การวิเคราะห์อินทรียวัตถุในดิน

การวิเคราะห์อินทรีย์คาร์บอนโดยวิธี wet oxidation

การเตรียมสารละลาย

1. สารละลาย 1*N* $K_2Cr_2O_7$: ละลาย $K_2Cr_2O_7$ (อบที่ 105 °C เป็นเวลา 3 ชม.) 49.04 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วทำให้เป็นสารละลาย 1 ลิตร ใน Volumetric flask

2. H_2SO_4 เข้มข้น : ถ้าดินในตัวอย่างมี Cl^- อยู่มาก ให้เติม Ag_2SO_4 ลงไปในอัตรา 15 กรัมต่อกรด H_2SO_4 1 ลิตร (ถ้าดินมีคลอไรด์อยู่มาก คลอไรด์จะไปทำปฏิกิริยากับ dichromate เหมือนกับคาร์บอน ผลวิเคราะห์จะได้ค่าคาร์บอนมากกว่าที่เป็นจริง การใส่ Ag_2SO_4 ลงใน H_2SO_4 ทำให้ Ag^+ ตกตะกอนกับ Cl^- เป็น AgCl ในขณะที่ทำการย่อยดิน ดังนั้นดินบริเวณชายทะเลและดินเค็มในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จึงควรเติม Ag_2SO_4)

3. H_3PO_4 เข้มข้น : การเติมกรด H_3PO_4 เข้มข้น และ NaF ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของ indicator เมื่อถึง end point ได้ชัดเจน ทำให้รู้ end point ของการไทเทรตแน่นอนยิ่งขึ้น

4. Barium diphenylamine sulfonate indicator (BDS) 0.16% : ละลาย BDS 0.16 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มล. หรืออาจใช้ O-phenantholine ferrous sulfate indicator 0.025*M* ซึ่งเตรียมโดยละลาย O-phenantholine 1.485 กรัม และ $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.70 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มล.หรืออาจใช้ diphenylamine indicator โดยละลาย diphenylamine 0.5 กรัม ในน้ำกลั่น 20 มล. และ H_2SO_4 เข้มข้น 100 มล.

5. สารละลาย 0.5*N* Ferrous ammonium sulfate (FAS) : ละลาย Fe $(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ 196.1 กรัม ในน้ำกลั่น 200 มล. ซึ่งมี H_2SO_4 เข้มข้นอยู่ 20 มล. ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่นใน Volumetric flask เก็บสารละลายในขวดสีน้ำตาลเพื่อกันแสงและจะต้องปิดจุกให้แน่นเสมอ

6. NaF ชนิดผง (กรณีที่ใช้ diphenylamine เป็น indicator)

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างดินซึ่งร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.2 มม. (80 mesh) หรือ 0.5 มม. (32 mesh) 0.2-2.0 กรัม ใส่ลงใน Erlenmeyer flask 25 มล. เติมสารละลาย 1*N* $K_2Cr_2O_7$ ลงไป 10 มล. โดยใช้ pipette แกว่ง flask เบาๆ ให้ดินและสารละลายผสมกัน เติม H_2SO_4 เข้มข้นจำนวน 20 มล. ลงไปโดยเร็ว แกว่ง flask ค่อนข้างแรงประมาณ 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที (ถ้าพบว่าสารละลายของดินตัวอย่างใดเป็นสีเขียวก่อนที่จะไทเทรต ให้ทำการวิเคราะห์ใหม่ โดยชั่งน้ำหนักดินให้น้อยกว่าเดิม)

2. เติมน้ำกลั่นลงไป 100 มล. และเติม H_3PO_4 เข้มข้นลงไป 10 มล. (และเติม NaF 0.2 กรัม ในกรณีที่ใช้ diphenylamine เป็น indicator) แกว่ง flask แล้วเติม indicator 3-4 หยด จากนั้นสีของ suspension จะเปลี่ยนเป็นสีม่วงปนน้ำเงิน แต่ถ้าใช้ O-phenantholine เป็น indicator แทน สีของ suspension จะเปลี่ยนเป็นสีเขียว

3. ไทเทรต suspension ด้วยสารละลาย 0.5*N* FAS จนถึงจุด end point คือ สีของ suspension จะเปลี่ยนจากสีม่วงหรือสีม่วงปนน้ำเงินเป็นสีเขียวใส (ใช้ BDS หรือ diphenylamine เป็น indicator) หรือสีของ suspension จะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลแดง (ใช้ O-phenantholine เป็น indicator)

4. ทำ blank ซึ่งไม่มีตัวอย่างดินควบคู่ไปกับการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน

การคำนวณ

%OM = %OC x 1.724 (ถือว่า OM มี 58%OC)

$$\%\text{Easily oxidizing matter (EOM)} = \frac{10(B-S)}{B} \times 0.6717 \times \frac{1}{\text{น.น.ดิน (กรัม)}}$$

ในการวิเคราะห์ทุกคราวจะต้อง standardize สารละลาย 0.5*N* FAS ด้วย 1*N* $K_2Cr_2O_7$ ที่มีความเข้มข้นแน่นอนโดนชั่ง $K_2Cr_2O_7$ 4.904 กรัม ด้วยเครื่องชั่ง ทำเป็น 100 มล. แล้วเอาสารละลาย

FAS ไปไทเทรตกับสารละลาย $K_2Cr_2O_7$ เพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอนของ FAS แล้วนำเอา FAS ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนแล้วนี้ไป standardize สารละลาย $K_2Cr_2O_7$ ซึ่งเตรียมในปริมาณมากๆ (ในการเตรียม $K_2Cr_2O_7$ ในปริมาณมากๆ เช่น 20 ลิตร normality ของ $K_2Cr_2O_7$ อาจแตกต่างไปจาก 1*N* ดังนั้นในการคำนวณหาปริมาณคาร์บอนจะต้องคูณด้วย normality ของ $K_2Cr_2O_7$ ที่เตรียมในแต่ละครั้ง)

การวิเคราะห์ไนโตรเจนในดิน

การวิเคราะห์ Total N โดย semi-micro Kjeldahl method

การเตรียมสารเคมี

1. กรดกำมะถันเข้มข้น (H_2SO_4 , 98%)

2. สารเร่งปฏิกิริยา (mixed catalyst) : เตรียมโดยผสม K_2SO_4 100 กรัม, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 10 กรัม และ Se power 1 กรัม บดให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน

3. NaOH 40% : เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 400 กรัมในน้ำกลั่นประมาณ 600 มล. (ควรทำในตู้ดูดควัน) ทิ้งไว้จนเย็น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล. แล้วเก็บในภาชนะที่มีฝาปิดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากอากาศ

4. Boric acid indicator 2%

(1) Mixed indicator : ชั่งสาร bromocresol green 0.132 กรัม และ methyl red 0.066 กรัม ใส่รวมกันใน volumetric flask ขนาด 200 มล. ละลายด้วย ethanol แล้วปรับให้เป็น 200 มล.

(2) Boric acid : ละลายกรดบอริค (H_3BO_3) 20 กรัม ในน้ำร้อนที่ต้มจนเดือด 700 มล. วางทิ้งไว้ให้เย็น

(3) เติม ethanol 200 มิลลิลิตร ตามด้วย mixed indicator 20 มิลลิลิตร และกรดบอริค 700 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เขย่าของผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเติมด่าง NaOH ซึ่งมีความเข้มข้น 0.05 N ลงไปทีละ 2-3 หยด จนกระทั่งสารละลายมี pH ประมาณ 5 ซึ่งทดสอบได้โดยนำสารละลายที่ปรับ pH แล้วนี้มา 1 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร (อาจต้องทดสอบหลายๆ ครั้ง) จนสีของสารละลายที่ทดสอบเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน (pale green) จึงปรับปริมาตรของสารละลายเป็น 1,000 มิลลิลิตร

5. Standard sulfuric acid, 0.02*N* (0.02N H_2SO_4) : เตรียมโดยปิเปตสารละลาย 1*N* H_2SO_4 (เตรียมจาก ampoule) จำนวน 20 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เขย่าของผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปริมาตรของสารละลายเป็น 1,000 มิลลิลิตร แล้วเขย่าของผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง เก็บในขวดที่มีฝาปิดและใส่ในตู้เย็น

วิธีการวิเคราะห์

1. การย่อยสลายตัวอย่างดิน มีขั้นตอนดังนี้

(1) ชั่งตัวอย่างดินซึ่งผ่านตะแกรงร่อนขนาด 0.2-0.5 มิลลิลิตร จำนวน 1.000-2.000 กรัม ใส่ใน kjeldahl flask การเทตัวอย่างดินลงใน flask ระวังอย่าให้ดินหกหรือติดอยู่ที่ก้านหลอดของ kjeldahl flask

(2) เติมสารเร่งปฏิกิริยาประมาณ 1 กรัม เติมกรดกำมะถันเข้มข้นจำนวน 5-10 มิลลิลิตร ขณะเติมกรดควรให้หยดรอบๆ คอของ kjeldahl flask เพื่อชะล้างตัวอย่างดินที่อาจติดอยู่รอบๆ ก้านหลอดของ kjeldahl flask ลงไปให้หมด

(3) เขย่าของผสมใน kjeldahl flask เบาๆ แล้วนำไปวางบนเตา digest ในระยะแรกใช้ไฟอ่อนๆ แล้วเพิ่มไฟให้แรงขึ้น และขณะ digest ควรหมุน kjeldahl flask ไปรอบๆ เป็นครั้งคราวเพื่อช่วยในการคลุกเคล้าของผสม

(4) Digest จนสีของเหลวใน kjeldahl flask เริ่มใส เคี่ยวต่อไปอีกประมาณ 20-30 นาที จึงยกออกจากเตา digest แล้วปล่อยไว้จนเย็น

(5) รินน้ำกลั่นประมาณ 10 มิลลิลิตร ลงไปรอบๆ ก้านหลอดของ kjeldahl flask เขย่าของผสมให้เข้ากัน ปล่อยไว้จนเย็นอีกครั้งหนึ่ง แล้วเทใส่ volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เมื่อของเหลวเย็นลงเท่าอุณหภูมิห้อง ใช้น้ำกลั่นปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร เขย่าของเหลวให้เข้ากัน ปล่อยไว้จนดินตกตะกอน เพื่อนำของเหลวใสข้างบนไปกลั่น

(6) เตรียม blank ตามวิธีการข้อ (2) ถึง (5) โดยไม่มีตัวอย่างดิน

2. การกลั่น

(1) เปิดเครื่องกลั่นและล้างเครื่องกลั่น 1 ครั้ง ด้วยการกลั่นน้ำกลั่นผ่านเครื่อง

(2) รินน้ำยา boric acid indicator ประมาณ 5 มิลลิลิตร ใส่ erlenmeyer flask ขนาด 50 มิลลิลิตร นำไปวางที่ใต้ก้าน condenser ของเครื่องกลั่น และให้ปลายก้าน condenser อยู่เหนือน้ำยา boric acid indicator เล็กน้อย หรือให้แตะที่ผิวของน้ำยา boric acid indicator

(3) ดูดสารละลาย blank จำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่ใน distillation flask

(4) เติมสารละลาย NaOH 40% จำนวน 10 มิลลิลิตร ลงใน distillation flask ล้างตามด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อยเพื่อขจัดด่างและสารละลายตัวอย่างที่ตกค้างอยู่

(5) เริ่มกลั่นและจับ NH_4^+ ในน้ำยา boric acid indicator ซึ่งจะเปลี่ยนสีจากสีม่วงแดงเป็นสีเขียว ได้ปริมาณ 35 มิลลิลิตร จึงปิดเครื่องกลั่น

(6) ใช้น้ำกลั่นล้างทำความสะอาด distillation flask ก่อนจะดำเนินการกลั่นตัวอย่างต่อไป

(7) ดำเนินการกลั่นสารละลายตัวอย่างดิน โดยใช้ขั้นตอนเหมือนกับการกลั่น blank เริ่มตั้งแต่วิธีการกลั่นข้อ (2) ถึง (6)

3. การไทเทรต

นำสารละลายใน erlenmeyer flask ของแต่ละตัวอย่างที่กลั่นได้ไปไทเทรตด้วย standard H_2SO_4 0.02N จนสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงแดง (สีของน้ำยา boric acid indicator ก่อนการกลั่นตัวอย่าง) จดบันทึกปริมาณ standard H_2SO_4 ที่ใช้ เพื่อคำนวณหาปริมาณ N ซึ่งคำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\%T\text{-}N = \frac{(A-B) \times C \times 14 \times 100\ ml. \times 100}{1{,}000 \times aliquot\ (ml.) \times sample\ wt.\ (g.)}$$

$$= \frac{(A-B) \times C \times 140}{aliquot\ (ml.) \times sample\ (g.)}$$

A = มิลลิลิตรของ standard H_2SO_4 ที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง
B = มิลลิลิตรของ standard H_2SO_4 ที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง blank
C = ความเข้มข้นของ standard H_2SO_4
14 = น้ำหนักสมมูล (equivalent weight) ของไนโตรเจน

การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสในดิน

การเตรียมสารเคมี

1. $HClO_4$ 70-72%

2. HNO_3 65%

3. Free acid molybdovanadate solution :

3.1 ละลาย ammonium molybdate, $[(NH_4)_5\ Mo_7O_{24}\ 4H_2O]$ 20 กรัมในน้ำร้อนประมาณ 600 มล.

3.2 ละลาย ammonium metavanadate, [NH_4VO_3] 1 กรัมในน้ำร้อนประมาณ 600 มล.

3.3 เทสารละลายที่เย็นแล้วของ ammonium molybdate ลงไปในสารละลาย ammonium metavanadate แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 2 ลิตร เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายสีเหลือง

4. Standard phosphorus solution :

4.1 Standard phosphorus solution เข้มข้น 100 μg P/ml. : เตรียมโดยการชั่ง KH_2PO_4 (อบที่ 105 ° C นาน 2 ชั่วโมง) 0.4393 กรัม ใส่ใน volumetric flask 1,000 มล. ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มล.

4.2 Standard phosphorus solution เข้มข้น 0, 5, 10, 15 และ 20 μg P/ml. เตรียมได้จาก Standard P 100 μg P/ml. ซึ่งสารละลายมาตรฐานนี้เตรียมในสารละลายกรด โดยเติมกรด $HClO_4$ เข้มข้น ใช้อัตราส่วน Standard P solution : $HClO_4$ = 10 : 1 ของปริมาตรทั้งหมด

วิธีการวิเคราะห์

1. การเตรียมสารละลายจากตัวอย่างดิน (การย่อยตัวอย่างดิน)

1.1 ชั่งดิน 1 กรัม ใส่ Digestion tubes ขนาด 50 มล. หรือ Kjeldahl flask ขนาด 100 มล. เติมกรด $HClO_4$ เข้มข้น หรือกรดผสม $HClO_4$ + HNO_3 (อัตราส่วน 1 : 2) 10 มล. ย่อยดินที่อุณหภูมิประมาณ 200°C จนได้สารละลายใส แต่ในกรณีที่ใช้กรดผสม $HClO_4$ + HNO_3 ต้องเติมกรดผสมครั้งละ 5 มล. อย่างน้อยอีก 2 ครั้ง (เติมขณะที่ตัวอย่างเย็นแล้ว) จึงจะย่อยดินได้สมบูรณ์ จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายสารละลายดินลงใน volumetric flask ขนาด 100 มล. แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล. เขย่าให้เข้ากัน แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 หรือ 42

2. วิธีวิเคราะห์

2.2 ดูดสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 0, 5, 10, 15 และ 20 μg P/ml. และสารละลายจากตัวอย่างดินตัวอย่างละ 5 มล. ใส่ในหลอดทดลองขนาด 25 มล. เติมสารละลาย vanadomolybdate 5 มล. เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาที แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ wavelength 420 nm. อ่านค่า transmittance (%T) หรือ absorbance (A) นำค่าที่วัดได้จากน้ำยามาตรฐานไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฟอสฟอรัสกับ %T หรือ A โดยถ้าเป็น %T ให้ใช้กระดาษ semi-logarithm ถ้าเป็น A ใช้กระดาษกราฟธรรมดา เส้นกราฟที่ได้คือ standard curve

3. วิธีคำนวณ

$$\mu g\ P/g. = \frac{\mu g\ P/ml.\ จาก\ curve \times ปริมาตรสุดท้ายของน้ำยา}{น้ำหนักดิน\ (g.)}$$