

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาการแปรผันในระยะยาวของคุณภาพน้ำบริเวณอ่าวไทยตอนใน
วิธีดำเนินการศึกษา

1. ศึกษาและรวบรวมข้อมูล

รวบรวมข้อมูลทุติยภูมิของดัชนีคุณภาพน้ำ ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ความเป็นกรดเป็นด่าง และความโปร่งใส ตั้งแต่ปี 2533-2537 จากสถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยจัดแบ่งข้อมูลออกเป็น 2 ชุดคือ ข้อมูลที่ได้จากการสำรวจในช่วงเดือน มกราคมถึงมิถุนายน (ฤดูแล้ง) ซึ่งเป็นช่วงที่น้ำจืดจากแม่น้ำทั้ง 4 สายไหลลงสู่อ่าวไทยมีปริมาณน้อย และข้อมูลชุดที่ได้จากการสำรวจในช่วงเดือน กรกฎาคม-ธันวาคม (ฤดูฝน) ซึ่งเป็นช่วงที่ปริมาณน้ำจืดจากแม่น้ำทั้ง 4 สายไหลลงสู่อ่าวไทยในปริมาณมาก

บริเวณที่ดำเนินการศึกษา จุดเก็บตัวอย่างได้ถูกกำหนดขอบเขตไว้ในบริเวณอ่าวไทยตอนใน ซึ่งสถานีที่ดำเนินการศึกษารวมทั้งสิ้น 11 สถานีตามที่ได้แสดงไว้ในรูปที่ 3 โดยมีตำแหน่งดังต่อไปนี้

สถานีที่ 1 ปากแม่น้ำท่าจีน

สถานีที่ 2 ปากแม่น้ำเจ้าพระยา

สถานีที่ 3 ปากแม่น้ำบางปะกง

สถานีที่ 4 หาดบางแสน

สถานีที่ 5 บริเวณศรีราชา

สถานีที่ 6 เกาะสีชังฝั่งตะวันออก

สถานีที่ 7 เกาะสีชังฝั่งตะวันตก

สถานีที่ 8 บริเวณแหลมฉบัง

สถานีที่ 9 บริเวณพัทยา

สถานีที่ 10 ฆาปตาพุด

สถานีที่ 11 กลางอ่าวไทยตอนบน

รายละเอียดของสถานีต่าง ๆ จะแสดงไว้ในภาคผนวก ข

การวัดคุณภาพน้ำและเก็บตัวอย่างน้ำทะเลโดยเก็บตัวอย่างที่ 2 ระดับความลึก ที่บริเวณ น้ำทะเลผิวหน้า และระดับล่าง คุณภาพน้ำทางกายภาพที่ทำการตรวจวัดขณะเก็บตัวอย่าง ได้แก่ อุณหภูมิ น้ำทะเล ใช้ YSI model 3800 S-C-T meter วัดที่ความลึกเดียวกับความลึกที่ทำการเก็บ ตัวอย่างน้ำทะเล (หน่วยเป็น องศาเซลเซียส)

ความเค็ม ใช้ YSI model 3800 S-C-T meter วัดที่ความลึกเดียวกับความลึกที่ทำการเก็บ ตัวอย่างน้ำทะเล (หน่วยเป็น ส่วนในพันส่วน)

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ใช้ YSI model 3800 S-C-T meter วัดที่ความลึกเดียวกับความลึกที่ทำการเก็บตัวอย่างน้ำทะเล (หน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร)

ความเป็นกรดเป็นด่าง ใช้ GEM pH meter วัดที่ความลึกเดียวกับความลึกที่ทำการเก็บตัวอย่าง น้ำทะเล

ความโปร่งใส ใช้ sechi-disc ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร วัดความลึกที่แสงสามารถส่อง ผ่านลงไปได้ (หน่วยเป็นเมตร)

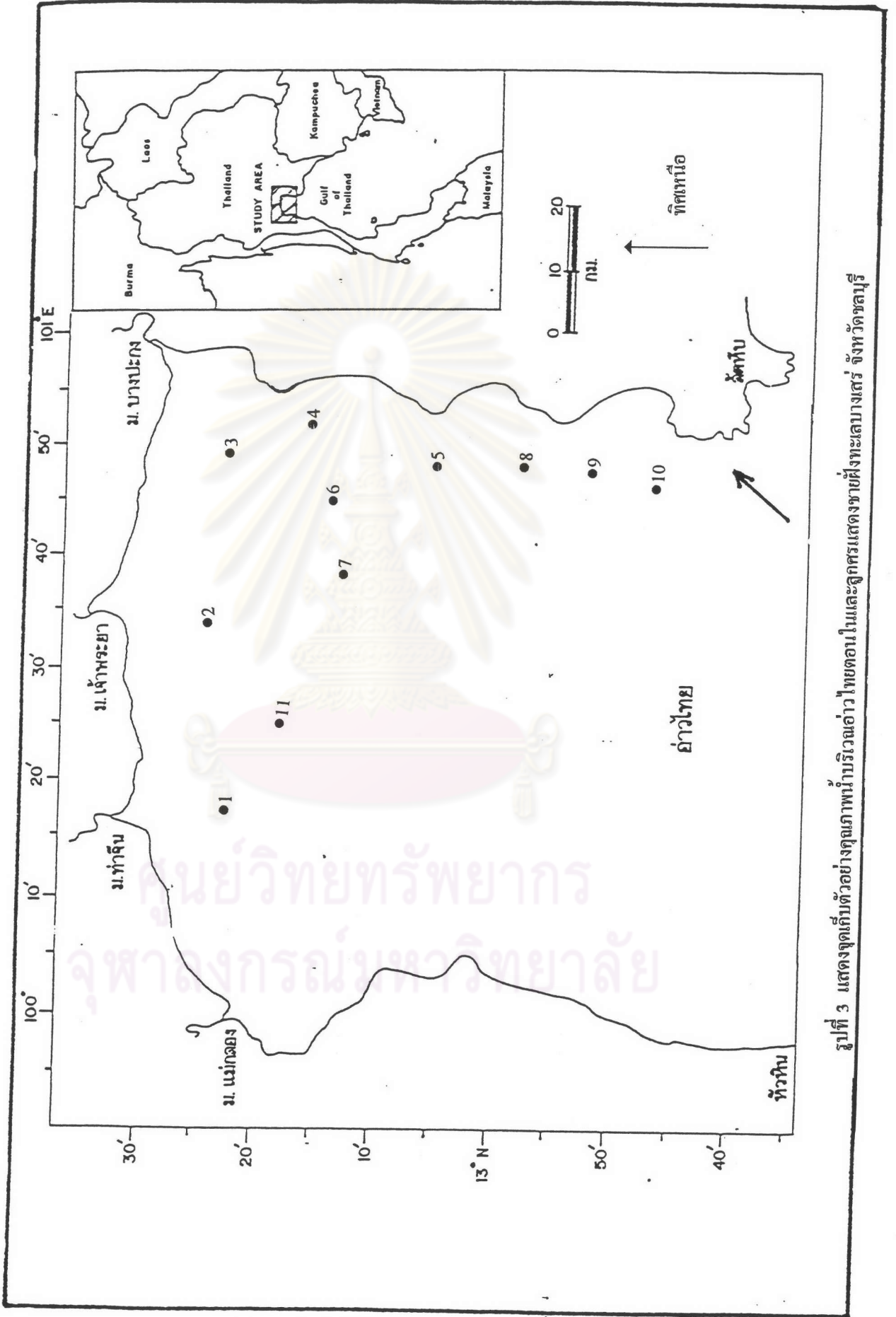
2. วิเคราะห์และแปรผลทางสถิติ

ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของดัชนีคุณภาพน้ำต่าง ๆ ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ความเป็นกรดเป็นด่าง และความโปร่งใส ที่ระดับความลึก ฤดูกาล สถานที่ที่ทำการศึกษาและระยะเวลาต่าง ๆ โดยใช้ F-test

หาความสัมพันธ์ของดัชนีคุณภาพน้ำต่าง ๆ กับระยะเวลา(ปี) ฤดูกาล สถานที่ที่เก็บ ตัวอย่าง ระดับความลึก โดยการวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ (Multiple regression Analysis)

หาความสัมพันธ์ของดัชนีคุณภาพน้ำต่าง ๆ กับระยะเวลาโดยการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นอย่างง่าย (Simple Regression Analysis)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3 แสดงจุดเก็บตัวอย่างคุณภาพน้ำบริเวณอ่าวไทยตอนในและสุกครแสดงชายฝั่งทะเลบางสระ จังหวัดชลบุรี

การศึกษาปริมาณการสะสมและการเพิ่มขยายทางชีวภาพของปรอท ตะกั่วและแคดเมียม

อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง จำแนกได้ 6 รายการดังนี้

1. ถุงลากลูกโป่งกักต่อน้ำขนาด 70 ไมครอน
2. ถุงลากลูกโป่งกักต่อน้ำขนาด 300 ไมครอน
3. เครื่องมืออวนลอย
4. กระจาดกรอง millipore 0.45 ไมครอน
5. กล่องโฟมเก็บตัวอย่างปลา
6. ถุงพลาสติก

อุปกรณ์สำหรับเตรียมตัวอย่าง จำแนกได้ 5 รายการดังนี้

1. มีด พลาสติกสีขาว
2. ปากคืบเทพลอน
3. ไม้บรรทัด
4. เครื่องชั่ง
5. เครื่องบดไฟฟ้า

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่าง จำแนกได้ 15 รายการดังนี้

1. เครื่องชั่งชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง
2. ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ
3. เตาเผาอุณหภูมิสูง ชนิดควบคุมอุณหภูมิได้
4. ครกบดสาร
5. ครัวชิลิล ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร
6. Hot plate ชนิดที่ปรับอุณหภูมิได้
7. Water bath ชนิดที่มีฝาปิด และมีฝาเปิดด้านบน
8. ตะเกียง
9. กระจาดกรอง เบอร์ 1 ของ Wattman

10. กรวยแยกขนาด 250 และ 125 มิลลิลิตร
11. Volumetric flask ขนาด 25, 100, 5000, 1000 มิลลิลิตร
12. Micro pipette ขนาด 100, 1000 และ 5000 ไมโครลิตร
13. ขวดพลาสติก polyethylene ขนาด 60 มิลลิลิตร (HDPE Nalgene)
14. เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS)
15. เครื่อง Hg Analyser (Mercometer Model 3200)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ จำแนกได้ 13 รายการดังนี้

1. กรดไนตริกเข้มข้น AR grade ที่กลั่นใหม่ด้วย teflon distillation
2. กรดซัลฟูริกเข้มข้น AR grade
3. คลอโรฟอร์ม
4. เอทานอล
5. Ammonium hydroxide
6. Ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (APDC)
7. di-Ammonium hydrogen citrate (DHC)
8. Magnesium nitrate
9. Vanadium pentoxide
10. Hydrogen permanganate
11. Stannous chloride reducing solution
12. NaCl
13. สารละลายมาตรฐานของปรอท แคดเมียม และตะกั่ว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีดำเนินการศึกษา

บริเวณที่ทำการศึกษา

บริเวณที่ทำการเก็บตัวอย่าง สิ่งมีชีวิต ได้แก่ แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ และปลา ทะเลชนิดต่าง ๆ เก็บจาก บริเวณชายฝั่งทะเล บางเสร่ จังหวัดชลบุรีระหว่างเส้นลองจิจูดที่ $100^{\circ} 45'$ ตะวันออกถึง $100^{\circ} 54'$ ตะวันออก และเส้นละติจูด $12^{\circ} 46'$ เหนือถึง $12^{\circ} 29'$ เหนือ พื้นที่ดังกล่าวแสดงในรูปที่ 3

ระยะเวลาที่ทำการศึกษา เดือนมีนาคม 2538

1. การเก็บตัวอย่าง

1.1 ตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช และแพลงก์ตอนสัตว์ เก็บโดยใช้ฉลากแพลงก์ตอนขนาด 70 และ 300 ไมคอนตามลำดับ โดยลากตามแนวนอน ในบริเวณจุดเก็บตัวอย่างนำตัวอย่างที่ได้ล้างด้วยน้ำกลั่นใส่ถุงพลาสติกแช่แข็งที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส

1.2 ตัวอย่างปลาเก็บโดยใช้ฉลาก นำตัวอย่างมาแยกชนิด ชั่งน้ำหนัก วัดความยาว ล้างด้วยน้ำกลั่น นำใส่ถุงพลาสติก และนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ปรอท แคดเมียมและตะกั่ว

2.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปรอท ในเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิต มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

2.1.1. ชั่งตัวอย่างเนื้อเยื่อประมาณ 1 - 2 กรัม ใส่ใน Flask ขนาด 250 มิลลิลิตร

2.1.2. ใส่ลูกแก้วกันเดือดประมาณ 3 - 5 เม็ด

2.1.3. เติม vanadium petoxide ประมาณ 0.1 กรัมลงไปในช่วงย่อยเพื่อเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

2.1.4. เติมสารละลายกรดผสมของ $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4$ (1:1) ลงไป 25 มิลลิลิตร

2.1.5. ปิดปาก flask ด้วยกระจกนาฬิกา ย่อยใน water bath ที่อุณหภูมิประมาณ 95 องศาเซลเซียส ประมาณ 20 นาที หรือจนสารละลายใส

2.1.6. เติม $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ที่อิมตัวลงไป 10 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2.1.7. ย่อยต่อไปที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส อีกประมาณ 2 ชั่วโมง

2.1.8. หลังจากนั้นทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องด้วยน้ำเย็น ปรับปริมาตร ให้ได้ 100 มิลลิลิตร

ปิดปาก flask ด้วยพาราฟิล์ม

2.2 การเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว และแคดเมียมในเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิต โดยมีการเตรียมตัวอย่างโดยวิธี dry ashing ตามลำดับต่อไปนี้

2.2.1. ชั่งตัวอย่างสิ่งมีชีวิตประมาณ 1 กรัม โดยให้ละเอียดถึงทศนิยมตำแหน่งที่ 4 ใส่ครูชีเบล

2.2.2. เติมแมกนีเซียมไนเตรต 50 % ปริมาณ 1 มิลลิลิตร แล้วกวนให้เข้ากันโดยแท่งแก้ว

2.2.3. นำไปประเหยตั้งบน Water bath จนกระทั่งตัวอย่างแห้ง

2.2.4. เผาตัวอย่างด้วยตะเกียงบุนเสน จนกระทั่งหมดควันสีขาวในกรณีของ reagent blank ต้องเผาจนกระทั่งหมดควันสีเหลือง

2.2.5. เผาอีกครั้งด้วยเตาเผาควบคุมอุณหภูมิ ที่ 450 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 -3 ชั่วโมง รักษาอุณหภูมิให้คงที่ เพื่อป้องกันการระเหยของโลหะหนักที่ทำการวิเคราะห์ได้ ถ้าตัวอย่างเมื่อทำตามวิธีดังกล่าวข้างต้นยังไม่เป็นสีขาวทั้งหมด ให้นำตัวอย่างออกมาจากเตาเผาแล้วหยดกรดไนตริกเข้มข้นลงไป 1 มิลลิลิตร นำไปประเหยบน Water bath แล้วทำให้แห้งบน Hot plate จากนั้นเข้าเตาเผาควบคุมอุณหภูมิอีกครั้ง ที่อุณหภูมิประมาณ 300 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และก่อนนำเข้าเตาเผาอาจใช้แท่งแก้วช่วยบดตัวอย่าง ให้มีขนาดเล็กลง เพื่อให้ตัวอย่างได้รับความร้อนอย่างทั่วถึง

2.2.6. ตัวอย่างที่เผาเป็นเถ้าสีขาวหรือสีเทาแล้ว เติมกรดไนตริก 20 % ปริมาณ 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปวางบน Hot plate พอเดือด จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วกวนด้วยแท่งแก้วให้ละลายตะกอนทั้งหมด

2.2.7. กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ใส่ขวดวัดปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร ล้างถ้วยด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง

2.2.8. นำสารละลายที่เตรียมได้ (test solution) ไปสกัดโลหะ

นำสารละลายที่เตรียมได้ในข้อ 2.2.8 มาทำการสกัดโดยวิธีของ European Committee for the study of Salt Standardization Commission of Analysis Method ตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

2.2.9. เติมได-แอมโมเนียมไฮโดรเจนซัลเฟต 11.9% ปริมาณ 10 มิลลิลิตรและแอมโมเนียมไพโรโรดีนไดไฮโอคาร์บาเมต 2% ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ลงในกรวยแยกขนาด 250 มิลลิลิตร

2.2.10. เติมสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 2.2.8 ลงไป เขย่า 30 วินาที

2.2.11. เติมคลอโรฟอร์ม 10 มิลลิลิตร เขย่า 1 นาที

2.2.12. โขั่นล่างซึ่งเป็นชั้นของสารอินทรีย์ลงในกรวยแยกขนาด 100 มิลลิลิตร

2.2.13. นำชั้นบนที่เหลืออยู่ซึ่งเป็นชั้นของน้ำมาสกัดต่ออีก 2 ครั้งด้วยคลอโรฟอร์ม ครั้งละ 5 มิลลิลิตร แล้วโขั่นสารอินทรีย์ที่สกัดไปได้รวมกัน

2.2.14. เติมกรดไนตริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ลงในชั้นสารอินทรีย์ซึ่งผ่านขั้นตอนการสกัด แล้วในกรวยแยกส่วนที่ 2 เขย่า 30 วินาที

2.2.15. ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร โดยเติมน้ำกลั่นลงในกรวยแยก เขย่า 1 นาที

2.2.16. โขั่นล่างทิ้งไป (ชั้นคลอโรฟอร์ม) แล้วจึงเทชั้นบนออกจากกรวยแยกใส่ในขวดพลาสติก (Nalgene)

3. วิเคราะห์ปริมาณปรอท ในตัวอย่าง แพลงก์ตอนพืช แพลงก์ตอนสัตว์ และปลาทะเลชนิดต่าง ๆ ด้วยเครื่อง Cold Vapor Atomic Absorption ส่วนตะกั่วและ แคดเมียม ในตัวอย่างด้วยเครื่อง Flammless Atomic Absorption

4. วิเคราะห์และแปรผลทางสถิติ

ทดสอบความแตกต่างของปริมาณการสะสมของปรอท แคดเมียมและตะกั่ว ในแต่ละระดับชั้นของการบริโภครวมโดยใช้หลักการวิเคราะห์ห่าเรียนซ์ (Analysis of Variance)

หาความสัมพันธ์ของปริมาณปรอทกับระดับชั้นของการบริโภครวมโดยใช้การวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นอย่างง่าย (Simple Regression Analysis)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การหาค่า Recovery

เพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีการที่นำมาใช้หาปริมาณของโลหะหนักในตัวอย่าง ให้ผลออกมา
มากน้อยเพียงใด

วิธีการทำ Recovery ของตัวอย่าง

1. นำตัวอย่างมา 1 ตัวอย่าง แบ่งเป็น 3 ส่วน
 2. นำตัวอย่างส่วนที่ 1 ไปวิเคราะห์หาปริมาณโลหะแต่ละชนิดตามวิธีดังกล่าวมาแล้ว
 3. นำตัวอย่างส่วนที่ 2 และ 3 ไปเติม standard ซึ่งทราบปริมาณความเข้มข้นอย่างแน่นอน และจึง
นำไปวิเคราะห์หาปริมาณโลหะในตัวอย่างตามวิธีดังกล่าวแล้วเช่นกัน
- ผลของการทำ Recovery ของตัวอย่างแสดงไว้ในภาคผนวก ข

การทำ Precision

เพื่อแสดงให้เห็นว่า ค่าความแม่นยำ ภายใต้สภาวะการทดลองที่เหมือนกันทุกประการจะมี
การกระจายผลที่ได้มากน้อยเพียงไร

วิธีการทำ precision

1. นำตัวอย่างมา 1 ตัวอย่าง
2. แบ่งตัวอย่างออกเป็น 4 ส่วนๆละ 1 กรัม นำไปวิเคราะห์หาปริมาณของโลหะดังวิธีดังกล่าว
ซึ่งผลจากการหาค่า Precision แสดงไว้ในภาคผนวก ข

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย