

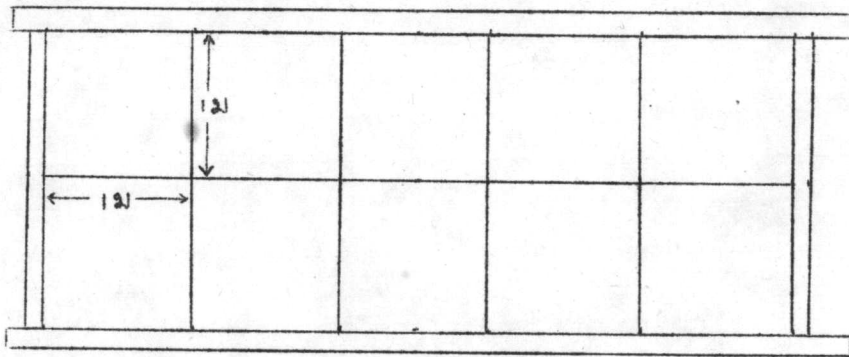
อุปกรณ์และวิธีทำการวิจัย

การศึกษากำจัดผลึกของผักตบชวาแบ่งออกเป็น 3 หัวข้อคือ

1. ศึกษาการเจริญเติบโตของผักตบชวาเป็นระยะ ๆ เพื่อระยะเวลาที่ผักตบชวาเจริญเต็มที่

1.1 หาน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักตบชวา

นำไม้ไผ่ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 8 - 12 ซม. มาตัดเป็นท่อนทำแพดังรูป



กรอบรอบนอกของแพไม้ไผ่ใช้ไม้ไผ่เป็นท่อน ส่วนตารางตรงกลางใช้ไม้ไผ่ผ่าซีกประมาณ $\frac{1}{6}$ ของท่อนไม้ไผ่ แต่ละช่องให้มีพื้นที่ 1 ตารางเมตร แพไม้ไผ่ 1 แพ มี 10 ช่องหรือ 10 ตารางเมตร ทำแพไม้ไผ่ทั้งหมด 4 แพ จะได้พื้นที่ที่จะปลูกผักตบชวาทั้งหมด 40 ตารางเมตร หรือ 40 ช่อง แพไม้ไผ่เหล่านี้จะลอยอยู่บนผิวน้ำตลอดเวลา

เก็บเอาต้นผักตบชวาขนาดเล็ก ๆ ที่แต่ละต้นมีขนาดความยาวจากปลายรากถึงปลายใบประมาณ 10 - 15 ซม. นำเอาต้นผักตบชวาเล็ก ๆ นี้มาแยกออกเป็นต้นเดี่ยว ๆ เพราะผักตบชวาเล็ก ๆ มักจะมี stolon แตกออกไป ทำให้ต้นผักตบชวาเล็ก ๆ เชื่อมโยงติดกัน นำเอาผักตบชวาเล็ก ๆ เหล่านี้ปลูกลงในสระน้ำที่จะทำการทดลองก่อนสัก 3 - 4 วัน เพื่อให้ต้นผักตบชวาเล็ก ๆ เหล่านี้ปรับตัวเข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ได้เสียก่อน หลังจากต้นผักตบชวาเล็ก ๆ ตั้งตัวได้แล้วนำมาปลูกลงในตารางของแพไม้ไผ่ในสระน้ำนั้น โดยชั่งผักตบชวาใส่ลงตารางเมตรละ 500 กรัม

เก็บผลการทดลองเป็นระยะ ๆ ระยะละ 3 ชั่วโมงโดยวิธีสุ่มตัวอย่างแต่ละระยะ ใช้เวลาห่างกัน 15 วัน เป็นเวลานาน 6 เดือน ผลที่เก็บนั้นเก็บทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง โดยนำเอาต้นผักตบชวาในแต่ละตารางที่เก็บมานั้นขึ้นมาชั่งน้ำหนักสดทั้งหมด แล้วนำผักตบชวานั้นไปอบให้แห้งในตู้อบแล้วชั่งน้ำหนักแห้ง ผักตบชวาที่อบแห้งเหล่านี้เก็บไว้ศึกษาปริมาณ ไนโตรเจน, ฟอสฟอรัสและโปแตสเซียม ที่มีอยู่ในต้นผักตบชวา ตามวิธีที่จะกล่าวถึงในข้อ 3 ต่อไป

1.2 ศึกษาการแตกกอของผักตบชวา

การเจริญของผักตบชวาแต่ละต้นนั้นจะมี stolon ออกออกไปเจริญเป็นต้นใหม่เรื่อย ๆ จนกระทั่งเต็มพื้นที่ที่ผักตบชวาสามารถจะเจริญได้ การศึกษาการแตกกอของผักตบชวาเพื่ออัตราการเพิ่มของต้นผักตบชวาต่อวัน ศึกษาโดยวิธีดังนี้คือ เลือกว่าเอาต้นผักตบชวาเล็ก ๆ ที่มีขนาดเท่า ๆ กันมา 10 ต้น แล้วนำแต่ละต้นปลูกลงในตารางของแฟ้มไม้ไผ่ที่ทำไว้ตามวิธีที่กล่าวมาแล้ว โดยปลูกตารางละ 1 ต้นเท่ากันหมด แล้วคอยนับจำนวนต้นของผักตบชวาที่เพิ่มขึ้นในแต่ละตารางเมตร เป็นระยะ ๆ โดยแต่ละระยะใช้เวลาห่างกัน 1 สัปดาห์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ แล้วนำเอาจำนวนต้นผักตบชวาที่นับได้ไปหาค่าเฉลี่ยแล้วคำนวณหาอัตราการเพิ่มของผักตบชวาต่อวัน

2. ศึกษาปริมาณของไนโตรเจน, ฟอสฟอรัสและโปแตสเซียมในน้ำ ในสระที่ปลูกผักตบชวา

การศึกษาปริมาณของไนโตรเจน, ฟอสฟอรัสและโปแตสเซียม ในน้ำในสระที่ปลูกผักตบชวานั้น ศึกษาโดยนำเอาน้ำจากสระที่ปลูกผักตบชวามาวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน, ฟอสฟอรัสและโปแตสเซียม น้ำที่นำมาวิเคราะห์นั้นจะเก็บมาทุก ๆ 15 วัน ตามระยะเวลาที่เก็บผลน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักตบชวา โดยเริ่มตั้งแต่วันที่เริ่มปลูกผักตบชวาลงในแฟ้มไม้ไผ่

2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน

2.1.1 Special Reagents

1. Concentrated Ammonium Chloride Solution

เตรียมโดยละลาย analytical reagent quality ammonium chloride 35 กรัม ในน้ำกลั่น 100 ม.ล. แล้วเก็บไว้ในขวดแก้วหรือขวดพลาสติก

2. Dilute Ammonium Chloride Solution

เตรียมโดย dilute concentrated ammonium chloride solution 10 ม.ล. ด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 400 ม.ล. แล้วเก็บไว้ในขวดแก้วหรือขวดพลาสติก

3. Sulphanilamide Solution เตรียมโดย

ละลาย sulphanilamide 2.5 กรัม ลงในสารผสมของกรด hydrochloric เข้มข้น 25 ม.ล. กับน้ำกลั่น 150 ม.ล. จากนั้น dilute ด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 250 ม.ล. แล้วเก็บ solution นี้ไว้ในขวดแก้วซึ่งเก็บไว้ได้หลายเดือน

4. N-(1-Naphthyl)- Ethylene diamine

Dihydrochloride solution เตรียมโดยละลาย dihydrochloride 0.25 กรัม ในน้ำกลั่น 250 ม.ล. แล้วเก็บ solution ไว้ในขวดสีชา solution นี้ควรเตรียมใหม่เดือนละครั้ง

5. Hydrogen peroxide ใช้ analytical

reagent quality "30%" solution

6. Deionized distilled water

2.1.2 วิธีเตรียม column

ตะไบ cadmium metal ให้เป็นผงขนาด 0.5 - 2.0 ม.ม. เสร็จแล้วเติมผง cadmium นหนัก 50 กรัม ลงใน 2% w/v

copper sulphate pentahydrate solution ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 250 ม.ล. แล้วคนไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งสีฟ้าของ solution จางหายไป และมี semi-colloidal copper particles ปรากฏอยู่ใน supernatant liquid ส่วนที่เป็นตะกอนเรียกว่า Cadmium Copper ใส่ glass wool ลงไปที่ปลายสุดของ column แล้วเติม dilute ammonium chloride solution ลงใน column จากนั้นค่อย ๆ เติม cadmium copper ลงไปจนเกือบเต็ม column ระวังอย่าให้มีฟองอากาศอยู่ใน column เมื่อเตรียม column เรียบร้อยแล้วก็ล้าง column ด้วย dilute ammonium chloride solution ตรวจดู flow rate ของ column ให้อยู่ระหว่าง 8 - 12 นาที ต่อ dilute ammonium chloride solution 100 ml. ถ้า flow rate ต่ำกว่า 8 นาที ควรเตรียม column ใหม่ให้แน่นกว่าเดิม หรือถ้า flow rate สูงกว่า 12 นาที ก็ต้องเตรียม column ให้หลวมกว่าเดิมและเมื่อยังไม่ใช้ column ไม่ควรทิ้งไว้ให้แห้ง จะต้องเติม dilute ammonium chloride solution ให้อยู่เหนือระดับของ cadmium copper ตลอดเวลา

2.1.3 การตรวจประสิทธิภาพของ Column

ก่อนจะใช้ reduction column ควรจะตรวจดูประสิทธิภาพของ column และดูว่าควรจะมี effluent ใน portion ไหน การตรวจประสิทธิภาพทำได้โดยเตรียม standard nitrate solution และ standard nitrite solution ให้มีความเข้มข้นเท่ากันพอดี และใช้ปริมาณเท่า ๆ กัน นำ standard nitrate solution ไปผ่าน column จากนั้นเก็บ effluent ที่ออกมาจาก column แล้วนำไป develop สี (ตามวิธีที่จะกล่าวในวิธีวิเคราะห์) เปรียบเทียบกับ standard nitrite solution วัด optical density (O.D.) โดยใช้ Spectrophotometer แล้วเปรียบเทียบดูว่า column มีประสิทธิภาพในการ reduce nitrate ให้เป็น

nitrite โค้กเปอร์เซนต์ โดยปกติ column ที่จะใช้โค้กต้องมีประสิทธิภาพมากกว่า 90% ส่วนการหาควาควรจะเก็บ effluent ที่ส่วนไหนก็ทำได้โดยใช้ standard nitrate solution ผ่าน column แล้วเก็บ effluent เป็นส่วน ๆ ใน 1 standard อาจแบ่งเก็บเป็น 5 - 7 ส่วน แล้วนำแต่ละส่วนมา develop สีแล้ววัด O.D. แล้วเขียนกราฟระหว่าง O.D. กับอันดับของส่วนต่าง ๆ ที่เก็บมา จากกราฟจะสามารถบอกได้ว่าควาควรจะเก็บ effluent ในส่วนใด

2.1.4 วิธีวิเคราะห์

ล้างบีกเกอร์ขนาด 800 ม.ล. ที่จะใช้ใส่ sample สำหรับผ่านแสง ultraviolet ด้วยน้ำ sample ที่จะหาปริมาณไนโตรเจน 2 - 3 ม.ล. แล้วเติมน้ำนั้น 125 ม.ล. ลงในบีกเกอร์ พร้อมกับหยด hydrogen peroxide 2 - 3 หยด ลงในบีกเกอร์ด้วย เพื่อให้มีปริมาณของออกซิเจนอยู่ในน้ำ sample ที่จะวิเคราะห์เพียงพอต่อการ oxidation และการ oxidation นี้ยังขึ้นกับ pH ด้วย ดังนั้นจึงต้องปรับให้น้ำที่จะวิเคราะห์นั้นมี pH ที่เหมาะสมคือ 6.0 - 8.5 โดยเติม NaHCO_3 0.2 กรัมค่อนน้ำ sample 1 ลิตร แล้วเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปผ่านแสง ultraviolet เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปล่อยให้บีกเกอร์และ sample เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง แล้วใช้ sample 2 - 3 ม.ล. ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 100 ม.ล. แล้ววัดอีก 100 ม.ล. ใส่ลงใน flask นี้ นำ sample นี้ไปหาปริมาณไนโตรเจนโดยใช้ reduction column ด้วยวิธีดังนี้

1. เติม concentrated ammonium chloride solution 2 ม.ล. ลงใน sample เขย่า flask แล้วรินลงใน reduction column เก็บ effluent ในส่วนที่ต้องการที่ผ่านออกมา จาก column โดย 40 ม.ล. แรกที่ออกมาจาก reduction column นั้นทิ้งไป แล้วเก็บเอา 50 ม.ล. ที่ออกจาก reduction column คอมาไว้

2. เติม sulphanimide solution 1 ม.ล. ลงใน effluent โดยใช้ pipette แล้วตั้งทิ้งไว้เพื่อให้ reagent ทำปฏิกิริยากับ sample ประมาณ 2 - 8 นาที แล้วเติม naphthyl-ethylenediamine dihydrochloride solution 1 ม.ล. ลงไปเขย่าให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว แล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที (ต้องไม่นานเกิน 2 ชั่วโมง) แล้ววัด O.D. ของ sample ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยใช้ cell ขนาด 1 ซม. โดยวัดเทียบกับ blank ที่เป็นน้ำกลั่นที่ wavelength 543 mμ

2.1.5 วิธีคำนวณ

เตรียม standard nitrate solution โดยละลาย potassium nitrate, (KNO_3) analytical quality 0.255 กรัม ในน้ำกลั่น 250 ม.ล. แล้วเก็บ solution นี้ไว้ในขวดแก้ว 1 ม.ล. ของ standard nitrate solution จะมี 10.0 μg nitrogen ใช้ solution นี้เป็น stock nitrate solution

นำ stock nitrate solution มา dilute ให้ได้ nitrate solution ที่มีความเข้มข้น 5, 10, 15 และ 20 μg-N/lit ดังนี้

1. เติมน้ำ stock nitrate solution 1.00 ม.ล. มา dilute ด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 500 ม.ล. ก็จะได้ nitrate solution ที่มีความเข้มข้น 20 μg - N/lit

2. จาก nitrate solution ที่มีความเข้มข้น 20 μg - N/lit นี้เอามา 50, 100 และ 150 ม.ล. ใส่ในบีกเกอร์แยกกัน แล้ว dilute solution ในแต่ละบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 200 ม.ล. เท่ากันหมด ก็จะได้ nitrate solution ที่มีความเข้มข้น 5, 10 และ 15 μg-N/lit ตามลำดับ

จาก nitrate solution ที่เตรียมได้ทั้ง 4 อันดับคือ 5, 10, 15 และ 20 $\mu\text{g-N/lit}$ นำไปวิเคราะห์เช่นเดียวกับวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์แล้ววัด O.D. นำค่า O.D. ที่ได้กับค่าความเข้มข้นของ nitrate solution ที่ใช้ไปเขียนกราฟ โดยให้แกนตั้งเป็นค่า O.D. และแกนนอนเป็นค่าความเข้มข้นของ standard nitrate solution ต่าง ๆ จะได้ standard curve ส่วนปริมาณไนโตรเจนใน sample นั้นจะหาได้โดยการวิเคราะห์เช่นเดียวกันแล้วนำค่า O.D. มาอ่านจาก standard curve

2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส

2.2.1 Special Reagents

1. Ammonium Molybdate Solution เตรียม

โดยละลาย ammonium paramolybdate, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ analytical quality 7.5 กรัม ในน้ำกลั่น 250 ม.ล. แล้วเก็บไว้ในขวดแก้วหรือขวดพลาสติก solution นี้จะอยู่ตัวตลอดไปถ้าไม่ถูกแสง

2 Sulphuric Acid Solution เตรียมโดย

เติม concentrated sulphuric acid (sp.gr. 1.82) analytical quality 70 ม.ล. ลงในน้ำกลั่น 450 ม.ล. ปล่อยให้ solution เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วเก็บไว้ในขวดแก้ว

3. Ascorbic Acid Solution เตรียมโดย

ละลาย ascorbic acid 13.5 กรัม ในน้ำกลั่น 250 ม.ล. เก็บ solution ไว้ในขวดพลาสติกแล้วแช่ให้แข็งใน freezer และหลังจากที่ใช้แล้วก็ต้องแช่ให้แข็งใหม่ solution นี้เก็บไว้ได้หลายเดือน แต่ถ้างั้วที่อุณหภูมิห้องจะอยู่ได้ไม่เกิน 1 สัปดาห์

4. Potassium Antimonyl Tartrate Solution

เตรียมโดยละลาย potassium antimonyl tartrate (tartrate emetic) 0.34 กรัม ลงในน้ำกลั่น 250 ม.ล. (อาจจะอุ่นสารละลายนี้ได้อา solute ละลายไม่หมด) และเก็บ solution ไว้ในขวดแก้วหรือขวดพลาสติก

5. Mixed Reagent เตรียมโดยผสม ammo-

nium molybdate 20 ม.ล., sulphuric acid 50 ม.ล., ascorbic acid 20 ม.ล. และ potassium antimonyl tartrate solution 10 ม.ล. เข้าด้วยกัน mixed reagent ปริมาณดังกล่าวนี้ใช้กับ sample โค้ประมาณ 10 samples และ mixed reagent ที่เตรียมขึ้น ไม่ควรจะเก็บไว้นานเกินกว่า 6 ชั่วโมง

6. Hydrogen peroxide ใช้ analytical quality "30%" solution

2.2.2 วิธีวิเคราะห์

ล้างบีกเกอร์ขนาด 800 ม.ล. ที่จะใช้ใส่ sample สำหรับผ่านแสง ultraviolet ด้วยน้ำที่หาปริมาณฟอสฟอรัส ประมาณ 20 ม.ล. แล้วเติมน้ำนั้นอีก 60 ม.ล. ลงในบีกเกอร์ เติม hydrogen peroxide 1 - 2 หยด ลงในบีกเกอร์ เขย่าให้เข้ากันเช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจน นำบีกเกอร์และ sample ไปผ่านแสง ultraviolet เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง ซึ่งจากการทดลองพบว่า 1 ชั่วโมงเพียงพอที่จะ oxidise organic compounds ที่มี phosphate-ester หรือ phosphinic acid bonds ให้เป็น orthophosphate ได้ ปล่อยให้บีกเกอร์และ sample เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ล้าง glass-stopper cylinder ด้วย sample 2 - 3 ม.ล. แล้ววัดอีก 50 ม.ล. ใส่ลงใน cylinder นำ sample ใน cylinder ไปวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสด้วยวิธีต่อไปนี้

1. อุณหภูมิ sample ให้มีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง
15°ซ. - 30°ซ.
2. เติม mixed reagent ปริมาณ 10 ± 0.5 ม.ล.
ลงใน sample โดยใช้ measuring cylinder ขนาด 10 ม.ล. แล้วเขย่า
ให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว
3. ตั้งทิ้งไว้ให้นานเกินกว่า 5 นาที แต่ไม่ควรให้
นานเกิน 2 - 3 ชั่วโมง แล้วนำ sample ไปวัด O.D. ด้วยเครื่อง spectro-
photometer โดยใช้ cell ขนาด 1 ซม. และวัดเปรียบเทียบกับ blank
ที่เป็นน้ำกลั่นที่ wavelength 885 m μ

2.2.3 วิธีคำนวณ

เตรียม standard phosphate solution

โดยละลาย potassium dihydrogen phosphate, KH_2PO_4
analytical quality 0.204 กรัม ในน้ำกลั่น 250 ม.ล. แล้วเก็บไว้ในขวด
สีชา เติม chloroform solution 0.2 ม.ล. ลงไป จะทำให้ solution นี้
อยู่ได้หลายเดือน อันนี้เป็น stock phosphate solution
จะมี 6 $\mu\text{g-P}/1$ ม.ล.

นำ stock phosphate solution dilute ให้ได้ phosphate
solution ที่มีความเข้มข้น 6, 12, 18 และ 24 $\mu\text{g-P}/\text{lit}$ ดังนี้

1. เอา stock phosphate solution 2.00 ม.ล.
มา dilute ด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 500 ม.ล. จะได้ phosphate
solution ที่มีความเข้มข้น 24 $\mu\text{g-P}/\text{lit}$

2. จาก phosphate solution ที่มีความเข้มข้น 24 $\mu\text{g-P/lit}$ เอามา 50, 100 และ 150 ม.ล. ใส่ในบีกเกอร์แยกกันแล้ว dilute solution ในแต่ละบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 200 ม.ล. เท่ากันหมด จะได้ phosphate solution ที่มีความเข้มข้น 6, 12 และ 18 $\mu\text{g-P/lit}$ ตามลำดับ

จาก phosphate solution ที่เตรียมได้ทั้ง 4 อันดับคือ 6, 12, 18 และ 24 $\mu\text{g-P/lit}$ นำไปวิเคราะห์เช่นเดียวกับวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ แล้ววัด O.D. นำค่า O.D. ที่ได้กับค่าความเข้มข้นของ phosphate solution ที่ใช้ไปเขียนกราฟ โดยให้แกนตั้งเป็นค่า O.D. และแกนนอนเป็นความเข้มข้นต่าง ๆ ของ phosphate solution จะได้ standard curve ปริมาณฟอสฟอรัสใน sample จะหาได้โดยใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกันแล้วนำค่า O.D. มาอ่านจาก standard curve

2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณโปแตสเซียม

2.3.1 Reagents

1. Stock potassium solution เตรียมโดย ละลาย potassium chloride, KCl 1.907 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อยก่อน แล้วเติมน้ำกลั่นให้เป็น 1000 ม.ล. solution นี้จะมี K 1.00 mg/1.00 ม.ล.

2. Intermediate potassium solution เตรียมโดย dilute stock potassium solution 10.00 ม.ล. ด้วยน้ำกลั่นให้มี ปริมาตรเป็น 100 ม.ล. solution นี้จะมี K 100 μg /1.00 ม.ล.

3. Standard potassium solution เตรียมโดย dilute intermediate potassium solution 10.00 ม.ล. ด้วยน้ำกลั่นให้มี ปริมาตรเป็น 100 ม.ล. solution นี้จะมี K 10.00 μg /1.00 ม.ล.

2.3.2 วิธีวิเคราะห์

ก่อนตั้งนี้

ถูกของ

photometer

ให้ได้เท่ากับ 10 ปอนด์/ตารางนิ้ว
จุดไฟในขณะที่เครื่องมือยังเป็นอยู่

sample ผ่านเข้าเครื่อง

แล้วคอย ๆ ปรับ gas จนกระทั่งเห็นว่าเปลวไฟเป็นรูป cone สีน้ำเงินแยกกันอยู่
10 อัน

หมายเหตุ อย่าปรับ gas supply เพื่อที่จะเปลี่ยน sensitivity
ของเครื่องมือ

ให้ปรับเข็มชี้ scale ของเครื่อง flame photometer ให้อยู่ตรงเลขศูนย์

แทนน้ำกลั่น ปรับ sensitivity ให้เข็มชี้ที่เลข 100

ปรับให้เข็มชี้ที่เลขศูนย์อีกโดยใช้น้ำกลั่นแทน
standard potassium solution

000921

11. ปรับให้เข้มข้นที่เลข 100 อีกครั้งโดยใช้ standard potassium solution แทนน้ำกลั่น ปรับและทดสอบจนแน่ใจ
12. ปรับให้เข้มข้นที่เลขศูนย์ด้วยน้ำกลั่น
13. วัด sample แล้วอ่านค่า
14. ถ้า sample เข้มข้นเกินไป เข้มที่ชี้จะตก scale ควร dilute sample ด้วยน้ำกลั่นเสียก่อนแล้วจึงวัด
15. นำค่าที่อ่านได้มาคำนวณหาปริมาณโปแตสเซียม (โดยเทียบกับปริมาณของ standard potassium solution)

3. ศึกษาปริมาณของไนโตรเจน, ฟอสฟอรัสและโปแตสเซียมในต้นผักกบชา เป็นระยะ ๆ ของการเจริญเติบโต

นำเอาต้นผักกบชาที่อบแห้งแล้วมาบดให้เป็นผงละเอียดโดยใช้เครื่องบดเนื้อแล้วเก็บไว้ในขวดแก้ว โดยแต่ละระยะที่เก็บมาเอารวมกันไว้เป็น 1 ตัวอย่างเสร็จแล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน, ฟอสฟอรัสและโปแตสเซียมดังต่อไปนี้

3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน

3.1.1 Reagents

1. K_2SO_4 และ $CuSO_4$
2. H_2SO_4 Cone.
3. NaOH 40% เตรียมโดยละลาย NaOH 40 กรัม ลงในน้ำกลั่น 100 ม.ล.
4. Boric acid 3%
5. Standard HCl 0.1 N เตรียมโดย dilute concentrated HCl 9 ม.ล. ด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 1 ลิตร
6. Methyl red และ brom cresol green indicator

3.1.2 วิธีวิเคราะห์

ซึ่งผงดักคพบขาวที่อบแห้ง 1 กรัม ใส่ใน Kjeldahl flask และเติม catalysts ซึ่งประกอบด้วย K_2SO_4 10 กรัม และ $CuSO_4$ 0.5 กรัม แล้วเติม tri acid ซึ่งประกอบด้วย HNO_3 conc.: H_2SO_4 conc.: $HClO_4$ conc. = 10:1:3 โดยปริมาตรประมาณ 25 - 30 ม.ล. นำไป digest จนกระทั่งได้ solution ที่ใส (สีเขียว \rightarrow ฟ้า) ทิ้งไว้ให้เย็น

จาก solution ที่ digest ใสนี้ อาจจะนำไปกลั่นต่อเลยก็ได้โดยเติมน้ำกลั่นประมาณ $\frac{1}{2}$ ของ Kjeldahl flask แล้วใส่จุกแก้วเพื่อป้องกันไม่ให้เดือดออกมา สวม Kjeldahl flask เข้ากับเครื่องกลั่น เตรียม boric acid 3% ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 ม.ล. ประมาณ 75 ม.ล. เพื่อรองรับ NH_3 ที่ได้จากการกลั่น solution ใน Kjeldahl flask เติม NaOH 40% ประมาณ 75 - 80 ม.ล. ลงใน Kjeldahl flask เขย่าเล็กน้อยให้เข้ากัน แล้วจึงจุดไฟทำการกลั่น โดยจับเวลาตั้งแต่ solution เดือดไปแล้วประมาณ 30 นาที แล้วนำ flask boric acid ที่รองรับ NH_3 ไป titrate กับ standard HCl ที่มีความเข้มข้น 0.1N โดยใช้ methyl red และ brom cresol green เป็น indicator

3.1.3 วิธีคำนวณ

การคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนในผงดักคพบขาวจะหาออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ด้วยสูตรดังนี้

$$\% N = \frac{\text{Normality ของ std. HCl} \times \overset{\text{ml.}}{V_{HCl}} (\text{used}) \times 100 \times \text{น้ำหนักอะตอมไนโตรเจน}}{\text{dry wt.} \times 1000} \\ (\text{g/m.})$$



3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส

3.2.1 Reagents

1. N/10 Magnesium Nitrate เตรียมโดยละลาย magnesium nitrate 3.71 กรัม ในน้ำกลั่น 500 ม.ล.

2. 1 N Sulphuric Acid เตรียมโดยเอา sulphuric acid เข้มข้น 28 ม.ล. ใส่ลงในน้ำกลั่น 972 ม.ล.

3. Special reagents เตรียมเช่นเกี่ยวกับการหาปริมาณฟอสฟอรัสในน้ำคั่งที่โคกถาวมาแล้ว ตามหัวข้อ 2.2.1

3.2.2 วิธีวิเคราะห์

ซึ่งผักคตขวาแห้งที่บดเป็นผงแล้ว 200 ม.ก. ใส่ลงใน silica basin เติม N/10 magnesium nitrate 3 ม.ล. ลงใน basin นั้น คนด้วยแท่งแก้ว ดังแท่งแก้วควยน้ำกลั่น 2 - 3 หยด นำไประเหยให้แห้งบน sand bath (ประมาณ 15 นาที) แล้วนำไปเผาในเตาเผา ด้วยอุณหภูมิ 500°ซ. เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เสร็จแล้วปล่อยให้เย็น แล้วค่อย ๆ เติม N-H₂SO₄ 10 ม.ล. ดังรอบ ๆ basin ให้ลงไปตรงกลาง basin แล้วนำมา digest อ่อน ๆ บน waterbath 15 นาที คนให้ทั่วด้วยแท่งแก้ว ทำให้เย็นแล้ว dilute กับน้ำ นำไปกรองผ่านกระดาษกรอง What man No.42 ลงใน volumetric flask ขนาด 100 ม.ล. ดังกระดาษกรองควยน้ำร้อน 3 ครั้ง แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 ม.ล.

แบ่งสารละลายนี้มา 40 ม.ล. ใส่ลงใน flask ขนาด 50 ม.ล. แล้วเติม mixed reagent ปริมาณ 10 ± 0.5 ml. ลงไป แล้วเขย่าอย่างรวดเร็ว ตั้งทิ้งไว้ให้นานเกินกว่า 5 นาที แต่ไม่ควรนานเกิน 2 - 3 ชั่วโมง แล้วนำ sample ไปวัด O.D. ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ wavelength 885 mμ โดยใช้ cell ขนาด 1 ซม.

3.2.3 วิธีคำนวณ ใช้วิธีเดียวกับวิธีคำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัส
 ในน้ำคั่งที่ตกค้างมาแล้วในหัวข้อ 2.2.3

3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณโปแตสเซียม

3.3.1 Reagents

1. 10% HCl เตรียมโดยเติมกรด HCl
 conc. 100 ม.ล. ลงในน้ำกลั่น 900 ม.ล.

2. Standard Potassium Solution เตรียม
 ตามวิธีที่กล่าวมาแล้วตามหัวข้อ 2.3.1

3.3.2 วิธีวิเคราะห์

เอาผงนํกคบขวทที่แห้งแล้ว 200 ม.ก. ใสลงใน
 silica basin แล้วนำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 480°ซ. เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
 ทำให้เย็นแล้วเติม 10% HCl 5 ม.ล. นำมา digest บน sand
 bath 2 - 3 นาที แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 42
 ลงใน volumetric flask ขนาด 50 ม.ล. แล้วล้างกระดาษกรองควยน้ำร้อน
 3 ครั้ง ทำให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 50 ม.ล.

นำสารละลายที่ได้ไปหาปริมาณโปแตสเซียมด้วยวิธี Flame
 photometry ตามวิธีที่กล่าวมาแล้วตามหัวข้อ 2.3.2