



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

วิธีการผลิตข้าวพัน

1. ข้าวพันตำรับเดิม

วิธีในการทำข้าวพันตำรับเดิมมีดังนี้

- 1) เตรียมแป้งโดยนำข้าวสารจ้าวแช่น้ำในโอ่งประมาณ 2-3 ชั่วโมง แล้วนำมาผึ่ง เพื่อให้สะเด็ดน้ำ ใช้ใบตองปิดแล้วรดน้ำ วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 3 วัน นำข้าวมาโม่ ด้วยโม่หิน ผสมแป้งที่ได้ให้เข้ากัน กรองด้วยผ้าขาวบางทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นนำแป้งที่ได้มาผสมน้ำให้พอดีไม่เหลวหรือไม่ข้นเกินไป เติมเกลือเล็กน้อยตามชอบ
- 2) เตรียมเตาอังไล่และหม้อดิน ตั้งกระทะใส่น้ำจนเดือดแล้วนำหม้อดิน ไม่มีก้นที่หุ้มปากหม้อด้วยผ้าขาวบาง มาวางในกระทะ
- 3) นำแป้งที่เตรียมไว้ละเลงลงบนผ้า ขณะที่มือไอน้ำเดือดอยู่ (คล้ายการทำข้าวเกรียบปากหม้อ) ให้มีลักษณะเป็นแผ่นกลมบางๆ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 นิ้ว ปิดฝาหม้อไว้ประมาณ 30 วินาที แล้วเปิดฝ้อออก
- 4) ใช้ไม้ไผ่ที่เหลาให้แหลมแต่ไม่คมเซะด้านข้าง แล้วม้วนข้าวพันโดยใช้ไม้ไผ่เป็นแกน วางข้าวพันบนใบตองแล้วดึงไม้ไผ่ออก จะได้ข้าวพัน 1 พัน รับประทานกับน้ำจิ้ม ซึ่งประกอบด้วยพริกขี้หนูสด (พริกแห้ง หรือพริกป่นก็ได้) น้ำปลา น้ำตาล กระเทียม หรืออาจเติมมะนาวด้วยก็ได้



ภาพ ก.1 ข้าวพันตำรับเดิม

2. ข้าวพันผสมผักทอง

วิธีในการทำข้าวพันผสมผักทอง

- 1) ผสมแป้งทั้งหมดและเกลือ ให้เข้ากัน
- 2) บดผักทองค้มน้ำจันและ แล้วนำไปผสมกับส่วนผสมในข้อ 1 พักไว้ประมาณ 10-20 นาที เพื่อให้แป้งดูดน้ำ

3) เตรียมเตาอังโล่และหม้อดิน ตั้งกระทะใส่น้ำจนเดือดแล้วนำหม้อดิน ไม่มีก้นที่หุ้มปากหม้อด้วยผ้าขาวบางมาวางในกระทะ

4) นำแป้งที่เตรียมไว้ละเลงลงบนผ้า ขณะที่หม้อน้ำเดือดอยู่ (คล้ายการทำข้าวเกรียบปากหม้อ) ให้มีลักษณะเป็นแผ่นกลมบางๆ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 นิ้ว ปิดฝาหม้อไว้ประมาณ 30 วินาที แล้วเปิดฝาทิ้ง

5) ใช้ไม้ไผ่ที่เหลาให้แหลมแต่ไม่คมแซะด้านข้าง แล้วม้วนข้าวพัน โดยใช้ไม้ไผ่เป็นแกนวางบนใบตองแล้วดึงไม้ออก จะได้ข้าวพัน 1 พัน



ภาพ ก.2 ข้าวพันตำรับผสมฟักทอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright © by Chiang Mai University

All rights reserved

3. ข้าวพันตำรับผสมถั่วเขียว

วิธีการทำเช่นเดียวกับข้าวพันผสมฟักทอง เพียงแต่เปลี่ยนจากฟักทองเป็นถั่วเขียว



ภาพ ก.3 ข้าวพันตำรับผสมถั่วเขียว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การเตรียมตัวอย่างอาหารเพื่อการวิเคราะห์

ตัวอย่างข้าวพ่นที่สุ่มซื้อจากตลาดต่างๆ จะมีรูปแบบและลักษณะเฉพาะตัว ดังนั้นในการวิเคราะห์จึงมีความจำเป็นต้องนำมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อน ตามขั้นตอนต่อไปนี้

1. ชั่งน้ำหนักขวดพลาสติกเปล่าพร้อมฝา ปิดฉลากขวดด้วย Marking tape ขนาด 2 นิ้ว 2 ชิ้น ชิ้นที่ 1 ติดที่ฝาขวด อีกชิ้นหนึ่งติดที่ตัวขวด บันทึกรายละเอียดเกี่ยวกับน้ำหนักขวดเปล่า ชนิดอาหาร วันเดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง

2. นำข้าวพ่นมารวมกัน แล้วชั่งน้ำหนักข้าวพ่นทั้งหมด

3. ปั่นข้าวพ่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้าให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน เติมน้ำกลั่นในปริมาณที่พอเหมาะเพื่อให้สามารถปั่นได้ พร้อมทั้งบันทึกปริมาตรของน้ำที่เติม

4. เทข้าวพ่นที่ปั่นแล้วลงในขวดพลาสติกที่ทราบน้ำหนัก ประมาณหนึ่งในสามของขวด จำนวน 2 ขวด และปิดฝา

5. ชั่งน้ำหนักขวดทั้งหมด และบันทึกน้ำหนักที่ชั่งได้บนฉลากและปิดไว้ทั้งตัวขวดและบนฝาขวด และทำการจดบันทึกไว้ในสมุดด้วย

6. พัน Parafilm รอบปากขวดข้าวพ่นปั่นให้แน่น เพื่อป้องกันความชื้นเข้าไป จากนั้นนำขวดไปเข้าเครื่อง Shell freezer ที่ปรับอุณหภูมิเอาไว้ที่ -20°C . เพื่อให้ตัวอย่างข้าวพ่นที่ปั่นเคลือบแข็งเป็นแผ่นบางๆ รอบผิวภายในขวด เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวของการระเหยของน้ำจากตัวอย่างอาหาร เพื่อให้แห้งได้เร็วขึ้น เมื่อนำเข้าเครื่อง Lyophilizer

7. รอจนข้าวพ่นแข็ง แล้วไว้ใน Deep freezer (-20°C .) ประมาณ 2-3 ชั่วโมง จากนั้นนำเข้าเครื่อง Lyophilizer เพื่อทำให้ข้าวพ่นแห้ง

8. เก็บข้าวพ่นแห้งที่ได้ไว้ใน Desiccator อุณหภูมิประมาณ 45°C . เพื่อป้องกันความชื้นเพื่อนำไปวิเคราะห์หาสารอาหารต่อไป ก่อนเก็บขวดที่บรรจุข้าวพ่นแห้ง บันทึกน้ำหนักที่ได้ติดไว้ที่ฉลากข้างขวด และทำการจดบันทึกไว้ด้วย

ภาคผนวก ค

วิธีการตรวจวิเคราะห์คุณค่าสารอาหารในตัวอย่างอาหาร

1. การหาปริมาณความชื้นในตัวอย่างอาหารโดยวิธี Freeze-drying

1.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทำ Freeze-drying เรียกว่า Lyophilizer

Lyophilizer มีส่วนประกอบที่สำคัญดังนี้

1. Vacuum pump

2. Condenser tank มี Acrylic glass bell jar วางอยู่ด้านบนภายใน Condenser tank มี Ice condenser ซึ่งถูกทำให้เย็น โดย Refrigerator ตัว Condenser tank ทำหน้าที่กักเก็บไอน้ำ (Water vapour) ซึ่งเกิดจากการระเหิดของน้ำในตัวอย่างอาหารและกลายเป็นน้ำแข็งอยู่ภายใน

3. Control unit ประกอบด้วย

3.1 ปุ่มควบคุมการปิด-เปิดของ Vacuum pump

3.2 ปุ่มควบคุมการปิด-เปิดของ Condenser cooling

3.3 Vacuum gauge

3.4 หน้าปัดแสดงอุณหภูมิภายใน Condenser tank และใน Acrylic glass bell jar

1.2 การคำนวณหาความชื้นในตัวอย่างอาหาร

น้ำหนักอาหารรวม (คือน้ำหนักอาหารสดเฉพาะส่วนที่กินได้ทั้งหมด) ให้ = a กรัม

น้ำหนักน้ำที่เดิมในการปั่นบดอาหาร = b กรัม

น้ำหนักอาหารปั่นรวมทั้งหมด = a+b กรัม

เมื่อปั่นบดอาหารให้ละเอียดเข้ากันดีแล้วอาหารปั่นใส่ในขวดที่ทราบน้ำหนัก เมื่อลบน้ำหนักของขวดและฝ้อออกแล้ว น้ำหนักที่เหลือ คือน้ำหนักอาหารปั่นในขวดก่อนทำให้แห้ง กำหนดให้ = c กรัม

เมื่อนำอาหาร ไปทำให้แห้งโดยเครื่อง Lyophilizer ชั่งน้ำหนักขวดพร้อมกับอาหารแห้ง ลบ

น้ำหนักขวดเปล่าออกจะเหลือน้ำหนักอาหารแห้งในขวด กำหนดให้ = d กรัม

น้ำหนักอาหารปั่นก่อนทำให้แห้ง c กรัม ทำให้เป็นอาหารแห้งมีน้ำหนัก = d กรัม

ถ้าน้ำหนักปั่นทั้งหมด a+b กรัม ทำให้เป็นอาหารแห้งที่มีน้ำหนัก $\frac{d(a+b)}{c}$ กรัม

อาหารแห้ง $\frac{d(a+b)}{c}$ กรัม = น้ำหนักอาหารแห้งทั้งหมด

c

$$\therefore \text{ความชื้นในอาหารทั้งหมด} = a - \frac{d(a+b)}{c} \text{ กรัม}$$

โดยทั่วไปนิยมรายงานความชื้นค่อน้ำหนักอาหารสด 100 กรัม : ซึ่งคำนวณได้ดังนี้
 อาหารสดส่วนที่กินได้ทั้งหมด a กรัม มีความชื้น = $a - \frac{d(a+b)}{c}$ กรัม

ถ้าอาหารส่วนที่กินได้ทั้งหมด 100 กรัม มีความชื้น = $\left\{ a - \frac{d(a+b)}{c} \right\} \times \frac{100}{a}$ กรัม

2. การหาปริมาณไขมันตัวอย่างอาหาร

2.1 ขั้นตอนการเผาตัวอย่างอาหาร

1. เตา Crucible ที่สะอาดปราศจากแร่ธาตุในเตาเผา (Muffle furnace) ที่อุณหภูมิ 450° C นาน 15 นาที

2. ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วเก็บไว้ใน desiccator ประมาณ 20 นาที ชั่งน้ำหนักของ Crucible โดยใช้เครื่องชั่งที่มีมาตรวัดละเอียดสามารถอ่านได้ถึง ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3. ชั่งอาหารแห้งในปริมาณที่พอเหมาะใน Crucible (ประมาณ 1 ใน 4 ของ Crucible)

4. เตรียมเตาเผาโดยตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 450° C แล้วนำ Crucible ที่บรรจุอาหารใส่ไว้ในเตาเป็นเวลาอย่างน้อย 4 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งการเผาสมบูรณ์ แล้วปิดสวิทช์เตาเผา และทิ้ง Crucible ไว้ให้เย็นในเตา

5. นำเอา Crucible ออกจากเตาเผา ในเขี้ยววันรุ่งขึ้นและใส่ไว้ใน Desiccator จนกระทั่ง น้ำหนักคงที่

6. ชั่งน้ำหนัก Crucible รวมทั้งไขมันไว้

2.2 การคำนวณ

กำหนดให้น้ำหนักของ Crucibleเปล่า = a กรัม

น้ำหนักของตัวอย่างอาหารใน Crucible = b กรัม

น้ำหนักของไขมัน + น้ำหนัก Crucible = c กรัม

\therefore น้ำหนักของไขมัน (กรัม/100กรัม อาหารแห้ง) = $\frac{(c - a)}{b} \times 100$ กรัม

b

3. การหาปริมาณไขมันรวมในตัวอย่างอาหาร

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์

1. 4 N HCl
2. Ethanol 25% + 0.4% amyl alcohol
3. Petroleum-ether, จุดเดือด 40-60°C

3.2 วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งสารตัวอย่าง ~ 5 กรัม ใส่ลงใน flask
2. เติม 50 มิลลิลิตร ของ 4 N HCl และใส่ glass bead 5 เม็ด
3. นำมาต่อเข้ากับ condenser และต้มสารผสมให้เดือด 1 ชั่วโมง
4. กรองและล้างตะกอนด้วยน้ำร้อน (DDW) จนกระทั่งสารละลายไม่อยู่ในสภาพที่เป็นกรด (โดยใช้กระดาษ pHทดสอบ)
5. นำสารที่กรองได้ไปทำให้แห้งโดยการอบในเตาอบ (Oven) 60°C นาน 1-2 ชั่วโมง แล้วนำสารตัวอย่างไปใส่ Thimble
6. ชั่งน้ำหนัก Flask เปล่า
7. เติม Petroleum-ether 130 มิลลิลิตร และนำไปต่อกับ Soxhlet extractor ต้มให้เดือด นาน 5-8 ชั่วโมง
8. ระเหย Petroleum-ether โดยนำมาวางในอ่างน้ำร้อน (Steam bath) ในตู้ควันจนสารระเหยแห้ง

9. นำ Flask ไปอบที่อุณหภูมิ 60°C ประมาณ 2 วัน จนกระทั่งน้ำหนักสารตัวอย่างคงที่

10. ชั่งน้ำหนัก Flask รวมกับไขมัน

3.3 วิธีคำนวณ

กำหนดให้สารตัวอย่างในข้อ 1.

น้ำหนัก Flask เปล่า

น้ำหนัก Flask + ไขมัน

เปอร์เซ็นต์ไขมัน

= a กรัม

= b กรัม

= c กรัม

= $\frac{(c-b) \times 100}{a}$

a

4. การปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างอาหาร

4.1 สารเคมีที่ใช้

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Concentrated sulphuric acid) ควรเลือกชนิดของกรดที่มีปริมาณของไนโตรเจนผสมอยู่น้อยที่สุด
2. สารประกอบซึ่งเป็นของผสมระหว่าง Copper sulphate และ Potassium sulphate (1:1 W/V)
3. 50% Sodium hydroxide
4. Boric acid, 4% (W/V) in distilled water
5. Bromocresol green in absolute alcohol, 0.2%
6. Standard Ammonium sulphate

4.2 ขั้นตอนการหาไนโตรเจนด้วยวิธี Kjeldahl method

การย่อย (Digestion) เพื่อทำลายพันธะเคมีของตัวอย่างอาหาร เช่น เนื้อ เนย แฉ่ง เป็นต้น ให้กลายเป็น โมเลกุลของ Amino acid และเปลี่ยน โมเลกุลย่อยให้เป็น Amonium radical มีวิธีการดังนี้

1. นำตัวอย่างอาหารซึ่งเป็นของแข็งประมาณ 0.5-1.0 กรัม หรือตัวอย่างอาหารซึ่งเป็นของเหลว ประมาณ 0.1-1.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดแก้วสำหรับย่อยตัวอย่าง เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตรลงไปและเติมเกลือ Potassium sulphate หรือ Kjeltab ลงไป 1 เม็ด (1 เม็ดของ Kjeltab ประกอบด้วย 1.5 กรัม K_2SO_4 และ 0.0075 กรัม Se) ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) Kjeltab จะทำให้อุณหภูมิของการย่อยสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและสูงกว่า $370^{\circ}C$ ทำให้การย่อยสลายเกิดได้อย่างสมบูรณ์

2. นำหลอดแก้วย่อยสลายตัวอย่าง ใส่ลงในเครื่องย่อย ปรับอุณหภูมิของเครื่องให้สูงขึ้นประมาณ $370-450^{\circ}C$ และควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ประมาณ 1-1½ ชั่วโมง เพื่อให้การย่อยสลายเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ คือได้สารละลายที่ใส นำหลอดย่อยออกจากเครื่องย่อย ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ข้อสำคัญในขบวนการย่อย คือ ต้องควบคุมอัตราส่วนของกรดเกลือให้เหมาะสม ทั้งนี้เนื่องจากการเร่งการย่อยให้เร็วขึ้น โดยการเพิ่มอุณหภูมิของการย่อย นอกจากการใช้ Hydrogen peroxide แล้ว ยังมีการเพิ่มอัตราส่วนของกรดซัลฟิวริก และเกลือ Potassium sulphate แต่ทั้ง 2 วิธีอาจจะทำให้เกิดการสูญเสียไนโตรเจนในรูปของ Ammonia ได้ ดังนั้นจึงควรมีการตรวจสอบกับสารไนโตรเจนที่ทราบค่าก่อน เพื่อจะได้ควบคุมการย่อยสมบูรณ์ ในระยะเวลาที่น้อยที่สุดโดยไม่มีการสูญเสียไนโตรเจน

การกลั่น (Distillation) เป็นการแยกเอาไนโตรเจนออกจากสารละลายอาหารที่ถูกย่อยแล้ว ในหลอดย่อย โดยปรับ pH ของสารละลายในหลอดย่อยให้เป็นกลางด้วย 50% Sodium hydroxide โดย Ammonium ion (NH_4^+) จะถูกเปลี่ยนเป็น Ammonia (NH_3) จากนั้นกลั่นได้ Ammonia ที่ได้ออกมาโดยใช้เครื่องกลั่น (Distillation unit) Ammonia ที่ออกมาจะถูกจับด้วยสารละลายที่เหมาะสม ในวิธีของระบบ Kjeldahl system จะใช้ 4% Boric acid เป็นตัวจับ Ammonia ไว้โดย Ammonia จะรวมกับกรดบอริก กลายเป็น Ammonia borate ซึ่งมีวิธีการทำดังนี้

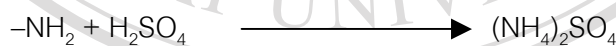
1. ดูดสารละลาย 4% Boric acid 5 มิลลิลิตร DDH₂O 20 มิลลิลิตร และ Bromcresol green 2 หยด ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร วาง Flask ไว้ใต้ Condenser ในเครื่องกลั่น เลื่อนปลายของ Condenser ให้จุ่มลงในกรดบอริกใน Flask

2. ต่อหลอดย่อยให้เข้ากับเครื่องกลั่น

3. ปล่อย 50% Sodium hydroxide ลงในหลอดย่อย 20 มิลลิลิตร

4. กลั่นแยก Ammonia จากหลอดย่อยประมาณ 3 นาที Ammonia จะลงไปทาง Condenser และจะถูกจับด้วย Boric acid ใน Flask

การไทเตรท (Titration) เพื่อหาปริมาณไนโตรเจนในอาหาร โดยนำเอา Ammonia ที่ถูกจับไว้ใน Boric มาทำปฏิกิริยากับสารละลายกรดมาตรฐาน (Standard titrant) ที่เหมาะสม คือ 0.1-0.01 N Hydrochloric acid โดยใช้ Bromcresol green เป็น Indicator บอกจุดสะเทิน (Neutral) ของปฏิกิริยา วิธีการทำคือ นำเอาสารละลายใน Erlenmeyer flask จากข้อ 2 มาไทเตรทกับ 0.1-0.01 N Hydrochloric acid ใน Titration unit ซึ่งมีปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องดังนี้



การคำนวณ

จากปฏิกิริยาในข้อ 4.2.3.4 แสดงว่า NH_4^+ 1 mole จะทำปฏิกิริยากับ HCl 1 mole

จำนวน mole ของ NH_4^+ = จำนวน mole ของ HCl (1)

เนื่องจาก NH_4^+ จะมี N 1 อะตอม อาจกล่าวได้ว่า จำนวน mole ของ NH_4^+ เท่ากับจำนวน mole อะตอมของ N

จากสูตรจำนวน mole อะตอมของ N = $\frac{\text{น้ำหนักเป็นกรัม}}{\text{น้ำหนักของอะตอม}}$

$$\therefore \text{จำนวน mole อะตอมของ N} = \frac{\text{น้ำหนักเป็นกรัมของ N}}{14} \quad (2)$$

จำนวน mole ของ HCl = จำนวนสมมูลของ HCl เนื่องจากมี hydrogen 1 อะตอม
จากสูตร จำนวนสมมูล = $\frac{\text{ความเข้มข้นของสารหน่วยเป็น Normality (N) X ปริมาตร (ml)}}{1000}$

$$\text{จำนวนสมมูลของ HCl} = \frac{N_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}}}{1000} \quad (3)$$

N_{HCl} = ความเข้มข้นของ HCl หน่วยเป็น Normality

V_{HCl} = ปริมาตรของ HCl ที่ไตเตรทกับตัวอย่าง - ปริมาตรของ HCl ที่ไตเตรทกับ Blank หน่วยเป็น มิลลิลิตร

Blank คือ การใช้น้ำแทนตัวอย่างสารละลายอาหารที่ย่อยแล้ว ผสมกับสารเคมีทุกชนิดที่ใช้ในกระบวนการวิเคราะห์

$$\text{แทนสมการที่ 2 และที่ 3 ลงใน 1 จะได้สมการน้ำหนักเป็นกรัม ของ N} = \frac{N_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}}}{1000}$$

$$\text{น้ำหนักเป็นกรัมของ N} = \frac{N_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}} \times 14}{1000}$$

$$\text{น้ำหนักเป็นกรัมของ N ต่อน้ำหนักอาหารที่ใช้ตรวจวิเคราะห์} = \frac{N_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}} \times 14}{1000}$$

เนื่องจากโปรตีนทั่วไป 100 กรัม จะมีปริมาณไนโตรเจนอยู่ 16 กรัม คิดเป็น Factor

สำหรับเปลี่ยนค่าไนโตรเจนให้เป็นค่าโปรตีน = $100/16 = 6.25$ เรียกว่า Conversion factor ซึ่ง Factor จะเปลี่ยนแปลงไปในอาหารแต่ละชนิดขึ้นกับกรดอะมิโน ซึ่งเป็นองค์ประกอบของโปรตีน นั้น เช่น นม และผลิตภัณฑ์มีค่า Conversion factor = 6.38 ข้าวสาลีมีค่า Conversion factor = 5.7 เป็นต้น

น้ำหนักเป็นกรัมของโปรตีนต่อน้ำหนักของตัวอย่างอาหาร 1 กรัม

$$= \frac{N_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}} \times 14 \times 6.25}{\text{น้ำหนักตัวอย่างอาหาร(กรัม)} \times 1000}$$

โดยทั่วไปการรายงานจะรายงานในหน่วยของ กรัมโปรตีนต่อน้ำหนักอาหารสด 100 กรัม ส่วนที่กินได้ซึ่งคำนวณได้ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{กำหนดให้} \quad & \text{น้ำหนักอาหารส่วนที่กินได้ทั้งหมด} & = & a & \text{กรัม} \\ & \text{น้ำหนักน้ำที่เติม} & = & b & \text{กรัม} \\ & \text{น้ำหนักอาหารปั่นทั้งหมด} & = & a+b & \text{กรัม} \end{aligned}$$

เมื่อนำอาหารปั่น M กรัม ไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

$$\text{อาหารปั่น M กรัม มีโปรตีน} = \frac{N_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}} \times 14 \times 6.25}{1000} \text{ กรัม}$$

$$\text{อาหารปั่น } a+b \text{ กรัม มีโปรตีน} = \frac{N_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}} \times 14 \times 6.25 \times (a+b)}{1000} \text{ กรัม}$$

$$\text{นั่นคือ อาหารส่วนที่กินได้ทั้งหมด } a \text{ กรัม มีโปรตีน} = \frac{N_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}} \times 14 \times 6.25 \times (a+b)}{1000 \times M} \text{ กรัม}$$

$$\therefore \text{อาหารส่วนที่กินได้ } 100 \text{ กรัม มีโปรตีน} = \frac{N_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}} \times 14 \times 6.25 \times (a+b) \times 100}{1000 \times M \times a} \text{ กรัม}$$

$$= \frac{N_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}} \times 14 \times 6.25 \times (a+b)}{10aM} \text{ กรัม}$$

$$\text{หรือ โปรตีนรวม (กรัม\%)} = \frac{N_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}} \times 14 \times 6.25 \times (a+b)}{10aM}$$

5. การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรต

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต} = 100 - (\text{ความชื้น} + \text{โปรตีน} + \text{ไขมัน} + \text{เถ้า})$$

6. การคำนวณปริมาณพลังงานต่อ 100 กรัมของข้าวพัน

$$\text{พลังงาน} = (\text{ไขมัน} \times 9) + (\text{โปรตีน} \times 4) + (\text{คาร์โบไฮเดรต}) \text{ กิโลแคลอรี}$$

7. การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินเอ (นิภาพร ลักษณะสมญา, 2538)

7.1 หลักการในการวิเคราะห์

ทำโดยสปอนนิฟายด์ไขมันในสารตัวอย่างด้วยสารละลายต่าง แล้วสกัดวิตามินเอออกจาก ส่วนที่สปอนนิฟายด์ไม่ได้ด้วยนอร์มัล-เฮกเซน นำไปวัดปริมาณวิตามินเอด้วยเครื่องมือ High performance liquid chromatography (HPLC)

7.1 สารเคมีและสารมาตรฐาน

1. โซเดียมแอสคอร์เบท
2. สารละลายโซเดียมซัลไฟด์ ความเข้มข้น 4%
3. สารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 60%
4. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน ความเข้มข้น 0.1% ในแอลกอฮอล์
5. แอปโซลูทแอลกอฮอล์
6. แอลกอฮอล์
7. นอร์มัล-เฮกเซน
8. โซเดียมซัลเฟต
9. เมทานอล (สำหรับ HPLC)
10. สารมาตรฐาน ออล-ทรานส์ วิตามินเอ-ปาล์มมิต
11. ฉลากแจ้งปริมาณวิตามินเอ 1.75×10^6 หน่วยสากลต่อกรัม

7.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์

ซึ่งตัวอย่างประมาณ 7 กรัม ในขวดสีน้ำตาลกันแบน เติมน้ำ 30 มิลลิลิตร กวนด้วย Magnetic stirrer จนกระทั่งสารตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกัน สปอนนิฟายด์ตัวอย่าง โดยเติมสารละลาย โปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 20 มิลลิลิตร, แอลกอฮอล์ 80 มิลลิลิตร, โซเดียมแอสคอร์เบท 1 กรัม, สารละลายโซเดียมซัลไฟด์ 2 มิลลิลิตร ต่อเข้ากับเครื่อง Reflux ซึ่งควบคุมอุณหภูมิที่ 80°C. Reflux นาน 30 นาที เอาออกจากเครื่อง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นอย่างรวดเร็ว แล้วทำการสกัดวิตามินเอ โดยการถ่าย สารตัวอย่างซึ่งสปอนนิฟายด์แล้วลงในกรวยแยกสีน้ำตาล ล้างกันขวดแบนสีน้ำตาลด้วยน้ำกลั่น ประมาณ 30 มิลลิลิตร แล้วเทน้ำรวมใส่ในกรวยแยกสีน้ำตาล (ให้ปริมาตรของน้ำ : ปริมาตรของ แอลกอฮอล์ = 1:1 โดยประมาณ) สกัดด้วยนอร์มัลเฮกเซน 50 มิลลิลิตร 2 ครั้ง และ 40 มิลลิลิตร 2 ครั้ง ครั้งละประมาณ 5 นาที รวมชั้นนอร์มัลเฮกเซน ไม่มีฤทธิ์เป็นด่าง(โดยการทดสอบกับน้ำที่ล้าง ไม่เกิดสีกับสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน) กรองชั้น นอร์มัล-เฮกเซน ผ่าน โซเดียมซัลเฟตลงในขวดกัน แบนสีน้ำตาล นำไปประเหยให้เกือบแห้งด้วยเครื่องระเหยแบบสูญญากาศ (Rotary evaporate) ที่ ควบคุมอุณหภูมิของน้ำไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส เป่าให้แห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน ละลายสารที่เหลือ อยู่ด้วยเมทานอล (สำหรับ HPLC) ครั้งละ 3 มิลลิลิตร 3 ครั้ง ปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร (ให้

มีความเข้มข้นของวิตามินเอ ประมาณ 1.5-1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) กรองด้วย Membrane filter ขนาด 0.45 มิลลิไมครอน วัดปริมาณวิตามินเอเทียบกับสารมาตรฐานด้วย High performance liquid chromatography (HPLC) โดยใช้ Mobile phase เป็นเมธานอล และน้ำ อัตราส่วน 95:5 เวลาในการแยก 5.5 นาที Flow rate 1 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดด้วย uv detector ที่ ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร

7.3 การคำนวณ

$$\text{ปริมาณวิตามินเอในสารตัวอย่าง} = \frac{A_1 \times m_2 \times 100}{A_2 \times m_0}$$

คำนวณเป็นไมโครกรัมต่อ 100 กรัม มตัวอย่าง โดยที่

A_1 = ความสูงของ peak ของวิตามินเอของสารตัวอย่าง

A_2 = ความสูงของ peak ของ External standard

m_2 = ปริมาณวิตามินเอใน External standard (หน่วยเป็นไมโครกรัม)

m_0 = น้ำหนักของสารตัวอย่าง (หน่วยเป็นกรัม)

8 การวิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีน (AOAC, 2000)

8.1 หลักการในการวิเคราะห์

สกัดสารที่ละลายในไขมันด้วยอะซีโตนและเฮกเซน จากนั้นนำไปผ่านคอลัมน์เพื่อแยก chlorophylls และ hydroxy carotenes ออก แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเบต้าแคโรทีนโดยวิธี spectrophotometry

8.2 สารเคมี

1. อะซีโตน
2. เฮกเซน
3. Absorbent (Activated magnesia)
4. Diatomaceous earth

8.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์ ประกอบด้วย

1. การสกัด สกัดตัวอย่างด้วย อะซีโตนและเฮกเซน

2. การแยกรงควัตถุ นำสารละลายที่ได้จากการสกัดมาผ่านคอลัมน์ซึ่งมี Activated

magnesia และ Diatomaceous earth (1+1, w/w)

3. การหาปริมาณเบต้าแคโรทีน นำสารละลายที่ได้จากการผ่านคอลัมน์มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 436 นาโนเมตร (nm) เทียบกับสารละลายมาตรฐานเบต้าแคโรทีน



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวอัมพิกา นรินทรกุล ณ อยุธยา
วัน เดือน ปี เกิด	24 เมษายน 2520
ประวัติการศึกษา	
2538	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเซนต์โยเซฟบางนา จังหวัดสมุทรปราการ
2542	ปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ประสบการณ์การทำงาน	
2542-2543	เจ้าหน้าที่วิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright © by Chiang Mai University
 All rights reserved