



บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงาน

ในการศึกษาการกระจายของโลหะหนักในดินตะกอนจากอ่าวไทยตอนบน ใช้อุปกรณ์และมีวิธีการดำเนินงานดังต่อไปนี้คือ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับเก็บตัวอย่าง

- Gravity Corer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง $1\frac{1}{2}$ นิ้ว และมีความยาวของท่อเจาะ 1 เมตร
- เครื่องมือตัด Section ดินตะกอนที่เก็บได้ ทำด้วย Stainless steel และ Teflon
- ถุงพลาสติกที่สะอาดสำหรับเก็บตัวอย่างดิน

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

2.1 อุปกรณ์สำหรับเตรียมตัวอย่างดิน

- กระจกนาฬิกาสำหรับผึ่งดินตะกอน
- เตารอบ
- เครื่องชั่งชนิดละเอียด
- โกร่งบดดิน

2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนัก

- ปีกเกอร์ Nalgene ขนาด 250 ml.
- Decomposition Vessel ที่ทำด้วย Teflon
- ขวด Nalgene ขนาด 125 และ 250 ml. พร้อมฝาปิดสำหรับสกัดตัวอย่าง

- Volumetric flask ขนาด 10, 25, 50 และ 100 มล.
- Pipette ขนาด 1, 5, 10, 25 มล.
- เตาดอบ
- เครื่องเขย่า สำหรับเขย่าขวด Nalgene
- เครื่อง Centrifuge
- pH - meter ชนิดความแม่นยำสูง
- เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ชนิด Double beam ยี่ห้อ PYE UNICAM Model SP 2900 พร้อมด้วย Graphite furnace และ Deuterium Lamp Background correction
- เครื่อง AA Data Center พร้อมด้วย magnetic card program ซึ่งสามารถ interface กับ SP 2900 ได้

2.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะรวมตามวิธีของ Loring and Rantala (1977)

- Aqua Regia (HNO_3 : HCl , 1 : 3 v/v)
- Hydrofluoric acid (HF) เข้มข้น
- Boric acid

2.4 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะด้วยวิธีการ Leaching ตามวิธีการของ Chester and Voutsinou, (1981)

- สารละลายกรด Hydrochloric (HCl) ความเข้มข้น 0.5 N

2.5 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโลหะด้วยวิธี Sequential Extraction ตามวิธีการของ Tessier et. al. (1979)

2.5.1 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ Fraction 1 Exchangeable

- สารละลาย Magnesium Chloride (MgCl_2) ความเข้มข้น 1.0 M ปรับแต่งจนมี pH เป็น 7.0 ด้วย Nitric acid

2.5.2 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ Fraction 2 Bound to Carbonates

- สารละลาย Sodium acetate (NaOAc) ความเข้มข้น 1.0 M
ปรับแต่งจนมี pH = 5.0 ด้วย acetic acid

2.5.3 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ Fraction 3 Bound to Iron and Manganese oxides

- สารละลาย Hydroxylamine hydrochloride ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$)
ความเข้มข้น 0.04 M โดยเตรียมในสารละลาย acetic acid
(HOAc) 25 % (v/v)

2.5.4 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ Fraction 4 Bound to Organic Matter

- สารละลายกรด Nitric ความเข้มข้น 0.02 M
- 30 % Hydrogen peroxide (H_2O_2) ปรับแต่งให้มี pH 2.0 ด้วย
Nitric acid
- สารละลาย Ammonium acetate (NH_4OAc) ความเข้มข้น 3.2 M

การดำเนินงาน

1. การกำหนดสถานี

สถานีที่ใช้เก็บตัวอย่างเป็นสถานีที่กำหนดไว้ตามโครงการศึกษาคุณภาพน้ำและคุณภาพ
ทรัพยากรมีชีวิตริคน่าน้ำไทย ซึ่งกำหนดไว้ 19 สถานี ในอ่าวไทยตอนบน

2. การเก็บตัวอย่างดินตะกอน

การเก็บตัวอย่างดินตะกอนกระทำโดยอาศัยเรือสำรวจประมง 1 ของกองสำรวจแหล่ง
ประมง กรมประมง ระหว่างวันที่ 21 - 24 กรกฎาคม 2523 เมื่อเก็บตัวอย่างดินตะกอนได้แล้ว
นำออกจาก Gravity Corer แล้วใช้เครื่องมือตัดแบ่งดินตะกอนออกเป็นชั้น ชั้นละ 5 ซม. โดย
เริ่มจากผิวของดินตะกอน บรรจุในถุงพลาสติกที่สะอาด แล้วแช่แข็งไว้จนกระทั่งเริ่มลงมือทำการวิเคราะห์

3. การเตรียมตัวอย่างดินตะกอนสำหรับการวิเคราะห์

- 3.1 นำตัวอย่างดินตะกอนที่แช่แข็งไว้จากตู้แช่ ทั้งไว้จมน้ำอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง
- 3.2 นำตัวอย่างดินตะกอนออกจากถุงพลาสติก แผลงลงในกระจกนาฬิกา
- 3.3 นำไปอบที่อุณหภูมิ 105° ซ. จนมีน้ำหนักคงที่
- 3.4 นำมาบดในโกร่งจนละเอียด ใช้เป็นตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ต่อไป

4. การเตรียม standard solution ของโลหะแต่ละชนิดที่ทำการศึกษา

สารละลาย standard solution ของโลหะแต่ละชนิดที่ทำการศึกษา เตรียมขึ้นจาก stock standard solution ของ BDH ซึ่งมีความเข้มข้น 1 mg/ml. สารละลายมาตรฐานดังกล่าวนี้เตรียมขึ้นโดยใช้เทคนิคการเตรียมแบบ standard addition โดยนำสารละลายของตัวอย่างที่ได้ในแต่ละวิธีการที่ทราบค่าความเข้มข้นแน่นอนแล้ว (S_x) มาเติม standard solution จนมีความเข้มข้นในระดับที่ต้องการ โดยจัดเตรียมทำ standard solution ของโลหะทุกตัวไว้ดังนี้คือ $S_x + 0.5$, $S_x + 1.0$, $S_x + 2.0$, $S_x + 3.0$, $S_x + 4.0$ และ $S_x + 6.0$ $\mu\text{g/ml}$ สำหรับโลหะแคดเมียม, ทองแดง, ตะกั่ว, สังกะสี, โครเมียม และนิเกิล เพื่อสะดวกในการวัดและคำนวณผลโดยใช้ Program สำเร็จรูปที่มีอยู่ AA Data Center ซึ่งจะสามารถคำนวณความเข้มข้นของตัวอย่างให้ทราบทันที เมื่อวัดค่า absorbance ของตัวอย่างได้ สำหรับโลหะอลูมิเนียม, เหล็กและแมงกานีส ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานโดยการนำ stock standard solution มาทำให้เจือจางลงด้วยน้ำกลั่น จนมีความเข้มข้นเป็น 5, 10 และ 15 $\mu\text{g/ml}$.

5. การทำ Calibration Curve ของสารละลายโลหะมาตรฐานที่เตรียมได้

สารละลาย standard solution ซึ่งมีความเข้มข้นเป็น $S_x + c$, $S_x + 2c$ และ $S_x + 3c$ เมื่อนำมาวัดค่า absorbance ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ค่า absorbance ที่วัดได้จะถูกส่งไปยังเครื่อง AA Data Center ซึ่งได้รับการโปรแกรมด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป ในรูปของ magnetic card เพื่อคำนวณค่า linear regression ของ Calibration Curve ที่ได้ ค่า linear regression ของ

standard solution ที่เลือกใช้เพื่อให้เครื่อง AA Data Center คำนวณความเข้มข้นของ ตัวอย่าง มีค่าสูงกว่า 0.980 ขึ้นไป

การวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์ปริมาณโลหะรวมตามวิธีของ Loring and Rantala (1977)
 - 1.1 ชั่งตัวอย่างดิน 1.0 กรัม ใน Teflon decomposition Vessel
 - 1.2 เติม Aqua regia 1 มล.
 - 1.3 เติมกรด Hydrofluoric เข้มข้น 6 มล. ลงไปอย่างช้า ๆ แล้วปิดฝาของ Decomposition Vessel ให้สนิท
 - 1.4 นำไปอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 90 - 100° ซ. เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
 - 1.5 นำ Decomposition Vessel ออกจากเตาอบ และนำไปจุ่มลงในน้ำเย็น ปล่อยให้ตัวอย่างเย็นตัวลงแล้วทำให้มีปริมาตรเป็น 100 มล. ใน Volumetric flask ซึ่งมี Boric acid บรรจุอยู่ 5.6 กรัม (เพื่อใช้ complex สารประกอบพวก fluoride)
 - 1.7 นำไปวัดปริมาณของโลหะด้วย AAS
2. การวิเคราะห์ปริมาณโลหะด้วยวิธีการ Leaching (Chester and Voutsinou, 1981)
 - 2.1 ชั่งตัวอย่างดิน 2.0 กรัม ลงในขวด Nalgene ขนาด 125 มล.
 - 2.2 เติมสารละลาย Hydrochloric acid ความเข้มข้น 0.5 N ลงไป 30 มล. และปล่อยให้เกิดฟองก๊าซ CO₂ จนหมด ปิดฝาขวด
 - 2.3 นำขวดตัวอย่างไปบรรจุลงในเครื่องเขย่า (Mechanical shaker) เขย่านาน 16 ชั่วโมง
 - 2.4 นำตัวอย่างที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง
 - 2.5 นำไปวัดปริมาณของโลหะด้วย AAS

3. การวิเคราะห์ปริมาณโลหะด้วยวิธีการ Sequential Extraction (Tessier et. al., 1979) ในการวิเคราะห์ด้วยวิธีการนี้ ใช้ดินตะกอน 1.0 กรัม บรรจุในขวดพลาสติกเพื่อใช้เป็นตัวอย่างเริ่มต้น สำหรับการวิเคราะห์ เมื่อทำการวิเคราะห์ในแต่ละขั้นตอนเสร็จแล้ว นำมาปั่นด้วยเครื่องปั่นด้วยความเร็ว 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที และแยกเอา supernatant ออกด้วย pipette ล้างดินตะกอนที่เหลือภายในขวดด้วยน้ำกลั่น 8 มล. แล้วทำการปั่นด้วยเครื่องปั่นอีก 30 นาที แยกเอา supernatant ออกทิ้งไป และเริ่มการวิเคราะห์ขั้นต่อไป

3.1 Fraction 1 Exchangeable

- 3.1.1 เติมสารละลาย Magnesium Chloride ความเข้มข้น 1 M, 8 มล. pH 7.0 ลงในขวดบรรจุตัวอย่าง
- 3.1.2 ทำการเขย่าในเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง
- 3.1.3 แยกสารละลายออกโดยใช้เครื่องปั่น

3.2 Fraction 2 Bound to Carbonates

- 3.2.1 เติมสารละลาย Sodium acetate ความเข้มข้น 1.0 M, pH 5.0 8 มล. ลงในขวดบรรจุตัวอย่างที่แยกสารละลายตามข้อ 3.1 ออกและล้างด้วยน้ำกลั่นแล้ว
- 3.2.2 เขย่าในเครื่องเขย่านาน 4 ชั่วโมง
- 3.2.3 แยกสารละลายที่สะกัดได้ออกโดยใช้เครื่องปั่น

3.3 Fraction 3 Bound to Iron and Manganese Oxides

- 3.3.1 เติมสารละลาย Hydroxylamine hydrochloride ความเข้มข้น 0.04 M ซึ่งเตรียมใน acetic acid 25% (v/v) 20 มล. ลงในขวดบรรจุตัวอย่างที่แยกสารละลายตามข้อ 3.2 ออกและล้างด้วยน้ำกลั่นแล้ว
- 3.3.2 นำขวดตัวอย่างไปใส่ในเตาอบที่อุณหภูมิ 96° ซ. เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

โดยนำขวดตัวอย่างออกมาเขย่าทุก 30 นาที

3.3.3 แยกสารละลายที่สกัดออกได้โดยใช้เครื่องปั่น

3.4 Fraction 4 Bound to Organic Matter

3.4.1 เติมสารละลาย Nitric acid ความเข้มข้น 0.02 M 3 มล.

และ Hydrogen peroxide 30% pH 2.0 5 มล. ลงในขวด
บรรจุตัวอย่างที่แยกสารละลายตามข้อ 3.3 ออกและล้างด้วยน้ำกลั่นแล้ว

3.4.2 นำขวดตัวอย่างไปใส่ในเตาอบที่อุณหภูมิ 85° ซ. เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
โดยนำขวดตัวอย่างออกมาเขย่าทุก 30 นาที

3.4.3 เมื่อครบเวลาแล้วนำขวดตัวอย่างออกมาเติม Hydrogen peroxide
30% pH 2.0 อีก 3 มล.

3.4.4 นำขวดตัวอย่างไปใส่ในเตาอบที่อุณหภูมิ 85° ซ. อีก 3 ชั่วโมง โดยนำ
ขวดตัวอย่างออกมาเขย่าทุก 30 นาที

3.4.5 เมื่อครบกำหนดเวลาและทิ้งตัวอย่างให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิใกล้เคียงกับ
อุณหภูมิห้อง เติมสารละลาย Ammonium acetate ความเข้มข้น
3.2 M ซึ่งเตรียมในสารละลาย Nitric acid 20% (v/v)
5 มล. แล้วเติมน้ำกลั่น 2 มล.

3.4.6 เขย่าในเครื่องเขย่าเป็นเวลา 30 นาที แล้วแยกสารละลายที่สกัดได้
ด้วยเครื่องปั่น

3.4.7 นำสารละลายที่สกัดได้ตามข้อ 3.1 - 3.4 นำไปวัดปริมาณโลหะด้วย
AAS

การวัดปริมาณโลหะด้วย AAS

การวัดปริมาณโลหะแคดเมียม, ทองแดง, ตะกั่ว, สังกะสี, โคโรเนียม, นิเกิล, เหล็ก
และแมงกานีส กระทำโดยใช้วิธี Flame Spectrophotometry ส่วนการวัดปริมาณโลหะอลูมิเนียม
ใช้วิธี Flameless Spectrophotometry โดยทำการฉีดตัวอย่างเข้าไปใน Graphite furnace

สำหรับโลหะเหล็ก, แมงกานีสและอลูมิเนียม เนื่องจากเป็นโลหะที่มีความเข้มข้นในดิน ตะกอนมาก ก่อนการวัดปริมาณโลหะ จึงต้องทำให้เจือจางลงในระดับที่เหมาะสมกับแต่ละวิธีเสีย ก่อน จึงเข้าเครื่องวัด เพื่อให้ได้ความแม่นยำในการวัดมากขึ้น

การปรับแต่งเครื่อง AAS ทำตามคำแนะนำในหนังสือคู่มือของบริษัทผู้ผลิต คือ Pye Unicam Atomic Absorption Data Book ฉบับพิมพ์ครั้งที่ 4

การหาค่าความแม่นยำ (Precision)

เพื่อหาความแม่นยำในการทำการทดลองภายใต้สภาวะการทดลองที่เหมือนกันทุกประการ ในแต่ละวิธีการสำหรับโลหะแต่ละชนิด โดยกระทำดังนี้

1. นำดินตะกอนตัวอย่างมา 1 ตัวอย่าง ผสมให้เข้ากัน และแยกออกเป็น 5 ส่วนตาม น้ำหนักของดินตะกอน
2. นำดินตะกอนแต่ละส่วนไปทำการวิเคราะห์และคำนวณค่าความแม่นยำด้วยเครื่อง AA Data Center ซึ่งทำการคำนวณด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

การหา Recovery ของการวิเคราะห์

เพื่อตรวจสอบว่าวิธีการแต่ละวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในดินตะกอน ให้ผลการวิเคราะห์ออกมาอย่างน้อยเพียงใด โดยกระทำดังนี้

1. นำตัวอย่างดินตะกอนมา 1 ตัวอย่าง ผสมให้เข้ากัน และแบ่งออกเป็น 2 ส่วนเท่า ๆ กัน
2. นำตัวอย่างส่วนหนึ่งไปวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักตามวิธีการดังกล่าวมาแล้ว
3. นำตัวอย่างอีกส่วนหนึ่งมาเติม standard Solution ของโลหะหนักที่ทราบความเข้มข้นและปริมาตรที่แน่นอนลงไป แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักตามวิธีการดังกล่าวมาแล้วเช่นกัน
4. นำค่าที่ได้จากตัวอย่างทั้งสองส่วนมาคำนวณหาค่า recovery percentage ต่อไป

การคำนวณผล

การคำนวณผลในการศึกษาครั้งนี้กระทำโดยเครื่อง AA Data Center ซึ่ง Interface กับเครื่อง AAS โดยมีลำดับการทำงานดังนี้

- 1.1 ทำการโปรแกรมเครื่อง AA Data Center ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปโดยให้เครื่องอ่านจาก magnetic card และต่อเข้ากับเครื่อง AAS
- 1.2 นำ Reagent Blank ผ่านเข้าเครื่อง AAS วัดค่า Absorbance ซึ่งค่าที่ได้จะถ่ายทอดไปยัง AA Data Center โดยอัตโนมัติ
- 1.3 นำตัวอย่างที่ใช้เป็น matrix สำหรับทำ standard addition ผ่านเข้าเครื่อง AAS วัดค่า Absorbance ค่าที่ได้จะถ่ายทอดไปยัง AA Data Center โดยอัตโนมัติ
- 1.4 นำสารละลายโลหะมาตรฐานที่เตรียมไว้ผ่านเข้าเครื่อง AAS 3 ความเข้มข้น คือ $Sx + C$, $Sx + 2c$ และ $Sx + 3c$ (เมื่อ Sx คือความเข้มข้นของโลหะใน matrix และ C คือความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงใน matrix) เครื่อง AAS จะส่งผ่านค่า Absorbance ของสารละลายมาตรฐานทั้ง 3 ตัวไปยัง AA Data Center
- 1.5 เมื่อ AA Data Center ได้รับข้อมูลครบแล้ว จะทำการคำนวณ Linear regression ของ Calibration Curve ออกมา ซึ่งถ้าหากค่าที่ได้มีค่าต่ำกว่า 0.980 จะทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานชุดใหม่ แล้วนำมาทำตามกระบวนการในข้อ 2 - 4 ใหม่ ถ้าหากค่าที่ได้สูงกว่า 0.980 ทำการวัดค่าตัวอย่างต่อไป
- 1.6 นำตัวอย่างที่ต้องการวัดผ่านเข้าเครื่อง AAS ซึ่งค่า Absorbance ของตัวอย่างจะถูกส่งไปยัง AA Data Center และทำการคำนวณความเข้มข้นของตัวอย่างโดยอัตโนมัติ
- 1.7 นำค่าความเข้มข้นที่ได้ในข้อ 6 มาคำนวณดังนี้

ให้ ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างเป็น x มล.

น้ำหนักของดินตะกอนที่นำไปเป็น y กรัม

และ ค่าความเข้มข้นของโลหะที่อ่านได้ z $\mu\text{g/ml}$

นั่นคือ ความเข้มข้นของโลหะในดินตะกอน = $\frac{xz}{y}$ $\mu\text{g/g}$