

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ปุ๋ยในโตรเจน

ปุ๋ยในโตรเจน เป็นวัสดุที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เมื่อใส่ลงไป在地แล้วสามารถปลดปล่อยธาตุไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ต่อพืชได้ ปุ๋ยในโตรเจนได้มาจากแหล่งสำคัญ 2 แหล่ง ได้แก่ จากธรรมชาติ (ปุ๋ยอินทรีย์ในโตรเจน) และจากการสังเคราะห์ (ปุ๋ยอนินทรีย์ในโตรเจน) ดังนี้

1. ปุ๋ยอินทรีย์ในโตรเจน ส่วนใหญ่ได้มาจากพืชและสัตว์ มีธาตุไนโตรเจนในปริมาณต่ำ การใช้ประโยชน์ปุ๋ยอินทรีย์ในโตรเจนในดินจะต้องผ่านกระบวนการย่อยสลายของจุลินทรีย์ก่อน จึงจะค่อยๆเปลี่ยนเป็นรูปที่มีประโยชน์ต่อพืช และใช้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน (คณาจารย์ภาคปฐพีวิทยา, 2548; ทศนีย์ และ ประทีป, 2554) ปุ๋ยอินทรีย์ในโตรเจนที่สำคัญ ได้แก่ อินทรีย์สารต่างๆดังตาราง 1

ตาราง 1 ปริมาณธาตุไนโตรเจนในปุ๋ยอินทรีย์

ชนิดปุ๋ย	ปริมาณไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)
กากถั่วเหลือง	7-10
มูลสุกร/ไก่/วัว	1.2-3.3
รำข้าว	1.9-2.3
ปลาป่น	9-10
เลือดแห้ง	8-13
โสนอัฟริกัน	2.87
ปอเทือง	2.76
ถั่วพุ่ม	2.68

ที่มา : กรมพัฒนาที่ดิน (2553)

2. ปุ๋ยอนินทรีย์ไนโตรเจน เป็นปุ๋ยที่มาจากสารประกอบอนินทรีย์ต่างๆ หรือเป็นสารประกอบที่ผ่านกระบวนการผลิตทางอุตสาหกรรม เมื่อใส่ลงไปในพื้นที่ที่มีความชื้นเหมาะสม ปุ๋ยจะละลายให้ธาตุอาหารที่พืชดูดไปใช้ได้ทันที (มุกดา, 2544; ทศนีย์ และ ประทีป, 2554) ปริมาณไนโตรเจนในปุ๋ยอนินทรีย์แสดงไว้ในตาราง 2

ตาราง 2 ปริมาณธาตุไนโตรเจนในปุ๋ยเคมี

ชนิดปุ๋ย	ปริมาณไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)
Anhydrous ammonia	82
Ammonium sulphate	21
Urea	46
Ammonium nitrate	35
Calcium ammonium nitrate	27
Calcium nitrate	15.5
Sodium nitrate	16
Calcium cyanamide	18

ที่มา : Hofman and Cleemput (2004)

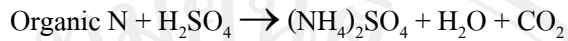
การวิเคราะห์ไนโตรเจนด้วยวิธีเคลดาคัล

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในห้องปฏิบัติการมีหลายวิธี แต่ที่รู้จักกันมาก คือ การวิเคราะห์ไนโตรเจนด้วยวิธีเคลดาคัลปกติ เนื่องจากวิธีนี้สามารถหาไนโตรเจนได้ง่าย และรวดเร็ว สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ทั้งของแข็งและของเหลว โดยใช้อุปกรณ์ต่างๆ ที่มีอยู่แล้วในห้องปฏิบัติการ และไม่จำเป็นต้องใช้ผู้ที่ได้รับการฝึกฝนมาเป็นพิเศษ

การวิเคราะห์ไนโตรเจนด้วยวิธีเคลดาคัลปกติ เป็นวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) ที่นิยมใช้กัน โดยทั่วไปการวิเคราะห์แบบเคลดาคัลปกติ ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนพื้นฐาน ดังนี้

1. การย่อย (digestion)

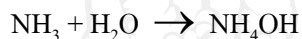
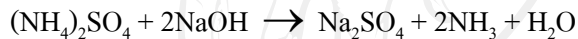
ไนโตรเจนในตัวอย่างจะถูกเปลี่ยนให้เป็นแอมโมเนียม (NH_4^+) ด้วยการทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้นที่ร้อน



การทำให้ตัวอย่างย่อยสมบูรณ์ในเวลาอันสั้น ต้องมีตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) เช่นปรอท (Hg) ปรอทออกไซด์ (HgO) ซีลีเนียม (Se) ทองแดงซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) และการใส่เกลือ เช่น โพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) หรือ โซเดียมซัลเฟต (NaSO_4) เพื่อช่วยเพิ่มจุดเดือดของ H_2SO_4 จาก 330 องศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$) ให้เป็น 370 ถึง 390 $^{\circ}\text{C}$ แต่ต้องควบคุมอุณหภูมิของสารละลาย H_2SO_4 ให้ไม่เกิน 400 $^{\circ}\text{C}$ เพื่อไม่ให้มีการสลายตัวของ NH_4^+ ทำให้เกิดการสูญเสียไนโตรเจน (Bremner, 1996)

2. การกลั่น (distillation)

NH_4^+ ในสารละลายตัวอย่างที่ย่อยได้จะถูกนำมากลั่นในสภาวะที่เป็นด่างได้ก๊าซแอมโมเนีย (NH_3) ดังปฏิกิริยา

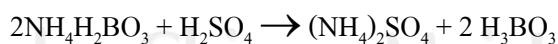


แล้วจับสารละลาย NH_4OH ที่เกิดขึ้นด้วยกรดบอริก (H_3BO_3)



3. การไตเตรท (Titration)

นำกรดบอริกที่จับ NH_4OH ที่ได้จากการกลั่นไปไตเตรทกับสารละลายกรดมาตรฐาน จนมีการเปลี่ยนรูปกลับมาเป็นกรดบอริก ดังปฏิกิริยา



วิธีเคลดดาห์ลปกติ ไม่สามารถวิเคราะห์สารประกอบไนโตรเจนในรูปของไนเตรท (NO_3^-) ได้ เนื่องจากมีการสูญเสีย NO_3^- ในขั้นตอนการย่อย ดังนี้

1. จุดเดือดของกรดไนตริก (HNO_3) (Satya *et al.*, 2007)

ในกระบวนการย่อยมีการเติม H_2SO_4 และให้ไฮโดรเจนไอออน (H^+) จึงทำให้ NO_3^- อยู่ในรูปของ HNO_3 ซึ่งมีจุดเดือดที่ 86°C ดังนั้น ถ้าอุณหภูมิการย่อยสูงกว่า 86°C NO_3^- หรือ HNO_3 จะมีการระเหยกลายเป็นไอ

2. การสลายตัวของ HNO_3 เมื่อมีความร้อน (Satya *et al.*, 2007)

เมื่อให้ความร้อน HNO_3 จะสลายตัวให้ออกซิเจนและไนโตรัสออกไซด์ (Nitrous oxide) และออกซิเจน (oxygen) ดังสมการ



3. ปฏิกริยาออกซิเดชันรีดักชัน

Schlueter (1977) พบว่า NO_3^- ครอบคลุมการวิเคราะห์ไนโตรเจนด้วยวิธีเคลดดาห์ล ปกติ ดังแสดงในตาราง 3

ตาราง 3 ผลของ NO_3^- ต่อการได้กลับคืน (recovery) ของไนโตรเจน 2 มก./ลิตร

ปริมาณไนเตรท (มก./ลิตร)	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (มก./ลิตร)	การได้กลับคืนของไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)
0	2.5	100
5	2.3	92
20	0.28	11
50	0.18	7

ที่มา: Schlueter (1977)

จากตาราง 3 จะเห็นว่า ถ้าปริมาณ NO_3^- มากกว่าปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง 10 เท่า จะทำให้มีการสูญเสียไนโตรเจนที่จะวิเคราะห์ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ หรือมากกว่า Schlueter (1977) ตั้งสมมุติฐานของการสูญเสียไนโตรเจนว่า เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันรีดักชันของ NH_4^+ และ NO_3^- ดังสมการ



และ Schlueter (1977) พิสูจน์สมมุติฐานด้วยการตรวจวัดก๊าซไนตรัสออกไซด์ด้วยแสงอินฟราเรด (infrared) และยืนยันว่าเริ่มพบก๊าซไนตรัสออกไซด์ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นถึง 230°C และเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นไปอยู่ในช่วง $260-295^\circ\text{C}$ ปริมาณที่ตรวจพบก็จะเพิ่มขึ้นอย่างมาก แต่หลังจากอุณหภูมิขึ้นไปถึง 315°C และให้มีการกลั่นไหลกลับ (reflux) อีกหนึ่งชั่วโมงพบว่าปริมาณก๊าซน้อยมาก แสดงว่าไนโตรเจนส่วนมากมีการสูญหายไปหมดแล้ว นอกจากนั้นยังพบอีกว่าการสูญหายของไนโตรเจน เริ่มเกิดขึ้นหลังจากย่อยไปแค่ 5 นาที Kazakov *et al.* (1980) ศึกษาจลนพลศาสตร์และกลไกการออกซิเดชันของ NH_4^+ ด้วยสารละลาย HNO_3 และนำเสนอปฏิกิริยาเหมือนกับปฏิกิริยาที่ใช้โดย Schlueter (1977)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ไนโตรเจนด้วยวิธีเคลดาคัล

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธีเคลดาคัลมีหลักการดังนี้ ตัวอย่างถูกย่อยด้วย H_2SO_4 เพื่อเปลี่ยนอินทรีย์ไนโตรเจนให้เป็น NH_4^+ แล้วกลั่นในสภาวะที่เป็นด่าง เพื่อไล่ NH_3 ออกไปเก็บไว้ในสารละลายกรด แล้วไตเตรทเพื่อหาปริมาณ NH_3 โดยมีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

1. ปริมาณ K_2SO_4

การย่อยโดยวิธีเคลดาคัลเดิมใช้ H_2SO_4 เพียงอย่างเดียว H_2SO_4 มีจุดเดือดประมาณ 330°C ซึ่งอาจจะไม่สูงพอในการย่อยตัวอย่างบางชนิด ทำให้ใช้เวลาในการย่อยตัวอย่างนาน ดังนั้น จึงมีการใช้ K_2SO_4 ในการเพิ่มจุดเดือดของ H_2SO_4 โดยจุดเดือดของ H_2SO_4 จะเพิ่มสูงขึ้นตามปริมาณ K_2SO_4 ที่ใช้ (Bremner, 1960) การเพิ่มขึ้นของ K_2SO_4 1 กรัม/มล. จะทำให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 56°C (McKenzie and Wallace, 1954)

2. อุณหภูมิของเตาย่อย หรือบดล้อย่อย

อุณหภูมิของเตาย่อย หรือบดล้อย่อย ถ้าต่ำหรือมีปริมาณความร้อนน้อยเกินไป จะทำให้อุณหภูมิของสารละลายไม่ถึงจุดเดือด การปรับให้เตา หรือบดล้อย่อยมีอุณหภูมิสูงขึ้น เท่ากับจุดเดือดของสารละลาย หรือมากกว่าเล็กน้อย ก็จะทำให้สารละลายเดือดได้ และไอกรดที่เกิดขึ้นสามารถกลั่นตัวกลับลงมาได้ทันที การใช้อุณหภูมิของเตา หรือบดล้อย่อยสูงกว่าจุดเดือดของสารละลายมากเกินไป จะทำให้สารละลายเดือดอย่างรุนแรง ไอกรดไม่สามารถกลั่นตัวกลับลงมาได้ทันที และระเหยออกไปจนเกิดการสูญเสียกรด

3. เวลาที่ใช้ในการย่อย

ระยะเวลาในการย่อยที่เหมาะสม อย่างน้อยควรย่อยให้ได้สารละลายสีใส (clearing) และย่อยต่อจนตัวอย่างสมบูรณ์ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่าง การใช้เวลาในการย่อยไม่นานพอ ทำให้ตัวอย่างย่อยไม่สมบูรณ์ และการใช้เวลาในการย่อยนานเกินไป อาจจะทำให้อุณหภูมิของสารละลายเพิ่มสูงขึ้นจนเกิดการสูญเสียไนโตรเจน

4. การสูญเสีย H_2SO_4 ในการย่อย

ในการย่อย การสูญเสีย H_2SO_4 เกิดจากการระเหยกลายเป็นไอเมื่อได้รับความร้อน และจากการทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง แต่ถ้าใช้อุณหภูมิของเตา หรือบดล้อย่อยพอดีที่ทำให้สารละลายเดือดพอดี และกรดกลั่นตัวกลับลงมาได้ทันที การสูญเสียจากการระเหยจะน้อยมาก เมื่อเทียบกับปริมาณ H_2SO_4 ที่ใช้ (ตาราง 4) การสูญเสีย H_2SO_4 ส่วนใหญ่เกิดจากการทำปฏิกิริยากับตัวอย่างที่เป็นอินทรีย์สาร หรืออินทรีย์คาร์บอนมากกว่าตัวอย่างที่เป็นอนินทรีย์สาร (ตาราง 5)

ตาราง 4 ปริมาณ H_2SO_4 ที่สูญเสียจากการระเหยเมื่อได้รับความร้อนพอดีในขั้นตอนการย่อย

วิธี	ระยะเวลาในการย่อย (ชั่วโมง)				
	1	2	3	4	5
	ปริมาณ H_2SO_4 ที่สูญเสีย (มล.)				
A	0.22	0.45	0.66	0.89	1.12
B	0.044	0.053	0.067	0.081	0.095

A. ย่อยโดยใช้ H_2SO_4 30 มล. ใส่ K_2SO_4 10 กรัม $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 1 กรัม Se 0.1 กรัม ในเคลดดาห์ลพลาสติก 350 มล.

B. ย่อยโดยใช้ H_2SO_4 3 มล. ใส่ K_2SO_4 1 กรัม $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0.1 กรัม Se 0.01 กรัม ในเคลดดาห์ลพลาสติก 50 มล.

ที่มา: Bremner (1960)

ตาราง 5 ปริมาณ H_2SO_4 ที่ใช้ย่อยตัวอย่างในขั้นตอนการย่อย

ชนิดตัวอย่าง	ปริมาณกรด H_2SO_4 (มล.) ที่ตัวอย่าง 1 กรัม ใช้ย่อยสลายตัวเอง
Soil organic C	10.00
Soil organic matter	5.80
Al_2O_3	1.63
Fe_2O_3	1.04
Clay	0.060
$CaCO_3$	0.55
Silt	0.030
Sand	0
Salicylic acid	6.76
$Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$	0.58
Reduced Fe	1.50

ที่มา: Bremner (1996)

5. อุณหภูมิของสารละลายตัวอย่าง

การย่อยตัวอย่างโดยวิธีการดั้งเดิมในเคลดดาห์ลพลาสติกเป็นวิธีที่ควบคุมอุณหภูมิของเตาย่อยได้อย่างเหมาะสม และชาญฉลาด โดยไม่ต้องมีอุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิขั้นสูง และแน่นอน เหมือนในบล็อกล่อยที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน นอกจากนี้จะทำให้อุณหภูมิของเตาย่อยเหมาะสมแล้ว อุณหภูมิ และปริมาณความร้อนของเตาย่อยที่ให้ก็พอเหมาะที่จะทำให้อุณหภูมิของสารละลายที่ย่อยเดือดพอดี ทำให้ไอกรดสามารถกลั่นตัวกลับลงมาได้ทัน และควบคุมการสูญเสีย H_2SO_4 ได้

วิธีการย่อยที่ใช้ในวิธีดั้งเดิม ก็คือ จะปรับอุณหภูมิ และปริมาณความร้อนของเตาย่อย หรือความร้อนจากตะเกียงเบนเสน จนกระทั่งทำให้กรดที่อยู่ในเคลดดาห์ลพลาสติกกลั่นตัวอยู่ประมาณหนึ่งในสามของคอหลอดเคลดดาห์ลพลาสติก ซึ่งตั้งเอียงอยู่ในมุม 45 องศา ดังภาพ 1 การคุมให้มีไอกรดกลั่นตัวหนึ่งในสามของคอหลอด ทำให้มั่นใจได้ว่าสารละลายที่ย่อยอยู่ได้รับความร้อนจนถึงจุดเดือดของสารละลายแน่นอน นอกจากนี้ยังเป็นการแสดงว่าสารละลายไม่เดือดมากเกินไป และไอกรดกลั่นตัวกลับลงมาทัน การสูญเสียกรดจะน้อยมาก ดังข้อมูลในตาราง 4



ภาพ 1 การย่อยตัวอย่างโดยวิธีเคลดดาห์ลแบบดั้งเดิม

อุณหภูมิของสารละลายที่ย่อยโดยวิธีดั้งเดิม หรือพุดอีกนัยหนึ่งก็คือ จุดเดือดของ สารละลายจะเพิ่มขึ้นตามอัตราส่วนของเกลือต่อกรด หรือ $K_2SO_4 : H_2SO_4$ ที่ใช้ (ตาราง 6) จุดเดือดของ H_2SO_4 ถ้าไม่มีเกลือ K_2SO_4 จะอยู่ที่ $330^\circ C$ แต่เมื่อใส่เกลือ K_2SO_4 ไปด้วย จะทำให้จุดเดือด หรืออุณหภูมิของสารละลายเพิ่มขึ้นตามปริมาณเกลือที่ใส่จนถึง $400^\circ C$ หรือมากกว่า

การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิของสารละลายที่ย่อยมีผลต่อเวลาที่ใช้ย่อย และความถูกต้องในการวิเคราะห์ (ตาราง 7) จะเห็นว่าเมื่อเพิ่มปริมาณ K_2SO_4 หรืออัตราส่วน $K_2SO_4 : H_2SO_4$ ซึ่งทำให้อุณหภูมิของสารละลายเพิ่มขึ้นดังตาราง 6 ตัวอย่างจะใสเร็วขึ้น และลดเวลาการย่อยรวมทั้งหมดที่จะทำให้การย่อยสมบูรณ์ และได้ไนโตรเจนออกมาครบ ดังตาราง 7 แต่ถ้าเพิ่มอัตราส่วนของ $K_2SO_4 : H_2SO_4$ จนถึง 2.0 อุณหภูมิของสารละลายจะถึง $400^\circ C$ หรือมากกว่า ถึงแม้จะใช้เวลาย่อยเพียง 20 นาที ก็จะทำให้มีการสูญเสียไนโตรเจนจากการสลายตัวของ NH_4^+ โดยความร้อน Bremner (1960) ก็พบว่า ถ้าใช้อัตราส่วนของ $K_2SO_4 : H_2SO_4$ สูงกว่า 1.66 ขึ้นไป (ตาราง 8) ก็จะมีการสูญเสียไนโตรเจนมากขึ้นเรื่อยๆ

อุณหภูมิของสารละลายที่จะทำให้ตัวอย่างที่ย่อยได้สมบูรณ์ในระยะเวลาอันสั้นแค่ 1 หรือ 2 ชั่วโมง ก็คือ $370^\circ C$ Lake *et al.* (1951) แสดงให้เห็นว่า การย่อยไนโตรเจนในน้ำมันดิบ ซึ่งมี pyridine ที่เป็นสารย่อยยาก ต้องใช้อุณหภูมิของสารละลายต้องไม่ต่ำกว่า $360^\circ C$ จึงจะได้ไนโตรเจนกลับคืนมาใกล้เคียง 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ Lake *et al.* (1951) แนะนำให้ใช้อุณหภูมิของสารละลาย $370^\circ C$ ขึ้นไป เพื่อให้เกิดความมั่นใจ (margin of safety) (ภาพ 2) แต่ไม่ควรเกิน $400^\circ C$ เพราะ Lake *et al.* (1951) ก็พบว่าถ้าอุณหภูมิสารละลายสูงเกิน $400^\circ C$ จะทำให้มีการสูญเสียไนโตรเจนเช่นเดียวกัน

ตาราง 6 ผลของอัตราส่วนของ K_2SO_4 : H_2SO_4 ต่ออุณหภูมิการย่อย

H_2SO_4 (มล.)	K_2SO_4 (กรัม)	K_2SO_4 / H_2SO_4 (กรัม/มล.)	อุณหภูมิเฉลี่ย ($^{\circ}C$)		อุณหภูมิสูงสุด ($^{\circ}C$)	
			วัดทันที	วัดหลังจากมี	วัดทันที	วัดหลังจากมี
			หลังจากมีไอ กรด	ไอรอด 15 นาที	หลังจากมีไอ กรด	ไอรอด 15 นาที
1.5	0.5	0.33	344	349	346	352
1.5	1.0	0.66	361	363	364	369
1.5	1.5	1.00	380	383	384	389
1.5	2.0	1.33	397	397	401	406
1.5	2.5	1.66	418	422	424	430
1.5	3.0	2.00	406	450	412	456

ที่มา: McKenzie and Wallace (1954)

ตาราง 7 ผลของอุณหภูมิต่อการย่อย Tryptophan

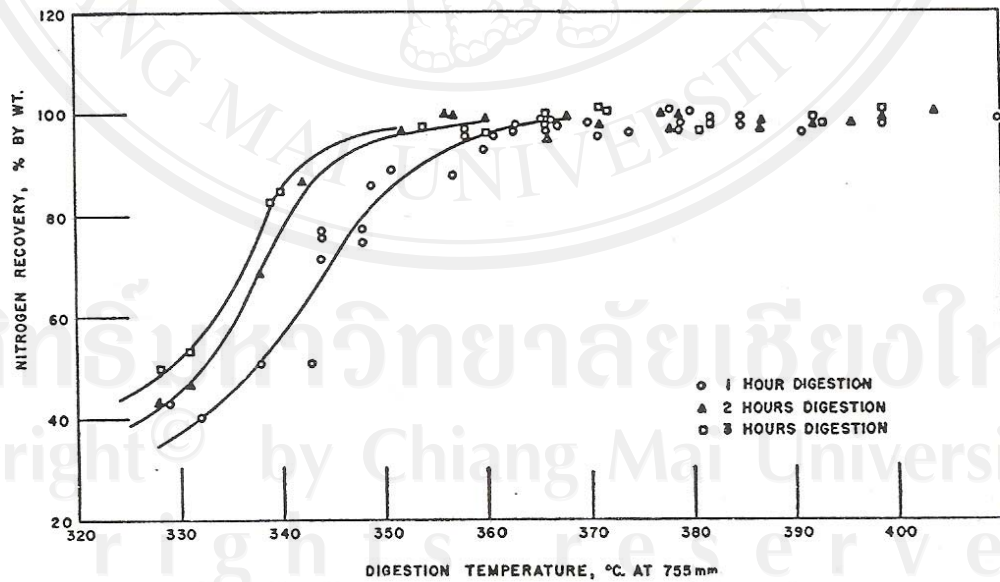
H_2SO_4 (มล.)	K_2SO_4 (กรัม)	K_2SO_4 / H_2SO_4 (กรัม/มล.)	เวลาย่อยจน ตัวอย่างใส (นาที)	เวลาย่อย	เวลาย่อย	ไนโตรเจนที่ ได้กลับคืน (เปอร์เซ็นต์)
				หลังจาก ตัวอย่างใส (นาที)	ทั้งหมด (นาที)	
1.5	0.5	0.33	90	-	-	-
1.5	1.5	1.00	25	30	55	99.1
1.5	2.0	1.33	9-15	15	24-30	98.3
1.5	2.5	1.66	3-7	15	18-22	99.2
1.5	3.0	2.00	3	15	18	84

ที่มา: McKenzie and Wallace (1954)

ตาราง 8 การได้กลับคืนของไนโตรเจนจากการย่อย (NH₄)₂SO₄ ด้วย H₂SO₄ และ K₂SO₄ ในปริมาณต่างๆ

K ₂ SO ₄ (กรัม)	H ₂ SO ₄ (มล.)	K ₂ SO ₄ /H ₂ SO ₄ (กรัม/มล.)	ระยะเวลาการย่อย (ชั่วโมง)		
			1	2	3
ไนโตรเจนที่ได้กลับคืน (เปอร์เซ็นต์)					
0	3.0	0	99.8	99.9	99.8
1.0	3.0	0.33	99.9	99.7	99.8
2.0	3.0	0.66	99.9	99.7	99.7
3.0	3.0	1.00	99.8	99.6	99.6
4.0	3.0	1.33	99.8	99.7	99.5
5.0	3.0	1.66	99.2	98.7	96.6
6.0	3.0	2.00	98.5	94.1	81.5
7.0	3.0	2.33	95.8	81.5	51.2
8.0	3.0	2.66	42.4	28.6	2.0

ที่มา: Bremner (1960)



ภาพ 2 การได้กลับคืนมาของเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน ต่ออุณหภูมิการย่อย

ที่มา: Lake et al. (1951)

McKenzie and Wallace (1954) สรุปให้เห็นว่าความสัมพันธ์ของอุณหภูมิของสารละลาย และเวลาที่ใช้ในการย่อย เป็นหลักการพื้นฐานสำคัญของการย่อยในโตรเจน โดยวิธีเคลดดาห์ล อัตราส่วนของเกลือต่อกรด และความร้อน หรืออุณหภูมิเตาย่อยที่ให้ เป็นองค์ประกอบที่จะทำให้ได้อุณหภูมิของสารละลาย และเวลาที่เหมาะสมในการย่อยเท่านั้น โดยยกตัวอย่างการย่อยโดยใช้ K_2SO_4 3 กรัม H_2SO_4 1.5 มล. ซึ่งก็คือ อัตราส่วน $K_2SO_4 : H_2SO_4$ 2:1 ถ้าให้ความร้อนเต็มถึงจุดเดือดของสารละลาย คือ $410^{\circ}C$ ซึ่งแน่นอนว่าต้องมีการสูญเสียในโตรเจน (ตาราง 7) แต่ McKenzie and Wallace (1954) สามารถย่อยตัวอย่างที่มีอัตราส่วนของ $K_2SO_4 : H_2SO_4$ 2:1 ให้ย่อยในโตรเจนได้สมบูรณ์ และไม่มีการสูญเสียในโตรเจนด้วยการควบคุมความร้อน แต่ทำให้อุณหภูมิจึงต่ำกว่าจุดเดือดที่ $390^{\circ}C$ เท่านั้น

การย่อยตัวอย่างด้วยวิธีการดั้งเดิมที่ใช้ตะเกียงเบนเสน หรือเตาย่อยไฟฟ้าแบบเก่า เป็นการปรับการให้ความร้อนด้วยตนเอง (manual control) และไม่สามารถทราบอุณหภูมิของอุปกรณ์ที่ให้ความร้อนได้ เมื่อมีการศึกษาเกี่ยวกับอุณหภูมิของสารละลายในเอกสารที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ในโตรเจนด้วยวิธีเคลดดาห์ลเก่าๆ จึงมักจะละไว้ในฐานที่เข้าใจว่า อุณหภูมิการย่อย (digestion temperature) ที่เขียนในงานวิจัยเป็นอุณหภูมิของสารละลายที่ใช้

ปัจจุบันการย่อยเริ่มเปลี่ยนมาเป็นการใช้บล็อกล้อย ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิ และทราบอุณหภูมิบล็อกล้อยด้วย ถ้าไม่เข้าใจพื้นฐานการย่อยโดยวิธีเคลดดาห์ลอย่างชัดเจน อาจจะทำให้เกิดความสับสน หรือใช้ผิดว่าอุณหภูมิการย่อย คือ อุณหภูมิของบล็อกล้อยที่ใช้ ดังนั้น ในวิทยานิพนธ์เล่มนี้จึงใช้คำศัพท์ที่แบ่งแยกชัดเจน ก็คือ

อุณหภูมิของเตาย่อย หรือบล็อกล้อย คือ อุณหภูมิของอุปกรณ์ที่ใช้ให้ความร้อน
อุณหภูมิของสารละลาย คือ อุณหภูมิของสารละลาย เมื่อได้รับความร้อนจากอุปกรณ์

การถ่ายเทความร้อนจะเป็นจากบล็อกล้อยไปสู่สารละลายเท่านั้น ดังนั้น อุณหภูมิของบล็อกล้อย หรือเตาย่อยจะสูงกว่า หรือเท่ากับอุณหภูมิของสารละลาย ในขณะที่อุณหภูมิของสารละลายจะต่ำกว่า หรือเท่ากับอุณหภูมิบล็อกล้อยเท่านั้น แต่โดยทั่วไป

อุณหภูมิของสารละลายมักจะต่ำกว่าอุณหภูมิของบดลือกย่อย หรือเตาย่อย เนื่องจากปริมาณความร้อนที่ให้จากบดลือกย่อย หรือเตาย่อยมักจะน้อยกว่าปริมาณความร้อนที่สูญเสียออกไป

การให้อุณหภูมิของบดลือกย่อยต่างๆกันคาดว่า น่าจะมีผลต่ออุณหภูมิของสารละลายที่ข่อยดังตาราง 9 โดยใช้สมมุติฐานดังนี้

1. ถ้าอุณหภูมิบดลือกย่อยต่ำกว่าจุดเดือดของสารละลาย อุณหภูมิของสารละลายเท่ากับ หรือน้อยกว่าอุณหภูมิบดลือกย่อย
2. ถ้าอุณหภูมิของบดลือกย่อยเท่ากับ หรือมากกว่าจุดเดือดของสารละลาย อุณหภูมิของสารละลายเท่ากับจุดเดือดของสารละลาย

6. การกลั่นและการไตเตรท

การกลั่นเป็นการใช้ต่างทำปฏิกิริยากับตัวอย่างที่ข่อยเสร็จแล้วให้มากเกินพอ จะทำให้เกิด NH_3 และถูกไล่ที่ออกไปทำปฏิกิริยากับกรดบอริกที่ดักไว้ ซึ่งปริมาณ NH_3 ที่ออกมาจะขึ้นอยู่กับระยะเวลา และอัตราเร็วในการกลั่น โดยระยะเวลาในการกลั่นควรใช้อย่างน้อย 5-10 นาที ในขณะที่อัตราเร็วในการกลั่นไม่ควรต่ำกว่า 7.5 มล./นาที (Labconco, 1998)

การไตเตรทเป็นการนำตัวอย่างจากการกลั่นมาทำปฏิกิริยากับสารละลายกรดมาตรฐาน และสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์เมื่อถึงจุดสมมูล นอกจากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์แล้ว ยังสามารถหาจุดสมมูลโดยใช้ pH meter ได้อีกด้วย

ตาราง 9 การคาดการณ์ผลของการใช้อุณหภูมิบดก่อกย่อยต่ออัตราส่วนของ $K_2SO_4:H_2SO_4$ ต่างๆ

$K_2SO_4:H_2SO_4$ ที่ใช้	จุดเดือดของ	อุณหภูมิของบดก่อก	อุณหภูมิของ
	สารละลาย ^{1/}	ย่อย	สารละลาย
	(°C)	(°C)	(°C)
0.5:1	350	300	≤300
		370	≤350
		400	≤350
0.75:1	370	300	≤300
		370	≤370
		400	≤370
1:1	385	300	≤300
		370	≤370
		400	≤385
1.25:1	392	300	≤300
		370	≤370
		400	≤392
1.5:1	400	300	≤300
		370	≤370
		400	≤400

^{1/}ประมาณโดยใช้ข้อมูลจากตาราง 6

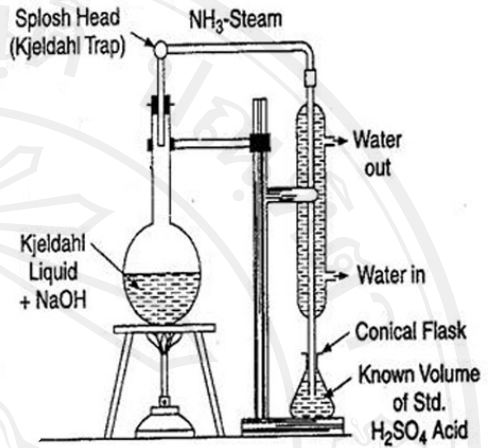
การวิเคราะห์ไนโตรเจนโดยวิธีเคลดาคัลด้วยบล็อกย่อย (digestion block) และเครื่องกลั่นไอน้ำ (steam distillation apparatus)

การวิเคราะห์ไนโตรเจนด้วยวิธีเคลดาคัลแบบดั้งเดิมที่ใช้เคลดาคัลพลาสติกย่อยบนหลุมย่อยหรือเตาไฟฟ้า และกลั่นโดยใช้เคลดาคัลพลาสติกโดยการต้ม (ภาพ 3) ใช้พื้นที่ในการวางอุปกรณ์มาก ไม่สะดวก ใช้เวลาวิเคราะห์ตัวอย่างนาน วิเคราะห์ตัวอย่างได้ครั้งละไม่มาก และต้องควบคุมอุณหภูมิในการย่อย และกลั่นด้วยตัวเอง ดังนั้น จึงมีการปรับเปลี่ยนไปใช้เครื่องมือสมัยใหม่ ได้แก่ บล็อกย่อย และเครื่องกลั่นไอน้ำ (ภาพ 4) ที่ใช้พื้นที่ในการวางอุปกรณ์น้อยกว่า ใช้งานง่าย สะดวก วิเคราะห์ตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมาก ใช้เวลาในการวิเคราะห์ตัวอย่างน้อย มีทั้งอุปกรณ์ที่เป็น

อัตโนมัติ และกึ่งอัตโนมัติ ตาราง 10 เป็นการสรุปการเปรียบเทียบวิธีเคลดดาห์ที่ใช้อุปกรณ์แบบ
ดั้งเดิม และเครื่องมือสมัยใหม่



เตาย่อยแบบดั้งเดิม



เครื่องกลั่นแบบดั้งเดิม

ภาพ 3 วิธีเคลดดาห์ที่ใช้เครื่องมือแบบดั้งเดิม



บลี้อย่อย



การกลั่นด้วยไอน้ำ

ภาพ 4 เครื่องมือสมัยใหม่ที่ใช้แทนอุปกรณ์แบบดั้งเดิม

ตาราง 10 การเปรียบเทียบวิธีเคลดดาห์ที่ใช้อุปกรณ์แบบดั้งเดิม และเครื่องมือสมัยใหม่

การย่อย	อุปกรณ์	
	แบบดั้งเดิม (เตาไฟฟ้า)	สมัยใหม่ (บล็อกล้อย)
ภาชนะใส่ตัวอย่าง	เคลดาห์พลาสติก	หลอดย่อย
พื้นที่วาง	มาก	น้อย
จำนวนตัวอย่างต่อครั้ง	น้อย	มาก
การควบคุมอุณหภูมิ	ควบคุมด้วยตนเอง	อัตโนมัติ

การกลั่น	อุปกรณ์	
	แบบดั้งเดิม (เตาไฟฟ้า)	สมัยใหม่ (เครื่องกลั่นไอน้ำ)
การให้ความร้อน	ใช้ไฟโดยตรง	ใช้ไอน้ำ
เวลาในการกลั่น	นาน	น้อย
ความสะดวก	น้อย	มาก

จากตาราง 10 จะเห็นได้ว่าการใช้อุปกรณ์สมัยใหม่สะดวกกว่าการใช้อุปกรณ์แบบดั้งเดิม ดังนั้น หลังจากปี ค.ศ. 1965 ซึ่งเริ่มมีบล็อกล้อย (Bremner, 1996) ก็มีผู้ทดลองปรับปรุงวิธีเคลดาห์ให้ใช้ได้กับอุปกรณ์สมัยใหม่มากมาย เช่น Schuman *et al.* (1973) Gallaher *et al.* (1976) และ Campbell (1986) แต่ Bremner (1996) ก็ชี้ให้เห็นถึงข้อควรระวังของการใช้บล็อกล้อย ก็คือ บล็อกล้อยบางเครื่องไม่สามารถให้ความร้อนเพียงพอสำหรับการย่อย ในขณะที่บางเครื่องให้ความร้อนมากเกินไป

การวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยด้วยวิธีเคลดาห์ตามวิธีการของ AOAC (Kane, 2005)

The Association of Official Analytical Chemists (AOAC) ได้กำหนดวิธีการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในปุ๋ยด้วยวิธีเคลดาห์เมื่อปี ค.ศ. 1955 (Kane, 2005) วิธีการแรกเริ่มดังกล่าวมีชื่อเรียกว่า Codex – Adopted AOAC method โดยมีขั้นตอนคร่าวๆ คือ ย่อยตัวอย่างด้วย H_2SO_4 โดยมี K_2SO_4 เป็นตัวช่วยเพิ่มจุดเดือด และใช้ปรอท (Hg) เป็นคะตะลิสต์ แล้วนำไปต้มกลั่นกับด่าง NaOH เพื่อไล่ NH_3 ไปเก็บในกรดสำหรับไตเตรท Codex – Adopted AOAC method เริ่มแรกเป็นวิธีการวิเคราะห์ไนโตรเจนที่ไม่รวม NO_3^- ต่อมาจึงปรับปรุงวิธีการให้สามารถวิเคราะห์ปุ๋ยที่มี NO_3^-

ด้วยการใส่ Salicylic acid และ Sodium thiosulfate ก่อนการย่อย แต่การปรับปรุงนี้ก็ยังมียกจำกัดที่ไม่สามารถใช้กับตัวอย่างปฏึกที่เป็นของเหลว หรือมีอัตราส่วน $Cl : NO_3$ สูงได้ ดังนั้น จึงมีการพัฒนาวิธีการที่ใช้ได้กับปฏึกทั่วไปทุกชนิดขึ้นมาอีก และเรียกว่า Comprehensive Nitrogen method

Comprehensive Nitrogen method เป็นการปรับปรุงมาจาก Codex – Adopted method โดยการใช้โลหะโครเมียมและกรด HCl เปลี่ยน NO_3^- ให้เป็น NH_4^+ ก่อนการวิเคราะห์แทนการใช้ Salicylic acid และ Sodium thiosulfate ทำให้สามารถใช้วิเคราะห์ไนโตรเจนในปฏึกได้ทุกกรุป แต่วิธี Comprehensive Nitrogen ยังมีข้อเสียที่ใช้ปรอทเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาอยู่ ปรอทเป็นโลหะที่มีพิษ และอันตรายสูง การวิเคราะห์ต้องใช้อย่างระมัดระวัง เพื่อป้องกันไม่ให้เป็นอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน และปนเปื้อนลงไปสู่สิ่งแวดล้อม ดังนั้น จึงได้มีการปรับปรุงวิธีการใหม่ที่ไม่ใช้ปรอทเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาแต่ใช้ Copper sulfate pentahydrate ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) แทน และเรียกว่า Modified Comprehensive Nitrogen method

การปรับเปลี่ยนการวิเคราะห์ไนโตรเจนในปฏึกด้วยวิธีโมดิฟายด์คอมพริเฮนซีฟไปใช้บดกย่อยและเครื่องกลั่นไอน้ำ

วิธีโมดิฟายด์คอมพริเฮนซีฟ (Kane, 2005) เป็นวิธีการที่ผ่านการทดสอบจากห้องปฏิบัติการต่างๆ และกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิจนได้รับการตีพิมพ์ในหนังสือ Official methods of Analysis of AOAC international. วิธีการในหนังสือดังกล่าวเป็นวิธีการที่ใช้อุปกรณ์แบบดั้งเดิม คือย่อยในเคลดดาห์ลฟลาสบนเตาย่อย และกลั่นโดยใช้ความร้อนโดยตรง ซึ่งไม่สะดวก และใช้เวลานาน ผนวกกับความสำเร็จในการปรับเปลี่ยนวิธีเคลดดาห์ลไปใช้อุปกรณ์สมัยใหม่ของนักวิจัยหลายๆท่าน จึงทำให้คิดว่าน่าจะปรับเปลี่ยนวิธีโมดิฟายด์คอมพริเฮนซีฟไปใช้บดกย่อย และเครื่องกลั่นไอน้ำ

Kane and Fitzpatrick (1990) ทดสอบการปรับเปลี่ยนวิธีโมดิฟายด์คอมพริเฮนซีฟ ไปใช้บดกย่อยและเครื่องกลั่นไอน้ำแทนวิธีดั้งเดิม โดยได้ทำการทดลองตามลำดับดังนี้

1. การหาเปอร์เซ็นต์การได้กลับคืนของแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) เกรดที่ใช้ในการวิเคราะห์ (reagent grade) ซึ่งมีไนโตรเจน 21.21 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ค่าเฉลี่ยของการวิเคราะห์ 5 ครั้งได้แก่ 20.86 เปอร์เซ็นต์ จึงสรุปได้ว่าการปรับเปลี่ยนไปใช้บดกย่อยและเครื่องกลั่นไอน้ำทำได้

ค่าการวิเคราะห์ที่ต่ำกว่าความเป็นจริง Kane and Fitzpatrick (1990) จึงทำการทดลองต่อไปเพื่อหาสาเหตุของปัญหา

2. เตรียม blank ที่ผ่านขั้นตอนการรีดักชันของโครเมียม และเติมสารเคมีสำหรับการย่อยมาแล้ว จากนั้นจึงใส่ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ลงไป หลังจากนั้น ตัวอย่างที่หนึ่ง นำไปกลั่นในด่างด้วยไอน้ำทันที ตัวอย่างที่สอง ย่อยจนตัวอย่างใสแล้วกลั่น ตัวอย่างที่สามย่อยจนใสและย่อยต่อไปอีก 30 นาที แล้วกลั่น ตัวอย่างที่สี่ย่อยจนใสและย่อยต่อไปอีก 75 นาที แล้วกลั่น ได้ผลการทดลองดังตาราง 11 ตาราง 11 ผลของเวลาที่ใช้ในการย่อย ต่อปริมาณ ไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้

ตัวอย่าง	เวลาที่ใช้ในการย่อย	ปริมาณไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้ (เปอร์เซ็นต์)
Blank + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	ไม่ย่อยแต่กลั่นทันที	21.21
Blank + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	ย่อยจนใสแล้วกลั่น	20.75
Blank + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	ย่อยจนใสและย่อยต่อไปอีก 30 นาที แล้วกลั่น	19.84
Blank + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	ย่อยจนใสและย่อยต่อไปอีก 75 นาที แล้วกลั่น	19.71

ที่มา: Kane and Fitzpatrick (1990)

จากผลการทดลอง ปริมาณไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณน้อยลง เมื่อระยะเวลาการย่อยมากขึ้น Kane and Fitzpatrick (1990) สันนิษฐานว่าสาเหตุอาจเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนของเกลือต่อกรดตามเวลาที่เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการสูญเสียไนโตรเจน

3. ผลการทดสอบอัตราส่วนระหว่างกรดกับเกลือในระหว่างการย่อยได้มีดังตาราง 12

ตาราง 12 เปอร์เซนต์ไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้จาก $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ที่ย่อยโดยมีอัตราส่วนระหว่างเกลือต่อกรดต่างกัน

$\text{K}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$ (กรัม/20 มล.)	การได้กลับคืนมาของไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)
10	18.56
11	19.16
12	19.48
13	19.67
14	19.68
15	19.84
16	19.97
17	20.17

ที่มา: Kane and Fitzpatrick (1990)

แสดงว่าอัตราส่วนเกลือต่อกรดที่เพิ่มขึ้น ทำให้วิเคราะห์ได้ปริมาณไนโตรเจนมากขึ้น ซึ่งตรงกันข้ามกับข้อสันนิษฐานที่ตั้งไว้ ดังนั้น ข้อสันนิษฐานที่ว่าอัตราส่วนเกลือต่อกรดที่เพิ่มขึ้นทำให้เกิดการสูญเสียไนโตรเจนจึงไม่เป็นจริง

4. ต่อมา ได้ทดลองใส่โครเมียมที่ใช้ในขั้นตอนรีดักชันในน้ำหนักต่างกันแล้วจึงย่อยด้วยบด็อก และกลั่นด้วยไอน้ำ ได้ผลการทดลอง คือ การเพิ่มโครเมียมจาก 0.3 กรัม จนถึง 2.0 กรัม ทำให้ปริมาณไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้มีค่าเฉลี่ยลดลงจาก 20.52 ไปจนถึง 19.48 เปอร์เซนต์ เขาจึงเริ่มสรุปได้ว่าโครเมียมที่ใส่เกี่ยวข้องกับการลดลงของค่าไนโตรเจนที่วิเคราะห์

5. หลังจากนั้น ได้ทดลองเพิ่มอุณหภูมิของการย่อยในบด็อกจาก 410 ไปเป็น 450 °C แต่ใช้วิธีการแบบดั้งเดิม ไม่ได้ใช้วิธีการไอน้ำ ปรากฏว่า ได้ค่าเฉลี่ยของการวิเคราะห์เป็น 21.18 เปอร์เซนต์ แสดงว่า อุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้ได้ไนโตรเจนกลับคืนมาทั้งหมด

6. การเปรียบเทียบวิธีการดั้งเดิมกับการใช้บด็อกย่อยและการกลั่นไอน้ำ

สุดท้าย Kane and Fitzpatrick (1990) ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบและผสมวิธีการดั้งเดิมกับการใช้บด็อกย่อยและการกลั่นไอน้ำ ได้ผลการทดลองดังตาราง 13

ตาราง 13 ปริมาณไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้จาก $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ที่ย่อยและกลั่นด้วยวิธีการต่าง ๆ

วิธีการ	การได้กลับคืนของไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์)
Block reduction	
a Traditional digestion	21.26
Traditional distillation	
Block reduction	
b Block digestion	21.12
Traditional distillation	
Block reduction	
c Block digestion	20.43
Steam distillation	
Block reduction	
Block digestion	
d Caustic addition	21.04
20 min pause on distillation apparatus	
Steam distillation	
Block reduction of reagent blank	
e Block digestion of reagent blank	21.39
Spike digest with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ steam distillation	

ที่มา; Kane and Fitzpatrick (1990)

ตาราง 13 แสดงให้เห็นว่า

การทดลองแบบ a ที่การรีดักชันทำในบล็อกย่อยแล้วถ่ายตัวอย่างใส่เคลดดาห์ลพลาสติกเพื่อ
ย่อยและกลั่นแบบดั้งเดิม ได้ไนโตรเจนกลับคืนมาทั้งหมด

การวิเคราะห์แบบ b ที่การรีดักชันและย่อยทำในบล็อกย่อยแล้วจึงถ่ายตัวอย่างไปกลั่นใน
เคลดดาห์ลพลาสติกแบบดั้งเดิม ได้ไนโตรเจนได้กลับคืนมาเกือบทั้งหมด

การวิเคราะห์แบบ c ที่มีการรีดักชันและย่อยในบล็อกย่อยแล้วกลั่นด้วยการกลั่นไอน้ำ
ไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้จะมีปริมาณลดลงอย่างเห็นได้ชัด

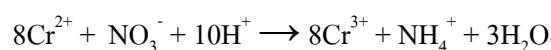
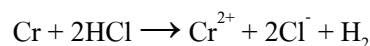
การวิเคราะห์แบบ d ทำเหมือนแบบ c แต่หลังจากเติมค้างและกลั่น ไปเล็กน้อยแล้ว จะหยุดกลั่น 20 นาทีแล้วจึงกลั่นต่อ ปริมาณไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้ในแบบ d จะมากกว่าแบบ c อย่างเห็นได้ชัด การทดลองแบบ d นี้แสดงให้เห็นว่าการลดลงของค่าที่วิเคราะห์ไม่ใช่ผลมาจากการสูญเสียไนโตรเจนในการย่อย แต่มาจากขั้นตอนการกลั่นที่ไม่สามารถทำให้แอมโมเนียมออกมาได้ทั้งหมด

การวิเคราะห์แบบ e ที่มีการรีดักชันและย่อยในบดล้อย่อยของ blank แล้วจึงเติม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ลงไป ต่อจากนั้นก็กลั่นด้วยไอน้ำ ได้ไนโตรเจนกลับคืนมาทั้งหมด การทดลองแบบ e แสดงให้เห็นว่าสารอื่นๆ ที่มีอยู่ในตัวอย่างยกเว้นโครเมียมไม่มีผลต่อค่าวิเคราะห์

Kane and Fitzpatrick (1990) สรุปว่า วิธีโมดิฟายด์คอมพรีเฮนซีฟในขั้นตอนของการรีดักชัน และการย่อยสามารถปรับเปลี่ยนไปใช้บดล้อย่อยได้ ในไนโตรเจนถูกย่อยสมบูรณ์ และไม่มี การสูญเสีย แต่ NH_4^+ ที่เกิดขึ้นจะรวมกับโครเมียมเกิดเป็นสารเชิงซ้อนในระหว่างการย่อย สารเชิงซ้อนของโครเมียมกับ NH_4^+ ต้องอาศัยเวลาในการเกิดหรือคลายตัวออกจากกัน การเกิดของสารเชิงซ้อนจะค่อนข้างมากที่อุณหภูมิการย่อย 410°C และจะลดลงถ้าเพิ่มอุณหภูมิของการย่อยเพิ่มเป็น 450°C การกลั่นแบบดั้งเดิมที่ใช้เปลวไฟ หรือความร้อนโดยตรงและใช้เวลาในการกลั่น 30 ถึง 40 นาที จะทำให้สารเชิงซ้อนของ NH_4^+ และโครเมียมคลายตัวออกจากกันได้ แต่การกลั่นด้วยไอน้ำในระยะเวลาอันสั้นไม่มีความสามารถมากพอที่จะทำให้สารเชิงซ้อนคลายตัวออกจากกันได้หมด จึงทำให้ยังมีข้อจำกัดในการใช้เครื่องกลั่นไอน้ำในการวิเคราะห์แบบนี้

การวิเคราะห์ปัญหาและแนวทางแก้ไขการปรับเปลี่ยนวิธีโมดิฟายด์คอมพรีเฮนซีฟไปใช้บดล้อย่อย และเครื่องกลั่นไอน้ำ

การวิเคราะห์ไนโตรเจนในปุ๋ยด้วยวิธีโมดิฟายด์คอมพรีเฮนซีฟเป็นการวิเคราะห์ไนโตรเจนที่รวม NO_3^- โดยมีการจัดการกับไนโตรเจนในรูปของ NO_3^- ก่อน ด้วยการใส่โลหะโครเมียม (Kane, 2005) โลหะโครเมียมจะรีดิวซ์ NO_3^- ให้เป็น NH_4^+ ดังปฏิกิริยาข้างล่าง แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี เกลดดาห์ลปกติ



Cr^{3+} ที่เกิดขึ้นอาจเกิดสารเชิงซ้อนกับ NH_3 หรือ NH_4^+ ในสองรูปแบบ คือ

1. ในสารละลาย

Cr^{3+} ซึ่งเป็นรูปที่เสถียรที่สุด จะเกิดสารเชิงซ้อนในรูปแบบออกตะฮีดรอล (Octahedral) $[\text{CrX}_6]$ ได้แข็งแรงมาก และค่อนข้างเฉื่อยในทางจลนพลศาสตร์ (kinetically inert) หรืออีกนัยหนึ่งก็คือ อัตราการแลกเปลี่ยน X โดยลิแกนด์ หรือไอออนอื่นๆ จะค่อนข้างช้า ตัวอย่างของสารเชิงซ้อนของ Cr^{3+} ในสารละลายคือ $[\text{Cr}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$, $[\text{Cr}(\text{NH}_3)_5\text{NO}_2]^{2+}$, $[\text{Cr}(\text{CN})_6]^{3-}$ (Chambers and Holliday, 1975)

2. การตกตะกอนเชิงซ้อน

หลังจากการใช้โลหะโครเมียมเพื่อรีดิวซ์ NO_3^- และทำให้เกิด Cr^{3+} แล้ว ตัวอย่างก็จะถูกนำไปย่อยต่อใน H_2SO_4 เข้มข้นที่มี K_2SO_4 การต้ม Cr^{3+} ใน H_2SO_4 เข้มข้นอาจจะทำให้ได้ตะกอนเชิงซ้อน Chromic dihydroheptasulfate เช่น $2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_6 \cdot \text{Cr}_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, $\text{HSO}_4\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_5$, $\text{Cr}_2 \cdot \text{HSO}_4$, $[\text{Cr}_2\text{O}_3(\text{SO}_2)_4\text{O}_4\text{Cr}_2\text{O}_3(\text{SO}_2)_3\text{O}_2(\text{OH})_2]_3$ ตะกอนเหล่านี้ไม่ละลายในน้ำหรือกรดอินทรีย์เข้มข้น เช่น HCl , H_2SO_4 , HNO_3 , Aqua regia แต่จะละลายออกมาบ้างเมื่อต้มในน้ำ หรือทิ้งไว้เป็นระยะเวลานาน ตะกอนเหล่านี้จะละลายเมื่อนำไปหลอมรวมกับ NaOH หรือต้มในสารละลายของ NaOH ในระหว่างการตกตะกอน Chromic dihydroheptasulfate NH_4^+ บางส่วนอาจจะไปอยู่ในตะกอนนั้นด้วยหรือ NH_4^+ อาจตกตะกอนเป็น anhydrous หรือ dehydrated ammonium chrom-alum ซึ่งไม่ละลายในน้ำเย็น น้ำร้อน HCl เข้มข้น หรือการต้มในสารละลายต่างเจือจาง (Mellor, 1931)

การเกิดสารเชิงซ้อนของ Cr^{3+} และ NH_4^+ ไม่ว่าจะรูปแบบใด น่าจะทำให้มีปัญหาในการปรับเปลี่ยน เนื่องจาก NH_4^+ ไม่สามารถถูกปลดปล่อยออกมาได้โดยการกลั่นไอน้ำในระยะเวลาอันสั้น

การวิเคราะห์ในโตรเจนด้วยวิธีโมดิฟายด์คอมพริเฮนซีฟ โดยใช้อุปกรณ์แบบดั้งเดิม คือ ย่อยในเคลดดาห์ลฟลาสบนเตาย่อย น่าจะทำให้อุณหภูมิของสารละลายสูงกว่า 370°C สารเชิงซ้อนคลายตัวหมด หรือเกือบหมด เมื่อนำมากลั่นแบบดั้งเดิมโดยให้ความร้อนโดยตรง จุดเดือดของสารละลายในขณะกลั่นจะสูงกว่า 100°C เนื่องจากมีความเข้มข้นของเกลือสูง นอกจากนั้นยังใช้เวลา

ในการกลั่นนานประมาณ 30 นาที หรือมากกว่าด้วย ปัญหาเกี่ยวกับสารเชิงซ้อนในการใช้เครื่องมือแบบดั้งเดิมจึงน้อยมากจนไม่มีความสำคัญ

ปัญหาในการปรับเปลี่ยนมาใช้บดล้อย่อย และเครื่องกลั่นไอน้ำจึงน่าจะมีสาเหตุมาจาก

1. อัตราส่วนของเกล็ดต่อกรด และอุณหภูมิของบดล้อย่อย

การใช้อัตราส่วนของเกล็ดต่อกรด และอุณหภูมิบดล้อย่อยไม่เหมาะสม จนทำให้อุณหภูมิของสารละลายไม่สูงพอที่จะทำให้สารเชิงซ้อนละลายตัวได้หมด Kane and Fitzpatrick (1990) ก็มีผลการทดลองที่ชี้ให้เห็นว่า การเกิดสารเชิงซ้อนจะเกิด หรือมีเหลือค่อนข้างมากเมื่อใช้อุณหภูมิบดล้อย่อย 410°C แต่ถ้าเพิ่มอุณหภูมิบดล้อย่อยขึ้นไปจน 450°C ปัญหาของสารเชิงซ้อนจะหมดไป แสดงว่าถ้าอุณหภูมิของสารละลายสูงพอ สารเชิงซ้อนก็น่าจะละลายตัวได้หมด

2. ระยะเวลาในการย่อย

ถึงแม้จะใช้อัตราส่วนของเกล็ดต่อกรด และอุณหภูมิบดล้อย่อยเหมาะสมจนทำให้ได้อุณหภูมิของสารละลายพอเหมาะที่จะทำให้สารเชิงซ้อนละลายตัวได้ แต่ถ้าใช้ระยะเวลาในการย่อยไม่นานพอ การละลายตัวของสารเชิงซ้อนอาจไม่หมดก็ได้

3. ระยะเวลาการกลั่น

การกลั่นแบบดั้งเดิมโดยการใช้ความร้อนโดยตรง นอกจากจะให้อุณหภูมิสูงกว่าการใช้ไอน้ำที่มีอุณหภูมิสูงสุดแค่ 100°C แล้ว ยังใช้เวลาการกลั่นนานกว่าการกลั่นไอน้ำ โดยทั่วไปซึ่งใช้เวลา 5 ถึง 7 นาที เท่านั้น ดังนั้น เมื่อต้องการปรับเปลี่ยนการกลั่นโดยใช้อุปกรณ์แบบดั้งเดิมมาเป็นการกลั่นไอน้ำ เวลาที่ใช้ก็ควรจะนานกว่าปกติด้วย