ภาคผนวก

ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบอาหารทุกชนิด จะต้องมีขั้นตอนและวิธีการ ในการสุ่มตัวอย่างและมีการเตรียมตัวอย่างที่แตกต่างกันไป พอจะสรุปได้ ดังนี้ (ฉัตรชัย สังข์ผุด, 2544)

การสุ่มตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

การเตรียมตัวอย่างอาหาร มีวัตถุประสงค์เพื่อเลือกปริมาณของตัวอย่างให้เหมาะสมในการทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของอาหาร และเป็นตัวแทนของตัวอย่างทั้งหมดได้ ตัวอย่างอาหารที่นำมาวิเคราะห์ควรทำเป็นเนื้อเดียวกันก่อน โดยการบดให้ละเอียด แล้วจึงแบ่งออกมาในปริมาณที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์ แต่ถ้าสารตัวอย่างมีปริมาณมากและยากต่อการทำให้เป็นเนื้อเดียวกันก็จะใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างเพื่อให้ได้ตัวอย่างจำนวนหนึ่ง ซึ่งเป็นตัวอย่างของตัวอย่างทั้งหมด

การสุ่มตัวอย่างอาหาร

ตัวอย่างอาหารที่นำไปวิเคราะห์ จะต้องเป็นตัวแทนของตัวอย่างทั้งหมด โดยมีวิธีการปฏิบัติพอสรุปได้ ดังนี้

1. ทราบข้อมูลตัวอย่างอาหารนั้น ได้แก่ ปริมาณหรือจำนวนตัวอย่าง วันเดือนปี ที่ผลิต หรือวันเดือนปีที่หมดอายุ ผู้ผลิต และสถานที่ผลิต เป็นต้น

2. ทราบ หรือสังเกตสภาพระหว่าง หรือภายหลังการเก็บตัวอย่างมาแล้ว เช่น อุณหภูมิ ความชื้น และแสง เป็นต้น

3. ตัวอย่างอาหาร ต้องไม่เน่าเสียอันเนื่องมาจากแบคทีเรีย หรือเกิดจากปฏิกริยาการย่อยสลายของเอนไซม์ หรือเกิดจากการเหม็นหืนเนื่องจากความชื้น แสง และความร้อน หรือเกิดจากการปนเปื้อนจากสิ่งอื่น ๆ ภายหลังการเก็บตัวอย่างแล้ว

4. ภายหลังการเก็บตัวอย่างมาแล้ว ควรเก็บไว้ในภาชนะที่แห้ง สะอาด มีฝาปิดสนิท บางครั้งอาจจำเป็นเก็บไว้ในที่อุณหภูมิต่ำ

5. ถ้าตัวอย่างอาหารมีจำนวนมาก ให้สุ่มออกมาประมาณ 10-20% ของจำนวนที่มีอยู่ในกลุ่ม นั้น หรือประมาณ 5-10 % โดยน้ำหนักของตัวอย่างอาหารนั้น ถ้าตัวอย่างอาหารเป็นกองที่ใหญ่มาก จะเท่ากับรากที่สองของจำนวนที่มีทั้งหมดในกองนั้น

การเตรียมตัวอย่างอาหารเพื่อการวิเคราะห์

ตัวอย่างอาหารจะมีวิธีการเตรียมเพื่อการวิเคราะห์แตกต่างกันไป โดยทั่วไปอาหารสามารถแบ่งเป็นกลุ่ม ดังต่อไปนี้

1. อาหารแห้ง ได้แก่ อาหารผง ประเภทแป้ง ผงฟู เครื่องเทศ กาแฟคั่วบด โกโก้ และน้ำตาล เป็นต้น จะต้องบดให้ละเอียด และผสมให้เข้ากันดีในโกร่ง บางครั้งต้องร่อนผ่านตะแกรงตามความเหมาะสม และเก็บไว้ในภาชนะแห้ง สะอาด มีฝาปิดสนิท

2. อาหารเหลว ได้แก่

2.1 เครื่องดื่มอัดก๊าซ ได้แก่ เบียร์ และน้ำอัดลม เป็นต้น จะต้องเขย่าไล่อากาศคาร์บอนไดออกไซด์ออกที่อุณหภูมิห้อง ถ้าจำเป็นต้องมีการกรอง

2.2 เครื่องดื่มไม่อัดก๊าซ ได้แก่ น้ำผลไม้ และน้ำผลไม้เข้มข้น เป็นต้น ต้องผสมให้เข้ากัน และในส่วนที่จะนำมาวิเคราะห์ต้องมีส่วนของเนื้อผลไม้กระจายอยู่อย่างทั่วถึง

2.3 น้ำนม ไม่ควรคนแรง ๆ เพราะจะทำให้เกิดฟองอากาศ ควรผสมน้ำนมโดยการกลับขวดไปอย่างช้า ๆ หรือค่อย ๆ เทจากบีกเกอร์หนึ่งไปใส่บีกเกอร์อีกใบหนึ่ง

2.4 น้ำเชื่อม น้ำหวาน กากน้ำตาล นำไปเจือจางให้มีความเข้มข้น 30% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร อุ่นเล็กน้อย และคนให้น้ำเชื่อมผสมกัน ถ้าหากขุ่นก็ควรกรอง

3. อาหารประเภทเนื้อ

3.1 เนื้อสด และเนื้อกระป๋อง บดผสมให้เข้ากันในโกร่ง ทำซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง เก็บไว้ในขวดที่มีฝาปิดสนิท ที่อุณหภูมิ 0-10 องศาเซลเซียส และเมื่อจะทำการวิเคราะห์จะต้องนำเนื้อที่แช่แข็งไปละลาย (Thawing) เสียก่อน

3.2 ไส้กรอก ถ้าเป็นชนิดบรรจุอยู่ในไส้บรรจุ ให้ลอกไส้ออกให้หมด บดด้วยอัตราเร็วสูง ผสมให้เข้ากันดีในโกร่ง ทำซ้ำเช่นนี้อย่างน้อย 2-3 ครั้ง

3.3 เนื้อปลาสด และปลากระป๋อง ถ้าเป็นปลาสดให้แยกส่วนก้าง และครีบออกให้หมด ใช้เฉพาะส่วนเนื้อ ถ้าเป็นปลากระป๋องอาจบดของที่มีอยู่ในกระป๋อง หรือแยกเฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อ เพื่อวิเคราะห์เฉพาะอย่างก็ได้

3.4 ปลาแห้ง ปลารมควัน และปลาหมักเกลือ หั่นปลาเป็นชิ้นเล็ก ๆ ก่อนบดให้เป็นเนื้อเดียวกัน

3.5 หอย ถ้ามีเปลือกให้แยกส่วนที่รับประทานไม่ได้ออก ล้างน้ำ และผึ่งให้สะเด็ดน้ำ ส่วนหอยที่มีเปลือก ล้างเปลือกให้สะอาด แยกเอาเปลือกออก ล้างน้ำให้สะอาดอีกครั้ง จากนั้นบดให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน

4. อาหารประเภทผักและผลไม้

4.1 ผลไม้ แยกเอาเฉพาะส่วนที่รับประทานได้ หรือส่วนที่ต้องการวิเคราะห์ นำไปบดให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันที่อัตราเร็วสูง

4.2 ผักและผลไม้บรรจุกระป๋อง อาจบดของทั้งหมดที่มีอยู่ในกระป๋อง หรือถ้าต้องการแยกวิเคราะห์ ให้เทส่วนที่เป็นเนื้อผลไม้ในตะแกรงขนาด 8 meah แล้วบดเฉพาะส่วนเนื้อให้ผสมเข้ากันดีก่อนนำไปวิเคราะห์

4.3 ผลิตภัณฑ์แยม เยลลี่ และมาร์มาเลต นำมาสับหรือบดให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

4.4 อาหารหมักดอง หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ บดผสมที่อัตราเร็วสูง ถ้าจำเป็นในกรณีที่อาหารนั้นมีความเข้มข้นสูง อาจต้องเจือจางอาหารที่บดแล้วด้วยน้ำกลั่นก่อนนำไปวิเคราะห์

5. อาหารประเภทไขมัน

5.1 ไขมันและน้ำมัน ไขมันเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้อง ต้องนำมาอุ่นให้กลายเป็นของเหลว ถ้าขุ่นก็กรองขณะร้อน และควรเก็บตัวอย่างไว้ไม่ให้ถูกแสง เพราะอาจเป็นการเร่งให้เกิดการเหม็นหืนได้

5.2 ช็อคโกเลต อาจนำมาแช่เย็นจนแข็ง แล้วหักออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ บดให้ผสมเข้ากัน เก็บไว้ในที่อุณหภูมิต่ำ หรือนำมาหลอมเหลวในหม้อต้มน้ำแบบปรับอุณหภูมิได้ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส คนให้เข้ากันดี จากนั้นใช้ปิเปตดูดส่วนที่ต้องการออกมาใช้ในการวิเคราะห์

5.3 เนยแข็ง หั่นเนยแข็งเป็นชิ้นเล็ก ๆ หรือบดอย่างหยาบ ๆ ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 20 mesh คนให้ทั่ว เก็บใส่ขวดที่มีฝาปิดสนิท

5.4 น้ำสลัด เช่น สลัดครีม และมายองเนส เป็นต้น ให้คนเบา ๆ ก่อนนำไปวิเคราะห์

การวิเคราะห์ความชื้น (Dry matter หรือ Moisture)

ความชื้นเป็นน้ำหรือสารที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total volatile matter) ที่สูญเสียไปจากอาหาร เมื่อเพิ่มความร้อนให้แก่อาหาร อุณหภูมิที่ให้แก่อาหาร ต้องไม่สูงกว่าจุดเดือดของน้ำ หรือให้ความชื้นในสภาพสูญญากาศ หรืออาจปล่อยอาหารทิ้งไว้ในสารดูดความชื้น ส่วนกากหรือของแข็งที่เหลืออยู่หลังจากน้ำออกไปหมดแล้ว เรียกว่า ของแข็งทั้งหมด (total solid)

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. ภาชนะอะลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น
2. ตู้อบลมร้อน (Hot air Oven)
3. โถดูดความชื้น (Desiccator)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

สำหรับการหาความชื้น สามารถกระทำได้หลายวิธี แต่ในการวิจัยครั้งนี้ ใช้วิธีการใช้ตู้อบไฟฟ้า (ดัดแปลงจาก AOAC.,1984) ซึ่งมีวิธีการ ดังนี้

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนัก จดบันทึกผลไว้

2. กระทำตามข้อ 1 ซ้ำ จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งได้ทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างให้น้ำหนักแน่นอนอย่างละเอียด ประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้น ซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว

4. ทำให้ตัวอย่างแห้งโดยอบในตู้อบไฟฟ้า

- ตัวอย่างแห้ง ทำให้แห้งโดยอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-6 ชั่วโมง หรืออบที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

- ตัวอย่างสด (เปียก) ทำให้แห้งโดยอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรืออบที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักของตัวอย่างจะคงที่

5. นำออกจากตู้อบ วางให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักอีกครั้ง

6. อบซ้ำอีกครั้ง ๆ ละ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การวิเคราะห์โปรตีน (Crude Protein, CP)

โปรตีนเป็นสารอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในอาหารจึงทำได้โดยวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน ส่วนการเลือกใช้วิธีใด ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร และเครื่องมือที่มี เช่น ปริมาณโปรตีนในน้ำนมวัว จะวิเคราะห์โดยการทำฟอร์มัลไตเตรตชั่น (formal titration) ถ้าตัวอย่างเป็นแป้ง จะใช้วิธีการย่อยและการกลั่นด้วยวิธีเจลดาลห์ (Kjeldahl mathod)

การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลดาลห์

วิธีเจลดาลห์ เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ในรูปสารประกอบอินทรีย์ต่าง ๆ ซึ่งมีทั้งโปรตีนและสารประกอบอื่น ๆ ที่ไม่ใช่โปรตีน แต่มีไนโตรเจน (non-protein nitrogen) รวมอยู่ด้วย ทำโดยวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน โดยชั่งสารใส่ในหลอดแก้ว นำไปย่อยด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น ในสภาพที่มีความร้อนและมีแคทาลีส (Catalyst) เป็นตัวเร่งปฏิกริยา จนกระทั่งได้สารละลายใส ส่วนของอินทรียวัตถุจะสลายตัวไป สารประกอบไนโตรเจนทั้งที่เป็นส่วนของโปรตีนแท้และไม่ใช่โปรตีน ยกเว้นที่อยู่ในรูปของไนเตรทและไนไตรท์ จะถูกเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียมซัลเฟต หลังจากทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทีมีความเข้มข้น 32 % แล้วทำการกลั่น แอมโมเนีย จะถูกไล่ออกมา ทำการจับไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ด้วยกรดบอริก ที่มีความเข้มข้น 2-4 % แล้วนำไปไตเตรทกับกรดเกลือมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (0.1 HCl) จะสามารถคำนวณหาความเข้มข้นของไนโตรเจนได้

เนื่องจากโปรตีนมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ การหาปริมาณโปรตีนในอาหารจึงหาโดยหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total nitrogen) ในอาหาร โปรตีนโดยทั่วไปมีไนโตรเจน 16 ดังนั้นปริมาณของโปรตีน จะเท่ากับปริมาณของไนโตรเจนทั้งหมด คูณด้วย 6.25 ปริมาณโปรตีนที่หาได้นี้เรียกว่า โปรตีนอย่างหยาบ (Crude Protein) ดังนั้นการหาปริมาณโปรตีนอย่างหยาบ จากไนโตรเจนจึงคำนวณโดยใช้แฟคเตอร์คูณปริมาณของไนโตรเจนทั้งหมด แฟคเตอร์นี้ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร ดังแสดงในตารางผนวกที่ 1

ตารางผนวกที่ 1 แสดงค่าแฟคเตอร์ของอาหารชนิดต่าง ๆ ในการนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โปรตีนจากเปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนของอาหารนั้น

ชนิดของสารอาหาร	แฟคเตอร์	ปริมาณโปรตีน (%)
ธัญพืช		
แป้งสาลีจากข้าวทั้งเมล็ด	5.83	N*5.83
มักกะโรนีและสปาเก็ตตี้	5.70	N*5.70
ข้าวจ้าวและผลิตภัณฑ์	5.95	N*5.95
ข้าวไรน์และผลิตภัณฑ์	5.83	N*5.83
ข้าวบาร์เล่ย์และผลิตภัณฑ์	5.83	N*5.83
ข้าวโพด (Lima bean, Mung bean)	6.25	N*6.25
นัทและเมล็ดพืช		
ถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์	5.71	N*5.71
แอลมอนด์	5.18	N*5.18
ถั่วลิสง	5.46	N*5.46
มะพร้าว	5.30	N*5.30
เมล็ดงา ทานตะวัน คำฝอยและอื่น ๆ	5.30	N*5.30
นมและผลิตภัณฑ์	6.38	N*6.38
เจลาติน	5.55	N*5.55

ที่มา : FAO (1986)

เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. เครื่องย่อยสาร
2. เครื่องกำจัดไอกรด
3. เครื่องกลั่นสาร
4. บิวเรต หรือ Digital Buret
5. เครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียด 4 ตำแหน่ง
6. เครื่อง Cooling

สารเคมี

1. Sulpharic acid conc.
2. Sodium hydroxide 32%
3. Selenium mixture หรือ $CuSO_4$ + K_2SO_4
4. Boric acid 2%
5. 0.1 N. HCl
6. Mixing indicator acc.to sher

วิธีการ

1. บันทึกลักษณะตัวอย่างอาหาร
2. เตรียมตัวอย่างอาหาร ควรบดให้ละเอียดและมีความเป็นเนื้อเดียวกัน
3. การชั่งสารตัวอย่าง

3.1 ถ้าเป็นของแข็ง ให้ชั่งด้วยความละเอียด 0.1 mg. โดย

- ถ้า % ไนโตรเจน มากกว่า 5% ชั่งประมาณ 0.5 กรัม
- ถ้า % ไนโตรเจน น้อยกว่า 5% ชั่งประมาณ 1.0 กรัม

3.2 ถ้าเป็นของเหลว ตวงด้วยปิเปต 10 มล. (สูงสุดไม่เกิน 50 มล.)

4. การเติมสารเคมี

4.1 เติม Catalyst ที่ใช้คือ Selenium mixture หรือ $CuSO_4$ + K_2SO_4 (95% / 5%) 7 กรัม

4.2 เติมกรด Sulphuric เข้มข้น 15-20 มล.

5. วางหลอดย่อยในเตาย่อย แล้วประกอบสายยางระหว่างฝาครอบ ต่อสายเข้ากับขวดใส่สารละลายด่างและเครื่องดักจับไอกรดให้เรียบร้อย

6. เปิดสวิทช์ เครื่องดักจับไอกรดและเตาย่อย แล้วตั้งอุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นปรับเพิ่มอุณหภูมิเป็น 350 องศาเซลเซียส ย่อยต่ออีก 60 นาที จะได้สารละลายใส

7. ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น

8. นำมาถ่ายลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล. และใช้น้ำกลั่นล้างหลอดย่อยให้หมด แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น

9. ขั้นตอนการกลั่นและไตเตรท โดยจัดอุปกรณ์การกลั่น เปิดสวิทช์ ให้ความร้อน เปิดน้ำหล่อเย็น และเครื่องควบแน่น

10. นำขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 มล. ซึ่งภายในบรรจุบอริก (4%) ปริมาณ 5 มล. ซึ่งเติมอินดิเคเตอร์เรียบร้อยแล้ว ไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้ โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่น จุ่มลงในสารละลายกรดนี้

11. ดูดสารละลายตัวอย่างด้วยปิเปต 10 มล. ใส่ลงในช่องใส่ตัวอย่าง แล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 20 มล. หรือตั้งให้เครื่องกลั่นทำงานตาม ในกรณีที่เป็นเครื่องกลั่นอัตโนมัติ

12. กลั่นประมาณ 10 นาที ล้างอุปกรณ์ควบแน่น ด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ

13. ไตเตรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดเกลือที่มีความเข้มข้น 0.1 N. จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอมส้ม

การคำนวณผล

$$\text{สูตร \% N2} = \frac{(V1 - V2) \times (14.007) \times (N) \times 100}{Emg}$$

V1 = ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไตเตรท

V2 = ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไตเตรท Blank

N = Normality ของกรด

E = น้ำหนักของสารตัวอย่าง หน่วยเป็นมล.

$$\% \text{ Crude Protein} = \% N_2 \times 6.25$$ (หรือแฟคเตอร์อื่นตามตารางผนวกที่ 1)