

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย



#### 3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

##### เครื่องมือ

- เครื่อง Hewlett Packard HP 5890 gas chromatograph ใ้กับ Electron Capture Detector (ECD) และ Hewlett Packard HP 3393 A integrator
- Constant temperature water bath
- เครื่อง Ozonizer (Goodland รุ่น OZ 2002 W)
- Manual Hand Operated Crimper
- เครื่องฉายรังสี Gammacell 220

##### อุปกรณ์อื่นๆ

- Pressure-Lok Series A2 gas-tight syringe ขนาด 2 ml
- micropipet ขนาด 10, 100, 200, 1000  $\mu$ l
- pipett ขนาด 25 ml
- volumetric flasks ขนาด 25, 100, 250, 1000, 2000 ml
- serum vials ขนาด 50 ml
- biggers, dropper
- black rubber septa, aluminum foils, aluminum caps.
- ขวดแก้วขนาด 500 ml

ภาชนะที่เป็นแก้วทั้งหมด รวมทั้ง serum vial ต้องล้างด้วย detergent ( $\text{HNO}_3$ : น้ำ = 1:1) และกลั้วด้วย double distilled water อบในเตาที่  $150^\circ\text{C}$  อย่างน้อย 3 ชั่วโมง

### 3.2 สารเคมี

- Trichloroethylene
- Tetrachloroethylene ทั้งสองชนิด จาก M & B Laboratory Chemical, Dagenham

England

- 1, 1, 2-Trichloroethane จาก Eastern Kodak Company Rochester. NY. USA
- anhydrous sodium sulfate (AR. Grade) จาก Carlo Erba Reagent
- โซเดียมไนเตรด (AR. Grade) จาก M & B Laboratory Chemical, Dagenham

England

- Methanol (AR. Grade) จาก Carlo Erba Reagent
- น้ำกลั่นที่ใช้เป็นน้ำกลั่น 2 ครั้ง ผลิตจากเครื่องของบริษัท Barnstead

ตาราง 3.1 ความบริสุทธิ์ของ สาร chlorinated hydrocarbons ที่ใช้ในการทดลอง

ชนิดของสารเคมี	% Purity ของสารเคมี	ความหนาแน่นที่ 20 °C
Trichloroethylene	99.00	1.46
Tetrachlorethylene	99.00	1.65
1, 1, 2-Trichoroethane	99.00	1.471

### 3.3 วิธีเตรียมสารละลายมาตรฐาน

#### 3.3.1 สารละลายมาตรฐานของ Trichloroethylene ในน้ำที่มีความเข้มข้นต่ำ

เตรียมได้จากการ pipet TCE ด้วย Micropipet ขนาด 10  $\mu$ l จำนวน 5  $\mu$ l ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml ละลายด้วย methanol ให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐานของ TCE ใน methanol ซึ่งมีความเข้มข้น 73 ppm

pipet สารละลายมาตรฐานของ TCE ใน Methanol ที่มีความเข้มข้น 73 ppm จำนวน 100  $\mu$ l ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml ละลายสารละลายมาตรฐาน TCE ใน methanol ด้วยน้ำให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐานของ TCE ในน้ำที่มีความเข้มข้น 73 ppb

pipet สารละลายมาตรฐานของ TCE ในน้ำที่มีความเข้มข้น 73 ppb จำนวนต่างๆกัน ดังแสดงใน ตาราง 3.2 ใส่ใน volumetric flask ขนาด 250 ml ละลายสารละลายมาตรฐาน TCE ในน้ำนี้ด้วยน้ำอีกครั้งให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 250 ml จะได้สารละลายมาตรฐานของ TCE ในน้ำที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันดังแสดงใน ตาราง 3.2

ตาราง 3.2 ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน TCE ในน้ำ ที่ pipet มาและความเข้มข้นของสารละลาย TCE ในน้ำที่ได้

ปริมาตรของ สารละลายมาตรฐาน TCE ในน้ำ ( $\mu$ l)	ความเข้มข้นของสารละลาย TCE ในน้ำที่ได้ (ppb)
7	0.002
18	0.005
35	0.010
175	0.051
350	0.102
1750	0.511
5550	1.62

### 3.3.2 สารละลายมาตรฐานของ Trichloroethylene ในน้ำที่มีความเข้มข้นสูง

เตรียมได้จากการ pipet TCE ด้วย Micropipet ขนาด 10  $\mu$ l จำนวน 5  $\mu$ l ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml ละลายด้วย methanol ให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐานของ TCE ใน methanol ซึ่งมีความเข้มข้น 73 ppm

pipet สารละลายมาตรฐานของ TCE ใน methanol ที่มีความเข้มข้น 73 ppm จำนวน ต่างๆกันดังแสดงใน ตาราง 3.3 ใส่ใน volumetric flask ขนาด 250 ml ละลายสารละลาย มาตรฐาน TCE ในน้ำด้วยน้ำให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 250 ml จะได้สารละลายมาตรฐาน ของ TCE ในน้ำที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันดังแสดงใน ตาราง 3.3

ตาราง 3.3 ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน TCE ใน methanol ที่ pipet และความเข้มข้นของ สารละลาย TCE ในน้ำที่ได้

ปริมาตรของ สารละลายมาตรฐาน TCE ใน methanol ( $\mu$ l)	ความเข้มข้นของสารละลาย TCE ในน้ำที่ได้ (ppb)
5	1.46
20	5.84
40	11.68
80	23.36
200	58.4
340	99.28
520	151.84

### 3.3.3 สารละลายมาตรฐานของ Tetrachloroethylene ในน้ำที่มีความเข้มข้นต่ำ

เตรียมได้จากการ pipet PCE ด้วย Micropipet ขนาด 10  $\mu$ l จำนวน 5  $\mu$ l ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml ละลายด้วย methanol ให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐานของ TCE ใน methanol ซึ่งมีความเข้มข้น 81 ppm

pipet สารละลายมาตรฐานของ PCE ใน Methanol ที่มีความเข้มข้น 81 ppm จำนวน 90  $\mu$ l ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml ละลายสารละลายมาตรฐาน PCE ใน methanol ด้วยน้ำให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐานของ PCE ในน้ำที่มีความเข้มข้น 72.9 ppb

pipet สารละลายมาตรฐานของ PCE ในน้ำที่มีความเข้มข้น 73 ppb จำนวนต่าง ๆ กันดังแสดงใน ตาราง 3.4 ใส่ใน volumetric flask ขนาด 250 ml ละลายสารละลายมาตรฐาน PCE ในน้ำด้วยน้ำอีกครั้งให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 250 ml จะได้สารละลายมาตรฐานของ PCE ในน้ำที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันดังแสดงใน ตาราง 3.4

ตาราง 3.4 ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน PCE ในน้ำ ที่ pipet และความเข้มข้นของสารละลาย PCE ในน้ำที่ได้

ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน PCE ในน้ำ ( $\mu$ l)	ความเข้มข้นของสารละลาย PCE ในน้ำที่ได้(ppb)
20	0.006
34	0.01
174	0.0507
343	0.1
2400	0.7
5000	1.458

### 3.3.4 สารละลายมาตรฐานของ Tetrachloroethylene ในน้ำที่มีความเข้มข้นสูง

เตรียมได้จากการ pipet PCE ด้วย Micropipet ขนาด 10  $\mu$ l จำนวน 5  $\mu$ l ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml ละลายด้วย methanol ให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐานของ TCE ใน methanol ซึ่งมีความเข้มข้น 81 ppm

pipet สารละลายมาตรฐานของ PCE ใน methanol ที่มีความเข้มข้น 81 ppm จำนวนต่าง ๆ กันดังแสดงใน ตาราง 3.5 ใส่ใน volumetric flask ขนาด 250 ml ละลายสารละลายมาตรฐาน PCE ในน้ำด้วยน้ำให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 250 ml จะได้สารละลายมาตรฐานของ PCE ในน้ำที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันดังแสดงใน ตาราง 3.5

ตาราง 3.5 ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน PCE ใน methanol ที่ pipet และความเข้มข้นของสารละลาย PCE ในน้ำที่ได้

ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน PCE ใน methanol ( $\mu$ l)	ความเข้มข้นของสารละลาย PCE ในน้ำที่ได้ (ppb)
5	1.62
20	6.48
40	12.96
80	25.92
180	58.32
320	103.68
465	150.66

### 3.3.5 สารละลาย Internal Standard ในน้ำ

เตรียมได้จากการ pipet 1,1,2-Trichloroethane ด้วย Micropipet จำนวน 50  $\mu$ l ด้วย micropipet ขนาด 100  $\mu$ l ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 ml ละลายด้วย methanol ให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 25 ml จะได้สารละลายมาตรฐานของ 1,1,2-Trichloroethane ใน methanol มีความเข้มข้น 2942 ppm

pipet สารละลายมาตรฐานของ 1,1,2-Trichloroethane ใน Methanol จำนวน 750  $\mu$ l ใส่ใน volumetric flask ขนาด 250 ml ละลายสารละลายมาตรฐาน 1,1,2-Trichloroethane ใน methanol ด้วยน้ำจนมีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 250 ml จะได้สารละลายมาตรฐานของ PCE ในน้ำที่มีความเข้มข้น 8.826 ppm

### 3.3.6 สารละลาย TCE ในน้ำเพื่อใช้ในการฉายรังสี

เตรียมได้จากการ pipet TCE ด้วย Micropipet ขนาด 10  $\mu$ l จำนวน 5  $\mu$ l ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml ละลายด้วย methanol ให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐานของ TCE ใน methanol ซึ่งมีความเข้มข้น 73 ppm

pipet สารละลายมาตรฐานของ TCE ใน methanol ที่มีความเข้มข้น 73 ppm จำนวน ต่างๆกันดังแสดงใน ตาราง 3.6 ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1000 และ 2000 ml ละลาย สารละลายมาตรฐาน TCE ในน้ำด้วยน้ำให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 1000 และ 2000 ml ตามลำดับ จะได้สารละลายมาตรฐานของ TCE ในน้ำที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันดังแสดงใน ตาราง 3.6

ตาราง 3.6 ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน TCE ใน methanol ที่ pipet และความเข้มข้น ของสารละลาย TCE ในน้ำที่ได้เพื่อนำไปฉายรังสี

ปริมาตรของสารละลาย มาตรฐาน TCE ใน methanol ( $\mu$ l)	ปริมาตรน้ำที่ใช้ ละลาย(ml.)	ความเข้มข้นของสารละลาย TCE ในน้ำที่ได้ (ppb)
52	1000	151.84
104	2000	151.84

เตรียมสารละลาย TCE ในน้ำจำนวน 2000 ml อีกครั้ง นำสารละลาย TCE ในน้ำที่ได้ ทั้งหมดผสมกันในขวดพลาสติกขนาด 5 ลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลาย TCE ในน้ำที่มี ความเข้มข้น 151.84 ppb จำนวน 5 ลิตร

### 3.3.7 สารละลาย PCE ในน้ำเพื่อใช้ในการฉายรังสี

เตรียมได้จากการ pipet PCE ด้วย Micropipet ขนาด 10  $\mu$ l จำนวน 5  $\mu$ l ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml ละลายด้วย methanol ให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐานของ PCE ใน methanol ซึ่งมีความเข้มข้น 81 ppm

pipet สารละลายมาตรฐานของ PCE ใน methanol ที่มีความเข้มข้น 81 ppm จำนวน ต่างๆกันดังแสดงใน ตาราง 3.7 ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1000 และ 2000 ml ละลาย สารละลายมาตรฐาน PCE ในน้ำด้วยน้ำให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 1000 และ 2000 ml ตามลำดับ จะได้สารละลายมาตรฐานของ PCE ในน้ำที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน ดังแสดงใน ตารางที่ 3.7

ตาราง 3.7 ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน PCE ใน methanol ที่ pipet และความเข้มข้นของสารละลาย PCE ในน้ำที่ได้เพื่อนำไปฉายรังสี

ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน PCE ใน methanol ( $\mu\text{l}$ )	ปริมาตรน้ำที่ใช้ละลาย(ml.)	ความเข้มข้นของสารละลาย PCE ในน้ำที่ได้ (ppb)
48	1000	155.52
96	2000	155.52

เตรียมสารละลาย PCE ในน้ำจำนวน 2000 ml อีกครั้ง นำสารละลาย PCE ในน้ำที่ได้ทั้งหมดผสมกันในขวดพลาสติกขนาด 5 ลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลาย TCE ในน้ำที่มีความเข้มข้น 155.52 ppb จำนวน 5 ลิตร

### 3.3.8 สารละลาย $\text{NaNO}_3$ ในน้ำ

เตรียมได้โดยนำเกลือโซเดียมไนเตรต ( $\text{NaNO}_3$ ) ละลายลงในน้ำกลั่นด้วยปริมาณที่ต่างกัน ซึ่งจะทำให้ได้น้ำที่มีความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรตดังตาราง 3.8

ตาราง 3.8 ปริมาณโซเดียมไนเตรตที่เติมและความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรตในน้ำที่ได้

ปริมาณ $\text{NaNO}_3$ ที่เติม (mg.)	ความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรตในน้ำที่ได้ (ppm)
5	1
25	5
30	6
50	10



### 3.3.9 สารละลาย TCE ในน้ำที่ผสมโซเดียมไนเตรตเพื่อใช้ในการฉายรังสี

เตรียมได้ตามขั้นตอนในข้อ 3.3.6 โดยเปลี่ยนจากน้ำกลั่นเป็นน้ำที่ผสมโซเดียมไนเตรต จากข้อ 3.3.8 ซึ่งจะทำให้ได้สารละลาย TCE ในน้ำที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 151.84 ppb ที่ผสมโซเดียมไนเตรต มีปริมาณโซเดียมไนเตรตอยู่ 1 , 5 , 6 และ 10 ppm ตามลำดับ

### 3.3.10 สารละลาย PCE ในน้ำที่ผสมโซเดียมไนเตรตเพื่อใช้ในการฉายรังสี

เตรียมได้ตามขั้นตอนในข้อ 3.3.6 โดยเปลี่ยนจากน้ำกลั่นเป็นน้ำที่ผสมโซเดียมไนเตรต จากข้อ 3.3.8 ซึ่งจะทำให้ได้สารละลาย PCE ในน้ำที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 155 ppb ที่ผสมโซเดียมไนเตรต มีปริมาณโซเดียมไนเตรตอยู่ 1 , 5 , 6 และ 10 ppm ตามลำดับ

## 3.4 Gas Chromatographic Conditions<sup>(19)</sup>

ตาราง 3.9 GC Condition ที่ใช้กับ ECD Detector ที่ใช้ในการหาปริมาณ TCE และ PCE ในตัวอย่างน้ำ

GC Parameter	GC Condition
Analytical Column	25 m x 0.32 m ID,. HP-5 (5% Phenyl Methyl silicone) Capillary column
Temperature Program	36 °C ( 1 min) to 100°C (100 min) at 5 °C/min.
Splitless time	0.60 min.
Split Ratio	25 : 1
Flow Rate of Carrier Gas (He)	1.50 mL/min.
N <sub>2</sub>	40.00 mL/min.
Detector	Electron Capture Detector (ECD)
Detector Temperature	300 °C
Inlet Temperature	150 °C

### 3.5 Calibration Curve

#### 3.5.1 External Standard Calibration Curve ของ TCE

ทำได้ตามขั้นตอนดังนี้

1. pipet สารละลาย TCE ในน้ำที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.1 แต่ละความเข้มข้นมาด้วยจำนวน 25 ml ใส่ใน serum vial ขนาด 50 ml ซึ่งภายในบรรจุ anhydrous sodium sulfate อยู่ 13 กรัม ลงใน serum vial

2. ปิด serum vial ด้วย aluminum foil, black rubber septum และ aluminum และล็อก (crimp) โดยใช้ manual Hand Operated Crimper

3. เขย่าขวดให้ทั่ว ประมาณ 1 นาที จากนั้นนำเข้า constant temperature water bath โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 60 °C จำนวน 60 นาที

4. ดูดไอระเหยของ TCE จาก serum vial จำนวน 1 ml โดยใช้ Press-Lok Series A2 gas tight syringe ขนาด 2 ml ฉีดเข้าเครื่อง gas chromatograph ภายใต้ GC condition ดังตาราง 3.9

5. นำค่า rsp และ amt ที่อ่านได้จากเครื่อง gas chromatograph มาพล็อตกราฟซึ่งจะได้ External Standard Calibration Curve ของ TCE ที่ความเข้มข้นต่ำ ดังแสดงในรูปที่ 3.1

#### 3.5.2 External Standard Calibration Curve ของ PCE

ทำได้ตามขั้นตอนดังนี้

1. pipet สารละลาย PCE ในน้ำที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.3 แต่ละความเข้มข้นมาด้วยจำนวน 25 ml ใส่ใน serum vial ขนาด 50 ml ซึ่งภายในบรรจุ anhydrous sodium sulfate อยู่ 13 กรัม ลงใน serum vial

2. ปิด serum vial ด้วย aluminum foil, black rubber septum และ aluminum cap และล็อก (crimp) โดยใช้ manual Hand Operated Crimper

3. เขย่าขวดให้ทั่ว ประมาณ 1 นาที จากนั้นนำเข้า constant temperature water bath โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 60 °C จำนวน 60 นาที

4. ดูดไอระเหยของ PCE จาก serum vial จำนวน 1 ml โดยใช้ Press-Lok Series A2 gas tight syringe ขนาด 2 ml ฉีดเข้าเครื่อง gas chromatograph ภายใต้ GC condition

### ดังตาราง 3.9

5. นำค่า rsp และ amt ที่อ่านได้จากเครื่อง gas chromatograph มาพล็อตกราฟซึ่งจะได้ External Standard Calibration Curve ของ PCE ที่ความเข้มข้นต่ำ ดังแสดงในรูปที่ 3.2

#### 3.5.3 Internal Standard Calibration Curve ของ TCE

ทำได้ตามขั้นตอนดังนี้

1. pipet สารละลาย TCE ในน้ำที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.2 แต่ละความเข้มข้นมาด้วยจำนวน 25 ml ใส่ใน serum vial ขนาด 50 ml ซึ่งภายในบรรจุ anhydrous sodium sulfate อยู่ 13 กรัม ฉีด 1,1,2-trichloroethane ที่มีความเข้มข้น 8.826 ppm จำนวน 65  $\mu$ l ลงใน serum vial

2. ปิด serum vial ด้วย aluminum foil, black rubber septum และ aluminum cap และล็อก (crimp) โดยใช้ manual Hand Operated Crimper

3. เขย่าขวดให้ทั่ว ประมาณ 1 นาที จากนั้นนำเข้า constant temperature water bath โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 60 °C จำนวน 60 นาที

4. ดูดไอระเหยของ TCE จาก serum vial จำนวน 1 ml โดยใช้ Press-Lok Series A2 gas tight syringe ขนาด 2 ml ฉีดเข้าเครื่อง gas chromatograph ภายใต้ GC condition ดังตาราง 3.9

5. นำค่า rsp ratio และ amt ratio ที่อ่านได้จากเครื่อง gas chromatograph มาพล็อตกราฟซึ่งจะได้ Internal Standard Calibration Curve ของ TCE ที่ความเข้มข้นสูง ดังแสดงในรูปที่ 3.3

### 3.5.4 Internal Standard Calibration Curve ของ PCE

ทำได้ตามขั้นตอนดังนี้

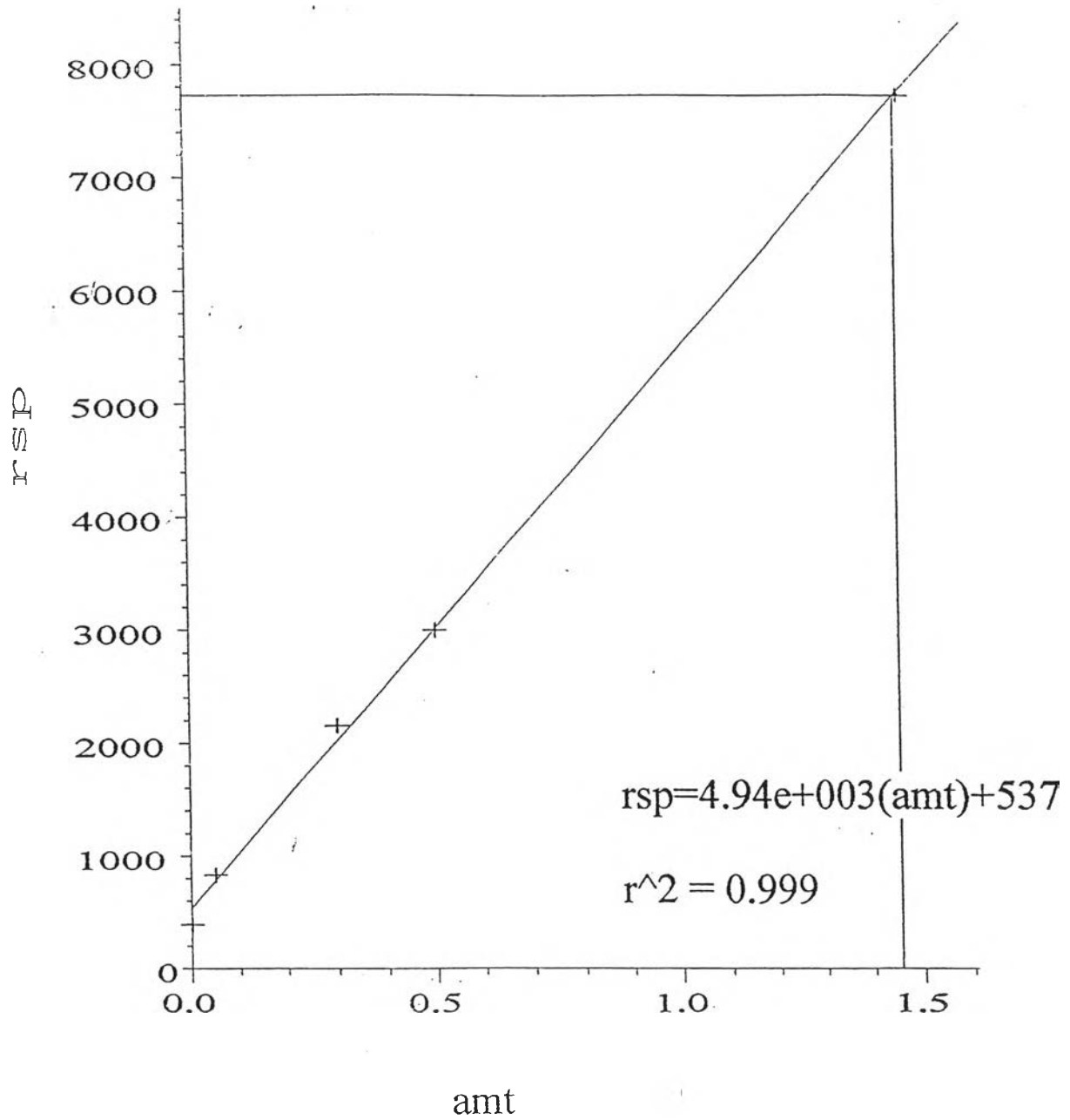
1. pipet สารละลาย PCE ในน้ำที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.4 แต่ละความเข้มข้นมาด้วยจำนวน 25 ml ใส่ใน serum vial ขนาด 50 ml ซึ่งภายในบรรจุ anhydrous sodium sulfate อยู่ 13 กรัม ฉีด 1,1,2-trichloroethane ที่มีความเข้มข้น 8.826 ppm จำนวน 65  $\mu$ l ลงใน serum vial

2. ปิด serum vial ด้วย aluminum foil, black rubber septum และ aluminum cap และล็อก (crimp) โดยใช้ manual Hand Operated Crimper

3. เขย่าขวดให้ทั่ว ประมาณ 1 นาที จากนั้นนำเข้า constant temperature water bath โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 60 °C จำนวน 60 นาที

4. ดูดไอระเหยของ PCE จาก serum vial จำนวน 1 ml โดยใช้ Press-Lok Series A2 gas tight syringe ขนาด 2 ml ฉีดเข้าเครื่อง gas chromatograph ภายใต้ GC condition ดังตาราง 3.9

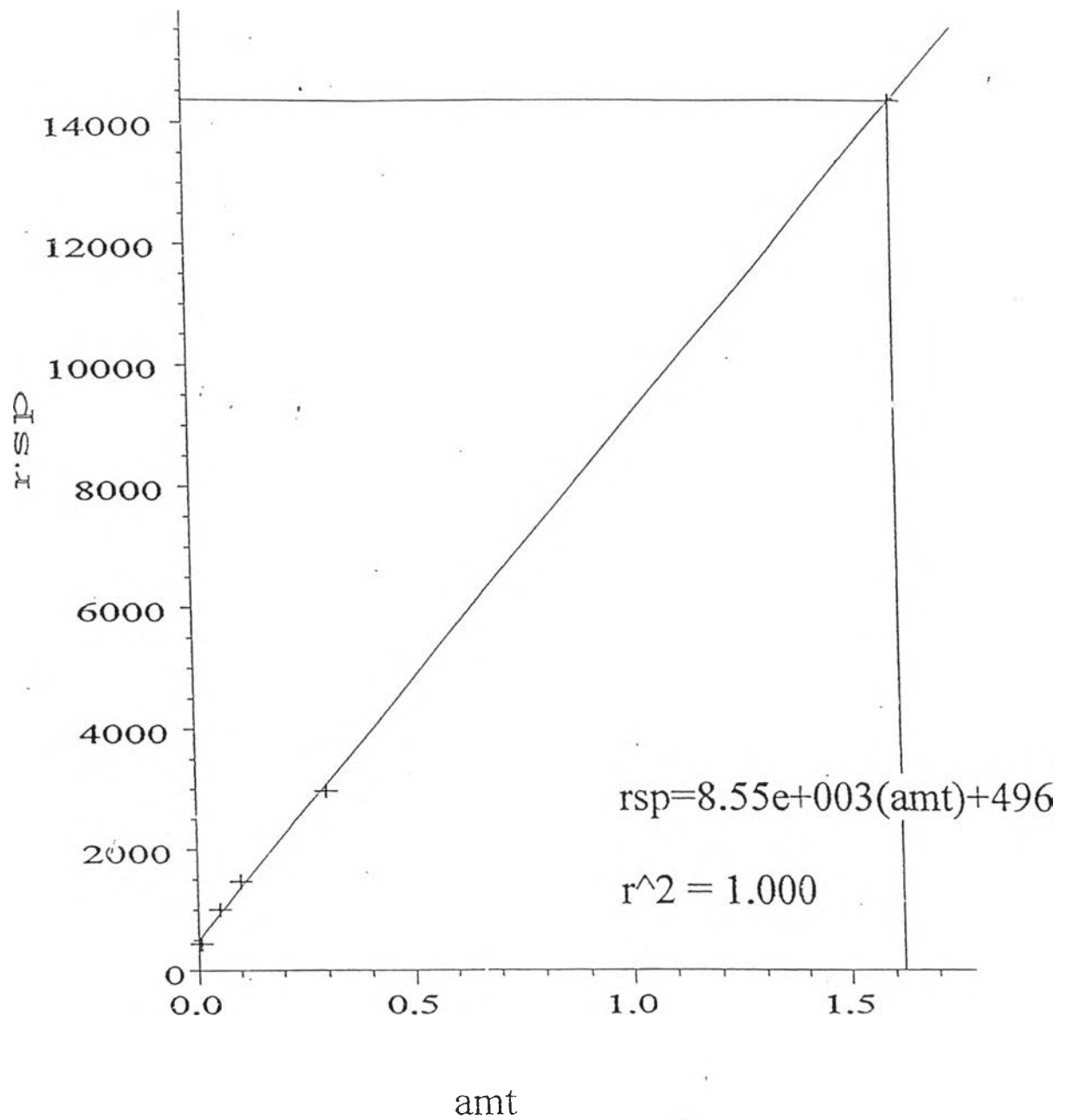
5. นำค่า rsp ratio และ amt ratio ที่อ่านได้จากเครื่อง gas chromatograph มาพล็อตกราฟซึ่งจะได้ Internal Standard Calibration Curve ของ PCE ที่ความเข้มข้นสูง ดังแสดงในรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.1 ตัวอย่าง External Standard Calibration Curve ของ TCE

amt = amount of TCE in ppb

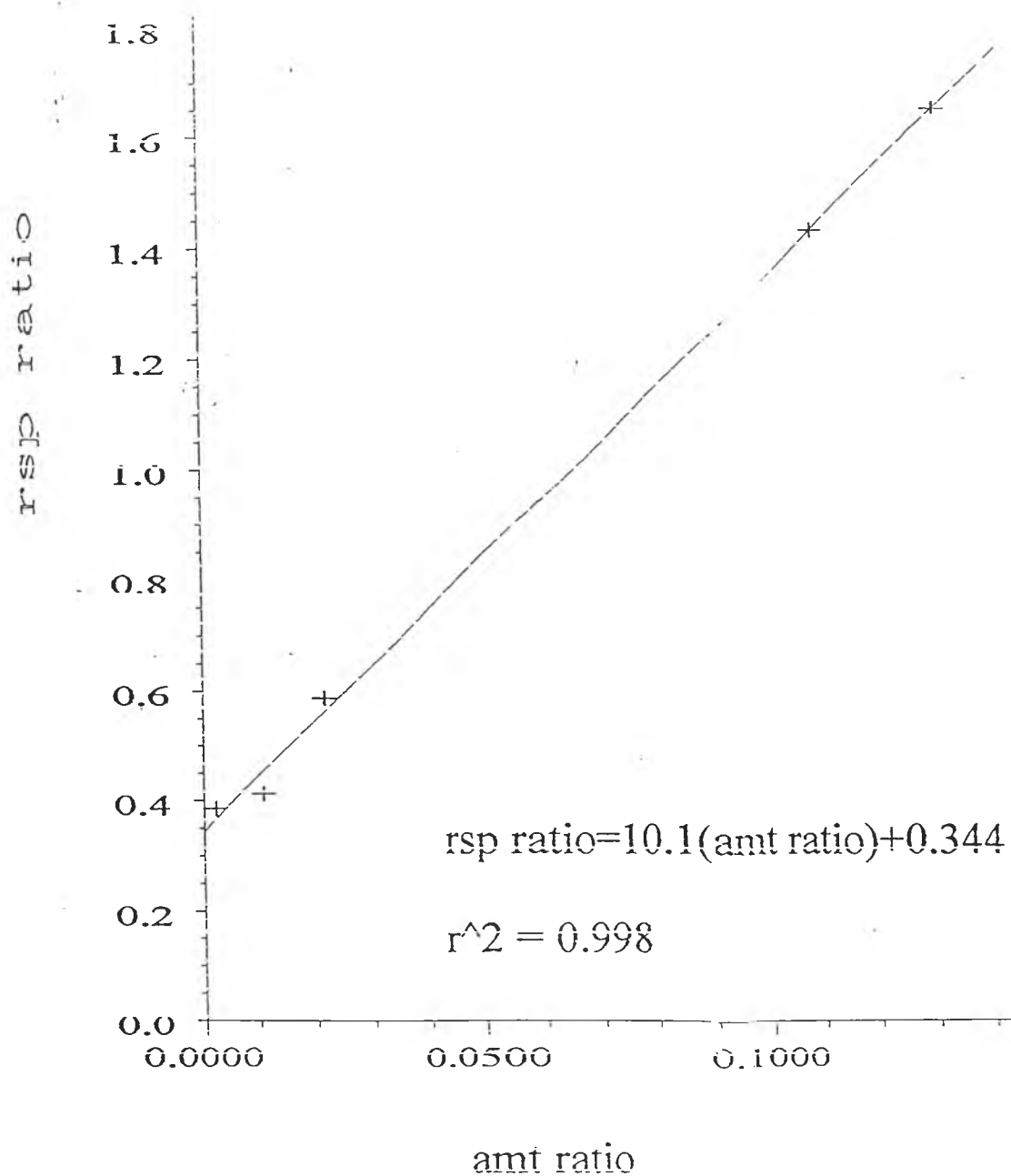
rsp = peak area



รูปที่ 3.2 ตัวอย่าง External Standard Calibration Curve ของ PCE

amt = amount of PCE in ppb

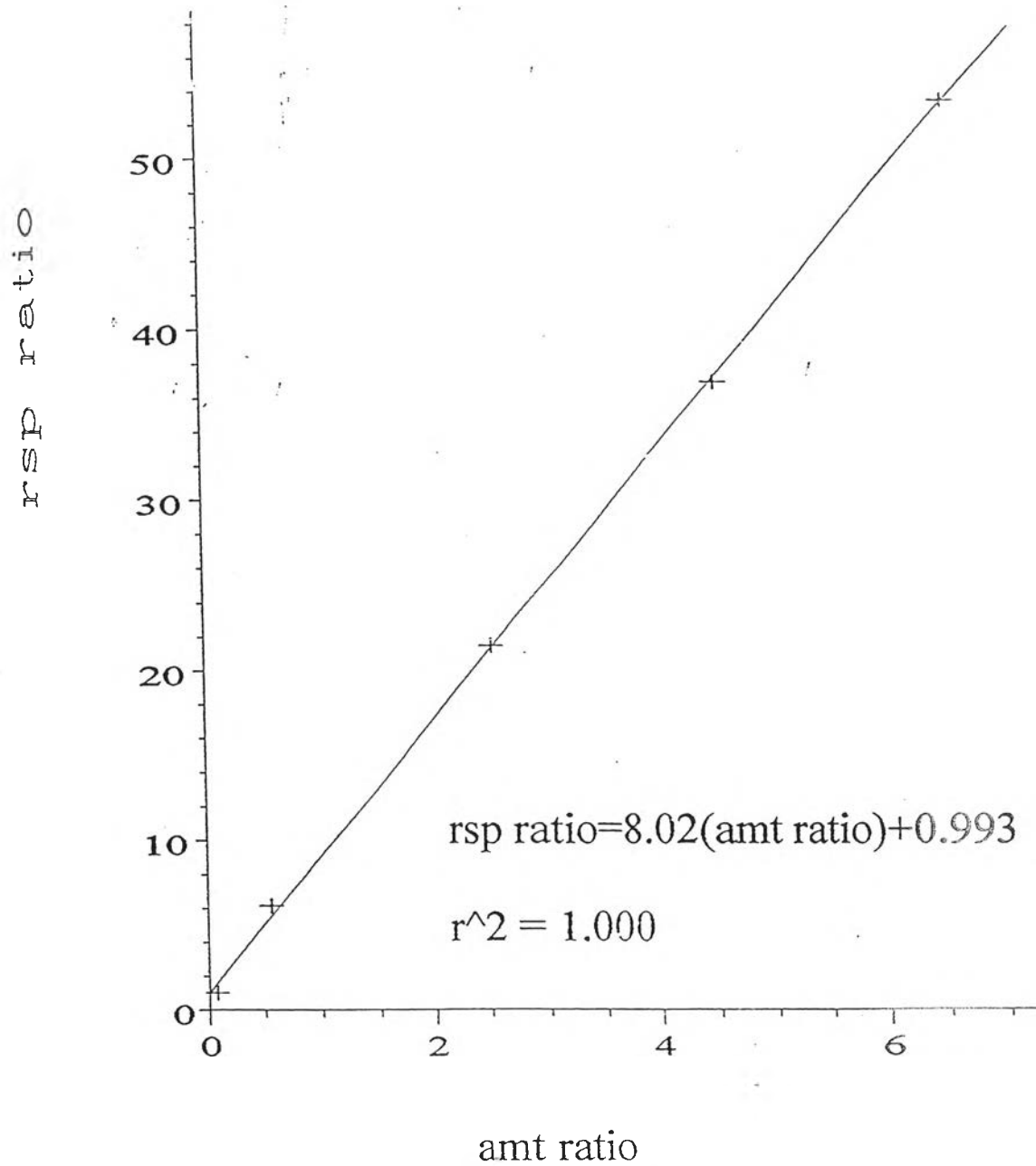
rsp = peak area



รูปที่ 3.3 ตัวอย่าง Internal Standard Calibration Curve ของ TCE

$$\text{Rsp ratio} = \frac{\text{peak area standard}}{\text{peak area internal standard}}$$

$$\text{Amt ratio} = \frac{\text{conc. of standard}}{\text{conc. of internal standard}}$$



รูปที่ 3.4 ตัวอย่าง Internal Standard Calibration Curve ของ PCE

$$\text{Rsp ratio} = \frac{\text{Peak area standard}}{\text{peak area internal standard}}$$

$$\text{Amt ratio} = \frac{\text{conc. of standard}}{\text{conc. of internal standard}}$$



### 3.6 วิธีหาค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเฮดสเปซ (The Procedure for checking the Accuracy of Headspace Analysis Technique)

pipet TCE และ PCE ด้วย Micropipet ขนาด 10  $\mu$ l จำนวน 5  $\mu$ l ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml ชนิดละ 1 ใบ ละลายด้วย methanol ให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐานของ TCE และ PCE ใน methanol ซึ่งมีความเข้มข้น 73 ppm และ 81 ppb ตามลำดับ

pipet สารละลายมาตรฐานของ TCE และ PCE ใน methanol ที่มีความเข้มข้น 73 ppm และ 81 ppm จำนวนใส่ใน volumetric flask ขนาด 250 ml ชนิดละ 1 ใบ ละลายสารละลายมาตรฐาน TCE และ PCE ใน methanol ด้วยน้ำให้มีปริมาตรรวมทั้งหมดเท่ากับ 250 ml จะได้สารละลายมาตรฐานของ TCE และ PCE ในน้ำที่มีความเข้มข้นของ TCE และ PCE เท่ากับ 52.56 และ 51.84 ppb ตามลำดับ จากนั้นทำตามขั้นตอนดังนี้

1. pipet สารละลาย TCE และ PCE จำนวน 25 ml ใส่ใน serum vial ขนาด 50 ml ชนิดละ 5 ขวดซึ่งภายในบรรจุ anhydrous sodium sulfate อยู่ 13 กรัม ซีด 1,1,2-trichloroethane ที่มีความเข้มข้น 8.826 ppm จำนวน 65  $\mu$ l ลงใน serum vial
2. ปิด serum vial ด้วย aluminum foil, black rubber septum และ aluminum cap และล็อก (crimp) โดยใช้ manual Hand Operated Crimper
3. เขย่าขวดให้ทั่ว ประมาณ 1 นาที จากนั้นนำเข้า constant temperature water bath โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 60 °C จำนวน 60 นาที
4. ดูดไอระเหยของ TCE และ PCE จาก serum vial จำนวน 1 ml โดยใช้ Press-Lok Series A2 gas tight syringe ขนาด 2ml ซีดเข้าเครื่อง gas chromatograph ภายใต้ GC condition ดังตาราง 3.9
6. หาค่าความเข้มข้นของสารละลาย TCE และ PCE โดยใช้ internal standard curve ดังรูปที่แสดง 3.3 และ 3.4
6. เปรียบเทียบความเข้มข้นของ TCE และ PCE จากการเตรียมกับค่าที่อ่านได้จาก calibration curve

### 3.7 การศึกษาหาค่า Limit of Quantitation<sup>(5)</sup>

Limit of Quantitation ของ TCE และ PCE สามารถหาได้จากการเตรียมสารละลายมาตรฐานของ TCE และ PCE ให้มีความเข้มข้นลดลงเรื่อยๆอย่างน้อย 6 ความเข้มข้น ในช่วงความเข้มข้น 0.002-0.5 ppb และ 0.006-0.7 ppb สำหรับ TCE และ PCE ตามลำดับ (เตรียมได้จากขั้นตอนในข้อ 3.3.1 และ 3.3.3 ) จากนั้นทำตามขั้นตอนดังนี้

1.pipet สารละลายมาตรฐานของ TCE และ PCE แต่ละความเข้มข้นมาด้วยจำนวน 25 ml จำนวน 5 ขวดในแต่ละความเข้มข้นใส่ใน serum vial ขนาด 50 ml ซึ่งภายในบรรจุ anhydrous sodium sulfate อยู่ 13 กรัม ฉีด 1,1,2 - trichloroethaneที่มีความเข้มข้น 8.826 ppm จำนวน 65  $\mu$ l ลงใน serum vial

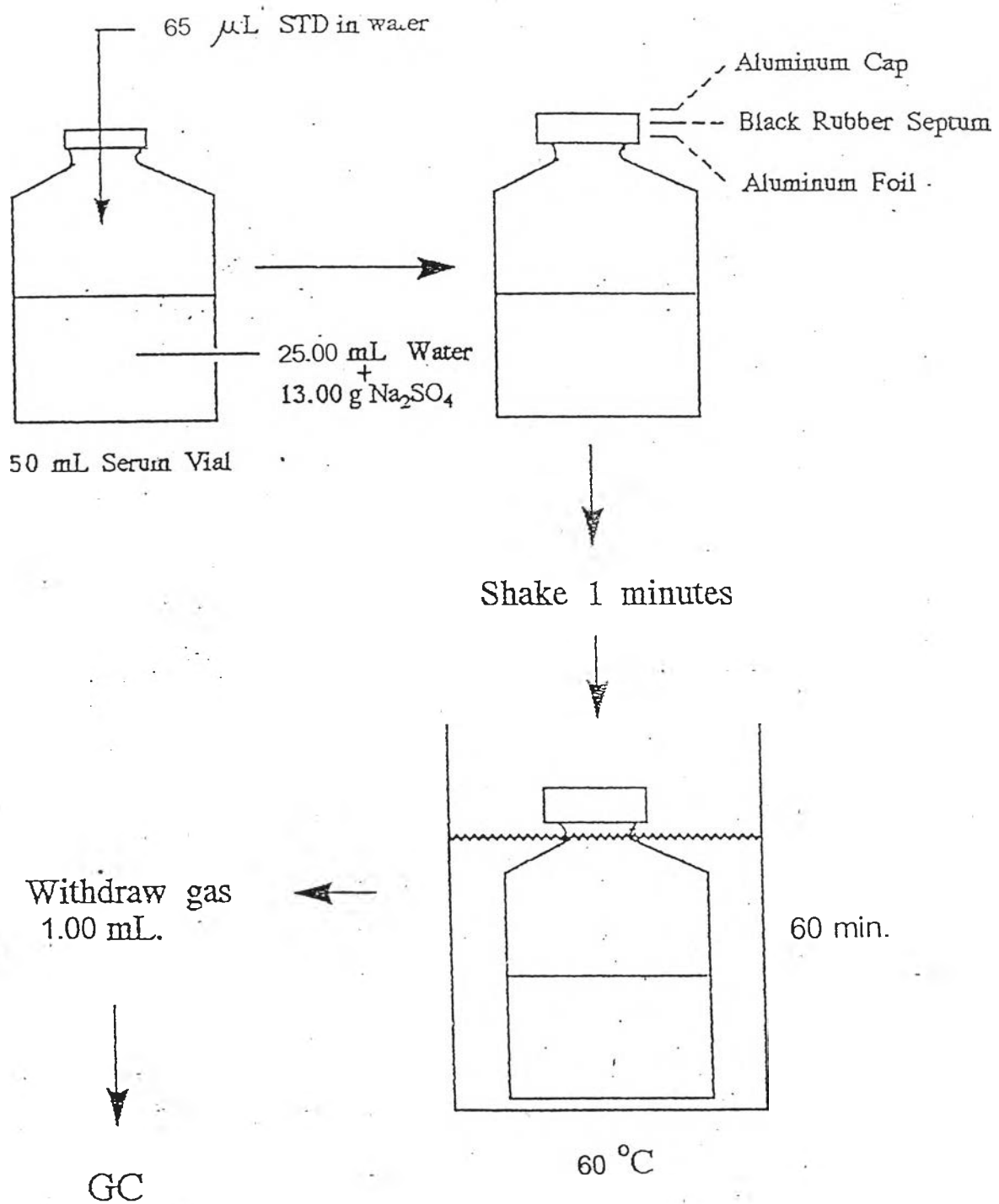
2. ปิด serum vial ด้วย aluminum foil, black rubber septum และ aluminum cap และล็อก (crimp)โดยใช้ manual Hand Operated Crimper

3. เขย่าขวดให้ทั่ว ประมาณ 1 นาที จากนั้นนำเข้า constant temperature water bath โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 60 °C จำนวน 60 นาที

4. ดูดไอระเหยของ PCE จาก serum vial จำนวน 1 ml. โดยใช้ Press-Lok Series A2 gas tight syringe ขนาด 2 ml ฉีดเข้าเครื่อง gas chromatograph ภายใต้ GC condition ดังตาราง 3.9

5.นำค่า rsp ratio ที่อ่านได้จากเครื่อง gas chromatograph มาคำนวณหาค่า %RSD

6.พล็อตกราฟระหว่าง %RSD กับ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของ TCE และ PCE ที่แต่ละความเข้มข้น จากกราฟ จุดที่มี %RSD เท่ากับ 10 คือ จุด LOQ



รูปที่ 3.5 วิธีเตรียมตัวอย่างด้วยเทคนิคเฮดสเปสก่อนฉีดเข้าเครื่อง GC

### 3.8 การหาปริมาณของ TCE และ PCE ในตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ

การวิเคราะห์หาปริมาณ TCE และ PCE ในตัวอย่างน้ำหาได้จากวิธี external standardization โดยใช้ external standard curve รูป 3.1 และ 3.2 และปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

1. pipet ตัวอย่างน้ำมา 25 ml ลงใน serum vial ขนาด 50 ml ซึ่งบรรจุ anhydrous sodiumsulfate อยู่ 13 กรัม
2. ปิด serum vial ด้วย aluminum foil, black rubber septum และ aluminum cap และล็อก (crimp) โดยใช้ manual Hand Operated Crimper
3. เขย่าขวดให้ทั่ว ประมาณ 1 นาที จากนั้นนำเข้า constant temperature water bath โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 60 °C จำนวน 60 นาที
4. ดูดไอระเหยของ TCE และ PCE จาก serum vial จำนวน 1 ml โดยใช้ Press-Lok Series A2 gas tight syringe ขนาด 2 ml ฉีดเข้าเครื่อง gas chromatograph ภายใต้ GC condition ดังตาราง 3.9
5. หาค่าความเข้มข้นของสารละลาย TCE และ PCE โดยใช้ external standard curve ดังรูปที่แสดง 3.1 และ 3.2

### 3.9 การฉายรังสีแกมมาเพื่อลดปริมาณ TCE ในน้ำ

นำสารละลายมาตรฐานของ TCE ในน้ำจากการเตรียมในข้อ 3.3.6 มาแบ่งใส่ขวดขนาด 500 ml จำนวน 10 ขวด ขวดละ 500 ml Seal ปากขวดด้วย petroleum gel นำขวดทั้งหมดเข้าเครื่องฉายรังสีแกมมา CO-60 ตามเวลา ดังนี้

ตาราง 3.10 เวลาที่ใช้ในการฉายรังสีเพื่อให้ได้รับปริมาณรังสีที่ต้องการ

Dose (Gy)	เวลา (วินาที)
96	57
188	119
281	181
373	243
465	305
558	367
650	429
742	491
835	553
926	615

หมายเหตุ : เวลาที่ใช้ในตารางที่ 3.10 สำหรับการทดลองที่ 3.9 , 3.10 , 3.11 และ 3.12  
การทดลองที่ 3.13 และ 3.14 ใช้เวลาในตารางที่ 2 ในภาคผนวก ก

นำสารละลายมาตรฐานของ TCE ในขวดที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสีต่างๆ ไป  
ตรวจหาปริมาณ TCE ด้วยเครื่อง GC ใช้ GCCondition ดังตาราง 3.9 โดยปฏิบัติตามขั้นตอนนี้

1. pipet ตัวอย่างสารละลาย TCE แต่ละขวดจำนวน 25 ml และฉีด  
1,1,2-trichloroethane ที่มีความเข้มข้น 8.826 ppm จำนวน 65  $\mu$ l ลงใน serum vial ขนาด  
50 ml ซึ่งบรรจุ anhydrous sodium sulfate 13 กรัม
2. ปิด serum vial ด้วย aluminum foil, black rubber septum และ aluminum cap และ  
ล็อก (crimp)โดยใช้ manual Hand Operated Crimper
3. เขย่าขวดให้ทั่ว ประมาณ 1 นาที จากนั้นนำเข้า constant temperature water bath  
โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 60 °C จำนวน 60 นาที
4. ดูดไอระเหยของ TCE จาก serum vial จำนวน 1 ml โดยใช้ Press-Lok Series A2  
gas tight syringe ขนาด 2 ml ฉีดเข้าเครื่อง gas chromatograph
5. หาค่าความเข้มข้นของสารละลาย TCE โดยใช้ internal standard curve ดังแสดง  
ในรูปที่ 3.3

### 3.10 การฉายรังสีแกมมาเพื่อลดปริมาณ PCE ในน้ำ

นำสารละลายมาตรฐานของ PCE ในน้ำจากการเตรียมในข้อ 3.3.7 มาแบ่งใส่ขวดขนาด 500 ml จำนวน 10 ขวด ขวดละ 500 ml Seal ปากขวดด้วย petroleum gel นำขวดทั้งหมดเข้าเครื่องฉายรังสีแกมมา CO-60 ตามเวลาดังตาราง 3.10

หลังจากฉายรังสีแกมมาให้แก่สารละลายมาตรฐานของ PCE ทั้งหมดแล้ว นำสารละลายมาตรฐานของ PCE ในขวดที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสีต่างๆ ไปตรวจหาปริมาณ PCE ที่เหลืออยู่ในสารละลาย PCE ด้วยเครื่อง GC ใช้ GC Condition ดังตาราง 3.9 โดยปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

1. pipet ตัวอย่างน้ำแต่ละขวดมา 25 ml ฉีด 1,1,2-trichloroethane ที่มีความเข้มข้น 8.826 ppm จำนวน 65  $\mu$ l ลงใน serum vial ขนาด 50 ml ซึ่งบรรจุ anhydrous sodium sulfate 13 กรัม
2. ปิด serum vial ด้วย aluminum foil, black rubber septum และ aluminum cap และ ล็อค (crimp) โดยใช้ manual Hand Operated Crimper
3. เขย่าขวดให้ทั่ว ประมาณ 1 นาที จากนั้นนำเข้า constant temperature water bath โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 60 °C จำนวน 60 นาที
4. ดูดไอระเหยของ PCE จาก serum vial จำนวน 1 ml. โดยใช้ Press-Lok Series A2 gas tight syringe ขนาด 2 ml ฉีดเข้าเครื่อง gas chromatograph
5. หาค่าความเข้มข้นของสารละลาย PCE โดยใช้ internal standard curve ดังแสดงในรูปที่ 3.4

### 3.11 การฉายรังสีแกมมาพร้อมกับโอโซนเพื่อลดปริมาณ TCE ในน้ำ

เติม gas ozone จากเครื่อง ozonizer ซึ่งมี flow rate เท่ากับ 98 mg / hr ให้แก่สารละลาย TCE ในน้ำจากการเตรียมในข้อ 3.3.6 ด้วยเวลาที่แตกต่างกัน จะได้สารละลาย TCE ในน้ำที่มีปริมาณโอโซนแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 3.11

ตาราง 3.11 ปริมาณ ozone ที่ให้แก่ น้ำ

ปริมาณ ozone ที่ให้แก่ น้ำ (ppm)	เวลา (นาที)
1.63	5
3.26	10
6.53	20
9.8	30
13.0	40
16.3	50

นำน้ำที่ผ่านการให้ gas ozone แบ่งใส่ขวดขนาด 500 ml จำนวน 10 ขวดๆละ 500 ml Seal ปากขวดด้วย petroleum gel ก่อนนำเข้าไปฉายรังสีตาม เวลาต่าง ๆ ที่แสดงดังตาราง 3.10

หลังจากฉายรังสีแกมมาให้แก่สารละลายมาตรฐานของ TCE ทั้งหมดแล้ว นำสารละลายมาตรฐานของ TCE ในขวดที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ ไปตรวจหาปริมาณ TCE ที่เหลืออยู่ในสารละลาย TCE ด้วยเครื่อง GC ใช้ GC Condition ดังตาราง 3.9 โดยปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

1. pipet ตัวอย่างน้ำแต่ละขวดมา 25 ml และฉีด 1,1,2 -trichloroethane ที่มี ความเข้มข้น 8.826 ppm จำนวน 65  $\mu$ l ลงใน serum vial ขนาด 50 ml ซึ่งบรรจุ anhydrous sodium sulfate 13 กรัม
2. ปิด serum vial ด้วย aluminum foil, black rubber septum และ aluminum cap และ ล็อค (crimp)โดยใช้ manual Hand Operated Crimper
3. เขย่าขวดให้ทั่ว ประมาณ 1 นาที จากนั้นนำเข้า constant temperature water bath โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 60 °C จำนวน 60 นาที
4. ดูดไอระเหยของ TCE จาก serum vial จำนวน 1 ml. โดยใช้ Press-Lok Series A2 gas tight syringe ขนาด 2 ml ฉีดเข้าเครื่อง gas chromatograph
5. หาค่าความเข้มข้นของสารละลาย TCE โดยใช้ internal standard curve ดังแสดง ในรูปที่ 3.3
6. ทำการทดลองซ้ำอีกครั้งแต่เปลี่ยนปริมาณ ozone ที่ให้แก่ น้ำดังค่าในตารางที่ 3.11 จนครบทุกความเข้มข้นของ ozone ที่กำหนด

### 3.12 การฉายรังสีแกมมาพร้อมกับโอโซนเพื่อลดปริมาณ PCE ในน้ำ

เติม gas ozone จากเครื่อง ozonizer ซึ่งมี flow rate เท่ากับ 98 mg / hr ให้แก่สารละลาย PCE ในน้ำจากการเตรียมในข้อ 3.3.7 ด้วยเวลาที่แตกต่างกัน จะได้สารละลาย PCE ในน้ำที่มีปริมาณโอโซนแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 3.11

นำน้ำที่ผ่านการให้ gas ozone แบ่งใส่ขวดขนาด 500 ml จำนวน 11 ขวด ๆ ละ 500 ml seal ปากขวดด้วย petroleum gel ก่อนนำเข้าฉายรังสีตาม เวลาต่าง ๆ ที่แสดง ดังตาราง 3.10

หลังจากฉายรังสีแกมมาให้แก่สารละลายมาตรฐานของ PCE ทั้งหมดแล้ว นำสารละลายมาตรฐานของ PCE ในขวดที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่มีปริมาณรังสีต่าง ๆ ไปตรวจหาปริมาณ PCE ที่เหลืออยู่ในสารละลาย PCE ด้วยเครื่อง GC ให้ GC Condition ดังตาราง 3.9 โดยปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

1. pipet ตัวอย่างน้ำแต่ละขวดมา 25 ml และฉีด 1,1,2 -trichloroethane ที่มี ความเข้มข้น 8.826 ppm จำนวน 65  $\mu$ l ลงใน serum vial ขนาด 50 ml ซึ่งบรรจุ anhydrous sodium sulfate 13 กรัม
2. ปิด serum vial ด้วย aluminum foil, black rubber septum และ aluminum cap และ ล็อค (crimp) โดยใช้ manual Hand Operated Crimper
3. เขย่าขวดให้ทั่ว ประมาณ 1 นาที จากนั้นนำเข้า constant temperature water bath โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 60 °C จำนวน 60 นาที
4. ดูดไอระเหยของ PCE จาก serum vial จำนวน 1 ml โดยใช้ Press-Lok Series A2 gas tight syringe ขนาด 2 ml ฉีดเข้าเครื่อง gas chromatograph
5. หาค่าความเข้มข้นของสารละลาย PCE โดยใช้ internal standard curve ดังแสดง ในรูปที่ 3.4
6. ทำการทดลองซ้ำอีกครั้งแต่เปลี่ยนปริมาณ ozone ที่ให้แก่น้ำดังค่าในตารางที่ 3.11 จนครบทุกความเข้มข้นของ ozone ที่กำหนด



### 3.13 การฉายรังสีแกมมาเพื่อลดปริมาณ TCE ในน้ำที่มีโซเดียมไนเตรดผสมอยู่

นำสารละลายมาตรฐานของ TCE ในน้ำจากการเตรียมในข้อ 3.3.9 มาแบ่งใส่ขวดขนาด 500 ml จำนวน 10 ขวด ขวดละ 500 ml Seal ปากขวดด้วย petroleum gel นำขวดทั้งหมดเข้าเครื่องฉายรังสีแกมมา CO-60 ตามเวลาดังแสดงในตารางที่ 3.10

นำสารละลายมาตรฐานของ TCE ในขวดที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ ไปตรวจหาปริมาณ TCE ที่เหลืออยู่ในสารละลาย TCE ด้วยเครื่อง GC ใช้ GC Condition ดังตาราง 3.9 โดยปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

1. pipet ตัวอย่างน้ำแต่ละขวดมา 25 ml และฉีด 1,1,2 - trichloroethane ที่มี ความเข้มข้น 8.826 ppm จำนวน 65  $\mu$ l ลงใน serum vial ขนาด 50 ml ซึ่งบรรจุ anhydrous sodium sulfate 13 กรัม
2. ปิด serum vial ด้วย aluminum foil, black rubber septum และ aluminum cap และ ล็อค (crimp)โดยใช้ manual Hand Operated Crimper
3. เขย่าขวดให้ทั่ว ประมาณ 1 นาที จากนั้นนำเข้า constant temperature water bath โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 60 °C จำนวน 60 นาที
4. ดูดไอระเหยของ TCE จาก serum vial จำนวน 1 ml. โดยใช้ Press-Lok Series A2 gas tight syringe ขนาด 2 ml ฉีดเข้าเครื่อง gas chromatograph
5. หาค่าความเข้มข้นของสารละลาย TCE โดยใช้ internal standard curve ดังแสดงใน รูปที่ 3.3

### 3.14 การฉายรังสีแกมมาเพื่อลดปริมาณ PCE ในน้ำที่มีไนเตรดผสมอยู่

นำสารละลายมาตรฐานของ PCE ในน้ำจากการเตรียมในข้อ 3.3.10 มาแบ่งใส่ขวด ขนาด 500 ml จำนวน 10 ขวด ขวดละ 500 ml Seal ปากขวดด้วย petroleum gel นำขวดทั้งหมด เข้าเครื่องฉายรังสีแกมมา CO-60 ตามเวลาดังแสดงในตารางที่ 3.10

นำสารละลายมาตรฐานของ PCE ในขวดที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณรังสีต่าง ๆ ไปตรวจหาปริมาณ PCE ที่เหลืออยู่ในสารละลาย TCE ด้วยเครื่อง GC ใช้ GC Condition ดังตาราง 3.9 โดยปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

1. pipet ตัวอย่างน้ำแต่ละขวดมา 25 ml และฉีด 1,1,2-trichloroethane ที่มี ความเข้มข้น 8.826 ppm จำนวน 65  $\mu$ l ลงใน serum vial ขนาด 50 ml. ซึ่งบรรจุ anhydrous sodium sulfate 13 กรัม
2. ปิด serum vial ด้วย aluminum foil, black rubber septum และ aluminum cap และ ล็อค (crimp)โดยใช้ manual Hand Operated Crimper
3. เขย่าขวดให้ทั่ว ประมาณ 1 นาที จากนั้นนำเข้า constant temperature water bath โดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 60 °C จำนวน 60 นาที
4. ดูดไอระเหยของ PCE จาก serum vial จำนวน 1 ml. โดยใช้ Press-Lok Series A2 gas tight syringe ขนาด 2 ml ฉีดเข้าเครื่อง gas chromatograph
5. หาค่าความเข้มข้นของสารละลาย PCE โดยใช้ internal standard curve ดังแสดง ในรูปที่ 3.4