บทปฏิบัติการที่ 13
การวิเคราะห์ใยอาหาร
(Determination of Crude Fiber)

วัตถุประสงค์ 1. เพื่อวิเคราะห์ใยอาหารในอาหารชนิดต่าง ๆ
2. เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพอาหารต่าง ๆเนื่องจากอาหารมีเส้นใยอาหารต่างกัน
3. เพื่อศึกษาการวิเคราะห์ใยอาหารด้วยเครื่องมืออัตโนมัติและการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องย่อยเส้นใยที่ใช้เครื่องมือดั้งเดิม

หลักการ ใยอาหาร (Crude fiber) คือ คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยไม่ได้ประกอบด้วยเซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่ hemi-cellulose และแร่ธาตุบางชนิด ตามปกติจะใช้เป็นตัววัดคุณค่าทางอาหารหลายชนิดเพราะใยอาหารย่อยยาก นอกจากนี้ปริมาณใยอาหารยังใช้ใน การตรวจการปลอมปนในอาหาร และบอกความสดของผักผลไม้ ถ้าผักผลไม้มีใยอาหารสูงแสดงว่าผักหรือผลไม้นั้นไม่สด ใยอาหารเป็นส่วนที่ได้จากการย่อยตัวอย่างด้วยสารละลายกรดและด่างในเวลาและสภาวะที่กำหนด ส่วนที่เหลือจากการย่อยไปอบและเผา นำผลการวิเคราะห์ไปคำนวณส่วนที่หายไปหลังจากการอบและเผา ในบทปฏิบัติการนี้จะศึกษาการวิเคราะห์ crude fiber เท่านั้น

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวิเคราะห์ใยอาหาร (Hot Extraction Fiber Apparatus)
2. เครื่องวิเคราะห์ใยอาหาร (Cold Extraction Fiber Apparatus)
3. ตู้อบลมร้อน
4. เครื่องย่อยใยอาหาร
5. เครื่องกรองบุชเนอร์
6. เตาเผา

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริก 0.128 โมลาร์
2. Octanol
3. โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.223 โมลาร์
4. ซีไลท์ (celite)

การเตรียมสารเคมี

1. **กรดซัลฟิวริก** 0.128 โมลาร์ โดยไปเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้นจำนวน 3.8 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกรองครบ 1 ลิตร
2. **โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์** 0.223 โมลาร์ โดยชั่ง โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 12.5 กรัม ละลายในน้ำกรองครบ 1 ลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. วิธีวิเคราะห์โดยใช้เครื่องอัตโนมัติ

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่ปราศจากความชื้นและสกัดไขมันออกแล้ว ซึ่งอบแห้งแล้วให้ได้น้ำหนักประมาณ 1 กรัม (น้ำหนักแน่นอน) ใส่ลงในภาชนะที่ใส่อาหารชนิดทนไฟ (Sinter glass crucible)
2. นำ Sinter glass crucible ใส่ในเครื่อง Hot Extraction Unit
3. เติมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.128 โมลาร์ ปริมาณ 150 มิลลิลิตรลงใน Sinter glass crucible
4. เติม Octanol จำนวน 2-3 หยด เพื่อป้องกันฟองล้นออกมาเมื่อความร้อนสูง
5. ลดความร้อนลงและต้มเป็นเวลา 30 นาที กรองแล้วล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง ครั้งละ 30 มิลลิลิตร
6. เติมโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.223 โมลาร์ ปริมาณ 150 มิลลิลิตร
7. กรองและล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง ปริมาณครั้งละ 25 มิลลิลิตร และกรองจนแห้ง
8. ล้างสารตัวอย่างที่อยู่ใน crucible ด้วยอะซีโตน ในเครื่อง cold extraction unit
9. อบ crucible ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในโถอบแห้งให้เย็น และชั่งน้ำหนัก (W_1)

10. เผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น และชั่งน้ำหนัก (W_2)

2. วิธีวิเคราะห์โดยใช้เครื่องย่อยแบบดั้งเดิม

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่ปราศจากความชื้นและสกัดไขมันออกแล้วซึ่งอบแห้งแล้วให้ได้น้ำหนักประมาณ 1 กรัม (น้ำหนักแน่นอน) ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร
2. เติมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.128 โมลาร์ ปริมาณ 150 มิลลิลิตรและให้ความร้อนโดยต้มเดือด 30 นาที เพื่อสลายคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน ใช้แท่งแก้วคนตลอดเวลา
3. ปิดบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา วางถุงน้ำแข็งเหนือกระจกนาฬิกานี้ ใช้ผ้าเช็ดหยดน้ำรอบ ๆบีกเกอร์ตลอดเวลา
4. กรองสารละลายผ่านเครื่องกรองบุชเนอร์ ล้างกากตะกอนด้วยน้ำร้อนหลาย ๆครั้ง จนไม่มีกรดเหลืออยู่ ทดสอบด้วยกระดาษลิตมัส
5. เทกากลงในบีกเกอร์อันใหม่ เติมโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.223 โมลาร์ ปริมาณ 150 มิลลิลิตร ให้ความร้อนโดยต้มเดือด 30 นาทีใช้แท่งแก้วคนตลอดเวลา
6. กรองและล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง ปริมาณครั้งละ 25 มิลลิลิตร และล้างด้วย 1% กรดเกลือ และ ล้างด้วยน้ำร้อนอีกหลายครั้งจนไม่มีกรดเหลืออยู่ และกรองจนแห้ง
7. ล้างกากด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 95% 2 ครั้ง นำกากไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ (W_1)
8. เผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น และชั่งน้ำหนักกาก (W_2)

การคำนวณปริมาณเส้นใยอาหาร

$$\%\ \text{ปริมาณเส้นใยอาหาร} = \left(\frac{\text{น้ำหนักแห้งของกาก}\,(W_1) - \text{น้ำหนักเถ้า}\,(W_2)}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}\right) \times 100$$

ภาพที่ 13.1 เครื่องวิเคราะห์ใยอาหาร (Hot Extraction Fiber Apparatus)

ภาพที่ 13.2 เครื่องวิเคราะห์ใยอาหาร (Cold Extraction Fiber Apparatus)

ตารางที่ 9 แบบบันทึกข้อมูลการวิเคราะห์ใยอาหาร (Crude fiber)

รายการ	A	B
น้ำหนักขวดชั่ง + สารตัวอย่าง (กรัม)		
น้ำหนักขวดชั่ง		
น้ำหนักสารตัวอย่าง		
น้ำหนัก crucible + Residue ชั่งครั้งที่ 1		
น้ำหนัก crucible + Residue ชั่งครั้งที่ 2		
Crude fiber (กรัม)		
Crude fiber (%) =		
ค่าเฉลี่ย		

วันที่วิเคราะห์	
เครื่องชั่งหมายเลข	
ตู้อบหมายเลข	
อุณหภูมิ องศาเซลเซียส	เวลา : ชั่วโมง
เตาเผาหมายเลข	
วิเคราะห์โดย	เวลา : ชั่วโมง
ตรวจสอบโดย	วันที่
หมายเหตุ	วันที่

วิธีวิเคราะห์ Dietary fiber โดยใช้ เอ็นไซม์

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 1 กรัม
2. ทำการ gelatinization และ incubate ด้วยเอนไซม์ Termamyl นาน 15 นาที หรือ 30 นาที ที่ pH 6.0 และ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
3. incubate ด้วย protease นาน 30 นาที ที่ pH 7.5 และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
4. incubate ด้วย amloglucosidase นาน 30 นาที ที่ pH 4.5 และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส
5. ตกตะกอนด้วยเอทธิลแอลกอฮอล์ และ acetone
6. นำไปอบแห้ง คำนวณค่า dietary fiber

ตารางที่ 10 แบบบันทึกผลวิเคราะห์ Proximate Analysis

การวิเคราะห์ที่	
รายงานเลขที่	

ชื่อตัวอย่าง

ผู้ส่งวิเคราะห์

และที่อยู่

ส่งรายงานให้

วันที่รับตัวอย่าง

วันที่หน่วยงานย่อยวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร

วันที่เริ่มวิเคราะห์

รายละเอียดตัวอย่าง

ต้องการตรวจ

- ☐ ความชื้น
- ☐ ไขมัน
- ☐ โปรตีน/ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด
- ☐ ปริมาณเส้นใย
- ☐ ปริมาณเถ้า
- ☐ คาร์โบไฮเดรต (by difference)
- ☐ ปริมาณพลังงาน

ตารางที่ 10 ต่อ

รายงาน %	**ปริมาณที่รับมา %**	**น้ำหนักแห้ง %**	**อ้างอิงรายงานเลขที่**
ความชื้น			
ไขมัน			
ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด			
ปริมาณโปรตีน (N × 6.25)			
ปริมาณเส้นใย			
ปริมาณเถ้า			
ปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยการคำนวณ = 100 - (% ความชื้น + %ไขมัน+ โปรตีน + เส้นใย + เถ้า)			
ปริมาณพลังงาน กิโลแคลอรี/100 กรัม = (โปรตีน × 4) + (ไขมัน × 9) + (คาร์โบไฮเดรต × 4)			

รายงานโดย:	วันที่:
ตรวจโดย :	วันที่ :
หมายเหตุ	

บทปฏิบัติการที่ 14
การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดของอาหาร
(Determination of acidity in Beverage)

วัตถุประสงค์ 1. เพื่อวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่างของอาหาร เพื่อศึกษาการหาปริมาณกรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในเครื่องดื่มชนิดต่างๆ
2. การใช้เครื่อง พีเอช
3. วิธีบำรุงรักษาเครื่อง พีเอช

หลักการ โพเทนชิโอเมตริกไทเทรชัน คือ เทคนิคที่เกี่ยวข้องกับการวัด hydrogen ions ที่เกี่ยวข้องในปฏิกริยา ค่าที่วัดได้ออกมาเป็นพีเอช (pH) ซึ่งเครื่องมือที่ใช้เรียก pH meter หรือ Voltmeter โดยมี electrode สองชนิดที่ใช้วัด pH ของสารละลายคือ indicator และ reference electrode

การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (Determination of Titratable acidity)

การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด เป็นการหาปริมาณกรดอินทรีย์ในเครื่องดื่มต่างๆ เช่น น้ำผลไม้ ไวน์ ซึ่งปริมาณกรดอินทรีย์ในอาหารมีความสำคัญต่ออายุการเก็บของอาหารนั้นๆ เนื่องจากจุลินทรีย์จะไม่เจริญเจิบโตในสารละลายกรด โดยให้น้ำผลไม้หรือไวน์ทำปฏิกริยากับด่างแก่คือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล ซึ่งจะเป็นการวัดปริมาณ hydrogen ions ซึ่งรวมกับ anions ของ tartaric (H_2T) หรือ bitartaric acid (HT^-) ซึ่งจะให้ H^+ รวมทั้งกรดต่างๆในสารละลายยกเว้น Carbamic acid

การหาจุดยุติ

โดยไทเทรตน้ำผลไม้กับโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัลโดยใช้ pH meter วัดพีเอชที่เปลี่ยนไปจนถึง 8.2 และสร้างไทเทรชันเคอร์ฟและหาจุดกึ่งกลางของ inflation of the curve

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. พีเอชมิเตอร์ (pH meter)
2. บิวเรต (Burette)
3. เครื่องกวนแม่เหล็ก (Magnetic strrer)

สารเคมี

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล
2. Buffer pH. 4.0 และ 7.0

การเตรียมสารเคมี

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล เตรียมน้ำกลั่นที่ปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์โดยต้มเดือด ทิ้งให้เย็น ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายด้วยน้ำกรองจนครบ 1 ลิตร เก็บในขวด Polyethylene ที่ปิดสนิท
2. วิธีเตรียม buffer 4.0 และ 7.0 แสดงในบทที่ 15

วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตน้ำผลไม้ 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
2. การสแตนดาร์ดไดซ์พีเอชมิเตอร์ด้วย สารละลายบัฟเฟอร์ 4.0 และ 7.0
3. ไทเทรตครั้งละ 0.1 มิลลิลิตร จนถึง pH 8.2 จดปริมาตรของด่างที่ใช้ และไทเทรตต่อไปอีก 0.5 มิลลิลิตร จดค่าพีเอชที่เปลี่ยน

คำนวณค่า Titratable Acidity (%)

Titratable Acidity (%) =

$$\left(\frac{\text{ปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล} \times \text{นอร์มัลลิตี้ของด่าง} \times 0.075}{\text{ปริมาตรของน้ำผลไม้ที่ใช้}}\right) \times 100$$

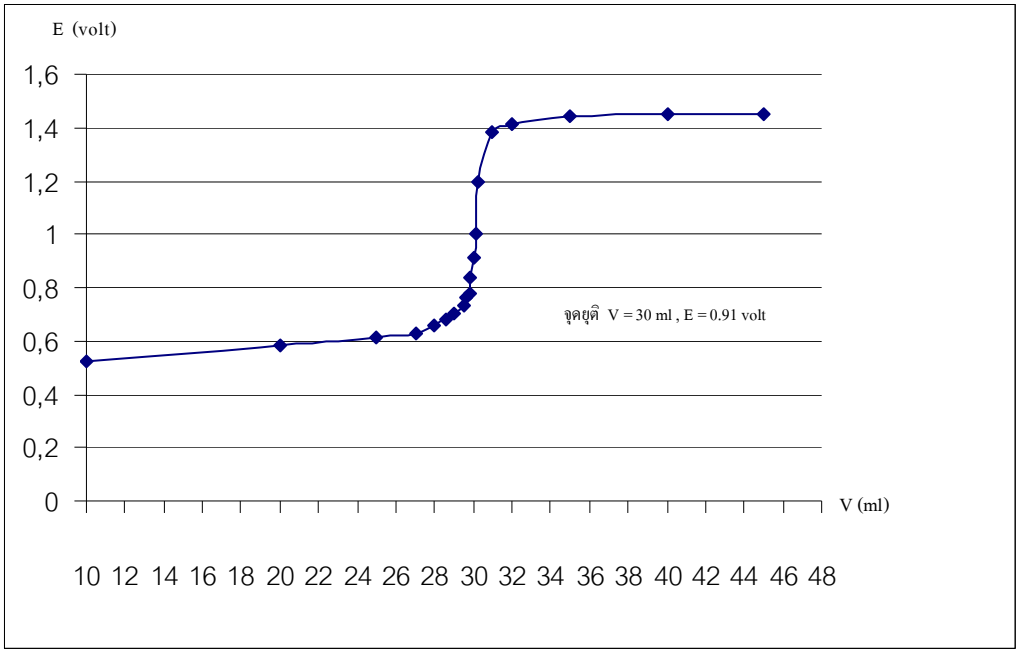
หมายเหตุ น้ำหนักโมเลกุลของกรดทาร์ทาริก = 75

ตารางที่ 11 ข้อมูลการไทเทรตและการคำนวณอนุพันธ์

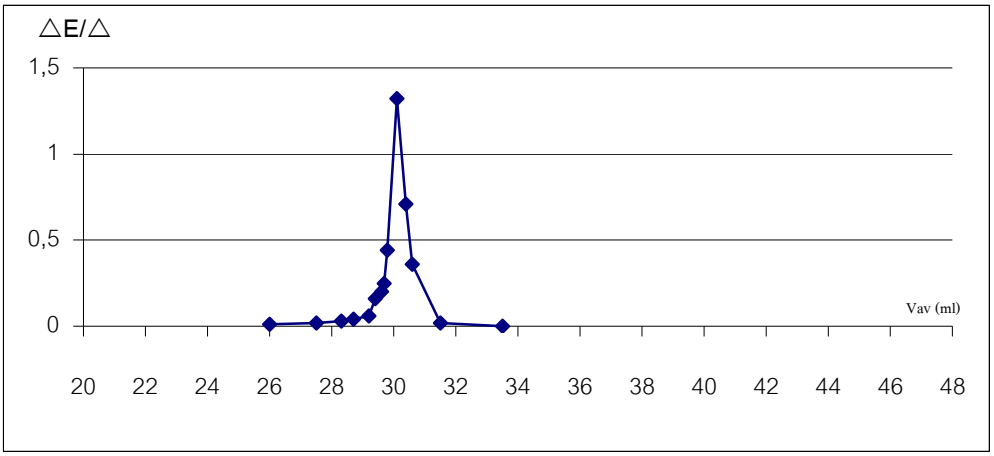
ข้อมูลการไทเทรต			การคำนวณอนุพันธ์		
I ปริมาตร ไทแทรนต์ (v) (ml)	II ศักย์ (E vs SCE) (volt)	III $\triangle E/\triangle V$ [A] (volt/ml)	IV $V_{เฉลี่ย}$ จาก I (ml)	V $\triangle^2 E/\triangle V$ [2B] (volt/ml)	VI V_{av} [C] จาก IV (ml)
10.00	0.508				
20.00	0.508	0.007	15.00		
25.00	0.61	0.006	22.50		
27.00	0.638	0.014	26.00		
28.00	0.662	0.024	27.50		
28.50	0.681	0.038	28.25	0.008	28.50
29.00	0.702	0.042	28.75	0.044	29.00
29.50	0.734	0.064	29.25	0.32	29.40
29.60	0.75	0.16	29.55	0.40	29.60
29.70	0.77	0.2	29.65	0.50	29.70
29.80	0.795	0.25	29.75	2.00	29.80
29.90	0.84	0.45	29.85	1.90	29.90
30.00	0.904	0.64	29.95	6.80	30.00
30.10	1.036	1.32	30.05	-6.00	30.10
30.20	1.108	0.72	30.15	-0.81	30.37
31.00	1.391	0.354	30.60	-0.37	31.05
32.00	1.412	0.021	31.50	-0.007	32.50
35.00	1.434	0.007	33.50		
40.00	1.449	0.003	37.50		
45.00	1.469	0.004	42.50		

วิธีคำนวณและสร้างกราฟ

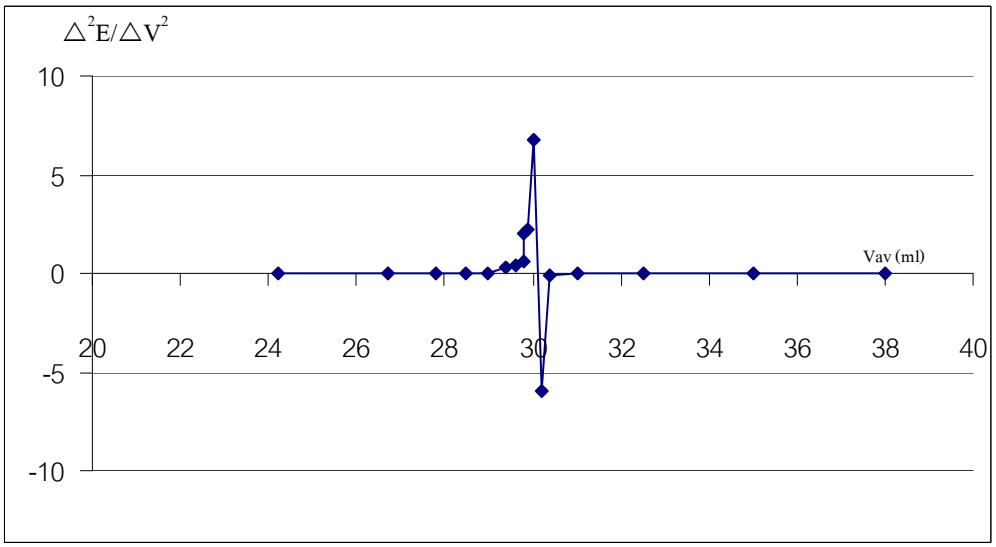
การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่างของผลิตภัณฑ์อาหาร



Experiment titration curve



first derivative curve



second derivative curve

ภาพที่ 14.1 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)

บทปฏิบัติการที่ 15
การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

หลักการ สารละลายบัฟเฟอร์เตรียมจากสารละลายกรดอ่อนและเกลือของกรดอ่อน หรือด่างอ่อนและเกลือของด่างอ่อน สารละลายบัฟเฟอร์นี้จะต้านทานการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ hydrogen ion เมื่อเติมกรดหรือด่างเล็กน้อยลงในสารละลายนี้ ค่าพีเอช (pH) ไม่เปลี่ยนแปลงสารละลายบัฟเฟอร์ใช้ใน ห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจสอบมาตรฐานความคงที่ของเครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งละเอียด
2. เครื่องพีเอช

สารเคมี

1. borax
2. potassium hydrogenphtalate
3. hydrochloric acid
4. sodium hydroxide
5. disodium hydrogenphtalate

วิธีเตรียม โดยชั่งน้ำหนักที่มีปริมาณแน่นอนของกรดอ่อนและเกลือของกรดอ่อนหรือด่างอ่อนและเกลือของด่างอ่อน ซึ่งสารละลายที่ใช้ต้องมีความบริสุทธิ์สูงมาก เมื่อเตรียมแล้วต้องเติมสารกันเสียลงในสารละลายนี้ด้วยเนื่องจากจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ สารละลายบัฟเฟอร์ควรเก็บในตู้เย็นเมื่อต้องการใช้ควรแบ่งใส่ภาชนะขนาดเล็กไม่ควรนำขวดที่ใส่ทั้งหมดออกจากตู้เย็นเพราะจะเสียง่ายและความคงที่ของสารละลายบัฟเฟอร์จะลดลง ซึ่งสามารถเตรียมได้ในรูปแบบของสารละลายและชนิดเม็ด ถ้าเป็นชนิดเม็ดจะเก็บได้นานและสะดวกในการเคลื่อนย้าย สามารถนำไปใช้ในที่ต่างๆ

ตารางที่ 12 สูตรเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ซึ่งเมื่อเตรียมเสร็จแล้วต้องเจือจางสารละลายครบ 100 มิลลิลิตร

pH 25°C	ml 0.2M KCl	ml 0.1 M potassium hydrogen phthalate	ml 0.1 M potassium dihydrogen phosphate	ml 0.2 M HCl	ml o.1 M HCl	ml 0.1 N NaOH	ml 0.025 M borax	ml 0.05 M disodium hydrogen phosphate	ml 0.2 N NaOH
1.0	25			67					
1.5	25			20.7					
2.0	25			6.5					
2.5		50			38.8				
3.0		50			22.3				
3.5		50			8.2				
4.0		50			0.1				
4.5		50				8.7			
5.0		50				22.6			
5.5		50				36.6			
6.0		50				5.6			
6.5		50				13.9			
7.0		50				29.1			
7.5			50			40.9			
8.0			50			46.1			
8.5					15.2		50		
9.0					4.6		50		
9.5						8.8	50		
10.0						18.3	50		
10.5						22.7	50		
11.0						4.1		50	
11.5						11.1		50	
12.0						26.9		50	
12.5	25								20.4
13.0	25								66.0

ตารางที่ 13 อินดิเคเตอร์บางชนิดสำหรับ กรด-เบส

อินดิเคเตอร์ การเปลี่ยนสี	pH range (กรด-เบส)	ความเข้มข้น นน. เป็นกรัมต่อปริมาตร 100 ลบ. ซม.	ตัวทำละลาย
Thymol blue	1.2 - 2.8 แดง - เหลือง	0.1	20 % ethanol
Methyl yellow (Butter yellow)	2.9 - 4.0 แดง – เหลือง	0.1	90 % ethanol
Methyl orange	3.1 - 4.4 แดง – เหลือง	0.1	น้ำ
Bromphenol blue	3.0 – 4.6 เหลือง – น้ำเงิน	0.1	20 % ethanol
Bromocresol green	3.8 – 5.4 เหลือง – น้ำเงิน	0.1	20 % ethanol
Methyl red	4.2 - 6.2 แดง – เหลือง	0.1	60 % ethanol
Bromocresol purple	5.2-6.8 เหลือง – ม่วง	0.1	60 % ethanol
Bromthymol blue	6.0 – 7.6 เหลือง – น้ำเงิน	0.05 – 0.1	20 % ethanol
Natural red	6.8 – 8.4 เหลือง – แดง	0.1	60 % ethanol
Phenolpthalein	8.2 – 10.0 ไม่มีสี – แดง	0.1 – 1.0	60 % ethanol
Thymolphthalein	9.3 – 10.5 ไม่มีสี – น้ำเงิน	0.04 0.1	50 % ethanol
Alizarin yellow	10.1 – 12.0 เหลือง – แดง	0.1	90 % ethanol

ภาพที่ 15.1 เครื่องวัดอิออนเฉพาะ (Ion Selective Electrode)

บทปฏิบัติการที่ 16
การวิเคราะห์ความกระด้างของน้ำ
(Determination of Total Hardness)

วัตถุประสงค์ 1. เพื่อศึกษาวิธีวิเคราะห์ความกระด้างของน้ำ
2. เพื่อศึกษาวิธีเตรียมสารเคมีเพื่อใช้ในการวิเคราะห์นำ

หลักการ เนื่องจากน้ำมีความสำคัญมากในอุตสาหกรรมอาหาร ความกระด้างของน้ำทำให้เกิดปัญหามากในการผลิตอาหารในอุตสาหกรรมความกระด้างจะทำให้เกิดตะกอนในหม้อน้ำของโรงงานอุตสาหกรรม ความกระด้างของน้ำเป็นการวัดความสามารถของน้ำที่จะตกตะกอนสบู่ สบู่จะถูกทำให้ตกตะกอนโดย แคลเซียม และ แมกนีเซียม ความกระด้างของน้ำจึงหมายถึงความเข้มข้นของ แคลเซียม และ แมกนีเซียม มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต วิธีวิเคราะห์โดยใช้หลักการของสารประกอบเชิงซ้อน ion ของโลหะต่าง ๆมักจะทำตัวเป็นผู้รับ electron pair acceptor ซึ่งจะทำ ปฏิกิริยากับสารที่ เป็นตัวให้คู่ electron เกิดสารประกอบ coordination หรือ ไอออนเชิงซ้อน (complex ion) ในการหาปริมาณโลหะนิยมใช้อีดีทีเอ (EDTA) เพราะสามารถรวมกับ ion ของโลหะส่วนใหญ่ด้วยอัตราส่วนโมล 1:1 สารเชิงซ้อนของโลหะ อีดีทีเอที่เกิดขึ้นละลายน้ำได้ ซึ่งจะไม่ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อน ในเรื่องการตกตะกอนอีดีทีเอเป็น chelating agent สามารถเกิดอิออนเชิงซ้อนที่เสถียรกับ แคลเซียม แมกนีเซียม และ สารอนุมูลบวก 2 (divalent) ชนิดที่เป็นสาเหตุของความกระด้างของน้ำ

ชนิดของน้ำ	ความกระด้างของน้ำ
น้ำอ่อน (soft water)	0 - 60 มิลลิกรัม/ลิตร
น้ำกระด้างปานกลาง (moderately hard)	61 - 120 มิลลิกรัม/ลิตร
น้ำกระด้าง	121 - 180 มิลลิกรัม/ลิตร
น้ำกระด้างมาก	มากกว่า 180 มิลลิกรัม/ลิตร

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. บิวเรต
2. ปิเปต

สารเคมี

1. EDTA
2. Magnesium chloride
3. Magnesium sulphate
4. Ammonium hydroxide
5. Ammonium chloride
6. Calcium carbonate

วิธีเตรียมสารเคมี

1. Standard EDTA (Edthylenediamine tetra acetic acid) 0.01 M

ชั่ง EDTA (AR grade) 3.723 กรัม ละลายน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

2.Standard Calcium solution

ชั่ง anhydrous calcium carbonate 1.000 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติม1=1 HCl เขย่าจน calcium carbonate จนหมด เติมน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร และต้มให้เดือด 2-3 นาที เพื่อไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทิ้งให้เย็นเติมน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

3. Indicator

3.1 โดยละลาย Eriochrome Black T 0.5 กรัม ใน triethanolamine 50 มิลลิลิตร

3.2 บด Eriochrome Black T 0.5 กรัม กับ sodium sulphate anhydrous 100 กรัม

4. Buffer solution

ชั่ง Ammonium chloride 16.9 กรัม และละลายใน ammonium hydroxide มิลลิลิตร เติม EDTA 1.179 กรัม และ magnesium sulfate 780 มิลลิกรัม หรือ magnesium chloride เติมน้ำกลั่นจนครบ 250 มิลลิลิตร

วิธีทดลอง

1. เตรียมสารมาตรฐานแคลเซียมคลอไรด์ 0.05 โมลาร์
   ชั่งแคลเซียมคาร์บอเนต ให้ได้น้ำหนักแน่นอน 0.5000 กรัม ใส่ในบิกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมกรดเกลือที่เจือจางซึ่งสมมูลกับแคลเซียมคาร์บอเนต
   โดยคำนวณตามสมการดังนี้
   $CaCO_3 + 2HCl \longrightarrow CaCl_2 + H_2O + CO_2$
   เติมน้ำกลั่นลงในสารละลายประมาณ 50 มิลลิลิตร ช้าๆต้มไล่คาร์บอนไดออกไซด์ทำให้เย็น เทสารละลายทั้งหมดลงในขวดรูปชมพู่ขนาด100มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ครบปริมาตร
2. ปิเปตตัวอย่างน้ำ 25 มิลลิลิตรลงในขวดปากกว้างขนาด 500 มิลลิลิตร
3. ปิเปต buffer pH 10.0 ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ลงในสารละลายตัวอย่าง
4. เติม Eriochrome black T ชนิดผงปริมาณเล็กน้อย ซึ่งสารละลายจะมีสีแดงองุ่น
5. ไทเทรตด้วยสารมาตรฐาน อีดีทีเอ 0.05 โมลาร์ จนถึงจุดยุติซึ่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีฟ้า
6. สารไร้สิ่งตัวอย่าง ใช้น้ำแทนตัวอย่าง ปริมาณ 25 มิลลิลิตร
7. บันทึกผลการทดลองและคำนวณความกระด้างของน้ำเป็น มิลลิกรัม/ลิตร ของแคลเซียมคาร์บอเนต

วิธีการคำนวณ

1. หาความเข้มข้นของสารมาตรฐาน แคลเซียมคลอไรด์

$$\text{จำนวนโมลของแคลเซียมคลอไรด์} = \frac{\text{น้ำหนักแคลเซียมคาร์บอเนต} \times 1000}{100.09 \times 250}$$

2. หาความเข้มข้นของสารมาตรฐาน อีดีทีเอ

$$\text{จำนวนโมลของแคลเซียม} = \text{จำนวนโมลของ อีดีทีเอ}$$

$$MCaCO_3 \times VCaCO_3 = M_{\text{อีดีทีเอ}} \times V_{\text{อีดีทีเอ}}$$

$$\frac{M \times \text{ปริมาตรของแคลเซียมคลอไรด์}}{1000} = \frac{M \times \text{ปริมาตรของอีดีทีเอ}}{1000}$$

การหาปริมาณน้ำกระด้าง

$$\text{ความกระด้างของน้ำ} = \frac{\text{โมลาริตีของอีดีทีเอ} \times \text{ปริมาตรอีดีทีเอที่ใช้ในการไทเทรต}}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง}}$$

= x โมลของ แคลเซียมคลอไรด์/ลิตร

= (x) ×100.09 × 10^3 มิลลิกรัม/ลิตร

ตารางที่ 14 แบบบันทึกการวิเคราะห์น้ำกระด้าง

การหาความเข้มข้นของสารมาตรฐาน อีดีทีเอ

กลุ่มที่	ปริมาตร อีดีทีเอ		สารไร้สิ่งตัวอย่าง (Blank)		ปริมาตรสุทธิ	โมลาริตี

ตารางที่ 15 การหาความเข้มข้นของน้ำตัวอย่าง

กลุ่มที่	ปริมาตร อีดีทีเอ		สารไร้สิ่งตัวอย่าง		ปริมาตรสุทธิ	โมลาริตี

บทปฏิบัติการที่ 17
การวิเคราะห์ปริมาณเกลือในเครื่องดื่ม
(Determination of Salt in Beverage)

วัตถุประสงค์ 1. เพื่อศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณเกลือในเครื่องดื่ม
2. เพื่อศึกษาปฏิกิริยาของสารเคมีต่าง ๆกับเกลือในอาหารตัวอย่าง

หลักการ ซึ่งปริมาณเกลือที่เหลือในเครื่องดื่มมีความสำคัญต่อสุขภาพเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากในผู้สูงอายุถ้ามีปริมาณเกลือมากเกินไปจะทำให้เส้นเลือดเปราะและเป็นสาเหตุให้เกิดโรคความดันโลหิตสูงโดยเกลือในเครื่องดื่มตัวอย่างจะทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรทในสภาวะที่เป็นกรดโดยเติมกรดไนทริก และเติมซิลเวอร์ไนเตรทให้มากเกินพอ หลังจากที่เกลือทำปฏิกิริยากับซิลเวอร์ไนเตรทจนหมดแล้วจะมีซิลเวอร์ไนเตรทเหลือส่วนหนึ่งซึ่งวิเคราะห์หาปริมาณโดยไทเทรตกับสารมาตรฐาน แอมโมเนียไทโอซัลเฟตโดยมีสารละลายเฟอร์ริค แอมโมเนียซัลเฟต TS. (Ferric alum) เป็นอินดิเคเตอร์จุดยุติได้สารละลายสีน้ำตาลอ่อนคงตัว

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. บิวเรต
2. ขวดรูปชมพู่

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรท 0.1 นอร์มัล
2. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.1 นอร์มัล
3. สารละลายเฟอร์ริค แอมโมเนียซัลเฟต TS. ($FeNH_4(SO_4).12H_2O$
4. กรดไนทริก 6 นอร์มัล
5. ไนโตรเบนซิน

วิธีเตรียมสารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรท 0.1 นอร์มัล
2. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.1 นอร์มัล
3. สารละลายเฟอร์ริค แอมโมเนียซัลเฟต TS. ($FeNH_4$ (SO_4) .12 H_2 O
4. กรดไนทริก 6 นอร์มัล

วิธีการทดลอง

1. ชั่งสารตัวอย่างที่มีน้ำหนักแน่นอน 2-3 กรัม ใส่ในขวดแก้วมีจุกปิดสนิท ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่น (ปราศจากคลอไรด์) 50 มิลลิลิตร และกรดไนตริก 6 นอร์มัล 3 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลายมาตรฐานซิลเวอร์ไนเตรท 0.1 นอร์มัล 50 มิลลิลิตร ปิดจุกเขย่าให้การตกตะกอนเกิดอย่างสมบูรณ์
4. อุ่นบนเครื่องอังน้ำ ที่มีน้ำต้มเดือด นาน 20 นาที และทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
5. เติม Nitrobenzene 5 มิลลิลิตร ปิดจุกเขย่าให้ Nitrobenzene หุ้มตะกอนไว้หมด
6. เติม Ferric ammonium sulfate TS 2 มิลลิลิตร
7. ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน Ammonium thiosulfate 0.1 นอร์มัล
8. จุดยุติได้สารละลายสีน้ำตาลอ่อนคงตัวถึงไม่มีสี

Volume relationship ระหว่าง Silver nitrate และ Ammonium thiocyanate

Titer 1 มิลลิลิตร ซิลเวอร์ไนเตรท 0.1 นอร์มัล สมมูลย์กับโซเดียมคลอไรด์ 5.844 มิลลิกรัม

บทปฏิบัติการที่ 18

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในเครื่องดื่มโดยวิธีโกลโคส

(Determination of Reducing sugar in beverages by Gold Cost Method)

โดยวิธีไทเทรต (Titrametric-Rebelein)

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์ ในเครื่องดื่ม ซึ่งระดับน้ำตาลในเครื่องดื่มมีความสำคัญ

หลักการ น้ำตาลประเภท น้ำตาลรีดิวซ์ทำปฏิกิริยาลดทอน (reduce) คอปเปอร์ซัลเฟต (cupper sulphate) ในสภาวะที่เป็นด่างจะได้คิวปรัสออกไซด์ซึ่งมีสีเหลือง เมื่อให้ความร้อนจะได้ตะกอนสีอิฐแดง ปริมาณ cuprous oxide ที่เกิดขึ้นเป็นปฏิภาคโดยตรงกับน้ำตาล

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ปิเปตหลายขนาด
2. ขวดรูปชมพู่หลายขนาด

สารเคมี

1. โซเดียมโปแตสเซียมตาร์เตรด
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์
3. โปแตสเซียมไอโอไดด์
4. คอปเปอร์ซัลเฟต
5. โซเดียมไทโอซัลเฟต

การเตรียมสารเคมี

Alkaline Rochelle Salt Solution

Component A ชั่งโซเดียมโปแตสเซียมตาร์เตรด 250 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นประมาณ 40 มิลลิลิตร

Component B ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 80 กรัม ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 400 มิลลิลิตร นำ component A และ B มาผสมกันและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

สารละลายคอปเปอร์ ซัลเฟต ละลายสารคอปเปอร์ ซัลเฟต ($CuSO_4 .5H_2O$) 41.92 กรัม ในน้ำกลั่น 150 มิลลิลิตร

สารละลายโปแตสเซียมไอโอไดด์ ชั่งโปแตสเซียมไอโอไดด์ 300 กรัม ละลายในโซเดียมไฮดรอกไซด์ 100 มิลลิกรัม ในขวดรูปชมพู่ขนาด 1 ลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

โซเดียมไทโอซัลเฟต Solution ชั่งโซเดียมไทโอซัลเฟต ($Na_2 S_2 O_3.5H_2O$) 13.777 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 1 ลิตร ละลายในโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาณ 1 นอร์มัล 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร

น้ำแป้ง

Component A: ชั่งแป้ง 10 กรัม ละลายในน้ำเย็นเล็กน้อย เทสารละลายนี้ลงในน้ำเดือดปรับปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร

Component B: ชั่งโปแตสเซียมไอโอไดด์ 20 กรัม ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 1 นอร์มัล 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นในสารละลายนี้ และปรับปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร

ผสมสารละลาย A และ B ก่อนใช้ กะประมาณพอใช้ในการทดลอง ที่เหลือแยกเก็บในตู้เย็น

กรดซัลฟิวริก (16 % ปริมาตร/ปริมาตร) เติมกรดซัลฟิวริก (95%) 175 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 825 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายทั้งสองละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

วิธีการทดลอง

1. ถ้าเครื่องดื่มที่จะทดสอบหวานเกินไปให้เจือจางด้วยน้ำจนมีความหวานน้อยกว่า 2.8 % (28 กรัม/ ลิตร)
2. ปิเปตสารละลาย คอปเปอร์ซัลเฟต 10 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร
3. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร Rochelle salt solution 5 มิลลิลิตร และลูกแก้วที่กันกระเด็นขณะต้ม ลงใน ขวดรูปชมพู่ ในข้อ 2 เขย่ารวมกัน
4. ต้มสารละลายจนเดือด 1.5 นาที ทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว
5. เมื่อสารละลายเย็น
   5.1 เติม 10 มิลลิลิตร ของโปแตสเซียมไอโอไดด์
   5.2 เติม 10 มิลลิลิตร ของกรดซัลฟิวริก
   5.3 เติม 10 มิลลิลิตร ของน้ำแป้ง
6. เขย่ารวมสารละลายทั้งหมดและไทเทรตต่อด้วยสารละลาย โซเดียมไทโอซัลเฟต จนกระทั่งได้จุดยุติเป็นสีครีม

การคำนวณ

ปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม/ลิตร) = 28-28 (V_A/V_B)

เมื่อ V_A = ปริมาตรของ โซเดียมไทโอซัลเฟต ที่ทำปฏิกิริยากับสารละลายตัวอย่าง

V_B = ปริมาตรของ โซเดียมไทโอซัลเฟต ที่ทำปฏิกิริยากับ สารไร้สิ่งตัวอย่าง

หมายเหตุ

1. การทำ สารไร้สิ่งตัวอย่าง (Blank) ทำวิธีเดียวกับตัวอย่างยกเว้นใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง
2. ถ้าตัวอย่างอาหารมีสีควรขจัดสีออกโดยใช้ decolorizing charcoal หรือ Polyclar AT
3. อุณหภูมิในการต้มไม่ควรเกิน 90 องศาเซลเซียส เพราะจะเกิด Autoreduction ของคอปเปอร์ในสารละลาย
4. ความเข้มข้นของคอปเปอร์ซัลเฟต จะมีผลต่อปฏิกิริยารีดักชัน ดังนั้นอัตราส่วนของด่างและคอปเปอร์ ควรเป็น 5:1

บทปฏิบัติการที่ 19
การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธีเลน-อีนอน
(Determination of Reducing sugar by Lane-Eynon Method)

โดยอาศัยหลักการไทเทรต

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์ในเครื่องดื่ม ซึ่งระดับน้ำตาลในเครื่องดื่มมีความสำคัญต่อสุขภาพ

หลักการ วิธีนี้คำนวณจากค่าความแตกต่างของสารละลายตัวอย่าง และ สารไร้สิ่งตัวอย่าง ซึ่งทำปฏิกิริยากับแอลคาไลคอปเปอร์ซัลเฟต (allkaline copper sulphate) โดยครั้งแรกเกิดจากปฏิกิริยาของสารมาตรฐานกลูโคส ภายใต้ความร้อนและสารละลายตัวอย่างทำปฏิกิริยากับแอลคาไลคอปเปอร์ซัลเฟต

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เตาไฟฟ้า
2. บิวเรต

สารเคมี

1. คอปเปอร์ ซัลเฟต
2. โซเดียมโปแตสเซียมทาเทรต
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์
4. เดกโตรสที่แห้ง
5. โซเดียมเบนโซเอท
6. เมททีลีนคลอไรด์

การเตรียมสารเคมี

Felhing's A Solution: โดยละลาย 69.278 กรัม ของ คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 .5H_2O$) ในน้ำกลั่นครบ 1 ลิตร ควรเก็บในที่เย็นเพื่อยืดอายุของสารเคมี ซึ่งมี Cu ปริมาณ 440.9 mg/25ml

Felhing's B Solution ชั่งโซเดียม โปแตสเซียมทาเทรต 346 กรัม และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 100 กรัม และละลายในน้ำกลั่นครบ 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2 วัน และกรองผ่าน asbestos

สารละลายเด็กโตรส (0.5 %) ชั่งเดกโตสที่แห้ง (anhydrous dextrose) 10.0 กรัม เติมโซเดียมเบนโซเอท 2 กรัม และเติมกรดซิตริก 1 กรัม เติมน้ำกลั่นครบ 2 ลิตร

Methylene Blue อินดิเคเตอร์ ละลาย Methylene blue 1 กรัม ในน้ำกลั่นครบ 100 มิลลิลิตร

วิธีการทดลอง

วิเคราะห์ สารไร้สิ่งตัวอย่าง (Blank)

1. เติมสารละลาย Fehling's A solution 10 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ซึ่งมีน้ำกลั่นอยู่ 70 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
2. ปิเปตสารละลาย Fehling's B ลงในสารละลายข้อ 1
3. ต้มสารละลายบนเตาไฟฟ้าจนเกือบเดือด ไทเทรตด้วยสารละลาย dextrose 0.5 % ประมาณ 18 มิลลิลิตร
4. เมื่อสารละลายใกล้เดือดเติมเมธิลีนบลู 5 หยด ไทเทรตต่อด้วยสารละลาย dextrose 0.5 % จนสีน้ำเงินจางหายไปและได้ตะกอนสีอิฐแดงคือจุดยุติ ซึ่งปฏิกิริยาทั้งหมดไม่ควรใช้เวลาเกิน 3 นาที ซึ่งตามทฤษฎีสารไร้สิ่งตัวอย่างไม่ควรใช้ เดกโตส 0.5 % เกิน 21.8 มิลลิลิตร
5. ปริมาตรที่ใช้ในการไทเทรตสมมุติเท่ากับ B

วิธีวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ทำวิธีเดียวกับ สารไร้สิ่งตัวอย่าง จนจบข้อ 2
2. เติมสารละลายตัวอย่างลงไป 1 มิลลิลิตรไทเทรตด้วยสารละลาย เดกโตส 0.5 % กะประมาณ 2 มิลลิลิตร ก่อนจุดยุติขณะสารละลายยังเดือด เติมสารละลาย เมธิลีนบลู 5 หยดและไทเทรตต่อจนถึงจุดยุติคือเกิดตะกอนสีอิฐแดงและสีน้ำเงินหายไป
3. บันทึกปริมาตรของ เดกโตส ที่ใช้ ไทเทรตสารละลายตัวอย่าง = A
4. คำนวณปริมาณ dextrose จาก

$$\text{R.S.(g/L)} = \frac{(B - A)(0.005\text{กรัม/ลิตร})}{\text{ปริมาตรสารตัวอย่าง}}$$

B = ปริมาตรของ 0.5 % ของสารละลาย เดกโตส ที่ใช้ในการไทเทรต สารไร้สิ่งตัวอย่าง

A = ปริมาตรของ 0.5 % ของสารละลาย เดกโตส ที่ใช้ในการไทเทรตสารละลาย

ตัวอย่าง

ถ้าใช้สารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร สามารถคำนวณปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์ จาก

$$\text{R.S. (g/L)} = 5\ (B-A)$$

บทปฏิบัติการที่ 20
การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์
(Determination of Reducing Sugar by Spectrophotometer)

วิเคราะห์โดยวิธี Somogyi-Nelson

วัตถุประสงค์ 1. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณของ น้ำตาลรีดิวซ์ ในอาหารทั่วๆไป

2. เพื่อศึกษาการวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโมิเตอร์

หลักการ เมื่อน้ำตาลรีดิวซ์ทำปฏิกริยากับคอปเปอร์ซัลเฟต ในสภาวะที่เป็นด่าง จะเกิดสารละลายที่มีสีขึ้นซึ่งสามารถวัดความเข้มของสีโดยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องสเปกโทรโฟโต มิเตอร์
2. เตาไฟฟ้า

สารเคมี

1. โซเดียมซัลเฟต
2 โปแตสเซียมโซเดียมตาร์เตรด

วิธีเตรียมสารเคมี

Samogyi I โดยละลายโซเดียมซัลเฟต 288 กรัม ในน้ำกลั่นที่ต้มแล้ว 1 ลิตร เติมโปแตสเซียมตาร์เตรด (Rochelle salt) 24 กรัม โซเดียมคาร์บอเนต 48 กรัม เขย่าให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน และเติมน้ำกลั่นที่ต้มแล้วให้ ครบปริมาตร 1.6 ลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

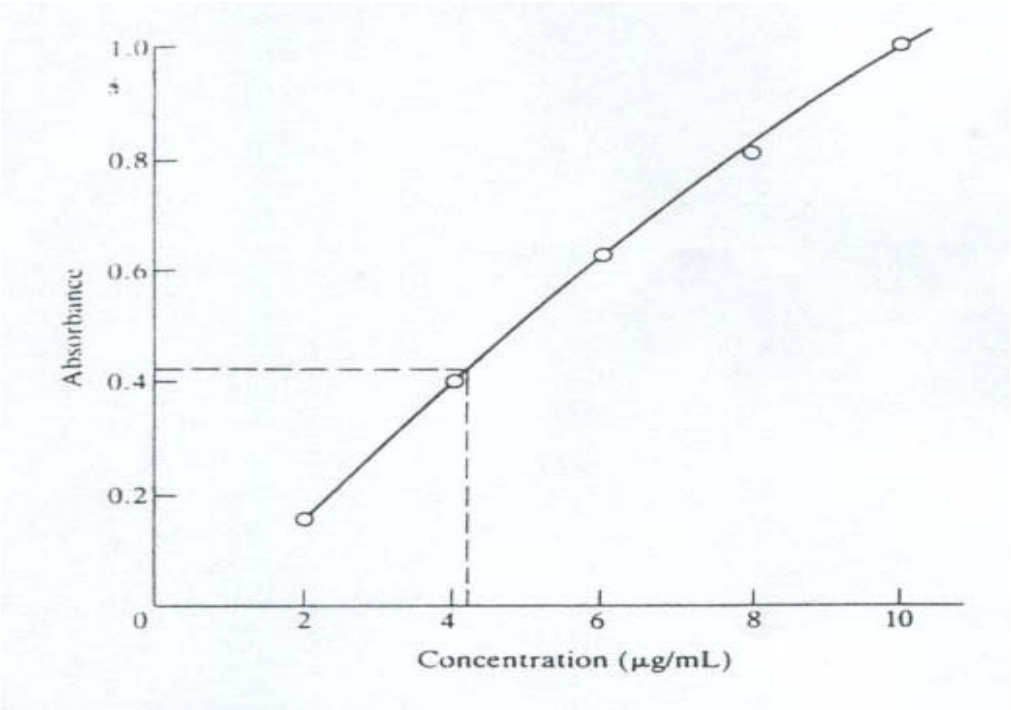
Samogyi II (Nelson Solution) โดยละลาย โซเดียมซัลเฟต ในน้ำกลั่นที่ต้มเดือดแล้ว 300 มิลลิลิตรเติม คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 .5H_2O$) เขย่าให้ละลายด้วยกัน เติมน้ำกลั่นที่ต้มแล้วให้ครบปริมาตร 400 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

วิธีการทดลอง

1. ตวงตัวอย่างอาหารที่กะประมาณให้มี น้ำตาลรีดิวซ์ 20-50 มิลลิกรัม/ลิตร จำนวน 2 มิลลิลิตรในหลอดทดลองทำสารไร้สิ่งตัวอย่างโดยใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง
2. เติม Somogyi solution ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดแก้วต้มในน้ำเดือด 15 นาที แล้วทำให้สารละลายเย็น
3. เติมสาร Nelson 2 มิลลิลิตร และผสมกันอย่างระมัดระวัง
4. เติมน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร และเขย่ารวมกัน
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร โดยสเปกโทรโฟโตมิเตอร์
6. คำนวณความเข้มข้นของสารตัวอย่างโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

การสร้างกราฟมาตรฐาน

โดยเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัม/ลิตร และวัดค่าการดูดกลืนแสงโดย สเปกโทรโฟโตมิเตอร์



ภาพที่ 20.1 แสดงลักษณะของกราฟมาตรฐาน