บทที่ 13
การวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนละลายและบีโอดี

โดย ไพฑูรย์ หมายมั่นสมสุข
นักวิทยาศาสตร์ 8ว กรมโรงงานอุตสาหกรรม

13.1 บทนำ

ดัชนีคุณภาพน้ำที่เป็นใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพน้ำมีจำนวนมากมายหลายชนิด สำหรับดัชนีคุณภาพน้ำที่บ่งถึงความสกปรกของน้ำในรูปของสารอินทรีย์และการใช้ออกซิเจนละลายในน้ำที่ใช้กันโดยทั่วไปมีหลายชนิดแต่ที่ใช้กันมากคือ ปริมาณออกซิเจนละลาย (Dissolved oxygen , DO) ค่าบีโอดี (Biochemical Oxygen Demand, BOD) ค่าซีโอดี (Chemical Oxygen Demand, COD) และค่าเปอร์แมงกาเนต (Permanganate Value, PV) แต่ดัชนีที่กล่าวมาทั้งหมดมิได้แสดงถึงปริมาณสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำโดยตรงแต่เป็นการแสดงค่าที่สามารถเชื่อมโยงหรือคาดการณ์ปริมาณเปรียบเทียบของสารอินทรีย์ในน้ำได้ สาเหตุที่เราไม่สามารถหาปริมาณสารอินทรีย์ในตัวอย่างน้ำได้โดยตรงหรือถ้าหาได้ก็จะต้องใช้เวลาในการวิเคราะห์มากเป็นเหตุให้ไม่สะดวกและไม่ทันการณ์ที่เป็นเช่นนี้เพราะเป็นการยากที่จะวิเคราะห์หาว่ามีสารอินทรีย์ชนิดใดบ้างในตัวอย่างน้ำและมีปริมาณสารอินทรีย์แต่ละชนิดในตัวอย่างน้ำจำนวนเท่าใดทั้งนี้เนื่องจากมีสารอินทรีย์จำนวนมากมายหลายชนิดที่ละลายหรือแขวนลอยปะปนกันอยู่ในน้ำ

ในที่นี้จะกล่าวถึงความหมายและคุณลักษณะของดัชนีที่เกี่ยวข้องกับการใช้ออกซิเจนซึ่งจะสามารถบอกหรือแสดงหรือสามารถเชื่อมโยงไปถึงค่าอื่นใดได้บ้างและมีความสำคัญอย่างไร ดัชนีที่จะกล่าวถึงตัวแรกคือปริมาณออกซิเจนละลาย(Dissolved oxygen) หรือค่าดีโอ (DO) ดัชนีอันนี้เป็นดัชนีที่แสดงถึงปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำนั้นว่ามีค่ามากน้อยเพียงใดเพียงพอต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในน้ำหรือไม่อย่างไรและจะมีผลกระทบต่อระบบนิเวศน์วิทยาโดยรวมหรือไม่ ส่วนดัชนีตัวที่สองคือค่าบีโอดี (BOD)ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่อยู่ในตัวอย่างน้ำโดยกำหนดเวลาและสภาวะแวดล้อมของการย่อยสลายให้คงที่เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบปริมาณสารอินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวะ (Biodegradable Organic Materials)ในตัวอย่างน้ำได้ ส่วนค่าซีโอดี (COD) เป็นดัชนีที่แสดงถึงปริมาณออกซิเจนเทียบเท่าที่ใช้การออกซิไดซ์สารอินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำซึ่งหาได้จากการออกซิไดซ์ตัวอย่างน้ำด้วยตัวออกซิไดซ์ที่รุนแรง เช่น โพแทสเซียมไดโครเมต เป็นต้น โดยค่าซีโอดีจะเป็นค่าที่ใช้ในการเปรียบเทียบปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมดทั้งที่เป็นสารอินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวะ (Biodegradable Organic Materials) และสารอินทรีย์ที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวะ (Nonbiodegradable Organic Materials) และค่าเปอร์แมงกาเนต (PV) เป็นดัชนีที่แสดงถึงปริมาณออกซิเจนเทียบเท่าที่ใช้การออกซิไดซ์สารอินทรีย์ในตัวอย่างน้ำซึ่งหาได้จากการออกซิไดซ์ตัวอย่างน้ำด้วยโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ซึ่งดัชนีคุณภาพน้ำสองอันหลังจะได้กล่าวในบทต่อไป

การที่สารอินทรีย์ที่ก่อให้เกิดมลพิษทางน้ำจะใช้ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำมากเกินไปซึ่งอาจจะเกิดขึ้นทั้งปฏิกิริยาโดยตรงและปฏิกิริยาโดยอ้อมอันเป็นผลทำให้มีปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำลดลงซึ่งการมีปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำน้อยจะทำให้มีผลต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในน้ำ และในบางครั้งก็เป็นสาเหตุให้เกิดปัญหาต่อระบบนิเวศน์วิทยาของแหล่งน้ำโดยอาจจะทำให้เกิดสภาพไร้ออกซิเจน (Anaerobic Condition) น้ำเน่าเสีย และมีกลิ่นเหม็น เป็นต้น อย่างไรก็ตามสารอินทรีย์ที่เป็นมลพิษทางน้ำนี้ไม่เพียงจะลดปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำเท่านั้นแต่ยังมีผลต่อมนุษย์โดยตรงอีกด้วยด้วยเหตุนี้จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการตรวจวัดดัชนีคุณภาพน้ำอันจะเป็นตัวบ่งชี้ว่าน้ำนั้นมีคุณภาพดีพอหรือไม่เพียงไร

การหาปริมาณออกซิเจนละลาย (Dissolved oxygen , DO) เป็นการหาปริมาณออกซิเจนซึ่งละลายอยู่ในน้ำอันเป็นลักษณะสำคัญที่จะบอกว่าน้ำนั้นมีความเหมาะสมเพียงใดต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในน้ำและแนวการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในน้ำว่าเป็นแบบใช้ออกซิเจนอิสระ (Aerobic Condition) หรือแบบไม่ใช้ออกซิเจนอิสระ (Anaerobic Condition)

ปริมาณออกซิเจนซึ่งละลายในน้ำมีความสัมพันธ์กับปัจจัยหรือสภาวะแวดล้อมทั้งทางด้านฟิสิกส์ (Physical Condition) ด้านเคมี (Chemical Condition)และชีวเคมี (Biochemical Condition)หลายประการ ตัวอย่างเช่น อุณหภูมิของน้ำ (Temperature) ความกดดันของอากาศ (Atmospheric Pressure) และสิ่งเจือปนในน้ำ (impurities) โดยที่ปริมาณออกซิเจนละลายจะมีค่ามากเมื่ออุณหภูมิของน้ำต่ำลงและมีความกดอากาศมากขึ้นรวมทั้งการมีปริมาณสารเจือปนที่ใช้ออกซิเจนในน้ำอยู่ในปริมาณน้อย การวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนละลายจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างมากอย่างหนึ่งในการตรวจสอบมลพิษทางน้ำและการควบคุมระบบบำบัดน้ำเสีย

ปริมาณการละลายของออกซิเจนในน้ำขึ้นกับอุณหภูมิและความดันบรรยากาศรวมทั้งค่าความเค็ม (Salinity) และ Chlorinity ด้วย ตารางที่ 1 แสดงปริมาณออกซิเจนละลายที่สภาวะอิ่มตัวในน้ำ ณ อุณหภูมิต่างๆ ที่ความดันมาตรฐาน 1 บรรยากาศ ฉะนั้นเมื่อเราทราบปริมาณออกซิเจนละลายที่สภาวะมาตรฐาน (Equilibrium oxygen concentration at standard pressure) แล้ว เราจะสามารถคำนวณหาปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำได้ที่ความดันใดๆ (Equilibrium oxygen concentration at given pressure) ก็ได้ ดังสมการ (1)

$$O = O^{*}A[(1-B/A)(1-CA)/(1-B)(1-C)] \qquad \text{-------(1)}$$

เมื่อ O = Equilibrium oxygen concentration at nonstandard pressure, mg/L

O^{*} = Equilibrium oxygen concentration at standard pressure of 1 atm, mg/L

A = Nonstandard pressure, atm

B = Partial pressure of water vapor,atm, computed from

$$\ln B = 11.857 - (3840.7/T) - (216961/T^{2})$$

T = Temperature, K

$C = 0.000975 - (1.426 \times 10^{-5}t) + (6.436 \times 10^{-8}t^{2})$

t = Temperature, degree celcius

ตารางที่ 1 Solubility of Oxygen in Water Exposed to Water-Saturated Air at Atmospheric Pressure (101.3 Kpa)

Temperature	Oxygen Solubility (mg/L)					
(°C)	Chlorinity: 0	5.0	10.0	15.0	20.0	25.0
0.0	14.621	13.728	12.888	12.097	11.355	10.657
1.0	14.216	13.356	12.545	11.783	11.066	10.392
2.0	13.829	13.000	12.218	11.483	10.790	10.139
3.0	13.460	12.660	11.906	11.195	10.526	9.897
4.0	13.107	12.335	11.607	10.920	10.273	9.664
5.0	12.770	12.024	11.320	10.656	10.031	9.441
6.0	12.447	11.727	11.046	10.404	9.799	9.228
7.0	12.139	11.442	10.783	10.162	9.576	9.023
8.0	11.843	11.169	10.531	9.930	9.362	8.826
9.0	11.559	10.907	10.290	9.707	9.156	8.636
10.0	11.288	10.656	10.058	9.493	8.959	8.454
11.0	11.027	10.415	9.835	9.287	8.769	8.279
12.0	10.777	10.183	9.621	9.089	8.586	8.111
13.0	10.537	9.961	9.416	8.899	8.411	7.949
14.0	10.306	9.747	9.218	8.716	8.242	7.792
15.0	10.084	9.541	9.027	8.540	8.079	7.642
16.0	9.870	9.344	8.844	8.370	7.922	7.496
17.0	9.665	9.153	8.667	8.207	7.770	7.356
18.0	9.467	8.969	8.497	8.049	7.624	7.221
19.0	9.276	8.792	8.333	7.896	7.483	7.090
20.0	9.092	8.621	8.174	7.749	7.346	6.964
21.0	8.915	8.456	8.021	7.607	7.214	6.842
22.0	8.743	8.297	7.873	7.470	7.087	6.723
23.0	8.578	8.143	7.730	7.337	6.963	6.609
24.0	8.418	7.994	7.591	7.208	6.844	6.498
25.0	8.263	7.850	7.457	7.083	6.728	6.390

ตารางที่ 1 (ต่อ)

Temperature	Oxygen Solubility (mg/L)					
(°C)	Chlorinity: 0	5.0	10.0	15.0	20.0	25.0
26.0	8.113	7.711	7.327	6.962	6.615	6.285
27.0	7.968	7.575	7.201	6.845	6.506	6.184
28.0	7.827	7.444	7.079	6.731	6.400	6.085
29.0	7.691	7.317	6.961	6.621	6.297	5.990
30.0	7.559	7.194	6.845	6.513	6.197	5.896
31.0	7.430	7.073	6.733	6.409	6.100	5.806
32.0	7.305	6.957	6.624	6.307	6.005	5.717
33.0	7.183	6.843	6.518	6.208	5.912	5.631
34.0	7.065	6.732	6.415	6.111	5.822	5.546
35.0	6.950	6.624	6.314	6.017	5.734	5.464
36.0	6.837	6.519	6.215	5.925	5.648	5.384
37.0	6.727	6.416	6.119	5.835	5.564	5.305
38.0	6.620	6.316	6.025	5.747	5.481	5.228
39.0	6.515	6.217	5.932	5.660	5.400	5.152
40.0	6.412	6.121	5.842	5.576	5.321	5.078
41.0	6.312	6.026	5.753	5.493	5.243	5.005
42.0	6.213	5.934	5.667	5.411	5.167	4.933
43.0	6.116	5.843	5.581	5.331	5.091	4.862
44.0	6.021	5.753	5.497	5.252	5.017	4.793
45.0	5.927	5.665	5.414	5.174	4.944	4.724
46.0	5.835	5.578	5.333	5.097	4.872	4.656
47.0	5.744	5.493	5.252	5.021	4.801	4.589
48.0	5.654	5.408	5.172	4.947	4.730	4.523
49.0	5.565	5.324	5.094	4.872	4.660	4.457
50.0	5.477	5.242	5.016	4.799	4.591	4.392

จากตารางที่ 1 ปริมาณออกซิเจนละลายขึ้นอยู่กับ Chlorinity โดยที่ Salinity และChlorinity มีความสัมพันธ์กันดังนี้

$$\text{Salinity} = 1.80655 \times \text{Chlorinity} \qquad \text{-------(2)}$$

ความเค็ม (Salinity) มีคำจำกัดความอยู่สองแบบ คือแบบดั้งเดิมและแบบใหม่ ในกรณีความหมายแบบดั้งเดิมความเค็มจะหมายถึงปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำหลังจากที่เปลี่ยนสารประกอบคาร์บอเนตเป็นสารประกอบออกไซด์ แทนที่โบรไมด์และไอโอไดด์ด้วยคลอไรด์ และสารอินทรีย์ทุกชนิดถูกออกซิไดซ์หมด ส่วนในกรณีคำจำกัดความแบบใหม่นั้น ความเค็มจะเป็นค่าที่ที่เกิดจากการเปรียบเทียบสภาพนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity)ของน้ำกับ Electrical Conductivity ของ Potassium Chloride (KCl) Solutionในน้ำ โดยจะมีหน่วยเป็นส่วนในพันส่วน (กรัมต่อกิโลกรัม) ส่วนค่าChlorinity เป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณคลอไรด์ (Chloride) โบรไมด์(Bromide) และไอโอไดด์(Iodide)ทั้งหมดในน้ำ เมื่อทราบ Chlorinity ของน้ำแล้วก็จะสามารถทราบปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำที่สภาวะอิ่มตัว ณ อุณหภูมิต่างๆได้

การวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนละลายสามารถกระทำได้หลายวิธี การเลือกวิธีการตรวจวัดขึ้นอยู่กับสารแทรกสอด ค่าความถูกต้องที่ต้องการรวมทั้งความสะดวกและรวดเร็วด้วย

1. <u>วิธีเมมเบรนอิเลคโทรด</u> (Membrane Electrode Method)

   เป็นการวัดปริมาณออกซิเจนละลายโดยหลักการเคลื่อนที่ผ่านเมมเบรนของออกซิเจนโมเลกุล (Molecular Oxygen) เข้าไปในส่วนที่เรียกว่า Sensor Compartment ซึ่งภายใน Sensor Compartment จะมีขั้วแคโทดและอะโนดซึ่งจุ่มอยู่ในสารละลายอิเลคโตรไลท์ และออกซิเจนโมเลกุลที่ซึมผ่านเมมเบรนเข้ามานี้จะเกิดปฏิกิริยารีดักชั่นที่แคโทด(Cathode) และเกิดออกซิเดชั่นที่ขั้วอะโนด (Anode) ทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าซึ่งเป็นสัดส่วนกับปริมาณออกซิเจนที่ซึมผ่านเข้ามาภายใน Sensor Compartment ซึ่งในส่วนรายละเอียดจะได้กล่าวต่อไป ในปัจจุบันนี้มีผู้ผลิตเครื่องมือที่ใช้วัดปริมาณออกซิเจนละลายที่เรียกว่า เครื่องดีโอมิเตอร์ (DO meter) หรือออกซิเจนมิเตอร์ (Oxygen meter) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่สามารถวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในสารละลายเป็น มิลลิกรัม/ลิตรได้โดยตรง ส่วนขั้นตอนและรายละเอียดวิธีการใช้และการตรวจวัดค่าดีโอโดยละเอียดจะขึ้นอยู่กับวิธีการเฉพาะของแต่ละบริษัทฯผู้ผลิตเครื่องมือนั้นๆ จะต้องศึกษาในคู่มือการใช้เครื่องมือให้ถูกต้องตามที่กำหนดไว้เพื่อให้สามารถวัดปริมาณออกซิเจนละลายได้อย่างถูกต้องแม่นยำ

2. <u>วิธีของวิงค์เลอร์</u> (Winkler Method and its modifications)

   เป็นการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนละลายโดยวิธีไอโอโดเมตริกและมีการปรับเปลี่ยนหรือเปลี่ยนแปลงเพิ่มเติมวิธีการวิเคราะห์อีกหลายวิธี เช่น วิธีเอไซด์โมดิฟิเคชันของไอโอโดเมตริก (Azide Modification of Iodometric Method) ซึ่งเหมาะสำหรับใช้วิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนในน้ำที่สกปรก เช่น น้ำทิ้ง น้ำในแม่น้ำลำคลอง เป็นต้น หลักการเบื้องต้นในการวิเคราะห์ คือ ออกซิเจนในน้ำจะทำปฏิกิริยากับแมงกานีส(II)ไฮดรอกไซด์ (Manganese (II) hydroxide)เกิดเป็นแมงกานีส(II)ออกซีไฮดรอกไซด์ (Manganese (II) Oxyhydroxide) ซึ่ง

แมงกานีส(II)ออกซีไฮดรอกไซด์ (Manganese (II) Oxyhydroxide)จะทำปฏิกิริยากับไอโอไดด์อิออนให้ไอโอดีนอิสระ (Free Iodine) ซึ่งปริมาณไอโอดีนอิสระที่เกิดขึ้นจะเป็นสัดส่วนกับปริมาณออกซิเจนละลาย ในส่วนรายละเอียดจะได้กล่าวต่อไป

13.2 การวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนละลายโดยวิธีเอไซด์โมดิฟิเคชัน (Azide Modification of Iodometric Method)

13.2.1 ทฤษฎีและปฏิกิริยา

ในการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำจะใช้ปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของแมงกานีส(II) โดยออกซิเจนได้เป็นแมงกานีส (IV)ในสารละลายที่เป็นด่าง ซึ่งแมงกานีส(IV) จะไปออกซิไดซ์ไอโดไดด์ให้เป็นไอโอดีนอิสระซึ่งสามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้โดยใช้โซเดียมไทโอซัลเฟต เมื่อทราบปริมาณไอโอดีนอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาแล้วก็สามารถคำนวณกลับไปเป็นปริมาณออกซิเจนละลายได้

ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นเมื่อเติมสารละลายแมงกานีส(II)ซัลเฟต (Manganous sulfate or Manganese (II) sulfate) และอัลคาไล-ไอโอไดด์-เอไซด์รีเอเจนต์ (Alkali-Azide-Iodide Reagent) ลงไปในตัวอย่างน้ำ ซึ่งจะทำให้เกิดตะกอนสีขาวของแมงกานีส(II)ไฮดรอกไซด์ (Manganese(II) or Manganous hydroxide)ในสภาวะที่เป็นด่าง ดังสมการ (3)

$$Mn^{2+} + 2OH^- \rightarrow Mn(OH)_2 \qquad \text{-------(3)}$$

เนื่องจากในตัวอย่างน้ำมีออกซิเจนละลายอยู่ ตะกอนขาวของแมงกานีส(II)ไฮดรอกไซด์ในน้ำ จะถูกออกซิเจนโมเลกุลในน้ำออกซิไดซ์ไปเป็นสารประกอบแมงกานีส(IV)ออกซีไฮดรอกไซด์ (Mangnese (IV) Oxyhydroxide) ในอัตราส่วนแมงกานีส(II)ไฮดรอกไซด์ต่อออกซิเจน เท่ากับ 2 : 1 โมล ดังสมการ (4)

$$2Mn(OH)_2 + O_2 \rightarrow 2MnO(OH)_2 \qquad \text{-------(4)}$$

เมื่อละลายตะกอนที่เกิดขึ้นโดยการปรับสภาวะของปฏิกิริยาให้เป็นกรด แมงกานีส(IV) จะออกซิไดซ์ไอโอไดด์ในสารละลายให้เป็นไอโอดีนในทันทีในอัตราส่วน $MnO(OH)_2 / I^-$ = 1/2 Mole ดังสมการ (5 - 7) โดยไอโอดีนอิสระที่เกิดขึ้นนี้จะเป็นอัตราส่วนกับแมงกานีส(IV)ออกซีไฮดรอกไซด์ที่เกิดขึ้นในขั้นตอนแรก ดังนั้นปริมาณไอโอดีนที่เกิดขึ้นจึงเป็นสัดส่วนกับปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำด้วย

$$MnO(OH)_2 + 4H^+ + 2e^- \rightarrow Mn^{2+} + 3H_2O \quad \text{-------(5)}$$

$$2I^- \rightarrow I_2 + 2e^- \quad \text{-------(6)}$$

$$MnO(OH)_2 + 4H^+ + 2I^- \rightarrow Mn^{2+} + I_2 + 3H_2O \quad \text{-------(7)}$$

ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในกรดซัลฟิวริก แสดงไว้ในสมการ (8)

$$MnO(OH)_2 + 2H_2SO_4 + 2KI \rightarrow MnSO_4 + I_2 + K_2SO_4 + 3H_2O \quad \text{-------(8)}$$

ปริมาณไอโอดีนที่เกิดขึ้นสามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้โดยทำการติเตรทกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต ดังสมการ (9 - 11)

$$I_2 + 2e^- \rightarrow 2I^- \quad \text{-------(9)}$$

$$2S_2O_3^{2-} \rightarrow S_4O_6^{2-} + 2e^- \quad \text{-------(10)}$$

$$2S_2O_3^{2-} + I_2 \rightarrow S_4O_6^{2-} + 2I^- \quad \text{-------(11)}$$

ในกรณีที่ใช้โซเดียมไทโอซัลเฟต ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแสดงไว้ในสมการ (12)

$$2Na_2S_2O_3 + I_2 \rightarrow Na_2S_4O_6 + 2NaI \quad \text{-------(12)}$$

เมื่อทราบปริมาณโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ในการติเตรทกับไอโอดีนที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาแล้ว จะสามารถคำนวณกลับเพื่อหาปริมาณของแมงกานีส (IV) ที่เกิดขึ้นและปริมาณออกซิเจนที่ใช้ในการออกซิไดซ์แมงกานีส(II) ได้ ซึ่งก็คือ ปริมาณออกซิเจนละลายนั่นเอง

จากสมการ (10) $Na_2S_2O_3$ จำนวน 2 โมล ทำปฏิกิริยาพอดีกับ I_2จำนวน 1 โมล

จากสมการ (6) I_2 จำนวน 1 โมล เกิดจาก $MnO(OH)_2$ จำนวน 1 โมล

จากสมการ (2) $MnO(OH)_2$ จำนวน 1 โมล เกิดจาก O_2จำนวน 0.5 โมล

ถ้าใช้ $Na_2S_2O_3$ ในการติเตรท จำนวน 2 โมล จะเทียบเท่ากับปริมาณ O_2จำนวน 0.5 โมล

ถ้าใช้ $Na_2S_2O_3$ ในการติเตรท จำนวน 1 โมล จะเทียบเท่ากับปริมาณ O_2จำนวน 0.25 โมล

= 0.25 x 32 x 1000 มิลลิกรัม = 8000 มิลลิกรัม

กรณีที่ใช้ $Na_2S_2O_3$ ความเข้มข้น 1 โมลาร์

1 มิลลิลิตร $Na_2S_2O_3$ = 8 มิลลิกรัม O_2

13.2.2 การหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

ในการวิเคราะห์ออกซิเจนละลายโดยวิธีเอไซด์โมดิฟิเคชั่นมีสารละลายมาตรฐานที่ใช้คือ สารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตซึ่งเป็นสารละลายมาตรฐานที่ใช้การติเตรทเพื่อหาปริมาณไอโอดีน จึงจำเป็นจะต้องหาความเข้มข้นที่แน่นอนเพื่อนำไปใช้ในการคำนวณหาปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตมีหลายวิธี แต่ที่จะกล่าวถึงต่อไปนี้เป็นวิธีที่ใช้กันมากในห้องปฏิบัติการ

13.2.2.1 ปฏิกิริยากับไอโอเดต

สารมาตรฐานปฐมภูมิ(primary standard)ที่ใช้กันมากมี 2 ชนิด คือ โพแทสเซียมไอโอเดต (KIO_3) และโพแทสเซียมไฮโดรเจนไดไอโอเดต [$KH(IO_3)_2$] ซึ่งสารทั้งสองตัวนี้จะให้ IO_3^- ในสารละลาย ดังสมการ (13 - 14)

$$KH(IO_3) = KIO_3 + HIO_3 \Rightarrow 2IO_3^- + H^+ + K^+ \qquad \text{-------(13)}$$

$$KIO_3 = IO_3^- + K^+ \qquad \text{-------(14)}$$

โดยที่ $KH(IO_3)$ จำนวน 1 โมลจะให้ IO_3^- จำนวน 2 โมล และ KIO_3 จำนวน 1 โมลจะให้ IO_3^- จำนวน 1 โมล เมื่อ IO_3^- ทำปฏิกิริยากับ I^- ในสารละลายที่เป็นกรดจะให้ I_2 ในกรณีที่ใช้ KIO_3 , 5KI และ H_2SO_4 ในสารละลาย จะเกิดปฏิกิริยาดังสมการ (15)

$$KIO_3 + 5KI + 3H_2SO_4 \rightarrow 3I_2 + 3K_2SO_4 + 3H_2O \qquad \text{-------(15)}$$

ไอโอดีนที่เกิดขึ้นในสารละลายจะทำปฏิกริยากับไทโอซัลเฟตที่ติเตรทลงไป ดังสมการ (16)

$$2Na_2S_2O_3 + I_2 \rightarrow Na_2S_4O_6 + 2NaI \qquad \text{-------(16)}$$

โดยสรุปแล้ว KIO_3 จะทำปฏิกิริยาพอดีกับ $Na_2S_2O_3$ ในอัตราส่วน 1:6 โมล และ $KH(IO_3)$ จะทำปฏิกิริยาพอดีกับ $Na_2S_2O_3$ ในอัตราส่วน 1:12 โมล

13.2.2.2 ปฏิกิริยากับไดโครเมต

สารมาตรฐานปฐมภูมิที่ใช้กันมากคือ โพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) เมื่อ $K_2Cr_2O_7$ ทำปฏิกิริยากับ KI ในสารละลายที่เป็นกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) จะให้ I_2 ดังสมการ (15) และไอโอดีนที่เกิดขึ้นในสารละลายจะทำปฏิกริยากับไทโอซัลเฟตที่ติเตรทลงไป ดังสมการ (17)

$$K_2Cr_2O_7 + 6KI + 7H_2SO_4 \rightarrow Cr_2(SO_4)_3 + 3I_2 + 4K_2SO_4 + 7H_2O \qquad \text{-------(17)}$$

13.2.3 สารแทรกสอด

กรณีที่มีไนไทรต์เป็นเป็นสารแทรกสอดในตัวอย่างน้ำ ในสารละลายที่เป็นกรด ไนไทรต์จะทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมไอโอไดด์ให้ไอโอดีนเช่นกัน ดังสมการ (18)

$$2HNO_2 + 2KI + H_2SO_4 \rightarrow I_2 + K_2SO_4 + H_2O + N_2O_2 \qquad \text{-------(18)}$$

นอกจากนี้ N_2O_2 จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนให้ HNO_2 อีก ดังสมการ (19)

$$N_2O_2 + 2H_2O + O_2 \rightarrow 4HNO_2 \qquad \text{-------(19)}$$

ไนไทรต์ที่เกิดขึ้นก็จะไปทำปฏิกิริยากับไอโอไดด์อีกทำให้มีปริมาณไอโอดีนเพิ่มมากขึ้นอีกในสารละลาย การกำจัดไนไทรต์สามารถทำได้โดยการเติมเอไซด์ลงไปในปฏิกิริยา ซึ่งเอไซด์นี้จะทำปฏิกิริยากับไนไทรต์ ดังสมการ (20 - 21)

$$2NaN_3 + H_2SO_4 \rightarrow 2HN_3 + H_2SO_4 \qquad \text{-------(20)}$$

$$HNO_2 + HN_3 \rightarrow N_2O + N_2 + H_2O \qquad \text{-------(21)}$$

13.2.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดบีโอดี ขนาด 300 มิลลิลิตร
2. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 200 มิลลิลิตร
3. ขวดเออร์เลนเมเยอร์ ขนาด 500 มิลลิลิตร
4. บิวเรตต์
5. ปิเปต

13.2.5 รีเอเจนต์

1. สารละลายแมงกานีสซัลเฟต (manganese (II) sulfate solution)

   <u>วิธีการเตรียม</u>

   ละลายแมงกานีส(II)ซัลเฟตเตตราไฮเดรต ($MnSO_4.4H_2O$) หนัก 480 กรัมหรือละลายแมงกานีส(II)ซัลเฟตไดไฮเดรต ($MnSO_4.2H_2O$) หนัก 400 กรัม หรือแมงกานีส(II)ซัลเฟตโมโนไฮเดรต ($MnSO_4.H_2O$) หนัก 364 กรัม ในน้ำกลั่น กรอง แล้วทำให้เจือจางเป็น 1000 มิลลิลิตร

2. อัลคาไล-ไอโอไดด์-เอไซด์ รีเอเจนต์ (Alkali-Iodide-Azide Reagent)

   <u>วิธีการเตรียม</u>

   ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) หนัก 500 กรัม หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) หนัก 700 กรัม และโซเดียมไอโอไดด์ (NaI) หนัก 135 กรัม หรือโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) หนัก 150 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 1000 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมโซเดียมเอไซด์ (NaN_3) หนัก 10 กรัม ซึ่งละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 40 มิลลิลิตร ลงในสารละลายที่เตรียมไว้ข้างต้น

3. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น

   กรดซัลฟูริกเข้มข้น 98 % (38 โมลาร์) เป็นกรดซัลฟิวริกซึ่ง 1 มิลลิลิตร จะสมมูลกับ 3 มิลลิลิตร อัลคาไลไอโอไดด์-เอไซด์รีเอเจนต์

4. น้ำแป้ง

   <u>วิธีการเตรียม</u>

   ละลายแป้ง (soluble starch) หนัก 2 กรัม ในน้ำกลั่นที่ร้อน จำนวน 100 มิลลิลิตร และกรดซาลิไซลิก (salicylic acid) หนัก 0.2 กรัม เพื่อให้เก็บได้นาน

5. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต (Standard Sodium Thiosulfate Solution)

   เข้มข้น 0.025 โมล/ลิตร

   <u>วิธีการเตรียม</u>

   ละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเฮบต้าไฮเดรต ($Na_2S_2O_3.5H_2O$) หนัก 6.205 กรัม ในน้ำกลั่นเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 6 โมล/ลิตร จำนวน 1.5 มิลลิลิตร หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ หนัก 0.4 กรัม แล้วทำให้เจือจางเป็น 1000 มิลลิลิตร

   <u>หมายเหตุ</u>

   สารละลายนี้จะต้องนำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอน (Standardization) ด้วยสารละลายไบไอโอเดต (Potassium Hydrogen Bi-iodate) ทุกครั้งก่อนที่จะใช้ในการวิเคราะห์ ทั้งนี้เนื่องจากโซเดียมไทโอซัลเฟตจะสลายตัวได้ง่ายเมื่อตั้งทิ้งไว้ทำให้ความเข้มข้นเปลี่ยนแปลงลดลงตลอดเวลา

6. สารละลายมาตรฐานไบไอโอเดต (Standard Bi-iodate Solution)

   เข้มข้น 0.0021 โมล/ลิตร

<u>วิธีการเตรียม</u>

ละลาย Potassium Hydrogen Biiodate [$KH(IO_3)_2$] หนัก 812.4 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 1000 มิลลิลิตร

7. สารละลายโพแทสเซียมฟลูออไรด์ (potassium fluoride solution)

<u>วิธีการเตรียม</u>

ละลายโพแทสเซียมฟลูออไรด์ไดไฮเดรต ($KF.2H_2O$) 40 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 100 มิลลิลิตร สารละลายนี้ใช้ต่อเมื่อตัวอย่างน้ำมีเฟอร์ริกอิออน [Fe(III)] มาก

13.2.6 การหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต

ละลาย KI ประมาณ 2 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 100 - 150 มิลลิลิตร ในขวดเออร์เลนเมเยอร์ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 3 โมล/ลิตร จำนวน 1 มิลลิลิตร หรือกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Concentrated Sulfuric Acid; 36 M) จำนวน 2 -3 หยด และสารละลายมาตรฐานไบไอโอเดต เข้มข้น 0.0021 โมล/ลิตร จำนวน 20 มิลลิลิตร แล้วทำให้เจือจางเป็น 200 มิลลิลิตร ติเตรทไอโอดีนซึ่งถูกขับออกมาด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตที่เตรียมไว้ เติมน้ำแป้งเมื่อใกล้ถึงจุดยุติ (end of titration) สังเกตจากสีของสารละลายมีสีเหลืองอ่อน ถ้าสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตมีความเข้มข้น 0.025 โมล/ลิตร ปริมาตรสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ในการติเตรทจะเท่ากับ 20 มิลลิลิตรพอดี ถ้าปริมาตรสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ในการติเตรทเป็นอย่างอื่นให้คำนวณหาความเข้มข้นได้ตามสมการ (20) และถ้าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตไม่ได้ค่าดังกล่าว อาจจะปรับความเข้มข้นให้เท่ากับ 0.025 โมล/ลิตร หรืออาจจะใช้ความเข้มข้นที่ได้นั้นเลยก็ได้

<u>การคำนวณ</u>

ความเข้มข้นของละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเป็นโมลาร์(Molarity) คือ

$$M_f = (12V_pM_p)/V_f \qquad \text{-------(22)}$$

เมื่อ M_f = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเป็นโมลาร์

V_f = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้เป็นมิลลิลิตร

V_p = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานไบไอโอเดตที่ใช้เป็นมิลลิลิตร

M_p = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไบไอโอเดตเป็นโมลาร์

สำหรับกรณีที่ใช้สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอเดตเป็นสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ จะสามารถคำนวณความเข้มข้นของละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเป็นโมลาร์(Molarity) ได้ดังนี้ คือ

$$M_f = (6V_iM_i)/V_f \qquad \text{-------(23)}$$

เมื่อ M_f = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเป็นโมลาร์

V_f = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้เป็นมิลลิลิตร

V_i = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอเดตที่ใช้เป็นมิลลิลิตร

M_i = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอเดตเป็นโมลาร์

13.2.7 วิธีวิเคราะห์

การหาปริมาณออกซิเจนละลายจากตัวอย่างน้ำซึ่งเก็บไว้ในขวดบีโอดีขนาด 250-300 มิลลิลิตร ทำได้ดังต่อไปนี้

1. เติมสารละลายแมงกานีส(II)ซัลเฟต จำนวน 1 มิลลิลิตรและอัลคาไลไอโฮไดด์-เอไซด์ รีเอเจนต์ จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในขวดบีโอดีที่ใส่ตัวอย่างน้ำ โดยให้ปลายปิเปตอยู่ใต้ผิวของตัวอย่างน้ำ ปิดจุกระวังอย่าให้มีฟองอากาศและผสมให้เข้ากันโดยคว่ำขวดขึ้นลงอย่างน้อย 15 ครั้ง
2. ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนจนได้ปริมาณน้ำใส ประมาณครึ่งหนึ่งของขวด
3. เมื่อตั้งทิ้งไว้จนเกิดสารละลายใสข้างบน ประมาณครึ่งหนึ่งของขวดแล้ว เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงไปในขวดบีโอดี โดยให้กรดค่อยๆไหลลงข้างๆคอขวด ปิดจุก ผสมให้เข้ากัน โดยคว่ำขวดขึ้นลงจนกระทั่งตะกอนละลายหมด
4. ถ้าใช้ขวดบีโอดีที่มีความจุ 300 มิลลิลิตร จะใช้ตัวอย่างน้ำจากขวดในข้อ 3 เท่ากับ 201 มิลลิลิตร เพื่อนำไปติเตรท ทั้งนี้เพื่อให้ปริมาตรตัวอย่างนี้มีค่าเท่ากับปริมาตรตัวอย่างน้ำเริ่มต้น 200 มิลลิลิตร อันจะเป็นการง่ายต่อการคำนวณ เหตุที่เราใช้น้ำตัวอย่างในขวดบีโอดีจำนวน 201 มิลลิลิตรแต่เป็นน้ำตัวอย่างเพียง 201 มิลลิลิตร เนื่องจากมีการสูญเสียตัวอย่างน้ำจากขวดบีโอดี โดยการแทนที่ของสารละลายเคมีที่เติมลงไปทั้งสิ้น 2 มิลลิลิตร(สารละลายแมงกานีส(II)ซัลเฟต จำนวน 1 มิลลิลิตรและอัลคาไลไอโฮไดด์-เอไซด์ รีเอเจนต์ จำนวน 1 มิลลิลิตร รวมเป็น 2 มิลลิลิตร) ดังนั้นปริมาตรตัวอย่างในขวดบีโอดีซึ่งจะต้องใช้ในการติเตรทเพื่อให้เป็นการใช้ตัวอย่างน้ำจริงจำนวน 200 มิลลิลิตร จึงควรเท่ากับ

   $$(200x\ 300)/(300 - 2) = 201 \text{ มิลลิลิตร}$$

5. ติเตรทตัวอย่างน้ำที่ปิเปตในข้อ 4 กับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.0021 โมล/ลิตร จนกระทั่งสารละลายมีสีเหลืองอ่อนจาง แล้วเติมน้ำแป้ง 2-3 หยด จะได้สารละลายสีน้ำเงินเข้ม ติเตรทต่อไปจนกระทั่งสีน้ำเงินหายไป และอ่านปริมาตรของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้

13.2.8 การคำนวณ

ถ้าใช้สารละลายที่เกิดปฏิกิริยาในขวดบีโอดีมาเพื่อการติเตรท จำนวน 200 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต (0.025 โมล/ลิตร)ที่ใช้ในการติเตรท เท่ากับ 1 มิลลิลิตร ปริมาณออกซิเจนละลายในตัวอย่างน้ำจะมีค่ากับ 1 มิลลิกรัม/ลิตร ของออกซิเจนละลาย แต่ถ้าใช้สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่มีความเข้มข้นเป็นอย่างอื่นให้คำนวนปริมาณออกซิเจนละลายดังสมการ (24)

$$DO = 40 \times M \times V \qquad \text{-------(24)}$$

โดยที่ DO = ปริมาณออกซิเจนละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)

V = ปริมาตรสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ในการติเตรท (มิลลิลิตร)

M = ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ในการติเตรท (โมลต่อลิตร)

13.3 การวัดปริมาณออกซิเจนละลายโดยวิธีการใช้เมมเบรนอิเลคโทรด (Membrane Electrode Method)

การวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนละลายโดยวิธีการใช้เมมเบรนอิเลคโทรดนี้ ส่วนมากจะใช้กับตัวอย่างที่มีสารแทรกสอดมากและไม่สามารถวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนละลายโดยวิธีเอไซด์โมดิฟิเคชั่นได้ สารแทรกสอดที่กล่าวถึงนี้ ได้แก่ Sulfite, Thiosulfate, Polythionate, Mercaptans, Free Chlorine, Hypochlorite, readily-hydrolyzable organic sunstances in alkali solution, Free Iodine เป็นต้น หรือตัวอย่างน้ำที่มีสีเข้มมากหรือมีความขุ่นมาก นอกจากนี้การวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนละลายโดยวิธีเมมเบรนอิเลคโทรดยังเป็นวิธีการที่ใช้ในการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำในแม่น้ำ ลำธารและในแหล่งน้ำอื่นๆซึ่งจะให้ข้อมูลที่ต่อเนื่องตลอดเวลาด้วย ข้อดีอีกอย่างหนึ่งของการวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนละลายโดยวิธีเมมเบรนอิเลคโทรด คือ สามารถวัดปริมาณออกซิเจนละลายในตัวอย่างน้ำโดยไม่ทำลายหรือทำให้คุณสมบัติของน้ำเปลี่ยนแปลงไปและสามารถนำตัวอย่างน้ำนี้ไปวิเคราะห์องค์ประกอบหรือดัชนีคุณภาพอื่นๆได้

อนึ่ง การวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนละลายโดยวิธีเมมเบรนอิเลคโทรดนี้ จะต้องมีการปรับเทียบมาตรฐานของเครื่องมือทุกครั้งที่ใช้หรืออย่างน้อยก็เป็นครั้งคราวโดยเปรียบเทียบกับการวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนละลายโดยวิธีเอไซด์โมดิฟิเคชั่นของตัวอย่างน้ำที่ไม่มีสารแทรกสอดปนอยู่ โดยทั่วไปการปรับเทียบปริมาณออกซิเจนละลายจะกระทำเพื่อให้สามารถวัดปริมาณออกซิเจนละลายได้ในช่วง 0 ถึง 10 หรือ 0 ถึง 15 หรือ 0 ถึง 20 มิลลิกรัมต่อลิตรทั้งนี้ตามแต่จะสะดวก

13.3.1 หลักการเบื้องต้น

ในการวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนละลายโดยวิธีการใช้เมมเบรนอิเลคโทรดนี้ มีองค์ประกอบในส่วนสำคัญ คือ ส่วนเมมเบรนอิเลคโทรด ส่วนการวัดกระแสและการคำนวณและส่วนแสดงผล เมมเบรนอิเลคโทรดที่ใช้กันส่วนมาก มีอยู่ 2 ชนิด คือ Galvanic Membrane Electrode และ Polarographic Membrane Electrode ซึ่งเครื่องมือในการตรวจวัดออกซิเจนละลายที่มีขายทั่วไปจะใช้ระบบเมนเบรนในการวัดออกซิเจนแบบใดแบบหนึ่งในสองแบบนี้ เมมเบรนอิเลคโทรดทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะส่วนใหญ่เหมือนกันยกเว้นในส่วนของ Electrode Reaction โดยที่ในระบบแบบ Galvanic Membrane Electrode นั้น Electrode Reaction จะเกิดขึ้นแบบเกิดขึ้นเอง (Spontaneous Reaction) และ ในระบบแบบ Polarographic Membrane Electrode นั้น Electrode Reaction จะเกิดขึ้นโดยการให้ศักย์ไฟฟ้าจากภายนอก(External Voltage) เข้าไปในระบบเพื่อโพลาไรซ์ (Polarize) Indicator Electrode สำหรับหลักการการวัดปริมาณออกซิเจนนั้น จะใช้หลักการเกิดกระแสเมื่อมีการออกซิไซด์ที่ Anode โดยออกซิเจนที่ซึมผ่านเมมเบรนเข้ามาภายใน Sensor Compartment

Sensor Compartment จะประกอบด้วยส่วนสำคัญ 4 ส่วน คือ

- เมมเบรน(membrane) ซึ่งเป็นส่วนที่หุ้มอยู่ด้านนอกและเป็นช่องทางที่จะให้ออกซิเจนโมเลกุลซึมผ่านเข้ามาภายในและเมมเบรนที่ใช้กันส่วนมากจะเป็น Polyethylene หรือ Fluorocarbon membranes
- ขั้วแคโทด (Cathode) ซึ่งส่วนใหญ่ทำด้วย Noble Metals เช่น เงิน เป็นต้น
- ขั้วอะโนด (Anode) ซึ่งส่วนใหญ่ทำด้วย Base Metal เช่น ตะกั่ว เป็นต้น
- สารละลายอิเลคโตรไลท์ (Electrolyte) ซึ่งเป็นสารละลายที่ขั้วแคโทดและอะโนดจุ่มอยู่

ขั้ว Cathode และ Anode จะต่ออยู่กับวงจรไฟฟ้าเพื่อทำให้วงจรไฟฟ้าครบวงจรและสามารถตรวจวัดกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นได้ เมื่อออกซิเจนซึมผ่าน (Permeate) เมมเบรนเข้ามาภายใน Sensor Compartment ซึ่งมี Alkali Electrolyte อยู่ ออกซิเจนจะเกิดปฏิกิริยารีดักชั่นที่ขั้วแคโทรดซึ่งทำด้วยเงินซึ่งจะทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าไหลในวงจร ดังสมการ (25)

$$O_2 + 2H_2O + 2e^- \rightarrow 4OH^- \qquad \text{-------(25)}$$

ส่วนที่ขั้วอะโนดจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของตะกั่ว ดังสมการ (26)

$$2Pb \rightarrow 2Pb^{2+} + 4e^- \qquad \text{-------(26)}$$

กระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นนี้จะเป็นสัดส่วนกับปริมาณออกซิเจนที่ซึมผ่านเมมเบรนเข้ามาภายใน Sensor Compartment ปริมาณออกซิเจนที่ซึมผ่านเมมเบรนเข้ามาจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความแตกต่างระหว่างความดันภายใน Sensor Compartment และความดันสัมบูรณ์ในน้ำ และเนื่องจากออกซิเจนจะถูก

ใช้ไปในการออกซิไดซ์ที่ขั้วแคโทรดอย่างรวดเร็ว ดังนั้นถือได้ว่าความดันออกซิเจนภายใน Sensor Compartment มีค่าเป็นศูนย์ (0) ฉะนั้นปริมาณออกซิเจนที่ซึมผ่านเข้ามาภายใน Sensor Compartment จึงเป็นสัดส่วนกับความดันสัมบูรณ์ของออกซิเจนภายนอก Sensor Compartment ถ้าความดันสัมบูรณ์ในน้ำมีมากก็จะมีปริมาณออกซิเจนซึมผ่านเมมเบรนเข้ามาใน Sensor Compartment มาก ดังนั้นเราจึงสามารถหาปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำได้เมื่อปรับเครื่องมือกับน้ำที่ทราบปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำแล้ว

ปัจจัยที่มีผลต่อการซึมผ่านออกซิเจนของเมมเบรน คือ อุณหภูมิและเกลือหรืออิออนในน้ำ ดังนี้

ก. <u>อุณหภูมิ</u>

Membrane Electrode จะมีการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการซึมผ่านของออกซิเจน (Membrane Permeability) ซึ่งวัดได้ในรูปของความไวของอิเลคโทรด (Electrode Sensitivity Φ; μA/mg/L) ดังสมการ (27)

$$\log\Phi = 0.43mt + b \qquad \text{-------(27)}$$

เมื่อ m = Constant depending on membrane

b = Constant depending on membrane thickness

t = Temperature, degree Celcius

ถ้าเราทราบค่าความไวของอิเลคโทรด (Electrode Sensitivity) ที่อุณหภูมิหนึ่งอุณหภูมิใดแล้ว (Φ_0 at temperature t_0) ก็จะสามารถหา Electrode Sensitivity ที่อุณหภูมิอื่นๆ (Φ at any temperature t) ได้ ดังสมการ (28)

$$\log\Phi = \log\Phi_0 + 0.43m(t - t_0) \qquad \text{-------(28)}$$

ในปัจจุบันนี้ เครื่องมือวัดปริมาณออกซิเจนละลายจะมีวิธีการที่เรียกว่า Temperature Compensation อยู่ในตัวเครื่องอยู่แล้วเป็นส่วนใหญ่ โดยการใช้ Thermistors ในวงจรของอิเลคโทรด

ข. <u>เกลือ</u> (Salt)

Electrode Sensitivity จะเปลี่ยนแปลงไปเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเกลือในสารละลาย โดยสามารถคำนวณได้ดังสมการ (29)

$$\log\Phi_S = \log\Phi_0 + 0.43m_sC_s \qquad \text{------(29)}$$

เมื่อ Φ_S = Electrode Sensitivity in salt solution

m_s = Salting-out coefficient

Φ_0 = Membrane Sensitivity in distilled water

C_s = Salt Concentration, perferably Ionic Strength

13.3.2 สารแทรกสอด

ไม่พบว่ามีสารประกอบอินทรีย์ที่จะรบกวนการตรวจวัดด้วยวิธีนี้ ส่วนสารประกอบอนินทรีย์จะทำให้ค่าปริมาณออกซิเจนทีวัดได้มีค่ามากกว่าความเป็นจริงแต่ในปัจจุบันนี้เครื่องมือที่ใช้วัดปริมาณออกซิเจนละลายส่วนมากจะมีการนำค่าปริมาณสารอนินทรีย์มาคำนวณด้วยอยู่แล้ว เช่น Salinity compensation รวมทั้งการมี Temperature Compensation ด้วย สำหรับในกรณีที่ตัวอย่างน้ำมีก๊าซที่ว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา เช่น คลอรีน หรือมีอิออนที่เกิดออกซิเดชั่นได้ เช่น ซัลไฟด์ เป็นต้น ซึ่งสารแทรกสอดนี้จะทำให้เกิดปัญหาในการวัดปริมาณออกซิเจนละลายด้วย ในกรณีของคลอรีนนั้น คลอรีนในน้ำจะทำปฏิกิริยาดีโพลาไรซ์แคโทรดและทำให้ค่าปริมาณออกซิเจนที่อ่านได้มีค่าเกินความจริง ถ้า Sensor/probe นี้อยู่ในสภาวะที่มีคลอรีนนานๆจะทำให้มีคลอไรด์หุ้มอยู่ที่ขั้วอาโนดจำนวนมาก ซึ่งจะเป็นผลให้ probe เสียได้

13.3.3 การปรับเทียบมาตรฐาน

ก่อนการใช้เครื่องมือจะต้องมีการปรับเทียบมาตรฐานทุกครั้ง โดยการปรับเทียบจากอากาศที่อิ่มตัวด้วยไอน้ำหรือจากน้ำที่ทราบปริมาณออกซิเจนละลายแล้วซึ่งอาจจะได้จากการวิเคราะห์หาปริมาณโดยใช้วิธีเอไซด์โมดิฟิเคชั่น และการปรับเทียบกับสารละลายที่ไม่มีออกซิเจนอยู่เลย (6% Sodium sulfite Solution ; DO = 0 mg/L) ซึ่งเตรียมได้จากการละลาย Sodium sulfite (Na_2SO_3) จำนวน 6 กรัมในน้ำ 100 มิลลิลิตร โดยมี $CoCl_2$ อยู่เล็กน้อย

$$2Na_2SO_3 + O_2 \rightarrow 2Na_2SO_4 \qquad \text{-------(30)}$$

13.4 การวิเคราะห์ค่าบีโอดี

หลักการทั่วไป

การวิเคราะห์หาค่าบีโอดี (Biochemical Oxygen Demand, BOD) เป็นการวิเคราะห์เพื่อให้ทราบถึงปริมาณความสกปรกของน้ำในแหล่งน้ำต่างๆ เช่น น้ำในแม่น้ำลำคลอง น้ำทิ้งจากอาคารบ้านเรือน และน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม เป็นต้น โดยคิดเปรียบเทียบในรูปของปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ นอกจากนี้ค่าบีโอดียังเป็นข้อมูลที่จำเป็นและเป็นประโยชน์อย่างมากในการออกแบบระบบบำบัดน้ำทิ้ง การควบคุมคุณภาพน้ำทิ้งและประสิทธิภาพของระบบบำบัดนั้นๆรวมทั้งเป็นการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำของแหล่งรองรับน้ำทิ้งอันจะทำให้ทราบถึงศักยภาพในการรองรับน้ำทิ้งของแหล่งรองรับน้ำทิ้งด้วย

การวิเคราะห์หาค่าบีโอดีโดยทั่วไปเป็นการวัดปริมาณออกซิเจนที่ถูกใช้ ในเวลา 5 วัน ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 20 องศาเซลเซียส และเนื่องจากออกซิเจนในอากาศสามารถละลายได้ในจำนวนจำกัด คือ ประมาณ 9 มิลลิกรัม/ลิตรในน้ำบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิที่ 20 องศาเซลเซียส ดังนั้นในการวิเคราะห์ค่าบีโอดีในน้ำเสียซึ่งมีความสกปรกมากจึงจำเป็นต้องทำให้ปริมาณความสกปรกเจือจางลงอยู่ในระดับซึ่งสมมูลพอดีกับปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่ และเนื่องจากการวิเคราะห์ค่าบีโอดีนี้เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ในน้ำจึงจำเป็นต้องทำให้มีสภาพที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ กล่าวคือ ไม่มีสารพิษ แต่มีอาหารเสริมเพียงพอสำหรับจุลินทรีย์ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เป็นต้น นอกจากนี้การย่อยสลายสารอินทรีย์ให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำจะกระทำโดยจุลินทรีย์หลายชนิดจึงจำเป็นต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ต่างๆเหล่านี้อย่างเพียงพออยู่ในน้ำตัวอย่างที่จะทำการวิเคราะห์ ถ้าไม่มีหรือมีปริมาณน้อยไปควรเติมจุลินทรีย์ ซึ่งเรียกว่า หัวเชื้อ (seed) ลงไปด้วย

สารมาตรฐานบีโอดี

เพื่อให้ทราบถึงการดำเนินการวิเคราะห์รวมทั้งสารเคมีหรือรีเอเจนต์ต่างๆที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าบีโอดีว่าดีหรือถูกต้องหรือไม่ จึงควรตรวจสอบโดยใช้สารอินทรีย์บริสุทธิ์ที่ทราบค่าบีโอดีแล้ว มีผู้วิเคราะห์หาค่าบีโอดีของสารประกอบอินทรีย์บริสุทธิ์หลายชนิดดังตัวอย่างที่พอสรุปได้ดังตารางที่ 2 สารประกอบมาตรฐานที่ใช้กันโดยทั่วไป คือ กลูโคส และกรดกลูตามิค ทั้งนี้เนื่องจากกลูโคสถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายและใช้ได้กับหัวเชื้อทั่วๆไป แต่มีข้อเสียคือกลูโคสมีอัตราการออกซิไดซ์ไม่คงที่ (ประมาณ 0.50 - 0.78 กรัมออกซิเจนต่อกรัมกลูโคส) อย่างไรก็ตามเมื่อผสมกลูโคสกับกรดกลูตามิคในอัตราส่วน 1 : 1 จะทำให้อัตราการออกซิไดซ์ของสารผสมนี้คงที่และทำให้ได้สารละลายที่มีสมบัติคล้ายกับน้ำเสียจากชุมชม ซึ่งเหมาะที่จะนำมาเตรียมเป็นสารละลายมาตรฐาน

ตารางที่ 2 ค่าบีโอดี (5 วัน ที่ 20 องศาเซลเซียส) ของสารประกอบอินทรีย์บางชนิด

Substrate	Number of data	BOD (mg/L)
Lactose	5	0.45 - 0.72
Soluble starch	9	0.22 - 0.71
Citric acid	1	0.40
Sucrose	6	0.49 - 0.76
Histidine	1	0.55
Glyceral	7	0.62 - 0.83
Fructose	1	0.71
Glycine	2	0.52 - 0.55
Lactic acid	3	0.63 - 0.88
Glutamic acid	1	0.64
Glucose	12	0.50 - 0.78
Ethanol	14	0.93 - 1.67
Acetic acid	9	0.34 - 0.88

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดบีโอดี (BOD) ขนาด 250 - 300 มิลลิลิตร

   ขวดบีโอดี (BOD) ที่ใช้จะต้องมีจุกปิดเป็นจุกแก้วปิดสนิทเพื่อป้องกันอากาศจากภายนอกเข้าไปภายในขวดบีโอดี ก่อนที่จะนำขวดบีโอดีมาใช้จะต้องนำขวดมาล้างให้สะอาดปราศจากอินทรีย์สารต่างๆ การล้างควรล้างด้วยสารละลายกรดโครมิก (chromic acid solution)ซึ่งสามารถหาซื้อได้ทั่วไปหรืออาจจะเตรียมขึ้นเองในห้องปฏิบัติการก็ได้โดยการละลายโพแทสเซียมไดโครเมตในกรดซัลฟิวริกเข้มข้น หลังจากนั้นนำขวดมาล้างด้วยน้ำให้สะอาดและครั้งสุดท้ายล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้งหนึ่งแล้วทำให้แห้ง

2. ตู้ควบคุมอุณหภูมิหรือตู้อินคิวเบท (incubator)

   ตู้อินคิวเบทอาจจะเป็นชนิดใช้อากาศหรือน้ำก็ได้ โดยจะต้องสามารถควบคุมและปรับอุณหภูมิได้เองโดยอัตโนมัติให้คงที่ที่อุณหภูมิ 20 ± 1 องศาเซลเซียส และต้องเป็นตู้ซึ่งสามารถป้องกันไม่ให้แสงผ่านเข้าไปได้

3. อุปกรณ์อื่นๆ

   อุปกรณ์ที่จำเป็นต้องใช้อื่นๆ รวมทั้งเครื่องแก้วต่างๆ เช่น บิวเรตต์ ขนาด 25 มิลลิลิตร ขวดเออร์เลนเมเยอร์ ขนาด 500 มิลลิลิตร กระบอกตวง ขนาด 1000 มิลลิลิตร เป็นต้น

รีเอเจนต์

1. น้ำกลั่น

น้ำกลั่นจะต้องมีคุณภาพดีกลั่นจากเครื่องกลั่นที่ทำด้วยแก้ว และมีปริมาณทองแดง (copper) น้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร และต้องปราศจากคลอรีน คลอรามีน ความเป็นด่างเนื่องจากไฮดรอกไซด์ อินทรีย์สารและกรดต่างๆ

2. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate Buffer)

<u>วิธีการเตรียม</u>

ละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium Dihydrogen Phosphate; KH_2PO_4) หนัก 8.5 กรัม ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (DiPotassium Hydrogen Phosphate; K_2HPO_4) หนัก 21.75 กรัม ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปต้าไฮเดรต (Disodium Hydrogen Phosphate heptahydrate; $Na_2HPO_4.7H_2O$) หนัก 33.4 กรัมและแอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium Chloride; NH_4Cl) หนัก 1.7 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วทำให้เจือจางเป็น 1000 มิลลิลิตร สารละลายนี้จะมีค่าพีเอช (pH Value) เท่ากับ 7.2

3. สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium Sulfate Solution)

<u>วิธีการเตรียม</u>

ละลายแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปต้าไฮเดรต (Magnesium Sulfate heptahydrate; $MgSO_4.7H_2O$) หนัก 22.5 กรัมในน้ำกลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 1000 มิลลิลิตร

4. สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (Calcium Chloride Solution)

<u>วิธีการเตรียม</u>

ละลายแอนไฮดรัสแคลเซียมคลอไรด์(anhydrous Calcium Chloride; $CaCl_2$) หนัก 27.5 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 1000 มิลลิลิตร

5. สารละลายไอร์ออน (III) คลอไรด์ (Ferric Chloride or Iron (III) Chloride Solution)

<u>วิธีการเตรียม</u>

ละลายไอร์ออน (III) คลอไรด์เฮกซาไฮเดรต (Ferric Chloride hexahydrate; $FeCl_3.6H_2O$) 0.25 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 1000 มิลลิลิตร

6. สารละลายกรดและด่าง เข้มข้น 1 โมล/ลิตร

ใช้สำหรับปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH Value) ของตัวอย่างน้ำที่เป็นกรดและด่างให้เป็นกลางก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์

7. สารละลายแมงกานีสซัลเฟต (Manganese(II) Sulfate Solution)

<u>วิธีการเตรียม</u>

ละลายแมงกานีสซัลเฟตเตตราไฮเดรต (Manganese (II) Sulfate tetrahydrate; $MnSO_4.4H_2O$) หนัก 480 กรัมหรือแมงกานีสซัลเฟตไดไฮเดรต (Manganese (II) Sulfate Dihydrate; $MnSO_4.2H_2O$) หนัก 364 กรัมในน้ำกลั่น กรอง แล้วทำให้เจือจางเป็น 1000 มิลลิลิตร สารละลายนี้จะต้องไม่เกิดสีกับน้ำแป้งเมื่อเติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ในสภาพที่เป็นกรด

8. สารละลายอัลคาไล-ไอโอไดด์-เอไซด์ (Alkali-iodide-azide reagent)

<u>วิธีการเตรียม</u> กระทำได้ 2 วิธี ดังนี้

วิธีที่ 1 :

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide; NaOH) หนัก 500 กรัม และโซเดียมไอโอไดด์ (Sodium Iodide; NaI) หนัก 135 กรัม [หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium Hydroxide; KOH) หนัก 700 กรัม และโพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium Iodide; KI) หนัก 150 กรัม] ในน้ำกลั่นแล้วทำให้เจือจางเป็น 1000 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมโซเดียมเอไซด์ (Sodium Azide; NaN_3) หนัก 10 กรัม ซึ่งละลายในน้ำกลั่นจำนวน 40 มิลลิลิตร ก่อนที่จะใช้เติมลงในสารละลายที่เตรียมไว้ข้างต้น สารละลายนี้ไม่ควรเกิดสีกับน้ำแป้งเมื่อทำให้เป็นกรดหรือทำให้เจือจาง

วิธีที่ 2 :

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ หนัก 400 กรัมในน้ำกลั่นซึ่งต้มไล่คาร์บอนไดออกไซด์และทำให้เย็นเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้ว 500 มิลลิลิตร เมื่อละลายจะเกิดความร้อนขึ้น ทิ้งไว้ให้เย็นเล็กน้อยเติมโซเดียมไอโอไดด์ หนัก 900 กรัม ละลายโซเดียมเอไซด์ หนัก 10 กรัมในน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร แล้วเทลงในสารละลายด่าง ถ้าปริมาตรของสารละลายที่เตรียมยังไม่ถึง 1 ลิตรทำให้เจือจางเป็น 1 ลิตร แต่ในทางปฏิบัติสารละลายที่เตรียมขึ้นนี้จะมีปริมาตรเกิน 1 ลิตร เล็กน้อยอยู่แล้วโดยไม่ต้องทำให้เจือจางลงอีก เนื่องจากมีความเข้มข้นของเกลือที่ละลายอยู่สูง

9. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต (Standard Sodium Thiosulfate Solution) เข้มข้น 0.025 โมล/ลิตร

<u>วิธีการเตรียม</u>

ละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเฮบต้าไฮเดรต ($Na_2S_2O_3.5H_2O$) หนัก 6.205 กรัม ในน้ำกลั่นเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 6 โมล/ลิตร จำนวน 1.5 มิลลิลิตร หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ หนัก 0.4 กรัม แล้วทำให้เจือจางเป็น 1000 มิลลิลิตร สารละลายนี้จะต้องนำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอน (Standardization) ด้วยสารละลายไบไอโอเดต (Potassium Hydrogen Biiodate)

10. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น

11. น้ำแป้ง

<u>วิธีการเตรียม</u>

ละลายแป้ง (soluble starch) หนัก 2 กรัม ในน้ำกลั่นที่ร้อน จำนวน 100 มิลลิลิตร และกรดซาลิไซลิก (salicylic acid) หนัก 0.2 กรัม เพื่อให้เก็บได้นาน

12. สารละลายโซเดียมซัลไฟต์ 0.0125 โมล/ลิตร

<u>วิธีการเตรียม</u>

ละลายแอนไฮดรัสโซเดียมซัลไฟต์(Sodium Sulfite; Na_2SO_3) 1.575 กรัมในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร(สารละลายนี้ไม่อยู่ตัวต้องเตรียมในวันที่จะใช้เท่านั้น

13. สารละลายมาตรฐานไบไอโอเดต 0.0021 โมล/ลิตร (Standard Bi-iodate Solution)

<u>วิธีการเตรียม</u>

ละลาย Potassium Hydrogen Biiodate [$KH(IO_3)_2$] หนัก 812.4 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 1000 มิลลิลิตร

การหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต

ละลาย KI ประมาณ 2 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 100 - 150 มิลลิลิตร ในขวดเออร์เลนเมเยอร์ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 3 โมล/ลิตร จำนวน 1 มิลลิลิตร หรือกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Concentrated Sulfuric Acid; 36 M) จำนวน 2 -3 หยด และสารละลายมาตรฐานไบไอโอเดต เข้มข้น 0.0021 โมล/ลิตร จำนวน 20 มิลลิลิตร แล้วทำให้เจือจางเป็น 200 มิลลิลิตร ติเตรทไอโอดีนซึ่งถูกขับออกมาด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตที่เตรียมไว้ เติมน้ำแป้งเมื่อใกล้ถึงจุดยุติ (end of titration) สังเกตจากสีของสารละลายมีสีเหลืองอ่อน ถ้าสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตมีความเข้มข้น 0.025 โมล/ลิตร ปริมาตรสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ในการติเตรทจะเท่ากับ 20 มิลลิลิตรพอดี ถ้าปริมาตรสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ในการติเตรทเป็นอย่างอื่นให้คำนวณหาความเข้มข้นได้ตามสมการ (31) และถ้าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตไม่ได้ค่าดังกล่าว อาจจะปรับความเข้มข้นให้เท่ากับ 0.025 โมล/ลิตร หรืออาจจะใช้ความเข้มข้นที่ได้นั้นเลยก็ได้

<u>การคำนวณ</u>

ความเข้มข้นของละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเป็นโมลาร์(Molarity) คือ

$$M_f = (12V_pM_p)/V_f \qquad \text{-------(31)}$$

เมื่อ M_f = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเป็นโมลาร์

V_f = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้เป็นมิลลิลิตร

V_p = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานไบไอโอเดตที่ใช้เป็นมิลลิลิตร

M_p = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไบไอโอเดตเป็นโมลาร์

สำหรับกรณีที่ใช้สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอเดตเป็นสารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ จะสามารถคำนวณความเข้มข้นของละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเป็นโมลาร์(Molarity) ได้ดังสมการ (32)

$$M_f = (6V_iM_i)/V_f \qquad \text{-------(32)}$$

เมื่อ M_f = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเป็นโมลาร์

V_f = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้เป็นมิลลิลิตร

V_i = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอเดตที่ใช้เป็นมิลลิลิตร

M_i = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไอโอเดตเป็นโมลาร์

การเตรียมตัวอย่างน้ำก่อนการวิเคราะห์ (Sample pretreatment)

1. ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำไม่เป็นกลางจะต้องปรับให้ตัวอย่างน้ำโดยใช้กรดซัลฟิวริก 0.5 โมล/ลิตรหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมล/ลิตร โดยจะต้องปรับให้มีพีเอชอยู่ในช่วงระหว่าง 6.5 - 7.5
2. ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำมีคลอรีนตกค้าง(Residual Chlorine) จะต้องกำจัดออกก่อน โดยปกติคลอรีนตกค้างจะลดลงเองเมื่อตั้งตัวอย่างน้ำทิ้งไว้ 1 - 2 ชั่วโมง แต่ในตัวอย่างซึ่งมีคลอรีนตกค้างในปริมาณมากๆจะต้องกำจัดทิ้งไปโดยการเติมสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ซึ่งจะสามารถทราบปริมาณสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ว่าต้องเติมไปเท่าใดโดยนำตัวอย่างน้ำมาในปริมาณที่เหมาะสม (ระหว่าง 100 - 1000 มิลลิลิตร) เติมกรดอะซิติก (1 + 1) หรือกรดซัลฟิวริก (1+50) 10 มิลลิลิตร เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 10 มิลลิลิตร (เตรียมโดยละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 10 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร) แล้วติเตรทด้วยสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ 0.0125 โมล/ลิตร โดยใช้น้ำแป้งไอโอไดด์เป็นอินดิเคเตอร์ จากนี้ก็จะทราบปริมาณของโซเดียมซัลไฟต์ที่ใช้เติมลงไปในตัวอย่าง หลังจากเติมสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ตามปริมาณที่คำนวณได้ลงในตัวอย่างแล้ว กวนให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 10 - 20 นาที
3. ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำมีสารพิษเจือปนอยู่ เช่น น้ำทิ้งจากโรงงานชุบโลหะซึ่งจะมีโลหะหนักในน้ำทิ้งมากทำให้เชื้อไม่เจริญเติบโตอย่างเพียงพอ ในกรณีนี้จะต้องศึกษาหาทางแก้ไขต่อไป เป็นต้น
4. ในกรณีที่จะต้องยับยั้งการเกิด Nitrification ให้เติม 2-chloro-6-(trichloromethyl) pyridine จำนวน 3.33 มิลลิกรัม ลงในขวดบีโอดีก่อนปิดฝา หรืออาจจะเติมลงในน้ำเจือจางก็ได้โดยให้มีปริมาณ 2-chloro-6-(trichloromethyl) pyridine ในน้ำเจือจาง เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

การวิเคราะห์

การวิเคราะห์ที่ใช้โดยทั่วไปมี 2 วิธี คือ วิธีโดยตรง (Direct Method) และ วิธีเจือจาง (Indirect or Dilution Method)

1 วิธีตรง (Direct Method)

ใช้ในกรณีที่คาดว่าตัวอย่างน้ำมีค่าบีโอดีน้อยกว่า 7 มิลลิกรัม/ลิตร ทำได้ดังนี้

1.1 นำตัวอย่างน้ำที่เตรียมแล้วตามที่แสดงในหัวข้อการเตรียมตัวอย่างน้ำก่อนการวิเคราะห์ มาปรับอุณหภูมิให้ได้ประมาณ 20 องศาเซลเซียส

1.2 เติมอากาศให้มีออกซิเจนอิ่มตัว (ใช้เวลาประมาณ 5 - 10 นาที)

1.3 รินตัวอย่างน้ำลงในขวดบีโอดีจนเต็มอย่างน้อย 3 ขวด โดยจะต้องระวังไม่ให้มีฟองอากาศในขวดบีโอดีหลังจากปิดจุกให้สนิทแล้ว ดูให้แน่ใจว่ามีน้ำหล่อที่ปากขวด นำขวดหนึ่งมาหาปริมาณออกซิเจนละลายก่อน ส่วนอีกสองขวดนำไปอินคิวเบทที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

1.4 หลังจาก 5 วันแล้ว นำตัวอย่างน้ำนั้นมาหาปริมาณออกซิเจนละลายที่เหลืออยู่

1.5 การคำนวณ

$$\mathbf{BOD = D_1 - D_2} \qquad \text{-------(30)}$$

เมื่อ BOD = ค่าบีโอดี (มิลลิกรัม/ลิตร)

D_1 = ปริมาณออกซิเจนละลายที่ติเตรทได้ในวันแรก (มิลลิกรัม/ลิตร)

D_2 = ปริมาณออกซิเจนละลายที่ติเตรทได้ในวันที่ 5 (มิลลิกรัม/ลิตร)

2 วิธีเจือจาง (Dilution Method)

ในกรณีที่คาดว่าตัวอย่างน้ำมีความสกปรกสูง (มีค่าบีโอดีมากกว่า 7 มิลลิกรัม/ลิตร) เราไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ค่าบีโอดีได้โดยตรง เนื่องจากออกซิเจนในตัวอย่างน้ำจะมีไม่เพียงพอสำหรับจุลินทรีย์ในการใช้เพื่อย่อยสลาย จึงมีความจำเป็นต้องทำให้ตัวอย่างน้ำที่สกปรกเจือจางลงโดยใช้น้ำผสมเจือจาง (dilution water) โดยให้น้ำตัวอย่างที่เจือจางแล้วมีความสกปรกน้อยกว่า 7 มิลลิกรัม/ลิตร และควรทำหลาย ๆความเข้มข้น

2.1 การเตรียมน้ำเจือจาง

2.1.1 นำน้ำกลั่นที่ปราศจากสารมีพิษ (กลั่นจากเครื่องกลั่นแก้ว) มาปรับอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 20 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส

2.1.2 ปรับคุณภาพให้เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์โดยเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ แมกนีเซียมซัลเฟต แคลเซียมคลอไรด์และไอร์ออน(III) คลอไรด์ อย่างละ 1 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร

2.1.3 เติมอากาศให้มีออกซิเจนละลายอิ่มตัว

2.2 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ (seed)

เพื่อให้ได้จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายอย่างเต็มที่ จำเป็นจะต้องเลือกหัวเชื้อที่เหมาะสมกับตัวอย่างน้ำแต่ละชนิด โดยทั่วไปใช้น้ำจากส้วมหรือน้ำทิ้งจากระบบบำบัดน้ำเสียที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อมาก่อนเป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์

2.3 การเจือจาง

เนื่องจากการวิเคราะห์หาค่าบีโอดีอาศัยปฏิกิริยาทางชีวเคมี โดยมีจุลินทรีย์เป็นตัวกลางในการย่อยสลาย สภาวะแวดล้อมในตัวอย่างน้ำจะมีผลต่อการวิเคราะห์อย่างมากเป็นผลทำให้ค่าบีโอดีที่ได้มีความผันแปรสูง การวิเคราะห์ตัวอย่างหนึ่งๆจึงมักทำการเจือจางตัวอย่างน้ำหลายๆความเข้มข้น (โดยทั่วไปไม่น้อยกว่า 3 ความเข้มข้น) ส่วนอัตราส่วนในการผสมเจือจางอาจจะประมาณการได้จากชนิดของตัวอย่าง ลักษณะของตัวอย่าง หรือข้อมูลของแหล่งน้ำตัวอย่าง เช่น น้ำทิ้งจากโรงงานที่เก็บมานั้นเป็นโรงงานประเภทใด เป็นน้ำที่เก็บจากขั้นตอนใด โรงงานประกอบกิจการอะไร ในขณะเก็บตัวอย่างมีการใช้วัตถุดิบชนิดใด เป็นต้น ซึ่งอาจจะใช้ข้อมูลในตารางที่ 3 เพื่อประกอบในการประมาณอัตราการเจือจางก็ได้ ส่วนช่วงการวิเคราะห์ค่าบีโอดีและอัตราการเจือจาง (%Mixture) แสดงไว้ในตารางที่ 4 เมื่อได้อัตราส่วนที่เหมาะสมแล้วจึงทำการเจือจางตัวอย่างน้ำ ดังนี้

2.3.1 ค่อยๆรินน้ำเจือจางลงในกระบอกตวง (ขนาด 1000 มิลลิลิตร)ประมาณ 500 มิลลิลิตร โดยให้น้ำค่อยๆไหลลงตามข้างกระบอกตวง

2.3.2 เติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ลงในกระบอกในกรณีที่จำเป็นต้องเติม

2.3.3 เติมตัวอย่างน้ำตามส่วนที่คำนวณได้เพื่อให้ได้ตัวอย่างน้ำหลังจากที่เจือจางแล้วมีค่าความสกปรกน้อยกว่า 7 มิลลิกรัม/ลิตร

2.3.4 เติมน้ำเจือจางลงไปในกระบอกตวงจนครบ 1000 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากันโดยใช้แท่งแก้วเสียบจุกยางไว้ที่ปลายชักขึ้นลงเบาๆ โดยจะต้องระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ

2.3.5 ค่อยๆรินตัวอย่างที่ผสมเข้ากันดีแล้วนี้ลงในขวดบีโอดีที่แห้งและสะอาดจนเต็มขวดทั้ง 3 ขวด โดยจะต้องระวังไม่ให้มีฟองอากาศในขวดบีโอดีหลังจากปิดจุกให้สนิทแล้ว ขวดที่หนึ่งนำไปวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนละลายวันแรก ส่วนอีกสองขวดนำไปอินคิวเบทที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ก่อนนำไปอินคิวเบทให้ตรวจดูว่ามีน้ำหล่อที่ปากขวดและควรตรวจดูทุกวันอย่าให้แห้ง (ถ้าแห้งให้เติมด้วยน้ำเจือจาง)

2.4 การบ่มหรือการอินคิวเบท (Incubation)

หลังจากอินคิวเบทที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในที่มืดครบ 5 วันแล้ว นำมาหาปริมาณออกซิเจนละลาย ตัวอย่างที่ใช้ได้จะต้องมีปริมาณออกซิเจนละลายเหลืออยู่อย่างน้อย 1 มิลลิกรัม/ลิตรและมีการใช้ออกซิเจนไปอย่างน้อย 2 มิลลิกรัม/ลิตร

2.5 การแก้ค่าเนื่องจากเติมหัวเชื้อ (seed correction)

ถ้ามีการใส่หัวเชื้อจะต้องนำหัวเชื้อมาทำให้เจือจางแล้วนำไปอินคิวเบทเช่นเดียวกับตัวอย่างน้ำ หลังจากนั้นนำมาหาค่าการใช้ออกซิเจนหลังจาก 5 วัน

2.6 การตรวจสอบคุณภาพน้ำเจือจาง (dilution water)

เติมน้ำเจือจางที่ยังไม่ได้ใส่หัวเชื้อลงในขวดบีโอดี 3 ขวด ขวดหนึ่งนำไปหาปริมาณออกซิเจนละลายก่อน อีก 2 ขวด ปิดจุกนำไปอินคิวเบท หลังจากนั้นนำมาหาค่าการใช้ออกซิเจนไป หลังจากอินคิวเบท 5 วันที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และไม่ต้องนำไปใช้ในการคำนวณ ผลต่างของปริมาณออกซิเจนละลายก่อนและหลัง 5 วันที่ 20 องศาเซลเซียส ไม่ควรเกิน 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร และจะยิ่งดีมากถ้าไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร

2.7 สารละลายมาตรฐานกลูโคส - กรดกลูตามิค (glucose-glutamic acid Solution)

เนื่องจากน้ำกลั่นที่ใช้อาจจะมีสารพิษเจือปนอยู่ซึ่งมาจากเครื่องมือที่ใช้กลั่นน้ำ (โดยทั่วไปจะใช้เครื่องกลั่นแก้ว) โดยเฉพาะทองแดงซึ่งจะทำให้หัวเชื้อมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายลดลง มีผลทำให้ค่าบีโอดีที่ได้ต่ำกว่าความเป็นจริง และเพื่อให้ทราบถึงการดำเนินการวิเคราะห์ว่าถูกต้องหรือไม่ จึงควรตรวจสอบโดยใช้สารอินทรีย์บริสุทธิ์ที่ทราบค่าบีโอดีแล้ว สารประกอบมาตรฐานที่ใช้กันโดยทั่วไป คือ กลูโคส และกรดกลูตามิค ทั้งนี้เนื่องจากกลูโคสถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายและใช้ได้กับหัวเชื้อทั่วๆไป แต่มีข้อเสียคือกลูโคสมีอัตราการออกซิไดซ์ไม่คงที่ (ประมาณ 0.5 -0.9 กรัมบีโอดีต่อกรัมกลูโคส) อย่างไรก็ตามเมื่อผสมกลูโคสกับกรดกลูตามิคในอัตราส่วน 1 : 1 โดยน้ำหนัก จะทำให้อัตราการออกซิไดซ์ของสารผสมนี้คงที่และทำให้ได้สารละลายที่มีสมบัติคล้ายกับน้ำเสียจากชุมชม

<u>วิธีการเตรียม</u>

การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสและกรดกลูตามิค ทำได้โดยการละลายกลูโคสและกรดกลูตามิค (ซึ่งได้อบแห้งที่ 103 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมงแล้ว) อย่างละ 150 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น และเจือจางจนได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร สารละลายนี้จะมีค่าบีโอดี เท่ากับ 220 $\pm$ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

ดูดสารละลายที่เตรียมมา 5 มิลลิลิตรใส่ขวดบีโอดีจำนวน 3 ขวด เติมน้ำผสมเจือจางที่ใส่หัวเชื้อแล้วลงไปจนเต็ม ปิดจุกให้แน่น ขวดหนึ่งนำไปติเตรทหาปริมาณออกซิเจนละลายวันแรก อีก 2 ขวดนำไปอินคิวเบทที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 5 วันจากนั้นนำมาหาค่าออกซิเจนที่ใช้ไป (Oxygen Depletion) และคำนวณค่าบีโอดีซึ่งค่าบีโอดีที่ได้อาจจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของหัวเชื้อที่เติมลงไป ผลการศึกษาวิเคราะห์ที่มีผู้ศึกษาไว้แสดงไว้ในตารางที่ 5

ตารางที่ 3 Dilution and Type of Sample

Dilution	Type of sample
0.1 - 1.0 %	Strong industrial wastes
1 - 5 %	Raw & settled wastewater
5 - 25 %	Biologically treaed effluent
25 - 100 %	Polluted river water

ตารางที่ 4 BOD Measurable with various dilutions of sample

% mixture	Range of BOD	ml sample in 300 mL BOD bottle	Range of BOD
0.01	20000 - 70000	0.02	30000 - 105000
0.02	10000 - 35000	0.05	12000 - 42000
0.05	4000 - 14000	0.10	6000 - 21000
0.1	2000 - 7000	0.20	3000 - 10500
0.2	1000 - 3000	0.50	1200- 4200
0.5	400 - 1400	1.0	600 - 2100
1.0	200 - 700	2.0	300 - 1050
2.0	100 - 350	5.0	100 - 420
5.0	40 - 140	10.0	60 - 210
10.0	20 - 70	20.0	30 - 105
20.0	10 - 35	50.0	12 - 42
50.0	4 - 14	100	6 - 21
100	0 - 7	300	0 - 7

ตารางที่ 5 Effect of Seed Type and Quality on BOD Results

(True value 220 ± 10 mg/L)

Type of Seed	5 - day Seed Correction (mg/l)	Mean 5 - day BOD (mg/l)	Standard Deviation (mg/l)
Settled fresh sewage	> 0.6	218	± 11
Settled stale sewage	> 0.6	207	± 8
River water (4 sources)	0.05 - 0.22	224 - 242	± 7 - 13
Activated sludge effluent	0.07 - 0.68	221	± 13
Trickling filter effluent	0.2 - 0.4	225	± 8

2.8 <u>ไอดีโอดี</u> (Immediate Dissolved Oxygen Demand, IDOD)

สารประกอบพวกเฟอรัสไอร์ออน [Iron (II) compound] ซัลไฟด์ (sulfide compounds) และอัลดีไฮด์ (Aldehydes) สามารถถูกออกซิไดซ์โดยออกซิเจนถ้ามีอยู่ในตัวอย่างน้ำโดยจะทำให้ปริมาณการใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้น ซึ่งจะต้องนำมาพิจารณาด้วย ปริมาณการใช้ออกซิเจนทั้งหมดของสารดังกล่าว สามารถหาได้โดยการคำนวณหาปริมาณออกซิเจนละลายเริ่มต้น (Initial dissolved oxygen) หรือโดยใช้ผลบวกของปริมาณออกซิเจนละลายที่ถูกใช้ไปในตัวอย่างที่ทำให้เจือจางแล้วเป็นเวลา 15 นาที (Immediate dissolved oxygen demand, IDOD) และค่าบีโอดี 5 วันแต่ต้องทราบเสียก่อนว่าค่าไอดีโอดีอาจเกิดขึ้นในขณะที่ทำการเติมกรดลงไปเพื่อให้เกิดไอโอดีนอิสระ (free I_2) ในการวิเคราะห์ออกซิเจนละลายโดยวิธีไอโอโดเมตริกก็ได้

<u>วิธีทำ</u>

ต้องหาปริมาณออกซิเจนละลายของตัวอย่าง (ส่วนมากเป็นศูนย์) และออกซิเจนละลายของน้ำผสมเจือจางก่อนแล้วจึงนำตัวอย่างนั้นมาทำให้เจือจางด้วยน้ำผสมเจือจาง ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที จึงทำการหาปริมาณออกซิเจนละลายของตัวอย่างที่ทำให้เจือจาง แล้วคำนวณหาปริมาณออกซิเจนละลายของตัวอย่างที่ทำให้เจือจางลงนี้ จากนี้สามารถหาค่าไอดีโอดี (มิลลิกรัม/ลิตร)ของตัวอย่างได้โดยเอาปริมาณออกซิเจนละลายที่คำนวณได้ลบด้วยปริมาณออกซิเจนละลายที่หาได้หลังจากตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

2.9 <u>การหาปริมาณออกซิเจนละลาย</u>

การหาปริมาณออกซิเจนละลายในวันแรกและวันหลังหลังจากอินคิวเบทแล้ว 5 วัน ใช้วิธีเดียวกับการวิเคราะห์หาออกซิเจนละลาย

2.10 <u>การคำนวณ</u>

(1) ค่า บีโอดี

บีโอดี (มิลลิกรัม/ลิตร) = $[(D_1 - D_2) - (B_1 B_2)f]/F$ -------(31)

(2) ค่า บีโอดี เมื่อคิด ไอดีโอดี

บีโอดี (มิลลิกรัม/ลิตร) = $(D_c - D_2)/F$ -------(32)

(3) ค่า ไอดีโอดี

ไอดีโอดี = $(D_c - D_1)/F$ -------(33)

เมื่อ

p = decimal volumetric fraction of dilution water used

F = decimal volumetric fraction of sample used

D_0 = DO of original dilution water

D_1 = DO of diluted sample 15 minutes after preparation

D_2 = DO of diluted sample after incubation

S = DO of original undiluted sample

D_c = DO available in dilution at zero time = $pD_0 + FS$

B_1 = DO of dilution of seed control before incubation

B_2 = DO of dilution of seed control after incubation

f = ratio of seed in sample to seed in control= (% seed in D_1)/(% seed in B_1)

Seed correction = $(B_1 - B_2)f$