abst.

ข้อมูลข่าวสาร วศ.

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

วศ
กช
อว 33

# เอกสารผลงานที่เสนอประเมิน
## เพื่อแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ 7 ว

ของ

นางสาว ประทุม พุทธิวนิช
นักวิทยาศาสตร์ 6 ว

เรื่องที่ 1

## การศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในอาหาร

กลุ่มงานคุณค่าทางโภชนาการ
กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ กรมวิทยาศาสตร์บริการ
กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

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


## บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด(total dietary fibre)โดยวิธีเอนไซเมติก-กราวิเมตริก (enzymatic-gravimetric method) จะใช้อัลฟา-อะมิเลสที่ทนความร้อน(heat stable α-amylase)หรือเทอร์มามีล แอล 120 (termamyl L 120 ) โปรติเอส(protease) และอะมิโลกลูโคซิเดส(amyloglucosidase)เพื่อกำจัดแป้งและโปรตีน เติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ95 จำนวน 4 เท่าของปริมาตรของสารที่ย่อยแล้วเพื่อตกตะกอนใยอาหารที่ละลายได้(ความเข้มข้นรวมของเอทานอลคือร้อยละ 78 ) กรองแล้วล้างส่วนที่กรองได้ด้วยเอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 78 ทำให้แห้ง ชั่งน้ำหนัก วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและเถ้าของสิ่งที่กรองได้ รวมทั้งทำแบลงก์นำมาคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมดซึ่งเท่ากับ น้ำหนักส่วนที่กรองได้ลบด้วยปริมาณโปรตีนและเถ้าในสารที่เหลือจากการย่อย

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูปเพื่อหาความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ โดยทำการวิเคราะห์ทั้งสิ้น 15 ครั้ง แต่ละครั้งทำแบบสองซ้ำ ได้ค่าเฉลี่ย 15 ค่า มีค่าตั้งแต่ร้อยละ 8.68 ถึง 10.2 ค่าเฉลี่ยรวมเท่ากับ 9.40 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.50 และผลการประเมินทางสถิติของตัวอย่างสองกลุ่ม(duplicate A, B) ไม่มีความแตกต่างอย่างเป็นนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการวิเคราะห์สารอ้างอิงภายในถั่วเหลืองผง เพื่อหาความเที่ยงและความแม่นของวิธีวิเคราะห์ โดยทำการวิเคราะห์ทั้งสิ้น 8 ครั้ง แต่ละครั้งทำแบบสองซ้ำ ได้ค่าเฉลี่ย 8 ค่า มีค่าตั้งแต่ร้อยละ 13.0 ถึง 13.7 ค่าเฉลี่ยรวมเท่ากับ 13.4 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.24 และผลการประเมินทางสถิติของตัวอย่างสองกลุ่ม(duplicate A, B) ไม่มีความแตกต่างอย่างเป็นนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิเคราะห์สารอ้างอิงมาตรฐาน เอสอาร์เอ็ม 1548 โทเทิล ไดเอท ได้ค่าปริมาณใยอาหารทั้งหมด ร้อยละ 3.59 และ 3.76 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.68 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ เนื่องจากค่าที่ระบุไว้ในใบรับรองผลการวิเคราะห์ของสารอ้างอิงมาตรฐานนี้อยู่ระหว่าง 3.58 ถึง 3.80


เลขหมู่ ทช
ล633
เลขทะเบียน 10511
วันที่ 5 มี.ค. 45

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| สารบัญ | i |
| สารบัญตาราง | ii |
| สารบัญภาคผนวก | iii |
| บทนำ | 1 |
| คำนำ | 1 |
| วัตถุประสงค์ | 6 |
| ระยะเวลาดำเนินการ | 6 |
| ประโยชน์ที่ได้รับ | 6 |
| วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ และวิธีดำเนินการ | 7 |
| ตัวอย่างที่ใช้ | 7 |
| สารเคมีและวิธีเตรียม | 7 |
| วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ | 8 |
| วิธีดำเนินการ | 9 |
| รายละเอียดและวิธีวิเคราะห์ | 9 |
| ผลการศึกษาทดลอง | 13 |
| วิจารณ์และสรุปผลการศึกษาทดลอง | 17 |
| คำขอบคุณ | 18 |
| เอกสารอ้างอิง | 19 |
| ภาคผนวก | 21 |

# สารบัญตาราง


| | | หน้า |
|---|---|---|
| ตารางที่ 1 | ผลการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในตัวอย่างข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูป | 14 |
| ตารางที่ 2 | การประเมินค่าทางสถิติของผลวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในตัวอย่างข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูป | 14 |
| ตารางที่ 3 | ผลการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในสารอ้างอิงภายในถั่วเหลืองผง | 15 |
| ตารางที่ 4 | การประเมินค่าทางสถิติของผลวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในสารอ้างอิงภายในถั่วเหลืองผง | 15 |
| ตารางที่ 5 | ผลการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในสารอ้างอิงมาตรฐานเอสอาร์เอ็ม 1548 โทเทิล ไดเอท | 16 |

# สารบัญภาคผนวก


| | | หน้า |
|---|---|---|
| ภาคผนวก 1 | | |
| รูปที่ 1 | เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด | 21 |
| แผนภูมิที่ 1 | วิธีวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด | 22 |
| ตารางที่ 6 | รายละเอียดของตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาทดลอง | 23 |
| รูปที่ 2 | แผนภูมิควบคุมของการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในตัวอย่างข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูป | 24 |
| รูปที่ 3 | แผนภูมิควบคุมของการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในสารอ้างอิงภายในถั่วแหลืองผง | 25 |
| ภาคผนวก 2 | การกรองโดยเครื่องกรอง(filtration unit) ของไฟเบอร์เทค ซิสเต็ม อี | 26 |
| ภาคผนวก 3 | การใช้ถ้วยกรอง | 28 |
| ภาคผนวก 4 | การเก็บรักษาและการตรวจสอบประสิทธิภาพของเอนไซม์ | 29 |
| ภาคผนวก 5 | ใบรับรองผลการวิเคราะห์สารอ้างอิงมาตรฐานเอสอาร์เอ็ม 1548 โทเทิล ไดเอท | 32 |
| ภาคผนวก 6 | | |
| ภาคผนวก 6.1 | ใบบันทึกผลการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด | 36 |
| ภาคผนวก 6.2 | ใบบันทึกผลการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดแสดงสูตรการคำนวณสำเร็จรูปอัตโนมัติที่จัดทำไว้ในโปรแกรมคอมพิวเตอร์ | 37 |

# บทนำ

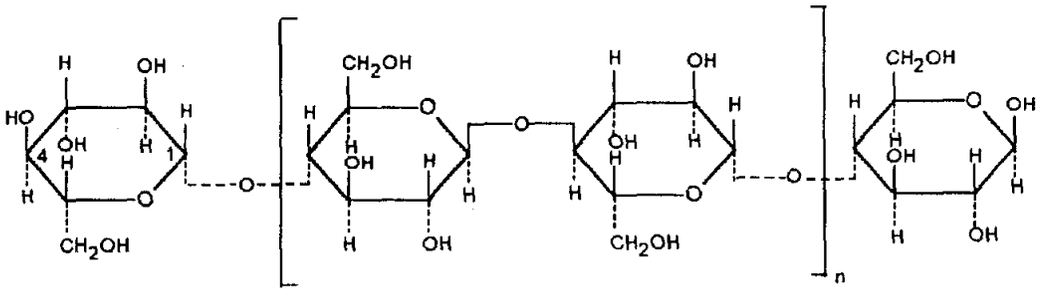
## คำนำ

**ใยอาหาร** หมายถึงส่วนของพืชที่ไม่สามารถย่อยได้โดยน้ำย่อยในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ ประกอบด้วยสารประกอบที่มีโมเลกุลใหญ่ และมีโครงสร้างซับซ้อน ผนังเซลล์พืชที่เป็นแหล่งสำคัญของใยอาหาร ประกอบด้วย เซลลูโลส ไซโลกลูแคน (xyloglucan) อะราบิโนกาแล็กแตน(arabinogalactan) และแรมโนกาแล็กทูโรแนน(rhamnogalacturonan) ซึ่งเกาะเกี่ยวกันด้วยพันธะเคมี ที่เรียกว่าพันธะไฮโดรเจน(hydrogen bond) และพันธะโควาเลนท์ (covalent bond) เมื่อทำการย่อยด้วยสารเคมี เช่น กรดและด่างทำให้เกิดปฏิกิริยารุนแรงทำให้มีผลต่อพันธะเคมีเหล่านี้ ทำให้ยากต่อการศึกษาโครงสร้างที่แท้จริง และสมบัติของใยอาหาร จากองค์ประกอบจะเห็นว่าใยอาหารประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์เป็นส่วนใหญ่ ทำให้ใยอาหารมีสมบัติเหมือนพอลิแซ็กคาไรด์ คือสามารถรวมกับน้ำได้ในปริมาณมาก ทำให้โครงสร้างที่อัดแน่นเกิดการกระจายตัว และสามารถแลกเปลี่ยนประจุไฟฟ้าได้ (cation exchange system) คือสามารถจับอิออนของโลหะบางตัว หรือโมเลกุลที่มีประจุไฟฟ้าได้ ทำให้สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดระดับคอเลสเทอรอล และขจัดพิษโลหะบางชนิดได้ เช่น สารหนู ปรอท แคดเมียม และตะกั่ว

<u>การจำแนกใยอาหารตามโครงสร้างทางเคมี</u> แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

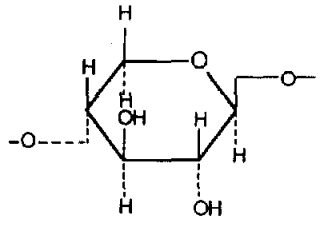
1. ใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ได้แก่

- เซลลูโลส เป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์ของพืช ประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคสเป็นจำนวนพันๆโมเลกุลคล้ายในแป้ง(starch) แต่ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์กระเพาะเดี่ยว

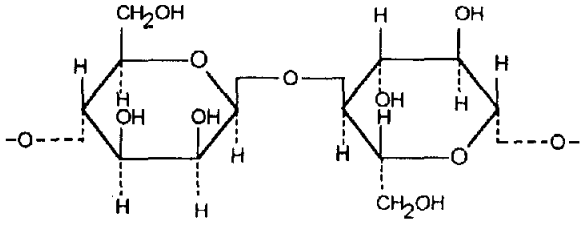


**สูตรโครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส**

- เฮมิเซลลูโลส เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของพืช ประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลเชิงเดี่ยว(monosaccharides)ชนิดต่างๆ ตั้งแต่สองชนิดขึ้นไปเป็นจำนวนร้อยๆโมเลกุล ที่มีสมบัติในการละลายเหมือนกัน คือ ละลายได้ในสารละลายด่าง น้ำตาลเชิงเดี่ยวนี้แบ่งได้เป็นสองชนิดคือ เพนโทแซนส์(pentosans) และเฮกโซแซนส์ที่ไม่ใช่เซลลูโลส (non-cellulose hexosans) น้ำตาลเชิงเดี่ยวที่พบมากในเฮมิเซลลูโลสคือ ดี-ไซแลนส์ (D-xylans) และ ดี-กลูโค-ดี-แมนแนนส์ (D-gluco-D-mannans) และมีไซด์เชนส์เป็นน้ำตาลเชิงเดี่ยวชนิดอื่นๆ เช่น แอล-อะราบิโนส (L-arabinose)



สูตรโครงสร้างทางเคมีของ ดี-ไซแลนส์



สูตรโครงสร้างทางเคมีของ ดี-กลูโค-ดี-แมนแนนส์

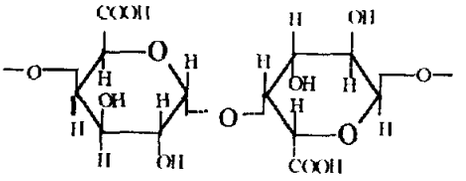
- ลิกนิน เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของแอลกอฮอล์ที่พืชผลิตเมื่อแก่ขึ้น ทำให้ส่วนต่างๆของพืชมีโครงสร้างที่แข็งแรง เช่น เปลือกนอกของธัญพืช ซึ่งจะถูกทำลายในกระบวนการขัดสี

2. ใยอาหารที่ละลายน้ำ

ใยอาหารชนิดนี้ ถึงแม้จะละลายน้ำได้แต่จะไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์กระเพาะเดี่ยวได้แก่

- กัม เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลของน้ำตาลจำนวนมากและในหมู่โมเลกุลน้ำตาลบางหมู่มีกลุ่มกรดยูโรนิค ไม่มีโครงสร้างทางเคมีที่แน่นอนสำหรับกัม และกัมบางชนิดก็ไม่ละลายน้ำ
- เพกทิน เป็นสารประกอบที่มีโมเลกุลของน้ำตาลจำนวนมากและในหมู่โมเลกุลของน้ำตาลบางหมู่มีกลุ่มเมทิลและกลุ่มกรดยูโรนิค เพกทินบางชนิดก็ไม่ละลายน้ำ ถ้ากลุ่มไฮดรอกซิลในกรดถูกแทนที่ด้วยกลุ่มเมทิล

สารประกอบเพกทินนั้นก็จะละลายได้ในสารละลายด่าง เพกทินพบมากในผนังเซลล์พืช ทำหน้าที่ยึดเซลล์ให้เชื่อมติดกัน



**สูตรโครงสร้างทางเคมีของ สารประกอบเพกทิน**

ในประเทศซีกโลกตะวันตก ได้มีการศึกษาเรื่องใยอาหารกันมากทั้งในด้านโภชนาการ โภชนบำบัด รวมทั้งวิธีวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารในอาหารชนิดต่างๆ ความตื่นตัวและการยอมรับความสำคัญของใยอาหารเป็นผลให้มีบทบัญญัติเกี่ยวกับใยอาหารใน Nutrition Labeling and Education Act (NLEA) ซึ่งเป็นกฎหมายอาหารของประเทศสหรัฐอเมริกา ที่ประกาศใช้ เมื่อวันที่ 6 มกราคม พ.ศ. 2536 กำหนดให้แสดงค่าใยอาหารในฉลาก โดยให้คำนิยามของ**ใยอาหาร**ว่า **เป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์และลิกนินที่ไม่ถูกย่อยด้วยน้ำย่อยในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์** นั่นคือ รวมถึง พอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้ง (non-starch polysaccharide หรือ NSP) แป้งที่ต้านทานต่อการย่อย (resistance starch) และลิกนิน และให้คำนิยามของ**ใยอาหารที่ละลายได้** (soluble dietary fibre หรือ SDF)ว่า **หมายถึงส่วนของใยอาหารที่ละลายได้ในสารละลายบัฟเฟอร์ร้อนตามวิธีวิเคราะห์แบบเอนไซเมติก-กราวิเมตริก** (enzymatic-gravimetric method) **ใยอาหารที่ไม่ละลาย** (insoluble dietary fibre หรือ IDF) **หมายถึงส่วนของใยอาหารที่ไม่ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ร้อนที่กล่าวมาแล้ว ส่วนใยอาหารทั้งหมด** (total dietary fibre หรือ TDF )**หมายถึงผลรวมของใยอาหารที่ละลายได้และใยอาหารที่ไม่ละลาย**

ข้อกำหนดของ NLEA เกี่ยวกับฉลากแสดงปริมาณใยอาหารของ NLEA กล่าวโดยสรุปได้ดังนี้

- ต้องแจ้งปริมาณของใยอาหารทั้งหมด มีหน่วยเป็นกรัมต่อการบริโภค 1 ครั้ง

กรณีที่ปริมาณของใยอาหารทั้งหมดมีน้อยกว่า 1 กรัมต่อการบริโภค 1 ครั้ง ไม่จำเป็นต้องแจ้งที่ฉลาก หรืออาจแจ้งโดยใช้ข้อความว่า "น้อยกว่า 1 กรัม" หากมีน้อยกว่า 0.5 กรัม

- อาจแจ้งว่า "0" และถ้าไม่มีเลยให้ใช้ข้อความว่า "ไม่ใช่แหล่งของใยอาหาร" (not a significant source of dietary fibre)
- สำหรับการแจ้งปริมาณใยอาหารที่ละลายได้ และปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลาย ให้เป็นไปตามความสมัครใจ แต่ถ้ามีการระบุที่ฉลากต้องแจ้งปริมาณด้วย โดยที่ถ้ามีน้อยกว่า 1 กรัมต่อการบริโภค 1 ครั้ง อาจแจ้งโดยใช้ข้อความว่า "น้อยกว่า 1 กรัม" และหากมีน้อยกว่า 0.5 กรัม อาจแจ้งว่า "0"

วิธีวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารได้รับการพัฒนามาอย่างต่อเนื่อง และยังต้องมีการพัฒนาอีกต่อไป เนื่องจากการวิเคราะห์โดยวิธีใดวิธีหนึ่งไม่สามารถให้ผลการวิเคราะห์ที่ตอบสนองวัตถุประสงค์ต่างๆได้ทั้งหมด ดังนั้นการเลือกใช้วิธีวิเคราะห์จะขึ้นอยู่กับความต้องการของนักเคมีแต่ละคน นักเคมีต้องเป็นผู้ประเมินวิธีวิเคราะห์ที่จะใช้โดยดูจากวิธีที่เลือกนั้นสามารถให้ข้อมูลที่ตนสนใจได้หรือไม่ ความแม่น(accuracy) ความเที่ยง (precision) ประสิทธิภาพ ค่าใช้จ่าย บุคลากร รวมทั้งพิจารณาจากข้อกำหนดต่างๆของกฎหมายอาหารด้วย

ปัจจุบันวิธีวิเคราะห์ใยอาหารมี 3 วิธีคือ

1. วิธีเอนไซเมติก-กราวิเมตริก(enzymatic-gravimetric method)

เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ใช้เอนไซม์ในการย่อยตัวอย่าง แล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เหลือจากการย่อย โดยนำค่าแบลงก์ ปริมาณโปรตีน และปริมาณเถ้าของสิ่งที่เหลือจากการย่อยมาใช้ในการคำนวณปริมาณใยอาหาร

2. วิธีนอนเอนไซเมติก-กราวิเมตริก (nonenzymatic-gravimetric method)

เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ใช้สารละลายเคมีในการย่อย แล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เหลือจากการย่อย

3. วิธีเอนไซเมติก-เคมิคัล (enzymatic-chemical method)

เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ใช้เอนไซม์ในการย่อยตัวอย่าง แล้ววิเคราะห์สิ่งที่เหลือโดยวิธีเคมี คือย่อยพอลิแซ็กคาไรด์นั้นด้วยกรดอีกครั้งได้เป็นน้ำตาลเชิงเดี่ยว และวิเคราะห์น้ำตาลโดยแก๊สลิควิดโครมาโตกราฟฟี (gas liquid chromatography หรือ

GLC) หรือ โดยไฮ-เพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟฟี (high-performance liquid chromatography หรือ HPLC) ส่วนกรดยูโรนิควิเคราะห์โดยใช้วิธีวัดสี (colorimetric method)

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และกระทรวงเกษตร ของประเทศสหรัฐอเมริกา ผู้ประกาศใช้กฎหมาย NLEA ให้ใช้วิธีวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารแบบวิธีเอนไซเมติก-กราวิเมตริก ของ เอโอเอซี ( Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, AOAC) โดยให้เหตุผลว่าเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการวิเคราะห์ที่เป็นงานประจำ เพื่อใช้ผลการวิเคราะห์นั้นแสดงคุณค่าทางโภชนาการที่ฉลาก และการวิจัยเกี่ยวกับการควบคุมคุณภาพ

ความจำเป็นที่ต้องทำการศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด เป็นเพราะกองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ กรมวิทยาศาสตร์บริการมีวัตถุประสงค์ที่จะให้บริการการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในอาหารประเภทต่างๆ เนื่องจากปัจจุบันมีการตื่นตัวกันมากในเรื่องโภชนบำบัด มีงานวิจัยทางระบาดวิทยาเกี่ยวกับความสำคัญของใยอาหารต่อสุขภาพ ซึ่งบางประเทศได้มีข้อกำหนดเกี่ยวกับใยอาหารในมาตรฐานอาหารต่างๆ และบางประเทศเช่นประเทศสหรัฐอเมริกาได้ประกาศใช้เป็นกฎหมายกำหนดให้แสดงค่าใยอาหารในฉลาก กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพจึงเห็นเป็นความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องศึกษาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารเพื่อให้บริการแก่ผู้ผลิตอาหารส่งออกจะได้ปฏิบัติตามข้อกำหนดของประเทศต่างๆ ได้ โดยมีข้อมูลดังกล่าวไปแสดงต่อลูกค้าต่างประเทศ ซึ่งเป็นการส่งเสริมการส่งออกอีกทางหนึ่ง และเพื่อจัดทำการศึกษาปริมาณใยอาหารในอาหารชนิดต่างๆต่อไปเพื่อเป็นข้อมูลแก่ผู้บริโภคภายในประเทศ ทำให้สามารถเลือกรับประทานอาหารที่มีใยอาหารได้อย่างเหมาะสมตามความต้องการ ไม่ต้องซื้ออาหารสุขภาพจากต่างประเทศที่มีราคาแพงมารับประทาน เพราะในประเทศไทยมีผักและผลไม้ซึ่งเป็นแหล่งสำคัญของใยอาหารให้บริโภคได้ตลอดปี

วิธีวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารที่ได้รับการรับรองเป็นมาตรฐานแล้วมีหลายวิธี มีทั้งการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดโดยตรง และจากการคำนวณจากผลบวกของปริมาณใยอาหารที่ละลาย กับปริมาณใยอาหารที่ไม่ละลาย เอโอเอซี ได้ทำการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการระหว่างประเทศของวิธีวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารหลายครั้ง ซึ่งผลเป็นที่พอใจและยอมรับวิธีวิเคราะห์แบบเอนไซเมติก-กราวิ

เมตริกในปี ค.ศ.1986 และมีการปรับปรุงในปี ค.ศ. 1988 ในที่สุดการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดของเอโอเอซี ก็เป็นที่ยอมรับของหน่วยงานรัฐบาลในหลายประเทศ เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกา แคนาดา ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น สวิตเซอร์แลนด์ เยอรมนี และประเทศกลุ่มนอร์ดิค

ในปี ค.ศ. 1995 เอโอเอซีฉบับปัจจุบันก็ยังคงวิธีเดิมคือ ใช้ตัวอย่างที่ทำให้แห้งแล้ว ( กำจัดไขมันออกถ้าตัวอย่างมีไขมันเกินร้อยละ 10 ) ที่ละ 1 กรัม 2 ที่ นำมาย่อยด้วยอัลฟา-อะมิเลส ที่ทนความร้อน โปรติเอส และอะมิโลกลูโคซิเดส เพื่อกำจัดแป้งและโปรตีน เติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 4 เท่าของปริมาตรของสารที่ย่อยแล้ว เพื่อตกตะกอนใยอาหารที่ละลายได้ กรองและล้างส่วนที่กรองได้ด้วยเอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 78 ทำให้แห้ง ชั่งน้ำหนัก แล้ววิเคราะห์ปริมาณโปรตีน และเถ้าของสิ่งที่กรองได้ รวมทั้งทำแบลงก์ เพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมด ซึ่งเท่ากับ น้ำหนักส่วนที่กรองได้ ลบด้วยปริมาณโปรตีนและเถ้าในสารที่เหลือจากการย่อย

**วัตถุประสงค์**

1. เพื่อศึกษาการวิเคราะห์ใยอาหารทั้งหมดโดยวิธีเอนไซเมติก-กราวิเมตริก
2. เพื่อจัดทำแผนภูมิควบคุมของการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดโดยใช้ตัวอย่างข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูป
3. เพื่อจัดทำแผนภูมิควบคุมของการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดโดยใช้สารอ้างอิงภายในถั่วเหลืองผง

**ระยะเวลาดำเนินการ**

2 ปี (พ.ศ. 2538 - 2539)

**ประโยชน์ที่ได้รับ**

1. เพื่อเพิ่มขีดความสามารถของกรมวิทยาศาสตร์บริการในด้านการให้บริการวิเคราะห์ทดสอบแก่ผู้ผลิตและผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์อาหาร เพราะได้วิธีวิเคราะห์ใยอาหารทั้งหมดที่มีความถูกต้องแม่นยำ และเหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการทั่วไป
2. เป็นการส่งเสริมการส่งออก เนื่องจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ประเทศไทย ยังไม่มีข้อกำหนดเกี่ยวกับการแสดงฉลากของใยอาหาร ในขณะที่ประเทศทางซีกโลกตะวันตกบาง

ประเทศได้มีข้อกำหนดเกี่ยวกับใยอาหารในมาตรฐานอาหารต่างๆแล้ว ผู้ผลิตอาหารเพื่อส่งออกจะได้มีข้อมูลไปแสดงต่อลูกค้าต่างประเทศได้

3. ใช้ในการคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรตตามวิธีที่กำหนดในมาตรฐานของเอฟเอโอ/ดับลิวเอชโอ (โคเดกซ์)

## วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือ และวิธีดำเนินการ

**ตัวอย่างที่ใช้**

เป็นอาหารต่างๆ จำนวน 3 ตัวอย่าง ดังนี้

1. ข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูป
2. สารอ้างอิงภายในถั่วเหลืองผง จากสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล
3. สารอ้างอิงมาตรฐาน เอสอาร์เอ็ม 1548 โทเทิล ไดเอท (SRM1548 total diet) จาก National Institute of Standards & Technology (NIST) ประเทศสหรัฐอเมริกา

**สารเคมีและวิธีเตรียม**

1. เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95
2. เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 78

   เจือจางเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ด้วยน้ำ โดยใช้น้ำ 1 ส่วนปริมาตรต่อเอทานอล 4 ส่วนปริมาตร
3. อะซีโตน
4. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.08 โมลาร์ มีความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 (pH 6.0)

   ละลายโซเดียมฟอสเฟต ไดเบสิก แอนไฮดรัส 1.400 กรัม (หรือ โซเดียม ฟอสเฟต ไดเบสิก ไดไฮเดรท 1.753 กรัม) และ โซเดียม ฟอสเฟต โมโนเบสิก โมโนไฮเดรท 9.68 กรัม (หรือ โซเดียม ฟอสเฟต โมโนเบสิก ไดไฮเดรท 10.94 กรัม ) ด้วยน้ำและปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ตรวจสอบความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง และปรับความเป็นกรด-ด่างให้ได้ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0
5. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.275 นอร์มัล

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 11.00 กรัม ด้วยน้ำและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ตรวจสอบความเข้มข้นของสารละลาย โดยการไทเทรตกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน โดยใช้ฟีนอลทาลีนเป็นอินดิเกเตอร์

6. กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.325 นอร์มัล

ตวงกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้น 1 นอร์มัล จำนวน 327 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำให้เป็น 1 ลิตร แล้วตรวจสอบความเข้มข้นโดยไทเทรตกับโพแทสเซียม แอสิด พทาเลตที่รู้น้ำหนักแน่นอน และใช้ฟีนอลทาลีนเป็นอินดิเกเตอร์

7. อัลฟา-อะมิเลส ที่ทนความร้อน หรือ สารละลายเทอร์มามิล แอล 120
8. โปรติเอส ซิกมา พี 5380
9. สารละลายโปรติเอส

ละลายโปรติเอส ซิกมาพี 5380 จำนวน 50 มิลลิกรัม ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จำนวน 1 มิลลิลิตร (เตรียมทันทีก่อนใช้)

10. อะมิโลกลูโคซิเดส ซิกมา เอ 9268
11. บัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4 pH 7 pH 10 สำหรับวัดความเป็นกรด-ด่าง
12. ซีไลท์ 545

**วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ**

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า ชั่งได้ละเอียด 0.1 มิลลิกรัม
2. เครื่องบดตัวอย่าง Knifetec
3. อ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้ 1024 Shaking Water Bath
4. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ORION 710 A
5. เครื่องวิเคราะห์หาใยอาหาร Fibertec System E พร้อมอุปกรณ์ได้แก่ขวดสำหรับย่อยตัวอย่าง(incubation flask)และถ้วยกรอง(filtration crucible)
6. เครื่องวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน/โปรตีน Kjeltec Auto Sampler System
7. เตาเผาไฟฟ้าที่ปรับและควบคุมอุณหภูมิได้
8. เครื่องเตรียมตัวอย่างให้แห้งที่จุดเยือกแข็ง Freeze Dryer FD-1 EYELA
9. เครื่องสกัดไขมันโกลด์ฟิช
10. เครื่องแก้ว

10.1 ไมโครปิเปต ขนาด 100 และ 300 ไมโครลิตร

10.2 ขวดแก้วปริมาตร ขนาด 1 ลิตร

10.3 บีเกอร์ ขนาด 50 และ 400 มิลลิลิตร

**วิธีดำเนินการ**

1. ทดสอบความความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์ จากการทดลองทำซ้ำแบบสองซ้ำในคราวเดียวกัน (duplicate) และทำการทดลองซ้ำแบบหลายครั้งในช่วงเวลาต่างกัน (repeat) และประเมินค่าการยอมรับทางสถิติด้วย t test โดยใช้ข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูปจำนวน 1 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ส่งมาวิเคราะห์รายการอื่นๆที่กลุ่มงานคุณค่าทางโภชนาการ
2. ทดสอบความแม่น (accuracy) และความความเที่ยง (precision) ของวิธีวิเคราะห์ จากการทดลองทำซ้ำแบบสองซ้ำในคราวเดียวกันและทำการทดลองซ้ำแบบหลายครั้งในช่วงเวลาที่ต่างกัน แล้วประเมินค่าการยอมรับทางสถิติด้วย t test โดยใช้สารอ้างอิงภายใน(in-house reference material) คือ ถั่วเหลืองผง จากศูนย์วิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล
3. ทดสอบความแม่น ( accuracy ) ของวิธีวิเคราะห์ จากการทดลองทำซ้ำแบบสองซ้ำในคราวเดียวกันโดยใช้สารอ้างอิงมาตรฐาน ( standard reference material ) คือ เอสอาร์เอ็ม 1548 โทเทิลไดเอท ( SRM 1548 total diet ) เป็นสารมาตรฐานที่ซื้อจาก National Institute of Standards & Technology (NIST) ประเทศสหรัฐอเมริกา ประเมินค่าการยอมรับจากผลที่แท้จริง (true value)ที่ระบุไว้ในใบรับรองผลการวิเคราะห์ของสาร

**รายละเอียดและวิธีวิเคราะห์**

**1. การเตรียมตัวอย่าง**

1.1 ตัวอย่างข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูป

1.1.1 กำจัดความชื้นโดยการอบและสกัดไขมันออกโดยแช่ตัวอย่างในปิโตรเลียมอีเทอร์ตั้งไว้ค้างคืน กรอง และทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง

1.1.2 บดด้วยเครื่องบด แร่งผ่านตะแกรงเพื่อให้ได้ขนาดตัวอย่างผ่านตะแกรงที่มีขนาด 0.3 - 0.5 มิลลิเมตร

1.2 สารอ้างอิงภายในถั่วเหลืองผง

1.2.1 วิเคราะห์หาความชื้นและไขมัน เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมดในตัวอย่างเริ่มต้น

1.2.2 กำจัดความชื้นโดยการอบและสกัดไขมันออกโดยวิธีสกัดโดยตรงด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์

1.3 สารอ้างอิงมาตรฐาน เอสอาร์เอ็ม 1548 โทเทิลไดเอท

1.3.1 นำส่วนหนึ่งมาวิเคราะห์หาความชื้นและไขมัน เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณใยอาหารทั้งหมดในตัวอย่างเริ่มต้น

1.3.2 นำอีกส่วนหนึ่งมากำจัดความชื้นโดยใช้ตู้อบสุญญากาศและสกัดไขมันออกโดยวิธีสกัดโดยตรงด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์

**2. การหาปริมาณใยอาหารทั้งหมด**

2.1 ชั่งตัวอย่างในข้อ 1 ที่แห้งและปราศจากไขมันใส่ในขวดย่อย 2 ขวด (duplicate) ขวดละ 1 กรัม ให้น้ำหนักละเอียดถึง0.1 มิลลิกรัม น้ำหนักตัวอย่าง2 ขวดนี้ ต่างกันได้ไม่เกิน 20 มิลลิกรัม และทำแบลงก์ 2 ขวด โดยทำการทดลองเช่นเดียวกับตัวอย่างแต่ไม่มีตัวอย่าง

2.2 เติม ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 50 มิลลิลิตร

2.3 ตรวจสอบความเป็นกรด-ด่างและปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ระหว่าง 6.0 ± 0.2

2.4 เติมอัลฟา-อะมิเลส ที่ทนความร้อน หรือ สารละลายเทอร์มามิล แอล 120 จำนวน 0.1 มิลลิลิตร

2.5 ปิดปากขวดด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์

2.6 บ่มเป็นเวลา 30 นาที โดยจุ่มในเครื่องอังน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 95 - 100 $^{o}$ซ พร้อมทั้งเขย่าขวดเบาๆ โดยปรับตั้งปุ่มบังคับการเขย่าอัตโนมัติ

2.7 นำมาตั้งให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง ปรับความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ที่ 7.5 ± 0.2 โดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.275 นอร์มัล จำนวน 10 มิลลิลิตร

2.8 เติมสารละลายโปรติเอส จำนวน 0.1 มิลลิลิตร

2.9 ปิดปากขวดด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ และนำไปบ่มเป็นเวลา 30 นาที โดยบ่มในเครื่องอังน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60°ซ พร้อมทั้งเขย่าขวดเบาๆ โดยปรับตั้งปุ่มบังคับการเขย่าอัตโนมัติ

2.10 นำมาตั้งให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง ปรับความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ที่ 4.3 ± 0.3 โดยเติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.325 นอร์มัล จำนวน 10 มิลลิลิตร

2.11 เติมอะมิโลกลูโคซิเดส จำนวน 0.3 มิลลิลิตร

2.12 ปิดปากขวดด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ และนำไปบ่มเป็นเวลา 30 นาที ในเครื่องอังน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60°ซ พร้อมทั้งเขย่าขวดเบาๆ โดยปรับตั้งปุ่มบังคับการเขย่าอัตโนมัติ

2.13 เติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 280 มิลลิลิตร ที่ร้อน 60°ซ (ตวงปริมาตรก่อนนำไปทำให้ร้อน)

2.14 ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง

2.15 กรองด้วยถ้วยกรอง(บรรจุซีไลท์ 0.5 กรัม) ที่อบและชั่งน้ำหนักแล้ว (ดูการกรองที่ภาคผนวก 2 )

2.16 ล้างตะกอนด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 78 จำนวน 20 มิลลิลิตร 3 ครั้ง และเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 จำนวน 10 มิลลิลิตร 3 ครั้ง

2.17 ล้างด้วยอะซีโตนจำนวน 10 มิลลิลิตร 2 ครั้ง

2.18 นำไปอบ 100°ซ นาน 5 ชั่วโมง ทำให้เย็นในเดสิกเกเตอร์ ชั่งน้ำหนักตะกอนที่ได้

2.19 นำตะกอนที่กรองได้ของขวดใบที่หนึ่งไปวิเคราะห์โปรตีนโดยใช้แฟคเตอร์ 6.25 ในการคำนวณ

2.20 นำตะกอนที่กรองได้ของขวดใบที่สองไปวิเคราะห์เถ้า โดยเผาที่อุณหภูมิ 525°ซ นาน 5 ชั่วโมง (ดูภาคผนวก 3 )

**3. การคำนวณ**

3.1 การคำนวณค่าแบลงก์

$$B = \frac{(r_1 + r_2)}{2}\left(1 - \frac{p}{100}\right) - a$$

B = ค่าแบลงก์เป็นมิลลิกรัม

$r_1$ = ปริมาณตะกอนของแบลงก์ขวดที่หนึ่ง เป็นมิลลิกรัม

$r_2$ = ปริมาณตะกอนของแบลงก์ขวดที่สอง เป็นมิลลิกรัม

p = ปริมาณโปรตีนของตะกอนของแบลงก์ขวดที่หนึ่ง เป็นร้อยละ

a = ปริมาณเถ้าของตะกอนของแบลงก์ขวดที่สอง เป็นมิลลิกรัม

3.2 การคำนวณปริมาณใยอาหารทั้งหมด

$$\%TDF = \left[\frac{(R_1+R_2)}{2} - P - A - B\right]\frac{100}{w}$$

TDF = ปริมาณใยอาหารทั้งหมดเป็นร้อยละของตัวอย่างที่แห้งและปราศจากไขมัน

B = ค่าแบลงก์เป็นมิลลิกรัม

$R_1$ = ปริมาณตะกอนของตัวอย่างขวดที่หนึ่ง เป็นมิลลิกรัม

$R_2$ = ปริมาณตะกอนของตัวอย่างขวดที่สอง เป็นมิลลิกรัม

P = ปริมาณโปรตีนของตะกอนของตัวอย่างขวดที่หนึ่ง เป็นมิลลิกรัม

A = ปริมาณเถ้าของตะกอนของตัวอย่างขวดที่สอง เป็นมิลลิกรัม

w = น้ำหนักของตัวอย่างที่แห้งและปราศจากไขมัน เฉลี่ยจากน้ำหนักตัวอย่างของขวดที่หนึ่งและขวดที่สอง เป็นมิลลิกรัม

## ผลการศึกษาทดลอง

จากผลการทดสอบหาค่าความเที่ยงโดยการทดลองทำซ้ำแบบสองซ้ำ 15 ครั้ง ในช่วงเวลาที่ต่างกันในตัวอย่างข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูป แล้วคำนวณค่าเฉลี่ย 15 ค่า พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณใยอาหารทั้งหมดของตัวอย่างข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูป อยู่ในช่วง 8.68 ถึง 10.2 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 9.40 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.50 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 และจากการประเมินค่าการยอมรับด้วย t test โดยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป Data Analysis ค่า t อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2

ส่วนแผนภูมิควบคุมของการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในตัวอย่างข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูปสร้างโดยนำค่าเฉลี่ยจำนวน 15 ค่า จากตารางที่ 1 มาเขียนกราฟดังแสดงไว้ในรูปที่ 2

จากผลการทดสอบหาค่าความเที่ยงและค่าความแม่นโดยการทดลองทำซ้ำแบบสองซ้ำ 8 ครั้ง ในช่วงเวลาที่ต่างกันในสารอ้างอิงภายในถั่วเหลืองผง พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณใยอาหารทั้งหมดของสารอ้างอิงภายในถั่วเหลืองผง อยู่ในช่วง 13.0 ถึง 13.7 ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 13.4 ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.24 ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3 และจากการประเมินค่าการยอมรับด้วย t test โดยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป Data Analysis ค่า t อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4

ส่วนแผนภูมิควบคุมของการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในสารอ้างอิงภายในถั่วเหลืองผง สร้างโดยนำค่าเฉลี่ยจำนวน 8 ค่า จากตารางที่ 3 มาเขียนกราฟดังแสดงไว้ในรูปที่ 3

จากการวิเคราะห์สารอ้างอิงมาตรฐาน เอสอาร์เอ็ม 1548 โทเทิล ไดเอท (standard reference material SRM 1548 total diet) ของ NIST ได้ปริมาณใยอาหารทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 3.76 ( ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5 ) ซึ่งจากใบรับรองผลการวิเคราะห์ ( ดังแสดงไว้ในภาคผนวก 5 ) ระบุค่าเท่ากับร้อยละ $3.69 \pm 0.11$ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์และความสามารถในการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

**ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในตัวอย่างข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูป**

| ครั้งที่ | ใยอาหารทั้งหมดของตัวอย่างที่ปราศจากไขมันและความชื้น ร้อยละ | | |
|---|---|---|---|
| | A | B | ค่าเฉลี่ย |
| 1 | 9.45 | 9.86 | 9.66 |
| 2 | 8.90 | 8.78 | 8.84 |
| 3 | 10.2 | 9.67 | 9.94 |
| 4 | 9.27 | 9.05 | 9.16 |
| 5 | 9.50 | 9.59 | 9.55 |
| 6 | 9.81 | 9.61 | 9.71 |
| 7 | 9.00 | 8.69 | 8.85 |
| 8 | 8.67 | 9.14 | 8.91 |
| 9 | 8.44 | 8.91 | 8.68 |
| 10 | 9.44 | 10.1 | 9.77 |
| 11 | 9.81 | 9.62 | 9.72 |
| 12 | 10.1 | 10.2 | 10.2 |
| 13 | 8.93 | 9.42 | 9.18 |
| 14 | 8.87 | 8.88 | 8.88 |
| 15 | 10.0 | 10.2 | 10.1 |
| | | mean | 9.40 |
| | | SD (standard deviation) | 0.50 |

**ตารางที่ 2 การประเมินค่าทางสถิติของผลการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในตัวอย่างข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูป**

t-Test: Paired Two Sample for Means

| | A | B |
|---|---|---|
| Mean | 9.359333333 | 9.448 |
| Variance | 0.299906667 | 0.267002857 |
| Observations | 15 | 15 |
| Pearson Correlation | 0.781360839 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0 | |
| df | 14 | |
| t Stat | -0.973585755 | |
| P(T<=t) one-tail | 0.173392435 | |
| t Critical one-tail | 1.761309225 | |
| P(T<=t) two-tail | 0.346784811 | |
| t Critical two-tail | 2.144788596 | |

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในสารอ้างอิงภายในถั่วเหลืองผง

| ครั้งที่ | ใยอาหารทั้งหมด ร้อยละ | | |
|---|---|---|---|
| | A | B | ค่าเฉลี่ย |
| 1 | 13.4 | 13.9 | 13.65 |
| 2 | 12.8 | 14.1 | 13.45 |
| 3 | 13.4 | 12.7 | 13.05 |
| 4 | 13.8 | 13.6 | 13.7 |
| 5 | 13.3 | 13.1 | 13.2 |
| 6 | 13.3 | 13.3 | 13.3 |
| 7 | 13.5 | 13.9 | 13.7 |
| 8 | 12.8 | 14.1 | 13.45 |
| | | mean | 13.4 |
| | | SD (standard deviation) | 0.24 |

ตารางที่ 4 การประเมินค่าทางสถิติของผลการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด ในสารอ้างอิงภายในถั่วเหลืองผง

t-Test: Paired Two Sample for Means

| | A | B |
|---|---|---|
| Mean | 13.2875 | 13.5875 |
| Variance | 0.116535714 | 0.26125 |
| Observations | 8 | 8 |
| Pearson Correlation | -0.412164012 | |
| Hypothesized Mean Difference | 0 | |
| df | 7 | |
| t Stat | -1.176696811 | |
| P(T<=t) one-tail | 0.138887592 | |
| t Critical one-tail | 1.894577508 | |
| P(T<=t) two-tail | 0.277775184 | |
| t Critical two-tail | 2.364622556 | |

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดในสารอ้างอิงมาตรฐาน เอสอาร์เอ็ม 1548 โทเทิลไดเอท

| ครั้งที่ | ใยอาหารทั้งหมด ร้อยละ | | |
|---|---|---|---|
| | A | B | ค่าเฉลี่ย |
| 1 | 3.59 | 3.76 | 3.68 |

**ค่าปริมาณใยอาหารทั้งหมดของสารอ้างอิงมาตรฐาน เอสอาร์เอ็ม 1548 โทเทิล ไดเอท ที่ระบุในใบรับรองผลการวิเคราะห์ (ดูภาคผนวก 5)** ร้อยละ 3.58 - 3.80

**หมายเหตุ** ทำการวิเคราะห์ซ้ำหลายครั้งไม่ได้ เนื่องจากสารอ้างอิงมาตรฐานนี้มีราคาสูง และในหนึ่งขวด บรรจุสารจำนวน 6.5 กรัม การวิเคราะห์ซ้ำแบบสองซ้ำหนึ่งครั้ง ต้องใช้ตัวอย่างที่แห้งและปราศจากไขมันจำนวน 4 กรัม เพราะการวิเคราะห์ค่า A ต้องชั่งตัวอย่างใส่ในขวดย่อย 2 ขวดๆละ 1 กรัม ขวดหนึ่งสำหรับนำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในสารที่เหลือจากการย่อย ส่วนอีกขวดหนึ่งนำไปวิเคราะห์ปริมาณเถ้าในสารที่เหลือจากการย่อย และการวิเคราะห์ค่า B ก็ทำเช่นเดียวกัน

ถึงแม้ว่าจะได้ทำการวิเคราะห์แบบสองซ้ำในสารอ้างอิงมาตรฐานนี้เพียงครั้งเดียว แต่ผลการวิเคราะห์ก็เป็นที่น่าพอใจเนื่องจากอยู่ในช่วงการยอมรับ ดังแสดงไว้ในภาคผนวก 5 กล่าวคือ การทดสอบความแม่นได้ผลดี ส่วนการทดสอบความเที่ยงจะดูจากผลการวิเคราะห์สารอ้างอิงภายในและตัวอย่างข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูป เพราะหาง่ายและราคาไม่แพง เหมาะที่จะทำการวิเคราะห์ซ้ำหลายๆครั้ง

## วิจารณ์และสรุปผลการศึกษาทดลอง

เนื่องจากการหาค่าความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ต้องเปรียบเทียบผลที่ได้จากการทดลองกับค่าที่แท้จริง(true value) กล่าวคือต้องทำการวิเคราะห์สารอ้างอิงมาตรฐาน แต่เนื่องจากสารอ้างอิงมาตรฐานนี้มีราคาสูง จึงได้ทำการหาค่าความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ก่อน โดยใช้ตัวอย่างที่มีอยู่แล้วคือข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูป ได้ผลเป็นที่ยอมรับจากการประเมินค่าทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบค่าของผลการวิเคราะห์สองกลุ่ม และจากการคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานได้เท่ากับ 0.50 ค่าที่ยอมรับได้คือค่าที่อยู่ในช่วงตั้งแต่ 7.90 ถึง 10.9

ต่อจากนั้นจึงทำการหาค่าความเที่ยงและความถูกต้องจากสารอ้างอิงภายในถั่วเหลืองผง ซึ่งเป็นได้ผลเป็นที่ยอมรับจากการประเมินค่าทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบค่าของผลการวิเคราะห์สองกลุ่ม และจากการคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานได้เท่ากับ 0.24 ค่าที่ยอมรับได้คือค่าที่อยู่ในช่วงตั้งแต่ 12.7 ถึง 14.1

ขั้นตอนสุดท้ายทำการทดสอบหาค่าความถูกต้องด้วยสารมาตรฐานอ้างอิง เอสอาร์เอ็ม 1548 โทเทิล ไดเอท ซึ่งได้ค่าปริมาณใยอาหารทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 3.59 และ 3.76 ค่าเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 3.68 ซึ่งอยู่ในช่วงของค่าที่ระบุไว้ในใบรับรองผลการวิเคราะห์ของสารนี้ คือ $3.69 \pm 0.11$ เท่ากับค่าตั้งแต่ ร้อยละ3.58 ถึง 3.80

ผลดังที่กล่าวแล้วข้างต้น แสดงว่าวิธีวิเคราะห์แบบเอนไซเมติก - กราวิเมตริกที่ใช้นี้ให้ผลดีเป็นที่ยอมรับได้ เหมาะที่จะใช้ในงานวิเคราะห์ประจำ สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหารทั้งหมดในตัวอย่างอาหารต่างๆต่อไป

# คำขอบคุณ

**ผู้เขียนขอขอบคุณ คุณสุจินต์ ศรีคงศรี** (ผู้อำนวยการกองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ) และคุณสุคนธ์ เนคมานุรักษ์ (หัวหน้ากลุ่มงานคุณค่าทางโภชนาการ) ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขข้อบกพร่องของรายงานฉบับนี้จนสำเร็จสมบูรณ์ไปด้วยดี

# เอกสารอ้างอิง

Alstin, Finn. Appendix to Fibertec Manual. H❶gan④s: Tecator AB, n.d. p. 1 - 8.

Eastward, Martin. Fiber and gastrointestinal disease. Editcd by David Kritchevsky, Charles Bonfield and James W. Anderson. In Dietary fiber: chemistry, physiology, and health effects. New York: Plenum Press, 1990. p. 262.

Gordon, Dennis T. Total dietary fiber and mineral absorption. Edited by David Kritchevsky, Charles Bonfield and James W. Anderson. In Dietary fiber: chemistry, physiology, and health effects. New York: Plenum Press, 1990. p. 105 - 108

Helrick, Kenneth, ed. Official methods of analysis of AOAC international. 15th ed. Verginia: AOAC, 1990, p. 1105 - 1106.

_____. _____. Vol. 2. 16th ed. Verginia: AOAC, 1995, p. 70 - 71.

Kirk, Ronald S. and Sawyer, Ronald. Pearson's composition and analysis of foods. 9th ed. Harlow: Longman Scientific&Technical, 1991, p. 26 - 29.

Lee, Sungsoo, Prosky, Leon and W.De Vries, Jonathan. Determination of total, soluble, and insoluble Dietary Fiber in Foods... Journal of AOAC International, May/June, 1992, Vol.75, No.3, p. 395 - 415.

Prosky, L. and Lee, S.C. Enzymatic gravimetric AOAC/Prosky method for dietary fibre determination. In European Commission. Cost 92 metabolic and physiological aspects of dietary fibre in food. Luxemberg: Office for Official Publications of the European Communities, 1995, p. 113 - 118.

Schneeman, Barbara Olds. Macronutrient absorption. Edited by David Kritchevsky, Charles Bonfield and James W. Anderson. In Dietary fiber: chemistry, physiology, and health effects. New York: Plenum Press, 1990. p. 158.

Southgate, D.A.T. Starch and dietary fibre. London: Health Education Authority, 1992. p. 1 - 27.

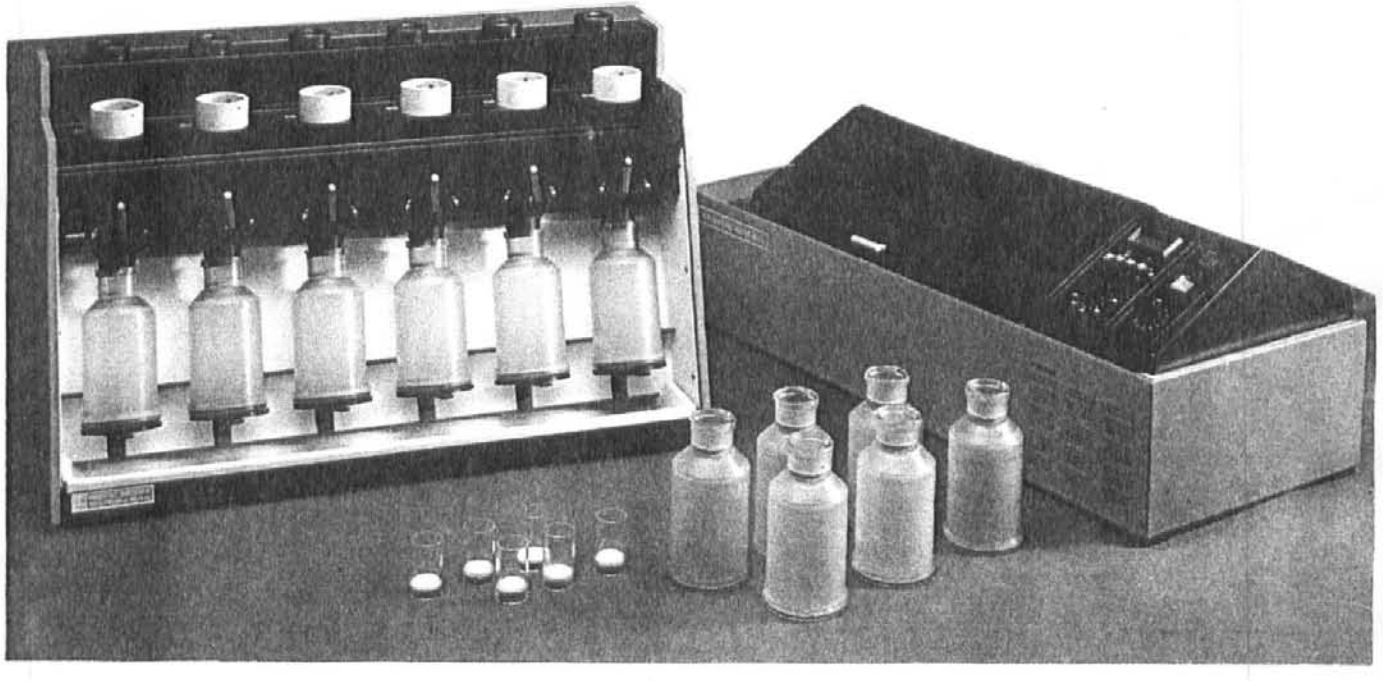
Sullivan, Darryl M and Carpenter, Donald E, ed. Methods of Analysis for Nutrition Labeling. Arlington: AOAC International, 1993. p 8, 77-79, 207-209.

Tecator AB. Manual: fibertec system E 1023 filtration module. H❾gan④s: Tecator AB, n.d.

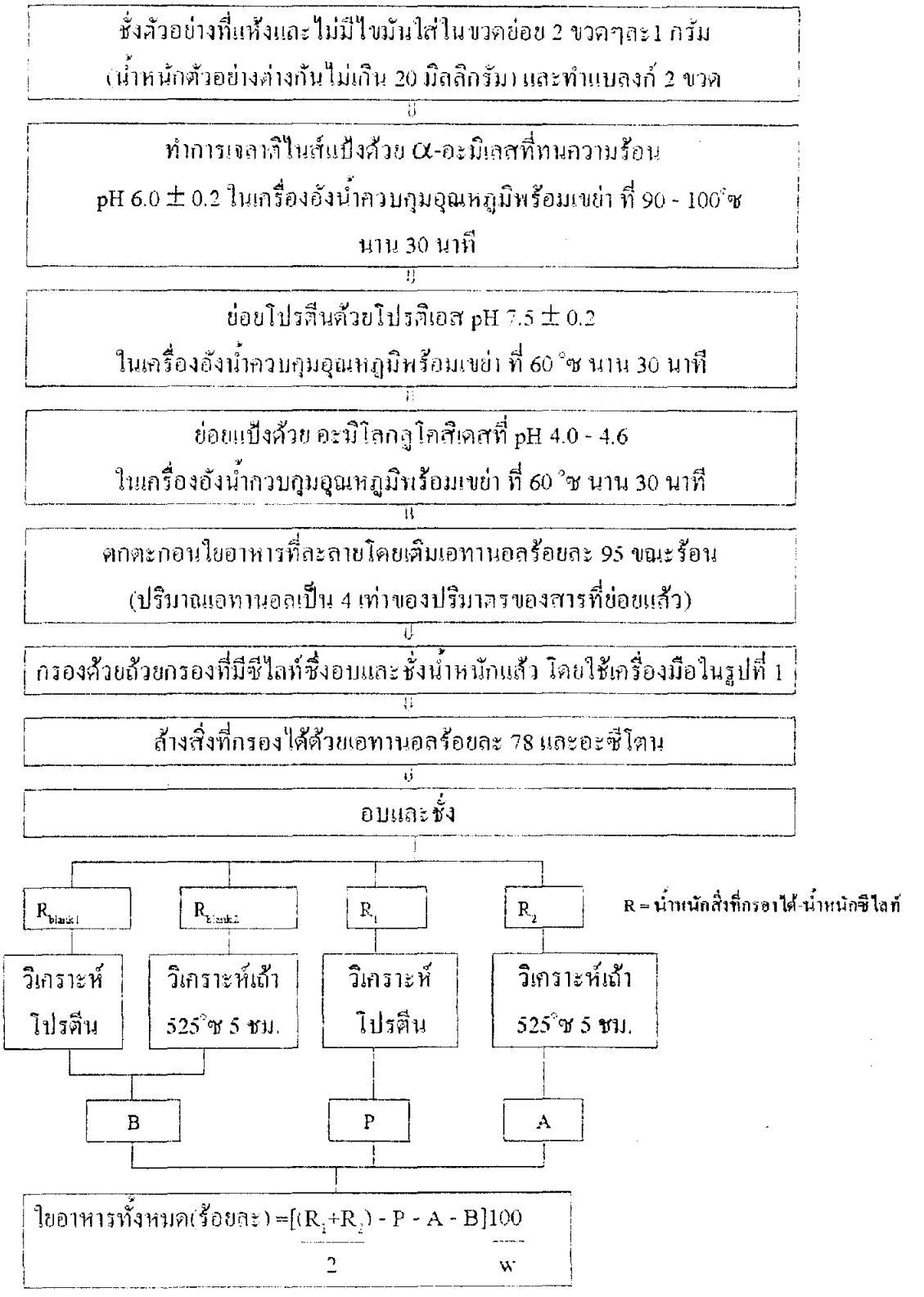
ศิริชัย พงษ์วิชัย. **การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์**. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,2539,หน้า 171 - 188

ภาคผนวก 1

**รูปที่1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด**



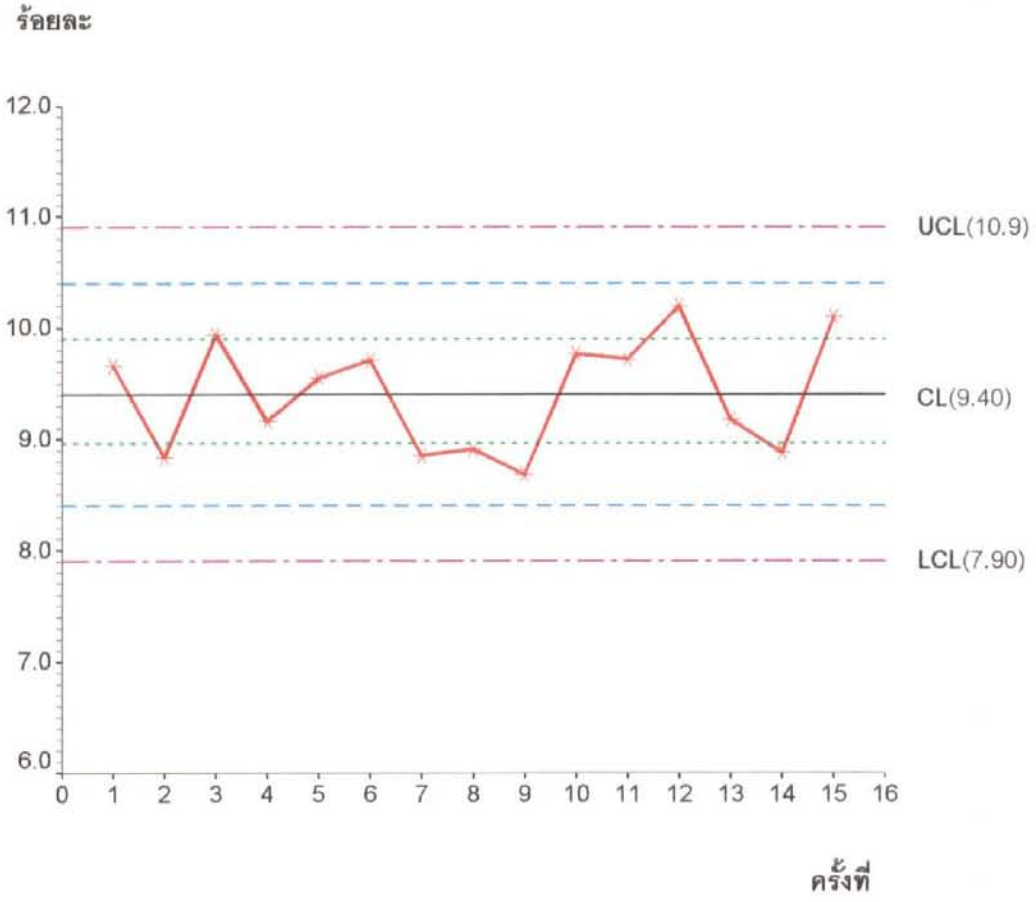
**แผนภูมิที่ 2 วิธีวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด**



**ตารางที่ 6 รายละเอียดตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาทดลอง**

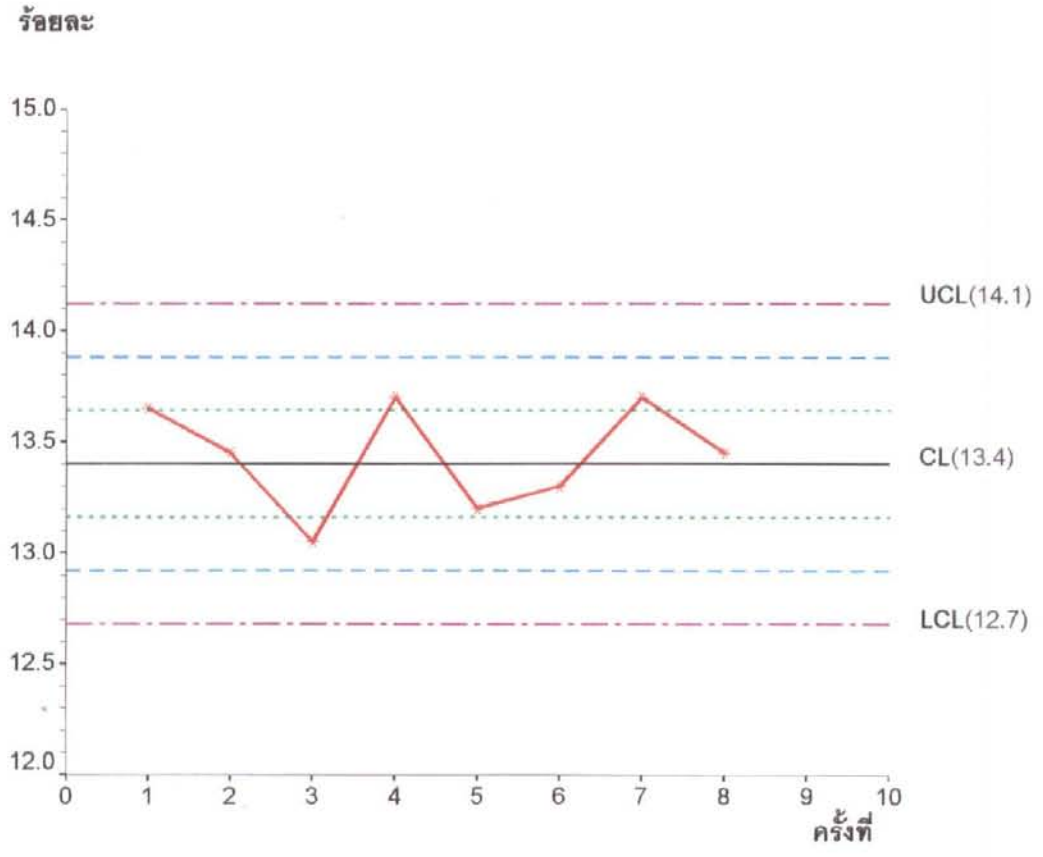
| ลำดับที่ | ชื่อตัวอย่าง | แหล่งที่มา |
|---|---|---|
| 1 | ข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูป | ตัวอย่างที่มีผู้ส่งวิเคราะห์รายการอื่นๆ |
| 2 | สารอ้างอิงภายในถั่วเหลืองผง | สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล |
| 3 | สารอ้างอิงมาตรฐาน เอส อาร์ เอ็ม 1548 โทเทิล ไดเอท (standard reference material SRM1548 total diet) | National Institute of Standards & Technology (NIST) ประเทศสหรัฐอเมริกา |

รูปที่ 2 แผนภูมิควบคุมของการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด
ในตัวอย่างข้าวโอ๊ตกึ่งสำเร็จรูป




จากข้อมูลในตารางที่ 1 นำค่าเฉลี่ยของปริมาณใยอาหารทั้งหมดมีหน่วยเป็นร้อยละ จำนวน 15 ค่า มาเขียนกราฟซึ่งสามารถใช้เป็นแผนภูมิควบคุมของการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดได้ โดยหาค่าควบคุมกลาง (central line, CL) จากค่าเฉลี่ยทั้ง 15 ค่านั้น ได้เท่ากับ 9.40 จากนั้นจึงนำไปคำนวณค่าขอบเขตตัดสินด้านบน (upper control limit, UCL ) โดย UCL เท่ากับ CL + 3SD และขอบเขตตัดสินด้านล่าง (lower control limit, LCL) โดย LCL เท่ากับ CL - 3SD

รูปที่ 3 แผนภูมิควบคุมของการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด
ในสารอ้างอิงภายในถั่วเหลืองผง




จากข้อมูลในตารางที่ 3 นำค่าเฉลี่ยของปริมาณใยอาหารทั้งหมดมีหน่วยเป็นร้อยละ จำนวน 8 ค่า มาเขียนกราฟซึ่งสามารถใช้เป็นแผนภูมิควบคุมของการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมดได้ โดยหาค่าควบคุมกลาง (central line, CL) จากค่าเฉลี่ยทั้ง 8 ค่านั้น ได้เท่ากับ 13.4 จากนั้นจึงนำไปคำนวณค่าขอบเขตตัดสินด้านบน (upper control limit, UCL ) โดย UCL เท่ากับ CL + 3SD และขอบเขตตัดสินด้านล่าง (lower control limit, LCL) โดย LCL เท่ากับ CL - 3SD

ภาคผนวก 2

**การกรองโดยเครื่องกรอง(filtration unit) ของ ไฟเบอร์เทค ซิสเต็ม อี**

**หลักการ**

เครื่องกรอง ประกอบด้วย 2 ส่วนคือ

1. ส่วนที่ใช้สำหรับกรอง

   ใช้แรงดูดจากน้ำ (water suction) และแรงดันจากปั๊ม (pressure pump)

2. ส่วนที่ทำให้แห้ง

   ใช้แรงดูดจากน้ำ

**รายละเอียดการใช้เครื่อง**

1. เสียบปลั๊ก
2. ใส่ขวดเปล่า 6 ใบเข้าที่ด้านล่างของส่วนที่ใช้กรองของเครื่อง (เพื่อรองรับสารละลายที่ผ่านการกรองแล้ว) โดยกดแผ่นรองรับสีดำลง
3. นำถ้วยกรองที่มีซีไลท์และทำให้เปียกด้วย เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 78 รอให้เอทานอลระเหยไปจนกระทั่งซีไลท์เกาะเป็นแผ่นแน่นที่ก้นถ้วย มาสวมโดยคว่ำถ้วยบนขวดที่มีตัวอย่างที่ผ่านการย่อยและทำการตกตะกอนแล้ว
4. นำขวดพร้อมถ้วยกรองไปติดตั้งในส่วนที่ใช้กรองโดย กดตัวล็อก (safety button) ลง สวมขวดเข้าที่สลักให้พอดี แล้วดันตัวล็อกพร้อมขวดกลับสู่ตำแหน่งเดิม
5. หมุนก้นขวดออกโดยหมุนตามเข็มนาฬิกาตามลูกศรที่แสดงไว้ที่ก้นขวด
6. เปิดน้ำ เลื่อนคันโยกที่อยู่ด้านหน้าของเครื่องมาที่ตำแหน่ง "**V**" เพื่อกรอง
7. ถ้าเกิดการอุดตัน ให้ใช้ความดัน(pressure) ช่วย โดยกดสวิทช์ **"PRESSURE"** และดันคันโยกไปที่ตำแหน่ง **"P"**
8. ทำการกรองต่อโดยโยกคันโยกไปที่ตำแหน่ง **"V"**
9. ใช้ **"V"**สลับ**"P"** เพื่อการกรองที่ดี เมื่อไม่ใช้แรงดันให้กดสวิทช์**"PRESSURE"** อีกครั้งเพื่อปิดปั๊ม
10. ล้างสิ่งที่กรองได้ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 78 ครั้งละ 20 มิลลิลิตร 3 ครั้ง
11. ล้างต่อด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ครั้งละ 10 มิลลิลิตร 2 ครั้ง
12. ปิดน้ำของส่วนที่ใช้กรอง

13. ถอดขวดย่อยโดยหมุนเกลียวออก นำถ้วยกรองไปติดตั้งในส่วนที่ทำให้แห้ง
14. ถอดขวดรองรับสารละลายออกโดยกดแผ่นรองรับขวดลง
15. เปิดน้ำของส่วนที่ทำให้แห้ง
16. ล้างสิ่งที่กรองได้ด้วยอะซีโตน ครั้งละ 10 มิลลิลิตร 2 ครั้ง
17. นำถ้วยกรองออก
18. ล้างภายในสายยางของส่วนที่ใช้ทำให้แห้ง โดยฉีดน้ำกลั่นแรงแตดอย่างน้อย 50 มิลลิลิตร
19. ปิดน้ำ
20. ดึงปลั๊กออก

**ข้อควรระวัง** อย่าให้อะซีโตนสัมผัสกับขวดที่ใช้ย่อยเพราะจะเกิดรอยด่างถาวร

ภาคผนวก 3

## การใช้ถ้วยกรอง

1. **การเผาและการทำให้เย็น** ถ้วยที่ใช้กรองใยอาหาร ทำด้วยแก้วทนความร้อนได้ถึง 540°ซ แต่วิธีการให้ความร้อน หรือทำให้เย็นต้องระวังเป็นพิเศษ ต้องนำเข้าเตาเผาขณะเย็นแล้วจึงเริ่มให้ความร้อน โดยที่อัตราการให้ความร้อนไม่ควรเกิน 100°ซ ต่อ นาที และเมื่อจะนำออกจากเตาต้องลดอุณหภูมิลงอย่างช้าๆ ทิ้งให้อุณหภูมิเตาเผาลดลงถึง 130°ซ หรือต่ำกว่า ก่อนที่จะนำถ้วยกรองออกมา

2. **การทำความสะอาด** ล้างน้ำ แช่น้ำยาล้างแก้ว 1 คืน ล้างด้วยน้ำ แอลกอฮอล์ และอบให้แห้ง

ภาคผนวก 4

## การเก็บรักษาและการตรวจสอบประสิทธิภาพของเอนไซม์

| ชนิดของเอนไซม์ | อายุการเก็บรักษา | ช่วงเวลาที่ต้องทำการตรวจสอบ | การตรวจสอบ |
|---|---|---|---|
| เทอร์มามีล แอล 120 หรือ อัลฟา-อะมิเลส ที่ทนความร้อน มีแหล่งกำเนิดจากจุลินทรีย์ บาซิลลัส เชริฟอร์มิส (Bacillus cheriformis) มีค่าแอกติวิตี สูงสุดที่ 95 $^{o}$ซ | 1 ปี ที่อุณหภูมิ 4 $^{o}$ซ | ทุก 3 เดือน | 1. ชั่งเนทีฟ แป้งสาลี (native wheat starch) หรือ เนทีฟแป้งข้าวโพด (native maize starch) 1 กรัม ใส่ในบีเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร<br>2. เติมน้ำเย็น 15 มิลลิลิตร<br>3. กวนด้วยเครื่องกวนชนิดแม่เหล็กแบบให้ความร้อน จนได้สารละลายข้นเหนียว<br>4. เมื่อเดือด เติม เทอร์มามีล แอล 120หรือ อัลฟา-อะมิเลส ที่ทนความร้อน จำนวน 100 ไมโครลิตร<br>5. กวนต่อ<br>6. หลังจาก 10 วินาที<br>⇒ ต้องได้สารละลายที่เหลว ไม่ข้นเหนียว<br>7. หลังจาก 2 นาที<br>7.1 ปิเปตสารละลายที่ได้มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีกรดซัลฟุริก 1 นอร์มัล 1 มิลลิลิตร<br>7.2 ทำให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง<br>7.3 เติมสารละลายไอโอดีน 2 - 3 หยด<br>8. ถ้าเกิดสีน้ำเงินหรือสีแดง แสดงว่าให้ผลเป็นลบ หมายความว่าเอนไซม์ยังมีประสิทธิภาพ<br>9. ถ้าไม่เกิดสีน้ำเงินหรือสีแดง แสดงว่าให้ผลเป็นบวก ต้องเพิ่มปริมาณเอนไซม์เป็น 150 ไมโครลิตร หากยังเกิดผลบวกอีก หมายความว่าเอนไซม์นั้นใช้ไม่ได้ |

| ชนิดของเอนไซม์ | อายุการเก็บรักษา | ช่วงเวลาที่ต้องทำการตรวจสอบ | การตรวจสอบ |
|---|---|---|---|
| โปรติเอส ซิกมา พี - 5380 (เป็นเอนไซม์ที่ทำให้แห้งที่จุดเยือกแข็ง มีแหล่งกำเนิดมาจาก จุลินทรีย์ ซับสติลิซิน คาลส์เบิกร์ก (Substilisin carlsberg) มีแอกติวิตี 7 - 15 หน่วยต่อเอนไซม์ 1 มิลลิกรัม และมีแอกติวิตีสูงสุดที่ความเป็นกรดด่าง 7.5 ณ อุณหภูมิ 60°ซ | มากกว่า 1 ปี ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0°ซ (ที่จุดเยือกแข็ง) | ทุก 3 เดือน | 1. ชั่ง โซเดียม เคซิเนตหรือ แคลเซียม เคซิเนต 1 กรัม ในบีเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร<br>2. เติมน้ำ 60 มิลลิลิตร<br>3. กวนด้วยเครื่องกวนแบบแม่เหล็กจนเข้ากัน<br>4. นำไปทำให้ร้อน 60 °ซ ในเครื่องอังน้ำควบคุมอุณหภูมิ<br>5. ปรับให้ได้ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7.5<br>6. เติม โปรติเอส 5 มิลลิกรัม คนให้เข้ากัน<br>7. ปรับให้ได้ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7.5 โดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เป็นระยะๆพร้อมทั้งจดปริมาตร<br>8. หลังจาก 10 นาที ถ้าใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล มากกว่าหรือเท่ากับ 6 มิลลิลิตร แสดงว่าเอนไซม์ยังใช้งานได้<br>9. ถ้าใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์น้อยกว่า 6 มิลลิลิตร ให้เพิ่มเอนไซม์เป็น 10 มิลลิกรัม<br>10. หากยังคงใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล น้อยกว่า 6 มิลลิลิตร แสดงว่าเอนไซม์นั้นใช้งานไม่ได้ |

| ชนิดของเอนไซม์ | อายุการเก็บรักษา | ช่วงเวลาที่ต้องทำการตรวจสอบ | การตรวจสอบ |
|---|---|---|---|
| อะมิโลกลูโคซิเดส ซิกมา เอ - 9268 เป็นเอนไซม์ ซัสเพนชันจากพืช เอ.โอริซี ( A.oryzae) มีแอกติวิตี 1200 - 3000 ยูนิต | $4^{\circ}$ซ | ทุก 3 เดือน | 1. ชั่งโซลูเบิลสตาร์ช 1 กรัม ในบีเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร<br>2. เติมสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4 จำนวน 15 มิลลิลิตร<br>3. กวนด้วยเครื่องกวนแบบแม่เหล็กที่ให้ความร้อน<br>4. ต้มให้เดือด<br>5. ยกลง นำไปจุ่มในเครื่องอังน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ร้อน $60^{\circ}$ซ<br>6. เมื่ออุณหภูมิของสารละลายเท่ากับ $60^{\circ}$ซ เติมอะมิโลกลูโคซิเดส จำนวน 300 ไมโครลิตร<br>7. หลังจาก 15 นาที ปิเปตสารละลายนี้มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีกรดซัลฟุริก ความเข้มข้น 1 นอร์มัล 1 มิลลิลิตร<br>8. ทำให้เย็น<br>9. หยดสารละลายไอโอดีน 2 - 3 หยด<br>10. ถ้าเกิดสีแดงหรือน้ำตาล และ สีส้มหรือสีเหลือง แสดงว่าเอนไซม์ใช้งานได้<br>11. ถ้าเกิดสีน้ำเงิน แสดงว่าเอนไซม์ใช้งานไม่ได้ |

ภาคผนวก 5

ใบรับรองผลการวิเคราะห์สารอ้างอิงมาตรฐาน เอสอาร์เอ็ม 1548 โทเทิล ไดเอท

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

Table 3 cont.

| | | | |
|---|---|---|---|
| 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<br>M. Bueno<br>G. Angyl<br>C. Weaver<br>E. Anderson | AOAC,<br>AOAC, Muffle<br>AOAC, Kjeldahl<br>AOAC, Microbiological | Fat<br>Ash<br>Protein<br>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<br>N.J. Miller-Ihli | Flame<br>Atomic Absorption Spectroscopy | Ca, Cu, Fe, K<br>Mg, Mn, Na, Zn |
| - Vitamin and Mineral Nutrition Laboratory | | | |
| 18. | N. Hardison<br>K. Patterson<br>C. Veillon | Isotope Dilution<br>Mass Spectrometry | Se |
| 19. | D. Hill<br>E.R. Morris | Colorimetric | P |
| Wageningen Agricultural University, The Netherlands | | | |
| 20. | P.v.d. Bovenkamp | AOAC,<br>Kjeldahl<br>Folch - $CH_3Cl/CH_3OH$<br>Muffle 550 °C | Dietary Fiber<br>N<br>Fat<br>Ash |
| RIKILT, Wageningen, The Netherlands | | | |
| 21. | J. Labrijn | AOAC,<br>Kjeldahl<br>Weibull-Soxlet, Petroleum Ether<br>Muffle 550 °C | Dietary Fiber<br>N<br>Fat<br>Ash |
| Inspection Health Protection, Maastricht, The Netherlands | | | |
| 22. | H. Roomans | Kjeldahl<br>Weibull-Soxhlet, Petroleum Ether<br>Muffle 550 °C | N<br>Fat<br>Ash |

# ภาคผนวก 6

ภาคผนวก 6.1

# ใบบันทึกผลการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด

| | DIETARY FIBRE ANALYSIS | | | หมายเลขปฏิบัติการ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | วันที่ | | | | |
| | | | | ผู้วิเคราะห์ | | | | |
| | Sample (fat free dried spl) | Blank | | | | | | NOTE |
| 1 | Flask Id | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
| 2 | Scoop+spl (mg) | | | | | | | |
| 3 | Scoop (mg) | | | | | | | |
| 4 | Spl Wt (mg) | | | | | | | |
| 5 | Average Spl Wt (mg) | | | | | | | |
| 6 | Crucible Id | | | | | | | |
| 7 | Crucible+Celite (mg) | | | | | | | |
| 8 | Crucible+Celite+Res (mg) | | | | | | | |
| 9 | Res Wt (mg) | | | | | | | |
| 10 | Average Res Wt (mg) | | | | | | | |
| 11 | ml N/10 $H_2SO_4$ F = | | | | | | | N $H_2SO_4$ |
| 12 | Tot Prot in Res (Nx6.25) % | | | | | | | |
| 13 | Crucible+Celite+Ash Tot Wt (mg) | | | | | | | |
| 14 | Ash Wt (mg) | | | | | | | |
| 15 | Tot Ash in Res (%) | | | | | | | |
| 16 | Blank Correction | | | | | | | |
| 17 | % TDF (single value) | | | | | | | |
| 18 | % TDF as received | | | | | | | |
| 19 | %TDF (mean) | | | | | | | |
| 20 | %TDF as received | | | | | | | |

%Moisture =

%Fat =

%Fat-free dried matter =

ภาคผนวก 6.2

ใบบันทึกผลการวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารทั้งหมด แสดงสูตรการคำนวณสำเร็จรูป
อัตโนมัติที่จัดทำไว้ในโปรแกรมคอมพิวเตอร์

| | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | **DIETARY FIBRE ANALYSIS** | | | | หมายเลขปฏิบัติการ | | | | | |
| 2 | | | | | วันที่ | | | | | |
| 3 | | | | | ผู้วิเคราะห์ | | | | | |
| 4 | **Sample** ( fat free dried spl ) | | | | | | | | NOTE | |
| 5 | | | | | | | | | | |
| 6 | 1 | Flask Id | | | | | | | | |
| 7 | 2 | Scoop + spl ( mg ) | | | | | | | | |
| 8 | 3 | Scoop ( mg ) | | | | | | | | |
| 9 | 4 | Spl Wt ( mg ) | | | =(E7-E8) | =(F7-F8) | =(G7-G8) | =(H7-H8) | | |
| 10 | 5 | Average Spl Wt ( mg ) | | | =(E9+F9)/2 | | =(G9+H9)/2 | | | |
| 11 | 6 | Crucible Id | | | | | | | | |
| 12 | 7 | Crucible+Celite ( mg ) | | | | | | | | |
| 13 | 8 | Crucible+Celite+Res ( mg ) | | | | | | | | |
| 14 | 9 | Res Wt ( mg ) | =(C13-C12) | =(D13-D12) | =(E13-E12) | =(F13-F12) | =(G13-G12) | =(H13-H12) | | |
| 15 | 10 | Average Res Wt | =(C14+D14)/2 | | =(E14+F14)/2 | | =(G14+H14)/2 | | | |
| 16 | 11 | ml N/10 $H_2SO_4$ F = | | | | | | | | N $H_2SO_4$ |
| 17 | 12 | Tot Prot in Res ( Nx6.25 ) % | =(C16*I16*14.007*6.25*100/C14) | | =(E16*$I$16*14.007*6.25*100/E14) | | =(G16*$I$16*14.007*6.25*100/G14) | | | |
| 18 | 13 | Crucible+Celite+Ash Tot Wt ( mg ) | | | | | | | | |
| 19 | 14 | Ash Wt ( mg ) | | =(D18-D12) | | =(F18-F12) | | =(H18-H12) | | |
| 20 | 15 | Tot Ash in Res ( % ) | | | | =(F19*100/F14) | | =(H19*100/H14) | | |
| 21 | 16 | Blank Correction | =(C15*(1-C17/100)-D19) | | | | | | | |
| 22 | 17 | % P/100 , % A/100 | | | =(E17/100) | =(F20/100) | =(G17/100) | =(H20/100) | | |
| 23 | 18 | (%P/100 +%A/100))R | | | =(E22+F22)*E15 | | =(G22+H22)*G15 | | | |
| 24 | 19 | R - I - B | | | =(E15-I23-$C$21) | | =(G15-G23-$C$21) | | | |
| 25 | 17 | % TDF (single value) | | | =(E24*100/E10) | | =(G24*100/G10) | | | |
| 26 | 18 | % TDF as recieved | | | =(E25*$D$32/100) | | =(G25*$D$32/100) | | | |
| 27 | 19 | % TDF (mean) | | | | =(E25+G25)/2 | | | | |
| 28 | 20 | % TDF as recieved | | | | =((E26+G26)/2) | | | | |
| 29 | | | | | | | | | | |
| 30 | | % Moisture | | | | | | | | |
| 31 | | % Fat | | | | | | | | |
| 32 | | % Fat - free dried mnatter | | =(100-(D30+D31 )) | | | | | | |