ข้อแนะนำในการส่งตัวอย่าง

1. เก็บตัวอย่างในภาชนะที่กำหนด

- ตรวจวิเคราะห์ทางเคมี – กายภาพ เก็บตัวอย่างใส่ภาชนะพลาสติกที่สะอาดขนาด 1 ลิตร มีฝาปิดสนิท เก็บรักษาตัวอย่าง แช่เย็นที่ อุณหภูมิประมาณ 2 - 6 องศาเซลเซียส

*** สามารถรับภาชนะเก็บตัวอย่างได้ที่ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ

ฉลากปิดภาชนะบรรจุตัวอย่าง

รหัสตัวอย่างผู้ส่ง.....
หน่วยงานที่ส่ง.....
ประเภทแหล่งน้ำ.....
สถานที่เก็บ.....
วันที่เก็บ.....เวลา.....
ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง.....

2. ปิดฉลากข้างภาชนะบรรจุตัวอย่าง และระบุรายละเอียดตามแบบฟอร์ม ฉลากปิดภาชนะบรรจุ

3. ส่งตัวอย่างพร้อมชำระเงินค่าบริการที่ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม พร้อมกรอกรายละเอียด ในใบนำส่งตัวอย่างแบบฟอร์มให้ครบถ้วน

4. ผู้ส่งตัวอย่างรับสำเนาใบรับตัวอย่างไว้เป็นหลักฐาน

5. ผู้ใช้บริการสามารถมารับผลการวิเคราะห์เองได้ที่คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ หรือทางไปรษณีย์ลงทะเบียน

วัน ... าในการส่งตัวอย่าง

1. บริการรับตัวอย่างน้ำทุกวันจันทร์ ถึง วันพฤหัสบดี ตั้งแต่เวลา 9.00 – 16.00 น.

2. ระยะเวลาในการดำเนินการ ตั้งแต่รับตัวอย่างเข้าห้องปฏิบัติการจนกระทั่งออกใบรายงานผลใช้เวลา 2 สัปดาห์

วิธีการเก็บตัวอย่างและปริมาตรตัวอย่างที่ต้องการ

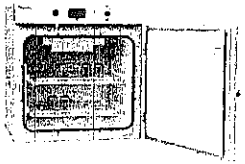
รายการวิเคราะห์	ภาชนะบรรจุ	ปริมาตรตัวอย่าง (ml)
1. pH	ภาชนะพลาสติก	200
2. BOD	ภาชนะพลาสติก ให้มีอากาศน้อยที่สุด	1,000

วิธีการตรวจ วัด วิเคราะห์ตัวอย่างน้ำ

รายการตรวจวิเคราะห์	วิธีวิเคราะห์ทดสอบ
1. ความเป็นกรด – ด่าง (pH)	Electrometric Method
2. บีโอดี (BOD)	5-Day BOD Test, Azide Modification

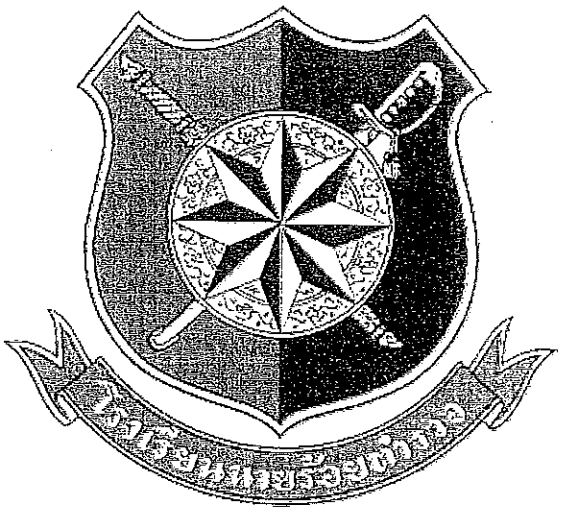
วิธีการวิเคราะห์ทดสอบตามมาตรฐาน Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, APHA 22nd ed., 2012. และตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 2 (พ.ศ. 2539) ออกตามความในพระราชบัญญัติโรงงาน พ.ศ. 2535 เรื่อง กำหนดคุณลักษณะของน้ำทิ้งที่ระบายออกจากโรงงาน

บริการตรวจ วัด วิเคราะห์ ตัวอย่างน้ำ



ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ
คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ
โทรศัพท์ 034-311110 โทรสาร 034-311110
ผู้ควบคุมห้องปฏิบัติการ : พ.ต.ท. ธิติ มหาเจริญ
โทร :097-3266659 ID Line : waterlab.rpca
E-mail : waterlab.rpca@gmail.com

30-9-19



ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ

Water Quality Testing Laboratory of Forensic Science in Royal Police Cardet Academy

วิธีทำงาน (Work Instruction)

เรื่อง วิธีการทดสอบปริมาณออกซิเจนซึ่งแบคทีเรียใช้ในการย่อยสารอินทรีย์ในน้ำ (Biochemical Oxygen Demand, BOD) โดยวิธี Azide Modification

รหัสเอกสาร :	วันที่มีผลบังคับใช้
จัดทำโดย : ตำแหน่ง : เจ้าหน้าที่ทดสอบ	ลายมือชื่อ วันที่.....
ทบทวนและอนุมัติโดย : ตำแหน่ง :	ลายมือชื่อ วันที่ .....

	เรื่อง : วิธีการทดสอบปริมาณออกซิเจนซึ่งแบคทีเรียใช้ในการย่อยสารอินทรีย์ในน้ำ (Biochemical Oxygen Demand, BOD) โดยวิธี Azide Modification	
	รหัสเอกสาร : วันที่มีผลบังคับใช้ :	แก้ไขครั้งที่ : 0 หน้า/จำนวนหน้า : 1/12

ประวัติการแก้ไข

แก้ไขครั้งที่	หน้าที่แก้ไข	รายละเอียดการแก้ไข	วัน/เดือน/ปี ที่มีผลบังคับใช้	เลขที่ใบคำร้อง
0		เริ่มใช้เอกสารใหม่		
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				

1. Method Identification

ทดสอบหาปริมาณออกซิเจนซึ่งแบคทีเรียใช้ในการย่อยสารอินทรีย์ในน้ำ โดยการวัด DO (Dissolved Oxygen) ด้วยวิธี Azide modification

2. Method Reference

Standard Method for the Examination of Water and Wastewater 22 edition,2012,5210 part A,B 4500-O part C

3. Scope

เป็นวิธีทดสอบหาปริมาณออกซิเจนซึ่งแบคทีเรียใช้ในการย่อยสารอินทรีย์ในน้ำ และน้ำเสีย โดยใช้หัวเชื้อ (Seed)

น้ำ หมายถึง น้ำผิวดิน น้ำใต้ดิน น้ำบาดาล และน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร

น้ำเสีย หมายถึง น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม นิคมอุตสาหกรรม อาคาร

4. Introduction

4.1 เป็นการทดสอบหาปริมาณออกซิเจน ซึ่งแบคทีเรียใช้ในการย่อยสารอินทรีย์ในน้ำ โดยนำตัวอย่างน้ำหรือ ตัวอย่างที่เจือจางนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20±1 ^{o}C ในที่มืดเป็นเวลา 5 วัน และวัดค่าออกซิเจนละลายเริ่มต้น กับหลังจากบ่ม 5วัน ค่าผลต่างของออกซิเจนละลาย คือ ปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ชนิดที่ย่อยสลายได้

4.2 เป็นการทดสอบหาปริมาณออกซิเจน ซึ่งแบคทีเรียใช้ในการย่อยสารอินทรีย์ในน้ำ โดยใช้วิธี Azide modification ของ Winker โดยออกซิเจนจะทำปฏิกิริยากับ Mn^{2+} เกิดเป็น MnO_2 (ตะกอนสำน้ำตาลแดง)ภายใต้สภาวะที่เป็นด่าง(Oxygen Fixation) จากนั้น MnO_2 ทำปฏิกิริยากับ I ให้เป็น Iodine(I_2) ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด ปริมาณของ Iodine ที่เกิดขึ้นเทียบเท่ากับปริมาณของออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ ซึ่งสามารถหาปริมาณของ Iodine ได้โดยการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต (Sodium thiosulfate solution)

5. Apparatus and Equipment

1.1 บิวเรต (Burette) Class A ความละเอียด 0.05 ml

1.2 ตู้ Incubrator ยี่ห้อ DAIHAN Scientific ควบคุมอุณหภูมิที่ 20±1 ^{o}C

1.3 เครื่องวัดการนำไฟฟ้า ความเค็มและอุณหภูมิ (Conductivity Meter) ยี่ห้อ HANNA รุ่น HI 2550

1.4 เครื่องจ่ายลมพร้อมหัวจ่ายลม (แบบเดียวที่ใช้กับตู้เลี้ยงปลาสวยงาม)

1.5 pH Meter ยี่ห้อ ยี่ห้อ HANNA รุ่น HI 2550

1.6 ขวด BOD ขนาด 300 มล. พร้อมจุกแก้วที่เป็น ground joint พร้อมฝาครอบพลาสติก

1.7 ปิเปตวัดปริมาตร (Volumetric pipette) class A ขนาด 1 2 5 10 20 และ 50 ml

1.8 ปิเปตชนิดแบ่งย่อยขีดปริมาตร (Measuring pipette) class A ขนาด 10 ml

1.9 ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) Class A ขนาด 100 500 และ 1000 ml

1.10 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50 100 500 และ 1000 ml

1.11 เครื่องชั่ง (Balance) ชนิดละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.12 กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 100 250 และ 500 ml

6. Reagents

6.1 น้ำบริสุทธิ์

6.2 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer solution) เตรียมโปแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4. AR grade) 8.50 g ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮปตะไฮเดรต($Na_2HPO_4.7H_2O$. AR garde) 33.4 g ไดโปรแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4. AR grade) 21.75 g และแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl,AR grade) 1.70 g ละลายในน้ำบริสุทธิ์ 500 ml แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 L โดยสารละลายนี้จะมี PH 7.2 เก็บสารละลายที่เตรียมไว้ในขวดสีชา สารละลายมีอายุการใช้งานไม่เกิน 3 เดือน

6.3 สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium sulphate solution) ละลาย แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4.7H_2O$,AR grade) 22.5 g ในน้ำบริสุทธิ์ แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 L เก็บไว้ในขวดสีชา มีอายุการใช้งานไม่เกิน 3 เดือน

6.4 สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride solution) ละลายแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$,AR grade) 27.5 g ในน้ำบริสุทธิ์ แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 L เก็บไว้ในขวดสีชา มีอายุการใช้งานไม่เกิน 3 เดือน

6.5 สารละลายเฟอริคคลอไรด์ (Ferric chloride solution) ละลายเฟอริคคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$,AR grade) 0.25 g ในน้ำบริสุทธิ์แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 L เก็บไว้ในขวดสีชามีอายุการใช้งานไม่เกิน 3 เดือน

6.6 สารละลายกรดซัลฟูริค 1.0 N (Sulphuric acid solution 1.0 N) เติมกรดซัลฟูริค (conc. H_2SO_4 acid:AR grade) 28 ml ลงในน้ำบริสุทธิ์อย่างช้าๆ ปล่อยไว้ให้เย็นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1L เก็บใส่ขวดแก้ว มีอายุการใช้งานไม่เกิน 6 เดือน

6.7 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.0 N (Sodium hydroxide solution 1.0 N) ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์(NaOH:AR grade) 40 g ในน้ำบริสุทธิ์และปรับปริมาตรเป็น 1L เก็บไว้ในขวดพลาสติก มีอายุการใช้งานไม่เกิน 6 เดือน

6.8 สารละลายกลูโคส-กลูตามิค ที่มีค่า BOD 198±30.5 mg/L อบ glucose (D-Glucose:AR grade) และ glutamic acid (L(+)glutamic acid; AR grade) ที่103-105 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นใน desiccator ชั่งสารทั้งสองอย่างๆ ละ 150mg ละลายในน้ำบริสุทธิ์ แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 L เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการทดสอบ

6.9 สารละลายโซเดียมซัลไฟต์ 0.025 N (Sodium sulfite solution 0.025 N) ละลายโซเดียมซัลไฟต์ (Na_2SO_3 ; AR grade)1.575 g ในน้ำบริสุทธิ์ แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 L เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้งาน

6.10 สารละลายกรดซัลฟูริค 1+50 (Sulfuric acid solution 1+50) เติมกรดซัลฟูริค (conc.H_2SO_4 acid ; AR garde) 1 ml ลงในน้ำบริสุทธิ์ 50 ml เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้งาน

6.11 สารละลายโปแตสเซียมไอโอไดด์ (Potassium Iodide solution) ละลายโปแตสเซียมไอโอไดด์ (KI ; AR garde) 100 g ในน้ำบริสุทธิ์ 1 L เก็บในขวดพลาสติก สารละลายนี้มีอายุการใช้งาน 3 เดือน

6.12 น้ำแป้ง (Starch solution) ละลายแป้ง (Starch soluble) 2 g และกรดซาลิไซลิก (Salicylic acid) 0.2 g ในน้ำบริสุทธิ์ร้อน 100 ml สารละลายนี้มีอายุการใช้งาน 3 เดือน

6.13 สารละลายกลูโคส 1% ละลายกลูโคส (D-Glucose; AR garde) จำนวน 1 g ในน้ำบริสุทธิ์ 100 ml และเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้งาน

6.14 สารละลายกลูโคส-กลูตามิค ที่มีค่า BOD 1980 mg/L อบ glucose (D-Glucose; AR garde) และ glutamic acid (L(+) – Glutamic acid ; AR garde) ที่ 103-105 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นใน desiccator ชั่งสารทั้งสองอย่าง ๆ ละ 1500 mg ละลายในน้ำบริสุทธิ์ แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 L เตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการทดสอบ

6.15 หัวเชื้อสำเร็จรูป (Polyseed) ยี่ห้อ Hach

6.16 สารละลายแมงกานีสซัลเฟต (Manganese sulfate solution) ละลายแมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4 . H_2O$; AR garde) 364 g ในน้ำบริสุทธิ์แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 L

6.17 สารละลายอัลคาไล-ไอโอไดด์-เอไซด์ (AIA ; Alkali-Iodide-Azide reagent) ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์(NaOH ; AR garde)500 g และโซเดียมไอโอไดด์(NaI ; AR garde) 135 g ในน้ำบริสุทธิ์แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 L หลังจากนั้นเติมโซเดียมเอไซด์ (NaN_3) 10 g ซึ่งละลายในน้ำบริสุทธ์ 40 ml

6.18 กรดซัลฟูริคเข้มข้น (Conc. H_2SO_4 acid)

6.19 สารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.025 N ($Na_2S_2O_3$ 0.025 N) นำสารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$ ความเข้มข้น 0.1N จำนวน 1 หลอด มาเจือจางด้วยน้ำบริสุทธิ์แล้วปรับปริมาตรเป็น 1L นำสารละลายนี้มาจำนวน 250 ml แล้วปรับปริมาตรเป็น 1L สารละลายนี้จะมีความเข้มข้น 0.025 N โดยต้องหาความเข้มข้นที่แน่นอน (Standarddization) อีกครั้ง

6.20 สารละลายมาตรฐานไบไอเดต 0.0021 M ($KH(IO_3)_2$) ละลายโปแตสเซียมไบโอเดต ($KH(IO_3)_2$) จำนวน 812.4 mg ในน้ำบริสุทธิ์แล้วปรับปริมาตรเป็น 1L

6.21 การหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$ Standardization) ละลายโปแตสเซียมไอโอไดด์(KI)ประมาณ 2 g ด้วยน้ำบริสุทธิ์ 100-150 ml ในขวดรูปชมพู่ เติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น 2-3 หยด และเติมสารละลายมาตรฐานไอไอโอเดต($KH(IO_3)_2$) 0.0021 M จำนวน 20 ml ปรับปริมาตรให้เป็น 200 ml ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.025 N ที่เตรียมไว้ เติมน้ำแป้งเมื่อใกล้ถึงจุดยุติ (end point titration) ความเข้มข้น 0.025 N ปริมาตรที่ใช้ในการไทเทรตจะเท่ากับ 20.00 ± 0.30 ml

7. Control condition

7.1 Environmental condition

7.1.1 ควบคุมอุณภูมิห้องให้คงที่ 20±1°C

7.1.2รักษาความสะอาดบริเวณที่ทำการทดสอบ

7.2 Equipment condition

7.2.1 ตู้ Incubrator ยี่ห้อ DAIHAN Scientific ให้ปฏิบัติตามคู่มือการใช้

7.2.2 Conductivity Meter ยี่ห้อ HANNA รุ่น HI 2550 ให้ปฏิบัติตามคู่มือการใช้เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้าความเค็มและ อุณหภูมิ

7.2.3 pH Meter ยี่ห้อ ยี่ห้อ HANNA รุ่น HI 2550 ปฏิบัติตามคู่มือการใช้เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง

8. Special percaution

8.1 ห้องควบคุมอุณหภูมิและน้ำเจือจางควรมีอุณหภูมิใกล้คียงกันคือ$20\pm1^{\circ}C$

8.2 วัดค่าความเค็มของน้ำตัวอย่างทุกครั้ง

8.3 บันทึกอุณหภูมิที่ใช้ในการอินคิวเบทตลอดทั้ง 5 วันอุณหภูมิต้องอยู่ในช่วง $20\pm1^{\circ}C$

8.4 อย่าให้มีฟองอากาศอยู่ภายในขวด BOD

8.5 การวัดค่า DO ควรวัดภายใน 30 นาที หลังจากเตรียมเสร็จแล้ว

9. Description of Procedures

9.1 กรณีไม่สามารถทดสอบตัวอย่างน้ำได้ทันที ให้เก็บรักษาสภาพน้ำไว้ที่ $\leq 4^{\circ}C$ ซึ่งสามารถเก็บรักษาได้นาน 2 วัน

9.2 ก่อนเริ่มการทดสอบให้นำน้ำตัวอย่างออกมาจากห้องเก็บตัวอย่าง ตั้งทิ้งไว้ให้อุณภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องทดสอบ ($20\pm1^{\circ}C$)

9.3 ตรวจเช็คและปรับเทียบเครื่องมือ ที่ใช้ในการทดสอบทั้งหมด

9.4 ควบคุมอุณหภูมิของน้ำตัวอย่างที่ $20 \pm 3\ ^{\circ}C$ และตรวจสอบค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำตัวอย่างด้วย pH meter ว่าอยู่ในช่วง pH 7.0-7.2 หรือไม่ ถ้าไม่ได้ให้ใช้ 1N ของ H_2SO_4 หรือ 1N ของ NaOH ปรับให้ค่า pH อยู่ในช่วงดังกล่าว โดยปริมาตรของกรดหรือด่างที่ใช้ต้องไม่เกิน 0.5% ของปริมาตรตัวอย่าง พร้อมกับวัดค่าความเค็ม

9.5 ตรวจเช็คคลอรีนตกค้าง (Residual chlorine) ในตัวอย่าง โดยใช้กระดาษทดสอบคลอรีน ถ้าตัวอย่างมีคลอรีนมากกว่า 0.2mg/L ต้องกำจัดโดยนำน้ำตัวอย่าง ประมาณ 100-1000 ml เติมสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ 0.025 N โดยใช้แป้งน้ำเป็นอินดิเคเตอร์ จะทราบปริมาณของสารละลายโซเดียมซัลไฟต์ที่ใช้เติมลงไปในตัวอย่าง หลังจากเติมสารละลายโซเดียมซัลไฟต์แล้วกวนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10-20 นาที ก่อนนำมาทดสอบต่อไป

9.6 เตรียมน้ำเจือจาง (Dilution water) โดยตวงน้ำบริสุทธิ์ตามปริมาตรที่ต้องการใช้ เติมอากาศลงไปในน้ำประมาณ 1 ชั่วโมงหรือมีค่า DO อย่างน้อย 7.5 mg/L แล้วเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer solution) สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium sulphate solution) สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (Calcium choride solution) สารละลายเฟอริคคลอไรด์ (Ferric chloride solution) อย่างละ 1 ml ต่อน้ำ 1L ผสมให้เข้ากัน และควบคุมอุณหภูมิของน้ำเจือจางที่ $20\pm3^{\circ}C$ น้ำเจือจางนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้งาน เพื่อให้น้ำเจือจางมีสภาพที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

9.7 เตรียมหัวเชื้อ (Seed) โดยตวงน้ำเจือจาง (Dilution water) ปริมาตร 500 ml เติมกลูโคส 1 % ปริมาตร 5 ml เติมอากาศให้มีออกซเจนอิ่มตัวตลอดเวลา และเติมหัวเชื้อสำเร็จรูป (Polyseed) 1 แคปซูล ลงในน้ำดังกล่าว ใช้เวลาเพาะเชื้อ 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง หัวเชื้อเจริญเติบโตเต็มที่พร้อมใช้งาน (ควรใช้ภายใน 6 ชั่วโมง)

9.8 เลือกวิธีทดสอบตามลักษณะของน้ำตัวอย่าง ดังนี้

9.8.1 น้ำตัวอย่างที่มีความสกปรกน้อยใช้วิธีทดสอบ BOD โดยตรง (Direct Method) แบบเติมหัวเชื้อซึ่งปฏิบัติดังนี้

9.8.1.1 เขย่าขวดตัวอย่างให้น้ำเข้ากันดี

9.8.1.2 เติมออกซิเจนลงในน้ำตัวอย่างโดยเติมอากาศผ่านหัวลูกฟูจนออกซิเจนละลายอิ่มตัว (ประมาณ 3 นาที)

9.8.1.3 เติมหัวเชื้อ(Seed) 2 ml ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 ml แล้วเติมน้ำตัวอย่างลงไปจนได้ปริมาตร 1000 ml ผสมให้เข้ากัน

9.8.1.4 กลั้ว (rinse)ขวดบีโอดี ด้วยน้ำตัวอย่างที่ผสมหัวเชื้อแล้ว 1-2 ครั้ง แล้วเทน้ำตัวอย่างนั้นลงในขวดบีโอดี จำนวน 2 ขวดจนเต็มอย่าให้มีฟองอากาศ ปิดจุกให้สนิท ขวดที่ 1 นำไปหาค่าการละลายของออกซิเจน (DO_0) ด้วยการไทเทรตกับสารมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.025 N ส่วนขวดที่ 2 ใช้ในน้ำบริสุทธิ์หล่อที่ปากขวด และ ปิดด้วยฝาครอบพลาสติก นำขึ้นชั้นวางในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ($20\pm1^{\circ}C$) เป็นเวลา 5 วัน ± 6 ชั่วโมง แล้วนำมาหาค่า DO_5 โดยมีขั้นตอนเช่นเดียวกับ การหาค่า DO_0

9.8.2 น้ำตัวอย่างที่มีความสกปรกมากใช้วิธีการทดสอบ BOD แบบเจือจางที่เติมหัวเชื้อ (Seed Dilution Method) ซึ่งปฏิบัติดังนี้

9.8.2.1 ประมาณค่า BOD เพื่อหา % dilution โดยดูจากความสกปรกของตัวอย่างน้ำ ตามตารางที่ 1 โดยประมาณ ดังนี้

- น้ำที่สกปรกมาก 0.01-1.0 %
- น้ำที่ยังไม่ผ่านการบำบัด 1-5 %
- น้ำที่ผ่านระบบบำบัดชีวภาพ 5-20 %
- น้ำที่ผ่านระบบบำบัด 20-100 %
- น้ำผิวดินที่ปนเปื้อน 20-100 %

9.8.2.2 เลือก % dilution 3 ช่วงเป็นอย่างน้อยให้ครอบคลุม ค่า BOD ที่ประมาณค่าไว้ในข้อ 9.8.2.1 โดยเจือจางนั้นให้เจือจาง % dilution ละ 2 ขวด ซึ่งการ เจือจางที่เหมาะสม จะต้องให้ค่าการละลายของออกซิเจนที่เหลืออยู่ (DO_5) ไม่น้อยกว่า 1 mg/L และจะต้องมีผลต่างของค่าการละลายออกซิเจน ($DO_0 - DO_5$) อย่างน้อย 2 mg/L

9.8.2.3 เขย่าขวดตัวอย่างให้น้ำตัวอย่างเข้ากันดี

9.8.2.4 ตวงปริมาตรตัวอย่างตาม% dilution ที่เลือกไว้โดยดูจากตารางที่ 1 โดยใช้ปิเปต (ถ้าใช้ตัวอย่างมากกว่า 50 ml ให้ใช้กระบอกตวง) ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 ml เติมหัวเชื้อ (Seed)

2 ml(0.2%) ปรับปริมาตรเป็น 1000 ml โดยใช้น้ำเจือจางที่เตรียมไว้ผสมให้เป็นเนื้
ขั้นตอนต่อไป โดยปฏิบัติตาม วิธี direct method ในข้อ 9.8.1.4

ตารางที่ 1 ช่วงของค่า BOD กับวิธีการเจือจางตัวอย่า

% Dilution	Range of BOD (mg/L)	Volume 10(
100	0 – 7	1
50	4 – 14	
20	10 – 35	
10	20 – 70	
5	40 – 140	
2	100 – 350	
1	200 – 700	
0.5	400 – 1,400	
0.2	1,000 – 3,500	
0.1	2,000 – 7,000	
0.05	4,000 – 14,000	
0.02	10,000 – 35,000	
0.01	20,000 – 70,000	

<u>หมายเหตุ</u>

การเจือจางตัวอย่าง

กรณีที่มีการเจือจางมากกว่า 1: 100 เท่า ให้มีการเจือจางมากกว่า 1 ขั้นตอนด้วยเ
การทดสอบ

<u>การหาค่าออกซิเจนละลายจากตัวอย่างน้ำในขวดบีโอดี</u>

1. เติมสารละลายแมงกานีสซัลเฟต (Manganese sulfate solution) และสารเ
เอไซด์ (AIA reagent) อย่างละ 1 ml ลงในขวดบีโอดีที่ใส่ตัวอย่างน้ำนั้นอย่างระมัดระวังเ
ใต้น้ำ) ปิดจุกขวดอย่าให้มีฟองอากาศภายในขวดผสมให้เข้ากัน

2. ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนจนได้ปริมาณน้ำใส 2 ใน 3 ส่วน ของขวด

3. เติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น 1 ml โดยให้กรดค่อยๆไหลลงไปข้างๆคอขวด ใ
จนกระทั่งตะกอนละลายหมด

2 ml(0.2%) ปรับปริมาตรเป็น 1000 ml โดยใช้น้ำเจือจางที่เตรียมไว้ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปทดสอบขั้นตอนต่อไป โดยปฏิบัติตาม วิธี direct method ในข้อ 9.8.1.4

ตารางที่ 1 ช่วงของค่า BOD กับวิธีการเจือจางตัวอย่าง

% Dilution	Range of BOD (mg/L)	Volume Sample / 1000 ml
100	0 – 7	1,000
50	4 – 14	500
20	10 – 35	200
10	20 – 70	100
5	40 – 140	50
2	100 – 350	20
1	200 – 700	10
0.5	400 – 1,400	5
0.2	1,000 – 3,500	2
0.1	2,000 – 7,000	1
0.05	4,000 – 14,000	0.5
0.02	10,000 – 35,000	0.2
0.01	20,000 – 70,000	0.1

<u>หมายเหตุ</u>

การเจือจางตัวอย่าง

กรณีที่มีการเจือจางมากกว่า 1: 100 เท่า ให้มีการเจือจางมากกว่า 1 ขั้นตอนด้วยน้ำบริสุทธิ์ก่อน แล้วจึงทำการทดสอบ

<u>การหาค่าออกซิเจนละลายจากตัวอย่างน้ำในขวดบีโอดี</u>

1. เติมสารละลายแมงกานีสซัลเฟต (Manganese sulfate solution) และสารละลายอัลคาไล-ไอโอไดด์-เอไซด์ (AIA reagent) อย่างละ 1 ml ลงในขวดบีโอดีที่ใส่ตัวอย่างน้ำนั้นอย่างระมัดระวัง(โดยเติมสารทั้งสองชนิดนี้ใต้น้ำ) ปิดจุกขวดอย่าให้มีฟองอากาศภายในขวดผสมให้เข้ากัน

2. ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนจนได้ปริมาณน้ำใส 2 ใน 3 ส่วน ของขวด

3. เติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น 1 ml โดยให้กรดค่อยๆไหลลงไปข้างๆคอขวด ปิดจุกแล้วผสมให้เข้ากันจนกระทั่งตะกอนละลายหมด

4. ตวงสารละลายมา 201 ml นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.025 N จนกระทั่งสารละลายมีสีเหลืองอ่อนหรือสีฟางข้าว เติมน้ำแป้ง 3-5 หยด จะได้สารละลายสีน้ำเงิน ไทเทรตต่อไปจนกระทั่งสีน้ำเงินหายไป บันทึกปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไป

10. Recording and calculation of the result

10.1 บันทึกข้อมูลที่ได้ลงในแบบบันทึกผลการทดสอบ BOD

10.2 ปริมาณออกซิเจนซึ่งแบคทีเรียใช้ในการย่อยสารอินทรีย์ในน้ำ (BOD) หน่วย mg/L คำนวณได้ดังนี้

$$BOD\ (mg/L) = \frac{[(DO_0-DO_5)-(B_1-B_2)\ f]\times 100}{P}$$

โดยที่ DO_0 = DO ของตัวอย่างที่เจือจางแล้วในวันแรก

DO_5 = DO ของตัวอย่างที่เจือจางแล้วอินคูเบทเป็นเวลา 5 วัน

B_1 = DO ของ seed control ที่เจือจางแล้วในวันแรก

B_2 = DO ของ seed control ที่เจือจางแล้วอินคูเบทเป็นเวลา 5 วัน

F = อัตราส่วนของหัวเชื้อ (seed) ในตัวอย่างต่อใน seed control

$$= \frac{\%\text{หัวเชื้อใน } DO_0}{\%\text{หัวเชื้อใน } B_1}$$

P = เปอร์เซ็นของตัวอย่างที่ใช้

10.1 การรายงานผล

10.3.1 วิธี Seed Direct Method รายงานผลโดยใช้ค่าที่คำนวณได้โดยตรง

10.3.2 วิธี Seed Dilution Method การรายงานผล มีเกณฑ์พิจารณา ดังนี้

1. ค่าของ DO_5 ต้องมีค่าไม่น้อยกว่า 1 mg/L
2. ผลต่างของ DO_0-DO_5 ต้องมีค่าอย่างน้อย 2 mg/L
3. ใช้ผลของ %dilution ที่มากที่สุด
4. ผลของ BOD อยู่ในเกณฑ์พิจารณาตามข้อ 1-3 มากกว่า 1 dilution ให้ใช้ค่าเฉลี่ยในการรายงานผล
5. BOD มีค่าน้อยกว่า 1 mg/L ให้รายงานผลเป็นเลขทศนิยม 2 ตำแหน่ง
6. BOD มีค่าตั้งแต่ 1 mg/L แต่ไม่ถึง 100 mg/L ให้รายงานผลเป็นเลขทศนิยม 1 ตำแหน่ง
7. BOD มีค่าตั้งแต่ 100 mg/L ขึ้นไปให้รายงานผลเป็นเลขจำนวนเต็ม ไม่ต้องมีเลขทศนิยม
8. ถ้าค่าของ DO_5 นั้น มีค่าน้อยกว่า 1 mg/L ทั้ง 3 dilution ให้ใช้ผลของ %dilution ที่น้อยที่สุดในการรายงานผล ดังนี้

$$BOD\ (mg/L) = \frac{\left[(DO_0-DO_5)-(B_1-B_2)\ f\right]\times 100}{P}$$

11. Quality control

11.1 ตรวจสอบคุณภาพของน้ำเจือจาง ดังนี้

11.1.1 ตรวจสอบค่าการละลายออกซิเจน (ปฏิบัติทุกครั้งที่ทดสอบ)

โดยใช้น้ำเจือจางที่เตรียมไว้ เทใส่ขวดบีโอดีจนเต็มไม่ให้มีฟองอากาศ ปิดจุกให้สนิท จำนวน 6 ขวด นำไปหาค่าการละลายของออกซิเจน (DO_0) ตามกระบวนการทดสอบ จำนวน 3 ขวด อีก 3 ขวดที่เหลือ ใช้น้ำบริสุทธิ์หล่อที่ปากขวด และปิดด้วยฝาครอบพลาสติก นำขึ้นชั้นวางในห้องควบคุมอุณหภูมิ ($20\pm^{\circ}C$) เป็นเวลา 5 วัน ± 6 ชั่วโมง แล้วนำมาหาค่า DO_5 โดยมีขั้นตอนเดียวกับการหาค่า DO_0 น้ำที่มีคุณภาพดีจะมีค่า BOD $\leq$ 0.2 mg/L

11.1.2 การแก้คำเนื่องจากการเติมหัวเชื้อ (Seed correction control) (B_1,B_2)

ปฏิบัติทุกครั้งที่ทดสอบ โดยนำหัวเชื้อในข้อ 9.7 มาเจือจางที่ 1%,2% และ 5% และปฏิบัติตามข้อ 9.8.2.4 (ยกเว้นไม่ต้องเติมหัวเชื้อ) นำผลการทดสอบจากขวดที่มีการใช้ออกซิเจน 40-70% ไปใช้ในการคำนวณ ดังนี้

$$\text{ค่าการใช้ออกซิเจน 40-70\% ของหัวเชื้อ} = \frac{(B_1-B_2)}{B_1}\times 100$$

โดยที่ B_1 = DO ของ seed control ที่เจือจางในวันแรก

B_2 = DO ของ seed control ที่เจือจางแล้วอินคูเบทเป็นเวลา 5 วัน

11.1.3 ตรวจสอบสารพิษในน้ำเจือจาง

ปฏิบัติทุกครั้งที่ทดสอบ โดยนำสารละลายกลูโคส-กลูตามิค ที่มีค่าบีโอดี 198 ± 30.5 mg/L มาทดสอบตามวิธี Dilution method ที่เปอร์เซ็นต์การเจือจาง 2 % ค่าที่ยอมรับได้ต้องมีค่าอยู่ที่ 198 ± 30.5 mg/L ทำการทดสอบทุก 1 ชุดทดสอบ ต่อการเตรียมน้ำเจือจาง 1 ครั้ง

$$\%\ \text{Recovery} = \frac{C}{G}\times 100$$

โดยที่ C = ปริมาณ BOD ที่ทดสอบได้ (mg/L)

G = ปริมาณ BOD ของ GGA (mg/L)

เกณฑ์การยอมรับ คือ 85-115%

11.2 การวิเคราะห์ซ้ำ

สุ่มตัวอย่างตรวจมาทดสอบ 5 % ของ 1 ชุดการทดสอบ หรืออย่างน้อย 1 ตัวอย่าง กรณีที่ตัวอย่างที่ทดสอบน้อยกว่า 20 ตัวอย่าง เกณฑ์การยอมรับคือ % RPD $\leq$ 10%

$$\% \text{ RPD} = \frac{D \times 100}{M}$$

โดยที่ D = ผลต่างของการทดสอบ 2 ซ้ำ

M = ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบ 2 ซ้ำ

11.3 การวิเคราะห์การกลับคืนของสารที่ทราบปริมาณ

เติมสารละลายกลูโคส-กลูตามิค ข้อ 6.14 จำนวน 2 ml ลงในตัวอย่าง โดยทดสอบ 5% ของชุดการทดสอบ หรืออย่างน้อย 1 ครั้ง กรณีที่ชุดการทดสอบนั้นมีตัวอย่างน้อยกว่า 20 ตัวอย่าง

$$\% \text{ Spiked Recovery} = \frac{C_1 - C_0}{C_A} \times 100$$

โดยที่ C_1 = ปริมาณ BOD ในตัวอย่างที่เติมสาร

C_0 = ปริมาณ BOD ในตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสาร

C_A = ปริมาณที่เติมลงในตัวอย่าง

เกณฑ์การยอมรับ คือ 85-115%

11.4 แผนผังควบคุมคุณภาพ (Control chart) นำผลของ Quality control ข้อ 11.1 11.2 และ 11.3 มาจัดแผนผังควบคุมคุณภาพ สำหรับตรวจสอบแนวโน้มคุณภาพในด้านต่างๆ และเมื่อพบปัญหาให้ปฏิบัติตาม WI # 23-00-001

12. Uncertainty of measurement

12.1 แหล่งที่มาของค่าความไม่แน่นอนของกระบวนการทดสอบ

12.1.1 เครื่องมือ

- ห้องควบคุมอุณหภูมิ
- เครื่องชั่ง(Balance)

12.1.2 เครื่องแก้ว

- กระบอกตวง (Cylinder)
- ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)
- ปิเปต (Pipette)
- บิวเรต (Burette)

12.2 การรายงานค่าความไม่แน่นอน ในกรณีที่ผู้ใช้บริการร้องขอ ให้ปฏิบัติตามเอกสารคำแนะนำการปฏิบัติงาน เรื่อง วิธีการคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบปริมาณออกซิเจนซึ่งแบคทีเรียใช้ในการย่อยสารอินทรีย์ในน้ำ (BOD)

13. Relative document

13.1 คู่มือการใช้เครื่อง pH Meter ยี่ห้อ HANNA รุ่น HI 2550

13.2 คู่มือการใช้ห้องควบคุมอุณหภูมิ ตู้ Incubrator ยี่ห้อ DAIHAN Scientific

13.3 คู่มือการใช้เครื่องชั่ง (Balance)

13.4 คู่มือการใช้เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า ความเต็มและอุณหภูมิ (Conductivity Meter) ยี่ห้อ HANNA รุ่น HI 2550

13.5 แบบบันทึกผลการทดสอบ BOD

การทดสอบปริมาณออกซิเจนซึ่งแบคทีเรียใช้ในการย่อยสารอินทรีย์ในน้ำ

นำน้ำตัวอย่างออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เท่ากับอุณหภูมิห้อง ($20\pm1^{\circ}C$)

↓

ตรวจเช็คและปรับเทียบเครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบ

↓

ตรวจสอบสภาพความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำตัวอย่างด้วย pH Meter อยู่ในช่วง 7.0-7.2 ถ้าไม่ได้ให้ใช้ 1N H_2SO_4 หรือ 1N NaOH ปรับให้ค่าอยู่ในช่วงดังกล่าว

↓

วัดค่าความเค็มของน้ำตัวอย่างด้วยเครื่อง Conductivity meter

↓

ตรวจเช็คคลอรีนตกค้าง ถ้ามีเกิน 0.2 mg/l ต้องกำจัด

↓

เขย่าขวดตัวอย่างให้น้ำตัวอย่างเข้ากันดี

↓

เติมออกซิเจนลงในน้ำตัวอย่างโดยเติมอากาศผ่านหัวลูกฟู่ จนออกซิเจนละลายอิ่มตัว (ประมาณ 3 นาที)

↓

ใส่หัวเชื้อ 2ml ลงใน Volumetric flask ขนาด 1000 ml ปรับปริมาตร โดยใช้น้ำตัวอย่างที่เติมอากาศจนอิ่มตัวแล้ว

↓

เทน้ำตัวอย่างใส่ขวด BOD จนเต็มจำนวน 2 ขวด ปิดจุกให้สนิท ขวดที่ 1 นำไปหาค่าการละลายของออกซิเจน (DO_0) ด้วยการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$ 0.025 N

↓

เตรียมน้ำเจือจางสำหรับทำ Dilution

↓

เขย่าขวดตัวอย่างให้น้ำตัวอย่างเข้ากันดี

↓

ตวงปริมาตรตัวอย่างตาม%dilution ที่เลือกไว้ ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1000 ml เติมหัวเชื้อ 2 ml ปรับปริมาตร โดยใช้น้ำเจือจางที่เตรียมไว้

↓

เทน้ำตัวอย่างใส่ขวด BOD จนเต็มจำนวน 2 ขวด ปิดจุกให้สนิท ขวดที่ 1 นำไปหาค่าสารละลายออกซิเจน (DO_0) ด้วยการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$ 0.025 N

↓

ขวดที่ 2 ใช้น้ำบริสุทธิ์หล่อที่ปากขวดและปิดปากขวดด้วยฝาครอบพลาสติก นำเข้าชั้นวางในห้องควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 5 วัน ± 6 ชั่วโมง แล้วนำไปหาค่าการละลายของออกซิเจน (DO_0) ด้วยการไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน $Na_2S_2O_3$ 0.025 N