



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืช

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

## 1. การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืช

### 1.1 การอบตัวอย่าง

ตัวอย่างพืช ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยเพื่อการเกษตร นำมาใส่ภาชนะทนความร้อน (หรือถ้าเป็นตัวอย่างพืชสภาพค่อนข้างแห้งบรรจุในถุงกระดาษ สามารถนำเข้าตู้อบได้) อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 65-70 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง หรือมากกว่านั้น หากตัวอย่างมีสภาพความชื้นสูง ส่วนตัวอย่างน้ำหนักชีวภาพไม่ต้องผ่านขั้นตอนการอบ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553)

### 1.2 การบดตัวอย่าง

ตัวอย่างพืชและปุ๋ยอินทรีย์ เมื่ออบจนแห้งแล้วจะต้องนำไปบดด้วยเครื่องบดให้มีขนาดอนุภาคเล็ก ผ่านช่องตะแกรงขนาด 2 มม. บรรจุตัวอย่างในถุงพลาสติกขนาดเล็กที่ปิดปากถุงได้ เขียนหมายเลขตัวอย่างที่ข้างถุง เพื่อเตรียมวิเคราะห์ต่อไป สำหรับการวิเคราะห์หาขนาดอนุภาคของปุ๋ยและปุ๋ย การวิเคราะห์หาปริมาณหินกรวด สิ่งเจือปน หรือวัสดุแหลมคมของปุ๋ยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการบด (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553)

### 1.3 การวิเคราะห์ไนโตรเจน (Total N)

#### เครื่องมือและอุปกรณ์

- เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- ตู้ดูดควัน (Hood)
- เครื่องย่อยของเคลดาล (Kjeldahl digestion apparatus) หรือเตาย่อยชนิดพิเศษที่มีลักษณะเป็นแท่งโลหะสี่เหลี่ยมมีช่องบรรจุหลอด (Digestion block หรือ heat block)
- เครื่องกลั่นของเคลดาล (Kjeldahl distillation apparatus) หรือเครื่องกลั่นของหลอดแก้ว (Distilling unit)
- หลอดแก้ว Kjeldahl flask ขนาด 800 ml หรือ หลอดแก้ว Digestion tube ขนาด 250 ml
- ขวดแก้วรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 500 ml หรือ 250 ml
- บิวเรต (Burette) ขนาด 50 ml
- ปิเปต (Pipette) หรือ กระจกตวง (Cylinder)

## ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

#### สารเคมีและวิธีเตรียม

- กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)
- เกล็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Commercial grade NaOH) อัตราส่วน 1:1 เตรียมจากเกล็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 กก. ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ A.R. grade 40% เตรียมจากโซเดียมไฮดรอกไซด์ 400 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร

- กรดบอริก (Boric acid) 3 % เตรียมจากกรดบอริก 300 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 ลิตร
- สารสำเร็จรูปอัดเม็ด (Kjeltabs) ประกอบด้วย 3.5 กรัม ของ  $K_2SO_4$  และ 3.5 มก. ของ Se หรือ Mixed catalyst ที่ประกอบด้วย  $K_2SO_4$ ,  $Cu SO_4 \cdot 10H_2O$  และ Se ในอัตราส่วน 100:10:1 ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน
- อินดิเคเตอร์ผสม (Mixed indicator) เตรียมได้จากการละลาย 0.22 กรัม bromocresol green และ 0.075 กรัม methyl red ละลายใน 95% ethyl alcohol จำนวน 96 มล. เติม NaOH 0.1 M ปริมาตร 3.5 มล. ผสมเข้าด้วยกัน
- สารละลายกรดเกลือมาตรฐาน 0.1 M เตรียมโดยไทเทรตกับสารละลายต่างที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนโดยสารละลายต่างได้ถูก standardize ด้วย potassium acid phthalate สูตรโมเลกุล  $KHC_8H_4O_4$  มีความบริสุทธิ์สูงมาก เกือบไม่ดูดความชื้นเลยเป็น primary standard ควรอบให้แห้งด้วยการอบที่  $120^\circ C$  เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ใช้ phenolphthalein เป็น indicator หรืออาจเตรียมโดยไทเทรตกับ  $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$  ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน โดยใช้ methyl red เป็น indicator

### วิธีวิเคราะห์

#### 1.1 การย่อยสลาย (digestion)

- ชั่งตัวอย่างที่อบและบดละเอียดแล้ว 0.5-1.00 กรัม (ผ่านการอบที่  $65-70^\circ C$  เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) บนกระดาษกรองและห่อใส่ใน Kjeldahl flask ขนาด 800 ml หรือหลอดย่อย digestion tube ขนาด 250 มล. เติมสารสำเร็จรูปอัดเม็ดจำนวน 2 เม็ด
- เติม conc  $H_2SO_4$  20ml ลงใน Kjeldahl flask หรือ 15 ml ลงในหลอดแก้ว
- ทำ blank และตัวอย่างอ้างอิง (reference sample) โดยวิธีเดียวกัน
- นำไปย่อยใน Kjeldahl digestion apparatus ใช้อุณหภูมิประมาณ  $100^\circ C - 250^\circ C - 400^\circ C$  หรือ digestion block ใช้อุณหภูมิประมาณ  $400^\circ C$  จนได้สารละลายใสใช้เวลาประมาณ 2 ชม. ทิ้งไว้ให้เย็นเติมน้ำกลั่น 400 มล. หรือถ้าอุปกรณ์ในการย่อยเป็นหลอดแก้วเติมน้ำกลั่น 75 มล. จนได้สารละลายใส

#### 1.2 การกลั่น (distillation)

- เครื่อง Kjeldahl : ใส่สารละลายกรดบอริก 50 มล. ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 มล. หยด Mixed indicator 4-5 หยด นำไปวางรองรับ distillate จากเครื่องกลั่นโดยให้ปลายหลอดแก้วจุ่มอยู่ในสารละลายบอริก แล้วเติมสารละลายเกล็ดโซเดียมไฮดรอกไซด์ (1:1) จำนวน 50 มล. ลงใน Kjeldahl flask ที่มีสารละลายตัวอย่าง ทำการกลั่น (ประมาณ 1 ชม.) จนได้ปริมาตร 250 มล. แล้วนำไปไทเทรต
- เครื่องกลั่นสำหรับ block : ใส่สารละลายกรดบอริก 25 มล. ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml หยด Mixed indicator 4-5 หยด ในทำนองเดียวกันเติมสารละลายต่าง (NaOH 40%) ลงในหลอดแก้ว ที่มีสารละลายตัวอย่างปริมาตร 50 มล. จากเครื่องทำการกลั่นจนได้ปริมาตร 150 มล. ใช้เวลาประมาณ 7-10 นาที แล้วนำไปไทเทรต

### 1.3 การไทเทรต

- ไทเทรตของเหลวที่กลั่นได้ด้วย HCl มาตรฐานความเข้มข้น 0.1 M จนกระทั่งสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง (purple) คือจุดยุติ (end point)
- ไทเทรต blank ในทำนองเดียวกัน

### 1.4 การคำนวณ

$$\% N = \frac{(a-b) c \times 1.401}{g}$$

- a = มล. ของกรดที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง
- b = มล. ของกรดที่ใช้ในการไทเทรต blank
- c = ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ (molar)
- g = น้ำหนักแห้งของตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (กรัม)

ถ้าตัวอย่างเป็นน้ำหมักชีวภาพ วิเคราะห์ในทำนองเดียวกัน แต่จะต้องเขย่า แล้วใช้กระบอกตวงตวงสารตัวอย่างประมาณ 2-5 มล. (ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำหมักชีวภาพนั้น) เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนต่อไป (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553)

### 1.4 การวิเคราะห์ฟอสฟอรัส (Total P)

#### เครื่องมือและอุปกรณ์

- UV-Spectrophotometer
- เตาให้ความร้อน (Hot plate)
- เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- อุปกรณ์เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

#### สารเคมีและวิธีเตรียม

- น้ำยาที่ทำให้เกิดสี ammonium vanadomolybdate หรือ Barton's reagent ประกอบด้วย น้ำยา A - เตรียมจากการละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต (ammonium molybdate- $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ ) 25g ในน้ำกลั่น 400ml น้ำยา B - เตรียมจากแอมโมเนียมเมตาวานาเดท (ammonium meta vanadate -  $NH_4VO_3$ ) 1.25g ในน้ำกลั่นที่อุ่นให้ร้อน 300ml ทิ้งให้เย็นแล้วเติมกรด  $HNO_3$  เข้มข้นลงไป 250ml นำ A และ B มาผสมกัน ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

- สารละลายฟอสฟอรัสมาตรฐาน (Standard Phosphorus หรือ Stock Standard Solution) 50 mg/L เตรียมโดยชั่ง potassium dihydrogen phosphate -  $KH_2PO_4$



ซึ่งผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยชั่ง 0.2195 g ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร จะได้สารละลายซึ่งมีฟอสฟอรัสอยู่ 50 mg/l หรือจะเตรียมเป็นสารละลายฟอสฟอรัส 1000 mg/l ก็ได้ โดยชั่ง  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  4.393 g ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C เมื่อจะใช้เป็น working standard ก็เตรียมสารละลายฟอสฟอรัส 50 หรือ 100 mg/l โดยวิธีเจือจางได้ตามต้องการ

### วิธีวิเคราะห์

2.1 การเตรียม working standard – โดยปิเปต 0, 1, 2, 3 และ 4 ml จากสารละลายฟอสฟอรัสมาตรฐาน 50 mg/l ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 ml เติมน้ำยา Barton 5 ml ปรับปริมาตรให้เป็น 25 ml ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน เพื่อเตรียมความเข้มข้นของ P เป็น 0, 2, 4, 6, 8 mg/l

2.2 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง – โดยดูดสารละลายตัวอย่าง 5 ml ที่ผ่านกระบวนการย่อยสลาย (digestion) ลงใน volumetric flask ขนาด 25 ml เติมน้ำยา Barton 5 ml ปรับปริมาตรให้เป็น 25 ml ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้ให้เกิดสีสมบูรณ์อย่างน้อย 30 นาที

2.3 ก่อนการวัด อุ่นเครื่อง UV-Spectrophotometer ไว้ประมาณ 30 นาที ตั้งความยาวคลื่น (wavelength) ของเครื่องที่ 420 nm. ทำ standard curve จาก working standard 0, 2, 4, 6, 8 mg/l ก่อนแล้วจึงวัด blank พร้อมทั้งตัวอย่างอ้างอิงและตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์

2.4 วัดความเข้มข้นของสีในสารละลายตัวอย่างด้วยเครื่อง UV-Spectrophotometer ความเข้มของสีจะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับปริมาณความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในตัวอย่าง (ตัวอย่าง blank และตัวอย่างอ้างอิงก็ทำในทำนองเดียวกัน)

### 2.5 การคำนวณ

$$\% P = \frac{r \times 100 \times \text{d.f.} \times 100}{106 S}$$

$$r = \text{ค่าที่อ่านได้จากเครื่องหน่วยเป็น ppm}$$

$$\text{d.f.} = \text{dilution factor เช่น } 25/5 \text{ หรือ } 25/1$$

$$S = \text{น้ำหนักตัวอย่างที่ชั่ง}$$

ถ้าต้องการผลวิเคราะห์ในรูปของ  $\text{P}_2\text{O}_5$  ใช้ factor 2.2914 คูณค่า P ที่ได้ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553)

### 1.5 การวิเคราะห์โพแทสเซียม (Total K)

#### เครื่องมือ/สารเคมีที่ใช้

- Flame photometer
- เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- KCl AR. Grade

- conc.  $\text{HNO}_3$

### วิธีวิเคราะห์

3.1 การเตรียม Stock standard solution (1000 ppm K) –ชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ที่ผ่านการอบแห้งที่  $110^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 1.9067 g ละลายในน้ำกลั่น 200 ml เติมกรดไนตริกเข้มข้น (Concentrated nitric acid) ลงไป 12 ml แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ  $4^\circ\text{C}$  เพื่อไว้เตรียม standard solution ที่มีความเข้มข้น 100 ppm K (intermediate solution) โดยการปิเปต 10 ml จาก stock solution 1000 ppm K ลงใน volumetric flask 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วยน้ำกลั่น

3.2 การเตรียม Working standard solution –ประกอบด้วยโพแทสเซียมที่มีความเข้มข้นเป็น 0, 2, 4, 6 และ 8 ppm ซึ่งเตรียมโดย

ความเข้มข้นของ K เป็น ppm จำนวน มล. ที่ pipette จาก standard K 100 ppm

0	0
2	2
4	4
6	6
8	8

ปรับปริมาตรของสารละลายในขวดวัดปริมาตรเป็น 100 ml ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน เพื่อเตรียมเป็น standard K ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

3.3 การวัดค่าความเข้มข้นของโพแทสเซียมในสารละลายตัวอย่าง

เปิดเครื่อง Flame photometer ก่อนปฏิบัติงานประมาณ 30 นาที เจือจางสารละลายตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:10 วัดความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเพื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ K ในสารละลายตัวอย่าง ถ้าค่าที่อ่านได้จากสารละลายตัวอย่างมีค่าเกิน standard ต้องเจือจางสารละลายตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น เป็น 1:20 หรือมากกว่านั้นตามความเหมาะสม

3.4 การคำนวณ

ปริมาณธาตุโพแทสเซียมในตัวอย่าง (หน่วย ppm)

$$\% \text{ K} = \frac{r \times 100 \times \text{d.f.} \times 100}{106 \text{ S}}$$

r = ค่าที่อ่านได้จากเครื่อง หน่วยเป็น ppm

S = น้ำหนักของตัวอย่างที่ชั่ง

d.f. = dilution factor ควรจะเป็น 10/1 หรือ 20/1 หรือมากกว่า ถ้าไม่ได้เจือจางสารละลายตัดค่า d.f. ออกไป

ถ้าต้องการผลวิเคราะห์ในรูปของ  $\text{K}_2\text{O}$  ใช้ factor 1.205 คูณค่า K ที่ได้ (กรมพัฒนา

ที่ดิน, 2553)

## 1.6 การวิเคราะห์ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

### เครื่องมือ/สารเคมีที่ใช้

- pH meter
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- สารละลาย Buffer มาตรฐาน pH 4, 7 และ 10
- Saturated 3M KCl electrolyte

### วิธีวิเคราะห์

- 4.1 ชั่งตัวอย่างปุ๋ย 5 กรัม เติมน้ำกลั่น 10 มล. ในกรณีที่ตัวอย่างปุ๋ยดูดซับน้ำกลั่นมาก ให้เติมน้ำกลั่นเพิ่มอีก 10 มล. ถ้าเป็นตัวอย่างปุ๋ยชั่ง 35 กรัม เติมน้ำกลั่น 35 มล. เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที จนสารละลายแยกชั้น
- 4.2 เปิดเครื่อง pH meter ทำการวอร์มเครื่องประมาณ 15 นาที
- 4.3 ตัวอย่างปุ๋ยใช้สารละลาย Buffer มาตรฐาน pH 4 และ 7 ในการ calibrate เครื่อง ส่วนตัวอย่างปุ๋ยใช้สารละลาย Buffer มาตรฐาน pH 7 และ 10 ในการ calibrate เครื่อง
- 4.4 นำตัวอย่างปุ๋ยหรือปุ๋ยไปวัดค่า pH จนครบ
- 4.5 ล้างขั้ว glass electrode ให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปแช่ในสารละลาย 3M KCl ปิดเครื่อง (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553)