abst

ข้อมูลข่าวสาร วศ.

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

วศ
กช
อว 10

เอกสารผลงานที่เสนอประเมิน
เพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 6 ว

ของ

นางสาวพูนทรัพย์ วิชัยพงษ์
นักวิทยาศาสตร์ 5

เรื่องที่ 1

การศึกษาเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในอาหาร

กลุ่มงานคุณค่าทางโภชนาการ
กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ กรมวิทยาศาสตร์บริการ
กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม

สถิติวิทยาศาสตร์บริการ

บทคัดย่อ

การศึกษาทดลองนี้เป็นการศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลดาห์ล ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้อยู่ในกลุ่มงานคุณค่าทางโภชนาการ กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ กรมวิทยาศาสตร์บริการ เปรียบเทียบกับวิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยใช้เครื่องKjeltec Auto Sampler System ซึ่งเป็นวิธีกึ่งอัตโนมัติ วิธีวิเคราะห์ทั้งสองนี้ใช้หลักเดียวกัน โดยประกอบด้วยสามขั้นตอนคือ ขั้นตอนแรกเป็นการย่อยตัวอย่างด้วยกรดซัลฟุริกเข้มข้นโดยมีโพแทสเซียมซัลเฟตและคอบเปอร์ซัลเฟตเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและเพิ่มอุณหภูมิ โปรตีนจะเปลี่ยนเป็นเกลือในรูปของแอมโมเนียมซัลเฟต ขั้นตอนที่สองเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 40 เพื่อเปลี่ยนแอมโมเนียมซัลเฟต ให้เป็นแอมโมเนียและแอมโมเนียที่กลั่นได้ถูกจับด้วยกรดบอริก และขั้นตอนที่สามไทเทรตหาปริมาณแอมโมเนียที่กลั่นได้โดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟุริก คำนวณเป็นปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดออกมา ส่วนปริมาณโปรตีนหาได้จากการนำไนโตรเจนที่ได้คูณกับแฟคเตอร์ (ขึ้นกับชนิดของอาหาร)

จากการศึกษาทดลองวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธีเจลดาห์ล และ Kjeltec Auto Sampler System ในตัวอย่างอาหารต่างๆได้แก่ น้ำนมดิบ นมผง อาหารกึ่งสำเร็จรูป รวมทั้งสิ้นจำนวน 57 ตัวอย่าง โดยวิเคราะห์สองครั้ง (duplicate) แล้วหาค่าเฉลี่ยพบว่าผลการวิเคราะห์ทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังนั้นจากผลการทดลองแสดงว่า การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของกลุ่มงานคุณค่าทางโภชนาการ สามารถเลือกใช้วิธีใดวิธีหนึ่งได้ ทั้งนี้การจะเลือกใช้วิธีใด ต้องพิจารณาจากจำนวนตัวอย่างที่มีผู้ส่งให้วิเคราะห์

เลขหมู่ ...
เลขทะเบียน 9895
วันที่ 4 เมษายน ...

ด้วยอภินันทนาการ
จาก
กวศ.

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	i
สารบัญตาราง	ii
สารบัญภาคผนวก	iv
ความเป็นมา	1
บทนำ	2
-วัตถุประสงค์	10
-ระยะเวลาดำเนินการ	10
-ประโยชน์ที่ได้รับ	10
ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาทดลอง	10
การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธีมาตรฐานเจลดาห์ล	11
การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System	14
ผลการศึกษาทดลอง	22
วิจารณ์และสรุป	29
เอกสารอ้างอิง	31
ภาคผนวก	32

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง

ตารางที่ 1 : ปริมาณโปรตีนในอาหาร 6

ตารางที่ 2 : ปริมาณโปรตีนที่ควรได้รับในแต่ละวัน 7

ตารางที่ 3 : เปรียบเทียบปริมาณกรดซัลฟุริกที่ใช้ในการย่อย ระหว่างวิธีเจลดาห์ลและวิธีใช้เครื่องKjeltec Auto Sampler System 10

ตารางที่ 4 : ชนิดและปริมาณตัวอย่างที่ใช้ 13

ตารางที่ 5 : ค่าแฟคเตอร์ของอาหารชนิดต่างๆ 13

ตารางที่ 6.1 : เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างโดยวิธีเจลดาห์ล และวิธีใช้เครื่อง Kjeltec 24

ตารางที่ 6.2 : เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน/โปรตีนและค่ามาตรฐาน (Certified Value) ของสารอ้างอิงมาตรฐานเอสอาร์เอ็ม 1548 25

ตารางที่ 7 : การประเมินค่าทางสถิติของผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเจลดาห์ลและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System ในกลุ่มตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนตั้งแต่ร้อยละ 0.1 ถึงร้อยละ 10.0 25

ตารางที่ 8 : การประเมินค่าทางสถิติของผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเจลดาห์ลและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System ในกลุ่มตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนตั้งแต่ร้อยละ 10.1 ถึงร้อยละ 20.0 26

ตารางที่ 9 : การประเมินค่าทางสถิติของผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเจลดาห์ลและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System ในกลุ่มตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนตั้งแต่ร้อยละ 20.1 ถึงร้อยละ 40.0 26

ตารางที่ 10 : การประเมินค่าทางสถิติของผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดย เปรียบเทียบระหว่างวิธีเจลดาห์ลและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System ในกลุ่มตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนตั้งแต่ร้อยละ 40.1 ถึงร้อยละ 90.0 27

ตารางที่ 11 : การประเมินค่าทางสถิติของผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดย เปรียบเทียบระหว่างวิธีเจลดาห์ลและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System ในกลุ่มตัวอย่างรวม 57 ตัวอย่าง ที่มีปริมาณโปรตีนตั้งแต่ร้อยละ 0.1 ถึงร้อยละ 90.0 28

สารบัญภาคผนวก

หน้า

ภาคผนวก 1

ตารางที่ 12	รายละเอียดตัวอย่าง	32
รูปที่ 1	เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System	34
รูปที่ 2	กราฟเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน	35
รูปที่ 3	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์โดยวิธีใช้เจลดาห์ลและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System	36

ภาคผนวก 2

	เอกสารอ้างอิงมาตรฐาน	37

ความเป็นมา

ในอดีตเทคนิคการวิเคราะห์ทดสอบทางวิทยาศาสตร์มักใช้เครื่องมือพื้นฐานที่ไม่ยุ่งยากและใช้ปริมาณตัวอย่างและสารเคมีค่อนข้างมาก ทำให้เกิดความสิ้นเปลืองทั้งเวลาและค่าใช้จ่ายดังนั้นเทคนิคการวิเคราะห์ต่าง ๆ จึงได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งในปัจจุบันได้มีการสร้างเครื่องมือวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์ขั้นสูง เพื่อช่วยให้การวิเคราะห์สะดวก ประหยัด และรวดเร็ว แต่อย่างไรก็ตาม การนำเครื่องมือดังกล่าวมาใช้ ผู้ใช้จะต้องทำการตรวจสอบความถูกต้องแม่นยำเสียก่อน เพื่อให้เกิดความเชื่อมั่นในผลวิเคราะห์ที่ได้รับจากการใช้เครื่องมือ โดยการเปรียบเทียบผลกับวิธีวิเคราะห์เดิมที่ได้รับการยอมรับอย่างเป็นทางการแล้ว (official method)

กลุ่มงานคุณค่าทางโภชนาการ ซึ่งมีหน้าที่ในการวิเคราะห์องค์ประกอบของอาหาร โดยเฉพาะการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างต่าง ๆ ได้เพิ่มจำนวนมากขึ้น ผลการวิเคราะห์นั้นได้นำไปใช้ประกอบการขึ้นทะเบียนอาหาร การซื้อขายอาหาร หรือการควบคุมคุณภาพอาหาร เป็นต้น ดังนั้นกลุ่มงาน ฯ จึงได้ดำเนินการของบประมาณสำหรับจัดซื้อเครื่อง ซึ่งเป็นเครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจนและโปรตีนแบบกึ่งอัตโนมัติ และได้รับงบประมาณให้จัดซื้อและติดตั้งเรียบร้อยแล้วเมื่อปี พ.ศ.2537

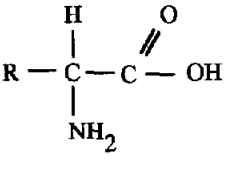
ดังนั้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการบริการวิเคราะห์ของกลุ่มงาน ฯ และเพื่อให้ผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Kjeltec Auto Sampler System ได้รับความเชื่อมั่นว่าถูกต้องแม่นยำ ใช้เป็นวิธีในห้องปฏิบัติการแทนวิธีมาตรฐานต่อไปได้ จึงได้ทำการศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในอาหาร โดยเปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้อยู่เดิมคือวิธีเจลดาห์ล

บทนำ

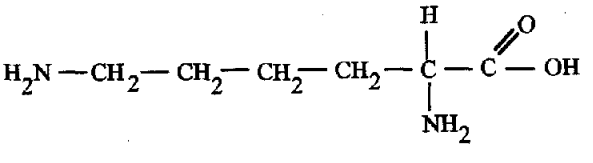
โปรตีน เป็นชื่อที่มาจากรากศัพท์ภาษากรีกว่าโปรติโอส (proteose) ซึ่งแปลว่า สำคัญเป็นอันดับแรก ผู้บัญญัติศัพท์นี้คือนายแพทย์ชาวฮอลันดาชื่อ เจอราร์ด ฮัน มุลเดอร์ (Gerard Jan Mulder) เมื่อปีค.ศ. 1838 เขาพบว่าสิ่งที่มีชีวิตไม่ว่าจะเป็นพืช หรือสัตว์ มีสารภายในตัวชนิดหนึ่งที่จำเป็นต่อชีวิต โดยที่ในขณะนั้นเขายังไม่รู้ว่าสาร จำเป็นต่อชีวิตนี้มีลักษณะทางเคมีอย่างไร

โปรตีนเป็นสารอาหารชนิดหนึ่งที่ร่างกายขาดไม่ได้ นับตั้งแต่กล้ามเนื้อ ผิวหนัง ผม เล็บ และ ตา ล้วนเป็นเนื้อเยื่อที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ นอกจากน้ำแล้ว เนื้อเยื่อต่างๆทั่วร่างกายประกอบด้วยโปรตีนเป็นส่วนใหญ่

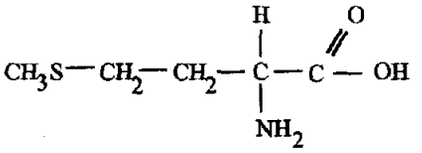
โปรตีนมีขนาดโมเลกุลใหญ่ เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางเคมี จะพบว่าประกอบด้วย สารเคมีจำพวกหนึ่งเรียกว่า กรดอะมิโน กรดอะมิโนนี้ประกอบด้วยธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน และไนโตรเจน สารที่จัดอยู่ในตระกูลกรดอะมิโน ต้องมีหมู่คาร์บอกซิล และหมู่อะมิโนเสมอ ความแตกต่างระหว่างกรดอะมิโนแต่ละชนิดอยู่ที่ตำแหน่ง R ที่แสดงไว้ในสูตรโครงสร้างของกรดอะมิโน เช่น ไลซีน มีห่วงโซ่คาร์บอนเพิ่มขึ้นอีก 5 ตัว และที่ปลายของห่วงโซ่คาร์บอนมีหมู่อะมิโนอีกหนึ่งหมู่ ในขณะที่ เมไธโอนีน มีธาตุคาร์บอนเพิ่มอีก 3 ตัว และมีธาตุกำมะถัน มาคั่นระหว่างธาตุคาร์บอนด้วย



สูตรโครงสร้างของกรดอะมิโน



สูตรโครงสร้างของไลซีน



สูตรโครงสร้างของเมไทโอนีน

ปัจจุบันพบว่า กรดอะมิโนที่มีความสำคัญต่อคนนั้นมีอยู่ 22 ชนิด ในด้านคุณภาพทางโภชนาการ แบ่งกรดอะมิโนเป็น 2 ประเภท คือ

1. **กรดอะมิโนจำเป็น**(essential amino acid) เป็นกรดอะมิโนที่ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นเอง ต้องได้จากอาหารที่รับประทานเข้าไปเท่านั้น จากการศึกษาพบว่ากรดอะมิโนจำเป็นมีอยู่ 9 ชนิด คือ ฮิสติดีน ไอโซลิวซีน ลิวซีน ไลซีน เมไทโอนีน ฟีนิลอะลานีน ทรีโอนีน ทริปโตเฟน และวาลีน
2. **กรดอะมิโนไม่จำเป็น**(non-essential amino acid) เป็นกรดอะมิโนที่ร่างกายสามารถสร้างเองได้

เมื่อโปรตีนเข้าสู่ลำไส้ จะมีน้ำย่อยทำหน้าที่ย่อยโปรตีนให้เป็นกรดอะมิโน ซึ่งจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย ร่างกายนำเอากรดอะมิโนเหล่านี้ไปสร้างเป็นโปรตีนมากมายหลายชนิด โปรตีนแต่ละชนิดมีส่วนประกอบและการเรียงตัวของกรดอะมิโนแตกต่างกันไป

หน้าที่ของโปรตีน โปรตีนมีบทบาทที่สำคัญต่อร่างกาย 5 ประการ คือ

1. **เป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต**
2. **ช่วยรักษาดุลน้ำ** โปรตีนที่มีอยู่ในเซลล์และหลอดเลือด ช่วยรักษาปริมาณน้ำในเซลล์และหลอดเลือดให้อยู่ในเกณฑ์ที่พอเหมาะ ถ้าร่างกายขาดโปรตีน น้ำจะซึมออกมาจากเซลล์ ทำให้เกิดอาการบวม
3. **สร้างฮอร์โมน เอนไซม์ ภูมิคุ้มกัน และโปรตีนตัวใหม่** ซึ่งแต่ละตัวมีหน้าที่แตกต่างกันไป และมีส่วนทำให้ปฏิกิริยาต่างๆในร่างกายดำเนินต่อไปได้ตามปกติ

4. **รักษาดุลกรด-ด่างของร่างกาย** เนื่องจากโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนและในกรดอะมิโนมีหมู่คาร์บอกซิลซึ่งมีฤทธิ์เป็นกรด และหมู่อะมิโนซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่าง โปรตีนจึงมีคุณสมบัติรักษาดุลกรด-ด่างของร่างกาย ซึ่งมีความสำคัญต่อปฏิกิริยาต่างๆภายในร่างกาย
5. **ให้พลังงาน** โปรตีนหนึ่งกรัมให้พลังงาน 4 กิโลแคลอรี

อาหารที่ให้โปรตีน แบ่งโปรตีนตามแหล่งอาหารที่ได้เป็น 2 พวกคือ โปรตีนจากสัตว์และโปรตีนจากพืช การพิจารณาถึงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารที่ให้โปรตีน ต้องคำนึงถึงปริมาณและคุณภาพ คือต้องดูว่าอาหารนั้นมีโปรตีนมากน้อยเพียงใด และมีกรดอะมิโนจำเป็นครบถ้วนหรือไม่

อาหารโปรตีนที่มาจากสัตว์จัดเป็นหมวดหมู่ได้ดังนี้

นมและผลิตภัณฑ์นม โปรตีนที่สำคัญในน้ำนม ได้แก่ เคซีน และแล็กตัลบูมิน โปรตีนทั้งสองชนิดนี้มีกรดอะมิโนจำเป็นอยู่ครบถ้วน ได้มีการนำน้ำนมจากสัตว์หลายชนิดมาเป็นอาหารของคน ที่ใช้กันแพร่หลายที่สุดคือน้ำนมวัว

เนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ เนื้อสัตว์เป็นแหล่งอาหารที่ให้โปรตีนที่ดี เนื้อสัตว์ดิบต่างๆ จะมีปริมาณโปรตีนไม่เท่ากัน เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในเนื้อสัตว์ จะต้องคำนึงถึงปริมาณน้ำที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์มากน้อยเพียงใด ถ้ามีน้ำอยู่มากปริมาณโปรตีนจะลดลง

สัตว์ปีกที่เป็นอาหารของคนมีหลายชนิด แต่ที่รับประทานกันมาก ได้แก่ เป็ด ไก่ และ ห่าน ซึ่งจัดว่าเป็นแหล่งของโปรตีนที่สำคัญ

ปลาและสัตว์น้ำที่มีเปลือกหรือกระดอง เช่น ปู กุ้ง เป็นอาหารที่ให้โปรตีนที่ดีเช่นเดียวกัน

ไข่ คุณค่าโปรตีนจากไข่ถือว่าดีเยี่ยม เช่นเดียวกับน้ำนม ไข่เป็ด หรือไข่ไก่ทั้งฟองที่หนัก 50 กรัม หรือไข่นกกระทา 4 - 5 ฟอง ที่หนัก 50 กรัม จะมีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกันคือ 7 กรัม ถ้าเทียบปริมาณโปรตีนในไข่และเนื้อสัตว์ที่มีน้ำหนักเท่ากัน ไข่มีโปรตีนน้อยกว่า เพราะมีน้ำอยู่มากกว่า

พืชที่เป็นแหล่งอาหารโปรตีน ได้แก่

ธัญพืช ธัญพืชที่ประชากรโลกใช้เป็นอาหารกันมาก ได้แก่ ข้าว ข้าวสาลี และข้าวโพด ใน 100 กรัมของข้าว ข้าวสาลีและข้าวโพดดิบ มีโปรตีนอยู่ประมาณ 7 11 และ5 กรัม ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าปริมาณโปรตีนต่ำกว่าที่มีอยู่ในเนื้อสัตว์ จากนี้ยังมี

ความบกพร่องในกรดอะมิโนจำเป็นบางชนิด ข้าวขาดกรดอะมิโนจำเป็น 2 ชนิด คือ ไลซีนและทรีโอนีน ข้าวสาลีขาดไลซีน ส่วนข้าวโพดขาดไลซีนและทริปโทเฟน ดังนั้นโปรตีนจากธัญพืชจึงด้อยทั้งปริมาณและคุณภาพเมื่อเทียบกับน้ำนม ไข่ หรือเนื้อสัตว์

ถั่วเมล็ดแห้ง ถั่วเมล็ดแห้งหลายชนิด ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วดำและถั่วลิสง ให้โปรตีนจำนวนที่มากพอสมควร คือ ใน 100 กรัมจะมีโปรตีนอยู่ประมาณ 17 - 34 กรัม แต่ในถั่วเมล็ดแห้ง จะขาดกรดอะมิโนจำเป็นคือเมไทโอนีน

โปรตีนในอาหารแต่ละชนิดจะมีปริมาณแตกต่างกันดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

คนเราต้องการโปรตีนในแต่ละวันมากน้อยเพียงใด ขึ้นอยู่กับปัจจัยสองประการคือ อาหารที่รับประทานมีปริมาณและคุณภาพของโปรตีนอย่างไร และตัวผู้รับประทานมีอายุเท่าใด ตั้งครรภ์และให้นมบุตรอยู่หรือไม่ ตลอดจนมีอาการเจ็บป่วยอยู่หรือไม่

วัยและภาวะต่างกันต้องการโปรตีนต่างกัน จากตารางที่ 2 โปรตีนที่ควรได้รับในแต่ละวันลดลงตามอายุ เมื่อแรกเกิดต้องการโปรตีนวันละประมาณ 2.2 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และจะลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่งตั้งแต่อายุ 19 ปี ขึ้นไป ต้องการโปรตีนเพียง 0.8 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่เป็นเช่นนี้เพราะเด็กต้องการโปรตีนไปสร้างเสริมเนื้อเยื่อต่างๆในการเจริญเติบโต ส่วนผู้ใหญ่ต้องการโปรตีนไว้ซ่อมแซมส่วนต่างๆที่สึกหรอไป ในหญิงตั้งครรภ์ ความต้องการโปรตีนเพิ่มขึ้นอีกวันละ 9 กรัม เพื่อนำไปใช้สำหรับแม่และลูกในครรภ์ แม่ที่ให้นมลูกต้องการโปรตีนเพิ่มอีกวันละ 17 กรัม เพราะการสร้างน้ำนมต้องอาศัยโปรตีนจากอาหาร

ถ้าร่างกายได้โปรตีนไม่เพียงพอจะเกิดเป็นโรคขาดโปรตีน และเป็นปัญหาทุพโภชนาการที่พบในประเทศที่กำลังพัฒนาและด้อยพัฒนา การขาดโปรตีนมักพบร่วมกับการขาดแคลอรีด้วย สำหรับประเทศไทยขณะนี้ยังประสบปัญหาโรคขาดโปรตีนและแคลอรีอยู่ ถ้าโรคนี้เป็นในเด็กจะมีผลเสียต่อการเจริญเติบโต การเรียนรู้ต่างๆของเด็กจะลดลง ไม่สามารถเติบโตเป็นผู้ใหญ่ที่แข็งแรงและฉลาดในอนาคตได้ ถ้าเกิดในวัยผู้ใหญ่ประสิทธิภาพในการทำงานจะลดลง ซึ่งมีผลต่อครอบครัวและประเทศชาติ

ตารางที่ 1 แสดงค่าปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในอาหาร

อาหาร	โปรตีน กรัม/100 กรัม
นมและผลิตภัณฑ์นม	
นมวัว	3.3
นมผง	26.0
เนยแข็ง	22.8
เนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ	
เนื้อหมู	14.1
ขาหมู	20.5
ตับหมู	20.6
ไตหมู	15.4
เลือดหมู	0.7
เนื้อวัวไม่มีมัน	22.2
เนื้อไก่	20.2
เนื้อเป็ด	23.3
ปลากราย	17.5
ปลาช่อน	20.5
ปลาทู	20.0
ไข่	
ไข่ไก่	12.7
ไข่เป็ด	11.7
ไข่นกกระทา	13.6
ธัญพืช	
ข้าวเจ้า	7.4
ข้าวเหนียว	6.9
ข้าวสาลี	11.8
ข้าวโพดเหลือง	4.9
ถั่วเมล็ดแห้งและผลิตภัณฑ์	
เมล็ดถั่วเหลืองแห้ง	34.1
เมล็ดถั่วเขียว	24.4
เมล็ดถั่วดำ	17.3
ถั่วลิสงปอกเปลือก	26.3
นมถั่วเหลือง	3.4
เต้าหู้ขาว	7.8
เต้าหู้เหลือง	12.3

ตารางที่ 2 ปริมาณโปรตีนที่ควรได้รับในแต่ละวัน

ช่วงอายุ		โปรตีน กรัม/น้ำหนักตัว1กิโลกรัม/วัน
0 - 6	เดือน	2.2
6 - 12	เดือน	2.0
1 - 3	ปี	1.8
4 - 6	ปี	1.5
7 - 10	ปี	1.2
15 - 18	ปี	0.9
19	ปีขึ้นไป	0.8

นักเคมีชาวเดนมาร์กชื่อโยฮัน เจลดาห์ล (Johan Kjeldahl) (ค.ศ. 1849 - 1900) เป็นผู้คิดและพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในสารประกอบอินทรีย์ เขาทำงานในห้องปฏิบัติการของคาลส์เบิร์ก(Calsberg) หน้าที่หนึ่งของเขาคือหาวิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนที่ทำได้รวดเร็วและให้ผลวิเคราะห์ที่เชื่อถือได้ ซึ่งใช้ในการหาปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในเมล็ดธัญพืช ที่เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตเบียร์

วิธีวิเคราะห์โปรตีนของเจลดาห์ลประกอบด้วยสามขั้นตอน คือ

1. การย่อย

ตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์หาโปรตีนจะถูกย่อย (ออกซีไดส์) ด้วยกรดซัลฟุริก ใช้คอปเปอร์ซัลเฟตและโพแทสเซียมซัลเฟตเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาและเพิ่มอุณหภูมิ ไนโตรเจนในโปรตีนจะเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียและทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟุริก ได้แอมโมเนียมซัลเฟต ส่วนคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ที่เกิดขึ้นด้วยจะระเหยออกไป ดังสมการ

$$\text{สารประกอบไนโตรเจน} + H_2SO_4 \xrightarrow{\triangle} CO_2\uparrow + H_2O + (NH_4)_2SO_4 + SO_2\uparrow$$

การย่อยนี้ต้องทำในตู้ดูดควันเท่านั้น ส่วนปริมาณกรดซัลฟุริกที่ใช้ในการย่อยตัวอย่างต้องคำนึงถึง

(1.) ชนิดของตัวอย่างว่ามีไขมัน คาร์โบไฮเดรท โปรตีน มากน้อยเพียงใด ไขมัน 1 กรัม ต้องใช้กรดในการย่อย 9.7 มิลลิลิตร โปรตีน 1 กรัม ต้องใช้กรด 4.9 มิลลิลิตร และคาร์โบไฮเดรท 1 กรัมต้องใช้กรด 4.0

มิลลิลิตร ตัวอย่างที่มีไขมันสูงต้องใช้กรดในการย่อยมากกว่าตัวอย่างที่มีโปรตีนสูงหรือมีคาร์โบไฮเดรทสูง

(2.)ปริมาณและชนิดของสารที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น ถ้าใช้โพแทสเซียมซัลเฟตเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา กรดซัลฟุริกจะทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมซัลเฟตด้วย ดังสมการ

$$K_2SO_4 + H_2SO_4 \rightarrow 2\,KHSO_4$$

โพแทสเซียมซัลเฟต 1 กรัม ต้องใช้กรดซัลฟุริกประมาณ 0.3 มิลลิลิตร

(3.) **ปริมาณกรดที่ระเหยไปในขบวนการย่อย** เนื่องจากต้องทำการย่อยในตู้ดูดควันทำให้มีกรดที่สูญเสียออกสู่สิ่งแวดล้อมมาก มีการศึกษาพบว่าในช่วงเวลา 15 นาทีแรกของการย่อย มีกรดสูญเสียไปเป็นจำนวนร้อยละ 5 ของปริมาณกรดทั้งหมด หลังจากนั้นการสูญเสียกรดอันเนื่องมาจากการระเหยจะน้อยลง แต่ยังคงมีการสูญเสียอยู่โดยเฉลี่ยประมาณร้อยละ 3 ถึงร้อยละ 5

เวลาที่ใช้ในการย่อยขึ้นกับอุณหภูมิ หากเพิ่มอุณหภูมิ เวลาที่ใช้ในการย่อยให้สมบูรณ์จะลดลง

อุณหภูมิของจุดเดือดของกรดซัลฟุริกเพิ่มได้โดยการเติมสารประกอบประเภทเกลือลงไป ดังนั้นจึงมีการเติมโพแทสเซียมซัลเฟตซึ่งเป็นสารที่เหมาะสมมากเพราะมีสมบัติการละลายในกรดสูง มีรายงานการใช้โพแทสเซียมซัลเฟตตั้งแต่ปี ค.ศ. 1889 และได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีประสิทธิภาพมากที่สุดสำหรับวิธีเจลดาห์ล ได้เคยมีการทดลองใช้สารประกอบเกลือชนิดอื่นแต่ให้ผลไม่ดีเท่า

อีกองค์ประกอบหนึ่งที่ทำให้การย่อยประสบผลสำเร็จดี คือ อัตราส่วนปริมาตรต่อน้ำหนักระหว่างกรดกับเกลือ(โพแทสเซียมซัลเฟต) สำหรับตัวอย่างอาหารทั่วไปจะใช้อัตราส่วน 1.4 - 2.0 แต่ถ้าตัวอย่างมีปริมาณไขมันสูง อัตราส่วนระหว่างกรดกับเกลือที่ใช้จะเป็น 2.5 - 2.8

2. การกลั่น

เมื่อเติมด่างแก่ ลงในแอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียจะถูกปล่อยออกมา และแอมโมเนียจะถูกจับในสารละลายกรดบอริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 4

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

$$NH_3 + H_3BO_3 \rightarrow H_3BO_3.NH_3$$

3. การไทเทรต

นำสารละลายที่กลั่นได้ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟุริก เพื่อหาปริมาณของแอมโมเนียที่กลั่นออกมา

วิธีวิเคราะห์ของเจลดาห์ลได้รับการปรับปรุงพัฒนามาอย่างต่อเนื่อง การพัฒนาปรับปรุงนี้ทำให้สิ่งแวดล้อมดีขึ้น ความปลอดภัยของผู้ที่เกี่ยวข้องมีมากขึ้น สามารถทำการวิเคราะห์ได้รวดเร็วขึ้น รวมทั้งทำให้กระบวนการวิเคราะห์โดยรวมยุ่งยากน้อยลง

Kjeltec Auto Sampler System เป็นเครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจนและโปรตีนแบบกึ่งอัตโนมัติ มีการพัฒนาส่วนที่ใช้ย่อย โดยมีการดูดไอกรดที่เกิดขึ้นขณะย่อยเข้าสู่ส่วนที่จะทำให้กรดสะเทินด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทำให้ไอกรดที่เกิดจากปฏิกิริยาไม่ออกมาสู่บรรยากาศของสิ่งแวดล้อม ปริมาณกรดที่ใช้ก็น้อยกว่าวิธีเดิม เป็นผลให้ปริมาณด่างที่ใช้ในการกลั่นน้อยลงด้วย ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณกรด (กรดซัลฟุริก) และด่าง (โซเดียมไฮดรอกไซด์) ที่ใช้ในการย่อยระหว่างวิธีเจลดาห์ลและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System

	วิธีเจลดาห์ล	วิธีที่ใช้เครื่องKjeltec Auuto Sampler System
ปริมาณกรดซัลฟุริกที่ใช้ทั้งหมด	20 มิลลิลิตร	12 มิลลิลิตร
ปริมาณกรดที่สูญเสียขณะทำการย่อย	7.2 มิลลิลิตร	1.2 มิลลิลิตร
ปริมาณกรดที่ใช้ในการทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง 1 กรัม	3.6 - 7 มิลลิลิตร	3.6 -7 มิลลิลิตร
ปริมาณกรดที่ต้องใช้ในการทำปฏิกิริยากับสารเร่งปฏิกิริยา	4.2 มิลลิลิตร	2.1 มิลลิลิตร
ปริมาณที่เหลืออยู่ในหลอด/ขวดย่อย	6.6 - 10.0 มิลลิลิตร	1.7 - 5.1 มิลลิลิตร
ปริมาณด่างที่ต้องใช้ในการกลั่น	80 - 100 มิลลิลิตร	50 มิลลิลิตร

ที่มา : Tecator AB. Manual : Handbook For Kjeldahl Digestion.

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างอาหารที่มีปริมาณโปรตีนตั้งแต่ประมาณร้อยละ 0.1 ถึง ร้อยละ 90 โดยใช้เครื่องKjeltec Auto Sampler System กับวิธีเจลดาห์ลซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานเดิมที่ใช้อยู่

ระยะเวลาดำเนินการ

3 เดือน (เมษายน 2537 ถึง มิถุนายน 2537)

ประโยชน์ที่ได้รับ

ได้วิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยเครื่อง Kjeltec Auto Sampler System ซึ่งให้ผลวิเคราะห์ที่ถูกต้องแม่นยำ เทียบเท่าวิธีมาตรฐานเดิม แต่ใช้เวลาและปริมาณสารเคมีน้อยลง ปลอดภัยต่อผู้วิเคราะห์และไม่เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาทดลอง

1. ตัวอย่างที่หน่วยงานเอกชน และหน่วยงานราชการส่งมาวิเคราะห์ รวมทั้งสิ้นจำนวน 57 ตัวอย่าง รายละเอียดของตัวอย่างดังแสดงไว้ในภาคผนวก 1 ตารางที่ 12
2. สารอ้างอิงมาตรฐานเอสอาร์เอ็ม 1548 ไทเทิล ไดเอทจาก National Institute of Standards & Technology (NIST)

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีมาตรฐานเจลดาห์ล

1. เครื่องมือ วัสดุและอุปกรณ์

1.1 ขวดเจลดาห์ล ขนาด 300 มิลลิลิตร

1.2 ชุดกลั่นโปรตีน

1.3. บิวเรตต์ขนาด 50 มิลลิลิตร

1.4 กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร

1.5 ขวดแก้วรูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร

1.6 กระเปาะแก้ว

1.7 เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.8 หินพูมิส (pumice stone)

2.สารเคมีและสารละลาย

2.1 กรดซัลฟุริกเข้มข้นร้อยละ 98

2.2 คอบเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$)

2.3 โพแทสเซียมซัลเฟต

2.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40

2.5 สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟุริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

2.6 อินดิเกเตอร์ผสมประกอบด้วยสารละลายเมทิลเรดความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในเอททิวแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 หนึ่งส่วน และสารละลายโบรโมครีซอลกรีนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในเอททิวแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ห้าส่วน

2.7 สารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4

3.วิธีวิเคราะห์

3.1 ชั่งตัวอย่างโดยใช้น้ำหนักตัวอย่างตามตารางที่ 4 ใส่ในขวดเจลดาห์ล

3.2 เติม คอบเปอร์ซัลเฟต 0.5 กรัม และ โพแทสเซียมซัลเฟต10 กรัม

3.3 เติมกรดซัลฟุริก 20 มิลลิลิตร โดยเอียงขวดเจลดาห์ลและค่อยๆรินลงด้านข้างโดยรอบเพื่อให้กรดชะล้างตัวอย่างที่อาจติดอยู่ด้านข้างลงไปให้หมด ปิดปากขวดเจลดาห์ล ด้วยกระเปาะแก้ว

3.4 นำไปย่อยในตู้ดูดควัน โดยใช้ไฟอ่อน ๆ หมั่นเขย่าขวดจนกระทั่งสารละลายใสเป็นสีเขียว เพิ่มไฟแรงให้สารละลายเดือดต่อ 1 ชั่วโมง 30 นาที ปิดไฟ ตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

3.5 ถ่ายสารละลายจากข้อ 3.4 ลงในขวดกลั่นโดยใช้น้ำกลั่น ประมาณ 200 มิลลิลิตร เติม หินพูมิส 2-3 ชิ้น

3.6 นำขวดกลั่นไปตั้งบนเตา พร้อมต่อชุดกลั่นให้เรียบร้อย รองรับแอมโมเนียที่กลั่นออกมาด้วยขวดแก้วรูปชมพู่ซึ่งมีสารละลายกรดบอริก จำนวน 50 มิลลิลิตร และอินดิเกเตอร์ผสม 6 - 10 หยด

3.7 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้มีปริมาณมากเกินพอ (80 มิลลิลิตร) ผ่านกรวยที่ปิดเปิดได้ลงในขวดกลั่น ล้างกรวยด้วยน้ำกลั่นอีกเล็กน้อย

ข้อควรระวัง ขณะเติมด่าง ปล่อยให้ด่างไหลผ่านช้าๆและสังเกตสารละลายในขวดกลั่น ถ้าเป็นสีดำ แสดงว่าเติมด่างเพียงพอ ถ้าไม่พอให้เติมด่างเพิ่มอีก 5 - 10 มิลลิลิตร

3.8 เปิดไฟทำการกลั่นแอมโมเนียจนได้สารละลายสีฟ้าอมเขียวมีปริมาตรประมาณ 200 มิลลิลิตร

3.9 ปิดไฟ หยุดกลั่น ล้างภายในเครื่องควบแน่น และข้อต่างๆ ด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย ลงในสิ่งที่กลั่นได้

3.10 นำสิ่งที่กลั่นได้ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟุริก จนได้จุดยุติ คือสารละลายเปลี่ยนจากสีฟ้าเป็นสีเทา

3.11 ทำแบลงก์ เช่นเดียวกับตัวอย่าง

4. การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน ร้อยละของน้ำหนัก} = \frac{1.4\,N\,(S-B)}{w}$$

เมื่อ

S = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟุริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง เป็นมิลลิลิตร

B = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟุริกที่ใช้ในการไทเทรตแบลงก์ เป็นมิลลิลิตร

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟุริก เป็นนอร์มัล

w = น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ เป็นกรัม

ปริมาณโปรตีน ร้อยละของน้ำหนัก = ไนโตรเจนคิดเป็นร้อยละ x แฟคเตอร์

ค่าแฟคเตอร์ขึ้นกับชนิดของอาหารตามตารางที่ 5

ตารางที่ 4 ชนิดและปริมาณตัวอย่างที่ใช้

ชนิดของตัวอย่าง	น้ำหนักเป็นกรัม	
	โดยวิธีเจลคาห์ล	โดยเครื่องKjeltec Auto Sampler System
นมผง	ไม่เกิน 1	ไม่เกิน 0.5
นมเปรี้ยว	ไม่เกิน 10	ไม่เกิน5
อาหารสัตว์	0.5 - 2	0.25 - 1
ธัญพืช	2 - 5	1 - 2.5
แป้ง	10	2 - 5

ที่มา : Tecator AB. Manual : Handbook For Kjeldahl Digestion.

Manual : For Kjeltec Auto 1035/38 Sampler System.

ตารางที่ 5 ค่าแฟคเตอร์ของอาหารชนิดต่างๆ

ชนิดของอาหาร	ค่าแฟคเตอร์
ข้าวสาลี: ข้าวสาลีที่ไม่ได้ขัดสี	5.83
: แป้ง(flours) ยกเว้นที่ได้จากข้าวสาลีที่ไม่ได้ขัดสี	5.70
: มะกะโรนี	5.70
: รำ	6.31
ข้าวเจ้า	5.95
ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโอ๊ต ข้าวไรย์	5.83
ข้าวโพด	6.25
ถั่วเหลือง	5.71
ถั่ว : ถั่วลิสง ถั่วบราซิล	5.41
: อัลมอนด์	5.18
: ถั่วอื่นๆ	5.30
นมและผลิตภัณฑ์นม	6.38
เจลาตินและคอลลาเจน	5.55
อาหารอื่นๆ	6.25

ที่มา : Pearson's Composition and analysis of Foods.

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System

1.เครื่องมือ วัสดุและอุปกรณ์

1.1 หลอดแก้วสำหรับย่อยพร้อมที่วาง

1.2 เครื่องย่อย (Tecator Digestion System)

1.3 เครื่องดูดไอกรด (Tecator 1013 Scrubber unit)

1.4 เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System ประกอบด้วย

1.4.1 Tecator Kjeltec 1035 Analyser

1.4.2 Tecator Kjeltec 1038 Auto Sampler

1.5 เครื่องทำน้ำเย็น (Cool One Model 2100)

1.6 เครื่องพิมพ์ (Star LC-20)

1.7 ตู้ดูดควัน

1.9 เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2 สารเคมี และสารละลาย

2.1 กรดซัลฟุริกเข้มข้นร้อยละ 98

2.2 เจลแทป(Kjeltab) (3.5 กรัมโพแทสเซียมซัลเฟต 0.4 กรัมคอบเปอร์ซัลเฟต) Product No. 1527.0018 บริษัท Tecator

2.3 ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 30

2.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 40

2.5 สารละลายที่ใช้รองรับของเหลวที่กลั่นได้ ประกอบด้วย

2.5.1 สารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 1 จำนวน 3.8 ลิตร

2.5.2 สารละลายเมทิลเรด ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในเอททิวแอลกอฮอล์ร้อยละ 95จำนวน 26.6 มิลลิลิตร

2.5.3 สารละลายโบรโมครีซอลกรีน ความเข้มข้นร้อยละ0.1ในเอททิวแอลกอฮอล์ร้อยละ 95จำนวน 38 มิลลิลิตร

ข้อควรระวัง ปรับให้สารละลายในข้อ 2.5 เป็นด่างเล็กน้อยด้วย 0.1 N NaOH และตรวจสอบโดยการเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรลงในสารละลาย(2.5) 25 มิลลิลิตร สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีเทา

3.วิธีวิเคราะห์

3.1 ส่วนที่ 1 การย่อย

Digestion system ขนาด 20 หลอด

3.1.1 ก่อนชั่งตัวอย่างให้เปิดเครื่องย่อยปรับตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 420°ซ

3.1.2 ชั่งตัวอย่างใส่หลอดย่อย ตามตารางที่ 4 ที่มีเคลแทป 2 เม็ด

3.1.3 เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น จำนวน 12 - 14 มิลลิลิตร อย่างระมัดระวัง

3.1.4 เติมไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์จำนวน 5 มิลลิลิตร ช้าๆ อย่างระมัดระวัง (ทำในตู้ดูดควัน)

3.1.5 นำหลอดที่ได้ในข้อ 3.1.4 ย่อยในเครื่องย่อย (ข้อ 3.1.1) อุณหภูมิ 420 °ซ

3.1.6 ตั้งเวลาย่อย 1 ชั่วโมง

3.1.7 เมื่อ ครบ 1 ชั่วโมง จะมีสัญญาณดังขึ้น ให้ปิดเครื่องย่อย นำหลอดย่อยออก ตั้งไว้ประมาณ 20 นาทีจึงปิดเครื่องดูดไอกรด

3.1.8 นำหลอดที่ผ่านการย่อยและเย็นแล้วจากข้อ 3.1.7 มาดำเนินการในข้อ 3.2

3.2 ส่วนที่ 2 การกลั่น ไทเทรต และคำนวณผลอัตโนมัติโดยเครื่อง Kjeltec Auto Sampler System

ข้อควรระวัง ก่อนใช้เครื่องต้องตรวจสอบปริมาณ

* น้ำกลั่น
* สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (2.4)
* สารละลายที่ใช้รับของเหลวที่กลั่นได้ (2.5)

รายละเอียดการปฏิบัติการ

3.2.1 เปิดสวิทช์ "ON" ที่ analyser(1.4.1) และ ที่auto sampler(1.4.2)

3.2.2 เปิดสวิทช์ "ON" ที่เครื่องพิมพ์ (1.6)

3.2.3 เปิดสวิทช์เครื่องทำน้ำเย็น (1.5)

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

3.2.4 การเติมสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟุริก0.1 นอร์มัลในบิวเรตต์

กดปุ่ม**"MANUAL"**

เกิด "HIT KEY TO ACTIVATE"

กดปุ่ม**"BURETTE"**

กดปุ่ม " " ที่จอจะมีเมนู

* "UP-CONT" เป็นการทำให้สารละลายในบิวเรตต์กลับคืนสู่ขวดบรรจุ
* "DN-CONT" เป็นการทำให้สารละลายในขวดบรรจุเข้าสู่บิวเรตต์
* "UP-TIT" เป็นการไทเทรตคือทำให้สารละลายจากบิวเรตต์ไปสู่หลอดที่เก็บของเหลวที่กลั่นได้
* "DN-TIT" เป็นการไล่ฟองอากาศจากบิวเรตต์

ทำการกดปุ่มเลือก"DN-CONT" จนได้สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟุริกเต็มบิวเรตต์ แล้วกดปุ่มเลือก"UP-CONT"สลับกับ"DN-CONT" สองถึงสามครั้งเพื่อให้แน่ใจว่าสารละลายในบิเรตต์และในขวดเก็บเป็นสารละลายที่มีความเข้มข้นเดียวกันทั่วทั้งระบบ

ทำการกดปุ่มเลือก"UP-TIT" สลับกับ"DN-TIT"เพื่อไล่ฟองอากาศออกจากบิวเรตต์

เมื่อแน่ใจว่าสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟุริกบรรจุอยู่ในระบบการไทเทรตโดยสมบูรณ์แล้วให้ฉีดน้ำกลั่นล้างหลอดบรรจุที่รองรับสำหรับการไทเทรตและกดปุ่ม**"REC.SOLN"** เพื่อล้างหลอดนั้นด้วยสารละลายกรดบอริกที่ใช้รองรับสารละลายแอมโมเนียที่กลั่นได้ ทำการล้างอย่างน้อยเก้าครั้ง

3.2.5 นำหลอดเปล่า 3 หลอดใส่ในเครื่องโดย

หลอดที่ 1 ใช้ตรวจสอบปริมาตรด่าง

หลอดที่ 2,3 ใช้ในการอุ่นเครื่องขบวนการเติมน้ำและขบวนการผลิตไอน้ำ

3.2.6 กดปุ่ม **"SAMPLER"**

เลือก "Tube to Position" จากเมนูที่หน้าจอ

พิมพ์ตำแหน่ง "tube" "wing" (A,B,C) แล้วกดปุ่ม **"ENTER"**

เลือก "Tube up" แล้วกดปุ่ม **"ENTER"**

เลือก "Exit from position" แล้วกดปุ่ม **"ENTER"**

3.2.7 กดปุ่ม **"MANUAL"**

กดปุ่ม **"ALKALI"**

กดปุ่ม **"SAMPLER"** เลือก "TUBE TO POSITION"จากเมนูที่จอ

พิมพ์ตำแหน่ง "tube" , "wing" (tube 2) แล้วกดปุ่ม **"ENTER"**

3.2.8 กดปุ่ม **"MANUAL"**

กดปุ่ม **"DILUTION"**

กดปุ่ม **"STEAM"** ครั้งที่ 1 แล้วรอ 3 นาทีที่จอจะปรากฏข้อความว่า

"STEAM IS ON"

กดปุ่ม **"STEAM"** ครั้งที่ 2 เครื่องผลิตไอน้ำจะหยุดทำงาน

กดปุ่ม **"MANUAL"** กดปุ่ม **"REC.SOLN"**

ดูสีของ REC SOLN (กด 8-9 ครั้ง) สีนั้นต้องเป็นสีเดียวกับreceiver solution(2.5)

3.2.9 กดปุ่ม **"SAMPLER"**

เลือก "A TO LOAD POSITION" หลอดจะลงมาเอง

รอให้ หลอดย่อยกลับสู่ตำแหน่งเดิม

3.2.10 กดปุ่ม**"EXIT"**ที่หน้าจอเกิด "TECATOR KJELTEC 1035 "

"SELECT MODE"

3.2.11 นำหลอดย่อยจาก ข้อ 3.1.7 เข้าเครื่องKjeltec(1.4.2)

กดปุ่ม **"SET"** ที่หน้าจอเกิด "SET PARAMETER"

"ANALYSIS PARAMETER"

กดปุ่ม " " เลือก

กดปุ่ม**"ENTER"**

"KJELDAHL ANALYSIS"

"NORMALITY N = ? "(เติมตัวเลข)

กดปุ่ม"ENTER"

ถ้าต้องการเพิ่มหรือลดให้
กดปุ่ม " " จะเป็นการเพิ่มหรือ
ลดครั้งละ 5 มิลลิลิตร
ต้องกดปุ่ม"ENTER"ทุกครั้ง

KJELDAHL ANALYSIS

REC SOL VOLUME 25

KJ ANAL

DILUTION VO.50

KJ ANAL

AKALI VOLUME

KJ ANAL

DELAY TIME 2 SEC

KJ ANAL

DISTIL TIME 999 SEC

กดปุ่ม "ENTER"

ที่หน้าจอเกิด

TECATOR KJELTEC 1035

SELECT MODE

3.2.12 กดปุ่ม"SET"ที่หน้าจอเกิด SET PARAMETERS

INSTRUMENT PARAMETER

กดปุ่ม " " เลือก

INSTRUMENT PARAMETER

BALANCE TYPE	NONE
AUX TYPE	NONE
REM DEVICE	NONE
REC DRAIN TIME	25
TUBE DRAIN	YES
BUR. CONSTANT	3006
SAMPLER PRESENT	YES
TIME EXPIRED WARN	YES

DRAIN TANK WARN YES

ALKAL WARNING YES

REC-SOL WARNING YES

TITRANT WARNING YES

RESET TO DEFAULT NO

RESET DATE/TIME NO เปลี่ยนเป็น YES

DATE (Y-M-D) คือ ปี-เดือน-วัน

เติมวันที่ที่ต้องการ

กดปุ่ม"ENTER"

TIME คือ เวลา เติมเวลา

กดปุ่ม"ENTER"

3.2.13 กดปุ่ม"WEIGH."ที่หน้าจอเกิด BATCH = 0 TUBE = 0

พิมพ์หมายเลขของ BATCH และ TUBE

กดปุ่ม"ENTER"

ที่หน้าจอเกิด FACTOR

เติม Factor ที่ต้องการ เช่น 6.25

Blank F = 1 สำหรับหลอดที่ 1,2กดปุ่ม "Enter" เกิด "RESULT IN BLANK *" 0 กดเลือกชนิดที่ต้องการ

ถ้า FACTOR เหมือนกัน เมื่อ Key wt แล้วกดปุ่ม " "ตัวเลข จะเปลี่ยนที่ tube เติม wt ได้เลย ถ้า Factor ต่างกัน เมื่อ key wt แล้ว กดปุ่ม"ENTER"

BLANK

% PROTEIN

% NITROGEN

กดปุ่ม"ENTER"

3.2.14 พิมพ์น้ำหนักของตัวอย่างที่keyไว้ออกมาดูเพื่อตรวจสอบความถูกต้องโดย

กดปุ่ม "RECALL"

เลือก "WEIGH"

ที่หน้าจอเกิด "BATCH..... TUBE....."

เติม หมายเลขของBATCH และ TUBEตามลำดับ

กดปุ่ม **"ENTER"**

3.2.15 กดปุ่ม **"ANALYSE"**

เลือก "kjeldahl"

กดปุ่ม**"ENTER"**

เกิด "Blank"

กดปุ่ม**"ENTER"**

เกิด "BATCH NO....." พิมพ์หมายเลขแบทช์ที่ทำการวิเคราะห์

กดปุ่ม**"ENTER"**

เกิด "START BATCH" พิมพ์หมายเลขแบทช์ที่ทำการวิเคราะห์

กดปุ่ม**"ENTER"**

ที่หน้าจอเกิด "START TUBE" พิมพ์หมายเลขหลอดที่เริ่มวิเคราะห์

กดปุ่ม**"ENTER"**

เครื่องKjeltec(1.5)จะทำงานอัตโนมัติ **พร้อมทั้งพิมพ์ผลลัพธ์ออกมาให้** และเครื่องจะล้างระบบให้เอง 2 ครั้ง

3.2.16 กดปุ่ม **"SAMPLER"**

เลือก "A หรือ B หรือ C TO LOAD POSITION"

กดปุ่ม**"ENTER"**

หลอดย่อยจะคืนสู่ตำแหน่งเดิม นำออกจากเครื่องได้

3.2.17 นำหลอดย่อยชุดใหม่มา2 หลอดสำหรับล้างระบบการกลั่น โดย

3.2.17.1 กดปุ่ม **"SAMPLER"**

เลือก "TUBE TO POSITION"

พิมพ์ตำแหน่ง "tube" "wing"

กดปุ่ม**"ENTER"**

ที่หน้าจอเกิด "TUBE UP"

กดปุ่ม**"ENTER"**

เลือก "EXIT FROM POSITION"

3.2.17.2 กดปุ่ม **"MANUAL"**

กดปุ่ม **"DILUTION"** 2 ครั้ง

กดปุ่ม **"STEAM"** ครั้งที่ 1 รอ 3 นาที

กดปุ่ม **"STEAM"** ครั้งที่ 2 เครื่องผลิตไอน้ำจะหยุดทำงาน แล้วทำเช่นเดียวกับข้อ 3.2.16

3.2.18 ปิดสวิทช์การทำงานของเครื่องทำน้ำเย็น

3.2.19 ปิดสวิทช์การทำงานของเครื่องพิมพ์

3.2.20 ปิดสวิทช์การทำงานของ auto sampler และ analyser

3.2.21 ถอดปลั๊ก

3.2.22 ทำความสะอาดเครื่องโดยการเช็ดด้วยผ้าสะอาดที่ชุบน้ำหมาดๆ

ผลการศึกษาทดลอง

จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างอาหารจำนวน 57 ตัวอย่าง ที่มีปริมาณโปรตีนในระดับต่างๆกัน ตั้งแต่ตัวอย่างอาหารประเภทที่มีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าร้อยละ 1 เช่น แป้งมันสำปะหลัง อาหารประเภทที่มีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่างร้อยละ 10 ถึง ร้อยละ 20 เช่น น้ำนมดิบ น้ำนมถั่วเหลือง นมถั่วเหลืองผง บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป และสาหร่ายบางชนิด อาหารประเภทที่มีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่างร้อยละ 20 ถึง ร้อยละ40 เช่น นมปรุงแต่ง เครื่องดื่มรสวานิลลา เครื่องดื่มรสช็อกโกแลต และสาหร่ายบางชนิด อาหารประเภทที่มีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่างร้อยละ 40 ถึง ร้อยละ 90 เช่น ผลิตภัณฑ์นมบางชนิด โปรตีนไฮโดรไลเสส และสาหร่ายบางชนิด ดังรายละเอียดที่แสดงไว้ในตารางที่ 6

จากการศึกษาทดลองวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยใช้วิธีเจลดาห์ลซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่กลุ่มงานคุณค่าทางโภชนาการใช้อยู่ กับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System พบว่าผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีเจลดาห์ลมาตรฐานและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System เมื่อประเมินค่าทางสถิติโดยใช้ t-Test จากโปรแกรม Data Analysis พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างเป็นนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 หากแบ่งกลุ่มตัวอย่างตามระดับปริมาณโปรตีน ดังแสดงไว้ในตารางที่ 7 ถึง ตารางที่ 10 แต่ถ้าประเมินค่าทางสถิติโดยใช้ตัวอย่างรวมทั้งหมดจำนวน 57 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์โดยสองวิธีที่กล่าวแล้วจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เพราะ t stat มีค่าเท่ากับ 2.007 ซึ่งมากกว่า t Critical two-tail ที่มีค่าเท่ากับ 2.003 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 11 อย่างไรก็ตาม ค่าที่ต่างกันเท่ากับ 0.004 ซึ่งน้อยมากคือ เนื่องจากตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนแตกต่างกันมาก กล่าวคือ ตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนน้อยที่สุด คือ ตัวอย่างแป้งมันสำปะหลัง มีปริมาณโปรตีนเท่ากับร้อยละ 0.1 ในขณะที่ตัวอย่างมิลค์โปรตีนไฮโดรไลเสส มีปริมาณโปรตีนถึง ร้อยละ 90 และเมื่อนำผลวิเคราะห์จากวิธีเจลดาห์ลและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System มาเขียนกราฟพบว่าได้เป็นกราฟเส้นตรง และความลาด (slope)เท่ากับ 1 (ภาคผนวกรูปที่ 2)แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System เทียบเท่ากับวิธีเจลดาห์ล

ตารางที่ 6.1 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างโดยวิธีเจลดาห์ล และวิธีใช้เครื่อง Kjeltec

ลำดับที่	หมายเลขปฏิบัติการ	รายละเอียดของตัวอย่าง	ปริมาณโปรตีน ร้อยละ	
			วิธีเจลดาห์ล มาตรฐาน	วิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System
1	RH.271	แป้งมันสำปะหลัง	0.09	0.12
2	RE.391	น้ำฝรั่งสีชมพู 25% SIAM FOOD	0.50	0.54
3	RF.452	dehydrated mango slice	1.07	1.06
4	RF.453	dehydrated orange peel dice	1.69	1.40
5	RK.153	นมถั่วเหลืองผง	2.05	2.02
6	RK.152	นมถั่วเหลืองผง	2.06	2.02
7	RG.1000	น้ำนมถั่วเหลืองรสสตรอเบอร์รี	2.33	2.28
8	RG.997	น้ำนมถั่วเหลืองรสแดงไทย	2.44	2.46
9	RG.995	น้ำนมถั่วเหลืองรสกล้วย	2.44	2.42
10	RG.994	น้ำนมถั่วเหลืองรสไข่	2.44	2.44
11	RG.998	น้ำนมถั่วเหลืองรสช็อกโกแลต	2.50	2.47
12	RG.996	น้ำนมถั่วเหลืองรสมะพร้าว	2.50	2.44
13	RL.96	น้ำนมดิบ	3.22	3.18
14	RL.98	น้ำนมดิบ	3.23	3.17
15	RL.99	น้ำนมดิบ	3.24	3.18
16	RL.94	น้ำนมดิบ	3.25	3.16
17	RL.97	น้ำนมดิบ	3.26	3.20
18	RL.100	น้ำนมดิบ	3.29	3.23
19	RL.159	นมปรุงแต่งรสน้ำผึ้ง	3.42	3.27
20	RL.95	น้ำนมดิบ	3.57	3.48
21	RG.719	สาหร่าย	4.20	4.36
22	RF.799	ซุปไก่	4.41	4.69
23	RF.451	dehydrated banana dice	4.50	4.10
24	RK.265	ซุปไก่สกัดผสมน้ำผึ้ง	4.78	4.62
25	RF.896	แป้งพาลาเปาสำเร็จรูป	5.98	6.16
26	RF.899	แป้งบัตเตอร์เค็กสำเร็จรูป	7.55	7.55
27	RF.494	ฟูทรีไฟเบอร์รสซิตรัส	7.98	7.71
28	RF.643	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปรสหมูสับใส่ผัก	8.35	8.65
29	RF.647	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปรสแกงกะหรี่ปู	8.46	8.45

ตารางที่ 6.1 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างโดยวิธีเจลดาห์ล และวิธีใช้เครื่อง Kjeltec (ต่อ)

ลำดับที่	หมายเลขปฏิบัติการ	รายละเอียดของตัวอย่าง	ปริมาณโปรตีน ร้อยละ	
			วิธีเจลดาห์ล มาตรฐาน	วิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System
30	RF.649	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปรสซุปหัวหอมใส่หมู	8.84	8.90
31	RF.655	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปรสปลาไหลปรุงรส	8.91	8.98
32	RF.653	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปรสเนื้อใส่ผักกาดดอง	8.91	9.03
33	RF.651	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปรสหมูใส่ผักกาดอบแห้ง	8.94	8.98
34	RF.645	บะหมี่อบแห้งรสไก่ใส่เหล้า	9.37	9.24
35	RF.493	นูทรีไฟเบอร์รสช็อกโกแลตคาราเมล	10.9	10.1
36	RI.730	similac with iron	11.3	11.4
37	RG.182	นมถั่วเหลืองผง	12.7	12.7
38	RG.183	นมถั่วเหลืองผง	12.8	12.5
39	RG.181	นมถั่วเหลืองผง	12.8	12.5
40	RG.180	นมถั่วเหลืองผง	12.9	12.6
41	RJ.435	sweet whey powder	13.4	13.2
42	RG.720	สาหร่าย	14.1	14.1
43	RK.151	นมถั่วเหลืองผง	15.1	15.0
44	RK.150	นมถั่วเหลืองผง	15.4	15.1
45	RL.125	defatted palm residue	16.2	15.6
46	RG.717	สาหร่าย	21.7	21.6
47	RK.521	เครื่องดื่มรสวานิลลา	24.8	24.4
48	RK.522	เครื่องดื่มรสสตรอเบอรี่	24.9	24.1
49	RG.716	สาหร่าย	25.4	25.0
50	RG.714	สาหร่าย	29.0	28.3
51	RG.715	สาหร่าย	33.5	33.0
52	RI.106	นมปรุงแต่งรสช็อกโกแลต	34.0	33.1
53	RI.625	supro plus 2600	35.7	35.1
54	RG.718	สาหร่าย	58.3	58.1
55	RK.860	protao - O3	65.0	64.8
56	RF.135	MG edible acid casein	87.6	86.8
57	RI.476	milk protein hydrolysate	90.4	89.4

ตารางที่ 6.2 เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน/โปรตีน และค่ามาตรฐาน (Certified Value) **ของสารอ้างอิงมาตรฐาน เอสอาร์เอ็ม 1548**

	วิธีเจลดาห์ล		วิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System		ค่ามาตรฐานวิเคราะห์โดยวิธีเจลดาห์ล	
	A	B	A	B	A	B
ปริมาณไนโตรเจนต่อ 100 กรัมของน้ำหนักอบแห้ง	3.34	3.39	3.33	3.39	3.30	3.58
ปริมาณโปรตีน (N x 6.25) ต่อ 100 กรัมของน้ำหนักอบแห้ง	20.9	21.2	20.8	21.2	20.6	22.4

ตารางที่ 7 การประเมินค่าทางสถิติของผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเจลดาห์ลและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System ในกลุ่มตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนตั้งแต่ ร้อยละ 0.1 ถึง ร้อยละ 10.0

t-Test: Paired Two Sample for Means

	วิธีเจลดาห์ลมาตรฐาน	**วิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System**
Mean	4.405	4.381176471
Variance	7.850868182	8.029301604
Observations	34	34
Pearson Correlation	0.998805905	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	33	
t Stat	0.983161278	
P(T<=t) one-tail	0.16634088	
t Critical one-tail	1.692360456	
P(T<=t) two-tail	0.33268176	
t Critical two-tail	2.03451691	

ตารางที่ 8 การประเมินค่าทางสถิติของผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเจลดาห์ลและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System ในกลุ่มตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนตั้งแต่ ร้อยละ 10.1 ถึง ร้อยละ 20.0

t-Test: Paired Two Sample for Means

	วิธีเจลดาห์ล	วิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System
Mean	13.41818182	13.39090909
Variance	2.733636364	2.594909091
Observations	11	11
Pearson Correlation	0.996550301	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	10	
t Stat	0.63671454	
P(T<=t) one-tail	0.269306004	
t Critical one-tail	1.812461505	
P(T<=t) two-tail	0.538612008	
t Critical two-tail	2.228139238	

ตารางที่ 9 การประเมินค่าทางสถิติของผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเจลดาห์ลและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System ในกลุ่มตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนตั้งแต่ ร้อยละ 20.1 ถึง ร้อยละ 40.0

t-Test: Paired Two Sample for Means

	วิธีเจลดาห์ล	วิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System
Mean	28.625	28.6125
Variance	27.10214286	27.52696429
Observations	8	8
Pearson Correlation	0.999745844	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	7	
t Stat	0.283654314	
P(T<=t) one-tail	0.392440757	
t Critical one-tail	1.894577508	
P(T<=t) two-tail	0.784881513	
t Critical two-tail	2.36462256	

ตารางที่ 10 การประเมินค่าทางสถิติของผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเจลดาห์ลและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System ในกลุ่มตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนตั้งแต่ ร้อยละ 40.1 ถึง ร้อยละ 90.0

t-Test: Paired Two Sample for Means

	วิธีเจลดาห์ล	วิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System
Mean	75.325	75
Variance	258.1291667	247.2
Observations	4	4
Pearson Correlation	0.999951903	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	3	
t Stat	1.721892064	
P(T<=t) one-tail	0.091784021	
t Critical one-tail	2.353363016	
P(T<=t) two-tail	0.183568043	
t Critical two-tail	3.182449291	

ตารางที่ 11 การประเมินค่าทางสถิติของผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยเปรียบเทียบระหว่างวิธีเจลดาห์ลและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System ในกลุ่มตัวอย่างรวม 57 ตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนตั้งแต่ร้อยละ 0.1 ถึง ร้อยละ 90.0

t-Test: Paired Two Sample for Means

	วิธีเจลดาห์ล	วิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System
Mean	14.52052632	14.4677193
Variance	377.1985979	374.3088858
Observations	57	57
Pearson Correlation	0.999954899	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	56	
t Stat	2.007291254	
P(T<=t) one-tail	0.024777062	
t Critical one-tail	1.672522103	
P(T<=t) two-tail	0.049554124	
t Critical two-tail	2.003239388	

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษาทดลอง

ในการศึกษาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างอาหารหลายประเภท ที่มีปริมาณโปรตีนในระดับต่างๆ ตั้งแต่ตัวอย่างอาหารที่มีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าร้อยละ 1 ถึงตัวอย่างอาหารที่มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 90 โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธีเจลดาห์ลมาตรฐาน ตามเอโอเอซี (Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist, AOAC, 1995) เปรียบเทียบกับการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System เมื่อประเมินค่าทางสถิติของผลวิเคราะห์โดยใช้ t-Test พบว่าทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 7 ถึงตารางที่ 10) เมื่อแบ่งกลุ่มตัวอย่างตามปริมาณโปรตีน แต่ถ้าประเมินค่าทางสถิติโดยใช้จำนวนตัวอย่างทั้งหมดในคราวเดียวกัน ผลจะได้ว่าวิธีวิเคราะห์ทั้งสองวิธีนั้น มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทั้งนี้เป็นเพราะค่าที่ใช้มีช่วงกว้างมาก คือ 0.1 ถึง 90 และจากที่ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารอ้างอิงมาตรฐาน เอสอาร์เอ็ม 1548 โทเทิล ไดเอท ที่ซื้อจาก National Institute of Standards & Technology (NIST) เพื่อหาความถูกต้องของการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System ได้ปริมาณโปรตีนร้อยละ20.8 และ ร้อยละ 21.2 ซึ่งเท่ากับปริมาณไนโตรเจน ร้อยละ 3.33 และ ร้อยละ 3.39 ตามลำดับ ส่วนการวิเคราะห์โดยวิธีเคลดาลห์ได้ปริมาณโปรตีนร้อยละ 20.9 และ ร้อยละ 21.2 ซึ่งเท่ากับปริมาณไนโตรเจน ร้อยละ 3.34 และ ร้อยละ 3.39 ตามลำดับ ซึ่งผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารอ้างอิงมาตรฐานทั้งสองวิธีนั้น เป็นค่าที่ยอมรับได้ เนื่องจากค่าที่ระบุในใบรับรองผลการวิเคราะห์ของสารอ้างอิงมาตรฐาน เอสอาร์เอ็ม โทเทิล ไดเอท คือ ปริมาณไนโตรเจนเท่ากับร้อยละ 3.44 $\pm$ 0.14 หรือ ร้อยละ 3.30 ถึง ร้อยละ 3.58 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 6.2 และภาคผนวก 2

จากผลการศึกษาทดลองนี้ แสดงว่าการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของกลุ่มงานคุณค่าทางโภชนาการสามารถเลือกใช้วิธีใดวิธีหนึ่งได้ ทั้งนี้การจะเลือกใช้วิธีใด ต้องพิจารณาจากจำนวนตัวอย่างที่มีผู้ส่งให้วิเคราะห์ เนื่องจากถ้ามีจำนวนตัวอย่างน้อย คือ ไม่เกิน 3 ตัวอย่าง การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลดาห์ลมาตรฐานจะสะดวกและประหยัดกว่า หากมีจำนวนตัวอย่างมากกว่า 3 ตัวอย่าง การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยเครื่อง Kjeltec Auto Sampler System จะสะดวก ประหยัด และรวดเร็วกว่าวิธีเจลดาห์ลมาตรฐาน

เอกสารอ้างอิง

Helrick, Kenneth,ed. Official methods of analysis of AOAC international. 16th ed.Verginia: AOAC, 1995.

Kirk, Ronald S. and Sawyer, Ronald. Pearson's composition and analysis of foods. 9th ed. Harlow: Longman Scientific & Technical, 1991.

Tecator AB. Manual: Handbook For Kjeldahl Digestion. Hoganas; Tecator AB, n.d.

Tecator AB. Manual: For Kjeltec Auto 1035/38 Sampler System. Hoganas; Tecator AB, n.d.

Tecator AB. Manual: For Digestion System 6/12. H❷gan④s; Tecator AB, n.d.

Tecator AB. Manual: For Digestion System 20. H❷gan④s; Tecator AB, n.d.

Tecator AB. Manual: For 1013 Scrubber Unit. H❷gan④s; Tecator AB, n.d.

วิชัย ตันไพจิตร. **โภชนาการเพื่อสุขภาพ.** กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์อักษรสมัย, 2530.

ศิริชัย พงษ์วิชัย. **การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์.** สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,2539.

ภาคผนวก 1

ตารางที่ 12 รายละเอียดตัวอย่าง

ลำดับที่	หมายเลขปฏิบัติการ	รายละเอียดของตัวอย่าง
1	RH.271	แป้งมันสำปะหลัง
2	RE.391	น้ำฝรั่งสีชมพู 25% SIAM FOOD
3	RF.452	dehydrated mango slice
4	RF.453	dehydrated orange peel dice
5	RK.153	นมถั่วเหลืองผง
6	RK.152	นมถั่วเหลืองผง
7	RG.1000	น้ำนมถั่วเหลืองรสสตรอเบอรี่
8	RG.997	น้ำนมถั่วเหลืองรสแตงไทย
9	RG.995	น้ำนมถั่วเหลืองรสกล้วย
10	RG.994	น้ำนมถั่วเหลืองรสไข่
11	RG.998	น้ำนมถั่วเหลืองรสช็อกโกแลต
12	RG.996	น้ำนมถั่วเหลืองรสมะพร้าว
13	RL.96	น้ำนมดิบ
14	RL.98	น้ำนมดิบ
15	RL.99	น้ำนมดิบ
16	RL.94	น้ำนมดิบ
17	RL.97	น้ำนมดิบ
18	RL.100	น้ำนมดิบ
19	RL.159	นมปรุงแต่งรสน้ำผึ้ง
20	RL.95	น้ำนมดิบ
21	RG.719	สาหร่าย
22	RF.799	ซุปไก่
23	RF.451	dehydrated banana dice
24	RK.265	ซุปไก่สกัดผสมน้ำผึ้ง
25	RF.896	แป้งซาลาเปาสำเร็จรูป
26	RF.899	แป้งบัตเตอร์เค็กสำเร็จรูป
27	RF.494	นูทรีไฟเบอร์รสซิตรัส
28	RF.643	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปรสหมูสับใส่ผัก
29	RF.647	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปรสแกงกะหรี่ปู

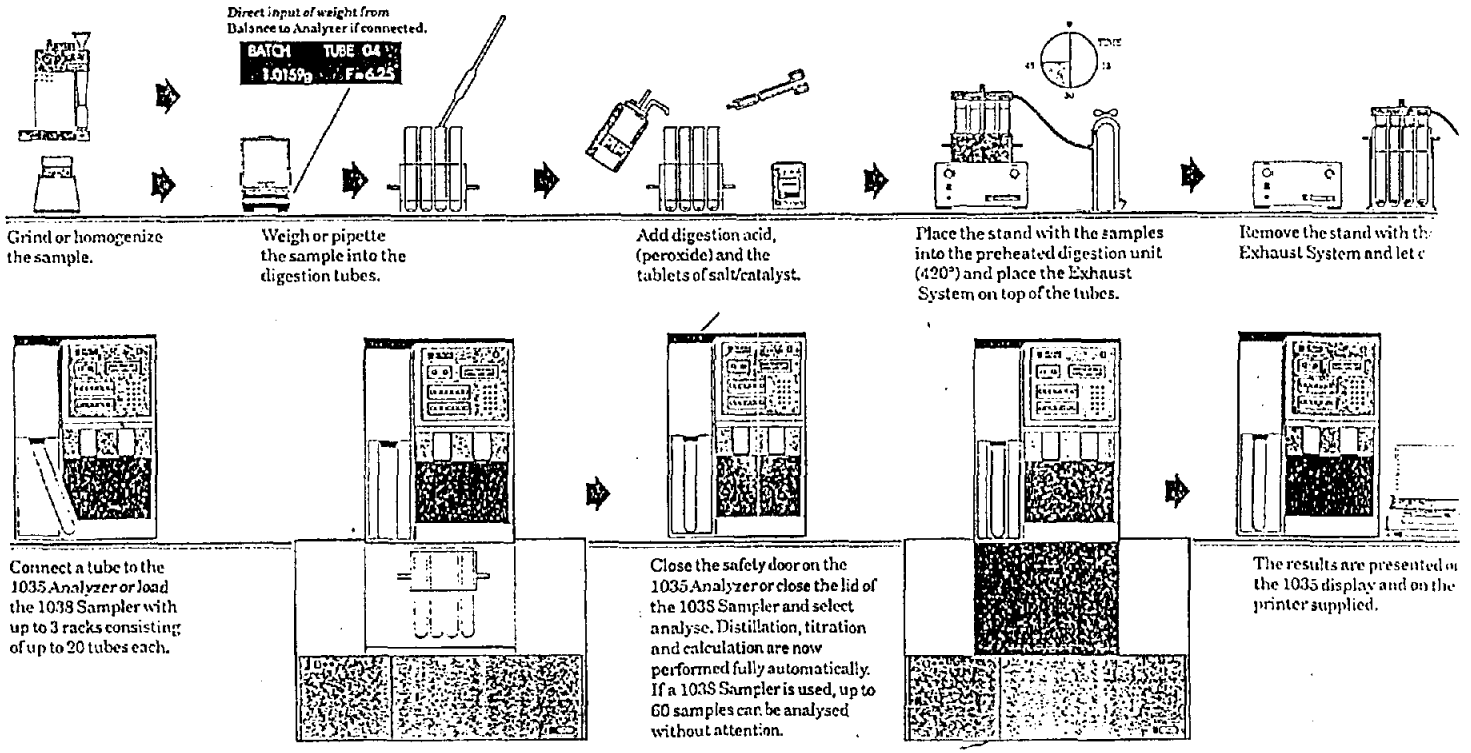
ตารางที่ 12 รายละเอียดตัวอย่าง (ต่อ)

ลำดับที่	หมายเลขปฏิบัติการ	รายละเอียดของตัวอย่าง
30	RF.649	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปรสซุปหัวหอมใส่หมู
31	RF.655	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปรสปลาไหลปรุงรส
32	RF.653	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปรสเนื้อใส่ผักกาดดอง
33	RF.651	บะหมี่กึ่งสำเร็จรูปรสหมูใส่ผักกาดอบแห้ง
34	RF.645	บะหมี่อบแห้งรสไก่ใส่เหล้า
35	RF.493	นูทรีไฟเบอร์รสช็อกโกแลตคาราเมล
36	RI.730	similac with iron
37	RG.182	นมถั่วเหลืองผง
38	RG.183	นมถั่วเหลืองผง
39	RG.181	นมถั่วเหลืองผง
40	RG.180	นมถั่วเหลืองผง
41	RJ.435	sweet whey powder
42	RG.720	สาหร่าย
43	RK.151	นมถั่วเหลืองผง
44	RK.150	นมถั่วเหลืองผง
45	RL.125	defatted palm residue
46	RG.717	สาหร่าย
47	RK.521	เครื่องดื่มรสวานิลลา
48	RK.522	เครื่องดื่มรสสตรอเบอร์รี
49	RG.716	สาหร่าย
50	RG.714	สาหร่าย
51	RG.715	สาหร่าย
52	RI.106	นมปรุงแต่งรสช็อกโกแลต
53	RI.625	supro plus 2600
54	RG.718	สาหร่าย
55	RK.860	protao - O3
56	RF.135	MG edible acid casein
57	RI.476	milk protein hydrolysate

Kjeldahl procedure

with Kjeltec Auto Sampler System

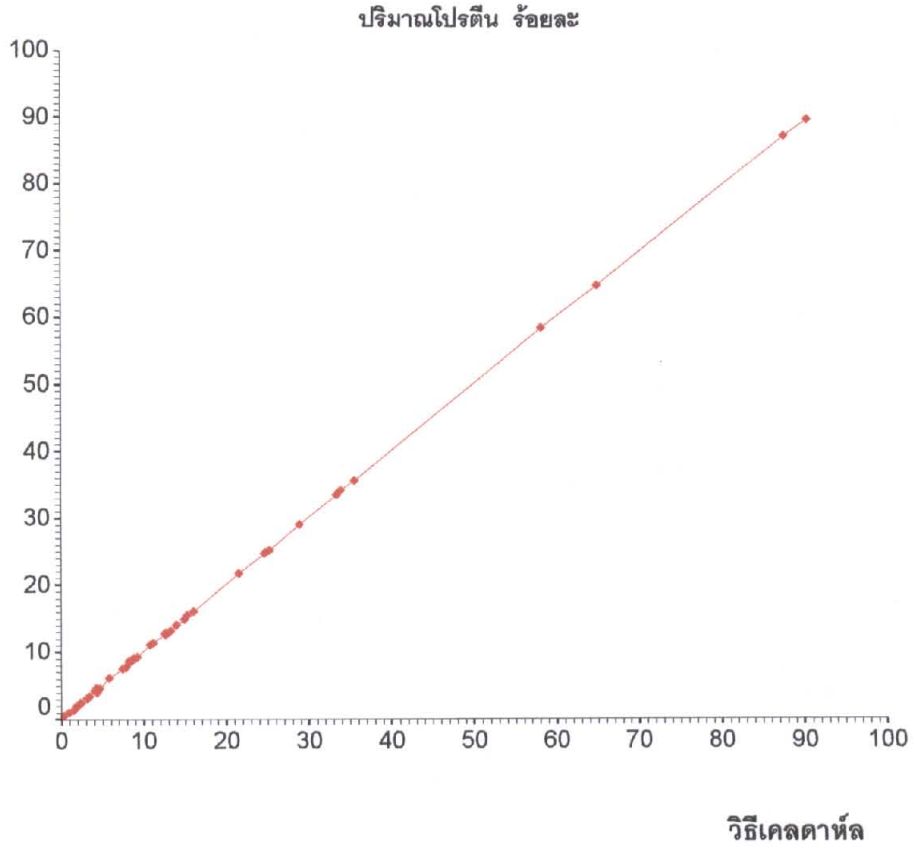
tecato



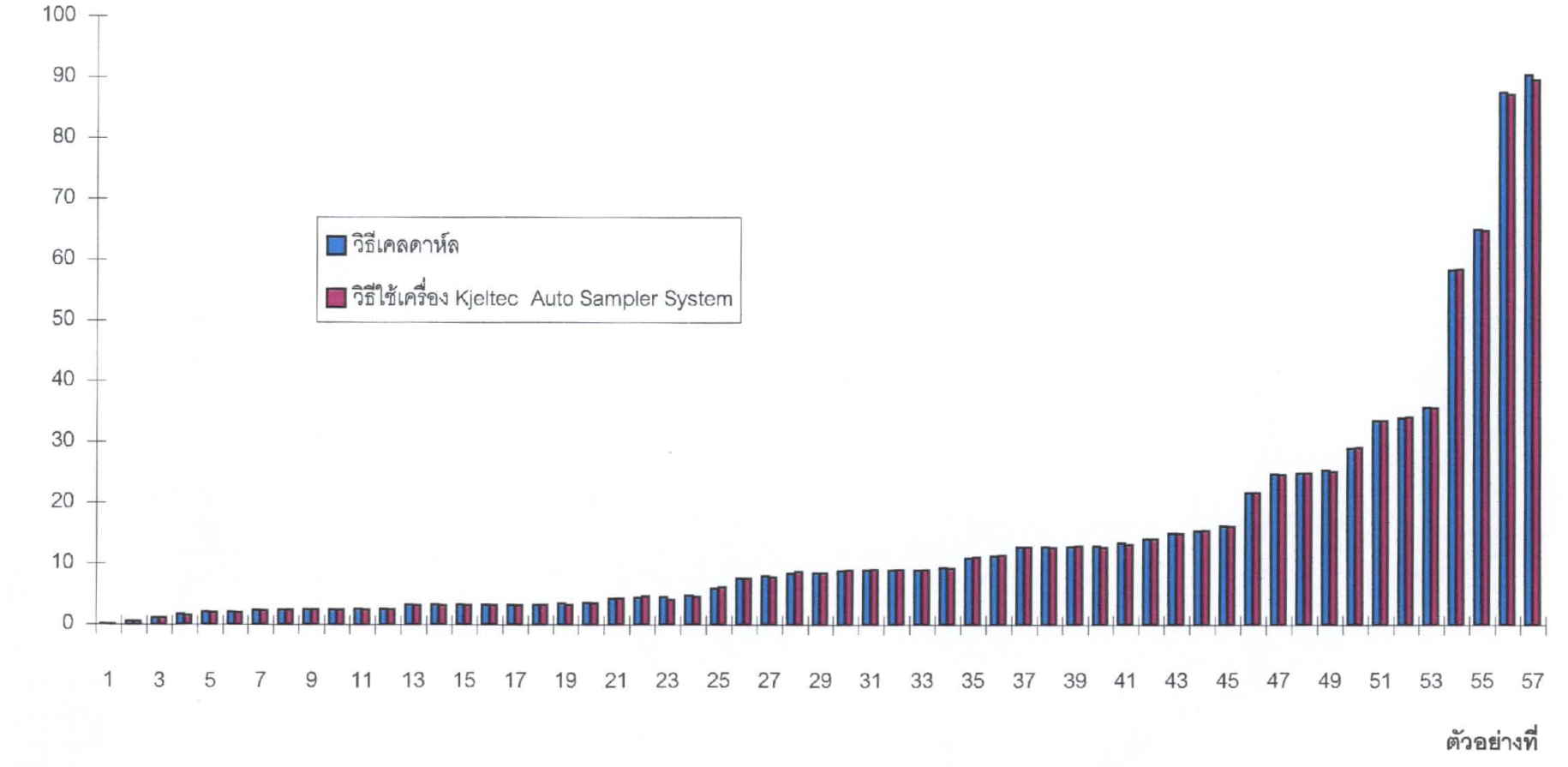
รูปที่ 1 เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System

วิธีใช้เครื่อง

Kjeltec Auto Sampler System



รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างผลวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธีเคลดาห์ลและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System



รูปที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์โดยวิธีเคลดาห์ลและวิธีใช้เครื่อง Kjeltec Auto Sampler System

ภาคผนวก 2

National Institute of Standards & Technology

Certificate of Analysis

Standard Reference Material 1548

Total Diet

This Standard Reference Material (SRM) is intended primarily for use in evaluating the reliability of analytical methods used for the determination of major, minor and trace constituent elements; proximate content of fat, ash, protein (Kjeldahl nitrogen) and caloric content (bomb calorimetry) in mixed diets and similar foods and biological materials. A unit of SRM 1548 consists of a homogeneous mixture of freeze-dried foods packaged in two separate bottles of approximately 6.5 grams each.

This SRM was prepared from excess foods obtained from the U.S. Food and Drug Administration's Total Diet Study (FDA-TDS). The FDA-TDS is an on-going program which collects foods in various regions of the United States in order to monitor the food supply for pesticides, toxicants and some nutrients[1]. The foods used to prepare SRM 1548 were proportioned such that the material is representative of the United States adult dietary intake[2].

Material Application:

Together with other SRMs and RMs issued by NIST, SRM 1548 is expected to be useful for improving the accuracy of measurements used in evaluating the role of nutrient constituents in health and disease. These measurements will also be used for establishing dietary requirements for nutrients, accumulating accurate base line concentration data, and generating composition data for nutrient and proximate constituents in foods and related materials.

WARNING: For laboratory analysis and "in vitro" use only. Not for human consumption.

Use and transport of this material must meet all U.S. regulatory requirements and guidelines. This material has been ^{60}Co radiation sterilized at a dose of 2.5-5.0 mrad to prevent bacterial growth.

Storage:

SRM 1548 should be stored in a refrigerator at a temperature between 2 and 8 °C in its original container, and tightly capped. It should not be exposed to intense direct light or ultraviolet radiation. Under recommended storage conditions, this SRM is expected to be stable for at least two years from the date of shipment from NIST. Should evidence indicate degradation, purchasers will be notified by NIST. Please return the attached registration card to facilitate notification.

Recommended Procedures for Use:

Allow bottle to come to room temperature before opening. Exposure of sample to air should be minimized and any unused portion stored in a sealed bottle as described under "Storage". Before each use, the contents of the bottle should be well mixed by gently shaking and rolling the container. The recommended minimum sample weight for this diet material is 500 milligrams. Residual moisture content should be determined on a separate sample for conversion of analytical results to a dry weight basis. The recommended drying method is freeze-drying. If freeze-drying is not available, vacuum drying at a temperature not to exceed approximately 25 °C for 24 hours will be adequate. Due to the high fat content of this material, excessive drying times and temperatures will lead to loss of volatile lipid components and an incorrect estimation of dry weight.

Gaithersburg, MD 20899
November 14, 1991
(Revision of certificate dated 9-28-90)

William P. Reed, Chief
Standard Reference Materials Program

(over)

Table 1. Certified Elemental Concentration and Uncertainty

Element	Certified Value[a]	Uncertainty[b]	Units	Analysts and Methods[d]
Nitrogen[c]	3.44	0.14	wt%	9,14,20,21,22
Chlorine	0.87	0.04	wt%	1,12
Sodium	0.625	0.026	wt%	2,17
Potassium	0.606	0.028	wt%	2,17
Phosphorus	0.324	0.004	wt%	3,19
Sulfur	0.258	0.026	wt%	1,11,12
Calcium	0.174	0.007	wt%	3,17
Magnesium	556	27	ug/g	3,17
Iron	32.6	3.6	ug/g	6,17
Zinc	30.8	1.1	ug/g	6,17
Manganese	5.2	0.4	ug/g	4,7,17
Copper	2.6	0.3	ug/g	4,7,17
Selenium	0.245	0.005	ug/g	6,18
Cadmium	0.028	0.004	ug/g	5,7,15,16

[a] The certified values are equally weighted means of results from at least two analytical techniques.
[b] Each uncertainty is obtained from a 95% prediction interval plus an allowance for systematic error. The resulting uncertainty limits will cover the concentration of approximately 95% of samples of this SRM having a minimum sample size of 0.5 gm.
[c] Kjeldahl Nitrogen Method
[d] Analysts and Methods listed in Table 3.

Table 2. Certified Values for Matrix Components, Cholesterol and Caloric Content

Constituent	Certified Value	Uncertainty	Units	Analysts and Methods[e]
Kjeldahl Nitrogen[a]	3.44	0.14	wt%	9,14,20,21,22
Fat[b]	20.6	2.0	wt%	14,20,21,22
Ash[b]	3.53	0.17	wt%	11,14,20,21,22
Dietary Fiber[c]	3.69	0.11	wt%	20,21
Caloric Content[d]	5.22	0.02	kcal/g	11

[a] Certified Values and Uncertainty for Kjeldahl Nitrogen reflect values in Table 1. The conventional average protein conversion factor of 6.25 may be used to give an estimate of protein content of 21.5 % in this material.
[b] Certified Values and Uncertainty for Fat, Ash and Fiber are means and prediction intervals determined similarly as in Table 1.
[c] AOAC Official Method of Analysis, 15th Ed (1990), Method Number 985.29.
[d] Values for caloric content were determined by a single definitive method.
[e] Analysts and Methods listed in Table 3.

Table 3. Analysts, Methods and Analytes

	Laboratory/Analyst(s)	Method(s)	Analyte(s)
NIST Center for Analytical Chemistry - Inorganic Analytical Research Division			
1.	L.A. Holland W.F. Koch	Ion Chromatography Oxygen Bomb Combustion	S, Cl
2.	L.J. Wood R.L. Watters M.S. Epstein L. Yu	Flame Emission Spectrometry	K, Na
3.	L.J. Wood R.L. Watters	Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy	Ca, Mg, P
4.	G.C. Turk H.M. Kingston C. Clements L.B. Jassie	Laser-Enhanced Ionization Spectroscopy Automated Chelation Separation	Cu, Mn,Ni
5.	K.W. Pratt	Anodic Stripping Voltametry	Cd, Pb
6.	R.R. Greenberg T.M. Sullivan	Instrumental Neutron Activation Analysis	Cr, Cs, Eu,Fe Rb, Se,Sn,Zn
7.	G.V. Iyengar	Radiochemical Neutron Activation Analysis	Cd, Cu, Mn,Mo
8.	R.G. Downing G.V. Iyengar W.B. Clarke(McMaster University)	Neutron Activation- Mass Spectrometry	B, Li
- Gas and Particulate Science Division			
9.	G.A. Sleater	Kjeldahl	Nitrogen
NIST, Center for Chemical Technology - Chemical Thermodynamics Division			
11.	J. C. Colbert E. Diaz	Bomb Calorimetry Gravimetry ASTM	Caloric Content, Sulfur Ash

Food and Drug Administration, Washington, D.C. - Center for Food Safety and Nutrition			
12.	D.L. Anderson	Neutron Capture Prompt Gamma Activation Analysis	B, S, Cl
13.	W. Cunningham	Instrumental Neutron Activation Analysis	Al
14.	J.T. Tanner M. Bueno G. Angyl C. Weaver E. Anderson	AOAC, AOAC, Muffle AOAC, Kjeldahl AOAC, Microbiological	Fat Ash Protein Vitamins
15.	S.C. Hight	Anodic Stripping Voltametry	Cd, Pb
Nuclear Research Center, KFA, Julich, FRG			
16.	M. Stoeppler	Anodic Stripping Voltametry	Cd, Pb
U.S. Department of Agriculture, Beltsville, MD - Nutrient Composition Laboratory			
17.	F.E. Greene N.J. Miller-Ihli	Flame Atomic Absorption Spectroscopy	Ca, Cu, Fe, K Mg, Mn, Na, Zn
- Vitamin and Mineral Nutrition Laboratory			
18.	N. Hardison K. Patterson C. Veillon	Isotope Dilution Mass Spectrometry	Se
19.	D. Hill E.R. Morris	Colorimetric	P
Wageningen Agricultural University, The Netherlands			
20.	P.v.d. Bovenkamp	AOAC, Kjeldahl Folch - CH_3Cl/CH_3OH Muffle 550 °C	Dietary Fiber N Fat Ash
RIKILT, Wageningen, The Netherlands			
21.	J. Labrijn	AOAC, Kjeldahl Weibull-Soxlet, Petroleum Ether Muffle 550 °C	Dietary Fiber N Fat Ash
Inspection Health Protection, Maastricht, The Netherlands			
22.	H. Roomans	Kjeldahl Weibull-Soxhlet, Petroleum Ether Muffle 550 °C	N Fat Ash