

ภาคผนวก ข

วิธีการตรวจสอบคุณภาพทางเคมี

ข 1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (moisture) (AOAC, 1997)

1.1 ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดประมาณ 5 กรัม ใส่ใน aluminium dish ที่อบแห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

1.2 ทำการบันทึกน้ำหนักตัวอย่างพร้อม aluminium dish จากนั้นนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103 – 105°C ในตู้อบลมร้อนนานประมาณ 3 ชั่วโมง นำออกมาจากตู้อบและปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น (desicator) และชั่งน้ำหนัก นำไปอบซ้ำหลายๆ ครั้ง จนได้น้ำหนักที่คงที่ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ และวัดค่าซ้ำละ 3 ตัวอย่าง

1.3 คำนวณหาปริมาณความชื้น

$$\text{ปริมาณความชื้น (\% wet basis)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่หายไปหลังจากอบแห้ง} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}}$$

ข 2 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (crude fat) (AOAC, 1997)

2.1 ชั่งตัวอย่างที่แห้ง (ที่ได้จากการหาปริมาณความชื้น) 2 กรัม ห่อตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง ใส่ลงใน thimble แล้วปิดด้วย fat – free glass wool เพื่อป้องกันตัวอย่างล่อยอกจาก thimble

2.2 ใส่ thimble ที่บรรจุตัวอย่างลงใน soxhlet extraction tube ที่อบแห้งและทราบน้ำหนักของ tube ที่แน่นอน

2.3 ใส่ Petroleum ether ประมาณ 150 ml หรือให้ท่วม ตัวอย่าง ลงใน extraction tube

2.4 นำไปสกัดไขมัน โดยตั้งสภาวะในการสกัด ดังนี้

Extraction temperature	150°C
Boiling time	30 min.
Solvent reduction A:	5 x 15 ml.
Extraction time	80 min.

Solvent reduction B:	8 min.
Solvent reduction C:	5 min.
Solvent reduction interval	3 min.
Solvent reduction phase	3 sec.

2.5 นำส่วน ether ที่ละลายไขมันที่สกัดได้ไปไล่ ether ออก โดยให้ความร้อนบน water bath ภายในตู้ควีน

2.6 เมื่อไล่ ether ออกหมดแล้ว ให้นำไขมันที่แยกได้ไปอบที่อุณหภูมิ 100°C นาน 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น (desicator) แล้วชั่งหาน้ำหนัก สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน จะทำการทดลอง 3 ซ้ำ และวัดค่าซ้ำละ 3 ตัวอย่าง

2.7 คำนวณหาปริมาณไขมัน

$$\begin{array}{lcl} \text{crude fat} & = & \frac{\text{น้ำหนักไขมันที่สกัดได้} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}} \\ (\% \text{dry basis}) & & \end{array}$$

ข 3 การหาการดูดกลืนแสง (Nagy และคณะ, 1990)

3.1 บดตัวอย่างให้ละเอียดและชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 5 กรัม (จดน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ในหลอดทดลองสำหรับเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง

3.2 เติมนีเมทานอล 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex ใช้ความแรงที่สูงที่สุดเป็นเวลา 30 วินาที

3.3 นำไปแช่ในอ่างน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 15 นาที เพื่อให้เกิดการตกตะกอนอย่างสมบูรณ์

3.4 นำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 1,000 x g เป็นเวลา 15 นาที ที่ 25°C

3.5 นำส่วนสารละลายใสด้านบนไปกรองผ่านแผ่นกรองสำหรับใช้กับชุดกรองขนาด 10 มิลลิลิตร โดยใช้แผ่นกรอง Nylon 66 membranes ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางของรูพรุน 0.45 ไมครอน และเส้นผ่าศูนย์กลางแผ่นกรอง 13 มิลลิเมตร ยี่ห้อ whatman

3.6 วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ผ่านการกรองด้วยเครื่อง UV – Vis Spectrophotometer double beam รุ่น UV 2-100 ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร โดย blank คือ เมทานอล และทำการทดลอง 3 ซ้ำ และวัดค่าซ้ำละ 3 ตัวอย่าง

ข 4 วิธีการวิเคราะห์ TBA number (Egan และคณะ 1981)

4.1 การเตรียมสารเคมี

4.1.1 สารละลาย hydrochloric acid ความเข้มข้น 4 โมลาร์ (4 M HCl)

นำสารละลาย HCl เข้มข้น 35 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นประมาณ 30 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

4.1.2 สารละลาย Thiobarbituric acid ความเข้มข้น 0.2883 %

ทำการชั่ง thiobarbituric acid 0.2883 กรัม ละลายในสารละลาย glacial acetic acid ที่ความเข้มข้น 90% จำนวน 100 มิลลิลิตร

4.2 วิธีการทดลอง

4.2.1 นำตัวอย่างที่บดละเอียด 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 2 นาที

4.2.2 เทส่วนผสมจากข้อที่ 4.2.1 ลงใน Distillation flask ขนาด 500 มิลลิลิตร (quantitative transfer) โดยใช้ น้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร ล้างตัวอย่างที่ค้างในบีกเกอร์ และเทน้ำกลั่นที่ใช้ล้างรวมใน Distillation flask

4.2.3 เติมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 4 โมลาร์ 2.5 มิลลิลิตร และเติม antifoam 2 – 3 หยด กับ glass beads 2 – 3 เม็ด

4.2.4 กลั่นเก็บสารที่ได้จากการกลั่น (distillate) 50 มิลลิลิตร ใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร ภายในระยะเวลา 10 นาที นับจากเริ่มเดือด

4.2.5 ปิเปต distillate 13 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง

4.2.6 เติมสารละลาย TBA ความเข้มข้น 0.2883% จำนวน 13 มิลลิลิตร และปิดฝาหลอดแก้ว

4.2.7 เขย่าให้เข้ากัน แช่ในน้ำเดือดเป็นระยะเวลา 35 นาที เมื่อครบกำหนดนำลงแช่ในน้ำเย็นเป็นระยะเวลา 10 นาที และทิ้งให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้อง

4.2.8 การเตรียม Blank เช่นเดียวกับตัวอย่าง โดยใช้ น้ำกลั่น 13 มิลลิลิตร แทน Distillate

4.2.9 วัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของตัวอย่าง และ Blank ที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร สำหรับการวิเคราะห์ TBA number จะทำการทดลอง 3 ซ้ำ และวัดค่าซ้ำละ 3 ตัวอย่าง

4.2.10 การคำนวณ TBA number

ถ้าใช้ cell ที่มีความกว้างของช่องที่แสงผ่าน 1 เซนติเมตร

TBA number (มิลลิกรัมของ malonaldehyde/กิโลกรัมของตัวอย่าง) = 0.78 DW

เมื่อ D = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง - ค่าการดูดกลืนแสงของ Blank

W (กรัม) = น้ำหนักตัวอย่าง