

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. Atomic Absorption Spectrophotometer Model AA-670
ของบริษัท Shimadzu Ltd., Japan
2. Hollow cathode lamps of Lead, Cadmium, Zinc, Mercury, Copper
and Manganese
ของบริษัท Varian Techtron PTY Ltd., Australia
3. Hot plate
ของบริษัท Cenco Instrumenten MIJ. N.V. Breda The Netherlands
4. Filter paper Whatman No.41 ชนิด Quantitative
ของบริษัท W & R Balston Ltd., England
5. Eppendorf pipette
ของบริษัท Geratebau Netheter & Hinz, Hamburg, W. Germany
6. Atomic Absorption Spectrophotometer รุ่น AA-275
ของบริษัท Varian Techtron PTY Ltd., Australia

2.2 สารเคมีที่ใช้

1. Lead nitrate standard solution BDH laboratory reagents for
atomic absorption spectroscopy 1 ml $\equiv$ 1.000 mg Pb BDH
Chemical Ltd. Poole England
2. Mercuric nitrate standard solution BDH laboratory reagents
for atomic absorption spectroscopy 1 ml $\equiv$ 1.000 mg Hg BDH
Chemicals Ltd., Poole England

3. Cadmium chloride standard solution BDH laboratory reagents for atomic absorption spectroscopy 1 ml $\equiv$ 1.000 mg Cd BDH Chemicals Ltd., Poole England.
4. Zinc acetate standard solution BDH laboratory reagents for atomic absorption spectroscopy 1 ml $\equiv$ 1.000 mg Zn BDH Chemicals Ltd., Poole England.
5. Cupric chloride standard solution BDH laboratory reagents for atomic absorption spectroscopy 1 ml $\equiv$ 1.000 mg Cu BDH Chemicals Ltd., Poole England.
6. Manganous chloride standard solution BDH laboratory reagents for atomic absorption spectroscopy 1 ml $\equiv$ 1.000 mg Mn BDH Chemicals Ltd., Poole England.
7. Nitric acid 65 %, Analar, E. Merck AG.
8. Sulphuric acid 95-97 %, Analar, E. Merck AG.
9. Hydrogen peroxide 35 %, Analar, E. Merck AG.
10. Hydroxylamine hydrochloride, not less than 96 %, Lab reagent, BDH Chemical Ltd., Poole England.
11. Potassium permanganate, minimum assay 99 % Lab reagent, BDH Chemical Ltd., Poole England.
12. Deionized water 0.1M cation 40% anion resin

2.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานต่าง ๆ

เตรียมสารละลายตะกั่วมาตรฐานโดยอาศัยสารตามหัวข้อ 2.2 ซึ่งเป็นสารละลายมาตรฐาน สำหรับใช้ใน atomic absorption spectroscopy มีความเข้มข้น 1000 ppm โดยเตรียมสารละลายตะกั่วมาตรฐานเข้มข้น 100 ppm และ 10 ppm ใช้เป็น stock solution สำหรับเตรียมสารละลายความเข้มข้นอื่น ๆ ต่อไป

เตรียมสารละลายแคดเมียม, สังกะสี, ทองแดง และแมงกานีส มาตรฐาน โดยอาศัยสารตามหัวข้อ 2.2 ซึ่งเป็นสารละลายมาตรฐานสำหรับใช้ใน atomic absorption spectroscopy มีความเข้มข้น 1000 ppm โดยเตรียมสารละลายแคดเมียม, สังกะสี, ทองแดง และแมงกานีส มาตรฐานเข้มข้น 10 ppm ใช้เป็น stock solution สำหรับเตรียมสารละลายความเข้มข้นอื่น ๆ ต่อไป

เตรียมสารละลายปรอทมาตรฐานโดยอาศัยสารตามหัวข้อ 2.2 ซึ่งเป็นสารละลายมาตรฐานสำหรับใช้ใน atomic absorption spectroscopy มีความเข้มข้น 1000 ppm โดยเตรียมสารละลายปรอทมาตรฐานเข้มข้น 10 ppm และ 1 ppm ใช้เป็น stock solution สำหรับเตรียมสารละลายความเข้มข้นอื่น ๆ ต่อไป stock solution ของปรอทเพื่อไม่ให้ความเข้มข้นเปลี่ยนแปลง จำเป็นต้องหยดสารละลายโปตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต 5 % ลงไป 1-2 หยด

การเตรียมสารละลายของ stock solution ของสารละลายมาตรฐานชนิดต่าง ๆ เจือจางด้วย 1 % กรดไนตริก (33)

2.4 การเก็บผักตัวอย่าง

ได้รับความอนุเคราะห์ผักตัวอย่าง 4 ชนิดจากโครงการหลวง จังหวัดเชียงใหม่ โดยเก็บตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์ 3 ครั้ง ดังนี้

ครั้งที่ 1 วันที่ 12 กันยายน 2529

ครั้งที่ 2 วันที่ 19 กันยายน 2529

ครั้งที่ 3 วันที่ 29 กันยายน 2529

ผักตัวอย่างดังกล่าวที่นำมาวิเคราะห์ มีดังนี้

1. แรดดิช (Radish) : A

2. ปวยเล้ง (Spinach) : B

3. เซลารี (Celery) : C

4. สลัด (Lettuce) : D

ส่วนผักที่นำมาหา condition ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ใช้ ผักสลัดจากตลาดคนละใบ (E) ซึ่งเก็บตัวอย่างในวันที่ 20 สิงหาคม 2529

2.5 การเตรียมสารละลายของผักตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์โดยวิธี standard addition เพื่อหา oxidant ที่เหมาะสม

เราสามารถกำจัดการรบกวนอันเนื่องจากสารเจือปนต่าง ๆ ในสารตัวอย่างโดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี standard addition โดยการเติมสารละลายมาตรฐานของโลหะไอออนความเข้มข้นต่าง ๆ ลงไปในผักตัวอย่าง ซึ่งจะกล่าวรายละเอียดต่อไป

ผักตัวอย่างที่เก็บมานำมาผึ่งให้แห้งแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 110°C และนำไปปั่นและคลุกเคล้าให้เป็น homogeneous ก่อนนำไปชั่งยัดให้แห้งอีกครั้งหนึ่ง

2.5.1 การวิเคราะห์ตะกั่ว

ชั่งผักตบชวาอย่างละ 1.00 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 ml 6 ใบ เติมสารละลายตะกั่วมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 0.00, 2.00, 4.00, 6.00, 8.00 และ 10.00 ppm ตามลำดับ เติมสารเคมีที่เป็น oxidant ที่เหมาะสมในการย่อยสลายบีกเกอร์ละ 5 ml ปิดด้วยกระจกนาฬิกา predigest ไว้ 1 คืน แล้วนำไปย่อยสลายบน hot plate อุณหภูมิ 75-85°C จนเกือบแห้งแล้วเติมสารเคมีที่เป็น oxidant ที่เหมาะสมในการย่อยสลายอีก 5 ml ทำแบบเดียวกันนี้ จนได้สารละลายใส (clear solution) ทิ้งไว้ให้เย็น กรองและนำสารละลายมาปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 25 ml ในขวดปริมาตร (volumetric flask) ด้วย 1 % กรดไนตริก เก็บสารละลายที่ได้ในขวดโพลีเอทิลีนเพื่อนำไปหาปริมาณตะกั่ว โดยวิธีอะตอมมิกแอบซอร์ปชันสเปกโตรโฟโตเมทรี (AAS) ต่อไป

2.5.2 การวิเคราะห์แคดเมียม

เตรียมโคเซ็นเดียวกับหัวข้อ 2.5.1 โดยชั่งผักตบชวาอย่างละ 4.00 กรัม เติมสารละลายแคดเมียมมาตรฐาน 0.00, 0.40, 0.80, 1.20, 1.60 และ 2.00 ppm ตามลำดับ

2.5.3 การวิเคราะห์สังกะสี

เตรียมโคเซ็นเดียวกับหัวข้อ 2.5.1 โดยเติมสารละลายสังกะสีมาตรฐาน 0.00, 0.40, 0.60, 0.80, 1.20 และ 1.60 ppm ตามลำดับ ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 50 ml ในขวดปริมาตร

2.5.4 การวิเคราะห์ทองแดง

เตรียมโคเซ็นเดียวกับหัวข้อ 2.5.1 โดยเติมสารละลายทองแดงมาตรฐาน 0.00, 1.00, 2.00, 3.00, 4.00 และ 5.00 ppm ตามลำดับ ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 50 ml ในขวดปริมาตร

2.5.5 การวิเคราะห์แมงกานีส

เตรียมไอ้เช่นเดียวกับหัวข้อ 2.5.1 โดยชั่งผักตัวอย่าง ≈ 0.10 กรัม
เติมสารละลายแมงกานีสมาตรฐาน 0.00, 0.50, 1.00, 1.50, 2.50 และ
3.00 ppm ตามลำดับ

2.6 การวิเคราะห์ปรอท (34)

ในการหาปริมาณรวมของปรอทในผักตัวอย่าง ต้องทำการ oxidation ด้วยโพตัสเซียมเปอร์แมงกาเนตในกรรขัฟริกเข้มข้นที่ 70°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (34) ปรอททุกรูปแบบจะเปลี่ยนเป็น Hg^{2+}

ในการวิเคราะห์ปรอทโดยวิธี standard addition จำเป็นต้องทำการย่อยสลายผักตัวอย่างก่อนแล้วจึงเติมสารละลายปรอทมาตรฐานลงไป ทำการทดลองโดยชั่งผักตัวอย่าง ≈ 2.00 กรัม จำนวน 4 flask รวมน้ำหนักทั้งหมด ≈ 8.00 กรัม เติมกรรขัฟริกเข้มข้นลงไป 5 ml ปิดด้วยกระจกนาฬิกา นำไปวางบน thermostated water bath ที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ผักตัวอย่างที่ย่อยสลายแล้วจะมีสีเข้มและเป็นสารละลายเนื้อเขียว นำ flask ออกจาก water bath ไปทำให้เย็นใน ice bath คอย ๆ เติมสารละลายโพตัสเซียมเปอร์แมงกาเนต 6 % w/v ลงไป 50 ml แล้วนำไปวางบน water bath ที่ 70°C ต่อไปอีกเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้ว คอย ๆ เติม 20 % $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ลงไป 15 ml (โดยใช้ปิเปต) เพื่อรีดิวซ์ permanganate ส่วนที่มากเกินไปจะได้อาหารละลายใส นำไปปรับปริมาตรด้วยขาววัดปริมาตร 250 ml นำสารละลายปรอทที่ได้นมาเติมลงในสารละลายปรอทมาตรฐานที่มีปริมาณปรอท 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 μg ตามลำดับ ด้วยปริมาตร 20 ml แล้วนำไปวัดด้วย cold vapour technique

2.7 การวิเคราะห์ตะกั่ว, แคดเมียม, สังกะสี, ทองแดง และแมงกานีสในผัก ตัวอย่าง

ใช้ผักตัวอย่างแต่ละชนิดหนัก ≈ 16.00 กรัม มาย่อยสลายด้วย oxidant ที่เหมาะสม หลังจากทำการ predigest ด้วย oxidant 20 ml ไว้ 1 คืน แล้วนำมาย่อยสลายบน hot plate โดยเติม oxidant ลงไปที่ละ 20 ml จนเกือบแห้งแล้วค่อยเติม oxidant ลงไปอีก ทำแบบเดียวกันนี้จนได้สารละลายสี หึ่งไว้ให้เย็น กรองแล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 25 ml ในขวดปริมาตรค้ว 1 % กรดไนตริก เก็บสารละลายที่ได้ในขวดโพลีเอทิลีน

ดูดสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายมา 2.0 ml เติมลงไปในสารละลายแคดเมียมมาตรฐานเข้มข้น 0.0, 0.1, 0.2 และ 0.6 ppm ตามลำดับ ปรับปริมาตรเป็น 5 ml ด้วย 1 % กรดไนตริก

ดูดสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายมา 1.0 ml เติมลงไปในสารละลายตะกั่วมาตรฐานเข้มข้น 0.0, 0.2, 1.0 และ 2.0 ppm ตามลำดับ ปรับปริมาตรเป็น 5 ml ด้วย 1 % กรดไนตริก

ดูดสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายมา 0.5 ml เติมลงไปในสารละลายทองแดงมาตรฐานเข้มข้น 0.0, 0.2, 0.4 และ 0.6 ppm ตามลำดับ ปรับปริมาตรเป็น 5 ml ด้วย 1 % กรดไนตริก

ดูดสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายมา 0.20 ml เติมลงไปในสารละลายสังกะสีมาตรฐานเข้มข้น 0.0, 0.2, 0.4 และ 1.0 ppm ตามลำดับ ปรับปริมาตรเป็น 5 ml ด้วย 1 % กรดไนตริก

ดูดสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายมา 0.05 ml เติมลงไปในสารละลายแมงกานีสมาตรฐานเข้มข้น 0.0, 0.2, 0.4 และ 0.6 ppm ตามลำดับ ปรับปริมาตรเป็น 5 ml ด้วย 1 % กรดไนตริก

2.8 การหาสารเคมีที่เป็น oxidant ที่เหมาะสมในการย่อยสลายผักตบชวาอย่าง

เตรียมสารละลายผักตบชวาสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว แคดเมียม สังกะสี ทองแดง และแมงกานีสเหมือนข้อ 2.5 และย่อยสลายด้วยสารเคมีที่เป็น oxidant ดังนี้

สารผสม	อัตราส่วนโดยปริมาตร
$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	1:1
$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	1:2
$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	1:3
$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	2:1

2.9 conditions ของเครื่อง AAS

2.9.1 conditions ของเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer รุ่น AA-670 ของ Shimadzu เพื่อหาปริมาณตะกั่ว แคดเมียม สังกะสี ทองแดง และแมงกานีส ดังตาราง 4

ตาราง 4 conditions ของเครื่อง AAS ที่ใช้ในการทดลอง

conditions	Pb	Cd	Zn	Cu	Mn
Wavelength (nm)	217.0	228.8	213.9	324.8	279.5
Lamp current (mA)	7	4	4	3	5
Slit width (nm)	0.3	0.3	0.5	0.5	0.4
Flame	AIR-C ₂ H ₂	AIR-C ₂ H ₂	AIR-C ₂ H ₂	AIR-C ₂ H ₂	AIR-C ₂ H ₂
Fuel	1.8	1.8	2.0	1.8	1.9
Oxidant	8	8	8	8	8
Burner (cm)	10	10	10	10	10

2.9.2 Conditions ของเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer รุ่น AA-275 ของบริษัท Varian Techtron PTY Ltd. Australia เพื่อหาปริมาณปรอทดังนี้

Wavelength 253.7 nm

Lamp current 3 mA

Spectral band pass 0.5 nm

Inlet gas for hydride system OFN gas

2.10 การทำ calibration curve

เตรียมสารละลายมาตรฐานซึ่งประกอบด้วยโลหะไอออนแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้นในช่วงต่าง ๆ ภายหลังจากย่อยสลายด้วย oxidant ที่เหมาะสม ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

Pb	:	0.20–5.00	ppm
Cd	:	0.10–1.40	ppm
Zn	:	0.20–2.00	ppm
Cu	:	0.20–2.00	ppm
Mn	:	0.20–2.00	ppm

จากนั้น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง AAS แล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นเป็น ppm ของโลหะไอออนแต่ละชนิด

การสร้าง calibration curve สำหรับวิเคราะห์ปรอทเตรียมจาก stock solution ของสารละลายปรอทมาตรฐานใหม่ปรอทในช่วง 0.1–1.2 μg

2.11 การหาความแม่นยำ ความถูกต้อง และเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์

2.11.1 การหาความแม่นยำ (precision)

นำสารละลายผัก ตัวอย่างที่ย่อยสลายด้วย oxidant ที่เหมาะสมตามหัวข้อ 2.8 ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง AAS เพื่อนำไปเทียบกับ calibration curve ของสารละลายโลหะไอออนมาตรฐานแต่ละชนิด แล้วเปลี่ยนความเข้มข้นให้อยู่ในหน่วย $\mu\text{g/g}$ แล้วนำมาหาค่า mean, standard deviation และ % relative standard deviation

ทำการทดลอง 11 ครั้ง สำหรับธาตุแต่ละชนิด

$$\text{สูตร Mean } (\bar{X}) = \frac{\sum X}{N}$$

$$\text{สูตร S.D.} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N-1}}$$

S.D. = Standard deviation

x = ปริมาณโลหะที่หาได้จากสารตัวอย่างของการวัดแต่ละครั้ง

$\bar{x}$ = ปริมาณโลหะเฉลี่ยที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง

N = จำนวนครั้งที่ทำการวัด (11 ครั้ง)

$$\text{สูตร relative standard deviation (R.S.D.)} = \frac{S.D.}{\bar{x}}$$

$$\text{หรือ \% R.S.D.} = \frac{S.D.}{\bar{x}} \times 100$$

2.11.2 การหาความถูกต้อง (Accuracy)

หาโดยการคูณค่า % recovery

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{found}}{\text{taken}} \times 100$$

2.11.3 การหาเปอร์เซ็นต์ความคลาดเคลื่อน

$$\% \text{ error} = \frac{\text{taken} - \text{found}}{\text{taken}} \times 100$$

found = ปริมาณโลหะของสารละลายมาตรฐานที่หาได้

taken = ปริมาณโลหะของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป

2.12 การคำนวณ

การคำนวณหาความเข้มข้นของโลหะในผักตัวอย่าง

$$\text{สูตร } \mu\text{g/g} = \frac{C \times V}{W}$$

C = ความเข้มข้นของโลหะที่เทียบได้จาก calibration curve
หรือ standard addition (ppm)

V = ปริมาตรทั้งหมดของสารละลายผักตัวอย่าง (ml)

W = น้ำหนักผักตัวอย่าง (g) อาจเป็นน้ำหนักแห้งหรือสดก็ได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved