

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยได้ทำการเก็บข้อมูลของปุ๋ยหมักของปุ๋ยหมักออกเป็น 2 ส่วน คือ การเก็บข้อมูลกระบวนการทำปุ๋ยหมัก การเก็บตัวอย่างปุ๋ยแล้วนำมาวิเคราะห์หาคุณภาพ โดยมีรายละเอียดดังนี้

3.1 กระบวนการทำปุ๋ยหมัก

- 1) เตรียมพื้นที่สำหรับการหมักปุ๋ยโดยทำบ่อกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 120 เซนติเมตร และสูง 100 เซนติเมตร เพื่อใช้สำหรับทำปุ๋ยหมัก
- 2) เก็บตัวอย่างมูลฝอยจากตลาดสดในพื้นที่ใกล้เคียงกับโครงการแหลมผักเบี้ย
- 3) นำมูลฝอยที่ได้มาชั่งน้ำหนักแล้วใส่ลงในบ่อหมักทั้งหมดจำนวน 12 บ่อ อัดให้แน่น
- 4) ทำการรดน้ำกองปุ๋ยหมักโดยแบ่งเป็นแบบการทดลองได้ 6 แบบดังนี้คือ
รูปแบบการทดลองที่ 1 มูลฝอยสดรดด้วยน้ำเปล่าร่วมกับดินแดง
รูปแบบการทดลองที่ 2 มูลฝอยสดรดด้วยน้ำพีชสมุนไพรรักษาโรค
รูปแบบการทดลองที่ 3 มูลฝอยสดรดด้วยน้ำพีชสมุนไพรมะละกอ
รูปแบบการทดลองที่ 4 มูลฝอยสดรดด้วยน้ำพีชสมุนไพรรอบรี
รูปแบบการทดลองที่ 5 มูลฝอยสดรดด้วยน้ำพีชสมุนไพรรสกระเทียม
รูปแบบการทดลองที่ 6 มูลฝอยสดรดด้วยน้ำสกัดชีวภาพสูตรปลา

วิธีการทำน้ำสกัดชีวภาพสูตรปลา

อัตราส่วน 1 ถัง / 200 ลิตร ปลาสด 40 กิโลกรัม กากน้ำตาล 20 กิโลกรัม สารเร่งผลิตปุ๋ยหมัก 200 กิโลกรัม (1 ซอง) การเตรียมสารเร่งผลิตปุ๋ยหมัก 1 ซอง ละลายน้ำอุ่น 20 ลิตร คนให้เข้ากัน 15 – 30 นาที (อย่าให้น้ำนิ่ง) นำปลาสดและกากน้ำตาลที่เตรียมไว้ใส่ถัง 200 ลิตร และนำสารเร่งปุ๋ยหมักที่เตรียมเสร็จแล้วใส่ในถังร่วมกับปลาสด และกากน้ำตาล ใส่น้ำพอท่วมตัวปลา (1/2) แล้วคนให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 30 – 35 องศาเซลเซียส ไม่ปิดฝา คนวันละ 4 – 5 ครั้ง ตลอดระยะเวลาในการหมักประมาณ 20 – 30 วัน ปลาย่อยสลายหมด เติมน้ำให้เต็มถังและคนให้เข้ากันก่อนที่นำไปใช้จะได้ปุ๋ยชีวภาพ 200 ลิตร (<http://www.doa.go.th/ShowArticles.aspx?id=174>)

หมายเหตุ หากมีฝนตก หรืออุณหภูมิภายในบ่อหมักคงที่จะไม่ทำการรดน้ำกองปุ๋ยหมัก

3.2 การเก็บตัวอย่างปุ๋ยหมัก

- 1) การเก็บน้ำชะมูลฝอยโดยการรองรับน้ำชะมูลฝอยจากก้นบ่อหมัก ด้วยขวดโพลีเอทิลีน
- 2) ทำการเจาะกองปุ๋ยหมักเพื่อทำการเก็บตัวอย่างของเนื้อปุ๋ยหมักแล้วนำมาชั่งน้ำหนักทุกบ่อ การเก็บตัวอย่างจะทำ 7 วันต่อ 1 ครั้ง และทำการวัดอุณหภูมิและความสูงของกองปุ๋ยหมักทุกวัน
- 3) นำปุ๋ยหมักที่ได้ไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 75 – 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน แล้วนำปุ๋ยหมักที่อบมาชั่งน้ำหนักอีกครั้ง แล้วมาย่อยให้มีขนาดเล็กกลงโดยใช้เครื่องบด บดให้ละเอียดแล้วจึงนำไปวิเคราะห์

3.3 พารามิเตอร์ที่วิเคราะห์

พารามิเตอร์ที่ทำการวิเคราะห์น้ำชะมูลฝอย คุณภาพของปุ๋ยหมัก และวิธีการวิเคราะห์มีดังนี้

- | | |
|-------------------------|--|
| 1) ไนโตรเจนทั้งหมด | ใช้วิธี Kjeldahl – Wilfarth – Gunning – Winkler Method |
| 2) ฟอสฟอรัส | ใช้วิธี Ascorbic acid method |
| 3) โปแทสเซียม | ใช้วิธี Acid Digestion of Sediment and Soils Method |
| 4) ความชื้น | ใช้วิธี Gravimetric Method |
| 5) ปริมาณสารที่ระเหยได้ | ใช้วิธี Gravimetric Method |
| 6) ปริมาณของแข็งรวม | ใช้วิธี Gravimetric Method |

3.4 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของน้ำชะมูลฝอยและปุ๋ยหมัก

3.4.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1) ขวดโพลีเอทิลีน
- 2) ชุดเครื่องมือการย่อยสลาย (Digestion apparatus)
- 3) ชุดเครื่องมือสำหรับการกลั่นเหมือนกับการวิเคราะห์หาแอมโมเนีย
- 4) เครื่องแก้วสำหรับการ ไตรเตรท
- 5) Measuring pipette
- 6) Erlenmeyer flask
- 7) Beaker
- 8) ขวดน้ำกลั่น
- 9) ขวดปรับปริมาตร
- 10) ลูกยาง

- 11) แท่งคน
- 12) กระจกดวง
- 13) เครื่องชั่ง
- 14) มวลฝอยสด
- 15) บ่อหมักมูลฝอย

3.4.2 สารเคมี

- 1) กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้น
- 2) น้ำกลั่น
- 3) สารโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)
- 4) สารละลายผสม Indicator
นำสาร Methyl red มา 200 มิลลิกรัม ละลายใน Ethly alcohol 95% จำนวน 100 มิลลิลิตรและนำสาร Methylene blue 100 มิลลิกรัม มาละลายใน Ethly alcohol 95% จำนวน 50 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกันสารละลายนี้มีอายุการใช้งานภายใน 1 เดือน
- 5) สารละลายกรดบอริก
ละลาย H_3BO_3 20 กรัม ในน้ำกลั่น เติมสารละลายผสม Indicator จำนวน 10 มิลลิลิตรแล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้อีก 1 ลิตร
- 6) สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$)
นำ $CuSO_4$ มา 25.115 กรัม ผสมน้ำกลั่น ให้ได้ 1000 มิลลิลิตร
- 7) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
นำ NaOH มา 500 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

3.4.3 การวิเคราะห์หาค่าที่เคเอ็นในโตรเจน (TKN) ของน้ำชะมูลฝอย

- 1) การย่อย (Digestion)
 - (1) ปิเปิดน้ำตัวอย่าง 10 มิลลิลิตรใส่ใน Kjeldahl flasks
 - (2) เติม สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) 10 มิลลิลิตร
 - (3) เติมน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร
 - (4) เติมกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้น 10 มิลลิลิตร
 - (5) ชั่งสารโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 6.7 กรัม เติกลงใน Kjeldahl flasks
 - (6) นำไปต้มจนน้ำตัวอย่างมีสีใสเหลือปริมาตรประมาณ 25-50 มิลลิลิตร

(7) ทิ้งให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

(8) เติมสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 50 มิลลิลิตร

2) การกลั่น (Distillation)

(1) นำตัวอย่างที่ได้จากการย่อย ไปกลั่นในสารละลาย Indicating boric acid 50 มิลลิลิตร โดยให้ปลายหลอดที่ต่อจากชุดกลั่นจุ่มอยู่ในสารละลาย Indicating boric acid

(2) สารละลาย Indicating boric acid จะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเขียว

3) การหาค่าแอมโมเนีย

ไตเตรทน้ำตัวอย่างที่กลั่นได้ด้วยสารละลายมาตรฐาน $0.02\text{ N H}_2\text{SO}_4$ จนกระทั่งเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีม่วง

*หมายเหตุ ทำ Blank โดยใช้ น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรและทำการวิเคราะห์หาค่าไนโตรเจนเหมือนน้ำตัวอย่างทุกประการ

3.4.4 การวิเคราะห์หาค่าที่เคเอ็นใน ไตรเจน (TKN) ของปุ๋ยหมัก

(1) นำมูลฝอยสดที่ทำการเก็บตัวอย่างมาบดให้มีขนาด 1.0 มิลลิเมตร

(2) นำตัวอย่างมูลฝอยประมาณ 0.5 กรัม ใส่ในหลอด Kjeldahl flask

(3) เติมโปแตสเซียมซัลเฟต 6.7 กรัม

(4) แล้วเติมคอปเปอร์ซัลเฟต 10 มิลลิลิตร

(5) หลังจากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตรแล้วนำไปย่อย

1) ขั้นตอนการย่อย

(1) ย่อยเนื้อตัวอย่างที่อุณหภูมิ 200-250 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง 30 นาที ในเครื่อง Gerhardt

(2) ย่อยเนื้อตัวอย่างต่อที่อุณหภูมิสูงประมาณ 380 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้สารละลายใส

(3) ทิ้งสารละลายให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

(4) ทำให้เป็นด่างด้วยการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปกลั่น

2) ขั้นตอนการกลั่น

กลั่นสารละลายในกรอบอริค 50 มิลลิลิตร โดยเก็บส่วนที่ได้ในกรอบอริคให้ได้ประมาณ 250 มิลลิลิตร ถ้ามีในโตรเจนกรอบอริคจะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเขียว จากนั้นนำไปไตเตรต

3) การไตเตรต

นำสารที่ได้ไปไตเตรตกับสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 0.02 N จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง โดยใช้ methyl-red + methylene blue เป็น Indicator

3.4.5 วิธีการคำนวณค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (TKN) ของน้ำชะมูลฝอยและปุ๋ยหมัก

1) การคำนวณค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของน้ำชะมูลฝอย

$$TKN \text{ (มิลลิกรัม/ลิตร)} = \frac{(A-B) \times 280}{\text{ปริมาตรนำตัวอย่าง (มิลลิกรัม/ลิตร)}}$$

เมื่อ $A = H_2SO_4$ ที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่าง

$B = H_2SO_4$ ที่ใช้ในการไตเตรตกับ Blank

2) การคำนวณปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของปุ๋ยหมัก

$$N_t = \frac{(A-B) \times n \times 14 \times 100}{C}$$

N_t = ร้อยละของไนโตรเจน

A = ปริมาณสารละลายมาตรฐาน Sulfuric acid ที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่าง (ml)

B = ปริมาณสารละลายมาตรฐาน Sulfuric acid ที่ใช้ไตเตรต Blank (ml)

C = น้ำหนักของตัวอย่าง (mg)

N = Normality ของสารละลาย Sulfuric acid (N)

3.5 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสของน้ำชะมูลฝอยและปุ๋ยหมัก

3.5.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

หลักการ

ฟอสฟอรัสในน้ำสามารถพบได้ในรูปของสารประกอบ 3 รูปแบบ คือ

1) อินทรีย์ฟอสเฟต เช่น Nucleic acid, phospholipids, sugar phosphate

2) โพลีฟอสเฟต เช่น Sodium hexametaphosphate ($\text{Na}_3(\text{PO}_4)_6$), Sodium tripolyphosphate ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$), Tetrasodium pyrophosphate ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$) สารพวกนี้เป็น Dehydrate diphosphate ดังนั้น จะถูกไฮโดรไลซ์ในน้ำกลับไปเป็น Orthophosphate ตามเดิม อัตราเกิดปฏิกิริยาขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ค่าพีเอชที่ต่ำ (สภาพกรด) และจะเกิดในน้ำไฮโดรไลต์เร็วกว่าในน้ำบริสุทธิ์

3) ออโรฟอสเฟต ที่พบมาก ได้แก่ Trisodium phosphate (Na_3PO_4), Disodium phosphate (Na_2HPO_4), Monosodium phosphate (NaH_2PO_4), Diammonium phosphate ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) การทดสอบหาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในน้ำทำได้ใน 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนที่ 1 การเปลี่ยนรูปของฟอสฟอรัสรูปต่าง ๆ เป็นออโรฟอสเฟต (Orthophosphate) โดยการสกัดตัวอย่างด้วยวิธี Sulfuric Acid-Nitric Acid Digestion และขั้นตอนที่ 2 เป็นการวัดปริมาณออโรฟอสเฟตด้วยวิธีการทำให้เกิดสี (colorimetric method) โดยใช้ Ascorbic acid เป็นตัวรีดิวซ์ในสภาพที่สารละลายเป็นกรดเป็นสาร molybdenum blue ซึ่งมีสีน้ำเงิน แล้ววัดค่าของการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 880 นาโนเมตร

3.5.2 เครื่องมือ

- 1) Ultraviolet-Visible Spectrophotometer
- 2) Volumetric pipette
- 3) Erlenmeyer flask
- 4) Volumetric flask
- 5) Hot plate
- 6) Beaker
- 7) ขวดปรับปริมาตร
- 8) ขวดน้ำกลั่น
- 9) ลูกยาง
- 10) กระบอกตวง
- 11) เครื่องชั่ง
- 12) แท่งคน

3.5.3 สารเคมี

- 1) Sulfuric acid (H_2SO_4 , conc.)
- 2) Nitric acid (HNO_3 , conc.)

3) Phenolphthalein indicator aqueous solution ซึ่ง Phenolphthalein ($C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$) 0.5 g ใน Beaker จากนั้นเติมเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95% ปริมาตร 50 ml. แล้วปรับปริมาตรด้วย น้ำกลั่นใน Volumetric flask ขนาด 100 ml. จนได้ปริมาตรครบ 1000 ml.

4) Sodium hydroxide ความเข้มข้น 5N ซึ่ง Sodium hydroxide (NaOH) (AR.grade) 500 g (ความละเอียด 0.0001 g) ใน Beaker จากนั้นนำมาละลายในน้ำกลั่นจำนวนพอเหมาะแล้ว ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นใน Volumetric flask ขนาด 1000 ml. จนได้ปริมาตรครบ 1000 ml.

5) Sulfuric ความเข้มข้น 5N ใช้ Volumetric pipette ดูด Sulfuric acid (H_2SO_4 conc.) ปริมาตร 70 ml. ลงใน volumetric flask ขนาด 500 ml. ที่มีน้ำกลั่นอยู่ในจำนวนพอเหมาะ แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 500 ml.

6) Potassium antimonyl tartrate solution ซึ่ง Potassium antimonyl tartrate ($K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot \frac{1}{2} H_2O$) 1.3715 g ใน Beaker จากนั้นนำมาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 400 ml. และนำมาปรับปริมาตรใน Volumetric flask ขนาด 500 ml. จนได้ปริมาตรครบ 500 ml.

7) Ammonium molybdate solution ซึ่ง Ammonium molybdate ($(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$) (AR. grade) 20 g ใน Beaker จากนั้นนำมาละลายในน้ำกลั่นจำนวนพอเหมาะแล้วปรับปริมาตรด้วย น้ำกลั่นใน Volumetric flask ขนาด 500 ml. จนได้ปริมาตรครบ 500 ml.

8) Ascorbic acid solution ความเข้มข้น 0.1 M ซึ่ง Ascorbic acid ($C_6H_8O_6$) (AR. grade) 1.76 ใน Beaker จากนั้นนำมาละลายในน้ำกลั่นจำนวนพอเหมาะแล้วปรับปริมาตรด้วย น้ำกลั่นใน Volumetric flask ขนาด 200 ml. จนได้ปริมาตรครบ 200 ml. เก็บสารละลายนี้ไว้ในขวด แก้วสีชา สารละลายนี้จะอยู่ตัวประมาณ 1 สัปดาห์ ถ้าเก็บอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

9) Combined reagent : ผสมสารละลายจากข้อ 5. ถึง 8. ในสัดส่วน 100 ml. ดังนี้

Sulfuric, 5N	50 ml.
Potassium antimonyl tartrate solution	5 ml.
Ammonium molybdate solution	15 ml.
Ascorbic acid solution	30 ml.

ก่อนผสมให้ทั้งสารละลาย Ascorbic acid ไว้จนมีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้องก่อน แล้วจึงนำมาผสมกันตามลำดับโดยผสมให้เข้ากันทุกครั้งเมื่อเติมสารละลายแต่ละชนิด หลังจากที เติมสารละลายลงไปถ้าบุนให้เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 2 – 3 นาที จนสารละลายใสจึงนำไปใช้ สารละลาย รวมนี้จะคงตัวอยู่ 4 ชั่วโมง

10) Stock phosphate solution ความเข้มข้น 50 mg P/L ชั่ง Potassium dihydrogen orthophosphate (KH_2PO_4) 219.5 mg. (หรือ 0.2195 g) จากนั้นนำมาละลายในน้ำกลั่นใน Volumetric flask ขนาด 1000 ml. แล้วปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตร 1000 ml. (1 ml. = 50.0 μg P)

11) Standard phosphate solution ความเข้มข้น 2.5 mg P/L ใช้ Volumetric pipette ดูด Stock phosphate solution ความเข้มข้น 50 mg P/L (ข้อ 10.) ปริมาตร 50.00 ml. ลงใน Volumetric flask ขนาด 1000 ml. และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1000 ml. (1 ml. = 2.5 μg P)

3.5.4 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสของน้ำชะมูลฝอย

1. การทดลองหาค่าฟอสฟอรัส

เป็นการเปลี่ยนรูปของฟอสฟอรัสรูปต่างๆ ให้เป็นออร์โธฟอสเฟต (Orthophosphate) ด้วยวิธี Sulfuric Acid-Nitric Acid Digestion

1) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

(1) เตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.8, 1.2 mg P/L โดยใช้ Volumetric pipette ดูด สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตความเข้มข้น 2.5 mg P/L ใส่นิววด Erlenmeyer flask ปริมาตร 0, 2, 6, 10, 16, 24 มิลลิเมตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรประมาณ 50 มิลลิเมตร ตามลำดับ

(2) เติมกรด H_2SO_4 เข้มข้น 1 มิลลิลิตร และกรด HNO_3 เข้มข้น 5 มิลลิลิตร ใส่นิววด Erlenmeyer flask ที่มีสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตความเข้มข้นต่าง ๆ

(3) นำสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตไปย่อยสลายบน Hot plate จนได้ปริมาตรประมาณ 1 มิลลิลิตร และย่อยสลายต่อไปจนกระทั่งสารละลายไม่มีสี เพื่อไล่ควันสีน้ำตาลของกรด HNO_3 จนหมด และควันสีขาวของกรด H_2SO_4 ให้เหลือน้อยที่สุด

(4) ทำให้เย็น และเติมน้ำกลั่นประมาณ 20 มิลลิลิตร ใส่นิววด Phenolphthalein indicator aqueous solution 1 หยด (0.05 มิลลิลิตร) แล้วค่อยเติม NaOH 3 N ลงไปจนได้สีชมพูอ่อน

(5) เติม H_2SO_4 ความเข้มข้น 5 N ลงไปที่ละหยดจนกระทั่งไม่มีสี

(6) นำสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตมาปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร จนได้ปริมาตรจนครบ 50 มิลลิลิตร

(7) นำสารละลายฟอสเฟตที่ผ่านการสกัดและปรับปริมาตรแล้ว สร้างกราฟมาตรฐานสำหรับการวัดน้ำตัวอย่าง

(8) ใช้ Reagent blank เสมือนเป็น Reference solution ในการทดสอบ

2) การเตรียมตัวอย่าง

- (1) เตรียมตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ใส่น้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร ใสในขวด Erlenmeyer flask
- (2) นำตัวอย่างไปผ่านการสกัดด้วยวิธี Sulfuric Acid-Nitric Acid Digestion เหมือนวิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต
- (3) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ก่อนและใช้น้ำกลั่นฉีดล้างตะกอนที่ติดตาม Beaker และกระดวยกรองจนแน่ใจว่าล้างหมดแล้วจึงปรับปริมาตรโดยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร เก็บสารละลายนี้ไว้สำหรับหาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดต่อไป

2. การวิเคราะห์หาค่าฟอสฟอรัส

เป็นการทดสอบหาปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดโดยวิธี Ascorbic acid

1) การสร้างกราฟมาตรฐาน

- (1) นำสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตที่ผ่านการสกัดใสในขวด Erlenmeyer flask
- (2) เติม Combined Reagent 8.0 มิลลิลิตร ลงในขวด Erlenmeyer flask เขย่าผสมให้เข้ากันทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่ไม่ควรเกิน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 880 นาโนเมตร ด้วย Ultraviolet-Visible Spectrophotometer
- (3) สร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของฟอสเฟตทั้งหมด เป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

(4) เมื่อสร้างกราฟมาตรฐานเรียบร้อยแล้วให้วัดน้ำตัวอย่าง

2) การวัดปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดจากน้ำตัวอย่าง

- (1) เตรียมตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร ที่ผ่านการสกัดใส่ขวด Erlenmeyer flask
- (2) เติม Combined reagent 8.0 มิลลิลิตร ลงในขวด Erlenmeyer flask เขย่าผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่ไม่ควรเกิน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 880 นาโนเมตร ด้วย Ultraviolet-Visible Spectrophotometer
- (3) ในกรณีที่น้ำตัวอย่างมีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดมากกว่า 1.2 mg P/L จะใช้วิธีเจือจางปริมาณน้ำตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปวิเคราะห์ตามปกติ โดยใช้น้ำตัวอย่างที่ผ่านการ Digest และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
- (4) กรณีน้ำตัวอย่างมีความขุ่นสูงหรือมีสีรบกวน สีธรรมชาติของน้ำ โดยทั่วไปไม่ป็นสิ่งรบกวนต่อการวัดที่ความยาวคลื่นสูง สำหรับน้ำที่มีสีหรือความขุ่นมากให้

เตรียม Blank โดยเติมสารละลายทั้งหมด ยกเว้น ascorbic acid และ Potassium antimonyl tartrate ในตัวอย่าง ลบค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จาก blank ออกจากค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากตัวอย่าง

3.5.5 การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสของปุ๋ยหมัก

- 1) นำตัวอย่างมูลฝอยที่อบแห้งแล้วมาบดด้วยเครื่องบดมูลฝอยให้มีขนาด 1 มิลลิเมตร
- 2) นำตัวอย่างมูลฝอยที่บดแล้ว นำไปอบเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นใน Desiccator
- 3) สุ่มตัวอย่างมูลฝอยมาประมาณ 0.6 กรัม ใส่ในหลอด Kjeldahl flask
- 4) แล้วเติม Conc. H_2SO_4 25 ml แล้วจึงเติม $K_2S_2O_8$ 0.5 กรัมแล้วนำตัวอย่างไป Digest จนได้สารละลายใส
- 5) จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาปรับ pH ให้ได้ประมาณ 7 ± 0.2
- 6) เมื่อปรับ pH จนได้ค่า 7 ± 0.2 แล้วหยด ฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด และค่อย ๆ เติม NaOH 3N ลงไปจนได้สารละลายสีชมพูอ่อน
- 7) เติม H_2SO_4 ความเข้มข้น 5N ลงไปที่ละหยดจนกระทั่งไม่มีสี
- 8) นำสารละลายที่ได้ทำการปรับปริมาตรให้เป็น 250 ml แล้วปรับต่ออีกครั้งให้มีปริมาตร 50 ml
- 9) เมื่อได้ปริมาตร 50 ml แล้วจากนั้นจึงเติม Combined reagent 8 ml เขย่าให้เข้ากัน จนได้สีน้ำเงิน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 880 nm ด้วยเครื่อง Ultraviolet-visible Spectrophotometer แล้วเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับมาตรฐาน
- 10) การเตรียม Standard curve เตรียมสารละลายที่มีความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.8, 1.2 mg P/L เติมสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตความเข้มข้น 2.5 mg P/L ใส่ในขวดรูปชมพู่ ปริมาตร 0, 2, 6, 10, 16 และ 24 ml และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 50 ml แล้วเติม Combined reagent 8 ml จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 880 nm ด้วยเครื่อง Ultraviolet-visible Spectrophotometer
- 11) พล็อตกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของฟอสฟอรัสทั้งหมด เมื่อได้กราฟมาตรฐานเรียบร้อยแล้วนำไปเปรียบเทียบกับมูลฝอยตัวอย่าง

3.5.6 วิธีการคำนวณค่าฟอสฟอรัสจากน้ำชะมูลฝอยและปุ๋ยหมัก

1) วิธีการคำนวณค่าฟอสฟอรัสจากน้ำชะมูลฝอย

$$\text{ฟอสฟอรัส (mg P/L)} = A \times D$$

เมื่อ A = ความเข้มข้นของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดที่อ่านได้จากเครื่อง

D = Dilution factor

2) การคำนวณปริมาณฟอสฟอรัสจากปุ๋ยหมัก

$$\% P = \frac{P \times D \times 10^{-6} \times MW \times 100}{\text{ปริมาณมูลฝอยตัวอย่าง (g)}}$$

เมื่อ P = ค่า P ที่อ่านได้จากเครื่อง Ultraviolet-visible Spectrophotometer

D = ปริมาณสารที่ทำกร Dilution

MW = เลขมวลโมเลกุลมีค่าเท่ากับ 31

ปริมาณมูลฝอยตัวอย่าง เท่ากับ 0.6 กรัม

3.6 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียม

3.6.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1) กระจกบอควง
- 2) Beaker
- 3) Volumetric flask
- 4) ลูกยาง
- 5) Hot plate
- 6) แท่งคน
- 7) Forcep
- 8) ขวดปรับปริมาตร
- 9) Volumetric pipette
- 10) Measuring pipette
- 11) ขวดน้ำกลั่น
- 12) กระจกคยกรอง เบอร์ 5
- 13) เครื่อง ICPS (Inductively Coupled Plasma Spectroscopy)
- 14) ขวดโพลีเอทิลีน
- 15) เครื่องชั่ง

3.6.2 สารเคมี

- 1) Nitric acid (HNO₃ conc.)
- 2) สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม
- 3) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์
- 4) ไฮโดรคลอริก

3.6.3 การวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมของน้ำชะมูลฝอย

1. การทดลองหาค่าโพแทสเซียม

1) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

(1) เตรียมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมความเข้มข้น 1, 10, 20, 40 และ 50 ppm โดยใช้ Volumetric pipette คูด สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมใส่ Volumetric flask 5 มิลลิลิตร ปรับเป็น 250 มิลลิลิตร นำมาเตรียมต่อโดยใส่ Volumetric flask 100 มิลลิลิตร ดังนี้

ความเข้มข้น 1 ppm นำสารละลาย 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

ความเข้มข้น 10 ppm นำสารละลาย 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

ความเข้มข้น 20 ppm นำสารละลาย 95 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

ความเข้มข้น 40 ppm นำสารละลายมาตรฐาน 4 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

ความเข้มข้น 50 ppm นำสารละลายมาตรฐาน 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

(2) เตรียมน้ำตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร(หรือตัวอย่างที่มีปริมาตรหนึ่งมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร) ใน Beaker เดิม Nitric acid (HNO₃ conc.) 25 มิลลิลิตร ไปย่อยสลายบน Hot plate จนได้ปริมาตรประมาณ 20 มิลลิลิตร นำมาปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 ลงในขวดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตรเก็บสารละลายนี้ไว้สำหรับวิเคราะห์ต่อไป

2) การวิเคราะห์หาค่าโพแทสเซียม

เป็นการทดสอบหาปริมาณโพแทสเซียมโดยวิธี Method Acid Digestion of Sediments, Sludge, And Soils

(1) การสร้างกราฟมาตรฐาน

นำสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมที่ผ่านการสกัดใส่ในขวด Volumetric flask ที่ความเข้มข้น 1,10,20,40 และ 50 ppm ที่เตรียมไว้ นำมาสร้างกราฟมาตรฐาน

(2) การวัดปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดจากน้ำตัวอย่าง
นำน้ำตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมมา มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้มีปริมาตร
250 มิลลิลิตร ด้วยไนตริก 5 เปอร์เซ็นต์ ทำการวัดปริมาณด้วยเครื่อง ICPS

3.6.4 การวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมของปุ๋ยหมัก

- 1) นำตัวอย่างมูลฝอยที่อบแห้งแล้วมาบดด้วยเครื่องบดมูลฝอยให้มีขนาด 1.0 มิลลิเมตร
- 2) นำตัวอย่างมูลฝอยที่บดแล้ว นำไปอบเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นใน Desiccator
- 3) สุ่มตัวอย่างมูลฝอยมาประมาณ 0.5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์
- 4) จากนั้นเติมกรดไนตริก 10 ml แล้วนำไป Digest บนเครื่อง Hot plate
- 5) Digest เป็นเวลา 10 นาที เอากระจกนาฬิกาปิดไว้ เมื่อครบเวลา 10 นาทีแล้วเติม Conc.Nitric แล้ว Digest ต่ออีก 30 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น 2 ml
- 6) จากนั้นเติม ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ลงไป 2 ml นำไป Digest ต่ออีก ให้เหลือ ปริมาตร 5 ml
- 7) เติม HCL 10 ml แล้ว Digest ต่ออีก 15 นาที แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 ml แล้วนำไปวัดค่าด้วยเครื่อง ICPS (Inductively Coupled Plasma Spectroscopy)

3.6.5 วิธีการคำนวณหาปริมาณของโพแทสเซียมของน้ำชะมูลฝอยและปุ๋ยหมัก

1) วิธีการคำนวณหาปริมาณของโพแทสเซียมของน้ำชะมูลฝอย
โพแทสเซียม (มิลลิกรัม/ลิตร) = $\frac{\text{ค่าที่ได้} \times \text{ค่าที่ได้จากการปรับปริมาตร}}{\text{ปริมาตรน้ำตัวอย่าง}} \times \text{dilution}$

2) การคำนวณปริมาณโพแทสเซียมของปุ๋ยหมัก

$$\% K = \frac{K \times D \times 10^{-6} \times MW \times 100}{\text{ปริมาณมูลฝอยตัวอย่าง (g)}}$$

เมื่อ K = ค่า K ที่อ่านได้จากเครื่อง Inductively Coupled Plasma Spectroscopy

D = ปริมาณการ Dilution

MW = เลขมวลโมเลกุล มีค่าเท่ากับ 19

ปริมาณมูลฝอยตัวอย่าง เท่ากับ 0.5 กรัม

3.7 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารที่ระเหยได้และคาร์บอน

3.7.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1) ตู้อบ (Hot air oven)
- 2) เครื่องชั่งน้ำหนัก
- 3) Descicator
- 4) เครื่องบดมูลฝอย
- 5) เตาเผา อุณหภูมิ 600-650 องศาเซลเซียส
- 6) Porcelain crucible
- 7) ถาดอลูมิเนียม
- 8) ถุงมือกันความร้อน

3.7.2 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารที่ระเหยได้และคาร์บอน

- 1) นำมูลฝอยที่อบแห้งมาบดด้วยเครื่องบดมูลฝอยให้มีขนาด 1.0 มิลลิเมตร
- 2) นำตัวอย่างมูลฝอยที่บดแล้ว เข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นใน Descicator
- 3) สุ่มตัวอย่างมูลฝอยมาประมาณ 3-6 กรัม ใส่ใน Porcelain crucible ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว แล้วนำไปชั่งรวมกับมูลฝอย แล้วจดบันทึกค่า
- 4) นำมูลฝอยที่ชั่งแล้วไปเผาในเตาเผาอุณหภูมิ 600-650 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นใน Descicator เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง
- 5) นำ Porcelain crucible มาชั่งน้ำหนักอีกครั้ง แล้วจดบันทึกค่า

3.7.3 การคำนวณปริมาณสารที่ระเหยได้(Volatile Solid)

$$V = \frac{(W1-W2) \times 100}{W1}$$

- เมื่อ
- V = ร้อยละของปริมาณสารที่ระเหยได้
- W1 = น้ำหนักมูลฝอยก่อนเผา
- W2 = น้ำหนักมูลฝอยที่เหลือหลังจากการเผา

3.7.4 การคำนวณปริมาณคาร์บอนของมูลฝอย

$$\text{Carbon (\%)} = \frac{\text{Volatile Solid (\%)}}{1.8}$$

3.7.5 การคำนวณอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน

$$\text{อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน} = \frac{\text{เปอร์เซ็นต์คาร์บอน}}{\text{เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจน}}$$

3.8 วิธีการวิเคราะห์ความชื้น

3.8.1 เครื่องมือและอุปกรณ์อุปกรณ์

- 1) ฝ้ายาง
- 2) เครื่องชั่งน้ำหนัก
- 3) ถังมือกันความร้อน
- 4) ถาดอลูมิเนียม
- 5) ตู้อบ (Hot air oven)

3.8.2 วิธีการวิเคราะห์ความชื้น

- 1) นำมูลฝอยสดที่ทำการสุ่มตัวอย่างแล้ว นำมาชั่งน้ำหนักแล้วใส่ถาดอลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิประมาณ 75-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จนกระทั่งแห้งสนิท
- 2) นำตัวอย่างมูลฝอยที่อบแห้งสนิทแล้ว มาชั่งน้ำหนัก น้ำหนักที่ได้คือ น้ำหนักตัวอย่างมูลฝอยที่คงที่

3.8.3 การคำนวณปริมาณความชื้น

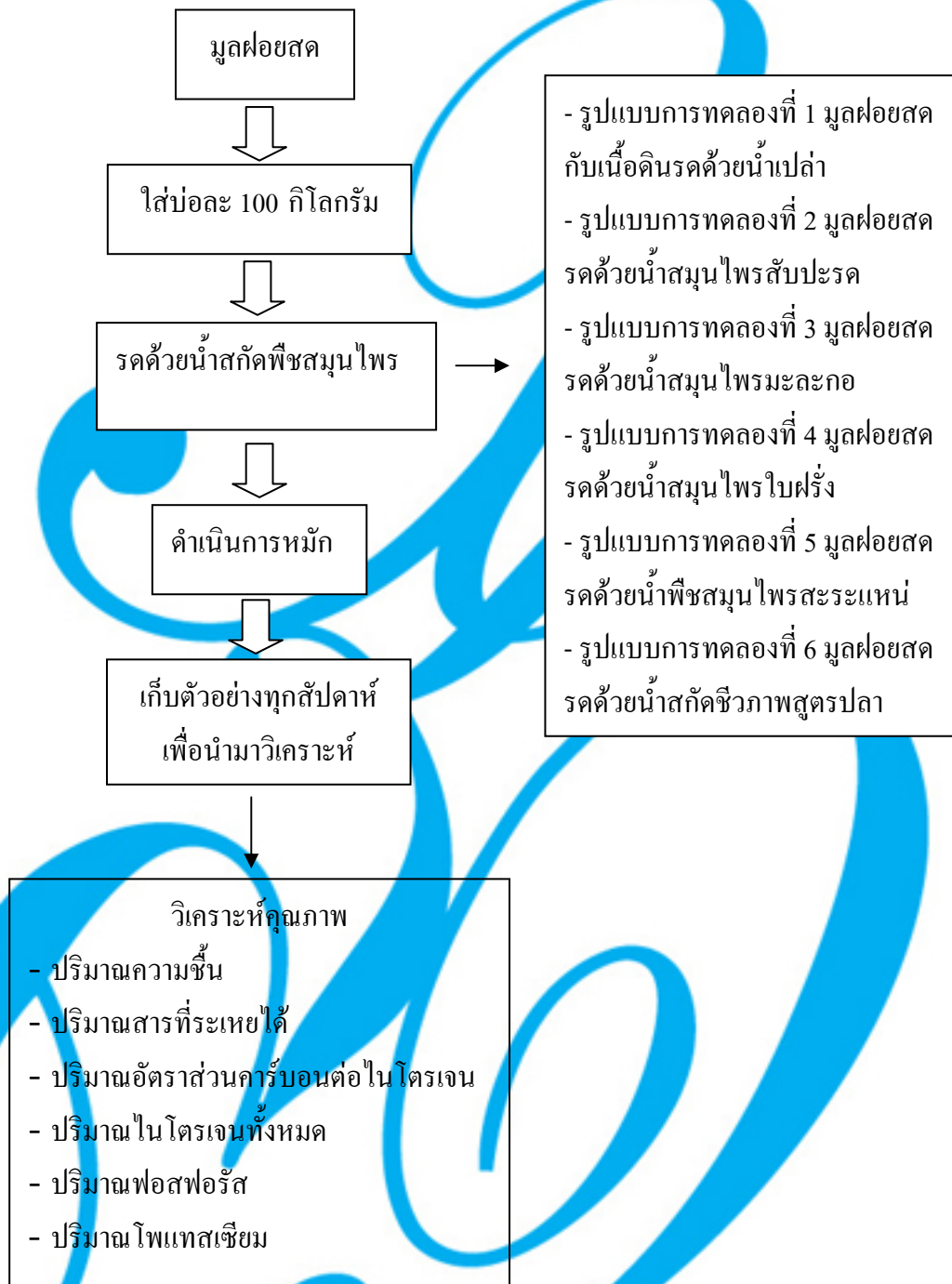
$$W = \frac{(W1-W2) \times 100}{W1}$$

เมื่อ W = ร้อยละของปริมาณความชื้น

W1 = น้ำหนักมูลฝอยก่อนอบ

W2 = น้ำหนักมูลฝอยหลังจากการอบ

3.9 แผนผังแสดงวิธีดำเนินการวิจัย



ภาพที่ 3 แผนผังแสดงวิธีดำเนินการวิจัย