การตรวจหาปริมาณวิตามินในตำรับอาหารเหลวปั่นผสมบรรจุกระป๋อง

นางสาวสุไพรินทร์ งามเถื่อน
นางสาวอุมาภรณ์ อาจนาเสียว

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2549

DETERMINATION OF VITAMINS IN THE CANNED LIQUID FOODS

MISS SUPIRIN NGAMTEUN
MISS UMAPORN ACHNASIAW

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 การตรวจหาปริมาณวิตามินในตำรับอาหารเหลวปั่นผสมบรรจุกระป๋อง

…….....

(นางสาวสุไพรินทร์ งามเถื่อน)

…….

(นางสาวอุมาภรณ์ อาจนาเสียว)

…….

(วราภัสร์ พากเพียรกิจวัฒนา)

อาจารย์ที่ปรึกษา

…….....

(ผุสนี ทัดพินิจ)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ
การตรวจหาปริมาณวิตามินในตำรับอาหารเหลวปั่นผสมบรรจุกระป๋อง

สุไพรินทร์ งามเถื่อน, อุมาภรณ์ อาจนาเสียว
อาจารย์ที่ปรึกษา: วราภัสร์ พากเพียรกิจวัฒนา, ผุสนี ทัดพินิจ
ภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
คำสำคัญ: อาหารเหลวปั่นผสมบรรจุกระป๋อง, การตรวจหาปริมาณวิตามิน

โครงการพิเศษนี้เป็นการทดลองผลิตอาหารเหลวปั่นผสมบรรจุกระป๋องที่ใช้ให้ทางสายให้อาหาร และวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารโดยวิธี Proximate Analysis วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบางชนิดในอาหารเหลวบรรจุกระป๋อง โดยใช้วิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) สูตรอาหารที่เลือกใช้ในการทดลองมี 2 กลุ่ม คือ สูตรที่ใช้ตับหมูและไข่เป็นแหล่งโปรตีน และสูตรที่ใช้นมและไข่เป็นแหล่งโปรตีน

จากการทดลองผลิตอาหารเหลวบรรจุกระป๋องตามกระบวนการที่มีการพัฒนาสูตรไว้แล้ว พบว่าอาหารทั้ง 2 ตำรับ มีคุณลักษณะทางกายภาพตามต้องการทั้ง ความหนืด ความเนียนของเนื้อสัมผัส และอัตราการไหลผ่านสายให้อาหารที่เหมาะสม และจากการทำ Proximate Analysis พบว่าสูตรที่ใช้ตับหมูและไข่ มีค่า moisture content, total ash, crude protein, crude fat และ carbohydrate ร้อยละ 77.69, 0.44, 4.42, 3.16, 14.29 โดยน้ำหนักตามลำดับ สูตรนมมีค่าดังกล่าว ร้อยละ 75.60, 0.62, 3.87, 3.88, 16.03 โดยน้ำหนักตามลำดับ ส่วนการหาปริมาณวิตามินเอ เบต้าแคโรทีนและ วิตามิน โดยวิธีใช้ เครื่อง HPLC พบว่ามีระดับต่ำมากจนไม่สามารถรายงานผลได้

การผลิตอาหารเหลวบรรจุกระป๋องโดยใช้อาหารตามธรรมชาติ ให้สามารถทนความร้อนสูงในกระบวนการฆ่าเชื้อ มีความหนืด สารอาหารและคุณสมบัติตามความต้องการ ที่จะใช้เป็นอาหารทางสายให้อาหารนั้นยังต้องมีการศึกษาพัฒนาเพิ่มเติมต่อไป

Abstract

Determination of vitamins in the canned liquid foods

Supirin ngamteun, Umaporn achnasiaw

Project advisor: Varapat Pakpeankitvatana, Pussanee Tudpinij

Department of Food Chemistry, Faculty of Pharmacy. Mahidol University

Keyword: Canned liquid foods, vitamin determination

This project was conducted to determine vitamins content in the selected canned liquid food formulas. From the selected two formulas, one contained pig's liver and egg as protein sources, the other contained milk and egg as protein sources. The canning of selected formulas was reproduced and a proximate analysis and fat soluble vitamins were determined.

The finished products obtained had smooth texture, desired viscosity and flow rate. The results from proximate analysis; moisture contents, total ash, crude protein, crude fat and carbohydrate for the pig's liver containing formula were 77.69, 0.44, 4.42, 3.16, 14.29 %w/w respectively and the milk containing formula were 75.60, 0.62, 3.87, 3.88, 16.03 %w/w respectively. For fat soluble vitamin determination, the amount of the vitamin A, beta-caratene and vitamin E content in these formulas were not detectable.

Further study should be done in order to obtain an ideal liquid food formula that can withstand the high temperature of sterilization, contain required nutrients and also possess the appropriate properties for the patient usage.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ด้วยความกรุณาจากท่านอาจารย์ที่ปรึกษา คือ อ.วราภัสร์ พากเพียรกิจวัฒนา และ อ.ผุสนี ทัดพินิจ ภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ช่วยกรุณาควบคุมดูแล ให้คำปรึกษา แนะนำ แก้ไข ในการทำโครงการพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณ ศ.ดร. อำพล ไมตรีเวช ที่กรุณาเอื้อเฟื้อเครื่องมือ(homomixer) มาใช้ในการทดลอง และขอขอบคุณบุคลากรทุกฝ่ายในภาควิชาอาหารเคมี และ ภาควิชาเภสัชกรรมเทคโนโลยีที่ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ช่วยอำนวยความสะดวก รวมทั้งจัดหาอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง และช่วยแนะนำวิธีการใช้เครื่องมือต่างๆที่ใช้ในการทำโครงการพิเศษนี้

ขอขอบคุณ คุณศิริลักษณ์ ไพรสงบ และคุณศุภลักษณ์ ศิริอัศวกุล ที่ช่วยกันผลิตอาหารเหลวปั่นผสมบรรจุกระป๋องในตอนต้นโครงการพิเศษให้ได้ตามเป้าหมายที่เราได้วางไว้

ขอขอบคุณ บุคคลท่านอื่นๆ ที่ไม่ได้เอ่ยนามไว้ ณ ที่นี้ได้ครบทุกท่าน หากผลการวิจัยนี้ได้ก่อให้เกิดประโยชน์กับสังคมในภายภาคหน้า ทางผู้จัดทำขอมอบความดีทั้งหมดให้แก่ บิดา มารดา และครูอาจารย์ผู้ที่มีส่วนร่วมในการสนับสนุนและเป็นกำลังใจมาโดยตลอด ทางผู้จัดทำโครงการพิเศษ ขอขอบพระคุณทุกๆท่านไว้ ณ ที่นี้ด้วย

สุไพรินทร์ งามเถื่อน
อุมาภรณ์ อาจนาเสียว
ผู้ทำวิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
Abstract	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
คำย่อและสัญลักษณ์	ช
บทนำ	1
ทบทวนวรรณกรรม	2
วัสดุและวิธีการวิจัย	3
ผลการทดลอง	23
สรุปผลการทดลอง	29
วิจารณ์ผลการทดลอง	29
ประโยชน์ที่ได้รับ	30
ข้อเสนอแนะ	30
เอกสารอ้างอิง	31

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง	3
2	ปริมาณสารอาหารต่อน้ำหนักอาหาร 100 กรัม	24
3	คุณค่าทางโภชนาการในอาหารทั้งสองสูตร	24
4	การหาปริมาณความชื้น(Moisture content)ครั้งที่ 1 ด้วยวิธี Proximate Analysis	24
5	การหาปริมาณความชื้น(Moisture content)ครั้งที่ 2 ด้วยวิธี Proximate Analysis	25
6	การหาปริมาณ Total ash ด้วยวิธี Proximate Analysis	25
7	การหาปริมาณ Crude fat ด้วยวิธี Proximate Analysis	26
8	การ Standardization 0.1 N H_2SO_4	26
9	การหาปริมาณ Crude protein ในสูตรตับ ด้วยวิธี Proximate Analysis	27
10	การหาปริมาณ Crude protein ในสูตรนม ด้วยวิธี Proximate Analysis	28
11	สรุปผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารพื้นฐาน ด้วยวิธี Proximate Analysis	29

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	การหาปริมาณความชื้นหรือปริมาณน้ำโดยต้องชั่งน้ำหนักให้คงที่	7
2	การหาปริมาณ Total ash โดยใช้ Muffle furnace	9
3	การหาปริมาณ Crude fat โดยใช้ Goldfisch fat extraction apparatus	11
4	การหาปริมาณ Crude protein ขั้น Digestion โดยใช้ Digestion Unit	15
5	การหาปริมาณ Crude protein ขั้น Distillation โดยใช้ Distillation Unit	17
6	การหาปริมาณ Crude fiber โดยใช้ Crude Fiber Digestion Apparatus	21
7	เครื่อง HPLC: Waters with UV detector	22
8	ผลิตภัณฑ์ที่ได้ (B คือ สูตรตับและ C คือ สูตรนม)	23

สัญลักษณ์และคำย่อ

g, gm	=	กรัม
mg	=	มิลลิกรัม
ml	=	มิลลิลิตร
b.p.	=	boiling point
conc.	=	concentration
nm	=	นาโนเมตร
^{o}C	=	องศาเซลเซียส
^{o}F	=	องศาฟาเรนไฮต์
N	=	Normality
M	=	Molarity
HPLC	=	High Performance Liquid Chromatography
มล.	=	มิลลิลิตร
มม.	=	มิลลิเมตร
ซม.	=	เซนติเมตร
ชม.	=	ชั่วโมง
B	=	ตำรับ B (สูตรตับ)
C	=	ตำรับ C (สูตรนม)

บทนำ

อาหารเหลวปั่นผสมที่ให้ทางสายให้อาหาร เป็นอาหารทางการแพทย์ที่ใช้เป็นอาหารผู้ป่วยที่รับประทานอาหารทางปากไม่ได้ แต่ระบบการทำงานของระบบทางเดินอาหารยังคงเป็นปกติ ซึ่งในปัจจุบันมีผู้ป่วยจำนวนมากที่ต้องอาศัยการได้รับอาหารทางสายให้อาหาร อาหารที่ให้ทางสายให้อาหารแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ1.)อาหารปั่นผสม (Blenderized formula) ซึ่งสามารถทำเองได้โดยการนำอาหารมาปั่นรวมกันหรือมาซื้อที่โรงพยาบาลแต่ผู้ป่วยหรือญาติผู้ป่วยอาจจะไม่สะดวกในการเตรียมอาหารหรือมาซื้ออาหารทุกวันเนื่องจากอาหารเก็บไว้ได้ไม่นาน และอาหารที่เตรียมเองอาจจะไม่ได้คุณค่าอาหารเพียงพอตามที่ต้องการ 2.)แบบสำเร็จรูป (Commercial formula)เป็นการนำเอาสารอาหารที่ร่างกายต้องการมาผสมกันในถุงหรือกระป๋องซึ่งทำให้สะดวกขึ้น แต่มีราคาสูง จึงเป็นที่มาของโครงการวิจัยพัฒนาอาหารปั่นเหลวผสมบรรจุกระป๋องเพื่อเพิ่มคุณภาพชีวิตให้กับผู้ป่วย สะดวกกับผู้ดูแลผู้ป่วย และลดค่าใช้จ่าย ทั้งนี้ในการพัฒนาสูตร และกระบวนการผลิต มีสิ่งที่ต้องคำนึงหลายประการเช่น ลักษณะทางกายภาพ ความหนืด การไหล รวมถึงคุณค่าทางอาหารที่ผู้ป่วยควรได้รับอย่างเหมาะสมจากอาหาร จากการวิจัยที่ผ่านๆมา (โครงการพิเศษ ปี 2539 และ 2542) ได้มีการพัฒนาสูตรอาหารปั่นผสมโดยใช้อาหารตามธรรมชาติจนได้สูตรที่มีลักษณะทางกายภาพที่เหมาะสม คือ มีความเนียนและความหนืดที่พอเหมาะสำหรับให้ทางสายให้อาหาร และสามารถทนความร้อนสูงได้ในระหว่างกระบวนการผลิต โครงการนี้จึงได้มีการศึกษาปริมาณสารอาหาร หลังจากผ่านกระบวนการทำอาหารเหลวปั่นผสมบรรจุกระป๋องแล้ว ด้วยวิธี proximate analysis และหาปริมาณวิตามินบางชนิด โดยใช้เครื่อง HPLC ในการวิเคราะห์ ทั้งนี้เพื่อทราบว่าอาหารที่พัฒนาขึ้นมามีคุณสมบัติอย่างไร เพื่อจะนำมาทำการพัฒนาเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่นำมาใช้ได้จริงต่อไป

ทบทวนวรรณกรรม

อาหารทางการแพทย์ คือ อาหารหรือสารอาหารซึ่งเป็นสูตรอาหารเฉพาะ หรือ ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแปรรูปแล้ว โดยนำมาให้ผ่านระบบทางเดินอาหาร ซึ่งผู้ป่วยไม่สามารถรับประทานอาหารได้เองทางปาก แต่ระบบการทำงานของระบบทางเดินอาหารยังคงเป็นปกติ เพื่อป้องกัน รักษา บรรเทา อาการโรคใดโรคหนึ่ง หรือความผิดปกติที่เกิดขึ้นเนื่องจากการเจ็บป่วย

สูตรอาหารที่ให้ทางสายให้อาหารแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

1. สูตรอาหารปั่นผสม (Blenderized formula),
2. สูตรอาหารสำเร็จรูป (Commercial formula)

โดยมีลักษณะที่ดีดังนี้คือ

1. มีสารอาหารครบถ้วนตามที่ร่างกายต้องการ
2. มีลักษณะการกระจายตัวของแคลอรี่จากโปรตีน ไขมัน และ คาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสม คือ ในทุกๆ 100 กิโลแคลอรี่ที่ผู้ป่วยได้รับ ควรได้จากโปรตีน ร้อยละ 15-20, คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 45-55, และไขมันร้อยละ 30-35 [ควรมี Linoleic acid จากไขมันพืชร้อยละ 17-20 เพื่อป้องกัน รักษา การขาดกรดไขมันจำเป็น (essential fatty acid deficiency) และ Hypercholesterolemia]
3. มีอัตราส่วนระหว่างพลังงานที่ไม่ได้มาจากโปรตีนต่อไนโตรเจนอย่างเหมาะสม คือ 150 กิโลแคลอรี่ต่อ 1 กรัมไนโตรเจน หรือ 24 กิโลแคลอรี่ต่อ 1 กรัมโปรตีน
4. มี Osmolarity ที่พอเหมาะ คือ น้อยกว่า 600 mosm. ต่อกิโลกรัม เพื่อหลีกเลี่ยงอาการท้องเดินในกรณีที่มี Osmolarity สูง
5. มีความเข้มข้นของพลังงาน 1-1.2 กิโลแคลอรี่ต่อมิลลิลิตร
6. ปลอดภัยจากเชื้อโรค
7. มีความหนืดพอเหมาะ สามารถไหลผ่านสายให้อาหารในอัตราเร็วที่เหมาะสม

จากการวิจัยที่ผ่านๆมา (โครงการพิเศษ ปี 2539 และ 2542) ได้มีการพัฒนาสูตรอาหารปั่นผสมโดยใช้อาหารตามธรรมชาติจนได้สูตรที่มีลักษณะทางกายภาพที่เหมาะสม คือ มีความเนียนและความหนืดที่พอเหมาะสำหรับให้ทางสายให้อาหาร และสามารถทนความร้อนสูงได้ในระหว่างกระบวนการผลิต นอกจากนี้ยังมีปริมาณสารอาหารสำคัญและการกระจายของพลังงานในขนาดที่เหมาะสม แต่ว่ายังไม่ทราบปริมาณสารอาหารที่สำคัญบางชนิดที่เฉพาะเจาะจง และไม่มีข้อมูลด้านการเปลี่ยนแปลงปริมาณของวิตามินเมื่อได้รับความร้อนหรือเก็บไว้เป็นเวลานาน

วัสดุและวิธีการวิจัย

1. วิธีดำเนินการผลิตอาหารเหลวปั่นผสมบรรจุกระป๋อง

วัสดุอุปกรณ์

1. Autoclave
2. เครื่องปิดฝากระป๋องกึ่งอัตโนมัติ
3. Liquid Blender (Moulinex®)
4. Havard Trip Balance (OHAUS®)
5. Hand Refractometer (National® No 19771)
6. Stromer Viscometer
7. Water bath
8. Homomixer (Himorex® Brogi & Co.AG.CH.4123 Allschwii-Basel Binningerstr.106.A)
9. กระป๋องสำหรับบรรจุอาหารขนาด 300x406

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

ตารางที่ 1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

สูตร / ส่วนประกอบ	B (สูตรตับ)	C (สูตรนม)
ไข่ไก่	100 กรัม	100 กรัม
ตับหมู	50 กรัม	-
ฟักเขียว	50 กรัม	50 กรัม
กล้วย	50 กรัม	50 กรัม
น้ำตาลทราย	50 กรัม	50 กรัม
น้ำมันพืช	50 กรัม	50 กรัม
นมสด	-	250 กรัม
เพคติน	0.8กรัม	0.8กรัม
น้ำสุกให้ครบ	500 ml	500 ml

1.1 การเตรียมกระป๋องเปล่า

1. ล้างกระป๋องด้วยน้ำประปา คว่ำให้แห้ง

2. ชั่งน้ำหนักกระป๋องพร้อมฝา

1.2 การเตรียมสารละลายเพคติน

1. ชั่งผงเพคติน 0.8 กรัม

. 2.แบ่งน้ำกลั่นมา 3มล. เทลงในโกร่งแล้วค่อยๆโปรยผงเพคตินทีละน้อยให้กระจายตัว

3. ปั่นจนผงเพคตินกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอในน้ำ

4. เติมน้ำกลั่นเพิ่มครั้งละน้อย (ประมาณ 1 มล.) ค่อยๆโปรยผง เพคตินที่เหลือทีละน้อย

5. ทำซ้ำข้อ 3 และ 4 จนผงเพคตินหมด

6. เติมน้ำกลั่นลงไปอีก 3 มล.แล้วปั่นให้เข้ากัน

1.3 วิธีการเตรียมอาหารเหลวปั่นผสม

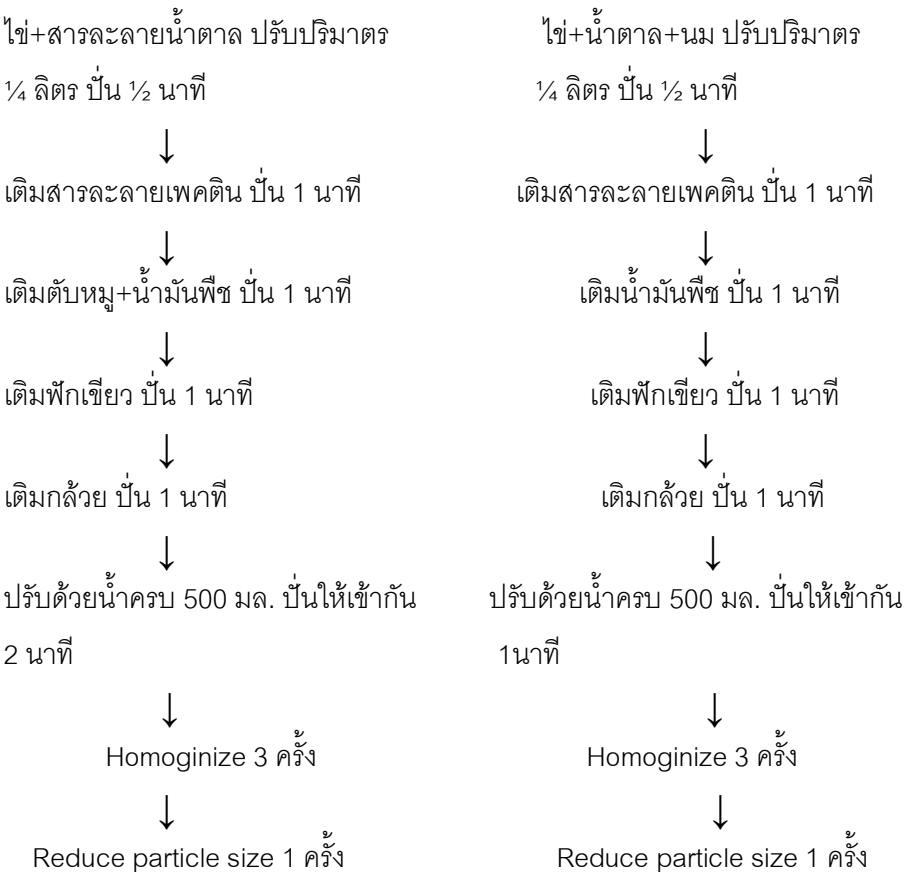
กลุ่ม B (**สูตรตับ**)

1. ฟักเขียว กล้วยน้ำว้า ตับหมู ล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆชั่งตามจำนวนที่ต้องการนำไปนึ่งให้สุกเป็นเวลา 5 นาที
2. ไข่ไก่นำไปปั่น ½ นาที ชั่งตามจำนวนที่ต้องการนำไปนึ่งให้สุกเป็นเวลา 10 นาที
3. ส่วนผสมอื่นๆชั่งตามจำนวนที่ต้องการ
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 Homoginizer 3 ครั้ง
10. นำอาหารผสมไปผ่านเครื่อง Reduce particle size 1 ครั้ง
11. บรรจุอาหารเหลวลงในกระป๋อง นำไป exhaust ในหม้อนึ่ง อุณหภูมิ 90-95°C เป็นเวลา12 นาที จากนั้นนำไปตอกปิดฝาโดยใช้เครื่องตอกปิดฝากึ่งอัตโนมัติ

12. นำไปผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อโดยใช้ autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 30 นาที

กลุ่ม C (สูตรนม)

ทำเหมือนกลุ่ม B ต่างกันเพียงข้อ 4. โดยในกลุ่ม C นั้นจะนำน้ำตาลทรายไปละลายในส่วนผสมที่เป็นนมก่อน จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ ¼ ลิตร นอกนั้นวิธีในขั้นตอนอื่นเหมือนกลุ่ม C หมด เพียงแต่จะไม่ใส่ตับเท่านั้น



แผนภูมิที่ 1 วิธีผลิตอาหารเหลวปั่นกลุ่ม B แผนภูมิที่ 2 วิธีผลิตอาหารเหลวปั่นกลุ่ม C

2. การหาปริมาณสารอาหารพื้นฐานด้วยวิธี Proximate Analysis

2.1 การหาปริมาณความชื้นหรือปริมาณน้ำโดยวิธีทำให้แห้งด้วย Hot Air Oven

หลักการ

วิธีการหาปริมาณความชื้นโดยการอบแห้ง ทำโดยการให้ความร้อนแก่ตัวอย่างอาหาร จนน้ำหนักคงที่ภายใต้ความดันปกติที่อุณหภูมิและเวลาที่กำหนด น้ำหนักที่หายไปคือปริมาณน้ำในตัวอย่างอาหาร

วิธีการอบแห้งนี้เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และสามารถทำได้ครั้งละหลายตัวอย่าง จึงเป็นที่นิยมใช้ทั่วไป

เครื่องมือ

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

วิธีทำ

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. อบใน Hot air oven ที่อุณหภูมิ 100°C (สำหรับตัวอย่างที่มีลักษณะเหลว ให้ระเหยแห้งบน water bath ก่อนนำไปใส่ตู้อบ)
4. อบจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ โดยนำเข้าอบและชั่งซ้ำทุก ½ - 1 ชั่วโมง จนน้ำหนักที่ชั่งได้ต่างกันไม่เกิน 2 มิลลิกรัม
5. ทิ้งให้เย็นใน desicator ชั่งน้ำหนัก

รูปที่ 1 การหาปริมาณความชื้นหรือปริมาณน้ำโดยต้องชั่งน้ำหนักให้คงที่

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้นหรือปริมาณน้ำ (\%)} = \frac{\text{นน.ที่หายไปหลังจากการอบแห้ง}}{\text{นน.ตัวอย่างก่อนการอบแห้ง}} \times 100$$

ตัวอย่างที่เป็นของเหลว : รายงานผลเป็น Total solid

$$\text{Total solid (\%)} = 100 - \text{ปริมาณน้ำ (\%)}$$

2.2 การหาปริมาณ Total ash

หลักการ

ค่า ash ในอาหารก็คือ inorganic residue ที่เหลือหลังจาก organic matter ถูกทำลายไปโดยการเผาไหม้ ปริมาณ ash ที่ได้ไม่จำเป็นต้องมีค่าเท่ากับ mineral matter ที่มีอยู่จริงในอาหาร ทั้งนี้เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างการเผาไหม้ บางส่วนอาจจะระเหยไปหรืออาจเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารต่างๆที่มีอยู่ในอาหารนั้น

เครื่องมือ

Muffle furnace (500-550 องศาเซลเซียส)

วิธีทำ

1. นำ crucible มา heat บน hot plate พอร้อนแล้วนำเข้าเผาใน muffle furnace ที่ 500 องศาเซลเซียส ประมาณ 15 นาที แล้วนำมาทิ้งให้เย็นใน desiccator ชั่งน้ำหนัก crucible เปล่า

2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 2-5 กรัม (อย่างละเอียด) ใส่ใน crucible

การคำนวณตัวอย่างแห้งที่เตรียมไว้

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

A = % ความชื้น หรือ ปริมาณน้ำในตัวอย่างอาหาร

X = น้ำหนักตัวอย่างสด (2-5 กรัม)

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

3. ค่อยๆ heat crucible พร้อมตัวอย่างบน Bunsen burner (ใน lab ใช้ hot plate หรือเตาไฟฟ้าในตู้ควัน) 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

รูปที่ 2 การหาปริมาณ Total ash โดยใช้ Muffle furnace

การคำนวณ

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

2.3 การหาปริมาณ Crude fat

หลักการ

การหาปริมาณ fat ในอาหารอาจทำได้โดยการทำ Direct extraction ด้วย solvent หรือ indirect extraction หลังการ treat ด้วย alkali หรือ acid หรือโดยการวัดปริมาตรของ fat ที่แยกออกมาได้หลังการผสมกับ sulphuric acid หรือ neutral หรือ alkaline reagents

วิธีการหาปริมาณ fat ในที่นี้เป็น direct extraction ด้วย solvent ที่เหมาะสม เช่น light petroleum, n-hexane หรือ diethyl ether ซึ่งจะเป็นการหารปริมาณ free fat และมักจะไม่รวมถึง fat ซึ่ง bound อยู่กับ protein และ carbohydrate (เว้นแต่จะมีการใช้ mixture ของ chloroform และ methanol) หากต้องการรู้ปริมาณ total fat ที่มีอยู่ คือทั้ง free และ combined fat จะต้องนำตัวอย่างอาหารไป hydrolyze ด้วยกรดหรือด่าง ก่อนที่จะนำมาทำการสกัด fat ต่อไป

เครื่องมือ

Goldfisch fat extraction apparatus

Hot Air Oven

สารเคมี

Petroleum ether (b.p. 40-60 °C)

การเตรียมตัวอย่าง

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

วิธีทำ

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 วางสำลีทับเป็นชิ้นบางๆเพื่อให้ solvent กระจายได้อย่างทั่วถึง
5. สอด Sample tube เข้าไปในระหว่าง holding clip แล้วดัน Sample tube อีกสูงขึ้น ไปจนเกือบสุด 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

รูปที่ 3 การหาปริมาณ crude fat โดยใช้ Goldfisch fat extraction apparatus

การคำนวณ

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

2.4 การหาปริมาณ Crude protein

หลักการ

โปรตีนทุกชนิดทั้งจากสัตว์และพืช ประกอบด้วย Amino acid ประมาณ 20 ชนิด ซึ่งจะมีปริมาณแตกต่างกันไปแล้วแต่แหล่งโปรตีนนั้นๆ Amino nitrogen จะมีปริมาณ 16% ของน้ำหนักโปรตีนต่างๆนี้ ในงานประจำ นิยมหาปริมาณโปรตีนทั้งหมดของอาหารมากกว่าที่จะหาปริมาณโปรตีนแต่ละชนิดหรือกรดอะมิโนแต่ละตัว วิธีมาตรฐานที่ใช้กันอยู่ทั่วไป คือ Kjeldahl method เป็นการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ซึ่งจะรวมถึงไนโตรเจนที่ไม่ได้มาจากโปรตีนและไนโตรเจนที่มาจากโปรตีนจริงๆ แล้วคำนวณหาปริมาณโปรตีนโดยใช้ N×6.25 โปรตีนในอาหารบางชนิดจะมีเปอร์เซนต์ของไนโตรเจนสูงกว่านี้ (เช่น ธัญพืช) หรือต่ำกว่านี้ (เช่น นม) ดังนั้นจึงสามารถที่จะใช้ nitrogen factor เฉพาะสำหรับอาหารนั้นๆในการคำนวณได้

วิธี Kjeldahl นี้ ประกอบไปด้วยขั้นตอน 2 ขั้นตอน คือ

1. Digestion คือการ heat ตัวอย่างในกรดซัลฟูริค จนกระทั่ง C และ H ถูoxidize และส่วนไนโตรเจนของโปรตีนถูก reduce และเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของ ammonium sulfate

$$N\text{-}C\text{-}NH_2 + m\ H_2SO_4 \xrightarrow[\text{Heat}]{} CO_2 + (NH_4)\ SO_4 + SO_2$$

ในขั้นตอนนี้จะมีการเติม salt คือ Potassium sulfate และ sodium sulfate เพื่อเพิ่ม boiling point ของ digestion mixture เป็นการเร่งปฏิกิริยาให้เร็วขึ้น สัดส่วนของ salt ต่อ sulfuric ควรพอเหมาะ หาก salt มากเกินไปอาจเกิด heat decomposition และเกิดการสูญเสีย ammonia ได้ นอกจากนี้ มีการเติมสารเร่งปฏิกิริยา อื่นๆ เช่น copper sulfate หรือ silenium ลงไปด้วย อุณหภูมิที่พอเหมาะคือ 370 – 410 °C

2. Distillation ขั้นตอนนี้จะป็นการเติมด่างที่มากเกินพอ และให้ความร้อน เพื่อไล่ ammonia gas ออกมาพร้อมไอน้ำ และ absorb ammonia gas นี้ด้วย boric acid (1-4%) ซึ้งมี indicator อยู่ด้วย หลังจากนั้นจึง titrate ammonia ด้วย standard acid คำนวณหาปริมาณไนโตรเจนและโปรตีนต่อไป

การคำนวณ

วีธี Kjeldahl จะสามารถประมาณค่า crude protein หรือปริมาณ ไนโตรเจนทั้งหมดได้

$$\% \text{ Total nitrogen} = \frac{\text{Normality} \times \text{ml standard acid} \times 14.007^* \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (สด) เป็นกรัม} \times 1000}$$

* atomic weigth nitrogen

% crude protein = % Total nitrogen × 6.25

การเปลี่ยนค่าไนโตรเจนทั้งหมดเป็นค่าโปรตีน โดยคูณด้วย empirical factor ของอาหารนั้นๆ การคำนวน factor มาจาก

$$\text{Factor} = \frac{\text{mean of nitrogenous matter by difference}}{\text{mean of total nitrogen (by Kjeldahl)}}$$

$$= \frac{P_N}{N_K}$$

เมื่อ P_N = 100 - (%water + %fat + %ash + % carbohydrate + % fiber)

การหาปริมาณโปรตีนโดยใช้ Buchi digestion unit (B- 435) และ distillation unit (B- 323)

เครื่องมือ

1. Buchi digestion unit (B- 435)
2. Buchi distillation unit (B- 323)
3. scrubber unit (B- 412)

สารเคมี

1. conc. Sulfuric acid
2. catalyst mixture

   copper sulfate : potassium sulfate
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 ลิตร

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

วิธีทำ

1. Digestion

1.1 ตรวจดูว่า digestion unit ต่อเข้ากับ suction unit เรียบร้อยหรือไม่

1.2 Preheat heat ของ digestion unit 5-10 นาที (เปิดเครื่องและปุ่มควบคุมความร้อนที่สุด = 10)

1.3 ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้งแล้ว 0.2-1 กรัม อย่างละเอียดในกระดาษกรอง

1.4 ใส่กระดาษกรองพร้อมตัวอย่างลงใน digestion tube

1.5 ชั่ง catalyst mixture คือ copper sulfate + potassium sulfate หรือ selenium mixture ประมาณ 5-10 กรัม ใส่ลงใน digestion tube

1.6 วาง digestion tube ลงใน digestion tube holder ที่อยู่บน rack

1.7 (ทำใน hood) เติม conc. Sulfuric acid 20 ml ลงใน digestion tube

1.8 นำ suction module ต่อเข้ากับ digestion tube ทั้ง 6 tube และยึดติดกับ tube ให้แน่น ใช้จุกยางอุดปลายปิดของ suction module ก่อนเคลื่อนย้ายออกจาก Hood

1.9 นำชุดที่ประกอบเสร็จแล้วลงใน digestion unit หันปลายเปิดของ suction module ไปด้านหลัง ต่อ hose เข้ากับ suction module

1.10 เปิดปุ่ม start , scrubber จะทำงานโดยอัตโนมัติ

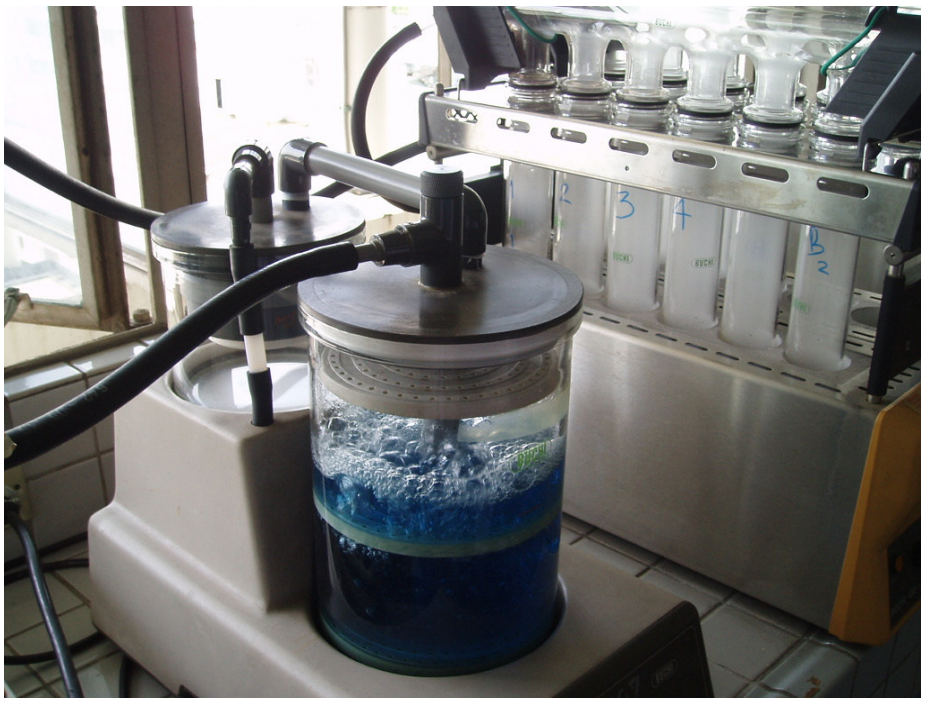
1.11 สังเกตระดับกรดกลั่นกลับคืนมา ระดับกลั่นไม่ควรใกล้ปากหลอดเกิน 2-3 ซม. ถ้ากลั่นสูงเกินไป ให้ลดความร้อนมาที่ระดับ 7-8 หรือน้อยลงอีก

1.12 Digest จนได้ของเหลวใสสีเขียวอ่อน จับเวลาย่อยต่ออีก 45 นาที แล้วจึงปิดปุ่มควบคุมความร้อน

1.13 ยก suction module พร้อม digestion tube ขึ้นวางในตำแหน่งพัก (ยังคงเปิด scrubber ไว้)

1.14 เมื่อเย็น ถอด suction module ออกแล้วนำ digestion tube ไปทำการกลั่นใน digestion unit ต่อไป

1.15 ปิดเครื่อง



รูปที่ 4 การหาปริมาณ Crude protein ขั้น Digestion โดยใช้ Digestion Unit

2. Distillation

2.1 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

ที่แผงควบคุมให้ตั้งตัวเลขดังนี้

1. ปริมาณน้ำ = 60 ml

(คิดจาก อัตราส่วน กรด: น้ำ 1:3)

2. ปริมาณ sodium hydroxide = 60 ml

(คิดจาก อัตราส่วน กรด: ด่าง 1:3)

3. Delay time = 2 วินาที

4. Distillation time = 3 นาที

5. Aspiration = ดูให้ปุ่มติดเป็นสีเขียว

2.2 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

2.3 นำ digestion tube ที่มี digestion mixture อยู่ และเย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วไปต่อเข้ากับ distillation unit (หาก digestion mixture แข็งตัว ให้เติมน้ำกลั่นเล็กน้อย หรือ heat เบาๆใน distillation unit ก่อน)

2.4 กดปุ่ม start เครื่องจะเติมน้ำ ด่าง และเริ่มต้นกลั่น สังเกตดูสีของของเหลวใน tube ควรมีสีดำ (เมื่อด่างมากพอ $CuSO_4 \longrightarrow Cu(OH)_2 \longrightarrow CuO$(ดำ)) หากตัวอย่างยังคงมีสีเขียวใส (แสดงว่าด่างไม่เพียงพอ) ให้กดปุ่ม NaOH (ปุ่มล่าง) เพื่อเติมด่างอีกตามต้องการ

2.5 เมื่อครบเวลากลั่นควรจะได้ distillate ประมาณ 100 มล. จะมีน้ำกลั่นล้าง distillate outlet หลังจากนั้นกรณีที่ตั้ง aspiration ไว้ residue ของตัวอย่างใน digestion tube จะถูก suction ออกทิ้งไป

2.6 เลื่อน flask ที่มี distillate ลง ให้ปลาย outlet อยู่เหนือ distillate แล้วล้างปลายด้วย wash bottle

2.7 นำ flask ที่มี distillate ไปทำการ titrate ต่อไป

รูปที่ 5 การหาปริมาณ Crude protein ขั้น Distillation โดยใช้ Distillation Unit

3.Titration

3.1 ทำการ titrate distillate ที่ได้ด้วย 0.1 N sulfuric acid จนกระทั่งได้ end point สีม่วงแดง

3.2 คำนวณค่า Total nitrogen และ Protein ดังนี้

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

% Crude protein = % Total nitrogen × 6.25**

* 14.007 คือ Atomic weight ของ Nitrogen

** 6.25 คือ empirical factor สำหรับตัวอย่างอาหารทั่วไป (อาจใช้ factor อื่นตาม ชนิดของตัวอย่าง)

2.5 การหาปริมาณ Crude fiber

หลักการ

กำจัดไขมันออกจากตัวอย่างโดยใช้ Petroleum ether หรือ Diethyl ether , reflux สารที่กำจัดไขมันออกแล้ว กับ 0.255 N (0.1275 M) H_2SO_4 และ 0.313 N (0.313 M) NaOH ตามลำดับ ภายใต้สภาวะมาตรฐาน เผาสารที่ได้สุดท้ายที่ 550° ± 10°C คำนวณหาส่วนที่หายไปเนื่องจากการเผา แสดงเป็นเปอร์เซนต์ Crude fiber

เครื่องมือ

1. Crude Fiber Digestion Apparatus: ประกอบด้วย condenser ซึ่งสวมพอดีกับ beaker 600 มล. Hot plate ปรับอุณหภูมิได้ (ทำให้น้ำ 200 มล.(25°C)เดือดภายใน 15 ± นาที เครื่องนี้ต้องสามารถรักษาปริมาตรภายใน beaker ให้คงที่ได้ตลอดการทดลอง)
2. ผ้ากรองซึ่งของแข็งผ่านไม่ได้ เมื่อมีการกรองอย่างรวดเร็ว เช่น ผ้าลินิน (Butcher's linin หรือ dress linin) ที่มีเส้นด้าย 45 เส้นต่อนิ้ว หรือ Filtering cloth No 40 (National Filter Media Corp. 1717 Dixwell Ave., Hamden, Conn) หรือชนิดอื่นๆมีคุณสมบัติใกล้เคียง
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

สารเคมี

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.

ความเข้มข้นของกรดและด่างควรตรวจสอบโดยการไทเทรต

3. HCl 1% : 10 ml. HCl/100ml
4. Alcohol 95% หรือ Isopropanol

5. Petroleum ether bp. 40°- 60°C หรือ Diethyl ether

6. Antifoam-Amyl alcohol

7. Acetone

การเตรียมก่อนการทดลอง

1. หาปริมาณความชื้น

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

2. กำจัดไขมัน

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

หรืออาจจะใช้ตัวอย่างที่ได้จากการทดลองหาปริมาณไขมัน โดยใช้ Soxhlet หรือ Goldfish

3. หาน้ำหนักคงที่ของ Filtering crucible

3.1 โดยอบที่ 130° ± 2°C จนน้ำหนักคงที่แล้วชั่ง

3.2 เผาที่ 550° ± 10°C 30 นาที

วิธีทำ

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 เติม Amyl alcohol 0.5-1 มล.

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 กรองผ่านผ้ากรอง (ซึ่งเตรียมเหมือนการทดลองตอนต้น) ทันที

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 ซึ่งมี crude fiber ในตู้อบ 130 ± 2 °C จนได้น้ำหนักคงที่ ทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วชั่ง

16. เผาใน muffle furnace (550 °C ± 10 °C) จนกระทั่งได้เถ้าสีขาวหรือเทา (ประมาณ 30 นาที ถึง 2 ชม.)ทิ้งให้เย็นใน desiccator

รูปที่ 6 การหาปริมาณ Crude fiber โดยใช้ Crude Fiber Digestion Apparatus

การคำนวณ

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

3. การทดลองสกัดวิตามินและวิเคราะห์วิตามินบางชนิด หลังจากผ่านกระบวนการผลิตแล้ว

3.1 วิธีการสกัดวิตามินจากอาหารเหลวปั่นผสมบรรจุกระป๋อง

3.1.1 นำตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ใน screw cap tube เติม ascorbic acid 0.2 กรัม

3.1.2 เติม 0.5 N KOH in Methanol 5 ml ต้มใน Waterbath ที่ 100 องศาเซลเซียสนาน 5 นาที

3.1.3 เติม retinyl acetate 100 ไมโครลิตร

3.1.4 สกัดตัวอย่างอาหารด้วย Hexane : methanol 3:1

3.1.5 แยกเอาชั้น Hexane ไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC

3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินด้วยเครื่อง HPLC

3.2.1 HPLC: Waters with UV detector

3.2.2 Column: Novapack C18

3.2.3 100% methanol, 8 min, flow rate 1 มล./นาที

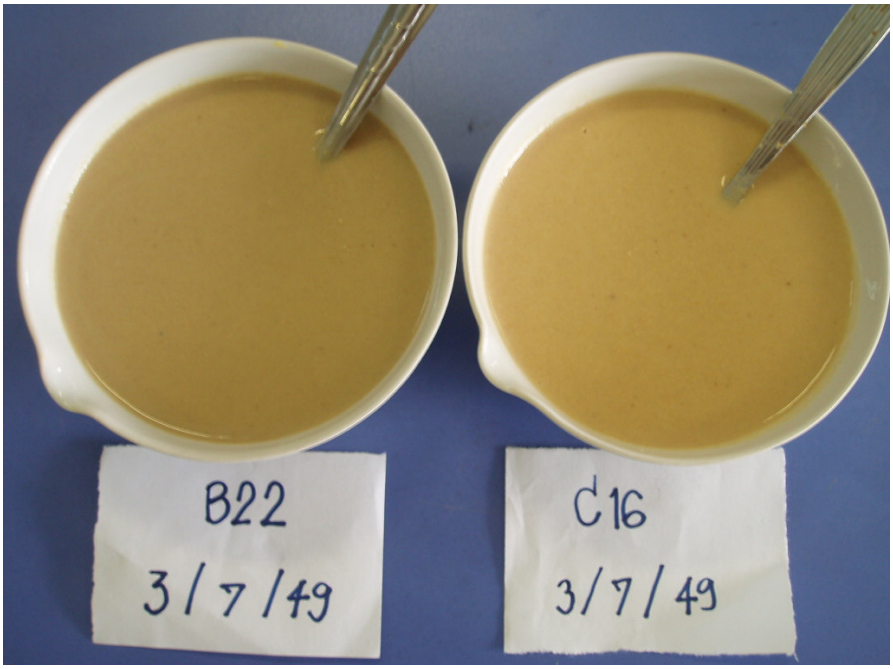
3.2.4 Methanol: acetonitrile: chloroform = 47: 42 : 11, 10 min, flow rate 2 มล./ นาที

3.2.5 วัดปริมาณวิตามินเอและวิตามินอีที่ความยาวคลื่น 280 nm และวัดปริมาณเบต้าแคโรทีน ที่ความยาวคลื่น 436 nm

รูปที่ 7 เครื่อง HPLC: Waters with UV detector

ผลการทดลอง

1. การผลิตอาหารเหลวปั่นผสมบรรจุกระป๋อง



รูปที่ 8 ผลิตภัณฑ์ที่ได้ (B คือ สูตรตับและ C คือ สูตรนม)

จากการทดลองผลิตอาหารเหลวปั่นผสมบรรจุกระป๋องทั้ง 2 สูตร คือสูตรที่มีตับเป็นแหล่งโปรตีนและสูตรที่มีนมเป็นแหล่งโปรตีน พบว่า มีคุณลักษณะที่ดีทางด้านกายภาพ คือ มีความหนืดและเนื้อสัมผัสเหมาะสมที่จะสามารถให้ทางสายให้อาหารได้เหมือนกับสูตรที่ได้เคยพัฒนาไว้แล้ว และจากการคำนวณหาคุณค่าทางโภชนาการในอาหารทั้ง 2 สูตร พบว่ามีการกระจายตัวของพลังงาน คาร์โบไฮเดรต:โปรตีน:ไขมัน ตามตารางที่ 2 ซึ่งพบว่ามีค่าใกล้เคียงกับคุณลักษณะที่ดีของอาหารทางการแพทย์ ซึ่งจะมีการกระจายตัวของพลังงาน คาร์โบไฮเดรต:โปรตีน:ไขมัน เท่ากับ 45-55:15-20:30-35

ตารางที่ 2 ปริมาณสารอาหารต่อน้ำหนักอาหาร 100 กรัม

ส่วนประกอบ	Fat (g)	Protein (g)	Carbohydrate (g)
ตับ	3	19.8	2.6
นม	3.6	3.3	5.0
กล้วย	0.2	1.1	33.1
ฟัก	-	0.4	2.4
ไข่	11.7	12.3	1.4
น้ำมันพืช	100	-	-
น้ำตาลทราย	-	-	99.5

ตารางที่ 3 คุณค่าทางโภชนาการในอาหารทั้งสองสูตร

	สูตรตับ	สูตรนม
%Fat	3.66	4.11
%Protein	4.59	4.21
%Carbohydrate	14.04	16.09
การกระจายตัวของพลังงาน CHO:Protein:Fat	52:17:31	55:14:31

2. การหาปริมาณสารอาหารพื้นฐานด้วยวิธี Proximate Analysis

2.1 การหาปริมาณความชื้นหรือปริมาณน้ำโดยวิธีทำให้แห้งด้วย Hot Air Oven

ตารางที่ 4 การหาปริมาณความชื้น(Moisture content)ครั้งที่ 1 ด้วยวิธี Proximate Analysis

	B22		C16	
	1	2	1	2
น้ำหนัก Aluminium dish เปล่า	1.7394	1.7608	1.7512	1.7749
น้ำหนักสดอาหาร	5.0408	5.0396	5.0879	4.9986
น้ำหนักแห้งสุดท้าย+Al dish	2.8066	2.8352	3.0040	3.0039
น้ำหนักแห้ง	1.0672	1.0744	1.2528	1.2245
% Moisture Content	78.83	78.68	75.38	75.53
average	78.76		75.46	

ตารางที่ 5 การหาปริมาณความชื้น(Moisture content)ครั้งที่ 2 ด้วยวิธี Proximate Analysis

	B18		C25	
	1	2	1	2
น้ำหนัก Aluminium dish เปล่า(g)	1.7404	1.7511	1.7626	1.7802
น้ำหนักสดอาหาร(g)	5.1080	5.0823	5.1174	5.0760
น้ำหนักแห้งสุดท้าย+Al dish(g)	2.9334	2.9410	3.0036	3.0113
น้ำหนักแห้ง(g)	1.1930	1.1899	1.2417	1.2312
% Moisture Content	76.64	76.59	75.74	75.74
average	76.62		75.74	
Average จากสองครั้ง	77.69		75.60	

ชั่งน้ำหนักครั้งแรกหลังจากอบไป 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาชั่งหาน้ำหนักคงที่ทุก 1 ½ ชั่วโมง

2.2 การหาปริมาณ Total ash

ตารางที่ 6 การหาปริมาณ Total ash ด้วยวิธี Proximate Analysis

	B18		C25	
	1	2	1	2
น้ำหนัก Crucible เปล่า (g)	17.5990	17.3069	17.7893	16.4614
น้ำหนักสดอาหาร(g)	5.1209	5.2355	5.0285	5.1067
น้ำหนักCrucible+สารหลังเผา (g)	17.6213	17.3299	-(แตก)	16.4930
น้ำหนัก Ash (g)	0.0223	0.0230	-	0.0316
% Ash	0.43	0.44	-	0.62
average	0.44		0.62	

2.3 การหาปริมาณ Crude fat

ตารางที่ 7 การหาปริมาณ Crude fat ด้วยวิธี Proximate Analysis

	B18			C25		
	1	2	3	1	2	3
น้ำหนักBeaker เปล่า (g)	59.6684	61.8901	59.5412	52.9569	61.7521	60.6388
น้ำหนัก Sample (g)	0.5011	0.5035	0.5012	0.5168	0.5080	0.5008
%Moisture content	76.62	76.62	76.62	75.74	75.74	75.74
น้ำหนักสด	2.1033	2.1536	2.1437	2.1302	2.0940	2.0643
น้ำหนัก Fat+Beaker (g)	59.7355	61.9573	59.6104	53.0367	61.8345	60.7207
น้ำหนัก Fat (g)	0.0671	0.0672	0.0692	0.0798	0.0824	0.0819
% Fat(คิดต่อน้ำหนักแห้ง)	13.39	13.35	13.80	15.44	16.22	16.35
% Fat(คิดต่อน้ำหนักสด)	3.1307	3.1204	3.2280	3.7460	3.9351	3.9674
Average	3.1597			3.8828		

2.4 การหาปริมาณ Crude protein

ตารางที่ 8 การ Standardization 0.1 N H_2SO_4

Descriptions	Sample 1	Sample 2
Volume of …… N H_2SO_4 (ml)	5	5
Volume of …….. N NaOH (ml)		
Final buret reading	9.03	15.05
Initial buret reading	4.00	10.00
Blank Volume of …….. N NaOH (ml)		
Final buret reading	0.05	0.05
Initial buret reading	0	0
Corrected volume of ……. N NaOH	4.98	5.00
Average (N)	0.1041	

ตารางที่ 9 การหาปริมาณ Crude protein ในสูตรตับ ด้วยวิธี Proximate Analysis

	B18		B22	
	1	2	1	2
น้ำหนักแห้งอาหาร (g)	0.2565	0.2588	0.2064	0.2030
ปริมาณน้ำ (ml)	60	60	60	60
ปริมาณ NaOH (ml)	60	60	60	60
ปริมาณ 2% Boric acid (ml)	60	60	60	60
Titration				
Final volume of 0.1041 N H_2SO_4	5.42	5.80	21.51	26.51
Initial volume of 0.1041 N H_2SO_4	0.00	0.00	17.00	22.00
ใช้ไป	5.42	5.80	4.51	4.51
Blank				
Final volume of 0.1041 N H_2SO_4	0.04		0.04	
Initial volume of 0.1041 N H_2SO_4	0.00		0.00	
ใช้ไป	0.04		0.04	
Corrected volume				
0.1041 N H_2SO_4	5.38	5.76	4.47	4.47
% moisture content	76.625	76.625	78.76	78.76
น้ำหนักสดของสาร	1.0973	1.1072	0.9718	0.9557
% Total Nitrogen	0.7149	0.7586	0.6707	0.6820
% Crude Protein	4.47	4.74	4.19	4.26
Average % Crude Protein	4.42			

ตารางที่ 10 การหาปริมาณ Crude protein ในสูตรนม ด้วยวิธี Proximate Analysis

	C25		C16	
	1	2	1	2
น้ำหนักแห้งอาหาร (g)	0.2610	0.2754	0.2032	0.2088
ปริมาณน้ำ (ml)	60	60	60	60
ปริมาณ NaOH (ml)	60	60	60	60
ปริมาณ 2% Boric acid (ml)	60	60	60	60
Titration				
Final volume of 0.1041 N H_2SO_4	11.23	16.75	30.70	34.90
Initial volume of 0.1041 N H_2SO_4	7.00	12.00	27.00	31.00
ใช้ไป	4.23	4.75	3.70	3.90
Blank				
Final volume of 0.1041 N H_2SO_4	0.04		0.04	
Initial volume of 0.1041 N H_2SO_4	0.00		0.00	
ใช้ไป	0.04		0.04	
Corrected volume				
0.1041 N H_2SO_4	4.19	4.71	3.66	3.86
% moisture content	75.74	75.74	75.46	75.46
น้ำหนักสดของสาร	1.0758	1.1352	0.8280	0.8508
% Total Nitrogen	0.5679	0.6050	0.6445	0.6615
% Crude Protein	3.55	3.78	4.03	4.13
Average	3.87			

3. การทดลองสกัดวิตามินและวิเคราะห์วิตามินบางชนิด หลังจากผ่านกระบวนการผลิตแล้ว

จากการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินอี วิตามินเอ เบต้าแคโรทีนโดยใช้ HPLC พบว่า มีปริมาณน้อยมาก ซึ่งไม่สามารถรายงานค่าได้

สรุปผลการทดลอง

1. จากการทดลองผลิตอาหารเหลวปั่นผสมบรรจุกระป๋องพบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้ทั้งสองตำรับมีคุณสมบัติทางกายภาพที่เหมาะสมทั้งความหนืดและเนื้อสัมผัสทำให้สามารถไหลผ่านสายให้อาหารได้ในอัตราเร็วที่เหมาะสม
2. จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารพื้นฐาน โดยวิธี Proximate Analysis ได้ผลตามตารางที่ 11

ตารางที่ 11 สรุปผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารพื้นฐาน ด้วยวิธี Proximate Analysis

	สูตรตับ	สูตรนม
%moisture content	77.69	75.60
%total ash	0.44	0.62
%protein	4.42	3.87
%crude fat	3.1597	3.8828
%fiber	-	-

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารพื้นฐาน โดยวิธี Proximate Analysis พบว่าสูตรตับมีปริมาณ moisture content, crude protein มากกว่าสูตรนม ส่วนสูตรนมจะมีปริมาณ total ash, crude fat และ carbohydrate มากกว่าสูตรตับ และการหาปริมาณ crude fiber ไม่พบ

3. จากการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินอี วิตามินเอ เบต้าแคโรทีนโดยใช้ HPLC พบว่า มีปริมาณน้อยมาก ซึ่งไม่สามารถรายงานค่าได้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาทดลองผลิตอาหารเหลวปั่นผสมบรรจุกระป๋องพบว่าในการผลิตจะต้องใช้วัตถุดิบและกระบวนการที่ตรงกับที่ได้ศึกษาไว้ก่อนหน้านี้ อย่างเคร่งครัด จึงจะได้อาหารที่มีคุณสมบัติตามที่พัฒนาไว้คือมีความหนืดและเนื้อสัมผัสที่เหมาะสม เพื่อให้สามารถไหลผ่านสายให้อาหารได้ ทำให้ต้องใช้ระยะเวลาเพื่อศึกษาและควบคุมสภาวะต่างๆ ให้เหมือนเดิมและคงที่

การหาปริมาณสารอาหารด้วยวิธี proximate analysis ผลที่ได้พบว่าปริมาณของสารอาหารมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณสารอาหารของอาหารทางการแพทย์ที่ดี และมีการกระจายพลังงานที่เหมาะสม

การหาปริมาณ crude fiber ไม่พบ เนื่องจาก

1.)กระบวนผลิตมีผลทำให้ crude fiber บางส่วนสูญหายไปได้

2.)การลดขนาดอนุภาคทำให้ crude fiber มีขนาดเล็กลงจนไม่สามารถหาปริมาณโดยวิธีที่ทำการทดลองได้

3.) crude fiber ส่วนใหญ่ในวัตถุดิบที่เป็นส่วนผสมในอาหาร เป็นชนิด water soluble

การหาปริมาณวิตามินอี วิตามินเอ เบต้าแคโรทีนไม่พบอาจเนื่องมาจาก วิตามินอาจจะสูญหายไปได้ในระหว่างกระบวนการผลิตและการวิเคราะห์ปริมาณ

ประโยชน์ที่ได้รับ

1. ได้เรียนรู้กระบวนการในการทำงานวิจัย
2. ได้เรียนรู้คุณสมบัติที่ดีของอาหารที่ให้ทางสายให้อาหาร
3. ได้ทบทวนความรู้และทักษะการผลิตอาหารเหลวบรรจุกระป๋อง ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพที่จะให้ทางสายให้อาหารโดยมีต้นทุนต่ำสะดวกในการเก็บรักษาและการใช้งาน
4. ได้เรียนรู้วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารที่สำคัญในอาหารเหลวบรรจุกระป๋อง

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการทดลองหา shelf life และสารอาหารอื่นอีก เช่น water soluble vitamin, water soluble fiber
2. ถ้าหากจะมีการพัฒนาตำรับนี้ต่อเพื่อนำไปใช้กับผู้ป่วยจริง ควรจะมีการเติมวิตามินบางชนิดลงไปด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. ผุสนี ทัดพินิจ, จิตติมา พฤษเจริญ, อุไรวรรณ สิลปศุภวงศ์. การพัฒนาตำหรับอาหารเหลว (โครงการพิเศษปีการศึกษา 2539). คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2539.
2. ผุสนี ทัดพินิจ, อรวี เข็มทอง, อังสนา วิกิณียะธนี. อาหารกระป๋องชนิดเป็นกรด: ระยะเวลาที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อ (โครงการพิเศษ ปีการศึกษา 2542). ภาควิชาอาหารเคมี.คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2539.
3. ณรงค์ สาริสุต. การตรวจสอบความถูกต้องของกระบวนการผลิตยาปราศจากเชื้อ. กรุงเทพฯ: ภาควิชา เภสัชอุตสาหกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2536.
4. กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. คุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การทหารผ่านศึก. กันยายน 2513.
5. กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. ตารางแสดงคุณค่าอาหารไทยในส่วนที่กินได้ 100 กรัม. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว. มกราคม 2513.
6. วิชัย ตันไพจิตร. การให้อาหารทางสายให้อาหาร. แพทยสภาสาร 2520; 6(3)
7. ภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.คู่มือปฏิบัติการอาหารและโภชนาการ; 2547
8. Johnson BC. Methods of vitamin determination.2nd. Minneapolis: Burgess Publishing CO., U.S.A; 1949.
9. Bates CJ. Vitamins: fat and water soluble: analylis. Encyclopedia of analytical Chemistry. 2005: 1-35.
10. Liu Q, Scheller KK, Schaefer DM. Technical Note: A simplified procedure for vitamin E determination in beef muscle. J. Anim. Sci. 1996;74: 2406-10.