การหาปริมาณน้ำตาลในตำรับอาหารเหลวปั่นบรรจุกระป๋อง

นางสาว ศิริลักษณ์ ไพรสงบ
นางสาว ศุภลักษณ์ ศิริอัศวกุล

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2549

DETERMINATION OF SUGARS IN THE CANNED LIQUID FOODS

MISS SIRILUCK PHRAISAGNOB
MISS SUPALUCK SIRIUSSAWAKUL

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENT FOR
THE BACHELOR DEGREE OF SCIENCE IN PHARMACY
FACULTY OF PHARMACY
MAHIDOL UNIVERSITY

โครงการพิเศษ
เรื่อง การหาปริมาณน้ำตาลในตำรับอาหารเหลวปั่นบรรจุกระป๋อง

.....

(นางสาว ศิริลักษณ์ ไพรสงบ)

.....

(นางสาว ศุภลักษณ์ ศิริอัศวกุล)

.....

(ผศ. ผุสนี ทัดพินิจ)
อาจารย์ที่ปรึกษา

.....

(ผศ. วราภัสร์ พากเพียรกิจวัฒนา)
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ
การหาปริมาณน้ำตาลในตำรับอาหารเหลวปั่นบรรจุกระป๋อง

ศิริลักษณ์ ไพรสงบ, ศุภลักษณ์ ศิริอัศวกุล
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ผุสนี ทัดพินิจ, ผศ.วราภัสร์ พากเพียรกิจวัฒนา
ภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
คำสำคัญ : อาหารเหลวปั่นบรรจุกระป๋อง, การหาปริมาณน้ำตาล, volumetric titration

โครงการพิเศษนี้เป็นการทดลองผลิตอาหารเหลวปั่นบรรจุกระป๋องและวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารโดยวิธี Proximate analysis วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ทั้งที่เป็น reducing และ non reducing (sucrose) โดย volumetric titration ด้วย Fehling's solution สูตรอาหารที่เลือกใช้ในการทดลองมี 2 กลุ่ม คือ สูตรที่ใช้นมและไข่เป็นแหล่งโปรตีน และสูตรที่ใช้ตับและไข่เป็นแหล่งโปรตีน

จากการทดลองผลิตตามกระบวนการที่มีการพัฒนาสูตรไว้แล้ว พบว่าอาหารทั้งสองตำรับให้ความเนียน ความหนืดและการไหลที่เหมาะสม และจากการทำ proximate analysis พบว่าสูตรตับมี moisture content, total ash, crude protein และ crude fat ร้อยละดังต่อไปนี้ คือ 77.69, 0.44, 4.42, 3.16 โดยน้ำหนักตามลำดับ มีปริมาณ carbohydrate ร้อยละ14.29 โดยน้ำหนัก ส่วนสูตรนมมีค่าดังกล่าวร้อยละ 75.60, 0.62, 3.87, 3.88 โดยน้ำหนักตามลำดับ และมีปริมาณ carbohydrate ร้อยละ16.03 โดยน้ำหนัก ส่วนการหาปริมาณน้ำตาลโดยวิธี Volumetric titration ด้วย Fehling's solution พบว่า สูตรตับ มีปริมาณ reducing sugar ร้อยละ 0.69 โดยน้ำหนัก และปริมาณ non-reducing sugar (sucrose) ร้อยละ 5.13 โดยน้ำหนัก รวมเป็นน้ำตาลร้อยละ 5.82 โดยน้ำหนัก ส่วนสูตรนม มีปริมาณ reducing sugar ร้อยละ 1.30 โดยน้ำหนัก และปริมาณ non-reducing sugar (sucrose) ร้อยละ 4.70 โดยน้ำหนัก รวมเป็นน้ำตาลร้อยละ 6.00 โดยน้ำหนัก

Abstract

Determination of sugars in the canned liquid foods

Siriluck phraisagnob, Supaluck Siriussawakul

Project advisor : Pussanee Tudpinij, Warapat Parkpienkijwattana

Department of Food Chemistry, Faculty of Pharmacy , Mahidol University

Keyword : Canned liquid foods, Sugar determination, Volumetric titration

This project was conducted to determine all kinds of sugar in the selected canned liquid food formulas. First of all, the canning of selected formulas were reproduced and a proximate analysis and sugar determination also were carried out.

From the selected two formulas, one contained milk and eggs, the other contained pig's liver and eggs as protein sources. The finished products obtained had smooth texture, desired viscosity and flow rate. The results from a proximate analysis ; moisture contents, total ash, crude protein, and crude fat in pig's liver formula were 77.69, 0.44, 4.42 and 3.16 %w/w respectively and the milk containing formula were 75.60, 0.62, 3.87 and 3.88 %w/w respectively. The volumetric titration of sugar contents by using Fehling's solution, the reducing sugar and non-reducing sugar contents in the pig's liver formula and the milk formula were 0.69 , 5.13 %w/w and 1.30, 4.70 %w/w respectively.

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ อ. ผุสนี ทัดพินิจ และ อ. วราภัสร์ พากเพียรกิจวัฒนา ที่ช่วยกรุณาควบคุมดูแลในการทำโครงการพิเศษให้สำเร็จลุล่วงตามความมุ่งหมาย ขอขอบพระคุณ ศ. ดร.อำพล ไมตรีเวช ที่เอื้อเฟื้อเครื่อง Homomixer มาใช้ในการทดลอง รวมทั้งภาควิชาอาหารเคมีที่ช่วยอำนวยความสะดวก รวมทั้งจัดหาอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง สุดท้ายขอขอบคุณสุไพรินทร์ งามเถื่อน และอุมาภรณ์ อาจนาเสียว ที่ช่วยกันในการทำโครงการนี้จนสำเร็จบรรลุเป้าหมายสมบูรณ์

ศิริลักษณ์ ไพรสงบ
ศุภลักษณ์ ศิริอัศวกุล
ผู้ทำวิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
Abstract	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
สัญลักษณ์และคำย่อ	ช
บทนำ	1
ทบทวนวรรณกรรม	2
วัสดุและวิธีการวิจัย	
กระบวนการผลิต	4
Proximate analysis	7
การหาปริมาณ Reducing sugar โดยวิธี Lane - Eynon Volumetric method	16
ผลการวิจัย	22
สรุปผลการทดลอง	28
เอกสารอ้างอิง	30

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	Invert sugar for 10 cm^3 of Fehling's solution	20
2	ปริมาณสารอาหารจากวิธี Proximate analysis	23
3	ปริมาณน้ำตาลในอาหารจากวิธี Volumetric titration ด้วย Fehling'ssolution	24
4	คุณลักษณะของอาหารเหลวปั่นผสมทั้ง 2 สูตร	28
5	ปริมาณสารอาหารในอาหารเหลวปั่นผสมทั้ง 2 สูตร	28

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ลักษณะทางกายภาพของอาหารเหลวปั่นผสมสูตรตับ	22
2	ลักษณะทางกายภาพของอาหารเหลวปั่นผสมสูตรนม	22
3	ลักษณะทางกายภาพของอาหารเหลวปั่นผสมสูตรตับและสูตรนม	23
4	Liquid Blender และ Hand homogenizer	24
5	Autoclave	24
6	Muffle furnace	25
7	Goldfische extraction apparatus	25
8	Buchi digestion unit และ scrubber	26
9	Buchi distillation unit	26

สัญลักษณ์ และ คำย่อ

มก.	=	มิลลิกรัม
มล.	=	มิลลิลิตร
^{o}brix	=	degree brix
^{o}C	=	องศาเซลเซียส
g	=	กรัม
HMP	=	High Methoxy Pectin
kcal	=	kilocalories
L	=	litre
mg	=	milligram
min	=	minute
ml	=	milliliter
m.osm.	=	milli osmole
w / v	=	weight by volume
w / w	=	weight by weight

บทนำ

ในปัจจุบันนี้มีผู้ป่วยส่วนหนึ่งที่ต้องใช้อาหารที่ให้ทางสายให้อาหาร ซึ่งผู้ป่วยเหล่านี้อาจประสบปัญหาที่แตกต่างกันออกไป เช่น ความไม่สะดวกในการมารับอาหารเองที่โรงพยาบาล,ในการเตรียมอาหารเอง อาจทำให้ปริมาณสารอาหารไม่ถูกสัดส่วน, ความไม่ถูกสุขลักษณะในการทำ ซึ่งจากจุดนี้ จึงได้มีการพัฒนาการผลิตอาหารที่ให้ทางสายให้อาหารบรรจุกระป๋องขึ้นซึ่งสามารถช่วยแก้ปัญหาเหล่านี้ได้ เนื่องจากอาหารที่บรรจุในกระป๋องนั้นมีความสะอาด, มีปริมาณสารอาหารตามความเหมาะสม สะดวกในการเก็บรักษาและการใช้

ในโครงการพิเศษปี 2539 และโครงการพิเศษปี 2542 ได้ทำการวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาสูตรตำรับของอาหารเหลวให้มีเนื้อเนียน, ความหนืดและการไหลที่เหมาะสม ดังนั้น โครงการพิเศษโครงการนี้จึงเป็นโครงการที่ทำการวิจัยต่อเนื่องโดยใช้ข้อมูลทั้งหมดของโครงงานวิจัยข้างต้น ผลิตอาหารเหลวปั่นบรรจุกระป๋องขึ้น โดยคัดเลือกสูตรจากโครงการพิเศษปี 2539 และ 2542 มาผลิต โดยสูตรที่เลือกมาผลิต ได้แก่ สูตรตำรับที่ใช้นมเป็นแหล่งโปรตีนหลักและสูตรตำรับที่ใช้ตับหมูเป็นแหล่งโปรตีนหลัก เพื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารสำคัญ โดยใช้วิธี proximate analysis เพื่อหา %moisture content, %total ash, %crude fat,และ %crude protein และวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ทั้งที่เป็น reducing และ non reducing (sucrose) โดยใช้วิธี volumetric titration ด้วย Fehling's solution

ทบทวนวรรณกรรม

อาหารทางการแพทย์ คือ อาหารหรือสารอาหารซึ่งเป็นสูตรอาหารเฉพาะ หรือผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแปรรูปแล้วซึ่งสามารถให้ทางปากหรือให้ทางสายให้อาหาร เพื่อป้องกัน รักษา บรรเทาอาการโรคใดโรคหนึ่ง หรือความผิดปกติที่เกิดขึ้นเนื่องจากการเจ็บป่วย โดยชนิดที่ให้ทางสายให้อาหารจะให้ในผู้ป่วยที่มีระบบการทำงานของระบบทางเดินอาหารปกติแต่ไม่สามารถรับประทานอาหารได้เองทางปาก โดยลักษณะอาหารทางการแพทย์ที่ดีมีดังนี้คือ

1. มีสารอาหารครบถ้วนตามที่ร่างกายต้องการ
2. มีลักษณะการกระจายตัวของแคลอรี่จากโปรตีน ไขมันและคาร์โบไฮเดรต ที่เหมาะสม คือ ในทุกๆ 100 กิโลแคลอรี่ที่ผู้ป่วยได้รับควรได้จากโปรตีนร้อยละ 15-20, คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 45-55, และไขมันร้อยละ 30-35 (โดยควรมี Linoleic acid จากไขมันพืชร้อยละ 17-20 เพื่อป้องกัน รักษาการขาดกรดไขมันที่จำเป็น (essential fatty acid deficiency) และ Hypercholesterolemia)
3. มีอัตราส่วนระหว่าง non protein calories ต่อกรัมไนโตรเจนอย่างเหมาะสม คือ 150 กิโลแคลอรี่ต่อ 1 กรัมไนโตรเจน (หรือ 24 กิโลแคลอรี่ต่อ 1 กรัมโปรตีน)
4. มี Osmolarity ที่พอเหมาะคือน้อยกว่า 600 m.osm. ต่อกิโลกรัมเพื่อหลีกเลี่ยงอาการท้องเดินในกรณีที่มี Osmolarity สูง
5. มีความเข้มข้นของพลังงาน 1-1.2 กิโลแคลอรี่ต่อมิลลิลิตร
6. ปลอดภัยจากเชื้อโรค
7. มีความหนืดพอเหมาะ สามารถไหลผ่านสายให้อาหารในอัตราเร็วที่เหมาะสม

การพัฒนาตำรับอาหารเหลวบรรจุกระป๋องโดยใช้อาหารตามธรรมชาติให้สามารถทนความร้อนสูงในระหว่างกระบวนการผลิตนั้นจำเป็นต้องใช้เพคตินช่วยในการผลิตทำให้ได้อาหารเหลวปั่นผสมที่ทนความร้อนสูงในกระบวนการฆ่าเชื้อได้ดี ซึ่งจากโครงการพิเศษเรื่อง “การพัฒนาตำรับอาหารเหลว” ปี พ.ศ. 2539 ได้มีการทดลองใช้ high methoxy pectin (HMP) ซึ่งพบว่า 0.16%w/v HMP สามารถทำให้อาหารปั่นผสมทนความร้อนสูง (121 $^{\circ}$C) โดยยังคงสภาพเป็นของเหลว ที่มีความเนียนและความหนืดที่เหมาะสมที่ทำให้อาหารสามารถไหลได้ทางสายให้อาหาร นอกจากนี้ยังพบว่า ความหนืดและเนื้อสัมผัสของอาหารปั่นผสมยังขึ้นกับปัจจัยอื่นๆ คือ ชนิดและความสุกของกล้วย โดยต้องใช้กล้วยน้ำว้าสวนที่มีความสุกมากโดยวัดจาก total soluble

solid ≥ 26 °brix จะทำให้อาหารปั่นผสมที่ได้มีลักษณะเหลว ชนิดของฟักเขียวที่สามารถใช้ได้ดีคือ ฟักเขียวแก่ปานกลางจะทำให้อาหารปั่นที่ได้มีลักษณะเหลวมากขึ้น ส่วนโครงการพิเศษเรื่อง “การพัฒนาตำรับอาหารเหลว” ปี พ.ศ. 2542 ซึ่งเป็นโครงการต่อเนื่อง ได้ทำการทดลองหาความร้อนและระยะเวลาในกระบวนการฆ่าเชื้อที่ยังคงทำให้อาหารมีคุณลักษณะทางกายภาพที่ต้องการ พบว่าที่ 121 °C เวลา 25 นาที จะได้อาหารที่ยังคงมีความหนืดและความเนียนของอาหารตามต้องการ

จากข้อมูลต่างๆที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่าส่วนประกอบต่างๆที่เลือกใช้ เช่น อาหารที่เป็นวัตถุดิบ, ลำดับการใส่วัตถุดิบขณะผลิตอาหาร, pectin และกระบวนการฆ่าเชื้อต่างก็มีความสำคัญต่อคุณลักษณะของอาหารเหลวปั่นผสมบรรจุกระป๋อง

วัสดุและวิธีการวิจัย (Materials and Methods)

1. กระบวนการผลิต

<u>เครื่องมือ</u>

1. Liquid blender (Moulinex®)
2. Havard Trip balance (OHAUS®)
3. Hand refractometer (National® No. 19771)
4. Autoclave
5. Water bath
6. เครื่องตอกปิดฝากระป๋องกึ่งอัตโนมัติ
7. Hand homogenizer
8. Homomixer (Homorex® Brogi & Co.AG.CH.4123 Allschwii-Basel Binningerstr.106A
9. Plain can ขนาด 300 x 407
10. หม้อนึ่ง
11. เตาแก๊ส
12. Beaker 600 ml
13. Evaporating dish เส้นผ่านศูนย์กลาง 8, 10,14 cm.
14. มีด, เขียง, โกร่งและลูกโกร่ง, กรรไกรตัดโลหะ, ชาม, ช้อน, ถาดอลูมิเนียม, Spatula, ที่คีบกระป๋อง

<u>วัสดุ</u>

1. ไข่ไก่
2. ตับหมู
3. กล้วยน้ำว้าสวน
4. ฟักเขียว
5. น้ำตาลทราย
6. นมรสจืด (ไทย-เดนมาร์ก)
7. น้ำมันพืช (น้ำมันถั่วเหลืองตราองุ่น)
8. High methoxyl pectin (food grade)
9. น้ำกลั่น

<u>วิธีดำเนินการผลิตอาหารเหลวบรรจุกระป๋อง</u>

1. **ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ**

    1.1 <u>การเตรียมกระป๋องเปล่า</u>

        1. ล้างกระป๋องด้วยน้ำประปา คว่ำให้แห้ง
        2. ชั่งน้ำหนักกระป๋องพร้อมฝา

    1.2 <u>การเตรียมสารละลายเพคติน</u>

        1. ชั่งผงเพคติน 0.8 กรัม
        2. แบ่งน้ำกลั่นมา 3 มล. เทลงในโกร่งแล้วค่อยๆโปรยผงเพคตินทีละน้อยให้กระจายตัว
        3. ปั่นจนผงเพคตินกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอในน้ำ
        4. เติมน้ำกลั่นเพิ่มครั้งละน้อย (ประมาณ 1 มล.) ค่อยๆโปรยผงเพคตินที่เหลือทีละน้อย
        5. ทำซ้ำข้อ 3 และ 4 จนผงเพคตินหมด
        6. เติมน้ำกลั่นลงไปอีก 3 มล.แล้วปั่นให้เข้ากัน

2. **วิธีการเตรียมอาหารเหลวปั่นผสม**

กลุ่ม B (**สูตรตับ**)

1. ฟักเขียว กล้วยน้ำว้า ตับหมู ล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆชั่ง 50 กรัมนำไปนึ่งให้สุกเป็นเวลา 5 นาที
2. ไข่ไก่นำไปปั่น ½ นาที ชั่ง 100 กรัมนำไปนึ่งให้สุกเป็นเวลา 10 นาที
3. ชั่งน้ำมันพืช 5 กรัม
4. นำน้ำตาลทรายไปละลายในน้ำกลั่นประมาณ 50 มล. จากนั้นนำมาผสมกับไข่นึ่งสุกโดยปรับปริมาตรให้ได้ ¼ ลิตร ก่อน จากนั้นปั่นผสมใน blender เป็นเวลา ½ นาที
5. เติมสารละลายเพคติน ปั่น 1 นาที
6. ใส่ตับสุก น้ำมัน ปั่นผสมจนเป็นเนื้อเดียวกันเป็นเวลา 1 นาที
7. ใส่ฟักเขียว ปั่น 1 นาที
8. ใส่กล้วย ปั่นให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 มล. จากนั้นปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันเป็นเวลา 2 นาที
9. นำอาหารผสมไปผ่านเครื่อง Homogenizer 3 ครั้ง
10. นำอาหารผสมไปผ่านเครื่อง Homomixer 8 นาที (ความเร็ว 200 รอบ/นาที)

11. บรรจุอาหารเหลวลงในกระป๋อง นำไป Exhaust ใน water bath อุณหภูมิ 90-95 °C เป็นเวลา12 นาที จากนั้นนำไปตอกปิดฝาโดยใช้เครื่องตอกปิดฝากึ่งอัตโนมัติ
12. นำไปผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อโดยใช้ autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 25 นาที

กลุ่ม C (สูตรนม)

1. ฟักเขียว กล้วยน้ำว้า ล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆชั่ง 50 กรัมนำไปนึ่งให้สุกเป็นเวลา 5 นาที
2. ไข่ไก่นำไปปั่น ½ นาที ชั่ง 100 กรัมนำไปนึ่งให้สุกเป็นเวลา 10 นาที
3. ชั่งน้ำมันพืช 5 กรัม
4. นำน้ำตาลทรายไปละลายในนม 250 กรัม จากนั้นนำมาผสมกับไข่นึ่งสุกโดยปรับปริมาตรให้ได้ ¼ ลิตร ก่อน จากนั้นปั่นผสมใน blender เป็นเวลา ½ นาที
5. เติมสารละลายเพคติน ปั่น 1 นาที
6. ใส่น้ำมัน ปั่นผสมเป็นเวลา 1 นาที
7. ใส่ฟักเขียว ปั่น 1 นาที
8. ใส่กล้วย ปั่นให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที ปรับปริมาตรด้วยนมให้ครบ 500 มล. จากนั้นปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันเป็นเวลา 1 ½ นาที
9. นำอาหารผสมไปผ่านเครื่อง Homogenizer 3 ครั้ง
10. นำอาหารผสมไปผ่านเครื่อง Homomixer 8 นาที (ความเร็ว 200 รอบ/นาที)
11. บรรจุอาหารเหลวลงในกระป๋อง นำไป Exhaust ใน water bath อุณหภูมิ 90-95 °C เป็นเวลา12 นาที จากนั้นนำไปตอกปิดฝาโดยใช้เครื่องตอกปิดฝากึ่งอัตโนมัติ
12. นำไปผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อโดยใช้ autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 25 นาที

ไข่+สารละลายน้ำตาล ปรับปริมาตร
¼ ลิตร ปั่น ½ นาที

↓

เติมสารละลายเพคติน ปั่น 1 นาที

↓

เติมตับหมู+น้ำมันพืช ปั่น 1 นาที

↓

เติมฟักเขียว ปั่น 1 นาที

↓

เติมกล้วย ปั่น 1 นาที

↓

ปรับด้วยครบ 500 มล. ปั่นให้เข้ากัน 2 นาที

↓

Homoginize 3 ครั้ง

↓

Reduce particle size ด้วย Homomixer
1 ครั้ง

<u>แผนภูมิที่ 1 วิธีผลิตอาหารเหลวปั่นกลุ่ม B</u>

ไข่+น้ำตาล+นม ปรับปริมาตร
¼ ลิตร ปั่น ½ นาที

↓

เติมสารละลายเพคติน ปั่น 1 นาที

↓

เติมน้ำมันพืช ปั่น 1 นาที

↓

เติมฟักเขียว ปั่น 1 นาที

↓

เติมกล้วย ปั่น 1 นาที

↓

ปรับด้วยครบ 500 มล. ปั่นให้เข้ากัน
1 นาทีครึ่ง

↓

Homoginize 3 ครั้ง

↓

Reduce particle size ด้วย Homomixer
1 ครั้ง

<u>แผนภูมิที่ 2 วิธีผลิตอาหารเหลวปั่นกลุ่ม C</u>

2. Proximate Analysis

2.1 **การหาปริมาณความชื้นหรือปริมาณน้ำ** (Moisture content)

<u>เครื่องมือ</u>

1. Hot air oven
2. Aluminum dish ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5-7 เซนติเมตร
3. Blender
4. โกร่งและลูกโกร่ง
5. มีดและเขียง
6. เครื่องชั่ง digital

<u>วิธีทำ</u>

1. นำ Aluminum dish อบในตู้อบอุณหภูมิ 100°C ประมาณ 20 นาที ทิ้งให้เย็นใน desiccator ชั่งน้ำหนัก dish เปล่า
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 3-5 กรัม (อย่างละเอียด)ใส่ลงใน dish เกลี่ยตัวอย่างให้เสมอทั่ว dish
3. ระเหยแห้งบน water bath
4. เมื่อตัวอย่างเริ่มแห้งดีให้นำไปอบใน Hot air oven ที่อุณหภูมิ 100°C
5. อบจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ โดยนำเข้าอบและชั่งซ้ำทุก ½-1 ชั่วโมง จนน้ำหนักที่ชั่งได้ต่างกันไม่เกิน 2 มิลลิกรัม
6. ทิ้งให้เย็นใน desiccator ชั่งน้ำหนัก

<u>การคำนวณ</u>

$$\text{ปริมาณความชื้นหรือปริมาณน้ำ (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไปหลังจากการอบแห้ง}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนการอบแห้ง}} \times 100$$

ตัวอย่างที่เป็นของเหลว : รายงานผลเป็น Total solid

Total solid (%) = 100 – ปริมาณน้ำ (%)

2.2 การหาปริมาณ Total ash

<u>เครื่องมือ</u>

1. Muffle furnace (500-550 องศาเซลเซียส)
2. Crucible
3. Hot plate
4. Crucible tong
5. เครื่องชั่ง digital

<u>วิธีทำ</u>

1. นำ crucible มา heat บน hot plate พอร้อนแล้วนำเข้าเผาใน muffle furnace ที่ 500 องศาเซลเซียส ประมาณ 15 นาที แล้วนำมาทิ้งให้เย็นใน desiccator ชั่งน้ำหนัก crucibleเปล่า
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 2-5 กรัม (อย่างละเอียด) ใส่ใน crucible

การคำนวณตัวอย่างแห้งที่เตรียมไว้

สูตร น้ำหนักตัวอย่างแห้งที่ต้องการ = $\frac{(100- A) \times X}{100}$ กรัม

A = % ความชื้น หรือ ปริมาณน้ำในตัวอย่างอาหาร

X = น้ำหนักตัวอย่างสด (2-5 กรัม)

(ถ้าความชื้นต่ำใช้ ~ 2 กรัม ความชื้นสูงใช้ $\geq$ 5 กรัม)

3. ค่อยๆ heat crucible พร้อมตัวอย่างบน hot plate จนกระทั่งตัวอย่างถูกเผาไหม้จนหมดควัน มีลักษณะเป็นสีดำ charred mass จากนั้นนำไปใส่ใน muffle furnace
4. เผาตัวอย่างใน muffle furnace ที่ 500 องศาเซลเซียสจนกระทั่งคาร์บอนถูกเผาไหม้จนหมด ไม่มีสีดำหลงเหลืออยู่ ash ที่ได้โดยทั่วไปจะมีสีขาวหรือสีเทา
5. ปิดฝา crucible เพื่อป้องกันการกระจายของ ash บางชนิด ทิ้งไว้ให้เย็นใส่ใน desiccator ชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\text{Total ash} = \frac{\text{น้ำหนัก ash}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างสด}} \times 100$$

2.3 การหาปริมาณ Crude Protein

เครื่องมือ

1. Buchi digestion unit (B- 435)
2. Buchi digestion unit (B- 323)
3. scruber unit (B- 412)
4. Buret
5. Erlenmeyer flask

สารเคมี

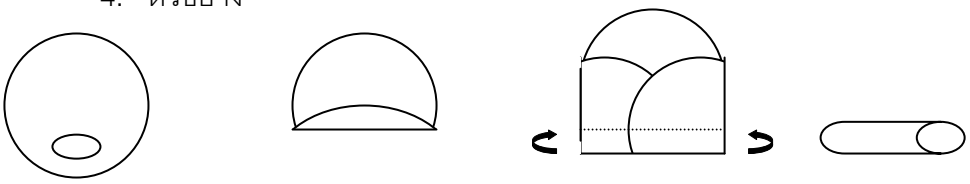
1. conc. Sulfuric acid AR grade, Labscan Asia co.,ltd. Thailand
2. catalyst mixture : Selenium reagent mixure , Merck, German
3. 0.1 sulfuric acid
4. indicator (0.01 methyl red และ 0.1 % methyl blue in ethanol เตรียมแยกกัน)
5. sodium carbonate solution (for scrubber)

ละลาย sodium carbonate 600 กรัม ในน้ำอุ่น 6.8 ลิตร หรือละลาย sodium carbonate tetrahydrate 1.62 กิโลกรัม ในน้ำอุ่น 1.8 ลิตร เติม bromothymol blue indicator (เปลี่ยนสีที่ PH 6.0 – 7.6 ในด่างเป็นสีน้ำเงิน เมื่อถูก neutralize จะเป็นสีเหลืองส้ม) 100 mg สำหรับ wash solution 3 L

6. 32 % sodium hydroxide solution
7. 2% boric acid solution

<u>วิธีทำ</u>

1. <u>Digestion</u>
    1. ตรวจดูว่า digestion unit ต่อเข้ากับ suction unit เรียบร้อยหรือไม่
    2. Preheat heat ของ digestion unit 5-10 นาที (เปิดเครื่องและปุ่มควบคุมความร้อนที่สุด = 10)
    3. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งแล้ว 0.2-1 กรัม อย่างละเอียดในกระดากรองพับและม้วนตามแบบ
    4. ตัวอย่าง



    5. ใส่กระดาษกรองพร้อมตัวอย่างลงใน digestion tube
    6. ชั่ง catalyst mixture คือ cupper sulfate + potassium sulfate หรือ selenium mixture ประมาณ 5-10 กรัม ลงใน digestion tube
    7. วาง digestion tube ลงใน digestion tube holder ที่อยู่บน rack
    8. (ทำใน hood) เติม conc. Sulfuric acid 20 ml ลงใน digestion tube
    9. นำ suction module ต่อเข้ากับ digestion tube ทั้ง 6 tube และยึดติดกับ tube ให้แน่น ใช้จุกยางอุดปลายปิดของ suction module ก่อนเคลื่อนย้ายออกจาก Hood
    10. นำชุดที่ประกอบเสร็จแล้วลงใน digestion unit หันปลายเปิดของ suction module ไปด้านหลัง ต่อ hose เข้ากับ suction module
    11. เปิดปุ่ม start , scrubber จะทำงานโดยอัตโนมัติ

12. สังเกตระดับกรดกลั่นกลับคืนมา ระดับกลั่นไม่ควรใกล้ปากหลอดเกิน 2-3 ซม ถ้ากลั่นสูงเกินไป ให้ลดความร้อนมาที่ระดับ 7-8 หรือน้อยลงอีก
13. Digest จนได้ของเหลวใสสีเขียวอ่อน จับเวลาย่อยต่ออีก 45 นาที แล้วจึงปิดปุ่มควบคุมความร้อน
14. ยก suction module พร้อม digestion tube ขึ้นวางในตำแหน่งพัก (ยังคงเปิด scrubber ไว้)
15. เมื่อเย็น ถอด suction module ออกแล้วนำ digestion tube ไปทำการกลั่นใน digestion unit ต่อไป
16. ปิดเครื่อง

2. <u>Distillation</u>
    1. เมื่อเริ่มใช้เครื่องเป็นครั้งแรก ใส่ tube บรรจุน้ำกลั่นเกือบเต็มคอคอดในเครื่อง ใส่ flask เปล่าที่ digestion outlet ทำ checklist ดังนี้ ตรวจสอบดูน้ำในถัง เปิดท่อน้ำเต็มที่ เปิดเครื่อง เมื่อไฟ “wait” ดับหมายถึงเครื่องพร้อม ปิดประตู ดูให้ปุ่ม aspiration ติดเป็นสีเขียว กดปุ่ม “ preheating” เครื่องจะทำงานล้างระบบ แล้ว aspirate ทิ้งไป รอจนไฟ “ wait” ดับ
    2. ที่แผงควบคุมให้ตั้งตัวเลขดังนี้
    3. ปริมาณน้ำ = 60 ml (คิดจาก อัตราส่วน กรด: น้ำ 1:3)
    4. ปริมาณ sodium hydroxide = 60 ml (คิดจาก อัตราส่วน กรด: ด่าง 1:3)
    5. Delay time = 2 วินาที
    6. Distillation time = 3 นาที
    7. Aspiration = ดูให้ปุ่มติดป็นสีเขียว
    8. เตรียม Erlenmeyer flask ขนาด 250 ml เติม 2% boric acid solution 60 – 100 ml เติม indicator คือ methyl red และ methylene blue จนได้สีม่วงแดง นำ flask ไปใส่เครื่องด้าน distillate outlet โดยให้ปลาย outlet จุ่มลงใน boric acid solution
    9. นำ digestion tube ที่มี digestion mixture อยู่ และเย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วไปต่อเข้ากับ distillation unit (หาก digestion mixture แข็งตัว ให้เติมน้ำกลั่นเล็กน้อย หรือ heat เบาๆใน distillation unit ก่อน)
    10. กดปุ่ม start เครื่องจะเติมน้ำ ด่าง และเริ่มต้นกลั่น สังเกตดูสีของของเหลวใน

tube ควรมีสีดำ (เมื่อด่างมากพอ $CuSO_4 \longrightarrow Cu(OH)_2 \longrightarrow CuO$(ดำ)) หากตัวอย่างยังคงมีสีเขียวใส (แสดงว่าด่างไม่เพียงพอ) ให้กดปุ่ม NaOH (ปุ่มล่าง) เพื่อเติมด่างอีกตามต้องการ

11. เมื่อครบเวลากลั่นควรจะได้ distillate ประมาณ 100 มล. จะมีน้ำกลั่นล้าง distillate outlet หลังจากนั้นกรณีที่ตั้ง aspiration ไว้ residue ของตัวอย่างใน digestion tube จะถูก suction ออกทิ้งไป
12. เลื่อน flask ที่มี distillate ลง ให้ปลาย outlet อยู่เหนือ distillate แล้วล้างปลายด้วย wash bottle
13. นำ flask ที่มี distillate ไปทำการ titrate ต่อไป

3. Titration

1. ทำการ titrate distillate ที่ได้ด้วย 0.1 N sulfuric acid จนกระทั่งได้ end point สีม่วงแดง
2. คำนวณค่า Total nitrogen และ Protein ดังนี้

การคำนวณ

$$\% \text{ Total nitrogen} = \frac{\text{Normality} \times \text{มล.ของ standard acid} \times 14.007^{*} \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างสด (สด) เป็นกรัม} \times 1000}$$

$$\% \text{ Crude protein} = \% \text{ Total nitrogen} \times 6.25^{**}$$

* 14.007 คือ Atomic weight ของ Nitrogen

** 6.25 คือ empirical factor สำหรับตัวอย่างอาหารทั่วไป

2.4 การหาปริมาณ Crude fat

เครื่องมือ

1. Goldfische fat extraction apparatus
2. Hot Air Oven
3. Desiccator
4. เครื่องชั่ง digital

สารเคมี

Petroleum ether (b.p. 40-60oC) AR, grade Labscan Asia co.,ltd. Thailand

<u>การเตรียมตัวอย่าง</u>

1. บดตัวอย่างอบแห้ง ที่เกาะกันให้แยกเป็นชิ้นละเอียดโดยใช้โกร่ง
2. ชั่งตัวอย่างอบแห้งอย่างละเอียดประมาณ 0.2 กรัม บนกระดาษกรองที่จะใช้ห่อหรือให้ได้ตัวอย่างคิดเป็น wet weight ประมาณ 2 กรัม

<u>วิธีทำ</u>

1. อบ beaker เปล่า ที่ 100 °C อย่างน้อย 30 นาที ทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งหาน้ำหนัก
2. เปิด cooling water bath โดยเปิด switch ของเครื่องและกดปุ่ม cool
3. ดัน switch ขวาสุดไปที่ “ON” ปิดปุ่ม switch ทางด้านหน้าเพื่อเปิด Heater (switch แต่ละอันจะควบคุม heater 2 อัน หากต้องการใช้ heater เพียงอันเดียว ให้ใช้beaker บรรจุsolvent หรือน้ำ ปิดด้วย watch glass เพื่อ load heater อีกอันที่ใช้ switch ร่วมกัน บิดปุ่มความร้อนไปที่ HIGH
4. สอดตัวอย่างที่ห่อกระดาษกรอง 2 ชั้น ลงใน Sample tube วางสำลีทับเป็นชิ้นบางๆ เพื่อให้ solvent กระจายได้อย่างทั่วถึง
5. สอด Sample tube เข้าไปในระหว่าง holding clip แล้วดัน Sample tube อีกสูงขึ้นไปจนเกือบสุด จะทำให้ส่วน bulb ขึ้นมาใกล้กับ clip พอดี
6. เท solvent ตามจำนวนที่ต้องการลงใน beaker ประมาณ 25-30 ml ใช้ marker ขีดระดับ solvent ไว้ที่ข้าง beaker เพื่อใช้สังเกตกรณีที่มีการ leak เกิดขึ้นในระบบ
7. สวม beaker เข้ากับ retainer ring แล้วหมุนเกลียวให้เข้าที่
8. ดึงปุ่มดำที่อยู่แนวนอน เข้าหาตัว เพื่อคลาย “ปุ่มยก heater ขึ้นลง” ค่อยๆดันปุ่มเพื่อยก heater ขึ้นไปแตะกับก้น beaker
9. อาจทำการปรับความร้อน โดยลดระดับ heater ลงให้ห่างจาก heater เพื่อควบคุม reflux rate ได้ คือให้ได้การกลั่นตัวของ solvent 5-6 หยด/วินาที (สำหรับการกลั่น 4 ชั่วโมง)
10. ทำการกลั่น 4 ชั่วโมง
11. เมื่อการกลั่นเสร็จสมบูรณ์ ให้ใส่ reclaiming tube เข้าไปแทนที่ sample ความร้อนจะพาsolvent กลั่นตัวลงใน reclaiming tube จนกระทั่งเหลือแต่ oil หรือ fat และ solvent อีกเล็กน้อย ค้างใน beaker
12. ถอด reclaiming tube ออก แล้วโยกที่ยึด beaker มาทางด้านหน้า วาง beaker ลงบนที่ยึดนี้ beaker จะอยู่ในแนวเอียงทำมุมกับอากาศร้อนเหนือ heater (ปรับไปที่

LOW)ระเหย solvent ไปจนเกือบแห้งสนิท

13. นำ beaker ไปอบแห้งที่ 100 °C 30 นาที ชั่งและหักลบด้วยน้ำหนักของ beaker เปล่าๆอบแห้งที่ 100 °C 30 นาที เช่นเดียวกัน

<u>การคำนวณ</u>

$$\%Fat = \frac{(\text{น้ำหนักของ Fat และ beaker} - \text{น้ำหนักของ beaker เปล่า}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบแห้ง}}$$

2.5 การหาปริมาณ Crude fiber

<u>เครื่องมือ</u>

1. Crude Fiber Digestion Apparatus: ประกอบด้วย condenser ซึ่งสวมพอดีกับ beaker 600 มล. Hot plate ปรับอุณหภูมิได้ (ทำให้น้ำ 200 มล.(25°C)เดือดภายใน 15 ± นาทีเตรื่องนี้ต้องสามารถรักษาปริมาตรภายใน beaker ให้คงที่ได้ตลอดการทดลอง)
2. ผ้ากรองซึ่งของแข็งผ่านไม่ได้ เมื่อมีการกรองอย่างรวดเร็ว ที่มีเส้นด้าย 45 เส้นต่อนิ้ว
3. Buchner funnel, 2-piece with perforated cup
4. Filtering crucible : Gooch crucible with perforated cup
5. Suction pump
6. Muffle Furnace
7. Hot air oven
8. Desiccator
9. Policeman
10. กระจกนาฬิกา
11. เตาไฟฟ้า หรือ hot plate

<u>สารเคมี</u>

1. 0.255 ± 0.005 N H_2SO_4 : 1.25 gm. Conc. H_2SO_4 /100 ml.
2. 0.313 ± 0.005 N NaOH : 1.25 gm. Conc. NaOH : /100 ml.
   ความเข้มข้นของกรดและด่างควรตรวจสอบโดยการไตเตรท
3. HCl 1% : 10 ml. HCl/100ml
4. Alcohol 95%
5. Petroleum ether bp. 40°- 60°C

6. Acetone

<u>การเตรียมก่อนการทดลอง</u>

1. <u>หาปริมาณความชื้น</u>

   สำหรับตัวอย่างอาหารประเภท grains, meals, flours, feeds และ fiber-bearing material ซึ่งสามารถกำจัดปริมาณไขมันออกได้นำตัวอย่างอาหารมาผสมให้เข้ากัน นำปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสมไปหาปริมาณความชื้นแล้วบดให้ได้ขนาดเสมอกัน(uniform fineness) เก็บในภาชนะที่ปิดสนิท

2. <u>กำจัดไขมัน</u>

   ชั่งตัวอย่างซึ่งแห้งและบดละเอียดมา 2 กรัม (fiber 5-50 มิลลิกรัม) สกัดไขมันออกโดยใช้ Petroleum ether(bp. 40°- 60°C) ใส่พอท่วมตัวอย่างอาหาร คนให้ทั่วแล้วปล่อยให้นอนก้น รินส่วนบนทิ้ง ทำซ้ำประมาณ 3 ครั้ง ผึ่งให้แห้งในอากาศ

   หรืออาจจะใช้ตัวอย่างที่ได้จากการทดลองหาปริมาณไขมัน โดยใช้ Goldfish

3. <u>หาน้ำหนักคงที่ของ Filtering crucible</u>

   - โดยอบที่ 130° ± 2°C จนน้ำหนักคงที่แล้วชั่ง
   - เผาที่ 550° ± 10°C 30 นาที

<u>วิธีทำ</u>

1. เปิดน้ำเย็นเข้าเครื่อง ตรวจดูการไหลของน้ำตรงปลายท่อน้ำทิ้ง ปรับอัตราการไหลของน้ำผ่าน Condenser ในภายหลัง (ขณะทำการ reflux) จนกระทั่งอุณหภูมิของน้ำที่ไหลออกจากเครื่อง อยู่ระหว่าง 75° – 80°F
2. ใส่ defatted sample ลงใน beaker 600 มล. เติม 0.255 N H_2SO_4 ซึ่งต้มเดือด 200 มล. ลงใน beaker ให้สัมผัสกับตัวอย่างอาหารโดยตรง
3. วาง beaker บน heater ค่อยๆยกขึ้นช้าๆ จนกระทั่งสวมเข้าพอดีกับ condenser ซึ่งอยู่ด้านบน เปิด main power switch ทางขวาของเครื่องไปที่ตำแหน่ง “ON”แล้วปิดปุ่มที่ควบคุม heater เฉพาะหน่วย
4. ต้มสารใน beaker ให้เดือดภายใน 1 นาที แล้ว reflux ต่ออีก 30 นาที ในระหว่างที่กำลัง digest เขย่า beaker เป็นระยะเพื่อไม่ให้ตัวอย่างอาหารติดข้าง beaker
5. ในขณะที่รอการ digest เตรียมเครื่องกรองโดยใช้ผ้าลินินวางบนส่วน cup ของ Buchner funnel ซึ่งต่อกับ suction pump ปรับ vacuum ให้ได้ประมาณ 25 มม. ปรอท(735 มม. Pressure) ก่อนที่การย่อยจะครบเวลา ให้เทน้ำต้มเดือดลงไปเพื่อเป็นการ warm กรวยกรอง

6. เมื่อครบ 30 นาที ยก beaker ลงตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 นาที กรองผ่านผ้ากรองซึ่งเตรียมไว้ ล้างสารที่ค้างใน beaker ลงไปโดยใช้น้ำเดือดจำนวนน้อยที่สุด
7. Suction ต่อจนแห้ง ล้างด้วยน้ำเดือดต่อจนกระทั่งหมดกรด (ใช้ pH paper ตรวจดู)
8. ถ่ายสารที่เหลือบนผ้ากรองกลับสู่ beaker โดยใช้กระจกนาฬิกาและ policeman ช่วย
9. ล้างสารที่ติดผ้ากรองโดยใช้ 0.313 N NaOH ต้มเดือด 200 มล.ช่วย(ตวงที่อุณหภูมิห้องแล้วจึงนำไปต้ม) reflux สารทั้งหมด 30 นาที ข้อควรระวังเหมือนกับการ digest ด้วย H_2SO_4
10. ครบ 30 นาที ยกลงตั้งทิ้งไว้ 1 นาที กรองผ่านผ้ากรองทันที
11. ล้างครั้งแรกโดยใช้น้ำต้มเดือด 25-30 มล. ตามด้วย 1%HCl 25 มล.
12. ถ่ายสารบนผ้ากรองกลับสู่ beaker โดยใช้น้ำร้อนช่วย
13. ถ่ายสารจาก beaker ลงใน filtering crucible (ซึ่งทราบน้ำหนักคงที่แล้ว) ที่ต่อกับ suction pump ล้างต่อด้วยน้ำเดือดจนหมดกรด (ใช้ pH paper ตรวจดู)
14. ล้างครั้งสุดท้ายด้วย 95 % alcohol 25 มล.
15. อบ Crucible วิ้งมี crude fiber ในตู้อบ 130 ± 2 °C จนได้น้ำหนักคงที่ ทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วชั่ง
16. เผาใน muffle furnace (550 °C ± 10 °C) จนกระทั้งได้เถ้าสีขาวหรือเทา (ประมาณ 30 นาที ถึง 2 ชม. ทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วชั่ง

<u>การคำนวณ</u>

$$\% \text{ Crude fiber} = \frac{\text{loss in weight on ignition} \times 100}{\text{Wt. of sample}}$$

3. การหาปริมาณ Reducing sugar โดยวิธี Lane-Eynon Volumetric method

หลักการ

Cupric ion ใน Alkaline copper solution จะถูก reduced เป็น cuprous oxide (Cu_2O) โดย reducing sugar ใช้ methylene blue เป็น internal indicator ที่ end point methylene blue จะถูก reduced เป็นสารไม่มีสี

เครื่องมือ

1. Buret ขนาด 50 ml
2. Erlenmeyer Flask 250 ml
3. Pipet ขนาด 10 และ 50 ml
4. เตาไฟฟ้า

สารเคมี

1. Methylene blue 0.2% w/v ในน้ำ
2. Fehling's solution (Soxhlet's modification)

Solution A : ละลาย copper sulfate ($CuSO_4.5H_2O$) 69.28 กรัมในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

Solution B : ละลาย Potassium Sodium Tartrate [Rochelle salt ($KNaC_4H_4O_6.4H_2O$)] 346 กรัม และ Sodium Hydroxide 100 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2 วัน แล้วกรอง เวลาใช้ให้เติม Solution A ลงใน Solution B ซึ่งมีปริมาตรเท่ากัน โดยผสมตาม Order ดังกล่าวเพื่อป้องกันการเกิดตะกอนของ $Cu(OH)_2$

3. Standard invert sugar Solution

ชั่ง pure sucrose (อบแห้งที่ 100^0C) 2.375 กรัม ละลายน้ำ 130 มิลลิลิตร เติม 1N HCl 15 มิลลิลิตร ต้มเดือด 2 นาที ทำให้เย็นแล้วทำให้เป็นกลางด้วย 10% NaOH ใช้ Phenolphthalein เป็น indicator ถ่ายสารละลายที่ได้ใส่ใน Volumetric flask 500 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำจนได้ 500 มิลลิลิตร เขย่าให้เท่ากัน

1 ml ของ Standard invert sugar สมมูลกับ 0.00475 กรัม sucrose ~ 0.005 กรัม invert sugar

25 ml ของ Fehling's solution สมมูลกับ 24.80 ml ของ standard invert sugar (0.5 กรัม / 100 ml)

10 ml ของ Fehling's solution สมมูลกับ 10.5 ml ของ standard invert sugar (0.5 กรัม / 100 ml)

วิธีทดลอง

Standardization of Fehling's Solution

ใช้ mixed Fehling's solution 10 หรือ 25 ml ซึ่งควรจะพอดีกับ Standard invert sugar solution (0.5 กรัม / 100 ml) 10.5 หรือ 24.80 ml ตามลำดับ ผลแตกต่างที่ได้ (B) นำไปหักออกจากค่า titre ที่ได้จากการ titrate Fehling's Solution โดยใช้ sugar solution (ที่ได้จากตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณ invert sugar ก่อนเปิดตาราง Lane-Eynon

ตัวอย่าง สมมติ ค่า titre จาก Standard invert sugar solution = A

เมื่อใช้ Fehling's Solution 10 มิลลิลิตร B = A – 10.5

เมื่อใช้ Fehling's Solution 25 มิลิลิตร B = A – 24.8

สมมติ ค่า titre จาก Sample solution = Y

ดังนั้น ค่าที่จะนำไปเปิดตาราง Lane-Eynon คือ = Y – B

การเตรียมตัวอย่าง

Sugar solution

1. ชั่ง Sample มา 100 กรัม ใส่ลง separatory funnel
2. เติมสารละลาย 5%ammonia ใน 95%Ethanol 150 ml ลงใน separatory funnel
3. swirl 5 นาที
4. นำสารที่ได้มากรองด้วยวิธีการ suction โดยใช้กระดาษกรอง Whatman No. 4
5. ทำการกรองซ้ำอีกครั้งด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1
6. นำสารละลายที่กรองได้ไประเหยบน water bath จนกระทั่งไม่เหลือกลิ่นของ Ethanol
7. นำสารที่เหลือไปใส่ใน Volumetric flask 500 ml แล้วทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 ml
8. ให้เก็บสารสกัดในตู้เย็น

Total invert sugar

1. นำ extract ที่ปรับปริมาตรแล้วมา 50 ml ใส่ลงใน beaker 250 ml
2. เติม citric acid 5 กรัม และเติมน้ำ 50 ml
3. นำไปต้มเดือด 10 นาที แล้วทิ้งให้เย็น
4. จากนั้นถ่ายสารละลายที่ได้ใส่ volumetric flask 250 ml
5. neutraliazed ด้วย 1 N NaOH โดยใช้ Phenolphthalein เป็น indicator
6. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

Preliminary Titration

กรณีไม่ทราบว่าในตัวอย่างมี reducing sugar อยู่เท่าไร การทำ Preliminary Titration จะช่วยให้ทราบปริมาณได้อย่างคร่าวๆ ซึ่งมีความสำคัญมากสำหรับ accuracy ของการทำ standard method of titration เพื่อหาปริมาณที่แท้จริงของ reducing sugar

1. pipet mixed Fehling's solution 10 หรือ 25 ml (แล้วแต่ความเข้มข้นของน้ำตาลในตัวอย่าง)ใส่ลงใน flask 250 ml
2. เติม sugar solution ลงไป 15 ml ผสมให้เข้ากันโดยการ swirl flask

3. ต้มบน heater ให้เดือดประมาณ 10-15 วินาที ถ้า solution ยังคงมีสีน้ำเงินอยู่ แสดงว่า Fehling's Solution ยังไม่ถูก reduced ทั้งหมด ให้ titrate ต่อ โดยการเติม sugar solution ครั้งละ 5 ml ต้มเดือด 2-3 วินาที หลังจากเติมในแต่ละครั้ง จนกระทั่งได้สีน้ำเงินจางๆ
4. เติม 0.2% Methylene blue 1 ml titrate ต่อ โดยเติม sugar solution ครั้งละ 1 ml ต้มเดือด 10 วินาทีก่อนที่จะเติมครั้งต่อไป titrate ต่อจนกระทั่งสีน้ำเงินของ Methylene blue หายไป สารละลายที่ได้มีสีส้มหรือสีแดงอิฐจดปริมาตรไว้ = V (ค่าที่ได้จะ accurate มากขึ้นถ้าเวลาในการ titrate ทำเสร็จภายในเวลา 3 นาที)

Standard method of titration

1. pipet mixed Fehling's solution 10 หรือ 25 ml ใส่ลงใน flask 250 ml
2. เติม sugar solution ลงไป ให้มีปริมาตร V – 1 ml
3. ผสมให้เข้ากันโดยการ swirl flask ต้มเดือด 2 นาทีพอดี (exactly) เติม 0.2% Methylene blue 1 ml โดยหยดลงในสารละลายที่ต้มเดือดโดยตรง
4. titrate ต่อ โดยการเติม sugar solution ครั้งละ 2-3 หยด ห่างกัน 10 วินาที จนสีน้ำเงินหายไปสารละลายที่ได้มีสีส้มหรือสีแดงอิฐ (การ titrate ในช่วงนี้ต้องทำให้เสร็จภายใน 1 นาที)
5. จากค่า titre = Y ที่ได้ สามารถหาค่า factor ได้โดยการนำค่า Y – (B) ไปเปิด ตาราง Lane-Eynon ตามปริมาณของFehling's Solutionที่ใช้ในการ titrate

ทั้ง Preliminary Titration และ Standard method of titration จะใช้กับ Sugar solution และ Total invert sugar โดยผลต่างของปริมาณ invert sugar ก่อนและหลัง inversion คูณด้วย 0.95 คือปริมาณsucroseที่มีอยู่ในสารละลายนั้น

การคำนวณ

$$\text{Invert sugar of solution (C)} = \frac{\text{Factor (mg)} \times 100}{\text{Titer (ml)}} \quad \%w/v$$

Factor คือค่าที่ได้จากการนำ Y – (B) ไปเปิดตาราง Lane-Eynon เป็นมิลลิกรัม

Titer คือ ปริมาณของ Sugar solution ที่ใช้ในการ titrate = Y มิลลิลิตร

$$\text{Invert sugar of sample} = C/D \times 100 \quad \%w/v$$

C = Invert sugar of solution (mg/100ml)

D = ความเข้มข้นของ sugar solution (mg/100ml)

%sucrose = (%total invert - % reducing sugar original) x 0.95

%total sugar = %reducing sugar + %sucrose

ตารางที่ 1 Invert sugar for 10 cm^3 of Fehling's solution

cm^3 of sugar solution required	Solution containing besides invert sugar	
	Invert sugar factor*	mg invert sugar per 100 cm^3
15	50.5	336
16	50.6	316
17	50.7	298
18	50.8	282
19	50.8	267
20	50.9	254.5
21	51.0	242.9
22	51.0	231.8
23	51.1	222.2
24	51.2	213.3
25	51.2	204.8
26	51.3	197.4
27	51.4	190.4
28	51.4	183.7
29	51.5	177.6
30	51.5	171.7
31	51.6	166.3
32	51.6	161.2
33	51.7	156.6
34	51.7	152.2

ตารางที่ 1 Invert sugar for 10 cm^3 of Fehling's solution (ต่อ)

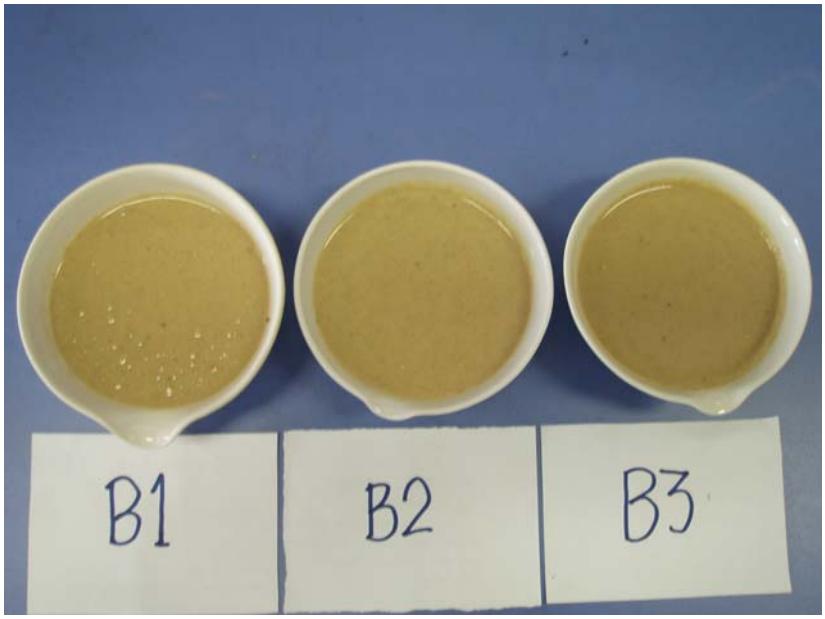
cm^3 of sugar solution required	Solution containing besides invert sugar	
	Invert sugar factor*	mg invert sugar per 100 cm^3
35	51.8	147.9
36	51.8	143.9
37	51.9	140.2
38	51.9	136.6
39	52.0	133.3
40	52.0	130.1
41	52.1	127.1
42	52.1	124.2
43	52.2	121.4
44	52.2	118.7
45	52.3	116.1
46	52.3	113.7
47	52.4	111.4
48	52.4	109.2
49	52.5	107.1
50	52.5	105.1

* mg of invert sugar corresponding to 10 cm^3 of Fehling's solution

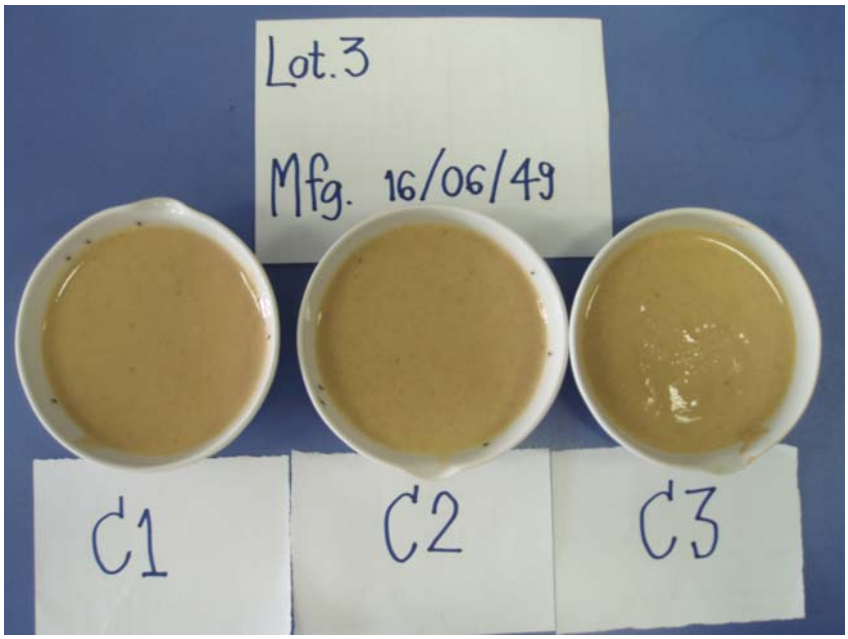
ผลการวิจัย

ลักษณะอาหารที่ได้จากกระบวนการผลิต

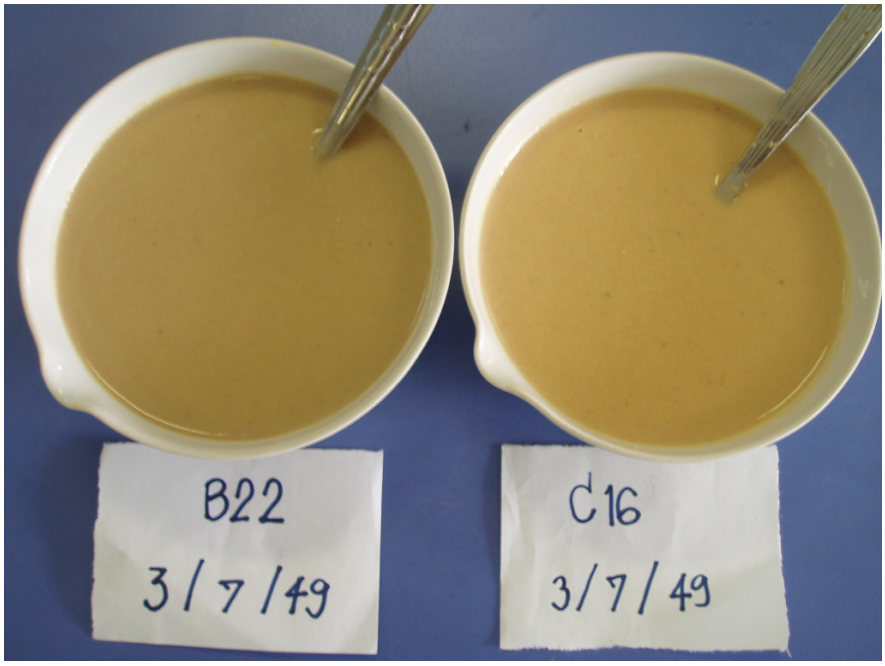
รูปที่ 1 แสดงลักษณะทางกายภาพของอาหารเหลวปั่นผสมสูตรตับ



รูปที่ 2 แสดงลักษณะทางกายภาพของอาหารเหลวปั่นผสมสูตรนม



รูปที่ 3 แสดงลักษณะทางกายภาพของอาหารเหลวปั่นผสมสูตรตับและสูตรนม



ตารางที่ 2 แสดงปริมาณสารอาหารจากวิธี Proximate analysis

	สูตรตับ (%w/w)	สูตรนม (%w/w)
Moisture content	77.69	75.60
Total ash	0.44	0.62
Crude protein	4.42	3.87
Crude fat	3.1597	3.8828
Crude fiber	- *	- *
Carbohydrate	14.29	16.03

* ไม่สามารถหาปริมาณของ fiber ได้ เนื่องจากขนาดอนุภาคของ fiber ในอาหารอาจมีขนาดที่เล็กเกินไปทำให้ไม่สามารถเหลืออยู่บนผ้ากรองได้ และนอกจากนี้ fiber ในอาหารอาจเป็นชนิด water soluble

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณน้ำตาลในอาหารจากวิธี Volumetric titration ด้วย Fehling'ssolution

	สูตรตับ (%w/w)	สูตรนม (%w/w)
Reducing sugar	0.69	1.30
Non-reducing sugar (Sucrose)	5.13	4.70
Total sugar	5.83	6.00

ภาพแสดงเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

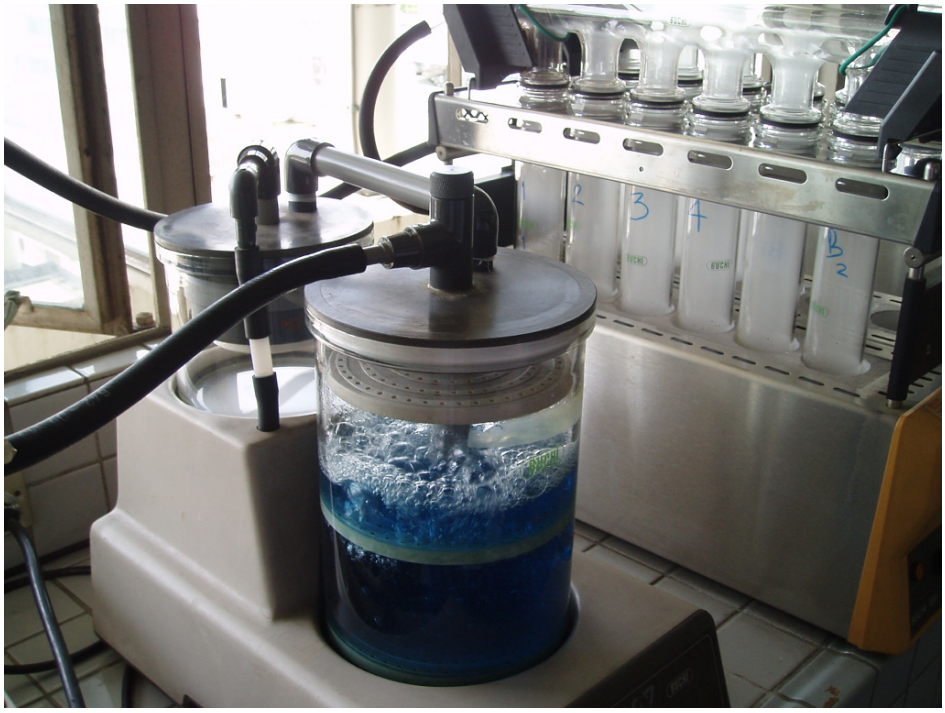
รูปที่ 4 Liquid Blender และ Hand homogenizer

รูปที่ 5 Autoclave

รูปที่ 6 Muffle furnace

รูปที่ 7 Goldfische extraction apparatus

รูปที่ 8 Buchi digestion unit **และ** scrubber



รูปที่ 9 Buchi distillation unit

สรุปผลการทดลอง

อาหารเหลวปั่นผสมบรรจุกระป๋องที่ผลิตได้มีคุณลักษณะที่ดีตามต้องการทั้งในด้านลักษณะทางกายภาพ คุณค่าทางสารอาหารและพลังงานดังแสดงในตารางที่ 4 และ 5

ตารางที่ 4 แสดงคุณลักษณะของอาหารเหลวปั่นผสมทั้ง 2 สูตร

	สูตรตับ	สูตรนม
ลักษณะทางกายภาพ	เนื้อเนียนละเอียด	เนื้อเนียนละเอียด
การกระจายตัวของพลังงาน carbohydrate : protein : fat	55 : 17 : 28	56 : 14 : 30
non protein calories ต่อ กรัมไนโตรเจน	121 kcal : 1 g	160 kcal : 1 g
ความเข้มข้นของพลังงาน	1.03 kcal/ml	1.14 kcal/ml

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณสารอาหารในอาหารเหลวปั่นผสมทั้ง 2 สูตร

	สูตรตับ (%w/w)	สูตรนม (%w/w)
Moisture content	77.69	75.60
Total ash	0.44	0.62
Crude protein	4.42	3.87
Crude fat	3.16	3.88
Carbohydrate	14.29	16.03
Reducing sugar	0.69	1.30
Non-reducing sugar (sucrose)	5.13	4.70

ประโยชน์ที่ได้รับ

1. ได้เรียนรู้กระบวนการทำวิจัย
2. ได้เรียนรู้คุณสมบัติที่ดีของอาหารที่ให้ทางสายให้อาหาร
3. ได้ทดลองผลิตอาหารเหลวบรรจุกระป๋องซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพที่จะให้ทางสายให้อาหาร โดยมีต้นทุนต่ำ สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้และสะดวกในการใช้
4. ได้เรียนรู้วิธีการหาปริมาณสารอาหารพื้นฐานในอาหารโดยวิธี Proximate analysis และการหาปริมาณของน้ำตาลโดยวิธี Volumetric titration ด้วย Fehling's solution

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการทดลองหา stability ของอาหารทั้งในสภาวะเร่งและสภาวะปกติ
2. อาจพัฒนาอาหารในรูปแบบอื่นๆ
3. อาจทำการหาน้ำตาลโดยเจาะจงชนิด เช่น glucose, fructose

เอกสารอ้างอิง

1. ผุสนี ทัดพินิจ, จิตติมา พฤษเจริญ, อุไรวรรณ สิลปศุภกรวงศ์. การพัฒนาตำรับอาหารเหลว (โครงการพิเศษ ปีการศึกษา 2539). คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2539.
2. ผุสนี ทัดพินิจ, อรวี เข็มทอง, อังสนา วิกิณียะธนี อาหารกระป๋องชนิดเป็นกรด:ระยะเวลาที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อ (โครงการพิเศษ ปีการศึกษา 2542).ภาควิชาอาหารเคมี.คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2539.
3. กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. ตารางแสดงคุณค่าอาหารไทยในส่วนที่กินได้ 100 กรัม.กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว.1992
4. วิชัย ตัณไพจิตร. การให้อาหารทางสายให้อาหาร. แพทยสภาสาร 2520; 6(3)
5. R.S. Shallenberger, G.G. Birch. Sugar Chemistry. Role of sugar in food and medicine. Westport Connecticut ; The AVI Publishing Company,inc.1975
6. Harry M. Pancoast, W. Ray Junk. Handbook of sugar 2nd edition. Analysis of Sucrose and invert sugar. Westport Connecticut ; The AVI Publishing Company,inc.1980
7. ผุสนี ทัดพินิจ. คู่มือปฏิบัติการอาหารเคมี 2537 ภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
8. S. Ranganna, Manual of Analysis of Fruit & Vegetable Products, Chapter 1 proximate composition. Tata McGraw-Hill publishing Co, ltd. New Delhi.1977