

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ก

วิธีการมาตรฐานและการคำนวณ

วิธีทำกราฟมาตรฐาน

1. การทำกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจนสาหร่ายสีเขียว

1) ปิเปตสารละลายมาตรฐานแอมโมเนียมา 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ 50 มิลลิลิตร (ภาคผนวก ข)

2) ปิเปตสารละลายจากข้อ 1) มา 5, 10, 20 และ 40 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ 50 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 0.035, 0.070, 0.140 และ 0.280 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

3) ปิเปตสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ได้จากข้อ 2) มาอย่างละ 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 ตามลำดับ เติมสารละลายฟีนอล (ภาคผนวก ข) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร โซเดียมไนโตรพอสเฟตและสารละลายออกซิไดซ์ซึ่ง ปริมาตร 2.5 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ เขย่าให้เข้ากัน

4) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 1 ชั่วโมง และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 640 นาโนเมตร

5) ทำกราฟมาตรฐานจากค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับค่าการดูดกลืนแสง

2. การทำกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ฟอสฟอรัส

1) ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาคผนวก ข) ปริมาตร 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 0.9 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร

2) ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน ความเข้มข้นที่ได้คือ 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

3) ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส มาความเข้มข้นละ 5 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 25 มิลลิลิตร

4) เติมสารละลายผสม (ภาคผนวก ข) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที แต่ไม่ควรเกิน 30 นาที

5) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 880 นาโนเมตร

6) ทำกราฟมาตรฐาน จากค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับค่าการดูดกลืนแสง

3. การทำกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์โพแทสเซียม

1) เตรียมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมความเข้มข้น 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาคผนวก ข) ปริมาตร 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 100

มิลลิลิตร

2) เติมสารละลาย Suppressor (ภาคผนวก ข) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เข้าให้เข้ากัน

3) นำไปวัดค่าการเปล่งแสงด้วยเครื่องเฟรมอิมิตชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (flame emission spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 766.5 นาโนเมตร

4) ทำกราฟมาตรฐาน จากค่าความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน โพแทสเซียมกับการเปล่งแสง

4. การทำกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์แมงกานีส

1) ปิเปตสารละลายมาตรฐานแมงกานีสที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 0.5, 1.5 และ 3 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ขวดที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับ

2) เติมน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 5, 4.5, 3.5 และ 2 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขวดที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ

3) เติมสารละลายกรดผสม (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร เข้าให้เข้ากัน และเติมน้ำปราศจากไอออนให้ได้ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เข้าให้เข้ากัน

4) เติมแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต (ที่ทำให้แห้งในโถดูดความชื้น) 0.25 กรัม เข้าให้เข้ากันอีกครั้ง

5) อุ่นสารละลายในขวดปรับปริมาตรในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที

6) ทำให้เย็นโดยเปิดน้ำให้น้ำไหลผ่านขวดปรับปริมาตร

7) ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ได้ 25 มิลลิลิตร

8) วัดความเข้มของสีด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 530

นาโนเมตร

9) ทำกราฟมาตรฐานจากค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแมงกานีสกับการดูดกลืนแสง

การคำนวณปริมาณธาตุอาหาร

1. การคำนวณปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (TKN)

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(A-B) \times 0.0280}{V}$$

A = ปริมาตรของกรดซัลฟิวริกมาตรฐานที่ใช้ไทเทรตกับน้ำหมักชีวภาพ (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรของกรดซัลฟิวริกมาตรฐานที่ใช้ไทเทรตกับแบลงค์ (มิลลิลิตร)

V = ปริมาตรตัวอย่างน้ำหมักชีวภาพที่ใช้ (มิลลิลิตร)

2. การคำนวณปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

จากตัวอย่างสาหร่ายไส้ไก่

$$\text{ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{C \times V_f \times V_e \times 10^{-4}}{W \times V_a}$$

C = ความเข้มข้นแอมโมเนียจากกราฟมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)

V_f = ปริมาตรสุดท้าย (มิลลิลิตร)

V_e = ปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการสกัด (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักตัวอย่างสาหร่ายไส้ไก่ (กรัม)

V_a = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างสาหร่ายไส้ไก่ที่ใช้ในการวิเคราะห์ (มิลลิลิตร)

จากตัวอย่างน้ำหมักชีวภาพสาหร่ายไส้ไก่

$$\text{ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(A-B) \times 0.0280}{V}$$

A = ปริมาตรของกรดซัลฟิวริกมาตรฐานที่ใช้ไทเทรตกับน้ำหมักชีวภาพ (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรของกรดซัลฟิวริกมาตรฐานที่ใช้ไทเทรตกับแบลงค์ (มิลลิลิตร)

V = ปริมาตรตัวอย่างน้ำหมักชีวภาพที่ใช้ (มิลลิลิตร)

3. การคำนวณปริมาณฟอสฟอรัส

$$\text{ปริมาณฟอสฟอรัส (เปอร์เซ็นต์)} = \left[\frac{C \times 1000 \times 10^{-4}}{V} \right] \times \text{d.f.}$$

C = ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสจากกราฟมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)

V = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (มิลลิลิตร)

d.f. = ค่าการเจือจางตัวอย่าง

4. การคำนวณปริมาณแอมกานีส

$$\text{ปริมาณแอมกานีส (เปอร์เซ็นต์)} = \left[\frac{C \times 1000 \times 10^{-4}}{V} \right] \times \text{d.f.}$$

C = ความเข้มข้นของแอมกานีสจากกราฟมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)

V = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (มิลลิลิตร)

d.f. = ค่าการเจือจางตัวอย่าง

5. การคำนวณปริมาณโพแทสเซียม

$$\text{ปริมาณโพแทสเซียม (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{1.2046 \times C \times \text{d.f.} \times 10^{-4}}{V}$$

C = ความเข้มข้นของแอมกานีสจากกราฟมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)

V = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (มิลลิลิตร)

d.f. = ค่าการเจือจางตัวอย่าง

6. การคำนวณปริมาณแคลเซียม

$$\text{ปริมาณแคลเซียม (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{A \times B \times 400.8 \times \text{d.f.} \times 10^{-4}}{V}$$

A = มิลลิลิตร ของอีดีทีเอที่ใช้ไตเตรท

B = มิลลิกรัม ของแคลเซียมคาร์บอเนตที่สมมูลกับ 1 มิลลิลิตรอีดีทีเอ

(ถ้าสารละลาย อีดีทีเอสมมูลพอดี ค่า B = 1)

V = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (มิลลิลิตร)

d.f. = ค่าการเจือจางตัวอย่าง

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ข
การเตรียมสารละลาย

วิธีการเตรียมสารละลาย

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ - โซเดียมไธโอซัลเฟต (Sodium hydroxide - Sodium thiosulfate reagent)

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 500 กรัม และ โซเดียมไธโอซัลเฟต 25 กรัม ในน้ำปราศจากไอออนและเจือจางเป็น 1 ลิตร

2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์ (32% NaOH)

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 320 กรัม ละลายในน้ำปราศจากไอออน (โดยทำในตู้ดูดควัน) และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรตั้งทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำไปใช้

3. สารละลายกรดบอริกความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (2% H_3BO_3)

ชั่งกรดบอริก 20 กรัม และละลายในน้ำปราศจากไอออน และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

4. สารละลายอินดิเคเตอร์ผสม (Mixed indicator)

4.1 ชั่งเมทิลเรด จำนวน 0.20 กรัม เติมนีโทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน

4.2 ชั่งเมทิลินบลู จำนวน 0.10 กรัม เติมนีโทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ 50 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน

4.3 นำสารละลายข้อ 3.1 และ 3.2 มาผสมกันแล้วคนให้เข้ากัน

5. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.02 นอร์มอล (0.02 N H_2SO_4)

5.1 เตรียมสารละลายกรดซัลฟูริก 1 นอร์มอล หรือ 0.5 โมลต่อลิตร (โมลาร์) จากกรดซัลฟูริกเข้มข้น 98 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความเข้มข้นเท่ากับ 36 นอร์มอล หรือ 18 โมลาร์ โดยปิเปตต์กรดเข้มข้นมา 28.3 มิลลิลิตร ละลายในน้ำปราศจากไอออนแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

5.2 ปิเปตต์สารละลายในข้อ 4.1 มาปริมาตร 10 มิลลิลิตร ละลายในน้ำปราศจากไอออนแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร สารละลายนี้จะมีกรดซัลฟูริกเข้มข้นประมาณ 0.01 โมลาร์ หรือ 0.02 นอร์มอล

6. สารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย

ละลายแอมโมเนียมซัลเฟต 0.165 กรัม และปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

7. สารละลายฟีนอลสำหรับวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจน

ละลายฟีนอล 5 กรัม ในเอธิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

8. สารละลายโซเดียมไนโตรพลัสไซด์

ละลายโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ 0.5 กรัม ในน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บรักษาสารละลายนี้ในขวดแก้วสีชา สารละลายนี้มีอายุ 1 เดือน

9. สารละลายอัลคาไลน์

ละลายไตรโซเดียมซัลเฟตไตรไฮเดรต 20 กรัม และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 กรัม ในน้ำปราศจากไอออน 100 มิลลิลิตร

10. สารละลายออกซิไดซ์จิ่ง (Oxidizing Reagent)

ผสมสารละลายอัลคาไลน์ (จากข้อ 9) และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (ไฮเตอร์) เข้าด้วยกัน อัตราส่วน 4 ต่อ 1

11. สารละลายกรดซัลฟิวริก 5 นอร์มอล (Sulfuric Acid Solution 5N)

เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 70 มิลลิลิตร ลงในน้ำปราศจากไอออน และปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

12. สารละลายแอนติโมนีโพแทสเซียมทาร์เทรตไตรไฮเดรต (Antimony Potassium Tartrate Solution)

ละลาย แอนติโมนีโพแทสเซียมทาร์เทรตไตรไฮเดรต 1.3715 กรัม ในน้ำปราศจากไอออนและปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร เก็บในขวดแก้ว

13. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต (Ammonium Molybdate Solution)

ละลาย แอมโมเนียมโมลิบเดต 20 กรัม ในน้ำปราศจากไอออนปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร เก็บในขวดพลาสติกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

14. สารละลายกรดแอสคอร์บิก 0.1 โมลาร์ (Ascorbic acid Solution 0.1M)

ละลายแอสคอร์บิก แอซิด 1.76 กรัม ในน้ำปราศจากไอออน ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน เก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

15. สารละลายผสมสำหรับวิเคราะห์ฟอสฟอรัส (Mix reagent)

- สารละลายกรดซัลฟิวริก 5 นอร์มอล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร __ (1)
- สารละลายแอนติโมนีโพแทสเซียมทาร์เทรต ปริมาตร 5 มิลลิลิตร __ (2)
- สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต ปริมาตร 15 มิลลิลิตร __ (3)
- สารละลายกรดแอสคอร์บิก 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 30 มิลลิลิตร __ (4)

ผสมสารละลาย (1), (2) และ (3) ให้เข้ากันทิ้งไว้ 2-3 นาที และเติมสารละลาย (4)

สารละลายผสมนี้ต้องใช้ทันทีภายใน 4 ชั่วโมง

16. สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (Standard Phosphorus Solution 50 ppm)

ละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Anhydrous) 0.2196 กรัม ในน้ำปราศจากไอออนและปรับปริมาตรจนได้ 1 ลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

17. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) (ที่ผ่านการอบแห้งที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง) จำนวน 1.9067 กรัม ละลายในน้ำปราศจากไอออนประมาณ 200 มิลลิลิตร เติมกรดไนตริกเข้มข้น ลงไป 12 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน จากนั้นปีเปตต์สารละลายที่เตรียมไว้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน

18. สารละลาย Suppressor

ชั่งแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) จำนวน 12.5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปราศจากไอออน 50 มิลลิลิตร และเติมกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 36 ถึง 38 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 105 มิลลิลิตร ลงไปที่ละน้อย นำไปต้มพอเดือด และทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเทใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออน เขย่าให้เข้ากัน

19. สารละลายกรดผสมสำหรับวิเคราะห์แมงกานีส

เตรียมโดยผสมกรดไนตริกเข้มข้น (conc. HNO_3) 40 มิลลิลิตรกับน้ำปราศจากไอออน 20 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และใส่เมอร์คิวริกซัลเฟต (HgSO_4) 7.5 กรัม ลงไปในขวด จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วจึงเติมกรดออร์โทฟอสฟอริกความเข้มข้น 85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และซิลเวอร์ไนเตรท (AgNO_3) 0.0035 กรัม ละลายให้เข้ากัน จากนั้นปรับปริมาตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน

20. สารละลายมาตรฐานที่มีแมงกานีสเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

เตรียมโดยชั่งแมงกานีสซัลเฟตที่ทำแห้งในโถดูดความชื้นมา 0.0308 กรัม ละลายในน้ำปราศจากไอออน 20 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดไนตริกเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนให้เป็น 100 มิลลิลิตร

21. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 นอร์มอล

เตรียมโดยชั่งสาร โซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ด้วยน้ำปราศจากไอออน และเทส่วนผสมลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนและเขย่าให้สารละลายเข้ากัน

22. เมอเรกไซด์อินดิเคเตอร์ (Murexide indicator) เตรียมได้ 2 ชนิด

- ชนิดเป็นสารละลาย โดยละลายเมอเรกไซด์ 150 มิลลิกรัม ใน สารเอทิลีนไกลคอลที่สมบูรณ์ (Absolute Ethylene Glycol) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกวันที่ใช้

- ชนิดแห้ง โดยผสมเมธเรกไซค์ 200 มิลลิกรัม และโซเดียมคลอไรด์ 100 กรัม ให้เข้ากัน (ผงแห้งแบบนี้จะเก็บไว้ใช้ได้นาน)

23. เตรียมสารละลายมาตรฐาน อีดีทีเอ 0.01 โมลาร์

ละลายผงเกลืออีดีทีเอไดโซเดียม (EDTA Disodium Salt) 3.723 กรัม ในน้ำปราศจากไอออนจนได้ปริมาตร 1 ลิตร ปรับเทียบความเข้มข้นที่แน่นอน กับสารละลายมาตรฐานแคลเซียมที่ทราบความเข้มข้น ปรับความเข้มข้นของสารละลายอีดีทีเอให้ 1 มิลลิลิตร = 1 มิลลิกรัม แคลเซียมคาร์บอเนต ควรเก็บสารละลายมาตรฐานอีดีทีเอที่เตรียมในขวดพอลิเอทิลีน (Polyethylene - PE) หรือขวดแก้วบอโรซิลิเกต (Borosilicate glass)

24. เตรียมสารละลายมาตรฐานแคลเซียม

ชั่งแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) ซึ่งได้อบแห้งแล้วจำนวน 1 กรัมในในขวดรูปชมพู่ค่อยๆเติมกรดไฮโดรคลอริก ทีละน้อย จนกระทั่งแคลเซียมคาร์บอเนตละลายหมด เติมน้ำปราศจากไอออน 300 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดประมาณ 5 นาทีเพื่อไล่คาร์บอนไดออกไซด์ทิ้งให้เย็น นำสารละลายแคลเซียมคาร์บอเนตที่เย็นแล้ว ปรับพีเอชให้ได้ประมาณ 7 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 นอร์มัล จากนั้นปรับปริมาตรโดยการเติมน้ำปราศจากไอออนจนได้ปริมาตร 1 ลิตร สารละลายมาตรฐานนี้ 1 มิลลิลิตร สมมูลกับ 1 มิลลิกรัม แคลเซียมคาร์บอเนต