

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิเคราะห์หาโลหะหนักพวกตะกั่วในปลาที่อาศัยในทะเลสาบสงขลาตอนล่าง โดยวิธีอะตอมมิก แอบซอร์พชันสเปกโทรสโคปี มีขั้นตอนดังนี้ คือ

3.1 วิธีการเก็บตัวอย่างและการรักษาตัวอย่างปลาชนิดต่างๆ

การเก็บตัวอย่างปลาทำการเก็บแบบเจาะจง (purposive sampling) โดยการซื้อปลาจากชาวประมงที่ออกทำการประมงในทะเลสาบสงขลาตอนล่าง โดยเก็บตัวอย่างปลาที่ชาวบ้านจับได้จากทะเลสาบสงขลาตอนล่าง 5 ชนิดได้แก่ ปลากระพงขาว ปลากระบอก ปลาแดง ปลากดทะเล และปลาทู โดยในการเก็บตัวอย่างจะคัดเลือกตามชนิดและขนาดโดยถือหลัก ดังนี้ปลากระพงจะคัดเลือกปลาที่มีความยาวตั้ง 25 - 30 เซนติเมตร ส่วนปลากระบอก ปลาแดง ปลากดทะเล และปลาทูจะคัดเลือกปลาที่มีความยาวตั้งแต่ 15-20 เซนติเมตร ในแต่ละครั้งที่เก็บตัวอย่างจะเก็บครั้งละ 3 ตัวอย่าง การวัดขนาดความยาวของตัวอย่างปลาแต่ละตัววัดความยาวด้วยวิธีวัดความยาวทั้งสิ้น (total length) โดยใช้ไม้บรรทัดวัดความยาว ตั้งแต่งอยปากจนสุดปลายครีบหาง (ธำรง อมรสกุล, 2533) หลังจากนั้นนำตัวอย่างปลาใส่ในถุงพลาสติก ม้วนถุงไล่อากาศออกให้หมด แล้วนำไปใส่ถุงพลาสติกอีกชั้น ม้วนมัดปากถุงให้แน่นแล้วแช่เย็นไว้ทำการวิเคราะห์ทันทีเมื่อถึงห้องปฏิบัติการ ในกรณีที่ยังไม่สามารถทำการวิเคราะห์ได้ทันที ให้เก็บรักษาตัวอย่างปลาโดยการนำไปแช่แข็ง (คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมเรื่องสารเป็นพิษ, 2530)

3.2 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

1. นำปลาตัวอย่างมาล้างด้วยน้ำสะอาด ทำการขูดเกล็ด และแกะเนื้อเก็บไว้
2. นำเนื้อตัวอย่างที่ได้มาบดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นแล้วเก็บใส่ถุงพลาสติก รัดยาง พันด้วยพาราฟิล์ม จากนั้นเขียนชื่อปลาตัวอย่างและหมายเลขลำดับตัวอย่าง
3. นำตัวอย่างที่บดแล้วเก็บไว้ในตู้เย็นจนกระทั่งทำการวิเคราะห์

3.3 เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์

1. เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
2. เตาอบ
3. แผ่นร้อน (Hot plate)

4. กรวยแยก (Separatory funnel)
5. ถ้วยกระเบื้อง (Poscelain crucible)
6. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)
7. เครื่องปั่น
8. เครื่องชั่งละเอียด
9. กระดาษกรอง
10. ปิเปต (Pipette)
11. บีกเกอร์ (Beaker)
12. หลอดหยด
13. แท่งแก้วคน
14. ตู้ดูดความชื้น
15. ถุงพลาสติก
16. ถังแช่เย็น
17. มีด
18. เขียง
19. เต้าเผา
20. น้ำกลั่น
21. Dionize Water

3.4 สารเคมี

1. สารละลายแมกนีเซียมไนเตรด 50 % w/v ($Mg(NO_3)_2$)
ชั่ง $Mg(NO_3)_2$ 125 กรัม ละลายด้วย Dionize Water ปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 250ml.
2. กรดไนตริก 20 % w/v (HNO_3)
กรดไนตริกเข้มข้น (70%) 285 ml. เติมลงใน Dionize Water 400 ml. ปรับปริมาตรด้วย Dionize Water เป็น 1,000 ml. ในขวดวัดปริมาตร
3. สารละลายแอมโมเนียมไพโรลิติไนไดโทโอคาร์บาเมต (APDC)
ชั่ง APDC 10 กรัม ละลายด้วย Dionize Water ปรับปริมาตรให้ได้ 500 ml. ในขวดวัดปริมาตร
4. สารละลายไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนซัลเฟต (DHC) 11.9%
ชั่ง DHC 124 กรัม ละลายใน Dionize Water 500 ml. เติม APDC 2% 12.5 ml. เขย่าให้เข้ากัน แล้วสกัดด้วย $CHCl_3$ 25 ml. และ 10 ml. เติม NH_4OH เข้มข้น 80 ml. แล้วเขย่าให้เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วย Dionize Water ให้เป็น 500 ml.
5. สารละลายคลอโรฟอร์ม ($CHCl_3$) 2,000 ml.
6. สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH_4OH) 100 ml.

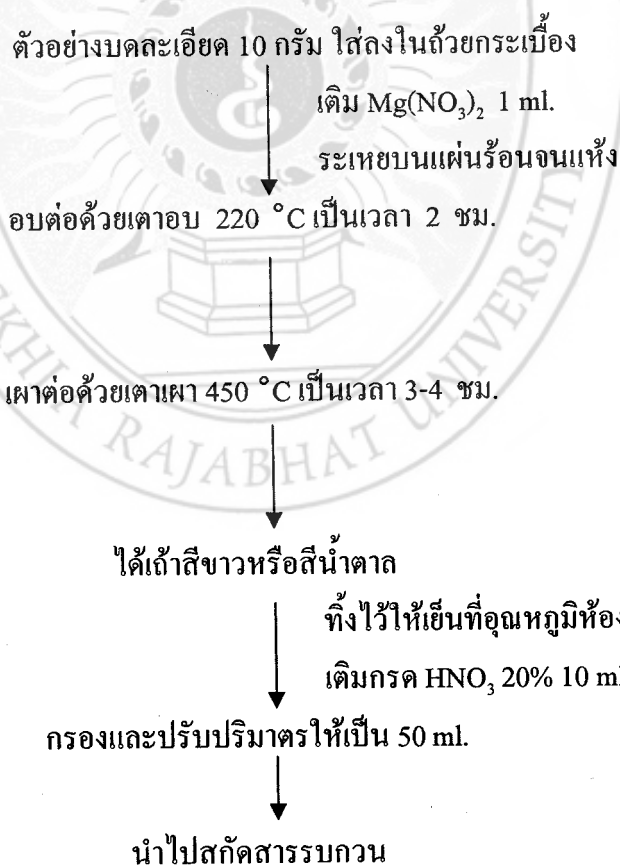
3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเตรียมอุปกรณ์เครื่องแก้ว

ใช้สารละลายผสมระหว่าง 1% HNO_3 และ 95 % แอททิลแอลกอฮอล์ ในอัตราส่วน 1:1 ล้างเครื่องแก้วต่าง ๆ ด้วย Dionize Water อีก 2 ครั้ง คว่ำให้แห้งก่อนนำไปใช้งาน

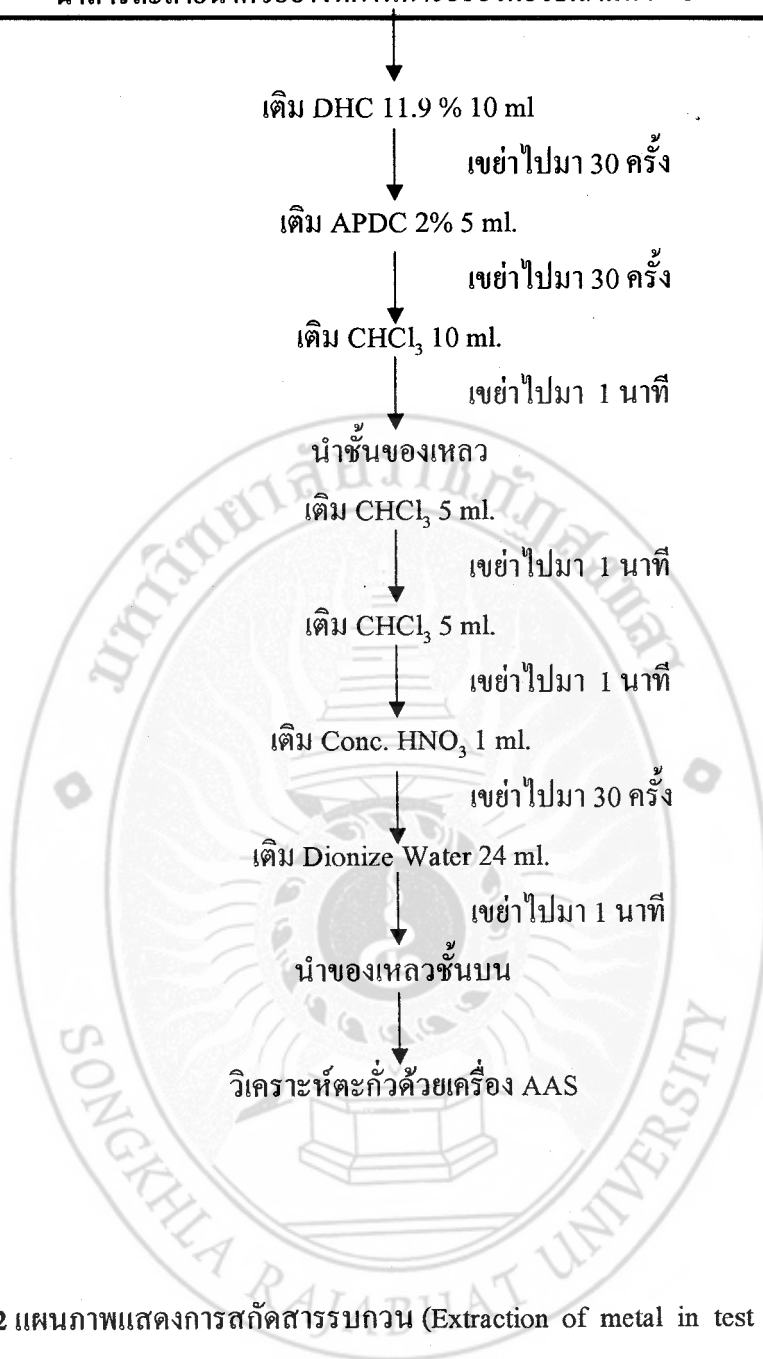
3.5.2 การย่อยตัวอย่างโดยวิธีเถ้าแห้ง (dry ashing) ในการวิเคราะห์หาตะกั่วมีวิธีการดังนี้

1. ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียด 10 กรัมลงในถ้วยกระเบื้อง
2. เติมสารละลายแมกนีเซียมไนเตรด 1 ml ผสมให้เข้ากัน
3. นำไประเหยบนแผ่นร้อนจนแห้ง
4. นำตัวอย่างไปอบต่อในเตาอบที่อุณหภูมิ 220°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
5. นำตัวอย่างเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 450°C เป็นเวลา 3-4 ชม. จะได้เป็นเถ้าสีขาวทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
6. เติม 20 % (HNO_3) 10 ml. อุ่นเถ้าให้ละลายแล้วกรองผ่านกระดาษกรองลงในขวดวัดปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 50 ml. เขย่าให้สารละลายผสมเป็นเนื้อเดียว นำไปสกัดสารรบกวนก่อนนำไปวัดหาปริมาณตะกั่ว (แผ่น อมรสิทธิ์และอมร เพชรสม, 2534)

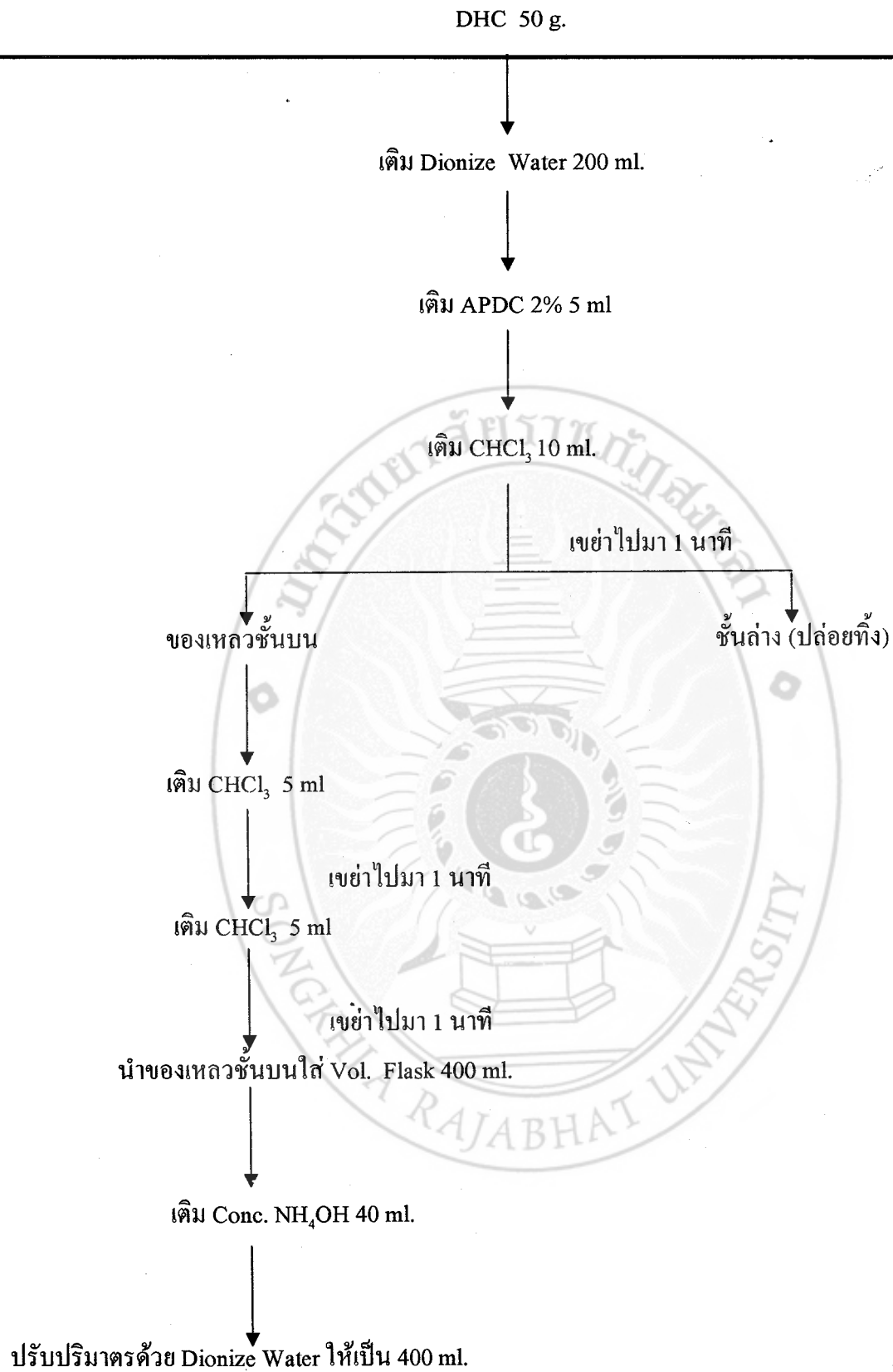


ภาพที่ 3.1 แผนภาพแสดงการย่อยตัวอย่างโดยวิธีเถ้าแห้ง (dry ashing)

นำสารละลายน้ำตัวอย่างที่ผ่านการย่อยโดยวิธีเถ้าแห้ง 25 ml.



ภาพที่ 3.2 แผนภาพแสดงการสกัดสารรบกวน (Extraction of metal in test portion)



ภาพที่ 3.3 แผนภาพแสดงการเตรียมสารละลาย DHC 11.9 %