บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การเปรียบเทียบการกำจัดไนโตรเจนในน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำยางข้นโดยใช้ผักตบชวาและจอก โดยทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทั้งหมด 7 พารามิเตอร์ ดังนี้คือ อุณหภูมิ (Temperture) ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี (Biochemical Oxygen Demand , BOD) ปริมาณของสารแขวนลอยทั้งหมด (Total Suspended Solids, TSS) ไนโตรเจนรวม (Total Kjeldahl Nitrogen, TKN) ความต้องการออกซิเจนทางเคมี(Chemical Oxygen Demand, COD) และค่าฟอสฟอรัสรวม (Total Phosphorus, TP) โดยใช้ระยะเวลากักเก็บน้ำเสีย 6 วันและ 12 วัน แล้วทำการตรวจวิเคราะห์แบ่งเป็นขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.1 การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างแบบจ้วงโดยเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งจากบริเวณบ่อพักน้ำบ่อที่ 6 ของโรงงานบีเทค อินดัสทรี จำกัด โดยใช้เวลาในการกักเก็บน้ำทิ้ง 6 วัน และ 12 วัน

3.2 การวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ

3.2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดโพลีเอทลีน (PE)
2. เทอร์โมมิเตอร์
3. ปิเปต (pipette)
4. เครื่อง pH meter
5. Magnetic stirrer
6. กรวยบุคเนอร์
7. ขวด BOD
8. ขวดวัดปริมาตร
9. ขวดเออร์เลนเมเยอร์ (Erlenmayer Flask)
10. บิวเรตต์
11. ตู้อินคิวเบท (Incubator)
12. Digestion Vessel
13. Heating Block
14. เครื่องกลั่น Micro Kjeldahl
15. เครื่องย่อยสลาย Micro Kjeldahl

16. สเปคโทรโฟโตมิเตอร์

17. เครื่อง Suction

18. 18.โถดูดความชื้น (Desiccator)

3.2.2 สารเคมี

3.2.2.1 ความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี (Biochemical Oxygen Demand , BOD)

1. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์
2. สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$)
3. สรละลายแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)
4. สารละลายเฟริคคลอไรด์ ($FeCl_2$)
5. สารละลายแมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4$)
6. สารละลายอัลคาไล – ไอโอไดด์ – เอไซด์ รีเอเจนต์ (Alkali – Iodide – Azide Reagen)
7. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4)
8. น้ำแป้ง
9. สารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$ 0.0250 mole/l
10. สารละลายมาตรฐาน $K_2Cr_2O_7$ 0.0250 mole/l

3.2.2.2 ความต้องการออกซิเจนทางเคมี (Chemical Oxygen Demand , COD)

1. สารละลายมาตรฐาน $K_2Cr_2O_7$ 0.0167 mole/L
2. กรดซัลฟูริก
3. Ferroin Indicator
4. สารละลายมาตรฐาน Ferrous Ammonium Sulfate Titrant (FAS) 0.050 mole/L

3.2.2.3 ไนโตรเจนรวม (Total Kjeldahl Nitrogen , TKN)

1. สารละลายสำหรับการย่อยสลาย (Digestion Reagent)
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ – โซเดียมไทโอซัลเฟต (Sodium – Hydroxide – Sodium Thiosulphate Reagent) $NaOH – Na_2S_2O_3$
3. Absorbent Solution
4. Mixed Idicator
5. สารละลายบอแรทบัฟเฟอร์ (Borate Buffer Solution)
6. สารละลายมาตรฐานซัลฟูริก 0.01 mole/L
7. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

3.2.2.4 ฟอสฟอรัสรวม(Total Phosphorus , TP)

1. กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)
2. Potassium Antimonyl Tartrate Solution)
3. Ammonium Molybate Solution
4. Ascorbic Acid 0.1 M
5. น้ำยารวม (Combined Reagent)
6. Stock Phosphate Solution
7. Standard Phosphate Solution

3.2.3.2 ปริมาณของสารแขวนลอยทั้งหมด (Total Suspended Solids,TSS)

วิธีการวิเคราะห์

1. อบกระดาษใยแก้วให้แห้งที่อุณหภูมิ 103 – 105°C นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถทำให้แห้ง แล้วชั่งน้ำหนักกระดาษกรอง
2. เลือกปริมาตรตัวอย่างน้ำ
3. วางกระดาษกรองลงในกรวยบุคเนอร์ ซึ่งต่อเข้ากับเครื่องดูดอากาศ

สำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

4. ใช้น้ำกลั่นฉีดกระดาษให้เปียกและให้ถูกดูดติดแน่นกับกรวยบุคเนอร์
5. กรองตัวอย่างน้ำตามปริมาตรที่ต้องการ โดยอาศัยแรงดูดช่วย
6. ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างของแข็งที่ติดอยู่ข้างกรวยจนหมดและล้างรอแห้ง
7. ปิดเครื่องดูดอากาศใช้ปากคีบกระดาษกรองใส่ภาชนะทนไฟ เช่น จานเพาะเชื้อถ้วยอลูมิเนียมหรือกระจกนาฬิกา
8. นำไปอบในตู้อบแห้งที่อุณหภูมิ 103-105 ^{0}C จนกว่าจะแห้งใช้เวลา 1 ชั่วโมง
9. ทิ้งให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องในโถทำแห้งและชั่งน้ำหนักกระดาษกรองใหม่
10. ทำซ้ำในข้อ 8,9 จนชั่งน้ำหนักกระดาษกรองได้คงที่หรือน้ำหนักเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าร้อยละ 4

การคำนวณ

$$\text{Total Suspended Solids, TSS (mg/L)} = \frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น } (B - A)*1000}{\text{ปริมาตรตัวอย่างน้ำ}}$$

3.2.3.3 ความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี (Biochemical Oxygen Demand :BOD)

วิธีการวิเคราะห์แบบเจือจางที่ไม่ต้องเติมเชื้อ seed

1. การเตรียมน้ำเจือจาง (Dilution water)

น้ำเจือจาง หมายถึง น้ำสะอาดที่มี O_2 ละลายอยู่มากหรืออิ่มตัว วิธีเตรียมทำได้โดยการพ่นอากาศเข้าไปในน้ำ น้ำสำหรับเจือจางจะต้องมี pH ที่เหมาะและมีสารที่จำเป็นแก่การเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยวีการเตรียมมีดังนี้

- ตวงน้ำกลั่นให้มากกว่าปริมาตรที่จะใช้ 1 L ใส่ขวด Aspirator Bottles ที่สะอาด
- เป่าอากาศที่สะอาดเพื่อเพิ่ม ในน้ำ O_2 อย่างน้อย 1 ชั่วโมง
- เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ แมกนีเซียมซัลเฟต แคลเซียมคลอไรด์และเฟริคคลอไรด์ อย่างละ 1 ml ต่อน้ำเจือจาง

2. วิธีการวิเคราะห์

2.1 การเลือกปริมาตรตัวอย่างที่จะใช้ ถ้าไม่ทราบค่า BOD โดยปริมาณของตัวอย่างน้ำ ต้องหา COD ก่อนหรืออาจจะดูค่า Rapid COD พร้อมกับพิจารณาลักษณะของตัวอย่างน้ำ แหล่งเก็บตัวอย่างน้ำร่วมด้วยเพื่อกะประมาณค่า BOD เช่น น้ำตัวอย่างที่มีค่าของแข็งละลายมาก ควรจะมีค่า BOD ร้อยละ 60-70 ของ COD หรือเมื่อทราบว่า เป็นน้ำเสียชุมชนก็ควรจะมีค่า BOD ระหว่าง 100-300 mg/L การเลือกปริมาณตัวอย่างน้ำนิยมเลือกให้มีปริมาณ O_2 เหลืออยู่อย่างน้อย 1 mg/L และควรจะใช้ O_2 อย่างน้อย 2 mg/L เมื่อทราบค่า BOD โดยปริมาณ ควรเลือกปริมาณตัวอย่าง ที่คาดว่าให้ค่า BOD อยู่ในช่วงที่กำหนดแล้ว จึงเลือกปริมาณตัวอย่าง ที่ใช้ให้สูงและต่ำกว่าที่อยู่ติดกันตามตารางที่ 3.1 เช่น ประมาณค่า

363.7394
จ134
134576
24 ก.ย. 2549

BOD ไว้ประมาณ 100 mg/L จะเลือกใช้ปริมาณตัวอย่าง 10 mL เลือกสูงขึ้นเป็น 5 mL และต่ำลงเป็น 20 mL

2.2 เมื่อเลือกปริมาณตัวอย่างได้แล้ว ปิเปตตัวอย่างตามจำนวนที่เลือกไว้ในลงในขวด BOD ขนาด 300 mL อย่างละ 2 ขวด เติมน้ำยาสำหรับใช้เจือจางจนเต็มขวด BOD ต้องระมัดระวังพยายามอย่างให้เกิดฟองอากาศ ปิดฝาให้แน่ นำขวด BOD ขวดหนึ่งของแต่ละปริมาตรที่เลือกมาหาค่า DO ที่เริ่มต้น สมมติเป็น DO_0 ส่วนอีกขวดนำไปบ่มที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 20±1 ^{0}C เป็นเวลา 5 วัน

2.3 เมื่อครบ 5 วัน นำขวด BOD ที่บ่มไว้มาหาค่า DO ที่เหลืออยู่ สมมติเป็น DO_5

ตารางที่ 3.1 การเลือกขนาดตัวอย่างและอัตราการเจือจางสำหรับช่วง BOD

ปริมาณตัวอย่างน้ำ(ml)	ช่วงBOD (mg/L)	อัตราการเจือจาง
0.02	30,000 - 105,000	15,000
0.05	12,000 - 4,2000	6,000
0.1	6,000 - 21,000	3,000
0.2	3,000 - 10,500	1,500
0.5	1,200 - 4,200	600
1	600 - 2,100	300
2	300 - 1,050	150
5	120 - 420	60
10	60 - 210	30
20	30 - 105	15
50	12 -42	6
100	6 – 21	3
300	0 – 7	1

การคำนวณ

$$BOD = (DO_0 - DO_5) \times \text{อัตราการเจือจางน้ำ}$$

เมื่อ DO_0 = ค่า O_2 ที่ไทเทรตได้ในวันแรก

DO_5 = ค่า O_2 ที่ไทเทรตได้ในวันที่5

$$\text{อัตราส่วนเจือจาง} = \frac{\text{ปริมาตรน้ำเต็มขวด BOD (300 mL)}}{\text{ปริมาตรตัวอย่างน้ำที่ใช้}}$$

BOD ไว้ประมาณ 100 mg/L จะเลือกใช้ปริมาณตัวอย่าง 10 mL เลือกสูงขึ้นเป็น 5 mL และต่ำลงเป็น 20 mL

2.2 เมื่อเลือกปริมาณตัวอย่างได้แล้ว ปิเปตตัวอย่างตามจำนวนที่เลือกไว้ในลงในขวด BOD ขนาด 300 mL อย่างละ 2 ขวด เติมน้ำยาสำหรับใช้เจือจางจนเต็มขวด BOD ต้องระมัดระวังพยายามอย่างให้เกิดฟองอากาศ ปิดฝาให้แน่ นำขวด BOD ขวดหนึ่งของแต่ละปริมาตรที่เลือกมาหาค่า DO ที่เริ่มต้น สมมติเป็น DO_0 ส่วนอีกขวดนำไปบ่มที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 20±1 ^{0}C เป็นเวลา 5 วัน

2.3 เมื่อครบ 5 วัน นำขวด BOD ที่บ่มไว้มาหาค่า DO ที่เหลืออยู่ สมมติเป็น DO_5

ตารางที่ 3.1 การเลือกขนาดตัวอย่างและอัตราการเจือจางสำหรับช่วง BOD

ปริมาณตัวอย่างน้ำ(ml)	ช่วงBOD (mg/L)	อัตราการเจือจาง
0.02	30,000 - 105,000	15,000
0.05	12,000 - 4,2000	6,000
0.1	6,000 - 21,000	3,000
0.2	3,000 - 10,500	1,500
0.5	1,200 - 4,200	600
1	600 - 2,100	300
2	300 - 1,050	150
5	120 - 420	60
10	60 - 210	30
20	30 - 105	15
50	12 -42	6
100	6 – 21	3
300	0 – 7	1

การคำนวณ

$$BOD = (DO_0 - DO_5) \times \text{อัตราการเจือจางน้ำ}$$

เมื่อ DO_0 = ค่า O_2 ที่ไทเทรตได้ในวันแรก

DO_5 = ค่า O_2 ที่ไทเทรตได้ในวันที่5

$$\text{อัตราส่วนเจือจาง} = \frac{\text{ปริมาตรน้ำเต็มขวด BOD (300 mL)}}{\text{ปริมาตรตัวอย่างน้ำที่ใช้}}$$

3.2.3.4 ความต้องการออกซิเจนทางเคมี (Chemical Oxygen Demand : COD)

วิธีการวิเคราะห์

1. ก่อนทำการทดลองต้องหลอดแก้วและฝาปิดด้วยสารละลายกรด H_2SO_4 20% เสมอทุกครั้งก่อนใช้งาน

2. เลือกขนาดของหลอดแก้วสำหรับต้ม COD ให้เหมาะสม

- ตัวอย่างน้ำมี COD ต่ำ ให้เลือกใช้หลอดแก้วขนาด 25x150 mm (ปริมาตรตัวอย่างน้ำ 10 mL)
- ตัวอย่างน้ำมี COD ค่อนข้างสูงให้ใช้หลอดแก้วขนาด 20x150 mm (ปริมาตรตัวอย่างน้ำ5 mL)
- ถ้าตัวอย่างน้ำมี COD สูงสามารถใช้หลอดแก้วขนาด 16x100 mm (ปริมาตรตัวอย่างน้ำ 2.5 mL)

3. การเลือกปริมาตรตัวอย่างน้ำ

ถ้าเป็นน้ำสะอาด น้ำธรรมชาติหรือน้ำที่มีค่า COD ต่ำ ๆ (<40 mg/L) ควรใช้ตัวอย่างน้ำ 10 mL โดยใช้หลอดแก้วขนาด 25x150 mm แต่ถ้ามีค่า COD สูงกว่านั้นให้ใช้หลอดแก้วขนาด 20x150 mm โดยเลือกใช้ปริมาณตัวอย่างน้ำมากที่สุด 5 mL หรือใช้น้อยกว่า แล้วเติมน้ำกลั่นให้เป็น 5 mL และถ้าตัวอย่างมีค่า COD สูงมากต้องเจือจางตัวอย่างน้ำก่อนนำมาใช้ ควรประมาณค่า COD ของตัวอย่างน้ำอย่างคร่าว ๆ ก่อนเพื่อที่จะได้เลือกปริมาณตัวอย่างได้เหมาะสม การประมาณค่า COD สามารถทำได้โดยพิจารณาจากลักษณะตัวอย่างน้ำ แหล่งที่มาของน้ำ และจากค่า Rapid COD การเลือกขนาดตัวอย่างน้ำที่จะใช้วิเคราะห์ให้เหมาะสม

4. ใส่ตัวอย่างน้ำในหลอดแก้วขนาดเหมาะสม เติมน้ำยาย่อยสลายหรือ $K_2Cr_2O_7$ ตามด้วยกรด H_2SO_4 อย่างช้า ๆ ในปริมาณที่แสดงในตารางที่ 3.4 (ถ้าใช้ปริมาตรตัวอย่างน้ำน้อยกว่าที่แสดงไว้ในตารางให้เติมน้ำกลั่นให้ครบตามจำนวน) ปิดฝาให้แน่นและเขย่าผสมกันให้ดี ถ้าตัวอย่างน้ำเปลี่ยนเป็นสีแก้วให้ทำใหม่โดยลดปริมาณตัวอย่างลง แต่ถ้าสีของสารละลายเหลืองเข้มมาก ควรเพิ่มปริมาณตัวอย่าง (สีที่เหมาะสมควรเป็นสีเหลืองอมเขียวอ่อน ๆ) สำหรับ Blank ใช้น้ำกลั่นแล้วทำเหมือนตัวอย่างทุกตัวอย่าง

5. วางหลอดแก้วใน Block แล้วใส่ตู้อบ ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 150±2 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

6. เมื่อครบ 2 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบปล่อยทิ้งให้เย็น

7. เทสารละลายออกจากหลอดแก้วลงใน Erlenmayer Flask ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างสารละลายในหลอดแก้วให้หมด แล้วเทรวมลงในขวดรูปกรวย เติม Ferroin Indicator 2-3 หยด แล้วทิเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน FAS สีของสารละลายจะค่อย ๆ เปลี่ยนจากสีเหลือง→ เขียวอมเหลือง → ฟ้า → สีน้ำตาลแดงซึ่งแสดงว่าถึงจุดยุติ จดปริมาณ FAS ที่ใช้ทิเทรต

การคำนวณ

$$COD\ (mg/L) = \frac{(A - B) * N * 8,000}{ml.Sample}$$

A = ml. FAS ที่ใช้ในการไทเทรตของ Blank

B = ml. FAS ที่ใช้ในการไทเทรตของ Sample

N = ความเข้มข้นของ FAS, mole / L

3.2.3.5 ไนโตรเจน (Total Kjeldahl Nitrogen : TKN)

วิธีการวิเคราะห์

1.การเลือกขนาดตัวอย่าง

เลือกปริมาตรตัวอย่างที่จะใช้ตามตารางด้านล่าง ขนาดของตัวอย่างจะต้องสอดคล้องกับปริมาณไนโตรเจนที่คาดว่าจะมี (อาจสังเกตได้จากลักษณะน้ำและแหล่งน้ำที่มาของตัวอย่าง) ถ้าใช้ขนาดตัวอย่างมากเกินไป อาจจะสียเวลาในการย่อยสลายนานหลายชั่วโมง เมื่อเลือกปริมาตรตัวอย่างน้ำได้แล้ว ตวงตัวอย่างน้ำใส่ในขวด Kjeldahl เติมลูกแก้ว 3-4 เม็ด เพื่อกันการเดือดอย่างรุนแรงภายในขวด

ตารางที่ 3.2 การเลือกขนาดตัวอย่าง

Org-N ในตัวอย่าง (mg/L.)	ขนาดตัวอย่าง (mL)
0-1	500
1-10	250
10-20	100
20-50	50
50-100	25

2. Digestion

เติม Digestion Reagent 50 mL ลงในขวด Kjeldahl นำเข้าเครื่องย่อยสลาย ต้มจนกระทั่งเกิดควันสีขาวของ SO_3 ให้ต้มต่อไปเรื่อย ๆ จนได้สารละลายใส จากนั้นย่อยสลายต่ออีก 20-30 นาที (ถ้ายังไม่ได้สารละลายใสให้เติมน้ำยาย่อยสลายอีก 50 mL แล้วย่อยต่อไปจนได้สารละลายใส) ปิดไฟและปล่อยทิ้งไว้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่น 25 mL จากนั้นนำไปกลั่น

3.Distillation

เติม สารละลาย NaOH-$Na_2S_2O_3$ ประมาณ 50 mL ทำการกลั่นโดยให้ความร้อนที่พอเหมาะเก็บส่วนที่กลั่นออกมา 125 mL ผ่านหลอดแก้วที่จุ่มในสารละลาย Absorbent Solution 25 mL นำมาหา

แอมโมเนียในโตรเจนโดยวิธีทิเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 0.01 mole/L .ให้ทำ Blank ด้วยโดยใช้น้ำกลั่นแล้วทำตามขั้นตอนเหมือนของตัวอย่างน้ำ

การคำนวณ

$$TKN\ (mg/L) = \frac{(A - B)*1{,}000*M*28}{ml.\ Sample}$$

A = ml.Std. H_2SO_4 ที่ใช้ไทเทรตกับตัวอย่างน้ำ

B = ml.Std. H_2SO_4 ที่ใช้ไทเทรตกับ Blank

M = mole / L.Std. H_2SO_4

3.2.3.6 ฟอสฟอรัสรวม (Total Phosphorus:TP)

วิธีการวิเคราะห์

1. การเตียมตัวอย่าง

ปิเปตตัวอย่างน้ำ 50.0 mL ใส่ลงในขวดรูปกรวยขนาด 125 mL เติมสารละลาย ฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ 1 หยด ถ้าเป็นสีแดงให้ยอดกรด H_2SO_4 5 N ลงไปที่ละหยดจนกระทั่งสีแดงหายไป เติมน้ำยารวม 8.0 mL เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่ไม่เกิน 30 นาที นำไปวัด %T ที่ความยาวแสง 880 nm โดยใช้ Reagent Blank เทียบ 100%T

2. การเตรียมกราฟมาตรฐาน

เตรียมอนุกรมความเข้มข้นของ Standard Phosphate ดังนี้ 5,10,15,20,20,25 และ30 µg P โดยปิเปต Standard Phosphate (1 mL=2.5 µg P) มา 0,2,4,6,8,10 และ 12 mLตามลำดับ ใส่ในขวดวัดปริมาตร 50 mL แต่ละขวด แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน เทใส่ขวดรูปกรวย ขนาด 125 mL เติมน้ำยารวม 8 mL เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่ไม่เกิน 30 นาที นำไปวัด %T ที่ความยาวแสง 880 nm โดยใช้ขวดที่มีความเข้มข้น 0 µg P เป็น Blank

Plot กราฟระหว่างความเข้มข้นเป็น µg กับ %T ที่ได้แต่ละความเข้มข้น โดยใช้กราฟ Semilog

การคำนวณ

$$ฟอสเฟต\ (mgP/l) = \frac{\mu g\ P\ ที่อ่านได้จากกราฟ}{ปริมาตรตัวอย่าง\ (ml)}$$

3.3 การเปรียบเทียบข้อมูล

1. ข้อมูลที่ได้จากการทดลองและตรวจวัดนำมาเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมตามพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535 แสดงข้อมูลออกมาโดยใช้กราฟ
2. ข้อมูลที่ได้จากการทดลองและตรวจวัดนำมาเปรียบเทียบการกำจัดไนโตรเจนและวิเคราะห์ประสิทธิภาพการกำจัดไนโตรเจนระหว่างพืชทั้งสองชนิด คือ ผักตบชวาและจอก

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY