

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

1. การเก็บตัวอย่าง โดย เก็บตัวอย่างปลาช่อนทะเลจาก

- ปลาช่อนทะเลที่มากขึ้น ณ ท่าเทียบเรือประมงในเขตสุขาภิบาลบางเสร่อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

- ปลาช่อนทะเลที่มากขึ้น ณ ท่าเทียบเรือประมงจังหวัดระนอง

- ปลาช่อนทะเลที่มากขึ้น ณ ท่าเทียบเรือประมงในเขตอำเภอขนอม จังหวัดนครศรีธรรมราช

- ปลาช่อนทะเลที่ตกได้จากแท่นเจาะก๊าซธรรมชาติกลางอ่าวไทย 4 แท่นคือ แท่นเอราวัณ

แท่นปลาทอง แท่นสตูลและแท่นฟูนาน ในช่วงปี พ.ศ. 2541

ตัวอย่างปลาที่ได้ ทำการชั่งน้ำหนัก วัดความยาว บันทึกค่า แล้วตัดเอาเนื้อบริเวณโคนครีบ หลังน้ำหนักประมาณ 100-200 กรัม ใส่ถุงซิปลาสติก แช่เย็นด้วยน้ำแข็งระหว่างการเดินทางนำตัวอย่างกลับมาที่สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รักษาสภาพตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์ด้วยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -25 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมตัวอย่างปลา

นำตัวอย่างปลาออกจากตู้แช่แข็ง ทิ้งให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง แร่หนังปลาออก บดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายผสมระหว่างกรดไนตริกกับกรดซัลฟูริก อัตราส่วน 1:1 เตรียมในตู้ดูดควัน ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วถ่ายใส่ขวดตวง 25 มิลลิลิตร.

2. สารละลายอิมิตัวของโปตัสเซียมเปอร์ซัลเฟต โดยเติมโปตัสเซียมเปอร์ซัลเฟตในน้ำกลั่นคนให้ละลาย เติมโปตัสเซียมเปอร์ซัลเฟตเพิ่มจนไม่สามารถละลายได้อีกที่อุณหภูมิห้อง นำบีกเกอร์ไปให้ความร้อนบน hot plate จนได้เป็นสารละลายใสไม่มีสี ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เก็บใส่ขวดแก้ว

3. Reducing Reagent โดยซัง

| | | |
|-------------------------------|----|-----------|
| - Tin (II) Chloride Dihydrate | 33 | กรัม |
| - Sodium Chloride | 20 | กรัม |
| - Ammonium Chloride | 20 | กรัม |
| - Hydrazine Sulphate | 1 | กรัม |
| - Sulphuric Acid | 10 | มิลลิลิตร |

ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

4. Standard Solution for Standard curve

- เตรียมสารละลายผสมของกรดไนตริกกับกรดซัลฟูริก อัตราส่วน 1:1 เข้มข้น 10 % โดยใช้กรดไนตริก 50 มิลลิลิตร ผสมกับกรดซัลฟูริก 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

การทำ standard curve

1 เตรียม mercury stock solution 1 ppm.

เตรียม mercury stock solution 1 ppm. โดยดูด mercury standard solution 1000 ppm. ปริมาณ 10 ไมโครลิตร ใส่ขวดปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย standard solution ที่เตรียมไว้

2 เตรียม mercury standard solution

จำนวน 5 ความเข้มข้น คือ 0.001, 0.002, 0.004, 0.008 และ 0.010 ppm. โดยดูดสารละลาย mercury stand stock solution ปริมาณ 100, 200, 400, 800 และ 1000 ไมโครลิตร ตามลำดับ ใส่ขวดปริมาตรขนาด 100 ml. ปรับปริมาตรด้วยสารละลายกรดไนตริกผสมกับกรดซัลฟูริก อัตราส่วน 1:1 ความเข้มข้น 10 % เขย่าให้เข้ากัน นำไปเข้าเครื่องวิเคราะห์หาปริมาณปรอท เครื่องจะแสดงผลของปริมาณปรอทออกมาในรูปพื้นที่ใต้กราฟ นำค่าพื้นที่ใต้กราฟที่เครื่องอ่านได้ในแต่ละความเข้มข้นไปเขียนกราฟมาตรฐาน

3 การวิเคราะห์ทางสถิติของ standard curve

- ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป regression analysis ใน EXCEL วิเคราะห์ความถูกต้องของกราฟมาตรฐานที่ได้

- คำนวณหาค่า a,b ของสมการเส้นตรง $y = a + bx$ จากกราฟมาตรฐานที่ได้ เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณปรอทในปลาตัวอย่างต่อไป

การย่อยตัวอย่างและการนำเข้าเครื่องวิเคราะห์

- ชั่งปลาตัวอย่างที่บดแล้วหนักประมาณ 2 กรัม (บันทึกน้ำหนัก) ใส่ boiling flask ก้นแบน ขนาด 500 มิลลิลิตร

- เติมสารละลายผสมของกรดไนตริกกับกรดซัลฟูริก อัตราส่วน 1: 1 ปริมาณ 25 มิลลิลิตร

- นำ flask ไปให้ความร้อนใน water bath โดยต่อเข้ากับเครื่องมือย่อยตัวอย่าง

- ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ประมาณ 15- 20 นาที หรือจนได้สารละลายสีน้ำตาลใส

- เติมสารละลายโปตัสเซียมเปอร์ซัลเฟตอิมตัว 10 มิลลิลิตร

- ให้ความร้อนต่อที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

- นำสารละลายตัวอย่างออกจาก water bath ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรเป็น 100 ml. ก่อนนำไปเข้าเครื่องวิเคราะห์หาปริมาณปรอท

การตรวจสอบความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

1. การตรวจสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์

โดยการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทใน Standard Referent Material ชนิด DORM-2 ของ National Research Council Canada และการทำ Recovery ควบคุมไปกับการวิเคราะห์เนื้อปลาตัวอย่างในทุกชุดการทดลอง

2. การตรวจสอบความแม่นยำของการวิเคราะห์

โดยการหาเปอร์เซ็นต์ความแม่นยำ (%RSD) ด้วยการวิเคราะห์ตัวอย่างเดี่ยวซ้ำ 6 ครั้ง หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูล คำนวณหาค่า %RSD จากสูตร

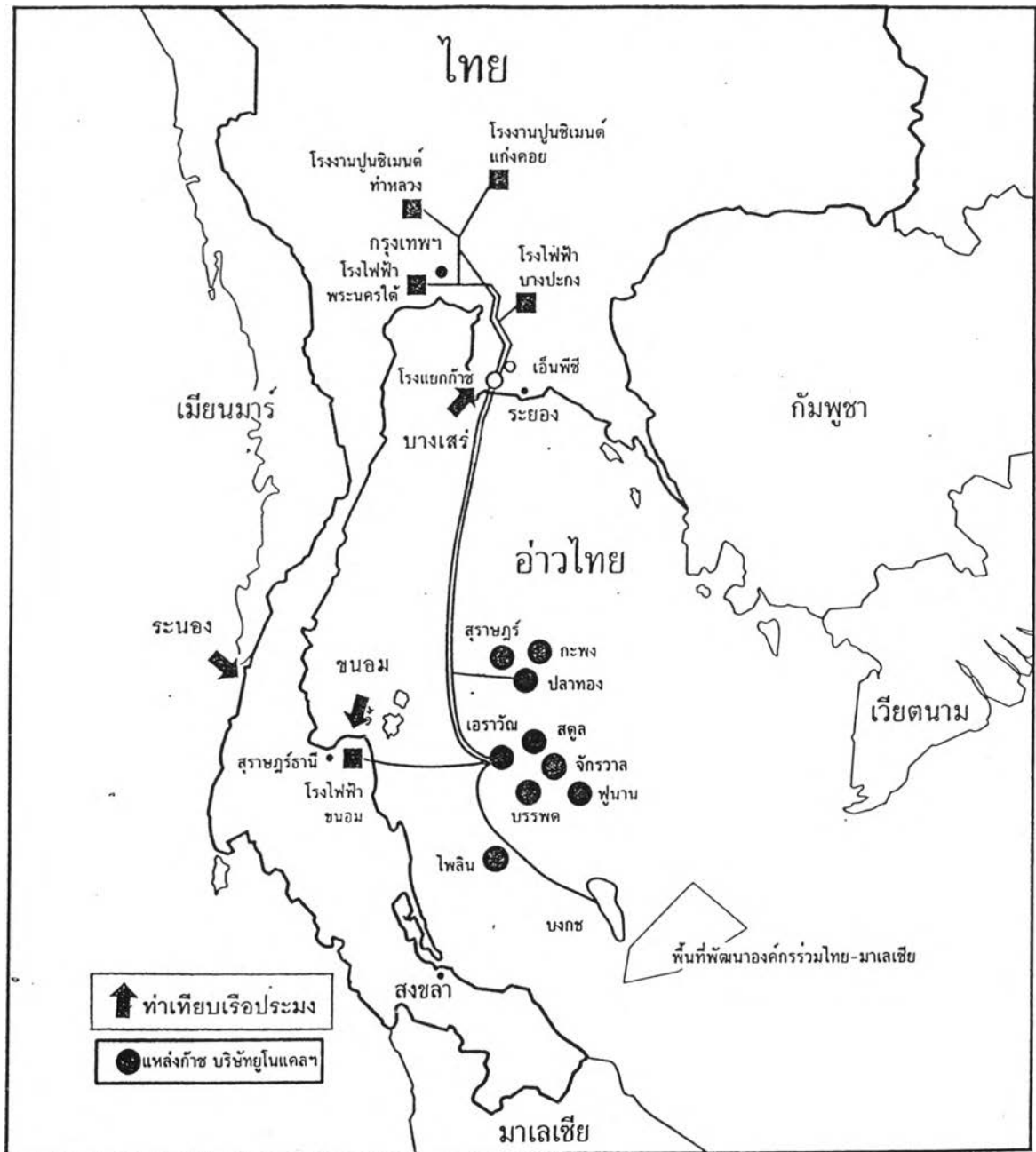
$$\%RSD = (\text{ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน} / \text{ค่าเฉลี่ย}) \times 100$$

การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. หาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูล

2. ทดสอบความต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูล ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) และทดสอบสมมุติฐานที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($\alpha = 0.05$)

3. วิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นอย่างง่าย (Simple Linear Regression Analysis) ของความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณปรอทกับน้ำหนักและความยาวของตัวปลา และทดสอบสมมุติฐานที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($\alpha = 0.05$)



รูปที่ 3-1 แสดงจุดเกิดตัวอย่างปลาซ่อนทะเล (ที่มา บริษัทยูโนแคลไทยแลนด์)