คู่มือปฏิบัติการเคมีสิ่งแวดล้อม 2

เอกสารประกอบการสอน

วิชาปฏิบัติการเคมีสิ่งแวดล้อม 2

(432 205 Environmental Chemistry Laboratory II)

คณาจารย์สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

พ.ศ. 2547

คำนำ

คู่มือปฏิบัติการวิชาเคมีสิ่งแวดล้อม 2 จัดทำขึ้นเพื่อใช้เป็นเอกสารประกอบการสอนวิชาปฏิบัติการเคมีสิ่งแวดล้อม 2 (432 205 Environmental Chemistry Laboratory II) และ วิชาเคมีสิ่งแวดล้อม (432 203 Environmental Chemistry) ที่เปิดสอนสำหรับนักศึกษา สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ซึ่งได้มีการรวบรวมในครั้งแรกขึ้นโดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จงจินต์ ผลประเสริฐ และต่อๆมาก็ได้มีการปรับปรุงและแก้ไขโดยคณาจารย์สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม ซึ่งเป็นผู้รับผิดชอบสอนในรายวิชานี้ เพื่อให้เหมาะสมและสอดคล้องกับเครื่องมือต่างๆที่มีอยู่ในสาขาวิชาในปัจจุบัน และเป็นประโยชน์ต่อนักศึกษาสูงสุดในการได้ฝึกใช้เครื่องมือที่ทันสมัยมากยิ่งขึ้น

จรียา ยิ้มรัตนบวร

เมษายน 2547

สารบัญ

หน้า

คำนำ	ก
ข้อตกลงในการทำปฏิบัติการวิชาเคมีสิ่งแวดล้อม 2	1
การทดลองที่ 1 การหาค่าของแข็งในน้ำ	8
การทดลองที่ 2 ออกซิเจนละลาย	13
การทดลองที่ 3 การวิเคราะห์ค่าซีโอดี	18
การทดลองที่ 4 การวิเคราะห์ค่าบีโอดี	21
การทดลองที่ 5 Total Kjeldahl Nitrogen และ Organic Nitrogen	28
การทดลองที่ 6 การวิเคราะห์หา Nitrite และ Nitrate	32
การทดลองที่ 7 การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสและฟอสเฟต	35
การทดลองที่ 8 การวิเคราะห์น้ำมันและไขมัน	37
เอกสารอ้างอิง	42

คู่มือปฏิบัติการเคมีสิ่งแวดล้อม 2

เอกสารประกอบการสอน

วิชาปฏิบัติการเคมีสิ่งแวดล้อม 2

(432 205 Environmental Chemistry Laboratory II)

คณาจารย์สาขาวิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม

สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

พ.ศ. 2547

ข้อตกลงในการทำปฏิบัติการวิชาเคมีสิ่งแวดล้อม 2

ข้อตกลงในการทำปฏิบัติการวิชาเคมีสิ่งแวดล้อม 2 ที่นักศึกษาจะต้องทำความเข้าใจ และปฏิบัติตามอย่างเคร่งครัดเพื่อมิให้หมดสิทธิเข้าสอบในวิชานี้ดังต่อไปนี้

1. เนื่องจากก่อนทำปฏิบัติการแต่ละคาบ จะมีการสอบย่อยเกี่ยวกับเนื้อหาที่จะทำปฏิบัติการในวันนั้น **นักศึกษาจึงต้องเข้าปฏิบัติการตรงตามเวลา ถ้ามาสายเกิน 15 นาที นอกจากจะไม่ได้สอบย่อยแล้วยังจะไม่ได้รับอนุญาตให้เข้าทำปฏิบัติในครั้งนั้นอีกด้วย และถ้ามีเวลาทำปฏิบัติการไม่ครบ 80% จะไม่มีสิทธิ์เข้าสอบรายวิชานี้**

2. เข้าทำปฏิบัติการตามกลุ่มที่จัดไว้ให้เท่านั้น และ**เซ็นชื่อในแบบฟอร์มที่จัดไว้ให้ทุกครั้งเมื่อเข้าทำปฏิบัติการ และจะออกจากห้องปฏิบัติการหลังจากเสร็จสิ้นการทดลอง**

3. แต่งกายสุภาพ สวมเสื้อกาวน์ **ใส่รองเท้าหุ้มส้นให้เรียบร้อย ไม่มีการใส่รองเท้าแตะโดยเด็ดขาด**

4. ถ้ามีเหตุจำเป็นไม่สามารถเข้าทำปฏิบัติในวันและเวลาที่กำหนด **ให้ยื่นใบลาตามแบบฟอร์มของห้องปฏิบัติการ (มีแบบฟอร์มอยู่ด้านหลังของหนังสือคู่มือ) ต่ออาจารย์ประจำรายวิชาล่วงหน้าและต้องได้รับอนุมัติก่อนจึงจะขาดปฏิบัติการดังกล่าวได้**

5. นักศึกษาที่ขาดปฏิบัติการ อาจไม่ได้รับการพิจารณาให้ทำชดเชยและเป็นหน้าที่ที่นักศึกษาต้องศึกษาเนื้อหาการทำปฏิบัติการที่ขาดไปนั้นด้วยตนเอง

6. ถ้านักศึกษาป่วยจนไม่สามารถเข้าทำปฏิบัติการได้ ให้ส่งใบลาพร้อมใบรับรองแพทย์ (ขอจากสถานพยาบาลของมหาวิทยาลัยได้) ให้กับอาจารย์ประจำรายวิชา ก่อนเข้าทำปฏิบัติการครั้งต่อไป

7. เนื่องจากมีปฏิบัติการ 8 ครั้ง **นักศึกษาสามารถขาดปฏิบัติการโดยไม่มีใบลาได้เพียง 1 ครั้งเท่านั้น ถ้าขาดปฏิบัติการมากกว่า 1 ครั้ง โดยไม่มีการลาที่ถูกต้อง จะไม่มีสิทธิ์เข้าสอบวิชานี้**

8. ในรายวิชานี้ จะมีการให้คะแนนดังนี้

สอบย่อย	10%
รายงาน	55%
การบ้าน	5%
ความสนใจในการทำปฏิบัติการ	10%
สอบปลายภาค	20%

ความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ

นักศึกษาต้องอ่านเกี่ยวกับความปลอดภัยสำหรับทำปฏิบัติการและทำความเข้าใจกฎเกณฑ์ ต่าง ๆ เพื่อความปลอดภัยของตัวนักศึกษาเอง และผู้อื่นด้วย

1. การป้องกันดวงตา เนื่องจากดวงตาอาจได้รับอันตรายจากสารเคมี หรือชิ้นส่วนใด ๆ ที่อาจกระเด็นเข้าตา ให้สวมแว่นตานิรภัยที่ทางห้องปฏิบัติการเตรียมไว้ให้ทุกครั้ง **ถ้าสารเคมีเข้าตาให้ล้างตาด้วยน้ำสะอาดจำนวนมาก แล้วแจ้งอาจารย์ผู้สอบปฏิบัติการทันที**

2. **ให้ทำการทำลองตามที่กำหนดให้เท่านั้น** ห้ามทำการทดลองอื่น ๆ โดยเด็ดขาดผู้ใดฝ่าฝืนจะมีความผิดทางวินัย

3. บนโต๊ะปฏิบัติการ ควรมีแต่เครื่องมือเครื่องใช้ที่จำเป็นจริง ๆ เท่านั้น **หนังสือและสัมภาระต่าง ๆ ไม่ควรวางไว้บนโต๊ะปฏิบัติการ** เพราะนอกจากจะเกะกะกีดขวางแล้วยังอาจเสียหายได้หาย

4. ขณะทำปฏิบัติการ **ห้ามส่งเสียงดัง เล่น ผิวปาก ร้องเพลง สูบบุหรี่ และห้ามนำอาหารเข้ามารับประทานในห้องปฏิบัติการ**

5. *ไม่ว่าจะเกิดอุบัติเหตุ หรืออันตรายใด ๆ ต้องแจ้งให้อาจารย์ผู้คุมปฏิบัติการทราบทันที ถ้าถูก* **กรด เบส ฟอสฟอรัส หรือโบรมีน ให้ล้างบริเวณดังกล่าวด้วยน้ำปริมาณมาก** ๆ แล้วแจ้งให้อาจารย์ประจำวิชาทราบ

6. ห้ามนำสารเคมีทุกชนิด และเครื่องมืออุปกรณ์ต่าง ๆ ออกจากห้องปฏิบัติการ

7. การใช้ตะเกียงบุนเสนนั้น **จุดตะเกียงเมื่อจำเป็นต้องใช้งานเท่านั้น และใช้ความระมัดระวังก่อนจุดตะเกียง ต้องสำรวจให้แน่ใจว่าไม่มีสารไวไฟอยู่ใกล้** ๆ **ถ้ามีแยกออกไปให้ไกลเสียก่อน** จุดไม้ขีด*ก่อน*แล้วจึง*ค่อย*เปิดแก๊สและไม่ใช้เศษกระดาษต่อไฟจากตะเกียงเป็นอันขาด เมื่อไม่ใช้ตะเกียงแก๊สให้ปิดแก๊สทุกครั้ง ถ้าไม่แน่ใจในวิธีการจุดตะเกียงให้ถามอาจารย์

8. การใช้สารเคมีที่เป็นของเหลว เช่น กรด – เบส ให้รินออกทางด้านตรงกันข้ามกับฉลากปิดขวด วางฝาจุกขวดหงายเพื่อกันการปนเปื้อน เมื่อใช้สารเสร็จต้องรีบปิดขวดทันที แล้ววางกลับคืนให้ถูกที่ทุกครั้ง **ห้ามใช้วัตถุอื่นใด เช่น หยอดหยด จุ่มลงไปในขวดสารเคมีเป็นอันขาด**

9. แบ่งใช้สารเคมีตามปริมาณที่กำหนดให้เท่านั้น การนำสารเคมีไปมากเกินพอ เพิ่มความสิ้นเปลือง นอกจากนี้น้ำยาเคมี หรือสารเคมี ที่แบ่งมาใช้แล้วเหลือ **ห้ามเทคืนขวดเดิมให้เทลงในภาชนะที่จัดไว้ให้**

10. เศษกระดาษ ไม้ขีดไฟ และของแข็งต่าง ๆ ห้ามทิ้งลงในอ่างน้ำ เพราะจะทำให้ท่ออุดตันให้ทิ้งลงในถังขยะที่จัดเตรียมไว้ให้ ส่วนของเหลวให้เททิ้งลงในอ่างน้ำ ถ้าเป็นพวกกรด-เบส ต้องเปิดน้ำ ตามทุกครั้ง

11. เศษแก้วแตก หรือเครื่องแก้วที่บิ่นแตกร้าว ให้ใส่ในกล่องที่จัดไว้ให้ ห้ามทิ้งในถังขยะปกติ

12. อย่าชิมสารเคมี และถ้าจะดมกลิ่นสารเคมี **ให้หันภาชนะออกจากหน้าแล้วให้มือโบกไอสารมาดม**

13. ถ้ามีการต้มสาร หรือให้ทำปฏิกิริยากันในหลอดทดลอง **อย่าหันปากหลอดเข้าหาตัวเองหรือผู้อื่นโดยเด็ดขาด**

14. **อย่าเทน้ำลงในกรดเข้มข้น เพราะปฏิกิริยาจะเกิดอย่างรุนแรง พร้อมทั้งเกิดความร้อนสูง ให้เทกรดลงในน้ำอย่างช้า** ๆ **พร้อมทั้งคนตลอดเวลา** นอกจากนี้การละลายสารเคมีบางชนิด เช่น เบส โซเดียมไฮดรอกไซด์ จะเกิดความร้อนสูงมากเช่นกัน จึงต้องทำด้วยความระมัดระวัง และอย่าเผลอจับภาชนะที่บรรจุสารด้วยมือเปล่า

15. การใช้ pipet ต้องใช้ลูกยางในการดูดสารละลายเสมอ ห้ามใช้ปากดูดเพราะสารเคมีจะเข้าปากและอาจเกิดอันตรายได้

16. ในการทดลองที่มีควันหรือแก๊สพิษเกิดขึ้น ต้องทำการทดลองในตู้ดูดควัน (fume hood) เสมอ

17. เมื่อทำการทดลองเสร็จทุกครั้ง **ทำความสะอาดอุปกรณ์และล้างเครื่องแก้วให้สะอาดด้วยน้ำยาล้างอุปกรณ์ ล้างออกด้วยน้ำประปา แล้วล้างครั้งสุดท้ายด้วยน้ำกลั่น วางทิ้งให้แห้งก่อนเก็บเข้าตู้ให้เรียบร้อย ก่อนออกจากห้องปฏิบัติการจะต้องตรวจดูโต๊ะ และหิ้งวางขวดสารเคมีประจำโต๊ะให้อยู่ในสภาพสะอาดและเรียบร้อยทุกครั้ง อย่าลืมล้างมือให้สะอาด** ก่อนออกจากห้องปฏิบัติการ

18. **นักศึกษาจะต้องมีสมุดไว้บันทึกข้อมูลที่ต้องใช้ในการทำปฏิบัติการ** เช่นน้ำหนักของสาร ฯลฯ ไม่มีการจดข้อมูลลงในฝ่ามือหรือเศษกระดาษ ผู้ใดไม่ปฏิบัติตามจะโดนหักคะแนนเทคนิค

อุปกรณ์พื้นฐานในห้องปฏิบัติการ

ในการทำปฏิบัติการจะต้องรู้จักอุปกรณ์พื้นฐานและชนิดของเครื่องแก้วต่าง ๆ ตลอดจนรู้วิธีใช้ ข้อควรระวังเพื่อใช้ถูกวัตถุประสงค์

บีกเกอร์ (Beaker)

ใช้ใส่สารละลายต่าง ๆ มีขนาดบรรจุต่าง ๆ กัน ตามที่ระบุไว้ที่ด้านข้างของภาชนะ อาจใช้บอกปริมาตรของสารละลายโดยประมาณได้ และอาจใช้ใส่สารที่ต้องการชั่งน้ำหนัก

กระบอกตวง Measuring cylinder หรือ Graduated cylinder

กระบอกตวง มีขนาดต่าง ๆ และมีสเกลแบ่งส่วนย่อย ๆ อีกตามความเหมาะสม มักใช้กระบอกตวงในการวัดปริมาตรของสารละลายเมื่อไม่ต้องการปริมาตรที่แน่นอนนัก

ปิเปต (Pipet)

ปิเปต เป็นเครื่องแก้วที่ใช้วัดปริมาตรของสารละลาย โดยการดูดสารละลายที่ต้องการแน่นอน (ใช้ลูกยาง – rubber bulb ในการดูด) ปิเปต มี 2 แบบ คือ

Volumetric หรือ Transfer pipet มีลักษณะเป็นกระเปาะอยู่ตรงกลาง ไม่มีการแบ่งส่วนย่อย ๆ แต่มีขีดบอกปริมาตรของสารละลายทั้งหมดเพียงขีดเดียว ปริมาตรของสารละลายอ่านได้จากตัวเลขที่เขียนไว้บริเวณกระเปาะ

Measuring pipet จะมีขีดแบ่งส่วนย่อยออกปริมาตรอย่างชัดเจน และสามารถปล่อยสารละลายออกมาให้มีปริมาตรตามต้องการได้

บิวเรต (Buret)

บิวเรต เป็นเครื่องแก้วที่ใช้วัดปริมาตรเพื่อถ่ายเทสาร มีขีดแบ่งส่วนย่อยทุก 0.1 cm^3 ตามปกติบิวเรตที่ใช้จะมีปริมาตรบรรจุสารละลายได้ 50 cm^3

ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask หรือ conical flask)

เป็นเครื่องแก้วที่ใช้ใส่สารละลายมีขนาดต่าง ๆ กัน ตามปกติจะใช้ในการไทเทรต

หลอดทดลอง (Test tube)

ใช้ใส่สารเคมีในการทดสอบปฏิกิริยาต่าง ๆ หรือใส่สารที่ต้องการแยกตะกอนออกจากสารละลายเมื่อใช้เครื่องปั่นเหวี่ยง

ชามกระเบื้อง (Porcelain basin หรือ Evaporating dish)

เป็นภาชนะใส่สารละลายที่ต้องการจะระเหยให้เหลือปริมาตรน้อยลงหรือระเหยให้แห้ง

กระจกนาฬิกา (Watch glass)

ใช้ปิดปากบีกเกอร์เพื่อลดกลิ่นและลดการระเหยของสารที่ใส่ไว้ในบีกเกอร์แล้ววางทิ้งไว้และใช้วางกระดาษลิตมัส ในการทดสอบความเป็นกรด-เบส หรือใช้ชั่งสารที่ไม่ดูดความชื้น

กรวยแก้ว (Glass funnel)

ช่วยในการถ่ายสารละลายจากภาชนะหนึ่งไปยังอีกภาชนะหนึ่งซึ่งมีปากแคบและใช้ในการกรองสารละลาย

แท่งแก้วสำหรับคน (Glass stirring rod)

เป็นแท่งแก้วปลายคม ใช้สำหรับคนสารละลายต่างๆ และช่วยในการถ่ายสารละลายลงในภาชนะปากแคบ

เบ้าเผาตะกอน (Crucible)

ใช้ในการเผาสารหรือตะกอนในการวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยวิธีชั่งน้ำหนัก

ขวดฉีดน้ำกลั่น (Wash bottle)

เป็นขวดพลาสติก บรรจุน้ำกลั่น ใช้ในการฉีดล้างสาร เครื่องแก้ว ฯลฯ

ช้อนตักสาร (Spatula)

เป็นอุปกรณ์ใช้ตักสารเคมีที่เป็นของแข็ง

แปลงล้างขวด (Test tube brushes)

เป็นแปลงใช้ทำความสะอาดหลอดทดลอง

แผ่นตะแรงลวด (Wire gauze)

ตามปกติจะมีแผ่นแอสแบ็สตอส อยู่ตรงกลางของแผ่นตะแรงลวด สามารถใช้ได้ทั้งเป็นตัวกระจายความร้อนโดยวางบนสามขา รองภาชนะที่รับความร้อนจากตะเกียงบุนเส็น และเป็นตัวทนความร้อน ใช้วางแท่งแก้วที่เพิ่งผ่านการเผามาใหม่ๆ หรือวางเบ้ากระเบื้องที่เพิ่งเผาเสร็จ

Clay triangle

ทำด้วยวัสดุทนความร้อน ใช้เป็นตัวรองเบ้าเผาตะกอนในขณะที่ทำการเผา

ขาตั้ง (Stand) และมือจับ (Clamp)

เป็นแท่น มีขาตั้งสำหรับยึดถือจับ (Clamp) ชนิดต่างๆ เช่น มือจับยึดบิวเร็ต (Buret clamp) มือจับที่ใช้งานได้ทั่วไป (Utility clamp) หรือที่เป็นวงแหวนโลหะ (ring) ที่ใช้วางกรวยแก้ว

รางใส่หลอดทดลอง (Test tube rack)

ใช้วางหลอดทดลอง

หลอดหยด (Dropper)

ใช้สำหรับหยดสารละลาย

คีม (Tongs) และที่จับหลอดทดลอง (Test tube holder)

คีม ใช้จับภาชนะหรือวัสดุที่ร้อน เช่น จับเบ้าเผาตะกอนในขณะที่กำลังทำการเผาอยู่ และรับอุปกรณ์ต่าง ๆ ออกจากตะเกียง ตู้อบหรือเตาเผา ส่วนที่จับหลอดทดลองใช้คีบหลอดทดลองในขณะทำการทดสอบปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ

ตะเกียงบุนเส็น (Bunsen burner)

เป็นอุปกรณ์ให้ความร้อนและเปลวไฟ โดยใช้แก๊สเป็นเชื้อเพลิง เมื่อจุดตะเกียงแล้วจะต้องปรับอัตราส่วนของแก๊ส และอากาศให้พอเหมาะ จะได้เปลวไฟสีน้ำเงินที่ให้ความร้อนสูงสุด

<u>การใช้อุปกรณ์บางชนิดที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ</u>

ตู้ดูดควัน (Fume hood)

ในห้องปฏิบัติการจะมีตู้ดูดควันอยู่ 3 ตู้ ตู้ดูดควันนี้ จะมีพัดลมดูดอากาศขนาดใหญ่ดูดอากาศที่ผ่านทางช่องเปิดด้านหน้าออกไปนอกห้องปฏิบัติการ การทดลองใด ๆ ที่มีควันหรือแก๊สพิษเกิดขึ้น จะต้องทำในตู้ดูดควันเสมอ หลังจากเปิดสวิทช์ให้พัดลมดูดอากาศทำงานแล้ว จะต้องดึงแผ่นกระจกด้านหน้าลงมา ให้เหลือช่องเปิดประมาณ 4 นิ้ว เพื่อให้อากาศผ่านเข้าไปได้ และหลังจากเลิกการทดลองแล้ว ควรทิ้งให้พัดลมดูดอากาศทำงานต่อไปอีกอย่างน้อย 5 นาที เพื่อให้แน่ใจว่า ไอของสาร ถูกกำจัดออกไปหมดแล้ว ถ้าปิดสวิทช์ทันทีไอของสารอาจควบแน่นตกค้างอยู่ตามท่อ ทำให้เกิดการกัดกร่อนได้

โถทำแห้ง (Desiccator)

โถทำแห้ง จะมีลักษณะที่เป็นโถแก้ว และชนิดที่เป็นตู้ (Cabinet) เป็นอุปกรณ์ใช้เก็บสารหรือภาชนะที่ต้องการเก็บไว้ในที่ที่ปราศจากความชื้น หรือใช้เก็บสารที่สามารถดูดความชื้น หรือเกิดปฏิกิริยาได้เมื่อสัมผัสกับอากาศ ในโถทำแห้งจะบรรจุสารดูดความชื้นไว้ สารดูดความชื้นที่นิยมใช้กันคือ Silica gel ซึ่งเมื่อปราศจากความชื้น จะมีสีน้ำเงิน และเมื่อดูดความชื้นจนอิ่มตัวแล้วจะมีสีชมพูสามารถนำไปอบไล่ความชื้นที่ 100°C เพื่อนำกลับมาใช้ใหม่ได้

ท่อลม

บนโต๊ะปฏิบัติการ นอกจากจะมีหัวแก๊สแล้ว ยังมีหัวก๊อกที่เป็นก๊อกอากาศอัดอีกด้วย ใช้สำหรับเป่าเครื่องแก้วให้แห้ง ตามปกติในการทำปฏิบัติการเคมีนั้น ถ้าต้องการให้เครื่องแก้วแห้งโดยเร็วแล้ว หลังจากล้างสะอาดแล้ว ให้กลั้วด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ระเหยได้ง่าย เช่น Acetone แล้วใช้ลมเป่าให้แห้งแต่ถ้าไม่ต้องการให้แห้งโดยเร็ว ก็จะใช้อบในตู้อบ

เครื่องดับเพลิง

ในห้องปฏิบัติการ จะมีถังดับเพลิงสีแดง 1 ถัง ตามปกติจะมีแท่งเหล็กเล็ก ๆ เป็นสลักเสียบอยู่ตรงมือจับในขณะที่ไม่ใช้งานถ้าเกิดเพลิงไหม้ ให้ยกถังดับเพลิงจากที่แขวนลงมา ดังสลักออก ใช้มือขวากดมือจับลงมา ในขณะที่อีกมือหนึ่งจับท่อชี้ตรงไปบริเวณที่เกิดเพลิงไหม้ โฟมจากเครื่องจะลงไปคลุมสารเคมี หรือสิ่งที่กำลังลุกไหม้อยู่ให้มอดดับลง

ที่อาบน้ำฉุกเฉิน

ถ้าเกิดเหตุการณ์ไฟลุกไหม้ ผม หรือเสื้อผ้าของนักศึกษา ให้เพื่อน ๆ ที่อยู่ใกล้เหตุการณ์ นำตัวผู้ประสบอุบัติเหตุเข้าไปอยู่ใต้ฝักบัวที่อาบน้ำฉุกเฉิน แล้วดึงห่วงเพื่อให้น้ำไหลทันที น้ำจะไหลออกมา 40 – 50 แกลลิน ซึ่งมากเพียงพอจะดับไฟได้ นอกจากอุบัติเหตุเรื่องไฟไหม้แล้ว ในกรณีที่สารเคมีอันตรายหกรดตัวก็สามารถใช้ที่อาบน้ำฉุกเฉินชะล้างได้เช่นเดียวกัน ข้อควรจำ ก็คือ หลังจากดึงห่วงแล้ว จะทำให้น้ำหยุดไหลไม่ได้ จนกว่าน้ำจะไหลออกไปหมด ดังนั้น จะไม่มีการสาธิตการใช้และห้ามไปดึงห่วงเล่นเป็นอันขาด

การทำความสะอาดเครื่องแก้ว

การใช้สบู่ ผงซักฟอกและน้ำประปาล้างเครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการจะทำความสะอาดเครื่องแก้วได้เพียงพอแล้ว โดยน้ำเครื่องแก้วที่จะล้าง แช่ไว้ในผงซักฟอกประมาณ 10-15 นาที แล้วจึงใช้แปรงถูทำความสะอาด ล้างผงซักฟอกออกให้หมดด้วยน้ำประปา แล้วกลั้วล้างอีกครั้งโดยฉีดล้างด้วยน้ำกลั่น/น้ำกรองจากขวดฉีดน้ำกลั่น อย่าลืมว่าการผลิตน้ำกลั่น/น้ำกรอง มีค่าใช้จ่ายสูงมาก ดังนั้นในการใช้ข้อให้ใช้อย่างประหยัดเท่าที่จำเป็นเท่านั้น และแม้แต่น้ำประปาเองก็ต้องช่วยกันประหยัดเช่นกัน

การทำความสะอาดเครื่องแก้วปริมาตรมาตรฐาน (Volumetric galssware)

เราจะใช้เครื่องแก้วปริมาตรมาตรฐานเมื่อต้องการทราบปริมาตรของสารละลายอย่างถูกต้องและแม่นยำเท่านั้น เช่น ถ้าต้องการเตรียมสารละลายที่มีความเข้มข้นแน่นอนค่าหนึ่ง จะต้องใช้ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ซึ่งมีปริมาตรแน่นอน $\pm 0.01\,cm^3$ ในการเตรียมสารละลายนั้นบริษัทผู้ผลิตจะประทับตัวเลขบนขวด บอกปริมาตรสัมบูรณ์ของสารละลายที่ขวดจะรับไว้ได้ และมีขีดบอกปริมาตรอยู่ที่คอของขวด บนขวดวัดปริมาตรจะมีตัวอักษร TC (to contain) หมายความว่าขวดวัดปริมาตรจะบรรจุสารละลายเมื่อเติมถึงขีดบอกปริมาตร ตามปริมาตรที่กำหนดไว้บนขวดตามปกติจะบอกอุณหภูมิที่ได้ทำการปรับเทียบมาตรฐานปริมาตรของขวดไว้ด้วย เพราะปริมาตรของของเหลวเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิ

ถ้าต้องการสารละลายปริมาตรที่แน่นอนจำนวนหนึ่ง จะใช้ปิเปตหรือบิวเรตในการถ่ายสารละลายปริมาตรดังกล่าว ปิเปตและบิวเรตจะมีความถูกต้องในการถ่ายสารละลายได้ถึง $\pm 0.01\ cm^3$ Transfer volumetric pipet ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการโดยทั่วไปนั้นจะถ่ายปริมาตรสารละลายปริมาตรที่กำหนดเพียงปริมาตรเดียว ที่ก้านของปิเปตจะมีขีดบอกปริมาตรที่จะต้องดูดสารละลายขึ้นไปให้ถึง ปิเปตชนิดจะมีตัวอักษร TD (to deliver) ปรากฏอยู่ซึ่งหมายความว่า ปิเปตอันนั้นได้รับการปรับเทียบมาตรฐานปริมาตร ให้ถ่ายสารละลายออกไปตามปริมาตรที่กำหนด ส่วนบิวเรต จะถ่ายสารละลายออกได้ตั้งแต่ 0 ลบ.ซม. จนถึงความจุสูงสุดของบิวเรต

ดังนั้น ในการใช้เครื่องแก้วปริมาตรมาตรฐาน ซึ่งมีปริมาตรถูกต้องถึง 0 cm^3 จะต้องล้างให้สะอาดเสียก่อน การทดสอบว่าเครื่องแก้วสะอาดหรือไม่ทำได้โดยสังเกตน้ำกลั่นที่ฉีดล้างภาชนะในเครื่องแก้ว ถ้าน้ำไหลผ่านผนังภายในอย่างต่อเนื่อง แสดงว่าเครื่องแก้วสะอาด แต่ถ้ามีน้ำเกาะเป็นหยอด ๆ แสดงว่ายังล้างเครื่องแก้วไม่สะอาด

ในการใช้เครื่องแก้วปริมาตรมาตรฐานนี้ สามารถใช้ได้ขณะที่ยังเปียกอยู่ไม่ต้องรอให้แห้งโดยกลั้วล้างด้วยสารละลายที่ต้องการใช้ปริมาตรเล็กน้อยเสียก่อน และต้องกลั้วล้างจนแน่ใจว่า ไม่มีน้ำเหลืออยู่ เพราะจะทำให้ความเข้มข้นของสารละลายที่จะใช้เจือจางลงได้ จะไม่มีการนำเอา Volumetric glassware ไปอบให้แห้งในตู้อบเป็นอันขาด เพราะความร้อนอาจทำให้ปริมาตรของเครื่องแก้วที่ได้ปรับเทียบมาตรฐานไว้แล้วเปลี่ยนแปลงไปได้

การจัดการข้อมูล

ควรมีการบันทึกข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการทดลองไว้ในสมุดทันที เมื่อได้ข้อมูลนั้นมา ข้อมูลต่าง ๆ มีความสำคัญทั้งสิ้น ไม่ว่าจะเป็นข้อมูลเชิงคุณภาพ (Qualitative data) หรือข้อมูลเชิงปริมาณ (Quantitative data) โดยเฉพาะข้อมูลเชิงปริมาณจะต้องบันทึกทั้งหน่วย และระบุสมบัติที่ทำการวัดไว้ด้วย นอกจากนี้จะต้องพิจารณาให้เลขนัยสำคัญให้ถูกต้องเพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีประโยชน์มากที่สุด

ในการคำนวณโดยใช้ข้อมูลจากการทดลองนั้น ควรปฏิบัติให้เป็นนิสัยในการที่จะแสดงวิธีคำนวณหรือตัวอย่างของการคำนวณเอาไว้ด้วย เพื่อให้เห็นหลักการของการคิด ทั้งนี้ต้องเขียนตัวเลขและหน่วยที่ใช้ให้ถูกต้องด้วย ตัวอย่างเช่น ในการทดลองหาความหนาแน่นเราอาจจะเขียนไว้ว่า

ความหนาแน่นของ Unknown = $\frac{15g}{100ml} = 0.15\,{}^{g}\!/_{ml}$

หรือความหนาแน่นของ Unknown = $\frac{\text{มวลของ Unknown}}{\text{ปริมาตรของ Unknown}}$

การทดลองที่ 1
การหาค่าของแข็งในน้ำ

วัตถุประสงค์

เพื่อสาธิตวิธีปฏิบัติที่เกี่ยวข้องกับการชั่งน้ำหนักในการหาปริมาณของแข็งในรูปต่าง ๆ ที่อยู่ในน้ำและน้ำเสีย

ทฤษฎี

การทดลองนี้จะแสดงหลักการชั่งน้ำหนัก การแยกสสารและเทคนิคในการจำแนก ที่ใช้ในการหาปริมาณของแข็งรูปแบบต่าง ๆ ในน้ำและน้ำเสีย เทคนิคเหล่านี้ คือ การกรอง (Filtration) การระเหย (Evaporation) และการเผาไหม้ (Combustion)

การกรองจะถูกใช้ในการแยกส่วนที่แขวนลอย หรืออนุภาค (Suspended หรือ Particulate) ออกจากส่วนที่ละลาย (Dissolved หรือ soluble) แต่การระเหยจะแยกน้ำทั้งหมดออกจากของแข็งทั้งหมด (ทั้งที่ละลายและ/หรือที่แขวนลอย) ปรกติการระเหยจะทำที่อุณหภูมิ 103-105°C และ 179 – 181 °C อุณหภูมิ 103 – 105°C จะถูกใช้กับตัวอย่างน้ำที่มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์มาก ๆ เนื่องจากสารอินทรีย์จะเกิดการสูญเสีย ด้วย "การระเหย" (Volatilization) และการย่อยสลาย (Decomposition) ที่อุณหภูมิสูง ๆ แต่เกลืออนินทรีย์ จะมีการย่อยสลายเนื่องจากความร้อนที่ 103°C น้อยมาก อย่างไรก็ตาม น้ำที่ถูกจับอยู่ในเกร็ดคริสตัลของของแข็ง จะไม่สามารถถูกแยกออกไปที่ 103°C ฉะนั้นจึงต้องใช้อุณหภูมิที่ 180°C เพื่อแยกน้ำส่วนนี้ออกจากของแข็ง นอกจากนั้น อาจมีการสูญเสียของ CO_2 ได้ระหว่างการระเหย เนื่องจาก Bicarbonate HCO_3^- เปลี่ยนไปเป็น Carbonate CO_3^{2-} ระหว่างกระบวนการ Dehydration และที่อุณหภูมิ 180°C การย่อยสลายเนื่องจากความร้อนของเกลือแอมโมเนียอาจเกิดขึ้นได้ (โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Ammonium carbonate)

การเผาไหม้ที่ใช้ในการหาค่าของแข็งในน้ำมีวัตถุประสงค์ที่จะจำแนกสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ กล่าวคือ สารอินทรีย์จะถูกทำลายหมด เมื่อเผาไหม้ที่อุณหภูมิ 550°C เป็นเวลา 30 นาที และอุณหภูมิและเวลาที่ใช้นี้ อาจมีการสูญเสียบางส่วนของเกลือ Chloride และ Nitrate

วิธีการทดลอง

ใช้ตัวอย่างสำหรับทำการทดลอง ดังแสดงในตาราง

ตัวอย่างที่	สาร	ความเข้มข้น (mg/L)
1	Gloucose	500
	NaCl	500
	Na2CO3	500
	Kaolinite	250
2	Glucose	500
3	Na2CO3	500
4	NaCl	500
5	Kaolinite	500
6	น้ำเสียชุมชน	-
7	น้ำประปา	-

ทำการทดลอง แต่ละตัวอย่างดังนี้

ตัวอย่างที่ 2

(1) Total Dissolved Solids (TDS) ที่ 103°C และ 180°C

(2) Volatile Dissolved Solids ที่ 550°C

ตัวอย่างที่ 3

(1) TDS ที่ 103°C และ 180°C

(2) Volatile Dissolved Solids ที่ 550°C

ตัวอย่างที่ 4

(1) TDS ที่ 103°C และ 180°C

(2) Volatile Dissolved Solids ที่ 550°C

ตัวอย่างที่ 5

(1) Total Suspended Solids (TSS) โดยการกรองและทำให้แห้งที่ 103°C

(2) Volatile Suspended Solids (VSS) ที่ 550°C

ตัวอย่างที่ 1, 6 และ 7

(1) Total Solids (TS) โดยการระเหยและทำให้แห้งที่ 103°C

(2) TSS โดยการกรองและทำให้แห้งที่ 103°C

(3) TDS โดยการระเหยและทำให้แห้งจากน้ำผ่านการกรองในการหา TSS เปรียบเทียบค่า TDS ที่ได้กับค่า TDS ของ (1) ลบด้วย (2)

(4) Total Volatile Solids โดยการเผาไหม้จาก (1)

(5) VSS โดยการเผาไหม้จาก (2)

(6) Volatile Dissolved Solids โดยการเผาไหม้จาก (3) เปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่าของ (4) ลบด้วย (5)

รายละเอียดเฉพาะของการหาค่าของแข็งแต่ละชนิดมี ดังนี้

ก. Total Solids (TS)

1. ชั่งน้ำหนัก (แบบ Tare) ถ้วยอลูมิเนียมที่ได้รับการเผาไหม้ และทำให้เย็นแล้วด้วยเครื่องชั่งละเอียด
2. เติมสารละลายตัวอย่าง 25 mL ในถ้วย
3. ทำการระเหยในตู้อบ หรือ Steam Table จนแห้ง
4. เมื่อแห้งแล้วนำเข้าตู้อบอีก 1 ชั่วโมง ที่ 103°C
5. ทำให้เย็นใน Desiccator
6. ชั่งน้ำหนักอีกครั้ง

ข. Suspended Solids (SS)

1. ใช้คีมคีบจับแผ่นกรองที่ได้ล้างและทำให้แห้งใน Desiccator ใส่ในถ้วยอลูมิเนียมแล้วนำไปใช้ชั่งน้ำหนัก ด้วยเครื่องชั่งละเอียด
2. นำแผ่นกรองใส่ในชุดกรอง (ซึ่งประกอบด้วย Vacuum pump, filtration flask)
3. นำสารละลายตัวอย่าง 50 mL ไปกรอง โดยชุดกรองที่เตรียมไว้ในข้อ 2.
4. ทำการล้าง volumetric pipette และชุดกรองด้วยน้ำกลั่น
5. ใช้คีมคีบแผ่นกรองออกจากชุดกรองใส่ในถ้วยแล้วนำไปทำให้แห้งที่ 103°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
6. ทำให้เย็นใน Desiccator
7. ชั่งน้ำหนักอีกครั้ง

ค. Total Dissolved Solids (TDS)

นำน้ำที่ผ่านกรองจากการหาค่า SS ในข้อ ข. มา 25 mL ใส่ในถ้วยที่ได้เผาไหม้, ทำให้เย็น, และชั่งน้ำหนักแล้ว จากนั้นปฏิบัติการทดลองตามวิธีการหา TS ในข้อ ก (แต่ที่ 103°C และ 108°C 1 ชั่วโมง)

ง. Total Volatile Solids (TDS)

1. เผาไหม้ส่วนที่เหลือกจากการหา TS เป็นเวลา 30 นาที ที่ 550°C
2. ทำให้เย็นใน Desiccator และชั่งน้ำหนัก

จ. Volatile Suspended Solids (VSS)

1. เผาไหม้ส่วนที่เหลือจากการหาค่า SS เป็นเวลา 30 นาที ที่ 550°C
2. ทำให้เย็นใน Desiccator และชั่งน้ำหนัก

ฉ. Volatile Dissolved Solids

1. เผาไหม้ส่วนที่เหลือจากการหาค่า TDS เป็นเวลา 30 นาที ที่ 550°C
2. ทำให้เย็นใน Desiccator และชั่งน้ำหนัก

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. แสดงผลในรูปของตารางอย่างเป็นระเบียบ
2. วิจารณ์ความสัมพันธ์ของปริมาณของแข็งในรูปต่าง ๆ ของแต่ละตัวอย่าง
3. จงอธิบายว่าการใช้อุณหภูมิต่างกัน (103°C และ 180°C) จะมีผลอย่างไรต่อการวิเคราะห์ Dissolved Solids ของตัวอย่างที่ 2, 3 และ 4
4. จงอธิบายค่า TDS สำหรับตัวอย่างที่ 1 และ 6 ที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จาก TS ลบด้วย SS มีความแตกต่างกันอย่างไร

การคำนวณ

$$\text{Solids*(mg/L)} = \frac{(A-B)*1000}{C}$$

โดยที่

A = น้ำหนักของของแข็ง + ถ้วย (mg)

B = น้ำหนักของถ้วย (mg)

C = ปริมาตรตัวอย่าง (mg)

* ใช้ในการคำนวณ TS และ TDS

$$\text{TSS (mg/L)} = \frac{(A-B)*1000}{C}$$

โดยที่

A = น้ำหนักของแผ่นกรอง + ของแข็ง (mg)

B = น้ำหนักของแผ่นกรอง (mg)

C = ปริมาตรตัวอย่าง (mL)

$$\text{VSS (mg/L)} = \frac{(A-B)*1000}{C}$$

$$\text{Fixed Solid (mg/L)} = \frac{(B-D)*1000}{C}$$

โดยที่

A = น้ำหนักของของแข็ง + ถ้วยหรือแผ่นกรองก่อนการเผาไหม้ (mg)

B = น้ำหนักของของแข็ง + ถ้วยหรือแผ่นกรองหลังการเผาไหม้ (mg)

C = ปริมาตรตัวอย่าง (mL)

D = น้ำหนักของถ้วยหรือแผ่นกรอง (mg)

เครื่องมือทดลอง

เครื่องชั่งละเอียด

ตู้อบ 103 – 105°C

ตู้อบ 179 – 181°C

ตู้เผาไหม้ 550°C

แผ่นกรองใยแก้ว (Whatman GF/C, 47 mm)

ชุดกรอง (Vacuum pump, cap, และ flask)

คีมคีบ (Tweezers)

ถ้วยอลูมิเนียม (ความจุ > 25 mL)

Steam Table

Desiccators

สารเคมี

เตรียมสารละลายตัวอย่างตามที่ได้กล่าวในหัวข้อ วิธีการทดลอง ตัวอย่างละ 200 mL นักศึกษาหนึ่งกลุ่ม

การทดลองที่ 2

การละลายออกซิเจน (Dissolved Oxygen)

วัตถุประสงค์

เพื่อแสดงผลกระทบของอุณหภูมิและค่าความเค็มที่มีต่อความสามารถละลายของ Oxygen ในน้ำ และสาธิตวิธีการหา Dissolved Oxygen (DO) ในน้ำด้วยวิธี Winkler Method ตลอดจนผลกระทบของ Nitrite ที่มีต่อการวิเคราะห์

ทฤษฎี

การละลายของ Oxygen ในน้ำเป็นปรากฏการณ์หนึ่งของระบบอากาศ-น้ำ (Air-water system) ซึ่งสามารถแสดงได้ด้วยสมการ

$$O_2(g) \Longleftrightarrow O_2(aq) \qquad (1)$$

และ

$$K = \left\{\frac{O_2(aq)}{O_2(g)}\right\} \qquad (2)$$

โดยที่

$\{O_2(aq)\}$ = Activity ของ Oxygen ในน้ำ

$\{O_2(g)\}$ = Activity ของ Oxygen ในบรรยากาศ (Gas Phase)

Activity ของ Oxygen ในบรรยากาศจะประมาณเท่ากับค่า Partial Pressure $\left(P_{O_2}\right)$ และในน้ำเท่ากับค่าความเข้มข้น $\{O_2(aq)\}$ ดังนั้นจึงเป็นไปตาม Henry' s law

$$K_H = \frac{[O_2(aq)]}{P_{O_2}} \qquad (3)$$

ค่าคงที่ K_H จะเข้าใกล้ค่า K สำหรับสารละลายเจือจาง และ Henry's law จะใช้ได้อย่างถูกต้องสำหรับน้ำจืด ซึ่งอยู่ในสภาวะสมดุลกับบรรยากาศของโลก และจะมีผลเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิ ดังสมการของ Van't Hoff

$$\text{LogK} = \frac{-\Delta H^\circ}{2.3RT} + Cons\tan t \qquad (4)$$

โดยที่

T = อุณหภูมิ (K°)

ΔH° = Enthalpy ของปฏิกิริยา (Cal/mol)

R = Ideal gas constant (1.99 Cal/mol – K°)

สมการ (4) ได้มาจากสมมติฐานว่า ค่า ΔH° ไม่แปรเปลี่ยนตามอุณหภูมิในช่วงที่พิจารณา อย่างไรก็ตาม เมื่อน้ำมีปริมาณอิออนของสารต่าง ๆ สูงขึ้น (เช่นในน้ำทะเล) จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องคำนึงถึง Activity และความเข้มข้นของ DO ซึ่งมีความสัมพันธ์ ดังนี้

$$\{O_2(aq)\} = \gamma[O_2(aq)] \qquad (5)$$

โดยที่ γ เกี่ยวข้องกับ Ionic Strength กล่าวคือ เมื่อเปรียบเทียบน้ำจืดกับน้ำเค็มในสภาวะเดียวกันแล้ว ค่า DO Activity ของน้ำทั้งสองจะเท่ากัน แต่ในน้ำเค็มมี γ สูงขึ้น ฉะนั้นความเข้มข้น $[O_2(aq)]$ จะต้องลดลง

การวัด DO

ปฏิบัติการทดลองวัด DO โดยทั่วไปจะนิยมใช้วิธี Winkler method ซึ่ง DO จะทำปฏิกิริยากับ Mn^{2+} ถูกลด (Reduced) ที่ pH สูง ๆ

$$4e^- + 4H^+ + O_2 \iff 2H_2O$$
$$2\,Mn^{2+} + 4OH^- \iff 2MnO_2(s) + 4H^+ + 4e^-$$
$$2\,Mn^{2+} + 4OH^- + O_2\,(aq) \iff 2MnO_2(s) + 2H_2O \qquad (6)$$

โดยที่ $MnO_2(s)$ เป็นตะกอนสีน้ำตาล และภายใต้สภาพกรด $MnO_2(s)$ จะ Oxidize I^-

$$4e^- + 2MnO_2(s) + 8H^+ \iff 2Mn^{2+} + 4H_2O$$
$$4I^- \iff 2I_2(aq) + 4e^-$$
$$MnO_2(s) + 4H^+ + 2I^- \iff I_2(aq) + Mn^{2+} + 2H_2O \qquad (7)$$

ณ ขั้นตอนนี้ สารละลายจะมีสีน้ำตาล – เหลือง จาก I_2 จากนั้น I_2 (aq) จะถูกทำ Titration กับ Thiosulfate $\left(S_2O_3^{2-}\right)$ ได้ I^- และ *Tetrathionate* $\left(S_4O_6^{2-}\right)$

$$2e^- + I_2 \iff 2I^-$$
$$2S_2O_3^{2-} \iff S_4O_6^{2-} + 2e^-$$
$$2S_2O_3^{2-} + I_2(aq) \iff S_4O_6^{2-} + 2I^- \qquad (8)$$

เมื่อรวมสมการ (5), (6) และ (7) เข้าด้วยกันเพื่อหาความสัมพันธ์ของ O_2 (aq) ในตัวอย่างกับปริมาณ $\left(S_2O_3^{2-}\right)$ Titrant จะได้

$$4S_2O_3^{2-} + O_2(aq) + 4H^+ \iff 2S_4O_6^{2+} + 2H_2O \qquad (9)$$

ซึ่ง 4 moles ของ $\left(S_2O_3^{2-}\right)$ จะทำปฏิกิริยาต่อ 1 mole ของ O_2(aq) [หรือ 1 equivalent ของ $\left(S_2O_3^{2-}\right)$ ทำปฏิกิริยากับ 1 equivalent ของ O_2(aq)] และจากสมการ (8) คำนวณได้ว่า 1 mL ของ 0.025 N $\left(S_2O_3^{2-}\right)$ จะสมมูลกับ 1 mg/L ของ O_2 ในการทำ Titration กับน้ำตัวอย่าง 200 mL

เมื่อ I^- และ NO_2^- อยู่ในสารละลายที่มีสภาพเป็นกรด ระหว่างทำ Titration ด้วย Thiosulfate จะเกิดปฏิกิริยา ดังนี้

$$2e^- + 4H^+ + 2NO_2^- \iff N_2O_2 + 2H_2O$$
$$2I^- \iff I_2(aq) + 2e^-$$
$$2I^- + 2NO_2^- + 4H^+ \iff I_2(aq) + N_2O_2 + 2H_2O \qquad (10)$$

I_2(aq) ที่เกิดขึ้นก็จะถูกทำ Titration กับ $\left(S_2O_3^{2-}\right)$ อีก ทำให้ได้ค่าผิดพลาดที่สูงขึ้น และเมื่อสารละลายสัมผัสกับ O2 ในอากาศ NO_2^- ก็จะเกิดขึ้นอีก

$$2e^- + 2H^+ + \frac{1}{2}O_2 \iff H_2O$$
$$2H_2O + N_2O_2 \iff 2NO_2^- + 4H^+ + 2e^-$$
$$\frac{1}{2}O_2 + N_2O_2 + H_2O \iff 2NO_2^- + 2H^+ \qquad (11)$$

อันเป็นปฏิกิริยาแบบวงกลม (Cyclic reaction) ทำให้การวัดค่า DO ด้วยวิธีข้างต้นเกิดข้อผิดพลาด ดังนั้นจึงใช้ Sodium azide ทำลาย NO_2^- เสียก่อน

$$6e^- + 8H^+ + 2NO_2^- \iff N_2(g) + 4H_2O$$
$$6N_3^- \iff 9N_2(g) + 6e^-$$
$$6N_3^- + 2NO_2^- + 8H^+ \iff 10N_2(g) + 4H_2O \qquad (12)$$

นอกเหนือจากวิธี Winkler method แล้วการวัด DO ยังสามารถทำได้โดยใช้ Electrode ที่เฉพาะเจาะจงกับ O_2

วิธีการทดลอง

ก. ความสามารถละลายของ Oxygen ในน้ำ

1. ทำ Standardization กับ Sodium Thiosulfate (ประมาณ 0.025 N) ด้วย 0.025 N Potassium biiodate ($KH(IO_3)_2$) [ดูรายละเอียด Standardization ในหัวข้อ สารเคมี]

2. Winkler method (Azide modifiction) : ในขวด BOD ขนาด 300 mL ที่มีน้ำตัวอย่างเต็ม ใช้ pipette เติม 2 mL MnSO4 แล้วตามด้วย 2 mL ของสารละลาย alkali – iodide – azide โดยให้ปลายของ pipette จุ่มใต้ผิวน้ำปิดฝาจุกโดยไม่ให้มีฟองอากาศอยู่ข้างใน แล้วพลิกคว่ำขวดเพื่อให้สารเคมีผสมกันหลาย ๆ ครั้ง เมื่อตะกอนสีน้ำตาลตกลงสู่ก้นขวด จะปรากฏชั้นน้ำใสเหนือชั้นตะกอนสีหมอกของ Manganese hydroxide สำหรับตัวอย่างน้ำกร่อยให้ปล่อยทิ้งไว้ 10 นาที เมื่อตกตะกอนได้ชั้นน้ำใสอย่างน้อย 100 mL เปิดฝาจุกออกเติม 2 mL กรดเข้มข้น H2SO4 ทันทีปิดจุกแล้วเขย่าจนตะกอนละลายหมด ตวงน้ำตัวอย่าง 203 mL ด้วย Graduated cylinder นำไปใส่ใน erlenmeyer flask แล้วทำ titration จนได้สีน้ำตาลจาง ๆ เติมน้ำแป้ง 1 mL และทำ titration ต่อจนสีน้ำเงิน – ฟ้าหายไป

3. ทำการวัด DO ด้วยวิธี Winkler method ในน้ำกลั่นตัวอย่าง ที่มีอุณหภูมิต่าง ๆ ดังนี้

อุณหภูมิ	อุปกรณ์ปรับอุณหภูมิ
~ 4°C	ตู้เย็น
~20°C	อุณหภูมิห้อง
~35°C	ตู้อบ Incubator
~50°C	Water bath
~100° C	Steam table หรือ hot plate

ก่อนทำการวัด DO ให้วัดอุณหภูมิจริงของน้ำตัวอย่างทุกครั้ง น้ำกลั่นตัวอย่างทั้งหมดจะต้องถูกเป่าด้วยฟองอากาศ P_{O_2} มีประมาณ 0.21 atm ในอากาศแห้ง) เป็นเวลา 30 นาทีโดยประมาณ ก่อนทำการปรับอุณหภูมิทั้งนี้เพื่อให้ DO ในน้ำอยู่ในสภาวะสมดุลกับ O_2 ในบรรยากาศ และต้องระมัดระวังในการนำน้ำตัวอย่างเติมใส่ขวด BOD หรือใช้วิธีการกักน้ำ (เพื่อป้องกันมิให้น้ำสัมผัสอากาศมากเกินไป และป้องกันมิให้มีฟองอากาศอยู่ในขวด) จากนั้น ทำการวัด DO ของแต่ละตัวอย่างตามวิธีที่กล่าวไว้ในข้อ 2

4. ในแต่ละน้ำตัวอย่างที่มี NaCl 10, 20, 40 และ 100 g/L ตามลำดับ ซึ่งได้รับการเป่าอากาศเพื่อให้อิ่มตัวกับ O2 ในบรรยากาศแล้วทำการวัด DO ในรูปของความเข้มข้นด้วย Winkler method และในรูปของ Activity ด้วย Membrane – electrode method อนึ่งก่อนใช้ Membrane electrod ให้ทำการปรับ (Calibrate) probe โดยเปรียบเทียบกับค่า DO อิ่มตัวของน้ำกลั่นเสียก่อน (โดยเป่าอากาศในน้ำกลั่นเป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที เพื่อให้ได้ค่า DO อิ่มตัว)

ข. สาธิตการรบกวนของ NO2- ที่มีต่อ Winkler method

เพื่อแสดงถึงปฏิกิริยาแบบวงกลม ใช้วิธี Winkler method หาค่า DO ของตัวอย่างที่มี $NaNO_2$ 10 mg. NO_2/L โดยไม่เติม Sodium azide ในสารละลาย Alkaline iodide ทำ Titration กับตัวอย่างด้วย Thiosulfate โดยใช้น้ำแป้งเป็น indicator จนถึงจุดสุดท้าย เขย่า flask อีก สีฟ้าจะกลับมาปรากฏภายใน 2-3 นาที แต่ถ้าตัวอย่างที่มี $NaNO_2$ 10 mg/L ถูกเติมด้วยสารละลาย Alkali-iodide-azide แล้ว เมื่อทำ Titration กับ Thiosulfate จะไม่เกิดปฏิกิริยาแบบวงกลมข้างต้นอีก

(หมายเหตุ – นักศึกษาแต่ละกลุ่มต้องสาธิตให้อาจารย์ผู้สอนปฏิบัติการเห็นการทดลองนี้ด้วย)

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. จากสมการ (3) คำนวณ K_H ของแต่ละอุณหภูมิในวิธีการทดลอง ก-3 แล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ของ log K_H กับ 1/T และหาค่า ΔH° (จากสมการ (4))

2. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นและค่า Activity ของ DO กับค่าความเข้มข้นของ NaCl ในกราฟเดียวกัน

เครื่องมือทดลอง

ตู้เย็น ~ 4°C

Incubator ~35°C

Water bath ~50°C

Steam table หรือ Hot plate ~100°C

ขวด BOD ขนาด 300 mL (ประมาณ 10 ขวดต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

ปั๊มอากาศ

Air diffusers (Porous stone)

DO meter (พร้อม Membrane electrode)

สารเคมี

สารละลาย Manganous sulfate: ละลาย 480 g $MnSO_4$. $4H_2O$ หรือ 400g $MnSo_4$. $2H_2O$ หรือ 364g $MnSO_4$. H_2O ในน้ำกลั่น จากนั้นทำการกรอง แล้วเจือจางให้ได้ 1 ลิตร (ประมาณ 30 mL ต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

สารละลาย Alkali – iodide – azide : ละลาย 500 g NaOH และ 135 g NaI ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นละลาย 10 g NaN3 ในน้ำกลั่น 40 mL แล้วผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกัน (ประมาณ 30 mL ต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

กรดเข้มข้น Sulfuric acid (ประมาณ 30 mL ต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

กรด Sulfuric acid ~3.6 N(1+9) : เจือจางกรดเข้มข้น H2SO4 1 ส่วน ด้วยน้ำกลั่น 9 ส่วน (ประมาณ 30 mL ต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

สารละลายแป้ง : ละลายประมาณ 5-6 g Starch Soluble ในน้ำกลั่นเล็กน้อย แล้วจึงเติมลงไปในน้ำกลั่นที่เดือดประมาณ 1 ลิตร ปล่อยให้เดือด 2-3 นาที แล้วปล่อยให้ตกตะกอนหนึ่งคืน ใช้ส่วนบนที่ใส (ประมาณ 30 mL ต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

สารละลาย Sodium Thiosulfate 0.10 N: ละลาย 24.82 g $Na_2S_2O_3.5H_2O$ ในน้ำกลั่นเจือจางให้ได้ 1 ลิตร แล้วเติม 5 mL Chloroform เพื่อป้องกันการย่อยสลาย

สารละลายมาตรฐาน Sodium Thiosulfate 0.025N: นำสารละลาย Sodium Thiosulfate 0.10 N มา 250 mL เจือจางให้ได้ 1 ลิตร แล้วทำ Standardization กับสารละลายมาตรฐาน $KH(IO_3)_2$ (ประมาณ 200 mL ต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

สารละลายมาตรฐาน Potassium bi-iodate 0.025 N: ละลาย 0.8124 g $KH(IO_3)_2$ ในน้ำกลั่นเจือจางให้ได้ 1 ลิตร

วิธี Standardization ของ Sodium Thiosulfate : ละลาย KI ประมาณ 2 g ในน้ำกลั่น 100 – 150 mL เติม 10 mL 3.6 N H_2SO_4 และเติมสารละลายมาตรฐาน Potassium bi-iodate 0.025 N จำนวน 20.00 mL เจือจางให้ได้ 200 mL แล้วทำ Titration กับ Sodium Thiosulfate โดยใช้น้ำแป้งเป็น indicator

น้ำกลั่น (ประมาณ 3 ลิตรต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

สารละลายเกลือ :

a. 10 g NaCl/L

b. 20 g NaCl/L

c. 40 g NaCl/L

d. 100 g NaCl/L

(แต่ละความเข้มข้นประมาณ 500 mL ต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

การทดลองที่ 3

ซีโอดี (Chemical Oxygen Demand)

วัตถุประสงค์

เพื่อสาธิตการประยุกต์ใช้ปฏิกิริยา Oxidation-Reduction เพื่อการหาความต้องการออกซิเจน ในน้ำ

ทฤษฎี

Chemical Oxygen Demand (COD) จะถูกวัดในรูปของปริมาณ Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ที่หายไปในระหว่างการทำ *Reflux เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยน้ำตัวอย่างจะถูกต้มเดือดในสารละลาย 50%* H_2SO_4 และมี Ag_2SO_4 เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) สารอินทรีย์ต่าง ๆ จะถูก Oxidized ไปเป็น CO_2, H_2O, NH_4^-, H_3PO_4, SO_4^{2-} และอื่น ๆ ภายใต้สภาวะที่กล่าวข้างต้นอย่างไรก็ตาม กรดอินทรีย์บางชนิด (โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Straight chain carboxylic acids เช่น กรด Acetic) จะถูก Oxidized ไม่ดี ถ้าไม่มี Ag_2SO_4 อยู่ด้วย และถึงแม้มี Ag_2SO_4 ปฏิกิริยา Oxidation ก็เกิดไม่สมบูรณ์ได้เช่นกัน

ปฏิกิริยา Oxidation-Reduction ในการหา COD จะมีสัดส่วนปฏิกิริยา (Stoichiometry) ดังนี้

$$C_nH_aO_b + cCr_2O_7^{2-} + 8cH^+ \xrightarrow[\text{ตัวเร่งปฏิกิริยา}]{\text{ความร้อน}} nCO_2 + \frac{2+8c}{2}H_2O + 2cCr^{3+} \qquad (1)$$

โดยที่ C = $\frac{2}{3}n + \frac{a}{6} - \frac{b}{3}$

ปฏิกิริยา Oxidation จะเกิดสมบูรณ์โดยที่ dichromate ถูกเปลี่ยนไปเป็น chromic ion

$$6e^- + 14H^+ + Cr_2O_7^{2-} \longrightarrow 2Cr^{3+} + 7H_2O \qquad (2)$$

โดยมี E_0 = 1.33 volts

ในกรณีที่น้ำตัวอย่างมี Chloride (Cl) อยู่ด้วย Cl^- จะทำปฏิกิริยา Precipitation กับ Ag_2SO_4 ได้ AgCl (s) ทำให้ปริมาณตัวเร่งปฏิกิริยาลดลง ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์หาค่า COD และถ้าไม่มี Ag_2SO_4 อยู่เลย Cl^- จะถูก Oxidized ไปเป็น Cl_2 ดังสมการ

$$Cr_2O_7^{2-} + 6Cl^- + 14H^+ \longrightarrow 2Cr^{3+} + 3Cl_2 + 7H_2O \qquad (3)$$

อันเป็นผลให้เกิดค่า COD สูงเกินไป ซึ่งไม่ใช่จากสารอินทรีย์ แต่เราป้องกันปัญหานี้ได้โดยใช้ $HgSO_4$ นำปฏิกิริยาเชิงซ้อนกับ Cl^- ได้ $HgCl_2(aq)$ อย่างไรก็ตาม ปฏิกิริยา Auto-oxidation ของ $Cr_2O_7^{2-}$ และมลสารอื่น ๆ อาจเกิดขึ้นได้ ฉะนั้น จึงต้องทำ Blank ด้วยน้ำกลั่น

หลังจากการย่อยสารอินทรีย์ด้วย Dichromate แล้วเราจำเป็นต้องหาความเข้มข้นของ Dichromate ที่เหลืออยู่ ในการทดลองนี้เราใช้ Fe^{2+} เป็น Reducing agent ในการทำ titration กับ Dichromate ปฏิกิริยา Oxidation ของ Fe^{2+} มี ดังสมการ

$$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + e^- \qquad (4)$$

โดยมี E_0 = -0.77 volts

จุดสุดท้ายของการทำ titration ด้วย Fe^{2+} กับ Dichromate จะถูกหาได้ด้วยสีของ Ferroin indicator ซึ่งสาร Ferroin ประกอบด้วย 1,10-phenanthroline และเมื่อถึงจุดจุดท้ายของ titration สาร Dichromate (สีส้ม) ถูกเปลี่ยนไปเป็น Cr^{3+} (สีเขียว) หมด ฉะนั้น Fe^{2+} อิสระจะทำปฏิกิริยาเชิงซ้อนกับ Ferroin ได้สีน้ำตาล-แดง

วิธีการทดลอง

1. เตรียมตัวอย่างน้ำใน Reflux flasks แสดงในตารางดังต่อไปนี้

Flask	ชนิดตัวอย่าง	$HgSO_4$ (g/flask) โดยประมาณ	ตัวอย่าง (mL)	$K_2Cr_2O_7$	กรด (mL)
1	น้ำเสียชุมชน	0.4	20.0	10.0	30
2	สารละลาย Glucose 300 mg/L	0.4	20.0	10.0	30
3	สารละลาย 2% NaCl	0.4	20.0	10.0	30
4	สารละลาย 2% NaCl	6.0	20.0	10.0	30
5	Sodium acetate 750 mg/L	0.4	20.0	10.0	30
6	Sodium acetate 750 mg/L	0.4	20.0	10.0	30*
7	น้ำกลั่น (Blank)	0.4	20.0	10.0	30

*** กรดเข้มข้น H_2SO_4 ที่ไม่ได้เติม Ag_2SO_4**

เติมใส่ใน Reflux flask ตามลำดับดังนี้ ใส่ลูกแก้ว (Glass beads) 2-3 เม็ด, ผง $HgSO_4$ ประมาณ 0.4 g น้ำตัวอย่าง 0.25 N $K_2Cr_2O_7$, และกรด H_2SO_4 (กรดเข้มข้น + Ag_2SO_4) ค่อย ๆ เติมกรดแล้วเขย่า flask เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำจากความร้อนที่เกิดขึ้น

2. ทำ Reflux บนเตา COD เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
3. ปิดไฟฟ้าที่เตาแล้วปล่อยให้ flask เย็นลง
4. ทำการล้าง Condenser tube ด้วยน้ำกลั่นประมาณ 90 mL แล้วถอด COD flask ออกมา
5. เติม Ferroin indicator 4-5 หยด ใส่ Magnetic bar
6. ทำ titration บน Magnetic stirrer ด้วย 0.10 N Ferrous ammonium sulfate จนถึงจุดสุดท้าย

(ระวัง – สีน้ำตาล – แดงที่จุดสุดท้ายจะปรากฏเร็วมาก)

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. รายงานผลในรูปของตาราง
2. เปรียบเทียบค่าความต้องการออกซิเจนในการย่อยสลาย Glucose ตามทฤษฎีกับค่าที่ได้จากการทดลอง
3. อธิบายของ Ag_2SO_4 ที่ใช้ในการหา COD กับตัวอย่าง Sodium acetate และเปรียบเทียบ ค่าความต้องการออกซิเจนตามทฤษฎีและค่าที่ได้จากการทดลองของสองตัวอย่าง

วิจารณ์ผลของ Cl^- ที่มีความต้องการ COD

คำถาม

ทำไมต้องให้ Flask ของตัวอย่าง เย็นลงก่อนทำ titration?

เครื่องมือทดลอง

เตา COD พร้อม Reflux conderser ขนาด 250 mL

COD flasks

Burette

Volumetric pipettes

Magnetic bars และ Magnetic stirrer

ช้อนตักสารเคมี (ได้ 0.4 g $HgSO_4$ โดยประมาณ)

ลูกแก้ว

สารเคมี

สารละลายมาตรฐาน Potassium dichromate (0.25 N): ละลาย 12.259 g $K_2Cr_2O_7$ (ที่ได้อบ 103°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) ในน้ำกลั่นเจือจางให้ได้ 1 ลิตร

กรดเข้มข้น Sulfuric ที่มี Silver sulfate: เติม 22 g Ag_2SO_4 ลงในขวดกรดเข้มข้น H_2SO_4 ขนาด 9 lb. (หรือ 2.5 L) เขย่าแล้วปล่อยให้ละลายประมาณ 2 วัน

กรดเข้ม Sulfuric

ผง Mercuric sulfate ($HgSO_4$)

สารละลาย Ferrous ammonium sulfate (FAS) (ประมาณ 0.1 N) : ละลาย 39 g $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$ ในน้ำกลั่น เติมกรดเข้มข้น H_2SO_4 20 mL แล้วเจือจางให้ได้ 1 ลิตร ต้องทำ Standardization ทุกวันก่อนใช้ ดังต่อไปนี้ : ใช้สารละลายมาตรฐาน $K_2Cr_2O_7$ 10.0 mL เจือจางให้ได้ประมาณ 100 mL แล้วเติมกรดเข้มข้น H_2SO_4 30 mL ปล่อยให้เย็น จากนั้นเติม Ferrion indicator 2-3 หยด แล้วทำ titration กับสารละลาย FAS

สารละลาย Glucose (300 mg/L): ละลาย 300 mg Glucose ในน้ำกลั่น เจือจางให้ได้ 1 ลิตร

สารละลาย Sodium acetate (750 mg/L): ละลาย 750 mg Sodium acetate ในน้ำกลั่นเจือจางให้ได้ 1 ลิตร

สารละลาย Sodium chloride (2%): ละลาย 2 g NaCl ในน้ำกลั่น 100 mL

Ferroin indicator: ละลาย 1.485 g, 10-Phenanthroline monohydrate พร้อมกับ 695 mg $FeSO_4.7H_2O$ ในน้ำกลั่น เจือจางให้ได้ 100 mL

การคำนวณ

$$\text{COD as mg O2/L} = \frac{(A-B)*N*8000}{C}$$

โดยที่

A = ปริมาตร FAS สำหรับ Blank (mL)

B = ปริมาตร FAS สำหรับตัวอย่าง (mL)

C = ปริมาตรสารละลายตัวอย่าง (mL)

N = Normality ของ FAS

การทดทองที่ 4

บีโอดี (Biochemical Oxygen Demand)

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาวิธีการหาค่า Biochemical Oxygen Demand (BOD_5) ในตัวอย่างน้ำเสีย และการหาค่า BOD5 สำหรับน้ำตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์ในปริมาณสูง

ทฤษฎี

Biochemical Oxygen Demand หรือ BOD หมายถึง ปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ไปในระบบกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ภายในสภาวะที่มีออกซิเจน

ในกระบวนการย่อยสลายในสภาวะที่มีออกซิเจนนี้ สารอินทรีย์เปรียบเสมือนเป็นอาหารของแบคทีเรียให้มีพลังงานใช้ในการเจริญเติบโตแบ่งตัวขยายพันธุ์สืบต่อไป กระบวนการนี้ทำให้ปริมาณของสารอินทรีย์ในน้ำถูกใช้ไปเป็นอาหารของแบคทีเรีย ทำให้ลดจำนวนน้อยลงๆเรื่อยๆเกิดการใช้ออกซิเจนในการย่อยสารสลายตัวนี้ทำให้ได้ผลผลิตสุดท้ายได้พวกก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำและแอมโมเนีย

แบคทีเรียใช้ออกซิเจนเพื่อการย่อยสลายสารอินทรีย์อาจแบ่งการย่อยเป็น 2 ระยะ

<u>ระยะที่ 1</u> เป็นการย่อยสลายสารประกอบคาร์บอน เช่น พวกแป้ง และโปรตีน ให้ผลิตภัณฑ์สุดท้าย คือ คาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย และน้ำ ดัง สมการ

$$Carbohydrate + O_2 \xrightarrow{bacteria} CO + H_2O$$

$$\text{Pr}otein + O_2 \xrightarrow{bacteria} CO_2 + NH_3$$

<u>ระยะที่ 2</u> เป็นการย่อยสลายสารแอมโมเนียให้เป็นพวก Organic nitrogen โดยแบคทีเรียพวก nitrifying bacteria หรือพวก autotrophic bacteria จะออกซิไดซ์ $NH_3 \rightarrow NO^-_2 \rightarrow NO^-_3$ ตามลำดับ ปฏิกิริยาย่อยสลายสารอินทรีย์ดังกล่าวทั้งสองระยะอาจเขียนสมการทั่วๆไปดังนี้

$$C_nH_aO_bN_c + \left(N + \frac{a}{4} - \frac{b}{2} + 3\frac{c}{4}\right)O_2 \rightarrow nCO_2 + \left(\frac{a}{2} - 3\frac{c}{2}\right)H_2O + cNH_3$$

จากสมการจะเห็นว่าสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายได้นั้น (Decomposable organic matter) ผลิตผลสุดท้ายของการย่อยสลายสารพวกนี้จะกลายเป็นสารพวก คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และแอมโมเนีย

การหาปริมาณของสารอินทรีย์ในน้ำในรูปของ BOD โดยการหาปริมาณออกซิเจนใช้ไปทั้งหมดในระหว่างสิ่งมีชีวิตใช้ไปในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรีย) จึงใช้ค่า BOD บอกถึงกำลังความสกปรกของน้ำเสียต่างๆได้ เพราะค่า BOD จะบอกถึงองศาของความสามารถของแหล่งน้ำได้ว่ามากน้อยเพียงใด BOD จึงใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณความสกปรกของแหล่งน้ำโดยวิเคราะห์ออกมาในรูปของออกซิเจนละลายน้ำ

ปฏิกิริยาของ BOD (The nature of the BOD reaction)

การย่อยสลายตัวในปฏิกิริยา oxidation ของ BOD เป็นไปตามธรรมชาติซึ่งเกิดขึ้นที่ 20 °C เป็นค่าเฉลี่ย ของอุณหภูมิของน้ำธรรมชาติทั่วไปสารอินทรีย์ที่ถูกย่อยสลายได้หมดสมบูรณ์นั้นช้ามาก ฉะนั้นในทางปฏิบัติถือว่าระยะ 20 วัน จะมีการย่อยสลายได้เกือบสมบูรณ์ และส่วนใหญ่จะมีการย่อยสลายอย่างรวดเร็วในระยะเวลา 5 วัน ดังนั้นในการหาค่า BOD ซึ่งเกี่ยวกับการวัดค่าออกซิเจนซึ่งแบคทีเรียใช้เพื่อย่อยสลายอินทรีย์สารในน้ำเสีย ภายใต้สภาวะที่เหมือนธรรมชาติที่สุดเพื่อการย่อยสลายที่คงที่ ต้องการเก็บตัวอย่างน้ำไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 20 °C เป็นเวลา 5 วัน และถ้าเวลาน้อยกว่านี้ปริมาณของออกซิเจนที่ถูกใช้ไปจะน้อยมาก และเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้ O_2 ในระยะที่ 2 ซึ่ง พวก nitrifying bacteria จะไปย่อยสลายพวกสารแอมโมเนียให้สารไนไตรมากจะทำให้ค่าของ BOD ผิดจากความเป็นจริงไปมาก ค่าของ BOD ที่ 5 วันใช้สัญลักษณ์ BOD_5 (5-day BOD) ค่าของ 5-day BOD นี้ เป็นปริมาณที่ได้ ถึง 70-80% ของ Total BOD

การย่อยสลายสารอินทรีย์โดยพวกแบคทีเรียในน้ำภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนพบว่าปริมาณของสารอินทรีย์จะลดลงเรื่อยๆเนื่องจากในปฏิกิริยาต้องใช้ออกซิเจนไปย่อยสลายสารอินทรีย์และค่าของ BOD ก็จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งสารอินทรีย์ถูกย่อยสลายหมด ค่า BOD ที่ได้ จะเป็นค่า BOD ทั้งหมดของน้ำนั้นเรียกว่า Ultimate BOD จะเห็นได้ว่าค่า BOD ทั้งหมดของน้ำใดๆ เปรียบได้กับความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่น้อยลง ดังนั้นปริมาณของออกซิเจนที่ถูกใช้ไปจะแปรผันโดยตรงกับปริมาณของสารอินทรีย์ที่ถูกย่อยสลาย

เราอาจจะหาค่าของ BOD ที่มีการย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ก็ได้หรือจะหาค่าของ BOD เมื่อมีการย่อยสลายไปได้ ณ เวลาไหนก็ได้เช่นกันจากการคำนวณ

<u>จากสูตร</u>

$$Y = L\,(1-10^{-kt})$$

เมื่อ

Y = ค่า BOD ที่เวลา t (คือปริมาณของออกซิเจนเป็นมิลลิกรัมต่อลิตรที่ถูกใช้ไปในเวลากี่วันตามกำหนด)

L = total BOD หรือ Ultimate BOD มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร

t = เป็นระยะเวลาที่ต้องการหาค่า หน่วยเป็นวัน

k = เป็นค่าคงตัวซึ่งแปรผันไปตามอุณหภูมิของน้ำ ชนิดของแบคทีเรียและสารอินทรีย์หาได้จากการทดลองมีค่าประมาณ 0.05-0.3 ต่อวัน ปรกติประมาณ 0.1 ต่อวัน

วิธีการหาค่า BOD มี 2 วิธี คือ

1. **Direct Method**

ตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติมักมี BOD ไม่ถึง 7 mg/l การวัด BOD มักวัดได้โดยตรง (ไม่ต้องเจือจาง)

การหาค่า BOD ทำได้ด้วยวิธีการหา dissolved oxygen (DO) โดยนำเอาผลต่างของ DO ในวันเริ่มต้นกับค่า DO ที่นำไป incubate ในตู้อบ 20 °C เป็นเวลา 5 วัน เมื่อบ่มครบ 5 วัน นำขวดดีโอออกมาวัดค่า DO ผลต่างของค่า DO ระหว่างวันแรกกับวันที่ 5 คือค่า BOD

วิธีคำนวณ

$$BOD_5 = DO_0 - DO_5$$

เมื่อ BOD_5 = ค่าของปริมาณออกซิเจนที่ถูกใช้ไปในเวลา 5 วัน มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร

DO_0 = ค่าของปริมาณออกซิเจนที่หาได้วันเริ่มต้น

DO_5 = ค่าของปริมาณออกซิเจนที่หาได้วันที่ 5

2. Dilution Method

เมื่อตัวอย่างน้ำมีความต้องการออกซิเจนสูงกว่า 7 mg/l (หรือมี BOD สูงกว่า mg/l)

สำหรับตัวอย่างน้ำที่มีความสกปรก พบว่าการทำปฏิกิริยาย่อยสลายเป็นไปอย่างรวดเร็ว ปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่จะถูกใช้หมดก่อนครบกำหนด 5 วัน เช่น น้ำเสียจากอาคารบ้านเรือน โรงงานอุตสาหกรรม น้ำเหล่านี้จะมีค่า BOD เกิด 7 mg/l ดังนั้นถ้าไม่ทำการเจือจางลง ปริมาณออกซิเจนในตัวอย่างน้ำจะไม่พอที่จะย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ นั่นคือวัดค่าของ DO ในวันที่ 5 ไม่ได้เนื่องจากเป็นศูนย์ ดังนั้นจึงต้องทำให้ตัวอย่างนั้นเจือจางก่อนด้วยน้ำกลั่น ด้วยอัตราส่วนที่เหมาะสม เพราะอัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำขึ้นอยู่กับปริมาณสารอินทรีย์ที่เหลือ ดังนั้นปริมาณออกซิเจนที่ถูกใช้ในตัวอย่างก็ถูกทำให้เจือจางเป็นปฏิภาคโดยตรงกับเปอร์เซ็นต์ของการทำเจือจาง

2.1 การเตรียมน้ำผสมเจือจาง (Dilution water)

- น้ำกลั่นที่ปราศจากสารพิษ (กลั่นจากเครื่องกลั่นแก้ว) มาปรับอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 20 ± 1 °C
- ปรับ pH ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ระหว่าง 6.5-8.5
- ปรับคุณภาพให้เหมาะกับการดำรงชีพของจุลินทรี โดยแมกนีเซียมซัลเฟต แคลเซียมคลอไรด์ และสารละลายเฟอริคคลอไรด์ ตัวอย่างละ 1 ml ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร
- เติมอากาศมีออกซิเจนอิ่มตัว

น้ำสำหรับใช้เจือจางตัวอย่าง ที่นำมาหาค่า BOD นั้นมาจากแหล่งน้ำต่างกัน องค์ประกอบที่อยู่ในตัวอย่างน้ำย่อมแตกต่างกันไปโดยเฉพาะน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมจะแตกต่างจากน้ำเสียจากอาคารบ้านเรือนมาก แบคทีเรียในน้ำเสียเหล่านี้จะมีปริมาณและชนิดต่างกัน เพื่อขจัดข้อแตกต่างเหล่านี้ จึงต้องทำการเจือจางน้ำตัวอย่างด้วย dilution water

2.2 การแก้ค่าเนื่องจากเติมหัวเชื้อ (seed correction)

ถ้ามีการใส่หัวเชื้อ จะต้องนำหัวเชื้อมาทำเจือจางแล้วนำไป Incubate เช่นเดียวกับน้ำตัวอย่าง หลังจากนั้นนำมาหาค่าการใช้ออกซิเจนหลังจาก 5 วัน เลือกอันที่มีการใช้ออกซิเจนระหว่าง 40-70%

2.3 การใช้แบลงค์

เมื่อมีการเติมหัวเชื่อหรือ Seed ต้องคิดด้วยว่าอาจจะเติมสารอินทรีย์ให้กับขวดบีโอดี การวัดบีโอดีจึงต้องมีการทำแบลงค์เพื่อหาค่าบีโอดีที่เกิดจาก Seed วิธีการแก้ไขทำได้โดย เตรียมขวดบีโอดีที่เป็นแบลงค์เพิ่ม 1 ขวด ขวดนี้จะทำเหมือนขวดตัวอย่างอื่นเพียงแต่จะไม่เติมตัวอย่างน้ำ ภายในขวดจึงมีแต่น้ำเจือจางที่เติมสารต่าง ๆ และหัวเชื้อ เมื่อบ่มครบ 5 วัน วัดดีโอของขวดแบลงค์จะได้ค่าบีโอดีของ Seed ซึ่งสามารถนำไปหักออกจากค่าบีโอดีของขวดตัวอย่างอื่นได้

หลักปฏิบัติที่ดีควรมีแบลงค์ 3 ขวดเป็นอย่างน้อยสำหรับการวัดค่าบีโอดีแต่ละชุด ทั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลที่น่าเชื่อถือได้

2.4 การเลือกอัตราเจือจาง

วิธีวัดบีโอดีเป็นงานวิเคราะห์ที่ทำได้ไม่ยาก แต่เป็นงานที่ทำให้ถูกต้องได้ยาก ห้องปฏิบัติการหลานแห่งอาจให้ค่าบีโอดีของตัวอย่างน้ำเดียวกันได้แตกต่างกัน ข้อมูลทั้งกลุ่มที่ได้อาจมีความแม่นยำ แต่มีน้อยแห่งที่จะให้ค่าบีโอดีที่ถูกต้อง การเลือกอัตราเจือจางที่เหมาะสมมีส่วนทำให้เกิดข้อผิดพลาดน้อยในกานวัดบีโอดี

ถ้ารู้ค่าบีโอดีอย่างคร่าว ๆ โดยทางใดทางหนึ่ง เช่น ค่าซีโอดีหรือเป็นงานที่ทำประจำอยู่แล้ว เป็นต้น การเลือกอัตราเจือจางก็ทำได้ง่าย มิฉะนั้นแล้วต้องเดาค่าบีโอดีจากชนิดหรือแหล่งของน้ำตัวอย่าง ผู้วิเคราะห์ที่มีประสบการณ์จะได้เปรียบมาก ผู้วิเคราะห์จะต้องดูจากลักษณะของตัวอย่างน้ำประกอบไปด้วยเสมอทุกครั้ง

ผู้วิเคราะห์ต้องรอให้บ่มขวดบีโอดีครบ 5 วัน จึงจะเห็นว่าอัตราเจือจางเหมาะสมหรือไม่ การเลือกอัตราเจือจางได้เหมาะสมต้องมี 2 เงื่อนไขคือ

- ค่าดีโอที่ใช้ไป (DO_0-DO_5) ต้องไม่น้อยกว่า 2 มก./ล.
- ค่าบีโอดีที่เหลือ (DO_5) ต้องมีไม่น้อยกว่า 0.5 มก./ล.

ถ้าดีโอใช้ไปน้อยกว่า 2 มก./ล. แสดงว่าใช้อัตราเจือจากมากเกินไป (หรือใช้ขนาดตัวอย่างน้อยเกินไป) แต่ถ้าดีโอเหลือ (DO_5) วัดได้น้อยกว่า 0.5 มก./ล. แสดงว่าใช้ขนาดตัวอย่างน้ำมากเกินไปหรืออัตราเจือจางน้อยเกินไป กรณีทีเดาค่าบีโอดีผิดอย่างมากคือ ว่าค่าดีโอเหลือ (DO_5) ไม่ได้เลย หรือมีการใช้ออกซิเจนน้อยมาก ๆ ตารางที่ 3.1 ช่วยให้เลือกอัตราเจือจางได้ง่ายขึ้น

ตารางที่ 3.1 การเลือกขนาดตัวอย่างละอัตราเจือจางสำหรับช่วงบีโอดีต่าง ๆ

ปริมาณตัวอย่าง (มล.)	ช่วงบีโอดี (มก./ล.)	อัตราเจือจาง
0.02	30,000 - 105,000	15,000
0.05	12,000 - 42,000	6,000
0.10	6,000 – 21,000	3,000
0.20	3,000 – 10,500	1,500
0.50	1,200 – 4,200	600
1.0	600 – 2,100	300
2.0	300 – 1,050	150
5.0	120 - 420	60
10.0	60 – 210	30
20.0	30 – 105	15
50.0	12 – 42	6
100	6 – 21	3
300	0 - 7	1

2.5 การเติมหัวเชื้อในการวิเคราะห์หาบีโอดี (BOD seeding)

การเติมเชื้อ (BOD seeding) คือการเติมแบคทีเรีย ชนิดต่างๆลงไปในตัวอย่างน้ำ เนื่องจากในตัวอย่างน้ำบางชนิดมีแบคทีเรียน้อยทำให้ย่อยสลายสารอาหารไม่เพียงพอ จึงต้องหาแบคทีเรียที่มีลักษณะเจริญเติบโตดีมาเติมในน้ำตัวอย่าง ซึ่งมักจะพบว่าน้ำเสียจากอาคารบ้านเรือนมีแบคทีเรีย พวกนี้มากและพอดี เรียกว่าแบคทีเรียที่เติมลงไปนี้ว่า น้ำเชื้อ หรือ seeding

การเติมหัวเชื้อ (seeding) เป็นปัจจัยสำคัญในการวิเคราะห์หาค่าบีโอดี คือจะต้องมีจุลินทรีย์เป็นตัวกลางในการทำให้เกิดการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ในน้ำ ในแหล่งน้ำทั่วไป เช่น แม่น้ำลำคลองและน้ำทิ้งจากชุมชนจะมีปริมาณจุลินทรีย์อยู่มากพอจึงไม่เป็นปัญหาในการวิเคราะห์ ส่วนน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมจะมีปริมาณจุลินทรีย์น้อย ในการวิเคราะห์จึงจำเป็นต้องเติมจุลินทรียลงไปให้มากพอ เพื่อให้เกิดการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ในน้ำในระดับที่พอเหมาะ

โดยทั่วไปใช้น้ำทิ้งจากแหล่งชุมชน หรือน้ำจากแหล่งน้ำทั่วไป เช่น แม่น้ำลำคลอง เป็นหัวเชื้อ แต่ต้องระวังมิให้มีสาหร่าย (algae) หรือไนตริฟายอิงแบคทีเรียอยู่

สำหรับน้ำทิ้งจากโรงงานที่มสารอินทรีย์ที่ถูกใช้ได้ยาก จำเป็นต้องใช้หัวเชื้อพิเศษ คือ จะต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีความคุ้นเคยกับสารอินทรีย์ชนิดนั้น

2.6 วิธีการคำนวณ BOD โดยวิธี dilution method

2.6.1 วิธี Percent mixture

$$\text{BOD (mg/l)} = \frac{(DO_0 \updownarrow DO_5)}{\%mixture}$$

วิธีการทดลอง

1. วิเคราะห์หา BOD_5 ของตัวอย่าง A โดยวิธี Direct Method
2. วิเคราะห์หา BOD_5 ของตัวอย่าง B และ C โดยวิธีการทำ Dilution แบบ percent mixture โดยตรวจสอบ percent mixture กับอาจารย์ผู้คุมการทดลองก่อนนำไปปฏิบัติ
3. ในการทำ percent mixture ควรทำ dilution อย่างน้อย 3 dilution เพื่อให้ได้ผลของ BOD ของแต่ละตัวอย่างได้คลอบคลุม
4. ในการวิเคราะห์หาค่า BOD_5 โดยใช้การทำ dilution ให้หาค่า seed correction (การแก้ไขเนื่องจากเติมหัวเชื้อ)ด้วย และทำ 3 ขวดต่อ BOD 1 ชุด

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. รายงานผล BOD_5 ของแต่ละตัวอย่าง
2. วิเคราะห์การเลือก percent mixture ที่เหมาะสมสำหรับตัวอย่าง
3. เปรียบเทียบวิธีการวิเคราะห์แบบ direct method และ dilution method
4. หาค่า seed correction ของการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์การทดลอง

1. ขวด BOD ขนาด 300 มล. (ประมาณ 32 ขวดต่อนักศึกษา 1 กลุ่ม)
2. ตู้บ่มทึบแสง (incubator) อุณหภูมิ 20 ± 1 °C
3. สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์หาค่า DO (ดูรายละเอียดสารเคมีในการทดลองที่2)
   - 3.1 สารละลาย Maganous Sulfate (ประมาณ 100 มล. ต่อ นักศึกษา 1 กลุ่ม)
   - 3.2 สารละลาย Alkali-iodide-azide (ประมาณ 100 มล. ต่อ นักศึกษา 1 กลุ่ม)
   - 3.3 กรดเข้มข้น Sulfuric acid (ประมาณ 100 มล. ต่อ นักศึกษา 1 กลุ่ม)
   - 3.4 กรด Sulfuric acid ~3.6 N (1+9) (ประมาณ 50 มล. ต่อ นักศึกษา 1 กลุ่ม)
   - 3.5 สารละลายแป้ง (ประมาณ 50 มล. ต่อ นักศึกษา 1 กลุ่ม)
   - 3.6 สารละลาย Sodiumthiosulfate 0.10 N
   - 3.7 สารละลาย Sodiumthiosulfate 0.025 N (ประมาณ 600 มล. ต่อ นักศึกษา 1 กลุ่ม)
   - 3.8 สารละลายมาตรฐาน Potassium bi-iodate 0.025 N (ประมาณ 150 มล. ต่อ นักศึกษา 1 กลุ่ม)

4. สารเคมีสำหรับเตรียมทำน้ำเจือจาง

น้ำกลั่น

สารละลายสะเทิน Phosphate: ละลาย 8.5 g KH_2PO_4, 33.4 g $Na_2HPO_4.7H_2O$ และ 1.7 g NH_4Cl ในน้ำกลั่นประมาณ 500 ml แล้วเจือจางให้ได้ 1 ลิตร (pH ของสารละลายควรจะได้ 7.2)

สารละลาย Magnesium sulfate: ละลาย 22.5 $MgSO_4.7H_2O$ ในน้ำกลั่นเจือจางให้ได้ 1 ลิตร

สารละลาย Calcium chloride: ละลาย 27.5 g $CaCl_2$ ในน้ำกลั่น เจือจางให้ได้ 1 ลิตร

สารละลาย Ferric chloride: ละลาย 0.25 g $FeCl_36H_2O$ ในน้ำกลั่น เจือจางให้ได้ 1 ลิตร

น้ำเจือจาง : เติมอย่างละ 1 ml ของสารละลาย Phosphate buffer, Magnesium sulfate, Calcium chloride และ Ferric chloride ในน้ำกลั่น 1 ลิตร เติม seed ~ 2 ml ทำการเป่าอากาศเพื่อให้ DO อิ่มตัว อย่างน้อย 72 ชม. (ประมาณ 10 ลิตร ต่อนักศึกษา 1 กลุ่ม)

5. น้ำตัวอย่าง A เตรียมน้ำเสียเทียมความเข้มข้น ~ 5 mg/l จากน้ำเสียเทียมต่อไปนี้ (ประมาณ 1 ลิตร)

COD 1000 mg/l : ละลาย glucose 934.6 mg, $(NH_4)_2SO_4$ 374 mg, Yeast extract 18.8 mg, K_2HPO_4 47 mg, $MgSO_4.7H_2O$ 93.4 mg, $ZnSo_4.7H_2O$ 0.1 mg, $CaCl_2$ 0.2 mg, $MnCl_2$ 0.2 mg, $FeCl_2$ 0.2 mg. $(NH_4)_8MO_2.4H_2O$ 0.04 mg, $CuSO_4$ 0.04 mg, $CoCl_2$ 0.04 mg, ในน้ำกลั่นเจือจางให้ได้ 1 ลิตร หลังจากนั้นเป่าอากาศเพื่อให้ DO อิ่มตัว 1 คืน ต่อมา นำ seed ~ 1ml ใส่ลงไปในสารละลายที่เตรียมไว้แล้วทำการ acclimatization seed อย่างน้อย 2 คืน

6. น้ำตัวอย่าง B และ C จากโรงงานอุตสาหกรรม (ประมาณ 200 มล. ต่อนักศึกษา 1 กลุ่ม)

การทดลองที่ 5

Total Kjeldahl Nitrogen และ Organic Nitrogen

วัตถุประสงค์

เพื่อวิเคราะห์การหา Nitrogen ที่มี Oxidation state [-3] ซึ่งเรียกทั่วไปว่า Total Kjeldahl Nitrogen (TKN) และรวมทั้ง Organic Nitrogen และ Ammonia Nitrogen

ทฤษฎี

ในขั้นตอนของการวิเคราะห์เพื่อหาค่า สารอินทรีย์ที่มี Nitrogen จะถูกย่อยสลายไปเป็น CO_2 และ H_2O โดยมี Mercuric sulfate เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในสภาวะที่มี Potassium sulfate แล้วได้ Ammonia ออกมา ซึ่งในสภาพกรด Ammonia จะอยู่ในรูปของ NH_4^- ไม่ระเหยออกไป จากนั้นสารละลายจะถูกปรับให้อยู่ในสภาพด่างเพื่อให้ Nitrogen อยู่ในรูปของ NH_3 แล้วระเหยออกไป ถูกจับอยู่ในสารละลายกรด Boric ปริมาณ NH_3 ที่อยู่ในสารละลายกรด Boric จะถูกวัดด้วยวิธีเทียบสี (Colorimetric analysis; เรียกว่า Nesslerization) หรือด้วยกระทำ Titration ของ Ammonia borate ด้วยกรดแก่ตัวเร่งปฏิกิริยา Mercuric sulfate จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้เป็นอย่างดี แต่ก่อนที่จะปรับ pH ให้เป็นด่างเพื่อระเหย NH_3 นั้นจะต้องทำลายสารประกอบเชิงซ้อน Mercury-ammonia เสียก่อน โดยการเติม Sodium thiosulfate พร้อมกับ Sodium hydroxide

ในการวิเคราะห์น้ำ Nitrogen ที่มี Oxidation state [-3] จะเรียกว่า Total Kjeldahl Nitrogen (TKN) ซึ่งแยกออกเป็น Organic nitrogen (ON) และ Ammonia nitrogen (AN) โดยที่ TKN – ON + AN ถ้าต้องการหา Ammonia nitrogen อย่างเดียว สามารถกระทำได้ โดยการระเหย Organic nitrogen ก็นำสารละลายที่เหลือจากการระเหย NH_3 ไปทำการย่อยสลายก่อน แล้วจึงทำการระเหย NH_3 อีกครั้งเพื่อจะนำไปทำ Titration

ข้อผิดพลาดในการหา Organic-N และ Ammoia-N จะอยู่ที่การระเหยของสารอินทรีย์ระเหยที่มี Nitrogen (Volatile nitrogen-containing organics) นอกจากนั้น อาจเนื่องมาจาก การย่อยสลายของสารอินทรีย์บางชนิดที่ไปเป็น Ammonia เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ (โดยเฉพาะอย่างยิ่ง พวกสารประกอบ heterocyclic)

วิธีการทดลอง

ก. การทำวิเคราะห์หา

1. Ammonia-N
2. Organic-N (ระเหย NH_3, ย่อยสลาย, ระเหย NH_3)

ของสารละลายตัวอย่าง แสดงในตารางดังต่อไปนี้

ตัวอย่าง	สาร	ความเข้มข้น (mg/L)
1.	NH_4Cl	100
2.	CH_3CHNH_2 (alanine)	100
3.	NH_4Cl + alanine	100+100
4.	CH_3NH_2HCl (Methylamine hydrochloride)	100
5.	C_5H_5N (Pyridine)	100
6.	น้ำเสียชุมชน	-

ข. การหา Ammonia – N

1. นำสารละลายตัวอย่าง 100 mL ใส่ใน Kjeldahl flask ขนาด 800 mL เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ประมาณ 300 mL แล้วใส่ลูกแก้ว (Glass beads) 2-3 เม็ด

2. เติมสารละลายสะเทิน borate buffer 25 mL

3. ทำการกลั่นระเหยตัวอย่าง โดยให้ปลายของสารละลายกรด boric 50 mL ทำการกลั่นให้ได้ประมาณ 200 mL

4. ทำ Titration ด้วย 0.02 N H_2SO_4

ค. การหา Organic-N

1. ใน Kjeldahl flask หลังจากกลั่นระเหย NH3 แล้ว เติมสารย่อยสลาย (Digestion Reagent) ลงไป 50 mL

2. หลังจากเขย่าผสมกันแล้ว ให้ความร้อนกับ flask ในตู้ดูดควัน จนกระทั่งมีควันของ SO_3 ออกมา และสารละลายมีสีใส ไม่มีอนุภาคขุ่น ให้ความร้อนต่อไปอีก 30 นาที

3. ปล่อยให้ flask เย็นลง เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ประมาณ 300 mL และเติม 0.5 mL Phenolphthalein indicator เขย่าผสมกัน

4. เอียง flask และค่อย ๆ เติมสารละลาย Hydroxide thiosulfate อย่างระมัดระวัง จนเกิดชั้นของด่างที่ก้นขวด (ประมาณ 50 mL)

5. ต่อ flask เข้ากับเครื่องกลั่นแล้วจึงเขย่าแบบหมุนเบา ๆ เพื่อให้สารละลายผสมกัน ถ้า สีแดงของ Phenolphthalein ไม่ปรากฏให้เติมสารละลาย Hydrxide thiosulfate ลงไปอีก

6. ทำการกลั่นและเก็บสารละลายที่กลั่นตัวให้ได้ประมาณ 200 mL โดยให้ปลายสารกลั่นจุ่มได้สารละลายกรด Boric

7. ทำ titration ด้วย 0.02 N H_2SO_4

8. ทำการทดลองกับ Blank ด้วยน้ำกลั่น

การวิเคราะห์ข้อมูล

รายงานผลของ Nitrogen ในแต่ละตัวอย่าง ซึ่งได้แก่ Ammonia-N, Organic-N และ TKN เปรียบเทียบ ค่าที่ได้กับค่าทางทฤษฎี

เครื่องมือทดลอง

Digestion apparatus ประกอบด้วยเตาและ Kjeldahl flasks ขนาด 800 mL

Distillation apparatus ประกอบด้วยเตาและ Condenser

Volumetric flasks

สารเคมี

Digestion reagent : ละลาย 134 g K_2SO_4 ในน้ำกลั่น (ที่ไม่มี Ammonia) 600 mL และ 200 mL กรดเข้มข้น H_2SO_4 เตรียมสารละลายอีกชนิดหนึ่ง โดยละลาย 2 g HgO (Red mercuric oxide) ใน 25 mL 6 N H_2SO_4 แล้วนำไปเติมในสารละลายข้างต้น ขณะเติมให้กวนผสม เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร เก็บสารละลายนี้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 14°C เพื่อป้องกันการตกผลึก (ประมาณ 1.5 L ต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

สารละลาย Phenolphthalein indicator: ละลาย Phenolphthalein disodium salt 5 g ลงในน้ำกลั่น 1 ลิตร

สารละลาย Sodium hydroxide-sodium thiosulfate: ละลาย 25 g NaOH และ 25 g $Na_2S_2O_3.5H_2O$ ในน้ำกลั่น (ที่ไม่มี Ammonia) และเจือจางให้ได้ 1 ลิตร (ประมาณ 1.5 L ต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

สารละลาย Mixed indicator: ละลาย 200 mg Methyl red ใน 100 mL 95% ethyl หรือ isopropyl alcohol ละลาย 100 mg Methylene blue ใน 50 mL 95% ethyl หรือ isopropyl alcohol ผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกัน เตรียมทุก ๆ เดือน (ประมาณ 50 mL ต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

สารละลาย Indicating boric acid: ละลาย 20 g H_3BO_3 ในน้ำกลั่น (ที่ไม่มี Ammonia) เติม 10 mL สารละลาย Mixed indicator และเจือจางให้ได้ 1 ลิตร เตรียมทุก ๆ เดือน (ประมาณ 1.5 L ต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

สารละลายมาตรฐาน Sulfuric acid (0.02 N): เติม 2.8 mL กรดเข้มข้น H_2SO_4 อย่างระมัดระวังลงในน้ำกลั่น 500 mL แล้วเจือจางให้ได้ 1 ลิตร นำสารละลายนี้ 200 mL ใส่ graduated flask ขนาด 1 ลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้เต็ม 1 ลิตร หาความเข้มข้นจริง (Standardization) ด้วยสารละลายมาตรฐาน Sodium carbonate (ประมาณ 1 ลิตร ต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

สารละลายมาตรฐานเบื้องต้น Sodium carbonate: นำสาร Na_2CO_3 ไปอบที่ 140°C ประมาณครึ่งชั่วโมง แล้วนำมาชั่ง 1.060 g ละลายในน้ำกลั่นที่ต้มและให้เย็นแล้ว 500 ml จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร

$$\text{Normality, N} = \frac{A * B}{53.00 * C}$$

โดยที่

A = g Na_2SO_3 ในน้ำ 1 วัน

B = mL สารละลาย Na_2CO_3 ที่ใช้ใน Titration

C = mL สารละลายกรดที่ใช้

การคำนวณ

$$\text{mg } NH_3 - N/L = \frac{(A - B) * N * 14{,}000}{C}$$

โดยที่

A = mL Sulfuric acid สำหรับตัวอย่าง

B = mol Sulfuric acid สำหรับ Blank

N = Normality ของกรด Sulfuric

C = mL ตัวอย่างน้ำ

บันทึก

การทดลองที่ 6

การวิเคราะห์หา Nitrite และ Nitrate

วัตถุประสงค์

เพื่อให้นักศึกษารู้จักวิธีการวิเคราะห์หา Nitrite & Nitrate โดยใช้หลักการของ Colorimetric method

ทฤษฎี

Nitrite (NO_2) เป็นสารประกอบไนโตรเจนชนิดหนึ่ง ซึ่งไม่มีเสถียรภาพ และเกิดขึ้นเป็นสาร intermediate ระหว่างเกิดปฏิกิริยา Nitrification (NH_3 ไปเป็น NO_3) และ Denitrification (NO_3^- ไปเป็น N_2 (g))

การหาความเข้มข้นของ Nitrite จะใช้วิธีเทียบสี ซึ่งเกิดจากการที่ NH_2^- จับตัวกับ Sulfanilamide และ N-(1-naphthly)-ethylenediamine dihydrochloride ได้สีม่วง-แดง การวัดสีด้วยเครื่อง Spectrophoto-meter จะเหมาะสมกับช่วงความเข้มข้นระหว่าง 10 ถึง 1000 µg NO_2^--N/L โดยที่ความเข้มข้น 2.25 µg NO_2^--N/L เหมาะสำหรับการวัดด้วย cuvette ที่มีขนาดทางเดินแสง 1 cm ที่ 543 nm

การวิเคราะห์ Nitrate (NO_3) มีด้วยกันหลายวิธี แต่วิธีที่สะดวกและรวดเร็ว ก็คือ การเทียบสีด้วยสาร Sodium salicylate ซึ่งจับกับ NO_3^- ได้สีเหลือง

วิธีการทดลอง

นักศึกษาแต่ละกลุ่มจะได้รับตัวอย่างน้ำดังต่อไปนี้

1. สารละลาย Sodium nitrite $10 \mu g NO_2^- - N/L$
2. สารละลาย Sodium nitrate $10 mg NO_3^- - N/L$
3. สารละลาย Nitrite + Nitrate $5 \mu g NO_2^- - N/L$ และ $5 mg NO_3^- - N/L$
4. น้ำเสีย

นำสารละลายที่ได้มาไปทำการวิเคราะห์หา Standard curves ของ $NO_2^- - N$ และ $NO_3^- - N$ ตามลำดับ จากนั้นทำการหาความเข้มข้นของ $NO_2^- - N$ และ $NO_3^- - N$ ทั้งในตัวอย่างที่ 3 และ 4

ในการหา Standard curves นักศึกษาจะต้องเจือจางความเข้มข้นของ NO_2^- ให้อยู่ระหว่าง 2-25 $\mu g NO_2^- - N/L$ และของ NO_3^- ให้อยู่ระหว่าง 0 ถึง 10 $mg NO_3^- - N/L$ โดยให้มีข้อมูลสำหรับเขียนกราฟอย่างน้อย 4 ค่า

การหา Nitrite

1. นำสารละลายตัวอย่างขนาด 50.0 mL (หรือที่เจือจางแล้ว) ใส่ Erlenmeyer flask
2. ถ้าน้ำตัวอย่างมีสารแขวนลอย ให้ทำการกรองออกด้วย Glass-fiber filter (Whatman GF/C) และ ถ้าน้ำตัวอย่างมีค่า pH ไม่อยู่ในช่วง 5-9 ให้ทำการปรับด้วย 1 N HCl หรือ NH4OH
3. เติมสารละลาย Sulfanilamide 2 mL แล้วเขย่าให้ผสมกัน
4. ทำการวัดค่า Absorbance ที่ 543 nm หลังจากเวลาผ่านไป 10 นาที แต่ไม่เกิน 2 ชั่วโมง

การหา Nitrate

1. นำสารละลายตัวอย่างขนาด 10.0 mL ใส่ Beaker แล้วเติม 1 mL สารละลาย Sodium salicylate 0.5%

2. ให้ความร้อนในตู้อบที่ 105°C จนกระทั่งสารละลายแห้งหมด

3. ทำให้เย็นใน Desiccator แล้วนำมาเติม 1 mL กรดเข้มข้น H_2SO_4 เขย่าให้ละลายแล้วปล่อยทิ้งไว้ 10 นาที

4. ค่อย ๆ เติมน้ำกลั่น 8 mL ปล่อยให้เย็นแล้วเติม 7 mL สารละลาย NaOH 30%

5. นำสารละลายตัวอย่างไปใส่ใน Volumetric flask ขนาด 25 mL แล้วเจือจางด้วยสารละลาย 2.5% NaOH จนได้ 25.0 mL

6. เขย่าให้ผสมกัน แล้วนำไปวัดค่า Absorbance ที่ 420 nm

เครื่องมือทดลอง

Spectrophotometer (Spectronic 21) (หนึ่งเครื่องต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

Volumetric flasks และ pipettes

Beakers ขนาด 50 mL

สารเคมี

สารละลาย Sulfanilamide : เติม 100 mL กรดเข้มข้น 85% Phosphoric acid และ 10 g Sulfanilamide ลงในน้ำกลั่น 800 mL เมื่อสาร Sulfanilamide ละลายหมดแล้ว เติม 1 g N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride (NED dihydrochloride) กวนผสมให้ละลายแล้วเจือจางให้ได้ 1 L ด้วยน้ำกลั่น (สารละลายมีอายะประมาณหนึ่งเดือน ถ้าเก็บไว้ในขวดทึบแสงให้ตู้เย็น)

สารละลาย Sodium salicylate 0.5%: ละลาย 0.5 g Sodium salicylate ในน้ำกลั่น 100 mL (สารละลายมี อายุไม่เกิน 10 วัน ควรเก็บในตู้เย็น)

สารละลาย NaOH 30%: ละลาย 30 g NaOH ในน้ำกลั่น 100 mL

สารละลาย NaOH 2.5%: ละลาย 2.5 g NaOH ในน้ำกลั่น 100 mL

บันทึก

การทดลองที่ 7
การวิเคราะห์หาฟอสฟอรัสและฟอสเฟต

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาวิธีการใช้สีที่ประยุกต์ใช้ในการวัดปริมาณ Phosphate ในน้ำ

ทฤษฎี

ในน้ำธรรมชาติ Phosphate จะมีหลายรูปแบบ ซึ่งสามารถจำแนกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ได้ อาทิ *Orthophosphate เช่น* PO_4^{3-}, HPO_4^{2-} *เป็นต้น Condensed phosphate เช่น Pyro-, poly- และ meta-* Phosphate ในน้ำเสียอุตสาหกรรมบางชนิดอาจมีธาตุ Phosphate หรือ Phosphite อยู่ด้วย รูปแบบ ต่าง ๆ ข้างต้นนี้อาจอยู่ในสภาพสารละลายหรืออนุภาคก็ได้ วิธีวิเคราะห์ที่จะกล่าวในการทดลองนี้จะใช้เฉพาะกับ Orthophosphate ฉะนั้นในการหา Phosphate รูปแบบต่าง ๆ จำต้องเปลี่ยนให้มาอยู่ในรูปของ Orthophosphate เสียก่อน

วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์คือ Vanadomolybdophosphoric acid method ซึ่งมีปฏิกริยาระหว่าง Ammonium molybdate [$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$] และ Orthophosphate ในสารละลายกรดได้ Molybdophosphoric acid เมื่อมี Vanadium อยู่ด้วยจะเกิดสีเหลือง และความเข้มข้นของสีเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของ Phosphate วิธีการทดลองนี้ได้ผลเป็นที่พอใจแม้ความเข้มข้นของ Phosphate-P มีค่า 4.0 mg/1 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความยาวคลื่นที่ใช้

วิธีการทดลอง

1. เปิดเครื่อง Spectrophotometer อุ่นเครื่องอย่างน้อย 20 นาที
2. ทำการหา Absorption spectrum ของกรด Vanadomolybdophosphoric โดยใช้สารละลายมาตรฐาน 50 $\mu gPO_4^{3-}/ml$ (ดูสารเคมี)
   ก. ใช้ Volumetric pipette ดึงสารละลายมาตรฐาน Phosphate 5 ml ใส่ใน volumetric flask ขนาด 50 ml เติมสารละลาย Vanadate molybdate 10 ml แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 50 ml เขย่าให้ผสมกันทิ้งไว้ 10 นาที ให้สีก่อตัว
   ข. ทำการหา Absorption spectrum ของสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ ก. ที่ความยาวคลื่น 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490 nm โดยแต่ละความยาวคลื่นดำเนินการดังนี้
   - ด้วย Blank ปรับให้ได้ 100%T
   - ด้วยตัวอย่าง บันทึก %T และ A (Absorbance)

   ค. เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวคลื่นกับ A และ %T ในช่วงที่เกิด A สูงที่สุดให้อ่านค่าทุกๆ ช่วง 5 nm ของความยาวคลื่น หลังจากนั้น ให้เลือกความยาวคลื่นที่ดีที่สุด ที่จะใช้วิเคราะห์หาความเข้มข้น (ปรึกษาอาจารย์ผู้ควบคุม ก่อนทำการทดลองต่อไป)
3. เตรียมทำ *Standard curves ด้วยความยาวคลื่นที่ดีที่สุด* โดยเริ่มวัดจากความเข้มข้นน้อยไปหามาก โดยอ่านค่า A และ %T
   ก. เตรียมสารละลายมาตรฐาน Phosphate 6 ความเข้มข้นซึ่งอยู่ระหว่าง 100 ถึง 1000 $\mu gPO_4^{3-} - P/ml$ โดยทำการดึงสารละลายด้วยปริมาตรที่เหมาะสมใส่ใน Volumetric flask ขนาด 50 mL แต่ใน Flask ที่ 7 ให้ใช้น้ำกลั่น 20 mL เพื่อทำ Blank เติมสารละลาย Vanadate molybdate 10 mL ในทุก ๆ Flask เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 50 ml เขย่าให้ผสมกันแล้วทิ้งไว้

10 นาที ให้สีก่อตัว

4. ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ Orthophophate ในสารละลายตัวอย่าง (ดูสารเคมี) ที่ความยาวคลื่นที่ดีที่สุด ควรตรวจสอบให้แน่ใจ pH ของตัวอย่างอยู่ระหว่าง 4 ถึง 10 ก่อนทำการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. เขียนกราฟของ Absorption spectrum (หมายเหตุ – ความยาวคลื่น 440 และ 490 nm ไม่ใช่ความยาวคลื่นที่ทำให้เกิดค่า Absorbance ต่ำสุดหรือสูงสุด)
2. เขียน Standard curves ระหว่างค่า Absorbance ที่ 440 และ 490 nm กับค่าความเข้มข้นของ Phosphate $\left(mgPO_4^{3-} - P/l\right)$
3. รายงานผลการวิเคราะห์หา % as P ของปริมาณ condensed phosphate และ Orthophosphate ที่มีอยู่ในผงซักฟอก (หมายเหตุ – การต้มในกรดจะช่วย Condensed phosphate เปลี่ยนไปเป็น Orthophosphate ได้อย่างมีประสิทธิภาพ)

เครื่องมือทดลอง

Spectrophotometer (Spectronic 21) (หนึ่งเครื่องต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

Volumetric flasks ขนาด 50 mL (ประมาณ 10 ขวดต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

สารเคมี

สารละลาย Vanadate-molybdate : สารละลาย ฤ- ละลาย 25 g Ammonium molybdate ในน้ำกลั่น 400 mL, สารละลาย B- ละลาย 1.25 g Ammonium metavanadate ($NH_4\ VO_3$) ในน้ำกลั่น 300 mL โดยการต้มให้เดือด ทิ้งให้เย็นในตู้ดูดควันแล้วค่อย ๆ เติมกรดเข้มข้น HCl 300 mL ทิ้งไว้ให้เย็น

เติมสารละลาย A ลงในสารละลาย B แล้วเจือจางให้ได้ 1 ลิตร (ประมาณ 250 mL ต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

สารละลายมาตรฐาน Phosphate (1.00 mL = 50 $\mu gPO_4^{3-} - P$) : ละลาย 219.5 mg anhydrous Potassium dihydrogen phosphate (KH2PO4) ในน้ำกลั่น แล้วเจือจางให้ได้ 1 ลิตร (ประมาณ 250 mL ต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

สารละลายตัวอย่าง :

สาร A - *เติมผงซักฟอกที่มี P 2.0 g ลงในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH ไปที่ 1 ด้วยกรดเข้มข้น HCl หรือ* H_2SO_4 ต้มให้เดือด 30 นาที แล้วปล่อยให้เย็น ปรับ pH ไปที่ 7 ด้วย 15 M NaOH เจือจางให้ได้ 1 ลิตร

สาร B - เติมผงซักฟอกที่มี P 2.0 g ลงในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH ไปที่ 7 ต้มให้เดือด 30 นาที ปล่อยให้เย็น แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

สาร C - เติมผงซักฟอกที่มี P 2.0 g ลงในน้ำกลั่น 900 ml ปรับ pH ไปที่ 7 แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร (อย่าต้ม)

(ตัวอย่างละประมาณ 100 mL ต่อนักศึกษาหนึ่งกลุ่ม)

$$\text{mg P/L} = \frac{\text{mg P (in 50 mL final Volume)} \times 1{,}000}{\text{mL Sample}}$$

บทที่ 8
การวิเคราะห์หาน้ำมันและไขมัน (Oil and Grease)

8.1 วิธีสกัดด้วยกรวยแยก (Partition Gravimetric Method)

วัตถุประสงค์

เพื่อวิเคราะห์หาไขมันและน้ำมันที่มีปริมาณน้อยในธรรมชาติ น้ำสะอาดหรือน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วเท่านั้น

ทฤษฎี

การวัดปริมาณไขมันและน้ำมันไม่ได้เป็นการวัดปริมาณสารไขมันทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่างน้ำ แต่เป็นการวัดปริมาณของสารไขมันต่างๆ ที่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายบางชนิด เช่น เฮกเซน(Hexane) หรือ ฟรีออน(Freon) ดังนั้น ไขมันและน้ำมันในที่นี้จะหมายถึงสารประกอบไฮโดรคาร์บอน กรดไขมัน สบู่ ไขมัน ขี้ผึ้ง น้ำมัน รวมทั้งสารอื่นๆ ซึ่งสามารถสกัดได้โดยตัวทำละลายจากตัวอย่างที่ถูกทำให้เป็นกรดแล้ว และสารนั้นจะต้องไม่กลายเป็นไอในระหว่างการระเหยตัวละลาย ผู้วิเคราะห์ควรเข้าใจและรู้จักขอบเขตของวิธีวิเคาะห์ไขมัน และน้ำมันอย่างชัดเจน เพราะหลักการไม่เหมือนกับการวิเคราะห์สารอื่น

วิธีวิเคราะห์ในที่นี้เหมาะที่จะใช้ในการวิเคราะห์ไขมันและน้ำมันที่ย่อยสลายได้ทางชีววิทยาจึงเหมาะสำหรับน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดและน้ำธรรมชาติ แต่วิธีวิเคราะห์นี้จะไม่สามารถวัดสารที่มีจุดเดือดต่ำกว่า 70°C ได้ วิธีที่นิยมใช้ มี 2 วิธี ขึ้นอยู่กับชนิดหรือลักษณะของตัวอย่างน้ำ ดังนี้

1. วิธีสกัดด้วยกรวยแยก (Partition Gravimetric) เหมาะสำหรับน้ำธรรมชาติ น้ำใส และน้ำผ่านการบำบัดแล้ว ซึ่งปริมาณไขมันและน้ำมันต่ำ (น้อยกว่า 1 mg/l)
2. วิธีสกัดด้วยซอกฮ์เล็ต (Soxhlet) เหมาะสำหรับน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมและชุมชน และตัวอย่างที่เป็นตะกอน (Sludge) ซึ่งปริมาณไขมันและน้ำมันสูง (มากกว่า 1mg/l)

หลักการ

ปรับพีเอชของตัวอย่างให้เป็นกรดให้พีเอชน้อยกว่า 2 สกัดน้ำมันและไขมันด้วยตัวทำละลายในกรวยแยกจากนั้นระเหยตัวทำละลายออกจนแห้ง ทิ้งให้เย็นในโถทำแห้ง (Desiccator) ชั่งหาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมาเนื่องจากน้ำหนักของไขมันและน้ำมัน ตัวทะละลายที่ใช้จะเป็นเฮกเซนหรือฟรีออน

ตัวอย่างน้ำที่จะนำมาวิเคราะห์ควรเก็บใส่ขวดแก้วปากกว้างที่ล้างด้วยเฮกเซนแล้ว เพื่อกำจัดคราบของสารซักฟอกออก และควรเก็บน้ำให้ได้ปริมาตรพอดีที่จะวิเคราะห์ไขมันและน้ำมัน ไม่ควรเก็บมามากแล้วแบ่งมาวิเคราะห์ ถ้าเก็บตัวอย่างมาแล้วแต่ยังไม่ได้วิเคราะห์ทันที ต้องเก็บรักษาไว้ด้วย กรดกำมะถันเข้มข้นในอัตรา 2 ml ต่อตัวอย่างน้ำ 1 ลิตร แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –4 °C

วิธีการทดลอง

1. เทตัวอย่างน้ำที่รู้ปริมาตรจำนวนหนึ่ง (500 ml หรือน้อยกว่า) ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 ml เติมกรดกำมะถันเข้มข้น จนพีเอชน้อยกว่า 2 (หรือประมาณ 2 ml ต่อตัวอย่างน้ำ 1L)
2. เทตัวอย่างน้ำจากบีกเกอร์ใส่กรวยแยก เติมเฮกเซนจำนวน 10-15 ml เขย่าอย่างแรงประมาณ 2 นาที ตั้งทิ้งไว้ สารผสมจะแยกชั้น ชั้นเฮกเซนจะอยู่ส่วนบน ส่วนตัวอย่างน้ำจะอยู่ส่วนล่าง

3. ถ่ายชั้นตัวอย่างน้ำไว้ในบีกเกอร์เดิม เพื่อนำมาสกัดอีก

4. ถ่ายชั้นของเฮกเซนซึ่งมีไขมันและน้ำมันละลายอยู่ ผ่านกรวยกรองที่มีโซเดียมซัลเฟตบนกระดาษกรองลงในถ้วยระเหยซึ่งได้ทำให้แห้งและมีน้ำหนักคงที่และได้ชั่งน้ำหนักไว้แล้ว สมมุติเป็น A g.

5. ทำการสกัดซ้ำ ด้วยวิธีเดียวกันนี้อีกหลาย ๆ ครั้ง จนกระทั่งไขมันและน้ำมันถูกสกัดออกจากตัวอย่างหมด

6. นำถ้วยระเหยซึ่งมีเฮกเซนและไขมันและน้ำมันละลายอยู่ ไประเหยเอาเฮกเซนออกบนเครื่องอังน้ำที่อุณหภูมิ 70 °C จนแห้งปราศจากความชื้น แล้วปล่อยให้เย็นในโถทำแห้งประมาณ 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนัก สมมุติเป็น B g

หมายเหตุ หากชั้นของตัวทำละลายมีน้ำปนอยู่ ให้ถ่ายเฮกเซนที่มีน้ำมันและไขมันลงในบีกเกอร์ขนาด 100 ml ใส่โซดียมซัลเฟตลงไป จนได้สารละลายใส หรือโซเดียมซัลเฟตจับตัวกันดี กลิ้นไปกลิ้งมาได้ ไม่เหลว แล้วควรใส่โซเดียมซัลเฟตไปบนกระดาษกรองด้วย แล้วจึงเทตัวทำละลายที่ใสผ่านกระดาษกรอง เพื่อให้อิมัลชั่นแตกออกและโซเดียมซัลเฟตจับกับน้ำ

เครื่องมือทดลอง

1. กรวยแยก (Separatory Funnel) ขนาด 500 ml ซึ่งล้างด้วยเฮกเซนประมาณ 15 ml ไว้ก่อน (รูปที่ 1)
2. ถ้วยระเหย (Evaporating Disc)
3. เครื่องอักน้ำ (Water Bath)
4. กระดาษกรอง ขนาด 11 cm เบอร์ 40
5. กรวยกรอง (Funnel)
6. *บีกเกอร์ ขนาด 600 มล. และ 100 ml ซึ่งล้างด้วยเฮกเซนประมาณ 15 ml ไว้ก่อน*
7. เครื่องชั่งละเอียด

สารเคมี

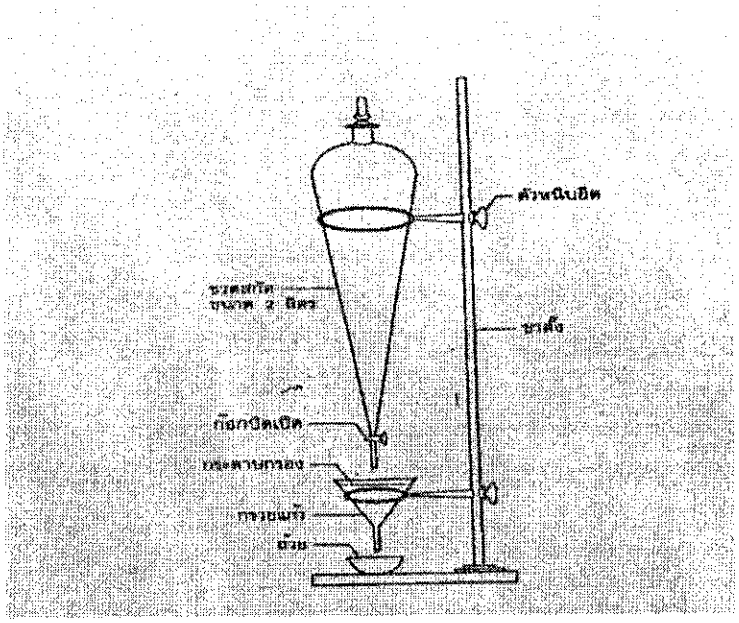
1. กรดกำมะถันเข้มข้น (Conc. H_2SO_4)
2. เฮกเซน (n-Hexane) หรือฟรีออน
3. *โซเดียมซัลเฟต ปราศจากน้ำ (Sodium Sulfate Anhydrous)*

การคำนวณ

$$\text{ไขมันและน้ำมัน (mg/L)} = \frac{(B-A)x10^6}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (ml)}}$$

ข้อเสนอแนะและข้อควรระวัง

ควรใช้โซเดียมซัลเฟตให้มากเกินพอในการจับกับน้ำเพื่อไม่ให้มีน้ำปนอยู่ในถ้วย



รูปที่ 1 อุปกรณ์ที่ใช้สกัดน้ำมันและไขมันด้วยกรวยแยก

8.2 วิธีซอกฮ์เลต (ใช้กับน้ำเสีย)

วัตถุประสงค์

เพื่อวิเคราะห์หาไขมันและน้ำมันที่มีปริมาณมากในน้ำเสีย

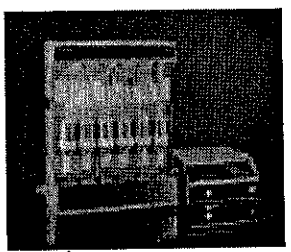
หลักการ

ปรับสภาพตัวอย่างที่เป็นของเหลวให้เป็นกรด (พีเอชน้อยกว่า 2) เพื่อให้ไขมันและน้ำมันแตกตัวจากน้ำและทำให้แยกจากน้ำโดยการกรอง นำมาสกัดด้วยเครื่องมือสกัดซอกฮ์เลต โดยใช้เฮกเซนหรือฟรีออนเป็นตัวทำละลาย จากนั้นจึงนำเฮกเซนหรือฟรีออนที่มีไขมันและน้ำมันละลายอยู่ไประเหยจนแห้ง ชั่งน้ำหนักตะกอนที่เหลือซึ่งจะเป็นปริมารไขมันและน้ำมันในตัวอย่าง

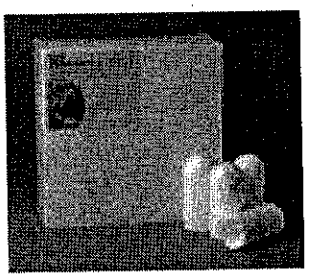
ตัวอย่างน้ำที่จะนำมาวิเคราะห์ควรเก็บใส่ขวดแก้วปากกว้างที่ล้างด้วยเฮกเซนแล้ว เพื่อกำจัดคราบของสารซักฟอกออกและควรเก็บน้ำให้ได้ปริมาตรพอดีที่จะวิเคราะห์ไขมันและน้ำมัน ไม่ควรเก็บมามากแล้วแบ่งมาวิเคราะห์ ถ้าเก็บตัวอย่างมาแล้วแต่ยังไม่ได้วิเคราะห์ทันที ต้องเก็บรักษาไว้ด้วยกรดกำมะถันเข้มข้นในอัตรา 2 ml ต่อตัวอย่างน้ำ 1 ลิตร แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –4 °C

วิธีการทดลอง

1. เก็บตัวอย่าง 1 L (หรือปริมาณน้อยกว่า) แล้วปรับพีเอชให้น้อยกว่า 2 ด้วยกรดเกลือเข้มข้นในอัตราประมาณ 5ml ต่อน้ำตัวอย่าง 1 L)
2. เตรียมแผ่นกรองดูดซับน้ำมันโดยางกระดาษกรองในกรวยบุคเนอร์ แล้วเทสารแขวนลอย Diatomaceous Silica เข้มข้น 10 g/L จำนวน 100ml ลงไป ใช้เครื่องดูดสุญญากาศดูดน้ำออกแล้วล้างด้วยน้ำกลั่น ประมาณ 1 L ดูดน้ำออกจนแห้ง
3. กรองตัวอย่างน้ำที่เตรียมจากข้อ 1 ผ่านบนกระดาษกรองที่มีแผ่นกรองดูดซับน้ำมันอยู่ (ข้อ 2) ดูดน้ำออกจนแห้ง



รูปที่ 2 ชุดสกัดซอกฮ์เลต



รูปที่ 3 เอกซ์แทรคชันทิมเบิล (Extraction Thimble)

4. ใช้คีมคีบกระดาษกรองนำไปใส่ในทิมเบิล ใช้สำลีชุบเฮกเซน เช็ดไขมันที่ติดถ้วยบุคเนอร์ให้หมด
5. นำทิมเบิลไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103 °C เวลา 30 นาที ใส่เม็ดแก้วให้เต็มทิมเบิล
6. ชั่งน้ำหนักขวดที่ใช้สกัด ซึ่งได้ทำให้แห้งและมีน้ำหนักคงที่ (อบแห้งที่อุณหภูมิ 103 °C) สมมุติเท่ากับ A g ใส่เฮกเซนลงในขวดสกัด 200 ml
7. นำทิมเบิลใส่ในชุดซอกซ์เลต ทำการสกัดโดยใช้ เฮกเซนเป็นตัวทำละลายด้วยอัตรา 20 รอบ/ชั่วโมง เป็นเวลา 4 ชั่วโมง โดยนับจากเริ่มสกัดรอบแรก
8. กลั่นเฮกเซนจากขวดสกัดในเครื่องอังน้ำที่อุณหภูมิ 80°ซ ออกจนแห้ง (สามารถนำเฮกเซนกลับไปใช้ได้อีก)
9. ปล่อยขวดสกัดให้เย็นในโถทำแห้ง 30 นาที แล้วนำไปชั่งน้ำหนักสมมุติเท่ากับ B g

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ชุดสกัดซอกซ์เลต (ดูรูปที่ 2)
2. เครื่องดูดสุญญากาศ (Vacuum Pump)
3. กรวยบุคเนอร์ (Buchner Funnel) เส้นผ่าศูนย์กลาง 7 cm
4. เครื่องอังน้ำ
5. ขวดสกัด (Extraction Flask) 250 ml
6. เครื่องชั่งละเอียด
7. ตู้อบ
8. กระดาษกรองเบอร์ 40 ขนาด 7 cm
9. เอกซ์แทรคชันทิมเบิล (Extraction Thimble Paper) ดูรูปที่ 3
10. ลูกแก้ว

สารเคมี

1. กรดเกลือเข้มข้น
2. เฮกเซน (n-Hexane) หรือฟรีออน
3. Ditatomaceous-Silica filter Aid Suspension ความเข้มข้น 10 กรัม ต่อ น้ำกลั่น 1 ลิตร
4. สำลี

การคำนวณ

$$\text{ไขมันและน้ำมัน (มก./ลิตร)} = \frac{(B-A)x10^6}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (มล.)}}$$

ข้อเสนอแนะและข้อควรระวัง

สำหรับตัวอย่างที่มีน้ำมันมากหรือมีชั้นน้ำมันหนา ซึ่งลำบากในการชักตัวอย่าง ควรจะตีตัวอย่างให้แตกด้วยดรกไฟฟ้าก่อน แล้วค่อยดึงตัวอย่างมาใช้วิเคราะห์

เอกสารอ้างอิง

Sawyer, C.N., McCarty, P.L., and Parkin, G. F., (1994). Chemistry for Environmental Engineering.4th Edition. McGraw-Hill, New York

APHA, AWWA, WPCF. (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Edition. Washington, D.C.

อรทัย ชวาลภาฤทธิ์. (2545). คู่มือวิเคราะห์น้ำและน้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : บริษัทจุดทองจำกัด.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. (2545). เคมีวิทยาของน้ำและน้ำเสีย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.