

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

การศึกษาและวิจัยเรื่อง ปริมาณตะกั่ว ทองแดง และแมงกานีส ที่ปนเปื้อนในน้ำและการสะสมในปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชัง บริเวณแม่น้ำน่าน จังหวัดพิษณุโลก ได้กำหนดวิธีการดำเนินงานวิจัยเป็นลำดับไว้ดังนี้

สถานที่และจุดเก็บตัวอย่างน้ำ

การเก็บตัวอย่างน้ำและปลานิลแดง

การวิเคราะห์ทางเคมีในห้องปฏิบัติการ เพื่อตรวจวัดปริมาณการปนเปื้อนโลหะหนัก ตะกั่ว ทองแดงและแมงกานีส ที่ปนเปื้อนในน้ำและการสะสมในปลานิลแดง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

สถานที่และจุดเก็บตัวอย่างน้ำ

การกำหนดขอบเขตการเก็บตัวอย่างน้ำในแม่น้ำน่าน และปลานิลแดงซึ่งเลี้ยงในกระชังในแม่น้ำน่าน ได้กำหนดสถานีเก็บตัวอย่าง 5 สถานี ซึ่งไหลผ่านเขตจังหวัดพิษณุโลก ดังนี้

สถานีเก็บที่ 1

สะพานหน้าเขื่อนนเรศวร อำเภอพรหมพิราม จังหวัดพิษณุโลก

กำหนดเก็บตัวอย่างน้ำ

สถานีเก็บที่ 2

สะพานนเรศวร หน้าวัดใหญ่ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

กำหนดเก็บตัวอย่างน้ำ

สถานีเก็บที่ 3

สะพานพระสุพรรณกัลยา อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

กำหนดเก็บตัวอย่างน้ำ และปลานิลแดงซึ่งเลี้ยงในกระชัง

สถานีเก็บที่ 4

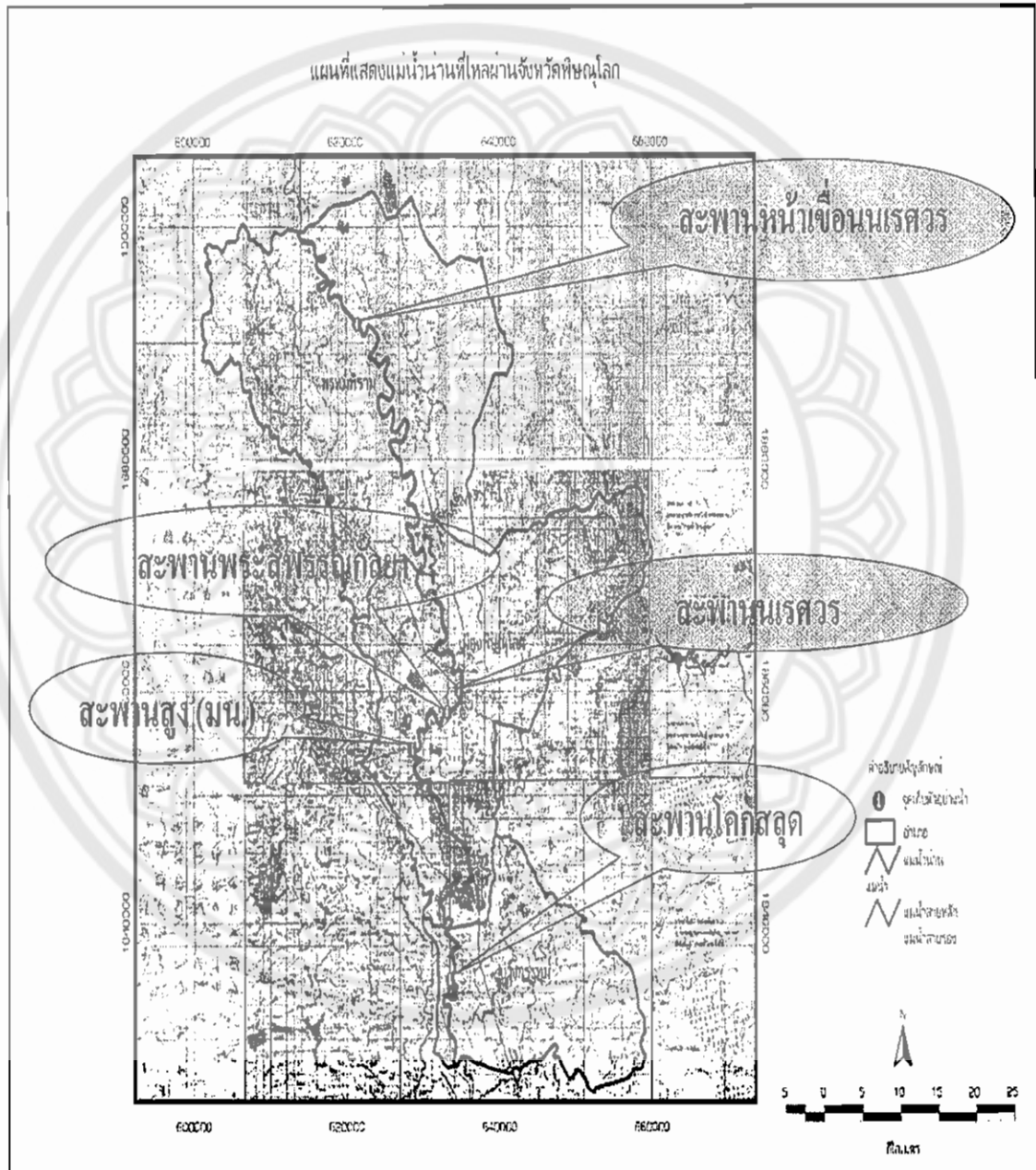
สะพานสูงข้ามแม่น้ำน่าน หลังมหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

กำหนดเก็บตัวอย่างน้ำ และปลานิลแดงซึ่งเลี้ยงในกระชัง

สถานีเก็บที่ 5

สะพานโคกสลด อำเภอบางกระพุ่ม จังหวัดพิษณุโลก

กำหนดเก็บตัวอย่างน้ำ และปลานิลแดงซึ่งเลี้ยงในกระชัง



ภาพ 3 สถานีเก็บตัวอย่างน้ำและปลานิลแดง จากกระชังในแม่น้ำน่าน

การเก็บตัวอย่างน้ำและปลานิลแดง

1. เก็บตัวอย่างน้ำ ณ จุดเก็บตัวอย่าง สถานีที่ 1-5 คือ สะพานหน้าเขื่อนนเรศวร อำเภอพรหมพิราม สะพานนเรศวร หน้าวัดใหญ่ อำเภอเมือง สะพานพระสุพรรณกัลยา อำเภอเมือง สะพานสูงข้ามแม่น้ำน่าน หลังมหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง สะพานโคกสลุด และอำเภอบางกระทุ่ม จังหวัดพิษณุโลก ตามลำดับ ตั้งแต่เดือน มิถุนายน 2549-พฤษภาคม 2550 โดยกำหนดการเก็บตัวอย่าง เดือนละ 1 ครั้ง เก็บตัวอย่าง จำนวน 3 ซ้ำของแต่ละจุดเก็บตัวอย่าง

2. เก็บตัวอย่างปลานิลแดง จากกระชังปลาในแม่น้ำน่าน จังหวัดพิษณุโลก 3 สถานี เก็บตัวอย่าง คือ สถานีที่ 3-5 ได้แก่ กระชังปลาใกล้สะพานพระสุพรรณกัลยา กระชังปลาใกล้สะพานสูงข้ามแม่น้ำน่าน หลังมหาวิทยาลัยนเรศวร และกระชังปลาใกล้สะพานโคกสลุด ตามลำดับ โดยเลือกเก็บตัวอย่างปลานิลแดง 5 ช่วงอายุคือ ปลานิลแดงที่มีอายุเริ่มปล่อยลงกระชัง และปลานิลแดงอายุ 1 เดือน 2 เดือน 3 เดือน และ 4 เดือน ตามลำดับ โดยเริ่มจากเดือนมกราคม พ.ศ. 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2550 นำปลาที่ได้มาล้างให้สะอาดแล้วจึงทำการแยกเนื้อ ไขมันหน้าท้อง ตับ และเหงือก เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

การวิเคราะห์ทางเคมีในห้องปฏิบัติการ เพื่อตรวจวัดปริมาณการปนเปื้อนโลหะหนัก ตะกั่ว ทองแดง และแมงกานีส ที่ปนเปื้อนในน้ำและการสะสมในปลานิลแดง

1. เครื่องมือ วัสดุ และอุปกรณ์ ได้แก่

อุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์

1. บีกเกอร์ (Beaker)
2. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask)
3. เตาแผ่น (Hot plate)
4. จานระเหย (Evaporating Dish)
5. แท่งแก้ว (Stirring Rod)
6. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask)
7. ขวดบีโอดี (BOD Bottle)
8. กระดาษกรอง (Membrane Filter)
9. กระบอกตวง (Measuring Cylinder)
10. กระจกนาฬิกา (Watch Glass)
11. ขวดโพลีเอทิลีน (Polyethylene Bottle)

12. ขาตั้ง (Stand)
13. แคลมป์ตัวหนีบยึด (Clamp)

เครื่องมือ

1. เครื่อง AAS (Atomic Absorption Spectrophotometer ;Flame) Spectr AA 220
2. เครื่องวัดความนำไฟฟ้า (Conductivity Meter)
3. เครื่องวัดพีเอช (pH Meter) Mettler Toledo MPC 227
4. เครื่องชั่งละเอียด (Analytical Balance) 4 ตำแหน่ง Mettler Toledo AG 104
5. เครื่องชั่งหยาบ (Rough Balance)
6. เครื่อง Poom hood CHM-90-M
7. ตู้เก็บตัวอย่าง Shallab 2020
8. เครื่องทำสุญญากาศแบบไดอะเฟรม Jencons Scientific Ltd. England N 726
9. เครื่อง Spectronic 301 spectrophotometer MIL TON ROY
10. ตู้อบตัวอย่าง Shallab 135 FX

วัสดุสารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานเลดไนเตรต (Lead Nitrate Stock Standard Solution)
2. สารละลายมาตรฐานคอปเปอร์ไนเตรต (Copper Nitrate Stock Standard Solution)
3. สารละลายมาตรฐานแมงกานีสไนเตรต (Manganese Nitrate Stock Standard Solution)
4. กรดไนตริก HNO_3 (Nitric Acid)
5. กรดเปอร์คลอริก HClO_4 (Perchloric Acid)
6. น้ำกลั่น (Distillation Water)

วิธีการวิเคราะห์

1. วิเคราะห์คุณภาพน้ำด้านกายภาพ

อุณหภูมิ (Temperature) คือ ความร้อน-เย็นของน้ำ อุณหภูมิของน้ำจะสูงกว่าอุณหภูมิในบรรยากาศ ยกเว้นในฤดูร้อน อุณหภูมิของน้ำมีผลกระทบคือ มีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ การเจริญเติบโตของสัตว์และพืชน้ำ มีผลต่อปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ซึ่งปฏิกิริยาทางเคมีจะเกิดขึ้นได้ดีเมื่อมีอุณหภูมิสูง หรืออาจกล่าวได้ว่า อุณหภูมิเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาตัวหนึ่ง มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในน้ำ โดยจุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส

และหยุดการเติบโตที่ 50 องศาเซลเซียส มีผลต่อการละลายของออกซิเจนในน้ำ พบว่าออกซิเจนละลายในน้ำได้ 7.54-9.08 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิบรรยากาศ

ความโปร่งแสง คือ น้ำที่มีความสัมพันธ์กับความขุ่นของน้ำและปริมาณแพลงก์ตอนในน้ำ สำหรับค่าความโปร่งแสงที่เหมาะสมในการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำในแหล่งน้ำนั้นควรจะมีความขุ่นหรือมีปริมาณแพลงก์ตอนน้อยเกินไปซึ่งแหล่งน้ำนั้นก็เลยไม่ค่อยอุดมสมบูรณ์ แต่ถ้ามีค่าต่ำกว่า 30 เซนติเมตร แสดงว่าน้ำมีความขุ่นมากเกินไปหรือมีปริมาณแพลงก์ตอนมากเกินไป

การนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity) คือ ความสามารถของน้ำที่จะให้กระแสไฟฟ้าไหลผ่าน ซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้น ชนิดของไอออนที่มีอยู่ในน้ำ และอุณหภูมิในขณะที่ทำการวัดไม่ได้เป็นการบอกถึงไอออนตัวใดตัวหนึ่งโดยเฉพาะสารประกอบอนินทรีย์ของกรด ด่าง และเกลือ สามารถนำไฟฟ้าได้ดี

ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำ คือ ปริมาณของแข็งหรือสารทั้งหมดที่อยู่ในน้ำ หาได้จากปริมาณสารที่ระเหย (Evaporate) น้ำออกทั้งหมด ที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส

ปริมาณของแข็งแขวนลอย คือ ส่วนของของที่เหลือค้างบนกระดาษกรองใยแก้วมาตรฐาน หลังจากกรองน้ำตัวอย่างและอบที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส

2. วิเคราะห์คุณภาพน้ำด้านเคมี

ความเป็นกรด-ด่าง (pH) คือ ความสำคัญในการควบคุมคุณภาพน้ำและน้ำเสีย ให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต เพื่อให้ในการควบคุมให้สารเคมีที่ใช้บำบัดน้ำเสียทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยทั่วไปน้ำมีค่า pH อยู่ในช่วง 5-8 ค่า pH เป็นค่าที่แสดงปริมาณความเข้มข้นของอนุภาคไฮโดรเจนในน้ำ (H^+)

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ คือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร ถ้าออกซิเจนสามารถละลายน้ำได้น้อย ซึ่งการละลายน้ำจะลดลงเมื่อเพิ่มอุณหภูมิของน้ำและเพิ่มสิ่งเจือปนในน้ำ สิ่งมีชีวิตในน้ำต้องการออกซิเจนละลายในน้ำไม่ต่ำกว่า 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

บีโอดี (Biochemical Oxygen Demand : BOD) คือ ปริมาณออกซิเจนที่ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในเวลา 5 วัน โดยแบคทีเรียที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ค่าบีโอดีให้เป็นตัวกำหนดขนาดของระบบบำบัดน้ำเสียได้ เป็นค่าที่บอกให้ทราบถึงปริมาณของออกซิเจนที่ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์

แอมโมเนียไนโตรเจน คือ ไนโตรเจนทั้งหมดที่อยู่ในรูปแอมโมเนียและแอมโมเนียไอออน ที่อุณหภูมิและความดันปกติแอมโมเนียจะอยู่ในสภาวะก๊าซและพบได้ในน้ำตามธรรมชาติก๊าซแอมโมเนียจะอยู่ในสภาวะสมดุลในน้ำเกิดเป็นแอมโมเนียไอออน

ความกระด้าง (Hardness) คือ ความกระด้างของน้ำตามธรรมชาติเกิดจากไอออนโลหะของแคลเซียมและแมกนีเซียม ความกระด้างของน้ำไม่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ แต่มีผลต่อผลผลิตทางชีวภาพของแหล่งน้ำ และมีผลลดความเป็นพิษของโลหะหนักบางชนิดที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ

ความเป็นด่าง (Alkalinity) คือ น้ำที่เกิดขึ้นจากน้ำที่มีสารไฮดรอกไซด์ คาร์บอเนต และไบคาร์บอเนต ของธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม โพแทสเซียม หรือแอมโมเนีย

ฟอสฟอรัส คือ สารประกอบฟอสฟอรัสในน้ำอยู่ในรูปต่าง ๆ กัน โดยแบ่งได้เป็น ออร์โธฟอสเฟต โพลีฟอสเฟต และอินทรีย์ฟอสเฟต โดยฟอสเฟตเหล่านี้จะอยู่ในรูปที่ละลายน้ำหรือในรูปของสิ่งมีชีวิตที่ไม่ละลายน้ำ ถ้าฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำมีมากจะกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและสาหร่าย และเมื่อแบคทีเรียและสาหร่ายตายจะมีผลทำให้น้ำเน่าเสีย

อินทรีย์ไนโตรเจน คือ ไนโตรเจนทุกชนิดที่พบในสารประกอบอินทรีย์ รวมทั้งไนโตรเจนในกรดอินทรีย์ เอมีน อนุพันธ์ไนโตรเดรเวทีฟ และสารประกอบอื่น ๆ ซึ่งพบน้อยมาก ส่วนใหญ่จะพบในรูปของโปรตีน โพลีเปปไทด์และกรดอะมิโน

3. วิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในแหล่งน้ำและปลา

โลหะทั้งหมดที่มีอยู่ในรูปสารประกอบอินทรีย์ อนินทรีย์ สารละลาย และสารแขวนลอย การวิเคราะห์โลหะหนักทั้งหมดให้ย่อยสลายตัวอย่างก่อนตรวจ

สำหรับตัวอย่างน้ำซึ่งมีปริมาณของแข็งแขวนลอยต่ำมาก ค่าโลหะทั้งหมดและค่าโลหะละลายน้ำจะมีค่าเท่ากัน เตรียมตัวอย่างน้ำโดยกรองผ่านกระดาษกรอง และนำน้ำตัวอย่างหลังกรองไปตรวจวัดด้วยเครื่อง AAS ส่วนตัวอย่างน้ำเสียการวิเคราะห์โลหะทั้งหมดจำเป็นต้องย่อยสลายตัวอย่างก่อน เพื่อที่จะกำจัดสารอินทรีย์ในน้ำก่อนแล้วจึงนำไปตรวจวัดโลหะต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในแหล่งน้ำ

วิธี Atomic Absorption Spectrometric ที่ใช้เทคนิค Electrothermal มีความไว (Sensitivity) สูงสามารถวัดโลหะหนักที่มีความเข้มข้นต่ำ ๆ ได้ดีโดยไม่ต้องสกัด ส่วนที่ใช้เปลวไฟ (Flame) มีขีดจำกัดในการตรวจวัดวิธี Inductively Coupled Plasma วัดได้เช่นเดียวกับ

เทคนิคที่ใช้เปลวไฟสำหรับวิธีไดโครโซน เป็นวิธีการวัดสีใช้หาโลหะหนักได้ดีทั้งในน้ำสะอาดและน้ำเสีย

การเตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อทำกราฟมาตรฐาน มีวิธีการดังนี้

ตะกั่ว (Pb) ใช้สารละลายมาตรฐานเลดไนเตรตความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาเจือจางเป็นสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างละ 50 มิลลิลิตร

ทองแดง (Cu) ใช้สารละลายมาตรฐานคอปเปอร์ไนเตรตความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาเจือจางเป็นสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างละ 50 มิลลิลิตร

แมงกานีส (Mn) ใช้สารละลายมาตรฐานแมงกานีสไนเตรตความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาเจือจางเป็นสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างละ 50 มิลลิลิตร

การวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในปลา

1. การเตรียมตัวอย่างปลานิลแดง

นำตัวอย่างปลานิลแดง มาแยกส่วนเนื้อ ไขมันหน้าท้อง ตับ และเหงือก ล้างน้ำให้สะอาดเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักตะกั่ว ทองแดง และแมงกานีส

2. การสกัดตัวอย่างปลานิลแดงเพื่อวิเคราะห์

2.1 นำตัวอย่างไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส ประมาณ 24 ชั่วโมง

2.2 นำตัวอย่างที่แห้งมาชั่งด้วยเครื่องชนิดละเอียด ให้ได้น้ำหนัก 1 กรัม

2.3 นำตัวอย่างที่ชั่งมาบดให้ละเอียดแล้วใส่ลงในขวดรูปชมพู่

2.4 เติมนกรดไนตริก ประมาณ 10-15 มิลลิลิตร

2.5 เติมนกรดเปอร์คลอริก ประมาณ 3-5 มิลลิลิตร

2.6 นำตัวอย่างที่เติมนกรดไนตริก และกรดเปอร์คลอริก ตั้งรอในตู้ดูดอากาศ ประมาณ 5 นาที และนำไปตั้งบน Hot plate

2.7 ปล่อยให้ตัวอย่างทำปฏิกิริยากับกรดไนตริก และกรดเปอร์คลอริก จนกระทั่งไม่มีควันสีน้ำตาลส้ม หรือจนสารอินทรีย์ทำปฏิกิริยาจนหมด ถ้ายังมีสารอินทรีย์เหลืออยู่ เติมนกรดไนตริก ลงไปอีก 3 มิลลิลิตร และเติมนกรดเปอร์คลอริก ลงไป 1 มิลลิลิตร ปล่อยให้ทำปฏิกิริยาต่อไป

2.8 เมื่อตัวอย่างทำปฏิกิริยากับกรดเสร็จสิ้นแล้วปล่อยให้เย็นบน Hot plate ให้ไอกรดระเหยอย่างช้า ๆ จนเกือบแห้ง

2.9 ตัวอย่างที่ได้จะมีลักษณะเป็นของเหลวใส ยกตัวอย่างลงจาก Hot plate เพื่อนำไปกรองต่อไป

2.10 ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.11 นำตัวอย่างที่ปรับปริมาตรแล้วไปตั้งกรองทิ้งไว้

2.12 เก็บตัวอย่างไว้ในขวดพลาสติก (Polyethylene) นำไปแช่ตู้เย็น เพื่อรอไปตรวจวัดโลหะหนักด้วยเครื่อง AAS ต่อไป (โดยใช้วิธีย่อยตาม A.O.A.C.1990 และคณะกรรมการสาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ประจำปี 2545-2546)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการตรวจวัดคุณภาพน้ำ และปริมาณการสะสมโลหะหนักในปลา มาวิเคราะห์ทางสถิติ และวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-Way analysis of variance: One-Way ANOVA) เพื่อเปรียบเทียบปริมาณโลหะหนักตะกั่ว ทองแดง และแมงกานีส ที่สะสมในอวัยวะส่วนต่าง ๆ และช่วงอายุที่แตกต่างกัน