

## บทที่ 3

### ระเบียบวิจัย

#### 3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

3.1.1 ตัวอย่างดินปลูกต้นไม้ และปุ๋ยเคมีแบบเม็ดซื้อจาก ตลาดค้าเหียง อำเภอเมือง จังหวัด เชียงใหม่

#### 3.2 เครื่องมือ วัสดุ – อุปกรณ์

##### 3.2.1 เครื่องมือ

1) ยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS spectrophotometer), UV1600, Shimadzu, Japan

2) ยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS spectrophotometer), UV-Cary60, Agilenttechnologies, United Kingdom

3) เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Analytical balance), PG203-S, Mettler Toledo, Switzerland

4) ปั๊มเพอร์ริสตาติก (Peristaltic pump), T 100mA, Ismatec, Switzerland

5) เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter), Sartorius, USA

##### 3.2.2 วัสดุ – อุปกรณ์

1) คิวเวตต์ (Cuvette), path length 1 cm, Agilent technologies, United Kingdom

2) ท่อพลาสติก PTFE (PTFE tube), PTFE, Upchurch Scientific, USA

3) วาล์วสี่ทาง (Low pressure 4 - port switching valves), Bulkhead, Upchurch Scientific, USA

4) วาล์วปิด-เปิด (Shut off valves), PEEK, Upchurch Scientific, USA

5) ท่อไทกอน (Tygon tube), TYGON 2765-175, ID 1:14 mm, WALL 0:91 mm, ISMATEC, Switzerland

- 6) โฟลเซลล์ (Flow cell), Quartz, Path length 10 mm, ปริมาตรภายใน 715  $\mu$ L,  
Agilenttechnologies, United Kingdom
- 7) Flangeless Fittings, ETFE, เส้นผ่าศูนย์กลาง 1/16, สีดำ, Upchurch Scientific, USA
- 8) แผ่นพลาสติกอะคริลิกแบบใส (Acrylic sheet)

### 3.2.3 สารเคมี

- 1) โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium dihydrogen phosphate,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ),  
assay 99.5%, MW 136.09, Rankem, India
- 2) กรดแอสคอร์บิก (L(+))Ascorbic acid,  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ , assay 99.0 %, MW 176.13, Ajex  
Finechem, Australia
- 3) แอมโมเนียมโมลิบเดต (Ammonium molybdate,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), assay 99.0 %, MW 1235.9, LOBA Chemie, India
- 4) กรดไนตริก (Nitric acid,  $\text{HNO}_3$ ), assay 65.0 %, d 1.39  $\text{g}/\text{cm}^3$ , MW 63.01, RCL  
Labscan, Australia
- 5) เอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซีติกแอซิดไดโซเดียม (Ethylenediamine tetraacetic acid  
disodium salt,  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), assay 99.0 %, MW 372.24, Ajex Finechem, Australia
- 6) โซเดียมฟลูออไรด์ (Sodium fluoride,  $\text{NaF}$ ), assay 98.0 %, MW 41.99, Ajex  
Finechem, Australia
- 7) โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate anhydrous,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), assay 99.8 %, MW  
105.99, Ajex Finechem, Australia
- 8) แอมโมเนียมเฟอร์รัสซัลเฟต (Ammonium ferrous sulphate,  $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ),  
assay 99.0 %, MW 392.14, Merck, Germany
- 9) แอมโมเนียมเฟอร์ริกซัลเฟต (Ammonium ferric sulphate,  $(\text{NH}_4)_3\text{FeSO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ),  
assay 99.0 %, MW 482.18, Ajex Finechem, Australia
- 10) คอปเปอร์(II)ไนเตรตไตรไฮเดรต (Copper(II)nitrate trihydrate,  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ),  
assay 99.5 %, MW 241.60, QReC, New Zealand

- 11) ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต (Zinc sulfate heptahydrate,  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ), assay 99.0 %, MW 287.54, Ajex Finechem, Australia
- 12) โซเดียมไนเตรต (Sodium nitrate,  $NaNO_3$ ), assay 99.5 %, MW 84.99, Merck, Germany
- 13) โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride,  $NaCl$ ), assay 99.9 %, MW 58.44, Ajex Finechem, Australia
- 14) โซเดียมซัลเฟต แอนไฮดรัส (Sodium sulphate anhydrous,  $Na_2SO_4$ ), assay 99.5 %, MW 142.04, Rankem, India
- 15) แมงกานีสซัลเฟต (Manganese (II) sulphate monohydrate,  $MnSO_4 \cdot H_2O$ ), assay 99.0%, LOBA Chemie, India
- 16) นิกเกิลซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต (Nickel sulphate hexahydrate,  $NiSO_4 \cdot 6H_2O$ ), assay 99.0 %, MW 262.86, Ajex Finechem, Australia
- 17) อลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium chloride,  $AlCl_3$ ), assay 98.0 %, MW 133.34, Ajex Finechem, Australia
- 18) โพแทสเซียมไนเตรต (Potassium nitrate,  $KNO_3$ ), assay 99.5%, MW 101.10, Ajex Finechem, Australia
- 19) โซเดียมซิลิเกต (Sodium silicate,  $Na_2SiO_3$ ), assay 100%, d 1.35 g/cm<sup>3</sup>, MW 122.07, Panreac, European Union
- 20) กรดอะซิติก (Acetic acid,  $CH_3COOH$ ), assay 99.7%, d 1.05 g/cm<sup>3</sup>, MW 60.05, RCL Lab scan, Australia
- 21) โซเดียมอะซิเตต ไตรไฮเดรต (Sodium acetate trihydrate,  $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ ), Assay 99% , MW 136.08 g/mol, AjexFinechem, Australia
- 22) แอมโมเนียมคลอไรด์ (Ammonium chloride ,  $NH_4Cl$ ), assay 99.5%, MW 53.49, Ajex Finechem, Australia
- 23) ไฮดรอกซิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (Hydroxylammonium chloride ;  $NH_2OH \cdot HCl$ ), Assay 96% , MW 69.49 , Ajex Finechem, Australia

- 24) สารละลายแอมโมเนีย (Ammonia Solution ;  $\text{NH}_3$ ) , Assay 28-30% , density 0.892-0.898 , MW 17.03 , Panveac, European Union
- 25) สารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde ;  $\text{HCHO}$ ) , Assay 35-40% , density 1.05-1.10  $\text{g/cm}^3$  , MW 30.03 , RCI Labscan Limited , Thailand
- 26) แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต (Calcium chloride dihydrate,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), LR grade, Assay 97.0%, MW 147.02, Rankem, India
- 27) แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Ammonium hydroxide,  $\text{NH}_4\text{OH}$ ), AR grade, Assay 30.0%, MW 35.05, J.T. Baker, USA
- 28) 8-ไฮดรอกซีควิโนลีน (8-Hydroxyquinoline,  $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$ ), AR grade, Assay 100%, MW 145.18, Loba Chemie, India
- 29) โอ-ครีซอลฟทาลีน คอมเพลกซ์ (o-Cresolphthalein complexone,  $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_{12}$ ), AR grade, Assay 100%, MW 636.60, Sigma-Aldrich, USA
- 30) ไตรเอทานอลามีน (Triethanolamine,  $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{NO}_3$ ), AR grade, Assay 99.0%, d 1.13  $\text{g/cm}^3$  , MW 149.19, Ajex Finechem, Australia
- 31) แมกนีเซียมคลอไรด์ (Magnesium chloride,  $\text{MgCl}_2$ ), AR grade, Assay 99.0 % , MW 203.30, Rankem, India
- 32) 1,10-ฟีแนนโทรอลีน (1,10-phenanthroline monohydrate,  $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), Assay 99.5%, MW 198.23, Merck, Germany
- 33) เอทานอล (Ethanol,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) MW 46.07  $\text{g/mol}$  , Merck , Germany
- 34) โซเดียมคาร์บอเนตแอนไฮดรัส (Sodium carbonate anhydrous ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) , Assay 99.8 % , MW 105.99, Fisher Scientific , Australia
- 35) อลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium chloride ,  $\text{AlCl}_3$ ) , Assay 98% , MW 133.34, Merck , Germany
- 36) นิกเกิลซัลเฟต (Nickel (II) sulphate ,  $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) , Assay 96% , MW 262.86, AjexFinechem, Australia

### 3.3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

ในการวิจัยนี้ได้พัฒนาระบบไฮโดรไดนามิกซีเควนเชียลอินเจคชันที่ใช้อุปกรณ์แบบประหยัด และลดการใช้สารเคมี แต่มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สูง และนำสภาวะที่ได้ศึกษามาใช้สำหรับการหาปริมาณฟอสเฟตที่ละลายน้ำได้ในตัวอย่างดิน หาปริมาณแมงกานีสในตัวอย่างปุ๋ย หาปริมาณแคลเซียมในตัวอย่างดิน และหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างดินและปุ๋ย

#### 3.3.1 การติดตั้งระบบไฮโดรไดนามิกซีเควนเชียลอินเจคชันและขั้นตอนการปฏิบัติงาน

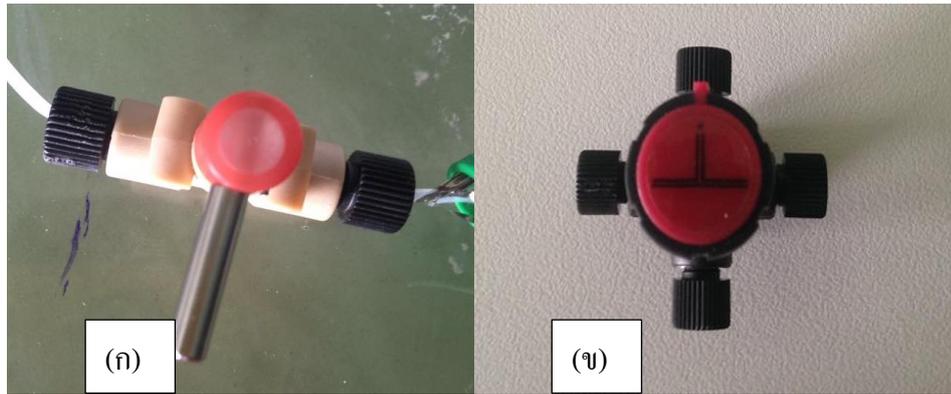
ระบบ HSI ที่พัฒนาขึ้นเป็นระบบที่ถูกออกแบบให้ใช้อุปกรณ์ราคาประหยัดใช้งานง่ายและคงทนโดยประกอบด้วยอุปกรณ์แต่ละส่วน ดังต่อไปนี้

1) บั๊มเพอร์ริสตาลติก เป็นอุปกรณ์สำหรับ คูด-ผลัก สารละลายเข้าสู่ระบบ HSI โดยใช้ท่อไททอนซึ่งเป็นท่อที่มีความยืดหยุ่นสำหรับประกอบเข้ากับส่วนของลูกกลิ้งของบั๊มเพื่อ คูด-ผลัก สารละลาย ดังแสดงในรูป 3.1



รูป 3.1 บั๊มเพอร์ริสตาลติก

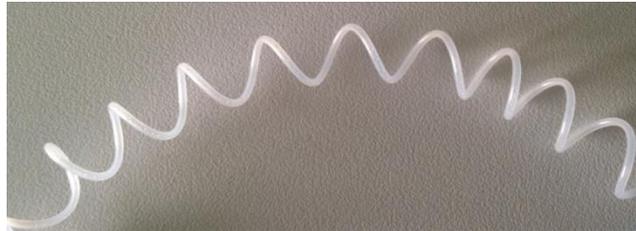
2) วาล์ว เป็นอุปกรณ์สำหรับควบคุมทิศทางการไหลของสารละลายภายในระบบ HSI โดยในระบบนี้ใช้วาล์วเปิด-ปิด (Shut-off valve) และวาล์วสี่ทาง (4-way valve) ดังแสดงในรูป 3.2



รูป 3.2 (ก) วาล์วเปิด - ปิด และ (ข) วาล์วสี่ทาง

3) ท่อ เป็นอุปกรณ์สำหรับให้สารละลายไหลภายในระบบ โดยมีส่วนต่างๆ คือ

3.1) ท่อ PTFE เป็นท่อที่ทำจากวัสดุ Polytetrafluoroethylene (PTFE) ซึ่งทนทานต่อการกัดกร่อนของสารเคมี สามารถดัดงอเพื่อใช้ทำขดท่อ (Mixing coil) ได้ ดังแสดงในรูป 3.3

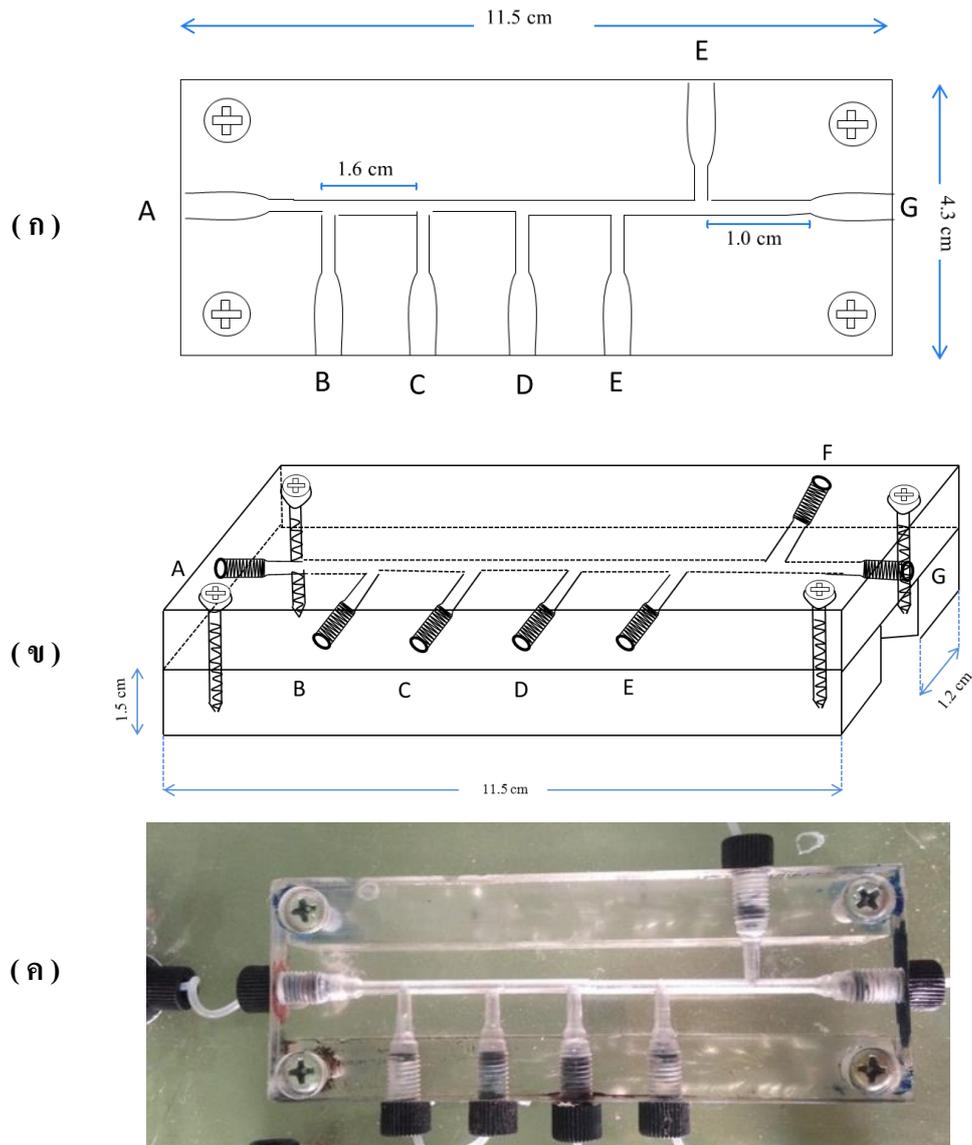


รูป 3.3 ท่อ PTFE

3.2) ชุด Fixed - volume conduit เป็นอุปกรณ์ส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดการฉีดแบบไฮโดรไดนามิก เกิดขึ้น โดยทำจากแผ่นพลาสติกอะคริลิก ซึ่งทนทานต่อการกัดกร่อนของสารเคมี ได้ออกแบบโดยเจาะท่อตรงกลางในแผ่นพลาสติกให้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 mm ดังรูป 3.5 ซึ่งลักษณะการเจาะจะใช้ท่อหลักที่มีความยาว 11.5 cm (ระยะจากตำแหน่ง A-G) และท่อรอง (ตำแหน่ง B, C, D, E และ F ตามลำดับ) โดยท่อรองที่ตำแหน่ง B-E จะใช้สำหรับนำรีเอเจนต์และสารตัวอย่างเข้าสู่ระบบ และไหลออกที่ตำแหน่ง F นั่นคือสารรีเอเจนต์และสารตัวอย่างจะถูกขังอยู่ในท่อหลักแบบเป็นลำดับส่วน ด้วยลักษณะดังที่ได้กล่าวไปแล้วในหัวข้อ 2.2.3 ระยะห่างระหว่างตำแหน่ง B-C-D-E ในท่อหลักจะห่างกัน 1.60 cm ดังนั้นเมื่อคำนวณปริมาตรของสารละลายรีเอเจนต์ / ตัวอย่างที่นำเข้าสู่ระบบจากสูตร  $\pi r^2 L$  ที่แต่ละตำแหน่ง จะมีค่าดังนี้

$$\begin{aligned} V &= \pi r^2 L \\ &= \frac{22}{7} \times (0.10)^2 \times (1.60) \\ &= 0.050 \text{ mL} \end{aligned}$$

ดังนั้น ปริมาตรของสารละลายที่ถูกขังอยู่ในท่อหลักจะมีปริมาตรที่แน่นอน (Fixed volume) เท่ากับ 0.050 mL (หรือ 50  $\mu$ L) หลังจากนำสารรีเอเจนต์/ตัวอย่างเข้าสู่ระบบแล้ว กระแสตัวพาที่ไหลในท่อหลักจะชะเอารีเอเจนต์และสารตัวอย่างให้เกิดปฏิกิริยากันต่อไป และส่วนปลายทุกตำแหน่ง (A–G) จะทำการต่อเข้ากับข้อต่อต่างๆ ดังรูป 3.4 (ข)



รูป 3.4 Fixed - volume conduit (ก) ภาพด้านบน (ข) ภาพด้านข้าง (ค) ภาพจริง

การออกแบบระบบท่อแบบ Fixed - volume conduit มีข้อดี คือลดการรั่วไหลของสารละลายบริเวณข้อต่อในระหว่างการดูดสารละลายเข้าสู่ระบบและมีความคงทนมากกว่าการนำท่อ PTFE มาประกอบเข้าด้วยกันโดยใช้ T-connector เป็นตัวยึด

3.3) ขดท่อ (Mixing coil) ทำมาจากการนำท่อ PTFE มาขดกันวัสดุทรงกลมให้มีขนาดตามที่ต้องการ เป็นอุปกรณ์ช่วยให้สารละลายเกิดการผสมและเกิดปฏิกิริยาได้ดีขึ้น ดังรูป 3.5



รูป 3.5 ขดท่อ

3.4) ท่อไทคอน เป็นท่อที่มีความยืดหยุ่น สำหรับใช้ต่อกับกับปั๊มเพอร์ริสตาลติก ดังรูป 3.6



รูป 3.6 ท่อไทคอน

4) เกลียวข้อต่อ เป็นอุปกรณ์สำหรับใช้เชื่อมต่อท่อ PTFE, Fixed-volume conduit, ขดท่อ และวาล์วต่างๆ เข้าด้วยกัน โดยในระบบ HSI ที่พัฒนาขึ้นนี้ใช้เกลียวข้อต่อแบบ Flangeless Fittings ดังรูป 3.7



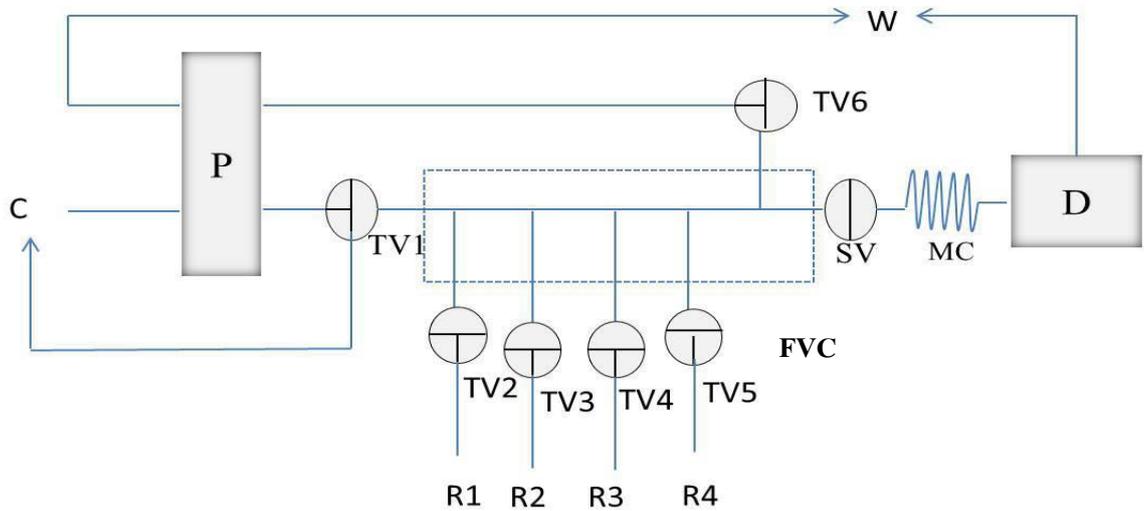
รูป 3.7 เกลียวข้อต่อ

5) เครื่องตรวจวัด (Detector) ในงานวิจัยนี้ใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้โฟลเซลล์ในการเชื่อมต่อเข้าระบบ HSI ดังรูป 3.8

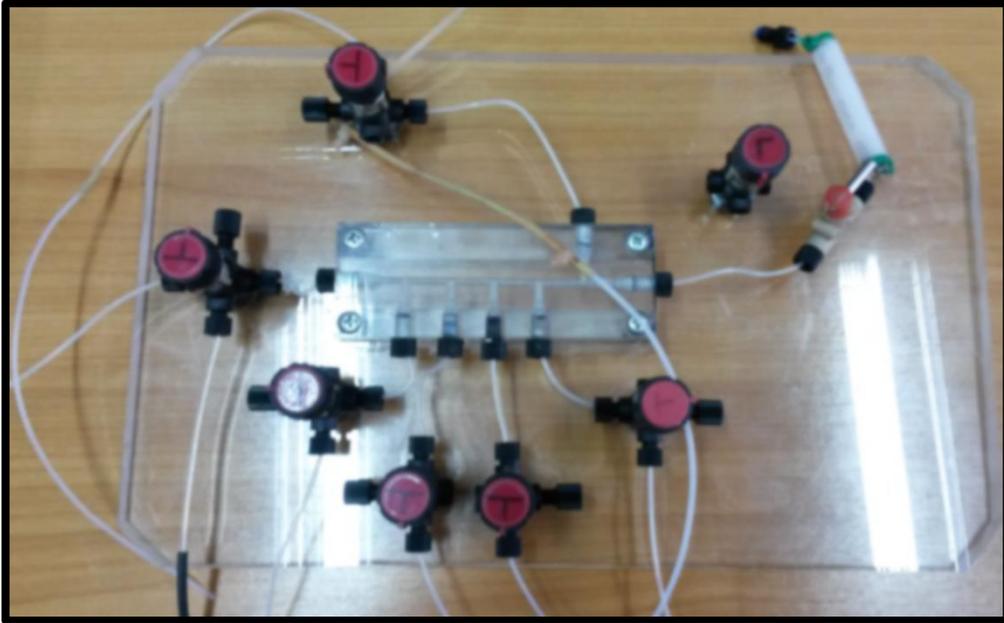


รูป 3.8 โฟลเซลล์

จากอุปกรณ์ที่ได้กล่าวมาทั้งหมด เมื่อนำมาประกอบเข้าด้วยกัน ซึ่งได้รูป Manifold ของการวางอุปกรณ์ ดังรูป 3.9 และรูประบบ HSI ดังรูป 3.10



รูป 3.9 ระบบไฮดรอลิกไดนามิกซีเควนเซียลอินเจกชัน : TV1-TV6 = วาล์วสี่ทาง, SV = วาล์วเปิด-ปิด, R1-R4 = ช่องฉีดสาร, P = ปั๊มเพอร์ริสตาติค, MC = ขดท่อ, D = ยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์, FVC = ชุดFixed-volume conduit, W = สารละลายเหลือทิ้ง, C = สารตัวพา



รูป 3.10 ระบบ HSI ที่ใช้ในการปฏิบัติงานจริง

จากระบบที่พัฒนาขึ้น ขั้นตอนการปฏิบัติงานได้ถูกสรุปไว้ในตาราง 3.17 ซึ่งอธิบายได้ดังนี้ ปัมพ์เพอร์ริสตาลติก จะผลักดันสารตัวพา (Carrier) เข้าสู่ระบบโดยผ่านวาล์ว TV1 และ SV ในขณะที่วาล์ว TV2-TV6 ถูกปิดไว้ เมื่อต้องการดูดสารละลายรีเอเจนต์และตัวอย่างเข้าสู่ระบบจะเปิดวาล์ว TV1 (ซึ่งทำให้ตัวพาไหลวนเป็นการประหยัดสารเคมี) และ SV จากนั้นจึงเปิดวาล์ว TV6 และ TV2-TV5 ตามลำดับเพื่อดูดสารละลาย รีเอเจนต์และตัวอย่างเข้าระบบ เมื่อดูดสารเรียบร้อยแล้ว จึงปิดวาล์ว TV5 และ TV6 และเปิดวาล์ว SV, TV1 ตามลำดับ สารตัวพาจะชะสารละลายที่ดูดเข้าไปในระบบให้ไปผสมกันที่จุดต่อเพื่อเกิดปฏิกิริยาและตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงต่อไป

### 3.3.2 การหาปริมาณฟอสเฟตที่ละลายน้ำได้ในตัวอย่างดิน

#### 3.3.2.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสม

- 1) การศึกษาผลความเข้มข้นของแอมโมเนียม โมลิบเดต (วิเคราะห์แบบแบทซ์)

ในการทดสอบนี้ใช้แอมโมเนียม โมลิบเดต (Ammonium molybdate) เป็นรีเอเจนต์สำหรับเกิดปฏิกิริยากับฟอสเฟต โดยศึกษาผลของความเข้มข้นต่างๆ ของแอมโมเนียม โมลิบเดตที่ 0.001, 0.005, 0.01 และ 0.02 M ตามลำดับ และกำหนดความเข้มข้นของกรกแอสคอร์บิก และกรดไนตริกที่ 0.25% w/v และ 0.15% ตามลำดับ โดยเติมสารละลายแต่ละชนิดดังปริมาณที่แสดงในตาราง 3.1

ตาราง 3.1 ปริมาณการเติมสารละลาย

| สารละลาย                               | ปริมาณสารละลาย (mL) |   |   |   |   |   |
|--|---------------------|---|---|---|---|---|
|  | ชุดของหลอดทดลอง     |   |   |   |   |   |
|  | 1                   | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> 0.05 ppm | 3                   | - | - | - | - | - |
| PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> 0.05 ppm | -                   | 3 | - | - | - | - |
| PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> 0.05 ppm | -                   | - | 3 | - | - | - |
| PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> 0.05 ppm | -                   | - | - | 3 | - | - |
| PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> 0.05 ppm | -                   | - | - | - | 3 | - |
| PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> 0.05 ppm | -                   | - | - | - | - | 3 |
| Ammonium molybdate                     | 3                   | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Ascorbic acid                          | 3                   | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Nitric acid                            | 3                   | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |

นำสารละลายผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่  $\lambda_{\max}$  เท่ากับ 630 นาโนเมตร และจากนั้นนำค่าความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงมาสร้างกราฟมาตรฐานของแต่ละชุดการทดลอง แล้วนำค่าความชันของแต่ละกราฟมาพล็อตกราฟกับความเข้มข้นของแอมโมเนียมโมลิบเดต เพื่อหาความเข้มข้นของแอมโมเนียมโมลิบเดตที่เหมาะสมในการเปลี่ยนฟอสเฟตไปเป็น heteropoly acid แต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ

## 2) การศึกษาผลความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก (วิเคราะห์แบบแบทช์)

ในการทดลองนี้ใช้กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) เป็นตัวรีดิวซ์ สำหรับเปลี่ยน Heteropoly acid ไปเป็น Molybdenum blue โดยศึกษาผลของความเข้มข้นต่างๆ ของกรดแอสคอร์บิกที่ 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 % w/v ตามลำดับ และกำหนดความเข้มข้นของแอมโมเนียมโมลิบเดตและกรดไนตริกที่ 0.015 M และ 0.15 M ตามลำดับ โดยเติมสารละลายแต่ละชนิดดังปริมาณที่แสดงในตาราง 3.1 นำสารละลายผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่  $\lambda_{\max}$  เท่ากับ 630 นาโนเมตร และจากนั้นนำค่าความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงมาสร้างกราฟ

มาตรฐานของแต่ละชุดการทดลอง แล้วนำค่าความชันของแต่ละกราฟมาพล็อตกราฟกับความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก เพื่อหาความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกที่เหมาะสมในการรีดิวซ์จาก Heteropoly acid ไปเป็น Molybdenum blue แต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ

### 3) การศึกษาผลความเข้มข้นของกรดไนตริก (วิเคราะห์แบบแบทซ์)

ในการทดลองนี้ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นได้ดีในช่วงความเป็นกรด ซึ่งในการทดลองนี้ใช้กรดไนตริก (Nitric acid) ควบคุมการเป็นกรด โดยศึกษาผลของความเข้มข้นต่างๆ ของกรดไนตริกที่ 0.05, 0.10, 0.20 และ 0.30 M ตามลำดับ และกำหนดความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกและแอมโมเนียมโมลิบเดตที่ 0.5%w/v และ 0.015 M ตามลำดับ โดยเติมสารละลายแต่ละชนิดคั่งปริมาณที่แสดงในตาราง 3.1 นำสารละลายผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่  $\lambda_{\max}$  เท่ากับ 630 นาโนเมตร และจากนั้นนำค่าความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงมาสร้างกราฟมาตรฐานของแต่ละชุดการทดลอง แล้วนำค่าความชันของแต่ละกราฟมาพล็อตกราฟกับความเข้มข้นของกรดไนตริก เพื่อหาความเข้มข้นของกรดไนตริกที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาแต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ

### 4) การศึกษาผลความเข้มข้นของแอมโมเนียมโมลิบเดตสำหรับ (ระบบ HSI)

เนื่องจากในระบบ HSI ได้ใช้แอมโมเนียมโมลิบเดต (Ammonium molybdate) เป็นสารตัวพาสำหรับการวิเคราะห์แต่ความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอมโมเนียมโมลิบเดตที่ได้จากการวิเคราะห์แบบแบทซ์ (หัวข้อ 3.3.1) ไม่เหมาะสมเมื่อนำมาใช้กับระบบ HSI จึงได้ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอมโมเนียมโมลิบเดตเพิ่มกับระบบ HSI โดยศึกษาผลของความเข้มข้นต่างๆ ที่ 0.0005, 0.0015, 0.005 และ 0.015 M ตามลำดับ และกำหนดความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกและกรดไนตริก ที่ 0.25 %w/v และ 0.15 M ตามลำดับและกำหนดความยาวของขดท่อที่ 100 cm โดยในการทดลองใช้ แอมโมเนียมโมลิบเดตที่ละลายในกรดไนตริกเป็นสารตัวพา และฉีดสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตและกรดแอสคอร์บิก ตามลำดับ ดังตาราง 3.17 โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{\max}$  เท่ากับ 630 นาโนเมตร และพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้น และค่าการดูดกลืนแสงเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานแต่ละชุดการทดลอง แล้วนำค่าความชันของแต่ละกราฟมา

พล็อตกราฟกับความเข้มข้นของแอมโมเนียมโมลิบเดต เพื่อหาความเข้มข้นของแอมโมเนียมโมลิบเดตที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาในระบบ HSI

#### 5) การศึกษาผลความเข้มข้นของกรดไนตริกสำหรับระบบ HSI

ในการทดลองนี้ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นได้ดีในช่วงความเป็นกรด ซึ่งในการทดลองนี้ใช้กรดไนตริก (Nitric acid) ควบคุมการเป็นกรด โดยศึกษาผลของความเข้มข้นต่างๆ ของกรดไนตริกที่ 0.005, 0.05, 0.10 และ 0.15 M ตามลำดับ และกำหนดความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกและแอมโมเนียมโมลิบเดต ที่ 0.5 %w/v และ 0.0015 M ตามลำดับและกำหนดความยาวของขดท่อที่ 100 cm โดยในการทดลองใช้แอมโมเนียมโมลิบเดตที่ละลายในกรดไนตริกเป็นสารตัวพา และนิตรัสละลายมาตรฐานฟอสเฟตและกรดแอสคอร์บิก ตามลำดับ ดังตาราง 3.14 โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{\max}$  เท่ากับ 630 นาโนเมตร และพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานแต่ละชุดการทดลอง แล้วนำค่าความชันของแต่ละกราฟมาพล็อตกราฟกับความเข้มข้นของกรดไนตริก เพื่อหาความเข้มข้นของกรดไนตริกที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาในระบบ HSI

#### 3.3.2.2 การศึกษาผลของไอออนแปลกปลอมที่รบกวนการวิเคราะห์

วิธีการศึกษาหาไอออนแปลกปลอมที่รบกวนการวิเคราะห์ ทำโดยเตรียมหลอดทดลองแล้วเติมสารละลาย ดังตาราง 3.2 โดยสารผสม คือสารละลายไอออนแปลกปลอมที่มีความเข้มข้น 50, 20, 10 และ 1 ppm ผสมกับสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต 1 ppm โดยจะทำการศึกษาที่ละไอออนซึ่งประกอบไปด้วย  $\text{Ni}^{2+}$  ( $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ),  $\text{Na}^+$  ( $\text{NaCl}$ ),  $\text{K}^+$  ( $\text{KNO}_3$ ),  $\text{F}^-$  ( $\text{NaF}$ ),  $\text{Cu}^{2+}$  ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ),  $\text{Zn}^{2+}$  ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ),  $\text{NO}_3^-$  ( $\text{NaNO}_3$ ),  $\text{Cl}^-$  ( $\text{NaCl}$ ),  $\text{Mn}^{2+}$  ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ),  $\text{Al}^{3+}$  ( $\text{AlCl}_3$ ),  $\text{SO}_4^{2-}$  ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ),  $\text{CO}_3^{2-}$  ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ),  $\text{Fe}^{2+}$  ( $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ),  $\text{SiO}_3^{2-}$  ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ ),  $\text{Fe}^{3+}$  ( $(\text{NH}_4)_3\text{FeSO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )

ตาราง 3.2 วิธีการศึกษาผลของไอออนแปลกปลอมที่มีผลต่อการวิเคราะห์

| สารละลาย  | ปริมาณสารละลาย (mL) |   |   |   |   |
|---|---------------------|---|---|---|---|
|   | ชุดของหลอดทดลอง     |   |   |   |   |
|   | 1                   | 2 | 3 | 4 | 5 |
| $\text{PO}_4^{3-}$ 1 ppm + ไอออนแปลกปลอม 50 ppm | 3                   | - | - | - | - |
| $\text{PO}_4^{3-}$ 1 ppm + ไอออนแปลกปลอม 20 ppm | -                   | 3 | - | - | - |
| $\text{PO}_4^{3-}$ 1 ppm + ไอออนแปลกปลอม 10 ppm | -                   | - | 3 | - | - |
| $\text{PO}_4^{3-}$ 1 ppm + ไอออนแปลกปลอม 1 ppm  | -                   | - | - | 3 | - |
| $\text{PO}_4^{3-}$ 1 ppm                        | -                   | - | - | - | 3 |
| Ascorbic acid 0.5 % w/v                         | 3                   | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Ammonium molybdate 0.015 M                      | 3                   | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Nitric acid 0.15 M                              | 3                   | 3 | 3 | 3 | 3 |
| วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 630 nm                   |                     |   |   |   |   |

ผลการรบกวนของไอออนจะพิจารณาจากความเข้มข้นของไอออนที่มีผลทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของการวิเคราะห์ฟอสเฟตเบี่ยงเบนไปจากปกติ (สารละลายฟอสเฟตที่ไม่มีไอออนรบกวนนั้นๆ)  $\pm 5\%$

ก. การศึกษาประสิทธิภาพของ EDTA ในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไอออน  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  และ  $\text{Cu}^{2+}$  กับสารรีเอเจนต์

ในการทดลองนี้เลือกใช้สารละลาย Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) เป็นสาร masking agent ในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไอออนแปลกปลอมที่สามารถเกิดปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ได้ ซึ่งประกอบด้วย  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  โดยศึกษา EDTA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 0.03 – 0.06 M และทำปฏิกิริยากับสารผสมระหว่างสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตกับไอออนดังกล่าว โดยเติมสารละลายดังแสดงในตาราง 3.3

ตาราง 3.3 การศึกษาประสิทธิภาพของ EDTA ในป้องกันการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไอออน  $Fe^{3+}$ ,  $Fe^{2+}$  และ  $Cu^{2+}$  กับสารรีเอเจนต์

| สารละลาย   | ปริมาณสารละลาย (mL) |   |   |   |
|--|---------------------|---|---|---|
|  | ชุดของหลอดทดลอง     |   |   |   |
|  | 1                   | 2 | 3 | 4 |
| $PO_4^{3-}$ 1 ppm + ไอออนรบกวน 1 ppm + EDTA 0.03 M | 3                   | - | - | - |
| $PO_4^{3-}$ 1 ppm + ไอออนรบกวน 1 ppm + EDTA 0.03 M | -                   | 3 | - | - |
| $PO_4^{3-}$ 1 ppm + ไอออนรบกวน 1 ppm + EDTA 0.03 M | -                   | - | 3 | - |
| $PO_4^{3-}$ 1 ppm + ไอออนรบกวน 1 ppm + EDTA 0.03 M | -                   | - | - | 3 |
| Ascorbic acid 0.5 % w/v                            | 3                   | 3 | 3 | 3 |
| Ammonium molybdate 0.015 M                         | 3                   | 3 | 3 | 3 |
| Nitric acid 0.15 M                                 | 3                   | 3 | 3 | 3 |

นำสารละลายแต่ละชุดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{max}$  เท่ากับ 630 นาโนเมตร นอกจากนี้ยังได้ศึกษาไอออนรบกวนที่ความเข้มข้น 10, 20 และ 50 ppm โดยการทดลองในลักษณะเดียวกัน และสังเกตค่าการดูดกลืนแสงเพื่อหาความเข้มข้นของ EDTA ที่เหมาะสมแต่ละชุดการทดลอง 3 ชุด

ข. การศึกษาประสิทธิภาพของ NaF ในป้องกันการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไอออนของ  $SiO_3^{2-}$  กับสารรีเอเจนต์

ในการทดลองนี้เลือกใช้สารละลาย NaF เป็นสาร masking agent ในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไอออนของ  $SiO_3^{2-}$  กับสารรีเอเจนต์ (Somnam *et al.*, 2014) โดยศึกษา NaF ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 0.07 – 0.09 M โดยเติมสารละลายดังแสดงในตาราง 3.4

ตาราง 3.4 การศึกษาประสิทธิภาพของ NaF ในป้องกันการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไอออน  $\text{SiO}_3^{2-}$  กับ สารรีเอเจนต์

| สารละลาย                                | ปริมาณสารละลาย (ml) |   |   |   |   |
|---|---------------------|---|---|---|---|
|   | ชุดของหลอดทดลอง     |   |   |   |   |
|   | 1                   | 2 | 3 | 4 | 5 |
| $\text{SiO}_3^{2-}$ 1 ppm + NaF 0.070 M | 3                   | - | - | - |   |
| $\text{SiO}_3^{2-}$ 1 ppm + NaF 0.075 M | -                   | 3 | - | - | - |
| $\text{SiO}_3^{2-}$ 1 ppm + NaF 0.080 M | -                   | - | 3 | - | - |
| $\text{SiO}_3^{2-}$ 1 ppm + NaF 0.085 M | -                   | - | - | 3 | - |
| $\text{SiO}_3^{2-}$ 1 ppm + NaF 0.090 M | -                   | - | - | - | 3 |
| Ascorbic acid 0.5 % w/v                 | 3                   | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Ammonium molybdate 0.015 M              | 3                   | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Nitric acid 0.15 M                      | 3                   | 3 | 3 | 3 | 3 |

นำสารละลายแต่ละชุดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{\text{max}}$  เท่ากับ 630 นาโนเมตร นอกจากนี้ยังได้ศึกษาไอออน  $\text{SiO}_3^{2-}$  ที่ความเข้มข้น 10, 20 และ 50 ppm โดยทดลองในลักษณะเดียวกัน และสังเกตเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเพื่อหาความเข้มข้นของ NaF ที่เหมาะสม แต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ

### 3.3.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตในตัวอย่างจริงโดยใช้ระบบ HSI

#### 1) การเตรียมตัวอย่างดิน

นำตัวอย่างดินแต่ละตัวอย่างมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสและบดให้ละเอียดนำมาร่อนผ่าน ตะแกรงขนาด 18 Mesh แบ่งตัวอย่างดินมา 10 g ไปสกัดด้วย 0.8 M Acetate buffer (pH 4.8) ปริมาตร 25 mL โดยการเขย่า 30 นาที กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 5 และปรับปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยน้ำปราศจากไอออนก่อนนำไปวิเคราะห์ (Somnam et al., 2008)

## 2) การวิเคราะห์ตัวอย่างจริงด้วยระบบ HSI

นำสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ มาวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตด้วยระบบ HSI โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้ศึกษาไปก่อนหน้านี้ได้เตรียมกราฟมาตรฐานของฟอสเฟต ในช่วง 0.05-20.0 ppm นำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณหาปริมาณฟอสเฟต หากในกรณีที่ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างมีค่าสูงกว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานจะทำการเจือจางลงให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงกราฟดังกล่าว

ผลการวิเคราะห์ที่ได้จากตัวอย่างทั้งหมด จะถูกนำไปเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐานแบบแบทช์โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำผลการวิเคราะห์ที่ได้จากทั้งสองวิธีเปรียบเทียบกันในเชิงสถิติ ด้วย t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

## 3) การศึกษาร้อยละการกลับคืน (% Recovery)

นำสารละลายตัวอย่างดินแต่ละตัวมา 10 mL เติมสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต 1000 ppm ปริมาตร 100  $\mu$ L ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 50 mL (จะได้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตเท่ากับ 2 ppm) แล้วนำไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้ระบบ HSI แล้วนำค่ามาคำนวณหา %Recovery

### 3.3.3 การหาปริมาณแอมโมเนียในตัวอย่างปุ๋ย

#### 3.3.3.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสม

##### 1) การศึกษาผลความเข้มข้นของรีเอเจนต์ฟอร์มัลดีไฮด์

ในการทดลองนี้ใช้ฟอร์มัลดีไฮด์เป็นรีเอเจนต์สำหรับเกิดปฏิกิริยากับแอมโมเนีย โดยศึกษาผลของฟอร์มัลดีไฮด์เตรียมได้จากผสมไฮดรอกซิลแอมโมเนียมคลอไรด์ (Hydroxylammonium chloride;  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ) และฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde;  $\text{HCHO}$ ) ความเข้มข้น 2 M หลังจากนั้นนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0.05, 0.2, 0.6, 1.0, และ 1.5 M ตามลำดับ และเกิดปฏิกิริยาที่ pH 10 โดยใช้แอมโมเนียบัฟเฟอร์ควบคุมความเป็นกรด-เบส โดยเติมสารละลายแต่ละชนิดดังปริมาณที่แสดงในตาราง 3.5

ตาราง 3.5 การศึกษาผลความเข้มข้นของฟอร์มัลดีอ็อกซิม (Formaldehyde)

| สารละลาย                  | ปริมาตรที่เติมแต่ละชุดการทดลอง (mL) |   |   |   |   |   |   |   |
|---------------------------|-------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|
|                           | 1                                   | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Mn <sup>2+</sup> 0.05 ppm | 3                                   | - | - | - | - | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 0.2 ppm  | -                                   | 3 | - | - | - | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 0.6 ppm  | -                                   | - | 3 | - | - | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 1.0 ppm  | -                                   | - | - | 3 | - | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 20.0 ppm | -                                   | - | - | - | 3 | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 30.0 ppm | -                                   | - | - | - | - | 3 | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 40.0 ppm | -                                   | - | - | - | - | - | 3 | - |
| Mn <sup>2+</sup> 50.0 ppm | -                                   | - | - | - | - | - | - | 3 |
| Formaldehyde              | 3                                   | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Ammonia buffer (pH 10)    | 3                                   | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |

นำสารละลายที่ผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่  $\lambda_{\max}$  460 nm และจากนั้นนำค่าความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงมาสร้างกราฟมาตรฐานของแต่ละชุดการทดลอง และสร้างเส้นแนวโน้มโดยนำค่าความชันของกราฟแต่ละกราฟมาพล็อตกับความเข้มข้นของฟอร์มัลดีอ็อกซิม เพื่อหาความเข้มข้นของฟอร์มัลดีอ็อกซิมที่เหมาะสมและประหยัดสาร โดยแต่ละการทดลองทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

## 2) ศึกษาผล pH ของแอมโมเนียบัฟเฟอร์

ในการทดลองนี้เป็นการศึกษา pH ของแอมโมเนียบัฟเฟอร์ (Ammonia buffer) เข้มข้น 1.0 M ซึ่งควบคุมค่า pH ของปฏิกิริยาเนื่องจากปฏิกิริยาฟอร์มัลดีอ็อกซิมจะเกิดขึ้นในสถานะที่เป็นเบส ศึกษาที่ pH ต่างๆ ดังนี้ pH 9.0, 10.0, และ 11.0 โดยเติมสารละลายแต่ละชนิดดังปริมาณที่แสดงในตาราง 3.6

ตาราง 3.6 การศึกษาผล pH ของแอมโมเนียบัฟเฟอร์ (Ammonia buffer)

| สารละลาย                                | ปริมาตรที่เติมแต่ละชุดการทดลอง (mL) |   |   |   |   |   |   |   |
|---|-------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|
|   | 1                                   | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Mn <sup>2+</sup> 0.05 ppm               | 3                                   | - | - | - | - | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 0.2 ppm                | -                                   | 3 | - | - | - | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 0.6 ppm                | -                                   | - | 3 | - | - | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 1.0 ppm                | -                                   | - | - | 3 | - | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 20.0 ppm               | -                                   | - | - | - | 3 | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 30.0 ppm               | -                                   | - | - | - | - | 3 | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 40.0 ppm               | -                                   | - | - | - | - | - | 3 | - |
| Mn <sup>2+</sup> 50.0 ppm               | -                                   | - | - | - | - | - | - | 3 |
| Formaldehyde                            | 3                                   | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Ammonia buffer (pH 9.0, 10.0, และ 11.0) | 3                                   | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |

นำสารละลายที่ผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่  $\lambda_{\max}$  460 nm และจากนั้นนำค่าความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงมาสร้างกราฟมาตรฐานของแต่ละชุดการทดลอง และสร้างเส้นแนวโน้มโดยนำค่าความชันของกราฟแต่ละกราฟมาพล็อตกับ pH เพื่อหา pH ที่เหมาะสมและประหยัดสาร โดยแต่ละการทดลองทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

### 3.3.3.2 การศึกษาผลของไอออนแปลกปลอม (Foreign ions) ที่มีผลต่อปฏิกิริยา

#### แมงกานีส

วิธีการศึกษาไอออนแปลกปลอมที่มีผลต่อการวิเคราะห์ทำโดยเตรียมหลอดทดลองแล้วเติมสารละลาย ดังตาราง 3.7 โดยผสม คือสารละลายไอออนแปลกปลอมความเข้มข้น 50, 20, 10 และ 1 ppm ผสมกับสารละลายมาตรฐานแมงกานีส 1 ppm โดยจะทำการศึกษาที่ละไอออนซึ่งประกอบไปด้วย Fe<sup>2+</sup> ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O), Fe<sup>3+</sup> ((NH<sub>4</sub>)<sub>3</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·12H<sub>2</sub>O), Cu<sup>2+</sup> (Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), Zn<sup>2+</sup> (ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O), PO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (NaNO<sub>3</sub>), Cl<sup>-</sup> (NaCl), SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), Ni<sup>2+</sup> (NiSO<sub>4</sub>·6H<sub>2</sub>O), Al<sup>3+</sup> (AlCl<sub>3</sub>), Na<sup>+</sup> (NaCl), K<sup>+</sup> (KNO<sub>3</sub>), F<sup>-</sup> (NaF), CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)

ตาราง 3.7 การศึกษาผลของไอออนแปลกปลอม (Foreign ions) ที่มีผลต่อปฏิกิริยาแมงกานีส

| สารละลาย                                      | ปริมาตรที่เติมแต่ละชุดการทดลอง (mL) |   |   |   |   |
|---|-------------------------------------|---|---|---|---|
|   | 1                                   | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Mn <sup>2+</sup> 1 ppm                        | 3                                   | - | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 1 ppm + ไอออนแปลกปลอม 50 ppm | -                                   | 3 | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 1 ppm + ไอออนแปลกปลอม 20 ppm | -                                   | - | 3 | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 1 ppm + ไอออนแปลกปลอม 10 ppm | -                                   | - | - | 3 | - |
| Mn <sup>2+</sup> 1 ppm + ไอออนแปลกปลอม 1 ppm  | -                                   | - | - | - | 3 |
| Formaldehyde 0.25 M                           | 3                                   | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Ammonia buffer pH 10                          | 3                                   | 3 | 3 | 3 | 3 |

นำสารละลายที่ผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่  $\lambda_{\max}$  460 nm และผลการรบกวนของไอออนสามารถพิจารณาจากความเข้มข้นของไอออนที่มีผลทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของการวิเคราะห์แมงกานีสเปลี่ยนแปลงไม่เกิน  $\pm 5\%$  จากค่าปกติ (กรณีที่ไม่มีไอออนรบกวน) โดยแต่ละการทดลองทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.3.3.3 การศึกษาประสิทธิภาพของกรดแอสคอร์บิกในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยา (Masking) ระหว่าง ไอออน Cu<sup>2+</sup> กับสารรีเอเจนต์

ในการทดลองนี้ใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสาร Masking reagent ในการป้องกันการรบกวนของไอออนในการเกิดปฏิกิริยาของแมงกานีส โดยใช้กรดแอสคอร์บิก 0.5 %w/v และทำปฏิกิริยากับสารผสมระหว่างแมงกานีสกับไอออน Cu<sup>2+</sup> โดยเติมสารละลายดัง ตาราง 3.8

ตาราง 3.8 การศึกษาประสิทธิภาพของกรดแอสคอร์บิกในการป้องกันไอออนแลกเปลี่ยนรบกวน  
การเกิดปฏิกิริยาของแมงกานีส

| สารละลาย   | ปริมาณที่เติมแต่ละชุดการ<br>ทดลอง (mL) |   |   |   |   |
|--|--|---|---|---|---|
|  | 1                                      | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Mn <sup>2+</sup> 1 ppm                           | 3                                      | - | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 1 ppm + Cu <sup>2+</sup> 50 ppm | -                                      | 3 | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 1 ppm + Cu <sup>2+</sup> 20 ppm | -                                      | - | 3 | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 1 ppm + Cu <sup>2+</sup> 10 ppm | -                                      | - | - | 3 | - |
| Mn <sup>2+</sup> 1 ppm + Cu <sup>2+</sup> 1 ppm  | -                                      | - | - | - | 3 |
| Formaldehyde 0.25 M                              | 3                                      | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Ammonia buffer pH 10                             | 3                                      | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Ascorbic acid 0.5 %w/v                           | 3                                      | 3 | 3 | 3 | 3 |

นำสารละลายแต่ละชุดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{\max}$  460 nm จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่เติม Masking reagent มาเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่ได้เติมไอออนเพื่อดูผลการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาของ Cu<sup>2+</sup> โดยแต่ละการทดลองทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.3.3.4 การศึกษาประสิทธิภาพของสารผสมของกรดแอสคอร์บิกและ EDTA ในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยา(Masking) ระหว่าง ไอออน Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup> กับสารรีเอเจนต์

ในการทดลองนี้ใช้สารผสมของกรดแอสคอร์บิกและ EDTA เป็นสาร Masking reagent ในการป้องกันการรบกวนในการเกิดปฏิกิริยาของแมงกานีส โดยใช้กรดแอสคอร์บิก 0.5 %w/v + EDTA 0.01 M และทำปฏิกิริยากับสารผสมระหว่างแมงกานีสกับไอออน Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup> โดยเติมสารละลายดัง ตาราง 3.9

ตาราง 3.9 การศึกษาประสิทธิภาพของสารผสมของกรดแอสคอร์บิกและ EDTA ในการป้องกัน  
ไอออนแปลกรบกวนการเกิดปฏิกิริยาของแมงกานีส

| สารละลาย  | ปริมาตรที่เติมแต่ละชุดการ<br>ทดลอง (mL) |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|
|   | 1                                       | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Mn <sup>2+</sup> 1 ppm  | 3                                       | - | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 1 ppm + Fe <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> 50 ppm | -                                       | 3 | - | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 1 ppm + Fe <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> 20 ppm | -                                       | - | 3 | - | - |
| Mn <sup>2+</sup> 1 ppm + Fe <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> 10 ppm | -                                       | - | - | 3 | - |
| Mn <sup>2+</sup> 1 ppm + Fe <sup>2+</sup> , Fe <sup>3+</sup> 1 ppm  | -                                       | - | - | - | 3 |
| Formaldehyde 0.25 M   | 3                                       | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Ammonia buffer pH 10  | 3                                       | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Ascorbic acid 0.5 %w/v  | 3                                       | 3 | 3 | 3 | 3 |
| EDTA 0.01 M   | 3                                       | 3 | 3 | 3 | 3 |

นำสารละลายแต่ละชุดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{\max}$  460 nm จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่เติม Masking reagent มาเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่ได้เติมไอออนเพื่อดูผลการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาของ Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup> โดยแต่ละการทดลองทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

### 3.3.3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณแมงกานีสในตัวอย่างจริงโดยระบบ HSI

1) การเตรียมตัวอย่างปุ๋ยแบ่งตัวอย่างปุ๋ยตัวอย่างละ 10 g สกัดด้วย 0.1 M Ammonia acetate 100 mL นำไปเขย่า 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง (เบอร์ 42) นำสารละลายที่กรองได้มาระเหยจนเกือบแห้งหรือจนไอของ Ammonia acetate ระเหยออกหมด เติมกรดไนตริกเข้มข้น (Conc.HNO<sub>3</sub>) 2 mL ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 1 mL และเติมน้ำปราศจากไอออน 100 mL สำหรับย่อยสารอินทรีย์ จากนั้นให้ความร้อนจนสารละลายแห้งแล้วนำมา

เติมกรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid ;H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 1 mL และปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนให้ เป็น 100 mL (Somnam, et al.2008)

## 2) การวิเคราะห์ตัวอย่างจริงด้วยระบบ HSI

นำสารละลายที่สกัดได้จากหัวข้อ 3.3.24.1 มาวิเคราะห์หาปริมาณแมงกานีส ด้วยระบบ HSI โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้ศึกษาก่อนหน้านี้ได้เตรียมกราฟมาตรฐานของ แมงกานีสในช่วง 1.0– 50.0 ppm นำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับสมการเส้นตรงของกราฟ มาตรฐานเพื่อคำนวณหาปริมาณแมงกานีส หากในกรณีที่ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสูงกว่าช่วง ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานจะทำการเจือจางลงให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงกราฟ ดังกล่าว

ผลการวิเคราะห์ที่ได้จากตัวอย่างทั้งหมด จะถูกนำไปเปรียบเทียบกับ การวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐานแบบแบทช์โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) นำผลการวิเคราะห์ที่ได้จากทั้งสองวิธี เปรียบเทียบกัน ในเชิงสถิติ ด้วย T-test ที่ ระดับความเชื่อมั่น 95 % (Somnam, et al.1991)

### 3.3.4 การหาปริมาณแคลเซียมในตัวอย่างดิน

#### 3.3.4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสม

##### 1) การศึกษาผลความเข้มข้นของ o-Cresolphthalein complexone (oCPC)

โดยการวิเคราะห์แบบแบทช์

ในการทดลองนี้ใช้ oCPC เป็นรีเอเจนต์สำหรับเกิดปฏิกิริยากับแคลเซียม โดยศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของ oCPC ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.4, 1.0 และ 3.0 mM ตามลำดับ โดย เติมสารละลายแต่ละชนิดดังตาราง 3.10

ตาราง 3.10 การศึกษาผลความเข้มข้นของ oCPC ที่มีผลต่อ  $\text{Ca}^{2+}$

| สารละลาย                    | ปริมาตรสารละลายที่เติมลงในชุดการทดลองที่ 1 (ml) |           |           |           |
|-----------------------------|---|-----------|-----------|-----------|
|                             | หลอดที่ 1                                       | หลอดที่ 2 | หลอดที่ 3 | หลอดที่ 4 |
| $\text{Ca}^{2+}$ 0.05 ppm   | 1   | 1         | 1         | 1         |
| Ammonia Buffer (pH 10.2)    | 1   | 1         | 1         | 1         |
| 0.2 %w/v 8-Hydroxyquinoline | 1   | 1         | 1         | 1         |
| 0.1 mM oCPC                 | 1   | -         | -         | -         |
| 0.4 mM oCPC                 | -   | 1         | -         | -         |
| 1.0 mM oCPC                 | -   | -         | 1         | -         |
| 3.0 mM oCPC                 | -   | -         | -         | 1         |

ทำการทดลองซ้ำในทำนองเดียวกัน แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของ  $\text{Ca}^{2+}$  เป็น 0.1, 1.0, 5.0 และ 10.0 ppm ตามลำดับ

นำสารละลายที่ผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{\text{max}}$  574 nm จากนั้นนำค่าความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพล็อตกราฟของแต่ละชุดการทดลอง เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ oCPC โดยแต่ละชุดการทดลองจะทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

2) การศึกษาผลความเข้มข้นของ 8-Hydroxyquinoline ในการป้องกันไอออนรบกวน ( $\text{Mg}^{2+}$ ) (วิเคราะห์แบบแบทซ์)

เนื่องจาก  $\text{Mg}^{2+}$  สามารถรบกวนการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแคลเซียม ( $\text{Ca}^{2+}$ ) กับ oCPC ได้ จึงต้องป้องกันการรบกวนดังกล่าวโดยใช้สารก้ำบัง (Masking agent) โดยในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้ 8-Hydroxyquinoline มาป้องกัน  $\text{Mg}^{2+}$  (Rocha F.R.P., *et al.*, 1998)

ในการทดลองนี้เป็นการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของ 8-Hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.005, 0.05, 0.1 และ 0.2 %w/v ตามลำดับ ที่มีผลในการป้องกันไอออน  $\text{Mg}^{2+}$  (ซึ่งในการทดลองจะไม่มีเติม  $\text{Ca}^{2+}$ ) โดยเติมสารละลายแต่ละชนิดดังตาราง 3.11

ตาราง 3.11 การศึกษาผลความเข้มข้นของ 8-Hydroxyquinoline ที่มีผลต่อ  $Mg^{2+}$

| สารละลาย                      | ปริมาตรสารละลายที่เติมลงในชุดการทดลองที่ 1 (mL) |           |           |           |
|-------------------------------|---|-----------|-----------|-----------|
|                               | หลอดที่ 1                                       | หลอดที่ 2 | หลอดที่ 3 | หลอดที่ 4 |
| $Mg^{2+}$ 0.05 ppm            | 1   | 1         | 1         | 1         |
| Ammonia Buffer (pH 10.2)      | 1   | 1         | 1         | 1         |
| 1.0 mM oCPC                   | 1   | 1         | 1         | 1         |
| 0.005 %w/v 8-Hydroxyquinoline | 1   | -         | -         | -         |
| 0.05 %w/v 8-Hydroxyquinoline  | -   | 1         | -         | -         |
| 0.1 %w/v 8-Hydroxyquinoline   | -   | -         | 1         | -         |
| 0.2 %w/v 8-Hydroxyquinoline   | -   | -         | -         | 1         |

ทำการทดลองซ้ำในทำนองเดียวกัน แต่เปลี่ยนความเข้มข้นของ  $Mg^{2+}$  เป็น 0.1, 1.0, 5.0 และ 10.0 ppm ตามลำดับ

นำสารละลายที่ผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{max}$  574 nm จากนั้นนำค่าความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพล็อตกราฟของแต่ละชุดการทดลอง เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ 8-Hydroxyquinoline ในการป้องกันไอออนรบกวน ( $Mg^{2+}$ ) โดยแต่ละชุดการทดลองจะทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

3) การศึกษาผลความเข้มข้นของ Triethanolamine (TEA) ในการป้องกันไอออนรบกวน ( $Al^{3+}$  และ  $Fe^{3+}$ ) โดยการวิเคราะห์แบบแบทซ์

เนื่องจาก  $Al^{3+}$  และ  $Fe^{3+}$  เป็นไอออนที่พบมากในตัวอย่างดิน และสามารถเกิดปฏิกิริยาได้กับ oCPC จึงได้ทำการป้องกันการรบกวนโดยใช้สารกำบัง คือ TEA (Rocha F.R.P., et al., 1998) โดยเริ่มต้นจากการป้องกันการรบกวนของ  $Fe^{3+}$  และ  $Al^{3+}$  ตามลำดับ

ก) การศึกษาผลความเข้มข้นของ Triethanolamine (TEA) ในการป้องกัน  $Fe^{3+}$  ในการทดลองนี้เป็นศึกษาผลของ TEA โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 0.25, 1.0, 5.0, 10.0 และ 20.0 %v/v ตามลำดับ และผสมลงในสารละลาย 0.1 %w/v 8-Hydroxyquinoline เพื่อป้องกันการรบกวนของ  $Fe^{3+}$  โดยเติมสารละลายแต่ละชนิดดังตาราง 3.12

ตาราง 3.12 การศึกษาผลความเข้มข้นของ TEA ที่มีผลต่อ  $\text{Fe}^{3+}$  5.0, 10.0 และ 20.0 ppm

| สารละลาย   | ปริมาตรสารละลายที่ใช้เติมลงในแต่ละชุดการทดลอง (mL) |   |   |   |   |   |   |   |   |
|--|--|---|---|---|---|---|---|---|---|
|  | 1  | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Ammonia Buffer (pH 10.2)   | 1  | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 0.1 %w/v 8-Hydroxyquinoline + 0.25%v/v TEA                       | 1  | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 1.0 mM oCPC  | 1  | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| สารละลายผสม ( $\text{Ca}^{2+}$ 0 ppm + $\text{Fe}^{3+}$ 5 ppm)   | 1  | - | - | - | - | - | - | - | - |
| สารละลายผสม ( $\text{Ca}^{2+}$ 0 ppm + $\text{Fe}^{3+}$ 10 ppm)  | -  | 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| สารละลายผสม ( $\text{Ca}^{2+}$ 0 ppm + $\text{Fe}^{3+}$ 20 ppm)  | -  | - | 1 | - | - | - | - | - | - |
| สารละลายผสม ( $\text{Ca}^{2+}$ 5 ppm + $\text{Fe}^{3+}$ 5 ppm)   | -  | - | - | 1 | - | - | - | - | - |
| สารละลายผสม ( $\text{Ca}^{2+}$ 5 ppm + $\text{Fe}^{3+}$ 10 ppm)  | -  | - | - | - | 1 | - | - | - | - |
| สารละลายผสม ( $\text{Ca}^{2+}$ 5 ppm + $\text{Fe}^{3+}$ 20 ppm)  | -  | - | - | - | - | 1 | - | - | - |
| สารละลายผสม ( $\text{Ca}^{2+}$ 20 ppm + $\text{Fe}^{3+}$ 5 ppm)  | -  | - | - | - | - | - | 1 | - | - |
| สารละลายผสม ( $\text{Ca}^{2+}$ 20 ppm + $\text{Fe}^{3+}$ 10 ppm) | -  | - | - | - | - | - | - | 1 | - |
| สารละลายผสม ( $\text{Ca}^{2+}$ 20 ppm + $\text{Fe}^{3+}$ 20 ppm) | -  | - | - | - | - | - | - | - | 1 |

จากนั้นทำการศึกษาผลความเข้มข้นของ TEA ที่ความเข้มข้น 1.0, 5.0, 10.0 และ 20.0 %v/v ตามลำดับ โดยทดลองในลักษณะเดียวกัน ดังตาราง 3.4 แล้วนำสารละลายที่ผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{\text{max}}$  574 nm เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ TEA ในการป้องกันไอออนรบกวน ( $\text{Fe}^{3+}$ ) โดยแต่ละชุดการทดลองจะทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

ข) การศึกษาผลความเข้มข้นของ Triethanolamine (TEA) ในการป้องกัน  $\text{Al}^{3+}$  จากความเข้มข้นที่เหมาะสมของ TEA ในการป้องกันการรบกวนของ  $\text{Fe}^{3+}$  ในการทดลองนี้เป็นศึกษาผลความเข้มข้นที่เหมาะสมของ TEA สำหรับป้องกัน  $\text{Al}^{3+}$  โดยทดลองเตรียมที่ความเข้มข้น 1.0 %v/v ที่ใช้ผสมลงในสารละลาย 8-Hydroxyquinoline 0.1 %w/v โดยเติมสารละลายแต่ละชนิดดังตาราง 3.13

ตาราง 3.13 การศึกษาผลความเข้มข้นของ 1.0 %v/v TEA ที่มีผลต่อ  $Al^{3+}$  5.0, 25.0 และ 50.0 ppm

| สารละลาย   | ปริมาณสารละลายที่ใช้เติมลงในแต่ละชุดการทดลอง (mL) |   |   |   |   |   |   |   |   |
|--|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|  | 1   | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Ammonia Buffer (pH 10.2)                           | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 0.1 %w/v 8-Hydroxyquinoline + 0.25%v/v TEA         | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 1.0 mM oCPC  | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| สารละลายผสม ( $Ca^{2+}$ 0 ppm + $Al^{3+}$ 5 ppm)   | 1   | - | - | - | - | - | - | - | - |
| สารละลายผสม ( $Ca^{2+}$ 0 ppm + $Al^{3+}$ 25 ppm)  | -   | 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| สารละลายผสม ( $Ca^{2+}$ 0 ppm + $Al^{3+}$ 50 ppm)  | -   | - | 1 | - | - | - | - | - | - |
| สารละลายผสม ( $Ca^{2+}$ 5 ppm + $Al^{3+}$ 5 ppm)   | -   | - | - | 1 | - | - | - | - | - |
| สารละลายผสม ( $Ca^{2+}$ 5 ppm + $Al^{3+}$ 25 ppm)  | -   | - | - | - | 1 | - | - | - | - |
| สารละลายผสม ( $Ca^{2+}$ 5 ppm + $Al^{3+}$ 50 ppm)  | -   | - | - | - | - | 1 | - | - | - |
| สารละลายผสม ( $Ca^{2+}$ 20 ppm + $Al^{3+}$ 5 ppm)  | -   | - | - | - | - | - | 1 | - | - |
| สารละลายผสม ( $Ca^{2+}$ 20 ppm + $Al^{3+}$ 25 ppm) | -   | - | - | - | - | - | - | 1 | - |
| สารละลายผสม ( $Ca^{2+}$ 20 ppm + $Al^{3+}$ 50 ppm) | -   | - | - | - | - | - | - | - | 1 |

นำสารละลายที่ผสมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{max}$  574 nm เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของ 1.0 %v/v TEA ในการป้องกันไอออนรบกวน ( $Al^{3+}$ ) โดยแต่ละชุดการทดลองจะทำการทั้งหมด 3 ซ้ำ

#### 3.3.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมในตัวอย่างจริงโดยใช้ระบบ HSI

##### 1) การเตรียมสารละลายสำหรับสกัดตัวอย่างดิน

ในการทดลองนี้ได้เตรียมสารละลายแอมโมเนียมแอซิเตท ( $CH_3COONH_4$ ) เข้มข้น 1 M pH 7.0 โดยละลาย Glacial Acetic acid (99.7%) 57 mL ในน้ำกลั่นประมาณ 0.8 L เติมน้ำ  $NH_4OH$  เข้มข้น 69 mL แล้วเติมน้ำกลั่นจนสารละลายทั้งหมดมีปริมาตรประมาณ 0.9 L ผสมให้เข้ากันดี แล้วปรับ pH ของสารละลายด้วย Glacial Acetic acid หรือ  $NH_4OH$  ให้ได้ pH เท่ากับ 7.0 แล้วจึงปรับปริมาตรด้วย น้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 L (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2553)

## 2) การเตรียมตัวอย่างดิน (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2553)

2.1) ชั่งตัวอย่างดินแต่ละตัวอย่างที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มม. หนัก 5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 mL

2.2) เติม 1 M  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  pH 7.0 ประมาณ 50 mL เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ค้างคืน

2.3) กรองดินโดยใช้ Buchner funnel ล้างตัวอย่างดินบนกรวยอีก 3-4 ครั้ง ด้วยสารละลาย  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  ครั้งละประมาณ 10 mL

2.4) นำสารละลายที่กรองได้ ปรับปริมาตรเป็น 100 mL แล้วเก็บไว้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมต่อไป

## 3) การวิเคราะห์ตัวอย่างจริงด้วยระบบ HSI

3.1) นำสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ตั้งหัวข้อ 3.3.25.2 มาวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมด้วยระบบ HSI โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้ศึกษาไปก่อนหน้านี้ เตรียมกราฟมาตรฐานของแคลเซียมในช่วง 1.0 - 35.0 ppm

3.2) นำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณหาปริมาณแคลเซียม หากในกรณีที่ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างมีค่าสูงกว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานจะทำการเจือจางลงให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงกราฟดังกล่าว

3.3) ผลการวิเคราะห์ที่ได้จากตัวอย่างทั้งหมด จะถูกนำไปเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐานแบบแบทช์โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ แล้วนำผลการวิเคราะห์ที่ได้จากทั้งสองวิธี เปรียบเทียบกันในเชิงสถิติ ด้วย t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

### 3.3.5 การหาปริมาณเหล็กในตัวอย่างดินและตัวอย่างปุ๋ย

#### 3.3.5.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสม

1) ศึกษาค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด

ในการทดลองนี้ได้เลือกใช้วิธี 1,10-ฟีแนนโทรีน ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กมาวิเคราะห์หา Fe(II) และ Fe(III) ในตัวอย่าง และทำการ





3.3.5.2 การศึกษาผลของไอออนแปลกปลอม ( Foreign ion ) ที่รบกวนการวิเคราะห์  
 วิธีการศึกษาหาไอออนแปลกปลอมที่รบกวนการวิเคราะห์เตรียมหลอดทดลองแล้ว  
 เติมสารละลายดังแสดงในตาราง 3.16 โดยผสมสารละลายมาตรฐาน  $Fe^{3+}$  ที่ความเข้มข้นคงที่ 1  
 ppm กับสารละลายไอออนแปลกปลอมที่ความเข้มข้น 1, 10, 20, และ 30 ppm จะทำการศึกษา  
 ไอออนแปลกปลอมที่ตัวซึ่งประกอบด้วย  $PO_4^{3-}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $NO_3^-$ ,  
 $Ni$ ,  $F^-$ ,  $Na^+$  และ  $Cl^-$  โดยเตรียมจาก  $(NH_4)_2Fe(SO_4)$ ,  $(NH_4)_3Fe(SO_4)$ ,  $Cu(NO_3)_2$ ,  $ZnSO_4$ ,  $NaNO_3$ ,  
 $NaCl$ ,  $Na_2SO_4$ ,  $NiSO_4$ ,  $AlCl_3$ ,  $KNO_3$ ,  $NaF$  และ  $Na_2CO_3$  ตามลำดับ วิธีการศึกษา แสดง ดังตาราง  
 3.3 จากนั้น นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{max}$  เท่ากับ 511 นาโนเมตร

ตาราง 3.16 วิธีการศึกษาผลของไอออนแปลกปลอมที่มีผลต่อการวิเคราะห์

| สารละลาย                               | ปริมาตรที่เติมของแต่ละชุดการทดลอง (mL) |   |   |   |
|--|--|---|---|---|
|  | 1                                      | 2 | 3 | 4 |
| $Fe^{2+}$ 1 ppm + ไอออนแปลกปลอม 1 ppm  | 3                                      | - | - | - |
| $Fe^{2+}$ 1 ppm + ไอออนแปลกปลอม 10 ppm | -                                      | 3 | - | - |
| $Fe^{2+}$ 1 ppm + ไอออนแปลกปลอม 20 ppm | -                                      | - | 3 | - |
| $Fe^{2+}$ 1 ppm + ไอออนแปลกปลอม 30 ppm | -                                      | - | - | 3 |
| สารละลาย Ascorbic acid 0.001 M         | 3                                      | 3 | 3 | 3 |
| Acetate buffer pH 4                    | 3                                      | 3 | 3 | 3 |
| ทิ้งไว้ 1 นาที                         |  |   |   |   |
| 1,10-ฟีแนนโทรลีน 0.5 % w/v             | 3                                      | 3 | 3 | 3 |

### 3.3.5.3 การศึกษาลำดับการฉีดสารที่เหมาะสมสู่ระบบ HSI

ศึกษาลำดับการฉีดสารเข้าสู่ระบบ HSI ได้แก่ สารละลายมาตรฐาน  $Fe^{3+}$  สารละลาย  
 0.5 % w/v 1,10-ฟีแนนโทรลีน และ 0.015 M Ascorbic acid โดยพิจารณาจากลำดับที่ให้ค่าการ  
 ดูดกลืนแสงสูงสุด โดยมีรูปแบบลำดับการฉีดเข้าสู่ระบบ HSI อ้างอิงดังรูป 3.10 ดังแสดงในตาราง  
 3.18

ตาราง 3.17 รูปแบบการลำดับการฉีดสารเข้าสู่ระบบ HSI

| รูปแบบที่ | ลำดับของสารละลายในระบบ HSI |                  |                  |
|-----------|----------------------------|------------------|------------------|
|           | R1                         | R2               | R3               |
| 1         | 1,10-ฟีแนนโทรีน            | Fe <sup>3+</sup> | Ascorbic acid    |
| 2         | 1,10-ฟีแนนโทรีน            | Ascorbic acid    | Fe <sup>3+</sup> |
| 3         | Ascorbic acid              | Fe <sup>3+</sup> | 1,10-ฟีแนนโทรีน  |
| 4         | Ascorbic acid              | 1,10-ฟีแนนโทรีน  | Fe <sup>3+</sup> |
| 5         | Fe <sup>3+</sup>           | 1,10-ฟีแนนโทรีน  | Ascorbic acid    |
| 6         | Fe <sup>3+</sup>           | Ascorbic acid    | 1,10-ฟีแนนโทรีน  |

หมายเหตุ : R1= ช่องฉีดสารช่องที่ 1 , R2 = ช่องฉีดสารช่องที่ 2 และ R3 = ช่องฉีดสารช่องที่ 3

#### 3.3.5.4 การศึกษาผลของความยาวของขดท่อ (Mixing coil)

ในการทดลองนี้ใช้ขดท่อ สำหรับผสมสารรีเอเจนต์และสารตัวอย่างเข้าด้วยกันในระบบ HSI โดยศึกษาผลของความยาวของขดท่อ ที่ 50, 100, 200 และ 300 cm ตามลำดับ ซึ่งจะกำหนดความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแคลเซียมอยู่ในช่วง 1 - 20 ppm พล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสงเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานแต่ละความยาวของขดท่อ แล้วนำค่าความชันของแต่ละกราฟมาพล็อตกับความยาวของขดท่อ เพื่อหาความยาวของขดท่อที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา

#### 3.3.5.5 การวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กในตัวอย่างจริง โดยใช้ระบบ HSI

##### 1) การเตรียมตัวอย่างดินและปุ๋ย

นำตัวอย่างดิน และ ตัวอย่างปุ๋ยที่จะศึกษามาทำการย่อยด้วยวิธีมาตรฐาน ดังนี้ คือ ชั่งตัวอย่างดินและปุ๋ยมา 1.00 g เติม Conc. HNO<sub>3</sub> 30 mL นำไปต้มที่ 200 °C ประมาณ 30-45 นาที เมื่อครบ 30-45 นาทีแล้วทิ้งให้เย็น จากนั้นเติม Conc. HClO<sub>4</sub> 20 ml นำไปต้มด้วยไฟอ่อนๆ จนสารละลายใส ต้มต่อจนสารละลายเป็นไอสีขาวหมด (ห้ามปล่อยให้แห้ง) ทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำ DI 50 mL นำไปต้มอีกประมาณ 10 นาที จากนั้นเติม Conc.HClO<sub>4</sub> 15 mL ต้มต่ออีก 1 ชั่วโมง ที่ 170 °C ทิ้งให้เย็น ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI 200 mL (AOAC Official Methods Of Analysis (967.01) ,2000)

##### 2) ศึกษาตัวอย่างด้วยระบบ HSI

นำสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ดังหัวข้อ 3.3.26.1 มาวิเคราะห์หาปริมาณธาตุเหล็กด้วย ระบบ HSI โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ทำการศึกษา ได้เตรียมกราฟมาตรฐานของเหล็กในช่วงความเข้มข้น 0.01- 30.0 ppm นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง มาเทียบกับสมการ

เส้นตรงของกราฟมาตรฐาน หากค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างมีค่าสูงกว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน จะทำการเจือจางจนได้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ช่วงกราฟดังกล่าว

ผลการวิเคราะห์ที่ได้จากตัวอย่างทั้งหมด จะถูกนำไปเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ด้วยวิธีมาตรฐานแบบแบทช์โดยใช้เครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำผลที่ได้จากทั้ง 2 วิธี เปรียบเทียบกันในเชิงสถิติด้วยค่า t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3) การศึกษาค่าร้อยละการกลับคืน (%Recovery) ของตัวอย่างดินและปุ๋ย นำสารละลายตัวอย่างดิน 10 mL และสารละลายตัวอย่างปุ๋ย 5 mL มาเติมสารละลายมาตรฐาน  $\text{Fe}^{3+}$  ความเข้มข้น 100 ppm อย่างละ 10 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนครบ 100 mL (จะได้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน  $\text{Fe}^{3+}$  ความเข้มข้น 10 ppm) แล้วนำไปวิเคราะห์หาค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้ระบบ HSI

### 3.3.5.6 การศึกษาสมรรถนะของระบบ HSI

1) การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายฟอสเฟต โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต ในช่วง 0.05 – 50.0 ppm โดยในการทดลองใช้ แอมโมเนียม โมลิบเดตที่ละลายในกรดไนตริกเป็นสารตัวพา และฉีดสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตและกรดแอสคอร์บิกตามลำดับ ดังตาราง 3.14 โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{\text{max}}$  เท่ากับ 630 นาโนเมตร และพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้น และค่าการดูดกลืนแสงเพื่อสร้างกราฟมาตรฐานและหาช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

2) การศึกษาความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์ด้วยระบบ HSI ศึกษาความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต 2 ppm แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่  $\lambda_{\text{max}}$  เท่ากับ 630 นาโนเมตร โดยในการทดลองใช้แอมโมเนียม โมลิบเดตที่ละลายในกรดไนตริกเป็นสารตัวพาและฉีดสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตและกรดแอสคอร์บิกตามลำดับ ดังตาราง 3.7 ทำการทดลองซ้ำจำนวน 11 ครั้ง แล้วนำค่าการดูดกลืนแสง หาค่าเฉลี่ย (\*\*\*) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และ ค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD)

## 3) การศึกษาสมรรถนะอื่นๆ ของระบบ HSI

ซึ่งประกอบด้วย

ตัวอย่าง 1 ครั้ง

- ระยะเวลาที่ระบบ HSI ใช้ในการวิเคราะห์สารมาตรฐานหรือสารตัวอย่าง 1 ครั้ง
- ปริมาณสารเคมีรวมทั้งหมด (แอมโมเนียม โมลิบเดต กรดแอสคอร์บิก และกรดไนตริก) ที่ใช้ต่อการวิเคราะห์ 1 ครั้ง
- อัตราการไหลของสารตัวพา (mL/min)