ภาคผนวก ง
การเก็บตัวอย่างเศษอาหารเพื่อวิเคราะห์พารามิเตอร์ตัวอื่น ๆ

การเก็บตัวอย่างเศษอาหารเพื่อวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี

(เถ้า,คาร์โบไฮเดรต,ไขมัน ,โปรตีนและแร่ธาตุอื่น ๆ)

1.เศษอาหารจากทุกแหล่งกำเนิดของแต่ละโรงแรมและห้างสรรพสินค้า จะมีประมาณ 3 กก. โดยใน 3 กก. นี้จะรวมทุกแหล่งกำเนิดของแต่ละโรงแรมและห้างสรรพสินค้า ตามสัดส่วนปริมาณที่เกิด

2.จากตัวอย่างที่เก็บมา 3 กก.นี้ จะแบ่งเป็น 4 ส่วน เอาด้านตรงข้ามกัน 2 ส่วนมาใส่ถาดแล้วอบที่ 60 $^{\circ}$ c จนกว่าความชื้นในเศษอาหารจะระเหยหมด (ประมาณ 3-4 วัน)

3.จากนั้นนำมาเก็บใส่ขวดแก้ว เพื่อใช้วิเคราะห์พารามิเตอร์ตัวอื่น ๆ

การวิเคราะห์หาค่าความชื้น

วิธีการ

1.นำ petri dish ไปอบ 40 นาที แล้วเข้าโถอบแห้ง ชั่งน้ำหนัก petri dish บันทึกน้ำหนัก แล้วใส่ในโถอบแห้งเหมือนเดิม

2.ชั่งน้ำหนักตัวอย่างเศษอาหารที่เก็บมาประมาณ 5 g ใส่ใน petri dish

3.นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 $^{\circ}$c เวลา 24 ชม.

4.นำไปเข้าโถอบแห้งให้เย็น แล้วชั่งน้ำหนัก

การวิเคราะห์เถ้า

วิธีการ

1.นำถ้วยกระเบื้องเคลือบไปอบ 40 นาทีแล้วเข้าโถอบแห้ง ชั่งน้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ บันทึกน้ำหนักแล้วใส่ในโถอบแห้งเหมือนเดิม

2.ใส่เศษอาหารลงไปในถ้วยกระเบื้องเคลือบ แล้วชั่งน้ำหนักให้มีน้ำหนักเศษอาหาร $\approx$ 2 g บันทึกน้ำหนัก

3.นำไปเผาในเตาเผา (muffle furnace) ที่ 550 $^{\circ}$c 3 ชั่วโมง จนเถ้าเป็นสีขาว

5.นำเข้าโถอบแห้ง ให้ดูดความร้อนและให้เย็น นำมาชั่งน้ำหนัก

หมายเหตุ

% เถ้า = น้ำหนักเถ้า / น้ำหนักเศษอาหาร x 100

การวิเคราะห์ไขมัน

วิธีการ

1.นำขวดสกัดสารเข้าตู้อบ 40 นาที แล้วเข้าโถอบแห้ง ทิ้งให้เย็น ชั่งหาน้ำหนัก

2.ชั่งน้ำหนักเศษอาหารบนกระดาษกรองให้ได้ 3 g บันทึกน้ำหนัก แล้วห่อให้มิดชิด ใส่ลงในไส้กรองสาร

3.ใช้สำลีสะอาดอุดไส้กรองสาร อบในเตาอบ 100° c 2 ชั่วโมง (เอาความชื้นออก และสารเคมีจะซึมได้ดี)

4.นำไส้กรองสารใส่ในโถอบแห้งให้เย็น แล้วไปใส่ในกระบอกแก้วสกัดสารซึ่งต่อกับขวดสกัดสารที่อบแล้วจากข้อ 1.

5.ใส่ dichloromethane ลงในกระบอกแก้วสกัดสารให้ล้นลงมาทางหลอดแก้วด้านข้าง เพื่อให้มีสารเคมีในขวดสกัดสารด้วย (มีสารเคมี ≈ ครึ่งขวดสกัดสารและมีในกระบอกแก้วสกัดสารครึ่งกระบอก)

6.นำกระบอกแก้วควบแน่นต่อเข้ากับกระบอกแก้วสกัดสาร แล้วสกัดในอัตราควบแน่น 5-6 หยดต่อนาทีใช้เวลา 4 ชั่วโมง หรือ 2-3 หยดต่อนาทีใช้เวลา 16 ชั่วโมง

7.เมื่อไขมันถูกสกัดออกหมด ให้เอาไส้กรองสารออก แล้วระเหยสารเคมีเทกลับใส่ขวดให้หมดเพื่อใช้ต่อ

8.นำขวดสกัดสารที่มีไขมันไปอบในเตาอบ 100 °c 30 นาที นำไปใส่ในโถอบแห้งให้เย็น ชั่งน้ำหนัก

หมายเหตุ

% ไขมัน = น้ำหนักไขมัน / น้ำหนักเศษอาหาร x 100

การวิเคราะห์หาสารเยื่อใย

1.นำเศษอาหารใส่ในบีกเกอร์ 600 ml บันทึกน้ำหนักเศษอาหาร แล้วใส่ asbestos 0.5 g พร้อมกับใส่ลูกแก้วหรือหินเพื่อกันกระแทก

2.เติม H_2SO_4 ความเข้มข้น 1.25 % จำนวน 200 ml ลงไป แล้วต้มจนเดือดบนเครื่องย่อยสารเยื่อใย 30 นาที (เมื่อเริ่มเดือด จึงเริ่มจับเวลา)

3.เมื่อครบ 30 นาที นำมากรองบนกรวยบุชเนอร์ที่ต่อกับขวดแก้วกรอง (filtering flask) ขนาด 1000 ml โดยใช้ปั๊มลมดูด จากนั้นล้างตะกอนด้วยน้ำร้อนจนหมดกรด

4.เทตะกอนลงในบีกเกอร์ใบเดิม เติม NaOH 1.25 % จำนวน 200 ml ลงไป แล้วต้มจนเดือดบนเครื่องย่อยสารเยื่อใย จึงเริ่มจับเวลา 30 นาที (เหมือนข้อ 2)

5.เทตะกอนที่ย่อยลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบชนิดมีรูที่มี asbestos รองรับบางๆ โดยถ้วยกระเบื้องเคลือบจะวางบนขวดแก้วกรอง ล้างด้วย alcohol 95 % ปริมาตร 15 ml เพื่อชะน้ำออกจากตะกอน

6.นำถ้วยกระเบื้องเคลือบที่มีสารเยื่อใย ไปอบในเตาอบ 135 °c 2 ชั่วโมงหรือ 100 °c 8 ชั่วโมง

7.นำมาใส่ในโถอบแห้งให้เย็น ชั่งน้ำหนัก

8.นำถ้วยกระเบื้องเคลือบที่มีสารเยื่อใยไปเผาบน hot plate เพื่อให้หมดควัน จากนั้นนำไปเผาในเตาเผา 600 °c 30 นาที แล้วใส่ในโถอบแห้ง จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก

% สารเยื่อใย = (น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบกับตะกอนก่อนเผาบนเตาต้มร้อน – น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบภายหลังการเผาในเตาเผา) / น้ำหนักของตัวอย่างเศษอาหาร x 100

การวิเคราะห์ไนโตรเจนและโปรตีนรวม

วิธีการ

1.ชั่งน้ำหนักเศษอาหารประมาณ 0.5 g แล้วเทใส่ในขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีน เตรียม blank ด้วย โดยไม่ใส่เศษอาหาร

2.หาปริมาณ N ตามขั้นตอนดังนี้ (N ตัวนี้จะเป็น NPN (non-protein nitrogen) แต่ไม่ใช่ทุกตัวจะยกเว้นพวก nitrate และ nitrite)

2.1 การย่อย (digestion)

1.ใส่ glass bead ประมาณ 3-4 เม็ด

2.เติม digestion reagent [ก] 25 ml ลงไปในขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีน จากนั้นเติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น (concentrated H_2SO_4) ลงไปอีก 5 ml

3.เติม deionised water ลงไป 250 ml

4.ต้มบนเครื่องย่อย โดยครั้งแรกใช้ความร้อนต่ำจนเดือด แล้วจึงเพิ่มความร้อนให้สูงขึ้น ถ้าสารละลายเดือดเร็วเกินไป ให้ปิดไฟสัก 5 นาที แล้วค่อยเปิดใหม่จนกระทั่งสารละลายในขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีนเปลี่ยนเป็นสีเขียว ปิดไฟ ทิ้งให้เย็น (ขณะต้มต้องคอยหมุนขวดไปรอบ ๆ เพื่อให้อาหารถูกย่อยจนหมด)

2.2 การกลั่น (distillation)

1.เมื่อสารละลายเย็นแล้ว เติม deionised water 300 ml ลงในขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีน

2.เอียงขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีนแล้วค่อย ๆ เทสารละลาย NaOH thiosulphate reagent [ข] 50 ml ลงไปตามปากขวด อย่าให้สารละลายกระเพื่อม (เพราะว่าสารละลายจะทำปฏิกริยากันก่อนเข้าเครื่องกลั่น และจะสูญเสียปริมาณ N)

3.ต่อขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีนเข้ากับเครื่องกลั่นที่มี erlenmeyer flask ซึ่งมี indicative boric acid [ค] 50 ml อยู่ ให้ปลายหลอดแก้วที่ต่อจากกระบอกแก้วควบแน่นจุ่มอยู่ในกรดบอริก

4.กลั่นจนไม่มี NH_3 ออกมา (ใช้กระดาษลิตมัสสีแดงทดสอบ ถ้ามี NH_3 เหลือ กระดาษลิตมัสจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน ถ้าไม่เปลี่ยนสี จะไม่มี NH_3)

5.ลดขวด erlenmeyer flask ให้ต่ำลง โดยให้ปลายหลอดแก้วอยู่เหนือระดับสารละลาย แล้วกลั่นต่ออีก 10 นาที ล้างปลายเครื่องกลั่นด้วยน้ำกลั่นให้ไหลลงใน erlenmeyer flask นำ erlenmeyer flask ออกจากเครื่องกลั่น

2.3 ไตเตรท

นำไปไตเตรทด้วยกรดซัลฟุริกมาตรฐาน[ง] ที่ทราบความเข้มข้น (0.02 N) จนถึง end point (อาจใช้ด่างมาตรฐานก็ได้) จดปริมาณกรดไว้เพื่อคำนวณ

หมายเหตุ

เมื่อใช้กรดซัลฟุริกไตเตรท

$$\% \text{ ไนโตรเจน} = \frac{1.4 (V_1 - V_2) \times N}{W}$$

$$\% \text{ โปรตีน} = \frac{1.4 (V_1 - V_2) \times N \times 6.25}{W}$$

V_1 = ปริมาตรกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

V_2 = ปริมาตรกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรทตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบ (blank)

N = ความเข้มข้นของกรดมาตรฐานเป็นนอร์มอล

W = น้ำหนักตัวอย่างเศษอาหาร

หมายเหตุ

ก.วิธีเตรียม digestion reagent

1.ชั่ง K_2SO_4 134 g ผสมกับ $CuSO_4$ 7.3 g ในน้ำกลั่น 800 ml

2.เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น (concentrated H_2SO_4) ปริมาตร 134 ml ลงในสารละลายจากข้อ 1. จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 l.

ข.วิธีเตรียม NaOH thiosulphate reagent

ชั่ง NaOH 500 g ผสมกับ $NaS_2O_3.5H_2O$ อีก 25 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

ค. วิธีเตรียม indicative boric acid

ชั่ง H_3BO_3 20 g ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นเติม indicator solution ลงไป 10 ml. และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 l

วิธีเตรียม indicator solution

1.ละลาย methyl red 200 mg ใน 95 % ethyl alcohol หรือ 95 % isopropyl alcohol 100 ml.

2. ละลาย methylene blue 100 mg ใน 95 % ethyl alcohol หรือ 95 % isopropyl alcohol 50 ml.

3.ผสมสารละลายจากข้อ 1 และ 2 เข้าด้วยกัน

ง.วิธีเตรียมกรดซัลฟุริกมาตรฐาน

1.เท conc. H_2SO_4 2.8 ml ลงไปใน deionised water 1 ลิตร สารละลายดังกล่าวจะมีความเข้มข้นเท่ากับ 0.1 นอร์มอล

2.นำสารละลาย conc. H_2SO_4 0.1 ml มา 200 ml แล้วปรับปริมาตรด้วย deionised water จนได้สารละลาย 1 ลิตร สารละลายดังกล่าวจะมีความเข้มข้นเท่ากับ 0.02 นอร์มอล

3.นำไปไตเตรทกับ 0.05 N Na_2CO_3 (ชั่ง Na_2CO_3 0.25 g ปรับปริมาตรด้วย deionised water จนได้ปริมาตร 100 ml.) 15 ml.

การวิเคราะห์หา P,K, Ca และ Mg

ก่อนวิเคราะห์แร่ธาตุดังกล่าว ต้องนำเศษอาหารไปทำการย่อย (digestion)

ขั้นตอนการย่อย

1.ชั่งน้ำหนักเศษอาหาร 0.2 g ใส่ใน erlenmeyer flask จากนั้นเติม $HNO_3/HCLO_4$ digestion [ก] ลงไป 15 ml.

2.ต้มให้ความร้อน จนควันสีน้ำตาลกลายเป็นสีขาว

3.ทิ้งให้เย็น และปรับปริมาตรด้วย deionised water ให้ได้ 25 ml.

4.ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นเทสารละลายลงในขวดพลาสติกเพื่อวิเคราะห์ P,K,Ca และ Mg ต่อไป

5.วิธีการวิเคราะห์ P ใช้วิธี spectrophotometry ส่วนวิธีการวิเคราะห์ K,Ca และ Mg ใช้วิธี Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS)

หมายเหตุ

ก.ใช้ conc. HNO_3 1250 ml ผสมกับ conc. $HCLO_4$ 250 ml จากนั้นเติม ammonium meta vanadate (NH_4VO_3) ลงไป 0.06 g