

## บทที่ 2

### วิธีการวิจัย

#### 2.1 วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือวิทยาศาสตร์

##### 2.1.1 วัสดุอุปกรณ์

- 1) ถุงเก็บตัวอย่างชนิดโพลีเอทิลีน (polyethylene)
- 2) น้ำยาล้างจาน(detergent)
- 3) น้ำกลั่น
- 4) เสียมแบบด้ามสั้น สำหรับเก็บตัวอย่าง

##### 2.1.2 เครื่องมือวิทยาศาสตร์

- 1) เครื่องมือหาตำแหน่งบนพื้นโลกด้วยดาวเทียม (Global Positioning System; GPS) ยี่ห้อ Garmin รุ่น *etrez* 12 channel GPS สำหรับจับพิกัดจุดเก็บตัวอย่าง
- 2) เครื่องวิเคราะห์ คาร์บอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน และซัลเฟอร์ ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น CHNS Analyzer PE 2400 Series II
- 3) เครื่องวิเคราะห์ปรอท ยี่ห้อ NICS Mercury Analyzer รุ่น SP3D
- 4) เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler

#### 2.2 การเก็บตัวอย่าง

พื้นที่ศึกษาการปนเปื้อนของปรอทในดินในการศึกษาครั้งนี้ คือ พื้นดินรอบทะเลสาบสงขลา โดยกำหนดจุดเก็บตัวอย่างเพื่อเก็บตัวอย่างดินชั้นบนครอบคลุมการใช้ประโยชน์ที่ดิน 5 ประเภท คือ เกษตรกรรม ที่อยู่อาศัย อุตสาหกรรม ชุมชนชาติ และเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

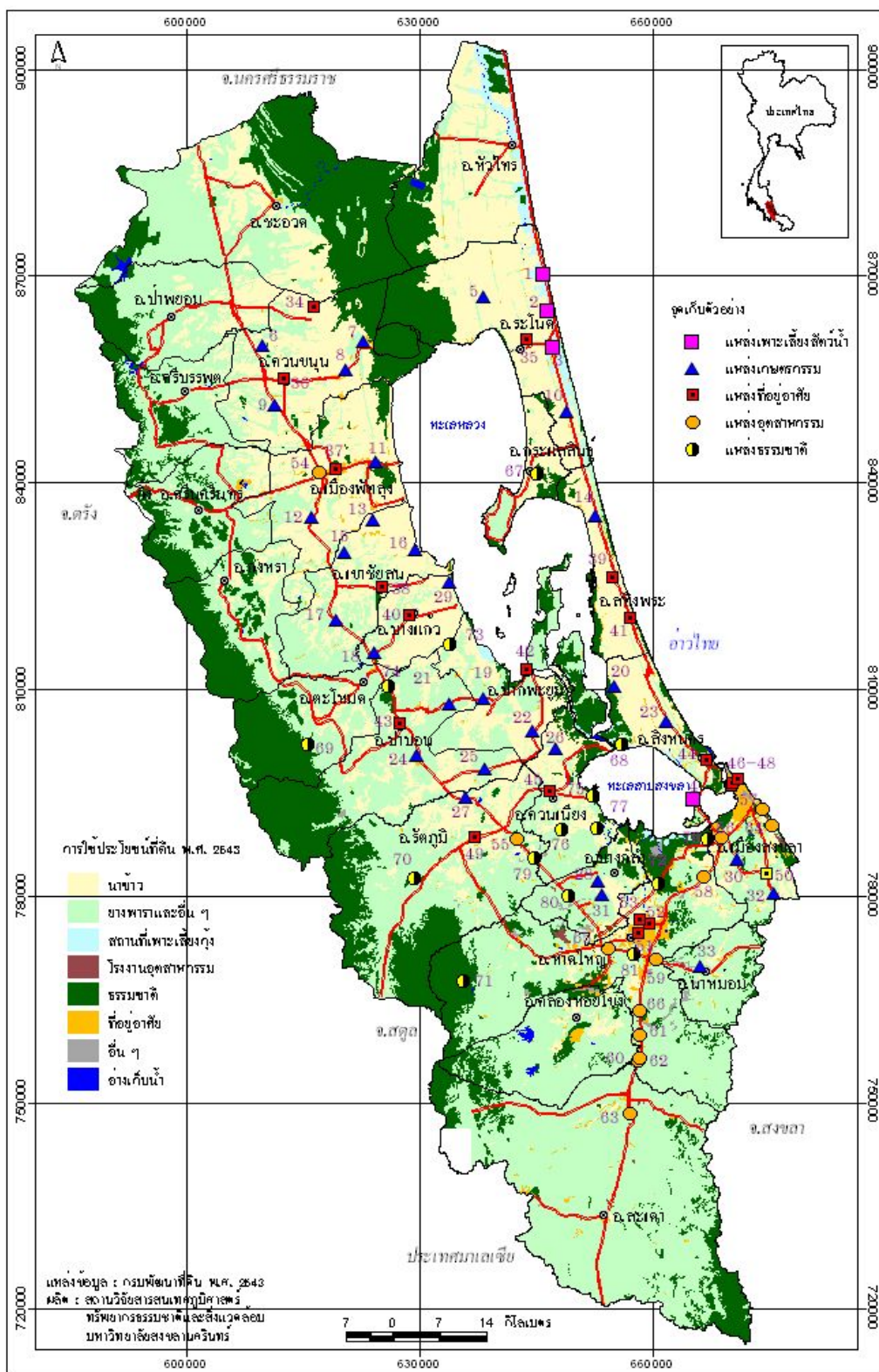
การกำหนดจุดเก็บตัวอย่างและเก็บตัวอย่างดำเนินการตามวิธีที่แนะนำไว้ใน Soil Sampling for Environmental Contaminants ของ International Atomic Energy Agency (IAEA, 2004) โดยใช้ Systematic Random Sampling แบ่งจุดเก็บตัวอย่างทุก 10 ตารางกิโลเมตร และทุก 5 ตารางกิโลเมตรในบางพื้นที่ ทั้งนี้เพื่อให้ครอบคลุมการใช้ประโยชน์ที่ดินข้างต้น บางพื้นที่ เช่น บริเวณตัวเมืองที่ค่อนข้างใหญ่ จะมีการเก็บตัวอย่างมากกว่า 1 จุด เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับการปนเปื้อน

การเก็บตัวอย่างดำเนินการในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึง มิถุนายน พ.ศ. 2547 รูปที่ 2-1 แสดงจุดเก็บตัวอย่างทั้ง 81 จุด สำหรับพิกัดของจุดเก็บตัวอย่างทั้งหมดแสดงไว้ในตาราง ก-1 ภาคผนวก ก

การเก็บตัวอย่างในแต่ละจุดเก็บใช้เครื่อง GPS จับพิกัดตำแหน่งบนพื้นโลก แต่ละสถานีเก็บตัวอย่างแบบผสมรวม (composite sample) โดยเก็บตัวอย่าง 4 จุด จุดละประมาณ 500 กรัม นำมาผสมรวมกัน การเก็บตัวอย่างในแต่ละสถานีเริ่มจากเก็บตัวอย่างดินเฉพาะดินชั้นบน ลึกถึงระดับ 10 เซนติเมตร โดยใช้เสียมที่สะอาด เก็บตัวอย่างดินประมาณ 500 กรัม บรรจุลงในถุงพลาสติกโพลีเอทิลีนที่สะอาด จากนั้นเก็บตัวอย่างดินโดยรอบจากจุดแรกอีก 3 จุด โดยห่างจากจุดแรก 10 เมตร แยกถุงกันไว้ ก่อนจะนำทั้งหมดไปผสมกันเป็นตัวอย่างแบบผสมรวมในห้องปฏิบัติการ เมื่อเก็บตัวอย่างเสร็จในแต่ละจุดล้างเสียมด้วยดีทอลและน้ำกลั่น เก็บไว้ในถุงพลาสติกสะอาดเพื่อใช้ในจุดต่อไป สำหรับบางจุดเก็บในตัวอย่างอ่าว ซึ่งมีพื้นที่ไม่กว้างมาก ไม่สามารถเว้นระยะการเก็บตัวอย่างได้ถึง 10 เมตร ใช้วิธีเก็บดินตัวอย่างจากจุดต่างๆ 3 – 4 จุด แล้วนำมาผสมรวมกัน แทนวิธีเก็บจากจุดรอบๆ แบบเว้นระยะ 10 เมตร

### 2.3 การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์

ตัวอย่างดินทั้งหมดในแต่ละจุดเก็บจะถูกนำมาผสมกันเป็นตัวอย่างแบบผสมรวมในถาดพลาสติกโพลีโพรพิลีนชนิดใช้แล้วทิ้งเลย (disposable polypropylene tray) นำไปผึ่งให้แห้งในห้องปรับอากาศที่ไม่มีฝุ่นละออง จนตัวอย่างดินแห้งสนิท นำตัวอย่างที่แห้งแล้วร่อนผ่านตะแกรงไนลอน ขนาดรูเปิด 1 มิลลิเมตร เพื่อคัดเอาทรายหยาบ กรวดทรายและเศษขยะออก หลังจากนั้นร่อนอีกครั้งผ่านตะแกรงเทฟลอน (teflon sieve) ขนาดรูเปิด 250 ไมครอน บดตัวอย่างที่ร่อนผ่านตะแกรงเทฟลอนแล้ว ด้วยบดตัวอย่างในโกร่งโมรา (agate mortar) จนเนื้อดินละเอียดเข้ากันเป็นเนื้อเดียว (homogeneous) ตัวอย่างที่ได้เก็บใส่ถุงพลาสติกสะอาด สำหรับใช้วิเคราะห์ทั้งปรอทคาร์บอนทั้งหมด อินทรีย์คาร์บอน และกำมะถัน (ดัดแปลงจากวิธีของ Loring and Rantala (1992) และ NIC (2004))



รูปที่ 2-1 แผนที่แสดงจุดเก็บตัวอย่างในพื้นที่ลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา

## 2.4 การวิเคราะห์ทางเคมี

### 2.4.1 การวิเคราะห์ปรอทรวม (Total Mercury)

ตัวอย่างที่ผ่านการร่อนและบดละเอียด นำมาวิเคราะห์หาค่าปรอทรวม โดยเครื่อง NICS Mercury Analyzer รุ่น SP3D ซึ่งเป็นไปตามวิธี US-EPA 7473 วิธีนี้เป็นวิธีการวัดตรงโดยไม่ต้องผ่านการเตรียมตัวอย่างหลายขั้นตอน ซึ่งเป็นการลดความผิดพลาดจากการปนเปื้อนและสูญเสียตัวอย่างระหว่างเตรียมตัวอย่าง นอกจากนี้ในกระบวนการวิเคราะห์ของเครื่องยังมีการใช้ทองจับปรอทให้อยู่ในรูปอะมัลกัม (amalgam) ก่อน แล้วจึงทำการวัด ทั้งนี้เพื่อให้ปรอทที่เข้าไปในเครื่องตรวจวัด (detector) มีความบริสุทธิ์สูง ซึ่งจะทำให้ระดับการตรวจวัดปรอท (detection limit) ทำได้ต่ำถึง 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

หลักการของวิธี คือ ตัวอย่างดินจะถูกเผาที่อุณหภูมิ 700°C ด้วยอากาศภายในห้องเผา ที่มีคอปเปอร์ออกไซด์อะมัลกัม (copper oxide catalyst) ปรอทในรูปแบบต่างๆ รวมทั้งรูปอินทรีย์สาร จะเปลี่ยนไปเป็นไอปรอท ( $Hg^0$ ) ก๊าซที่เป็นกรดซึ่งเกิดขึ้นจากการเผาไหม้จะถูกจับโดยโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) และแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (calcium hydroxide) ที่เติมลงไป และขึ้นต่อมาถูกตรึงโดยสารละลายบัพเฟอร์พีเอส 7 ไอปรอทที่เกิดขึ้นจะไปจับที่อะมัลกัมเมเตอร์ (amalgamator) เกิดเป็นโลหะผสมที่เรียกว่า “อะมัลกัม” ของปรอทและทอง หลังจากนั้นจะให้ความร้อนเพื่อปลดปล่อยปรอทไปยังอะมัลกัมเมเตอร์ตัวที่ 2 เพื่อทำให้ปรอทบริสุทธิ์ปราศจากตัวรบกวน สุดท้ายปรอทจะถูกปล่อยจากอะมัลกัมเมเตอร์ตัวที่ 2 ไปสู่เซลล์วัด และถูกวัดด้วยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์ปชันที่ความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตร โดยทั้งหมดอาศัยอากาศเป็นตัวพาปรอทจากขั้นตอนการเผาไปสู่การตรวจวัด ขั้นตอนทั้งหมดในการวิเคราะห์ปรอทโดยเครื่อง NICS Mercury Analyzer รุ่น SP3D แสดงไว้ในภาคผนวก ข

การควบคุมคุณภาพในการวิเคราะห์ปรอททำโดยวิเคราะห์รีเอเจนต์เบลงค์ (reagent blank) โดยใช้ตัวเติมใส่ A [ $Na_2CO_3$  (sodium carbonate) และ  $Ca(OH)_2$  (calcium hydroxide) ในสัดส่วน 60:40] และ B [ $Al_2O_3$  (aluminium oxide)] เหมือนที่ใช้กับตัวอย่างในชุดการวิเคราะห์ ตัวอย่างแต่ละครั้ง ทำการตรวจสอบกราฟเทียบกับสารมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้นกึ่งกลางกราฟ ทุก 10 ตัวอย่าง ที่ทำการวิเคราะห์ ค่าที่ได้ต้องอยู่ใน  $\pm 10\%$  ของค่าจริง และมีการทำซ้ำ (duplicate) 10% ของตัวอย่างทั้งหมด โดยร้อยละความแตกต่างต้องอยู่ในช่วงไม่เกิน 10% นอกจากนี้ยังได้ทำวิเคราะห์ตะกอน BEST-1 ซึ่งเป็น Certified Reference Materials ของ National Research Council Canada เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ค่าปรอทที่วิเคราะห์ได้ กลับคืนจะต้องอยู่ระหว่าง  $92 \pm 9$  ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

#### 2.4.2 การวิเคราะห์หาคาร์บอนทั้งหมดและกำมะถัน

ตัวอย่างที่ผ่านการร่อนและบด นำมาวิเคราะห์หาคาร์บอนทั้งหมดและกำมะถัน โดยใช้เครื่อง Perkin Elmer CHNS Analyzer PE 2400 Series II

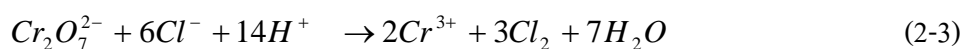
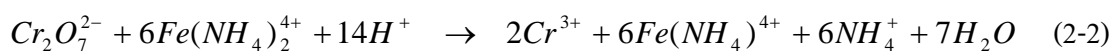
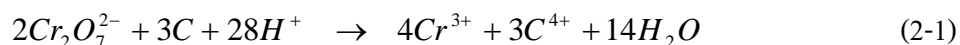
หลักการของวิธีการนี้ คือ ใช้วิธีการเผาตัวอย่างในสภาวะออกซิเจนบริสุทธิ์เพื่อเปลี่ยนคาร์บอนและกำมะถันในตัวอย่าง ไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxides) และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (sulfur dioxide) การเผาไหม้เกิดขึ้นในหลอดเผาไหม้ (combustion tube) โดยใช้คอปเปอร์ (copper) เป็นตัวเร่งที่อุณหภูมิ 975°C ก๊าซอื่นที่เกิดขึ้น เช่น ฮาโลเจน (halogen) จะถูกเอาออกในหลอดรีดักชัน (reduction tube) ก๊าซที่ได้จะถูกปรับให้มีความดันอุณหภูมิ และปริมาตรที่แน่นอน ก่อนส่งเข้าสู่คอลัมน์ (column) เพื่อแยกและตรวจวัดด้วยดีเทคเตอร์ชนิดเทอร์มัลคอนดักติวิตี (thermal conductivity detector) ขั้นตอนทั้งหมดในการวิเคราะห์คาร์บอนทั้งหมดและกำมะถัน โดยเครื่อง Perkin Elmer CHNS Analyzer PE 2400 Series II แสดงไว้ในภาคผนวก ก

การควบคุมคุณภาพในการวิเคราะห์ทำโดยวิเคราะห์ L-Cystine ทุกๆ 10 ตัวอย่าง ค่าของแต่ละธาตุที่ได้ต้องอยู่ในค่า  $\pm 10\%$  ของค่าจริง และมีการทำซ้ำ (duplicate) 10% ของตัวอย่างทั้งหมด โดยร้อยละความแตกต่างต้องอยู่ในช่วงไม่เกิน 10%

#### 2.4.3 การวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอน

การวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนใช้วิธีวอลกี-แบล็ค (Walkey-Black Method) ซึ่งพัฒนาปรับปรุงโดย Loring and Rantala (1992) วิธีนี้เป็นวิธีที่แยกสารอินทรีย์ออกจากอินทรีย์คาร์บอนอื่นๆ เช่น แกรไฟท์ (graphite) ถ่านหิน (coal) และอินทรีย์คาร์บอนที่เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางเคมี สารอินทรีย์ที่วิเคราะห์โดยวิธีนี้เป็นสารอินทรีย์ที่สามารถออกซิไดซ์ได้ทางเคมี (readily oxidisable organic matter) ซึ่งถือเป็นสารอินทรีย์ในรูปที่สิ่งมีชีวิตสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่ายในสิ่งแวดล้อม

หลักการ คือ อินทรีย์คาร์บอนจะถูกออกซิไดซ์ด้วยไดโครเมต (dichromate) ในสภาวะที่เป็นกรด ดังสมการ 2-1 เมื่อเติมไดโครเมต ให้มีปริมาณที่มากเกินไป หลังจากอินทรีย์คาร์บอนถูกออกซิไดซ์ไปหมดแล้ว จะสามารถหาปริมาณไดโครเมตที่เหลือโดยรีดิวซ์ด้วยสารละลายเฟอร์รัส (ferrous solution) และใช้ไดฟีนีลลามีน (diphenylamine) เป็นอินดิเคเตอร์ (indicator) เติมกรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) ลงไปเพื่อให้สังเกตจุดยุติได้ง่ายขึ้น ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น แสดงได้ดังสมการ 2-2 แต่เนื่องจากไดโครเมตสามารถทำปฏิกิริยากับคลอไรด์ไอออน (chloride ion) ดังสมการ 2-3 จึงต้องเติมซิลเวอร์ซัลเฟต (silver sulfate) ลงไปเพื่อป้องกันการสูญเสียไดโครเมตไปในปฏิกิริยานี้



ขั้นตอนในการวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนวิธีวอลกี-แบล็ค แสดงไว้ในภาคผนวก ง

การควบคุมคุณภาพในการวิเคราะห์ทำโดยวิเคราะห์น้ำตาลเดกซ์โทรส (dextrose) ค่าคาร์บอนที่วิเคราะห์ได้จะต้องอยู่ในค่า  $\pm 5\%$  ของค่าจริง และมีการทำซ้ำ (duplicate) 10% ของตัวอย่างทั้งหมด โดยร้อยละความแตกต่างต้องอยู่ในช่วงไม่เกิน 10%

## 2.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลปรอทที่วิเคราะห์ได้ จะนำเข้าสู่ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ เพื่อดูแนวโน้มการสะสมและการกระจายตามพื้นที่การใช้ประโยชน์ที่ดินต่างๆ และเก็บเป็นฐานข้อมูลสำหรับลุ่มน้ำ

สำหรับการวิเคราะห์ทางสถิติ เพื่อดูความแตกต่างของปริมาณปรอทในกลุ่มการใช้ประโยชน์ที่ดินที่ต่างกัน ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณปรอทกับปัจจัยองค์ประกอบในดิน เช่น ปริมาณคาร์บอนทั้งหมด อินทรีย์คาร์บอน และกำมะถันทั้งหมด โดยใช้โปรแกรม MINITAB ซึ่งเป็นโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

ความแตกต่างของปรอทระหว่างกลุ่มการใช้ประโยชน์ที่ดินที่ต่างกัน ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย 1-Way ANOVA และ Multiple comparisons ด้วย Fisher's Least Significant Difference ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างปรอทกับอินทรีย์คาร์บอน และกำมะถันในดิน ใช้ค่าสหสัมพันธ์ของ Pearson และ Regression analysis