abst

ข้อมูลข่าวสาร วศ.

ข้อมูลข่าวสารของกรมวิทยาศาสตร์บริการ
ตาม พ.ร.บ. ข้อมูลข่าวสารของราชการ พ.ศ. 2540

วศ
กช
อว 8

ผลงานที่เสนอให้ประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง

นักวิทยาศาสตร์ 6 ว

เรื่องที่ 2

การศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณไขมันในเนยแข็ง

โดย

นางสาวปราณี แซ่โค้ว

นักวิทยาศาสตร์ 5

และ

นางสุรีย์ พูนศรัทธา

นักวิทยาศาสตร์ 6 ว

กลุ่มงานคุณค่าทางโภชนาการ

กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

ข้อมูลข่าวสาร ...ศาสตร์บริการ
ตาม พ.ร.บ. ...ารราชการ พ.ศ. 2540

ผลงานที่เสนอให้ประเมินเพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง

นักวิทยาศาสตร์ 6 ว

เรื่องที่ 2

การศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณไขมันในเนยแข็ง

เลขหมู่ วส
กช
อว8
เลขทะเบียน 9873
วันที่ 4 เม.ย. 44

โดย

นางสาวปราณี แซ่โค้ว

นักวิทยาศาสตร์ 5

และ

นางสุรีย์ พูนศรัทธา

นักวิทยาศาสตร์ 6 ว

กลุ่มงานคุณค่าทางโภชนาการ

กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

ด้วยอภินันทนาการ
จาก
วส.

บทคัดย่อ

การศึกษาทดลองนี้เป็นการศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณไขมันในเนยแข็งโดยวิธี acid hydrolysis ก่อนการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งมีวิธีการโดยย่อดังนี้ ย่อยตัวอย่างด้วยกรดแล้วจึงสกัดไขมันด้วยตัวทำละลายอินทรีย์โดยใช้ Mojonnier tube ซึ่งเป็นวิธีตาม AOAC (1995) และเป็นวิธีเดียวกับวิธีมาตรฐานขององค์การระหว่างประเทศว่าด้วยการมาตรฐาน (ISO) คือ ISO 1735 : Fat content in cheese ที่ใช้อยู่ เปรียบเทียบกับวิธีวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System ซึ่งเป็นระบบกึ่งอัตโนมัติที่รวมเอาขั้นตอนการย่อยตัวอย่างด้วยกรดและการสกัดไขมันที่ย่อยแล้วด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ไว้ในเครื่องมือชุดเดียวกัน และทำการทดลองปรับปรุงวิธีวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือดังกล่าวให้เหมาะสม เพื่อให้ได้ผลวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำไม่แตกต่างจากวิธีมาตรฐาน

จากการศึกษาตัวแปรที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไขมันในตัวอย่างเนยแข็งโดยวิธีใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System ซึ่งได้แก่ ชนิดของตัวทำละลายสำหรับสกัดไขมัน และระยะเวลาที่ใช้สกัดไขมันหลังย่อยตัวอย่างด้วยกรดแล้ว พบว่า สภาวะของการทดลองที่เหมาะสมคือ ใช้สารละลายผสมของปิโตรเลียมอีเทอร์กับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1 : 1 เป็นตัวทำละลาย และใช้ระยะเวลาในการสกัดไขมันโดยให้ทิมเบิลที่บรรจุตัวอย่างอยู่ในตำแหน่ง "BOILING" เพื่อต้มตัวอย่างเป็นเวลา 40 นาที และตำแหน่ง "RINSING" เพื่อสกัดไขมันในตัวอย่างอีกเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไขมันที่วิเคราะห์ได้ในสภาวะการทดลองข้างต้น กับค่าที่ได้จากวิธีใช้ Mojonnier tube แล้ว ผลการวิเคราะห์ทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิธีใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่าอีกทั้งยังสะดวกและปลอดภัยต่อผู้วิเคราะห์มากกว่าวิธีเดิม

สารบัญ

	หน้า
ความเป็นมา	1
คำนำ	2
- วัตถุประสงค์	5
- ระยะเวลาการดำเนินงาน	5
- ประโยชน์ที่ได้รับ	5
วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	5
ผลการวิเคราะห์	11
การประเมินค่าทางสถิติ	18
วิจารณ์ผลการวิเคราะห์	20
สรุป	22
เอกสารอ้างอิง	24
ภาคผนวก	25
- รูปแสดงเครื่องมือและขั้นตอนการวิเคราะห์โดย Soxtec Hydrolysing System	26

สารบัญตารางและรูปภาพ

หน้า

ตาราง

ตารางที่ 1 : การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธี acid hydrolysis ก่อนการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ใช้ Mojonnier tube และใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System 12

ตารางที่ 2 : การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธี acid hydrolysis ก่อนการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ใช้ Mojonnier tube และใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System ที่สภาวะการทดลองต่าง ๆ กัน 14

ตารางที่ 3 : การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธี acid hydrolysis ก่อนการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ใช้ Mojonnier tube และใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System ที่สภาวะการทดลองที่เหมาะสม 16

ตารางที่ 4 : การประเมินค่าทางสถิติเพื่อทดสอบความแตกต่างของผลการวิเคราะห์ 19

ตารางที่ 5 : การเปรียบเทียบความแตกต่างของวิธี acid hydrolysis ก่อนการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ใช้ Mojonnier tube และวิธีใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System 22

รูปภาพ

รูปที่ 1 : การสกัดไขมันโดยใช้ Mojonnier tube 7

สารบัญตารางและรูปภาพ (ต่อ)

		หน้า
รูปที่ 2	กราฟเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยใช้ Mojonnier tube และใช้ Soxtec Hydrolysing System (Solvent : Petroleum ether)	13
รูปที่ 3	กราฟเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยใช้ Mojonnier tube และใช้ Soxtec Hydrolysing System ที่สภาวะการทดลองต่าง ๆ กัน)	15
รูปที่ 4	กราฟเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยใช้ Mojonnier tube และใช้ Soxtec Hydrolysing System ที่สภาวะการทดลองที่เหมาะสม	17

ความเป็นมา

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมันหรือมันเนยในเนยแข็ง ไม่สามารถสกัดโดยตรงด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เนื่องจากไขมันจับกับองค์ประกอบอื่นในเนยแข็งซึ่งได้แก่ โปรตีนจึงต้องทำการย่อย (hydrolysis) ด้วยกรดก่อนแล้วจึงนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

วิธีการเดิมที่กลุ่มงานคุณค่าทางโภชนาการใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในตัวอย่างเนยแข็งคือ วิธีย่อยด้วยกรด (acid hydrolysis) แล้วจึงสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์โดยใช้ Mojonnier tube ตาม AOAC (1995) ต่อมาทางกลุ่มงานฯ ได้ใช้เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์ไขมันเรียกว่า Soxtec Hydrolysing System ซึ่งเป็นระบบกึ่งอัตโนมัติโดยรวมเอาขั้นตอนการย่อยสลายด้วยกรด และการสกัดไขมันที่ย่อยแล้วด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ของวิธีสกัดแบบ Soxhlet ไว้ในเครื่องมือชุดเดียวกันซึ่งสะดวกและประหยัดเวลาในการวิเคราะห์

วิธีวิเคราะห์ปริมาณไขมันทั้งสองวิธีมีความแตกต่างกัน ในด้านอุปกรณ์ที่ใช้และขั้นตอนการวิเคราะห์ จึงจำเป็นต้องทำการศึกษาเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ เพื่อปรับปรุงวิธีวิเคราะห์โดย Soxtec Hydrolysing System ให้เหมาะสม มีประสิทธิภาพในการหาปริมาณไขมันในตัวอย่างประเภทเนยแข็ง และให้ผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างจากวิธีวิเคราะห์มาตรฐานเดิมที่ใช้อยู่ ซึ่งผลจากการศึกษานี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์ไขมันด้วยเครื่องมือดังกล่าวในตัวอย่างอาหารประเภทอื่น ๆ ต่อไป

คำนำ

อาหารประเภทเนยแข็งหรือชีส (cheese) ได้แพร่หลายเข้ามาในประเทศไทยและกำลังได้รับความนิยมมากขึ้นในปัจจุบัน โดยมีร้านอาหารประเภทฟาสต์ฟู้ดที่ขยายสาขาจากชีกโลกตะวันตกเป็นตัวชักนำ

เนยแข็งเป็นผลิตภัณฑ์นมชนิดหนึ่ง ผลิตขึ้นโดยใช้นมสดได้ทั้งชนิดที่ผ่านการแยกเอาไขมันออกและชนิดที่ยังไม่ได้แยกเอาไขมันออก นำมาพาสเจอไรซ์แล้วเติมเอนไซม์เรนเนท (rennet) ซึ่งสกัดได้จากกระเพาะของลูกวัวอ่อน หรือแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติค (Lactic acid bacteria) หรือทั้งสองอย่าง ซึ่งจะทำให้เคซีน (casein) ในนมตกตะกอนและจับตัวเป็นก้อนเรียกว่า เคิร์ด (curd) แล้วตัดเคิร์ดออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ จากนั้นแยกเอาส่วนที่เป็นของเหลวคือ เวย์ (whey) ออกไป ทำให้เคิร์ดแห้งโดยการให้ความร้อน อาจเติมเกลือ สี หรือ รสที่ต้องการลงไป นำมาอัดลงในแบบและกดให้มีความชื้นตามต้องการ เก็บบ่มไว้ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นได้ตามชนิดของเนยแข็ง เพื่อให้มีการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิด และมีการทำงานของเอนไซม์ที่จะย่อยสลายไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรทบางส่วน ทำให้ได้เนยแข็งที่มีกลิ่นรสตามต้องการ ในการผลิตเนยแข็งแต่ละชนิดจะมีวิธีที่แตกต่างกันในรายละเอียดปลีกย่อยตามชนิดของเนยแข็ง แต่ขั้นตอนหลักโดยทั่วไปจะเหมือนกัน

เนยแข็งที่จำหน่ายทั่วโลกมีหลายร้อยชนิด อาจจำแนกออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ได้ดังนี้

1. เนยแข็งชนิดอ่อน (soft cheese) ซึ่งมีความชื้นร้อยละ 50 - 80 เช่น เนยแข็งคอทเทจ (Cottage cheese) เนยแข็งคาแมมเบิร์ท (Camembert cheese) เป็นต้น

2. เนยแข็งชนิดอ่อนปานกลาง (semi-soft cheese) มีความชื้นร้อยละ 39 - 50 เช่น เนยแข็งบลู (Blue cheese) เนยแข็งลิมเบอร์เกอร์ (Limberger cheese) เป็นต้น

3. เนยแข็งชนิดแข็ง (hard cheese) มีความชื้นร้อยละ 30 - 40 เช่น เนยแข็งเชดดาร์ (Cheddar cheese) เนยแข็งสวิส (Swiss cheese) เป็นต้น

4. เนยแข็งชนิดแข็งมาก (very hard cheese) เช่น เนยแข็งพาร์มีซาน (Parmesan cheese) เนยแข็งโรมาโน (Romano cheese) เป็นต้น

เนยแข็งเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงกล่าวคือ มีเคซีนซึ่งเป็นโปรตีนที่มีประโยชน์ต่อร่างกายและยังอุดมด้วยไขมัน ตัวอย่างเช่น เนยแข็งเชดดาร์ มีองค์ประกอบคือ น้ำร้อยละ 35 - 37 ไขมันร้อยละ 33 - 36 โปรตีนร้อยละ 23 - 25 และเกลือร้อยละ 1.4 - 1.8

กระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดให้เนยแข็งเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานของเนยแข็งไว้ในประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 31 (พ.ศ. 2522) โดยแบ่งเนยแข็งออกเป็น 5 ชนิด คือ

(1) ครีมชีส (cream cheese) เป็นเนยแข็งซึ่งใช้ครีมเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิต

(2) โฮลมิลค์ชีส (whole milk cheese) เป็นเนยแข็งซึ่งใช้นมเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิต

(3) สกิมมิลค์ชีส (skimmed milk cheese) เป็นเนยแข็งซึ่งใช้นมพร่องมันเนย หรือ นมขาดมันเนย หรือ บัตเตอร์มิลค์ หรือ เวย์ เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิต

(4) โพรเซสชีส (processed cheese) เป็นโฮลมิลค์ชีสซึ่งผ่านกรรมวิธีทำให้เม็ดไขมันเล็กลง เติมสารอีมัลซิฟาย และนำมาพาสเจอไรซ์ และจะแต่งสี กลิ่น รสหรือไม่ก็ได้

(5) เนมชีส (named cheese) เป็นเนยแข็งที่มีชื่อเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปตามชนิดของเนยแข็ง และมีกรรมวิธีการผลิตเฉพาะ ตามชนิดของเนยแข็งนั้น

สำหรับคุณภาพของเนยแข็งได้กำหนดให้มีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

(1) มีมันเนยคำนวณโดยไม่รวมน้ำ ดังต่อไปนี้

(ก) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 60 ของน้ำหนัก สำหรับครีมชีส

(ข) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 50 ของน้ำหนัก สำหรับโฮลมิลค์ชีส

(ค) ไม่ถึงร้อยละ 45 ของน้ำหนัก สำหรับสกิมมิลค์ชีส

(ง) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 45 ของน้ำหนัก สำหรับโพรเซสชีส

(2) มีน้ำได้ดังต่อไปนี้

(ก) ไม่เกินร้อยละ 55 ของน้ำหนัก สำหรับครีมชีส

(ข) ไม่เกินร้อยละ 37 ของน้ำหนัก สำหรับโฮลมิลค์ชีส

(ค) ไม่เกินร้อยละ 60 ของน้ำหนัก สำหรับสกิมมิลค์ชีส

(ง) ไม่เกินร้อยละ 45 ของน้ำหนัก สำหรับโพรเซสชีส

(3) ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

(4) ไม่มีสารเป็นพิษจากเชื้อจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ

สำหรับเนมชีส ต้องไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค และไม่มีสารพิษจากเชื้อจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ และมีคุณภาพหรือมาตรฐานอื่นตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเห็นชอบด้วย

ถ้าจำเป็นต้องใช้วัตถุเจือปนอาหารในการผลิตเนยแข็ง ต้องใช้ในปริมาณและชนิดที่ไม่เป็นอันตรายหรืออาจก่อให้เกิดอันตรายแก่ผู้บริโภคตามความเห็นชอบของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข

ลิปิด (lipid) หมายถึง สารประกอบที่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งประกอบด้วยโครงสร้างที่มีลักษณะแตกต่างกัน แบ่งเป็น 4 กลุ่มคือ

1. กรดไขมัน (fatty acids)
2. ไขมันที่มีกลีเซอรอล (glycerol) เป็นส่วนประกอบ
3. ไขมันที่ไม่มีกลีเซอรอลเป็นส่วนประกอบ เช่น เทอร์ปีนส์ (terpenes) สฟิงโกมีลิน (sphingomyelin) และสารสเตียรอยด์ที่ไม่สามารถทำปฏิกิริยาการเกิดสบู่ (unsaponifiable steroids)

4. ไขมันที่รวมกับสารประกอบกลุ่มอื่น เช่น ไลโปโปรตีน (lipoprotiens) และไลโปแซคคาไรด์ (liposaccharides)

การวิเคราะห์ไขมันส่วนใหญ่ใช้วิธีสกัดไขมันโดยตรงด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ แต่ไขมันในกลุ่มที่ 4 มีพันธะแข็งแรงจึงไม่สามารถสกัดโดยตรงได้ ต้องทำการย่อยด้วยกรดหรือด่างก่อน แล้วจึงนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งไขมันในเนยแข็งก็จัดอยู่ในกลุ่มนี้

ปริมาณไขมันหรือมันเนยในตัวอย่างจำพวกเนยแข็ง สามารถวิเคราะห์ได้โดย วิธีย่อยไขมันที่จับอยู่กับองค์ประกอบอื่นในเนยแข็งซึ่งได้แก่ เคซีน ด้วยกรดก่อนแล้วจึงสกัดไขมันอิสระที่ได้ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ การสกัดไขมันนี้สามารถทำได้โดยใช้ Mojonnier tube วิธีนี้เป็นวิธีเดิมที่ใช้อยู่ เครื่องมืออีกชนิดหนึ่งเรียกว่า Soxtec Hydrolysing System ซึ่งใช้หลักการเบื้องต้นเหมือนกับวิธีแรก แต่แตกต่างกันในรายละเอียดของอุปกรณ์และขั้นตอนการวิเคราะห์ซึ่งจะกล่าวต่อไปในภาควิธีการวิเคราะห์ Soxtec Hydrolysing System เป็นเครื่องมือระบบกึ่งอัตโนมัติที่รวมขั้นตอนการย่อยด้วยกรด และ การสกัดไขมันที่ย่อยแล้ว ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์แบบวิธีทั่วไปคือ Soxhlet extraction ไว้ด้วยกัน โดยใช้เครื่องมือต่อเนื่อง 2 ชุดคือ hydrolysing unit ซึ่งเป็นส่วนสำหรับย่อย และ Soxtec System HT6 ซึ่งเป็นส่วนสำหรับสกัด (extraction unit).

เครื่อง Soxtec System HT6 นี้มีระบบน้ำหล่อเย็นและระบบให้ความร้อนโดยใช้อ่างน้ำมันซิลิโคน (silicone oil bath) สำหรับขั้นตอนในการทำงานของ เครื่อง Soxtec System HT6 สามารถแบ่งเป็นขั้น ๆ ดังนี้

1) การต้มตัวอย่างโดยตรง (boiling) : ตัวอย่างที่ถูกย่อยด้วยกรดแล้ว จะถูกสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ ไดเอทิลอีเทอร์ เฮกเซน เป็นต้น โดยต้มตัวอย่างที่บรรจุในทิมเบิลแก้วโดยตรงในตัวทำละลาย ซึ่งจะทำให้สกัดไขมันได้ดีขึ้นและช่วยลดระยะเวลาในการสกัด

2) การชะตัวอย่างด้วยสารละลาย (rinsing) : ในขั้นนี้ไขมันที่เหลืออยู่ในตัวอย่างจากขั้นที่ 1 จะถูกสกัดต่อ โดยการปรับระดับให้ทิมเบิลแก้วที่บรรจุตัวอย่างเลื่อนขึ้นไปอยู่ในตำแหน่ง rinsing ของเครื่องมือ ซึ่งจะทำให้เกิดการชะตัวอย่างด้วยตัวทำละลายอย่างต่อเนื่อง โดยไอของตัวทำละลายจะระเหยขึ้นไปชะตัวอย่างในทิมเบิล แล้วกลั่นตัวตกกลับลงมาและระเหยขึ้นไปชะตัวอย่างซ้ำอีกวนเวียนไปเช่นนี้อย่างต่อเนื่องเหมือนการสกัดแบบ Soxhlet หรือเครื่อง Goldfisch โดยระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของตัวอย่าง

3) การระเหยสารละลายจากตัวอย่าง (drying) : ตัวทำละลายจะถูกระเหยแห้งเหลือแต่ส่วนที่เป็นไขมัน สำหรับระบบ Soxtec นี้ยังสามารถกลั่นตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดกลับมาใช้ใหม่ได้อีก โดยมีส่วนของเครื่องมือที่สามารถกลั่นและเก็บตัวทำละลายแยกไว้

รูปแสดงเครื่องมือและขั้นตอนการวิเคราะห์โดย Soxtec Hydrolysing System อย่างย่อ ๆ แสดงไว้ในภาคผนวก

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณไขมันในเนยแข็งโดยใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System
2. เปรียบเทียบผลวิเคราะห์ระหว่างวิธีใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System กับวิธีตาม AOAC (1995)

ระยะเวลาการดำเนินงาน

ตั้งแต่ เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2538 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2540

ประโยชน์ที่ได้รับ

1. ได้ข้อมูลสำหรับประกอบการพิจารณาปรับปรุงวิธีวิเคราะห์ไขมันด้วยเครื่อง Soxtec Hydrolysing System ให้เหมาะสมในการวิเคราะห์ไขมันในตัวอย่างเนยแข็ง ซึ่งสามารถประยุกต์ใช้กับตัวอย่างประเภทอื่น ๆ ได้

2. ได้วิธีวิเคราะห์ไขมันด้วยเครื่อง Soxtec Hydrolysing System ซึ่งให้ผลวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำ สะดวกและปลอดภัยต่อผู้วิเคราะห์มากขึ้น

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

<u>ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาทดลอง</u> ตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์เป็นตัวอย่างเนยแข็งชนิดต่าง ๆ ที่หน่วยงานของเอกชนส่งมาให้ กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ กรมวิทยาศาสตร์บริการวิเคราะห์เพื่อขอขึ้นทะเบียนอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 31 (พ.ศ. 2522) เรื่อง กำหนดเนยแข็งเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ ในช่วงเวลาตั้งแต่ เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2538 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2540 จำนวนทั้งหมด 21 ตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

I <u>การวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธีย่อยด้วยกรด (acid hydrolysis) และสกัดด้วย Mojonnier tube</u>

1. <u>เครื่องมือ วัสดุและอุปกรณ์</u>

   1.1 Mojonnier tube พร้อมจุกที่ปิดสนิท

   1.2 บีเกอร์ขนาด 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร

   1.3 กระจกนาฬิกา

   1.4 แท่งแก้วสำหรับคน

   1.5 กระบอกตวงขนาด 10 และ 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร

   1.6 ขวดแก้วก้นแบนขนาด 150 ลูกบาศก์เซนติเมตร

   1.7 เครื่องชั่งที่ชั่งได้ละเอียด 0.1 มิลลิกรัม

   1.8 ตู้อบไฟฟ้าที่ควบคุมอุณหภูมิได้

1.9 เครื่องอังน้ำ (อุณหภูมิ 70 - 80 องศาเซลเซียส)

1.10 เครื่องหมุนเหวี่ยงที่มีความเร็วประมาณ 600 รอบต่อนาที

1.11 เดสิกเกเตอร์พร้อมด้วยสารดูดความชื้นได้แก่ ซิลิกาเจล

2. สารเคมี

2.1 กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ร้อยละ 36.5 - 38.0

2.2 สารละลายแอมโมเนียเข้มข้น ร้อยละ 25 ถึง 30

2.3 เอทิลแอลกอฮอล์ ร้อยละ 95 โดยปริมาตร

2.4 ไดเอทิลอีเทอร์

2.5 ปิโตรเลียมอีเทอร์ ที่มีจุดเดือดระหว่าง 35 ถึง 60 องศาเซลเซียส

2.6 สารละลายผสมของไดเอทิลอีเทอร์และปิโตรเลียมอีเทอร์ อัตราส่วน 1:1

3. วิธีวิเคราะห์

3.1 ชั่งตัวอย่างมาประมาณ 1 กรัมให้ได้น้ำหนักแน่นอน (W) ใส่ในบีเกอร์ขนาด 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร

3.2 เติมน้ำกลั่น 9 ลูกบาศก์เซนติเมตร สารละลายแอมโมเนีย 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรและกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน ปิดด้วยกระจกนาฬิกา

3.3 นำบีเกอร์ไปตั้งบนเครื่องอังน้ำ (อุณหภูมิ 70 - 80 องศาเซลเซียส) ประมาณ 20 นาที คนเป็นระยะ ๆ เมื่อครบเวลา ยกลงตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

3.4 ถ่ายสารละลายทั้งหมดในบีเกอร์ลงใน Mojonnier tube ล้างด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย

3.5 เติมเอทิลแอลกอฮอล์ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยล้างสารละลายในบีเกอร์ลงใน Mojonnier tube

3.6 ล้างบีเกอร์ด้วยไดเอทิลอีเทอร์ 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร ถ่ายรวมลงใน Mojonnier tube ปิดจุกเขย่าแรง ๆ 1 นาที

3.7 ล้างบีเกอร์ซ้ำด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร ถ่ายรวมลงใน Mojonnier tube ปิดจุกเขย่าแรง ๆ 1 นาที ล้างจุกด้วยสารละลายผสม 1:1 (ข้อ 2.6) จำนวนเล็กน้อย

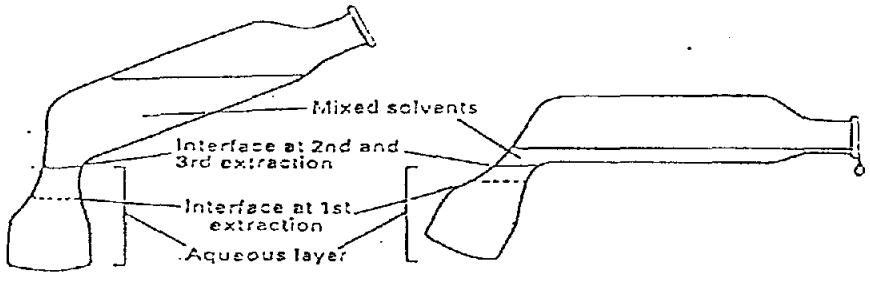
3.8 ทำให้สารละลายแยกชั้นโดยนำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง ความเร็วประมาณ 600 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จนสารละลายแยกออกเป็น สองชั้น ชั้นบนใส

3.9 รินสารละลายใสชั้นบนออกใส่ขวดแก้วก้นแบนขนาด 150 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้ได้มากที่สุด โดยไม่ทำให้ชั้นล่างติดออกมาด้วย นำไประเหยสารละลายให้แห้งบนเครื่องอังน้ำ

3.10 สกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง โดยใช้ไดเอทิลอีเทอร์และปิโตรเลียมอีเทอร์อย่างละ 15 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทำการสกัดและระเหยสารละลายให้แห้งเช่นเดียวกับข้อ 3.6 -- 3.9

3.11 อบขวดแก้วที่มีไขมันในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 - 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ (ประมาณ 2 ชั่วโมง) ทำให้เย็นในเดสิกเกเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (W_1)

3.12 ล้างไขมันในขวดแก้วออกโดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ 3 ครั้ง ๆ ละประมาณ 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำขวดแก้วไปอบในตู้อบเช่นครั้งแรก จนได้น้ำหนักคงที่ (1 ชั่วโมง) ทำให้เย็นในเดสิกเกเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (W_2) ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งได้ทั้งสองครั้ง (W_1-W_2) เป็นน้ำหนักของไขมัน



รูปที่ 1 แสดงการสกัดไขมันโดยใช้ Mojonnier tube

4 วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน ร้อยละของน้ำหนัก} = \frac{(W_1 - W_2)100}{W}$$

เมื่อ W = น้ำหนักตัวอย่าง เป็นกรัม

W_1 = น้ำหนักขวดแก้วและไขมัน เป็นกรัม

W_2 = น้ำหนักของขวดแก้วที่ล้างไขมันออกแล้ว เป็นกรัม

II การวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดย Soxtec Hydrolysing System

1. เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1 ทิมเบิลแก้วพร้อมอุปกรณ์ ได้แก่ ห่วงโลหะสำหรับยึดทิมเบิล (glass thimble holder) และยางรองรับทิมเบิล (thimble support)

1.2 สำลีที่ปราศจากไขมัน (สกัดไขมันออกด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยใช้วิธี Soxhlet extraction แล้วอบสำลีให้แห้งก่อนใช้)

1.3 ถ้วยสกัด (extraction cup)

1.4 หลอดต้ม (boiling tube)

1.5 แท่งแก้วสำหรับเช็ดหลอด (cleaning rod)

1.6 ลูกแก้ว (glass bead)

1.7 เดสิกเกเตอร์พร้อมด้วยสารดูดความชื้นได้แก่ ซิลิกาเจล

1.8 เครื่องชั่งที่ชั่งได้ละเอียด 0.1 มิลลิกรัม

1.9 ตู้อบไฟฟ้าที่ควบคุมอุณหภูมิได้ (อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส)

1.10 เครื่องสกัดไขมัน Soxtec System HT6

1.11 หน่วยสำหรับย่อยด้วยกรด (hydrolysing unit)

2. สารเคมี

2.1 กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 4 นอร์มัล

2.2 ซีไลท์ (Celite 545)

2.3 ปิโตรเลียมอีเทอร์ ที่มีจุดเดือดระหว่าง 35 ถึง 60 องศาเซลเซียส

2.4 ไดเอทิลอีเทอร์

2.5 อะซีโตน

3. หลักการ

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดย Soxtec Hydrolysing System มีหลักการซึ่งสามารถแสดงเป็นแผนภูมิได้ดังนี้

pre-extraction ——> acid hydrolysis ——> drying ——>

(if fat > 10%)

solvent extraction ——> drying of extract ——> weighing ——> calculation

4. วิธีวิเคราะห์

4.1 การสกัดไขมันส่วนหนึ่งออกก่อน (pre-extraction)

ในกรณีที่ตัวอย่างมีปริมาณไขมันสูงกว่าร้อยละ 10 เช่นในกรณีเนยแข็งต้องทำ pre-extraction ก่อนย่อยตัวอย่างด้วยกรด ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

4.1.1 ชั่งซีไลท์ประมาณ 1 กรัม ใส่ในทิมเบิลแก้ว

4.1.2 ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.3 - 0.5 กรัมให้ได้น้ำหนักแน่นอน (W) ใส่ลงในทิมเบิลใบเดิม

4.1.3 นำทิมเบิลแก้วที่บรรจุตัวอย่างสวมเข้ากับ adapter แล้วนำเข้าเครื่อง Soxtec ที่เปิดระบบให้ความเย็นและระบบให้ความร้อนไว้แล้ว โดยให้ adapter ยึดติดกับวงแหวนแม่เหล็กในเครื่องมือ

4.1.4 เติมตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้สกัดไขมัน* ประมาณ 40-45 ลูกบาศก์เซนติเมตร ลงในถ้วยสกัดซึ่งอบที่ 100 ± 5 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และชั่งน้ำหนักแล้วพร้อมกับลูกแก้ว 3-4 เม็ด (W_1)

* ทดลองปรับเปลี่ยนใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์ สารละลายผสมของปิโตรเลียมอีเทอร์กับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1:1 เพื่อเป็นข้อมูลในการเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดไขมันในตัวอย่างเนยแข็งด้วยวิธีSoxtec Hydrolysing System

4.1.5 เลื่อนให้ทิมเบิลอยู่ในตำแหน่ง " BOILING " ของเครื่อง (ทิมเบิลจะจุ่มอยู่ในตัวทำละลาย) ทำการสกัดไขมันนาน 20 นาที

4.1.6 เลื่อนให้ทิมเบิลอยู่ในตำแหน่ง " RINSING " ของเครื่อง เพื่อสกัดไขมันอีกนาน 1 ชั่วโมง

4.1.7 ระเหยสารละลายให้แห้งโดยปิดวาล์วเครื่องควบแน่นในเครื่อง Soxtec เพื่อให้ตัวทำละลายถูกกลั่นเก็บไว้ในเครื่อง (recover solvent)

4.1.8 นำถ้วยสกัดที่มีไขมันไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในเดสิกเกเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (W_2)

4.2 <u>การย่อยด้วยกรด (acid hydrolysis)</u>

4.2.1 นำทิมเบิลพร้อมตัวอย่างที่ผ่านการสกัดไขมันบางส่วนออกแล้ว จากข้อ 4.1 (pre-extracted sample) ไปอบที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

4.2.2 ถ่ายตัวอย่างในทิมเบิลลงสู่หลอดต้ม (boiling tube) อย่างระมัดระวัง โดยใช้แท่งแก้ว ฉีดล้างแท่งแก้วและทิมเบิลด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 4 นอร์มัล ที่ต้มให้ร้อนไว้แล้ว ล้างจนได้สารละลายปริมาตร 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร

4.2.3 นำทิมเบิลจากข้อ 4.2.2 สวมเข้ากับยางรองรับทิมเบิล (thimble support) ในเครื่องสำหรับย่อย (hydrolysing unit) ตรงส่วนล่างของเครื่องควบแน่นที่เปิดน้ำหล่อเย็นไว้

4.2.4 นำหลอดต้มจากข้อ 4.2.2 ติดตั้งตรงแผงให้ความร้อนของเครื่องสำหรับย่อย เปิดไฟแรงสุดจนสารละลายเริ่มเดือด ปรับระดับความร้อนให้ลดลงเพื่อให้สารละลายเดือดเบา ๆ เป็นเวลา 30 นาที โดยเปิดวาล์วดูดไอกรดออกไปเป็นระยะ ๆ

4.2.5 เมื่อทำการย่อยด้วยกรดจนครบ 30 นาที ปิดเครื่องให้ความร้อนแล้วเติมน้ำกลั่น 100 ลูกบาศก์เซนติเมตรลงในหลอดต้ม ทิ้งให้เย็น สารละลายในหลอดต้มควรมีอุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส

4.2.6 กรองสารละลายในหลอดต้มโดยปรับให้หลอดดูด (suction tube) จุ่มลงถึงก้นหลอดต้ม แล้วเปิดเครื่องดูด (suction) ตัวอย่างที่ผ่านการย่อยด้วยกรดรวมทั้งซีไลท์จะถูกดูดและกรองลงในทิมเบิลเดิมที่ติดตั้งไว้จากข้อ 4.2.3

4.2.7 ล้างหลอดต้มด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส 5 ครั้ง ๆ ละ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร เปิดเครื่องดูดจนทิมเบิลแห้ง

4.2.8 พันปลายแท่งแก้วสำหรับเช็ดหลอด (cleaning rod) ด้วยสำลี แล้วทำให้ชื้นด้วยอะซีโตน นำไปเช็ดผนังด้านในของหลอดต้ม จากนั้นนำสำลีนี้วางปิดบนตัวอย่างที่กรองแล้วในทิมเบิล

4.2.9 นำทิมเบิลไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 $\pm$ 5 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

4.3 <u>การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)</u>

เป็นขั้นตอนการสกัดไขมันในตัวอย่างที่ผ่านการย่อยด้วยกรดแล้ว เพื่อหาปริมาณไขมันที่เหลืออยู่ในตัวอย่างจากขั้นตอน pre-extraction

4.3.1 นำทิมเบิลที่อบแล้วจากข้อ 4.2.9 เข้าเครื่อง Soxtec ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 4.1.3 - 4.1.7 โดยใช้ถ้วยสกัดใบใหม่ที่อบและชั่งน้ำหนักแล้วพร้อมลูกแก้ว (W_3)

4.3.2 เมื่อสกัดเสร็จนำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 $\pm$ 5 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในเดสิกเกเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (W_4)

<u>หมายเหตุ</u> การสกัดไขมันหลังจากย่อยตัวอย่างด้วยกรดแล้วในข้อ 4.3.1 ได้ทำการทดลองเพื่อศึกษาถึงตัวแปรต่าง ๆ ที่มีผลต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้ ตัวแปรเหล่านี้ ได้แก่

- ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้สำหรับสกัดไขมัน : ทดลองใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์และสารละลายผสมของปิโตรเลียมอีเทอร์กับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1:1
- เวลาที่ใช้ในการสกัดไขมันหลังย่อยด้วยกรดแล้ว : เดิมตามวิธีที่ระบุในคู่มือการใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System แนะนำให้ใช้เวลาสกัดไขมัน โดยให้ทิมเบิลที่บรรจุตัวอย่างอยู่ในตำแหน่ง "BOILING" นาน 20 นาที แล้วเลื่อนทิมเบิลให้อยู่ในตำแหน่ง "RINSING" สกัดต่ออีก 1 ชั่วโมง ในการศึกษาทดลองครั้งนี้ได้ใช้เวลาตามที่กำหนดดังกล่าว และทำการทดลองซ้ำโดยเพิ่มเวลาในการสกัดขึ้นอีกเท่าตัว คือ "BOILING" นาน 40 นาที และ"RINSING" อีก 2 ชั่วโมง เพื่อเปรียบเทียบปริมาณไขมันที่สกัดได้

และ หาสภาวะการทดลองที่เหมาะสมกล่าวคือ สกัดไขมันในตัวอย่างออกมาได้มากที่สุด

5 วิธีคำนวณ

ปริมาณไขมันใน pre-extraction ร้อยละของน้ำหนัก $= \frac{(W_2 - W_1)100}{W}$ ——(1)

ปริมาณไขมันที่เหลือจาก (1) (acid hydrolysis) ร้อยละของน้ำหนัก $= \frac{(W_4 - W_3)100}{W}$ ——(2)

ปริมาณไขมันทั้งหมด ร้อยละของน้ำหนัก = (1) + (2)

เมื่อ W = น้ำหนักตัวอย่าง เป็นกรัม

W_1 = น้ำหนักถ้วยสกัดที่ใช้ใน pre-extraction เป็นกรัม

W_2 = น้ำหนักถ้วยสกัดและไขมันจาก pre-extraction เป็นกรัม

W_3 = น้ำหนักถ้วยสกัดที่ใช้ใน acid hydrolysis เป็นกรัม

W_4 = น้ำหนักถ้วยสกัดและไขมันจาก acid hydrolysis เป็นกรัม

ผลการวิเคราะห์

1. ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันในตัวอย่างเนยแข็งชนิดต่าง ๆ โดยวิธีเดิมคือย่อยด้วยกรดแล้วสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ใช้ Mojonnier tube เปรียบเทียบกับการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System และใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลายสำหรับสกัดไขมัน และใช้ระยะเวลาในการสกัดไขมันหลังการย่อยตัวอย่างด้วยกรดแล้ว ตามที่กำหนดในคู่มือการใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System คือ "BOILING" นาน 20 นาที และ "RINSING" อีกนาน 1 ชั่วโมง ได้ผลดังตารางที่ 1 และรูปที่ 2
2. ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันในตัวอย่างเนยแข็งชนิดต่าง ๆ โดยวิธีเดิมคือย่อยด้วยกรดแล้วสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ใช้ Mojonnier tube เปรียบเทียบกับการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System และทำการศึกษาถึงตัวแปรที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยใช้เครื่องดังกล่าว ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลายสำหรับสกัดไขมัน และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดไขมันหลังจากย่อยด้วยกรดแล้ว ได้ผลดังตารางที่ 2 และรูปที่ 3
3. ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันในตัวอย่างเนยแข็งชนิดต่าง ๆ โดยวิธีเดิมคือย่อยด้วยกรดแล้วสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ใช้ Mojonnier tube เปรียบเทียบกับการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System และใช้สารละลายผสมของปิโตรเลียมอีเทอร์กับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1:1 เป็นตัวทำละลายสำหรับสกัดไขมัน โดยใช้ระยะเวลาในการสกัดไขมันหลังจากย่อยตัวอย่างด้วยกรดแล้วดังนี้คือ ให้ทิมเบิลที่บรรจุตัวอย่างอยู่ในตำแหน่ง "BOILING" นาน 40 นาที และ ตำแหน่ง "RINSING" อีกนาน 2 ชั่วโมง ซึ่งเป็นสภาวะการทดลองที่ให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันสูงสุด และใกล้เคียงกับการใช้วิธีสกัดด้วย Mojonnier tube ได้ผลดังตารางที่ 3 และรูปที่ 4

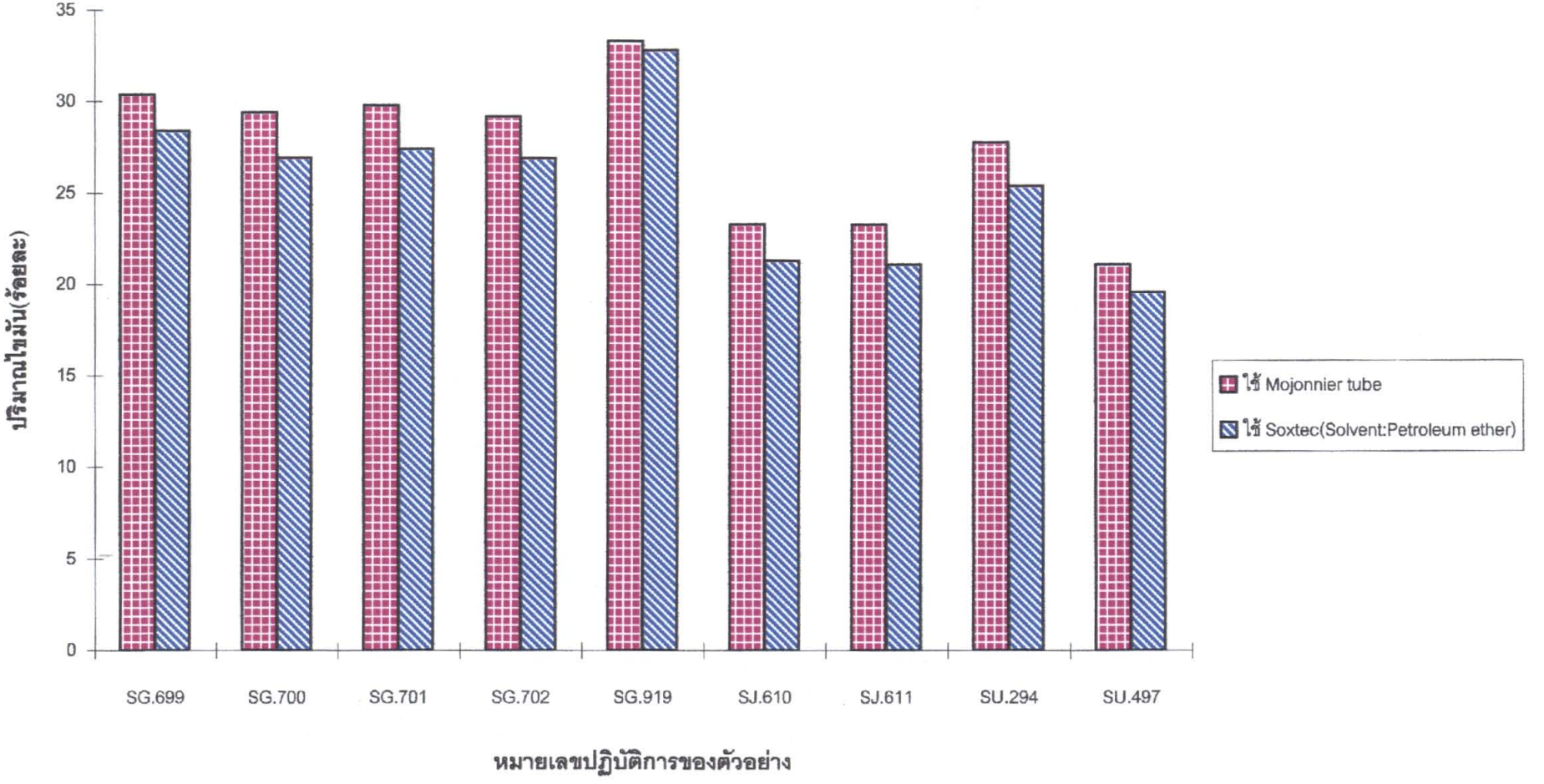
ตารางที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธี acid hydrolysis ก่อนการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ใช้ Mojonnier tube และใช้ Soxtec Hydrolysing System

หมายเลขปฏิบัติการ	ชื่อตัวอย่าง	ลักษณะของตัวอย่าง	*ปริมาณไขมัน ร้อยละ		**ผลที่แตกต่างกัน ร้อยละ
			วิธีใช้ Mojonnier tube	วิธีใช้ Soxtec Hydrolysing System (solvent : petroleum ether)	
SG. 699	เฮิท์บแอนด์กาลิค	- เป็นก้อนสี่เหลี่ยม สีเหลือง มีชิ้นเล็ก ๆ สีน้ำตาลปนอยู่ทั่วไป เนื้ออ่อนนุ่ม	30.4	28.4	- 2.0
SG. 700	แมนแลนด์ สปริงโอเนี่ยน	- เป็นก้อนสี่เหลี่ยม สีเหลือง มีชิ้นเล็ก ๆไม่มีสีปนอยู่ เนื้ออ่อนนุ่ม	29.4	26.9	- 2.5
SG. 701	กาแลกซี่ สโมกกี้แฮม	- เป็นก้อนสี่เหลี่ยม สีเหลือง มีชิ้นเล็ก ๆสีแดงปนอยู่ทั่วไป เนื้ออ่อนนุ่ม	29.8	27.4	- 2.4
SG. 702	กาแลกซี่ สโมค	- เป็นก้อนสี่เหลี่ยม สีเหลือง เนื้ออ่อนนุ่ม	29.2	26.9	- 2.3
SG. 919	กาแลกซี่ พาร์มีซาน	- เป็นผงละเอียด สีเหลือง	33.3	32.8	- 0.5
SJ. 610	Fruity singles pineapple flavor	- เป็นแผ่นบางสี่เหลี่ยม สีเหลือง เนื้ออ่อนนุ่ม	23.3	21.3	- 2.0
SJ. 611	Fruity singles strawberry flavor	- เป็นแผ่นบางสี่เหลี่ยม สีเหลือง เนื้ออ่อนนุ่ม	23.3	21.2	- 2.1
SU. 294	โพรเซสเชดดาชีส (ตราอลาวรี)	- เป็นแผ่นบางสี่เหลี่ยม สีเหลือง เนื้ออ่อนนุ่ม	27.8	25.4	- 2.4
SU. 497	มอสซาเลล่าชีส (ตราเพอร์เฟ็กส์ชีส)	- เป็นก้อนสี่เหลี่ยม สีเหลือง เนื้ออ่อนนุ่ม	21.1	19.6	- 1.5

* ปริมาณไขมันได้จากค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ครั้ง

** ใช้ผลที่ได้จากวิธี Mojonnier tube เป็นหลัก

รูปที่ 2 กราฟเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยใช้ Mojonnier tube และใช้ Soxtec Hydrolysing System (Solvent:Petroleum ether)



ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธี acid hydrolysis ก่อนการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ใช้ Mojonnier tube และใช้ Soxtec Hydrolysing System ที่สภาวะการทดลองต่าง ๆกัน

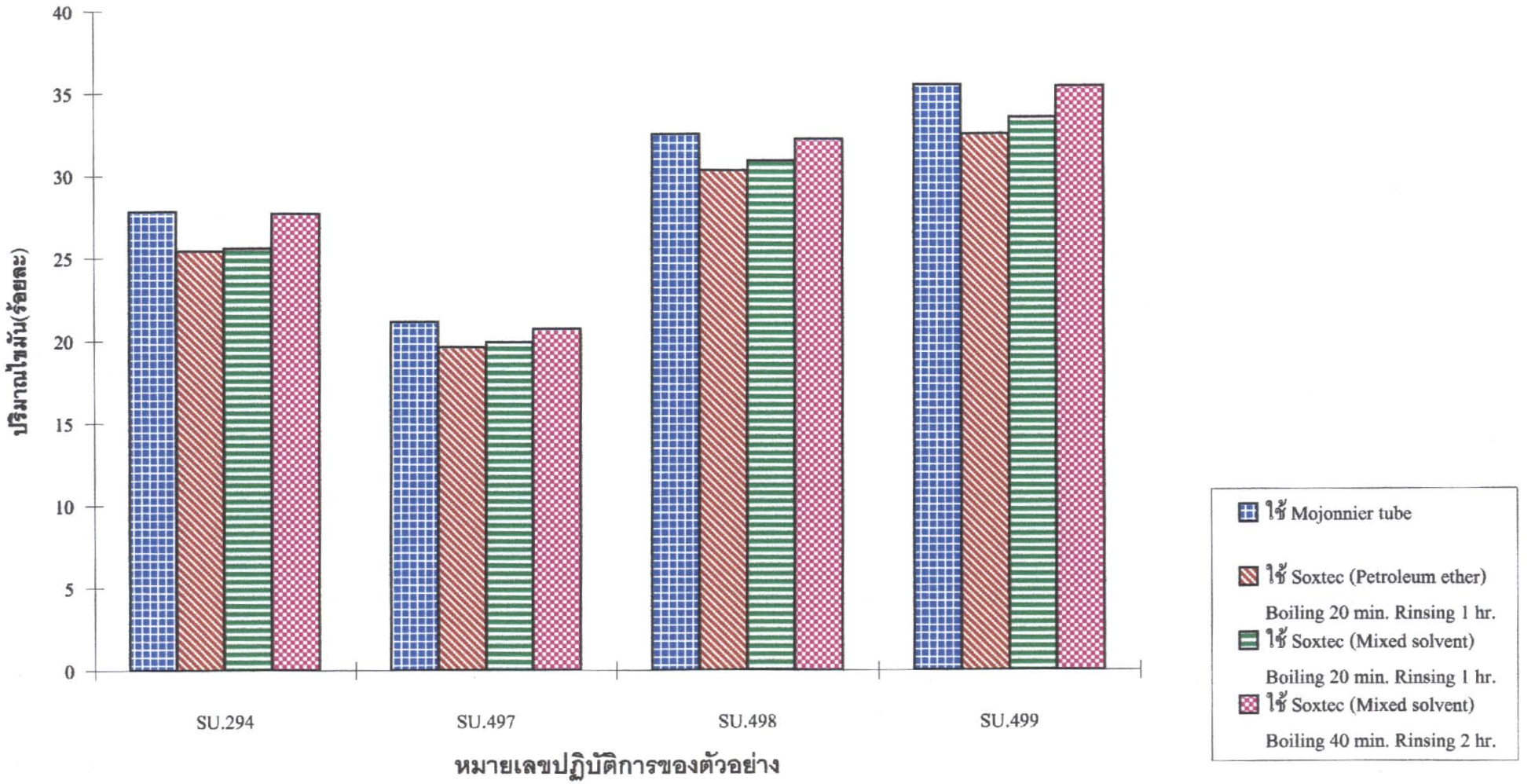
หมายเลขปฏิบัติการ	ชื่อตัวอย่าง	ลักษณะของตัวอย่าง	* ปริมาณไขมัน ร้อยละ			
			วิธีใช้ Mojonnier tube	วิธีใช้ Soxtec Hydrolysing System ที่สภาวะการทดลองต่าง ๆ		
				solvent : petroleum ether เวลาที่ใช้สกัด - BOILING 20 min. - RINSING 1 hr.	solvent : ** mixed solvent เวลาที่ใช้สกัด - BOILING 20 min. - RINSING 1 hr.	solvent : ** mixed solvent เวลาที่ใช้สกัด - BOILING 40 min. - RINSING 2 hr.
SU. 294	โพรเซสเชดดาชีส (ตราอลาวรี)	- เป็นแผ่นบางสีเหลี่ยม สีเหลือง เนื้ออ่อนนุ่ม	27.8	25.4	25.6	27.7
SU. 497	มอสซาเลล่าชีส (ตราเพอร์เฟ็กส์ชีส)	- เป็นก้อนสี่เหลี่ยม สีเหลือง เนื้ออ่อนนุ่ม	21.1	19.6	19.9	20.7
SU. 498	ครีมชีส (ตราเพอร์เฟ็กส์ชีส)	- เป็นครีมข้น สีเหลืองอ่อน	32.5	30.3	30.9	32.2
SU. 499	พาร์มีซานชีส (ตราเพอร์เฟ็กส์ชีส)	- เป็นผงละเอียด สีเหลือง	35.5	32.5	33.5	35.4

* ปริมาณไขมันได้จากค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ครั้ง

** mixed solvent หมายถึงสารละลายผสมของปิโตรเลียมอีเทอร์กับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1:1

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

รูปที่ 3 กราฟเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยใช้ Mojonnier tube และใช้ Soxtec Hydrolysing System ที่สภาวะการทดลองต่าง ๆกัน



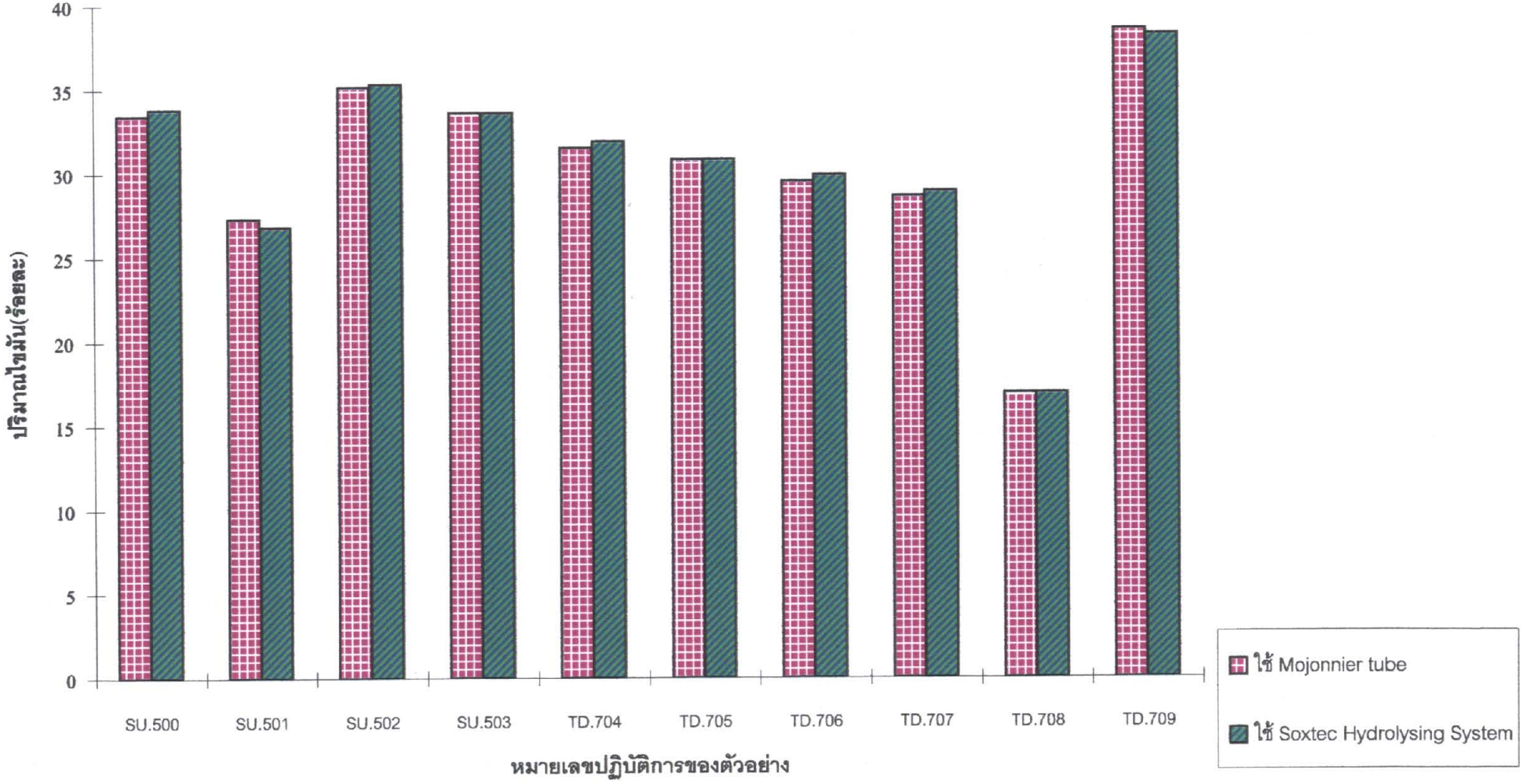
ตารางที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธี acid hydrolysis ก่อนการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ใช้ Mojonnier tube และใช้ Soxtec Hydrolysing System ที่สภาวะการทดลองที่เหมาะสม (ใช้ mixed solvent 1:1 และระยะเวลาที่ใช้สกัดไขมันคือ BOILING 40 นาที RINSING 2 ชั่วโมง)

หมายเลขปฏิบัติการ	ชื่อตัวอย่าง	ลักษณะของตัวอย่าง	*ปริมาณไขมัน ร้อยละ		**ผลที่แตกต่างกัน ร้อยละ
			วิธีใช้ Mojonnier tube	วิธีใช้ Soxtec Hydrolysing System	
SU. 500	มายล์เชดดาชีส (ตราเพอร์เฟ็กส์ชีส)	- เป็นก้อนสีเหลี่ยม สีเหลือง เนื้ออ่อนนุ่ม	33.4	33.8	+ 0.4
SU. 501	โพรเซสเชดดาชีส (ตราบอนแล็ก)	- เป็นก้อนสี่เหลี่ยม สีเหลือง เนื้ออ่อนนุ่ม	27.3	26.8	- 0.5
SU. 502	เทสตี้เชดดาชีส (ตราเพอร์เฟ็กส์ชีส)	- เป็นก้อนสี่เหลี่ยม สีเหลือง เนื้ออ่อนนุ่ม	35.1	35.3	+ 0.2
SU. 503	วินเทจเชดดาชีส (ตราเพอร์เฟ็กส์ชีส)	- เป็นก้อนสี่เหลี่ยม สีเหลือง เนื้ออ่อนนุ่ม	33.6	33.6	0
TD. 704	ครีมชีสผสมกระเทียม (ตราบูโก้)	- เป็นครีม สีขาวนวล มีชิ้นสีเขียวปนอยู่ เนื้ออ่อนนุ่ม	31.5	31.9	+ 0.4
TD. 705	ครีมชีสผสมพีช (ตราบูโก้)	- เป็นครีม สีขาวนวล มีชิ้นสีเหลือง และสีน้ำตาลปนอยู่ เนื้ออ่อนนุ่ม	30.8	30.8	0
TD. 706	ครีมชีสผสมสับปะรด (ตราบูโก้)	- เป็นครีม สีขาวอมเหลือง มีชิ้นสีเหลืองปนอยู่ เนื้ออ่อนนุ่ม	29.5	29.9	+ 0.4
TD. 707	ครีมชีสผสมสตรอเบอร์รี่ (ตราบูโก้)	- เป็นครีม สีชมพูอ่อน เนื้ออ่อนนุ่ม	28.6	28.9	+ 0.3
TD. 708	ไลท์ครีมชีส	- เป็นครีม สีขาวนวล เนื้ออ่อนนุ่มค่อนข้างเหลว	16.9	16.9	0
TD. 709	ฮาวาตีชีส (ตราเอ็มดี)	- เป็นก้อนกลมแบน สีเหลืองอ่อน เนื้ออ่อนนุ่ม	38.5	38.2	- 0.3

* ปริมาณไขมันได้จากค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ครั้ง

** ใช้ผลที่ได้จากวิธี Mojonnier tube เป็นหลัก

<u>รูปที่ 4</u> กราฟเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยใช้ Mojonnier tube และใช้ Soxtec Hydrolysing System (สภาวะการทดลองที่เหมาะสม)



<u>การประเมินค่าทางสถิติ</u>

เมื่อเปรียบเทียบค่าปริมาณไขมันในเนยแข็งชนิดต่าง ๆ รวม 10 ตัวอย่าง ที่ได้จากการวิเคราะห์โดยวิธีใช้ Soxtec Hydrolysing System ที่สภาวะการทดลองที่เหมาะสม กับวิธีมาตรฐานใช้ Mojonnier tube (จากตารางที่ 3) และกำหนดให้

$\bar{X}_1$ = ค่าเฉลี่ย (mean) ของปริมาณไขมัน (จากการทดลอง 3 ครั้ง) ที่วิเคราะห์ได้โดยใช้ Soxtec Hydrolysing System

$\bar{X}_2$ = ค่าเฉลี่ย (mean) ของปริมาณไขมัน (จากการทดลอง 3 ครั้ง) ที่วิเคราะห์ได้โดยใช้ Mojonnier tube

d_i = ความแตกต่าง (difference) ของผลการวิเคราะห์โดยวิธีทั้งสอง ต่อ ตัวอย่างเนยแข็งแต่ละตัวอย่าง

เพื่อทดสอบความแตกต่างของผลวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธีทั้งสองด้วยการใช้วิธีทางสถิติ คือ paired comparison ได้ผลการประเมินค่าทางสถิติ ดังตารางที่ 4 (หน้า 19)

เมื่อนำค่าทางสถิติที่ได้มาทดสอบสมมติฐาน Null hypothesis

H_0 : $\bar{X}_1 = \bar{X}_2$ or $\bar{X}_1 - \bar{X}_2 = 0$

H_1 : $\bar{X}_1 \neq \bar{X}_2$ or $\bar{X}_1 - \bar{X}_2 \neq 0$

จากตารางที่ 4 Mean value of the difference ; $\bar{d} = 0.09$

Standard deviation of the difference ; $S_d = 0.3107$

95 % Confidence limits for the population mean value of the difference are :

$$\bar{d} \pm t_{0.075,9} \times (S_d / \sqrt{N})$$

$$= 0.09 \pm 2.262 \times (0.3107 / \sqrt{10})$$

$$= 0.09 \pm 0.0257$$

$$= (0.0643 \text{ through } 0.1157)$$

Since the interval includes zero, the Null hypothesis (H_0) is accepted.

<u>T-test</u>

$$t = \bar{d}\sqrt{N} / S_d = 0.09\sqrt{10} / 0.3107 = 0.916$$

จากตาราง critical value of t ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สำหรับ degree of freedom (*df*) = 9 ได้ค่า $t_{critical} = 2.262$

ดังนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างผลการวิเคราะห์ทั้งสองวิธีเนื่องจากค่า t ที่ได้จากการทดลองมีค่าต่ำกว่าค่า $t_{critical}$ ($0.916 < 2.262$)

ตารางที่ 4 แสดงการประเมินค่าทางสถิติเพื่อทดสอบความแตกต่างของผลการวิเคราะห์

cheese	$\bar{X}_1$ (Soxtec)	$\bar{X}_2$ (Mojonnier)	$\bar{X}_1 - \bar{X}_2$ (d_i)
1	33.8	33.4	0.4
2	26.8	27.3	- 0.5
3	35.3	35.1	0.2
4	33.6	33.6	0
5	31.9	31.5	0.4
6	30.8	30.8	0
7	29.9	29.5	0.4
8	28.9	28.6	0.3
9	16.9	16.9	0
10	38.2	38.5	- 0.3
Σd_i			0.9
N			10
$\bar{d}$			0.09
Σd_i^2			0.95
$(\Sigma d_i)^2 / N$			0.0810
Corr. sum of sq.			0.8690
df			9
Variance			0.0966
S_d			0.3107

วิจารณ์ผลการวิเคราะห์

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันในตัวอย่างเนยแข็งชนิดต่าง ๆ โดยวิธีเดิมตาม AOAC (1995) คือ วิธีย่อยตัวอย่างด้วยกรดแล้วสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ใช้ Mojonnier tube ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน เปรียบเทียบกับวิธีใหม่คือ วิธีใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System พบว่า

1. ในวิธีใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System ถ้าใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลายสำหรับสกัดไขมัน และใช้ระยะเวลาในการสกัดไขมันหลังย่อยตัวอย่างด้วยกรดแล้วตามที่กำหนดในคู่มือการใช้เครื่องมือคือ ต้มสกัดไขมันในตัวอย่างโดยให้ทิมเบิลอยู่ในตำแหน่ง "BOILING" นาน 20 นาที และสกัดโดยการชะไขมันในตัวอย่างเมื่ออยู่ในตำแหน่ง "RINSING" ต่ออีกนาน 1 ชั่วโมง (ตารางที่ 1) จะเห็นว่า จากตัวอย่างเนยแข็งจำนวน 9 ตัวอย่าง วิธีวิเคราะห์ทั้งสองวิธีจะให้ค่าปริมาณไขมันที่สกัดได้แตกต่างกัน โดยวิธีใช้เครื่อง Soxtec ให้ค่าต่ำกว่าวิธีใช้ Mojonnier tube ในทุกตัวอย่าง และผลที่แตกต่างกันของทั้งสองวิธีจะอยู่ในช่วงร้อยละ 0.5 - 2.5 ซึ่งส่วนใหญ่วิธีใช้เครื่อง Soxtec จะให้ค่าที่ต่ำกว่าประมาณร้อยละ 2 มีตัวอย่างหมายเลขปฏิบัติการที่ SG. 919 ซึ่งเป็นเนยแข็งพาร์มีซานที่มีลักษณะเป็นผงละเอียดเพียงตัวอย่างเดียว ที่พบว่าค่าปริมาณไขมันที่วิเคราะห์ได้ใกล้เคียงกันทั้งสองวิธี จึงอาจสรุปได้ว่าลักษณะตัวอย่างมีผลต่อความยากง่ายและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดไขมัน เพราะตัวอย่างอื่น ๆ ซึ่งมีลักษณะเป็นก้อนสี่เหลี่ยม หรือ เป็นแผ่นบางสี่เหลี่ยม แม้จะผ่านการเตรียมตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์โดยการหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ก่อน ก็ได้ผลต่ำกว่าวิธีใช้ Mojonnier tube จึงเป็นไปได้ว่าระยะเวลาที่ใช้สกัดไขมันในขั้น "BOILING" และ "RINSING" ไม่เพียงพอเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ได้ค่าต่ำกว่าที่เป็นจริง ส่วนวิธีสกัดใน Mojonnier tube ซึ่งเป็นวิธีกล เวลาสกัดไขมันก็ต้องเขย่าแรง ๆ และตั้งทิ้งให้สารละลายแยกชั้นจนใสจึงจะได้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง

2. เมื่อทำการศึกษาถึงตัวแปรที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธีใช้เครื่อง Soxtec ซึ่งได้แก่ ชนิดของตัวทำละลายสำหรับสกัดไขมัน และระยะเวลาที่ใช้สกัดไขมันหลังย่อยด้วยกรดแล้ว ได้ทำการทดลองโดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ ปิโตรเลียมอีเทอร์ และสารละลายผสมของปิโตรเลียมอีเทอร์กับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1:1 สำหรับสภาวะการทดลองอื่นที่ใช้ คือ ระยะเวลาในการสกัดไขมันมี 2 สภาวะ ได้แก่ "BOILING" 20 นาที กับ "RINSING" 1 ชั่วโมง และทดลองเพิ่มเวลาสกัดอีกเท่าตัวเป็น "BOILING" 40 นาที กับ "RINSING" 2 ชั่วโมง (ตารางที่ 2) พบว่า

- เมื่อเปลี่ยนชนิดของตัวทำละลายสำหรับสกัดไขมันจาก ปิโตรเลียมอีเทอร์ ไปเป็น สารละลายผสมของปิโตรเลียมอีเทอร์กับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1:1 แต่จำกัดระยะเวลาในการสกัดไขมันให้คงเดิมคือ "BOILING" 20 นาที กับ "RINSING" 1 ชั่วโมง จะได้ค่าปริมาณไขมันสูงขึ้นเล็กน้อย จากจำนวนตัวอย่างเนยแข็ง 4 ตัวอย่างพบว่า สูงขึ้นไม่เกินร้อยละ 1 โดยตัวอย่างหมายเลขปฏิบัติการที่ SU. 499 : พาร์มีซานชีส ซึ่งเป็นเนยแข็งที่มีลักษณะเป็นผงละเอียดจะวิเคราะห์ได้ค่าปริมาณไขมันสูงขึ้นมากที่สุดถึงร้อยละ 1 ในขณะที่ตัวอย่างเนยแข็งชนิดอื่น ๆ จะได้ค่าสูงขึ้นเพียงร้อยละ 0.2 - 0.6 ซึ่งแสดงว่า ลักษณะตัวอย่างมีผลต่อค่าปริมาณไขมันที่วิเคราะห์ได้

- เมื่อเพิ่มเวลาสกัดไขมันอีกเท่าตัวจาก "BOILING" 20 นาที กับ "RINSING" 1 ชั่วโมง เป็น "BOILING" 40 นาที กับ "RINSING" 2 ชั่วโมง และใช้สารละลายผสมของปิโตรเลียมอีเทอร์กับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1:1 เป็นตัวทำละลาย พบว่า ค่าปริมาณไขมันที่วิเคราะห์ได้สูงขึ้นและใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากวิธีใช้ Mojonnier tube ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยใช้เครื่อง Soxtec คือ ใช้สารละลายผสมของปิโตรเลียมอีเทอร์กับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1:1 เป็นตัวทำละลาย และใช้ระยะเวลาในการสกัดไขมันหลังจากย่อยด้วยกรดแล้ว ในช่วง "BOILING" นาน 40 นาที กับ ช่วง "RINSING"อีก 2 ชั่วโมง

3. เพื่อเป็นการยืนยันสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไขมันด้วยเครื่อง Soxtec ดังผลที่ได้จากการทดลองในข้อ 2 จึงทำการทดลองวิเคราะห์ปริมาณไขมันในตัวอย่างเนยแข็งชนิดต่าง ๆ อีกจำนวน 10 ตัวอย่าง โดยใช้สารละลายผสมของปิโตรเลียมอีเทอร์กับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1:1 เป็นตัวทำละลาย และใช้ระยะเวลาในการสกัดไขมันหลังจากย่อยด้วยกรดแล้ว ในช่วง "BOILING" นาน 40 นาที กับ ช่วง "RINSING"อีก 2 ชั่วโมง และเปรียบเทียบค่าปริมาณไขมันที่วิเคราะห์ได้กับค่าจากวิธีใช้ Mojonnier tube (ตารางที่ 3) พบว่า วิธีวิเคราะห์ทั้งสองวิธีให้ค่าปริมาณไขมันใกล้เคียงกันมาก โดยมีผลที่แตกต่างกันเพียงร้อยละ 0 - 0.5 จากเนยแข็งจำนวน 10 ตัวอย่าง จึงอาจสรุปได้ว่า สภาวะการทดลองข้างต้นเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไขมันในเนยแข็งด้วยเครื่อง Soxtec Hydrolysing System

4. เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธี acid hydrolysis ก่อนการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์วิธีเดิมที่ใช้ Mojonnier tube และวิธีใหม่ใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System สามารถสรุปความแตกต่างของทั้งสองวิธีได้ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงการเปรียบเทียบความแตกต่างของวิธี acid hydrolysis ก่อนการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ใช้ Mojonnier tube และวิธีใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System

ข้อเปรียบเทียบ	วิธีใช้ Mojonnier tube	วิธีใช้เครื่อง Soxtec
1. วิธีการวิเคราะห์	- เป็นวิธีกล การสกัดไขมันแต่ละครั้งต้องปิดจุกเขย่าแรง ๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายแยกชั้น	- เป็นวิธีกึ่งอัตโนมัติ การสกัดไขมันทำในเครื่องมือที่มีระบบให้ความเย็นและระบบให้ความร้อนเพื่อให้ตัวทำละลายหมุนเวียนขึ้นไปสกัดไขมันในตัวอย่าง
2. สารเคมีที่ใช้ในการย่อยตัวอย่าง	- ใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (ประมาณ 12 นอร์มัล) จำนวน 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร	- ใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 4 นอร์มัล ซึ่งเจือจางกว่าวิธีแรกถึง 3 เท่า จำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร
3. จำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้ต่อครั้ง	1 ตัวอย่าง	3 ตัวอย่าง (มีช่องสำหรับวางถ้วยสกัดได้ครั้งละ 6 ใบ)
4. เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ต่อครั้ง	1 วัน	$1\frac{1}{2}$ วัน
5. ความเสี่ยงต่ออันตรายในการวิเคราะห์	- มาก เพราะผู้วิเคราะห์อาจจะสัมผัสกับกรดเข้มข้นที่ใช้ย่อยตัวอย่างในขณะสกัด - การสกัดไขมันด้วยตัวทำละลายทำในตู้ดูดควัน	- น้อยกว่า เพราะทำการย่อยตัวอย่างด้วยกรดที่เจือจางกว่า และทำการทดลองในระบบปิดที่มีเครื่องดูดไอกรดออกไปเป็นระยะ ๆ - การสกัดไขมันด้วยตัวทำละลายทำในเครื่องมือที่เป็นระบบปิด

สรุป

ในการศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณไขมันในเนยแข็งโดยวิธี acid hydrolysis แล้วสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์โดยใช้ Mojonnier tube ตาม AOAC (1995) ซึ่งเป็นวิธีเดียวกับวิธีมาตรฐาน ISO 1735 เปรียบเทียบกับวิธีวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Soxtec Hydrolysing System เมื่อประเมินผลทางสถิติโดยใช้ Null hypothesis และ Paired t - test ดังแสดงไว้ในหน้า 18 - 19 พบว่า ผลการวิเคราะห์ทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยค่า t ที่ได้จากการทดลองมีค่าน้อยกว่า $t_{critical}$ ($0.916 < 2.262$) และมีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ค่าความแปรปรวน (variance) ของผลต่างระหว่างวิธีวิเคราะห์ทั้งสองวิธีเป็น 0.3107 และ 0.0966 ตามลำดับ จึงแสดงว่า วิธีวิเคราะห์ไขมันในเนยแข็งโดยใช้เครื่อง Soxtec Hydrolysing System สามารถ

ใช้เป็นวิธีในห้องปฏิบัติการแทนวิธีมาตรฐานโดยมีสภาวะดังนี้คือ ใช้สารละลายผสมของปิโตรเลียมอีเทอร์กับไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 1:1 เป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดไขมัน และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดไขมันหลังจากย่อยด้วยกรดแล้วคือ "BOILING" เป็นเวลา 40 นาที และ "RINSING" เป็นเวลาอีก 2 ชั่วโมง

เอกสารอ้างอิง

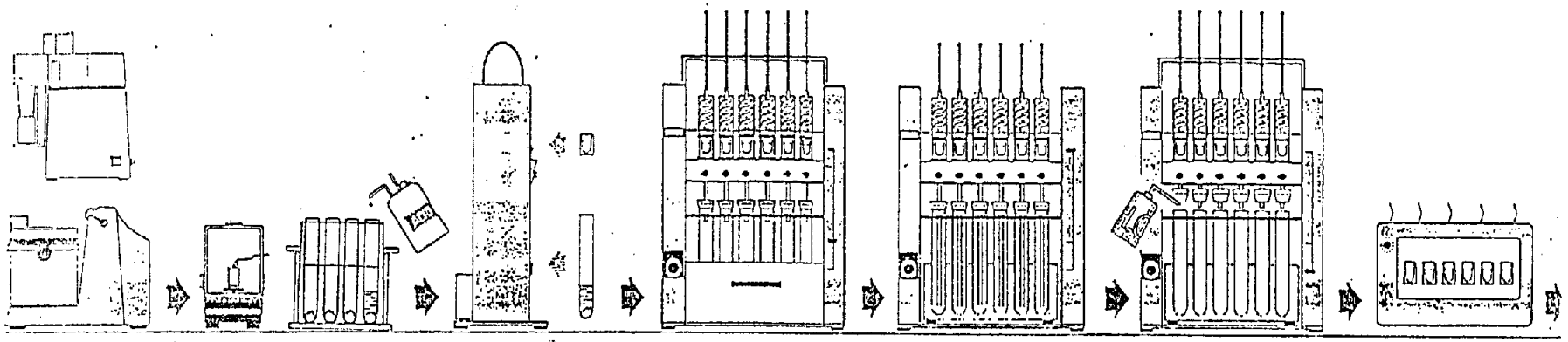
1. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 31 (พ.ศ. 2522) เรื่อง เนยแข็ง ใน พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522. กรุงเทพฯ : กระทรวงสาธารณสุข, 2530.
2. รสริน สมิตะพินทุ และคณะ. เนยแข็งมหามงคล. เอกสารการประชุมสัมมนา แลคติคแอสิดแบคทีเรียในอุตสาหกรรมอาหารไทย ครั้งที่ 1 คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ, 2534.
3. รัชนี ตัณฑะพานิชกุล. เคมีอาหาร. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง, 2536.
4. Helrick, K. (ed.) Official Methods of Analysis of AOAC International. 16 th ed. AOAC International, Verginia, 1995.
5. Robinson, R.K. (ed.) A colour Guide to Cheese and Fermented Milks. 1 st ed. Chapman & Hall, London, 1995.
6. Rosenthal, I. Milk and Dairy Products Properties and Processing. VCH, Weinhiem, 1991.
7. Soxtec System 1047 Hydrolysing Unit Manual and Soxtec System HT6 Manual. Tecator AB, A Perstorp Analytical Company, Sweden.

ภาคผนวก

Fat determination

by hydrolysis and solvent extraction with Soxtec® Hydrolyzing System.

tecator



Sample preparation (milling, homogenization etc.).

Weigh the sample (W_1) into the sample tube. Add digestion acid (HCl) and Celite.

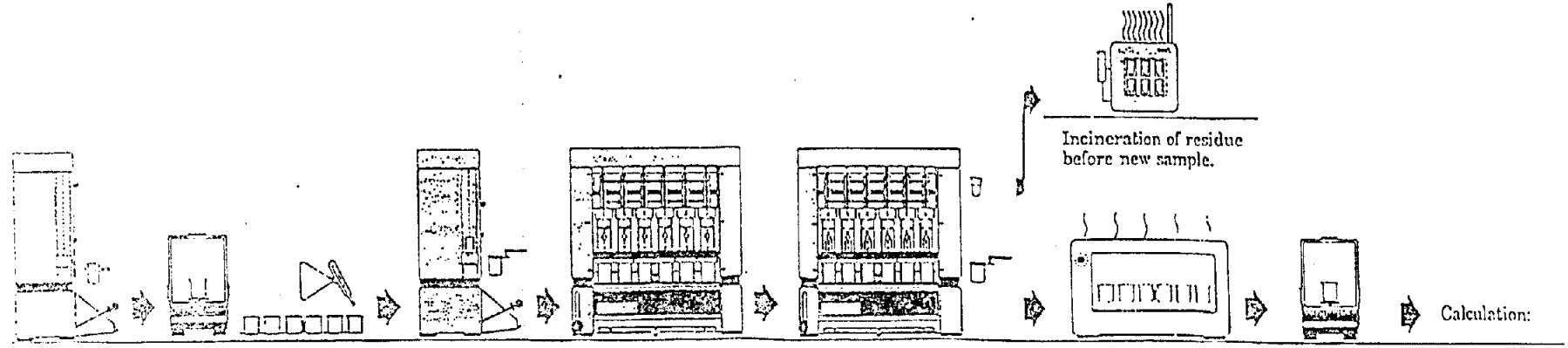
Insert 6 sample tubes and 6 glass-thimbles into the Hydrolyzing Unit.

Start heater and exhaust system. Boil for 20-60 minutes.

Add cold distilled water. Lower vacuum rods for filtration.

Wash with warm (~60°C) water. Clean sample tubes using cotton wetted by acetone.

Dry the residue in the thimbles.



Incineration of residue before new sample.

Attach thimbles adapters. Fix thimbles into Extraction Unit.

Weigh extraction cups (W_2). Add solvent to extraction cups.

Fix extraction cups into Extraction Unit.

Extraction with the thimbles in boiling position.

Final extraction with the thimbles in rinsing position followed by solvent recovery.

Dry extraction cups.

Weigh extraction cups with extracted fat (W_3).

Calculation:

$$\% \text{ fat} = \frac{W_3 - W_2}{W_1} \cdot 100$$