

อิทธิพลตัวเร่งและความเข้มข้น กรดบอริกในการวิเคราะห์โปรตีน

ไพโรจน์ วิริยจารี และ เจนจิรา เคารพธรรม

ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ

เนื้อวัว (beef) เนื้อหมู (pork) แป้งสาลี (wheat flour) และถั่วเหลือง (soy bean powder) ใช้เป็นตัวอย่างในการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน โดยศึกษาตัวเร่งการย่อยสลายสามชนิดคือ 1) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} : \text{K}_2\text{SO}_4$, 2) $\text{SeO}_2 : \text{K}_2\text{SO}_4$ และ 3) $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$ เพื่อเปรียบเทียบหาตัวเร่งที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด ในการย่อยโปรตีน และศึกษาอิทธิพลความเข้มข้นของกรดบอริกในการจับแอมโมเนีย โดยใช้กรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 4 ในขั้นตอนการกลั่นวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

ผลการทดลองพบว่า $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$ เป็นตัวเร่งการย่อยสลายโปรตีน ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด กล่าวคือ สามารถย่อยสลายเนื้อวัวคิดเป็นโปรตีนร้อยละ 16.33 ± 0.39 เนื้อหมูคิดเป็นโปรตีนร้อยละ 19.75 ± 2.27 แป้งสาลีคิดเป็นโปรตีน ร้อยละ 10.02 ± 0.23 และถั่วเหลืองคิดเป็นโปรตีนร้อยละ 35.76 ± 6.17

ผลการทดลองอิทธิพลความเข้มข้นของกรดบอริกในการจับแอมโมเนีย ในขั้นตอนการกลั่นวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนพบว่า เนื้อวัวและแป้งสาลีใช้กรดบอริก ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 4 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01 และ 0.05 ตามลำดับ และการใช้กรดบอริกร้อยละ 4 มีความเหมาะสมมากที่สุด ส่วนตัวอย่างเนื้อหมูและถั่วเหลือง การใช้กรดบอริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 4 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

คำนำ

โปรตีนเป็นมหโกชนะที่มีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตมาก พบมากในอาหารประเภทเนื้อสัตว์ และถั่วชนิดต่าง ๆ โปรตีนต่างชนิดกันจะมีคุณภาพทางโภชนาการต่างกัน กล่าวคือ มีความแตกต่างในการย่อยสลายและชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นส่วนประกอบ ในโมเลกุล เช่น โปรตีนจากนมและไข่ มีคุณภาพทางโภชนาการสูงกว่าโปรตีนจากข้าวโพด และข้าวสาลี การที่จะทราบว่าอาหารชนิดใดมีปริมาณโปรตีนมากน้อยเท่าใด สามารถทำการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนได้หลายวิธีด้วยกัน สำหรับวิธีที่นิยมใช้กันมากคือ Kjeldahl method ซึ่งวิธีนี้ตัวอย่างอาหารจะถูกนำมาย่อยสลายด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น ให้กลายเป็นสารประกอบซัลเฟตเสียก่อน หลังจากนั้นนำสารละลายซัลเฟตไปทำปฏิกิริยา กับด่างเข้มข้นจะได้แอมโมเนียออกมา ซึ่งจะใช้กรดบอริกความเข้มข้นมาตรฐาน เป็นตัวจับแอมโมเนียที่กลั่นออกมา

การย่อยสลายโปรตีนจำเป็นต้องใส่สารตัวเร่ง (eatalyst) เพื่อเร่งให้มีการย่อยสลายเร็วขึ้น เนื่องจากตัวเร่งที่ใช้อยู่ในปัจจุบันมีหลายชนิดเช่น Mitchell (1972) ใช้ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} : \text{K}_2\text{SO}_4$ (1 : 15), AOAC (1975) ใช้ $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$ (2 : 95) และ Pearson (1976) ใช้ $\text{SeO}_2 : \text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} : \text{Na}_2\text{SO}_4$ (0.5 : 3.5 : 96) เป็นตัวเร่งเป็นต้น ซึ่งตัวเร่งดังกล่าวยังไม่มีรายงานว่า ชนิดใดเหมาะสมที่จะช่วยการย่อยสลายโปรตีนได้ดีที่สุด ดังนั้นจำเป็นต้องศึกษาว่าตัวเร่งใดเหมาะสม ที่จะช่วยให้การย่อยสลายโปรตีนมีประสิทธิภาพดีที่สุด นอกจากนั้นการศึกษาถึงความเข้มข้นของกรดบอริกที่ใช้ในการจับแอมโมเนียก็มีความสำคัญ ปกตินิยมใช้กรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 เป็นตัวจับแอมโมเนีย (AOAC 1975) แต่การศึกษาความเข้มข้นของกรดบอริกที่ความเข้มข้นต่ำกว่ามาตรฐานอาจเป็นไปได้ที่จะจับแอมโมเนีย เพื่อให้วิธีการวิเคราะห์โปรตีนมีประสิทธิภาพ ประหยัดทั้งเวลาและค่าใช้จ่าย

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์

1. วัตถุดิบ : เนื้อวัว เนื้อหมู แป้งสาลี และถั่วเหลืองผง
2. เครื่องมือ : เครื่องวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (Micro-Kjeldahl Distillation) เครื่อง Spectronic 21
3. เครื่องแก้วต่าง : Microkjeldahl flask
Volumetric flask ขนาด 100, 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร
Beaker ขนาด 150 และ 250 มิลลิลิตร
Pipette ขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
4. สารเคมีต่าง ๆ ที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนเป็น AR grade (nitrogen free)

วิธีการทดลอง

การศึกษาการใช้ตัวเร่งสามชนิดและความเข้มข้นของกรดบอริกสองระดับ ในการจับแอมโมเนียในขบวนการวิเคราะห์โปรตีนในเนื้อวัว เนื้อหมู แป้งสาลี และถั่วเหลืองผง โดยวิธีการ Micro-Kjeldahl method ได้ดำเนินการทดลองเป็น 2 ขั้นตอน แยกอิสระต่อกันคือ

1. เปรียบเทียบอิทธิพลของตัวเร่งในการย่อยสลายโปรตีน
2. เปรียบเทียบอิทธิพลความเข้มข้นของกรดบอริกในการจับแอมโมเนีย ของการกลั่น

โดยมีรายละเอียดของแต่ละการทดลองดังนี้.-

1. เปรียบเทียบอิทธิพลของตัวเร่งในการย่อยสลายโปรตีน

การทดลองนี้เป็นแบบ Completely Randomized Design ซึ่งมีค่าสังเกตเป็นปริมาณโปรตีนคิดเป็นร้อยละ และทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

ซึ่งตัวอย่างเนื้อวัวบดละเอียด 0.050 กรัม เนื้อหมูบดละเอียด 0.010 กรัม แป้งสาลี และถั่วเหลืองผงที่คลุกเคล้าอย่างสม่ำเสมออย่างละ 0.300 กรัม ใส่ใน Micro-Kjeldahl flask เติมตัวเร่งการย่อยสลายในตัวอย่างอาหารแต่ละชนิดดังนี้ $\text{CoSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} : \text{K}_2\text{SO}_4 (1:15)$, $\text{SeO}_2 : \text{K}_2\text{SO}_4 (1:100)$ และ $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4 (2:95)$ อย่างละ 1.5 กรัมต่อ 1 ตัวอย่าง เติม 1 มิลลิลิตรของกรดกำมะถันเข้มข้น ในแต่ละตัวอย่าง นำไปย่อยสลายจนกระทั่งได้สารละลายใสแล้ว ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลง 10 นาที ทำให้เป็นสารละลายด้วยน้ำกลั่น 15 - 20 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

นำ Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร มาเติมตัวอย่างที่ทำการสลายและปรับปริมาตรข้างต้น 1 - 5 มิลลิลิตร, เติมสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.12 นอร์มัล 5 มิลลิลิตร, สารละลาย (ก) 10 มิลลิลิตร, สารละลาย (ข) 5 มิลลิลิตร และสารละลาย (ค) 1 มิลลิลิตร (ดูรายละเอียดท้ายการทดลองนี้) นำสารละลายดังกล่าวข้างต้นมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง นำตัวอย่างไปอ่านค่า absorbance ด้วยเครื่อง spectronic 21 ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร พร้อม blank ด้วย นำค่าไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานซึ่งใช้ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ เป็นสารมาตรฐานการหาปริมาณไนโตรเจน และคำนวณ

ปริมาณโปรตีนคิดเป็นร้อยละจากสูตร % ไนโตรเจน $\times 6.25$ สำหรับเนื้อวัว เนื้อหมูและ
 ไข่เหลืองผง และจากสูตร % ไนโตรเจน $\times 5.70$ สำหรับแป้งสาลี

การวิเคราะห์ความชื้นในอาหารใช้วิธี AOAC (1975)

หมายเหตุ สารละลาย (ก) เตรียมจากละลาย phenol 5 กรัม และ Sodium-nitroprusside ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร

สารละลาย (ข) เตรียมจากละลาย NaOH 2.5 กรัม, anhydrous Na_2HPO_4 1.87 กรัม, $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 15.9 กรัม และ Clorox 5 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร

สารละลาย (ค) เตรียมจากละลาย ethylene diamine tetraacetic acid 1 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรและปรับ pH เป็น 10 ด้วยด่างเข้มข้น โดยใช้ Ph - meter

2. เปรียบเทียบอิทธิพลความเข้มข้นของกรดบอริกในการจับแอมโมเนียของการกลั่น

การทดลองนี้เป็นแบบ Completely Randomized Design ซึ่งมีค่าสังเกตเป็นปริมาณโปรตีน คิดเป็นร้อยละ และทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

ซึ่งตัวอย่างเนื้อวัวบดละเอียด 0.050 กรัม เนื้อหมูบดละเอียด 0.010 กรัม และแป้งสาลี ไข่เหลืองผงที่คลุกเคล้าสม่ำเสมออย่างละ 0.200 กรัม ใส่ใน Micro - Kjeldahl flask เติมสารตัวเร่ง $\text{Hgo}:\text{K}_2\text{SO}_4$ (2:95) จำนวน 1.5 กรัม เติมกรดกำมะถันเข้มข้น 1 ± 0.1 มิลลิลิตร นำไปย่อยจนได้สารละลายใส แล้วทิ้งไว้ให้เย็น จึงค่อย ๆ ล้างข้าง flask ด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย เพื่อละลายผลิตภัณฑ์สารละลายตัวอย่างลงในขวดกลั่น ล้าง flask ด้วยน้ำกลั่น 1 ± 2 มิลลิลิตร ประมาณ 5 - 6 ครั้ง เติม

สารละลาย $\text{NaOH} - \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ จำนวน 8 - 10 มิลลิลิตร ทำการกลั่น โดยใช้ความร้อนจากไอน้ำเดือด ใช้ Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร บรรจุกรดบอริก ความเข้มข้นร้อยละ 2 และร้อยละ 4 รองรับสิ่งที่กลั่นได้ ให้ปลายของ condenser จุ่มอยู่ใต้ผิวน้ำสารละลายกรดบอริก เติม methyl red methylene blue 1 - 2 หยด กลั่นจนได้ Distillate ประมาณ 50 มิลลิลิตร นำไปไทเทรต กับสารละลายกรดกำมะถันมาตรฐาน ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนสารละลายเปลี่ยนสี ทำ blank ควบคู่ไปด้วย คำนวณหาปริมาณไนโตรเจนได้จากสูตร

$$\% \text{ N} = \frac{(\text{ml. H}_2\text{SO}_4 - \text{ml. blank}) \times \text{normality of H}_2\text{SO}_4 \times 1400.67}{\text{mg. of Sample}}$$

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. เปรียบเทียบอิทธิพลของตัวเร่งในการย่อยสลายโปรตีน

ตัวอย่างเนื้อวัวมีความชื้นร้อยละ 74.45 ± 0.96 เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยใช้ตัวเร่งต่างกัน ได้ผลต่างกันดังนี้ ใช้ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} : \text{K}_2\text{SO}_4$ ได้ค่าโปรตีนร้อยละ 15.71 ± 0.57 , ใช้ $\text{SeO}_2 : \text{K}_2\text{SO}_4$ ได้ค่าโปรตีนร้อยละ 14.29 ± 0.13 และใช้ $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$ ได้ค่าโปรตีนร้อยละ 16.33 ± 0.39 (ตารางที่ 1) ซึ่งจากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการใช้ตัวเร่งในการย่อยสลายโปรตีนทั้งสามชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ดังนั้น ในการย่อยสลายตัวอย่างเนื้อวัวเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนจึงน่าจะเลือกใช้ $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$ เป็นตัวเร่ง เพราะสามารถย่อยสลายตัวอย่างได้ค่าโปรตีนสูงถึงร้อยละ 16.33 ± 0.39 ซึ่งสอดคล้องกับ

Pearson (1976) แต่เนื่องจากการใช้ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} : \text{K}_2\text{SO}_4$ และ $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$ ในการย่อยสลายให้ค่าโปรตีนที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ Pearson ได้กล่าวถึง HgO เป็นสารพิษแก่ร่างกาย ตลอดจนมลพิษต่อสภาพสิ่งแวดล้อม ดังนั้น การเลือกใช้ตัวเร่ง ในทางปฏิบัติจึงควรเลือกใช้ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} : \text{K}_2\text{SO}_4$ ได้เช่นกัน

ตัวอย่างเนื้อหมูมีความชื้นร้อยละ 62.29 ± 1.92 เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยใช้ตัวเร่งต่างกันได้ผลต่างกันดังนี้คือ ใช้ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} : \text{K}_2\text{SO}_4$ ได้ค่าโปรตีนร้อยละ 14.82 ± 0.76 , ใช้ $\text{SeO}_2 : \text{K}_2\text{SO}_4$ ได้ค่าโปรตีนร้อยละ 10.52 ± 0.51 และใช้ $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$ ได้ค่าโปรตีนร้อยละ 19.75 ± 2.27 (ตารางที่ 1) จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การใช้ตัวเร่งในการย่อยสลายโปรตีนทั้งสามชนิด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) และพบว่าการใช้ $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$ เป็นตัวเร่งในการย่อยสลาย มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) กับตัวเร่งอื่นๆ เช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในตัวอย่างเนื้อวัว

ตัวอย่างแป้งสาลีมีความชื้นร้อยละ 11.33 ± 0.16 เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยใช้ตัวเร่งต่างกัน ได้ผลต่างกันดังนี้คือ ใช้ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} : \text{K}_2\text{SO}_4$ ได้ค่าโปรตีนร้อยละ 9.39 ± 0.06 , ใช้ $\text{SeO}_2 : \text{K}_2\text{SO}_4$ ได้ค่าโปรตีนร้อยละ 9.87 ± 0.33 และใช้ $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$ ได้ค่าโปรตีนร้อยละ 10.02 ± 0.23 (ตารางที่ 1) จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การใช้ตัวเร่งในการย่อยสลายโปรตีนทั้งสามชนิด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งการใช้ $\text{SeO}_2 : \text{K}_2\text{SO}_4$ และ $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$ เป็นตัวเร่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่การใช้ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} : \text{K}_2\text{SO}_4$ เป็นตัวเร่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังนั้น จากผลการวิเคราะห์ทางสถิตินี้จะเห็นว่าควรเลือก $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$ หรือ $\text{SeO}_2 : \text{K}_2\text{SO}_4$ เป็นตัวเร่ง เพื่อย่อยสลายโปรตีนของตัวอย่างแป้งสาลี แต่ทั้งนี้อาจเลือก $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$ เป็นตัวเร่งได้ดี

เพราะสามารถย่อยสลายโปรตีนได้สูงถึงร้อยละ 10.02 ± 0.23 อีกทั้งการใช้ SeO_2 : K_2SO_4 เป็นตัวเร่ง มีปัญหาเกิดควันดำและเขม่าดำฟุ้งติดปากภาชนะย่อยสลายมากมายทำให้การย่อยสลายเพื่อให้ได้สารละลายใสค่อนข้างลำบาก

ตัวอย่างถั่วเหลืองผง มีความชื้นร้อยละ 9.33 ± 0.84 เมื่อนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยใช้ตัวเร่งต่างกัน ได้ผลต่างกันดังนี้ คือใช้ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: K_2SO_4 ได้ค่าโปรตีนร้อยละ 31.98 ± 2.94 , ใช้ SeO_2 : K_2SO_4 ได้ค่าโปรตีนร้อยละ 22.94 ± 2.41 และใช้ HgO : K_2SO_4 ได้ค่าโปรตีนร้อยละ 35.76 ± 6.17 (ตารางที่ 1) จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การใช้ตัวเร่งในการย่อยสลายโปรตีนทั้งสามชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p < 0.05$) และพบว่าการใช้ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: K_2SO_4 และ HgO : K_2SO_4 เป็นตัวเร่ง ในการย่อยสลายโปรตีน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งอาจเลือกใช้ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: K_2SO_4 เป็นตัวเร่งได้เช่นเดียวกับตัวอย่างเนื้อวัว เมื่อคำนึงถึงว่า HgO เป็นสารให้โทษแก่ร่างกาย แต่ทั้งนี้การใช้ HgO : K_2SO_4 เป็นตัวเร่งในการย่อยสลายสามารถย่อยสลายโปรตีนได้สูงถึงร้อยละ 35.76 ± 6.17

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์หาโปรตีนของตัวอย่างต่าง ๆ เมื่อใช้ตัวเร่งแตกต่างกัน
(คิดเป็นร้อยละ)

ตัวอย่าง	C.V. (%)	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} : \text{K}_2\text{SO}_4$	$\text{SeO}_2 : \text{K}_2\text{SO}_4$	$\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$	LSD	
					0.05	0.01
เนื้อวัว	2.61	15.71 ± 0.57	14.29 ± 0.13	16.33 ± 0.39	0.81	1.22
เนื้อหมู	9.40	14.82 ± 0.76	10.52 ± 0.51	19.75 ± 2.27	2.82	4.28
แป้งสาลี	2.45	9.39 ± 0.06	9.87 ± 0.33	10.02 ± 0.23	0.47	0.72
ถั่วเหลืองผง	13.84	31.98 ± 2.94	22.99 ± 2.41	35.76 ± 6.17	8.36	12.66

2. การเปรียบเทียบความเข้มข้นของกรดบอริกในการจับแอมโมเนีย

การทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้นของกรดบอริกในการจับแอมโมเนียในขั้นตอนการกลั่น เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน เมื่อนำตัวอย่างเนื้อวัวมาย่อยสลาย ด้วยตัวเร่ง $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$ และนำมาทำการกลั่นโดยใช้ความเข้มข้นของกรดบอริก ร้อยละ 2 และ 4 สามารถจับแอมโมเนียคิดเป็นโปรตีนร้อยละ 21.29 ± 0.45 และร้อยละ 22.91 ± 0.31 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การใช้กรดบอริกที่ระดับความเข้มข้นทั้งสองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ดังนั้น การเลือกใช้ความเข้มข้นกรดบอริกที่เหมาะสมในการจับแอมโมเนียได้ดี ในขั้นตอนการกลั่นหาปริมาณไนโตรเจนในเนื้อวัว ควรใช้ความเข้มข้นของกรดบอริก ร้อยละ 4 เพราะสามารถจับปริมาณแอมโมเนียได้ดีกว่า คิดเป็นโปรตีนสูงถึงร้อยละ 22.91 ± 0.13 ซึ่งสอดคล้องกับวิธีของ AOAC (1975)

ตัวอย่างเนื้อหมู เมื่อนำมาย่อยสลายด้วยตัวเร่ง $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$ และนำมากลั่นเช่นเดียวกับเนื้อวัว โดยใช้ความเข้มข้นของกรดบอริกร้อยละ 2 และ 4 สามารถจับแอมโมเนีย คิดเป็นโปรตีนร้อยละ 20.57 ± 0.84 และร้อยละ 19.13 ± 0.79 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การใช้กรดบอริกที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ดังนั้น จึงควรเลือกความเข้มข้นของกรดบอริก ร้อยละ 2 เพราะการใช้ความเข้มข้นร้อยละ 4 เป็นการสิ้นเปลืองสารเคมี เพราะทั้งสองระดับความเข้มข้นของกรดบอริกต่างจับแอมโมเนีย คิดเป็นโปรตีนที่ไม่แตกต่างกันเลย

ตัวอย่างแป้งสาลี เมื่อนำมาย่อยสลายและกลั่นเพื่อจับแอมโมเนีย ในการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน โดยใช้ความเข้มข้นของกรดบอริกร้อยละ 2 และ 4 สามารถจับแอมโมเนียคิดเป็นโปรตีนร้อยละ 9.94 ± 0.09 และร้อยละ 10.22 ± 0.13 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การใช้กรดบอริกที่ระดับความเข้มข้นทั้งสองมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งการใช้ความเข้มข้นกรดบอริกร้อยละ 4 สามารถจับแอมโมเนียได้มากกว่า คิดเป็นโปรตีนได้สูงกว่าการใช้ความเข้มข้นกรดบอริกร้อยละ 2 ซึ่งสอดคล้องกับในตัวอย่างเนื้อวัว (AOAC, 1975)

ตัวอย่างถั่วเหลืองผง เมื่อนำมาย่อยสลายและกลั่นเช่นเดียวกับตัวอย่างอื่น ๆ ข้างต้น และนำมากลั่นเพื่อจับแอมโมเนียในการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนโดยใช้ความเข้มข้นของกรดบอริกร้อยละ 2 และ 4 สามารถจับแอมโมเนีย คิดเป็นโปรตีนร้อยละ 35.00 ± 1.65 และร้อยละ 32.00 ± 1.90 ตามลำดับ (ดังตารางที่ 2) เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การใช้ความเข้มข้นของกรดบอริกที่ต่างกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จึงควรเลือกที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 ในการจับแอมโมเนียเพราะเป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายด้วย จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าในบางตัวอย่าง ไม่จำเป็นจะต้องใช้ความเข้มข้นกรดบอริกมาตรฐานร้อยละ 4 เป็นตัวจับแอมโมเนียก็ได้ อาจจะใช้ความเข้มข้นที่ต่ำกว่ามาตรฐานเพื่อเป็นการประหยัดสารเคมี

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์หาโปรตีนของตัวอย่างต่าง ๆ เมื่อใช้ความเข้มข้นกรดบอริกที่ระดับต่างกัน (คิดเป็นร้อยละ)

ตัวอย่าง	C.V. (%)	ความเข้มข้นกรดบอริก		LSD	
		ร้อยละ 2	ร้อยละ 4	0.05	0.01
เนื้อวัว	1.50	21.29 ⁺ _{0.45}	22.91 ⁺ _{0.13}	0.75	1.25
เนื้อหมู	4.12	20.57 ⁺ _{0.84}	19.13 ⁺ _{0.79}	1.85	3.07
แป้งสาลี	1.11	9.94 ⁺ _{0.09}	10.22 ⁺ _{0.13}	0.25	0.42
ถั่วเหลืองผง	5.31	35.00 ⁺ _{1.65}	32.00 ⁺ _{1.90}	4.03	6.69

สรุปผลการทดลอง

การทดลองเปรียบเทียบอิทธิพลของตัวเร่งในการย่อยสลายโปรตีนในตัวอย่างอาหารต่าง ๆ กัน เช่น เนื้อวัว เนื้อหมู แป้งสาลี และถั่วเหลืองผง พบว่าการใช้ตัวเร่ง $\text{HgO} : \text{K}_2\text{SO}_4$ จะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีนได้ดีที่สุด แต่มีข้อแนะนำในทางปฏิบัติเนื่องจาก HgO เป็นสารที่เป็นพิษต่อร่างกายคือ ควรปฏิบัติอย่างระมัดระวังละเอียดรอบคอบจะเป็นหนทางหนึ่งในการลดปัญหาดังกล่าว เช่น ขณะที่ทำการย่อยสลาย เริ่มแรกควรให้ความร้อนที่ต่ำ ๆ ก่อน เพื่อมิให้ปฏิกิริยาเกิดเร็วเกินไป จะทำให้ตัวเร่งกระเด็นพุ่งมาข้างนอกได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายควรอยู่ในช่วง $370^\circ \text{C} - 410^\circ \text{C}$.

ส่วนการทดลองเปรียบเทียบความเข้มข้นของกรดบอริก ในการจับแอมโมเนียเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนคิดเป็นโปรตีน พบว่าในบางตัวอย่าง ไม่จำเป็นต้องใช้ความเข้มข้น กรดบอริกมาตรฐานร้อยละ 4 เป็นตัวจับแอมโมเนียก็ได้ เราอาจจะใช้ความเข้มข้นต่ำกว่ามาตรฐานเพื่อเป็นการประหยัดสารเคมี เช่น การใช้ความเข้มข้นของกรด

บอริกร้อยละ 2 เป็นต้น และมีข้อเสนอแนะว่า ในการทดลองขั้นตอนนี้ สิ่งที่ควรคำนึงถึงอย่างมากคือ ควรให้ปลาย condenser จุ่มในสารละลายบอริก ไม่ควรให้พื้นผิวหน้าสารละลาย เพราะจะทำให้บอริกจับแอมโมเนียได้ไม่เต็มที่ อาจสูญเสียแอมโมเนียได้ ทำให้ผลการวิเคราะห์ผิดพลาดได้เช่นกัน

เอกสารอ้างอิง

- AOAC. (1975). Official Method of Analysis. 12 th ed. Washington ,
D.C : The Association of Official Analytical Chemists.
- King, R.D. (1978). Development in Food Analysis Technique.
Applied Science Publishers. London. Page 43 - 67.
- Mitchell, H.L. (1972). Microdetermination of nitrogen in plant
tissues. *J.Assoc. Offic. Anal Chemists*, 55 : 1.
- Pearson, D. (1976). The Chemical Anzlysis of Foods. Churchill
Livingstone. London and New York. page 9 - 14.
- Pomeranz, Y. and Meloan. C.E. (1978). Food Analysis : Theory and
Practice. AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.
page 671 - 681.