บรรณานุกรม

กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ. ปทุมธานี.

จารุวรรณ มณีศรี. (2550) **เทคโนโลยีการหมัก**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : โฟร์เพซ.

จินตนา บมขุนทด (2555) **การตกแต่งสำเร็จสะท้อนน้ำกระดาษจากซังขนุนสำหรับงานประดิษฐ์.** กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี. [ออนไลน์] แหล่งที่มา : http://www.research.rmutt.ac.th/?p=10205 (25 มิถุนายน 2558)

จิราภรณ์ โล่ห์วงศ์วัฒน. (2525) **การผลิตกรดซิตริกจากกากมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *Aspergillus niger*.** วิทยานิพนธ์ วท.ม. (สาขาจุลชีววิทยา) กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ฆาสิณี พูลพิพัฒน์. (2548) **ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการปรับสภาพวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเพื่อผลิตกรดมะนาว ด้วยเชื้อรา *Aspergillus niger* Yang no.2.** วิทยานิพนธ์ วท.ม. (สาขาวิชาเคมี) กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

ชัยวัฒน์ บรรใดเพ็ชร. (2536) **การผลิตกรดมะนาวโดยกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง.** วิทยานิพนธ์ วท.ม. (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ) กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เด่นนภา ริดขจร อารีรัตน์ เข็มตรง และเอมอร ไชยวงษ์. (2553) การศึกษากระบวนการผลิตกรดซิตริกจากผลพลอยได้ของอุตสาหกรรมการผลิตกลูโคส. กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

ตะวัน ฉัตรสูงเนิน. (2546) **เอกสารประกอบการสอนวิชาเทคโนโลยีการหมัก**. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

“แตงโม / โภชนาการ” (ม.ป.ป) [ออนไลน์] แหล่งที่มา : https://www.google.co.th/?gws_rd=ssl#q=http:%2F%2Fwww.cucurbitaceae.biz%2Fth%2Fukiuudd%2Fuutthuungl-lnn.html (25 มิถุนายน 2558)

ธีรวัฒนา ภาระมาตย์. (2540) **การผลิตกรดมะนาวจากเซลล์ตรึง *Candida oleophila* C-73 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร.** วิทยานิพนธ์ วท.ม. (สาขาเทคโนโลยีทางชีวภาพ) กรุงเทพมหานคร : บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. (2547) **จุลชีววิทยาทั่วไป.** กรุงเทพมหานคร : จุฬาลงกรณ์.

นิพนธ์ ยวนังกูร. (2529) **ศึกษาการผลิตกรดซิตริกจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *Aspergillus niger*.** งานศึกษาวิจัย วท.บ. (ภาควิชาจุลชีววิทยา) กรุงเทพมหานคร : สถาบันเทคโนโลยีพระเจ้าเกล้าธนบุรี.

บรรณานุกรม (ต่อ)

นิมล กิจขันธ์. (2532) ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดมะนาวในอาหารเหลวโดย *Aspergillus niger***.** วิทยานิพนธ์ วท.ม. (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ) กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**.**

ปรีชาพล ตันติประสิทธิกุล. (2533) **การศึกษาการผลิตกรดซิตริกจากน้ำอ้อย.** งานศึกษาวิจัย วท.บ. (ภาควิชาจุลชีววิทยา) กรุงเทพมหานคร : สถาบันเทคโนโลยีพระเจ้าเกล้าธนบุรี.

มงคล พันธุมโกมล กฤตพัฒน์ จุ้ยเตย และปณตพร บุญเปี่ยมศักดิ์. (2553) **คู่มือการจัดการสารเคมีอันตรายสูง แอมโมเนีย (Ammonia).** กรุงเทพมหานคร : กรมโรงงานอุตสาหกรรม.

มลศิริ วีโรทัย และปาริฉัตร หงสประภาส. (2542) **อุตสาหกรรมแปรรูปอาหารขนาดกลางและขนาดย่อม**. กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. [ออนไลน์] แหล่งที่มา : http://www2.swu.ac.th/ royal/book5/b5c4t6.html.

วราวุฒิ ครูส่ง และรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. (2532) **เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม.** กรุงเทพมหานคร : โอเดียนสโตร์.

วรรณวิมล โพธิ์แสง และวาสนา แซ่เลี่ยง. (2533) **ศึกษากรดซิตริกโดยการตรึงโคนิเดียของ *Aspergillus niger*.** งานศึกษาวิจัย วท.บ. (ภาควิชาจุลชีววิทยา) กรุงเทพมหานคร : สถาบันเทคโนโลยีพระเจ้าเกล้าธนบุรี.

ศยามล นองบุญนาก. (2534) **การผลิตกรดมะนาวจากแป้งมันสำปะหลัง โดย แอสเปอร์จิลัสไนเจอร์ สายพันธุ์ A185 ด้วยวิธีการหมักในอาหารเหลว.** วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพมหานคร : บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สนธวรรณ สุภัทรประทีป. (2536) **สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยเชื้อ *Aspergillus niger* A185.** วิทยานิพนธ์ วท.ม. (สาขาเทคโนโลยีทางชีวภาพ) กรุงเทพมหานคร : บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมใจ ศิริโภค. (2537) **เทคโนโลยีการหมัก**. กรุงเทพมหานคร : ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ.

สมศักดิ์ สรั่งบิน. (2542) **การผลิตกรดมะนาวจากวัสดุการเกษตรโดยเชื้อรา Aspergillus.** งานศึกษาวิจัย วท.บ. (ภาควิชาชีวเคมี) ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สินีนาถ เจียมอนุกูลกิจ. (2539) **การผลิตกรดมะนาวโดย *Candida oleophila* NN-39 จากสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลัง.** วิทยานิพนธ์ วท.ม. (สาขาเทคโนโลยีทางชีวภาพ) กรุงเทพมหานคร : บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

บรรณานุกรม (ต่อ)

สุกัลยา ทาโบราณ. (2541) **การปรับปรุงสายพันธุ์ *Aspergillus niger* WU-2223L โดยการกลายพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตกรดมะนาวจากแป้งมันสำปะหลังโดยวิธีการหมักในอาหารเหลว.** วิทยานิพนธ์ วท.ม. (สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม) กรุงเทพมหานคร : บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุภาพ อัจฉริยศรีพงศ์. (2555) **กรดซิตริก**. กรุงเทพมหานคร : สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย [ออนไลน์] แหล่งที่มา : http://www.tistr.or.th/t/ publication/ page_area_ show_bc.asp?i1=83&i2=14 (11 กันยายน 2556)

อนันท์ เชาว์เครือ พิไลพรรณ รักการเขียน และไพลิน เพ็งเพ่งพิศ. (2555) “ผลของสัดส่วนกากเนื้อในสับปะรดกับอาหารข้น ต่อจลนศาสตร์การหมักย่อยในระบบ *in vitro*” **วารสารแก่นเกษตร.** 40 (2) หน้า 193-196.

อะริยา สุตะไล และอาภรณ์ วงษ์วิจารณ์. (2535) “การคัดเลือกเชื้อยีสต์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดมะนาว” ใน **การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 18 : กำหนดการและบทคัดย่อ 27-29 ตุลาคม 2535 ณ ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์.** หน้า 490-491. กรุงเทพมหานคร : สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์.

อภิษฐา ช่างสุพรรณ. (พฤษภาคม 2552) “กรดซิตริก : สารเคมีใกล้ตัวที่ควรรู้” **วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ.** 57 (180) หน้า 7-10.

อัจฉริยา จารุจินดา. (2529) **การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตกรดมะนาวจากวัสดุเหลือทิ้งและวัตถุดิบราคาถูกบางชนิด โดยเชื้อ *Aspergillus niger*.** วิทยานิพนธ์ วท.ม. (สาขาจุลชีววิทยา) กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อาภรณ์ วงษ์วิจารณ์ และToshiomi Yoshida. (ธันวาคม 2536) “การหมักกรดซิตริกโดยการตรึงสปอร์ของรา *A. niger*” **วิจัยและพัฒนา สจธ.** 16 (2) หน้า 63-74.

อุดมพร มณีรัตน์. (2548) **การผลิตกรดมะนาวโดยยีสต์ควบคู่กับการแยกผลิตภัณฑ์ด้วยเรซินแลกเปลี่ยนไอออน.** วิทยานิพนธ์ วท.ม. (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ) กรุงเทพมหานคร : บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Andrew, J.M. (1952) “Effect of alcohols on the mycological production of citric acid in surface and submerged culture II. Fermentation of crude carbohydrates” **Appl. Microbiol**. 1 page 7-13.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Angumeenal, A.R. and Venkappayya, D. (2012) **“An overview of citric acid production” Food Science and Technology.** 50 page 367-370.

Berg, J.M., Tymoczko, J.L., and Stryer, L. (2007) *Biochemie.* 6. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Munchen : Elsevier GmbH. [ออนไลน์] แหล่งที่มา : http://de.wikipedia.org/wiki/Biotinidasemangel (15 ตุลาคม 2556)

Crueger, W., and Crueger, A. (1982) **“Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology”** Sunderland, Mass : Sinauer Associates.

El-Samragy, Y. A., Khorshid, M.A., Foda M.I., Shehata A.E. (1996) "Effect of fermentation conditions on the production of citric acid from cheese whey by *Aspergillus niger*" **International Journal of Food Microbiology.** 29 (2-3) page 411-416.

Grewal, H.S., Kalra, K.L. (1995) “Fungal production of citric acid” **Biotechnology Advances.** 13 page 209-234.

Hang, Y. D. and Woodams, E.E. (2000). "Corn Husks: A Potential Substrate for Production of Citric Acid by Aspergillus niger." **LWT - Food Science and Technology. 33** (7) page 520-521.

Kapoor, K.K., Chaudhary, K., and Tauro, P. (1982) **Citric acid. In Prescott and Dunn’s Industrial Microbiology.** 4th ed. Edited by G. Reed.AVI Publishing Com., Inc. Westport, Connecticut.

Karthikeyan, A., and Sivakumar, N. (2010) “Citric acid production by Koji fermentation using banana peel as a novel substrate” **Bioresource Technology.** 101 page 5552-5556.

Khare, S.K., Jha, K., Gandhi, A.P. (1995) "Citric acid production from Okara (soy-residue) by solid-state fermentation" **Bioresource Technology. 54** (3) page 323-325.

Kumar, D., Jain, V.K., Shanker, G., Srivastava, A. (2003) “Citric acid production by solid state fermentation using sugarcane bagasse” **Process Biochemistry**. 38 page 1731-1738.

Lockwood, L.B. (1975) “Organic acid production” In The Filamentous Fungi, Vol 1, pp. 140-157. Edited by J.E. Smith and D.R. Berry. Edward Arnold, London.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Lotfy, W.A., Ghanem, K.M., El-Helow, ER. (2007) "Citric acid production by a novel Aspergillus niger isolate: II. Optimization of process parameters through statistical experimental designs" **Bioresource Technology. 98** (18) page 3470-3477.

Menlo, P. (1981) "Citric acid Chemical" **Economics Handbook.** USA : California.

Milsom, P.E. and Meers, J.L. (1985) "Citric Acid" **In Comprehensive Biotechnology.** 3 page 665-680.

Mourya, S. and Jauhri, K.S. (1999) "Production of citric acid from starch-hydrolysate by Aspergillus niger" **Microbiological Research.** 155 (1) page 37-44.

Mueller, H.M. (1975) "Oxalate accumulation from citrate by *Aspergillus niger*. Biosynthesis of oxalate from its ultimate precursor" **Arch. Microbiol.** 103 page 185-189.

Perlman, D., and Sih., C.F. (1960) "Fungal synthesis of citric, fumaric, itaconic acids" **Progress in Industrial Microbiology**. New York : Interpublishers.

Prado, F.C., Vadenberghe, L.P.S., Woiciechowski, A.L., Rodrigues-Leon, J.A., Soccol, C.R., (2005) "Citric acid production by solid-state fermentation on a semi-pilot scale using different percentages of treated cassava bagasse" **Braz. J. Chem.** Eng. 22, 547-555.

Prescott, S. C., and Dunn, C. G. (1959) **The Citric acid fermentation.** 3rd ed. New York : Mc Graw Hill.

Rohr, M., and Kubicek, C.P. (1980) "Citric acid : A comprehensive treatise" **Biotechnology**. 3. Page 420-454.

Roukas, T. (1999) "Citric acid production from carob pod by solid-state fermentation" **Enzyme and Microbial Technology**. 24 (1-2) page 54-59.

Stanbury, P.F., Whitaker, A., and Hall, S.J. (1995) **Principles of Fermentation Technology.** Oxford : Pergamon Press.

Usami, S. (1978) "Production of citric acid by submerged culture" **Memoirs of the school of science & engineering waseda univ.** 42 page 17-26.

บรรณานุกรม (ต่อ)

Walid, A.L., Khaled, M.G., Ehab, R.E. (2007). Citric acid production by a novel *Aspergillus niger* isolate: II optimization of process parameters through statistical experiments designs. **Bioresour. Technol**. 98(18), 3470-3477.

Woronick, C.L. and Johnson, M.J. (1960) "Carbon dioxide fixation by cell free extracts of *Aspergillus niger*" J**.Biol. Chem**. 235 page 9-15.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

เอกสารรับรองคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย

เรียนรู้เพื่อรับใช้สังคม

เอกสารรับรอง

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

วันที่ 10 มกราคม 2557

ชื่อเรื่อง ผลผลิตและสภาวะในการผลิตกรดซิตริกจากกระบวนการหมักเศษของเสียจากผลไม้

ชื่อนักวิจัย/หัวหน้าโครงการ นางสาว สุจิตรา กุลวงษ์

คณะวิชา/หลักสูตร หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการสิ่งแวดล้อมและความปลอดภัย

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

ขอรับรองว่า งานวิจัยดังกล่าวข้างต้นได้ผ่านการพิจารณาเห็นชอบโดยสอดคล้องกับประกาศเฮลซิงกิ จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

ลงนาม

(รองศาสตราจารย์อิสยา จันทร์วิทยานุชิต)

รักษาการประธานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย

มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

วันที่รับรอง วันที่ 10 มกราคม 2557

เลขที่รับรอง อ.193/2556

ภาคผนวก ข
การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

วิธีการเพาะจุลินทรีย์จากหลอดเชื้อแห้งแข็ง (Revival of Freeze-Dried Cultures)

1. ใช้กระดาษทิชชูชุบแอลกอฮอล์ 70% พอหมาดเช็ดบริเวณรอบ ๆ หลอดจุลินทรีย์ (ampoule) จากนั้นใช้ตะไบเหล็ก เลื่อยลงบนหลอดบริเวณกึ่งกลางสำลีให้เป็นรอยลึกลงไปในเนื้อแก้ว

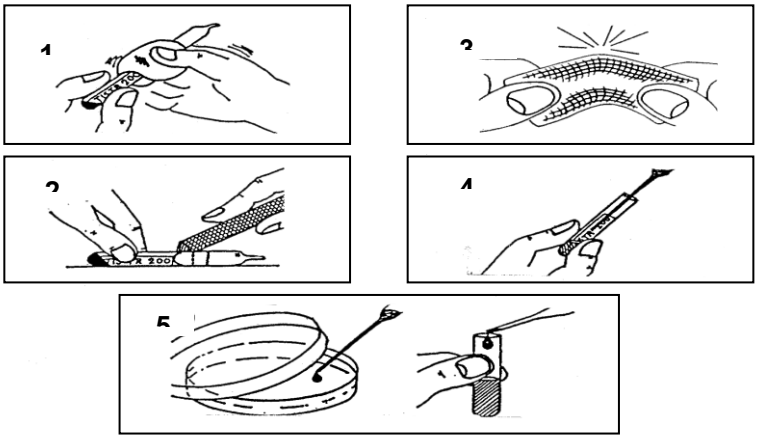
2. ใช้ผ้าที่มีความหนา และสะอาดรอง และมีกระดาษทิชชูชุบแอลกอฮอล์ 70% (จากข้อ 1) หุ้มหลอดจุลินทรีย์ไว้

3. ทำการหักหลอดจุลินทรีย์ โดยใช้นิ้วหัวแม่มือทั้งสองกดเบา ๆ บริเวณที่ด้านตรงข้ามกับรอยเลื่อย นั้น

4. ดึงปลายหลอดจุลินทรีย์ และสำลีทิ้งในขวดน้ำยาฆ่าเชื้อ ใช้ Pasture pipette ดูดอาหารเหลวที่เหมาะสมกับจุลินทรีย์แต่ละชนิด ประมาณ 0.3-0.4 มิลลิลิตร จากปริมาตร 5 มิลลิลิตรถ่ายลงในหลอดจุลินทรีย์ เพื่อละลายสารผสมเซลล์จุลินทรีย์ในหลอด ต้องทำในสภาพที่ปลอดเชื้อ

5. ดูดสารละลายผสมเซลล์จุลินทรีย์จากหลอดจุลินทรีย์ให้หมด พร้อมกับเขี่ยกระดาษรหัสเชื้อใส่ลงในหลอดอาหารเหลวเดิม จากนั้นหยดสารละลายเซลล์จุลินทรีย์ลงบนจานอาหารแข็ง (agar plate) จำนวน 1 หยด สารละลายเซลล์จุลินทรีย์ที่เหลือทั้งหมดถ่ายใส่ลงในอาหารเหลวในข้อ 4 สำหรับเซลล์จุลินทรีย์ที่หยดลงบนจานอาหารแข็งใช้ห่วงเหล็ก (loop) ฆ่าเชื้อเขี่ยกระจายเชื้อ (streak plate) ให้ได้เป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ (สำหรับจุลินทรีย์ที่เป็นสายพันธุ์ราจะใช้ Pasture pipette ดูดสารละลายเซลล์จุลินทรีย์หยดลงบนอาหารแข็งที่เหมาะต่อการเจริญของรา จำนวน 3 หยด และไม่ต้องกระจายเชื้อบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ)

6. จุลินทรีย์ที่ถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว (ทั้งในจานอาหารแข็ง และในหลอดอาหารเหลว) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมของจุลินทรีย์แต่ละชนิด เพื่อดูการเจริญของจุลินทรีย์



ภาคผนวก ค
ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA)

ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ได้แก่

- Potato Starch (from infusion) 4.0 g
- Dextrose 20.0 g
- Agar 15.0 g

ภาคผนวก ง
สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ซีโอดี ได้แก่

- สารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไดโครเมต เข้มข้น 0.1 นอร์มัล ละลายโปแตสเซียมไดโครเมต ซึ่งอบแห้งที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชม. หนัก 4.913 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มล. เติมกรดกำมะถันเข้มข้น 167 มล. และปรอทซัลเฟต 33.3 กรัม คนให้ละลายปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1,000 มล.

- กรดซัลฟุริก และซิลเวอร์ซัลเฟต ชั่งซิลเวอร์ซัลเฟต 8.8 กรัม ใส่ลงในกรดซัลฟุริกเข้มข้น 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1-2 วัน เพื่อให้ซิลเวอร์ซัลเฟตละลายได้ทั้งหมด ก่อนนำไปใช้ต่อไป

- สารละลายมาตรฐานเฟรัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 นอร์มัล ละลายเฟรัสแอมโมเนียมซัลเฟต 19.6 กรัมในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 20 มล. แล้วเจือจางเป็น 1,000 มล. ด้วยน้ำกลั่น

- สารละลายเฟอโรอีนอินดิเคเตอร์ ละลายเฟรัสซัลเฟต 695 มก. และ1,10-ฟีแนนโทรลีนโมโนไฮเดรต 1.485 กรัมในน้ำกลั่นแล้วเจือจางเป็น 100 มล.

วิธีการตรวจสอบความเข้มข้นของสารละลาย FAS

ปิเปตสารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไดโครเมต 0.1 นอร์มัล 5.0 มล. ใส่ขวดรูปกรวย เติมน้ำกลั่น 50 มล. แล้วค่อย ๆ เดติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 15 มล. ทิ้งให้เย็น เติมเฟอโรอีน 2-3 หยด ไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐาน FAS จนได้สีน้ำตาลเป็นจุดยุติ

ความเข้มข้นของ FAS, นอร์มัล (N) = (5.0 x 0.1) / มล. FAS ที่ใช้

- กรดซัลฟามิก (Sulfamic Acid)

ใช้สำหรับป้องกันการรบกวนของไนไตรต์ (NO^-_2) ปริมาณที่ใช้คือ 10 มก. ต่อทุก ๆ 1 มก. ของไนไตรต์

- สารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไฮโดรเจนพธาเลต (Potassium Hydrogen Phthalate หรือ KHP)

บด เคเอชพี เพื่อลดขนาดลง และนำไปอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส จนแห้งและมีน้ำหนักคงที่ แล้วละลาย KHP ที่บด และอบแห้งแล้ว 425 มก. ในน้ำกลั่น เจือจางให้เป็น 1,000 มล. สารละลายนี้มีซีโอดีเท่ากับ 500 มก./ล. สามารถเก็บรักษาในตู้เย็นได้นานไม่เกิน 3 เดือน

- สารละลายกลูโคส

ละลายกลูโคส 486.6 มก. ในน้ำกลั่นแล้วเจือจางให้เป็น 1,000 มล. สารละลายนี้จะมีค่าซีโอดีเท่ากับ 500 มก./ล. (กลูโคส 1 กรัม จะให้ซีโอดี 1.067 กรัม) สารละลายกลูโคสจะไม่ค่อยคงตัวเพราะสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้อย่างรวดเร็ว

2. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ทีเคเอ็น ได้แก่

- สารละลายปรอทซัลเฟต ละลายปรอทออกไซด์ 8 กรัม ในกรดกำมะถัน 6 นอร์มัล ปริมาตร 100 มล.

- น้ำยาสำหรับย่อยสลาย (Digestion Reagent) ละลายโปรแตสเซียมซัลเฟต 134 กรัม ในน้ำกลั่น 650 มล. เติมกรดกำมะถันเข้มข้น 200 มล. คนให้เข้ากัน และเติมสารละลายปรอทซัลเฟต 25 มล. เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้สารละลายมีปริมาตร 1 ลิตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการตกผลึก

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ – โซเดียมไธโอซัลเฟต (Sodium Hydroxide-Sodium Thiosulfate Reagent)

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 500 กรัม และโซเดียมไธโอซัลเฟต 25 กรัม ในน้ำ และเจือจางเป็น 1 ลิตร

- สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์

ละลายฟีนอล์ฟทาลีน 5 กรัม ในเอทธานอล 95% 500 มล. เติมน้ำกลั่นอีก 500 มล.

ภาคผนวก จ
วิธีการวิเคราะห์ซีโอดี และทีเคเอ็น

1. วิธีวิเคราะห์ซีโอดี ใช้วิธี Closed reflux method

ต้องล้างหลอดแก้ว และฝาปิดด้วยสารละลายกรดกำมะถัน 20 % ทุกครั้งก่อนใช้งาน

1.1 การเลือกขนาดของหลอดแก้วสำหรับต้มซีโอดีให้เหมาะสม

ถ้าตัวอย่างน้ำมีซีโอดีต่ำให้เลือกใช้หลอดแก้วขนาด 25 x 150 มม. (ปริมาณตัวอย่างน้ำ 10 มล.) ถ้าซีโอดีค่อนข้างสูงให้ใช้หลอดแก้วขนาด 20 x 150 มม. (ปริมาณตัวอย่างน้ำ 2.5 มล.)

1.2 การเลือกปริมาตรตัวอย่างน้ำ

ถ้าเป็นน้ำสะอาด น้ำธรรมชาติหรือน้ำที่มีค่าซีโอดีต่ำ ๆ (<40 มก./ล.) ควรใช้ตัวอย่างน้ำ 10 มล. โดยใช้หลอดแก้วขนาด 25 x 150 มม. โดยเลือกใช้ปริมาณตัวอย่างน้ำมากสุด 5 มล. หรือใช้น้อยกว่า แล้วเติมน้ำกลั่นให้เป็น 5 มล. และถ้าตัวอย่างน้ำมีค่า ซีโอดีสูงมากต้องเจือจางตัวอย่างน้ำก่อนนำมาใช้ ควรประมาณค่าซีโอดีของตัวอย่างน้ำอย่างคร่าว ๆ ก่อนเพื่อที่จะได้เลือกใช้ปริมาณตัวอย่างได้เหมาะสม การประเมิณค่าซีโอดีสามารถทำได้โดยพิจารณาจากลักษณะตัวอย่างน้ำแหล่งที่มาของน้ำ และจากค่า Rapid COD การเลือกขนาดตัวอย่างน้ำที่จะใช้วิเคราะห์ให้เหมาะสมดูได้จากตารางที่ จ.1 ในทางปฏิบัติ ควรเลือกใช้ปริมาณตัวอย่างน้ำให้ผลต่างของ FAS ที่ใช้ในการ ไตเตรตแบลงค์ตัวอย่างน้ำอยู่ระหว่าง 1 – 5 มล.

ตารางที่ จ.1 ขนาดตัวอย่าง และอัตราเจือจางที่เหมาะสม

ช่วงซีโอดี	ขนาดตัวอย่าง (มล.)	อัตราเจือจาง
<200	5	1 : 1
200 – 400	4	1 : 1
400 – 800	2	1 : 1
800 – 1,600	1	1 : 1
16,00 – 3,200	5	1 : 10
2,700 – 5,300	3	1 : 10
4,000 – 8,000	4	1 : 20
8,000 – 16,000	2	1 : 20
13,000 – 26,500	3	1 : 50
20,000 – 40,000	2	1 : 50
40,000 – 80,000	2	1 : 100
80,000 – 160,000	1	1 : 100

- เมื่อใช้ FAS ความเข้มข้น 0.05 นอร์มัล และ $K_2Cr_2O_7$ 0.1 นอร์มัล

1.3 ใส่น้ำตัวอย่าง

ใส่น้ำตัวอย่างลงในหลอดแก้วขนาดเหมาะสม เติมน้ำยาย่อยสลายหรือโปแตสเซียมไดโครเมตตามด้วยกรดกำมะถันอย่างช้า ๆ ในปริมาณที่แสดงอยู่ในตารางที่ จ.2 ปิดฝาให้แน่น และเขย่าผสมกัน สำหรับแบลงค์ใช้น้ำกลั่นแล้วทำเหมือนตัวอย่าง

ตารางที่ จ.2 ขนาดของหลอดแก้ว ปริมาตรตัวอย่างน้ำ และสารเคมีที่เหมาะสม

ขนาดหลอดแก้ว (มม.)	ปริมาตรตัวอย่างน้ำ (มล.)	สารละลายไดโครเมต (มล.)	สารละลายกรดซัลฟุริก (มล.)	ปริมาตรทั้งหมด
16 x 100	2.5	1.5	3.5	7.5
20 x 150	5.0	3.0	7.0	15.0
25 x 150	10.0	6.0	14.0	30.0

วางหลอดแก้วในบล็อค แล้วใส่ตู้อบ ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 150 ± 2°C เป็นเวลา 2 ชม. แล้วนำออกจากตู้อบทิ้งไว้ให้เย็น

1.4 การทำไตรเตรชัน

เทสารละลายออกจากหลอดแก้วลงในขวดรูปกรวย ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างสารละลายในหลอดแก้วให้หมด แล้วเทรวมลงในขวดรูปกรวย เติมเฟอโรอีนอินดิเคเตอร์ 2 – 3 หยด แล้วไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐานเอฟเอเอส สีของสารละลายจะค่อย ๆ เปลี่ยนจากเหลือง ⟶ เขียวอมเหลือง ฟ้า ⟶ น้ำตาลแดง ซึ่งแสดงว่าถึงจุดยุติ จดปริมาณแอฟเอเอสที่ใช้ไตเตรต

การคำนวณ

$$\text{ซีโอดี, มิลิกรัม } O_2\text{/ลิตร} = \frac{(A - B) \times N \times 8000}{\text{มล. ของตัวอย่างน้ำ}}$$

เมื่อ A = มล.ของ FAS ที่ใช้ในการไตดตรตแบลงค์

B = มล.ของ FAS ที่ใช้ในการไตดตรตตัวอย่าง

N = ความเข้มข้นของ FAS, นอร์มัล

2. วิธีวิเคราะห์ทีเคเอ็น ใช้วิธี Kjeldahl method

2.1 การเลือกขนาดตัวอย่าง

เลือกปริมาตรตัวอย่างที่จะใช้ตามตารางที่ จ.3 ตวงตัวอย่างใสในขวดเจลดาลห์ขนาด 800มล. เติมลูกแก้ว 3-4 เม็ด เพื่อกันการเดือดอย่างรุนแรงภายในขวด

ตารางที่ จ.3 การเลือกขนาดตัวอย่าง

Org-N ในตัวอย่าง (มก./ล.)	**ขนาดตัวอย่าง (มล.)**
0 – 1	500
1 – 10	250
10 – 20	100
20 – 50	50
50 – 100	25

2.2 การย่อยสลาย

เติมน้ำยาสำหรับย่อยสลาย 50 มล. ลงในขวดเจลดาลห์ นำเข้าเครื่องย่อยสลาย ต้มจนกระทั่งเกิดควันสีขาวของ SO_3 ต้มต่อไปเรื่อย ๆ จนได้สารละลายใส และย่อยสลายต่อ 20 - 30 นาที (ถ้ายังไม่ได้สารละลายใสให้เติมน้ำยาย่อยสลายอีก 50 มล. แล้วย่อยสลายจนได้สารละลายใส) ปิดไฟ และปล่อยทิ้งให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่น 300 มล. และฟีนอล์ฟทาลีน 0.5 มล. เขย่าให้เข้ากัน และทำให้เป็นด่าง โดยค่อย ๆ เติมน้ำยาโซเดียมไฮดรอกไซด์ไธโอซัลเฟต 50 มล. (ใช้น้ำยาโซเดียมไฮดรอกไซด์ไธโอซัลเฟต 50 มล. ต่อน้ำยาย่อยสลาย 50 มล.) เขย่าให้เข้ากัน ถ้าสีชมพูของฟีนอล์ฟทาลีนยังไม่เกิดให้เติมน้ำยาโซเดียมไฮดรอกไซด์ไธโอซัลเฟตลงไปอีก แล้วนำไปกลั่น

2.3 การกลั่น

ต่อขวดเจลดาลห์เข้ากับเครื่องกลั่น ทำการกลั่นโดยให้ความร้อนที่พอเหมาะ เก็บส่วนที่กลั่นออกมา 200 มล. ผ่านหลอดแก้วที่จุ่มอยู่ในสารละลายกรดบอริค 50 มล. จากนั้นหาแอมโมเนียโดยวิธีการไตเตรตด้วยกรดบอริคที่เติมอินดิเคเตอร์ เมื่อกลั่นครบ 200 มล. เลื่อนขวดเก็บสารละลายที่ได้จากการกลั่นออก และนำไปหาแอมโมเนีย ให้ทำแบลงค์ด้วยโดยใช้น้ำกลั่นแล้วทำตามขั้นตอนเหมือนตัวอย่างน้ำ

2.4 การคำนวณ

ปริมาณแอมโมเนียที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างน้ำที่ผ่านการย่อย และการกลั่นมาแล้วจะเป็นค่า TKN ถ้าต้องการหาความเข้มข้นของสารอินทรีย์ไนโตรเจนเพียงอย่างเดียว จะต้องวิเคราะห์หาค่าแอมโมเนียของตัวอย่างน้ำก่อน แล้วคำนวณหาค่าสารอินทรีย์ไนโตรเจน ดังนี้

สารอินทรีย์ไนโตรเจน = TKN – แอมโมเนียไนโตรเจน

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ – สกุล นางสาวสุจิตรา กุลวงษ์

วัน เดือน ปีเกิด 14 มีนาคม 2530

ที่อยู่ปัจจุบัน บ้านเลขที่ 94 หมู่ 1 ตำบลลุมพุก อำเภอคำเขื่อนแก้ว
จังหวัดยโสธร 35110

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2552 คณะสาธารณสุขศาสตร์และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
วิทยาศาสตรบัณฑิต (อาชีวอนามัยและความปลอดภัย)

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน

พ.ศ. 2553 – ปัจจุบัน ตำแหน่ง หัวหน้าหน่วยงานความปลอดภัยอาชีวอนามัยและสภาพแวดล้อม
ในการทำงาน
บริษัท สมบูรณ์หล่อเหล็กเหนียวอุตสาหกรรมจำกัด