บทที่ 3
วิธีการดำเนินงาน

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1.1 ขวดบีโอดีสำหรับทดสอบ มีฝาแก้วปิด (BOD Sample Bottles)

3.1.2 ตู้เพาะเชื้อที่สามารถควบคุมอุณหภูมิ (Thermostat Cabinet)

3.1.3 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask)

3.1.4 บิวเรต (Burette Glass)

3.1.5 ขวดปรับปริมาตร (Volumetric Flask)

3.1.6 ปั๊มสำหรับเติมอากาศ (Air Pump)

3.1.7 กระบอกตวง (Cylinder)

3.2 สารเคมี

3.2.1 สารละลายแมงกานีสซัลเฟต (Manganese sulfate; $MnSO_4$)

3.2.2 สารละลายอัลคาไลด์ ไอโอไดด์ เอไซด์ (Alkali-iodide-azide; AIA)

3.2.3 น้ำแป้งสุก (Starch)

3.2.4 สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต (Sodium thiosulfate; $Na_2S_2O_3$)

3.2.5 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Sulfuric; conc. H_2SO_4)

3.2.6 สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม ไฮโดรเจน ไดไอโอเดต (Potassium hydrogen di-iodate; $KH(IO_3)_2$)

3.2.7 สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium sulfate; $MgSO_4$)

3.2.8 สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride; $CaCl_2$)

3.2.9 สารละลายไอออน (3+) คลอไรด์ (เฟอร์ริกคลอไรด์) (Ferric chloride; $FeCl_3$)

3.2.10 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer)

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การเทียบมาตรฐานสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต 0.025 N

3.3.1.1 ชั่ง KI 2 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่

3.3.1.2 เติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.3.1.3 เติมสารละลายมาตรฐาน $KH(IO_3)_2$ 0.025 N ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

3.3.1.4 เติม conc. H_2SO_4 2-3 หยด

3.3.1.5 เติมน้ำกลั่นปริมาตร 90 มิลลิลิตร

3.3.1.6 ไทเทรตกับสารละลาย $Na_2S_2O_3$ 0.025 N ให้สารละลายเป็นสีเหลืองอ่อน

3.3.1.7 เติมน้ำแป้งสุกปริมาตร 1 มิลลิลิตร (สารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน)

3.3.1.8 ไทเทรตต่อจนกระทั่งสารละลายใสไม่มีสี

3.3.1.9 นำปริมาตรของ $Na_2S_2O_3$ 0.025 N ที่ใช้มาคำนวณหาความเข้มข้นที่แท้จริง

3.3.2 การหาปริมาณออกซิเจนที่ละลาย (DO)

3.3.2.1 นำน้ำตัวอย่างใส่ขวดบีโอดีขนาด 300 มิลลิลิตร

3.3.2.2 เติมสารละลาย $MnSO_4$ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติม AIA ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปิดจุกและเขย่าเพื่อให้สารผสมกันทั่วถึง

3.3.2.3 ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน

3.3.2.4 เติม conc. H_2SO_4 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปิดจุกและเขย่าเพื่อให้ตะกอนละลาย

3.3.2.5 ตวงตัวอย่างปริมาตร 201 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เพื่อนำไปไทเทรต ทั้งนี้เพื่อให้ปริมาตรตัวอย่างนี้มีค่าเท่ากับปริมาตรน้ำตัวอย่างเริ่มต้น 200 มิลลิลิตร เหตุที่ใช้น้ำตัวอย่างในขวดบีโอดีปริมาตร 201 มิลลิลิตร เนื่องจากมีการสูญเสียน้ำตัวอย่างจากขวดบีโอดีโดยการแทนที่ของสารละลายที่เติมลงไปทั้งสิ้น 2 มิลลิลิตร (สารละลาย $MnSO_4$ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสาร AIA ปริมาตร 1 มิลลิลิตร รวมเป็น 2 มิลลิลิตร) ดังนั้น ปริมาตรน้ำตัวอย่างในขวดบีโอดีที่จะต้องใช้ในการไทเทรต เพื่อให้เป็นการใช้น้ำตัวอย่างจำนวน 200 มิลลิลิตร จึงควรเท่ากับ

$$\frac{(200 \times 300)}{(300-2)} = 201 \text{ มิลลิลิตร}$$

3.3.2.6 ไทเทรตกับสารละลาย $Na_2S_2O_3$ 0.025 N ให้สารละลายเป็นสีเหลืองอ่อน

3.3.2.7 เติมน้ำแป้งสุกปริมาตร 1 มิลลิลิตร (สารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน)

3.3.2.8 ไทเทรตต่อจนกระทั่งสารละลายใสไม่มีสี

3.3.3 การหาค่า BOD

3.3.3.1 วิธีทำให้เจือจาง (Dilution Method) ใช้ในกรณีที่น้ำตัวอย่างมีความสกปรกสูงและมีค่า BOD มากกว่า 7 mg/L หรือสังเกตได้จากความขุ่นของตัวอย่างน้ำมีมาก จำเป็นต้องเจือจางน้ำ

ตัวอย่างด้วยน้ำผสมเจือจาง (Dilution Method) วิธีการทำให้เจือจางสามารถทำได้โดยนำน้ำตัวอย่างมาผสมกับน้ำเจือจางที่เตรียมขึ้นในอัตราส่วนที่เป็นเปอร์เซ็นต์ ตามความเหมาะสม ซึ่งการเจือจางที่เหมาะสมคือ

- % Dilution ที่ทำให้ค่า DO ลดลงอย่างน้อย 2 mg/L
- % Dilution ที่ทำให้ค่า DO ที่เหลือหลังจากอินคิวเบท 5 วัน เหลือไม่น้อยกว่า 1 mg/L

3.3.3.2 การประมาณค่า BOD สามารถทำได้โดยวิเคราะห์ค่า COD ของน้ำแล้วนำมาประเมิณค่า BOD โดยการคำนวณจากค่าประมาณ BOD เท่ากับ 60% ของค่า COD แล้วนำค่าประมาณ BOD นี้เทียบกับตารางที่ 1

ตารางที่ 3.1 แสดงการประมาณค่า BOD ใน % Dilution ต่างๆ

ช่วง BOD ที่ประมาณได้	% Dilution
20,000 – 70,000	0.01
10,000 – 35,000	0.02
4,000 – 14,000	0.05
2,000 – 7,000	0.1
1,000 – 3,500	0.2
400 – 1,400	0.5
200 – 700	1.0
100 – 350	2.0
40 – 140	5.0
20 – 70	10.0
10 – 35	20.0
4 – 14	50.2
0 – 7	100

3.3.3.3 วิธีการเตรียมน้ำเผสมเจือจาง (Dilution water)

1) คำนวณปริมาตรน้ำผสมเจือจาง (Dilution water) ที่ต้องการโดยใช้ปริมาตรน้ำตัวอย่างที่ต้องการ (mL) = % Dilution × 10

2) นำน้ำกลั่นที่กลั่นใหม่ตามปริมาตรที่คำนวณได้มาปรับอุณภูมิให้ใกล้เคียง 20 ± 3 องศาเซลเซียส มาเติมสารละลาย $MgSO_4$ $CaCl_2$ $FeCl_3$ และ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ อย่าง 1 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

3) เติมอากาศประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อให้ออกซิเจนละลายอิ่มตัว

3.4 การคำนวณ

3.4.1 การคำนวณการเทียบมาตรฐานสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต

Normality, N ของ $Na_2S_2O_3$ = $\frac{0.025 \times 10}{\text{mL } Na_2S_2O_3 \text{ ที่ใช้ในการไทเทรต}}$

3.4.2 การคำนวณค่า BOD

BOD, mg/L = $\frac{(DO_0 - DO_5) \times 100}{P}$

เมื่อ

DO_0 = ค่า DO หรือ QC ที่หาได้ในวันแรก

DO_5 = ค่า DO หรือ QC ที่หาได้เมื่อครบ 5 วัน

P = เปอร์เซ็นตัวอย่างน้ำที่เจือจาง