ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์

วิธีการวิเคราะห์

วิธีการวิเคราะห์คุณสมบัติดินและปุ๋ย

การเตรียมตัวอย่างดินและปุ๋ยเพื่อการวิเคราะห์

เมื่อนำดินหรือปุ๋ยตัวอย่างมาถึงห้องปฏิบัติการแล้ว ต้องรีบเอาออกผึ่งให้แห้ง โดยเฉลี่ยดินหรือปุ๋ยลงบนถาดที่รองด้วยกระดาษ การฝั่งดินหรือปุ๋ยควรทำในห้องที่สะอาด ไม่มีฝุ่น เมื่อดินหรือปุ๋ยที่บดนี้ด้วยตะแกรงทองเหลือง ขนาด 2 มิลลิเมตร ส่วนของดินหรือปุ๋ยที่ค้างอยู่บนตะแกรงก็นำไปบดอีก แล้วร่อนจนผ่านตะแกรงให้หมด ยกเว้นเศษหิน การบดไม่ควรบดให้ก้อนหินก้อนกรวดและทรายแตกละเอียดไป วัตถุประสงค์ในการบดดินหรือปุ๋ยก็เพื่อให้ส่วนที่เป็นดินมีโอกาสดลุกเคล้าเข้ากัน และผสมรวมกันอย่างสม่ำเสมอและเพื่อลด error สำหรับการทำ subsample เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย เก็บดินหรือปุ๋ยซึ่งบดแล้วไว้ในกล่องพลาสติกพร้อมที่จะนำไปวิเคราะห์ได้

แบ่งเอาส่วนหนึ่งของดินหรือปุ๋ยนี้บดต่อไปอีก แล้วร่อนด้วยตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร ดินหรือปุ๋ยที่ค้างอยู่บนตะแกรงก็ทำการบดและร่อนให้ผ่านให้หมด เก็บดินหรือปุ๋ยตัวอย่างนี้ไว้ในกล่องพลาสติกต่างหาก เพื่อใช้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอินทรียวัตถุ และ Total nitrogen การที่ต้องใช้ดินหรือปุ๋ยตัวอย่างที่บดละเอียดมาก ๆ เช่นนี้เพื่อต้องการลด error ที่จะเกิดขึ้นคันกับการทำ subsample เพราะปริมาณ subsample ที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ดังกล่าวนั้นน้อยมาก

1. การวัดค่าความเป็นกรดด่างของดินและปุ๋ย

1.1 อุปกรณ์และสารเคมี

- pH meter พร้อม eletrode
- แท่งแก้วสำหรับคน
- บีกเกอร์ขนาด 50 ml. หรือ 100 ml.
- สารละลาย 1 N KCl : เตรียมโดยชั่ง KCl 74.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร
- สารละลายมาตรฐาน pH 7.0 และ 4.0 (Standard buffer solution)
- น้ำกลั่น

1.2 วิธีการ

1.2.1 การวัด pH ใน H_2O โดยใช้อัตราส่วน ดินหรือปุ๋ย : น้ำ เท่ากับ 1:1 ทำได้โดยชั่งดินหรือปุ๋ย 20 กรัม ใช้เครื่องชั่งแบบ Top Loader ทศนิยม 1 ตำแหน่ง ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่น 20 ml. คนให้เข้ากันด้วยแท่งแก้วเป็นระยะๆ ให้บ่อยครั้งในช่วง 30 นาทีแรกหลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้จนครบ 1 ชั่วโมง วัด pH ของดินหรือปุ๋ยในส่วนที่เป็นน้ำใสด้วย pH meter

1.2.2 การวัดค่า pH ใน KCl ของดินในสารละลาย 1 N KCl ทำเช่นเดียวกับการวัดค่า pH ในน้ำกลั่น เพียงแต่ใช้ 1 N KCl แทนน้ำกลั่นเท่านั้น (ใช้อัตราส่วนดินหรือปุ๋ย : KCl sol^{n} เท่ากับ 1:1)

2 การวิเคราะห์หาปริมาณ Organic Carbon ของดินและปุ๋ย

2.1 หลักการ

Organic Carbon และ Oxidizable Matter ในตัวอย่างดินหรือปุ๋ยจะถูก Oxidize ด้วย Cr_2O_7 จาก Potassium dicromate และกรดซัลฟิวริคเข้มข้นที่เติมลงไปในอัตราส่วน 1:2 โดยปริมาตรความร้อนที่เกิดจากปฏิกิริยาจะช่วยเร่งการ Oxidize ให้เกิดได้ดีและสมบูรณ์ขึ้น หลังจากนั้นหาปริมาณ Cr_2O_7 ที่เหลือจากปฏิกิริยาด้วยการไตเตรทกับสารละลายของ Ferrous ammonium sulphate นำค่าที่ได้จากการไตเตรทไปลบออกจาก Cr_2O_7 ทั้งหมดที่ใส่ลงไปในปฏิกิริยา จะทราบปริมาณ Organic Carbon ของดินหรือปุ๋ย

2.2 อุปกรณ์

- Erlenmeyer flask 250 มิลลิลิตร
- Pipette 10 มิลลิลิตร
- Analytical Balance
- Buret 50 มิลลิลิตร
- Cylender 100 มิลลิลิตร

2.3 สารเคมี

- Standard 1.0 N $K_2Cr_2O_7$ Solution
- conc.H_2SO_4
- สารละลาย Ferrous Ammonium Sulfate Solution 0.5 N
- O-phosphoric acid
- Dipheylamine indicator
- Solid NaF

2.4 วิธีเตรียมสารเคมี

2.2.1 Standard 1.0 N $K_2Cr_2O_7$ Solution : ละลาย $K_2Cr_2O_7$ (A.R. grade อบที่ 105 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง) 49.04 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วทำสารละลายให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.2.2 conc.H_2SO_4 : ใช้กรด H_2SO_4 (A.R. grade) ที่มีความเข้มข้นไม่ต่ำกว่า 96% (ถ้าดินมี Cl สูง เช่น ดินเค็มให้เติม Ag_2SO_4 ในอัตรา 15 กรัม/ลิตร ในสารละลายกรด H_2SO_4 ด้วยเพื่อป้องกันการ interfere จาก Cl)

2.2.3 Diphenylamine indicator : ชั่ง Diphenylamine 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 20 ml แล้วเติม conc H_2SO_4 100 ml

2.2.4 Ferrous Ammonium Sulfate Solution (FAS) 0.5 N : ละลาย $Fe(NH_4)_2$ (SO4)2 $6H_2O$ 196.1 กรัม ในน้ำกลั่น 800 ml ที่มีกรด conc.H_2SO_4 อยู่ 20 ml แล้วทำให้เป็นสารละลาย 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้ในขวดสีน้ำตาล

2.2.5 O-phosphoric acid

2.2.6 Solid Naf

2.5 วิธีทำ

2.5.1 ชั่งดินหรือปุ๋ย 1 กรัม (ปริมาณตัวอย่างอาจลดลงได้ตามความเหมาะสม ถ้าดินนั้นมีปริมาณอินทรียวัตถุสูง) ใส่ใน Erlenmoyer flask ขนาด 250 ml เติม Standard 1.0 N $K_2Cr_2O_7$ 10 ml โดยใส่ conc H_2SO_4 15 ml โดยพยายามให้กรดไหลลงข้างๆ flask ให้ชะล้างตัวอย่างลงไปอยู่ใน flask ให้หมด เพื่อป้องกันไม่ให้เม็ดดินเกาะติดอยู่ตามข้าง flask ให้เข้ากันดีเป็นเวลาประมาณ 1 นาที ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายเย็นเท่าอุณหภูมิห้อง

2.5.2 เติมน้ำกลั่น 100 ml แล้วทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติม O-phosphoric acid 10 ml และ NaF 0.2 กรัม เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติม indicator ประมาณ 30 หยด เขย่าอีกครั้งจนผสมกันดี สีของสารละลายจะเป็นสีม่วงปนน้ำเงิน (ถ้าเป็นสีเขียวแสดงว่ามีปริมาณอินทรียวัตถุมากเกินไปต้องทำใหม่ โดยชั่งตัวอย่างดินหรือปุ๋ยให้น้อยลง)

2.5.3 ไตเตรท mixture ด้วย FAS 0.5 N solution ที่จุด end point สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากม่วงแกมน้ำเงินเป็นสีเขียวแกมน้ำเงิน

2.5.4 ทำ Blank เปรียบเทียบทุกครั้ง

วิธีคำนวณ

$$\% \text{ Organic Carbon (O.C.)} = \frac{10x(B-S) \times 0.3896 \times N}{B \quad g.soil}$$

B = ปริมาณ FAS ที่ใช้ในการไตเตรท Blank

S = ปริมาณ FAS ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง

G = น้ำหนักดินหรือปุ๋ยที่ใช้

N = ความเข้มข้นของ $K_2Cr_2O_7$ (ในกรณีที่ความเข้มข้นไม่ใช้ 1.0 N)

3. การวิเคราะห์ Total Nitrogen

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.1 Digestion apparatus

3.1.2 100 ml.Kjeldahl flask

3.1.3 Distillation apparatus

3.1.4 100 ml. Volumetric flask

3.1.5 10 Cylinder

3.1.6 20 ml. Volumetric pipet

3.1.7 20 Erlenmeyer flask

3.2 สารเคมีและน้ำยา

3.2.1 Digestion mixture : Na_2SO_4 $K2SO_4$ 250 กรัม กับ selenium 2.5 กรัม และ H_2SO_4 เข้มข้น 2500 ml. ใน Erlenmeyer flask ขนาด 5 ลิตร นำไปตั้งบน hot plate ซึ่งอยู่ใน hood ต้มจนกระทั่งได้สารละลายใสแล้วต้มต่อไปอีก 10 นาที จึงทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเก็บไว้ในขวดที่มีฝาปิด

3.2.2 Boric acid-indicator solution

3.2.3 Sodium hydroxide (NaOH) 10 N (40%)

3.2.4 Standard sulfuric (H_2SO_4) หรือ hydrochloric acid (HCl) 0.025 N

3.3 วิธีการ

ชั่งดินจำนวน 1-3 กรัม (อย่างละเอียด) ลงใน Micro-Kjeldahl flask เติม digestion mixture ลงไป 5 ml. นำไปวางบน Kjeldahl heater digest จนได้สารละลายใส ทิ้งไวให้เย็น ถ่ายลงใน distillation flask เติม 10 N NaOH ลงไป 25 ml. ทำการกลั่นประมาณ 7 นาที โดยเก็บ NH_3 ที่ได้ในสารละลาย Boric acid indicator จำนวน 10 ml. Titrate สารละลายที่กลั่นได้ด้วย 0.025 N HCl ทำ blank ร่วมไปด้วย

3.4 วิธีการคำนวณ

$$\% \text{ ไนโตรเจน} = \frac{(A-B) \times C \times 0.014 \times 100}{D}$$

A = ml ของกรด HCl ที่ใช้กับตัวอย่าง

B = ml ของกรด HCl ที่ใช้กับ Blank

C = ความเข้มข้นของกรด HCl (normal)

D = น้ำหนักของตัวอย่างดิน

4. การวิเคราะห์ฟอสฟอรัส

4.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

4.1.1 125 ml.Erlenmeyer flask

4.1.2 Filtering apparatus

4.1.3 10 ml.Graduated pipet

4.1.4 2 and 5 Volumetric pipet

4.1.5 สารเคมีและน้ำยา

4.1.6 Standard phosphate solution เตรียมโดยละลาย KH_2PO_4 (AR) 0.2195 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร น้ำยา Standard phosphate นี้จะมี Phosphate อยู่ 50 ppm

4.1.7 Bray II (0.1 N HCl+0.03 N NH_4F) โดยเตรียม 0.5 N HCl ,ใช้ conc.HCl 41.7 ml. ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร. และเตรียม 1 N NH_4F ชั่ง NH_4F 37.4 กรัม ละลายในน้ำแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร จากนั้นนำ 1 N NH_4F มา 60 ml. ผสมกับ 0.5 N HCl 400 ml. ผสมกันแล้วปรับปริมาตรเป็น 2 ลิตร

4.1.8 น้ำยาที่ใช้ในการ Develop color.ประกอบด้วย

1. Reagent A : เตรียมโดยใช้ ammonium molybdate 12 กรัม ละลายในน้ำ 250 ml. ละลาย Antimony potassium tartrate 4 กรัม ในน้ำ 100 ml. เอาสารละลายทั้งสองนี้ใส่ลงใน 5 N_2SO_4 1000 ml. (เตรียมโดยใช้ conc. H_2SO_4 138.9 ml. ผสมกับน้ำกลั่นทำเป็น 1000 ml.) ผสมให้เข้ากันและปรับปริมาตรเป็น 2 ลิตร.เก็บในขวดแก้ว ในสภาพที่มืดและเย็น

2. Reagent B : ละลาย Ascorbic acid 1.056 กรัม ใน Reagent A 200 ml. ผสมให้เข้ากัน Reagent B ที่เตรียม แล้วต้องใช้ทันที และเก็บได้ไม่เกิน 24 ชั่งโมง

4.2 วิธีการ

4.2.1 การสกัด

ชั่งดิน 2.5 กรัม ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 ml.เติมน้ำยาสกัด Bray II 25 ml. โดยใช้ multiple dispenser เขย่า 5 นาที กรอง นำของเหลวที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณ P ต่อไป

4.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ P

1. การทำ standard curve ของ P : เตรียมน้ำยามาตรฐาน Phosphate ให้มีความเข้มข้น 5 ppm.P โดยใช้ Standard phosphate 50 ppm.P มาทำให้เจือจาง 10 เท่า

2. ชักเอา aliquot 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ml. บรรจุลงใน Volumetric flask ขนาด 25 ml. เติมน้ำลงไปจนมีปริมาตรประมาณ 20 ml. เขย่าให้เข้ากัน เติม H_3BO_3 ที่อิ่มตัว 3 หยด เติม Reagent B ลงไป 4 ml.เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปใน flask จนมีปริมาตรครบ 25 ml. เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที แล้วเริ่มอ่านเปอร์เซนต์ Transmittant ของน้ำยามาตรฐานด้วย Spectrophotometer wavelength 882 nm. สีน้ำเงินจะคงที่เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

3. Plot กราฟระหว่างค่าของ reading จาก Spectrophotometer กับความเข้มข้นของ P ในน้ำยา Standard ลงบนกระดาษกราฟ Semi-log ซึ่งจะเป็น Standard curve ที่ต้องการและใช้สำหรับ Unknown sample ได้

4. การวิเคราะห์หาปริมาณ P ใน Unknown sample ใช้ aliquot ปริมาณ 1-10 ml.ของ Unknown sample ใส่ลงใน Volumetric flask ที่มีความจุ 25 ml. การที่จะใช้ aliquot เท่าใดนั้น ขึ้นอยู่

กับปริมาณของ P ที่มีใน sample ซึ่งจะต้องทดลอง Develop color ดูก่อน สมมติว่าถ้าให้ aliquot ให้น้อยลง ต้องเติม H_3BO_3 ที่อิ่มตัว 3 หยดด้วย ก่อนที่จะเติม Reagent B

การคำนวณหาปริมาณ P ที่วิเคราะห์ได้เป็น ppm.P ของดินหรือปุ๋ยอาจคำนวณได้ดังนี้

ให้ ratio ของ Extracting solution : soil = Y

ppm.ที่อ่านได้จาก standard curve = Z

$$\text{ppm.P ของดิน} = \frac{Z \times Y \times \text{final.Vol.(ml.)}}{\text{aliquot used (ml.)}}$$

5. การวิเคราะห์ค่าโพแทสเซียม

5.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

5.1.1 125 ml.Erlenmeyer flask

5.1.2 Filtring apparatus

5.1.3 shaker

5.1.4 Multiple dispender

5.1.5 Funnewl tube

5.1.6 Atomic Absorption Spectrophotometer

5.2 สารเคมีและน้ำยา

5.2.1 Ammonium acetate(NH_4OAc) NH_4OAc หนัก 154.16 กรัม แล้วละลายในน้ำ 2 ลิตร ปรับ pH ให้ได้ 7.0 + 0.2

5.2.2 Standart solution สำหรับ Potassium : ชั่ง KCl (AR) 1.9100 กรัม ละลายใน Ammonium acetate solution ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร สารละลายนี้จะมีความเข้มข้น 1000 ppm.K

5.2.3 วิธีการ : ชั่งดิน 2.5 กรัม ใส่น้ำยา Ammonium acetate 50 ml. เขย่า 30 นาที นำส่วนที่กรองได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณ K โดยใช้ Atomic Absorption Spectrophotometer

การคำนวณหาปริมาณ K ที่วิเคราะห์ได้เป็น ppm.K ของดินหรือปุ๋ยอาจคำนวณได้ดังนี้

ปริมาณ K = 10 K x dilution factor (ppm.)