

สารบัญ

	หน้า
1. บทนำ	1
2. วัตถุประสงค์ของการจัดทำคู่มือการปฏิบัติงาน	1
3. ขอบเขต	1
4. หลักการ	1
5. การเก็บรักษาตัวอย่าง	2
6. สิ่งรบกวน	2
7. เครื่องมือและอุปกรณ์	2
8. สารเคมี	2-3
9. การเตรียมเครื่องมือกลั่น	4
10. ขั้นตอนการวิเคราะห์	4
11. การคำนวณ	5
12. ประโยชน์ของการจัดทำคู่มือการปฏิบัติงาน	5
13. เอกสารอ้างอิง	5

ภาคผนวก ก-ง

คู่มือการปฏิบัติงาน

เรื่อง การวิเคราะห์หาค่า Total Kjeldahl Nitrogen (TKN)

1. บทนำ

Nitrogen ในรูปสารอินทรีย์รวมถึงสารอินทรีย์ในธรรมชาติ เช่น protien peptides nucleic acid และ urea และยังรวมถึงสารอินทรีย์สังเคราะห์อีกมากมาย สำหรับการวิเคราะห์นั้นสามารถหาปริมาณรวมของ Ammonia และ Nitrogen ในรูปสารอินทรีย์โดยเรียกรวมตามวิธีการวิเคราะห์ว่า Kjeldahl nitrogen ปริมาณไนโตรเจนที่หาได้โดยวิธี Kjeldahl นี้ไม่รวมถึง azide azine azo hydrazone nitrate nitrite nitro nitroso oxime และ semi-carbazone

2. วัตถุประสงค์ของการจัดทำคู่มือการปฏิบัติงาน

การจัดทำคู่มือการปฏิบัติงาน เพื่อใช้เป็นขั้นตอนการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำและน้ำเสียในห้องปฏิบัติการสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณรวมทั้งหมดของ ไนโตรเจนอินทรีย์และแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

3. ขอบเขต

วิธีการทดสอบนี้ใช้กับตัวอย่างน้ำเสียจากชุมชน และอุตสาหกรรม รวมถึงแหล่งน้ำธรรมชาติ

4. หลักการ

ปริมาณ Amino nitrogen ในสารอินทรีย์ แอมโมเนียอิสระ และ แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ในตัวอย่าง เปลี่ยนเป็น Ammonium sulfate $[(NH_4)_2SO_4]$ ภายใต้สภาวะที่มี H_2SO_4 และ K_2SO_4 โดยมี $CuSO_4$ เป็นตัว catalyst หลังจากนั้นแอมโมเนียในสภาวะที่เป็นต่างจะถูกกลั่นและถูกจับใน boric acid แล้วนำไป titrate ด้วยกรด H_2SO_4

- QA limit สำหรับ spike recovery เท่ากับ 20%

- QA limit สำหรับการวิเคราะห์ซ้ำ เท่ากับ 15%

5. การเก็บรักษาตัวอย่าง

ควรเก็บตัวอย่างด้วยขวดแก้วหรือขวด P.E ในกรณีที่ไม่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ทันที ให้เติมกรด H₂SO₄ เข้มข้น 2 mL ต่อน้ำตัวอย่าง 1 L โดยให้ pH < 2 แล้วแช่เย็นที่อุณหภูมิที่ 4 °C โดยสามารถเก็บไว้ได้นานไม่เกิน 28 วัน

6. สิ่งรบกวน

ปริมาณของ Nitrate ที่มากกว่า 10 mg/L สามารถทำให้เกิดการผิดพลาดกับค่าที่หาได้ สัดส่วนของเกลือและกรดในสารละลายที่นำไปย่อยสลายจะต้องควบคุมเพื่อให้อุณหภูมิในการย่อยสลายอยู่ระหว่าง 360-370 °C ปริมาณของสารอนินทรีย์และสารอินทรีย์ในตัวอย่างที่มีมากจะส่งผลให้อุณหภูมิไม่อยู่ในช่วงที่ต้องการ ปริมาณของเกลือหรือสารอนินทรีย์ที่มากเกินไปอาจทำให้อุณหภูมิสูงเกินไปและเกิดการสูญเสีย nitrogen ระหว่างการย่อยสลาย เช่นเดียวกัน ปริมาณของสารอินทรีย์ที่มากเกินไปจะทำปฏิกิริยากับกรดทำให้สัดส่วนของเกลือและกรดเพิ่มขึ้น และส่งผลให้อุณหภูมิสูงขึ้น ในกรณีนี้ให้เติมกรด H₂SO₄ เข้มข้น 10 mL/3 g COD

7. เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ชุดเครื่องย่อยสลาย (Digestion apparatus) ประกอบด้วย Kjeldahl flasks ขนาด 800 mL และอุปกรณ์ทำความร้อนที่ให้ความร้อนได้ถึง 365-370 °C (การ Digestion ต้องทำในตู้ที่ดูควันทันที่มีอุปกรณ์สำหรับดักไอกรดที่เกิดขึ้นจากการ Digestion)
2. ชุดเครื่องกลั่นหา Ammonia
3. Volumetric flasks
4. pipets
5. กระจกบอกลง
6. ขวดรูปชมพู่

8. สารเคมี

1. น้ำกลั่นที่ปราศจาก Ammonia
2. สารละลายผสม indicator
 - ก. ชั่งสาร Methyl red มา 200 mg นำมาละลายใน ethyl alcohol 95% จำนวน 100 mL
 - ข. ชั่งสาร Methyl blue มา 100 mg นำมาละลายใน ethyl alcohol 95% จำนวน 50 mL

นำสารละลาย ข้อ ก. และ ข. ผสมให้เข้ากัน สารละลายผสมนี้มีอายุการใช้งาน 1 เดือน

3. สารละลาย Indicating boric acid

ชั่งสาร boric acid (H_3BO_3) จำนวน 20 g ในน้ำกลั่น เติมสารละลายผสม indicator จำนวน 10 mL แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ 1 L

4. กรด H_2SO_4 เข้มข้น

5. สาร Potassium sulfate (K_2SO_4)

6. สารละลาย Copper sulfate ($CuSO_4$)

ชั่งสาร $CuSO_4$ จำนวน 25.115 g นำมาละลายในน้ำกลั่นแล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ 1 L

7. สารละลาย Sodium hydroxide ($NaOH$) + Sodium thiosulfate ($Na_2S_2O_3$)

นำสาร $NaOH$ จำนวน 500 g และ $Na_2S_2O_3$ จำนวน 25 g ละลายในน้ำกลั่นแล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ 1 L

8. สารละลาย Glutamic acid (1,000 mg/L=95.14 mg N/L)

อบสาร glutamic acid ที่อุณหภูมิ 103 - 105°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นใน desiccator ชั่งสารมา 1.000 g ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 1 L เติมน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 mL สารละลายนี้ เก็บไว้ในตู้เย็นได้นาน 3 สัปดาห์

9. สารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 1 N

นำกรด H_2SO_4 เข้มข้น มา 28 mL เจือจางให้ได้ 1,000 mL ด้วยน้ำกลั่น

10. สารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 0.02 N

นำสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 1 N มา 20 mL เจือจางให้ได้ 1,000 mL ด้วยน้ำกลั่น

การ Standardize สารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 0.02 N

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน Sodium carbonate โดยอบสาร Na_2CO_3 ที่ 250°C เป็นเวลา 4 ชม. นำมา 0.250 g เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 mL สารละลายนี้เก็บได้นาน 1 สัปดาห์

2. นำสารละลาย Sodium carbonate ที่เตรียมได้ มา 10 mL เจือจางให้ได้ 200 mL ด้วยน้ำกลั่น

3. เติมสารละลาย Indicating boric acid จำนวน 50 mL แล้วนำไป Titrate ด้วย สารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 0.02 N

normality ของสารละลายมาตรฐาน H_2SO_4 = $\frac{A * B}{53 * mL \text{ ของ } H_2SO_4}$

11. สารละลาย Borate buffer

A = น้ำหนักหน่วยเป็น g ของ Na_2CO_3 ใน 1 L

B = mL ของ Na_2CO_3 ที่ ใช้ (กรณีนี้ใช้ 10 mL)

นำสารละลาย 0.025 M Na₂B₄O₇ (9.5 g ของ Na₂B₄O₇·10H₂O/L) มา 500 mL เติม 0.1 N NaOH จำนวน 88 mL แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 mL

9. การเตรียมเครื่องมือกลั่น

1. นำ Kjeldahl flask ขนาด 800 mL เติม Pumic stone 1-2 ช้อน
2. นำน้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนีย 500 mL
3. เติมสารละลาย Borate buffer 20 mL แล้วปรับ pH ให้ได้ 9.5 ด้วยสารละลาย NaOH 6 N
4. นำไปกลั่นล้างชุดกลั่นจนกระทั่งปราศจาก Ammonia
5. ปลอ่ยให้ Kjeldahl flask คงสภาพเดิมหลังจากกลั่นเสร็จแล้วจนกว่าจะเริ่มทำการกลั่นตัวอย่างจริง
6. ถอด Kjeldahl flask ออกและเปลี่ยน Kjeldahl flask ที่มีตัวอย่างแทนที่

10. ขั้นตอนการวิเคราะห์

- 1 การทำ Quality Control (เช็คประสิทธิภาพในการย่อย,%)

ให้เลือกตัวอย่างมาอย่างน้อย 10% ของจำนวนตัวอย่างทั้งหมด นำมาตามปริมาตรที่ต้องการ เติมสารละลาย Glutamic acid (95.14 mg N/L) จำนวน 10 mL ปริมาณของ Nitrogen ที่ spike เท่ากับ $(10 \times 95.14) / (\text{mL ของตัวอย่าง})$ mg N/L แล้วนำไปวิเคราะห์เหมือนตัวอย่างทุกขั้นตอน

- 2 การเตรียมตัวอย่าง

ก. ใส่ Pumic stone 1 ช้อนตักสารขนาดใหญ่ลงใน Kjeldahl flask ขนาด 800 mL แล้วเติมสาร K₂SO₄ ปริมาณ 6.7 g

ข. เติมน้ำตัวอย่างในปริมาณที่เหมาะสมตามตารางข้างล่าง

ปริมาณ Organic Nitrogen ในน้ำตัวอย่าง mg/L	ปริมาตรน้ำตัวอย่างที่ใช้ mL
0 – 1	500
1 – 10	250
10 – 20	100
20 – 50	50.0
50 - 100	25.0

ค. เจือจางน้ำตัวอย่างให้ได้ 300 mL

ง. เติมสารละลาย CuSO₄ 10 mL

จ. เติมกรด H₂SO₄ เข้มข้น 10 mL เขย่า Kjeldahl flask ให้สารเข้ากัน

- ฉ. นำไปต้มให้เหลือปริมาตรประมาณ 10 - 20 mL ในการต้มเมื่อน้ำระเหยไปหมดแล้ว จะมีควันขาวพุ่งเกิดขึ้นให้ต้มต่อไปอีก 30 นาที ตัวอย่างที่มีสีหรือขุ่นจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อนหรือใส จึงปิดเตาทิ้งให้เย็น
- ช. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 300 mL
- ซ. เติมสารละลายผสม NaOH+Na₂S₂O₃ จำนวน 50 mL
- ฅ. นำ Kjeldahl flask ที่มีตัวอย่างไปประกอบกับชุดกลั่น แกว่งขวดให้สารละลายเข้ากัน กลั่นโดยเก็บน้ำส่วนที่กลั่นได้อย่างน้อย 200 mL ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 mL ซึ่งมีสารละลาย Indicating boric acid อยู่ 50 mL รวมปริมาตรทั้งหมดที่จะได้เป็น 250 mL และให้ปลายของแท่งแก้วที่นำน้ำที่กลั่นได้ จุ่มอยู่ในสารละลาย indicating boric acid
- ฉ. นำส่วนที่กลั่นได้ไป titrate หาค่า Ammonia ด้วยสารละลายมาตรฐาน H₂SO₄ จนกระทั่งสีเปลี่ยนเป็นสีม่วงอ่อน โดยใช้น้ำกลั่น 200 mL ผสมกับ indicating boric acid 50 mL เป็นตัวเทียบสีจุดสิ้นสุด
- ญ. ให้ทำ Blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนน้ำตัวอย่างและวิเคราะห์เหมือนกับตัวอย่างทุกขั้นตอน

11. การคำนวณ

$$\text{Total Kjeldahl Nitrogen (TKN), mg/L} = \frac{(A - B) * 14,000 * N}{\text{ปริมาตรของตัวอย่าง, mL}}$$

A = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน H₂SO₄ ที่ใช้สำหรับตัวอย่าง (mL)

B = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน H₂SO₄ ที่ใช้สำหรับ Blank (mL)

N = Normality ของสารละลายมาตรฐาน H₂SO₄

12. ประโยชน์ของการจัดทำคู่มือการปฏิบัติงาน

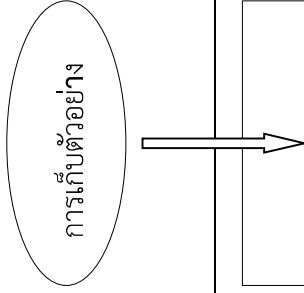
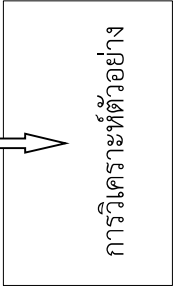
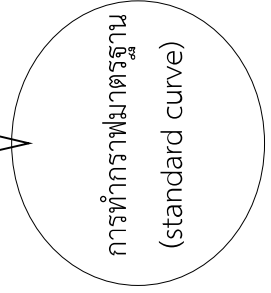
เพื่อสะดวกในการที่ผู้ปฏิบัติงานสามารถทำการวิเคราะห์ตัวอย่างได้อย่างถูกต้อง

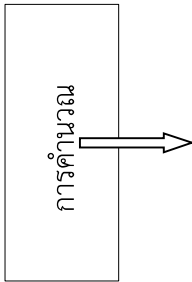

13. เอกสารอ้างอิง

วิธีการทดสอบนี้ยึดหลัก (followed) วิธีที่ 4500-N_{org} B. และ 4500-NH₃ E. ของ Standard Method for the Examination of Water and Wastewater, 18th edition, 1992. APHA, AWWA, WEF.

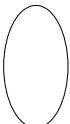

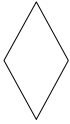


-

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

ลำดับที่	ขั้นตอน/ผังการปฏิบัติงาน	รายละเอียดงาน	ผู้รับผิดชอบ	เอกสารอ้างอิง	หมายเหตุ
1		<p>ควรเก็บตัวอย่างตัวอย่างขวดแก้ว 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. นำตัวอย่างมาทำให้อยู่อุณหภูมิห้อง 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 แล้วนำไป</p>	นางสาวสุไพลิน ศรีกิ่งพาน	AWWA,1992	

		วิเคราะห์เหมือนตัวอย่างทุกขั้นตอน และตรวจสอบความถูกต้อง โดยค่า % difference ต้องน้อยกว่า 15%)		
3		Total Phosphorous, mg P/L = (ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่ได้จาก Standard curve, mg P/L) x 50/ ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้, mL	นางสาวสุไพลิน ศรีกิ่งพาน	AWWA, 1992
4		รายงานผลตามแบบฟอร์มการรายงาน เป็นมีลิกรัมต่อลิตร	สุดา อธิสุการณ์รัตน์	

หมายเหตุ: 1. สัญลักษณ์ที่ใช้

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

