

## ภาคผนวก ก

### วิธีการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี หรือนิยมเรียกกันโดยทั่วไปว่า วินเดอร์ (Weender analysis) หรือ พรอกซิเมท (Proximate analysis) วิธีการนี้คิดค้นที่ประเทศเยอรมันนี โดยเฮเนแบร์และสโตมันน์ (Heneberg and Stomann) แห่งเมืองก็อททิงเก้น (Göttingen) ในปี ค.ศ. 1862 และนิยมใช้กันมาจนถึงปัจจุบัน แต่การวิเคราะห์โดยวิธีนี้เมื่อทำการวิเคราะห์หาเยื่อใยโดยเฉพาะส่วนที่เป็นโครงสร้างของพืช เช่น เพคติน ลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส บางส่วนอาจจะละลายออกมาในรูปของไนโตรเจนฟรีเอ็กแทรก (NFE) ได้ จึงทำให้ค่าที่ได้ในการวิเคราะห์หาเยื่อใยไม่ถูกต้องนัก หากทำการวิเคราะห์ตัวอย่างพืชที่มีเยื่อใยสูง จึงนิยมใช้วิธีการวิเคราะห์เยื่อใยแบบดีเทอร์เจนท์ (Detergent method) ซึ่งวิธีนี้สามารถแยกองค์ประกอบทางเยื่อใยในพืชได้

การวิเคราะห์วิธีนี้แบ่งโภชนะออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ 6 กลุ่ม คือ (ฉัตรชัย สังข์ผุด, 2545) ความชื้น (Moisture) เถ้า (Ash) โปรตีน (Crude protein หรือ CP) ไขมัน (Ether extract หรือ EE) เยื่อใย (Crude fiber หรือ CF) คาร์โบไฮเดรตที่ข่อยง่ายหรือส่วนประกอบที่ไม่มีไนโตรเจน (Nitrogen free extract หรือ NFE) การวิเคราะห์แบบนี้อาศัยหลักการที่ว่า 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 กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ

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

#### 2 กลุ่มที่ละลายในสารละลายอินทรีย์

กลุ่มที่ละลายในสารละลายอินทรีย์ (Organic solvent) เช่น ปีโตรเลียมอีเธอร์ (Petroleum ether) หรือ ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) เป็นต้น ซึ่งประกอบด้วยโภชนะหลายประเภท เช่น ไขมัน วิตามินที่ละลายได้ในไขมัน สารสี สอร์โอมอนบางชนิด ค่าที่วิเคราะห์ได้เรียกรวม ๆ กันว่า สารสกัดอีเธอร์ (Ether extract หรือ EE) หรือเรียกง่าย ๆ ว่าไขมัน

### 3 กลุ่มที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและด่าง

กลุ่มที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและด่าง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพวกเยื่อใยในอาหาร จึงเรียกค่าที่วิเคราะห์ได้รวม ๆ กันว่าเยื่อใย (Crude fiber หรือ CF)

### 4 กลุ่มที่ปราศจากไนโตรเจนและย่อยสลายได้ง่าย

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

โดยทั่วไปในการวิเคราะห์จะทำ 3 ซ้ำ แล้วนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย แต่ก่อนที่จะนำมาหาค่าเฉลี่ยควรที่จะนำค่าที่ได้ในแต่ละซ้ำมาหาความแตกต่าง (variation) เสียก่อน โดยใช้สูตร

$$\frac{\text{ค่าสูงสุด} - \text{ค่าต่ำสุด}}{\text{ค่าสูงสุด}} \times 100$$

### การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น

ความชื้นเป็นน้ำหรือสารที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total volatile matter) ที่สูญเสียไปจากอาหารเมื่อเพิ่มความร้อนให้แก่อาหาร อุณหภูมิที่ให้แก่อาหารต้องไม่สูงกว่าจุดเดือดของน้ำหรือให้ความชื้นในสภาพสูญญากาศ หรืออาจปล่อยอาหารทิ้งไว้ในสารดูดความชื้น ส่วนกากหรือของแข็งที่เหลืออยู่หลังจากน้ำออกไปหมดแล้ว เรียกว่า ของแข็งทั้งหมด (total solid) (ตารางผนวกที่ 1)

## ตารางผนวกที่ 1 ปริมาณความชื้นในอาหาร

ชนิดอาหาร	ความชื้น ( ร้อยละ )
แตงโม	92.6
ส้ม	86.0
แอปเปิ้ล	84.4
องุ่น	81.6
ผลไม้แห้ง เช่น องุ่น	18.0
แตงกวา	95.1
มันฝรั่ง	79.8
เนื้อวัว (ไขมัน ร้อยละ 10)	68.3
ไก่ทอด	57.5-59.5
น้ำมัน	87.4
โยเกิร์ต	89.0
ไอศกรีม	63.2
ไข่ไก่	73.7
ถั่วลิสงอบทั้งเปลือก	1.8
แป้งสาลี	12.0
คอร์นเฟลก	3.8
แครกเกอร์	4.3
มักกะโรนี	10.4
น้ำตาลทราย	0.5
น้ำตาลทรายแดง	2.1
น้ำผึ้ง	17.2
มาการีน	15.5
เนย	15.5
น้ำมันสลัด หรือ น้ำมันประกอบอาหาร	0

ที่มา : ฉัตรชัย สังข์ผุด, 2545

## 1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

- 1.1 ภาชนะอะลูมิเนียมสำหรับหาคความชื้น
- 1.1 ตู้อบลมร้อน (Hot air Oven)
- 1.1 โถดูดความชื้น (Desiccator)
- 1.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

## 2 วิธีการ

วิธีการวิเคราะห์ ซึ่งสามารถใช้วิธีการดังต่อไปนี้ คือ การใช้ตู้อบไฟฟ้า การใช้เครื่องชั่งแบบอินฟราเรด การใช้ตู้อบสูญญากาศ การกลั่น การใช้ไฮโครมิเตอร์และการใช้รีแฟรกโตมิเตอร์ ซึ่งสำหรับเนื้อหาในบทนี้ขอกล่าวเพียงวิธีการใช้ตู้อบไฟฟ้าเท่านั้น (ดัดแปลงจาก AOAC, 1999 อ้างโดย ฉัตรชัย สังข์ผุด, 2545) โดยมีวิธีการ ดังนี้

- 2.1 อบภาชนะสำหรับหาคความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักจذبบันทึกผลไว้
- 2.2 กระทำตามข้อ 1 ข้าง จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
- 2.3 ชั่งตัวอย่างให้น้ำหนักแน่นอนอย่างละเอียด ประมาณ 1-2 กรัม ใสลงในภาชนะหาคความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว
- 2.4 ทำให้ตัวอย่างแห้งโดยอบในตู้อบไฟฟ้า
  - (1) ตัวอย่างอาหารแห้ง ทำให้แห้งโดยอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 – 6 ชั่วโมง หรืออบที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง
  - (2) ตัวอย่างสด (เปียก) ทำให้แห้งโดยอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง หรืออบที่ 135 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักของตัวอย่างคงที่
- 2.5 นำออกจากตู้อบ วางให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักอีกครั้ง
- 2.6 อบซ้ำอีกครั้งละ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1 – 3 มิลลิกรัม

## 3. การคำนวณผล

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

หมายเหตุ : สามารถใช้ตัวอย่างนี้ไปวิเคราะห์แฉะ (Ash) ได้

## การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า

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

ปริมาณเถ้าสามารถใช้เป็นเครื่องชี้คุณภาพของอาหารบางชนิดได้ อาหารบางชนิดที่มี ปริมาณเถ้ามากไปอาจเนื่องมาจากอาหารนั้นถูกปลอมปน เช่น อาหารพวกเครื่องเทศ เกลาดิน น้ำตาล ทราช และแป้ง เป็นต้น ดังนั้นปริมาณเถ้าที่วิเคราะห์ได้ควรอยู่ในช่วงที่เหมาะสม ปริมาณเถ้าเป็นส่วน หนึ่งของการวิเคราะห์ค่าองค์ประกอบอาหาร โดยทั่วไปอาหารจัดว่ามีปริมาณแร่ธาตุอยู่สูง และ ค่อนข้างคงที่ในเถ้าของตัวอย่างจากผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าแบ่งเป็น 3 ประเภท ดังนี้

2.1 การออกซิไดซ์สารอินทรีย์ เป็นการออกซิไดซ์สารอินทรีย์โดยการใช้อกรดและสาร ออกไซด์ หรือทั้งสองอย่างรวมกัน แร่ธาตุจะถูกละลายโดยกรด ที่นิยมใช้ ได้แก่ กรดไนตริก และกรด เปอร์คลอริก เป็นต้น และควรทำในตู้ดูดไอกรด มักใช้กับตัวอย่างอาหารที่มีปริมาณไขมันสูง ได้แก่ เนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์

2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าโดยการเผาที่อุณหภูมิต่ำ เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า โดยการเผาที่อุณหภูมิต่ำมากกว่าการกระทำในเตาเผา เพื่อป้องกันการระเหย แร่ธาตุส่วนใหญ่ที่มีใน ตัวอย่างเป็น Dry ashing แบบหนึ่ง เพื่อการวิเคราะห์หาแร่ธาตุที่ระเหยได้

2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าโดยการเผาที่อุณหภูมิสูง เป็นการหาปริมาณเถ้าตัวอย่างที่ อุณหภูมิ 500-600 องศาเซลเซียส น้ำและสารระเหยต่าง ๆ ในตัวอย่างจะระเหยกลายเป็นไอ สารอินทรีย์จะถูกเผาไหม้ในสภาพที่มีก๊าซออกซิเจนกลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และ ก๊าซไนโตรเจน แร่ธาตุส่วนใหญ่จะถูกเปลี่ยนไปเป็นออกไซด์ ได้แก่ ซัลเฟอร์ ฟอสเฟตคลอไรด์ และ ซิลิเกต แร่ธาตุอื่น ๆ เช่น เหล็ก ซีลีเนียม ดีบุก และปรอท จะระเหยในขั้นตอนนี้ ดังนั้นถ้าต้องการ วิเคราะห์หาแร่ธาตุที่ระเหยได้ จึงไม่ควรใช้วิธีการนี้

## ตารางผนวกที่ 2 ปริมาณเต้าในอาหารชนิดต่าง ๆ

ชนิดอาหาร	ปริมาณเต้า (ร้อยละ) ต่อน้ำหนักเปียก
<b>ผลิตภัณฑ์นม</b>	
เนย	2.5
ครีม	2.9
นมระเหย	1.6
มาการีน	2.5
นํ้านม	0.7
โยเกิร์ต	0.8
<b>เนื้อสัตว์ สัตว์ปีก และปลา</b>	
ไข่	1.0
เนื้อปลา ( fish fillet )	1.3
แฮม	0.8
แฮมเบอเกอร์	1.1
สัตว์ปีก	1.0
เนื้อวัวย่าง	3.0
<b>ผักและผลไม้</b>	
แอปเปิ้ล	0.3
กล้วย	0.8
ผลไม้แห้ง	2.3
มันฝรั่ง	1.0
มะเขือเทศ	0.6
<b>ธัญพืช</b>	
ข้าวสาลีน้ำตาล	1.0
ข้าวโพดอาหารเช้า	1.3
ข้าวขัดขาว	0.7
แป้งสาลีทั้งเมล็ด	1.7

ที่มา : ฉัตรชัย สังข์ผุด, 2545

ปริมาณเถ้าในตัวอย่างอาหาร (ตารางผนวกที่ 2) แสดงให้เห็นว่า ถ้าอาหารตัวอย่างประเภทที่เป็นวัตถุดิบ จะมีปริมาณเถ้ามากกว่า ร้อยละ 0.5 น้ำมันและไขมันจะมีปริมาณเถ้าอยู่เพียงเล็กน้อยหรือไม่มีเลย ผลิตภัณฑ์บางอย่าง ได้แก่ เบคอน (cured bacon) มีปริมาณเถ้า ร้อยละ 0.6 และเนื้อวัวแห้งอาจมีปริมาณเถ้าสูงถึง ร้อยละ 1.16 เมื่อเทียบกับน้ำหนักเปียก ในการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าโดยวิธีนี้สามารถปฏิบัติได้ดังนี้ (ดัดแปลงจาก AOAC, 1999 อ้างโดย ฉัตรชัย สังข์ผุด, 2545)

## 1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

- 1.1 เตาเผา (muffle furnace)
- 1.2 ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
- 1.3 โถดูดความชื้น
- 1.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 1.5 เต้าอบไฟฟ้า
- 1.6 กรดกำมะถัน ( $H_2SO_4$ ) 0.05 M. หรือกรดเกลือ (HCl) 0.1 M.
- 1.7 เมธิล ออเรนจ์ (Methyl Orange)
- 1.8 กรดเกลือเข้มข้น (HCl) ร้อยละ 10

## 2. วิธีการ

- 2.1 บันทึกลักษณะตัวอย่างอาหาร
- 2.2 เตรียมตัวอย่างอาหาร

1) วัตถุดิบพืช ควรทำให้แห้งก่อนนำไปคั่ว ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงอุณหภูมิที่ใช้ทำให้แห้งด้วย โดยเฉพาะถ้าหากต้องนำตัวอย่างนี้ไปวิเคราะห์หาค่าต่าง ๆ อีกหลายค่า เช่น โปรตีน เส้นใย เป็นต้น แต่ถ้าหากพืชที่มีปริมาณความชื้นน้อยกว่าเท่ากับ ร้อยละ 15 ก็สามารถนำไปเผาได้โดยไม่ต้องผ่านการทำให้แห้ง

2) ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ น้ำเชื่อม และเครื่องเทศนั้นควรนำไปทำให้แห้งบนหม้อต้มน้ำแบบปรับอุณหภูมิได้ หรืออบให้แห้งด้วยหลอดอินฟราเรดก่อนที่จะนำไปเข้าเตาเผา เพื่อป้องกันการกระเด็นหรือเกิดฟองขึ้น เพราะอาจทำให้สูญเสียดังตัวอย่างบางส่วนไป นอกจากนี้อาจจำเป็นต้องหยคน้ำมันมะกอก 1-2 หยด ลงบนตัวอย่างนำไปทำให้แห้งบน water bath เพื่อป้องกันมิให้ผิวของตัวอย่างเกิดการไหม้แข็ง

2.3 เตรียมภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่างอาหาร โดยเผาถ้วยกระเบื้องเคลือบที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พักไว้ให้เย็นลงประมาณ 30 นาที ก่อนนำออกจากเตาเผาหลังจากนั้นจึงนำออกจากเตาเผา วางให้เย็นในโถดูดความชื้น (ควรเผาจนกระทั่งน้ำหนักของภาชนะคงที่) และชั่งน้ำหนักภาชนะที่แน่นอนบนทันทีที่เย็นบนที่กผลไว้

2.4 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนอย่างละเอียด ประมาณ 3-5 กรัม (ควรใช้ตัวอย่างที่หาความชื้นแล้วสามารถนำมาหาเถ้าต่อได้)

2.5 นำตัวอย่างไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน โดยใช้ตะเกียงเบนเสนหรือเตาไฟฟ้า แล้วจึงนำเข้าเตาเผา ตั้งอุณหภูมิเตาเผาไว้ที่ 550 องศาเซลเซียส เผาจนกว่าตัวอย่างจะเป็นสีเทา (เป็น เวลาประมาณ 1 – 2 ชั่วโมง)

2.6 นำมาวางให้เย็นในโถดูดความชื้น และทำการชั่งน้ำหนักแก้วที่เหลือ

หมายเหตุ : ในกรณีที่มีเถ้าบางส่วนเป็นสีดำปนอยู่ให้หยคน้ำหรือกรดไนตริก ( $\text{HNO}_3$ ) ลงไปหลาย ๆ หยด แล้วนำไปเผาต่อตั้งชั้นตอนต่อไปนี้คือ ละลายเถ้าในน้ำ กรองผ่านกระดาษกรองชนิดปราศจากเถ้าในส่วนที่กรองได้ไปทำให้แห้ง วางกระดาษและ Filtrate ที่ทำแห้งแล้วในเตาเผา ทำการเผาซ้ำอีกครั้ง

### ข้อควรปฏิบัติ

(1) ตัวอย่างที่มีไขมันสูงควรทำการสกัดไขมันออกก่อน โดยวิเคราะห์หาปริมาณไขมันหรือเผาก่อนนำเข้าเตาอบ ตัวอย่างเช่น เนื้อหมูแทรกไขมัน ถ้าหากเปิดประตูเตาเผาไว้อาจเกิดการลุกไหม้ได้ในเตาเผาที่มีก๊าซออกซิเจน

(2) กลีเซอริน แอลกอฮอล์ และไฮโดรเจน จะเป็นตัวเร่งการเผาเถ้า

(3) ตัวอย่างประเภทเจลลี่อาจเกิดการกระเด็น ควรผสมรวมเข้ากับสำลี

(4) อาหารที่มีเกลืออยู่สูงควรแยกเผากับตัวอย่างที่ไม่ละลายน้ำ หรือปิดฝาเพื่อป้องกันการกระเด็น

(5) อาจเติมสารละลายแอลกอฮอล์ของแมกนีเซียมอะซิเตดลงไปในตัวอย่างพวก ธัญพืช เพื่อเร่งการเผาเถ้าให้เร็วขึ้น และควรทำ Blank ควบคู่ไปด้วย

### 3. การคำนวณ

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

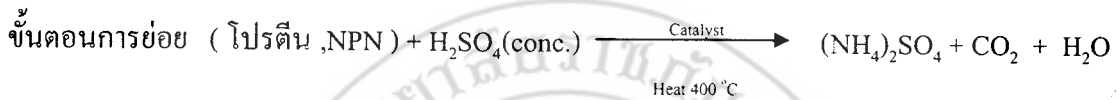
### การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

โปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในอาหารจึงทำได้โดยวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน ส่วนการเลือกใช้วิธีใดก็ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร และเครื่องมือที่มี เช่น ปริมาณโปรตีนในน้ำนมวัวจะวิเคราะห์โดยการไทเทรตด้วยฟอร์มาลดีไฮด์ (formal titration) ถ้าตัวอย่างเป็นแปง จะใช้วิธีการย่อยและการกลั่นด้วยวิธีเจลดาลท์ (Kjeldahl method)

วิธีเจลดาลท์เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในรูปสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งมีทั้งโปรตีนและสารประกอบอื่น ๆ ที่ไม่ใช่โปรตีน แต่มีไนโตรเจน รวมอยู่ด้วย โดยมีหลักการคือ นำตัวอย่าง ไปย่อยด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น ในสภาพที่มีความร้อนและมีตัวเร่งปฏิกิริยา จนกระทั่งได้



ส่วนของอินทรีย์วัตถุสลายตัวไป (สารละลายมีสีใส) สารประกอบไนโตรเจนทั้งที่เป็นส่วนของโปรตีนแท้ และไม่ใช่โปรตีน ยกเว้นที่อยู่ในรูปของไนเตรท (Nitrate , NO<sub>3</sub>) และไนไตรท์ ( Nitrite, NO<sub>2</sub> ) จะถูกเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium Sulfate , ( NH<sub>4</sub> )<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) หลังจากทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide : NaOH) เข้มข้นร้อยละ 32 แล้วทำการกลั่น แอมโมเนียจะจับไนโตรเจนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Ammonium hydroxide ) แล้วนำไปไตเตรท กับกรดเกลือมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ( 0.1 N. HCl ) จะสามารถคำนวณหาความเข้มข้นของไนโตรเจนได้สมการแสดงขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาดังนี้



การคำนวณ

$$\text{N}_2 \text{ (ร้อยละ)} = \frac{(\text{V1} - \text{V2}) \times (14.007) \times (\text{N}) \times 100}{\text{E}}$$

V1 = ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไตเตรท

V2 = ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไตเตรท Blank

N = Normality ของกรด

E = น้ำหนักของสารตัวอย่าง หน่วยเป็นมิลลิกรัม

เนื่องจากโปรตีนมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ การหาปริมาณโปรตีนในอาหารจึงหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบในอาหาร โปรตีนโดยทั่วไปมีไนโตรเจน ร้อยละ 16 ดังนั้นปริมาณของโปรตีนจะเท่ากับปริมาณของไนโตรเจนทั้งหมดคูณด้วย 6.25 (6.25 เท่ากับ 100/16) ปริมาณโปรตีนที่หาได้นี้เรียกว่า “โปรตีนอย่างหยาบ” ( Crude Protein ) ดังนั้นการหาปริมาณโปรตีนอย่างหยาบจากไนโตรเจนจึงคำนวณโดยใช้แฟกเตอร์คูณปริมาณของไนโตรเจนทั้งหมด แฟกเตอร์นี้ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร ดังแสดงในตารางผนวกที่ 3

### สูตรการคำนวณหา Crude protein (CP)

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

ตารางผนวกที่ 3 ค่าแฟคเตอร์ของอาหารชนิดต่าง ๆ

ชนิดของสารอาหาร	แฟคเตอร์	ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)
<b>ธัญพืช</b>		
แป้งสาลีจากข้าวทั้งเมล็ด	5.83	N x 5.83
มักกะโรนีและสปาเก็ตตี้	5.70	N x 5.70
ข้าวเจ้าและผลิตภัณฑ์	5.95	N x 5.95
ข้าวไรน์และผลิตภัณฑ์	5.83	N x 5.83
ข้าวบาเลย์และผลิตภัณฑ์	5.83	N x 5.83
ข้าวโพค ( Lima bean ,Mung bean )	6.25	N x 6.25
<b>นัทและเมล็ดพืช</b>		
ถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์	5.71	N x 5.71
แอลมอนด์	5.18	N x 5.18
ถั่วลิสง	5.46	N x 5.46
มะพร้าว	5.30	N x 5.30
เมล็ดงา ทานตะวัน คำฝอย และอื่นๆ	5.30	N x 5.30
<b>นมและผลิตภัณฑ์</b>	6.38	N x 6.38
<b>เจลาติน</b>	5.55	N x 5.55

ที่มา : FAO, 1986 อ้างโดย ฉัตรชัย สังข์ผุด, 2545

วิธีวิเคราะห์ Crude protein เรียกว่าวิธีของเจลด้าห์ล (Kjeldahl method) ค่า CP ที่ได้นี้รวมทั้งส่วนของโปรตีนแท้ และสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน ได้แก่ เอไมด์ (Amide),เกลือแอมโมเนียม (Ammonium Salt) และยูเรีย (Urea) ด้วยยกเว้นไนเตรท (Nitrate,  $\text{NO}_3$ ) และไนไตรท์ (Nitrite,  $\text{NO}_2$ ) เพราะไนโตรเจนจาก 2 แหล่งนี้ไม่ได้เปลี่ยนเป็นแอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium Sulfate) ( $\text{NH}_4$ )<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ดังได้กล่าวข้างต้น

## 1. เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

- 1.1 เครื่องย่อยสาร
- 1.2 เครื่องกำจัดไออกรด
- 1.3 เครื่องกลั่นสาร
- 1.4 บิวเรต หรือ Digital Buret
- 1.5 เครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียด 4 ตำแหน่ง
- 1.6 เครื่อง Cooling

## 2. สารเคมี

- 2.1 Sulfuric acid cone
- 2.2 Sodium hydroxide ความเข้มข้นร้อยละ 32
- 2.3 Catalyst ได้แก่ Selenium mixture หรือ  $\text{CuSO}_4 + \text{K}_2\text{SO}_4$
- 2.4 Boric acid ความเข้มข้นร้อยละ 2
- 2.5 0.1 N HCl.
- 2.6 Mixing indicator acc to sher

## 3. วิธีการ

- 3.1 บันทึกลักษณะตัวอย่างอาหาร
- 3.2 เตรียมตัวอย่างอาหารควรบดให้ละเอียดและมีความเป็นเนื้อเดียวกัน
- 3.3 การชั่งสารตัวอย่าง ( ทำ blank ด้วย )
  - (1) ถ้าเป็นของแข็ง ให้ชั่งด้วยความละเอียด 0.1 mg โดย
    - 1) ถ้า ไนโตรเจนมากกว่า ร้อยละ 5 ชั่งประมาณ 0.5 กรัม
    - 2) ถ้า ไนโตรเจนน้อยกว่า ร้อยละ 5 ชั่งประมาณ 1.0 กรัม
  - (2) ถ้าเป็นของเหลวตวงด้วยปิเปต 10 มิลลิลิตร (สูงสุดไม่เกิน 50 มล.)

### 3.4 การเติมสารเคมี

หลังจากชั่งตัวอย่างใส่หลอดย่อยสารแล้วเติม Catalyst

- (1) Selenium mixture 5 กรัม หรือ  $\text{K}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$  (ร้อยละ 95 ต่อ ร้อยละ 5) 7 กรัม

- (2) เติมกรด Sulphuric เข้มข้น 15-20 มล.

3.5 วางหลอดย่อยในเตาย่อยแล้วประกอบสายยางระหว่างฝาครอบขวดใส่สารละลายต่างและเครื่องดักจับไออกรดให้เรียบร้อย

3.6 เปิดสวิทซ์เครื่องดักจับไออกรดและเตาย่อย ทำการ Preheat โดยการปรับความร้อนไปที่ตำแหน่ง 10 เป็นเวลา 10 นาที แล้วปรับความร้อนมาที่ตำแหน่ง 8 ย่อยต่ออีก 60 นาที จนได้สารละลายใส (ขึ้นอยู่กับชนิดของสารตัวอย่าง)

3.7 หลังจากย่อยเสร็จ นำหลอดย่อยสารออกจากเครื่อง รอจนให้สารละลายในหลอดมีอุณหภูมิลดลง จนกระทั่งสารละลายในหลอดอุ่น ๆ

3.8 เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และใช้น้ำกลั่นล้างหลอดย่อยให้หมดสารละลายตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้กลั่นครั้งต่อไป

3.9 ขั้นตอนการกลั่นและไตเตรท จัดอุปกรณ์กลั่นแล้วเปิดสวิทซ์ให้ความร้อน พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่อเย็นเครื่องควบแน่น

3.10 นำขวครูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุบอริก (เข้มข้นร้อยละ 2) ปริมาณ 80 มิลลิลิตร ซึ่งเติมอินดิเคเตอร์ เรียบร้อยแล้ว ไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้ โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดนี้

3.11 ควบสารละลายตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดย่อยตัวอย่าง เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 80 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร

3.12 กลั่นประมาณ 3 นาที ล้างอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดที่รองรับ

3.13 ไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ ด้วยกรดเกลือที่มีความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอมส้ม

#### 4. การคำนวณผล

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

V1 = ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไตเตรท

V2 = ปริมาตรกรดที่ใช้ในการไตเตรท Blank

N = Normality ของกรด

E = น้ำหนักของสารตัวอย่าง หน่วยเป็นมิลลิกรัม

Crude protein (ร้อยละ) =  $N_2$  (ร้อยละ)  $\times$  6.25 (หรือแฟกเตอร์อื่น ๆ ที่เหมาะสม ตามตารางผนวกที่ 3)

## การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

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

ดังนั้นสารละลายที่ใช้ในการสกัดไขมันนั้นควรมีความสามารถสูงในการละลายไขมัน และมีความสามารถต่ำในการละลายสารพวกโปรตีน กรดอะมิโนและคาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้แล้วควรเป็นสารละลายที่ระเหยได้ง่ายและไม่มีสารตกค้าง มีจุดเดือดต่ำ ไม่มีควัน และไม่เป็นพิษทั้งในรูปของเหลวและไอระเหย สารละลายนี้ควรมีความสามารถที่จะทะลุอนุภาคของตัวอย่าง มีองค์ประกอบเดียว เพื่อหลีกเลี่ยงการแตกตัว มีราคาไม่แพงและไม่ดูดความชื้น อย่างไรก็ตามสารละลายที่มีคุณสมบัติครบถ้วนดังที่กล่าวมาข้างต้นนั้นค่อนข้างหายาก สารละลายที่เป็นที่นิยมใช้ในการสกัดไขมัน ได้แก่ เอธิลอีเทอร์ และปิโตรเลียมอีเทอร์ ขณะที่การสกัดน้ำมันจากถั่วเหลืองจะใช้สารละลายเพนเทนและเฮกเซน นอกจากนี้ ยังมีสารเอธิลอีเธอร์ ที่นิยมใช้ในการสกัดไขมันเช่นกัน เนื่องจากมีจุดเดือดต่ำ เพียง 34.6 องศาเซลเซียส ติดไฟง่าย และให้ผลได้ดีกว่าการใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ แต่มีราคาที่สูงกว่า จึงไม่ค่อยนิยมใช้

ไขมัน ในอาหารมีปริมาณที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและประเภทของอาหารเป็นสำคัญ จากการรายงานของ Sazanane (1994) อ้างโดย ฉัตรชัย สังข์ผุด (2545) พบว่า อาหารแต่ละชนิดมีปริมาณไขมันแตกต่างกัน ดังนี้ (ตารางผนวกที่ 4)

## ตารางผนวกที่ 4 ปริมาณลิปิดในอาหาร

ชนิดอาหาร	ปริมาณลิปิด (ร้อยละ) (น้ำหนักเปียก)
น้ำมันหมู เนยเทียม น้ำมันบริโภค	ประมาณ 100
เนย มาการีน	80
น้ำมันสกัด	40-70
มะพร้าว	35
อัลมอนต์	54
มันฮ่อ	64
ถั่วเหลือง	18
น้ำมัน	3.5-4.3
หางนม	0.1
ปลา Halibut	5.2
ปลา Cod	0.4
เมล็ดธัญพืช	3-5
ขนมปัง	3-6
เนื้อวัวดิบ	11-28
เบคอน	65
เนื้อหมูดิบ	25-33
ไข่	22
แอมเบิ้ล	0.4
สัสม	0.2
แบลคเบอร์รี่	1.0
อโวคาโด	26.4
หน่อไม้ฝรั่ง	0.2
ข้าวโพคหวาน	1.2

ที่มา : ฉัตรชัย สังข์ผุด, 2545

## 1. เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1.1 อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (Soxhlet apparatus)
- 1.2 หลอดใส่ตัวอย่าง (Extraction thimble)
- 1.3 ตู้อบไฟฟ้า (Hot air oven)
- 1.4 เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 1.5 โถดูดความชื้น
- 1.6 กระจกบดวงสาร ขนาด 100 มิลลิเมตร

## 2. สารเคมี

- 2.1 พีโตรเลียมอีเทอร์

## 3. วิธีการ

วิธีการหาปริมาณไขมัน โดยใช้เครื่องสกัดไขมัน รุ่น B-811 แบบ Soxhlet Standard มีขั้นตอนการทำงานของเครื่อง 3 Step ดังนี้

Step 1 Extraction คือขั้นตอนการสกัด

Step 2 Rinsing คือขั้นตอนการชะล้าง ซึ่งเป็นการชะล้างไขมันลงเก็บไว้ในบีกเกอร์

Step 3 Drying คือ ขั้นตอนการทำแห้ง โดยจะได้ solvent ขึ้นไปเก็บไว้ใน sample tube จะเหลือแต่ไขมันในบีกเกอร์

3.1 อบแห้งบีกเกอร์สำหรับรองรับไขมันที่จะสกัด แล้วชั่งน้ำหนักบันทึกไว้

3.2 บดตัวอย่างอาหารให้ละเอียดแล้วชั่งสารตัวอย่าง โดยใช้ปริมาณ ดังนี้

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

3.3 ห่อสารตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง แล้วใส่ลงใน Extraction thimble แล้วนำเข้าประกอบในเครื่อง จากนั้นกด thimble ให้ลงในตำแหน่งที่พร้อมจะสกัด

3.4 เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในบีกเกอร์ ๑ ละ 120-140 มล. แล้วนำเข้าไปประกอบในเครื่อง และยก heating element (เตาต่าง) ขึ้น

3.5 เช็ตเครื่อง โดยมีโปรแกรม ดังนี้

(1) กด Select แล้วกด ▲ หรือ ▼ เพื่อเลื่อนหา method ที่ต้องการ ในที่นี้ใช้ Soxhlet standard

(2) ต่อไปกด ► ตัวเลขในช่อง Step จะกระพริบให้กด ▲ หรือ ▼ เป็น

Step 1

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

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

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

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

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

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

(9) เมื่อตั้งโปรแกรมเสร็จเรียบร้อยแล้วให้กด Select แล้วกด Start เครื่องจะทำงานอัตโนมัติ จนหมดเวลา เครื่องจะหยุดทำงาน

(10) จากนั้นนำปิโตรเลียมอีเทอร์ออกจากเครื่อง โดยกด Stop แล้วกด Solvent เพื่อเก็บปิโตรเลียมอีเทอร์มาใช้ในคราวต่อไป

(11) นำบีกเกอร์ที่มีไขมัน ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นานประมาณ 2-3 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น

(12) นำบีกเกอร์ดังกล่าวมาชั่งน้ำหนักแล้วคำนวณหาค่า ไขมัน

#### 4. การคำนวณ

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

A = นน. บีกเกอร์ก่อนทำการสกัด

B = นน. บีกเกอร์หลังทำการสกัด

C = นน. ตัวอย่าง

หมายเหตุ : ก่อนการใช้เครื่องสกัดไขมัน รุ่น B-811 ควรเปิด Cooling จนอุณหภูมิ 10-15 องศาเซลเซียส

หมายเหตุ : ตัวอย่างที่สกัดไขมันแล้ว สามารถเก็บไว้วิเคราะห์หาปริมาณเชื้อไขได้



## การวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใย

เยื่อใย คือส่วนของคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ยาก ซึ่งมักเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช เช่น เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส สำหรับขั้นตอนและวิธีการหาปริมาณเยื่อใย มีดังนี้

### 1. เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1.1 เครื่องสกัดเยื่อใย
- 1.2 เตาให้ความร้อนแบบสองหัว
- 1.3 เครื่องชั่ง
- 1.4 เตาเผา
- 1.5 ตู้อบไฟฟ้า
- 1.6 โถดูดความชื้น
- 1.7 Glass crucible

### 2. สารเคมี

- 2.1 กรดซัลฟูริก เข้มข้นร้อยละ 1.25
- 2.2 ค่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 1.25
- 2.3 N-Octanol
- 2.4 อะซิโตน

### 3. วิธีการ

3.1 บดตัวอย่างให้ละเอียด ให้ได้ขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร จากนั้นอบให้แห้งที่อุณหภูมิประมาณ 105–110 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง (ถ้าตัวอย่างมีไขมันเกิน ร้อยละ 5-10 ควรทำการสกัดไขมันออกก่อน)

3.2 นำ Glass crucible เตาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก บันทึกผลไว้ ชั่งสารตัวอย่างประมาณ 1 กรัม แล้วใส่ลงใน Glass crucible

3.3 นำ Glass crucible ประกอบเข้ากับเครื่องสกัดไขมัน เปิดเครื่องสกัด พร้อมเปิดน้ำหล่อเย็น

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

3.5 เปิดสวิทช์ เครื่องดูดสุญญากาศ แล้วเปิดวาล์ว เพื่อถ่ายกรดออกจากตัวอย่าง ล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง ๆ ละ 30 มิลลิลิตร แล้วถ่ายออก

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

3.7 ถ่ายออกล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง ๆ ละ 30 มิลลิลิตร แล้วล้างด้วยน้ำเย็น 1 ครั้ง

3.8 ล้างด้วยอะซิโตน 3 ครั้ง ๆ ละ 25 มิลลิลิตร

3.9 นำ Glass crucible ไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส นาน 1-2 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก นำไปคำนวณกับค่าน้ำหนักเริ่มต้น จะได้ไฟเบอร์ที่มีเส้นใยอยู่ด้วย

3.10 ถ้าต้องการทราบน้ำหนักถ้ำให้นำไปเผาในเตาเผา ที่อุณหภูมิ 500 – 550 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น

3.11 นำมาชั่งน้ำหนัก เผาซ้ำอีกครั้ง ๆ ละประมาณ 30 นาที จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

#### 4. 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 - น้ำหนักถ้ำ

## ไนโตรเจนฟรีเอ็กซ์แทรก หรือคาร์โบไฮเดรต

ไนโตรเจนฟรีเอ็กซ์แทรก เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ง่าย ซึ่งได้แก่ แป้งและน้ำตาล แต่อาจมีส่วนของเฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ปนอยู่บ้าง ค่าของ ไนโตรเจนฟรีเอ็กซ์แทรก เป็นค่าที่ได้จากการคำนวณ โดยการนำค่าทั้งหมดมาหักออกจากค่าของวัตถุแห้ง ดังสูตร ต่อไปนี้

$NFE (\text{ร้อยละ}) = 100 - \text{ร้อยละความชื้น} - \text{ร้อยละเถ้า} - \text{ร้อยละโปรตีน} - \text{ร้อยละไขมัน} - \text{ร้อยละเยื่อใย}$

ตารางผนวกที่ 5 ส่วนของโภชนะในการวิเคราะห์แบบ Weende (Proximate analysis)

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

## ภาคผนวก ข

แบบสอบถาม การศึกษาลักษณะทางกายภาพและประสาทสัมผัสของปลาร้า  
พื้นเมืองทางภาคใต้จากการใช้ปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ

## ข้อมูลทั่วไป

คำชี้แจง ให้ท่านทำเครื่องหมาย ✓ ลงใน  หน้าคำตอบแต่ละข้อ และกรุณากรอกข้อความลงในช่องว่างตามความเป็นจริง

## 1. เพศ

- หญิง  
 ชาย

## 2. อายุ.....ปี

## 3. ศาสนา

- พุทธ  อิสลาม  
 คริสต์  อื่น ๆ (ระบุ).....

## 4. ระดับการ

- มัธยมศึกษา  ปริญญาตรี  
 ปริญญาโท  สูงกว่าปริญญาโท

## 5. อาชีพ

- นักเรียน/นักศึกษา  เกษตรกรรม  
 ค้าขาย/ธุรกิจ  รับราชการ  
 อื่น ๆ (ระบุ).....

## 6. รายได้เฉลี่ยต่อเดือน

- 3,500-5,000  5,001-6,500  
 6,501-8,000  8,001-9,500  
 อื่น ๆ (ระบุ).....

### ความพอใจต่อผลิตภัณฑ์

1. กรุณาบอกความพอใจต่อผลิตภัณฑ์					
ความพอใจ	รหัส 01	รหัส 02	รหัส 03	รหัส 04	รหัส 05
ชอบมาก					
ชอบปานกลาง					
ชอบเล็กน้อย					
เฉยๆ					
ไม่ชอบเล็กน้อย					
ไม่ชอบปานกลาง					
ไม่ชอบมาก					
2. กรุณาบอกความพอใจต่อสีผลิตภัณฑ์					
ความพอใจ	รหัส 01	รหัส 02	รหัส 03	รหัส 04	รหัส 05
ชอบมาก					
ชอบปานกลาง					
ชอบเล็กน้อย					
เฉยๆ					
ไม่ชอบเล็กน้อย					
ไม่ชอบปานกลาง					
ไม่ชอบมาก					
3. กรุณาบอกความพอใจต่อกลิ่นผลิตภัณฑ์					
ความพอใจ	รหัส 01	รหัส 02	รหัส 03	รหัส 04	รหัส 05
ชอบมาก					
ชอบปานกลาง					
ชอบเล็กน้อย					
เฉยๆ					
ไม่ชอบเล็กน้อย					
ไม่ชอบปานกลาง					
ไม่ชอบมาก					

4.กรณำบอกควำมพอใจต่อรศขำติผลิตภำณท์					
ควำมพอใจ	รห้ำส 01	รห้ำส 02	รห้ำส 03	รห้ำส 04	รห้ำส 05
ชอบมำก					
ชอบปานกลำง					
ชอบเล็กน้อย					
เฉยๆ					
ไม่ชอบเล็กน้อย					
ไม่ชอบปานกลำง					
ไม่ชอบมำก					
5.กรณำบอกควำมพอใจต่อควำมแน่นเนื้อผลิตภำณท์					
ควำมพอใจ	รห้ำส 01	รห้ำส 02	รห้ำส 03	รห้ำส 04	รห้ำส 05
ชอบมำก					
ชอบปานกลำง					
ชอบเล็กน้อย					
เฉยๆ					
ไม่ชอบเล็กน้อย					
ไม่ชอบปานกลำง					
ไม่ชอบมำก					
6.กรณำบอกควำมพอใจต่อควำมชอบรวมต่อผลิตภำณท์					
ควำมพอใจ	รห้ำส 01	รห้ำส 02	รห้ำส 03	รห้ำส 04	รห้ำส 05
ชอบมำก					
ชอบปานกลำง					
ชอบเล็กน้อย					
เฉยๆ					
ไม่ชอบเล็กน้อย					
ไม่ชอบปานกลำง					
ไม่ชอบมำก					

กรณำบอกควำมคิดเห็นของทำน ต่อผลิตภำณท์.....

.....

**ภาคผนวก ค**  
**การวิเคราะห์ทางสถิติ**

ตารางผนวกที่ 6 เปรียบเทียบค่าความชื้นของผลิตภัณฑ์ปลาร้าพื้นเมืองจากปลาน้ำจืดชนิดต่างๆ

Source of variation	df	SS	MS	F
Varieties	4	2.96	0.74	2.74 <sup>ns</sup>
Error	10	2.69	0.27	
Total	14	5.66		

C.V (ร้อยละ) = 9.89

ns = ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางผนวกที่ 7 เปรียบเทียบค่าโปรตีนของผลิตภัณฑ์ปลาร้าพื้นเมืองจากปลาน้ำจืดชนิดต่างๆ

Source of variation	df	SS	MS	F
Varieties	4	136.31	34.07	6.73 <sup>**</sup>
Error	10	50.63	5.06	
Total	14	186.94		

C.V(ร้อยละ) = 3.76

\*\* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางผนวกที่ 8 เปรียบเทียบค่าไขมันของผลิตภัณฑ์ปลาร้าพื้นเมืองจากปลาน้ำจืดชนิดต่างๆ

Source of variation	df	SS	MS	F
Varieties	4	403.11	100.78	56.44 <sup>**</sup>
Error	10	17.85	1.78	
Total	14	420.97		

C.V(ร้อยละ) = 10.97

\*\* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางผนวกที่ 9 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์ปลาร้าพื้นเมืองจากปลาน้ำจืดชนิดต่างๆ

Source of variation	df	SS	MS	F
Varieties	4	0.01	0.00	71.77**
Error	10	0.00	0.00	
Total	14	0.01		

C.V (ร้อยละ)= 0

\*\* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางผนวกที่ 10 เปรียบเทียบค่าเ้าของผลิตภัณฑ์ปลาร้าพื้นเมืองจากปลาน้ำจืดชนิดต่างๆ

Source of variation	df	SS	MS	F
Varieties	4	242.85	60.71	15.42**
Error	10	39.35	3.93	
Total	14	282.21		

C.V (ร้อยละ)= 7.33

\*\* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01

ตารางผนวกที่ 11 เปรียบเทียบค่าคาร์โบไฮเดรตของผลิตภัณฑ์ปลาร้าพื้นเมืองจากปลาน้ำจืดชนิดต่างๆ

Source of variation	df	SS	MS	F
Varieties	4	135.23	33.80	36.80**
Error	10	9.18	0.91	
Total	14	144.42		

C.V (ร้อยละ)= 7.86

\*\* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01



ตารางผนวกที่ 12 เปรียบเทียบการประเมินความพอใจต่อผลิตภัณฑ์ของปลาร้าพื้นเมือง  
จากปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ

Source of variation	df	SS	MS	F
Varieties	4	263.42	65.85	41.97*
Error	745	1,168.87	1.56	
Total	749	1,432.30		

C.V. (ร้อยละ) = 23.81

\* = แตกต่างทางสถิติระดับความเป็นไปได้ 0.05

ตารางผนวกที่ 13 เปรียบเทียบการประเมินความพอใจต่อผลิตภัณฑ์ปลาร้าพื้นเมือง  
จากปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ

Source of variation	df	SS	MS	F
Varieties	4	267.62	66.90	46.92*
Error	745	1,062.29	1.42	
Total	749	1,329.91		

C.V. (ร้อยละ) = 22.43

\* = แตกต่างทางสถิติระดับความเป็นไปได้ 0.05

ตารางผนวกที่ 14 เปรียบเทียบการประเมินความพอใจต่อกลิ่นผลิตภัณฑ์ปลาร้าพื้นเมือง  
จากปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ

Source of variation	df	SS	MS	F
Varieties	4	242.66	60.66	20.98*
Error	745	2,153.81	2.89	
Total	749	2,396.47		

C.V. (ร้อยละ) = 36.56

\* = แตกต่างทางสถิติระดับความเป็นไปได้ 0.05

ตารางผนวกที่ 15 เปรียบเทียบการประเมินความพอใจต่อรสชาติผลิตภัณฑ์ปลาร้าพื้นเมือง  
จากปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ

Source of variation	df	SS	MS	F
Varieties	4	401.12	100.28	49.44*
Error	745	1,510.91	2.02	
Total	749	1,912.03		

C.V. (ร้อยละ) = 28.03

\* = แตกต่างทางสถิติระดับความเป็นไปได้ 0.05

ตารางผนวกที่ 16 เปรียบเทียบการประเมินความพอใจต่อความแน่นเนื้อผลิตภัณฑ์ปลาร้าพื้นเมือง  
จากปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ

Source of variation	df	SS	MS	F
Varieties	4	189.71	47.42	25.60*
Error	745	1,380.02	1.85	
Total	749	1,569.73		

C.V. (ร้อยละ) = 27.16

\* = แตกต่างทางสถิติระดับความเป็นไปได้ 0.05

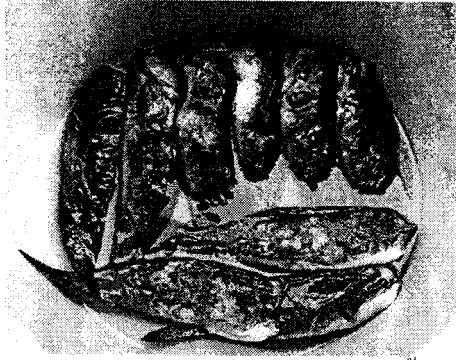
ตารางผนวกที่ 17 เปรียบเทียบการประเมินความพอใจต่อความชอบรวมผลิตภัณฑ์ปลาร้าพื้นเมือง  
จากปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ

Source of variation	df	SS	MS	F
Varieties	4	164.66	41.16	21.81*
Error	745	1,402.23	1.887	
Total	749	1,566.89		

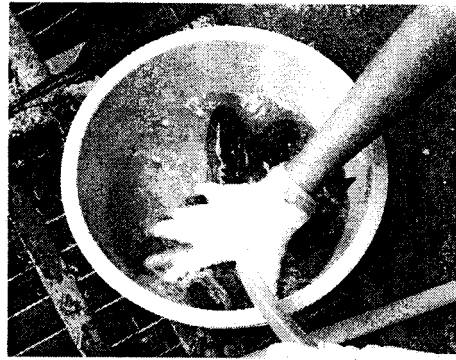
C.V. (ร้อยละ) = 26.46

\* = แตกต่างทางสถิติระดับความเป็นไปได้ 0.05

### ภาคผนวก ง



ก.ตัดหัว ขูดเกล็ด เอาเครื่องในออก แช่น้ำ 24 ชม.



ข.ล้างให้สะอาด ผึ่งให้สะเด็ดน้ำ

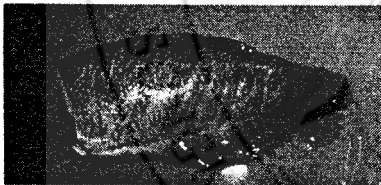


ค.คลุกเกลือและน้ำตาล หมักไว้ 1 คืน

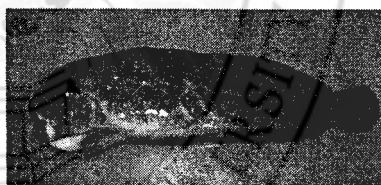


ง.นำมาตากแดดอ่อน ๆ เป็นเวลา 3 วัน

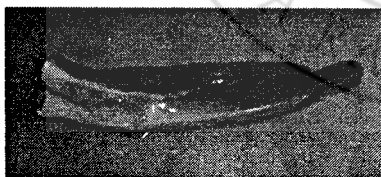
### ภาพผนวกที่ 1 กระบวนการผลิตปลาร้าพื้นเมือง



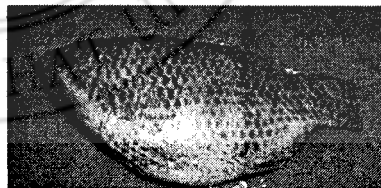
ปลาสลิด



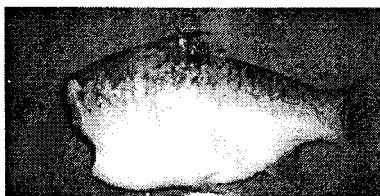
ปลาคูงูย



ปลาคูบักกูย

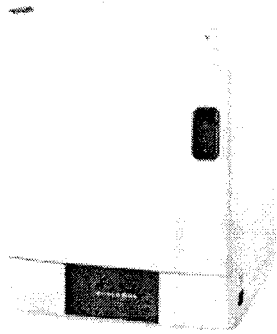


ปลานิล

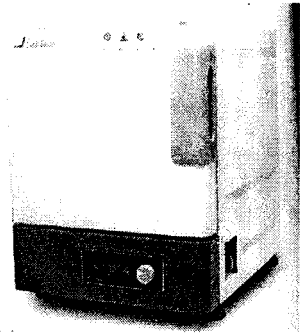


ปลาตะเพียนขาว

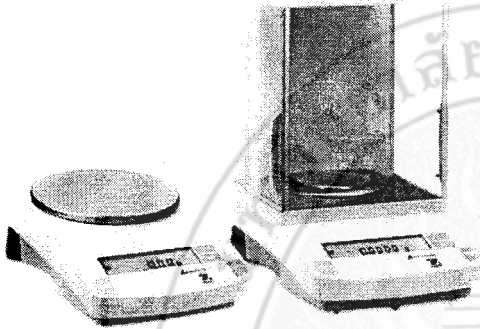
### ภาพผนวกที่ 2 ผลิตภัณฑ์ปลาร้าพื้นเมืองที่ผลิตจากปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลอง



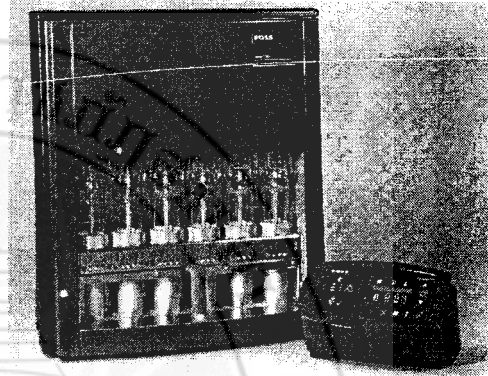
ตู้อบลมร้อน



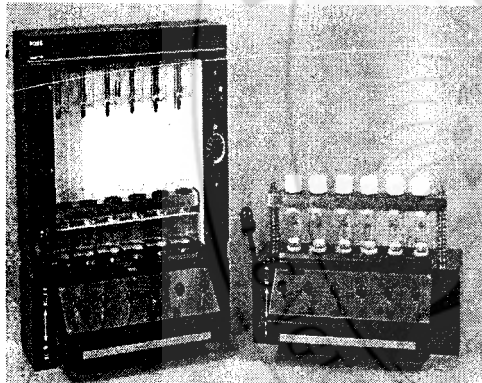
เตาเผา



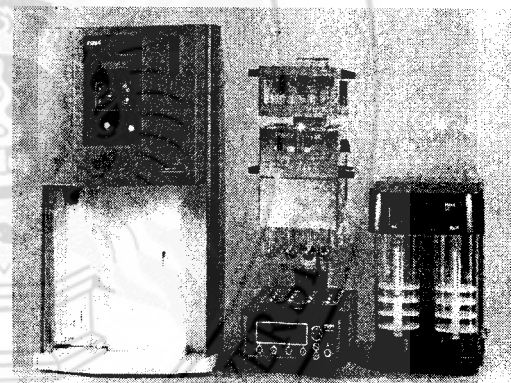
เครื่องชั่ง



เครื่องมือวิเคราะห์ไขมัน



เครื่องมือวิเคราะห์ไฟเบอร์



เครื่องมือวิเคราะห์โปรตีน

ภาพผนวกที่ 3 เครื่องมือวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ