



**คู่มือปฏิบัติงาน
(Work Manual)**

กระบวนการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ดิน น้ำ และปุ๋ย

สารบัญ

	หน้า
1. วัตถุประสงค์	1
2. ขอบเขต	1
3. คำจำกัดความ	1
4. หน้าที่ความรับผิดชอบ	3
5. Work Flow กระบวนการ	4
6. ขั้นตอนการปฏิบัติงาน	5
7. มาตรฐานงาน	5
8. ระบบติดตามประเมินผล	6
9. เอกสารอ้างอิง	7
10. แบบฟอร์มที่ใช้	8
ภาคผนวก	9
ภาคผนวก 1) ปิงจ้ยการพิจารณาการจำแนกประเภทกระบวนการงาน	10
ภาคผนวก 2) ตัวอย่างแบบฟอร์ม	11
- D1 การส่งตัวอย่างพืชอาหารสัตว์	11
- D2 การส่งตัวอย่างอาหารสำเร็จ	14
- D3 การส่งตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์	15
- D4 การส่งตัวอย่างน้ำ	16
- D5 การส่งตัวอย่างดิน	17
ภาคผนวก 3) คู่มือการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ดิน น้ำและ ปุ๋ย	18
- การวิเคราะห์ความชื้น	18
- การวิเคราะห์หาเถ้า	19
- การวิเคราะห์หาโปรตีน	20
- การวิเคราะห์หาไขมัน	23
- การวิเคราะห์หาเยื่อใยหยาบ	25
- การวิเคราะห์หาเนื้องอก (NDF)	27
- การวิเคราะห์หาฟอสฟอรัส (ADF)	31
- การวิเคราะห์หาฟอสฟอรัส (ADL)	34
- การวิเคราะห์หาฟอสฟอรัส (Lignin)	35
- การวิเคราะห์หาแคลเซียม	38
- การวิเคราะห์หาฟอสฟอรัส	41
- การวิเคราะห์หาแมกนีเซียม	44
- การวิเคราะห์หาโพแทสเซียม	46
- การวิเคราะห์หาโซเดียม	49
- การวิเคราะห์ปฏิกิริยาในดิน (pH)	51
- การวิเคราะห์หาความต้องการปุ๋ย	52
- การวิเคราะห์หาอินทรีย์วัตถุในดิน	55

คู่มือปฏิบัติงาน

กระบวนการบริการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ดิน น้ำและปุย แก่เกษตรกร

1. วัตถุประสงค์

1.1 เพื่อให้กรมปศุสัตว์มีการจัดทำคู่มือการปฏิบัติงานที่ชัดเจนอย่างเป็นลายลักษณ์อักษร ที่แสดงถึงรายละเอียดขั้นตอนการปฏิบัติงานของกิจกรรม/กระบวนการต่างๆ ของหน่วยงาน และเป็นการสร้างมาตรฐานการปฏิบัติงาน ที่มุ่งไปสู่การบริหารคุณภาพทั่วทั้งองค์กรอย่างมี ะสิทธิภาพ เกิดผลงานที่ได้มาตรฐานเป็นไปตามเป้าหมาย ได้ผลิตผลหรือการบริการที่มีคุณภาพ และบรรลุขีดกำหนดที่สำคัญของกระบวนการ

1.2 เพื่อเป็นหลักฐานที่แสดงให้เห็นถึงวิธีการทำงานอย่างชัดเจนเป็นรูปธรรม เพื่อใช้สำหรับการพัฒนา และเรียนรู้ของผู้เข้ามาปฏิบัติงานใหม่ รวมถึงการยกระดับการปฏิบัติงานไปสู่ความเป็นมืออาชีพ ตลอดจนใช้ประกอบการประเมินผลการปฏิบัติงานของบุคลากร

1.3 เพื่อใช้แสดงหรือเผยแพร่ให้กับบุคลากรภายนอกหรือผู้รับบริการ ได้รับรู้ เข้าใจกระบวนการปฏิบัติงาน และใช้ประโยชน์จากกระบวนการดังกล่าวเพื่อขอการรับบริการที่ตรงกับความต้องการ

1.4 เป็นคู่มือสำหรับเจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติงานวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการกองอาหารสัตว์ทุกแห่ง ใช้ในการให้บริการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ดิน น้ำและปุย เพื่อให้การปฏิบัติงานของแต่ละหน่วยงานเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

2. ขอบเขต

คู่มือการปฏิบัติงานนี้ครอบคลุมขั้นตอนตั้งแต่การติดต่อส่งตัวอย่างของผู้รับบริการ การให้คำแนะนำในการสุ่มเก็บตัวอย่าง การส่งตัวอย่าง การลงทะเบียนรับและการเตรียมตัวอย่าง การวิเคราะห์ตัวอย่าง จนถึงกรรายงานผลให้ผู้รับบริการ รายงานผลการปฏิบัติงานให้กองอาหารสัตว์

รายการที่ให้บริการ

- อาหารสัตว์ ได้แก่ องค์ประกอบทางเคมี โดยการวิเคราะห์ Proximate (ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และ เถ้า) Detergent fiber (เยื่อใยชนิด ADF NDF และ ลิกนิน) แร่ธาตุ (แคลเซียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม กำมะถัน เหล็ก ทองแดง แมงกานีส และสังกะสี)

- ดินและปุย ได้แก่ อินทรีย์วัตถุ (Organic matter) และ pH

หน่วยงานที่ให้บริการ คือ หน่วยงานของสำนักพัฒนาอาหารสัตว์ที่มีห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ ได้แก่

- กลุ่มวิเคราะห์อาหารสัตว์และพืชอาหารสัตว์ จ.ปทุมธานี ให้บริการวิเคราะห์ อาหารสัตว์ ดิน น้ำ และปุย
- ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์นครราชสีมา จ.นครราชสีมา ให้บริการวิเคราะห์อาหารสัตว์
- ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ขอนแก่น จ.ขอนแก่น ให้บริการวิเคราะห์อาหารสัตว์
- ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์เพชรบุรี จ.เพชรบุรี ให้บริการวิเคราะห์อาหารสัตว์

ผู้รับบริการ ได้แก่ เกษตรกร นักวิชาการและนักวิจัยจากหน่วยงานอื่น

3. คำจำกัดความ

(1) เกษตรกร หมายถึง บุคคลที่ประกอบอาชีพเลี้ยงปศุสัตว์ เช่น โค กระบือ แพะ แกะ สุกร และสัตว์ปีก

(2) สำนักพัฒนาอาหารสัตว์ เป็นหน่วยงานหนึ่งในสังกัดกรมปศุสัตว์ โดยกฤษฎีกาจากกองอาหารสัตว์ เป็นสำนักพัฒนาอาหารสัตว์ ตามกฎกระทรวง แบ่งส่วนราชการกรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2554 ในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 129 ตอนที่ 3 ก หน้า 1-11 วันที่ 6 มกราคม 2555 มีหน้าที่ศึกษา ค้นคว้าวิจัย

พัฒนาด้านอาหารสัตว์ และพืชอาหารสัตว์ พัฒนาและถ่ายทอดเทคโนโลยีด้านอาหารสัตว์ และพืชอาหารสัตว์ ปฏิบัติงานร่วมกับหรือสนับสนุนการปฏิบัติงานของหน่วยงานอื่นที่เกี่ยวข้อง หรือได้รับมอบหมาย มีศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ และสถานีพัฒนาอาหารสัตว์ในสังกัดทั่วประเทศ จำนวน 29 แห่ง

(3) ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ เป็นหน่วยงานภายใต้สำนักพัฒนาอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ มีหน้าที่ศึกษา ค้นคว้า วิจัย และพัฒนาเทคโนโลยีด้านอาหารสัตว์ที่สอดคล้องกับปัญหาและความต้องการของเกษตรกรในเขตพื้นที่รับผิดชอบ พัฒนาระบบการผลิต กระจายพันธุ์พืชอาหารและเลียงสัตว์ ช่วยเหลือเกษตรกรที่ประสบภัยธรรมชาติ แก้ปัญหาด้านอาหารสัตว์ ปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตสัตว์ สนับสนุนและพัฒนาอาชีพ การผลิตเลียงสัตว์ เมล็ดพันธุ์พืชอาหารสัตว์ และการผลิตอาหารสัตว์ ประสานแผนและดำเนินการร่วมกับสำนักพัฒนาอาหารสัตว์ รวมทั้งร่วมกำหนดแผนงานวิจัยและแผนการผลิตเมล็ดพันธุ์พืชอาหารสัตว์ของศูนย์พัฒนาอาหารสัตว์ ในเขตพื้นที่จังหวัดที่รับผิดชอบ ทดสอบ สาธิต ฝึกอบรม เผยแพร่ และถ่ายทอดเทคโนโลยีด้านอาหารสัตว์สู่เกษตรกร ให้คำปรึกษา แนะนำ ด้านวิชาการอาหารสัตว์ บริการวิเคราะห์/ประเมินคุณค่าทางโภชนาของอาหารสัตว์ และตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์พืชอาหารสัตว์ (เฉพาะศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ที่มีห้องปฏิบัติการ)

(4) สถานีพัฒนาอาหารสัตว์ เป็นหน่วยงานที่อยู่ภายใต้การดูแลของศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ สำนักพัฒนาอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ มีหน้าที่ศึกษา ค้นคว้า วิจัย และพัฒนาเทคโนโลยีด้านอาหารสัตว์ให้มีความเหมาะสมกับสภาพปัญหาในพื้นที่จังหวัดที่รับผิดชอบ โดยประสานแผนร่วมกับศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ พัฒนาระบบการผลิตและกระจายพันธุ์พืชอาหารสัตว์และเลียงสัตว์ ช่วยเหลือเกษตรกรที่ประสบภัยธรรมชาติ แก้ปัญหาด้านอาหารสัตว์ ปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตสัตว์ สนับสนุนและพัฒนาอาชีพ การผลิตเลียงสัตว์ เมล็ดพันธุ์พืชอาหารสัตว์ และการผลิตอาหารสัตว์ โดยประสานแผนร่วมกับศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ และหน่วยงานอื่น ทดสอบ สาธิต ฝึกอบรม เผยแพร่ พัฒนาเทคโนโลยีและถ่ายทอดสู่เจ้าหน้าที่และเกษตรกร ให้คำปรึกษา แนะนำวิชาการด้านอาหารสัตว์ บริการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์พืชอาหารสัตว์ (เฉพาะสถานีพัฒนาอาหารสัตว์ที่มีห้องปฏิบัติการ)

(5) ผู้รับบริการ หมายถึง บุคคลที่มาใช้บริการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ได้แก่ เกษตรกร นักวิชาการและนักวิจัยจากหน่วยงานอื่น

(6) ผู้ให้บริการ หมายถึง ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ของสำนักพัฒนาอาหารสัตว์

(7) อาหารสัตว์ หมายถึง พืชอาหารสัตว์ (พืชสด พืชหมัก และพืชแห้ง) วัตถุดิบอาหารสัตว์ อาหารข้น อาหารผสมเสร็จ และ วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมที่นำมาใช้เป็นอาหารสัตว์

(8) ดิน หมายถึง ดินที่ใช้ปลูกพืชอาหารสัตว์

(9) น้ำ หมายถึง น้ำที่ใช้ในกรปศุสัตว์

(10) ปุ๋ย หมายถึง ปุ๋ยพืชสด ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยคอก และ ปุ๋ยอินทรีย์

(11) Proximate analysis หมายถึง การวิเคราะห์อาหารสัตว์แบบประมาณ ประกอบด้วย

- วัตถุแห้ง (dry matter ; DM) หรือ ความชื้น (moister content)
- โปรตีน (crude protein ; CP)
- เยื่อใยหยาบ (crude fiber ; CF)
- ไขมันหยาบ (crude fat หรือ ether extract , EE)
- เถ้า (ash)

(12) Detergent fiber analysis หมายถึง การวิเคราะห์เยื่อใยในอาหารสัตว์ ประกอบด้วย

- neutral detergent fiber (NDF)
- acid detergent fiber (ADF)
- ลิกนิน (ADL)

(13) แร่ธาตุ หมายถึง การวิเคราะห์แร่ธาตุในอาหารสัตว์ ประกอบด้วย

- แร่ธาตุปริมาณมาก ได้แก่ แคลเซียม (calcium; Ca) แมกนีเซียม (magnesium; Mg) ฟอสฟอรัส (phosphorus; P) โพแทสเซียม (potassium; K) กำมะถัน (sulfur; S)
- แร่ธาตุปริมาณน้อย ได้แก่ ทองแดง (copper; Cu) เหล็ก (ferric หรือ iron; Fe) สังกะสี (zinc; Zn) แมงกานีส (manganese; Mn)

(14) การวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุ (Organic matter ; OM) หมายถึง การวิเคราะห์หาความอุดมสมบูรณ์ของดิน

(15) การวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง (pH) หมายถึง การวิเคราะห์สภาพความเป็นกรด-ด่างของดิน

4. หน้าที่ความรับผิดชอบ

(1) ภาระงานการบริการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ดิน น้ำ และปัสสาวะ ดำเนินการโดยหน่วยงานของสำนักพัฒนาอาหารสัตว์ที่มีห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์

(2) ผู้อำนวยการสำนัก และ ผู้อำนวยการศูนย์ เป็นผู้รับผิดชอบในการบริหารจัดการกระบวนการฯ ให้บรรลุตามเป้าหมาย

(3) หัวหน้าห้องปฏิบัติการ เป็นผู้รับผิดชอบในการจัดการกระบวนการฯ ควบคุม และดูแลรับผิดชอบการวิเคราะห์ รวมทั้งการจัดทำรายงานและแจ้งผลการวิเคราะห์

(4) เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ มีหน้าที่ปฏิบัติงานวิเคราะห์

6. ขั้นตอนการปฏิบัติงาน กระบวนการบริการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ดิน น้ำ และ ปุ๋ย

1. เกษตรกร หรือผู้รับบริการแจ้งความประสงค์ขอส่งตัวอย่างวิเคราะห์มาที่กลุ่มวิเคราะห์อาหารสัตว์และพืชอาหารสัตว์ หรือ ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์ หรือ สถานีพัฒนาอาหารสัตว์ โดยเจ้าหน้าที่ให้คำแนะนำวิธีการเก็บตัวอย่าง วิธีการบรรจุ และการจัดส่งตัวอย่างอาหารสัตว์ ดิน น้ำ และปุ๋ย ตามเอกสารคู่มือวิธีการเก็บตัวอย่าง

2. เมื่อผู้ขอรับบริการรับทราบ ให้กรอกแบบฟอร์มใบใบนำส่งตัวอย่าง เจ้าหน้าที่นำตัวอย่างพร้อมแบบฟอร์มใบนำส่ง ส่งไปยังห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวิเคราะห์

3. เมื่อเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการได้รับตัวอย่างพร้อมใบนำส่ง จะลงทะเบียนรับตัวอย่าง แล้วทำการขออนุมัติจาก ผอ.ศูนย์ฯ/หัวหน้ากลุ่มฯ เพื่อทำการวิเคราะห์ เมื่ออนุมัติแล้ว เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเตรียมตัวอย่างโดยดูสภาพของตัวอย่าง หากพบว่าตัวอย่างมีสภาพไม่ดีหรือเสีย จะยกเลิกการวิเคราะห์ แต่ถ้าตัวอย่างไม่มีปัญหา จะลงทะเบียนยึดตัวอย่าง และรายการที่ต้องการวิเคราะห์ให้ใบสมุดลงรับ แล้วส่งตัวอย่างเข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์ของแต่ละรายการต่อไป

4. เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทำการวิเคราะห์ตามรายการที่ระบุ โดยดำเนินการวิเคราะห์ตามวิธีในคู่มือการปฏิบัติงานวิเคราะห์อาหารสัตว์ ดิน น้ำ และปุ๋ย ผลการวิเคราะห์ที่ได้หากไม่มีข้อผิดพลาดจะถูกบันทึกผลลงสมุดรับ เพื่อเข้าสู่ขั้นตอนการแจ้งผล แต่หากพบว่าผลที่ได้ผิดปกติไป เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจะวิเคราะห์ซ้ำอีก จนแน่ใจ จึงบันทึกผลลงสมุดลงรับ

5. เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจะจัดทำรายงานผลการวิเคราะห์ตามแบบฟอร์มรายงานผลการวิเคราะห์ เสนอให้หัวหน้าห้องปฏิบัติการตรวจสอบความถูกต้อง เสนอให้หัวหน้ากลุ่มฯ/ผอ.ศูนย์ฯ ลงนาม และจัดส่งรายงานผลให้แก่ผู้รับบริการทางโทรสาร หรือ e mail หรือ จดหมาย โดยกลุ่มวิเคราะห์ฯ/ศูนย์ฯ จะรวบรวมผลการปฏิบัติงานแล้วจัดทำรายงานเดือนส่ง ผอ.สำนักพัฒนาอาหารสัตว์ทราบต่อไป

7. มาตรฐานงาน

กระบวนการบริการวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารสัตว์ ดิน น้ำ และปุ๋ย ผู้ให้บริการได้กำหนดระยะเวลาแต่ละขั้นตอนในการให้บริการ โดยมีมาตรฐานระยะเวลา และวิธีการวิเคราะห์ที่เป็นไปตามคู่มือการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ดิน น้ำ และปุ๋ย

กระบวนการปฏิบัติงาน	มาตรฐานระยะเวลา/มาตรฐานเชิงคุณภาพ
1. เกษตรกรหรือผู้รับบริการแจ้งความประสงค์ขอรับบริการวิเคราะห์ที่หน่วยงาน หรือเกษตรกร หรือผู้รับบริการส่งตัวอย่างมาวิเคราะห์	1.1 ระยะเวลาดำเนินการ 5 นาที 1.2 ผู้รับบริการต้องเข้าใจในการเก็บตัวอย่าง การบรรจุ และจัดส่ง
2. ตรวจสอบตัวอย่าง	2.1 เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการตรวจสอบสภาพของตัวอย่างว่ามีลักษณะปกติหรือไม่ปกติ (เน่าเสีย, ปนเปื้อนดิน ฯ) หากพบว่าตัวอย่างเสียหายหรือมีสิ่งปนเปื้อนมากจะส่งตัวอย่างคืนให้กับผู้ส่ง ใช้ระยะเวลาดำเนินการ 2 นาที/ตัวอย่าง หรือมากกว่าแล้วแต่ชนิดตัวอย่าง 2.2 ตัวอย่างที่จะได้รับการวิเคราะห์ต้องอยู่ในสภาพปกติ
3. พิจารณารายการวิเคราะห์	3.1 ระยะเวลาดำเนินการ 10 นาที 3.2 ตัวอย่างที่จะได้รับการวิเคราะห์ตามรายการที่จำเป็นและความเหมาะสม ซึ่งอาจเพิ่มขึ้นหรือลดลงจากความต้องการของผู้รับบริการ

กระบวนการปฏิบัติงาน	มาตรฐานระยะเวลา/มาตรฐานเชิงคุณภาพ
4. ส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์	4.1 ระยะเวลาดำเนินการ 5 นาที 4.2 ผู้รับบริการต้องได้รับความสะดวกและส่งตัวอย่างได้ถูกต้อง
5. เตรียมตัวอย่าง	5.1 ระยะเวลาดำเนินการ 4 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดตัวอย่าง 5.2 ตัวอย่างได้รับการเตรียมที่ดี เพื่อให้เป็นตัวแทนที่ดีของตัวอย่าง ซึ่งจะทำให้ผลการวิเคราะห์เป็นค่าที่แท้จริงของตัวอย่างมากที่สุด
6 วิเคราะห์ตัวอย่าง	6.1 ระยะเวลาดำเนินการ 5 วัน (12 ตัวอย่าง) 6.2 การวิเคราะห์ดำเนินการอย่างถูกต้องตามวิธีการที่กำหนดในคู่มือวิเคราะห์ฯ โดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่มีความชำนาญ
7. ผลวิเคราะห์	7.1 ผลวิเคราะห์มีค่า error ถูกต้องตามเกณฑ์ ซึ่งถ้ามีค่าสูงมาก จะต้องวิเคราะห์ซ้ำเพื่อตรวจสอบความถูกต้อง 7.2 ระยะเวลาดำเนินการ 30 นาที ถ้าผลมีความถูกต้อง หรือ 1-6 วัน ถ้าต้องวิเคราะห์ซ้ำ
8. รายงานผลวิเคราะห์ให้ผู้รับบริการ	8.1 ระยะเวลาดำเนินการ 1-2 วัน 8.2 ผู้รับบริการได้รับผลวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องและสามารถนำไปใช้ได้ตามความต้องการ 8.3 สำนักพัฒนาอาหารสัตว์ได้รับรายงานผลการปฏิบัติงาน

๑. ระบบติดตามประเมินผล

กระบวนการปฏิบัติงาน	ผู้รับผิดชอบ	ผู้ติดตาม	วิธีการ	ระยะเวลาดำเนินการ
1. แยกตรวจหรือผู้รับบริการแจ้งความประสงค์ขอรับบริการวิเคราะห์ที่หน่วยงานหรือเกษตรกรหรือผู้รับบริการส่งตัวอย่างมาวิเคราะห์	- ศูนย์ฯ - สถานีฯ - กลุ่มวิเคราะห์ฯ	- ผอ. ศูนย์ฯ - หัวหน้าสถานีฯ - หัวหน้ากลุ่มฯ	คู่มือวิธีการส่งตัวอย่าง	หลังจากส่งตัวอย่าง
2. ตรวจสอบตัวอย่าง	- กลุ่มวิเคราะห์ฯ - ศูนย์ฯ นครราชสีมา, ขอนแก่น และ เพชรบุรี	หัวหน้า ห้องปฏิบัติการ	ตรวจสอบด้วยสายตาหรือการสอบถาม โดยใช้ความชำนาญในการปฏิบัติงาน	
3 พิจารณารายการวิเคราะห์	กลุ่มวิเคราะห์ฯ - ศูนย์ฯ นครราชสีมา, ขอนแก่น และ เพชรบุรี	หัวหน้า ห้องปฏิบัติการ	แบบฟอร์มขอรับบริการวิเคราะห์	

กระบวนการปฏิบัติงาน	ผู้รับผิดชอบ	ผู้ติดตาม	วิธีการ	ระยะเวลาดำเนินการ
4. ส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์	- กลุ่มวิเคราะห์ - ศูนย์ฯ นครราชสีมา, ขอนแก่น และ เพชรบุรี	หัวหน้า ห้องปฏิบัติการ	แบบฟอร์มขอรับบริการ วิเคราะห์ (แบบฟอร์มการส่ง ตัวอย่าง)	
5. ขออนุมัติ	- หัวหน้า ห้องปฏิบัติการ - ผอ.ศูนย์ฯ/ หน.กลุ่มฯ	- หัวหน้า ห้องปฏิบัติการ - ผอ.ศูนย์ฯ/ หน.กลุ่มฯ	- แบบฟอร์มการส่ง ตัวอย่าง - ตารางคุมค่าทาง โภชนา	
6. เตรียมตัวอย่าง และ วิเคราะห์ ตัวอย่าง	เจ้าหน้าที่ ห้องปฏิบัติการ - กลุ่มวิเคราะห์ - ศูนย์ฯ นครราชสีมา, ขอนแก่น และ เพชรบุรี	- หัวหน้า ห้องปฏิบัติการ ผอ.ศูนย์ฯ	- สมุดลงรับตัวอย่าง - คู่มือวิธีวิเคราะห์	- เมื่อวิเคราะห์เสร็จ หรือ ก่อนการจัดทำ รายงานผลวิเคราะห์ - บันทึกการ ปรับเปลี่ยนวิธีการ วิเคราะห์
7. ผลการวิเคราะห์	เจ้าหน้าที่ ห้องปฏิบัติการ - กลุ่มวิเคราะห์ - ศูนย์ฯ นครราชสีมา, ขอนแก่น และ เพชรบุรี	หัวหน้า ห้องปฏิบัติการ	- คู่มือวิธีวิเคราะห์ - ตารางคุมค่าทางโภชนา	หลังการวิเคราะห์
8. รายงานผล วิเคราะห์ให้ ผู้รับบริการ	- กลุ่มวิเคราะห์ - ศูนย์ฯ นครราชสีมา, ขอนแก่น และ เพชรบุรี	หัวหน้ากลุ่ม วิเคราะห์ - ผอ. ศูนย์ฯ นครราชสีมา, ขอนแก่น และ เพชรบุรี	- รายงานผลการ วิเคราะห์ - รายงานผลการ ปฏิบัติงานให้สำนักฯ	- เมื่อจัดทำรายงาน ผลวิเคราะห์เสร็จ - ทุกเดือนๆ ละ 1 ครั้ง

9. เอกสารอ้างอิง

กองอาหารสัตว์. 2549. คู่มือการเก็บตัวอย่างอาหารสัตว์ ดิน และ น้ำ เพื่อการวิเคราะห์. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 10 หน้า.

กองอาหารสัตว์. 2549. พื้ขออาหารสัตว์พันธุ์ดี. เอกสารแนะนำ กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 18 หน้า.

กองอาหารสัตว์. 2553. คู่มือวิธีวิเคราะห์อาหารสัตว์ ดิน น้ำ และปุ๋ย. กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 57 หน้า

10. แบบฟอร์มที่ใช้

แบบฟอร์มขอรับบริการวิเคราะห์ (ภาคผนวก) ได้แก่

- (1) แบบฟอร์มการส่งตัวอย่างพืชอาหารสัตว์ (แบบฟอร์ม D1)
- (2) แบบฟอร์มการส่งตัวอย่างอาหารสำเ็จ (แบบฟอร์ม D2)
- (3) แบบฟอร์มการส่งตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์ (แบบฟอร์ม D3)
- (4) แบบฟอร์มการส่งตัวอย่างน้ำ (แบบฟอร์ม D4)
- (5) แบบฟอร์มการส่งตัวอย่างดิน (แบบฟอร์ม D5)

กระบวนการบริการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ดิน น้ำ และ ปุ๋ย

1. เป็นกระบวนการ สนับสนุน ของหน่วยงานของสำนักพัฒนาอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์

2. ข้อกำหนดที่สำคัญ

ผลที่คาดว่าจะได้รับเมื่อสิ้นสุดกระบวนการนี้ คือ

ผู้รับบริการ ได้รับผลวิเคราะห์ตัวอย่างที่ถูกต้อง สามารถนำผลวิเคราะห์ไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น

- ผู้รับบริการทราบว่า ตัวอย่างที่ส่งเข้าวิเคราะห์มีคุณภาพอย่างไร เช่น อาหารสัตว์ มีคุณค่าทางโภชนาดีเพียงพอต่อการใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ หรือ ต้องเสริมอาหารอื่นๆ เพิ่มเติม ทำให้การจัดการอาหารสัตว์เกิดประสิทธิภาพ และยังอาจเป็นการช่วยลดต้นทุนค่าอาหารสัตว์

- ผู้รับบริการทราบว่า ดินที่ปลูกพืชอาหารสัตว์มีคุณสมบัติอย่างไร มีความอุดมสมบูรณ์มากน้อย ต้องใส่ปุ๋ย และมีการจัดการอย่างไร ทำให้การปลูกพืชอาหารสัตว์เกิดประสิทธิภาพได้พืชอาหารสัตว์ที่มีคุณภาพดี ผลผลิตสูง เป็นการสนับสนุนการสร้างอาชีพการผลิเสบียงสัตว์เพื่อจำหน่ายของเกษตรกร

3. ตัวชี้วัดที่สำคัญของกระบวนการ

ความพึงพอใจของผู้รับบริการ (ความถูกต้อง และทันเวลาตามกำหนด)

แบบฟอร์มการส่งตัวอย่างพืชอาหารสัตว์

1. เลขที่/ปีงบประมาณ/..... วันที่ส่งตัวอย่าง จำนวน ตัวอย่าง
2. ผู้ส่งตัวอย่าง () ศูนย์ฯ / สถานี (กรอกข้อ 2.1 - 2.2) () อื่นๆ (กรอกข้อ 2.3 - 2.4)
- 2.1 ชื่อหน่วยงาน
- 2.2 ชื่อพนักงาน
- 2.3 ชื่อ
- เลขประจำตัวประชาชน
- หน่วยงาน
- 2.4 ที่อยู่ หมู่ ถนน ตำบล
- 2.5 อำเภอ จังหวัด รหัสไปรษณีย์
- โทรศัพท์ โทรสาร
3. เป็นตัวอย่าง () งานวิจัย เลขทะเบียนวิจัยที่
- () งานทดสอบสถิติ วัตถุประสงค์
-
- () งานผลิตเสบียงสัตว์ Lot. No.
- () งานบริการวิเคราะห์ วัตถุประสงค์
-
4. หน่วยงานที่รับวิเคราะห์

ข้อมูลการจัดการ	
การปรับสภาพดิน () ทำก่อนปลูก เดือน โดยใช้ข้อมูลดินจาก การส่งตัวอย่างวิเคราะห์เมื่อ () ไม่ได้ทำ	การใช้ปุ๋ย () ไม่ใส่ปุ๋ย () ใช้ปุ๋ย สูตร อัตรา กก./ไร่ สูตร อัตรา กก./ไร่ () อื่นๆ (ระบุ)
การให้น้ำ มีการให้น้ำ () ทุก 7 วัน () ทุก 14 วัน () ทุก 21 วัน () อื่นๆ	ระยะเวลาที่ใส่ปุ๋ย () ใส่พร้อมปลูก () ใส่ก่อนตัดพืช วัน
การทำพืชให้แห้ง () ตีแฉด () ใช้ตู้อบ	

แบบฟอร์มการส่งตัวอย่างพืชอาหารสัตว์

ตัวอย่างที่	รายการวิเคราะห์
<u>Proximate</u>	
() Moisture	() DM () CP () CF () Fat () Ash () NFE
<u>Detergent Fiber</u>	
() ADF	() NDF () Lignin () Cellulose
<u>Mineral</u>	
() Ca	() P () Mg () K () S
<u>Silage</u>	
() pH	() Acetic acid () Butyric acid () Lactic acid
<u>อื่นๆ</u>	
.....	
.....	
.....	

ចំណូលសាច់ប្រាក់ពីការលក់

[illegible]

แบบฟอร์มการส่งตัวอย่างอาหารสำเร็จ

1. เลขที่/ปีงบประมาณ / วันที่ส่งตัวอย่าง จำนวน ตัวอย่าง

2. ผู้ส่งตัวอย่าง () ศูนย์ฯ / สถานีฯ (กรอกข้อ 2.1 - 2.2) () อื่นๆ (กรอกข้อ 2.3 - 2.4)

2.1 ชื่อหน่วยงาน

2.2 ชื่อพนักงาน

2.3 ชื่อ

เลขประจำตัวประชาชน

หน่วยงาน

2.4 ที่อยู่ หมู่ ถนน ตำบล

อำเภอ จังหวัด รหัสไปรษณีย์

โทรศัพท์ โทรสาร

3. เป็นตัวอย่าง () งานวิจัย เลขทะเบียนวิจัยที่

() งานทดสอบสาธิต วัตถุประสงค์

() งานบริการวิเคราะห์ วัตถุประสงค์

4. หน่วยงานที่รับวิเคราะห์

ตัวอย่างที่	รายการวิเคราะห์
<u>Proximate</u>	
() Moisture	() DM () CP () CF () Fat () Ash () NFE
<u>Detergent Fiber</u>	
() ADF	() NDF () Lignin () Cellulose
<u>Mineral</u>	
() Ca	() P () Mg () K () S
<u>อื่นๆ</u>	
.....	
.....	
.....	

ข้อมูลของตัวอย่าง

ตัวอย่าง ที่	รายละเอียด	Lab. No. (หน่วยวิเคราะห์กรอก)

- ISO 2004. Determination of acid detergent fibre (ADF) and acid detergent lignin (ADL) contents (13996). Available source: http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_ics/catalogue_detail_ics.htm?ics1=65&ics2=120&ics3=1&icsnumber=37898. July 23, 2010.
- Undersander, D., D.R. Mertens and N. Thiex 1993. 5.1 Determination of amylase neutral detergent fiber by refluxing. National Forage Testing Association. Available Source . www.foragetesting.org, January 28, 2005

วิธีวิเคราะห์หา Acid Detergent Lignin (ADL)

หลักการ

เมื่อนำตัวอย่างที่ผ่านการวิเคราะห์หา ADF แล้ว มาย่อยด้วยกรดซัลฟูริก ที่มีความเข้มข้น 72% เนื้อเยื่อพวกเซลลูโลสจะถูกย่อยสลายเหลือแต่ลิกนิน และเนื้อที่ไม่ละลายในกรด

อุปกรณ์

1. แก้วที่ทำด้วยไนเทรสเทนเลส
2. บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 250 มิลลิลิตร
3. แท่งแก้วคนสารละลาย
4. ขวดต้มน้ำร้อน (boiling flask)
5. ขวดฉีกน้ำ (washing bottle)
6. เครื่องต้มน้ำร้อน
7. Vacuum pump
8. ตู้อบแห้ง (hot air oven)
9. โถดูดความชื้น (desiccators)
10. เครื่องชั่ง (balance) ชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง

สารเคมี

1. Sulfuric acid conc. AR grade
2. Distilled or Deionized water

วิธีเตรียมสารละลาย 72% H_2SO_4

1. ตวง H_2SO_4 conc 670 มิลลิลิตร ค่อยๆเทอย่างช้าๆ ลงใน beaker ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นอยู่แล้ว 100 มิลลิลิตร พร้อมกับใช้แท่งแก้วคนให้สารละลายเข้ากันเป็นระยะ ในขณะที่เตรียมสารละลายนี้ ต้องให้ beaker อยู่ในอ่างน้ำเย็นตลอดเวลา

2. นำกระชอนมาฝึกาบิดไว้ รอยนสารละลายเย็นที่อุณหภูมิ $20^{\circ}C$

3. เมื่อสารละลายเย็นลง เติมน้ำกลั่นลงไปให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร คนสารละลายให้เข้ากันอีกครั้ง เอากระชอนมาฝึกาบิด ทั้งให้เย็นที่อุณหภูมิ $20^{\circ}C$

4. เมื่อสารละลายเย็นลง เทใส่ลงในขวดสำหรับเก็บสารละลาย 72% H_2SO_4 ก่อนนำสารละลาย 72% H_2SO_4 มาใช้จะต้องวัดความถ่วงจำเพาะของสารละลายนี้ให้ได้ 1.634 ที่อุณหภูมิ $20^{\circ}C$ ในการวัดเพื่อหาความถ่วงจำเพาะ 1.634 ที่อุณหภูมิ $20^{\circ}C$ นั้น เริ่มจาก วางขวดสารละลาย 72% H_2SO_4 ลงในอ่างน้ำเย็น ใช้ปรอทวัดอุณหภูมิ พอลุณหภูมิ $20^{\circ}C$ ยกขึ้นจากอ่างน้ำเย็น เขย่าสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 72% ในขวดเก็บสารละลายให้เข้ากัน แล้วเทลงในกระบอกตวงขนาด 500 มิลลิลิตร ใช้เครื่องวัดความถ่วงจำเพาะวัดให้ได้เท่ากับ 1.634 ที่

W_1 = น้ำหนัก crucible + น้ำหนักตัวอย่าง

W_2 = น้ำหนัก crucible

W_3 = น้ำหนักตัวอย่าง

% Acid insoluble ash คือ % ash ที่ได้จากขั้นตอนการเผาในการวิเคราะห์หา ADF

2. ในกรณีที่ตัวอย่างวิเคราะห์ค่า Lignin ด้วย

$$\%ADF = \frac{[(W_1 - W_2) \times 100]}{W_3} - \% \text{ Acid insoluble ash}$$

W_1 = น้ำหนัก crucible + น้ำหนักเยื่อใย

W_2 = น้ำหนัก crucible

W_3 = น้ำหนักตัวอย่าง

% Acid insoluble ash คือ % ash ที่ได้จากขั้นตอนการเผาในการวิเคราะห์หา lignin

3. การคำนวณหาปริมาณเยื่อใย Hemicellulose

$$\therefore \% \text{ Hemicellulose} = \% NDF - \% ADF$$

วิธีที่ 2

1. นำ Fritted glass crucible ไปอบในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เอา crucible ออกใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนัก crucible ไว้
2. ชั่งตัวอย่างที่แห้งและบดละเอียด ขนาด 1 มิลลิเมตร 1 กรัม ใส่ลงใน crucible แล้วจมน้ำหนักไว้
3. นำ สารละลาย ADF มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ $95 - 100^\circ\text{C}$ ประมาณ 5 นาที
4. เปิด cooling นำ crucible ที่ใส่ตัวอย่างแล้วมาเข้าเครื่องวิเคราะห์หาเยื่อใยชนิดกึ่งอัตโนมัติ โดยให้ crucible holder เลื่อนดันโยกไปที่ตำแหน่งปิด เติมสารละลาย ADF 100 มิลลิลิตร (แบ่งใส่ครึ่งหนึ่งก่อน พอเดือดแล้วจึงใส่อีกครึ่งหนึ่งให้พอดี) แล้วปรับอุณหภูมิความร้อนให้พอดีกับการเดือดของตัวอย่าง คือตัวอย่างมีการเคลื่อนที่ตลอดเวลาภายในคอลัมน์ แล้วทำการย่อยหรือ reflux ต่อไปเป็นเวลา 1 ชั่วโมงโดยนับเวลาตั้งแต่เริ่มเดือดพอดี
5. พอครบ 1 ชั่วโมง ให้ปล่อยสารละลายออกจากคอลัมน์ ล้างตัวอย่างด้วยน้ำร้อนจนกว่าตัวอย่างจะหมดฟอง
6. เอา crucible ออกจากเครื่องวิเคราะห์หาเยื่อใยชนิดกึ่งอัตโนมัติ เอาไปเข้าเครื่อง Cold Extraction Unit โดยใช้ crucible holder ล้างตัวอย่างด้วย acetone 3-5 ครั้งๆ ละ 25 มิลลิลิตร หรือจนกระทั่งสารละลายที่เหลือออกจาก crucible ไม่มีสี โดยแต่ละครั้งให้แช่ตัวอย่างนาน 5-10 นาที แล้วปล่อยทิ้งออก
7. นำ crucible ไปอบในตู้อบแห้ง ที่อุณหภูมิ 105°C นาน 8 ชั่วโมง หรือตลอดคืน
8. นำ crucible ออกจากตู้อบแห้ง ใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็น ชั่งน้ำหนัก เพื่อคำนวณหา ADF

ขอบเขต

เป็นขั้นตอนวิเคราะห์หา Acid Detergent Fiber (ADF) ในพืชอาหารสัตว์และวัตถุดิบอาหารสัตว์

เอกสารอ้างอิง

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis Fiber (Acid Detergent) and Lignin in Animal Feed. (973.18). Association of Official Analytical Chemists. EUA.

วิธีเตรียมสารละลาย Acid Detergent Fiber

1. ชั่งซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4 conc. AR grade) 51.08 กรัม ใส่ใน beaker ขนาด 250 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ volumetric flask ขนาด 1 ลิตร ที่มีน้ำกลั่นอยู่ประมาณ 200 มิลลิลิตร
2. ล้างกรดที่อยู่ใน beaker ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง เทลงใน volumetric flask เดิม เขย่าให้เข้ากัน
3. เติมน้ำกลั่นให้พอดีขีด บิดฝา เขย่า 3 ครั้งให้เข้ากัน ปลอยทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
4. ปรับปริมาตรพอดีขีด volumetric flask ขนาด 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่า 2-3 ครั้งให้เข้ากัน
5. ทาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย H_2SO_4 ด้วยการไตเตรตกับ NaOH

- ปิเปตสารละลายที่เตรียมได้ 20 มิลลิลิตร ใส่ลงใน flask ขนาด 250 ml. หยดฟีนอล์ฟทาเลิน 3 หยด ไตเตรตสารละลายด้วยสารละลาย NaOH ที่ทราบความเข้มข้นแล้ว จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน

ทำการทดลองซ้ำอีก 1 ครั้ง บันทึกผลการทดลองและคำนวณผลที่ได้ ทาความเข้มข้นเฉลี่ยของสารละลาย H_2SO_4

6. ชั่ง CTAB 20 กรัม ลงใน beaker ขนาด 250 มิลลิลิตร เทใส่ลงในขวดสำหรับเก็บสารละลาย Acid Detergent Fiber โดยใช้กรวยกรองและแท่งคนสารละลายช่วยล้าง CTAB ที่ติดค้างใน beaker ด้วยสารละลาย sulfuric acid ความเข้มข้น 1 นอร์มอล แล้วใส่ลงในขวดเก็บสารละลาย Acid Detergent Fiber ที่มี CTAB อยู่แล้ว 3 ครั้ง เขย่าให้เข้ากัน แล้วเทกรดซัลฟูริกที่เหลือใส่ลงในขวดสารละลาย Acid Detergent Fiber และเขย่าให้เข้ากัน

วิธีการ

1. นำ crucible ขนาด 50 มิลลิลิตร ไปอบในตู้อบ ที่อุณหภูมิ $105^{\circ}C$ นาน 2 ชั่วโมง เอาออกใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนักและบันทึกไว้

2. ชั่งตัวอย่างที่แห้งและบดละเอียด ขนาด 1 มิลลิเมตร 1 กรัม ใส่ใน beaker ที่ไม่มีจอยปาก ขนาด 600 มิลลิลิตร

3. นำสารละลาย Acid Detergent Fiber ไปต้มให้ร้อน วางใส่ลงใน beaker ที่มีตัวอย่างอยู่ 100 มิลลิลิตร โดยใช้กระบอกลง น้ำไปทำการย่อย หรือ reflux นาน 1 ชั่วโมง โดยใช้เครื่องวิเคราะห์เยื่อใยชนิด manual

4. ทำการกรอง โดยเทสารละลายใน beaker ลง crucible ที่ชั่งน้ำหนักแล้วที่ติดกับเครื่องกรองชุดสุญญากาศ ล้างด้วยยางที่อยู่ใน beaker ด้วยขวดฉีดน้ำร้อน จนกระทั่งตัวอย่างส่วนที่เหลือลงใน crucible จนหมด ล้างตัวอย่างที่อยู่ใน crucible 1,200 มิลลิลิตร หรือจนหมดฟอง

5. ล้างตัวอย่างที่ติดอยู่ข้าง crucible ด้วยน้ำร้อนอีก 1-2 ครั้ง โดยใช้ขวดฉีดน้ำ แล้วดูดน้ำออกด้วย vacuum pump

6. จากนั้นล้างตัวอย่างด้วย acetone 3 ครั้ง หรือจนกระทั่งสารละลายที่เหลือออกจาก crucible หมด

7. นำ crucible ที่มีตัวอย่างไปเผาในตู้อบ ที่อุณหภูมิ $105^{\circ}C$ นาน 8 ชั่วโมง หรือคลอเคลีย

8. นำ crucible ที่มีตัวอย่างออกจากตู้อบ เอาใส่ในโถดูดความชื้น ปลอยให้เย็น ชั่งน้ำหนัก เพื่อคำนวณหาค่า ADF

วิธีคำนวณ

1. ในกรณีที่ตัวอย่างวิเคราะห์เฉพาะค่า ADF

$$\% ADF = \frac{[(W_1 - W_2) \times 100]}{W_3} - \% \text{ Acid insoluble ash}$$

- ISO. 2006. Animal feeding stuffs--Determination of amylase treated neutral detergent fibre content (aNDF) (16472). Available source: http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_ics/catalogue_detail_ics.htm?ics1=65&ics2=120&ics3=&number=37898. July 23, 2010.
- Mertens, D.R. 1992. Critical conditions in determining detergent fiber. Proceedings of NFTA Forage Analysis Workshop. Denver, CO. p C₁ - C₈.
- Undersander, D., D.R. Mertens and N. Thiex. 1993. 5.1 Determination of amylase neutral detergent fiber by refluxing, National Forage Testing Association. Available Source : www.foragetesting.org, January 28, 2005
- Van Soest, P J J.B. Robertson, and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Science 74:3583-3597.

วิธีวิเคราะห์หาลิกโนเซลลูโลส (Acid Detergent Fiber, ADF)

หลักการ

เป็นการวิเคราะห์หาเยื่อใยที่ไม่ละลายในสารละลายที่เป็นกรด ซึ่งประกอบด้วย cellulose และ lignin ประมาณ 90% ส่วนที่เหลือ 10% จะเป็นพวก cutin และแก้วที่ไม่ละลายในกรด ดังนั้น ส่วนที่หายไป คือ hemicellulose ซึ่งละลายในสารละลายที่เป็นกรดได้ ในที่นี้จะใช้ sulfuric acid ที่มีความเข้มข้น 1 นอร์มอล (N) และมี detergent คือ cetyl trimethyl ammonium bromide จะช่วยย่อยพวกโปรตีนออกไป ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเครื่องมือวิเคราะห์ให้รวดเร็วขึ้น ดังนั้นการวิเคราะห์หา ADF จึงสามารถวิเคราะห์ได้ 2 วิธีดังนี้

วิธีที่ 1

อุปกรณ์

1. fritted glass crucible ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. ตู้อบแห้ง (hot air oven)
3. โถดูดความชื้น (desiccators)
4. เครื่องชั่ง (balance) ชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
5. บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 600 มิลลิลิตร
6. เครื่องวิเคราะห์เยื่อใย แบบ manual
7. ขวดฉีดน้ำ (washing bottle)
8. ขวดต้มน้ำร้อน (boiling flask)
9. เครื่องต้มน้ำร้อน
10. เครื่องดูดสุญญากาศ

สารเคมี

1. Sulfuric acid (H₂SO₄), reagent grade
2. Cetyl triethyl ammonium bromide (CTAB), reagent grade
3. Acetone, reagent grade
4. Distilled or deionized water

วิธีที่ 2

สารเคมีและการเตรียมสารละลาย NDF ดำเนินตามแบบที่ 1

อุปกรณ์

1. fitted glass crucible) ขนาด 30 มิลลิลิตร
2. ตู้อบแห้ง (hot air oven)
3. โถดูดความชื้น (desiccators)
4. เครื่องชั่งชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
5. เครื่องวิเคราะห์เยื่อใย ชนิดกึ่งอัตโนมัติ
6. ขวดฉีกน้ำ (washing bottle)
7. ขวดดัดมน้ำร้อน (boiling flask)
8. เครื่องต้มน้ำร้อน

วิธีการ

1. นำ crucible ที่ใส่ sand 1 กรัมไปอบในตู้อบแห้ง (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เอาออกใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนัก crucible บันทึกไว้
2. ชั่งตัวอย่างที่แห้งและบดละเอียด ขนาด 1 มิลลิเมตร บ่งขนาด 0.5 กรัม ใส่ลงใน crucible ที่ชั่งน้ำหนักแล้ว ใส่ Na_2SO_3 0.5 กรัม
3. นำ สารละลาย NDF มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ $95 - 100^{\circ}\text{C}$ ประมาณ 5 นาที
4. เปิด cooling นำ crucible ที่ใส่ตัวอย่างและ Na_2SO_3 มาเข้าเครื่องวิเคราะห์หาเยื่อใยชนิดกึ่งอัตโนมัติ โดยใช้ crucible holder เติมสารละลาย NDF 50 มิลลิลิตร (แบ่งใส่ครึ่งหนึ่งก่อน ท่อเดือดแล้วจึงใส่อีกครึ่งหนึ่งให้พอดีขีด) เติม Octanol ซึ่งเป็นสารกันฟอง 3 หยด แล้วปรับอุณหภูมิความร้อนให้พอดีกับการเดือดของตัวอย่าง คือ ตัวอย่างมีการเคลื่อนที่ตลอดเวลาภายในคอลัมน์ หลังการ reflux ไปแล้ว 5 นาทีให้เติมสารละลาย CX-Amylase 0.1 มิลลิลิตร แล้วทำการย่อยหิพ reflux ต่อไปเป็นเวลา 1 ชั่วโมงโดยนับเวลาตั้งแต่เริ่มเดือดพอดี
5. พอครบ 1 ชั่วโมง ให้ปล่อยสารละลายออกจากคอลัมน์ ล้างตัวอย่างด้วยน้ำร้อนจนกว่าตัวอย่างจะหมดฟอง
6. เอาถ้วย crucible ออกจากเครื่องวิเคราะห์หาเยื่อใยชนิดกึ่งอัตโนมัติ เอาไปเข้าเครื่อง Cold Extraction Unit โดยใช้ crucible holder ล้างตัวอย่างด้วย Acetone 3-5 ครั้งๆ ละ 25 มิลลิลิตร หรือจนกระทั่งสารละลายที่ไหลออกจาก crucible ไม่มีสี โดยแต่ละครั้งให้แช่ตัวอย่างนาน 5-10 นาที แล้วปล่อยทิ้งออก
7. นำ crucible ไปอบในตู้อบแห้ง ที่อุณหภูมิ 105°C นาน 8 ชั่วโมง หรือตลอดคืน (Over night)
8. นำ crucible ออกจากตู้อบแห้ง เอาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็น ชั่งน้ำหนัก เพื่อกำหนดน้ำหนัก NDF ตามวิธีที่ 1

ข้อบกพร่อง

วิธีการนี้ใช้สำหรับวิเคราะห์หา neutral detergent fiber ในพืชอาหารสัตว์และวัตถุดิบอาหารสัตว์

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis : Fiber (Acid Detergent) and Lignin in Animal Feed. (2002:04). Association of Official Analytical Chemists. EUA.
- Goering, H.K. and P.J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures, and some application). Research Service. Handbook number 379 as modified by D.R. Mertens (1992, Personal Communication).

4. ทำการกรอง โดยเทสารละลายใน beaker ลงใน crucible ที่ชั่งน้ำหนักแล้วที่ติดกับเครื่องดูดสุญญากาศ ล้างตัวอย่างที่อยู่ใน beaker ด้วยน้ำร้อน จนกระทั่งตัวอย่างส่วนที่เหลือทั้งหมดลงใน crucible จนหมด

5. ล้างตัวอย่างใน crucible ด้วยน้ำร้อนอีกจนหมดพอ ใช้ขวดคั้นน้ำร้อนล้างตัวอย่างที่ติดอยู่ข้าง crucible ลงให้หมด ตูดน้ำใน crucible ออก

6. จากนั้นล้างตัวอย่างด้วย acetone 3 – 5 ครั้ง หรือจนกระทั่งสารละลายที่เหลือออกจาก crucible หมด

7. นำ crucible ที่มีตัวอย่าง ไปอบในตู้อบแห้ง ที่อุณหภูมิ 105°C นาน 8 ชั่วโมง หรือตลอดคืน

8. นำ crucible ที่มีตัวอย่างออกจากตู้อบแห้ง เอาใส่ในโถดูดความชื้น (desiccators) ปล่อยให้เย็น ชั่งน้ำหนัก เพื่อคำนวณหาค่า NDF

วิธีคำนวณ

1. ในกรณีที่ตัวอย่างนั้นวิเคราะห์หาค่า NDF

$$\%NDF = \frac{[(W_1 - W_2) \times 100]}{W_3} - \%ash\ NDF$$

เมื่อ $W_1 =$ น้ำหนัก crucible + น้ำหนักตัวอย่าง

$W_2 =$ น้ำหนัก crucible

$W_3 =$ น้ำหนักตัวอย่าง

% ash NDF คือ % ash ที่ได้จากขั้นตอนการเผาในการวิเคราะห์หา NDF

2. ในกรณีที่ตัวอย่างนั้นวิเคราะห์หาค่า NDF และ ADF

$$\%NDF = \frac{[(W_1 - W_2) \times 100]}{W_3} - \%Acid\ insoluble\ ash$$

เมื่อ $W_1 =$ น้ำหนัก crucible + น้ำหนักตัวอย่าง

$W_2 =$ น้ำหนัก crucible

$W_3 =$ น้ำหนักตัวอย่าง

%Acid insoluble ash คือ % ash ที่ได้จากขั้นตอนการเผาในการวิเคราะห์หา ADF

3. ในกรณีที่ตัวอย่างนั้นวิเคราะห์หาค่า Lignin

$$\%NDF = \frac{[(W_1 - W_2) \times 100]}{W_3} - \%Acid\ insoluble\ ash$$

เมื่อ $W_1 =$ น้ำหนัก crucible + น้ำหนักตัวอย่าง

$W_2 =$ น้ำหนัก crucible

$W_3 =$ น้ำหนักตัวอย่าง

%Acid insoluble ash คือ % ash ที่ได้จากขั้นตอนการเผาในการวิเคราะห์หา lignin

$$\%NDS = 100 - (\%Moisture) - (\%NDF)$$

สารเคมี

1. Sodium lauryl sulphate (USP หรือ purified grade)
2. Disodium ethylenediaminetetraacetate (EDTA) dihydrate, crystal, reagent grade
3. Sodium borate decahydrate ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, reagent grade)
4. Disodium hydrogen phosphate anhydrous (Na_2HPO_4), reagent grade
5. Triethylene glycol, reagent grade
6. Sodium sulphite anhydrous, reagent grade
7. Acetone (AR grade) ชนิดที่ปราศจากสี และสามารถระเหยได้หมด ไม่มีสิ่งตกค้างเหลืออยู่
8. α -Amylase EC number 3.2.1.1 ชนิด heat - stable
9. Distilled or deionized water

วิธีเตรียมสารละลาย Neutral Detergent Fiber 2 ลิตร

1. ชั่ง sodium lauryl sulphate 60 กรัม ใส่ใน beaker ขนาด 400 มิลลิลิตร แล้วถ่ายใส่ Volumetric flask ขนาด 2 ลิตร โดยใช้กรวยกรองและแท่งคนสารละลายช่วย เสร็จแล้วล้าง Sodium lauryl sulphate ที่ติดค้างอยู่ใน beaker ด้วยน้ำร้อน โดยใช้ขวดคัตน้ำร้อน ฉีกแล้วเทรวมใส่ใน Volumetric flask เดิม เขย่าเบาๆ
2. เติมน้ำ triethylene glycol 20 มิลลิลิตร ลงใน Volumetric flask เขย่าให้เข้ากัน
3. ละลาย disodium hydrogen phosphate anhydrous (Na_2HPO_4) 9.12 กรัม, Sodium borate decahydrate ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) 13.62 กรัม และ Disodium ethylenediaminetetraacetate (EDTA) dehydrate 37.22 กรัม ด้วยน้ำกลั่นที่ร้อนแล้วนำมาผสมกับสารละลาย ใน volumetric flask เขย่าให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตรปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรพอขีดขีดด้วยน้ำกลั่นและปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 6.9 - 7.1

ค่าเตือนในความปลอดภัย

1. Acetone เป็นสารระเหยและติดไฟง่าย ไม่ควรให้ระเหยสะสมอยู่ในพื้นที่ทำงาน ใช้อุปกรณ์กำจัดกลิ่นไอและหลีกเลี่ยงการสูดดมหรือสัมผัสกับผิวหนัง ทำการระเหย Acetone ในตัวอย่างที่บรรจุใน Crucible ก่อนเข้าตู้อบแห้ง
2. sodium lauryl sulphate เป็นสารระคายเคืองที่เยื่อหุ้มผิว ควรสวมหน้ากากกันฝุ่นและสวมถุงมือ ในขณะที่ปฏิบัติการเตรียมสารละลาย

วิธีการ

1. นำ crucible ขนาด 50 มิลลิลิตร ไปอบในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 105°C นาน 2 ชั่วโมง เอาออกใส่ในโถดูดความชื้น (desiccators) ทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนักบันทึกไว้
2. ชั่งตัวอย่างที่แห้งและบดละเอียด ขนาด 1 มิลลิเมตร 0.5 กรัม ใส่ใน beaker ที่ไม่มีจุกยกปาก ขนาด 600 มิลลิลิตร ใส่ Na_2SO_4 0.5 กรัม ลงไปใน beaker ที่มีตัวอย่างใบเดิม
3. นำสารละลาย Neutral Detergent Fiber ไปต้มให้ร้อน ประมาณ 5 นาที แล้ววางใส่ลงใน beaker ที่มีตัวอย่างอยู่ 50 มิลลิลิตรโดยใช้กระบอกตวง นำไปทำการย่อย หลัง 5 นาที เขย่า beaker แล้วยกลง เติมน้ำ สารละลาย α -amylase 0.1 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมเข้ากัน ยกขึ้นวางบนเครื่องวิเคราะห์เยื่อใย ทำการ reflux ต่อ 60 นาที

W_1 = น้ำหนักตัวอย่าง

W_2 = น้ำหนัก crucible + น้ำหนักตัวอย่างหลังการอบ

W_3 = น้ำหนัก crucible + น้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา

ขอบเขต :

สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างพืชอาหารสัตว์ วัตถุดิบอาหารสัตว์ และอาหารสัตว์

เอกสารอ้างอิง

AOAC. 2005. Official method of analysis of AOAC international. 18th Association of Official Analytical Chemists.

ISO. 2000. Animal feeding stuffs--Determination of crude fibre content--Method with intermediate filtration (6865). Available source: http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_ics/catalogue_detail_ics.htm?ics1=65&ics2=120&ics3=&icsnumber=13377. July 23, 2010.

วิธีวิเคราะห์หาผนังเซลล์ (Neutral Detergent Fiber, NDF)

หลักการ

Neutral Detergent Fiber (NDF) คือ ส่วนประกอบของผนังเซลล์ (Cell wall constituents) ซึ่ง ไม่สามารถละลายในสารละลายที่เป็นกลาง ประกอบด้วยเยื่อใยทั้งหมด คือ เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส ลิกนิน คิวติน ซิลิกา และเคราติน ในการย่อยตัวอย่างพืชอาหารสัตว์ด้วยสารละลายที่มีสภาพเป็นกลาง cell content หรือ Neutral Detergent Soluble (NDS) จะถูกย่อยสลายโดย sodium lauryl sulphate ทำหน้าที่ย่อย สารประกอบไนโตรเจน EDTA จะควบคุมไม่ให้แคลเซียมและแมกนีเซียมไปรบกวนกระบวนการย่อยสารประกอบ ไนโตรเจน sodium borate และ disodium hydrogen phosphate ทำหน้าที่เป็น buffer, sodium sulphite จะช่วยย่อยไนโตรเจนที่เหลือจากการย่อย sodium lauryl sulphate, 2 ethoxyethanol จะช่วยย่อยแป้ง และ acetone จะละลาย pigment และไขมันในเซลล์พืช ส่วนของ cell wall หรือ NDF นั้น สามารถแยกออกมาได้ ด้วยการกรอง ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเครื่องมือวิเคราะห์ให้รวดเร็วขึ้น ดังนั้นการวิเคราะห์หา NDF จึงสามารถ วิเคราะห์ได้ 2 วิธีดังนี้

วิธีที่ 1

อุปกรณ์

1. fritted glass crucible ขนาด 50 ml.
2. ตู้อบแห้ง (hot air oven)
3. โดสุความชื้น (desiccators)
4. เครื่องชั่งชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
5. บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 600 มิลลิลิตร
6. เครื่องวิเคราะห์เยื่อใย แบบ manual
7. ขวดฉีดน้ำ (washing bottle)
8. ขวดต้มน้ำร้อน (boiling flask)
9. เครื่องต้มน้ำร้อน
10. เครื่องดูดสูญญากาศ

* การตรวจสอบค่าความเข้มข้นของสารละลาย ทำได้โดยวิธีการโคเดรท

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 1 กรัม (W1) ใส่ลงใน crucible
2. ถ้าตัวอย่างมีไขมันมากกว่า 10% ให้นำ crucible ที่วัดตัวอย่าง เข้าเครื่องวิเคราะห์หาเยื่อใยในส่วน Cold Extraction จากนั้นเติม Acetone ประมาณ 30 มิลลิลิตร ปรับดันโยกไปที่ Closed แخذตัวอย่าง 20 นาที ปรับดันโยกไปที่ Vacuum เปิดก๊อกน้ำ เพื่อดึง Acetone ออกจากตัวอย่าง ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง โดยแต่ละครั้งแช่ตัวอย่างนาน 5 นาที (การแช่ Acetone ทั้ง 3 ครั้ง เป็นการสกัดไขมันออกจากตัวอย่าง)
3. นำสารละลายกรดซัลฟริก 1.25% มาต้มให้อุ่นๆที่อุณหภูมิประมาณ 95 องศาเซลเซียส (ต้มไม่ให้เดือด)
4. เปิดก๊อก cooling (น้ำเย็น) สำหรับ reflux system ให้มีอัตราการไหลของน้ำประมาณ 1-2 ลิตร/นาที่ และเปิดสวิตช์เครื่อง main switch
5. นำ crucibles ที่ชั่งตัวอย่างอาหารเข้าเครื่อง Hot Extraction Unit และเลื่อนคันโยกไปที่ตำแหน่ง Closed พร้อมกับเลื่อนคันโยกของเครื่อง Cold Extraction Unit ไปที่ตำแหน่ง Closed ด้วย
6. เทกรดซัลฟริก 1.25% ที่ต้มแล้วลงใน column ทางด้านบน ให้มีปริมาตร 200 มิลลิลิตร
7. ปิด reflector หน้า crucibles และหมุนปุ่มควบคุมความร้อนตามเข็มนาฬิกาจนสุด
8. เมื่อกรดซัลฟริกเริ่มเดือด ให้ลดอุณหภูมิลงโดยใช้ปุ่มควบคุมความร้อน และเริ่มจับ เวลาเป็นเวลา 30 นาที
9. เมื่อครบเวลา 30 นาที ให้หมุนปุ่มควบคุมอุณหภูมิไปตำแหน่งปิด
10. เปิดก๊อกน้ำ และเลื่อนคันโยกมาที่ตำแหน่ง vacuum กรองตัวอย่างและล้างด้วยน้ำร้อน column ละ 1 ลิตร รอยนแห้งจากนั้นเลื่อนกลับไปที่ตำแหน่ง closed
11. นำสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.25% มาต้มให้อุ่นๆที่อุณหภูมิประมาณ 95 องศาเซลเซียส (ต้มไม่ให้เดือด)
12. เทสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.25% ที่ต้มแล้วลงใน column ทางด้านบน ให้มีปริมาตร 200 มิลลิลิตร
13. ปิด reflector หน้า crucibles และหมุนปุ่มควบคุมความร้อนตามเข็มนาฬิกาจนสุด
14. เมื่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เริ่มเดือด ให้ลดอุณหภูมิลงโดยใช้ปุ่มควบคุมความร้อน และเริ่มจับเวลาเป็นเวลา 30 นาที
15. เมื่อครบเวลา 30 นาที ให้หมุนปุ่มควบคุมอุณหภูมิไปตำแหน่งปิด
16. เปิดก๊อกน้ำ และเลื่อนคันโยกมาที่ตำแหน่ง vacuum กรองตัวอย่างและล้างด้วยน้ำร้อน column ละ 1 ลิตร รอยนแห้งจากนั้นเลื่อนกลับไปที่ตำแหน่ง closed
17. นำ crucibles ที่มีเยื่อใยไปอบจนแห้งที่อุณหภูมิ 105°C ซ้ำมคืน (มากกว่า 8 ชั่วโมง) จากนั้นนำ crucibles ออกมาไล่อุณหภูมิความชื้น ปล่อยให้เย็นจากนั้นชั่งน้ำหนัก จดบันทึก (W2)
18. นำ crucibles ที่ชั่งน้ำหนักแล้วเข้าในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500°C นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นเปิดฝาเตาเผา รอยให้ด้วยมีอุณหภูมิลดลงประมาณ 150-200 °C แล้วนำใส่โถอุณหภูมิความชื้นปล่อยให้เย็น แล้วชั่งน้ำหนัก crucibles จดบันทึก (W3) (โดยส่วนของเยื่อใยคือส่วนที่ถูกเผาหายไป)

การคำนวณ

$$\% \text{ เยื่อใย} = \frac{(W_2 - W_3) \times 100}{W_1}$$

ขอบเขต

วิธีการนี้ใช้สำหรับวิเคราะห์ในพืชอาหารสัตว์ และอาหารสัตว์

เอกสารอ้างอิง

ISO. 1999. Animal feeding stuffs -- Determination of fat content (5492). Available source: http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_ics/catalogue_detail_ics.htm?ics1=65&ics2=120&ics3=&icsnumber=12865. July 23, 2010.

การวิเคราะห์หาเยื่อใยหยาบ (Crude fiber, CF)

หลักการ

คาร์โบไฮเดรตในอาหาร สามารถแบ่งออกเป็น 2 ส่วนใหญ่ คือ ส่วนของเยื่อใย (crude fiber) และส่วนของคาร์โบไฮเดรตที่ไม่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหรือเรียกว่า nitrogen-free extract ส่วนของเยื่อใย คือ ส่วนของอินทรีย์วัตถุที่ปราศจากไขมัน ซึ่งทนต่อการย่อยของกรดและเบสในความเข้มข้นและอุณหภูมิที่กำหนด ประกอบด้วย cellulose และส่วนอื่นๆ ของผนังเซลล์ เช่น lignin, pentosan, hemicellulose, cutin, pectin เป็นต้น ในการวิเคราะห์หาเยื่อใย เมื่อนำตัวอย่างที่ผ่านการวิเคราะห์หาความชื้นและไขมันแล้ว มาย่อยด้วย กรดซัลฟูริก โปรตีน แป้ง และน้ำตาลจะถูกย่อยสลายและเมื่อย่อยตัวอย่างด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ แป้งที่ยังเหลืออยู่จากการย่อยด้วยกรดซัลฟูริกจะถูกย่อยสลายสิ่งที่เหลืออยู่ คือ เยื่อใย

อุปกรณ์และสารละลาย

1. เครื่องชั่งชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องวิเคราะห์หาเยื่อใย
3. crucible (Fritted glass crucible) pore size 2 ขนาด 30 มิลลิเมตร
4. ตู้อบ (Oven)
5. เตาเผา (Muffle furnace)
6. ไซโครความชื้น
7. สารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ความเข้มข้น 1.25%
8. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1.25%
9. Petroleum ether

วิธีเตรียมสารละลาย

1. สารละลายกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 1.25% ($0.255 \pm 0.005N$)
 - 1.1 ตวงน้ำประมาณ 500 มิลลิเมตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร
 - 1.2 ชั่งกรดซัลฟูริก 13.03 กรัม แล้วค่อย ๆ เทใส่ใน volumetric flask ในข้อ 1.1 เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปล่อยให้ไวให้เย็น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันปล่อยให้เย็น แล้วจึงเทใส่ขวดเก็บสารละลาย
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1.25% ($0.313 \pm 0.005N$)
 - 2.1 ต้มน้ำกลั่นให้เดือดนานประมาณ 20 นาที แล้วปล่อยให้เย็นในภาชนะที่มีฝาปิด
 - 2.2 ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 12.5 กรัม ใส่ volumetric flask ขนาด 2 ลิตร ตวงน้ำกลั่นที่ต้มเดือดแล้ว (ในข้อ 2.1) ประมาณ 500 มิลลิเมตร ใส่ใน volumetric flask เขย่าให้โซเดียมไฮดรอกไซด์ละลายจนหมด แล้วเติมน้ำกลั่นอีก 500 มิลลิเมตรหรือเติมจนครบ 1 ลิตร คนให้เข้ากัน ปล่อยให้เย็นแล้วจึงเทใส่ขวดเก็บสารละลาย

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องชั่งชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องสกัดไขมัน (Extraction unit)
3. Service unit สำหรับจ่ายความร้อน
4. เครื่องทำน้ำเย็น (Cooling)
5. Cellulose thimble, Thimble adapter, Thimble support
6. ถ้วยรองรับ (Extraction cup), Cup holders
7. ถ้วย (oven)
8. โถดูดความชื้น
9. Petroleum ether จุดเดือด 35-60 °C

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดขนาดขึ้น 1 มิลลิเมตร ประมาณ 2 กรัม หักตัวกระดาษกรองใส่ลงใน cellulose thimble
2. นำ thimble ที่มีตัวอย่าง นำไปอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 105°C 3 ชั่วโมง
3. นำถ้วยอบที่อุณหภูมิ 105°C นาน 1 ชั่วโมง นำออกใส่ในโถดูดความชื้นแล้วปล่อยให้เย็น จึงนำออกมาชั่งบันทึกน้ำหนัก
4. ทำการอุ่นเครื่องสกัด โดยเปิดสวิทช์เครื่องจ่ายความร้อนซึ่งตั้งอุณหภูมิประมาณ 85-90°C นานประมาณ 20 นาที หรือรอจนอุณหภูมิสูงไว้ตามที่กำหนด ในขณะเดียวกันทำการ warm เครื่องทำความเย็น ซึ่งตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 10°C นำ thimble ที่มีตัวอย่างติดกับ thimble adapter วางลงใน thimble support จากนั้นนำเข้าไปในเครื่องสกัดไขมัน พร้อมทั้งเปิดสวิทช์ปั๊มน้ำที่ เครื่องทำน้ำเย็น
5. ตวง petroleum ether ประมาณ 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในถ้วยที่ทราบน้ำหนักแล้ววางลงใน cup holders นำเข้าไปในเครื่องสกัด
6. กดล็อกคานของเครื่องสกัดให้แน่น เปิดวาล์วให้สารสกัดไหลเวียน ทำการต้มตัวอย่างกับสารสกัด โดยเลื่อนคันโยกตัวอย่างไปไว้ที่ตำแหน่ง boiling นาน 30 นาที จากนั้น ทำการสกัดโดยเลื่อนคันโยกตัวอย่างไปไว้ที่ตำแหน่ง filtering นาน 60 นาที ระยะเวลาการต้มและการสกัดขึ้นอยู่กับประเภทตัวอย่าง หากเป็นตัวอย่างที่มีไขมันสูงให้ใช้เวลานานขึ้น โดยปกติแนะนำให้ใช้เวลาต้มกับเวลาสกัดในอัตราส่วน 1 : 2
7. เมื่อครบเวลาให้ทำการปิดวาล์วเก็บสารสกัด นานประมาณ 5 นาที หรืออาจช่วยให้สารสกัดระเหยเร็วขึ้น โดยเปิดวาล์วลดความดันที่เครื่องสกัดก่อนแล้วจึงเปิดสวิทช์ aspirator ที่เครื่องจ่ายความร้อน
8. หลังจากทำการระเหยสารสกัดออกจากถ้วยแล้ว ทำการปลดล็อกคานที่เครื่องสกัด นำ cup holders ออกจากเครื่อง นำถ้วยที่มีสารสกัดไปอบต่อในถ้วยที่อุณหภูมิ 105°C นาน 30 นาที นำออกใส่ในโถดูดความชื้นแล้วปล่อยให้เย็น แล้วจึงชั่งบันทึกน้ำหนัก
9. ถ้ำสกัดไขมันหลายรอบต่อวัน รอบที่ 2 ควรใส่ petroleum ether ในถ้วยประมาณ 15-20 มิลลิลิตร การคำนวณ

$$\% \text{ ไขมัน} = \frac{(W_3 - W_2) \times 100}{W_1}$$

W_1 = น้ำหนักตัวอย่าง

W_2 = น้ำหนักถ้วย

W_3 = น้ำหนักถ้วย + น้ำหนักไขมัน

7. นำหลอดและ flask ออกจากเครื่องกลั่น
8. ปรับปริมาณน้ำ(50 มิลลิลิตร), ต่าง(25 มิลลิลิตร), stroke (3), ช่วงห่างของเวลา delay time (0.2 นาที) และเวลาที่ใช้ในการกลั่น (3.6 นาที)
9. นำ flask ซึ่งบรรจุกรดบอริกความเข้มข้น 4% ปริมาณ 25 มิลลิลิตร ตั้งไว้บน platform ของเครื่องกลั่นและยก platform ขึ้น ให้ปลายแท่งแก้วจุ่มอยู่ใต้กรดบอริก
10. ใส่หลอดตัวอย่างที่ผ่านการย่อยแล้ว (ข้อ 4.) เข้ากับเครื่องกลั่น
11. กดปุ่ม auto เพื่อเลือกการทำงานแบบ auto
12. ปิด safety door เครื่องกลั่นจะเริ่มทำงาน
13. เมื่อกลั่นครบตามเวลาที่กำหนด เครื่องจะหยุดทำงาน นำ flask และหลอดย่อยออกจากเครื่องกลั่น
14. นำ flask กรดบอริก ที่ติดกับแก๊สแอมโมเนียที่ถูกกลั่นออก ไปไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐาน

กรดซัลฟูริก

การคำนวณ

$$\% \text{ ไนโตรเจน} = \frac{14.01 \times (V_1 - V_2) \times N}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเป็นกรัม} \times 10}$$

V_1 = ปริมาตรของกรดที่ใช้ไตเตรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

V_2 = ปริมาตรของกรดที่ใช้ไตเตรต blank (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ไตเตรต (N)

$$\% \text{ Protein ในตัวอย่าง} = (\% \text{ ไนโตรเจน}) \times 6.25 \text{ (Protein factor)}$$

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis : Ash in Animal Feed. Association of Official Analytical Chemists. EUA.
- ISO. 2009. Animal feeding stuffs -- Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content -- Part 2: Block digestion and steam distillation method (5983-2). Available source: http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_ics/catalogue_detail_ics.htm?ics1=65&ics2=120&ics3=&csnumber=52199, July 23, 2010.

การวิเคราะห์หาไขมัน (Crude fat หรือ Ether extract, EE)

หลักการ

ไขมันเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในสารอินทรีย์ ดังนั้น ในการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันจึงสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์ เช่น diethyl ether, petroleum ether, dichloromethane, acetone เป็นต้น สารสกัดที่ได้นอกจากไขมันแล้วยังมีสารบางชนิดที่ถูกสกัดออกมาพร้อมกับไขมันด้วย เช่น carotenoid, wax, sterine, phosphatidein lecithine และ alkaloid เป็นต้น

5.5 คำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ในรูปนอร์มอล (Normality)

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลาย NaOH} = \frac{\text{น้ำหนักของ Potassium hydrogen phthalate (กรัม)} \times 1000}{\text{ปริมาตรสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่ใช้ (เดคริล)} \times 204.229}$$

6 สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.1 นอร์มอล

6.1 ตวงกรดซัลฟูริกเข้มข้น 95-98% (AR grade) 5.5 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตรให้ได้ 2 ลิตร

6.2 ทำการไทเทรตหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก โดยใช้ปิเปตตูละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดเออร์เลนเมเยอร์ หยดฟีนอล์ฟธาลีน 2-3 หยด นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ทราบค่าความเข้มข้นแล้ว จนได้สารละลายสีชมพูอ่อน บันทึกปริมาตรสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้

6.3 คำนวณความเข้มข้น ของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.1 นอร์มอล โดยใช้สูตร

$$N_1 V_1 = N_2 V_2$$

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก (N}_2\text{)} = \frac{N_1 \times V_1}{V_2}$$

N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มอล)

N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ต้องการทราบ (นอร์มอล)

V_1 = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)

V_2 = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน กรดซัลฟูริกที่ใช้ (10 มิลลิลิตร)

วิธีการทำ

ชั่งตัวอย่างอาหารประมาณ 0.25-1 กรัม ใส่ลงในหลอดสับบะย่อย (digestion tube) หรือ ในกรณีที่เป็นตัวอย่างที่มีความชื้นสูงจะชั่งลงในกระดาดชั่งที่ปราศจากโบโรเจน หักกระดาษใส่ลงในหลอดย่อย

1. เติมสารเร่งปฏิกิริยาประมาณ 5 กรัม หรือ Kjeldahl catalyst tablets 2 เม็ด และเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นลงใน 10 - 15 มิลลิลิตร ขึ้นกับปริมาณตัวอย่างที่ใช้ เขย่าเบาๆ

2. ตั้งหลอดย่อยใน stand ปิด heat shield ส่วน exhaust manifold ลงบนส่วนบนของหลอดย่อย เปิดสวิตช์ exhaust

3. ตั้ง stand หลอดย่อยและ exhaust ลงบนเครื่องย่อยที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 420°C แล้ว และเพื่อความปลอดภัยควรทำการย่อยภายในตู้ดูดควัน จากนั้นสวม heat shield ย่อยเป็นเวลา 5 นาที พร้อมกับตั้งอัตราการไหลของ exhaust manifold เต็มที่ จากนั้นลดอัตราการไหลของไอกรดลง เพื่อให้ไอกรดไหลเวียนอยู่ในระบบ แล้วยกลูกต่อ หรือจนได้สารละลายใส เป็นเวลา 30-45 นาที

4. ถอด stand หลอดย่อยและ exhaust มาตั้งไว้ข้างเครื่องย่อยทิ้งให้เย็นเพื่อร่อนนำไปกลั่น

5. เปิดก๊อกน้ำเพื่อหล่อเย็นเครื่องควบแน่น และเปิดสวิตช์ของเครื่องกลั่น กดปุ่มล้าง (alkali) ประมาณ 2-3 ครั้ง จนแน่ใจว่าในท่อต่างไม่มีฟองอากาศหลงเหลืออยู่

6. warm เครื่องกลั่น (Kjeltec รุ่น 1026) ใช้ flask และหลอดย่อยเปล่า โดยเปิด steam กลั่นเป็นเวลา 5 นาที ปิด steam เพื่อเป็นการไล่โบโรเจนที่ติดค้างอยู่ในระบบ

6. ชุดเครื่องกลั่น (Distilling unit)
7. ชุดไทเทรต
8. ตู้ดูดควัน (Fume hood)

สารเคมี

1. กรดซัลฟริกเข้มข้น 95 - 98% (H_2SO_4 conc. AR grade)
2. สารเร่งปฏิกิริยา |สารผสมระหว่าง copper sulfate ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) กับ potassium sulfate (K_2SO_4) ในอัตราส่วน 1 : 9)
3. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล
4. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟริก 0.1 นอร์มอล
5. Potassium hydrogen phthalate ($C_8H_5KO_2$, AR grade)
6. ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)
7. สกรีนเมทิล เรด อินดิเคเตอร์ (Screened methyl red indicator)
8. กรดบอริกความเข้มข้น 4% (w/v)
9. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 40% (w/v)

การเตรียมสารละลาย

1. ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)
ละลายฟีนอล์ฟทาลีน (AR grade) 5 กรัม ใน 96% ethyl alcohol 400 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร
2. สกรีนเมทิลเรดอินดิเคเตอร์ (Screened methyl red indicator)
ซิงเมทิลเรด (AR grade) 0.2 กรัม และเมทิลีนบลู (AR grade) 0.1 กรัม ละลายใน 96% ethyl alcohol 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาและในที่เย็น
3. กรดบอริกความเข้มข้น 4% (w/v)
ละลายกรดบอริก (AR grade) 40 กรัม ด้วยน้ำกลั่นร้อน รองลงสารละลายเย็น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร
4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 40% (w/v)
ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ($NaOH$, commercial grade) 400 กรัม ด้วยน้ำกลั่น ปรับให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร
5. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล
 - 5.1. วน้ำกลั่นให้เดือดประมาณ 20 นาที เพื่อไล่แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ตั้งให้เย็นโดยเก็บในภาชนะที่มีฝาปิด
 - 5.2. ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ ($NaOH$, AR grade) ที่มีโซเดียมคาร์บอเนตน้อยกว่า 5% ละลายด้วยน้ำกลั่นในข้อ 5.1. ในอัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก ลงในขวดเยอร์เลนเมเยอร์ เทยให้ละลาย ปิดปากขวดไม่ให้สัมผัสอากาศ ตั้งทิ้งให้โซเดียมคาร์บอเนตตกตะกอนจนได้สารละลายใส (ประมาณ 10 วัน)
 - 5.3. เตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยใช้สารละลายในข้อ 5.2. จำนวน 5.4 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในข้อ 5.1. จนได้ 1 ลิตร
 - 5.4. ชั่ง Potassium hydrogen phthalate ที่อุณหภูมิ 103°C ประมาณ 4 ชั่วโมง ปริมาณ 0.2042 กรัม ใส่ในขวดเยอร์เลนเมเยอร์ ละลายด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร หยดฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ในข้อ 5.3 จนกระทั่งได้สารละลายสีชมพูอ่อน เช่นเดียวกับ blank ซึ่งใช้น้ำในข้อ 5.1. หยดฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ใน ข้อ 5.3 จนกระทั่งได้สารละลายสีชมพูอ่อน

เอกสารอ้างอิง

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis Ash in Animal Feed. Association of Official Analytical Chemists. EUA.

การวิเคราะห์หาโปรตีน (Crude protein, CP)

หลักการ

เนื่องจากโปรตีนประกอบด้วย กรดอะมิโนหลายชนิด และกรดอะมิโนนี้มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ ดังนั้น การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนจึงวิเคราะห์ในรูปของปริมาณไนโตรเจน โดยวิธี Kjeldahl แล้วคำนวณกลับเป็นปริมาณโปรตีน โดยตัวอย่างอาหารจะถูกย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (H_2SO_4 conc.) ในสภาพที่มีตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) อยู่ด้วย สารประกอบไนโตรเจนทั้งส่วนที่เป็นโปรตีนและไมโปรตีน (Non-protein nitrogen) (ยกเว้นที่อยู่ในรูปไนเตรท) จะถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 40% (w/v) ลงไป แล้วทำการดักจับแก๊สแอมโมเนียที่ถูกไล่ออกมาด้วยกรดบอริกที่มีความเข้มข้น 4% (w/v) นำไปไตเตรทด้วยกรดไฮโดรคลอริก หรือกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (w/v) เพื่อหาปริมาณกรดที่ใช้ทำปฏิกิริยาก็จะสามารถคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนได้

ปริมาณไนโตรเจนที่ได้เมื่อคูณด้วยแฟคเตอร์ 6.25 ก็จะเป็นค่า crude protein ทั้งนี้โดยถือหลักว่าโดยทั่วไปแล้วโปรตีนมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบเฉลี่ย 16% ($100/16=6.25$) แต่วัตถุดิบบางชนิดอาจมีค่าไนโตรเจนแตกต่างกันไป ดังนั้น ค่าแฟคเตอร์ก็จะเปลี่ยนแปลงตามชนิดตัวอย่างดังตาราง

ชนิดตัวอย่าง	% ไนโตรเจน	ค่าแฟคเตอร์
พืชอาหารสัตว์ เนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์สัตว์	16.00	6.25
ถั่วเหลือง	17.51	5.71
ถั่วลิสง	18.32	5.46
เมล็ดข้าว	16.81	5.95
นม และผลิตภัณฑ์นม	15.68	6.38
ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโอ๊ต ข้าวสาลี ข้าวฟ่าง	17.15	5.83
รำข้าวสาลี	15.85	6.31
เมล็ดพืชน้ำมัน (ทานตะวัน ฝ้าย)	18.87	5.30
จมูกข้าวสาลี, corn gluten	17.24	5.80

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งชนิดทศนิยม ๘ ตำแหน่ง
2. เครื่องย่อย (Block digester)
3. หลอดย่อย (Digestion tube)
4. Exhaust manifold และ Aspirator
5. Tube stand

เอกสารอ้างอิง วิธีการนี้ดัดแปลงมาจาก

AOAC . 1990. Official Methods of Analysis : Moisture in Animal Feed. (7.007). 15th edn.

Association of Official Analytical Chemists, Arlington, USA.

ISO. 1999. Animal feeding stuffs - Determination of moisture and other volatile matter content.

ISO 6496. Available source: http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_ics/catalogue_detail_ics.htm?ics1=65&ics2=120&ics3=&csnumber=12871. July 23, 2010.

การวิเคราะห์หาเถ้า (Ash)

หลักการ

เถ้า (Ash) คือ ส่วนของสารอนินทรีย์ (inorganic) ในอาหารสัตว์ ซึ่งได้แก่แร่ธาตุต่างๆ เมื่อนำ ตัวอย่างไปเผาที่อุณหภูมิ 600°C นาน 2 ชั่วโมง ส่วนที่เป็นสารอินทรีย์จะถูกเผาไหม้หมดไป เหลืออยู่แค่ส่วนของสารอนินทรีย์

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เตาไฟฟ้า
3. เตาเผา (muffle furnace)
4. ถ้วยสำหรับเผาเถ้า (porcelain dish)
5. โถดูดความชื้น (desiccators)

วิธีการ

1. นำตัวอย่างป่นที่อุณหภูมิ 100°C นาน 1 ชั่วโมง เอาออกใส่ในโถดูดความชื้นปล่อยให้เย็น แล้วชั่งน้ำหนัก
2. ชั่งตัวอย่างใส่ลงในถ้วยที่ทราบน้ำหนักแล้วประมาณ 2 กรัม นำไปเผาในเตาไฟฟ้า จนหมดควัน
3. นำตัวอย่างที่เผาใส่ควันแล้วไปเผาต่อในเตาเผา อุณหภูมิ 600°C นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นปิดสวิตช์เตาเผา เปิดฝาเตาออกรอจนอุณหภูมิภายในเตาลดเหลือประมาณ 100 °C เพื่อป้องกันมิให้ด้วยสัมผัสอากาศเย็นกะทันหัน ซึ่งอาจทำให้ถ้วยแตกได้
4. นำถ้วยออกมาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\% \text{ เถ้า} = \frac{(W_2 - W_1) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

W_1 คือ น้ำหนักถ้วย

W_2 คือ น้ำหนักถ้วย + น้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา

ส่วนปริมาณอินทรีย์วัตถุ (Organic matter, OM) คำนวณได้จากผลต่างระหว่างน้ำหนักตัวอย่าง กับ น้ำหนักเถ้า ดังนี้

$$\% OM = 100 - (\% \text{ ความชื้น}) - (\% \text{ เถ้า})$$

การวิเคราะห์ความชื้น (Moisture)

หลักการ

การวิเคราะห์หาความชื้น ทำให้ทราบว่าอาหารสัตว์หรือวัตถุดิบมีน้ำเป็นส่วนประกอบอยู่เท่าไร โดยนำตัวอย่างอาหารมาอบให้แห้ง เพื่อระเหยน้ำออกจนน้ำหนักคงที่น้ำหนักของตัวอย่างที่หายไป คือ ค่าความชื้น ซึ่งค่าของปริมาณน้ำนี้จะบอกถึงคุณภาพของตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ เช่น ถ้าเป็นพืชอาหารสัตว์ที่มีน้ำประกอบอยู่สูงถึง 80-90 % จะมีความอ่อนนุ่ม แต่ถ้าวัตถุดิบหรืออาหารสัตว์สำเร็จรูปมีน้ำประกอบอยู่สูงโอกาสที่จะเสียหรือเน่าเสียจะเกิดได้ง่าย นอกจากนี้ยังใช้ในการเปรียบเทียบคุณภาพของอาหารสัตว์ด้วย

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. ถ้วยตาตัวอย่างพร้อมฝาปิด (weighing bottle) ที่ทำด้วยโลหะไม่เป็นสนิมหรือ แก้วพร้อมมีฝาปิดสนิท ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ≥ 50 มิลลิเมตร สูง ≤ 40 มิลลิเมตร
3. ตู้อบ ชนิด Forced-air drying oven
4. โถดูดความชื้น หรือ ตู้ดูดความชื้น (desiccators)

วิธีการ

1. นำถ้วยอบตัวอย่างพร้อมฝา ที่ล้างสะอาดและแห้งอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 135°C นาน 2 ชั่วโมง นำออกใส่ในโถดูดความชื้นและทิ้งให้เย็น ไม่เกิน 2 ชั่วโมง นำมาชั่งน้ำหนักน้ำหนัก
2. ชั่งตัวอย่างอาหารหีบดละเอียดขนาด 1 มิลลิเมตร ประมาณ 2 กรัม ใส่ลงในถ้วยอบ ปิดฝาปิดสนิท ปิดฝาถ้วย เขย่าเล็กน้อยให้ตัวอย่างกระจายเต็มพื้นที่สม่ำเสมอ นำไปอบที่อุณหภูมิ 135°C นาน 2 ชั่วโมงหรือจนน้ำหนักคงที่ โดยให้มีระยะห่างระหว่างถ้วย 2 เซนติเมตร ขณะที่ต้องเปิดฝาด้วย
3. เมื่อครบกำหนดเวลา นำถ้วยอบออกใส่ในโถดูดความชื้นและปิดฝาด้วย ปลอกให้เย็น ไม่เกิน 2 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\% \text{ ความชื้น} = \frac{(W_1 - W_2) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

$$\% \text{ วัตถุแห้ง (Dry matter, DM)} = 100 - (\% \text{ ความชื้น})$$

W_1 คือ น้ำหนักถ้วยอบ + น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

W_2 คือ น้ำหนักถ้วยอบ + น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

ขอบเขต

วิธีการนี้ใช้สำหรับวิเคราะห์หาความชื้น ในพืชอาหารสัตว์ อาหารสัตว์ และวัตถุดิบอาหารสัตว์ ยกเว้น ตัวอย่างที่มีสารประกอบกรดไขมันระเหยได้ (Volatile Fatty acid) ตัวอย่างที่มีน้ำฟอส Urea สูง

แบบฟอร์มการส่งตัวอย่างดิน

1. เลขที่/ปีงบประมาณ/..... วันที่ส่งตัวอย่าง จำนวน ตัวอย่าง

2. ผู้ส่งตัวอย่าง () ศูนย์ฯ / สถานีฯ (กรอกข้อ 2.1 2.2) () อื่นๆ (กรอกข้อ 2.3 - 2.4)

2.1 ชื่อหน่วยงาน

2.2 ชื่อพนักงาน

2.3 ชื่อ

เลขประจำตัวประชาชน

หน่วยงาน

2.4 ที่อยู่ หมู่ ถนน ตำบล

อำเภอ จังหวัด รหัสไปรษณีย์

โทรศัพท์ โทรสาร

3. เป็นตัวอย่าง () งานวิจัย เลขทะเบียนวิจัยที่

() งานทดสอบสวชิต วัตถุประสงค์

.....

() งานผลิตเสบียงสัตว์ Lot. No.

() งานบริการวิเคราะห์ วัตถุประสงค์

.....

4. หน่วยงานที่รับวิเคราะห์

ตัวอย่างที่ รายการวิเคราะห์

ลักษณะทางเคมี

() pH () Lime requirement () EC () CEC () OM

Mineral

() Ca () P () Mg () K () Mn () S

อื่นๆ

.....

.....

.....

.....

ข้อมูลของตัวอย่าง

ตัวอย่าง ที่	รายละเอียด	Lab. No. (หน่วยวิเคราะห์กรอก)

แบบฟอร์มการส่งตัวอย่างน้ำ

1. เลขที่/ปีงบประมาณ/..... วันที่ส่งตัวอย่าง จำนวน ตัวอย่าง
2. ผู้ส่งตัวอย่าง () ศูนย์ฯ / สถานี (กรอกข้อ 2.1 - 2.2) () สืบฯ (กรอกข้อ 2.3 - 2.4)
- 2.1 ชื่อหน่วยงาน
- 2.2 ชื่อพนักงาน
- 2.3 ชื่อ.....
- เลขประจำตัวประชาชน
- หน่วยงาน.....
- 2.4 ที่อยู่..... หมู่..... ถนน..... ตำบล.....
- อำเภอ..... จังหวัด..... รหัสไปรษณีย์.....
- โทรศัพท์..... โทรสาร.....
3. เป็ตัวอย่าง () งานวิจัย เลขทะเบียนวิจัยที่.....
- () งานทดสอบสถิติ วัดอุปสงค์.....
- () งานบริการวิเคราะห์ วัดอุปสงค์.....
4. หน่วยงานที่รับวิเคราะห์.....

ตัวอย่างที่ รายการวิเคราะห์

ลักษณะทางกายภาพ

() สี () กลิ่น () ความขุ่น

ลักษณะทางเคมี

() Ca () P () Mg () K () Na () Mn () Cu () Fe

() Zn

() Chloride () Sulfate () Nitrate () Nitrite () pH () Acidity

() Alkalinity

() Total - solid () Carbonate - Hardness () Conductivity

ข้อมูลของตัวอย่าง

[illegible]

อุณหภูมิ 20°C ถ้าค่าที่วัดได้สูงกว่า 1.634 ให้ค่อยๆ เติมน้ำกลั่นลงไป แต่ถ้าต่ำกว่า 1.634 ให้เติมกรดซัลฟิวริก เข้มข้นลงไป จนกว่าจะวัดได้ค่าความถ่วงจำเพาะ เท่ากับ 1.634 ที่อุณหภูมิ 20°C จึงจะนำไปใช้ได้

วิธีการ

1. นำ crucible ที่มีตัวอย่างซึ่งวิเคราะห์หา ADF แล้วมาเติมสารละลาย 72% H_2SO_4 ที่เย็น (15°C) ลงไป ประมาณครึ่ง crucible จากนั้นนำไปวางลงในภาตสแตนเลส ใส่แท่งแก้วคนให้ทั่วเพื่อให้ตัวอย่างแยกจากกันไม่จับกันเป็นก้อน โดยมีน้ำกลั่นที่อยู่ในภาตสแตนเลสระดับที่ต่ำกว่าระดับของแผ่น fitted glass รักษาอุณหภูมิของ crucible ในภาตสแตนเลสที่ 20-23°C

2. คอยเติมสารละลาย 72% H_2SO_4 เมื่อสารละลายใน crucible แห้ง คนเป็นระยะๆ ใช้เวลาย่อยนาน 3 ชั่วโมง

3. จากนั้นนำไป suction เพื่อล้างสารละลายกรดออก แล้วล้างด้วยน้ำร้อน โดยใช้น้ำร้อนปริมาณ 1,400 มิลลิลิตร หรือจนหมดหยด จากนั้นใช้ขวดฉีดน้ำร้อน ใส่ตัวอย่างที่ติดอยู่ข้าง crucible ให้ลงไปใน crucible ให้หมด ฉีดล้าง crucible อีกหนึ่งครั้ง

4. นำ crucible พร้อมตัวอย่างที่ย่อยแล้ว ไปอบในตู้อบแห้ง ที่อุณหภูมิ 105°C นาน 8 ชั่วโมง จากนั้นนำออกใส่โถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็น ชั่งน้ำหนักและบันทึกไว้

$$\% \text{ Cellulose} = \frac{W_1 - W_2}{W_3} \times 100$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนัก crucible + น้ำหนัก ADF

W_2 = น้ำหนัก crucible + น้ำหนักเยื่อใยหลังการอบ

W_3 = น้ำหนักตัวอย่าง

วิธีวิเคราะห์ Lignin

หลักการ

ได้จากการนำตัวอย่างที่ผ่านการวิเคราะห์หา cellulose แล้วไปเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ลิกนินจะถูกเผาไป ส่วนที่เหลือ คือ Acid Insoluble Ash หรือเถ้าที่ไม่ละลายในกรด

อุปกรณ์

- เตาเผา (Muffle furnace)
- โถดูดความชื้น (Desiccators)
- เครื่องชั่ง (Balance) ชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

- นำ crucible ที่มีตัวอย่างซึ่งวิเคราะห์หา cellulose แล้ว นำไปเผา (ignite) ในเตาเผา ที่อุณหภูมิ 500 °C นาน 2 ชั่วโมง
- เอาออกใส่โถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็น ชั่งน้ำหนักหา lignin

วิธีคำนวณ

$$\% \text{ Lignin} = \frac{W_4 - W_5}{W_3} \times 100$$

- เมื่อ W_4 = น้ำหนัก crucible + น้ำหนักเยื่อใยหลังการลบ
 W_5 = น้ำหนัก crucible + น้ำหนัก เยื่อใยหลังการเผา (ignite)
 W_3 = น้ำหนักตัวอย่าง

$$\% \text{ ใยที่ไม่ละลายในกรด} = \frac{W_5 - W_4}{W_3} \times 100$$

- เมื่อ W_5 = น้ำหนัก crucible + น้ำหนักเยื่อใยหลังการเผา (ignite)
 W_2 = น้ำหนัก crucible เปล่า ก่อนนำมาใช้วิเคราะห์หา ADF
 W_3 = น้ำหนักตัวอย่าง (sample)

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis : Fiber (Acid Detergent) and Lignin in Animal Feed. (973.18). Association of Official Analytical Chemists. EUA.
- ISO. 2004. Determination of acid detergent fibre (ADF) and acid detergent lignin (ADL) contents (13906). Available source: http://www.iso.org/iso/catalogue/catalogue_ics/catalogue_detail_ics.htm?ics1=.65&ics2=120&ics3=&icsnumber=37898. July 23, 2010
- Undersander, D., D.R. Mertens and N. Thiex. 1993. 5.1 Determination of amylase neutral detergent fiber by refluxing. National Forage Testing Association. Available Source : www.foragetesting.org , January 28, 2005

คำแนะนำ

1. การเตรียมสารละลายกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 1 N
 Sulfuric acid (H_2SO_4), reagent grade (% assay 100) = 49.04 กรัม
 ผลิตภัณฑ์แต่ละบริษัทอาจจะมีค่าแตกต่างกันให้ดูจากฉลากที่ข้างขวดแล้วนำมาคำนวณ
 สมมติว่า % assay 95 - 97 ให้คิดค่าเฉลี่ย = 96% แล้วนำมาคำนวณปริมาณกรดซัลฟูริกที่ต้อง

ใช้ ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{กรดซัลฟูริก assay 96\% ใช้ปริมาณกรด} &= 49.04 \quad \text{กรัม} \\ \text{ถ้ากรดซัลฟูริก assay 100\% ใช้ปริมาณกรด} &= \frac{49.04 \times 100}{96} \quad \text{กรัม} \end{aligned}$$

$$\therefore \text{ จะต้องใช้ sulfuric acid assay 96\%} = 51.08 \quad \text{กรัม}$$

2. การเตรียมสารละลาย H_2SO_4 เข้มข้น 72 %

วิธีคำนวณหาปริมาณกรดซัลฟูริกที่ต้องใช้ในการเตรียมสารละลาย H_2SO_4 เข้มข้น 72 %
 เตรียมสารละลาย 72% H_2SO_4 ความถ่วงจำเพาะ 1.634 จาก 96% H_2SO_4 ความถ่วงจำเพาะ 1.84
 จากสูตร $N_1V_1 = N_2V_2$
 เมื่อ N_1 = ความเข้มข้นของ 96% H_2SO_4 หน่วยเป็น Normal
 N_2 = ความเข้มข้นของสารละลาย 72% H_2SO_4 หน่วยเป็น Normal
 V_1 = ปริมาตรของ 96% H_2SO_4 ที่ต้องใช้หน่วยเป็น ml
 V_2 = ปริมาตรของสารละลาย 72% H_2SO_4 ที่ต้องการเตรียมหน่วยเป็น ml
 จาก 96% H_2SO_4 ความถ่วงจำเพาะ 1.84

$$\begin{aligned}
 \text{สารละลาย } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ หนัก } 100 \text{ g} & \text{ มีเนื้อกรดอยู่} & = 96 & \text{ g.} \\
 \text{สารละลาย } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ หนัก } 1.84 \text{ g} & \text{ มีเนื้อกรดอยู่} & = \frac{96 \times 1.84}{100} & \text{ g}
 \end{aligned}$$

$$\text{สารละลาย } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ 1 ml} \text{ จะมีเนื้อกรดอยู่} = \frac{96 \times 1.84}{100} \text{ g.}$$

$$\text{สารละลาย } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ 1000 ml} \text{ จะมีเนื้อกรดอยู่} = \frac{96 \times 1.84 \times 1000}{100 \times 1} \text{ g.}$$

$$\therefore \text{ ความเข้มข้น} = \frac{96 \times 1.84 \times 1000}{100 \times (98.08/2)} \text{ N}$$

$$= 36.02 \text{ N}$$

$\therefore$ 96% H_2SO_4 ความถ่วงจำเพาะ 1.84 มีความเข้มข้น 36.02 N

จาก 72% H_2SO_4 ความถ่วงจำเพาะ 1.634

$$\begin{aligned}
 \text{สารละลาย } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ หนัก } 100 \text{ g} & \text{ มีเนื้อกรดอยู่} & = 72 & \text{ g.} \\
 \text{สารละลาย } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ หนัก } 1.634 \text{ g} & \text{ มีเนื้อกรดอยู่} & = \frac{72 \times 1.634}{100} & \text{ g.}
 \end{aligned}$$

$$\text{สารละลาย } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ 1 ml} \text{ จะมีเนื้อกรดอยู่} = \frac{72 \times 1.634}{100} \text{ g.}$$

$$\text{สารละลาย } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ 1000 ml} \text{ จะมีเนื้อกรดอยู่} = \frac{72 \times 1.634 \times 1000}{100 \times 1} \text{ N}$$

$$\therefore \text{ ความเข้มข้น} = \frac{72 \times 1.634 \times 1000}{100 \times (98.08/2)} \text{ N}$$

$$= 23.99 \text{ N}$$

$\therefore$ สารละลาย 72% H_2SO_4 ความถ่วงจำเพาะ 1.634 มีความเข้มข้น 23.99 N

$$\text{จาก } N_1V_1 = N_2V_2 ; \quad 36.02 \times V_1 = 23.99 \times 1000$$

$$V_1 = \frac{23.99 \times 1000}{36.02}$$

$$V_1 = 666.02 \text{ ml}$$

∴ ในการเตรียมสารละลาย 72% H_2SO_4 ความถ่วงจำเพาะ 1.634 จะต้องใช้ปริมาณกรดซัลฟริก ความเข้มข้น 96% H_2SO_4 ความถ่วงจำเพาะ 1.84 เท่ากับ 666.02 มิลลิลิตร

การวิเคราะห์หาแคลเซียมในอาหารสัตว์

หลักการ

การวิเคราะห์แคลเซียม (Ca) ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการมี 2 วิธีคือ

1. โดยใช้เครื่อง Inductively coupled plasma - optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES) เป็นวิธีการวัดปริมาณธาตุแคลเซียม (Ca) โดยทำให้ธาตุอยู่ในรูปอะตอม เมื่อเป่าผ่านตัวอย่างสารละลายให้เป็นละอองเล็กๆ ในเปลวไฟ ตัวทำละลายจะระเหยหรือถูกเผาไหม้หมดไป หลังจากนั้นความร้อนของเปลวไฟจะทำให้สารประกอบแยกตัวออกเป็นอะตอมในสภาพก๊าซ และอะตอมเหล่านี้จะเคลื่อนที่ไปพร้อมกับพลาสมา (plasma) เพื่อไปวัดปริมาณอะตอมที่เกิดขึ้น อะตอมของธาตุเหล่านี้จะปลดปล่อยพลังงานแสงออกมา ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะตัวของแต่ละธาตุ ปริมาณของพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมาจะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับจำนวนอะตอมของธาตุที่มีในสารละลายตัวอย่าง ซึ่งสามารถวัดพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมานี้ด้วยเครื่อง Inductively coupled plasma-optical Emission Spectrophotometer (ICP OES) โดยอะตอมของแคลเซียมที่ความยาวคลื่น 317.933 นาโนเมตร

2. โดยใช้เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) เป็นการวัดปริมาณของพลังงานแสงที่ถูกดูดกลืนโดยอะตอมของแคลเซียม โดยแคลเซียมที่อยู่ในสารละลายตัวอย่างจะถูกความร้อนจากเปลวไฟทำให้เปลี่ยนเป็นอะตอม อะตอมของแคลเซียมนี้จะดูดกลืนพลังงานแสงที่ความยาวคลื่น 422.7 นาโนเมตร ปริมาณของพลังงานแสงที่ถูกดูดกลืนนี้ จะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับจำนวนอะตอมของแคลเซียมที่มีในสารละลายตัวอย่าง

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง (Sample Preparation) โดยการย่อยด้วยกรด (Wet Digestion)

ก. พืชอาหารสัตว์ (Roughage)

1. ชั่งตัวอย่างพืชอาหารสัตว์แห้งที่บดละเอียด ประมาณ 1 กรัม ใส่ขวดเออร์เลนเมเยอร์ (Erlenmeyer flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. เติมกรดไนตริกเข้มข้น (HNO_3 conc. AR grade) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
3. เติมกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น ($HClO_4$ conc. AR grade) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร
4. เขย่าเบา ๆ ให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ค้างคืน
5. ยกขึ้นตั้งบนเตาไฟฟ้า (Hot plate) โดยตั้งไฟอ่อน ๆ ก่อน จนกระทั่งไม่มีควันสีขาวเกิดขึ้น จึงค่อย ๆ เพิ่มความร้อนของเหลวในขวดเดือดค่อนข้างแรงแต่ไม่ถึงกับกระเด็น (Bump) ถ้ากระเด็น ให้ลดไฟลง
6. ตั้งไฟไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งของเหลวในขวดใส มีสีขาว ปริมาตรเหลือประมาณ 5 มิลลิลิตร
7. ยกลงทิ้งไว้ พอลง ๆ เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ ประมาณ 10 มิลลิลิตร เขย่า
8. ทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายใส่ขวดวอลุ่มเมตริก (Volumetric flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร ผิดล้างส่วนที่ติดในขวดออกให้หมดด้วยน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ แล้วเติมน้ำจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน
9. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42

ข. อาหารสัตว์ (Concentrate)

เตรียมตัวอย่างโดยวิธีเดียวกัน ในกรณีที่มีอาหารมีไขมันสูง เช่น หัวอาหาร หีชน้ำมัน บลาป่น ฯลฯ เวลาบดตัวอย่างควรใส่กรดไนตริกเข้มข้นอย่างเดียวก่อน ตั้งไว้ค้างคืน วันรุ่งขึ้นนำไปตั้งบนเตาไฟฟ้า ตั้งไฟอ่อนๆ

จนกระทั่งไม่มีควันสีน้ำตาล (ประมาณ 1 ชั่วโมง) จึงยกลงทิ้งให้เย็นค่อย ๆ เติมนกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น แล้วนำไปย่อยต่อตามข้อ ก. (ข้อ 6-9)

ค. ทำ Reagent Blank โดยใส่กรดย่อยเหมือนกันตัวอย่าง แต่ไม่ใส่ตัวอย่าง

2. การวิเคราะห์

วิธีที่ 1

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า (analytical balance) ชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เตาไฟฟ้า (hot plate) แบบควบคุมอุณหภูมิ
3. เครื่อง Inductively coupled plasma optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES)
4. เครื่องแก้ว และอุปกรณ์อื่น ๆ ได้แก่ ขวดเออร์เลนเมเยอร์ (erlenmeyer flask) ขวดวอลลูมเมตริก (volumetric flask) บีกเกอร์ (beaker) กรวยแก้ว (glass funnel) แท่งแก้ว (stirring rod) กระดาษกรองเบอร์ 42 ขวดฉีดน้ำ (washing bottle) หม้อดใส่สารละลายชนิด polyethylene ขนาด 15 มิลลิลิตร และ ปิเปต (pipet)

สารเคมี

1. กรดไนตริกเข้มข้น (HNO_3 conc. AR grade)
2. กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (HClO_4 conc. AR grade)
3. สารละลายมาตรฐานแคลเซียม (Ca) ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เตรียมสารละลายมาตรฐาน (Working Standard solution) ดังนี้

3.1 จากสารละลายมาตรฐานแคลเซียม ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตมา 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวอลลูมเมตริกขนาด 200 มิลลิลิตร เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ (Demineralized water) จนถึงขีดปริมาตร จะได้สารละลายมาตรฐานแคลเซียมความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3.2 จากสารละลายมาตรฐานแคลเซียมความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตมา 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวอลลูมเมตริกขนาด 100 มิลลิลิตรแต่ละใบ เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ จนถึงขีดปริมาตรจะได้สารละลายมาตรฐานแคลเซียมที่มีความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

วิธีทำ

1. ปิเปตสารละลายที่ได้จากการย่อยตัวอย่าง รวมทั้ง reagent blank มาประมาณ 1- 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวอลลูมเมตริกขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน
2. ถ่ายสารละลายตัวอย่างใส่หลอดใส่ตัวอย่างสำหรับวัดด้วยเครื่อง ICP-OES
3. นำสารละลายที่เตรียมได้ไปวัดปริมาณแคลเซียม ด้วยเครื่อง ICP-OES โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน ปฏิบัติตามวิธีการใช้ของเครื่อง

4. คำนวณหาปริมาณแคลเซียม ในตัวอย่าง

วิธีที่ 2

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer
2. เครื่องเจือจางสารละลาย (Diluter)
3. เครื่องปั่น (vortex)
4. หลอดทดสอบ (test tube)
5. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 1 ลิตร

6. สารละลายสตรอนเทียมคลอไรด์ ($\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 1500 mg/l
ซึ่ง ($\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 4.6 กรัมละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
7. สารละลายมาตรฐาน Ca 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
ซึ่ง CaCO_3 2.4972 g. ซึ่งผ่านการอบแห้งที่ 105°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ละลายด้วยน้ำที่ปราศจากไอออน แล้วค่อยๆเติมกรด HCl 1 M. ลงไปจนละลายก่อนที่จะปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยขวดวัดปริมาตร เก็บไว้ในตู้เย็น
8. เตรียมสารละลายมาตรฐาน (working standard solution) ดังนี้
สารละลายมาตรฐาน Ca ความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8, 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย $\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

วิธีวิเคราะห์

นำสารละลายตัวอย่าง ที่ย่อยไว้สำหรับวิเคราะห์แร่ธาตุมาดูดด้วยเครื่องทำสารละลายเจือจาง แล้วทำการเจือจางตัวอย่าง โดยใช้สารละลายสตรอนเทียม 1500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามค่าที่วัดได้ว่าสูง/ต่ำกว่าสารละลายมาตรฐาน ของธาตุที่ทำการวัด แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) ที่ความยาวคลื่น 422.7 นาโนเมตรโดยปฏิบัติตามวิธีการใช้เครื่อง

การคำนวณ

$$\% \text{ Ca} = \frac{(r-b) \times 50 \times \text{d.f.} \times 10^{-4}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)}}$$

โดย	r-b	=	ค่าที่อ่านได้ (mg/l) - blank
	50	=	ค่าปริมาตรของตัวอย่างที่ย่อยเตรียมวิเคราะห์แร่ธาตุ
	d.f	=	ค่า dilution factor ค่าการเจือจางสารละลาย

เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาที่ดิน. 2547. คู่มือการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ ปุ๋ย พืช วัสดุปรับปรุงดิน และการวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบรับรองมาตรฐานสินค้า. สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน กรุงเทพฯ. 254 หน้า
- ณพนาม โคตรพรม เสงสา พิทักษ์สืบสุข และจริยา บุญจรัสชะ. 2551. การทดสอบความใช้ได้และเปรียบเทียบเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม และฟอสฟอรัสในพืชอาหารสัตว์ รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551. กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า 317- 333
- พิไลวรรณ พลพิช วลัยกานต์ เจียมเจษฎารูญ และนาคยา สันวรรัตน์. 2532. วิธีวิเคราะห์หาแร่ธาตุในอาหารสัตว์และชีวม. กลุ่มงานวิเคราะห์อาหารสัตว์ กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์. 48 หน้า.
- เพอร์กิน-เอลเมอร์. 2532. คู่มือการใช้งานเครื่อง ICP-OES และคู่มือ Software Perkin - Elmer WinLab32™. 34 หน้า
- ศรีสม สุวรรณวงศ์. 2547. การวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 141 หน้า

การวิเคราะห์หาฟอสฟอรัสในอาหารสัตว์

หลักการ

การวิเคราะห์ฟอสฟอรัส (P) ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการมี 2 วิธีคือ

1. โดยให้เครื่อง Inductively coupled plasma-optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES) เป็นวิธีการวัดปริมาณธาตุฟอสฟอรัส (P) โดยทำให้ธาตุอยู่ในรูปอะตอม เมื่อเข้าพ่นตัวอย่างสารละลายให้เป็นละอองเล็กๆ ในเปลวไฟ ตัวทำละลายจะระเหยหรือถูกเผาไหม้หมดไป พลังงานความร้อนของเปลวไฟจะทำให้สารประกอบแยกตัวออกเป็นอะตอมในสภาวะก๊าซ และอะตอมเหล่านี้จะเคลื่อนที่ไปพร้อมกับพลาสมา (plasma) เพื่อไปวัดปริมาณอะตอมที่เกิดขึ้น อะตอมของธาตุเหล่านี้จะปลดปล่อยพลังงานแสงออกมา ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะตัวของแต่ละธาตุ ปริมาณของพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมาจะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับจำนวนอะตอมของธาตุที่มีในสารละลายตัวอย่าง ซึ่งสามารถวัดพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมาได้ด้วยเครื่อง Inductively coupled plasma-optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES) โดย อะตอมของฟอสฟอรัสที่ความยาวคลื่น 213.617 นาโนเมตร

2. โดยใช้เครื่องเครื่อง UV visible spectrophotometer การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทำได้โดยการย่อยตัวอย่างดังที่เตรียมไว้ในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์หาธาตุอาหารพืช ซึ่งฟอสฟอรัสที่เป็นองค์ประกอบของสารอินทรีย์จะถูกเปลี่ยนเป็นรูปออร์โธฟอสเฟต (Orthophosphate) จากนั้นจึงปรับปริมาตรให้เหมาะสมและนำไปทำให้เกิดสี (develop color) โดยทำปฏิกิริยากับสารละลายผสมของโมลิบดีนัม (Molybdate) และ วานาเดต (Vanadate) ในสภาพที่เป็นกรด เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีเหลือง นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV visible spectrophotometer

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง (Sample Preparation) โดยการย่อยด้วยกรด (Wet Digestion)

ก. พืชอาหารสัตว์ (Roughage)

1. ชั่งตัวอย่างพืชอาหารสัตว์แห้งที่บดละเอียด ประมาณ 1 กรัม ใส่ขวดเออร์เลนเมเยอร์ (Erlenmeyer flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. เติมนกรดไนตริกเข้มข้น (HNO₃ conc. AR grade) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
3. เติมนกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (HClO₄ conc. AR grade) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร
4. เขย่าเบา ๆ ให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ค้างคืน
5. ยกขึ้นตั้งบนเตาไฟฟ้า (Hot plate) โดยตั้งไฟอ่อน ๆ ก่อน จนกระทั่งไม่มีควันสีขาวเกิดขึ้น จึงค่อย ๆ เพิ่มความร้อนจนของเหลวในขวดเดือดค่อนข้างแรงแต่ไม่ถึงกับกระเด็น (Bump) ถ้ากระเด็น ให้ลดไฟลง
6. ตั้งไฟไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งของเหลวในขวดใส มีสีขาว ปริมาตรเหลือประมาณ 5 มิลลิลิตร
7. ยกลงทิ้งไว้ พอลง ๆ เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ ประมาณ 10 มิลลิลิตร เขย่า
8. ทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายใส่ขวดวอลุ่มเมตริก (Volumetric flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร จิตล้างส่วนที่ติดในขวดออกให้หมดด้วยน้ำปราศจากแร่ธาตุ แล้วเติมน้ำจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน
9. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42

ข. อาหารสัตว์ (Concentrate)

เตรียมตัวอย่างโดยวิธีเดียวกัน ในกรณีที่มีอาหารที่มีไขมันสูง เช่น หัวอาหาร พืชน้ำมัน ปลาป่น ฯลฯ เวลาย่อยตัวอย่างควรใส่กรดไนตริกเข้มข้นอย่างเดียวก่อน ตั้งไว้ค้างคืน วันรุ่งขึ้นนำไปตั้งบนเตาไฟฟ้า ตั้งไฟอ่อน ๆ จนกระทั่งไม่มีควันสีขาว (ประมาณ 1 ชั่วโมง) จึงยกลงทิ้งให้เย็นค่อย ๆ เติมนกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น แล้วนำไปก่อกตามข้อ ก. (ข้อ 6-9)

ค. ทำ Reagent Blank โดยใส่กรดย่อยเหมือนตัวอย่าง แต่ไม่ใส่ตัวอย่าง

2. การวิเคราะห์

วิธีที่ 1

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า (analytical balance) ชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เตาไฟฟ้า (hot plate) แบบควบคุมอุณหภูมิ
3. เครื่อง Inductively coupled plasma-optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES)
4. เครื่องแก้ว และอุปกรณ์อื่น ๆ ได้แก่ ขวดเยอร์เลนเมเยอร์ (erlenmeyer flask) ขวดวอลลูมเมตริก (volumetric flask) บีกเกอร์ (beaker) กรวยแก้ว (glass funnel) แท่งแก้ว (stirring rod) กระดาษกรองเบอร์ 42 ขวดฉีดน้ำ (washing bottle) หลอดใส่สารละลายชนิด polyethylene ขนาด 1.5 มิลลิลิตร และปิเปต (volumetric pipet)

สารเคมี

1. กรดไนตริกเข้มข้น (HNO_3 conc. AR grade)
2. กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (HClO_4 conc. AR grade)
3. สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส (P) ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
เตรียมสารละลายมาตรฐาน (Working Standard solution) ดังนี้

3.1 จากสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตมา 4 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวอลลูมเมตริกขนาด 200 มิลลิลิตร เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ (Demineralized water) จนถึงขีดปริมาตรแล้วเขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3.2 จากสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตมา 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวอลลูมเมตริกขนาด 100 มิลลิลิตรแต่ละใบ เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ จนถึงขีดปริมาตรแล้วเขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสที่มีความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

วิธีการ

1. ปิเปตสารละลายที่ได้จากการย่อยตัวอย่าง รวมทั้ง reagent blank มาประมาณ 1-5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวอลลูมเมตริกขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน
2. ถ่ายสารละลายตัวอย่างใส่หลอดใส่ตัวอย่างสำหรับวัดด้วยเครื่อง ICP-OES
3. นำสารละลายที่เตรียมได้ไปวัดปริมาณฟอสฟอรัสด้วยเครื่อง ICP-OES โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน ปฏิบัติตามวิธีการใช้ของเครื่อง
4. คำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัส ในตัวอย่าง

วิธีที่ 2

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ปิเปต (volumetric pipet)
2. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 50 มล.
3. กระบอกฉีดน้ำ
4. Dispenser
5. เครื่อง UV-160 visible spectrophotometer
6. บีกเกอร์
7. แท่งแก้ว
8. สารละลายบาริตัน

8.1 ชั่งแอมโมเนียมโมลิบดีนัม (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O จำนวน 50 กรัม ใส่บีกเกอร์ ขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นประมาณ 800 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน

8.2 ชั่งแอมโมเนียมวานาเดต (NH₄VO₃) จำนวน 2.5 กรัม ใส่บีกเกอร์ ขนาด 1000 มิลลิลิตร อีเอ็ม และเติมน้ำร้อนประมาณ 600 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

8.3 เทแอมโมเนียมวานาเดต ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 2000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นในตริกเข็มขึ้น 500 มิลลิลิตร ลงไปแล้วเขย่า ตั้งไว้ให้เย็น

8.4 เติมน้ำกลั่นละลายแอมโมเนียมโมลิบดีนัม (8.1) ลงในขวดวัดปริมาตร (8.3) เขย่าให้เข้ากัน ตั้งไว้ให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 2000 มิลลิลิตร

8.5 กรองด้วยกระดาษกรอง No.41 เก็บใส่ขวดสีชา

9. สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ชั่ง KH₂PO₄ จำนวน 4.393 กรัม ซึ่งผ่านการอบแล้วที่ 105°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ละลายด้วยน้ำที่ปราศจากไอออน (deionized) ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยขวดวัดปริมาตร แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น

วิธีการ

1. เปิดสารละลายตัวอย่าง และ blank มา 1-2 มิลลิลิตร (ดูชนิดตัวอย่าง) ใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นละลายบาร์ตัน 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากแร่ธาตุ

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยดูมาจากสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จำนวน 0, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20 มิลลิลิตร ใส่ขวดวัดปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นละลายบาร์ตัน 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากแร่ธาตุ ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 3 ชั่วโมง

3. นำตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ตามวิธีของเครื่อง โดยใช้ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

การคำนวณ

$$\% P = \frac{(r-b) \times 50 \times d.f. \times 10^{-4}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)} \times \text{มล.ของตัวอย่างที่ใช้}}$$

โดย r = ค่าที่อ่านได้ (mg/l) - blank
 50 = ค่าปริมาตรของตัวอย่างที่ย่อยเตรียมวิเคราะห์แร่ธาตุ
 $d.f$ = ค่า dilution factor ค่าการเจือจางสารละลาย

เอกสารอ้างอิง

จำเริญ อ่อนทอง. 2547. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.

เนตนาถ โคตรพรหม เอลา พัทธกัญสินสุข และจรรยา บุญจรัสชะ. 2551. การทดสอบความเข้าใจและเจริญเติบโตของพืชในการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม และฟอสฟอรัสในพืชอาหารสัตว์. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551. กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 317-333

พิไลวรรณ พลพิช วลัยกานต์ เจียมเจตจรรณ และนิตยา สันสุรัตน์. 2532. วิธีวิเคราะห์หาแร่ธาตุในอาหารสัตว์และพืช. กลุ่มงานวิเคราะห์อาหารสัตว์ กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์. 48 หน้า.

เพอร์กิน-เอลเมอร์. 2532. คู่มือการใช้งานเครื่อง ICP-OES และคู่มือ Software Perkin-Elmer WinLab32™. 34 หน้า.

ศรีสม สุวรรณวงศ์. 2547. การวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 141 หน้า

การวิเคราะห์หาแมกนีเซียมในอาหารสัตว์

หลักการ

การวิเคราะห์หาแมกนีเซียม (Mg) ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการมี 2 วิธีคือ

1. โดยให้เครื่อง Inductively coupled plasma-optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES) เป็นวิธีการวัดปริมาณธาตุแมกนีเซียม (Mg) โดยทำให้ธาตุอยู่ในรูปอะตอม เมื่อเป่าพ่นตัวอย่างสารละลายให้เป็นละอองเล็กๆ ในเปลวไฟ ตัวทำละลายจะระเหยหรือถูกเผาไหม้หมดไป หลังจากนั้นความร้อนของเปลวไฟจะทำให้สารประกอบแยกตัวออกเป็นอะตอมในสภาพก๊าซ และอะตอมเหล่านี้จะเคลื่อนที่ไปพร้อมกับพลาสมา (plasma) เพื่อไปวัดปริมาณอะตอมที่เกิดขึ้น อะตอมของธาตุเหล่านี้จะปลดปล่อยพลังงานแสงออกมา ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะตัวของแต่ละธาตุ ปริมาณของพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมาจะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับจำนวนอะตอมของธาตุที่มีในสารละลายตัวอย่าง ซึ่งสามารถวัดพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมานี้ด้วยเครื่อง Inductively coupled plasma-optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES) โดยอะตอมของแมกนีเซียมที่ความยาวคลื่น 285.213 นาโนเมตร

2. โดยใช้เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) เป็นการวัดปริมาณของพลังงานแสงที่ถูกดูดกลืนโดยอะตอมของแมกนีเซียม โดยแมกนีเซียมที่อยู่ในสารละลายตัวอย่างจะถูกความร้อนจากเปลวไฟทำให้เปลี่ยนเป็นอะตอม อะตอมของแมกนีเซียมนี้จะดูดกลืนพลังงานแสงที่ความยาวคลื่น 285.2 นาโนเมตร ปริมาณของพลังงานแสงที่ถูกดูดกลืนนี้ จะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับจำนวนอะตอมของแมกนีเซียมที่มีในสารละลายตัวอย่าง

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง (Sample Preparation) โดยการย่อยด้วยกรด (Wet Digestion)

ก. พืชอาหารสัตว์ (Roughage)

1. ชั่งตัวอย่างพืชอาหารสัตว์แห้งที่บดละเอียด ประมาณ 1 กรัม ใส่ขวดเออร์เลนเมเยอร์ (Erlenmeyer flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. เติมนกรดไนตริกเข้มข้น (HNO_3 conc. AR grade) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
3. เติมนกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (HClO_4 conc. AR grade) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร
4. เขย่าเบา ๆ ให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ค้างคืน
5. ยกขึ้นตั้งบนเตาไฟฟ้า (hot plate) โดยตั้งไฟอ่อน ๆ ก่อน จนกระทั่งไม่มีควันสีขาวเกิดขึ้น จึงค่อย ๆ เพิ่มความร้อนจนของเหลวในขวดเดือดค่อนข้างแรงแต่ไม่ถึงกับกระเด็น (Bump) ถ้ากระเด็น ให้ลดไฟลง
6. ตั้งไฟไปเรื่อยๆ จนกระทั่งของเหลวในขวดใส มีสีขาว ปริมาตรเหลือประมาณ 5 มิลลิลิตร
7. เกล่งทิ้งไว้ พอลง ๆ เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ ประมาณ 10 มิลลิลิตร เขย่า
8. ทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายใส่ขวดวอลุ่มเมตริก (Volumetric flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร ฉีดล้างส่วนที่ติดในขวดออกให้หมดด้วยน้ำปราศจากแร่ธาตุ แล้วเติมน้ำจนถึงขีดบรรทัด เขย่าให้เข้ากัน
9. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42

ข. อาหารสัตว์ (Concentrate)

เตรียมตัวอย่างโดยวิธีเดียวกัน ในกรณีที่มีอาหารที่มีไขมันสูง เช่น หัวอาหาร พืชหมัก ปลาป่น ฯลฯ เวลาชั่งตัวอย่างควรใส่กรดไนตริกเข้มข้นอย่างช้าๆ ก่อน ทิ้งไว้ค้างคืน วันรุ่งขึ้นนำไปตั้งบนเตาไฟฟ้า ตั้งไฟอ่อนๆ

จนกระทั่งไม่มีควันสีน้ำตาล (ประมาณ 1 ชั่วโมง) จึงยกลงทิ้งให้เย็นค่อย ๆ เติมกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น แล้วนำไปย่อยต่อตามข้อ ก. (ข้อ 6-9)

ค. ทำ Reagent Blank โดยใส่กรดย่อยเหมือนตัวอย่าง แต่ไม่ใส่ตัวอย่าง

2. การวิเคราะห์

วิธีที่ 1

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า (analytical balance) ชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เตาไฟฟ้า (hot plate) แบบควบคุมอุณหภูมิ
3. เครื่อง Inductively coupled plasma-optical emission Spectrophotometer (ICP-OES)
4. เครื่องแก้ว และอุปกรณ์อื่น ๆ ได้แก่ ขวดเออร์เลนเมเยอร์ (erlenmeyer flask) ขวดวอลลูมเมตริก (volumetric flask) บีกเกอร์ (beaker) กรวยแก้ว (glass funnel) แท่งแก้ว (stirring rod) กระดาษกรองเบอร์ 42 ขวดฉีดน้ำ (washing bottle) หลอดใสสารละลายชนิด polyethylene ขนาด 15 มิลลิลิตร และปิเปต (volumetric pipet)

สารเคมี

1. กรดไนตริกเข้มข้น (HNO_3 conc. AR grade)
2. กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (HClO_4 conc. AR grade)
3. สารละลายมาตรฐานแมกนีเซียม (Mg) ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายมาตรฐาน (Working Standard solution) ดังนี้

3.1 จากสารละลายมาตรฐานแมกนีเซียม ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตมา 4 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวอลลูมเมตริกขนาด 200 มิลลิลิตร เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ (Demineralized water) จนถึงขีดปริมาตรแล้วเขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายมาตรฐานแมกนีเซียมความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3.2 จากสารละลายมาตรฐานแมกนีเซียมความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตมา 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวอลลูมเมตริกขนาด 100 มิลลิลิตรแต่ละใบ เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ จนถึงขีดปริมาตรแล้วเขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายมาตรฐานแมกนีเซียมที่มีความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

วิธีที่ 2

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer
2. เครื่องเจือจางสารละลาย (Diluter)
3. เครื่องปั่น (vortex)
4. หลอดทดสอบ (test tube)
5. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 1 ลิตร
6. สารละลายสตรอนเทียมคลอไรด์ ($\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 1500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
ซึ่ง ($\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) จำนวน 4.6 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร
7. สารละลายมาตรฐาน Mg 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
ซึ่ง $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10.1386 กรัม ละลายด้วยน้ำที่ปราศจากไอออน ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยขวดวัดปริมาตร แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น
8. เตรียมสารละลายมาตรฐาน (working standard solution) ดังนี้

สารละลายมาตรฐาน Mg ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (รับปริมาณด้วยสารละลาย SrCl₂ · 6H₂O 1500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

วิธีการ

นำสารละลายตัวอย่าง ที่ย่อยไว้สำหรับวิเคราะห์แร่ธาตุมาดูดด้วยเครื่องทำสารละลายเจือจาง แล้วทำการเจือจางตัวอย่าง โดยใช้สารละลายกรดทอนเทียม 1500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามค่าที่วัดได้ว่าสูง/ต่ำกว่าสารละลายมาตรฐาน ของธาตุทำการวัด แล้วนำไปวัดด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 785.2 นาโนเมตรโดยปฏิบัติตามวิธีการใช้เครื่อง

การคำนวณ

$$\% \text{ Mg} = \frac{(r-b) \times 50 \times d.f. \times 10^{-4}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง(g)}}$$

โดย	r-b	ค่าที่อ่านได้ (mg/l) – blank
	50	ค่าปริมาตรของตัวทำละลายที่เตรียมวิเคราะห์แร่ธาตุ
	d.f	= ค่า dilution factor ค่าการเจือจางสารละลาย

เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาที่ดิน. 2547. คู่มือการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ ปุ๋ย พืช วิสตุปรับปรุงดิน และการวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบรับรองมาตรฐานสินค้า. สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, กรุงเทพฯ. 254 หน้า
- ญุทนาถ โคตรพรหม เฉลา พัทธ์กัยสินสุข และจริยา บุญรัชชะ. 2551. การทดสอบความใช้ได้และเปรียบเทียบเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม และฟอสฟอรัสในพืชอาหารสัตว์. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551. กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 317-333
- พิไลวรรณ พลพิช วลัยกานต์ เจียมเจตงบุญ และนิตยา สินธุรัตน์. 2552. วิเคราะห์หาแร่ธาตุในอาหารสัตว์และชีรีม. กลุ่มงานวิเคราะห์อาหารสัตว์ กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์. 48 หน้า.
- เพอร์กิน-เอลเมอร์. 2532. คู่มือการใช้งานเครื่อง ICP-OES และคู่มือ Software Perkin - Elmer WinLab32™ 34 หน้า.
- ศรีสม สุวรรณวงศ์. 2547. การวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 141 หน้า

การวิเคราะห์หาโปตัสเซียมในอาหารสัตว์

หลักการ

การวิเคราะห์โปตัสเซียม (K) ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการมี 2 วิธีคือ

1. โดยใช้เครื่อง Inductively coupled plasma-optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES) เป็นวิธีการวัดปริมาณธาตุโปตัสเซียม (K) โดยทำให้ธาตุอยู่ในรูปอะตอม เมื่อเป่าผ่านตัวอย่างสารละลายให้เป็นละอองเล็กๆ ในเปลวไฟ ตัวทำละลายจะระเหยหรือถูกเผาไหม้หมดไป พลังงานความร้อนของเปลวไฟจะทำให้สารประกอบแยกตัวออกเป็นอะตอมในสภาพก๊าซ และอะตอมเหล่านี้จะเคลื่อนที่ไปพร้อมกับพลาสมา (plasma) เพื่อไปวัดปริมาณอะตอมที่เกิดขึ้น อะตอมของธาตุเหล่านี้จะปลดปล่อยพลังงานแสงออกมา ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะตัวของแต่ละธาตุ ปริมาณของพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมาจะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับจำนวนอะตอมของธาตุที่มีในสารละลายตัวอย่าง ซึ่งสามารถวัดพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมานี้ด้วยเครื่อง Inductively coupled

plasma-optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES) โดยอะตอมของโบดส์เทียมที่ความยาวคลื่น 766.490 นาโนเมตร

2. โดยใช้เครื่อง Flame photometer เป็นการวัดปริมาณของธาตุโดยอาศัยหลักการวัดความเข้มของแสง (Emission intensity) ที่เปล่งออกมาจากหยดของโบดส์เทียม เมื่อโบดส์เทียมที่อยู่ในสารละลายตัวอย่างถูกความร้อนจากเปลวไฟจะทำให้เปลี่ยนเป็นอะตอมที่อยู่ในสภาวะกระตุ้น (excited) และอะตอมเหล่านี้จะปลดปล่อยพลังงานแสงออกมา ปริมาณของพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมาจะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับจำนวนอะตอมของโบดส์เทียมที่มีในสารละลายตัวอย่าง

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง (Sample Preparation) โดยการย่อยด้วยการด (Wet Digestion)

ก. พืชอาหารสัตว์ (Roughage)

1. ชั่งตัวอย่างพืชอาหารสัตว์แห้งที่, คละเอียด ประมาณ 1 กรัม ใส่ขวดเออร์เลนเมเยอร์ (Erlenmeyer flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. เติมนกรดไนตริกเข้มข้น (HNO_3 conc. AR grade) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
3. เติมนกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (HClO_4 conc. AR grade) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร
4. เขย่าเบา ๆ ให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ค้างคืน
5. ยกขึ้นตั้งบนเตาไฟฟ้า (Hot plate) โดยตั้งไฟอ่อน ๆ ก่อน จนกระทั่งไม่มีควันสีน้ำตาลเกิดขึ้น จึงค่อย ๆ เพิ่มความร้อนจนของเหลวในขวดเดือดค่อนข้างแรงแต่ไม่ถึงกับกระเด็น (Bump) ถ้ากระเด็น ให้ลดไฟลง
6. ตั้งไฟไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งของเหลวในขวดใส มีสีขาว ปริมาตรเหลือประมาณ 5 มิลลิลิตร
7. ยกลงทิ้งไว้ พออุ่น ๆ เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ ประมาณ 10 มิลลิลิตร เขย่า
8. ทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายใส่ขวดวอลุ่มเมตริก (Volumetric flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร ปิดล้างส่วนที่ติดในขวดออกให้หมดด้วยน้ำปราศจากแร่ธาตุ แล้วเติมน้ำจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน
9. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42

ข. อาหารสัตว์ (Concentrate)

เตรียมตัวอย่างโดยวิธีเดียวกัน ในกรณีที่อาหารมีไขมันสูง เช่น พืชอาหาร พืชน้ำมัน ปลาป่น ฯลฯ เวลาย่อยตัวอย่างควรใส่กรดไนตริกเข้มข้นอย่างเดียวก่อน ตั้งทิ้งไว้ค้างคืน วันรุ่งขึ้นนำไปตั้งบนเตาไฟฟ้า ตั้งไฟอ่อน ๆ จนกระทั่งไม่มีควันสีน้ำตาล (ประมาณ 1 ชั่วโมง) จึงยกลงทิ้งให้เย็นค่อย ๆ เติมนกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น แล้วนำไปย่อยต่อตามข้อ ก (ข้อ 6-9)

ค. ทำ Reagent Blank โดยใส่กรดน้อยเหมือนตัวอย่าง แต่ไม่ใส่ตัวอย่าง

2. การวิเคราะห์

วิธีที่ 1

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า (analytical balance) ชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เตาไฟฟ้า (hot plate) แบบควบคุมอุณหภูมิ
3. เครื่อง Inductively coupled plasma - optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES)
4. เครื่องแก้ว และอุปกรณ์อื่น ๆ ได้แก่ ขวดเออร์เลนเมเยอร์ (erlenmeyer flask) ขวดวอลุ่มเมตริก (volumetric flask) บีกเกอร์ (beaker) กรวยแก้ว (glass funnel) แท่งแก้ว (stirring rod) กระดาษกรองเบอร์ 42 ขวดฉีดน้ำ (washing bottle) หลอดใส่สารละลายชนิด polyethylene ขนาด 15 มิลลิลิตร และปิเปต (volumetric pipet)

สารเคมี

1. กรดไนตริกเข้มข้น (HNO_3 conc. AR grade)
 2. กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (HClO_4 conc. AR grade)
 3. สารละลายมาตรฐานโพตัสเซียม (K) ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
- เตรียมสารละลายมาตรฐาน (Working Standard solutions) ดังนี้

3.1 จากสารละลายมาตรฐานโพตัสเซียม ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตมา 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวอลุ่มเมตริกขนาด 200 มิลลิลิตร เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ (Demineralized water) จนถึงขีดปริมาตรแล้วเขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายมาตรฐานโพตัสเซียมความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3.2 จากสารละลายมาตรฐานโพตัสเซียมความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตมา 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวอลุ่มเมตริกขนาด 100 มิลลิลิตรแต่ละใบ เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ จนถึงขีดปริมาตรแล้วเขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายมาตรฐานโพตัสเซียมที่มีความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

วิธีการ

1. ปิเปตสารละลายที่ได้จากการย่อยตัวอย่าง รวมทั้ง reagent blank มาประมาณ 1-5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวอลุ่มเมตริก ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ (Demineralized water) จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน

2. ถ่ายสารละลายตัวอย่างใส่หลอดใส่ตัวอย่างสำหรับวัดด้วยเครื่อง ICP-OES

3. นำสารละลายที่เตรียมได้ไปวัดปริมาณโพตัสเซียมด้วยเครื่อง ICP-OES โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน ปฏิบัติตามวิธีการใช้ของเครื่อง

4. คำนวณหาปริมาณโพตัสเซียมในตัวอย่าง

วิธีที่ 2

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่อง Flame photometer
2. เครื่องเจือจางสารละลาย (Diluter)
3. สารละลายมาตรฐานโพตัสเซียมเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ชั่ง KCl 1.9067 g. ซึ่งผ่านการอบแล้วที่ 105°C . เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ละลายด้วยน้ำที่ปราศจากไอออน ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยขวดวัดปริมาตร แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น

4 หลอดทดสอบ (test tube)

5. น้ำกลั่น

วิธีการ

1. นำสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการย่อยแล้ว มาทำการเจือจางด้วยเครื่องเจือจางสารละลาย โดยใช้ น้ำเป็น ตัวเจือจาง และทำการปั่นให้เข้ากัน

2 เตรียมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมเข้มข้น 0 , 2 , 4 , 6 , 8 , 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3. แล้วนำตัวอย่างที่เจือจางแล้วไปวัดด้วยเครื่อง Flame photometer โดย ปฏิบัติตามวิธีการใช้เครื่อง

การคำนวณ

$$\% \text{ K} = \frac{(1-b) \times 50 \times d.f. \times 10^{-6}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง(g)}}$$

โดย	r-t	=	ค่าที่อ่านได้ (mg/L) - blank
	50	=	ค่าปริมาตรของตัวอย่างที่ย่อยเตรียมวิเคราะห์ธาตุ
	d.f	=	ค่า dilution factor ค่าการเจือจางสารละลาย

เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาที่ดิน. 2547. คู่มือการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ ปุ๋ย พืช วัสดุปรับปรุงดิน และการวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบการรับรองมาตรฐานสินค้า. สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน กรุงเทพฯ. 254 หน้า
- พิไลวรรณ พลพิช รลียกานต์ เจียมเจตจรูญ และนาศยา สินธุรัตน์. 2532. วิถีวิเคราะห์หาแร่ธาตุในอาหารสัตว์ และชีวม. กลุ่มงานวิเคราะห์อาหารสัตว์ กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์. 48 หน้า.
- เพอร์กิน-เอลเมอร์. 2532. คู่มือการใช้งานเครื่อง ICP-OES และคู่มือ Software Perkin Elmer WinLab32™. 34 หน้า.
- ศรีสม สุวรรณวงศ์. 2547. การวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 141 หน้า

การวิเคราะห์หาโซเดียมในอาหารสัตว์

หลักการ

เป็นวิธีการวัดปริมาณธาตุโซเดียม (Na) โดยทำให้ธาตุอยู่ในรูปอะตอม เมื่อเผาไหม้ตัวอย่างสารละลายให้เป็นละอองเล็กๆ ในเปลวไฟ ด้วยอะตอมจะระเหยหรือถูกเผาไหม้หมดไป พลังงานความร้อนของเปลวไฟจะทำให้สารประกอบแตกตัวออกเป็นอะตอมในสภาพก๊าซ และอะตอมเหล่านี้จะเคลื่อนที่ไปพร้อมกับพลาสมา (plasma) เพื่อไปวัดปริมาณอะตอมที่เกิดขึ้น อะตอมของธาตุเหล่านี้จะปลดปล่อยพลังงานแสงออกมา ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะตัวของแต่ละธาตุ ปริมาณของพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมาจะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับจำนวนอะตอมมาลงธาตุที่มีในสารละลายตัวอย่าง ซึ่งสามารถวัดพลังงานแสงที่ปลดปล่อยออกมานี้ด้วยเครื่อง inductively coupled plasma - optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES) โดยอะตอมของโซเดียมที่มีความยาวคลื่น 589.592 นาโนเมตร

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง (Sample Preparation) โดยการย่อยด้วยกรด (Wet Digestion)

ก. พืชอาหารสัตว์ (Roughage)

1. ชั่งตัวอย่างพืชอาหารสัตว์แห้งที่บดละเอียด ประมาณ 1 กรัม ใส่ขวดเอrlenmeyer ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. เติมนกรดโบตริกเข้มข้น (HNO₃ conc. AR grade) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
3. เติมนกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (HClO₄ conc. AR grade) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร
4. เขย่าเบา ๆ ให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ค้างคืน
5. ยกขึ้นตั้งบนเตาไฟฟ้า (Hot plate) โดยตั้งไฟอ่อน ๆ ก่อน จนกระทั่งไม่มีควันสีขาวเกิดขึ้น จึงค่อย ๆ เพิ่มความร้อนจนของเหลวในขวดเดือดค่อนข้างแรงแต่ไม่ถึงกับกระเด็น (Boilup) ถ้ากระเด็น ให้ลดไฟลง
6. ตั้งไฟไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งของเหลวในขวดใส ไม่มีขาว ปริมาตรเหลือน้อยประมาณ 5 มิลลิลิตร
7. ยกลงทิ้งไว้ พออุ่น ๆ เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ ประมาณ 10 มิลลิลิตร เขย่า
8. ทิ้งไว้ให้เย็น ถ้าใช้ขวดวอลุ่มเมตริก (Volumetric flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร วัดล้างส่วนที่ติดในขวดออกให้หมดด้วยน้ำปราศจากแร่ธาตุ แล้วเติมน้ำจนถึงขีดปริมาณพอ เขย่าให้เข้ากัน
9. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42

ข. อาหารสัตว์ (Concentrate)

เตรียมตัวอย่างโดยวิธีเดียวกัน ในกรณีที่มีอาหารมีไขมันสูง เช่น หัวอาหาร พืชน้ำมัน ปลาป่น ฯลฯ เวลาย่อยตัวอย่างควรใส่กรดไนตริกเข้มข้นอย่างเดียวก่อน ทิ้งไว้ค้างคืน วันรุ่งขึ้นนำไปตั้งบนเตาไฟฟ้า ตั้งไฟอ่อนๆ จนกระทั่งไม่มีควันสีน้ำตาล (ประมาณ 1 ชั่วโมง) จึงยกลงทิ้งให้เย็นค่อย ๆ เติมกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น แล้วนำไปย่อยต่อตามข้อ ก. (ข้อ 6-9)

ค. ทำ Reagent Blank โดยใส่กรดย่อยเหมือนตัวอย่าง แต่ไม่ใส่ตัวอย่าง

2. การวิเคราะห์

วิธีที่ 1

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า (analytical balance) ชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. เตาไฟฟ้า (hot plate) แบบควบคุมอุณหภูมิ
3. เครื่อง Inductively coupled plasma - optical Emission Spectrophotometer (ICP-OES)

4. เครื่องแก้ว และอุปกรณ์อื่น ๆ ได้แก่ ขวดเออร์เลนเมเยอร์ (erlenmeyer flask) ขวดวอลูมเมตริก (volumetric flask) ปีกเทส (beaker) กรวยแก้ว (glass funnel) แท่งแก้ว (stirring rod) กระดาษกรองเบอร์ 42 ขวดฉีกน้ำ (washing bottle) หลอดใส่สารละลายชนิด polyethylene ขนาด 15 มิลลิลิตร และปิเปต (volumetric pipet)

สารเคมี

1. กรดไนตริกเข้มข้น (HNO_3 conc. AR grade)
2. กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (HClO_4 conc. AR grade)
3. สารละลายมาตรฐานโซเดียม (Na) ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

เตรียมสารละลายมาตรฐาน (Working Standard solution) ดังนี้

3.1 จากสารละลายมาตรฐานโซเดียม ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตมา 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวอลูมเมตริกขนาด 200 มิลลิลิตร เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ (Demineralized water) จนถึงขีดปริมาตร แล้วเขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายมาตรฐานโซเดียมความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3.2 จากสารละลายมาตรฐานโซเดียมความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตมา 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวอลูมเมตริกขนาด 100 มิลลิลิตรแต่ละใบ เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ จนถึงขีดปริมาตรแล้วเขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายมาตรฐานโซเดียมที่มีความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

วิธีการ

5. ปิเปตสารละลายที่ได้จากการย่อยตัวอย่าง รวมทั้ง reagent blank มาประมาณ 1- 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวอลูมเมตริกขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำที่ปราศจากแร่ธาตุ จนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน

6. ถ่ายสารละลายตัวอย่างใส่หลอดใส่ตัวอย่างสำหรับวัดด้วยเครื่อง ICP-OES

7. นำสารละลายที่เตรียมได้ไปวัดปริมาณโซเดียม ด้วยเครื่อง ICP-OES โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน ปฏิบัติตามวิธีการใช้ของเครื่อง

8. คำนวณหาปริมาณโซเดียม ในตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

พิไลวรรณ พลพิษ วลัยกานต์ เจียมเจตจรุญ และนงนุช สันตุรัตน์. 2532. วิธีวิเคราะห์หาแร่ธาตุในอาหารสัตว์และพืช. กลุ่มงานวิเคราะห์อาหารสัตว์ กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์. 48 หน้า.

เพอร์กิน-เอลเมอร์, 2532. คู่มือการใช้งานเครื่อง ICP-OES และคู่มือ Software Perkin Elmer Winlab32™ 34 หน้า,

ศรีสน สุวรรณวงศ์ 2547. การวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 141 หน้า

การวิเคราะห์หาปฏิกิริยาในดิน (Soil reaction หรือ pH)

ปฏิกิริยาดิน คือ ระดับความเป็นกรดหรือด่างของดิน ดินที่มีความเป็นกรดเมื่อนำไปละลายน้ำจะสามารถปลดปล่อยไฮโดรเจนไอออน (H^+) ออกมา ส่วนดินที่เป็นด่างจะสามารถปลดปล่อยไฮดรอกไซด์ไอออน (OH^-) ออกมา การแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของดินแสดงเป็นค่า pH ซึ่งค่า pH ทำให้สามารถประเมินได้ว่าค่าอาหารต่างๆ ที่มีอยู่ในดินนั้น อยู่ในสภาพที่พืชสามารถใช้ประโยชน์ได้หรือไม่ เพราะความเป็นกรด-ด่าง ของดินจะควบคุมการละลายได้ของแร่ธาตุต่างๆ ในดิน ดินที่มีปฏิกิริยาดินต่ำกว่า 5.5 จะมีธาตุพอลูมิเนียม เหล็ก และแมงกานีสละลายออกมาได้มากและตรึงฟอสฟอรัสไว้ ทำให้พืชใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสได้ลดลง ส่วนดินที่มีปฏิกิริยาดินสูงกว่า 7 แคลเซียมและแมกนีเซียมจะละลายออกมามากและตรึงฟอสฟอรัสไว้ ทำให้พืชใช้ประโยชน์จากฟอสฟอรัสลดลง

ความเป็นกรดของดิน มี 2 ประเภท คือ

1. ความกรดที่แท้จริง (active acidity) คือ ส่วนของไฮโดรเจนไอออน ที่ถูกปลดปล่อยออกมาอยู่ในสารละลายดิน ความเป็นกรดของดินจะรุนแรงเพียงใดที่ขึ้นกับสภาพกรดที่แท้จริงนี้ การวัดปฏิกิริยาดิน หรือ pH เป็นการวัดความเข้มข้นของกรดประเภทนี้

2. ความเป็นกรดแฝง (potential acidity) คือ ไฮโดรเจนไอออน ที่แลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable H^+) ที่ยังคงติดค้างอยู่ที่ผิวอนุภาคดินได้ด้วยปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนแคตไอออน (Cation exchange reaction) เท่านั้น การหาความเป็นกรดแฝงจะกระทำเมื่อต้องการทราบปริมาณปูนที่ต้องการจะใช้ในการปรับสภาพความเป็นกรดของดินให้ลดลง

การวัดความเป็นกรด-ด่างของดิน ทำได้ 2 วิธี คือ

1. Colorimetric method คือ การวัดปริมาณของไฮโดรเจนไอออนในดิน โดยการนำมาละลายน้ำแล้วหยดน้ำยาเปลี่ยนสี (indicator) ลงไปในดินที่ต้องการทดสอบ เทียบสีของสารละลายดินกับสีมาตรฐานของกระดาษเทียบสีมาตรฐาน (pH color chart) ทำให้ทราบค่า pH ของดินได้ วิธีการนี้เป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็วเหมาะสำหรับการปฏิบัติงานในพื้ที่ แร่ธาตุที่วัดได้เป็นค่าโดยประมาณ

2. Potentiometric method เป็นการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของดินโดยใช้ เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter) ค่าที่ได้จะถูกต้องแม่นยำกว่าการวัดด้วยวิธีที่ 1 และเห็นวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้กลุ่มวิเคราะห์อาหารสัตว์และพืชอาหารสัตว์ ได้ใช้วิธีนี้ในการตรวจสอบปฏิกิริยาดินด้วยเช่นกัน

หลักการ

เป็นการวัดปริมาณไฮโดรเจนไอออนอิสระ (free hydrogen ion) ในดินโดยใช้เครื่อง (pH Meter)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัด pH (pH Meter)
2. เครื่องทิ้งเศษนิยม 4 ตำแหน่ง
3. บีกเกอร์(Beaker) ขนาด 30 มิลลิลิตร
4. แท่งแก้ว สำหรับคนการละลายดิน.

5. ปิเปต (Pipet) ขนาด 10 มิลลิลิตร หรือกระบอกวง (Cylinder) ขนาด 10 มิลลิลิตร
6. สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4.01 และ pH 7.00

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างดินหนัก 10.00 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ ขนาด 30 มิลลิลิตร เติมน้ำปราศจากแร่ธาตุ (Deminerized water) หรือน้ำบริสุทธิ์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใช้อัตราส่วน ดิน:น้ำ เท่ากับ 1:1 คนด้วยแท่งแก้วให้เข้ากัน โดยคนซ้ำ 2-3 ครั้ง ในระยะเวลา 1 ชั่วโมง
2. ปรับเทียบ (Calibrate) เครื่องวัด pH ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4.01 และ pH 7.00
3. นำสารละลายในข้อ 1 มาวัดค่า pH และบันทึกค่าที่วัดได้
4. ล้างอิเล็กโทรดด้วยน้ำปราศจากแร่ธาตุ (Deminerized water) หรือน้ำบริสุทธิ์ แล้วซับเบา ๆ ด้วยกระดาษชำระ ก่อนวัดตัวอย่างอื่นต่อไป

ข้อแนะนำ

ในการรายงานผลการวัด pH ของดิน ควรระบุด้วยว่าใช้วิธีที่อัตราส่วนของดิน : น้ำ = 1:1

การวิเคราะห์หาความต้องการปูน (Lime Requirement)

ความต้องการปูน (Lime Requirement) คือ ปริมาณปูนที่เหมาะสมที่ต้องการใช้ เพื่อปรับสภาพความเป็นกรดของดินให้ลดลง ทำให้ pH ของดินสูงขึ้นและอยู่ในระดับที่จะทำให้ธาตุอาหารในดินอยู่ในรูปที่มีพืชจะใช้ประโยชน์ได้ ดินที่มีสภาพเป็นกรดหรือดินเปรี้ยว พืชจะไม่สามารถใช้ประโยชน์จากธาตุอาหารบางอย่างได้ และในขณะเดียวกันก็อาจจะมีแร่ธาตุบางอย่างถูกปลดปล่อยออกมาอยู่ในสารละลายดินมากเกินไป จนเกิดเป็นพิษต่อดิน ต้องทำการเติมวัสดุลงไปดิน เพื่อปรับสภาพทางเคมีของดิน หรือปรับ pH ของดินให้เหมาะสมต่อการปลูกพืช โดยทั่วไปจะมีการปรับ pH ของดินจะปรับให้อยู่ระหว่าง 6.5-7.0 โดยดินที่เป็นกรดและมีค่า pH ต่ำกว่า 6.5 จะต้องทำการวิเคราะห์หาความต้องการปูนหรือไม่ ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่จะปลูก สำหรับหญ้าและธัญอาหารสัตว์ โดยทั่วไปจะได้รับผลกระทบจากความเป็นกรดของดินก็ต่อเมื่อดินมี pH ต่ำกว่า 5.5 และ 6.0 ตามลำดับ

วัสดุที่ใช้ในการปรับปรุงดินที่มีสภาพกรดมี 3 ชนิด คือ

1. กลุ่มคาร์บอเนต ได้แก่ หินปูน (Limestone) มีส่วนประกอบของแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) ประมาณ 75-99% หินโดโลไมต์ (Dolomite) มีองค์ประกอบเป็น $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ดินมาร์ล (Marl) มีองค์ประกอบเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) และดินเหนียว นอกจากนี้ยังมีวัสดุอื่น ๆ ที่มีสารประกอบคาร์บอเนตของ Ca และ Mg
2. กลุ่มออกไซด์ ได้แก่ CaO และ MgO สารกลุ่มนี้มัก เรียกว่า “ปูนสุก (Quick lime) หรือ Burn lime” จะมีความบริสุทธิ์ ประมาณ 85-98%
3. กลุ่มไฮดรอกไซด์ ได้แก่ แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) และแมกนีเซียมไฮดรอกไซด์ ($\text{Mg}(\text{OH})_2$) ซึ่งเรียกรวมว่า “ปูนขาว (Hydrated lime หรือ Slaked lime)” มีความบริสุทธิ์ ประมาณ 95%

วิธีวิเคราะห์หาปริมาณความต้องการปูน (Lime Requirement) โดยวิธี Woodruff

หลักการ

การหาปริมาณความต้องการปูนของดินโดยวิธี Woodruff ใช้หลักการทำให้สภาพความเป็นกรดแฝง (potential) ของดินลดลง โดยใช้ยาบัฟเฟอร์ของ Woodruff แล้วนำค่าสภาพความเป็นกรดแฝงมาคำนวณหาปริมาณปูนที่ต้องใช้ในการปรับสภาพดิน

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัด pH (pH Meter)
2. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 30 มิลลิลิตร และ 1 ลิตร
4. กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 10 มิลลิลิตร
5. ปิเปต (Pipet) ขนาด 20 มิลลิลิตร
6. แท่งแก้วสำหรับคนการละลายดิน
7. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 1 ลิตร

น้ำยาเคมีและวิธีเตรียม

1. สารละลายบัฟเฟอร์ของWoodruff (Woodruff buffer solution) หรือ ทารานาโบโรฟีนอล แคลเซียมอะซิเตท (p Nitrophenol-calcium acetate)

ซิงทารานาโบโรฟีนอล (4-nitrophenol) ชนิด AR grade น้ำหนัก 8.00 กรัม

ซิงแคลเซียมอะซิเตท (Calcium acetate; $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) ชนิด AR grade น้ำหนัก 40.00 กรัม

ซิงโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) ชนิด AR grade น้ำหนัก 1.20 กรัม

ใส่สารทั้ง 3 ชนิดรวมกัน ในบีกเกอร์ ขนาด 1 ลิตร เติมน้ำบริสุทธิ์ ปริมาตร 800 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน นำไปวัดค่า pH ถ้าสารละลายเป็นกรด (มีค่า pH ต่ำกว่า 7) ให้เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ แต่ถ้าสารละลายเป็นด่าง (มีค่า pH สูงกว่า 7) ให้เติมกรดอะซิติก เพื่อปรับ pH ให้เป็นกลาง (pH 7) แล้วค่อยปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำบริสุทธิ์

2. สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4.01 และ pH 7.00

วิธีสร้างกราฟมาตรฐาน

1. เตรียมกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน (HCl) ความเข้มข้น 0.1 M

ตวงกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน (HCl conc. AR Grade) 9 มิลลิลิตร ใส่ในน้ำบริสุทธิ์ ปริมาตรประมาณ 800 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

2. เตรียมสารละลายโซเดียมเตทราโบเรตมาตรฐาน (Standard solution of sodium tetraborate)

ซิงโซเดียมเตทราโบเรต ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$; AR Grade) 0.20 กรัม ละลายด้วยน้ำบริสุทธิ์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

3. โทเทรทสารละลายโซเดียมเตทราโบเรตมาตรฐาน กับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล โดยใช้เมทิลเรด (methyl red) เป็นอินดิเคเตอร์ (indicator) สารละลายจะเปลี่ยนจากไม่มีสีไปเป็นสีชมพู

4. เติมสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน ครึ่งละ 0.5 มิลลิลิตร ลงในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.00 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วโทเทรท ด้วยกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน 0.1 นอร์มอล วัด pH ของสารละลายบัฟเฟอร์

5. เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ กับปริมาณมิลลิกรัมสมมูลของสารละลายกรดไฮดรคลอริกมาตรฐาน

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างดิน น้ำหนัก 10.00 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ ขนาด 50 มิลลิลิตร

2. เติมน้ำปราศจากแร่ธาตุ (Deionized water) หรือน้ำบริสุทธิ์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน และคนซ้ำอีก 2-3 ครั้ง ในระยะเวลา 1 ชั่วโมง

3. ปรับเทียบเครื่องวัด pH ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4.01 และ pH 7.00

4. นำสารละลายในข้อ 2 มาวัด pH บันทึกค่าที่วัดได้

5. ล้างอิเล็กโทรดด้วยน้ำปราศจากแร่ธาตุ (Deminerized water) หรือน้ำบริสุทธิ์ จับเบา ๆ ด้วยกระดาษชำระ ก่อนทำการวัดด้วยวิธีอื่นต่อไป

6. ถ้าค่า pH ของดินที่วัดได้ต่ำกว่า 6.0 ให้เติมสารละลายบัฟเฟอร์ของWoodruff ปริมาตร 20 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อีก 30 นาที แล้วนำไปวัดค่า pH อีกครั้ง

7. คำนวณหาปริมาณความต้องการปูนของดิน โดยเทียบค่ากับกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ของสารละลายบัฟเฟอร์ กับปริมาณมีสลิกรัมสมมูลของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน
วิธีคำนวณ

ตัวอย่างดิน 10 กรัม เติมน้ำบริสุทธิ์ 10 มิลลิลิตร และสารละลายบัฟเฟอร์ 20 มิลลิลิตร วัดค่า pH ได้ค่าต่ำกว่า pH 7.0 = ΔpH และจากกราฟมาตรฐานของสารละลายบัฟเฟอร์ในช่วงระหว่าง pH 6.0-7.0 เมื่อสารละลายบัฟเฟอร์เปลี่ยนไป 1 หน่วย ต้องใช้กรดไฮโดรคลอริกมาตรฐานเท่ากับ B มิลลิลิตรสมมูล คำนวณความต้องการปูนได้ ดังนี้

pH ของสารละลายบัฟเฟอร์เปลี่ยนไป 1.00 หน่วย ต้องใช้กรด
= B มิลลิลิตรสมมูล

pH ของสารละลายบัฟเฟอร์เปลี่ยนไป Δ หน่วย pH ต้องใช้กรด
= B $\times \Delta pH$ มิลลิลิตรสมมูล

ปริมาณความต้องการปูนเพื่อปรับสภาพ pH ให้เป็น 7.0

= B $\times \Delta pH$ มิลลิลิตรสมมูล

ดินน้ำหนัก 10 กรัม ต้องการปูน

= B $\times \Delta pH$ มิลลิลิตรสมมูล

ดิน 1 ไร่ ต้องการปูน

$$= \frac{B \times \Delta pH \times 384,000 \times 10^3}{10} \text{ มิลลิลิตรสมมูล/ไร่}$$

$$= \frac{B \times \Delta pH \times 384,000 \times 10^3 \times 50}{10 \times 10^3} \text{ กรัม CaCO}_3/\text{ไร่}$$

$$= \frac{B \times \Delta pH \times 384,000 \times 10^3 \times 50}{10 \times 10^3 \times 10^3} \text{ กรัม CaCO}_3/\text{ไร่}$$

ความต้องการปูน (ดินนา)

= 1,920 $\times B \times \Delta pH$ กิโลกรัม CaCO₃/ไร่

ความต้องการปูน (ดินไร่)

= 1,600 $\times B \times \Delta pH$ กิโลกรัม CaCO₃/ไร่

หมายเหตุ ดินนา 1 ไร่ หน้า = 384,000 กิโลกรัม

ดินไร่ 1 ไร่ หน้า = 320,000 กิโลกรัม

การวิเคราะห์หาอินทรีย์วัตถุในดิน (Organic Matter)

อินทรีย์วัตถุ (Organic Matter) ในดิน คือ สารที่เกิดจากการเน่าเปื่อยของเศษชิ้นส่วนของพืชและสัตว์โดยการย่อยสลายของจุลินทรีย์ หรือขบวนการทางเคมี จะให้อาหารในโตรเจน ฟอสฟอรัส และกำมะถันที่เป็นประโยชน์ อินทรีย์วัตถุมีองค์ประกอบทางเคมีซับซ้อน ประกอบด้วยสารอินทรีย์และสารอินทรีย์ที่เกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมี แต่องค์ประกอบส่วนใหญ่ คือ คาร์บอน 58% ไนโตรเจน 10% ออกซิเจน 20% ฟอสฟอรัส 1% กำมะถัน 1% โดยประมาณ และธาตุอื่น ๆ รวมกันอีก 10%

ธาตุคาร์บอนเป็นธาตุที่มีมากที่สุด และเป็นโครงสร้างของสารอินทรีย์ทุกชนิด ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลง และเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของอินทรีย์วัตถุในดิน ดังนั้น การวิเคราะห์หาธาตุคาร์บอนในอินทรีย์วัตถุจึงเป็นวิธีที่ดีที่สุด

การหาปริมาณคาร์บอน

1. วิธี Combustion นิยมใช้วิธี Combustion ซึ่งมี 2 วิธี คือ

1.1 วิธี Dry Combustion คือ การเผาดินเพื่อให้คาร์บอนถูกออกซิไดส์ เป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ แล้ววัดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น (Piper, 1942)

1.2 วิธี Wet Combustion คือ การให้ดินทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟูริกที่เจือจาง โดยมีเฟอร์รัสซัลเฟต (Ferrous sulfate) เป็น anti oxidation เพื่อกำจัดคาร์บอนเนต แล้วจึงวัดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น (Allison, 1960)

2. วิธี Wet Oxidation โดยการใส่สารโพตัสเซียมไดโครเมต (Potassium dichromate, $K_2Cr_2O_7$) ออกซิไดส์คาร์บอนในดินให้เป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ แล้ววัดปริมาณโพตัสเซียมไดโครเมตที่เหลือ (Walkley และ Black, 1934)

กลุ่มวิเคราะห์อาหารสัตว์และพืชอาหารสัตว์ ได้เลือกวิธี Wet Oxidation ของ Walkley และ Black (1934) ซึ่งมีวิธีและหลักการดังนี้

วิธีวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน (Organic Matter)

โดยวิธีของ Walkley and Black (1934)

หลักการ

การวิเคราะห์อินทรีย์วัตถุในห้องปฏิบัติการ เป็นวิธีของ Walkley และ Black เป็นการวิเคราะห์หาธาตุคาร์บอน โดยใช้หลักการเติมออกซิเจนที่มีน้ำ (Wet Oxidation) โดยใช้สารออกซิไดส์ (oxidizing agent) อย่างแรง คือ โพตัสเซียมไดโครเมตในกรดซัลฟูริกเข้มข้น คาร์บอนจะถูกออกซิไดส์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ แล้วไทเทรตหาปริมาณโพตัสเซียมไดโครเมตที่เหลือ ด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Standard solution of ferrous ammonium sulfate) ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นเพียง 77 % เท่านั้น

สารเคมีและวิธีเตรียม

1. สารละลายโพตัสเซียมไดโครเมต (Potassium dichromate; $K_2Cr_2O_7$) ความเข้มข้น 1 นอร์มอล

ซึ่งโพตัสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$, AR grade) ที่อุณหภูมิ 105-110°C นาน 2 ชั่วโมง 98.08 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากแร่ธาตุ (Deionized water) หรือน้ำบริสุทธิ์ ให้เป็น 2 ลิตร

2. สารละลายออร์โทฟินแอนโทรอลีน เฟอรัสซัลเฟต อินดิเคเตอร์ (o Phenanthroline ferrous sulfate indicator)

ซิงเฟอร์รัสซัลเฟต (Ferrous sulfate; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ AR grade) น้ำหนัก 0.75 กรัม และออร์โทฟีแนนโพรลีน (o-Phenanthroline) น้ำหนัก 1.48 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากแร่ธาตุ (Deminerized water) หรือน้ำบริสุทธิ์ ให้เป็น 100 มิลลิลิตร

3. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Sulfuric acid conc. H_2SO_4) ชนิด AR grade

4. สารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Ferrous ammonium sulfate; $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ ความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล

ซิงเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Ferrous ammonium sulfate $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ชนิด AR grade น้ำหนัก 392.20 กรัม ละลายด้วยน้ำปราศจากแร่ธาตุ (Deminerized water) หรือน้ำบริสุทธิ์ 800 มิลลิลิตร ตวงและเทกรดซัลฟูริกเข้มข้น ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ลงไป แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากแร่ธาตุ (Deminerized water) หรือน้ำบริสุทธิ์ให้เป็น 2 ลิตร

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างดิน 0.50 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายโปตัสเซียมไดโครเมท ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วค่อย ๆ เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นลงไป ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (ควรทำในตู้ดูดควัน) เขย่าให้เข้ากันเบา ๆ ปล่อยให้ไวค้างคืน
3. เติมน้ำปราศจากแร่ธาตุ (Deminerized water) หรือน้ำบริสุทธิ์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น
4. หยดลอร์โทฟีแนนโพรลีน เฟอร์รัสซัลเฟต อินดิเคเตอร์ลงไป 4-5 หยด
5. ไทเทรตกับ 0.5 นอร์มอล เฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต โดยจุดยุติ (end point) จะมีสีน้ำตาลแดง บันทึกปริมาตรของ 0.5 นอร์มอล เฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรต

การคำนวณ โดยกำหนดให้

A = น้ำหนักดิน (กรัม)

B = ปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไทเทรตกับ blank (มิลลิลิตร)

T = ปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไทเทรตกับ ตัวอย่างดิน (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของสารละลายโปตัสเซียมไดโครเมท

$$\text{ปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (\%)} = \frac{(B-T) \times N \times 100 \times 3 \times 100 \times 10}{B \times 77 \cdot 10^3 \times A}$$

เนื่องจาก ในอินทรีย์วัตถุมีอินทรีย์คาร์บอน 58%

$$\begin{aligned} \text{คั่งนั้น อินทรีย์วัตถุ (\%)} &= \frac{(B-T) \times N \times 100 \times 3 \times 100 \times 10}{B \times 77 \cdot 10^3 \times A \times 58} \\ &= \frac{(B-T) \times N \times 6.7174}{B \times A} \end{aligned}$$

เอกสารอ้างอิง

กองวิเคราะห์ดิน. 2535. คู่มือปฏิบัติการวิเคราะห์ดินของกลุ่มเคมีดินที่ 2, กรมพัฒนาที่ดิน. 71 หน้า.

เกษมศรี ชับซ้อน. 2541. ปฐพีวิทยา ศูนย์ฝึกอบรมวิศวกรรมเกษตรบางขุน กองวิทยาลัยเกษตรกรรมกรม

อาชีวศึกษา, กระทรวงศึกษาธิการ. 286 หน้า.

ถวิล ครุฑกุล. 2540. เกษตรยั่งยืนการใช้ดิน ปุ๋ย. สำนักพิมพ์ริ้วเตียว. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 123 หน้า

ยงยุทธ โอสดสภา ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และ ชัยสิทธิ์ ทองจุ. ภาควิชา
ปฐพีวิทยา. 2541. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 547 หน้า.

Republic of the Philippines. 1980. Standards methods of analysis for soil , plant , tissue , water
and fertilizer. Research farm resources and systems research division, Republic of the
Philippines Council for Agriculture and Resources, Los Bans, Laguna. 194p.