โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ องค์ประกอบทางโภชนาการของด้วงสาคูเพื่อเป็นแหล่งอาหารทางเลือกสำหรับการประยุกต์ใช้ในอนาคต

ชื่อนิสิต นางสาวเบญจรัตน์ มหาไตรภพ
นางสาวพิมพ์ชนก ดวงเจริญเขตต์

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

ปีการศึกษา 2562

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานการวิจัย

ภายใต้โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

เรื่อง

องค์ประกอบทางโภชนาการของด้วงสาคูเพื่อเป็นแหล่งอาหารทางเลือก สำหรับการประยุกต์ใช้ในอนาคต

(Nutrient composition of Sago worms *(Rhynchophorus ferrugineus*)

as alternative food source for future application)

โดย

นางสาวเบญจรัตน์ มหาไตรภพ

นางสาวพิมพ์ชนก ดวงเจริญเขตต์

ประจำปีการศึกษา พ.ศ. 2562

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

องค์ประกอบทางโภชนาการของด้วงสาคูเพื่อเป็นแหล่งอาหารทางเลือกสำหรับการประยุกต์ใช้ในอนาคต

โดย

นางสาวเบญจรัตน์ มหาไตรภพ

นางสาวพิมพ์ชนก ดวงเจริญเขตต์

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พนิตา งามเชื้อชิต

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประจำปีการศึกษา 2562

NUTRIENT COMPOSITION OF SAGO WORMS *(Rhynchophorus ferrugineus)* AS ALTERNATIVE FOOD SOURCE FOR FUTURE APPLICATION

Benjarat Mahatraipob

Pimchanok Duangcharoenkett

Project Advisor

Asst. Prof. Panita Ngamchuachit, Ph.D.

A Report Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Bachelor of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2019

หัวข้องานวิจัย	องค์ประกอบทางโภชนาการของด้วงสาคูเพื่อเป็นแหล่งอาหารทางเลือกสำหรับการประยุกต์ใช้ในอนาคต
โดย	นางสาว เบญจรัตน์ มหาไตรภพ
	นางสาว พิมพ์ชนก ดวงเจริญเขตต์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พนิตา งามเชื้อชิต
ปีการศึกษา	2562

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย
อนุมัติให้รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
ประจำปีการศึกษา 2562

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ขนิษฐา ธนานุวงศ์)
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พนิตา งามเชื้อชิต)
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

หัวข้องานวิจัย องค์ประกอบทางโภชนาการของด้วงสาคูเพื่อเป็นแหล่งอาหารทางเลือก
สำหรับการประยุกต์ใช้ในอนาคต

โดย นางสาวเบญจรัตน์ มหาไตรภพ
นางสาวพิมพ์ชนก ดวงเจริญเขตต์

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พนิตา งามเชื้อชิต

ปีการศึกษา 2562

บทคัดย่อ

ด้วงสาคูเป็นแมลงศัตรูพืชของพืชจำพวกปาล์ม การบริโภคด้วงสาคูนอกจากจะช่วยลดการใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชแล้ว ด้วงสาคูยังเป็นแหล่งอาหารที่ได้รับความนิยมในการนำมาบริโภคในหลายประเทศในแถบประเทศเขตร้อนในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ งานวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางโภชนาการของด้วงสาคู และการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารทางเลือก จากการวิจัยพบว่าสารอาหารหลักของด้วงสาคูคือไขมันและโปรตีน คิดเป็นร้อยละ 20.65 และ 7.49 ของปริมาณสารอาหารทั้งหมดของส่วนที่บริโภคได้ตามลำดับ โดยกรดไขมันที่พบมากที่สุด คือกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) พบปริมาณร้อยละ 2.076 ของส่วนที่บริโภคได้ สำหรับกรดอะมิโนที่พบได้แก่ กรดอะมิโนที่จำเป็น 8 ชนิดและกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น 8 ชนิด โดยกรดอะมิโนกลูตามิก เป็นกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นที่พบมากที่สุด (101.53 มิลลิกรัมต่อส่วนบริโภคได้ 100 กรัม) และยังเป็นกรดอะมิโนที่ให้รสชาติอูมามิ นอกจากนี้จากการแยกวิเคราะห์ส่วนบริโภคได้ ได้แก่ ส่วนเปลือกและส่วนเนื้อ พบว่าปริมาณไขมันและกรดไขมันมีมากกว่าในส่วนเนื้อ โปรตีนและกรดอะมิโนพบมากในส่วนเปลือก จากการศึกษาการอบแห้งด้วงสาคูเพื่อนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารทางเลือก ด้วยวิธีอบแห้ง 3 วิธี ได้แก่ การอบแห้งแบบลมร้อน การอบแห้งแบบสุญญากาศ และการอบแห้งแบบเยือกแข็งสุญญากาศ พบว่าการ อบแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ใช้เวลาในการอบแห้งสั้นกว่าการอบแห้งแบบเยือกแข็งสุญญากาศ และยังสามารถลดความชื้นได้มากที่สุด โดยลดค่าความชื้นส่วนเปลือกเริ่มต้นร้อยละ 70.21 เป็นร้อยละ 0.27 และส่วนเนื้อจากค่าความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60.64 เป็นร้อยละ 0.20 อีกทั้งยังให้ลักษณะปรากฏที่ดีทั้งในส่วนเปลือกและส่วนเนื้อของด้วงสาคู ซึ่งเหมาะกับการนำมาประยุกต์ใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตภัณฑ์ต่อไป ด้วงสาคูถือเป็นแหล่ง

อาหารที่มีโภชนาการที่ดีต่อมนุษย์ และงายวิจัยนี้มีแนวคิดที่จะต่อยอดนำด้วงสาคูมาเป็นส่วนประกอบในโปรตีนอัดแท่ง เพื่อเป็นแหล่งอาหารทางเลือกสำหรับการประยุกต์ใช้ในอนาคตต่อไป

Project Title Nutrient composition of Sago worms *(Rhynchophorus ferrugineus)* as alternative food source for future application

Student Benjarat Mahatraipob

Pimchanok Duangcharoenkett

Study Program Bachelor of Science in Food Technology

Advisor Asst. Prof. Panita Ngamchuachit, Ph.D.

Academic year 2019

ABSTRACT

Sago worms *(Rhynchophorus ferrugineus)* is a significant pest for palm trees. Consuming sago worm not only decrease the use of pesticides but also provide a cheap and good nutritional source. Sago worm is the most popular edible coleopterans consumed in the tropical countries. The objectives of this study are to evaluate the chemical composition of sago worm and to develop an alternative food product from sago worm. The analysis of chemical composition of sago worms are lipid and protein which maintain 20.65% and 7.49% of total nutrition of the edible parts respectively. The most of fatty acid founded in sago worms is monounsaturated fatty acid (MUFA) which maintain 2.076% of total nutrition of the edible parts. The amino acid founded in sago worms are 8 essential amino acids and 8 non-essential amino acids, the main non-essential amino acid is glutamic acid (101.53 mg per 100 g of the edible parts) which contributes an umami taste in food. The analysis of edible parts of sago worms which is a skin part and an inner part found that in an inner part have more lipid and fatty acid than a skin part, and a skin part have more amino acid than an inner part. From the drying result of sago worm (tray drying, vacuum drying and freeze drying) reveals that vacuum drying method in 80 °C 3 hours condition takes less time than freeze drying and can decrease moisture content the most which decreasing from 70.21% to 0.27% in a skin part and decreasing from 60.64% to 0.2% in an inner part, and also give a good appearance in both parts which is suitable to apply as a raw material in alternative food

products from sago worm. Sago worms is cheap and good nutritional sources for human. For future application, our research group will develop protein bar from dried sago worms for being an alternative food source.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการศึกษาองค์ประกอบทางโภชนาการของด้วงสาคูเพื่อเป็นแหล่งอาหารทางเลือกสำหรับการประยุกต์ใช้ในอนาคตนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการเรียนการสอนในระดับปริญญาตรี ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ซึ่งได้รับทุนสนับสนุนโครงการวิจัยจากงบประมาณของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ปีการศึกษา 2561 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมีผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พนิตา งามเชื้อชิต เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

คณะวิจัยขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พนิตา งามเชื้อชิต ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และช่วยเหลือในการดำเนินงานวิจัยอย่างสูง ตลอดจนตรวจและแก้ไขโครงการนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.สุวิมล กีรติพิบูล ที่กรุณาให้คำแนะนำ คำปรึกษา และแนวทางต่างๆ ในการดำเนินงานวิจัยให้ลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกระบวนการแปรรูปอาหาร ฯ และห้องปฏิบัติการประกันคุณภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร ที่ได้อำนวยความสะดวกเป็นอย่างดีในการใช้ห้องปฏิบัติการตลอดการดำเนินโครงการ

ขอกราบขอบพระคุณ บริษัทสกินแล็บ เอเชีย จำกัด และ ศูนย์วิจัยและพัฒนา เครือเบทาโกร ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้ความร่วมมือในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณรุ่นพี่ เพื่อน และรุ่นน้อง นิสิตปริญญาตรี ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่คอยให้กำลังใจและให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาการทำวิจัย

ท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และทุกคนในครอบครัวของคณะผู้วิจัยทั้งสองครอบครัว ที่ได้สนับสนุนในทุกๆด้าน จนโครงการนี้สามารถลุล่วงไปได้ด้วยดี ตลอดจนส่งเสริมคณะผู้วิจัยด้านโอกาสการศึกษาแก่คณะผู้วิจัยตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

เบญจรัตน์ มหาไตรภพ

พิมพ์ชนก ดวงเจริญเขตต์

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ฉ
กิตติกรรมประกาศ		ซ
สารบัญ		ฌ
สารบัญตาราง		ฎ
สารบัญภาพ		ฏ
บทที่ 1	บทนำ	
1.1	ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2	วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	1
1.3	ขอบเขตแนวคิดของการวิจัย	2
1.4	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	2
บทที่ 2	วารสารปริทัศน์	
2.1	ลักษณะสัณฐานวิทยาของด้วงสาคู	3
2.2	วงจรชีวิตของด้วงสาคู	4
2.3	ไขมัน	5
	2.3.1 กรดไขมัน	5
	2.3.2 ไขมันต่อคุณค่าทางโภชนาการ	6
2.4	โปรตีน	8
	2.4.1 โปรตีน	8
	2.4.2 กรดอะมิโน	8
2.5	การวิเคราะห์ไขมันและโปรตีนในด้วงสาคู	11
	2.5.1 การวิเคราะห์ไขมัน	11
	2.5.2 การวิเคราะห์โปรตีน	11
2.6	การอบแห้ง	12
	การอบแห้งโดยใช้วิธีการอบแห้งลมร้อน (Tray drying)	12
	การอบแห้งโดยใช้วิธีการอบแห้งแบบสุญญากาศ (Vacuum drying)	13
	การอบแห้งโดยใช้วิธีการการทำแห้งเยือกแข็งแบบสุญญากาศ (Freeze drying)	13

2.7 โปรตีนอัดแท่ง 14

บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์ 15

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย 15

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างด้วงสาคู 15

3.2.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของด้วงสาคู 16

3.2.3 การอบแห้งตัวอย่างด้วงสาคู 17

การอบแห้งโดยใช้วิธีการอบแห้งลมร้อน 17

การอบแห้งโดยใช้วิธีการอบแห้งแบบสุญญากาศ 17

การอบแห้งโดยใช้วิธีการทำแห้งเยือกแข็งสุญญากาศ 17

3.2.4 การผลิตโปรตีนอัดแท่งจากด้วงสาคู 18

3.2.5 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค (acceptance test) 18

3.2.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ 19

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปราย

4.1 การวิเคราะห์องประกอบในด้วงสาคู 20

4.1.1 การเตรียมตัวอย่างด้วงสาคู 20

4.1.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของด้วงสาคู 21

4.1.3 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมัน 24

4.1.4 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน 26

4.2 การอบแห้งด้วงสาคู 29

4.3 การผลิตโปรตีนอัดแท่ง 33

บทที่ 5 สรุปการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย 34

5.2 ข้อเสนอแนะ 34

เอกสารอ้างอิง 35

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก ผลวิเคราะห์กรดไขมันและกรดอะมิโนของด้วงสาคูสด 37

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบหลักและการระบุชนิดของไขมัน 43

ภาคผนวก ค การระบุชนิดของโปรตีน 48

ประวัติผู้วิจัย 56

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ปริมาณของไขมันและกรดไขมันที่ควรบริโภค	7
2.2	ชนิดของกรดอะมิโนจำเป็น และประโยชน์ต่อร่างกาย	9
2.3	ชนิดของกรดอะมิโนไม่จำเป็น และประโยชน์ต่อร่างกาย	10
3.1	ส่วนประกอบในการผลิตโปรตีนอัดแท่งจากด้วงสาคูในแต่ละสูตร	18
4.1	ผลการทดสอบปริมาณของสารอาหารหลักของด้วงสาคูส่วนเปลือก เนื้อ และส่วนบริโภคได้	22
4.2	คุณค่าทางโภชนาการของอาหาร	23
4.3	ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน (SFA, MUFA, PUFA) ในส่วนเปลือกและเนื้อของด้วงสาคู	24
4.4	ชนิดและปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในส่วนเปลือกและเนื้อของด้วงสาคู	25
4.5	ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโน ในส่วนเปลือกและเนื้อของด้วงสาคู	26
4.6	ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนจำเป็น leucine, lysine และ Valine ของอาหาร	28
4.7	น้ำหนักและค่าร้อยละความชื้นของด้วงสาคูก่อนและหลังอบ	30
4.8	ลักษณะปรากฏของส่วนเปลือกด้วงสาคูก่อนและหลังอบ	31
4.9	ลักษณะปรากฏของส่วนเนื้อด้วงสาคูก่อนและหลังอบ	32
4.10	ลักษณะปรากฏของโปรตีนอัดแท่งทั้ง 4 สูตร	33

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	การเลี้ยงด้วงสาคูแบบดั้งเดิม โดยใช้ท่อนสาคู/ท่อนลาน (A); การเลี้ยงด้วงสาคูแบบประยุกต์ โดยใช้การเลี้ยงในกะละมัง (B)	3
2.2	วงจรชีวิตของด้วงสาคูระยะไข่ ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย	4
2.3	กรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่เพียงตำแหน่งเดียว และกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากกว่า 1 ตำแหน่ง	6
2.4	การจำแนกกรดไขมัน	7
2.5	โครงสร้างของกรดอะมิโน	8
2.6	การวิเคราะห์โปรตีน	12
2.7	หลักการทำงานของเครื่องอบแห้งแบบถาดทั่วไป	12
2.8	เครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศ	13
2.9	เครื่อง freeze dryer	14
2.10	โปรตีนอัดแท่ง	14
3.1	ผ่าเปลือกตามแนวยาวของลำตัวด้วงสาคู	16
3.2	ส่วนประกอบของด้วงสาคู ส่วนเปลือก (A); ส่วนเนื้อ (B); และลำไส้ที่แยกออกจากส่วนเนื้อ (C)	16
4.1	ลักษณะปรากฏของด้วงสาคูที่ไม่ผ่านการลวก (A) และภายหลังการลวก 2 นาที (B)	20
4.2	แสดงกลไกการเกิด oxidation ของ Tyrosine และได้ผลผลิตเป็น melanin	21

บทที่1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

แมลงเป็นสัตว์ที่มีลำตัวเป็นข้อปล้องที่มีปริมาณโปรตีนสูง อีกทั้งยังได้รับความนิยมนำมาเป็นอาหารของมนุษย์ โดยมีการบริโภคในหลายช่วงการเจริญ เช่น ไข่ ตัวอ่อนหรือตัวเต็มวัย เป็นต้น (Patel S. et al., 2019) ซึ่งด้วงสาคู เป็นด้วงที่นิยมบริโภคมากที่สุดในแถบประเทศเขตร้อนในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ชื่อของด้วงสาคูนั้นเรียกตามแหล่งอาหารที่มักพบด้วงชนิดนี้มาก ได้แก่ ต้นสาคู ด้วงสาคูเป็นแหล่งโภชนาการที่ดี เนื่องจากมีปริมาณกรดไขมันสูง อีกทั้งเป็นแหล่งแร่ธาตุ วิตามิน เอ และ อี และยังเป็นแหล่งของกรดอะมิโนที่มนุษย์ต้องการ (Cito A. et al., 2017) จากคุณค่าทางโภชนาการของด้วงสาคู ทำให้ด้วงสาคูได้รับความสนใจในการนำมาแปรรูปเพื่อพัฒนาเป็นแหล่งอาหารทางเลือก และมีประโยชน์ทางเศรษฐกิจเนื่องจากเป็นแหล่งโปรตีนที่มีราคาถูก ด้วงสาคูเจริญเร็วและในการเพาะเลี้ยงยังใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงและทรัพยากรน้ำน้อย นอกจากนี้ด้วงสาคูยังสามารถบริโภคแมลงศัตรูพืช ซึ่งเป็นการลดการใช้ยาฆ่าแมลงที่อาจทำลายทั้งสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของผู้บริโภคได้อีกด้วย (Patel S. et al., 2019)

ในปัจจุบัน การศึกษาประโยชน์ทางโภชนาการของแมลงที่กินได้ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยยังมีอยู่ในวงจำกัด คณะผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงความสำคัญในการศึกษาถึงองค์ประกอบทางโภชนาการของด้วงสาคู เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นแหล่งอาหารทางเลือกต่อไปในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางโภชนาการของด้วงสาคู
2. เพื่อศึกษาการแปรรูปด้วงสาคูเพื่อใช้เป็นอาหารทางเลือก

1.3 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย

1. วิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบหลักของอาหารในด้วงสาคู
2. วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของไขมันและโปรตีนที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ในด้วงสาคู

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ได้รับข้อมูลองค์ประกอบทางโภชนาการของด้วงสาคู
2. ได้วิธีการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณของกรดไขมันและโปรตีนในด้วงสาคูที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์
3. ทราบวิธีการวิเคราะห์เพื่อให้ได้ชนิดและปริมาณของโปรตีนที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ในด้วงสาคู
4. สามารถนำความรู้ไปใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้ด้วงสาคูเป็นอาหารทางเลือกในอนาคต

บทที่2

แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของด้วงสาคู

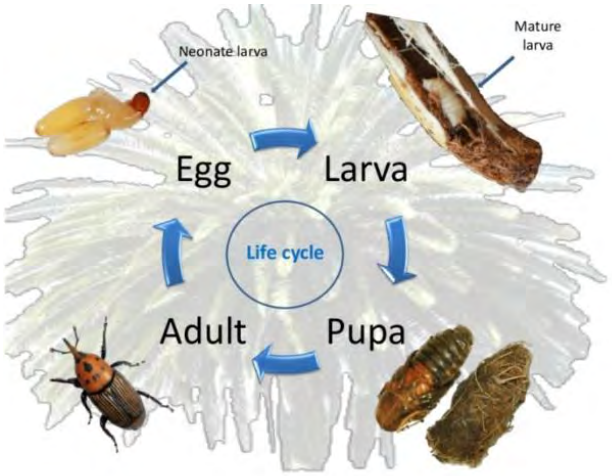
ด้วงสาคู (อาจเรียกว่า ด้วงลาน ด้วงงวง ด้วงไฟ ด้วงมะพร้าว) เป็นสัตว์จำพวกแมลงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Rhynchophorus ferrugineus* Oliver วงศ์ Curculionidae อันดับ Coleoptera ลักษณะตัวเต็มวัย ด้วงสาคูตัวเต็มวัยจะมีขนาดตัวยาวประมาณ 2.2-3.5 เซนติเมตร สีน้ำตาลอมส้ม หรือสีน้ำตาลปนดำ ปากยาวบอบบาง มีวงโค้ง มีจุดแต้มสีน้ำตาลแต้มกระจายบริเวณด้านบนของอกปล้องแรก ซึ่งจุดแต้มนี้มีหลายรูปแบบ ปีกคู่หน้ามีริ้วรอยเป็นเส้นๆ ตามความยาวของปีก ปีกคลุมไม่มิดส่วนปลายท้อง ตัวผู้และตัวเมียมีความแตกต่างกัน โดยที่ตัวผู้จะมีขนมองเห็นได้ชัดเจน และมีลักษณะเป็นแนวบริเวณส่วนกลางตามความยาวของงวง ทั้งนี้รูปแบบการเลี้ยงด้วงสาคูในปัจจุบัน สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 รูปแบบ คือ 1. การเลี้ยงด้วงสาคูแบบดั้งเดิม โดยใช้ท่อนสาคู/ท่อนลาน เป็นการเลี้ยงแบบธรรมชาติ (ภาพที่ 2.1A) 2. การเลี้ยงด้วงสาคูแบบประยุกต์ โดยใช้การเลี้ยงในกะละมัง (ภาพที่ 2.1B) (นิรันดร หนักแดง , 2557)

ภาพที่ 2.1 การเลี้ยงด้วงสาคูแบบดั้งเดิม โดยใช้ท่อนสาคู/ท่อนลาน (A); การเลี้ยงด้วงสาคูแบบประยุกต์ โดยใช้การเลี้ยงในกะละมัง (B)

ที่มา : (เส้นทางเศรษฐีออนไลน์, 2563)

2.2 วงจรชีวิตของด้วงสาคู

วงจรชีวิตของด้วงสาคูสามารถแบ่งได้เป็น 4 ระยะดังแสดงในภาพที่ 2.2 ได้แก่ ไข่ (egg) ตัวหนอน (larva) ดักแด้ (pupa) และตัวเต็มวัย (adult) โดยระยะที่นิยมนำมารับประทานคือระยะ ตัวหนอน และ ตัวเต็มวัย (นิรันดร หนักแดง, 2557) เนื่องจากด้วงสาคูเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทั้งในระยะที่เป็นตัวหนอนและตัวเต็มวัย การนำด้วงสาคูมาบริโภคจึงนับเป็นภูมิปัญญาอันชาญฉลาดของคนไทยในอดีต โดยอาศัยพื้นฐานความคิดในแง่ของการใช้ประโยชน์ทดแทนจากสิ่งที่ต้องการทำลาย โดยไม่ต้องใช้สารเคมีปราบศัตรูพืชที่มีราคาแพงและอาจส่งผลให้เกิดสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้ (สุปาณี และ สมชาย เลี้ยงพรพรรณ, 2550)



ภาพที่ 2.2 วงจรชีวิตของด้วงสาคูระยะไข่ ตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย

ที่มา : (Dembilio, O., 2015)

2.2.1 ระยะไข่ (อายุ 2-3 วัน)

ไข่มีสีขาวครีม ยาว และรูปทรงรี มีความยาวและความกว้างเฉลี่ย 2.6 และ 1.1 มิลลิเมตร ตามลำดับ

2.2.2 ระยะตัวอ่อนอายุ (60-110 วัน)

ตัวหนอนมีสีขาว รูปร่างเหมือนถัง มีความยาวและความกว้างเฉลี่ย 50 และ 20 มิลลิเมตร ตามลำดับ

2.2.3 ระยะดักแด้อายุ (20-30 วัน)

ดักแด้มีรูปร่างยาวเป็นรูปไข่ ก่อนเป็นดักแด้ตัวอ่อนจะสร้างรังจากเส้นใยเป็นรูปทรงรี มีความยาวและความกว้างเฉลี่ย และ 60 และ 30 มิลลิเมตร ตามลำดับ

2.2.4 ระยะตัวเต็มวัย (อายุ 60-140 วัน)

ตัวเต็มวัยมีปีกสีน้ำตาลดำ อกมีสีน้ำตาลและมีจุดสีดำ มีขนาดลำตัวยาวประมาณ 25-28 มิลลิเมตร ทั้งตัวผู้และตัวเมียมีขนาดและลักษณะภายนอกคล้ายคลึงกัน ต่างกันที่ตัวผู้มีขนที่ด้านบนของวงใกล้ส่วนปลาย

2.3 ไขมัน (Bhagavan N.V., 2015)

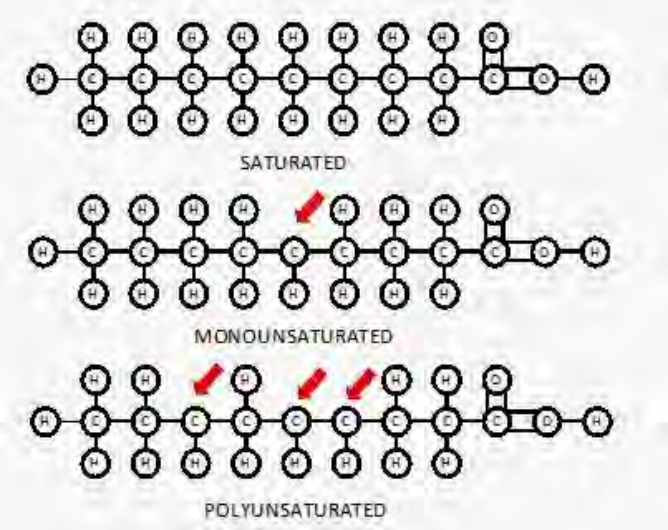
ไขมัน คือ สารประกอบอินทรีย์ชนิดหนึ่ง สามารถละลายในสารละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ เบนซีน แต่มีความสามารถในการละลายน้ำที่ต่ำ ไขมันมีทั้งส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้วในโมเลกุลเดียวกัน โดยไขมันที่มีขั้ว เช่น กรดไขมัน คลอเลสเตอรอล กลีเซอโรฟอสฟาไทด์ และ ไกลโคสฟิงโกลิพิด ส่วนไขมันที่ไม่มีขั้วมักมีหน้าที่หลักในการเป็นแหล่งเก็บและขนส่งไขมัน เช่น ไตรกลีเซอไรด์ และ คลอเรสเตอรอล เอสเทอร์

ไขมันมีหน้าที่หลากหลาย เช่น เป็นฉนวนกันความร้อน เป็นแหล่งพลังงาน (ในรูปไตรกลีเซอไรด์) เป็นแหล่งพลังงานที่ใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ (ฟอสโฟลิพิดและคลอเลสเตอรอล) ทำหน้าที่เป็นแหล่งผลิตฮอร์โมนในมนุษย์ ฯลฯ

2.3.1 กรดไขมัน

กรดไขมันเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบหลักพื้นฐานของไขมันทุกชนิด (ภาพที่ 2.3) กรดไขมันที่ไม่มีพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลคือ กรดไขมันอิ่มตัว หรือ saturated fatty acid (SFA) และกรดไขมันที่มีพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลคือ กรดไขมันไม่อิ่มตัว unsaturated fatty acid (UFA) กรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นเลขคู่เป็นกลุ่มที่มีมากที่สุด โดยกรดไขมันอิ่มตัวที่พบมากในสัตว์ คือ กรดปาล์มมิติก และกรดสเตียริก จุดหลอมเหลวของกรดไขมันจะเพิ่มขึ้นตามความยาวของสายโซ่คาร์บอนโดยกรดไขมันอิ่มตัวที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นจำนวนคู่ จะมีจุดหลอมเหลวสูงกว่ากรดไขมันอิ่มตัวที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นจำนวนคี่ และกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นจำนวนคู่ที่ประกอบด้วยพันธะคู่แบบซิส (cis) จะมีจุดหลอมเหลวที่ต่ำลง (Bhagavan N.V., 2015) ซึ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวนี้หากมีพันธะคู่ระหว่างคาร์อะตอมเพียงตำแหน่งเดียวจะเรียกว่า กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว หรือ mono-unsaturated fatty acid (MUFA) และกรด

ไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนอะตอมมากกว่า 1 ตำแหน่ง จะเรียกว่า กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน หรือ polyunsaturated fatty acid (PUFA)



ภาพที่ 2.3 กรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่เพียงตำแหน่งเดียว และกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากกว่า 1 ตำแหน่ง

ที่มา : (Wright P., 2013)

2.3.2 ไขมันต่อคุณค่าทางโภชนาการ (FAO, 2010)

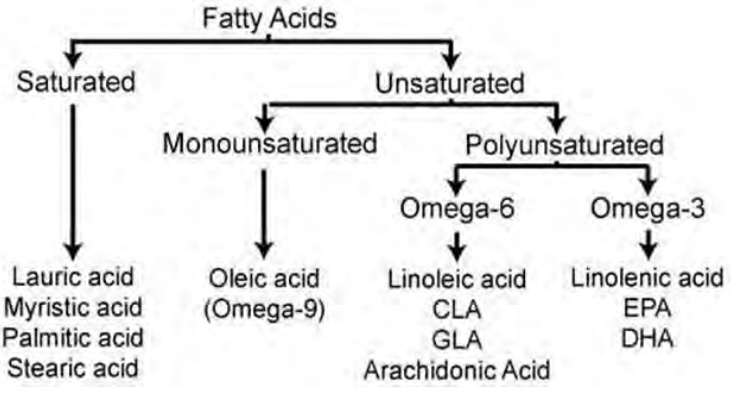
องค์การอนามัยโลก (World Health Organization : WHO) ระบุปริมาณไขมันและกรดไขมันที่แนะนำสำหรับผู้ใหญ่ที่ควรได้รับในแต่ละวันไว้ ดังแสดงในตารางที่ 2.1 ปริมาณไขมันทั้งหมดควรได้รับร้อยละ 20-35 ของพลังงานที่ได้รับต่อวัน กรดไขมันเช่น SFA ควรได้รับในปริมาณที่ให้พลังงานเป็นร้อยละ 10 ของพลังงานที่ได้รับต่อวัน เป็นต้น ปริมาณไขมันที่ควรบริโภค หรือประเภทของไขมันที่ควรบริโภคสามารถจำแนกตามกลุ่มของกรดไขมันตามจำนวนของพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมัน ได้แก่ SFA, MUFA และ PUFA ตราบที่ยังมีการอธิบายถึงผลกระทบของกรดไขมันต่อสุขภาพร่างกายของมนุษย์และการพัฒนาปริมาณสารอาหารที่ควรบริโภค มีหลักฐานจากการศึกษาทางระบาดวิทยาจำนวนมาก เกี่ยวกับปริมาณไขมันทั้งหมด กรดไขมัน และสุขภาพของมนุษย์ ที่แสดงให้เห็นว่ากลุ่มหลักในกรดไขมันมีความเกี่ยวข้องกับผลกระทบต่อร่างกายของมนุษย์ที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณของไขมันและกรดไขมันที่ควรบริโภค

ประเภทของไขมัน	**ปริมาณที่ควรบริโภค** (ร้อยละของพลังงานที่ได้รับต่อวัน)
Total fat	20-35
SFA	10
MUFA	Total fat – SFA – PUFA – TFA
PUFA	6-11
TFA	<1

ที่มา : (FAO, 2010)

กรดไขมันจะส่งผลต่อสุขภาพที่แตกต่างกัน โดยกรดไขมันอิ่มตัว (SFA) จะเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลในเลือดทั้งชนิดที่ดี (HDL) และไม่ดี (LDL) กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) จะลดระดับเฉพาะคอเลสเตอรอลที่ไม่ดี และเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลที่ดี กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFA) จะลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดทั้งชนิดดีและไม่ดี กรดไขมันไลโนเลอิก (linoleic acid) และ กรดไขมันแอลฟาไลโนเลนิก (α-linolenic acid) จัดเป็นกรดไขมันจำเป็น เนื่องจากร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นได้เองโดยตรงแต่เมื่อร่างกายได้รับเข้าไปแล้วร่างกายจะมีกระบวนการเปลี่ยนกรดไขมันเหล่านี้ให้เป็นกรดไขมันชนิดอื่นที่มีความยาวของสายคาร์บอนมากขึ้น (ภาพที่ 2.4)



ภาพที่ 2.4 การจำแนกกรดไขมันตามจำนวนของพันธะคู่ในกรดไขมันที่พบโดยทั่วไป

ที่มา : (Amanpour, A., 2017)

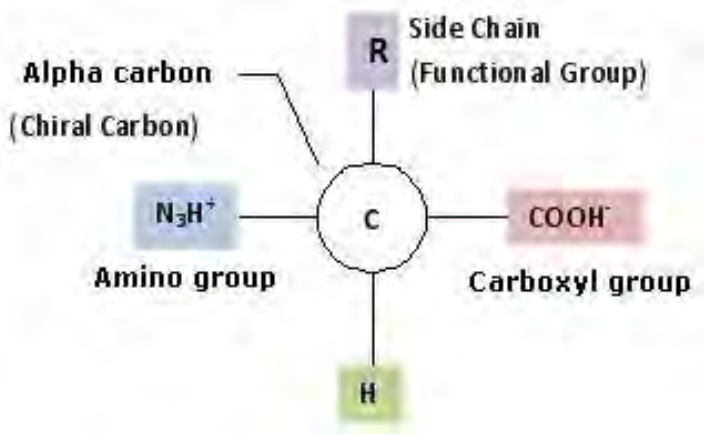
2.4 โปรตีน

2.4.1 โปรตีน

โปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งเกิดจากการสร้างพันธะเพปไทด์ระหว่างกันของกรดอะมิโน เป็นพอลิเพปไทด์ และเกิดการพับกันหรือเป็นรูปทรง โดยร่างกายมนุษย์ใช้โปรตีนเป็นองค์ประกอบสำคัญในการดำรงชีวิต ทั้งในการสร้างกล้ามเนื้อ เอนไซม์ และฮอร์โมน เมื่อรับประทานโปรตีนเข้าไป ร่างกายจะย่อยโปรตีนได้เป็นกรดอะมิโนเพื่อนำไปใช้งานต่อไป

2.4.2 กรดอะมิโน

โครงสร้างของกรดอะมิโน (ภาพที่ 2.5) จะมีไครอลคาร์บอนสร้างพันธะโควาเลนต์อยู่กับไฮโดรเจน กลุ่มคาร์บอกซิล กลุ่มอะมิโน และ หมู่ R ที่เป็นตำแหน่งที่ใช้ในการบ่งบอกชนิด และชื่อของกรดอะมิโน (Campbell, N.A. et al., 2003)



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของกรดอะมิโน

ที่มา: (Campbell, N.A. et al., 2003)

โดยอะมิโนจะแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ตามความสามารถในการสังเคราะห์ได้ของมนุษย์ ได้แก่ กรดอะมิโนจำเป็น ซึ่งร่างกายสังเคราะห์ไม่ได้ (ตารางที่ 2.2) และกรดอะมิโนไม่จำเป็นซึ่งร่างกายสังเคราะห์ได้ (ตารางที่ 2.3)

ตารางที่ 2.2 ชนิดของกรดอะมิโนจำเป็นและประโยชน์ต่อร่างกาย

กรดอะมิโนจำเป็น	**ประโยชน์ต่อร่างกาย**
Tryptophan	ลดความเครียด บรรเทาอาการไมเกรน ช่วยส่งเสริมการนอนหลับอย่างเป็นธรรมชาติ
Threonine	ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกัน ช่วยเผาผลาญไขมัน และมีส่วนสำคัญในการสร้างกรดอะมิโนอย่างไกลซีนและเซรีน
Phenylalanine	เพิ่มความตื่นตัว เสริมความจำ บรรเทาอาการซึมเศร้า ลดความอยากอาหาร และช่วยเพิ่มความสนใจในเรื่องเพศ
Methionine	เป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระอันทรงพลัง และช่วยในการย่อยสลายไขมัน
Leucine	ช่วยกระตุ้นการทำงานของสมอง เพิ่มพลังให้กล้ามเนื้อ และช่วยให้เซลล์ประสาทแข็งแรงขึ้น
Lysine	ช่วยเสริมสมาธิ ช่วยป้องกันโรคเริมและโรคกระดูกพรุน บรรเทาปัญหาด้านการสืบพันธุ์
Valine	ช่วยกระตุ้นสมรรถนะของสมองและช่วยการประสานกันของกล้ามเนื้อ
Isoleucine	ช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโตและเสริมสร้างการทำงานของระบบประสาท ช่วยพัฒนาการเรียนรู้
Histidine	เป็นกรดอะมิโมจำเป็น สำหรับทารกและเด็ก

ที่มา: Earl M., 2010

ตารางที่ 2.3 ชนิดของกรดอะมิโนไม่จำเป็นและประโยชน์ต่อร่างกาย

กรดอะมิโนไม่จำเป็น	**ประโยชน์ต่อร่างกาย**
Glutamic acid	หน้าที่หลักคือเป็นเชื้อเพลิงให้แก่สมอง ช่วยจัดการกับแอมโมเนียส่วนเกิน
Aspartic acid	ช่วยในการขับแอมโนเมียซึ่งเป็นสารอันตรายออกจากร่างกาย
Glutamine	เป็นส่วนหนึ่งของกลูต้าไธโอน มีส่วนช่วยให้ฉลาดขึ้น และช่วยเพิ่มระดับของโกรทฮอร์โมน
Glycine	ช่วยรักษาภาวะต่อมใต้สมองทำงานน้อย รักษาโรคกล้ามเนื้อฝ่อลีบ รักษาภาวะน้ำตาลต่ำ
Cysteine	ช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระ และมีความจำเป็นสำหรับทารกและผู้สูงอายุ
Serine	ช่วยเผาผลาญไขมัน เพิ่มการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อและระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย กรดอะมิโน
Tyrosine	ช่วยส่งเสริมการทำงานของต่อมหมวกไต ต่อมใต้สมอง ต่อมไทรอยด์ และช่วยรักษาอาการซึมเศร้า
Proline	ช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระและช่วยปรับโครงสร้างผิว
Alanine	ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดและลดอาการต่อมลูกหมากโต
Arginine	กระตุ้นการหลังโกรทฮอร์โมน เพิ่มจำนวนอสุจิ เพิ่มสมรรถภาพทางเพศ ช่วยเผาผลาญไขมันในร่างกายและลดระดับคอเลสเตอรอลชนิดดี
Asparagine	ทำหน้าที่ในการส่งเสริมการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง

ที่มา: Earl M., 2010

2.5 การวิเคราะห์ไขมันและโปรตีนในด้วงสาคู

2.5.1 วิธีวิเคราะห์ไขมัน

การวิเคราะห์ไขมันจากตัวอย่างอาหารสามารถแบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอน (ภาพที่ 2.6)

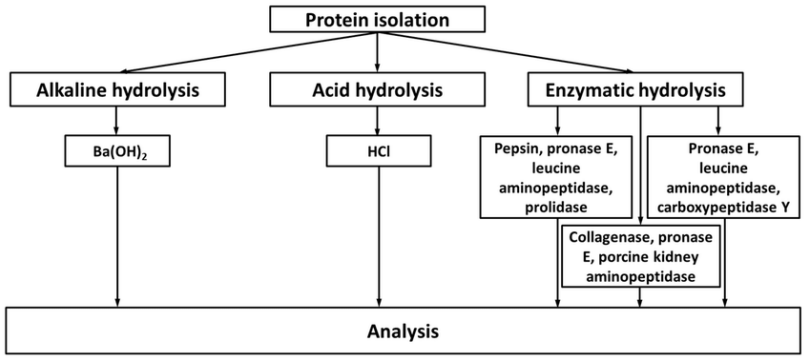
1. การสกัดไขมันออกจากตัวอย่าง
2. การเปลี่ยนสารสกัดไขมันให้เป็นกรดไขมันที่มีหมู่เมทิลเอสเทอร์
3. นำกรดไขมันที่ได้ไปวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง gas-chromatography (GC) เพื่อให้ทราบชนิดของกรดไขมัน โดยการวิเคราะห์ไขมันในตัวอย่างอาหารมักใช้วิธีของ AOAC โดยมีขั้นตอนคือ ทำการสลายตัวอย่างอาหารด้วยกรดหรือเบส จากนั้นเติมอีเทอร์เพื่อใช้ในการสกัดไขมันออกจากตัวอย่างอาหาร และนำสารสกัดไขมันที่สกัดได้มาผ่านกระบวนการ transesterification ให้ได้เป็นกรดไขมันที่มีหมู่เมทิลเอสเทอร์ จากนั้นนำไปวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันด้วยเครื่อง GC (FAO.,2010)

2.5.2 วิธีวิเคราะห์โปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนสามารถแบ่งได้เป็น 2 ขั้นตอน คือ การย่อยโปรตีน และ การระบุชนิดของกรดอะมิโน โดยการย่อยโปรตีนนั้นสามารถทำได้ 3 วิธี ดังแสดงในภาพที่ 2.5

1. Alkaline hydrolysis ซึ่งเป็นการใช้สารละลายเบสเข้าไปทำลายพันธะเพปไทด์ โดยสารละลายเบสที่นิยมใช้คือ $Ba(OH)_2$ ความเข้มข้น 4N
2. Acid hydrolysis เป็นการใช้สารละลายกรด ไปทำลายพันธะเพปไทด์
3. Enzyme hydrolysis ใช้ เอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อกรดอะมิโนนั้นๆ เข้าไปทำลายพันธะเพปไทด์

หลังจากที่ ย่อยโปรตีนจนได้กรดอะมิโนแล้ว นำไปสู่ขั้นตอนที่ 2 คือการระบุชนิดของกรดอะมิโนโดยเครื่อง gas-chromatography and mass spectrometry (Soboleva et al., 2017).



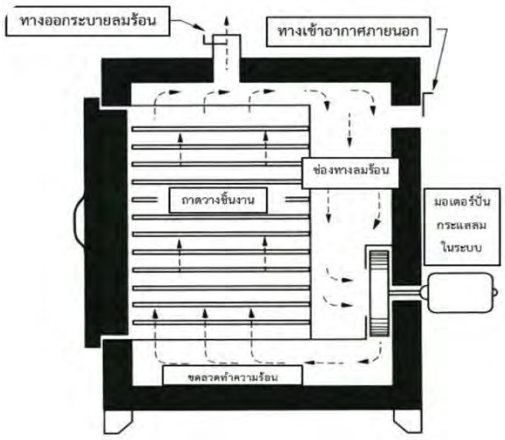
ภาพที่ 2.6 การวิเคราะห์โปรตีน

ที่มา: (Soboleva et al., 2017)

2.6 การอบแห้ง

2.6.1 การอบแห้งโดยใช้วิธีการอบแห้งลมร้อน (Tray drying)

เป็นวิธีการอบโดยใช้ตู้อบลมร้อน (ภาพที่ 2.7) โดยนำตัวอย่างอาหาร เช่น ผัก ผลไม้ และพืชสมุนไพร ใส่ในถาดหรือตะแกรง แล้วนำเข้าตู้อบลมร้อนที่มีอุณหภูมิประมาณ 50-70 องศาเซลเซียส เป็นต้น ซึ่งจะเป่าลมร้อนขนานไปกับผิวหน้าวัตถุดิบ หรือเป่าตั้งฉากกับก้นถาดที่ยอมให้ลมผ่านได้ ลมร้อนจะผ่านเข้าไปในชั้นวัตถุดิบ เนื่องจากจะใช้ลมร้อนที่มีความเร็วไม่สูงนัก วัตถุดิบจึงยังอยู่นิ่ง ไม่ก่อให้เกิดการสั่นสะเทือนหรือการกระแทกใดๆ ภายในตู้จะมีพัดลมดูดอากาศและความชื้นออกไป เพื่อทำให้อาหารแห้งเร็วขึ้น (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน, 2015)

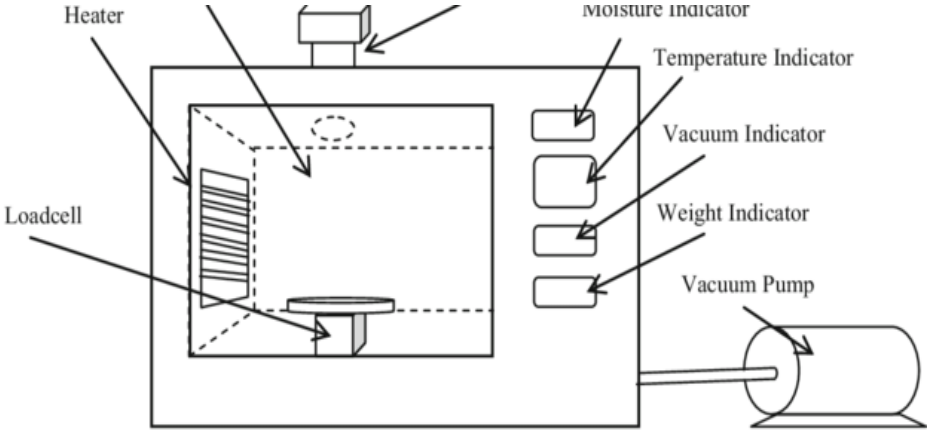


ภาพที่ 2.7 หลักการทำงานของเครื่องอบแห้งแบบถาดทั่วไป

ที่มา : (วิรุณ โมนะตระกูล และคณะ, 2561)

2.6.2 การอบแห้งโดยใช้วิธีการอบแห้งแบบสุญญากาศ (Vacuum drying)

เป็นการอบแห้งโดยกำจัดน้ำออกจากอาหารโดยใช้ปั๊มสุญญากาศเพื่อสูบอากาศออก (ภาพที่ 2.8) ทำให้ความดันภายในตู้อบต่ำกว่าความดันบรรยากาศปกติ (เป็นสุญญากาศ หรือใกล้สุญญากาศ) เพื่อให้น้ำในอาหารระเหยกลายเป็นไอที่อุณหภูมิต่ำ สามารถป้องกันไม่ให้อาหารถูกทำลายด้วยความร้อนที่อุณหภูมิสูง และยังช่วยคงคุณค่าทางโภชนาการไว้ได้ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์, 2552)

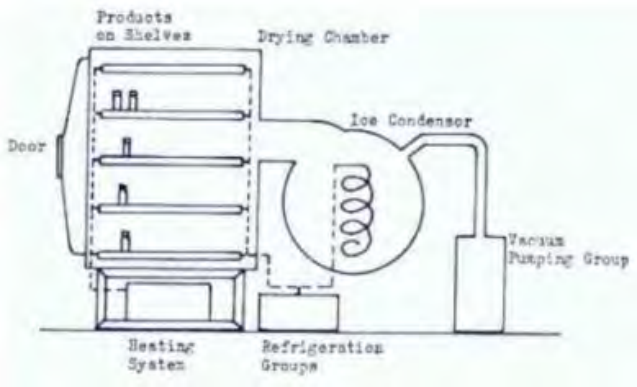


ภาพที่ 2.8 : เครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศ

ที่มา : (Mohammad, B.H.N, 2015)

2.6.3 การอบแห้งโดยใช้วิธีการการทำแห้งเยือกแข็งแบบสุญญากาศ (Freeze drying)

การทำแห้งเยือกแข็งแบบสุญญากาศ (ภาพที่ 2.9) ทำได้โดยการเปลี่ยนสถานะของน้ำหรือความชื้นที่อยู่ในเซลล์ซึ่งเป็นของเหลวเป็นของแข็งที่เป็นผลึกน้ำแข็ง โดยการลดอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ลง จากนั้นจะทำการลดความดันสภาพแวดล้อมให้ต่ำกว่าบรรยากาศปกติ เพื่อให้ผลึกน้ำแข็งสามารถเกิดการระเหิด (Sublimation) กลายเป็นไอได้ภายใต้อุณหภูมิเท่ากับหรือต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส การทำแห้งแบบเยือกแข็งจะใช้กับ อาหารหลายชนิดเพื่อรักษาและพัฒนาคุณภาพทั้งในด้านคุณค่าทางโภชนาการ ลักษณะทางประสาทสัมผัส และการยอมรับของ



ภาพที่ 2.9 : เครื่อง freeze dryer

ที่มา : (Andra, P., 2019)

2.7 โปรตีนอัดแท่ง

คือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่เป็นขนมอัดแท่ง (ภาพที่ 2.10) มีส่วนประกอบหลัก คือ โปรตีน (ร้อยละ 20-50) และส่วนประกอบอื่นๆ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามิน และแร่ธาตุต่างๆ โดยอาจมีการเติมวัตถุเจือปนอาหารที่ช่วยในการดูดความชื้นด้วย เพื่อให้มีค่า water activity อยู่ในช่วง 0.5-0.8. โปรตีนอัดแท่งได้รับความสนใจมากขึ้นในเรื่องโภชนาการการกีฬา โดยใช้เวย์โปรตีนซึ่งถือว่ามีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีผลต่อร่างกายโดยตรงเมื่อบริโภคควบคู่กับกิจกรรมการเคลื่อนไหวของมนุษย์ มาใช้เป็นองค์ประกอบหลักในการผลิตโปรตีนอัดแท่ง โดยถือเป็นอาหารว่างเพื่อสุขภาพที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง รับประทานง่าย และพกพาสะดวก (Xianghe et al., 2019)

ภาพที่ 2.10 : โปรตีนอัดแท่ง

ที่มา : (https://www.kickstarter.com/projects/crowbarprotein/jungle-bar-the-insect-powered-protein-bar)

บทที่ 3
วัสดุ อุปกรณ์ และ วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

ด้วงสาคูระยะ 80-90 วัน จำนวน 3.5 กิโลกรัม จากจังหวัดตรัง

Sweet whey protein 1 กิโลกรัม (จากบริษัทกรุงเทพเคมี)

3.1.2 เครื่องมือ

เครื่องอบแห้งแบบลมร้อน (Tray dryer)

เครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศ (Vacuum dryer)

เครื่องอบแห้งแบบเยือกแข็งสุญญากาศ

ตู้แช่เยือกแข็งอุณหภูมิ -20℃

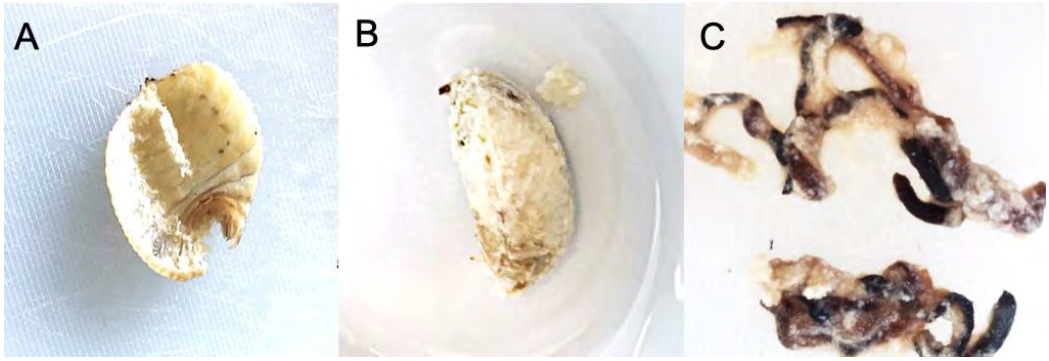
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างด้วงสาคู

1. คัดด้วงสาคูที่มีอายุ 90-100 วัน มีขนาดอยู่ระหว่าง 3.0-4.0 เซนติเมตร
2. ลวกในน้ำเดือดเป็นเวลา 2 นาทีและแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เก็บรักษาจนกว่าจะนำมาวิเคราะห์
3. เมื่อต้องการวิเคราะห์ ละลายด้วงสาคู จนมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง -2 ถึง 2 องศาเซลเซียส ซึ่งมีสภาพกึ่งแข็ง
4. ใช้มีดตัดส่วนหัวของด้วงสาคูออก
5. ผ่าแบ่งด้วงสาคูออกเป็น 2 ส่วน (ภาพที่ 3.1)
6. ส่วนที่นำมาบริโภคของด้วงสาคูคือส่วนเปลือกและเนื้อ แยกส่วนเปลือกออกจากเนื้อสีขาวขุ่น (ภาพที่ 3.2A และ 3.2B)
7. สำหรับส่วนเนื้อนั้น ต้องนำมาตัดลำไส้ออก (ภาพที่ 3.2C) ลำไส้จะมีลักษณะเป็นท่อยาวสีน้ำตาลเข้มดังภาพ เก็บส่วนเนื้อสี่ขาวที่แยกลำไส้ออกมาแล้ว

8. เก็บรักษาส่วนเปลือกและเนื้อสีขาวที่แยกลำไส้ออกแล้วที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ไว้สำหรับทำการวิเคราะห์ต่อไป

ภาพที่ 3.1 ผ่าเปลือกตามแนวยาวของลำตัวด้วงสาคู



ภาพที่ 3.2 ส่วนประกอบของด้วงสาคู เปลือก (A) เนื้อ (B) และ ลำไส้ที่แยกออกจากส่วนเนื้อ (C)

3.2.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของด้วงสาคู

การวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบหลัก โปรตีนและไขมันจะใช้ตัวอย่างเดียวกัน โดยใช้ส่วนเปลือกและเนื้อของด้วงสาคู อย่างละ 500 กรัม

3.2.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบหลัก (proximate analysis)

เถ้า	AOAC (2019) 920.153
คาร์โบไฮเดรต	Method of analysis for nutrition labeling (1993) p.106
ไขมัน	AOAC (2019) 922.06

ความชื้น AOAC (2019) 950.46 (B)

โปรตีน AOAC (2019) 981.10

3.2.2.2 การระบุชนิดของโปรตีน

Official journal of the European communities, L257/16

3.2.2.3 การระบุชนิดของไขมัน

AOAC (2019) 996.06

3.2.3 การอบแห้งด้วงสาคู

ในการอบแต่ละวิธี ตัวอย่างส่วนเปลือกและส่วนเนื้อจะอบแยกกัน

3.2.3.1 การอบแห้งโดยใช้วิธีการอบแห้งลมร้อน (Tray drying)

อบตัวอย่าง 2 สภาวะคือ ที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง และ 5 ชั่วโมง

3.2.3.2 การอบแห้งโดยใช้วิธีการอบแห้งแบบสุญญากาศ (Vacuum drying)

อบตัวอย่าง 2 สภาวะคือ ที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง และ 70 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง

3.2.3.3 การอบแห้งโดยใช้วิธีการทำแห้งเยือกแข็งแบบสุญญากาศ (Freeze drying)

บรรจุตัวอย่างส่วนเปลือกและส่วนเนื้อในกล่องพลาสติกปริมาตร 220mL และ แช่เยือกเข็งไว้ให้อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และนำเข้าเครื่อง Freeze dry (LABCONCO) โดยเลือกการใช้งานเป็นระบบ auto vacuum และภายใน chamber มีอุณหภูมิ อย่างน้อย -40 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 133 x 10^{-3} mbar อบแห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2.4 การผลิตโปรตีนอัดแท่งจากด้วงสาคู

ตารางที่ 3.1 ส่วนผสมในการผลิตโปรตีนอัดแท่งจากด้วงสาคู

ส่วนผสม	สูตรที่1 (สูตรควบคุม) (กรัม)	สูตรที่2 (กรัม)	สูตรที่3 (กรัม)	สูตรที่4 (กรัม)
sweet whey protein	48	24	12	-
ด้วงสาคูอบแห้งด้วยวิธีอบแห้งสุญญากาศ	-	40.15	60.03	80.04
Dark chocolate	40	40	40	40
Peanut butter	125	125	125	125
น้ำผึ้ง	100	100	100	100
น้ำมันมะพร้าว	30	21.71	17.70	13.47
Granular	265	265	265	265
ปริมาณแคลอรีรวม	**293.96**	**294**	**294.84**	**294.18**

1. ละลาย dark chocolate และ peanut butter ในชามผสมที่วางบนหม้อใส่น้ำที่ต้มจนร้อน โดยห้ามสัมผัสน้ำ จนละลายเข้าด้วยกัน
2. เติมน้ำผึ้ง และ น้ำมันมะพร้าวลงไปในชามผสม เมื่อเข้ากันแล้วนำภาชนะออกจากน้ำร้อน
3. เติม Granular, sweet whey protein/ ด้วงสาคูอบแห้งด้วยวิธีอบแห้งแบบสุญญากาศ ตามส่วนประกอบที่กำหนดในสูตรข้างต้น
4. ผสมคลุกเคล้าส่วนผสมทุกอย่างเข้าด้วยกัน นำใส่ถาดขนาด 20×30 เซนติเมตร แผ่กระจายให้ทั่วถาด และนำเข้าตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 8-10°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. นำออกมาตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาด 8×3x2 ลูกบาศก์เซนติเมตร

3.2.5 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค (acceptance test)

การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อตัวอย่างโปรตีนอัดแท่งจำนวน 4 ตัวอย่าง (ตัวอย่างควบคุม สูตรที่ 1-3) ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน เป็นผู้บริโภค อายุ 25-30 ปี เตรียมตัวอย่างโดยตัดแบ่งโปรตีนอัดแท่ง 4 ตัวอย่างให้ผู้ทดสอบ บรรจุในภาชนะพลาสติกสีขาวมีฝาปิดถ้วยละ 10 กรัม

(โปรตีนอัดแท่งทรงลูกบาศก์ขนาด 1x1x1 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 2 ชิ้นต่อ 1 ตัวอย่าง) โดยแต่ละถ้วยจะแสดงเลขรหัส 3 หลักของตัวอย่างโปรตีนอัดแท่งเพื่อใช้ในการทดสอบ โดยเตรียมตัวอย่างด้วยแผนแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized complete block designs: RCBD) ผู้ทดสอบจะให้คะแนนการยอมรับโดยใช้ 9-point hedonic scale (1 = ไม่ชอบมากที่สุด, 2 = ไม่ชอบมาก, 3 = ไม่ชอบปานกลาง, 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย, 5 = เฉยๆ, 6 = ชอบเล็กน้อย, 7 = ชอบปานกลาง, 8 = ชอบมาก และ 9 = ชอบมากที่สุด) ในด้าน กลิ่น, สี, รสชาติ, และความชอบโดยรวม ของตัวอย่างโปรตีนอัดแท่ง

3.2.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

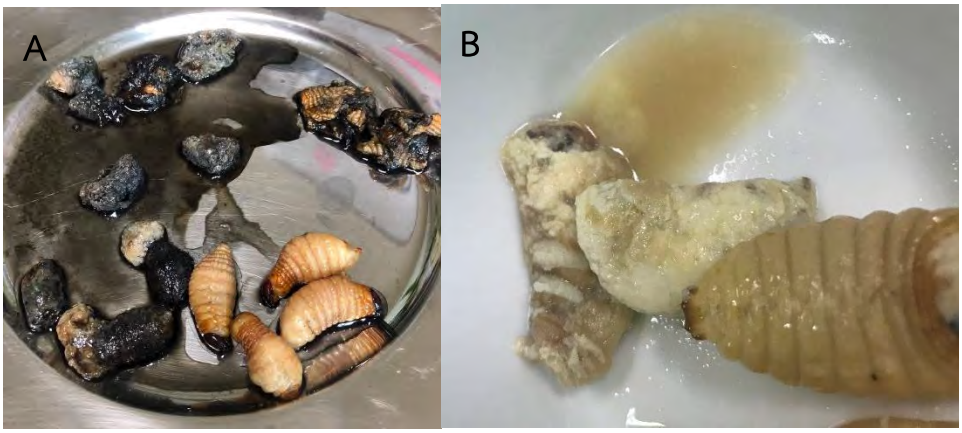
วิเคราะห์ผลการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคของตัวอย่างโปรตีนอัดแท่ง ด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (α = 0.05) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) รวมถึงวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความชอบและตัวอย่างโปรตีนอัดแท่ง ด้วย Multivariate Statistics ได้แก่ Hierarchical Cluster Analysis (HCA) ด้วยวิธี ward's method และ Principal component analysis (PCA) และการแสดงผลในรูป Heat map ร่วมกับ HCA ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Pearson's correlation โดยใช้โปรแกรม MetaboAnalyst 4.0 (https://www.metaboanalyst.ca)

บทที่4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

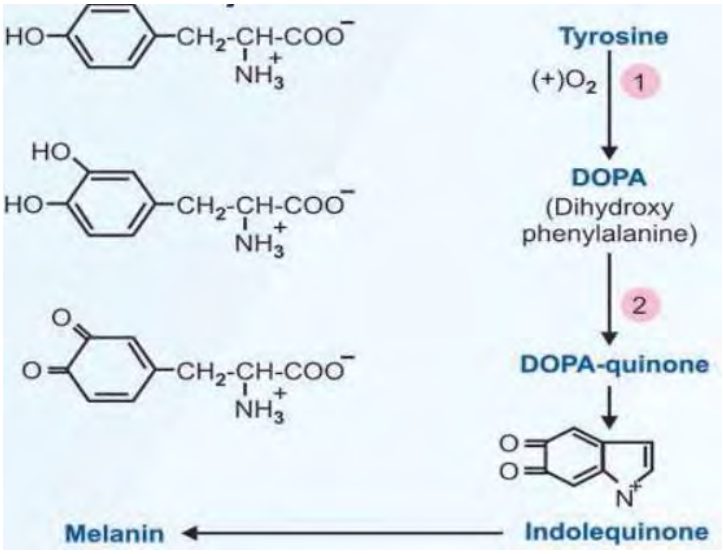
4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบในด้วงสาคู

4.1.1 การเตรียมตัวอย่างด้วงสาคู

ด้วงสาคูที่ไม่ผ่านการลวกก่อน ส่วนเนื้อมีลักษณะนิ่มและเละ แยกส่วนเปลือกออกจากเนื้อได้ยาก และหลังจากปล่อยไว้ให้โดนอากาศเป็นเวลาประมาณ 30 วินาทีถึง 1 นาที จะพบว่าส่วนเปลือกและเนื้อเริ่มเกิดการเปลี่ยนสีจากสีขาวครีม จะเริ่มคล้ำจนกลายเป็นสีดำ (ภาพที่ 4.1A) ส่วนด้วงสาคูที่ลวกในน้ำเดือดเป็นเวลา 2 นาที (ภาพที่ 4.1B) ส่วนเปลือกและเนื้อมีสีขาวครีมไม่เปลี่ยนเป็นสีดำ ด้วงสาคูที่ไม่ผ่านการลวกเปลี่ยนสีเป็นสีดำอาจเกิดจากการ oxidation ของกรดอะมิโน tyrosine จนได้เป็นสารเมลานิน (melanin) ซึ่งมีลักษณะปรากฏเป็นสีดำ ซึ่งจากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ tyrosine ของด้วงสาคูพบว่ามีปริมาณ 31.46 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม กลไกการเกิดเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดอะมิโน tyrosine แสดงดังภาพที่ 4.2 tyrosine ในตัวอย่างด้วงสาคูที่ไม่ผ่านการลวกสัมผัสกับอากาศ จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเปลี่ยนเป็นสารเมลานินที่มีสีดำ ดังนั้นขั้นตอนการลวกจึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญเพื่อให้เกิดการเสียสภาพของ tyrosine และยับยั้งการเกิดสารเมลานินซึ่งมีสีดำได้



ภาพที่ 4.1 ลักษณะปรากฏของด้วงสาคูที่ไม่ผ่านการลวก (A) และ ภายหลังผ่านการลวกในน้ำเดือด 2 นาที (B)



ภาพที่ 4.2 กลไกการเกิด oxidation ของ Tyrosine และได้ผลผลิตเป็น melanin

ที่มา : (Gandham, R.,2015)

4.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบหลัก (proximate analysis)

ปริมาณของสารอาหารหลักของด้วงสาคูแสดงดังตารางที่ 4.1 จากส่วนที่บริโภคได้ทั้งหมดของด้วงสาคู (รวมทั้งส่วนเปลือกและเนื้อ) มีปริมาณไขมันสูงที่สุด (ร้อยละ 20.65) ตามด้วยปริมาณโปรตีน (ร้อยละ 7.49) และคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ 2.65) ตามลำดับ ส่วนเนื้อของด้วงสาคูพบปริมาณความชื้น ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเถ้าสูงกว่าส่วนเปลือก มีเพียงปริมาณโปรตีนเท่านั้นที่พบในส่วนเปลือกสูงกว่าเนื้อของด้วงสาคู และเมื่อเทียบปริมาณสารอาหารกับแหล่งอาหารอื่นๆ ทั้งแหล่งอาหารจากสัตว์และพืช (ตารางที่ 4.2) มีปริมาณไขมันสูงกว่าแหล่งอาหารจากสัตว์ที่นิยมนำมาบริโภค เช่น เนื้อไก่ เนื้อหมู เนื้อวัว เนื้อปลา และสัตว์ทะเลต่างๆ แต่มีปริมาณไขมันใกล้เคียงกับถั่วเหลือง (ร้อยละ 18.70) มีปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตไม่สูงมากนัก โดยมีปริมาณใกล้เคียงกับหอยแมลงภู่ (ร้อยละ 8.1 และ 3.1 ตามลำดับ) และเมื่อเทียบกับสัตว์จำพวกแมลงที่เป็นแหล่งอาหารของมนุษย์เช่น ดักแด้ไหม และตัวต่อในระยะตัวอ่อน พบว่า ด้วงสาคูมีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าแต่มีปริมาณไขมันมากกว่า เพื่อให้สามารถนำด้วงสาคูไปแปรรูปได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงควรศึกษาถึงองค์ประกอบของหน่วยย่อยของสารอาหารด้วย เช่น ชนิดของกรดไขมัน และกรดอะมิโน ต่อไป

ตารางที่ 4.1 ผลการทดสอบปริมาณของสารอาหารหลักของด้วงสาคูส่วนเปลือก เนื้อ และส่วนบริโภคได้

	ปริมาณสารอาหาร (กรัมต่อส่วนบริโภคได้ 100 กรัม)			ร้อยละของสารอาหาร (กรัมต่อ 100 กรัม)		ร้อยละของพลังงานที่ร่างกายควรได้รับต่อวัน[2]	ปริมาณที่ร่างกายควรได้รับ (กรัมต่อวัน)[3]
	เปลือก	เนื้อ	ส่วนบริโภคได้	เปลือก	เนื้อ		
ความชื้น	27.17	41.31	68.47	70.17	67.40	-	-
ไขมัน	6.81	13.84	20.65	17.60	22.58	20-35	40-70
โปรตีน	4.39	3.11	7.49	11.33	5.07	10-35	45-158
คาร์โบไฮเดรต	0.00	2.65	2.65	0.01	4.32	45-65	203-293
เถ้า	0.34	0.39	0.73	0.89	0.63	-	-
รวม	**38.72**	**61.28**	**100.00**	**100.00**	**100.00**		

[1] ส่วนบริโภคได้คือ ส่วนเปลือกและเนื้อ (ตัดส่วนหัวและไส้ออก)

[2] Institute of medicine, 2005

[3] คำนวณจากพลังงานทั้งหมด 1,800 กิโลแคลอรี

ตารางที่ 4.2 คุณค่าทางโภชนาการของอาหาร

	ปริมาณสารอาหาร (กรัมต่อ 100 กรัม)					
	น้ำ	ไขมัน	โปรตีน	คาร์โบไฮเดรต	ใยอาหาร	เถ้า
ด้วงสาคู	68.47	20.65	7.49	2.65	-	0.73
ดักแด้ไหม	69.90	8.30	14.70	4.70	1.20	2.40
ตัวต่อ , ระยะตัวอ่อน	72.80	6.80	14.80	4.80	0.60	0.80
ข้าวหอมมะลิ	12.00	1.10	6.20	80.40	0.60	0.30
เต้าหู้เหลือง	69.70	6.70	13.50	8.80	0.30	1.30
ถั่วเขียว (ดิบ)	11.50	1.30	23.40	60.30	4.30	3.50
ถั่วแดง (ดิบ)	14.20	1.20	22.40	58.00	4.30	4.20
ถั่วดำ (ดิบ)	9.30	1.60	23.80	61.80	4.60	3.50
ถั่วลิสง (ดิบ)	11.40	38.70	29.70	17.70	2.10	2.50
ถั่วเหลือง (ดิบ)	11.10	18.70	34.00	31.40	4.70	4.80
นมถั่วเหลือง	85.50	3.10	2.40	8.60	0.00	0.40
นมโค (พาสเจอร์ไรซ์)	89.10	3.50	3.30	3.40	-	0.70
นมโค (UHT)	88.00	3.90	2.30	4.10	-	0.70
ไข่ไก่	73.50	11.70	12.30	1.40	-	1.10
เนื้อไก่ (สด)	69.50	9.70	19.50	0.00	-	1.30
เนื้อวัว (สด)	69.50	4.80	20.30	2.30	-	3.10
เนื้อหมู (สด)	75.80	3.30	19.60	0.00	-	4.40
ปลาทูน่า (สด)	72.50	1.20	24.80	0.00	-	1.50
เนื้อกุ้งกุลาดำ	80.30	1.30	20.10	0.00	-	0.40
ปูม้า	80.10	1.50	16.20	0.10	-	2.10
หอยแมลงภู่	85.50	0.90	8.10	3.10	-	2.40

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย กองโภชนาการ กรมอนามัย

http://nutrition.anamai.moph.go.th/images/file/nutritive_values_of_thai_foods.pdf

4.1.3 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมัน

จากตารางที่ 4.3 พบว่าชนิดขององค์ประกอบกรดไขมันในด้วงสาคูมีที่ในส่วนเปลือกและส่วนเนื้อ ได้แก่ SFA 6 ชนิด (lauric, myristic, palmitic, heptadecanoic, stearic, arachidic, behenic) MUFA 4 ชนิด (myristoleic, palmitoic, elaidic, oleic) และ PUFA 2 ชนิด (linoleic, linolenic) ยกเว้น heptadecanoic acid ที่พบเพียงในส่วนเนื้อที่พบร้อยละ 0.01 ของปริมาณสารอาหาร

นอกจากนี้ในส่วนเนื้อยังพบชนิดของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) มากกว่าส่วนเปลือก ซึ่งกรดไขมันชนิดนี้มีประโยชน์ต่อร่างกายคือ ช่วยลดปริมาณ LDL ที่เป็นไขมันชนิดที่ไม่ดีในร่างกายและช่วยเพิ่มปริมาณ HDL ซึ่งเป็นไขมันชนิดที่ดีต่อร่างกาย และยังพบกรด Oleic ในปริมาณมากกว่า และมีปริมาณไขมันทรานส์น้อยกว่าส่วนเปลือกเช่นกัน

องค์การอนามัยโลกและสถาบันการแพทย์แห่งสหรัฐอเมริกาได้แนะนำปริมาณไขมันที่ควรได้รับต่อวัน 40 ถึง 70 กรัม โดยในวัยผู้ใหญ่ที่มีอายุ 19 ปี ขึ้นไป ควรได้รับปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFA) ชนิด linoleic 14 ถึง 17 กรัมต่อวัน ในเพศชาย และ 11 ถึง 12 กรัมต่อวันในเพศหญิง สำหรับกรดไขมัน linolenic 1.6 กรัมต่อวันในเพศชาย และ 1.1 กรัมต่อวันในเพศหญิง เนื่องจากด้วงสาคูมีปริมาณไขมันสูง การบริโภคด้วงสาคู 200 กรัมจะได้รับไขมันปริมาณ 41.3 กรัม อย่างไรก็ตามปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFA) ชนิด linoleic และ linolenic ในด้วงสาคูมีปริมาณต่ำ จากตารางที่ 4.3 พบว่าการบริโภคด้วงสาคู 100 กรัมจะได้รับปริมาณกรดไขมัน linoleic และ linolenic เพียง 0.047 และ 0.004 กรัมเท่านั้น นอกจากนี้ ชาคริต หริมพานิชและคณะ (2561) ยังได้แนะนำให้รับประทานกรดไขมันโอเมกา-6 และ -3 ในอัตราส่วนที่สมดุลเพื่อประโยชน์ต่อระบบหัวใจและการหมุนเวียนโลหิต โดยทั่วไปร่างกายต้องการกรดไขมันโอเมก้า-6 มากกว่ากรดไขมันโอเมก้า-3 ในอัตราส่วน 3 : 1 ถึง 5 : 1 เท่า ซึ่งหากร่างกายได้รับกรดไขมันโอเมก้า 6 มากเกินไป จะทำให้เกิดการอักเสบในร่างกาย เพิ่มการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือด และเพิ่มความเสี่ยงโรคหลอดเลือดหัวใจได้ จากตารางที่ 4.4 อัตราส่วนของกรดไขมันโอเมกา-6 และ -3 ของด้วงสาคูมีค่าประมาณ 6 ดังนั้นจึงควรอย่างยิ่งที่จะบริโภคกรดไขมันจากแหล่งอาหารอื่นด้วยเพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการและได้รับกรดไขมันในอัตราส่วนที่สมดุล Ruairi Robertson (2017) กล่าวถึงในส่วนของกรดไขมันโอเมก้า-9 ว่ามีคุณสมบัติช่วยเสริมการทำงานของโอเมก้า -3 และ -6 ไม่ได้ถือเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย สามารถสร้างได้เองในร่างกาย เมื่อร่างกายมีปริมาณของโอเมก้า -3 และ -6 ไม่เพียงพอ จะนำโอเมก้า -9 มาใช้เพื่อเสริมการทำงานของร่างกายซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปในอาหาร จึงไม่มีปริมาณขั้นต่ำที่ร่างกายควรได้รับอย่างแน่ชัด

ตารางที่ 4.3 ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน (SFA, MUFA, PUFA) ในส่วนเปลือกและเนื้อของด้วงสาคู

		ปริมาณสารอาหาร (กรัมต่อส่วนบริโภคได้ 100 กรัม)			มิลลิกรัมต่อกรัมไขมันทั้งหมด		ร้อยละของสารอาหาร	
		เปลือก	เนื้อ	ส่วนบริโภคได้	เปลือก	เนื้อ	เปลือก	เนื้อ
กรดไขมันอิ่มตัว (SFA)		**0.538**	**1.406**	**1.944**	**26.065**	**68.078**	**7.900**	**10.160**
lauric	C12:0	0.001	0.003	0.004	0.066	0.134	0.020	0.020
myristic	C14:0	0.025	0.054	0.079	1.221	2.613	0.370	0.390
palmitic	C16:0	0.487	1.288	1.775	23.558	62.383	7.140	9.310
heptadecanoic	C17:0	0.000	0.001	0.001	0.000	0.067	0.000	0.010
stearic	C18:0	0.020	0.051	0.072	0.990	2.479	0.300	0.370
arachidic	C20:0	0.003	0.007	0.010	0.165	0.335	0.050	0.050
behenic	C22:0	0.001	0.001	0.003	0.066	0.067	0.020	0.010
กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA)		**0.570**	**1.506**	**2.076**	**27.616**	**72.903**	**8.370**	**10.880**
myristoleic	C14:1	0.001	0.001	0.002	0.033	0.067	0.010	0.010
palmitoleic	C16:1	0.106	0.209	0.315	5.114	10.118	1.550	1.510
elaidic	C18:1, trans	0.001	0.003	0.004	0.066	0.134	0.020	0.020
oleic	C18:1 $\omega-9$	0.463	1.292	1.755	22.403	62.584	6.790	9.340
กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFA)		**0.029**	**0.055**	**0.085**	**1.419**	**2.680**	**0.430**	**0.400**
linoleic	C18:2, $\omega-6$	0.025	0.047	0.072	1.221	2.278	0.370	0.340
linolenic	C18:3, ALA, $\omega-3$	0.004	0.008	0.012	0.198	0.402	0.060	0.060

ตารางที่ 4.4 ชนิดและปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในส่วนเปลือกและเนื้อของด้วงสาคู

	ปริมาณสารอาหาร (มิลลิกรัมต่อส่วนบริโภคได้ 100 กรัม)			มิลลิกรัมต่อกรัมไขมันทั้งหมด		ปริมาณสารอาหาร (มิลลิกรัม/100กรัม)	
	เปลือก	เนื้อ	ส่วนบริโภคได้	เปลือก	เนื้อ	เปลือก	เนื้อ
กรดไขมันไม่อิ่มตัว	599.62	1560.94	2160.56	29.03	75.58	8800.00	11280.00
ไขมันทรานส์	1.36	2.77	4.13	0.07	0.13	20.00	20.00
$\omega - 3$	4.19	7.71	11.91	0.20	0.37	61.55	55.74
$\omega - 6$	25.13	47.54	72.67	1.22	2.30	368.82	343.52
$\omega - 9$	462.70	1292.31	1755.01	22.40	62.58	6790.59	9338.78
$\frac{\omega - 6}{\omega - 3}$	6.00	6.16	6.10				

4.1.4 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโน

จากตารางที่ 4.1 องค์การอนามัยโลกได้แนะนำให้รับประทานโปรตีนวันละ 45 ถึง 158 กรัม (คำนวณจากพลังงานทั้งหมด 1,800 กิโลแคลอรีต่อวัน) ซึ่งหากต้องการบริโภคด้วงสาคูซึ่งมีปริมาณโปรตีน 7.49 กรัมต่อ 100 กรัม ให้ได้ปริมาณโปรตีนที่เพียงพอต่อวัน ต้องบริโภคด้วงสาคูมากกว่า 600 กรัมซึ่งเป็นปริมาณที่มาก จึงควรบริโภคโปรตีนจากแหล่งอื่นร่วมด้วย เช่น ถั่ว ปลาทูน่า ไก่ ซึ่งมีปริมาณโปรตีนมากกว่า 20 กรัมต่อ 100 กรัม

ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนของด้วงสาคู แสดงดังตารางที่ 4.5 โดยพบกรดอะมิโนจำเป็นซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ได้ 8 ชนิด ได้แก่ threonine, valine, isoleucine, leucine, phenylalanine, histidine, lysine, และ tryptophan ซึ่งกรดอะมิโนจำเป็นทุกชนิดพบมากในส่วนเปลือกมากกว่าส่วนเนื้อ โดยไม่พบกรดอะมิโน tryptophan ในส่วนเนื้ออีกด้วย โดยชนิดของกรดอะมิโนจำเป็นที่พบมากที่สุดทั้งในส่วนเปลือกและเนื้อคือ lysine, leucine และ valine ซึ่งมีปริมาณ 7.00, 9.02 และ 5.17 มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีน ตามลำดับ องค์การอนามัยโลกได้แนะนำว่าปริมาณกรดอะมิโนจำเป็น lysine, leucine และ valine ที่ควรได้รับในวัยผู้ใหญ่ คือ 45, 59 และ 39 มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีน ซึ่งถือว่าทั้งส่วนเปลือกและส่วนเนื้อด้วงสาคูเป็นแหล่งของกรดอะมิโนจำเป็นที่ดีและเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจในการนำมาบริโภคร่วมกับแหล่งโปรตีนอื่นๆ ในส่วนของกรดอะมิโนที่พบมากที่สุดของด้วงสาคู คือ

glutamic acid (101.53 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น โดยกรดอะมิโนชนิดนี้มีลักษณะเด่นคือ ช่วยเพิ่มรสชาติกลมกล่อม หรือ อูมามิให้อาหาร หากอาหารประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดนี้จำนวนมากจะทำให้อาหารชนิดนั้นมีรสชาติที่กลมกล่อมและอร่อยขึ้น เมื่อนำปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นทั้ง 3 ชนิดคือ lysine, leucine และ valine มาเปรียบเทียบกับปริมาณขั้นต่ำที่ร่างกายควรได้รับในแต่ละวันจากคำแนะนำขององค์การอนามัยโลก (WHO) พบว่าในด้วงสาคูมีปริมาณน้อยกว่าอาหารชนิดอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.6 ดังนั้น ควรบริโภคด้วงสาคูควบคู่กับอาหารชนิดอื่นเพื่อเพิ่มปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นให้เพียงพอต่อร่างกายตามที่ WHO แนะนำ

ตารางที่ 4.5 ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโน ในส่วนเปลือกและเนื้อของด้วงสาคู

	ปริมาณสารอาหาร (มิลลิกรัมต่อส่วนบริโภคได้ 100 กรัม)			มิลลิกรัมต่อกรัมโปรตีนทั้งหมด			ปริมาณสารอาหาร (มิลลิกรัม/100กรัม)	
	เปลือก	เนื้อ	ส่วนบริโภคได้	เปลือก	เนื้อ	รวม	เปลือก	เนื้อ
กรดอะมิโนจำเป็น	**196.60**	**73.83**	**270.43**	**26.23**	**9.85**	**36.08**	**4481.36**	**2376.47**
Threonine	22.96	6.63	29.58	3.06	0.88	3.94	523.26	213.38
Valine	30.03	8.70	38.74	4.01	1.16	5.17	684.61	280.11
Isoleucine	26.40	7.05	33.44	3.52	0.94	4.46	601.7	226.8
Leucine	39.54	28.00	67.54	5.28	3.74	9.02	901.24	901.24
Phenylalanine	17.98	7.77	25.75	2.40	1.04	3.44	409.87	250
Histidine	12.32	4.00	16.32	1.64	0.53	2.17	280.8	128.86
Lysine	40.79	11.68	52.48	5.44	1.56	7.00	929.88	376.08
Tryptophan	6.58	-	6.58	0.88	-	0.88	150	-
กรดอะมิโนไม่จำเป็น	**294.22**	**86.33**	**380.56**	**39.26**	**11.52**	**50.78**	**6706.74**	**2778.76**
Aspartic acid	48.45	14.18	62.63	6.46	1.89	8.35	1104.3	456.49
Serine	26.78	7.45	34.24	3.57	0.99	4.56	610.55	239.87
Glutamic acid	78.05	23.48	101.53	10.42	3.13	13.55	1779.15	755.6
Glycine	26.50	6.90	33.40	3.54	0.92	4.46	604.02	222.21

Alanine	27.34	8.67	36.00	3.65	1.16	4.81	623.12	278.92
Tyrosine	23.69	7.77	31.46	3.16	1.04	4.20	540	250
Arginine	31.26	9.13	40.39	4.17	1.22	5.39	712.53	293.79
Proline	32.16	8.76	40.92	4.29	1.17	5.46	733.07	281.88

ตารางที่ 4.6 ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนจำเป็น leucine, lysine และ Valine ของอาหาร

	ปริมาณกรดอะมิโน (มิลลิกรัม) ใน200กรัมอาหาร		
	leucine	lysine	valine
ด้วงสาคู	135.08	104.96	77.48
ดักแด้ไหม	848.778	928.452	627.102
ตัวต่อ , ระยะตัวอ่อน	378.88	284.456	259
ข้าวหอมมะลิ	55.056	25.048	30.504
เต้าหู้เหลือง	385.02	364.23	214.92
ถั่วเขียว ดิบ	878.904	761.904	700.596
นมถั่วเหลือง	9.168	7.44	4.656
นมโค (พาสเจอร์ไรซ์)	18.414	15.774	10.032
นมโค (UHT)	13.938	11.086	7.498
ไข่ไก่	211.56	190.158	150.798
เนื้อไก่ (สด)	546.39	585.39	290.55
เนื้อวัว (สด)	575.708	686.546	395.038
เนื้อหมู (สด)	620.928	580.16	343
ปูม้า	233.604	280.908	176.904
หอยแมลงภู่	82.944	96.552	56.7

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก ชนิดและปริมาณกรดอมิโนในอาหารไทย

http://nutrition.anamai.moph.go.th/images/file/ชนิดและปริมาณกรดอมิโนในอาหารไทย.pdf

4.2 การอบแห้งตัวอย่างด้วงสาคู

จากการอบแห้งด้วงสาคูด้วยวิธีการอบแห้ง 3 วิธี ได้แก่ การอบแห้งแบบลมร้อน การอบแห้งแบบสุญญากาศ และการอบแห้งแบบเยือกแข็งสุญญากาศ จากตารางที่ 4.6 พบว่าความชื้นของด้วงสาคูในส่วนเนื้อ (ร้อยละ 70) มีค่าสูงกว่าส่วนเปลือก (ร้อยละ 60) และเมื่อพิจารณาค่าร้อยละความชื้นพบว่าตัวอย่างที่ทำการอบแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง มีการลดลงของค่าร้อยละความชื้นจาก 70.21 เป็น 0.27 ซึ่งเป็นค่าความชื้นที่ต่ำที่สุด และเป็นการอบแห้งที่ใช้เวลาน้อยที่สุด

ลักษณะปรากฏของส่วนเปลือกด้วงสาคูก่อนอบ จะมีสีเหลืองครีม เป็นแผ่นนิ่ม และจะเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลเข้มขึ้นและกรอบภายหลังการอบทั้ง 3 วิธี (ตารางที่ 4.7) และส่วนเนื้อของด้วงสาคู มีลักษณะเป็นครีมเหลวสีเหลืองอ่อน (ตารางที่ 4.8) โดยภายหลังการอบเสร็จใหม่ๆ เนื้อด้วงสาคูที่อบแบบลมร้อนและแบบสุญญากาศยังมีลักษณะแห้งและกรอบ แต่หลังจากเวลาผ่านไป 30 นาทีเนื้อด้วงสาคูอบลมร้อน มีลักษณะเป็นแผ่นสีน้ำตาลยังคงเกาะกลุ่มกันเป็นก้อน ซึ่งปริมาณไขมันที่มากอาจขัดขวางการระเหยของน้ำขณะอบทำให้ยังมีความชื้นสูง ในขณะเนื้อด้วงสาคูภายหลังการอบแห้งแบบสุญญากาศ จะลักษณะแห้งเป็นแผ่นเกล็ด และมีสีน้ำตาลเข้ม มีค่าร้อยละความชื้นหลังอบเป็น 0.20 ซึ่งต่ำที่สุด ซึ่งอาจเนื่องมาจากการอบแห้งภายใต้สุญญากาศทำให้น้ำระเหยออกไปได้รวดเร็วกว่าการอบแห้งแบบลมร้อน ส่วนการอบแห้งเนื้อด้วงสาคูแบบเยือกแข็งสุญญากาศ แม้ภายหลังการอบเนื้อด้วงจะมีลักษณะเป็นผงละเอียด มีสีน้ำตาลอ่อนกว่าการอบวิธีอื่น แต่เนื่องจากใช้เวลาในการอบนานและมีค่าใช้จ่ายสูง คณะผู้วิจัยจึงเลือกการอบแห้งแบบสุญญากาศเพื่อใช้ในอบแห้งด้วงสาคูเพื่อการแปรรูปในขั้นต่อไป

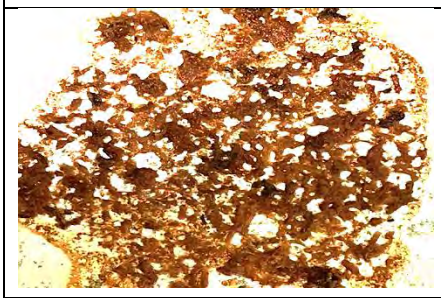
ตารางที่ 4.7 น้ำหนักและค่าร้อยละความชื้นของด้วงสาคูก่อนและหลังอบ

ตัวอย่าง	อบแห้ง	สภาวะการอบ	น้ำหนัก (กรัม)		ค่าร้อยละความชื้น	
			ก่อนอบ	หลังอบ	ก่อนอบ	หลังอบ
ส่วนเปลือก	แบบลมร้อน	80°C 3 ชั่วโมง	20.11	5.47	70.21	1.35
		80°C 5 ชั่วโมง	10.34	2.66	70.21	0.93
	แบบสุญญากาศ	70°C 5 ชั่วโมง	10.20	2.55	70.21	0.63
		80°C 3 ชั่วโมง	20.16	5.93	70.21	0.27
	แบบเยือกแข็งสุญญากาศ	-40°C 24 ชั่วโมง	9.90	3.58	70.21	1.94
ส่วนเนื้อ	แบบลมร้อน	80°C 3 ชั่วโมง	50.12	20.45	60.64	2.69
		80°C 5 ชั่วโมง	20.49	11.05	60.64	1.17
	แบบสุญญากาศ	70°C 5 ชั่วโมง	20.54	6.57	60.64	0.49
		80°C 3 ชั่วโมง	50.66	17.04	60.64	0.20
	แบบเยือกแข็งสุญญากาศ	-40°C 24 ชั่วโมง	20.77	8.29	60.64	0.88

ตารางที่ 4.8 ลักษณะปรากฏของส่วนเปลือกด้วงสาคูก่อนและหลังอบ

อบแห้ง	สภาวะการอบ	ก่อนอบ	หลังอบ
แบบลมร้อน	80°C 3 ชั่วโมง		
	80°C 5 ชั่วโมง		
แบบสุญญากาศ	70°C 5 ชั่วโมง		
	80°C 3 ชั่วโมง		
แบบเยือกแข็งสุญญากาศ	-40°C 24 ชั่วโมง		

ตารางที่ 4.9 ลักษณะปรากฏของส่วนเนื้อด้วงสาคูก่อนและหลังอบ

อบแห้ง	สภาวะการอบ	ก่อนอบ	หลังอบ
แบบลมร้อน	80°C 3 ชั่วโมง		
	80°C 5 ชั่วโมง		
แบบ สุญญากาศ	70°C 5 ชั่วโมง		
	80°C 3 ชั่วโมง		
แบบเยือกแข็ง สุญญากาศ	-40°C 24 ชั่วโมง		

4.3 การผลิตโปรตีนอัดแท่ง

ตารางที่ 4.10 ลักษณะปรากฏของโปรตีนอัดแท่งทั้ง 4 สูตร

สูตร	ลักษณะปรากฏ	รูปภาพโปรตีนอัดแท่ง
สูตรที่ 1 (สูตรควบคุม)	มีสีน้ำตาล เนื้อสัมผัสละเอียด เกาะตัวกันแข็งเป็นแท่ง	
สูตรที่ 2	มีสีน้ำตาลเข้มขึ้นกว่าสูตรควบคุม เนื้อสัมผัสมีความละเอียดน้อยกว่าสูตรควบคุม มีกลิ่นคล้ายดินที่มาจากด้วงสาคู	
สูตรที่ 3	มีสีน้ำตาลเข้มขึ้นกว่าสูตรควบคุมและสูตรที่ 2 เนื้อสัมผัสมีความนิ่มและหักได้ง่ายขึ้น มีกลิ่นคล้ายดินที่มาจากด้วงสาคูแรงขึ้นกว่าสูตรที่ 2	
สูตรที่ 4	มีสีน้ำตาลเข้มมาก เนื้อสัมผัสมีความนิ่ม มีความฉ่ำจากน้ำมันในเนื้อด้วงสาคู มีกลิ่นดินแรงขึ้นมาก	

จากตารางที่ 4.10 พบว่า ลักษณะปรากฏของโปรตีนอัดแท่งแต่ละสูตรมีความแตกต่างกัน โดยสีของโปรตีนอัดแท่งจะมีสีน้ำตาลเข้มขึ้นตามปริมาณของด้วงสาคูอบแห้งที่มากขึ้น และความนิ่มของโปรตีนอัดแท่งจะมากขึ้นตามปริมาณด้วงสาคูที่มากขึ้นเช่นกัน โดยสูตรที่ 2 ถือเป็นโปรตีนอัดแท่งสูตรที่ให้เนื้อสัมผัสและลักษณะปรากฏที่ดีที่สุดเมื่อเทียบกับสูตร 3 และ 4 เนื่องจากในเนื้อด้วงสาคูมีปริมาณไขมันที่มากและเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง ยิ่งใส่ในปริมาณมากจะทำให้เนื้อสัมผัสมีความนิ่มมากขึ้น โดยผลจากการใส่ด้วงสาคูอบแห้งเป็นส่วนประกอบในโปรตีนอัดแท่งจะทำให้โปรตีนอัดแท่งมีกลิ่นคล้ายดินที่แรงขึ้นด้วย

บทที่ 5

สรุปการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากผลการตรวจองค์ประกอบทางโภชนาการของด้วงสาคูพบว่ามีปริมาณไขมันสูงที่สุด และยังเป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (MUFA) ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย รองลงมาคือโปรตีน โดยถือเป็นแหล่งอาหารที่ประกอบด้วยโปรตีน ซึ่งมีชนิดของกรดอะมิโนจำเป็นที่หลากหลาย และยังมีปริมาณกรดอะมิโนชนิด Glutamic สูง ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่ทำให้เกิดรสชาติอูมามิ ดังนั้น ด้วงสาคูจึงเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจในการนำไปพัฒนาเป็นแหล่งอาหารทางเลือกในอนาคตที่มีประโยชน์ทั้งในด้านโภชนาการและรสชาติอูมามิของอาหาร โดยใช้วิธีการอบแห้งแบบสุญญากาศที่ 80 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จะให้ผลการอบที่ดีที่สุด ทั้งในด้านของค่าร้อยละความชื้นและลักษณะปรากฏ อีกทั้งสามารถนำสูตรโปรตีนอัดแท่งที่มีการเติม peanut butter ไปต่อยอดในการทดลองได้ โดยใช้ด้วงสาคูอบแห้งเป็นส่วนประกอบในโปรตีนอัดแท่งปริมาณ 40.15 กรัม ตามสูตรที่ 2 จะให้เนื้อสัมผัสและลักษณะปรากฏที่ดีที่สุด รวมถึงสามารถพัฒนาด้วงสาคูให้เป็นอาหารออร์แกนิกได้ เนื่องจากสามารถนำด้วงสาคูที่เลี้ยงโดยปราศจากสารเคมีมาใช้เป็นวัตถุดิบได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการของด้วงสาคู ผู้จัดทำมีความเห็นว่า หากสนใจศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับไขมัน แนะนำว่าส่วนเนื้อเป็นทางเลือกที่ดีในการนำไปศึกษามากกว่าส่วนเปลือก แต่หากสนใจศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับโปรตีน ควรใช้ส่วนเปลือกในการนำไปศึกษาเนื่องจากมีปริมาณโปรตีนมากกว่า ซึ่งในการนำด้วงสาคูมาเป็นส่วนประกอบในการทำโปรตีนอัดแท่ง อาจเลือกใช้เพียงส่วนเปลือกอย่างเดียวเพื่อให้มีปริมาณโปรตีนที่มากขึ้นและทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของโปรตีนอัดแท่งไม่นิ่มและเกาะตัวกันมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน. 2558. การอบแห้ง. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://ienergyguru.com/2015/09/drying/ [3 กุมภาพันธ์ 2563]

ชาคริต หริมพานิช และคนอื่นๆ. 2561. โอเมก้า 3 6 ต่างกันยังไง น้ำมันปลา น้ำมันตับปลา. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.honestdocs.co/different-to-how-omega-fishoil-codliveroil [20 พฤษภาคม 2563]

นันทยา จงใจเทศ และคนอื่นๆ. ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย. 1800 เล่ม. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานกิจการโรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก, 2561.

นันทยา จงใจเทศ และคนอื่นๆ. ตารางแสดงชนิดและปริมาณกรดอมิโนในอาหารไทย. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานกิจการโรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก, 2561.

นิรันดร หนักแดง. 2557 การศึกษาคุณค่าทางโภชนะของด้วงสาคู. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์,

บลินดา อินมณเฑียร. 2554. MUFA : Monounsaturated Fatty Acid. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://sangyod-rice-bran-oil-pattalung.blogspot.com/2011/03/mufa-monounsaturated-fatty-acid.html?m=1 [17 ธันวาคม 2562]

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์., นิธิยา รัตนาปนนท์. 2552. Tray drier. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/001000/tray-drier- [3 กุมภาพันธ์ 2563]

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์., นิธิยา รัตนาปนนท์. 2552 vacuum drying. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/5974/vacuum-drying- [3 กุมภาพันธ์ 2563]

สุกิจ ลิติกรณ์. 2563. ทำความรู้จักกับการทำแห้งแบบ แช่เยือกแข็ง (Freeze Dry). [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.harn.co.th/th/articles/getting-to-know-freeze-dry/ [3 กุมภาพันธ์ 2563]

Bhagavan, N.V and Ha, C.E. (2015). Lipids I: Fatty Acids and Eicosanoids. Essentials of Medical Biochemistry 2 : 269-297

Cito A, Longo S, Mazza G, Dreassi E and Francardi, V. (2017). Chemical evaluation of the Rhynchophorus ferrugineus larvae fed on different substrates as human food source. Food science and technology international 23(6): 529-539

Earl M. (2010). Protein and Amino acids .The new vitamin bible :45-52

FAO. (2011). Fats and fatty acid in human nutrition : Report of an expert consultation. Rome, Italy : 10-11

Gandham R. (2015). Phenylalanine Metabolism. [online]. Available from : https://www.slideshare.net/YESANNA/phenylalanine-metabolism [2020,April 12]

Patel S., Suleria H.A.R and Rauf A. (2019). Edible insects as innovative foods: Nutritional and functional assessments. Trends in Food Science & Technology 86 : 352-259

Campbell, N. A., and Reece, J. B., (2003). CHAPTER 3; The molecule of cells. Campbell Biologie.

Robertson, R. (2017) Omega-3-6-9 Fatty Acids: A Complete Overview. [online]. Available from: https://www.healthline.com/nutrition/omega-3-6-9-overview [2020, May 21]

Soboleva A., Vikhnina M., Grishina T.,and Frolov A. (2017). Probing Protein Glycation by Chromatography and Mass Spectrometry: Analysis of Glycation Adducts . International Journal of Molecular Sciences 18(12) :2557

Xianghe Meng, Jian Ji, Xie Qi and Xiaohua Nie. (2019). Effect of anticaking agents on hardening and Maillard-induced protein aggregation in high-protein nutrition bars formulated with whey protein concentrate: LWT - Food Science and Technology 108: 261-267

ภาคผนวก ก

ผลวิเคราะห์กรดไขมันและกรดอะมิโนของด้วงสาคูสด

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co. Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyothin Rd., Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com

Central Lab

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 31 มีนาคม 2563
เลขที่รายงาน TRBK63/11493
หน้า 01/03

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เลขที่ 254 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

รายละเอียดตัวอย่าง เปลือกด้วงสาคู
(ข้อมูลจากลูกค้า)

รหัสตัวอย่าง BK63/03782-001

ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : เปลือกด้วงสาคู
ภาชนะบรรจุ : ถุงพลาสติก (ถุงซิป), จำนวน : 1 ถุง, น้ำหนัก/ปริมาตร : 500 กรัม.
อุณหภูมิ : แช่เย็น, สภาพตัวอย่างปกติ

วันที่รับตัวอย่าง 27 กุมภาพันธ์ 2563
วันที่ทดสอบ 27 กุมภาพันธ์ 2563 - 31 มีนาคม 2563

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Ash	0.89	g/100g	-	AOAC (2019) 920.153
Calories	203.72	Kcal/100g	-	In-house method TE-CH-169 based on Method of Analysis for Nutrition Labeling (1993) p.106
Calories from Fat	158.40	Kcal/100g	-	In-house method TE-CH-169 based on Method of Analysis for Nutrition Labeling (1993) p.106
Carbohydrate	<0.01	g/100g	-	In-house method TE-CH-169 based on Method of Analysis for Nutrition Labeling (1993) p.106
Fat	17.60	g/100g	-	AOAC (2019) 922.06
Fatty acid Composition				
Butyric acid (C4:0)	Not Detected	g/100g	0.01	In-house method TE-CH-208 based on AOAC (2019) 996.06
Caproic acid (C6:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Caprylic acid (C8:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Capric acid (C10:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Undecanoic acid (C11:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Lauric acid (C12:0)	0.02	g/100g	-	
Tridecanoic acid (C13:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Myristic acid (C14:0)	0.37	g/100g	-	
Pentadecanoic acid(C15:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Palmitic acid (C16:0)	7.14	g/100g	-	
Heptadecanoic acid (C17:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Stearic acid (C18:0)	0.30	g/100g	-	
Arachidic acid (C20:0)	0.05	g/100g	-	
Heneicosanoic acid(C21:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Behenic acid (C22:0)	0.02	g/100g	-	
Tricosanoic acid (C23:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Lignoceric acid (C24:0)	Not Detected	g/100g	0.01	

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น
รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ
FM-QP-24-01-001-R05(10/03/63)P1/3

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyothin Rd., Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4367-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com

Central Lab
Food & Environment

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 31 มีนาคม 2563
เลขที่รายงาน TRBK63/11493
หน้า 02/03

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Saturated Fat	7.90	g/100g	-	
Myristoleic acid (C14:1)	0.01	g/100g	-	
Pentadecenoic acid(C15:1)	Not Detected	g/100g	0.01	
Palmitoleic acid (C16:1)	1.55	g/100g	-	
Heptadecenoic acid(C17:1)	Not Detected	g/100g	0.01	
Elaidic acid(C18:1 trans)	0.02	g/100g	-	
Oleic acid (C18:1, Omega-9)	6.79	g/100g	-	
Eicosenoic acid(C20:1, Omega-9)	Not Detected	g/100g	0.01	
Erucic acid (C22:1, Omega-9)	Not Detected	g/100g	0.01	
Nervonic acid (C24:1, Omega-9)	Not Detected	g/100g	0.01	
Monounsaturated fatty acid	8.37	g/100g	-	
Linolelaidic acid(C18:2, trans)	Not Detected	g/100g	0.01	
Linoleic acid (C18:2, Omega-6)	0.37	g/100g	-	
g-Linolenic acid (C18:3, Omega-6)	Not Detected	g/100g	0.01	
Linolenic acid (C18:3, ALA, Omega-3)	0.06	g/100g	-	
Eicosadienoic acid (C20:2, Omega-6)	Not Detected	g/100g	0.01	
cis-8,11,14-Eicosatrienoic acid (C20:3, Omega-6)	Not Detected	g/100g	0.01	
Eicosatrienoic acid (C20:3, Omega-3)	Not Detected	g/100g	0.01	
Arachidonic acid (C20:4, ARA, Omega-6)	Not Detected	g/100g	0.01	
Docosadienoic acid(C22:2, Omega-6)	Not Detected	g/100g	0.01	
Eicosapentaenoic acid(C20:5, Omega-3)	Not Detected	g/100g	0.01	
Docosahexaenoic acid(C22:6, DHA, Omega-3)	Not Detected	g/100g	0.01	
Polyunsaturated fatty acid	0.43	g/100g	-	
Unsaturated fat	8.80	g/100g	-	
Trans fat	0.02	g/100g	-	
Moisture	73.77	g/100g	-	AOAC (2019) 950.46 (B)
Omega-3	61.55	mg/100g	-	In-house method TE-CH-208 based on AOAC (2019) 996.06
Omega-6	368.82	mg/100g	-	In-house method TE-CH-208 based on AOAC (2019) 996.06
Omega-9	6790.59	mg/100g	-	In-house method TE-CH-208 based on AOAC (2019) 996.06
Protein (%N x 6.25)	11.33	g/100g	-	In-house method TE-CH-042 based on AOAC (2019) 981.10
Amino acid profiles				
Aspartic acid	1104.30	mg/100g	-	In-house method based on Official Journal of the European Communities, L257/16
Threonine	523.26	mg/100g	-	

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น

รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyothin Rd., Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 184, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com

Central Lab

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 31 มีนาคม 2563
เลขที่รายงาน TRBK63/11493
หน้า 03/03

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Serine	610.65	mg/100g	-	
Glutamic acid	1779.15	mg/100g	-	
Glycine	604.02	mg/100g	-	
Alanine	623.12	mg/100g	-	
Cystine	Not Detected	mg/100g	100.00	
Valine	684.61	mg/100g	-	
Methionine	Not Detected	mg/100g	100.00	
Isoleucine	601.70	mg/100g	-	
Leucine	901.24	mg/100g	-	
Tyrosine	540.00	mg/100g	-	
Phenylalanine	409.87	mg/100g	-	
Histidine	280.80	mg/100g	-	
Hydroxylysine	Not Detected	mg/100g	100.00	
Lysine	929.88	mg/100g	-	
Arginine	712.53	mg/100g	-	
Hydroxyproline	Not Detected	mg/100g	200.00	
Proline	733.07	mg/100g	-	
Tryptophan	<150.00	mg/100g	-	In-house method based on Food Chemistry 193 (2016)

~End of Report~

(นางวนิสา มีเจริญ)
ผู้มีอำนาจลงนาม
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขากรุงเทพ

CERTIFIED

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น
รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyothin Rd., Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4367-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com

Central Lab

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 31 มีนาคม 2563
เลขที่รายงาน TRBK63/11494
หน้า 01/03

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เลขที่ 254 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

รายละเอียดตัวอย่าง เนื้อด้วงสาคู
(ข้อมูลจากลูกค้า)

รหัสตัวอย่าง BK63/03782-002

ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : เนื้อด้วงสาคู
ภาชนะบรรจุ : ถุงพลาสติก (ถุงซิป), จำนวน : 1 ถุง, น้ำหนัก/ปริมาตร : 500 กรัม.
อุณหภูมิ : แช่เย็น, สภาพตัวอย่างปกติ

วันที่รับตัวอย่าง 27 กุมภาพันธ์ 2563
วันที่ทดสอบ 27 กุมภาพันธ์ 2563 - 31 มีนาคม 2563

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Ash	0.63	g/100g	-	AOAC (2019) 920.153
Calories	240.78	Kcal/100g	-	In-house method TE-CH-169 based on Method of Analysis for Nutrition Labeling (1993) p.106
Calories from Fat	203.22	Kcal/100g	-	In-house method TE-CH-169 based on Method of Analysis for Nutrition Labeling (1993) p.106
Carbohydrate	4.32	g/100g	-	In-house method TE-CH-169 based on Method of Analysis for Nutrition Labeling (1993) p.106
Fat	22.58	g/100g	-	AOAC (2019) 922.06
Fatty acid Composition				
Butyric acid (C4:0)	Not Detected	g/100g	0.01	In-house method TE-CH-208 based on AOAC (2019) 996.06
Caproic acid (C6:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Caprylic acid (C8:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Capric acid (C10:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Undecanoic acid (C11:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Lauric acid (C12:0)	0.02	g/100g	-	
Tridecanoic acid (C13:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Myristic acid (C14:0)	0.39	g/100g	-	
Pentadecanoic acid(C15:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Palmitic acid (C16:0)	9.31	g/100g	-	
Heptadecanoic acid (C17:0)	0.01	g/100g	-	
Stearic acid (C18:0)	0.37	g/100g	-	
Arachidic acid (C20:0)	0.05	g/100g	-	
Heneicosanoic acid(C21:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Behenic acid (C22:0)	0.01	g/100g	-	
Tricosanoic acid (C23:0)	Not Detected	g/100g	0.01	
Lignoceric acid (C24:0)	Not Detected	g/100g	0.01	

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น
รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyothin Rd., Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com

Central Lab

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 31 มีนาคม 2563
เลขที่รายงาน TRBK63/11494
หน้า 02/03

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Saturated Fat	10.16	g/100g	-	
Myristoleic acid (C14:1)	0.01	g/100g	-	
Pentadecenoic acid(C15:1)	Not Detected	g/100g	0.01	
Palmitoleic acid (C16:1)	1.51	g/100g	-	
Heptadecenoic acid(C17:1)	Not Detected	g/100g	0.01	
Elaidic acid(C18:1 trans)	0.02	g/100g	-	
Oleic acid (C18:1, Omega-9)	9.34	g/100g	-	
Eicosenoic acid(C20:1, Omega-9)	Not Detected	g/100g	0.01	
Erucic acid (C22:1, Omega-9)	Not Detected	g/100g	0.01	
Nervonic acid (C24:1, Omega-9)	Not Detected	g/100g	0.01	
Monounsaturated fatty acid	10.88	g/100g	-	
Linolelaidic acid(C18:2, trans)	Not Detected	g/100g	0.01	
Linoleic acid (C18:2, Omega-6)	0.34	g/100g	-	
g-Linolenic acid (C18:3, Omega-6)	Not Detected	g/100g	0.01	
Linolenic acid (C18:3, ALA, Omega-3)	0.06	g/100g	-	
Eicosadienoic acid (C20:2, Omega-6)	Not Detected	g/100g	0.01	
cis-8,11,14-Eicosatrienoic acid (C20:3, Omega-6)	Not Detected	g/100g	0.01	
Eicosatrienoic acid (C20:3, Omega-3)	Not Detected	g/100g	0.01	
Arachidonic acid (C20:4, ARA, Omega-6)	Not Detected	g/100g	0.01	
Docosadienoic acid(C22:2, Omega-6)	Not Detected	g/100g	0.01	
Eicosapentaenoic acid(C20:5, Omega-3)	Not Detected	g/100g	0.01	
Docosahexaenoic acid(C22:6, DHA, Omega-3)	Not Detected	g/100g	0.01	
Polyunsaturated fatty acid	0.40	g/100g	-	
Unsaturated fat	11.28	g/100g	-	
Trans fat	0.02	g/100g	-	
Moisture	67.40	g/100g	-	AOAC (2019) 950.46 (B)
Omega-3	55.74	mg/100g	-	In-house method TE-CH-208 based on AOAC (2019) 996.06
Omega-6	343.52	mg/100g	-	In-house method TE-CH-208 based on AOAC (2019) 996.06
Omega-9	9338.78	mg/100g	-	In-house method TE-CH-208 based on AOAC (2019) 996.06
Protein (%N x 6.25)	5.07	g/100g	-	In-house method TE-CH-042 based on AOAC (2019) 981.10
Amino acid profiles				
Aspartic acid	456.49	mg/100g	-	In-house method based on Official Journal of the European Communities, L257/16
Threonine	213.38	mg/100g	-	

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น

รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด
Central Laboratory (Thailand) Co.,Ltd.
สาขากรุงเทพฯ : 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
Bangkok Branch : 50 Phaholyothin Rd., Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900 Thailand
Tel : (662) 561 4387-8, (662) 940 6881-3 Ext. 164, 218 Fax : (662) 579 4895, (662) 940 6881-3 Ext. 209
http://www.centrallabthai.com

Central Lab
One Stop Total Services

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 31 มีนาคม 2563
เลขที่รายงาน TRBK63/11494
หน้า 03/03

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Serine	239.87	mg/100g	-	
Glutamic acid	755.60	mg/100g	-	
Glycine	222.21	mg/100g	-	
Alanine	278.92	mg/100g	-	
Cystine	Not Detected	mg/100g	100.00	
Valine	280.11	mg/100g	-	
Methionine	Not Detected	mg/100g	100.00	
Isoleucine	226.80	mg/100g	-	
Leucine	354.91	mg/100g	-	
Tyrosine	<250.00	mg/100g	-	
Phenylalanine	<250.00	mg/100g	-	
Histidine	128.86	mg/100g	-	
Hydroxylysine	Not Detected	mg/100g	100.00	
Lysine	376.08	mg/100g	-	
Arginine	293.79	mg/100g	-	
Hydroxyproline	Not Detected	mg/100g	200.00	
Proline	281.88	mg/100g	-	
Tryptophan	Not Detected	mg/100g	50.00	In-house method based on Food Chemistry 193 (2016)

~End of Report~

(นางวนิสา [illegible])
ผู้มีอำนาจลงนาม
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขากรุงเทพ

CERTIFIED

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น
รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบหลัก (proximate analysis) และ การระบุชนิดของไขมัน

Official Methods of Analysis

21st Edition (2019)

SMPRs®

Stakeholder Panel on Agent Detection Assays (SPADA):

NEW AOAC SMPR® 2016.006 *Standard Method Performance Requirements* for DNA-Based Methods of Detecting *Bacillus anthracis* in Field-Deployable, Department of Defense Aerosol Collection Devices

NEW AOAC SMPR® 2016.007 *Standard Method Performance Requirements* for Detection of *Francisella tularensis* in Aerosol Collection Devices

NEW AOAC SMPR® 2016.008 *Standard Method Performance Requirements* for DNA-Based Methods of Detecting *Yersinia pestis* in Field-Deployable, Department of Defense Aerosol Collection Devices

NEW AOAC SMPR® 2016.009 *Standard Method Performance Requirements* for DNA-Based Methods of Detecting *Brucella suis* in Field-Deployable, Department of Defense Aerosol Collection Devices

NEW AOAC SMPR® 2016.010 *Standard Method Performance Requirements* for DNA-Based Methods of Detecting *Burkholderia pseudomallei* in Field-Deployable, Department of Defense Aerosol Collection Devices

NEW AOAC SMPR® 2016.011 *Standard Method Performance Requirements* for Detection of Botulinum Neurotoxins A1 and A2 in Field-Deployable, Department of Defense Aerosol Collection Devices

NEW AOAC SMPR® 2016.012 *Standard Method Performance Requirements* for Detection and Identification of *Variola Virus*

Stakeholder Panel on Infant Formula and Adult Nutritionals (SPIFAN):

AOAC SMPR® 2011.006 *Standard Method Performance Requirements* for Folate in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formula

Revised March 2017 to reflect changes to Applicability and Reference Materials sections

AOAC SMPR® 2014.003 *Standard Method Performance Requirements* for GOS in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formula

Revised March 2018 to correct Figure 1 and revise upper limit of analytical range in Table 1

AOAC SMPR® 2014.004 *Standard Method Performance Requirements* for Minerals and Trace Elements in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formula

Revised May 26, 2016 to correct unit in Table 1 footnote b

AOAC SMPR® 2014.013 *Standard Method Performance Requirements* for Amino Acids in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formula

Revised August 2018 to update method performance table and to add methionine to NIST reference values

AOAC SMPR® 2014.016 *Standard Method Performance Requirements* for Fluoride in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formula

Revised March 2018 to reflect changes in Table 1

NEW AOAC SMPR® 2017.005 *Standard Method Performance Requirements* for α-Carotene in Infant and Adult/Pediatric Nutritional Formula (revision of SMPR 2014.014 Carotenoids)

NEW AOAC SMPR® 2017.006 *Standard Method Performance Requirements* for β-Carotene in Infant and Adult/Pediatric Nutritional Formula (revision of SMPR 2014.014 Carotenoids)

NEW AOAC SMPR® 2017.007 *Standard Method Performance Requirements* for Lutein in Infant and Adult/Pediatric Nutritional Formula (revision of SMPR 2014.014 Carotenoids)

NEW AOAC SMPR® 2017.008 *Standard Method Performance Requirements* for Lycopene in Infant and Adult/ Pediatric Nutritional Formula (revision of SMPR 2014.014 Carotenoids)

NEW AOAC SMPR® 2017.017 *Standard Method Performance Requirements* for Determination of 2- and 3-MCPD, 2- and 3-MCPD Esters, and Glycidyl Esters in Infant and Adult/Pediatric Nutritional Formula

If you have any questions of a technical nature or suggestions for editorial changes, please e-mail us at editoma@aoac.org.

© 2019 AOAC INTERNATIONAL

Stakeholder Panel on Strategic Food Analytical Methods (SPSFAM):

NEW AOAC SMPR® 2016.001 *Standard Method Performance Requirements* for Determination of Ethanol in Kombucha

NEW AOAC SMPR® 2016.002 *Standard Method Performance Requirements* for Detection and Quantitation of Selected Food Allergens

NEW AOAC SMPR® 2017.001 *Standard Method Performance Requirements* for Quantitation of Cannabinoids in Cannabis Concentrates

NEW AOAC SMPR® 2017.002 *Standard Method Performance Requirements* for Quantitation of Cannabinoids in Dried Plant Materials

NEW AOAC SMPR® 2017.003 *Standard Method Performance Requirements* for Quantitation of Proanthocyanidin Content in Cranberry Fruit, Juice, Beverage, Dried Cranberry, Cranberry Sauce, Ingredients (Concentrates, Extracts, and Powders), and Dietary Supplement Formulations

NEW AOAC SMPR® 2017.004 *Standard Method Performance Requirements* for Identification of Type-A Proanthocyanidins in Cranberry-Based Foods and Dietary Supplements

NEW AOAC SMPR® 2017.018 *Standard Method Performance Requirements* for Determination of Free Bisphenol A (BPA) in Commercially Packaged Ready-to-Consume Carbonated and Noncarbonated Water and Nonalcoholic Beverages

NEW AOAC SMPR® 2017.019 *Standard Method Performance Requirements* for Quantitation of Cannabinoids in Edible Chocolate

NEW AOAC SMPR® 2018.001 Sugars in Animal Feed, Pet Food, and Human Food

NEW AOAC SMPR® 2018.002 Fructans in Animal Food (Animal Feed, Pet Food, and Ingredients)

NEW AOAC SMPR® 2018.009 Lactose in Low-Lactose or Lactose-Free Milk, Milk Products, and Products Containing Dairy Ingredients

NEW AOAC SMPR® 2018.010 Screening and Identification Method for Regulated Veterinary Drug Residues in Food

NEW AOAC SMPR® 2018.011 Identification and Quantitation of Selected Pesticide Residues in Dried Cannabis Materials

Stakeholder Panel on Dietary Supplements (SPDS):

AOAC SMPR® 2015.016 *Standard Method Performance Requirements* for Vitamin D in Dietary Supplement Finished Products and Ingredients

Revised March 2017 to reflect changes to Applicability section

NEW AOAC SMPR® 2016.003 *Standard Method Performance Requirements* for Quantitation of Curcuminoids

NEW AOAC SMPR® 2016.004 *Standard Method Performance Requirements* for Quantitative Measurement of β-Cryptoxanthin, Lutein, and Zeaxanthin in Ingredients and Dietary Supplements

NEW AOAC SMPR® 2016.005 *Standard Method Performance Requirements* for Quantitation of Collagen

NEW AOAC SMPR® 2016.013 *Standard Method Performance Requirements* for Determination of Meat-Derived Proteins

NEW AOAC SMPR® 2016.014 *Standard Method Performance Requirements* for Determination of Plant-Derived Proteins

NEW AOAC SMPR® 2016.015 *Standard Method Performance Requirements* for Identification of Meat-Derived Proteins

NEW AOAC SMPR® 2016.016 *Standard Method Performance Requirements* for Identification of Plant-Derived Proteins

NEW AOAC SMPR® 2016.017 *Standard Method Performance Requirements* for Quantitative Measurement of Vitamin B_{12} in Dietary Supplements and Ingredients

NEW AOAC SMPR® 2017.009 *Standard Method Performance Requirements* for Quantitation of Aloe Vera Characteristic Water-Soluble Main Constituents in Dietary Supplements

NEW AOAC SMPR® 2017.010 *Standard Method Performance Requirements* for Identification of Aloe Vera in Dietary Supplements and Dietary Ingredients

NEW AOAC SMPR® 2017.011 *Standard Method Performance Requirements* for Identification and Quantitation of Free α-Amino Acids in Dietary Ingredients and Supplements

NEW AOAC SMPR® 2017.012 *Standard Method Performance Requirements* for Quantitation of Select Nonvolatile Ginger Constituents

© 2019 AOAC INTERNATIONAL

	NEW AOAC SMPR® 2017.013 *Standard Method Performance Requirements* for Vitamins K_1 and K_2 in Dietary Supplements and Dietary Ingredients
	NEW AOAC SMPR® 2017.014 *Standard Method Performance Requirements* for Determination of Select Ginsenosides in Dietary Supplements and Dietary Ingredients
	NEW AOAC SMPR® 2017.015 *Standard Method Performance Requirements* for Determination of Phenolic Compounds in Dietary Supplements and Dietary Ingredients Containing Echinacea
	NEW AOAC SMPR® 2017.016 *Standard Method Performance Requirements* for Determination of SAMe in Dietary Supplements and Dietary Ingredients
	NEW AOAC SMPR® 2018.004 Determination of *trans* Resveratrol in Dietary Supplements and Dietary Ingredients
	NEW AOAC SMPR® 2018.005 Determination of Kavalactones and/or Flavokavains from Kava (*Piper methysticum*)
	NEW AOAC SMPR® 2018.006 Determination of Select Flavonoids from Skullcap
	NEW AOAC SMPR® 2018.007 Identification of Skullcap in Raw Materials, Skullcap-Based Dietary Ingredients, and Dietary Supplements
	NEW AOAC SMPR® 2018.008 Determination of Selected Compounds from *Teucrium* spp. in Skullcap Materials in Commerce
	International Stakeholder Panel on Alternative Methods (ISPAM):
	NEW AOAC SMPR® 2017.020 *Standard Method Performance Requirements* for Quantitation of Chicken Egg by ELISA-Based Methods
	NEW AOAC SMPR® 2017.021 *Standard Method Performance Requirements* for Quantitation of Wheat, Rye, and Barley Gluten in Oats
	Revised August 2018 to update reference material(s) source
	NEW AOAC SMPR® 2018.003 Quantitation of Milk by ELISA-Based Methods
	NEW AOAC SMPR® 2018.012 Quantitation of Peanut by ELISA-Based Methods
Chapter 2	**959.03** (2.4.20) Urea in Fertilizers
	Minor modification approved by ERP for Fertilizers in March 2017: Revised to include applicability statement and reference to *J. AOAC Int*. **98**, 1475(2015)
	983.01 (2.4.21) Urea and Methylureas (Water-Soluble) in Fertilizers
	Minor modification approved by ERP for Fertilizers in March 2017: Revised to include applicability statement and reference to *J. AOAC Int*. **98**, 1475(2015)
	NEW 2015.15 (2.6.36) Nitrogen, Phosphorus, and Potassium (and Other Nutrients) Release Patterns of Slow- and Controlled-Release Fertilizers
	NEW 2015.18 (2.6.37) Phosphorus and Potassium in Commercial Inorganic Fertilizers
	NEW 2017.02 (2.6.38) Arsenic, Cadmium, Calcium, Chromium, Cobalt, Copper, Iron, Lead, Magnesium, Manganese, Molybdenum, Nickel, Selenium, and Zinc in Fertilizers
	NEW 2017.08 (2.6.39) Total Sulfur in Fertilizer
Chapter 4	**2014.10** (4.7.07) Dietary Starch in Animal Feeds and Pet Food
	Final Action 2018
	C(e)(*2*): Changed "sucrose 0.7 ± 0.3%" to "sucrose 1.0 ± 0.3%."
	E(*2*): Added *Note*
	2000.12 (4.10.06) Phytase Activity in Feed
	Revised August 2018: Table **2000.12A**: Corrected columns for $\%RSD_r$ and $\%RSD_R$
	E. Expression of Phytase Activity: Corrected "...liberate 1 mol inorganic *ortho*-phosphate..." to "...liberate 1 µmol inorganic *ortho*-phosphate..."
Chapter 9	**NEW 2016.04** (9.2.43) Four Arsenic Species in Fruit Juice
Chapter 17	**2014.05** (17.2.11) Enumeration of Yeast and Mold in Food
	Final Action 2017
	2015.13 (17.2.12) Enumeration of Aerobic Bacteria in Food
	Included reference: *J. AOAC Int*. **99**, 664(2016)
	Final Action 2018

© 2019 AOAC INTERNATIONAL

NEW 2017.01 (17.4.09) 3M™ Molecular Detection Assay (MDA) 2-*E. coli* O157 (Including H7) for the Detection of *E. coli* O157:H7 species in Selected Foods

NEW 2017.05 (17.4.10) *Escherichia coli* O157:H7 and *Escherichia coli* non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) in Select Foods

2013.01 (17.9.36) *Salmonella* in a Variety of Foods

Minor modification March 2018: To improve the ease of use of the method, bioMérieux is now also providing the *Salmonella* supplement in tablets, packed in opaque blister packs: one small tablet for 25 g sampling and one larger tablet for 375 g sampling. The tablet is added directly into buffered peptone water without intermediate solubilization. The lyophilized format is also continuing to be offered. Selective agent composition of the supplement formulation is the same for both the tablet and lyophilized formats.

2014.01 (17.9.40) *Salmonella* in Selected Foods

Final Action 2017

NEW 2016.01 (17.9.41) *Salmonella* spp. in Select Foods and Environmental Surfaces

NEW 2017.09 (17.9.42) Confirmation and Identification of *Salmonella* species, *Cronobacter* species, *Campylobacter* species, and Other Gram-Negative Organisms

Revised First Action 2018: Applicability to include *Campylobacter* species

NEW 2017.06 (17.9.43) *Salmonella* species in Select Foods

NEW 2018.01 (17.9.44) *Cronobacter* species in Select Foods and Environmental Surfaces

2014.06 (17.10.16) *Listeria* species in Selected Foods and Environmental Surfaces

Revised First Action 2016: Applicability to include bagged raw spinach (25 g), whole cantaloupe melon, and plastic (swab in 10 mL enrichment volume)

Table **2014.06B** revised to reflect new applicability

2014.07 (17.10.17) *Listeria monocytogenes* in Selected Foods and Environmental Surfaces

Revised First Action 2016: Applicability to include bagged raw spinach (25 g), romaine lettuce (25 g), and whole cantaloupe melon

Table **2014.07C** revised to reflect new applicability

NEW 2016.07 (17.10.18) Detection of *Listeria* species in Select Foods and Environmental Surfaces

NEW 2016.08 (17.10.19) *Listeria monocytogenes* in a Variety of Foods and Select Environmental Surfaces

NEW 2017.10 (17.10.20) Confirmation and Identification of *Listeria monocytogenes*, *Listeria* species, and Other Gram-Positive Organisms

Chapter 29

NEW 2017.15 (29.1.30) Bisphenol A (BPA) in Commercially Packaged Ready-to-Consume Carbonated and Noncarbonated Water and Nonalcoholic Beverages

Chapter 30

2014.09 (30.1.35) Determination and Confirmation of Residues of 653 Multiclass Pesticides and Chemical Pollutants in Tea

Final Action 2018: Included additional references and removed "Qualitative" in **G**

NEW 2016.12 (30.1.36) Ethanol in Kombucha

NEW 2017.07 (30.1.37) Ethanol in Kombucha, Juices, and Alcohol-Free Beer

Chapter 32

2012.01 (32.1.44) Gliadin as a Measure of Gluten in Rice and Corn-Based Foods

Final Action 2017: Title: Changed from "Foods Containing Wheat, Rye, and Barley" to "Rice- and Corn-Based Foods"

Minor modification approved by ERP for Gluten Assays in March 2017: **D(b)**: modification of the wash solution to substitute thimerosal in the washing buffer by the mercury-free preserving agent bronidox L

Minor modification September 2017: New ELISA plate approved as a replacement to the current plate

2014.03 (32.1.45) Gluten in Rice Flour and Rice-Based Food Products

Final Action 2018

2015.05 (32.2.11) Partially Hydrolyzed Gluten in Fermented Cereal-Based Products

Final Action 2018: Applicability revised to include "and may not measure or detect all fermented and/or hydrolyzed forms of gluten"

NEW 2015.16 (32.2.12) Gluten in Processed and Nonprocessed Products

Final Action 2018

© 2019 AOAC INTERNATIONAL

Chapter 45	**NEW 2017.16** (45.4.18) Total Dietary Fiber in Foods
Chapter 50	**2011.06** (50.1.29) Total Folate in Infant Formula and Adult Nutritionals
	Final Action 2018
	2011.19 (50.1.41) Chromium, Selenium, and Molybdenum in Infant Formula and Adult Nutritional Products
	Revised First Action 2016: Method was shown to achieve a lower LOQ to support Codex criteria
	2014.02 (50.2.06) Vitamin B_{12} in Infant Formula and Adult/Pediatric Formulas
	Final Action 2017
	2012.22 (50.2.07) Vitamin C in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formula
	Final Action 2016
	Codex-Adopted AOAC–ISO Method 2017
	2015.09 (50.2.08) *trans* Vitamin K_1 in Infant, Pediatric, and Adult Nutritionals
	Final Action 2018
	NEW 2015.14 (50.2.09) Simultaneous Determination of Total Vitamins B_1, B_2, B_3, and B_6 in Infant Formula and Related Nutritionals
	Revised First Action 2018: Applicability to include vitamin B_3
	NEW 2016.05 (50.2.10) Analysis of Vitamins D_2 and D_3 in Milk Powders, Infant Formulas, and Adult Nutritionals
	Final Action 2017
	Codex-Adopted AOAC–ISO Method 2018
	NEW 2016.15 (50.5.03) Quantification of Whey Protein Content in Milk-Based Infant Formula Powders
	Final Action 2018
	2015.10 (50.6.05) Carnitine and Choline in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formula
	Revised First Action 2016: Applicability to include choline
	2015.06 (50.10.01) Minerals and Trace Elements in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formula
	Final Action 2017
	NEW 2016.03 (50.11.03) Chloride in Milk, Milk Powder, Whey Powder, Infant Formula, and Adult Nutritionals
	Final Action 2018: Removed butter and cheese in the method, among other revisions
	Codex-Adopted AOAC–ISO Method 2018
	NEW 2016.02 (50.12.01) Total Biotin in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formulas
	Final Action 2017
	Codex-Adopted AOAC–ISO Method 2018
	NEW 2016.11 (50.12.02) Biotin in Infant, Pediatric, and Adult Nutritionals
	NEW 2016.06 (50.13.01) Fructans in Infant and Adult/Pediatric Nutritional Formula
	NEW 2016.14 (50.13.02) Fructans in Infant Formula and Adult Nutritionals
	NEW 2016.13 (50.14.01) Lutein, β-Carotene, and Lycopene in Infant Formula and Adult Nutritionals
	Revised First Action 2017: Applicability to include lycopene
	NEW 2017.04 (50.14.02) *cis*- and *trans*-Lutein, *cis*- and *trans*-β-Carotene, and *cis*- and *trans*-Lycopene in Infant, Pediatric, and Adult Nutritionals
	NEW 2017.03 (50.15.01) Total Tryptophan in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formula Following Enzymatic Hydrolysis
	Subchapter 16: AOAC SPIFAN Final Action *Official Methods*℠ with Joint Organizational Approvals
	Revised to include **2012.22** (Vitamin C), **2016.02** (Biotin), **2016.03** (Chloride), and **2016.05** (Vitamin D)
Chapter 51	**NEW 2015.17** (51.12.01) Estimation of Withanolides (Withanoside IV, Withanoside V, Withaferin A, 12-Deoxywithastromonolide, Withanolide A, Withanolide B) in *Withania somnifera*
	NEW 2016.09 (51.13.01) Aloin A, Aloin B, and Aloe-emodin in Raw Materials and Finished Products
	NEW 2016.10 (51.14.01) Theanine in Tea (*Camellia sinesis*) Dietary Ingredients and Supplements
	NEW 2016.16 (51.15.01) Curcuminoids in Turmeric Roots and Supplements
	NEW 2017.11 (51.16.01) Identification of Pea, Rice, and Soy Proteins in Raw Materials and Finished Goods

© 2019 AOAC INTERNATIONAL

ภาคผนวก ค

การระบุชนิดของโปรตีน

ANNEX

PART A

DETERMINATION OF AMINO ACIDS

1. **Purpose and scope**

This method is for the determination of free (synthetic and natural) and total (peptide bound and free) amino acids in feedingstuffs, using an amino acid analyzer. It is applicable to the following amino acids: cyst(e)ine, methionine, lysine, threonine, alanine, arginine, aspartic acid, glutamic acid, glycine, histidine, isoleucine, leucine, phenylalanine, proline, serine, tyrosine and valine.

The method does not distinguish between the salts of amino acids and it cannot differentiate between D and L forms of amino acids. It is not valid for the determination of tryptophan or hydroxy analogues of amino acids.

2. **Principle**

2.1. *Free amino acids*

The free amino acids are extracted with diluted hydrochloric acid. Coextracted nitrogenous macromolecules are precipitated with sulfosalicylic acid and removed by filtration. The filtered solution is adjusted to pH 2,20. The amino acids are separated by ion exchange chromatography and determined by reaction with ninhydrin with photometric detection at 570 nm.

2.2. *Total amino acids*

The procedure chosen depends on the amino acids under investigation. Cyst(e)ine and methionine must be oxidised to cysteic acid and methionine sulphone respectively prior to hydrolysis. Tyrosine must be determined in hydrolysates of unoxidized samples. All the other amino acids listed in paragraph 1 can be determined in either the oxidised or unoxidised sample.

Oxidation is performed at 0 °C with a performic acid/phenol mixture. Excess oxidation reagent is decomposed with sodium disulphite. The oxidised or unoxidised sample is hydrolysed with hydrochloric acid (c = 6 mol/l) for 23 hours. The hydrolysate is adjusted to pH 2,20. The amino acids are separated by ion exchange chromatography and determined by reaction with ninhydrin using photometric detection at 570 nm (440 nm for proline).

3. **Reagents**

Double distilled water or water of equivalent quality must be used (conductivity $< 10\ \mu S$).

3.1. Hydrogen peroxide, w = 30 %.

3.2. Formic acid, w = 98-100 %.

3.3. Phenol.

3.4. Sodium disulfite.

3.5. Sodium hydroxide.

3.6. 5-Sulfosalicylic acid dihydrate.

3.7. Hydrochloric acid, density approximately 1,18 g/ml.

3.8. tri-Sodium citrate dihydrate.

3.9. 2,2′-Thiodiethanol (thiodiglycol).

3.10. Sodium chloride.

3.11. Ninhydrin.

3.12. Light petroleum, boiling range 40-60 °C.

3.13. Norleucine, or other compound suitable for use as internal standard.

3.14. Nitrogen gas (< 10 ppm oxygen).

3.15. 1-Octanol.

3.16. Amino acids.

3.16.1. Standard substances listed under paragraph 1. Pure compounds containing no water of crystallisation. Dry under vacuum over P_2O_5 or H_2SO_4 for 1 week prior to use.

3.16.2. Cysteic acid.

3.16.3. Methionine sulphone.

3.17. Sodium hydroxide solution, c = 7,5 mol/l:

Dissolve 300 g NaOH (3.5) in water and make up to 1 litre.

3.18. Sodium hydroxide solution, c = 1 mol/l:

Dissolve 40 g NaOH (3.5) in water and make up to 1 litre.

3.19. Formic acid-phenol solution:

Mix 889 g formic acid (3.2) with 111 g water and add 4,73 g phenol (3.3).

3.20. Hydrolysis mixture, c = 6 mol HCl/l containing 1 g phenol/l:

Add 1 g phenol (3.3) to 492 ml HCl (3.7) and make up to 1 litre with water.

3.21. Extraction mixture, c = 0,1 mol HCl/l containing 2 % thiodiglycol:

Take 8,2 ml HCl (3.7), dilute with approximately 900 ml water, add 20 ml thiodiglycol (3.9) and make up to 1 litre with water, (do not mix 3.7 and 3.9 directly).

3.22. 5-Sulfosalicylic acid, ß = 6 %:

Dissolve 60 g 5-sulfosalicylic acid (3.6) in water and make up to 1 litre with water.

3.23. Oxidation mixture (Performic acid-phenol):

Mix 0,5 ml hydrogen peroxide (3.1) with 4.5 ml formic acid-phenol solution (3.19) in a small beaker. Incubate at 20-30 °C for 1 hour in order to form performic acid, then cool on an ice-water bath (15 min) before adding to the sample.

Caution: Avoid contact with skin and wear protective clothing.

3.24. Citrate buffer, c = 0,2 mol Na^+/l, pH 2,20:

Dissolve 19,61 g sodium citrate (3.8), 5 ml thiodiglycol (3.9), 1 g phenol (3.3) and 16,50 ml HCl (3.7) in approximately 800 ml water. Adjust pH to 2,20. Make up to 1 litre with water.

3.25. Elution buffers, prepared according to conditions for the analyzer used (4.9).

3.26. Ninhydrin reagent, prepared according to conditions for the analyzer used (4.9).

3.27. Standard solutions of amino acids. These solutions should be stored below 5 °C.

3.27.1. Stock standard solution of amino acids (3.16.1). c = 2,5 µmol/ml of each in hydrochloric acid. May be obtained commercially.

3.27.2. Stock standard solution of cysteic acid and methionine sulphone, c = 1,25 µmol/ml.

Dissolve 0,2115 g cysteic acid (3.16.2) and 0,2265 g methionine sulphone (3.16.3) in citrate buffer (3.24) in a 1 litre graduated flask and make up to mark with citrate buffer. Store below 5 °C for not more than 12 months. This solution is not used if the stock standard solution (3.27.1) contains cysteic acid and methionine sulphone.

3.27.3. Stock standard solution of the internal standard e.g. norleucine, c = 20 µmol/ml.

Dissolve 0,6560 g norleucine (3.13) in citrate buffer (3.24) in a graduated flask and make up to 250 ml with citrate buffer. Store below 5 °C for no more than 6 months.

3.27.4. Calibration solution of standard amino acids for use with hydrolysates, c = 5 nmol/50 µl of cysteic acid and methionine sulphone and c = 10 nmol/50 µl of the other amino acids.

In this case add 2,00 ml of the internal stock standard solution (3.27.3) to the hydrolysate before the evaporation.

Add 2 drops of 1-octanol (3.15) to the hydrolysate obtained in accordance with paragraph 5.3.2.3 or 5.3.2.4.

Using a rotary evaporator (4.7) reduce the volume to 5-10 ml under vacuum at 40 °C. If the volume is accidentally reduced to less than 5 ml the hydrolysate must be discarded and the analysis recommenced.

Adjust the pH to 2,20 with sodium hydroxide solution (3.18) and proceed to paragraph 5.3.4.

5.3.3.2. For all other Amino Acid Analyzers (4.9)

Take the hydrolysates obtained in accordance with 5.3.2.3 or 5.3.2.4 and partly neutralise them by carefully adding with stirring, 17 ml of sodium hydroxide solution (3.17), ensuring that the temperature is kept below 40 °C .

Adjust the pH to 2,20 at room temperature using sodium hydroxide solution (3.17) and finally sodium hydroxide solution (3.18). Proceed to 5.3.4.

5.3.4. Sample solution for chromatography

Quantitatively transfer the pH adjusted hydrolysate (5.3.3.1 or 5.3.3.2) with citrate buffer (3.24) to a 200 ml graduated flask, and make up to the mark with buffer (3.24).

If an internal standard has not already been used, add 2,00 ml of internal stadard (3.27.3) and make up to the mark with citrate buffer (3.24). Mix thoroughly.

Proceed to the chromatography step (5.4).

If the sample solutions are not being examined the same day they must be stored below 5 °C.

5.4. *Chromatography*

Before chromatography bring the extract (5.2) or hydrolysate (5.3.4) to room temperature. Shake the mixture and filter a suitable amount through a 0,2 µm membrane filter (4.5). The resulting clear solution is subjected to ion exchange chromatography, using an amino acid analyzer (4.9).

The injection may be performed manually or automatically. It is important that the same quantity of solution ± 0,5 % is added to the column for the analysis of standards and samples except when an internal standard is used, and that the sodium:amino acid ratios in the standard and sample solutions are as similar as is practicable.

In general the frequency of calibration runs depends on the stability of the ninhydrin reagent and the analytical system. The standard or sample is diluted with citrate buffer (3.24) to give a peak area of the standard of 30-200 % of the sample amino acid peak area.

The chromatography of amino acids will vary slightly according to the type of analyzer employed and resin used. The chosen system must be capable of separating the amino acids from each other and from the ninhydrin-positive materials. In the range of operation the chromatographic system should give a linear response to changes in the amounts of amino acids added to the column.

During the chromatography step the valley:peak height ratios mentioned below apply, when an equimolar solution (of the amino acids being determined) is analyzed. This equimolar solution must contain at least 30 % of the maximum load of each amino acid which can be accurately measured with the amino acid analyser system (4.9).

For separation of threonine-serine the valley:peak height ratio of the lower of the two overlapping amino acids on the chromatogram should not exceed 2:10 (if only cyst(e)ine, methionine, threonine and lysine are determined, insufficient separation from adjoining peaks will adversely influence the determination). For all other amino acids the separation must be better than 1:10.

The system must ensure that lysine is separated from 'lysine artifacts' and ornithine.

6. **Calculation of results**

The area of the sample and standard peaks is measured for each individual amino acid and the amount, in g amino acid per kg sample, is calculated.

$$\frac{A \times E \times MW \times F}{B \times W \times 1\,000} = \text{g amino acid per kg sample}$$

If an internal standard is used multiply by: $\frac{D}{C}$

Dissolve 2,2 g sodium chloride (3.10) in 100 ml beaker with 30 ml citrate buffer (3,24). Add 4,00 ml stock standard solution of amino acids (3.27.1), 4,00 ml stock standard solution of cysteic acid and methionine sulphone (3.27.2) and 0,50 ml stock standard solution of internal standard (3.27.3) if used. Adjust pH to 2,20 with sodium hydroxide (3.18).

Transfer quantitatively to a 50 ml graduated flask and make up to the mark with citrate buffer (3.24) and mix.

Store below 5 °C for not more than 3 months.

See also observations 9.1.

3.27.5. Calibration solution of standard amino acids for use with hydrolysates prepared according to paragraph 5.3.3.1. and for use with extracts (5.2). The calibration solution is prepared according to 3.27.4 omitting sodium chloride.

Store below 5 °C for not more than 3 months.

4. Apparatus

4.1. 100 or 250 ml round bottomed flask fitted with a reflux condenser.

4.2. 100 ml borosilicate glass bottle with screw cap with rubber/teflon liner (e.g. Duran, Schott) for use in the oven.

4.3. Oven with forced ventilation and a temperature regulator with an accuracy better than ± 2 °C.

4.4. pH-meter (three decimal places).

4.5. Membrane filter (0,2 µm).

4.6. Centrifuge.

4.7. Rotary vacuum evaporator.

4.8. Mechanical shaker or magnetic stirrer.

4.9. Amino acid analyzer or HPLC equipment with ion exchange column, device for ninhydrin, post column derivatization and photometric detector.

The column is filled with sulfonated polystyrene resins capable of separating the amino acids from each other and from other ninhydrin-positive materials. The flow in the buffer and ninhydrin lines is provided by pumps having a flow stability of ± 0,5 % in the period covering both the standard calibration run and the analysis of the sample.

With some amino acid analyzers hydrolysis procedures can be used in which the hydrolysate has a sodium concentration of c = 0,8 mol/l and contains all the residual formic acid from the oxidation step. Others do not give a satisfactory separation of certain amino acids if the hydrolysate contains excess formic acid and/or high sodium ion concentrations. In this case the volume of acid is reduced by evaporation to approx. 5 ml after the hydrolysis and prior to pH adjustment. The evaporation should be performed under vacuum at 40 °C maximum.

5. Procedure

5.1. *Preparation of the sample*

The sample is ground to pass through a 0,5 mm sieve. Samples high in moisture must be either air-dried at a temperature not exceeding 50 °C or freeze dried prior to grinding. Samples with a high fat content should be extracted with light petroleum (3.12) prior to grinding.

5.2. Determination of free amino acids in feedingstuffs and premixtures

Weigh to the nearest 0,2 mg an appropriate amount (1-5 g) of the prepared sample (5.1), into a conical flask and add 100,0 ml of extraction mixture (3.21). Shake the mixture for 60 min using a mechanical shaker or a magnetic stirrer (4.8). Allow the sediment to settle and pipette 10,0 ml of the supernatant solution into a 100 ml beaker.

Add 5,0 ml of sulfosalicylic acid solution (3.22), with stirring and continue to stir with the aid of magnetic stirrer for 5 minutes. Filter or centrifuge the supernatant in order to remove any precipitate. Place 10,0 ml of the resulting solution into a 100 ml beaker and adjust the pH to 2,20 using sodium hydroxide solution (3.18), transfer to a volumetric flask of appropriate volume using citrate buffer (3.24), and make up to the mark with the buffer solution (3.24).

If an internal standard is being used add 1,00 ml of internal standard (3.27.3) for each 100 ml final solution and make up to the mark with the buffer solution (3.24).

Proceed to the chromatography step according to paragraph 5.4.

If the extracts are not being examined the same day, they must be stored below 5 °C.

5.3. *Determination of total amino acids*

5.3.1. Oxidation

Weigh to the nearest 0,2 mg from 0,1 to 1 g of the prepared sample (5.1) into:

— a 100 ml round-bottomed flask (4.1) for open hydrolysis (5.3.2.3) or,

— a 250 ml round-bottomed flask (4.1) if a low sodium concentration is required (5.3.3.1) or,

— a 100 ml bottle fitted with a screw cap (4.2), (for closed hydrolysis 5.3.2.4).

The weighed sample portion should have a nitrogen content of about 10 mg and a moisture content not exceeding 100 mg.

Place the flask/bottle in an ice-water bath and cool to 0 °C, add 5 ml of oxidation mixture (3.23) and mix using a glass spatula with a bent tip. Seal the flask/bottle containing the spatula with an air-tight film, place the ice-water bath containing the sealed container in a refrigerator at 0 °C and leave for 16 hours. After 16 hours remove from the refrigerator and decompose the excess oxidation reagent by the addition of 0,84 g of sodium disulfite (3.4).

Proceed to 5.3.2.1.

5.3.2. Hydrolysis

5.3.2.1. Hydrolysis of oxidised samples

To the oxidised sample prepared according to 5.3.1 add 25 ml of hydrolysis mixture (3.20) taking care to wash down any sample residue adhering to the sides of the vessel and the spatula. Depending on the hydrolysis procedure being used, proceed according to 5.3.2.3 or 5.3.2.4.

5.3.2.2. Hydrolysis of unoxidised samples

Weigh into either a 100 ml or a 250 ml round-bottom flask (4.1) or a 100 ml bottle fitted with a screw cap (4.2), to the nearest 0,2 mg, from 0,1 to 1 g of the prepared sample (5.1). The weighed sample portion should have a nitrogen content of about 10 mg. Carefully add 25 ml of hydrolysis mixture (3.20) and mix with the sample. Proceed according to either 5.3.2.3 or 5.3.2.4.

5.3.2.3. Open hydrolysis

Add 3 glass beads to the mixture in the flask (prepared in accordance with 5.3.2.1 or 5.3.2.2) and boil with continuous bubbling under reflux for 23 hours. On completion of hydrolysis, wash the condenser down with 5 ml of citrate buffer (3.24). Disconnect the flask and cool it in an ice bath. Proceed according to 5.3.3.

5.3.2.4. Closed hydrolysis

Place the bottle containing the mixture prepared in accordance with 5.3.2.1 or 5.3.2.2 in an oven (4.3) at 110 °C. During the first hour in order to prevent a build up of pressure (due to the evolution of gaseous substances) and to avoid explosion, place the screw cap over the top of the vessel. *Do not close the vessel with the cap.* After one hour close the vessel with the cap and leave in the oven (4.3) for 23 hours. On completion of hydrolysis, remove the bottle from the oven, carefully open the cap of the bottle and place the bottle in an ice-water bath. Leave to cool.

Depending on the procedure for pH adjustment (5.3.3), quantitatively transfer the contents of the bottle to a 250 ml beaker or a 250 ml round-bottom flask, using citrate buffer (3.24).

Proceed according to 5.3.3.

5.3.3. Adjustment of pH

Depending on the sodium tolerance of the amino acid analyzer (4.9) proceed according to 5.3.3.1 or 5.3.3.2 for the pH adjustment.

5.3.3.1. For chromatographic systems (4.9) requiring a low sodium concentration:

It is advisable to use an internal stock standard solution (3.27.3) when amino acid analyzers requiring a low sodium concentration are employed (when the acid volume has to be reduced).

A = peak area, hydrolysate or extract

B = peak area, calibration standard solution

C = peak area, internal standard in hydrolysate or extract

D = peak area, internal standard, calibration standard solution

MW = molecular weight of the amino acid being determined

E = concentration of standard in µmol/ml

W = sample weight (g) (corrected to original weight if dried or defatted)

F = ml total hydrolysate (5.3.4) or ml calculated total dilution volume of extract (6.1).

Cystine and cysteine are both determined as cysteic acid in hydrolysates of oxidized sample, but calculated as cystine ($C_6H_{12}N_2O_4S_2$, MW 240,30 by using MW 120,15 (= 0,5 × 240,30).

Methionine is determined as methionine sulphone in hydrolysates of oxidized sample, but calculated as methionine by using MW of methionine: 149,21.

Added free methionine is determined after extraction as methionine, for the calculation the same MW is used.

6.1. The total dilution volume of extracts (F) for determination of free amino acids (5.2) is calculated as following:

$$F = 100 \text{ ml} \times \frac{(10 \text{ ml} + 5\text{ml})}{10 \text{ ml}} \times \frac{V\text{ml}}{10 \text{ ml}}$$

V = volume of final extract

7. **Evaluation of the method**

The method has been tested in an intercomparison made at international level in 1990 using four different feedingstuffs (mixed pig feed, broiler compound, protein concentrate, premixture). The results, after elimination of outliers, of mean and standard deviation are given in the table below:

Means in g/kg

Reference Material	Amino acid			
	Threonine	Cyst(e)ine	Methionine	Lysine
Mixed pig feed	6,94 n = 15	3,01 n = 17	3,27 n = 17	9,55 n = 13
Broiler compound	9,31 n = 16	3,92 n = 18	5,08 n = 18	13,93 n = 16
Protein concentrate	22,32 n = 16	5,06 n = 17	12,01 n = 17	47,74 n = 15
Premixture	58,42 n = 16	—	90,21 n = 16	98,03 n = 16

n = number of participating laboratories

7.1. *Repeatability*

The repeatability expressed as 'within laboratory standard deviation' of the above mentioned intercomparison is given in the tables below:

Within laboratory standard deviation (S_r) in g/kg

Reference material	Amino acid			
	Threonine	Cyst(e)ine	Methionine	Lysine
Mixed pig feed	0,13 n = 15	0,10 n = 17	0,11 n = 17	0,26 n = 13
Broiler compound	0,20 n = 16	0,11 n = 18	0,16 n = 18	0,28 n = 16
Protein concentrate	0,48 n = 16	0,13 n = 17	0,27 n = 17	0,99 n = 15
Premixture	1,30 n = 16	—	2,19 n = 16	2,06 n = 16

n = number of participating laboratories

Coefficient of variation (%) for within laboratory standard deviation (S_r)

Reference material	Amino acid			
	Threonine	Cyst(e)ine	Methionine	Lysine
Mixed pig feed	1,9 n = 15	3,3 n = 17	3,4 n = 17	2,8 n = 13
Broiler compound	2,1 n = 16	2,8 n = 18	3,1 n = 18	2,1 n = 16
Protein concentrate	2,7 n = 16	2,6 n = 17	2,2 n = 17	2,4 n = 15
Premixture	2,2 n = 16	—	2,4 n = 16	2,1 n = 16

n = number of participating laboratories

7.2. *Reproducibility*

The results for between laboratory standard deviation by the above mentioned intercomparison are given in the table below:

Between laboratory standard deviation (S_R) in g/kg

Reference material	Amino acid			
	Threonine	Cyst(e)ine	Methionine	Lysine
Mixed pig feed	0,28 n = 15	0,30 n = 17	0,23 n = 17	0,30 n = 13
Broiler compound	0,48 n = 16	0,34 n = 18	0,55 n = 18	0,75 n = 16
Protein concentrate	0,85 n = 16	0,62 n = 17	1,57 n = 17	1,24 n = 15
Premixture	2,49 n = 16	—	6,20 n = 16	6,62 n = 16

n = number of participating laboratories

Coefficient of variation (%) for between laboratory standard deviation (S_R)

Reference material	Amino acid			
	Threonine	Cyst(e)ine	Methionine	Lysine
Mixed pig feed	4,1 n = 15	9,9 n = 17	7,0 n = 17	3,2 n = 13
Broiler compound	5,2 n = 16	8,8 n = 18	10,9 n = 18	5,4 n = 16
Protein concentrate	3,8 n = 16	12,3 n = 17	13,0 n = 17	3,0 n = 15
Premixture	4,3 n = 16	—	6,9 n = 16	6,7 n = 16

n = number of participating laboratories

8. **Use of reference materials**

The correct application of the method shall be verified by making replicate measurements of certified reference materials when available. Calibration with certified amino acid calibration solution is recommended.

9. **Observations**

9.1. Because of differences between amino acid analysers the final concentrations of the calibration solutions of standard amino acids (see 3.27.4 and 3.27.5) and of the hydrolysate (see 5.3.4) should be taken as a guideline.

The range of linear response of the apparatus has to be checked for all amino acids.

The standard solution is diluted with citrate buffer to give peak areas in the middle of the range.

9.2. Where high performance liquid chromatographic equipment is used to analyse the hydrolysates, the experimental conditions must be optimised in accordance with the manufacturer's recommendations.

9.3. By applying the method to feedingstuffs containing more than 1 % chloride (concentrate, mineral feeds, supplementary feeds) underestimation of methionine could occur and special treatment has to be done.

PART B

DETERMINATION OF CRUDE OILS AND FATS

1. **Purpose and scope**

This method is for the determination of crude oils and fats in feedingstuffs. It does not cover the analysis of oil seeds and oleaginous fruit defined in Council Regulation 136/66/EEC of 22 September 1966.

The use of the two procedures described below depends on the nature and composition of the feedingstuff and the reason for carrying out the analysis.

1.1. *Procedure A — Directly extractable crude oils and fats*

This method is applicable to feed materials of plant origin, except those included within the scope of Procedure B.

1.2. *Procedure B — Total crude oils and fats*

This method is applicable to feed materials of animal origin and to all compound feeds. It is to be used for all materials from which the oils and fats cannot be completely extracted without prior hydrolysis (eg glutens, yeast, potato proteins and products subject to processes such as extrusion, flaking and heating).

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวเบญจรัตน์ มหาไตรภพ

ตำแหน่ง หัวหน้าโครงการ

วุฒิการศึกษา วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์ 090-979-3081

Email mookkoomy@hotmail.com

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวพิมพ์ชนก ดวงเจริญเขตต์

ตำแหน่ง ผู้วิจัยร่วม

วุฒิการศึกษา วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์ 085-229-5739

Email pimmy32051thunder@gmail.com