ภาคผนวก ค. วิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสีย

1. ลักษณะสมบัติของน้ำเสียที่สำคัญในการตรวจวิเคราะห์

1.1 เอมแอลวีเอสเอส (Mixed Liqour Volatile Suspened Solids, MLVSS) (APHA, AWWA and WEP. 1995)

เอมแอลวีเอสเอส หมายถึง ปริมาณอินทรีย์สารที่เป็นของแข็งที่ระเหยไปได้หลังจากการนำไปเผาที่อุณหภูมิ 550±50 °C และใช้เป็นตัวแทนมวลของจุลินทรีย์ ประโยชน์ คือ ใช้เป็นตัวชี้ถึงปริมาณจุลินทรีย์ในระบบบำบัด

วิธีการวิเคราะห์

ใช้วิธีการเช่นเดียวกับการหาของแข็งแขวนลอยระเหยง่ายหรือวีเอสเอส โดยใช้น้ำสลัดจ์หรือมิกซ์ลิเคอร์ (Mixed liquor) แทนน้ำตัวอย่าง

1.2 ปริมาณของแข็งแขวนลอยระเหยง่าย (Volatile suspended solid, VSS) (APHA, AWWA and WEP. 1995)

การคำนวณ

ของแข็งแขวนลอยระเหยง่าย หรือ วีเอสเอส (mg/L)

= ปริมาณของแข็งแขวนลอย (mg/L) – ปริมาณของแข็งที่เหลือหลังจากเผาที่อุณหภูมิ 550±50 °C (mg/L)

1.2.1 ปริมาณของแข็งแขวนลอย (Suspended solid, SS)

ของแข็งแขวนลอยหรือเอสเอส หมายถึง ปริมาณของแข็งแขวนลอยที่สามารถกรองได้ด้วยกระดาษกรองใยแก้ว ("Whatman" GF/C) เอสเอสมีหน่วยเป็น มก./ลบ.ดม.

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 103-105 °C
2. โถดูดความชื้น (Desiccator)
3. เครื่องชั่งละเอียด (Analytical balance)
4. กระดาษกรองใยแก้ว Whatman GF/C เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.7 cm.
5. เครื่องกรองบุคเนอร์ (Buchner funnel)
6. เครื่องดูดอากาศ (Suction pump)
7. กระจกนาฬิกา (Watch glass)

วิธีการวิเคราะห์

1. อบกระดาษกรอง (GF/C)ให้แห้งที่อุณหภูมิ 103-105 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนักกระดาษกรอง

2. วางกระดาษกรองลงในกรวยบุคเนอร์ซึ่งต่อเข้ากับเครื่องดูดอากาศ

3. ใช้น้ำกลั่นฉีดกระดาษกรองให้เปียก เปิดเครื่องดูดอากาศให้กระดาษกรองติดกับกรวยบุคเนอร์

4. กรองตัวอย่างน้ำที่ผสมกันเข้ากันดีแล้ว 50-100 mL แล้วล้างเครื่องกรองด้วยน้ำกลั่น 10 mL เปิดเครื่องทิ้งไว้ 3 นาที

5. เมื่อแห้งแล้วนำกระดาษกรองออกมาวางในภาชนะเดิม แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 °C เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักคงที่

การคำนวณ

$$mg/L \ \ suspended\ solid = \frac{(A-B)\times 1{,}000}{ml\ Sample}$$

A = น้ำหนักของกระดาษกรองและสารแขวนลอย (mg)

B = น้ำหนักกระดาษกรอง (mg)

1.2.2 ปริมาณของแข็งที่เหลืออยู่

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. จานระเหย (Evaporating dish)
2. โถดูดความชื้น
3. เครื่องชั่งอย่างละเอียด
4. เตาไฟฟ้า (Muffle furnance) ที่อุณหภูมิ 550 ± 50 °C

วิธีการวิเคราะห์

1. เตรียมจานระเหย โดยนำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 ± 50 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมงและปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้นชั่งหาน้ำหนัก

2. ทำซ้ำข้อที่ 1 จนกระทั่งชั่งจานระเหยจนได้ค่าน้ำหนักคงที่หรือน้ำหนักเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าร้อยละ4

3. นำจานระเหยที่ชั่งแล้วไปหาปริมาณของแข็งทั้งหมดหรือของแข็งแขวนลอย

4. นำจานระเหยที่ชั่งหาปริมาณของแข็งทั้งหมดหรือที่หาปริมาณของแข็งแขวนลอยแล้วไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 ± 50 °C จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ (ประมาณ 30 นาที)

5. ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งหาน้ำหนักสารที่เหลืออยู่

6. ทำซ้ำข้อ 4 และ 5 จนชั่งน้ำหนักจานระเหยได้ค่าคงที่หรือน้ำหนักเปลี่ยนแปลงน้อยกว่า ร้อยละ 4

การคำนวณ

ของแข็งที่เหลืออยู่ (mg/L)= (mg ของแข็งที่เหลือ × 1000) / (mL ตัวอย่างที่ใช้)

1.3 ออกซิเจนละลาย (Dissolved oxygen , DO) (APHA, AWWA and WEP. 1995)

การหาวิเคราะห์ออกซิเจนละลาย เพื่อต้องการทราบปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่ในตัวอย่างน้ำ วิธีการวิเคราะห์มี 2 วิธี

3.1 โดยการวัดด้วยเครื่องวัดปริมาณออกซิเจน (Dissolved oxygen meter , DO meter)

อุปกรณ์ดังกล่าวมีจำหน่ายหลายยี่ห้อ วิธีวัดผู้วิเคราะห์จะต้องศึกษาจากคู่มือเครื่องอย่าง

ภาพประกอบ ค 1 เครื่องวัดปริมาณออกซิเจน

3.2 วิเคราะห์โดยวิธีไอโอโดเมตริก (Iodometric method)

อุปกรณ์

ขวดบีโอดี ขนาดความจุ 300 mL มีจุกปิดสนิทปากกว้างบานออกสำหรับหล่อน้ำกลั่นในขณะที่ควบคุมอุณหภูมิ

สารเคมี

1. สารละลายแมงกานีสซัลเฟต
2. สารละลายอัลคาไลด์-ไอโอไดด์-อาไซด์
3. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น
4. น้ำแป้ง
5. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.0250 นอร์มัล
6. สารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมไดโครเมท 0.0250 นอร์มัล
7. วิธีการหาค่ามาตรฐาน

7.1 ละลายโปตัสเซียมไอโอไดด์ (KI) 2 g ด้วยน้ำกลั่นประมาณ 150 mL ในขวดรูปชมพู่ 500 mL

7.2 เติมกรดซัลฟูริค (1+9) 10 mL ปิเปตสารละลายมาตรฐานโปตัสเซียม- ไดโครเมท 20 mL ใส่ในสารละลายที่เตรียมไว้ วางไว้ในที่มืด 5 นาที

8. เติมน้ำกลั่นจนปริมาตร 200 mL นำมาไตเตรตกับสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.025 นอร์มัล จนได้สีเหลืองอ่อน เติมน้ำแป้ง 1-2 mL ไตเตรตต่อจนถึงจุดยุติเปลี่ยนจากสารละลายสีน้ำเงินเป็นไม่มีสี

9. คำนวณความเข้มข้นจากสูตร : $M = (mL\ K_2Cr_2O_7 \times 0.0042 \times 3) / mL\ of\ Na_2S_2O_3$

วิธีการทดลอง

1. จากตัวอย่างในขวดบีโอดีปริมาตร 300 mL เปิดจุกขวด ปิเปตสารละลายแมงกานีสซัลเฟต 2 mL ใส่ลงไปโดยให้ปลายปิเปตจุ่มในน้ำเล็กน้อยและปิเปตสารละลายอัลคาไลด์-ไอโอไดด์-อาไซด์ ตามลงไปทันที 2 mL โดยให้ปลายปิเปตจุ่มใต้ตัวอย่างเล็กน้อย

2. ปิดจุกระวังอย่าให้มีฟองอากาศติดอยู่ข้างขวด หากมีฟองอากาศให้ใช้จุกขวดเคาะเบาๆ ข้างขวดฟองอากาศจะหลุดออกมา

3. จับขวดโดยใช้นิ้วชี้กดอยู่บนฝาจุก แล้วเขย่าเบาๆพลิกมือขึ้นลงสลับกันอย่างน้อย 15 ครั้งเพื่อให้สารเคมีทำปฏิกิริยากับออกซิเจนอย่างทั่วถึง

4. ปล่อยทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ถ้ามีออกซิเจนจะได้ตะกอนสีน้ำตาล รอจนตกตะกอน น้ำใสด้านบน 100 มิลลิลิตร

5. ค่อยๆปิดจุกแล้วเติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น 2 mL จนกระทั่งตะกอนละลายได้สารละลายสีเหลือง สามารถคำนวณหาปริมาณออกซิเจนละลายได้โดยนำสารละลายมาไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.0250 นอร์มัล โดย I_2 1 mol เกิดจาก MnO_2 2 mol และ MnO_2 1

mol เกิดจาก O_2 0.5 mol หรือคำนวณได้จากการเตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้น 0.0250 นอร์มัล เมื่อนำมาไตเตรตกับ 1 mL ของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.0250 นอร์มัล จะทำปฏิกิริยาพอดีกับออกซิเจน 0.200 mg

6. การไตเตรตจากสารละลาย I_2 ที่เกิดขึ้นหลังจากการเติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น ตวงสารละลายมา 203 mL ปริมาตรนี้แทนตัวอย่างน้ำจริงๆ 200 mL เนื่องจากตัวอย่างน้ำถูกแทนด้วยน้ำยาทั้งหมด 4 mL ไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.0250 นอร์มัล จนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน เติมน้ำแป้ง 1-2 mL ไตเตรตจนกระทั่งสีน้ำเงินหายไป

7. การคำนวณหาปริมาณออกซิเจนละลาย สมมุติทำการไตเตรตได้ 7 mL เนื่องจาก

1 mL ของ $Na_2S_2O_3$ ทำปฏิกิริยาพอดีกับ O_2 = 0.200 mg

1 mL ของ $Na_2S_2O_3$ สมมูลย์กับ O_2 = 0.200 mg

7 mL ของ $Na_2S_2O_3$ สมมูลย์กับ O_2 = 0.200 x 7 mg

สารละลาย 200 mL มี O_2 = 0.200 x 7 mg

สารละลาย 1,000 mL มี O_2 = 0.200 x 7 x 1,000 / 200 mg

ดังนั้นปริมาณออกซิเจน = 7 mg/L

1.4 บีโอดี (Biochemical oxygen demand , BOD) (APHA, AWWA and WEP. 1995)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Incubation bottles : ขวดมีฝาแก้วปิดขนาด 250-300 mL
2. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 20 °C
3. อุปกรณ์เครื่องแก้วต่างๆ เช่น กระบอกตวง, บิวเรต, ขวดรูปกรวย เป็นต้น
4. เครื่องจ่ายลม แบบเดียวกับที่ใช้กับตู้เลี้ยงปลาสวยงามและหัวลูกฟู่ (หัวจ่ายลม)

สารเคมี

1. น้ำกลั่น

ต้องเป็นน้ำกลั่นซึ่งมีปริมาณทองแดงน้อยกว่า 0.001 mg/Lและต้องปราศจากคลอรีน คลอรามีน ความเป็นด่าง

2. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

ละลายโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 8.5 g ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจน-ฟอสเฟต (K_2HPO_4) 21.75 g ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปตะไฮเดรต ($Na_2HPO_4.7H_2O$) 33.4 g และแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) 1.7 g ในน้ำกลั่น 500 mL แล้วเจือจางเป็น 1 L สารละลายนี้จะมี

พีเอชเท่ากับ 7.2 ข้อควรระวัง ให้เททิ้งทันทีถ้าพบเห็นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในขวดเก็บสารละลาย

3. สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต

ละลายแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปต้าไฮเดรต ($MgSO_4.7H_2O$) 22.5 กรัมในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 1 L

4. สารละลายแคลเซียมคลอไรด์

ละลายสารแอนไฮดรัสแคลเซียมคลอไรด์ (anhydrous $CaCl_2$) 27.5 g ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 1 L

5. สารละลายเฟริคคลอไรด์

ละลายเฟริคคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($FeCl_2.6H_2O$) 0.25 g ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางให้เป็น 1 L

6. สารละลายแมงกานีสซัลเฟต

ละลายแมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต ($MnSO_4.H_2O$) 364 g หรือแมงกานีสซัลเฟตเตตรา-ไฮเดรต($MnSO_4.4H_2O$) 480 g หรือแมงกานีสซัลเฟตไดไฮเดรต ($MnSO_4.2H_2O$) 400 g ในน้ำกลั่นกรองแล้วเจือจางเป็น 1 L

7. สารละลายอัลคาไล-ไอโดได์-เอไซด์ (Alkali-Iodide-Azide reagnt)

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 500 g และโซเดียมไอโดไดด์ (NaI) 135 g ในน้ำกลั่นเจือจางเป็น 1 L และละลายโซเดียมเอไซด์ (NaN_3) 10 g ในน้ำกลั่น 40 mL แล้วเติมลงในสารละลายข้างต้น

8. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น

9. น้ำแป้ง

ละลายแป้ง 5 g ในน้ำต้ม 800 mL เติมน้ำให้ได้ 1 L ต้มให้เดือด 2-3 นาที ตั้งค้างคืนใช้แต่น้ำใส เติมกรดแซลลิไซลิค (Salicylic acid) 1.25 g ต่อน้ำแป้ง 1 L

10. สารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.1 นอร์มัล

ละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($Na_2S_2O_3.5H_2O$) จำนวน 24.82 g ในน้ำต้มที่เย็นแล้ว เติมจนได้ปริมาตร 1 L เก็บรักษาโดยการเติมคลอโรฟอร์ม 5 mL หรือโซเดียมไฮดรอก-ไซด์ 1 g ต่อสารละลาย 1 L

11. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.0250 นอร์มัล

เตรียมโดยเจือจางสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.1 นอร์มัล จำนวน 250 mL ด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 L เก็บรักษาโดยการเติมคลอโรฟอร์ม 5 mL หรือใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.4 g ต่อสารละลาย 1 L สารละลายนี้ต้องนำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยสารละลายมาตรฐานไดโครเมต

12. สารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไดโครเมต 0.0250 นอร์มัล

ละลายโปแตสเซียมไดโครเมตที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 103 °C นาน 2 ชั่วโมง จำนวน 1.226 g ต่อน้ำกลั่น 1 L

13. สารละลายโซเดียมซัลไฟต์ 0.025 นอร์มัล

สารละลายโซเดียมซัลไฟต์ปราศจากน้ำ ($NaSO_3$) 1.575 g ในน้ำกลั่น 1 L (สารละลายนี้ไม่อยู่ตัว ต้องเตรียมในวันที่จะใช้เท่านั้น)

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่างน้ำก่อนการวิเคราะห์ (Pretreatment)

1.1 ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำที่ไม่เป็นกลาง จะต้องทำให้มีพีเอช 6.5-7.5 ด้วยกรดซัลฟิวริก 0.025 นอร์มัล หรือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มัล และต้องระวังไม่ให้ปริมาตรของตัวอย่างน้ำเปลี่ยนแปลงมากกว่า 0.5%

1.2 ในกรณีตัวอย่างน้ำมีคลอรีนตกค้างจะต้องกำจัดออกก่อน ซึ่งปกติคลอรีนตกค้างจะลดลงเองเมื่อตั้งทิ้งไว้ 1-2 ชั่วโมง แต่ในตัวอย่างซึ่งมีคลอรีนตกค้างปริมาณมากๆ จะต้องกำจัดโดยการเติมสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ ซึ่งจะทราบปริมาณว่าต้องเติมไปเท่าใด โดยนำตัวอย่างน้ำที่ปรับพีเอชให้เป็นกลางแล้วนำมาในปริมาณที่เหมาะสม (ระหว่าง 100-1000 mL) เติมกรดแอซีติก (กรดเข้มข้น+น้ำกลั่น = 1+1 ส่วน) หรือกรดซัลฟิวริก (กรดเข้มข้น+น้ำกลั่น = 1+50 ส่วน) 10 cm^3 เติมสารละลาย โปแตสเซียมไอโอไดด์ 10 mL (เตรียมโดยละลายโปแตสเซียมไอโอไดด์ 10 g ในน้ำกลั่น 100 mL) แล้วไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ 0.0125 mol/dm^3 โดยใช้น้ำแป้งเป็นอินดิเคเตอร์ นำปริมาณของสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ที่ใช้ไทเทรตไปคำนวณหาปริมาณโซเดียมซัลไฟต์ที่ต้องเติมลงไปในตัวอย่างน้ำที่ปรับพีเอชแล้ว หลังจากเติมสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ตามปริมาณที่คำนวณได้ลงในตัวอย่างแล้ว กวนให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 10-20 นาที

1.3 การปรับอุณหภูมิของตัวอย่าง ทำให้อุณหภูมิของตัวอย่างน้ำคงที่ประมาณ 20+1 °C ก่อนทำการเจือจางใดๆเนื่องจากตัวอย่างน้ำมีค่าบีโอดีสูง จะต้องวิเคราะห์โดยวิธีเจือจาง แบบปีเปตโดยตรงในขวดบีโอดีขนาดปริมาตร 300 mL

1.4 ตัวอย่างน้ำที่มีโลหะหนักหรือสารที่เป็นพิษชนิดอื่นเจือปนอยู่จะต้องศึกษาและกำจัดเสียก่อนเป็นเฉพาะกรณี

1.5 ตัวอย่างที่มีออกซิเจนละลายอิ่มตัวเกินไป เช่น ค่าออกซิเจนละลายมากกว่า 9 mg/L ที่อุณหภูมิ 20 °C ซึ่งอาจพบได้ในน้ำที่เย็นจัดหรือในน้ำที่มีการสังเคราะห์แสงเกิดขึ้นให้ลดออกซิเจนละลายอยู่ในขั้นอิ่มตัวโดยการเอาตัวอย่างใส่ขวดแล้วเขย่าแรงๆหรือโดยการเป่าอากาศลงไปทั้งนี้เพื่อป้องกันการสูญเสียออกซิเจนละลายในการวิเคราะห์

1.6 เมื่อมีการเก็บรักษาตัวอย่างโดยการแช่เย็นต้องทำให้ตัวอย่างอยู่ที่อุณหภูมิห้องเสียก่อนทำการวิเคราะห์

1.7 กรณีที่ตัวอย่างน้ำเกิดไนตริฟิเคชั่น ทำการยับยั้งได้โดยเติม 2-คลอโร6-ไตรคลอโรเมทธิล (CTCMP) 3 mg ต่อตัวอย่างขนาด 300 mL หรือเติมในน้ำเจือจางจนมีความเข้มข้น 10 mg/L ก่อนก็ได้

ตาราง ค 1 การเลือกขนาดตัวอย่างและอัตราเจือจางสำหรับช่วงบีโอดีต่างๆ

ปริมาณตัวอย่าง (mL)	ช่วงบีโอดี (mg/L)	อัตราเจือจาง
0.02	30,000-105,000	15,000
0.05	12,000-42,000	6,000
0.10	6,000-21,000	3,000
0.20	3,000-10,500	1,500
0.50	1,200-4,200	600
1.0	600-2,100	300
2.0	300-1,050	150
5.0	120-420	60
10.0	60-210	30
20.0	30-105	15
50.0	12-42	6
100	6-21	3
300	0-7	1

หมายเหตุ ถ้าปริมาณตัวอย่างที่ใช้น้อยกว่า 1.0 mL ควรเจือจางตัวอย่างก่อนปิเปตใส่ขวดบีโอดี

ที่มา : มั่นสิน ตัณฑุลเวศน์ , 2540 : 110

การเตรียมน้ำสำหรับการเจือจาง

โดยใช้น้ำกลั่นเป่าอากาศ โดยใช้เครื่องปั๊มอากาศของตู้เลี้ยงปลาประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อให้มีปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำอิ่มตัวเนื่องจากในขณะทดลองปริมาณสารอาหารที่จำเป็นสำหรับแบคทีเรีย ได้แก่ เหล็ก แมกนีเซียม แคลเซียม ซึ่งอาจจะมีปริมาณน้อยไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีพแบคทีเรีย จึงต้องมีการเติมสารเหล่านี้ให้แก่น้ำจะเจือจางด้วยสารที่เติมต่อน้ำเจือจาง 1 L มีดังนี้ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1 mL เพื่อปรับพีเอชของน้ำ แมกนีเซียมซัลเฟต 1 mL แคลเซียมคลอไรด์ 1 mL เฟอริคคลอไรด์ 1 mL สำหรับตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์บีโอดีจะต้องตรวจสอบความเป็นกรด-ด่างก่อน โดยจะต้องปรับให้เป็นกลางโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 mol/L หรือกรดซัลฟูริค 1 mol/L

ถ้าตัวอย่างน้ำมีคลอรีนตกค้าง ต้องกำจัดโดยใช้โซเดียมซัลไฟต์ก่อน แต่โดยปกติคลอรีนจะระเหยหมดเมื่อทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง

วิธีการเจือจาง

1. ใช้ขวดบีโอดีขนาด 300 mL จำนวน 2 ใบ
2. เลือกปริมาตรตัวอย่างน้ำตามช่วงบีโอดีโดยประมาณ ปิเปตใส่ขวดตามปริมาตรที่ต้องการ
3. นำขวดที่เตรียมตัวอย่างไว้เติมน้ำเจือจางที่เตรียมไว้ ขณะที่เทน้ำเจือจางอย่าให้เกิดฟองโดยการตะแคงขวดแล้วค่อยๆรินน้ำเจือจาง
4. ปิดฝาขวดจะมีน้ำล้นขึ้นมาเล็กน้อย เขย่าแบบพลิกมือเพื่อให้ตัวอย่างผสมเป็นเนื้อเดียวกัน นำขวดที่ 1 ไปวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนละลาย DO_1 ส่วนขวดที่ 2 นำไปแช่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 20 °C เป็นเวลา 5 วัน เมื่อครบกำหนดนำออกมาวิเคราะห์หาปริมาณออกซิเจนละลาย DO_5

การคำนวณ $BOD\ (mg/L) = (DO_1 - DO_5) / mL\ of\ sample$

เมื่อ DO_1 = ปริมาณออกซิเจนละลายวันที่เริ่มการทดลอง

DO_5 = ปริมาณออกซิเจนละลายวันที่ 5 ของการทดลอง

สาเหตุที่อาจทำให้การวิเคราะห์บีโอดีผิดพลาด

1. การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ถ้าอุณหภูมิไม่คงที่ (20°C) เพิ่มขึ้นหรือลดลงตลอดเวลา 5 วัน จะทำให้ค่าบีโอดีเพิ่มขึ้นหรือลดลง จากค่าบีโอดีที่เป็นจริงได้
2. ส่วนประกอบของน้ำเจือจาง ต้องมีคุณสมบัติที่เหมาะสม เช่น ค่าพีเอชอยู่ในช่วง 13.5-8.5 มีสารอาหารที่จำเป็น ไม่มีสารพิษต่อแบคทีเรีย เป็นต้น
3. การเลือกเจือจางปริมาณตัวอย่าง ถ้าเลือกไม่เหมาะอาจทำให้ค่าผิดพลาดได้ ควรเลือกให้แบคทีเรียมีการใช้ออกซิเจนละลาย ภายในเวลา 5 วัน ประมาณ 50 %
4. สารยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เช่น พวกโลหะหนักและสารพิษ จะไประงับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียหรือฆ่าแบคทีเรีย ทำให้ค่าที่ได้ผิดพลาดต่ำกว่าความเป็นจริง ดังจะเห็นได้จากรูปที่ 13.3 ค่าบีโอดีลดลงเมื่อความเข้มข้นของโครเมียมและทองแดงเพิ่มมากขึ้น
5. การเกิดไนตริฟิเคชัน น้ำที่ได้รับการบำบัดแล้วหลายชนิดที่มีไนตริฟิเคชันเกิดขึ้น จะทำให้ค่าบีโอดีสูงกว่าความเป็นจริง เพราะออกซิเจนถูกใช้ไปในการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ไนโตรเจน
6. ผลของจุลินทรีย์พวกที่ไม่ใช้ออกซิเจน น้ำที่มาจากแหล่งที่มีออกซิเจนต่ำหรือไม่มีเลย จะมีแบคทีเรียชนิดที่ใช้ออกซิเจนน้อยหรือไม่ต้องการออกซิเจน เมื่อนำน้ำแหล่งนี้มาหาบีโอดี แบคทีเรียที่มีอยู่ในน้ำจะต้องปรับตัว 2-3 วัน เพื่อปรับสภาวะจากที่ใช้ออกซิเจนน้อยหรือไม่ต้องการออกซิเจนให้เป็นพวกใช้ออกซิเจน ดังนั้นค่าบีโอดีจึงต่ำกว่าปกติ

7. สาเหตุอื่นๆ เช่น มีสารรบกวน ในการหาค่าออกซิเจนละลาย

1.5 ซีโอดี (Chemical Oxygen Demand ; COD) โดยวิธีรีฟลักซ์แบบเปิด (Open reflux method)

(APHA, AWWA and WEP. 1995)

การวิเคราะห์หาค่าซีโอดีเป็นการวัดความสกปรกของน้ำเสีย โดยคิดเปรียบเทียบในรูปของปริมาณออกซิเจนที่ต้องการใช้ในการออกซิไดส์สารอินทรีย์ โดยใช้สารเคมีซึ่งมีอำนาจในการออกซิไดส์สูงในสารละลายที่เป็นกรด ในการวิเคราะห์หาค่าซีโอดีจากตัวอย่างจำเพาะบางชนิด สามารถหาค่าความสัมพันธ์กับค่าบีโอดี สารอินทรีย์คาร์บอน หรือสารอินทรีย์ต่างๆ เพื่อใช้ในการติดตามและควบคุมกระบวนการบำบัดน้ำเสียได้ วิธีรีฟลักซ์โดยใช้ไดโครเมท (Dichromate reflux method) เป็นที่นิยมใช้กันมากกว่าการใช้สารออกซิแคนซ์ชนิดอื่นๆ เนื่องจากความสามารถในการออกซิไดส์ใช้ได้กับตัวอย่างชนิดต่างๆ และวิธีวิเคราะห์ง่าย ออกซิไดส์สารอินทรีย์ต่างๆได้ประมาณ 95 – 100% แต่สำหรับไพริดีนและอนุพันธ์จะทนต่อการถูกออกซิไดส์ และพวกสารอินทรีย์ที่ระเหยได้จะถูกออกซิไดส์เมื่อสัมผัสกับสารออกซิไดส์เท่านั้น แอมโมเนียที่อยู่ในน้ำเสียหรือถูกปล่อยออกจากสารอินทรีย์จะไม่ถูกออกซิไดส์ ถ้าไม่มีประจุคลอไรด์อิสระจำนวนมากเพียงพอ

ซีโอดีมีประโยชน์สรุปได้ดังนี้

1. ถ้าใช้พิจารณาร่วมกับค่าบีโอดี ทำให้บอกได้ว่าน้ำเสียมีแนวโน้มในการย่อยสลาย โดยทางชีววิทยาได้ยากหรือง่ายเพียงใด
2. ใช้ในการประมาณค่าบีโอดีอย่างคร่าวๆ ถ้ารู้แหล่งกำเนิดหรือที่มาของตัวอย่างน้ำ
3. เป็นข้อมูลพื้นฐานที่ใช้ในการคำนวณออกแบบระบบบำบัดน้ำเสีย
4. เป็นข้อมูลที่มีประโยชน์สำหรับการควบคุมระบบบำบัดน้ำเสีย
5. ใช้บอกความสกปรกของน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ หรือจากบ้านเรือนได้
6. ผลการวิเคราะห์ค่าซีโอดีเมื่อพิจารณาร่วมกับค่าบีโอดีสามารถบอกได้ว่า น้ำนั้นมีสารเป็นพิษหรือไม่

สิ่งรบกวนการวิเคราะห์

1. สารอินทรีย์คาร์บอนบางตัว เช่น พวกกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ ไม่ถูกออกซิไดส์โดยไดโครเมต ทำให้ผลที่ได้น้อยกว่าจริง แก้ไขได้โดยการเติม Ag_2SO_4 ให้ Ag^+ เป็นตัวคะตะลิส (Catalyst)

2. สารรีดิวซิงเอเจ้นต์ที่ไม่ใช่สารอินทรีย์ที่มีในตัวอย่างน้ำ เช่น คลอไรด์ ไนไตรท์ เฟรัส (Fe^{+2}) และ ซัลไฟด์ (S^-) เป็นต้น จะไปรีดิวส์โปตัสเซียมไดโครเมตทำให้ได้ค่าซีโอดีสูงกว่าเป็นจริง

- การแก้ไขคลอไรด์และเฮไลด์ (Halides) อื่น โดยการเติม $HgSO_4$ ลงในตัวอย่างน้ำก่อนเติมน้ำยาเคมีอื่นเพื่อให้ Hg^{2+} ไปรวมกับ Cl^- เกิดเป็น $HgCl_2$ ซึ่งเป็นสารที่แตกตัวเป็นอิออนได้น้อยมาก ดังนั้นจึงมีอิออนคลอไรด์อยู่ในตัวอย่างน้ำน้อยมากจนไม่สามารถรีดิวส์ไดโครเมตได้

สำหรับปริมาณ $HgSO_4$ ที่จะใช้สำหรับตัวอย่างน้ำที่มีความเข้มข้นของคลอไรด์น้อยกว่า 2,000 มก./ล. ให้ใช้ $HgSO_4$ 1 g กับตัวอย่างน้ำ 50.0 mL เพื่อเกิดสารเชิงซ้อนกับคลอไรด์ 100 mg ถ้าใช้ปริมาณตัวอย่างน้อยกว่านี้ให้ลดปริมาณ $HgSO_4$ ลงตามความเข้มข้นของคลอไรด์ที่มีในปริมาณตัวอย่างที่ใช้ โดยรักษาอัตราส่วนของ $HgSO_4$: Cl ให้เท่ากับ 10 : 1 เช่น ถ้าใช้ตัวอย่าง 10 mL จะต้องใช้ $HgSO_4$ 0.2 g

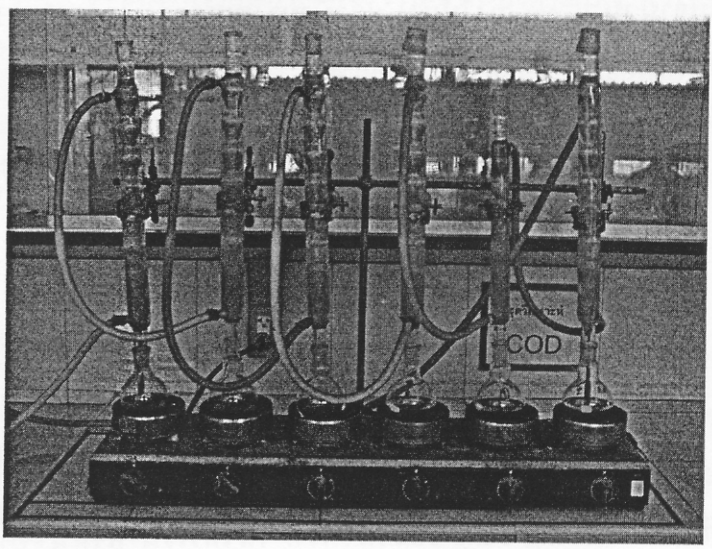
- ไนไตรท์ทุกๆ 1 mg. N สามารถให้ค่าซีโอดีได้ 1.1 mg แต่เนื่องจากในน้ำมักมีปริมาณ ไนไทรต์น้อยมากจนอาจไม่ต้องคำนึง ถ้ามีปริมาณไนไตรท์มากสามารถแก้ไขได้โดยการเติมกรด ซัลฟามิค 10 mg ต่อทุกๆ mg ของไนไทรต์ที่มีในตัวอย่างน้ำ

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดเออร์เลนเมเยอร์ ขนาดความจุ 250-500 cm^3 หรือขวดกลมก้นแบน (flat-bottom flask) ชนิดที่มีปากแบบกราวจอยท์ด้านในขนาด 24/40

2. เครื่องควบแน่น (condenser) ซึ่งมีแจ็คเก็ต (jacket) ขนาด 300 มิลลิเมตร มีกราวจอยท์ด้านนอกขนาด 24/40

3. เตาชนิด hot plate หรือ heating mantle ซึ่งสามารถให้กำลังไฟฟ้าอย่างน้อย 1.4 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตรที่ผิวหน้าเตา



ภาพประกอบ ค 2 อุปกรณ์วิเคราะห์ซีโอดี

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.0417 mol/dm^3

ละลายโพแทสเซียมไดโครเมต (มาตรฐานปฐมภูมิ) ซึ่งอบให้แห้งที่ 103 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หนัก 12.259 g ลงในน้ำกลั่น ทำให้เจือจางเป็น 1,000 cm^3

2. กรดซัลฟิวริกรีเอเจนต์

ละลายซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) 22 g ลงในกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 ขวด ซึ่งมีน้ำหนัก 4.0 kg (ต้องใช้เวลาในการละลาย 1-2 วัน)

3. สารละลายเฟอโรอินดิเคเตอร์ (ferroin indicator solution)

ละลายไอร์ออน (II) ซัลเฟตเฮปต้าไฮเดรต ($FeSO_4.7H_2O$) 0.695 g และ 1,10 ฟีแนนโทรลีน-โมโนไฮเดรต [1,10 phenanthroline monohydrate ($C_{12}H_8N_2.H_2O$)] 1.485 g ในน้ำกลั่น แล้วทำให้เจือจางเป็น 100 cm^3

4. สารละลายมาตรฐานไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟตไทแทรนท์ (standard ferrous ammonium sulfate titrant) เข้มข้น 0.25 mol/dm^3

ละลายไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต [$Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O$] ชนิดเออาร์ (analytical grade crystals) 98 g ในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 cm^3 ทำให้เย็น แล้วเจือจางเป็น 1,000 cm^3

สารละลายนี้ต้องนำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอนในแต่ละวัน ด้วยสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต

การหาความเข้มข้นของสารละลายไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต

นำสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 10.0 cm^3 มาเติมน้ำกลั่น 90 cm^3 เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นจำนวน 30 cm^3 ทิ้งให้เย็น แล้วนำมาไทเทรตกับไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต โดยใช้เฟอโรอิน (ferroin) 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์

การคำนวน

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟตเป็น mol/dm^3

$$= \frac{cm^3\ K_2Cr_2O_7 \times 0.0417}{cm^3\ Fe(NH_4)_2(SO_4)_2}$$

5. เมอร์คิวรี (II) ซัลเฟตชนิดเออาร์ (mercury (II) sulfate, analytical grade crystals, $HgSO_4$)

6. กรดซัลฟามิกชนิดเออาร์ (sulfamic acid, analytical grade)

สารในข้อ 6 นี้ใช้ในการกำจัดไนไตรท์ (nitrite) เนื่องจากไนไตรท์-ไนโตรเจน (nitrite-nitrogen) จะมีค่าซีโอดี 1.1 mg/ 1 mg ของไนไตรท์-ไนโตรเจน ดังนั้นจึงควรเติมกรดซัลฟามิกจำนวน 0.12 g ลงในสารละลายไดโครเมต จำนวน 1,000 cm^3 จะสามารถกำจัดไนไตรท์ที่มีอยู่ในตัวอย่างจำนวน 20 mg/dm^3 ในกรณีที่มีความเข้มข้นของไนไตรท์-ไนโตรเจนมากกว่า 6 mg/dm^3 จะต้องทำให้ตัวอย่างนั้นเจือจางก่อน

การที่เราเติมกรดซัลฟามิกลงในสารละลายมาตรฐานไดโครเมตนี้เป็นการสะดวกและจะไม่ทำให้ค่าซีโอดีผิดไป เนื่องจากต้องทำแบลงค์จากน้ำกลั่นอยู่แล้ว

7. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไฮโดรเจนพลาเลท

ละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพลาเลท ($HOOCC_6H_4COOK$) ซึ่งอบที่ 120 °C จนมีน้ำหนักคงที่จำนวน 425 mg ในน้ำกลั่น เจือจางจนได้ปริมาตร 1,000 cm^3

วิธีการวิเคราะห์

1. ใส่เมอร์คิวรี (II) ซัลเฟต ($HgSO_4$) ประมาณ 0.4 g ลงในขวดรีฟลักซ์ เติมตัวอย่างน้ำหรือตัวอย่างน้ำที่ทำให้เจือจางแล้วลงไป 20 cm^3 เขย่าให้เข้ากัน เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม-ไดโครเมตจำนวน 10 cm^3แล้วค่อยๆเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นซึ่งมีซิลเวอร์ซัลเฟตเจือปนอยู่เป็นจำนวน 30 cm^3 ลงไป ใส่ลูกแก้วลงไป 5-6 เม็ด เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการเดือดอย่างรุนแรง

2. นำขวดรีฟลักซ์ต่อเข้ากับเครื่องควบแน่น ใช้บีกเกอร์เล็กๆปิดปลายด้านเปิดของเครื่องควบแน่น เพื่อป้องกันสารต่างๆจากภายนอกหลุดเข้าไป แล้วรีฟลักซ์หรือต้มให้เดือดเป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น ฉีดล้างเครื่องควบแน่นด้วยน้ำกลั่นก่อนที่จะถอดเครื่องควบแน่นออกจากขวดรีฟลักซ์

3. ทำส่วนผสมให้เจือจางลงด้วยน้ำกลั่น จนมีปริมาตรประมาณ 150 cm^3ทำให้เย็นลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วไทเทรตหาปริมาณของไดโครเมตที่มากเกินพอด้วยสารละลายมาตรฐานไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต โดยใช้เฟอโรอินเป็นอินดิเคเตอร์ ซึ่งโดยทั่วๆไปใช้ประมาณ 2-3 หยด ถึงแม้ว่าปริมาณอินดิเคเตอร์ที่ใช้นี้ไม่มีความสำคัญมากนัก แต่ควรใช้เท่าๆกันทุกๆตัวอย่าง การเปลี่ยนสีของส่วนผสมเมื่อถึงจุดยุติ จะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเขียวไปเป็นสีน้ำตาลแดง ควรจะใช้เมื่อตอนที่สีเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงทันที ถึงแม้ว่าเมื่อตั้งทิ้งไว้สักครู่หนึ่งสีนั้นอาจเปลี่ยนกลับไปเป็นสีน้ำเงินเขียวใหม่ก็ตาม

4. การทำแบลงค์ควรทำไปพร้อมกับตัวอย่าง ใช้น้ำกลั่น 20 cm^3 แทนตัวอย่าง เติมรีเอเจนต์ต่างๆที่ใช้ และทำการรีฟลักซ์เช่นเดียวกับตัวอย่างทุกประการ

การคำนวณ

$$\text{ซีโอดี } (mg/dm^3) = \frac{(A-B)M \times 8,000}{cm^3 \text{ ของตัวอย่าง}}$$

A = cm^3 ของไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟตซึ่งใช้ไทเทรตสำหรับแบลงค์

B = cm^3 ของไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟตซึ่งใช้ไทเทรตสำหรับตัวอย่างน้ำ

M = mg/dm^3 ของไอร์ออน (II) แอมโมเนียมซัลเฟต

1.6 การวิเคราะห์หาปริมาณเจลดาห์ลไนโตรเจน, TKN (Total Kjeldahl Nitrogen) (APHA, AWWA and WEP. 1995)

TKN (Total Kjeldahl Nitrogen) หมายถึง ผลรวมของแอมโมเนียและสารอินทรีย์ไนโตรเจน การหาทีเคเอ็นมักทำโดยเปลี่ยนสารอินทรีย์ไนโตรเจนให้มาอยู่ในรูปแอมโมเนียก่อน แล้วจึงวัดปริมาณแอมโมเนียทั้งหมด

หลักการ

สารอินทรีย์ไนโตรเจนจะถูกย่อยสลายเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียโดยการออกซิไดซ์ของกรดกำมะถัน ทำให้ไนโตรเจนหลุดออกมาในรูปแอมโมเนียดังกล่าว ส่วนคาร์บอนและไฮโดรเจนจะถูกออกซิไดซ์เป็น SO_3 และ H_2O แล้วนำไปกลั่นเพื่อเก็บแอมโมเนียอิออนในกรดบอริค จากนั้นนำกรดบอริคไปหาปริมาณแอมโมเนียโดยวิธี Nesslerization หรือการไตเตรตด้วยสารละลายกรดแก่มาตรฐาน ทำให้ทราบปริมาณทีเคเอ็นที่มีอยู่ในตัวอย่างน้ำ

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดเจลดาห์ล(Kjeldahl flasks) ขนาด 800 mL
2. ชุดเครื่องมือสำหรับการย่อยสลาย
3. ชุดเครื่องมือสำหรับการกลั่นแอมโมเนีย
4. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL

สารเคมี

1. น้ำกลั่น
2. สารละลายกรดบอริค (Boric acid solution)

   ละลายกรดบอริค (Boric acid, H_3BO_3) 20 g ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 1 L
3. น้ำยาสำหรับย่อย (Digestion reagent)

   ละลายโปตัสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 134 g ในน้ำกลั่น 650 mL เติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น 200 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน และเติมสารละลายเมอร์คิวรีออกไซด์(แดง) [Mercury (II)oxide(red).H_2O] 2 กรัม ละลายในกรดซัลฟูริค 3 mol/L ปริมาตร 50 mL นำไปเติมในสารละลาย โปตัสเซียมซัลเฟตที่เตรียมไว้ตอนต้น คนให้เข้ากัน วางไว้ให้เย็นแล้วเจือจางเป็น 1 L
4. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์

   ละลายฟีนอล์ฟทาลีนไดโซเดียม 5 g ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 1 L หรือละลายฟีนอล์ฟทาลีน 5 g ในเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนปริมาตร 1 L
5. สารละลายมิกซ์อินดิเคเตอร์

   ละลายเมทิลเรดอินดิเคเตอร์ 200 mg ในเอทิลแอลกอฮอล์ (ร้อยละ 95) 100 mL และละลายเมทิลลีนบลู 100 mg ในเอทิลแอลกอฮอล์ (ร้อยละ 95) 50 mL ผสมสารละลายทั้งสองให้เข้ากัน สารละลายนี้ควรเตรียมทุกเดือน เมื่อหยดลงในสารละลายกรดบอริคจะได้สารละลายสีม่วง
6. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริค 0.01 mol/L

   เจือจางกรดซัลฟิวริค 0.5 mol/L ปริมาตร 20 mL แล้วเจือจางเป็น 1 L นำสารละลายกรดซัลฟิวริคที่เตรียมได้ไปหาค่ามาตรฐานกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 mol/L
7. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์-โซเดียมไธโอซัลเฟต

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 500 g และ โซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3.5H_2O$) 25 g ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 1 L

วิธีวิเคราะห์

1. ใช้ปริมาตรตัวอย่างน้ำ 50 mL ใส่ขวดเจลดาห์ล

2. เติมสารละลายสำหรับย่อยสลาย (Digest solution) 50 mL นำส่วนผสมนี้ไปย่อยสลายในตู้ควัน ต้มจนกระทั่งควันสีขาวของ SO_3 ให้ต้มต่อไปเรื่อยๆจนได้สารละลายใส (ถ้ายังไม่ได้สารละลายใสให้เติมสารละลายสำหรับย่อยสลายอีก 50 มิลลิลิตร แล้วย่อยต่อไปจนได้สารละลายใส) ปิดไฟและปล่อยทิ้งให้เย็น

3. เติมน้ำกลั่น 300 mL และสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 0.5 mL ในขวดเจลดาห์ล เขย่าให้เข้ากันและทำให้เป็นด่างโดยค่อยๆเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์-โซเดียมไธโอซัลเฟต 50 mL (ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์-โซเดียมไธโอซัลเฟต 50 mL ต่อสารละลายสำหรับย่อยสลาย 50 mL) เขย่าให้เข้ากัน ถ้าสีชมพูของฟีนอล์ฟทาลีนยังไม่เกิด ให้เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์-โซเดียมไธโอซัลเฟตลงไปอีก

4. รีบต่อข้อต่อของชุดกลั่นทันที ป้องกันไม่ให้ไอของสารระเหยออกไป ซึ่งไอสารนั้นอาจมีแอมโมเนียออกมาด้วย

5. กลั่นตัวอย่างโดยให้ควบแน่นผ่านคอนเดนเซอร์แบบตรงลงในสารละลายบอริค จนกระทั่งได้สารละลายทั้งหมด 200 mL

6. นำสารละลายที่กลั่นได้ไตเตรตกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก 0.01 mol/L

การคำนวณ

$$mg/l\ of\ TKN = \frac{(A-B)M*1000*28}{ml\ of\ sample}$$

A = mL ของกรดซัลฟิวริกที่ไตเตรตตัวอย่าง

B = mL ของกรดซัลฟิวริกที่ไตเตรตแบลงค์

M = mol/L ของกรดซัลฟิวริกที่ใช้

1.7 ไนเทรต-ไนโตรเจน (Nitrate-nitrogen) โดยวิธีบรูซีน (APHA, AWWA and WEP. 1995)

หลักการ

บรูซีน (Brucine) จะรวมกับไนเทรตเกิดเป็นสารสีเหลืองภายใต้สภาวะที่เป็นกรดและอุณหภูมิสูงซึ่งสามารถวัดความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้น ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. สเปคโทรโฟโตมิเตอร์
2. เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

3. ที่วางหลอดการทดลอง (Rack)

4. หลอดทดลองขนาดบรรจุน้ำได้ 50 mL (Reaction tube)

5. อ่างน้ำเย็น โดยใช้น้ำแข็ง

สารเคมี

1. สารละลายสต็อกไนเทรต (Stock Nitrate Solution)

ละลายแอนไฮดรัสโปแตสเซียมไนเทรต (KNO_3) 721.8 g ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางให้เป็น 1 L สารละลายนี้ 1.00 mL มีไนเทรต-ไนโตรเจน 100 µg หรือ 100 mg/L NO_3-N สารละลายมาตรฐานไนเทรต (Standard Nitrate Solution)

นำสารละลายสต็อกไนเทรต 20.0 mL เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 mL สารละลายนี้ 1.00 mL มีไนเทรต-ไนโตรเจน 2 µg หรือ 2 mg/L NO_3-N

2. สารละลายโซเดียมอาร์เซไนต์

ละลายโซเดียมอาร์เซไนต์ ($NaAsO_2$) 5.0 g ในน้ำกลั่นแล้วเติมน้ำเป็น 1 L

3. สารละลายบรูซีน-กรดซัลฟานิลิค (Brucine-Sulfanilic Acid Solution)

ละลายบรูซีนซัลเฟต (Brucine Sulfate) 1 g และกรดซัลฟานิลิค (Sulfanilic acid) 0.1 g ในน้ำร้อน 70 mL เติมกรดเกลือเข้มข้น 3 mL ทำให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 mL สารละลายนี้จะคงตัวอยู่ได้นาน ถ้ามีสีชมพูเกิดขึ้นจะไม่มีผลต่อการวิเคราะห์

4. สารละลายโซเดียมคลอไรด์

ละลายโซเดียมคลอไรด์ 300 g ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 1 L

5. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น

วิธีการวิเคราะห์

1. การสร้างกราฟมาตรฐาน

1.1 จัดหลอดทดลองลงในที่วางหลอดให้ห่างกันพอควร

1.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานไนเทรตความเข้มข้น 2 mg/L จำนวน 1, 2, 3, 4 และ 5 mL ใส่ในหลอดทดลองแต่ละหลอดที่จัดเตรียมไว้ แล้วเติมน้ำกลั่นให้แต่ละหลอดมีปริมาตรครบ 10 mL ซึ่งแต่ละหลอดจะมีความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 µg ตามลำดับ แบลงค์ใช้น้ำกลั่น 10 mL โดยไม่เติมสารละลายมาตรฐานไนเทรต

1.3 เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2 mL คนให้สารผสมเข้าด้วยกันโดยใช้ vortex mixer ห้ามใช้แท่งแก้วคน

1.4 เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 10 mL นำหลอดทดลองที่ร้อนไปแช่ในน้ำแข็งให้เย็น

1.5 เมื่อเย็นแล้วนำมาเติมสารละลายบรูซีน-กรดซัลฟานิลิค 0.5 mL คนให้เข้ากัน

1.6 นำหลอดทดลองไปใส่ในเครื่องอังน้ำซึ่งมีอุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 20 นาที

1.7 เมื่อครบเวลานำหลอดทดลองทั้งหมดมาแช่ในอ่างน้ำเย็น ทิ้งไว้จนมีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้อง นำไปวัด %T ที่ความยาวคลื่น 410 nm พล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นเป็นไมโครกรัมกับ %T

2. วิธีวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ

2.1 จัดหลอดทดลองลงวางในที่ตั้งหลอดทดลอง ปิเปตตัวอย่างน้ำ 10 mL หรือปริมาณน้อยกว่าแล้วเติมน้ำกลั่นให้เป็น 10 mL ใส่ลงในหลอดทดลอง

2.2 แล้วทำตามขั้นตอนเหมือนทำกราฟมาตรฐาน

2.3 วัด %T นำมาอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน

การคำนวณ

$$\text{ไนเทรต-ไนโตรเจน (mg/L)} = \frac{\text{ไมโครกรัมที่อ่านได้จากกราฟ}}{\text{ปริมาตรตัวอย่างน้ำ(mL)}}$$

1.8 พีเอช (pH) โดยวิธีไฟฟ้า (Electrometric method)

หลักการ

การวัดพีเอช คือ การวัดสภาพความเป็นกรดหรือเป็นด่างของสารละลาย ที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย(Aqueous Solution) โดยวัดความต่างศักย์ที่เกิดขึ้น (Potential) ระหว่างอิเล็คโทรดอ้างอิง (Reference Electrode) กับอิเล็คโทรดตรวจวัด (Sensing Electrode) ความต่างศักย์ที่ได้เกิดขึ้นจากจำนวนของไฮโดรเจนอิออน (H^+) อิเล็คโทรดจะเปลี่ยนความต่างศักย์ที่เกิดจากอิออน (Ionic Potential) ให้เป็นความต่างศักย์ไฟฟ้า (Electronic Potential) แล้วขยายให้มีความต่างศักย์สูงขึ้นด้วยเครื่องวัดพีเอช (Potentiometer)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดพีเอช (pH Meter)

เป็นเครื่องมือทางไฟฟ้าที่ใช้วัดพีเอชของสารละลาย โดยหลักการวัดความต่างศักย์ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน คือ อิเล็คโทรดและตัวเครื่อง

1.1 อิเล็คโทรด ทำหน้าที่เป็นภาคตรวจรับ ในปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นอิเล็คโทรดรวม ซึ่งออกแบบไว้ให้สะดวกในการใช้งาน โดยรวมอิเล็คโทรดอ้างอิงและอิเล็คโทรดตรวจวัดมาอยู่ด้วยกัน อิเล็คโทรดตรวจวัดทำด้วยแก้วพิเศษที่ยอมให้ไฮโดรเจนอิออนผ่าน ส่วนใหญ่ออกแบบเป็นรูปกระเปาะ ภายในบรรจุบัฟเฟอร์เอาไว้ อิเล็คโทรดอ้างอิงทำหน้าที่ให้ศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นที่ขั้วตรวจวัดเกิดครบวงจรโดย KCl ชนิดอิ่มตัวที่อยู่ในอิเล็คโทรดอ้างอิงซึมผ่านออกมาเป็น Salt Bridge เชื่อมกับอิเล็คโทรดตรวจวัด

1.2 ตัวเครื่อง (Potentiometer) ทำหน้าที่สำคัญ 3 ประการ คือ

- ปรับความต่างศักย์ให้กับอิเล็คโทรดอ้างอิงให้มีค่าความต่างศักย์เป็นศูนย์และคงที่

- แปลสัญญาณจากความต่างศักย์ของอิออนของอิเล็คโทรดให้เป็นความต่างศักย์ทางไฟฟ้า
- ขยายสัญญาณของความต่างศักย์ทางไฟฟ้าให้เพิ่มมากขึ้นอย่างเพียงพอให้เข็ม หรือตัวเลขแสดงออกทางมิเตอร์

2. บีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร

3. Magnetic stirrer

สารละลายมาตรฐานพีเอช (บัฟเฟอร์)

การเตรียมสารละลายมาตรฐานพีเอช (บัฟเฟอร์) สามารถทำได้โดยดูจากตาราง ค 2 สารละลายบัฟเฟอร์เป็นสารอินทรีย์จึงอาจเสื่อมคุณภาพเพราะการเจริญเติบโตของเชื้อราหรือจากการปนเปื้อนของสารอื่น ดังนั้นจึงควรเตรียมใช้ใหม่ๆเสมอ สำหรับน้ำกลั่นที่นำมาใช้เตรียมควรมีค่าสภาพนำไฟฟ้าที่ 25 °C น้อยกว่า 2 μmho/cm และมีพีเอชอยู่ในช่วง 5.6-6.0 สารละลายบัฟเฟอร์ควรเก็บในขวด polyethylene

ตาราง ค 2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน (พีเอชบัฟเฟอร์) ความเข้มข้นต่างๆที่อุณหภูมิ 25 °C

สารละลายมาตรฐานปฐมภูมิ (Primary Standards)	ค่าพีเอชที่ 25 °C	น้ำหนักสารเคมี (g) ที่ต้องใช้ต่อน้ำกลั่น ปริมาตร 1,000 mL
1. โปแทสเซียมไฮโดรเจนตาร์เตรต (อิ่มตัว)	3.557	$KHC_4H_4O_6$ 6.4 g (A)
2. โปแทสเซียมไดไฮโดรเจนซิเตรต 0.05 N	3.776	$KH_2C_6H_5O_7$ 11.14 g
3. โปแทสเซียมไฮโดรเจนพาเลต 0.05 N	4.008	$KHC_8H_4O_4$ 10.12 g
4. โปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.025 N + ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.025 N	6.865	KH_2PO_4 3.388 g (B) + Na_2HPO_4 3.533 g (B,C)
5. โปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.008695 N + ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.025 N	7.413	KH_2PO_4 1.179 g (B) + Na_2HPO_4 4.301 g (B,C)
6. โซเดียมบอเรตเดคคาไฮเดรต (บอแรกซ์) 0.01 N	9.180	$Na_2B_4O_7.10H_2O$ 3.80 g
7. โซเดียมไบคาร์บอเนต 0.025 N + โซเดียมคาร์บอเนต 0.025 N	10.012	$NaHCO_3$ 2.092 g + $NaCO_3$ 2.640 g
8. โปแทสเซียมเตตระออกซาเลตไดไฮเดรต 0.05 N	1.679	$KH_2C_4O_8.2H_2O$ 12.61 g
9. แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (อิ่มตัวที่ 25 องศาเซลเซียส)	12.454	$Ca(OH)_2$ 1.5 g (A)

(A) อำนาจการละลายโดยประมาณ

(B) สารเคมีแห้ง หลังจากอบความร้อนที่ 110-130 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

(C) เตรียมด้วยน้ำกลั่นที่ต้มจนเดือดและปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น (เพื่อไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์)

ที่มา : มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์ , 2540

วิธีวัดพีเอช

1. หลังจากเปิดเครื่องวัดพีเอช ควรปล่อยให้เครื่องร้อนอย่างน้อย 15 นาที ก่อนใช้งาน

2. ปรับเทียบมาตรฐาน (Standardization) เครื่องให้พร้อมก่อนที่จะวัดพีเอชตัวอย่าง โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานที่ทราบค่าพีเอชแน่นอน วิธีปรับเทียบโดยทั่วๆไปมี 2 วิธี คือ

2.1 การเทียบมาตรฐานพีเอชแบบจุดเดียว (Single Point Standardization) คือ การใช้สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานตัวเดียวเป็นตัวเทียบโดยการจุ่มอิเล็คโทรดลงในสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน ดูค่าพีเอชที่ได้ ถ้าค่าพีเอชที่ได้ไม่เท่ากับค่าพีเอชจริงของสารละลายบัฟเฟอร์ ให้ใช้ปุ่ม Calibrate ปรับค่าให้ได้เท่ากัน จากนั้นเครื่องก็พร้อมวัดตัวอย่างต่อไป วิธีนี้มีข้อเสีย คือ ถ้าตัวอย่างน้ำมีค่าพีเอชไม่ใกล้เคียงกับสารละลายมาตรฐานบัฟเฟอร์ ค่าที่ได้จะมีโอกาสผิดพลาดมาก

2.2 การเทียบมาตรฐานพีเอชแบบ 2 จุด (Two Point Standardization) คือ การใช้สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน 2 ตัว เป็นตัวเทียบมาตรฐาน โดยการจุ่มอิเล็คโทรดลงในสารละลายบัฟเฟอร์ มาตรฐานตัวแรก (มีพีเอช 7) ใช้ปุ่ม Calibrate ปรับค่าให้ได้ค่าเท่ากับค่าของสารละลายบัฟเฟอร์ ล้างอิเล็คโทรดด้วยน้ำกลั่น ซับด้วยกระดาษนุ่มๆ เบาๆ แล้วจุ่มลงในสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานตัวที่สอง (มีค่าพีเอช 4 หรือ 10) ถ้าอ่านได้ไม่ตรงให้ใช้ Slope Control ปรับให้ตรง สำหรับเครื่องวัดพีเอชรุ่นใหม่ที่ควบคุมด้วย Microprocessor ก็มีหลักการเช่นเดียวกันนี้ แต่จะสะดวกสบายกว่า ให้ทำตามคู่มือการใช้จากบริษัทผลิต วิธีเทียบมาตรฐานวิธีนี้จะวัดค่าพีเอชได้ถูกต้องกว่าวิธีแรก โดยเฉพาะเมื่อวัดพีเอชของตัวอย่างน้ำที่มีค่าอยู่ระหว่าง 2 จุดที่ Standardize ไว้ ควร Calibrate อย่างน้อยสัปดาห์ละครั้ง

3. ตัวอย่างน้ำที่จะนำมาวัดพีเอช ต้องปล่อยให้มีอุณหภูมิคงที่เสียก่อน เช่นในกรณีที่ตัวอย่างน้ำแช่เย็นไว้ ต้องนำออกจากตู้เย็น ตั้งทิ้งไว้จนหายเย็น จึงจะนำไปวัดพีเอช เพราะค่าพีเอชจะเปลี่ยนตามอุณหภูมิ

4. ก่อนวัดเขย่าตัวอย่างน้ำให้เข้ากันดี เทใส่บีกเกอร์ วางบีกเกอร์บน Stirrer จุ่มอิเล็คโทรด แล้วเปิดเครื่อง Stirrer ให้หมุนเบาๆ จนตัวเลขแสดงค่าพีเอชหยุดนิ่ง อ่านค่าพีเอชของตัวอย่างน้ำ

5. เมื่อจะวัดตัวอย่างต่อไปให้ฉีดล้างอิเล็คโทรดด้วยน้ำกลั่นแล้วซับด้วยกระดาษหรือผ้านุ่มๆ แล้วจึงวัดตัวอย่างถัดไป แต่ถ้าจะเลิกวัดหลังจากที่ล้างอิเล็คโทรดด้วยน้ำกลั่นจนสะอาดและซับให้แห้งแล้วให้แช่อิเล็คโทรดไว้ในสารละลายที่มีอิออนมากพอควรและมีฤทธิ์เป็นกรดเช่น สารละลายบัฟเฟอร์ 4 หรือที่ดีที่สุดในน้ำยาสำหรับเก็บรักษาอิเล็คโทรด

2. การเก็บรักษาตัวอย่างน้ำ (Preservation)

โดยทั่วไปผลการวิเคราะห์จะน่าเชื่อถือ และเป็นตัวแทนคุณภาพน้ำที่ใกล้เคียงกับความเป็นจริงที่สุด เมื่อต้องทำการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำทันทีภายหลังการเก็บตัวอย่าง ทั้งนี้เพราะเมื่อทิ้งตัวอย่างไว้นานจะเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทั้งทางด้านเคมีและชีววิทยาได้ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจะช้าหรือเร็วขึ้นอยู่กับลักษณะของตัวอย่างน้ำแต่ละประเภท ข้อมูลที่ต้องการวิเคราะห์และสภาพการเก็บตัวอย่างน้ำ เช่น การเปลี่ยนแปลงลักษณะน้ำเนื่องจากการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ถ้าทำการเก็บรักษาตัวอย่างน้ำไว้ในที่มืดและที่อุณหภูมิต่ำ (4 °C) จะสามารถลดการเปลี่ยนแปลงซึ่งอาจจะเกิดขึ้นในช่วงเวลาก่อนทำการตรวจวิเคราะห์ได้อย่างมาก

หลักการโดยทั่วไปที่ต้องทำการเก็บรักษาตัวอย่างน้ำ ก็เพื่อป้องกันและลดอัตราการเปลี่ยนแปลงลักษณะสมบัติของตัวอย่างในช่วงเวลาหลังการเก็บและก่อนการตรวจวิเคราะห์ เป็นต้นว่า

1. ชะลอปฏิกิริยาทางชีววิทยา
2. ชะลอการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบ (Compounds) และ สารประกอบเชิงซ้อน (Complex Compounds) ในกระบวนการไฮโดรไลซิส
3. ลดการระเหยขององค์ประกอบของสารในน้ำ

วิธีการเก็บรักษาตัวอย่างน้ำโดยทั่วไปทำได้โดย ควบคุมพีเอช การเติมสารเคมี การแช่เย็น และการแช่แข็ง ดังแสดงในตาราง ค 3 และ ตาราง ค 4

ตาราง ค 3 การเก็บรักษาตัวอย่างน้ำ

พารามิเตอร์	การเก็บรักษา	ช่วงระยะเวลาขอมให้เก็บ
สภาพกรด - สภาพด่าง	แช่เย็น 4 °C	24 ชั่วโมง
บีโอดี	แช่เย็น 4 °C	6 ชั่วโมง
แคลเซียม	ไม่จำเป็น	7 วัน
ซีโอดี	เติม H_2SO_4 ถึงพีเอช < 2 แช่เย็น 4 °C	7 วัน
คลอไรด์	ไม่จำเป็น	7 วัน
สี	แช่เย็น 4 °C	48 ชั่วโมง
สภาพนำไฟฟ้า	แช่เย็น 4 °C	28 วัน
ปริมาณของแข็ง	แช่เย็น 4 °C	7 วัน
ความขุ่น	เก็บในที่มืด แช่เย็น 4 °C	24 ชั่วโมง

ตาราง ค 3 (ต่อ) การเก็บรักษาตัวอย่างน้ำ

พารามิเตอร์	การเก็บรักษา	ช่วงระยะเวลายอมให้เก็บ
น้ำมันและไขมัน	เติม H_2SO_4 ถึงพีเอช < 2 แช่เย็น 4 °C	24 ชั่วโมง
ทีโอซี	2 cm ^{3} H_2SO_4 / dm^3 (pH2)	7 วัน
พีเอช	วิเคราะห์ทันที	2 ชั่วโมง
กลิ่น	ควรวิเคราะห์เร็วที่สุดหรือแช่เย็น 4 °C	6 ชั่วโมง
ฟีนอล	เติม H_2SO_4 ถึงพีเอช < 2 แช่เย็น 4 °C	24 ชั่วโมง
ฟอสเฟต	ฟอสเฟตละลายให้กรองทันที แช่เย็น 4 °C	48 ชั่วโมง
ไซยาไนด์	NaOH ถึงพีเอช > 12 เก็บในที่มืด แช่เย็น 4 °C	24 ชั่วโมง
ดีโอ	วิเคราะห์ทันที	ห้ามเก็บ
ฟลูโอไรด์	ไม่จำเป็น	28 วัน
ความกระด้าง	เติม HNO_3 ถึงพีเอช < 2	6 เดือน
โลหะ	เติม HNO_3 ถึงพีเอช < 2	6 เดือน
โลหะละลาย	กรองทันที เติม HNO3 ถึงพีเอช < 2	6 เดือน
แอมโมเนีย	ควรวิเคราะห์เร็วที่สุดหรือเติม H_2SO_4 ถึงพีเอช < 2 ถ้ามีคลอรีนตกค้าง ควรทำลายทันที	7 วัน
เจลดาห์ลไนโตรเจน	เติม H_2SO_4 ถึงพีเอช < 2 แช่เย็น 4 °C	7 วัน
ไนเทรต	ควรวิเคราะห์เร็วที่สุดหรือแช่เย็น 4 °C	48 ชั่วโมง
ไนไทรต์	ควรวิเคราะห์เร็วที่สุดหรือแช่เย็น 4 °C	ไม่คงรูป
ไนเทรต – ไนไทรต์	เติม H_2SO_4 ถึงพีเอช < 2 แช่เย็น 4 °C	ไม่คงรูป
สารฆ่าแมลง	เก็บในที่มืด แช่เย็น 4 °C ถ้ามีคลอรีนตกค้าง ให้เติมกรดแอสคอบิก 1000 mg/dm^3	7 วัน

ที่มา : สมาคมวิศวกรสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย, 2540 : 14-15

ตาราง ค 4 การเก็บรักษาตัวอย่างโดยการยับยั้งการเปลี่ยนแปลง

วิธีการเก็บรักษา	กลไก	ใช้ได้กับ
$HgCl_2$	ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์	ฟอสฟอรัส
HNO_3	ละลายโลหะ ป้องกันการตกผลึก	โลหะ
H_2SO_4	ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์	สารอินทรีย์ (ซีโอดี น้ำมัน ไขมัน อินทรีย์คาร์บอน ฯลฯ)
NaOH	สร้างเกลือโดยจับกับเบสในรูปสารอินทรีย์	แอมโมเนีย อามีน
การแช่เย็น	สร้างเกลือโดยจับกับสารระเหยง่าย	ไซยาไนด์ กรดอินทรีย์
หรือการแช่แข็ง	ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์	สภาพกรด สภาพด่าง สารอินทรีย์ บีโอดี กลิ่น อินทรีย์ฟอสฟอรัส สีอินทรีย์ไนโตรเจน ฯลฯ

ที่มา : สมาคมวิศวกรสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย, 2540 : 14