

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

ก-1 ปริมาณความชื้น (AOAC, 1990)

1. อุปกรณ์

- 1) ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Memmert, ULE 560, Germany)
- 2) โถดูดความชื้น (Desicator)
- 3) ภาชนะอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น (Sartorius, AC211S, Germany)
- 4) เครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียด 4 ตำแหน่ง (Sartorius)

2. วิธีวิเคราะห์

- 1) อบภาชนะอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้นในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบ ทิ้งให้เย็นจนภาชนะของอุณหภูมิลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
- 2) นำภาชนะอลูมิเนียมไปอบซ้ำ ชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอน (แตกต่างกันไม่เกิน 0.05 กรัม)
- 3) ชั่งตัวอย่างอาหารที่ต้องการหาความชื้นให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 5 กรัม บันทึกของน้ำหนักของตัวอย่างอาหารที่ชั่งได้ ใส่ตัวอย่างอาหารลงในภาชนะอลูมิเนียมจนได้น้ำหนักที่คงที่ แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบ ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักของภาชนะพร้อมตัวอย่าง จากนั้นนำไปอบซ้ำในตู้อบลมร้อนจนได้น้ำหนักคงที่ โดยผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งไม่เกิน 0.05 กรัม

3. การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ฐานเปียก)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}) (\text{กรัม}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}}$$

ก-2 ปริมาณเหล็ก (ดัดแปลงจาก AOAC, 1990)

สารเคมี

- 1) KMnO_4 0.1 N
- 2) 6M HCl
- 3) $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
- 4) 2.0 F H_2SO_4
- 5) H_3PO_4
- 6) $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- 7) HgCl_2
- 8) HCl
- 9) $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$

การเตรียมสารเคมี

สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตเข้มข้น 0.1 N

- 1) ชั่ง KMnO_4 ประมาณ 1.6 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- 2) ถ่าย KMnO_4 ลงในปิกรอร์ขนาด 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร เติมน้ำกลั่นประมาณ 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- 3) ใช้กระจกนากปิดฝาปิกรอร์ไว้ ต้มสารละลายจนเดือดเบาๆ เป็นเวลา 15–30 นาที ทิ้งสารละลายไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
- 4) กรองสารละลายผ่านกรวยกรองที่มีใยแก้วหรือสำลีดูดไว้ที่ก้านกรวย หรือจะ กรองผ่านเบ้ากูช (Cooch) ก็ได้
- 5) เก็บสารละลายที่กรองได้ไว้ในขวดสีชา แล้วเก็บไว้ในที่มืด

สารละลายปฐมภูมิโซเดียมออกซาลेट

- 1) นำโซเดียมออกซาลेटชนิด A.R. grade มาอบที่อุณหภูมิ 105–110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น
- 2) นำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียดให้ได้น้ำหนักประมาณ 0.6700 กรัม
- 3) นำโซเดียมออกซาลेटที่ชั่งได้มาละลายในน้ำกลั่นที่บริสุทธิ์ ปรับปริมาตรเป็น 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยใช้ขวดวัดปริมาตร
- 4) คำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมออกซาลेटที่เตรียมได้จากน้ำหนักที่ชั่งได้

สารละลาย SnCl₂

ชั่ง SnCl₂ • 2H₂O มา 30 กรัม ละลายในกรดเข้มข้น 100 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร

สารละลายซิมเมอร์มาน เรนฮาร์ด

ชั่ง MnSO₄ • H₂O มา 50 กรัม ละลายในน้ำ 250 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายผสม (H₂SO₄ เข้มข้น 100 มิลลิลิตร กับน้ำ 300 มิลลิลิตร และ H₃PO₄ เข้มข้น 100 มิลลิลิตร)

การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย KMnO₄ โดยการไทเทรตกับ Na₂C₂O₄

- 1) ปิเปตสารละลาย Na₂C₂O₄ มา 25.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ลงในขวดรูปพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม 2.0 F H₂SO₄ 75 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
- 2) ไทเทรตสารละลายด้วย KMnO₄ พร้อมทั้งเขย่าไปด้วยจนสารละลายมีสีชมพูอ่อน เมื่อวางทิ้งไว้สีชมพูจะจางหายไปนำสารละลายไปอุ่นให้มีอุณหภูมิประมาณ 50–60 องศาเซลเซียส
- 3) นำมาไทเทรตกับ KMnO₄ จนกระทั่งเกิดสีชมพูขึ้นอีก และไม่จางหายไปภายใน 30 วินาที
- 4) ทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง ให้คำนวณหาความเข้มข้นของสารละลาย KMnO₄ เป็นนอร์มอล

การเตรียมตัวอย่าง

- 1) ชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 10 กรัม อบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ใส่ในครุชชีเบิ้ล
- 2) เผาตัวอย่างเพื่อไล่ควันในตู้ดูดควัน จนกระทั่งไม่มีควันสีดำ แล้วนำตัวอย่างไปเผาต่อในเตาเผาจนกระทั่งได้เถ้าสีขาว
- 3) ละลายเถ้าด้วยกรด HCL เข้มข้น 100 มิลลิลิตร แล้วต้มจนสารละลายมีสีเหลือง
- 4) กรองสารละลายผ่านกระดาษกรอง

การหาปริมาณของเหล็กโดยไทเทรตกับเปอร์แมงกาเรต

- 1) ปิเปตตัวอย่างสารละลายที่เตรียมไว้มา 25 มิลลิลิตรจากน้ำหนัก 10 กรัม อุ่นที่อุณหภูมิ 70–90 องศาเซลเซียส เติม สารละลาย SnCl_2 เข้มข้นที่ละลายจากปิเปตหรือบิวเรต พร้อมกับคนสารละลายให้เข้ากันด้วย จนกระทั่งสีเหลืองจางลงจนเกือบจะหายไป
- 2) ทำการรีดิวซ์ต่อให้สมบูรณ์ โดยใช้สารละลาย SnCl_2 ที่เจือจาง (เตรียมโดยใช้ SnCl_2 เข้มข้น 1 ส่วน เติม 6 M HCl 2 ส่วน) เติมต่อไปอีกทีละหยด จนกระทั่งสารละลายเป็นสีเขียวอ่อนมากๆ จนถึงใสไม่มีสี (สารละลายจะต้องปราศจากสีเหลืองของ Fe^{3+})
- 3) เมื่อรีดิวซ์เสร็จแล้วทำให้สารละลายเย็นลงที่ 20 องศาเซลเซียส ทันทันทีโดยไม่ให้สัมผัสกับอากาศ
- 4) เติมสารละลาย Hg_2Cl_2 ที่อิ่มตัว (ประมาณ 5%) 10 มิลลิลิตร อย่างรวดเร็วพร้อมกับคนสารละลาย จะปรากฏตะกอนสีขาวของ Hg_2Cl_2 ที่อิ่มตัว
- 5) ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ถ่ายสารละลายทั้งหมดลงในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร เติมน้ำ 400 มิลลิลิตร เติมสารละลายซิมเมอร์มาน เรนฮาร์ด 25 มิลลิลิตร คนสารละลายอย่างช้าๆ แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน KMnO_4 จนถึงจุดยุติเป็นสีชมพู โดยที่สีชมพูที่จุดยุติจะไม่ปรากฏอย่างถาวร แต่สีชมพูควรปรากฏขึ้นนานประมาณ 15 วินาที
- 6) คำนวณหาปริมาณเหล็ก

ก-3 ปริมาณไอโอดีน (ดัดแปลงจาก AOAC, 1990)

1. อุปกรณ์

- 1) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 2) กระจกบอกตวงขนาด 50 หรือ 100 ml
- 3) ปิเปตขนาด 1, 2, 5 และ 10 ml
- 4) ลูกยางและจุกยาง
- 5) ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml
- 6) บิวเรต ขนาด 50 หรือ 100 ml
- 7) บีกเกอร์
- 8) ขวดสีชา ขนาด 250, 500 และ 1,000 ml

2. สารเคมี

- 1) กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 2 N (Sulfuric acid)
- 2) 10 % โพแทสเซียมไอโอดด์ (Potassium iodide)
- 3) 0.005 M โซเดียมไธโอซัลเฟต (Sodium thiosulfate)
- 4) น้ำแป้ง (Starch indicator solution)
- 5) น้ำกลั่น

3. ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง

- 1) ชั่งตัวอย่างบดละเอียด 10 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml
- 2) ละลายตัวอย่างเกล็ดด้วยน้ำกลั่น 50 ml
- 3) เติมสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 2 N จำนวน 1 ml
- 4) เติม 10% KI จำนวน 5 ml ถ้ามีไอโอดีน สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองปิดปากขวด และนำไปเก็บในที่มืด 10 นาที

4. การเตรียม 2 N Sulfuric acid

- 1) ปิเปต H_2SO_4 เข้มข้น 6 ml
 - 2) ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 ml ที่มีน้ำกลั่นบรรจุอยู่ 90 ml
 - 3) ปรับปริมาตรให้ได้ตามที่กำหนด
 - 4) เขย่าให้เข้ากัน แล้วเก็บในขวดสีชา ที่อุณหภูมิห้อง
- หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างละ 1 ml ในการไทเทรต

5. การเตรียม 10%Potassium iodide

- 1) ชั่ง KI 100 g
 - 2) ละลายด้วยน้ำกลั่น
 - 3) ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 ml ให้ได้ตามที่กำหนด
 - 4) เขย่าให้เข้ากัน แล้วเก็บในขวดสีชา เก็บในที่มืดและเย็น (เก็บไว้ใช้ได้นาน 6 เดือน)
- หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างละ 5 ml ในการไทเทรต

6. การเตรียม Starch indicator solution (น้ำแป้ง)

- 1) เตรียมสารละลาย NaCl อิมิตัวประมาณ 500 ml (โดยใส่น้ำกลั่นในบีกเกอร์ขนาด 1,000 dml ประมาณ 500 ml นำไปให้ความร้อน เติม NaCl พร้อมทั้งคนจน NaCl อิมิตัว คือ NaCl ไม่ละลาย)
- 2) ชั่ง soluble starch 5 g เติมน้ำกลั่น 50 ml ให้ความร้อนจนแป้งละลายหมด คือ มีลักษณะข้นใส

- 3) เทใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 500 ml ปรับปริมาตรให้ได้ตามที่กำหนด โดยใช้สารละลาย NaCl อิมิตัวที่เตรียมไว้เป็นตัวปรับปริมาตร
- 4) เขย่าให้เข้ากัน แล้วเก็บในขวดสีชา เก็บในที่มืดและเย็น (เก็บไว้ใช้ได้นาน 1 เดือน)
หมายเหตุ ใช้ตัวอย่างละ 2 ml ในการไทเทรต

7. การเตรียม 0.005 M Sodium thiosulfate

- 1) ชั่ง $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1.24 g
- 2) ละลายด้วยน้ำที่ไม่มี CO_2 (น้ำกลั่นต้มทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง)
- 3) ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 ml ให้ได้ตามที่กำหนด
- 4) เขย่าให้เข้ากัน แล้วเก็บในขวดสีชา เก็บในที่มืดและเย็น (เก็บไว้ใช้ได้นาน 1 เดือน) และก่อนนำไปใช้ควรทำการ standardization

8. การ standardization Sodium thiosulfate

- 1) อบ $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 2 ชม. ทิ้งให้เย็นใน desiccators
- 2) ชั่ง $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0.01 - 0.0115 g ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml (บันทึกน้ำหนัก)
- 3) เติมน้ำที่ไม่มี CO_2 (น้ำกลั่นต้มทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง) 10 ml
- 4) เติม KI 0.1 g เขย่าให้เข้ากัน
- 5) ปิเปต 1 N HCl 5 ml เติมลงไป
- 6) ปิดปากขวดเขย่าให้เข้ากันและนำไปเก็บในที่มืด 10 นาที
- 7) เตรียมบิวเรต โดยเติมโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ต้องการหาความเข้มข้นที่แน่นอนลงในบิวเรต
- 8) เอาขวดออกจากที่มืด หยดน้ำแบ่ง 2-3 หยด สารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน
- 9) นำมาไทเทรตกับโซเดียมไธโอซัลเฟตในบิวเรตที่เตรียมไว้โดยสารละลายจะเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นไม่มีสี
- 10) บันทึกปริมาตรของโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้ไปในการไทเทรต แล้วนำไปคำนวณหาความเข้มข้นการคำนวณหาความเข้มข้นของ Sodium thiosulfate จากการ standardization
$$\text{Sodium thiosulfate (mol/L)} = \frac{\text{g of K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \times 1000 \text{ ml of Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}{49.032}$$

9. การหาปริมาณไอโอดีนโดยการไทเทรต

- 1) เตรียมบิวเรต โดยเติม 0.005 M โซเดียมไธโอซัลเฟตลงในบิวเรต ปรับปริมาตรและไล่ออกอากาศ
- 2) นำตัวอย่างออกจากที่มืด นำมาไทเทรตกับ 0.005 M โซเดียมไธโอซัลเฟต จนกระทั่งสารละลายมีสีเหลืองอ่อน
- 3) เติมสารละลายแบ่ง จำนวน 2 ml (สารละลายจะมีสีน้ำเงินเข้ม) แล้วไทเทรตต่อไปจนกระทั่ง

สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู และจางหายไปเป็นที่สุด

4) บันทึกปริมาตรของโซไดอัสซัลเฟตที่ใช้ไปในการไทเทรต แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณไอโอดีน

การคำนวณ

$$\text{Iodine (mg/kg)} = 105.8 \times V \times M \times 0.005 \times W$$

เมื่อ : V = Volume of sodium thiosulfate (ml)

M = concentration of sodium thiosulfate (Mol/l)

W = weight of sample (g)

1 ml of 0.005 M sodium thiosulfate = 0.1058 mg iodine

ก-4 ปริมาณแคลเซียม (AOAC, 1990)

อุปกรณ์และสารเคมี

- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) Memmert รุ่น ULE 560
- เตาเผา (Muffle furnace) Carholite รุ่น RWF 12/23
- เตาไฟฟ้า (Hot plate) รุ่น ECM6
- เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดละเอียด (Checkweigher) Sartorius รุ่น AC 2115-00
- เครื่องวัดพีเอช (pH Meter) รุ่น CG 842
- โถดูดความชื้น (Desiccator)
- ถ้วยครุชชีเบิ้ล (Crucible)
- กระดาษกรอง
- โบรโมครีซอลกรีน (Bromocresol green) บริษัท Labchem
- สารละลายโซเดียมอะซิเตต 20 % (Sodium acetate) บริษัท Fluka
- สารละลายกรดออกซาลิก 3 % (Oxalic acid) บริษัท Fluka
- แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Ammonium hydroxide) บริษัท Labscan Asia
- สารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.05 นอร์มัล (Potassium permanganate)

บริษัท Ajax chemical

- สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 37 % (Hydrochloric acid 37 %) บริษัท Merck
- กรดซัลฟูริก 96 % (Sulfuric 96 %) บริษัท Lab Scan

วิธีการวิเคราะห์

1. อบแห้งตัวอย่างด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

2. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างประมาณ 10 กรัม ใส่ลงในครุชชีเบิลเผาไหม้ตัวอย่างในเตาไฟฟ้าจนไม่มีควันดำเสียก่อน แล้วจึงนำไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิประมาณ 550°C จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นจนถึงอุณหภูมิห้อง
3. เทเถ้าลงในบีกเกอร์แล้วเติมกรดไฮโดรคลอริก 5 มิลลิลิตร นำไปประเหยให้แห้งบน Steam bath
4. ละลายส่วนที่เหลือโดยเติมกรดไฮโดรคลอริก 2 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนบน Steam bath นาน 5 นาที
5. เจือจางสารละลายที่ล้างให้ได้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นกรองสารละลายผ่านกระดาษกรองชนิด Ashless ลงในบีกเกอร์ขนาด 400 มิลลิลิตร โดยอาจทิ้งสารละลายที่กรองได้ในช่วงแรกไปได้ 15-20 มิลลิลิตร
6. นำสารละลายที่กรองได้มา 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 400 มิลลิลิตร แล้วเจือจางเป็น 150 มิลลิลิตร
7. เติมโบรโมครีซอลกรีนอินดิเคเตอร์ 7-8 หยด และสารละลายโซเดียมอะซิเตต 20 % เพื่อปรับพีเอชเป็น 4.8-5.0 สารละลายจะมีสีฟ้า จากนั้นปิดด้วยกระดาษฟิวส์แล้วนำไปให้ความร้อนจนเดือด
8. เติมสารละลายกรดออกซาลิก 3 % 1 หยด ทุกๆ 3-5 วินาที ลงในสารละลายเพื่อตกตะกอนแคลเซียม จนกระทั่ง pH เปลี่ยนเป็น 4.4-4.6 ซึ่งเป็นพีเอชที่เหมาะสมในการตกตะกอนเป็นแคลเซียมออกซาลेट (Calcium oxalate) โดยสารละลายจะมีสีเขียว
9. นำสารละลายไปต้มนาน 1-2 นาที แล้วทิ้งให้ตกตะกอนจนกระทั่งใส จากนั้นกรองส่วนใสออกผ่านกระดาษกรอง Quantitative
10. ล้างบีกเกอร์ที่มีตะกอนอยู่และตกตะกอนอีกครั้งด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ในอัตราส่วนแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 1 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 50 มิลลิลิตร) ประมาณ 50 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายไปกรอง
11. เจาะรูกระดาษกรอง แล้วล้างกระดาษกรองเพื่อชะตะกอนทั้งหมดด้วยสารละลายผสมของน้ำ 125 มิลลิลิตร และกรดซัลฟูริก 5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ $80-90^{\circ}\text{C}$
12. นำสารละลายที่ได้มาไทเทรตกับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.05 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ $70-90^{\circ}\text{C}$ จนกระทั่งได้สารละลายสีชมพูอ่อน

ก-5 ปริมาณโซเดียม วิธี Mohr Method (AOAC, 1985)

อุปกรณ์

- 1) ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml
- 2) Crucible
- 3) บิวเรต ขนาด 50 ml
- 4) ปิเปต ขนาด 25 ml
- 5) ปิเปต ขนาด 1 ml
- 6) ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 ml
- 6) ขวดปรับปริมาตร ขนาด 250 ml

สารเคมี

- 1) โปแตสเซียมโครเมต (K_2CrO_4) เข้มข้น 5%
- 2) โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) มาตรฐาน
- 3) ซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) 0.1 M

วิธีของ Mohr เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณเกลือในอาหารหลังจากเผาอาหารประมาณ 5 กรัม ในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500-550 °C ให้เป็นเถ้า นำเถ้าที่ได้มาละลายด้วยน้ำกลั่น 25 ml ให้ได้ปริมาตรน้อยที่สุด เติมสารละลายโปแตสเซียมโครเมต (K_2CrO_4) เข้มข้น 5% ลงไป 1 ml เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำสารละลายที่ได้ไปไทเทรตกับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตความเข้มข้น 0.1 M จนมีสีส้มปรากฏขึ้น บันทึกปริมาตรของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตที่ใช้ คำนวณหาปริมาณของเกลือในตัวอย่างอาหาร โดย 1 ml ของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตความเข้มข้น 0.1 M ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับ NaCl 0.0058 g

ก-6 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธี Lane-Eynon Volumetric method

(Lane-Eynon, 1849)

เครื่องมือ

1. Buret ขนาด 50 ml
2. Erlenmeyer Flask 250 ml
3. Pipet ขนาด 5 10 และ 50 ml
4. Volumetric flask 100 250 และ 1000 ml
5. เต้าไฟฟ้า

สารเคมี

1. สารละลาย Fehling reagent ซึ่งประกอบด้วย Fehling's solution no.1 และ no.2

Fehling's solution no.1 เตรียมโดยละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

69.278 กรัมในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร โดยใช้ volumetric flask

Fehling's solution no.2 เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 100 กรัม

และโซเดียมโพแทสเซียมคาร์เตรท ($\text{NaKC}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) Rochelle salt 346 กรัมในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร โดยใช้ volumetric flask

สารละลายทั้งสองนี้ต้องเตรียมแยกกันและเก็บใส่ขวดสีน้ำตาล เมื่อต้องการใช้ให้ผสมสารละลายทั้งสองนี้ด้วยปริมาตรเท่ากันทันทีก่อนใช้

2.สารละลาย 1% Methylene blue ในน้ำกลั่น

3.สารละลาย Zinc ferrocyanide ประกอบด้วยสารละลาย Carrez I & II

สารละลาย Carrez I เตรียมโดยละลาย zinc acetate dehydrate 21.9 กรัมในน้ำกลั่น ที่มีกรดอะซิติก (glacial acetic) 3 ml ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml. ด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask

สารละลาย Carrez II เตรียมโดยละลายโพแทสเซียมโรโซยานด์ 10.6 กรัมในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ใน volumetric flask

การเตรียมตัวอย่าง

ซึ่งอาหารตัวอย่างมา 50 g เติมน้ำกลั่นลงไป 100 ml แล้วกรองด้วยกระดาษกรองจะได้เป็นสารละลาย จากนั้นเปิดสารละลายมา 25 ml ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 ml ทำให้ใสโดยใช้สารละลาย zinc ferrocyanide ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย Carrez I & II อย่างละ 5 ml เพื่อให้สามารถสังเกตจุดยุติได้ง่ายขณะไตเตรชัน โดยเติมสารละลาย Carrez I จำนวน 5 ml ลงในตัวอย่าง เขย่าให้เข้ากันแล้วเติมสารละลาย Carrez II ลงไปอีก 5 ml. เขย่าให้เข้ากันอีกครั้งหนึ่งแล้วจึงปรับปริมาตรให้ครบ 250 ml ด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที แล้วกรองเก็บสารละลายที่กรองได้ไว้ใช้วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งก่อนอินเวอร์ชัน ซึ่งค่าที่ได้เป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหารตัวอย่างที่ไม่รวมน้ำตาลซูโครส เพราะน้ำตาลซูโครสไม่ใช่น้ำตาลรีดิวซ์

Preliminary titration

สารละลายที่กรองได้ใส่ในบิวเรตขนาด 50 ml ไล่ฟองอากาศออกให้หมด เปิดสารละลาย Mixed Fehling reagent มา 10 ml (ใช้อย่างละ 5 ml) ใส่ในฟาสต์ขนาด 250 ml เติมลูกแก้วเล็กๆ ลงไป 8-10 เม็ด เพื่อป้องกันการล้นออกมาของสารละลาย นำไปต้มให้เดือดบนเตาบนเข็นจนเดือด แล้วจึงไตเตรทกับสารละลายน้ำตาลตัวอย่างจนสีน้ำเงินจางลง หยดสารละลายเมธิลีนบลูลงไป 1-2 หยด ไตเตรทจนสีฟ้าหายไปหมด เหลือตะกอนสีส้มแดงของคิวปรัสออกไซด์ จุดปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้ ความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายน้ำตาลต้องสามารถรีดิวซ์สารละลาย Mixed

Fehling reagent 10 ml ได้ด้วยปริมาตรของสารละลายน้ำตาลตัวอย่างอยู่ในช่วง 15-25 ml ต้องทำซ้ำอีก 2 ครั้งเพื่อให้ได้ปริมาตรที่แน่นอน แล้วหาค่าเฉลี่ยของสารละลายที่ใช้ หากปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้ไตเตรทน้อยกว่า 15 ml ควรเจจางสารละลายน้ำตาลดังกล่าวลงอีกแล้วทำการไตเตรทใหม่ ในทางตรงกันข้ามหากปริมาตรของสารละลายที่ใช้ไตเตรทมากกว่า 50 ml แสดงว่าสารละลายน้ำตาลนั้นเจจางเกินไป ต้องเตรียมสารละลายน้ำตาลใหม่ ให้มีความเข้มข้นมากขึ้นกว่าเดิม หากสารละลายน้ำตาลมีความเข้มข้นที่เหมาะสมแล้วจะต้องทำการไตเตรทซ้ำเพื่อให้รู้ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลที่แน่นอนในขั้นตอน Accurate titration

Accurate titration

โดยปิเปตสารละลาย Mixed Fehling reagent มา 10 ml ใส่ในฟาสต์ขนาด 250 ml เติมน้ำกลั่นไป 8-10 เม็ด เติมน้ำตาลจากบิวเรตลงไปที่ โดยใช้ปริมาตรน้อยกว่าที่ใช้ในการทำ Preliminary titration ประมาณ 1-2 ml แล้วตีมันที่บนเตาบุนเช่นจนเดือด หยดสารละลายเมธิลีนบลูลงไป 1-2 หยด แล้วไตเตรทในอัตราเร็ว 0.25 ml/วินาที พยายามไตเตรทให้เสร็จสิ้นภายในเวลา 3 นาที ตั้งแต่เริ่มเดือดจนสีฟ้าจางหายไปหมดเหลือตะกอนสีส้มแดงของคิวปรัสออกไซด์ จุดปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้ทำซ้ำ 2-3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลซูโครสด้วยวิธี Lane and Eynon นั้น จะต้องมีการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงก่อนและหลังอินเวอร์ชัน โดยที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงก่อนอินเวอร์ชัน จะเป็นค่าที่บ่งบอกถึงปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงทั้งหมดที่ไม่รวมซูโครสเนื่องจากซูโครสไม่จัดเป็นน้ำตาลรีดิวซิง ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงหลังอินเวอร์ชัน จะเป็นค่าบ่งบอกถึงปริมาณน้ำตาลอินเวอร์ท (กลูโคส และ ฟรุคโตส) และน้ำตาลรีดิวซิงทั้งหมดอยู่ในอาหารนั้น ดังนั้นผลต่างของปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงก่อนและหลังอินเวอร์ชัน คือ ปริมาณน้ำตาลซูโครส

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงก่อนการอินเวอร์ชัน (D_1)

วิเคราะห์ตามขั้นตอนที่ได้อธิบายไว้ข้างต้น

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงก่อนการอินเวอร์ชัน (D_2)

จากข้อมูลเบื้องต้นในการทดสอบสำหรับผักกาดทะเลสด พบว่า สำหรับผักกาดทะเลไม่มีองค์ประกอบของน้ำตาลอินเวอร์ชัน (D_2) จึงไม่ได้ทำการทดสอบหาปริมาณน้ำตาลในขั้นตอนนี้
หมายเหตุ เปอร์เซ็นต์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้คือ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง (Reducing sugar) ก่อนและหลังอินเวอร์ชัน

ก-7 ปริมาณวิตามินซี (AOAC, 1990)

อุปกรณ์และสารเคมี

- ปิเปต ชนิด Mohr ขนาด 1 มิลลิลิตร
- บิวเรต ขนาด 50 มิลลิลิตร
- ขวดปรับปริมาตร ขนาด 50, 200, 250 และ 500 มิลลิลิตร
- กระจกตวง ขนาด 10 และ 100 มิลลิลิตร
- ขวดรูปخمพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร
- กระดาษกรอง Whatman No.1
- กรดเมตาฟอสฟอริก (Metaphosphoric acid ; HPO_3)
- กรดอะซิติก (Acetic acid ; CH_3COOH)
- กรดแอสคอร์บิก (L-Ascorbic acid ; $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$)
- 2,6-ไดคลอโรอินโดฟินอล (2,6-Dichloroindophenol ; $\text{O}:\text{C}_6\text{H}_2\text{Cl}_2:\text{N}:\text{C}_6\text{H}_4.\text{ONa}$)
- โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (Sodium Hydrogen Carbonate ; NaHCO_3)

วิธีการเตรียมสารเคมี

1. สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก-กรดอะซิติก (Metaphosphoric acid - Acetic acid)
ซึ่งกรดเมตาฟอสฟอริก (HPO_3) มา 15 กรัม ละลายในกรดอะซิติก 40 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 (ถ้าเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น สามารถใช้ได้ภายใน 10 วัน)
2. สารละลายวิตามินซีมาตรฐาน (ความเข้มข้น เท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ซึ่งกรดแอสคอร์บิก 0.05 กรัม ลงในขวดวัดปริมาตร 50 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก-กรดอะซิติกให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (ระวังอย่าให้ถูกแสง)
3. สารละลายอินโดฟินอลมาตรฐาน (Standardization of dye solution)
ซึ่ง 2,6-ไดคลอโรอินโดฟินอล 0.05 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ที่มีโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต (NaHCO_3) อยู่ 0.042 กรัม จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 200 มิลลิลิตร แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 (เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นใช้ได้ 2-3 สัปดาห์ ระวังอย่าให้ถูกแสง)

วิธีการวิเคราะห์

การปรับมาตรฐานของ Dye solution

1. ปิเปตสารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน 2.0 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปخمพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ซึ่งมีสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก-กรดอะซิติก 5.0 มิลลิลิตร

2. นำไปไทเทรตกับ Dye solution จนกระทั่งถึงจุดยุติ (สีชมพูอ่อน) บันทึกปริมาตรที่ใช้
3. ทำ blank โดยใช้ น้ำกลั่นแทนสารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน จากนั้นคำนวณหา

Dye Factor

$$\text{Dye Factor} = \frac{2 \text{ mg ascorbic acid}}{(\text{Titre of Dye solution} - \text{titre of blank}) \text{ ml}}$$

การทดสอบตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม แล้วเติมสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก-กรดอะซิติก 10 มิลลิลิตร จากนั้นกรองสารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดเมตาฟอสฟอริก-กรดอะซิติก ให้ได้ 50 มิลลิลิตร
2. ปิเปตสารละลายตัวอย่างจากข้อ 1. มา 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 125 มิลลิลิตร
3. ไทเทรตด้วย Dye solution จนกระทั่งได้สีชมพูอ่อน (จุดยุติ) บันทึกปริมาตรที่ใช้ในการไทเทรต ทำการทดลอง 3 ซ้ำ
4. ทำ blank โดยใช้สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก-กรดอะซิติก 7 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น โดยใช้ปริมาตรเท่ากับปริมาตรของ Dye solution ที่ใช้ในการไทเทรต
5. คำนวณปริมาณวิตามินซีจากสมการ

$$\text{Vitamin C (mg/100 g)} = (X-B) \times (F/E) \times (V/Y)$$

กำหนดให้	X	=	Average ml for sample titration
	B	=	Average ml for sample blank titration
	F	=	Dye Factor
	E	=	Number of ml assayed
	V	=	Volume of initial assay solution
	Y	=	Volume sample aliquot treated