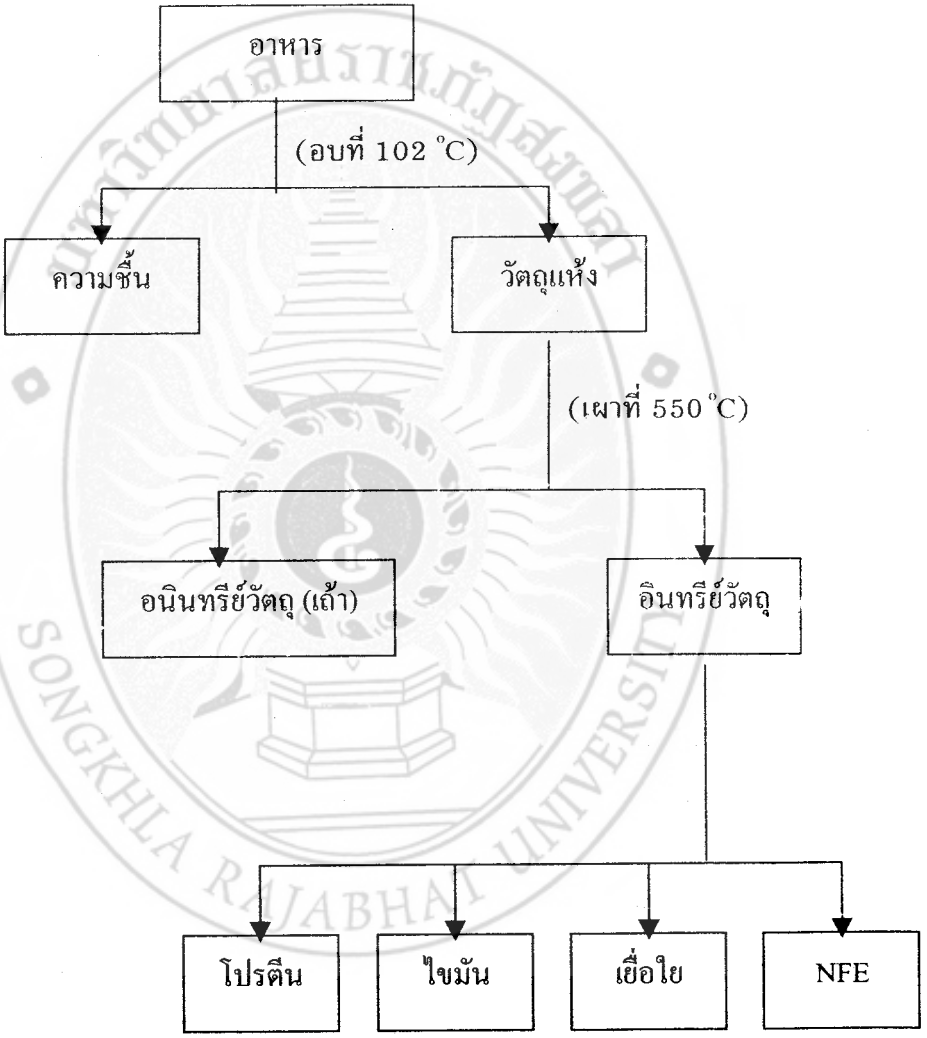
ภาคผนวก

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร

การที่จะทราบว่าอาหารหรือตัวอย่างที่ศึกษามีคุณค่าทางอาหารมากน้อยเพียงใดสามารถตรวจสอบได้หลายวิธี วิธีการวิเคราะห์ทางเคมีเป็นวิธีที่นิยมกันโดยทั่วไปว่า วีนเดอร์ (Weende analysis) หรือพรอกซิเมท อนาไลสิส (Proximate analysis) วิธีการวิเคราะห์สามารถสรุปได้สั้น ๆ ดังนี้



การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหาร ทำให้ทราบว่าอาหารนั้นมีคุณค่าทางโภชนาการมากน้อยเพียงใด วิธีการวิเคราะห์สามารถทำได้หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้กันในห้องปฏิบัติการปัจจุบันคือ วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี หรือนิยมเรียกกันโดยทั่วไปว่า วีนเดอร์ (Weender analysis) หรือพรอกซิเมท (Proximate analysis) วิธีการนี้คิดค้นที่ประเทศเยอรมันนี โดยเฮนเนแบร์ก และสโตมันน์ (Heneberg and Stomann) แห่งเมืองก๊อททิงเก้น (Gottingen) ในปี ค.ศ. 1862 และนิยมใช้กันมาถึงปัจจุบัน แต่การวิเคราะห์โดยวิธีนี้เมื่อทำการวิเคราะห์หาเยื่อใยโดย

เฉพาะส่วนที่เป็นโครงสร้างของพืช เช่น เพคติน ลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส บางส่วนอาจจะลายออกมาในรูปของไนโตรเจนฟรีเอกเทรก (NFE) ได้ จึงทำให้ค่าที่ได้ในการวิเคราะห์หาเยื่อใยไม่ถูกต้องนัก หากทำการวิเคราะห์ตัวอย่างพืชที่มีเยื่อใยสูง จึงนิยมใช้วิธีการวิเคราะห์เยื่อใยแบบดีเทอร์เจนท์ (Detergent method) ซึ่งวิธีนี้สามารถแยกองค์ประกอบทางเยื่อใยในพืชได้

การวิเคราะห์วิธีนี้แบ่งโภชนะออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ 6 กลุ่ม คือ (ฉัตรชัย สังข์ผุด, 2545 หน้า 36-79)

1. ความชื้น (Moisture)
2. เถ้า (Ash)
3. โปรตีน (Crude protein หรือ CP)
4. ไขมัน (Ether extract หรือ EE)
5. เยื่อใย (Crude fiber หรือ CF)
6. คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยง่ายหรือส่วนประกอบที่ไม่มีไนโตรเจน (Nitrogen free extract หรือ NFE)

โดยอาศัยหลักการที่ว่า ตัวอย่างทั่วไปไม่ว่าจะเป็นตัวอย่างที่อยู่ในสภาพสด หรือพืชสด พืชหมัก เนื้อ นม ไข่ มูลสัตว์ หรืออาหารสภาพแห้งต่างมีน้ำหรือความชื้นเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วยกันทั้งสิ้น ถ้าหักปริมาณน้ำออก สิ่งที่เหลือคือวัตถุแห้ง (Dry matter หรือ DM) ในวัตถุแห้งประกอบด้วย 2 ส่วนใหญ่ ๆ คือส่วนที่เป็นอินทรีย์สาร (organic matter) และส่วนที่เป็นอนินทรีย์สาร (inorganic matter) เมื่อนำตัวอย่างมาเผา ส่วนที่เป็นอินทรีย์สารจะสลายตัวไปเหลือเถ้าซึ่งเป็นอนินทรีย์สาร ซึ่งประกอบด้วยโภชนะใหญ่ ๆ 4 กลุ่มคือ

1. กลุ่มที่มีไนโตรเจน (N) เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ โปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนอื่น ๆ แต่เนื่องจากในการวิเคราะห์มิได้แยกประเภทของสารเหล่านี้ จึงเรียกค่าที่วิเคราะห์ได้รวม ๆ กันว่า โปรตีนหยาบ (Crude protein หรือ CP)

2. กลุ่มที่ละลายในสารละลายอินทรีย์ (Organic solvent) เช่น ปิโตรเลียมอีเธอร์ (Petroleum ether) หรือ ไดคลอโรมีเธน (Dichloromethane) เป็นต้น ซึ่งประกอบด้วยโภชนะหลายประเภท เช่น ไขมัน วิตามินที่ละลายได้ในไขมัน สารสี ฮอร์โมนบางชนิด ค่าที่วิเคราะห์ได้เรียกรวม ๆ กันว่า สารสกัดอีเธอร์ (Ether extract หรือ EE) หรือเรียกง่าย ๆ ว่าไขมัน

3. กลุ่มที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและด่าง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพวกเยื่อใยในอาหาร จึงเรียกค่าที่วิเคราะห์ได้รวม ๆ กันว่าเยื่อใย (Crude fiber หรือ CF)

4. กลุ่มที่ปราศจากไนโตรเจนและย่อยสลายได้ง่าย ซึ่งส่วนใหญ่จัดเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยง่าย เรียกค่าที่วิเคราะห์ได้นี้ว่า ไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรก (Nitrogen free extract หรือ NFE)

การวิเคราะห์แบบนี้มีความเที่ยงตรงโดยประมาณ ดังนี้

Crude Protein	V ± ร้อยละ 10
Crude Fat	V ± ร้อยละ 8
Ash	V ± ร้อยละ 4-5
Crude Fiber	V ± ร้อยละ 10-15
NFE	V ± ร้อยละ 8

V = ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์

1.การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (Dry matter หรือ Moisture)

ความชื้นเป็นน้ำหรือสารที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total volatile matter) ที่สูญเสียไปจากอาหารเมื่อเพิ่มความร้อนให้แก่อาหาร อุณหภูมิที่ให้แก่อาหารต้องไม่สูงกว่าจุดเดือดของน้ำหรือให้ความชื้นในสภาพสุญญากาศ หรืออาจปล่อยอาหารทิ้งไว้ในสารดูดความชื้น ส่วนกากหรือของแข็งที่เหลืออยู่หลังจากน้ำออกไปหมดแล้ว เรียกว่า ของแข็งทั้งหมด (total solid)

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

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

วิธีการ

วิธีการวิเคราะห์ ซึ่งสามารถใช้วิธีการดังต่อไปนี้ คือ การใช้ตู้อบไฟฟ้า การใช้เครื่องชั่งแบบอินฟราเรด การใช้ตู้อบสุญญากาศ การกลั่น การใช้ไฮโดรมิเตอร์และการใช้รีแฟรกโตมิเตอร์ ซึ่ง สำหรับเนื้อหาในบทนี้ขอกล่าวเพียงวิธีการใช้ตู้อบไฟฟ้าเท่านั้น (ดัดแปลงจาก A.O.A.C. , 1999 อ้างโดย ฉัตรชัย สังข์ผุด, 2545 หน้า 42) โดยมีวิธีการ ดังนี้

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักจดบันทึกผลไว้

2. กระทำตามข้อ 1 ซ้ำ จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างให้น้ำหนักแน่นอนอย่างละเอียด ประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว

4. ทำให้ตัวอย่างแห้งโดยอบในตู้อบไฟฟ้า

ก. ตัวอย่างอาหารแห้ง ทำให้แห้งโดยอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 – 6 ชั่วโมง หรืออบที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY

ข. ตัวอย่างสด (เปียก) ทำให้แห้งโดยอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง หรืออบที่ 135 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักของตัวอย่างคงที่

5. นำออกจากตู้อบ วางให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักอีกครั้ง

6. อบซ้ำอีกครั้งละ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1 – 3 มิลลิกรัม

การคำนวณผล

$$\text{ความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

หมายเหตุ : สามารถใช้ตัวอย่างนี้ไปวิเคราะห์เถ้า (Ash) ได้

2.การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (Ash)

เถ้าคือ องค์ประกอบส่วนที่เป็นสารอนินทรีย์ (Inorganic substances) ในตัวอย่างมีหลักการง่าย ๆ คือ เผาตัวอย่างที่อุณหภูมิสูงเพื่อให้องค์ประกอบที่เป็นสารอินทรีย์ (Organic substances) ไหม้หมดไป ส่วนที่เหลือก็คือ สารอนินทรีย์ สำหรับองค์ประกอบของเถ้าขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารและวิธีในการเผา เถ้าประกอบด้วยแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก โซเดียม โพแทสเซียม และแมกนีเซียม สำหรับแคลเซียม พบมากในไข่และนม ฟอสฟอรัส พบมากในธัญพืช ถั่ว และเนื้อสัตว์ เหล็กพบมากในธัญพืช อาหารทะเล ไข่และเนื้อสัตว์ โซเดียมพบในอาหารที่มีรสเค็ม โพแทสเซียมมีในผักผลไม้และแมกนีเซียมมีใน เนื้อสัตว์ ผักและผลไม้ เป็นต้น

ปริมาณเถ้าสามารถใช้เป็นเครื่องชี้คุณภาพของอาหารบางชนิดได้ อาหารบางชนิดที่มีปริมาณเถ้ามากไปอาจเนื่องมาจากอาหารนั้นถูกปลอมปน เช่น อาหารพวกเครื่องเทศ เจลาติน น้ำตาลทราย และแป้ง เป็นต้น ดังนั้นปริมาณเถ้าที่วิเคราะห์ได้ควรอยู่ในช่วงที่เหมาะสม ปริมาณเถ้าเป็นส่วนหนึ่งของการวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบอาหาร โดยทั่วไปอาหารจัดว่ามีปริมาณแร่ธาตุอยู่สูงและค่อนข้างคงที่ในเถ้าของตัวอย่างจากผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าแบ่งเป็น 3 ประเภท ดังนี้

1. Dry ashing เป็นการหาปริมาณเถ้าตัวอย่างที่อุณหภูมิ 500-600 องศาเซลเซียส น้ำและสารระเหยต่าง ๆ ในตัวอย่างจะระเหยกลายเป็นไอ สารอินทรีย์จะถูกเผาไหม้ในสภาพที่มีกาซออกซิเจนกลายเป็นกาซคาร์บอนไดออกไซด์และกาซไนโตรเจน แร่ธาตุส่วนใหญ่จะถูกเปลี่ยนไปเป็นออกไซด์ ได้แก่ ซัลเฟอร์ ฟอสเฟตคลอไรด์ และซิลิเกต แร่ธาตุอื่น ๆ เช่น เหล็ก เซเลเนี่

ยม (Se) ดีบุก และปรอท จะระเหยในขั้นตอนนี้ ดังนั้นถ้าต้องการวิเคราะห์หาแร่ธาตุที่ระเหยได้ จึงไม่ควรใช้วิธีการนี้

2. Wet ashing เป็นการออกซิไดซ์สารอินทรีย์โดยการใช้กรดและสารออกไซด์ หรือทั้งสองอย่างรวมกัน แร่ธาตุจะถูกละลายโดยกรด ที่นิยมใช้ ได้แก่ กรดไนตริก และกรดเปอร์คลอริค เป็นต้น และควรทำในตู้ดูดไอกรด มักใช้กับตัวอย่างอาหารที่มีปริมาณไขมันสูง ได้แก่ เนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์

3. Low-temperature plasma ash หรือ Low-temperature ashing เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าโดยการเผาที่อุณหภูมิต่ำมากกว่าการกระทำในเตาเผา เพื่อป้องกันการระเหยแร่ธาตุส่วนใหญ่ที่มีในตัวอย่างเป็น Dry ashing แบบหนึ่ง เพื่อการวิเคราะห์หาแร่ธาตุที่ระเหยได้

ปริมาณเถ้าในตัวอย่างอาหาร แสดงให้เห็นว่า ถ้าอาหารตัวอย่างประเภทที่เป็นวัตถุดิบจะมีปริมาณเถ้ามากกว่าร้อยละ 0.5 น้ำมันและไขมันจะมีปริมาณเถ้าอยู่เพียงเล็กน้อยหรือไม่มีเลย ผลิตภัณฑ์บางอย่าง ได้แก่ เบคอน (cured bacon) มีปริมาณเถ้าร้อยละ 0.6 และเนื้อวัวแห้งอาจมีปริมาณเถ้าสูงถึงร้อยละ 1.16 เมื่อเทียบกับน้ำหนักเปียก

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

1. เตาเผา (muffle furnace)
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
5. เตาอบไฟฟ้า
6. กรดกำมะถัน (H_2SO_4) 0.05 M.หรือกรดเกลือเข้มข้น (HCl) 0.1 M.
7. เมธิล ออเรนจ์ (Methyl Orange)
8. กรดเกลือ (HCl) เข้มข้นร้อยละ 10

วิธีการ

1.บันทึกลักษณะตัวอย่างอาหาร

2. เตรียมตัวอย่างอาหาร

ก. วัตถุพวกพืช ควรทำให้แห้งก่อนนำไปบด ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงอุณหภูมิที่ใช้ทำให้แห้งด้วย โดยเฉพาะถ้าหากต้องนำตัวอย่างนี้ไปวิเคราะห์หาค่าต่าง ๆ อีกหลายค่า เช่น โปรตีน เส้นใย เป็นต้น แต่ถ้าหากพืชที่มีปริมาณความชื้นน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 15 ก็สามารถนำไปเผาได้โดยไม่ต้องผ่านการทำแห้ง

ข. ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ น้ำเชื่อม และเครื่องเทศนั้นควรนำไปทำให้แห้งบนหม้อต้มน้ำแบบปรับอุณหภูมิได้ หรืออบให้แห้งด้วยหลอดอินฟราเรดก่อนที่จะนำไปเข้าเตาเผา เพื่อป้องกันการกระเด็นหรือเกิดฟองขึ้น เพราะอาจทำให้สูญเสียตัวอย่างบางส่วนไป นอกจากนี้อาจจำเป็นต้องหยดน้ำมันมะกอก 1-2 หยด ลงบนตัวอย่าง นำไปทำให้แห้งบน water bath เพื่อป้องกันมิให้ผิวของตัวอย่างเกิดการไหม้แข็ง

3. เตรียมภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่างอาหาร โดยเผาถ้วยกระเบื้องเคลือบที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พักไว้ให้เย็นลงประมาณ 30 นาที ก่อนนำออกจากเตาเผา หลังจากนั้นจึงนำออกจากเตาเผา วางให้เย็นในโถดูดความชื้น (ควรเผาจนกระทั่งน้ำหนักของภาชนะคงที่) และชั่งน้ำหนักภาชนะที่แน่นอนทันทีที่เย็นบันทึกผลไว้

การหาปริมาณเถ้าทั้งหมด (dry ashing ; total ash) (ดัดแปลงจาก A.O.A.C. .,1999 อ้างโดย ฉัตรชัย สังข์ผุด, 2545 หน้า 52)

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนอย่างละเอียด ประมาณ 3 – 5 กรัม (ควรใช้ตัวอย่างที่หาความชื้นแล้วสามารถนำมาหาเถ้าต่อได้)

2. นำตัวอย่างไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน โดยใช้ตะเกียงบุนเสนหรือเตาไฟฟ้า แล้วจึงนำเข้าเตาเผา ตั้งอุณหภูมิเตาเผาไว้ที่ 550 องศาเซลเซียส เผาจนกว่าตัวอย่างจะเป็นสีเทา (เป็นเวลาประมาณ 1 – 2 ชั่วโมง)

3. นำมาวางให้เย็นในโถดูดความชื้น และทำการชั่งน้ำหนักเถ้าที่เหลืออยู่

ในกรณีที่มีเถ้าบางส่วนเป็นสีดำปนอยู่ให้หยดน้ำหรือกรดไนตริก (HNO_3) ลงไปหลาย ๆ หยด แล้วนำไปเผาต่อดังขั้นตอนต่อไปนี้

1. ละลายเถ้าในน้ำ

2. กรองผ่านกระดาษกรองชนิดปราศจากเถ้านำส่วนที่กรองได้ไปทำให้แห้ง

3. วางกระดาษและ Filtrate ที่ทำแห้งแล้วในเตาเผา ทำการเผาซ้ำอีกครั้ง

ข้อควรปฏิบัติ

1. ตัวอย่างที่มีไขมันสูงควรทำการสกัดไขมันออกก่อน โดยวิเคราะห์หาปริมาณไขมันหรือเผาก่อนนำเข้าเตาอบ ตัวอย่างเช่น เนื้อหมูแทรกไขมัน ถ้าหากเปิดประตูเตาเผาไว้อาจเกิดการลุกไหม้ได้ในเตาเผาที่มีกาซออกซิเจน

2. กลีเซอรีน แอลกฮอล์ และไฮโดรเจน จะเป็นตัวเร่งการเผาเถ้า

3. ตัวอย่างประเภทเจลลี่อาจเกิดการกระเด็น ควรผสมรวมเข้ากับสำลี

4. อาหารที่มีเกลืออยู่สูงควรแยกเผากับตัวอย่างที่ไม่ละลายน้ำ หรือปิดฝาเพื่อป้องกันการกระเด็น

5. อาจเติมสารละลายแอลกฮอล์ของแมกนีเซียมอะซิเตดลงไปในตัวอย่างพวกธัญญพืช เพื่อเร่งการเผาเถ้าให้เร็วขึ้น และควรทำ Blank ควบคู่ไปด้วย

การคำนวณ

$$\text{การหาปริมาณเถ้าทั้งหมด(น้ำหนักเปียก) (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

3. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (Crude Protein , CP)

โปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในอาหารจึงทำได้โดยวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน ส่วนการเลือกใช้วิธีใดก็ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร และเครื่องมือที่มี เช่น ปริมาณโปรตีนในน้ำนมวัวจะวิเคราะห์โดยการทำฟอร์มัลไตเตรตชั่น (formal titration) ถ้าตัวอย่างเป็นแป้ง จะใช้วิธีการย่อยและการกลั่นด้วยวิธีเจลดาลห์ (Kjeldahl method)

วิธีเจลดาลห์เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในรูปสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งมีทั้งโปรตีนและสารประกอบอื่น ๆ ที่ไม่ใช่โปรตีน แต่มีไนโตรเจน รวมอยู่ด้วย โดยมีหลักการคือ นำตัวอย่างไปย่อยด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้นในสภาพที่มีความร้อนและมีตัวเร่งปฏิกิริยา จนกระทั่งได้ส่วนของอินทรียวัตถุสลายตัวไป (สารละลายมีสีใส) สารประกอบไนโตรเจนทั้งที่เป็นส่วนของโปรตีนแท้ และไม่ใช่โปรตีน ยกเว้นที่อยู่ในรูปของไนเตรท (Nitrate , NO_3) และไนไตรท์ (Nitrite , NO_2) จะถูกเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium Sulfate , ($(NH_4)_2SO_4$) หลังจากทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide , NaOH) เข้มข้นร้อยละ 32 แล้วทำการกลั่น แอมโมเนียจะจับไนโตรเจนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียม-ไฮดรอกไซด์ (Ammonium hydroxide) แล้วนำไปไตเตรท กับกรดเกลือมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (0.1 N. HCl) จะสามารถคำนวณหาความเข้มข้นของไนโตรเจนได้สมการแสดงขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาดังนี้

ขั้นตอนการย่อย (โปรตีน ,NPN) + H_2SO_4(conc.) $\xrightarrow[\text{Heat 400 °C}]{\text{Catalyst}}$ $(NH_4)_2SO_4 + CO_2 + H_2O$

ขั้นตอนการกลั่น $(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH \longrightarrow 2NH_3 + Na_2SO_4 + 2H_2O$

$NH_3 + H_3BO_3 \longrightarrow NH_4H_2BO_3$

((boric acid) สีชมพูม่วง) ((boration) สีเขียว)

$2NH_4H_2BO_3 + H_2SO_4 \longrightarrow (NH_4)_2SO_4 + 2H_3BO_3$

(สีเขียว) (สีชมพูม่วง)

การคำนวณ

$$\text{สูตร ร้อยละ } N_2 = \frac{(V1 - V2) \times (14.007) \times (N)}{E\ (mg)} \times 100$$

V1 = ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไตเตรท

V2 = ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไตเตรท Blank

N = Normality ของกรด

E = น้ำหนักของสารตัวอย่าง หน่วยเป็นมิลลิกรัม

เนื่องจากโปรตีนมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ การหาปริมาณโปรตีนในอาหารจึงหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบในอาหาร โปรตีนโดยทั่วไปมีไนโตรเจนร้อยละ 16 ดังนั้นปริมาณของโปรตีนจะเท่ากับปริมาณของไนโตรเจนทั้งหมดคูณด้วย 6.25 (6.25 เท่ากับ 100/16) ปริมาณโปรตีนที่หาได้นี้เรียกว่า "โปรตีนอย่างหยาบ " (Crude Protein) ดังนั้นการหาปริมาณโปรตีนอย่างหยาบจากไนโตรเจนจึงคำนวณโดยใช้แฟคเตอร์คูณปริมาณของไนโตรเจนทั้งหมด แฟคเตอร์นี้ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร ดังแสดงในตารางผนวกที่ 1

สูตรการคำนวณหา Crude protein (CP)

$$\text{ร้อยละ CP} = \frac{\text{ร้อยละ N}}{0.16}$$

$$\text{ร้อยละ CP} = \text{ร้อยละ N} \times 6.25$$

ตัวอย่างเช่น ปลาป่นมี N ร้อยละ 9.24

ดังนั้นจึงมี CP = 6.24 x 6.25 = ร้อยละ 57.75

ตารางผนวกที่ 1 ค่าแฟคเตอร์ของอาหารชนิดต่าง ๆ

ชนิดของสารอาหาร	แฟคเตอร์	ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)
ธัญพืช		
แป้งสาลีจากข้าวทั้งเมล็ด	5.83	N * 5.83
มักกะโรนีและสปาเก็ตตี้	5.70	N * 5.70
ข้าวเจ้าและผลิตภัณฑ์	5.95	N * 5.95
ข้าวไรน์และผลิตภัณฑ์	5.83	N * 5.83
ข้าวบาเล่ย์และผลิตภัณฑ์	5.83	N * 5.83
ข้าวโพด (Lima bean ,Mung bean)	6.25	N * 6.25
นัทและเมล็ดพืช		
ถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์	5.71	N * 5.71
แอลมอนด์	5.18	N * 5.18
ถั่วลิสง	5.46	N * 5.46
มะพร้าว	5.30	N * 5 30
เมล็ดงา ทานตะวัน คำฝอย และอื่น ๆ	5.30	N * 5.30
นมและผลิตภัณฑ์	6.38	N * 6.38
เจลาติน	5.55	N * ¯ 55

ที่มา (FAO (1986) อ้างโดย ฉัตรชัย สังข์ผุด, 2545 หน้า 58)

วิธีวิเคราะห์ Crude protein เรียกว่าวิธีของเจลห์ดาห์ล (Kjeldahl method) ค่า CP ที่ได้นี้รวมทั้งส่วนของโปรตีนแท้ และสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน ได้แก่ เอไมด์ (Amide),เกลือแอมโมเนียม (Ammonium Salt) และยูเรีย (Urea) ด้วยยกเว้นไนเตรท (Nitrate , NO_3) และไนไตร (Nitrite , NO_2) เพราะไนโตรเจนจาก 2 แหล่งนี้ไม่ได้เปลี่ยนเป็นแอมโมเนียซัลเฟต (Ammonium Sulfate) , [$(NH_4)_2SO_4$)] ดังได้กล่าวข้างต้น

เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

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

6. เครื่อง Cooling

สารเคมี

1. Sulfuric acid cone

2. Sodium hydroxide เข้มข้นร้อยละ 32

3. Catalyst ได้แก่ Selenium mixture หรือ $CuSO_4 + K_2SO_4$

4. Boric acid เข้มข้นร้อยละ 2

5. 0.1 N HCl.

6. Mixing indicator acc to sher

วิธีการ

1. บันทึกลักษณะตัวอย่างอาหาร

2. เตรียมตัวอย่างอาหารควรบดให้ละเอียดและมีความเป็นเนื้อเดียวกัน

3. การชั่งสารตัวอย่าง (ทำ blank ด้วย)

3.1 ถ้าเป็นของแข็ง ให้ชั่งด้วยความละเอียด 0.1 mg โดย

- ถ้าไนโตรเจนมากกว่าร้อยละ 5 ชั่งประมาณ 0.5 กรัม
- ถ้าไนโตรเจนน้อยกว่าร้อยละ 5 ชั่งประมาณ 1.0 กรัม

3.2 ถ้าเป็นของเหลว ตวงด้วยปิเปต 10 มิลลิลิตร (สูงสุดไม่เกิน 50 มล.)

4. การเติมสารเคมี

-หลังจากชั่งตัวอย่างใส่หลอดย่อยสารแล้ว

4.1 เติม Catalyst

- Selinium mixture 5 กรัม หรือ $K_2SO_4 + CuSO_4$ (95 : 5) 7 กรัม

4.2 เติมกรด Sulphuric เข้มข้น 15-20 มล.

5.วางหลอดย่อยในเตาย่อยแล้วประกอบสายยางระหว่างฝาครอบขวดใส่สารละลายด่างและเครื่องดักจับไอกรดให้เรียบร้อย

6. เปิดสวิทช์เครื่องดักจับไอกรดและเตาย่อย ทำการ Preheat โดยการปรับความร้อนไปที่ตำแหน่ง 10 เป็นเวลา 10 นาที แล้วปรับความร้อนมาที่ตำแหน่ง 8 ย่อยต่ออีก 60 นาที จนได้สารละลายใส (ขึ้นอยู่กับชนิดของสารตัวอย่าง)

7. หลังจากย่อยเสร็จ นำหลอดย่อยสารออกจากเครื่อง รอจนให้สารละลายในหลอดมีอุณหภูมิลดลง จนกระทั่งสารละลายในหลอดอุ่น ๆ

8. เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และใช้น้ำกลั่นล้างหลอดย่อยให้หมดสารละลายตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้กลั่นครั้งต่อไป

9. ขั้นตอนการกลั่นและไตเตรท จัดอุปกรณ์กลั่นแล้วเปิดสวิทช์ให้ความร้อน พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่อเย็นเครื่องควบแน่น

10. นำขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุบอริก (เข้มข้นร้อยละ 2) ปริมาณ 80 มิลลิลิตร ซึ่งเติมอินดิเคเตอร์ เรียบร้อยแล้ว ไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้ โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดนี้

11. ดูดสารละลายตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดย่อยตัวอย่าง เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 80 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร

12. กลั่นประมาณ 3 นาที ล้างอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดที่รองรับ

13. ไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ ด้วยกรดเกลือที่มีความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอมส้ม

การคำนวณผล

สูตร ร้อยละ $N_2 = \frac{(V1 - V2) \times (14.007) \times (N) \times 100}{E\ (mg)}$

V1 = ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไตเตรท

V2 = ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไตเตรท Blank

N = Normality ของกรด

E = น้ำหนักของสารตัวอย่าง หน่วยเป็นมิลลิกรัม

Crude protein (ร้อยละ) = ร้อยละ N_2 x 6.25 (หรือแฟคเตอร์อื่น ๆ ที่เหมาะสมตามตารางผนวกที่ 1)

4. การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (Crude Fat)

การวิเคราะห์หาไขมันโดยวิธีตรง (Direction extraction methods) เป็นวิธีการสกัดโดยตรงด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่าง ๆ โดยทั่วไปส่วนประกอบที่เป็นไขมันในอาหารจะเป็นสารประกอบจำพวกลิปิดซึ่งสกัดออกได้ด้วยอีเทอร์ ทั้งปิโตรเลียมอีเทอร์และไดเอทธิลอีเทอร์ จัดเป็นสารละลายที่ไม่มีขั้ว (non-polar solvent) สารที่สกัดได้เรียกว่า สารที่สกัดได้จากอีเทอร์ (Ether extract หรือ crude fat) เป็นลิปิดอิสระ (free lipid) ที่พบในอาหารนั้น แต่ถ้าทำการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ ส่วนที่สกัดได้จะมีส่วนประกอบอื่นติดอยู่กับไขมันปนอยู่ด้วย

ดังนั้นสารละลายที่ใช้ในการสกัดไขมันนั้นควรมีความสามารถสูงในการละลายไขมันและมีความสามารถต่ำในการละลายสารพวกโปรตีน กรดอะมิโนและคาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้แล้วควรเป็นสารละลายที่ระเหยได้ง่ายและไม่มีสารตกค้าง มีจุดเดือดต่ำ ไม่มีควัน และไม่เป็นพิษทั้งในรูปของเหลวและไอระเหย สารละลายนี้ควรมีความสามารถที่จะทะลุอนุภาคของตัวอย่าง มีองค์ประกอบเดียว เพื่อหลีกเลี่ยงการแตกตัว มีราคาไม่แพงและไม่ดูดความชื้น อย่างไรก็ตามสารละลายที่มีคุณสมบัติครบถ้วนดังที่กล่าวมาข้างต้นนั้นค่อนข้างหายาก สารละลายที่เป็นที่นิยมใช้ในการสกัดไขมันได้แก่ เอธิลอีเทอร์ และปิโตรเลียมอีเทอร์ ขณะที่การสกัดน้ำมันจากถั่วเหลืองจะใช้สารละลายเพนเทนและเฮกเซน นอกจากนี้ ยังมีสารเอธิลอีเธอร์ ที่นิยมใช้ในการสกัดไขมันเช่นกัน

เนื่องจากว่า มีจุดเดือดต่ำ เพียง 34.6 องศาเซลเซียส ติดไฟง่าย และให้ผลได้ดีกว่าการใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ แต่มีราคาที่ค่อนข้างแพง จึงไม่ค่อยนิยมใช้

ไขมัน ในอาหารมีปริมาณที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและประเภทของอาหารเป็นสำคัญ จากการรายงานของ Suzanne (1994) อ้างโดย ฉัตรชัย สังข์ผุด (2545 หน้า 66) พบว่า อาหารแต่ละชนิดมีปริมาณไขมันแตกต่างกัน

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (Soxhlet appratus)
2. หลอดใส่ตัวอย่าง (Extraction thimble)
3. ตู้อบไฟฟ้า (Hot air oven)
4. เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
5. โถดูดความชื้น
6. กระบอกตวงสาร ขนาด 100 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. ปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีการ

วิธีการหาปริมาณไขมันโดยใช้เครื่องสกัดไขมัน รุ่น B-811 แบบ Soxhlet Standard มีขั้นตอนการทำงานของเครื่อง 3 Step ดังนี้

Step 1 Extraction คือขั้นตอนการสกัด

Step 2 Rinsing คือขั้นตอนการชะล้าง ซึ่งเป็นการชะล้างไขมันลงเก็บไว้ในบีกเกอร์

Step 3 Drying คือ ขั้นตอนการทำแห้ง โดยจะไล่ solvent ขึ้นไปเก็บไว้ใน sample tube จะเหลือแต่ไขมันในบีกเกอร์

สำหรับวิธีการวิเคราะห์ไขมันวิธีดังกล่าวแล้วข้างต้น มีขั้นตอน ดังนี้

1.อบแห้งบีกเกอร์สำหรับรองรับไขมันที่จะสกัด แล้วชั่งน้ำหนักบันทึกไว้

2.บดตัวอย่างอาหารให้ละเอียดแล้วชั่งสารตัวอย่าง โดยใช้ปริมาณ ดังนี้

Fat content (ร้อยละ)	Sample weight
0-15	10-20 กรัม
15-40	5-10 กรัม
10-100	2-5 กรัม

3.ห่อสารตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง แล้วใส่ลงใน Extraction thimble แล้วนำเข้าประกอบในเครื่อง จากนั้นกด thimble ให้ลงอยู่ในตำแหน่งที่พร้อมจะสกัด

4.เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในบีกเกอร์ ๆ ละ 120-140 มล. แล้วนำเข้าไปประกอบในเครื่อง และยก heating element (เตาล่าง) ขึ้น

5.เซ็ตเครื่อง โดยมีโปรแกรม ดังนี้

5.1 กด Select แล้วกด ▲ หรือ ▼ เพื่อเลื่อนหา method ที่ต้องการ ในที่นี้ใช้ Soxhlet standard

5.2 ต่อไปกด ▶ ตัวเลขในช่อง Step จะกระพริบให้กด ▲ หรือ ▼ เป็น Step 1

5.3 ต่อไปกด ▶ ตัวเลขในช่อง Heating จะกระพริบให้กด ▲ หรือ ▼ เพื่อตั้งระดับความร้อนของ Heating element (เตาล่าง) ในที่นี้ให้เลื่อนไปที่เลข 9 (180 องศาเซลเซียส ซึ่ง 1 ระดับ = 20 องศาเซลเซียส)

5.4 ต่อไปกด ▶ ตัวเลขในช่อง Cycle จะกระพริบให้กด ▲ หรือ ▼ เพื่อตั้ง Cycle (จำนวนรอบในการสกัด) ในที่นี้ให้ตั้งเลข 20

5.5 ต่อไปกด ▶ ตัวเลขในช่อง H : M จะกระพริบให้กด ▲ หรือ ▼ เพื่อตั้งเวลาในการสกัด ในที่นี้ให้ตั้งเวลา 2 ชั่วโมง (02 : 00)

5.6 ต่อไปกด ▶ จะเป็น Step 2 (Rinsing step) ให้ตั้ง Heating โดยกด ▲ หรือ ▼ เพื่อตั้งระดับความร้อนของ Heating element (เตาล่าง) ในที่นี้ให้เลื่อนไปที่เลข 9 (180 องศาเซลเซียส

5.7 ต่อไปกด ▶ ตัวเลขในช่อง H : M จะกระพริบให้กด ▲ หรือ ▼ เพื่อตั้งเวลาในการสกัด ในที่นี้ให้ตั้งเวลา 5 นาที (00 : 05)

5.8 ต่อไปกด ▶ จะเป็น Step 3 (Drying step) ให้กด ▲ หรือ ▼ เพื่อตั้งเวลาในการ Drying ในที่นี้ให้ตั้งเวลา 10 นาที (00 : 10)

5.9 เมื่อตั้งโปรแกรมเสร็จเรียบร้อยให้กด Select แล้วกด Start เครื่องจะทำงานอัตโนมัติ จนหมดเวลา เครื่องจะหยุดทำงาน

5.10 จากนั้นนำปิโตรเลียมอีเทอร์ออกจากเครื่อง โดยกด Stop แล้วกด Solvent เพื่อเก็บปีโตรเลียมอีเทอร์มาใช้ในคราวต่อไป

5.11 นำบีกเกอร์ที่มีไขมัน ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นานประมาณ 2-3 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น

5.12 นำบีกเกอร์ดังกล่าวมาชั่งน้ำหนักแล้วคำนวณหาค่า ร้อยละไขมัน

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

A = นน. บีกเกอร์ก่อนทำการสกัด

B = นน. บีกเกอร์หลังทำการสกัด

C = นน. ตัวอย่าง

หมายเหตุ : ควรเปิด Cooling ทิ้งไว้ก่อนจนได้อุณหภูมิที่ตั้งได้ 10-15 องศาเซลเซียส

หมายเหต : ตัวอย่างที่สกัดไขมันแล้ว สามารถเก็บไว้วิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใยได้

5. การวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใย (Crude Fiber , CF)

เยื่อใย คือส่วนของคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ยาก ซึ่งมักเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช เช่น เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส สำหรับขั้นตอนและวิธีการหาปริมาณเยื่อใย มีดังนี้

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องสกัดเยื่อใย
2. เตาให้ความร้อนแบบสองหัว
3. เครื่องชั่ง
4. เตาเผา
5. ตู้อบไฟฟ้า
6. โถดูดความชื้น
7. Glass crucible

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก เข้มข้นร้อยละ 1.25
2. ด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 1.25
3. N-Octanol
4. อะซิโตน

วิธีการ

1. บดตัวอย่างให้ละเอียด ให้ได้ขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร จากนั้นอบให้แห้งที่อุณหภูมิประมาณ 105 – 110 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง (ถ้าตัวอย่างมีไขมันเกินร้อยละ 5-10 ควรทำการสกัดไขมันออกก่อน)

2. นำ Glass crucible เผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก บันทึกผลไว้ ชั่งสารตัวอย่างประมาณ 1 กรัม แล้วใส่ลงใน Glass crucible

3. นำ Glass crucible ประกอบเข้ากับเครื่องสกัดไขมัน เปิดเครื่องสกัด พร้อมเปิดน้ำหล่อเย็น

4. เติมกรดซัลฟูริกร้อน หลอดละ 150 มิลลิลิตร จากนั้นเติม N-Octanol เพื่อป้องกันการเกิดฟอง 3 หยด แล้วต้มนานประมาณ 30 นาที

5. เปิดสวิทซ์ เครื่องดูดสุญญากาศ แล้วเปิดวาล์ว เพื่อถ่ายกรดออกจากตัวอย่าง ล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง ๆ ละ 30 มิลลิลิตร แล้วถ่ายออก

6. เติม โซเดียมไฮดรอกไซด์ หลอดละ 150 มิลลิลิตร จากนั้นเติม N-Octanol เพื่อป้องกันการเกิดฟอง 3 หยด แล้วต้มนานประมาณ 30 นาที

7. ถ่ายออกล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง ๆ ละ 30 มิลลิลิตร แล้วล้างด้วยน้ำเย็น 1 ครั้ง

8. ล้างด้วยอะซิโตน 3 ครั้ง ๆ ละ 25 มิลลิลิตร

9. นำ Glass crucible ไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส นาน 1-2 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก นำไปคำนวณกับค่าน้ำหนักเริ่มต้น จะได้ไฟเบอร์ที่มีเถ้ารวมอยู่ด้วย

10. ถ้าต้องการทราบน้ำหนักเถ้า ให้นำไปเผาในเตาเผา ที่อุณหภูมิ 500 – 550 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น

11. นำมาชั่งน้ำหนัก เผาซ้ำอีกครั้ง ๆ ละประมาณ 30 นาที จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณผล

$$\text{Crude Fiber (ร้อยละ)} = \frac{F1 - F2}{F3} \times 100$$

F1 = น้ำหนัก Glass crucible + น้ำหนักตัวอย่างก่อนสกัด

F2 = น้ำหนัก Glass crucible + น้ำหนักตัวอย่างหลังสกัด

F3 = น้ำหนักสารตัวอย่าง

ปริมาณเยื่อใยในตัวอย่างอาหาร = น้ำหนักแห้งของกาก – น้ำหนักเถ้า

6. ไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรก หรือคาร์โบไฮเดรต

ไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรก เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยง่าย ซึ่งได้แก่ แป้งและน้ำตาล แต่อาจมีส่วนของเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ปนอยู่บ้าง ค่าของ ไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรก เป็นค่าที่ได้จากการคำนวณ โดยการนำค่าทั้งหมดมาหักออกจากค่าของวัตถุแห้ง ดังสูตร ต่อไปนี้

NFE (ร้อยละ) = 100 – (ความชื้น (ร้อยละ) – เถ้า (ร้อยละ) – โปรตีน (ร้อยละ) – ไขมัน (ร้อยละ) – เยื่อใย (ร้อยละ))

ตารางผนวกที่ 2 ส่วนของโภชนะในการวิเคราะห์แบบ Weende (Proximate analysis)

ส่วนของโภชนะ	วิธีการ	องค์ประกอบหลัก
1.ความชื้น	อบที่อุณหภูมิ 102-105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่น้ำหนักที่หายไปถือเป็นความชื้น	น้ำและสารประกอบที่ระเหยได้ (100 (ร้อยละ) - ความชื้น = ร้อยละ วัตถุแห้ง)
2.เถ้า(Ash) ประกอบด้วยแร่ธาตุ (minerals)	เผาที่ 500 - 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 - 4 ชั่วโมง	แร่ธาตุ , ดิน , ทราย
3.โปรตีนรวม (Crude Protein) (ร้อยละ CP = ร้อยละ N X 6.25)	วิเคราะห์ไนโตรเจนโดยทำการย่อยด้วยกรดซัลฟูริก (Kjeldahl method)	โปรตีน , กรดอะมิโน , สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน
4.ไขมัน (Ether extract)	สกัดด้วยสารละลายอินทรีย์เช่น ether	Fats , Oil ,Waxes , Pigments , Alcohol , วิตามินที่ละลายได้ในไขมัน (A , D , E , K)
5.เยื่อใย (Crude Fiber)	กากที่เหลือจากการต้มด้วยกรดอ่อนและด่าง ประกอบด้วย เยื่อใย และแร่ธาตุ เมื่อนำไปเผาเยื่อใยจะหายไป	เซลลูโลส , เฮมิเซลลูโลส , ลิกนิน
6.Nitrogen free extract (NFE)	100-ส่วนต่าง ๆ ทั้ง 5 ส่วนแรก	แป้ง ,น้ำตาล,บางส่วนของ Cellulose ,hemicellulose , lignin รวมทั้งวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ

ตารางผนวกที่ 3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักเริ่มต้น ของหนอนนกที่ได้รับอาหารทดลองต่างกัน

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	1.211E-06	3.027E-07	0.665
Error	10	4.553E-06	4.553E-07	
Total	14	5.764E-06		

ตารางผนวกที่ 4 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักสุดท้าย ของหนอนนกที่ได้รับอาหารทดลองต่างกัน

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	3.003E-03	7.507E-04	2.508
Error	10	2.994E-03	2.994E-04	
Total	14	5.996E-03		

ตารางผนวกที่ 5 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวเริ่มต้น ของหนอนนกที่ได้รับอาหารทดลองต่างกัน

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	5.067E-04	1.267E-04	0.514
Error	10	2.467E-03	2.467E-04	
Total	14	2.973E-03		

ตารางผนวกที่ 6 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความยาวสุดท้าย ของหนอนนกที่ได้รับอาหารทดลองต่างกัน

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	5.936E-02	1.484E-02	0.883
Error	10	0.168	1.680E-02	
Total	14	0.227		

ตารางผนวกที่ 7 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ของหนอนนกที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	2.977E-03	7.443E-04	2.479
Error	10	3.002E-03	3.002E-04	
Total	14	5.979E-03		

ตารางผนวกที่ 8 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ความยาวที่เพิ่มขึ้น ของหนอนนกที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	5.936E-02	1.484E-02	0.883
Error	10	0.168	1.680E-02	
Total	14	0.227		

ตารางผนวกที่ 9 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน ของหนอนนกที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	3.236E-06	8.090E-07	2.533
Error	10	3.193E-06	3.193E-07	
Total	14	6.429E-06		

ตารางผนวกที่ 10 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ของหนอนนกที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	2.109	0.527	2.230
Error	10	2.365	0.237	
Total	14	4.475		

ตารางผนวกที่ 11 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน ของหนอนนกที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	5.171	1.293	11.548*
Error	10	1.119	0.112	
Total	14	6.290		

ตารางผนวกที่ 8 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ความยาวที่เพิ่มขึ้น ของหนอนนกที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	5.936E-02	1.484E-02	0.883
Error	10	0.168	1.680E-02	
Total	14	0.227		

ตารางผนวกที่ 9 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน ของหนอนนกที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	3.236E-06	8.090E-07	2.533
Error	10	3.193E-06	3.193E-07	
Total	14	6.429E-06		

ตารางผนวกที่ 10 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ของหนอนนกที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

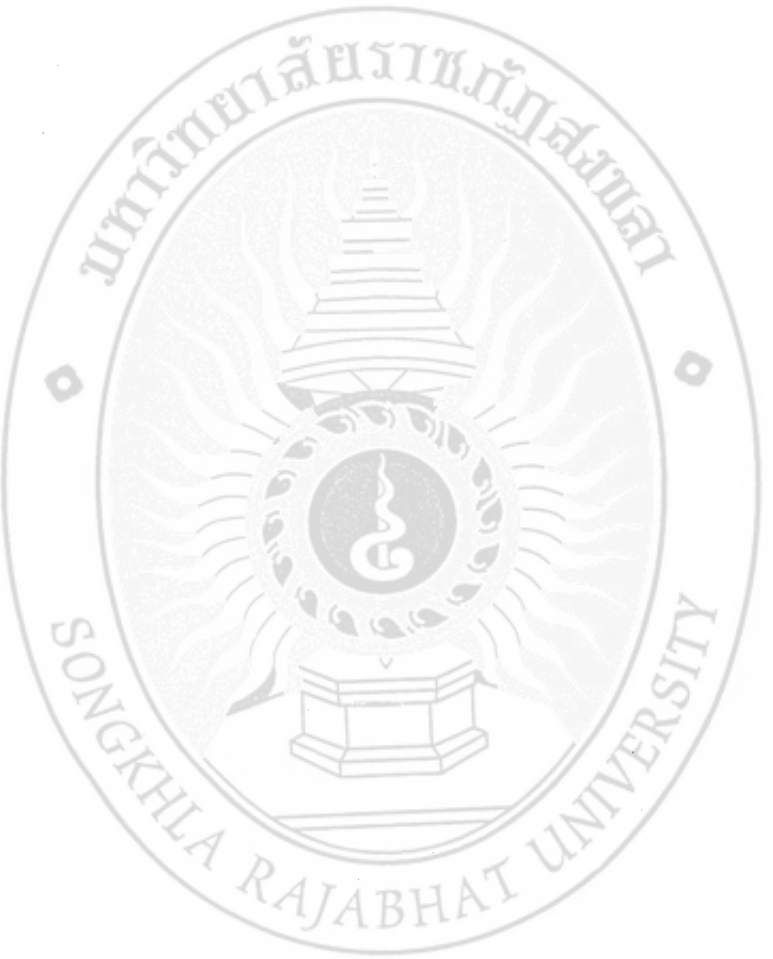
SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	2.109	0.527	2.230
Error	10	2.365	0.237	
Total	14	4.475		

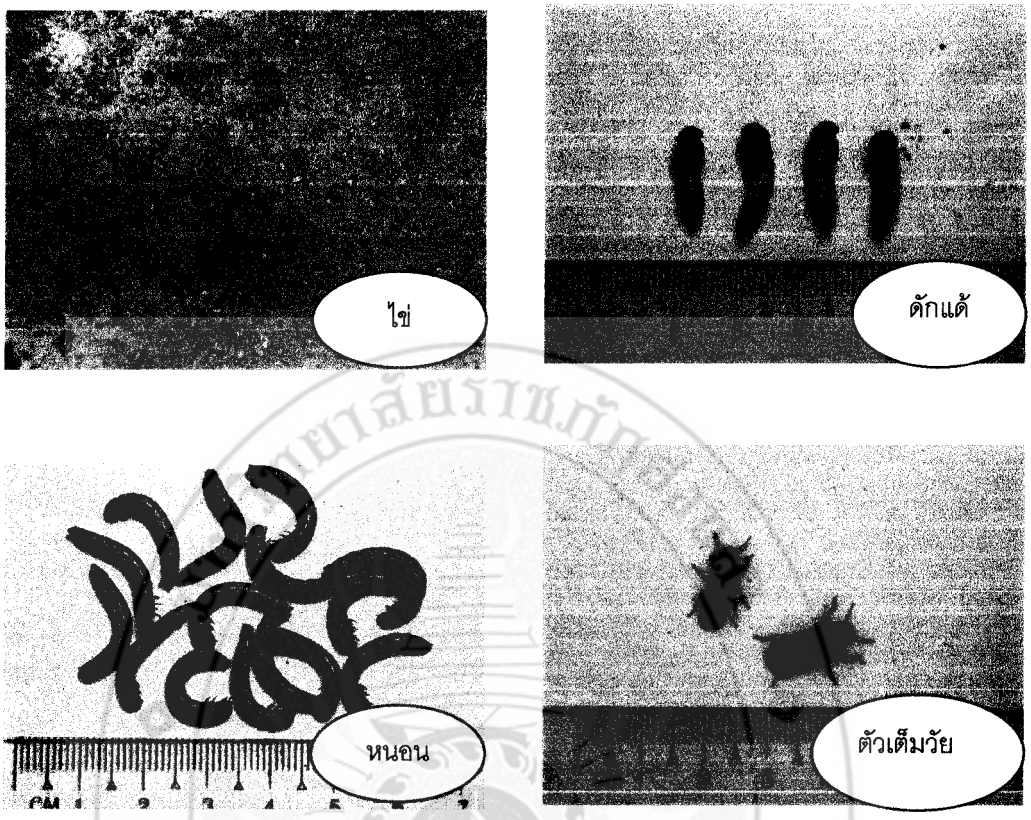
ตารางผนวกที่ 11 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน ของหนอนนกที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	5.171	1.293	11.548*
Error	10	1.119	0.112	
Total	14	6.290		

ตารางผนวกที่ 12 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย อัตรารอด ของหนอนนกที่ได้รับอาหารทดลองสูตรต่าง ๆ

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	2339.477	584.869	6.978*
Error	10	838.160	83.816	
Total	14	3177.637		





ภาพผนวกที่ 1 หนอนนกในระยะไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ในการทดลอง

SONGKHLA RAJABHAT UNIVERSITY