวนจากโซเดียม-24 ซึ่งเป็นเรดิโอไอโซโทปที่มีปริมาณค่อนข้างสูง ก่อนที่จะวิเคราะห์ปริมาณสารหนูและแคดเมียมด้วย

ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางนิวเคลียร์ของเรดิโอไอโซโทปของโซเดียม ทองแดง สารหนู โบรมีน แคดเมียม และอินเดียม

ไอโซโทป	ปริมาณที่มีในธรรมชาติ (%)	ความสามารถในการจับนิวตรอน (บาร์น)	เรดิโอไอโซโทปที่เกิด	ครึ่งชีวิต	พลังงานแกมมาที่ปลดปล่อย (MeV)
Na-23	100	0.53	Na-24	15 ชั่วโมง	1.369 (100%)
					2.754 (100%)
Cu-63	69.1	4.5	Cu-64	12.8 ชั่วโมง	0.511 (38%)
As-75	100	4.5	As-76	26.4 ชั่วโมง	0.559 (43%)
					0.657 (6%)
					1.22 (5%, doublet)
					1.44 (0.7%, doublet)
					1.789 (0.3%)
					2.10 (0.9%, doublet)
Br-79	50.52	8.5	Br-80	18 นาที	0.511 (5%)
					0.618 (7%)
					0.666 (1%)
Br-81	49.48	3.0	Br-82	36 ชั่วโมง	0.554 (66%)
					0.619 (41%)
					0.698 (27%)
					0.777 (83%)
					0.828 (25%)
					1.044 (29%)
					1.317 (26%)
					1.475 (17%)

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ไอโซโทป	ปริมาณที่มีในธรรมชาติ (%)	ความสามารถในการจับนิวตรอน (บาร์น)	เรดิโอไอโซโทปที่เกิด	ครึ่งชีวิต	พลังงานแกมมาที่ปลดปล่อย (MeV)
Cd-106	1.22	1	Cd-107	6.49 ชั่วโมง	0.511 (0.56%)
					0.796 (0.08%)
					0.829 (0.21%)
Cd-108	0.88	3	Cd-109	453 วัน	0.088(with Ag^{109m})
Cd-110	12.39	0.1	Cd-111m	48.6 นาที	0.150 (30%)
					0.247 (94%)
Cd-112	24.07	0.03	Cd-113m	14 ปี	0.265 (0.1%)
Cd-114	28.86	1.1	Cd-115	53.5 ชั่วโมง	0.230 (0.6%)
					0.262 (2%)
					0.49 (10%)
					0.53 (26%)
Cd-116	7.58	1.4	Cd-117	2.4 ชั่วโมง	0.089 (7%)
					0.273 (31%)
					0.314(16%, with In^{117m})
					0.345 (18%)
					0.434 (13%)
					0.832 (4%)
					0.880 (3%)
					0.95(4%, doublet)

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ไอโซโทป	ปริมาณที่มีในธรรมชาติ (%)	ความสามารถในการจับนิวตรอน (บาร์น)	เรดิโอไอโซโทปที่เกิด	ครึ่งชีวิต	พลังงานแกมมาที่ปลดปล่อย (MeV)
			Cd-117m	3.4 ชั่วโมง	1.052 (5%) 1.303 (19%) 1.577 (17%) 0.273 (18%) 0.314(8%, with In^{117m}) 0.345 (4%) 0.434 (4%) 0.565 (6%) 0.715 (4%) 0.880 (10%) 1.065 (9%) 1.117 (4%) 1.24(11%, complex) 1.338 (8%) 1.408 (8%) 1.433 (10%) 1.562 (6%) 1.998 (15%) 2.319 (3%)
In-115m	daughter product ของ Cd-115	-	-	4.5 ชั่วโมง	0.335 (50%)

3.3 วิธีดำเนินการวิเคราะห์

3.3.1 การแยกสารหนูและแคดเมียมโดยกรรมวิธีทางเคมี

สารตัวอย่างที่ผ่านการอาบรังสี และทิ้งไว้ให้เรดิโอไอโซโทปที่มีครึ่งชีวิตสั้นสลายตัวพอสมควรแล้ว นำมาผ่านขบวนการทำละลาย (digestion) และขบวนการเติมออกซิเจนอย่างสมบูรณ์ (complete oxidation) เพื่อเปลี่ยนสภาพสารหนูในสารตัวอย่างให้อยู่ในรูปของอาร์ซีเนทไอออน ($AsO_4^{\equiv}$) แคดเมียมอยู่ในรูปของไอออนเชิงซ้อน (complex ion) ระหว่างแคดเมียม สารหนู และออกซิเจน ($CdAsO_4^-$) แยกสารหนูและแคดเมียมที่มีอยู่ในสารตัวอย่างโดยใช้เทคนิคของการแลกเปลี่ยนไอออนลบ กรรมวิธีทางเคมีนี้ได้ดัดแปลงจากวิธีของ Morrison และ Potter (66) ซึ่งมีรายละเอียดและขั้นตอนดังต่อไปนี้คือ

3.3.1.1 อุปกรณ์และเคมีภัณฑ์

3.3.1.1.1 เครื่องมือทำละลายและเติมออกซิเจนสารตัวอย่าง (รูปที่ 5) ประกอบด้วย

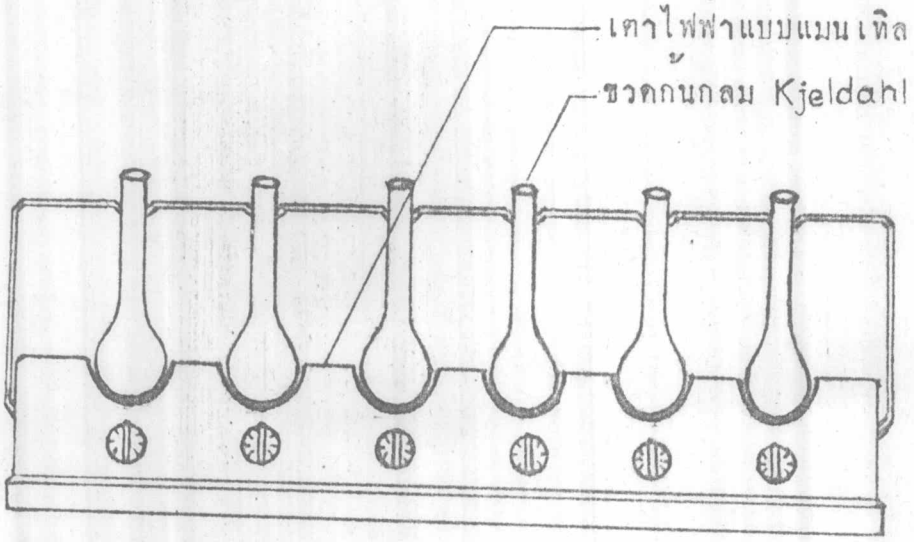
ก. เตาไฟฟ้าแบบแมนเทิล (heating mantle) 1 ชุด ซึ่งประกอบด้วยเตาไฟฟ้าแมนเทิลชนิดหลุม 6 ตัว เรียงเป็นลำดับบนชั้นวางอลูมิเนียม โดยแต่ละเตามีปุ่มปรับความร้อนแบบอัตโนมัติ

ข. ขวดก้นกลม Kjeldahl (Kjeldahl flask) ขนาด 100 ลบ.ซม.

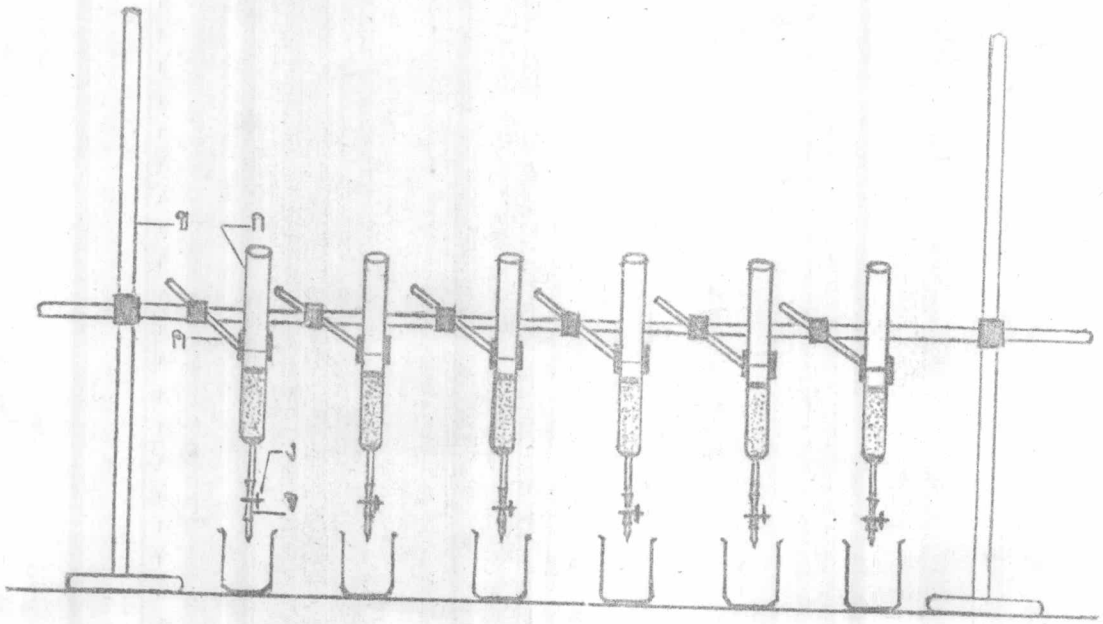
3.3.1.1.2 อุปกรณ์ในขบวนการแลกเปลี่ยนไอออน (รูปที่ 6) และอุปกรณ์ในการแยกจับโซเดียม-24 (รูปที่ 7) ประกอบด้วย

ก. คอลัมน์แก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 1.5 ซม. ยาว 20 ซม.

ข. ขาตั้ง (Stand)



รูปที่ 5 เครื่องมือทำละลายและเติมออกซิเจน–สารตัวอย่าง



รูปที่ 6 อุปกรณ์ในขบวนการแลกเปลี่ยนไอออนลบ

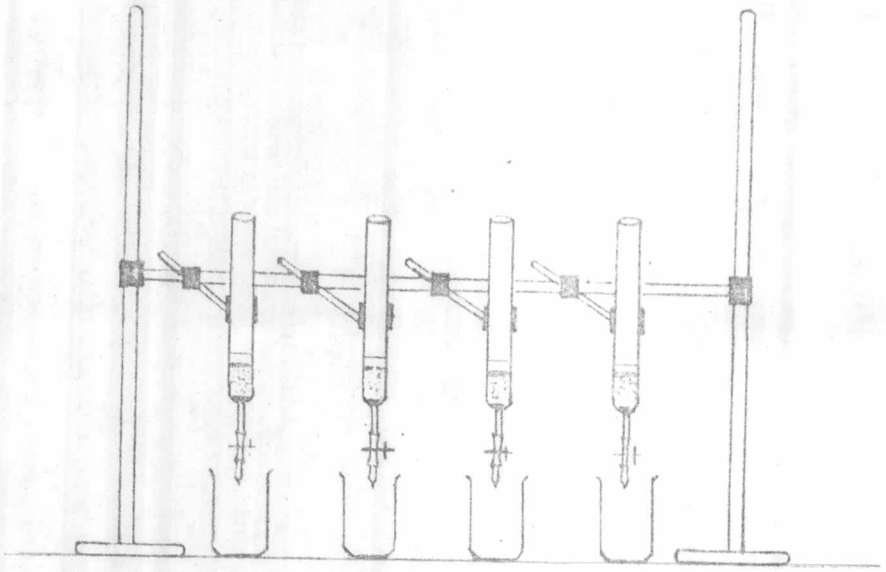
ก. คอลัมน์แก้วเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 1.5 ซม. ยาว 20 ซม.

ข. ขาตั้ง

ค. อุปกรณ์สำหรับยึดคอลัมน์

ง. อุปกรณ์สำหรับปรับอัตราการไหลของสารละลาย

จ. สายยางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.3 ซม. ยาว 5 ซม. ต่อกับปลายหลอดแก้วเพื่อให้สารละลายไหลเป็นหยดได้



รูปที่ 7 อุปกรณ์ในการแยกจับ โซเดียม-24

ค. อุปกรณ์สำหรับยึดคอลัมน์ (clamp)

ง. อุปกรณ์สำหรับปรับอัตราการไหลของสารละลาย (adjustable clip)

จ. สายยางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.3 ซม. ยาว 5 ซม. ต่อกับปลายหลอดแก้ว (tip) เพื่อให้สารละลายไหลเป็นหยดได้

3.3.1.1.3 เคมีภัณฑ์

ก. กรดซัลฟูริคเข้มข้นร้อยละ 8 ในกรดไนตริกเข้มข้น

ข. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้นร้อยละ 36

ค. กรดไฮโดรคลอริค (กรดเกลือ) เข้มข้น 8 นอร์แมล (8 N HCl)

ง. ไฮเดรทเทท แอนติโมนี เพนตอกไซด์ (hydrated antimony pentoxide : HAP) ขนาด 32-150 เมช

จ. เรซินสำหรับแลกเปลี่ยนไอออนลบ (anion exchange resin) ชนิด Dowex 1 X 8 Chloride form ขนาด 100-200 เมช

ฉ. ตัวพาของสารหนูและแคดเมียมที่มีความเข้มข้นของสาร-หนูและแคดเมียมอย่างละ 1 มิลลิกรัมต่อ ลบ.ซม. ตามลำดับ

3.3.1.2 วิธีปฏิบัติ

นำตัวอย่างปลาที่อาบรังสีนิวตรอน และทิ้งไว้ให้เรดิโอไอโซโทปที่มีครึ่งชีวิตสั้นสลายตัวไปบ้างแล้ว ใส่ลงในขวดก้นกลม Kjeldahl ขนาด 100 ลบ.ซม. ซึ่งบรรจุตัวพาของสารหนูและแคดเมียม อย่างละ 1 ลบ.ซม. ไว้แล้ว ละลายตัว-อย่างปลาด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 8 ในกรดไนตริกเข้มข้น จำนวน 10 ลบ.ซม. ควบคุมการให้ความร้อนในการทำละลายด้วยเตาไฟฟ้าแบบแมนเทิล โดยปรับปุ่มความร้อนให้ได้อุณหภูมิ 119 ± 1 ° ซ เมื่อสารตัวอย่างละลายหมด ต้มไล่ไอของโบรมีน-82

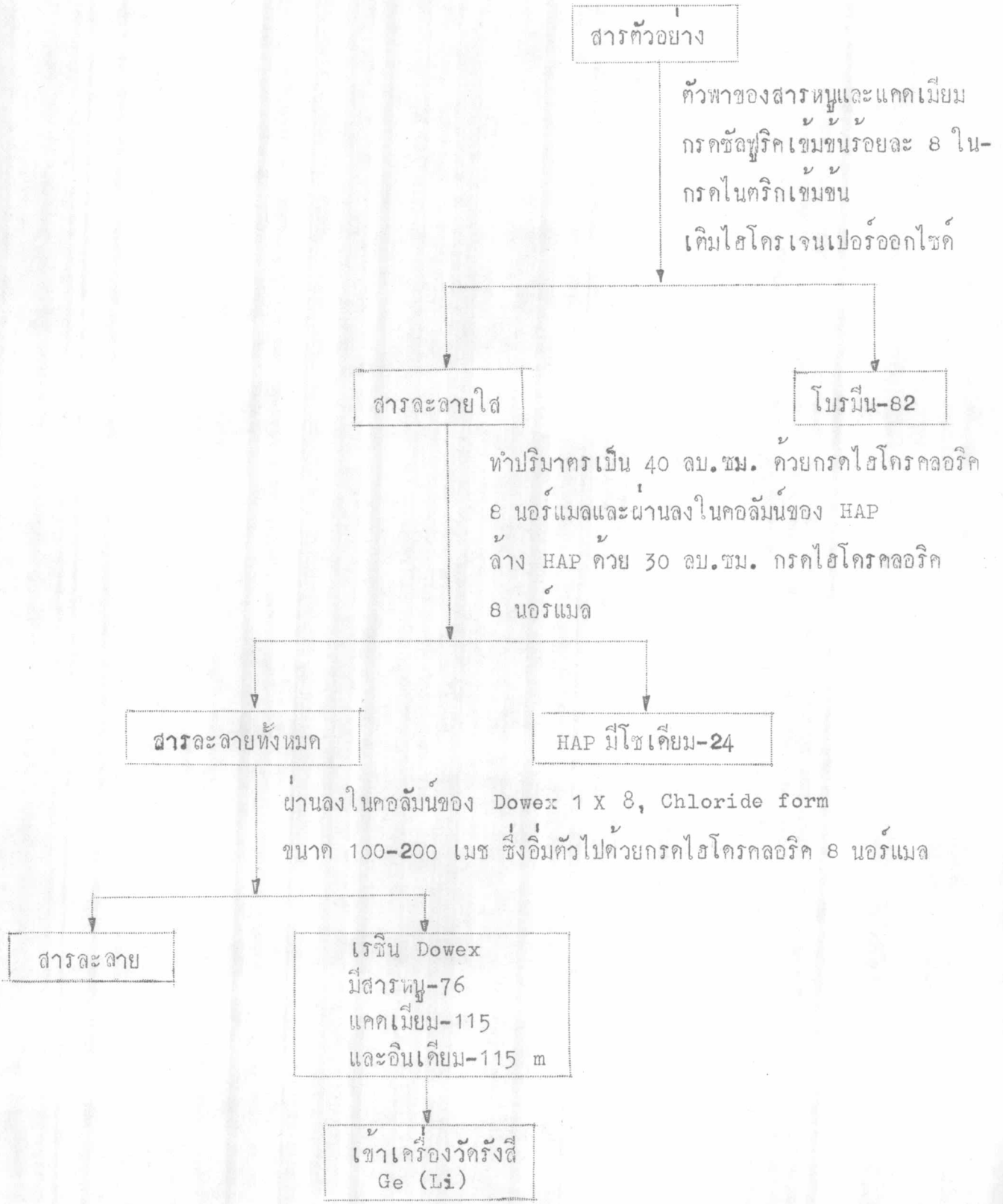
ซึ่งเป็นตัวรบกวนในการวิเคราะห์ปริมาณสารหนูออกให้หมดด้วยไฮโดรเจนเปอร์-ออกไซด์เข้มข้นร้อยละ 36 สังเกตการออกมาของไอโบรมีนได้จากการฟู่ของกาซสีน้ำตาลที่ออกมาพร้อมกับกาซสีน้ำตาลแดงของไนโตรเจนไดออกไซด์ (NO_2) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ใช้ทั้งหมดประมาณ 3 ลบ.ซม. ต้มสารละลายต่อจนกระทั่งเกิดสีดำของคาร์บอน ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟูริคเข้มข้นร้อยละ 8 ในกรดไนตริกเข้มข้นลงไป ให้ความร้อนต่อไปจนไม่มีคาร์บอนปรากฏ อาจจะต้องเพิ่มปริมาณกรดอีกถ้ายังคงมีคาร์บอนเหลืออยู่ ทั้งนี้เพื่อให้เกิดการทำละลายและการเติมออกซิเจนอย่างสมบูรณ์ ปริมาณกรดที่ใช้ในขั้นตอนหลังนี้ประมาณ 2-3 ลบ.ซม. ระเหยสารละลายจนเกือบแห้ง พร้อมทั้งเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้นร้อยละ 36 ลงไปด้วย ทั้งนี้เพื่อเป็นการไล่ไนโตรเจนไดออกไซด์ออกให้หมด ปริมาณของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ใช้ในครั้งนี้ประมาณ 0.5 ลบ.ซม. ให้ความร้อนต่อ จนได้สารละลายใสปริมาณน้อย ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

ปรับสารละลายที่ได้ให้มีปริมาตร 40 ลบ.ซม. ในบีกเกอร์ (beaker) ด้วยกรดไฮโดรคลอริค 8 นอร์แมล นำสารละลายดังกล่าวผ่านลงในคอลัมน์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 1.5 ซม. ซึ่งบรรจุ HAP สูงประมาณ 2-2.5 ซม. เพื่อขจัดเอาโซเดียม-24 ซึ่งเป็นตัวรบกวนในการวิเคราะห์และมีปริมาณค่อนข้างสูงออก ปรับอัตราการไหลของสารละลายที่ผ่าน HAP เป็น 1 ลบ.ซม. ต่อนาที ล้างคอลัมน์ HAP ด้วยกรดไฮโดรคลอริค 8 นอร์แมล จำนวน 30 ลบ.ซม. นำสารละลายที่ได้ทั้งหมดไปผ่านลงในคอลัมน์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 1.5 ซม. ซึ่งบรรจุเรซินที่ใช้ในการแลกเปลี่ยนไอออนลบ ชนิด Dowex 1 X 8 Chloride form ขนาด 100-200 เมช สูง 6 ซม. เรซินนี้จะต้องผ่านขั้นตอนการทำให้อิ่มตัวด้วยกรดไฮโดรคลอริค 8 นอร์แมลอยู่ก่อนแล้ว อัตราการไหลของสารละลายที่ผ่านเรซินจะเป็น 1 ลบ.ซม. ต่อนาที สารหนูและแคดเมียมจะเกิดการแลกเปลี่ยนไอออนลบกับเรซิน และจะถูกจับอยู่ที่เรซิน นำเรซินออกจากคอลัมน์แล้วบรรจุลงในขวดพลาสติคที่ใช้เป็นภาชนะบรรจุสารนำเข้าวัดรังสี ปรับปริมาตรในแต่ละขวดให้เท่ากัน นำไปวัดปริมาณรังสีแกมมาของสารหนู-76 (0.559 MeV) และอินเดียม-115 m (0.335 MeV)

ล้างภายนอกของหลอดแก้วควอร์ซที่บรรจุสารละลายมาตรฐานให้สะอาดด้วยกรดไนตริกเจือจาง เพื่อขจัดสิ่งเปรอะเปื้อนออก ตัดปากหลอดแก้วให้ขาดแล้วดูดสารละลายมาตรฐานของสารหนูและแคดเมียมจากหลอดแก้วควอร์ซ ทำให้เจือจางจนมีความเข้มข้นของสารหนูและแคดเมียม 0.10 และ 0.25 ไมโครกรัมต่อ ลบ.ซม. ตามลำดับ นำสารมาตรฐานอย่างละ 2 ลบ.ซม. มาผ่านกรรมวิธีการทำละลาย การเติมออกซิเจนอย่างสมบูรณ์ และการแลกเปลี่ยนไอออนลบเช่นเดียวกับสารตัวอย่าง กรณีของสารมาตรฐานไม่ต้องนำมาผ่านคอลัมน์ HAP เนื่องจากไม่มีโซเดียม-24 และในการทำละลายสารมาตรฐานจะใส่ตัวอย่างข้าวที่ไม่ได้อาบรังสีลงไปประมาณ 1 กรัม เพื่อให้มีเนื้อสารเช่นเดียวกับในตัวอย่างปลาที่ทำการวิเคราะห์ด้วย

สำหรับขั้นตอนของวิธีทางเคมีเพื่อแยกสารหนูและแคดเมียมในสารตัวอย่างสามารถเขียนเป็นแผนผังได้ดังแสดงไว้ในรูปที่ 8

รูปที่ 8 แผนผังของขั้นตอนทางเคมีเพื่อแยกสารหนูและแคดเมียมจากสารตัวอย่าง



3.3.2 การนับปริมาณรังสี

3.3.2.1 เครื่องมือนับปริมาณรังสี

เครื่องมือที่ใช้ตรวจสอบขนาดพลังงาน และนับปริมาณรังสีแกมมาของสาร-หนู-76 และอินเดียม-115m ประกอบด้วยหัววัดรังสีแบบกึ่งตัวนำชนิด Ge (Li) ขนาด 26 ลบ.ซม. (รูปที่ 9) ซึ่งมีความสามารถในการแยกขนาดพลังงานของรังสีสูง ต่อกับเครื่องมือนับรังสีแบบหลายช่อง (multichannel analyzer) ชนิด 1024 ช่อง (รูปที่ 10)

3.3.2.2 การคำนวณค่าความแรงรังสี

การคำนวณความแรงของรังสีแกมมา นิยมใช้การคำนวณพื้นที่ภายใต้ peak จากสเปคตรัมของรังสีแกมมาที่ปรากฏ โดยคิดคำนวณพื้นที่ฐาน (base area) แล้วหักออกจากพื้นที่ทั้งหมดของ peak ตามวิธีของ Covell (104) (รูปที่ 11, 12)

ให้ a_0 = ความแรงรังสีสูงสุดของ peak

$a_1, a_2, \ldots\ldots\ldots, a_n$ = ความแรงรังสีใน peak ทางด้านซ้ายของ a_0

$b_1, b_2, \ldots\ldots\ldots, b_n$ = ความแรงรังสีใน peak ทางด้านขวาของ a_0

ให้ P = ความแรงรังสีทั้งหมด

Q = ความแรงรังสีของพื้นที่ฐาน

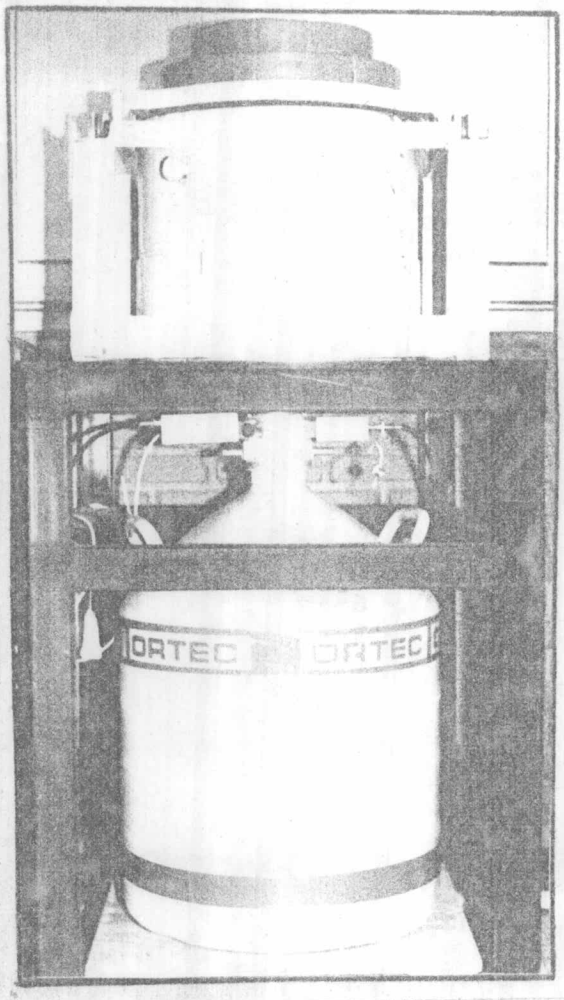
N = ความแรงรังสีภายใต้ peak

จะได้ $N = P - Q$

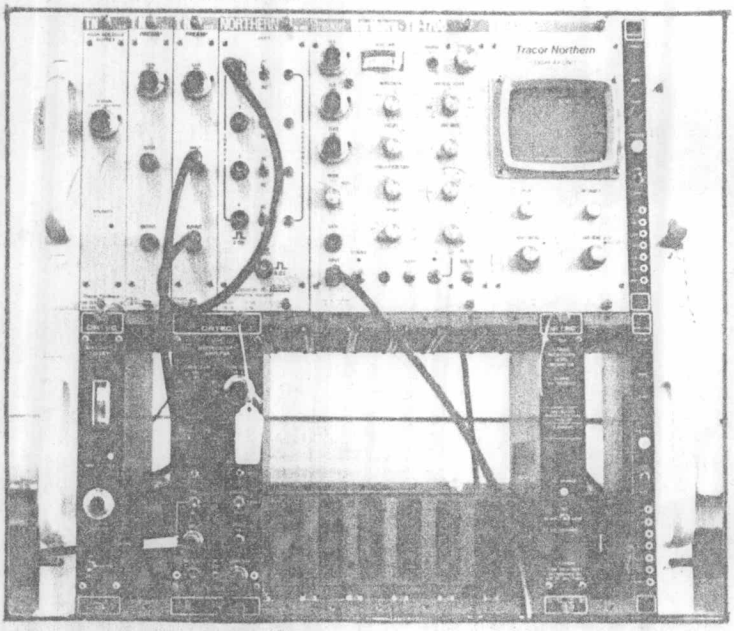
แต่ $P = a_0 + \sum_{i=1}^{n} a_i + \sum_{i=1}^{n} b_i$

และ $Q = \frac{(2n-1)(a_n + b_n)}{2} + (a_n + b_n)$

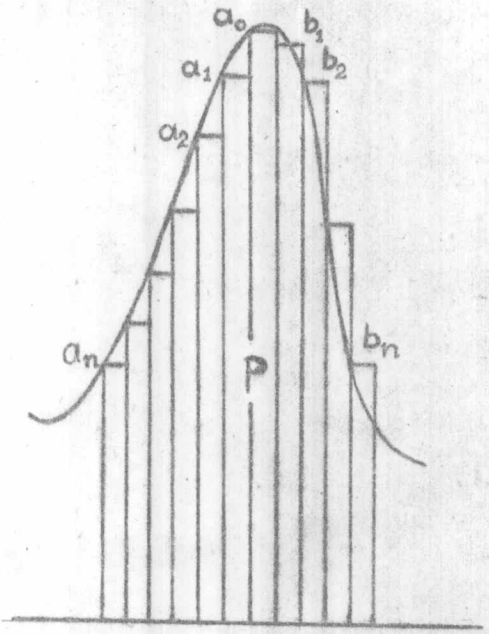
$= (n + \frac{1}{2})(a_n + b_n)$



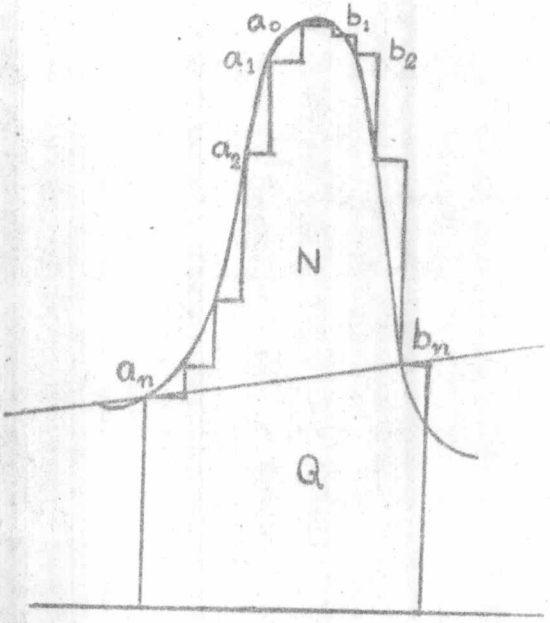
รูปที่ 9 หัววัดรังสีแบบกึ่งตัวนำ ชนิด Ge(Li)



รูปที่ 10 เครื่องมือนับรังสีแบบหลายช่อง ชนิด 1024 ช่อง



รูปที่ 11 ความแรงรังสีแสดงด้วย bar graph



รูปที่ 12 พื้นที่ภายใต้ peak , N

แทนค่า P และ Q จะได้

$$N = a_0 + \sum_{i=1}^{n} a_i + \sum_{i=1}^{n} b_i - (n + \tfrac{1}{2})(a_n + b_n) \qquad (3.1)$$

3.3.2.3 การวัดปริมาณรังสีแกมมาของสารหนู-76 และอินเดียม-115 m รวมทั้งการคำนวณปริมาณสารหนูและแคดเมียมในสารตัวอย่าง

นำเรซินที่บรรจุในขวดพลาสติคไปนับปริมาณรังสีแกมมาด้วยเครื่องนับรังสีแบบหลายช่อง ชนิด 1024 ช่อง ที่ต่อเชื่อมกับหัววัดรังสี Ge (Li) เป็นเวลา 2000 วินาที นำค่าแบคกราวน์ (background) ที่วัดด้วยเครื่องมือเดียวกันในเวลาเท่ากัน มาหักลบจากปริมาณรังสีทั้งหมด ได้เป็นปริมาณรังสีสุทธิจากสัญญาณของเครื่องนับรังสีดังกล่าว สำหรับเรซินของสารมาตรฐานนั้น ดำเนินการนับปริมาณรังสีเช่นเดียวกับสารตัวอย่างทุกประการ

คำนวณปริมาณรังสีภายใต้ peak จากสเปคตรัมของรังสีแกมมาของสารหนู-76 อินเดียม-115 m ของสารตัวอย่างและ สารมาตรฐาน โดยใช้สูตร (3.1) จากนั้น-

คำนวณปริมาณสารหนูและแคดเมียมในสารตัวอย่างได้จากสมการ

$$\frac{\text{ปริมาณธาตุที่ต้องการในสารตัวอย่าง}}{\text{ปริมาณธาตุที่ต้องการในสารมาตรฐาน}} = \frac{\text{ความแรงรังสีของเรดิโอไอโซโทปที่ต้องการในสารตัวอย่าง}}{\text{ความแรงรังสีของเรดิโอไอโซโทปที่ต้องการในสารมาตรฐาน}} \quad (3.2)$$

ปริมาณสารหนูและแคดเมียมในสารตัวอย่างที่คำนวณได้ เป็นปริมาณของสารหนูและแคดเมียมจากสารตัวอย่างแห้ง ซึ่งหนักประมาณ 1 กรัม ต้องนำมาคิดเทียบกับน้ำหนักสดของปลาทะเล จะได้ค่าปริมาณสารหนูและแคดเมียมต่อกรัมของน้ำหนักสด บันทึกค่าที่ได้ในหน่วยของไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

3.3.3 ความเชื่อถือได้ของการวิเคราะห์ปริมาณสารหนูและแคดเมียมโดยวิธีวิเคราะห์ด้วยนิวตรอนแอคติเวชัน (reliability test)

ความเชื่อถือได้ของการวิเคราะห์ปริมาณ มาจากพื้นฐานความเที่ยงตรง (precision) และความแน่นอน (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ ความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ สามารถหาได้จากการทดลองซ้ำกันหลายครั้งของสารตัวอย่างโดยกรรมวิธีเดียวกัน ตรวจผลที่ได้ว่ามีค่าใกล้เคียงกันเพียงใด ในการศึกษาวิจัยนี้ได้ตรวจสอบความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ โดยวิเคราะห์ปริมาณสารหนูและแคดเมียมของสารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนหลาย ๆ ครั้ง ผลการตรวจสอบแสดงไว้ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การทดสอบความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารหนูและแคดเมียม

การวิเคราะห์	ปริมาณสารหนู ไมโครกรัม	ปริมาณแคดเมียม ไมโครกรัม
ครั้งที่ I		
ปริมาณที่เติมลงไป	0.3000	0.3000
ปริมาณที่ได้จากการวิเคราะห์		
ครั้งที่ 1	0.3225	0.2945
2	0.3000	0.3165
ค่าเฉลี่ย	0.3112 ± 0.0112	0.3055 ± 0.0110
ครั้งที่ II		
ปริมาณที่เติมลงไป	1.0000	0.5000
ปริมาณที่ได้จากการวิเคราะห์		
ครั้งที่ 1	1.0862	0.4656
2	0.9778	0.4957
ค่าเฉลี่ย	1.0319 ± 0.0542	0.4802 ± 0.0150
ครั้งที่ III		
ปริมาณที่เติมลงไป	0.3000	0.5000
ปริมาณที่ได้จากการวิเคราะห์		
ครั้งที่ 1	0.2909	0.5206
2	0.3000	0.4857
ค่าเฉลี่ย	0.2954 ± 0.0064	0.5031 ± 0.0174

การตรวจสอบความแน่นอนของวิธีวิเคราะห์ กระทำโดยการวิเคราะห์ปริมาณธาตุของสารตัวอย่างเปรียบเทียบมาตรฐาน ซึ่งมีค่าถูกต้อง (certified value) ของธาตุที่วิเคราะห์แน่นอนแล้ว จากการเปรียบเทียบค่าที่วิเคราะห์ได้จะทราบความแน่นอนของวิธีวิเคราะห์ ในการศึกษาวิจัยนี้ได้วิเคราะห์สารตัวอย่างเปรียบเทียบมาตรฐาน 2 ชนิด คือ สารมาตรฐาน Kale และสารตัวอย่าง Bovine Liver ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารหนูและแคดเมียมในสารตัวอย่างเปรียบเทียบมาตรฐาน แสดงไว้ในตารางที่ 5 ดังนี้

ตารางที่ 5 การตรวจสอบความแน่นอนของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารหนูและแคดเมียม

ชนิดของสารตัวอย่างเปรียบเทียบมาตรฐาน	ปริมาณธาตุที่ตรวจพบเป็นไมโครกรัมต่อกรัม			
	สารหนู		แคดเมียม	
	ค่าที่รายงานไว้	ค่าที่วิเคราะห์ได้*	ค่าที่รายงานไว้	ค่าที่วิเคราะห์ได้*
Kale	0.129 ± 0.023	0.1128 ± 0.0107	0.746 ± 0.237	0.7355 ± 0.0807
Bovine Liver	0.055**	0.0760 ± 0.0080	0.27 ± 0.04	0.2722 ± 0.0166

* เป็นค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ไม่น้อยกว่า 3 ชุด (set)

** ค่านี้ยังไม่เป็นที่ยืนยันแน่นอนว่าเป็นค่าถูกต้องแท้จริง