

วิทยานิพนธ์นี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาหัววัดค่าบีโอดีสำหรับวัดตัวอย่างน้ำที่มีปริมาณค่าบีโอดีต่ำในพิสัยระดับน้อยกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตรบีโอดี จากการคัดเลือกแบคทีเรียทนเค็มที่แยกได้จากดินเค็มใน อ.บรบือ จ.มหาสารคาม จำนวน 9 สายพันธุ์ พบว่าแบคทีเรียทนเค็ม 4 สายพันธุ์ ได้แก่สายพันธุ์ TSA7 TSA34 TSA41 และ TSA59 สามารถเจริญได้ดีในอาหารเจือจาง เมื่อนำเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์นี้มาทดสอบความสามารถในการใช้สารอินทรีย์ 7 ชนิด ได้แก่ กรดฮิวมิก กรดแทนนิก กัมอารบิก Lauryl sulfate Lignosulfonic acid กลูโคสและกรดกลูตามิก โดยใช้ ออกซิเจนอิเล็กโทรด เปรียบเทียบกับแบคทีเรียสายพันธุ์ *Pseudomonas sp.* strain P₁ ที่แยกมาจากน้ำเสียจากบ่อให้อากาศ บ.ไทยน้ำทิพย์ จำกัด พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ TSA7 สามารถใช้สารอินทรีย์ชนิดต่างๆที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยเฉลี่ยได้ดีกว่าสายพันธุ์อื่นและให้ขนาดของสัญญาณไฟฟ้าสูงสุด จากการทดสอบทางชีวเคมีพบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ TSA7 คือเชื้อ *Bacillus cereus*

หัววัดค่าบีโอดีที่ประกอบโดยใช้ *B. cereus* ที่ปริมาณเซลล์ 1×10^7 เซลล์ต่อตารางเซนติเมตร สามารถวัดค่าบีโอดีได้ถึงระดับ 10 มิลลิกรัมต่อลิตรบีโอดี ในสารละลายมาตรฐานที่ประกอบด้วย กลูโคสและกรดกลูตามิก โดยมีความไวในการตอบสนอง 3.3535 นาโนแอมแปร์ต่อมิลลิกรัมต่อลิตรบีโอดี ค่าบีโอดีต่ำสุดที่วัดได้ คือ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรบีโอดี เวลาในการตอบสนองโดยเฉลี่ย 7-16 นาทีต่อหนึ่งตัวอย่างในระบบการวัดแบบ steady-state method และหัววัดนี้สามารถตอบสนองต่อสารละลายบีโอดีมาตรฐานอย่างต่อเนื่องได้ 52 ครั้ง โดยมีขนาดของสัญญาณตอบสนองค่อนข้างคงที่ สภาวะที่เหมาะสมในการใช้งานของหัววัดค่าบีโอดีคือ pH 6.8-7.2 และ 30-35 องศาเซลเซียส จากผลเปรียบเทียบการประมาณค่าบีโอดีด้วยวิธีมาตรฐาน BOD₅ กับหัววัดค่าบีโอดีนี้พบว่าค่าบีโอดีที่วัดได้จาก 2 วิธีมีความแตกต่างกัน โดยตัวอย่างน้ำที่มีปริมาณคลอไรด์ในช่วง 10-13.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าบีโอดีที่ประมาณด้วยหัววัดค่าบีโอดีสูงกว่าวิธี BOD₅ ขณะที่ตัวอย่างน้ำซึ่งมีปริมาณคลอไรด์ 0.032 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าค่าบีโอดีที่วัดได้จากทั้ง 2 วิธีใกล้เคียงกัน

The objective of this thesis is to develop a BOD biosensor for determination of BOD of natural river water with low BOD content (lower than $10 \text{ mg l}^{-1}\text{BOD}$). In order to achieve this goal, microorganisms that can grow well in low nutrient media must be selected. Nine strains of salt-tolerant bacteria isolated from saline soil in Amphur Borabue, Mahasarakham province, Thailand were screened for high growth rate in a low nutrient medium (1/10 Tryptic Soy Broth, TSB). Four strains (TSA7, TSA34, TSA41 and TSA59) showed higher growth rates than others in 1/10 TSB and were selected for assimilation capacity tested in seven types of organic compounds: humic acid, tannic acid, gum arabic, lauryl sulfate, liginosulfonic acid, glucose and glutamic acid. The results of substrate assimilation capacity of cell suspension of these four strains and strain P₁ (*Pseudomonas* sp.) isolated from wastewater from a softdrink factory showed that bacteria strain TSA7 could assimilate all the organic compounds tested at a concentration of 20 mg l^{-1} and provided high response current obtained from DO probe. From biochemical test, TSA7 was identified as *Bacillus cereus*.

Thus, a BOD biosensor using *B. cereus* (TSA7) at $1 \times 10^7 \text{ cells cm}^{-2}$ was constructed. Calibrating solution which is a mixture of glucose and glutamic acid (GGA) was used as a standard for BOD biosensor calibration. The BOD biosensor was characterized, resulting in a linear range up to $10 \text{ mg l}^{-1}\text{BOD}$ with a sensitivity of $3.3535 \text{ nA} \cdot \text{mg l}^{-1}\text{BOD}$. It was also found that the lowest limit of detection was $0.5 \text{ mg l}^{-1}\text{BOD}$ with the response time of approximately 7-16 minutes at steady-state measurement. Furthermore, the BOD biosensor showed appropriate operational stability in 52 intermittent batch measurements and the optimum response was obtained at $30\text{-}35^\circ\text{C}$ and pH 6.8-7.2. As a result, the BOD biosensor was applied to determine BOD value of water samples from different locations of a river and canal and compared with values from the conventional 5-day BOD (BOD_5). It was observed that BOD biosensor showed higher BOD content for the sample contained $10.0\text{-}13.5 \text{ mg l}^{-1}$ chloride than BOD_5 . While on the contrary, sample containing low concentration of chloride (0.032 mg l^{-1}) demonstrated approximately the same value as that obtained from BOD_5 .