ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.
วิธีการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์ความชื้น (ตามวิธีมาตรฐานของ AOAC, 1990)

1.1 นำขวดชั่งเข้าตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที และทำให้เย็นในโถอบแห้ง

1.2 ชั่งและบันทึกน้ำหนักของขวดชั่งโดยละเอียด

1.3 ชั่งตัวอย่างใส่ขวดชั่งประมาณ 3 กรัม และบันทึกน้ำหนัก

1.4 นำตัวอย่างเข้าตู้อบ โดยใช้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง

1.5 นำตัวอย่างที่อบแล้วใส่โถอบแห้ง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วบันทึกน้ำหนักของตัวอย่าง

1.6 ทำซ้ำตามข้อ 1.4 ถึง 1.5 จนกระทั่งน้ำหนักที่ได้คงที่ โดยน้ำหนักที่หายไป คือน้ำหนักของความชื้น

คำนวณหาความชื้นด้วยสมการ

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{(a - b) \times 100}{w}$$

เมื่อ a = น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบแห้ง

b = น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบแห้ง

w = น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบ

2. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (ตามตามวิธีมาตรฐานของ AOAC, 1990)

2.1 ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ

2.2 นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จนเถ้าเป็นสีขาว

2.3 นำเข้าโถอบแห้ง เพื่อให้ดูดความชื้น และเมื่อตัวอย่างอาหารเย็นดีแล้ว นำออกชั่ง

คำนวณหาเถ้าด้วยสมการ

$$\text{เถ้า (\%)} = \frac{(b - a) \times 100}{w}$$

เมื่อ a = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ

b = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบกับน้ำหนักของตัวอย่างหลังการเผา

w = น้ำหนักของตัวอย่างก่อนเผา

3. การวิเคราะห์หาโปรตีน (ตามตามวิธีมาตรฐานของ AOAC, 1990)

3.1 สารเคมี

3.1.1 กรดซัลฟูริก (sulfuric acid, H_2SO_4) เข้มข้น 93 - 98 %

3.1.2 สารเร่งรวม (catalyst mixture): เตรียมโดย ชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulfate, $CuSO_4$) 7 กรัม และโพแตสเซียมซัลเฟต (potassium sulfate, K_2SO_4) 100 กรัม ผสมให้เข้ากัน

3.1.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ 45 % (sodium hydroxide, NaOH): เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ ชนิดเกล็ด 450 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

3.1.4 สารละลายกรดเกลือ (hydrochloric acid, HCl) 0.1 นอร์มอล: เตรียมโดยใช้ปิเปตดูดกรดเกลือ 9 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

3.1.5 กรดบอริค (boric acid, H_3BO_3) 4%: เตรียมโดย ต้มน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ให้ร้อน แล้วใส่กรดบอริคลงไป 4 กรัม คนจนละลายหมด เมื่อสารละลายเย็นลงแล้วจึงเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3.1.6 อินดิเคเตอร์รวม (mixed indicator): เตรียมโดย ละลายเมทธิลเรด (methyl red) 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร และละลายเมทธิลีนบลู (methylene blue) 0.2 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายเมทธิลเรด 2 ส่วน ผสมกับสารละลายเมทธิลีนบลู 1 ส่วน เขย่าให้เข้ากัน

3.1.7 เมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์ (methyl orange indicator): เตรียมโดยละลายเมทิลออเรนจ์ 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3.1.8 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate, Na_2CO_3) 0.1 นอร์มอล: เตรียมโดย อบโซเดียมคาร์บอเนตที่อุณหภูมิ 260 - 270 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ชั่งสารที่อบแล้วมา 1.325 กรัม เติมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร

3.2 การตรวจหาความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือมาตรฐาน

ดูดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 40 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เติมเมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์ 2 - 3 หยด ทำการไตเตรตด้วยสารละลายกรดเกลือ 0.1 นอร์มอล คำนวณความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือโดยใช้สูตร

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

เมื่อ N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายที่จะปรับค่า

N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ

V_1 = ปริมาตรของสารละลายที่จะปรับค่า

V_2 = ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการ

3.3 วิธีการ

3.3.1 ขั้นตอนการย่อย (digestion)

3.3.1.1 ชั่งตัวอย่างอาหารให้ได้น้ำหนักประมาณ 0.5 กรัม โดยชั่งด้วยกระดาษกรองที่ปราศจากสารไนโตรเจนแล้วใส่ในหลอดแก้ววิเคราะห์โปรตีน

3.3.1.2 เติมสารเร่งรวม 3 กรัม เพื่อเป็นตัวช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อย

3.3.1.3 เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร

3.3.1.4 นำไปย่อยด้วยชุดเครื่องย่อยโปรตีน ที่อุณหภูมิ 375 องศาเซลเซียส กระทั่งสารละลายในหลอดแก้ววิเคราะห์โปรตีนเป็นสีเขียวใส

3.3.2 ขั้นตอนการกลั่น (distillation)

3.3.2.1 เมื่อสารละลายเย็นลง เติมน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร

3.3.2.2 ใส่ลูกแก้ว 2 ลูก เพื่อป้องกันการกระแทกของสารละลาย ต่อหลอดแก้ววิเคราะห์โปรตีนเข้ากับเครื่องกลั่นที่มีขวดปากแคบวัดปริมาตร ซึ่งมีกรดบอริค 40 มิลลิลิตรอยู่ โดยให้ปลายของหลอดแก้วที่ต่อจากกระบอกแก้วควบแน่นจุ่มอยู่ในกรดบอริค เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในหลอดแก้ววิเคราะห์ช้าๆ จนกระทั่งสารละลายมีสีดำ

3.3.2.3 หยดอินดิเคเตอร์รวมในกรดบอริค 2 - 3 หยด

3.3.2.4 ทำการกลั่นจนกระทั่งไม่มีแก๊สแอมโมเนียออกมา ทำการกลั่นต่อไปอีก 10 นาที แล้วล้างปลายเครื่องกลั่นด้วยน้ำกลั่น นำขวดปากแคบวัดปริมาตรออกจากเครื่องกลั่น

3.2.3 ขั้นตอนการไตเตรท (titration)

3.2.3.1 ไตเตรทด้วยกรดเกลือมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น (0.1 นอร์มอล) จนถึงจุดยุติ (end point) สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินอ่อน

3.2.3.2 บันทึกปริมาตรของกรดเกลือ เพื่อใช้คำนวณต่อไป

การคำนวณหาโปรตีนด้วยสมการ

$$\text{โปรตีน (\%)} = \frac{1.4 \times (V_1 - V_2) \times N \times 6.25}{W}$$

เมื่อ V_1 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

V_2 = ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบ

N = เป็นความเข้มข้นของกรดเกลือเป็นนอร์มอล

W = น้ำหนักตัวอย่าง

4. การวิเคราะห์ไขมัน (ใช้เครื่อง Soxtec System HT6)

4.1 สารเคมี

4.1.1 สารละลายคลอโรฟอร์ม (chloroform)

4.1.2 เมทธานอล (methanol)

4.2 วิธีการ

4.2.1 อบถ้วยพร้อมลูกแก้ว ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 8 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถอบแห้ง

4.2.2 อบตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน ทิ้งให้เย็นในโถอบแห้ง

4.2.3 ชั่งน้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้ว (w_1)

4.2.4 ชั่งตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ ใส่กระดาษกรองเบอร์ 1 ประมาณ 1 - 2 กรัม (w_2) ห่อให้มิดชิด ใส่ลงในไส้กรอง (thimble) ที่เตรียมไว้ นำไปใส่เข้าเครื่อง

4.2.5 นำถ้วยพร้อมลูกแก้วที่ชั่งน้ำหนักไว้แล้วมาเติม คลอโรฟอร์ม : เมทานอล ในอัตราส่วน 2 :1 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วใส่เข้าเครื่อง

4.2.6 เปิดเครื่อง ปรับอุณหภูมิไปที่ 160 องศาเซลเซียส เปิดเครื่องทำความเย็น เปิดวาล์ว เลื่อนปุ่มไปที่ boiling ต้มให้เดือด 30 นาที

4.2.7 จากนั้นเลื่อนปุ่มไปที่ rinsing เพื่อล้างตัวอย่าง 20 นาที

4.2.8 ปิดวาล์ว เปิดสวิทซ์อากาศ เลื่อนปุ่มไปที่ evaporation เพื่อให้สารระเหย 5 นาที

4.2.9 ปิดสวิทซ์อากาศ และเครื่องทำความเย็น เลื่อนปุ่ม evaporation กลับตำแหน่งเดิม นำถ้วยออกจากเครื่อง อบที่ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

4.2.10 นำถ้วยออกมาใส่โถอบแห้ง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (w_3)

คำนวณหาไขมันด้วยสมการ

$$\text{ไขมัน (\%)} = \frac{w_3 - w_1}{w_2} \times 100$$

เมื่อ w_1 = น้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้ว

w_2 = น้ำหนักตัวอย่าง

w_3 = น้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้วและไขมันหลังอบ

5. การวิเคราะห์พลังงาน (ใช้เครื่อง Gallenkamp Autobomb)

วิธีการ

นำตัวอย่างที่ต้องการหาค่าพลังงานมาบดให้ละเอียด แล้วนำไปอัดเม็ดด้วยเครื่องอัดเม็ดตัวอย่าง อบที่ 65 องศาเซลเซียส 12 ชั่วโมง ใส่ในโถอบแห้ง ชั่งน้ำหนัก และนำไปวิเคราะห์พลังงานโดยใช้เครื่องวิเคราะห์พลังงาน

คำนวณพลังงานโดยใช้สูตร

ความร้อนจำเพาะ (heat capacity)

$$= \frac{(\text{พลังงานของ benzoic} \times \text{น้ำหนัก benzoic}) + \text{พลังงานเส้นด้าย} + \text{พลังงานลวดที่ใช้ไป}}{\text{อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น (องศาเซลเซียส)}}$$

เมื่อ พลังงานของ benzoic = 26,441 จูล

พลังงานเส้นด้าย = 58.58 จูลต่อ 12 เซนติเมตร

พลังงานลวดที่ใช้ไป = 2.05 จูลต่อ 1 เซนติเมตร

พลังงานของตัวอย่าง

$$= \frac{(\text{ความร้อนจำเพาะ} \times \text{อุณหภูมิน้ำที่เพิ่มขึ้นของตัวอย่าง}) - \text{พลังงานลวด} - \text{พลังงานเส้นด้าย}}{\text{น้ำหนักอาหาร (กรัม)}}$$

หน่วยเป็น จูลต่อกรัม แปลงเป็นคาลอรี = จูลต่อ 4.18 = คาลอรีต่อกรัมอาหาร

6. การวิเคราะห์เยื่อใย (ใช้เครื่อง Fibertec system)

6.1 สารเคมี

6.1.1 กรดซัลฟูริก 0.128 M: เตรียมโดยเจือจางกรดซัลฟูริกเข้มข้น 7 มิลลิลิตร ในน้ำปราศจากอิออน ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

6.1.2 โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.223 M: เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 12.5125 กรัม ละลายในน้ำปราศจากอิออน ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

6.1.3 ออกทานอล (1-Octanol reinst)

6.1.4 อะซิโตน (actone)

6.2 วิธีการ

6.2.1 นำถ้วยกระเบื้องเคลือบ ไปอบที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

6.2.2 ชั่งน้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ (W_1) ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 1-2 กรัม (W_2) ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ นำไปใส่เข้าเครื่อง Fibertec system

6.2.3 เติมกรดซัลฟูริก ปริมาตร 150 มิลลิลิตร หยดออกทานอล 2-3 หยด เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดฟองขณะเดือด

6.2.4 เปิดเครื่อง และน้ำเข้าเครื่อง เปิดความร้อนจนสุดสเกล และเลื่อนวาล์วทุกตัวให้อยู่ในตำแหน่งปิด ต้มให้สารละลายเดือดเต็มที่ แล้วลดความร้อนลงเหลือประมาณ 4.5 ต้มนานประมาณ 30 นาที จากนั้นปิดเครื่องแล้วกรองสารละลายออกโดยเลื่อนปุ่มไปที่ Vaccunm

6.2.5 ล้างตัวอย่างด้วยน้ำอุ่น 3 ครั้ง โดยเติมน้ำอุ่นลงไปแล้วเลื่อนปุ่มไปที่ Vaccunm เพื่อกรองน้ำออก

6.2.6 เติมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 150 มิลลิลิตร ทำเช่นเดียวกับข้อ 6.2.4-6.2.5

6.2.7 ย้ายถ้วยกระเบื้องเคลือบไปที่ cold extraction unit ล้างตัวอย่างด้วยอะซิโตน ให้ท่วมตัวอย่างทิ้งไว้สักครู่ แล้วจึงกรองอะซิโตนออก

6.2.8 นำถ้วยกระเบื้องเคลือบ ไปอบที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส นานครึ่งชั่วโมง

6.2.9 นำถ้วยกระเบื้องเคลือบ ไปวางไว้ให้เย็นในโถอบแห้ง จึงชั่งน้ำหนัก (W_3) แล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่งโมง

6.2.10 นำถ้วยกระเบื้องเคลือบ ไปวางไว้ให้เย็นในโถอบแห้ง จึงชั่งน้ำหนัก (W_4)

การคำนวณหาเยื่อใยด้วยสมการ

$$\text{เยื่อใย (\%)} = \frac{(W_3 - W_4) \times 100}{W_2}$$

เมื่อ W_2 = น้ำหนักของตัวอย่าง

W_3 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ พร้อมตัวอย่างหลังการอบ

W_4 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ พร้อมตัวอย่างหลังการเผา

7. การวิเคราะห์โครมิกออกไซด์ (ตามวิธีการของ Furukawa and Tsukahara, 1966)

7.1 สารเคมี

7.1.1 กรดไนตริกเข้มข้น 70 %

7.1.2 กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 70 %

7.2 วิธีการ

7.2.1 ชั่งตัวอย่าง 0.5-1.0 กรัม ใส่ในหลอดย่อยโปรตีน

7.2.2 เติมกรดไนตริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร นำไปย่อยประมาณ 20 นาที

7.2.3 ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมกรดเปอร์คลอริคเข้มข้น 3 มิลลิลิตร นำไปย่อยอีกครั้ง จนสารละลายสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีส้ม หรือแดง ย่อยต่ออีก 10 นาที

7.2.4 ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรสารละลายให้ครบ 100 มิลลิลิตร

7.2.5 นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับน้ำกลั่น คำนวณปริมาณโครมิกออกไซด์ด้วยสมการ

$$y = 0.2089x + 0.0032$$

เมื่อ y = ค่าการดูดกลืนแสง

x = ปริมาณโครมิกออกไซด์ (มิลลิกรัมต่อ100 มิลลิลิตร)

8. การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

8.1 การวิเคราะห์ความเป็นด่างของน้ำ (ตามวิธีการของ Boyd and Tucker, 1992)

8.1.1 สารเคมี

8.1.1.1 ฟีนอลฟ์ทาลีน อินดิเคเตอร์ (phenolphthalein indicator): เตรียมโดยละลายฟีนอลฟ์ทาลีน (phenolphthalein) 0.5 กรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ 95 % จนได้ปริมาณ 100 มิลลิลิตร

8.1.1.2 เมทิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์: เตรียมโดยละลายเมทิลออเรนจ์ 0.5 กรัม ในน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

8.1.1.3 เมทิลเรด อินดิเคเตอร์: เตรียมโดยละลายเมทิลเรด 0.5 กรัม ในน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

8.1.1.4 สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.2 นอร์มอล: เตรียมโดยค่อยๆ เทกรดซัลฟูริกเข้มข้น 6 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น (ที่ต้มเดือดใหม่ๆ แล้วเปิดฝาทิ้งให้เย็น) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

8.1.1.5 สารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนต 0.2 นอร์มอล: เตรียมโดยชั่งโซเดียมคาร์บอเนตซึ่งอบแห้งจำนวน 10.6 กรัม โดยอบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที หรือที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วทำให้เย็นในโถอบแห้ง จากนั้นละลายในน้ำกลั่นที่ต้มเดือดใหม่ๆ วางไว้ให้เย็นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

8.1.2 การตรวจหาความเข้มข้นของสารละลาย

8.1.2.1 ดูดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.2 นอร์มอล ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

8.1.2.2 หยดเมทิลเรด อินดิเคเตอร์ 5 หยด เขย่าให้เข้ากันจะได้สารละลายสีเหลือง

8.1.2.3 ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู

8.1.2.4 นำส่วนผสมทั้งหมดไปต้มจนเดือดเป็นเวลาประมาณ 3-5 นาที เพื่อไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้หมด สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอีกครั้ง

8.1.2.5 ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกต่อไปจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอีกครั้งหนึ่ง

8.1.2.6 บันทึกปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกทั้งหมดที่ใช้ไป

การคำนวณความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก โดยใช้สูตร

$$\text{ความเข้มข้น(นอร์มอล)} = \frac{0.2 \times 25}{\text{ปริมาตร(มิลลิลิตร)ของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้}}$$

หลังจากนั้นทำการปรับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.02 นอร์มอล โดยใช้สูตร

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

เมื่อ N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายที่จะปรับค่า

N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ

V_1 = ปริมาตรของสารละลายที่จะปรับค่า

V_2 = ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการ

8.1.3 วิธีการ

8.1.3.1 นำตัวอย่างน้ำ 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

8.1.3.2 หยดฟีนอลฟ์ทาลีน อินดิเคเตอร์ 10 หยด เขย่าให้เข้ากัน

ก. ถ้าสารละลายใส ให้ทำข้อ 8.1.3.3 ต่อไป

ข. ถ้าสารละลายสีชมพู จะต้องไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกจนกระทั่งสารละลายสีชมพูนั้นหายไป บันทึกปริมาตรที่ใช้ไป (นำไปรวมกับปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ไปในข้อ 8.1.3.4) ทำต่อไปในข้อ 8.1.3.3

8.1.3.3 หยดเมทิลออเรนจ์ 2-3 หยด เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายสีเหลือง

8.1.3.4 ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.02 นอร์มอล จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีส้ม จดปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ไปทั้งหมด

การคำนวณค่าความเป็นด่างของน้ำ โดยใช้สูตร

ค่าความเป็นด่างของน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

$$= \frac{\text{ปริมาตรของกรดซัลฟูริกที่ใช้} \times \text{นอร์มอลิตี้ของกรดซัลฟูริก} \times 50 \times 1{,}000}{\text{ปริมาตรของน้ำตัวอย่าง}}$$

8.2 การวิเคราะห์ความกระด้างของน้ำ (ตามวิธีการของ Boyd and Tucker, 1992)

8.2.1 สารเคมี

8.2.1.1 สารละลายบัฟเฟอร์ (buffer solution): เตรียมโดยละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) 67.5 กรัม ในแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น ปริมาตร 570 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้1 ลิตร

8.2.1.2 อีรีโอโครมแบล็กที (Eriochrome black T) อินดิเคเตอร์: เตรียมโดยละลายไฮดรอกซีลามีนไฮโดรคลอไรด์ (hydroxylamine hydrochloride, $H_2NOH.HCl$) 4.5 กรัม และอีรีโอโครมแบล็กที 0.50 กรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรให้ได้100 มิลลิลิตร

8.2.1.3 สารละลายมาตรฐานแคลเซียม 0.01 โมลาร์: เตรียมละลายแอนไฮดราสคาร์บอเนต (anhydrous $CaCO_3$) ปริมาณ 1 กรัม ในกรดเกลือเจือจาง (1:1) แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรประมาณ 200 มิลลิลิตร จากนั้นต้มให้เดือดนาน 5-10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วปรับค่าความเป็นกรดด่าง ของสารละลาย ให้ได้เท่ากับ 7 โดยใช้สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 3 นอร์มอล จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร

8.2.1.4 สารละลายมาตรฐานโซเดียมอีดีทีเอ (sodium EDTA) 0.01 โมลาร์: เตรียมโดยชั่งอีดีทีเอ 4 กรัม และแมกนีเซียมคลอไรด์ (magnesium chloride, $MgCl_26H_2O$) 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

8.2.2 การตรวจหาความเข้มข้นของสารละลาย

ดูดสารละลายสารละลายมาตรฐานแคลเซียม 0.010 โมล ปริมาตร 100 มิลลิลิตรใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติมอินดิเคเตอร์ อีรีโอโครมแบล็กที 8 หยด เขย่าให้เข้ากัน นำมาไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานอีดีทีเอ จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน บันทึกปริมาตรของสารละลายมาตรฐานอีดีทีเอที่ใช้ไป เพื่อนำมาคำนวณความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอีดีทีเอ (โมล) โดยใช้สูตร

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

เมื่อ N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายที่จะปรับค่า

N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ

V_1 = ปริมาตรของสารละลายที่จะปรับค่า

V_2 = ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการ

8.2.3 วิธีการ

8.2.3.1 นำตัวอย่างน้ำ 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ลิตร

8.2.3.2 เติมสารละลายบัฟเฟอร์ 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

8.2.3.3 เติมอินดิเคเตอร์ อีรีโอโครมแบล็กที 8 หยด เขย่าให้เข้ากัน

8.2.3.4 นำมาไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานอีดีทีเอ จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน จดปริมาตรของสารละลายมาตรฐานอีดีทีเอ ทั้งหมดที่ใช้ไป

การคำนวณค่าความกระด้างของน้ำ โดยใช้สูตร

ค่าความกระด้างของน้ำ (มิลลิกรัม$CaCO_3$ ต่อลิตร)

$$= \frac{\text{ปริมาตรของอีดีทีเอ} \times \text{โมลาริตี้ของอีดีทีเอ} \times 100.1 \times 1{,}000}{\text{ปริมาตรของน้ำตัวอย่าง}}$$

8.3 การวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียในน้ำ (ตามวิธีการของ Boyd and Tucker, 1992)

8.3.1 สารเคมี

8.3.1.1 สารละลายออกซิไดซิ่ง (oxidizing solution): ผสมน้ำยาซักผ้าขาว (มีคลอรีน 5%) 20 มิลลิลิตร กับน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร แล้วปรับค่าความเป็นกรดด่าง ให้อยู่ในช่วง 6.5-7 โดยใช้สารละลายกรดเกลือ (กรด 1 ส่วนต่อน้ำกลั่น 3 ส่วน) ควรเตรียมสารละลายออกซิไดซิ่งใหม่ ทุก 4-5 วัน

8.3.1.2 สารละลายฟีนอล: ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.5 กรัม และฟีนอล 10.0 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

8.3.1.3 สารละลายเกลือโรเชล (Rochelle): ละลายเกลือโรเชล ($KnaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$) 50 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วต้มให้เดือดเพื่อไล่แอมโมเนียที่อาจปนเปื้อนในเกลือ จนปริมาตรสารละลายเหลือประมาณ 70 มิลลิลิตร จึงทำให้เย็น จากนั้นเติม $MnSO_4.H_2O$ 50 มิลลิกรัม แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

8.3.1.4 สารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจน 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร: ขั้นแรกเตรียมสารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจนทั้งหมด (total ammonia-nitrogen หรือ TAN) เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) 1.9079 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจาง 5.0 มิลลิลิตร ของสารละลายมาตรฐาน TAN 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้สารละลายมาตรฐาน TAN 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ขั้นสุดท้ายเจือจาง 15 มิลลิลิตร ของสารละลายมาตรฐาน TAN 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐาน TAN 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

8.3.2 วิธีการ

8.3.2.1 กรองน้ำตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง GF/c

8.2.2.2 ใช้ปิเปตดูดน้ำตัวอย่างที่ผ่านการกรอง หรือสารละลายมาตรฐาน TAN 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หรือน้ำกลั่นมา 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดแก้วฝาเกลียว

8.3.2.3 เติมสารละลายเกลือโรเชล 1 หยด เขย่าให้สารละลายเข้ากัน เติมสารละลายออกซิไดซิ่ง 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายเข้ากัน จากนั้นเติมสารละลายฟีนอล 0.6 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายเข้ากัน

8.3.2.4 ปล่อยน้ำตัวอย่างไว้นาน 15 นาที เพื่อให้เกิดสี

8.3.2.5 นำน้ำตัวอย่าง และสารละลายมาตรฐาน ไปวัดค่าดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร

8.3.2.6 หาความเข้มข้นในน้ำตัวอย่าง ตามสูตรคำนวณดังนี้

$$Csp = \frac{Asp \times Csd}{Asd}$$

เมื่อ Csp = ความเข้มข้นของ TAN ในน้ำตัวอย่าง

Csd = ความเข้มข้นของ TAN ในสารละลายมาตรฐาน

Asp = ค่าการดูดกลืนแสงในน้ำตัวอย่าง

Asd = ค่าการดูดกลืนแสงในสารละลายมาตรฐาน