

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก ภาพในระหว่างการทำวิจัย

ภาพที่ 17 แสดงลักษณะของกตดั่ง (*Hemibagrus wyckioides*)ภาพที่ 18 แสดงการ stocking ปลา กตดั่ง (*Hemibagrus wyckioides*)



ภาพที่ 19 แสดงการเตรียมกระชังสำหรับการทดสอบอาหาร



ภาพที่ 20 แสดงการทำอาหารสำหรับการทดสอบอาหาร ด้วยเครื่องอัดอาหาร



ภาพที่ 21 แสดงวิธีการตากอาหารปลากดั่ง



ภาพที่ 22 วิธีวัดความยาวปลาทดลอง



ภาพที่ 23 แสดงวิธีการเก็บผลผลิตปลากัด เพื่อนำไปทดสอบยังห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 24 ตัวอย่างการแล่ปลาแบบฟิลเล่ (fillet)



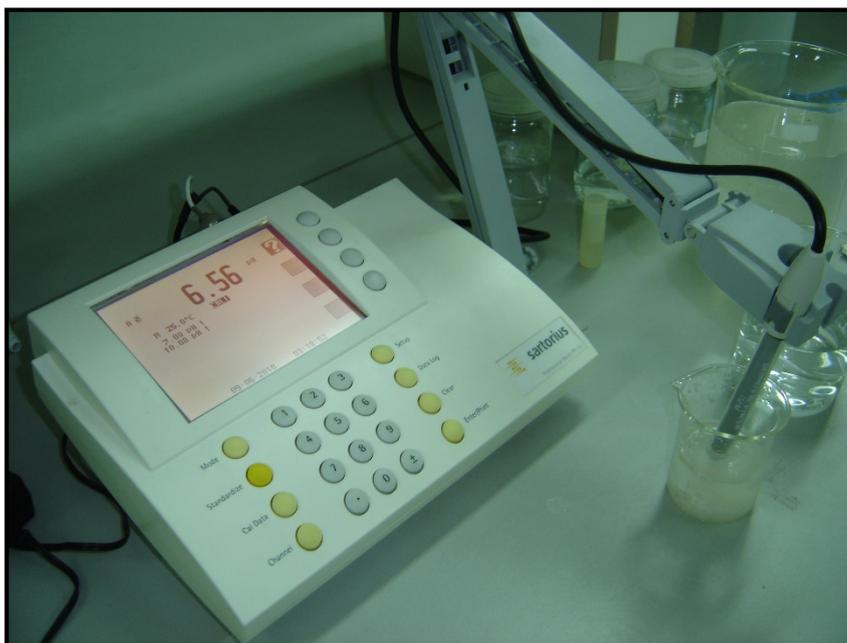
ภาพที่ 25 เนื้อปลากดคังที่แล้แบบฟิลล์



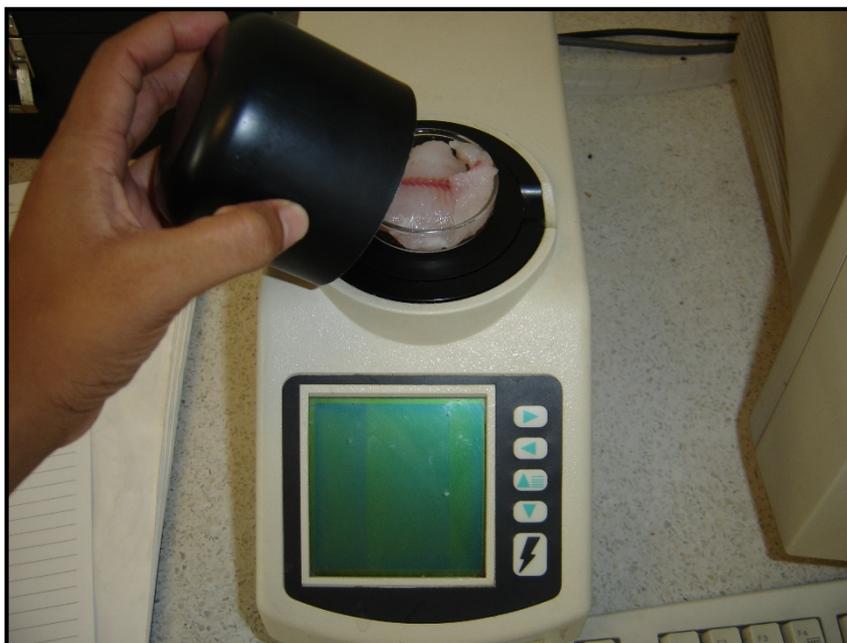
ภาพที่ 26 วิเคราะห์ไขมันด้วยวิธี ether extraction



ภาพที่ 27 วิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธี macro-Kjeldahl



ภาพที่ 28 วัดค่า pH ของเนื้อปลาหมองด้วย pH meter



ภาพที่ 29 วัดค่าสีด้วยเครื่อง Hunter Lab



ภาพที่ 30 วัดค่าเนื้อสัมผัสด้วยวิธี Texture Profile Analysis โดยเครื่อง LLOYD instruments LR 5K



ภาพที่ 31 วิเคราะห์ค่า Expressible drip โดยใช้แรงในการกดทับลงไป 5 Kg นาน 3 นาที/ชิ้นเนื้อ

ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีและคุณภาพเนื้อ

1. การวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมี

1.1 การวิเคราะห์หาค่าความชื้นและสิ่งแห้ง (Moisture and Dry Matter)

หลักการและเหตุผล

ความชื้นในอาหารหรือวัตถุดิบอาหาร มีผลต่อค่าตัวเลขที่แสดงถึงปริมาณโภชนะต่างๆ ที่มีอยู่ในตัวอย่างนั้น เมื่อแสดงปริมาณ โภชนะเป็นสัดส่วนของน้ำหนักจริง นอกจากนี้ประมาณความชื้นที่เพิ่มมากขึ้นไปจะมีผลต่อการรักษาวัตถุดิบอาหาร ณ อุณหภูมิห้อง ดังนั้นในการที่จะเปรียบเทียบปริมาณโภชนะระหว่างวัตถุดิบอาหารต่างจึงจำเป็นต้องคำนึงถึงค่าของความชื้น หรือในทางกลับกัน ค่าของวัตถุแห้งหรือสิ่งแห้ง (Dry Matter) ของตัวอย่างนั้นๆด้วย จึงสามารถนำมาเปรียบเทียบสัดส่วนบนฐานเดียวกันคือ โดยน้ำหนักแห้ง (base on Dry Matter basis) ได้

ลักษณะของน้ำหรือความชื้นที่ประกอบอยู่ในอาหารจะเป็นน้ำอิสระ (free or available water) ส่วนน้ำซึ่งเกาะอยู่กับโมเลกุลสารประกอบอื่นๆ (bound water) เช่น โปรตีน นั้น การที่จะแยกออกมาโดยการระเหยให้แห้งด้วยความร้อนนั้นทำได้ลำบาก เพราะใช้อุณหภูมิสูงและจะทำให้เกิดการสลายของสารประกอบอื่นๆที่มีอยู่ในอาหารนั้นด้วย หลักการวิเคราะห์หาค่าความชื้นในอาหาร แบ่งกว้างๆ ได้ 4 วิธี คือ

1.1.1 การอบแห้งด้วยความร้อน (Indirect Distillation or Drying Method) เป็นการแยกน้ำระเหยออกไปด้วยความร้อน โดยใช้ตู้อบแห้ง (Dry Oven) ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับใช้หาค่าความชื้นในอาหารทั่วไปคือ 105 องศาเซลเซียส

1.1.2 การกลั่นลำดับส่วน (Direct Distillation Method) เป็นการวิเคราะห์หาค่าความชื้นโดยการใช้สารเคมีที่มีจุดเดือดสูงกว่าน้ำ แต่มีความถ่วงจำเพาะต่ำกว่าน้ำ เช่น Toluene Heptane และ Xylene เป็นต้น วิธีนี้จะได้ผลแม่นยำ เนื่องจาก volatile oil จะรวมอยู่ในชั้นของสารเคมีที่ใช้ซึ่งแยกออกมาชั้นของน้ำโดยเด็ดขาด ทำให้ ได้ค่าที่เป็นส่วนของน้ำจริงๆ แต่มีข้อเสียคือ มีค่าใช้จ่ายมากกว่าวิธีอบแห้งด้วยความร้อนโดยตรง เพราะสิ้นเปลืองค่าสารเคมีและเครื่องแก้วที่ใช้ในการกลั่น

1.1.3 การใช้เครื่อง (Electric Moisture meter) เป็นวิธีหาค่าความชื้นโดยใช้เครื่องวัดความชื้นด้วยกระแสไฟฟ้า โดยอาศัยการวัดความต้านทาน (resistance) ความถี่ (frequency) และการมีคุณสมบัติการมีประจุ ของน้ำที่มีอยู่ในอาหาร ซึ่งสามารถวัดความชื้นได้อย่างรวดเร็ว และมีความคลาดเคลื่อนประมาณ ± 1 เปอร์เซ็นต์เหมาะสำหรับใช้หาค่าความชื้นของเมล็ดพืชในโรงงาน โรงสีและตามยุ้งฉางใหญ่ๆ หรือนอกห้องปฏิบัติการเพราะสะดวก และควรจะมีพื้นผิว (surface area) ของภาชนะที่ใช้ใส่ตัวอย่าง (test cup) ที่ต้องการทดสอบในขนาดที่ค่อนข้างคงที่โดยประมาณ เช่นอุปกรณ์หาค่าความชื้นในเมล็ดของพืชไร่

1.1.4 การทำปฏิกิริยาทางเคมี (Chemical method) เป็นการหาค่าความชื้นโดยการใช้สารเคมีต่างๆ มาทำปฏิกิริยากับน้ำที่อยู่ในตัวอย่าง ซึ่งมีได้หลายวิธีเช่น Karl Fischer method ซึ่งใช้หลักการของ Nonstoichiometric reaction และ Sulfur dioxide ในสารละลาย Pyridine methanol วิธีนี้เหมาะกับตัวอย่างอาหารที่มีน้ำอยู่ในปริมาณต่ำๆ วิธีของ Serger ใช้ความชื้นได้รวดเร็วมาก เพราะอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างน้ำ และแคลเซียมคาร์ไบด์ได้แก๊ส acetylene แล้วคำนวณหา

ความชื้นในอาหารโดยการชั่งน้ำหนักที่หายไปของอาหาร หรือวัดความดันหรือปริมาณแก๊สที่เกิดขึ้น

1.1.5 การวัดความชื้นอาจทำได้โดยวิธีอื่นๆ เช่น ใช้วิธี Nuclear magnetic resonance และ Gas- liquid chromatography ซึ่งอุปกรณ์ที่ใช้มีราคาแพง

วิธีการวิเคราะห์หาความชื้นโดยวิธีอบแห้ง (Dry oven method)

อุปกรณ์และสารเคมี

- 1) ตู้อบแห้ง (Dry oven)
- 2) ถ้วยอะลูมิเนียมและช้อนตักตัวอย่าง
- 3) เครื่องชั่งละเอียดทศนิยมไม่ต่ำกว่า 3 ตำแหน่ง

วิธีวิเคราะห์

อบถ้วยอะลูมิเนียมที่ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชม.



ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น



ตักตัวอย่างประมาณ 5 กรัม ใส่ในถ้วย
แล้วนำไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส นาน 4-8 ชม.
หรืออบทิ้งไว้ค้างคืน

การคำนวณ

$$\begin{aligned} \% \text{ ความชื้น} &= \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100 \\ \% \text{ สิ่งแห้ง} &= \frac{\text{น้ำหนักหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100 \\ \text{หรือ} &= 100 - \% \text{ ความชื้น} \end{aligned}$$

1.2 การวิเคราะห์หาสารไขมัน (Crude Lipid)

หลักการและเหตุผล

สารไขมัน (Lipids) มีคุณสมบัติในการละลายได้ในสารอินทรีย์ (Organic solvents) เช่น Alcohol Petroleum ether Heptane Toluene เป็นต้น การสกัดสารไขมันอย่างต่อเนื่องด้วย Petroleum ether โดยใช้เครื่องสกัดประเภท Soxhlettype extractor หรือแบบอื่นๆ ที่ทำงานในลักษณะเดียวกัน คือมีการให้ความร้อนจนสารละลายอินทรีย์ระเหย แล้วทำให้มีการควบแน่นกลับคืนของไอระเหยของสารนั้น เมื่อผ่านเครื่องควบแน่น(condenser)ในระบบปิด เพื่อให้ไหลกลับลงมาละลายหรือสกัดสารไขมันออกจากตัวอย่าง โดยปกติจะใช้เวลาประมาณ 4 ชั่วโมงในการสกัด แต่เวลาที่เหมาะสมจะแปรผันไป ขึ้นอยู่กับปริมาณและลักษณะของตัวอย่างที่นำมาสกัด เช่น ตัวอย่างที่มีไขมันมากจะต้องใช้เวลานานขึ้น ตัวอย่างพวกเนื้อสดซึ่งมีความเหนียวก็ต้องมีการผสม Acid washed sand

หรือ Celite ก่อนที่จะนำมาสกัดสารไขมัน เพื่อช่วยให้สารละลายอินทรีย์สามารถแทรกซึมเข้าสู่สกัดหรือละลายสารไขมันออกมาได้สะดวกขึ้น

หลังขบวนการสกัดตามเวลาที่กำหนด Petroleum ether ที่ใช้จะถูกระเหยและแยกออกไปเกือบหมดเหลือส่วนที่ยังคงตกค้างอยู่กับสารไขมันที่สกัดได้ เมื่อนำเข้าอบในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมงครึ่งถึง 2 ชั่วโมง Petroleum ether ที่เหลือก็จะระเหยไปหมด สารไขมันหรือ Waxes Resins, Phospholipids, Organic acids, รงควัตถุ(Pigments) และสารไขมันอื่นๆ เช่น steroids รวมอยู่ด้วยซึ่งไม่เป็นสารอาหารที่ให้พลังงานเหมือน Triglycerides เนื่องจากสารละลายอินทรีย์ที่ใช้มีคุณสมบัติระเหยและติดไฟได้ง่าย ดังนั้นในขณะที่ปฏิบัติการวิเคราะห์จึงควรทำในห้องที่มีการถ่ายอากาศดี หรือตั้งเครื่องมือในตู้ดูดควัน เพื่อขจัดไอระเหยที่ฟุ้งกระจายอยู่

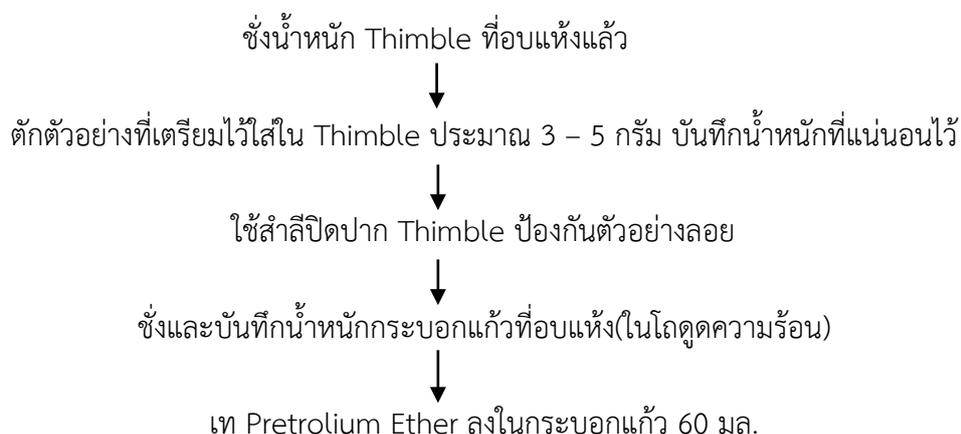
นอกเหนือจากการสกัดไขมันจากตัวอย่างด้วยสารอินทรีย์แล้ว ยังสามารถสกัดด้วยสารอื่นได้อีกเช่น สกัดด้วย CO₂ ที่อยู่สภาวะเหนือวิกฤต (Supercritical state) ซึ่งจะมีสภาวะเป็นของเหลวมีความหนาแน่นเท่ากับสภาวะที่เป็นก๊าซ และมีคุณสมบัติในการละลายสาร non polar molecule พวกไขมันและน้ำมันออกจากตัวอย่างได้ และเมื่อพ้นสภาวะ Supercritical phase ก็จะอยู่ในสถานะก๊าซและระเหยออกจากไขมันที่ถูกสกัดไป ตัวอย่างอุปกรณ์ที่ใช้ เช่น เครื่อง TFE 2000 ของบริษัท LECO ที่มี Optimum extraction rate ในการสกัดไขมันจากตัวอย่างก๊าซ CO₂ ที่ตั้งระบบอุณหภูมิและความดันในเครื่องไว้ที่ 100 องศาเซลเซียส 9000 psi

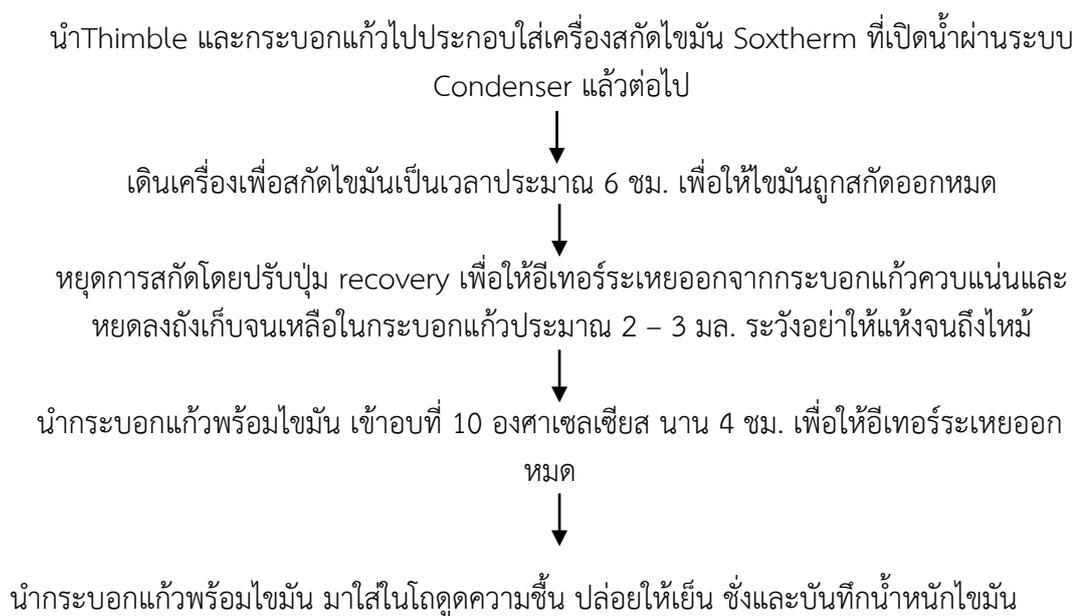
วิธีการวิเคราะห์หาไขมัน (Ether Extract) ด้วยเครื่อง Soxtherm

อุปกรณ์และสารเคมี

- 1) เครื่อง Soxtherm สำหรับสกัดสารด้วยตัวทำละลาย (solvent) ที่มีระบบควบคุมแน่นตัวทำละลาย
- 2) Thimble ขนาด 33 x 88 mm.(ตามขนาดที่ใช้กับเครื่อง) และสำลี
- 3) กระจกบอแก้วสำหรับรองรับไขมันที่สกัดได้ (Glass Extraction Beaker) ที่ใช้กับเครื่อง Soxtherm
- 4) Petroleum Ether ที่มีจุดเดือด 40 –60 องศาเซลเซียส

วิธีการวิเคราะห์





1.3 การวิเคราะห์หาโปรตีนหยาบ (Crude Protein)

หลักการและเหตุผล

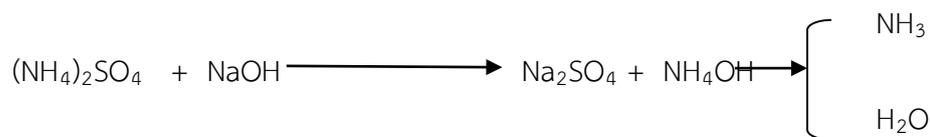
โปรตีนเป็นสารที่จำเป็นแก่ร่างกายทั้งคนและสัตว์ เช่นเดียวกับสารอาหารอื่นๆ แต่โปรตีนเป็นสารอาหารที่มีราคาแพง เมื่อเทียบต่อหน่วยน้ำหนัก และปริมาณความต้องการโปรตีนของร่างกาย ดังนั้นจึงมักมีการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ในอาหารหรือวัตถุดิบอาหารต่างๆ วิธีการวิเคราะห์โปรตีนในห้องปฏิบัติการโดยทั่วไปนิยมใช้วิธีเจลดาลล์ (Kjeldahl method) เป็นวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุไนโตรเจน (N.Nitrogen) ทั้งหมด ซึ่งจะรวมทั้งธาตุไนโตรเจนที่เป็นส่วนประกอบของกรดอะมิโน (amono acid) ในโปรตีนจริงและธาตุไนโตรเจนในรูปสารอื่นๆ ที่ไม่ใช่โปรตีน (Non Protein Nitrogen. NPN)

ในการวิเคราะห์โดย Kjeldahl method คือเป็นการเปลี่ยนไนโตรเจนที่มีในอาหารให้อยู่ในรูปของ Ammonium sulfate $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ โดยการย่อยตัวอย่างกับกรดกำมะถันเข้มข้น $(\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ conc.})$ และเมื่อให้ทำปฏิกิริยาต่อกับต่าง NaOH ก็จะได้ก๊าซแอมโมเนียหรือในรูป NH_4OH ที่ละลายอยู่ในน้ำ แล้วทำการกลั่นเพื่อแยกเอาไนโตรเจนออกมา โดยใช้กรดมาตรฐานที่มีปริมาณมากเกินพอเป็นตัวดักจับเอาไว้ หลังจากนั้นจึงนำไปไตเตรทหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่กลั่นได้จากตัวอย่าง ซึ่งเมื่อคูณปริมาณไนโตรเจนด้วย protein factor (ทั่วๆ ไปใช้ค่าเฉลี่ย 6.25) แล้วจะได้ค่าโปรตีนหยาบทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่างนั้น

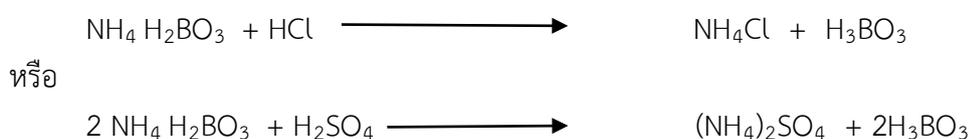
การวิเคราะห์แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ

1) การย่อย (Digestion) เป็นการนำตัวอย่างมาย่อยหรือทำปฏิกิริยากับกรด $\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ conc.}$ ให้สมบูรณไนโตรเจนในอาหารในรูป organic nitrogen จะถูกเปลี่ยนเป็น Ammonium sulfate
 {โปรตีน (-AA-AA-)+NPN} + $\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ conc. Catalyst}$ \longrightarrow $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

2) การกลั่น (Distillation) เป็นการทำปฏิกิริยาระหว่างต่าง NaOH กับไนโตรเจนที่อยู่ในรูป Ammonium sulfate ได้ NH_3 ซึ่งจะถูกลั่นออกมาในรูปก๊าซ NH_3 หรืออยู่ในรูปรวมกับน้ำเป็น Ammonium Hydroxide(NH_4OH) และถูกจับไว้ด้วยกรดมาตรฐานที่มากเกินพอตั้งปฏิกิริยา



3) ไตเตรท (Titration) เป็นการหาปริมาณของไนโตรเจนที่ถูกกลั่นออกมาในรูปของก๊าซแอมโมเนียที่ทำปฏิกิริยากับกรดมาตรฐานที่ใช้ไตเตรท เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่าง



นอกจากวิธีการวิเคราะห์โดย Kjeldahl method แล้วยังสามารถวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธีการและอุปกรณ์อื่นๆ ได้อีก เช่น ใช้หลักการเผาไหม้ตัวอย่างด้วยอุณหภูมิสูงในบรรยากาศของ O₂ (The combustion of analysis) จนไนโตรเจนอยู่ในรูปของก๊าซ N₂ แล้วคำนวณกลับเป็นปริมาณโปรตีน เช่น เครื่อง FP528 ของบริษัท LECO

วิธีการวิเคราะห์โดย Kjeldahl method

อุปกรณ์และสารเคมี

- 1) Kjeldahl digestion flask ขนาด 750 – 800 มล.
- 2) เครื่องอุปกรณ์สำหรับย่อยและกลั่นโปรตีน
- 3) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 200 มล.
- 4) Pipette ขนาด 25 มล.
- 5) ชุดอุปกรณ์สำหรับไตเตรท ได้แก่ Burette ขาดั่ง และแม่เหล็กช่วยกวน (magnetic stirrer)
- 6) ขวดฉีดบรรจุน้ำกลั่น
- 7) กระดาษแก้วซังสารที่ไม่มีไนโตรเจนปน สำหรับซังและห่อตัวอย่าง
- 8) สารเร่งปฏิกิริยา (Catalyst mixture) จำนวน 2 กรัม ต่อ flask ประกอบด้วย Anhydrous Sodium Sulfate (Na₂SO₄) 20 ส่วนและ Anhydrous Copper Sulfate (CuSO₄) 1 ส่วนโดยน้ำหนัก
- 9) Screen Methyl Red indicator
- 10) สารละลาย NaOH 45% จำนวน 85 มิลลิลิตรต่อ flask
- 11) Standard 0.1 N H₂SO₄ หรือ 0.1 N HCl
- 12) Standard 0.1 N NaOH หรือ Boric acid 4% (saturated)
- 13) ลูกแก้ว (glass beads) 2-3 เม็ด ต่อ flask

14) กรด H_2SO_4 เข้มข้น 25 มิลลิลิตร ต่อ flask

วิธีวิเคราะห์

- 1) ชั่งตัวอย่างประมาณ 1-2 กรัม บนกระดาษชั่งสารชนิดที่ไม่มีไนโตรเจน พับกระดาษเพื่อห่อตัวอย่างใส่ลงใน Kjeldahl digestion flask
- 2) เตรียม Blank โดยทำเช่นเดียวกัน แต่ไม่ได้ใส่ตัวอย่างใส่เฉพาะกระดาษชั่งสาร
- 3) เติม catalyst mixture จำนวน 2 กรัม และลูกแก้ว 2 เม็ด ตวงกรด H_2SO_4 เข้มข้นจำนวน 25 มิลลิลิตร เทใส่ลงโดยค่อยๆ เทข้างตัวอย่างที่อาจจะติดข้างคอขวดลงไปด้วย เขย่าอย่างระมัดระวังให้กรดเปียกทั่วห่อตัวอย่าง
- 4) นำไปต้มย่อยบนเตาของเครื่องสำหรับย่อย โดยเปิดระบบดูดไอกรดให้เรียบร้อยก่อน จึงเปิดสวิตซ์เตาให้ความร้อน ควรเปิดที่สวิตซ์ไฟหมายเลข 2 (สังเกตพอให้กรดเดือดเบา ๆ) ระหว่างการย่อยให้คอยหมุนขวดเป็นครั้งคราวเพื่อให้กรดไหลชะตัวอย่างที่ติดตามข้างผนังขวดลงมาทำปฏิกิริยาได้หมด
- 5) ต้มย่อยตัวอย่างจนได้สารละลายใส หลังจากนั้นให้ต้มย่อยอีก 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง เพื่อให้การเกิดปฏิกิริยา Oxidation นั้นสมบูรณ์(ระวังถ้าตัวอย่างแห้งให้เริ่มทำใหม่)
- 6) หยุดให้ความร้อน รอให้เย็น เพื่อรอขั้นตอนการกลั่นต่อไป(ในกรณีต้องเอาขวดออกก่อนเย็น ให้ปิดปากขวดด้วยจุกยาง เพื่อป้องกันไอกรดฟุ้งกระจาย)
- 7) เตรียมการกลั่นโดยใช้ Pipette ดูด Standard $0.1M H_2SO_4$ (หรือแทนด้วย Boric acid 4%) จำนวน 75 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Erlenmeyer ขนาด 500 มิลลิลิตร แล้วเติม Screen Methyl Red indicator 4 หยด นำไปต่อเข้ากับชุดเครื่องกลั่นโปรตีน โดยใช้ปลายท่อของชุดควบแน่น (Condenser) จุ่มอยู่ใต้ระดับของสารละลายใน Erlenmeyer flask
- 8) ทำเช่นเดียวกันกับทุกขวดตัวอย่าง รวมทั้ง blank จนเสร็จ
- 9) เตรียมชุดเครื่องกลั่นโปรตีน โดยเปิดน้ำไหลผ่าน Condenser ให้เย็น
- 10) เตรียมน้ำกลั่นประมาณ 300 – 400 มิลลิลิตร ลงใน Kjeldahl flask ที่ตัวอย่างถูกย่อยจนใสและเย็นแล้วค่อยๆ เทน้ำกลั่นโดยให้น้ำไหลชะล้างคอขวดลงพร้อมกับเอียงและหมุนขวดไปด้วย
- 11) เติม NaOH 45 % จำนวน 80 มิลลิลิตร ลงใน Kjeldahl flask ในลักษณะเอียงคอขวดให้ NaOH ค่อยๆ ไหลไปตามข้างผนังขวด แล้วรีบนำไปปิดด้วยจุกยางที่ปลายท่อ Condenser ของชุดเครื่องกลั่นหมุนเขย่า Kjeldahl digestion flask เบาๆ เพื่อให้สารผสมเข้ากันดี หยุดน้ำกลั่นให้เป็นฟิล์มรอบบริเวณรอยต่อของจุกยางที่ติดกับปาก Kjeldahl digestion flask ก่อนวางบนเตาเพื่อป้องกันการรั่วของก๊าซ
- 12) ให้ความร้อนตัวอย่างจนแอมโมเนียถูกกลั่นออกมาใน Erlenmeyer flask อย่างน้อย 200 มิลลิลิตร จึงหยุดให้ความร้อน เลื่อนไม้คอร์ดที่รองใต้ Erlenmeyer flask ออกให้ปลายท่อค้างไว้เหนือระดับสารละลายสักครู่เพื่อให้ตัวอย่างที่ตกค้างในปลายท่อไหลออกจากท่อให้หมด
- 13) ฉีดน้ำกลั่นชะล้างสารที่ติดอยู่รอบๆ ปลายท่อกลั่นก่อนที่จะยก Erlenmeyer flask ออก แล้วจึงนำไปรอขั้นตอนการไตเตรทต่อ
- 14) ก่อนการไตเตรท ให้ทำการล้างภายในระบบท่อของชุด Condenser หลังกลั่นเสร็จโดยเติมน้ำกลั่นลงใน Erlenmeyer flask อีกใบหนึ่งประมาณ 200 มิลลิลิตร นำไปสวมเข้ากับปลายท่อกลั่น

แทนที่ขวดตัวอย่างที่กลั่นเสร็จแล้ว ปิดสวิตช์เพื่อหยุดให้ความร้อน เมื่อ Kjeldahl digestion flask เย็นลงจะเกิดการดูดกลับของน้ำกลั่นขึ้นจาก Erlenmeyer flask ชะล้างท่อ Condenser และไหลเข้าสู่ Kjeldahl digestion flask และเนื่องจากแรงดูดน้ำกลั่นค่อนข้างแรงให้ระวัง Kjeldahl digestion flask จะถูกกระแทกตกจากเตาแตก

15) นำตัวอย่างที่กลั่นได้ไปทำการไตเตรทต่อโดยไตเตรท blank flask กับสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH (หรือ 0.1N H₂SO₄ กรณีใช้ Boric acid) จนกระทั่งสีของ Indicator เปลี่ยนเป็นสีม่วงอมเทาหรือสีม่วงแดง คือ จุดสิ้นสุดปฏิกิริยา (end point) จดบันทึกปริมาตรของสารที่ใช้

16) ทำการไตเตรทตัวอย่าง เช่นเดียวกันกับ blank โดยใช้ blank เป็นตัวเทียบสีของจุดสิ้นสุดปฏิกิริยา

1.4 การวิเคราะห์หาเถ้าทั้งหมด (Total Ash)

หลักการและเหตุผล

เถ้าทั้งหมด (total ash) ที่มีอยู่ในตัวอย่างอาหารหรือวัตถุดิบอาหารสัตว์ คือ ส่วนของอนินทรีย์สาร (inorganic matter) ที่เหลืออยู่หลังจากที่อินทรีย์สาร (organic matter) ได้ถูกเผาไหม้และสลายตัวเป็นแก๊สแล้ว จากเถ้าทั้งหมดเมื่อนำมาแยกโดยต้มกับกรดจะได้ส่วนของเถ้าที่ละลายในกรด (Acid soluble ash) และเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (Acid Insoluble Ash)

เถ้าที่ละลายในกรด คือ ส่วนที่เป็นแร่ธาตุต่าง ๆ ที่ร่างกายสามารถย่อยได้ สำหรับเถ้าที่ไม่ละลายในกรดส่วนใหญ่จะเป็น silica หรือทรายต่าง ๆ ปริมาณเถ้าทั้งหมดหรือเถ้าที่ไม่ละลายในกรดที่มีมากกว่าปกติอาจช่วยชี้ให้เห็นได้ถึงการปลอมปน ดินทรายหรือวัตถุอื่น ๆ ลงในวัตถุดิบอาหาร โดยเฉพาะวัตถุดิบอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ เช่น ปลาป่น มันสำปะหลังบด รำละเอียด เป็นต้น

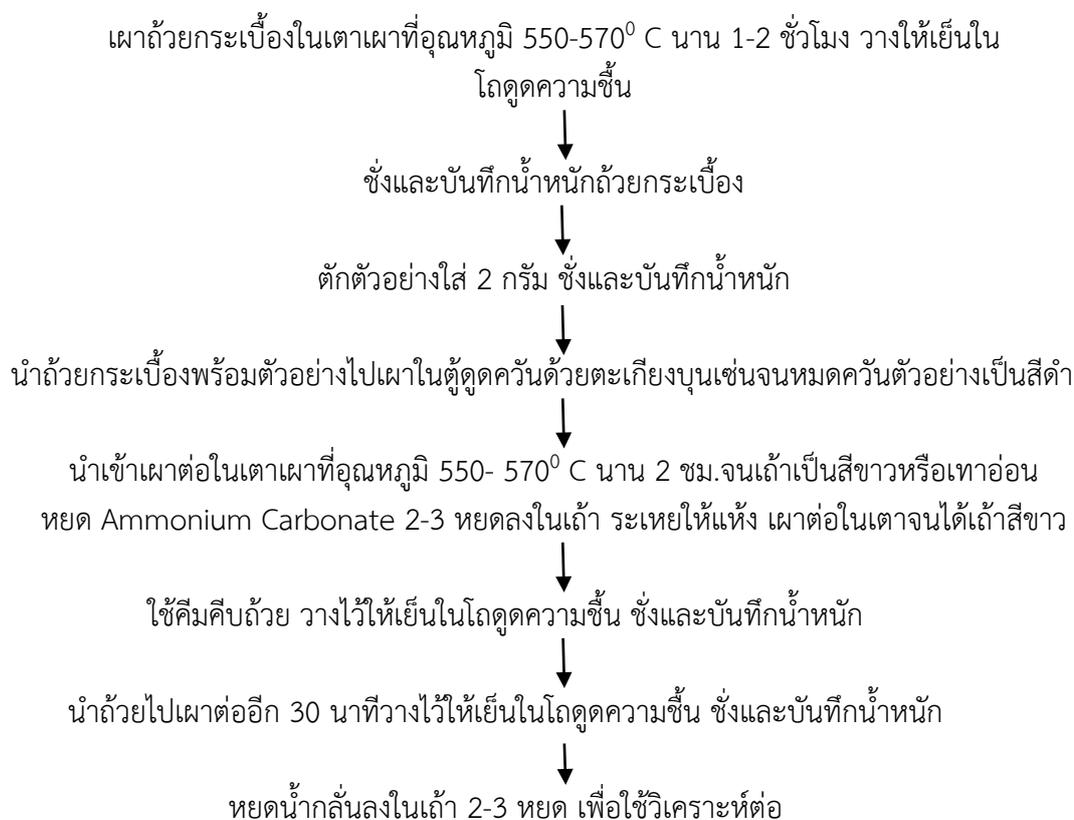
อุณหภูมิในเตาเผา (muffle furnace) ที่เหมาะสมคือ 550-570 C ซึ่งถ้าอุณหภูมิสูงถึง 600 C จะทำให้ Chloride ซึ่งเป็นธาตุที่จะชี้ให้ทราบถึงปริมาณเกลือ (NaCl) ในตัวอย่างสูญสลายไป การเผาไหม้ที่สมบูรณ์จะได้เถ้าที่มีสีขาวหรือสีเทาอ่อน การหยด Ammonia Carbonate 2-3 หยดจะช่วยให้เถ้าที่ยังไม่ขาวมีสีขาวขึ้น

การใช้กระดาษกรองชนิดไม่มีเถ้า (Ashless) หรือมีเปอร์เซ็นต์เถ้าอยู่น้อยมาก จะช่วยค่าของ Acid insoluble Ash ใกล้เคียงความเป็นจริงมากขึ้น จากคุณภาพของกระดาษกรองที่ระบุด้านหลังกล่องบรรจุ ซึ่งกระดาษกรองแต่ละ Number จะมีคุณภาพหรือคุณสมบัติที่แตกต่างกัน เช่นกระดาษกรอง WHATMAN ที่สามารถกรองได้เร็วและกรองตัวอย่างที่ไม่ละเอียดมากนักได้แก่ No 4, 54,41 และ 541 เป็นต้น และในแต่ละ Number ก็จะมีคุณสมบัติในการทนกรดหรือทนการล้างตะกอนด้วยได้หลายครั้งต่างกัน เช่น No 541 ทนกรดและแข็งกว่า No 41 เป็นต้น

อุปกรณ์และสารเคมี

- 1) ถ้วยกระเบื้อง (Crucible) และคีมคีบ (tong)
- 2) ตู้ดูดควันและตะเกียงเบนเช่น
- 3) เตาเผา (muffle furnace)

วิธีการวิเคราะห์



การคำนวณ

$$\% \text{ เถ้าทั้งหมด (Total Ash)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้าทั้งหมด}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

2. การวิเคราะห์คุณภาพเนื้อ

2.1 การวัดการเปลี่ยนแปลงของสี

นำตัวอย่างปลาตัดเป็นชิ้นขนาด 3 x 3 เซนติเมตร โดยใช้เครื่อง Hunter Lab แสดงข้อมูลเป็นค่า L* a* และ b* ในระบบของ CIE

ขั้นตอนการใช้เครื่อง Hunter Lab

- 1) เปิดคอมพิวเตอร์ เรียกโปรแกรม Universal หน้าจอจะแสดงโปรแกรม
- 2) ทำการปรับค่ามาตรฐานโดยเทียบกับแผ่นเทียบสี (Standardzation) ดังนี้
 - 2.1) กดปุ่มคำสั่ง Cal Standardize
 - 2.2) เลือกขนาดช่องวางตัวอย่าง (Port size) โดยปกติจะต้องเลือกขนาด 1.25 แล้วกดปุ่ม OK หน้าจอจะแสดง (Please place the Black Glass at the reflectance port/OK) วางแผ่นเทียบแผ่นสีดำ ลงบนช่องด้านบนของเครื่องวัดแล้วกดปุ่ม OK

- 2.3) หน้าจอแสดง (Please place the white Standard tile at the reflectance port/OK) จากนั้นวางแผ่นเทียบแผ่นสีขาว ลงบนช่องด้านบนของเครื่องวัดแล้วกดปุ่ม OK
- 2.4) หลังจากเครื่องทำการอ่านค่าแผ่นเทียบสีทั้งสองแล้ว จะแสดงข้อความว่าได้ปรับตั้งค่าเรียบร้อยแล้ว (Sensor successfully standardized /OK) จากนั้นกดปุ่ม OK เพื่อกลับสู่หน้าต่างหลัก
- 2.5) ให้ทำการ Standardize ทุกครั้งที่มีการเปิดเครื่องใหม่
3. ขั้นตอนการกำหนดค่าสีมาตรฐาน ตัวอย่าง
- 3.1) เรียกหน้าต่าง Master Color Data Window สำหรับแสดงค่าสีที่วัดได้
- 3.2) วางแผ่น Standard ที่ต้องการกำหนดค่า แล้วกดปุ่มคำสั่ง Read Std. เพื่อกำหนดค่าที่อ่านให้เป็นค่ามาตรฐานเพื่อใช้เปรียบเทียบกับค่าตัวอย่าง ใส่รายละเอียดต่างๆที่แสดงขึ้นมา แล้วกดปุ่ม OK
- 3.3) ค่าที่อ่านได้จะแสดงที่บรรทัด Standard
4. การเตรียมตัวอย่าง ตัวอย่างที่มีขนาดใหญ่ วางลงบนช่องวางตัวอย่างให้ปิดช่องวางตัวอย่างให้แนบสนิท
5. ขั้นตอนการวัดค่าสีตัวอย่าง
- 5.1) กดปุ่มคำสั่ง Read Sam. เพื่ออ่านค่าตัวอย่าง
- 5.2) ใส่รายละเอียดต่างๆ ที่แสดงขึ้นมาแล้วกดปุ่ม OK
- 5.3) ค่าที่อ่านได้จะแสดงในบรรทัด Sample
- 5.4) ต้องการวัดตัวอย่างต่อไปให้ทำตามขั้นตอนที่ 5.1-5.3

2.2 การวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture parameters)

วัดลักษณะเนื้อสัมผัสของกล้ามเนื้อปลา โดยตัดชิ้นเนื้อส่วนสันหลังให้ได้ขนาด 2x2x1 เซนติเมตร (กxยxส) ตรวจสอบโดยใช้เครื่อง LLOYD instruments LR 5K ใช้หัว probe รูปลูกบอล (Ball probe) ทรงกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ใช้ load cell 50 N และที่ความเร็ว 1 mm/s ระยะเวลาการกด คือ 50 เปอร์เซ็นต์ของความสูงของเนื้อ ดัดแปลงตามวิธีการของ Friedman et al. (1962)

2.3 การวัดค่า pH

นำตัวอย่างที่สับเป็นเนื้อเดียวกัน 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร ปั่นให้เข้ากันและวัดความเป็นกรดเป็นด่างด้วย pH meter

วิธีการวัดค่า pH

ตรวจสอบด้วยเครื่อง AUTO CALIBRATION WITH TWO BUFFERS(MODEL 210 A Plus) เสียบขั้ว electrode เข้ากับตัวเครื่อง เลือก Buffer 2 ค่าให้ครอบคลุมช่วง pH ของ Sample ที่จะวัด โดยค่าทั้ง 2 ต่างกันไม่เกิน 3 pH Unit

- 1) จุ่ม electrode ลงใน Buffer pH 7.00
- 2) กดปุ่ม mode จนหน้าจอปรากฏ Calibrate แล้วเลือกว่าต้องการ Calibrate ที่ 7-4, 7-10 โดยกด YES เมื่อต้องการ, กด NO เมื่อต้องการเปลี่ยนค่า เมื่อใดช่วงที่ต้องการให้กด YES

3) หน้าจอจะปรากฏ P₁ รอจนขึ้น Ready แล้วกด YES หน้าปัดจะปรากฏ P₂ (หมายความว่าพร้อมที่จะรับค่าของ Buffer ค่าที่ 2 แล้ว)

4) ยก electrode ชั้บให้แห้ง จากนั้นจึงจุ่มลงใน Buffer ค่าที่ 2 รอจนค่านิ่งแล้วกด YES หน้าปัดจะแสดงค่า slope (SLP) หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์(PCT) และจะเข้าสู่ mode การวัดโดยอัตโนมัติ

5) ล้าง electrode ชั้บให้แห้ง จากนั้นจึงจุ่มลงในตัวอย่างที่จะวัดค่า pH รอจนค่านิ่งจึงจดค่า pH เสร็จเรียบร้อยแล้วก็ล้าง electrode และในตัวอย่างต่อไปไม่ต้องกดปุ่มใดๆอีก

6) นำตัวอย่างที่เตรียมเสร็จมาวัดค่า

หมายเหตุ

ทำ Auto Calibrate เครื่องจะ Cal.as STD Buffer 4.01, 7.00 และ 10.01 ± 0.5 pH Unit ถ้าค่าที่อ่านได้อยู่ในช่วง ± 0.5 pH จาก STD สามารถกด YES Accept ค่าได้เลย แต่ถ้าค่าที่อ่านได้เกิน ± 0.5 pH จาก STD จะต้องทำ Manual Calibrate โดยการแก้ไขตัวเลข

2.4 การวัดค่า Expressible drip

- 1) อบกระดาษกรอง เบอร์ 1 ในตู้อบ
- 2) ตัดตัวอย่างที่ยังไม่ผ่านการทำละลายให้มีขนาด 1x1x1 เซนติเมตร ชั่งน้ำหนัก วางบนกระดาษกรอง 3 แผ่นในจานเลี้ยงเชื้อ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
- 3) วางกระดาษกรองบนตัวอย่าง 2 แผ่นและกดด้วยลูกตุ้มที่มีน้ำหนัก 5 กิโลกรัม นาน 3 นาที

4) ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง เพื่อคำนวณหาน้ำหนักที่หายไปตามสูตร

$$\% \text{ Expressible drip} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนกด} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังกด}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังกด}} \times 100$$