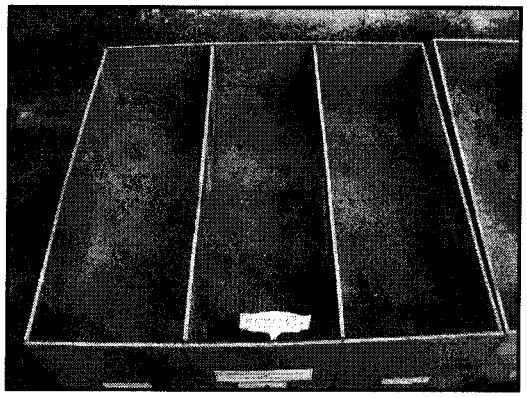
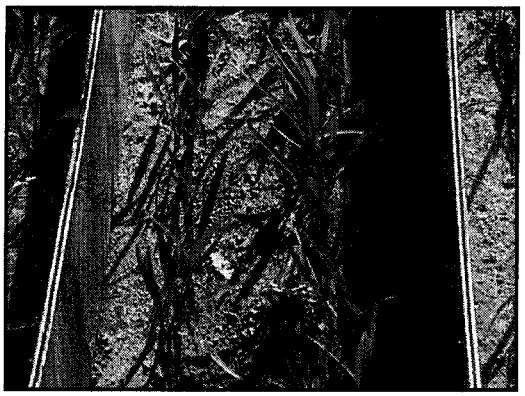
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

รูปภาพการทดลอง

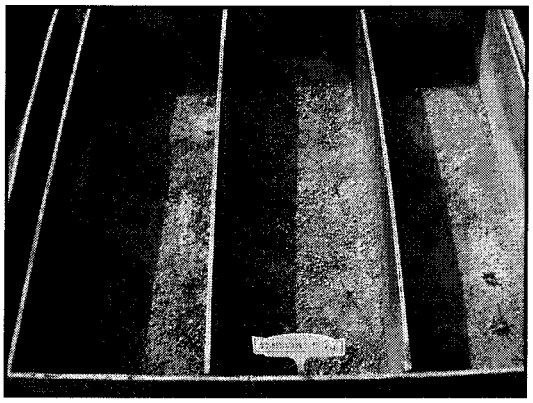


การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 1 วันที่ 5 ของการปลูก

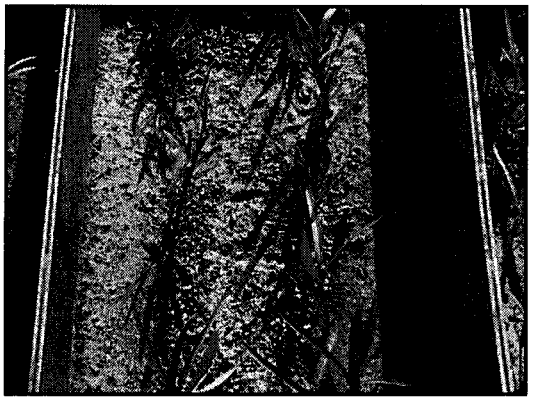


การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 1 วันที่ 15 ของการปลูก

การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 1 วันที่ 30 ของการปลูก



การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 2 วันที่ 5 ของการปลูก

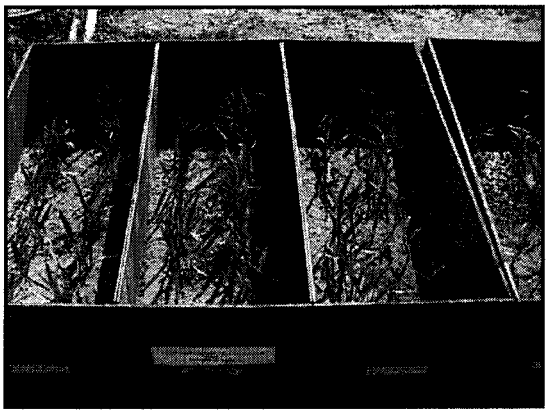


การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 2 วันที่ 15 ของการปลูก

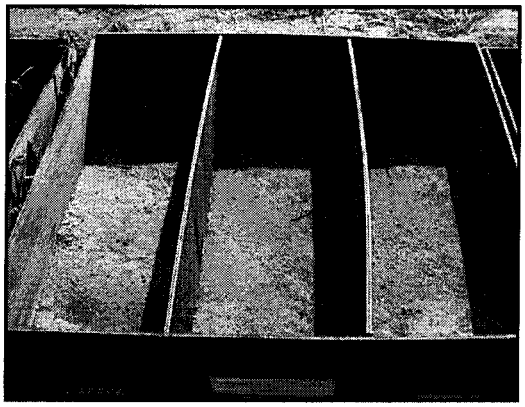
การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 2 วันที่ 30 ของการปลูก

การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 3 วันที่ 5 ของการปลูก

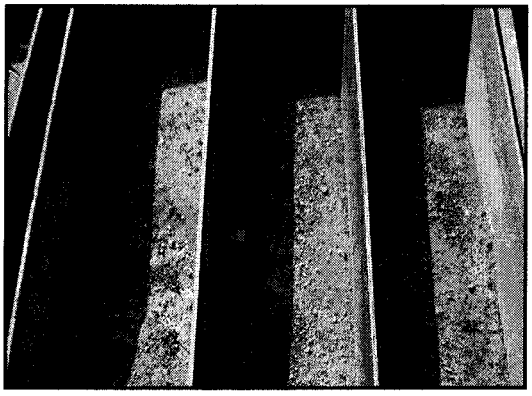
การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 3 วันที่ 15 ของการปลูก



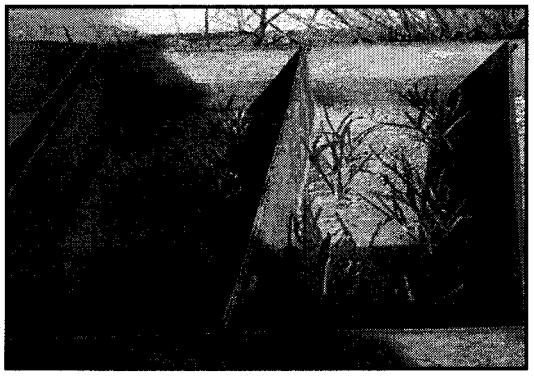
การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 3 วันที่ 30 ของการปลูก



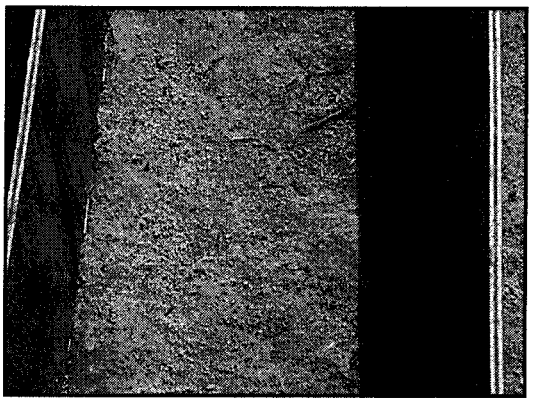
การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 4 วันที่ 5 ของการปลูก



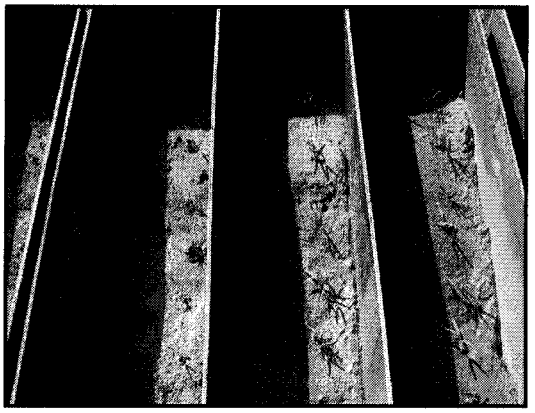
การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 4 วันที่ 15 ของการปลูก



การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 4 วันที่ 30 ของการปลูก

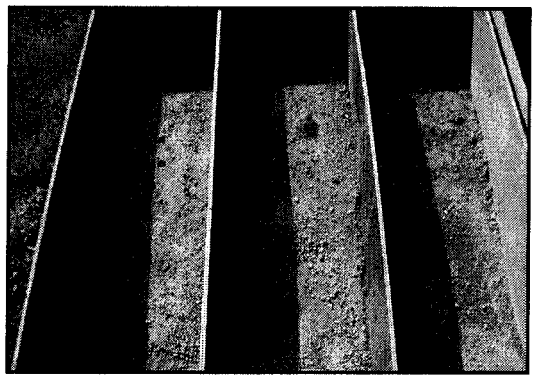


การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 5 วันที่ 5 ของการปลูก



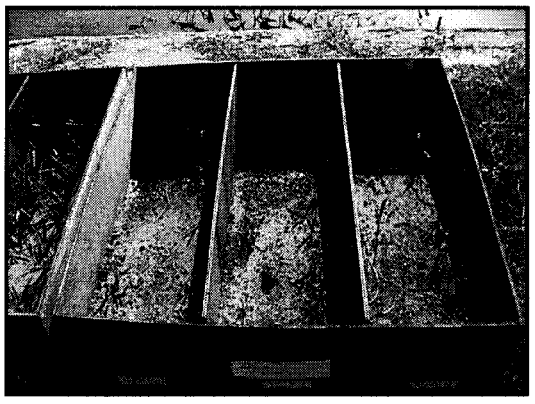
การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 5 วันที่ 15 ของการปลูก

การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 5 วันที่ 30 ของการปลูก



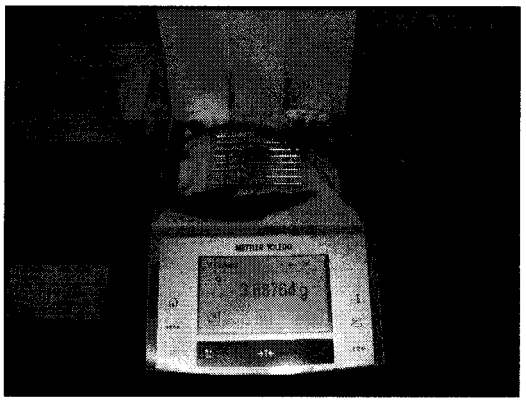
การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 6 วันที่ 5 ของการปลูก

การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 6 วันที่ 15 ของการปลูก



การเจริญเติบโตของผักบุ้งจีน แปลงที่ 6 วันที่ 30 ของการปลูก

การวัดส่วนสูงของผักบุ้งจีน



การชั่งน้ำหนักของผักบุ้งจีน

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี

1.การเตรียมตัวอย่างสลัดจ์เพื่อการวิเคราะห์

1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1.1 Soil Auger หรือพลั่ว, เสียม

1.1.2 ถุงพลาสติกที่สะอาดขนาด 5" x 8"

1.1.3 ผ้าพลาสติก 30" x 30"

1.1.4 ถุงพลาสติกหรือกล่องกระดาษ

1.2 วิธีการ

เมื่อนำสลัดจ์มาถึงห้องปฏิบัติการแล้ว ต้องรีบเอาสลัจด์ออกผึ่งให้แห้ง โดยเกลี่ยสลัดจ์ลงบนถาดที่รองด้วยกระดาษ การผึ่งสลัดจ์ควรทำในห้องที่สะอาด ไม่มีฝุ่นผง เมื่อสลัดจ์แห้งแล้วบดด้วยเครื่องบดหรือครกกระเบื้องเคลือบ ร่อนสลัดจ์ที่บดด้วยตะแกรง ส่วนของสลัดจ์ที่ค้างบนตะแกรงนำไปบดซ้ำ แล้วร่อนจนผ่านตะแกรงให้หมด ยกเว้นเศษหิน การบดไม่ควรบดให้ก้อนหินก้อนกรวดและทรายแตกละเอียดไป วัตถุประสงค์ในการบดตะกอนเพื่อให้สลัดจ์มีโอกาสคลุกเคล้ากัน และผสมรวมกันอย่างสม่ำเสมอ และเพื่อลดความคลาดเคลื่อนในการนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ เก็บดินที่บดแล้วใส่กล่องพลาสติก พร้อมที่จะนำไปวิเคราะห์ได้

2.วิธีการเตรียมตัวอย่างตะกอนสำหรับการทดสอบโลหะหนัก โดยวิธีสกัดสาร (Leachate Extraction)

2.1 เครื่องมือ

2.1.1 Rotary agitator

2.1.2 Electronic balance, 0.01 g

2.1.3 Erlenmeyer flask ขนาด 500 ml

2.1.4 Beaker

2.1.5 กรวยกรอง

2.1.6 ขวดสำหรับเขย่าตัวอย่าง ขนาด 2.5 ลิตร

2.2 อุปกรณ์และสารเคมี

2.2.1 กระดาษกรอง Whatman No. 2

2.2.2 กระดาษกรอง Whatman GF/F ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรูกรอง 0.6 – 0.8 ไมครอน

2.2.3 Sulfuric acid

2.2.4 Nitric acid

2.3 **วิธีการเตรียมตัวอย่าง**

2.3.1 **เตรียมน้ำสกัด** (Leachate) **หรือน้ำฝนกรดสังเคราะห์** (Synthetic acid rain extraction fluid) โดยนำน้ำ Milli-Q ปรับ pH ด้วย Sulfuric acid และ Nitric acid (ในสัดส่วน 80 ต่อ 20 โดยน้ำหนักจนกระทั่งได้ค่า pH เท่ากับ 5

2.3.2 **ทำการเตรียมตัวอย่าง** โดยชั่งตัวอย่าง 20 กรัม เติมด้วยน้ำสกัดที่เตรียมไว้ ปรับปริมาตรของผสมให้มีอัตราส่วนปริมาตรของน้ำสกัดเป็น 20 เท่า (ml) ของน้ำหนัก (g) ตัวอย่าง นำไปใส่ในขวดพลาสติกที่ไม่ทำปฏิกิริยากับน้ำสกัดสำหรับเขย่าตัวอย่าง นำตัวอย่างไปเขย่าบนเครื่องกวนเขย่าแบบหมุน (Rotary agitator) ที่มีอัตราการหมุน 30 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง กรองสารละลายจากการสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 2 และกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman GF/F อีกครั้ง นำสารละลายที่ได้จากการสกัดไปทดสอบตามวิธีทดสอบโลหะหนักหรือวัตถุมีพิษตามวิธีทดสอบที่เกี่ยวข้องแต่ละรายการทดสอบ

2.3.3 **การคำนวณผลการทดสอบ**

ปริมาณโลหะหนักและวัตถุมีพิษ (mg/l) = ความเข้มข้นที่ได้จากการทดสอบ (ppm) x Dilatation factor

ปริมาณโลหะหนักและวัตถุมีพิษ = $\frac{\text{ความเข้มข้นที่ได้จากการทดสอบ (ppm) x ปริมาตรของน้ำสกัด(ml)}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ (g)}}$ (mg/kg)

3. การทดสอบ Copper, Nickel, และ Potassium โดย Atomic Absorption Spectrophotometer Method

3.1 พารามิเตอร์ที่ทดสอบและช่วงของการทดสอบหาปริมาณโลหะหนัก

Ni ช่วงของการทดสอบคือ 0.10 - 2.00 mg/l

Cu ช่วงของการทดสอบคือ 0.10 - 5.00 mg/l

K ช่วงของการทดสอบคือ 0.05 - 2.00 mg/l

3.2 หลักการ

การทดสอบหาปริมาณความเข้มข้นของโลหะหนัก โดยใช้เทคนิค Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) เป็นวิธีการทดสอบที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว และเป็นเทคนิคที่มีความถูกต้อง (Accuracy) แม่นยำ (Precision) และความไว (Sensitivity) ในการทดสอบสูง อีกทั้งสามารถทดสอบธาตุต่างๆ ได้มากกว่า 67 ธาตุ หลักการทำงานของ AAS คือ ตัวอย่างที่ผ่านการ digest ด้วยกรดเข้มข้นจะถูกดูด (Aspirate) เข้าสู่ Spray Chamber และถูกทำให้เป็นอะตอมอิสระ (atomized) โดยใช้ความร้อนจากเปลวไฟ ซึ่งปริมาณอะตอมอิสระของธาตุที่ต้องการทดสอบจะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเฉพาะของธาตุนั้นๆ โดยมีแหล่งกำเนิดแสงจาก Hollow Cathode Lamp (HCL) และปริมาณความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืน จะถูกตรวจวัด (Detector) ซึ่งจะแปลค่าการดูดกลืนแสง (Absorbency; Abs.) เป็นค่าความเข้มข้นของธาตุที่ทดสอบ

3.3 เครื่องมือ

3.3.1 เครื่องแก้ว

1) *ขวดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 50,100, 200, 1,000, 2,000 ml*
2) *บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50, 100, 150 ml*
3) *ปิเปต (Pipette) ขนาด 2, 4, 5, 10, 20 ml*
4) *กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 50 ml*
5) *หลอดหยด (Dropper)*
6) *Dispensette*

3.3.2 **เตาให้ความร้อน** (Hot plate) สามารถให้ความร้อนได้ตั้งแต่ 100-500 $^{\circ}$C

3.3.3 **กระดาษกรอง** (Filter paper: Whatman No. 40 หรือ No. 2) ขนาด $\varnothing$ 12.5 cm

3.3.4 **Atomic Absorption Spectrophotometer** (Spectr-AA-600)

3.3.5 **Atomic Absorption Spectrophotometer**: Spectr-AA600-double beam

3.3.6 **Burner for Acetylene gas**

3.3.7 **Lamp** ใช้ Hollow Cathode Lamp (HCL)

3.3.8 **Chimney** ใช้สำหรับดูดควันหรือไอหลังจากถูก atomized เพื่อป้องกันอันตรายที่อาจเกิดแก่ผู้ใช้งานและป้องกันไม่ให้ไอกรดกัดกร่อนเครื่องมือ

3.3.9 **Acetylene gas** พร้อมด้วย Pressure – reducing Valves

3.3.10 **Air Pump**

3.4 สารเคมี

กรดไนตริก (HNO_3) เข้มข้น 65-70%

สารละลายอ้างอิง (Blank); 2%HNO_3 (v/v) มีวิธีการเตรียม โดยใช้ Dispensette ดูด conc. HNO_3 40 ml ถ่ายลงใน Volumetric flask 2,000 ml ที่มีน้ำ Milli Q ประมาณ 500 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ Milli Q

Standard Solution Cu, Ni, K เข้มข้น 1000 mg/l

3.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

สารละลายมาตรฐาน (Standard Solution) Cu, Ni, K เข้มข้น 1,000 mg/l เป็นสารละลายมาตรฐานสำเร็จรูป เตรียมสารละลายมาตรฐาน Cu, Ni, K ที่ความเข้มข้น 50 mg/l (Stock Standard) โดยทำการเจือจางจากสารละลายมาตรฐานเข้มข้น1,000 mg/l โดยปิเปตสารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 1,000 mg/l มาปริมาตร 5 ml ใส่ Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

สำหรับการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Ni, K ที่ความเข้มข้น 50 mg/l เตรียมโดยวิธีเดียวกันกับการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 50 mg/l

การเตรียมสารละลายมาตรฐานโลหะช่วงที่ใช้งาน (Working Standard)

การเตรียมสารละลาย Intermediate Standard และ Working Standard ของโลหะ Cu ที่ความเข้มข้น 10.00, 5.00, 2.00, 1.00, 0.50, 0.25, 0.10 mg/l

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 10.00 mg/l (Intermediate Standard) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 20 mlใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 5.00 mg/l (Working Standard) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 10 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 2.00 mg/l (Working Standard) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 4 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 1.00 mg/l (Working Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 10 mg/l มาปริมาตร 10 mlใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 0.50 mg/l (Working Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 10 mg/l มาปริมาตร 5 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 0.25 mg/l (Working Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 5 mg/l มาปริมาตร 5 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 0.10 mg/l (Working Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน Cu เข้มข้น 1 mg/l มาปริมาตร 10 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

การเตรียมสารละลาย Intermediate Standard และ Working Standard ของโลหะ Ni ที่ความเข้มข้น 10.00, 5.00, 2.00, 0.50, 0.25, 0.10 mg/l

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Ni เข้มข้น 10.00 mg/l (Intermediate Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน Ni เข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 20 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Ni เข้มข้น 5.00 mg/l (Intermediate Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน Ni เข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 10 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Ni เข้มข้น 2.00 mg/l (Working Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน Ni เข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 4 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Ni เข้มข้น 1.00 mg/l (Working Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน Ni เข้มข้น 10 mg/l มาปริมาตร 10 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Ni เข้มข้น 0.50 mg/l (Working Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน Ni เข้มข้น 10 mg/l มาปริมาตร 5 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Ni เข้มข้น 0.25 mg/l (Working Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน Ni เข้มข้น 5 mg/l มาปริมาตร 5 ml ใสใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Ni เข้มข้น 0.10 mg/l (Working Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน Ni เข้มข้น 1 mg/l มาปริมาตร 10 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

การเตรียมสารละลาย Intermediate Standard และ Working Standard ของโลหะ K ที่ความเข้มข้น 10.00, 5.00, 2.00, 1.00, 0.50, 0.05 mg/l

เตรียมสารละลายมาตรฐาน K เข้มข้น 10.00 mg/l (Intermediate Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน K เข้มข้น 50.00 mg/l มาปริมาตร 20 ml ใสใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน K เข้มข้น 5.00 mg/l (Intermediate Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน K เข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 10 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน K เข้มข้น 2.00 mg/l (Working Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน K เข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 4 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน K เข้มข้น 1.00 mg/l (Working Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน K เข้มข้น 10 mg/l มาปริมาตร 10 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน K เข้มข้น 0.50 mg/l (Working Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน K เข้มข้น 10 mg/l มาปริมาตร 5 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน K เข้มข้น 0.05 mg/l (Working Standard) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน K เข้มข้น 1 mg/l มาปริมาตร 5 ml ใสใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

การเตรียมสารละลายมาตรฐานผสม (Mixstd)

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสม (Mixstd) ของโลหะ Cu, Ni, K ความเข้มข้น 50 mg/l (Mixstd 50 mg/l) เพื่อใช้ในการทำ Recovery test โดยมีวิธีการดังนี้ ปิเปตสารละลายมาตรฐาน

เข้มข้น 1000 mg/l ของโลหะ Cu, Ni, K ธาตุละ 5 ml ใส่ใน Volumetric ขนาด 100 ml ซึ่งมี Blank อยู่ประมาณ 20 ml จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

การเตรียม Mixtest เพื่อใช้ในการคำนวณค่า % Recovery และใช้เป็นตัวอย่าง Laboratory Control Sample (LCS) กำหนดให้มีการเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการทดสอบตัวอย่าง โดยมีวิธีการเตรียมดังนี้ ปิเปตสารละลาย Mixstd 50 mg/l มาปริมาตร 2 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 200 ml ปรับปริมาตรเป็น 200 ml ด้วย 2% HNO_3 จากนั้นแบ่งสารละลาย Mixtest เป็น 2 ส่วนคือ

ส่วนที่ 1 ใช้เป็นตัวอย่าง Mixtest (แบ่งใส่ขวดเก็บสารละลายมาตรฐาน) เพื่อนำไปทดสอบหาความเข้มข้นของโลหะที่เติมลงไปโดยไม่ผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง และนำไปใช้ในการคำนวณหาค่า % Recovery ของ Sample Spike และ LCS

ส่วนที่ 2 ใช้เป็นตัวอย่าง LCS เพื่อใช้ตรวจสอบ %Recovery ของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไปหลังผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างตามวิธีทดสอบ

การเตรียมสารละลายมาตรฐานโลหะเข้มข้น 0.50 mg/l (Initial Calibration Verification Standard; ICV) เพื่อใช้ในการตรวจสอบ Calibration curve ของ Working Standard มีวิธีการเตรียมดังนี้

การเตรียม ICV ของโลหะ Cu เข้มข้น 0.50 mg/l โดยปิเปตสารละลายมาตรฐาน Cuเข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 2 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 200 ml ปรับปริมาตรเป็น 200 ml ด้วย Blank

การเตรียม ICV ของโลหะ Ni, K เข้มข้น 0.50 mg/l เตรียม โดยวิธีเดียวกับการเตรียม ICV ของโลหะ Cu

3.6 สารมาตรฐานอ้างอิง

Reference Material (RM) Traceable to SRM form NIST

Standard Nickel (Ni) 1000 mg/l

Standard Copper (Cu) 1000 mg/l

Standard Potassium (K) 1000 mg/l

3.7 ภาวะแวดล้อม

อุณหภูมิห้องเครื่องมือทดสอบ 25$\pm$5 $^{\circ}$C

ความชื้นสัมพัทธ์ห้องเครื่องมือทดสอบ 70$\pm$15 %

3.8 วิธีดำเนินการ

ทำการเตรียมตัวอย่าง โดยนำสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการสกัดสารจากตะกอนตามวิธีสกัดสาร (Leachate Extraction) เติม Conc. HNO_3 5.0 ml โดย Dispensette ลงไปในตัวอย่าง ย่อยตัวอย่างโดยใช้ความร้อนจากเตาให้ความร้อน (Hot plate) กำหนดให้ปรับระดับความร้อนของ Hot plate อยู่ในช่วงอุณหภูมิไม่เกิน 250 $^{\circ}$C แล้วปรับระดับความร้อนลดลงเมื่อตัวอย่างมีปริมาตรน้อยลง ให้ตัวอย่างเดือดเบาๆ อย่างช้าๆ ระเหยตัวอย่างจนเหลือปริมาตรประมาณ 20 ml ปิดกระจกนาฬิกา ระเหยตัวอย่างต่อจนเหลือปริมาตรประมาณ 10 ml ถ้าตัวอย่างถูกย่อยไม่สมบูรณ์ (สังเกตจากสารละลายยังไม่ใสหรือมีตะกอน) ให้เติม Conc. HNO_3 ลงไปอีก 5.0 ml แล้วย่อยตัวอย่างต่อจนกระทั่งสารละลายใสหรือตัวอย่างไม่มีการเปลี่ยนแปลง ยกตัวอย่างลงจาก Hot plate ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น rinse ด้วยน้ำ Milli Q ให้ทั่วบีกเกอร์ และกระจกนาฬิกา โดย rinse ด้วยน้ำ Milli Q ครั้งละน้อยๆ ให้ปริมาตรไม่เกิน 30 ml กรองตัวอย่างใส่ Volumetric flask ขนาด 50 ml โดยเทตัวอย่างที่ rinse ด้วยน้ำ Milli Q ผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 2 โดยพับกระดาษกรองให้เป็นจีบเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการกรองแล้วปรับปริมาตรจนเป็น 50 ml ด้วยน้ำ Milli Q จดบันทึกปริมาตรสุดท้ายหลังการ digest (f) เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณหาความเข้มข้นทั้งหมดของโลหะ (การคำนวณผลการทดสอบ) เตรียม Reagent blank (RBLK) เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนจากสารเคมีหรือระหว่างขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างโดยตวงน้ำ Milli Q มา 50 ml ด้วยกระบอกตวง (ทำการทดสอบ 2 ซ้ำ) และทำการทดสอบเหมือนขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง เตรียม Mixtest เพื่อใช้ในการคำนวณค่า % Recovery และใช้เป็นตัวอย่าง LCS นำตัวอย่าง LCS มาทำการทดสอบเหมือนขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง โดยกำหนดให้ทำการทดสอบ 2 ซ้ำ นำตัวอย่างที่เตรียมได้ มาทำการทดสอบหาปริมาณโลหะโดยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer

ทำการทดสอบโดยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ดังวิธีต่อไปนี้

เปิดเครื่อง AAS เพื่อเข้าสู่โปรแกรมการทดสอบ เลือก Method สำหรับพารามิเตอร์ที่ต้องการทดสอบ ทำการ Worm HCL (Alignment Lamp) ประมาณ 10- 20 นาที ปรับตำแหน่งของ HCL ให้ลำแสงที่เปล่งออกมาตรงกับ Detector ตรวจสอบตำแหน่งของ Burner และลำแสงของ HCL ให้ตรงกับ Target area ตรวจสอบความสะอาดของ Nebulizer ตรวจสอบอุปกรณ์ภายในเครื่อง AAS ก่อนเริ่มจุดไฟ ตรวจสอบสอบ Signal ให้ค่า Absorbance (Abs.) อยู่ในช่วงที่กำหนดก่อนให้ aspirate blank โดยใช้ Working Standard ของโลหะที่ต้องการทดสอบ

กำหนดลำดับของการทดสอบ (Sequent) โดย Rinse ล้างเครื่อง AAS ด้วย Blank (2% w/w HNO_3) Calibration Zero ให้ aspirate blank Calibration Curve ทำการวัดค่า Working Standard ความเข้มข้นต่างๆ ที่ได้เตรียมไว้ ทดสอบ ICV (Initial Calibration Verification Standard) ทดสอบ ICB (Initial Calibration Blank) ทดสอบ Mixstd ทดสอบ RBlk # 1 (Blank) ทดสอบ RBlk # 2 (Blank) ทดสอบ LCS # 1 (Laboratory Control Sample) ทดสอบ LCS # 2 (Laboratory Control Sample) ทดสอบ Sample เมื่อสิ้นสุดการทดสอบตัวอย่าง Calibration Zero ทดสอบ CCV (Continuous Calibration Verification Standard) คือนำ ICV มาทดสอบหลังจากทดสอบตัวอย่าง ทดสอบ CCB (Continuous Calibration Blank) คือนำ ICB มาทดสอบหลังจากทดสอบตัวอย่าง Save Data และพิมพ์ข้อมูลผลการทดสอบเพื่อใช้ในการรายงานผล

3.9 การคำนวณผลการทดสอบ

การคำนวณ

การคำนวณผลการทดสอบ

ความเข้มข้นทั้งหมดของโลหะ (Total Metal Concentration, mg/l)

$$= \frac{a*f*z}{b}$$

เมื่อ a = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่ทดสอบได้จากเครื่อง AAS (mg/l)

f = ปริมาตรสุดท้ายหลังการ digest (final volume; ml)

b = ปริมาตรตัวอย่างเริ่มต้นก่อนการ digest (Intitial volume; ml)

z = จำนวนเท่าที่ทำการเจือจางตัวอย่าง (dilution factor) กำหนดให้ z=1

การคำนวณหาค่า % Recovery

1.1.1.1 วิธีการคำนวณหาค่า % Recovery ของ LCS

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{LCS} \times 100}{\text{mixtest}}$$

Csp = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน (mg/l)

Cs = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารละลายมาตรฐาน (mg/l)

Mixtest = ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไปในน้ำ Milli-Q (mg/l)

LCS = ความเข้มข้นของตัวอย่าง LCS (mg/l)

4. การทดสอบ Cadmium, Zinc โดย Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer Method

4.1 พารามิเตอร์ที่ทดสอบและช่วงของการทดสอบหาปริมาณโลหะหนัก

รายการทดสอบ	ความยาวคลื่น (nm)	ช่วงการทดสอบ (mg/l)
1. Cadmium (Cd)	228.802	0.02 – 2.00
2. Zinc (Zn)	213.856	0.02 – 2.00

4.2 หลักการ

การทดสอบหาปริมาณความเข้มข้นของโลหะหนักโดยใช้เทคนิค Inductively Couple Plasma Atomic Emission Spectrometer (ICP-AES) เป็นวิธีการทดสอบที่ง่าย สะดวก รวดเร็ว และเป็นเทคนิคที่มีความถูกต้อง (Accuracy) แม่นยำ (Precision) และความไว (Sensitivity) ในการทดสอบสูง อีกทั้งสามารถทดสอบธาตุต่างๆ ได้มาก หลักการทำงานของ ICP คือ ตัวอย่างที่ผ่านการ digest ด้วยกรดเข้มข้นจะถูกดูด (Aspirate) เข้าสู่ Spray Chamber ถูกทำให้เป็นอะตอมอิสระ (atomized) และอยู่ในสภาวะเร้า (Excited state) โดยใช้ความร้อนจาก Plasma ซึ่งปริมาณอะตอมอิสระของธาตุที่ต้องการทดสอบจะคายแสงที่ความยาวคลื่นเฉพาะของธาตุนั้นๆ และปริมาณความเข้มของแสงที่คายออกจะถูกตรวจวัด (Detector) ซึ่งจะแปลค่าIntensity เป็นค่าความเข้มข้นของธาตุที่ทดสอบ

4.3 เครื่องมือ

4.3.1 เครื่องแก้ว

1) *ขวดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 50,100, 200, 1,000, 2,000 ml*
2) *บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50, 100, 150 ml*
3) *ปิเปต (Pipette) ขนาด 2, 4, 5, 10, 20 ml*
4) *กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 50 ml*
5) *หลอดหยด (Dropper)*
6) *Dispensette*

4.3.2 เตาให้ความร้อน (Hot plate) สามารถให้ความร้อนได้ตั้งแต่ 100-500 °C

4.3.3 **กระดาษกรอง** (Filter paper: Whatman No. 40 หรือ No. 2) ขนาด ∅ 12.5 cm

4.3.4 Inductively Couple Plasma Spectrophotometer (JY 2000)

4.4 สารเคมี

กรดไนตริก (HNO_3) เข้มข้น 65-70% สารละลายอ้างอิง (Blank); 2%HNO_3 (v/v)

มีวิธีการเตรียมดังนี้ โดยใช้ Dispensette ปิเปต conc. HNO_3 40 ml ถ่ายลงใน Volumetric flask 2,000 ml ที่มีน้ำ Milli Q ประมาณ 500 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ Milli Q

Standard Solution Cd, Zn เข้มข้น 1000 mg/l

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐาน ตามวิธีการต่อไปนี้

สารละลายมาตรฐาน (Standard Solution) Cd, Zn เข้มข้น 1,000 mg/l เป็นสารละลายมาตรฐานสำเร็จรูป

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Cd, Zn ความเข้มข้น 50 mg/l (Stock Standard) โดยทำการเจือจางจากสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 1,000 mg/l แล้วปิเปตสารละลายมาตรฐาน Cd เข้มข้น 1,000 mg/l มาปริมาตร 5 ml ใส่ Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

สำหรับการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Zn ความเข้มข้น 50 mg/l เตรียมโดยวิธีเดียวกันกับการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Cd เข้มข้น 50 mg/l

การเตรียมสารละลายมาตรฐานโลหะช่วงที่ใช้งาน (Working Standard)

การเตรียมสารละลาย Intermediate Standard และ Working Standard ของโลหะ Cd ที่ความเข้มข้น 10.00, 5.00, 2.00, 0.50, 0.02, mg/l

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Cd เข้มข้น 10.00 mg/l (Intermediate Standard) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Cd เข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 20 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Cd เข้มข้น 5.00 mg/l (Intermediate Standard) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Cd เข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 10 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Cd เข้มข้น 2.00 mg/l (Working Standard) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Cd เข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 4 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Cd เข้มข้น 0.50 mg/l (Working Standard) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Cd เข้มข้น 10 mg/l มาปริมาตร 5 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Al เข้มข้น 0.02 mg/l (Working Standard) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Al เข้มข้น 2.00 mg/l มาปริมาตร 1 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

การเตรียมสารละลาย Intermediate Standard และ Working Standard ของโลหะ Zn ที่ความเข้มข้น 10.00, 5.00, 2.00, 0.50, 0.02, mg/l

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Zn เข้มข้น 10.00 mg/l (Intermediate Standard) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Zn เข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 20 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Zn เข้มข้น 5.00 mg/l (Intermediate Standard) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Zn เข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 10 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Zn เข้มข้น 2.00 mg/l (Working Standard) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Zn เข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 4 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Zn เข้มข้น 0.50 mg/l (Working Standard) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Zn เข้มข้น 10 mg/l มาปริมาตร 5 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

เตรียมสารละลายมาตรฐาน Zn เข้มข้น 0.02 mg/l (Working Standard) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Zn เข้มข้น 2.00 mg/l มาปริมาตร 1 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

การเตรียมสารละลายมาตรฐานผสม (Mixstd)

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสม (Mixstd) ของโลหะ Cd, Zn ที่ความเข้มข้น 50 mg/l (Mixstd 50 mg/l) เพื่อใช้ในการทำ Recovery test โดยมีวิธีการดังนี้ ปิเปตสารละลายมาตรฐานเข้มข้น

1000 mg/l ของโลหะ Cd, Zn ธาตุละ 5 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 ml ซึ่งมี Blank อยู่ประมาณ 20 ml จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 ml ด้วย Blank

การเตรียม Mixtest เพื่อใช้ในการคำนวณค่า % Recovery และใช้เป็นตัวอย่าง Laboratory Control Sample (LCS) กำหนดให้มีการเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการทดสอบตัวอย่าง โดยมีวิธีการเตรียมดังนี้ ปิเปตสารละลาย Mixstd 50 mg/l มาปริมาตร 2 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 200 ml ปรับปริมาตรเป็น 200 ml ด้วย 2% HNO_3 จากนั้นแบ่งสารละลาย Mixtest เป็น 2 ส่วนคือ

ส่วนที่ 1 ใช้เป็นตัวอย่าง Mixtest (แบ่งใส่ขวดเก็บสารละลายมาตรฐาน) เพื่อนำไปทดสอบหาความเข้มข้นของโลหะที่เติมลงไปโดยไม่ผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง และนำไปใช้ในการคำนวณหาค่า % Recovery ของ Sample Spike และ LCS

ส่วนที่ 2 ใช้เป็นตัวอย่าง LCS เพื่อใช้ตรวจสอบ %Recovery ของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป หลังผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างตามวิธีทดสอบ

การเตรียมสารละลายมาตรฐานโลหะเข้มข้น 0.50 mg/l (Initial Calibration Verification Standard; ICV) เพื่อใช้ในการตรวจสอบ Calibration curve ของ Working Standard มีวิธีการเตรียมดังนี้ การเตรียม ICV ของโลหะ Cd เข้มข้น 0.50 mg/l โดยปิเปตสารละลายมาตรฐาน Cd เข้มข้น 50 mg/l มาปริมาตร 2 ml ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 200 ml ปรับปริมาตรเป็น 200 ml ด้วย Blank ส่วนการเตรียม ICV ของโลหะ Zn เข้มข้น 0.50 mg/l เตรียมโดยวิธีเดียวกับการเตรียม ICV ของโลหะ Cd

4.5 สารมาตรฐานอ้างอิง

Reference Material (RM) Traceable to SRM form NIST

Standard Cadmium (Cd) 1000 mg/l

Standard Zinc (Zn) 1000 mg/l

4.6 ภาวะแวดล้อม

อุณหภูมิห้องเครื่องมือทดสอบ 25±5 °C

ความชื้นสัมพัทธ์ห้องเครื่องมือทดสอบ 60±15 %

4.7 วิธีดำเนินการ

ทำการเตรียมตัวอย่าง โดยนำสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการสกัดสารจากตะกอนตามวิธีสกัดสาร (Leachate Extraction) เติม Conc. HNO_3 5.0 ml โดย Dispensette ลงไปในตัวอย่าง ย่อยตัวอย่างโดยใช้ความร้อนจากเตาให้ความร้อน (Hot plate) กำหนดให้ปรับระดับความร้อนของ Hot plate อยู่ในช่วงอุณหภูมิไม่เกิน 250 $^{\circ}$C แล้วปรับระดับความร้อนลดลงเมื่อตัวอย่างมีปริมาตรน้อยลง ให้ตัวอย่างเดือดเบาๆ อย่างช้าๆ ระเหยตัวอย่างจนเหลือปริมาตรประมาณ 20 ml ปิดกระจกนาฬิกา ระเหยตัวอย่างต่อจนเหลือปริมาตรประมาณ 10 ml ถ้าตัวอย่างถูกย่อยไม่สมบูรณ์ (สังเกตจากสารละลายยังไม่ใสหรือมีตะกอน) ให้เติม Conc. HNO_3 ลงไปอีก 5.0 ml แล้วย่อยตัวอย่างต่อจนกระทั่งสารละลายใสหรือตัวอย่างไม่มีการเปลี่ยนแปลง ยกตัวอย่างลงจาก Hot plate ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น rinse ด้วยน้ำ Milli Q ให้ทั่วบีกเกอร์ และกระจกนาฬิกา โดย rinse ด้วยน้ำ Milli Q ครั้งละน้อยๆ ให้ปริมาตรไม่เกิน 30 ml กรองตัวอย่างใส่ Volumetric flask ขนาด 50 ml โดยเทตัวอย่างที่ rinse ด้วยน้ำ Milli Q ผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 2 โดยพับกระดาษกรองให้เป็นจีบเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการกรองแล้วปรับปริมาตรจนเป็น 50 ml ด้วยน้ำ Milli Q จดบันทึกปริมาตรสุดท้ายหลังการ digest (f) เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณหาความเข้มข้นทั้งหมดของโลหะ (การคำนวณผลการทดสอบ) เตรียม Reagent blank (RBLK) เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนจากสารเคมีหรือระหว่างขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างโดยตวงน้ำ Milli Q มา 50 ml ด้วยกระบอกตวง (ทำการทดสอบ 2 ซ้ำ) และทำการทดสอบเหมือนขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง เตรียม Mixtest เพื่อใช้ในการคำนวณค่า % Recovery และใช้เป็นตัวอย่าง LCS นำตัวอย่าง LCS มาทำการทดสอบเหมือนขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง โดยกำหนดให้ทำการทดสอบ 2 ซ้ำ นำตัวอย่างที่เตรียมได้ มาทำการทดสอบหาปริมาณโลหะโดยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer

ทำการทดสอบโดยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer โดย

เปิดเครื่อง ICP-AES ไล่อากาศออกจากระบบเพื่อจุด Plasma ค่า Reflected ไม่เกิน 10 watts เข้าสู่โปรแกรมการทดสอบเลือก Method สำหรับพารามิเตอร์ที่ต้องการทดสอบ ทำ Zero order search ทำ Auto search โดยใช้ Working stand 0.50 mg/l ของโลหะที่ต้องการทดสอบ

กำหนดลำดับของการทดสอบ (Sequent) Calibration Curve ทำการวัดค่า Working Standard ความเข้มข้นต่างๆ ที่ได้เตรียมไว้ ทดสอบ ICV (Initial Calibration Verification Standard) ทดสอบ Mixstd ทดสอบ RBlk # 1 (Blank) ทดสอบ RBlk # 2 (Blank) ทดสอบ LCS # 1 (Laboratory Control Sample) ทดสอบ LCS # 2 (Laboratory Control Sample) ทดสอบ Sample เมื่อสิ้นสุดการ

ทดสอบตัวอย่าง ทดสอบ CCV (Continuous Calibration Verification Standard) คือนำ ICV มาทดสอบหลังจากทดสอบตัวอย่าง Save Data และพิมพ์ข้อมูลผลการทดสอบเพื่อใช้ในการรายงานผล

4.8 การคำนวณผลการทดสอบ

การคำนวณ

การคำนวณผลการทดสอบ

ความเข้มข้นทั้งหมดของโลหะ (Total Metal Concentration, mg/l) $= \frac{(a-b) * f * z}{i}$

เมื่อ a = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่ทดสอบได้จากเครื่อง ICP-AES (mg/l)

b = ความเข้มข้นของ Blank ที่ทดสอบได้จากเครื่อง ICP-AES (mg/l)

f = ปริมาตรสุดท้ายหลังการ digest (final volume; ml)

i = ปริมาตรตัวอย่างเริ่มต้นก่อนการ digest (Initial volume; ml)

z = จำนวนเท่าที่ทำการเจือจางตัวอย่าง (dilution factor) กำหนดให้ z=1

การคำนวณหาค่า % Recovery

วิธีการคำนวณหาค่า % Recovery ของ LCS

$$\% \text{ Recovery} = \frac{LCS \times 100}{mixtest}$$

Csp = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน (mg/l)

Cs = ความเข้มข้นของตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารละลายมาตรฐาน (mg/l)

Mixtest = ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมลงไปในน้ำ Milli-Q (mg/l)

LCS = ความเข้มข้นของตัวอย่าง LCS (mg/l)

5.การทดสอบทีเคเอ็น (TKN, Total Kjeldahl Nitrogen) โดยวิธี Macro Kjeldahl method

5.1 ช่วงการทดสอบ

TKN ช่วงการทดสอบ คือ 4.00 – 100.00 mg/l

Method Detention Limit (MDL) = 2.2 mg/l

Level of Quantitative (LOQ) = 4.00 mg/l

5.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

5.2.1 เครื่องแก้ว

1) *Cylinder ขนาด 50 ml*
2) *Erlenmeyer flask 500 ml*
3) *Kjeldahl tube*
4) *Kjeldahl flask ขนาด 500 ml*
5) *Burette ขนาด 25 ml*
6) *Beaker ขนาด 1000 ml*
7) *Volumetric flask ขนาด 1000 ml*

5.2.2 เครื่องมือ

1) *Distillation system รุ่น VAP 20*
2) *2.2.2.2 Digestion system*
3) *2.2.2.3 pH Meter*

5.3 สารเคมี

สารละลาย Digestion reagent: วิธีการเตรียม ละลาย 134 g K_2SO_4 และ 11.4 g $CuSO_4$.5H2O ในน้ำ Milli Q 800 ml และ H_2SO_4 134 ml คนให้ละลายเข้ากันในบีกเกอร์ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับปริมาตรจนครบ 1000 ml เก็บไว้ในอุณหภูมิ 20°°C ป้องกันการตกผลึก

สารละลาย Sodium hydroxide-sodium thiosulfate reagent: วิธีการเตรียม ละลาย 500 g NaOH และ 25 g $Na_2S_2O_3$. $5H_2O$ ในน้ำ Milli Q ปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร

สารละลาย Mixed indicatorวิธีการเตรียม ละลาย Methyl red 200 mg ใน 100 ml 95% Ethyl alcohol ละลาย Methylene blue 100 mg ใน 50 ml 95% Ethyl alcohol รวมสารละลายทั้ง 2 เข้าด้วยกัน

สารละลาย Boric acid 2% วิธีการเตรียม ละลาย H_3BO_3 20 g ในน้ำ Milli-Q ปรับปริมาตรจนครบ 1000 ml

สารละลาย Sulfuric acid 0.02 N (H_2SO_4 0.02 N)วิธีการเตรียม ปิเปต H_2SO_4 1 N มา 10 ml ลงในน้ำ Milli-Q ปรับปริมาตรจนครบ 500 ml ก่อนใช้งานจะต้องทำการ Standardization ก่อนทุกครั้ง

สารละลาย Sodium hydroxide (NaOH), 6 N วิธีการเตรียม ละลาย NaOH 24 g ในน้ำ Milli-Q ปรับปริมาตรจนครบ 100 ml

สารละลาย Sodium Carbonate 0.02 N วิธีการเตรียม นำ Na_2CO_3 มาอบแห้งที่ 140 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ชั่ง Na_2CO_3 1.060 g ละลายในน้ำ Milli Q ปรับปริมาตรจนครบ 1 ลิตร

Stock LCS 5000 ppm วิธีการเตรียม ละลาย NH_4Cl 3.8208 g ในน้ำ Milli Q ปรับปริมาตรเป็น 200 ml

Working LCS 50 ppm วิธีการเตรียม ปิเปต Stock LCS TKN 5000 ppm มา 10 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำ Milli Q เป็น 1000 ml

5.4 สารมาตรฐานอ้างอิง

Laboratory Control Sample (LCS), TKN = 50 mg/l

5.5 ภาวะแวดล้อม

ควบคุมห้องปฏิบัติการทดสอบพื้นฐานที่

อุณหภูมิ 25 $\pm$ 5 ° C และความชื้นสัมพัทธ์ 60 $\pm$ 15 %RH

5.6 วิธีการทดสอบ

ทำการ Standardization สารละลายมาตรฐาน 0.02 N H_2SO_4 ด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.02 N Na_2CO_3 ดังนี้ ปิเปต สารละลายมาตรฐาน 0.02 N Na_2CO_3 20 ml ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 ml เติม Methyl orange indicator 2-3 หยด ลงในสารละลายมาตรฐาน 0.02 N Na_2CO_3 จะได้สารละลายสีเหลือง ทำการไตเตรตสารละลายด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.02 N H_2SO_4 จนกระทั่งถึงจุดยุติ (สารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีชมพูอ่อน)บันทึก

ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน 0.02 N H_2SO_4 ที่ใช้ในการไตเตรตใน FM WS 26 บันทึกผลการทดสอบ TKN ทำการคำนวณหาความเข้มข้นที่แท้จริงของ สารละลายมาตรฐาน 0.02 N H_2SO_4 ตามข้อ 13.1 (ถ้า สารละลายมาตรฐาน 0.02 N H_2SO_4 มีความเข้มข้น 0.02 N ปริมาตรที่ใช้ในการไตเตรต จะเท่ากับ 20.00 ml)

การเตรียมตัวอย่างตะกอน (Sludge or sediment samples) โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างตะกอน (Wet sample) ให้มีน้ำหนักแตกต่างกันไม่เกิน ±1% เทียบเท่าโดยประมาณ 1 กรัมของน้ำหนักแห้ง (Dry weight) ล้างตัวอย่างลงใน Kjeldahl flask 500 ml เจือจางตัวอย่างด้วยน้ำ Milli-Q ให้มีปริมาตร 250 mlวัดค่า pH ของตัวอย่าง ถ้าตัวอย่างเป็นกรดหรือด่างมากๆ ปรับ pH ประมาณ 7 ด้วย NaOH 6 N หรือ H_2SO_4 1 N เติม Digestion reagent 50 ml ลงไปใน Kjeldahl flask 500 ml ใส่ glass bead 3-5 เม็ด นำไป Digest ที่ Digestion system จนกระทั่งเกิดควันสีขาวจางได้สารละลายสีเขียวใส ทิ้งไว้จนกระทั่งหายร้อนพอที่จะจับ Kjeldahl flask ได้ เติมน้ำกลั่นปริมาตร 200 ml ในตู้ดูดควัน เติมสารละลาย Sodium hydroxide-sodium thiosulfate reagent 50 ml ทำการกลั่นล้างเครื่อง Distillation unit ด้วยน้ำ DI ก่อนทำการกลั่นตัวอย่าง นำตัวอย่างไปกลั่นโดยใช้เครื่อง Distillation unit เก็บส่วนที่กลั่นได้ ภายใต้ผิวของ Indicator Boric acid 2% 50 ml ที่เติม mixed indicator 5 หยด เป็นตัวจับ NH_3 ที่ถูกกลั่นออกมา ให้มีปริมาตรของ distillate ประมาณ 250 ml

นำ distillate (ส่วนที่กลั่นได้) ไปไตเตรทหาปริมาณ TKN ด้วย สารละลายมาตรฐาน 0.02 N H_2SO_4 จนกระทั่งถึงจุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงอ่อน บันทึกปริมาณสารละลายมาตรฐาน 0.02 N H_2SO_4 ที่ไตเตรตได้ ทำการทดสอบ Blank และ LCS

5.7 การคำนวณผลการทดสอบ

การ Standardization 0.02 N H_2SO_4

$$N\ (H_2SO_4) = \frac{ml.\ Na_2CO_3 * N\ Na_2CO_3}{ml\ H_2SO_4}$$

เมื่อ $N\ (H_2SO_4)$ = ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐาน Sulfuric acid

$N\ (Na_2CO_3)$ = ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐาน Sodium Carbonate

$ml\ (H_2SO_4)$ = ปริมาตรของ Sulfuric acid ที่ใช้ในการไตเตรต

$ml\ (Na_2CO_3)$ = ปริมาตรของ Sodium Carbonate ที่ใช้ในการ Standardization

การคำนวณค่า TKN

$$\text{TKN (mg/l)} = \frac{(A-B) \times N \times 14{,}000}{\text{ml. Sample}}$$

(Liquid Sample)

$$\text{TKN (mg/kg)} = \frac{(A-B) \times N \times 14{,}000}{\text{g dry wt. Sample}}$$

(Sludge or Sediment Sample)

เมื่อ A = ปริมาตรของ Sulfuric acid ที่ใช้ไตเตรตตัวอย่าง

B = ปริมาตรของ Sulfuric acid ที่ใช้ไตเตรต Blank

N = ความเข้มข้นของ Sulfuric acid (Normal)

6. การทดสอบปริมาณความเป็นกรด–เบส โดยเครื่อง pH Meter

6.1 ช่วงการทดสอบ

ช่วงการทดสอบ pH 2.0 – 12.0 ที่ 25 °C

6.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

6.2.1 pH Meter with pH electrode

6.2.2 Beaker ขนาด 100 ml

6.3 สารเคมี

6.3.1 Buffer Solution pH 4

6.3.2 Buffer Solution pH 7

6.3.3 Buffer Solution pH 9

6.3.4 Potassium Chloride (KCl) 3 mol/l

6.4 สารมาตรฐานอ้างอิง

Laboratory Control Sample (LCS) = Buffer Solution pH 7

6.5 ภาวะแวดล้อม

อุณหภูมิห้องปฏิบัติการทดสอบพื้นฐาน 25 $\pm$ 5 °C

ความชื้นสัมพัทธ์ห้องปฏิบัติการทดสอบพื้นฐาน 60 ± 15 %RH

6.6 วิธีการทดสอบ

เปิดเครื่อง pH meter และดำเนินการสอบเทียบเครื่อง pH meter ด้วย Buffer Solution pH 4 และ 9 ขณะทำการสอบเทียบบันทึกค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าของ Buffer Solution pH 4 และ 9 บันทึกค่า Slope และ Zero Point ที่ได้จากการสอบเทียบเครื่อง pH Meter ทำการเตรียมตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างน้ำตัวอย่างที่ ออกจากตู้เย็นทิ้งไว้ในอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้องเขย่าตัวอย่างน้ำจนแน่ใจว่าเป็นเนื้อเดียวกัน เทตัวอย่างน้ำลงในบีกเกอร์ประมาณ 80 ml จุ่ม pH Electrode ลงในตัวอย่างน้ำ ทิ้งไว้จนกระทั่งค่า pH จะมีค่าคงที่ บันทึกค่า pH ที่อ่านได้ และลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างน้ำ เตรียม Laboratory Control Sample (LCS) เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของการทดสอบ เมื่อทำการสอบเทียบเสร็จเรียบร้อยแล้ว ด้วย Buffer Solution pH 7 (LCS) บันทึกค่า pH และค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าตามค่าที่เครื่องอ่าน

6.7 การคำนวณผลการทดสอบ

ค่า pH = ค่าที่อ่านได้จากเครื่อง

7. การทดสอบปริมาณ Chromium Hexavalance (Cr^{6+}) โดยวิธี Colorimetric Method

7.1 ช่วงการทดสอบ

Cr^{6+} ช่วงการทดสอบ คือ 0.050 – 1.000 mg/l

Method Detention Limit (MDL) = 0.003 mg/l

Level of Quantitative (LOQ) = 0.050 mg/l

7.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

7.2.1 เครื่องแก้ว

1) *Cylinder ขนาด 100 ml*
2) *Erlenmeyer flask 250 ml*
3) *Measuring Pipette ขนาด 1, 5 ml*

4) *Volumetric Pipette ขนาด 1,2,3,4,5 ml*

5) *Volumetric Flask ขนาด 100 ml*

7.2.2 เครื่องมือ

Spectrophotometer

7.3 สารเคมี

สารละลาย Stock Chromium Solution:

วิธีการเตรียม ละลาย 0.1414 g $K_2Cr_2O_7$ ในน้ำ Milli Q ละลายให้เข้ากัน ปรับปริมาตรจนครบ 1000 ml (1 ml stock Cr Solution = 500 µg/l)

สารละลาย Standard Chromium Solution:

วิธีการเตรียม ปิเปต Stock chromium solution 1 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำ Milli Q จนครบ 1000 ml (1 ml stock Cr Solution = 5.00 µg/l)

สารละลาย Sulfuric acid (1+1)

วิธีการเตรียม เท 250 ml conc. H_2SO_4 ml ลงในน้ำ Milli Q 250 ml ทิ้งไว้ให้เย็น

สารละลาย Diphenylcarbazide solution

วิธีการเตรียม ละลาย 1,5 diphenylcarbazide 0.25 g ใน Acetone 50 ml เก็บในขวดสีชา

7.4 สารมาตรฐานอ้างอิง

Laboratory Control Sample (LCS) = 0.50 mg/l

7.5 ภาวะแวดล้อม

ควบคุมห้องปฏิบัติการเครื่องมือทดสอบ

อุณหภูมิ 25 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C และความชื้นสัมพัทธ์ 60 $\pm$ 15 %RH

7.6 วิธีการทดสอบ

ทำการเตรียม Calibration curve จากสารละลาย Standard chromium solution โดย ปิเปต สารละลายมาตรฐาน Standard chromium solution ตามตาราง ลงใน Volumetric flask ขนาด 100 ml แล้วปรับปริมาตรจนครบ 100 ml ด้วยน้ำ Milli-Q

ปริมาตร (ml)	0.0	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0	20.0

ความเข้มข้น (mg/l) 0.0 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5 1.0

เขย่าให้เข้ากัน แล้วเทลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 ml ปรับ pH ของสารละลายด้วย H_2SO_4 (1+1) จนกระทั่งสารละลายมี pH ~ 1.0 ± 0.3 เติม Diphenylcarbazide solution 2 ml เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที นำไปวัดค่า Absorbance ที่ความยาวคลื่น 540 nm

ทำการเตรียมตัวอย่าง โดย ตวงตัวอย่าง 100 ml ด้วย Cylinder 100 ml ใส่ใน Erlenmeyer flask 125 ml ปรับ pH ของตัวอย่างด้วย H_2SO_4 (1+1) จนกระทั่งมี pH ~ 1.0 ± 0.3 เติม Diphenylcarbazide solution 2 ml เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที นำไปวัดค่า Absorbance ที่ความยาวคลื่น 540 nm พิมพ์ผลการทดสอบที่ตรวจวัดได้จากเครื่อง Spectrophotometer คำนวณผลการทดสอบที่ได้ ทำการทดสอบ Blank และ LCS

7.7 การคำนวณผลการทดสอบ

Cr^{6+} (mg/l) = ค่าความเข้มข้นที่อ่านได้จากเครื่อง Spectrophotometer x Dilution factor

8. การทดสอบปริมาณ ฟอสฟอรัส โดยวิธี กรดแอสคอร์บิค

8.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งมีอินฟราเรดโฟโตทิวบ์สำหรับใช้กับความยาวคลื่น 880 นาโนเมตร

เครื่องแก้วที่ล้างด้วยกรดและน้ำที่กลั่นจนสะอาด

8.2 สารเคมี

กรดซัลฟุริค 5 นอร์มัล โดย เติมกรดซัลฟุริคเข้มข้น 70 มล. ลงในน้ำกลั่นจนครบ 500 มล.

สารละลายแอนติโมนิลโปแตสเซียมตาเตรต (Potassium Antimonyl Tartrate Solution)ละลาย $K(SbO)C_4H_4O_6.0.5H_2O$ 1.3715 กรัม ในน้ำกลั่น 400 มล. แล้วเจือจางเป็น 500 มล.ในขวดวัดปริมาตร เก็บในขวดแก้ว

สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต (Ammonium Molybdate Solution)ละลาย $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ 20 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มล.เก็บในขวดพลาสติกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

กรดแอสคอร์บิค (Ascorbic Acid) 0.1 โมลาร์ ละลายกรดแอสคอร์บิค 1.76 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มล.

น้ำยารวม(Combined Reagent)

ผสมน้ำยาเคมีในสัดส่วนสำหรับ 100 มล. ดังนี้

กรดซัลฟุริค 5 นอร์มัล	50 มล.
สารละลายแอนติโมนิลโปแตสเซียมตาเตรต	5 มล.
สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต	15 มล.
กรดแอสคอร์บิค	30 มล.

ก่อนผสมต้องปล่อยให้สารละลายแต่ละชนิดอยู่ที่อุณหภูมิห้องก่อน นำมาผสมโดยผสมให้เข้ากันทุกครั้งเมื่อเติมส่วนผสมแต่ละชนิด (เติมเรียงตามลำดับ) ถ้ามีความขุ่นเกิดขึ้นในน้ำยารวมหลังจากเติมสารละลายแอนติโมนิลโปแตสเซียมตาเตรต หรือแอมโมเนียมโมลิบเดตให้เขย่าน้ำยาเคมีรวมนี้แล้งตั้งทิ้งไว้ 2-3 นาที จนกระทั่งความขุ่นหายไป จึงจะเติมน้ำยาตัวอื่นต่อไป

สารละลายสต๊อกฟอสเฟส ละลาย Anhydrous KH_2PO_4 219.5 มก. ในน้ำกลั่นและเจือจางให้เป็น 1,000 มล.

สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตนำสารละลายสต๊อกฟอสเฟสมา 50.0 มล. เติมน้ำกลั่นจนได้ 1,000 มล.

8.3 ภาวะแวดล้อม

ควบคุมห้องปฏิบัติการเครื่องมือทดสอบ

อุณหภูมิ 25 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C และความชื้นสัมพัทธ์ 60 $\pm$ 15 %RH

8.4 วิธีการทดสอบ

การเตรียมตัวอย่างปิเปตตัวอย่างน้ำ 50.0 มล. ใส่ลงในขวดรูปกรวยขนาด 125 มล. เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ 1 หยด ถ้าเป็นสีแดงให้หยด กรดซัลฟุริค 5 นอร์มัล ลงไปทีละหยดจนกระทั่งสีแดงหายไป เติมน้ำยารวม 8.0 มล. เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่ไม่เกิน 30 นาที นำไปวัดการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่นแสง 880 นาโนเมตร โดยใช้ Reagent Blank เทียบ A = 0

การเตรียมกราฟมาตรฐานเตรียมอนุกรมความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอสเฟส ดังนี้ 5,10,15,20,25 และ30 ไมโครกรัม โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสเฟส (1 มล. = 2.5 μg P) มา 0,2,4,6,8,10 และ12 มล. ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 50.0 มล. แต่ละขวด แล้ว

เติมน้ำกลั่นให้ครบขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน เทใส่ขวดรูปกรวยขนาด 125 มล. เติมน้ำยารวม 8.0 มล. เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่ไม่เกิน 30 นาที นำไปวัด Absorbance ที่ความยาวคลื่น 880 นาโนเมตร โดยใช้ขวดที่มีความเข้มข้น 0 ไมโครกรัมเป็นแบล็งค์ พล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นเป็นไมโครกรัมกับ Absorbance ที่ได้แต่ละความเข้มข้นโดยใช้กราฟ

8.5 การคำนวณผลการทดสอบ

ฟอสเฟต (มก.P/ล) = ไมโครกรัมฟอสเฟตที่อ่านได้จากกราฟ / ปริมาตรตัวอย่าง (มล.)

9. วิธีทดสอบปริมาณความชื้น (Moisture Content) โดยวิธีทดสอบปริมาณความชื้น (Moisture Content)

9.1 ชนิดของตัวอย่าง

ตัวอย่างตะกอน

9.2 ช่วงการทดสอบ

% Moisture Conten	ช่วงการทดสอบ คือ	0.01 – 100	%
Method Detention Limit (MDL)	=	0.01	%
Level of Quantitative (LOQ)	=	0.01	%

9.3 หลักการ

การหาความชื้นในตัวอย่างตะกอน สามารถหาได้โดยการนำเอาตัวอย่างตะกอนที่ทราบน้ำหนักที่แน่น ไปอบที่อุณหภูมิ 103 - 105 °C ให้ความชื้นในตัวอย่างระเหย จนกระทั่งได้น้ำหนักของตะกอนที่แน่นอนนำไปคำนวณหา % Moisture Content

9.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

10.4.1 Electronics Balance 0.1 mg

10.4.2 Hot Air Oven

10.4.3 Aluminum Foil

9.5 สารเคมี

ไม่มี

9.6 สารมาตรฐานอ้างอิง

Standard Weight, F1 50 g

9.7 ภาวะแวดล้อม

ควบคุมห้องปฏิบัติการเครื่องชั่ง

อุณหภูมิ 25 $\pm$ 5 °C และความชื้นสัมพัทธ์ 60 $\pm$ 10 %RH

9.8 วิธีการทดสอบ

ทำการทดสอบตัวอย่าง โดย นำตัวอย่างใส่ลงในถ้วยอลูมิเนียมฟอล์ยที่ทราบน้ำหนัก (A) ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 1 ถึง 5 g ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน (B) นำตัวอย่างไปอบใน Hot air oven ที่อุณหภูมิ 103 – 105 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำตัวอย่างใส่ใน Desicator ทิ้งไว้ให้เย็นเป็นเวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนักของตะกอนและถ้วยอลูมิเนียมฟอล์ย นำตัวอย่างไปอบใน Hot air oven ที่อุณหภูมิ 103 – 105 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำตัวอย่างใส่ใน Desicator ทิ้งไว้ให้เย็นเป็นเวลา 30 นาที นำตัวอย่างไปอบซ้ำ จนกระทั่งมีน้ำหนักแตกต่างกันไม่เกิน 0.1 mg (C)

9.9 การคำนวณผลการทดสอบ

9.9.1 % Moisture Content

$$\text{Moisture Content (\% w/w)} = \frac{B - (C - A) \times 100}{B}$$

หรือ Moisture Content (% w/w) = 100 - % Solid content

เมื่อ A = น้ำหนักของถ้วยอลูมิเนียมฟอล์ย (g)

B = น้ำหนักของตะกอนก่อนอบ (g)

C = น้ำหนักของตะกอนและถ้วยอลูมิเนียมฟอล์ยหลังอบ (g)

9.9.2 % Solid Content

$$\text{Solid Content (\% w/w)} = \frac{C - A \times 100}{B}$$

หรือ Solid Content (% w/w) = 100 - % Moisture content

เมื่อ A = น้ำหนักของถ้วยอลูมิเนียมฟอล์ย (g)

B = น้ำหนักของตะกอนก่อนอบ (g)

C = น้ำหนักของตะกอนและถ้วยอลูมิเนียมฟอล์ยหลังอบ (g)

9.10 ความไม่แน่นอนของการวัด

ไม่มี

9.11 การควบคุมคุณภาพของผลการทดสอบ

ทำการชั่ง Standard Weight, F1 50 g น้ำหนักของ Standard Weight, F1 จะต้องอยู่ในช่วงที่กำหนด กรณีไม่อยู่ในช่วงที่กำหนดให้ทำการทดสอบซ้ำ

10. การทดสอบความเค็ม โดยวิธี คำนวณจากสภาพนำไฟฟ้า

10.1 สภาพตรวจวัด

วิธีตรวจวัดนำมาตรฐานความเค็มของน้ำเทียบกับความเค็มของ KCl ซึ่งกำหนดตามสเกลของ The Practical Salinity Scale 1978 ค่าสภาพนำไฟฟ้าของน้ำทะเลมาตรฐานที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียล จะมีค่าเท่ากับสภาพนำไฟฟ้าของสารละลายที่มี KCl 32.4356 กรัมในสารละลาย 1 กก. และสารละลายนี้จะมีค่าความเค็มเท่ากับ 35 ค่าที่วัดได้นี้เป็นค่าเฉลี่ยค่าความเค็มขึ้นอยู่กับค่าสภาพนำไฟฟ้า (R_t) ซึ่งขึ้นกับฟังก์ชันของอุณหภูมิ (t °C) ของตัวอย่างดังนี้

$$S = a_0+a_1R_t^{1/2}+a_2R_t+a_3R_t^{3/2}+a_4R_t^{2}+a_5R_t^{5/2}+\triangle S$$

เมื่อ $\triangle S = f(t)\,(b_0+b_1R_t^{1/2}+b_2R_t+b_3R_t^{3/2}+b_4R_t^{2}+b_5R_t^{5/2})$

$f(t) = (t-15)/(1+0.0162(t-15))$

และ $a_0 = 0.0080$ $a_3 = 14.0941$ $b_0 = 0.0005$ $b_3 = -0.0375$

$a_1 = -0.1692$ $a_4 = -7.0261$ $b_1 = -0.0056$ $b_4 = 0.0636$

$a_2 = 25.3851$ $a_5 = 2.7081$ $b_2 = -0.0066$ $b_5 = -0.0144$

สมการข้างต้นใช้ได้ดีกับค่าความเค็มที่อยู่ในช่วง 2-42 ถ้าค่าความเค็มต่ำลงอยู่ในช่วง 0-40 ให้ใช้สมการ

$$S = S_{pss} - \frac{a_0}{1+1.5X+X^2} - \frac{b_0 f(t)}{1+Y^{1/2}+Y^{3/2}}$$

เมื่อ Spss = ค่าที่วัดได้จาก The Practical Salinity Scale

$a_0 = 0.008$ $b_0 = 0.0005$ $X = 400\ R_t$ $Y = 100\ R_t$

และ $f(t) = (t-15) / [1+0.0162(t-15)]$