ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

ภาพประกอบกระบวนการผลิต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขั้นตอนกระบวนการผลิตข้าวเหนียวพาร์บอยล์เสริมแร่ธาตุและกรดอะมิโน

1. กระบวนการพาร์บอยล์ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6

ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 ชนิดข้าวเปลือก ที่ระดับความชื้นร้อยละ 13

แช่น้ำที่อุณหภูมิ 62 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง 50 นาที
(อัตราส่วนข้าว : น้ำ คือ 1 : 2.5)

นำข้าวใส่ถุงผ้าขาวบาง

นึ่งด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 12 นาที

อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนได้ระดับความชื้นร้อยละ 13
แล้วพักข้าวไว้ 7 วัน

นำข้าวไปสีเป็นข้าวสารเมล็ดเต็ม

ข้าวเหนียวพาร์บอยล์พันธุ์ กข 6 ที่ผ่านการขัดสีแล้ว

ภาพ ก–1 ขั้นตอนกระบวนการผลิตข้าวเหนียวพาร์บอยล์พันธุ์ กข 6

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. กระบวนการเสริมแร่ธาตุและกรดอะมิโนในข้าวเหนียวพาร์บอยล์พันธุ์ กข 6 ด้วยกระบวนการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ

ข้าวเหนียวพาร์บอยล์พันธุ์ กข 6 ที่ผ่านการขัดสีแล้ว

แช่ข้าวเหนียวพาร์บอยล์ด้วยสารละลาย (อัตราส่วนข้าว : สารละลาย คือ 1: 2)

นำไปผ่านกระบวนการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ
ที่ความดัน -0.75 บาร์ นาน 40 นาที

สะเด็ดเอาสารละลายออก

อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนได้ระดับความชื้นไม่เกินร้อยละ 13
แล้วสุ่มตัวอย่างไปวิเคราะห์ผลในด้านคุณลักษณะทางกายภาพ
คุณค่าทางโภชนาการ และคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์ข้าวเหนียวพาร์บอยล์พันธุ์ กข 6 ที่ผ่านกระบวนการเสริมแร่ธาตุ
และกรดอะมิโนแล้ว

ภาพ ก–2 ขั้นตอนกระบวนการเสริมแร่ธาตุและกรดอะมิโนในข้าวเหนียวพาร์บอยล์พันธุ์ กข 6 ด้วยกระบวนการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

การคำนวณปริมาณสารอาหาร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข-1

การคำนวณปริมาณสารอาหารเพื่อใช้เสริมในข้าวเหนียวพาร์บอยล์การทดลองที่ 1.1

การคำนวณปริมาณสารอาหารแต่ละชนิดเพื่อใช้เสริมในข้าวเหนียวพาร์บอยล์ในการทดลองที่ 1.1

สำหรับปริมาณสารอาหารที่ต้องการเสริมในข้าวเหนียวพาร์บอยล์ จากการสืบค้นข้อมูลพบว่า มีทั้งงานวิจัยที่ได้ทำการเสริมสารอาหารคิดเป็นร้อยละ 30 และ 40 ของปริมาณที่ต้องการในแต่ละวัน เพื่อให้ได้ปริมาณสารอาหารที่ต้องการเสริมอย่างแน่นอน และสามารถนำมาใช้กำหนดค่าอ้างอิงในการพัฒนาผลิตภัณฑ์และกระบวนการผลิต จึงได้ประมาณค่าปริมาณสารอาหารที่ต้องการเสริมจากงานวิจัยต่าง ๆ คือ ระหว่างตรงกลางของร้อยละ 30 และ 40 ซึ่งเท่ากับร้อยละ 35 ของความต้องการสารอาหารในแต่ละวันของร่างกาย

ส่วนในการคำนวณหาปริมาณสารอาหารที่จะต้องทำการเตรียมเพื่อเสริมในข้าวเหนียวพาร์บอยล์ในรูปของสารละลายสารอาหาร จะคำนวณเพื่อเตรียมสารละลายสารอาหารที่ระดับร้อยละ 40 ของความต้องการสารอาหารในแต่ละวัน หรือเป็นสารละลายในอุดมคติ (Ideal solution) ซึ่งมากกว่าระดับที่ต้องการเสริม คือ ร้อยละ 35 เพื่อเป็นการป้องกันไว้สำหรับความคลาดเคลื่อนต่าง ๆ จากการทดลอง หรือในกรณีที่ข้าวพาร์บอยล์ไม่สามารถดูดซับสารอาหารบางชนิดไว้ในปริมาณที่คาดหมาย ซึ่งจะส่งผลให้ปริมาณสารอาหารนั้นในข้าวพาร์บอยล์มีค่าไม่เป็นไปตามเป้าหมายที่ตั้งไว้ การเตรียมปริมาณสารอาหารเสริมไว้ที่ระดับร้อยละ 40 ของความต้องการสารอาหารในแต่ละวันน่าจะสามารถช่วยแก้ปัญหาเหล่านี้ได้

สำหรับการคำนวณปริมาณสารอาหารที่ต้องการเสริมในข้าวนั้น จะอ้างอิงกับปริมาณข้าวที่บริโภคในแต่ละวันจากรายงานข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย (สำนักมาตรฐานสินค้าและระบบคุณภาพ สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2549) โดยได้กล่าวไว้ว่า คนไทยบริโภคข้าวเหนียวสุกในปริมาณ 450 กรัมต่อคนต่อวัน ดังนั้นจะทำการเสริมสารอาหารโดยคำนวณอ้างอิงจากค่าปริมาณการบริโภคข้าวเหนียวสุกนี้ คือ 450 กรัมต่อคนต่อวัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณปริมาณสารอาหารแต่ละชนิดที่ต้องการเสริมในข้าวเหนียวพาร์บอยล์สำหรับรับประทานต่อวัน (3 มื้อ) แสดงได้ดังนี้

1. ธาตุเหล็ก (Iron; Fe)

ปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวันเท่ากับ 28.2 มิลลิกรัม (คิดจากความต้องการธาตุเหล็กของเพศหญิง อายุ 13-15 ปี)

ปริมาณธาตุเหล็กที่ต้องการจะเสริมในข้าวคิดเป็นร้อยละ 40 ของปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน เท่ากับ 12 มิลลิกรัม

การคำนวณเป็นดังนี้

1. ในข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม ควรมีธาตุเหล็กเท่ากับ 12 มิลลิกรัม
2. การคิดเทียบกลับเป็นปริมาณข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

จากการทดลองเบื้องต้นในการหุงข้าวเหนียวพาร์บอยล์ที่ผ่านกระบวนการเหมือนกับกระบวนการที่ใช้ทำการศึกษา คือ จะนำข้าวเหนียวผ่านการพาร์บอยล์และแช่น้ำภายใต้กระบวนการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ (สภาวะต้นแบบ) พบว่า เมื่อใช้ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 500.30 กรัม นำไปนึ่งให้สุก (แช่ข้าว 15 นาที และ นึ่งผ่านไอน้ำนาน 20 นาที) จะได้ข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุกในปริมาณ 857.86 กรัม

ข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 857.86 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 500.30 กรัม

ถ้าข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

= (500.30*450)/857.86

= 262.44 กรัม

ดังนั้น ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 262.44 กรัม ควรมีธาตุเหล็กเท่ากับ 12 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละ 40 ของความต้องการในแต่ละวัน

หรือคิดเป็นปริมาณธาตุเหล็ก = 4.57 มิลลิกรัมต่อข้าวสารพาร์บอยล์ 100 กรัม (ร้อยละ 40 ของความต้องการแต่ละวัน)

ในการทดลองจะใช้ข้าวสารเหนียวต่อสิ่งทดลองจำนวน 800 กรัม

จาก ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 262.44 กรัม ควรมีธาตุเหล็กเท่ากับ 12 มิลลิกรัม

ดังนั้นในข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม ควรมีธาตุเหล็ก = (800*12)/262.44

= 36.58 มิลลิกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การเทียบปริมาณสารอาหารในสารละลายแช่ข้าว

จากการทดลองเบื้องต้นในการนำข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์แช่น้ำในกระบวนการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ พบว่า ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์สามารถดูดซับน้ำได้ 1 เท่าตัว

โดย ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม จะดูดซับสารละลายได้ 800 มิลลิลิตร

หรือ ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม สารละลายแทรกซึมได้ 0.80 ลิตร

ดังนั้นในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 0.80 ลิตร จะมีธาตุเหล็ก 36.58 มิลลิกรัม

ในการทดลองใช้สารละลาย 2 เท่าในการแช่ คือ 1.60 ลิตร

ดังนั้น ในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 1.60 ลิตร จะมีธาตุเหล็ก = (1.60*36.58)/0.80

= 73.16 มิลลิกรัม

4. การเตรียมธาตุเหล็กจากสารประกอบ $NaFeEDTA.H_2O$

ธาตุเหล็กปริมาณ 55.85 มิลลิกรัม ใช้สารประกอบ $NaFeEDTA.H_2O$ 367.05 มิลลิกรัม (คิดเทียบจากน้ำหนักโมเลกุลในสารประกอบ)

ต้องการธาตุเหล็กปริมาณ 73.16 มิลลิกรัม จะต้องใช้สารประกอบ $NaFeEDTA.H_2O$

= (73.16*367.05)/55.85

= 480.81 มิลลิกรัม

ดังนั้นจะใช้สารประกอบ $NaFeEDTA.H_2O$ ในปริมาณ 0.4808 กรัม สำหรับแช่ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์หนัก 800 กรัม ในสารละลาย 1.60 ลิตร

2. ธาตุแคลเซียม (Calcium; Ca)

ปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวันเท่ากับ 1,000 มิลลิกรัม (คิดจากความต้องการธาตุแคลเซียมของวัยรุ่นชายหญิง อายุ 9-18 ปี)

ปริมาณธาตุแคลเซียมที่ต้องการจะเสริมในข้าวคิดเป็นร้อยละ 40 ของปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน เท่ากับ 400 มิลลิกรัม

การคำนวณเป็นดังนี้

1. ในข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม ควรมีธาตุแคลเซียมเท่ากับ 400 มิลลิกรัม

2. การคิดเทียบกลับเป็นปริมาณข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

จากการทดลองเบื้องต้นในการหุงข้าวเหนียวพาร์บอยล์ที่ผ่านกระบวนการเหมือนกับกระบวนการที่ใช้ทำการศึกษา คือ จะนำข้าวเหนียวผ่านการพาร์บอยล์และแช่น้ำภายใต้กระบวนการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ (สภาวะต้นแบบ) พบว่า เมื่อใช้ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 500.30 กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นำไปนึ่งให้สุก (แช่ข้าว 15 นาที และ นึ่งผ่านไอน้ำนาน 20 นาที) จะได้ข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุกในปริมาณ 857.86 กรัม

ข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 857.86 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 500.30 กรัม

ถ้าข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

= (500.30*450)/857.86

= 262.44 กรัม

ดังนั้น ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 262.44 กรัม ควรมีธาตุแคลเซียมเท่ากับ 400 มิลลิกรัม

หรือคิดเป็นปริมาณธาตุแคลเซียม = 152.42 มิลลิกรัมต่อข้าวสารพาร์บอยล์ 100 กรัม (ร้อยละ 40 ของความต้องการแต่ละวัน)

ในการทดลองจะใช้ข้าวสารเหนียวต่อสิ่งทดลองจำนวน 800 กรัม

จาก ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 262.44 กรัม ควรมีธาตุแคลเซียมเท่ากับ 400 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละ 40 ของความต้องการในแต่ละวัน

ดังนั้นในข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม ควรมีธาตุแคลเซียม = (800*400)/262.44

= 1,219.33 มิลลิกรัม

3. การเทียบปริมาณสารอาหารในสารละลายแช่ข้าว

จากการทดลองเบื้องต้นในการนำข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์แช่น้ำในกระบวนการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ พบว่า ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์สามารถดูดซับน้ำได้ 1 เท่าตัว

โดย ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม จะดูดซับสารละลายได้ 800 มิลลิลิตร

หรือ ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม สารละลายแทรกซึมได้ 0.80 ลิตร

ดังนั้นในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 0.80 ลิตร จะมีธาตุแคลเซียม 1,219.33 มิลลิกรัม

ในการทดลองใช้สารละลาย 2 เท่าในการแช่ คือ 1.60 ลิตร

ดังนั้น ในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 1.60 ลิตร จะมีธาตุแคลเซียม

= (1.60*1,219.33)/0.80

= 2,438.66 มิลลิกรัม

4. การเตรียมธาตุแคลเซียมจากสารประกอบ Calcium lactate gluconate (CaLG)

ธาตุแคลเซียมปริมาณ 12.70 มิลลิกรัม ใช้สารประกอบ CaLG 100 มิลลิกรัม

(สารประกอบ CaLG จะให้ธาตุแคลเซียมเฉลี่ยคิดเป็นร้อยละ 12.70)

ต้องการธาตุแคลเซียมปริมาณ 2,438.66 มิลลิกรัม จะต้องใช้สารประกอบ CaLG

= (2,438.66*100)/12.70

= 19,202.05 มิลลิกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ดังนั้นจะใช้สารประกอบ CaLG ในปริมาณ 19.2020 กรัม สำหรับแช่ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์หนัก 800 กรัม ในสารละลาย 1.60 ลิตร

3. ธาตุไอโอดีน (Iodine; I)

ปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวันเท่ากับ 200 ไมโครกรัม (คิดจากความต้องการธาตุไอโอดีนของหญิงมีครรภ์)

ปริมาณธาตุไอโอดีนที่ต้องการจะเสริมในข้าวคิดเป็นร้อยละ 40 ของปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน เท่ากับ 80 ไมโครกรัม

การคำนวณเป็นดังนี้

1. ในข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม ควรมีธาตุไอโอดีนเท่ากับ 80 ไมโครกรัม
2. การคิดเทียบกลับเป็นปริมาณข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

จากการทดลองเบื้องต้นในการหุงข้าวเหนียวพาร์บอยล์ที่ผ่านกระบวนการเหมือนกับกระบวนการที่ใช้ทำการศึกษา คือ จะนำข้าวเหนียวผ่านการพาร์บอยล์และแช่น้ำภายใต้กระบวนการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ (สภาวะต้นแบบ) พบว่า เมื่อใช้ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 500.30 กรัม นำไปนึ่งให้สุก (แช่ข้าว 15 นาที และ นึ่งผ่านไอน้ำนาน 20 นาที) จะได้ข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุกในปริมาณ 857.86 กรัม

ข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 857.86 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 500.30 กรัม

ถ้าข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

= (500.30*450)/857.86

= 262.44 กรัม

ดังนั้น ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 262.44 กรัม ควรมีธาตุไอโอดีนเท่ากับ 80 ไมโครกรัม

หรือคิดเป็นปริมาณธาตุไอโอดีน = 30.48 ไมโครกรัมต่อข้าวสารพาร์บอยล์ 100 กรัม (ร้อยละ 40 ของความต้องการแต่ละวัน)

ในการทดลองจะใช้ข้าวสารเหนียวต่อสิ่งทดลองจำนวน 800 กรัม

จาก ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 262.44 กรัม ควรมีธาตุไอโอดีนเท่ากับ 80 ไมโครกรัม คิดเป็นร้อยละ 40 ของความต้องการในแต่ละวัน

ดังนั้นในข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม ควรมีธาตุไอโอดีน = (800*80)/262.44

= 243.87 ไมโครกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การเทียบปริมาณสารอาหารในสารละลายแช่ข้าว

จากการทดลองเบื้องต้นในการนำข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์แช่น้ำในกระบวนการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ พบว่า ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์สามารถดูดซับน้ำได้ 1 เท่าตัว

โดย ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม จะดูดซับสารละลายได้ 800 มิลลิลิตร

หรือ ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม สารละลายแทรกซึมได้ 0.80 ลิตร

ดังนั้นในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 0.80 ลิตร จะมีธาตุไอโอดีน 243.87 ไมโครกรัม

ในการทดลองใช้สารละลาย 2 เท่าในการแช่ คือ 1.60 ลิตร

ดังนั้น ในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 1.60 ลิตร จะมีธาตุไอโอดีน = (1.60*243.87)/0.80

= 487.74 ไมโครกรัม

= 0.4877 มิลลิกรัม

4. การเตรียมธาตุไอโอดีนจากสารประกอบ KIO_3

ธาตุไอโอดีนปริมาณ 127 มิลลิกรัม ใช้สารประกอบ KIO_3 214 มิลลิกรัม

(คิดเทียบจากน้ำหนักโมเลกุลในสารประกอบ)

ต้องการธาตุไอโอดีนปริมาณ 487.74 ไมโครกรัม จะต้องใช้สารประกอบ KIO_3

= (0.4877*214)/127

= 0.8218 มิลลิกรัม

ดังนั้นจะใช้สารประกอบ KIO_3 ในปริมาณ 0.8218 มิลลิกรัม สำหรับแช่ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์หนัก 800 กรัม ในสารละลาย 1.60 ลิตร

4. กรดอะมิโนไลซีน (Lysine)

สำหรับการคำนวณปริมาณกรดอะมิโนจะแตกต่างจากธาตุอาหารเล็กน้อย โดยปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวันของกรดอะมิโนไลซีนเท่ากับ 103 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักร่างกายกิโลกรัมต่อวัน ซึ่งคิดจากความต้องการกรดอะมิโนของเด็กอายุ 0 ถึง 5 ปี เนื่องจากเด็กอายุ 0 ถึง 5 ปี เป็นวัยที่มีความต้องการอาหารในปริมาณที่ค่อนข้างสูง เนื่องจากเป็นวัยที่ร่างกายกำลังเจริญเติบโต รวมทั้งเป็นวัยที่ซุกซนและมีกิจกรรมการเล่นมาก (สันทยากร และคณะ, 2550) โดยน้ำหนักเฉลี่ยของเด็กอายุ 0 ถึง 5 ปี เท่ากับ 11 กิโลกรัม (กองโภชนาการ กรมอนามัย, 2543)

ดังนั้นความต้องการกรดอะมิโนไลซีนจะเท่ากับ 103*11 = 1133 มิลลิกรัมต่อวัน (ร้อยละ 100 ของปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน) โดยปริมาณกรดอะมิโนไลซีนที่ต้องการจะเสริมในข้าวคิดเป็นร้อยละ 40 ของปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน เท่ากับ 453.20 มิลลิกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณเป็นดังนี้

1. ในข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม ควรมีไลซีนเท่ากับ 453.20 มิลลิกรัม

2. การคิดเทียบกลับเป็นปริมาณข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

จากการทดลองเบื้องต้นในการหุงข้าวเหนียวพาร์บอยล์ที่ผ่านกระบวนการเหมือนกับกระบวนการที่ใช้ทำการศึกษา คือ จะนำข้าวเหนียวผ่านการพาร์บอยล์และแช่น้ำภายใต้กระบวนการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ (สภาวะต้นแบบ) พบว่า เมื่อใช้ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 500.30 กรัม นำไปนึ่งให้สุก (แช่ข้าว 15 นาที และ นึ่งผ่านไอน้ำนาน 20 นาที) จะได้ข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุกในปริมาณ 857.86 กรัม

ข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 857.86 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 500.30 กรัม

ถ้าข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

= (500.30*450)/857.86

= 262.44 กรัม

ดังนั้น ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 262.44 กรัม ควรมีไลซีนเท่ากับ 453.20 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละ 40 ของความต้องการในแต่ละวัน

หรือคิดเป็นปริมาณไลซีน = 172.69 มิลลิกรัมต่อข้าวสารพาร์บอยล์ 100 กรัม (ร้อยละ 40 ของความต้องการแต่ละวัน)

ในการทดลองจะใช้ข้าวสารเหนียวต่อสิ่งทดลองจำนวน 800 กรัม

จาก ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 262.44 กรัม ควรมีไลซีนเท่ากับ 453.20 มิลลิกรัม

ดังนั้นในข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม ควรมีไลซีน = (800*453.20)/262.44

= 1,381.50 มิลลิกรัม

3. การเทียบปริมาณสารอาหารในสารละลายแช่ข้าว

จากการทดลองเบื้องต้นในการนำข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์แช่น้ำในกระบวนการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ พบว่า ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์สามารถดูดซับน้ำได้ 1 เท่าตัว

โดย ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม จะดูดซับสารละลายได้ 800 มิลลิลิตร

หรือ ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม สารละลายแทรกซึมได้ 0.80 ลิตร

ดังนั้นในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 0.80 ลิตร จะมีไลซีน 1,381.50 มิลลิกรัม

ในการทดลองใช้สารละลาย 2 เท่าในการแช่ คือ 1.60 ลิตร

ดังนั้น ในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 1.60 ลิตร จะมีไลซีน = (1.60*1381.50)/0.80

= 2,763.00 มิลลิกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. การเตรียมกรดอะมิโนไลซีนจากสารประกอบ L-Lysine HCl

ไลซีนปริมาณ 146.19 มิลลิกรัม ใช้สารประกอบ L-Lysine HCl 182.65 มิลลิกรัม (คิดเทียบจากน้ำหนักโมเลกุลในสารประกอบ)

ต้องการไลซีนปริมาณ 2,763.00 มิลลิกรัม จะต้องใช้สารประกอบ L-Lysine HCl

= (182.65*2763)/146.19

= 3452.10 มิลลิกรัม

ดังนั้นจะใช้สารประกอบ L-Lysine HCl ในปริมาณ 3.4521 กรัม สำหรับแช่ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์หนัก 800 กรัม ในสารละลาย 1.60 ลิตร

5. กรดอะมิโนทรีโอนีน (Threonine)

การคำนวณปริมาณกรดอะมิโนทรีโอนีนจะเป็นไปในทำนองเดียวกับกรดอะมิโนไลซีน โดยปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวันของกรดอะมิโนทรีโอนีนเท่ากับ 87 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักร่างกายกิโลกรัมต่อวัน ซึ่งคิดจากความต้องการกรดอะมิโนของเด็กอายุ 0 ถึง 5 ปี เนื่องจากเด็กอายุ 0 ถึง 5 ปี เป็นวัยที่มีความต้องการอาหารในปริมาณที่ค่อนข้างสูง เนื่องจากเป็นวัยที่ร่างกายกำลังเจริญเติบโต รวมทั้งเป็นวัยที่ซุกซนและมีกิจกรรมการเล่นมาก (สันทยากร และคณะ, 2550) โดยน้ำหนักเฉลี่ยของเด็กอายุ 0 ถึง 5 ปี เท่ากับ 11 กิโลกรัม (กองโภชนาการ กรมอนามัย, 2543)

ดังนั้นความต้องการกรดอะมิโนทรีโอนีนจะเท่ากับ 87*11 = 957 มิลลิกรัมต่อวัน (ร้อยละ 100 ของปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน) โดยปริมาณกรดอะมิโนทรีโอนีนที่ต้องการจะเสริมในข้าวคิดเป็นร้อยละ 40 ของปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน เท่ากับ 382.80 มิลลิกรัม

การคำนวณเป็นดังนี้

1. ในข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม ควรมีทรีโอนีนเท่ากับ 382.80 มิลลิกรัม
2. การคิดเทียบกลับเป็นปริมาณข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

จากการทดลองเบื้องต้นในการหุงข้าวเหนียวพาร์บอยล์ที่ผ่านกระบวนการเหมือนกับกระบวนการที่ใช้ทำการศึกษา คือ จะนำข้าวเหนียวผ่านการพาร์บอยล์และแช่น้ำภายใต้กระบวนการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ (สภาวะต้นแบบ) พบว่า เมื่อใช้ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 500.30 กรัม นำไปนึ่งให้สุก (แช่ข้าว 15 นาที และ นึ่งผ่านไอน้ำนาน 20 นาที) จะได้ข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุกในปริมาณ 857.86 กรัม

ข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 857.86 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 500.30 กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ถ้าข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

= (500.30*450)/857.86

= 262.44 กรัม

ดังนั้น ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 262.44 กรัม ควรมีทรีโอนีนเท่ากับ 382.80 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละ 40 ของความต้องการในแต่ละวัน

หรือคิดเป็นปริมาณทรีโอนีน = 145.86 มิลลิกรัมต่อข้าวสารพาร์บอยล์ 100 กรัม (ร้อยละ 40 ของความต้องการแต่ละวัน)

ในการทดลองจะใช้ข้าวสารเหนียวต่อสิ่งทดลองจำนวน 800 กรัม

จาก ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 262.44 กรัม ควรมีทรีโอนีนเท่ากับ 382.80 มิลลิกรัม

ดังนั้นในข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม ควรมีไลซีน = (800*382.80)/262.44

= 1,166.90 มิลลิกรัม

3. การเทียบปริมาณสารอาหารในสารละลายแช่ข้าว

จากการทดลองเบื้องต้นในการนำข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์แช่น้ำในกระบวนการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ พบว่า ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์สามารถดูดซับน้ำได้ 1 เท่าตัว

โดย ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม จะดูดซับสารละลายได้ 800 มิลลิลิตร

หรือ ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม สารละลายแทรกซึมได้ 0.80 ลิตร

ดังนั้นในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 0.80 ลิตร จะมีทรีโอนีน 1,166.90 มิลลิกรัม

ในการทดลองใช้สารละลาย 2 เท่าในการแช่ คือ 1.60 ลิตร

ดังนั้น ในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 1.60 ลิตร จะมีทรีโอนีน = (1.60*1166.90)/0.80

= 2,333.80 มิลลิกรัม

4. การเตรียมกรดอะมิโนทรีโอนีนจากสารประกอบ L-Threonine

กรดอะมิโนทรีโอนีน 1 กรัม ได้จากสารประกอบ L-Threonine 1 กรัม

(คิดเทียบจากน้ำหนักโมเลกุลในสารประกอบ)

ต้องการทรีโอนีนปริมาณ 2,333.80 มิลลิกรัม จะต้องใช้สารประกอบ L-Threonine

= 2,333.80 มิลลิกรัม

ดังนั้นจะใช้สารประกอบ L-Threonine ในปริมาณ 2.3338 กรัม สำหรับแช่ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์หนัก 800 กรัม ในสารละลาย 1.60 ลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณปริมาณสารอาหารแต่ละชนิดข้างต้น สามารถสรุปได้ดังตารางภาคผนวกที่ ข-1 ส่วนปริมาณความเข้มข้นของสารอาหารแต่ละชนิดในสารละลายสารอาหารแสดงไว้ดังตารางภาคผนวกที่ ข-2

ตารางภาคผนวกที่ ข-1 ปริมาณของสารอาหารแต่ละชนิดที่ต้องการเสริมในข้าวเหนียวพาร์บอยล์

สารอาหาร	ปริมาณที่ต้องการต่อข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 100 กรัม (ร้อยละ 35 Thai DRI)	ปริมาณที่ใช้เสริมจริงต่อข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 100 กรัม (ร้อยละ 40 Thai DRI)	ปริมาณสารประกอบที่ใช้ในสารละลายสารอาหาร (ร้อยละ 40 Thai DRI)
เหล็ก	4.00 มิลลิกรัม	4.57 มิลลิกรัม	0.4808 กรัม
แคลเซียม	133.30 มิลลิกรัม	152.42 มิลลิกรัม	19.2020 กรัม
ไอโอดีน	26.76 ไมโครกรัม	30.48 ไมโครกรัม	0.8218 มิลลิกรัม
ไลซีน	151.10 มิลลิกรัม	172.69 มิลลิกรัม	3.4521 กรัม
ทรีโอนีน	127.63 มิลลิกรัม	145.86 มิลลิกรัม	2.3338 กรัม

ตารางภาคผนวกที่ ข-2 ปริมาณความเข้มข้นของสารอาหารแต่ละชนิดที่ต้องการเสริมในข้าวเหนียวพาร์บอยล์ในสารละลายสารอาหาร

สารอาหาร	ความเข้มข้นในสารละลาย1.60 ลิตร	ความเข้มข้นต่อลิตร	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต่อลิตร
เหล็ก	73.16 มิลลิกรัม	45.73 มิลลิกรัม	-
แคลเซียม	2438.65 มิลลิกรัม	1524.16 มิลลิกรัม	-
ไอโอดีน	0.4877 มิลลิกรัม	0.3048 มิลลิกรัม	-
ไลซีน*	2763.00 มิลลิกรัม	1726.86 มิลลิกรัม	330.8 มิลลิกรัม*
ทรีโอนีน*	127.63 มิลลิกรัม	1458.63 มิลลิกรัม	171.4 มิลลิกรัม*
รวมปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจาก ไลซีน และ ทรีโอนีน			502.2 มิลลิกรัม*

หมายเหตุ * ปริมาณความเข้มข้นของกรดอะมิโนไลซีนและทรีโอนีนที่ใช้ในการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารอาหารระหว่างการวิเคราะห์และการคำนวณ จะแสดงในรูปของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen) ซึ่งมีวิธีการคำนวณดังต่อไปนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen)

กรดอะมิโนไลซีน

ปริมาณสารประกอบกรดอะมิโนไลซีนที่ใช้ต่อสารละลายสารอาหาร 1.60 ลิตร เท่ากับ 3.4521 กรัม

คิดเป็นปริมาณสารประกอบที่ใช้ เท่ากับ 3.4521/1.60 = 2.1576 กรัมต่อลิตร

สารประกอบกรดอะมิโนไลซีน ($C_6H_{15}N_2O_2Cl$) มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 182.65

ในสูตรของสารประกอบมีไนโตรเจน 2 โมเลกุล (มวลโมเลกุลเท่ากับ 28)

สารประกอบกรดอะมิโนไลซีน 182.65 กรัม จะให้ไนโตรเจน 28 กรัม

ดังนั้นสารประกอบกรดอะมิโนไลซีน 2.1576 กรัม จะให้ไนโตรเจน

= (2.1576*28)/182.65

= 0.3308 กรัม

= 330.8 มิลลิกรัม

กรดอะมิโนทรีโอนีน

ปริมาณสารประกอบกรดอะมิโนทรีโอนีนที่ใช้ต่อสารละลายสารอาหาร 1.60 ลิตร เท่ากับ 2.3338 กรัม

คิดเป็นปริมาณสารประกอบที่ใช้ เท่ากับ 2.3338/1.60 = 1.4586 กรัมต่อลิตร

สารประกอบกรดอะมิโนทรีโอนีน ($C_4H_9NO_3$) มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 119.12

ในสูตรของสารประกอบมีไนโตรเจน 1 โมเลกุล (มวลโมเลกุลเท่ากับ 14)

สารประกอบกรดอะมิโนทรีโอนีน 119.12 กรัม จะให้ไนโตรเจน 14 กรัม

ดังนั้นสารประกอบกรดอะมิโนทรีโอนีน 1.4586 กรัม จะให้ไนโตรเจน

= (1.4586*14)/119.12

= 0.1714 กรัม

= 171.4 มิลลิกรัม

ดังนั้นในสารละลายสารอาหารจะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเท่ากับ

= 330.8 + 172.4 = 502.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข-2

การคำนวณปริมาณสารอาหารเพื่อใช้เสริมในข้าวเหนียวพาร์บอยล์การทดลองที่ 2.3

การคำนวณปริมาณสารอาหารแต่ละชนิดเพื่อใช้เสริมในข้าวเหนียวพาร์บอยล์ในการทดลองที่ 2.3

จากผลการทดลองที่ 2.2 พบว่า ปริมาณธาตุเหล็กโดยเฉลี่ยของข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ได้ลดลงไปในปริมาณร้อยละ 25 เมื่อเทียบกับค่าเป้าหมายที่ต้องการเสริม คือ 4 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ อีกทั้งจากการตรวจสอบปริมาณกรดอะมิโนไลซีนและทรีโอนีนในข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ที่ได้จากสภาวะการผลิตที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 2.1 และ 2.2 พบว่าในข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์นั้นมีปริมาณกรดอะมิโนดังกล่าวอยู่ส่วนหนึ่งแล้ว ดังนั้นจึงได้ทำการปรับปรุงและคำนวณปริมาณสารอาหารในสารละลายสารอาหารที่จะใช้ในการทดลองที่ 2.3 ใหม่ให้เหมาะสมเพื่อให้การทดลองมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยจะทำการเพิ่มปริมาณของสารประกอบที่เป็นแหล่งของธาตุเหล็กร้อยละ 25 และลดปริมาณสารประกอบที่เป็นแหล่งของกรดอะมิโนลงบางส่วนให้เหมาะสม ส่วนปริมาณสารประกอบที่เป็นแหล่งของธาตุแคลเซียมและไอโอดีนนั้นยังคงใช้ในปริมาณเท่ากับการทดลองที่ 1.1 (ภาคผนวก ข-1) การคำนวณปริมาณสารประกอบที่เป็นแหล่งของธาตุเหล็ก และสารประกอบที่เป็นแหล่งของกรดอะมิโนไลซีนและทรีโอนีน แสดงได้ดังการคำนวณต่อไปนี้

1. ธาตุเหล็ก (Iron; Fe)

สำหรับการคำนวณปริมาณสารประกอบที่เป็นแหล่งของธาตุเหล็กในสารละลายสารอาหารที่ปรับปรุงใหม่เป็นดังนี้

จากเดิมปริมาณธาตุเหล็กที่ต้องการจะเสริมในข้าวคิดเป็นร้อยละ 40 ของปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน เท่ากับ 12 มิลลิกรัม แต่ต้องเพิ่มอีกร้อยละ 25 จะคิดเป็น (40*12)/100 เท่ากับ 15 มิลลิกรัม หรือคิดเป็นร้อยละ 50 ของปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน

การคำนวณเป็นดังนี้

1. ในข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม ควรมีธาตุเหล็กเท่ากับ 15 มิลลิกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การคิดเทียบกลับเป็นปริมาณข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

จากการทดลองเบื้องต้นในการหุงข้าวเหนียวพาร์บอยล์ที่ผ่านกระบวนการเหมือนกับกระบวนการที่ใช้ทำการศึกษา คือ จะนำข้าวเหนียวผ่านการพาร์บอยล์และแช่น้ำภายใต้กระบวนการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศ (สภาวะต้นแบบ) พบว่า เมื่อใช้ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 500.30 กรัม นำไปนึ่งให้สุก (แช่ข้าว 15 นาที และ นึ่งผ่านไอน้ำนาน 20 นาที) จะได้ข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุกในปริมาณ 857.86 กรัม

ข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 857.86 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 500.30 กรัม

ถ้าข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

= (500.30*450)/857.86

= 262.44 กรัม

ดังนั้น ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 262.44 กรัม ควรมีธาตุเหล็กเท่ากับ 15 มิลลิกรัม

ในการทดลองจะใช้ข้าวสารเหนียวต่อสิ่งทดลองจำนวน 800 กรัม

ดังนั้นในข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม ควรมีธาตุเหล็ก = (800*15)/262.44

= 45.72 มิลลิกรัม

3. การเทียบปริมาณสารอาหารในสารละลายแช่ข้าว

ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม จะดูดซับสารละลายได้ 800 มิลลิลิตร

หรือ ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม สารละลายแทรกซึมได้ 0.80 ลิตร

ดังนั้นในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 0.80 ลิตร จะมีธาตุเหล็ก 45.72 มิลลิกรัม

ในการทดลองใช้สารละลาย 2 เท่าในการแช่ คือ 1.60 ลิตร

ดังนั้น ในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 1.60 ลิตร จะมีธาตุเหล็ก = (1.60*45.72)/0.80

= 91.44 มิลลิกรัม

4. การเตรียมธาตุเหล็กจากสารประกอบ NaFeEDTA.H_2O

ธาตุเหล็กปริมาณ 55.85 มิลลิกรัม ใช้สารประกอบ NaFeEDTA.H_2O 367.05 มิลลิกรัม

ต้องการธาตุเหล็กปริมาณ 73.16 มิลลิกรัม จะต้องใช้สารประกอบ NaFeEDTA.H_2O

= (91.44*367.05)/55.85

= 600.95 มิลลิกรัม

ดังนั้นจะใช้สารประกอบ NaFeEDTA.H_2O ในปริมาณ 0.6010 กรัม สำหรับแช่ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์หนัก 800 กรัม ในสารละลาย 1.60 ลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. กรดอะมิโนไลซีน (Lysine)

สำหรับการคำนวณปริมาณสารประกอบที่เป็นแหล่งของกรดอะมิโนไลซีนในสารละลายสารอาหารที่ปรับปรุงใหม่เป็นดังนี้

1. แต่เดิมในข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม ควรมีไลซีนเท่ากับ 453.20 มิลลิกรัม
2. การคิดเทียบกลับเป็นปริมาณข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

ข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 857.86 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 500.30 กรัม

ถ้าข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

= (500.30*450)/857.86

= 262.44 กรัม

ดังนั้น ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 262.44 กรัม ควรมีไลซีนเท่ากับ 453.20 มิลลิกรัม

ในการทดลองจะใช้ข้าวสารเหนียวต่อสิ่งทดลองจำนวน 800 กรัม

ดังนั้นในข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม ควรมีไลซีน = (800*453.20)/262.44

= 1,381.50 มิลลิกรัม

3. จากการตรวจปริมาณกรดอะมิโนในข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ พบว่า มีกรดอะมิโนไลซีน 153.22 มิลลิกรัมต่อข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 100 กรัม

ในข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม จะมีไลซีน = (153.22*800)/100

= 1225.76 มิลลิกรัม

ดังนั้นจะทำการเสริมไลซีนเพิ่ม = 1,381.50-1,225.76 = 155.74 มิลลิกรัม

4. การเทียบปริมาณสารอาหารในสารละลายแช่ข้าว

ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม จะดูดซับสารละลายได้ 800 มิลลิลิตร

หรือ ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม สารละลายแทรกซึมได้ 0.80 ลิตร

ดังนั้นในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 0.80 ลิตร จะมีไลซีน 155.74 มิลลิกรัม

ในการทดลองใช้สารละลาย 2 เท่าในการแช่ คือ 1.60 ลิตร

ดังนั้น ในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 1.60 ลิตร จะมีไลซีน = (1.60*155.74)/0.80

= 311.48 มิลลิกรัม

5. การเตรียมกรดอะมิโนไลซีนจากสารประกอบ L-Lysine HCl

ไลซีนปริมาณ 146.19 มิลลิกรัม ใช้สารประกอบ L-Lysine HCl 182.65 มิลลิกรัม

ต้องการไลซีนปริมาณ 311.48 มิลลิกรัม จะต้องใช้สารประกอบ L-Lysine HCl

= (182.65*311.48)/146.19

= 389.16 มิลลิกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ดังนั้นจะใช้สารประกอบ L-Lysine HCl ในปริมาณ 0.3892 กรัม สำหรับแช่ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์หนัก 800 กรัม ในสารละลาย 1.60 ลิตร

3. กรดอะมิโนทรีโอนีน (Threonine)

สำหรับการคำนวณปริมาณสารประกอบที่เป็นแหล่งของกรดอะมิโนทรีโอนีนในสารละลายสารอาหารที่ปรับปรุงใหม่เป็นดังนี้

1. แต่เดิมในข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม ควรมีทรีโอนีนเท่ากับ 382.80 มิลลิกรัม
2. การคิดเทียบกลับเป็นปริมาณข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

   ข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 857.86 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 500.30 กรัม

   ถ้าข้าวเหนียวพาร์บอยล์สุก 450 กรัม มาจากข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์

   = (500.30*450)/857.86

   = 262.44 กรัม

   ดังนั้น ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 262.44 กรัม ควรมีทรีโอนีนเท่ากับ 382.80 มิลลิกรัม

   ดังนั้นในข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม ควรมีทรีโอนีน = (800*382.80)/262.44

   = 1,166.90 มิลลิกรัม
3. จากการตรวจปริมาณกรดอะมิโนในข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ พบว่า มีกรดอะมิโนทรีโอนีน 36.95 มิลลิกรัมต่อข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 100 กรัม

   ในข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม จะมีทรีโอนีน = (36.95*800)/100

   = 295.60 มิลลิกรัม

   ดังนั้นจะทำการเสริมทรีโอนีนเพิ่ม =1,166.90-295.60 = 871.30 มิลลิกรัม
4. การเทียบปริมาณสารอาหารในสารละลายแช่ข้าว

   โดย ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม จะดูดซับสารละลายได้ 800 มิลลิลิตร

   หรือ ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 800 กรัม สารละลายแทรกซึมได้ 0.80 ลิตร

   ดังนั้นในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 0.80 ลิตร จะมีทรีโอนีน 871.30 มิลลิกรัม

   ในการทดลองใช้สารละลาย 2 เท่าในการแช่ คือ 1.60 ลิตร

   ดังนั้น ในสารละลายที่ใช้แช่ข้าว 1.60 ลิตร จะมีทรีโอนีน = (1.60*871.30)/0.80

   = 1,742.60 มิลลิกรัม
5. การเตรียมกรดอะมิโนทรีโอนีนจากสารประกอบ L-Threonine

   กรดอะมิโนทรีโอนีน 1 กรัม ได้จากสารประกอบ L-Threonine 1 กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ต้องการทรีโอนีนปริมาณ 1,742.60 มิลลิกรัม จะต้องใช้สารประกอบ L-Threonine

= 1,742.60 มิลลิกรัม

ดังนั้นจะใช้สารประกอบ L-Threonine ในปริมาณ 1.7423 กรัม สำหรับแช่ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์หนัก 800 กรัม ในสารละลาย 1.60 ลิตร

จากการคำนวณปริมาณสารอาหารแต่ละชนิดที่ได้ปรับปรุงใหม่ข้างต้น สามารถสรุปได้ดังตารางภาคผนวกที่ ข-3

ตารางภาคผนวกที่ ข-3 ปริมาณของสารอาหารแต่ละชนิดที่ใช้เสริมในข้าวเหนียวพาร์บอยล์จากการปรับปรุงใหม่ให้เหมาะสมสำหรับการทดลองที่ 2.3

สารอาหาร	ปริมาณที่ต้องการต่อข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์ 100 กรัม (ร้อยละ 35 Thai DRI)	ปริมาณสารประกอบที่ใช้ในสารละลายสารอาหาร (ร้อยละ 40 Thai DRI)
เหล็ก	4.00 มิลลิกรัม	0.6010 กรัม
แคลเซียม*	133.30 มิลลิกรัม	19.2020 กรัม*
ไอโอดีน*	26.76 ไมโครกรัม	0.8218 มิลลิกรัม*
ไลซีน	151.10 มิลลิกรัม	0.3892 กรัม
ทรีโอนีน	127.63 มิลลิกรัม	1.7423 กรัม

หมายเหตุ * ปริมาณสารประกอบแคลเซียมและไอโอดีนที่ใช้ในสารละลายสารอาหารที่ได้ปรับปรุงใหม่นี้เป็นปริมาณเดิมจากตารางภาคผนวกที่ ข-1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แบบทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

7-Point hedonic scaling test

ชื่อผู้ทดสอบชิม.....วันที่.....

ชื่อผลิตภัณฑ์ **ข้าวเหนียวพาร์บอยล์เสริมคุณค่าทางโภชนาการ**

คำชี้แจง : กรุณาทดสอบชิมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ต่อไปนี้ตามลำดับจากซ้ายไปขวา แล้วให้คะแนนเพื่อแสดงระดับความชอบที่มีต่อตัวอย่างผลิตภัณฑ์นั้น ๆ ให้ตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด กรุณาบ้วนปากก่อนและหลังชิมตัวอย่างทุกครั้ง

ระดับของคะแนนความชอบ

7 = ชอบมาก		3 = ไม่ชอบเล็กน้อย
6 = ชอบปานกลาง	4 = เฉย ๆ	2 = ไม่ชอบปานกลาง
5 = ชอบเล็กน้อย		1 = ไม่ชอบมาก

การให้ระดับคะแนนความชอบ

คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์	**รหัสตัวอย่าง / คะแนนความชอบ**				
ความชอบโดยรวม					
ลักษณะของเมล็ดข้าว					
สี					
กลิ่น					
กลิ่นรส					
ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยรวม					
ความนุ่ม					
ความเหนียว					
ความรู้สึกหลังกลืน					

ข้อเสนอแนะ.....

.....

ขอบพระคุณทุกท่านเป็นอย่างสูงที่ให้ความร่วมมือ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์คุณภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ (Physical appearance analysis)

การวัดค่าสีในระบบ Hunter Lab (Minolta Camera Co. Ltd., 1991)

เป็นการวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี Minolta Camera: Model CR-310 โดยเป็นการวัดค่าสีในระบบ Hunter Lab ซึ่งเป็นค่าสีที่นิยมใช้ในทางอุตสาหกรรมอาหาร ระบบนี้จะวัดค่าสีในรูป ค่าสี L, a และ b โดย ค่า L แสดงถึงความมืดสว่าง (Darkness/Lightness) ค่า a แสดงถึงสีแดงและสีเขียว (Redness/Greenness) และค่า b แสดงถึงสีเหลืองและสีน้ำเงิน (Yellowness/Blueness) โดยมีการกำหนดความหมายของค่าที่วัดได้ดังนี้

ค่า L	มีค่าเท่ากับ	0	หมายถึงความมืด (Darkness)
	มีค่าเท่ากับ	100	หมายถึงความสว่าง (Lightness)
ค่า a	มีค่าเป็นบวก (+)		หมายถึงสีแดง (Redness)
	มีค่าเป็นลบ (–)		หมายถึงสีเขียว (Greenness)
ค่า b	มีค่าเป็นบวก (+)		หมายถึงสีเหลือง (Yellowness)
	มีค่าเป็นลบ (–)		หมายถึงสีน้ำเงิน (Blueness)

ก่อนการวัดค่าสีทุกครั้งต้องทำการปรับมาตรฐานเครื่อง (Calibration) ก่อน โดยใช้แผ่นกระเบื้องสีขาวมาตรฐาน (White blank; L = 97.67, a = -0.18 และ b = 1.84) แล้วจึงทำการวัดค่าสีของตัวอย่าง สำหรับงานวิจัยนี้ได้ทำการวัดค่าสีโดยนำตัวอย่างข้าวใส่ลงในภาชนะใส (Petri dish) แล้วรองพื้นด้วยกระดาษขาว ทำการวัดค่าสีทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วนำไปหาค่าเฉลี่ย

การวัดค่าเนื้อสัมผัส (ค่าแรงเฉือน หรือ Shear force) ด้วยเครื่อง Instron: Model 5565 series (Instron Corporation, 1993)

เป็นการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารโดยใช้ค่าแรงเฉือน หรือ Shear force (มีหน่วยในการวัดเป็นนิวตัน) ด้วยเครื่อง Instron (Model 5565 series) ชนิดของใบมีดที่ใช้ได้แก่ Warner Bratzler Meat Shear Compression (2830-013) น้ำหนัก Load cell เท่ากับ 5 กิโลกรัม ความเร็วของ Crosshead เท่ากับ 200 มิลลิเมตรต่อนาที ระยะทางในการเคลื่อนที่ลงเท่ากับ 5 เซนติเมตร และมีแรงกระทบกลับเท่ากับร้อยละ 60

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ทำการทดสอบเป็นตัวอย่างข้าวเหนียวพาร์บอยล์ที่ผ่านเสริมคุณค่าทางโภชนาการที่ผ่านแช่น้ำนาน 20 นาที แล้วนึ่งให้สุกที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นแบ่งตัวอย่างมา 15 กรัม อัดลงในแม่พิมพ์ขนาด 5.0 x 2.5 x 1.0 เซนติเมตร^3 โดยเตรียมตัวอย่างไว้อย่างน้อย 5 ชิ้น ในขั้นตอนการวัดจะใช้ใบมีดเฉือนลงมาตรงกึ่งกลางของชิ้นผลิตภัณฑ์ตามแนวยาว (ที่ระยะ 2.5 เซนติเมตร จากขอบ) จากนั้นนำข้อมูลที่วัดได้มาหาค่าเฉลี่ย

การวิเคราะห์คุณภาพด้านโภชนาการ (Nutritional analysis)

การวิเคราะห์ปริมาณธาตุแคลเซียม ตามวิธีของ Perkin–Elmer Corporation (1982)

อุปกรณ์และสารเคมี

- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงระดับอะตอม (Atomic Absorption Spectrophotometer)
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- อุปกรณ์ในการย่อย (เตา Digestion block)
- Glass beads
- Digestion tubes
- Volumetric flasks
- Automatic pipettes
- กรดไนตริกเข้มข้น (Conc. HNO_3)
- กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (Conc. $HClO_4$)
- กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Conc. H_2SO_4)
- สารละลาย Lanthanum oxide ร้อยละ 1 ในกรดซัลฟูริกร้อยละ 5 (1% La^{3+} ใน 5% H_2SO_4)

การเตรียมตัวอย่าง (Sample preparation)

ในการวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารและนมผงเตรียมตัวอย่างโดยวิธี Wet digestion ซึ่งมีวิธีการดังต่อไปนี้

1. ชั่งตัวอย่างอาหารแห้งน้ำหนักประมาณ 0.5000 กรัม (ใช้เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง) ใส่ใน Digestion tube (การใช้ตัวอย่างที่ผ่านการหาความชื้นแล้วจะได้ผลที่แม่นยำกว่า)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. เติมกรดผสมระหว่าง กรดไนตริกเข้มข้น 4 มิลลิลิตร ต่อด้วยกรดเปอร์คลอริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร และเติม Glass bead 3 เม็ดเพื่อเป็นตัวช่วยกระจายความร้อนขณะต้ม

3. ปิดปาก Digestion tube ด้วยพาราฟิล์ม แล้วทิ้งสารผสมไว้ 1 คืน ที่อุณหภูมิห้อง

4. นำสารผสมใน Digestion tube มาให้ความร้อนในเตา Digestion block โดยใช้อุณหภูมิเริ่มต้นที่ 120 องศาเซลเซียส แล้วค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิจนถึง 200 องศาเซลเซียส

5. ให้ความร้อนจนกระทั่งสารละลายระเหยออกไปจนเหลือประมาณ 0.5 มิลลิลิตร โดยจะได้สารละลายใส แต่หากระหว่างการให้ความร้อนแล้วสารละลายไหม้เป็นสีดำ ให้แก้ไขด้วยการเติมกรดไนตริกเข้มข้นประมาณ 2 มิลลิลิตร (อาจเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นกับชนิดของตัวอย่าง) แล้วนำไปให้ความร้อนต่อจนกระทั่งได้สารละลายใส

6. ทิ้งสารละลายไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

7. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 9.5 มิลลิลิตร ลงไปใน Digestion tube แล้วเขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

8. เทสารละลายที่ย่อยสลายแล้วจาก Digestion tube ลงในหลอดทดลองขนาดเล็ก จะได้สารละลายใสปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิดปากหลอดด้วยพาราฟิล์ม

9. นำสารละลายที่เตรียมได้ไปเจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการวัดปริมาณแร่ธาตุด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AAS) ต่อไป

การเจือจางสารละลายตัวอย่างที่ดีนั้น ควรเจือจางความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างให้มีความเข้มข้นอยู่ระหว่างกึ่งกลางของกราฟมาตรฐานแร่ธาตุนั้น ๆ จะทำให้ได้ผลที่แม่นยำขึ้น

ตัวควบคุมคุณภาพ (Internal quality control)

สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างข้าว ใช้ตัวควบคุมคุณภาพ คือ นมผงยี่ห้อ Dumex (ระบุปริมาณแคลเซียมเท่ากับ 353 มิลลิกรัมต่อนมผง 100 กรัม) และ Standard reference material 1577b Bovine liver (ระบุปริมาณแคลเซียมเท่ากับ 116±4 ไมโครกรัมต่อกรัม) ในการวิเคราะห์ชั่งนมผง Dumex น้ำหนักประมาณ 0.3000 กรัมต่อ Digestion tube และทำการเจือจางสารละลายที่ได้จากการย่อยสลาย (โดยวิธี Wet digestion) ด้วยสารละลาย Lanthanum oxide ร้อยละ 1 ในกรดซัลฟูริก ร้อยละ 5 (1% La^{3+} ใน 5% H_2SO_4) ในอัตราส่วน 1:100 ก่อนนำไปวัดด้วย AAS ส่วน Standard reference material (SRM) นั้นชั่ง SRM น้ำหนักประมาณ 0.2000 กรัมต่อ Digestion tube และทำการเจือจางสารละลายที่ได้จากการย่อยสลาย (โดยวิธี Wet digestion) ด้วยสารละลาย Lanthanum oxide ร้อยละ 1 ในกรดซัลฟูริกร้อยละ 5 ในอัตราส่วน 1:2 ก่อนนำไปวัดด้วย AAS

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเตรียมสารละลายมาตรฐานสำหรับแคลเซียม

1. Stock standard มีความเข้มข้นแคลเซียมเท่ากับ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. เตรียม Ca Intermediate standard มีความเข้มข้นแคลเซียมเท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จาก Stock standard โดยดูดสารละลาย Stock standard 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask 100 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3. เตรียม Working standard ซึ่งมีความเข้มข้นแคลเซียมเท่ากับ 1.00, 2.00, 3.00, 4.00 และ 5.00 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยดูดสารละลายดังแสดงในตารางต่อไปนี้

ความเข้มข้นแคลเซียม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	**Ca Intermediate Standard (มิลลิลิตร)**	**1 % La^{3+} ใน 5 % H_2SO_4 (มิลลิลิตร)**	**ปริมาตรรวม (มิลลิลิตร)**
0 (Blank)	0	50.0	50.0
1.0	5.0	45.0	50.0
2.0	10.0	40.0	50.0
3.0	15.0	35.0	50.0
4.0	20.0	30.0	50.0
5.0	25.0	25.0	50.0

การวัดปริมาณแคลเซียมในตัวอย่างโดยเครื่อง AAS

1. เลือก Lamp ให้เหมาะสมกับธาตุแคลเซียม (ระบุไว้ที่ข้างกล่อง Lamp)
2. เปิดคอมพิวเตอร์และเครื่อง AAS เพื่อเตรียม Lamp นานประมาณครึ่งถึงหนึ่งชั่วโมง
3. ตั้งค่า AAS condition ดังนี้

AAS condition สำหรับแคลเซียม ใช้ Flow spoiler

Wavelength	=	422.7	nm
Slit	=	0.70	nm
Sensitivity check	=	5.00	mg/l
Linear range	=	2.00	mg/l
Current	=	10	mA

4. ทำการปรับตั้งทิศทางของแสงที่ส่องจาก Lamp ให้ตรงกับจุดรับ Sensor
5. เลือก Method สำหรับการวัดปริมาณแคลเซียมให้ถูกต้อง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. ตรวจสอบปริมาณการดูดสารละลายเข้าเครื่อง (Sensitivity check) ให้ตรงตามค่าที่กำหนดไว้ ในที่นี้ค่า Sensitivity check เท่ากับ 5.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

7. ปรับตั้งค่าเครื่องให้อ่านความเข้มข้นของ Blank ได้เท่ากับ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

8. เริ่มทำการวัด ขั้นแรกจะสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสง ($OD_{422.7}$) และ ความเข้มข้นของธาตุแคลเซียมจากสารละลายแคลเซียม Working standard ที่เตรียมไว้ 5 ความเข้มข้น แล้วพิจารณาค่า Correlation coefficient จากกราฟมาตรฐานที่ได้ โดยกราฟมาตรฐานที่ดีควรมีค่า Correlation coefficient มากกว่าหรือเท่ากับ 0.9980 ถ้าไม่ได้จะทำการสร้างกราฟมาตรฐานใหม่

9. ทำการยืนยันกราฟมาตรฐานอีกครั้งโดยนำสารละลายแคลเซียม Working standard มาทดลองวัดค่าโดยค่าที่อ่านได้จากเครื่องจะมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร นำค่าที่อ่านได้มาเทียบกับความเข้มข้นของ Working standard ที่เตรียมไว้ว่ามีค่าตรงกันหรือไม่ โดยปกติแล้วค่าอาจมีความคลาดเคลื่อนได้ร้อยละ 10 ซึ่งเป็นค่าที่สามารถยอมรับได้ในห้องปฏิบัติการ หากความคลาดเคลื่อนมากกว่านี้อาจจะต้องทำกราฟมาตรฐานใหม่หรือเตรียม Working standard แคลเซียมใหม่

10.เมื่อได้กราฟมาตรฐานที่แน่นอนแล้วจะทำการทดสอบความถูกต้องของเครื่อง AAS อีกครั้งโดยนำตัวควบคุมคุณภาพ (Internal quality control) ในที่นี้คือ Dumex และ SRM มาวัดเพื่อทดสอบความถูกต้องก่อน

11.เมื่อผลจากการวัดตัวควบคุมคุณภาพ (Internal quality control) มีความถูกต้องหรืออยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ (ความคลาดเคลื่อนร้อยละ 10) จะทำการวัดความเข้มข้นแคลเซียมในตัวอย่างจากขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างต่อไป

**ตัวอย่างจากขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่จะนำไปวัด AAS จะต้องเป็นตัวอย่างที่ได้ผ่านการเจือจางความเข้มข้นที่เหมาะสมแล้ว โดยทำ Blank ควบคู่ไว้ด้วย ความเข้มข้นของแคลเซียมที่วัดได้ควรจะอยู่ระหว่างกึ่งกลางหรืออยู่ในช่วงของกราฟมาตรฐาน หากเครื่องไม่สามารถวัดหรืออ่านค่าได้ จะต้องนำตัวอย่างไปเจือจางความเข้มข้นใหม่ (ทำ Blank ใหม่)

12.นำค่าความเข้มข้นของแคลเซียมที่วัดได้ในตัวอย่าง (**X**) ไปคำนวณหาปริมาณแคลเซียมทั้งหมดในตัวอย่าง จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\textbf{ปริมาณแคลเซียมทั้งหมดในข้าว (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)} = \frac{\textbf{(X-B) x D x (100-M)}}{\textbf{100xW}}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยที่ X = ความเข้มข้นของแคลเซียมในสารละลายตัวอย่างจากการย่อย (มิลลิกรัมต่อลิตร)

B = ความเข้มข้นของ Blank (มิลลิกรัมต่อลิตร)

D = อัตราการเจือจาง (Dilution factor, เท่า)

M = ร้อยละความชื้นของตัวอย่าง

W = น้ำหนักตัวอย่างข้าวที่ใช้ (กรัม)

การวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็ก ตามวิธีของ Perkin–Elmer Corporation (1982)

อุปกรณ์และสารเคมี

- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงระดับอะตอม (Atomic Absorption Spectrophotometer)
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- อุปกรณ์ในการการย่อย (เตา Digestion block)
- Glass beads
- Digestion tubes
- Volumetric flasks
- Automatic pipettes
- กรดไนตริกเข้มข้น (Conc. HNO_3)
- กรดเปอร์คลอริกเข้มข้น (Conc. $HClO_4$)
- กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Conc. H_2SO_4)
- สารละลายกรดซัลฟูริกร้อยละ 5 (5% H_2SO_4)

การเตรียมตัวอย่าง (Sample preparation)

ในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กจะใช้วิธี Wet digestion ซึ่งมีวิธีการเช่นเดียวกันกับการเตรียมตัวอย่างในการวัดธาตุแคลเซียม โดยขั้นสุดท้ายจะได้สารละลายใสปริมาตร 10 มิลลิลิตรเช่นเดียวกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตัวควบคุมคุณภาพ (Internal quality control)

สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างข้าว ใช้ตัวควบคุมคุณภาพ คือ นมผงยี่ห้อ Dumex (ระบุปริมาณเหล็กเท่ากับ 4.51 มิลลิกรัมต่อนมผง 100 กรัม) และ Standard reference material 1577b Bovine liver (ระบุปริมาณธาตุเหล็กเท่ากับ 184±15 ไมโครกรัมต่อกรัม) ในการวิเคราะห์ชั่งนมผง Dumex น้ำหนักประมาณ 0.3000 กรัมต่อ Digestion tube และทำการเจือจางสารละลายที่ได้จากการย่อยสลาย (โดยวิธี Wet digestion) ด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกร้อยละ 5 (5% H_2SO_4) ในอัตราส่วน 1:100 ก่อนนำไปวัดด้วย AAS ส่วน Standard reference material (SRM) นั้นชั่ง SRM น้ำหนักประมาณ 0.2000 กรัมต่อ Digestion tube และทำการเจือจางสารละลายที่ได้จากการย่อยสลาย (โดยวิธี Wet digestion) ด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกร้อยละ 5 (5% H_2SO_4) ในอัตราส่วน 1:2 ก่อนนำไปวัดด้วย AAS

การเตรียมสารละลายมาตรฐานสำหรับเหล็ก

1. Stock standard มีความเข้มข้นเหล็กเท่ากับ 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. เตรียม Fe Intermediate standard มีความเข้มข้นเหล็กเท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จาก Stock standard โดยดูดสารละลาย Stock standard 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ใส่ใน Volumetric flask 100 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร

3. เตรียม Working standard ซึ่งมีความเข้มข้นเหล็กเท่ากับ 0.25, 0.50, 1.00, 2.00 และ 4.00 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยดูดสารละลายดังแสดงในตารางต่อไปนี้

ความเข้มข้นเหล็ก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	Fe Intermediate Standard (มิลลิลิตร)	สารละลายกรดซัลฟูริกร้อยละ 5 (มิลลิลิตร)	ปริมาตรรวม (มิลลิลิตร)
0 (Blank)	0	50.0	50.0
0.25	1.25	48.8	50.0
0.50	2.50	47.5	50.0
1.00	5.00	45.0	50.0
2.00	10.00	40.0	50.0
4.00	20.00	30.0	50.0

การวัดปริมาณแคลเซียมในตัวอย่างโดยเครื่อง AAS

1. เลือก Lamp ให้เหมาะสมกับธาตุเหล็ก (ระบุไว้ที่ข้างกล่อง Lamp)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. เปิดคอมพิวเตอร์และเครื่อง AAS เพื่อเตรียม Lamp นานประมาณครึ่งถึงหนึ่งชั่วโมง

3. ตั้งค่า AAS condition ดังนี้

AAS condition สำหรับเหล็ก ใช้ Impack bead

Wavelength	=	248.3	nm
Slit	=	0.20	nm
Sensitivity check	=	2.00	mg/l
Linear range	=	2.00	mg/l
Current	=	10	mA

4. ทำการปรับตั้งทิศทางของแสงที่ส่องจาก Lamp ให้ตรงกับจุดรับ Sensor

5. เลือก Method สำหรับการวัดปริมาณเหล็กให้ถูกต้อง

6. ตรวจสอบปริมาณการดูดสารละลายเข้าเครื่อง (Sensitivity check) ให้ตรงตามค่าที่กำหนดไว้ ในที่นี้ค่า Sensitivity check เท่ากับ 2.00 มิลลิกรัมต่อลิตร

7. ปรับตั้งค่าเครื่องให้อ่านความเข้มข้นของ Blank ได้เท่ากับ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

8. เริ่มทำการวัด ขั้นแรกจะสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสง ($OD_{248.3}$) และความเข้มข้นของธาตุเหล็กจากสารละลายเหล็ก Working standard ที่เตรียมไว้ 5 ความเข้มข้น แล้วพิจารณาค่า Correlation coefficient จากกราฟมาตรฐานที่ได้ โดยกราฟมาตรฐานที่ดีควรมีค่า Correlation coefficient มากกว่าหรือเท่ากับ 0.9980 ถ้าไม่ได้จะทำการสร้างกราฟมาตรฐานใหม่

9. ทำการยืนยันกราฟมาตรฐานอีกครั้งโดยนำสารละลายเหล็ก Working standard มาทดลองวัดค่าโดยค่าที่อ่านได้จากเครื่องจะมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร นำค่าที่อ่านได้มาเทียบกับความเข้มข้นของ Working standard ที่เตรียมไว้ว่ามีค่าตรงกันหรือไม่ โดยปกติแล้วค่าอาจมีความคลาดเคลื่อนได้ร้อยละ 10 ซึ่งเป็นค่าที่สามารถยอมรับได้ในห้องปฏิบัติการ หากความคลาดเคลื่อนมากกว่านี้อาจจะต้องทำกราฟมาตรฐานใหม่หรือเตรียม Working standard เหล็กใหม่

10.เมื่อได้กราฟมาตรฐานที่แน่นอนแล้วจะทำการทดสอบความถูกต้องของเครื่อง AAS อีกครั้งโดยนำตัวควบคุมคุณภาพ (Internal quality control) ในที่นี้คือ Dumex และ SRM มาวัดเพื่อทดสอบความถูกต้องก่อน

11.เมื่อผลจากการวัดตัวควบคุมคุณภาพ (Internal quality control) มีความถูกต้องหรืออยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ (ความคลาดเคลื่อนร้อยละ 10) จะทำการวัดความเข้มข้นเหล็กในตัวอย่างจากขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างต่อไป

** ตัวอย่างจากขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่จะนำไปวัด AAS จะต้องเป็นตัวอย่างที่ได้ผ่านการเจือจางความเข้มข้นที่เหมาะสมแล้ว โดยทำ Blank ควบคู่ไว้ด้วย ความเข้มข้นของเหล็กที่วัด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ได้ควรจะอยู่ระหว่างกึ่งกลางหรืออยู่ในช่วงของกราฟมาตรฐาน หากเครื่องไม่สามารถวัดหรืออ่านค่าได้ จะต้องนำตัวอย่างไปเจือจางความเข้มข้นใหม่ (ทำ Blank ใหม่)

12.นำค่าความเข้มข้นของเหล็กที่วัดได้ในตัวอย่าง (X) ไปคำนวณหาปริมาณเหล็กทั้งหมดในตัวอย่าง จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\textbf{ปริมาณธาตุเหล็กทั้งหมดในข้าว (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)} = \frac{\textbf{(X-B) x D x (100-M)}}{\textbf{100xW}}$$

โดยที่ X = ความเข้มข้นของเหล็กในสารละลายตัวอย่างจากการย่อย (มิลลิกรัมต่อลิตร)

B = ความเข้มข้นของ Blank (มิลลิกรัมต่อลิตร)

D = อัตราการเจือจาง (Dilution factor, เท่า)

M = ร้อยละความชื้นของตัวอย่าง

W = น้ำหนักตัวอย่างข้าวที่ใช้ (กรัม)

การวิเคราะห์ปริมาณธาตุไอโอดีน ตามวิธีของ Moxon and Dixon (1980)

หลักการ

เมื่อนำตัวอย่างข้าวไปเผาในเตาเผาอุณหภูมิสูง (Muffle furnace) เพื่อย่อยสารอินทรีย์ (Organic matter) ได้ไอโอดีนอยู่ในส่วนของขี้เถ้า ทำการสกัดไอโอดีนออกมาจากขี้เถ้าด้วยน้ำ และนำไปทำปฏิกิริยาเคมีเพื่อวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนโดยอาศัยหลักการที่ว่าไอโอดีนจะไปเร่งปฏิกิริยาการทำลาย Thiocyanate โดย Nitrite ซึ่งเป็นผลให้สีของ Iron (III) thiocyanate ลดลง

เครื่องมือและอุปกรณ์

- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
- Oven
- Muffle furnace
- Mixer (Vortex)
- Sonicator
- Centrifuge

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- Water bath
- Automatic pipettes

เครื่องแก้ว

- Ash tubes และ Assay tubes ใช้ Test tubes (Pyrex) ขนาด 16 x 100 มิลลิเมตร^2
- Volumetric flasks ขนาด 10, 25, 50, 100, 500 และ 1000 มิลลิลิตร

การล้างเครื่องแก้ว

ล้างด้วยน้ำยาล้างแก้ว ล้างอีกครั้งด้วยน้ำประปา แช่ HNO_3 ร้อยละ 50 ทิ้งไว้ค้างคืน แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากแร่ธาตุ (Demineralized Distilled Water) 3 ครั้ง และอบให้แห้ง

สารเคมี

1. Iodine standard

1.1 Stock iodine standard (เก็บในขวดสีน้ำตาลไว้ในตู้เย็น)

นำ KI ไปอบใน Oven 100 °C นาน 1 ชั่วโมง และชั่ง KI 1.308 กรัม เติมน้ำกลั่น ให้ครบ 1000 มิลลิลิตร มีความเข้มข้นของ Iodine 106 นาโนกรัมต่อลิตร

1.2 เตรียม Intermediate standard iodine (เตรียมในวันที่ทำการทดลอง)

ดูดสารละลาย Stock standard iodine ในข้อ 1.1 มา 0.1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ครบ 500 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นของ Iodine เท่ากับ 200 นาโนกรัมต่อลิตร

1.3 เตรียม Working standard iodine ที่มีความเข้มข้นของ Iodine 0, 2.5, 5, 10, 15 และ 20 นาโนกรัมต่อลิตร โดยดูดสารละลายดังต่อไปนี้ใน Volumetric flask

Working standard Iodine (นาโนกรัมต่อลิตร)	**Intermediate standard iodine (มิลลิลิตร)**	**สารละลายK_2CO_3 ร้อยละ 30 (มิลลิลิตร)**	**น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)**	**ปริมาตรรวม (มิลลิลิตร)**
0	0	0.10	9.90	10
2.5	0.125	0.10	9.775	10
5	0.25	0.10	9.65	10
10	0.50	0.10	9.40	10
15	0.75	0.10	9.15	10
20	1.00	0.10	8.90	10

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. Potassium carbonate ร้อยละ 30 (30% K_2CO_3)

ชั่ง Potassium carbonate 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร

3. Zinc sulphate ร้อยละ 10 (10% $ZnSO_4$)

ชั่ง Zinc sulphate 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร

4. Zinc sulphate ร้อยละ 5 (5% $ZnSO_4$)

ชั่ง Zinc sulphate 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร

5. Sodium chloride ร้อยละ 20 (20% NaCl)

ชั่ง NaCl 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร

6. Potassium thiocynate ร้อยละ 0.023 (0.023% KSCN) (เก็บในตู้เย็น)

ชั่ง KSCN 0.023 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร

7. Ammonium iron (III) sulphate reagent (เก็บในตู้เย็น)

- ชั่ง Ammonium iron (III) sulphate [$NH_4Fe(SO_4)_2.12H_2O$] 77 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุดท้ายเป็น 400 มิลลิลิตร
- เติมกรด HNO_3เข้มข้น (specific gravity 1.42) 167 มิลลิกรัม
- นำไปอุ่นบน Hotplate จนละลายหมด และปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

8. Sodium nitrite ร้อยละ 2.07 (2.07 % $NaNO_2$) (เตรียมในวันที่ทำการทดลอง)

ชั่ง $NaNO_2$ 2.07 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร

9. Internal quality control

9.1 Standard Reference Material 1549 เป็นผลิตภัณฑ์ของ National Institute of Standards and Technology (NIST) U.S., Department of Commerce, Gaithersburg, USA เป็น Non-fat milk powder ซึ่งมี Iodine 3.38±0.02 ไมโครกรัมต่อกรัม

9.2 น้ำนม UHT ยี่ห้อ Alacta NF (ANF) ชนิดจืด ซึ่งมี Iodine ตามข้อมูลโภชนาการระบุไว้ข้างกล่อง มีปริมาณไอโอดีนร้อยละ 30 ของปริมาณที่แนะนำต่อวัน (ร้อยละปริมาณสารอาหารที่แนะนำให้บริโภคต่อวันคิดจากความต้องการพลังงานวันละ 2,000 กิโลแคลอรี)

9.2.1 นำน้ำนม UHT ยี่ห้อ Alacta มาวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีนจำนวน 2 ซ้ำ เพื่อหาค่า Precision ของการวิเคราะห์ปริมาณไอโอดีน

9.2.2 เพื่อให้สามารถเก็บน้ำนม UHT ได้เป็นเวลานาน จึงได้นำน้ำนมไป Lyophilized (อบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง) เป็นนมผง คำนวณค่าความชื้นได้เท่ากับร้อยละ 86.71 และนำนมผงมาวิเคราะห์เพื่อหาค่า Precision ซ้ำอีกครั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างข้าว

1. วิธีการเตรียมตัวอย่าง

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างข้าวให้ละเอียดถึงทศนิยม 4 ตำแหน่ง ประมาณ 0.15 กรัม และนม Control ลงใน Ash tube อย่างละ 3 หลอด วางหลอดทั้งหมดไว้ใน Stainless rack โดยมีรายละเอียดการเตรียมดังนี้

Sample	**น้ำหนักตัวอย่างต่อหลอด**
ข้าว	0.15 กรัม
Controls	**ปริมาณนมต่อหลอด**
NIST	0.1 กรัม
ANF	1.0 มิลลิลิตร หรือ 0.3 กรัม

2. เติมสารละลาย K_2CO_3 ความเข้มข้นร้อยละ 30 จำนวน 1 มิลลิลิตร และสารละลาย $ZnSO_4$ ความเข้มข้นร้อยละ 10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในทุกหลอดและ Mix ด้วย Vortex (ไม่ควร Mix ให้สารละลายขึ้นสูงมาก)

3. นำหลอดที่วางใน Stainless rack ไปอบใน Oven ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ประมาณ 22 ชั่วโมงเพื่อให้ตัวอย่างแห้งสนิท

4. นำหลอดไปเผาใน Furnace โดยเริ่มจากอุณหภูมิห้องถึง 550 องศาเซลเซียส ซึ่งใช้เวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที และคงอยู่ที่ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำ Rack ออกจาก Furnace ทันทีที่ครบ 1 ชั่วโมง และทิ้งไว้ให้เย็น

5. เติมสารละลาย $ZnSO_4$ ความเข้มข้นร้อยละ 5 หลอดละ 2 มิลลิลิตร และนำไปวางใน Sonicator เป็นเวลา 30 นาที และ Mix ด้วย Vortex อีกครั้งหนึ่ง ก่อนจะนำไปอบใน Oven ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ประมาณ 18 ชั่วโมง

6. นำหลอดทั้งหมดจาก Oven ไปใส่ใน Furnace ทันทีโดยทำซ้ำข้อ 4

7. หลังจากทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติม Glass bead 2 เม็ด ลงในทุกหลอด เติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร ลงในทุกหลอด และนำไป Incubate ใน Water bath 50 องศาเซลเซียส 10 นาที

8. นำหลอดทั้งหมดไปวางใน Sonicator 10 นาที และ Mix ด้วย Automixter 10 นาที

9. นำหลอดทั้งหมดไปปั่นโดยใช้ Centrifuge ที่ 1000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

10. ดูดส่วนที่เป็น Supernatant ใส่ใน Polyethylene tube ขนาด 16x100 มิลลิเมตร^2 เพื่อนำไปทำปฏิกิริยาให้เกิดสีต่อไป

11. ดูดสารละลายต่างๆ ใส่ใน Assay tube ดังต่อไปนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Assay tube	Std (ml)	DDW (ml)	Solution		Supernatant จาก				
			20%NCl (ml)	0.023% KSCN (ml)	Blank reagent A (ml)	Blank reagent NIST (ml)	NIST (ml)	ANF (ml)	Sample (ml)
Standard (Std)	1.00	0.85	0.25	0.25	-	-	-	-	-
Blank reagent A 1	-	1.60	0.25	0.25	0.25	-	-	-	-
Blank reagent A 2	-	1.10	0.25	0.25	0.75	-	-	-	-
Blank reagent NITS	-	1.79	0.25	0.25	-	0.06	-	-	-
NIST	-	1.79	0.25	0.25	-	-	0.06	-	-
ANF	-	1.60	0.25	0.25	-	-	-	0.25	-
Sample	-	1.10	0.25	0.25	-	-	-	-	0.75

หมายเหตุ 1) Blank reagent A 1 คือ Blank reagent ของ ANF

2) Blank reagent A 2 คือ Blank reagent ของ Samples

3) ปริมาตรของ Supernatant ที่ใช้ในการสร้างสีขึ้นอยู่กับปริมาณไอโอดีนที่มีอยู่

12. ผสมสารละลายให้เข้ากันด้วย Vortex

13. เติม Ammonium sulfate reagent 0.50 มิลลิลิตร ลงในทุกหลอด

15. Incubate ใน Waterbath 32 องศาเซลเซียส 10 นาที และเติมสารละลาย $NaNO_2$ ร้อยละ 2.07 ลงในทุกหลอด โดยแต่ละหลอด ห่างกัน 1 นาที ขณะ Incubate ใน Water bath 32 องศาเซลเซียส

15. นำไปวัดค่าเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ที่ OD_{450mm} หลังจากเติมสารละลาย $NaNO_2$ ร้อยละ 2.07 ครบ 20 นาที โดยเทียบกับน้ำกลั่น

16. Plot graph ระหว่าง ความเข้มข้นของ Iodine และ OD_{450mm} ของสารละลาย Iodine มาตรฐาน (Standard) และ เมื่อนำ $OD_{450\ mm}$ ของ Sample มาเทียบกับ Standard graph จะทราบความเข้มข้นของ Iodine ในตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณปริมาณ Iodine ในตัวอย่างข้าว (ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม wet weight)

$$\text{Iodine}_{\text{Sample}}\ (\text{ng/assay tube}) = \text{Iodine}_{\text{Sample}} - \text{Iodine}_{(\text{blank reagent A 2})}$$

$$\text{Iodine}_{\text{Sample}}\ (\text{ng/ash tube}) = \text{Iodine}_{\text{Sample}}\ (\text{ng/assay tube}) \times 3/0.75$$

$$\text{Iodine}_{\text{Sample}}\ (\mu\text{g/100g Dry weight}) = \frac{\text{Iodine}_{\text{sample}}\ (\text{ng/ash tube}) \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งของ Sampleที่ใช้} \times 1000}$$

$$\text{Iodine}_{\text{Sample}}\ (\mu\text{g/100g Wet weight}) = \frac{\text{Iodine}_{\text{Sample}}\ (\mu\text{g/100 g Dry weight}) \times (100 - M_1)}{100}$$

เมื่อ M_1 = ปริมาณความชื้นในตัวอย่าง (ร้อยละ)

0.75 = ปริมาตรของ Supernatant ที่ใช้ในการสร้างสี (มิลลิลิตร)

3 = ปริมาตรของน้ำกลั่นที่เติมใน Ash tube (มิลลิลิตร)

การคำนวณ Iodine ใน NIST (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร)

$$\text{Iodine}_{\text{NIST}}\ (\text{ng/assay tube}) = \text{Iodine}_{\text{NIST}} - \text{Iodine}_{(\text{blank reagent B})}$$

$$\text{Iodine}_{\text{NIST}}\ (\text{ng/ash tube}) = \text{Iodine}_{\text{NIST}}\ (\text{ng/assay tube}) \times 3/0.06$$

เมื่อ 0.06 = ปริมาตรของ Supernatant จากหลอดของ NIST ที่ใช้ในการสร้างสี (มิลลิลิตร)

3 = ปริมาตรของน้ำกลั่นที่เติมใน Ash tube (มิลลิลิตร)

การคำนวณ Iodine ใน ANF (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร)

$$\text{Iodine}_{\text{ANF}}\ (\text{ng/assay tube}) = \text{Iodine}_{\text{ANF}} - \text{Iodine}_{(\text{blank reagent A 1})}$$

$$\text{Iodine}_{\text{ANF}}\ (\text{ng/ml}) = \text{Iodine}_{\text{ANF}}\ (\text{ng/assay tube}) \times 3/0.250$$

เมื่อ 0.25 = ปริมาตรของ Supernatant จากหลอดของ ANF ที่ใช้ในการสร้างสี (มิลลิลิตร)

3 = ปริมาตรของน้ำกลั่นที่เติมใน Ash tube (มิลลิลิตร)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ Manual of Kjeldahl procedure (1979)

อุปกรณ์และสารเคมี

- ชุดวิเคราะห์โปรตีน (Tecator: Model Kjeltec System 1002)
- สารละลาย Boric acid เข้มข้นร้อยละ 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร)
- Kjel tab auto (K_2SO_4 1.5 กรัม + Se 0.0075 กรัม)
- กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Conc. H_2SO_4)
- กรดไฮโรคลอริกเข้มข้น (Conc. HCl) 0.1 N
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกซ์ไซด์ (NaOH) ร้อยละ 50 (น้ำหนักต่อปริมาตร)
- Bromocresol green in absolute alcohol ร้อยละ 0.2 (น้ำหนักต่อปริมาตร)
- สารละลายมาตรฐานไนโตรเจนเข้มข้น 2.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตัวอย่างควบคุม)

วิธีการทดลอง

1. ชั่งสารตัวอย่างที่เป็นของแข็งน้ำหนักที่แน่นอนระหว่าง 0.5 ถึง 1.0 กรัม หรือของเหลวปริมาตร 0.1 ถึง 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดย่อยสลาย เติม Kjel tab auto 1 เม็ด แล้วใช้น้ำกลั่นฉีดล้างข้างหลอด

2. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5.0 มิลลิลิตร ปิดหลอดทดลองด้วยพาราฟิล์ม ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน

3. นำหลอดทดลองจากข้อ 2 เข้าเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 ถึง 90 นาที โดยค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิจนได้สารละลายใส แล้วจึงยกหลอดทดลองออกจากเตาไฟฟ้า และตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

4. เตรียมสารละลายต่อไปนี้ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
   1) สารละลาย Boric acid เข้มข้นร้อยละ 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) 5.0 มิลลิลิตร
   2) น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร
   3) Bromocresol green 2 หยด

5. การกลั่นสารตัวอย่างโดยใช้ชุดวิเคราะห์โปรตีน (Kjeltec system) มีวิธีทำดังต่อไปนี้
   1) วาง Erlenmeyer flask ที่ปลายหลอด Condenser ของชุดวิเคราะห์โปรตีน โดยให้ปลายหลอดจุ่มในสารละลาย
   2) ใส่หลอดย่อยสลายต่อเข้ากับเครื่องกลั่น
   3) เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 20.0 มิลลิลิตร
   4) เปิดเครื่องกลั่นเป็นเวลา 3 นาที แล้วปิดเครื่องกลั่น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. นำสารละลายที่กลั่นได้ใน Erlenmeyer flask มาไตเตรทกับสารละลาย 0.1 N ของกรดไฮโดรคลอริก แล้วบันทึกปริมาตรสารละลายเพื่อนำไปคำนวณปริมาณโปรตีน

การคำนวณปริมาณโปรตีน

1. สารละลายมาตรฐานไนโตรเจนเข้มข้น 2.10 มิลลิกรัม / มิลลิลิตร

ปริมาณไนโตรเจน (มิลลิกรัม / มิลลิลิตร)

$$= \frac{[\text{ความเข้มข้นของ HCl}] \times [\text{ปริมาตร HCl ที่ใช้ (มิลลิลิตร)}] \times 14}{[\ 10 \times \text{ปริมาตรสารตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตร}]}$$

2. ปริมาณโปรตีนในสารตัวอย่าง

ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อ 100 กรัม ตัวอย่าง)

$$= \frac{\textbf{[ความเข้มข้นของ HCl] x [ปริมาตร HCl ที่ใช้ (มิลลิลิตร)] x 14 x Conversion factor*}}{\textbf{[10 x ปริมาณสารตัวอย่าง (กรัม)]}}$$

***** คือค่า Factor for converting nitrogen to protein หรือ ค่าที่ใช้ในการคำนวณเพื่อเปลี่ยนปริมาณไนโตรเจนให้เป็นปริมาณโปรตีน ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ค่า Conversion Factor ของข้าวซึ่งเท่ากับ 5.95 (Jones, 1941)

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen) ตามวิธีของ Manual of Kjeldahl procedure (1979)

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดนั้น จะมีวิธีการวิเคราะห์เหมือนกับการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนทุกประการ โดยจะแตกต่างตรงวิธีการคำนวณ โดยจะคำนวณในรูปของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดดังสูตร

ปริมาณไนโตรเจน (มิลลิกรัม / มิลลิลิตร)

$$= \frac{\textbf{[ความเข้มข้นของ HCl] x [ปริมาตร HCl ที่ใช้ (มิลลิลิตร)] x 14}}{\textbf{[10 x ปริมาตรสารตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตร]}}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC (2005)

เครื่องมือและอุปกรณ์

- เครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกเข็ง (Lyophilizer)
- กระบอกตวง
- เครื่องปั่นอาหาร (Blender)
- ขวดพลาสติก Polyethylene ขนาด 100 มิลลิลิตร
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง

วิธีการวิเคราะห์

1. นำขวดพลาสติก Polyethylene เปล่า ชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง (W_3) บันทึกน้ำหนักของขวดพลาสติกที่ชั่งได้ที่ฉลากข้างขวดพลาสติก
2. นำตัวอย่างอาหารมาชั่งน้ำหนักแล้วนำไปใส่ในเครื่องปั่นอาหาร และนำถุงพลาสติกที่บรรจุนั้นไปชั่งน้ำหนักอีกครั้งเพื่อลบค่าน้ำหนักภาชนะที่บรรจุ จะได้น้ำหนักอาหารสด (W_1)
3. เติมน้ำกลั่นที่ทราบปริมาตรแน่นอนลงไปในเครื่องปั่น (W_2)
4. ปั่นสารตัวอย่างให้เข้ากันจนกระทั่งสารตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกัน
5. เทอาหารปั่นบางส่วนใส่ในขวดพลาสติก Polyethylene ประมาณ 1 ใน 3 ของขวด แล้วนำขวดมาชั่งน้ำหนัก (W_4) ปิดปากขวดพลาสติก Polyethylene ด้วยผ้าก๊อซ แล้วนำไปแช่ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ - 20 องศาเซลเซียส โดยทำการเอียงขวดเพื่อให้มีพื้นผิวสัมผัสมากที่สุด เป็นเวลา 1 คืน
6. นำขวดสารตัวอย่างเข้าเครื่อง Lyophilizer จนกระทั่งสารตัวอย่างแห้งสนิท
7. นำสารตัวอย่างออกจากเครื่อง Lyophilizer แล้วชั่งนำหนักสารตัวอย่าง (W_5)

การคำนวณปริมาณความชื้น (หน่วยเป็น กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง)

$$\text{ปริมาณความชื้น} = \frac{100 - [100 \times (W_1+W_2)(W_5 - W_3)]}{[W_1 (W_4-W_3)]}$$

โดยที่ W_1 = น้ำหนักอาหารเริ่มต้น (อาหารสด, กรัม)

W_2 = น้ำที่เติม (มิลลิลิตร = กรัม)

W_3 = น้ำหนักขวดเปล่า (กรัม)

W_4 = น้ำหนักขวดเปล่าและอาหารปั่นสด (กรัม)

W_5 = น้ำหนักขวดเปล่าและอาหารปั่นแห้ง (กรัม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ Pearson (1976)

เครื่องมือและอุปกรณ์

- Crucible
- เตาเผา (Muffle furnace)
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการวิเคราะห์

1. นำ Crucible ที่ล้างให้สะอาดมาเผาใน Muffle furnace ที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
2. นำ Crucible มาใส่ใน Desiccator เป็นเวลา 20 นาที แล้วชั่งน้ำหนัก Crucible เปล่า (W_1)
3. นำสารตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ใส่ใน Crucible แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 5 กรัม (W_2)
4. นำสารตัวอย่างพร้อม Crucible ไปเผาบน Hot plate จนกระทั่งสารตัวอย่างไหม้เป็นสีดำ
5. นำสารตัวอย่างพร้อม Crucible เข้า Muffle furnace ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนสารตัวอย่างเผาไหม้ได้สมบูรณ์ (ได้เป็นเถ้าสีขาว) ทิ้งสารตัวอย่างให้เย็นโดยนำสารตัวอย่างพร้อม Crucible ออกจากเตาแล้วนำเข้า Desiccator เป็นเวลา 20 นาที
6. ชั่งน้ำหนักสารตัวอย่างพร้อม Crucible ที่แน่นอน (W_3)

การคำนวณปริมาณเถ้า (หน่วยเป็น กรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง)

$$\text{ปริมาณเถ้า} = \frac{[(W_3 - W_1) \times (100 - M)]}{(W_2)}$$

โดยที่ W_1 = น้ำหนัก Crucible เปล่า (กรัม)

W_2 = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

W_3 = น้ำหนัก Crucible กับตัวอย่างหลังเผา (กรัม)

M = ปริมาณความชื้นในตัวอย่าง (ร้อยละ)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ตามวิธีของ Leco Corporation (2002)

ขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ไขมัน Leco, Model TFE 2000

1. เปิด Gas Carbon dioxide, Compress Air 240 psi

2. ตรวจเช็ค Ambient Monitor ว่าเครื่องอยู่ในสภาวะพร้อมทำงานหรือไม่ ดังต่อไปนี้

Parameter	Nominal Value	Range	Units
Pump Pressure	0	0 to 10,000	psi
Pump Temp	0	-20 to 40	°C
Cell temp	100	Ambient to 150	°C
HRV Temp	90	Ambient to 350	°C
Cold Junction	25	15 to 35	°C
Flow cell	0	0 to 3	lpm
Inlet Press	850	0 to 1150	psi

3. เตรียม Glass Wool (1.300-1.500 กรัม) บรรจุลงในขวด Vial นำไปอบเป็นเวลา 4 นาที จากนั้นทิ้งให้เย็นใน Desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก แล้วบรรจุตัวอย่างลงในเครื่อง TFE 2000

4. เตรียมตัวอย่างตามวิธีการของแต่ละตัวอย่าง บรรจุลงใน Trimble แล้วนำ Trimble ใส่ในเครื่อง TFE 2000 จากนั้นกด Start เพื่อทำการวิเคราะห์ตัวอย่างต่อไป

5. เมื่อทำการวิเคราะห์เสร็จแล้วให้นำขวด Vial ออกมาอบเป็นเวลา 4 นาที ทิ้งให้เย็นใน Desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณไขมันในตัวอย่างต่อไป

6. หลังทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเสร็จแต่ละวันให้ทำการทำความสะอาดระบบตามวิธีการที่กำหนดให้ ดังนี้

Parameter	Value	Units
Pump Pressure	9000	psi
Cell temperature	100	°C
HRV Temp	100	°C
Flow cell	3	lpm
Time	5 minutes to Static	
Time	10 minutes to Dynamic	

7. หลังจากทำความสะอาดระบบเสร็จแล้วทำการกลับ Menu หลัก แล้วจึงปิดเครื่องได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณไขมันในข้าวด้วยเครื่องวิเคราะห์ไขมัน Leco, Model TFE 2000 (Method for Oil in Rice Bran, Method No. 203-821-134) ตามวิธีของ Leco Corporation (2002)

อุปกรณ์และสารเคมี

- Glass Wool (รหัส 501-081)
- ผง Leco-Dry (รหัส 502-327)

การเตรียมขวด Vial

1. ชั่ง Glass Wool ใส่ในขวด Vial ปริมาณ 1.300 - 1.500 กรัม
2. นำ Glass Wool และขวด Vial ไปอบแห้งนานประมาณ 4 นาที
3. ทิ้งให้เย็นใน Desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก (Glass Wool และขวด Vial ; W_b)

การเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างข้าวประมาณ 0.900-1.100 กรัม (W_a)
2. ชั่งผง Leco-Dry ประมาณ 2.100-2.200 กรัม
3. นำตัวอย่างข้าวมาผสมกับ Leco-Dry ให้เข้ากันในบีกเกอร์
4. เทตัวอย่างที่ผสมแล้วลงใน Thimble แล้วปิดฝา

การวิเคราะห์ไขมัน

1. ตั้งค่า (Set method) เครื่อง TFE 2000 ให้มี Parameter ดังนี้

Extraction Pressure:	9000 Psi
Extraction Temperature:	100 °C
HRV Temperature:	90 °C
Hold Time:	15 minutes
Extraction Time:	45 minutes
Flow rate:	1.3 lpm

2. ใส่ Thimble และขวด Vial เข้ากับเครื่อง
3. กดปุ่ม Start เพื่อเริ่มกระบวนการ
4. หลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการให้นำขวด Vial มาอบแห้งนานประมาณ 4 นาที
5. ทิ้งให้เย็นใน Desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก (ขวด Vial + Glass Wool + Fat ; W_c)
6. นำ Thimble ออกมาจากเครื่อง (ใช้ความระมัดระวัง เนื่องจาก Thimble ร้อนมาก)
7. ทำความสะอาดขวด Vial และ Thimble

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณปริมาณไขมันในตัวอย่าง

$$\text{ไขมัน (Fat) (ร้อยละ, dry weight)} = \frac{(W_c - W_b) \times 100}{W_a}$$

$$\text{ไขมัน (Fat) (ร้อยละ, wet weight)} = \frac{(W_c - W_b) \times (100 - M)}{(100 \times W_a)}$$

เมื่อ W_a = น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)

W_b = น้ำหนักขวด Vial + Glass wool (กรัม)

W_c = น้ำหนักขวด Vial + Glass wool + Fat (กรัม)

M = ร้อยละปริมาณความชื้นของตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (โดยวิธีค่า By difference)

การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตในอาหาร คำนวณได้ตามสูตรดังนี้

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ)

= 100 – (ร้อยละความชื้น + ร้อยละโปรตีน + ร้อยละไขมัน+ ร้อยละเถ้า)

การวิเคราะห์ปริมาณพลังงาน (โดยวิธีการคำนวณ)

ค่าพลังงานในอาหาร 100 กรัม ได้จากการคำนวณตามสูตรดังนี้

ปริมาณพลังงาน (กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัมตัวอย่าง)

= (ปริมาณคาร์โบไฮเดรต, กรัม x 4) + (ปริมาณโปรตีน, กรัม x 4) +

(ปริมาณไขมัน, กรัม x 9)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณไฟเตท (ในรูปของกรดไฟติก) ตามวิธีของ Makower (1970)

หลักการ

ทำการสกัดกรดไฟติก (Phytic acid) ในตัวอย่างอาหารด้วยกรด Hydrochloric หรือ Trichloroacetic จากนั้นตกตะกอนกรดไฟติกให้อยู่ในรูปของสารประกอบ Cerium แล้วนำตะกอนที่ได้ไปทำการย่อยด้วยกรดซัลฟูริก ได้ฟอสฟอรัสซึ่งจะรวมตัวกับ Ammonium molybdate เกิดเป็นสารประกอบที่ทำปฏิกิริยากับ Malachite green ได้สารประกอบที่มีสี ซึ่งดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 610 นาโนเมตร

อุปกรณ์

- เครื่องชั่งความละเอียด 4 ตำแหน่งและ 2 ตำแหน่ง
- เครื่องเขย่า (Shaker)
- เครื่องเขย่าผสม (Mixer)
- Hotplate
- Centrifuge
- Digestion block
- Spectrophotometer
- Automatic pipette ขนาด 100, 200, 1000 และ 5000 ไมโครลิตร
- Glass pipette ขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
- Polypropylene centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร
- Glass test tube ขนาด 17x100 มิลลิเมตร^2
- Digestion tube ขนาด 25x150 มิลลิเมตร^2

สารเคมี

1. 0.5 M Hydrochloric acid

ทำการเจือจางกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ปริมาตร 10.42 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ให้มีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 250 มิลลิลิตร

2. 0.5 M Sulfuric acid

ทำการเจือจางกรดซัลฟูริกเข้มข้น ปริมาตร 6.65 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ให้มีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 250 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. Trichloroacetic acid (TCA) เข้มข้นร้อยละ 12 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ละลาย Trichloroacetic acid 12.00 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

4. Ceric solution เข้มข้นร้อยละ 5 ใน 6% Sulfuric acid

ละลาย $Ce(SO_4)2.4H_2O$ 5.00 กรัม ในน้ำกลั่นประมาณ 50 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 6.00 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

5. Ammonium molybdate solution เข้มข้นร้อยละ 1.75 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ละลาย $(NH_4)Mo_7O_{24}.4H_2O$ 1.75 กรัม ในน้ำกลั่นประมาณ 80 มิลลิลิตร อุ่นบน Hot plate จนกระทั่งละลายหมด ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

6. Polyvinyl alcohol solution เข้มข้นร้อยละ 0.35 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ละลาย Polyvinyl alcohol 0.35 กรัม ในน้ำกลั่นประมาณ 80 มิลลิลิตร อุ่นบน Hot plate จนกระทั่งละลายหมด ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

7. Malachite green solution เข้มข้นร้อยละ 0.035 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ละลาย Malachite green 0.035 กรัม ใน Polyvinyl alcohol solution เข้มข้นร้อยละ 0.35 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ให้มีปริมาตรสุดท้าย 100 มิลลิลิตร

8. Hydrogen peroxide เข้มข้นร้อยละ 30

9. สารมาตรฐาน Phosphorus standard

9.1 Stock standard มีความเข้มข้นของ Phosphorus เท่ากับ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (เก็บไว้ในตู้เย็นได้นาน 1 เดือน) ละลาย Potassium dihydrogenphosphate anhydrous (KH_2PO_4) 0.1758 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร

9.2 Working standard มีความเข้มข้นของ Phosphorus เท่ากับ 0.16, 0.32, 0.48 และ 0.64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (เตรียมในวันที่ทำการทดลอง) ทำการเจือจาง Stock standard ในข้อ 9.1 ปริมาตร 20, 40, 60 และ 80 ไมโครลิตรด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.5 M และปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 10 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

วิธีการวิเคราะห์แบ่งเป็น 4 ขั้นตอนดังนี้

1. การสกัด

1.1 ชั่งตัวอย่างอาหารด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่งน้ำหนักประมาณ 0.3000 ถึง 0.5000 กรัม (ขึ้นกับปริมาณกรดไฟติกในตัวอย่างอาหาร) ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

1.2 เทตัวอย่างอาหารลงใน Polypropylene centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การตกตะกอน

2.1 เติม Ceric solution เข้มข้นร้อยละ 5 ใน 6% Sulfuric acid ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร และกรดซัลฟูริกเข้มข้น ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตรลงใน Supernatant ที่ได้จากการสกัดในข้อ 1.2

2.2 เขย่าผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้นาน 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง

2.3 นำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

2.4 เทส่วน Supernatant ทิ้งและเก็บส่วนตะกอน (Pellet) ไว้

3. การย่อยสลายให้อยู่ในรูปฟอสฟอรัส (Phosphorus)

3.1 ละลายตะกอนที่ได้จากข้อ 2.4 ด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร

3.2 เทสารละลายในข้อ 3.1 ลงในหลอดทดลองขนาด 25x150 มิลลิเมตร^2 ล้างหลอดด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย

3.3 วางหลอดทดลองใน Digestion block และค่อย ๆ เพิ่มอุณหภูมิขึ้นจากอุณหภูมิห้องจนถึง 330 องศาเซลเซียสในเวลาประมาณ 2 ชั่วโมงครึ่ง ทำการย่อยจนกระทั่งได้สารละลายใส

3.4 หากสารละลายไม่ใสให้นำหลอดทดลองออกจาก Digestion block ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วจึงเติม Hydrogen peroxide ร้อยละ 30 จำนวน10 หยด และทำการย่อยจนกระทั่งได้สารละลายใส

3.5 เมื่อได้สารละลายใสแล้วจึงทำการปรับปริมาตรของสารละลายให้มีปริมาตรสุดท้ายเป็น 50 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

4. การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส

4.1 ดูดสารละลาย Working standard ที่มีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเท่ากับ 0.16, 0.32, 0.48 และ 0.64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตรลงในหลอดแก้วขนาด 17x100 มิลลิเมตร^2 โดยทำความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ และดูดกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 M ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร สำหรับ Blank

4.2 ดูดสารละลายที่ได้จากการย่อยจากข้อ 3.5 ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร (ซึ่งอาจมีการเจือจางให้เหมาะสมด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 M) ลงในหลอดแก้วขนาด 17x100 มิลลิเมตร^2

4.3 เติมกรดกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 M ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตรลงในทุกหลอดในข้อ 4.1 และ 4.2

4.4 Ammonium molybdate solution เข้มข้นร้อยละ 1.75 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 200 ไมโครลิตรลงในทุกหลอดและเขย่าผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.5 เติม Malachite green solution เข้มข้นร้อยละ 0.035 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 200 ไมโครลิตรลงในทุกหลอดและเขย่าผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 45 นาที

4.6 ทำการวัด Absorbance ที่ความยาวคลื่น 610 นาโนเมตรเทียบกับน้ำกลั่น

4.7 สร้าง Calibration curve จากความเข้มข้นและ Absorbance ของ Working standard เพื่อนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในตัวอย่าง

5. การคำนวณ

กำหนดให้

M = ความชื้นของตัวอย่างอาหาร (ร้อยละ)

W = น้ำหนักของตัวอย่างแห้งที่ใช้ในการสกัด (กรัม)

D_1 = $\frac{\text{ปริมาตรทั้งหมดของ Supernatant ที่ได้จากการสกัด}}{\text{ปริมาตรทั้งหมดของ Supernatant ที่ได้จากการตกตะกอน}}$

D_2 = การเจือจางสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายในการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัส

A = ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในตัวอย่างจากการวิเคราะห์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

น้ำหนักโมเลกุลของกรดไฟติกเท่ากับ 660 กรัม

น้ำหนักอะตอมของฟอสฟอรัส จำนวน 6 อะตอม เท่ากับ 186 กรัม

สารละลายที่ได้จากการย่อยสลาย 1 มิลลิลิตร มีฟอสฟอรัสเท่ากับ A ไมโครกรัม

สารละลายที่ได้จากการย่อยสลาย 50 มิลลิลิตร มีฟอสฟอรัสเท่ากับ 50A ไมโครกรัม

เนื่องจากกรดไฟติก 1 โมเลกุลประกอบด้วยฟอสฟอรัส 6 อะตอม

ดังนั้นสารละลาย 50 มิลลิลิตรจึงมีกรดไฟติกท่ากับ $\frac{50A \times 660}{186}$ ไมโครกรัม

ซึ่งเท่ากับปริมาณกรดไฟติกในตัวอย่างอาหารแห้ง W กรัม

ดังนั้น อาหารแห้ง W กรัม จึงมีกรดไฟติก เท่ากับ $\frac{50A \times 660}{186}$ ไมโครกรัม

อาหารแห้ง 100-M กรัมมีกรดไฟติก เท่ากับ $\frac{50A \times 660 \times (100-M)}{186 \times W}$ ไมโครกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หรือเท่ากับ $\frac{50A \times 660 \times (100-M) \times 10^{-3}}{186 \times W}$ มิลลิกรัม

อาหารแห้ง (100-M) กรัมมาจากอาหารสด 100 กรัม

ดังนั้น อาหารสด 100 กรัม จึงมีปริมาณกรดไฟติก $= \frac{50A \times 660 \times (100-M) \times 10^{-3}}{186 \times W}$ มิลลิกรัม

เนื่องจากมีการใช้ Supernatant เป็นบางส่วนมาตกตะกอน (D_1) ดังนั้น

อาหารสด 100 กรัมจึงมีปริมาณกรดไฟติก $= \frac{\mathbf{50 \times 660 \times 10^{-3} (100-M) AD_1}}{\mathbf{186 \times W}}$ **มิลลิกรัม**

ในกรณีที่มีการเจือจางสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายก่อนนำมาวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส (D_2)

อาหารสด 100 กรัมมีปริมาณกรดไฟติก $= \frac{50 \times 660 \times 10^{-3} (100-M) AD_1D_2}{186 \times W}$ มิลลิกรัม

การวิเคราะห์ปริมาณค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ด้วยเครื่องวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ (ตามวิธีของ Axair AG Ltd., 1995)

ปริมาณค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ (ค่า a_w) ในตัวอย่างอาหารจะทำการวัดโดยใช้เครื่องวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ (a_w – box, Novasina: Model AWC 200, Switzerland) ซึ่งมีวิธีการวัดดังนี้ คือ

1. เปิดเครื่องวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ทิ้งไว้ประมาณ 30 ถึง 60 นาที หรือจนกระทั่งเครื่องพร้อมใช้ สังเกตได้จากขีดเครื่องหมายที่ระบุไว้บนหน้าจอปรากฏครบทั้ง 4 ขีด

2. นำตัวอย่างอาหารที่ต้องการวัดมาบดให้ละเอียด แล้วนำตัวอย่างใส่ในตลับพลาสติกสำหรับใช้กับเครื่องวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์โดยเฉพาะประมาณ 5 กรัม แล้วนำไปใส่ในเครื่อง

3. เมื่อขีดเครื่องหมายที่ระบุไว้บนหน้าจอปรากฏครบทั้ง 4 ขีด จะทำการอ่านค่าปริมาณค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ที่ได้ โดยทำการวัดซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก จ

เค้าโครงปริมาณกรดอะมิโน ในข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 แต่ละประเภท

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวกที่ จ-1 เค้าโครงปริมาณกรดอะมิโน (Amino acid profile) ในข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 แต่ละประเภท (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)

กรดอะมิโน	ข้าวสารเหนียวพันธุ์ กข 6	ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์พันธุ์ กข 6*	ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์พันธุ์ กข 6 ผ่านการเสริมเหล็ก แคลเซียม ไอโอดีน ไลซีน และทรีโอนีน**
อะลานีน (Alanine)	197.82±27.15	200.91±7.08	239.75±6.80
อาร์จินีน (Arginine)	117.42±19.05	95.37±8.45	77.53±0.31
กรดแอสปาร์ติก (Aspartic acid)	255.53±21.90	199.00±4.99	263.78±0.46
ซิสเตอีน (Cysteine)	33.57±3.07	น้อยกว่า 5	39.49±0.44
กรดกลูตามิก (Glutamic acid)	584.92±140.36	552.70±52.08	490.37±0.53
ไกลซีน (Glycine)	137.18±10.41	146.26±10.41	139.88±3.20
ฮิสติดีน (Histidine)	186.37±40.18	141.26±15.19	212.73±1.93
ไฮดรอกซีไลซีน (Hydroxylysine)	น้อยกว่า 5	น้อยกว่า 5	น้อยกว่า 5
ไฮดรอกซีโปรลีน (Hydroxyproline)	น้อยกว่า 5	น้อยกว่า 5	26.15±2.55
ไอโซลิวซีน (Isoleucine)	422.71±19.93	405.12±23.71	349.31±6.91
ลิวซีน (Leucine)	846.77±44.26	803.94±76.57	706.04±5.20

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวกที่ จ-1 เค้าโครงปริมาณกรดอะมิโน (Amino acid profile) ในข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 แต่ละประเภท (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) (ต่อ)

กรดอะมิโน	ข้าวสารเหนียวพันธุ์ กข 6	ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์พันธุ์ กข 6*	ข้าวสารเหนียวพาร์บอยล์พันธุ์ กข 6 ผ่านการเสริมเหล็ก แคลเซียม ไอโอดีน ไลซีน และทรีโอนีน**
ไลซีน (Lysine)	446.42±68.50	153.22±12.90	175.33±0.50
เมไธโอนีน (Methionine)	122.93±0.75	158.63±2.14	163.59±0.07
ฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine)	1,197.80±95.57	1,022.30±103.93	801.23±0.19
โปรลีน (Proline)	265.06±26.59	303.07±26.39	253.72±2.17
ซีรีน (Serine)	63.97±11.05	37.54±1.39	83.00±2.98
ทรีโอนีน (Threonine)	58.90±5.81	36.95±2.26	89.04±3.49
ทริปโตเฟน (Tryptophan)	103.94±0.01	น้อยกว่า 5	127.27±3.55
ไทโรซีน (Tyrosine)	569.46±54.97	216.32±8.47	333.11±0.15
วาลีน (Valine)	340.26±3.54	331.69±2.26	303.34±6.05

หมายเหตุ เค้าโครงปริมาณกรดอะมิโนในข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 แต่ละประเภทจากการตรวจวิเคราะห์โดยห้องปฏิบัติการกลางตรวจสอบผลิตภัณฑ์เกษตรและอาหาร (LCFA) สำนักงานสาขาเชียงใหม่

* ข้าวสารเหนียวพันธุ์ กข 6 ซึ่งผ่านการพาร์บอยล์ที่อุณหภูมิ 62 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 50 นาที

** ข้าวสารเหนียวพันธุ์ กข 6 ซึ่งผ่านการเสริมสารอาหารโดยผ่านการพาร์บอยล์ที่อุณหภูมิ 62 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 50 นาที และผ่านกระบวนการแทรกซึมภายใต้สุญญากาศที่ความเป็นสุญญากาศ -0.75 บาร์ เป็นเวลา 40 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นายธนพล กิจพจน์

วัน เดือน ปี เกิด 26 พฤศจิกายน 2527

ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษา
โรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่
ปีการศึกษา 2544
สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี
สาขาวิชาเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์
คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่
ปีการศึกษา 2548

สถานที่ติดต่อได้ 225/45 หมู่ 5 ตำบลสันพระเนตร อำเภอสันทราย
จังหวัดเชียงใหม่ 50210
โทรศัพท์ 053-491283

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved