

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การกำหนดสถานีเก็บตัวอย่าง

ในการศึกษาการแพร่กระจายของโลหะแคดเมียมและสังกะสีในแม่น้ำปิงตอนล่างตั้งแต่เขื่อนภูมิพล อำเภอสามเงา จังหวัดตากถึงบ้านปากน้ำโพ อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ เป็นระยะทาง 272 กิโลเมตร โดยกำหนดสถานีสำหรับการเก็บตัวอย่างขึ้น 17 สถานี สำหรับสถานีที่ 4-10 เป็นสถานีที่กำหนดค่าให้ถี่ขึ้นเพื่อตรวจสอบปริมาณโลหะหนักในบริเวณจังหวัดตาก ดังรูปที่ 5 และตารางที่ 8

การเก็บและรักษาตัวอย่าง

การดำเนินการเก็บตัวอย่างที่ศึกษาได้ทำการจำแนกตัวอย่างออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ตัวอย่างน้ำ ทำการเก็บตัวอย่างน้ำในแม่น้ำปิงทุกสถานีประมาณกึ่งกลางความกว้างของแม่น้ำที่ระดับกึ่งกลางความลึก โดยใช้ขวดพลาสติกขนาด 1 ลิตรบรรจุเก็บจำนวน 104 ตัวอย่างดังนี้

- สถานีที่ 4-10 เก็บทุกเดือน เป็นเวลา 12 เดือน 84 ตัวอย่าง
- สถานีที่ 1-3 และ 11-17 เก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง ในช่วงน้ำมากเดือนพฤษภาคมและช่วงน้ำน้อยเดือนธันวาคม รวม 20 ตัวอย่าง

การเก็บรักษาตัวอย่างน้ำหลังจากวัดพารามิเตอร์ในภาคสนามแล้วจึงทำการเติมกรดไนตริกเข้มข้นชนิดที่มีความบริสุทธิ์สูง (analytical reagent grade) ปริมาตร 5 ml ต่อน้ำตัวอย่าง 1 ลิตร เพื่อให้มีค่า pH ต่ำกว่า 2

กลุ่มที่ 2 ตัวอย่างตะกอน จำนวน 90 ตัวอย่าง แบ่งเป็น

- ตะกอนผิวดิน เก็บโดยใช้เครื่องมือเก็บตะกอน grab sampler จากสถานีที่ 1-17 ในช่วงเวลาเดียวกับการเก็บตัวอย่างน้ำ 2 ครั้ง รวม 34 ตัวอย่าง
- ตัวอย่างตะกอนตามความลึก เก็บโดยใช้ corer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง

2.5 นิ้ว เก็บตัวอย่างในช่วงน้ำน้อยเดือนมิถุนายนที่สถานี 4, 6, 8 และ 10 ซึ่งอยู่เหนือจุดทิ้งน้ำของโรงงานกลึงสังกะสี 1 สถานี (4) จุดทิ้งน้ำเสีย 1 สถานี (6) และท้ายน้ำ 2 สถานี (8 และ 10) แบ่งตัวอย่างตามระดับความลึก 0-2, 2-4, ... และ 26-28 เซนติเมตร จำนวน 14 ตัวอย่าง 4 สถานี 1 ครั้ง รวม 56 ตัวอย่าง โดยจำนวนตัวอย่างอาจน้อยกว่านี้ขึ้นอยู่กับความลึกของชั้นตะกอนในแต่ละสถานี

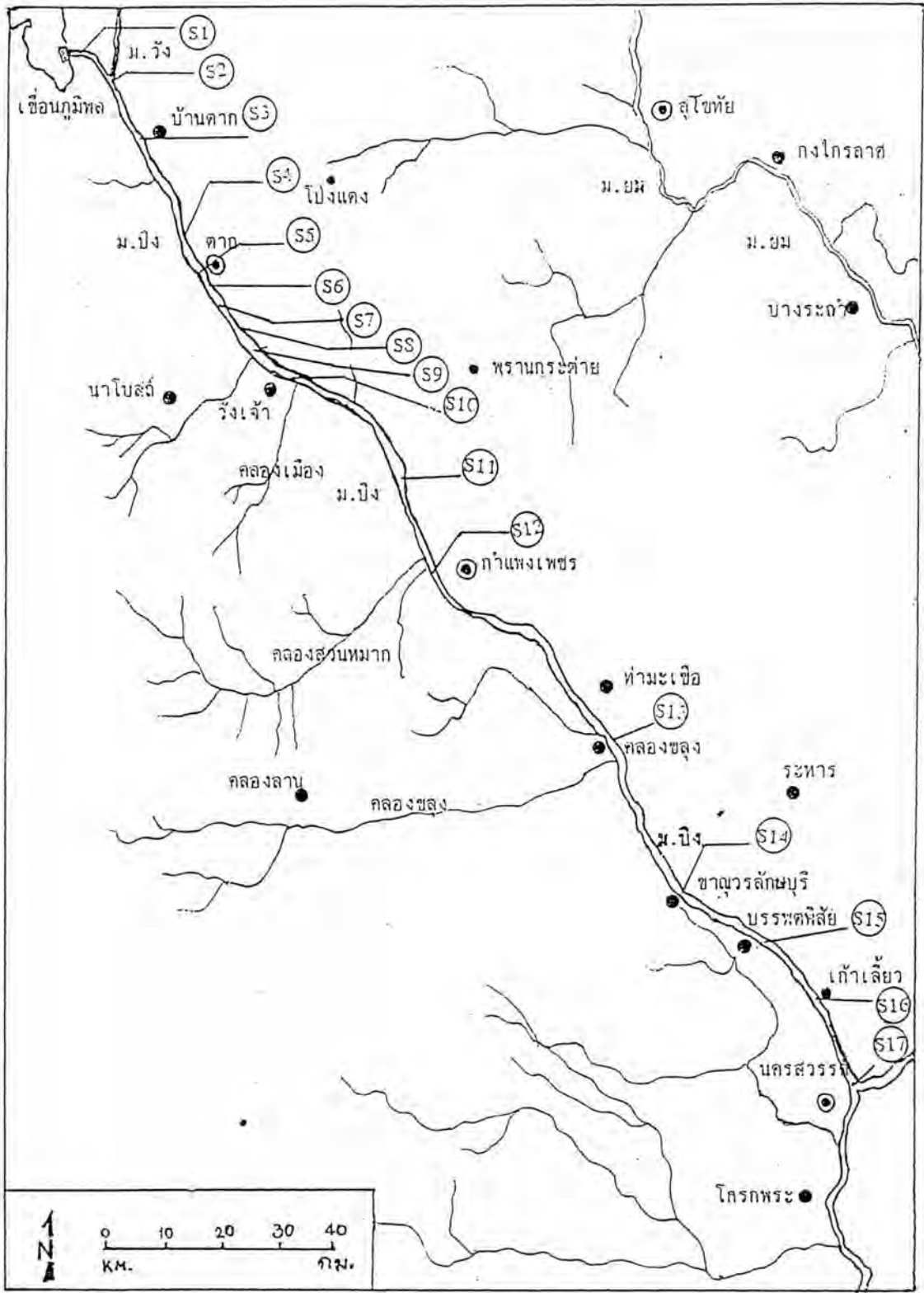
การเก็บรักษาตัวอย่างดิน จะบรรจุตะกอนประมาณ 1 กิโลกรัม สำหรับตะกอนผิวดิน และ 100 กรัม สำหรับดินตามความลึกลงในถุงพลาสติกใสใส่อากาศออกและมัดปากถุง ปิดฉลาก และใส่รวมลงในถังพลาสติกปิดฝาเพื่อป้องกันแสงแดด เมื่อถึงห้องวิเคราะห์ตัวอย่างจึงนำมาตากแห้ง โดยวิธี air dry ในตู้คว่ำเพื่อป้องกันฝุ่นละออง แล้วจึงนำตะกอนแห้งมาบดด้วยครกบดยาให้ละเอียด ร้อนด้วยตะแกรงในลอน ขนาดตา 2 มิลลิเมตร เพื่อแยกกรวดและเปลือกหอยออก เก็บใส่ถุงพลาสติกใสในตู้เย็นเพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

กลุ่มที่ 3 ตัวอย่างหอยกาบซึ่งเก็บในบริเวณสถานีที่ 4, 6, 8 และสถานีที่ 10 เก็บตัวอย่างได้ 3, 8, 5 และ 3 ตัว ตามลำดับ เนื่องจากต้องใช้คนค้ำน้ำในการเก็บตัวอย่างและคัดหอยกาบที่โตเต็มวัยมีขนาดใกล้เคียงกันจึงใส่ถุงพลาสติกถุงละตัว ปิดฉลาก ใส่อากาศออกปิดปากถุง ใส่รวมกันในถุงรวมของแต่ละสถานีแล้วแช่แข็งไว้

การเก็บรักษาตัวอย่างหอยกาบ หลังจากทำการวัดขนาดความกว้าง ความยาวของหอยกาบหอย ซึ่งนำหนักหอยรวมเปลือก ในห้องปฏิบัติการแล้วจะทำการแกะเปลือกหอยออก นำส่วนที่เป็นเนื้อทั้งหมดไปซึ่งนำหนักละเอียดและอบไล่ไอน้ำที่อุณหภูมิ 105 °C นาน 24 ชั่วโมง นำเนื้อหอยที่แห้งแล้วมาบดด้วยครกบดยาให้ละเอียด บรรจุถุงพลาสติกแช่แข็งไว้ เพื่อทำการวิเคราะห์หาโลหะแคดเมียมและสังกะสีต่อไป

เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะแคดเมียมและสังกะสี

ในการศึกษานี้จะทำการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะแคดเมียมและสังกะสี จากตัวอย่างดิน น้ำ และหอยกาบในแม่น้ำปิง โดยใช้เครื่องมือ Flame Atomic Absorption Spectrophotometer รุ่น Varian Spectra A 10 ณ ห้องปฏิบัติการกลาง ฝ่ายวิเคราะห์วิจัย บริษัทผาแดงอินดัสทรี จำกัด จังหวัดตาก



รูปที่ 5 แสดงสถานีเก็บตัวอย่างน้ำ ตะกอน และหอยกาบในแม่น้ำปิงตอนล่าง

- | | | |
|-----------|-----------|------------------|
| (S) สถานี | ● จังหวัด | ● อำเภอ หรือตำบล |
| ≡ แม่น้ำ | ≡ คลอง | |

ตารางที่ 8 สถานีเก็บตัวอย่างในแม่น้ำปิงตอนล่าง

สถานี	ระยะจากเขื่อน- ภูมิพล (กม.)	ชื่อสถานี	ตำแหน่งสถานี
S1	0	สะพานท้ายเขื่อน ภูมิพล	โรงไฟฟ้าพลังน้ำเขื่อนภูมิพล ต.สามเงา อ.สามเงา จ.ตาก
S2	10	สะพานข้ามแม่น้ำปิง	หมู่ 3 ต.บ้านรี อ.สามเงา จ.ตาก
S3	30	สะพานบ้านตาก	หมู่ 6 ต.ตากออก อ.บ้านตาก จ.ตาก
S4	50	วัดท่าช้าง	หมู่ 4 ต.ไผ่งาม อ.เมือง จ.ตาก
S5	60	สะพานกิตติขจร	หมู่ 1 ต.เซียงทอง อ.เมือง จ.ตาก
S6	66	ท้ายน้ำจุดทิ้งน้ำโรง งานถลุงสังกะสี 50 ม.	บ้านหนองปรือ หมู่ 1 ต.หนองบัวใต้ อ.เมือง จ.ตาก
S7	72	วัดท่าตะคร้อ	หมู่ 5 ต.นาโบสถ์ อ.เมือง จ.ตาก
S8	76	วิทยาลัยเกษตรกรรม	หมู่ 3 ต.นาโบสถ์ อ.เมือง จ.ตาก
S9	80	โรงสูบน้ำที่ 7 กรมชลประทาน	หมู่ 2 ต.นาโบสถ์ อ.เมือง จ.ตาก
S10	86	สะพานวุฒิกุล	หมู่ 8 ต.วังหิน อ.เมือง จ.ตาก
S11	110	วัดอมฤต	หมู่ 1 ต.ลานดอกไม้ อ.เมือง จ.กำแพงเพชร
S12	130	สะพานกำแพงเพชร	บ้านหัวยาง หมู่ที่ 2 ต.นครชุม อ.เมือง
S13	170	วัดสามัคคีธรรม	บ้านเกาะหมู่ หมู่ที่ 1 ต.ท่ามะเขือ อ.คลองขลุง จ.กำแพงเพชร
S14	201	โรงเรียนบ้านหัวเสลา	บ้านหัวเสลา หมู่ที่ 2 ต.บางสูง อ.ขาณุวรลักษบุรี จ.กำแพงเพชร
S15	227	สะพานข้ามแม่น้ำปิง	บ้านส้มเสี้ยว หมู่ที่ 2 ต.ท่าจิว อ.บรรพตพิสัย จ.นครสวรรค์
S16	250	ท่าเรือจ้าง	บ้านเก้าเสี้ยว หมู่ที่ 5 ต.เก้าเสี้ยว อ.เก้าเสี้ยว จ.นครสวรรค์
S17	272	บ้านปากน้ำโพ	บ้านปากน้ำโพ ต.ปากน้ำโพ อ.เมือง จ.นครสวรรค์

วิธีการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง น้ำ ตะกอน และสัตว์น้ำ ดังแสดงใน ตารางที่ 9

ตารางที่ 9 พารามิเตอร์และวิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง น้ำ ตะกอน และสัตว์น้ำ

ตัวอย่าง	พารามิเตอร์	วิธีวิเคราะห์	เอกสารอ้างอิง
น้ำ	อุณหภูมิ temperature ความกระด้างทั้งหมด ความเป็นกรดเป็นเบส pH ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ แคดเมียมและสังกะสี	Thermometer EDTA Titrimetric pH meter Azide modification AAS	APHA, AWWA, WPCF, 1985 Price, 1979
ตะกอน ที่ผิวดิน	ปริมาณน้ำ (%) ความเป็นกรดเป็นเบส pH ปริมาณสารอินทรีย์ เนื้อดิน soil texture แคดเมียมและสังกะสี	Gravimetric pH meter Walkley-Black Hydrometer AAS	Jackson, 1983 สรสิทธิ์ และคณะ, 2531 UNEP, 1986
ตะกอนตาม ระดับความลึก	แคดเมียมและสังกะสี	AAS	UNEP, 1986
หอยกาบ	แคดเมียมและสังกะสี	AAS	FAO, 1983



การเตรียม Stock solution ของโลหะแคดเมียมและสังกะสี

โลหะแคดเมียม

ชั่งโลหะแคดเมียมบริสุทธิ์ 0.1000 กรัม ละลายด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 5 ml ตั้งบน hot plate ในตู้ควันอุ่นให้ร้อนเพื่อช่วยการละลาย ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่นในขวดมาตรฐาน จะได้สารละลายแคดเมียมมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 100 ppm

โลหะสังกะสี

ชั่งโลหะสังกะสีบริสุทธิ์ 1.0000 กรัม ละลายด้วยกรดไนตริกเข้มข้น 10 ml เจือจางให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่นในขวดมาตรฐาน จะได้สารละลายสังกะสีมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 1000 ppm

การวิเคราะห์หาคัดเมียมและสังกะสีในน้ำ

1. ตวงตัวอย่างน้ำ 800 มิลลิลิตร ใส่ในกรวยแยกขนาด 1 ลิตร เติมสารละลาย APDC 1 % 50 มิลลิลิตร ปรับสารละลายให้มี pH 5 ด้วยกรดอะซิติกหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล ตั้งทิ้งไว้ 2 นาที ปรับ pH 5 อยู่เสมอ
2. เติม MIBK 25 มิลลิลิตร เขย่าแรง ๆ 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้ 2 นาที ถ่ายสารละลายที่เป็นชั้นน้ำใสกรวยแยกอีกใบแล้วสกัดซ้ำด้วย MIBK อีก 5 มิลลิลิตร
3. ทิ้งสารละลายชั้นล่างซึ่งเป็นน้ำ และนำสารละลายที่สกัดได้ใส่ลงในกรวยแยกอื่น แรก ผสมกัน และกรองผ่านจุกสำลีใส่ขวดเก็บตัวอย่างขนาดเล็กปิดฝาให้แน่นและนำไปวัดด้วยเครื่อง AAS
4. เตรียม blank โดยใช้น้ำกลั่น 2 ครั้งและเตรียมสารละลายมาตรฐานของโลหะแคดเมียมและสังกะสีที่มีความเข้มข้นครอบคลุมความเข้มข้นของน้ำตัวอย่างคือ 2.5 5.0 10.0 ppb สำหรับแคดเมียม และ 20.0 40.0 80.0 ppb สำหรับสังกะสี แล้วทำการสกัดเช่นเดียวกับน้ำตัวอย่างแล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง AAS สำหรับค่า absorbance ของแคดเมียมแสดงผลใน expansion mode ขยาย 10 เท่า เนื่องจากมีค่า absorbance ต่ำ เขียน standard calibration curve ระหว่างความเข้มข้นกับ absorbance ของแคดเมียมและสังกะสี ซึ่งแสดงไว้ในภาคผนวก ค-1 และ ค-2

การวิเคราะห์หาแคดเมียมและสังกะสีในตะกอน

1. บดตะกอนในโกร่งบดยาให้ละเอียด และร่อนด้วยตะแกรงในลอนขนาดตา 63 ไมครอน
2. ชั่งตะกอนที่ร่อนได้ 5.00 กรัมอย่างละเอียด ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 ml เติมกรดไนตริกเข้มข้น 40 ml ต้มบน hot plate ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนเริ่มแห้ง
3. เติมกรดผสม ไนตริก/เปอร์คลอริก (3:2) 20 ml ต้มที่อุณหภูมิ 120 ° C จนเกือบแห้งและตะกอนเป็นสีขาว ทำให้เย็น
4. เติมกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ 20 ml ละลายส่วนที่เหลือในบีกเกอร์ด้วยใส่ขวดปริมาตรขนาด 100 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายส่วนที่ใส่ไปวัดด้วยเครื่อง AAS
5. ทำ Blank ตั้งแต่ข้อ 1-4 โดยไม่ต้องใส่ตัวอย่างดิน
6. เตรียมสารละลายมาตรฐานของโลหะแคดเมียมและสังกะสีที่มีความเข้มข้น 0.1 0.2 0.4 ppm สำหรับแคดเมียม และ 1.0 2.0 4.0 ppm สำหรับสังกะสี นำไปวัดด้วยเครื่อง AAS เขียน standard calibration curve ระหว่างความเข้มข้นกับ absorbance ของแคดเมียมและสังกะสี ซึ่งแสดงไว้ในภาคผนวก ค-3 และ ค-4

วิธีการวิเคราะห์แคดเมียมและสังกะสีในหอยกวาง

1. ชั่งเนื้อเปลือกหอยกวางที่อบแห้งและบดละเอียดแล้ว 1-2 กรัมอย่างละเอียด ใส่บีกเกอร์ขนาด 250 ml
2. เติมสารละลายผสมของกรดไนตริก : ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (1:1) 10 ml ปิดด้วยกระจกนาฬิกา 1 ชั่วโมง เพื่อลดความรุนแรงของปฏิกิริยาลง และระวังอย่าให้ล้น
3. ตั้งบีกเกอร์บน hot plate ที่อุณหภูมิ 160 °C ต้มให้เดือดเบา ๆ อย่าให้ล้นนาน 2 ชั่วโมง จนปริมาตรลดลงเหลือ 2-5 ml ทำให้เย็น
4. ถ่ายสารละลายใส่ขวดปริมาตรขนาด 100 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น นำไปวัดด้วย AAS
5. ทำ Blank ตั้งแต่ข้อ 1-4 โดยไม่ต้องใส่ตัวอย่าง
6. เตรียมสารละลายมาตรฐานของโลหะแคดเมียมและสังกะสีที่มีความเข้มข้น 0.2 0.5 1.0 ppm สำหรับแคดเมียมและ 2.0 4.0 8.0 ppm สำหรับสังกะสี นำไปวัดด้วย

เครื่อง AAS เขียน standard calibration curve ระหว่างความเข้มข้นกับ absorbance ของแคดเมียมและสังกะสีซึ่งแสดงไว้ในภาคผนวก ค-5 และ ค-6

การคำนวณผล

เพื่อหาปริมาณโลหะแคดเมียมและสังกะสีในตะกอนและหอยกาบ เมื่อนำสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันมาวัด absorbance เพื่อสร้าง standard calibration curve แล้วนำค่า absorbance ของตัวอย่างมาหาปริมาณโลหะโดยเทียบกับ standard calibration curve

สมมติให้ ค่าความเข้มข้นของโลหะหนักเช่น สังกะสี

	ที่อ่านได้จาก curve เป็น	x	$\mu\text{g/ml (ppm)}$
ดังนั้นตัวอย่างที่นำมาวัดมีปริมาตรทั้งหมด	100 ml	จะมีสังกะสีอยู่	$100x \mu\text{g}$
แต่ตัวอย่าง 100 ml เติрымมาจากดิน (dry weight)	5 g		g
แสดงว่า ตะกอน 5 g มีโลหะสังกะสี		$100x$	μg
ตะกอน 1 g มีโลหะสังกะสี		$100x/5$	$\mu\text{g/g}$
\therefore ตัวอย่างดินมีโลหะสังกะสีอยู่		$100x/5$	ppm

สำหรับปริมาณโลหะแคดเมียมและสังกะสีในเนื้อเยื่อของหอยกาบ สามารถคำนวณได้เช่นเดียวกับปริมาณในตะกอน แต่การแสดงผลจะหาปริมาณในรูปแบบน้ำหนักเปียกเพื่อใช้ในการเปรียบเทียบมาตรฐานอาหารได้ ดังนี้คือ

สมมติให้ปริมาณโลหะสังกะสีในเนื้อหอยที่แห้งเท่ากับ	x	$\mu\text{g/g}$
ก่อนอบแห้งเนื้อหอยมีความชื้น	y	%
แสดงว่า เนื้อเยื่อหอยสด 100 g มีเนื้อเยื่อหอยที่แห้ง	$100-y$	g
\therefore เนื้อเยื่อหอยสดจะมีปริมาณโลหะสังกะสี	$(100-y)x/100$	$\mu\text{g/g}$