บทที่ 5
การวิเคราะห์คุณภาพอาหาร
(Proximate Analysis)

สารอาหาร (nutrients) เป็นสารที่ถูกใช้เป็นแหล่งพลังงานของร่างกายมนุษย์และสัตว์

ในปี 1865 Henneberg และ Stohman ที่ The Weende Experiment Station ในประเทศเยอรมันได้พัฒนาการวิเคราะห์สารอาหารเหล่านี้โดยแบ่งเป็น 6 กลุ่ม ตามคุณสมบัติทางเคมี ซึ่งเรียกการวิเคราะห์นี้ว่า The Weende Analysis ซึ่งใช้วิเคราะห์มาจนถึงทุกวันนี้ ซึ่ง Proximate analysis หรือ Weende Analysis แบ่งได้ดังนี้คือ ความชื้น ไขมัน เถ้า ไนโตรเจนซึ่งเปลี่ยนเป็นโปรตีน และคาร์โบไฮเดรต โดยเฉพาะคาร์โบไฮเดรตสามารถแบ่งเป็น เส้นใยอาหารและ soluble carbohydrates หรือ สารที่ปราศจากไนโตรเจน

การวิเคราะห์คุณภาพของสารอาหารในผลิตภัณฑ์อาหารแบ่งเป็นหลายปัจจัยดังนี้คือ ความชื้น เถ้า ไขมัน โปรตีน ใยอาหาร และ คาร์โบไฮเดรต ซึ่งรวมกันเท่ากับ 100% ตลอดจนการคำนวณค่าพลังงาน การวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารได้รับการพัฒนาตลอดเวลาเพื่อผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แต่เนื่องจากว่าวิธีวิเคราะห์ต่างๆไม่สามารถตอบสนองวัตถุประสงค์ต่างๆได้ทั้งหมด นักวิเคราะห์อาหารต้องประเมินวิธีวิเคราะห์โดยดูจากวิธีที่เลือกนั้นสามารถให้ข้อมูลที่ตนสนใจ พร้อมทั้งมีความแม่นยำ (accuracy) ความเที่ยงตรง (precision) ประสิทธิภาพ ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ นักวิเคราะห์ที่เหมาะสมกับงานรวมทั้งข้อกำหนดต่างๆ ของกฎหมายอาหาร

ความชื้น (Moisture determination) เป็นตัวชี้คุณภาพอาหารที่สำคัญมากอย่างหนึ่งที่ใช้สำหรับตรวจสอบวิธีการผลิตและคุณภาพของอาหาร น้ำเป็นส่วนประกอบที่สำคัญที่สุดในระบบอาหาร น้ำมีความเกี่ยวข้องมากกับลักษณะ สี และการขนส่งอาหาร และเป็นสารประกอบที่สำคัญของปฏิกิริยาชีวเคมีในร่างกาย อีกทั้งมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ถ้าความชื้นต่ำสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ความชื้นมีผลต่อ

1. เศรษฐกิจของผู้ผลิตและผู้บริโภค

2. คุณค่าของอาหาร
3. ผลของ Browning
4. มีผลต่อการประเมินค่าของ materials, balance หรือ processing loss
5. ตารางคุณค่าของอาหาร (nutritive value)

น้ำที่เจือปนในอาหารมี 3 ชนิด คือ

1. Free water เป็นน้ำซึ่งแทรกอยู่ระหว่างช่องว่างของวัตถุดิบ อาจมีการเกาะตัวกับองค์ประกอบของอาหารบ้าง แต่แรงเกาะตัวไม่แข็งแรงมากนัก เป็นน้ำที่อยู่ใน colloidal substance และสารละลายสำหรับพวกผลึก ซึ่งเกาะเกี่ยวด้วย Van der Waals forces หรือ hydrogen bond มีคุณสมบัติเหมือนน้ำปกติ สามารถเป็นตัวทำละลายได้ มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาเคมีและจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการดำรงชีวิตได้

2. Bound water คือ น้ำที่เกาะบนผิวของcolloidal น้ำในสภาวะนี้จะระเหยช้ากว่า free water ต้องเพิ่มอุณหภูมิในการระเหยน้ำ สามารถถูกยึดเกาะได้อย่างเหนียวแน่น มีระเบียบและมีรูปทรง และจะรวมกับสารชนิดอื่นๆ ในรูปของ hydration น้ำนี้ไม่สามารถนำไปใช้เป็นตัวทำละลายได้ และเป็นน้ำที่ไม่แข็งตัว เมื่อนำอาหารไปแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิใด ๆ ดังนั้นน้ำในอาหารชนิดนี้จึงหมายถึง น้ำที่เหลืออยู่ในสภาพของเหลวขณะที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส หรือต่ำลงถึง -20 องศาเซลเซียส สำหรับอาหารแช่เยือกแข็ง (Frozen food)

3. Capillary water เป็นน้ำที่อยู่ในโครงสร้างของเนื้อเยื่อ และเมื่อโครงสร้างของเนื้อเยื่อถูกทำลาย เช่น การแช่เยือกแข็งจะทำให้มีการสูญเสียน้ำ (drip loss) เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อนั้นได้ น้ำส่วนนี้ยังคงมีคุณสมบัติไม่เหมือนกับน้ำอิสระในธรรมชาติอย่างแท้จริง จึงมักเรียกน้ำอิสระว่า "แอกทีฟวอเตอร์" (active water) ซึ่งหมายถึง น้ำที่ยังคงรักษาคุณสมบัติของน้ำอิสระไว้ได้ ถ้าองค์ประกอบของอาหารหรืออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไปนั้นก็คือมีผลต่อน้ำอิสระโดยทางอ้อม ทำให้มีปริมาณไม่คงที่ อาหารต่างชนิดกัน มีความชื้นเท่ากันจึงไม่จำเป็นต้องมีน้ำอิสระเท่ากัน

ถ้าอาหารมีน้ำอิสระมาก จะเสียได้ง่าย เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ดี การทราบปริมาณน้ำอิสระในอาหารจึงมีความจำเป็นมากในการที่จะคาดเดาได้ว่าอาหารจะเสียด้วยจุลินทรีย์

ค่ากิจกรรมของน้ำ/ ค่าแอกติวิตีของน้ำ (Water activity) (a_w) หมายถึง อัตราส่วนของความดันไอของน้ำในอาหาร (p) ต่อ ความดันไอของน้ำบริสุทธ์ (P_0)ที่จุดอิ่มตัวที่อุณหภูมิเดียวกัน หรือความชื้นสัมพัทธ์ /100

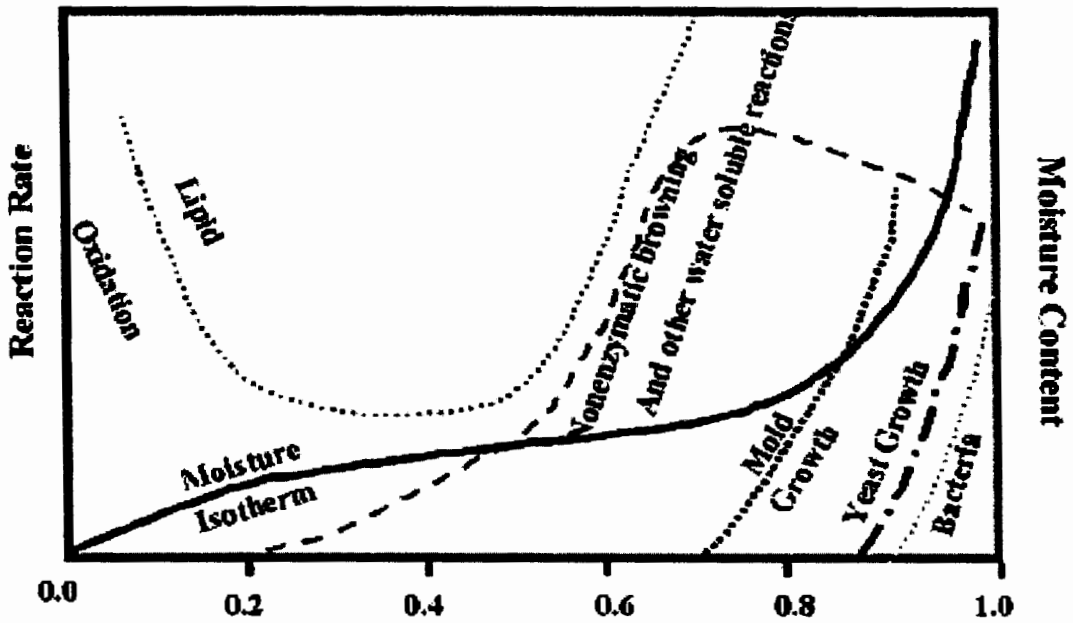
$$a_w = p/ p_0$$

a_w เป็นองค์ประกอบสำคัญต่ออาหารแห้งระหว่างการเก็บ ซึ่งปัจจุบันอาหารแห้งจะเป็นที่นิยมของผู้บริโภคเนื่องจากเก็บได้นานและปลอดภัยจากจุลินทรีย์ อาหารแห้งจะเป็นอาหารที่สะดวกและลดค่าใช้จ่ายในการขนส่งเนื่องจากใช้พื้นที่น้อยกว่าอาหารสด นอกจากนี้ยังทำให้เกิดความคงตัวของโครงสร้าง ความหนาแน่น ลักษณะ และค่าการคืนตัวของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ค่า water activity ยังมีผลต่อความกรอบของผลิตภัณฑ์จากธัญพืช เช่น cracker, potato chips, puffed corn curls และ popcorn ค่า water activity จะมีอิทธิพลต่อปฏิกิริยา non-enzymatic browning, Lipid oxidation, degradation of vitamins, enzymatic reaction และ protein denaturation ถ้าลดค่า a_w จะลดการเกิด browning reaction และ lipid oxidation สำหรับปฏิกิริยา lipid oxidation จะต่ำสุดเมื่อค่า a_w อยู่ระหว่างกลาง แต่จะเพิ่มมากเมื่อค่า a_w มีค่าสูงและค่าต่ำ ซึ่งการสลายตัวมีผลต่อกลิ่นและรสของผลิตภัณฑ์ เมื่อค่า a_w เพิ่มทำให้ water soluble vitamin เสียสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย

ความรู้จากค่า water activity จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการหาปริมาณความชื้น การผลิต การขนส่ง และการเก็บผลิตภัณฑ์การวิเคราะห์ความชื้นสามารถวิเคราะห์เฉพาะ free water ส่วนน้ำที่ไม่สามารถแยกออก (bound water) จากอาหารได้ยากเนื่องจากเกาะติดกับอาหาร เช่น โปรตีน หรือคาร์โบไฮเดรต เช่น ถั่วชนิดต่างๆ ธัญพืช

Raoult's law

กล่าวว่า ตัวถูกละลายจะลดความดันไอของน้ำในอาหาร มีผลทำให้ค่า a_w ลดลงด้วย อาหารทุกชนิดมีน้ำเป็นส่วนประกอบ สถานภาพของน้ำในอาหารอธิบายโดยอาศัยความสัมพันธ์ระหว่าง ความชื้นในอาหารกับความสัมพันธ์ของอากาศที่อยู่รอบๆ อาหารนั้น อัตราส่วนของตัวเลขทั้งสองนี้เป็นค่า a_w



ภาพที่ 5.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นและจุลินทรีย์
ที่มา : Lab Cat (2006)

การแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความชื้น และค่ากิจกรรมของน้ำออกมาเป็นกราฟเรียกว่า กราฟซอบชันไอโซเธอร์มของความชื้น (moisture sorption isoterm) ถ้าอาหารมีความชื้นน้อยจะดูดความชื้นจากอากาศเรียก adsorption isotherm ถ้าอาหารมีความชื้นมากจะสูญเสียความชื้นแก่อากาศเรียก desorption isotherm น้ำที่มีค่าแอกติวิตีสูงสุด ได้แก่ น้ำบริสุทธิ์และเมื่อมีชีวสารปนอยู่ในน้ำ จะทำให้ค่าแอกติวิตีของน้ำในอาหารลดลง น้ำในอาหารทำให้เกิดความดันไอ ซึ่งความดันไอที่เกิดขึ้นจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับ

1. ปริมาณน้ำที่มีอยู่ในอาหาร
2. อุณหภูมิ เนื่องจากอุณหภูมิมีผลโดยตรงต่อการยึดเกาะ การเกิดพันธะ และการละลายของน้ำและโมเลกุลหรืออนุภาคต่างๆในอาหาร ดังนั้นเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนก็จะมีผลต่อค่า a_w ของอาหารด้วย
3. ความเข้มข้นของตัวถูกละลายอยู่ในน้ำ เช่น เกลือและน้ำตาล

อาหารที่มีความชื้นสูง หรือมีปริมาณน้ำมากกว่าส่วนที่เป็นของแข็ง จะมีค่า a_w เท่ากับ 1.0 และเมื่ออาหารมีความชื้นต่ำลง หรือ มีปริมาณน้ำน้อยกว่าส่วนที่เป็นของแข็ง ค่า a_w จะลดลงต่ำกว่า 1.0

การวัดค่ากิจกรรมของน้ำ

การวัดค่า a_w สามารถทำได้หลายวิธี วิธีหนึ่งได้แก่การวัดความชื้นสัมพัทธ์ของบรรยากาศในเซลล์ปิดที่ภายในบรรจุตัวอย่างอาหารอยู่ เครื่องมือที่ออกแบบมาเพื่อใช้วัดค่า a_w จะอาศัยหลักการประเมินคุณสมบัติฟิสิกส์ของโมเลกุลน้ำหนึ่งในสามประการต่อไปนี้คือจุดน้ำค้าง การลดลงของอุณหภูมิกระเปาะเปียกและความจุไฟฟ้า ซึ่งแต่ละคุณสมบัติมีทั้งข้อดีและข้อเสีย

ประโยชน์ของ Water Activity

ค่ากิจกรรมของน้ำ (a_w) เป็นน้ำส่วนที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ การเสื่อมเสียและการเน่าเสียของอาหาร ดั้งนั้น น้ำอิสระ หรือ ค่า a_w นี้จึงเป็นปริมาณน้ำหรือค่าที่มีความสำคัญและต้องคำนึงถึงในการถนอมและแปรรูปอาหารด้วยการทำแห้ง ซึ่ง ค่า a_w นี้จะมีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1.0 โดยค่า a_w ของอาหารนั้นเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีบทบาทต่อความคงตัวของอาหาร โดยจะมีความสัมพันธ์กับอัตราเร็วของปฏิกิริยาต่างๆ ในอาหารที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ การเสื่อมเสียและการเน่าเสียของอาหาร

นอกจากนี้ ปริมาณน้ำอิสระยังเพียงพอและเหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมคุณภาพของอาหาร เช่น การเกิดสีน้ำตาลของผักผลไม้โดยการทำงานของเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) เป็นต้น
ยิ่งไปกว่านั้นที่ระดับต่ำ a_w สูงๆ ยังทำให้มีปริมาณน้ำอิสระเพียงพอแก่การเกิดปฏิกิริยาเคมีต่างๆ เช่น การเกิดน้ำตาลในอาหารโดยไม่อาศัยเอนไซม์ การเกิดออกซิเดชันของไขมันที่ทำให้เกิดกลิ่นหืนในอาหาร เป็นต้น

วิธีวิเคราะห์ความชื้นในอาหารมีหลายวิธี คือ

Drying method (oven drying, vacuum oven drying, freeze drying), infrared drying, microwave drying, distillation, chemical assays, physical procedures refractometry, conductivity, specific gravity) chemical reaction การวิเคราะห์ค่าความชื้นในผลิตภัณฑ์อาหารต้องเตรียมอย่างรวดเร็วเพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำ เพื่อป้องกันความผิดพลาดควรใช้ตัวอย่างอาหารที่มากพอ ผสมให้เข้ากัน สารตัวอย่างควรเก็บในภาชนะบรรจุที่กันความชื้น และถ้าไม่ได้วิเคราะห์ทันทีควรเก็บในตู้เย็น

Drying method วิธีอาศัยความร้อนทำให้น้ำระเหยออกจากวัตถุดิบและคำนวณน้ำหนักที่ลดลง อุณหภูมิที่ทำให้ร้อนคือ 70-155 องศาเซลเซียสและสามารถสูงถึง 365 องศาเซลเซียส

Air Oven Method ตู้อบที่ดีควรจะมีอุณหภูมิสม่ำเสมอไม่ต่างกัน $\pm$ 0.5 องศาเซลเซียส หรือน้อยกว่า อุณหภูมิภายใน oven ควรปรับให้สม่ำเสมอโดย Mechanical circulation

Vacuum Oven Methods อัตราการทำแห้งขึ้นกับการลด vapour pressure ในอากาศโดยระบบสุญญากาศ (Vacuum) ปรกติจะใช้ pressure ระหว่าง 25 - 50 นิ้วปรอทต้องไม่ต่ำกว่า 22 นิ้วปรอท

วิธีวิเคราะห์ความชื้นทางเคมี

1. Karl Fisher method วิธีนี้เหมาะกับตัวอย่างอาหารที่มี ความชื้นต่ำ เช่น กาแฟ ผลไม้แห้ง ช็อคโกแลต และข้อดีของวิธีนี้คือสามารถวิเคราะห์ในอาหารที่มีน้ำตาลสูง (หวานมาก) เช่น น้ำผึ้ง อาหารที่มี reducing sugar สูง โปรตีนสูงและสามารถใช้กับ intermediate moisture levels เช่น bakery doughs, baked products, fat-rich cake mixes และอาหารที่มี high volatile oil วิธีนี้ไม่เหมาะที่จะวิเคราะห์อาหารที่มีน้ำผสมอยู่แบบไม่สม่ำเสมอ และตัวอย่างที่มีน้ำมาก เช่น ผลไม้สด

Karl Fisher method เป็นวิธีวิเคราะห์ความชื้นที่คิดค้นโดย Bunsen (1853) เป็นวิธี reduction ของ Iodine โดยมี sulfur dioxide และน้ำอยู่ด้วย

$$2H_2O + SO_2 + I_2 \dashrightarrow H_2SO_4 + 2\,HI$$

Karl Fisher (1935) ได้ปรับปรุงให้วิเคราะห์ขั้นปริมาณได้ (Quantitative analysis) โดยใช้ methanol และ pyridine ละลาย iodine และ sulfur dioxide

$$C_5H_5N.\,I_2 + C_5H_5N.\,SO_2 + C_5H_5N + H_2O \dashrightarrow 2C_5H_5N.\,HI + C_5H_5N.\,SO_3$$

$$C_5H_5N.\,SO_3 + C_5H_3OH \dashrightarrow C_5H_5N(H)SO_4CH_3$$

ในการไทเทรดต้องเติม iodine และ sulfur dioxide ลงในตัวอย่างอาหารที่มีความชื้น iodine ที่ excess จะทำปฏิกิริยากับน้ำในรูป free form โดยมี methylene blue เป็น indicator ซึ่ง end point จะเป็นสีเขียว

2. ทำปฏิกิริยากับ calcium carbide น้ำจะทำปฏิกิริยากับ calcium carbide ได้ acetylene ปริมาณของ acetylene วัดได้โดยน้ำหนักของส่วนผสมที่หายไป ความดันหรือ Gas ที่ผลิตขึ้น

วิเคราะห์โดยวิธีเคมีอื่น ๆ

1. Infrared drying จะให้ประสิทธิภาพสูงกว่า ซึ่งจะลดเวลาการทำให้แห้งประมาณ 12-33 %

2. Dessication โดยใช้ evacuated dessicator เช่น Sulfuric acid ปูนขาวที่เผาใหม่ ๆ Phosphorus pentoxide ,Calcium carbide การใช้ระบบสุญญากาศควรทำที่อุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส

Distillation Methods การหาความชื้นโดยวิธีกลั่นเป็นวิธีที่ปฏิบัติกันมาเกือบ 100 ปี มี 2 วิธี

1. กลั่นจากของเหลวที่ไม่รวมตัวกันที่จุดเดือดสูงสุด เช่น น้ำมันผสมกับน้ำ
2. กลั่นจากสารละลายของน้ำกับตัวทำละลาย เช่น xylene, toluene

วิธีกลั่นจะทำให้คุณภาพของอาหารสูญเสียน้อยกว่าวิธีอื่น Solvent ที่ใช้คือ xylene, toluene

Toluene Distillation

นิยมใช้วิเคราะห์ความชื้นของอาหารที่ค่อนข้างชื้นมากหรือดูดความชื้นเข้าผลิตภัณฑ์ง่าย เช่น นมผง ผลไม้ ธัญพืช ถั่ว เครื่องเทศ เนื่องจากวิธีอื่นวิเคราะห์ได้ผลไม่ถูกต้อง เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่ดูดความชื้นได้ตลอดเวลา วิธีนี้เป็นการ reflux ด้วย toluene ซึ่งมี boiling point สูงกว่าน้ำเล็กน้อยแต่ไม่รวมตัวกับน้ำ และค่า specific gravity น้อยกว่าน้ำเล็กน้อยการที่ toluene มี จุดเดือดสูงกว่า 110 องศาเซลเซียส ซึ่งจะช่วยดึงน้ำออกจากผลิตภัณฑ์ได้โดยดึง toluene ให้เดือดช้าลง

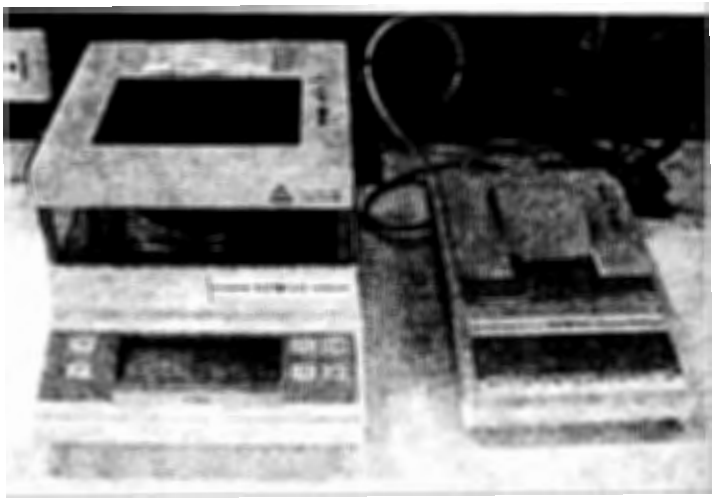
Physical Method

Infrared Determination เป็นวิธีวิเคราะห์น้ำโดยวัดที่ Wavelength ที่ดูดกลืนโมเลกุลของน้ำ ช่วงคลื่นที่ใช้มากที่สุด คือ 3.0 และ 1.6 μm เช่น เมล็ดพืชวัดที่ 0.7-2.4 μm หลักการคือ ชั่ง Sample 2 กรัม กับ carbon tetrachloride ใส่ใน cell

ตัวอย่าง 5.1 ปริมาณน้ำใน wheat, soybean, wheat flour และ wheat bran จะวัดในช่วง 1.94 และ 2.08 μm

Gas Chromatography Method

1. ต้องมีวิธีที่แยกสกัดน้ำจากสารตัวอย่างที่มีประสิทธิภาพสูง
2. สารที่สกัดได้ต้องไม่มี Chromatogram ของน้ำวิธีนี้เป็นวิธีที่วิเคราะห์ความชื้นในอาหารที่มีความชื้นจาก 8-65%



ภาพที่ 5.2 เครื่องวิเคราะห์ความชื้นแบบอินฟาเรด
ที่มา : เครื่องมือปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

การวิเคราะห์เถ้า (Ash)

เถ้าของอาหาร (total ash) หมายถึง สารประกอบอนินทรีย์ที่เหลืออยู่หลังจากที่เผาอาหารที่อุณหภูมิสูงจนกระทั่งสารประกอบอินทรีย์ถูกเผาไหม้สลายตัวหมดแล้ว ปริมาณเถ้าที่ได้ไม่จำเป็นต้องมีแร่ธาตุเท่ากับจำนวนสารประกอบอนินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหารเสมอไป เนื่องจากแร่ธาตุบางชนิดอาจระเหยไประหว่างเวลาการเผา ค่าของเถ้าที่วิเคราะห์ได้สามารถบอกถึงคุณภาพของอาหาร ถ้าค่าของเถ้าที่สูงกว่าปกติก็หมายถึงอาจมีการปลอมปนสารอื่นเข้ามาในอาหารนั้น เช่น ทราย แร่ธาตุภายในเถ้าประกอบด้วยโซเดียม, โปแตสเซียม, แคลเซียม และแมกนีเซียม ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่มีในปริมาณมาก ส่วนเหล็ก อลูมิเนียม ทองแดง แมงกานีส และสังกะสีจะมีอยู่ในปริมาณน้อย

Ash contents

Dairy contain ash 0.5-1.0%

Evaporate milk contain ash 1.5%

Nonfat dry milk 8%

Fresh fruits 0.2-0.8%

Ash inversely related moisture content

Dry ashing ที่ 550 องศาเซลเซียส ให้ผลที่ถูกต้องในการวิเคราะห์ antimony, chromium, cobalt, iron, molybdenum, strontium, zinc and lead ควรอบที่ 450 องศาเซลเซียส ถ้ามีฤทธิ์เป็นด่าง สามารถวิเคราะห์ปริมาณเถ้าโดยนำเถ้าไปละลายน้ำแล้ว titrate กับกรดที่รู้ปริมาณแน่นอนซึ่งจะรู้ค่า alkalinity of the total ash

% Ash = 100 - (%ความชื้น + %โปรตีน + %ไขมัน+ %คาร์โบไฮเดรต)

$$\% \text{ เถ้าในสารตัวอย่าง} = \frac{\text{นน.เถ้า} \times 100}{\text{นน.ตัวอย่าง}}$$

เกลือแร่ต่าง ๆ

เกลือแร่ต่าง ๆ ซึ่งรวมกันเป็น ash จะเกิดขึ้นเป็นสัดส่วน ต่างๆ ของอาหาร เช่น calcium จะมีปริมาณสูงในอาหาร นม, ปลา , ไข่ และพวกถั่ว การวิเคราะห์ค่า ash ให้ถูกต้องควรจะเลือกอุณหภูมิ เช่น antimony, chromium, cobalt iron, molybdenum, strontium , zinc and Lead ควรใช้ที่ 450 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์เกลือแร่ทำโดย ashing และละลาย ash (เถ้า) ในกรด และหาปริมาณโดยทางเคมีหรือเครื่องมือ ซึ่งสะดวก, รวดเร็วและมีค่าที่แน่นอนเช่น atomic absorption spectroscopy เถ้ามีฤทธิ์เป็นด่าง สามารถวิเคราะห์ปริมาณของเถ้า นำเถ้าไปละลายน้ำแล้ว titrate กับกรดที่รู้ความเข้มข้นแน่นอนและคำนวณกลับ เราก็ทราบ alkalinity of the total ash

อาหารที่มี phosphorus สูง เช่น ผลิตภัณฑ์นม, เมล็ดพืช, ถั่ว, เนื้อปลา, สัตว์ปีก, ไข่ อาหารนอกเหนือจากที่กล่าวมาจะมีปริมาณ phosphorus ต่ำ

ธาตุเหล็กจะมีมากในอาหารพวกเมล็ดพืช,แป้ง, พวกเบเกอรี่, ถั่ว, เนื้อ, สัตว์ปีก, อาหารทะเล, ปลา, หอย, ไข่ ถ้าในอาหารพวกผลิตภัณฑ์นม, ผลไม้, ผัก จะมีธาตุเหล็กน้อย

Magnesium พบมากในถั่ว, แป้ง, ผัก, ผลไม้บางชนิด และเนื้อ

Copper พบมากในอาหารทะเล, ตับ, อาหารแป้ง, ผัก

Sulfur มีมากในอาหารโปรตีน, ผัก

Cobalt มีมากในผัก, ผลไม้

Zinc ในอาหารทะเล

การวิเคราะห์ Ash แบ่งเป็น 2 ชนิด

1. Dry Ashing โดยชั่งสารตัวอย่างใน dish และเผาจนปราศจากควัน นำไปเผาในเตาเผาต่อ จนกว่าตัวอย่างปราศจากคาร์บอน ทำให้เย็นใน Dessicator และนำไปชั่ง Dry ashing ให้วิเคราะห์ total minerals, water-insoluble and acid-insoluble ash

2. Wet Ashing (wet digestion) วิธีนี้ใช้ย่อยสารตัวอย่างที่มี สารปนเปื้อนน้อย ใช้วิเคราะห์พวกโลหะที่เป็นสารพิษใช้ตัวทำละลายตัวเดียวก็ได้แต่การย่อยไม่สมบูรณ์แบบจึงนิยมใช้ตัวทำละลายผสม เช่น sulfuric acid และ hydrogen peroxide, sulfuric acid และ nitric acid

นอกจากนี้ยังสามารถแบ่งเป็นลักษณะการละลายดังนี้คือ

1. เถ้าที่ละลายน้ำได้ (water soluble ash) ใช้วิเคราะห์ปริมาณเถ้าที่สามารถละลายน้ำได้

การวิเคราะห์ปริมาณเถ้าทั้งหมด

1.1 ชั่งตัวอย่างอาหารให้มีน้ำหนักแน่นอนที่บดละเอียดแล้วประมาณ 2-4 กรัม ถ้าตัวอย่างเป็นของเหลวต้องนำไประเหยให้แห้งก่อนนำมาเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิประมาณ 550 องศาเซลเซียส

1.2 เผาจนกระทั่งเป็นเถ้าสีขาว และเก็บในโถดูดความชื้นจนเย็นชั่งน้ำหนักเถ้า คือ ปริมาณเถ้าทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณเถ้าที่ละลายน้ำได้ (water soluble ash)

1.3 นำปริมาณเถ้าทั้งหมดที่จากข้อ 1.2 เติมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร นำไปต้มบนหม้ออังไอน้ำประมาณ 5 นาที กรองผ่านกระดาษกรองชนิดไม่มีเถ้า

1.4 ล้างตะกอนด้วยน้ำร้อน นำไปเผาในเตาเผาที่ 550 องศาเซลเซียส เมื่อได้เถ้าสีขาวแล้วนำไปใส่ในโถดูดความชื้น นำไปชั่งน้ำหนัก ส่วนของเหลวที่ได้จากการกรองเก็บไว้วิเคราะห์ต่อไป

1.5 คำนวณหาปริมาณเถ้าที่ละลายน้ำ

% เถ้าที่ละลายน้ำได้ = % เถ้าทั้งหมด - % เถ้าที่ไม่ละลายน้ำ

2. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้าที่ละลายในด่าง (alkalinity of the soluble ash)

นำของเหลวจากข้อ 1.4 ไทเทรตกับสารละลายกรดที่รู้ความเข้มข้นที่แน่นอน เช่น กรดกำมะถัน หรือกรดเกลือ ความเข้มข้น 0.1 N โดยใช้ methyl orange เป็น indicator

3. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid insoluble ash)

3.1 โดยนำเถ้าทั้งหมดจากข้อ 1.2 เติมกรดเกลือเข้มข้น 10% (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) จำนวน 25 มิลลิลิตร

3.2 ต้มในหม้ออังไอน้ำ กรองผ่านกระดาษกรองชนิดปราศจากเถ้า แล้วล้างตะกอนด้วยน้ำร้อน

3.3 นำตะกอนพร้อมกระดาษกรองไปเผาในเตาเผาให้เป็นเถ้าอีกครั้งทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักเถ้าที่ได้

3.4 คำนวณหาปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายกรด

% เถ้าที่ไม่ละลายน้ำ = %เถ้าทั้งหมด - %เถ้าที่ละลายในกรด

อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์เถ้า

การเลือก ashing dishes ขึ้นกับอาหารชนิดต่างๆ วัตถุที่ใช้ได้แก่ quartz, Vycor, porcelain, steel, nickel, platinum and good platinum alloy

Quartz dishes ด้านในจะเรียบ และทนทานต่อ halogen substances ทนกรด และทนความร้อนสูงถึง 1100 องศาเซลเซียส ควรทำความสะอาดด้วย hot dilute HCl

Porcelain dishes คล้าย quartz ทางด้านคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ ทนความร้อนสูงถึง 1,200 องศาเซลเซียส ด้านในมีผิวเรียบและทำความสะอาดง่ายๆ ด้วย dilute HCl นิยมใช้เพราะน้ำหนักคงที่และราคาถูกแต่ไม่ทนด่าง และแตกเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงมาก ซึ่งทำให้เกิดปัญหาในการใช้

Platinum crucible ใช้มากที่สุด แต่ราคาสูงมาก มี MP สูงมากคือ 1,773 องศาเซลเซียส heat conductivity ดี ทนทานต่อสารเคมีสามารถเกิดสนิมได้โดยเกิดจาก reduction ของโลหะออกไซด์ของดีบุก และตะกั่ว

Crucible ชนิดอื่น เช่น Zirconium ทนทานต่อสารเคมีต่าง ๆ

การวิเคราะห์ไขมัน

ไขมันเป็นหนึ่งในส่วนประกอบหลักที่พบในอาหารเกือบทุกประเภท ซึ่งจะมากหรือน้อยขึ้นกับชนิดของอาหาร เช่น นม เนื้อสัตว์ ธัญพืช และผลิตภัณฑ์อาหารที่แปรรูปแล้ว ไขมันประกอบด้วยธาตุคาร์บอน, ไฮโดรเจน และออกซิเจน และบางครั้งมีธาตุอื่นๆเป็นองค์ประกอบ เช่น ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส

ไขมันมี 3 สถานะ

1. น้ำมัน (oil) คือสารประกอบประเภทไขมันเมื่ออยู่ในสภาพของเหลวที่อุณหภูมิปกติ ได้แก่ น้ำมันมะพร้าว, น้ำมันรำ

2. ไขมัน (fat) คือไขมันที่อยู่ในสภาพครึ่งเหลวที่อุณหภูมิปกติเรียกว่า ได้แก่ไขมันจากสัตว์

3. ไข (wax) คือไขมันที่เป็นของแข็งที่อุณหภูมิปกติ เช่นไขผึ้ง

ไขมันมีหน้าที่สำคัญในอาหาร 3 ประการ

1. Culinary
2. Physiological
3. Nutritional

ไขมันเป็นแหล่งของกลิ่นและรสชาติอาหารทำให้อาหารอร่อย เช่น เนื้อมีรสชาตินุ่ม อาหารอบต่างๆ และเป็น texture ของไอสครีม ถ้ายิ่งมีความมันมากยิ่งอร่อย ไขมันมีหน้าที่ช่วย heat transfer ซึ่งจะทำให้การทอดเร็วขึ้น ไขมันมีพลังงานความร้อนสูงเป็น 2 เท่าของน้ำตาล ไขมันที่รับประทานได้จะมี essential linoleic acid ซึ่งเป็นโครงสร้างและหน้าที่ต่างๆ ของเนื้อสัตว์และประกอบด้วย essential fat-soluble vitamins

ไขมันคืออาหารที่ไม่ละลายน้ำสามารถละลายใน organic solvents เช่น ether, acetone, benzene และ chloroform สามารถใช้ได้ทั้ง lipids, fat and oil ไขมันส่วนใหญ่จะประกอบไปด้วย fatty acids แต่บางชนิดไม่มี เช่น carotenoids, squalene อาหารประกอบด้วยไขมันในอัตราส่วนที่ไม่เท่ากัน เช่น shorting และ vegetable มี fat 100% และ margarine มี 81%

การสกัดไขมันควรใช้ตัวทำละลายอินทรีย์มากกว่า 1 ชนิดที่จะสกัดไขมันในอาหารออกมาให้หมด เพราะไขมันแต่ละชนิดมีขั้ว (polarity) ต่างกัน การสกัดไขมันที่มีขั้ว เช่น

แอลกอฮอล์ ส่วนที่สกัดได้จะมี bound lipid ปนอยู่ด้วย bound lipid ถูกทำให้สลายตัวได้โดยไฮโดรไลซิส หรือใช้ปฏิกิริยาทางเคมีให้กลายเป็น free lipid

ดังนั้นปริมาณของ lipid ในอาหารที่สกัดออกมาได้จึงขึ้นอยู่กับวิธีการสกัดที่ใช้

สารที่ถูกสกัดได้แบ่งเป็น 2 ประเภทคือ

1. สารพวกไขมัน คือกลีเซอไรด์ของกรดไขมัน. กรดไขมันอิสระ (free fatty acid), สเตอรอล (sterols), monoacylglycerols, phospholipids และไขมันที่ระเหยได้

2. สารพวกที่ไม่ใช่ไขมัน แต่ตัวทำละลายสกัดออกมาได้ด้วยคือ เม็ดสีต่างๆ เรซิน สารประกอบพวกอัลคาไล และพวกวิตามินที่ละลายในไขมัน ได้แก่ A D E และ K เนื่องจากสารที่ไม่ใช่ไขมันนี้มีปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับสารพวกไขมัน ดังนั้นสารพวกที่ไม่ใช่ไขมันจึงไม่มีผลต่อการวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

การวิเคราะห์ไขมันขึ้นกับ

1. วิธีสกัดไขมันออกจากตัวอย่าง
2. การวิเคราะห์ขึ้นกับคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของไขมัน

ความชื้นเป็น factor สำคัญในการสกัดไขมัน เฉพาะไขมันที่มีความชื้นเท่านั้นที่สกัดด้วย ether เนื้อเยื่อที่มีความชื้นสูงจะสกัดไขมันออกมากกว่าเนื้อเยื่อที่มีความชื้นต่ำ

ตัวทำละลายสำหรับวิเคราะห์ไขมัน ได้แก่

Ethyl ether and Petroleum ether

Ethyl ether จะสกัดไขมันได้ดีกว่า petroleum ether แต่ราคาแพงกว่าและระเบิดง่ายกว่า

Hexane

Isopropyl ether

วิธีสกัดไขมันมีหลายวิธี

1. การวิเคราะห์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น Soxhlet Method เป็นวิธีใน AOAC ที่นิยมใช้กันมาก
2. การวิเคราะห์ด้วยสารเคมีชนิดอื่นๆ
   - 2.1 Babcock Method
   - 2.2 Gerber Method

2.3 Mojonier Method

3. การใช้เครื่องมือ

1. การวิเคราะห์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

1.1 Soxhlet Method คิดค้นโดยศาสตราจารย์ Franz V. Soxhlet จากเมือง Munich ประเทศเยอรมัน จะใช้ Soxhlet apparatus สำหรับสกัดไขมัน ซึ่งเป็นวิธีที่เป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานสากล เช่น ISO, ASTM, AOAC, AACC เป็นต้น

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งสารตัวอย่าง 2 กรัมที่ผ่านการไล่ความชื้นจนคงที่ ลงใน thimble (ซึ่งมี 2 ชนิด คือชนิดกระดาษและชนิดแก้ว) ปิดข้างบนด้วย defatted cotton wool (soaking in ether)

2. อบถ้วยที่ต้องใช้วิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักถ้วย

3. เติม solvent ลงใน round bottom flask ต่อกับ condenser และเริ่มให้ความร้อนกับ round bottom flask ทำการสกัด 30 นาที เก็บ solvent ไว้ใช้ในการสกัดครั้งต่อไป

4. แยก round bottom flask และ condenser ออกจากชุดสกัด

5. นำ round bottom flask ไประเหย solvent ออกเหลือแต่ไขมัน

6. ชั่งน้ำหนักไขมัน นำมาคำนวณ % ไขมันโดยเทียบกับน้ำหนักแห้งเริ่มต้น

การคำนวน

$$\% \text{ Fat} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง - น้ำหนักที่สกัดไขมันแล้ว}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

2. วิธีสกัดไขมันในอาหารสามารถใช้สารเคมีชนิดอื่น ๆ นอกจากตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น กรดซัลฟุริก หรือกรดเกลือ ได้แก่ Babcock, Gerber, Mojonier และ Detergent method

2.1 Babcock Method วิธีนี้นิยมใช้กับสารละลายนม น้ำนมจะอยู่ในรูป emulsion และล้อมด้วย protein film หรือใช้กับตัวอย่างอาหารที่เป็นของเหลวหรือกึ่งเหลว

หลักการ คือใช้กรดที่เข้มข้นย่อยโปรตีนในอาหารนม และย่อย membrane ที่ล้อมรอบเม็ดไขมัน สารละลายต้องอุ่นให้ร้อนที่ 55-60 องศาเซลเซียสและนำไป centrifuge ขณะร้อนเพื่อไล่ให้ไขมันลอยขึ้นมาที่คอขวด Babcock ซึ่งจะแสดงปริมาณไขมันเป็น % น้ำหนัก วิธีนี้ใช้เวลาตัวอย่างละ 45 นาทีซึ่งสามารถทำพร้อมกันหลายตัวอย่างในเวลาเดียวกันขึ้นกับขนาด

ของเครื่องมือ วิธีนี้มีความถูกต้องถึง 0.1% ข้อเสียวิธีนี้ไม่สามารถวิเคราะห์ปริมาณ phospholipids เนื่องจากว่าไขมันชนิดนี้อยู่ในชั้นน้ำหรืออยู่ระหว่างชั้นไขมันและชั้นน้ำ

วิธีวิเคราะห์

1. วิธีการโดยใช้นม 17.6 มิลลิลิตร ผสมกับ sulfuric acid 17.5 มิลลิลิตรซึ่งมีค่าความถ่วงจำเพาะ 1.80-1.83 ใน Babcock bottle ซึ่งออกแบบโดยเฉพาะ มีขีดบอกปริมาตรที่คอขวด
2. เขย่าขวดในเครื่อง centrifuge จนเป็นเนื้อเดียวกัน
3. นำ Babcock bottle แช่ใน water bath 55-60 องศาเซลเซียส และ centrifuge ปริมาณไขมันจะลอยขึ้นมาบนก้านขวดที่มีขีดบอกปริมาตรก็จะรู้ปริมาณของไขมันเป็น%

2.2 Gerber Method เป็นวิธีที่ใช้วิเคราะห์ไขมันในน้ำนมทั่วไปวิธีนี้คล้าย babcock ต่างกันตรงที่ใช้สารผสมของกรดซัลฟุริกเข้มข้นและ Isoamy alcohol แยกไขมันจากอาหารตัวอย่าง โดยใช้ Isoamy alcohol เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของกรดและป้องกันไม่ให้เกิดสีดำของน้ำตาลขณะให้ความร้อน ซึ่งวิธี babcock จะเกิดเมื่อใช้กรดอย่างเดียว วิธีนี้วัดปริมาณไขมันซึ่งมีตัวเลขแสดงเปอร์เซ็นต์ของไขมันอยู่ที่ก้านหลอด แต่การอ่านปริมาณไขมันจะยุ่งยากกว่า

วิธี Gerber นิยมใช้ในยุโรป แต่วิธี Babcock ใช้ในอเมริกา

วิธีวิเคราะห์

1. ดวงน้ำนม 10.9 มิลลิลิตร (11.25 กรัม) เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร (spgr. 1.82) และเติม isoamyl alcohol 1 มิลลิลิตร ใส่ใน Gerber glass butyrometer
2. ปิดจุกและเขย่าจน curd หายไป นำ butyrometer ไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 1,000 รอบต่อนาที นาน 4 นาที
3. นำขวดนี้ลงใน water bath 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ซึ่งปริมาณไขมันจะลอยขึ้นมา อ่านปริมาณไขมันเป็น %
4. ลักษณะของสารตัวอย่างขณะนี้เป็นของเหลวสีดำ ถ้ามีตะกอนบ้างแสดงว่าความเข้มข้นของกรดกำมะถันไม่พอต้องเพิ่มกรดและดำเนินการตามการทดลองตั้งแต่ข้อ 2 ลงมาจนจบ
5. วิธีนี้วิเคราะห์ได้ไวกว่า Babcock Method 2-3 เท่า

2.3 Majonier Method วิธีนี้ใช้กับตัวอย่างที่เป็นของเหลวหรือตัวอย่างอาหารที่มีไขมันปริมาณต่ำได้ เช่น วิเคราะห์ไขมันจากผลิตภัณฑ์ขนมปัง ผลิตภัณฑ์นม

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 2 กรัม เติม 95% ethanol 2 มิลิลิตร เพื่อเพิ่มความชื้นให้อาหาร

2. เพื่อป้องกันการเกาะตัวกันโดยเติม HCl 10 ml เพื่อป้องกันการจับตัวกันของอาหาร (โดยใช้ HCl:H_2O 25:11) ย่อย ที่ 70-80 องศาเซลเซียสในหม้ออังไอน้ำ 30-40 นาที

3. เติม ethanol 10 ml ทำให้เย็นและ extract ด้วย ether 3 ครั้ง

4. เขย่าหลอด mojonier แยกไขมันออกและนำไปอบให้ solvent แห้งและชั่งน้ำหนักคำนวณหาปริมาณไขมัน

หมายเหตุ ถ้าสารตัวอย่างมีไขมันมากวิธีสกัดไขมันด้วยการย่อยด้วยกรด เช่น Gerber, Babcock และ mojonier จะได้ไขมันมากกว่าวิธีที่สกัดด้วย วิธี soxhlet

a. Detergent method

วิธีนี้พัฒนาขึ้นมาเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้กรดเข้มข้น วิธีนี้ใช้การผสมสารตัวอย่างกับสารซักล้าง (surfactant) ในขวด Babcock ซึ่ง surfactant จะแทนที่เม็ดไขมันซึ่งอยู่รอบๆ emulsion ของนมและสามารถแยกออกได้ สารตัวอย่างจะถูกแยกออกโดยการ centrifuge และไขมันจะลอยขึ้นไปตามคอขวด Babcock ทำให้อ่านปริมาณไขมันได้

3.การวิเคราะห์ไขมันด้วยเครื่องมือ เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ไขมันแบ่งได้ 3 ประเภทตามคุณสมบัติของไขมัน คือ

3.1 สมบัติการเกิดกลุ่มก้อน (measurement of bulk physical properties)

3.2 การดูดกลืนแสง (measurement of absorption of radiation)

3.3 การกระเจิงแสง (measurement of scattering of radiation)

การหาปริมาณความเสื่อมเสียของไขมัน

ในการเก็บรักษาไขมันและน้ำมันจะเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำมัน โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศ ความร้อน แสง ความชื้น และโลหะประเภทเหล็กและทองแดงทำให้เกิด oxidative rancidity ซึ่งน้ำมันจะเกิดการเหม็นหืนเนื่องจากเกิดเปอร์ออกไซด์ แม้ว่าเปอร์ออกไซด์ไม่ใช่ตัวที่ทำให้เกิดการเหม็นหืนเนื่องจากไม่มี

กลิ่นรส แต่เปอร์ออกไซด์จะไม่อยู่ตัวเพราะเกิดการสลายตัวเป็นสารประกอบที่ระเหยได้ เช่น กรด แอลกอออล์ อัลดีไฮด์ คีโตน ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืนที่ไม่พึงประสงค์ แต่ปริมาณเปอร์ออกไซด์ก็เป็นประโยชน์ในการวิเคราะห์หรือคาดคะเนการเสื่อมเสียของไขมัน

Peroxide value คือ การวัดปริมาณเปอร์ออกไซด์ในน้ำมันที่เสื่อมคุณภาพ โดยวิเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาของ potassium iodide และ bound oxygen ทำให้เกิดไอโอดีนขึ้น โดยสามารถไทเทรดไอโอดีนที่เกิดขึ้นด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตที่รู้ความเข้มข้นแน่นอน

Iodine value (iodine number)

คือ ปริมาณกรัมของ iodine ซึ่งเติมเข้าไปในสารตัวอย่าง 100 กรัม

การคำนวณ

$$IV = \frac{(B - S)N \times 12.692}{\text{Sample weight}}$$

B = Blank S = weight of sample

$$IV = \frac{2 \times 126.92 \times \text{double bonds} \times 100}{\text{Molecular weight}}$$

Hydrogenation คือปฏิกิริยาที่มีการเติม hydrogen เข้าไปในไขมันชนิด unsaturated (double bond)

$$-HC = CH- + H_2 \longrightarrow -CH_2 - CH_2-$$

Saponification คือจำนวน mg ของ KOH ที่ทำปฏิกิริยากับไขมัน 1 g เพื่อ ทำให้ free fatty acids และ fatty acids ในรูปของ glycerides ให้เป็นกลาง

Saponification value ใช้สำหรับวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของไขมันได้เพราะ 1 mol of glyceride จะทำปฏิกิริยากับ KOH 3 mol

วิธีการ

1. โดย reflux ไขมัน 4 g กับ 50 ml ของ 0.5 N KOH ใน 96% ethanol เป็นเวลา 30 นาที

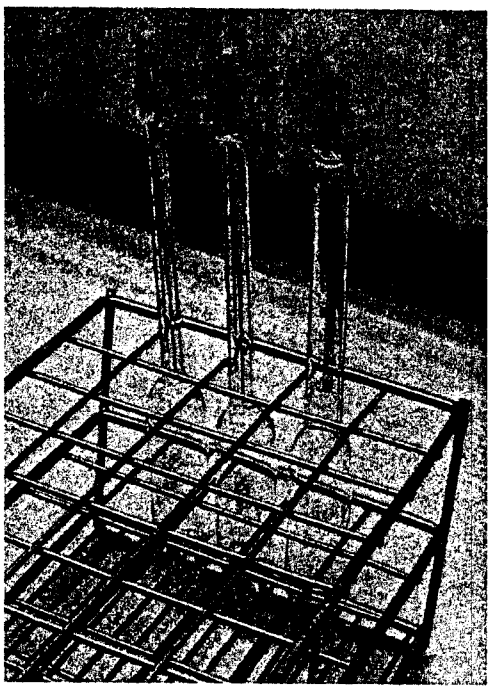
2. ปริมาณ KOH ที่เกินพอโดย back titrate กับ 0.5 N HCL ที่รู้ปริมาณที่แน่นอน

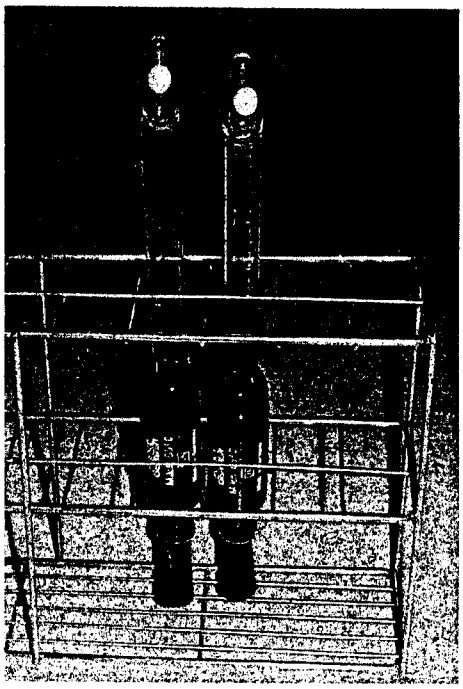
Oxidative rancidity เป็นการเติม oxygen ในอากาศเข้าไปในไขมันที่ที่มี enzyme หรือสารเคมีชนิดอื่นๆ

Autoxidation การเกิด oxidation เองในไขมันในสภาวะที่มี oxygen

Unsaturated fatty acids ---------> free radicals oxygen ----> **Hydroperoxide** ---------> **polymerization**

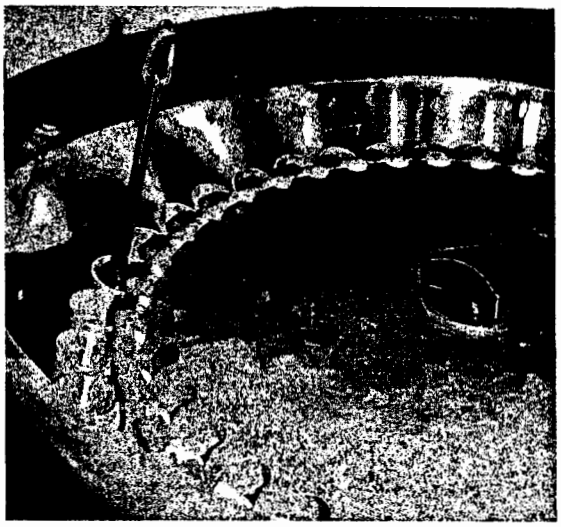
สารประกอบที่จะวิเคราะห์ คือ อยู่ในรูปของ elements, radicals, functional groups, compounds.



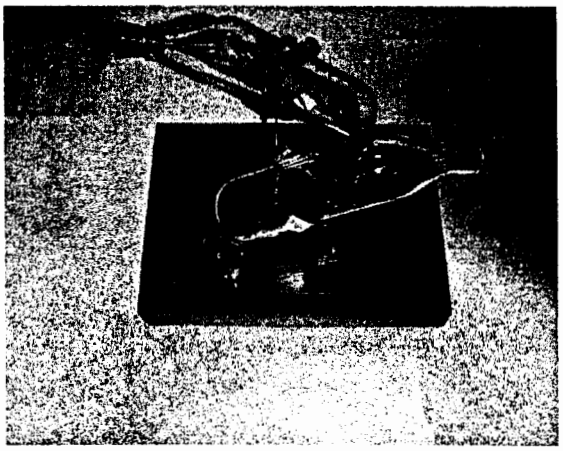


ภาพที่ 5.3 แสดงอุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน (Gerber Tube)

ที่มา : เครื่องมือห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหาร มหาวิทยาลัยรามคำแหง



ภาพที่ 5.4 เครื่องเหวี่ยงสำหรับ (Gerber Method)
ที่มา : เครื่องมือห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหาร มหาวิทยาลัยรามคำแหง



ภาพที่ 5.5 Mojonier Apparatus (ชุดวิเคราะห์ปริมาณไขมันในอาหาร)
ที่มา : เครื่องมือห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหาร มหาวิทยาลัยรามคำแหง

5. Refractometry

โดยสกัดสารตัวอย่างด้วยสารละลายที่มีค่า refractive index สูง เช่น

α- chloronapthalene, α- bromonapthalene

Calculation

$$\% \text{ Fat} = \frac{[100V.d(\eta_1 - \eta_2)]}{W(\eta_1 - \eta_2)}$$

η_1 = for solvent η_2 = for sample

V = Vol. Solvent W = Wt sample d = density

RI เป็นค่าคงที่ในไขมันแต่ละชนิด ใช้ในการ identified

การวิเคราะห์ Reducing sugar

สาเหตุที่ต้องวิเคราะห์ reducing sugar

อาหารอยู่ในรูป Carbohydrate มากที่สุด เช่น monosaccharides, disaccharides, oligosaccharides และ polysaccharides ได้แก่ cellulose, hemicellulose, lignin Monosacharides ที่สำคัญคือ D-glucose Disaccharides ได้แก่ milk sugar, lactose, maltose

การวิเคราะห์ค่า reducing sugar โดยที่ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ต้องมีกลุ่ม carbonyl group (C=O) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการ oxidation ของกลุ่ม aldehyde ในน้ำตาลเช่น glucose หรือ fructose

ความสำคัญของ carbohydrates ทางด้าน nutritional และ metabolic function คือ

- sweeteners
- raw materials for fermentation products including alcoholic beverages, main ingredient of cereals,
- Carbohydrate เป็น nitrogen-free extract
- Food composition table carbohydrate เป็นส่วนประกอบหนึ่งใน 100% ของผลรวมของ carbohydrate, water, protein, fat and ash.
- ผลไม้เป็นแหล่งของ mono และ disaccharide Reducing sugars ประกอบด้วย fructose, glucose และ main soluble carbohydrates ของผลไม้ส่วนใหญ่ เช่น resin มี reducing sugar ถึง 70 %

Determination of reducing sugar

1. **Copper Methods** ปฏิกิริยาเกิดจากการ reduction ของ Copper และการ oxidation of sugars Tromer, 1841 เป็นผู้ค้นพบปฏิกิริยาการ oxidation ของ reducing sugar โดย alkaline copper solutions และ Barresvil ได้เสนอการเติม potassium tartrate เพื่อป้องกันการ precipitation ของ cupric hydroxide ต่อมา Felhing and Soxlet 1878 ก็ปรับปรุงเพิ่มขึ้น โดยส่วนประกอบของสารละลายประกอบด้วย $CuSO_4.5H_2O$ จำนวน 34.64 กรัม/มิลลิลิตรและของ Rochelle salt ($NaKC_4H_4O_6$ $4H_2O$) 173 กรัม และ NaOH กรัม/มิลลิลิตร

ต่อมา Shaffer and Hartmann (1921) แสดงว่าปฏิกิริยาเกิดขึ้นกับ oxalate ซึ่งทำปฏิกิริยากับ cupric ion ในสารละลายและตะกอนของ cuprous oxide จะถูกไทเทรตด้วย iodate-iodide solution โดยไม่ต้องกรอง Somogyi (1954) ได้ปรับปรุงให้ดีขึ้นโดยสามารถใช้กับสารตัวอย่างที่มี reducing sugar น้อยๆ ได้ โดย alkali reagent จะถูก buffered ด้วย phosphates และ potassium iodate ซึ่งเป็นแหล่งของ iodine เพื่อ oxidation cuprous ion และเติม cuprous ions โดยอากาศ วิธีนี้มี precision ± 2% และวิเคราะห์ glucose ได้ในช่วง 0.3-3.0 mg และในช่วง colorimetric, reduced copper โดยทำปฏิกิริยากับ phospho arsenomolybdate color-forming reagents

School and Regenboggen (1917) ใช้วิธี Iodometric titration โดย titrate excess coper sulfate และใช้ Fehling-Soxlet solutions ซึ่ง reduced copper

2. **Alkaline Ferricyanide Methods** หลักการคือเกิดการ reduction ของ alkaline ferricyanide เป็น ferrocyanide เมื่อมี reducing sugar อยู่ ปริมาณการ reduction ขึ้นกับปริมาณน้ำตาลที่มีในสารตัวอย่าง

$$2\,K^{+3}{}_3Fe^{+3}(CN)^{-6}{}_6 + 2KI \longrightarrow 2\,K_4Fe^{+2}(CN)_6 + I_2$$

และเติม $ZnSO_4$ ในปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดการตกตะกอน

$$K_4Fe(CN)_6 + ZnSO_4 \longrightarrow K_2Zn_3\,[Fe(CN)_6] + 3\,Z_3SO_4$$

formic acid ในรูปของ oxidation product สูงสุด ketoses ถูก oxidized เป็น carbon dioxide

3. Phenol-sulphuric method โดยคาร์โบไฮเดรตถูก reduced เป็น furfural และ hydroxy methyl furfural กับกรดซัลฟูริกและเกิด condensation กับ phenol ให้สารละลายสีเหลือง ความเข้มของสีขึ้นกับปริมาณความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรต

4. Colorimetric method วิเคราะห์โดย Nelson-Somogyi โดยวัดปริมาณ Reducing sugar ซึ่งทำปฏิกิริยากับ aresenomolydate /copper โดย copper ถูก reduced เป็น cuprous (Cu^+) ปฏิกิริยาจะเกิดสมบูรณ์โดยให้ความร้อนกับสารละลายน้ำตาลและสารเคมีที่ทำให้เกิดสี (aresenomolydate) โดยที่ Cu^+ จะ reduce arsenomolybdate เป็น molybdenum blue ความเข้มของสารละลายสีฟ้าที่เกิดขึ้นแปรตามความเข้มข้นของน้ำตาลโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

5. การวิเคราะห์โดยวิธี Dinitrosalicylic colorimetric method

หลักการคือ กลุ่ม reducing sugar ใน monosaccharide เช่น glucose, fructose จะ reduce 3, 5 –dinitrosalicylic acid (DNS) ให้เป็น 3 amino, 5-nitrosalicylic acid ภายใต้สภาวะที่เป็นด่าง

$$\text{Aldehyde} \xrightarrow{\text{oxidation}} \text{Carboxyl group}$$

$$\text{3, 5 –dinitrosalicylic acid (DNS)} \xrightarrow{\text{reduction}} \text{3 amino, 5-nitrosalicylic acid}$$

จากสมการ น้ำตาล 1 โมเลกุลจะทำปฏิกริยากับ 3, 5 –dinitrosalicylic acid 1 โมเลกุล

วิธีเตรียมสารเคมี

1. สารละลาย Dinitrosalicylic acid (DNS)1%

   ชั่ง Dinitrosalicylic acid 10.0 กรัม

   Phenol 2 กรัม

   Sodium sulfite 0.5 กรัม

   Sodium hydroxide 10.0 กรัม

2. สารละลาย Potassium sodium tartrate 40%

   วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมสารลายตัวอย่าง 3 มิลลิลิตรใน screw capped tube เติมสารละลาย DNS)1% จำนวน 3 มิลลิลิตร ปิดฝาและเขย่าให้เข้ากัน เตรียม blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนสารตัวอย่าง

2. ให้ความร้อนแก่สารละลายที่จะวิเคราะห์ถึง 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-15 นาที จนสารตัวอย่างตกตะกอน

3. เติม 40% Potassium sodium tartrate (rochelle salt) จำนวน 1 มิลลิลิตร

4. รอจนกระทั่งสารละลายเย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่า absorbtion ที่ 575 nm

5. คำนวณความเข้มข้นเทียบกับกราฟมาตรฐานของ glucose หรือ monosaccharide ที่ต้องการวิเคราะห์

ข้อควรระวัง สารละลายตัวอย่างต้องไม่มี carboxymethyl cellulose (CMC) เพราะดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่นเดียวกัน ทำให้ค่าการวิเคราะห์เพิ่มขึ้น

การวิเคราะห์ reducing sugar ทางกายภาพ

Refractometry โดยใช้ refracto meter วัดในรูปของ dissolved solid ใช้มากในอุตสาหกรรมน้ำตาล ค่า refraction เป็นคุณสมบัติเฉพาะของสารแต่ละชนิดซึ่งแทนด้วยค่า refractive index η ซึ่งค่าความหักเหของสารคือ อัตราส่วนระหว่างความเร็วของแสงในสุญญากาศต่อความเร็วของสาร ซึ่งความเร็วนี้จะสัมพันธ์กับความเข้มข้น ส่วนประกอบ อุณหภูมิและความบริสุทธิ์ของสาร ค่าความหักเห (refractive index) ยังขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของของเหลวและความเข้มข้นของสารประกอบในสารละลาย ดังนั้นค่าความหักเห สามารถใช้เป็นดัชนีในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของน้ำตาลและใช้ปรับความแม่นยำของเครื่องมือโดยมี sodium D-line เป็นแหล่งกำเนิดแสงที่ 20 องศาเซลเซียส และน้ำตาล sucrose เป็นตัวปรับความแม่นยำของเครื่องมือ โดยรายงานผลเป็น %sugar w/w 'as sucrose' แต่วิธีนี้จะแม่นยำเฉพาะวิเคราะห์น้ำตาล sucrose บริสุทธิ์

$$\eta = \sin I / \sin r$$

η ใช้วิเคราะห์ปริมาณทางคุณภาพของสารละลายชนิดต่าง ๆ

ค่า refractive index ของสารละลายผสม

η ของสารผสมเป็น linear กับค่า mole fraction ของสารประกอบนั้น ๆ

η สามารถเปรียบเทียบกับน้ำหนัก (%w/w) ของ soluble solids เช่นน้ำตาลแสดงเป็นค่า Brix

Polarimetry โดยอาศัยคุณสมบัติของ Carbohydrates ซึ่งเป็น optically active compound

สามารถ turn plane of polarized light ซึ่ง optical rotations ถูกวัดโดยเครื่อง polarimeters

การวิเคราะห์โปรตีน

โปรตีนเป็นส่วนประกอบสำคัญในอาหาร โปรตีนเป็นสารประกอบที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ โปรตีนสามารถปนอยู่กับสารประกอบอื่นๆ ได้แก่ ไขมัน, คาร์โบไฮเดรต เช่น Protein ในแป้งสาลี มีประโยชน์ในการทำขนมปัง Glycoprotein, lipoprotein มีความสำคัญต่ออาหารในรูป emulsifiers ทางด้านโภชนาการอาหาร โปรตีนเป็นแหล่งของ amino acid ซึ่งมี 24 ชนิด และมี essential amino acid 8 ชนิดและร่างกายไม่สามารถผลิตได้ต้องรับจากอาหารที่รับประทานเข้าไป การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในอาหาร สามารถทำได้โดยการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน โปรตีนเป็นสารอาหารที่ให้พลังงาน 1 กรัม จะให้พลังงาน 4 แคลอรี่ ช่วยในการซ่อมแซมอวัยวะต่าง ๆ นอกจากนั้นยังช่วยในการฟื้นฟูร่างกายจากการบาดเจ็บ นักกีฬาส่วนมากควรจะได้รับโปรตีนให้เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย ทั้งในระหว่างการฝึกซ้อมและทำการแข่งขัน ปริมาณโปรตีนควรอยู่ระหว่าง 10 - 15 % ของปริมาณพลังงานในแต่ละวัน ซึ่งเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย การได้รับโปรตีนมากเกินไปจะเกิดผลเสียต่างๆ โปรตีนไม่ใช่แหล่งพลังงาน มีความเชื่อที่ว่า กินเนื้อสัตว์มาก ๆ จะทำให้กล้ามเนื้อแข็งแรง จากการศึกษาค้นพบว่า การกินอาหารที่คาร์โบไฮเดรทสูงร่วมกับการฝึกกล้ามเนื้อที่ถูกวิธีจะช่วยเพิ่มขนาดและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อ

บทบาทของโปรตีนในด้านวิเคราะห์อาหารเพื่อควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร ธัญพืช อาหารสัตว์ และผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้อง ปริมาณโปรตีนสามารถตรวจสอบจากปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง เพราะการตรวจปริมาณโปรตีนโดยตรงทำได้ยากกว่าเนื่องจากองค์ประกอบโมเลกุลโปรตีนมีความซับซ้อน แต่ไนโตรเจนเป็นสารประกอบอนินทรีย์ที่สามารถตรวจสอบได้ง่ายและมีความต้องการสูง ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหนึ่งของโปรตีนมีอยู่ประมาณ 15-17% ดังนั้นไนโตรเจนจึงมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณโปรตีน โดยทั่วไปปริมาณโปรตีนจะเท่ากับปริมาณไนโตรเจนคูณค่าคงที่ 6.25 ค่าคงที่นี้เปลี่ยนแปลงได้ตามชนิดของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์โปรตีน การวิเคราะห์โปรตีนเมื่อ ต้องการรู้ปริมาณโปรตีนในส่วนผสม การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของโปรตีน เช่น การละลายทำให้คาดคะเนว่าให้ความร้อนต่ออาหารมากเกินไป เพื่อนำไปขึ้นทะเบียนอาหารจึงต้องมีการวิเคราะห์ล่วงหน้า แต่วิธีวิเคราะห์ amino acids มีหลายวิธี เช่น colorimetric, enzymatic, microbiological, chromatography

วิธีต่างๆ ที่ใช้วิเคราะห์โปรตีนเป็นการวิเคราะห์ carbon หรือ nitrogen ในโปรตีน เช่น

Kjeldahl method โดยวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ซึ่งเป็นที่ทราบกันมานานแล้วว่าวิธีวิเคราะห์โปรตีนจะนิยมใช้วิธีนี้ ซึ่งเป็น official standard method แต่ข้อเสียของวิธีนี้คือใช้เวลานาน เนื่องจากมีหลายขั้นตอนและต้องอาศัยความชำนาญ และต้องใช้สารเคมีที่รุนแรง ซึ่งมีของเสียมากจะก่อให้เกิดความเสียหายต่อสิ่งแวดล้อม

Elementary Analysis

Carbon analysis มีข้อได้เปรียบกว่า nitrogen analysis เพราะมี error น้อยกว่า Protein มี nitrogen 16% การวิเคราะห์โปรตีนในอาหารคูณด้วย factor 6.25 (100/16) อาหารแต่ละชนิดใช้ converasion factor ต่างกัน เช่น wheat, milk and gelatin ใช้ factors 5.70, 6.38 และ 5.5 ถ้าจัดเป็นกลุ่ม คือ dairy products 6.02-6.15, egg, meat, fish and cereal products = 5.61-5.93, legume 5.14-6.26, blend foods 5.68-5.70

การวิเคราะห์โปรตีนมีหลายวิธี

1. Kjeldahl Method

Johan Kjeldahl นักเคมีชาวเดนมาร์ค 1883 ได้ค้นพบวิธีวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ ซึ่งมีทั้งโปรตีนและสารประกอบอื่นๆ ที่ไม่ใช่ไนโตรเจน แต่มี non-nitrogen Protein รวมอยู่ด้วย วิธีนี้มีการพัฒนามาตลอดครอบคลุมงานต่างๆตั้งแต่ ดิน อาหาร ยา อาหารสัตว์ ผัก หรือแม้แต่สารเคมีซึ่งมีไนโตรเจนผสมอยู่

หลักการคือ สารตัวอย่างถูกย่อยด้วยกรดกำมะถันเข้มข้น จนกระทั่ง carbon และ hydrogen ถูก oxidized ส่วน protein nitrogen ถูก reduced และ เปลี่ยนรูปเป็นแอมโมเนียมซัลเฟต [$(NH_4)_2SO_4$)] และในการย่อยจะเติมสารเร่งปฏิกิริยา โดย ใช้คอปเปอร์ซัลเฟต หรือ เมอร์คิวริคออกไซด์ หรือติเตเนียมออกไซด์ และเติมโปแตสเซียมซัลเฟตเพื่อเพิ่มจุดเดือดให้สูงขึ้น และ แอมโมเนียมซัลเฟตที่เกิดขึ้นจะถูกย่อยสลายต่อด้วย sodium hydroxide เป็น ammonia และใช้ boric acid จับ ammonia ได้ ammonium borate ($NH_4H_2BO_3$) ซึ่งเป็น ด่างแก่ และนำไป titrate กับ กรดมาตรฐานโดยมี indicator (screened methyl red indicator เตรียมโดยใช้ methyl red 0.07 กรัม + bromcresol green 0.08 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์ 100 มิลิลิตร) บ่งชี้จุด end point สำหรับ Boric acid ที่มากเกินพอจะไม่มีผลต่อการ titrate เพราะเป็นกรดอ่อนมากซึ่ง ค่า Ka = 5.8×10^{-10}

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนโดยวิธี Kjeldahl จะวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนจากสารประกอบอินทรีย์เท่านั้นไม่รวมไนโตรเจนจากสารประกอบอนินทรีย์ เช่น ไนเตรตและ

ไนไตรต์

ปฏิกิริยาแบ่งเป็น 3 ขั้นตอนคือ

1. Digestion (การย่อย) โดยที่ตัวอย่างอาหารที่ต้องการวิเคราะห์โปรตีนจะถูกย่อยด้วยกรดกำมะถันเข้มข้นเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไนโตรเจน (organic nitrogrn) ได้เป็นแอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ ในการย่อยจะเติมโปแตสเซียมซัลเฟต (potassium sulfate) เพื่อเพิ่มจุดเดือดของกรด เพิ่มปรอท (mercury) เพื่อเพิ่มความเร็วในการย่อยตัวอย่าง ในการย่อยให้สูงขึ้นเพื่อประหยัดพลังงาน และเติมคอปเปอร์ซัลเฟตลงไปเพื่อเร่งปฏิกิริยาให้เกิดเร็วขึ้นการย่อยที่สมบูรณ์จะได้สารละลายสีฟ้าใส ถ้าสารละลายยังไม่ใสให้เติมกรดกำมะถันเข้มข้นลงไปอีกเล็กน้อย การใช้สารเคมีเหล่านี้ทำให้เกิดควันพิษ มีการกัดกร่อนสูง เครื่องมือต้องทำด้วยสเตนเลส และแก้วที่ทนความร้อนสูง สารพิษเหล่านี้สร้างมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมและผู้วิเคราะห์อย่างยิ่ง

2. Distillation (การกลั่น) หลังจากย่อยแล้วทิ้งสารละลายให้เย็นลงประมาณ 20-30 นาที เติมน้ำกลั่น 150-200 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน แอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ ในสารละลายที่เป็นกรดที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยาต่อกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นประมาณ 40% ที่มากเกินพอจะถูกปรับให้เป็นกลางโดย โดยสังเกตได้ว่า สารละลายมีสีน้ำตาลเข้ม จะได้ก๊าซแอมโมเนียออกมา โดยกลั่นด้วยไอน้ำร้อน การจับก๊าซแอมโมเนียที่ได้โดยกรดบอริก (boric acid 4%) ซึ่งจะได้สารละลายด่างแอมโมเนียมบอเรต ($NH_4H_2BO_3$)

3. Titration (ไทเทรต) ไอที่ควบแน่นจากการกลั่นประกอบด้วย ammonia ในรูป ammonium hydroxide สารละลายด่างที่ได้นี้สามารถหาปริมาณความเข้มข้นได้โดยไทเทรตสารละลายแอมโมเนียมบอเรตด้วยสารละลายกรดเกลือ ที่รู้ความเข้มข้นแน่นอน

ขั้นตอนการวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดใช้เวลา 4 ชั่วโมง

Digestion reaction

$RNH_2\text{-}COOH + H_2SO_4 \dashrightarrow (NH_4)_2SO_4 + CO_2 + SO_2 + H_2O$

Distillation reaction

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

$NH_3 + H_2O \dashrightarrow NH_4OH$

$NH_4OH + H_3BO_3 \dashrightarrow NH_4H_2BO_3 + H_2O$

Calculation

การคำนวณ ต้องคำนึงถึง ความเข้มข้นของกรดเกลือ 0.1 Normal จะทำปฏิกิริยา

พอดีกับไนโตรเจน 0.0014 กรัม

$$\text{Total nitrogen} = \frac{(Vu - Vb) \times N \times 1.4007 \times 100}{\text{Weight.of.sample}}$$

N = ค่าความเข้มข้นของกรดเป็นนอร์ลัลลิตี้ มาตรฐานทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.4007 = 1 มิลลิลิตร 0.1 N สารละลายกรดที่ไทเทรต = 1.4007 มิลลิกรัมไนโตรเจน

$$\text{\% Protein} = \frac{(Vu - Vb) \times F \times N \times 14/1000}{\text{Weight of sample}}$$

Vu = ปริมาตรของสารละลายกรดเกลือที่ใช้ในการไทเทรตสารตัวอย่าง

Vb = ปริมาตรของสารละลายกรดเกลือที่ใช้ในการไทเทรต blank

N = ความเข้มข้นของกรดเกลือ

F = ค่าตัวแปรสำหรับเปลี่ยนไนโตรเจนให้เป็นโปรตีน

ภาพที่ 5.6 เครื่องมือวิเคราะห์โปรตีน (kjeldahl)

ที่มา : Pomeranz (1994)

Protein Factor

ชนิดตัวอย่าง	Protein Factor
Gelatine	5.55

Dairy products	6.38
Meat	6.25
Fish	6.25
Nuts, oilseeds	5.40
Cereals	6.25
Fruit, Vegetable	6.25
Corn	6.25
Eggs	6.25

การตรวจสอบคุณภาพการวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธี Kjeldahl

เพื่อตรวจสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธี Kjeldahl สามารถทำได้ 2 วิธีดังนี้คือ

1. โดยวิเคราะห์ด้วย $(NH_4)_2SO_4$ ที่บริสุทธิ์ 99.5% โดยใช้ $(NH_4)_2SO_4$ แทนโปรตีนเมื่อวิเคราะห์แล้วนำมาคำนวณ และเทียบความถูกต้องกับ

$(NH_4)_2SO_4$ = 21.2% Nitrogen (100% purity)

2. โดยวิเคราะห์ด้วย $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2.6H_2O$ ที่บริสุทธิ์ 99.5% โดยใช้ $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2.6H_2O$ แทนโปรตีน

เมื่อวิเคราะห์แล้วนำมาคำนวณ และเทียบความถูกต้องกับ

$(NH_4)_2Fe(SO_4)_2.6H_2O$ = 7.145% Nitrogen (100% purity)

Sample preparation for Protein determination

1. การชั่งสารตัวอย่าง (weighting)
2. การบดตัวอย่างให้มีขนาดเล็กลง(crushing/grinding)
3. การผสมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenizing)
4. การย่อยตัวอย่าง (wet digestion)

สารที่นิยมใช้เป็น catalyst คือ copper, selenium

2. Dumus Combustion เป็นวิธีที่มีการพัฒนาโดยใช้เครื่องมือที่มีประสิทธิภาพสูง การเผาตัวอย่างในบรรยากาศออกซิเจนที่อุณหภูมิ 950°ซ สารประกอบไนโตรเจนจะ

ถูกเปลี่ยนเป็นไนโตรเจนในขั้นสุดท้ายและถูกวัดด้วย Thermal Conductivity Detector ไนโตรเจนที่วัดได้ถูกคำนวนให้เป็นโปรตีนโดยค่าคงที่ขึ้นกับชนิดของตัวอย่าง เวลาในการวิเคราะห์ประมาณ 3-4 นาที โดยไม่มีสารเคมีที่เป็นของเสีย และเสียค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ น้อยกว่าวิธี Kjeldahl

Combusion method วิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐาน AOAC เครื่องมือที่ออกแบบให้วิเคราะห์ไนโตรเจนมีดังนี้คือ

2.1 เตาเผา (Furnace) สามารถควบคุมอุณหภูมิได้อย่างน้อย 950 องศาเซลเซียส เพื่อย่อยตัวอย่าง (pyrolysis) ในก๊าซออกซิเจนบริสุทธิ์ (99.9%)

2.2 มีระบบแยกก๊าซไนโตรเจนให้ออกจากตัวอย่างให้ออกจากตัวอย่างที่ได้จากการเผาไหม้ชนิดอื่นเพื่อวัดปริมาณไนโตรเจนด้วย Thermal conductivity detector และต้องแสดงระบบของการเปลี่ยน NO_2 เป็น N_2 หรือระบบการวัด N ในรูป NO_2

2.3 ระบบคำนวน %ไนโตรเจน เครื่งมือนี้ปรับมาตรฐาน ด้วย EDTA

ข้อดีของวิธีนี้คือ

1. ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยลง
2. ค่าใช้จ่ายต่อตัวอย่างลดลง

3. Lowry method (Phenol reagent)

Folin and Ciocalteau (1927) and Lowry (1951) ได้ค้นพบวิธีนี้ ซึ่ง functional group ของโปรตีนจะให้สีน้ำเงินในปฏิกิริยาสุดท้าย

หลักการ

ปฏิกิริยาระหว่าง โปรตีน, phenol reagent และ copper ภายใต้ alkaline conditions ปฏิกิริยา color reaction ที่เกิดขึ้นคือ copper–catalyzed oxidation ของ aromatic amino acids และ group อื่นๆ โดย heteropolyphosphate (phosphotungstic-phosphomolybdic)

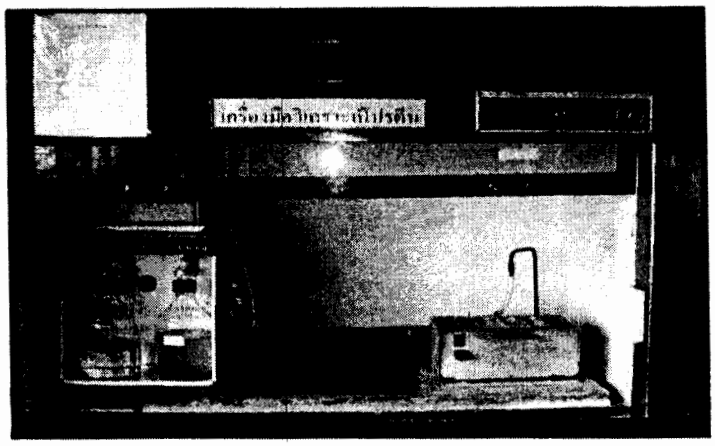
reagent วิธีนี้สามารถใช้กับโปรตีนที่มีปริมาณต่ำและมีไขมันเจือปนสูง

4. Biuret Method

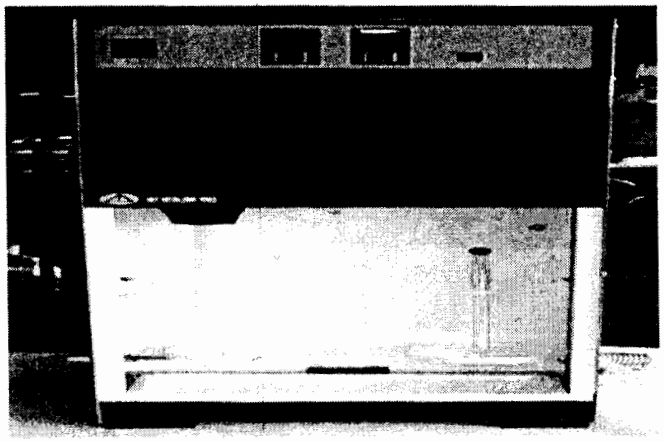
วิธีนี้จะให้ผลที่แม่นยำกว่าวิธีอื่นเนื่องจากวัดเฉพาะ peptide linkage ขณะที่ Kjeldahl method วิเคราะห์รวมทั้ง protein และ nonprotein nitrogen

หลักการ

peptide bonds form a purple complex with copper salts in alkaline solution ซึ่งวัดที่ช่วงคลื่น 570 nm โดยใช้ spectrophotometer คำนวณความเข้มข้นจาก calibration curve และน้ำหนักของสารตัวอย่างเริ่มต้น



ภาพที่ 5.7 เครื่องย่อยโปรตีน
ที่มา : เครื่องมือปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร



ภาพที่ 5.8 เครื่องกลั่นโปรตีน
ที่มา : เครื่องมือปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

เส้นใยในอาหาร (Fiber)

เส้นใยในอาหาร คือ ส่วนของสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ละลายและเหลืออยู่ หลังจากที่ตัวอย่างอาหารผ่านขั้นตอนการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ และการเผา ส่วนที่เหลือจากการสกัดจะเป็นเส้นใยและอาจมีแร่ธาตุปนอยู่ด้วย ปริมาณของส่วนประกอบแต่ละชนิดในเส้นใยจะผันแปรขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่างอาหาร

เส้นใยในอาหารแบ่งได้ 2 ชนิด

เส้นใยหยาบ (crude fiber) หมายถึงส่วนของผนังเซลล์ (cell wall) คือส่วนของพืชที่ไม่ถูกย่อยด้วยสารละลายกรดและด่าง ส่วนนี้ประกอบด้วยส่วนของเซลลูโลส (cellulose), เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) และลิกนิน (Lignin)

เส้นใยอาหาร (dietary fiber) เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลใหญ่ และมีโครงสร้างซับซ้อน หมายถึง ส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช ประกอบไปด้วยอนุพันธ์ของสาร 2 กลุ่ม คือ

oligosaccharides และ polysaccharides (Thebaudin et al., 1997) **ซึ่งไม่ถูกย่อยโดยเอ็นไซม์**ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ แต่อาจถูกย่อยได้บ้างเล็กน้อยโดยแบคทีเรียที่มีอยู่ตามปกติในลำไส้ใหญ่ กลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซมีเทน ก๊าซไฮโดรเจน น้ำ และกรดไขมันสายสั้นๆ พบในส่วนของพืช ผักผลไม้ และธัญพืชต่างๆ ได้แก่ เซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลส, เปคติน, กัม, กรดยูโรนิกและโพลีแซคคาไรด์ dietary fiber จะเกาะเกี่ยวด้วย hydrogen bond และ covalent bond เมื่อทำการย่อยด้วยสารเคมีจะมีผลต่อพันธะเคมีเหล่านี้ มีคุณสมบัติเหมือน polysaccharides คือสามารถรวมกับน้ำในปริมาณมาก และสามารถแลกเปลี่ยนประจุไฟฟ้าเป็น cation exchanger คือสามารจับอิออนหรือโลหะบางตัว ทำให้สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดคลอเรสเตอรอลและขจัดพิษโลหะบางชนิดได้

ตารางที่ 5.1 ความแตกต่างของเส้นใยหยาบและเส้นใยอาหาร

ตัวอย่างอาหาร	%เส้นใยหยาบ (crude fiber)	%เส้นใยอาหาร (dietary fiber)
รำข้าว	6-8	45
รำข้าวโพด	13-20	50-90
ข้าวสาลี	9-11	36-41
เซลลูโลส	70	99

ที่มา: Tanphaichitr, et al. 1984

เส้นใยอาหารแบ่งเป็น 2 ชนิด คือใยอาหารที่ละลายน้ำและเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ

1. เส้นใยอาหารที่ละลายน้ำ พบในถั่วบางชนิด ผลไม้ และธัญพืช เช่น ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เลย์ ใยอาหารชนิดนี้ ถึงแม้จะละลายน้ำได้โดยอยู่ในรูปเจล แต่จะไม่ถูกย่อยโดยเอ็นไซม์ในระบบทางเดินทางอาหาร

1.1 กัม (Gum) เป็นสารละลายที่มีโมเลกุลของน้ำตาลจำนวนมาก ไม่มีโครงสร้างทางเคมีที่แน่นอนสำหรับกัมและกัมบางชนิดก็ไม่ละลายน้ำ

1.2 เพคติน (Pectin) เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลของน้ำตาลจำนวนมาก และในหมู่โมเลกุลของน้ำตาลบางหมู่ที่มีกลุ่มเมทิลและกรดยูโรนิค เพคตินบางชนิดไม่ละลายน้ำ ถ้ากลุ่มไฮดรอกซิลถูกแทนที่ด้วยกลุ่มเมทิลสารประกอบ เพคตินนั้นก็จะละลายในต่างเพคติ นพบมากในผนังเซลล์พืชทำหน้าที่ยึดเซลล์ให้เชื่อมติดต่อกัน

1.3 มิวซิเลจ (Mucilage) ถูกหลั่งใน endosperm ของเซลล์พืช เพื่อทำหน้าที่ป้องกันการเกิด dehydration มากเกินไป

2. เส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ได้แก่

2.1 เซลลูโลส (Cellulose) เป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์พืช ประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคสจำนวน 1,000 โมเลกุล คล้ายแป้ง (starch) แต่ไม่ถูกย่อยโดยเอ็นไซม์ในระบบทางเดินอาหาร

2.2 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช ประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลเชิงเดี่ยว (monosaccharide) ชนิดต่างๆ ตั้งแต่สองชนิดขึ้นไป เป็นจำนวน 100 โมเลกุลที่มีคุณสมบัติในการละลายเหมือนกันคือ ละลายได้ในสารละลายด่าง น้ำตาลเชิงเดี่ยวนี้แบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ เพนโทแซนส์ (pentosans) และเฮกโซแลนส์ที่ไม่ใช่เซลลูโลส (non cellulose hexosans) น้ำตาลเชิงเดี่ยวที่พบมากในเฮมิเซลลูโลสคือ ดี-ไซแลนส์ (D-xylans) และ ดี-กลูโค-ดีแมนแนนส์ (D-gluco-D-manans) และ แอล-อะราบิโนส (L-arabinose)

2.3 ลิกนิน (Lignin) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของแอลกอฮอล์ที่พืชผลิตขึ้นเพื่อ เป็นโครงสร้างที่ให้ความแข็งแรงแก่พืช เช่นเปลือกนอกของธัญพืช ซึ่งถูกทำลายในกระบวนการขัดสี

วิธีวิเคราะห์เส้นใยอาหาร (Determination of the Dietary Fiber Content)

สารตัวอย่าง 1 กรัม

เติม phosphate buffer pH6 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร

เติม Teramyl 100 μL

↓

อุ่นที่อุณหภูมิ 100°ซ 15-30 นาที

เติม NaOH 0.171 m ปริมาณ 10 มิลลิลิตร จนได้ pH1.5

เติม Bacillus subtilis protease 5 มิลลิลิตร อุ่นที่อุณหภูมิ 60°ซ 30 นาที

↓

ตกตะกอนด้วย 95% alcohol 280 มิลลิลิตร

↓

กรอง

↓

ล้างตะกอนด้วยแอลกอฮอล์ และอะซีโตน

↓

ชั่งน้ำหนักตะกอน

ที่มา : AOAC method to determine total dietary fiber ,1995)

ส่วนประกอบของใยอาหารในอาหารจะขึ้นอยู่กับอายุ พันธุ์พืช และส่วนต่างๆ ของพืช

Non-glucidic Components	Protein	Plant cell wall	Substances associated with cell-wall dietary fibers
	Cutin		
	Wax		
	Silice		
	Suberin		
	Lignin		
	Cellulose		Dietary fibers
	Hemicelluloses		
	Pectic substances		
	Gum		
	Mucilage		
	Vegetable polysaccharides		
	Bacterial polysaccharides		

ภาพที่ 5.9 Dietary fiber และส่วนอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง (Thebaudin et al., 1997)

เส้นใยหยาบ (crude fiber) หมายถึง ส่วนของพืช ผัก ผลไม้ที่เหลือยู่ภายหลังจากการย่อยสลายด้วยกรดและด่าง ส่วนที่เหลืออยู่ประกอบด้วยสารที่ไม่ละลายน้ำ ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ค่าของใยจากอาหารที่ระบุในตารางแสดงคุณค่าอาหาร ส่วนใหญ่มักอยู่ในรูปของกากใยเพราะว่าย่อยสลายด้วยกรดหรือด่าง องค์ประกอบส่วนใหญ่ของกากใยเป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ ส่วนองค์ประกอบของใยอาหารมีทั้งสารที่ละลายน้ำและไม่ละลาย ดังนั้นกากใยจึง

เป็นเพียงส่วนหนึ่งของใยอาหาร และพบว่าค่าของกากใยมีค่าน้อยกว่าใยอาหารประมาณ 1 ใน 5 หรือ 1 ใน 7 ของปริมาณใยอาหารทั้งหมด

วิธีวิเคราะห์เส้นใยอาหารมี 3 วิธีคือ

1. Non-enzymatic-gravimetric method เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ใช้สารเคมีในการย่อยคือ กรดและด่างซึ่งสารละลายด่างได้แก่ Potassium hydroxide หรือ sodium hydroxide ความเข้มข้นประมาณ 0.1 N สารละลายกรดได้แก่ sulphuric acid ความเข้มข้นประมาณ 0.1 N และใช้น้ำร้อนล้างสารตัวอย่างให้สะอาด และระเหยน้ำออกจากสารตัวอย่าง ขั้นสุดท้ายให้นำไปเผาจนได้น้ำหนักคงที่ และนำไปคำนวณน้ำหนักของใยอาหาร วิธีนี้เป็นวิธีวิเคราะห์ **crude fiber** ในอาหารชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นกฎที่ต้องวิเคราะห์ถ้าต้องการขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ

2. Enzymatic-gravimetric method เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ enzyme ในการย่อยตัวอย่างอาหาร ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้วิเคราะห์ **dietary fiber**

3. Enymatic chemical method เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ enzyme ในการย่อยตัวอย่างอาหารแล้ววิเคราะห์สิ่งที่เหลือโดยวิธีเคมีคือ ย่อย polysaccharide นั้นด้วยกรดอีกครั้งได้เป็น monosaccharide และ วิเคราะห์ monosaccharide ด้วย เครื่อง high pressure liquid chromatography และคำนวณกลับมาที่ปริมาณสารตัวอย่างเริ่มต้นก็สามารถคำนวณปริมาณใยอาหาร

การคำนวณหาปริมาณเส้นใยอาหาร

ปริมาณเส้นใยในตัวอย่างอาหาร = น้ำหนักแห้งของกาก – น้ำหนักเถ้า

การสร้างเซลลูโลสจากจุลินทรีย์ *Acetobacter sp.*

แบคทีเรียบางชนิดสามารถผลิตเส้นใยเซลลูโลสได้ โดยเกิดเป็นแผ่นฝ้าหนาบนผิวหน้าของอาหารเหลวเพาะเลี้ยง ที่เรารู้จักในรูปของวุ้นมะพร้าว หรือวุ้นสวรรค์ ลักษณะทางกายภาพของเซลลูโลสที่ผลิตจากแบคทีเรีย จะมีเส้นใยใสขนาดเล็ก ไม่มีเฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และ เพคตินเป็นส่วนประกอบเหมือนเซลลูโลสที่ผลิตได้จากพืช มีความเหนียวทนต่อแรงดึงได้สูง มีโปรตีน มีประโยชน์ในการใช้เป็นอาหารช่วยลดน้ำหนัก เพราะไม่ให้พลังงานและ

ช่วยในการ ขับถ่าย ใช้เป็นสารให้ความหนืดและให้ความคงตัวในผลิตภัณฑ์อาหาร ยาและเครื่องสำอาง นอกจากนั้นยังสามารถนำมาใช้เป็นวัสดุในการผลิตหูฟังได้ดีเนื่องจากมีความเหนียวสูงในขณะที่มีการถ่ายทอดเสียงและลดเสียงรบกวนได้ดี แบคทีเรียชนิดที่นิยมใช้ในการผลิตเซลลูโลส ได้แก่กลุ่มแบคทีเรียที่สร้างกรดน้ำส้ม ชนิด *Acetobacter sp.* โดยเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีออกซิเจน และมีน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิประมาณ 28-32 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 5.2 แหล่งของเส้นใยอาหารแบ่งตามชนิดของใยอาหาร

เส้นใยจากพืช	Pectin	ผลแอปเปิ้ล ส้ม องุ่น ผลไม้สด
	Gum	ตระกูลถั่ว ธัญพืช เมล็ดผลไม้ ผลทางราก ผัก
	Mucillage	เมล็ดธัญพืช สาหร่ายทะเล
	Cellulose	ธัญพืชตระกูลถั่ว ผักใบเขียว
	Hemicellulose	ตระกูลแดง หน่อไม้ ผักที่เป็นใบ
	Lignin	ธัญพืช โกโก้ มะพร้าว
เส้นใยจากสัตว์	Chitin	ปู กุ้ง กระดองปลาหมึก สัตว์ที่มีขาเป็นปล้องๆ
เส้นใยจากปรุงแต่งอาหาร	CMC	ไอศรีม ขนมหรือเครื่องดื่มที่มีความเหนียวข้น
	Agar Gum	ขนมหวาน ขนม เป็นวุ้น

ที่มา : http://www.biogenthai.com

ประโยชน์ของใยอาหารต่อร่างกาย

ใยอาหารมีผลต่อระบบสรีระวิทยาของร่างกายหลายด้าน คือ

1. ลดระดับน้ำตาลในเลือด

การบริโภคใยอาหารที่ละลายน้ำได้จะลดระดับน้ำตาล และอินสุลิน ในเลือดหลังจากบริโภคอาหาร เหมาะกับผู้ป่วยโรคเบาหวาน เนื่องจากเส้นใยอาหารจะจับกับน้ำและน้ำตาลเกิดเป็นวุ้นเหนียวทำให้การดูดซึมช้าลง เป็นผลให้อาหารอยู่ในกระเพาะนานขึ้น และขัดขวางการทำงานของตับอ่อนที่ไซเย่อยคาร์โบไฮเดรต

2. ลดระดับคลอเลสเตอรอลในเลือด

ใยอาหารชนิดละลายน้ำได้สามารถลดระดับคลอเลสเตอรอลในเลือดได้ ใยอาหารเหล่านี้ได้แก่ เพคติน, guargum, bean gum, รำข้าวโอ๊ต ส่วนใหญ่ลดคอเลสเตอรอลได้ 5 - 10 % การลดคอเลสเตอรอลได้เป็นการลดความเสี่ยงของโรคหัวใจ เส้นใยอาหารเป็นตัวแยกกรด น้ำดี และไขมันในเส้นเลือด ถ้าอัตราการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอลเพิ่มขึ้นไม่พอเพียงที่จะทดแทนการลดลงของคลอเลสเตอรอลไปเป็นกรด น้ำดี ดังนั้นความเข้มข้นของคลอเลสเตอรอลจะลดลง

3. ช่วยทำให้ลำไส้ใหญ่ทำหน้าที่ได้ดีขึ้น

อาหารที่มีใยอาหารมากจะทำให้เพิ่มน้ำหนักอุจจาระ และระบายบ่อยขึ้น ช่วยเจือจางปริมาณสารพิษในลำไส้ใหญ่ และทำให้การเตรียมสารสำหรับถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่เป็นไปโดยปกติ ใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ เช่น รำข้าวสาลี ช่วยเพิ่มปริมาณอุจจาระอย่างมาก ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่เป็นโรคท้องผูกและริดสีดวงทวาร ผักและผลไม้ กัม และ มิวซิเลจ เพิ่มปริมาณอุจจาระปานกลาง ขณะที่ถั่วและเพคตินเพิ่มน้อยที่สุด

4. ช่วยป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่

ถ้ารับประทานใยอาหารมากจะทำให้อุจจาระผ่านออกจากลำไส้ใหญ่เร็วขึ้นจะทำให้สารก่อมะเร็งเจือจางไม่อยู่ในระดับที่เป็นผลต่อร่างกาย ส่วนโรคถุงตันในลำไส้นี้มีความสัมพันธ์กับลำไส้เนื่องจากความอ่อนแอของผนังลำไส้เกิดจากแรงดันของอุจจาระ ทำให้เกิดการอักเสบของผนังลำไส้ เริ่มติดเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

5. ช่วยป้องกันโรคอ้วน

เส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้จะกลายเป็นเจล เพิ่มความหนืด และการเกาะตัวของสารในกระเพาะจะทำให้พื้นที่ในกระเพาะอาหารมีที่ว่างน้อยลง จึงรับประทานได้น้อยลง

การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยอาหารโดยวิธี Enzymatic – Gravimetric (AOAC, 1995)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ beaker (น้ำหนักแต่ละซ้ำจะต้องต่างกันไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัม)

2. เติม buffer ผสม MES – TRIS 40 มิลลิลิตร pH 8.2 ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส และคนจนเข้ากันดี

3. เติมเอนไซม์แอลฟาอะมัยเลส ที่ 60 องศาเซลเซียส 50 ul และคนช้าๆ

4. ปิดด้วยกระดาษอลูมิเนียม บ่มที่ 95 – 100 องศาเซลเซียส ใน shake water bath นาน 15 นาที เริ่มจับเวลาที่อุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส และทำให้เย็นที่ 60 องศาเซลเซียส

5. เอากระดาษอลูมิเนียมออก ใช้ spatura กวนวงแหวนที่เกิดขึ้นและเจลที่ก้น

6. rinse ข้างบีกเกอร์ด้วยน้ำ 10 มิลลิลิตร และเติมเอนไซม์โปรติเอส 100 ul ปิดด้วยแผ่นอลูมิเนียม และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ต้องเขย่าอยู่ตลอดเวลา

7. เอากระดาษอลูมิเนียมออกและเติม HCL 0.561 N ปริมาตร 5 ml คนขณะที่เติม

8. ปรับ pH ที่ 4.0 – 4.7 ที่ 60 องศาเซลเซียส (ใช้ 1 N NaOH หรือ 1 N HCL)

9. เติมเอนไซม์อะมัยโลกลูโคซิเดส 300 ul คนขณะที่เติม และปิดด้วยกระดาษอลูมิเนียม บ่มที่อุณหภูมิ 60องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ต้องเขย่าอยู่ตลอดเวลา

การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (AOAC, 1995)

วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างที่ผ่านการย่อยแล้ว (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน)

2. ทำการล้าง sinter glass crucible และกระจายซีไลท์ ด้วยน้ำ 3 ml ลงในขวดรูปชมพู่ โดยใช้สุญญากาศ

3. ชะตัวอย่างด้วยสารละลายเอทานอลผ่าน crucible โดยใช้ flask รองรับ

4. ชะบีกเกอร์และตะกอนด้วยน้ำที่ร้อน 70 องศาเซลเซียส 10 มิลลิลิตร จะชะ 2 ครั้ง

5. แยกออกเป็นตะกอนและสารละลายที่ทราบปริมาตร (สารละลายจะเก็บไว้เพื่อวิเคราะห์หาเส้นใยที่ละลาย ในน้ำ)

6. นำตะกอนที่ได้มาชะล้างโดยใช้

   6.1 ใช้ 78 % EtoH 15 มิลลิลิตร

   6.2 ใช้ 95 % Etoh 15 มิลลิลิตร

   6.3 ใช้ Acetone 15 มิลลิลิตร โดยจะทำซ้ำอย่างละ 2 ครั้ง

7. นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส แล้วนำไปวิเคราะห์หาโปรตีนและเถ้าต่อไป

8. ขูด residue จาก sinter glass crucible อันแรกเพื่อนำไปหาปริมาณโปรตีน

9. ขูด residue จาก sinter glass crucible อันที่สองเพื่อนำไปหาปริมาณเถ้า (โดยนำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง)

คำนวณปริมาณเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำจากสูตร

$$\text{เส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนัก residue} - P - A - B}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

เมื่อ

น้ำหนัก residue = ค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก residue ที่ใช้ (มิลลิกรัม)

P = น้ำหนักโปรตีนของ residue จาก fritted crucible อันแรก (มิลลิกรัม)

A = น้ำหนักเถ้าของ residue จาก fritted crucible อันที่สอง (มิลลิกรัม)

B = Blank (มิลลิกรัม) คำนวณจาก

Blank = น้ำหนัก residue ของ blank – ปริมาณโปรตีนของ blank – ปริมาณเถ้าของ blank

น้ำหนักตัวอย่าง = ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิกรัม)

การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำ (A0AC, 1995)

วิธีวิเคราะห์

1. นำของเหลวที่กรองได้ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ เติมสารละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 ที่มีอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วน 1 : 4 (ตัวอย่างต่อสารละลายเอทานอล) แล้วทิ้งให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2. ทำ Sinter glass crucible ที่เตรียมไว้ให้เปียก และกระจายซีไลท์ ด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 78 แล้วจึงนำของเหลวที่ได้มากรอง

3. ล้าง residue ด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 78 จำนวน 2 รอบ ๆ ละ 15 มิลลิลิตร ล้างด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 2 รอบ ๆ ละ 15

มิลลิลิตร ล้างด้วยอะซีโตนจำนวน 2 รอบ ๆ ละ 15 มิลลิลิตร

4. นำ Sinter glass crucible ที่มี residue ไปอบตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสจากนั้นทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 1 ชั่วโมง แล้วนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนัก residue

5. ขูด residue จาก sinter glass crucible อันแรกเพื่อนำไปหาปริมาณโปรตีน

6. ขูด residue จาก sinter glass crucible อันที่สองเพื่อนำไปหาปริมาณเถ้า (โดยนำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 ชั่วโมง)

7. คำนวณปริมาณเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำจากสูตร

$$\text{เส้นใยอาหารที่ละลายน้ำ (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนัก residue} - P - A - B}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

เมื่อน้ำหนัก residue = ค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก residue ที่ใช้ (มิลลิกรัม)

P = น้ำหนักโปรตีนของ residue จาก sinter glass crucible อันแรก (มิลลิกรัม)

A = น้ำหนักเถ้าของ residue จาก sinter glass crucible อันที่สอง (มิลลิกรัม)

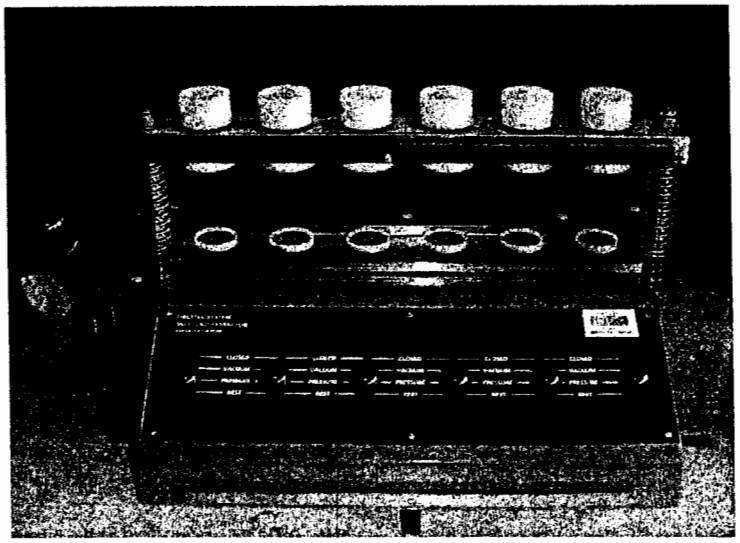
B = Blank (มิลลิกรัม) คำนวณจาก

Blank = น้ำหนัก residue ของ blank – ปริมาณโปรตีนของ blank – ปริมาณเถ้าของ blank

น้ำหนักตัวอย่าง = ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิกรัม)

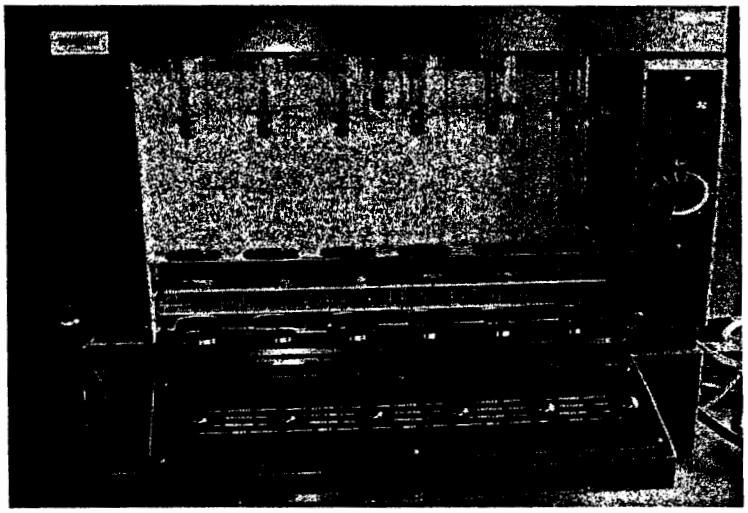
คำนวณจากสูตร

ปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมด (ร้อยละ) = เส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ + เส้นใยอาหารที่ละลายน้ำ



ภาพที่ 5.10 เครื่องวิเคราะห์ใยอาหาร (Hot Extraction Fiber Apparatus)

ที่มา : เครื่องมือปฏิบัติการในภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร



ภาพที่ 5.11 เครื่องวิเคราะห์ใยอาหาร (Cold Extraction Fiber Apparatus)
ที่มา : เครื่องมือปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

น้ำกระด้าง

พบได้ในน้ำผิวดิน และน้ำใต้ดิน จะมีความกระด้างอยู่ 2 ประเภท คือ

1. ความกระด้างชั่วคราว หมายถึง น้ำกระด้างที่มีอนุมูลไบคาร์โบเนตของแคลเซียมและแมกนีเซี่ยมผสมอยู่สำหรับความกระด้างชั่วคราวในน้ำสามารถกำจัดได้โดยการต้ม เนื่องจากการต้มน้ำจะทำให้ไบคาร์บอเนตของแคลเซียมและแมกนีเซี่ยม ที่มีอยู่ในน้ำกลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ระเหยออกจากน้ำ และเกิดตะกอนของแคลเซี่ยมคาร์บอเนตหรือแมกนีเซียมคาร์บอเนตสามารถกำจัดได้ด้วยการกรอง

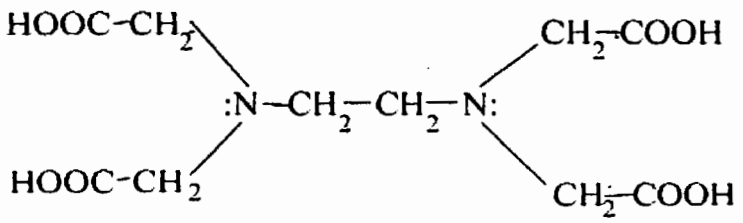
2.ความกระด้างถาวร หมายถึง น้ำกระด้างที่มีสารเหล่านี้อยู่เช่น แคลเซียมซัลเฟตและแคลเซี่ยมคลอไรด์ หรือ แมกเนเซี่ยมซัลเฟต และแมกเนเซียมคลอไรด์ ละลายอยู่ ซึ่งสามารถกำจัดได้โดยการใช้สารเคมี ได้แก่ ปูนขาว (แคลเซียมไฮดรอกไซด์) และ โซดาแอช (โซเดียมคาร์บอเนต) เติมลงไปในน้ำกระด้าง เพื่อทำปฏิกิริยาทางเคมีเปลี่ยนรูปเกลือแคลเซียมและแมกนีเซียมซึ่งอยู่ในรูปสารละลายน้ำให้อยู่ในรูปตะกอน นอกจากนี้ ต้องใส่สารช่วยตกตะกอน เช่น สารส้ม เพื่อให้ตะกอนที่เกิดขึ้นรวมตัวกันและจับตัวเป็นก้อนตะกอนได้เร็วยิ่งขึ้น

ตารางที่ 5.3 มาตรฐานการแบ่งระดับความกระด้าง

ความกระด้าง	ความเข้มข้น $CaCO_3$ (มิลลิกรัม/ลิตร)
น้ำอ่อน	0 ถึง< 75
น้ำกระด้างปานกลาง	75 ถึง< 150
น้ำกระด้าง	150 ถึง< 300
น้ำกระด้างมาก	300 และมากกว่า

ที่มา : ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 332 (พ.ศ. 2521)

การวิเคราะห์ความกระด้างในน้ำ จะวัดจากความกระด้างทั้งหมดซึ่งเป็นผลรวมของค่าความกระด้างชั่วคราวและความกระด้างถาวรเข้าด้วยกัน โดยอาศัยหลักการ คือ EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) สามารถสร้างไอออนเชิงซ้อนที่เสถียรกับ Ca^{2+}, Mg^{2+} และไอออนประจุบวกสองอื่นๆที่เป็นสาเหตุของความกระด้างของน้ำ ซึ่ง EDTA เป็น chelating agents เป็น multi-dentate ligands ซึ่งสามารถจับกับโลหะ 4-6 อนุมูล เมื่อเติม Eriochrome Black T Indicator ในน้ำตัวอย่างที่มีบัฟเฟอร์ pH 10.0$\pm$0.1 เติม Eriochrome Black T จะรวมกับ Ca^{2+}, Mg^{2}เกิดเป็นสารเชิงซ้อนสีม่วง (ถ้าไม่มีไอออนของโลหะละลายอยู่จะได้สารละลายสีฟ้า) เมื่อไตเตรทด้วย EDTA Ca^{2+}, Mg^{2}และไอออนประจุบวกอื่นๆที่เป็นสาเหตุของความกระด้างของน้ำจะรวมตัวกับ EDTA เป็นสารเชิงซ้อน ซึ่งไม่มีสีและคงตัวกว่าสารเชิงซ้อนแรก โดยจะรวมตัวกับ Ca^{2+} ก่อน แล้วจึงมารวมตัวกับ Mg^{2+} เมื่อ EDTA รวมตัวกับไอออนดังกล่าวหมดแล้วจึงไปดึงไอออนโลหะ (Mg^{2+}) มาจากสารเชิงซ้อนแรกจนหมดและปล่อย Eriochrome Black T เป็นอิสระ สีของสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีฟ้า แสดงว่าถึงจุดยุติ (End point)



structure of EDTA

EDTA มักใช้ผสมในสบู่หรือผงซักล้างเพราะสามารถจับอนุมูลแคลเซียมหรือแมกนีเซียมซึ่งจะไม่ขัดขวางงานทำความสะอาด

EDTA นิยมใช้มากในอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่ง EDTA สามารถดึงอนุมูลโลหะจากเอ็นไซม์ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่เป็นสาเหตุให้อาหารเน่าเสีย นอกจากนี้ยังช่วยดึงให้สีอาหารคงที่ในอาหารแห้งเช่น กล้วย, ถั่ว อาหารกระป๋องจำพวกกุ้ง, มันฝรั่ง ช่วยปรับรสชาติของเครื่องดื่มคาร์บอเนต, เบียร์ ช่วยชลอกลิ่นหืนในน้ำสลัด มายองเนส, มาการีนและซอส

EDTA (Chelation therapy) ใช้รักษาโรคคนไข้ได้รับความยิยยอมจาก U.S. Food and Drug Administration (FDA) ในการดึงโลหะหนักเช่นตะกั่ว, ปรอท และโรคที่มีปริมาณแคลเซียมในร่างกายมากเกินไป (hypercalcemia)จากร่างกาย

<u>น้ำกระด้างมีผลเสียคือ</u>

1. ต้องล้างท่อบ่อยๆ เนื่องจากมีตะกรันติดอยู่ตามท่อน้ำต่างๆ
2. อาจทำให้หม้อน้ำระเบิดได้ เนื่องจากตะกรันในหม้อน้ำที่เกิดจากความกระด้างหรือใช้งานได้ไม่เต็มสมรรถภาพ
3. น้ำกระด้างสูง ทำให้ผงซักฟอกและสบู่เกิดได้ยาก
4. น้ำดื่มที่มีความกระด้างจะมีรสเฝื่อน

การเตรียมสารเคมีสำหรับการวิเคราะห์น้ำกระด้าง

1. EDTA solution ละลาย 3.723 กรัมของ disodium ethyleandiaminetetraacetate dehydrate ในน้ำกลั่นครบ 1 ลิตร

2. Buffer solution

2.1 ละลาย 16.9 กรัม ของ ammonium chloride ใน ammonium hydroxide 143 มิลลิลิตร เติม magnesium salt of EDTA จำนวน 1.25 กรัม เติมน้ำกลั่นครบ 250 มิลลิลิตร เก็บในขวดพลาสติกได้ 1 เดือน

3. Eriochrome Black T solution (indicator) ละลายผงสีนี้ 0.5 กรัม ใน triethanolamine หรือ 2-methoxymethanol 100 มิลลิตร ใช้ครั้งละ 1-2 หยดในการไทเทรด

4. **Alternative buffer:** Dissolve 1.179 กรัม disodium salt of dthylenediaminetetraacetic acid dihydrate and 780 มิลลิกรัม magnesium sulfate ($MgSO_4$-$7H_2O$) or 644 มิลลิกรัม magnesium chloride ($MgCl_2$-$6H_2O$) in 50 มิลลิลิตร distilled water. Add this solution to 16.9 g NH_4Cl and 143 มิลลิลิตร conc.ammonium hydroxide with mixing and dilute to 250 มิลลิลิตร with distilled water.

คำถาม

จงคำนวณความกระด้างของน้ำ (ppm) เมื่อใช้น้ำตัวอย่าง 25.0 มิลลิลิตร ไทเทรตกับ 0.01 M EDTA จำนวน 6.20 มิลลิลิตร

วิธีคำนวณ

$$\text{ความกระด้างของน้ำ} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ EDTA x ปริมาตร EDTA ที่ใช้ในการไทเทรต}}{\text{ปริมาตรน้ำที่ใช้ในการวิเคราะห์}}$$

$$= \frac{0.01\ M \times 6.20\ \text{มิลลิลิตร}}{25.0\ \text{มิลลิลิตร}}$$

= 0.00248 โมลแคลเซียมคาร์บอเนต

$= 0.00248 \times 100.09 \times 10^3$

= 248 ppm

สรุปน้ำตังอย่างนี้กระด้าง

พลังงานในอาหาร

ค่าพลังงานอาหาร เป็นค่าที่ได้จากการวัดพลังงานเคมีในพัธะของสารอินทรีย์ เช่น ไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต ปริมาณพลังงานในอาหารมีหน่วยเป็น Kcal สามารถวิเคราะห์ได้ 2 วิธี คือ

1. เครื่อง Bomb Calorimeter
2. วิธีคำนวณจาก conversion factor

Bomb calorimetry เป็นวิธีการวัดค่า enthalpy ของการเผาไหม้ของสารประกอบ Hydrocarbonต่างๆ, $\Delta_{comb} H$, ในอาหาร ปฏิกิริยาของการเผาไหม้เป็นดังนี้

$$C_xH_yO_{z(s)} + (2X+Y/2-Z)/2\ O_{2(g)} \longrightarrow XCO_{2(g)} + Y\ H_2O_{(l)}$$

การวิเคราะห์ด้วย Bomb calorimeter อาศัยหลักการเผาไหม้ของอาหารใน bomb ซึ่งเป็นกระป๋องโลหะที่ทำจากสแตนเลส ภายใต้บรรยากาศของออกซิเจนที่ความดันบรรยากาศค่อนข้างสูง (ประมาณ 25 atmosphere) ผลที่เกิดจากการ oxidation ของสารประกอบอินทรีย์ได้น้ำและคาร์บอนไดออกไซด์พร้อมกับไนโตรเจน กำมะถันและฟอสฟอรัสซึ่งมีปริมาณน้อยทำให้เกิดการปลดปล่อยของพลังงานในรูปความร้อน ซึ่งความร้อนจะถูกน้ำที่อยู่รอบๆ ถัง bomb ดูดซับไว้ ซึ่งส่งผลให้น้ำมีอุณหภูมิสูงขึ้น และนำมาคำนวณค่าพลังงานอาหารวิธีวัดค่าพลังงานอาหารโดย bomb calorimeter เป็นวิธีที่รวดเร็ว และมีความแม่นยำสูงการวัดค่าพลังงานของ

อาหารที่ไม่ถูก Oxidize ในร่างกายมนุษย์ เช่น dietary fiber ที่ไม่ถูกย่อยในระบบย่อยอาหาร ทำให้การวัดพลังงานของอาหารเหล่านี้มีค่าสูงกว่าความเป็นจริงส่วนประเภท non-fiber การวัดค่าพลังงานควรวัดจากค่า caloric value หรือ gross energy

ค่าความคลาดเคลื่อนของการวัดค่าพลังงานอาหารได้แก่

1. การย่อยของอาหารไม่สมบูรณ์
2. การดูดซึมไม่สมบูรณ์
3. อาหารประเภทใยอาหาร
4. ผลของการขนส่งสารอาหารประเภทเส้นใย และการขับถ่ายของสารโปรตีนและไขมัน ทำให้ค่าพลังงานอาหารลดลง

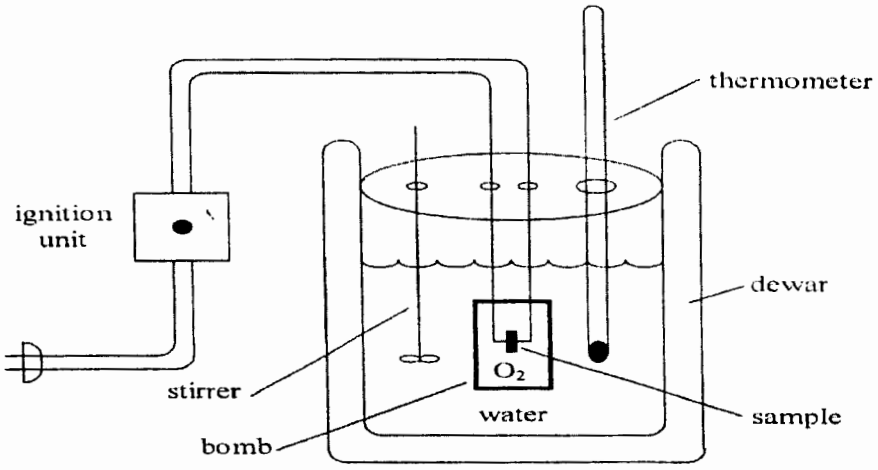
การคำนวณค่าพลังงานอาหารโดยเปลี่ยนค่าของ โปรตีน, ไขมัน และ คาร์โบไฮเดรด ด้วย Calories conversion Factor : Protein 1 g = 4 Kcal, Fat 1g = 9 Kcal และ Carbohydrate = 4 Kcal

ตัวอย่าง 5.2 การวิเคราะห์ปริมาณ Calories ในอาหารซึ่งมี

Protein 12%, Fat 3%, Carbohydrate 17%

= (12×4)+ (3×9)+ (17×4)

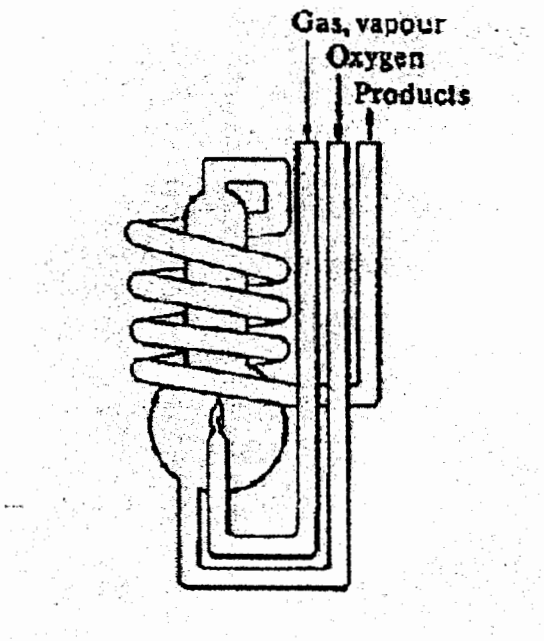
= 128 Kcal



ภาพที่ 5.12 แสดงส่วนประกอบต่างๆของ Bomb calorimeter

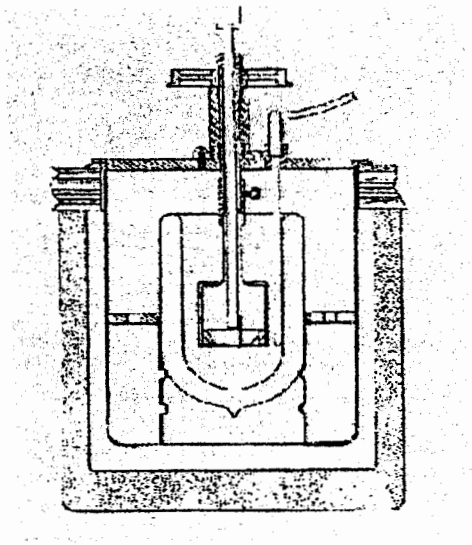
ภาพที่ 5.13 Bomb Calorimeter

ที่มา : เครื่องมือปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร



ภาพที่ 5.14 Flame Calorimeter

ที่มา : www.chem.hope.edu



ภาพที่ 5.15 Solution Calorimeter

ที่มา : www.chem.hope.edu

AOAC Official Method 954.02
Fat (Crude) or Ether Extract in Pet Food
Gravimetric Method
Final Action 1977

[To be used only on products which have been baked and/or extruded, and on intermediate moisture pet foods. Not applicable to canned, fresh, or frozen pet food. Such products should be dried at 100–110°, then ground, and drying completed by 934.01 (*see* 4.1.03) or 920.36★ (*see* 4.1.05) followed by 920.39A or 920.39C (*see* 4.1.01).]

(*Caution: See Appendix B*, safety notes on distillation, diethyl ether, and petroleum ether.)

Place ca 2 g, accurately weighed, ground, well-mixed sample in Mojonnier fat-extraction tube, add 2 mL alcohol to prevent lumping on addition of acid, and shake to moisten all particles. Add 10 mL HCl (25 + 11), mix well, and set tube 30–40 min in H_2O bath at 70–80°, shaking frequently. Cool to room temperature and add alcohol until liquid level rises into constricted portion of Mojonnier tube.

Add 25 mL ether, stopper with glass, Neoprene, or good quality rubber stopper thoroughly cleaned with alcohol, and shake vigorously 1 min. Carefully release pressure so that no solvent is lost. Wash adhering solvent and fat from stopper back into extraction tube with few mL redistilled petroleum ether (bp <60°). Add 25 mL redistilled petroleum ether, stopper, and shake vigorously 1 min. Let stand until upper liquid is practically clear or centrifuge 20 min at ca 600 rpm. Pour as much of ether-fat solution as possible through filter consisting of cotton pledget packed just firmly enough in funnel stem to let ether pass freely into 150 mL beaker containing several glass beads. Rinse lip of tube with few mL petroleum ether. Reextract liquid remaining in tube twice, each time with only 15 mL of each ether, shaking 1 min after addition of each ether. Pour clear ether solution through filter into same beaker as before, and wash tip of tube, stopper, funnel, and end of funnel stem with few mL of mixture of 2 ethers (1 + 1). Evaporate slowly on steam bath under gentle stream of air or N_2. Continue heating on steam bath 15 min after solvent has evaporated; then cool to room temperature.

Redissolve dried fat residue in four 10 mL portions ethyl ether, filtering each portion through small pledget of cotton into 100 mL beaker, containing few glass beads, that has been predried 30 min at 100°, cooled to room temperature in desiccator, and weighed immediately. Use fifth 10 mL portion ether for rinsing cotton and funnel. Evaporate ether on steam bath, dry 90 min at 100°, cool to room temperature in desiccator, and weigh immediately. Correct this weight by blank determination on reagents used.

ที่มา : AOAC 16 th Edition (1995)

Subchapter 5
FAT

.01

AOAC Official Method 920.39
Fat (Crude) or Ether Extract in Animal Feed
Final Action

Use method 920.39A or 920.39C for mixed feeds other than (*1*) and/or expanded, (*2*) dried milk products, or (*3*) containing

Indirect Method

Determine moisture as in **934.01** (*see* 4.1.03) or **920.36★** (*see* 4.1.05); then extract dried substance as in **920.39C**, and dry again. Report loss in weight as ether extract.

Direct Method

Reagent

Anhydrous ether.—Wash commercial ether with 2 or 3 portions H_2O, add solid NaOH or KOH, and let stand until most of H_2O is extracted from the ether. Decant into dry bottle, add small pieces of carefully cleaned metallic Na, and let stand until H_2 evolution ceases. Keep ether, thus dehydrated, over metallic Na in loosely stoppered bottles. (*Caution: See Appendix B*, safety notes on sodium metal and diethyl ether.)

Determination

Large amounts H_2O-soluble components such as carbohydrates, urea, lactic acid, glycerol, and others may interfere with extraction of fat; if present, extract 2 g sample on small paper in funnel with five 20 mL portions H_2O prior to drying for ether extraction. *Caution: See Appendix B*, safety notes on monitoring equipment, distillation, and diethyl ether.)

Extract ca 2 g sample, dried as in **934.01** (*see* 4.1.03) or **920.36★** (*see* 4.1.05), with anhydrous ether. Use thimble with porosity permitting rapid passage of ether. Extraction period may vary from 4 h at condensation rate of 5–6 drops/s to 16 h at 2–3 drops/s. Dry extract 30 min at 100°, cool, and weigh.

References: JAOAC **64**, 351(1981); **65**, 289(1982).

ที่มา : AOAC 16 th Edition (1995)

ตารางที่ 5.2 สีมาตรฐานที่ใช้ผสมอาหาร

Color Additive: Color	Source	Uses
Annato extract: yellow	Seeds of *Bixa orellana* tree	Cheese, baked goods
Dehydrated beets: red	Beets	Dairy products, fruit fillings
Ultramarine blue		
Canthaxanthin: reddish orange	Synthesis	
Caramel: brown to dark brown	Heating corn syrup	Soft drinks, baked goods
β-apo-8′-carotenal: red orange	Synthetic	
β-carotenene: yellow	Synthetic, algae	Margarine, baked goods
Cochineal/carmine: orange	Female cochineal insect	Beverages, sausage
Cottonseed flour		
Ferrous gluconate		
Grape color extract: red to purple	Concord grapes	Jellies, candies
Grape skin extract	Grape skins	Beverages
Iron oxide		
Fruit juice	Variety of fruits	
Vegetable juice	Variety of vegetables	
Dried algae meal		
Tagetes		
Carrot oil	Carrots	
Corn endosperm oil	Corn endosperm	
Paprika: red-orange	Sweet red peppers	
Paprika oleoresin: red-orange	Sweet red peppers	Comminuted meats, salad dressings
Riboflavin: yellow	Synthetic	
Saffron: yellow	*Crocus sativus* plant	Soups, baked goods, dairy foods
Titanium dioxide: white	Ilmenite (a mineral oxide)	Salad dressings, dairy products
Turmeric: yellow	*Curcuma longa L.* plant	
Turmeric oleoresin: yellow	*Curcuma longa L.* plant	

ที่มา : Dennis D. Miller, (1998)