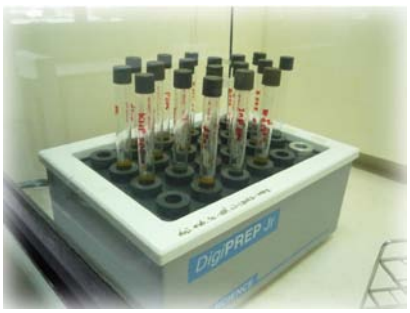
คู่มือทดสอบตัวอย่างน้ำ

ห้องปฏิบัติการ

สำนักงานสิ่งแวดล้อมภาคที่ 6 (นนทบุรี)



สำนักงานสิ่งแวดล้อมภาคที่ 6 (นนทบุรี)

สำนักงานปลัดกระทรวง

กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

กันยายน 2554

สารบัญ

เรื่อง		หน้า
คำนำ		
บทที่ 1	ความเป็นกรด – ด่าง (pH)	1-1
บทที่ 2	ความขุ่น (Turbidity)	2-1
บทที่ 3	ความกระด้าง (Hardness)	3-1
บทที่ 4	สารแขวนลอย (Suspended Solids : SS)	4-1
บทที่ 5	ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Dissolved Solid : TDS)	5-1
บทที่ 6	ของแข็งทั้งหมด (Total Solid : TS)	6-1
บทที่ 7	ตะกอนหนัก (Settleable Solids)	7-1
บทที่ 8	แอมโมเนีย (Ammonia : NH_3) โดยวิธีฟีเนต (Phenate Method)	8-1
บทที่ 9	ออกซิเจนละลาย(Dissolved Oxygen, DO)	9-1
บทที่ 10	ฟอสฟอรัสรวม (Total Phosphorus, TP)	10-1
บทที่ 11	บีโอดี (Biological Oxygen Demand: BOD)	11-1
บทที่ 12	ซีโอดี (Chemical Oxygen Demand, COD) โดยวิธีกลั่นกลับคืนแบบปิด (closed reflux method)	12-1
บทที่ 13	น้ำมันและไขมัน (Oil & Grease)	13-1
บทที่ 14	ซัลไฟด์ (Sulfide)	14-1
บทที่ 15	ไนโตรเจนทั้งหมด (Total Kjeldahl Nitrojen, TKN)	15-1
บทที่ 16	ตะกั่ว (Lead, Pb)	16-1
บทที่ 17	โครเมียม (Chromium, Cr)	17-1
บทที่ 18	แคดเมียม (Cadmium, Cd)	18-1
บทที่ 19	นิกเกิล (Nickel, Ni)	19-1
บทที่ 20	ทองแดง (Copper, Cu)	20-1
บทที่ 21	แมงกานีส (Manganese, Mn)	21-1
บทที่ 22	สังกะสี (Zinc, Zn)	22-2
บทที่ 23	โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Coliform Bacteria and Faecal Coliform Bacteria)	23-1

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก	การรักษาสภาพตัวอย่างน้ำเพื่อส่งตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ
ภาคผนวก ข	อัตราค่าบริการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ และอากาศ

บทที่ 1
ความเป็นกรด – ด่าง (pH)

ผู้รวบรวม
นายศิริพล กำแพงทอง นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาววราภรณ์ โตสิงห์ นักวิชาการสิ่งแวดล้อม

1. หลักการ (Principle)

หลักการวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด- ด่าง(pH)ในตัวอย่างน้ำโดยวิธีทางไฟฟ้า (electrometric method) คือ การหาปฏิกิริยาของ hydrogen ions (H^+) โดยใช้ ไฮโดรเจนอิเล็กโทรด และอิเล็กโทรดอ้างอิง (reference electrode) ที่ส่วนใหญ่ทำด้วยแก้ว แรงไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจะแปรผันโดยตรงกับค่า pH

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 เครื่องวัดค่าอิออนบวกและอิออนลบ (electrometer)
2.2 อิเล็กโทรดสำหรับวัดค่า pH ชนิด combination
2.3 เครื่องกวนสารละลายแม่เหล็ก (magnetic stirrer) พร้อมแท่งคนแม่เหล็ก (magnetic bar)
2.4 บีกเกอร์ (beaker) พลาสติก ขนาด 50 mL

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 สารละลายบัฟเฟอร์ (buffer solution) pH 4.00
3.2 สารละลายบัฟเฟอร์ (buffer solution) pH 7.00
3.3 สารละลายบัฟเฟอร์ (buffer solution) pH 10.00

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การเตรียมตัวอย่าง
- 4.1.1 นำตัวอย่างน้ำมาเทใส่บีกเกอร์
- 4.1.2 ใส่แท่งคนแม่เหล็ก และรักษาอุณหภูมิตัวอย่างน้ำไว้ที่ 25 °C

4.2 การปรับเทียบเครื่อง (calibrate)
- 4.2.1 เตรียม buffer pH 4 , 7 และ 10 ตามข้อ 4.1
- 4.2.2 เปิดเครื่อง electrometer อย่างน้อย 30 นาที และกด calibrate เครื่อง
- 4.2.3 ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างอิเล็กโทรดให้สะอาดและใช้กระดาษทิชชูซับให้แห้ง
- 4.2.4 นำอิเล็กโทรดวัด buffer pH 7.00 รอจนเครื่องอ่านค่าได้ และยืนยันค่า
- 4.2.5 ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างอิเล็กโทรดให้สะอาดและใช้กระดาษทิชชูซับให้แห้ง
- 4.2.6 วัดค่า pH 4.00 และ pH 10.00 เหมือนขั้นตอน 4.2.4-4.2.5 ตามลำดับ
- 4.2.7 slope ต้องไม่น้อยกว่า 92-100%

4.3 การทดสอบตัวอย่าง
- 4.3.1 ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างอิเล็กโทรดให้สะอาดและใช้กระดาษทิชชูซับให้แห้ง
- 4.3.2 นำตัวอย่างน้ำที่ได้จาก 4.1 ตั้งบนเครื่องกวนสารละลายแม่เหล็ก และเปิดเครื่องกวนพร้อมทั้งจุ่มอิเล็กโทรดลงในตัวอย่างน้ำ

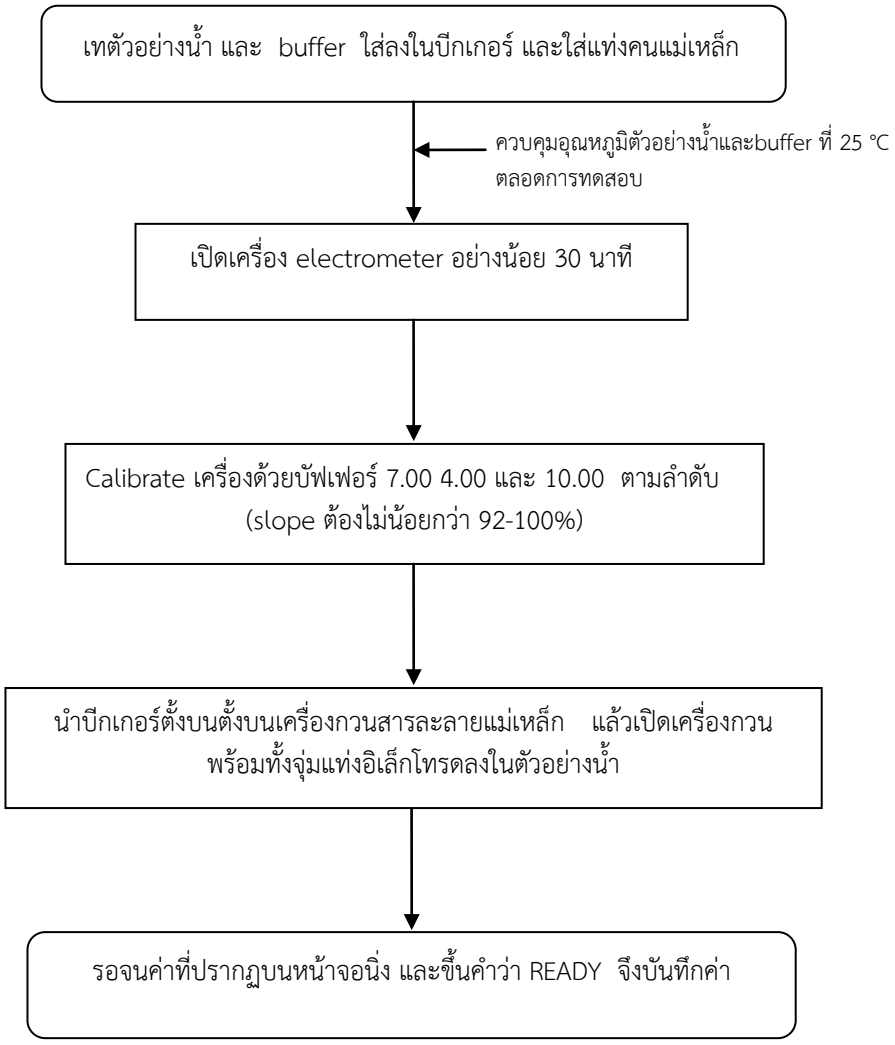
4.3.3 รอจนค่าที่ปรากฏบนหน้าจอนิ่ง และปรากฏ READY ขึ้น จึงบันทึกค่า

4.3.4 ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างอิเล็กโทรดให้สะอาดและใช้กระดาษทิชชูซับให้แห้งเพื่อวัดตัวอย่างต่อไป

4.4 การควบคุมคุณภาพ

ใช้ buffer pH 4 และ/หรือ 7 และ/หรือ 10 เป็นตัวอย่างควบคุม (QC sample) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับช่วง pH ของตัวอย่าง

ขั้นตอนการทดสอบ



บทที่ 2
ความขุ่น (Turbidity)

ผู้รวบรวม
นายศิริพล กำแพงทอง นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาววราภรณ์ โตสิงห์ นักวิชาการสิ่งแวดล้อม

1. หลักการ (Principle)

การวัดค่าความขุ่นโดยวิธีการใช้แสงที่มาจากหลอดไฟผ่านเลนส์ของเครื่องและสารละลายที่ต้องการวัด เมื่อแสงตกกระทบอนุภาคความขุ่นที่แขวนลอย จะเกิดการกระจัดกระจายของแสง ซึ่งความเข้มแสงจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับค่าความขุ่นที่ปรากฏ

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 เครื่องวัดความขุ่น (turbidimeter)

2.2 หลอดทดสอบ (sample cell)

2.3 กระดาษเช็ดเลนส์ เช็ดหลอดทดสอบ หรือน้ำมันซิลิโคน (Silicone 0.1)

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 สารละลายมาตรฐานความขุ่น (Formazin standard) จำนวน 5 ตัว ประกอบด้วย

1 สารละลายมาตรฐานความขุ่น (Formazin standard) <0.1 NTU
2 สารละลายมาตรฐานความขุ่น (Formazin standard) 20 NTU
3 สารละลายมาตรฐานความขุ่น (Formazin standard) 200 NTU
4 สารละลายมาตรฐานความขุ่น (Formazin standard) 1000 NTU
5 สารละลายมาตรฐานความขุ่น (Formazin standard) 4000 NTU

3.2 น้ำกลั่น (Distilled Water : DW)

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การปรับเทียบ (calibrate) เครื่องวัดความขุ่น

4.1.1 เปิดเครื่องทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาที

4.1.2 เลือกช่วงในการวัดค่าเป็น manual range หรือ auto range โดยกดปุ่ม range

4.1.3 หาค่าเฉลี่ยของการวัด โดยกดปุ่ม singnal avg.

4.1.4 เลือก detector ในการวัด กรณีค่าความขุ่น > 40 NTU กดปุ่ม ratio โดยไม่ให้มีไฟสีเขียวขึ้น กรณีค่าความขุ่น < 40 NTU กดปุ่ม ratio โดยให้มีไฟสีเขียวขึ้น

4.1.5 เลือกหน่วยในการวัดเป็น NTU โดยกดปุ่ม unit exit

4.1.6 นำสารละลายมาตรฐาน (Formazin standard) ทั้ง 5 ขวด มาวัดค่าความขุ่น โดยเขย่าขวดสารละลายมาตรฐานแต่ละขวดให้สารเป็นเนื้อเดียวกัน อย่าให้มีฟองอากาศ พยายามจับที่คอขวดอย่าให้มีรอยนิ้วมือ ถ้ามีรอยนิ้วมือให้ใช้กระดาษเช็ดเลนส์เช็ดทำความสะอาด

4.1.7 กดปุ่ม CALที่ตัวเครื่องจากนั้นเครื่องจะเรียกหาสารละลายมาตรฐานตัวที่1 ที่ So ใส่สารละลายมาตรฐานตัวที่1 ลงไปในช่องใส่ cell ให้ marker อยู่ในตำแหน่งที่กำหนด (จะสังเกตเห็น

marker สามเหลี่ยมที่ขวดและมุมสามเหลี่ยมตัวเครื่องให้ตรงกัน) ปิดฝาครอบตัวเครื่อง เมื่อใส่สารลงไปแล้วกด enter รอจนค่านิ่งประมาณ 60 วินาที (ไม่ควรปล่อยไว้นานกว่านี้ เนื่องจากสารละลายจะตกตะกอน) เมื่อค่านิ่งแล้ว เครื่องจะเรียกหาสารละลายมาตรฐานตัวที่ 2 ต่อไปทำเช่นนี้จนครบสารละลายมาตรฐานทั้ง 5 ตัว เมื่อเสร็จการวัดสารละลายมาตรฐานตัวสุดท้ายให้กด CAL อีกครั้ง

4.2 การทดสอบตัวอย่าง

4.2.1 rinse หลอดทดสอบด้วยตัวอย่างที่จะทำการทดสอบ 3 ครั้ง (ควรนำตัวอย่างน้ำตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนการทดสอบ เพื่อให้อุณหภูมิของตัวอย่างเท่ากับอุณหภูมิห้อง)

4.2.2 เทตัวอย่างน้ำลงในหลอดทดสอบให้ถึงขีดระดับ

4.2.3 เช็ดหลอดทดสอบให้แห้งโดยใช้น้ำมันซิลิโคน (silicone oil) หรือกระดาษเช็ดเลนส์ เพื่อลดความผิดพลาดที่จะเกิดจากรอยขีดข่วนต่างๆ

4.2.4 ใส่หลอดทดสอบลงในช่องวัดตัวอย่างของเครื่องและปิดฝา โดยให้ marker อยู่ในตำแหน่งที่กำหนด

4.2.5 กด Enter อ่านค่าความขุ่นของตัวอย่าง และบันทึกค่าที่อ่านได้ โดยบันทึกค่าแรกที่อ่านได้บนหน้าจอ

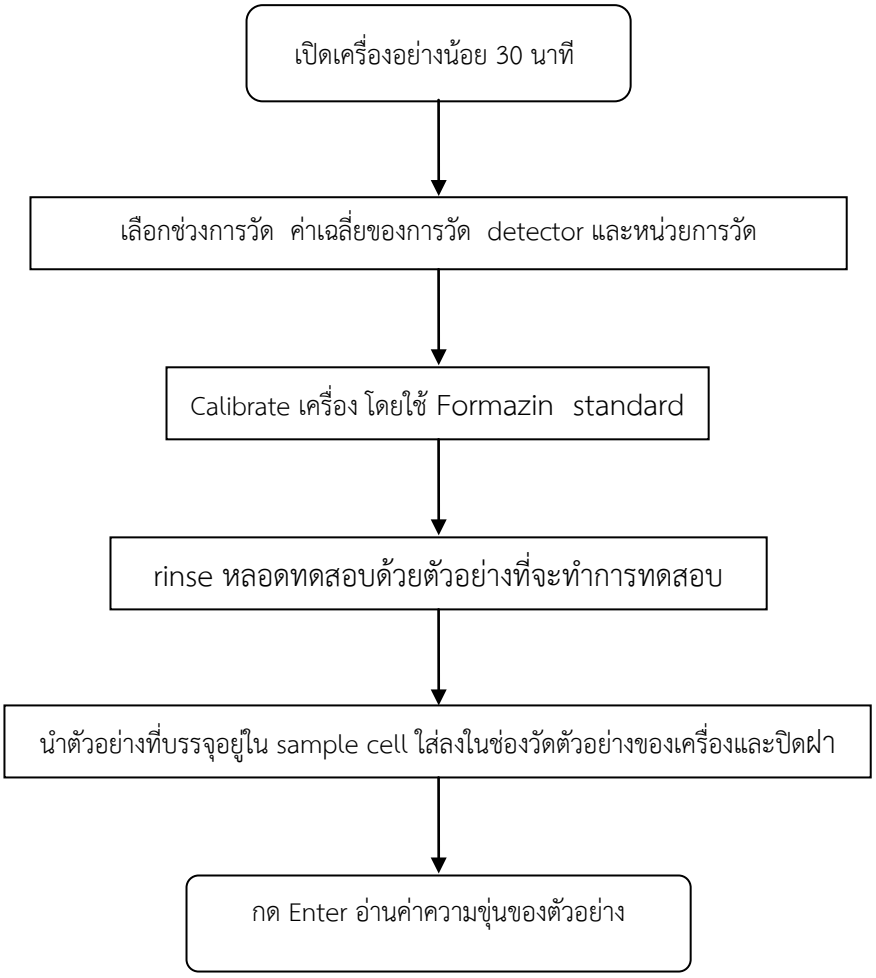
4.2.6 เมื่อทำการวัดเสร็จแล้วทำความสะอาดหลอดทดสอบด้วยน้ำกลั่น และปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง

4.3 การควบคุมคุณภาพ

นำสารละลายมาตรฐานความขุ่นที่มีค่าใกล้เคียงกับตัวอย่าง เป็นตัวอย่างควบคุม (control sample) และทำการวัดเหมือนตัวอย่าง

<u>หมายเหตุ</u> วิธีการวัดรายละเอียดดังเอกสารแนบ

ขั้นตอนการทดสอบ



บทที่ 3
ความกระด้าง (Hardness)

ผู้รวบรวม
นางสาวจุไรรัตน์ มหาเทียน นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นางสาววราภรณ์ โตสิงห์ นักวิชาการสิ่งแวดล้อม

1. หลักการ (Principle)

การหาความกระด้างโดยวิธี EDTA Titrimetric Method และใช้ อิริโอโครม แบลค ที (Eriochrome Black T, EBT) เป็นอินดิเคเตอร์ อาศัยหลักการคือ เมื่อเติม อิริโอโครม แบลค ที ลงไปในตัวอย่างน้ำที่มี Ca^{2+}, Mg^{2+} และอิออนอื่นๆ ที่ทำให้เกิดความกระด้างในสภาวะที่เป็นด่าง (pH ประมาณ 10 ± 0.1) Ca^{2+}, Mg^{2+} และอิออนอื่นๆ จะจับกับ อิริโอโครม แบลค ที เกิดเป็นสารเชิงซ้อนสีม่วงแดง เมื่อนำไปไตเตรทกับ อีดีทีเอ (ethylenediaminetetraacetic acid dihydrate, EDTA) Ca^{2+}, Mg^{2+} และอิออนอื่นๆ จะรวมตัวกับอีดีทีเอ เกิดเป็น chelated soluble complex ซึ่งคงตัวกว่าสารเชิงซ้อนแรก เมื่ออีดีทีเอรวมตัวกับไอออนดังกล่าวหมด จะปล่อยอิริโอโครม แบลค ที เป็นอิสระ สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีน้ำเงิน แสดงว่าถึงจุดยุติ (end point) ดังสมการ

$$M^{2+} + EBT \xleftrightarrow{pH = 10} [M\text{-}EBT] \text{ complex}$$

สีม่วงแดง

$$[M\text{-}EBT] \text{ complex} + EDTA \xleftrightarrow{pH = 10} [MEDTA] \text{ complex} + EBT$$

สีน้ำเงิน

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 125 mL
2.2 ปิเปต (pipette) ขนาด 25 mL
2.3 บิวเรต (burette) ขนาด 25 mL

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 สารละลายบัฟเฟอร์ (buffer solution) เลือกชนิดใดชนิดหนึ่ง

3.1.1 ชั่ง แอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium chloride, NH_4Cl) 16.9 g ละลายในแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น (conc. Ammonium hydroxide, conc.NH_4OH) 143 mL เติมเกลือแมกนีเซียมของอีดีทีเอ (magnesium salt of EDTA) 1.25 g และปรับปริมาตรเป็น 250 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร

หรือ 3.1.2 ชั่ง เกลือไดโซเดียมของ EDTA (disodium salt of EDTA) ชนิด analytical grade 1.179 g และ แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตระไฮเดรต (Magnesium sulfate heptahydrate, $MgSO_4.7H_2O$) 0.78 g หรือ แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต (Magnesium chloride hexahydrate, $MgCl_2.6H_2O$) 0.644 g ละลายในน้ำกลั่น 50 mL เติมสารละลายนี้ลงในสารละลายของแอมโมเนียม

ไฮดรอกไซด์เข้มข้น (conc.Ammonium hydroxide, conc.NH_4OH) 143 mL และแอมโมเนียม คลอไรด์ (Ammonium chloride, NH_4Cl) 16.9 g ผสมให้เข้ากัน และปรับปริมาตรเป็น 250 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร

เก็บสารละลายบัฟเฟอร์ 3.1.1 หรือ 3.1.2 ในขวดพลาสติก หรือขวดแก้ว borosilicate ไม่ควรเก็บสารละลายนี้เกิน 1 เดือน และปิดจุกให้แน่นเพื่อป้องกันการสูญเสียแอมโมเนีย หรือการดูดซึมจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

3.2 อินดิเคเตอร์ (indicators)

3.2.1 อิริโอโครม แบลค ที เป็นเกลือโซเดียมของ 1-(1-hydroxy-2-naphthylazo)-5-nitro-2-naphthol-4-sulfonic acid

ชั่ง อิริโอโครม แบลค ที 0.5 g ละลายใน 2,2'2"- nitrilotriethanol (triethanolamine) หรือ 2-methoxyethanol (ethylene glycol monomethyl ether) 100 g และใช้ 2 หยดต่อตัวอย่างที่นำมาไตเตรท 50 mL

3.2.2 calmagite : 1-(1-hydroxy-4-methyl-2-phenylazo)-2- naphthol-4-sulfonic acid

ชั่ง calmagite 0.10 g ละลายในน้ำกลั่น 100 mL และใช้ 1 mL /ตัวอย่าง 50 mL

3.2.3 อินดิเคเตอร์ทั้งข้อ 3.2.1 และ 3.2.2 สามารถใช้ในรูปของผงแห้ง ถ้าสามารถหลีกเลี่ยงการใช้ในปริมาณที่มากเกินพอได้

3.2.4 เมทธีลเรดอินดิเคเตอร์ (methyl red indicator) สำหรับ Standardization

ละลายเมทธีลเรด 0.1 g ใน 95% Ethanol และ ปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วย 95% Ethanol

3.3 complexing agent .ใช้ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำมีตัวขัดขวางการเกิดสีของอินดิเคเตอร์ ทำให้เห็นการเปลี่ยนสีไม่ชัด จำเป็นต้องเติม complexing agent เพื่อช่วยให้การเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ที่จุดยุติเห็นได้ชัดยิ่งขึ้น complexing agent ที่ใช้ได้แก่

3.3.1 อินฮิบิเตอร์ 1 (inhibitor I)

- ปรับ pH ของตัวอย่างให้เป็น 6 หรือสูงกว่าด้วยบัฟเฟอร์ หรือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล
- เติมโซเดียมไซยาไนด์ (Sodium cyanide, NaCN) 250 mg (โซเดียมไซยาไนด์เป็นสารที่มีความเป็นพิษสูง จึงควรระมัดระวังเป็นพิเศษในการใช้)
- เติมบัฟเฟอร์เพื่อปรับ pH ให้เป็น 10 ± 0.1

3.3.2 อินฮิบิเตอร์ 2 (inhibitor II)

ชั่ง โซเดียมซัลไฟด์นาโนไฮเดรต (Sodium sulfide nanohydrate, $Na_2S.\ 9\ H_2O$) 5.0 g หรือ โซเดียมซัลไฟด์เพนตระไฮเดรต (Sodium sulfide pentrahydrate, $Na_2S.\ 5\ H_2O$) 3.7 g ละลายในน้ำกลั่น 1000 mL

3.3.3 MgCDTA : เกลือแมกนีเซียม ของ 1, 2-cyclohexanediamine-tetraacetic acid เติม 250 mg ต่อตัวอย่างน้ำ 100 mL และละลายให้หมดก่อนเติมสารละลายบัฟเฟอร์

3.4 สารละลายมาตรฐานอีดีทีเอ (Standard EDTA solution) ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ (M)

ชั่ง อีดีทีเอไดโซเดียมซอลท์ (EDTA di-Sodium salt, EDTA) 3.723 g ละลายในน้ำกลั่นต้มที่ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นต้มในขวดวัดปริมาตร เก็บสารละลาย

ในขวด polyethylene หรือขวดแก้ว borosilicate glass หากเก็บในขวดแก้วธรรมดา EDTA สามารถดึงไอออนบวกจากขวดแก้วเข้าไปในสารละลายได้

3.5 สารละลายมาตรฐานแคลเซียม (Standard Calcium solution) ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ชั่ง แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate, $CaCO_3$) ชนิด primary standard (ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 100±2 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) 1.000 g ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 mL วางกรวยไว้บนคอขวด ค่อย เติมๆ1+1 HCl ลงไปทีละน้อยเพื่อละลายแคลเซียมคาร์บอเนต จนหมดพอดี เติมน้ำกลั่นประมาณ 200 mL นำไปต้มให้เดือดประมาณ 2-3 นาที เพื่อไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมเมทธีลเรดอินดิเคเตอร์ (methyl red indicator) ลงไป 2-3 หยด ปรับให้เป็นกลางด้วย 3N NH_4OH หรือ 1+1 HCl จนมีสีเหลืองอมส้มหรือสีส้มกลางๆ ถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นที่ต้มไล่คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2)

3.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (N)

ชั่ง โซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 g ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรปีน 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร

3.7 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl) ความเข้มข้น 1+1

ปิเปต กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. Hydrochloric acid) ปริมาตร 100 mL ลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 200 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร

3.8 แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Ammonium hydroxide) ความเข้มข้น 3N

ปิเปต แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ปริมาตร 100 mL ลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 500 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร

3.9 น้ำกลั่น (Distilled Water)

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 Standardization

Standardize สารละลายมาตรฐานอีดีทีเอ ด้วยสารละลายมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์

4.1.1 ปิเปต สารละลายมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ปริมาตร 10 mL ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 mL

4.1.2 เติมบัฟเฟอร์ 1 mL แต่ถ้าน้ำมีความเป็นกรดสูงอาจเติม 2 mL แกว่งให้เข้ากัน

4.1.3 เติม อิริโอโครม แบลค ที ชนิดผง ลงไปเล็กน้อย แกว่งให้เข้ากัน

4.1.4 นำไปไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานอีดีทีเอ 0.01 โมลาร์ เมื่อถึงจุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีน้ำเงิน คำนวณความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอีดีทีเอ จากสมการ

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

เมื่อ N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอีดีทีเอ

V_1 = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานอีดีทีเอที่ใช้ในการไตเตรท

N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนต

V_2 = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนต

4.2 การทดสอบตัวอย่าง

4.2.1 ปิเปตตัวอย่างน้ำ ปริมาตร 25.0 mL และปรับปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตร และเทลงในขวดรูปชมพู่

4.2.2 เติมสารละลายบัฟเฟอร์ 1 mL เพื่อปรับพีเอชให้ได้ประมาณ 10.0-10.1 แกว่งให้เข้ากัน

4.2.3 เติม อิริโอโครม แบลค ที อินดิเคเตอร์ ลงไปเล็กน้อย แกว่งให้เข้ากัน

4.2.4 นำไปไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานอีดีทีเอ 0.01 โมลาร์ จนถึงจุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีน้ำเงิน จดปริมาตรที่ใช้

ขั้นตอนการทดสอบ

4.3 การคำนวณ

$$\text{Hardness (mg/L)} = \frac{A \times B \times 1000}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ (mL)}}$$

โดย A = ปริมาตรของอีดีทีเอ ที่ใช้ในการไตเตรท (mL)

B = mg แคลเซียมคาร์บอเนต ซึ่งสมมูลกับ 1.00 mL อีดีทีเอ
หรือ ความเข้มข้นของอีดีทีเอ x 100

5. การควบคุมคุณภาพ

5.1 การวิเคราะห์ spiked sample หรือการหา % recovery

โดยใช้สารละลายมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 1000 mg/L (วิธีเตรียมสารตามข้อ 3.4)

5.1.1 ปิเปตตัวอย่างน้ำปริมาตร 25.0 mL

5.1.2 spike สารละลายมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 1000 mg/L ปริมาตร 2.5 mL ลงในตัวอย่างน้ำ (ปริมาณความกระด้างในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนตที่เติมลงไปในตัวอย่างน้ำ 25.0 mL เท่ากับ 100 mg/L) และปรับปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตรและเทลงในขวดรูปชมพู่

5.1.3 นำมาทดสอบตามขั้นตอนการทดสอบตัวอย่าง พร้อมกับตัวอย่างที่ไม่ได้ spike และหาค่า % recovery ที่ได้

$$\% \text{ recovery} = \frac{(\text{ความเข้มข้นของ spiked sample} - \text{ความเข้มข้นของตัวอย่างเริ่มต้น})}{\text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

เกณฑ์การยอมรับ = 90 - 110 %

5.2 การวิเคราะห์ซ้ำในตัวอย่างเดียวกัน (duplicate analysis pair)

วิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกัน จำนวน 2 ครั้ง เพื่อทดสอบความแม่นยำของผู้ที่ทำการทดสอบ หลังจากนั้นนำผลการทดสอบมาคำนวณหา % ความแตกต่างสัมพัทธ์ (% Relative Percent Diffrence : RPD)

$$\% \text{ ความแตกต่างสัมพัทธ์} = \frac{\text{ผลการทดสอบครั้งที่ 1} - \text{ผลการทดสอบครั้งที่ 2}}{\text{ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบทั้ง 2 ครั้ง}} \times 100$$

เกณฑ์การยอมรับ = ไม่เกิน 10%

บทที่ 4
สารแขวนลอย (Suspended Solids : SS)

ผู้รวบรวม
นางสาวตวงพร แป้นพุ่ม นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาวจุไรรัตน์ มหาเทียน นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นางสาววราภรณ์ โตสิงห์ นักวิชาการสิ่งแวดล้อม

1. หลักการ (Principle)

กรองตัวอย่างน้ำที่ผสมเป็นเนื้อเดียวกันผ่านกระดาษกรองใยแก้วขนาด 40-60 ไมครอน ที่ทราบค่าน้ำหนัก และนำกระดาษกรองที่มีตะกอนค้างอยู่ไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 °C แล้วนำไปชั่งจนได้น้ำหนักคงที่ น้ำหนักของกระดาษกรองที่เพิ่มขึ้นคือปริมาณสารแขวนลอย

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 ตู้อบร้อน (hot air oven) ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 103-105 °C

2.2 เครื่องชั่ง (balance analytical) ละเอียด 4-5 ตำแหน่ง

2.3 เครื่องกวนสารละลายแม่เหล็ก (magnetic stirrer) พร้อมแท่งคนแม่เหล็ก (magnetic stirring bar)

2.4 ตู้ดูดความชื้น (desiccator) พร้อม silica gel (เป็นตัวดูดซับความชื้นที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 180 $\pm$ 2 °C เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง และจะต้องนำไปอบใหม่ทุกครั้งเมื่อความชื้นในตู้ดูดความชื้นสูงกว่า 50%

2.5 คีมคีบ (forcep)

2.6 กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 10 100 mL

2.7 ชุดกรองสุญญากาศ (filter support) ที่ประกอบด้วย ขวดกรอง (membrane filter funnel) ถ้วยกรองกูซ (gooch crucible) และเครื่องดูดสุญญากาศ (vacuum pump) พร้อมขวดดูดสุญญากาศ (suction flask) ขนาด 500- 1000 mL

2.8 กระดาษกรอง (glass-fiber filter) GF/C ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.5 cm

2.9 ขวดปรับปริมาตร(volumetric flask) ขนาด 1000 mL

2.10 aluminum foil

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 สารมาตรฐาน Stock reference suspension microcrystalline cellulose (ความเข้มข้น 500 mg/L)

ชั่งผลึกเซลลูโลส $(C_6H_{10}O_5)_n$ 0.5 g ชนิด Thin Layer Chromatograph (TLC) grade (อบที่อุณหภูมิ 105 $\pm$ 2 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นในตู้ดูดความชื้น อย่างน้อย 30 นาที) ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ในขวดปรับปริมาตร สารละลายที่ได้สามารถเก็บไว้ได้นาน 3 เดือน และจะต้องเขย่าขวดก่อนใช้ทุกครั้ง

3.2 น้ำกลั่น (Distilled Water :DW)

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การเตรียมกระดาษกรองตัวอย่าง

4.1.1 เตรียม aluminum foil ให้เป็นรูปก้นบีกเกอร์ ขนาดตามความเหมาะสมในการวางกระดาษกรองและระบุรหัสไว้

4.1.2 ประกอบชุดกรองสุญญากาศ คีบกระดาษกรองวางลงในชุดกรอง เปิดเครื่องและฉีดด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อยจนกระดาษกรองเปียก เพื่อให้กระดาษกรองแนบกับถ้วยกรองกูซ

4.1.3 ล้างกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ครั้งละประมาณ 20 mL จากนั้นเปิดชุดกรองสุญญากาศ และทิ้งน้ำล้าง

4.1.4 คีบกระดาษกรองออกจากชุดกรองแล้วนำไปวางลงในถ้วย aluminum foil ที่ระบุรหัสไว้

4.1.5 นำถ้วย aluminum foil พร้อมกระดาษกรอง ไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 °C อย่างน้อย 1 ชั่วโมง และนำไปเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อทิ้งไว้ให้เย็น

4.1.6 นำถ้วย aluminum foil พร้อมกระดาษกรองมาชั่งหาน้ำหนัก และบันทึกน้ำหนักที่ได้

4.1.7 ทำตามข้อ 4.1.5-4.1.6 จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ หรือความแตกต่างของการชั่งครั้งล่าสุดกับการชั่งครั้งที่ผ่านมาแตกต่างกันไม่เกิน 0.0005 g หรือ 4% ขึ้นอยู่กับว่าค่าใดจะน้อยกว่ากัน จากนั้นจึงเก็บถ้วย aluminum foil พร้อมกระดาษกรอง ไว้ในตู้ดูดความชื้นจนกระทั่งใช้งาน

4.2 การทดสอบตัวอย่าง

4.2.1 ประกอบชุดกรองสุญญากาศ คีบกระดาษกรองจากข้อ 4.1.6 วางลงในชุดกรอง เปิดเครื่อง และฉีดด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อยจนกระดาษกรองเปียก เพื่อให้กระดาษกรองแนบกับถ้วยกรองกูซ

4.2.2 ผสมตัวอย่างน้ำ(ที่มีอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง) ให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องกวนสารละลายแม่เหล็ก

4.2.3 เขย่าตัวอย่างน้ำแล้วตวงตัวอย่างด้วยกระบอกตวงปริมาตร 10 - 100 mL (ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของตัวอย่างน้ำ) เปิดเครื่อง และเทตัวอย่างน้ำที่ตวงไว้ลงสู่กระดาษกรอง พร้อมกับใช้น้ำกลั่นฉีดล้างภายในรอบๆ กระบอกตวง 2 ครั้งๆ ละประมาณ 10 mL แล้วเทลงสู่กระดาษกรอง กรองจนแห้ง

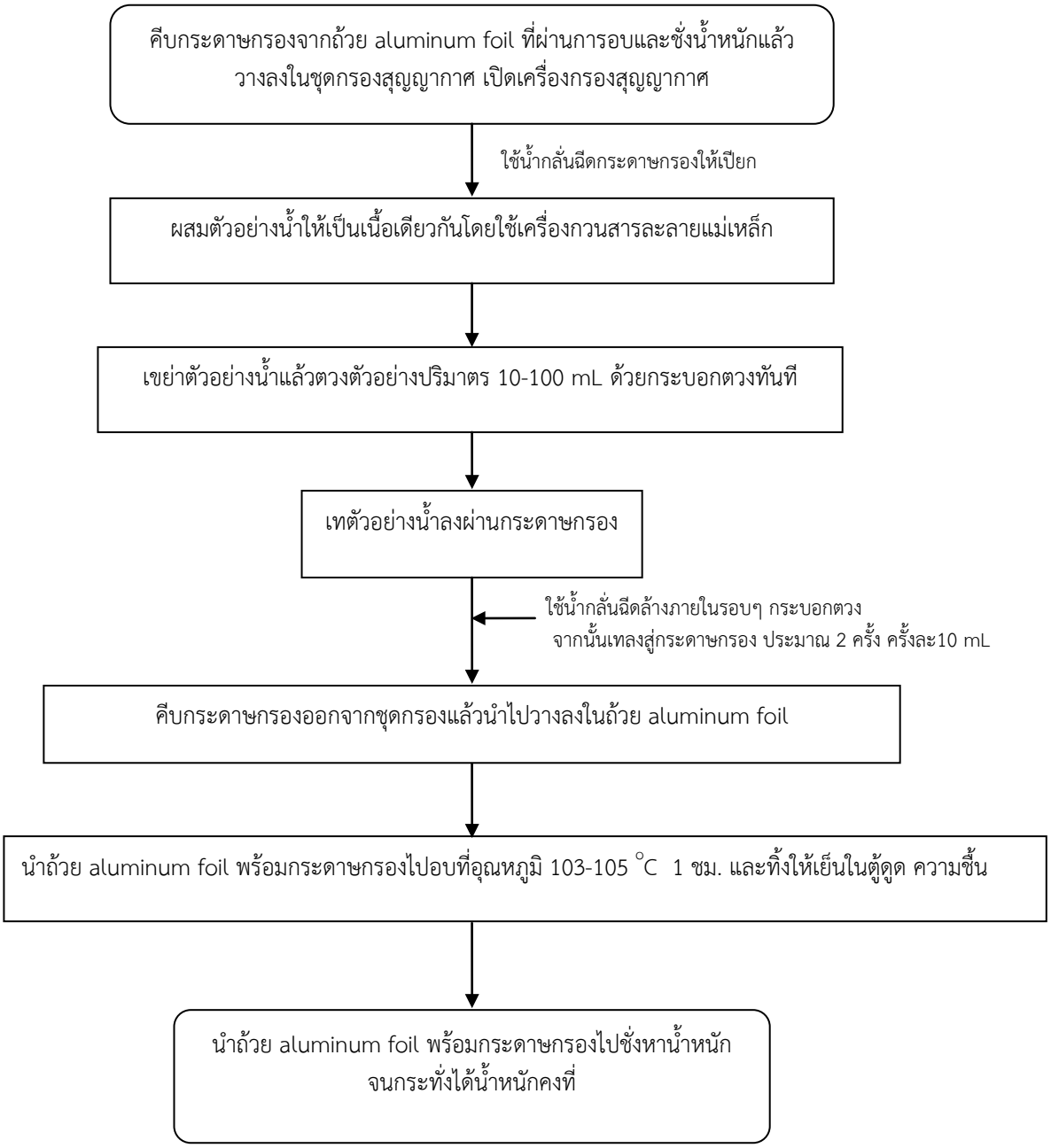
4.2.4 คีบกระดาษกรองออกจากชุดกรองแล้วนำไปวางลงในถ้วย aluminum foil อันเดิม

4.2.5 นำถ้วย aluminum foil พร้อมกระดาษกรอง ไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 °C อย่างน้อย 1 ชั่วโมง และนำไปเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อทิ้งไว้ให้เย็น

4.2.6 นำถ้วย aluminum foil พร้อมกระดาษกรองมาชั่งหาน้ำหนักและบันทึกน้ำหนักที่ได้

4.2.7 ทำตามข้อ 4.2.5-4.2.6 จนได้น้ำหนักคงที่หรือความแตกต่างของการชั่งครั้งล่าสุดกับการชั่งครั้งที่ผ่านมาแตกต่างกันไม่เกิน 0.0005 g หรือ 4% ขึ้นอยู่กับว่าค่าใดจะน้อยกว่ากัน

ขั้นตอนการทดสอบ



4.3 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณสารแขวนลอยทั้งหมด mg/L} = \frac{(A - B) \times 10^6}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ (mL)}}$$

โดย A = น้ำหนักกระดาษกรองและสารแขวนลอยในตัวอย่าง (g)
B = น้ำหนักกระดาษกรอง (g)

4.4 การควบคุมคุณภาพ

ควบคุมคุณภาพโดยใช้สารมาตรฐาน Stock reference suspension microcrystalline cellulose ความเข้มข้น 500 mg/L

4.4.1 ปิเปต สารมาตรฐาน Stock reference suspension microcrystalline cellulose ความเข้มข้น 500 mg/L จำนวน 20 mL ลงในกระบอกตวง

4.4.2 เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรเป็น 100 mL จะได้ปริมาณสารแขวนลอย = 100 mg/L

4.4.3 นำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้มาทำการทดสอบตามขั้นตอนการทดสอบตัวอย่าง

เกณฑ์การยอมรับ : ± 10% ของค่าจริง โดยพิจารณาจาก % ความถูกต้อง ซึ่งคำนวณได้จากสูตร

$$\% \text{ ความถูกต้อง} = \frac{\text{ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์} \times 100}{\text{ค่าจริง}}$$

บทที่ 5
ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Dissolved Solid : TDS)

ผู้รวบรวม
นางสาวตวงพร แป้นพุ่ม นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาวจุไรรัตน์ มหาเทียน นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นางสาววราภรณ์ โตสิงห์ นักวิชาการสิ่งแวดล้อม

1. หลักการ (Principle)

ตัวอย่างที่ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันแล้วนำไปกรองผ่านกระดาษกรองใยแก้วขนาด 40-60 ไมครอน จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการกรองถ่ายลงสู่ถ้วยระเหยแห้ง (evaporating dish) แล้วนำไประเหยและอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 180 $\pm$ 2 °C หลังจากที่อบแห้งแล้วนำไปชั่งจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ น้ำหนักที่เหลืออยู่บนถ้วยระเหยแห้งคือปริมาณของของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 ตู้อบ (hot air oven) ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 180 $\pm$ 2 °C

2.2 เครื่องอังไอน้ำ (steam bath) ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 80 °C

2.3 เครื่องชั่ง (balance analytical) ละเอียด 4-5 ตำแหน่ง

2.4 เครื่องกวนสารละลายแม่เหล็ก (magnetic stirrer) พร้อมแท่งคนแม่เหล็ก (magnetic bar)

2.5 ตู้ดูดความชื้น (desiccator) พร้อม silica gel (เป็นตัวดูดซับความชื้นที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 180 $\pm$ 2 °C เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง และจะต้องนำไปอบใหม่ทุกครั้งเมื่อความชื้นในตู้ดูดความชื้นสูงกว่า 50%

2.6 คีมคีบ (forceps)

2.7 กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 10 และ 100 mL

2.8 ถ้วยระเหยแห้ง (evaporating dish)

2.9 ชุดกรองสุญญากาศ (filter support) ที่ประกอบด้วย ขวดกรอง (membrane filter funnel) ถ้วยกรองกูช (gooch crucible) และเครื่องดูดสุญญากาศ (vacuum pump) พร้อมขวดดูดสุญญากาศ (suction flask) ขนาด 500- 1000 mL

2.10 กระดาษกรอง (glass-fiber filter) GF/C ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.5 cm

3. น้ำยาเคมี

3.1 น้ำกลั่น (Distilled Water :DW)

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การเตรียมถ้วยระเหยแห้ง (evaporating dish)

4.1.1 นำถ้วยระเหยแห้งไปอบที่อุณหภูมิ 180 $\pm$ 2°C อย่างน้อย 1 ชั่วโมง และนำไปเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อทิ้งไว้ให้เย็น

4.1.2 นำถ้วยระเหยแห้งไปชั่งน้ำหนัก และบันทึกน้ำหนักที่ได้

4.1.3 ทำตามข้อ 4.1.1 ถึง ข้อ 4.1.2 จนได้น้ำหนักคงที่หรือความแตกต่างของการชั่งครั้งล่าสุดกับการชั่งครั้งที่ผ่านมาแตกต่างกันไม่เกิน 0.0005 g หรือ 4% ขึ้นอยู่กับว่าค่าใดจะน้อยกว่ากัน จากนั้นจึงเก็บถ้วยไว้ในตู้ดูดความชื้น จนกระทั่งใช้งาน

4.2 การทดสอบตัวอย่าง

4.2.1 ประกอบชุดกรองสุญญากาศ คีบกระดาษกรองวางลงในชุดกรอง เปิดเครื่องและฉีดด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อยจนกระดาษกรองเปียก เพื่อให้กระดาษกรองแนบกับถ้วยกรองกูซ

4.2.2 ผสมตัวอย่างน้ำ (ที่มีอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง)ให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องกวนสารละลายแม่เหล็ก

4.2.3 เขย่าตัวอย่างน้ำแล้วตวงตัวอย่างปริมาตร 10-100 mL (ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของตัวอย่างน้ำ) ลงสู่ชุดกรองพร้อมกับเปิดเครื่องกรอง กรองจนหมาด ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างภายในรอบ ๆ กระบอกตวง 2 ครั้ง ๆ ละประมาณ 5 mL แล้วเทลงสู่กระดาษกรอง กรองจนแห้ง

4.2.4 ถ่ายตัวอย่างน้ำที่ผ่านการกรองลงสู่ถ้วยระเหยแห้งที่ทราบน้ำหนักแล้ว

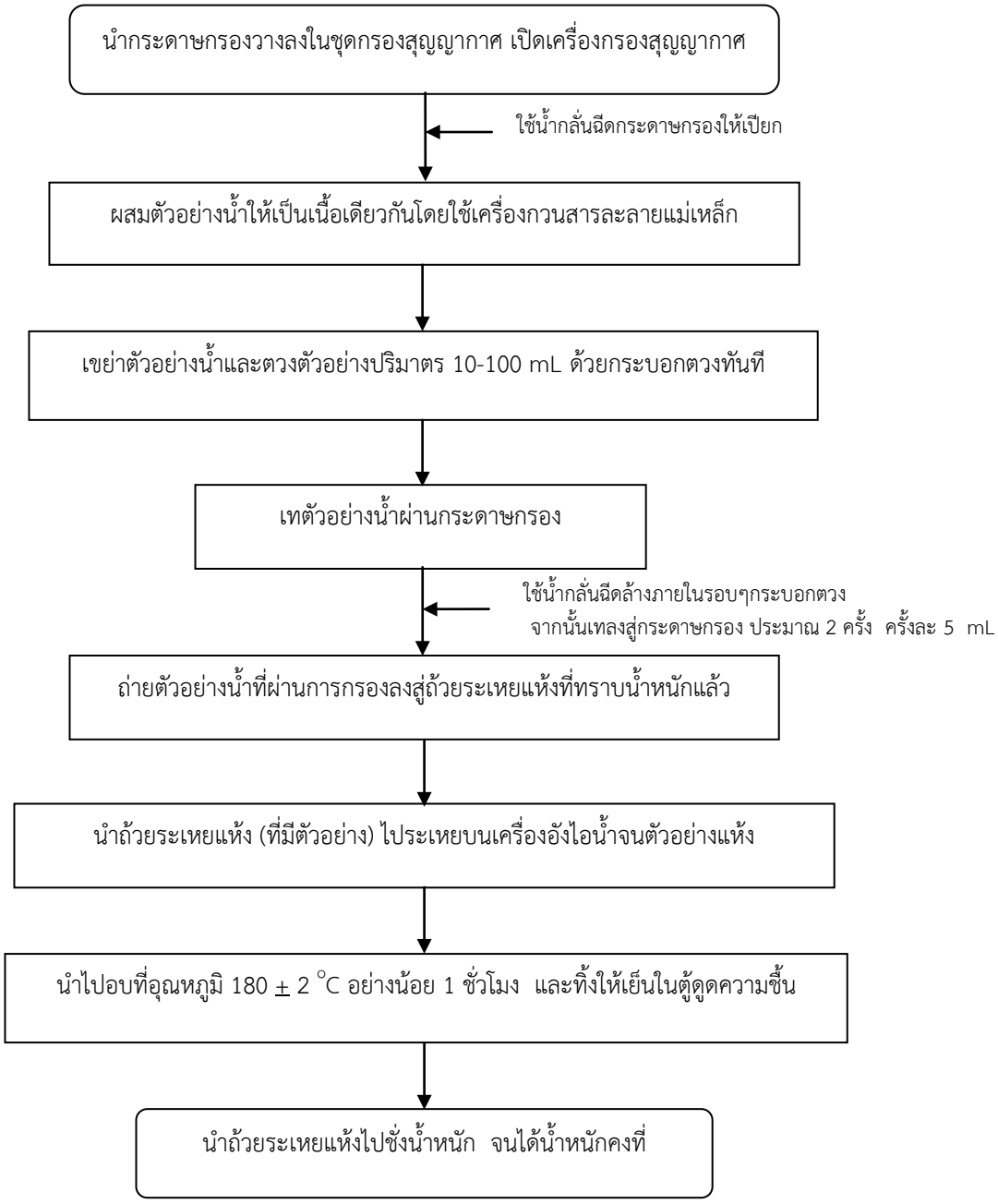
4.2.5 นำถ้วยระเหยแห้ง (ที่มีตัวอย่างน้ำ) ไประเหยบนเครื่องอังไอน้ำ ที่มีอุณหภูมิ 80 $^{\circ}$C จนตัวอย่างแห้ง

4.2.6 นำถ้วยระเหยแห้งไปอบที่อุณหภูมิ 180 $\pm$ 2°C อย่างน้อย 1 ชั่วโมง และนำไปเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อทิ้งไว้ให้เย็น

4.2.7 นำถ้วยระเหยแห้งไปชั่งน้ำหนัก และบันทึกน้ำหนักที่ได้

4.2.8 ทำตามข้อ 4.2.6 ถึง ข้อ 4.2.7 จนได้น้ำหนักคงที่ หรือความแตกต่างของการชั่งครั้งล่าสุดกับการชั่งครั้งที่ผ่านมาแตกต่างกันไม่เกิน 0.0005 g หรือ 4% ขึ้นอยู่กับว่าค่าใดจะน้อยกว่ากัน

ขั้นตอนการทดสอบ



4.3 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (mg/L)} = \frac{(A - B) \times 10^6}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ (mL)}}$$

โดย A = น้ำหนักถ้วยระเหยแห้งและของแข็งที่ค้างอยู่บนถ้วยระเหยแห้ง (g)
B = น้ำหนักถ้วยระเหยแห้ง (g)

บทที่ 6
ของแข็งทั้งหมด (Total Solid : TS)

ผู้รวบรวม
นางสาวตวงพร แป้นพุ่ม นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาววราภรณ์ โตสิงห์ นักวิชาการสิ่งแวดล้อม

1. หลักการ (Principle)

ตัวอย่างที่ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันแล้วถ่าย ลงสู่ถ้วยระเหยแห้ง (evaporating dish) แล้วนำไประเหยและอบให้แห้งที่ 103 - 105 ^{O}C หลังจากที่อบแห้งแล้วนำไปชั่งจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ น้ำหนักที่เหลืออยู่บนถ้วยระเหยแห้งคือปริมาณของของแข็งทั้งหมด

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 ตู้อบ (hot air oven) ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 103-105 $^{\circ}$C

2.2 เครื่องอังไอน้ำ (steam bath) ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 80 $^{\circ}$C

2.3 เครื่องชั่ง (balance analytical) ละเอียด 4-5 ตำแหน่ง

2.4 เครื่องกวนสารละลายแม่เหล็ก (magnetic stirrer) พร้อมแท่งคนแม่เหล็ก (magnetic bar)

2.5 ตู้ดูดความชื้น (desiccator) พร้อม silica gel (เป็นตัวดูดซับความชื้นที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 180 $\pm$ 2 $^{\circ}$C เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง และจะต้องนำไปอบใหม่ทุกครั้งเมื่อความชื้นในตู้ดูดความชื้นสูงกว่า 50%)

2.6 กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 10, 100 mL

2.7 ถ้วยระเหยแห้ง (evaporating dish)

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

น้ำกลั่น (Distilled Water :DW)

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การเตรียมถ้วยระเหยแห้ง (evaporating dish)

4.1.1 นำถ้วยระเหยแห้งไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 $^{\circ}$C อย่างน้อย 1 ชั่วโมง และนำไปเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อทิ้งไว้ให้เย็น

4.1.2 นำถ้วยระเหยแห้งไปชั่งน้ำหนัก และบันทึกน้ำหนักที่ได้

4.1.3 ทำตามข้อ 4.1.1 ถึง ข้อ 4.1.2 จนได้น้ำหนักคงที่หรือความแตกต่างของการชั่งครั้งล่าสุดกับการชั่งครั้งที่ผ่านมาแตกต่างกันไม่เกิน 0.0005 g หรือ 4% ขึ้นอยู่กับว่าค่าใดจะน้อยกว่ากัน จากนั้นจึงเก็บถ้วยไว้ในตู้ดูดความชื้น จนกระทั่งใช้งาน

4.2 การทดสอบตัวอย่าง

4.2.1 ผสมตัวอย่างน้ำ (ที่มีอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง) ให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องกวนสารละลายแม่เหล็ก

4.2.2 เขย่าตัวอย่างน้ำแล้วตวงตัวอย่างน้ำปริมาตร 10-100 mL (ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำตัวอย่าง) ลงสู่ถ้วยระเหยแห้งที่ทราบน้ำหนักแล้ว ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างภายในรอบ ๆ กระบอกตวง 2 ครั้ง ๆ ละประมาณ 5 mL แล้วเทลงสู่ถ้วยระเหยแห้ง

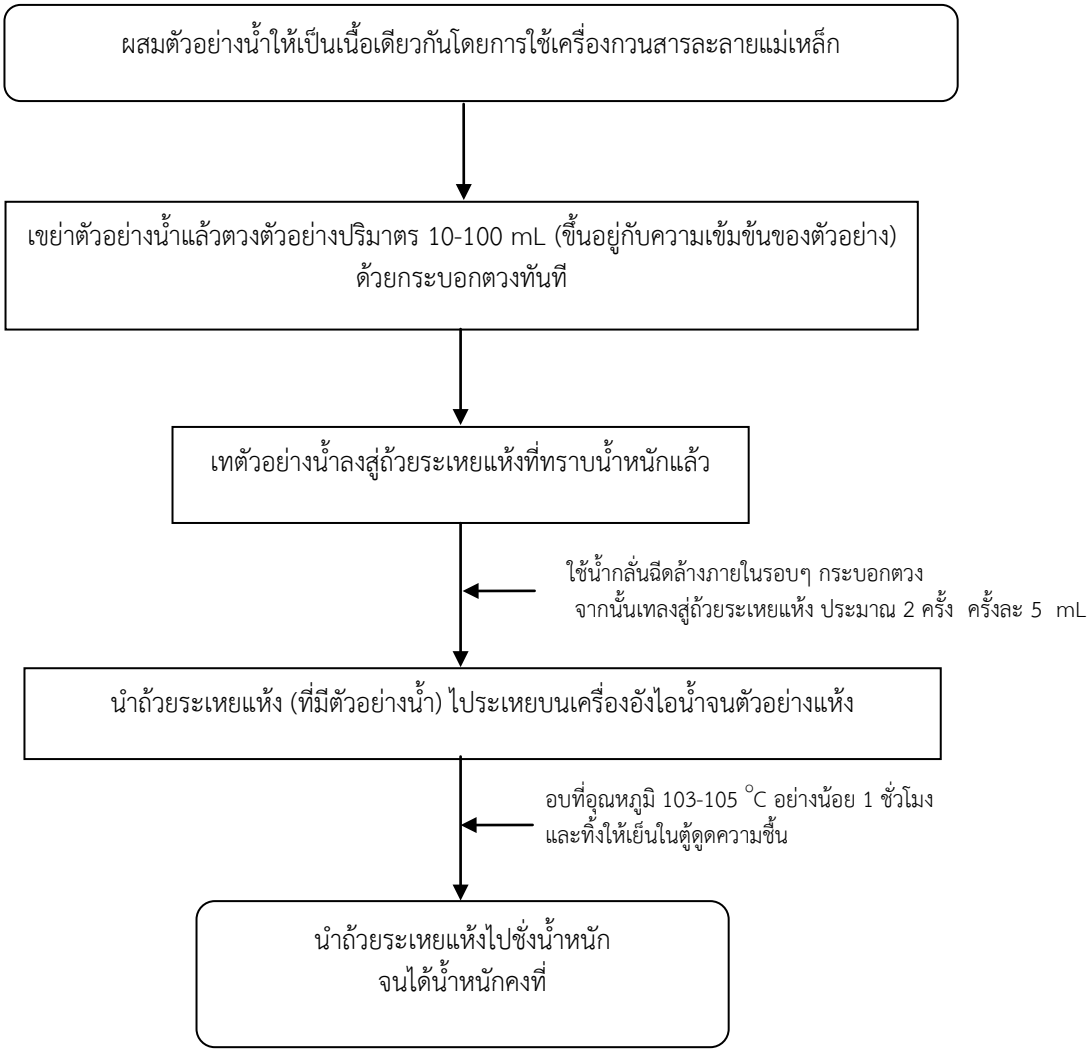
4.2.3 นำถ้วยระเหยแห้งที่มีตัวอย่างน้ำไประเหยบนเครื่องอังไอน้ำที่มีอุณหภูมิ 80 °C จนตัวอย่างแห้ง

4.2.4 นำถ้วยระเหยแห้งไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 °C อย่างน้อย 1 ชั่วโมง และนำไปเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อทิ้งไว้ให้เย็น

4.2.5 นำถ้วยระเหยแห้งไปชั่งน้ำหนักและบันทึกน้ำหนักที่ได้

4.2.6 ทำตามข้อ 4.2.4 ถึง ข้อ 4.2.5 จนได้น้ำหนักคงที่ หรือความแตกต่างของการชั่งครั้งล่าสุดกับการชั่งครั้งที่ผ่านมาแตกต่างกันไม่เกิน 0.0005 g หรือ 4% ขึ้นอยู่กับว่าค่าใดจะน้อยกว่ากัน

ขั้นตอนการทดสอบ



4.3 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด (mg/L)} = \frac{(A - B) \times 10^6}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ (mL)}}$$

โดย A = น้ำหนักถ้วยระเหยแห้งและของแข็งที่ค้างอยู่บนถ้วยระเหยแห้ง (g)
B = น้ำหนักถ้วยระเหยแห้ง (g)

บทที่ 7
ตะกอนหนัก (Settleable Solids)

ผู้รวบรวม
นางสาวตวงพร แป้นพุ่ม นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาววราภรณ์ โตสิงห์ นักวิชาการสิ่งแวดล้อม

<u>การทดสอบโดยปริมาตร</u>

1. หลักการ (Principle)

เทตัวอย่างน้ำที่ผสมเป็นเนื้อเดียวกันใส่ในกรวยอิมฮอฟฟ์ (Imhoff cone) ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ปริมาณตะกอนที่ตกลงสู่ล่างของกรวยอิมฮอฟฟ์ คือ ปริมาณของตะกอนหนัก มีหน่วยเป็น mL/L

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 กรวยอิมฮอฟฟ์ (Imhoff cone) ขนาด 1,000 mL และตะแกรงขาตั้งสำหรับวางกรวยอิมฮอฟฟ์

2.2 แท่งคนพลาสติก

2.3 นาฬิกาจับเวลา

3. ขั้นตอนการทดสอบ

3.1 การทดสอบตัวอย่าง

3.1.1 นำกรวยอิมฮอฟฟ์ (Imhoff cone) ที่ทำความสะอาดแล้วมาใส่ตะแกรงขาตั้ง

3.1.2 นำตัวอย่างน้ำมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน (กรณีตัวอย่างแช่เย็นไว้นำออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อน)

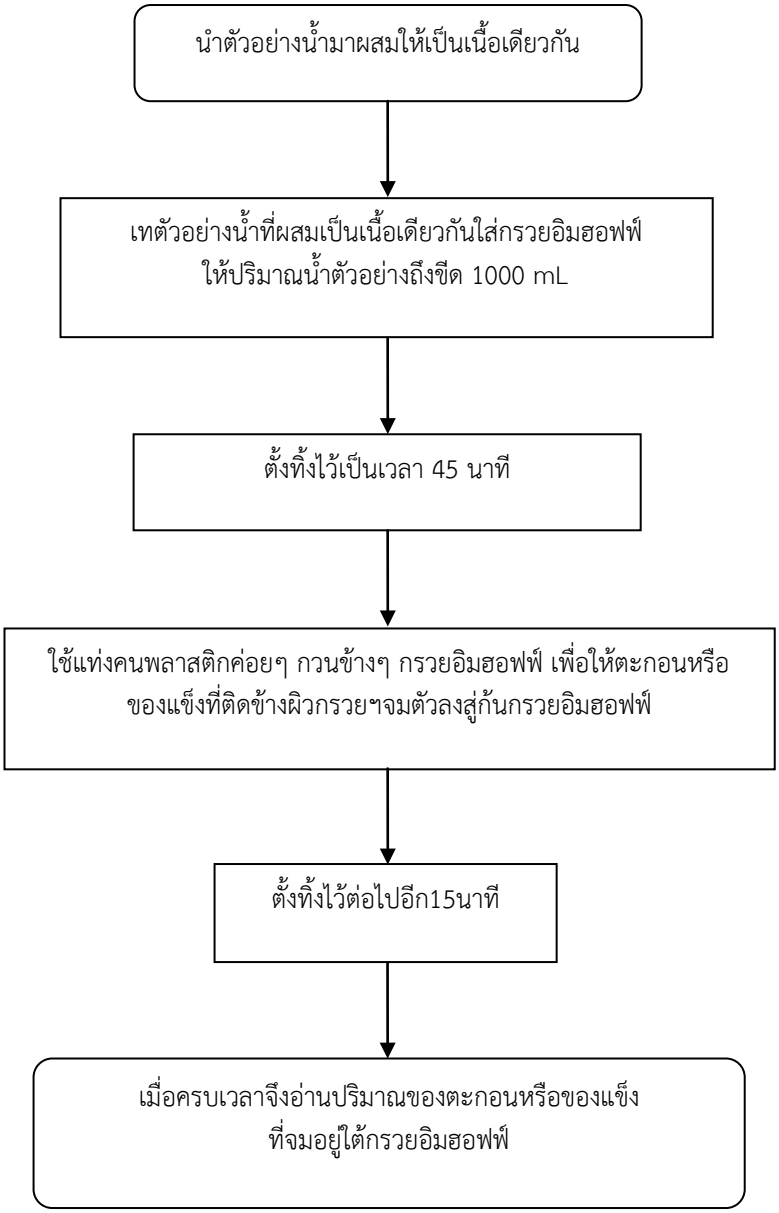
3.1.3 เทตัวอย่างน้ำที่ผสมเป็นเนื้อเดียวกันใส่กรวยอิมฮอฟฟ์ให้ปริมาณตัวอย่างถึงขีด 1000 mL และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา45 นาที

3.1.5 ใช้แท่งคนพลาสติกค่อยๆ กวนข้างๆ กรวยอิมฮอฟฟ์ เพื่อให้ตะกอนหรือของแข็งที่ติดข้างผิวกรวยฯ จมตัวลงสู่ก้นกรวยอิมฮอฟฟ์

3.1.6 ตั้งตัวอย่างน้ำต่อไปอีก15 นาที (รวมทั้งหมดเป็นเวลา 60 นาที)

3.1.7 เมื่อครบเวลาจึงอ่านปริมาณของตะกอนหรือของแข็งที่จมอยู่ใต้กรวยอิมฮอฟฟ์ ซึ่งก็คือปริมาณของตะกอนหนักนั่นเอง

ขั้นตอนการทดสอบ



<u>การทดสอบโดยน้ำหนัก</u>

1. หลักการ

ทดสอบหาปริมาณสารแขวนลอยที่ไม่มีตะกอน และนำมาลบออกจากปริมาณสารแขวนลอยทั้งหมด ค่าที่ได้คือ ปริมาณของตะกอนหนัก มีหน่วยน้ำหนักเป็น mg/L

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 ตู้อบร้อน (hot air oven) ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 103-105 °C

2.2 เครื่องชั่ง (balance analytical) ละเอียด 4-5 ตำแหน่ง

2.3 เครื่องกวนสารละลายแม่เหล็ก (magnetic stirrer) พร้อมแท่งคนแม่เหล็ก (magnetic stirring bar)

2.4 ตู้ดูดความชื้น (desiccator) พร้อม silica gel (เป็นตัวดูดซับความชื้นที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 180 $\pm$ 2 °C เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง และจะต้องนำไปอบใหม่ทุกครั้งเมื่อความชื้นในตู้ดูดความชื้นสูงกว่า 50%

2.5 คีมคีบ (forcep)

2.6 กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 10 100 mL

2.7 ชุดกรองสุญญากาศ (filter support) ที่ประกอบด้วย ขวดกรอง (membrane filter funnel) ถ้วยกรองกูซ (gooch crucible) และเครื่องดูดสุญญากาศ (vacuum pump) พร้อมขวดดูดสุญญากาศ (suction flask) ขนาด 500- 1000 mL

2.8 กระดาษกรอง (glass-fiber filter) GF/C ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 cm

2.9 ขวดปรับปริมาตร(volumetric flask) ขนาด 1000 mL

2.10 aluminum foil

2.11 บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 2 L เส้นผ่านศูนย์กลาง 10 cm

3. ขั้นตอนการทดสอบ

3.1 ทดสอบหาปริมาณสารแขวนลอยทั้งหมด

3.1.1 การเตรียมกระดาษกรองตัวอย่าง

3.1.1.1 เตรียม aluminum foil ให้เป็นรูปก้นบีกเกอร์ ขนาดตามความเหมาะสมในการวางกระดาษกรองและระบุรหัสไว้

3.1.1.2 ประกอบชุดกรองสุญญากาศ คีบกระดาษกรองวางลงในชุดกรอง เปิดเครื่อง และฉีดด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อยจนกระดาษกรองเปียก เพื่อให้กระดาษกรองแนบกับถ้วยกรองกูซ

3.1.1.3 ล้างกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ครั้งละประมาณ 20 mL จากนั้นเปิดชุดกรองสุญญากาศ และทิ้งน้ำล้าง

3.1.1.4 คีบกระดาษกรองออกจากชุดกรองแล้วนำไปวางลงในถ้วย aluminum foil ที่ระบุรหัสไว้

3.1.1.5 นำถ้วย aluminum foil พร้อมกระดาษกรอง ไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 °C อย่างน้อย 1 ชั่วโมง และนำไปเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อทิ้งไว้ให้เย็น

3.1.1.6 นำถ้วย aluminum foil พร้อมกระดาษกรองมาชั่งหาน้ำหนัก และบันทึกน้ำหนักที่ได้

3.1.1.7 ทำตามข้อ 3.1.1.5-3.1.1.6 จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ หรือความแตกต่างของการชั่งครั้งล่าสุดกับการชั่งครั้งที่ผ่านมาแตกต่างกันไม่เกิน 0.0005 g หรือ 4% ขึ้นอยู่กับว่าค่าใดจะน้อยกว่ากัน จากนั้นจึงเก็บถ้วย aluminum foil พร้อมกระดาษกรอง ไว้ในตู้ดูดความชื้นจนกระทั่งใช้งาน

3.1.2 การทดสอบตัวอย่าง

3.1.2.1 ประกอบชุดกรองสุญญากาศ คีบกระดาษกรองจากข้อ 4.1.6 วางลงในชุดกรอง เปิดเครื่อง และฉีดด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อยจนกระดาษกรองเปียก เพื่อให้กระดาษกรองแนบกับถ้วยกรองกูซ

3.1.2.2 ผสมตัวอย่างน้ำ(ที่มีอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง) ให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องกวนสารละลายแม่เหล็ก

3.1.2.3 เขย่าตัวอย่างน้ำแล้วตวงตัวอย่างด้วยกระบอกตวงปริมาตร 10 - 100 mL (ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของตัวอย่างน้ำ) เปิดเครื่อง และเทตัวอย่างน้ำที่ตวงไว้ลงสู่กระดาษกรอง พร้อมกับใช้น้ำกลั่นฉีดล้างภายในรอบๆ กระบอกตวง 2 ครั้งๆ ละประมาณ 10 mL แล้วเทลงสู่กระดาษกรอง กรองจนแห้ง

3.1.2.4 คีบกระดาษกรองออกจากชุดกรองแล้วนำไปวางลงในถ้วย aluminum foil อันเดิม

3.1.2.5 นำถ้วย aluminum foil พร้อมกระดาษกรอง ไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 $^{\circ}$C อย่างน้อย 1 ชั่วโมง และนำไปเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อทิ้งไว้ให้เย็น

3.1.2.6 นำถ้วย aluminum foil พร้อมกระดาษกรองมาชั่งหาน้ำหนักและบันทึกน้ำหนักที่ได้

3.1.2.7 ทำตามข้อ 3.1.2.5-3.1.2.6 จนได้น้ำหนักคงที่หรือความแตกต่างของการชั่งครั้งล่าสุดกับการชั่งครั้งที่ผ่านมาแตกต่างกันไม่เกิน 0.0005 g หรือ 4% ขึ้นอยู่กับว่าค่าใดจะน้อยกว่ากัน

3.2 ทดสอบหาปริมาณสารแขวนลอยที่ไม่ตกตะกอน

3.2.1 การเตรียมกระดาษกรองตัวอย่าง ตามข้อ 3.1.1.1-3.1.1.7

3.2.2 การทดสอบตัวอย่าง

3.2.2.1 นำตัวอย่างน้ำมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน และเทลงในบีกเกอร์ขนาด 2 L โดยใช้ปริมาตรไม่น้อยกว่า 1 L หรืออาจมากกว่า แต่ควรให้ระดับน้ำอยู่ที่ความลึกไม่น้อยกว่า 20 cm

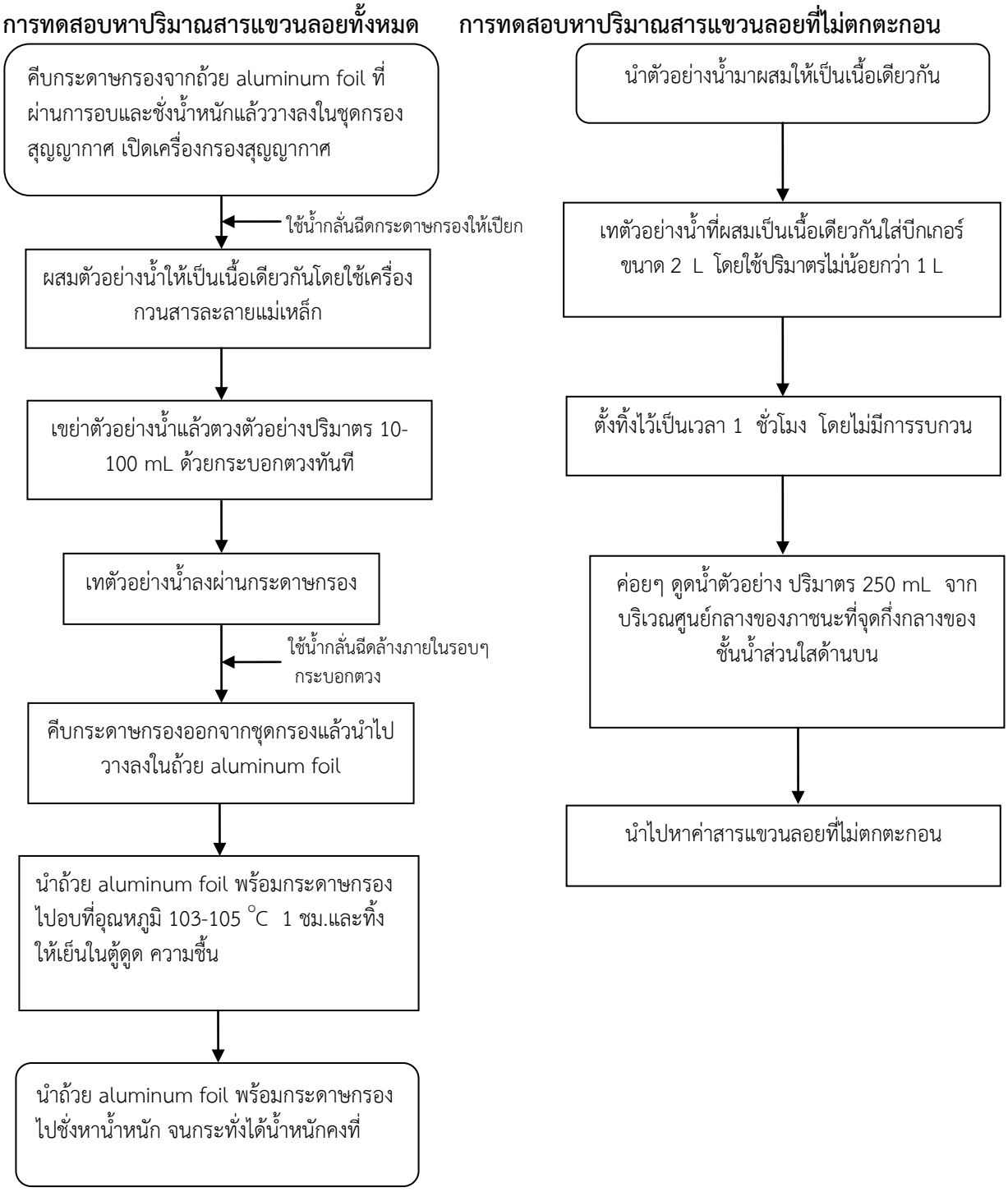
3.2.2.2 ตั้งตัวอย่างทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง โดยไม่มีการรบกวน

3.2.2.3 ค่อยๆ ดูดน้ำตัวอย่าง ปริมาตร 250 mL จากบริเวณศูนย์กลางของภาชนะที่จุดกึ่งกลางของชั้นน้ำส่วนใสด้านบน และนำไปหาค่าสารแขวนลอยที่ไม่ตกตะกอน (ใช้วิธีทดสอบเดียวกับปริมาณสารแขวนลอยทั้งหมด)

4. การคำนวณ

ปริมาณตะกอนหนัก (mg/L) = ปริมาณสารแขวนลอยทั้งหมด - ปริมาณสารแขวนลอยที่ไม่ตกตะกอน

ขั้นตอนการทดสอบ



บทที่ 8
แอมโมเนีย (Ammonia : NH_3)
โดยวิธีฟีเนต (Phenate Method)

ผู้รวบรวม
นายศิริพล กำแพงทอง นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาววราภรณ์ โตสิงห์ นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นางสาวนภาพร วิศวกุล ผู้คิดค้น วิจัย

1. หลักการ (Principle)

หลักการวิเคราะห์แอมโมเนียโดยวิธีฟีเนต (Phenate Method) คือ แอมโมเนียในรูปสารละลายหรือในตัวอย่างน้ำจะทำปฏิกิริยากับไฮโปคลอไรท์ (Hypochlorite) และฟีนอล (Phenol) โดยมีโซเดียมไนโทรปรัสไซด์ (Sodium nitroprusside) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะได้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน (indophenol) นำไปวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร (nm)

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์(spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 640 nm กับคิวเวท หรือ light path ขนาด 1 cm
2.2 ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 125 mL
2.3 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 25 , 50 และ100 mL อย่างละ 1 ใบ
2.4 ปิเปต (pipette) ขนาด 5 25 และ 50 mL อย่างละ 1 อัน
2.5 หลอดหยดพลาสติก (dropper)
2.6 กรวยกรอง (funnel)
2.7 กระดาษกรอง (glass-fiber filter) What man No. 1 หรือ GF/C
2.8 พาราฟิล์ม (parafilm)
2.9 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
2.10 เครื่องกวนสารละลายแม่เหล็ก (magnetic stirrer) พร้อมแท่งคนแม่เหล็ก(magnetic bar)
2.11 บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 100 mL จำนวนเท่าตัวอย่าง
2.12 ปิเปตอัตโนมัติ (Auto pipette) ขนาด 100-1000 µL และ 1-10 mL

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 น้ำกลั่น DI (Deionized Water)

ใช้สำหรับเตรียมสารละลายแบลงค์ สารละลายมาตรฐาน และการเจือจางตัวอย่าง น้ำกลั่นที่ใช้ควรได้จากการกลั่นใหม่ๆ

3.2 สารละลายฟีนอล (Phenol solution)

ชั่ง ฟีนอล (Phenol, C_6H_6O) 5 g ละลายในเอทธิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol, C_2H_5OH) ปริมาตร 50 mL ให้เตรียมใช้แต่ละอาทิตย์

ข้อควรระวัง ในการเตรียม Phenol solution ควรทำในตู้ดูดควันและสารพิษ (Hood) สวมถุงมือ แว่นตา และหน้ากาก (mask) เพื่อป้องกันไอกรด และสารระเหย

3.3 สารละลายโซเดียมไนโทรปรัสไซด์ (Sodium nitropruusside solution) 0.5% น้ำหนัก/ปริมาตร (w/v)

ชั่ง โซเดียมไนโทรปรัสไซด์ไดไฮเดรต (Sodium nitropruusside dihydrate, $Na_2Fe(CN)_5NO.2H_2O$) 0.5 g ละลายในน้ำกลั่น DI และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร เก็บสารละลายนี้ในขวดแก้วสีชา โดยสารละลายมีอายุ 1 เดือน

3.4 สารละลายอัลคาไลน์ซิเตรท (Alkaline citrate solution)

ชั่ง ไตโซเดียมซิเตรทไดไฮเดรต (Trisodium citrate dihydrate, $\{C_3H_4OH(COONa)_3.2H_2O\}$) ชนิด analytical reagent grade 20 g และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH) ชนิด analytical reagent grade 1 g ละลายในน้ำกลั่น DI และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

3.5 โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Sodium hypochlorite)

ใช้ Sodium hypochlorite solution เข้มข้นประมาณ 5% ที่มีขายตามท้องตลาด เช่น คลอร็อก (Clorox) ไฮเตอร์ เป็นต้น เพื่อให้ความเข้มข้นของคลอไรด์มากกว่า 1.5 นอร์มัล (N) ควรซื้อที่ผลิตขึ้นใหม่ ๆ แต่อย่างไรก็ตามต้องตรวจสอบความแรงของสาร(standardization) ที่จะใช้ก่อนตามข้อ 4.1 และควรเตรียมใหม่ทุก ๆ 2 เดือน

3.6 สารละลายออกซิไดซ์ (Oxidizing solution)

ผสมสารละลายอัลคาไลน์ซิเตรท 100 mL และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 25 mL เข้าด้วยกัน หรือในอัตราส่วน 4:1 (ตามตารางที่ 1) สารละลายนี้ควรเตรียมใหม่ทุกวัน

ตารางที่ 1. สัดส่วนของสารละลายอัลคาไลน์ซิเตรท และสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ในการเตรียมสารละลายออกซิไดส์ซิงด์ (Oxidizing solution)

Alkaline citrate solution (mL)	Sodium hypochlorite solution (mL)	ปริมาตรรวม (mL)	จำนวนตัวอย่าง (2.5 mL/1 ตย.)
4	1	5	2
8	2	10	4
12	3	15	6
16	4	20	8
20	5	25	10
24	6	30	12
40	10	50	20
80	20	100	40
100	25	125	50

3.7 สารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย (Standard ammonium solution) ความเข้มข้น 1000 mg /L

ชั่ง NH_4Cl 3.819 g (อบที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นในตู้ดูดความชื้นอย่างน้อย 30 นาที) ละลายในน้ำกลั่น DI และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

1.00 mL = 1 mg – N = 1.22 mg – NH_3

หรืออาจใช้สารละลายมาตรฐานสำเร็จรูป

3.8 สารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย (Standard ammonium solution) ความเข้มข้น 100 mg /L

ปิเปตสารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย ความเข้มข้น 1000 mg/L ปริมาตร 10 mL ลงในน้ำกลั่น DI และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

3.9 สารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต (Sodium triosulfate, ($Na_2S_2O_3.5\ H_2O$)) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (N)

ชั่งโซเดียมไธโอซัลเฟต (Sodium triosulfate, ($Na_2S_2O_3.5\ H_2O$)) 12.5 g ละลายในน้ำกลั่น DI และปรับปริมาตรเป็น 500 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การ Standardize โซเดียมไฮโปคลอไรต์ ด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต (Sodium triosulfate, ($Na_2S_2O_3.5\ H_2O$)) ความเข้มข้น 0.1 N

4.1.2 ชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide, KI) 2 g ละลายในน้ำกลั่น DI 50 mL ใน erlenmeyer flask

4.1.3 เติมสารละลายคลอร็อก (Clorox) หรือไฮเตอร์ 1 mL และกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น conc. Hydrochloric acid, conc. HCl)

4.1.4 ไตรเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.1 N จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นไม่มีสี

ถ้าไตรเตรทแล้ว ใช้สารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต น้อยกว่า 12 mL แสดงว่าคลอร็อก (Clorox) หรือไฮเตอร์ เสื่อมสภาพ ไม่สามารถนำมาใช้วิเคราะห์หาแอมโมเนียได้

4.2 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างมาปรับ pH ได้เป็นกลาง..... ตัวอย่าง fix pH ด้วย.....ปรับ.....หรือ ..... นำตัวอย่างที่เก็บมาใหม่ๆ กรองด้วยกระดาษกรอง whatman No.1 เพื่อไม่ให้ตัวอย่างมีตะกอนและสารแขวนลอย ซึ่งมีผลต่อการทดสอบด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ใช้หลักการดูดกลืนแสงที่ส่องผ่านตัวอย่าง

4.3 การเตรียม calibration curve

4.3.1 นำน้ำกลั่น DI เทใส่ขวดปรับปริมาตร100 mL ประมาณ 50 mL จำนวน 5 ขวด

4.3.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย ความเข้มข้น 100 mg/L ปริมาตร 0.0, 0.10, 0.50, 1.00 และ2.00 mL ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL ตามลำดับ ปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร จะได้อนุกรมของสารละลายมาตรฐาน ซึ่งมีความเข้มข้นของแอมโมเนีย 0.0, 0.10, 0.50, 1.00และ 2.00 mg - N/L ตามลำดับ และทำการทดสอบเหมือนตัวอย่าง

ตารางที่ 2. ปริมาตรในการเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ จาก stock std 100

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน ที่ต้องการ (mg /L)	ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการ (mL)	ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (stock) ที่ใช้ (mg /L)	ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน (stock) ที่ใช้ (ml)
100	100	1000	10
2	100	100	2*=2000 µl
1.5	100	100	1.5
1	100	100	1*=1000 µl
0.5	100	100	0.5*=500 µl
0.3	100	100	0.3
0.2	100	100	0.2
0.1	100	100	0.1*=100 µl
0.05	100	100	0.05*=50 µl
0.01	100	100	0.01

4.4 การทดสอบตัวอย่าง

4.4.1 ตวงตัวอย่างน้ำที่ผ่านการปรับ pH ให้เป็นกลางและกรองแล้ว 25 mL ใส่ลงใน erlenmeyer flask ขนาด 125 mL

4.4.2 เติม สารละลายฟีนอล ปริมาตร 1 mL เขย่าให้เข้ากัน

4.4.3 เติม สารละลายโซเดียมไนโทรปรัสไซด์ ปริมาตร 1 mL เขย่าให้เข้ากัน

4.4.4 เติม สารละลายออกซิไดซ์ ปริมาตร 2.5 mL เขย่าให้เข้ากัน

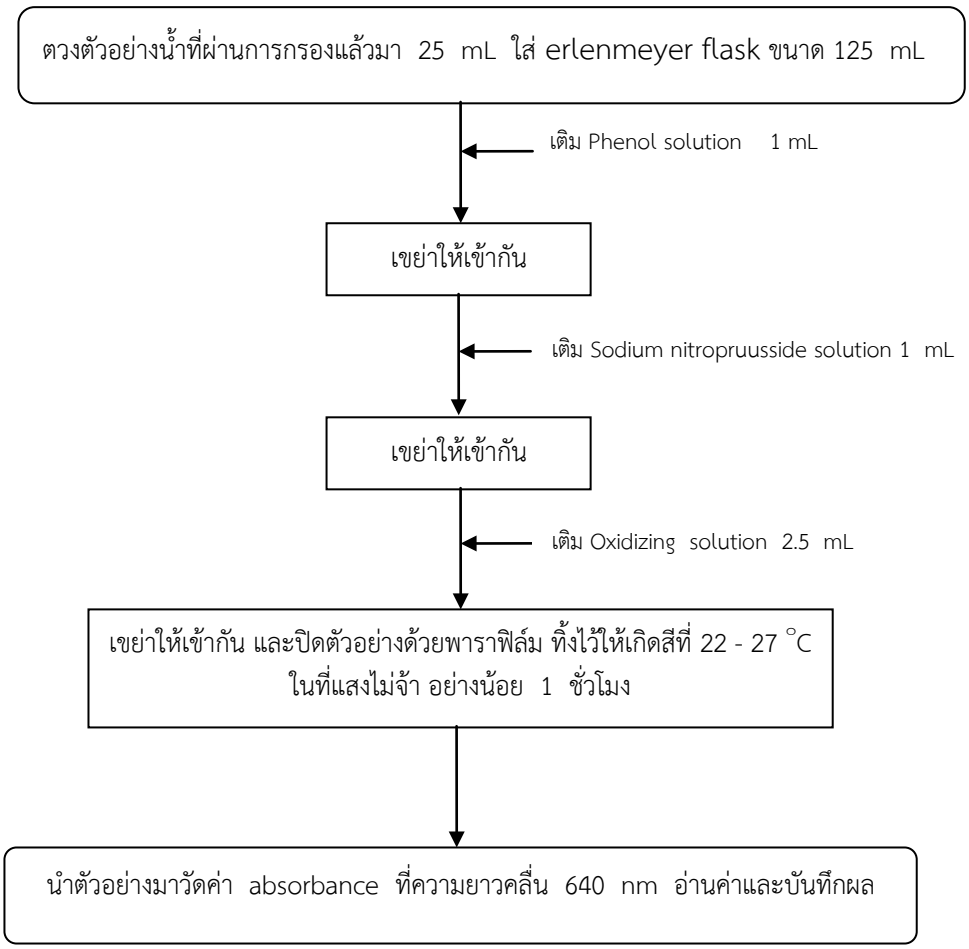
4.4.5 ปิดตัวอย่างด้วยพาราฟิล์มแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เกิดสีที่อุณหภูมิห้อง 22- 27 °Cในที่แสงไม่จ้าอย่างน้อย 1 ชั่วโมง สีที่เกิดขึ้นจะอยู่ตัวภายใน 24 ชั่วโมง

4.4.6 นำตัวอย่างมาวัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 640 nm เทียบกับกราฟมาตรฐาน

4.4.7 เตรียมแบลงค์ และทำการทดสอบเหมือนตัวอย่าง

การเจือจางตัวอย่าง กรณีความเข้มข้นตัวอย่างสูงกล่าวกราฟมาตรฐาน ให้ทำการเจือจางตัวอย่างจากขวดตัวอย่างที่เตรียม เช่น ต้องการเจือจางลง 10 เท่า ก็ pipet .....จากขวดตัวอย่างมา 2.5 ml แล้ว make Volue เป็น 25 ml เป็นต้น แล้วนำไปวัดค่าได้เลย

ขั้นตอนการทดสอบ



4.5 การคำนวณ

ค่า absorbance ที่วัดได้จากเครื่อง เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ Plot ระหว่างค่า absorbance กับค่าความเข้มข้น จะได้ค่า ammonia as N มีหน่วยเป็น mg/L

4.6 การควบคุมคุณภาพ

4.6.1 ทดสอบ method blank

นำน้ำกลั่น DI ทดสอบตามขั้นตอนการทดสอบตัวอย่าง (น้ำกลั่น DI ที่ใช้ควรเป็นน้ำที่กลั่นใหม่)

4.6.2 ทดสอบ QC check standard

- ทดสอบสารมาตรฐานแอมโมเนียจากแหล่งที่แตกต่างจากแหล่งที่ใช้เตรียมกราฟมาตรฐาน โดยเลือกความเข้มข้นใกล้จุดกลางของ calibration curve เช่น ถ้าเตรียมความเข้มข้น 0.6 mg/L นำน้ำกลั่น DI เทใส่ขวดปรับปริมาตร100 mL ประมาณ 50 mL ปิเปตสารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย ความเข้มข้น 100 mg/L ปริมาตร 0.3 mL และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

เกณฑ์การยอมรับ : ± 10% ของค่าจริง (true value)

- ทดสอบ QC check standard ก่อนเริ่มทดสอบตัวอย่าง และทดสอบทุก ๆ 10 ตัวอย่าง

บทที่ 9
ออกซิเจนละลาย (Dissolved Oxygen, DO)

ผู้รวบรวม
นายศิริพล กำแพงทอง นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาววราภรณ์ โตสิงห์ นักวิชาการสิ่งแวดล้อม

1. หลักการ (Principle)

การตรวจวิเคราะห์ออกซิเจนละลายโดยวิธี Azide Modification of Iodometric Method เป็นวิธีการตรวจวัดทางอ้อมโดยใช้หลักการ ออกซิเจนละลายสามารถออกซิไดซ์ Mn^{2+} เป็น Mn^{4+} ภายใต้สภาวะที่เป็นด่าง และ Mn^{4+} จะออกซิไดซ์ไอโอไดด์ (I^-) ไปเป็นไอโอดีน (I_2) ในสภาวะที่เป็นกรด ซึ่งปริมาตรไอโอดีนที่เกิดขึ้นจะสมมูลกับปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ ดังนั้นจึงตรวจวัดปริมาณไอโอดีนโดยการทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา 1 mL มีค่าเท่ากับปริมาณออกซิเจนละลาย 1 mg/L

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 ขวดบีโอดี ขนาด 300 mL พร้อมจุกแก้ว และฝาพลาสติกที่ปิดได้สนิท
2.2 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 200 และ1000 mL
2.3 บิวเรต (burette) ขนาด 50 mL
2.4 ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 500 mL
2.5 ปิเปต (pipette) ขนาด 10 mL

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 น้ำกลั่น (Distilled Water : DW)
3.2 กรดซัลฟิวริคเข้มข้น (conc. Sulfuric acid, conc.H_2SO_4)
3.3 น้ำแป้ง (Starch solution)

ชั่งแป้ง (Soluble starch) ชนิด laboratory grade 20 g และ salicylic acid ($C_7H_6O_3$) 2 g (เพื่อป้องกันการบูดของแป้ง) ละลายในน้ำกลั่นร้อน 1000 mL

3.4 สารละลายแมงกานีสซัลเฟต (Manganese sulfate solution)

ชั่งแมงกานีสซัลเฟตเตตระไฮเดรต (Manganese sulfate tetrahydrate, $MnSO_4.4H_2O$) 480g หรือ แมงกานีสซัลเฟตไดไฮเดรต (Manganese sulfate dehydrate, $MnSO_4.2H_2O$) 400 g หรือ แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต (Manganese sulfate monohydrate, $MnSO_4.H_2O$) 364 g ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นนำไปกรอง และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร สารละลายนี้จะต้องไม่เกิดสีกับน้ำแป้งเมื่อเติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide solution) ในสภาพที่เป็นกรด

3.5 สารละลายอัลคาไลด์ ไอโอไดด์ เอไซด์ (Alkali–Iodide–Azide solution)

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH) 500 g หรือ โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์(Potassium hydroxide, KOH) 700 g และโซเดียมไอโอไดด์ (Sodium iodide, NaI) 135 g หรือโพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide, KI) 150 g ละลายในน้ำกลั่น และเติมโซเดียมเอไซด์

(Sodium azide, NaN_3) (ชั่ง NaN_3 10 g ละลายในน้ำกลั่น 40 mL) ลงในสารละลายอัลคาไลด์ ไอโอไดด์ (Alkali–iodide) และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.6 สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต (Standard sodium thiosulfate titrant) ความเข้มข้น 0.025 N

ชั่งโซเดียมไธโอซัลเฟตเพนตระไฮเดรต (Sodium thiosulfate pentahydrate, $Na_2S_2O_3.5H_2O$) 6.205 g และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.4 g ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร standardize กับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไบไอโอเดรต (Standard Potassium bi-iodate solution)

3.7 สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไบไอโอเดรต (Standard Potassium bi-iodate solution) ความเข้มข้น 0.025 N

ชั่งโพแทสเซียมไบไอโอเดรต (Potassium bi-iodate, $KH(IO_3)_2$) 812.4 mg ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 Standardization

Standardize สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต ด้วยสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไบไอโอเดรต ความเข้มข้น 0.025 N

4.1.1 ชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide, KI) ประมาณ 2 g ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 100–150 mL

4.1.2 เติมกรดซัลฟิวริคเข้มข้น ปริมาตร 0.5 mL

4.1.3 เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไบไอโอเดรต ปริมาตร 20 mL

4.1.4 ปรับปริมาตรเป็น 200 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

4.1.5 นำไปไตเตรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต โดยใช้น้ำแป้งเป็น indicator เมื่อถึงจุดยุติ (end point) สารละลายจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสารละลายไม่มีสี

4.1.6 คำนวณความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต (titrant) จากสูตร

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

โดย N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต

V_1 = ปริมาตรของ สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ในการไตเตรท

N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไบไอโอเดรต

V_2 = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไบไอโอเดรต

4.2 การทดสอบตัวอย่าง

4.2.1 นำตัวอย่างน้ำที่เก็บในขวดบีโอดี ขนาด 250-300 mL

4.2.2 เติม Manganese Sulfate Solution 1 mL และ Alkali – Iodide – Azide solution 1 mL ลงในขวด BOD ที่ใส่น้ำตัวอย่างโดยให้ปลายปิเปตอยู่เหนือผิวน้ำตัวอย่างเล็กน้อย ปิดจุกขวดระวังอย่าให้มีฟองอากาศผสมให้เข้ากันโดยคว่ำขวดขึ้นลง 15 ครั้ง

4.2.3 ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนจนได้ปริมาณน้ำใส 1/2 ของขวด

4.2.4 เติม conc.H_2SO_4 1mL ปิดจุกขวดก่อนตะกอน (Oxidised floc) จะล้นออกจากปากขวดเขย่ากลับไปกลับมาประมาณ 15 ครั้ง

4.2.5 ถ้าใช้ขวด BOD ที่มีความจุ 300 mL ต้องตวงตัวอย่างจากขวดปริมาตร 201 mL เพื่อนำไปไตเตรต (ปริมาตรตัวอย่างนี้มีค่าเท่ากับปริมาตรน้ำตัวอย่างเริ่มต้น 200 mL) เนื่องจากมีการสูญเสียน้ำตัวอย่างจากขวดบีโอดีโดยการแทนที่ของสารละลายเคมีที่เติมลงไปทั้งสิ้น 2 mL ดังนั้นปริมาตรตัวอย่างซึ่งใช้ในการไตเตรตจึงควรเท่ากับ $\frac{200 \times 300}{(300 - 2)}$ = 201 mL

โดยได้จากการคำนวณดังนี้

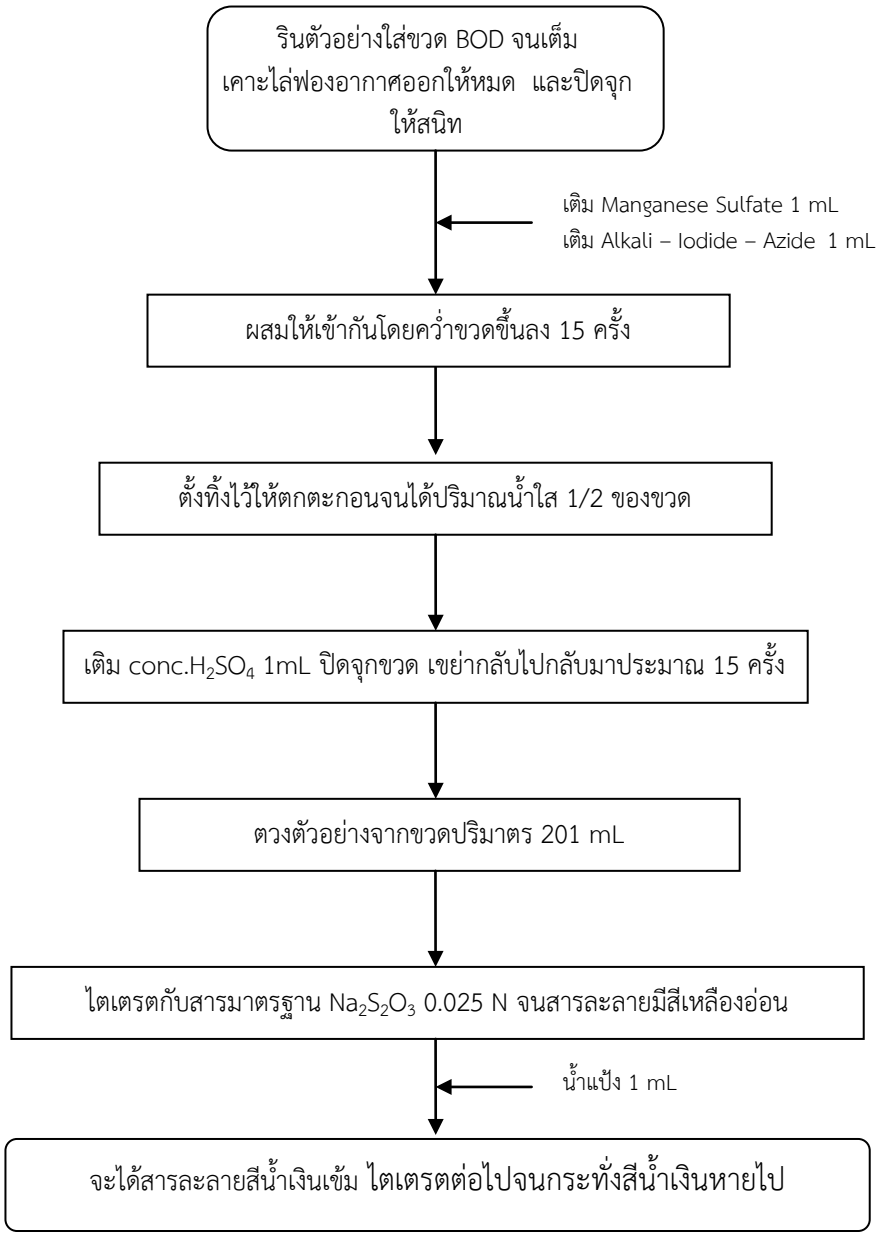
ตัวอย่างจริง 300-2 มิลลิลิตร คิดเทียบเท่ากับตัวอย่างที่ผสมน้ำยาแล้ว 300 มิลลิลิตร

ตัวอย่างจริง 200 มิลลิลิตร คิดเทียบเท่ากับตัวอย่างที่ผสมน้ำยาแล้ว $\frac{300 \times 200}{(300-2)}$ = 201 มิลลิลิตร

4.2.6 ไตเตรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.025 N จนกระทั่งสารละลายมีสีเหลืองอ่อน เติมน้ำแป้ง 1 mL จะได้สารละลายสีน้ำเงินเข้ม ไตเตรตต่อไปจนกระทั่งสีน้ำเงินหายไป

4.2.7 บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้สำหรับการไตเตรต (สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 1 mL มีค่าเท่ากับออกซิเจนละลาย 1 mg/L)

ขั้นตอนการทดสอบโดยวิธีตรง



5. การควบคุมคุณภาพ

1. การวิเคราะห์ซ้ำในตัวอย่างเดียวกัน (duplicate analysis pair)

วิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกัน จำนวน 2 ครั้ง เพื่อทดสอบความแม่นยำของผู้ที่ทำการทดสอบ หลังจากนั้นนำผลการทดสอบมาคำนวณหา % ความแตกต่างสัมพัทธ์ (% Relative Percent Diffrence : RPD)

$$\% \text{ ความแตกต่างสัมพัทธ์} = \frac{\text{(ผลการทดสอบครั้งที่ 1 – ผลการทดสอบครั้งที่ 2)}}{\text{ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบทั้ง 2 ครั้ง}} \times 100$$

เกณฑ์การยอมรับ = 10%

บทที่ 10
ฟอสฟอรัสรวม (Total Phosphorus, TP)

ผู้รวบรวม
นางสาวตวงพร แป้นพุ่ม นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาวจุไรรัตน์ มหาเทียน นักวิชาการสิ่งแวดล้อม

1. หลักการ (Principle)

Phosphorus ซึ่งอยู่ในรูปต่างๆ จะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของออโธฟอสเฟต (Autophosphate) โดยการย่อย (digest) ด้วยกรดซัลฟูริก (sulfuric acid) จากนั้นจึงหาปริมาณออโธฟอสเฟต ด้วยวิธี ascorbic acid method

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 880 nm (UV/VIS)
2.2 บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 100, 250 และ 1000 mL
2.3 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 50, 100 และ 2000 mL
2.4 ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 125 และ250 mL
2.5 เครื่องชั่ง (balance analytical) ละเอียด 4-5 ตำแหน่ง
2.6 เตาให้ความร้อน (hot plate)
2.7 ปิเปตอัตโนมัติ (micropipette)
2.8 กระดาษกรอง (glass-fiber filter) GF/A ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 cm

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 สารละลายฟีนอฟทาลีนอินดิเคเตอร์ (Phenolpthalene indicator solution)

ชั่ง ฟีนอฟทาลีน (Phenolpthalene) 100 mg (0.1 g) ละลายใน ethanol เพื่อช่วยในการละลาย และปรับปริมาตรให้เป็น 100 mL ด้วย ethanol ในขวดปรับปริมาตร เก็บสารละลายในขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิห้อง สารละลายนี้มีอายุไม่เกิน 1 ปี (เมื่อเริ่มตกตะกอนให้เติม ethanol เล็กน้อย)

3.2 สารละลายกรดซัลฟิวริค (Sulfuric acid solution) ความเข้มข้น 11 นอร์มัล (N)

เติมกรดซัลฟิวริคเข้มข้น (conc.H_2SO_4) (98%) ปริมาตร 150 mL ลงในน้ำกลั่น DI ประมาณ 300 mL และปรับปริมาตรให้เป็น 500 ml ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร เก็บในขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิห้อง

3.3 สารละลายกรดซัลฟิวริค ความเข้มข้น 5 นอร์มัล

เติม conc.H_2SO_4 ปริมาตร 136 mL ลงในน้ำกลั่น DI ประมาณ 600 mL และปรับปริมาตรให้เป็น 1000 ml ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร เก็บสารละลายในขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิห้อง

3.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide solution) ความเข้มข้น 1 นอร์มัล

ชั่ง โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH) 40 g ละลายในน้ำกลั่น DI และปรับปริมาตรให้เป็น 1000 ml ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร เก็บสารละลายนี้ในขวดพลาสติกที่อุณหภูมิห้อง โดยสารละลายนี้มีอายุไม่เกิน 6 เดือน หรือเมื่อสารละลายเริ่มขุ่น

3.5 สารละลายแอนติโมนีโพแทสเซียมทาเทรต (Antimony potassium tartrate solution)

ชั่ง โพแทสเซียมแอนติโมนีทาเทรตเฮมิไฮเดรต ($K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 0.5\ H_2O$) จำนวน 1.3715 g ละลายในน้ำกลั่น DI ประมาณ 400 mL และปรับปริมาตรให้เป็น 500 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร เก็บสารละลายในขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10°C สารละลายนี้มีอายุไม่เกิน 3 เดือน

3.6 สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต (Ammonium molybdate solution)

ชั่ง แอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรต ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$) จำนวน 20 g ละลายในน้ำกลั่น DI ประมาณ 300 mL และปรับปริมาตรให้เป็น 500 ml ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร เก็บสารละลายนี้ในขวดแก้สีชาที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10°C สารละลายนี้มีอายุไม่เกิน 3 เดือน

3.7 กรดแอสคอร์บิค ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (M)

ชั่งกรดแอสคอร์บิค (Ascorbic acid) จำนวน 1.76 g ในน้ำกลั่น DI และปรับปริมาตรให้เป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร สารละลายนี้ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งหรือเก็บไว้ได้ 1 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4°C

3.8 น้ำยาเคมีรวม (Combined reagent)

ผสมน้ำยาเคมีทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ สารละลายกรดซัลฟิวริค ความเข้มข้น 5 N ปริมาตร 50 mL สารละลายแอนติโมนีโพแทสเซียมทาเทรต ปริมาตร 5 mL สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต ปริมาตร 15 mL และกรดแอสคอร์บิค ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 30 mL (ก่อนผสมให้ตั้งสารละลายแต่ละชนิดจนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง ถ้ามีความขุ่นเกิดขึ้นในการผสมหลังจากเติมโพแทสเซียมโมนีตาเตรตเฮมิไฮเดรต และแอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรตให้เขย่าสารละลายผสมนี้แล้วตั้งทิ้งไว้ 2-3 นาทีจนกระทั่งความขุ่น หายไปจึงเติมสารตัวอื่นต่อไป) สารละลายนี้รวมตัวอยู่ได้ 4 ชั่วโมง

3.9 สารละลายมาตรฐานฟอสเฟต (Standard Phosphate solution)

นำโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต แอนไฮดรัส (anhydrous Dihydrogen phosphate, KH_2PO_4) (อบที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมงแล้วนำไปดูดความชื้นตู้ดูดความชื้น) หลังจากนั้นชั่ง KH_2PO_4 0.2195 g ละลายในน้ำกลั่น DI และปรับปริมาตรให้เป็น 1000 ml ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร ซึ่งจะได้ Stock ที่มีความเข้มข้น 50 mg/L (1 mL ของสารละลายนี้ = 50.0 µg PO_4^{3-}-P)

3.10 น้ำกลั่น DI (Deionized Water, DI)

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การเตรียมตัวอย่าง

4.1.1 เทตัวอย่างน้ำที่ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จำนวน 50 ml ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 mL หรือ 250 mL

4.1.2 เติม 11 N H_2SO_4จำนวน 1 mL และเติม $K_2S_2O_8$ 0.5 กรัม

4.1.3 นำไปย่อย (digate) ให้เหลือปริมาตร 10 mL (ระวังอย่าให้สารละลายเดือด)

4.1.4 ทิ้งไว้ให้เย็นเติม Phenolpthalene indicator 1-2 หยด จากนั้นเติม 6 N NaOH จนได้สีชมพู

4.1.5 นำตัวอย่างน้ำมากรองด้วยกระดาษกรอง กระดาษกรอง (glass-fiber filter) GF/A ขนาด 7 cm

4.1.6 ปรับปริมาตรให้เป็น 50 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดวัดปริมาตร

4.2 การเตรียม calibration curve

4.3.1 นำน้ำกลั่น DI เทใส่ขวดปรับปริมาตร 50 mL ประมาณ 20 mL จำนวน 5 ขวด

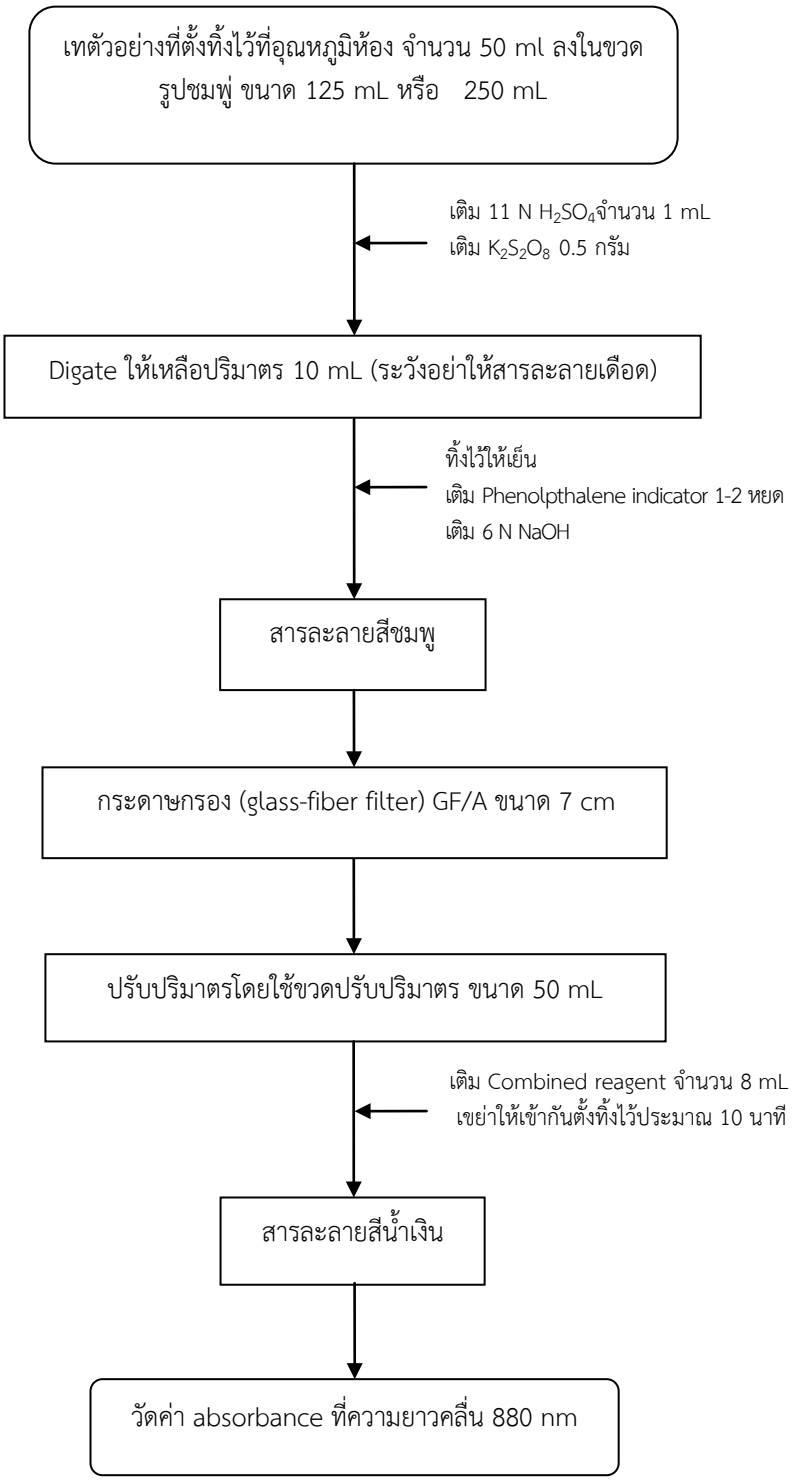
4.3.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต ความเข้มข้น 50 mg/L ปริมาตร 0, 10, 50, 100, 300, 500 และ1000 μL ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 mL ตามลำดับ

4.3.3 ปรับปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร จะได้อนุกรมของสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต ซึ่งมีความเข้มข้น 0.00, 0.01, 0.05, 0.10, 0.30, 0.50 และ 1.00 mg/L ตามลำดับ และทำการทดสอบเหมือนตัวอย่าง

4.3 การทดสอบตัวอย่าง

นำตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 4.1 มาเติม combined reagent จำนวน 8 mL ต่อ 1 ตัวอย่าง เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที เพื่อให้เกิดสีน้ำเงิน นำไปวัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 880 nm โดยจะต้องวัดภายใน 30 นาที

ขั้นตอนการทดสอบ



4.4 การควบคุมคุณภาพ

4.4.1 ทดสอบ QC check standard

4.4.1.1 ทดสอบสารมาตรฐานฟอสเฟตจากแหล่งที่แตกต่างจากแหล่งที่ใช้เตรียมกราฟมาตรฐาน โดยเลือกความเข้มข้นใกล้จุดกลางของ calibration curve เช่น ถ้าเตรียมความเข้มข้น 0.4 mg/L

- นำน้ำกลั่น DI เทใส่ขวดปรับปริมาตร 50 mL ประมาณ 20 mL
- ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต ความเข้มข้น 1000 mg/L ปริมาตร 20 μL และปรับปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร
- นำไปทดสอบทุกขั้นตอนเหมือนกับการทดสอบตัวอย่าง

เกณฑ์การยอมรับ : ± 10% ของค่าจริง (true value)

4.4.1.2 ทดสอบ QC check standard ก่อนเริ่มทดสอบตัวอย่าง และทดสอบทุก ๆ 10 ตัวอย่าง

บทที่ 11
บีโอดี (Biological Oxygen Demand: BOD)

ผู้รวบรวม
นายศิริพล กำแพงทอง นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาวตวงพร แป้นพุ่ม นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาววราภรณ์ โตสิงห์ นักวิชาการสิ่งแวดล้อม

1. หลักการ (Principle)

บีโอดี เป็นการวัดความสกปรกของน้ำคิดเปรียบเทียบในรูปของปริมาณออกซิเจน (O_2) ที่ลดลงเนื่องจากจุลชีพจำพวกแบคทีเรีย (Bacteria) นำไปใช้ในกระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์(organic) โดยการหาค่าความต่างของปริมาณออกซิเจนที่ละลายในตัวอย่างน้ำที่วัดได้วันแรก (DO_0) กับปริมาณออกซิเจนที่ละลายในตัวอย่างน้ำเดียวกันที่เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ (incubator) 20 ± 1°C เป็นเวลา 5 วัน (DO_5)

$$BOD = DO_0 - DO_5$$

DO_0 = ค่าออกซิเจนละลายในน้ำที่ไตเตรตได้ในวันแรก

DO_5 = ค่าเฉลี่ยออกซิเจนละลายในน้ำที่ไตเตรตได้ หลังจากเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 20 ± 1 ˚C เป็นเวลา 5 วัน

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 ขวดบีโอดี ขนาด 300 mL พร้อมจุกแก้ว และฝาพลาสติกที่ปิดได้สนิท
2.2 ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 ml จำนวน 2 ใบ
2.3 บิวเรต (burette) ขนาด 50 ml จำนวน 1 อัน
2.4 ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาดความจุ 500 mL
2.5 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (incubator) ควบคุมอุณหภูมิที่ 20± 1 ˚C
2.6 ปิเปต (pipette) ขนาด 10 ml จำนวน 4 อัน
2.7 กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 1000 mL
2.8 อุปกรณ์เติมอากาศ
2.9 ขวดวัดปริมาตร ขนาด 200 ml (ปรับปริมาตรเป็น 201 ml) จำนวน 1 ใบ
2.10 ก้านจุก

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 น้ำกลั่น (Distilled Water : DW)
3.2 Sulfuric acid เข้มข้น (conc.H_2SO_4)
3.3 Sulfuric acid (H_2SO_4) ความเข้มข้น 1 N

ปิเปต conc.H_2SO_4 ปริมาตร 2.8 mL ลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.4 Starch solution

ชั่งแป้ง (Soluble starch) ชนิด laboratory grade 20 g และ salicylic acid ($C_7H_6O_3$) 2 g (เพื่อกันไม่ให้แป้งบูด) ละลายในน้ำกลั่นร้อน 1000 mL

3.5 Manganese sulfate solution

ชั่ง Manganese sulfate tetrahydrate ($MnSO_4.4H_2O$) 480 g หรือManganese sulfate dihydrate ($MnSO_4.2H_2O$) 400 g หรือ Manganese sulfate monohydrate ($MnSO_4.H_2O$) 364 g ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นนำไปกรอง และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL สารละลายนี้จะต้องไม่เกิดสีกับน้ำแป้งเมื่อเติม potassium iodide solution ในสภาพที่เป็นกรด

3.6 Alkali – Iodide – Azide solution

ชั่ง Sodium hydroxide (NaOH) 500 g หรือ Potassium hydroxide (KOH) 700 g และ Sodium iodide (NaI) 135 g หรือ Potassium iodide (KI) 150 g ละลายในน้ำกลั่น และเติมโซเดียมเอไซด์ (NaN_3) (ชั่ง NaN_3 10 g ละลายในน้ำกลั่น 40 mL) ลงในสารละลาย Alkali – Iodide และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.7 Standard sodium thiosulfate titrant ความเข้มข้น 0.025 N

ชั่ง Sodium thiosulfate pentahydrate ($Na_2S_2O_3.5H_2O$) 6.205 g และ Sodium hydroxide (NaOH) 0.4 g ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร standardize กับ Standard potassium bi-iodate solution

3.8 Standard potassium bi-iodate solution ความเข้มข้น 0.025 N

ชั่ง Potassium bi-iodate [$KH(IO_3)_2$] 812.4 mg ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.9 Magnesium sulfate solution

ชั่ง Magnesium sulfate heptahydrate ($MgSO_4.7H_2O$) 22.5 g ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.10 Calcium chloride solution

ชั่ง Calcium chloride ($CaCl_2$) 27.5 g ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.11 Ferric chloride solution

ชั่ง Ferric chloride hexahydrate ($FeCl_3.6H_2O$) 0.25 g ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.12 Phosphate buffer solution

ชั่ง Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) 8.5 g Dipotassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4) 21.75 g และDisodium hydrogen phosphate heptahydrate ($Na_2HPO_4.7H_2O$) 33.4 g และAmmonium chloride (NH_4Cl) 1.7 g ละลายในน้ำกลั่น 500 mL และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร สารละลายนี้จะมีค่า pH เท่ากับ 7.2

3.13 Glucose-Glutamic acid solution

ชั่ง Glucose และ Glutamic acid ชนิด reagent grade (อบที่อุณหภูมิ 103 $^{\circ}C$ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง) อย่างละ 0.15 g ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวด

ปรับปริมาตร สารละลายนี้ควรเตรียมใหม่ทุกครั้ง เว้นแต่จะเก็บไว้ในสภาวะที่ปลอดเชื้อ ในที่ที่มีอุณหภูมิน้อยกว่าหรือเท่ากับ 4 $^{\circ}C$

3.14 Sodium hydroxide (NaOH) ความเข้มข้น 1 N

ชั่ง NaOH 40 g ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.15 Sulfuric acid ความเข้มข้น 1 N

เติม Conc. H_2SO_4 ปริมาตร 28 mL ลงในน้ำกลั่นประมาณ 600 mL และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ในขวดปรับปริมาตร เก็บในขวดแก้วสีชาที่อุณหภูมิห้อง

3.16 Sodium sulfite solution

ชั่ง Sodium sulfite (Na_2SO_3) 1.575 g ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ในขวดปรับปริมาตร (สารละลายนี้จะต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง)

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การ Standardize Standard sodium thiosulfate titrant ด้วย Standard potassium bi-iodate solution ความเข้มข้น 0.025 N

4.1.1 ชั่ง Potassium iodide (KI) ประมาณ 2 g ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 100 – 150 mL

4.1.2 เติม conc.H_2SO_4 ปริมาตร 0.5 mL

4.1.3 เติม Standard potassium bi-iodate solution ปริมาตร 20 mL

4.1.4 ปรับปริมาตรเป็น 200 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

4.1.5 นำไปไตเตรตกับ Standard sodium thiosulfate titrant โดยใช้น้ำแป้งเป็น indicator เมื่อถึงจุดยุติ (end point) สารละลายจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสารละลายไม่มีสี

4.1.6 คำนวณความเข้มข้นของ Standard sodium thiosulfate titrant จากสูตร

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

โดย N_1 = N ของ Standard sodium thiosulfate titrant

V_1 = ปริมาตรของ Standard sodium thiosulfate titrant ที่ใช้ในการไตเตรต

N_2 = N ของ Standard potassium bi-iodate solution

V_2 = ปริมาตรของ Standard potassium bi-iodate solution

4.2 การเตรียมตัวอย่าง

4.2.1 นำตัวอย่างน้ำมาวัด pH ถ้าไม่อยู่ในช่วง 6.0-8.0 ให้ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 7.0-7.2 โดยการเติม 1 N H_2SO_4 หรือ 1 N NaOH โดยปริมาณของ 1 N H_2SO_4 หรือ 1 N NaOH ที่ใช้ปรับ pH ต้องไม่ทำให้ตัวอย่างน้ำมีปริมาตรเกิน 0.5% ของปริมาตรเดิม

4.2.2 ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำมีคลอรีนตกค้าง (residual chlorine) จำเป็นจะต้องกำจัดออกก่อน โดยปกติคลอรีนตกค้างจะลดลงเองเมื่อตั้งตัวอย่างทิ้งไว้ 1 – 2 ชั่วโมง แต่ในตัวอย่างที่คลอรีนตกค้างปริมาณมากๆ จะต้องกำจัดโดยเติม Sodium sulfide solution ซึ่งปริมาณที่จะต้องเติมลงไปหาได้จากการนำตัวอย่างน้ำปริมาตร 100 – 1000 mL เติม H_2SO_4 1 + 50 (H_2SO_4 1 mL + น้ำกลั่น

50 mL) 10 mL เติม Potassium iodide solution 10 mL (ชั่ง Potassium iodide 10 g ละลายในน้ำกลั่น 100 mL) จากนั้นไตเตรต ด้วย Standard sodium thiosulfate titrant 0.025 N โดยใช้น้ำแป้งเป็น indicator จะทราบปริมาณของ Standard sodium thiosulfate titrant ที่ต้องเติมในตัวอย่างน้ำ หลังจากเติม Sodium sulfide solution ตามปริมาณที่คำนวณได้ในตัวอย่างน้ำแล้วกวนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 – 20 นาที (ข้อควรจำ : ปริมาณ Sodium sulfide solution ที่มากเกินไปจะทำให้ความต้องการออกซิเจน และการตอบสนองต่อ Organic chloramine compound ช้าลง ซึ่งจะส่งผลต่อการทดสอบตัวอย่าง)

4.2.3 ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำมีสารพิษเจือปนอยู่ปริมาณมากจะฆ่าเชื้อแบคทีเรียตาย เช่น น้ำทิ้งจากโรงงานชุบโลหะ โรงงานผลิตสารเคมี เป็นต้น จะต้องศึกษาวิธีกำจัดออกก่อน

4.2.4 กรณีตัวอย่างน้ำที่มีความเข้มข้นของ DO มากกว่าจุดอิ่มตัวที่ 20 °C ซึ่งสามารถพบได้ในน้ำตัวอย่างที่มีอุณหภูมิต่ำหรือในแหล่งน้ำที่เกิดกระบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) เพื่อป้องกันการสูญเสียปริมาณออกซิเจนระหว่างการบ่มจึงต้องลดปริมาณ DO ลงโดยการนำตัวอย่างไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 20±3 °C ในภาชนะปิด แล้วนำไปเขย่า หรือเติมอากาศ จากนั้นนำไปกรอง

4.2.5 กรณีตัวอย่างน้ำที่มี Hydrogen peroxide ปนเปื้อน โดย Hydrogen peroxide ในน้ำเสียจะมาจากกระบวนการฟอกสีของโรงงานอุตสาหกรรมบางประเภท เช่น โรงงานกระดาษ บ่อบำบัดของโรงงานทอผ้า สำหรับการวิเคราะห์ BOD ให้นำน้ำตัวอย่างใส่ภาชนะเปิดแล้วเขย่าเพื่อให้ Hydrogen peroxide สลายตัว หลังจากนั้นให้ตรวจดูปริมาณ peroxide ที่สลายตัวไปโดยใช้ Peroxide specific test strip วัดความเข้มข้นของ DO ตลอดระยะเวลาการเขย่า ระยะเวลาการเขย่าควรอยู่ในช่วง 1-2 ชั่วโมง ทั้งนี้ต้องขึ้นกับปริมาณของ Hydrogen peroxide (ปฏิกิริยา peroxide จะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์เมื่อค่า DO ไม่เพิ่มขึ้นภายในช่วง 30 นาที

4.3 การทดสอบตัวอย่าง

การทดสอบตัวอย่างมี 2 วิธี ได้แก่ วิธีโดยตรง (direct method) และวิธีทำให้เจือจาง (Dilution Method)

4.3.1 วิธีโดยตรง (direct method)

ใช้ในกรณีตัวอย่างน้ำมีค่า BOD น้อยกว่า 7 mg/L ได้แก่ น้ำประเภท แม่น้ำ คลอง บึง สระ ฯลฯ

4.3.1.1 นำน้ำตัวอย่างที่ปรับปรุงแล้วตามข้อ 4.2 ประมาณ 1- 1.5 L มาปรับอุณหภูมิให้ได้ 20 ± 3° C

4.3.1.2 เติมอากาศให้มีออกซิเจน(O_2) ละลายอิ่มตัว(ใช้เวลาประมาณ 20–30 นาที)

4.3.1.3 รินน้ำตัวอย่างลงในขวด BOD จนเต็ม 3 ขวดปิดจุกให้สนิทดูให้แน่ใจว่ามีน้ำหล่อที่ปากขวด นำขวดหนึ่งมาหาค่า DO_0 ก่อน อีก 2 ขวดนำไปเก็บไว้ใน Incubator ควบคุมอุณหภูมิที่ 20± 3° C เป็นเวลา 5 วัน เมื่อครบกำหนดนำมาหาค่า DO_5

4.3.1.4 การหาค่าออกซิเจนละลาย (DO)

การหาค่าออกซิเจนละลายจากตัวอย่างน้ำซึ่งเก็บไว้ในขวด BOD ขนาด 300 mL ทำได้ดังต่อไปนี้

- เติม Manganese Sulfate Solution 1 mL และ Alkali – Iodide – Azide solution 1 mL ลงในขวด BOD ที่ใส่ น้ำตัวอย่างโดยให้ปลายปิเปตอยู่เหนือผิวน้ำตัวอย่างเล็กน้อย ปิดจุกขวดระวังอย่าให้มีฟองอากาศผสมให้เข้ากันโดยคว่ำขวดขึ้นลง 15 ครั้ง

- ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนจนได้ปริมาณน้ำใส 1/2 ของขวด

- เติม conc.H_2SO_4 1mL ปิดจุกขวดก่อนตะกอน (Oxidised floc) จะล้นออกจากปากขวดเขย่ากลับไปกลับมาประมาณ 15 ครั้ง

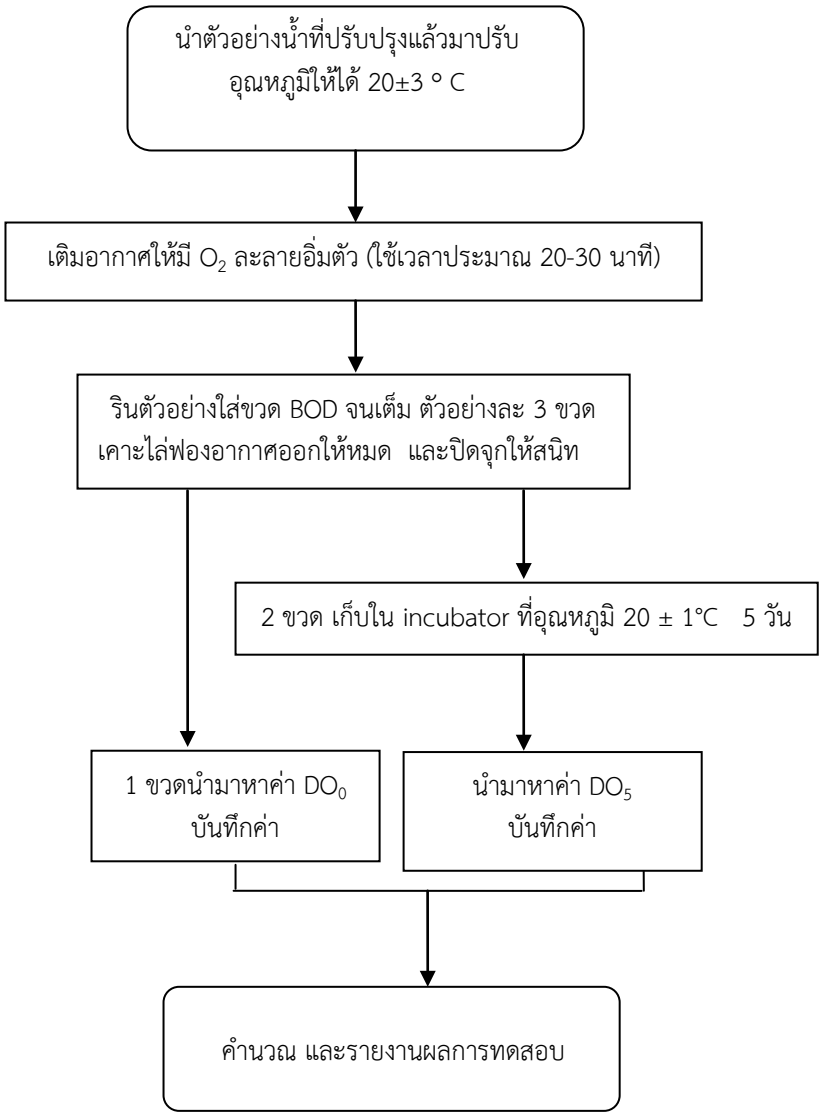
- ถ้าใช้ขวด BOD ที่มีความจุ 300 mL ต้องตวงตัวอย่างจากขวดปริมาตร 201 mL เพื่อนำไปไตเตรต (ปริมาตรตัวอย่างนี้มีค่าเท่ากับปริมาตรน้ำตัวอย่างเริ่มต้น 200 mL) เนื่องจากมีการสูญเสียน้ำตัวอย่างจากขวดบีโอดีโดยการแทนที่ของสารละลายเคมีที่เติมลงไปทั้งสิ้น 2 mL ดังนั้น ปริมาตรตัวอย่างซึ่งใช้ในการไตเตรตจึงควรเท่ากับ

$$\frac{200 \times 300}{(300 - 2)} = 201 \text{ mL}$$

- ไตเตรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.025 N จนกระทั่งสารละลายมีสีเหลืองอ่อน เติมน้ำแป้ง 1 mL จะได้สารละลายสีน้ำเงินเข้ม ไตเตรตต่อไปจนกระทั่งสีน้ำเงินหายไป

4.3.1.5 บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้สำหรับการไตเตรต (สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 1 mL มีค่าเท่ากับออกซิเจนละลาย 1 mg/L)

ขั้นตอนการทดสอบโดยวิธีตรง



4.3.2 วิธีทำให้เจือจาง (Dilution Method)

ใช้ในกรณีที่น้ำตัวอย่างมีความสกปรกสูง (มีค่า BOD มากกว่า 7 mg/L) จำเป็นจะต้องทำให้ตัวอย่างน้ำมีความสกปรกเจือจางลง โดยใช้น้ำผสมเจือจาง (dilution water) และควรทำหลายๆ ความเข้มข้น(อย่างน้อย 2 ความเข้มข้น) เช่น ถ้าน้ำตัวอย่างมีการปนเปื้อนสูง สกปรก สีดำคล้ำ ให้ทดสอบตามวิธีที่ 2 และเลือกทำ dilution ที่ 10 – 100 %

4.3.2.1 การคัดเลือกและเก็บรักษาน้ำเพื่อใช้เจือจาง

น้ำที่ใช้สำหรับเจือจางควรมาจากแหล่งที่เหมาะสม เช่น น้ำกลั่น และควรเป็นน้ำกลั่นที่ปราศจากโลหะหนักโดยเฉพาะทองแดงและสารพิษจำพวกคลอรีน ซึ่งจะรบกวนการทดสอบบีโอดี การเก็บรักษาน้ำเจือจางควรเก็บในภาชนะที่สะอาดและไม่ควรเก็บไว้นานเกิน 24 ชั่วโมง หลังจากเติมสารอาหาร แร่ธาตุ และบัฟเฟอร์ แล้ว และหลีกเลี่ยงการใช้น้ำเจือจางที่มีค่าบีโอดีของ Blank มากกว่า 0.2 mg/L

4.3.2.2 การเตรียมน้ำผสมเจือจาง (Dilution water)

- นำน้ำกลั่นที่ปราศจากสารมีพิษ (กลั่นจากเครื่องกลั่นแก้ว) มาปรับอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 20 $\pm$ 3˚C และปรับ pH เป็นกลาง ปรับคุณภาพให้เหมาะกับการดำรงชีวิตของจุลชีพ โดยเติมสารละลายอาหารฟอสเฟตบัฟเฟอร์, แมกนีเซียมซัลเฟต, แคลเซียมคลอไรด์ และไอร์ออน (III) คลอไรด์อย่างละ 1 mL ต่อน้ำกลั่น 1 L
- เติมอากาศให้มีออกซิเจนละลายอิ่มตัว อย่างน้อย 1 ชั่วโมง (มีค่า DO อยู่ระหว่าง 8 - 9 mg/L)

4.3.2.3 การเตรียมหัวเชื้อจุลชีพ (Seed)

1) หลักพิจารณาในการเติมหัวเชื้อ

ในการทดสอบหาค่าบีโอดี จำเป็นจะต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ที่มากพอที่จะย่อยสลายสารอินทรีย์ได้ ดังนั้นในการเตรียมหัวเชื้อจุลชีพมีหลักพิจารณาดังนี้

- น้ำเสียจากชุมชน น้ำคลอง น้ำแม่น้ำที่ปนเปื้อนและมีปริมาณจุลินทรีย์สูง ไม่จำเป็นต้องเติมหัวเชื้อจุลชีพเพิ่ม สามารถทำเจือจางได้เลยตามวิธีที่ 4.3.2
- น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดจากโรงงานอุตสาหกรรม โรงพยาบาลที่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อ น้ำทิ้งที่มีอุณหภูมิสูง น้ำที่มีค่าปริมาณจุลินทรีย์ต่ำ เช่นน้ำเสียจากระบบบำบัดชนิดแอนแอโรบิค ต้องเติมหัวเชื้อจุลชีพชนิดแอโรบิคเพิ่ม

2) วิธีเตรียมหัวเชื้อ

ตวง Dilution Water ปริมาตร 500 mL เติมกลูโคส 1% ปริมาตร 5 mL เติมอากาศให้มีออกซิเจนละลายอิ่มตัวตลอดเวลา และเติมจุลชีพสำเร็จรูป 1 แคปซูล หรือเขี่ยเชื้อจุลชีพซึ่งเพาะเชื้อเอง จาก Nutrient Agar Slant 1 หลอด ลงในน้ำดังกล่าว ใช้เวลาเพาะเชื้อ 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จุลชีพจะเจริญเติบโตเต็มที่พร้อมใช้งาน (ควรใช้งานให้หมดภายในระยะเวลา 6 ชั่วโมง)

3) วิธีเพาะเชื้อจุลชีพในอาหารเลี้ยงเชื้อ(Nutrient Agar Slant)

เตรียม Nutrient Agar Slant โดยชั่งสาร nutrient agar 23 g ละลายน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 L ตวงใส่หลอดที่มีจุกเกลียวหรือมีฝาครอบ หลอดละ 10 mL นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ที่ 121 ˚ C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ระยะเวลา 15 นาที ก่อนที่วุ้นจะแข็งตัวให้เอียงหลอดและเขี่ยเชื้อจุลชีพประเภท aerobic bacteria ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar Slant

เพาะเชื้อในตู้ incubator อุณหภูมิ 37 ° C ระยะเวลา 48 ชั่วโมง สามารถเก็บรักษาเชื้อไว้ใช้งานได้นาน โดยแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4-10° C

4.3.2.4 วิธีเลือกอัตราส่วนในการผสมเจือจาง

เนื่องจากการทดสอบค่า BOD อาศัยปฏิกิริยาทางชีวเคมีโดยมีจุลินทรีย์เป็นตัวการย่อยสลาย สภาวะแวดล้อมจะมีผลต่อการทดสอบมากทำให้ค่า BOD มีความผันแปรสูง การทดสอบตัวอย่างหนึ่งๆจึงควรผสมเจือจางหลายๆความเข้มข้น (ไม่ควรน้อยกว่า 2 ความเข้มข้น) ส่วนอัตราส่วนการผสมเจือจางอาจประมาณตามชนิดของตัวอย่างตามตารางที่ 1 จากสถิติข้อมูลเดิม หรือจากค่าความเข้มข้นโดยประมาณ
(ดูตารางที่ 2) จากค่า COD (Chemical Oxygen Demand) ของตัวอย่างน้ำเสียที่ต้องการทดสอบ

ตารางที่ 1. Dilution and Type of Sample

เปอร์เซ็นต์ที่ใช้เจือจางตัวอย่างน้ำเสีย (% Dilution)	ชนิดของตัวอย่างน้ำ (Type of sample)
0.0 - 1.0	Strong lndustrial Wastes
1 - 5	Raw and Settled Waste water
5 - 20	Biologically treated Effluent
10 - 100	polluted River Waters

ตารางที่ 2. BOD Measurable with Various Dilution of Sample

Using percent mixtures	
% Dilution	Range of BOD mg/L
0.01	50,000 - 70,000
0.02	10,000 - 35,000
0.05	4,000 - 14,000
0.1	2,000 - 7,000
0.2	1,000 - 3,500
0.5	400 - 1,400
1.0	200 - 700
2.0	100 - 350
5.0	40 - 140
10.0	20 - 70
20.0	10 - 35
50.0	4 - 14
100	0 - 7

ตัวอย่าง

ถ้าตัวอย่างน้ำเสียมีค่าซีโอดี = 100 mg/L

ค่าบีโอดีโดยประมาณ = $\frac{\text{ค่า COD}}{2} = \frac{100}{2} = 50$ mg/L

เลือกอัตราส่วนที่ต้องใช้เจือจางตัวอย่างน้ำเสียจากตารางที่ 2 เพื่อใช้ทดสอบค่า BOD ได้ 3 ความเข้มข้น คือ 5%, 10% และ 20%

4.3.2.5 ขั้นตอนการทดสอบวิธีทำให้เจือจาง

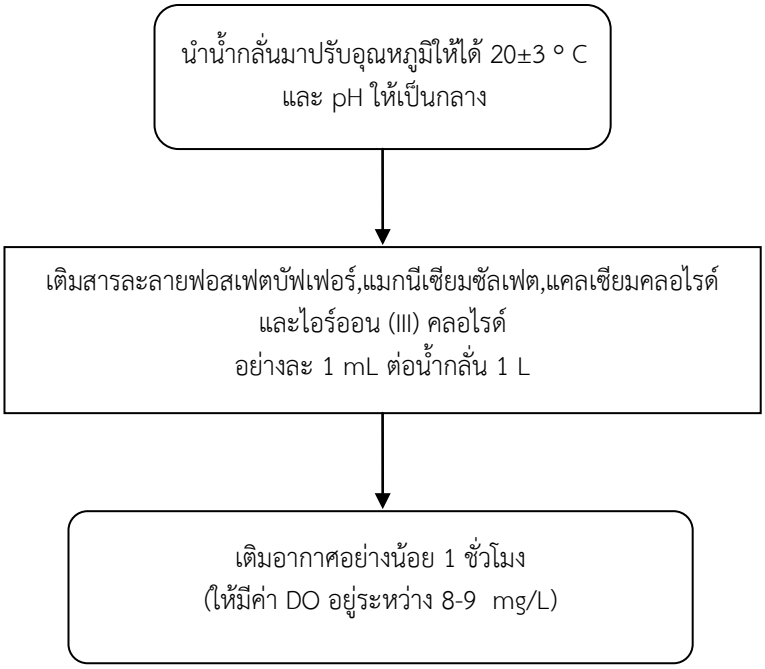
- ค่อย ๆ ริน dilution water ที่ได้จากข้อ 4.3.2.2 ลงในกระบอกตวงขนาด 1,000 mLประมาณ 200 mLโดยให้น้ำค่อย ๆ ไหลลงตามข้างกระบอกตวง
- เติมหัวเชื้อจุลชีพที่ได้จากข้อ 4.3.2.3 ลงในกระบอกตวง 2 mL
- เติมตัวอย่างน้ำตามส่วนที่คำนวณได้จากตารางที่2 เช่น 50 mL (5 %)
- เติม dilution water ลงจนครบ 1,000 mL
- กวนให้เข้ากันโดยใช้แท่งพลาสติกเสียบจุกยางไว้ที่ปลายชักขึ้นลงเบาๆ ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ ประมาณ 20 ครั้ง
- ค่อย ๆ รินสารละลายที่ผสมเข้ากันดีแล้วนี้ใส่ลงในขวด BOD ที่แห้งสะอาดจนเต็ม 3 ขวด ปิดจุกให้สนิท ขวดหนึ่งนำไปทดสอบหาค่าDO_0 อีกสองขวดนำไปเก็บใน incubator ที่อุณหภูมิ 20±3˚C เป็นเวลา 5 วัน ก่อนเก็บ ให้ตรวจดูน้ำหล่อที่ปากขวดและใช้ฝาพลาสติก (BOD Cap) ครอบป้องกันน้ำระเหยและป้องกันการสูญเสียออกซิเจน
- หลังจาก incubate ที่อุณหภูมิ 20±1˚C ครบ 5 วันแล้ว นำมาหาค่า DO_5 ตัวอย่างที่ใช้ได้จะต้องมีค่าออกซิเจนละลายเหลืออยู่อย่างน้อย 1 mg/L และมีการใช้ออกซิเจน ไปอย่างน้อย 2 mg/L

4.3.2.6 การแก้ค่าเนื่องจากการเติมหัวเชื้อ (Seed Correction Control)

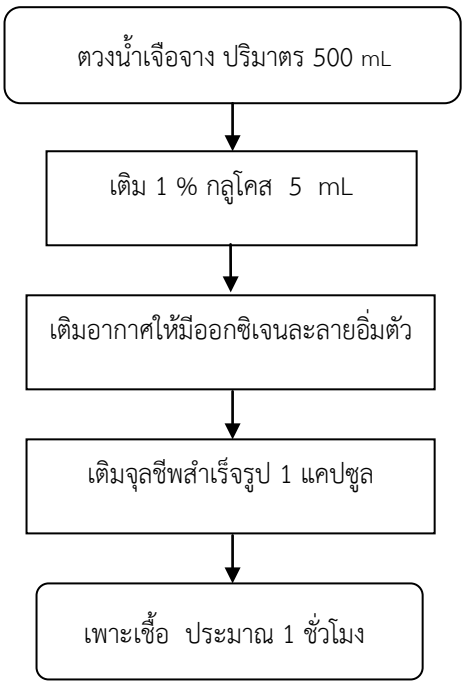
ถ้ามีการใส่หัวเชื้อจะต้องนำหัวเชื้อมาทำให้เจือจาง (dilute) ประมาณ 5 – 20% แล้วนำไป incubate เช่นเดียวกับตัวอย่าง 5 วัน แล้วหาค่า DO_5 เลือกค่าความเข้มข้นที่มีการใช้ออกซิเจนระหว่าง 40 – 70% (ดูการคำนวณ) การเติมหัวเชื้อจะเติมกรณีเจือจางตัวอย่างน้ำเสียน้อยกว่า 10% หรือกรณีตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีจุลชีพน้อย

ขั้นตอนการทดสอบโดยวิธีทำให้เจือจาง

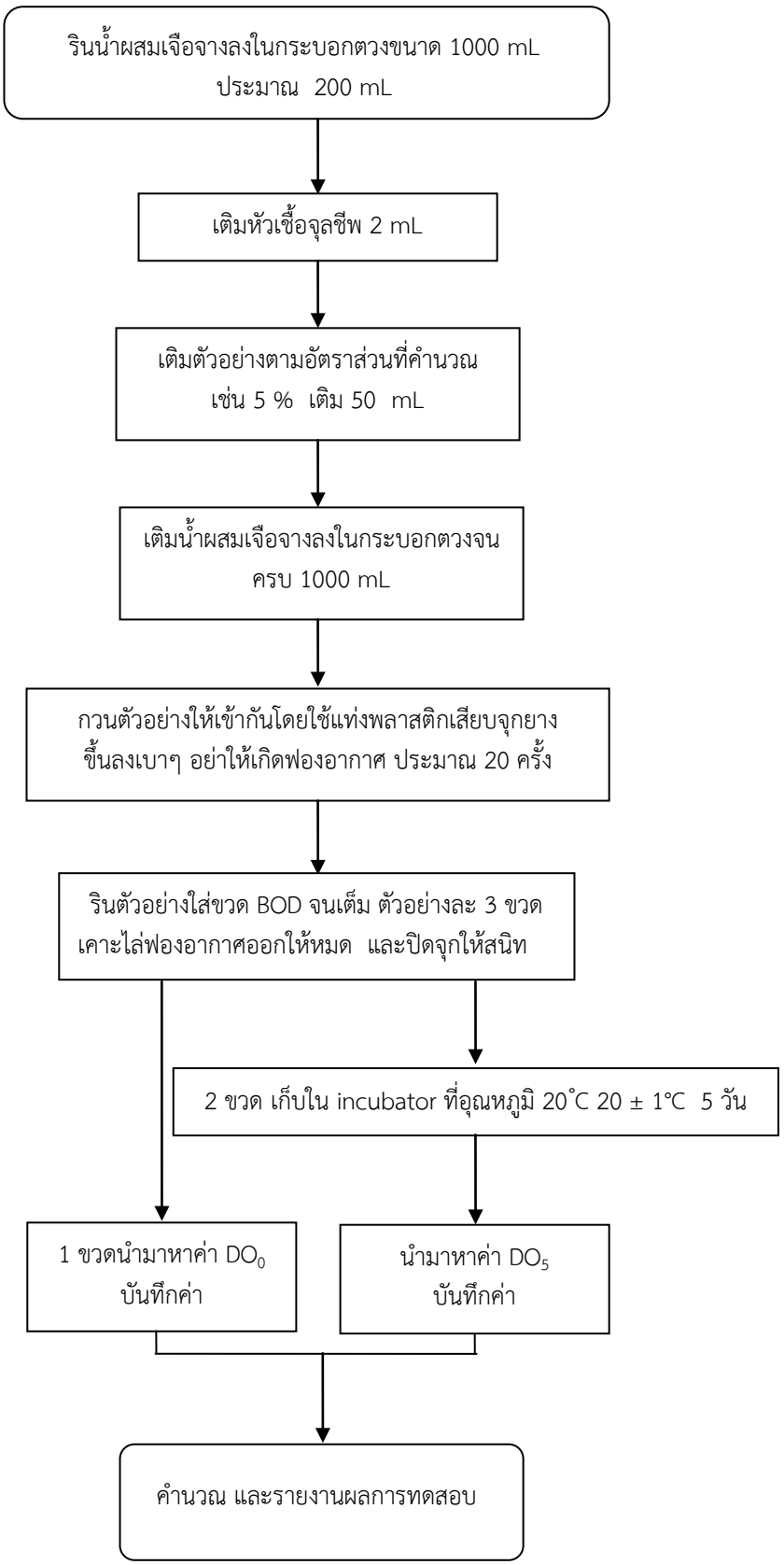
1. การเตรียมน้ำผสมเจือจาง



2. การเตรียมหัวเชื้อจุลชีพ



3. การทดสอบ


รินน้ำผสมเจือจางลงในกระบอกตวงขนาด 1000 mL
ประมาณ 200 mL
เติมหัวเชื้อจุลชีพ 2 mL
เติมตัวอย่างตามอัตราส่วนที่คำนวณ
เช่น 5 % เติม 50 mL
เติมน้ำผสมเจือจางลงในกระบอกตวงจน
ครบ 1000 mL
กวนตัวอย่างให้เข้ากันโดยใช้แท่งพลาสติกเสียบจุกยาง
ขึ้นลงเบาๆ อย่าให้เกิดฟองอากาศ ประมาณ 20 ครั้ง
รินตัวอย่างใส่ขวด BOD จนเต็ม ตัวอย่างละ 3 ขวด
เคาะไล่ฟองอากาศออกให้หมด และปิดจุกให้สนิท
2 ขวด เก็บใน incubator ที่อุณหภูมิ 20°C 20 ± 1°C 5 วัน
1 ขวดนำมาหาค่า DO_0
บันทึกค่า
นำมาหาค่า DO_5
บันทึกค่า
คำนวณ และรายงานผลการทดสอบ

4.4 การคำนวณ

4.4.1 วิธีโดยตรง

$$BOD\ (\ mg/L\ ) = DO_0 - DO_5$$

DO_0 = ค่า DO ของตัวอย่างที่ไตเตรตได้ในวันแรก

DO_5 = ค่าเฉลี่ย DO ของตัวอย่างที่ไตเตรตได้ หลังจากเก็บใน incubator 5 วัน

4.4.2 วิธีทำให้เจือจาง

$$BOD\ (\ mg/L\ ) = \frac{[(DO_0-DO_5) - (B_1-B_2)\ f\ ]}{P} \times 100$$

DO_0 = ค่า DO ของตัวอย่างที่ทำการเจือจางแล้วในวันแรก

DO_5 = ค่าเฉลี่ย DO ของตัวอย่างที่ทำการเจือจางแล้วเก็บใน incubator 5 วัน

P = เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างที่ใช้ (เช่น 5 % , 10 %)

B_1 = ค่า DO ของ seed control ที่ทำการเจือจางแล้วในวันแรก

B_2 = ค่าเฉลี่ย DO ของ seed control ที่ทำการเจือจางแล้วเก็บใน incubator 5 วัน

f = อัตราส่วนของน้ำเชื้อ (seed) ในตัวอย่าง ต่อ seed control

$$f = \frac{\%\ \text{น้ำเชื้อใน}\ DO_0}{\%\ \text{น้ำเชื้อใน}\ B_1}$$

ตัวอย่าง $f = \frac{0.2\ \%}{10\ \%}$

4.5 การควบคุมคุณภาพ

ควบคุมคุณภาพผลการทดสอบโดยใช้ กลูโคส – กรดกลูตามิค (Glucose Glutamic Acid check) เนื่องจากน้ำกลั่นที่ใช้อาจมีสารปนเปื้อนอยู่โดยเฉพาะทองแดงซึ่งจะทำให้หัวเชื้อมีประสิทธิภาพลดลง มีผลทำให้ค่า BOD ที่ได้ต่ำกว่าความเป็นจริง ควรตรวจสอบโดยใช้สารอินทรีย์บริสุทธิ์ที่ทราบค่า BOD แล้ว ซึ่งได้แก่ กลูโคส และกรดกลูตามิค กลูโคสออกซิไดซ์ได้ง่ายแต่ไม่คงที่ ใช้กับหัวเชื้อทั่วๆไป แต่สำหรับกรดกลูตามิคนั้นอัตราการออกซิไดซ์จะคงที่และมีสมบัติคล้ายน้ำเสียจากชุมชน

1. นำสารละลายกลูโคส – กรดกลูตามิค 20 mL ใส่กระบอกตวงขนาด 1000 mL และนำมาทดสอบตามข้อ 4.3.2.5 จากนั้นนำมาหาค่าออกซิเจนที่ใช้ไป (oxygen depletion) และค่า BOD นี้จะขึ้นอยู่กับชนิดของหัวเชื้อที่ใส่ลงไป โดยมีค่ามาตรฐาน BOD เท่ากับ 198 ± 30.5 mg/L

2. การตรวจสอบคุณภาพน้ำผสมเจือจาง (dilution water control)

นำน้ำผสมเจือจางมาทดสอบหาค่าบีโอดี โดยเติมน้ำตัวอย่างที่ไม่ได้ใส่หัวเชื้อลงในขวด BOD 3 ขวดแล้วทดสอบหาค่าบีโอดีตามข้อ 4.3.1 ถ้าคุณภาพน้ำดี จะให้ค่า $DO_0 - DO_5$ ไม่ควรลดมากกว่า 0.2 mg/L

3. การตรวจเพื่อควบคุมคุณภาพ

ตรวจสอบการลดลงของออกซิเจนและปริมาณออกซิเจนคงเหลือ เมื่อผ่านการบ่มมาเป็นระยะเวลา 5 วัน ต้องมีค่าออกซิเจนลดลง ($DO_0 - DO_5$) อย่างน้อย 2.0 mg/L และค่าออกซิเจนที่เหลืออยู่อย่างน้อย 1.0 mg/L

บทที่ 12
ซีโอดี (Chemical Oxygen Demand, COD)
โดยวิธีกลั่นกลับคืนแบบปิด (closed reflux method)

ผู้รวบรวม
นายศิริพล กำแพงทอง นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาววราภรณ์ โตสิงห์ นักวิชาการสิ่งแวดล้อม

1. หลักการ (Principle)

การวัดความสกปรกของน้ำคิดเปรียบเทียบในรูปของปริมาณออกซิเจนที่ใช้ในการออกซิไดส์สารอินทรีย์ในน้ำให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ โดยใช้สารเคมีซึ่งมีอำนาจในการออกซิไดส์สูง (โปตัสเซียมไดโครเมต, $K_2Cr_2O_7$) ไปออกซิไดส์สารอินทรีย์คาร์บอนในสภาวะที่เป็นกรดอย่างแรง ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ในสภาวะที่อุณหภูมิสูง (150 °C) และใช้การ reflux แบบปิดเพื่อป้องกันการสูญหายไปของสารที่ระเหยได้

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 เตาให้ความร้อน (heating Block) ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 150 ± 2 °C
2.2 ตู้อบร้อน (hot air oven)
2.3 เครื่องชั่ง (balance analytical) ละเอียด 4-5 ตำแหน่ง
2.4 บิวเรต (burette) ขนาด 10 mL พร้อมขาตั้ง
2.5 หลอดทดลอง (tube) ฝาเกลียว บุด้วย TFE ขนาด 15×100 mm หรือ 16×150 mm
2.6 ตะแกรงสำหรับตั้งหลอดทดลอง
2.7 บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 50 mL
2.8 ลูกแก้วกันกระเด็น
2.9 ปิเปตอัตโนมัติ (micro pipette) ขนาด 1- 10 mL และ ขนาด 100 – 1000 µL

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตที่ใช้ย่อยสลาย (Standard Potassium dichromate digestion solution) ความเข้มข้น 0.01667 โมลาร์ (M)

ชั่ง โพแทสเซียมไดโครเมต (Potassium dichromate, $K_2Cr_2O_7$) ชนิดสารมาตรฐานปฐมภูมิ (primary standard grade) (อบที่อุณหภูมิ150 °C เป็นเวลา 2 ชม.) 4.903 g ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 500 mL เติมกรดซัลฟิวริคเข้มข้น (conc. Sulfuric acid, conc. H_2SO_4) ปริมาตร 167 mL เติมเมอคิวรีซัลเฟต (Mercury sulfate, $HgSO_4$) จำนวน 33.3 g ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.2 น้ำยาเคมีกรดซัลฟิวริค (Sulfuric acid reagent)

ชั่ง ซิลเวอร์ซัลเฟต (Silver sulfate, Ag_2SO_4) 25.3 g (Ag_2SO_4 5.5 g / 1.0 kg H_2SO_4) เติมลงในขวด conc. H_2SO_4 ปริมาตร 2.5 L (H_2SO_4 1 L = 1.84 kg) ตั้งทิ้งไว้ 1-2 วันเพื่อให้ละลาย

3.3 สารละลายเฟอร์โรอินอินดิเคเตอร์ (Ferroin indicator solution)

ชั่ง 1-10 ฟีแนนโทรลีนโมโนไฮเดรต (1-10 Phenanthroline monohydrate, $C_{12}H_8N_2.H_2O$) 1.485 g และเฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตระไฮเดรต (Ferrous sulfate heptahydrate, $FeSO_4 .7H_2O$) 0.695 g ละลายสารทั้งสองชนิดเข้าด้วยกันในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.4 สารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตไทแทรนท์ (Standard ferrous ammonium sulfate (FAS) titrant ความเข้มข้น 0.10 โมลาร์ (M)

ชั่ง เฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต (Ferrous ammonium sulfate hexahydrate, $Fe(NH_4)_2 (SO_4)_2 .6H_2O$) 39.2 g ละลายในน้ำกลั่น เติม conc. H_2SO_4 20 mL ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นและปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร สารละลายนี้จะต้อง standardize ทุกครั้งด้วยสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต

3.5 สารมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพธาเลต (Potassium hydrogen phthalate Standard, KHP)

ชั่ง โพแทสเซียมไฮโดรเจนพธาเลต (Potassium hydrogen phthalate, $HOOCC_6H_4COOK$) 0.425 g (อบที่อุณหภูมิ 110 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง) ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร (สารละลายนี้จะให้ค่า COD = 500 µg O_2 /mL)

3.6 น้ำกลั่น (Distilled Water : DW)

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 Standardization

standardize สารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตไทแทรนท์ (FAS)ด้วยสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตที่ใช้ย่อยสลาย โดยมีขั้นตอนดังนี้

4.1.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตที่ใช้ย่อยสลาย ปริมาตร 5 mL ลงในบีกเกอร์ขนาดเล็ก

4.1.2 เติมน้ำกลั่น 10 mL และตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

4.1.3 หยดสารละลายเฟอร์โรอินอินดิเคเตอร์ 1–2 หยด

4.1.4 ไตเตรทด้วยสารละลาย FAS

$$\text{Molarity ของสารละลาย FAS} = \frac{\text{ปริมาตรของสารละลาย } K_2Cr_2O_7 \text{ (mL) ที่นำมาไตเตรต}}{\text{ปริมาตรของ FAS (mL)ที่ใช้ไตเตรต}}$$

4.2 การทดสอบตัวอย่าง

4.2.1 ใส่ตัวอย่างน้ำในหลอดทดลองที่ล้างด้วย 20 % H_2SO_4 (ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ ขึ้นกับขนาดของหลอดทดลองตามตารางที่ 1)

4.2.2 เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตที่ใช้ย่อยสลาย(ปริมาตรที่เติมขึ้นกับปริมาตรของตัวอย่างน้ำตามตารางที่ 1)

4.2.3 เติมน้ำยาเคมีกรดซัลฟิวริค (ปริมาตรที่เติม ขึ้นกับปริมาตรของตัวอย่างน้ำตามตารางที่ 1)

4.2.4 ใส่ลูกแก้วกันกระเด็น ประมาณ 5-7 เม็ด ปิดฝาแล้วเขย่าสารละลายให้เข้ากัน

4.2.5 นำหลอดทดลองใส่ลงในเตาให้ความร้อน ตั้งอุณหภูมิ 150 °C ย่อยนาน 2 ชั่วโมง

4.2.6 เมื่อครบเวลานำหลอดทดลองขึ้นจาก Heating Block ตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

4.2.7 เทสารละลายในหลอดทดลองลงในบีกเกอร์ขนาดเล็ก พร้อมใส่แท่งกวนแม่เหล็ก

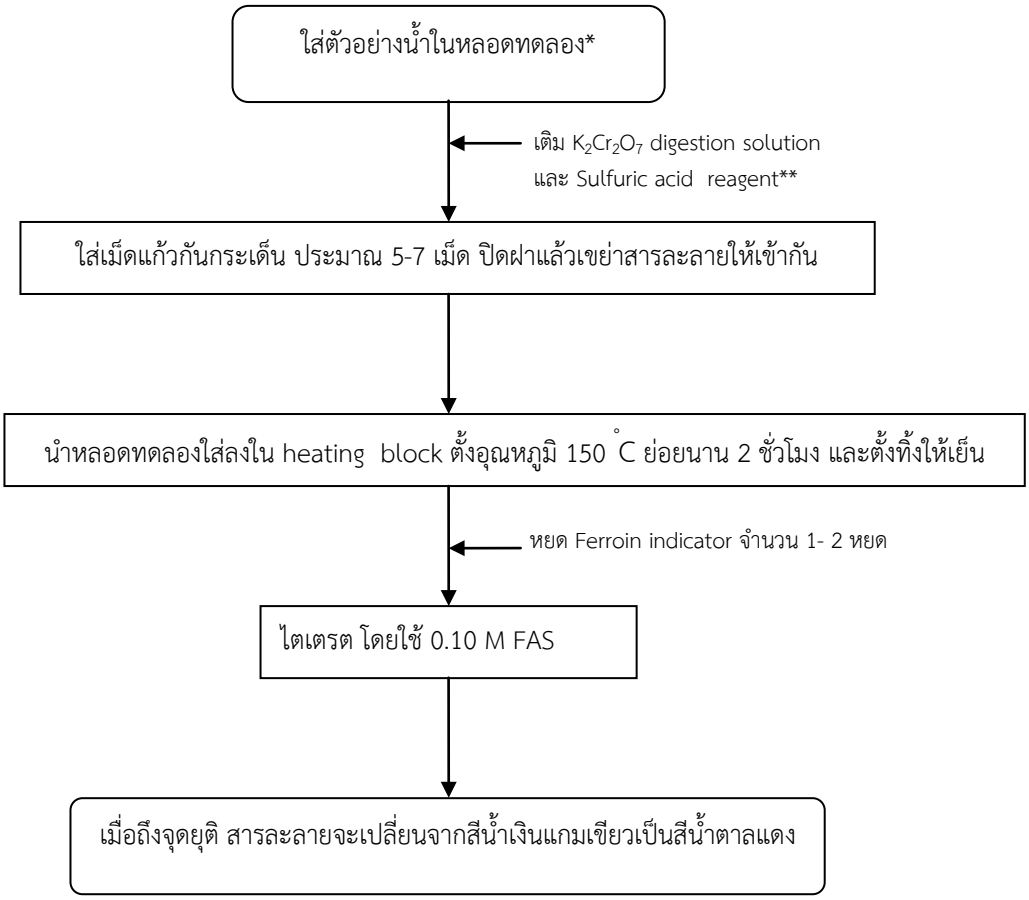
4.2.8 หยดสารละลายเฟอร์โรอินอินดิเคเตอร์ 1–2 หยด แล้วไตเตรท โดยใช้ 0.10 M สารละลาย FAS เป็น titrant เมื่อถึงจุดยุติ สารละลายจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินแกมเขียว (blue green) เป็นสีน้ำตาลแดง (reddish brown)

4.2.9 ทุกครั้งต้องทำ Blank โดยทำเหมือนตัวอย่าง แต่ให้ใช้น้ำกลั่นแทนน้ำตัวอย่าง

ตารางที่ 1. ปริมาตรตัวอย่างน้ำและสารเคมีที่ใช้ในการทดสอบ

ขนาดหลอดแก้ว (mm)	ปริมาตรตัวอย่างน้ำ (mL)	$K_2Cr_2O_7$ digestion solution (mL)	Sulfuric acid reagent (mL)	ปริมาตรรวม
16 × 100	2.5	1.5	3.5	7.5
20 × 150	5.0	3.0	7.0	15.0
25 × 150	10.0	6.0	14.0	30.0

ขั้นตอนการทดสอบ



* ปริมาตรที่ใช้ขึ้นกับขนาดของหลอดทดลองตามตารางที่ 1

** ปริมาตรที่ใช้ขึ้นกับปริมาตรของตัวอย่างน้ำ

4.3 การคำนวณ

$$\text{COD as mg } O_2/L = \frac{(A-B) \times M \times 8{,}000}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ (mL)}}$$

โดย A = mL ของ FAS ที่ใช้ในการไตเตรทแบลงค์ (blank)

B = mL ของ FAS ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง (sample)

M = Molality ของ FAS

8000 = milliequivalent weight ของออกซิเจน × 1000 mL/L

4.4 การควบคุมคุณภาพ

ควบคุมคุณภาพโดยใช้สารมาตรฐาน KHP ความเข้มข้น 500 และ250 mg/L

4.4.1 ชั่ง $HOOCC_6H_4$ COOK 0.425 g และ 0.2125 g ตามลำดับ(อบที่ 110 °C นาน 1 ชั่วโมง)

4.4.2 ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร
(สารละลายนี้จะให้ค่า COD = 500 และ250 mg/L ตามลำดับ)

4.4.3 นำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้มาทำการทดสอบตามขั้นตอนการทดสอบตัวอย่าง

เกณฑ์การยอมรับ : ± 10% ของค่าจริง โดยพิจารณาจาก % ความถูกต้อง ซึ่งคำนวณได้จากสูตร

$$\%\ \text{ความถูกต้อง} = \frac{\text{ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์}}{\text{ค่าจริง}} \times 100$$

บทที่ 13
น้ำมันและไขมัน (Oil & Grease)

ผู้รวบรวม
นายศิริพล กำแพงทอง นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาววราภรณ์ โตสิงห์ นักวิชาการสิ่งแวดล้อม

1. หลักการ (Principle)

ปรับสภาพตัวอย่างที่เป็นของเหลวให้เป็นกรด (พีเอชน้อยกว่า 2) เพื่อให้ไขมันและน้ำมันแตกตัวจากน้ำและทำให้แยกจากน้ำโดยการกรองผ่านสารละลาย filter aid suspension นำมาสกัดด้วยเครื่องมือสกัดซอกฮ์เลตโดยใช้เฮกเซนหรือฟรีออนเป็นตัวทำละลาย จากนั้นจึงนำเฮกเซนหรือฟรีออนที่มีไขมันและน้ำมันละลายอยู่ไประเหยจนแห้ง ชั่งน้ำหนักตะกอนที่เหลือซึ่งจะเป็นปริมาณไขมันและน้ำมันในตัวอย่าง

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 ตู้อบร้อน (hot air oven)

2.2 เครื่องชั่ง (balance analytical) ละเอียด 4-5 ตำแหน่ง

2.3 ชุดกรองสุญญากาศ (filter support) ที่ประกอบด้วย reservoir, fritted disc ขนาด 40-60 µm และrespirator หรือ pump อุปกรณ์ชุดกรอง

2.4 เครื่องสกัดน้ำมันและไขมัน (soxhlet)

2.5 กระดาษกรอง (glass-fiber filter) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.0 cm

2.6 มัสลิน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11 cm

2.7 กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 100 และ 1000 mL

2.8 ตู้ดูดความชื้น (desiccator)

2.9 คีมคีบ (forcep) ปลายแหลม

2.10 เชือก ยาวประมาณ 10 cm

2.11 แท่งแก้วคนขนาดยาว

2.12 กรรไกร

2.13 บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 250 mL

2.14 สำลี ทำเป็นก้อนหุ้มที่ปลายแท่งแก้วแล้วใช้เชือกมัด

2.15 ทิมเบิล (trimble)

2.16 ขวดแก้วก้นกลม (extraction flask)

2.17 ถุงมือปราศจากแป้ง

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 น้ำกลั่น (Distilled Water, DW)

3.2 ตัวทำละลายอินทรีย์เฮกเซน (n-Hexane)

3.3 สารแขวนลอยช่วยกรอง (filter aid suspension)

ชั่งสาร hyflo super cell 10 g ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ในขวดปรับปริมาตร

3.4 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl) ความเข้มข้น 1:1

นำน้ำกลั่นเทใส่ขวดปรับปริมาตร 1000 mL ประมาณ 1/3 ของขวด ปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc.HCl : 37% w/v) ปริมาตร 500 mL ลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.5 สารมาตรฐานน้ำมันและไขมัน (Wet Chemistry Reference Standard Oil and Grease) ความเข้มข้น 1000 mg/L

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การเตรียมขวดทดสอบตัวอย่าง

4.1.1 นำขวดแก้วก้นกลม (extraction flask) ไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 °C ประมาณ 30 นาที และนำไปเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อทิ้งไว้ให้เย็น

4.1.2 นำขวดแก้วก้นกลม มาชั่งหาน้ำหนัก และบันทึกน้ำหนักที่ได้

4.1.3 ทำตามข้อ 4.1.1-4.1.2 จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ หรือความแตกต่างของการชั่งครั้งล่าสุดกับการชั่งครั้งที่ผ่านมาแตกต่างกันไม่เกิน 0.0005 g หรือ 4% ขึ้นอยู่กับว่าค่าใดจะน้อยกว่ากัน จากนั้นจึงเก็บขวดแก้วก้นกลมไว้ในตู้ดูดความชื้นจนกระทั่งใช้งาน

4.2 การทดสอบตัวอย่าง

4.2.1 ประกอบชุดกรองสุญญากาศ และวางผ้ามัสลินบนเครื่องกรอง แล้วนำกระดาษกรอง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 cm วางทับ เปิดเครื่อง เทสารละลาย filter aid suspension ปริมาตร 100 mL ล้างด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 100 mL และใช้เครื่องดูดสุญญากาศดูดให้แห้ง

4.2.2 ทำเครื่องหมายบนขวดตัวอย่างน้ำ (โดยใช้ปากกา permanent ขีดบริเวณระดับน้ำที่อยู่ในขวดตัวอย่างน้ำ) จากนั้นนำตัวอย่างน้ำมากรองโดยใช้เครื่องดูดสุญญากาศดูดให้แห้ง

4.2.3 นำแท่งแก้วหุ้มด้วยสำลีที่สะอาดมัดด้วยเชือก ชุบเฮกเซน นำไปเช็ดภายในขวดตัวอย่างน้ำ ให้ทั่วทั้งขวด และเช็ดที่ฝาขวด จากนั้นนำสำลีพร้อมเชือกที่เช็ดขวดเรียบร้อยแล้วไปรวมกับกระดาษกรองบนเครื่องกรอง

4.2.4 นำขวดตัวอย่างน้ำมาเติมน้ำประปาให้ถึงขีดบอกระดับน้ำที่ทำเครื่องหมายไว้ แล้วนำไปวัดปริมาตร โดยใช้กระบอกตวง จดปริมาตรตัวอย่างน้ำ

4.2.5 ใช้ปากคีบคีบผ้ามัสลินและกระดาษกรองบนเครื่องกรอง ม้วนเข้าด้วยกัน นำมาใส่ลงในทิมเบิลโดยที่ทิมเบิลมีสำลีรองอยู่ข้างใน จากนั้นนำมาวางบนกระจกนาฬิกา นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103-105 °C เป็นเวลา 30 นาที

4.2.6 นำทิมเบิลพร้อมกระจกนาฬิกาเก็บไว้ในตู้ดูดความชื้นเพื่อทิ้งไว้ให้เย็น

4.2.7 นำทิมเบิลจากข้อ 4.2.6 มาใส่ลงในหลอดสกัด

4.2.8 ตวง n- hexane ปริมาตร 160 mL เทลงในขวดแก้วก้นกลม จากข้อ 4.1.2 แล้วนำมาต่อเข้ากับหลอดสกัดที่มีทิมเบิล และต่อกับเครื่องสกัด soxhlet จากนั้นทำการสกัดโดยปรับอุณหภูมิไปที่ 180 °C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น

4.2.9 ใช้คีมคีบหรือถุงมือปราศจากแป้งจับขวดแก้วก้นกลม จากข้อ 4.2.8 ที่เย็นแล้ว นำไประเหยตัวทำละลาย โดยชุดกลั่นสุญญากาศ ปรับอุณหภูมิไปที่ 85 °C ระเหยตัวอย่างจน n-Hexane หมด

4.2.10 นำขวดแก้วก้นกลม จากข้อ 4.2.9 เก็บในตู้ดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักน้ำมันและไขมัน จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ หรือจนกระทั่งน้ำหนักจากการชั่งครั้งที่2 เปลี่ยนแปลงจากการชั่งครั้งแรกน้อยกว่า 4% หรือ 0.0005 กรัม บันทึกน้ำหนัก

4.3 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณน้ำมันและไขมัน (mg/L)} = \frac{(C - B) \times 10^6}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างน้ำที่ใช้ (mL)}}$$

โดย B = น้ำหนักของขวดเปล่า (g)

C = น้ำหนักของขวดเปล่า+น้ำหนักของไขมันและน้ำมัน (g)

4.4 การควบคุมคุณภาพ

4.4.1 ทดสอบ method blank

4.4.1.1 นำน้ำกลั่น ปริมาตร 1000 mL เทใส่ขวดสีชาชนิดเดียวกับที่ใช้เก็บตัวอย่าง

4.4.1.2 เติมกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1:1 ปริมาตร 5 mL และนำมาทดสอบตามขั้นตอนการทดสอบตัวอย่าง

4.4.2 ทดสอบ QC check standard

ทดสอบสารมาตรฐานน้ำมันและไขมัน (Wet Chemistry Reference Standard Oil and Grease) โดย

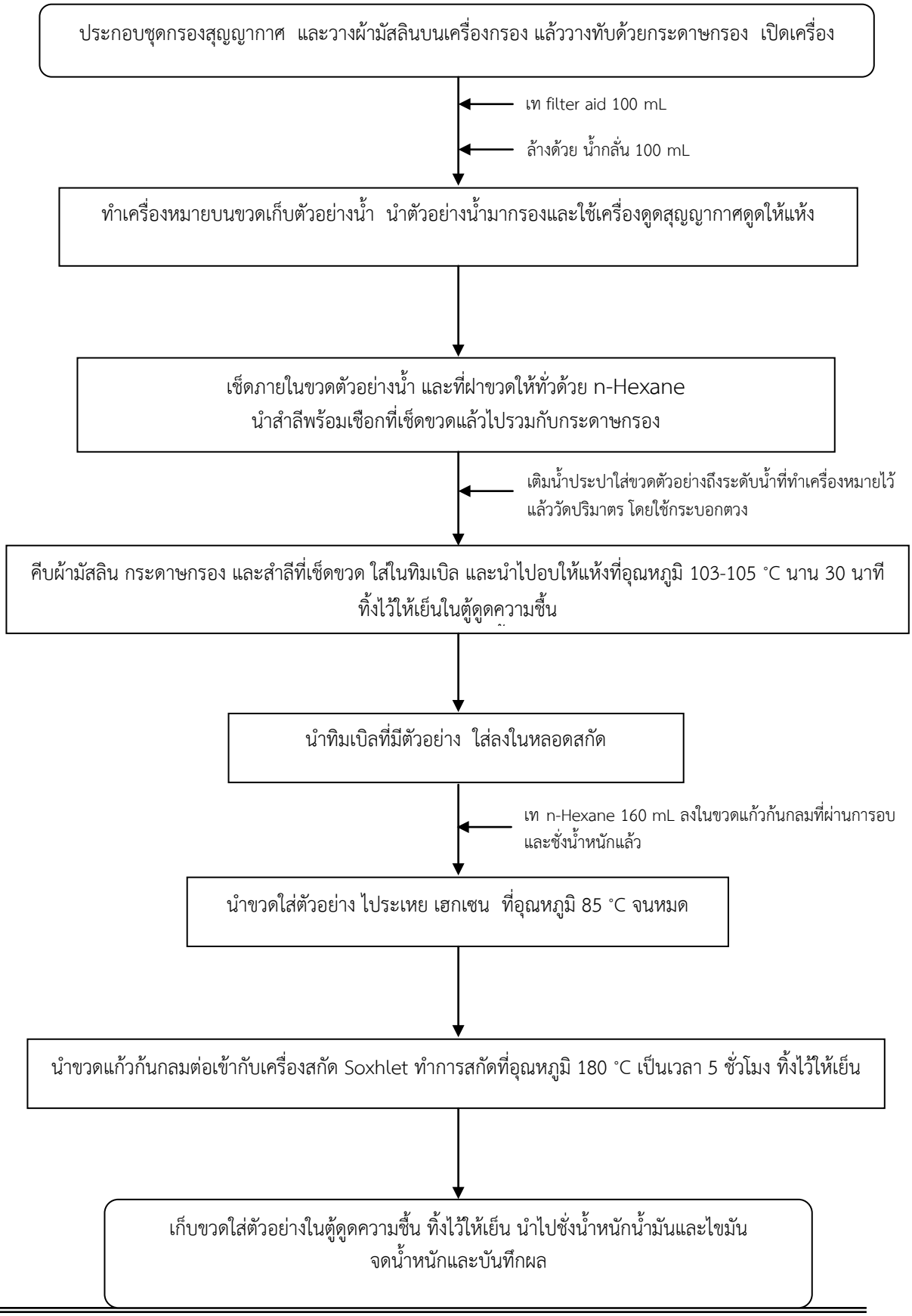
4.4.2.1 นำน้ำกลั่น ปริมาตร 1000 mL เทใส่ขวดสีชาชนิดเดียวกับที่ใช้เก็บตัวอย่าง

4.4.2.2 เติมกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1:1 ปริมาตร 5 mL

4.4.2.3 ปิเปตสารมาตรฐานน้ำมันและไขมัน ความเข้มข้น 1000 mg/L (ปริมาตรขึ้นกับความเข้มข้นที่ต้องการเตรียม) ปิดฝา และเขย่าเบาๆ จากนั้นนำไปทดสอบตามขั้นตอนการทดสอบตัวอย่าง

เกณฑ์การยอมรับ : ± 10% ของค่าจริง

ขั้นตอนการทดสอบ



บทที่ 14
ซัลไฟด์ (Sulfide)

ผู้รวบรวม
นางสาวจุไรรัตน์ มหาเทียน นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นางสาววราภรณ์ โตสิงห์ นักวิชาการสิ่งแวดล้อม

1. หลักการ (Principle)

หลักการวิเคราะห์ซัลไฟด์ (Sulfide) โดยวิธี ไอโอโดเมตริก คือ ซัลไฟด์ในตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับไอโอดีนที่มากเกินพอที่เติมลงไปในสารละลายในสภาวะที่เป็นกรด โดยไอโอดีนจะออกซิไดซ์ซัลไฟด์ให้เป็นซัลเฟอร์ ซึ่งปริมาณไอโอดีนจะสมมูลพอดีกับซัลไฟด์ จากนั้นหาค่าปริมาณไอโอดีนส่วนที่เหลือจากปฏิกิริยาโดยการไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน Sodium thiosulfate เพื่อหาปริมาณไอโอดีนส่วนที่ทำปฏิกิริยากับซัลไฟด์ และคำนวณเทียบกลับเพื่อหาปริมาณซัลไฟด์

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 ขวด บีโอดี 3 ขวด/ 1 ตัวอย่าง

2.2 ปิเปต (pipette) ขนาด 10 mL

2.3 บิวเรต (burette) ขนาด 25 mL พร้อมขาตั้ง

2.4 กระดาษกรอง (glass-fiber filter) GF/C ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.5 cm

2.5 ชุดกรองสุญญากาศ (filter support) ที่ประกอบด้วย reservoir, fritted disc ขนาด 40-60 µm และrespirator หรือ pump

2.6 ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 500 mL

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 Hydrochloric acid (HCl) ความเข้มข้น 6 N

ปิเปต Hydrochloric acid เข้มข้น (conc.HCl : 37% w/v) ปริมาตร 497.5 mL ลงในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.2 Standard Iodine Solution (I_2) ความเข้มข้น 0.025 N

ชั่ง Potassium iodide (KI) 20-25 g ละลายในน้ำกลั่น และชั่ง Iodine (I_2) 3.2 g ละลายในน้ำกลั่นเล็กน้อย ผสมสารทั้ง 2 ชนิดเข้าด้วยกันและปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร และ standardize ด้วย 0.025 N Sodium thiosulfate solution โดยใช้ Starch solution เป็น indicator

3.3 Standard Sodium thiosulfate solution ความเข้มข้น 0.025 N

ชั่ง Sodium thiosulfate pentahydrate ($Na_2S_2O_3.5H_2O$) 6.205 g และ Sodium hydroxide (NaOH) 0.4 g ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.4 Starch Solution

ชั่งแป้ง (soluble starch) 16 g และ Salicylic acid 2 g ละลายในน้ำกลั่นร้อนและปรับปริมาตรให้เป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.5 Zinc acetate solution ความเข้มข้น 2 N

ชั่ง Zinc acetate dihydrate ($Zn(C_2H_3O_2)_2.2H_2O$) 220 g ละลายในน้ำกลั่น 870 mL และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.6 Sodium hydroxide solution (NaOH) ความเข้มข้น 6N

ชั่ง Sodium hydroxide (NaOH) 240 g ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.7 น้ำกลั่น (Distilled Water : DW)

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การทดสอบตัวอย่าง

4.1.1 ประกอบชุดกรองสุญญากาศ คีบกระดาษกรองวางลงในชุดกรอง เปิดเครื่องและฉีดด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อยจนกระดาษกรองเปียก เพื่อให้กระดาษกรองแนบกับชุดกรอง

4.1.2 เทตัวอย่างน้ำจากขวดบีโอดีผ่านกระดาษกรองที่อยู่บนชุดกรองสุญญากาศ เก็บกระดาษกรองที่มีผลึกตะกอนของ Zinc sulfide (ZnS) (เกิดจากการตกตะกอนซัลไฟด์ด้วย Zinc acetate ในขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง) ไว้วิเคราะห์

4.1.3 ใส่กระดาษกรองที่มีผลึกตะกอนของ Zinc sulfide ลงในขวดรูปชมพู่ หรือใช้ขวดบีโอดีเดิม แล้วเติมน้ำกลั่น 100 mL

4.1.4 เติม 6N HCl ปริมาตร 2 mL และเติม Iodine solution ปริมาตร 10 mL เขย่าให้เข้ากัน ถ้าตัวอย่างน้ำไม่เกิดสีเหลืองให้เติม Iodine solution อีก 10 mL (เติมครั้งละ 10 mL จนกว่าจะได้สารละลายสีเหลือง) จดปริมาตรของ Iodine solution ที่เติมลงไปทั้งหมด ทิ้งไว้ 5-10 นาที (Iodine solution 1 mL จะทำปฏิกิริยาพอดีกับ sulfide 0.4 mg)

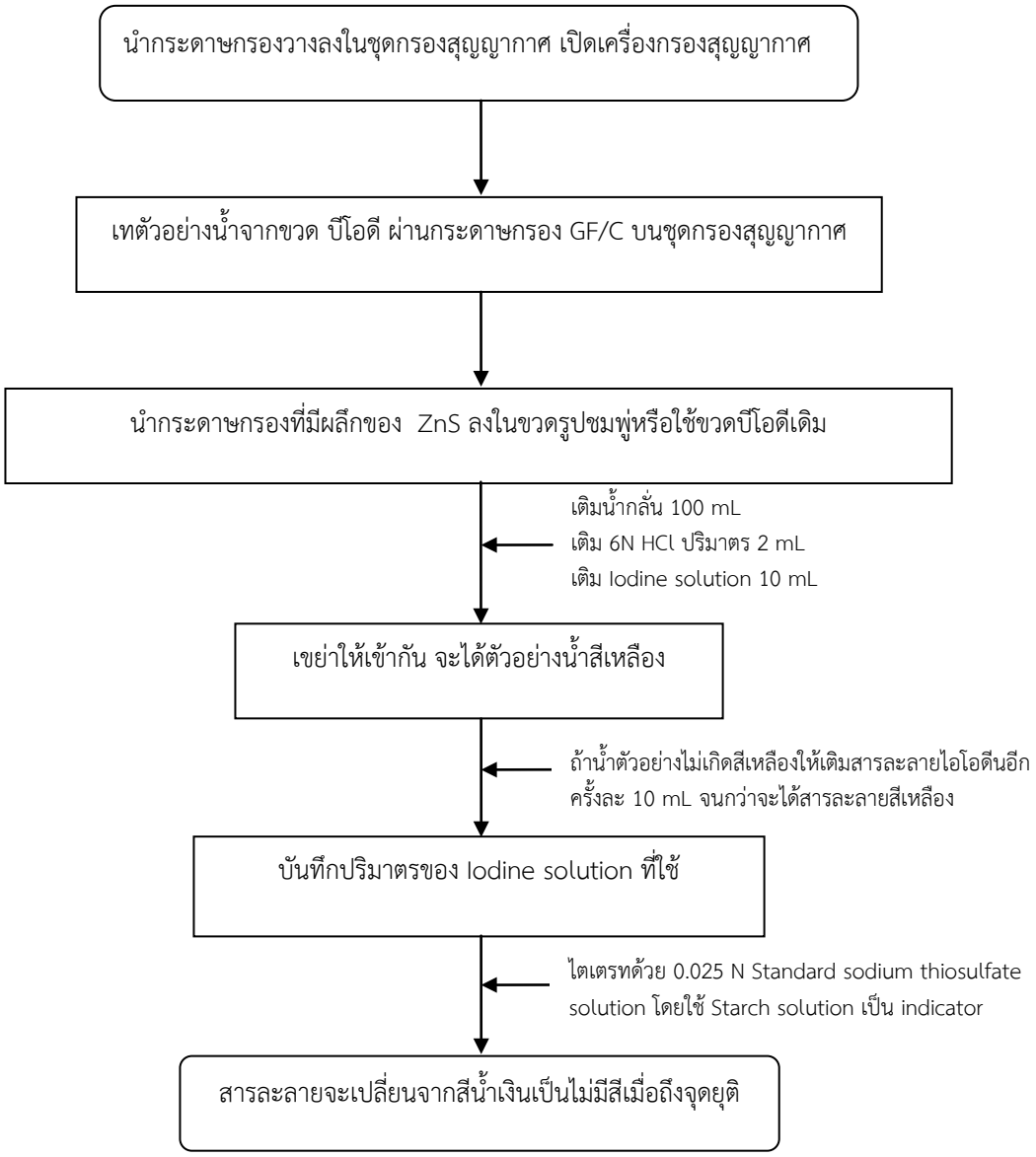
4.1.5 นำสารละลายที่ได้มาไตเตรทด้วย 0.025 N Standard sodium thiosulfate solution โดยใช้ Starch solution เป็น indicator จนกระทั่งสีน้ำเงินหายไปซึ่งเป็นจุดยุติ (บันทึกปริมาตร 0.025 N Standard sodium thiosulfate solution ที่ใช้ไตเตรท)

4.1.6 Blank ใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่างน้ำ โดย หยด Zinc acetate solution 0.45 mL (12 หยด) ลงในขวด บีโอดี ขนาด 300 mL เติมตัวอย่างน้ำลงไปจนถึงคอขวดแล้วเติม 6N NaOH 0.3 mL (6 หยด) ปิดจุกไม่ให้มีช่องว่างอากาศอยู่ภายในขวด เขย่าขวดไปมาจนเกิดตะกอน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้วทำการทดสอบเหมือนตัวอย่างตามข้อ 4.1.1-4.1.5

4.2 วิธีการคำนวณ Standard Iodine Solution (I_2) ความเข้มข้น 0.025 N

4.3 วิธีการคำนวณ Standard Solution thiosulfate solution (ความเข้มข้น 0.025N)

ขั้นตอนการทดสอบ



4.4 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณ } S^{2-} \text{ ทั้งหมด (mg/L)} = \frac{[(A \times B)-(C \times D)] \times 16{,}000}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ (mL)}}$$

โดย A = ปริมาตรของ Iodine solution ที่ใช้ (mL)
B = ความเข้มข้นของ Iodine solution (N)
C = ปริมาตรของ 0.025 N Standard sodium thiosulfate solution ที่ใช้ (mL)
D = ความเข้มข้นของ Standard sodium thiosulfate solution (N)

บทที่ 15
ไนโตรเจนทั้งหมด (Total Kjeldahl Nitrojen, TKN)

ผู้รวบรวม
นางสาวจุไรรัตน์ มหาเทียน นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นายศิริพล กำแพงทอง นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ

1. หลักการ (Principle)

หลักการวิเคราะห์ไนโตรเจนโดยวิธี Kjeldahl Method คือ amino nitrogen ของสารประกอบอินทรีย์และแอมโมเนียอิสระจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียม โดยใช้ Potassium sulfate (K_2SO_4) และ Cupric sulfate ($CuSO_4$) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในสภาวะที่เป็นกรด เติมสารละลายที่เป็นเบสและนำไปกลั่นเพื่อให้แอมโมเนียกลั่นตัว โดยมี boric acid หรือ sulfuric acid เป็นตัวดูดซับ หลังจากนั้นนำไปไตเตรทด้วยสารละลายกรดมาตรฐาน (H_2SO_4) เพื่อหาปริมาณไนโตรเจน ค่าที่ได้อยู่ในรูปของแอมโมเนียไนโตรเจน มีหน่วยเป็น mg/L

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 เครื่องกลั่นแอมโมเนีย (distillation apparatus)
2.2 เครื่องย่อย (digestion apparatus) พร้อม หลอดเจลดาห์ (kjeldahl tube)
2.3 ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 500 mL
2.4 ขวดปรับปริมาตร(volumetric flask) ขนาด 100 mL
2.5 ปิเปต (pipette) ขนาด 50 mL
2.6 ไมโครบิวเรต (micro burette) ขนาด 10 mL
2.7 บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 250 mL
2.8 หินป้องกันการเดือด (pumic Stone)

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 น้ำกลั่น DI (Deionized Water)

ใช้สำหรับเตรียมสารละลาย blank สารละลายมาตรฐาน และใช้ในการเจือจางตัวอย่าง น้ำกลั่นที่ใช้ควรได้จากการกลั่นใหม่ๆ ปราศจากแอมโมเนีย

3.2 Sodium hydroxide solution (NaOH) ความเข้มข้น 6N

ชั่ง NaOH 240 g ละลายในน้ำกลั่น DI และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

3.3 Standard Sodium carbonate (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 0.02 N

ชั่ง Na_2CO_3 0.106 g (อบที่อุณหภูมิ 250 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นในตู้ดูดความชื้น อย่างน้อย 30 นาที) ละลายในน้ำกลั่น DI และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

3.4 Phenolphthalein indicator

ชั่ง Phenolphthalein 0.08 g ละลายใน 95 % C_2H_5OH ให้ได้ปริมาตร 100 mL (ละลายใน Hood) เทใส่ขวดหยดเก็บไว้

3.5 Sulfuric acid (H_2SO_4) ความเข้มข้น 0.1 N

ปิเปต conc.H_2SO_4 ปริมาตร 2.75 mL ลงในน้ำกลั่นDI และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นDI ในขวดปรับปริมาตร

3.6 Sulfuric acid (H_2SO_4) ความเข้มข้น 0.02 N

ปิเปต 0.1 N H_2SO_4 ปริมาตร 200 mL ลงในน้ำกลั่นDI และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นDI ในขวดปรับปริมาตร

3.7 Digestion solution

ชั่ง Potassium sulfate (K_2SO_4) 134 g ละลายในน้ำกลั่นDI 600 mL และ ชั่ง $CuSO_4.5H_2O$ 7.3 g ละลายในน้ำกลั่นDI 200 mL ผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกัน แล้วเติม conc.H_2SO_4 134 mL ลงไป ทิ้งให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นDI ในขวดปรับปริมาตร

3.8 Mixed indicator solution

ชั่ง Methyl red indicator 0.1 g ละลายใน 95% Ethyl alcohol (C_2H_5OH) ปริมาตร 50 mL และชั่ง Methylene blue 0.05 g ละลายใน 95% C_2H_5OH ปริมาตร 25 mL ผสมสารละลายทั้ง 2 ชนิดเข้าด้วยกัน (เก็บไว้ได้ 1 เดือน)

3.9 Indicating boric acid

ชั่ง boric acid (H_3BO_3) 20 g ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 500 mL แล้วเติม Mixed indicator solution ปริมาตร 10 mL ลงไป ปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นDI ในขวดปรับปริมาตร

3.10 Methyl orange indicator

ชั่ง Methyl orange 0.05 g ละลายในน้ำกลั่น 100 mL เทใส่ขวดหยดเก็บไว้

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การ Standardize 0.02 N H_2SO_4 ด้วย 0.02 N Na_2CO_3

4.1.1. ปิเปต Standard Na_2CO_3 ปริมาตร 20 mL ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 mL

4.1.2. หยด Methyl orange indicator จำนวน 2-3 หยด

4.1.3. ไตเตรทกับสารละลาย 0.02 N H_2SO_4เมื่อถึงจุดยุติ สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีส้มอมชมพู

4.1.4. บันทึกค่าที่ได้ แล้วคำนวณหาความเข้มข้นของ Sulfuric acid จากสูตร

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

โดย N_1 = ความเข้มข้นของ Sulfuric acid

V_1 = ปริมาตรของ Sulfuric acid ที่ใช้ในการไตเตรท

N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Na_2CO_3

V_2 = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน Na_2CO_3 ที่ใช้ในการไตเตรท

4.2 การทดสอบตัวอย่าง

4.2.1 ตวงตัวอย่างน้ำปริมาตร 50 mL ใส่ลงในหลอดเจลดาห์ขนาด 400 mL

4.2.2 เติม Digestion solution ปริมาตร 50 mL

4.2.3 ใส่หินป้องกันการเดือด (Pumic stone) ประมาณ 5 ชิ้น เพื่อป้องกันการเดือดรุนแรง

4.2.4 นำเข้าเครื่องย่อย ตั้งอุณหภูมิที่ 250 °C นาน 30 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 380 °C นาน 1-1½ ชั่วโมง รอจนควันขาวจางลง ทิ้งให้เย็น

4.2.5 เติมน้ำกลั่น DI ปริมาตร 50 mL

4.2.6 หยด Phenolphthalene indicator จำนวน 3 – 5 หยด (ไม่ต้องเขย่า)

4.2.7 นำเข้าเครื่องกลั่นแอมโมเนีย

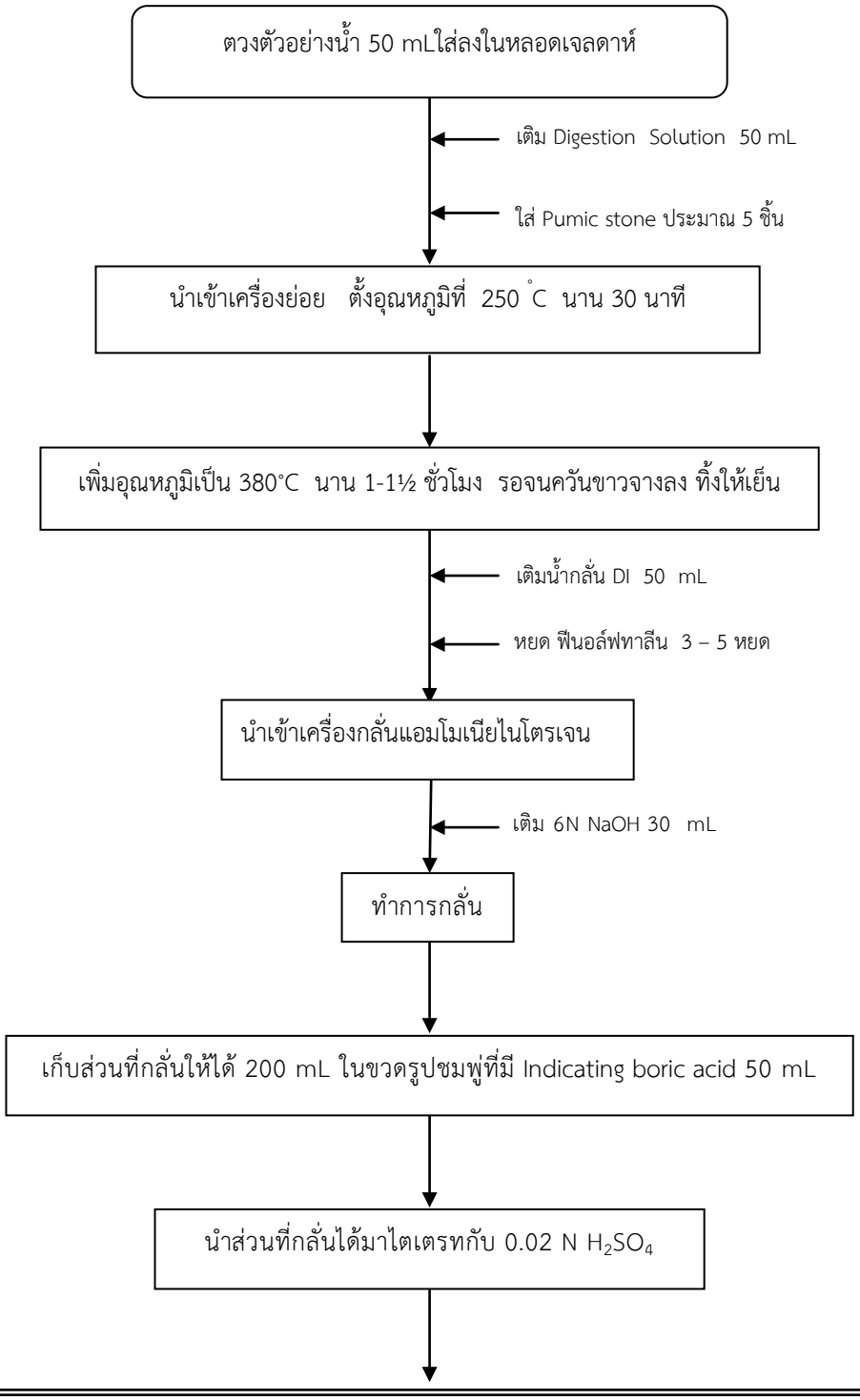
4.2.8 เติม 6N NaOH ประมาณ 30 mL จะสังเกตเห็นสารละลายมีสีชมพู

4.2.9 ทำการกลั่น แล้วเก็บส่วนที่กลั่นออกมาให้ได้ปริมาตร 200 mL ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 mL ซึ่งใส่สารละลาย Indicating boric acid ปริมาตร 50 mL เป็นตัวจับแอมโมเนีย

4.2.10 นำส่วนที่กลั่นได้มาไตเตรตกับ 0.02 N H_2SO_4 เมื่อถึงจุดยุติสารละลายจะปลี่ยนเป็นสีม่วงอ่อน

4.2.11 ทำ blank ทุกครั้ง โดยใช้น้ำกลั่นDI ที่ปราศจากแอมโมเนียแทนตัวอย่างน้ำและทำการวิเคราะห์เหมือนตัวอย่าง

ขั้นตอนการทดสอบ



เมื่อถึงจุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงอ่อน

4.3 การคำนวณ

$$\text{แอมโมเนียไนโตรเจน (mg/L)} = \frac{(A-B) \times 1000 \times N \times 14}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ (mL)}}$$

A = mL ของกรดซัลฟูริกมาตรฐานที่ใช้ในการไตเตรท sample
B = mL ของกรดซัลฟูริกมาตรฐานที่ใช้ในการไตเตรท blank
N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้

4.4 การควบคุมคุณภาพ

4.4.1 การทดสอบ method blank

นำน้ำกลั่น DI มาทดสอบเช่นเดียวกับการทำตัวอย่าง

4.4.2 การวิเคราะห์ spiked sample หรือ การหา % recovery

โดยใช้สารมาตรฐาน NH_4Cl ความเข้มข้น 10 mg/L spike ลงในตัวอย่าง

4.4.2.1 เตรียมสารมาตรฐาน NH_4Cl ความเข้มข้น 1000 mg/L

ชั่ง NH_4Cl 3.819 g (อบแห้งที่ 100 °C นาน 2 ชั่งโมง) ละลายในน้ำกลั่น DI และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4.4.2.2 ปิเปตสารมาตรฐาน NH_4Cl เข้มข้น 1000 mg/L ปริมาตร 0.5 mL spike ลงในตัวอย่างน้ำปริมาตร 50 mL (NH_4Cl ความเข้มข้น 10 mg/L) และหาค่า % recovery ที่ได้

$$\%\ \text{recovery} = \frac{\text{(ความเข้มข้นของ spiked sample – ความเข้มข้นของตัวอย่างเริ่มต้น)}}{\text{ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไป}} \times 100$$

4.4.3 การวิเคราะห์ซ้ำในตัวอย่างเดียวกัน (duplicate analysis pair)

วิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกัน จำนวน 2 ครั้ง เพื่อทดสอบความแม่นยำของผู้ที่ทำการทดสอบ หลังจากนั้นนำผลการทดสอบมาคำนวณหา % ความแตกต่างสัมพัทธ์ (% Relative Percent Difference : RPD)

$$\%\ \text{ความแตกต่างสัมพัทธ์} = \frac{\text{ผลการทดสอบครั้งที่ 1 - ผลการทดสอบครั้งที่ 2}}{\text{ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบทั้ง 2 ครั้ง}} \times 100$$

เกณฑ์การยอมรับ : 10 %

บทที่ 16
ตะกั่ว (Lead, Pb)

ผู้รวบรวม
นางสาวจุไรรัตน์ มหาเทียน นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นายศิริพล กำแพงทอง นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาวตวงพร แป้นพุ่ม นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ

1. หลักการ (Principle)

การทดสอบหาปริมาณตะกั่วในตัวอย่างน้ำ โดยใช้เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ชนิด กราไฟต์เฟอร์เนส (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer, GFAAS) โมเลกุลของตัวอย่างจะถูกทำให้แตกตัวเป็นอะตอมอิสระโดยความร้อนจากไฟฟ้า หลังจากนั้นจะให้แสงที่มาจากแหล่งกำเนิดแสง (lamp) เฉพาะของธาตุผ่านไปยังอะตอมอิสระ และวัดความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนโดยอะตอมอิสระของตะกั่ว โดยความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะแปรผันตามความเข้มข้นของตะกั่วในตัวอย่าง

2. เครื่องมือ และอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ชนิด กราไฟต์เฟอร์เนส (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer, GFAAS)

2.2 เตาไฟฟ้า (hot plate)

2.3 ไมโครปิเปต (micro pipette) ขนาด 50–200, 200–1000 µL และ ขนาด 1–5 mL

2.4 ตู้ดูดไอกรด (hood)

2.5 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) class A ชนิด TC ขนาด 50, 100 mL และชนิด TD ขนาด 100 mL

2.6 บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 250 mL

2.7 กระจกนาฬิกาแก้ว

2.8 กรวยกรอง (funnel) ชนิดแก้ว

2.9 กระดาษกรอง (glass-fiber filter) GF/A ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.0 cm

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 น้ำกลั่นDI (Deionized Water)

ใช้สำหรับเตรียมสารละลายแบลงค์ สารละลายมาตรฐาน และการเจือจางตัวอย่าง

3.2 กรดไนตริกเข้มข้น (conc. Nitric acid, conc.HNO_3) ชนิด AR เกรด ความบริสุทธิ์ 65–70 %

3.3 กรดไนตริก (Nitric acid) ความเข้มข้น 1 %

นำ volumetric flask ขนาด 100 mL เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 40 mL ปิเปต conc .HNO_3 ปริมาตร 1.0 mL ลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร เทใส่ขวดพลาสติก ชนิด PP หรือ PE ที่ทนกรดด่าง ปิดฝาให้สนิท เขียนชื่อสาร วันหมดอายุ (อายุการใช้งานนาน
6 เดือน) ชื่อผู้เตรียม เก็บสารละลายกรดนี้ที่อุณหภูมิห้อง

3.4 สารละลายมาตรฐานตะกั่ว (Standard Lead solution) ความเข้มข้น 1000 mg/L

3.5 สารละลายมาตรฐานตะกั่ว (Standard Lead solution) ความเข้มข้น 10.0 mg/L

นำ volumetric flask ขนาด 50 mL เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 20 mL ปิเปต conc.HNO_3 ปริมาตร 0.5 mL ลงใน volumetric flask จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานตะกั่ว ความเข้มข้น 1000 mg/L ปริมาตร 0.5 mL และปรับปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่าง โดยการย่อยตัวอย่างด้วย conc.HNO_3 มีวิธีการดังนี้

4.1.1 ตวงตัวอย่างน้ำ 100 mL ด้วยขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL ชนิด TD ใส่ในบีกเกอร์ ขนาด 250 mL

4.1.2 เติม conc.HNO_3 ปริมาตร 5 mL ลงในตัวอย่าง

4.1.3 นำไปตั้งบนเตาไฟฟ้าที่อยู่ในตู้ดูดไอกรด โดยปรับระดับความร้อนไม่ให้สารละลายเดือด ย่อยตัวอย่างจนปริมาตรลดลงเหลือประมาณ 5-10 mL

4.1.4 ยกบีกเกอร์ของตัวอย่างลงมาจากเตา ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (ในตู้ดูดไอกรด)

4.1.5 เติม conc.HNO_3 ปริมาตร 5 mL ลงในตัวอย่าง ปิดด้วยกระจกนาฬิกาแก้ว

4.1.6 ทำตามข้อ 4.1.3 และ 4.1.4

4.1.8 กรองสารละลายจากข้อ 4.1.6 ใส่ใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL โดยใช้กรวยแก้วและกระดาษกรองชนิดทนกรด (GF/A) และใช้น้ำกลั่น DI ชะล้างสารที่ผนังข้าง ๆ ของบีกเกอร์จำนวน 5 ครั้ง ครั้งละประมาณ 5 mL แล้วชะกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่น DI อีก 2 รอบ

4.1.9 ปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4.2 การเตรียม calibration curve

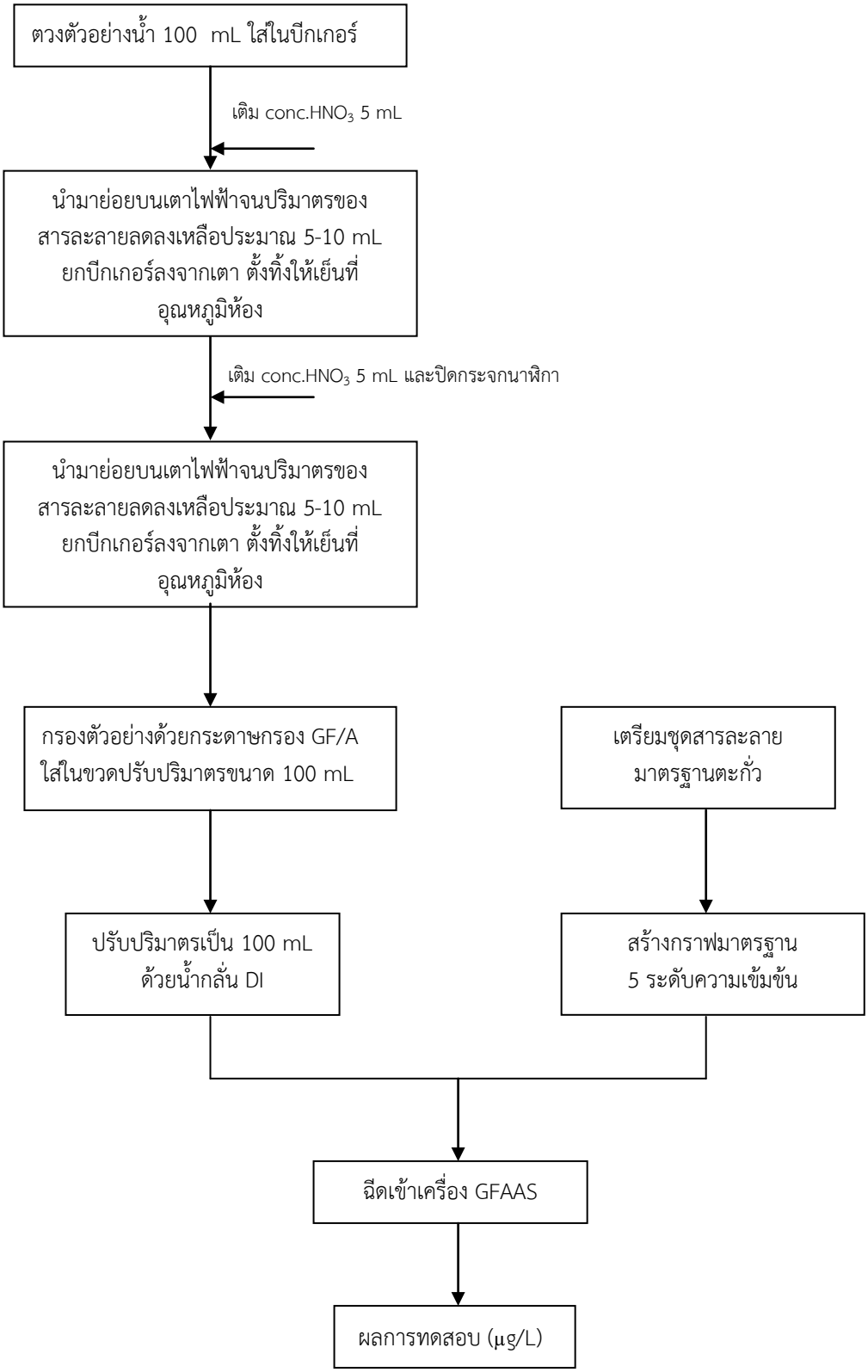
เตรียมสารละลายมาตรฐานตะกั่ว ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 µg/L โดยนำขวดปรับปริมาตร ขนาด 25 mL จำนวน 5 ใบ เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 20 mL ปิเปต conc.HNO_3 ปริมาตร 0.25 mL ลงในขวดปรับปริมาตรทั้ง 5 ใบ จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานตะกั่ว ความเข้มข้น 10 mg/L ปริมาตร 25, 50, 75, 100, และ 125 µL ตามลำดับ และปรับปริมาตรเป็น 25 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4.3 การทดสอบตัวอย่าง

4.3.1 สร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) โดยนำสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ จากข้อ 4.2 ฉีดเข้าเครื่อง GFAAS สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) โดยให้แกนตั้ง (X) เป็นค่าการดูดกลืนแสง และแกนนอน (Y) เป็นค่าความเข้มข้น

4.3.2 นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 4.1 มาทดสอบหาปริมาณตะกั่ว โดยฉีดเข้าเครื่อง GFAAS หาค่าการดูดกลืนแสง เทียบกับ calibration curve เครื่อง GFAAS จะคำนวณค่าความเข้มข้นของตะกั่วมีหน่วยเป็น µg/L

ขั้นตอนการทดสอบตะกั่วในน้ำ



5. การควบคุมคุณภาพ

5.1 ตรวจสอบสมรรถนะของเครื่องมือ พิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง โดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient : r) จะต้อง ≥ 0.995

5.2 ทดสอบตัวอย่างควบคุม (control sample) โดยแทรกเข้าไปในชุดตัวอย่าง ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง control sample ที่ใช้เป็น CRM หรือ QC check standard

5.3 ทดสอบหา% Recovery โดยแทรกเข้าไปในชุดตัวอย่าง ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง และค่า % Recovery ต้องอยู่ในช่วง 90-110 %

5.4 ทดสอบ Method Blank โดยใช้น้ำกลั่น DI ทดสอบเช่นเดียวกับตัวอย่าง

การทดสอบค่าต่างๆ ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ถ้าทดสอบแล้วได้ค่าอยู่นอกเหนือจากเกณฑ์ที่กำหนด ให้ทดสอบใหม่

6. การรายงานผล

6.1 รายงานผลการทดสอบตะกั่ว ในหน่วย µg/L ทศนิยม 2 ตำแหน่ง

6.2 กรณีที่วิเคราะห์ได้ต่ำกว่าค่า LOQ ให้รายงานผลว่าน้อยกว่าค่า LOQ (< LOQ) โดยค่า LOQ ต้องระบุเป็นตัวเลข

6.3 กรณีที่วิเคราะห์ได้ค่ามากกว่าค่า LOQ ให้รายงานค่าจริงของตัวเลขตามข้อ 6.1

บทที่ 17
โครเมียม (Chromium, Cr)

ผู้รวบรวม
นางสาวจุไรรัตน์ มหาเทียน นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นายศิริพล กำแพงทอง นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาวตวงพร แป้นพุ่ม นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ

1. หลักการ (Principle)

การทดสอบหาปริมาณโครเมียมในตัวอย่างน้ำ โดยใช้เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ชนิด กราไฟต์เฟอร์เนส (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer, GFAAS) โมเลกุลของตัวอย่างจะถูกทำให้แตกตัวเป็นอะตอมอิสระโดยความร้อนจากไฟฟ้า หลังจากนั้นจะให้แสงที่มาจากแหล่งกำเนิดแสง (lamp) เฉพาะของธาตุผ่านไปยังอะตอมอิสระ และวัดความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนโดยอะตอมอิสระของโครเมียม โดยความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะแปรผันตามความเข้มข้นของโครเมียมในตัวอย่าง

2. เครื่องมือ และอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ชนิด กราไฟต์เฟอร์เนส (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer, GFAAS)

2.2 เตาไฟฟ้า (hot plate)

2.3 ปิเปตอัตโนมัติ (auto pipette) ขนาด 50–200, 200–1000 µL และ ขนาด 1–5 mL

2.4 ตู้ดูดไอกรด (hood)

2.5 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) class A ชนิด TC ขนาด 50, 100 mL และชนิด TD ขนาด 100 mL

2.6 บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 250 mL

2.7 กระจกนาฬิกา

2.8 กรวยกรอง (funnel) ชนิดแก้ว

2.9 กระดาษกรอง (glass-fiber filter) GF/A ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.0 cm

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 น้ำกลั่นDI (Deionized Water)

ใช้สำหรับเตรียมสารละลายแบลงค์ สารละลายมาตรฐาน และการเจือจางตัวอย่าง

3.2 กรดไนตริกเข้มข้น (conc. Nitric acid, conc.HNO_3) ชนิด AR เกรด ความบริสุทธิ์ 65–70 %

3.3 กรดไนตริก (Nitric acid) ความเข้มข้น 1 %

นำ volumetric flask ขนาด 100 mL เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 40 mL ปิเปต conc .HNO_3 ปริมาตร 1.0 mL ลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร เทใส่ขวดพลาสติก ชนิด PP หรือ PE ที่ทนกรดด่าง ปิดฝาให้สนิท เขียนชื่อสาร วันหมดอายุ (อายุการใช้งานนาน 6 เดือน) ชื่อผู้เตรียม เก็บสารละลายกรดนี้ที่อุณหภูมิห้อง

3.4 สารละลายมาตรฐานโครเมียม (Standard Chromium solution) ความเข้มข้น 1000 mg/L

3.5 สารละลายมาตรฐานโครเมียม (Standard Chromium solution) ความเข้มข้น 10.0 mg/L

นำ volumetric flask ขนาด 50 mL เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 20 mL ปิเปต conc.HNO_3 ปริมาตร 0.5 mL ลงใน volumetric flask จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานโครเมียม ความเข้มข้น 1000 mg/L ปริมาตร 500 µL และปรับปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่าง โดยการย่อยตัวอย่างด้วย conc.HNO_3 มีวิธีการดังนี้

4.1.1 ตวงตัวอย่างน้ำ 100 mL ด้วยขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL ชนิด TD ใส่ใน บีกเกอร์ขนาด 250 mL

4.1.2 เติม conc.HNO_3 ปริมาตร 5 mL ลงในตัวอย่าง

4.1.3 นำไปตั้งบนเตาไฟฟ้าที่อยู่ในตู้ดูดไอกรด โดยปรับระดับความร้อนไม่ให้สารละลายเดือด ย่อยตัวอย่างจนปริมาตรลดลงเหลือประมาณ 5-10 mL

4.1.4 ยกบีกเกอร์ของตัวอย่างลงมาจากเตา ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (ในตู้ดูดไอกรด)

4.1.5 เติม conc.HNO_3 ปริมาตร 5 mL ลงในตัวอย่าง ปิดด้วยกระจกนาฬิกาแก้ว

4.1.6 ทำตามข้อ 4.1.3 และ 4.1.4

4.1.8 กรองสารละลายจากข้อ 4.1.6 ใส่ใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL โดยใช้กรวยแก้วและกระดาษกรองชนิดทนกรด (GF/A) และใช้น้ำกลั่น DI ชะล้างสารที่ผนังข้าง ๆ ของบีกเกอร์ จำนวน 5 ครั้ง ครั้งละประมาณ 5 mL แล้วชะกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่น DI อีก 2 รอบ

4.1.9 ปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4.2 การเตรียม calibration curve

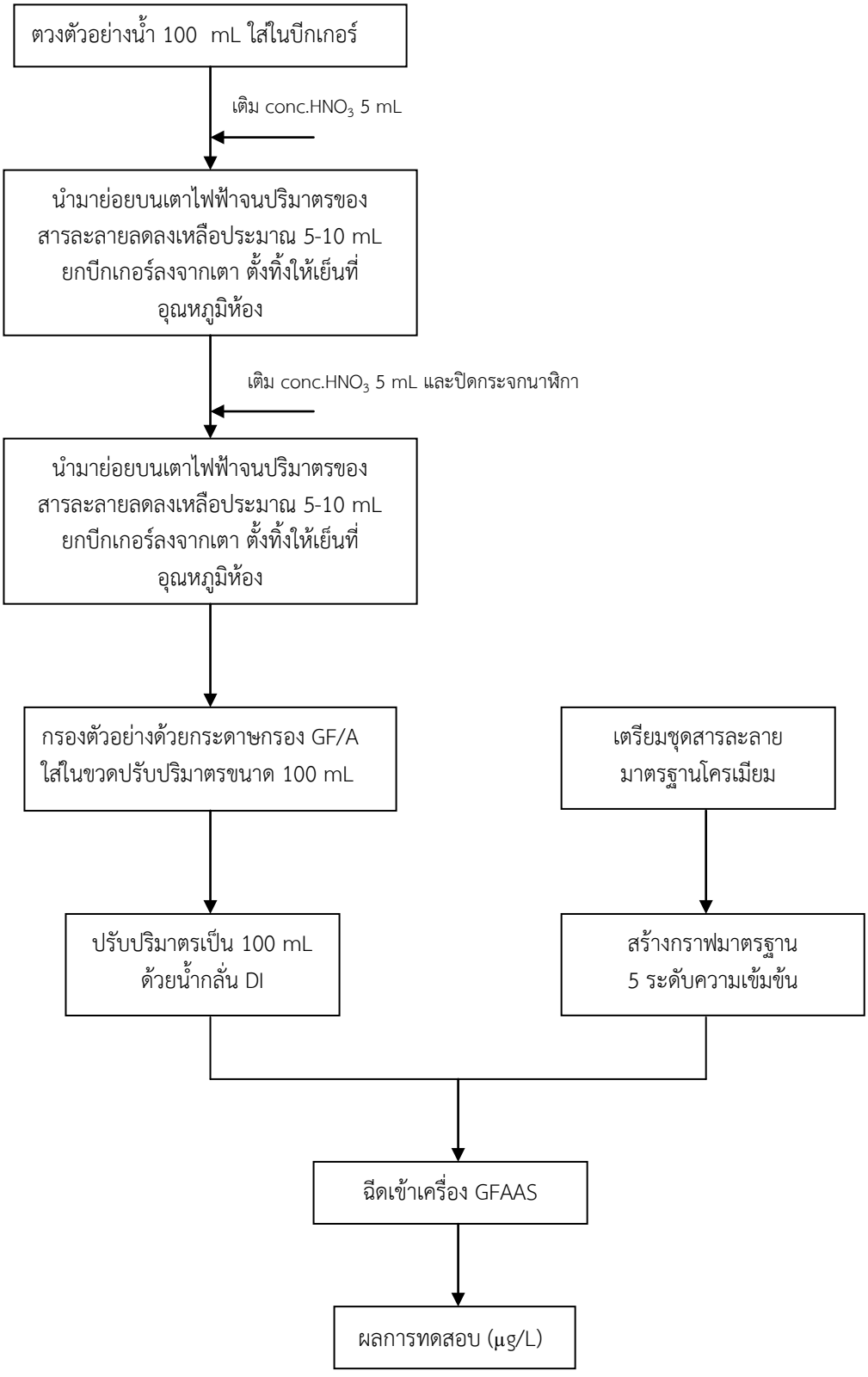
เตรียมสารละลายมาตรฐานโครเมียมความเข้มข้น 8, 16, 24, 32 และ 40 µg/L โดยนำขวดปรับปริมาตร ขนาด 25 mL จำนวน 5 ใบ เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 20 mL ปิเปต conc.HNO_3 ปริมาตร 0.25 mL ลงในขวดปรับปริมาตรทั้ง 5 ใบ จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานโครเมียม ความเข้มข้น 10 mg/L ปริมาตร 20, 40, 60, 80 และ 100 µL ตามลำดับ และปรับปริมาตรเป็น 25 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4.3 การทดสอบตัวอย่าง

4.3.1 สร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) โดยนำสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ จากข้อ 4.2 ฉีดเข้าเครื่อง GFAAS สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) โดยให้แกนตั้ง (X) เป็นค่าการดูดกลืนแสง และแกนนอน (Y) เป็นค่าความเข้มข้น

4.3.2 นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 4.1 มาทดสอบหาปริมาณโครเมียม โดยฉีดเข้าเครื่อง GFAAS หาค่าการดูดกลืนแสง เทียบกับ calibration curve เครื่อง GFAAS จะคำนวณค่าความเข้มข้นของโครเมียม มีหน่วยเป็น µg/L

ขั้นตอนการทดสอบโครเมียมในน้ำ



5. การควบคุมคุณภาพ

5.1 ตรวจสอบสมรรถนะของเครื่องมือ พิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง โดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient : r) จะต้อง ≥ 0.995

5.2 ทดสอบตัวอย่างควบคุม (control sample) โดยแทรกเข้าไปในชุดตัวอย่าง ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง control sample ที่ใช้เป็น CRM หรือ QC check standard

5.3 ทดสอบหา% Recovery โดยแทรกเข้าไปในชุดตัวอย่าง ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง และค่า % Recovery ต้องอยู่ในช่วง 90-110 %

5.4 ทดสอบ Method Blank โดยใช้น้ำกลั่น DI ทดสอบเช่นเดียวกับตัวอย่าง

การทดสอบค่าต่างๆ ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ถ้าทดสอบแล้วได้ค่าอยู่นอกเหนือจากเกณฑ์ที่กำหนด ให้ทดสอบใหม่

6. การรายงานผล

6.1 รายงานผลการทดสอบโครเมียมในหน่วย µg/L ทศนิยม 2 ตำแหน่ง

6.2 กรณีที่วิเคราะห์ได้ต่ำกว่าค่า LOQ ให้รายงานผลว่าน้อยกว่าค่า LOQ (< LOQ) โดยค่า LOQ ต้องระบุเป็นตัวเลข

6.3 กรณีที่วิเคราะห์ได้ค่ามากกว่าค่า LOQ ให้รายงานค่าจริงของตัวเลขตามข้อ 6.1

บทที่ 18
แคดเมียม (Cadmium, Cd)

ผู้รวบรวม
นางสาวจุไรรัตน์ มหาเทียน นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นายศิริพล กำแพงทอง นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาวตวงพร แป้นพุ่ม นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ

1. หลักการ (Principle)

การทดสอบหาปริมาณแคดเมียมในตัวอย่างน้ำ โดยใช้เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ชนิด กราไฟต์เฟอร์เนส (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer, GFAAS) โมเลกุลของตัวอย่างจะถูกทำให้แตกตัวเป็นอะตอมอิสระโดยความร้อนจากไฟฟ้า หลังจากนั้นจะให้แสงที่มาจากแหล่งกำเนิดแสง (lamp) เฉพาะของธาตุผ่านไปยังอะตอมอิสระ และวัดความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนโดยอะตอมอิสระของแคดเมียม โดยความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะแปรผันตามความเข้มข้นของแคดเมียมในตัวอย่าง

2. เครื่องมือ และอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ชนิด กราไฟต์เฟอร์เนส (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer, GFAAS)

2.2 เตาไฟฟ้า (hot plate)

2.3 ปิเปตอัตโนมัติ (auto pipette) ขนาด 50–200, 200–1000 μL และ ขนาด 1–5 mL

2.4 ตู้ดูดไอกรด (hood)

2.5 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) class A ชนิด TC ขนาด 50, 100 mL และชนิด TD ขนาด 100 mL

2.6 บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 250 mL

2.7 กระจกนาฬิกา

2.8 กรวยกรอง (funnel) ชนิดแก้ว

2.9 กระดาษกรอง (glass-fiber filter) GF/A ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.0 cm

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 น้ำกลั่นDI (Deionized Water)

ใช้สำหรับเตรียมสารละลายแบลงค์ สารละลายมาตรฐาน และการเจือจางตัวอย่าง

3.2 กรดไนตริกเข้มข้น (conc. Nitric acid, conc.HNO_3) ชนิด AR เกรด ความบริสุทธิ์ 65–70 %

3.3 กรดไนตริก (Nitric acid) ความเข้มข้น 1 %

นำ volumetric flask ขนาด 100 mL เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 40 mL ปิเปต conc .HNO_3 ปริมาตร 1.0 mL ลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร เทใส่ขวดพลาสติก ชนิด PP หรือ PE ที่ทนกรดด่าง ปิดฝาให้สนิท เขียนชื่อสาร วันหมดอายุ (อายุการใช้งานนาน 6 เดือน) ชื่อผู้เตรียม เก็บสารละลายกรดนี้ที่อุณหภูมิห้อง

3.4 สารละลายมาตรฐานแคดเมียม (Standard Cadmium solution) ความเข้มข้น 1000 mg/L

3.5 สารละลายมาตรฐานแคดเมียม (Standard Cadmium solution) ความเข้มข้น 5.0 mg/L

นำ volumetric flask ขนาด 50 mL เติมน้ำกลั่น DI ประมาณ 20 mL ปิเปต conc.HNO_3 ปริมาตร 0.5 mL ลงใน volumetric flask จากนั้น ปิเปตสารละลายมาตรฐานแคดเมียม ความเข้มข้น 1000 mg/L ปริมาตร 250 µL และปรับปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่าง โดยการย่อยตัวอย่างด้วย conc.HNO_3 มีวิธีการดังนี้

4.1.1 ตวงตัวอย่างน้ำ 100 mL ด้วยขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL ชนิด TD ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 mL

4.1.2 เติม conc.HNO_3 ปริมาตร 5 mL ลงในตัวอย่าง

4.1.3 นำไปตั้งบนเตาไฟฟ้าที่อยู่ในตู้ดูดไอกรด โดยปรับระดับความร้อนไม่ให้สารละลายเดือด ย่อยตัวอย่างจนปริมาตรลดลงเหลือประมาณ 5-10 mL

4.1.4 ยกบีกเกอร์ของตัวอย่างลงมาจากเตา ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (ในตู้ดูดไอกรด)

4.1.5 เติม conc.HNO_3 ปริมาตร 5 mL ลงในตัวอย่าง ปิดด้วยกระจกนาฬิกาแก้ว

4.1.6 ทำตามข้อ 4.1.3 และ 4.1.4

4.1.8 กรองสารละลายจากข้อ 4.1.6 ใส่ใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL โดยใช้กรวยแก้วและกระดาษกรองชนิดทนกรด (GF/A) และใช้น้ำกลั่น DI ชะล้างสารที่ผนังข้างๆ ของบีกเกอร์ จำนวน 5 ครั้ง ครั้งละประมาณ 5 mL แล้วชะกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่น DI อีก 2 รอบ

4.1.9 ปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4.2 การเตรียม calibration curve

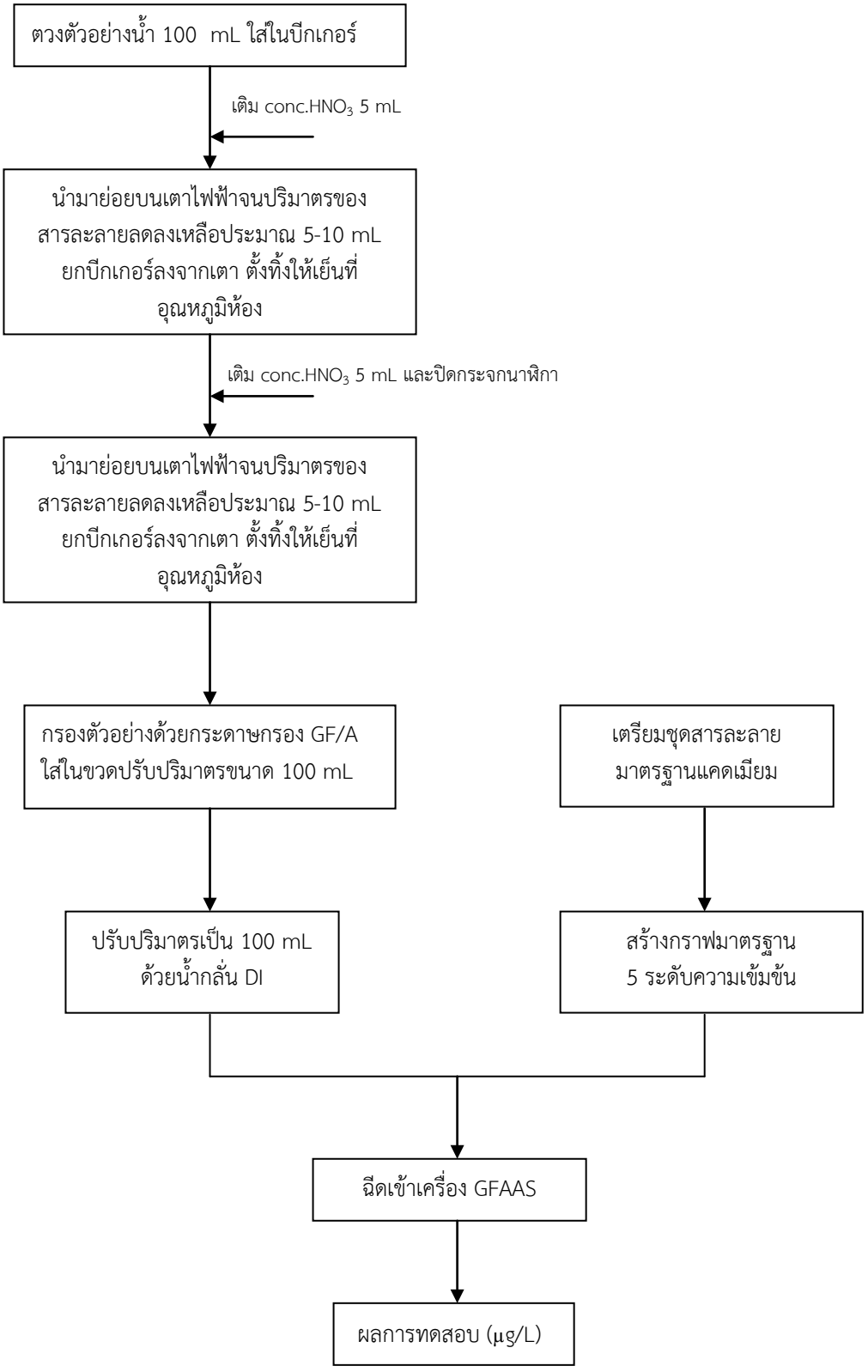
เตรียมสารละลายมาตรฐานแคดเมียม ความเข้มข้น 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 µg/L โดยนำขวดปรับปริมาตร ขนาด 25 mL จำนวน 5 ใบ เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 20 mL ปิเปต conc.HNO_3 ปริมาตร 250 µL ลงในขวดปรับปริมาตรทั้ง 5 ใบ จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานแคดเมียม ความเข้มข้น 5 mg/L ปริมาตร 5, 7.5, 10, 12.5 และ 15 µL ตามลำดับ และปรับปริมาตรเป็น 25 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4.3 การทดสอบตัวอย่าง

4.3.1 สร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) โดยนำสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ จากข้อ 4.2 ฉีดเข้าเครื่อง GFAAS สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) โดยให้แกนตั้ง (X) เป็นค่าการดูดกลืนแสง และแกนนอน (Y) เป็นค่าความเข้มข้น

4.3.2 นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 4.1 มาทดสอบหาปริมาณแคดเมียม โดยฉีดเข้าเครื่อง GFAAS หาค่าการดูดกลืนแสง เทียบกับ calibration curve เครื่อง GFAAS จะคำนวณค่าความเข้มข้นของแคดเมียม มีหน่วยเป็น µg/L

ขั้นตอนการทดสอบแคดเมียมในน้ำ



5. การควบคุมคุณภาพ

5.1 ตรวจสอบสมรรถนะของเครื่องมือ พิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง โดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient : r) จะต้อง ≥ 0.995

5.2 ทดสอบตัวอย่างควบคุม (control sample) โดยแทรกเข้าไปในชุดตัวอย่าง ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง control sample ที่ใช้เป็น CRM หรือ QC check standard

5.3 ทดสอบหา% Recovery โดยแทรกเข้าไปในชุดตัวอย่าง ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง และค่า % Recovery ต้องอยู่ในช่วง 90-110 %

5.4 ทดสอบ Method Blank โดยใช้น้ำกลั่น DI ทดสอบเช่นเดียวกับตัวอย่าง

การทดสอบค่าต่างๆ ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ถ้าทดสอบแล้วได้ค่าอยู่นอกเหนือจากเกณฑ์ที่กำหนด ให้ทดสอบใหม่

6. การรายงานผล

6.1 รายงานผลการทดสอบแคดเมียมในหน่วย µg/L ทศนิยม 2 ตำแหน่ง

6.2 กรณีที่วิเคราะห์ได้ต่ำกว่าค่า LOQ ให้รายงานผลว่าน้อยกว่าค่า LOQ (< LOQ) โดยค่า LOQ ต้องระบุเป็นตัวเลข

6.3 กรณีที่วิเคราะห์ได้ค่ามากกว่าค่า LOQ ให้รายงานค่าจริงของตัวเลขตามข้อ 6.1

บทที่ 19
นิกเกิล (Nickel, Ni)

ผู้รวบรวม
นางสาวจุไรรัตน์ มหาเทียน นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นายศิริพล กำแพงทอง นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาวตวงพร แป้นพุ่ม นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ

1. หลักการ (Principle)

การทดสอบหาปริมาณนิกเกิลในตัวอย่างน้ำ โดยใช้เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ชนิด กราไฟต์เฟอร์เนส (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer, GFAAS) โมเลกุลของตัวอย่างจะถูกทำให้แตกตัวเป็นอะตอมอิสระโดยความร้อนจากไฟฟ้า หลังจากนั้นจะให้แสงที่มาจากแหล่งกำเนิดแสง (lamp) เฉพาะของธาตุผ่านไปยังอะตอมอิสระ และวัดความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนโดยอะตอมอิสระของนิกเกิล โดยความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะแปรผันตามความเข้มข้นของนิกเกิลในตัวอย่าง

2. เครื่องมือ และอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ชนิด กราไฟต์เฟอร์เนส (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer, GFAAS)

2.2 เตาไฟฟ้า (hot plate)

2.3 ไมโครปิเปต (micro pipette) ขนาด 50–200, 200–1000 µL และ ขนาด 1–5 mL

2.4 ตู้ดูดไอกรด (hood)

2.5 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) class A ชนิด TC ขนาด 50, 100 mL และชนิด TD ขนาด 100 mL

2.6 บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 250 mL

2.7 กระจกนาฬิกาแก้ว

2.8 กรวยกรอง (funnel) ชนิดแก้ว

2.9 กระดาษกรอง (glass-fiber filter) GF/A ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.0 cm

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 น้ำกลั่นDI (Deionized Water)

ใช้สำหรับเตรียมสารละลายแบลงค์ สารละลายมาตรฐาน และการเจือจางตัวอย่าง

3.2 กรดไนตริกเข้มข้น (conc. Nitric acid, conc.HNO_3) ชนิด AR เกรด ความบริสุทธิ์ 65–70 %

3.3 กรดไนตริก (Nitric acid) ความเข้มข้น 1 %

นำ volumetric flask ขนาด 100 mL เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 40 mL ปิเปต conc .HNO_3 ปริมาตร 1.0 mL ลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร เทใส่ขวดพลาสติก ชนิด PP หรือ PE ที่ทนกรดด่าง ปิดฝาให้สนิท เขียนชื่อสาร วันหมดอายุ (อายุการใช้งานนาน 6 เดือน) ชื่อผู้เตรียม เก็บสารละลายกรดนี้ที่อุณหภูมิห้อง

3.4 สารละลายมาตรฐานนิกเกิล (Standard Nickel solution) ความเข้มข้น 1000 mg/L

3.5 สารละลายมาตรฐานนิกเกิล (Standard Nickel solution) ความเข้มข้น 10.0 mg/L

นำ volumetric flask ขนาด 50 mL เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 20 mL ปิเปต conc.HNO_3 ปริมาตร 0.5 mL ลงใน volumetric flask จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานนิกเกิล ความเข้มข้น 1000 mg/L ปริมาตร 0.5 mL และปรับปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่าง โดยการย่อยตัวอย่างด้วย conc.HNO_3 มีวิธีการดังนี้

4.1.1 ตวงตัวอย่างน้ำ 100 mL ด้วยขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL ชนิด TD ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 mL

4.1.2 เติม conc.HNO_3 ปริมาตร 5 mL ลงในตัวอย่าง

4.1.3 นำไปตั้งบนเตาไฟฟ้าที่อยู่ในตู้ดูดไอกรด โดยปรับระดับความร้อนไม่ให้สารละลายเดือด ย่อยตัวอย่างจนปริมาตรลดลงเหลือประมาณ 5-10 mL

4.1.4 ยกบีกเกอร์ของตัวอย่างลงมาจากเตา ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (ในตู้ดูดไอกรด)

4.1.5 เติม conc.HNO_3 ปริมาตร 5 mL ลงในตัวอย่าง ปิดด้วยกระจกนาฬิกาแก้ว

4.1.6 ทำตามข้อ 4.1.3 และ 4.1.4

4.1.8 กรองสารละลายจากข้อ 4.1.6 ใส่ใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL โดยใช้กรวยแก้วและกระดาษกรองชนิดทนกรด (GF/A) และใช้น้ำกลั่น DI ชะล้างสารที่ผนังข้าง ๆ ของบีกเกอร์ จำนวน 5 ครั้ง ครั้งละประมาณ 5 mL แล้วชะกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่น DI อีก 2 รอบ

4.1.9 ปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4.2 การเตรียม calibration curve

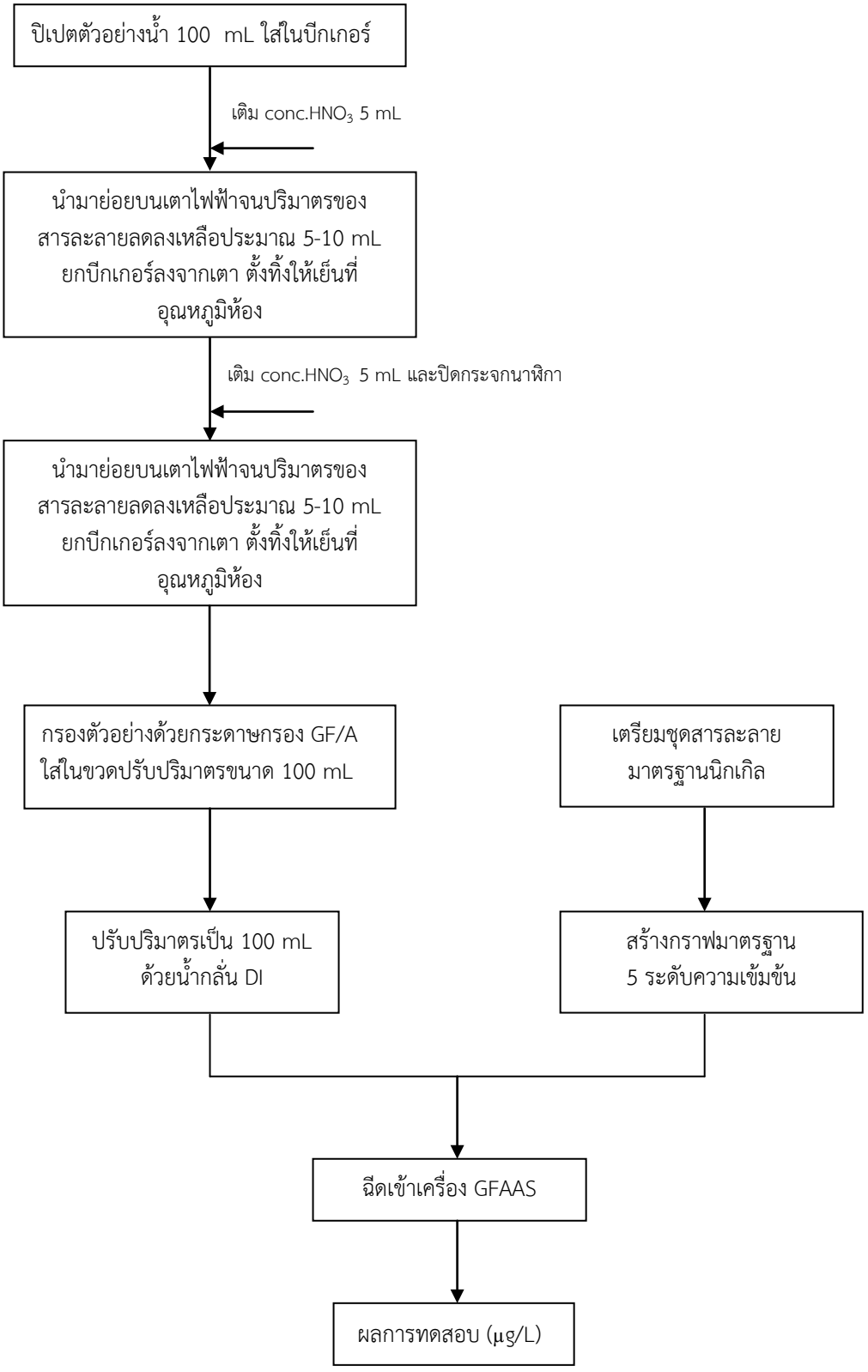
เตรียมสารละลายมาตรฐานนิกเกิล ความเข้มข้น 8, 16, 24, 32 และ 40 µg/L โดยนำขวดปรับปริมาตร ขนาด 25 mL จำนวน 5 ใบ เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 20 mL ปิเปต conc.HNO_3 ปริมาตร 0.25 mL ลงในขวดปรับปริมาตรทั้ง 5 ใบ จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานนิกเกิล ความเข้มข้น 10 mg/L ปริมาตร 20, 40, 60, 80 และ 100 µL ตามลำดับ และปรับปริมาตรเป็น 25 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4.3 การทดสอบตัวอย่าง

4.3.1 สร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) โดยนำสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ จากข้อ 4.2 ฉีดเข้าเครื่อง GFAAS สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) โดยให้แกนตั้ง (X) เป็นค่าการดูดกลืนแสง และแกนนอน (Y) เป็นค่าความเข้มข้น

4.3.2 นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 4.1 มาทดสอบหาปริมาณนิกเกิล โดยฉีดเข้าเครื่อง GFAAS หาค่าการดูดกลืนแสง เทียบกับ calibration curve เครื่อง GFAAS จะคำนวณค่าความเข้มข้นของนิกเกิล มีหน่วยเป็น µg/L

ขั้นตอนการทดสอบนิกเกิลในน้ำ



5. การควบคุมคุณภาพ

5.1 ตรวจสอบสมรรถนะของเครื่องมือ พิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง โดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient : r) จะต้อง ≥ 0.995

5.2 ทดสอบตัวอย่างควบคุม (control sample) โดยแทรกเข้าไปในชุดตัวอย่าง ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง control sample ที่ใช้เป็น CRM หรือ QC check standard

5.3 ทดสอบหา% Recovery โดยแทรกเข้าไปในชุดตัวอย่าง ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง และค่า % Recovery ต้องอยู่ในช่วง 90-110 %

5.4 ทดสอบ Method Blank โดยใช้น้ำกลั่น DI ทดสอบเช่นเดียวกับตัวอย่าง

การทดสอบค่าต่างๆ ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ถ้าทดสอบแล้วได้ค่าอยู่นอกเหนือจากเกณฑ์ที่กำหนด ให้ทดสอบใหม่

6. การรายงานผล

6.1 รายงานผลการทดสอบนิกเกิลในหน่วย µg/L ทศนิยม 2 ตำแหน่ง

6.2 กรณีที่วิเคราะห์ได้ต่ำกว่าค่า LOQ ให้รายงานผลว่าน้อยกว่าค่า LOQ (< LOQ) โดยค่า LOQ ต้องระบุเป็นตัวเลข

6.3 กรณีที่วิเคราะห์ได้ค่ามากกว่าค่า LOQ ให้รายงานค่าจริงของตัวเลขตามข้อ 6.1

บทที่ 20
ทองแดง (Copper, Cu)

ผู้รวบรวม
นางสาวจุไรรัตน์ มหาเทียน นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นายศิริพล กำแพงทอง นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาวตวงพร แป้นพุ่ม นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ

1. หลักการ (Principle)

การทดสอบหาปริมาณทองแดงในตัวอย่างน้ำ โดยใช้เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ชนิด กราไฟต์เฟอร์เนส (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer, GFAAS) โมเลกุลของตัวอย่างจะถูกทำให้แตกตัวเป็นอะตอมอิสระโดยความร้อนจากไฟฟ้า หลังจากนั้นจะให้แสงที่มาจากแหล่งกำเนิดแสง (lamp) เฉพาะของธาตุผ่านไปยังอะตอมอิสระ และวัดความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนโดยอะตอมอิสระของทองแดง โดยความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะแปรผันตามความเข้มข้นของทองแดงในตัวอย่าง

2. เครื่องมือ และอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ชนิด กราไฟต์เฟอร์เนส (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer, GFAAS)

2.2 เตาไฟฟ้า (hot plate)

2.3 ปิเปตอัตโนมัติ (auto pipette) ขนาด 50–200, 200–1000 µL และ ขนาด 1–5 mL

2.4 ตู้ดูดไอกรด (hood)

2.5 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) class A ชนิด TC ขนาด 50, 100 mL และชนิด TD ขนาด 100 mL

2.6 บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 250 mL

2.7 กระจกนาฬิกา

2.8 กรวยกรอง (funnel) ชนิดแก้ว

2.9 กระดาษกรอง (glass-fiber filter) GF/A ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.0 cm

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 น้ำกลั่นDI (Deionized Water)

ใช้สำหรับเตรียมสารละลายแบลงค์ สารละลายมาตรฐาน และการเจือจางตัวอย่าง

3.2 กรดไนตริกเข้มข้น (conc. Nitric acid, conc.HNO_3) ชนิด AR เกรด ความบริสุทธิ์ 65 – 70 %

3.3 กรดไนตริก (Nitric acid) ความเข้มข้น 1 %

นำ volumetric flask ขนาด 100 mL เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 40 mL ปิเปต conc .HNO_3 ปริมาตร 1.0 mL ลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร เทใส่ขวดพลาสติก ชนิด PP หรือ PE ที่ทนกรดด่าง ปิดฝาให้สนิท เขียนชื่อสาร วันหมดอายุ (อายุการใช้งานนาน 6 เดือน) ชื่อผู้เตรียม เก็บสารละลายกรดนี้ที่อุณหภูมิห้อง

3.4 สารละลายมาตรฐานทองแดง (Standard Copper solution) ความเข้มข้น 1000 mg/L

3.5 สารละลายมาตรฐานทองแดง (Standard Copper solution) ความเข้มข้น 10.0 mg/L

นำ volumetric flask ขนาด 50 mL เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 20 mL ปิเปต conc.HNO_3 ปริมาตร 0.5 mL ลงใน volumetric flask จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานทองแดง ความเข้มข้น 1000 mg/L ปริมาตร 500 µL และปรับปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่าง โดยการย่อยตัวอย่างด้วย conc.HNO_3 มีวิธีการดังนี้

4.1.1 ตวงตัวอย่างน้ำ 100 mL ด้วยขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL ชนิด TD ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 mL

4.1.2 เติม conc.HNO_3 ปริมาตร 5 mL ลงในตัวอย่าง

4.1.3 นำไปตั้งบนเตาไฟฟ้าที่อยู่ในตู้ดูดไอกรด โดยปรับระดับความร้อนไม่ให้สารละลายเดือด ย่อยตัวอย่างจนปริมาตรลดลงเหลือประมาณ 5-10 mL

4.1.4 ยกบีกเกอร์ของตัวอย่างลงมาจากเตา ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (ในตู้ดูดไอกรด)

4.1.5 เติม conc.HNO_3 ปริมาตร 5 mL ลงในตัวอย่าง ปิดด้วยกระจกนาฬิกาแก้ว

4.1.6 ทำตามข้อ 4.1.3 และ 4.1.4

4.1.8 กรองสารละลายจากข้อ 4.1.6 ใส่ใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL โดยใช้กรวยแก้วและกระดาษกรองชนิดทนกรด (GF/A) และใช้น้ำกลั่น DI ชะล้างสารที่ผนังข้างๆ ของบีกเกอร์ จำนวน 5 ครั้ง ครั้งละประมาณ 5 mL แล้วชะกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่น DI อีก 2 รอบ

4.1.9 ปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4.2 การเตรียม calibration curve

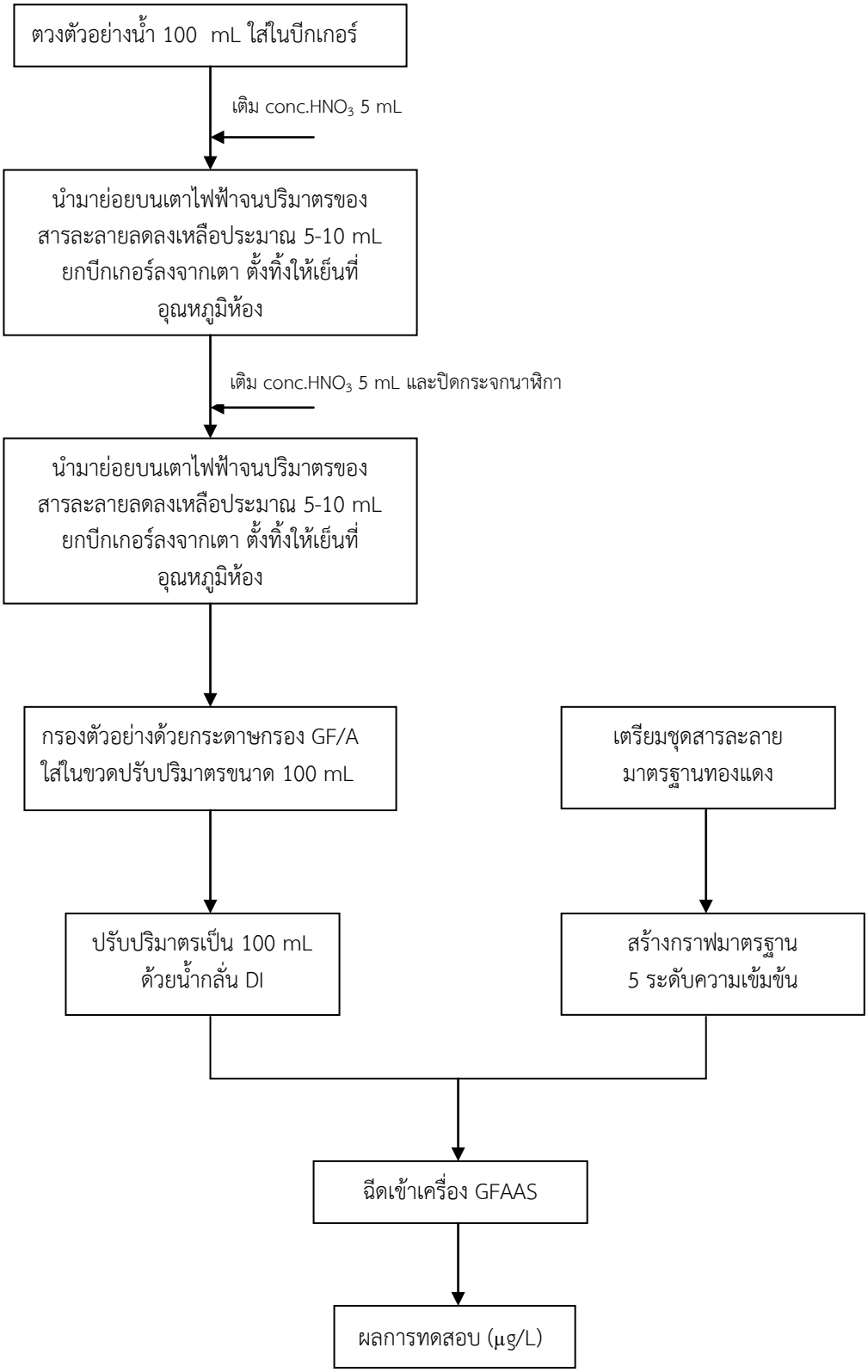
เตรียมสารละลายมาตรฐานทองแดงความเข้มข้น 4, 8, 12, 16 และ 20 µg/L โดยนำขวดปรับปริมาตร ขนาด 25 mL จำนวน 5 ใบ เติมน้ำกลั่น DI ประมาณ 20 mL ปิเปต conc.HNO_3 ปริมาตร 0.25 mL ลงในขวดปรับปริมาตรทั้ง 5 ใบ จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานทองแดง ความเข้มข้น 10 mg/L ปริมาตร 10, 20, 30, 40 และ 50 µL ตามลำดับ และปรับปริมาตรเป็น 25 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4.3 การทดสอบตัวอย่าง

4.3.1 สร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) โดยนำสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ จากข้อ 4.2 ฉีดเข้าเครื่อง GFAAS สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) โดยให้แกนตั้ง (X) เป็นค่าการดูดกลืนแสง และแกนนอน (Y) เป็นค่าความเข้มข้น

4.3.2 นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 4.1 มาทดสอบหาปริมาณทองแดง โดยฉีดเข้าเครื่อง GFAAS หาค่าการดูดกลืนแสง เทียบกับ calibration curve เครื่อง GFAAS จะคำนวณค่าความเข้มข้นของทองแดง มีหน่วยเป็น µg/L

ขั้นตอนการทดสอบทองแดงในน้ำ



5. การควบคุมคุณภาพ

5.1 ตรวจสอบสมรรถนะของเครื่องมือ พิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง โดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient : r) จะต้อง ≥ 0.995

5.2 ทดสอบตัวอย่างควบคุม (control sample) โดยแทรกเข้าไปในชุดตัวอย่าง ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง control sample ที่ใช้เป็น CRM หรือ QC check standard

5.3 ทดสอบหา% Recovery โดยแทรกเข้าไปในชุดตัวอย่าง ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง และค่า % Recovery ต้องอยู่ในช่วง 90-110 %

5.4 ทดสอบ Method Blank โดยใช้น้ำกลั่น DI ทดสอบเช่นเดียวกับตัวอย่าง

การทดสอบค่าต่างๆ ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ถ้าทดสอบแล้วได้ค่าอยู่นอกเหนือจากเกณฑ์ที่กำหนด ให้ทดสอบใหม่

6. การรายงานผล

6.1 รายงานผลการทดสอบทองแดงในหน่วย µg/L ทศนิยม 2 ตำแหน่ง

6.2 กรณีที่วิเคราะห์ได้ต่ำกว่าค่า LOQ ให้รายงานผลว่าน้อยกว่าค่า LOQ (< LOQ) โดยค่า LOQ ต้องระบุเป็นตัวเลข

6.3 กรณีที่วิเคราะห์ได้ค่ามากกว่าค่า LOQ ให้รายงานค่าจริงของตัวเลขตามข้อ 6.1

บทที่ 21
แมงกานีส (Manganese, Mn)

ผู้รวบรวม
นางสาวจุไรรัตน์ มหาเทียน นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นายศิริพล กำแพงทอง นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาวตวงพร แป้นพุ่ม นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ

1. หลักการ (Principle)

การทดสอบหาปริมาณแมงกานีสในตัวอย่างน้ำ โดยใช้เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ชนิด Flame (Atomic Absorption Spectrophotometer, FAAS) โมเลกุลของตัวอย่างจะถูกทำให้แตกตัวเป็นอะตอมอิสระโดยความร้อนจากเปลวไฟ หลังจากนั้นจะให้แสงที่มาจากแหล่งกำเนิดแสง (lamp) เฉพาะของธาตุผ่านไปยังอะตอมอิสระ และวัดความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนโดยอะตอมอิสระของแมงกานีสโดยความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะแปรผันตามความเข้มข้นของสังกะสีในตัวอย่าง

2. เครื่องมือ และอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ชนิด Flame (Atomic Absorption Spectrophotometer, FAAS)

2.2 เตาไฟฟ้า (hot plate)

2.3 ปิเปตอัตโนมัติ (auto pipette) ขนาด 50–200, 200–1000 µL และ ขนาด 1–5 mL

2.4 ตู้ดูดไอกรด (hood)

2.5 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) class A ชนิด TC ขนาด 50, 100 mL และชนิด TD ขนาด 100 mL

2.6 บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 250 mL

2.7 กระจกนาฬิกา

2.8 กรวยกรอง (funnel) ชนิดแก้ว

2.9 กระดาษกรอง (glass-fiber filter) GF/A ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.0 cm

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 น้ำกลั่นDI (Deionized Water)

ใช้สำหรับเตรียมสารละลายแบลงค์ สารละลายมาตรฐาน และการเจือจางตัวอย่าง

3.2 กรดไนตริกเข้มข้น (conc. Nitric acid, conc.HNO_3) ชนิด AR เกรด ความบริสุทธิ์ 65 – 70 %

3.3 กรดไนตริก (Nitric acid) ความเข้มข้น 1 %

นำ volumetric flask ขนาด 100 mL เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 40 mL ปิเปต conc .HNO_3 ปริมาตร 1.0 mL ลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร เทใส่ขวดพลาสติก ชนิด PP หรือ PE ที่ทนกรดด่าง ปิดฝาให้สนิท เขียนชื่อสาร วันหมดอายุ (อายุการใช้งานนาน 6 เดือน) ชื่อผู้เตรียม เก็บสารละลายกรดนี้ที่อุณหภูมิห้อง

3.4 สารละลายมาตรฐานแมงกานีส (Standard Manganese solution) ความเข้มข้น 1000 mg/L

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่าง โดยการย่อยตัวอย่างด้วย conc.HNO_3 มีวิธีการดังนี้

4.1.1 ตวงตัวอย่างน้ำ 100 mL ด้วยขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL ชนิด TD ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 mL

4.1.2 เติม conc.HNO_3 ปริมาตร 5 mL ลงในตัวอย่าง

4.1.3 นำไปตั้งบนเตาไฟฟ้าที่อยู่ในตู้ดูดไอกรด โดยปรับระดับความร้อนไม่ให้สารละลายเดือด ย่อยตัวอย่างจนปริมาตรลดลงเหลือประมาณ 5-10 mL

4.1.4 ยกบีกเกอร์ของตัวอย่างลงมาจากเตา ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (ในตู้ดูดไอกรด)

4.1.5 เติม conc.HNO_3 ปริมาตร 5 mL ลงในตัวอย่าง ปิดด้วยกระจกนาฬิกาแก้ว

4.1.6 ทำตามข้อ 4.1.3 และ 4.1.4

4.1.8 กรองสารละลายจากข้อ 4.1.6 ใส่ใน ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL โดยใช้กรวยแก้วและกระดาษกรองชนิดทนกรด (GF/A) และใช้น้ำกลั่น DI ชะล้างสารที่ผนังข้าง ๆ ของบีกเกอร์ จำนวน 5 ครั้ง ครั้งละประมาณ 5 mL แล้วชะกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่น DI อีก 2 รอบ

4.1.9 ปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4.2 การเตรียม calibration curve

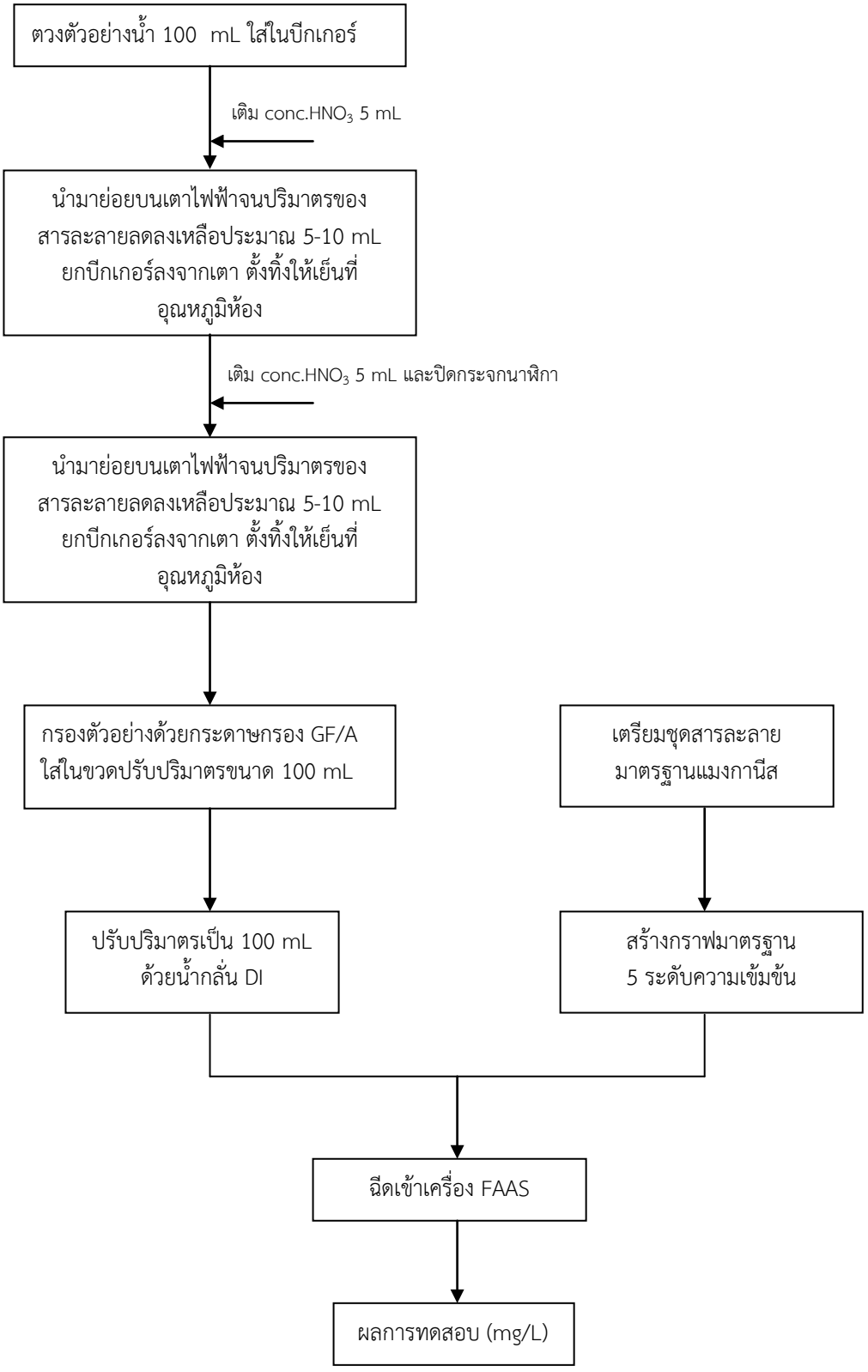
เตรียมสารละลายมาตรฐานแมงกานีสความเข้มข้น 0.1, 1, 2, 3 และ 4 mg/L โดยนำขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL จำนวน 5 ใบ เติมน้ำกลั่น DI ประมาณ 20 mL ปิเปต conc.HNO_3 ปริมาตร 1.0 mL ลงในขวดปรับปริมาตรทั้ง 5 ใบ จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานแมงกานีส ความเข้มข้น 1000 mg/L ปริมาตร 10, 100, 200, 300 และ 400 µL ตามลำดับ และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4.3 การทดสอบตัวอย่าง

4.3.1 สร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) โดยนำสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ จากข้อ 4.2 ฉีดเข้าเครื่อง FAAS สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) โดยให้แกนตั้ง (X) เป็นค่าการดูดกลืนแสง และแกนนอน (Y) เป็นค่าความเข้มข้น

4.3.2 นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 4.1 มาทดสอบหาปริมาณแมงกานีส โดยฉีดเข้าเครื่อง FAAS หาค่าการดูดกลืนแสง เทียบกับ calibration curve เครื่อง FAAS จะคำนวณค่าความเข้มข้นของแมงกานีสมีหน่วยเป็น mg/L

ขั้นตอนการทดสอบแมงกานีสในน้ำ



5. การควบคุมคุณภาพ

5.1 ตรวจสอบสมรรถนะของเครื่องมือ พิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง โดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient : r) จะต้อง ≥ 0.995

5.2 ทดสอบตัวอย่างควบคุม (control sample) โดยแทรกเข้าไปในชุดตัวอย่าง ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง control sample ที่ใช้เป็น CRM หรือ QC check standard

5.3 ทดสอบหา% Recovery โดยแทรกเข้าไปในชุดตัวอย่าง ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง และค่า % Recovery ต้องอยู่ในช่วง 90-110 %

5.4 ทดสอบ Method Blank โดยใช้น้ำกลั่น DI ทดสอบเช่นเดียวกับตัวอย่าง

การทดสอบค่าต่างๆ ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ถ้าทดสอบแล้วได้ค่าอยู่นอกเหนือจากเกณฑ์ที่กำหนด ให้ทดสอบใหม่

6. การรายงานผล

6.1 รายงานผลการทดสอบแมงกานีสในหน่วย mg/L ทศนิยม 2 ตำแหน่ง

6.2 กรณีที่วิเคราะห์ได้ต่ำกว่าค่า LOQ ให้รายงานผลว่าน้อยกว่าค่า LOQ (< LOQ) โดยค่า LOQ ต้องระบุเป็นตัวเลข

6.3 กรณีที่วิเคราะห์ได้ค่ามากกว่าค่า LOQ ให้รายงานค่าจริงของตัวเลขตามข้อ 6.1

บทที่ 22
สังกะสี (Zinc, Zn)

ผู้รวบรวม
นางสาวจุไรรัตน์ มหาเทียน นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นายศิริพล กำแพงทอง นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาวตวงพร แป้นพุ่ม นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ

1. หลักการ (Principle)

การทดสอบหาปริมาณสังกะสีในตัวอย่างน้ำ โดยใช้เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ชนิด Flame (Atomic Absorption Spectrophotometer, FAAS) โมเลกุลของตัวอย่างจะถูกทำให้แตกตัวเป็นอะตอมอิสระโดยความร้อนจากเปลวไฟ หลังจากนั้นจะให้แสงที่มาจากแหล่งกำเนิดแสง (lamp) เฉพาะของธาตุผ่านไปยังอะตอมอิสระ และวัดความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนโดยอะตอมอิสระของสังกะสีโดยความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะแปรผันตามความเข้มข้นของสังกะสีในตัวอย่าง

2. เครื่องมือ และอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ชนิด Flame (Atomic Absorption Spectrophotometer, FAAS)

2.2 เตาไฟฟ้า (hot plate)

2.3 ไมโครปิเปต (micro pipette) ขนาด 50–200, 200–1000 µL และ ขนาด 1–5 mL

2.4 ตู้ดูดไอกรด (hood)

2.5 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) class A ชนิด TC ขนาด 50, 100 mL และชนิด TD ขนาด 100 mL

2.6 บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 250 mL

2.7 กระจกนาฬิกาแก้ว

2.8 กรวยกรอง (funnel) ชนิดแก้ว

2.9 กระดาษกรอง (glass-fiber filter) GF/A ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7.0 cm

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 น้ำกลั่นDI (Deionized Water)

ใช้สำหรับเตรียมสารละลายแบลงค์ สารละลายมาตรฐาน และการเจือจางตัวอย่าง

3.2 กรดไนตริกเข้มข้น (conc. Nitric acid, conc.HNO_3) ชนิด AR เกรด ความบริสุทธิ์ 65 – 70 %

3.3 กรดไนตริก (Nitric acid) ความเข้มข้น 1 %

นำ volumetric flask ขนาด 100 mL เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 40 mL ปิเปต conc .HNO_3 ปริมาตร 1.0 mL ลงในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร เทใส่ขวดพลาสติก ชนิด PP หรือ PE ที่ทนกรดด่าง ปิดฝาให้สนิท เขียนชื่อสาร วันหมดอายุ (อายุการใช้งานนาน 6 เดือน) ชื่อผู้เตรียม เก็บสารละลายกรดนี้ที่อุณหภูมิห้อง

3.4 สารละลายมาตรฐานสังกะสี (Standard Zinc solution) ความเข้มข้น 1000 mg/L

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่าง โดยการย่อยตัวอย่างด้วย conc.HNO_3 มีวิธีการดังนี้

4.1.1 ตวงตัวอย่างน้ำ 100 mL ด้วยขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL ชนิด TD ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 mL

4.1.2 เติม conc.HNO_3 ปริมาตร 5 mL ลงในตัวอย่าง

4.1.3 นำไปตั้งบนเตาไฟฟ้าที่อยู่ในตู้ดูดไอกรด โดยปรับระดับความร้อนไม่ให้สารละลายเดือด ย่อยตัวอย่างจนปริมาตรลดลงเหลือประมาณ 5-10 mL

4.1.4 ยกบีกเกอร์ของตัวอย่างลงมาจากเตา ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (ในตู้ดูดไอกรด)

4.1.5 เติม conc.HNO_3 ปริมาตร 5 mL ลงในตัวอย่าง ปิดด้วยกระจกนาฬิกาแก้ว

4.1.6 ทำตามข้อ 4.1.3 และ 4.1.4

4.1.8 กรองสารละลายจากข้อ 4.1.6 ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL โดยใช้กรวยแก้วและกระดาษกรองชนิดทนกรด (GF/A) และใช้น้ำกลั่น DI ชะล้างสารที่ผนังข้างๆ ของบีกเกอร์ จำนวน 5 ครั้ง ครั้งละประมาณ 5 mL แล้วชะกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่น DI อีก 2 รอบ

4.1.9 ปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4.2 การเตรียม calibration curve

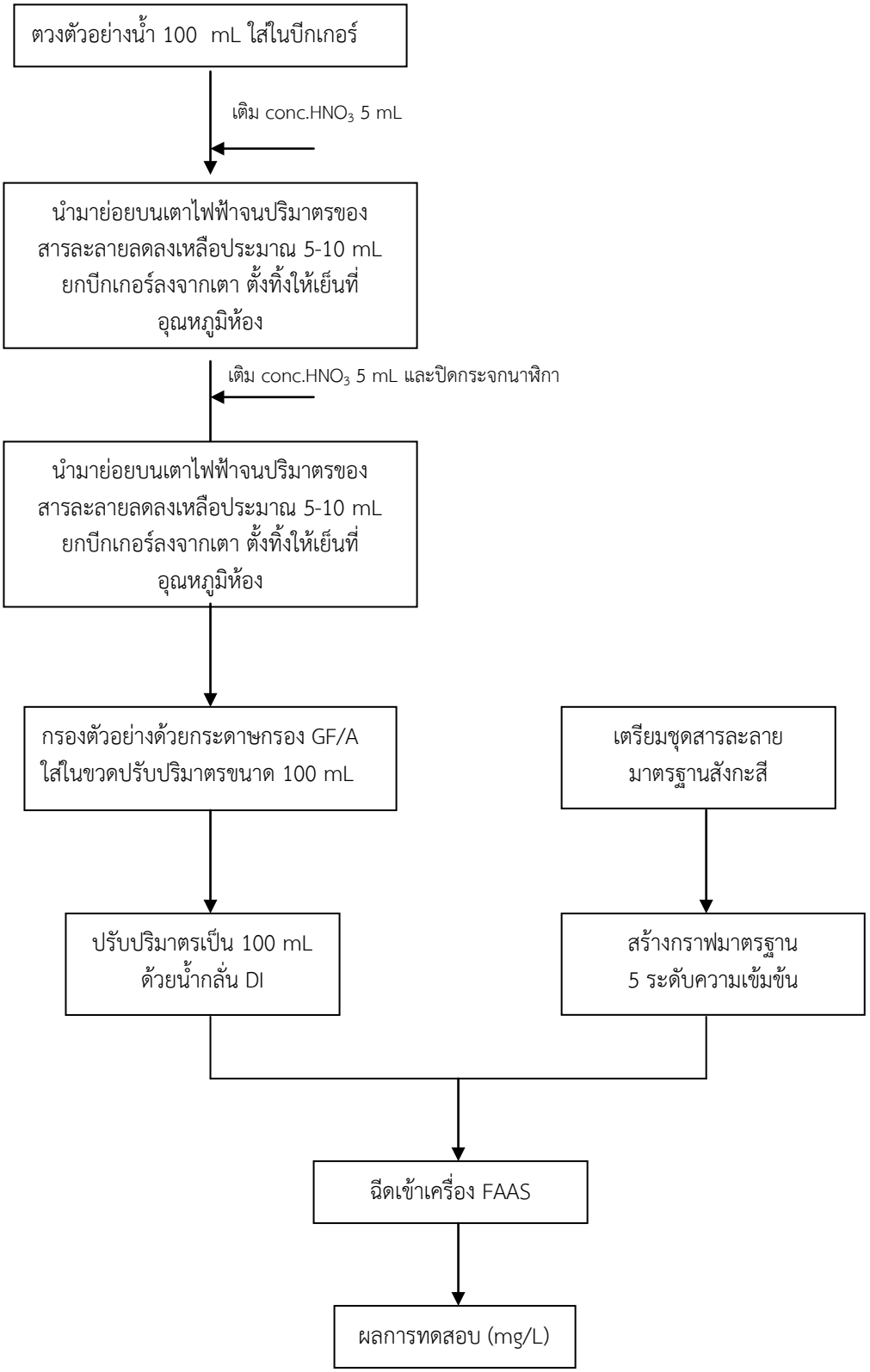
เตรียมสารละลายมาตรฐานตะกั่ว ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1, 2 และ 3 mg/L โดยนำขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 mL จำนวน 5 ใบ เติมน้ำกลั่นDI ประมาณ 20 mL ปิเปต conc.HNO_3 ปริมาตร 1.0 mL ลงในขวดปรับปริมาตรทั้ง 5 ใบ จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานสังกะสี ความเข้มข้น 1000 mg/L ปริมาตร 10, 50, 100, 200 และ 300 µL ตามลำดับ และปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น DI ในขวดปรับปริมาตร

4.3 การทดสอบตัวอย่าง

4.3.1 สร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) โดยนำสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ จากข้อ 4.2 ฉีดเข้าเครื่อง FAAS สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) โดยให้แกนตั้ง (X) เป็นค่าการดูดกลืนแสง และแกนนอน (Y) เป็นค่าความเข้มข้น

4.3.2 นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 4.1 มาทดสอบหาปริมาณสังกะสี โดยฉีดเข้าเครื่อง FAAS หาค่าการดูดกลืนแสง เทียบกับ calibration curve เครื่อง FAAS จะคำนวณค่าความเข้มข้นของสังกะสีมีหน่วยเป็น mg/L

ขั้นตอนการทดสอบสังกะสีในน้ำ



5. การควบคุมคุณภาพ

5.1 ตรวจสอบสมรรถนะของเครื่องมือ พิจารณาช่วงความเป็นเส้นตรง โดยดูจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient : r) จะต้อง ≥ 0.995

5.2 ทดสอบตัวอย่างควบคุม (control sample) โดยแทรกเข้าไปในชุดตัวอย่าง ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง control sample ที่ใช้เป็น CRM หรือ QC check standard

5.3 ทดสอบหา% Recovery โดยแทรกเข้าไปในชุดตัวอย่าง ทุก ๆ 10 ตัวอย่าง และค่า % Recovery ต้องอยู่ในช่วง 90-110 %

5.4 ทดสอบ Method Blank โดยใช้น้ำกลั่น DI ทดสอบเช่นเดียวกับตัวอย่าง

การทดสอบค่าต่างๆ ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ถ้าทดสอบแล้วได้ค่าอยู่นอกเหนือจากเกณฑ์ที่กำหนด ให้ทดสอบใหม่

6. การรายงานผล

6.1 รายงานผลการทดสอบสังกะสีในหน่วย mg/L ทศนิยม 2 ตำแหน่ง

6.2 กรณีที่วิเคราะห์ได้ต่ำกว่าค่า LOQ ให้รายงานผลว่าน้อยกว่าค่า LOQ (< LOQ) โดยค่า LOQ ต้องระบุเป็นตัวเลข

6.3 กรณีที่วิเคราะห์ได้ค่ามากกว่าค่า LOQ ให้รายงานค่าจริงของตัวเลขตามข้อ 6.1

บทที่ 23-24
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย และฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย
(Coliform Bacteria and Faecal Coliform Bacteria)

ผู้รวบรวม
นางสาวจุไรรัตน์ มหาเทียน นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นางสาววราภรณ์ โตสิงห์ นักวิชาการสิ่งแวดล้อม

1. หลักการ (Principle)

โคลิฟอร์มแบคทีเรียสามารถย่อย Lactose ได้ที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 °C ให้ผลเป็นกรด และแก๊ส แต่เนื่องจากแบคทีเรียชนิดอื่น และยีสต์ สามารถย่อย Lactose ได้เช่นเดียวกัน จึงทำการทดสอบยืนยันเพื่อบ่งชี้ว่าเป็นโคลิฟอร์มแบคทีเรีย หรือฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย โดยถ่ายเชื้อหรือของเหลวบางส่วนจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่เกิดแก๊สลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant-Green Lactose Bile Broth เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 °C และ EC medium เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 44.5 ± 0.2 °C ทำให้แบคทีเรียชนิดอื่นและยีสต์จะถูกยับยั้งไม่ให้เจริญเติบโต แก๊สที่เกิดขึ้นในหลอดของอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant-Green Lactose Bile Broth จะเกิดจากโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และแก๊สที่เกิดขึ้นในหลอดของอาหารเลี้ยงเชื้อ EC medium จะเกิดจากฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย จากนั้นนำจำนวนหลอดที่เกิดแก๊สเทียบหาโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรียจากตารางดัชนี MPN

2. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Apparatus)

2.1 เครื่องชั่ง (balance analytical) ละเอียด 2 ตำแหน่ง
2.2 บีกเกอร์ (beaker) พลาสติก ขนาด 2000 mL
2.3 หลอดทดลอง (test tube) ขนาด 20 X 150 mm พร้อมฝาครอบอะลูมิเนียม
2.4 หลอดเดอร์แฮม (durham tube)
2.5 กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 1000 mL
2.6 เครื่องกวนแม่เหล็ก (magnetic stirrer) พร้อมแท่งคนแม่เหล็ก (magnetic bar)
2.7 เครื่องผสมสารละลาย (mixer)
2.8 ตะเกียงแอลกอฮอล์
2.9 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (incubator) อุณหภูมิ 35 °C และ44.5 °C
2.10 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave)

3. น้ำยาเคมี (Reagents)

3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Lactose broth (LB)
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant green lactose bile broth (BGLB)
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ EC medium
3.4 Potassium dihydrogen phosphase (KH_2PO_4)
3.5 Magnesium sulfate heptahydrate solution ($MgSO_4.7H_2O$)

ชั่ง $MgSO_4.7H_2O$ 60 g ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.6 Sodium hydroxide solution ความเข้มข้น 1N (1 N NaOH)

ชั่ง Sodium hydroxide (NaOH) 40 g ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3.7 น้ำกลั่น (Distilled Water : DW)

4. ขั้นตอนการทดสอบ

4.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

4.1.1 Lactose broth (LB)

4.1.1.1 ชั่ง Lactose broth 13 g เติมน้ำกลั่น 1000 mL นำไปผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องกวนแม่เหล็กพร้อมแท่งคนแม่เหล็ก แต่ถ้าเป็นน้ำบริโภคจะใช้ Lactose broth เข้มข้นเป็น 2 เท่า คือ 26 g ในแถวแรก

4.1.1.2 ปิเปต Lactose broth ใส่ในหลอดทดลอง หลอดละ 10 mL ใส่หลอดเดอร์แฮม และปิดด้วยฝาครอบอะลูมิเนียม

4.1.1.3 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 psi

4.1.1.4 นำหลอดทดลองออกจาก autoclave ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และเก็บในตู้เย็น 4-10 °C

4.1.2 Brilliant-Green Lactose bile broth (BGLB)

4.1.2.1 ชั่ง Brilliant-Green Lactose bile broth 40 g เติมน้ำกลั่น 1000 mL นำไปปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องกวนแม่เหล็กพร้อมแท่งคนแม่เหล็ก

4.1.2.2 ปิเปต Brilliant-Green Lactose bile broth ใส่ในหลอดทดลอง หลอดละ 10 mL ใส่หลอดเดอร์แฮม และปิดด้วยฝาครอบอะลูมิเนียม

4.1.2.3 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 psi

4.1.2.4 นำหลอดทดลองออกจาก autoclave ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และเก็บในตู้เย็น 4-10 °C

4.1.3 EC medium (EC)

4.1.3.1 ชั่ง EC medium 37 g เติมน้ำกลั่น 1000 mL นำไปปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องกวนแม่เหล็กพร้อมแท่งคนแม่เหล็ก

4.1.3.2 ปิเปต EC medium ใส่ในหลอดทดลอง หลอดละ 10 mL ใส่หลอดเดอร์แฮม และปิดด้วยฝาครอบอะลูมิเนียม

4.1.3.3 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 psi

4.1.3.4 นำหลอดทดลองออกจาก autoclave ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และเก็บในตู้เย็น 4-10 °C

4.2 การเตรียมน้ำสำหรับใช้เจือจาง (dilution water)

4.2.1 ชั่ง Potassium dihydrogen phosphate 34 g ละลายในน้ำกลั่น 500 mL ปรับพีเอชให้ได้ 7.2 ด้วย 1 N NaOH และปรับปริมาตรเป็น 1000 mL

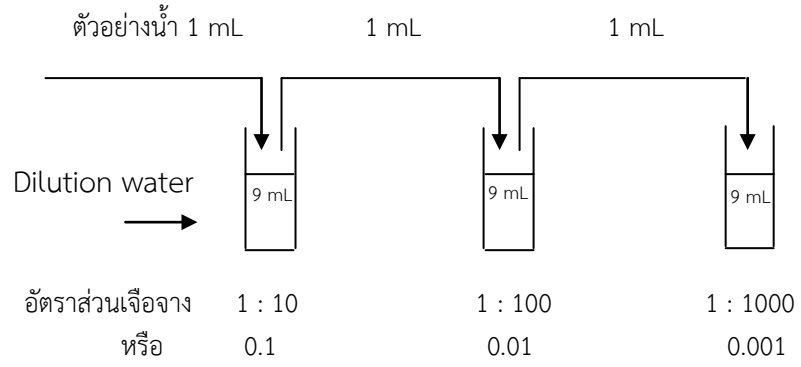
4.2.2 นำสารละลายข้อ 4.2.1 จำนวน 1.25 mL และ Magnesium sulfate heptahydrate solution จำนวน 5 mL เติมลงในน้ำกลั่น 1 L

4.2.3 ปิเปตสารละลายข้อ 4.2.2 ใส่ในหลอดทดลอง หลอดละ 9 mL และปิดด้วยฝาครอบอะลูมิเนียม

4.2.4 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 psi

4.2.5 นำหลอดทดลองออกจาก autoclave ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และเก็บในตู้เย็น 4-10 °C

4.3 วิธีการเจือจางตัวอย่าง



4.4 การทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียและฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

4.4.1 การทดสอบขั้นแรก (presumptive test)

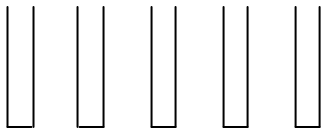
การทดสอบขั้นนี้เป็นการตรวจ screen เบื้องต้น เพื่อจะแยกโคลิฟอร์มแบคทีเรียออกจากแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ในการทดสอบอาจใช้ระบบเลี้ยงเชื้อแบบ 3 หลอด หรือแบบ 5 หลอด กับอนุกรม 3 การเจือจาง คือ จำนวนมิลลิลิตรของตัวอย่างที่ต่างกันเป็นชุด ๆ ดังนี้ คือ 10 - 1 - 0.1 mg/L หรือ 1 - 0.1 - 0.01 mg/L หรือ 0.1 - 0.01 - 0.001 mg/L ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสกปรกของตัวอย่างน้ำ โดยมีขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้

4.4.1.1 นำ Lactose broth ที่เตรียมไว้ออกจากตู้เย็น ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องข้ามคืน (overnight) ก่อนการทดสอบ

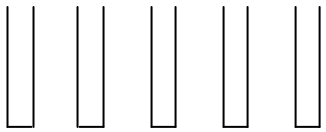
4.4.1.2 นำตัวอย่างที่แช่เย็นออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

4.4.1.3 จัดเรียง Lactose broth เป็น 3 แถว ๆ ละ 5 หลอด

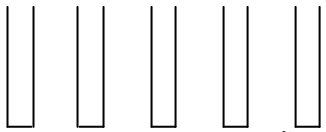
4.4.1.4 เขียนรหัสตัวอย่าง และปริมาณตัวอย่างน้ำข้างหลอดทดลอง เช่น ถ้าเป็นกรณีของน้ำจากแหล่งน้ำ จะใช้อนุกรม 3 การเจือจาง ได้แก่ 0.1 - 0.01 - 0.001 แถวที่ 1 ความเข้มข้นของตัวอย่างเท่ากับ 0.1 หรือ (10^{-1}) แถวที่ 2 ความเข้มข้นของตัวอย่างเท่ากับ 0.01 หรือ (10^{-2}) และแถวที่ 3 ความเข้มข้นของตัวอย่างเท่ากับ 0.001หรือ (10^{-3})



แถวที่ 1 ความเข้มข้น 0.1



แถวที่ 2 ความเข้มข้น 0.01



แถวที่ 3 ความเข้มข้น 0.001

4.4.1.5 นำขวดตัวอย่างน้ำมาเขย่าขึ้นลงเพื่อให้น้ำผสมเข้ากันได้ดี ประมาณ 20 ครั้ง

4.4.1.6 เปิดฝาขวดเก็บตัวอย่าง และลนไฟที่ปากขวด ปิเปตตัวอย่างน้ำจำนวน 1 mL ใส่ในหลอดน้ำสำหรับใช้เจือจางหลอดที่ 1 (ลนไฟที่ปากหลอดก่อนปิเปตตัวอย่างน้ำลงไปทุกครั้ง) แล้วนำมาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง mixer

4.4.1.7 ปิเปตตัวอย่างน้ำจากหลอดน้ำสำหรับใช้เจือจางหลอดที่ 1 จำนวน 1 mL ใส่ในหลอดน้ำสำหรับใช้เจือจางหลอดที่ 2 (ลนไฟที่ปากหลอดก่อนปิเปตน้ำตัวอย่างลงไปทุกครั้ง) แล้วนำมาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง mixer

4.4.1.8 ปิเปตน้ำตัวอย่างจากหลอดน้ำสำหรับใช้เจือจางหลอดที่ 2 จำนวน1 mL ใส่ในหลอดน้ำสำหรับใช้เจือจางหลอดที่ 3 (ลนไฟที่ปากหลอดก่อนปิเปตตัวอย่างน้ำลงไปทุกครั้ง) แล้วนำมาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง mixer

4.4.1.9 ปิเปตตัวอย่างน้ำจากข้อ 4.4.1.6 4.4.1.7 และ4.4.1.8 ใส่ใน Lactose broth แถวที่ 1 แถวที่ 2 และแถวที่ 3 ตามลำดับ โดยใส่แถวละ 5 หลอด หลอดละ 1 mL (ลนไฟที่ปากหลอดก่อนปิเปตตัวอย่างน้ำลงไปทุกครั้ง) แล้วนำมาผสมให้เข้ากันโดยการเขย่าประมาณ 5 ครั้ง

4.4.1.10 นำหลอดทั้งหมดไปอบเพาะเชื้อในตู้บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 °C ภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง

4.4.1.11 อ่านผลครั้งแรกเมื่อครบเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง โดยสังเกตจากความขุ่นและแก๊สที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอด ถ้าหลอดใดเกิดแก๊สจะดูได้จากการแทนที่ของอากาศในหลอดเดอร์แฮม หรือมีฟองปุดเมื่อเขย่าเบาๆ แสดงว่า หลอดนั้นให้ผลบวก ถ้าหลอดใดไม่เกิดแก๊ส แสดงว่าหลอดนั้นให้ผลลบ ให้นำกลับไปอบเพาะเชื้อในตู้บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 °C ต่ออีก 24 ชั่วโมง และอ่านผลเช่นเดียวกับครั้งแรก

4.4.2 การทดสอบขั้นยืนยัน (confirm test)

เนื่องจากการเกิดแก๊สในการทดสอบขั้นแรกยังไม่สามารถชี้ชัดได้ว่าแบคทีเรียที่อยู่ในตัวอย่างน้ำเป็นโคลิฟอร์มแบคทีเรีย หรือฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย ดังนั้นจึงต้องทดสอบยืนยันโดยการถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant-Green Lactose Bile Broth เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 44.5 ± 0.2 °C เพื่อทดสอบหาโคลิฟอร์มแบคทีเรีย และ EC medium เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 °C เพื่อทดสอบหาฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

4.4.2.2 การทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

1) นำอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant-Green Lactose Bile Broth ที่เตรียมไว้ เท่ากับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวก และเรียงให้ตรงกับหลอด Lactose broth ที่ให้ผลบวก

2) เขียนรหัสตัวอย่างที่หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant-Green Lactose Bile Broth

3) เขย่าหลอด Lactose broth ที่ให้ผลบวก และปิเปต Lactose broth 0.1 mL ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant-Green Lactose Bile Broth หลอดต่อหลอดโดยวิธีปลอดเชื้อ

4) เข้าตู้บ่มอุณหภูมิ 35 ± 0.5 °C นาน 24-48 ชม.

5) อ่านผลครั้งแรกเมื่อครบเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง โดยสังเกตจากความขุ่นและแก๊สที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอด ถ้าหลอดใดเกิดแก๊สจะดูได้จากการแทนที่ของอากาศในหลอดเดอร์แฮม หรือมีฟองปุดเมื่อเขย่าเบาๆ แสดงว่า หลอดนั้นให้ผลบวก ถ้าหลอดใดไม่เกิดแก๊ส แสดงว่าหลอดนั้นให้ผลลบ ให้นำกลับไปอบเพาะเชื้อในตู้บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ± 0.5 °C ต่ออีก 24 ชั่วโมง และอ่านผลเช่นเดียวกับครั้งแรก

4.4.2.3 การทดสอบฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

1) นำอาหารเลี้ยงเชื้อ EC medium ที่เตรียมไว้เท่ากับจำนวนหลอดที่ให้ผลบวก และเรียงให้ตรงกับหลอด Lactose broth ที่ให้ผลบวก

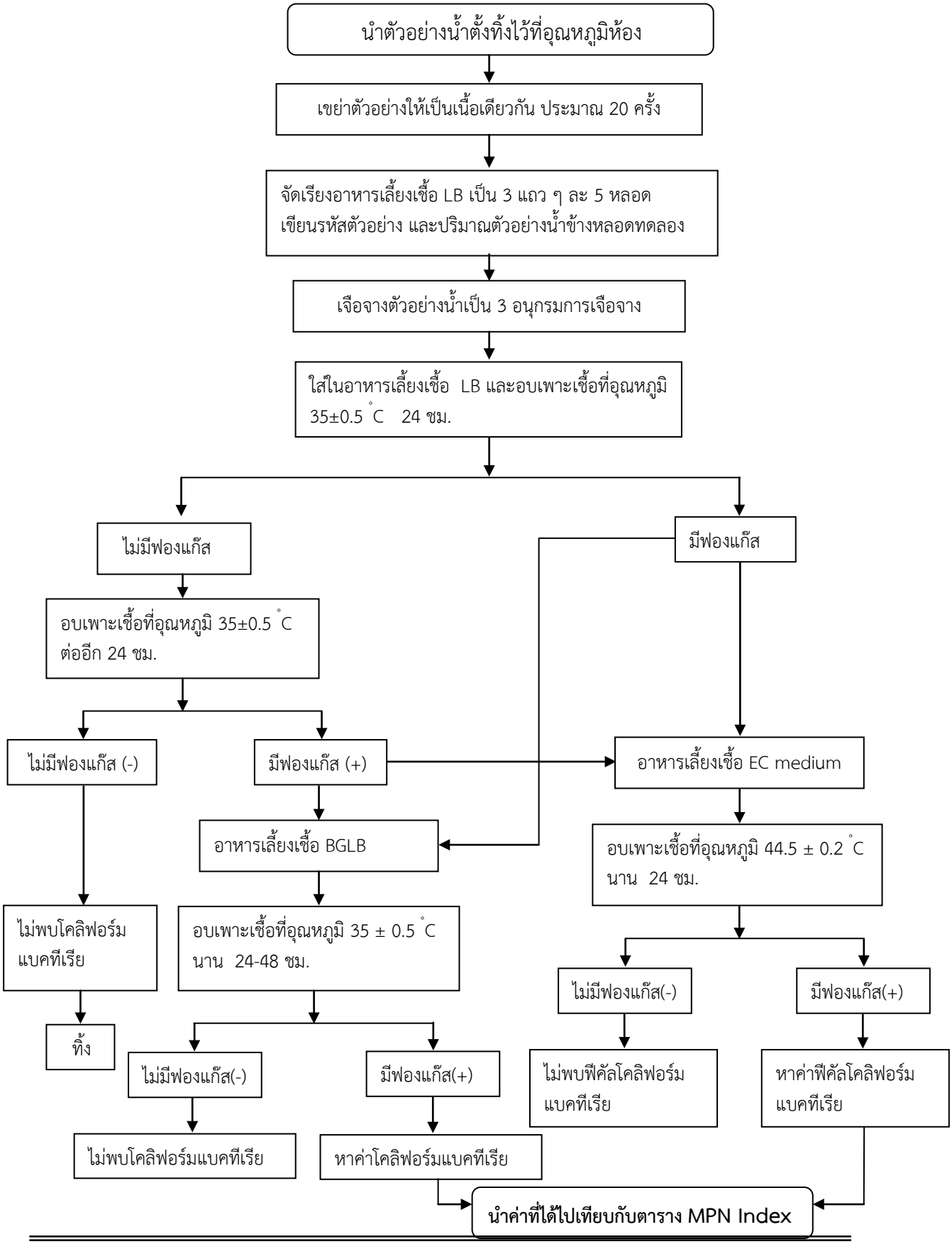
2) เขียนรหัสตัวอย่างที่หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ EC medium

3) เขย่าหลอด Lactose broth ที่ให้ผลบวก และปิเปต Lactose broth 0.1 mL ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ EC medium หลอดต่อหลอดโดยวิธีปลอดเชื้อ

4) เข้าตู้บ่มอุณหภูมิ 44.5±0.2 °C นาน 24 ชม.

5) อ่านผลเมื่อครบเวลา 24 ± 2 ชั่วโมง โดยสังเกตจากความขุ่นและแก๊สที่เกิดขึ้นในแต่ละหลอด ถ้าหลอดใดเกิดแก๊สจะดูได้จากการแทนที่ของอากาศในหลอดเดอร์แฮม หรือมีฟองปุดเมื่อเขย่าเบาๆ แสดงว่า หลอดนั้นให้ผลบวก ถ้าหลอดใดไม่เกิดแก๊ส แสดงว่าหลอดนั้นให้ผลลบ

ขั้นตอนการทดสอบโคลิฟอร์มแบคทีเรียและฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย



4.5 การคำนวณ

4.5.1 การคำนวณหาปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย โดยนำจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant-Green Lactose Bile Broth มาเทียบค่า MPN จากตาราง MPN Index ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียจะมีหน่วยเป็น MPN/100 mL ทั้งนี้ อนุกรมของตัวอย่างต้องเท่ากับ 10 1.0 0.1 mL

4.5.2 การคำนวณหาปริมาณฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย โดยนำจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ EC medium มาเทียบค่า MPN จากตาราง MPN Index Table ปริมาณฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรียจะมีหน่วยเป็น MPN/100 mL ทั้งนี้ อนุกรมของตัวอย่างต้องเท่ากับ 10 1.0 0.1 mL

กรณีที่ใช้อนุกรมของตัวอย่างเท่ากับ 1.0 0.1 0.01 mL ค่า MPN ที่ได้จะมีค่าเป็น 10 เท่าของค่าที่อ่านได้จากตาราง หรือถ้าใช้อนุกรมของตัวอย่างเท่ากับ 0.1 0.01 0.001 mL ค่า MPN ที่ได้จะมีค่าเป็น 100 เท่าของค่าที่อ่านได้จากตาราง เป็นต้น

บางครั้งจำนวนหลอดที่ให้ผลบวกไม่มีอยู่ในตาราง MPN Index จะต้องหาค่า MPN/100 mL โดยใช้สูตร

$$\text{MPN/100 mL} = \frac{\text{ผลรวมของจำนวนหลอดที่ให้ผลบวก}}{(\text{ผลรวมปริมาตรตัวอย่างน้ำที่ใช้ทดสอบที่ให้ผลลบ} \times \text{ผลรวมปริมาตรตัวอย่างน้ำที่ใช้ทุกหลอด})^{1/2}} \times 100$$

4.6 การควบคุมคุณภาพ

ทำการทดสอบ method blank เช่นเดียวกับการทดสอบตัวอย่าง เพื่อทดสอบการปนเปื้อน (contaminate) ระหว่างการทดสอบ

การรักษาสภาพตัวอย่างน้ำเพื่อส่งตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ สำนักงานสิ่งแวดล้อมภาคที่ 6 (นนทบุรี)

พารามิเตอร์	ภาชนะที่ใช้บรรจุตัวอย่าง	การรักษาสภาพตัวอย่าง	ระยะเวลาที่ยอมให้เก็บได้
บีโอดี (Biochemical Oxygen Demand)	พลาสติก,แก้ว	แช่เย็น	48 ชั่วโมง
ซีโอดี (Chemical Oxygen Demand)	พลาสติก,แก้ว	ถ้าเป็นไปได้ควรจะวิเคราะห์ทันทีหรือเติมกรด HCl, H_3PO_4, H_2SO_4 ให้มีค่า pH < 2 แล้วแช่เย็น	28 วัน
ความกระด้าง (Hardness)	พลาสติก,แก้ว	เติมกรด HNO_3 หรือ , เติม กรด H_2SO_4 ให้มีค่า pH < 2	6 เดือน
โลหะหนัก (Heavy Metal)	พลาสติก, แก้ว ที่กลั้วด้วย 1+1 HNO_3	เติมกรด HNO_3 ให้มีค่า pH < 2	6 เดือน
แอมโมเนีย (Ammonia)	พลาสติก,แก้ว	ถ้าเป็นไปได้ควรจะวิเคราะห์ทันทีหรือเติมกรด HCl, H_3PO_4, H_2SO_4 ให้มีค่า pH < 2 แล้วแช่เย็น	28 วัน
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	พลาสติก,แก้ว	วิเคราะห์ทันที	15 นาที
น้ำมันและไขมัน (Oil & Grease)	แก้วปากกว้าง	เติมกรด HCl หรือ H_2SO_4 ให้มีค่า pH < 2 แล้วเช่เย็น	28 วัน
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total Phosphorus)	พลาสติก,แก้ว	เติมกรด H_2SO_4 ให้มีค่า pH < 2 แล้วแช่เย็น	28 วัน
สารแขวนลอย (Suspended Solids), ปริมาณสารทั้งหมด (Total Solids),ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Suspended Solids),	พลาสติก,แก้ว	แช่เย็น	7 วัน

พารามิเตอร์	ภาชนะที่ใช้บรรจุตัวอย่าง	การรักษาสภาพตัวอย่าง	ระยะเวลาที่ยอมให้เก็บได้
ตะกอนหนัก (Settleable Solids)			
ซัลไฟด์ (Sulfide)	พลาสติก,แก้ว	เติม 2N Zinc acetate 4 หยดต่อน้ำตัวอย่าง 100 มิลลิลิตรแล้วเติม NaOH ให้ pH > 9	7 วัน
ความขุ่น (Turbidity)	พลาสติก,แก้ว	แช่เย็นเก็บไว้ในที่มืด	48 ชั่วโมง
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Coliform Bacteria), ฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Faecal Coliform Bacteria)	ขวดแก้วปิดด้วยกระดาษฟลอยด์บรรจุในกระป๋องสแตนเลสแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที	แช่เย็น	24 ชั่วโมง
ไนเตรท (Nitrate)	พลาสติก,แก้ว	ถ้าเป็นไปได้ควรวิเคราะห์ทันทีหรือแช่เย็น	48 ชั่วโมง (28 วันสำหรับตัวอย่างที่มีคลอรีน)
ไนโตรเจนทั้งหมด (Total Kjeldahl Nitrogen)	พลาสติก,แก้ว	เติมกรด H_2SO_4 ให้มีค่า pH < 2 แล้วแช่เย็น	28 วัน

อัตราค่าบริการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ และอากาศ ห้องปฏิบัติการ สำนักงานสิ่งแวดล้อมภาคที่ 6 (นนทบุรี)

อัตราค่าบริการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ

พารามิเตอร์	อัตราค่าบริการ (บาท)	พารามิเตอร์	อัตราค่าบริการ (บาท)
1. พีเอช (pH)	100	11. โลหะหนัก	
2. สี (Colour)	100	(Heavy Metals)	500
3. ปริมาณสารที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Dissolved Solids)	200	11.1 Iron (Fe)	500
		11.2 Manganese (Mn)	500
4. ปริมาณสารทั้งหมด (Total Solids)	200	11.3 Zinc (Zn)	500
		11.4 Copper (Cu)	500
5. สารแขวนลอย (Suspended Solids)	200	11.5 Chromium (Cr)	500
		11.6 Cadmium (Cd)	500
6. ตะกอนหนัก (Settleable Solids)	100	11.7 Lead (Pb)	800
		11.8 Nickle (Ni)	
7. ความกระด้าง (Hardness)	200		
8. คลอไรด์ (Chloride)	200		
9. แอมโมเนีย (Ammonia) ในหน่วยไนโตรเจน	200	12. น้ำมันและไขมัน (Fat,Oil & Grease)	500
10. ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total Phosphorus)	300	13. ไนโตรเจนทั้งหมด (TKN)	500
		14. ซัลไฟด์ (Sulfide)	500
		15. บีโอดี (BOD)	500
		16. ซีโอดี (COD)	500
		17. โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Coliform Bacteria)	300
		18. ฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Fecal Coliform Bacteria)	300

อัตราค่าบริการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างอากาศ

พารามิเตอร์	อัตราค่าบริการ (บาท)
1. ฝุ่นละอองทั้งหมด (TSP)	200
2. ฝุ่นละอองขนาดเล็กกว่า 10 ไมครอน (PM – 10)	200
3. ตะกั่วในฝุ่นละออง (Pb)	500

เอกสารอ้างอิง

American public Health Association**.** 2005**. Standard Methods for the Examination of water and Wastewater**. 21st Edition. American Public Health Association.

กรรณิการ์ สิริสิงห. 2549. **เคมีของน้ำ น้ำโสโครกและการวิเคราะห์**. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม, กรุงเทพฯ

คณะผู้จัดทำ

คู่มือทดสอบตัวอย่างน้ำ ห้องปฏิบัติการ สำนักงานสิ่งแวดล้อมภาคที่ 6

ที่ปรึกษา

นางสาวอัมพันพินธุ์ พินทุกนก
ผู้อำนวยการสำนักงานสิ่งแวดล้อมภาคที่ 6

กองบรรณาธิการ

นางอรดี แจ่มอุลิตรัตน์
นักวิชาการสิ่งแวดล้อมชำนาญการพิเศษ
หัวหน้ากลุ่มงานวิเคราะห์คุณภาพสิ่งแวดล้อม
นางอารีย์ แก้วเขียว
นักวิชาการสิ่งแวดล้อมชำนาญการ
นางสาวตวงพร แป้นพุ่ม
นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นายศิริพล กำแพงทอง
นักวิชาการสิ่งแวดล้อมปฏิบัติการ
นางสาวจุไรรัตน์ มหาเทียน
นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นางสาววราภรณ์ โตสิงห์
นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นายรัฐธษิต บางนาค
นักวิชาการสิ่งแวดล้อม
นายสรศักดิ์ บุญจินต์
นักวิชาการสิ่งแวดล้อม

หน้าปก รูปเล่ม

นางสาวพนาวัลย์ จันทร์สระคู
นักวิชาการสิ่งแวดล้อมชำนาญการ
นางสุวพิชญ์ กล้ารอญ
เจ้าพนักงานธุรการชำนาญงาน
นางทรัพย์สุกานต์ ชมะโชติ
พนักงานพิมพ์ ส 1

สำนักงานสิ่งแวดล้อมภาคที่ 6 (นนทบุรี)
47/100 หมู่ 4 ถนนติวานนท์
ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมือง
จังหวัดนนทบุรี 11000
โทรศัพท์ 02 9688398
โทรสาร 02 9688062
www.reo6.mnre.go.th
e-mail address : reo06.org@mnre.mail.go.th