

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
สารเคมีและกราฟมาตรฐาน

ภาคผนวก ก

สารเคมีและกราฟมาตรฐาน

สารเคมีและกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ไนเตรต

1. สารละลายบรูซีน – กรดซัลฟานิลิก

ละลายบรูซีนซัลเฟต 1 กรัม และกรดซัลฟานิลิก 0.1 กรัม ลงในน้ำร้อน 70 มิลลิลิตรและเติมกรดไฮโดรคลอริก 3 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นชนิดไอออน (Deionized Water) จนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2. สารละลายกรดซัลฟิวริก

ค่อย ๆ เทกรดซัลฟิวริก 500 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 125 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วปิดจุกให้แน่นเพื่อป้องกันความชื้น

3. สารละลายโซเดียมคลอไรด์

ละลายโซเดียมคลอไรด์ 300 กรัม ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

4. สารละลายสต็อกไนเตรตความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

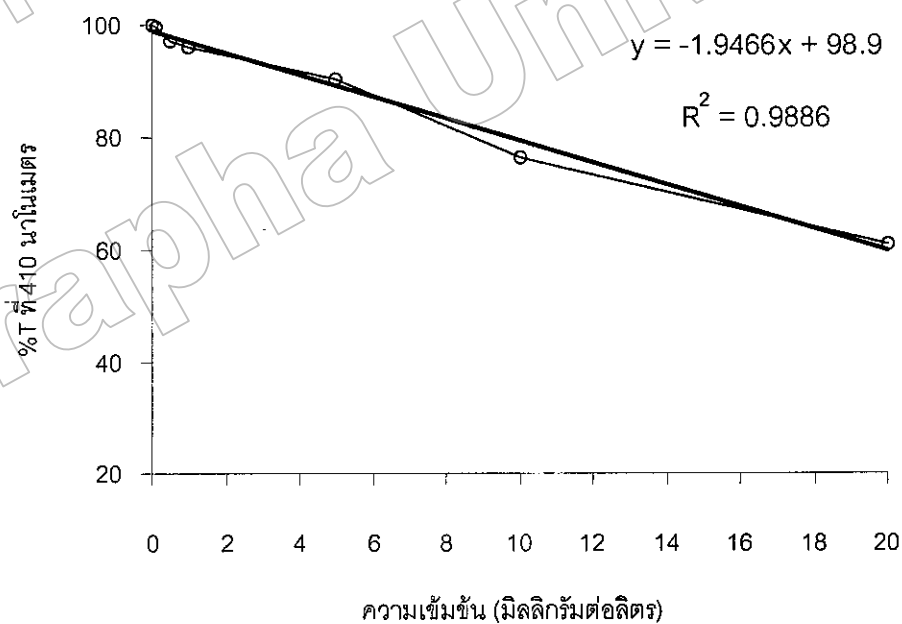
ชั่งโพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3) ที่อบแห้งอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส น้ำหนัก 0.722 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

5. การเตรียมสารละลายและกราฟมาตรฐานไนเตรตความเข้มข้น 0 – 20

มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 27 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรดที่ความเข้มข้น 0 – 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้นไนเตรด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาตรสต็อกไนเตรดที่ทำให้ เจือจางเป็น 50 มิลลิลิตร	ค่า %T ที่ 410 นาโนเมตร		
		ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3
0	0	100	100	100
0.1	0.05	99.67	99.77	99.45
0.5	0.25	97.46	97.16	96.94
1	0.50	96.76	96.19	95.69
5	2.50	89.38	90.76	90.85
10	5.00	71.51	78.46	79.72
20	10.00	61.37	57.45	64.77



—○— ค่าการดูดกลืนแสง — เชิงเส้น (ค่าการดูดกลืนแสง)

ภาพที่ 44 กราฟมาตรฐานไนเตรดที่ความเข้มข้น 0 – 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

สารเคมีและกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ไนไตรต์

1. สารละลายซัลฟานิลไมด์

ชั่งซัลฟานิลไมด์ 5 กรัม ลงในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดซัลฟิวริก 50 มิลลิลิตร คนให้ละลายแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 500 มิลลิลิตร

2. สารละลาย NNED

ชั่ง NNED 500 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 500 มิลลิลิตร

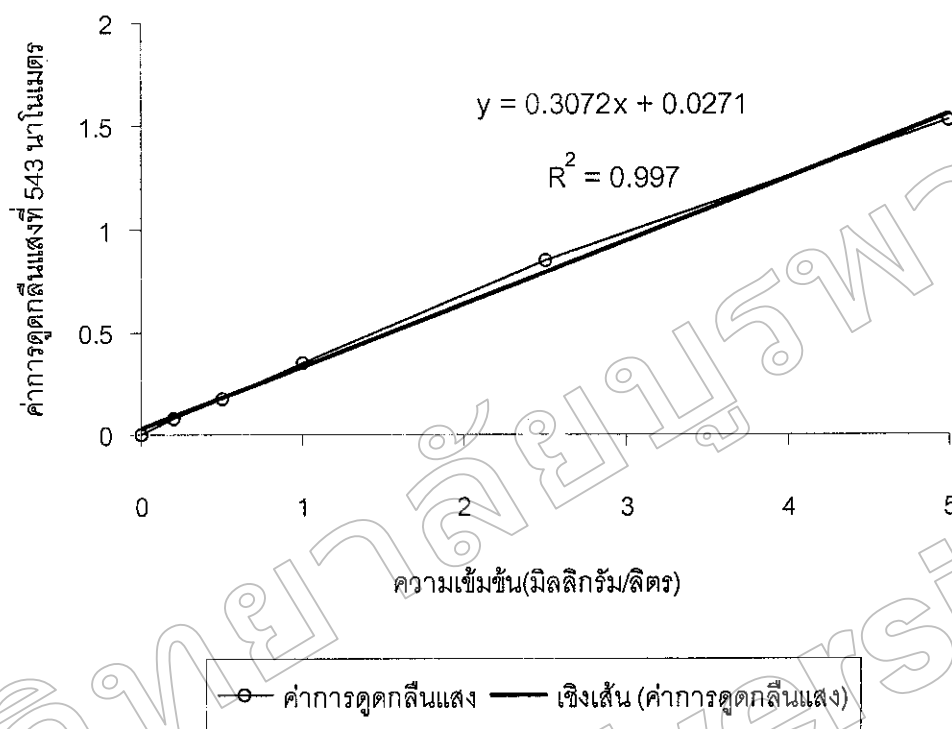
3. สารละลายสต็อกไนไตรต์ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซึ่งโซเดียมไนไตรต์ (NaNO_2) ที่อบแห้งอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส น้ำหนัก 0.4926 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

4. การเตรียมสารละลายและกราฟมาตรฐานไนไตรต์ความเข้มข้น 0 – 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 28 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนไตรต์ที่ความเข้มข้น 0 – 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้นไนไตรต์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาตรสต็อกไนไตรต์ที่ทำให้ เจือจางเป็น 50 มิลลิลิตร	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 543 นาโนเมตร		
		ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3
0	0	0	0	0
0.2	0.10	0.095	0.076	0.059
0.5	0.25	0.171	0.174	0.184
1	0.50	0.338	0.359	0.359
2.5	1.25	0.849	0.852	0.853
5	2.50	1.517	1.526	1.554



ภาพที่ 45 กราฟมาตรฐานไนไตรต์ที่ความเข้มข้น 0–5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สารเคมีและกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์แอมโมเนีย

1. Hypochlorite Stock

ใช้ Sodium Hypochlorite (5.5% Available Chlorine) หรือน้ำยาฟอกสี (Bleach)

ที่ขายตามท้องตลาดที่มีคลอรีน 5 เปอร์เซ็นต์

2. Alkaline Stock Solution

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 100 กรัม และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร

3. Sodium Nitroprusside Reagent

ชั่งโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตรครบ 200 มิลลิลิตร

4. Phenol Reagent

ชั่งฟีนอล 100 กรัม ละลายในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

5. Oxidizing Reagent

เตรียมโดยใช้ Alkaline Stock Solution 4 ส่วน ผสมกับ Hypochlorite Stock 1 ส่วน (สารละลายนี้เตรียมเมื่อต้องการใช้ในแต่ละครั้งแล้วเก็บไว้ในขวดทึบแสง ปิดฝาให้สนิท จนกระทั่งถึงเวลาใช้)

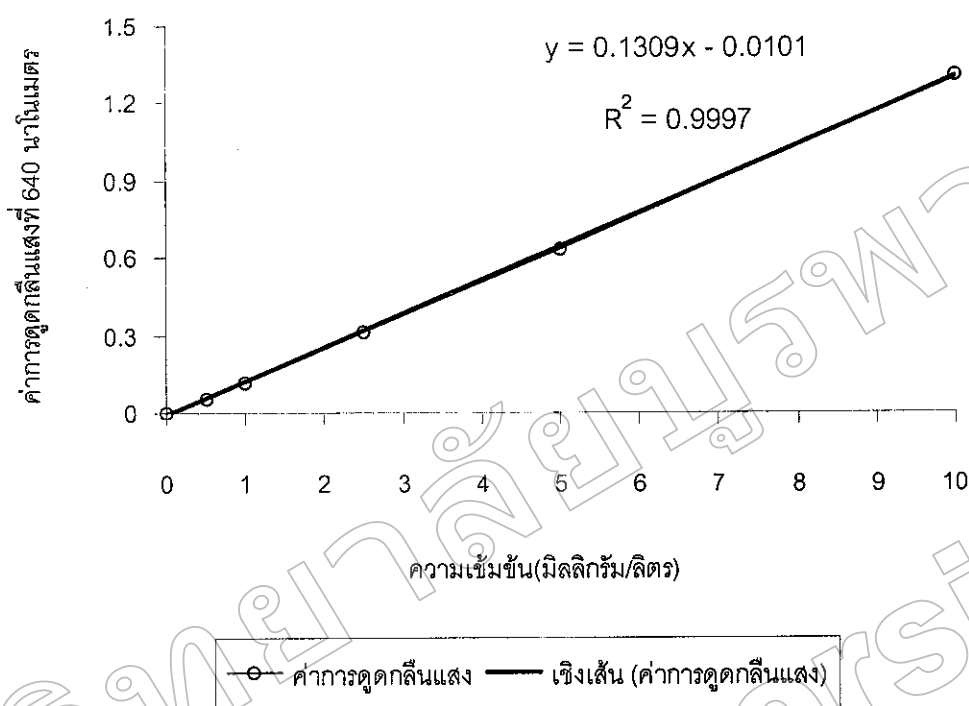
6. สารละลายสต็อกแอมโมเนียความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) ที่อบแห้งอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส น้ำหนัก 3.818 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1,000 มิลลิตร

7. การเตรียมสารละลายและกราฟมาตรฐานแอมโมเนียความเข้มข้น 0 – 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 29 การเตรียมสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียที่ความเข้มข้น 0 – 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้น แอมโมเนีย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาตรสต็อกแอมโมเนียที่ ทำให้เจือจางเป็น 100 มิลลิตร	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 640 นาโนเมตร		
		ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3
0	0	0	0	0
0.5	0.05	0.055	0.064	0.046
1	0.10	0.11	0.128	0.125
2.5	0.25	0.331	0.300	0.311
5	0.50	0.624	0.640	0.624
10	1.00	1.319	1.287	1.315



ภาพที่ 46 กราฟมาตรฐานแอมโมเนียที่ความเข้มข้น 0 – 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

สารเคมีและกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ฟอสเฟต

1. Acid Molybdate – Antimony

ชั่ง Ammonium Paramolybdate 7.5 กรัม และ Antimony Potassium Tartate 0.14 กรัม ลงในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดซัลฟิวริกลงไป 88 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร (เก็บสารละลายในขวดทึบแสง)

2. Ascorbic Acid Solution

ชั่ง L – Ascorbic Acid 2.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (สารละลายนี้เมื่อเตรียมแล้วต้องใช้เวลา 24 ชั่วโมง หรือแช่ตู้เย็นสามารถเก็บได้นานเป็นเวลา 2 – 3 วัน)

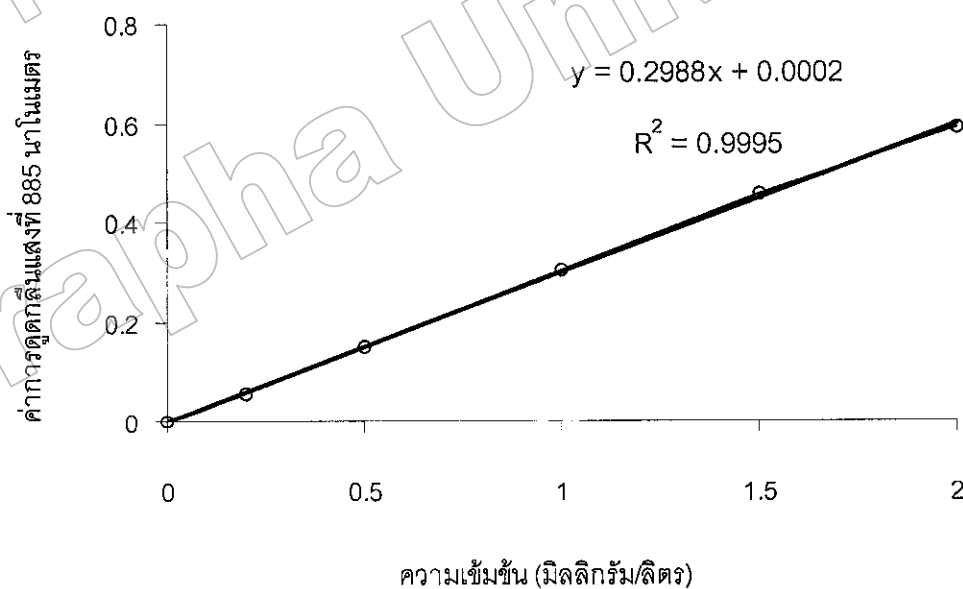
3. สารละลายสต็อกฟอสเฟตความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งโพแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) ที่อบแห้งอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส น้ำหนัก 0.2197 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

4. การเตรียมสารละลายและกราฟมาตรฐานฟอสเฟตความเข้มข้น 0 – 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 30 การเตรียมสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 0 – 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้น ฟอสเฟต (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาตรสต็อกฟอสเฟตที่ทำ ให้เจือจางเป็น 50 มิลลิลิตร	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 885 นาโนเมตร		
		ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3
0	0	0	0	0
0.2	0.20	0.057	0.058	0.050
0.5	0.50	0.153	0.153	0.147
1	1.00	0.300	0.304	0.304
1.5	1.50	0.447	0.460	0.458
2	2.00	0.587	0.593	0.593



—○— ค่าการดูดกลืนแสง ——— เส้นเส้น (ค่าการดูดกลืนแสง)

ภาพที่ 47 กราฟมาตรฐานฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 0 – 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

Phosphate Buffer Saline (PBS) ประกอบด้วย

NaCl	8.0 กรัม
KCl	0.2 กรัม
Na ₂ HPO ₄	1.15 กรัม
KH ₂ PO ₄	0.2 กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่นจัดไอออน (Deionized Water) ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าพีเอชเท่ากับ 7.2 แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที

TES Buffer (25% Sucrose) in 1X TE) ประกอบด้วย

10X TE (pH 8.0)	10 มิลลิลิตร
50% Sucrose	50 มิลลิลิตร
น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ	40 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันในขวดแก้วที่มีฝาปิดปราศจากเชื้อ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

50X Tris-Acetate-Electrophoresis (TAE) Buffer

Tris – Base	242 กรัม
Glycyl Acetic Acid	57.1 มิลลิลิตร
0.5 โมลาร์ EDTA (pH 8.0)	100 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง