

ภาคผนวก

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์

1. วิธีการวิเคราะห์หาความเป็นกรด-ด่าง โดยวิธี Electrometric Method (APHA, AWWA & WEF No. 4500-H⁺ B, 1998)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง
2. กระดาษทึชชู
3. บีกเกอร์

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐาน ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ ค่าความเป็นกรดด่าง ของน้ำทิ้ง
2. น้ำกลั่น

วิธีการ

1. ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างแท่งอิเล็กโทรดให้สะอาด ใช้กระดาษทึชชูซับน้ำให้แห้ง
2. ใส่อิเล็กโทรดลงในบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลายมาตรฐาน (ซึ่ง pH buffer จะต้องมีความเป็นกรดด่างใกล้เคียงกับน้ำทิ้ง โดยทั่วไปจะใช้สารละลายมาตรฐานที่มีค่าความเป็นกรดด่าง อยู่ที่ 4, 7 และ 9)
3. ปรับเครื่องมือให้ได้ค่ามาตรฐานตามคำแนะนำในคู่มือการ
4. ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างอิเล็กโทรดอีกครั้ง ซับน้ำให้แห้ง
5. จุ่มอิเล็กโทรดลงในน้ำทิ้ง (น้ำน้ำทิ้งที่วัดจะต้องมีอุณหภูมิใกล้เคียงหรือเท่ากับอุณหภูมิของสารละลาย pH buffer ในข้อ 2.
6. อ่านค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ได้จากเครื่องวัด ความเป็นกรด-ด่าง และบันทึกค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ได้

2. วิธีการวิเคราะห์หา อุณหภูมิ (Temperature) โดยวิธี Electrometric Method (APHA, AWWA & WEF No. 2550 B, 1998)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เทอร์โมมิเตอร์
2. กระจกยทึบ
3. บีกเกอร์

สารเคมี

1. น้ำกลั่น

วิธีการ

1. ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างแท่งอิเล็กโทรดให้สะอาดและใช้กระดาษทิชชูซับน้ำให้แห้ง
2. จุ่มอิเล็กโทรดลงในบีกเกอร์ที่บรรจุตัวอย่างน้ำ และปรับเครื่องมือให้ได้ค่ามาตรฐานตามคำแนะนำในคู่มือของเครื่องมือต่างๆ
3. เปิดปุ่มไปที่ค่าตรวจวัดอุณหภูมิ น้ำ อ่านค่าอุณหภูมิที่เครื่องวัดได้และบันทึกข้อมูล ค่าที่ได้จะมีหน่วยเป็น องศาเซลเซียส (°C)

3. วิธีการวิเคราะห์หาความเค็ม (Salinity) โดยวิธี Electrometric Method (APHA, AWWA & WEF, 1998)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า
2. เครื่องวัดความเค็ม
3. กระจกยทึบ
4. บีกเกอร์

สารเคมี

1. น้ำกลั่น

วิธีการ

1. ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างแท่งอิเล็กโทรดให้สะอาดและใช้กระดาษทิชชูซับน้ำให้แห้ง
2. จุ่มอิเล็กโทรดลงในบีกเกอร์ที่บรรจุตัวอย่างน้ำ และปรับเครื่องมือให้ได้ค่ามาตรฐานตามคำแนะนำในคู่มือของเครื่องมือต่างๆ
3. บิดปุ่มไปที่ค่าตรวจวัดอุณหภูมิ น้ำ ปรับอุณหภูมิของเครื่องให้ตรงกับตัวอย่างน้ำ แล้วบิดปุ่มตรวจวัดความเค็มของเครื่องมือ อ่านค่าความเค็มที่เครื่องวัดได้และบันทึกข้อมูล ค่าที่ได้จะมีหน่วยเป็นส่วนในพันส่วน (ppt)

4. วิธีการวิเคราะห์หา ค่าการนำไฟฟ้า (Conductivity) โดยวิธี Electrometric Method (APHA, AWWA & WEF, 1998)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า
2. กระจกยทึบ
3. บีกเกอร์

สารเคมี

1. น้ำกลั่น
2. สารละลาย KCl 0.01 โมลาร์ มีค่าการนำไฟฟ้า เท่ากับ 1413 ไมโครซีเมนต์ต่อเซนติเมตร

วิธีการ

1. ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างแท่งอิเล็กโทรดให้สะอาดและใช้กระจกยทึบชุบน้ำให้แห้ง
2. จุ่มอิเล็กโทรดลงในบีกเกอร์ที่บรรจุสารละลาย KCl 0.01 โมลาร์ ปรับเครื่องมือให้ได้ค่ามาตรฐานตามคำแนะนำในคู่มือของเครื่องมือต่างๆ โดยให้บิดปุ่มไปที่ค่าสูงสุดก่อนถ้าอ่านค่าไม่ได้จึงปรับมาที่ค่าต่ำ
3. ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างแท่งอิเล็กโทรดให้สะอาดและใช้กระจกยทึบชุบน้ำให้แห้ง
4. จุ่มอิเล็กโทรดลงในบีกเกอร์ที่บรรจุน้ำตัวอย่างที่จะตรวจวัด แล้วจึงบิดปุ่มไปที่ค่าสูงสุดก่อนถ้าอ่านค่าไม่ได้จึงปรับมาที่ค่าต่ำ ค่าที่ได้จะมีหน่วยเป็น ไมโครซีเมนต์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

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

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ครุชีเบิ้ล
2. เติชเคเตอร์
3. เครื่องชั่ง
4. ตู้อบ ที่อุณหภูมิ 105±2 องศาเซลเซียส
5. เตาเผา ที่อุณหภูมิ 550-600 องศาเซลเซียส

วิธีการ

1. อบครุชีเบิ้ล ที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่
2. นำครุชีเบิ้ลใส่ในเตชเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็น (ประมาณ 15 - 30 นาที)
3. ชั่งน้ำหนัก ครุชีเบิ้ล (A)
4. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอนใส่ในครุชีเบิ้ล
5. บันทึกน้ำหนักตัวอย่างรวมกับน้ำหนักครุชีเบิ้ล (B)

- 6 นำไปอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่
- 7 นำครุชชีบีต ไปใส่ในเคชเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็น (ประมาณ 15-30 นาที)
- 8 ชั่งน้ำหนักรวมของตัวอย่างรวมกับน้ำหนักครุชชีบีต หลังการอบ (C)
- 9 นำไปเผาโดยใช้เตาเผา ที่อุณหภูมิ 550 ± 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที
- 10 นำครุชชีบีตใส่ในเคชเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็น (ประมาณ 30 นาที)
- ชั่งน้ำหนักรวมของตัวอย่างรวมกับน้ำหนักครุชชีบีต หลังการเผา (D) และคำนวณผล
11. คำนวณตามสูตร
- | | | |
|---------------------------------|--|----------------------------|
| % TSC (ปริมาณของแข็งทั้งหมด) | | = $(Y \times 100)/X$ |
| % MC (ความชื้น) | | = $((X - Y) \times 100)/X$ |
| % VC (ปริมาณของแข็งที่ระเหยได้) | | = $((Y - Z) \times 100)/Y$ |
- โดยที่ X = น้ำหนักของตัวอย่างสด (B - A) หน่วยเป็นกรัม
- Y = น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบ (B - C) หน่วยเป็นกรัม
- Z = น้ำหนักของตัวอย่างหลังเผา (C - D) หน่วยเป็นกรัม

6. วิธีการวิเคราะห์หาค่าซีโอดี (COD) ได้ทำการศึกษาค่า COD โดยวิธี Close Reflux Titrimetric Method (AOAC Official Method No. 973.46, 2000)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หลอดทดลองชนิดฝาปิด ขนาด 25x150 มิลลิลิตร
2. ที่ใส่หลอดทดลอง
3. เตาอบ ที่อุณหภูมิ 150 ± 2 องศาเซลเซียส
4. ปิเปตขนาด 1, 10 มิลลิลิตร
5. บิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร
6. ขวดรูปหมฟู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

สารเคมีที่ใช้ เกรด Analytical Reagent (A.R.)

Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$)	(Ajax finechem, New Zealand)
Sulfuric acid (H_2SO_4)	(Mallinckrodt Baker, Thailand)
Mercury (II) sulfate ($HgSO_4$)	(BDH, England)
Silver sulphate (Ag_2SO_4)	(BDH, England)
Ammoniumiron (II) sulfate ($(NH_4)_2SO_4 \cdot FeSO_4 \cdot 6H_2O$)	(Ajax finechem, New Zealand)

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลาย (Digestion reagent): ละลาย $K_2Cr_2O_7$ 4.913 กรัม ซึ่งผ่านการอบแห้งที่ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 167 มิลลิลิตร เติม $HgSO_4$ ลงไป 33.3 กรัม คนให้ละลาย ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2. กรดซัลฟิวริกเข้มข้นที่ผสม $AgSO_4$ (Sulfuric acid reagent): ละลาย $AgSO_4$ 22 กรัม ในกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ซึ่งมีน้ำหนัก 4.1 กิโลกรัม (2.5 ลิตร) แล้วตั้งทิ้งไว้ 1-2 วันเพื่อให้ละลาย

3. สารละลายมาตรฐาน (Ferrous ammonium sulfate) (FAS) 0.1 นอ้มล: ละลาย $(NH_4)_2SO_4 \cdot FeSO_4 \cdot 6H_2O$ 39 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ลงไป 20 มิลลิลิตร ทำให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่นลงไปจนครบปริมาตร 1 ลิตร สารละลายนี้ต้องนำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยสารละลาย Digestion reagent ดังนี้ คือ เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร สารละลาย Digestion reagent 14 มิลลิลิตร จากนั้นใช้ปิเปตค่อย ๆ เติม Sulfuric acid reagent ลงไป 14 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นแล้ว

นำมาไทเทรตกับสารละลาย Ferrous ammonium sulfate (FAS) โดยใช้ Ferroin จำนวน 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีฟ้าอมเขียวและเป็นสีน้ำตาลแดงที่จุดยุติ

$$\text{Normality of FAS solution} = \frac{\text{ml } K_2Cr_2O_7 \times 0.1}{\text{mL } Fe (NH_4)_2(SO_4)_2}$$

4. สารละลาย Ferroin อินดิเคเตอร์: ละลาย 1-10 Phenantroline monohydrate 1.485 กรัม และ $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 695 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่นแล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ล้างหลอดทดลองและฝาจุกด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 20 ก่อนเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากสารอินทรีย์

2. ปิเปตตัวอย่างนำมา 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแล้วเติม Digestion reagent ลงไป 6 มิลลิลิตร

3. ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นที่ผสมซิลิเกตส์ซัลเฟต ลงไป 14 มิลลิลิตร ให้ไหลลงก้นหลอดแก้วเพื่อให้ชั้นของกรดอยู่ใต้ชั้นของน้ำตัวอย่างและ Digestion reagent

หมายเหตุ ภายหลังจากเติมกรดซัลฟิวริก ให้สังเกตสีของตัวอย่างดังต่อไปนี้

- ถ้าได้สีเขียวแสดงว่าปริมาณ $K_2Cr_2O_7$ เหลืออยู่มากใช้ปริมาณน้ำตัวอย่างน้อยเกินไปต้องเพิ่มปริมาณน้ำตัวอย่างอีก

- ถ้าได้สีเขียวอมเหลืองแสดงว่าปริมาณน้ำตัวอย่างเหมาะสมสามารถนำตัวอย่างไปรีฟลักซ์ได้

- ถ้าได้สีเขียวอมฟ้าแสดงว่าปริมาณน้ำตัวอย่างมากเกินไปต้องทำการเจือจางน้ำตัวอย่างให้มีความเข้มข้นน้อยกว่านี้

โดยจะใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำตัวอย่าง : น้ำกลั่นเท่าไรก็ได้แต่ผลรวมของปริมาตรน้ำตัวอย่างต้องเท่ากับ 10 มิลลิลิตร

1. ปิดจุกหลอดแก้วให้แน่นแล้วคว่ำหลอดแก้วไปมาหลายๆครั้งอย่างทั่วถึงก่อนจะนำตัวอย่างไปรีฟลักซ์เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดความร้อนสะสมอยู่ที่ก้นหลอดซึ่งอาจแตกได้ในการรีฟลักซ์

2. ให้ทำแบลนด์โดยใช้น้ำกลั่นแทนน้ำตัวอย่างด้วยวิธีการทดลองเช่นเดียวกันกับการวิเคราะห์น้ำตัวอย่างประมาณ 1-2 หลอด

3. นำหลอดแก้วทั้งหมดที่ใส่น้ำตัวอย่างและแบลนด์วางบนที่ตั้งหลอดทดลองแล้วเข้าเตาอบที่ทำให้อุณหภูมิสูงถึง 150 ± 2 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลา 2 ชั่วโมง ให้นำตัวอย่างออกมาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเย็น

4. เทตัวอย่างจากหลอดใส่ลงในขวดรูปชมพู่ไทเทรตกับสารละลาย FAS จนกระทั่งถึงจุดยุติจะเห็นการเปลี่ยนแปลงจากสีเหลืองเป็นสีฟ้าอมเขียวและเป็นสีน้ำตาลแดงที่จุดยุติอ่านปริมาตรที่ไทเทรตตอนเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลแดง

5. การคำนวณ

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

a = ml ของ $Fe (NH_4)_2(SO_4)_2$ ที่ใช้ไทเทรต Blank

b = ml ของ $Fe (NH_4)_2(SO_4)_2$ ที่ใช้ไทเทรต น้ำตัวอย่าง

N = Normality ของ $Fe (NH_4)_2(SO_4)_2$ ที่ใช้

ตารางที่ 1 ปริมาณของตัวอย่างน้ำและรีเอเจนต์ ต่างๆในหลอดทดลอง

Digestion vessel	Sample (ml)	Digestion solution (ml)	H ₂ SO ₄ reagent (ml)	Total final volume (ml)
Culture Tube :				
16 x 100 mm	2.5	1.5	3.5	7.5
20 x150 mm	5.0	3.0	7.0	15.0
25 x 150 mm	10.0	14.0	14.0	30.0
Standard 10- ml ampule	2.5	1.5	3.5	7.5

7. วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โดยวิธี Kjeldahl Method (AOAC Official Method No. 955.04, 2000)

สารเคมีที่ใช้ เกรด Analytical Reagent (A.R.)

Potassium sulfate (K ₂ SO ₄)	(Fisher chemicals)
Boric acid (H ₃ BO ₃)	(Ajax finechem, New Zealand)
Sulfuric acid (HCl)	(Ajax finechem, New Zealand)
Sodium hydroxide (NaOH)	(Ajax finechem, New Zealand)
Nitric acid (HNO ₃)	(LAB - SCAN, Ireland)

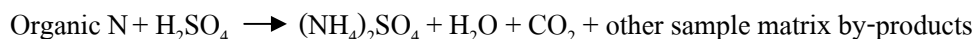
การเตรียมอินดิเคเตอร์

1. ชั่ง Methyl red 200 มิลลิกรัม ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ Ethyl alcohol ความเข้มข้น ร้อยละ 95 100 มิลลิลิตร
2. ชั่ง Ethylene blue 100 มิลลิกรัม ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น ร้อยละ 95 50 มิลลิลิตร
3. ผสมสารในข้อ 1. และ 2. เข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนเป็น 1 ลิตร

การเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ลงในหลอดทดลองขนาด 500 มิลลิลิตร
2. เติม CuSO₄ 1 กรัม และ K₂SO₄ 9 กรัม ลงในหลอดทดลองขนาด 500 มิลลิลิตร
3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 30 มิลลิลิตร
4. นำเข้าเครื่องย่อย ให้ความร้อนที่ อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส จนสารละลายใส (ใช้เวลา มากกว่า 30 นาที)

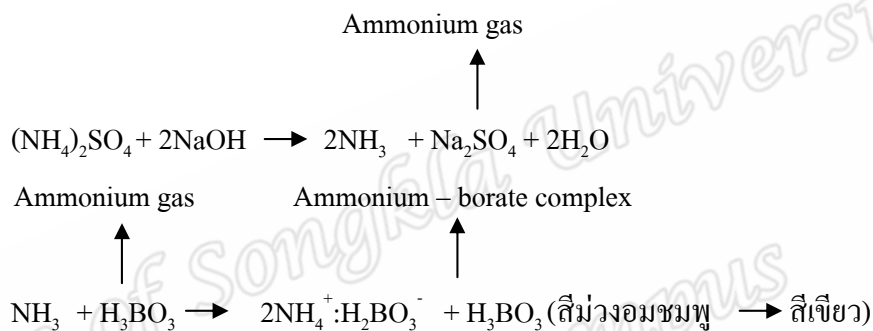
ปฏิกิริยาในกระบวนการย่อย



5. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำเข้าเครื่องกลั่นอัตโนมัติของบริษัท BUCHI โมเดล Model B - 414 (เยอรมนี) สภาวะของเครื่องกลั่นเติมน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย NaOH เข้มข้น ร้อยละ 40 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

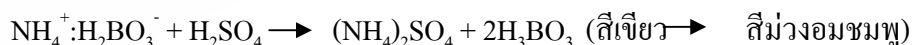
6. เก็บสารที่กลั่นด้วยกรด H_3BO_3 ปริมาตร 100 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่เติม อินดิเคเตอร์ผสมระหว่าง Methyl red กับ Ethylene blue 2-3 หยด NH_3 ที่กลั่นได้มากกว่าหรือเท่ากับ 200 มิลลิลิตร

ปฏิกิริยาในกระบวนการกลั่น



7. ไทเทรตสารที่กลั่นได้กับสารมาตรฐาน เปรียบเทียบผลที่ได้กับสารละลายเบลงค์

ปฏิกิริยาในกระบวนการไทเทรต



คำนวณตามสูตร

เมื่อใช้ HCl หรือ H_2SO_4 เป็นสารมาตรฐาน

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

8. วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน โดยวิธี Distillation Method (APHA, AWWA & WEF, 1995)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร
2. หลอดทดลองฝาเกลียว
3. บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
4. ไมโครไปเปิด
5. ขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร
6. ที่วางหลอดทดลอง
7. กระจกตวงขนาด 25 มิลลิลิตร
8. กระดาษทิชชู

สารเคมีที่ใช้ เกรด Analytical Reagent (A.R.)

Phenol (C ₆ H ₅ OH)	(Merck KGaA, Germany)
Ethyl alcohol (C ₂ H ₅ OH)	(Merck KGaA, Germany)
Sodiumnitropruside (Na ₂ Fe(CN) ₅ NO.2H ₂ O)	(Merck KGaA, Germany)
Sodiumdichloroisocyanurate (C ₃ Cl ₂ N ₃ NaO ₃)	(Merck KGaA, Germany)
Potassiumdichloroisocyanurate (C ₃ Cl ₂ N ₃ KO ₃)	(Merck KGaA, Germany)
Sodium hydroxide (NaOH)	(Ajax finechem, New Zealand)
Trisodiumcitratetdihydrate (Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ .2H ₂ O)	(Ajax finechem, New Zealand)
Sodium chloride (NaCl)	(Merck KGaA, Germany)
Ammonium sulfate ((NH ₄) ₂ SO ₄)	(Ajax finechem, New Zealand)

การเตรียมสารเคมี

1. น้ำกลั่นปราศจากไอออน (De-ionized water) ใช้สำหรับเตรียมสารละลายต่าง ๆ แบลงค์ และสารมาตรฐานควรเป็นน้ำกลั่นปราศจากไอออนที่เตรียมใหม่
2. สารละลายฟินอล: ละลายฟินอล (C₆H₅OH) 5 กรัม ในเอธิลแอลกอฮอล์ ร้อยละ 95 (v/v) 50 มิลลิลิตร
3. สารละลายโซเดียมไนโตรปริสไซด์: ละลายโซเดียมไนโตรปริสไซด์ (Na₂Fe(CN)₅NO.2H₂O) 0.5 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร เก็บรักษาสารละลายนี้ในขวดแก้วสีน้ำตาลสารละลายนี้มีอายุ 1 เดือน
4. สารละลายออกซิไดซิ่ง: ละลายโซเดียมไดคลอโรโรไซยานูเรท (Sodium dichloroisocyanurate, C₃Cl₂N₃NaO₃) หรือ โพแทสเซียมไดคลอโรโรไซยานูเรท (Potassium dichloroisocyanurate, C₃Cl₂N₃KO₃) ชนิดใดชนิดหนึ่งจำนวน 1 กรัม โซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 กรัม

และไตรโซเดียมซัลเฟตไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 50 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากไอออนแล้ว ปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร สารละลายนี้มีอายุ 2-3 สัปดาห์

5. น้ำทะเลเทียม: ละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เป็นกรัมตามความเค็มที่ต้องการในน้ำกลั่นปราศจากไอออน 1 ลิตร

6. สารละลายมาตรฐานของแอมโมเนีย: ละลายแอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) ที่อบแห้ง 105-110 องศาเซลเซียส นาน 1-24 ชั่วโมง 0.165 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร ด้วยขวดวัดปริมาตร สารละลายนี้มีความเข้มข้นของแอมโมเนีย 35 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร เรียกสารละลายนี้ว่า สารละลายมาตรฐานเข้มข้น เก็บสารละลายนี้ไว้ในขวดสีชา สารละลายนี้มีอายุการใช้งาน 6 เดือน ถึง 1 ปี

7. การเก็บตัวอย่างและการรักษาตัวอย่าง: ตัวอย่างน้ำสำหรับนำไปวิเคราะห์หาแอมโมเนียสามารถเก็บในขวดแก้วหรือขวดพลาสติก (Polyethylene หรือ Polypropylene) ก็ได้ การวิเคราะห์ควรกระทำทันทีภายใน 2-3 ชั่วโมง หลังจากเก็บตัวอย่างหรือกรองด้วยกระดาษกรอง GF/C แล้วแช่เย็นไว้ซึ่งสามารถเก็บไว้ได้นาน 24 ชั่วโมง

วิธีการ

1. การเตรียมกราฟมาตรฐาน

1.1 คุตสารละลายจากสารละลายมาตรฐานเข้มข้นมา 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้ได้ 500 มิลลิลิตร สารละลายนี้มีความเข้มข้น 0.35 มิลลิกรัม-ไนโตรเจนต่อลิตร

1.2 คุตสารละลายจากข้อ 6. ปริมาตร 5, 10, 20 และ 40 มิลลิลิตร ด้วย volumetric pipette ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำทะเลเทียม สารละลายนี้มีความเข้มข้น 0.035, 0.070, 0.140 และ 0.280 ไนโตรเจนต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับแปลงค่าใช้น้ำกลั่นหรือน้ำทะเลเทียมให้สอดคล้องกับสารละลายมาตรฐาน

1.3 เติมสารละลายฟีนอล 2.5 มิลลิลิตร สารละลายออกซิไดซิ่ง 5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนโตรปริสไซค์ 2.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ หลังจากเติมน้ำยาเคมีแต่ละชนิดเข้าให้เข้ากันทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนานอย่างน้อย 1 ชั่วโมง แต่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร จดบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับความเข้มข้นด้วยวิธี Linear regression (หาความสัมพันธ์จากเครื่องวัดการดูดกลืนแสงโดยตรงก็ได้)

2. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

2.1. ใช้ไปเปิดแบบกระเปาะดูดน้ำตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีฝาปิดเป็นเกลียวเพื่อป้องกันการระเหยของแอมโมเนีย

2.2. เติมสารละลายฟีนอล 0.5 มิลลิลิตร สารละลายออกซิไดซิง 1 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนโตรปริสไซค์ 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ หลังจากเติมน้ำยาเคมีแต่ละชนิดเข้าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง แต่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง

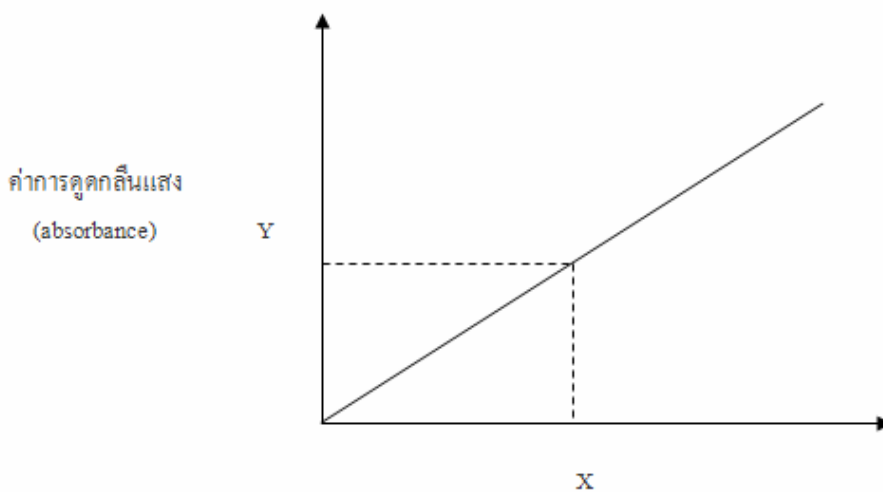
2.3 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร จดบันทึกค่าความเข้มข้นที่วัดได้ หรือนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นของแอมโมเนียในตัวอย่าง จากกราฟมาตรฐานที่ได้เตรียมไว้ ในกรณีความเค็มของน้ำตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานแตกต่างกันเกิน 2 psu หรือส่วนในพันปรับแก้ค่าความเข้มข้นที่วัดได้จากตัวอย่างด้วยสูตรดังต่อไปนี้

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

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

Prince of Songkhla University
Pattani Campus

การคำนวณ หาปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนกับกราฟมาตรฐาน



ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ตรวจวัดได้
หน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร ($\text{NH}_3\text{-N}$)

รูปที่ 1 กราฟมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

Y = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้

X = ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ตรวจวัดได้ หน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร

9. วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน โดยวิธี Brucine Method (APHA, AWWA & WEF No. 4500- $\text{NO}_3\text{-E}$, 1998)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร
2. หลอดทดลองฝาเกลียว
3. บีกเกอร์ขนาด 100 ml
4. ไมโครไปเปต
5. เครื่องอังไอน้ำ
6. ขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร
7. ที่วางหลอดทดลอง (Rack)
8. กระจกตวงขนาด 25 ml (Cylinder)
9. กระดาษทิชชู

สารเคมีที่ใช้เกรด Analytical Reagent (A.R.)

Hydrous potassium nitrate (KNO ₃)	(BDH, England)
Brucine Sulfate	(Ajax finechem, New Zealand)
Sulfanilic Acid	(BDH, England)
Hydrochloric acid (HCl)	(Merck KGaA, Germany)
Sulfuric acid (H ₂ SO ₄)	(Mallinckrodt Baker, Thailand)
Sodium chloride (NaCl)	(Merck KGaA, Germany)

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น (Stock Nitrate Solution): ละลายแอนไฮดรัส โพตัสเซียมไนเตรท (KNO₃) 0.7218 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร (สารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้นนี้มีความเข้มข้นไนเตรท-ไนโตรเจน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร NO₃⁻-N)

2. สารละลายมาตรฐานไนเตรท (Standard Nitrate Solution): ไปเปิดสารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้นมา 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 500 มิลลิลิตร (สารละลายมาตรฐานไนเตรทมีความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร)

3. การเตรียมกราฟมาตรฐานไนเตรทครั้งนี้ เตรียมอนุกรมของสารละลายไนเตรทมาตรฐาน โดยการเปิดสารละลายมาตรฐานไนเตรทความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดที่กำหนดตามลำดับ เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายไนเตรทมีความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปทำการทดลองเช่นเดียวกับตัวอย่างน้ำและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) เพื่อตรวจหาความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของไนเตรท-ไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

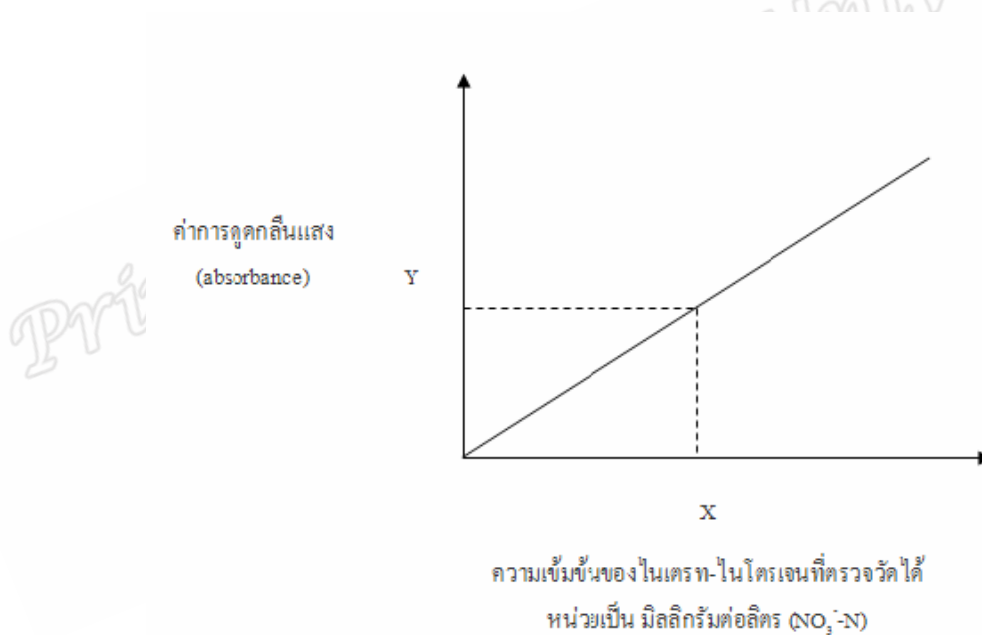
4. สารละลายบรูซีน-กรดซัลฟานิลิก (Brucine-Sulfanilic Acid Solution): ละลายบรูซีนซัลเฟต (Brucine Sulfate) 1 กรัม และกรดซัลฟานิลิก 0.1 กรัม ในน้ำร้อน 70 มิลลิลิตร เติมกรดเกลือเข้มข้น (conc. HCl) 3 มิลลิลิตร ทำให้เย็นเทลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกริมาตร สารละลายนี้จะคงตัวอยู่ได้นานหลายเดือน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

5. สารละลายกรดซัลฟูริก (4+1): ค่อยๆเทกรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc. H₂SO₄) 500 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 125 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

6. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl Solution): ละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 75 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วทำการปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ปิเปตตัวอย่างน้ำ 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2 มิลลิลิตร เขย่าขวด
3. เติมสารละลายกรดซัลฟูริก (4+1) จำนวน 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำขวดรูปชมพู่ไปแช่ในถาดน้ำเพื่อให้หายร้อน
4. เมื่อเย็นแล้วให้นำมาเติมสารละลายบรูซิน-กรดซัลฟานิลิก จำนวน 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปแช่ในเครื่องอังไอน้ำ (Water Bath) ซึ่งมีอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที (ควรเปิดเครื่องอังไอน้ำไว้ล่วงหน้าและตั้งอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เมื่อได้อุณหภูมิที่ต้องการแล้วจึงจะทดลองได้)
5. เมื่อครบเวลา 20 นาทีแล้ว ให้นำขวดรูปชมพู่แช่ลงในถาดน้ำเย็น ตั้งทิ้งไว้จนเท่าอุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร
6. บันทึกค่าที่วัดได้เพื่อนำไปตัดกับกราฟมาตรฐานไนเตรท
การคำนวณ หาปริมาณไนเตรทกับกราฟมาตรฐาน



รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานไนเตรท-ไนโตรเจน

Y = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้

X = ความเข้มข้นของไนเตรท-ไนโตรเจน ที่ตรวจวัดได้ หน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร ($\text{NO}_3^- \text{-N}$)

10. วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในไนโตรเจน โดยวิธี Spectrophotometer (APHA, AWWA & WEF No. 4500-NO₂-B, 1998)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Spectrophotometer
2. หลอดทดลองฝาเกลียว
3. บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
4. ไมโครไปเปิด
5. กระบอกตวงขนาด 25 มิลลิลิตร
6. ที่วางหลอดทดลอง
7. ขวดรูปหมฟุ้งขนาด 250 มิลลิลิตร
8. กระดาษทิชชู

สารเคมีที่ใช้เกรด Analytical Reagent (A.R.)

Sulphanilamide (C ₆ H ₈ N ₂ O ₂ S)	(BDH, England)
Sulfuric acid (H ₂ SO ₄)	(Mallinckrodt Baker, Thailand)
N-1-Naphthylethylenediamine dihydrochloride	(BDH, England)
Sodium Oxalate(Na ₂ C ₂ O ₄)	(Merck KGaA, Germany)
Potassium Permanganate(KMnO ₄)	(Merck KGaA, Germany)
Hydrochloric acid (HCl)	(Merck KGaA, Germany)

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide Solution): เติมกรดเกลือเข้มข้น (conc. HCl) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 150 มิลลิลิตร ละลายซัลฟานิลาไมด์ 2.5 กรัม ลงในของผสมนี้ จากนั้นถ่ายสารละลายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนถึงขีดที่กำหนดด้วยน้ำกลั่น

2. สารละลายเอ็นอีดีไฮโดรคลอไรด์ (NED dihydrochloride): ละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride 0.25 กรัม ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร (เก็บสารละลายนี้ในขวดสีชา ควรเตรียมสารละลายนี้ใหม่ เมื่อสารละลายนี้มีสีน้ำตาล)

3. สารละลายโซเดียมออกซาลेट (Sodium Oxalate) 0.05 นอร์มัล: ละลายโซเดียมออกซาลेट (Na₂C₂O₄) 3.35 กรัม ในน้ำกลั่นถ่ายสารละลายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรจนถึงขีดที่กำหนดด้วยน้ำกลั่น

4. สารละลายโปตัสเซียมเปอร์มันแกเนต (Potassium Permanganate) 0.05 นอร์มัล: ละลายโปตัสเซียมเปอร์มันแกเนต (KMnO₄) 8 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร เก็บในขวดสีชาตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 1 สัปดาห์ นำสารละลายเฉพาะส่วนบนมาหาความเข้มข้นที่แน่นอน (Standardize) ดังวิธีต่อไปนี้

4.1 ชั่งโซเดียมออกซาลेटแอนไฮไดรต์ ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) หลาย ๆ ตัวอย่างให้มีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 0.1-0.2 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร (จดน้ำหนักที่แน่นอนในแต่ละบีกเกอร์ไว้) เติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในแต่ละบีกเกอร์ คนสารให้ละลาย

4.2 เติมกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) (1+1) จำนวน 10 มิลลิลิตร ลงในแต่ละบีกเกอร์นำไปตั้งบนเตาให้ความร้อน (Hot plate) และทำให้อุ่นอย่างรวดเร็วจนมีอุณหภูมิ 90-95 องศาเซลเซียส

4.3 เทรทอย่างเร็วด้วยโปตัสเซียมเปอร์มันกานेटที่จะหาความเข้มข้นแน่นอน เขาอย่างสม่ำเสมอจนถึงจุดยุติจะได้สารละลายสีชมพูซึ่งจะคงตัวอย่างน้อย 1 นาที (ขณะที่เททรตอย่าให้อุณหภูมิต่ำกว่า 85 องศาเซลเซียส)

4.4 ทำแบลงค์โดยใช้น้ำกลั่นกับกรดซัลฟูริก (1+1)

$$\text{นอร์มัลลิตีของ KMnO}_4 = \frac{\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4 \text{ (กรัม)}}{(A - B) \times 0.33505}$$

A = มิลลิลิตรของ KMnO_4 ที่ใช้ไทเทรต $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$

B = มิลลิลิตรของ KMnO_4 ที่ใช้ไทเทรตแบลงค์
(หาค่าเฉลี่ยจากการไทเทรตหลาย ๆ ครั้ง)

5. สารละลายไนไตรท์เข้มข้น (Stock Nitrite Solution)

5.1 ชั่งโซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) ที่อบแห้งที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จำนวน 1.232 กรัม ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดที่กำหนด (สารละลายไนไตรท์เข้มข้นนี้มีความเข้มข้นไนไตรท์-ไนโตรเจน 250 มิลลิกรัมต่อลิตร) หากความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายไนไตรท์เข้มข้น ดังวิธีต่อไปนี้

5.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมเปอร์มันกานेट 0.05 นอร์มัล จำนวน 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมกรดกำมะถันเข้มข้น (conc. H_2SO_4) 5 มิลลิลิตร และสารละลายไนไตรท์เข้มข้น 50 มิลลิลิตร (ให้จุ่มปลายปิเปตของสารละลาย สติ๊กไนไตรท์ลงใต้ผิวของสารละลายโปตัสเซียมเปอร์มันกานेट) ปิดจุกเขย่าเบา ๆ และนำไปอุ่นบนเตาให้ความร้อน (Hot plate) จนอุณหภูมิอยู่ในช่วง 70-80 องศาเซลเซียส

5.3 ค่อย ๆ เติมสารละลายโซเดียมออกซาลेट 0.05 นอร์มัล ทีละ 10 มิลลิลิตร จนกระทั่งสีชมพูของโปตัสเซียมเปอร์มันกานेटหายไป

5.4 ไทเทรตส่วนที่เกินพอของโซเดียมออกซาลेटด้วยโปตัสเซียมเปอร์มันกานेटจนได้สีชมพู (ปริมาตร = J)

5.5 ทำแบบลงค์โดยใช้ น้ำกลั่นแทนสารละลายไนไตรท์เข้มข้น คำนวณหาความเข้มข้น

$$A = \frac{[(B \times C) - (D \times E)] \times 7}{F}$$

เมื่อ

A = มิลลิกรัมไนไตรท์-ไนโตรเจนต่อมิลลิลิตรในสารละลายไนไตรท์เข้มข้น

B = ปริมาตรเป็นมิลลิลิตร ของสารละลายมาตรฐาน โปตัสเซียมเปอร์มังกานेटที่ใช้ทั้งหมด = 50+J

C = นอร์มัลลิตีของสารละลายมาตรฐาน โปตัสเซียมเปอร์มังกานेट = 0.05 นอร์มัล

D = ปริมาตรเป็นมิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมออกซาลेटที่เติมลงไป

E = นอร์มัลลิตีของสารละลายโซเดียมออกซาลेट = 0.05 นอร์มัล

F = ปริมาตรเป็นมิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไนไตรท์เข้มข้นที่นำมาไทเทรต

การทำแบบลงค์น้ำกลั่นจะได้ปริมาณไนไตรท์-ไนโตรเจนในน้ำกลั่น สมมติ = L มิลลิกรัมต่อลิตร ไนโตรเจน จะได้ปริมาณไนไตรท์ในสารละลายไนไตรท์เข้มข้น = A - L

6. สารละลายไนไตรท์ปานกลาง (Intermediate Nitrite Solution) เข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

คำนวณปริมาณสารละลายไนไตรท์เข้มข้นเพื่อเตรียมสารละลายไนไตรท์ปานกลาง จากสมการดังนี้

$$G = \frac{12.5}{A}$$

แล้วนำปริมาตรที่คำนวณได้มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

7. สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (Standard Nitrite Solution): นำสารละลายไนไตรท์ปานกลางมา 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 500 มิลลิลิตร (สารละลายมาตรฐานไนไตรท์-ไนโตรเจนมีความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร)

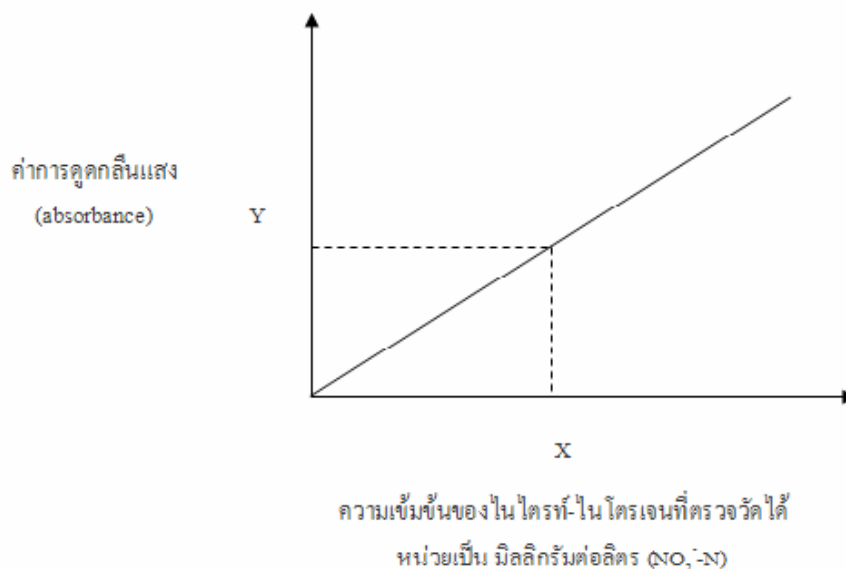
8. การเตรียมกราฟมาตรฐานไนไตรท์ดังนี้: เตรียมอนุกรมของสารละลายไนไตรท์มาตรฐาน โดยการปิเปตสารละลายมาตรฐาน ไนไตรท์ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 0, 2, 4, 6,

8, 10 และ 12 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดที่กำหนดตามลำดับ เขย่าให้เข้ากันจะได้ สารละลายไนโตรที่ที่มีความเข้มข้น 0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วนำไปทำการทดลองเช่นเดียวกับตัวอย่างน้ำ และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) พล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของไนโตรที่-ไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

วิธีการ

1. ปรับ ความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำตัวอย่างให้มี ความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วง 5-9 โดยใช้ กรดเกลือ (HCl) 1 นอร์มัล หรือแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH_4OH) 1 นอร์มัล
2. ตวงตัวอย่างน้ำปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลายซัลฟานิลไมด์ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 2-8 นาที
4. เติมสารละลายเอ็นอีดีไฮโดรคลอไรด์ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที (ไม่เกิน 2 ชั่วโมง)
5. นำไปวัดหา ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร
6. บันทึกค่าที่วัดได้เพื่อนำไปตัดกับกราฟมาตรฐานไนโตรที่-ไนโตรเจน

การคำนวณ หาปริมาณไนโตรที่-ไนโตรเจนกับกราฟมาตรฐาน



รูปที่ 3 กราฟมาตรฐานไนไตรท์-ไนโตรเจน

Y = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้

X = ความเข้มข้นของไนไตรท์-ไนโตรเจนที่ตรวจวัดได้ หน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร ($\text{NO}_2\text{-N}$)

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

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. Spectrophotometer Meter ที่ความยาวคลื่น 880 นาโนเมตร
2. บีกเกอร์ ขนาด 150 มิลลิลิตร และขนาด 1,000 มิลลิลิตร
3. ปิเปต ขนาด 10 มิลลิลิตร

สารเคมีที่ใช้ เกรด Analytical Reagent (A.R.)

Perchloric acid (HClO_4)	(LAB - SCAN, Ireland)
Ammonium molybdate ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	(Riedel - de Haen, Germany)
Ammonium metavanadate (NH_4VO_3)	(Merck, Germany)
Nitric acid (HNO_3)	(LAB - SCAN, Ireland)

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์: ละลายฟีนอล์ฟทาลีน 0.5 กรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ ร้อยละ 95 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นอีก 50 มิลลิลิตร

2. สารละลายกรดซัลฟิวริก 5 นอร์มัล: เติม กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 70 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร

3. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต: ละลาย 10 กรัม $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร เก็บในขวดพลาสติกที่ 4 องศาเซลเซียส

4. สารละลายแอนติโมนีโปตัสเซียมทาทาท: ละลาย 1.3715 กรัม $\text{K}(\text{SbO})\text{-C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$ ในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เก็บในขวดแก้ว

5. แอสคอร์บิกแอซิด 0.1 โมลาร์ ละลาย 1.76 กรัม Ascorbic Acid ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

6. น้ำยารวม (Combined reagent) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร: ผสม 50 มิลลิลิตรของกรดซัลฟิวริก 5 นอร์มัล กับสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต 15 มิลลิลิตร และ 5 มิลลิลิตร สารละลายแอนติโมนีโปตัสเซียมทาทาทผสมให้เข้ากัน เติมแอสคอร์บิกแอซิด 0.1 โมลาร์ จำนวน 30 มิลลิลิตร น้ำยารวมที่ได้จะต้องมีสีเหลืองอ่อน (สารนี้จะต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้วิเคราะห์)

7. สารละลายฟอสเฟตเข้มข้น: ละลาย 0.2197 กรัม โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) โดยอบแห้งที่ 105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เติม 1 มิลลิลิตร chloroform แล้วเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร สารละลายนี้จะต้องเก็บไว้ในที่มืดในตู้เย็น และจะเก็บได้นาน 1 เดือน (สารละลายฟอสเฟตเข้มข้น มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร)

8. สารละลายมาตรฐานฟอสเฟต: ไปเปิดสารละลายฟอสเฟตเข้มข้น 25 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 500 มิลลิลิตร สารละลายนี้จะเก็บไว้ใช้ได้ไม่เกิน 1-2 วัน (สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตมีความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร)

9. การเตรียมกราฟมาตรฐานฟอสเฟต เตรียมอนุกรมของสารละลายฟอสเฟตมาตรฐาน โดยการเปิดสารละลายมาตรฐาน ฟอสเฟตความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 0, 2, 6, 10, 12, 16, 20 และ 24 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดที่กำหนด ตามลำดับ เขย่าให้เข้ากันจะได้ สารละลายฟอสเฟตจะมีความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.6, 0.8, 1.0 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เติมน้ำยารวม 8 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 880 นาโนเมตร เช่นเดียวกับตัวอย่าง พล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของฟอสเฟต (มิลลิกรัมต่อลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance)

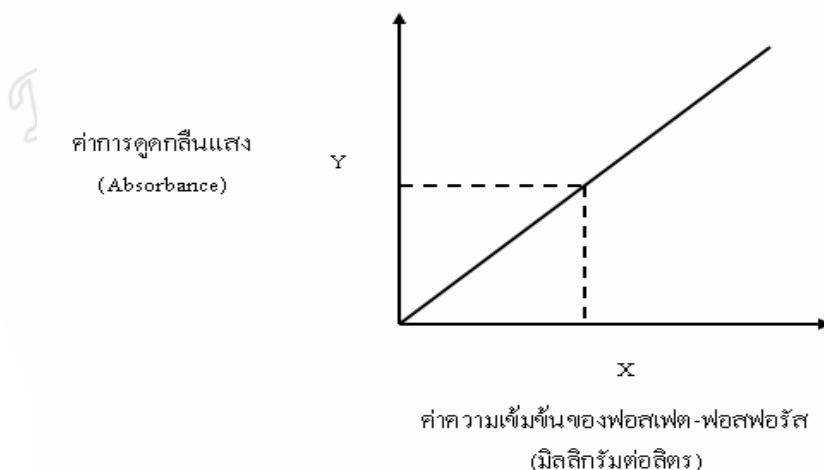
วิธีการ

1. ตวงตัวอย่างน้ำ 50 มิลลิลิตร ใส่ลงใน บีกเกอร์ ขนาด 150 มิลลิลิตร
2. หยดฟีนอล์ฟทาไลน์อินดิเคเตอร์ 1 หยด ถ้าได้สีชมพูให้หยด กรดซัลฟิวริก 5 นมัล ลงไป
ทีละหยดจนกระทั่งสีชมพูหายไป
3. เติมน้ำยารวมใส่ลงในแต่ละบีกเกอร์ บีกเกอร์ละ 8 มิลลิลิตร
4. เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่ไม่เกิน 30 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 880 นาโนเมตร
6. จดค่าการดูดกลืนแสง เพื่อนำไปตัดกับกราฟมาตรฐาน

ข้อควรระวังและปฏิบัติในการวิเคราะห์ฟอสเฟต

1. เครื่องแก้วทุกชิ้นที่ใช้ในการทดลองให้ล้างด้วย กรดเกลือเจือจางขณะร้อน แล้วนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆ ครั้ง หรือใช้น้ำยาล้างเครื่องแก้วที่ปราศจากฟอสเฟต
2. สำหรับตัวอย่างน้ำที่มีสีหรือขุ่นมาก ให้ทำเบลนก์ โดยเติมสารละลายทุกอย่าง ยกเว้นสารละลายกรดแอสคอร์บิก และ โพรแทสเซียม แอนติโมนีตาร์เตรท แล้วนำค่าการดูดกลืนแสง ที่วัดได้ไปหักออกจากค่าการดูดกลืนแสง ของตัวอย่าง

การคำนวณ หาปริมาณฟอสเฟต-ฟอสฟอรัสกับกราฟมาตรฐาน



รูปที่ 4 กราฟมาตรฐานฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส

Y = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้

X = ความเข้มข้นของฟอสเฟต-ฟอสฟอรัสที่ตรวจวัดได้ หน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร

12. วิธีการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ด้วยวิธี Spectrophotometry Becker (1994 อ้างโดย Aslan and Kapdan, 2006)

1. นำตัวอย่างน้ำเลี้ยง 10 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 rpm เป็นเวลา 30 นาที และเอาน้ำส่วนใสออก

2. เติม เมทานอล 3 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนบนอ่างอังไอน้ำ เพื่อทำการสกัดเอาคลอโรฟิลล์ออกจากเซลล์สาหร่าย เป็นเวลา 5 นาที

3. ทิ้งตัวอย่างให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง แล้วทำการปรับปริมาตรตัวอย่างเป็น 5 มิลลิลิตร ด้วยเมทานอล

4. นำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 650 และ 665 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ดังสมการ

$$\text{Chlorophyll } A \text{ (mg/L)} = \frac{[(16.5 \times A_{665}) - (8.3 \times A_{650})] \times \text{ปริมาตรของตัวอย่างที่สกัดได้}}{\text{ปริมาตรของตัวอย่าง}}$$

Prince of Songkhla University
Pattani Campus

ภาคผนวก ข

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ตู้อบ (hot dry oven) บริษัท BINDER ประเทศ Germany



รูปภาคผนวกที่ ข1 ตู้อบ (hot dry oven)

2. เตาเผาอุณหภูมิสูง ของ NEY Model 6-525 Programmable furnace บริษัท J.M.Ney co.Yucaipa, Calif. ประเทศ USA



รูปภาคผนวกที่ ข2 เตาเผาอุณหภูมิสูง

3. เครื่องวัด ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) Model Syberscan pH 310 บริษัท EUTECH INSTRUMENTS ประเทศ Singapore



รูปภาพผนวกที่ ข3 เครื่องวัด ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

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



รูปภาพผนวกที่ ข4 เครื่องวัด ค่าการนำไฟฟ้า (Conductrometer)

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



รูปภาพผนวกที่ ข5 เครื่องวัด ความเข้มแสง (Lux meter)

6. เครื่องชั่งละเอียด (Balance) ทศนิยม 4 ตำแหน่ง Model AP 201S บริษัท Ohaus จำกัด ประเทศ Switzerland



รูปภาพผนวกที่ ข6 เครื่องชั่งละเอียด (Balance) ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

7. เครื่องผลิตน้ำปราศจากไอออน (Deionization, DI) Model 185 บริษัท Milli-Q Plus ประเทศ North America



รูปภาพผนวกที่ ข7 เครื่องผลิตน้ำปราศจากไอออน

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



รูปภาพผนวกที่ ข8 เครื่องให้ความร้อน (Hot plate)

9. เครื่อง Spectrophotometer Model UV-160A บริษัท Shimadzu ประเทศ Japan



รูปภาคผนวกที่ ข9 เครื่อง (Spectrophotometer)

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



รูปภาคผนวกที่ ข10 เครื่องย่อยโปรตีน (Digestion)

11 เครื่องกลั่นโปรตีน (Scrubber) Model B - 414 บริษัท BUCHI



รูปภาคผนวกที่ ข11 เครื่องกลั่น (Scrubber)

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



รูปภาพหมวดที่ ข12 เครื่องจักรกล (Distillation)

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



รูปภาพหมวดที่ ข13 เครื่องดูดอากาศ

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



รูปภาพหมวดที่ ข14 เครื่องควบคุมอุณหภูมิน้ำ (Waterbath)

15. โถดูดความชื้น (desiccator) Model Vakuum บริษัท SCHOTT ประเทศ Germany



รูปภาพหมวดที่ ข15 โถดูดความชื้น (desiccator)

16. เครื่อง Autoclave Model HA-300MN บริษัท HIRAYAMA ประเทศ Japan



รูปภาพหมวดที่ ข16 เครื่อง Autoclave

17. ครุฑิเบิล (Porcelain crucible) Model HCT 103/60 บริษัท DIN ประเทศ Germany



รูปภาพหมวดที่ ข17 ครุฑิเบิล (Porcelain crucible)

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



รูปภาพหมวดที่ ข18 กระดาษกรอง (Filter paper)

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



รูปภาพหมวดที่ ข19 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)

20. สไลด์ Hemacytometer Model Improved Neubauer บริษัท BOECO ประเทศ Germany



รูปภาพหมวดที่ ข20 สไลด์ Hemacytometer

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



รูปภาพหมวดที่ ข21 เครื่องผสมสาร (Vortex Mixer)

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



รูปภาพหมวดที่ ข22 เครื่องวิเคราะห์ซีไอดี (COD Thermoreactor)

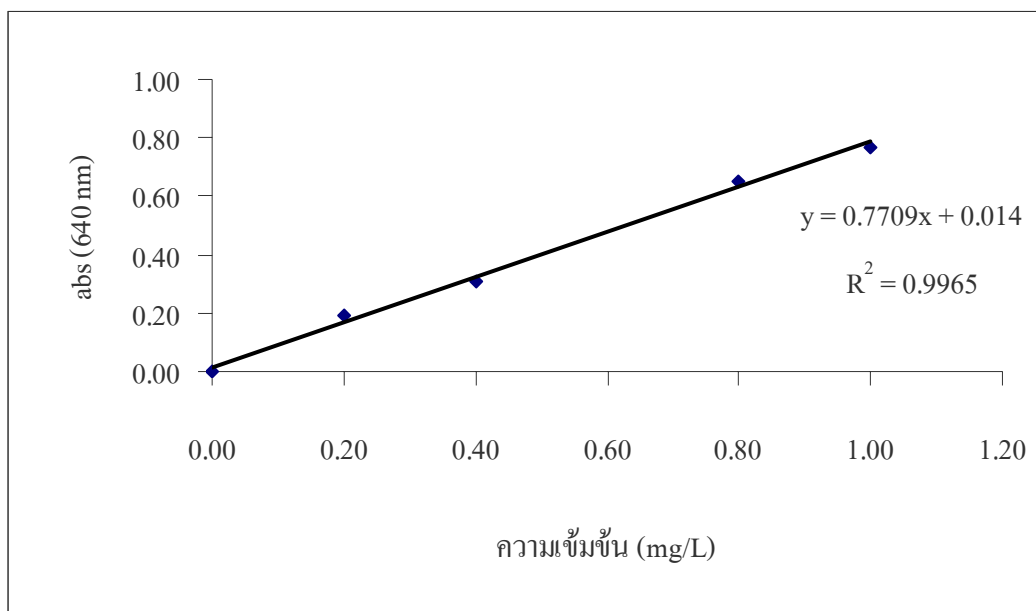
23. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) Model Z 206 A บริษัท Hermle Labortechnik GmbH ประเทศ
Germany



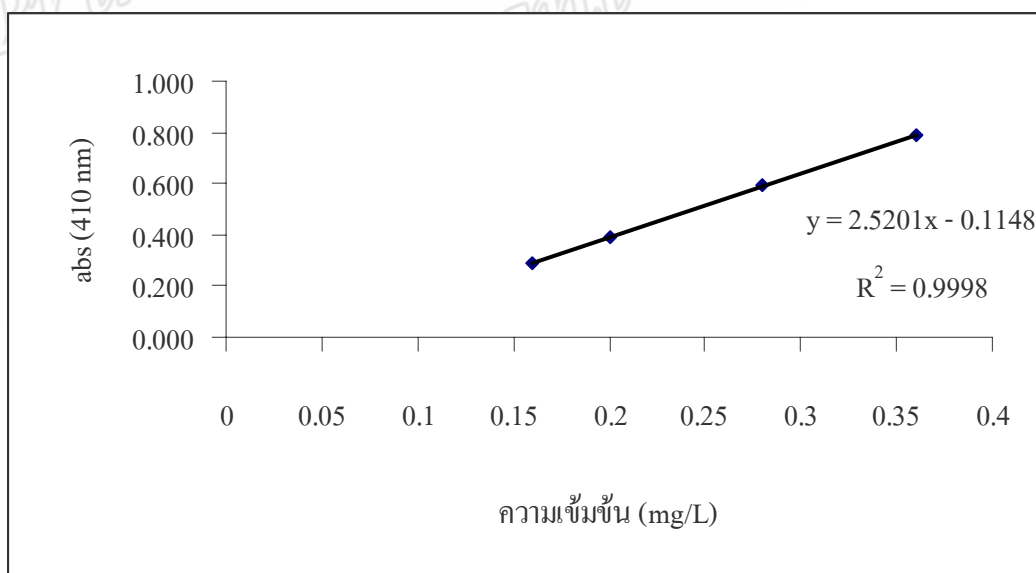
รูปภาพหมวดที่ ข23 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

ภาคผนวก ค

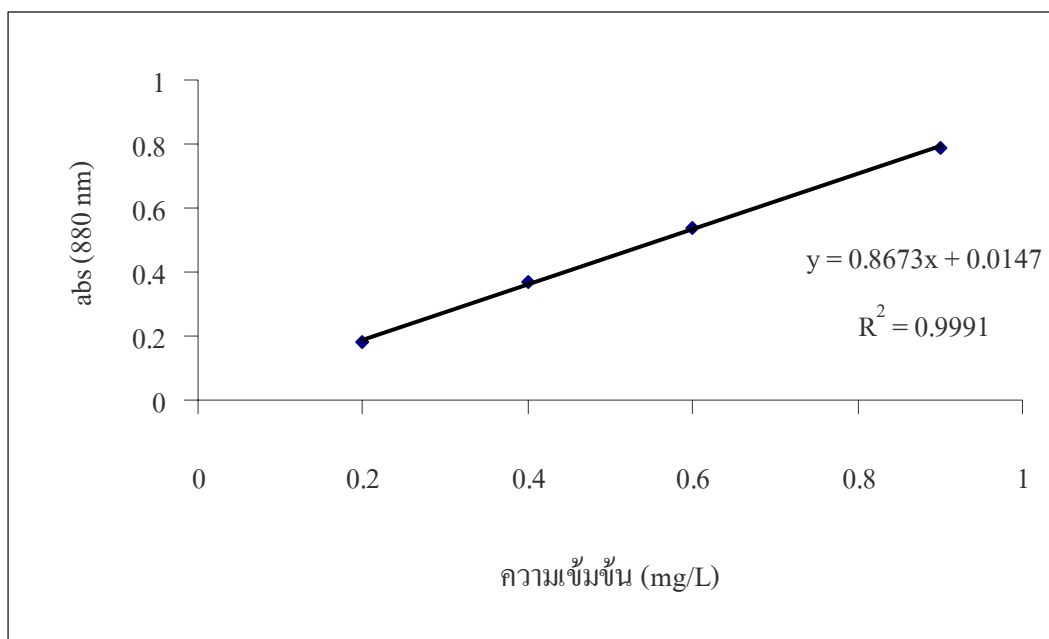
กราฟมาตรฐานทดสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์



รูปภาคผนวกที่ ค1 ความสัมพันธ์ค่าการดูดกลืนแสง (640 nm) กับปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน



รูปภาคผนวกที่ ค2 ความสัมพันธ์ค่าการดูดกลืนแสง (410 nm) กับปริมาณไนเตรท

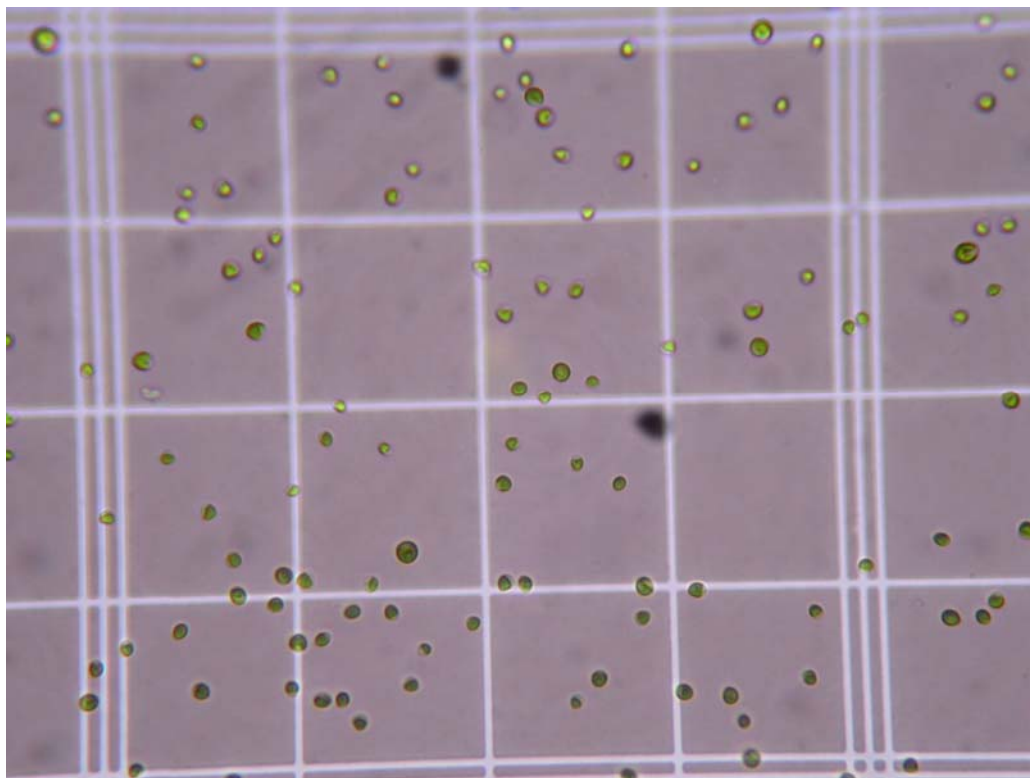


รูปภาคผนวกที่ ค3 ความสัมพันธ์ค่าการดูดกลืนแสง (880 nm) กับปริมาณฟอสฟอรัส

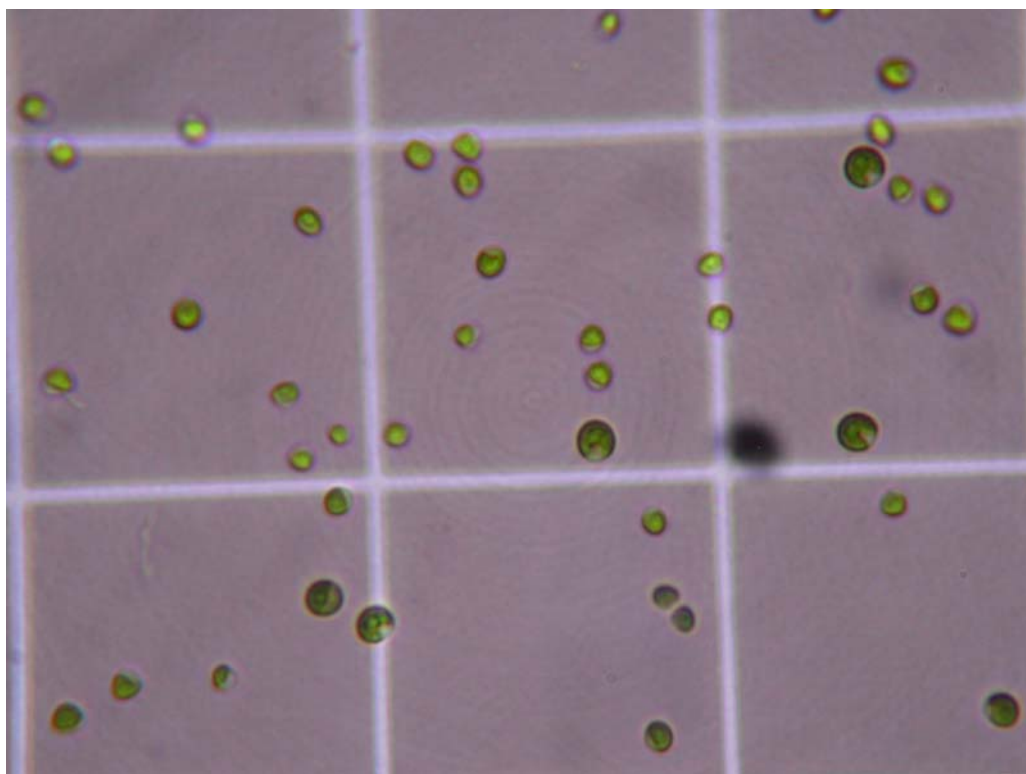
Prince of Songkla University
Pattani Campus

ภาคผนวก ง

คลอเรลลาและไรแดงที่ใช้ในการทดลอง



รูปภาคผนวกที่ ง1 คลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยน้ำทิ้งโรงงานปลาป่น (กำลังขยาย 1000 เท่า)



รูปภาคผนวกที่ ง2 คลอเรลลาที่เลี้ยงด้วยน้ำทิ้งโรงงานปลาป่น (กำลังขยาย 2000 เท่า)



รูปภาคผนวกที่ ง3 ไรแดงที่เลี้ยงด้วยน้ำทิ้งโรงงานปลาป่น (กำลังขยาย 200 เท่า)