

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

จากการศึกษาปริมาณบอแรกซ์และตะกั่วในผลไม้ดองในตลาดสดเทศบาลนครสงขลา บริเวณสถานีรถไฟเก่าผู้วิจัยได้ศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับการเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์หาปริมาณบอแรกซ์และตะกั่วจากหนังสือและรายงานงานวิจัยต่าง ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

#### 3.1 วิธีการเก็บตัวอย่างและการรักษาตัวอย่างชนิดต่างๆ

การเก็บตัวอย่างผลไม้ดองทำการเก็บแบบเจาะจง (purposive sampling) โดยเก็บตัวอย่างจากแม่ค้าขายส่งรายใหญ่ทั้งหมดในตลาดสดบริเวณสถานีรถไฟเก่าหลังสำนักงานป่าไม้จังหวัดสงขลาเป็นจำนวน 3 ร้าน ร้านละ 5 ชนิด ได้แก่ มะม่วง ฝรั่ง องุ่น พุทรา และมะยม

โดยในการเก็บตัวอย่างจะคัดเลือกตามชนิดแต่ละครั้งที่เก็บตัวอย่างจะเก็บครั้งละ 3 ซ้ำต่อ 1 ตัวอย่าง หลังจากนั้นนำตัวอย่างใส่ในถุงพลาสติก ม้วนถุงไล่อากาศออกให้หมด แล้วนำไปใส่ถุงพลาสติกอีกชั้น ม้วนมัดปากถุงให้แน่นแล้วแช่เย็นไว้ทำการวิเคราะห์ทันทีเมื่อถึงห้องปฏิบัติการ ในกรณีที่ยังไม่สามารถทำการวิเคราะห์ได้ทันทีให้เก็บรักษาตัวอย่างโดยการนำไปแช่แข็ง (คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมเรื่องสารเป็นพิษ, 2530)

#### 3.2 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างผลไม้ดองมาล้างด้วยน้ำสะอาด
2. จากนั้นนำเนื้อตัวอย่างที่ได้มาบดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่น แล้วเก็บใส่ถุงพลาสติก รัดยาง พันด้วยพาราฟิล์ม จากนั้นเขียนชื่อผลไม้ดองตัวอย่างและหมายเลขลำดับตัวอย่าง
3. นำไปเก็บไว้ในตู้เย็นจนกระทั่งทำการวิเคราะห์

#### 3.3 การหาปริมาณตะกั่ว

##### 3.3.1 เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์

อุปกรณ์สำหรับเก็บรักษา อบ และชั่งตัวอย่าง

- ตู้อบ(Hot air oven)
- เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง อ่านตัวเลขโดยตรง
- บีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร
- หลอดย่อยชนิดคอกยาว (Kjeldahl's flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร

อุปกรณ์สำหรับย่อยตัวอย่าง

- เตาไฟฟ้าชนิดแผ่นความร้อน (Hot plate)
- เตาไฟฟ้าชนิดหลุม (electrothermal statistical control)

- ปิเปต ขนาด 10 และ 20 มิลลิลิตร
  - เครื่องปั่นตกตะกอน (centrifuge) พร้อมด้วยหลอด
  - ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 25 มิลลิลิตร
  - ขวดพลาสติกใส่สารละลายตัวอย่างขนาด 30 มิลลิลิตร
- อุปกรณ์สำหรับวัดหาปริมาณโลหะหนัก
- เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (Perkin-Elmer 372)
  - Air-acetylene gas
  - ขวดพลาสติกสำหรับเจือจางสารละลายตัวอย่างขนาด 30 มิลลิลิตร

- ปิเปตขนาด 10 มิลลิลิตร

อุปกรณ์สำหรับเตรียมสารละลายมาตรฐาน

- บีกเกอร์ ขนาด 20 มิลลิลิตร
- ปิเปต ขนาด 1, 5, 10 และ 20 มิลลิลิตร
- ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
- ขวดพลาสติกใส่สารละลายมาตรฐานขนาด 30 มิลลิลิตร

### 3.3.2 สารเคมี

- กรดไนตริกเข้มข้น ( $\text{HNO}_3$  Conc<sup>n</sup> 65%)
- ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 30%
- น้ำกลั่น 2 ครั้ง (double distilled water)
- สารละลายมาตรฐาน 1000 ppm.

### 3.3.3 วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในตัวอย่าง

#### 1. การเตรียมอุปกรณ์ เครื่องแก้ว และพลาสติก

- นำเครื่องแก้วหรือขวดพลาสติกที่ต้องการใช้ในการวิเคราะห์ ล้างด้วยทีโพล แล้วล้างด้วย

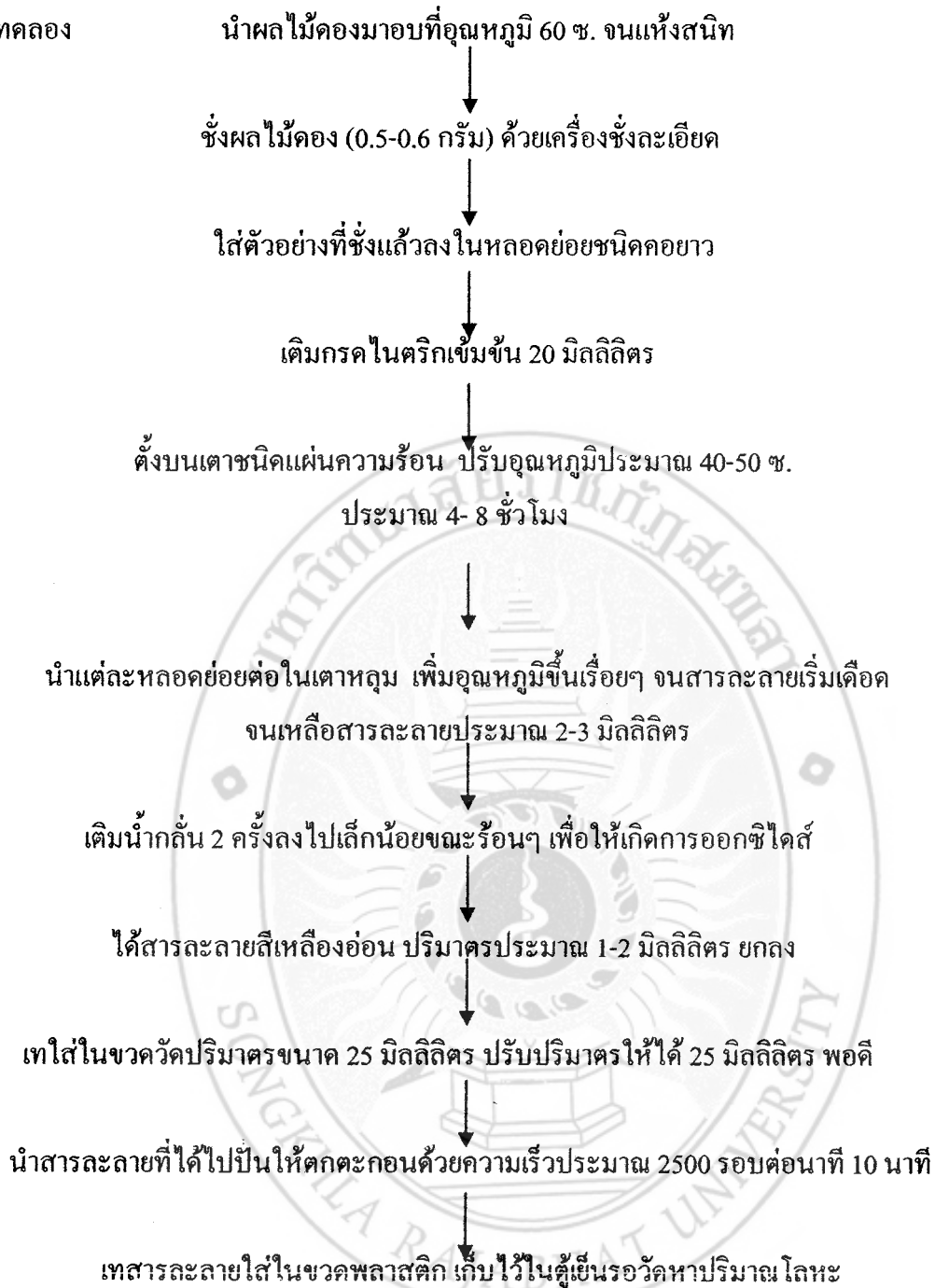
น้ำประปา

- แช่ในกรดไนตริก 5% (ชนิด commercial grade) อย่างน้อย 24 ชั่วโมง
- ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น (ที่กลั่น) 2 ครั้งอีก 1 ครั้ง
- อบให้แห้ง เก็บไว้ในที่ปราศจากฝุ่นละออง และกั้นการปนเปื้อนของโลหะจากสิ่งอื่นๆ

#### 2. วิธีการย่อยตัวอย่าง (Krishnamurty, 1976)



วิธีการทดลอง



**ตัวเปรียบเทียบ (blank)**

- ทำเช่นเดียวกันกับการย่อยตัวอย่าง เพียงแต่ไม่ใส่ตัวอย่างเท่านั้น

3.3.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน สำหรับทำ calibration curve

ตะกั่ว เตรียมสารละลายมาตรฐานของตะกั่วจากสารละลายมาตรฐาน Lead Nitrate 1000 ppm. ให้ได้ความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1.0 ppm. ในกรดไนตริก 10%

๖  
๖๔๑.๙๖  
๘๑๖๙

## วิธีการ

- เติสารละลายมาตรฐาน 1000 ppm. (1 stock solution) ของตะกั่ว ใส่บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร แต่ ละใบมากกว่า 10 มิลลิลิตร เล็กน้อย
- ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร คูดสารละลายจากบีกเกอร์ให้ได้ 1 มิลลิลิตรพอดี ใส่ในขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
- เติกรดไนตริก 10% ให้ครบ 100 มิลลิลิตรพอดี เขย่าให้เข้ากัน ได้สารละลายมาตรฐาน 10 ppm. (stock solution) ของแต่ละชนิด
- จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐานของตะกั่ว จาก 2 stock solution ให้ได้ความเข้มข้นตามต้องการ (ตั้งข้างต้น) โดยใช้ปิเปตคูดสารละลายมาตรฐาน 2 stock solution และ 10.0 มิลลิลิตร วัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และเป็นกรดไนตริก 10% ให้ครบ 100 มิลลิลิตรพอดี เขย่าให้เข้ากันเก็บใส่ขวดพลาสติกไว้จะได้ สารละลายตะกั่ว 0.1, 0.5 และ 1.0 ppm.

### 3.3.5 การวัดหาปริมาณโลหะหนัก

วัดหาปริมาณ โลหะหนักด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) รุ่น Perkin-Elmer 372 โดยวัดหาปริมาณตะกั่ว โดยใช้หลอดไฟและความยาวคลื่นแสง (wavelength) ตะกั่ว ใช้ความยาวคลื่น แสง 217.0 nm. และใช้ airacety-lene gas เป็นเชื้อเพลิงแล้วอ่านค่าการดูดกลืนแสง (absorbance)

## 3.4 การหาปริมาณบอแรกซ์

### 3.4.1 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างผลไม้ดองมาล้างด้วยน้ำสะอาด
2. จากนั้นนำเนื้อตัวอย่างที่ได้มาบดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่น แล้วเก็บใส่ ถูงพลาสติก รัดยาง พันด้วยพาราฟิล์ม
3. จากนั้นเขียนชื่อผลไม้ดองตัวอย่างและหมายเลขลำดับตัวอย่าง
4. นำไปเก็บไว้ในตู้เย็นจนกระทั่งทำการวิเคราะห์

### 3.4.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

#### เครื่องมือ

1. Spectrophotometer , UV-visible
2. ตู้อบ
3. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง อ่านตัวเลขโดยตรง
4. เครื่องปั่นตกตะกอน (centrifuge) พร้อมด้วยหลอด

#### อุปกรณ์

1. หลอดทดลองสำหรับปั่น (centrifuge tube) ขนาด 15 มล.
2. ammonium sulfate 5.0 มล.

3. แท่งแก้ว
4. ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 10 มล.
5. บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 100 มล.
6. กระจกยกรอง

### 3.4.3 สารเคมี

1. Ammonium sulfate , 4 กรัม %

ละลาย ammonium sulfate 4 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วเติมน้ำให้เป็น 100 มล.

2. Activated charcoal

3. Sulfate acid , concentrated

4. Carminic acid reagent , 25 มก. %

ละลาย carminic acid 62.5 กรัม ใน sulfuric acid , conc. 250 มล.

5. Boric acid stock solution , 29 มก. %

ละลาย orthoboric acid 145 มก. ในน้ำกลั่น แล้วเจือจางเป็น 500 มล.

6. Boric acid reference solutions

ใช้ boric acid stock solution 1.0, 2.0 และ 4.0 มล. มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มล. เพื่อให้ได้สารละลาย boric acid ที่มีความเข้มข้น 29, 58 และ 116 ไมโครกรัม ซึ่งเทียบเท่ากับปริมาณ boron 5, 10 และ 20 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ

### 3.4.4 วิธีการวิเคราะห์

ใส่สารละลาย ammonium sulfate 5.0 มล. ลงในหลอดทดลอง ขนาด 15 มล

↓

เติมตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ 1 กรัม ซึ่งบดละเอียดแล้วคนด้วยแท่งแก้ว

↓

ใส่แท่งแก้วทิ้งไว้ในหลอดทดลองนั้น

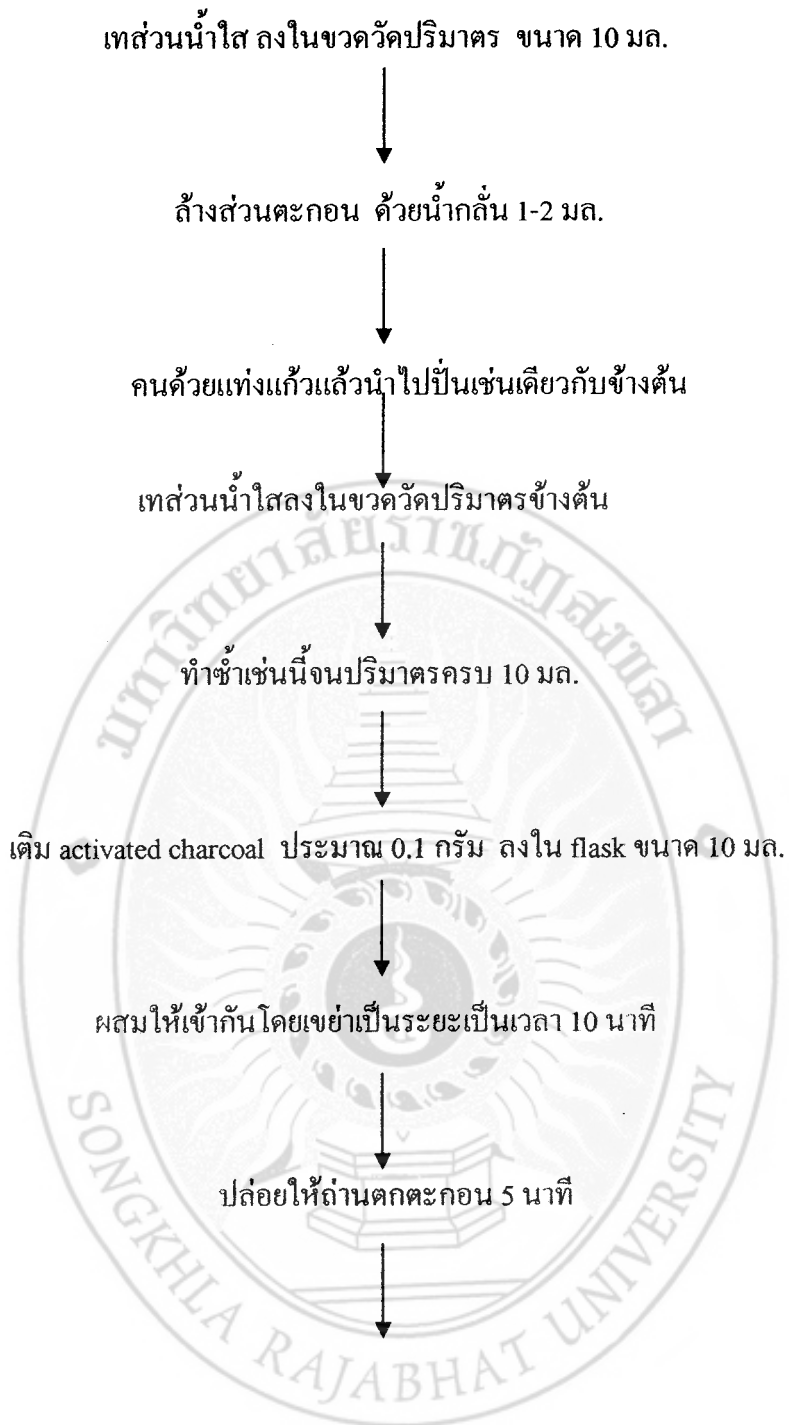
↓

นำหลอดทดลองไปวางไว้ในน้ำเดือดนาน 15 นาที คนเบาๆ เป็นระยะๆ

↓

นำหลอดทดลองไปปั่นที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 10 นาที





กรองส่วนน้ำใส (supernatant) ด้วยกระดาษกรอง



ใส่สารละลายที่กรองได้ 1.0 มล. ลงใน beaker ขนาด 100 มล.



เติม conc. Sulfuric acid และ carminic acid อย่างละ 5 มล.



คนตลอดเวลา เขย่าให้เข้ากัน



นำสารละลายเทใส่ cuvette ปิดฝาไว้นาน 10 นาที



วัดการดูดกลืนแสง (adsorbance) ที่ความยาวคลื่น 600 nm



คำนวณความเข้มข้นเทียบกับ reference solution

#### Reagent blank

ใช้น้ำกลั่น 1 มล. (เป็น reagent blank) และ boric acid reference solution แต่ละความเข้มข้น อย่างละ 1 มล.

เติม sulfuric acid และ carminic acid 5.0 มล. เช่นเดียวกับข้างบน