

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1.1 เครื่องมือ

- 1) เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer รุ่น 3110 ยี่ห้อ Perkin Elemer
- 2) เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer รุ่น Lambda 12 ยี่ห้อ Perkin Elemer
- 3) เครื่อง pH meter ยี่ห้อ Accumet
- 4) เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius
- 5) เครื่อง Turbidimeter รุ่น 2100 N ยี่ห้อ
- 6) เครื่อง Conductometer รุ่น LF 3000 ยี่ห้อ WTW
- 7) เครื่อง Water bath ยี่ห้อ Memmert
- 8) ตู้อบ (Hot Oven) ยี่ห้อ Memmert

3.1.2 อุปกรณ์เครื่องแก้ว

- 1) ขวดวัดปริมาตร
- 2) บีกเกอร์
- 3) ขวดรูปชมพู่
- 4) บีเปต
- 5) ขวดน้ำกลั่น
- 6) ขวดบีโอดี

3.2 สารเคมี

- 1) สารละลายมาตรฐานแมกนีเซียม แคลเซียม เหล็ก สังกะสี และแมงกานีส
- 2) กรดไนตริกเข้มข้น
- 3) สารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 4 และพีเอช 7
- 4) แอมโมเนียมโมลิบเดต
- 5) สแตนดาร์ดคลอไรด์
- 6) โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต
- 7) ผงถ่านกัมมันต์
- 8) กรดไฮโดรคลอริก
- 9) กรดซัลฟิวริก
- 10) กลีเซอรอล

- 11) โปแทสเซียมโครเมต
- 12) โซเดียมคลอไรด์
- 13) ซิลเวอร์ไนเตรต
- 14) โซเดียมไฮดรอกไซด์
- 15) ฟอรัมาซีน
- 16) แคลเซียมคาร์บอเนต
- 17) แมกนีเซียมซัลเฟต
- 18) แรเรียมคลอไรด์
- 19) โซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ
- 20) เอทานอล 95 %
- 21) ฟีนอล์ฟทาลีน
- 22) เมทิลออเรนจ์
- 23) อิริคโอโครมแบลคที
- 24) โปแทสเซียมไฮโครเจนฟลาทาเลต
- 25) เกลือโซเดียมอีดีทีเอ
- 26) แอมโมเนียมคลอไรด์
- 27) แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์
- 28) โปแทสเซียมไอโอไดด์
- 29) โซเดียมไทโอซัลเฟตเพนตะไฮเดรต
- 30) น้ำแข็ง
- 31) แมงกานีสซัลเฟตเทตราไฮเดรต

3.3 การเก็บน้ำตัวอย่าง

3.3.1 สถานที่เก็บน้ำตัวอย่าง กำหนดจุดเก็บตัวอย่างน้ำลำห้วยคะคางตลอดสาย จำนวน 10 จุด ดังนี้

- 1) จุดที่ 1 สะพานถนนใหญ่เลียงเมือง สายมหาสารคาม-โกสุมพิสัย
- 2) จุดที่ 2 สะพานบริเวณคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
- 3) จุดที่ 3 สะพานหน้าอาคาร 4 มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
- 4) จุดที่ 4 สระแดงข้างหอประชุมยูงทอง มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
- 5) จุดที่ 5 สะพานห้วยคะคาง ทางไปอำเภอกันทรวิชัย
- 6) จุดที่ 6 สะพานห้วยท่าหว้า ทางไปอำเภอกมลาไสย

- 7) จุดที่ 7 สะพานระหว่างบ้านคิ้วกับบ้านลาด
- 8) จุดที่ 8 บ้านเลิงบ่อ
- 9) จุดที่ 9 บ้านหนองหวาย
- 10) จุดที่ 10 บ้านท่าคูม

3.3.2 วิธีเก็บน้ำตัวอย่าง ในการเก็บน้ำตัวอย่างจะใช้เครื่องเก็บน้ำที่ระดับความลึก 1 เมตร โดยการหย่อนเชือกลงไปให้ตั้งฉากกับผิวน้ำ เมื่อเครื่องเก็บน้ำอยู่ในระดับความลึกที่ต้องการแล้วก็ จะกระตุกเชือกซึ่งจะทำให้ฝาของเครื่องเก็บน้ำด้านบน และด้านล่างเลื่อนลงมาปิดกั้นน้ำในระดับ นั้นไว้ได้ และล้างภาชนะที่จะใช้บรรจุตัวอย่างโดยใช้น้ำตัวอย่างล้างอย่างน้อย 2-3 ครั้ง แล้วจึง บรรจุน้ำตัวอย่างลงในภาชนะและปิดฝาขวดให้สนิท สำหรับขวดที่จะนำมาวิเคราะห์โลหะจะต้อง เติมกรดไนตริกเข้มข้น 3 มิลลิลิตร ต่อน้ำตัวอย่าง 1 ลิตร แลขวดน้ำลงในถังที่มีน้ำแข็งบรรจุอยู่ นำไปห้องปฏิบัติการเพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป สำหรับภาชนะที่บรรจุ วิธีเก็บรักษาน้ำตัวอย่าง ปริมาตรที่ใช้ในการวิเคราะห์สรุปไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การเก็บรักษาน้ำตัวอย่างและวิธีการวิเคราะห์แต่ละพารามิเตอร์

พารามิเตอร์	ภาชนะบรรจุ	วิธีเก็บรักษา	ปริมาตรที่ใช้ วิเคราะห์ (มิลลิลิตร)	วิธีการวิเคราะห์
พีเอช	ขวดพลาสติก	แช่เย็น	50	Electrometric method
การนำไฟฟ้า	ขวดพลาสติก	แช่เย็น	50	Electrical conductivity method
ออกซิเจน ละลายน้ำ	ขวดพลาสติก	แช่เย็น	300	Azide modification of Iodometric method
บีโอดี	ขวดแก้ว	แช่เย็น	300	Azide modification of Iodometric method
ของแข็ง ทั้งหมด	ขวดพลาสติก	แช่เย็น	100	Dried at 103-105 °C
ความกระด้าง ทั้งหมด	ขวดพลาสติก	เติมกรดไนตริก 3 มิลลิลิตร	50	EDTA Titrimetric method
แคลเซียม	ขวดพลาสติก	เติมกรดไนตริก 3 มิลลิลิตร	50	Atomic Absorption Spectrophotometry
เหล็ก สังกะสี แมงกานีส				

3.4 วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ

3.4.1 ค่าพีเอช จะใช้เครื่องวัดพีเอช ซึ่งเป็นชนิดอิเล็กโทรดแบบแก้ว (glass electrode) รุ่น Accumet โดยก่อนการวัดจะต้องทำให้เครื่องวัดพีเอชมีสภาวะพร้อมใช้งานได้โดยนำสารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 4 และพีเอช 7 มาเป็นสารละลายมาตรฐาน แล้วจึงนำขั้วอิเล็กโทรดไปจุ่มวัดค่าพีเอชของน้ำตัวอย่าง

3.4.2 ค่าการนำไฟฟ้า โดยใช้เครื่องวัดการนำไฟฟ้า WTW รุ่น LF 3000 ซึ่งค่าที่อ่านได้จะมีหน่วยเป็น ไมโครซีเมนต่อตารางเซนติเมตร

3.4.3 ความขุ่น จะใช้เครื่อง Turbidimeter โดยทำการเทียบมาตรฐานเครื่องด้วยสารละลายมาตรฐานฟอร์มาซินที่มีความขุ่น 0, 20, 200, 100 และ 400 NTU และนำตัวอย่างน้ำไปวัดค่าความขุ่นด้วยเครื่อง Turbidimeter เทียบกับสารมาตรฐาน

3.4.4 ของแข็งทั้งหมด จะหาได้โดยชั่งน้ำหนักด้วยระเหยที่อบแห้งจนน้ำหนักคงที่ แล้วตวงน้ำตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในถ้วยระเหย แล้วนำไปประเหยน้ำออกจนแห้งบนเครื่องอังน้ำ (water bath) หลังจากนั้นนำไปอบแห้งในเตาอบ (oven) ที่อุณหภูมิ 103 -105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นลงในโถทำแห้งแล้วชั่ง อบซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณหาของแข็งทั้งหมดจากสูตร

$$\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{w_2 - w_1}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}} \times 1000$$

เมื่อ w_1 = น้ำหนักของถ้วยระเหย (กรัม)

w_2 = น้ำหนักของถ้วยระเหย + น้ำหนักของของแข็ง (กรัม)

3.4.5 ความกระด้าง จะใช้วิธีการไทเทรตแบบสารเชิงซ้อน โดยการเติมตัวอย่างน้ำ 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 10 จำนวน 1 มิลลิลิตร และหยดอิริกโอโครม แบลค ที่ 2 หยด เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานอีดีทีเอ จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีน้ำเงิน และคำนวณหาความกระด้างในรูปของมิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) ได้จากสูตร

$$\text{ความกระด้าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{(A - C) \times B \times 1000}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$$

เมื่อ A = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานอีดีทีเอ ที่ใช้กับน้ำตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = มิลลิกรัมของแคลเซียมคาร์บอเนตที่สมมูลกับสารละลายมาตรฐาน EDTA

C = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานอีดีทีเอ ที่ใช้กับสิ่งไร้ตัวอย่าง (Blank)

3.4.6 ออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved Oxygen, DO) โดยใช้วิธีเฮไลด์โมดิฟิเคชันของไอโอดิเมตริก โดยนำตัวอย่างน้ำมาใส่ลงในขวดบีโอดีจนเต็ม โดยไม่ให้มีฟองอากาศ แล้วเติมสารละลายแมงกานีสซัลเฟต 2 มิลลิลิตร สารละลายอ็อกซาไลน์-ไอโอดีนเฮไลด์ 2 มิลลิลิตร ปิดจุกขวดแล้วเขย่าโดยการกลับขวดไปมา จะเกิดตะกอนสีน้ำตาล ปล่อยให้ตะกอนนอนก้น เปิดจุกออกแล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2 มิลลิลิตร โดยปล่อยให้กรดไหลลงข้างขวดอย่างช้า ๆ ปิดขวดแล้วกลับขวดไปมาจนกระทั่งตะกอนละลายหมด ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ใ้เปิดน้ำตัวอย่าง 203 มิลลิลิตร นำไปไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.025 นอร์มอล จนกระทั่งสีเหลืองจากคลอรีนจางลง น้ำแข็ง 2 - 3 หยดจะเกิดสีน้ำเงิน นำไปไทเทรตต่อจนกระทั่งสีน้ำเงินหายไป จดปริมาตรของโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้เข้าไปคำนวณ

3.4.7 ความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี (Biochemical Oxygen Demand, BOD) นำตัวอย่างน้ำใส่ภาชนะปิดแล้วเติมอากาศให้มีออกซิเจนละลายอิ่มตัว (ใช้เวลาประมาณ 5-10 นาที) รินน้ำตัวอย่างลงในขวดบีโอดีจนเต็ม 3 ขวด ปิดจุกให้สนิท นำขวดหนึ่งมาหาค่าออกซิเจนละลายก่อนเป็นค่า DO_0 ส่วนอีก 2 ขวดที่เหลือนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน หลังจากครบ 5 วัน นำตัวอย่างน้ำมาหาค่าออกซิเจนละลายที่เหลืออยู่เป็นค่า DO_5 นำมาคำนวณหาค่าบีโอดีได้จากสูตร

$$\text{บีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = DO_0 - DO_5$$

3.4.8 สภาพกรดและสภาพด่าง หาโดยวิธีการไทเทรตโดยมีอินดิเคเตอร์บอกจุดยุติ ในการหาสภาพกรดโดยการปิเปตตัวอย่างน้ำมา 100 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร หยดฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพูอ่อน บันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ นำไปคำนวณหาสภาพกรดได้จากสูตร

$$\text{สภาพกรด (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{A \times B \times 50000}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$$

เมื่อ A = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

B = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มอล)

สำหรับการหาสภาพด่างโดยการปิเปตตัวอย่างน้ำ 100 มิลลิลิตร แล้วหยดเมทิลออเรนจ์ 3 หยด แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีส้มแดง บันทึกปริมาตรสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ใช้ นำไปคำนวณ

$$\text{สภาพด่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{A \times B \times 50000}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$$

เมื่อ A = ปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟิวริก

B = ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก (นอร์มอล)

3.4.9 คลอไรด์ หาปริมาณโดยเทคนิคการไทเทรตแบบตกตะกอนโดยใช้วิธีของโมห์ โดยการป้อนตัวอย่างน้ำจำนวน 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพูนขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายโพแทสเซียมโครเมต 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรท จนกระทั่งเกิดตะกอนสีส้มแดง จุดปริมาตรของสารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรทที่ใช้และทำการเปรียบเทียบโดยใช้สิ่งไร้ตัวอย่าง (น้ำกลั่น) คำนวณหาปริมาณของคลอไรด์ได้โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{คลอไรด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{(A - B) \times C \times 35.46 \times 1000}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$$

เมื่อ A = ปริมาตรของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทที่ใช้ไทเทรตกับน้ำตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทที่ใช้ไทเทรตกับน้ำกลั่น (มิลลิลิตร)

C = ความเข้มข้นของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทที่ใช้ (นอร์มอล)

3.4.10 ซัลเฟต จะวิเคราะห์โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมซัลเฟตความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยมีปริมาตรแต่ละขวดเป็น 100 มิลลิลิตร นำแต่ละขวดมาเติม condition reagent 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและเติมเบรียมคลอไรด์ 1 ช้อนกวนให้เข้ากันดีโดยใช้เครื่องกวนแม่เหล็ก เป็นเวลานาน 1 นาที แล้วเทลงในขวดคั่นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ทุก ๆ 30 วินาที เป็นเวลานาน 4 นาที ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร อ่านค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดของแต่ละความเข้มข้นนำไปเขียนกราฟมาตรฐาน

นำตัวอย่างน้ำจำนวน 100 มิลลิลิตร มาทำเช่นเดียวกันกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมซัลเฟต นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาค่าความเข้มข้นของซัลเฟต

3.4.11 ฟอสเฟต โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต เข้มข้น 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.50 มิลลิกรัมต่อลิตร ชนิดละ 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตลงไปในขวดละ 4 มิลลิลิตร และหยดสารละลายสแตนนัสคลอไรด์ 10 หยด เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 704 นาโนเมตร เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

นำตัวอย่างน้ำมากำจัดสีโดยการเขย่าตัวอย่างน้ำจำนวน 450 มิลลิลิตรด้วยผงถ่าน 200 มิลลิกรัม ในขวดรูปชมพูนาน 5 นาที แล้วกรองหลังจากนั้น ป้อนตัวอย่างน้ำจำนวน 100 มิลลิลิตร

เติมสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต 4 มิลลิลิตร และหยดสแตนเนสกลอไรด์ 10 หยด ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 20 องศาเซลเซียส นานาประมาณ 10 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 704 นาโนเมตร และนำไปคำนวณหาปริมาณฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

3.4.12 โลหะแมกนีเซียม แคลเซียม เหล็ก สังกะสี และแมงกานีส จะใช้เทคนิคของอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรสโกปี โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานของโลหะแต่ละชนิดให้มีความเข้มข้นในช่วงที่เหมาะสมสำหรับการใช้งาน นำสารละลายมาตรฐานของโลหะแต่ละชนิดไปวัดการดูดกลืนแสงโดยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์โดยใช้สภาวะของเครื่องตามตารางที่ 2 สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายแต่ละชนิด

ทำการย่อยสารละลายตัวอย่าง โดยปีเปิดตัวอย่างน้ำจำนวน 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์เติมกรดไนตริกเข้มข้นลงไปจำนวน 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปย่อยบนแผ่นให้ความร้อน (Hot plate) ระเหยน้ำไปจนเกือบแห้งใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ยกลงปล่อยให้เย็นแล้วเติมกรดไนตริกเข้มข้นอีก 3 มิลลิลิตร ปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระดาษพิก้า นำไปตั้งบนแผ่นให้ความร้อน แล้วเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น จนกระทั่งได้สารละลายใสและเกือบแห้ง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 50 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เทียบกับกราฟมาตรฐานของแต่ละชนิด

ตารางที่ 2 สภาวะที่ใช้ในการหาปริมาณโลหะแมกนีเซียม แคลเซียม เหล็ก สังกะสี และแมงกานีส โดยเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตรี

โลหะ	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ช่วงความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)
แมกนีเซียม	285.2	0.10 - 0.50
แคลเซียม	422.7	1.00 - 5.00
เหล็ก	248.3	1.00 - 5.00
สังกะสี	213.9	0.20 - 1.00
แมงกานีส	279.5	0.10 - 0.50