

### ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี

ภาคผนวก ก1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC., 2005

### วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ Memmert/USA
2. ถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิด (Moisture can)
3. โถดูดความชื้น (Desiccator)
4. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) ยี่ห้อ 240A Precisa Switzerland
5. ทีคีบ (Tongs)
6. ถุงมือ (Gloves)
7. ถาด (Tray)

### วิธีการวิเคราะห์

1. หาน้ำหนักที่คงที่ของถ้วยเปล่า โดยนำเข้าตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2-4 ชั่วโมง ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วนำเข้าอบใหม่ ดำเนินการเหมือนครั้งแรก จนได้น้ำหนักคงที่และบันทึกค่า (น้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไปไม่มากกว่า 1 มิลลิกรัม)

2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอนจำนวน 2 กรัม (บันทึกค่า) ใส่ลงในถ้วยที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้วเกลี่ยตัวอย่างออกอย่างสม่ำเสมอให้มีเนื้อที่ที่มากที่สุดที่จะทำได้

3. อบตัวอย่างในถ้วยหาความชื้นให้แห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-4 ชั่วโมง ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วนำตัวอย่างเข้าอบใหม่อีกครั้ง ครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักคงที่ (น้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไปไม่มากกว่า 1 มิลลิกรัม) บันทึกค่าน้ำหนักหลังอบที่แน่นอน

4. นำผลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณความชื้นดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (g)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (g)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)}} \times 100$$

ภาคผนวก ก2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ AOAC., 2005

### วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. เครื่องวิเคราะห์โปรตีน KJELTEC 2200 ยี่ห้อ FOSS
2. หลอดย่อยโปรตีน (Digestion tube)
3. ชุดกลั่นโปรตีน (Distillator)
4. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)
5. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
6. บิวเรตต์ (Burette)
7. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) ยี่ห้อ 240A Precisa Switzerland
8. ปิเปต (Pipette)
9. ปีกเกอร์ (Beaker)
10. ลูกยาง (Rubber bulb)
11. หลอดหยด (Dropper)

### สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc.  $H_2SO_4$ )
2. คอปเปอร์ซัลเฟต ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ )
3. โพตัสเซียมซัลเฟต ( $K_2SO_4$ )
4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
5. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl)
6. สารละลายกรดบอริก ( $H_3BO_3$ )
7. Methyl red ( $C_{15}H_{15}N_3O_2$ )
8. Bromocresol green ( $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$ )

### วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 1 กรัม
2. เติมคอปเปอร์ซัลเฟต 0.8 กรัม และโพตัสเซียมซัลเฟต 7 กรัม
3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 12 มิลลิลิตร และเขย่าเบาๆ เพื่อให้ท่วมตัวอย่าง
4. ใส่หลอดย่อยใน Rack ปิดฝาหลอดย่อยด้วย Exhaust system เปิดสวิตช์ชุดจับไอกรด (Scrubber unit) เปิดสวิตช์เครื่องย่อย (Digester) ตั้งอุณหภูมิที่ 420 องศาเซลเซียส
5. ย่อยจนได้สารละลายสีฟ้าใสในตู้ดูดควัน (ใช้เวลาประมาณ 30-60 นาที) ยก Rack หลอดย่อยขึ้นพักไว้บน Stand (ยังไม่ต้องเปิดฝาหลอดย่อย) ทิ้งให้เย็น
6. นำขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ไปตั้งทิ้งไว้ที่ตำแหน่งรองรับของเครื่องกลั่นและเลื่อนฐานขึ้นให้ปลายแท่งแก้วจุ่มอยู่ใต้สารละลาย รองรับสิ่งที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดบอริกเข้มข้น

ร้อยละ 4 ปริมาตร 25-30 มิลลิลิตร ที่ผสม Indicator ระหว่าง Methyl red 0.1 กรัม ผสมกับ Bromocresol green เรียบร้อยแล้ว

7. นำหลอดกลั่นใส่ให้ตรงกับหัวกลั่นแล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 80 มิลลิลิตรและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปิด Safety door เครื่องจะทำงานทันที  
**หมายเหตุ:** ก่อนจะเปิด Cooling bath ตั้งอุณหภูมิที่ 10-15 องศาเซลเซียส Warm เครื่องกลั่น ด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง โดยไม่ต้องเติม NaOH และ Boric acid และทำเช่นเดียวกันเมื่อเสร็จสิ้นการทดลองทุกครั้ง

8. กลั่นไปประมาณ 4 นาที (สารละลายใน Flask รองรับจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว) ล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงใน Flask รองรับ

9. ทำการไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.1 N จนได้สีชมพู (จุดยุติ) บันทึกปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้

10. ทำ Blank ด้วยวิธีการเดียวกันตั้งแต่ข้อ 2-10

11. นำผลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณโปรตีนดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละ)} = \frac{T-B \times 14.007 \times 100 \times N}{W}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \% \text{ไนโตรเจน} \times 6.25$$

โดย T = ปริมาตรการไทเทรตตัวอย่าง

B = ปริมาตรการไทเทรต blank

N = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก

W = น้ำหนักตัวอย่าง (mg)

## ภาคผนวก ก3 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ตามวิธีของ AOAC., 2005

### วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. ชุดวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Soxtec) ยี่ห้อ Soxtec 2050 Auto Extraction Unit/Sweden
2. หลอดบรรจุตัวอย่าง (Thimble) พร้อมที่จับ (Thimble holder)
3. ถ้วยสกัด (Extraction cup) พร้อมที่จับ (Extraction holder)
4. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ Memmert/USA
5. โถดูดความชื้น (Desiccator)
6. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) ยี่ห้อ 240A Precisa Switzerland
7. ถุงมือ (Gloves)
8. ถาด (Tray)

### สารเคมี

เฮกเซน

### วิธีการวิเคราะห์

1. เปิดเครื่องทำน้ำเย็น (Cooling bath) ควบคุมอุณหภูมิที่ 12-15 องศาเซลเซียส
2. Warm เครื่อง Soxtec โดยกดเปิดปุ่ม Power ปรับอุณหภูมิและตั้งโปรแกรมการทำงานตามชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ ถ้าใช้ Hexane (Over temp. = 210 °C, Hot plate = 155 °C, Boiling time = 45min, Rinse = 15 min, Recovery = 15 min, Pre-drying = 30 min) ถ้าใช้ Petroleum (Over temp. = 210 °C, Hot plate = 135 °C, Boiling time = 45 min, Rinse = 15 min, Recovery = 15 min, Pre-drying = 30 min)
3. Pre-heat hot plate โดยกดปุ่ม
4. ชั่งตัวอย่างอาหารที่อบแห้งและบดละเอียดแล้ว 1 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ใน Thimble (ตัวอย่างที่มีความชื้น นำไปอบให้แห้งใน Hot air oven ที่ 110 องศาเซลเซียส, 20 นาที)
5. นำ Thimble มาใส่ในตัวเครื่อง Soxtec ด้วย Thimble holder
6. เติมตัวทำละลายประมาณ 50 มิลลิลิตร ลงใน Extraction cup ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน (ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส, 2 ชั่วโมง) นำไปต่อเข้ากับ Condenser
7. กดที่ปุ่ม Start 1 ครั้ง โดยตัวโปรแกรมจะเริ่มทำงานตั้งแต่ขั้นตอน Boiling จนถึงขั้นตอน Pre-drying
8. เมื่อครบเวลาการทำงานนำ Extraction cup ออบใน Hot air oven ที่อุณหภูมิ  $100 \pm 3$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จนมีน้ำหนักคงที่
9. นำตัวทำละลายออกจากเครื่องใส่ในขวดตัวทำละลายที่ใช้แล้ว
10. คำนวณหาปริมาณไขมันที่สกัดได้ตั้งสมการต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณไขมันของตัวอย่าง (ร้อยละ)} = \frac{(W_1 - W_2)}{W} \times 100$$

โดย  $W_1$  = น้ำหนักของ Extraction cup และน้ำหนักไขมันที่สกัดได้ภายหลังการอบแห้งแล้ว (กรัม)

$W_2$  = น้ำหนักของ Extraction cup ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (กรัม)

$W$  = น้ำหนักของตัวอย่างอาหาร (กรัม)

ภาคผนวก ก4 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AOAC., 2005

#### วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ Memmert/USA
2. เตาไฟฟ้า (Electric burner)
3. เตาเผา (Muffle furnace) ยี่ห้อ F 6010/Thermolyne/USA
4. โถดูดความชื้น (Desiccator)
5. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) ยี่ห้อ 240A Precisa Switzerland
6. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Crucible)
7. ที่คีบ (Tong)
8. ถุงมือ (Gloves)
9. ถาด (Tray)

#### วิธีการวิเคราะห์

1. อบ Crucible ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของ Crucible

2. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างประมาณ 4-6 กรัม ใส่ลงไปใน Crucible แล้วนำไปเผาไฟอ่อนๆ บน Electric burner จนหมดควัน

3. นำตัวอย่างที่ได้ไปเผาในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ  $550 \pm 20$  องศาเซลเซียส เป็นเวลานานประมาณ 2-3 ชั่วโมง จนกระทั่งได้เถ้าสีขาวหรือเทา (ถ้ายังเป็นสีดำให้นำออกมาหยดน้ำกลั่นลงไปให้ท่วมแล้วเผาต่อจนกระทั่งได้เถ้าสีขาว)

4. นำออกมालดอุณหภูมิใน Hot air oven ที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาใส่ใน Desiccator ทิ้งไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้องแล้วนำไปชั่ง เเผตัวอย่างซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักต่างกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม จากนั้นนำมาคำนวณหาเถ้าด้วยสมการดังนี้

$$\text{ปริมาณเถ้าของตัวอย่าง (ร้อยละ)} = \frac{(W_2 - W)}{(W_1 - W)} \times 100$$

โดย  $W_1$  = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)

$W_2$  = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่างหลังจากเผาจนได้น้ำหนักคงที่ (กรัม)

$W$  = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ (กรัม)

ภาคผนวก ก5 การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย ตามวิธีของ AOAC., 2005

### วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. ชุดวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย (Fiber tec) ยี่ห้อ 1020 Kjelttec/Foss/Sweden
2. เครื่องให้ความร้อน (Hot plate)
3. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ Memmert/USA
4. เตาเผา (Muffle furnace) ยี่ห้อ F 6010/Thermolyne/USA
5. โถดูดความชื้น (Desiccator)
6. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) ยี่ห้อ 240A Precisa Switzerland
7. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Crucible)
8. ปีกเกอร์ (Beaker)

### สารเคมี

1. Celite
2. กรดซัลฟิวริก ( $H_2SO_4$ )
3. Octanol ( $C_8H_{18}O$ )
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
5. อะซิโตน ( $C_3H_6O$ )

### วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม และชั่ง Celite 1 กรัม เพื่อช่วยในการกรองแล้วนำเข้าเครื่อง Fiber extraction unit ในส่วน Hot extraction
2. Hot extraction step 1: วาง Crucible ในช่อง เติม  $H_2SO_4$  ร้อยละ 1.25 ที่ร้อนประมาณ 150 มิลลิลิตร และหยด Octanol 2-4 หยด เพื่อป้องกันการ Foaming ต้มให้เดือดและจับเวลา 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ร้อน 30 มิลลิลิตร 3 ครั้ง แต่แต่ละครั้งต้องระบายน้ำออกด้วย
3. Hot extraction step 2: เติม NaOH ร้อยละ 1.25 ที่ร้อน 150 มิลลิลิตรและหยด Octanol 2-3 หยด เพื่อป้องกันการ Foaming ต้มให้เดือดและจับเวลา 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ร้อน 30 มิลลิลิตร 3 ครั้ง แต่แต่ละครั้งต้องระบายน้ำออกด้วย
4. นำ Crucible เข้า Cold extraction เติม Acetone 25 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 10 นาที กรองแล้วทำซ้ำอีกครั้ง
5. นำ Crucible เข้า Hot air oven เพื่อระเหย Solvent และ Dry crucible ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง จากนั้นนำ Crucible มาเข้า Furnace ที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำมาลดอุณหภูมิให้ได้ ประมาณ 250 องศาเซลเซียสใน Hot air oven จากนั้นนำมาเข้า Desiccator และชั่งน้ำหนัก

6. จากนั้นนำมาคำนวณหาปริมาณใยอาหารดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณเส้นใยของตัวอย่าง (ร้อยละ)} = \frac{W_2 - W_3}{W_1} \times 100$$

โดย  $W_1$  = น้ำหนักตัวอย่าง

$W_2$  = น้ำหนัก Crucible + น้ำหนักตัวอย่างก่อน

$W_3$  = น้ำหนัก Crucible + น้ำหนักตัวอย่างหลัง

ภาคผนวก ก6 การวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก ตามวิธีของ AOAC., 2006

### วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) รุ่น N066-1298/ USA
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Crucible)
3. เตาเผา (Muffle furnace) ยี่ห้อ F 6010/Thermolyne/USA
4. เครื่องให้ความร้อนที่หมุนได้ (hot plate stirrer)
5. กระจกนาฬิกา
6. เตาไฟฟ้า (Electric burner)

### สารเคมี

1. กรดไนตริก ( $\text{HNO}_3$ )
2. กรดไฮโดรคลอริก (HCl)

### การเตรียมตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณเหล็ก ด้วยเครื่อง AAS

1. ชั่งตัวอย่างแบ่ง 15 กรัม ใส่ Crucible นำไปเผาไฟอ่อนๆบน Electric burner จนหมดควัน
2. นำตัวอย่างไปเผาในเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส จนเป็นสีเทาหรือสีขาว
3. นำเอาที่ได้ มาเติม 6M HCl ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้ทั่ว แล้วเผาบน hot plate (ใน Hood) จนแห้ง
4. เติม 0.1M  $\text{HNO}_3$  15 มิลลิลิตร ใส่ในตัวอย่างผสมให้ทั่ว แล้วตั้งทิ้งไว้ 1-2 ชั่วโมง ปิดด้วยกระจกนาฬิกา
5. นำไป Stir ด้วย Magnetic bar นาน 5 นาที
6. นำสารละลายที่ได้ใส่ในขวดที่เตรียมไว้ เพื่อไปวิเคราะห์ปริมาณเหล็กด้วยเครื่อง AAS ต่อไป

### วิธีการใช้เครื่อง AAS แบบ Flame (ภาพที่ ก-1)

1. ก่อนเปิด Power sw. ต้องตรวจดูสายต่าง ๆ ว่าต่อครบหรือไม่
2. เลือกตัวอย่างที่ต้องการวัด และใส่ตัวอย่างไว้ ที่
3. กด Power sw. ไปที่ on ถ้าติดจะมีไฟสีเขียวสว่าง แล้วรอสักครู่ภาพที่จอจะแสดง element select
4. ใส่วันเดือนปีให้เรียบร้อยโดยกดปุ่มตัวเลขจากนั้นกดปุ่ม YY/mm/dd
5. กดปุ่ม set up แล้วรอสักครู่เครื่องจะตรวจหา wavelength โดยอัตโนมัติ จากนั้นปรับปุ่มที่ใส่ lamp แล้วดู bar graph ที่จอ ซึ่งแสดงค่า energy ของหลอดปรับจนได้ค่า energy ที่สูงที่สุด แล้วกด ปุ่ม gain จะเห็น bar graph ลดลงจากนั้นให้ปรับ energy ใหม่จนได้ค่าที่สูงที่สุดแล้วกดปุ่ม gain อีกครั้ง bar graph จะต้องอยู่ในขีดแรก

6. ในกรณีที่ต้องการ set wavelength ใหม่ให้กดตัวเลขของ wavelength ที่ต้องการแล้วกดปุ่ม wavelength แล้วรอสักครู่ (ใช้ในกรณีที่ทดลองมีหลาย wavelength เท่านั้น )
7. กดปุ่ม prog. แล้วเลือก signal process ไปที่ Hold (ใน Flame ต้องเลือกที่ Hold เท่านั้น) และตั้ง Integration time ให้มีค่าประมาณ 3 sec
8. กดปุ่ม cont จากนั้นลองปรับตำแหน่ง burner ให้ได้ตำแหน่งที่ดีที่สุดโดยใช้กระดาษวางตรง burner เราจะเห็นแสงที่กระดาษจากนั้นลองเลื่อนกระดาษไปตามแนวของ burner สังเกตแสงที่กระดาษโดยตำแหน่งที่ดีที่สุดของ burner คือตำแหน่งที่ลำแสงเป็นเส้นตรงกว้างประมาณ 1 cm. และสูงจาก burner ประมาณ 1 cm. (แสงควรอยู่ใต้วงสี่เหลี่ยมตลอดแนว burner แสดงว่าใช้ได้)
9. เปิดแก๊สอะเซทิลีนและ air pump อะเซทิลีนควรมี pressure ประมาณ 30 psi. และ air pump ควรมี pressure ประมาณ  $5 \text{ Kg/cm}^2$
10. กดปุ่ม Flame แล้วรอสักครู่พอมီးเปลวไฟให้กดปุ่ม cont. จากนั้นให้ดู std. ตัวใดตัวหนึ่งแล้วลองปรับ nebulizer ให้พ่นฟองออกมาก่อน จากนั้นค่อยปรับ nebulizer ให้ได้ค่า abs ที่แสดงบนจอมีค่าสูงที่สุดแล้วหมุนแหวนล็อกเข้ามาเพื่อไม่ให้ตำแหน่งของ Nebulizer เปลี่ยน
11. กดปุ่ม run แล้วดู blank รอสักครู่แล้วกดปุ่ม auto zero แล้วรอจน ready ขึ้นบนจอค่อยเอา blank ออก
12. ใส่สายยางเพื่อดูดสารละลายในสารละลาย Std.1 แล้วกดปุ่ม Std.1 รอจน ready แล้วเอา Std.1 ออก
13. ใส่สายยางเพื่อดูดสารละลายในสารละลาย Std.2 แล้วกดปุ่ม Std.2 รอจน ready แล้วเอา Std.2 ออก
14. ทำเหมือนข้อ 12-13 จนได้ค่า Std. ครบทุกตัวจากนั้นลองกดปุ่ม Display calibrate จะเห็น curve ของ Std. ที่วัด
15. ใส่สายยางเพื่อดูดสารละลายในสารตัวอย่างแล้วกด read รอจนค่าที่อ่านได้ขึ้นบนจอจดด้านขวาที่ได้เป็น Conc.
16. ถ้าต้องการ print ข้อมูลของการวิเคราะห์ให้กดปุ่ม print on



ภาพที่ ก-1 เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS)

## ภาคผนวก ก7 การวิเคราะห์ปริมาณอะไมโลส ตามวิธีของ Juliano, 1971

### วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (UV-spectrophotometer)
2. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)
3. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

### สารเคมี

1. เอทานอล ( $C_2H_5OH$ )
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
3. กรดอะซิติก ( $CH_3COOH$ )
4. สารละลายไอโอดีน ( $I_2/KI$ )
5. สารมาตรฐานอะไมโลส

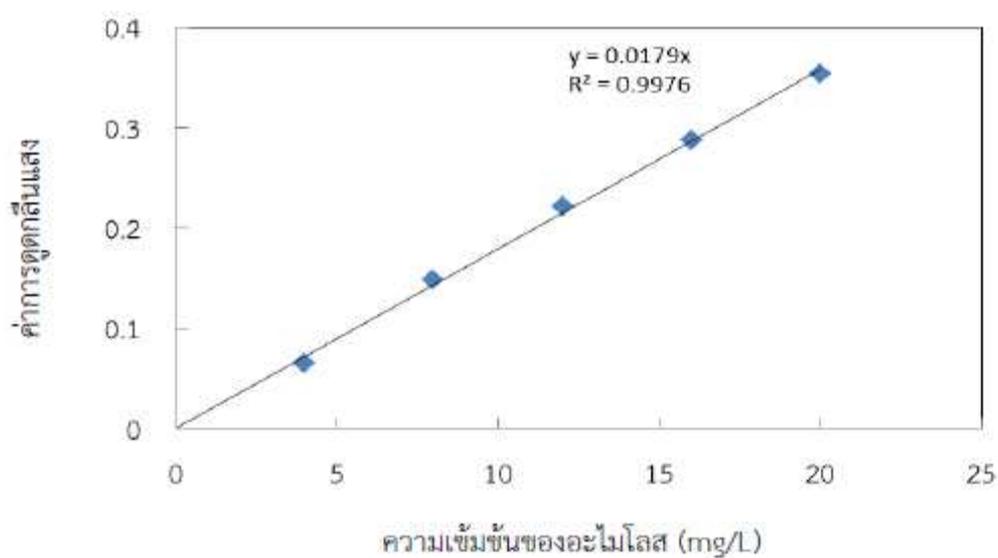
### วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างแห้ง 100 มิลลิกรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ที่แห้งสนิท
2. เติมเอทานอล ร้อยละ 95 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าขวดเบาๆ เพื่อเกลี่ยแบ่งให้กระจายออก
3. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 N ปริมาตร 9 มิลลิลิตร
4. นำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
5. ปิเปตน้ำแบ่งจำนวน 5 มิลลิลิตร ด้วยปิเปตขนาด 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดที่เตรียมไว้
6. เติมน้ำกลั่นประมาณ 70 มิลลิลิตร เติมกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 N ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติมสารละลายไอโอดีนปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร
7. เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ปิดจุกเขย่าขวดแก้วและตั้งทิ้งไว้ 20 นาที
8. ทำแบล็งค์ (blank) เช่นเดียวกับข้อ 5-7 แต่ใช้น้ำกลั่นแทนน้ำแบ่ง
9. วัดความเข้มสีของสารละลายด้วยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร อ่านค่าดูดกลืนแสง (absorbance) โดยปรับค่าดูดกลืนแสงของแบล็งค์ให้มีค่าเป็นศูนย์ นำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่าปริมาณอะไมโลสเทียบกับกราฟมาตรฐาน

### การเตรียมกราฟอะไมโลสมาตรฐาน

1. ชั่งอะไมโลสบริสุทธิ์ 40 มิลลิกรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วดำเนินการเช่นเดียวกับวิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างในข้อ 2-4 เพื่อให้ได้เป็นสารละลายอะไมโลสมาตรฐาน
2. เตรียมขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จำนวน 5 ขวด ปิเปตสารละลายอะไมโลสมาตรฐาน ปริมาตร 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ

3. เติมกรดอะซิติก 1 N ปริมาตร 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, และ 1.0 มิลลิลิตร ตามลำดับ
4. เติมน้ำกลั่นประมาณขวดละ 70 มิลลิลิตร และเติมสารละลายไอโอดีนปริมาตร 2 มิลลิลิตร
5. เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร และเขย่าให้สารละลายเข้ากัน และตั้งทิ้งไว้ นาน 20 นาที
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร และเขียนกราฟระหว่างปริมาณอะไมโลส (คิดเป็นร้อยละ 8, 16, 24, 32, และ 40) กับค่าการดูดกลืนแสง ดังภาพที่ ก-2



ภาพที่ ก-2 กราฟมาตรฐาน (standard curve) ของสารละลายอะไมโลสบริสุทธิ์

## ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ

## ภาคผนวก ข1 การวัดค่าสี

### วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวัดค่าสี

1. เครื่องวัดค่าสี Handy colorimeter รุ่น NR-3000/Japan
2. จานเพาะเชื้อ (Plate)

การวัดสีของตัวอย่างจะวัดด้วยเครื่องวัดค่าสี NR 3000 Handy Colorimeter ด้วยระบบสีของ (Hunter Color System) ซึ่งประกอบด้วยตัวแปรของสี 3 ตัว คือ

L คือ ค่าความแตกต่างของสี ซึ่งมีค่าจาก 0 คือ สีดำ ถึง 100 คือ สีขาว

a คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียว และสีแดงที่อยู่ในตัวอย่าง โดยค่า a เป็นบวก แสดงถึงค่าความเป็นสีแดง ค่า a เป็นลบ แสดงถึงค่าความเป็นสีเขียว

b คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงินที่อยู่ในตัวอย่าง โดยค่า b เป็นบวก แสดงถึงค่าความเป็นสีเหลือง ค่า b เป็นลบ แสดงถึงค่าความเป็นสีน้ำเงิน

### วิธีการวัดค่าสี

1. นำตัวเครื่องทาบกับจานเพาะเชื้อใส่แล้วกดปุ่มที่มีรูปดวงไฟจนกว่าไฟสีน้ำเงินจะดับ
2. ตัวเลขจะปรากฏขึ้น ทำการบันทึกค่าสี L, a และ b ที่ได้

## ภาคผนวก ข2 การวัดความหนืด

### วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวัดค่าสี

1. เครื่องวัดความหนืด Rapid Viscosity Analyzer (RVA)

### วิธีการวัดความหนืด

1. ชั่งตัวอย่างแป้ง 3.00 กรัม (ที่ความชื้นร้อยละ 14) หรือคำนวณจากความชื้นที่หาได้จริงให้ได้น้ำหนักแห้ง 2.58 กรัม และนำกลั่นลงในกระบอกอะลูมิเนียมสำหรับวิเคราะห์ความหนืดด้วยเครื่อง RVA
2. ใส่ใบกวนลงในกระบอกอะลูมิเนียมสำหรับวิเคราะห์ความหนืด หมุนขึ้นลงจนไม่เห็นตัวอย่างจับเป็นก้อนบนผิวน้ำ หรือติดใบกวน
3. นำกระบอกอะลูมิเนียมสำหรับวิเคราะห์ความหนืดพร้อมใบกวนวางไว้ในตำแหน่งที่ใช้ทดสอบของเครื่อง Rapid visco analyzer : RVA และยึดใบกวนไว้กับที่ยึดได้มอเตอร์โดยให้ใบกวนสามารถหมุนได้อย่างอิสระไม่ติดขอบของกระบอกอะลูมิเนียมสำหรับวิเคราะห์ความหนืด
4. เริ่มทำการวิเคราะห์โดยเลือกรูปแบบ std1 (ตารางผนวกที่ ข1) และกดมอเตอร์ลงเมื่ออุณหภูมิของตัวอย่างเท่ากับ  $50 \pm 1$  องศาเซลเซียส และสิ้นสุดการวิเคราะห์ที่เวลา 13 นาที

### ตารางที่ ข-1 แสดงรายละเอียดของรูปแบบ std1 สำหรับวิเคราะห์ความหนืดด้วยเครื่อง RVA

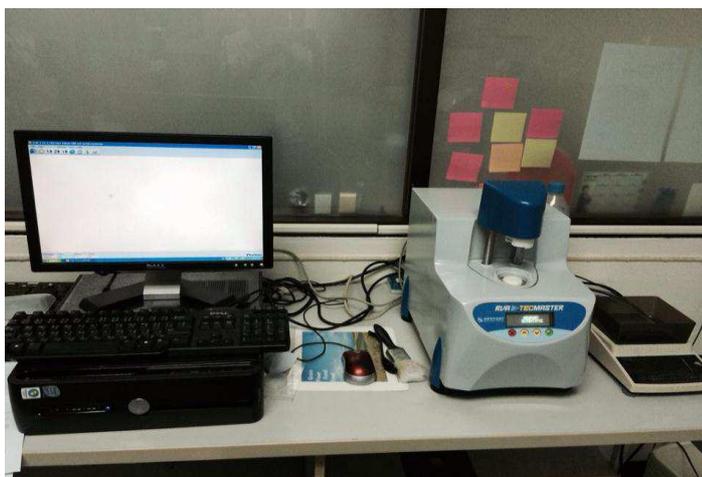
visco analyzer : RVA Time	Type	Value
00:00:00	Temp 50	50
00:00:00	Speed 960	960
00:00:10	Speed 160	160
00:01:00	Temp 50	50
00:04:45	Temp 95	95
00:01:00	Temp 95	95
00:01:00	Temp 50	50

### การวิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ผลโดยเลือกการแสดงผลการวิเคราะห์แบบ std1 ซึ่งแสดงค่าต่างๆ ดังนี้

1. ความหนืดสูงสุด ได้แก่ ความหนืดสูงสุดขณะที่ หรือภายหลังจากการได้รับความร้อนระหว่างทดสอบ มีหน่วยเป็น RVU
2. เวลาที่เกิดความหนืดสูงสุด ได้แก่ เวลาที่ความหนืดสูงสุดปรากฏขึ้น มีหน่วยเป็นนาที
3. อุณหภูมิที่เริ่มมีความหนืด ได้แก่ อุณหภูมิแรกที่มีความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างน้อย 2 RVU ภายในเวลา 20 วินาที มีหน่วยเป็น องศาเซลเซียส

4. ความหนืดต่ำสุดขณะร้อน ได้แก่ ความหนืดที่น้อยที่สุดหลังจากที่เกิดความหนืดสูงสุด ซึ่งมักจะเป็นบริเวณที่เริ่มลดอุณหภูมิลง มีหน่วยเป็น RVU
5. Breakdown ได้แก่ ผลต่างระหว่างความหนืดสูงสุดกับความหนืดต่ำสุดขณะร้อน มีหน่วยเป็น RVU
6. ความหนืดสุดท้าย ได้แก่ ความหนืดสุดท้ายเมื่อสิ้นสุดการวิเคราะห์ มีหน่วยเป็น RVU
7. ค่าการคืนตัว ได้แก่ ผลต่างระหว่างความหนืดสุดท้ายกับความหนืดต่ำสุดขณะร้อน มีหน่วยเป็น RVU



ภาพที่ ข-1 เครื่องวัดความหนืด Rapid visco analyzer : RVA

## ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์คุณสมบัติเชิงหน้าที่

ภาคผนวก ค1 การวัดค่าดัชนีการละลายและดัชนีการดูดซับน้ำ ตามวิธีของ Bryant et al., 2001

### วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. หลอดหมุนเหวี่ยง (Centrifuge tube)
2. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) ยี่ห้อ 240A Precisa/Switzerland
3. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ Beckman/USA
4. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ Memmert/USA
5. แ่งแก้ว
6. ถ้วยอะลูมิเนียม

### วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างแห้ง 2.5 กรัม ใส่ลงในหลอดหมุนเหวี่ยงที่มีฝาและทราบน้ำหนักที่แน่นอน
2. เติมน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้แ่งแก้ว คนทุก ๆ 5 นาที เป็นเวลา 30 นาที
3. นำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 2200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที
4. เทส่วนใสลงในถ้วยอะลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนัก นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักที่คงที่
5. ส่วนหลอดหมุนเหวี่ยงพร้อมแ่งที่เหลือในหลอดนำไปชั่งน้ำหนัก
6. นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าดัชนีการละลายและดัชนีการดูดซับน้ำ ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ดัชนีการละลายน้ำ} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างส่วนที่ละลายน้ำ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

$$\text{ดัชนีการดูดซับน้ำ} = \frac{(\text{น้ำหนักหลอดหมุนเหวี่ยงพร้อมตะกอน} - \text{น้ำหนักหลอดหมุนเหวี่ยง})}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$



**ชื่อ-นามสกุล** นางสาวณัฐกานต์ เกตุคุ้ม  
**ตำแหน่งปัจจุบัน** นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ  
**หน่วยงานและสถานที่ติดต่อ** สำนักพัฒนาศักยภาพนักวิทยาศาสตร์ห้องปฏิบัติการ  
 กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี  
 75/7 อาคารสถานศึกษาเคมีปฏิบัติ กรมวิทยาศาสตร์บริการ  
 ถ.พระราม 6 เขตราชเทวี แขวงพญาไท กรุงเทพมหานคร 10400  
 เบอร์โทรศัพท์ 02-2017435 มือถือ 081-4922774  
 E-mail: natthakarn@dss.go.th

### **ประวัติการศึกษา**

Ph.D. (Analytical Environmental Chemistry) University of Southampton, Southampton, United Kingdom

M. Sc. (Environmental science) Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

B. Sc. (Environmental science) Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

### **ผลงานวิจัยที่ได้นำเสนอระดับชาติและนานาชาติ**

1. “The Role of Colloidal Phase in the Measurement of Pollutants in Natural Waters”. Poster presentation at Analytical Chemistry symposium, July 2009. Plymouth, United Kingdom
2. “Adsorption of Cyanide Ion in Synthetic Wastewater by Diatomaceous Earth”. Chulalongkorn University, March 2002, Bangkok, Thailand.
3. “The Management of Necessary Information and Raise Awareness on the Imported and Formulated Pesticides Use in Thailand”. โดย Swedish International Development Cooperation Agency (Sida) และ Swedish Chemicals Agency (KEMI)., March 2014, Stockholm, Sweden
4. “The Management of Necessary Information and Raise Awareness on the Imported and Formulated Pesticides Use in Thailand”. โดย Swedish International Development Cooperation Agency (Sida) และ Swedish Chemicals Agency (KEMI)., November 2014, Phnom Penh, Cambodia
5. “การศึกษานำร่องสถานภาพด้านความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ (Pilot study of laboratory safety status for laboratory workers)” Bulletin of Applied Sciences. Vol.3 No.3 August 2014. pp. 120-129.
6. “การศึกษานำร่องสถานภาพด้านความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ (Pilot Study of Laboratory Safety Status for Laboratory Workers)” โปสเตอร์ในกิจกรรม “Thailand Research Symposium 2014” ซึ่งจัดขึ้นระหว่างงาน “มหกรรมงานวิจัยแห่งชาติ 2557 (Thailand Research Expo 2014)” ในระหว่างวันที่ 7-11 สิงหาคม 2557 ณ โรงแรมเซ็นทาราแกรนด์ และบางกอกคอนเวนชันเซ็นเตอร์ เซ็นทรัลเวิลด์ กรุงเทพฯ
7. “กลยุทธ์การจัดการสารเคมีในห้องปฏิบัติการ (Strategies for Chemical Management in Laboratory)” โปสเตอร์ ในงานประชุมด้านเทคโนโลยีและเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ Thailand Lab. 2014 ณ ไบเทค บางนา ระหว่างวันที่ 17-19 กันยายน 2557