

การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ

พันธุ์ทิพา พงษ์เพียจันทร์

THE DEVELOPMENT OF DISSOLVED OXYGEN ANALYSIS METHOD

Puntipa Pongpiajun

ABSTRACT : Currently, dissolved oxygen (DO) contents have been analyzed in the laboratory. The results were not satisfactory due to the instability of the dissolved oxygen in the water samples. The problem could be solved by analyzing samples immediately at the sampling site.

The conventional Azide method could be developed to analyze at the sampling site and called "the modified method" the correlation between the Azide and the modified method was 1. DO analyzed by the modified method must be lower than the Azide method 7.34 and 10.51 ppm respectively. The conversion factor of the modified to the Azide method was 1.431. DO calculation in ppm of modified method must therefore be : ml. of titrant x 14.31

บทคัดย่อ: การวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) จะทำกันแต่ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งผลวิเคราะห์ยังไม่เป็นที่น่าพอใจ เนื่องจากการเก็บตัวอย่างส่งห้องปฏิบัติการยังไม่ดีพอ เพราะออกซิเจนที่ละลายน้ำจะระเหยออกไปได้ ดังนั้น การที่จะวัดให้ได้ผลที่ถูกต้องควรวัด ณ บริเวณที่เก็บตัวอย่าง

การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการแบบ Azide method สามารถประยุกต์ให้นำไปวัด ณ สถานที่เก็บตัวอย่างได้ ซึ่งในที่นี้เรียกว่า "วิธีประยุกต์" พบว่าค่าสหสัมพันธ์ของทั้งสองวิธีมีค่าเป็น 1 ค่าที่วัดได้จากวิธีประยุกต์จะต่ำกว่าวิธี Azide เสมอ คือ 7.34 และ 10.51 ในล้านส่วน ตามลำดับ ปัจจัยที่ใช้เปลี่ยนค่า DO ที่วัดได้จากวิธีประยุกต์ให้เป็นค่าจริง หรือค่าของวิธี Azide คือ 1.431 การคำนวณหาค่า DO ส่วนในล้านส่วนจากวิธีประยุกต์คือ : มล.ของสารเคมีที่ใช้ไทเทรต x 14.31

คำนำ

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved oxygen, DO) เป็นเรื่องที่สำคัญต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ ในการเลี้ยงสัตว์น้ำจึงต้องหมั่นวัดปริมาณ DO อยู่เสมอ เพื่อเป็นการตรวจสอบคุณภาพของน้ำ แต่วิธีการวัดในห้องปฏิบัติการมักไม่ทันการและอาจเกิดความคลาดเคลื่อนเนื่องจากระยะเวลาของการนำตัวอย่างไปยังห้องปฏิบัติการ และการเก็บรักษาดตัวอย่างไม่ดีพอที่จะรักษาสภาพเดิมของน้ำได้

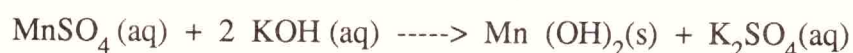
การวัดปริมาณ DO ทำได้ 2 วิธีคือ Winkler หรือ Iodometric method ซึ่งเป็นวิธีการที่วัดหาปริมาณ DO โดยตรงด้วยการไตเตรท โดยอาศัยคุณสมบัติของการเป็น oxidizing ของ DO การวัด DO อีกวิธีหนึ่งคือ Electrometric method เป็นวิธีที่ใช้ membrane electrode ซึ่งอาศัยหลักการ diffusion ของโมเลกุล O_2 ผ่าน membrane (Franson, 1985)

O_2 สามารถละลายน้ำได้สูงสุดตามธรรมชาติ - 10 ส่วนในล้านส่วน หรือ มก./ล. ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำ ดังนั้นน้ำในสภาพธรรมชาติจึงมี O_2 ละลายอยู่ต่ำ หากมีการทิ้งสารอินทรีย์ลงในแหล่งน้ำ ปริมาณ DO ในน้ำจะลดลง จนกว่าสารอินทรีย์เหล่านั้นจะกระจายและจมถึงลงได้ผิวน้ำ ปริมาณ DO จึงจะเพิ่มขึ้น นอกจากนี้อุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมยังมีผลต่อ DO ด้วย ถ้าอุณหภูมิของบรรยากาศสูง จะทำให้ O_2 ละลายน้ำได้น้อย และ O_2 ที่ละลายในน้ำอยู่แล้วอาจมีโอกาสระเหยออกไปได้ง่ายยิ่งขึ้น ซึ่งเหตุการณ์จะกลับตรงข้ามถ้าอุณหภูมิของบรรยากาศต่ำ

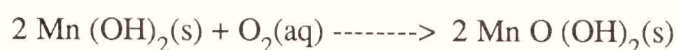
ดังนั้นในการเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อส่งวิเคราะห์ในภายหลัง ต้องเก็บให้เต็มภาชนะและปิดฝาให้แน่น กันอากาศซึมเข้าไปได้ พยายามทำให้ภายในภาชนะเป็นสูญญากาศและนำเข้าไปเก็บในที่เย็นจัดทันที เพื่อป้องกัน O_2 ในน้ำระเหยออกมา เป็นเหตุให้ผลวิเคราะห์ผิดพลาดได้ โดยปกติ น้ำกลั่นใหม่ๆ จะมีค่า $DO = 2$ ส่วนในล้านส่วน

หลักการวิเคราะห์แบบ Iodometric ตามที่ Artz (1980) ได้อธิบายไว้คือจะต้องเปลี่ยน O_2 ที่ละลายอยู่ในน้ำให้อยู่ในรูปของตะกอนสีน้ำตาลของ Manganese (IV) hydroxide. $MnO(OH)_2(s)$ ซึ่งอธิบายตามขั้นตอนดังนี้

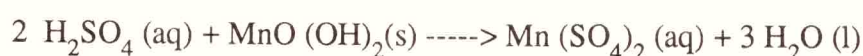
1. เติมสารละลาย Manganese (II) sulfate และ Potassium hydroxide ซึ่งได้มาจากสารละลาย “Alkali-iodide reagent” ลงไปจะเกิดตะกอนของ Manganese (II) hydroxide



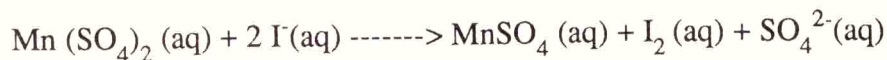
2. ตะกอนของ Manganese (II) hydroxide ($Mn(OH)_2$) จะรวมกับ O_2 ที่ละลายน้ำกลายเป็นตะกอนสีน้ำตาลแดงของ Manganese (IV) hydroxide ($MnO(OH)_2$)



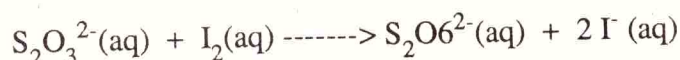
3. เติมกรดซัลฟริกเข้มข้นลงไปเพื่อไปละลายตะกอน Manganese (IV) hydroxide ให้เป็น Manganese (IV) sulfate



4. ขั้นสุดท้าย Manganese (IV) sulfate จะทำปฏิกิริยากับ Iodide ion ที่มีอยู่ในน้ำกลายเป็น Iodine molecule



5. จำนวนโมเลกุลของ Iodine (I_2) ที่เกิดขึ้น จะเท่ากับจำนวนโมเลกุลของ O_2 ที่ละลายน้ำอยู่ อาศัยหลักการวัดปริมาณ I_2 โมเลกุล ด้วยวิธีการไตเตรทกับ Sodiumthiosulfate ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากันพอดีแล้ว I_2 โมเลกุลจะถูกเปลี่ยนกลับไปเป็น Iodide ion (I^-) เหมือนเดิม



ในการที่จะทราบได้ว่า I_2 โมเลกุล ถูกเปลี่ยนเป็น I^- หหมดหรือไม่ ให้ใช้วิธีเติม Starch indicator ลงไป เพื่อให้ไปทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของ Iodine เกิดเป็นสีน้ำเงินดั่งนั้นถ้าไตเตรทต่อไปด้วย Sodium thiosulfate จนกระทั่ง Iodine molecule ถูกเปลี่ยนเป็น Iodide ion ไปหมดแล้ว สีน้ำเงินจะหายไปทันที จุดนี้คือ จุดสะเทิน (end point) และสรุปได้ว่า ปริมาณ Iodine molecule = โมเลกุลของ O_2 ดังนั้นค่าที่วัดออกมาได้

$$= 1 \text{ มล. ของ Sodium thiosulfate} = 1 \text{ ppm DO.}$$

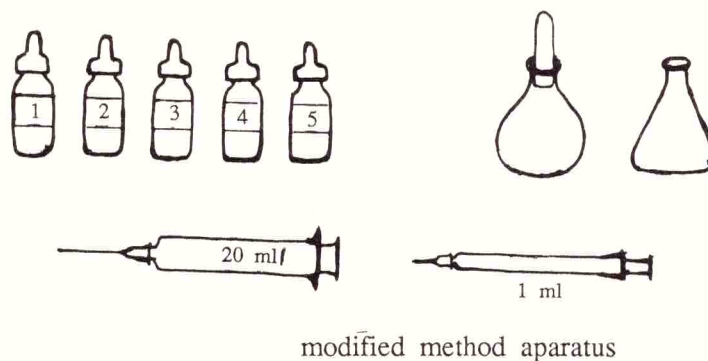
ดังจะเห็นได้ว่าทฤษฎีของ Artz (1980) สะดวกและรวดเร็ว จึงเหมาะสมที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในการปฏิบัติงานนอกห้องทดลอง ในการศึกษาครั้งนี้ดัดแปลงวิธีการวิเคราะห์ ในห้องปฏิบัติการไปใช้ในฟาร์มให้ได้ผลใกล้เคียงกับการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ แต่ในระยะเวลาอันสั้นกว่าและประหยัดค่าใช้จ่ายได้มากกว่าจึงได้เลือกเอาวิธีการของ Artz 1980 และ Azide (AOAC, 1984) มาประยุกต์ใช้เพื่อมีเป้าหมายที่จะใช้ร่วมกัน

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. ขวด BOD ขนาด จู 300 มล.
2. ขวดใส่สารเคมี 60 มล. สีใส
3. Buret
4. Graduate pipet ขนาด 1,2,3, และ 100 มล.
5. Erlenmeyer flask ขนาด 50,300 มล.
6. หลอดจิกยาขนาด 2,20 มล.
7. ขวดสีชาใส่สารเคมีพร้อมหลอดหยด 4 ใบ
8. ขวดพลาสติกใส่สารเคมีขนาด 100 มล. 1 ใบ

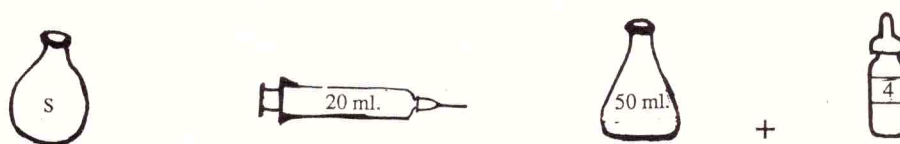
Figure. 1 Modified method , apparatus and steps of procedure.



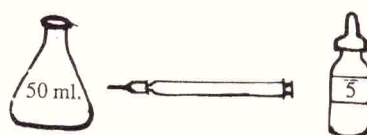
Step1. Add each 5drops of reagent no 1. and 2 to $\longrightarrow$ yellowish brown precipitate
the sample



Step 2. Then add 5 drops of reagent no. 3 $\longrightarrow$ Clear dark brown solution



Step 3. Add 2 drops of reagent no. 4 to 20 ml of Clear dark brown solution



Step 4. Titrate the clear dark brown solution with reagent no.5 until the blue color disappear.

สารเคมี

1. Alkaline iodide-sodium azide soln. (ละลาย NaOH 500 กรัม หรือแทนด้วย KOH 700 กรัม) และ NaI 135 กรัม (หรือแทนด้วย KI 150 กรัม) ด้วยน้ำกลั่นประมาณ 950 มล. ทั้งไว้ให้เย็น คนเบาๆ ค่อยๆ เติมสารละลาย NaN_3 (10 กรัมละลายน้ำกลั่น 40 มล.) ปรับสารละลายให้ครบ 1000 มล. เก็บในขวดสีทึบปิดด้วยจุกยาง)
2. Manganese sulfate soln. (ละลาย $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 364 กรัม กรองแล้วเติมน้ำให้ครบ 1000 มล.)
3. Conc. H_2SO_4
4. Sodium thiosulfate std. soln. 0.0021 M
5. Starch indicator 1%

วิธีการทดลอง

Azide method (AOAC, 1984)

1. เก็บตัวอย่างน้ำใส่ขวด BOD 300 มล. เติมน้ำยา Manganese sulfate ลงไป 1 มล. พยายามให้ปลาย Pipet อยู่ติดกับผิวน้ำมากที่สุด แต่อย่าให้สัมผัสผิวน้ำ หากบังเอิญสัมผัสต้องเช็ดให้แห้ง
2. เติมน้ำยา Alkaline iodide-sodium azide ลงไป 1 มล. ทำแบบข้อที่ 1 ปิดฝาขวด เทขวดกลับไปมา ตั้งทิ้งไว้พอตะกอนเริ่มตกให้เทขวดกลับไปมาอีกครั้งแล้วตั้งทิ้งไว้รอจนตะกอนตกถึงครึ่งขวด
3. เติม H_2SO_4 ลงไป 1 มล. ปิดฝาเทกลับไปมาจนตะกอนละลายหมด เป็นสารละลายสีชาใส
4. pipet เอาตัวอย่าง 201 มล. ใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 300 มล. ไตเตรทด้วย $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.0021 M จนสารละลายเป็นสีฟางข้าว (เหลืองจาง) [* จากการเติมน้ำเค็มลงไป 2 มล. ใน 300 มล. titrate $200 \times 300 / (300 - 2) = 201$ มล.]
5. หยด Starch indicator ลงไป 5-6 หยด titrate ต่อจนสีน้ำเงินหายไป นั่นคือ จุดสะเทิน (หากตั้งทิ้งไว้สีน้ำเงินอาจเกิดขึ้นอีกไม่ต้องไตเตรทซ้ำ)
6. อ่านค่า $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.0021 M ที่ใช้ไตเตรท
7. คำนวณ 1 มล. ของ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.0021 M = 1 ppm DO (มก/ล.)

วิธีประยุกต์สำหรับการทดลองในครั้งนี้

1. เก็บตัวอย่างน้ำใส่ขวดสารเคมีขนาด 60 มล. (พอดีขวด)
2. หยดน้ำยา $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ลงไป 5 หยด (เบอร์ 1)
3. หยดน้ำยา alk-iodide-azide ลงไปอีก 5 หยด (เบอร์ 2)
4. ปิดฝาขวดกลับปามา ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 นาที เทขวดกลับปามาอีกครั้ง ตั้งทิ้งไว้จนตะกอนนอนกัน
5. เติม Conc. H_2SO_4 ลงไป 5 หยด เขย่าจนตะกอนละลายหมด (เบอร์ 3)
6. ใช้หลอดจิกยาขนาด 20 มล. ดูตัวอย่างออกใส่ Flask ขนาด 50 มล. อีก 2 ใบ รวมทั้งหมดเป็น 3 ใบ
7. หยด Starch indicator (เบอร์ 4) ลงไป 2 หยด
8. นำไปไตเตรทกับ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ข้น .0021 M ทั้ง 3 ตัวอย่าง โดยใช้หลอดจิกยาพร้อมเข็มขนาด 1 มล. แทน Buret คำนวณหาค่าเฉลี่ย แล้วคูณด้วย 10 อุปกรณ์และขั้นตอนของวิธีประยุกต์แสดงไว้ใน Figure 1.

ผลการทดลอง

ค่า DO ที่วัดได้จากวิธีประยุกต์จะต่ำกว่าค่าที่วัดได้จาก Azide method เสมอ (Table 1) ไม่ว่าจะเป็นระดับ O_2 ที่ละลายอยู่ในน้ำจืดหรือค่าก็ตาม และจากค่าเฉลี่ยของแหล่งน้ำแต่ละแห่ง เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับกราฟรูปแท่ง (Figure 2) ก็จะทำให้ค่า DO ออกมาต่ำกว่าเช่นกัน คือ ค่าเฉลี่ยของตัวอย่างน้ำเย็นที่ยืดแกส O_2 ลงไป จะวัดได้ 16.45 และ 11.58, น้ำประปา วัดได้ 8.58 และ 5.89, น้ำจากคลองชลประทาน 8.10 และ 5.7, น้ำในบ่อปลา 7.8 และ 5.4 และน้ำจากคลองระบายน้ำเสีย 7.06 และ 4.93 ส่วนในด้านส่วน เมื่อเปรียบเทียบการวัดระหว่างวิธี Azide และวิธีประยุกต์ตามลำดับ

Table 2 แสดงค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SD.) ของวิธีการวัดทั้ง 2 วิธี จากแหล่งน้ำต่างๆ กัน จะเห็นว่า ค่า SD. มีค่าใกล้เคียงกัน คือ 0.1 ทั้ง 2 วิธี ยกเว้นตัวอย่างที่ยืด O_2 เข้าไปในน้ำ ซึ่งตัวอย่างอยู่ในลักษณะที่ผิดปกติ

ค่าเฉลี่ย DO ของวิธี Azide และประยุกต์เป็น 10.51 และ 7.34 ในด้านส่วนและค่า SD. เป็น 0.88 และ 0.63 ตามลำดับ (Table 3) ซึ่งปัจจัยที่ทำให้ค่า SD ของทั้งสองวิธีต่างกัน คือ ค่า DO ที่วัดได้จากตัวอย่างที่ยืดแกส O_2 แต่ถึงอย่างไรก็ตาม ค่าสหสัมพันธ์ระหว่าง 2 วิธีการนี้ (Correlation between methods) มีค่าสูงมาก คือ เท่ากับ 1 ซึ่งแสดงว่า วิธีการประยุกต์นี้ใช้ได้

และเมื่อคำนวณหาค่าของปัจจัยที่ใช้ (Conversion factor) ในการเปลี่ยนค่า DO ที่วัดได้จากวิธีประยุกต์ให้เป็นค่าจริง (คือ ค่าที่วัดได้จากวิธี Azide) จะได้ค่าออกมา = 1.431

Table 1. Dissolved oxygen analyzed by Azide method compare to Modified method.

Sample no.	Azide (ppm)	Average (ppm)	Modified (ppm)	Average (ppm)
1. Cool water under high O ₂ pressure	16.0	→ 16.45	11.3	→ 11.58
2. Cool water under high O ₂ pressure	17.2		12.2	
3. Cool water under high O ₂ pressure	18.2		12.8	
4. Cool water under high O ₂ pressure	16.5		11.6	
5. Cool water under high O ₂ pressure	15.2		10.6	
6. Cool water under high O ₂ pressure	15.6		11.0	
7. Irrigation canal	8.2	→ 8.10	5.8	→ 5.7
8. Irrigation canal	8.0		5.6	
9. Waste water canal	6.8	→ 7.06	4.7	→ 4.93
10. Waste water canal	7.2		5.1	
11. Waste water canal	7.2		5.0	
12. Fish pond	7.8	→ 7.8	5.4	→ 5.42
13. Fish pond	7.8		5.4	
14. Fish pond	7.6		5.3	
15. Fish pond	8.0		5.6	
16. Tap water	8.7	→ 8.58	5.92	→ 5.89
17. Tap water	8.8		6.02	
18. Tap water	8.2		5.60	
19. Tap water	8.8		6.17	
20. Tap water	8.4		5.77	

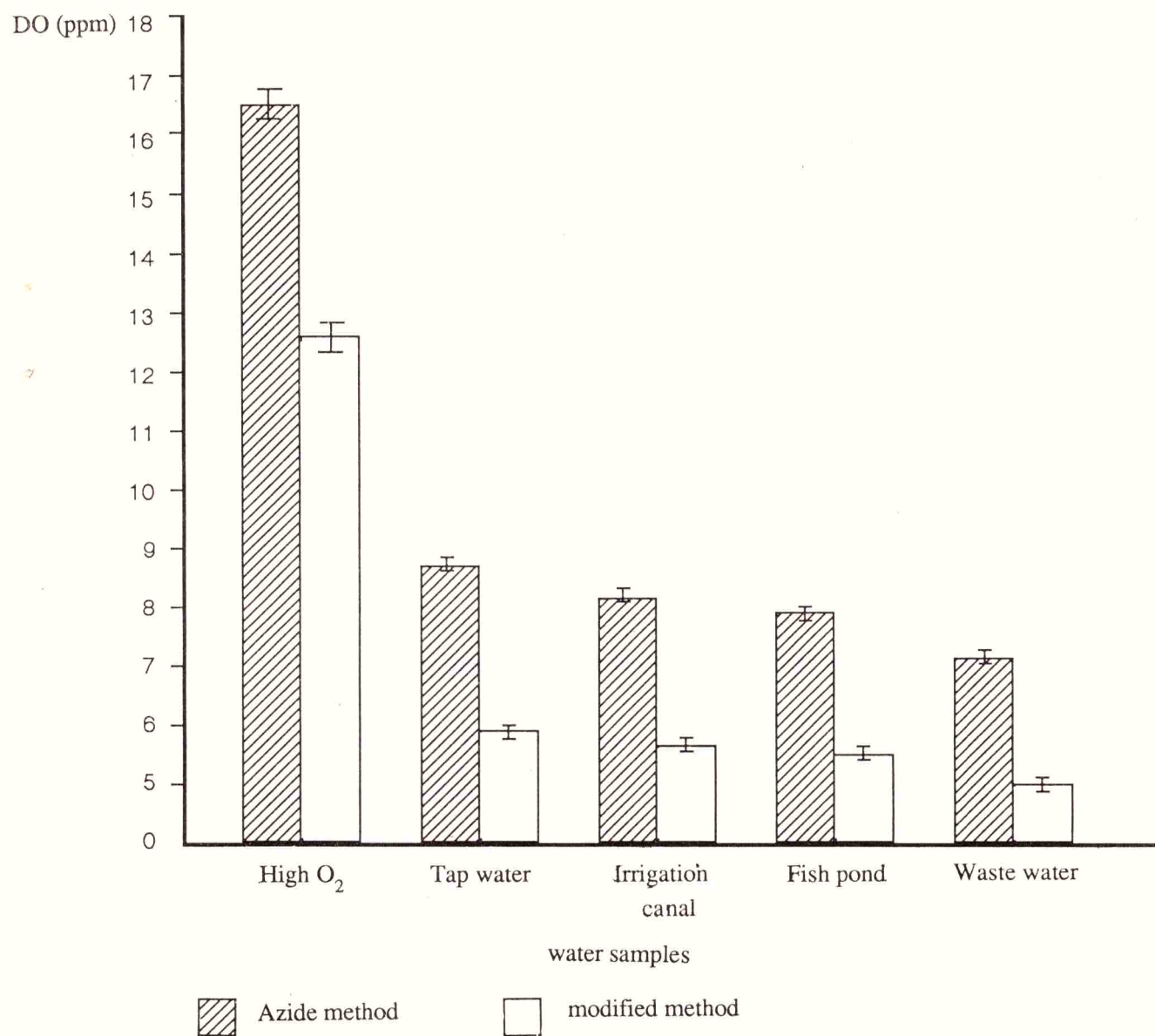


Figure 2. Average DO value analyzed by Azide and modified method.

Table 2. Dissolved oxygen (DO) content in various sources of water samples.

Sample	DO content, ppm	
	Azide method	Modified method
Cool water under high O ₂ pressure	16.45 ± 0.45	11.58 ± 0.33*
Tap water	8.58 ± 0.1	5.89 ± 0.1
Water from irrigation canal	8.10 ± 0.1	5.7 ± 0.1
Water from fish pond	7.8 ± 0.1	5.43 ± 0.1
Water from waste water canal	7.07 ± 10.14	4.93 ± 0.14

* Standard error of the mean

Table 3. Dissolved oxygen from two methods of assay.

Method	DO content (ppm)
Azide	10.51 ± 0.88*
Modified	7.34 ± 0.63*

* Standard error of the mean

การคำนวณ

ค่าที่อ่านได้จากวิธีการประยุกต์สามารถคำนวณได้ดังนี้

จากตัวอย่างที่ทดลองวัดค่า DO จากน้ำประปาของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ หลังจากไตเตรทแล้วอ่านค่าโดยวิธี Azide ได้ = 3.8 ส่วนในล้านส่วน และวิธีประยุกต์อ่านได้ = 0.27 มล.

$$\begin{aligned}
 \text{ค่า DO ส่วนในล้านส่วนวิธีประยุกต์} &= \text{ค่า มล. ของ titrant} \times 10 \times 1.431 \\
 &= 0.27 \times 10 \times 1.431 \\
 &= 3.86
 \end{aligned}$$

ซึ่งใกล้เคียงกับค่าที่วัดได้จาก Azide มาก คือ 3.8 ส่วนในล้านส่วน

วิจารณ์ผลการทดลอง

โดยธรรมชาติ O_2 สามารถละลายน้ำได้มากที่สุด 10 ส่วนในล้านส่วนแต่ในตัวอย่างที่ 1-6 จาก Table 1 นั้น ได้ทำการอัดแก๊สออกซิเจนลงในถุงพลาสติกที่จุน้ำกลั่น 1/3 ของถุง (ประมาณ 300 มล.) จนเต็ม แล้วนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น 1 คืน โดยมีจุดประสงค์เพื่อต้องการให้ออกซิเจนละลายน้ำได้มาก ๆ เพื่อต้องการวัด DO ในน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน แต่ขณะนำมาวิเคราะห์ที่อุณหภูมิห้อง ไม่สามารถจะทำทุกอย่างให้เสร็จพร้อมๆ กันในเวลาเดียวกันได้ ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำที่สูงผิดธรรมชาติ จึงพร้อมเสมอที่จะระเหยออกไปตลอดเวลา ทำให้ค่า DO ที่วัดออกมาได้แปรปรวนกว่าตัวอย่างอื่นๆ และมีผลทำให้ตัวเลขที่ได้ผิดพลาดไปบ้างเล็กน้อย

ส่วนตัวอย่างที่เก็บจากคลองชลประทาน, คลองระบายน้ำเสีย และบ่อปลานั้น ค่า DO ที่วัดได้ค่อนข้างสูง เนื่องจากได้เก็บตัวอย่างในตอนเช้าตรู่หลังจากที่ฝนได้ตกตลอดคืน ทำให้น้ำค่อนข้างสะอาด และมี DO สูง แต่งานทดลองเรื่องนี้ไม่ได้เน้นเรื่องคุณภาพของแหล่งน้ำ แต่เน้นวิธีการวิเคราะห์ จึงไม่มีผลกระทบต่อการทำงานแต่อย่างใด

ค่า Conversion factor ที่หาออกมาได้จะแม่นยำมากสำหรับค่า DO ที่ใช้อุปกรณ์วิเคราะห์โดยวิธีประยุกต์แบบเดียวกัน แต่ถ้าหากใช้อุปกรณ์ชนิดอื่นค่าที่ได้อาจคลาดเคลื่อนไปบ้างในช่วงของค่า SD.

ดังนั้น วิธีการประยุกต์ในการทดลองครั้งนี้สามารถนำไปใช้ในการตรวจสอบคุณภาพน้ำดื่มและบ่อเลี้ยงปลาได้

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. (1984). Official Method of Analysis.
 Artz, R.J. (1980). Experimental Chemistry, An Introduction. Boston, Little, Brown. p. 221-228.
 Franson, H.M.A. (1985). Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water. 16th, Ed. Washington DD. 20005.