

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ความชื้น

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
2. ภาชนะอะลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น (Moisture can) พร้อมฝาปิด
3. ตู้อบไฟฟ้าที่ควบคุมอุณหภูมิได้ (Electric oven)
4. โถดูดความชื้น (Desiccator)

วิธีการทดลอง

1. อบภาชนะอะลูมิเนียมสำหรับหาความชื้นพร้อมฝาปิดในตู้อบไฟฟ้าที่ 105°C นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำภาชนะมาใส่ในโถดูดความชื้นประมาณ 30 นาทีหรือจนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะเท่ากับอุณหภูมิห้อง บันทึกน้ำหนักของภาชนะพร้อมฝาปิด (A)

2. ทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 1 จนน้ำหนักคงที่หรือผลต่างของน้ำหนักไม่เกิน 1-2 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างอาหารที่บดละเอียดประมาณ 2 กรัม (B) ลงในภาชนะหาความชื้นที่ทราบน้ำหนัก จากนั้นนำไปอบให้แห้งในตู้อบไฟฟ้าที่ 105°C เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง แล้วนำมาใส่ในโถดูดความชื้นประมาณ 30 นาทีหรือจนกระทั่งอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง จากนั้นบันทึกน้ำหนักของภาชนะพร้อมตัวอย่างหลังอบ (C)

4. ทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 3 จนน้ำหนักคงที่หรือผลต่างของน้ำหนักไม่เกิน 1-2 มิลลิกรัม

5. นำผลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณความชื้นดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = 100 \times \frac{[(A + B) - C]}{B}$$

B

เมื่อ	A	=	น้ำหนักของภาชนะอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิด (กรัม)
	B	=	น้ำหนักตัวอย่างอาหารก่อนอบ (กรัม)
	C	=	น้ำหนักของภาชนะอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิดและตัวอย่างอาหารหลังอบ (กรัม)

การวิเคราะห์โปรตีน

อุปกรณ์

1. หลอดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask) ขนาด 250-300 มล.
2. ชุดกลั่นโปรตีน (Semi-microdistillation apparatus)
3. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 1000 มล.
4. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มล.
5. บิวเรตต์ ขนาด 50 มล.
6. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
7. กระดาษชั่งสาร

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น ถพ. 1.84, N₂-free
2. สารเร่งปฏิกิริยา: คอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO₄·5H₂O) และโปตัสเซียมซัลเฟต (K₂SO₄)
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 40
4. สารละลายมาตรฐานกรดไฮดรคลอริก 0.1 นอร์มัล : HCl 8.2 มล. ในน้ำกลั่น 1 ลิตร
5. สารละลายกรดบอริกร้อยละ 4 : เตรียมโดยใช้น้ำร้อน
6. Mix indicator: Methyl red 0.1 กรัม ผสมกับ Bromocresol green 0.1 กรัม ในเอทานอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
7. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Commercial grade สำหรับ Scrubber)

วิธีการทดลอง

1. พับกระดาษชั่งสารเป็นรูปของจดหมาย ชั่งตัวอย่างลงในกระดาษชั่งสารให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 1.xxxx กรัม
2. เติมคอปเปอร์ซัลเฟต 0.8 กรัม โพแทสเซียมซัลเฟต 7 กรัม
หมายเหตุ ถ้าตัวอย่างเป็นของเหลวต้องใส่สารละลาย Hydrogen peroxide 5 มล.
 ถ้าตัวอย่างเป็นของแข็งต้องใส่สารละลาย Octanol 5 หยด (เพื่อป้องกันการเดือด)
3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 12 มล. และเขย่าเบา ๆ เพื่อให้ท่วมตัวอย่าง (ตัวอย่างที่มีไขมันสูง (>10% fat) หรือคาร์โบไฮเดรตสูง ใช้ 15 มล.)
4. ใส่หลอดย่อยใน Rack ปิดฝาหลอดย่อยด้วย Exhaust system เปิดสวิตช์ชุดจับไอกรด (Scrubber unit) เปิดสวิตช์เครื่องย่อย (Digester) ตั้งอุณหภูมิที่ 420°C
5. ย่อยจนได้สารละลายสีฟ้าใสในตู้คว้น (ใช้เวลาประมาณ 30-60 นาที) ยก Rack หลอดย่อยขึ้นพักไว้บน Stand (ยังไม่ต้องเปิดฝาหลอดย่อย) ทิ้งให้เย็น
6. นำ Erlenmeyer flask ขนาด 250 มล. ไปตั้งไว้ที่ตำแหน่งรองรับของเครื่องกลั่น และเลื่อนฐานขึ้นให้ปลายแท่งแก้วจุ่มอยู่ใต้สารละลาย รองรับสิ่งที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดบอริก เข้มข้น 4

เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 25-30 มล. ที่ผสม Mix indicator ระหว่าง Methyl red กับ Bromocresol green เรียบร้อยแล้ว

7. นำหลอดกลั่นใส่ให้ตรงหัวกลั่น เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 80 มล. และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาตร 50 มล. ปิด Safety door เครื่องจะทำงานทันที

หมายเหตุ ก่อนกลั่นจะต้องเปิด Cooling bath ตั้งอุณหภูมิที่ 10-15°C warm เครื่องกลั่น ด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง โดยไม่ต้องเติม NaOH และ Boric acid และทำเช่นเดียวกันเมื่อเสร็จสิ้นการทดลอง ทุกครั้ง

8. กลั่นประมาณ 4 นาที (สารละลายใน Flask รองรับจะเปลี่ยนเป็นสีเขียว) ล้างปลาย อุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงใน Flask รองรับ

9. ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มัล จนได้ สีชมพู (จุดยุติ) จดปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้

10. ทำ Blank ด้วยวิธีการเดียวกันตั้งแต่ข้อ 2-10

วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละ)} = \frac{(T-B) \times 14.007 \times 100 \times N}{\text{Weight of sample (mg)}}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \% \text{ Nitrogen} \times \text{conversion factor (F)}$$

T = Sample titration (ml)

B = Blank titration (ml)

N = Normality of titrant (N)

Conversion factor = แฟคเตอร์สำหรับแปลงกลับ = 6.25 (น้ำหนักกรัมสมบูรณ์ของ ไนโตรเจนเท่ากับ 14.007)

การ Standardize สารละลายมาตรฐาน HCl 0.1 นอร์มัล

ชั่ง Anhydrous Na₂CO₃ ประมาณ 5 กรัม ใส่ในโกร่ง แล้วบดให้ละเอียด นำไปอบที่อุณหภูมิ 265°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือที่ 200°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

ชั่ง Na₂CO₃ ที่อบไว้มา 0.13 กรัม อย่างละเอียด ใส่ใน Flask เติมน้ำกลั่น 20 มล. แล้วหยด อินดิเคเตอร์ฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด นำไปไทเทรตกับสารละลาย HCl 0.1 นอร์มัล จนสารละลาย เปลี่ยนเป็นสีใส ให้จดปริมาตรเป็น A₁ จากนั้นนำสารละลายไปต้มประมาณ 2-3 นาที จนเดือด สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปไทเทรตกับ HCl 0.1 นอร์มัล จนได้สีใส อีกครั้ง จดปริมาตรเป็น A₂ แล้วนำไปคำนวณความเข้มข้นของสารละลาย HCl ตามสมการ

$$\text{Concentration of HCl (mol/L)} = \frac{2000 \times \text{Accurate weight of Na}_2\text{CO}_3}{\text{MW of Na}_2\text{CO}_3 \times (A_1 + A_2)}$$

การวิเคราะห์ไขมัน

อุปกรณ์

1. ชุดเครื่องมือและอุปกรณ์เครื่อง Soxtec Avanti 2050 Auto System
2. หลอดบรรจุตัวอย่าง (Thimble) พร้อมที่จับ (Thimble holder)
3. ถ้วยสกัด (Extraction cup) พร้อมที่จับ (Extraction cup holder)
4. Mortar and Pestle สำหรับบดตัวอย่าง
5. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
6. โถดูดความชื้น (Desiccator)

สารเคมี

เฮกเซน (จุดเดือด 62-67°C) หรือปิโตรเลียมอีเทอร์ (จุดเดือด 40-60°C)

วิธีการทดลอง

1. ใส่ขวดกลมสำหรับการหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้าทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก 3-5 กรัม ห่อให้มิดชิดใส่ลงในหลอด สำหรับใส่ตัวอย่าง
3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงใน Soxtec เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ลงในขวดหาไขมัน ประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตา
4. ประกอบอุปกรณ์ชุดกลั่นไขมัน พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่นและเปิดสวิทช์ให้ความร้อน
5. ปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที
6. เมื่อครบ 6 ชั่วโมงแล้ว นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจาก Soxtec ทิ้งให้ตัวทำละลายไหลจาก Soxtec ลงในขวดก้นกลมจนหมด
7. ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ
8. นำขวดหาไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสจนแห้ง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
9. ชั่งน้ำหนักแล้วอบซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
10. คำนวณหาปริมาณไขมันจากสูตร

วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมันของตัวอย่าง (ร้อยละ)} = \frac{100(w_1 - w_2)}{W}$$

w_1 คือ น้ำหนักของ Extraction cup และน้ำหนักไขมันที่สกัดได้ภายหลังการอบแห้งแล้ว (กรัม)

w_2 คือ น้ำหนักของ Extraction cup ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (กรัม)

W คือ น้ำหนักของตัวอย่างอาหารที่อบแห้งแล้ว (กรัม)

การวิเคราะห์กากใย

อุปกรณ์

1. ตัวอย่างอาหาร
2. ถ้วยแก้ว (Crucible)
3. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
4. เครื่องสกัดร้อน (Cold extractor)
5. เครื่องสกัดเย็น (Hot extractor)
6. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
7. โถดูดความชื้น (Desiccator)
8. เตาเผา (Muffle furnace)
9. ถาด
10. ที่คีบ (Tong)
11. ถังมือกั้นร้อน
12. เตาไฟฟ้า
13. โกร่งบดตัวอย่าง
14. บีกเกอร์ (Beaker)
15. แก้วและสแตนเลส

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) 1.25%
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1.25%
3. อะซิโตน (Acetone)
4. ออกทานอล (Octanol)
5. ซีไลต์ (Celite)
6. น้ำกลั่นร้อน

วิธีการทดลอง

1. อบ Crucible ใน Hot air oven นำมาไว้ในโถดูดความชื้นเพื่อรอใช้งาน
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างอาหารลงใน Crucible 1.xxxx กรัม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W_1)
3. ชั่ง Celite 1 กรัม เททับตัวอย่างอาหาร
4. นำตัวอย่างเข้าเครื่องสกัดเย็น เพื่อสกัดไขมันออกจากตัวอย่าง โดยตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ต้องปราศจากไขมันและความชื้น (หากตัวอย่างอาหารมีปริมาณไขมันเกิน 10%)
5. เติม Acetone ให้ท่วมตัวอย่าง แช่ตัวอย่างไว้ใน Acetone 10 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 3 รอบ ทำเช่นนี้ 2 ครั้ง

6. นำตัวอย่างที่ปราศจากไขมัน เข้ามาไว้ในเครื่องสกัดร้อน เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกร้อน ความเข้มข้น 1.25% ปริมาตร 150 มิลลิลิตร หยดสารละลาย Octanol เพื่อกันเดือด 3 หยด จากนั้นสกัดด้วยอุณหภูมิสูง 30 นาที
7. ปล่อยสารละลายกรดร้อนทิ้ง และล้างด้วยน้ำกลั่นร้อน 3 รอบ
8. เติมสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อน ความเข้มข้น 1.25% ปริมาตร 150 มิลลิลิตร หยดสารละลาย Octanol เพื่อกันเดือด 3 หยด จากนั้นสกัดด้วยอุณหภูมิสูงอีก 30 นาที
9. ปล่อยสารละลายต่างร้อนทิ้ง และล้างด้วยน้ำกลั่นร้อน 3 รอบ
10. นำตัวอย่างเข้าเครื่องสกัดเย็น เพื่อสกัดไขมันออกจากตัวอย่างอีกรอบ โดยแช่ตัวอย่างไว้ใน Acetone 10 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 3 รอบ ทำเช่นนี้ 2 ครั้ง
11. นำตัวอย่างอาหารที่บรรจุใน Crucible ไปอบไล่ความชื้นด้วยเครื่อง Hot air oven อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น นาน 15 นาที และบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W_2)
12. นำตัวอย่างอาหารที่บรรจุใน Crucible ไปเผาใน Muffle furnace 525-530 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปอบใน Hot air oven อีก 1 ชั่วโมง จึงย้ายไปเก็บในโถดูดความชื้น 1 ชั่วโมง แล้วจึงบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W_3)

วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (\% wet basis)} = \frac{W_2 - W_3}{W_1} \times 100$$

- W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่าง
- W_2 คือ น้ำหนัก Crucible + น้ำหนักตัวอย่างอาหารก่อนเผา
- W_3 คือ น้ำหนัก Crucible + น้ำหนักตัวอย่างอาหารหลังเผา

การวิเคราะห์เถ้า

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
2. ภาชนะสำหรับเผาเถ้า (Crucible)
3. เต้าไฟฟ้า
4. เต้าเผา (Muffle furnace)
5. โถดูดความชื้น (Desiccator)

วิธีการทดลอง

1. เเผ่ถ้วย Crucible ในเต้าเผาที่ 105°C นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำภาชนะมาใส่ในโถดูดความชื้นประมาณ 30 นาที หรือจนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะเท่ากับอุณหภูมิห้อง บันทึกน้ำหนักของถ้วย Crucible (A)
2. ชั่งตัวอย่างอาหารที่บดละเอียดประมาณ 5 กรัม (B) ลงในถ้วย Crucible แล้วนำไปเผาในเต้าไฟฟ้าจนตัวอย่างอาหารไม่มีควัน จากนั้นนำไปเผ่ต่อในเต้าเผาที่ 550°C นาน 2 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งได้เถ้าสีขาว ปิดสวิทช์เต้าเผา และรอจนอุณหภูมิกายในเต้าลดลงจึงนำถ้วยออกจากเต้าเผาเพื่อไม่ให้ถ้วยแตก
3. นำถ้วย Crucible ไปตั้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 30 นาที หรือจนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะเท่ากับอุณหภูมิห้อง บันทึกน้ำหนักของภาชนะ (C)
4. นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เถ้าทั้งหมดในอาหารจากสูตรข้างล่างนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้าทั้งหมดในอาหาร} = \frac{100 \times (C - A)}{B}$$

เมื่อ	A	=	น้ำหนักของถ้วย Crucible (กรัม)
	B	=	น้ำหนักของตัวอย่างอาหารก่อนอบ (กรัม)
	C	=	น้ำหนักของถ้วย Crucible และตัวอย่างอาหารหลังอบ (กรัม)

การหาคาร์โบไฮเดรต

การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในตัวอย่าง โดยทั่วไปคำนวณจากผลต่างของน้ำหนักแห้ง กับปริมาณองค์ประกอบส่วนที่เป็นโปรตีน ไขมันและเถ้า

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต} = \text{น้ำหนักแห้ง} - (\text{โปรตีน} + \text{ไขมัน} + \text{เถ้า})$$