บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

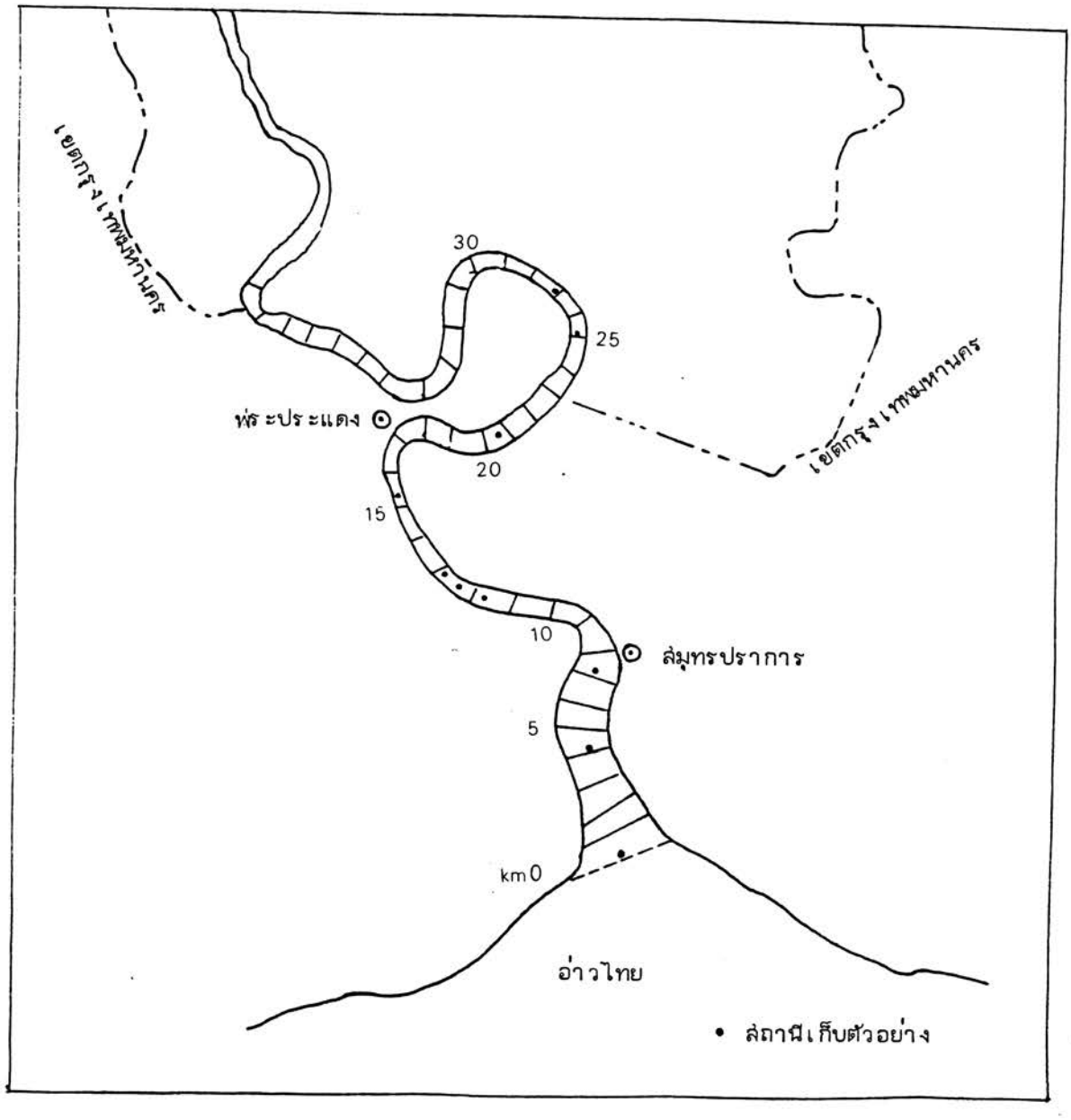
3.1 วัสดุอุปกรณ์ (Materials)

3.1.1 ตัวอย่าง (Sample)

ตัวอย่างดินตะกอน การเก็บตัวอย่างดินตะกอนทำในบริเวณแม่น้ำเจ้าพระยาตอนล่าง เขตอุตสาหกรรมพระประแดง ระยะทางตั้งแต่ 0-27 กิโลเมตร จากปากแม่น้ำ (รูปที่ 3.1) โดยทำการ grab ดินตะกอนจากท้องน้ำตามสถานีเก็บตัวอย่างที่กำหนดไว้ 10 สถานีคือ

สถานี	จุดสังเกต	ระยะจากปากแม่น้ำ (กม)
1	โรงพยาบาลป้อมพระจุลจอมเกล้า	0
2	ปากคลองสรรพสามิต	4.0
3	ศาลากลางจังหวัดสมุทรปราการ	7.2
4	ท้ายโรงงานบริษัทไทยอาซาฮีโซดาไฟ (ปากคลองสองพี่น้อง)	11.8
5	โรงงานบริษัทไทยอาซาฮีโซดาไฟ	12.3
6	เหนือโรงงานบริษัทไทยอาซาฮีโซดาไฟ	12.8
7	โรงเรียนวัดครุนอก	15.3
8	วัดปุณณังสนาวาส	20.7
9	โรงกลั่นน้ำมันบางจาก	25.0
10	การท่าเรือแห่งประเทศไทย	27.0

แต่ละสถานีเก็บตัวอย่าง ทำการเก็บตัวอย่างดินตะกอน 3 จุดคือ ฝั่งธนบุรี กลางแม่น้ำ และฝั่งกรุงเทพฯ ซึ่งการเก็บตัวอย่างใช้เครื่องมือที่ออกแบบดัดแปลงโดย



รูปที่ 3.1 แผนที่บริเวณแม่น้ำเจ้าพระยาตอนล่าง แสดงสถานีเก็บตัวอย่าง

รองศาสตราจารย์ สุทธิชัย เตมียวณิช$^{+}$ แห่งภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตัวอย่างทั้งหมดมี 120 ตัวอย่าง

ตัวอย่างดินตะกอนเก็บทุก 3 เดือน ตลอดระยะเวลา 1 ปี คือในเดือนกุมภาพันธ์ พฤษภาคม สิงหาคม และพฤศจิกายน จากนั้นทำให้แห้งโดยวิธี air dry และนำไปบดละเอียดเก็บไว้ทำการวิเคราะห์ และการรายงานน้ำหนักตัวอย่างเป็นน้ำหนักแห้ง (dry basis) ทำโดยการอบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 105°ซ (Goulden P.D., 1978) จนน้ำหนักคงที่ไม่เปลี่ยนแปลง น้ำหนักที่หายไปนำมาคำนวณกลับเป็นน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง

ตัวอย่างหอยกะพง ทำการเก็บตัวอย่างจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา และจังหวัดระยอง เก็บตัวอย่าง 2 ครั้งคือ เดือนกรกฎาคม และธันวาคม และตัวอย่างหอยจะล้างให้สะอาดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°ซ จนกว่าจะทำการวิเคราะห์

3.1.2 เครื่องมือ (Instrument)

ในการศึกษานี้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารปรอทรวม (Total mercury) และสารปรอทอินทรีย์ (Organic mercury) จากดินตะกอนและหอยกะพง

3.1.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารปรอทรวม ใช้เครื่องมือ Flameless Atomic Absorption Spectrophotometer (Flameless AAS) model 4000 (Perkin-Elmer, 1980) และสะกัดสารปรอทจากดินตะกอนและหอยกะพงโดยวิธีการของ EPA (1971) และ Menasveta (1979)

Flameless Atomic Absorption Spectrophotometer (Flameless AAS)

Hatt& Ott (1968) ได้นำวิธีการนี้มาวิเคราะห์ปรอทครั้งแรกในปี 1968 โดยใช้ปฏิกิริยารีดักชั่น เพื่อเปลี่ยน Hg^{2+} ให้เป็น Hg^{o} ด้วย reducing agents แล้วไล่ไอของปรอทด้วยอากาศจาก pump ให้เข้าสู่absorption cell วัดการ absorb คลื่นแสงของอะตอมปรอท absorbance ที่วัดได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของปรอทนั้น

Flameless AAS มีวิธีการวิเคราะห์ได้ 2 แบบคือ

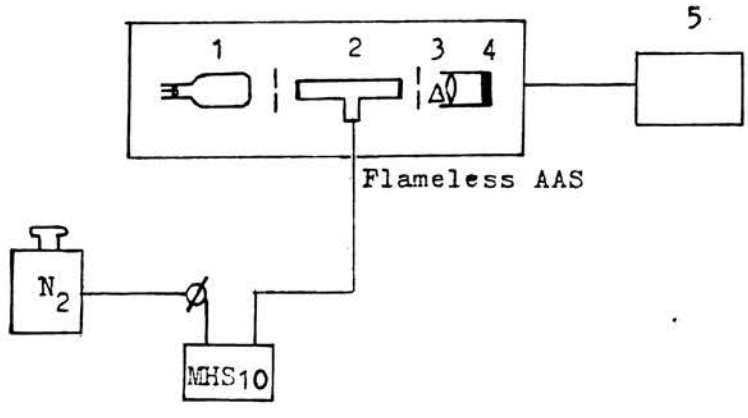
1. open ended system วิธีนี้เมื่อ reduce ให้ Hg^{2+} กลายเป็น Hg^{o} หลังจากวัดการ absorb แสงแล้วก็ปล่อยออกสู่ hood เลย

2. recirculating system (closed system) โดยวิธีนี้จะปล่อยให้ไอของปรอทหมุนเวียนอยู่ในระบบ จนกระทั่งได้ความเข้มข้นสูงสุดและคงที่ จึงปล่อยออกสู่ hood

ส่วนประกอบของเครื่องมือ Flameless AAS ประกอบด้วย 5 ส่วนคือ

1. แหล่งกำเนิดแสง (Light source)
2. แหล่งกำเนิดอะตอม (Atomizer)
3. เครื่องแยกแสง (Monochromator)
4. ระบบวัดคลื่นรังสี (Photo detector)
5. อุปกรณ์อ่านวัดค่า (Readout device)

ดังแสดงในรูปที่ ๓.๒ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้



รูปที่ 3.2 แสดงส่วนประกอบของเครื่องมือ Flameless AAS

(1) แหล่งกำเนิดแสง (Light source) ประกอบด้วย Hollow cathode lamp ซึ่งทำหรือบุด้วยอิออนโลหะหรือโลหะผสมของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์ บรรจุในหลอดแก้วปิดสนิท ซึ่งภายในบรรจุแก๊สเฉื่อย และเมื่อให้ศักดาไฟฟ้าสูงกับ electrode อิออนของแก๊สเฉื่อยจะชนผิวของ cathode อย่างแรงทำให้อะตอมของ cathode หลุดออกมาและจะถูก ionized และ excited โดยการชนกับอิออนแก๊สและอิเลคตรอนในคลื่นแสงที่มีความยาวคลื่นที่สอดคล้องกับการดูดกลืนของธาตุที่ต้องการวิเคราะห์

(2) แหล่งกำเนิดอะตอม (Atomizer) หรือเซลแอบซอปชั่น (Absorption cell) เป็นส่วนที่ทำให้ธาตุในสารประกอบตัวอย่างกลายเป็นไอหรืออะตอมอิสระ

(3) เครื่องแยกแสง (Monochromator) ทำหน้าที่เลือกคลื่นแสงที่เหมาะสม เพียงความยาวคลื่นเดียวที่สอดคล้องกับการวิเคราะห์ธาตุที่ต้องการศึกษา

(4) ระบบวัดคลื่นแสง (Photo detector) โดยการใช้หลอดทวีคูณแสง (photomultiplier tube) วัดความเข้มแสงที่เหลือจากการดูดกลืนแสงและขยายให้มีปริมาณมากขึ้น

(5) อุปกรณ์อ่านวัดค่า (Readout device) เป็นเครื่องวัดกระแสไฟฟ้าที่ได้จากหลอดทวีคูณแสง ซึ่งเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มของแสง

สำหรับการวิเคราะห์ปรอทในสารละลาย โดยที่ปรอทเป็นธาตุที่ระเหยกลายเป็นไอได้ง่ายจึงสามารถใช้วิธีที่ง่ายในการทำให้เกิดอะตอมอิสระ ซึ่งประกอบด้วยการออกซิไดส์ ปรอทให้มี Oxidation state สูง (Hg^{2+}) เสียก่อนแล้วจึง reduce ด้วยสารละลาย borohydride ให้กลายเป็น Hg^{o} ซึ่งระเหยเป็นไอได้โดยง่าย ในส่วนของ Mercury Hydride System (MHS-10) ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นคือ

$$Hg^{2+} + 2\ B\bar{H}_4 \longrightarrow \overset{\circ}{Hg} + H_2 + B_2H_6$$

ทั้งนี้ในการวิเคราะห์ดังกล่าวใช้ N_2 เป็น Carrier gas condition ที่ใช้ในการวิเคราะห์

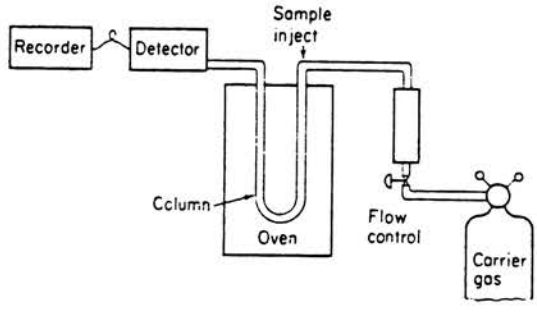
Operating Parameters

wavelength	:	253.6 nm.
slit width	:	0.7 nm.
Light source	:	Hollow Cathod Lamp
Carrier gas	:	N_2
Detection limit	:	0.58 ng (for 10 ml calibration volume)
Sensitivity	:	1.22 ng Hg/0.1 % Absorbance (0.1 % for 10 ml calibration volume)

3.1.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณของสารประทอินทรีย์ ใช้เครื่องมือ Gas-Liquid Chromatography และสกัดสารประทอินทรีย์ด้วยวิธีของ Phamaceutical society of Japan (1980)

Gas chromotography (G.C.)

เป็นการแยกสารโดยให้สารที่ต้องการแยกกระจายไประหว่าง 2 phases คือ mobile phase ซึ่งเป็นกาซ และ stationary phase ที่เป็นของเหลวหรือของแข็ง ในกรณีที่ stationary phase เป็นของแข็งเรียกว่า Gas-Solid chromatography (G.S.C.) แต่ถ้า stationary phase เป็นของเหลว โดยการที่เอาของเหลวนั้นไปเคลือบเป็นแผ่นฟิล์มบางบนสารที่เฉื่อยต่อปฏิกิริยา (innert) ก็เรียกว่า Gas-Liquid Chromatography (G.L.C.) ส่วนประกอบสำคัญของ Gas Chromatography System แสดงไว้ในรูปที่ ๓.๓ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้



Schematic of gas chromatography system.

รูปที่ 3.3 ส่วนประกอบสำคัญของ Gas Chromatography System

(1) Carrier Gas ทำหน้าที่เป็น mobile phase นำเอาสารที่ต้องการวิเคราะห์ซึ่งฉีดเข้าไปและสามารถระเหยได้ไปยัง Column ต่อจากนั้นจะมีการแยกตัวของสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยอาศัยคุณสมบัติการ partition ระหว่าง carrier gas กับ non-volatile solvent ที่ใช้เป็น stationary phase

(2) Flow Controller เป็นส่วนหนึ่งของเครื่องที่ใช้ควบคุมอัตราการไหล (flow rate) ของ Carrier gas ประสิทธิภาพของ Column (Column efficiency)

จะขึ้นอยู่กับอัตราการไหลของกาซ พบว่าถ้าอัตราการไหลของกาซสูงมาก การแยกตัวของสารใน column จะลดลง แต่ถ้าอัตราการไหลต่ำมาก การแยกตัวของสารจะน้อยลง การเลือกใช้อัตราการไหลที่เหมาะสม จึงเป็นสาเหตุสำคัญที่จะมีผลต่อการแยกตัวของสาร

(3) Injection port ส่วนนี้เป็นส่วนที่ใช้ฉีดสารที่ต้องการวิเคราะห์เข้าไป เนื่องจากสารที่ต้องการวิเคราะห์จะต้องระเหยได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำให้ส่วนนี้มีอุณหภูมิสูงขึ้นมาก ๆ โดยการให้ความร้อน โดยปกติอุณหภูมิของ Injection port นี้มักจะสูงกว่าอุณหภูมิที่ทำให้ column ร้อนขึ้น

(4) Column เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของ G.C. วัตถุที่ใช้ทำ column มีหลายชนิดเช่น ทองแดง เหล็กไม่เป็นสนิม อลูมินัม หรือแก้ว ลักษณะของ column อาจเป็นเส้นตรง โค้ง หรือขดเป็น coil การใช้ column ที่ยาวมาก ๆ อาจจะใช้แยกสารได้ดี แต่ถ้ายาวเกินไปจะทำให้เกิดปัญหาเช่น ต้องใช้ความดันสูงทำให้การฉีดตัวอย่างสารที่ต้องการวิเคราะห์เข้าไปได้ยากมาก และจะพบ peak ที่กว้าง

ใน column จะบรรจุไว้ด้วยสารที่ใช้เป็น solid support และ stationary phase การบรรจุจะต้องให้สารเหล่านี้กระจายตัวสม่ำเสมอทั่วทั้ง column

(5) Detector คือเครื่องมือที่ทำการวัดจำนวนสารตัวอย่างที่แยกจาก column และถูกพามาโดย carrier gas Detector ต้องมีความร้อนพอที่จะระเหยสารตัวอย่างและผ่านออกไปไม่ให้ตกค้างอยู่ใน Detector และอุณหภูมิต้องสูงกว่าอุณหภูมิของ column ประมาณ 10°ซ

Electron Capture Detector (ECD) มีส่วนประกอบที่สำคัญคือ สารที่ให้รังสี β (beta) ซึ่งทำเป็น foilแผ่นบาง ๆ และมี electrode อีก 2 อันเป็น collector electrode สารรังสีที่ใส่ใน detector ในรูปแผ่นบาง ๆที่ใช้กันอยู่ขณะนี้คือ Tritium (H^3) และ Ni^{63}

เมื่อ carrier gas (ต้องใช้N_2) ผ่านเข้าไปใน Detector รังสี β จากสารรังสีจะทำให้กาซแตกตัวเกิดอิเลคตรอน ($N_2 + \beta \rightarrow \bar{e}$) และอิเลคตรอนนี้ก็จะวิ่งไปที่ collector electrode

และเมื่อมีสารตัวอย่างออกจาก column เข้าไปใน Detector และสาร ตัวอย่างนี้มีโมเลกุลที่สามารถดูดซึม (absorb) อีเลคตรอนได้จะดูดซึมอีเลคตรอนไว้ จำนวนหนึ่ง ทำให้กระแสไฟฟ้าที่เกิดจากอีเลคตรอนลดลง การเปลี่ยนแปลงของกระแส ไฟฟ้าจะเป็นสัญญาณส่งไปบันทึกที่ Recorder

Recorder ส่วนนี้จะทำหน้าที่สร้าง chromatogram โดยใช้สัญญาณที่มาจาก detector ECD-chromatogram ที่เกิดขึ้นจะบอกตำแหน่งของ peak และความสูงของ peak หรือพื้นที่ใต้ peak (peak area) ซึ่งช่วยให้สามารถวิเคราะห์ทางคุณภาพและ ปริมาณ (qualitative & quantitative) ได้ตามลำดับ

Condition ที่ใช้ในการวิเคราะห์

Carrier gas	:	N_2
Flow controller	:	50 มล./นาที
Injection temperature	:	210°ซ
Column temperature	:	145°ซ
Auxillary temperature	:	210°ซ
Column	:	glass column ยาว 1,600 มม., Ø 3 มม.
- Solid Support	:	Chromosorb-w acid wash 80-100 mesh
- liquid phase	:	5 % DMCS
Current	:	0.5 mA
Detector	:	Electron Capture Detector (ECD)

Calculation Parameter

- width	;	5
- slope	;	700 ไมโครโวลต์/นาที
- minimum area	;	210 ไมโครโวลต์/นาที

- range : 0
- Attenuation : 5 มิลลิโวลต์

3.2 วิธีการวิเคราะห์ (Analytical Method)

3.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารปรอทรวมจากตัวอย่างดินตะกอน

1. ใช้ตัวอย่างดินตะกอน 5 กรัม เติมกรดไนตริคเข้มข้น 10 มล. แล้วรีฟลักส์ (Reflux) โดยใช้ condenser ขนาด 2 ฟุต ที่อุณหภูมิ 85-90°ซ 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วล้างคอลัมน์ (Column) ด้วยน้ำกลั่น 60-70 มล.

2. กรองตัวอย่างดินที่ได้จากข้อ 1 ด้วยกระดาษกรอง (≠ 42) แล้วปรับปริมาตรสารละลายที่กรองได้ด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มล.

3. เติมกรดซัลฟุริคเข้มข้นลงไป 5 มล. และกรดไนตริคเข้มข้น 2.5 มล.

4. เติมสารละลายโปตัสเซียมเปอร์มังกาเนต ($KMnO_4$) 1 มล. แล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

5. เติมสารละลายโปตัสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) 2 มล. แล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

6. เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ - ไฮดรอกซีลามีน ไฮโดรคลอไรด์ (NaCl-Hydroxylamine hydrochloride) 2 มล.

7. นำสารละลายไปวัดปริมาณปรอทด้วย Flameless AAS

3.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารปรอทรวมจากตัวอย่างหอยกะพง

1. ใช้ตัวอย่างหอยกะพงที่อบแห้งอุณหภูมิ 70-75°ซ บดละเอียด 1-2 กรัม เติมกรดไนตริคเข้มข้น - กรดซัลฟุริคเข้มข้น (1 : 1) 20มล.

2. predigest ที่ 95°ซ 20 นาที จนได้สารละลายใส (clear solution)

3. เติมสารละลายโปตัสเซียมเปอร์ซัลเฟตอิ่มตัว (Saturated $K_2S_2O_8$) 10 มล. และน้ำกลั่น 50 มล.

4. ทำการย่อยสลาย (digest) ต่อที่อุณหภูมิ 95°ซ ใน water bath 2 ชั่วโมง

5. ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติม20 มล. ของสารละลายโซเดียมคลอไรด์-ไฮดรอกซิลามีนไฮโดรคลอไรด์

6. นำสารละลายที่ได้ไปวัดปริมาณปรอทด้วย Flameless AAS

หมายเหตุ

- เติมสารละลายโปตัสเซียมเปอร์มังกาเนตและโปตัสเซียมเปอร์ซัลเฟต เพื่อออกซิไดส์ สารประกอบปรอทให้เป็นเมอคิวรคอิออน (Hg^{2+})
- เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์-ไฮดรอกซิลามีนไฮโดรคลอไรด์เพื่อไปรีดิวส์ออกซิไดส์ซิ่งเอเจนต์ (oxidizing agent) ที่เหลือ
- เมอคิวริคอิออนจะถูกรีดิวส์เป็น Hg^{o} ด้วยสารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์

3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารปรอทอินทรีย์จากตัวอย่างดินตะกอนและหอยกะพง

1. ใช้ตัวอย่างดินตะกอน (หอยกะพง) 10 กรัม ทำการย่อยสลายด้วยกรดไฮโดรคลอริค (1 : 1) ทิ้งค้างไว้ 1 คืน แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman No.42)

2. เทสารละลายที่ได้จากข้อ 1 ลงในกรวยแยกสาร (Separating funnel) แล้วเติมสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) 1% 20 มล. และเบนซีน (C_6H_6) 40 มล. เขย่าประมาณ 5 นาที เก็บชั้นของเบนซีนไว้ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง

3. เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 20 มล. ลงไปล้างชั้นของเบนซีนทำซ้ำหลาย ๆ ครั้งจนได้ค่า pH ของชั้นสารละลายโซเดียมคลอไรด์เป็นกลาง

4. เติมสารละลายแอล-ซีล่ทีน 0.1% 8 มล. ลงไปแล้วเขย่า 10 นาที เก็บชั้นของสารละลาย แอล-ซีล่ทีนไว้

5. เติม 2 N กรดไฮโดรคลอริค 5 มล. เขย่า 5 นาที เก็บชั้นของเบนซีน

6. เติมสารโซเดียมซัลเฟต (anhydrous Na_2SO_4) ลงในสารละลายเบนซีนที่ได้จากข้อ 5 เล็กน้อย ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง

i 1703629x

7. นำสารละลายเบนซีนที่ได้ไปวัดหาปริมาณสารปรอทอินทรีย์ด้วย Gas-Liquid Chromatography

แผนผังแสดงการสกัดสารปรอทอินทรีย์จากดินตะกอนและหอยกะพง แสดงไว้ในหน้า ๓๙

หมายเหตุ

- กรดไฮโดรคลอริคใช้ในการแยก R-Hg จาก bonded form แล้วเปลี่ยนเป็น RHgCl

- สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ใช้ในการป้องกันไม่ให้เกิดการจับตัวกันของ R-Hg กับสารประกอบซัลเฟอร์ (ในการเติมกรดไฮโดรคลอริคลงในตัวอย่างจะเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ซึ่งจะไปยับยั้งไม่ให้ R-Hg รวมตัวกับซีล่ทีน)

- แอล-ซิล่ทีนใช้ในการ clean - up โดยที่จะมีแต่ R-Hg ที่จับตัวกับซีล่ทีน

- อินเตอร์นัลแล่ตนดาร์ด ใช้เพื่อหลีกเลี่ยงความผิดพลาดซึ่งเนื่องมาจากปริมาตรของสารที่ฉีดเข้าเครื่อง G.C. ซึ่งในที่นี้ ใช้ p-nitro benzyl chloride

3.2.4 การเตรียมสารละลายปรอทมาตรฐานและสารเคมีในการวิเคราะห์ปริมาณสารปรอทรวม

ก. สารละลายปรอทมาตรฐาน

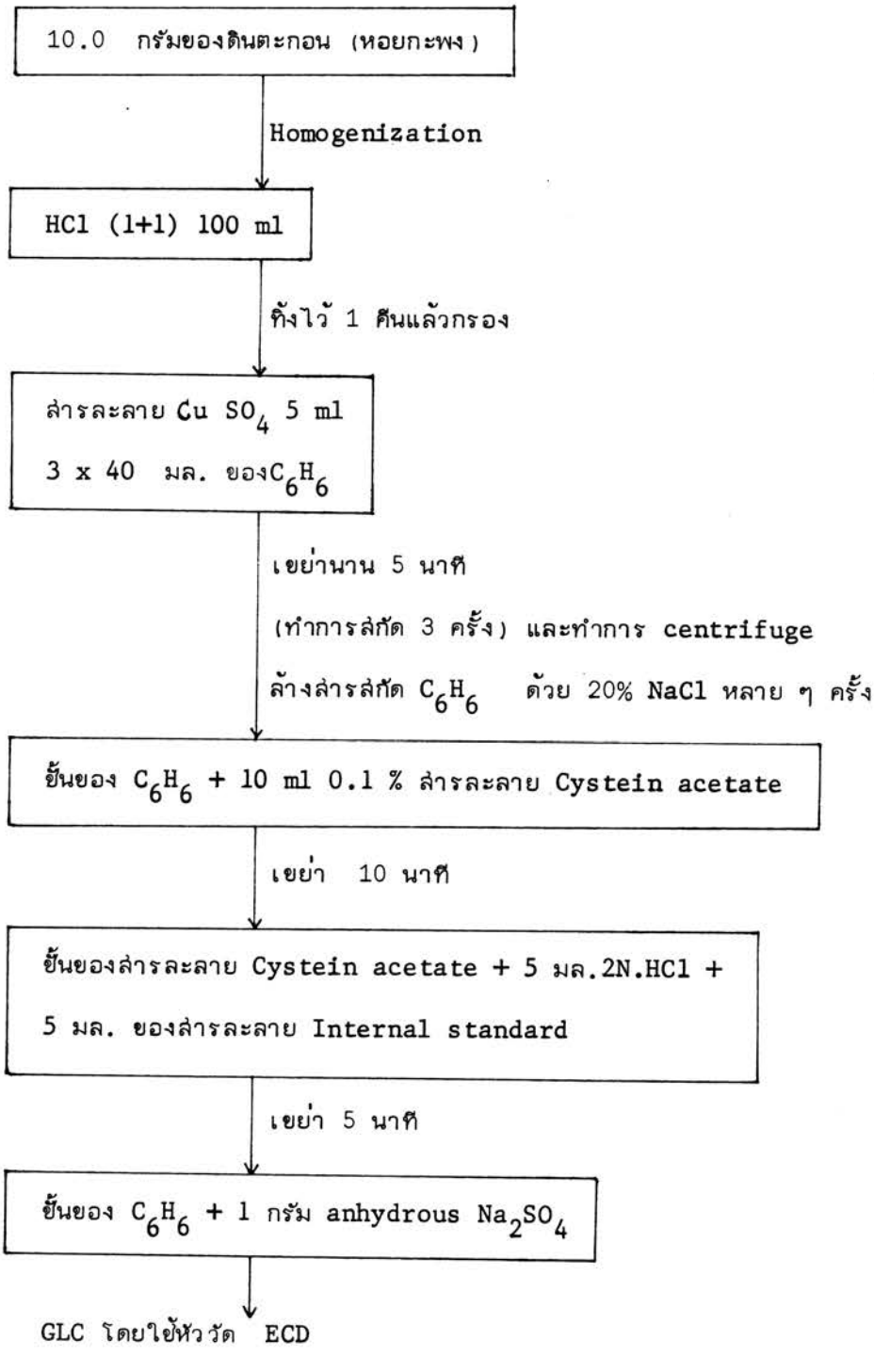
1. Stock Mercury Solution (1000 ไมโครกรัมปรอท/มล.)

ละลาย 1.080 กรัมของสารเมอคิวรี (II) ออกไซด์ (HgO) ในกรดไฮโดรคลอริค (1 + 1) (ใช้ให้น้อยที่สุดจนละลายหมด) แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2. Standard Mercury Solution

ใช้ stock Mercury Solution 100 ไมโครลิตร แล้วทำให้เป็น 100 มล. ด้วย 1.5% กรดไนตริก (HNO_3) จะได้สารละลายที่มีความ

ขั้นตอนการสกัดสารปรอทอินทรีย์จากดินตะกอน (หอยกะพง)



เข้มข้นปรอท 1 ไมโครกรัม - ปรอท/มล. แล้วทำให้สารคงตัวด้วยสารละลายโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต ($KMnO_4$) 5% 2-3 หยด

ข. สารเคมี (ทุกชนิดใช้ analytical reagent grade)

1. สารละลายไฮดรอกซีลามีน ไฮโดรคลอไรด์ (Hydroxylamine hydrochloride) : ละลาย 12 กรัมของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) และ 12 กรัมของไฮดรอกซีลามีนซัลเฟต (Hydroxylamine sulfate) ในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มล.

2. สารละลาย 5% โปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต ($KMnO_4$) : ละลายสารโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต 5 กรัมในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มล.

3. สารละลายโปตัสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) : ละลายโปตัสเซียมเปอร์ซัลเฟต 5 กรัม ในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มล.

4. สารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรด์ ($NaBH_4$) ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1 กรัม ด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มล. แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง GFC

3.2.5 การเตรียมสารละลายปรอทมาตรฐานและสารเคมีในการวิเคราะห์ปริมาณสารปรอทอินทรีย์

ก. สารละลายปรอทมาตรฐาน

1. Alkylmercury Standard Solution (Methylmercury และ Ethylmercury) : ละลาย 0.01 กรัมของเมธิลเมอคิวรีคลอไรด์ (CH_3HgCl) หรือเอทธิลเมอคิวรีคลอไรด์ (C_2H_5HgCl) ลงในเบนซีน (C_6H_6) ให้ได้ปริมาตรเป็น 100 มล. แล้วเจือจางต่อด้วยเบนซีนจนได้ Stock Solution 1 มล.= 1ไมโครกรัม Alkylmucury แล้วเจือจางต่อด้วยสารละลาย Internal Standard และเบนซีนจนได้สารละลาย Alkylmercury Standard 1 มล.= 0.1 ไมโครกรัม Alkylmercury = 0.1 ไมโครกรัม Internal Standard (โดยการเจือจางลง 10 เท่า)

ข. สารเคมี

1. 0.1% สารละลายซิสทีนอะซีเตต (Cystein-Acetate

Solution) : ละลาย 0.1 กรัมของโซเดียมอะซีเตต (CH_3COONa) และ 13 กรัมของแอนไฮดรัส โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) ด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มล. (ต้องเตรียมใหม่ทุกวัน)

2. สารละลาย Internal Standard : ละลาย 0.01 กรัมของพารา-ไนโตร-เบนซิลคลอไรด์ ($NO_2C_6H_4CH_2Cl$) ด้วยเบนซีนจนได้ปริมาตร 100 มล. แล้วเจือจางด้วยเบนซีนต่อไปจนได้ความเข้มข้นของสารละลาย Internal Standard

1 มล. = 1 ไมโครกรัม-พารา-ไนโตร-เบนซิลคลอไรด์

3.3 ค่าความแม่นยำ (Precision)

ตารางที่ 3.1 การทดสอบความแม่นยำของเครื่องมือวิเคราะห์ปริมาณสารปรอทรวม

จำนวนซ้ำ	Absorbance	
	สารละลายปรอทมาตรฐานเข้มข้น 100ng	สารละลายตัวอย่างดินตะกอน + สารละลายปรอทมาตรฐานเข้มข้น 100 ng
1	0.044	0.238
2	0.045	0.235
3	0.047	0.236
4	0.044	0.239
5	0.043	0.233
6	0.042	0.237
ค่าเฉลี่ย	0.044 ± 0.002	0.236 ± 0.002

ตารางที่ 3.2 การทดสอบความแม่นยำของเครื่องมือวิเคราะห์สารปรอทอินทรีย์

จำนวนซ้ำ	Peak area ($x10^{-6}$ μV/min)	
	สารละลายมาตรฐานเมธิลเมอคิวรีคลอไรด์เข้มข้น 0.125 ng	สารละลายมาตรฐานเอธิลเมอคิวรีคลอไรด์เข้มข้น 0.125 ng
1	359483	807739
2	381288	877098
3	361547	674812
4	373347	799946
ค่าเฉลี่ย	368916 ± 10263	789899 ± 84198

3.4 เปอร์เซ็นต์ Recovery

เปอร์เซ็นต์ Recovery หาได้โดย

ก. วัดหาปริมาณปรอทในสารละลายตัวอย่าง

ข. เติมสารละลายปรอทมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนลงในตัวอย่างเดิมก่อนทำการสกัด แล้ววิเคราะห์ปริมาณปรอท

ทั้งนี้ % Recovery $= \frac{\text{ปริมาณปรอทใน ข}}{\text{ปริมาณปรอทใน ก + ปริมาณปรอทที่เติมลงไป}} \times 100$

และค่าพิสัย (Range) ของ % Recovery = ค่าพิสัย (Range) ของ % Recovery ต่ำสุดถึงสูงสุด

ตารางที่ 3.3 เปอร์เซ็นต์ Recovery ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารปรอทรวมในดินตะกอน

ครั้งที่	สารละลายตัวอย่าง (ก)		ปริมาณปรอทที่เติมลงไป (µg/20 ml)	สารละลาย (ข)		% recovery
	Absorbance	ปริมาณปรอท(µg/20ml)		Absorbance	ปริมาณปรอท (µg/20ml)	
1	0.225	0.221	0.088	0.310	0.310	100.03
2	0.218	0.214	0.088	0.280	0.279	92.11
3	0.213	0.209	0.088	0.279	0.277	92.98
4	0.220	0.216	0.088	0.303	0.303	99.38
5	0.222	0.218	0.088	0.304	0.304	99.06
6	0.232	0.228	0.088	0.307	0.307	96.88

$\overline{X}$ = 96.74% S.D. = $\pm$ 3.43 RSD = 3.55 %

Range of % Recovery = 92.11% ถึง 100.03%

ตารางที่ 3.4 เปอร์เซ็นต์ Recovery ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารปรอทรวมในหอยกะพง

ครั้งที่	สารละลายตัวอย่าง (ก)		ปริมาณปรอทที่เติมลงไป (µg/20ml)	สารละลาย (ข)		% recovery
	Absorbance	ปริมาณปรอท (µg/20ml)		Absorbance	ปริมาณปรอท (µg/20ml)	
1	0.046	0.044	0.020	0.057	0.054	84.38
2	0.021	0.021	0.020	0.040	0.038	92.68
3	0.016	0.017	0.020	0.035	0.034	91.89
4	0.021	0.021	0.020	0.038	0.037	92.68
5	0.024	0.024	0.020	0.044	0.042	95.45

$\overline{X}$ = 91.42 % S.D. = $\pm$ 4.16 RSD = 4.55 %

Range of % Recovery = 84.38% ถึง 95.45%

ตารางที่ 3.5 เปอร์เซ็นต์ Recovery ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารปรอทอินทรีย์ในรูปเมธิลเมอคิวริคคลอไรด์ในดินตะกอน

ครั้งที่	สารละลายตัวอย่าง (ก)		CH_3HgCl ที่เติมลงไป (ng/3 µl)	สารละลายตัวอย่าง (ข)		% recovery
	Peak area CH_3HgCl ($\times 10^{-6}$ µV/min)	CH_3HgCl (ng/3 µl)		Peak area CH_3HgCl ($\times 10^{-6}$ µV/min)	CH_3HgCl (ng/3 µl)	
1	18790	0.029	0.030	53428	0.057	96.61
2	25354	0.034	0.030	52121	0.056	87.50
3	27631	0.036	0.030	55003	0.058	87.88
4	21448	0.031	0.030	54127	0.058	95.08

$\overline{X}$ = 91.77 S.D. = $\pm$ 4.75 RSD = 5.18 %

Range of % Recovery = 87.50% ถึง 96.61%

ตารางที่ 3.6 เปอร์เซ็นต์ Recovery ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารปรอทอินทรีย์ในรูปเอธิลเมอคิวริคคลอไรด์ในดินตะกอน

ครั้งที่	สารละลายตัวอย่าง (ก)		C_2H_5HgCl ที่เติมลงไป (ng/3µl)	สารละลายตัวอย่าง (ข)		% recovery
	Peak area C_2H_5HgCl ($\times 10^{-6}$ µV/min)	C_2H_5HgCl (ng/µ3 1)		Peak area C_2H_5HgCl ($\times 10^{-6}$ µ V/min)	C_2H_5HgCl (ng/3µl)	
1	-	0	0.060	251315	0.055	91.67
2	-	0	0.060	238116	0.053	88.33
3	-	0	0.060	230495	0.052	86.67
4	-	0	0.060	258668	0.056	93.33

$\bar{X}$ = 90.00 S.D. = $\pm$ 3.042 RSD = 3.38 %

Range of % Recovery = 86.67 % ถึง 93.33%

ตารางที่ 3.7 เปอร์เซ็นต์ Recovery ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารปรอทอินทรีย์ในรูปเมธิลเมอคิวริคคลอไรด์ในหอยกะพง

ครั้งที่	สารละลายตัวอย่าง (ก)		CH_3HgCl ที่เติมลงไป (ng/ 3µl)	สารละลายตัวอย่าง (ข)		% recovery
	Peak area CH_3HgCl ($x10^{-6}$ µV/min)	CH_3HgCl (ng/ 3µl)		Peak area CH_3HgCl ($x10^{-6}$ µV/min)	CH_3HgCl (ng/ 3µl)	
1	28162	0.037	0.030	60174	0.063	94.03
2	30652	0.039	0.030	59446	0.062	89.86
3	27811	0.036	0.030	54723	0.058	87.88
4	21819	0.031	0.030	50768	0.055	90.16

$\overline{X}$ = 90.48 S.D. = $\pm$ 2.57 RSD = 2.84 %

Range of % Recovery = 87.88% ถึง 94.03%

ตารางที่ 3.8 เปอร์เซ็นต์ Recovery ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารปรอทอินทรีย์ในรูปของเอธิลเมอคิวริคคลอไรด์ในหอยกะพง

ครั้งที่	สารละลายตัวอย่าง ก		C_2H_5HgCl ที่เติมลงไป (ng/3 µl)	สารละลายตัวอย่าง ข		% recovery
	Peak area C_2H_5HgCl ($x10^{-6}$ µv/min)	C_2H_5HgCl (ng/3 µl)		Peak area C_2H_5HgCl ($x\ 10^{-6}$ µv/min))	C_2H_5HgCl (ng/3 µl)	
1	286554	0.086	0.060	526914	0.134	91.78
2	279112	0.084	0.060	528186	0.134	93.06
3	290305	0.086	0.060	540878	0.136	93.15
4	280988	0.085	0.060	553423	0.139	95.86

$\overline{X}$ = 93.46 S.D. = $\pm$ 1.72 RSD = 1.24 %

Range of % Recovery = 91.78 % ถึง 95.86 %