# บทที่ 3
# วิธีดำเนินการวิจัย

## 3.1 รูปแบบการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาเชิงทดลองถึงความเป็นไปได้ในการเปลี่ยนขยะเศษอาหาร เศษผัก และเศษผลไม้ให้เป็นขยะหอม (น้ำสกัดชีวภาพ) แล้วนำน้ำสกัดชีวภาพที่ได้ไปทดลองบำบัดน้ำจากแหล่งน้ำภายในมหาวิทยาลัย โดยใช้สูตรแตกต่างกัน 2 สูตร ดังนี้

**สูตรที่ 1** หมักขยะเศษอาหาร น้ำตาลมอลลาสและ หัวเชื้อจุลินทรีย์ในอัตราส่วนขยะเศษอาหาร: น้ำตาลมอลลาส : หัวเชื้อจุลินทรีย์ เท่ากับ 3 กิโลกรัม : 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร : 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ เป็นเวลา 15 วัน

**สูตรที่ 2** นำน้ำสกัดชีวภาพจากสูตรที่ 1 มาขยายเป็นสูตรที่ 2 โดยใช้อัตราส่วนเป็นปริมาตร น้ำสกัดชีวภาพสูตรที่ 1 : น้ำตาลมอลลาส : น้ำ เท่ากับ 1 : 1: 35 ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน

ก่อนนำน้ำสกัดชีวภาพที่ได้ทั้ง 2 สูตร ไปทดลองบำบัดน้ำจากแหล่งต่างๆ ในมหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษมจริง ได้ทำการวิเคราะห์คุณภาพของน้ำในแหล่งต่างๆ ก่อนการบำบัด และหลังการบำบัด 7, 14 และ 21 วันในห้องปฏิบัติการ ดูผลการทดลองเพื่อเลือกสูตรที่เหมาะสมของน้ำสกัดชีวภาพในการบำบัดน้ำให้ได้ผลดีที่สุด

การวิเคราะห์คุณภาพของน้ำจากแหล่งต่างๆในมหาวิทยาลัยโดยวิเคราะห์คุณสมบัติต่าง ๆ ของน้ำตามลำดับดังนี้

1. หาค่า pH โดยใช้เครื่อง pH meter
2. หาค่า conductivity โดยใช้ conducto meter
3. หาค่า total solid (TS)
4. หาค่า DO โดยวิธี Azide modification
5. หาค่า BOD โดยวิธี Percent dilution
6. หาค่า COD โดยวิธี Closed reflux colorimetric
7. หาค่า total Kjeldahl nitrogen โดยวิธี Kjeldahl
8. หาค่า Total phosphorus โดยวิธี Ascorbic acid

การวิเคราะห์คุณภาพของน้ำจากแหล่งต่างๆภายในมหาวิทยาลัย ก่อนการบำบัดได้ผลดังตาราง

**ตารางที่ 3.1** ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำจากแหล่งต่างๆ ก่อนการบำบัด

| ลำดับที่ | แหล่งน้ำตัวอย่าง | pH | conductivity µs | TS mg/L | DO mg/L | BOD mg/L | COD mg/L | Kjeldahl Nitrogen mg/L | Total phosphorus mg/L |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. | ท่อน้ำเสียหลังตึก 15 | 8.04 | 1660 | 68 | 7.71 | 239 | 66.62 | 34.52 | 0.52 |
| 2. | หน้าตึก 15 | 7.44 | 415.6 | 103 | 6.92 | 65.25 | 248.66 | 6.00 | 0.38 |
| 3. | สวนธรรม | 7.96 | 636 | 53 | 5.47 | 21.5 | 174.43 | 2.05 | 0.33 |
| 4. | หน้าตึก 4 | 7.91 | 563.5 | 70 | 5.70 | 167.56 | 210 | 0.6566 | 0.53 |
| 5. | หน้าตึกอุตสาหกรรม | 8.22 | 623.5 | 30 | 1.49 | 2000 | 325.58 | 7.07 | 0.11 |
| 6. | หอส้มตำ | 7.8 | 678 | 232 | 1.47 | 724 | 121.63 | 6.72 | 1.13 |
| 7. | หน้าคณะวิทย์ | 7.55 | 623 | 60 | 1.40 | 17.5 | 65.28 | 1.87 | 0.34 |
| 8. | หน้าโรงแรม | 7.89 | 616.3 | 37 | 4.93 | 1168 | 32.64 | 2.41 | 0.14 |

### 3.2 กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

ตัวอย่างน้ำจากแหล่งต่างๆ ภายในมหาวิทยาลัย ซึ่งปรากฏผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 3.1 คณะผู้วิจัยได้พิจารณาเลือกที่จะบำบัดน้ำจากแหล่งน้ำหน้าคณะวิทยาศาสตร์ เนื่องจากแหล่งน้ำจากสระหน้าคณะวิทยาศาสตร์เป็นแหล่งน้ำที่มีขนาดพอเหมาะคือ มีความกว้าง 10.29 เมตร ยาว 22.4 เมตร ลึก 0.85 เมตร ซึ่งคิดเป็นปริมาตรของน้ำในสระทั้งสิ้น = 195.92 ลูกบาศก์เมตร และนอกจากนี้น้ำในสระน้ำหน้าคณะวิทยาศาสตร์ไม่ได้เชื่อมต่อกับแหล่งน้ำอื่นๆ ในมหาวิทยาลัยด้วย

### 3.3 อุปกรณ์และสารเคมี

#### 3.3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ตู้อบ (Oven)
2. ตู้ดูดควัน
3. เครื่องแก้วต่างๆ เช่น บีกเกอร์, ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) กระบอกตวง (graduated cylinder) ปิเปต บิวเรต ขวดซีโอดี ขวดบีโอดี ขนาด 300 ml ขวด Kjeldahl ฯลฯ

4. hot plate
5. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ( incubator )
6. กระดาษกรอง
7. เครื่อง Spectrophotometer
8. boiling beads
9. เครื่องเติมอากาศ (air pump)
10. เครื่องชั่ง
11. descicator
12. ชุดกลั่นแอมโมเนีย
13. เครื่อง conductometer
14. เครื่องวัด pH
15. suction flask

**3.3.2 สารเคมี**

1. กรด $H_2SO_4$ เข้มข้น
2. แอมโมเนียมโมลิบเดต
3. แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์
4. amino powder mixture
5. sodiumsulfite
6. 1 – amino – 2 – napthol – 4 sulfonic acid
7. Sodiumbisulfite
8. Monopotassiumphosphate ($KH_2PO_4$)
9. น้ำแป้ง
10. $MgSO_4$
11. $CaCl_2$
12. $FeCl_3$
13. $MnSO_4$
14. Alkali – iodide – azide reagent
15. Sodiumthiosulfate
16. Sodiumhydroxide
17. Sodiumsulfite
18. Potassiumiodide

19. Acetic acid
20. Silver sulfate
21. Sodium oxalate
22. Potassium permanganate

**3.4 วิธีดำเนินการวิจัย**

**1. การหาค่า pH ของน้ำตัวอย่าง**

**โดยใช้เครื่องวัด pH**

**วิธีทำ**

1. ล้างอิเล็กโทรดให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น ซับให้แห้ง (ให้ทำอย่างนี้ทุกครั้ง ที่จะทำการวัดสารละลายตัวใหม่)

2. ปรับเครื่องวัด pH ให้ได้มาตรฐาน (ตามวิธีการใช้ในคู่มือ) โดยใช้วัดสารละลายมาตรฐานที่ pH ต่ำ และวัดที่ pH สูงอีกครั้งหนึ่ง จนเครื่องมืออ่านค่าได้ถูกต้องและแม่นยำดี

3. ทำการวัด pH ของตัวอย่างน้ำ

**2. การหาปริมาณ Phosphorus ในน้ำโดยวิธี Ascorbic Acid**

**1. หลักการ**

Ortho phosphate จะทำปฏิกิริยากับ Ammonium Molybdate ที่ pH ประมาณ 0.9 ได้ Phosphomolybdate ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ Amino Napthol Sulfonic acid และเปลี่ยนเป็น Hetreopolymolybdenum blue วัดความยาวคลื่น 650 nm Orthophosphate เท่านั้นที่จะทำให้เกิดสีน้ำเงินได้

**2. ขอบเขต**

วิธีวิเคราะห์นี้ใช้ในการหาปริมาณ Phosphate ทั้งในรูปของ Polyphosphate, Organicphosphate และ Orthophosphate ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำการวิเคราะห์ได้ คือ 0.05 mg/l $PO_4^{3-}$

**3. สารเคมีที่ต้องเตรียม**

3.1 Acid solution

3.1.1 เทน้ำกลั่นใส่ในบีกเกอร์ ประมาณ 500 ml

3.1.2 ตวง conc. $H_2SO_4$ 370 ml ค่อยๆ เทใส่ในบีกเกอร์ข้อ 3.1.1

3.1.3 เจือจางและปรับปริมาตรให้ครบ 1000 ml ใน ขวดวัดประมาตร ขนาด 1000 ml

3.2 Molybdate Solution

3.2.1 ชั่ง ammonium molybdate 48 g เทใส่ในบีกเกอร์แล้วนำมาละลายในน้ำกลั่น

3.2.2 ตวง $NH_4OH$ 2.5 ml ค่อยๆใส่ลงในบีกเกอร์ข้อ 3.2.1

3.2.3 เจือจางและปรับปริมาตรให้ครบ 1000 ml ใน ขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 ml

3.3 Amino Solution

3.3.1 ชั่ง Amino powder mixture 50 g เทใส่ในบีกเกอร์แล้วนำมาละลายในน้ำกลั่น

3.3.2 เจือจางและปรับปริมาตรให้ครบ 500 ml ใน ขวดวัดปริมาตรขนาด 500 ml

3.4 amino powder mixture

3.4.1 ชั่ง sodiumsulfite 40 g ค่อยๆ เทใส่ในบีกเกอร์

3.4.2 ชั่ง 1 – amino – 2 – naphtol – 4 sulfonic acid 1 g ค่อยๆ เทใส่ในบีกเกอร์ข้อ 3.4.1

3.4.3 ชั่ง Sodium bisulfite หรือ sodium metabisulfite 66.5 g ค่อยๆ เทใส่ในบีกเกอร์ข้อ 3.4.1

3.4.4 นำสารทั้ง 3 มาบดเข้าด้วยกัน

3.5 Phosphate Stock Solution (100 mg/L $PO_4^{3-}$)

3.5.1 อบ Monopotassium Phosphate ($KH_2PO_4$) ประมาณ 5 g ที่ 105° C 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นใน desiccator

3.5.2 ละลาย $KH_2PO_4$ 0.1433 g ในน้ำ Demin

3.5.3 ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ใน ขวดวัดปริมาตร

**4. การเก็บรักษาสภาพตัวอย่าง**

4.1 กรองตัวอย่างผ่าน Filter 0.45 m

4.2 ถ้าต้องการหาปริมาณ Organic Phosphate และตัวอย่างมี Chloride หรือ Chromate ให้เติม Sodiumbisulfite 1 g ต่อตัวอย่าง 100 ml

4.3 เก็บตัวอย่างในตู้เย็น (4°C) จนกว่าจะทำการวิเคราะห์เก็บได้นาน 24 ชั่วโมง

**5. การเตรียม Carlibration Curve สำหรับการวิเคราะห์ Orthophosphate**

5.1 เตรียม Standard Phosphate Solution ความเข้มข้น 0.5 mg/L

ปิเปต Phosphorus Stock Solution (100 mg/L) 0.5 ml ปรับปริมาตรเป็น 50 ml ด้วยน้ำกลั่น

5.2 เตรียม Standard Phosphate Solution ความเข้มข้น 1.0 mg/L

ปิเปต Phosphorus Solution (100 mg/L) 1.0 ml ปรับปริมาตรเป็น 50 ml ด้วยน้ำกลั่น

5.3 เตรียม Standard Phosphate Solution ความเข้มข้น 1.5 mg/L

ปิเปต Phosphorus Solution (100 mg/L) 1.5 ml ปรับปริมาตรเป็น 50 ml ด้วยน้ำกลั่น

5.4 เตรียม Standard Phosphate Solution ความเข้มข้น 2.0 mg/L

ปิเปต Phosphorus Solution (100 mg/L) 2.0 ml ปรับปริมาตรเป็น 50 ml ด้วยน้ำกลั่น

5.5 เตรียม Standard Phosphate Solution ความเข้มข้น 2.5 mg/L

ปิเปต Phosphorus Solution (100 mg/L) 2.5 ml ปรับปริมาตรเป็น 50 ml ด้วยน้ำกลั่น

5.6 ใช้น้ำกลั่น 50 ml แทน Standard Phosphate Solution 0 mg/L

5.7 ทำการทดสอบตามข้อ 6.2-6.5

5.8 ทำกราฟมาตรฐาน

**6. วิธีการหาค่า Ortho – phosphate (Free)**

6.1 ตวงตัวอย่างน้ำ 50 ml ที่ผ่านกระดาษกรอง 0.45 mm ใส่ใน Erlenmeyer flask

6.2 ปิเปต 5 ml ของ Acid solution ผสมเข้าด้วยกัน

6.3 ปิเปต 5 ml ของ Ammonium molybdate solution ผสมให้เข้ากัน

6.4 ปิเปต 5 ml ของ Amino Solution ผสมให้เข้ากัน

6.5 ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที วัดค่า Absorbance ที่ความยาวคลื่น 650 nm โดยใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการเติมสารเคมีข้อ 6.2 – 6.4 เป็น Blank

6.6 เทียบค่า ฟอสเฟตจาก Standard Calibration Curve

**7. วิธีหาค่า Inorganic Phosphate**

7.1 ตวงตัวอย่างที่ผ่านกระดาษกรอง 0.45 mm แล้วจำนวน 50 ml ใส่ลงในบีกเกอร์

7.2 ปิเปต 5 ml ของ acid Solution ลงไปผสมให้เข้ากัน

7.3 ใส่ลูกแก้ว 5 – 10 ลูก นำไปตั้งบน hot plate ประมาณ 30 นาที รักษาปริมาตรให้คงที่โดยการเติมน้ำกลั่น

7.4 ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

7.5 วิเคราะห์ตามขั้นตอนข้อ 6.2-6.6

**8. วิธีหาค่า Total phosphate**

8.1 ตวงตัวอย่างที่ผ่านการกรองแล้ว จำนวน 50 ml ใส่ลงใน Erlenmeyer flask

8.2 ปิเปต 5 ml ของ Acid solution ผสมให้เข้ากัน

8.3 ใส่ลูกแก้ว 5 – 10 ลูก และ Ammonium persulfate ประมาณ 1 กรัม นำไปต้มบน hot plate ประมาณ 30 นาที

8.4 ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ประมาณ 15 – 30 นาที

8.5 เริ่มวิเคราะห์ตามข้อ 6.2 – 6.6

**9. ปฏิกิริยาPhosphorus Analysis**

Orthophosphate ทำปฏิกิริยากับ Ammonium Molybdate เกิดเป็น Phosphomolybdate complex

$$7H_3PO_4 + 12(NH_4)_6Mo_7O_{24} + 36H_2SO_4 \xrightarrow{\text{pH 9}} 7H_3PMo_{12}O_{40} + 36(NH_4)_2SO_4 + 36H_2O$$

Ammonium molybdate — Molybdophosphate Complex (yellow species) — Ammonium Sulfate

$$H_3PMo_{12}O_{40} + NH_2C_{10}H_6(OH)SO_3 \longrightarrow \text{Heteropolymolybdenum blue}$$

Amino Napthol Sulfonic acid

**3. การหาค่า บีโอดี**

**1. หลักการ**

ค่า BOD คือ ปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรีย ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน จากกระบวนการนี้ แบคทีเรียจะได้รับพลังงาน เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและแบ่งตัวต่อไปซึ่งจากการออกซิไดส์ จะได้ผลิตภัณฑ์สุดท้าย เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ ($CO_2$) น้ำ ($H_2O$)หรือ แอมโมเนีย ($NH_3$) ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสารอาหาร ดังสมการ

$$\text{Carbohydrate} + O_2 \xrightarrow{\text{aerobic bacteria}} CO_2 + H_2O$$

$$\text{Protein} + O_2 \xrightarrow{\text{aerobic bacteria}} CO_2 + NH_3$$

ในกรณีที่มีน้ำสกปรกมากเกินไป จะทำให้ aerobic bacteria เจริญมากขึ้น และใช้ออกซิเจนในน้ำมากขึ้นจนหมดไป เมื่อออกซิเจนในน้ำมีค่าเป็นศูนย์ aerobic bacteria ก็จะตายทำให้แบคทีเรียอีกชนิดหนึ่งซึ่งดำรงชีวิตอยู่ได้ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน เกิดขึ้นมาแทน ซึ่งเรียกว่า anaerobic bacteria ซึ่งการย่อยสลายของแบคทีเรียชนิดนี้ จะให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นมลพิษ ก่อให้เกิดการเน่าเสีย และมีกลิ่นเหม็น ตามแหล่งน้ำ ดังสมการ

$$\text{Carbohydrate} \xrightarrow{\text{anaerobic bacteria}} CH_4 + CO_2 + H_2S$$

$$H_2S + Fe^{2+} \xrightarrow{\text{anaerobic bacteria}} FeS \text{ (ตะกอนสีดำ)}$$

การวิเคราะห์ค่า BOD นั้นจะต้องเติมน้ำตัวอย่างให้เต็มขวด BOD แล้วปิดฝา ไม่ให้อากาศเข้าไปได้ แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 20±1 °C เป็นเวลา 5 วัน ซึ่งจะทำการหาปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ก่อนที่จะนำไปเก็บไว้ 5 วัน ($DO_0$) และหลังจากเก็บไว้ 5 วัน ($DO_5$) แล้วนำผลของ $DO_0$ และ $DO_5$ ที่ได้มาคำนวณ หาค่า BOD โดยในการหาปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ จะเติมสาร $MnSO_4$ และ AIA เพื่อไปจับแก๊สออกซิเจนให้รวมตัวเป็นตะกอนของแมงกานีสออกไซด์ ในสภาวะที่เป็นด่าง เมื่อเติม กรดซัลฟูริก จะทำให้ตะกอนแมงกานีสออกไซด์ละลายเป็นสารละลายสีเหลืองของไอโอดีน นำมาไทเทรต หาปริมาณไอโอดีนที่เกิดขึ้น ซึ่งจะสัมพันธ์กับปริมาณออกซิเจนที่เหลืออยู่ในน้ำ โดยมีขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยา ดังนี้

- กรณีที่มีออกซิเจนเหลืออยู่

$$MnSO_4 + NaOH + O_2 \longrightarrow MnO_2 + H_2O$$

(ตะกอนสีน้ำตาล)

- กรณีที่ไม่มีออกซิเจนเหลืออยู่

$$MnSO_4 + NaOH \longrightarrow Mn(OH)_2$$

(ตะกอนสีขาว)

- การละลายตะกอน $MnO_2$

$$MnO_2 + 2H_2SO_4 + 2I^- \longrightarrow I_2 + Mn^{2+} + 2H_2O$$

(สารละลายสีเหลือง)

- การไทเทรต

$$I_2 + Na_2S_2O_3 \longrightarrow 2I^- + 2S_2O_3^- + Na^+$$

**2. ขอบข่าย**

ใช้ในการทดสอบหาปริมาณ บีโอดี ทั้งหมดในน้ำเสีย โดยใช้วิธี Inhouse method base on Standard method

**3. สารเคมีที่ต้องเตรียม**

3.1 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. $H_2SO_4$)

3.2 น้ำแป้ง : ชั่ง Starch 2.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 ml ตั้งไฟจนเดือด แล้วยกลงปล่อยให้เย็น

3.3 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ($PO_4^{3-}$Buffer)

ละลาย $KH_2PO_4$ 8.5 กรัม $Na_2HPO_4.7H_2O$ 33.4 กรัม $K_2HPO_4$ 21.75 กรัม และ $NH_4Cl$ 1.7 กรัม ในน้ำกลั่น 500 ml แล้วเจือจางเป็น 1 ลิตร (สารละลายนี้ควรมีค่า pH ประมาณ 7.2 ถ้าเห็นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในขวดให้เตรียมใหม่ทันที)

3.4 สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$)

ละลาย $MgSO_4.7H_2O$ 22.5 กรัมในน้ำกลั่น แล้วเจือจางเป็น 1 ลิตร

3.5 สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)

ละลาย $CaCl_2$ 27.5 กรัม ในน้ำกลั่น และเจือจางเป็น 1 ลิตร

3.6 สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$)

ละลาย $FeCl_3.6H_2O$ 0.25 กรัม ลงในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 1 ลิตร

3.7 สารละลายแมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4$)

ละลาย $MnSO_4.H_2O$ 364 กรัม หรือ $MnSO_4.4H_2O$ 400 กรัมในน้ำกลั่นประมาณ 700 ml คนจนไม่ละลายนำไปกรองแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

3.8 สารละลายอัลคาไล – ไอโอไดด์ – เอไซด์ (Alkali – Iodide – Azide reagent : AIA)

ละลาย NaOH 500 กรัม และ NaI 135 กรัม ในน้ำกลั่น ทิ้งให้เย็นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เติมสารละลาย $NaN_3$ (ละลาย $NaN_3$ 10 กรัมในน้ำกลั่น 40 ml) ลงในสารละลายข้างต้น

3.9 สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$) 0.025 M

ละลาย $Na_2S_2O_3.5H_2O$ 6.205 กรัม และ NaOH 0.4 กรัม (หรือเติม 6 N NaOH 1.5 ml )ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 1 ลิตร นำไปหาความเข้มข้นที่แน่นอน กับสารละลายมาตรฐาน $KH(IO_3)_2$ 0.0021 M

3.10 สารละลายมาตรฐาน$KH(IO_3)_2$ 0.8124 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางให้เป็น 1000 ml

วิธีหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$

1. ชั่ง KI 2 กรัม ใส่ Flask เติมน้ำกลั่นประมาณ 150 ml
2. เติมกรดซัลฟุริก 6 N 1 ml
3. เติมสารละลายมาตรฐาน $KH(IO_3)_2$ 20 ml เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 200 ml
4. นำไปไทเทรตกับ สารละลาย $Na_2S_2O_3$ โดยใช้น้ำแป้งเป็นอินดิเคเตอร์

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลาย } Na_2S_2O_3 \text{ (M)} = \frac{0.25 \times 20}{A}$$

A = ปริมาตรสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ไทเทรต (ml)

3.11 สารละลายโซเดียมซัลไฟต์ ($Na_2SO_3$) 0.025 N

ละลาย $Na_2SO_3$ 1.575 กรัม ในน้ำกลั่นที่ปริมาตร 1 ลิตร (สารละลายนี้ไม่อยู่ตัว ต้องเตรียมในวันที่จะใช้เท่านั้น)

3.12 สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)

ละลาย KI 10 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร

3.13 กรดแอซีติก (Acetic acid) , 1+1

ละลายกรดแอซีติกในอัตราส่วนปริมาตร กรด : น้ำ เท่ากับ 1 : 1

**4. วิธีทดสอบ**

4.1 การเตรียมน้ำเจือจาง (Dilution Water)

4.1.1 คำนวณปริมาณน้ำกลั่น ที่จะใช้ แล้วเตรียมให้เกินปริมาณที่จะใช้จริง

4.1.2 เติมอากาศให้มีออกซิเจนเพียงพอ โดยใช้เครื่องเป่าอากาศ อย่างน้อย 1 ชั่วโมง

4.1.3 เติมสารละลายฟอตเฟตบัฟเฟอร์ แมกนีเซียมซัลเฟต แคลเซียมคลอไรด์ และเฟอร์ริกคลอไรด์ อย่างละ 1 ml ต่อ น้ำกลั่น 1 ลิตร

4.2 การตรวจสอบคุณภาพน้ำเจือจาง (Dilution rater cheek)

เติมน้ำเจือจางที่เตรียมแล้ว ลงในขวด BOD 2 ขวด ให้เต็ม นำขวดที่ 1 มาหาค่า DO ของจุดเริ่มต้น ($DO_0$) บันทึกค่าไว้ ขวดที่ 2 นำไป incubate ที่ $20 \pm 1^0$C ในที่มืดเป็นเวลา 5 วันแล้ว นำมาหาค่า DO ของวันที่ 5 ($DO_5$) ตามข้อ 4.4

$DO_0$ - $DO_5$ ไม่ควรต่างกันเกิน 0.2 mg/L

4.3 เลือกปริมาณของตัวอย่างน้ำ (ถ้าใช้ตัวอย่างน้ำไม่ถึง 1 ml ควรเจือจางตัวอย่างน้ำก่อนนำไปวิเคราะห์) ปิเปตตามปริมาณที่เลือก ใส่ขวด BOD 2 ขวด แล้วเติมน้ำเจือจางให้เต็มขวด

ปิดจุกให้สนิท ขวดที่ 1 นำไปหาค่า $DO_0$ ตามวิธีข้อ 4.4 ขวดที่ 2 นำไป incubate ที่อุณหภูมิ $20^0C$ เป็นเวลา 5 วันแล้วนำออกมาหาค่า $DO_5$ โดยวิเคราะห์เหมือน $DO_0$

4.4 การหาค่า ออกซิเจน ที่ละลายในน้ำ

เติมสารละลาย $MnSO_4$ 1 ml (เติมใต้น้ำ)

↓

เติมสารละลาย AIA 1 ml (เติมใต้น้ำ)

↓

ปิดฝา เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน

↓

เติม conc. $H_2SO_4$ 1 ml โดยให้ไหลข้างๆ คอขวด

↓

ปิดฝา แล้วเขย่าให้ตะกอนละลาย

↓

ตวงสารละลาย 201 ml ถ้าใช้ขวดขนาด 300 ml)

↓

ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$ 0.025 M

↓ ใช้น้ำแป้งเป็นอินดิเคเตอร์

จุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงิน เป็น ไม่มีสี

**5. การคำนวณ**

5.1 การคำนวณปริมาตรของตัวอย่างน้ำที่นำมาไทเทรต

โดยถือปริมาตรน้ำเริ่มต้นเป็น 200 ml ใช้ขวดขนาด 300 ml แต่เติม $MnSO_4$ และ AIA ลงไปทั้งหมด 2 ml

ดังนั้น ปริมาตรที่ต้องนำมาไทเทรต $= \frac{200 \times 300}{300 - 2} = 201$ ml

5.2 การคำนวณค่า BOD

BOD (mg $O_2$/L) = ($DO_0 - DO_5$) x อัตราส่วนเจือจาง

$DO_0$ = ค่าออกซิเจนละลายในน้ำที่ไทเทรตได้ในวันแรก

$DO_5$ = ค่าออกซิเจนละลายในน้ำที่ไทเทรตได้ในวันที่ 5

อัตราเจือจาง $= \frac{\text{ปริมาณน้ำเต็มขวด BOD (300ml)}}{\text{ปริมาณตัวอย่างน้ำที่ใช้ (ml)}}$

**หมายเหตุ**

สิ่งรบกวนการวิเคราะห์

1. ค่า pH ของตัวอย่างน้ำ ควรปรับให้มีค่าอยู่ในช่วง 6.5 – 7.5 ด้วย 1 N $H_2SO_4$ หรือ NaOH

2. คลอรีน ตกค้างจะทำให้แบคทีเรียตาย ค่า DO จึงไม่เปลี่ยน แก้ไขโดยตั้งน้ำตัวอย่างทิ้งไว้ 1 – 2 ชั่วโมง ให้คลอรีน สลายตัว ในกรณีที่มีน้อย แต่ถ้ามีมาก ให้เติมสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ โดยคำนวณปริมาณที่จะเติมจากการวิเคราะห์ ดังนี้

2.1 ตวงตัวอย่างน้ำ 100 ml เติมกรดแอซีติก (1+1) 10 ml และละลาย KI 10 ml

2.2 ไทเทรตกับ สารละลายโซเดียมซัลไฟต์ โดยใช้น้ำแป้งเป็นอินดิเคเตอร์

2.3 บันทึกปริมาตรที่ใช้ไทเทรต เมื่อเติมสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ที่คำนวณได้ลงในตัวอย่างน้ำแล้ว คนให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 10 – 20 นาที ก่อนจะนำไปวิเคราะห์ BOD

3. อุณหภูมิของน้ำตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ควรทำให้ตัวอย่างมีอุณหภูมิ $20^0C$ หรือใกล้เคียง เพื่อค่า DO จะได้ไม่สูงหรือต่ำกว่าความเป็นจริง

4. กระบวนการ Nitrification inhibition จะทำให้ค่า BOD สูงกว่าความเป็นจริง แก้ไขโดยเติม 2 – chloro – 6 (trichloro methyl) pyridine, (TCMP) 3 mg ในขวด BOD ก่อนจะใส่ตัวอย่างลงในขวด (สาร TCMP จะละลายได้ช้า)

**4. การหาค่า Total kjeldahl nitrogen โดยวิธี kjeldahl**

**1. หลักการ**

สารอินทรีย์ไนโตรเจนจะถูกย่อยสลายเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียโดยการออกซิไดซ์ของกรดกำมะถัน ทำให้ไนโตรเจนหลุดออกมาในรูปของแอมโมเนีย และถูกเก็บในสารละลายกรดบอริค จากนั้นนำไปหาแอมโมเนียโดยวิธี Nessleriation หรือ ไทเทรตด้วยสารละลายกรดแก่มาตรฐาน ทำให้ทราบถึงปริมาณ TKN ที่มีอยู่ในตัวอย่างน้ำ

**2. ขอบเขต**

TKN หมายถึง ผลรวมของแอมโมเนียและสารอินทรีย์ไนโตรเจน

การหา TKN มักทำโดยการเปลี่ยนสารอินทรีย์ไนโตรเจนให้มาอยู่ในรูปของแอมโมเนียก่อนแล้วจึงวัดปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด

**3. สารเคมีที่ต้องเตรียม**

3.1 Borate Buffer Solution : ปิเปต NaOH 0.1 N จำนวน 88 ml เติมลงในสารละลาย

วร
ว.ร.๑๖
๑๕๖๓๕
๑.๑



โซเดียมเตตระบอเรต ($Na_2B_4O_7$) 0.025 N 500 ml เจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

3.2 Digestion reagent : ชั่ง $K_2SO_4$ 134 g และ $CuSO_4$ 7.3 g น้ำกลั่น 800 ml เติม 134 ml conc. $H_2SO_4$ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เจือจางเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่นผสม ให้เข้ากัน เก็บไว้ที่ อุณหภูมิ 20$^0$C ป้องกันการตกผลึก

3.3 สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก 0.02 N : โดยเจือจาง $H_2SO_4$ 0.1 N จำนวน 20 ml ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เทียบความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.05 N จำนวน 20 ml

3.4 Sodium hydroxide + Sodium thiosulfate reagent (NaOH + $Na_2S_2O_3$) : ชั่ง NaOH 500 g ชั่ง $Na_2S_2O_3$. $5H_2O$ 25 g แล้วเจือจางให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3.5 Sodium hydroxide 6 N : ชั่ง NaOH 240 g ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 1 ลิตร

3.6 Mix Indicator Solution : ชั่ง 0.2 g Methyl red ใน 100 ml 95 % Ethyl alcohol ชั่ง 0.1 g Methylene blue ใน 50 ml 95 % Ethyl alcohol นำมาผสมกัน (เก็บไว้ในตู้เย็น)

3.7 Indicator boric acid Solution : ชั่ง 20 g $H_3BO_3$ ในน้ำกลั่น เติม 10 ml Mix indicator เจือจางเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

3.8 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.05 N : อบ 3 – 5 g $Na_2CO_3$ ที่ 250 $^0$C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่ง 2.5 g $Na_2CO_3$ เทลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

**4. วิธีการวิเคราะห์**

4.1 ตวงตัวอย่างปริมาตร 250 ml ใส่ลงในขวด Kjeldahl flask ขนาด 800 ml

4.2 ตวง Digestion reagent (สีเขียวอมฟ้า) 50 ml

4.3 นำไป digest (ย่อย) จนได้สารละลายสีใส รอให้เย็นในอุณหภูมิห้อง

4.4 เติมน้ำกลั่น 300 ml ล้างขวดเทลงในขวดเตรียมกลั่น

4.5 เติม Sodium hydroxide – Sodium thiosulfate reagent 50 ml

4.6 นำไปกลั่น ใส่บอริกอินดิเคเตอร์ 50 ml ในขวดรูปชมพู่เก็บแอมโมเนีย

4.7 นำสารที่ได้ไปไทเทรทกับ 0.02 N $H_2SO_4$

**5. วิธีคำนวณ**

$$mg/L\ N = \frac{(D - E) \times 280}{ml\ Sample}$$

เมื่อ

D คือ ml ของกรด $H_2SO_4$ ที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง

176448

E คือ ml ของกรด $H_2SO_4$ ที่ใช้ในการไทเทรต Blank

**วิธีวิเคราะห์แอมโมเนีย – ไนโตรเจน**

วิธี macro – Kjeldahl Method (Distill & titrametric)

** ทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับ TKN แต่ไม่มีการ digest ตัวอย่างก่อนทำ

** วิธีคำนวณเช่นเดียวกัน

**5. การหาค่า ซีโอดี โดยวิธี Closed reflux – colorimetric**

**1. หลักการ**

วิเคราะห์ COD โดยวิธี Closed reflux – colorimetric

**2. ขอบเขต**

COD คือ ปริมาณออกซิเจนทั้งหมดที่ต้องการเพื่อใช้ในการออกซิไดส์ สารอินทรีย์ในน้ำให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ โดยอาศัยหลักการที่ว่า สารอินทรีย์ เกือบทั้งหมดสามารถที่จะถูกออกซิไดส์โดยตัวเติมออกซิเจนอย่างแรง (Strong Oxidizing agent) ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด และอุณหภูมิสูง 100 $\pm$ 2$^0$C ภายในเวลา 2 ชั่วโมง โดยมีซิลเวอร์ซัลเฟต ($Ag_2SO_4$) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

$$\text{Organic C} + \text{Chemical Oxidizing Agent} \longrightarrow CO_2 + H_2O + \text{Reducing Agent}$$

ปัจจุบัน สารเคมีออกซิไดส์ (Chemical Oxidizing Agent) ก็คือ Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) ก็ใช้ Potassium dichromate จะได้ผลน่าเชื่อถือและแน่นอน มีราคาถูกสามารถออกซิไดส์สารอินทรีย์มากชนิดได้จนเกือบสมบูรณ์ให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ

**3. สารเคมีที่ต้องเตรียม**

3.1 Standard potassium dichromate solution ($K_2Cr_2O_7$)

3.1.1 High range (COD 100 – 900 mg/L)

เตรียมโดยสารละลาย $K_2Cr_2O_7$ 10.216 g (ซึ่งอบที่อุณหภูมิ 150$^0$C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) ในน้ำกลั่น 500 ml เติม conc. $H_2SO_4$ 167 ml และ $HgSO_4$ 33.3 g ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องและปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

3.1.2 Low rang (COD $\leq$ 90 mg/L)

เตรียมโดย ละลาย $K_2Cr_2O_7$ 1.022 g ในน้ำกลั่น 500 ml เติม conc. $H_2SO_4$ 167 ml และ$HgSO_4$ 33.3 g ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องและปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

3.2 Sulfuric acid reagent : ละลาย $Ag_2SO_4$ ซึ่งอยู่ในรูปผงหรือเกล็ด 5.5 g ลงใน conc. $H_2SO_4$ ในอัตราส่วน 5.5 g $Ag_2SO_4$ 1 Kg $H_2SO_4$ ตั้งทิ้งไว้ 1 – 2 วัน เพื่อให้สารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

3.3 Standard potassium hydrogen phthalate (KHP)

3.3.1 KHP ($HOOCC_6H_4COOK$) ที่อุณหภูมิ $110^0$C จนน้ำหนักคงที่

3.3.2 ละลาย KHP 0.425 g ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

- ตามทฤษฎี KHP มีค่า COD = 1.176 $mgO_2$/ml
- สารละลายนี้มีค่า COD = 500 $mgO_2$/ml

**4. วิธีการวิเคราะห์**

4.1 ล้างหลอดCODพร้อมฝาด้วย20 % $H_2SO_4$ ก่อนใช้ทุกครั้งเพื่อป้องกันสิ่งปนเปื้อน

4.2 ปริมาณตัวอย่างน้ำและ reagent ที่ใช้ขึ้นอยู่กับขนาดของหลอด COD

| Digestion vessel | Sample (ml) | Digestion solution | Sulfuric acid Reagent (ml) | Total Final Volume (ml) |
|---|---|---|---|---|
| Culture tubes | | | | |
| 16 x 100 mm | 2.5 | 1.50 | 3.5 | 7.5 |
| 20 x 150 mm | 5.00 | 3.00 | 7.0 | 15.0 |
| 25 x 150 mm | 10.00 | 6.00 | 14.0 | 30.0 |

4.3 ปิเปตตัวอย่างตามอัตราส่วนในตาราง

4.4 นำไปอบที่ อุณหภูมิ $150^0$C นาน 2 ชั่วโมง (ปิดฝาแล้วเขย่าให้เข้ากันเพื่อป้องกันการระเบิด)

4.5 ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วนำไปวัด ด้วยเครื่อง สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 600 และ 400 nm

4.6 ทำกราฟมาตรฐานโดยใช้ KHP

Check Standard KHP

โดยใช้สารละลายมาตรฐาน KHP 500 mg $O_2$/ml COD นำไปวิเคราะห์หาค่า COD โดยใช้สารละลายมาตรฐานที่แทนตัวอย่างน้ำ ค่า COD ที่วิเคราะห์ได้ควรมีค่าไม่น้อยกว่า 95% ของค่า COD ที่เตรียม

$$Cr_2O_7^{2-} \longrightarrow Cr^{3+}$$

COD 100 – 900 mg/l วัดที่ ความยาวคลื่น 600 nm ($Cr^{3+}$) สีเขียว

COD 0 – 90 mg/l วัดที่ความยาวคลื่น 420 nm ($Cr_2O_7^{2-}$)

**6. ปริมาณ Total Solids**

**1. หลักการ**

วิธีวิเคราะห์นี้เป็นการหาปริมาณสารแขวนลอยที่ละลายอยู่ในน้ำ โดยการกรองผ่านกระดาษกรอง ขนาด GF 30 แล้วอบแห้งที่ อุณหภูมิ 103 – 105$^0$C

**2. ขอบเขต**

วิธีวิเคราะห์นี้เหมาะกับน้ำที่มีปริมาณสารแขวนลอยสูง แต่ต้องไม่เกิน 200 mg

**3. วิธีการวิเคราะห์**

3.1 นำ Glass – fiber filter : GF30 ใส่ใน Glass – fiber filter disk และอบที่อุณหภูมิ 103 – 105 $^0$C นาน 30 นาที

3.2 ทำให้เย็นใน Desiccator นาน 15 นาที ชั่งน้ำหนัก

3.3 ตวงตัวอย่างน้ำใน Volumetric flask ตามความเหมาะสม (ประมาณ 100 – 200 ml) โดยให้มีสารแขวนลอยประมาณ 2.5 – 200 mg

3.4 กรองผ่าน GF30 ที่อบแล้ว

3.5 นำ GF30 ไปอบที่อุณหภูมิ 103 – 105 $^0$C นาน 1 ชั่วโมงแล้วทำให้เย็นใน Desiccator นาน 15 นาที ชั่งน้ำหนัก

**4. การคำนวณและรายงานผล**

4.1 การคำนวณ

$$\text{Total Solids (ppm)} = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้(ml)}}$$

A = น้ำหนักของ Dried residue + dish (mg)

B = น้ำหนักของ dish (mg)

**7. การหาค่า DO โดยวิธี Azide Modification**

**การเตรียมน้ำยาเคมี**

1. สารละลายแมงกานีสซัลเฟต : ละลาย $MnSO_4.4H_2O$ 480 กรัม หรือ $MnSO_4.2H_2O$ 400 กรัม หรือ $MnSO_4.H_2O$ 364 กรัม ในน้ำกลั่น กรอง เติมน้ำกลั่นจนได้ ปริมาตร 1 ลิตร สารละลายที่เตรียมได้ไม่ควรให้สีกับน้ำแป้งเมื่อเติมลงไปในสารละลายที่ทำให้เป็นกรดแล้วของ KI

2. Alkali – iodide azide reagent : ละลาย NaOH 500 กรัม (หรือ KOH 700 กรัม) และ NaI 135 กรัม (หรือ KI 15 กรัม) ในน้ำกลั่น เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร ละลาย $NaN_3$ 1 กรัม ในน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร แล้วเติมลงในสารละลายข้างต้น

3. กรดกำมะถันเข้มข้น (36 นอร์มัล) ซึ่ง 1 มิลลิลิตรจะสมมูลย์กับ 3 มิลลิลิตรของ alkali – iodide azide reagent

4. น้ำแป้ง : ละลาย soluble starch 5 กรัม ในน้ำต้มประมาณ 800 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน เติมน้ำให้ได้ 1 ลิตร ต้มให้เดือดประมาณ 2 – 3 นาที ตั้งค้างคืนไว้ใช้แต่น้ำใสๆ ข้างบน ควรเติม salicylic acid 1.25 กรัม ต่อน้ำแป้ง 1 ลิตร หรือ toluene 2 – 3 หยด เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

5. สารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.10 นอร์มัล : ละลาย 24.82 กรัม $Na_2S_2O_3.5H_2O$ ในน้ำต้มที่ทำให้เย็นแล้ว เติมจนได้ปริมาตร 1 ลิตร เติมคลอโรฟอร์ม 5 มิลลิลิตร หรือ NaOH 1 กรัม ต่อสารละลาย 1 ลิตร ในการเก็บรักษา

6. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.025 นอร์มัล : เตรียมโดยใช้ 250.0 มิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.1 นอร์มัล เติมน้ำกลั่น จนครบ 1 ลิตร เก็บโดยการเติมคลอโรฟอร์ม 5 มิลลิลิตร หรือ NaOH 0.4 กรัม ต่อสารละลาย 1 ลิตร หรือเติม 0.4 กรัม บอแรกซ์ และ 5 – 10 มิลลิกรัม $HgI_2$ ต่อสารละลาย 1 ลิตร

สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟตเข้มข้น 0.025 นอร์มัล นี้ 1 มิลลิลิตรจะสมมูลย์กับ 200 ไมโครกรัม DO

ให้ทำการ Standardize สารละลายนี้ด้วยไบไอโอเดต หรือ ไดโครเมตที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน

6.1 สารละลายมาตรฐานไบไอโอเดต 0.0250 นอร์มัล : stock solution ซึ่งมีกำลังสมมูลย์กับ 0.100 นอร์มัล $Na_2S_2O_3$ จะมี $KH(IO_3)_2$ อยู่ 3.249 กรัมต่อลิตร และสารละลายไบไอโอเดตซึ่งสมมูลย์กับ 0.0250 นอร์มัล $Na_2S_2O_3$ จะมี $KH(IO_3)_2$ อยู่ 812.4 มิลลิกรัมต่อลิตร หรืออาจเตรียมได้โดยการนำ stock solution มา 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

Standardization : เพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย $Na_2S_2O_3$ ที่เตรียมไว้ให้ละลาย KI ประมาณ 2 กรัม ในขวดรูปกรวยด้วยน้ำกลั่น 100 –150 มิลลิลิตร เติม 10 มิลลิลิตรของ 1 + 9 $H_2SO_4$ ลงไป ตามด้วย 20.00 มิลลิลิตรสารละลายมาตรฐาน $KH(IO_3)_2$ 0.025 นอร์มัล เติมน้ำ

กลั่นจนได้ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ไทเทรต $I_2$ ซึ่งถูกขับออกมาด้วยสารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$ ที่เตรียมไว้ ให้ เติมน้ำแป้งเมื่อใกล้จะถึง end point ซึ่งสังเกตได้จากสีของสารละลายเป็นสีฟางข้าว ถ้าสารละลาย $Na_2S_2O_3$ มีความเข้มข้น 0.025 นอร์มัลพอดี ปริมาตรที่ใช้ในการไทเทรตจะเท่ากับ 20.0 มิลลิลิตรพอดี ปกติแล้วมักปรับความเข้มข้นของสารละลาย $Na_2S_2O_3$ให้เท่ากับ0.0250 นอร์มัลพอดี เพื่อความสะดวกในการคำนวณ

6.2 สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 0.025 นอร์มัล : สารละลายซึ่งจะสมมูลย์กับ 0.025 นอร์มัล โซเดียมไธโอซัลเฟตจะมี $K_2Cr_2O_7$ อยู่ 1.266 กรัมต่อลิตร $K_2Cr_2O_7$ เมื่อจะใช้ ต้องอบให้แห้งที่ 103$^0$C ประมาณ 2 ชั่วโมง

Standardization : ทำเหมือนกับการใช้ไบไอโอเดต เพียงแต่ว่าใช้ 20.0 มิลลิลิตรสารละลายมาตรฐาน $K_2Cr_2O_7$ แทน ทิ้งไว้ในที่มืด 5 นาที เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 400 มิลลิลิตร แล้วไทเทรตด้วย 0.0250 นอร์มัล $Na_2S_2O_3$

7. น้ำยาเคมีพิเศษ – สารละลายโพแทสเซียมฟลูออไรด์ : ละลาย $KF.2H_2O$ 40 กรัม ในน้ำกลั่น ทำให้เจือจางจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

**วิธีการหา** 1. วัดปริมาตรของขวดที่จะใช้หา DO เมื่อมีจุกปิดอยู่

2. เก็บตัวอย่างน้ำโดยใช้ขวดนี้ให้เต็ม 2 ขวด

3. เติมสารละลายต่อไปนี้

3.1 2 มิลลิลิตรของสารละลายแมงกานีสซัลเฟตลงไปใต้ผิวน้ำ

3.2 2 มิลลิลิตรของสารละลาย alkali – iodide azide ลงไปใต้ผิวน้ำ

3.3 ปิดจุกและเขย่าอย่างแรง โดยการกลับขวดไปมาประมาณ 15 ครั้ง

3.4 ปล่อยให้ตะกอนนอนก้น เขย่า แล้วปล่อยให้ตะกอนนอนก้นอีกครั้ง ภายหลังจากสังเกตเห็นน้ำข้างบนมีปริมาตรได้ประมาณ 100 มิลลิลิตร ให้เติมกรดกำมะถันเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตร โดยค่อยๆ ปล่อยให้กรดไหลลงเป็นสายไปตามคอขวด

3.5 ปิดจุกแล้วเขย่าโดยการกลับขวดไปมา จนกระทั่งตะกอนละลายหมด

3.6 ตั้งทิ้งไว้เพื่อให้ไอโอดีนที่เกิดกระจายไปทั่วขวดก่อนริน

4. ริน 0.025 นอร์มัล $Na_2S_2O_3$ ลงในบิวเรตที่สะอาดและแห้ง

5. คำนวณปริมาตรของตัวอย่างที่จะใช้ในการไทเทรต โดยยึดถือปริมาตรเริ่มต้นของตัวอย่าง 200 มิลลิลิตร เป็นหลัก นั่นคือถ้าขวดขนาด 300 มิลลิลิตร และเติมน้ำยาเคมี $MnSO_4$ และ alkali – iodide azide ลงไปทั้งหมด 4 มิลลิลิตร ปริมาตรที่จะต้องนำมาไทเทรตจะเป็น

$$200 \times \frac{300}{300 - 4} = 203 \text{ มิลลิลิตร}$$

6. ไทเทรตด้วย 0.0250 นอร์มัล $Na_2S_2O_3$ ใช้น้ำแป้งเป็นอินดิเคเตอร์ 1 – 2 มิลลิลิตร สีของ end point จะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นไม่มีสี

**การคำนวณ** เนื่องจาก 1 มิลลิลิตรของ 0.025 นอร์มัล $Na_2S_2O_3$ สมมูลย์กับ 0.200 มิลลิกรัม DO ดังนั้น แต่ละมิลลิลิตรของ $Na_2S_2O_3$ ที่ใช้จะสมมูลย์กับ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร DO เมื่อใช้ปริมาตรของตัวอย่างเริ่มต้น 200 มิลลิลิตร หรือใช้ปริมาตรตัวอย่างซึ่งเติมน้ำยาเคมีแล้ว 203 มิลลิลิตร

**8. การหาค่า Conductivity โดยใช้ conductometer**

โดยวัดค่า Conductivity ในหน่วยของ $\mu s$