

## ภาคผนวก จ การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ (AOAC, 1999)

### อุปกรณ์

1. เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์
2. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
3. กระจกกรองเบอร์ 1

### สารเคมี

1. สารละลาย NED: ชั่ง แนพทิลเอทิลีนไดไฮโดรคลอไรด์ (naphthyl ethylenediamine dihydrochloride) 0.2 กรัม ในสารละลายกรดอะซิติก (acetic acid) ร้อยละ 15 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร กรองสารละลายที่ได้ด้วยกระจกกรองแล้วเก็บในขวดสีชา
2. สารละลายซัลฟานิลาไมด์: ชั่งซัลฟานิลาไมด์ (sulphanilamide) 0.5 กรัม ละลายในกรดอะซิติก ร้อยละ 15 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร กรองสารละลายที่ได้ด้วยกระจกกรองแล้วเก็บในขวดสีชา
3. สารละลายมาตรฐานไนไตรท์
  - 1) Stock solution (ความเข้มข้นของไนไตรท์เท่ากับ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ชั่งโซเดียมไนไตรท์ 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร
  - 2) Intermediate solution (ความเข้มข้นของไนไตรท์เท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เจือจาง stock solution 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร
  - 3) Working solution (ความเข้มข้นของไนไตรท์เท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เจือจาง intermediate solution 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

## วิธีการ

1. มวลตัวอย่างให้ปั่นเนื้อเดียวกัน ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน 10 กรัม ลงในบีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 80 องศาเซลเซียส ปริมาตร 80 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนผสมให้เข้ากัน แล้วถ่ายใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำร้อน 120 มิลลิลิตร ก่อนนำไปต้มในน้ำเดือด นาน 2 ชั่วโมง
3. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
4. กรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง จนได้สารละลายใส
5. ปิเปตสารละลายใสของตัวอย่างที่กรองได้ 30 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร
6. เติมสารละลายซัลฟานิลไมด์ 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 5 นาที
7. เติมสารละลาย NED 2.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 15 นาที
8. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน
9. เตรียมกราฟมาตรฐาน โดยการดูด working solution ปริมาตร 10 20 30 และ 40 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายซัลฟานิลไมด์และสารละลาย NED จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงเช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างข้างต้น แล้วเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างมิลลิกรัมต่อ กิโลกรัมในไตรท์กับค่าการดูดกลืนแสง