บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 สารตัวอย่าง การเตรียมสารตัวอย่าง และการอาบรังสีนิวตรอน

3.1.1 สารตัวอย่าง

ตัวอย่างข้าวที่ใช้ในการวิเคราะห์ได้รับความอนุเคราะห์จากกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ประกอบด้วยข้าวขาว และข้าวกล้อง ของข้าวเจ้าและข้าวเหนียว จำนวน 23 พันธุ์ จากแปลงทดลองพันธุ์ข้าว 21 แห่งทั่วประเทศ ดังรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 3.1

คัดเลือกข้าวปริมาณ 1 กิโลกรัมจากแปลงทดลองโดยหลักการสุ่มตัวอย่างแล้วนำมากะเทาะเปลือกด้วยเครื่องกะเทาะเมล็ด (McGill Sheller) ทำซ้ำ 3-4 ครั้ง เพื่อกะเทาะเปลือกออกให้หมด แบ่งข้าวนั้นออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกคือ ข้าวกล้องนำเก็บเข้าถุงพลาสติกเพื่อใช้วิเคราะห์ต่อไป ส่วนที่สองนำมาขัดขาว เพื่อให้เป็นข้าวขาวด้วยเครื่องขัด แล้วเก็บไว้ในถุงพลาสติกเพื่อใช้วิเคราะห์

ตารางที่ 3.1 ตัวอย่างข้าวจากแปลงข้าวพันธุ์หลัก จากสถานีทดลองพันธุ์ข้าวทั่วประเทศที่ใช้ในการวิเคราะห์

ภาค	สถานีทดลองข้าว	ชนิดของข้าวพันธุ์หลักที่ใช้ในการวิเคราะห์
ภาคเหนือ	พาน	ขาวดอกมะลิ 105
	พาน	เหลืองใหญ่ 148
	แพร่	คำผาย 15
	สันป่าตอง	เหมยนอง 62 เอ็ม

ภาค	สถานีทดลองข้าว	ชนิดของข้าวพันธุ์หลักที่ใช้ในการวิเคราะห์
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	อุบลราชธานี	กข 2
	อุบลราชธานี	กข 1
	สกลนคร	กข 1
	สกลนคร	เหนียวสันป่าตอง
	ชุมแพ-ขอนแก่น	หางยี 71
	ชุมแพ	ขาวดอกมะลิ 105
	พิมาย	ขาวปากหม้อ 148
	พิมาย	กข 4
	ขอนแก่น	กข 5
	ขอนแก่น	น้ำสะกุย 19
	สุรินทร์	กำผาย 15
	สุรินทร์	บางเขน 293
ภาคกลาง	บางเขน	ขาวปากหม้อ 148
	คลองหลวง	ตะเภาแก้ว
	รังสิต	กข 1
	ชัยนาท	ขาวดอกมะลิ 105
	หันตรา	ปิ่นแก้ว 56
	สุพรรณบุรี	กข 3
	ราชบุรี	เก้ารวง 88
	ราชบุรี	นางมล เอส 4
	โคกสำโรง	เหลืองประทิว 123
	พิษณุโลก	เล็บมือนาง 111
	พิษณุโลก	กข 5

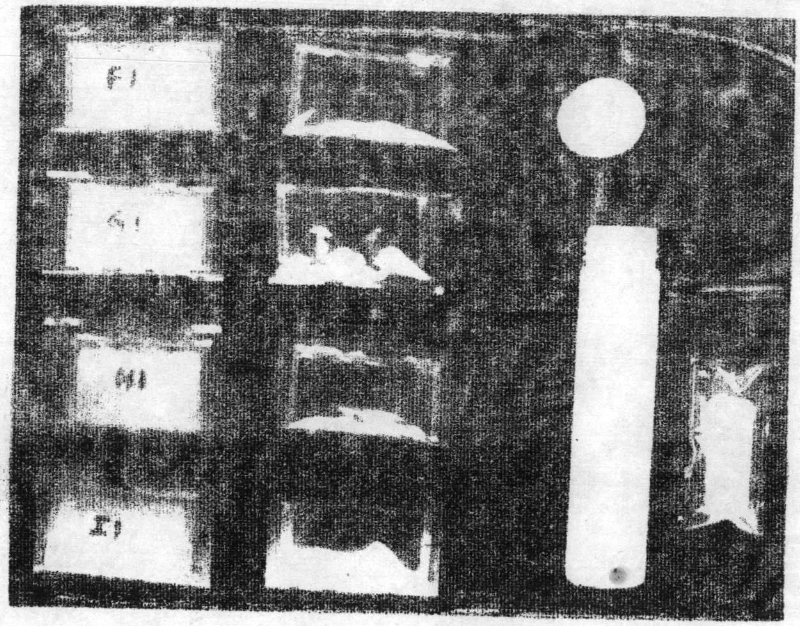
ภาค	สถานีทดลองข้าว	ชนิดของข้าวพันธุ์หลักที่ใช้ในการวิเคราะห์
ภาคใต้	ปัตตานี ควนกฏ	พวงไร่ 2 เผือกน้ำ 43

3.1.2 การเตรียมสารตัวอย่าง

นำตัวอย่างข้าวกล้องและข้าวขาวแต่ละชนิดมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด (crasher and grinder machine) ที่ทำด้วยเหล็กไร้สนิม (stainless steel) และผ่านการทำความสะอาดแล้ว เก็บข้าวตัวอย่างที่บดละเอียดอย่างดีแล้วในภาชนะพลาสติกที่ปิดสนิท เพื่อเก็บไว้ใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

3.1.3 การอาบรังสีนิวตรอน

ชั่งข้าวตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักแน่นอนโดยอยู่ในช่วง 1-2 กรัม และบรรจุลงในถุงพลาสติกขนาดเล็ก ผนึกฝาถุงให้สนิทด้วยความร้อน แล้วบรรจุลงในขวดโพลีเอทธีลีน (polyethylene) ขนาดใหญ่ พร้อมทั้งสารละลายมาตรฐานของสารหนู ซึ่งบรรจุอยู่ในหลอดโพลีเอทธีลีนขนาดเล็ก (รูปที่ 3.1) นำขวดโพลีเอทธีลีนเข้าอาบรังสีนิวตรอนในเครื่องปฏิกรณ์ปรมาณูวิจัย-1 ของสำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ ในตำแหน่งซึ่งมีความเข้มของนิวตรอนประมาณ 10^{12} นิวตรอน ต่อตร.ซม. ต่อวินาที เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ประมาณ 15-17 ชั่วโมง เพื่อให้เรดิโอไอโซโทปที่มีครึ่งชีวิตสั้น ๆ สลายตัวไปบ้าง ก่อนนำไปวิเคราะห์



รูปที่ 3.1 สารตัวอย่างก่อนเข้าอาบรังสีนิวตรอน

3.2 คุณสมบัติทางนิวเคลียร์ของสารหนู

ตารางที่ 3.2 คุณสมบัติทางนิวเคลียร์ของเรดิโอไอโซโทปของโซเดียม แมงกานีส ทองแดง โบรมีนและสารหนู

ไอโซโทปชนิดเสถียร	ปริมาณที่เกิดในธรรมชาติ (%)	ความสามารถในการจับนิวตรอน (บาร์น)	ไอโซโทปที่เกิด	ครึ่งชีวิต	พลังงานแกมมาที่ปลดปล่อย (MeV.)
Na-23	100	0.53	Na-24	15 ชั่วโมง	1.369(100%)
					2.754(100%)
Mn-55	100	13.3	Mn-56	2.58 ชั่วโมง	0.847(99%)
					1.811(29%)
					2.110(15%)
Cu-63	69.1	4.5	Cu-64	12.8 ชั่วโมง	0.511(38%)
Br-79	50.6	8.5	Br-80	18 นาที	0.511(5%)
					0.618(7%)
					0.666(1%)
Br-81	49.4	3.0	Br-82	36 ชั่วโมง	0.777(83%)
					0.554(66%)
					0.619(41%)
As-75	100	5.4	As-76	26.4 ชั่วโมง	0.559(43%)
					0.675(6%)
					1.22 (5%)

จากตารางที่ 3.2 จะเห็นว่าในการอาบรังสีนิวตรอนของสารหนู เพื่อให้เกิดปฏิกริยานิวเคลียร์ชนิด นิวตรอน-แกมม่า นั้น เรดิโอไอโซโทปของสารหนูที่เกิดมีเพียงสารหนู-76 เท่านั้น อย่างไรก็ตามในการวิเคราะห์ปริมาณสาร-หนูในสารตัวอย่างทางชีววิทยา(biological sample) ทั่ว ๆ ไป จะพบการรบกวนจากเรดิโอไอโซโทปของธาตุอื่น ๆ เสมอ ดังได้รวบรวมแสดงไว้ในตาราง-ที่ 3.2

3.3 วิธีดำเนินการวิเคราะห์

3.3.1 การแยกสารหนูโดยกรรมวิธีทางเคมี

นำสารตัวอย่างที่ผ่านการอาบรังสีและทิ้งไว้ให้สลายตัวนานพอควรแล้ว มาแยกสารหนูออกให้บริสุทธิ์ โดยเทคนิคของการกลั่น ในรูปของสาร-ประกอบสารหนูคลอไรด์ กรรมวิธีการกลั่นที่ใช้ในการศึกษาวิจัยนี้ดัดแปลงจากวิธีของ Fer และ Fourcey (1969)ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้ คือ

3.3.1.1 อุปกรณ์และเคมีภัณฑ์

3.3.1.1.1 เครื่องมือกลั่นสารหนู ดังแสดงในรูปที่ 3.2 ซึ่งประกอบด้วย

ก) ขวดกลั่น (boiling flask) เป็นขวดแก้วก้นกลม 2 คอ ความจุ 100 ลบ.ซม.

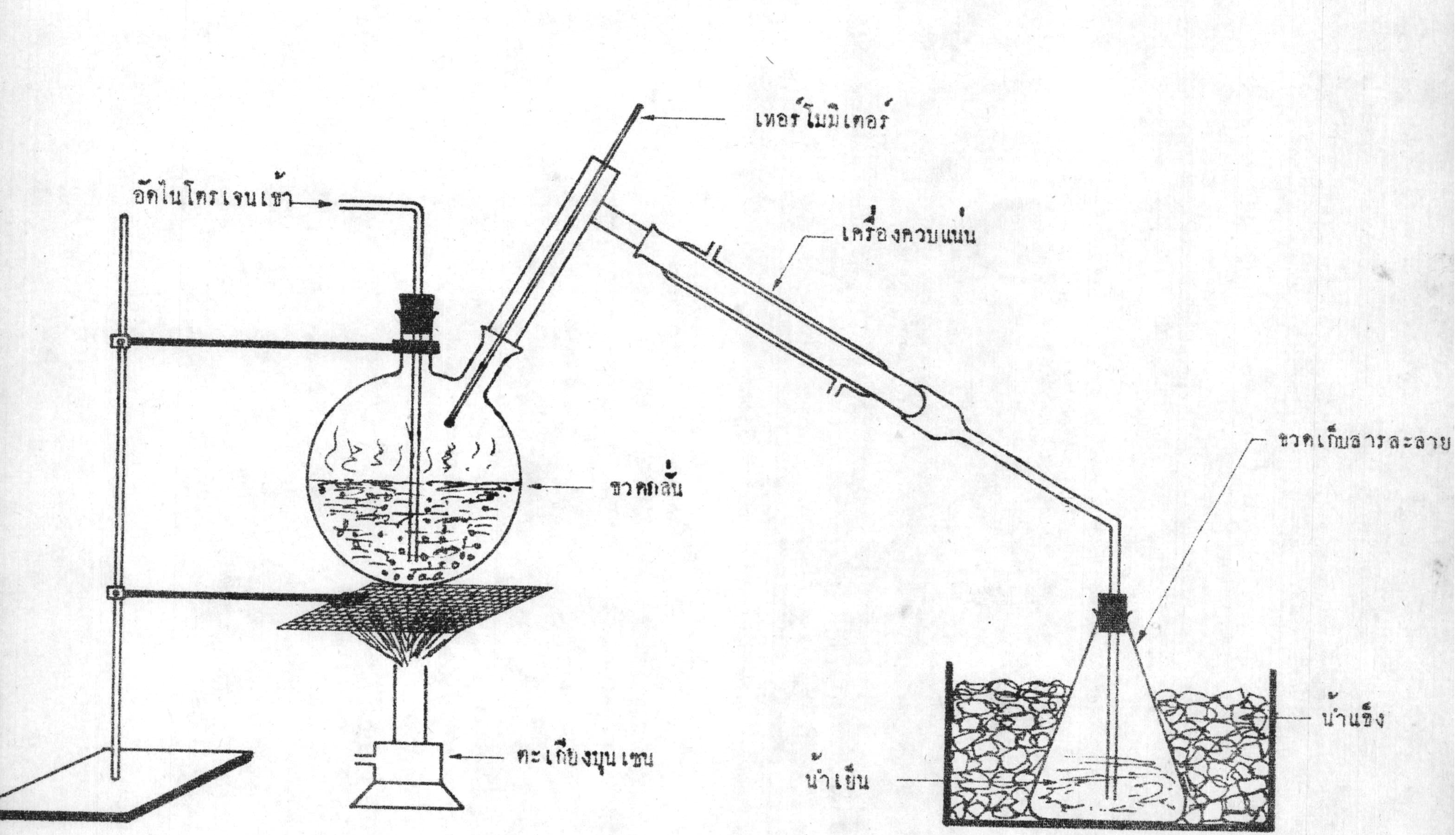
ข) เครื่องควบแน่น (condenser)

ค) เครื่องวัดอุณหภูมิ (thermometer) ระหว่าง 0-250°ซ.

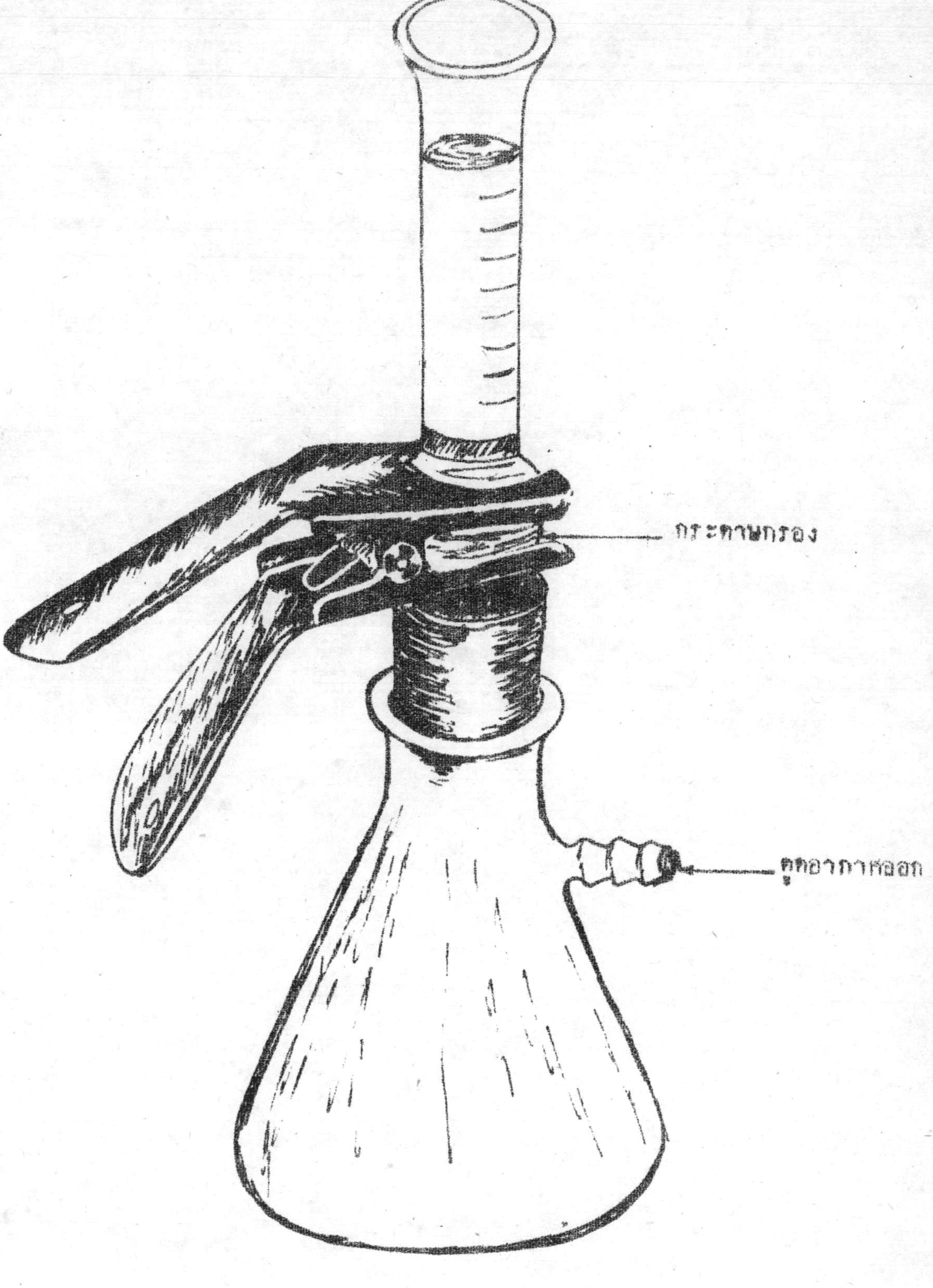
ง) ขวดเก็บสารละลายที่กลั่นได้ (receiver)

จ) ตะเกียงบุนเซน

3.3.1.1.2 ชุดเครื่องมือกรองของ-มิลลิพอร์ (millipore) ดังแสดงในรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.2 เครื่องมือกลั่นสารหนู



รูปที่ 3.3 เครื่องมือกรองของมิลลิพอร์

3.3.1.1.3 เคมีภัณฑ์

ก) กรดไนตริกเข้มข้น

ข) กรดซัลฟูริคเข้มข้น

ค) กรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น

ง) กรดไฮโดรโบรมิคเข้มข้น

จ) สารละลายสแตนนัสคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 40 ในกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น

ฉ) ตัวพาสารหนูในรูปของสารหนูออกไซด์ (As_2O_3) โดยมีความเข้มข้นของสารหนู 10 มิลลิกรัม ต่อ ลบ.ซม.

ช) สารละลายอิ่มตัวของไธโออเซตามีท (saturated thioacetamide solution)

3.3.1.2 วิธีปฏิบัติ

ถ่ายเทตัวอย่างข้าวที่ผ่านการอาบรังสีจากถุงพลาสติคลงในขวดกลั่นที่มีตัวพาสารหนู 10 มิลลิกรัมอยู่ก่อนแล้ว ละลายสารตัวอย่างด้วย 20 ลบ.ซม. ของสารละลายผสมของกรดไนตริกเข้มข้น และกรดซัลฟูริคเข้มข้นในอัตราส่วน 1:1 โดยใช้ความร้อนช่วย จนกระทั่งได้สารละลายใส ทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 ลบ.ซม. ทีละหยด กรดไฮโดรคลอริคเข้มข้นปริมาตร 10 ลบ.ซม. กรดไฮโดรโบรมิคปริมาตร 10 ลบ.ซม. และสารละลายสแตนนัสคลอไรด์ 3 ลบ.ซม. ตามลำดับ กลั่นสารหนูออกจากสารละลายผสมโดยใช้อุณหภูมิระหว่าง 120°-140° ซ. สารหนูที่กลั่นออกมาได้จะอยู่ในรูปของสารหนูไตรเฮไลด์ (trihalide) และจะถูกจับไว้ในน้ำเย็นในขวดเก็บ ซึ่งแช่อยู่ในน้ำแข็ง นำสารละลายมาตกตะกอนเป็นสารหนูซัลไฟด์ (As_2S_3) ด้วยสารละลายอิ่มตัวของไธโออเซตามีทในตัวกลางที่เป็นกรด กรองตะกอนโดยใช้กระดาษกรองชนิดใยแก้วของ Whatman เบอร์ 43 ด้วยชุดเครื่องมือกรองของมิลลิพอร์ เก็บตะกอนของสารหนูซัลไฟด์ บนกระดาษกรองใน

จานนับรังสี (planchet) ทำให้แห้งสนิทภายใต้แสงอินฟราเรด (Infrared lamp) ทิ้งให้เย็นในภาชนะป้องกันความชื้น (desiccator) ก่อนนำไปชั่ง

นำสารละลายสารหนูมาตรฐานมาทำให้เจือจางจนมีความเข้มข้น 1 ไมโครกรัม ต่อลบ.ซม. แล้วนำ 1 ลบ.ซม.มากลั่นและผ่านกรรมวิธีที่ใช้กับสารตัวอย่างทุกประการ

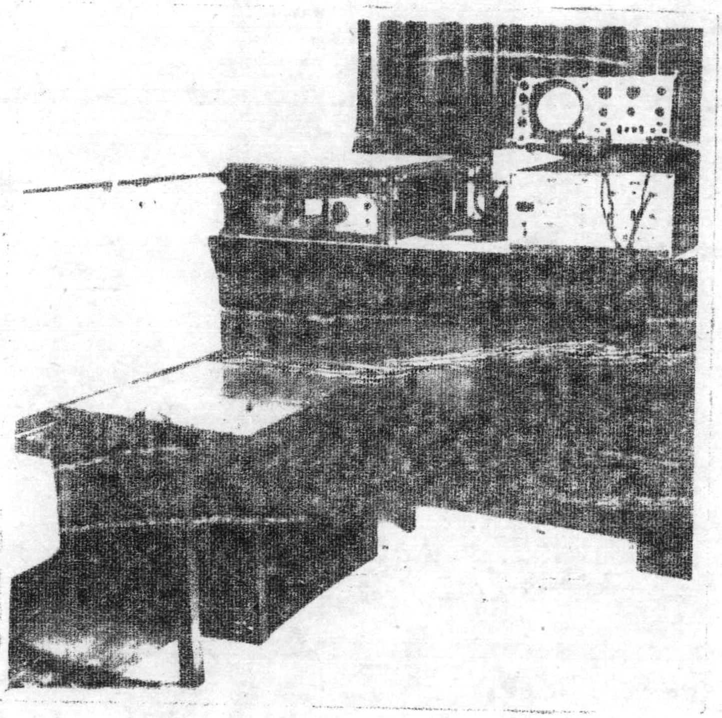
3.3.2 การนับปริมาณรังสี

3.3.2.1 เครื่องมือนับปริมาณรังสี

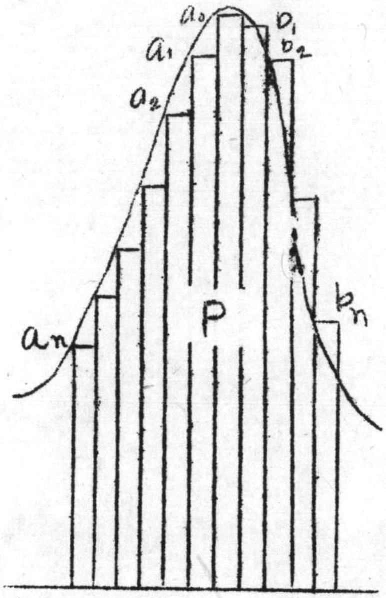
เนื่องจากสารหนูกัมมันตรังสีที่ผ่านกรรมวิธีกลั่นดังกล่าวข้างต้น จะมีความบริสุทธิ์สูงและปราศจากตัวรบกวน ฉะนั้น การนับปริมาณรังสีแกมมาจึงอาจใช้เครื่องมือนับรังสีแกมมาธรรมดา เช่น เครื่องนับรังสีแกมมาชนิดช่องเดียว (single channel analyzer) ได้ แต่ในกรณีนี้เพื่อตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารหนูกัมมันตรังสีในแต่ละครั้งที่กลั่น ประกอบทั้งเครื่องนับรังสีแกมมาชนิดช่องเดียวที่มีอยู่ มีความไม่แน่นอนในการตรวจนับรังสีดี จึงใช้เครื่องมือนับรังสี multichannel analyzer ชนิด 128 ช่อง ประกอบด้วยหัววัดรังสีชนิด scintillation แบบ NaI(Tl) ขนาด 3" x 3" ดังแสดงไว้ในรูป 3.4

3.3.2.2 การคำนวณค่าความแรงรังสี

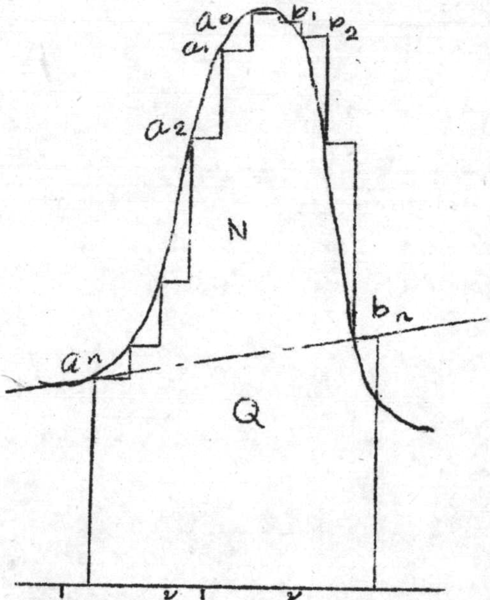
การคำนวณความแรงรังสีแกมม่าใช้วิธีของ Covell (1959) คือวิธีการคำนวณพื้นที่ภายใต้ Peak จากสเปคตรัมของรังสีแกมม่าที่ปรากฏ ซึ่งได้จากพื้นที่ทั้งหมดของ Peak หักลบด้วยพื้นที่ฐาน ดังแสดงในรูปที่ 3.5 และรูปที่ 3.6 ตามลำดับ



รูปที่ 3.4 เครื่องนับรังสี multichannel ชนิด 128 ช่อง
ต่อกับหัววัดรังสี NaI(Tl)



รูปที่ 3.5 ความแรงรังสีแสดงด้วย bar graph



รูปที่ 3.6 พื้นที่ภายใต้ peak, N.

ให้ a_o = ความแรงรังสีสูงสุดของ peak

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

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

P = ความแรงรังสีทั้งหมด

Q = ความแรงรังสีของพื้นที่ฐาน

N = ความแรงรังสีภายใต้ peak

จะได้ $N = P-Q$

แต่ $P = a_o + \sum_1^n a_i + \sum_1^n b_i$

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

$= (n + ½)(a_n+b_n)$

แทนค่า P และ Q จะได้

$$N = a_o + \sum_1^n a_i + \sum_1^n b_i - (n+½)(a_n+b_n) \quad ..(3.1)$$

I15995379

3.3.2.3 การวัดปริมาณรังสีแกมม่าของสารหนู-76 และการคำนวณปริมาณสารหนูในสารตัวอย่าง

นำตะกอนสารหนูซัลไฟด์ในจานนับรังสีไปนับปริมาณรังสีด้วยเครื่องนับรังสี multichannel ชนิด 128 ช่องที่ต่อเชื่อมกับหัววัดรังสี NaI(Tl) ขนาด 3" x 3" เป็นเวลา 4 นาที หรือมากกว่านั้น ซึ่งขึ้นอยู่กับความแรงของสารรังสี และหักลบค่าแบคกราวด์ (background) ด้วยเครื่องมือเดียวกันในเวลาเท่ากัน สำหรับสารหนูมาตรฐานนั้น ดำเนินการนับปริมาณรังสีเช่นเดียวกับสารตัวอย่างทุกประการ

คำนวณปริมาณรังสีภายใต้ peak จากสเปคตรัมของรังสีแกมม่าของสารหนู-76 ของสารตัวอย่างและสารหนูมาตรฐาน โดยใช้สูตร 3.1 แล้วปรับค่าที่คำนวณได้ให้มีค่าปริมาณรังสีที่ถูกต้อง โดยมีค่าร้อยละ 100 ของเคมี-คัลยีลด์ โดยเปรียบเทียบกับน้ำหนักของสารหนูตัวพา กล่าวคือ สารหนู 10 มิลลิกรัม ตกตะกอนเป็นสารหนูซัลไฟด์สมบูรณ์ร้อยละ 100 จะได้น้ำหนักของสารหนูซัลไฟด์เท่ากับ 16.4198 มิลลิกรัม จากนั้นคำนวณปริมาณสารหนูในสารตัวอย่างได้จากสมการ

$$\frac{\text{ปริมาณสารหนูในสารตัวอย่าง}}{\text{ปริมาณสารหนูในสารมาตรฐาน}} = \frac{\text{ความแรงรังสีของสารหนู-76 ในสารตัวอย่าง}}{\text{ความแรงรังสีของสารหนู-76 ในสารมาตรฐาน}} \quad \text{........(3.2)}$$

ปริมาณสารหนูในสารตัวอย่างจากการคำนวณตามสมการข้างบน เป็นปริมาณของสารหนูจากสารตัวอย่าง ซึ่งหนักประมาณ 2 กรัม เมื่อนำมาคิดเทียบกับน้ำหนักของสารตัวอย่าง 1 กรัม ค่าที่ได้จะเป็นปริมาณของสารหนูในหน่วยของส่วนในล้านส่วน

3.3.3 ความเชื่อถือได้ของการวิเคราะห์ปริมาณสารหนู โดยวิธีวิเคราะห์แบบนิวตรอนแอคติเวชั่น

ความเชื่อถือได้ของการวิเคราะห์ปริมาณ มาจากพื้นฐานความเที่ยงตรง (precision) และความแน่นอน (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ ความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ สามารถหาได้จากการทดลองซ้ำกันหลายครั้งของสารตัวอย่าง โดยกรรมวิธีเดียวกัน ตรวจผลที่ได้ว่ามีค่าใกล้เคียงกันเพียงใด ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้ตรวจสอบความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ โดยวิเคราะห์ปริมาณสารหนูของสารมาตรฐานมีความเข้มข้น 1.0000 ไมโครกรัม เป็นจำนวน 5 ครั้ง ผลการตรวจสอบดังแสดงไว้ในตารางที่ 3.3

<u>ตารางที่ 3.3</u> การทดสอบความเที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารหนู

การวิเคราะห์	ปริมาณสารหนู (ไมโครกรัม)
ปริมาณแท้จริง	1.0000
ปริมาณที่ได้จากการวิเคราะห์ ครั้งที่ 1	1.0985
" " " 2	0.9513
" " " 3	0.9802
" " " 4	0.9492
" " " 5	1.0607
ค่าเฉลี่ย	1.0080±0.0655

สำหรับการตรวจสอบความแน่นอนของการวิเคราะห์ กระทำโดยการวิเคราะห์ปริมาณธาตุของสารตัวอย่างที่เป็นสารตัวอย่างเปรียบเทียบมาตรฐาน (standard reference sample) ซึ่งมีค่าที่ถูกต้อง (certified value) ของธาตุที่วิเคราะห์แน่นอนแล้ว จากการเปรียบเทียบค่าที่วิเคราะห์ได้จะทราบความแน่นอนของวิธีวิเคราะห์ ในการศึกษาวิจัยนี้ได้วิเคราะห์สารตัวอย่าง Kale ซึ่งจัดเตรียมโดย Dr. H.J.M. Bowen แห่งมหาวิทยาลัย Reading ประเทศอังกฤษ ผลการตรวจสอบ คือ วิเคราะห์ปริมาณสารหนูในสารตัวอย่างมาตรฐาน Kaleได้ 0.1107 ± 0.0128 ไมโครกรัมต่อกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่รายงานไว้คือ 0.129 ± 0.023 ไมโครกรัมต่อกรัม