

ภาคผนวก

1. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการศึกษา BMP (Roposo *et al.*, 2006)

Stock nutrient solution (five times concentrated) ประกอบด้วย (กรัม/ลิตร)

NH ₄ Cl	1.4
K ₂ HPO ₄	1.25
MgSO ₄ ·H ₂ O	0.5
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.05
yeast extract	0.5

trace element solution (5 มิลลิลิตร/ลิตร) ประกอบด้วย (มิลลิกรัม/ลิตร)

FeCl ₂ ·4H ₂ O	2000
H ₃ BO ₃	50
ZnCl ₂	50
CuCl ₂ ·2H ₂ O	38
MnCl ₂ ·4H ₂ O	500
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	50
AlCl ₃ ·6H ₂ O	90
CoCl ₂ ·6H ₂ O	2000

2. การวิเคราะห์ COD: Chemical oxygen demand (Closed reflux) (APHA, AWWA and WEF, 1998)

วัสดุ - อุปกรณ์

1. ขวดย่อย (Digestion Vessels) ฝาเกลียว ชนิดบอโรซิลิเกต (Borosilicate) ขนาด 16 × 100 มิลลิเมตร หรือ 20 × 150 มิลลิเมตร หรือ 25 × 150 มิลลิเมตร
3. ตู้อบ ความคุมอุณหภูมิไว้ที่ 150 ± 2 °C
4. บิวเรต
5. ขวดรูปกรวย ขนาด 125 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐาน โพแทสเซียมไดโครเมต 0.1 นอร์มัล
2. สารละลายกรดซัลฟิวริกและซิลเวอร์ซัลเฟต
3. สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 นอร์มัล
4. สารละลายเฟอร์โรอินอินดิเคเตอร์
5. กรดซัลฟามิก (Sulfamic acid) ใช้ป้องกันการรบกวนของไนไตรท์ (NO_2^-) ปริมาณที่ใช้คือ 10 มิลลิกรัมต่อทุก ๆ 1 มิลลิกรัมของไนไตรท์
6. สารละลายมาตรฐาน โพแทสเซียมไฮโครเจนพาทาเลต หรือ
7. สารละลายกลูโคส
8. กรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 20

วิธีการวิเคราะห์

1. ล้างหลอดแก้วขนาด 25×150 ด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 20
2. เลือกขนาดน้ำตัวอย่างที่เหมาะสม ใส่ลงในหลอดแก้ว 10 มล.
3. เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.1 นอร์มัล 6.0 มล. และกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 14 มล. อย่างช้าๆ สำหรับแบลจค์ ใช้น้ำกลั่นแทนน้ำตัวอย่าง และใช้ปริมาตรสารต่าง ๆ เท่ากัน
4. ปิดฝาให้แน่น เขย่าให้เข้ากันดี วางหลอดแก้วในใส่ตู้อบ ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ $150 \pm 2^\circ\text{C}$ 2 ชั่วโมง
5. นำออกจากตู้อบ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเทสารละลายใส่ขวดรูปกรวยใช้น้ำกลั่น กล้ด้ล้างสารละลายที่ตกค้างในหลอดแก้ว แล้วเทรวมใส่ขวดรูปกรวย เติมเฟอร์โรอินอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด
6. ไตเตรทแบลจค์ด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 นอร์มัล (A)
7. ไตเตรทน้ำตัวอย่างด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 นอร์มัล (B) (สารละลายเปลี่ยนสีจากเหลือง - เขียวอมเหลือง - ฟ้า - น้ำตาลแดง)

$$\text{COD (mg/L)} = \frac{(A - B) \times \text{ความเข้มข้นของ FAS} \times 8,000}{\text{ปริมาตรของน้ำตัวอย่าง (mL)}}$$

3. การวิเคราะห์ BOD₅: Biochemical oxygen demand (APHA, AWWA and WEF, 1998)

วัสดุ - อุปกรณ์

1. ขวด BOD ขนาด 250 – 300 มิลลิลิตร
2. ตู้แช่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 20°C
3. pH meter
4. บีเปตขนาด 1.0 มิลลิลิตร
5. เทอร์โมมิเตอร์

สารเคมี

1. น้ำกลั่นสำหรับเจือจาง
2. สารละลายกรดซัลฟิวริก 1.00 นอร์มัล
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.00 นอร์มัล

วิธีการวิเคราะห์

1. ปรับ pH ของน้ำตัวอย่างให้อยู่ในช่วง 6.5 – 7.5 ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 1.00 นอร์มัล หรือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.00 นอร์มัล และควบคุมอุณหภูมิน้ำตัวอย่างให้อยู่ในช่วง $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$
2. เติมน้ำกลั่นสำหรับเจือจางจนเต็มขวด BOD (ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ) ปิดฝาขวด แล้วเขย่า โดยการกลับขวดอย่างแรงให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน
3. นำขวดหนึ่งไปวิเคราะห์หาปริมาณ DO (DO_0)
4. นำอีกขวดไปแช่ในตู้แช่ที่อุณหภูมิ $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 5 วัน แล้ววิเคราะห์หาปริมาณ DO (DO_5)

$$\text{BOD}_5 \text{ (mg/L)} = \frac{(\text{DO}_0 - \text{DO}_5)}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง (mL)}}$$

-ปริมาณออกซิเจนละลาย (DO: Dissolved oxygen) โดยวิธีไอโอดเมตริก (Iodometric)

วัสดุ - อุปกรณ์

1. ขวด BOD ขนาด 250 – 300 มิลลิลิตร
2. บีเปตขนาด 1.0 มิลลิลิตร
3. บีเปตขนาด 2.0 มิลลิลิตร
4. ขวดรูปกรวย ขนาด 500 มิลลิลิตร
5. บีเวตขนาด 25 มิลลิลิตร

6. บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
7. กระจกตวงขนาด 500 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. สารละลายแมงกานีสซัลเฟต
2. สารละลายอัลคาไลด์ – ไอโอไดด์ – อาไซค์
3. กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เข้มข้น (36 นอร์มัล)
4. สารละลายน้ำแป้ง (Starch solution)
5. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไโครโซลเฟต 0.025 นอร์มัล

วิธีการวิเคราะห์

1. เติมตัวอย่างน้ำที่จะทำการวิเคราะห์ลงจนเต็มขวด BOD (ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ)
2. เติมสารละลายแมงกานีสซัลเฟต 2 มิลลิลิตร และสารละลายอัลคาไลด์ – ไอโอไดด์ – อาไซค์ 2 มิลลิลิตร
3. ปิดฝาขวด แล้วเขย่าโดยการกลับขวดอย่างแรงให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ) จะเกิดตะกอนสีน้ำตาล
4. เปิดจุกออกแล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.0 มิลลิลิตร
5. ปิดฝาขวด แล้วเขย่าโดยการกลับขวดอย่างแรงให้ตะกอนละลายหมด แล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที
6. ตวงปริมาตรตัวอย่าง 203 มิลลิลิตรใส่ขวดรูปกรวย
7. ไตเตรทตัวอย่างด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไโครโซลเฟต 0.025 นอร์มัล จนกระทั่งสีเหลืองเริ่มจางลงเป็นสีฟางข้าว (A)
8. เติมสารละลายน้ำแป้ง 1 มิลลิลิตร (จะได้สีน้ำเงิน) แล้วไตเตรทจนสีน้ำเงินหายไป (B)

4. การวิเคราะห์ Total solids: TS and Volatile solid: VS (APHA, AWWA and WEF, 1998)

วัสดุ - อุปกรณ์

1. ถ้วยกระเบื้อง
5. ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 103 – 105 °C
6. เตาเผา 550±50 °C
7. เกล็ดเคเตอร์
8. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
9. บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร

10. ครอบขวดขนาด 100 มิลลิลิตร

11. ขวดน้ำกลั่น

วิธีการวิเคราะห์

1. อบอุ่นกระเบื้องที่อุณหภูมิ 103 – 105°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดสิคเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก (B)
2. ตวงน้ำตัวอย่าง 50-100 มิลลิลิตร ใส่ถ้วยกระเบื้อง
3. ระบายให้แห้งด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิ
4. นำถ้วยกระเบื้องไปอบที่อุณหภูมิ 103 – 105°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. ทิ้งให้เย็นในเดสิคเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก (A)
6. นำถ้วยกระเบื้องที่ได้จากการหา TS ไปเผาในเตาเผา 550±50 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดสิคเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (C) คำนวณปริมาณของแข็งแขวนลอยระเหย

$$TS \text{ (mg/L)} = \frac{(A-B) \times 10^6}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (ml)}}$$

$$VS \text{ (mg/L)} = \frac{(A-C) \times 10^6}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (ml)}}$$

5. การวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด (Total Kjeldahl nitrogen: TKN) (APHA, AWWA and WEF, 1998)

วัสดุ – อุปกรณ์

1. ขวดรูปกรวยขนาด 125 มิลลิลิตร
2. ขวดเจลดดาห์ล (Kjeldahl flask) ขนาด 800 มิลลิลิตร
3. ชุดเครื่องมือสำหรับการย่อยสลายและกลั่น
4. ขวดรูปกรวย ขนาด 250 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. สารละลายเมอร์คิวรีซัลเฟต
2. น้ำยาสำหรับย่อยสลาย
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ – โซเดียมไฮโอซัลเฟต
4. สารละลายฟีนอล์ฟธาลินอินดิเคเตอร์
5. กรดซัลฟิวริก 0.02 นอร์มัล

6. mixed indicator

วิธีการวิเคราะห์

1. เลือกปริมาตรน้ำตัวอย่างที่เหมาะสม ใส่ขวดเจลดาคาร์ล (สำหรับแบบลงค์ให้ใช้น้ำกลั่นแทนน้ำตัวอย่างด้วยปริมาตรที่เท่ากัน) เติมลูกแก้ว 3 - 4 เม็ด
2. เติมน้ำยาสำหรับย่อยสลาย 50 มิลลิลิตร แล้วนำเข้าย่อยสลายในตู้กวน จนได้สารละลายใส
3. เติมน้ำยาสำหรับย่อยสลายเพิ่มอีก 20 มิลลิลิตร แล้วนำเข้าย่อยสลายในตู้กวน จนได้สารละลายใส เติมน้ำกลั่นลงไป 300 มิลลิลิตร และสารละลายฟีนอล์ฟธาลินอินดิเคเตอร์ 0.5 มิลลิลิตร
4. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ – โซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน จนได้สารละลายสีชมพู(หากยังไม่เกิดสีชมพู ให้เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ – โซเดียมไฮดรอกไซด์)(ลงไปทีละน้อย จนได้สารละลายสีชมพู)
5. ต่อขวดเจลดาคาร์ลเข้ากับเครื่องกลั่นตัวอย่างให้ควบแน่นผ่านกรดบอริกที่เติมสารละลายฟีนอล์ฟธาลินอินดิเคเตอร์ 50 มิลลิลิตร จนได้ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
6. หยด Mixed indicator 2- 3 หยด แล้วไตเตรทแบบลงค์ด้วยกรดซัลฟิวริก 0.02 นอร์มัล (B) หยด Mixed indicator 2 -3 หยด แล้วไตเตรทน้ำตัวอย่างด้วยกรดซัลฟิวริก 0.02 นอร์มัล (A)

ปริมาตรน้ำตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

ปริมาณไนโตรเจน (mg/l)	ขนาดตัวอย่าง (ml)
0 – 1	500
1 – 10	250
10 – 20	100
20 – 50	50
50 – 100	25

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (mg/l)} = \frac{(A - B) \times 280}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง}}$$