

เครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจนโดยอัตโนมัติ

นิลสุดา นัฏธนากร

ในอดีตเทคนิคการวิเคราะห์ทดสอบทางวิทยาศาสตร์มักใช้เครื่องมือพื้นฐานที่ไม่ยุ่งยากแต่จำเป็นต้องใช้ปริมาณตัวอย่าง สารเคมี และทักษะของผู้ปฏิบัติงานค่อนข้างมาก ทำให้เกิดความสิ้นเปลืองทั้งเวลาและค่าใช้จ่าย ดังนั้นเทคนิคการวิเคราะห์ต่าง ๆ จึงได้รับการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งในปัจจุบันได้มีการสร้างเครื่องมือวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์ขั้นสูง เพื่อช่วยให้การวิเคราะห์สะดวก ประหยัด มีมาตรฐาน และรวดเร็ว แต่อย่างไรก็ตามการนำเครื่องมือดังกล่าวมาใช้ ผู้ใช้จะต้องทำการตรวจสอบความถูกต้องแม่นยำเสียก่อนเพื่อให้เกิดความเชื่อมั่นในผลการวิเคราะห์ที่ได้จากเครื่องมือ นั้น ๆ สำหรับการหาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างก็เช่นเดียวกัน เพื่อให้ผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Kjeltec auto sampler system ได้รับความเชื่อมั่นว่าถูกต้อง แม่นยำ สามารถใช้เป็นวิธีมาตรฐานต่อไปได้ จำเป็นต้องมีการเปรียบเทียบผลที่ได้กับวิธีที่ใช้อยู่เดิม คือ

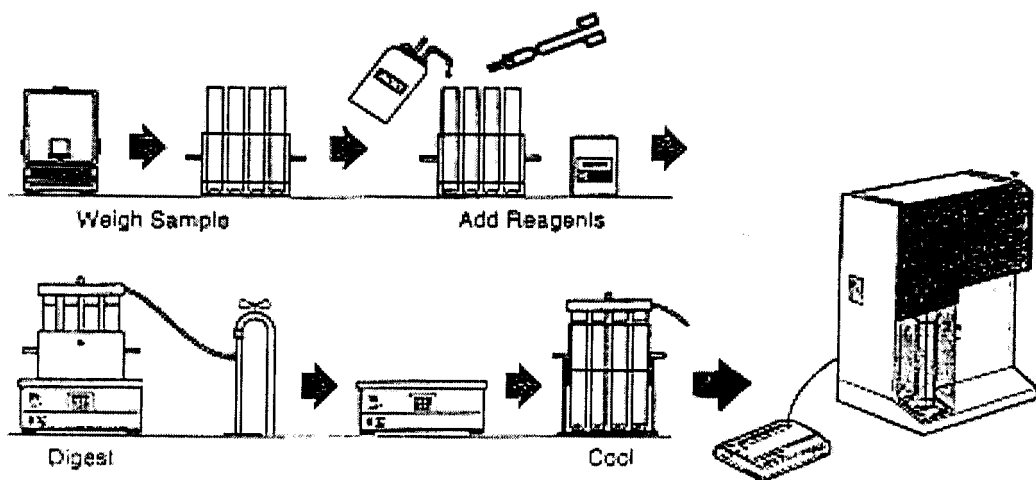
เคลดาห์ (Kjeldahl) ซึ่งนักเคมี ชื่อ Johan Kjeldahl (1849-1900) เป็นผู้ค้นพบวิธีเคลดาห์ล เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการหาค่าไนโตรเจนในสารอินทรีย์ หลักการทั่ว ๆ ไปก็คือย่อยสารอินทรีย์ด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น พร้อมกับมีการใส่ตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) สารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบจะเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนียมซัลเฟต $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ จากนั้นจึงเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้นลงไปไนสารละลายที่มีแอมโมเนียมซัลเฟต แล้วลั่นเอาแก๊สแอมโมเนียออกมาด้วยไอน้ำ แก๊สแอมโมเนียที่ได้จะถูกจับไว้ด้วยสารละลายกรดบอริก นำสารละลายที่กลั่นได้ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน กรดซัลฟิวริกเพื่อหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ส่วนปริมาณโปรตีนคำนวณจากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดคูณด้วยแฟกเตอร์ซึ่งขึ้นอยู่กับอาหารแต่ละชนิด เช่น อาหารทั่ว ๆ ไปใช้แฟกเตอร์ 6.25 นมและผลิตภัณฑ์นม 6.38

วิธี Kjeldahl ได้รับการปรับปรุงพัฒนา

อย่างต่อเนื่อง การพัฒนาปรับปรุงมีผลให้สิ่งแวดล้อมของผู้ปฏิบัติการวิเคราะห์ดีขึ้น ผู้ปฏิบัติงานมีความปลอดภัยของผู้เกี่ยวข้องมีมากขึ้นสามารถทำการวิเคราะห์ได้รวดเร็วขึ้น รวมทั้งทำให้กระบวนการวิเคราะห์โดยรวมยุ่งยากน้อยลง

Kjeltec auto sampler system เป็นเครื่องวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนแบบกึ่งอัตโนมัติ ประกอบด้วย 2 ส่วนหลักที่สำคัญ คือ

1. หน่วยย่อย (digester unit) ที่ประกอบด้วยระบบดูดไอกรด (exhaust system) โดยมีการดูดไอกรดที่เกิดขึ้นขณะย่อยเข้าไปทำให้กรดสะเทินด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ช่วยให้ไอกรดที่เกิดจากปฏิกิริยาไม่ออกมาสู่บรรยากาศภายนอกระบบ ปริมาณกรดที่ใช้น้อยกว่าวิธีเดิม เป็นผลให้ปริมาณต่างที่ใช้ในการกลั่นลดลงด้วย
2. หน่วยกลั่น (distilling unit) และคำนวณผลอัตโนมัติ



Kjeldahl digestion procedure with the Kjeltec auto sampler system

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยใช้เครื่อง Kjeltac auto sampler system มีรายละเอียดดังนี้

1) เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1.1 หลอดแก้วสำหรับย่อยพร้อมที่วาง
- 1.2 เครื่องย่อย (Tecator digestion system)
- 1.3 เครื่องดูดไอกรด (Tecator 1013 scrubber unit)
- 1.4 เครื่อง Kjeltac auto sampler system
 - 1.4.1 Tecator Kjeltac 1035 analyser
 - 1.4.2 Tecator Kjeltac 1038 auto sampler
- 1.5 เครื่องทำความเย็น (Cool One model 2100)
- 1.6 เครื่องพิมพ์ (Star LC-20)
- 1.7 ตู้ดูดควัน
- 1.8 เครื่องชั่งไฟฟ้า

2) สารเคมีและสารละลาย

- 2.1 กรดซัลฟิวริกเข้มข้นร้อยละ 98
- 2.2 เคลแทป (Kjelstab) เป็น catalyst แบบอัดเป็นเม็ด
- 2.3 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 30
- 2.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40
- 2.5 สารละลายที่ใช้รองรับของเหลวที่กลั่นได้ ประกอบด้วยสารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ซึ่งมี indicators คือ สารละลายเมทิลเรดและสารละลายโบรโมครีซอลกรีน (ข้อควรระวัง ต้องปรับสารละลายนี้เป็นต่างเพียงเล็กน้อยด้วย 0.1 NaOH และตรวจสอบโดยการเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ลงในสารละลาย 25 มิลลิลิตร สีของสารละลายจะเปลี่ยนสีจากม่วงแดงเป็นสีเทา)

3) วิธีวิเคราะห์

- 3.1 การย่อย
 - 3.1.1 ก่อนชั่งตัวอย่างให้เปิดเครื่องย่อย โดยตั้งอุณหภูมิที่ 420° ซ

3.1.2 ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนใส่หลอดย่อย (ใช้ตัวอย่างครึ่งหนึ่งของวิธี Kjeldahl) ที่มีเคลแทป 2 เม็ด

3.1.3 เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (ข้อ 2.1) จำนวน 12-14 มิลลิลิตร อย่างระมัดระวัง

3.1.4 เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ข้อ 2.3) จำนวน 5 มิลลิลิตร ช้าๆ อย่างระมัดระวัง (ทำในตู้ดูดควัน)

3.1.5 นำหลอดตัวอย่างที่ได้ใส่ในเครื่องย่อย (ข้อ 3.1.1) อุณหภูมิ 420° ซ

3.1.6 ตั้งเวลาย่อย 1 ชั่วโมง

3.1.7 เมื่อครบ 1 ชั่วโมง สัญญาณจะดังขึ้น ให้ปิดสวิทช์เครื่องย่อยนำหลอดออกตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควันประมาณ 20 นาที จึงปิดเครื่องดูดไอกรด

3.1.8 นำหลอดที่ผ่านการย่อยและเย็นแล้วจากข้อ 3.1.7 มาดำเนินการตามข้อ 3.2

3.2 การกลั่น ไทเทรตและคำนวณผลอัตโนมัติโดยเครื่อง Kjeltac auto sampler system

ข้อมูลที่จะส่งเข้าเครื่องคือ น้ำหนักของตัวอย่าง ความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดที่ใช้ เครื่องจะทำการกลั่น ไทเทรต และคำนวณค่าเองโดยอัตโนมัติ

ท่าแบบลงที่เช่นเดียวกับตัวอย่าง แต่ไม่ต้องใส่ตัวอย่าง

ข้อควรระวัง ก่อนใช้เครื่องมือนี้ต้องตรวจสอบปริมาณ น้ำกลั่นในถัง และสารละลายทุกชนิดในระบบเครื่องมือให้มีปริมาณเพียงพอ สำหรับกรดบอริกต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง

ผลการวิเคราะห์ ในการศึกษาโปรตีนในตัวอย่างอาหารหลายประเภท ที่มีปริมาณโปรตีนในระดับต่างๆ โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธีเคลตาห์มาตรฐานตามเอไอเอซี เปรียบเทียบกับการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Kjeltac Auto Sampler System พบว่าทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกัน

ปัญหาและการแก้ไขเมื่อย่อยตัวอย่าง

ปัญหาอาจเกิดขึ้นในระหว่างการย่อยตัวอย่างบางชนิดเช่น มีฟองเกิดขึ้นมากทำให้

ตัวอย่างถูกย่อยไม่สมบูรณ์ ในกรณีเช่นนี้สามารถแก้ไขโดยการเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 30 จำนวน 5 มิลลิลิตร ลงไปอีกแล้วย่อยต่อเป็นเวลา 10 นาที เพื่อที่จะล้างเอาสิ่งที่กระเด็นไปติดอยู่ใน Exhaust Caps ทั้งหมดให้ลงมาในหลอดย่อย ในกรณีที่เกิดฟองมากผิดปกติโดยเฉพาะการหาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างเวย์ (whey) จะใช้ตัวอย่างจำนวน 5 มิลลิลิตร มาให้ความร้อนในหลุมย่อยของเครื่องย่อย (digester) โดยการตั้งอุณหภูมิที่เครื่องย่อยที่อุณหภูมิต่ำกว่าก่อนที่จะใส่กรดซัลฟิวริกและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ลงไป

การตรวจสอบสมรรถนะของเครื่องมือ (performance check)

1. การตรวจสอบประสิทธิภาพของการกลั่น โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟตประมาณ 0.12 กรัม และซูโครสประมาณ 0.85 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน) แทนตัวอย่างแล้วดำเนินการเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์ปริมาณคืนกลับ (recovery) ของไนโตรเจนต้องได้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 99
2. การตรวจสอบประสิทธิภาพในการย่อย โดยใช้ทริปโตเฟนประมาณ 0.18 กรัม หรือไลซีน 0.16 กรัม และซูโครสประมาณ 0.67 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน) แทนตัวอย่างแล้วดำเนินการเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์ปริมาณคืนกลับของไนโตรเจนต้องได้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 98

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิเคราะห์โดยเครื่องอัตโนมัติ Kjeltac auto sampler system

1. สามารถวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน/โปรตีนได้สะดวก รวดเร็ว และวิเคราะห์ตัวอย่างได้วันละ 36 ตัวอย่างต่อชุดเครื่องมือ
2. ใช้เวลาในการย่อยและการกลั่นน้อยลง 1 เท่า

เอกสารอ้างอิง

- Helrick, Kenneth, ed. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 16th ed. Virginia 1995 p 16.
- Tecator AB. Manual : handbook for kjeldahl digestion. Hogan : Tecator AB, n.d
- _____. Manual : for digestion System 20. Hogan : Tecator AB, n.d. p 1-28
- _____. Manual : for kjeldahl auto 1035/38 sampler system. Hogan : Tecator AB, n.d
- _____. Manual : for 1013 scrubber Unit. Hogan : Tecator AB, n.d. p 1 - 12

