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
- บิกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร
- หลอดย่อยชนิดคอยาว (Kjeldahl's flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร

อุปกรณ์สำหรับย่อยตัวอย่าง

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

- ปีเปต 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
- ปีเปตขนาด 10 มิลลิลิตร

อุปกรณ์สำหรับเตรียมสารละลายมาตรฐาน

- บิกเกอร์ ขนาด 20 มิลลิลิตร
- ปีเปต ขนาด 1, 5, 10 และ 20 มิลลิลิตร
- ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
- ขวดพลาสติกใส่สารละลายมาตรฐานขนาด 30 มิลลิลิตร

3.3.2 สารเคมี

- กรดไนตริกเข้มข้น (HNO_3 Conc^n 65%)
- ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 30%
- น้ำกลั่น 2 ครั้ง (double distilled water)
- สารละลายมาตรฐาน 1000 ppm.

3.3.3 วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในตัวอย่าง

1. การเตรียมอุปกรณ์ เครื่องแก้ว และพลาสติก

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

2. วิธีการย่อยตัวอย่าง (Krishnamurty, 1976)

สำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

วิธีการทดลอง

นำผลไม้ดองมาอบที่อุณหภูมิ 60 ซ. จนแห้งสนิท

↓

ชั่งผลไม้ดอง (0.5-0.6 กรัม) ด้วยเครื่องชั่งละเอียด

↓

ใส่ตัวอย่างที่ชั่งแล้วลงในหลอดย่อยชนิดคอยาว

↓

เติมกรดไนตริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร

↓

ตั้งบนเตาชนิดแผ่นความร้อน ปรับอุณหภูมิประมาณ 40-50 ซ.
ประมาณ 4- 8 ชั่วโมง

↓

นำแต่ละหลอดย่อยต่อในเตาหลุม เพิ่มอุณหภูมิขึ้นเรื่อยๆ จนสารละลายเริ่มเดือด
จนเหลือสารละลายประมาณ 2-3 มิลลิลิตร

↓

เติมน้ำกลั่น 2 ครั้งลงไปเล็กน้อยขณะร้อนๆ เพื่อให้เกิดการออกซิไดส์

↓

ได้สารละลายสีเหลืองอ่อน ปริมาตรประมาณ 1-2 มิลลิลิตร ยกลง

↓

เทใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตร พอดี

↓

นำสารละลายที่ได้ไปปั่นให้ตกตะกอนด้วยความเร็วประมาณ 2500 รอบต่อนาที 10 นาที

↓

เทสารละลายใส่ในขวดพลาสติก เก็บไว้ในตู้เย็นรอวัดหาปริมาณโลหะ

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%

1
bA1.96
ส๑๖
134566
24 ต.ค. 2549

วิธีการ

- เทสารละลายมาตรฐาน 1000 ppm. (1 stock solution) ของตะกั่ว ใส่บิ๊กเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร แต่ละใบมากกว่า 10 มิลลิลิตร เล็กน้อย

- ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายจากบิ๊กเกอร์ให้ได้ 1 มิลลิลิตรพอดี ใส่ในขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร

- เติมกรดไนตริก 10% ให้ครบ 100 มิลลิลิตรพอดี เขย่าให้เข้ากัน ได้สารละลายมาตรฐาน 10 ppm. (stock solution) ของแต่ละชนิด

- จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐานของตะกั่ว จาก 2 stock solution ให้ได้ความเข้มข้นตามต้องการ (ดังข้างต้น) โดยใช้ปิเปตดูสารละลายมาตรฐาน 2 stock solution และ 10.0 มิลลิลิตร วัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และเป็นกรดไนตริก 10% ให้ครบ 100 มิลลิลิตรพอดี เขย่าให้เข้ากันเก็บใส่ขวดพลาสติกไว้จะได้สารละลายตะกั่ว 0.1, 0.5 และ 1.0 ppm.

3.3.5 การวัดหาปริมาณโลหะหนัก

วัดหาปริมาณโลหะหนักด้วยเครื่อง Atomic AborptionSpectrophotometer (AAS) รุ่น Pertein-Elmer 372 โดยวัดหาปริมาณตะกั่ว โดยใช้หลอดไฟและความยาวคลื่นแสง (wavelength) ตะกั่ว ใช้ความยาวคลื่นแสง 217.0 nm. และใช้ airacety-lene gas เป็นเชื้อเพลิงแล้วอ่านค่าการดูดกลืนแสง (absorbance)

3.4 การหาปริมาณบอแรกซ์

3.4.1 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างผลไม้ดองมาล้างด้วยน้ำสะอาด

2. จากนั้นนำเนื้อตัวอย่างที่ได้มาบดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่น แล้วเก็บใส่ถุงพลาสติก 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. บิ๊กเกอร์ (beaker) ขนาด 100 มล.

6. กระดาษกรอง

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 และ116 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

↓

เทส่วนน้ำใส ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 มล.

ล้างส่วนตะกอน ด้วยน้ำกลั่น 1-2 มล.

คนด้วยแท่งแก้วแล้วนำไปปั่นเช่นเดียวกับข้างต้น

เทส่วนน้ำใสลงในขวดวัดปริมาตรข้างต้น

ทำซ้ำเช่นนี้จนปริมาตรครบ 10 มล.

เติม activated charcoal ประมาณ 0.1 กรัม ลงใน flask ขนาด 10 มล.

ผสมให้เข้ากันโดยเขย่าเป็นระยะเป็นเวลา 10 นาที

ปล่อยให้ถ่านตกตะกอน 5 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