

สารบัญ

1. บทนำ
 2. วัตถุประสงค์ของการจัดทำคู่มือการปฏิบัติงาน
 3. ขอบเขต
 4. หลักการ
 5. การเก็บรักษาตัวอย่าง
 6. สิ่งรบกวน
 7. ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (เรื่อง/งานฟอสฟอรัสทั้งหมด)
 - 7.1 ขั้นตอนที่ 1 การเตรียมอุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์
 - 7.2 ขั้นตอนที่ 2 การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์
 - 7.3 ขั้นตอนที่ 3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง
 - 7.4 ขั้นตอนที่ 4 การคำนวณตัวอย่าง
 8. แบบฟอร์มที่ใช้
 9. ประโยชน์ของการจัดทำคู่มือการปฏิบัติงาน
 10. เอกสารอ้างอิง
-

คู่มือการปฏิบัติงาน เรื่อง ฟอสฟอรัสทั้งหมด

1. บทนำ

Phosphorusในน้ำธรรมชาติและในน้ำเสียส่วนใหญ่อยู่ในรูปต่าง ๆ กันของphosphate ซึ่งสามารถแยกได้เป็น orthophosphates, condensed phosphates (pyro-, meta-, and polyphosphates อื่นๆ) และ organically bound phosphates โดยอยู่ในรูปของสารละลาย สารแขวนลอยหรือในร่างกายของสิ่งมีชีวิตในน้ำ Phosphorousเป็นธาตุที่จำเป็นในการเจริญเติบโตของพืชและสัตว์ และมักจะพบว่าเป็น growth limiting nutrient ของแหล่งน้ำ ดังนั้นในการปล่อยน้ำโสโครกที่มี phosphorous อยู่ลงในแหล่งน้ำ อาจกระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตของพืชน้ำอย่างรวดเร็วอันก่อให้เกิดปัญหาอื่น ๆ ตามมา

2. วัตถุประสงค์ของการจัดทำคู่มือการปฏิบัติงาน

การจัดทำคู่มือการปฏิบัติงาน เพื่อใช้เป็นขั้นตอนการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำและน้ำเสียในห้องปฏิบัติการสำหรับการวิเคราะห์หาฟอสฟอรัสทั้งหมด

3. ขอบเขต

วิธีการทดสอบนี้ใช้กับตัวอย่างน้ำเสียจากชุมชน และอุตสาหกรรม รวมถึงแหล่งน้ำธรรมชาติ

4. หลักการ

การวิเคราะห์หาฟอสฟอรัสทั้งหมด แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ

1. เปลี่ยนฟอสฟอรัสในรูปต่างๆให้อยู่ในรูป orthophosphates ที่ละลายน้ำโดยการย่อยสลาย ด้วยวิธี Persulfate digestion
2. หาค่า orthophosphates ที่ละลายน้ำด้วยวิธี Ascorbic acid โดย Ammonium molybdate และ Potassium antimonyl tartrate จะทำปฏิกิริยาภายใต้ตัวกลางที่เป็นกรดกับ orthophosphate ทำให้เกิด phosphomolydic acid ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับ ascorbic acid ได้ molybdenum blue

Minimum detection limit เท่ากับ 0.1 mg P/L

Quality Assurance Criteria ควรมีค่า

- QA limit สำหรับ spike recovery เท่ากับ 20%
- QA limit สำหรับการวิเคราะห์ซ้ำ เท่ากับ 15%

5. การเก็บรักษาตัวอย่าง

ในกรณีที่ทำการหา Total phosphorus อย่างเดียวสามารถเก็บรักษาตัวอย่างได้ 3 วิธีคือ

- ก. ให้แช่แข็งตัวอย่างโดยไม่ต้องเติมสารใด ๆ หรือ
 - ข. เติม กรด HCl เข้มข้นในปริมาณ 1 mL ต่อตัวอย่าง 1 L แล้วแช่เย็น หรือ
 - ค. เติมกรด H₂SO₄ เข้มข้นในปริมาณ 2 mL ต่อตัวอย่าง 1 L แล้วแช่เย็น
- โดยให้วิเคราะห์ตัวอย่างภายใน 28 วัน

ตัวอย่างที่มีค่าฟอสฟอรัสน้อยไม่ควรเก็บในขวดพลาสติกเพราะอาจเกิดการดูดซับบนผนังขวดได้
ภาชนะที่ทำด้วยแก้วทุกชนิดที่ใช้ในการหาฟอสฟอรัส ต้องล้างด้วยกรด HCl 1:1 แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นหลาย
ๆ ครั้งไม่ควรใช้ผงซักฟอกในการล้างเครื่องแก้ว

6. สิ่งรบกวน

Arsenates สามารถทำปฏิกิริยากับสารละลาย Molybdate ทำให้เกิดสีน้ำเงิน เช่นเดียวกับ
phosphate ความเข้มข้น 0.1 mg As/L จะรบกวนการหา phosphate

Hexavalent chromium และ NO₂⁻ ที่ความเข้มข้น 1 mg/L จะรบกวนให้ค่าที่ได้ต่ำไป 3% และที่
ความเข้มข้น 1.0 - 10 mg/L จะทำให้ค่าต่ำไป 10 -15%

7. ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (เรื่อง/งาน การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมด)

7.1 ขั้นตอนที่ 1 การเตรียมอุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์

Spectrophotometer ที่สามารถให้ความถี่คลื่น 880 nm และใช้เซลล์ขนาด 1 cm หรือใหญ่กว่านั้น

Autoclave

Volumetric flask

Beakers

Pipets

Cylinder

ขวดแก้วพร้อมฝาที่สามารถนำเข้าเครื่อง autoclave ที่ 120 °C ขนาด 100 mL

7.2 ขั้นตอนที่ 2 การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์

1. สารละลายมาตรฐาน phosphate (20 mg P/L)

นำ Anhydrous KH₂PO₄ มา 87.8 mg ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 mL (1 mL ของสารละลายที่เตรียม
นี้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.02 mg P)

2. สารละลาย H₂SO₄ (4.5 mol/L)

เติม H₂SO₄ เข้มข้น จำนวน 250 mL ค่อยๆ เทลงในน้ำกลั่น ปล่อยให้เย็นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1,000
mL ด้วยน้ำกลั่น

3. สารละลาย Digestion

นำสารละลาย H_2SO_4 (4.5 mol/L) มาจำนวนปริมาตร 5 mL แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL หลังจากนั้นให้เติมสาร Potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) จำนวน 5 g แล้วเขย่าสารจนเป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน เก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวด N และไม่ให้เกิดแสง ควรเตรียมสารละลายใหม่ทุกครั้ง

4. สารละลาย Ammonium molybdate

ละลายสาร $[(NH_4)_6 Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O]$ จำนวน 9.0 g ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL เก็บในขวดจุกแก้ว

5. สารละลาย Potassium antimonyl tartrate

ละลายสาร $[K(SbO) (4H_2O)_6]$ จำนวน 3.25 g ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL เก็บในขวดจุกแก้ว

6. สารละลาย Ascorbic acid

ละลายสาร ascorbic acid ($C_6H_8O_6$) จำนวน 7.0 g ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 mL ควรเตรียมสารละลายใหม่ทุกครั้ง

7. สารละลายผสม

ผสมสารละลายข้อ 2, 4 และ 5 ตามอัตราส่วนดังนี้

H_2SO_4 (4.5 mol/L) : Ammonium molybdate : Potassium antimonyl
40 mL : 9 mL : 1 mL

จะได้สารละลายผสม 50 mL

ในการผสมนั้นให้ผสมทีละขั้นตอน โดยผสมสารข้อ 2 และ 4 ให้เข้ากันดีก่อนแล้วจึงเติมสารข้อ 5 เขย่าให้เข้ากันแล้ว

7.3 ขั้นตอนที่ 3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

7.3.1 การทำ Standard curve

นำสารละลายมาตรฐาน phosphate (20 mgP/L) มา 0, 1, 2, 3, 4, 5 mL ผสมน้ำกลั่นให้ได้ 50 mL จะได้สารละลายฟอสฟอรัสมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, และ 2 mg/L ตามลำดับ นำไปวิเคราะห์เหมือนตัวอย่างทุกขั้นตอน (กรณีที่มี Standard curve อยู่แล้ว ให้เตรียมสารละลายมาตรฐานที่อย่างน้อย 2 ความเข้มข้น แล้วนำไปวิเคราะห์เหมือนตัวอย่างทุกขั้นตอน และตรวจสอบความถูกต้อง โดยค่า % difference ต้องน้อยกว่า 15%)

7.3.2 การทำ QC

เลือกตัวอย่างอย่างน้อย 1 ตัวอย่าง ต่อตัวอย่างทุกๆ 10 ตัวอย่าง สำหรับการวิเคราะห์ซ้ำและ spike recovery โดยมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง(สำหรับ 1 ตัวอย่าง) ดังนี้

ก. นำ volumetric flask ขนาด 50 mL มา 3 ขวด

- ข. ใส่ตัวอย่างที่เลือกไว้สำหรับทำการวิเคราะห์ซ้ำและ spike recovery จำนวน 10 mL ในแต่ละ flask
- ค. นำ 2 flask ที่ใส่ตัวอย่างแล้ว มาเติมสารละลายมาตรฐาน phosphate (20 mg P/L) flask ละ 1 mL
- ง. เติมน้ำกลั่นในทั้ง 3 flask จนได้ปริมาตรรวมในแต่ละ flask 50 mL
- จ. นำไปวิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่างอื่น

7.3.3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. การเปลี่ยนฟอสฟอรัสให้อยู่ในรูปของ orthophosphate โดยวิธี Presulfate Digestion

- ก. นำตัวอย่างมา 50 mL หรือน้อยกว่าแล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ 50 mL ใส่ในขวดขนาดบรรจุ 100 mL
- ข. เติมสารละลาย Digestion จำนวน 4 mL ปิดฝาให้สนิท
- ค. นำตัวอย่างไปเข้าเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 120 °C เวลา 30 นาที
- ง. นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยวิธี Ascorbic acid method

2. การหาค่า orthophosphate โดยวิธี Ascorbic Acid

- ก. นำตัวอย่างมาทำให้อยู่อุณหภูมิห้อง แล้วเติมสารละลายผสม ปริมาณ 1.5 mL เขย่าให้เข้ากัน
- ข. เติมสารละลาย Ascorbic acid ปริมาณ 1.5 mL เขย่าให้เข้ากันดี หลังจากนั้น 10 นาที แต่ไม่เกิน 30 นาทีให้นำตัวอย่างไปวัดค่า Absorbance โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความถี่ 880 nm

<u>ขั้นตอนการวิเคราะห์ DIP</u>	<u>ขั้นตอนการวิเคราะห์ DIP</u> (แบบลดปริมาณสัดส่วนตัวอย่างและสารเคมี)
ตัวอย่างที่ผ่านการกรอง 50 mL	ตัวอย่างที่ผ่านการกรอง 50 mL
↓	↓
เติมสารละลายผสม 1.5 mL เขย่าให้เข้ากัน	เติมสารละลายผสม 1.5 mL เขย่าให้เข้ากัน
↓	↓
เติมสารละลายแอสคอร์บิก 1.5 mL เขย่าให้เข้ากัน	เติมสารละลายแอสคอร์บิก 1.5 mL เขย่าให้เข้ากัน
↓	↓
รอประมาณ 10-30 นาที วัดค่า Absorbance เครื่อง Spectro ที่ 880 nm วัดด้วย cell ขนาด 10 cm	รอประมาณ 10-30 นาที วัดค่า Absorbance เครื่อง Spectro ที่ 880 nm วัดด้วย cell ขนาด 1 cm

ขั้นตอนการวิเคราะห์ TDP	ขั้นตอนการวิเคราะห์ TP
ตัวอย่างที่ผ่านการกรอง 50 mL	ตวงตัวอย่าง 50 mL
↓	↓
เติมสารละลาย Digest 4 mL	เติมสารละลาย Digest 4 mL
↓	↓
นำเข้า Autoclave ที่ 120oC เวลา 90 นาที	นำเข้า Autoclave ที่ 120oC เวลา 30 นาที
↓	↓
เติมสารละลายผสม 1.5 mL เขย่าให้เข้ากัน	เติมสารละลายผสม 1.5 mL เขย่าให้เข้ากัน
↓	↓
เติมสารละลายแอสคอร์บิก 1.5 mL เขย่าให้เข้ากัน	เติมสารละลายแอสคอร์บิก 1.5 mL เขย่าให้เข้ากัน
↓	↓
รอประมาณ 10-30 นาที วัดค่า Absorbance เครื่อง Spectro ที่ 880 nm วัดด้วย cell ขนาด 10 cm	รอประมาณ 10-30 นาที วัดค่า Absorbance เครื่อง Spectro ที่ 880 nm วัดด้วย cell ขนาด 1 cm

7.4 ขั้นตอนที่ 4 การคำนวณตัวอย่าง

Total Phosphorous, mg P/L = $\frac{\text{ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่ได้จาก Standard curve, mg P/L} \times 50}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้, mL}}$

8. แบบฟอร์มที่ใช้

-

9. ประโยชน์ของการจัดทำคู่มือการปฏิบัติงาน

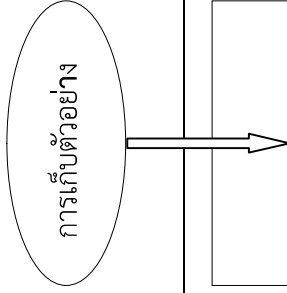
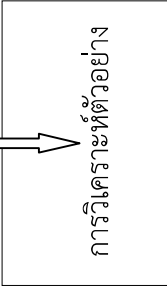
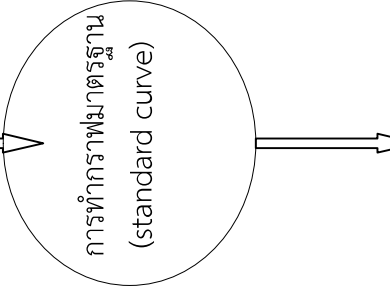
เพื่อสะดวกในการที่ผู้ปฏิบัติงานสามารถทำการวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างถูกต้อง

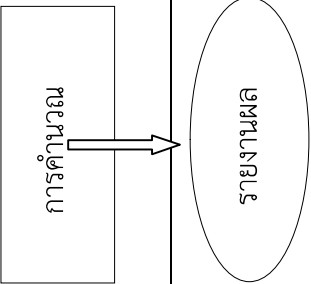
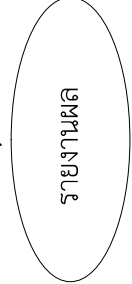
10. เอกสารอ้างอิง

วิธีการทดสอบนี้ยึดหลัก (followed) วิธีที่ 4500-P B. และ E. ของ Standard Method for the Examination of Water and Wastewater, 18th edition, 1992. APHA, AWWA, WEF.

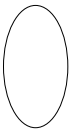

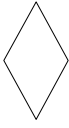


กรรณิการ์ สิริสิงห. เคมี น้ำโสโครกและการวิเคราะห์. พิมพ์ครั้งที่ 4, 2549. กรุงเทพฯ.

คู่มือการปฏิบัติงานเรื่อง: การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมด	
รหัสเอกสาร...W-SOP-TP45.....	วันที่บังคับใช้.....12 มิถุนายน 2545.....
หน้าที.....	

ลำดับที่	ขั้นตอน/ผังการปฏิบัติงาน	รายละเอียดขั้นตอน	ผู้รับผิดชอบ	เอกสารอ้างอิง	หมายเหตุ
1		<p>ควรเก็บตัวอย่างตัวอย่างตัวขวดแก้ว หรือขวดพลาสติก PE สามารถแช่แข็งตัวอย่างโดยไม่ต้องเติมสารใดๆ หรือเติม กรด HCl เข้มข้นในปริมาณ 1 mL ต่อตัวอย่าง 1 L แล้วแช่เย็น หรือเติมกรด H₂SO₄ เข้มข้นในปริมาณ 2 mL ต่อตัวอย่าง 1 L แล้วแช่เย็น โดยให้วิเคราะห์ตัวอย่างภายใน 28 วัน</p>	นางสาวสุไพลิน ศรีกิ่งพาน	AWWA,1992	
2		<p>ก. นำตัวอย่างมาทำให้ยู่อุณหภูมิห้อง แล้วเติมสารละลายผสม ปริมาณ 1.5 mL เขย่าให้เข้ากัน</p> <p>ข. เติมสารละลาย Ascorbic acid ปริมาณ 1.5 mL เขย่าให้เข้ากันดี หลังจากนั้น 10 นาที แต่ไม่เกิน 30 นาที ให้นำตัวอย่างไปวัดค่า Absorbance โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความถี่ 880 nm</p>	นางสาวสุไพลิน ศรีกิ่งพาน	AWWA,1992	
4		<p>นำสารละลายมาตรฐาน phosphate (20 mgP/L) มา 0, 1, 2, 3, 4, 5 mL ผสมน้ำกลั่นให้ได้ 50 mL จะได้สารละลายฟอสฟอรัสมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, และ 2 mg/L ตามลำดับ นำไปวิเคราะห์เหมือนตัวอย่างทุกขั้นตอน (กรณีที่มี Standard curve อยู่แล้ว ให้เตรียมสารละลายมาตรฐานที่อย่างน้อย 2 ความเข้มข้น แล้วนำไปวิเคราะห์เหมือนตัวอย่างทุกขั้นตอน และตรวจสอบความถูกต้อง โดยค่า % difference ต้องน้อยกว่า 15%)</p>	นางสาวสุไพลิน ศรีกิ่งพาน	AWWA,1992	

3		Total Phosphorous, mg P/L = (ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่ได้จาก Standard curve, mg P/L) x 50/ ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้, mL	นางสาวสุไพลิน ศรีกิ่งพาน	AWWA, 1992
4		รายงานผลตามแบบฟอร์มการรายงาน เป็นมีลิกิริมต่อลิตร	สุดา อภิสิริภรณ์รัตน์	

หมายเหตุ: 1. สัญลักษณ์ที่ใช้

 แสดงถึงจุดเริ่มต้นและจุดสิ้นสุดของขั้นตอน	 แสดงถึงกิจกรรมและการทำงานปฏิบัติ	 แสดงถึงการตัดสินใจ เช่น พิจารณาเห็นชอบ/ยืนยัน	 แสดงถึงทิศทางหรือการเคลื่อนไหวของงาน	 แสดงถึงจุดเชื่อมต่อระหว่างขั้นตอน
---	--	---	--	---