

### บทที่ 3

#### วิธีการดำเนินการวิจัย

##### 3.1 รูปแบบและขั้นตอนการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้แบ่งเป็น 5 ขั้นตอน ดังนี้

**ขั้นที่หนึ่ง** เตรียมปรอทให้สะอาดก่อนนำไปทำการล้างด้วยกรดไนตริกเจือจาง และกลั่นในสุญญากาศ โดยนำไปเขย่ากับสารละลาย 25% ที่โพลเพื่อกำจัดคราบน้ำมันออกจากปรอท

**ขั้นที่สอง** ศึกษาหาความเข้มข้นของกรดไนตริกที่เหมาะสมที่จะใช้ในการล้างปรอท โดยการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกรดไนตริกเป็น 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 % น้ำหนัก/ปริมาตร เก็บตัวอย่างสารละลายกรดเจือจางที่ผ่านการล้างปรอท และตัวอย่างปรอทที่ผ่านการล้างกรดทั้งหมดมาวิเคราะห์หาปริมาณสารมลทินในสารละลาย และหาความบริสุทธิ์ของปรอทด้วย XRF และ AAS

**ขั้นที่สาม** ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการกลั่นปรอทในสุญญากาศ โดยการเปลี่ยนแปลงจำนวนครั้งของการกลั่น 1, 2 และ 3 ครั้ง เก็บตัวอย่างปรอทที่ได้จากการกลั่น และหาความบริสุทธิ์ของปรอท โดยใช้ AAS

**ขั้นที่สี่** ติดตามผลกระทบต่อสภาวะแวดล้อมด้านไอปรอทในอากาศในห้องปฏิบัติการ โดยทำการเก็บ และ วิเคราะห์ปรอทในอากาศ

**ขั้นที่ห้า** ติดตามปริมาณปรอทตกค้างในบัสสภาวะ โดยทำการเก็บและตรวจปรอทในบัสสภาวะของผู้ที่เกี่ยวข้องบริเวณห้องปฏิบัติการ และตัวอย่างบัสสภาวะจากกลุ่มควบคุมซึ่งไม่มีกิจกรรมใด ๆ ที่เกี่ยวข้องกับปรอท

##### 3.2 เครื่องมือ-อุปกรณ์ และสารเคมี

**3.2.1 เครื่องแก้ว** ได้แก่ บีเปต ขวดวัดปริมาตร บีกเกอร์ กระบอกตวง แท่งแก้วคน หลอดหยด กรวยแยก กรวยแก้วกรอง เครื่องแก้วล้างปรอท และเครื่องแก้วกลั่นปรอท

### 3.2.2 เครื่องมือ-อุปกรณ์ ได้แก่

1. เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ( Atomic Absorption Spectrophotometer, AAS ของ Varian รุ่น SpectrAA 200, Australia) โดยกระบวนการทำให้สารแตกตัวเป็นอะตอมด้วยเปลวไฟ (Flame Atomization Technique) ที่เกิดจากอากาศและอะเซทิลีน (Air - C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) ที่ใช้แหล่งกำเนิดแสง (light source) แบบ Hollow Cathode Lamps (HCLs)

วิเคราะห์ปรอท	ใช้ความยาวคลื่น 253.7	นาโนเมตร	ความกว้างของ Slit 0.5	นาโนเมตร
วิเคราะห์นิกเกิล	ใช้ความยาวคลื่น 232.0	นาโนเมตร	ความกว้างของ Slit 0.2	นาโนเมตร
วิเคราะห์ตะกั่ว	ใช้ความยาวคลื่น 217.0	นาโนเมตร	ความกว้างของ Slit 1.0	นาโนเมตร
วิเคราะห์ทองแดง	ใช้ความยาวคลื่น 324.8	นาโนเมตร	ความกว้างของ Slit 0.5	นาโนเมตร
วิเคราะห์โคบอลต์	ใช้ความยาวคลื่น 240.7	นาโนเมตร	ความกว้างของ Slit 0.2	นาโนเมตร
วิเคราะห์แคดเมียม	ใช้ความยาวคลื่น 228.8	นาโนเมตร	ความกว้างของ Slit 0.5	นาโนเมตร
วิเคราะห์แมงกานีส	ใช้ความยาวคลื่น 279.5	นาโนเมตร	ความกว้างของ Slit 0.2	นาโนเมตร
วิเคราะห์เหล็ก	ใช้ความยาวคลื่น 248.3	นาโนเมตร	ความกว้างของ Slit 0.2	นาโนเมตร

2. เครื่องกำเนิดสารประกอบไฮโดรด์ (Hydride Generater ของ Varian รุ่น VGS 77, Australia)

3. เครื่องกรองพร้อมปั๊มดูดอากาศ (Vacuum Pump ของ Campbell Havsfeld)

4. เครื่องชั่งชนิดทหยาบ (ของ Mettler รุ่น PB 1502, England)

5. เครื่องชั่งชนิดละเอียด (ของ Mettler รุ่น AB204, England)

6. เครื่องกำจัดไอปรอท (Scrubber)

7. หน้ากากป้องกันไอปรอท (ของ AOSafety รุ่น R5651A, Medium)

8. เครื่องทำน้ำกำจัดอ๊ออน (ของ Barnstead)

9. เครื่องเอกซเรย์ฟลูออเรสเซนส์สเปกโตรมิเตอร์ (X-ray Fluorescence Spectrometer ของ Oxford รุ่น ED 2000, England)

10. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

11. กระดาษกรอง Whatman No.1 เส้นผ่าศูนย์กลาง 18.5 เซนติเมตร

12. เครื่องดูดปรอทในอากาศ (ของGilian รุ่น Gilled AIR-5 พร้อม Charcoal Tube)

13. เครื่องย่อยสารด้วยรังสีไมโครเวฟ (ของ Mile Stone รุ่น mls 1200 mega, mega 240, EM 45, Italy)

14. ชุดเครื่องล้างปรอท

15. ชุดเครื่องกลั่นปรอท

### 3.2.3 สารเคมี ได้แก่

#### 1. สารละลายปรอทมาตรฐานสำหรับการพัฒนาวิธีการทำปรอทให้บริสุทธิ์

เตรียมความเข้มข้นของปรอทในช่วง 10-30 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยดูดสารละลายปริมาตร 0.10 มิลลิลิตรจากสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ใส่สารละลายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดไนตริก 1% น้ำหนัก/ปริมาตร จนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายปรอทที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร นำสารละลายนี้มาเตรียมสารละลายปรอทที่ใช้ทำกราฟมาตรฐาน (Calibration Curve) โดยการดูดสารละลายที่ได้ 0.10, 0.20 และ 0.30 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดไนตริก 1% น้ำหนัก/ปริมาตร จนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายปรอทที่มีความเข้มข้น 10, 20 และ 30 ไมโครกรัมต่อลิตร นำสารละลายดังกล่าวมาทำเป็นกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) กับความเข้มข้นของปรอท (ไมโครกรัมต่อลิตร) โดยใช้สารละลายกรดไนตริก 1% น้ำหนัก/ปริมาตรเป็นแบลงค์ (blank)

#### 2. สารละลายปรอทมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปรอทในอากาศ

เตรียมความเข้มข้นของปรอทในช่วง 10-30 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยดูดสารละลายปริมาตร 0.10 มิลลิลิตรจากสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดไนตริก 1% น้ำหนัก/ปริมาตร จนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายปรอทที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร นำสารละลายนี้มาเตรียมสารละลายปรอทที่ใช้ทำกราฟมาตรฐานต่อไป โดยการดูดสารละลายนี้ 0.10, 0.20 และ 0.30 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมกรดไนตริกเข้มข้น (70.5% น้ำหนัก/ปริมาตร) 5 มิลลิลิตร และตามด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37% น้ำหนัก/ปริมาตร) 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดไอออนแล้วจนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายปรอทที่มีความเข้มข้น 10, 20 และ 30 ไมโครกรัมต่อลิตร นำสารละลายดังกล่าวมาทำเป็นกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับ ความเข้มข้นของปรอท (ไมโครกรัมต่อลิตร) โดยใช้แบลงค์ (blank) เป็นสารละลายผสมของกรดไนตริกเข้มข้น (70.5% น้ำหนัก/ปริมาตร) 5 มิลลิลิตร และกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37% น้ำหนัก/ปริมาตร) 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดไอออนแล้ว

#### 3. สารละลายปรอทมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปรอทในปัสสาวะด้วยวิธี Standard Addition

เตรียมความเข้มข้นของปรอทในช่วง 2-6 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยดูดสารละลายปริมาตร 0.10 มิลลิลิตรจากสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดไนตริก 1% น้ำหนัก/ปริมาตร จนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายปรอทที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นดูดสารละลายนี้ 25 มิลลิลิตรใส่ขวดวัดปริมาตร

ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำสารละลายกรดไนตริก 1% น้ำหนัก/ปริมาตร จนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายปรอทที่มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อลิตร นำสารละลายนี้มาเตรียมสารละลายปรอทที่ใช้ทำกราฟมาตรฐาน (แบบ Standard Addition) ต่อไปโดยการดูดสารละลายนี้ 0.10, 0.20 และ 0.30 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมห่วงที่ข้อยด้วยรังสีไมโครเวฟแล้ว 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดอ็อกซิเจนแล้วจนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายปรอทที่มีความเข้มข้น 2, 4 และ 6 ไมโครกรัมต่อลิตรรวมกับความเข้มข้นของปรอทในสารตัวอย่าง นำสารละลายดังกล่าวมาทำเป็นกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายปรอท สารละลายแบลนด์เตรียมเช่นเดียวกันกับขั้นตอนการเตรียมสารละลายปรอทมาตรฐานแต่ใช้น้ำกลั่นแทนปรอทมาตรฐาน

#### 4. สารละลายนิกเกิลมาตรฐาน

เตรียมความเข้มข้นของนิกเกิลในช่วง 0.2 - 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยดูดสารละลายปริมาตร 1 มิลลิลิตรจากสารละลายนิกเกิลมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำสารละลายกรดไนตริก 1% น้ำหนัก/ปริมาตร จนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายนิกเกิลที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร นำสารละลายนี้มาเตรียมสารละลายนิกเกิลที่ใช้ทำกราฟมาตรฐานแบบ Standard Addition ต่อไป โดยการปิเปตสารละลาย 0.10, 0.20 และ 0.30 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เติมห่วงที่ต้องการวิเคราะห์ 40 มิลลิลิตร เติมน้ำที่ผ่านการกำจัดอ็อกซิเจนแล้วจนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายนิกเกิลที่มีความเข้มข้น 0.2, 0.4 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมกับความเข้มข้นของนิกเกิลในสารตัวอย่าง นำสารละลายดังกล่าวมาทำเป็นกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของนิกเกิล (มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยใช้น้ำที่ผ่านการกำจัดอ็อกซิเจนแล้วเป็นแบลนด์ และในการเตรียมสารตัวอย่างจะทำการดูดตัวอย่างปริมาณ 40 มิลลิลิตรใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดอ็อกซิเจนแล้ว

#### 5. สารละลายตะกั่วมาตรฐาน

เตรียมความเข้มข้นของตะกั่วในช่วง 0.2 - 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับการเตรียม สารละลายนิกเกิลมาตรฐานในข้อ 2

#### 6. สารละลายทองแดงมาตรฐาน

เตรียมความเข้มข้นของทองแดงในช่วง 0.2 - 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับการเตรียมสารละลายนิกเกิลมาตรฐานในข้อ 2

## 7. สารละลายโคบอลต์มาตรฐาน

เตรียมความเข้มข้นของโคบอลต์ในช่วง 0.2 - 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับการเตรียมสารละลายนิกเกิลมาตรฐานในข้อ 2

## 8. สารละลายแคดเมียมมาตรฐาน

เตรียมความเข้มข้นของแคดเมียมในช่วง 0.2 - 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับการเตรียมสารละลายนิกเกิลมาตรฐานในข้อ 2

## 9. สารละลายแมงกานีสมาตรฐาน

เตรียมความเข้มข้นของแมงกานีสในช่วง 0.2 - 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับการเตรียมสารละลายนิกเกิลมาตรฐานในข้อ 2

## 10. สารละลายเหล็กมาตรฐาน

เตรียมความเข้มข้นของเหล็กในช่วง 0.2 - 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยดูดสารละลายปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากสารละลายเหล็กมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดไนตริก 1% น้ำหนัก/ปริมาตร จนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายเหล็กที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร นำสารละลายนี้มาเตรียมสารละลายเหล็กที่ใช้ทำกราฟมาตรฐานต่อไป โดยการดูดสารละลายนี้ 0.10, 0.20 และ 0.30 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดไนตริก 1% น้ำหนัก/ปริมาตร จนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายเหล็กที่มีความเข้มข้น 0.2, 0.4 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร นำสารละลายดังกล่าวมาทำเป็นกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายเหล็ก (มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยใช้สารละลายกรดไนตริก 1% น้ำหนัก/ปริมาตร เป็นแบลนด์ (blank)

## 11. สารละลายกรดไนตริกเจือจาง 5% น้ำหนัก/ปริมาตร

เตรียมโดยดูดกรดไนตริกเข้มข้น (70.5% น้ำหนัก/ปริมาตร; BDH, AR Grade) 70.9 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร ที่มีน้ำที่กำจัดอ็อกซิเจนแล้วอยู่ประมาณครึ่งขวด จากนั้นปรับปริมาตรจนถึงขีดวัดปริมาตรด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดอ็อกซิเจนแล้วเขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายกรดไนตริกที่มีความเข้มข้น 5% น้ำหนัก/ปริมาตร

## 12. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 18.5% น้ำหนัก/ปริมาตร

เตรียมโดยดูดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37% น้ำหนัก/ปริมาตร; J.T. Baker, AR Grade) 250 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีน้ำที่กำจัดอ็อกซิเจนแล้วอยู่ประมาณครึ่งขวด จากนั้น

ปรับปริมาตรจนถึงขีดวัดปริมาตรด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดอ็อกซิเจนแล้ว เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้น 18.5% น้ำหนัก/ปริมาตร

13. สารละลายโซเดียมบอโรไฮไดรต์ 0.3% โดยน้ำหนักและโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 % โดยน้ำหนัก เตรียมโดยชั่งโซเดียมบอโรไฮไดรต์ 1.5 กรัม และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.5 กรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำที่ผ่านการกำจัดอ็อกซิเจนแล้วเขย่าให้ละลาย และปรับปริมาตรด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดอ็อกซิเจนแล้ว

14. สารละลายกรดไนตริกเจือจาง 1% น้ำหนัก/ปริมาตร

เตรียมโดยดูดกรดไนตริกเข้มข้น (70.5% น้ำหนัก/ปริมาตร; BDH , AR Grade) 3.55 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตรที่มีน้ำที่กำจัดอ็อกซิเจนแล้วอยู่ประมาณครึ่งขวด จากนั้นปรับปริมาตรจนถึงขีดวัดปริมาตรด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดอ็อกซิเจนแล้วเขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายกรดไนตริกที่มีความเข้มข้น 1% น้ำหนัก/ปริมาตร

15. สารละลายกรดไนตริกเจือจาง 2% น้ำหนัก/ปริมาตร

เตรียมเช่นเดียวกับสารละลายกรดไนตริกเจือจาง 1% น้ำหนัก/ปริมาตร แต่ใช้กรดไนตริกเข้มข้น ปริมาตร 7.0 มิลลิลิตร

14. สารละลายกรดไนตริกเจือจาง 3% น้ำหนัก/ปริมาตร

เตรียมเช่นเดียวกับสารละลายกรดไนตริกเจือจาง 1% น้ำหนัก/ปริมาตร แต่ใช้กรดไนตริกเข้มข้น ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร

15. สารละลายกรดไนตริกเจือจาง 4% น้ำหนัก/ปริมาตร

เตรียมเช่นเดียวกับสารละลายกรดไนตริกเจือจาง 1% น้ำหนัก/ปริมาตร แต่ใช้กรดไนตริกเข้มข้น ปริมาตร 14.2 มิลลิลิตร

16. สารละลายกรดไนตริกเจือจาง 6% น้ำหนัก/ปริมาตร

เตรียมเช่นเดียวกับสารละลายกรดไนตริกเจือจาง 1% น้ำหนัก/ปริมาตร แต่ใช้กรดไนตริกเข้มข้น ปริมาตร 21.3 มิลลิลิตร

17. สารละลาย 25% ทีโพล

เตรียมโดยดูดทีโพล 250 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดอ็อกซิเจนแล้วเขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลาย 25% ทีโพลที่ใช้ล้างปรอท

### 3.3 วิธีการทดลอง

#### 3.3.1 วิธีการล้างคราบน้ำมันออกจากปรอท

นำปรอทที่ได้จากโรงแยกกาศมาเขย่ากับสารละลาย 25% ทีโพล ในกรวยแยกขนาด 500 มิลลิลิตร ประมาณ 5 นาที เพื่อกำจัดคราบน้ำมันออกจากปรอท จากนั้นนำมาผ่านเครื่องแก้วล้างปรอทที่ออกแบบเพื่อให้เม็ดปรอทสัมผัสกับสารละลายได้มากที่สุดภายในบรรจุสารละลาย 25% ทีโพล (แสดงในภาคผนวก ก) หยดปรอทให้ตกลงมาตามแรงโน้มถ่วง กำจัดเศษตะกอนที่ลอยอยู่ด้านบนทิ้งไป นำปรอทที่ได้ไปผ่านสารละลาย 25 % ทีโพล ซ้ำอีก 2 ครั้ง จะได้ปรอทที่ค่อนข้างสะอาดขึ้น โดยใช้วิธีทดสอบเบื้องต้น คือนำหยดปรอทจากการล้างนี้ไปกลิ้งผ่านผิวแก้ว สังกะตรอย (tail) ที่เกิดขึ้นตามผิวแก้ว ถ้าปรอทมีความบริสุทธิ์สูงมากขึ้น รอยที่เกิดขึ้นจะน้อยลง (เป็นการทดสอบความบริสุทธิ์ของปรอทตามวิธีของ Wichers Test) นำปรอทที่ได้นั้นมาทำการทดลองศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการล้างปรอท และกลั่นปรอทในสุญญากาศต่อไป

#### 3.3.2 วิธีการทดลองการพัฒนาวิธีการทำปรอทให้บริสุทธิ์

##### 3.3.2.1 การศึกษาหาความเข้มข้นของกรดไนตริกที่เหมาะสมที่จะใช้ในการล้างปรอท

เติมสารละลายกรดไนตริกเจือจาง 200 มิลลิลิตร ลงในเครื่องแก้วล้างปรอทที่ตั้งไว้ในตู้ดูดควัน (Hood) ที่ต่อกับเครื่องกำจัดไอสารพิษ (Scrubber) นำปรอทที่ผ่านการทำความสะอาดขั้นต้นด้วยสารละลาย 25% ทีโพลแล้ว 500 กรัม ใส่ในเครื่องแก้วล้างปรอท (ดังแสดงในรูป ก3 ในภาคผนวก ก) แล้วปล่อยให้ปรอทหยดตกลงตามรอยหยักของเครื่องแก้ว ผ่านสารละลายกรดไนตริกเจือจางนี้ ศึกษาแปรเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายกรดไนตริก ตั้งแต่ 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 % น้ำหนัก/ปริมาตร ผ่านปรอทในสารละลายกรดแต่ละความเข้มข้นจำนวน 20 ครั้ง (รอบ) ในการผ่านปรอทในเครื่องแก้วล้างปรอท 1 ครั้ง จะใช้เวลาประมาณ 20 นาที จากนั้นการเก็บตัวอย่างสารละลายกรดไนตริกเจือจางแต่ละความเข้มข้นที่ผ่านการล้างปรอทแล้ว และเก็บตัวอย่างปรอทที่ผ่านการล้างทั้งหมดเพื่อนำไปวิเคราะห์หาความบริสุทธิ์

##### 1. การศึกษาหาชนิดโลหะมลทินที่ปนเปื้อนในปรอท

นำตัวอย่างปรอทตั้งต้นที่ได้จากแท่งขูดเจาะ และ ปรอทที่ได้จากการล้างกรดมาวิเคราะห์ทางคุณภาพวิเคราะห์ (Quantitative Analysis) เพื่อหาโลหะปนเปื้อนในปรอทโดยใช้ XRF โดยนำปรอทที่ได้ไปใส่ในภาชนะใส่ตัวอย่างของเครื่องเพื่อที่จะทำการหาชนิดของโลหะมลทินที่ปนเปื้อนอยู่ในปรอท

## 2. การศึกษาหาปริมาณโลหะหนักที่ละลายออกมาจากปรอท

นำตัวอย่างสารละลายกรดไนตริกเจือจางแต่ละความเข้มข้นที่ได้มาหาปริมาณโลหะตะกั่ว ทองแดง โคบอลต์ นิกเกิล แคดเมียม แมงกานีส และเหล็ก โดยใช้เครื่อง AAS การวิเคราะห์หาปริมาณโลหะตะกั่ว ทองแดง โคบอลต์ นิกเกิล แคดเมียม และแมงกานีส จะใช้วิธีการทำกราฟมาตรฐานแบบ Standard Addition Curve เพื่อลดความผิดพลาดจากการอ่านผล ส่วนการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะเหล็กจะใช้วิธีการทำกราฟมาตรฐานแบบ Calibration Curve เนื่องจากเหล็กอาจได้รับสัญญาณรบกวนแบบ Spectral Interference จากโลหะนิกเกิลและโคบอลต์ ดังนั้นการเติมสารมาตรฐานเหล็กลงไปในตัวอย่างไม่มีโลหะนิกเกิล และโคบอลต์อยู่จะทำให้การอ่านค่าการดูดกลืนแสงของเครื่องผิดพลาดได้

### 1.1 การหาปริมาณโลหะตะกั่ว

ดูดสารละลายตัวอย่าง 40 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำที่กำจัดอ็อกซิเจนแล้วจนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน ทำกราฟมาตรฐานแบบ Standard Addition Curve วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและสารมาตรฐานตะกั่วที่ความยาวคลื่น 217.0 นาโนเมตร

วิธีการคำนวณเป็นไปตามสมการดังนี้

$$\text{ปริมาณตะกั่วที่ละลายในกรดไนตริก} = \frac{(A - B) \times 50 \text{ (มิลลิลิตร)}}{40 \text{ (มิลลิลิตร)}} \text{ (มิลลิกรัม/ลิตร)}$$

เมื่อ

A = ปริมาณความเข้มข้นของโลหะตะกั่วที่เครื่อง AAS อ่านได้มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/ลิตร และ  
B = ปริมาณความเข้มข้นของโลหะตะกั่วในแบลนด์ที่เครื่อง AAS อ่านได้มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/ลิตร

### 1.2 การหาปริมาณโลหะทองแดง

ทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณตะกั่ว วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 324.8 นาโนเมตร

### 1.3 การหาปริมาณโลหะโคบอลต์

ทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณตะกั่ว วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 240.7 นาโนเมตร

### 1.4 การหาปริมาณโลหะนิกเกิล

ทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณตะกั่ว วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 232.0 นาโนเมตร



### 1.5 การหาปริมาณโลหะแคดเมียม

ทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณตะกั่ว วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 223.8 นาโนเมตร

### 1.6 การหาปริมาณโลหะแมงกานีส

ทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณตะกั่ว วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 279.5 นาโนเมตร

### 1.7 การหาปริมาณโลหะเหล็ก

นำสารละลายตัวอย่างที่ได้มาดูด (Aspirate) โดยตรงเข้าเครื่อง AAS ทำกราฟมาตรฐานแบบ Calibration Curve โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและสารมาตรฐานเหล็กที่ความยาวคลื่น 248.3 นาโนเมตร

วิธีการคำนวณเป็นไปตามสมการดังนี้

$$\text{ปริมาณเหล็กที่ละลายในกรดไนตริก} = (A - B)$$

(มิลลิกรัม/ลิตร)

เมื่อ

A = ปริมาณความเข้มข้นของโลหะเหล็กที่เครื่อง AAS อ่านได้มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/ลิตร และ

B = ปริมาณความเข้มข้นของโลหะเหล็กในแบลงค์ที่เครื่อง AAS อ่านได้มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/ลิตร

### 1.8 การหาปริมาณโลหะปรอท

ทำกราฟมาตรฐานแบบ Calibration Curve โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและสารละลายปรอทมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตรด้วย AAS - Cold Vapor บีบอัดสารละลายตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำที่กำจัดอ็อกซิเจนแล้วจนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากันจากนั้นดูดสารละลายนี้มา 1 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำที่กำจัดอ็อกซิเจนแล้วจนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน นำสารละลายตัวอย่างที่ได้มาหาปริมาณปรอทด้วยเครื่อง AAS - Cold Vapor

วิธีการคำนวณเป็นไปตามสมการดังนี้

$$\text{ปริมาณปรอทที่ละลายในกรดไนตริก} = \frac{(A - B) \times 50 \text{ (มิลลิลิตร)} \times 100 \text{ (มิลลิลิตร)}}{1 \text{ (มิลลิลิตร)} \times 0.1 \text{ (มิลลิลิตร)}}$$

(ไมโครกรัม/ลิตร)

เมื่อ

A = ปริมาณความเข้มข้นของโลหะปรอทที่เครื่อง AAS อ่านได้มีหน่วยเป็นไมโครกรัม/ลิตร และ  
B = ปริมาณความเข้มข้นของโลหะปรอทในแบลงค์ที่เครื่อง AAS อ่านได้มีหน่วยเป็นไมโครกรัม/  
ลิตร

### 3. การศึกษาหาปริมาณโลหะมลทินในปรอท

ชั่งน้ำหนักปรอทประมาณ 2 กรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกรดไนตริก  
เข้มข้น (70.5% น้ำหนัก/ปริมาตร) 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้จนปรอทละลายหมดและเติมน้ำที่กำจัดอ็อกไซด์แล้ว  
75 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโลหะมลทินด้วย AAS

วิธีการคำนวณเป็นไปตามสมการดังนี้

$$\frac{\text{ปริมาณโลหะมลทินในปรอท}}{\text{(ร้อยละโดยน้ำหนัก)}} = \frac{(A - B) \times 100}{\text{น้ำหนักปรอทที่ชั่ง (กรัม)}}$$

เมื่อ

A = ปริมาณความเข้มข้นของโลหะมลทินที่เครื่อง AAS อ่านได้มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/ลิตร และ  
B = ปริมาณความเข้มข้นของโลหะมลทินในแบลงค์ที่เครื่อง AAS อ่านได้มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/  
ลิตร

นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Window โดยวิธี  
วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (Analysis of Variance-One Way Classification) ให้ตัวแปร-  
อิสระ คือ ปรอทตั้งต้นจากโรงแยกก๊าซ ปรอทที่ผ่านสารลดแรงตึงผิว ปรอทที่ผ่านสารละลายกรดไนตริก  
เจือจาง 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, และ 6% น้ำหนัก/ปริมาตร และปรอทมาตรฐานทางทันตกรรม ตัวแปรตาม  
คือ ค่าปริมาณโลหะมลทินที่พบในปรอทที่ผ่านกรดเจือจาง ถ้าพบว่าตัวแปรอิสระอย่างน้อย 1 คู่ มี  
ความแตกต่างกัน (Reject Null Hypothesis) จะทำการทดสอบต่อโดยใช้ Multiple Comparision Test  
โดยวิธีของ Duncan ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 จากผลการวิเคราะห์เมื่อนำผลรวมของสารมลทินทั้งหมดที่  
ตรวจพบมาลบจาก 100 จะสามารถคำนวณกลับเป็นร้อยละของความบริสุทธิ์ของปรอทได้ และได้ความ  
เข้มข้นของสารละลายกรดไนตริกเจือจางที่ทำให้ปรอทมีความบริสุทธิ์สูงสุด

นำผลการทดลองปริมาณร้อยละของความบริสุทธิ์ของปรอทที่ได้ จากการล้างด้วยกรดไนตริกความ  
เข้มข้นที่เหมาะสมมาเปรียบเทียบกับค่าที่คาดหวังไว้คือ 99.9% โดยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ t-Test ที่  
ระดับนัยสำคัญ 0.05

### 3.3.2.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการกลั่นปรอท

นำปรอทที่ผ่านการทำความสะอาดเบื้องต้นด้วยสารละลาย 25% ที่โพลแล้ว ปริมาณ 500 กรัม ใส่ในเครื่องแก้วกลั่นปรอท (ดังในภาคผนวก ข.) ซึ่งตั้งอยู่ในตู้ดูดควันที่ต่อกับเครื่องกำจัดไอสารพิษ ทำการกลั่นที่อุณหภูมิ 192 °ซ ความดัน 10 มิลลิบาร์ ทดลองแปรเปลี่ยนจำนวนครั้งของการกลั่นตั้งแต่ 1 ถึง 3 ครั้ง เก็บตัวอย่างปรอทที่ได้จากการกลั่นแต่ละครั้ง ทำการทดลองซ้ำเดิมอีก 2 ครั้ง นำปรอทที่กลั่นได้ไปตรวจวัดระดับความบริสุทธิ์ของปรอทโดยใช้ตัวอย่างปรอทที่ได้จากการกลั่นมาวิเคราะห์หาความบริสุทธิ์ของปรอท โดยชั่งน้ำหนักปรอทประมาณ 2 กรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตรเติมกรดไนตริกเข้มข้น (70.5% น้ำหนัก/ปริมาตร) 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้จนปรอทละลายหมดและเติมน้ำที่กำจัดไอออนแล้ว 75 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโลหะมลทินด้วย AAS

วิธีการคำนวณเป็นไปตามสมการดังนี้

$$\frac{\text{ปริมาณโลหะมลทินในปรอท}}{\text{(ร้อยละโดยน้ำหนัก)}} = \frac{(A - B) \times 100}{\text{น้ำหนักปรอทที่ชั่ง (กรัม)}}$$

เมื่อ

A = ปริมาณความเข้มข้นของโลหะมลทินที่เครื่อง AAS อ่านได้มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/ลิตร และ  
B = ปริมาณความเข้มข้นของโลหะมลทินในแบบองค์ที่เครื่อง AAS อ่านได้มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/ลิตร

นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (Analysis of Variance-One Way Classification) ให้ตัวแปรอิสระ คือ ปรอทตั้งต้นจากโรงแยกก๊าซ ปรอทที่ผ่านสารลดแรงตึงผิว ปรอทที่ผ่านการกลั่น 1, 2 และ 3 ครั้ง และปรอทมาตรฐานทางทันตกรรม ตัวแปรตามคือ ปริมาณโลหะมลทินที่พบในปรอทที่ผ่านกรดเจือจางถ้าพบว่าตัวแปรอิสระอย่างน้อย 1 คู่ มีความแตกต่างกันจะทำการทดสอบต่อโดยใช้ Multiple Comparison Test โดยวิธีของ Duncan ที่ระดับ นัยสำคัญ 0.05 จากผลการวิเคราะห์เมื่อนำผลรวมของสารมลทินทั้งหมดที่ตรวจพบมาลบจาก 100 จะสามารถคำนวณกลับเป็นร้อยละของความบริสุทธิ์ของปรอทได้ และได้จำนวนครั้งของการกลั่นที่จะทำให้ปรอทมีความบริสุทธิ์สูงสุด

นำผลการทดลองปริมาณร้อยละของความบริสุทธิ์ของปรอทที่ได้จากการกลั่นมาเปรียบเทียบกับค่าที่คาดหวังไว้คือ 99.9% โดยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ t-Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

### 3.3.3 วิธีการตรวจวัดปริมาณปรอทในอากาศในห้องปฏิบัติการงาน

#### 3.3.3.1 การเก็บตัวอย่างอากาศ

เก็บตัวอย่างอากาศโดยใช้เครื่องเก็บอากาศ Gillian ที่ต่ออยู่กับตัวดูดซับที่เป็นของแข็งบรรจุอยู่ในหลอด (Solid sorbent tube) ซึ่งในที่นี้ใช้ผงถ่าน เพื่อดูดซับปรอทในรูปของไอปรอท ปรับอัตราการดูดของเครื่องดูดอากาศเป็น 0.2 ลิตรต่อนาที ตั้งเครื่องเก็บอากาศไว้ในบริเวณสถานที่ทำงานวิจัย คือ ห้องกลิ่นและล้างปรอท ห้องวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก ห้องช่างเคียงห้องวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก และห้องบรรยาย นักศึกษาช่างทันตกรรมประดิษฐ์ปี 1 (ห้องอ้างอิง) ของคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งห้องต่าง ๆ เหล่านี้มีลักษณะเหมือนกันคือเป็นห้องทำงานที่มีเครื่องควบคุมอุณหภูมิภายในห้อง การวางเครื่องเก็บอากาศจะวางในบริเวณที่อากาศมีการหมุนเวียนอยู่ตลอดเวลาโดยไม่มีสิ่งกีดขวางหรือกีดขวางการไหลเวียนของอากาศที่ระดับความสูงจากพื้น 1 เมตร การเก็บอากาศทั้ง 4 ห้องจะเก็บเป็นประจำทุกเดือนตั้งแต่เดือนกันยายน 2539 - มิถุนายน 2540 รวมระยะเวลา 10 เดือน ในแต่ละห้องจะเก็บอากาศนาน 3 ชั่วโมงโดยเปลี่ยนตัวดูดซับที่เป็นของแข็งทุก 1 ชั่วโมง จากนั้นนำหลอดบรรจุตัวดูดซับที่เป็นของแข็งมาปิดจุกทั้งสองด้าน และนำไปผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างต่อไป

#### 3.3.3.2 การเตรียมตัวอย่าง

ตัดหลอดแก้วที่บรรจุผงถ่าน เทผงถ่านลงในบีกเกอร์ เต็มกรดไนตริกเข้มข้น (70.5% น้ำหนัก/ปริมาตร) 2.5 มิลลิลิตร ตามด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (37% น้ำหนัก/ปริมาตร) 2.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันนาน 1 ชั่วโมง กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1. แล้วปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตรด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดไอออนแล้ว เขย่าให้เข้ากัน นำไปวิเคราะห์ต่อไป

#### 3.3.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในอากาศ

ทำการพลาสมาแบบ Calibration Curve วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและสารละลายปรอทมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตรด้วย AAS - Cold Vapor นำสารละลายตัวอย่างที่ได้มาดูด (Aspirate) โดยตรงเข้าเครื่องเพื่อหาปริมาณปรอท

วิธีการคำนวณเป็นไปตามสมการดังนี้

$$\text{ปริมาณ Hg ในอากาศ} = \frac{(A - B) \times 50 \text{ (มิลลิลิตร)} \times 50 \text{ (มิลลิลิตร)}}{10 \text{ (มิลลิลิตร)} \times 1000 \text{ (มิลลิลิตร)} \times 12}$$

ไมโครกรัม/ลูกบาศก์เมตร

เมื่อ

- A = ปริมาณความเข้มข้นของโลหะปรอทที่เครื่อง AAS อ่านได้มีหน่วยเป็น ไมโครกรัม/ลิตร และ  
 B = ปริมาณความเข้มข้นของโลหะปรอทในแบลงค์ ที่เครื่อง AAS อ่านได้มีหน่วยเป็น ไมโครกรัม/ลิตร

นำผลปริมาณปรอทในอากาศที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ด้วยวิธี Two-way Analysis of Variance โดยใช้ตัวแปรอิสระ 2 ตัวแปร คือ ห้องต่างๆ 4 ห้อง และเดือนที่เก็บตัวอย่าง 10 เดือน ตัวแปรตาม คือ ปริมาณปรอทในอากาศ ถ้าพบว่าตัวแปรอิสระอย่างน้อย 1 คู่ทำให้มีความแตกต่างกันจะทำการทดสอบต่อโดยใช้ Multiple Comparison Test โดยวิธีของ Duncan ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

### 3.3.4 การทดลองหาปริมาณปรอทตกค้างในบัสสาวะของบุคคลที่เกี่ยวข้อง

#### 3.3.4.1 การเก็บตัวอย่างบัสสาวะ

เก็บตัวอย่างบัสสาวะจากบุคคลจำนวน 9 คน ซึ่งเป็นตัวอย่างของกลุ่มบุคคลดังนี้  
 กลุ่มที่ 1 ได้แก่ บุคคลที่ทำงานในห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ปรอทและทำการทดลองเกี่ยวกับปรอทโดยตรง (บุคคลที่ 1)  
 กลุ่มที่ 2 ได้แก่ บุคคลที่ทำงานในบริเวณห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ปรอทแต่ไม่ได้ทำการทดลองเกี่ยวกับปรอท (บุคคลที่ 2, 3, 4 และ 5)  
 กลุ่มที่ 3 ได้แก่บุคคลที่ไม่ได้เกี่ยวข้องกับในบริเวณห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปรอทและไม่มีกิจกรรมใด ๆ ที่เกี่ยวข้องกับสารปรอท หรือบุคคลอ้างอิง (บุคคลที่ 6, 7, 8 และ 9)

โดยเก็บตัวอย่างบัสสาวะของบุคคลทั้ง 9 คน เป็นประจำทุกเดือนตั้งแต่เดือนกันยายน 2539 - มิถุนายน 2540 รวมระยะเวลา 10 เดือน เก็บบัสสาวะในช่วงกลางของบัสสาวะประมาณ 25 มิลลิลิตร นำมาเติมโปตัสเซียมเปอร์ซัลเฟต 0.1 กรัมต่อบัสสาวะ 100 มิลลิลิตร เพื่อป้องกันการบูดเน่าของบัสสาวะ เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

#### 3.3.4.2 การเตรียมตัวอย่างบัสสาวะ

นำบัสสาวะที่ใส่สารกันบูดแล้วไปย่อยโดยเครื่องย่อยสารด้วยรังสีไมโครเวฟ โดยเขย่าตัวอย่างบัสสาวะขึ้นลงประมาณ 5 ครั้ง จากนั้นบีบอัดบัสสาวะ 2 มิลลิลิตร ใส่ในภาชนะสำหรับย่อยสารเติมกรดไนตริก

เข้มข้น (70.5% น้ำหนัก/ปริมาตร ; B.D.H.; AR.Grade) 5 มิลลิลิตร และปิดฝาแล้วนำไปย่อยด้วยคลื่นไมโครเวฟ โดยใช้โปรแกรมการทำงานดังนี้

ขั้นที่ 1	250 วัตต์	เวลานาน 5 นาที
ขั้นที่ 2	400 วัตต์	เวลานาน 5 นาที
ขั้นที่ 3	600 วัตต์	เวลานาน 5 นาที
ขั้นที่ 4	0 วัตต์	เวลานาน 5 นาที

ทำแบลงค์โดย เติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร ใส่ในภาชนะสำหรับย่อย เติมกรดไนตริกเข้มข้น (70.5 % น้ำหนัก/ปริมาตร ; B.D.H.; AR Grade) 5 มิลลิลิตร และทำการย่อยเช่นเดียวกับตัวอย่าง

จากนั้นนำมาหล่อเย็นด้วยน้ำประมาณ 15 นาที จึงเปิดฝาภาชนะสำหรับย่อยนำสารละลายที่ย่อยแล้วใส่ในขวดวัดปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำที่กำจัดอ็อกซิเจนแล้ว นำไปวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในบัสสภาวะต่อไป

### 3.3.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในบัสสภาวะ

ทำการพามาตรฐานแบบ Standard Addition Curve วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและสารมาตรฐานปรอทที่ความยาวคลื่น 253.7 นาโนเมตร AAS- Cold Vapor เตรียมแบลงค์ โดยการปิเปตแบลงค์ที่ย่อยด้วยรังสีไมโครเวฟแล้ว 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำที่ผ่านการกำจัดอ็อกซิเจนแล้วจนถึงขีดวัดปริมาตร ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ย่อยด้วยรังสีไมโครเวฟแล้ว 5 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำที่กำจัดอ็อกซิเจนแล้วจนถึงขีดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นจึงนำตัวอย่างและแบลงค์ไปวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในบัสสภาวะ

วิธีการคำนวณเป็นไปตามสมการดังนี้

$$\text{ปริมาณ Hg ในบัสสภาวะ (ไมโครกรัม/ลิตร)} = \frac{(A - B) \times 50 \text{ (มิลลิลิตร)} \times 25 \text{ (มิลลิลิตร)}}{2 \text{ (มิลลิลิตร)} \times 5 \text{ (มิลลิลิตร)}}$$

เมื่อ

- A = ปริมาณความเข้มข้นของโลหะปรอท ที่เครื่อง AAS อ่านได้มีหน่วยเป็น ไมโครกรัม/ลิตร และ  
 B = ปริมาณความเข้มข้นของโลหะปรอทในแบลงค์ ที่เครื่อง AAS อ่านได้มีหน่วยเป็น ไมโครกรัม/ลิตร

นำผลปริมาณปรอทในปลาสวายที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ด้วยวิธี Two-way Analysis of Variance โดยใช้ตัวแปรอิสระ 2 ตัวแปร คือ บุคคล และเดือนที่เก็บตัวอย่าง 10 เดือน ตัวแปรตาม คือ ปริมาณปรอทในปลาสวาย ถ้าพบว่าตัวแปรอิสระอย่างน้อย 1 คู่ทำให้มีความแตกต่างกันจะทำการทดสอบต่อโดยใช้ Multiple Comparison Test โดยวิธีของ Duncan ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05