

Prince of Songkla University  
Pattani Campus

ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก.

### การวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่าง ๆ

#### 1. ศึกษาลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำทิ้งโรงงานผลิตน้ำยางข้น

##### 1.1 การวิเคราะห์หาความเป็นกรด-ด่าง โดยวิธี Electrometric Method

(APHA, AWWA & WEF No. 4500-H B, 1998)

- 1.1.1 ใช้น้ำกลั่นชนิดล้างแท่งอิเล็กโทรดให้สะอาด ใช้กระดาษทิชชูซับน้ำให้แห้ง
- 1.1.2 ใส่อิเล็กโทรดลงในบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลายมาตรฐาน (ซึ่ง pH buffer จะต้องมีค่าความเป็นกรดต่างใกล้เคียงกับน้ำทิ้ง โดยทั่วไปจะใช้สารละลายมาตรฐานที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ที่ 4,7 และ 9)
  - 1.1.3 ปรับเครื่องมือให้ได้ค่ามาตรฐานตามคำแนะนำในคู่มือการ
  - 1.1.4 ใช้น้ำกลั่นชนิดล้างอิเล็กโทรดอีกครั้ง ซับน้ำให้แห้ง
  - 1.1.5 จุ่มอิเล็กโทรดลงในน้ำทิ้ง (นำน้ำทิ้งที่วัดจะต้องมีอุณหภูมิใกล้เคียงหรือเท่ากับอุณหภูมิของสารละลาย pH buffer
  - 1.1.6 อ่านค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ได้จากเครื่องวัด ความเป็นกรด-ด่าง และบันทึกค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ได้

##### 1.2. การวิเคราะห์หาค่าการนำไฟฟ้า (Conductivity) โดยวิธี Electrometric Method

(APHA, AWWA & WEF, 1998)

- 1.2.1 ใช้น้ำกลั่นชนิดล้างแท่งอิเล็กโทรด ให้สะอาด และใช้กระดาษทิชชูซับน้ำให้แห้ง
- 1.2.2 จุ่มอิเล็กโทรดลงในบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลาย KCl 0.01 โมลาร์ ปรับเครื่องมือให้ได้ค่ามาตรฐานตามคำแนะนำในคู่มือของเครื่องมืออื่นๆ โดยให้บิดปุ่มไปที่ค่าสูงสุดก่อนถ้าอ่านค่าไม่ได้ จึงปรับมาที่ค่าต่ำ
- 1.2.3 ใช้น้ำกลั่นชนิดล้างแท่งอิเล็กโทรดให้สะอาดและใช้กระดาษทิชชูซับน้ำให้แห้ง
- 1.2.4 จุ่มอิเล็กโทรดลงในบีกเกอร์ที่บรรจุน้ำตัวอย่างที่จะตรวจวัด แล้วจึงบิดปุ่มไปที่ค่าสูงสุดก่อนถ้าอ่านค่าไม่ได้จึงปรับมาที่ค่าต่ำ ค่าที่ได้จะมีหน่วยเป็น ไมโครซีเมนต์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

1.3 การวิเคราะห์หา ค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด ของแข็งที่ระเหยได้ และ เถ้า โดยวิธี Gravimetric Method (AOAC Official Method No. 966.02, 2000)

1.3.1 อบครุชิเบิ้ล ที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือจน น้ำหนักคงที่

1.3.2 นำครุชิเบิ้ลใส่ในเดซิเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็น (ประมาณ 15 - 30 นาที)

1.3.3 ชั่งน้ำหนัก ครุชิเบิ้ล (A)

1.3.4 ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนใส่ในครุชิเบิ้ล

1.3.5 บันทึกน้ำหนักตัวอย่างรวมกับน้ำหนักครุชิเบิ้ล (B)

1.3.6 นำไปอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนัก คงที่

1.3.7 นำครุชิเบิ้ล ไปใส่ในเดซิเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็น (ประมาณ 15-30 นาที)

1.3.8 ชั่งน้ำหนักรวมของตัวอย่างรวมกับน้ำหนักครุชิเบิ้ล หลังการอบ (C)

1.3.9 นำไปเผาโดยใช้เตาเผา ที่อุณหภูมิ 550±50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

1.3.10 นำครุชิเบิ้ลใส่ในเดซิเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็น (ประมาณ 30 นาที) ชั่งน้ำหนัก รวมของตัวอย่างรวมกับน้ำหนักครุชิเบิ้ล หลังการเผา (D) และคำนวณผล

1.3.11 คำนวณตามสูตร

$$\% \text{ TSC (ปริมาณของแข็งทั้งหมด)} = (Y \times 100)/X$$

$$\% \text{ MC (ความชื้น)} = ((X - Y) \times 100)/X$$

$$\% \text{ VC (ปริมาณของแข็งที่ระเหยได้)} = ((Y - Z) \times 100)/Y$$

โดยที่ X = น้ำหนักของตัวอย่างสด (B - A) หน่วยเป็นกรัม

Y = น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบ (B - C) หน่วยเป็นกรัม

Z = น้ำหนักของตัวอย่างหลังเผา (C - D) หน่วยเป็นกรัม

1.4 การวิเคราะห์หาค่าซีโอดี (Chemical Oxygen Demand) โดยวิธี Close Reflux Titrimetric Method (AOAC Official Method No. 973.46, 2000)

1.4.1 การเตรียมสารเคมี

1) สารละลาย digestion reagent ละลาย  $K_2Cr_2O_7$  4.913 กรัม ซึ่งอบแห้งที่  $103^\circ C$  เป็นเวลา 2 ชม. ในน้ำกลั่น 500 มล. ค่อย ๆ เติม conc.  $H_2SO_4$  167 มล. เติม  $HgSO_4$  ลงไป 33.3 กรัม คนให้ละลาย ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

2) กรด Sulfuric เข้มข้นที่ผสม  $\text{AgSO}_4$  (Sulfuric Acid reagent) ละลาย  $\text{AgSO}_4$  22 กรัมใน Conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ซึ่งมีน้ำหนัก 4.1 กิโลกรัม (2.5 ลิตร) แล้วตั้งทิ้งไว้ 1-2 วัน เพื่อให้ละลาย

3) สารละลายมาตรฐาน ferrous ammonium sulfate (FAS) 0.1 N ละลาย  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  39 กรัมในน้ำกลั่น แล้วเติม conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ลงไป 20 มล. ทำให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่นลงไปจนครบปริมาตร 1 ลิตร สารละลายนี้ต้องนำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยสารละลาย digestion reagent ดังนี้ คือ เติมน้ำกลั่น 10 มล. สารละลาย digestion reagent 14 มล. จากนั้นใช้ปิเปตค่อย ๆ เติม Sulfuric Acid reagent ลงไป 14 มล. ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาไทเทรตกับสารละลาย Ferrous ammonium sulfate (FAS) โดยใช้ ferroin จำนวน 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีฟ้าอมเขียวและเป็นสีน้ำตาลแดงที่จุดยุติ

$$\begin{aligned} \text{Normality of FAS solution} &= \frac{(\text{ml K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) (N \text{ K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7)}{\text{ml Fe (NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \text{ used}} \\ &= \frac{(10) (0.25)}{\text{ml Fe (NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \text{ used}} = 0.10 \end{aligned}$$

4) สารละลาย ferroin อินดิเคเตอร์ ละลาย 1-10 phenantroline monohydrat 1.485 กรัม และ  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  695 มก. ในน้ำกลั่น แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 100 มล.

5) สารละลายมาตรฐาน Potassium hydrogen phthalate (KHP) ละลาย Potassium hydrogen phthalate (KHP) ( $\text{HOOC C}_6\text{H}_4\text{COOK}$ ) 0.425 กรัม ซึ่งอบแห้งที่  $120^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 2 ชม. ในน้ำกลั่น 500 มล. คนให้ละลาย แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น โดย KHP 1 กรัม จะให้ค่า COD = 1176 mg

#### 1.4.2 วิธีการทดลอง

1) ล้างหลอดทดลอง และฝาจุกด้วยกรด  $\text{H}_2\text{SO}_4$  20 % ก่อนเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากสารอินทรีย์

2) ปิเปตตัวอย่างนำมา 10 มล. ใส่ลงในหลอดทดลอง แล้วเติม digestion reagent ลงไป 6 มล.

3) ค่อย ๆ เติม กรด sulfuric เข้มข้นที่ผสม  $\text{AgSO}_4$  ลงไป 14 มล. ให้ไหลลงก้นหลอดแก้ว เพื่อให้ชั้นของกรดอยู่ใต้ชั้นของน้ำตัวอย่างและ digestion reagent

4) ปิดจุกหลอดแก้วให้แน่น แล้วคว่ำหลอดแก้วไปมาหลาย ๆ ครั้งอย่างทั่วถึงก่อนจะนำตัวอย่างไปรีฟลักซ์ เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดความร้อนสะสมอยู่ที่ก้นหลอด ซึ่งอาจแตกได้ในขณะทำการรีฟลักซ์

5) ให้ทำ blank โดยใช้ น้ำกลั่น แทนน้ำตัวอย่างด้วยวิธีการทดลองเช่นเดียวกันกับการวิเคราะห์น้ำตัวอย่าง ประมาณ 1-2 หลอด

6) นำหลอดแก้วทั้งหมดที่ใส่น้ำตัวอย่างและ Blank วางบนที่ตั้งหลอดทดลอง แล้วเข้าเตาอบที่ทำให้อุณหภูมิสูงถึง  $150 \pm 2$  °C ก่อนหน้านี้แล้ว เมื่อครบเวลา 2 ชม. ให้นำตัวอย่างออกมาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งเย็น

7) เทตัวอย่างจากหลอดใส่ลงในขวดรูปชมพู่ แล้วไทเทรตกับสารละลาย FAS จนกระทั่งถึงจุดยุติ จะเห็นการเปลี่ยนแปลงจากสีเหลืองเป็นสีฟ้าอมเขียวและเป็นสีน้ำตาลแดงที่จุดยุติ อ่านปริมาตรที่ไทเทรตตอนเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลแดงทันที

การคำนวณ

$$\text{COD, mg / L} = \frac{(A - B) \times N \times 8000}{\text{ml sample}}$$

A = ml ของ  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$  ที่ใช้ไทเทรต Blank

B = ml ของ  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$  ที่ใช้ไทเทรต น้ำตัวอย่าง

N = Normality ของ  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$  ที่ใช้

## 2. ศึกษาปริมาณธาตุอาหารในน้ำทิ้งโรงงานผลิตน้ำยางข้น

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนทั้งหมด โดยวิธี Kjeldahl Method (AOAC Official Method No. 955.04, 2000)

### 2.1.1 การเตรียมอินดิเคเตอร์

1) ชั่ง Methyl red 200 มิลลิกรัม ละลายใน 95 เปอร์เซ็นต์ Ethyl alcohol 100 มิลลิลิตร

2) ชั่ง Ethylene blue 100 มิลลิกรัม ละลายใน 95 เปอร์เซ็นต์ Ethyl alcohol 50 มิลลิลิตร

3) ผสมสารในข้อ 1 และ 2 เข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน เป็น 1 ลิตร

### 2.1.2 วิธีการทดลอง

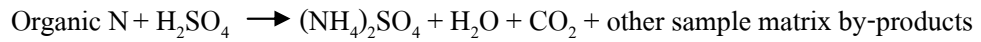
1) ปิเปิดตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 500 มิลลิลิตร

2) เติม  $\text{CuSO}_4$  1 กรัม และ  $\text{K}_2\text{SO}_4$  9 กรัม ลงในหลอดทดลองขนาด 500 มิลลิลิตร

3) เติมกรด  $\text{H}_2\text{SO}_4$  เข้มข้น ปริมาตร 30 มิลลิลิตร

4) นำเข้าเครื่องย่อย ให้ความร้อนที่ อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส จนสารละลายใส (ใช้เวลามากกว่า 30 นาที)

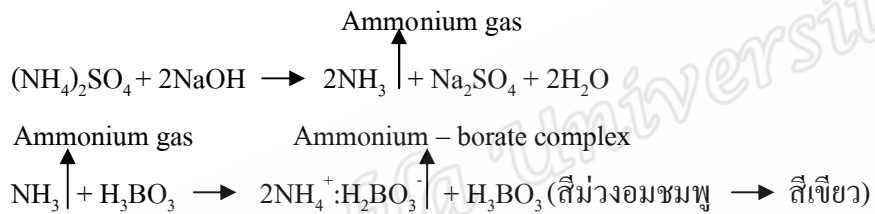
### ปฏิกิริยาในกระบวนการย่อย



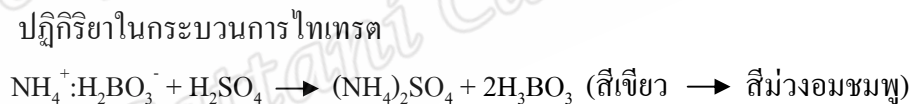
5) ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำเข้าเครื่องกลั่นอัตโนมัติ สภาวะของเครื่องกลั่น เติมน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย NaOH เข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

6) เก็บสารที่กลั่นด้วยกรด  $\text{H}_3\text{BO}_3$  ปริมาตร 100 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่เติม อินดิเคเตอร์ 2 ถึง 3 หยด  $\text{NH}_3$  ที่กลั่นได้ มากกว่าหรือเท่ากับ 200 มิลลิลิตร

### ปฏิกิริยาในกระบวนการกลั่น



7) ไทเทรตสารที่กลั่นได้กับสารมาตรฐาน ตัดสินความถูกต้องด้วยสารละลาย แบลงค์



### การ คำนวณ

เมื่อใช้ HCl หรือ  $\text{H}_2\text{SO}_4$  เป็นสารมาตรฐาน

$$\text{ร้อยละ N} = \frac{[(\text{ml standard acid} \times \text{molarity acid}) - (\text{ml standard NaOH} \times \text{molarity NaOH})]}{1.4007} \times \text{g test portion}$$

## 2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย โดยวิธี Distillation Method

(APHA, AWWA & WEF, 1995)

### 2.2.1 การเตรียมสารเคมี

1) น้ำกลั่น de-ionized ใช้สำหรับเตรียมสารละลายต่างๆ แบลงค์ และสารมาตรฐาน ควรเป็นน้ำกลั่นใหม่

2) สารละลายฟีนอล : ละลายฟีนอล ( $C_6H_5OH$ ) 5 กรัม ในเอซิลแอลกอฮอล์ 95 % (V/V) 50 มิลลิลิตร

3) สารละลายโซเดียมไนโตรปริสไซค์ : ละลายโซเดียมไนโตรปริสไซค์ ( $Na_2Fe(CN)_5NO \cdot 2H_2O$ ) 0.5 กรัม ในน้ำ de-ionized 100 มิลลิลิตร เก็บรักษาสารละลายนี้ในขวดแก้วสีน้ำตาล สารละลายนี้มีอายุ 1 เดือน

4) สารละลายออกซิไดซิง : ละลายโซเดียมไดคลอโรโรไซยานูเรท (sodium dichloroisocyanurate,  $C_3Cl_2N_3NaO_3$ ) หรือ โพแทสเซียมไดคลอโรโรไซยานูเรท (potassium dichloroisocyanurate,  $C_3Cl_2N_3KO_3$ ) ชนิดใดชนิดหนึ่งจำนวน 1 กรัม โซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 กรัม และไตรโซเดียมซิเตรทไดไฮเดรต ( $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ ) 50 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร สารละลายนี้มีอายุ 2-3 สัปดาห์

5) น้ำทะเลเทียม: ละลายโซเดียมคลอไรด์ ( $NaCl$ ) เป็นกรัมตามความเค็มที่ต้องการ ในน้ำกลั่น 1 ลิตร

6) สารละลายมาตรฐานของแอมโมเนีย: ละลายแอมโมเนียมซัลเฟต ( $(NH_4)_2SO_4$ ) (analytical reagent grade) ที่อบแห้ง 105-110 องศาเซลเซียส นาน 1-24 ชั่วโมง 0.165 กรัม ด้วยน้ำกลั่น de-ionized แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร ด้วยขวดวัดปริมาตร สารละลายนี้มีความเข้มข้นของแอมโมเนีย 35 mg-N/L เรียกสารละลายนี้ว่า stock standard solution เก็บสารละลายนี้ไว้ในขวดสีชา สารละลายนี้มีอายุการใช้งาน 6 เดือน ถึง 1 ปี

การเก็บตัวอย่างและการรักษาตัวอย่างน้ำสำหรับนำไปวิเคราะห์หาแอมโมเนีย สามารถเก็บในขวดแก้วหรือขวดพลาสติก (polyethylene, polypropylene) ก็ได้ การวิเคราะห์ควรกระทำทันทีภายใน 2-3 ชั่วโมง หลังจากเก็บตัวอย่าง หรือกรองด้วยกระดาษกรอง GF/C แล้วแช่เย็นไว้ซึ่งสามารถเก็บไว้ได้นาน 24 ชั่วโมง

### 2.2.2 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

1) อดูดสารละลายจาก stock standard solution มา 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร สารละลายนี้มีความเข้มข้น 0.35 mg-N/L

2) อดูดสารละลายจากข้อ 1). 5, 10, 20 และ 40 มิลลิลิตร ด้วย volumetric pipette ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น หรือน้ำทะเลเทียม สารละลายนี้มีความเข้มข้น 0.035, 0.070, 0.140 และ 0.280 mg-N/L ตามลำดับ สำหรับแปลงค่าใช้น้ำกลั่นหรือน้ำทะเลเทียมให้สอดคล้องกับสารละลายมาตรฐาน

3) เติมสารละลายฟีนอล 2.5 มิลลิลิตร สารละลายออกซิไดซิง 5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนโตรปริสไซค์ 2.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ หลังจากเติมน้ำยาเคมีแต่ละชนิดเข้า

ให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนานอย่างน้อย 1 ชั่วโมง แต่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร จดบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ หากความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับความเข้มข้นด้วยวิธี Linear regression (ผู้วิเคราะห์อาจหาความสัมพันธ์จากเครื่องวัดการดูดกลืนแสงโดยตรงก็ได้)

### 2.2.3 วิธีการทดลอง

1) ใช้ไปเปิดแบบกระเปาะดูดน้ำตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีฝาปิดเป็นเกลียวเพื่อป้องกันการระเหยของแอมโมเนีย

2) เติมสารละลายฟีนอล 0.5 มิลลิลิตร สารละลายออกซิไดซิง 1 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนโตรปริสไซด์ 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ หลังจากเติมน้ำยาเคมีแต่ละชนิดเข้าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง แต่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง

3) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร จดบันทึกค่าความเข้มข้นที่วัดได้ หรือนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นของแอมโมเนียในตัวอย่างจากราฟมาตรฐานที่ได้เตรียมไว้ ในกรณีความเค็มของน้ำตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานแตกต่างกันเกิน 2 psu หรือส่วนในพันปรับแก้ค่าความเข้มข้นที่วัดได้จากตัวอย่างด้วยสูตรดังต่อไปนี้

$$NH_{3(\text{corr})} = (1 + 0.0073 \times (S_s - S_0)) \times NH_{3(\text{unc})}$$

เมื่อ  $NH_{3(\text{corr})}$ ,  $NH_{3(\text{unc})}$  = ความเข้มข้นของแอมโมเนียในตัวอย่างที่ปรับแก้ผลเนื่องจากความเค็มแล้ว และยังไม่ได้ปรับแก้ผลเนื่องจากความเค็มตามลำดับ และ  $S_0$  และ  $S_s$  = ความเค็มของสารละลายมาตรฐานและน้ำตัวอย่างตามลำดับ

## 2.3 การวิเคราะห์ไนเตรทแบบ Brucine Method

### 2.3.1 การเตรียมสารเคมี

1) สารละลายสต็อกไนเตรท (Stock Nitrate Solution) ละลายแอนไฮดรัสโพตัสเซียมไนเตรท ( $KNO_3$ ) 0.7218 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร (สารละลายสต็อกนี้มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร  $NO_3^- - N$ )

2) สารละลายมาตรฐานไนเตรท (Standard Nitrate Solution) นำสารละลายสต็อกไนเตรทมา 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 500 มิลลิลิตร (สารละลายมาตรฐานไนเตรทมีความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร)



3) การเตรียมกราฟมาตรฐานไนเตรทดังนี้ เตรียมอนุกรมของสารละลายไนเตรทมาตรฐาน โดยการปิเปตสารละลายมาตรฐาน ไนเตรทความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดที่กำหนดตามลำดับ เขย่าให้เข้ากัน จะได้ สารละลายไนเตรทที่มีความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัม/ลิตร แล้วนำไปทำการทดลองเช่นเดียวกับตัวอย่างน้ำ และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) พล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของไนเตรท (มิลลิกรัม/ลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

4) สารละลายบรูซีน-กรดซัลฟานิลิก (Brucine-Sulfanilic Acid Solution) ละลายบรูซีนซัลเฟต (Brucine Sulfate) 1 กรัม และกรดซัลฟานิลิก 0.1 กรัม ในน้ำร้อน 70 มิลลิลิตร เติมกรดเกลือเข้มข้น (conc. HCl) 3 มิลลิลิตร ทำให้เย็นลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกริมาตร สารละลายนี้จะคงตัวอยู่ได้นานหลายเดือน ถ้ามีสีชมพูเกิดขึ้นจะไม่มีผลต่อการวิเคราะห์

5) สารละลายกรดซัลฟูริก (4+1) ค่อย ๆ เทกรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 500 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 125 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

6) สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl Solution) ละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 75 กรัมในน้ำกลั่น แล้วทำการปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร

### 2.3.2 วิธีการทดลอง

1) ปิเปตตัวอย่างน้ำ 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพูนขนาด 50 มิลลิลิตร  
2) เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2 มิลลิลิตร เขย่าขวด  
3) เติมสารละลายกรดซัลฟูริก (4+1) จำนวน 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำขวดรูปชมพู่ไปแช่ในถาดน้ำเพื่อให้หายร้อน

4) เมื่อเย็นแล้วให้นำมาเติมสารละลายบรูซีน-กรดซัลฟานิลิก จำนวน 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปแช่ในเครื่องอ่างไอน้ำ (Water Bath) ซึ่งมีอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที (ควรเปิดเครื่องอ่างไอน้ำไว้ล่วงหน้าและตั้งอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เมื่อได้อุณหภูมิที่ต้องการแล้วจึงจะทดลองได้)

5) เมื่อครบเวลา 20 นาทีแล้ว ให้นำขวดรูปชมพู่แช่ลงในถาดน้ำเย็น ตั้งทิ้งไว้จนทำอุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร

6) บันทึกค่าที่วัดได้เพื่อนำไปตัดกับกราฟมาตรฐานไนเตรท

2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด โดยวิธี Spectrophotometer Ascorbic Acid Method (APHA, AWWA & WEF No. 4500-PE, 1998)

#### 2.4.1 การเตรียมสารเคมี

1) อาร์สมตองรีเอเจนท์ : เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 122 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น (DDW) 800 มิลลิลิตร ละลาย แอมโมเนียมโมลิบเดต 10.5 กรัม และแอนติโมนีโปแตสเซียมทาร์เตรต 0.3 กรัม ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นและปรับปริมาตรสารละลายเป็น 1 ลิตร

2) สารละลายกรดแอสคอบิกแอซิด : ละลายกรดแอสคอบิกแอซิด 3 กรัม ในน้ำกลั่น (DDW) 100 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในที่อุณหภูมิห้องได้ 1 สัปดาห์)

3) สารละลายกรดซัลฟูริก : เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 300 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น (DDW) 600 มิลลิลิตร ตั้งให้เย็นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

4) กรดไฮโดรคลอริก 6 N : เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 500 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น (DDW) 500 มิลลิลิตร (เมื่อสารละลายเป็นสีเหลืองให้ทิ้ง)

5) โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 N : ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร

6) ฟีนอล์ฟทาลีน อินดิเคเตอร์ : ละลายฟีนอล์ฟทาลีน 2.5 กรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ 250 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น (DDW) จนครบ 500 มิลลิลิตร

7) แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$  : 0.4 g / ตัวอย่าง

8) สารละลายโปแตสเซียมฟอสเฟตมาตรฐาน : ชั่งโปแตสเซียมฟอสเฟต  $(\text{K}_2\text{HPO}_4)$  3-4 กรัม อบที่อุณหภูมิ  $103^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำสารที่ผ่านการอบแล้ว 2.81 กรัม ละลายในน้ำกลั่น (DDW) 500 มิลลิลิตร (เก็บไว้ในขวดพลาสติกได้นาน 6 เดือน)

$$1.00 \text{ ml} = 1 \text{ mg } \text{PO}_4^{3-} - \text{P}$$

#### 2.4.2 การทำกราฟมาตรฐาน

1) เจือจางสารละลายโปแตสเซียมฟอสเฟตมาตรฐาน (1 mg/ml) 1.0 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายโปแตสเซียมฟอสเฟตมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 10 mg/L

2) นำสารละลายโปแตสเซียมฟอสเฟตมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 10 mg/L เตรียมสารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้น ในช่วง 100 – 500  $\mu\text{g/L}$

### 2.4.3 วิธีการทดลอง

- 1) กล้วยข้าวครูปชมพู่ขนาด 125 ml ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 6 N และล้างด้วยน้ำกลั่น (DDW)
- 2) เติมหาละลายกรดซัลฟูริก 1 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่
- 3) เติมหาโมเนียมเปอร์ซัลเฟต  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$  0.4 g ปิดด้วยอลูมิเนียมฟรอย
- 4) นำไปย่อยในหม้อนิ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15-20 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที
- 5) หากเกิดตะกอนในตัวอย่างหลังการย่อย ให้กรองด้วยกระดาษกรอง GF/C
- 6) ปรับพีเอช โดยเติมฟีนอล์ฟทาลีน อินดิเคเตอร์ 4-5 หยด และปรับด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 N จนสีตัวอย่างเป็นสีชมพู และหยดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกจนสีตัวอย่างใสไม่มีสี
- 7) ปรับปริมาตรตัวอย่างเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
- 8) ดูดตัวอย่างปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 ml เติมหาอาร์มสตรองรีเอเจนท์ 5 มิลลิลิตร และกรดแอสคอบิกแอซิด 1 มิลลิลิตร
- 9) เขย่าและทิ้งไว้ 5-15 นาที นำสารที่ได้ไปวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 880 nm

## 2.5 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารโพแทสเซียม โดยวิธี Atomic Absorption Spectrophotometric Method (AOAC Official Method No. 965.09, 2000)

### 2.5.1 การเตรียมสารละลาย

- 1) กรดผสม  $\text{HNO}_3$  ต่อ  $\text{HClO}_4$   
เตรียมโดยผสม  $\text{HNO}_3$  เข้มข้น 1250 มิลลิลิตร  $\text{HClO}_4$  เข้มข้น 250 มิลลิลิตร และ  $\text{NH}_4\text{VO}_3$  0.06 กรัม (ละลายใน  $\text{NH}_4\text{VO}_3$  0.06 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน ประมาณ 5 - 10 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจนละลาย วางให้เย็นแล้วผสมลงในกรด)
- 2) สารละลายโพแทสเซียมมาตรฐาน ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร
  1. เตรียมโดยละลาย KCl (ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง)
  2. ชั่ง KCl 1.9067 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

3. ค่อย ๆ เติม  $\text{HNO}_3$  เข้มข้น 12 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร น้ำ  
กลั่นปราศจากไอออน

3) สารละลายโพแทสเซียมมาตรฐานความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

1. เตรียมโดยเปิดสารละลายโพแทสเซียมมาตรฐาน ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัม  
ต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตร ขนาด 1 ลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น  
ปราศจากไอออน

4) สารละลายโพแทสเซียมมาตรฐานความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40, 50 และ 60  
มิลลิกรัมต่อลิตร

1. เตรียมโดยเปิดสารละลายโพแทสเซียมมาตรฐาน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม  
ต่อ ลิตร ปริมาตร 0, 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 ใส่ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ

2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน จนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

#### 2.5.2 วิธีการทดลอง

1) เปิดตัวอย่างน้ำ 20 มิลลิลิตร และเตรียมสารละลายแบลลงค์ไปพร้อมกัน

2) ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร

3) เติมกรดผสม  $\text{HNO}_3$  ต่อ  $\text{HClO}_4$  15 มิลลิลิตร

4) เขย่าเบาให้เข้ากัน ปิดขวดรูปชมพู่ ด้วยกรวยแก้ว

5) ย่อยบนเครื่องให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

6) จนควันสีน้ำตาลหมด แล้วเพิ่มอุณหภูมิจนเกิดควันขาว

7) ย่อยต่อไปจนได้สารละลายใส

8) ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น กรองผ่านกระดาษกรองลงใน ขวดวัดปริมาตร ขนาด 100  
มิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออน ล้างตัวอย่างบนกระดาษกรอง

9) ปรับด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน ให้ได้ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

10) วัดค่าการปลดปล่อยแสงด้วยเครื่อง Flame Photometer (สารละลาย  
โพแทสเซียมมาตรฐานความ 0, 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 มิลลิกรัมต่อลิตร และตัวอย่าง)

สภาวะของเครื่อง Flame Photometer 410

Sensitivity 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร Na และ K เท่ากับ 100 units

Detection Limits (S/N=2) Na, K 20 ไมโครกรัมต่อลิตร

Specificity Interference less than 0.5%

Gas Propane, Butane หรือ Natural Gas

11) เขียนกราฟระหว่างค่าการปลดปล่อยแสงกับความเข้มข้นของโพแทสเซียม

12) คำนวณ โดยใช้สมการจากกราฟมาตรฐาน

2.6 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารแมกนีเซียม โดยวิธี Atomic Absorption Spectrophotometer Method ( AOAC official Method, 951.11, 2000)

2.6.1 วิธีการทดลอง

- 1) ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัมลงในบีกเกอร์ ขนาด 150 มิลลิลิตร
  - 2) เติมกรดไฮโดรคลอริก 10 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจนสารเกือบแห้ง
  - 3) เติม 2 โมลาร์ HCl 20 มิลลิลิตร ให้ความร้อนต่อ 2 - 3 นาที
  - 4) ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น กรองผ่านกระดาษกรองลงใน ขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นปราศจากไอออน ล้างตัวอย่างบนกระดาษกรอง
  - 5) ปรับปริมาตรด้วย 0.5 โมลาร์ HCl ให้ได้ 100 มิลลิลิตร
  - 6) นำไปวัดด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer แบบเปลวไฟ
- สภาวะการตรวจวัด ความยาวคลื่น 422.7 นาโนเมตร

Flame oxidizing air - Acetylene

Optimum range 0.1 -0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.7 การวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟต โดยวิธี Turbidimetric Method (APHA, AWWA & WEF No. 4500 –SO<sub>4</sub>-E, 1998)

2.7.1 การเตรียมสารเคมี

สารละลาย Conditioning reagent

- 1) ผสมกลีเซอรอล 50 มิลลิลิตรกับ กรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 30 มิลลิลิตร
- 2) เติมน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นเติม Isopropyl alcohol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- 3) เติมโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 75 กรัม คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

สารมาตรฐานซัลเฟต

- 1) ชั่ง K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ที่อบแห้งแล้ว น้ำหนัก 0.5434 กรัม ใส่ขวดปริมาตร 1 ลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจะได้สารมาตรฐานซัลเฟตเข้มข้น 1000 ppm
- 2) เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40 ppm

2.7.2 วิธีการทดลอง

- 1) ปิเปตตัวอย่างน้ำ 50 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 150 มิลลิลิตร

- 2) เติม conditioning reagent 5 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน
- 3) เติม BaCl<sub>2</sub> ประมาณ 0.2 กรัม คนให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที
- 4) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร
- 5) นำผลที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน

## 12. การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยวิธี Spectrophotometry (Becker, 1994 อ้างโดย Aslan and Kapdan, 2006)

สารเคมีที่ใช้เกรด Analytical Reagent (A.R.)

Methanol

(BDH, England)

### วิธีการ

1. นำตัวอย่างน้ำเลี้ยง 10 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3000 rpm เป็นเวลา 30 นาที และเอาน้ำส่วนใสออก
2. เติม เมทานอล 3 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนบนอ่างอังไอน้ำ เพื่อทำการสกัดเอาคลอโรฟิลล์ออกจากเซลล์สาหร่าย เป็นเวลา 5 นาที
3. ทิ้งตัวอย่างให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง แล้วทำการปรับปริมาตรตัวอย่างเป็น 5 มิลลิลิตรด้วยเมทานอล
4. นำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 650 และ 665 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ดังสมการ

$$\text{Chlorophyll } a \text{ (mg/L)} = \frac{[(16.5 \times A_{665}) - (8.3 \times A_{650})] \times \text{ปริมาตรตัวอย่างที่สกัดได้}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

## ภาคผนวก ข.

### เครื่องมือ และอุปกรณ์

1. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) UM-OVEN 55L บริษัท U – Mac Scientific ประเทศUSA



รูปภาคผนวกที่ ข1 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ

2. เตาเผา Modal 6000 Furnace บริษัท Thermolyne



รูปภาคผนวกที่ ข2 เตาเผา

3. เครื่องวัด ค่าความเป็นกรด ด่าง (pH meter) Model MP220บริษัท Mettler TOLEDO ประเทศ USA



รูปภาพหมวดที่ ข3 เครื่องวัด ค่าความเป็นกรด ด่าง

4. เครื่องชั่งตวงถนียม 4 ตำแหน่ง Model BT 224S บริษัท Satorius ประเทศ Germany



รูปภาพหมวดที่ ข4 เครื่องชั่งตวงถนียม 4 ตำแหน่ง

5. เครื่องวัด ค่าการนำไฟฟ้า (Conductrometer) Model Cond 315i บริษัท WTW ประเทศ Germany



รูปภาพหมวดที่ ข5 เครื่องวัด ค่าการนำไฟฟ้า



6. เครื่องวัด ความเข้มแสง (Lux meter) Model Foot Candle/Lux บริษัท EXTECH INSTRUMENT ประเทศ Taiwan



รูปภาคผนวกที่ ข6 เครื่องวัด ความเข้มแสง

7. เครื่อง Spectrophotometer Model Spectronic Educator บริษัท Thermo Scientific ประเทศ USA



รูปภาคผนวกที่ ข7 เครื่อง Spectrophotometer

8. เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ชนิด Flame atomizer Model AAnalyst 100 บริษัท Perkin Elmer ประเทศ USA



รูปภาคผนวกที่ ข8 เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer

9. เครื่องให้ความร้อน (Hot plate) Model Cerastir CH-1 บริษัท Nickel-Electro ประเทศ UK



รูปภาพผนวกที่ ข9 เครื่องให้ความร้อน

10. เครื่องย่อยโปรตีน (Digestion) Model K – 435 บริษัท BUCHI



รูปภาพผนวกที่ ข10 เครื่องย่อยโปรตีน

11. เครื่องกลั่นโปรตีน (Scrubber) Model B - 414 บริษัท BUCHI



รูปภาพผนวกที่ ข11เครื่องกลั่น โปรตีน

12. เครื่องจักร (Distillation) Model B – 324 บริษัท BUCHI



รูปภาคผนวกที่ ข12 เครื่องจักร

13. เครื่องดูดอากาศ Model Vacu/Trol บริษัท Spectrum จำกัด ประเทศ UK



รูปภาคผนวกที่ ข13 เครื่องดูดอากาศ

14. เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (Waterbath) Model W 600 บริษัท Memmert ประเทศ Germany



รูปภาคผนวกที่ ข14 เครื่องควบคุมอุณหภูมิ

15. โถดูดความชื้น (desicator) Model Vakuuum บริษัท SCHOTT ประเทศ Germany



รูปภาพผนวกที่ ข15 โถดูดความชื้น

16. ครุชิลเบิ้ล (Porcelain crucible) Model HCT 103/60 บริษัท DIN ประเทศ Germany



รูปภาพผนวกที่ ข16 ครุชิลเบิ้ล

17. กระดาษกรอง GF/C (GF/C Filter paper) บริษัท Whatman International ประเทศ England



รูปภาพผนวกที่ ข17 กระดาษกรอง GF/C

18. กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) YS2-H บริษัท Nikon ประเทศ Japan



รูปภาพผนวกที่ ข18 กล้องจุลทรรศน์

19. เครื่อง Flame Photometer Model 410 บริษัท Sherwood-scientific ประเทศ England



รูปภาพผนวกที่ ข19 เครื่อง Flame Photometer Model 410

20. สไลด์ Hemacytometer Model Improved Neubauer บริษัท BOECO ประเทศ Germany



รูปภาพผนวกที่ ข20 สไลด์ Hemacytometer

21. เครื่องผสมสาร (Vortex Mixer) Model VM-300 บริษัท Gemmy Industrial ประเทศ Taiwan



รูปภาพหมวดที่ ข21 เครื่องผสมสาร

22. เครื่องวิเคราะห์ซีไอดี (COD Thermoreactor) Model ECO 6 บริษัท VELP SCIENTIFICA  
ผลิตใน Europe



รูปภาพหมวดที่ ข22 เครื่องวิเคราะห์ซีไอดี

23. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) Model Z 206 A บริษัท Hermle Labortechnik GmbH ประเทศ  
Germany



รูปภาพหมวดที่ ข23 เครื่องปั่นเหวี่ยง