

# รายงานการวิจัย

เรื่อง

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณBOD

โดย

นางพัชรีญา ฉัตรเอก

กองฟิสิกส์และวิศวกรรม ภาควิทยาศาสตร์บริการ  
พฤษภาคม พ.ศ. ๒๕๓๙

# รายงานการวิจัย

เรื่อง

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณBOD

๐๙  
เลขที่ ๓๗  
20  
เลขที่ ๙๙๓๖  
วันที่ 11 พ.ค. ๒๕๖๓

โดย

นางพัชรีญา จัตโรท

ด้วยอธิบดี  
จาก  
๑๗

กองฟิสิกส์และวิศวกรรม กรมวิทยาศาสตร์บริการ  
พฤษภาคม พ.ศ. ๒๕๖๓

### บทคัดย่อ

นำตัวอย่างน้ำทิ้งที่โรงงานอุตสาหกรรมส่งมาให้วิเคราะห์ค่า BOD มาผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ ( Pretreatment ) ก่อน โดยการวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง ( pH ) ปรับค่าให้เป็นกลางด้วยกรดซัลฟิวริก (  $H_2SO_4$  ) หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ ( NaOH ) นำตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานต่างๆที่ไม่ใส่ seed และใส่ seed ลงไปในขวด BOD นำตัวอย่างทั้งสองวัดด้วยเครื่อง Dissolved Oxygen ( DO meter ) ตัวอย่างน้ำทิ้งที่ใส่ seed และมีความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม มีค่า BOD สูงกว่าที่ไม่ใส่ seed ดังนั้นจึงนำตัวอย่างน้ำทิ้งที่ใส่ seed มาทดลองวัดด้วยเครื่อง DO ( DO meter ) ที่ได้พัฒนา ปรับปรุง คัดแปลง ให้สามารถอ่านค่า DO ได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว แม่นยำ เข้ากับสภาพการใช้งานได้ดี และนำมาทดลองเปรียบเทียบกับวิธีไทเทรตด้วยสารเคมี ตามวิธี Winkler Method จึงสรุปว่าวิธีการวัดค่า BOD ด้วยเครื่อง DO และใช้วิธีใส่ seed จะให้ผลถูกต้อง รวดเร็วกว่า วิธีไทเทรต และเครื่องมือนี้สามารถนำไปใช้เป็นต้นแบบสำหรับการวิเคราะห์ค่า BOD ในห้องปฏิบัติการอื่นได้

## สารบัญ

หัวข้อเรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	
บทที่ 1. บทนำ	1
1.1 วัตถุประสงค์ในการวิจัย	3
1.2 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 การดำเนินงานวิจัย	5
2.1 ตัวอย่างน้ำที่ใช้ในการทดลอง	5
2.2 สถานที่ทำการทดลอง , วันเวลาที่ทำการทดลอง	5
2.3 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	5
2.4 การเก็บรักษาตัวอย่าง	5
2.5 มาตรฐานน้ำทิ้ง	5
บทที่ 3 การทดลอง	6
3.1 แผนการทดลอง	6
3.2 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์และการ วิเคราะห์หา DO โดยวิธี dilution method	8
3.3 การทดลอง	12
3.4 ผลการทดลอง	18
บทที่ 4 วิจารณ์และสรุปผลการทดลองทั้งหมด และ ข้อเสนอแนะ	24
กิตติกรรมประกาศ	27
เอกสารอ้างอิง	28
ภาคผนวก	29

## บทที่ 1

### บทนำ

ความเสื่อมโทรมของคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติได้กลายเป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมที่สำคัญที่สุดปัญหาหนึ่งที่ต้องเร่งแก้ไข เนื่องจากได้ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างกว้างขวางต่อระบบเศรษฐกิจ และสังคม ปัญหาน้ำเสียเพราะโรงงานอุตสาหกรรม และอาคารบ้านเรือนต่างๆ ระบายน้ำลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ โดยมีผ่านกรรมวิธีการกำจัดสิ่งสกปรกเสียก่อน

น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมส่วนใหญ่ และจากชุมชน มีสารอินทรีย์เจือปนอยู่มาก ซึ่งวัดได้ในรูปค่า BOD ซึ่งสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งนี้เป็นตัวการทำให้ความเข้มข้นของสารละลายออกซิเจน (Dissolved Oxygen = DO) ในแหล่งน้ำธรรมชาติลดน้อยลง จนเกิดปัญหาน้ำเสีย

การหาปริมาณออกซิเจนซึ่งละลายอยู่ในน้ำ (DO) จึงเป็นลักษณะสำคัญที่จะบอกให้ทราบว่าน้ำนั้นมีความเหมาะสมเพียงใด ต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตในน้ำและผู้ใช้อาศัยแหล่งน้ำนั้นในชีวิตประจำวัน และปริมาณสารอินทรีย์ที่เจือปนอยู่ในน้ำมีมากน้อยเพียงใด ก็สามารถบอกได้ในรูปความต้องการออกซิเจนของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำนั้น โดยการหาในรูปของค่า BOD (Biochemical Oxygen Demand) ซึ่งหาได้จากการนำ DO 0 วันและ 5 วันมาคำนวณจากสูตรการหา BOD ก็จะทราบว่าน้ำนั้นมีความสกปรกมากน้อยเพียงใด ถ้าค่า BOD สูง แสดงว่าน้ำนั้นสกปรกมาก ถ้าค่า BOD ต่ำ แสดงว่าน้ำนั้นค่อนข้างสะอาด และเกณฑ์มาตรฐานตาม พรบ. กรมโรงงานอุตสาหกรรม ที่สามารถระบายลงสู่ลำน้ำสาธารณะได้ กำหนดให้ค่า BOD ไม่มากกว่า 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l)

ก่อนหน้านี ในหนังสือ standard method ได้กล่าวถึงวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ BOD โดยการไทเทรตด้วยสารเคมีเพียงอย่างเดียว (ซึ่งมีความยุ่งยากในการเตรียมน้ำยาเคมีหลายชนิดและมีขั้นตอนการวิเคราะห์มาก) แต่ในปัจจุบันวิวัฒนาการเรื่องเทคโนโลยีของเครื่องมือมีมากขึ้น มีการปรับปรุงพัฒนาเครื่องมือให้ทันสมัย เหมาะแก่การวิเคราะห์ จึงมีการยอมรับให้ใช้เครื่องมือวิเคราะห์ได้ในหนังสือคู่มือวิเคราะห์น้ำเสีย แต่เครื่องมือในการ วิเคราะห์หา BOD มีหลักการเฉพาะตัวและจะต้องหาในรูป DO ก่อน ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาทดลองเปรียบเทียบวิธีการไทเทรตด้วยสารเคมีที่ใช้กันอยู่ดั้งเดิมกับวิธีการวัดค่าด้วยเครื่องมือ โดยนำเครื่องมือวัดค่า Dissolved Oxygen ( DO ) มาปรับปรุงดัดแปลงให้เหมาะสมกับสถานการณ์ปัจจุบัน ซึ่งเน้นในเรื่องสิ่งแวดล้อมมากโดยเฉพาะค่าความเน่าเสียของน้ำทิ้งที่อยู่ในรูปของBOD และเนื่องจากตัวอย่างที่ส่งมาให้วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์บริการมีมากขึ้น กำลังคนมีน้อย จึงต้องพยายามหาวิธีว่าจะทำอย่างไร จึงจะวิเคราะห์ตัวอย่างให้ได้มากที่สุด ใน 1 สัปดาห์ เพราะตัวอย่างเหล่านี้เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ที่ทำลายสารอินทรีย์ ( organic matter ) ในน้ำทิ้งทำให้สภาพของน้ำ

ที่จะเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา ดังนั้นจะต้องทำการวิเคราะห์หาค่า BOD ภายใน 6 - 24 ชั่วโมง เป็นอย่างช้า จากเหตุผลเหล่านี้ จึงจำเป็นต้องมีการหาวิธีที่สามารถพัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้รวดเร็ว ทันสมัย ทันท่วงที และได้อ่านค่าที่แม่นยำถูกต้องเหมือนเดิม จึงได้นำเครื่องมือที่ทันสมัยมาใช้ ประกอบกับการวิเคราะห์ เป็นวิธีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ BOD โดยทดลองนำเครื่อง หาปริมาณออกซิเจนที่เรียกว่า Dissolved Oxygen meter หรือ DO meter มาใช้สำหรับการ ทดลองและใช้อยู่จริงในปัจจุบันในห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์บริการ ถึงแม้ว่าเครื่องมือจะมี ราคาแพงพอสมควร แต่ก็คุ้มค่านั่นในเรื่องการประหยัดเวลา ลดขั้นตอนการทำงาน สามารถให้ บริการประชาชนได้เต็มที่ วิเคราะห์หาค่า BOD ของตัวอย่างน้ำทิ้งที่ส่งมาให้ในแต่ละสัปดาห์ได้ หมดโดยไม่ต้องทิ้งถังไว้

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ BOD จำเป็นอย่างยิ่งเพราะค่า BOD เป็นตัวกำหนดว่าน้ำ นั้นจะมีคุณภาพเป็นอย่างไร เกิดการเน่าเสียหรือไม่ ได้ตามเกณฑ์มาตรฐานตาม พรบ. กรมโรง งานอุตสาหกรรมที่กำหนดให้ปล่อยลงสู่ลำน้ำสาธารณะได้หรือไม่ จึงได้ทดลองนำวิธีวิเคราะห์ หา BOD ที่ได้ทำอยู่ในห้องปฏิบัติการมาปรับปรุงเล็กน้อย และพัฒนาในรูปของการใช้เครื่องมือ วิเคราะห์แทนการไทเทรตด้วยสารเคมี เพราะจะสะดวก รวดเร็ว และได้ผลงานที่มากกว่า ดังนั้น จึงได้ทดลองเปรียบเทียบค่าที่ได้จากการวัดเครื่อง และการไทเทรตว่ามีความใกล้เคียงกัน หรือ ต่างกันมากน้อยเพียงใด และมีความถูกต้องแม่นยำเพียงใด ถ้าค่าที่ได้ใกล้เคียงกัน แสดงว่าการ พัฒนาวิธีวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือ DO meter สามารถแทนวิธีเดิมได้เป็นอย่างดี และลดขั้นตอน การไทเทรตด้วยสารเคมี ซึ่งเสียเวลามาก ทำให้วิเคราะห์ตัวอย่างได้มากขึ้นกว่าเดิม ดังนั้น จึงได้ ทดลองใช้วัดค่ากับเครื่อง DO meter ซึ่งเป็นหลักการที่นำ probe ที่มีไบโพลาร์ตัวอย่างติดอยู่ จุ่ม ลงในขวด BOD 300 มิลลิลิตร ซึ่งมีสารตัวอย่างอยู่เต็ม หรือทำให้เจือจาง (dilute) ด้วยน้ำกลั่นจน เต็มขวด จะอ่านค่า DO เป็นมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ที่หน้าปัดของเครื่องโดยมิต้องคำนวณเลข เพียงแต่ต้องปรับตั้งเครื่องให้ถูกต้องแม่นยำตามวิธีการของเครื่องก่อน และเพื่อความสะดวก เครื่องนี้สามารถต่อกับเครื่องคอมพิวเตอร์ที่มีเครื่องพิมพ์ และมี Bar Code ติดพวงด้วย ทำให้เมื่อ เรารูด Bar Code และสั่งพิมพ์ เครื่องจะพิมพ์ ออกมาเป็นค่า มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) เช่นเดียวกับ DO meter นำค่า DO 0 วัน และ 5 วันที่ได้มาคำนวณเป็นค่า  $BOD_5$  ที่  $20^{\circ}$  เซลเซียส ( $^{\circ}C$ ) หรือค่า BOD นั้นเอง เหตุที่ต้องหาวิธีการที่สะดวก รวดเร็ว ง่าย และถูกต้อง แม่นยำ เพราะสาเหตุหลาย ประการ คือ

1. ตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณ BOD ควรต้องวิเคราะห์ภายใน 6 ถึง 24 ชั่วโมง จึงจะได้ ค่าที่ถูกต้อง และขั้นตอนในการทำ BOD มีมากมาย ตั้งแต่การปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH), การเจือจางตัวอย่าง (dilution), การเตรียมตัวอย่างให้เหมาะสม และอื่นๆ ดังที่ได้กล่าวมา ทำให้

เสียเวลาอย่างน้อยครึ่งวันเช้า สำหรับตัวอย่าง 15 ตัวอย่าง เมื่อทำคนเดียว กับ 30-40 ตัวอย่าง เมื่อทำอย่างน้อย 2 คนขึ้นไป

2. การวัดค่า BOD เมื่อตัวอย่างมี 30 ตัวอย่าง จะต้องวัดถึง 97 ครั้ง ครั้งละประมาณ 1 ถึง 2 นาที กินเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ในขณะที่การไทเทรตด้วยสารเคมีต้องใช้เวลาในการเติมสารเคมี ทำให้สารเคมีตกตะกอน ละลายตะกอนด้วยกรด แล้วจึงดูดตัวอย่างมาไทเทรต ซึ่งกินเวลามากกว่าการวัดด้วยเครื่องเกือบ 2 เท่า ทำให้ใน 1 วันไม่สามารถหา BOD ได้มากนัก (ตัวอย่าง 97 ครั้ง หรือ 97 ขวด BOD คือ เป็น DWC 2 ขวด , Seed 3 ขวด, Glucose 2 ขวด และตัวอย่างละ 3 ค่า 30 ตัวอย่าง คือ 90 ค่า)

3. เนื่องจากตัวอย่างที่โรงงานอุตสาหกรรม และ หน่วยงานอื่นส่งมาวิเคราะห์นั้น ใน 1 สัปดาห์ กรมวิทยาศาสตร์บริการจะรับวิเคราะห์ตัวอย่างได้ 50 ตัวอย่าง ซึ่งส่วนมากจะวิเคราะห์หา BOD โดยเฉลี่ยใน 1 สัปดาห์จะหาค่า BOD 30 ถึง 48 ตัวอย่าง และในการเริ่มทำ DO จะต้องเริ่มในวันพุธ พฤหัสบดี และศุกร์ และจะต้องออกค่า DO 5 วัน ในวันจันทร์ อังคาร และพุธ ของสัปดาห์ถัดไป จึงจะนำค่า DO ทั้ง 2 ค่า มาคำนวณเป็นค่า BOD<sub>5</sub> ที่ 20<sup>o</sup>เซลเซียส ได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาวิธีเพื่อพัฒนาวิธีการให้เหมาะสมมีความสะดวกรวดเร็วทันต่อเวลาที่จำกัดเพื่อใช้ในห้องปฏิบัติการวิเคราะห์น้ำเสียของกรมวิทยาศาสตร์บริการ

#### 1.1 วัตถุประสงค์ในการวิจัย

- เพื่อพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณ BOD โดยนำวิธีที่คาดว่าจะดี เปรียบเทียบกับวิธีการเดิมว่าวิธีไหนให้ความถูกต้อง แม่นยำ สะดวก รวดเร็ว และเสียเวลาน้อยกว่ากัน ในที่นี้ ใช้วิธีวัดด้วยเครื่อง Dissolved Oxygen (DO meter) เปรียบเทียบกับวิธีไทเทรตด้วยสารเคมีตาม Winkler Method

#### 1.2 ขอบเขตของการวิจัย

- นำตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมทุกประเภทที่โรงงานส่งมาให้วิเคราะห์หาปริมาณ BOD มาทำตามขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ (pretreatment) และนำตัวอย่างมาหา ความเข้มข้นที่เหมาะสม

- นำตัวอย่างน้ำทิ้งที่ใส่ dilution water seed เปรียบเทียบกับตัวอย่างน้ำทิ้งที่ไม่ใส่ dilution water seed เพื่อหาวิธีที่ดีกว่า

- นำตัวอย่างน้ำทิ้งที่ใส่ seed มาเปรียบเทียบกับค่าระหว่างวิธีวัดด้วยเครื่อง Dissolved Oxygen (DO meter) กับวิธีไทเทรตด้วยสารเคมีตาม Winkler Method

### 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ผลจากการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ BOD ที่ได้สำเร็จนี้ ได้นำไปใช้ในห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์บริการ และสามารถนำไปถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือเผยแพร่ให้แก่ห้องปฏิบัติการทั้งของภาครัฐและภาคเอกชนที่สนใจจะหาวิธีการวิเคราะห์ BOD ที่เหมาะสม รวดเร็ว รัดกุมและมีข้อผิดพลาดน้อยที่สุด

## บทที่ 2

### การดำเนินงานวิจัย

2.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง คือ ตัวอย่างน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ

2.2 สถานที่ทำการทดลอง กรมวิทยาศาสตร์บริการ

วันที่ทำการทดลอง ธันวาคม 2538 - กุมภาพันธ์ 2539

2.3 เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. ขวดอินคิวเบท (incubation bottles) หรือขวดบีโอดี (BOD) ขนาด 300 มิลลิลิตร ซึ่งมีจุกปิดเป็น ground joint (ตามภาคผนวก)
2. ตู้อินคิวเบท (incubator) สามารถควบคุม และปรับอุณหภูมิได้เองโดยอัตโนมัติ ที่  $20 \pm 1^{\circ}$  เซลเซียส ( $^{\circ}\text{C}$ ) (ตามภาคผนวก)
3. อุปกรณ์เครื่องแก้วต่างๆ เช่น บิวเรท (burette) ขวดเออเลนเมเยอร์ (Erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร กระจกตวงขนาด 1 ลิตร
4. น้ำยาเคมี เช่น Manganese Sulfate ( $\text{MnSO}_4$ ) หรือ Alkali-Iodide -Azide (A-I-A) เป็นต้น
5. ชุด Dissolved Oxygen Meter (DO Meter) ซึ่งประกอบไปด้วย probe ที่ใช้จุ่มในตัวอย่างที่อยู่ในขวด BOD เพื่อวัดปริมาณ  $\text{O}_2$  โดยการกวนให้เข้ากัน พร้อมเครื่องคอมพิวเตอร์ และ Bar Code (ตามภาคผนวก)
6. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำ ซึ่งอาจเป็นขวดแก้ว หรือโพลีเอทิลีน หรืออุปกรณ์เก็บตัวอย่างในสนาม หรืออุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำอัตโนมัติ (ตามภาคผนวก)

2.4 การเก็บรักษาตัวอย่าง

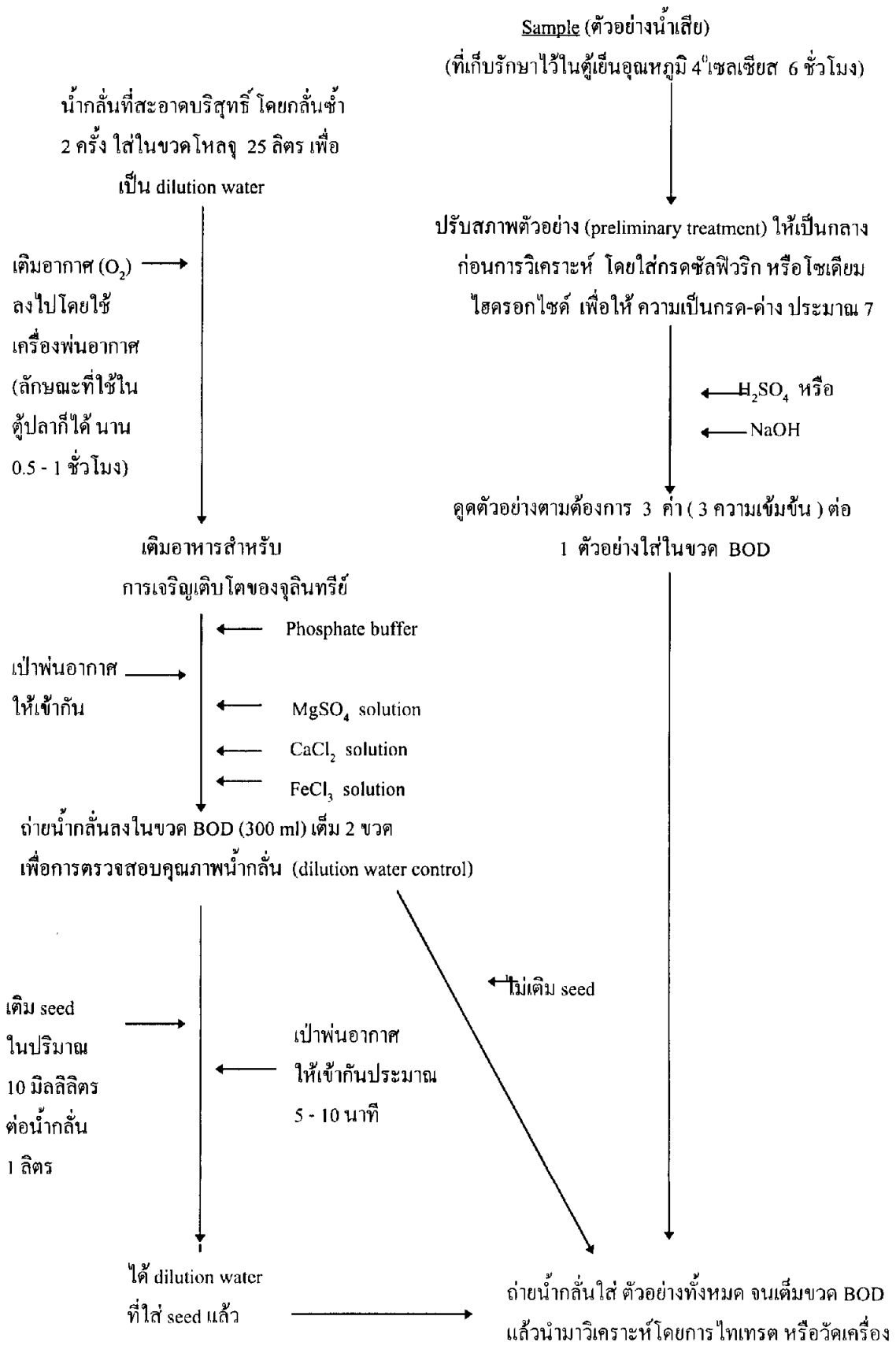
เก็บตัวอย่างในตู้เย็นอุณหภูมิ  $4^{\circ}$  เซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง

2.5 มาตรฐานน้ำทิ้ง

ตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม (ฉบับที่ 12 พ.ศ. 2525) ออกตามความในมาตรา 39(6) แห่ง พรบ.โรงงาน พ.ศ. 2512 กำหนดให้น้ำทิ้งที่ระบายออกนอกโรงงานลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะ มีค่า BOD (5 วันที่อุณหภูมิ  $20^{\circ}$  เซลเซียส) ไม่มากกว่า 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

### บทที่ 3.

#### 3.1 แผนการทดลอง



## วิธีการวิเคราะห์ BOD มี 2 วิธี คือ

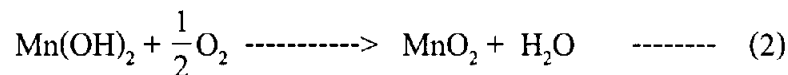
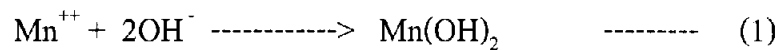
1. Direct Method ใช้ในกรณีน้ำตัวอย่างมีค่า BOD ไม่เกิน 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ( mg/l ) ไม่จำเป็นต้องนำตัวอย่างมาทำให้เจือจาง

2. Dilution Method เป็นการนำตัวอย่างน้ำทิ้งให้เจือจางก่อนนำมาวิเคราะห์โดยปกติตัวอย่างน้ำทิ้งจะมีค่า BOD สูงกว่า 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ( mg/l ) ดังนั้นจึงใช้วิธี Dilution method ในการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์บริการทุกครั้ง

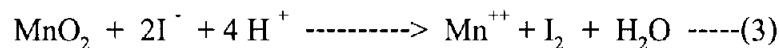
นำตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ เช่น โรงงานน้ำอัดลม โรงงานฟอกย้อม โรงงานแช่แข็ง โรงงานอาหาร เป็นต้น มาหาปริมาณ BOD โดยวิธี dilution method โดยนำน้ำกลั่น dilution water ที่ไม่ใส่ seed และที่ใส่ seed แล้วมาวัดด้วยเครื่อง DO (DO meter) เพื่อเปรียบเทียบว่าวิธีไหนดีกว่า และนำวิธีนั้นมาวิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างการใช้สารเคมีตามวิธี Winkler method กับวิธีวัดด้วยเครื่อง DO

### วิธี Winkler Method มีวิธีดังนี้

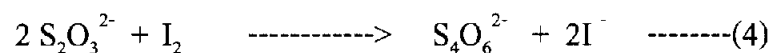
นำตัวอย่างน้ำทิ้งที่จะวิเคราะห์ค่า BOD ใส่ขวด BOD เต็มน้ำ dilution water จนเต็มขวด เติมสารละลาย Manganese sulphate และ Alkali-Iodide-Azide ลงในน้ำตัวอย่าง Manganese sulphate จะถูกออกซิไดส์โดยออกซิเจนในน้ำ ในสารละลายที่เป็นด่าง ดังสมการ



จะเกิดตะกอนสีน้ำตาลแดงของ  $\text{MnO}_2$  แต่ถ้าไม่มีออกซิเจนในน้ำ จะได้ตะกอนสีขาว ดังสมการ (1) แล้วละลายตะกอน  $\text{MnO}_2$  ด้วยกรดซัลฟิวริก ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) ซึ่ง  $\text{MnO}_2$  จะ oxidise KI ในสารละลายที่เป็นกรด ดังสมการ



หาปริมาณของ  $\text{I}_2$  ได้โดย ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน sodium thiosulfate โดยใช้ น้ำแข็ง เป็น indicator



จากสมการ (2), (3), (4) จะเห็นว่าจำนวนสมมูลของออกซิเจน เท่ากับจำนวนสมมูลของ thiosulfate ( $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ) พอดี ดังนั้นจำนวนสมมูล thiosulfate ที่ใช้ในการไทเทรต คือ จำนวนสมมูลของออกซิเจนในน้ำนั้น

ดังนั้นค่าที่ได้จากการไทเทรตจะเป็นค่าของ DO ( 0 วัน หรือ 5 วัน ) ของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ และคำนวณเป็นค่า  $BOD_5$  ที่  $20^{\circ}$  เซลเซียสได้โดยใช้สูตรการคำนวณ วิธีวัดด้วยเครื่อง DO ( DO meter ) จะมีหลักการวัดดังนี้

นำตัวอย่างน้ำทิ้งที่จะวิเคราะห์ค่า BOD ใส่ขวด BOD เติมน้ำ dilution water จนเต็มขวด นำหัว Probe ที่ติดอยู่กับเครื่องอ่านค่า DO โดยสายไฟ ไปจุ่มลงในขวด BOD ซึ่งปากขวดหัว Probe จะปิดกันสนิทพอดี เปิดสวิตช์ที่หัว Probe จะทำให้ใบพัดที่ Probe หมุนพร้อมกับกวาดตัวอย่างสารละลายในขวดให้เป็นไปโดยสม่ำเสมอ ทำให้เครื่องอ่านค่าออกซิเจนที่เกิดขึ้นได้อย่างคงที่ ซึ่งจะอ่านค่า DO 0 วัน หรือ 5 วัน ได้เป็นมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l )เช่นกัน และเพื่อให้สะดวกยิ่งขึ้น เครื่องนี้สามารถต่อกับเครื่องคอมพิวเตอร์ที่มีเครื่องพิมพ์ และมี bar code ติดพ่วงด้วย เมื่อป้อนโปรแกรมคำสั่งเข้าไป และรูด bar code เครื่องจะพิมพ์ผลที่ได้ออกมาในเวลาที่รวดเร็ว เป็นค่า มิลลิกรัมต่อลิตร(mg/l )เช่นกัน

ในการทำตัวอย่างน้ำทิ้งให้เจือจางตามวิธี Dilution method นั้น มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ ( pretreatment ) และการวิเคราะห์มากมายเพื่อป้องกันการสับสนควรทำตามหัวข้อที่กำหนดไว้

### 3.2 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์และการวิเคราะห์หา DO โดยวิธี dilution method มีขั้นตอนดังนี้

#### 3.2.1 เตรียมน้ำกลั่นที่ปราศจากสารพิษ เพื่อให้เป็น dilution water

โดยใช้น้ำกลั่นซ้ำ 2 ครั้ง ที่แช่ไว้แล้วในตู้เย็น  $20^{\circ}$  เซลเซียส นานพอสมควรที่น้ำกลั่นนั้นจะมีอุณหภูมิ  $20^{\circ}$  เซลเซียส เทใส่ขวดโหลจุ 25 ลิตร

เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์(phosphate buffer) แมกนีเซียมซัลเฟต (magnesium sulfate solution) แคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride solution) เฟอริกคลอไรด์ (ferric chloride solution) อย่างละ 1 มิลลิลิตร ต่อ น้ำกลั่น 1 ลิตร เป็นการเติมสารอาหาร ปรับความเป็นกรดค่า (pH) และอุณหภูมิให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

เติมอากาศลงไปใต้น้ำกลั่น เพื่อทำให้ออกซิเจนละลายจนอิ่มตัว โดยใช้เครื่องเป่าอากาศ นานประมาณ 1 ชั่วโมง จะได้น้ำกลั่น dilution water ที่พร้อมจะเติมลงในตัวอย่างเพื่อทำให้เจือจางก่อนนำมาหา DO

#### 3.2.2. เติมจุลินทรีย์ (Seeding)

เติมจุลินทรีย์ “ seed ” ลงใต้น้ำกลั่นdilution water ที่เตรียมไว้แล้ว ในปริมาณ 10 มิลลิลิตร ต่อ 1 ลิตรของ dilution water (หรือแล้วแต่ความเข้มข้นของสารละลายที่จะใช้ทำเป็น seed เช่นถ้า

ใช้น้ำจากส้วม อาจจะใช้เพียง 2 มิลลิลิตรต่อ 1 ลิตรของ dilution water) จะได้น้ำ dilution water ที่ใส่ seed หรือ dilution water seed.

เนื่องจากออกซิเจนในอากาศสามารถละลายในน้ำได้น้อยมาก คือประมาณ 9 มิลลิกรัมต่อลิตร ในน้ำบริสุทธิ์ที่ 20 °เซลเซียส ดังนั้นในตัวอย่างน้ำทิ้งซึ่งมีความสกปรก จำเป็นจะต้องทำให้ปริมาณความสกปรกเจือจางลงอยู่ในระดับ ซึ่งเพียงพอกับปริมาณออกซิเจนที่ต้องการใช้ตลอดระยะเวลา 5 วัน การวิเคราะห์นี้ เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ในน้ำ จึงจำเป็นต้องทำให้มีสภาพที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยไม่มีสารเป็นพิษ แต่มีอาหารสำหรับจุลินทรีย์ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เป็นต้น นอกจากนี้การย่อยสลายสารอินทรีย์ให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ กระทำโดยจุลินทรีย์หลายชนิด จึงจำเป็นต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เหล่านี้เพียงพอกอยู่ในน้ำตัวอย่างที่จะทำการวิเคราะห์ซึ่งน้ำทิ้งจากบางโรงงานมีจุลินทรีย์อยู่เพียงพอแล้ว แต่บางโรงงานอาจไม่มีหรือมีปริมาณน้อยไป ควรเติมจุลินทรีย์ลงไป ซึ่งเรียกว่า “Seed” การเติม seed จะขึ้นอยู่กับชนิดของ seed ที่ใส่ลงไป เช่น Settled fresh sewage, River water, Activated sludge, Settled stale sewage, Trickling filter sewage จะใส่แตกต่างกัน เช่น ใช้ 10 ถึง 20 มิลลิลิตรต่อตัวอย่าง น้ำ dilution water 1 ลิตร ถ้าตัวอย่างสกปรกน้อย หรือ ใช้ 2 มิลลิลิตรต่อตัวอย่าง dilution water 1 ลิตร ถ้าตัวอย่างสกปรกมาก เป็นต้น

seed ที่ใช้ทดลองนี้ใช้จากน้ำในสระของตึก ดร. ต้ว ลพานุกรม กรมวิทยาศาสตร์บริการ ในปริมาตร 10 มิลลิลิตรต่อตัวอย่าง dilution water 1 ลิตร

### 3.2.3. การเตรียมตัวอย่างน้ำทิ้งก่อนการวิเคราะห์ (Pretreatment)

3.1 ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำทิ้งมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ไม่เป็นกลาง จะต้องทำให้เป็นกลางเสียก่อน โดยเติมกรดซัลฟิวริก หรือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 Normal (N) จนกระทั่งตัวอย่างนั้นมี ค่าความเป็นกรด-ด่าง ประมาณ 7

3.2 ในกรณีที่ตัวอย่างน้ำทิ้งมีสารประกอบคลอรีนตกค้าง จะต้องกำจัดก่อน โดยอาจตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 ถึง 2 ชั่วโมง (ถ้าคลอรีนน้อย) หรือเติมสารละลายโซเดียมซัลไฟด์ ( $\text{Na}_2\text{S}$ ) ที่ได้จากการคำนวณหา กวนให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 10 ถึง 20 นาที

### 3.2.4. วิธีทำตัวอย่างที่มีความสกปรกให้เจือจางลง (Dilution technic)

เนื่องจากตัวอย่างน้ำทิ้งแต่ละตัวอย่าง แต่ละโรงงานมีความสกปรกมากน้อยต่างกัน ดังนั้นเพื่อให้การวิเคราะห์ได้ค่าที่ต้องการ โดยไม่ต้องเสียเวลาทำใหม่อีกอย่างน้อย 1 สัปดาห์ และค่าที่ได้ไม่ผิดไปเนื่องจากระยะเวลาที่นานเกิน 24 ชั่วโมงจึงควรทำอย่างน้อย 3 ความเข้มข้นต่อ 1 ตัวอย่างเพื่อให้ครอบคลุมถึงค่าที่จะได้สำหรับการรายงานผล เมื่อเติมน้ำกลั่น dilution water ให้เจือจางแล้ว นำมาหาค่า DO 0 วัน ( $D_0$ ) และนำไป incubate ครบ 5 วัน จึงนำมาหาค่า DO 5 วัน

( $D_2$ ) อีกครั้งแล้วนำมาเข้าสู่ตรรกการคำนวณเป็นค่า BOD ออกมา เนื่องจากตัวอย่างน้ำทิ้งมีหลายประเภท ได้มีการแนะนำดังนี้

ตัวอย่าง strong waste (น้ำเสียที่สกปรกมาก)	ใช้ dilution 0.1 ถึง 1.0 %
raw waste + settled sewage (น้ำเสียทั่วไป)	ใช้ dilution 1 ถึง 5 %
oxidizing effluent ( น้ำเสียที่ผ่านการบำบัด )	ใช้ dilution 5 ถึง 25 %
polluted river water ( น้ำแม่น้ำ )	ใช้ dilution 25 ถึง 100 %

### 3.2.5. การอินคิวเบต (incubation)

ตัวอย่างที่เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิ(incubator) 20<sup>0</sup>เซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เป็นการ incubate เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์ทำงานได้ผลดีในสภาพที่เหมาะสม หลังจาก incubate ครบ 5 วัน ที่อุณหภูมิ 20<sup>0</sup>เซลเซียส แล้ว นำมาหาค่า DO ซึ่งคือ DO 5วันนั่นเอง โดยตัวอย่างที่ใช้ได้จะต้องมีค่า DO ( $D_2$ ) เหลืออยู่อย่างน้อย 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) และมีการใช้ออกซิเจน( $D_1 - D_2$ )ไปอย่างน้อย 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงนำค่าที่ใช้ได้นี้มาคำนวณหาค่า BOD<sub>5</sub> ที่ 20<sup>0</sup>เซลเซียส

### 3.2.6. การแก้ seed (Seed correction)

เมื่อตัวอย่างใส่ seed จะต้องมีการแก้ seed (Seed correction) โดยนำ seed มาทำให้เจือจาง (dilution) นำมาหาค่าออกซิเจน (DO 0 วัน) แล้วนำไป incubate เช่นเดียวกับน้ำตัวอย่าง หลังจากนั้นนำมาหาค่าการใช้ออกซิเจน 5 วัน เลือกค่า ที่มีการใช้ออกซิเจนระหว่าง 40 ถึง 70 % สำหรับนำมาคำนวณตั้งสูตรการคำนวณข้างท้าย ส่วนรายละเอียดของวิธีการคำนวณได้ยกตัวอย่างจากตารางที่ 1 ตัวอย่างที่ 1 ไว้ในภาคผนวกแล้ว

### 3.2.7. การตรวจสอบคุณภาพน้ำกลั่นที่ใช้ทำ dilution water (Dilution Water Control = DWC)

เติม dilution water ที่ยังไม่ได้ใส่ seed ลงในขวด BOD นำไปหาค่า DO 0 วัน และนำไป incubate 5 วัน ที่อุณหภูมิ 20<sup>0</sup>เซลเซียส หลังจาก 5 วัน นำมาหาค่าการใช้ออกซิเจน DO 5 วัน ค่าที่ได้ระหว่างวันแรก และวันที่ห้า ( DO 0 วัน ลบ DO 5 วัน หรือ  $D_1 - D_2$  ) ไม่ควรเกิน 0.2 มิลลิตร ถ้าเกินไม่ควรนำมาใช้เป็นค่า blank correction แสดงว่าน้ำกลั่นที่ใช้มีคุณภาพไม่ได้มาตรฐาน

### 3.2.8. การตรวจสอบโดยใช้กลูโคส-กรดกลูตามิก (glucose-glutamic acid check)

เนื่องจากน้ำกลั่นที่ใช้อาจมีสารพิษปลอมปน โดยเฉพาะทองแดง ซึ่งจะทำให้ seed มีประสิทธิภาพลดลง ค่า BOD ก็จะต่ำลง ตรวจสอบโดยใช้สารประกอบอินทรีย์บริสุทธิ์ ที่ทราบค่า BOD แล้ว คือ กลูโคส และ กรดกลูตามิก อย่างละ 150 มิลลิกรัมเติมน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร และ

จุดใส่ขวด BOD ขวดละ 5 มิลลิลิตร 3 ขวด ค่า BOD ที่คำนวณได้ภายหลัง 5 วัน ควรมี BOD =  $200 \pm 37$  มิลลิกรัมต่อลิตร

### 3.2.9. การวิเคราะห์หา DO

นำตัวอย่างที่ pretreatment แล้วมาไทเทรตด้วยสารเคมี โดยวิธี Winkler method หรือนำมาวัดด้วยเครื่องวัดออกซิเจน ( DO method ) ซึ่งวิธีการทั้งสองได้กล่าวแล้วข้างต้น จะได้ค่า DO 0 วัน ( ก่อน incubate ) และ DO 5 วัน ( หลัง incubate ครบ 5 วัน ) เพื่อนำมาเข้าสู่การคำนวณ BOD ต่อไป

#### การคำนวณ

1) ค่า BOD เมื่อไม่ได้ใส่ seed

$$\text{BOD, มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l)} = \frac{D_1 - D_2}{P}$$

เมื่อ  $D_1$  = DO of diluted sample 15 minutes after preparation

$D_2$  = DO of diluted sample after incubation

p = decimal fraction of sample used

2) ค่า BOD เมื่อใส่ seed

$$\text{BOD, มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l)} = \frac{(D_1 - D_2) - (B_1 - B_2)f}{p}$$

เมื่อ  $D_1$  = DO of diluted sample 15 minutes after preparation

$D_2$  = DO of diluted sample after incubation

$B_1$  = DO of dilution of seed control before incubation

$B_2$  = DO of dilution of seed control after incubation

p = decimal fraction of sample used

f = ratio of seed in sample to seed in control

= % seed in  $D_1$  / % seed in  $B_1$

seed correction =  $(B_1 - B_2)f$

### 3.3 การทดลอง

สุ่มตัวอย่างน้ำเสียประเภทต่างๆ เช่น โรงงานน้ำอัดลม โรงงานฟอกย้อม โรงงานผลิตอาหาร เป็นต้น จำนวน 10 ตัวอย่าง ( ดังตารางที่ 1 ) มาทำการทดสอบว่าตัวอย่าง ที่ไม่ใส่ seed เมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง DO แล้ว วิธีไหนดีกว่ากัน โดยตัวอย่างที่ใส่ seed จะต้องมียุคสูงกว่า หรือเท่ากับตัวอย่างที่ไม่ใส่ seed เพราะมีจุลินทรีย์อยู่ในปริมาณพอเหมาะ วิธีการคือเลือกตัวอย่างแต่ละตัวอย่างมา 3 ค่า ที่ความเข้มข้นต่างกันแล้วแต่ประเภทของตัวอย่างตั้งได้กล่าวข้างต้นแล้ว เมื่อได้อัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำทิ้งแต่ละตัวอย่างแล้ว ปิเปตต์ ตัวอย่างใส่ขวด BOD ดังต่อไปนี้

ตัวอย่างที่ 1 ปิเปตต์ ตัวอย่าง 5, 20, 50 มิลลิลิตร ใส่ขวด BOD จำนวน 2 ชุด โดยชุดที่ 1 เติมน้ำกลั่น dilution water ที่ได้เตรียมไว้แล้ว ดังวิธีในข้อ 3.2.1 ให้เต็มขวด BOD จะได้ค่าตัวอย่างที่ไม่ใส่ seed ส่วนชุดที่ 2 นำน้ำกลั่น dilution water เติมใส่ seed ลงไปในปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร และเติมน้ำกลั่น dilution water ที่ใส่ seed แล้ว ลงไปจนเต็มขวด BOD นำน้ำตัวอย่างทั้ง 2 ชุด มาวัดหาค่า DO 0 วัน โดยเครื่อง DO meter ซึ่งจากตารางที่ 1 จะได้

DO 0 วันของค่า 5 มิลลิลิตรจะได้ 8.89 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ทั้งตัวอย่างที่ไม่ใส่ seed และใส่ seed  
 DO 0 วันของค่า 20 มิลลิลิตรจะได้ 8.58 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ทั้งตัวอย่างที่ไม่ใส่ seed และใส่ seed  
 DO 0 วันของค่า 50 มิลลิลิตรจะได้ 7.40 และ 7.39 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) ทั้งตัวอย่างที่ไม่ใส่ seed และใส่ seed ตามลำดับ

หลังจากนั้นนำไป incubate ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 20<sup>o</sup>เซลเซียส เป็นเวลา 5 วันเมื่อครบกำหนดนำออกมาหาค่า DO อีกครั้ง ซึ่งคือค่า DO 5 วัน นั้นเอง จากตารางที่ 1 จะได้

DO 5วันของค่า 5 มิลลิลิตร จะได้ 8.0 และ 7.91 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งตัวอย่างที่ไม่ใส่ seed และใส่ seed  
 DO 5วันของค่า 20 มิลลิลิตรจะได้ 5.56 และ 5.51 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งตัวอย่างที่ไม่ใส่ seed และใส่ seed  
 DO 5วันของค่า 50 มิลลิลิตรจะได้ 0.82 และ 0.70 มิลลิกรัมต่อลิตรทั้งตัวอย่างที่ไม่ใส่ seed และใส่ seed จะเห็นได้ว่าเมื่อนำ DO 0 วัน (  $D_1$  ) มาลบกับ DO 5 วัน (  $D_2$  ) จะได้ค่าที่ใช้ได้เพียง 1 ค่า คือค่า 20 มิลลิตรต่อลิตร ( เพราะเข้าหลักเกณฑ์ที่ว่าตัวอย่างที่ใช้ได้จะต้องมีค่า DO (  $D_2$  ) เหลืออยู่อย่างน้อย 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีการใช้ออกซิเจน (  $D_1 - D_2$  ) ไปอย่างน้อย 2 มิลลิกรัมต่อลิตร )

ดังตัวอย่างที่ 1 เมื่อคำนวณหาค่า  $BOD_5$  ที่ 20<sup>o</sup>เซลเซียสจะได้ค่า 45 และ 46 มิลลิกรัมต่อลิตรสำหรับตัวอย่างที่ไม่ใส่ seed และใส่ seed ตามลำดับ ตัวอย่างที่ 2, 3, 4,.....10 ก็ทำเช่นเดียวกับตัวอย่างที่ 1 เพียงแต่เปลี่ยนค่าความเข้มข้นที่ใช้ตามความเหมาะสมของตัวอย่าง จะเห็นได้ว่าตัวอย่าง 9 ตัวอย่างใน 10 ตัวอย่าง ( 90 เปอร์เซ็นต์ ) จะมีค่า BOD ที่ใส่ seed สูงกว่า ไม่ใส่ seed

และสูงมากเรื่อยๆ ตามค่าที่สูงของ BOD ด้วยซึ่งความแตกต่างกัน อยู่ระหว่าง 1 ถึง 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ยกเว้น ตัวอย่างที่ 3 ที่เท่ากัน จากการทดลองนี้จึงเลือกใช้วิธีการใส่ seed ใน ตัวอย่างน้ำทิ้ง เพราะเมื่อเทียบกับการไม่ใส่ seed แล้วมีค่าสูงกว่า ซึ่งตามหลักการด้านชีววิทยา จุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำทิ้งที่มีสภาพเหมาะสมสามารถทำลายอินทรีย์สารได้ดี น่าจะเป็นค่าที่ถูกต้อง และวิธีที่กำหนดไว้ในหนังสือ standard method ในปัจจุบัน กำหนดให้ ใช้วิธีใส่ seed เช่นกัน

ตารางที่ 1 - แสดงการเปรียบเทียบค่า BOD<sub>5</sub> ที่ 20<sup>o</sup>เซลเซียส (°C) ของน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่ไม่ใส่ seed และใส่ seed ในตัวอย่างโดยนำมาวัดด้วยเครื่อง DO

ตัวอย่าง	pH ที่อ่านได้	ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ ml	ไม่ใส่ seed + วัดเครื่อง DO				ใส่ seed + วัดเครื่อง DO			
			D <sub>1</sub> (DO 0วัน) mg/l	D <sub>2</sub> (DO 1วัน) mg/l	Depletion (D <sub>1</sub> - D <sub>2</sub> ) mg/l	BOD <sub>5</sub> ที่ 20°C mg/l	D <sub>1</sub> (DO 0วัน) mg/l	D <sub>2</sub> (DO 1วัน) mg/l	Depletion (D <sub>1</sub> - D <sub>2</sub> ) mg/l	BOD <sub>5</sub> ที่ 20°C mg/l
DWC		300	8.90	8.90	0	-	8.90	8.90	0	-
		300	8.91	8.90	0.01	-	8.91	8.90	0.01	-
Seed		100	8.90	7.52	1.38	-	8.90	7.45	1.45	-
		200	8.87	5.88	2.99	-	8.87	5.78	3.09	-
		300	8.64	3.68	5.18	5	8.64	3.60	5.04	5
Glucose - glutamic acid		5	8.89	5.46	3.43	204	8.91	5.21	3.70	215
		5	8.91	5.54	3.37		8.90	5.30	3.60	
ตัวอย่างที่ 1	7.2	5	8.89	8.0	0.89		8.89	7.91	0.97	
		20	8.58	5.56	3.02	45	8.58	5.51	3.07	46
		50	7.40	0.82	6.58		7.39	0.70	6.69	
ตัวอย่างที่ 2	8.3	20	8.90	8.0	0.90		8.90	7.93	0.97	
		50	8.84	6.2	2.64	16	8.78	5.71	3.07	17
		100	8.60	0.91	7.69		8.51	0.73	7.78	
ตัวอย่างที่ 3	6.9	5	8.90	8.66	0.24		8.90	8.56	0.34	
		20	8.53	7.31	1.22	19	8.51	7.17	1.34	
		50	8.10	5.01	3.09		8.10	4.96	3.14	19
ตัวอย่างที่ 4	7.0	20	8.83	7.38	1.45		8.81	7.18	1.63	
		50	7.95	3.98	3.97	24	7.95	3.70	4.25	25
		100	6.32	0.02	6.30		6.32	0.09	6.32	
ตัวอย่างที่ 5	8.6	20	8.71	8.21	0.50		8.69	8.09	0.60	
		100	7.55	6.50	1.05		7.52	6.19	1.33	4
		200	5.52	3.50	2.02	3	5.52	3.11	2.41	
ตัวอย่างที่ 6	9.8	5	8.89	5.74	3.15	189	8.89	5.60	3.29	197
		20	8.58	0.21	-		8.58	0.20	-	
		50	8.09	0.10	-		8.10	0.12	-	
ตัวอย่างที่ 7	7.5	10	8.89	7.13	1.76		8.89	6.95	1.94	
		20	8.73	5.27	3.46	52	8.72	4.91	3.81	57
		50	7.95	0.02	-		7.92	0.02	-	
ตัวอย่างที่ 8	3.6	5	8.91	6.74	2.17	130	8.90	6.61	2.29	137
		20	8.73	0.10	-		8.72	0.08	-	
		50	8.14	0.00	-		8.12	0.00	-	
ตัวอย่างที่ 9	7.1	20	8.81	7.49	1.32		8.81	7.50	1.31	
		50	8.50	5.59	2.91	17	8.50	5.33	3.17	18
		100	7.30	1.63	5.67		7.28	1.66	5.62	
ตัวอย่างที่ 10	7.8	5	8.91	7.75	1.16		8.90	7.65	1.25	
		20	8.72	4.52	4.20	63	8.70	4.10	4.60	69
		50	8.19	0.00	-		8.21	0.10	-	

ผลที่ได้จากตารางคือ ค่า BOD ที่ใส่ seed จะสูงกว่าที่ไม่ใส่ seed 9 ตัวอย่างจาก 10 ตัวอย่าง ยกเว้น ตัวอย่าง 3 ที่มีค่าเท่ากัน) เพราะการใส่ seed เป็นการปรับสภาพน้ำทิ้งให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในการทำลายสารอินทรีย์ในน้ำทิ้ง

และเนื่องจากการใส่ seed ลงในตัวอย่างน้ำทิ้งและน้ำกลั่น dilution water ที่มีสารอาหารเป็นการปรับสภาพน้ำให้เหมาะสมและมีจุลินทรีย์เพียงพอในการทำลาย organic matter หรือความสกปรกของน้ำทิ้งนั้นเมื่อทดลองว่าน้ำที่ใส่ seed ได้ผลดี จึงนำวิธีการใส่ seed มาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป เพื่อเปรียบเทียบว่าวิธีการไทเทรตด้วยสารเคมีตามวิธี winkler method กับวิธีวัดด้วยเครื่อง DO meter ซึ่งได้นำมาพัฒนาให้มีวิธีการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว ประหยัดเวลา ทำตัวอย่างได้มากขึ้นในเวลาจำกัด ประหยัดสารเคมี ลดขั้นตอนการวิเคราะห์ สามารถอ่านได้เป็นค่า มิลลิกรัมต่อลิตรเลยโดยไม่ต้องคำนวณกลับและถ้าผลการเปรียบเทียบสามารถบอกได้ว่า ค่านี้ได้ถูกต้องแม่นยำ และมีค่าใกล้เคียงกับวิธีเดิม แสดงว่าควรนำวิธีการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง DO มาใช้ จะดีกว่า ดังเหตุผลที่กล่าวแล้วจึงได้นำตัวอย่าง 10 ตัวอย่างมาทำการทดลองใหม่ (เหตุที่ไม่ใช้ตัวอย่างเดิมเพราะตัวอย่างที่ส่งมาให้วิเคราะห์มีปริมาณน้อย จึงต้องนำตัวอย่างใหม่ที่มีปริมาณพอเพียงสำหรับการวิเคราะห์ในแต่ละชุดมา ) โดยนำตัวอย่างน้ำจำนวน 10 ตัวอย่างมาทำใส่ seed เป็น dilution water seed และนำมาไทเทรตด้วยสารเคมีชุดหนึ่ง ส่วนอีกชุดหนึ่งนำมาวัดด้วยเครื่อง DO หาค่า DO ออกมาคำนวณ และเปรียบเทียบค่ากันว่า BOD ใกล้เคียงกันหรือไม่ ข้อมูลที่ได้จากการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 2

#### ตัวอย่างจากตารางที่ 2

ตัวอย่างที่ 1 บีเปตต์ตัวอย่าง 5, 20, 50 มิลลิลิตร ใส่ขวด BOD เติมน้ำกลั่น dilution water seed จนเต็มขวด BOD ชุดหนึ่งนำมาวัดเครื่อง DO อีกชุดนำมาไทเทรตด้วยสารเคมี จะได้ค่าทั้ง DO 0 วัน ดังนี้

DO 0 วันของค่า 5 มิลลิลิตรที่วัดด้วยเครื่อง 8.94 มิลลิกรัมต่อลิตรนำมาไทเทรต 8.94 มิลลิกรัมต่อลิตร

DO 0 วันของค่า 20 มิลลิลิตรที่วัดด้วยเครื่อง 8.75 มิลลิกรัมต่อลิตรนำมาไทเทรต 8.82 มิลลิกรัมต่อลิตร

DO 0 วันของค่า 50 มิลลิลิตรที่วัดด้วยเครื่อง 8.26 มิลลิกรัมต่อลิตรนำมาไทเทรต 8.36 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากนั้นนำชุดที่ incubate ไว้ใน incubator ครบ 5 วัน แล้วมาวัด DO อีกครั้งจะได้

DO 5 วันของค่า 5 มิลลิลิตรที่วัดด้วยเครื่อง 7.82 มิลลิกรัมต่อลิตรนำมาไทเทรต 7.63 มิลลิกรัมต่อลิตร

DO 5 วันของค่า 10 มิลลิลิตรที่วัดด้วยเครื่อง 5.7 มิลลิกรัมต่อลิตรนำมาไทเทรต 5.80 มิลลิกรัมต่อลิตร

DO 5 วันของค่า 50 มิลลิลิตรที่วัดด้วยเครื่อง 1.24 มิลลิกรัมต่อลิตรนำมาไทเทรต 1.20 มิลลิกรัมต่อลิตร

จะเห็นได้ว่า เมื่อนำ DO 0 วัน (  $D_1$  ) มาลบกับ DO 5 วัน (  $D_2$  ) จะได้ค่าที่ใช้ได้เพียง 1 ค่า คือ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ( ตามหลักเกณฑ์ที่กำหนด ) ดังนั้นตัวอย่างที่ 1 เมื่อคำนวณหาค่า  $BOD_5$  ที่  $20^\circ$  เซลเซียส จะได้ค่า 43 และ 44 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับตัวอย่างที่วัดเครื่อง หรือที่นำมา

ไทเทรตตามลำดับ ตัวอย่างที่ 2, 3, 4,.....10 ก็ทำเช่นเดียวกับตัวอย่างที่ 1 เพียงแต่เปลี่ยนค่าความเข้มข้นที่ใช้ตามความเหมาะสมของตัวอย่างจะเห็นได้ว่า ตัวอย่าง 9 ตัวอย่างใน 10 ตัวอย่าง ( 90เปอร์เซ็นต์ ) จะมีค่า BOD ใกล้เคียงกับทั้งสองวิธี ซึ่งความแตกต่างกันอยู่ระหว่าง 1 ถึง 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ยกเว้นตัวอย่างที่ 4 ซึ่งค่า BOD สูงมาก จากการทดลองในขั้นตอนนี้ จึงสรุปได้ว่าควรใช้วิธีวัดด้วยเครื่อง DO แทนการไทเทรตดีกว่า

ตารางที่ 2 - แสดงการเปรียบเทียบค่า BOD<sub>5</sub> ที่ 20<sup>o</sup>เซลเซียส (°C) ของน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่ได้ seed และนำไปวิเคราะห์หาค่า BOD ด้วยเครื่อง และวิธีไทเทรต

ตัวอย่าง	pH ที่อ่านได้	ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ ml	ใส่ seed + วัดเครื่อง DO				ใส่ seed + ไทเทรตกับสารเคมี			
			D <sub>1</sub> (DO 0วัน) mg/l	D <sub>2</sub> (DO 5วัน) mg/l	Depletion (D <sub>1</sub> -D <sub>2</sub> ) mg/l	BOD <sub>5</sub> ที่ 20°C mg/l	D <sub>1</sub> (DO 0วัน) mg/l	D <sub>2</sub> (DO 5วัน) mg/l	Depletion (D <sub>1</sub> -D <sub>2</sub> ) mg/l	BOD <sub>5</sub> ที่ 20°C mg/l
DWC (Dilution water control)		300	9.09	9.09	0	-	9.09	9.09	0	
		300	9.08	9.08	0	-	9.08	9.07	0.01	
Seed		100	7.77	6.07	1.70	-	7.81	6.03	1.78	-
		200	5.92	2.74	3.18	-	5.99	2.77	3.22	-
		300	4.18	1.61	2.57	3	4.22	1.65	2.57	3
Glucose - glutamic acid		5	8.90	5.60	3.30	193	8.93	5.61	3.32	197
		5	8.90	5.60	3.30		9.00	5.64	3.36	
ตัวอย่างที่ 1	7.2	5	8.94	7.82	1.12		8.94	7.63	1.31	
		20	8.75	5.77	2.98	43	8.82	5.80	3.02	44
		50	8.26	1.24	7.02		8.36	1.20	7.16	
ตัวอย่างที่ 2	2.3	10	8.96	7.04	1.92		8.96	7.03	1.93	
		50	8.25	5.76	2.49	15	8.32	5.34	2.98	17
		100	7.17	1.67	5.5		7.20	1.60	5.60	
ตัวอย่างที่ 3	8.4	20	8.85	7.51	1.34		8.90	7.53	1.37	
		50	8.55	4.59	3.96	23	8.58	4.59	3.99	24
		100	7.38	0	-		7.41	0	-	
ตัวอย่างที่ 4	7.4	5	8.87	8.40	0.47		8.91	8.41	0.50	
		20	8.71	7.10	1.61		8.80	7.07	1.73	
		50	8.61	4.61	4.00	465	8.69	4.55	4.10	486
ตัวอย่างที่ 5	8.6	20	8.69	8.09	0.60		8.72	8.07	0.65	
		100	7.95	6.59	1.35		8.08	6.43	1.65	
		200	5.52	2.6	2.9	4	5.50	2.4	3.10	5
ตัวอย่างที่ 6	7.5	5	9.00	7.87	1.13		8.93	7.67	1.26	
		20	8.75	5.50	3.25	48	8.65	5.26	3.39	50
		50	8.05	0.60	7.45		8.06	0.46	7.60	
ตัวอย่างที่ 7	6.8	20	8.85	6.55	2.30		8.80	6.40	2.40	
		50	8.07	2.17	5.9	35	8.07	1.97	6.10	36
		100	6.74	0.04	6.70		6.75	0.04	6.71	
ตัวอย่างที่ 8	9.5	5	8.93	7.74	1.19		8.94	7.74	1.20	
		20	8.85	4.45	4.40	66	8.86	4.36	4.50	68
		50	8.60	0.20	-		8.61	0.20	-	
ตัวอย่างที่ 9		20	8.85	7.76	1.09		8.85	7.75	1.10	
		50	8.59	6.70	1.89		8.60	6.50	2.10	12
		100	7.15	3.46	3.69	11	7.16	3.46	3.70	
ตัวอย่างที่ 10		5	8.93	5.64	3.29	197	8.93	5.59	3.34	
		20	8.84	0.18	-		8.85	0.80	-	200
		50	8.60	0.12	-		8.60	0.12	-	

ผลที่ได้จากการทดลอง คือ ค่า BOD ที่ได้ seed และนำมาวัดด้วยเครื่อง DO มีค่าใกล้เคียงกับค่า BOD ที่ได้ seed และนำมาไทเทรตด้วยสารเคมีจำนวน 9 ตัวอย่างจาก 10 ตัวอย่าง ยกเว้นตัวอย่างที่ 4 ที่ค่า BOD สูงมาก

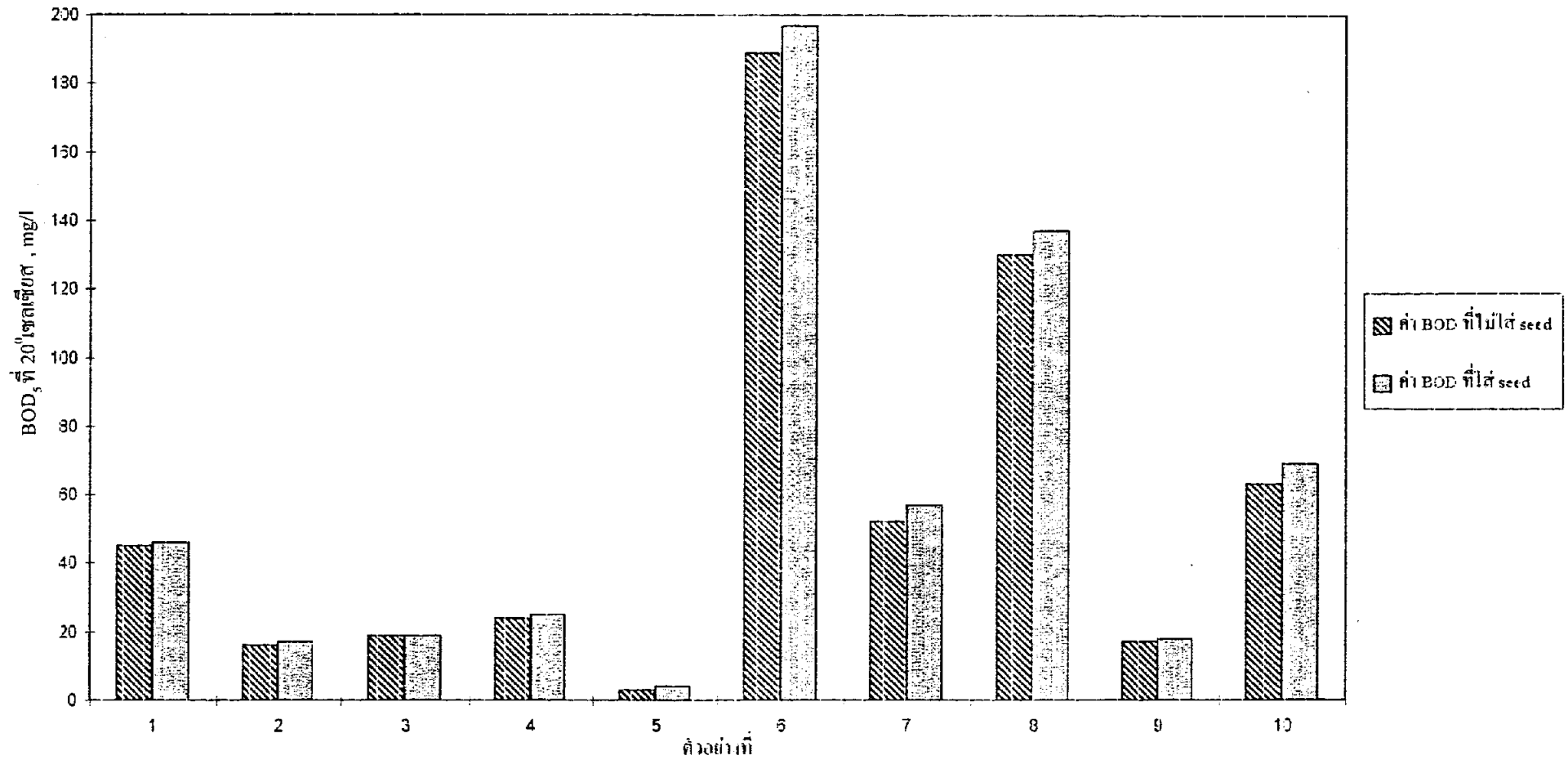
### 3.4 ผลการทดลอง

จากตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่า ค่า  $D_1$  คือ DO 0 วัน ตัวอย่างที่มี dilution 5 มิลลิลิตร (ใส่น้ำกลั่น dilution 295 มิลลิลิตร) จะมีค่าสูง หรือ ใกล้เคียงน้ำกลั่น (DWC) ส่วน dilution อื่นๆ จะให้ค่าต่ำลงตามลำดับ ส่วนค่า  $D_2$  คือ DO 5 วัน จะให้ค่าที่แตกต่างกันเนื่องจากการย่อยสลายอินทรีย์สารโดยจุลินทรีย์ แตกต่างกันไป ถ้ามีการย่อยสลายสูง ความต้องการออกซิเจนมาก ค่า  $BOD_5$  ที่  $20^{\circ}$  เซลเซียส ก็จะสูงด้วย แสดงว่าน้ำนั้นมีความสกปรกมาก แต่ถ้าการย่อยสลายต่ำ ความต้องการออกซิเจนน้อย ค่า  $BOD_5$  ที่  $20^{\circ}$  เซลเซียส ก็ต่ำด้วย แสดงว่าน้ำนั้นมีความสกปรกน้อย ค่อนข้างสะอาด หรือ สะอาด ดังค่าที่แสดงในตารางที่ 1 ตัวอย่างที่ 5 จะเป็นน้ำที่ค่อนข้างสะอาดกว่าอีก 4 ตัวอย่าง คือ มี BOD เพียง 3 หรือ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร และจากรูปที่ 1 ได้แสดงการเปรียบเทียบค่า  $BOD_5$  ที่  $20^{\circ}$  เซลเซียส ของตัวอย่างน้ำทั้งแต่ละตัวอย่าง เมื่อใส่ seed และไม่ใส่ seed ในตัวอย่างเป็นกราฟแท่ง และจากรูป 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง  $BOD_5$  ที่  $20^{\circ}$  เซลเซียส ของตัวอย่างน้ำทั้งที่ใส่ seed และไม่ใส่ seed ให้เห็นชัดเจนอีกครั้งหนึ่ง และเมื่อเปรียบเทียบค่า BOD ของตัวอย่างไม่ใส่ seed และตัวอย่างที่ใส่ seed จะเห็นได้ว่า ค่า BOD ที่ใส่ seed จะสูงกว่าไม่ใส่ seed เพราะว่าการใส่ seed เป็นการทำให้จุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้น และอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตเต็มที่ ทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายอินทรีย์สารมากขึ้น จึงได้ค่า BOD สูงขึ้น และถูกต้องขึ้น เช่น

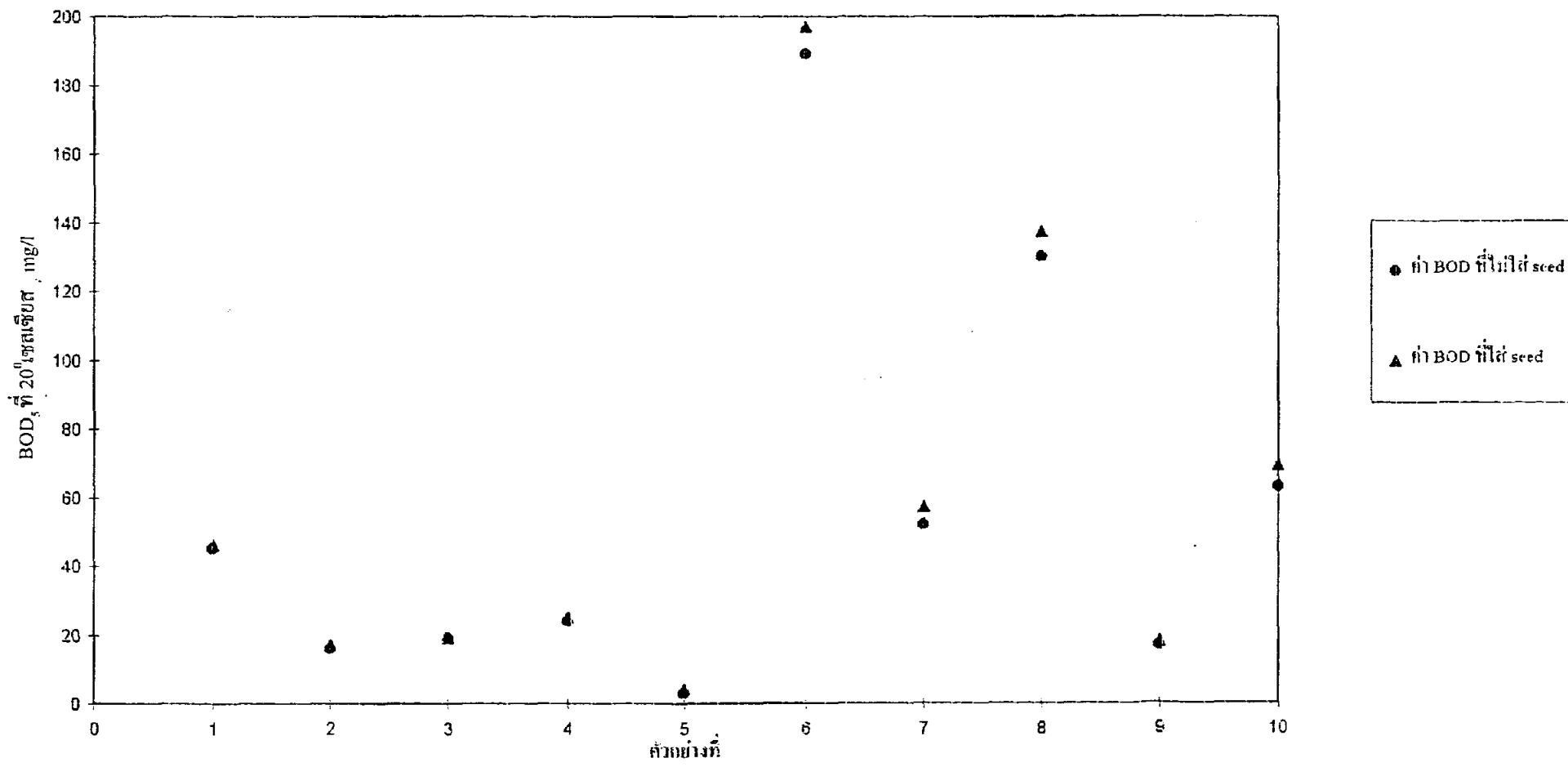
ตัวอย่างที่ 1	ไม่ใส่ seed BOD มีค่า	45	มิลลิกรัมต่อลิตร	ใส่ seed BOD มีค่า	46	มิลลิกรัมต่อลิตร
2	.....	16	.....	17	..	
3	.....	19	.....	19	..	
4	.....	24	.....	25	..	
5	.....	3	.....	4	..	
6	.....	189	.....	197	..	
7	.....	52	.....	57	..	
8	.....	130	.....	137	..	
9	.....	17	.....	18	..	
10	.....	63	.....	69	..	

จะเห็นได้ว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างที่ทดลอง BOD ที่ใส่ seed จะมีค่าสูงกว่า BOD ที่ไม่ใส่ seed ซึ่งเป็นไปตามหลักวิชาการด้านชีววิทยาว่าจุลินทรีย์ที่เติมลงไปใต้น้ำเสียมีความเพียงพอและอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมจะทำลายสารอินทรีย์ในน้ำได้ดียิ่งขึ้นทำให้ค่าที่ได้สูงขึ้น จึงสรุปว่าวิธีใส่ seed ลงใต้น้ำเสียจะให้ค่าที่ได้ผลดีกว่าวิธีไม่ใส่ seed

รูปที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบค่า  $BOD_5$  ที่ 20°เซลเซียส ของตัวอย่างน้ำทิ้งแต่ละตัวอย่าง ที่ไม่ใส่ seed และ ใส่ seed และนำมาวัดด้วยเครื่อง DO



รูปที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า BOD<sub>5</sub> ที่ 20<sup>o</sup>เซลเซียส ของตัวอย่างน้ำทิ้งแต่ละตัวอย่าง ที่ไม่ได้seed และ ได้seed และนำมาวัดด้วยเครื่อง DO



ดังนั้นในขั้นตอนต่อไป จึงใช้ตัวอย่างที่ใส่ seed ในการวิเคราะห์หาค่า BOD เปรียบเทียบกันระหว่าง การวัดด้วยเครื่อง DO กับการไทเทรตด้วยสารเคมี โดยใช้ตัวอย่างทำการทดลองสัปดาห์ละ 15 ตัวอย่างติดต่อกันเป็นเวลา 6 สัปดาห์ และสามารถรวบรวม และสรุปผลการวิเคราะห์ที่ออกมาตามตัวอย่างในตารางที่ 2 เนื่องจากข้อมูลตัวเลขมาก อาจเกิดการสับสนได้ง่ายจึงนำมาแสดงเพียง 10 ตัวอย่าง เป็นแนวทางในการคิดคำนวณค่า BOD เท่านั้น

จากตารางที่ 2 จะเห็นได้ว่า dilution water ใส่ seed ทั้ง 2 ชุด ในแต่ละตัวอย่าง ชุดหนึ่งนำมาวิเคราะห์โดยวัดเครื่อง DO กับอีกชุดหนึ่งนำมาวิเคราะห์โดยการไทเทรตด้วยสารเคมี ตามวิธี Winkler method และนำเก็บเข้าสู่ตู้เย็น incubate ไว้ 5 วัน จึงนำออกมาวัดอีกครั้ง ค่า BOD ที่ได้จากทั้งสองวิธีที่ค่าใกล้เคียงกันมาก ดังนี้

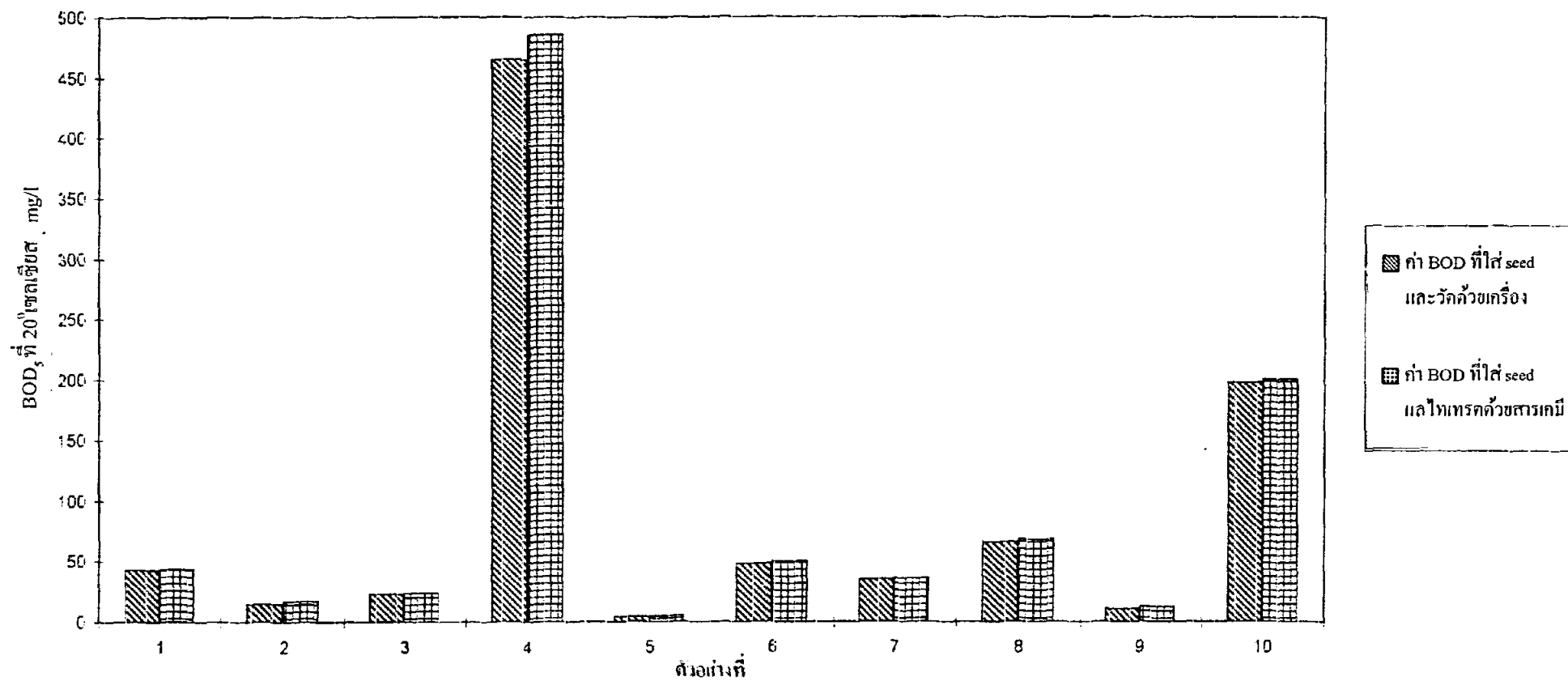
ตัวอย่างที่ 1	ค่าBODใส่ seed และวัดเครื่อง =	43	มิลลิกรัมต่อลิตรใส่seed และไทเทรต =	44	มิลลิกรัมต่อลิตร
.. 2	.._____.. =	15	.._____.. =	17	“
.. 3	.._____.. =	23	.._____.. =	24	“
.. 4	.._____.. =	465	.._____.. =	486	“
.. 5	.._____.. =	4	.._____.. =	5	“
.. 6	.._____.. =	48	.._____.. =	50	“
.. 7	.._____.. =	35	.._____.. =	36	“
.. 8	.._____.. =	66	.._____.. =	68	“
.. 9	.._____.. =	11	.._____.. =	12	“
.. 10	.._____.. =	197	.._____.. =	200	“

จะเห็นได้ว่า 90 เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างที่ทดลอง จะมีค่า BOD ใกล้เคียงกันมาก ต่างกัน 1 ถึง 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อ BOD มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนตัวอย่างที่ 4 BODมีค่าสูงมาก จึงมีความแตกต่างกันมากหรืออาจเกิดจากความผิดพลาดบางอย่างได้

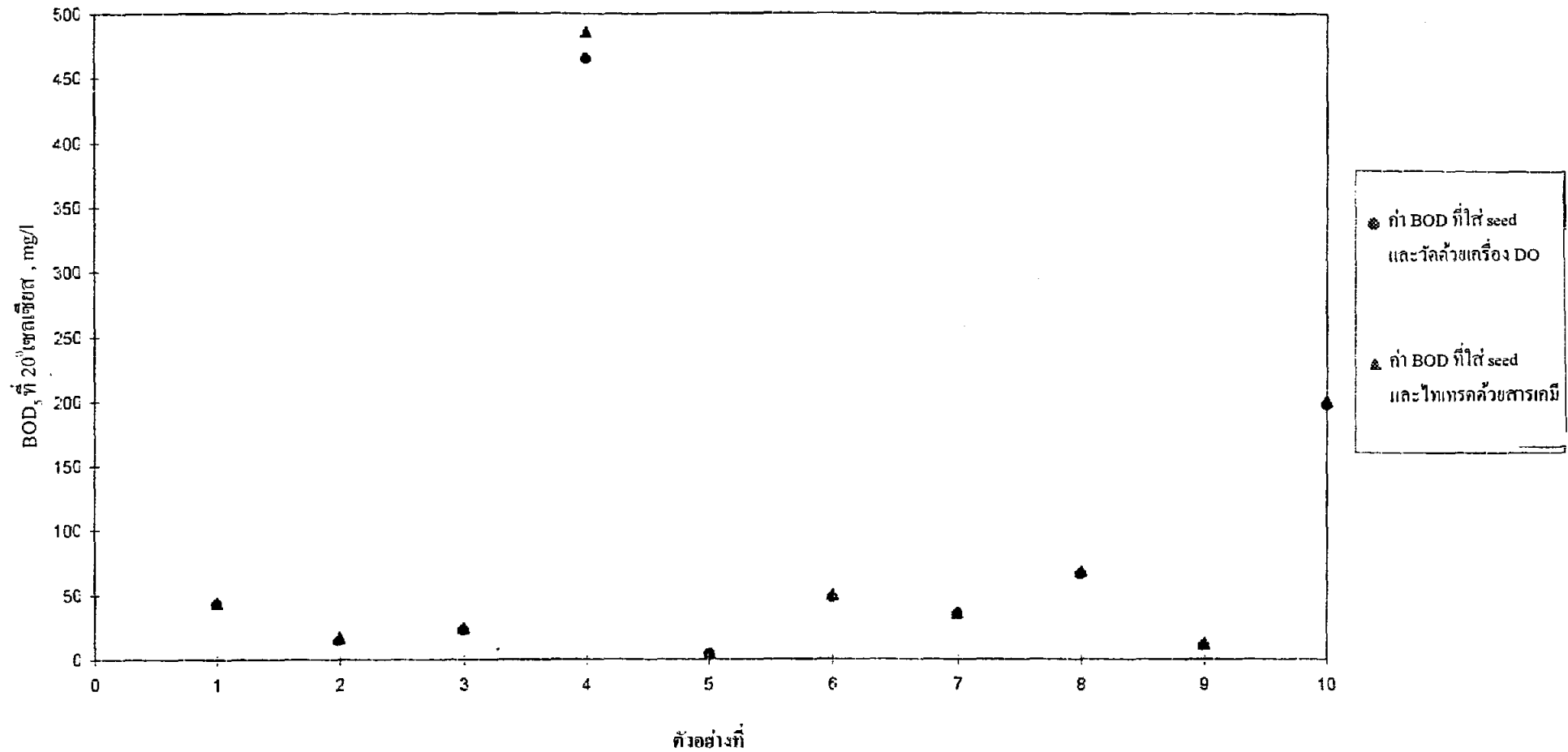
จึงเห็นว่าวิธีการใช้เครื่อง DO กับ วิธีไทเทรตด้วยสารเคมี ค่า BODที่ได้ไม่มีแตกต่างกันมากนัก ดังนั้นเพื่อความสะดวกรวดเร็ว และประหยัดเวลาเพื่อให้วิเคราะห์ตัวอย่างได้มากที่สุด จึงควรใช้วิธีวัดเครื่อง DO แทนวิธีไทเทรต

(หมายเหตุ - การออกรายงานค่า BOD จะออกเป็นจำนวนเต็มไม่มีทศนิยม )

รูปที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบค่า  $BOD_5$  ที่  $20^{\circ}$ เซลเซียส ของตัวอย่างน้ำทิ้งแต่ละตัวอย่างที่ได้ seed และนำมาวัดด้วยเครื่อง DO หรือการไทเทรตด้วยสารเคมี



รูปที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $BOD_5$  ที่  $20^{\circ}$  เซลเซียส ของตัวอย่างน้ำทิ้งแต่ละตัวอย่างที่ได้ seed และนำมาวัดด้วยเครื่อง DO หรือการไทเทรตด้วยสารเคมี



## บทที่ 4

### วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

#### วิจารณ์ผล

ผลที่ได้จากการทดลอง ซึ่งสรุปได้ว่า การวิเคราะห์ BOD ควรใช้วิธีใส่ seed และวัดด้วยเครื่อง dissolved oxygen ( DO meter ) ซึ่งเครื่อง DO พร้อมอุปกรณ์ นี้ได้ถูกนำมาพัฒนา ปรับปรุงดัดแปลง ให้คล่องตัวอ่านค่าง่าย รวดเร็วและแม่นยำเหมาะสมกับสภาพการทำงานที่มีตัวอย่างจากโรงงานอุตสาหกรรมส่งมาให้ทางหน่วยงานวิเคราะห์จำนวนมากในแต่ละสัปดาห์ และเพื่อจะได้เป็นเครื่องมือตัวอย่างสำหรับอ่านค่า แทนการไทเทรตด้วยสารเคมีซึ่งมีความยุ่งยากใช้เวลานานในการวิเคราะห์และอาจเกิดผลเสียในการทำงานเนื่องจากความเร่งรีบในการทำงานให้เสร็จทันเวลาในวันนั้นๆ นอกจากนี้การเกิดความผิดพลาด (error) ในการวิเคราะห์จากการใช้เครื่องมือเมื่อเทียบกับวิธีไทเทรตมักจะมีน้อยกว่ามาก เพราะเครื่องมือที่ทันสมัย ใหม่ มีการติดตั้ง(set) ให้ดี ตรวจสอบอุปกรณ์ น้ำยาเคมี และอื่นๆ ตามหนังสือคู่มือที่ได้แนะนำไว้ การ check ความถูกต้องเที่ยงตรงสม่ำเสมอ การเก็บรักษาเครื่องมืออย่างดี ทำให้อายุการใช้งานยาวนาน คู่มีค่ากับเงินที่เสียไป และประหยัดเวลาในการทำงาน ค่าที่อ่านได้ออกมาเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/l) หรือ ส่วนในล้านส่วน (ppm) เลย ไม่เสียเวลาในการคำนวณ ส่วนวิธีไทเทรต ค่าที่อ่านได้มักไม่ค่อยสม่ำเสมอ เพราะขั้นตอนการทำงานมีมาก เช่น ใส่น้ำยาเคมี เพื่อให้เกิดตะกอน การละลายตะกอนให้หมดจนสารละลายใส การดูดตัวอย่าง เพื่อใช้ในการไทเทรต การเตรียมน้ำยา standard solution 0.025 N sodium thiosulfate ในการไทเทรต การอ่านค่าที่ไทเทรตได้ ตลอดจนการคำนวณ มีจุดที่ทำให้เกิดความผิดพลาดมากมาย

ดังนั้นจากผลการวิเคราะห์ข้างต้น อาจมีการผิดพลาดในบางจุดได้ เนื่องจาก เวลาที่ใช้ในการทดลองระยะสั้น แต่เมื่อสรุปโดยรวมแล้วค่าที่ได้นับว่าค่อนข้างดี จึงสรุปได้ว่า การวิเคราะห์หาค่า BOD<sub>5</sub> ที่ 20 °เซลเซียสในห้องปฏิบัติการนั้น ควรใช้วิธีใส่ seed และวัดด้วยเครื่อง Dissolved Oxygen เพราะได้ค่าที่ดีกว่า และใช้เวลาในระยะสั้น ทำให้การวิเคราะห์ตัวอย่างได้มากขึ้นในแต่ละครั้ง และไม่มีตัวอย่างเหลือค้าง ในแต่ละสัปดาห์ ถึงแม้ว่าเครื่องมือวิเคราะห์มีราคาแพงพอสมควร แต่ทางหน่วยงานผู้วิเคราะห์เป็นหน่วยงานของรัฐที่จะต้องให้บริการประชาชนมารับตัวอย่างเข้ามาวิเคราะห์จำนวนมากในแต่ละสัปดาห์ และจะต้องวิเคราะห์ภายใน 6 - 24 ชั่วโมง (เนื่องจากการวิเคราะห์ BOD มีข้อจำกัดเรื่องเวลา) เพื่อป้องกันค่าที่ผิดพลาด แม้จะใส่ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 °เซลเซียส ไว้เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในน้ำทิ้งก็ตาม กำลังคนในหน่วยงานมีน้อยทำให้ไม่คล่องตัวในการทำงาน เพราะขั้นตอนในการทำ BOD มีมากมายกว่าจะได้ผล BOD ออกมา ปัจจัยต่างๆเหล่านี้เมื่อเทียบกับราคาของเครื่องมือที่ใช้อยู่ประจำอาทิตย์ละ 4 -

5 วัน นับว่าคุ้มค่ากับการใช้งานมากและได้ให้การบริการประชาชนอย่างเต็มที่ นอกจากนี้เครื่องมือที่พัฒนาขึ้นมาเป็นแบบอย่าง หรือแนวทางให้ผู้ประกอบการ โรงงานอุตสาหกรรมที่สนใจ จะเปิดห้องปฏิบัติการของตนเองได้นำมาพิจารณาเพื่อที่จะนำมาใช้ในโรงงานของตนเอง เพื่อความสะดวกรวดเร็ว ประหยัดเวลา และแม่นยำเหมือนเดิม

### สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลอง พอสรุปได้ว่า เมื่อนำตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม มาทำการทดลอง โดยการใส่ seed และไม่ใส่ seed ตัวอย่างที่ใส่ seed จะให้ค่า BOD สูงกว่าตัวอย่างที่ไม่ใส่ seed เนื่องจากจุลินทรีย์ใน seed ไปเพิ่มการย่อยสลายอินทรีย์สารในน้ำ ทำให้มีความต้องการออกซิเจนสูง 90 เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างทั้งหมด ปรากฏว่าตัวอย่างที่ใส่ seed จะมีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่ใส่ seed และจากหลักวิชาการและเอกสารอ้างอิงต่างๆ นิยมใช้ seed จึงคิดว่าการใช้ seed น่าจะถูกต้องกว่า จึงได้นำตัวอย่างน้ำทิ้งที่ใส่ seed มาทำการทดลองดูว่า วิธีวัดด้วย DO meter ก็บการไทเทรตด้วยสารเคมี วิธีไหนจะให้ค่าที่ถูกต้อง แม่นยำ และใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้นกว่า เพราะขั้นตอนก่อนการวิเคราะห์มีหลายขั้นตอน และยุ่งยากพอสมควร ซึ่งต้องทำทุกขั้นตอน ดังนั้นจึงคิดว่า ควรจะใช้เวลาในการวิเคราะห์ให้สั้นที่สุดด้วย เพื่อจะได้วิเคราะห์ตัวอย่างได้หมด ภายใน 3 วัน ใน 1 สัปดาห์ มิฉะนั้นน้ำตัวอย่างจะเหลือค้างทำให้ผลการวิเคราะห์ผิดพลาดได้ เพราะการเก็บรักษาตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ จะต้องทำภายใน 6 ชั่วโมง (หรือไม่เกิน 24 ชั่วโมง) โดยเก็บตัวอย่างไว้ในตู้เย็น 4°C เซลเซียสเพื่อป้องกันการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ในน้ำทิ้งนั้น

ได้ทำการทดลองสุ่มตัวอย่างน้ำทิ้งที่ส่งมาทำการวิเคราะห์ สัปดาห์ละ 15 ตัวอย่างติดต่อกันเป็นเวลา 6 สัปดาห์ และสรุปผลออกมา และนำมาแสดงดังตารางที่ 1 และตารางที่ 2 อย่างละ 10 ตัวอย่าง โดยตารางที่ 1 เป็นข้อมูลการเปรียบเทียบค่า DO ที่ได้จากการวัด 0 วัน และ 5 วัน ของตัวอย่างน้ำทิ้งที่ใส่ seed และไม่ใส่ seed เมื่อนำมาคำนวณเป็นค่า BOD จะเห็นได้ว่าตัวอย่างที่ใส่ seed จะมีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่ใส่ seed เพราะจุลินทรีย์ที่เติมลงไป มีผลทำให้ค่าที่ได้สูงกว่าและเป็นค่าที่ถูกต้องกว่า (ตามหลักวิชาการ) และความแตกต่างของค่า BOD อยู่ระหว่าง 1 ถึง 8 มิลลิกรัมต่อลิตรและเพื่อให้เห็นชัดเจนจึงทำรูปกราฟแท่งเปรียบเทียบตัวอย่างที่ไม่ใส่ seed และตัวอย่างที่ใส่ seed ในตัวอย่างทั้ง 10 ตัวอย่างไว้ ( ดังรูปที่ 1 ) และดูความสัมพันธ์ของแต่ละตัวอย่างว่าค่า BOD ใกล้เคียงกันหรือต่างกันแค่ไหน ( ดังรูปที่ 2 ) ส่วนตารางที่ 2 เป็นข้อมูลการเปรียบเทียบค่า DO ที่ได้จากการวัด 0 วัน และ 5 วัน ของตัวอย่างน้ำทิ้งที่ใส่ seed และนำมาหาค่า DO โดยการวัดด้วยเครื่อง DO และการไทเทรตด้วยสารเคมี เมื่อนำมาคำนวณเป็นค่า BOD จะเห็นได้ว่าตัวอย่างที่วัดด้วยวิธีทั้งสอง มีค่า BOD ใกล้เคียงกันมาก และความแตกต่างของค่า BOD อยู่

ระหว่าง 1 ถึง 3 มิลลิกรัมต่อลิตรเท่านั้นและเพื่อให้เห็นชัดเจนขึ้นจึงนำค่า BOD ของตัวอย่างที่วัดด้วยวิธีทั้งสองมาทำกราฟแท่งเปรียบเทียบ(ดังรูปที่ 3)และดูความสัมพันธ์ของวิธีทั้งสองในตัวอย่างทั้ง 10 ตัวอย่าง ว่าใกล้เคียงกันเพียงใด (ดังรูปที่ 4)

สรุปการทดลองทั้งหมด เป็นการทดลองเพื่อหาวิธีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ BOD เป็นหลักโดยนำเครื่องมือวิเคราะห์ หาปริมาณออกซิเจน ( DO meter )มาใช้แทนการไทเทรตด้วยสารเคมี ทำให้สะดวกรวดเร็ว ประหยัดเวลา ลดขั้นตอนการทำงานลง วิเคราะห์ตัวอย่างได้มากขึ้น ในระยะเวลาที่เท่ากัน ความแม่นยำถูกต้องใกล้เคียงกัน และเป็นเครื่องมือแบบอย่างที่โรงงานอุตสาหกรรมหรือหน่วยงานอื่นสามารถนำไปใช้ได้เช่นกัน

### กิตติกรรมประกาศ

การวิจัย เรื่อง “การพัฒนาวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ BOD” ฉบับนี้ ได้จัดทำสำเร็จล่วงไปด้วยดี โดยการให้คำแนะนำ ปรีกษา และเอื้อเฟื้อจากคุณชัชวดี เถาวเลิศ หัวหน้ากลุ่มงานสิ่งแวดล้อม และ คุณ ธิดา เกตุคำไร นักวิทยาศาสตร์ 7 ว กลุ่มงานสิ่งแวดล้อม และเจ้าหน้าที่ในกลุ่มงานสิ่งแวดล้อม กองฟิสิกส์และวิศวกรรม กรมวิทยาศาสตร์บริการ ข้าพเจ้าขอขอบคุณทุกท่าน ณ ที่นี้ด้วย

พัชรียา ฉัตรเท

นักวิทยาศาสตร์ 6 ว

## เอกสารอ้างอิง

1. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18<sup>th</sup> edition, 1992 by APHA,AWWA, and WPCF
2. ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 12 พ.ศ. 2525 ออกตามความในมาตรา 39(6) แห่ง พรบ. โรงงาน พ.ศ. 2512 เกี่ยวกับการระบายน้ำทิ้งออกจากโรงงาน
3. คู่มือวิเคราะห์น้ำเสีย โดยคณะกรรมการจัดทำคู่มือวิเคราะห์น้ำเสีย สมาคมวิศวกรสิ่งแวดล้อมไทย (สวสท) และ World Environment Center (WEC).
4. Recommended Standard Methods for Water and Wastewater Analysis. prepared by Environment Quality Standard Division, office of the National Environment Board, Thailand.
5. Water Pollution-Quality Control Laboratory Technology by Sukeo Onodera Ph.D (JICA EXPERT)

## ภาคผนวก

### ความต้องการออกซิเจน (Oxygen Demand)

ปกติน้ำที่สะอาดจะอิ่มตัวด้วยออกซิเจน แต่ออกซิเจนเหล่านี้จะถูกใช้ไปอย่างรวดเร็ว ถ้ามีสารอินทรีย์เจือปนอยู่ สิ่งเจือปนในน้ำหลายชนิดทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำลดลง เนื่องจากสารประกอบเหล่านี้เป็นสารที่ไม่อยู่ตัว (unstable) สามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้ง่าย ดังนั้นน้ำที่มีสิ่งเจือปนเหล่านี้อยู่ จึงมีความต้องการออกซิเจนจำนวนหนึ่ง เพื่อให้สารเหล่านี้เป็นสารที่อยู่ตัวได้ เช่น  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  สารประกอบเหล่านี้แบ่งเป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ คือ

1. สารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ สารอินทรีย์ ซึ่งมีแต่ คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน เป็นองค์ประกอบ เช่น แป้ง และน้ำตาล เป็นต้น
2. สารประกอบไนโตรเจน ได้แก่ สารประกอบอินทรีย์ ที่มีไนโตรเจน เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย เช่น โปรตีน และสารประกอบที่เกิดจากการย่อยสลายโปรตีน แต่ยังสามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้อีก เช่น แอมโมเนียไนโตรเจน และไนไตรต์ไนโตรเจน เป็นต้น
3. สารประกอบอนินทรีย์ที่ถูกออกซิไดส์ได้ง่าย เช่น สารประกอบเฟอร์รัสซัลไฟด์ และซัลไฟด์ ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในน้ำได้โดยตรง

โดยทั่วไปไม่นิยมหาว่ามีปริมาณของสารประเภทใดเท่าไร เนื่องจากมีหลายประเภท การวิเคราะห์ทำได้ยาก และไม่มีประโยชน์ จึงนิยมหา ปริมาณออกซิเจนที่สมมูลย์พอดิที่จะย่อยสลายสารเหล่านี้แทน โดยทั่วไปมี 3 วิธี

1. Biochemical Oxygen Demand (BOD) หมายถึง การหาปริมาณออกซิเจน ที่สมมูลย์พอดิกับปริมาณสารอินทรีย์ที่สามารถถูกย่อยสลายได้โดยแบคทีเรียที่ใช้ ออกซิเจน
2. Permanganate Value (PV) หมายถึง การหาปริมาณออกซิเจนที่สมมูลย์พอดิกับปริมาณสารอินทรีย์ โดยการใช้ Potassium Permanganate ( $\text{KMnO}_4$ ) เป็นตัวเติมออกซิเจน (Oxidising agent)
3. Chemical Oxygen Demand (COD) หมายถึง การหาปริมาณออกซิเจนที่สมมูลย์พอดิกับปริมาณสารอินทรีย์ โดยการใช้ Potassium dichromate ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) เป็นตัวเติมออกซิเจน (Oxidising agent)

การวิเคราะห์ BOD เพื่อที่จะทราบถึง ปริมาณความสกปรกของ น้ำในแม่น้ำลำคลอง น้ำทิ้งจากอาคารบ้านเรือน และโรงงานอุตสาหกรรม เพื่อประโยชน์ในการออกแบบระบบกำจัด และควบคุมคุณภาพของน้ำทิ้ง และประสิทธิภาพของระบบกำจัดนั้นๆ

ค่า BOD จะบอกถึงคุณลักษณะของน้ำเสียที่ว่า มีสารอินทรีย์ปนอยู่มากน้อยเพียงใด ถ้ามีสารอินทรีย์ปนอยู่มาก ค่า BOD ก็จะมีค่าด้วย ถ้ามีสารอินทรีย์ปนอยู่น้อยค่า BOD ก็จะมีค่า

### วิธีคำนวณ seed

ตัวอย่างน้ำทิ้งที่ใส่ seed จะต้องนำมาหา seed correction และค่า f ก่อนแล้วจึงนำมาเข้าสู่การคำนวณ คำนับจึงนำตารางที่ 1 ข้างต้นมาเป็นตัวอย่างโดยใช้ค่าของตัวอย่างที่ 1 มาแสดง

ตัวอย่าง	pH ที่วัดได้	ปริมาณ ตัวอย่างที่ใช้ ml	D <sub>1</sub> (DO 0 วัน) mg/l	D <sub>2</sub> (DO 5 วัน) mg/l	Depletion (D <sub>1</sub> -D <sub>2</sub> ) mg/l	BOD <sub>5</sub> at 20 <sup>0</sup> C mg/l	
DWC		300	8.90	8.90	0		
		300	8.91	8.90	0.01		
Seed		100	8.90	7.52	1.38		
		200	8.87	5.88	2.99		
		300	8.64	3.68	5.18		
Glucose - glutamic acid		5	8.89	5.46	3.43		
		5	8.91	5.54	3.37		
ตัวอย่างที่ 1	7.2	5	8.89	7.91	0.97	45.8	46.0
		20	8.58	5.51	3.07		
		50	7.39	0.70	6.69		
ตัวอย่างที่ 4	7.0	20	8.81	7.18	1.63		
		50	7.95	3.70	4.25		
		100	6.32	0.09	6.32		

จากตาราง เลือกการใช้ seed dilution 200 มิลลิลิตร และตัวอย่างที่ 1 dilution 20 มิลลิลิตร มาแสดง เนื่องจากว่า ค่า D<sub>2</sub> เกิน 1.0 มิลลิลิตร และค่า Depletion เกิน 2 มิลลิลิตร ตามวิธีการคำนวณของ BOD ที่กำหนดไว้

คำนวณ

$$\text{BOD ไม่ใส่ seed, มิตลิกกรัมต่อลิตร} = \frac{(D_1 - D_2) - (B_1 - B_2)f}{p}$$

เมื่อ  $D_1$  = DO of diluted sample 15 minutes after preparation

$D_2$  = DO of diluted sample after incubation

$B_1$  = DO of dilution of seed control before incubation

$B_2$  = DO of dilution of seed control after incubation

$p$  = decimal fraction of sample used

$f$  = ratio of seed in sample to seed in control

$$= \frac{\% \text{ seed in } D_1}{\% \text{ seed in } B_1}$$

$$\text{seed correction} = (B_1 - B_2)f$$

แทนค่า      BOD, มิตลิกกรัมต่อลิตร =  $\frac{(8.58-5.51)-(8.87-5.88)f}{20/300}$

$$f = \frac{\% \text{ seed in } D_1}{\% \text{ seed in } B_1}$$

ใน dilution water 1000 มิลลิลิตร (1 ลิตร) มี seed 10 มิลลิลิตร  
 ,, 280 ,, ,,  $\frac{10 \times 280}{1000} = 2.8$  มิลลิลิตร

ในขวด BOD 300 มิลลิลิตร มี seed อยู่ = 2.8 มิลลิลิตร  
 ,, 100 ,, ,,  $\frac{2.8 \times 100}{300} = 0.93$  % (เป็น % seed ใน  $D_1$ )

ในขวด BOD 300 มิลลิลิตร ของ  $B_1$  มี seed = 100 %  
 ,, 200 ,, ,,  $\frac{100 \times 200}{300} = 66.67\%$  (เป็น % seed ใน  $B_1$ )

$$f = \frac{0.93}{66.67} = 0.014$$

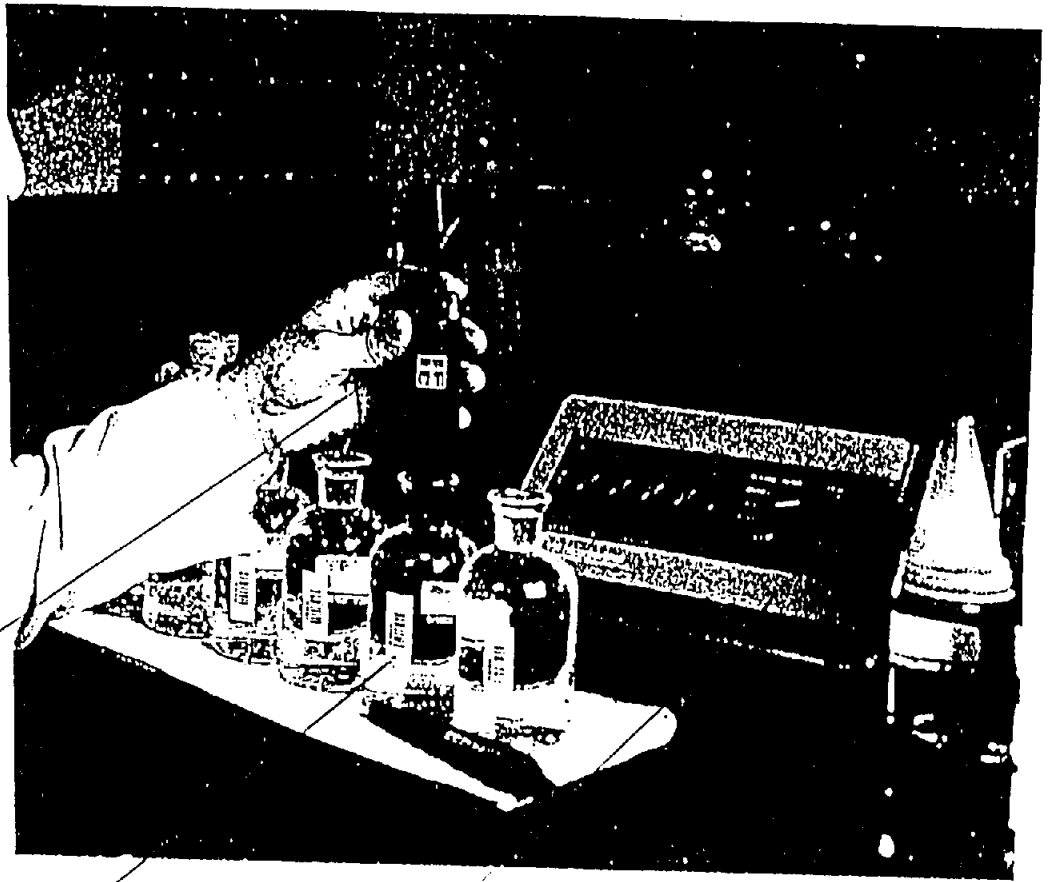
.. BOD ใส่ seed, มิตลิกกรัมต่อลิตร =  $\frac{(8.58-5.51) - (8.87-5.88)0.014}{20/300}$   
 $= \frac{3.07-0.019}{20} \times 300$   
 $= 45.8 \approx 46$

$$\text{BOD ไม่ใส่ seed , มิลลิกรัมต่อลิตร} = \frac{D_1 - D_2}{p}$$

แต่ค่าที่อ่านได้เมื่อไม่ใช้ seed (ตามตารางที่ 1 ข้างต้น) จะได้ตัวเลขต่างจากข้างบน จึงคำนวณใหม่

$$\begin{aligned} &= \frac{(8.58 - 5.56)}{20/300} \\ &= \frac{3.02}{20} \times 300 \\ &= 45.3 \simeq 45 \end{aligned}$$

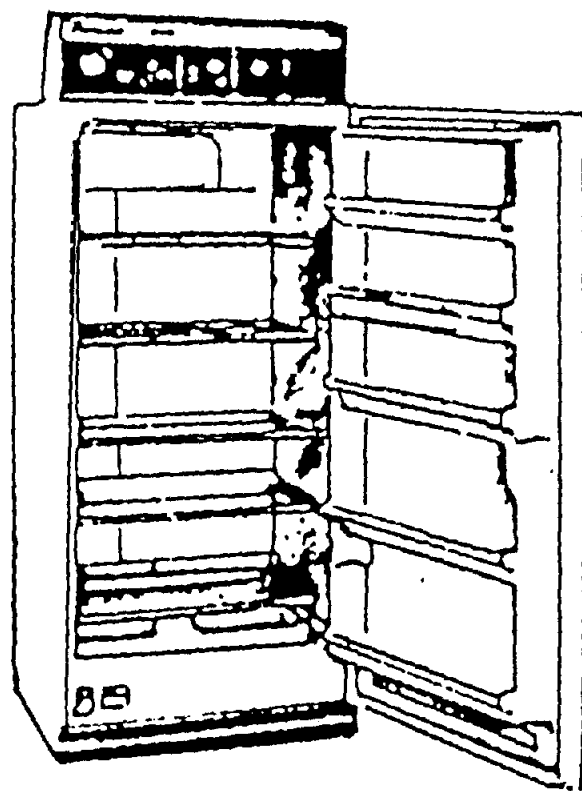
จะเห็นว่าค่าที่ได้จาก BOD ใส่ seed มีค่ามากกว่า BOD ไม่ใส่ seed เล็กน้อย



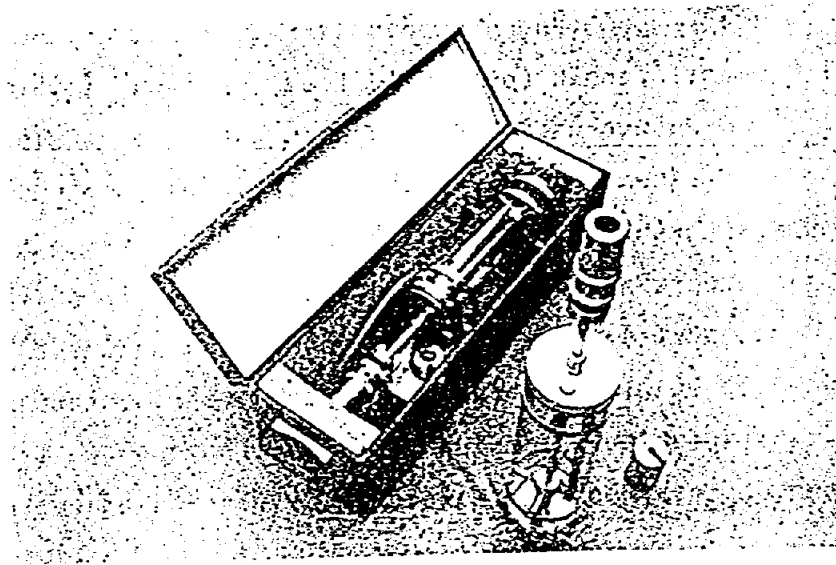
PROBE

BOD BOTTLES

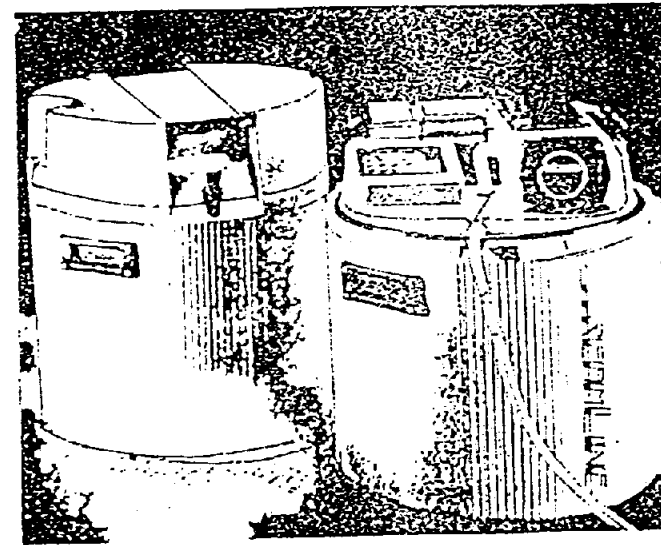
DISSOLVED OXYGEN METER



ตู้อินทิวเบท



อุปกรณ์เก็บตัวอย่างในสนาม (ผลิตในประเทศไทย)



อุปกรณ์เก็บตัวอย่างน้ำไอศโนเมติ

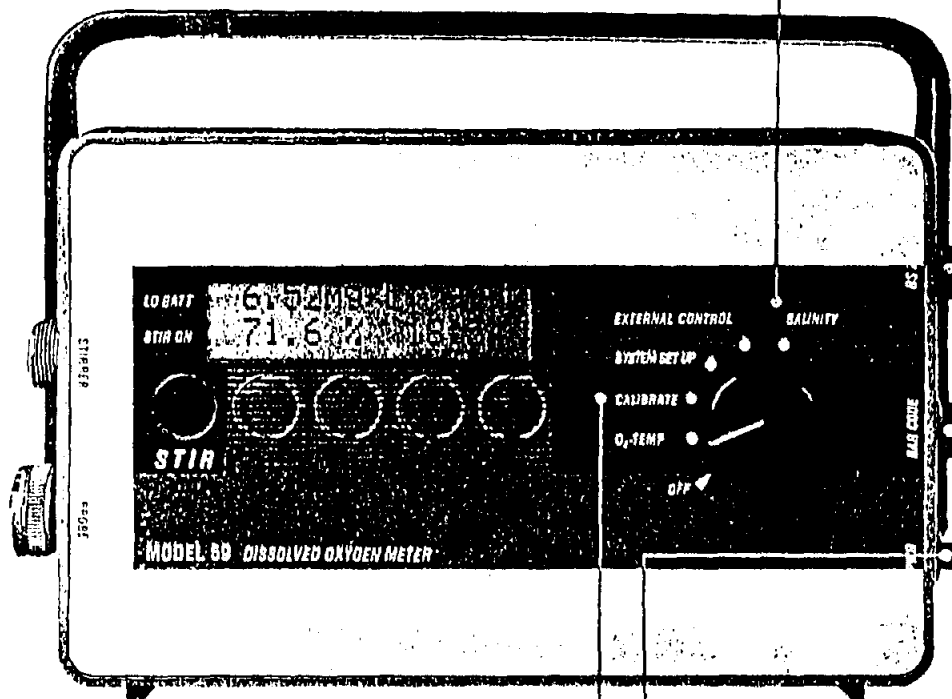
The YSI Model 59 Dissolved Oxygen Meter delivers proven performance with enhanced capabilities, including RS 232 computer interface, bar code reader and BOD analysis software.

**Water Resistant.**  
Designed to operate in extreme environments. Accidentally knock the instrument overboard and it will float.

**Direct Salinity Compensation.**  
The most accurate salinity compensation of any YSI instrument. Direct input from 0 to 40 PPT to cover the full range from fresh water to sea water.

**Direct Computer Link.**  
Readings can be sent directly to your computer, saving time and eliminating recording errors. You can also use computer remote control.

**Rugged.**  
Maintains its accuracy even under severe conditions. Tested to military shock and vibration specifications.



**Fast Sample Identification**  
Bar Code Sample Reader provides quick, accurate sample identification and DO measurement.

**Highest Accuracy.**  
Microprocessor-based, the Model 59 is the most accurate YSI DO meter with seven automatic function checks and easy, pushbutton calibration.

**Flexibility.**  
Convenient line power in the lab or battery power for field operation.