ภาคผนวก ก

รูปแสดง - วัตถุดิบและกระบวนการผลิตปลาหมักกึ่งแห้ง

- ลักษณะปรากฏของปลาหมักกึ่งแห้งที่เก็บรักษาระยะเวลาต่าง ๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

รูป ก-1 การเตรียมวัตถุดิบเพื่อใช้ในการผลิตปลาหมักกึ่งแห้ง

รูป ก-2 การเคล้าเนื้อปลานวลจันทร์เทศกับเครื่องปรุง

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

รูป ก-3 การอบเนื้อปลานวลจันทร์เทศที่หมักกับเครื่องปรุงแล้ว

รูป ก-4 การบรรจุปลาหมักกึ่งแห้งในถุงพลาสติกชนิด LLDPE/Nylon

รูป ก-5 การปิดผนึกถุงแบบสุญญากาศหรือฉีดพ่นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

รูป ก-6 ลักษณะปรากฏของปลาหมักกึ่งแห้งที่ไม่ใช้โปแตสเซียมซอร์เบท บรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส (สิ่งทดลองที่ 1)
ซ้าย : วันเริ่มต้น ขวา : 91 วัน

รูป ก-7 ลักษณะปรากฏของปลาหมักกึ่งแห้งที่ใช้โปแตสเซียมซอร์เบทร้อยละ 0.092 บรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส (สิ่งทดลองที่ 2)
ซ้าย : วันเริ่มต้น ขวา : 91 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

รูป ก-8 ลักษณะปรากฏของปลาหมักกึ่งแห้งที่ไม่ใช้โปแตสเซียมซอร์เบท บรรจุแบบฉีดพ่นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 60 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส (สิ่งทดลองที่ 3) ซ้าย : วันเริ่มต้น ขวา : 91 วัน

รูป ก-9 ลักษณะปรากฏของปลาหมักกึ่งแห้งที่ใช้โปแตสเซียมซอร์เบทร้อยละ 0.092 บรรจุแบบฉีดพ่นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 60 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส (สิ่งทดลองที่ 4) ซ้าย : วันเริ่มต้น ขวา : 91 วัน

รูป ก-10 ลักษณะปรากฏของปลาหมักกึ่งแห้งที่ไม่ใช้โปแตสเซียมซอร์เบท บรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (สิ่งทดลองที่ 5)
ซ้าย : วันเริ่มต้น ขวา : 14 วัน

รูป ก-11 ลักษณะปรากฏของปลาหมักกึ่งแห้งที่ใช้โปแตสเซียมซอร์เบทร้อยละ 0.092 บรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (สิ่งทดลองที่ 6)
ซ้าย : วันเริ่มต้น ขวา : 14 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

รูป ก-12 ลักษณะปรากฏของปลาหมักกึ่งแห้งที่ไม่ใช้โปแตสเซียมซอร์เบท บรรจุแบบฉีดพ่นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 60 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (สิ่งทดลองที่ 7) ซ้าย : วันเริ่มต้น ขวา : 14 วัน

รูป ก-13 ลักษณะปรากฏของปลาหมักกึ่งแห้งที่ใช้โปแตสเซียมซอร์เบทร้อยละ 0.092 บรรจุแบบฉีดพ่นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 60 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (สิ่งทดลองที่ 8) ซ้าย : วันเริ่มต้น ขวา : 14 วัน

รูป ก-14 ลักษณะปรากฏของปลาหมักกึ่งแห้งที่ใช้โปแตสเซียมซอร์เบทร้อยละ 0.046 บรรจุแบบฉีดพ่นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 30 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (สิ่งทดลองที่ 9) ซ้าย : วันเริ่มต้น ขวา : 35 วัน

รูป ก-15 ลักษณะปรากฏของปลาหมักกึ่งแห้งที่ใช้โปแตสเซียมซอร์เบทร้อยละ 0.046 บรรจุแบบฉีดพ่นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 30 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (สิ่งทดลองที่ 10) ซ้าย : วันเริ่มต้น ขวา : 35 วัน

รูป ก-16 ลักษณะปรากฏของปลาหมักกึ่งแห้งที่ใช้โปแตสเซียมซอร์เบทร้อยละ 0.046 บรรจุแบบฉีดพ่นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 30 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (สิ่งทดลองที่ 11) ซ้าย : วันเริ่มต้น ขวา : 35 วัน

รูป ก-17 ลักษณะปรากฏของปลาหมักกึ่งแห้งที่ใช้โปแตสเซียมซอร์เบทร้อยละ 0.046 บรรจุแบบฉีดพ่นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 30 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (สิ่งทดลองที่ 12) ซ้าย : วันเริ่มต้น ขวา : 35 วัน

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์คุณภาพ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

1. การวิเคราะห์ทางเคมี

1.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์

ใช้กรรไกรตัดอาหารตัวอย่างให้เป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ในเครื่องบด บดให้ละเอียด แล้วบรรจุลงในขวดกันอากาศเข้า (air tight) เก็บไว้วิเคราะห์ค่าต่างๆ หากวิเคราะห์ไม่ทันในหนึ่งวันจะเก็บขวดไว้ในตู้แช่แข็ง (ลักขณาและนิธิยา, 2536) อุณหภูมิประมาณ –24 องศาเซลเซียส โดยละลายน้ำแข็งในทั่วก่อนการวิเคราะห์ทุกครั้ง

1.2 วิธีวิเคราะห์ความชื้น (ลักขณาและนิธิยา, 2536)

1. บันทึกน้ำหนักของกระป๋องอลูมิเนียมที่สะอาดผ่านการอบและปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้ว
2. ใส่ตัวอย่างที่บดแล้วประมาณ 3 กรัม ลงในกระป๋องอลูมิเนียม
3. นำกระป๋องอลูมิเนียมไปอบในตู้อบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่
4. นำกระป๋องอลูมิเนียมออกจากตู้อบ และปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้นไม่น้อยกว่า 20 นาที
5. บันทึกน้ำหนักของกระป๋องอลูมิเนียมและของแข็งที่เหลืออยู่
6. คำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ , เทียบน้ำหนักเปียก)} = \frac{(A - B) \times 100}{A}$$

เมื่อ A = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

B = น้ำหนักของแข็งที่เหลืออยู่หลังการอบ (กรัม)

1.3 วิธีวิเคราะห์เถ้า (ลักขณาและนิธิยา, 2536)

1. บันทึกน้ำหนักของถ้วยกระเบื้องที่สะอาดและผ่านการอบแห้ง
2. ชั่งตัวอย่างที่บดแล้วประมาณ 2 กรัม ลงในถ้วยกระเบื้อง
3. นำถ้วยกระเบื้องที่มีตัวอย่างไปเผาบนตะเกียงบุนเซ่นจนไม่มีควันดำ
4. นำไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิประมาณ 550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว
5. นำไปทำให้เย็นในโถดูดความชื้น
6. บันทึกน้ำหนักของถ้วยกระเบื้องและเถ้า
7. คำนวณหาปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้าทั้งหมด (ร้อยละ)} = \frac{B \times 100}{A}$$

เมื่อ A = น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผาเถ้า (กรัม)

B = น้ำหนักเถ้า (กรัม)

1.4 วิธีวิเคราะห์ไขมัน (AOAC, 1990)

1. อบไล่ความชื้นของกระป๋องอลูมิเนียมของเครื่องสกัดหาไขมัน (soxhlet extraction apparatus) แล้วปล่อยให้เย็นให้โถดูดความชื้น จากนั้นบันทึกน้ำหนักของกระป๋องอลูมิเนียม
2. ชั่งของแข็งแห้งที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในข้อ 1.2 ประมาณ 1 กรัม ใส่ในกระดาษกรองแล้วพับกระดาษกรองเป็นห่อ ใส่ห่อกระดาษลงในทิมเบิล
3. ใส่ทิมเบิลลงในกระป๋องอลูมิเนียมสำหรับสกัดไขมัน สวมหัวยึดที่เป็นโลหะกับส่วนบนของทิมเบิลแล้วนำไปติดกับตัวยึดทิมเบิลที่เป็นแม่เหล็กของเครื่องสกัดไขมัน แล้วสกัดไขมันด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์ที่มีจุดเดือด 40 - 60 องศาเซลเซียส ปริมาตร 150 - 200 มิลลิลิตร ใช้เวลาสกัดประมาณ 3-4 ชั่วโมง
4. ถอดทิมเบิลที่มีห่อกระดาษกรองออกจากเครื่องสกัดไขมัน แล้วนำกระป๋องอลูมิเนียมที่มีไขมันที่สกัดได้อยู่ภายในไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที หรือจนน้ำหนักคงที่ นำกระป๋องอลูมิเนียมไปทำให้เย็นในโถดูดความชื้น บันทึกน้ำหนักของไขมันที่สกัดได้
5. คำนวณหาปริมาณไขมันเป็นร้อยละจากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{A \times 100}{B}$$

เมื่อ A = น้ำหนักไขมันที่สกัดได้ (กรัม)

B = น้ำหนักของแข็งแห้งที่นำมาวิเคราะห์ไขมัน รวมน้ำหนักความชื้น(กรัม)

1.5 วิธีวิเคราะห์เกลือ (ลักขณา และนิธิยา, 2536)

โดยวิธี rapid estimation of salt

1. ชั่งตัวอย่างที่บดแล้วประมาณ 5 กรัม และน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ในเครื่องปั่นผสม
2. ปั่นให้เข้ากันดี นำไปกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1
3. ปิเปตของเหลวที่กรองได้มา 10 มิลลิลิตร (เท่ากับ 1 กรัมของตัวอย่าง) ไตเตรตกับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยใช้สารละลายโปแตสเซียมโครเมตความเข้มข้นร้อยละ 5 เป็นอินดิเคเตอร์
4. คำนวณหาปริมาณเกลือจากสูตร

$$\text{ปริมาณเกลือ (ร้อยละ)} = \text{ปริมาตรสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต} \times 0.585$$

5. คำนวณหาปริมาณเกลือที่แทรกซึมในตัวอย่าง (ร้อยละ) จากสูตร

$$\text{ปริมาณเกลือที่แทรกซึม (ร้อยละ)} = \frac{\text{ปริมาณเกลือ (ร้อยละ)} \times 100}{\text{ปริมาณเกลือ (ร้อยละ)} + \text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)}}$$

การเตรียมอินดิเคเตอร์

ชั่งโปแตสเซียมโครเมต 4.2 กรัม และโปแตสเซียมไดโครเมต 0.7 กรัม ละลายและปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

1.6 วิธีวิเคราะห์โปรตีน (ลักขณาและนิธิยา, 2536)

โดยวิธี semi-micro Kjeldahl distillation

1. ชั่งตัวอย่างที่บดแล้วประมาณ 0.5 กรัม ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ใส่ลงในขวด Kjeldahl โดยไม่ให้เปื้อนคอขวด
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยาผสม (catalyst mixture) 8 กรัม
3. เติมกรดซัลฟิวริคเข้มข้นชนิดปราศจากไนโตรเจนปริมาตร 25 มิลลิลิตร
4. นำไปย่อยโดยต่อเข้ากับเครื่องย่อยจนได้สารละลายใส (ย่อยแบลงค์ด้วยวิธีเดียวกัน) แล้วทำการย่อยต่ออีก 1 ชั่วโมง
5. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรของเหลวที่ย่อยได้ให้ครบ 100 มิลลิลิตร ใน volumetric flask ด้วยน้ำกลั่น
6. ปิเปตสารละลายมา 10 มิลลิลิตร นำไปกลั่นด้วยเครื่อง semi-micro distillation ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 ประมาณ 15 มิลลิลิตร เก็บของเหลวที่กลั่นได้ในรูปแอมโมเนียในสารละลายกรดบอริคความเข้มข้นร้อยละ 2 จำนวน 10 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายเมธิลเรด 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ กลั่นประมาณ 15 นาที แล้วล้างปลายคอนเดนเซอร์ด้วยน้ำกลั่น
7. นำแอมโมเนียที่กลั่นได้ในสารละลายกรดบอริค ไปไตเตรทกับสารละลายกรดไฮโดร-คลอริคความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล
8. คำนวณหาปริมาณไนโตรเจน จากสูตร

ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ) = [(A-B)x N x 0.014 x 6.25 x 100] / W

เมื่อ A = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริคที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริคที่ใช้ไตเตรทกับแบลงค์ (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริคที่ใช้ (นอร์มัล)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

การเตรียมสารเร่งปฏิกิริยาผสม

ชั่งโซเดียมซัลเฟต 400 กรัม คอปเปอร์ซัลเฟต 16กรัม และเซเลเนี่ยมไดออกไซด์ 3 กรัม ผสมให้เข้ากัน

การเตรียมอินดิเคเตอร์

ชั่งเมทธิลเรด 0.016 กรัม และโบรโมครีซอลกรีน 0.083 กรัม นำมาละลายและปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอล

1.7 วิธีวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ (ไพโรจน์, 2535)

การเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างที่บดแล้วมา 1 กรัม เติมน้ำกลั่นลงพอประมาณ คนสารละลายให้เข้ากันดี
2. เติม clearing agent A และ B ลงไปอย่างละ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันดี ปรับปริมาตรให้ครบ 200 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น
3. นำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1500 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วกรองผ่านกระดาษเบอร์ 1
4. ปิเปตสารละลายที่กรองได้มา 75 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 6.34 นอร์มัล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
5. นำไปแช่ในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว
6. ปรับให้ส่วนผสมทั้งหมดเป็นกลาง โดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 นอร์มัล เมื่อได้สารละลายที่เป็นกลางแล้วนำไปปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน
7. ปิเปตสารละลายปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาปิด เติมสารละลาย dinitrosalicylic acid reagent (DNS) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกันดี
8. นำไปแช่ในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วทำให้เย็นทันที เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 10 มิลลิลิตร
9. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร ทำแบลงค์ควบคู่ไปด้วย
10. คำนวณหาปริมาณน้ำตาลในตัวอย่างโดยใช้กราฟมาตรฐานของกลูโคส

การทำกราฟมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่ง D-glucose 0.1000 กรัม ละลายและปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
2. นำขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร มา 7 ขวด ปิเปตสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 20 , 40 , 60 , 80 และ 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรแต่ละขวด เติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกันดี จะได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้ม 0.2 , 0.4 , 0.6 , 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคสทั้ง 5 ความเข้มข้น ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาปิด เติมสารละลาย DNS ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกันดี
4. นำไปต้มในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วทำให้เย็นทันที เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 575 นาโนเมตร ทำแบลงค์ควบคู่ไปด้วย

การเตรียมสารเคมี

- dinitrosalicylic acid reagent (DNS)

  ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัม โซเดียมโปแตสเซียมตาร์เตรต 182 กรัม กรดไดไนโตรซาลิไซลิค 10 กรัม ฟีนอล 2 กรัม โซเดียมซัลไฟต์ 0.5 กรัม นำมาละลายและปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

- clearing A

  ชั่งซิงค์อะซิเตต 2 กรัม นำมาละลายและปรับริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

- clearing B

  ชั่งโปแตสเซียมเฟอโรไซยาไนด์ 6 กรัม นำมาละลายและปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

1.8 วิธีวิเคราะห์ไนโตรเจนที่ระเหยได้ (ลักขณาและนิธิยา, 2536)

โดยวิธี semi-micro distillation

1. ชั่งตัวอย่างที่บดแล้ว 12 กรัม ใส่ลงในเครื่องปั่นผสม เติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติคความเข้มข้นร้อยละ 5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ลงไป 50 มิลลิลิตร ปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน
2. นำมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์1 เก็บของเหลวใสที่สกัดไว้ในหลอดแก้วที่มีฝาปิด
3. ปิเปตของเหลวใสที่สกัดได้มา 5 มิลลิลิตร ใส่ใน semi-micro distillation apparatus
4. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 ลงไป 15 มิลลิลิตร
5. กลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) เป็นเวลา 15 นาที โดยเก็บสารละลายที่ได้ในสารละลายกรดบอริคความเข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 10 มิลลิลิตร ที่ใส่อินดิเคเตอร์ 2 - 3 หยด
6. ไตเตรตด้วยสารละลายกรดเกลือความเข้มข้น 0.01 นอร์มัล จนได้สีชมพูอ่อน คำนวณหาปริมาณไนโตรเจนที่ระเหยได้ ในหน่วยมิลลิกรัมไนโตรเจนต่อตัวอย่าง 100 กรัม

การเตรียมอินดิเคเตอร์

ชั่งเมทธิลเรด 0.016 กรัม และ โบรโมครีซอลกรีน 0.083 กรัม นำมาละลายและปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยเอทานอล

1.9 วิธีวิเคราะห์ TBA value (ลักขณาและนิธิยา, 2536)

1. ชั่งตัวอย่างที่บดแล้ว 10 กรัม ปั่นกับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ในเครื่องปั่นผสมเป็นเวลา 2 นาที
2. เทใส่ในขวดแก้วก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร ล้างเครื่องปั่นผสมด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 47.5 มิลลิลิตร เทรวมในขวดแก้วก้นกลม
3. เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 2 โมล่าร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เพื่อปรับ pH ให้ได้ประมาณ 1.5
4. เติมเม็ดแก้วจำนวนหนึ่งเพื่อป้องกันการเกิดฟอง
5. ต่อเครื่องกลั่นเข้าด้วยกัน กลั่นโดยใช้เตาไฟฟ้า จนเก็บของเหลวที่กลั่นได้ (distillate) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ภายในเวลา 10 นาที หลังเดือด
6. ปิเปตของเหลวที่กลั่นได้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดแก้วที่มีฝาปิด
7. เติมสารละลาย TBA reagent ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไป ปิดฝา เขย่าให้เข้ากัน
8. นำหลอดแก้วไปแช่ในน้ำเดือดเป็นเวลานาน 35 นาที
9. ทำให้เย็นภายในเวลา 10 นาที
10. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับแบลงค์
11. คำนวณหาค่า TBA จากสูตร

    TBA value (มิลลิกรัมของมาโลนัลดีไฮด์/กิโลกรัม) = 7.8 x O.D.

    เมื่อ O.D. = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ ที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร

การเตรียม TBA reagent

ชั่ง 2-thiobarbituric acid 0.2883 กรัม นำไปละลายในสารละลายกรดอะซิติคความเข้มข้นร้อยละ 90 โดยการอุ่นเบา ๆ แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยกรดอะซิติคความเข้มข้น ร้อยละ 90 ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

1.10 วิธีวัด pH

1. ก่อนวัด pH จะตรวจสอบความถูกต้องด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 4.01 และ 7.00 ตามลำดับ
2. ปั่นตัวอย่างที่บดแล้ว 10 กรัม กับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัด pH ด้วยเครื่องวัด pH

1.11 วิธีวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์

ใส่ตัวอย่างที่บดแล้วในตลับพลาสติกสำหรับวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ แล้วนำไปใส่ในเครื่องวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ บันทึกค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ที่คงที่ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

1.12 วิธีวิเคราะห์กรดซอร์บิค (Sher ,1985 โดยปรับบางขั้นตอนเพื่อให้เหมาะสมกับเครื่องลิควิดโครมาโตกราฟ)

สภาวะวิเคราะห์ของลิควิดโครมาโตกราฟ

mobile phase : สารละลายเมทธานอลความเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตร

flow rate : 0.3 มิลลิลิตร / นาที

คอลัมน์ : Spherisorb ODS 2 ,ขนาดคอลัมน์ 125 x 4 มิลลิเมตร (Hewlett packard company ,Germany)

internal standard : สารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 0.4

retention time : ของกรดซอร์บิค อยู่ระหว่าง 2.3 - 2.5 นาที

ของฟีนอล อยู่ระหว่าง 4.7 - 4.9 นาที

UV detector : ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

การสกัดตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างที่บดแล้วมา 5 กรัม ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
2. เติมเอทานอลปริมาตร 70 มิลลิลิตร
3. เติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร
4. ใส่แมกเนติกบาร์ ลงในขวดแก้ว ปิดฝาจุก
5. นำไปกวนบนแมกเนติกสเตอร์เรอร์ เป็นเวลา 10 นาที
6. กรองสารละลายในขวดผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ปิดฝากรวยกรองเพื่อป้องกันการระเหยของเอทานอล
7. ปิเปตสารละลายที่กรองได้มา 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้วที่มีฝาปิด
8. ปิเปตสารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 0.4 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้ว ปิดฝาเขย่าให้ผสมกันดี
9. ดูดสารละลายที่กรองได้มากรองผ่านตัวกรองที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางรูเปิด 0.45 ไมครอน เก็บสารละลายที่ได้ในหลอดฝาเกลียว

การวิเคราะห์

1. เปิดเครื่องลิควิดโครมาโตกราฟก่อนฉีดตัวอย่างประมาณ 30 นาที เพื่อให้ระบบคงที่
2. ใช้เข็มฉีดสารละลายที่สกัดได้ปริมาตร 2 ไมโครลิตร เข้าลิควิดโครมาโตกราฟ

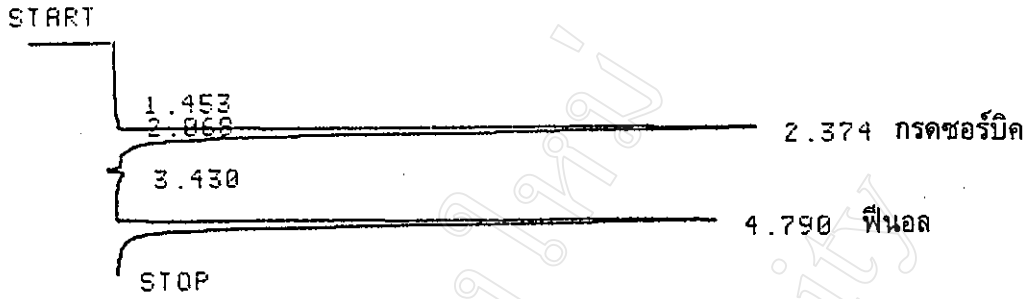
3. คำนวณอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ใต้กราฟของกรดซอร์บิค/พื้นที่ใต้กราฟของฟีนอล
4. คำนวณปริมาณกรดซอร์บิคเป็นมิลลิกรัม/กิโลกรัม

การทำกราฟมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายกรดซอร์บิคในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 0.4 และสารละลายฟีนอล ความเข้มข้นร้อยละ 0.4
2. เตรียมสารละลายกรดซอร์บิคที่มีความเข้มข้นต่างๆ ดังตาราง ข-1 โดยนำหลอดทดลองมา 7 หลอด ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายกรดซอร์บิคและสารละลายฟีนอลที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ใส่ในหลอดทั้ง 7 หลอด แล้วปรับปริมาตรด้วยเอทานอล
3. เขย่าสารละลายให้ผสมกันดี กรองสารละลายในแต่ละหลอดผ่านตัวกรองที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางรูเปิด 0.45 ไมครอน แล้วเก็บสารละลายที่กรองได้ในหลอดฝาเกลียว
4. ใช้เข็มฉีดเข้าลิควิดโครมาโตกราฟ ปริมาตรที่ใช้ 2 ไมโครลิตร
5. คำนวณอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ใต้กราฟของกรดซอร์บิค/พื้นที่ใต้กราฟของฟีนอล
6. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของกรดซอร์บิค (ร้อยละ) กับอัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟ

ตาราง ข-1 อัตราส่วนโดยปริมาตรของกรดซอร์บิค สารละลายฟีนอล และเอทานอล

ความเข้มข้นของกรดซอร์บิคที่ต้องการ (ร้อยละ)	ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ (มิลลิลิตร)		
	สารละลายกรดซอร์บิค ร้อยละ 0.4	สารละลายฟีนอล ร้อยละ 0.4	เอทานอล
0.00125	0.064	10	9.936
0.0025	0.064	5	4.936
0.005	0.125	5	4.875
0.01	0.250	5	4.750
0.02	0.500	5	4.500
0.05	1.250	5	3.750
0.10	2.500	5	2.500



RUN# 260

AREA%

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%
2.374	715584	PB	.167	52.81027
3.430	25830	PU	.228	1.90626
4.790	613595	BB	.153	45.28346

TOTAL AREA=1355009
MUL FACTOR=1.0000E+00

รูป ข-1 โครมาโตแกรมของกรดซอร์บิค (retention time = 2.374 นาที) และฟีนอล (retention time = 4.790 นาที)

หมายเหตุ การวิเคราะห์ทางเคมีทำ 2 ซ้ำในทุกตัวอย่าง

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

2. การวิเคราะห์ทางกายภาพ

การวัดค่าสีระบบ Hunter (L a* b* color) (Minolta Camera Ltd., 1991)

1. ก่อนการวัดสีตัวอย่างต้องทำการ standardize โดยใช้แผ่นสีขาวมาตรฐาน (white blank ;illuminant D65 ซึ่งมีค่า Y = 94.10 , x = 0.3157 และ y = 0.3324)
2. นำตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วใส่ลงใน petri dish และวัดค่า L ค่า a* และค่า b*

เมื่อ ค่า L เป็นค่าของความสว่างและความมืด
เริ่มจากสีขาว (L = 100) ไปจนถึงสีดำ (L = 0)

ค่า a* เป็นค่าของสีแดงเมื่อ a* มีค่าเป็นบวก (+)
หรือสีเขียวเมื่อ a* มีค่าเป็นลบ (-)

ค่า b* เป็นค่าของสีเหลืองเมื่อ b* มีค่าเป็นบวก (+) หรือสีน้ำเงิน
เมื่อ b* มีค่าเป็นลบ (-)

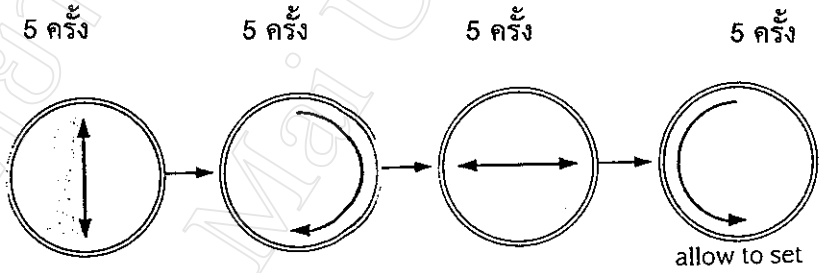
หมายเหตุ การวัดค่าสีทำ 5 ซ้ำในทุกตัวอย่าง

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

3. การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

3.1 วิธีตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Robert et al., 1995)

1. ชั่งตัวอย่างจำนวน 25 กรัม ใส่ในถุงแล้วเติม peptone water ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ลงไป 225 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องตีบดอาหาร 2 นาที
2. เจือจางอาหาร โดยใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดอาหารเจือจางในถุง (10^{-1}) มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มี peptone water ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ถือเป็น 10^{-2} แล้วเจือจางต่อจนระดับที่ต้องการ
3. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดอาหารเจือจางแต่ละตัวอย่างมาอย่างละ 1 มิลลิลิตร ในใส่ลงในจานเพาะเชื้อ ทำซ้ำอาหารเจือจางละ 2 จานต่อ 1 ตัวอย่าง
4. เทอาหารวุ้น plate count agar ที่เตรียมไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 45 - 48 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15 มิลลิลิตร/จาน
5. ผสมอาหารเจือจางกับอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากัน โดยเลื่อนจานอาหารตามรูป ข-2



รูป ข-2 ลักษณะการเลื่อนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

6. เมื่ออาหารวุ้นในจานแข็งตัวดีแล้ว ให้คว่ำจานและนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 - 72 ชั่วโมง
7. นับโคโลนี โดยเลือกนับโคโลนีในจานเพาะเชื้อที่ความเจือจางเดียวกัน และมีเชื้อจุลินทรีย์เจริญอยู่ระหว่าง 30 - 300 โคโลนีต่อจาน แล้วหาค่าเฉลี่ยจากจานอาหารทั้งสอง นำไปคูณกับค่าความเจือจาง ค่าที่ได้เป็นจำนวนโคโลนีทั้งหมด/กรัม

3.2 วิธีตรวจวิเคราะห์เชื้อยีสต์และเชื้อรา (Robert et al., 1995)

1. เตรียมอาหารตัวอย่างเช่นเดียวกับการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมด
2. เจือจางอาหารเป็น 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} หรือตามความต้องการ
3. ดูดอาหารแต่ละความเจือจางมาครั้งละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ ทำซ้ำอาหารเจือจางละ 2 จานต่อ 1 ตัวอย่าง
4. เทอาหารวุ้น potato dextrose agar ที่เตรียมไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 45 - 48 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15 มิลลิลิตร/จาน

5. หมุนจานเพาะเชื้อเพื่อให้ตัวอย่างผสมกับอาหารวุ้น เช่นเดียวกับการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมด
6. เมื่ออาหารวุ้นในจานแข็งตัวดีแล้ว ให้คว่ำจานแล้วนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 - 5 วัน
7. นับโคโลนี โดยเลือกนับโคโลนีในจานเพาะเชื้อที่ความเจือจางเดียวกัน และมีเชื้อจุลินทรีย์เจริญอยู่ระหว่าง 30 - 300 โคโลนี/จาน แล้วหาค่าเฉลี่ยจากจานอาหารทั้งสอง นำไปคูณกับค่าความเจือจาง ค่าที่ได้เป็นจำนวนโคโลนีทั้งหมด/กรัม

หมายเหตุ การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ทำ 2 ซ้ำในทุกตัวอย่าง

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

4. การทดสอบด้านประสาทสัมผัส

การทดสอบด้านประสาทสัมผัสโดยวิธี Hedonic scale

ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 9 ท่าน โดยผู้ทดสอบจะได้รับตัวอย่างของแต่ละสิ่งทดลอง ซึ่งเป็นเนื้อปลาที่มีขนาดประมาณ 1.5 x 2.5 เซนติเมตร คุณลักษณะที่ต้องประเมิน คือ สี ลักษณะปรากฏ กลิ่น และการยอมรับรวม โดยให้คะแนนความชอบตั้งแต่ 1 – 9 สำหรับแบบทดสอบด้านประสาทสัมผัสมีลักษณะดังนี้

แบบทดสอบประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ปลาหมักกึ่งแห้ง

ชื่อ.....วันที่.....

คำชี้แจง โปรดทดสอบผลิตภัณฑ์ปลาเส้นกึ่งแห้ง และให้ระดับความชอบและไม่ชอบเป็นคะแนน 1-9

ระดับคะแนน	ความคิดเห็น
9	ชอบมากที่สุด
8	ชอบมาก
7	ชอบปานกลาง
6	ชอบเล็กน้อย
5	เฉยๆ
4	ไม่ชอบเล็กน้อย
3	ไม่ชอบปานกลาง
2	ไม่ชอบมาก
1	ไม่ชอบมากที่สุด

ตัวอย่าง	สี (colour)	ลักษณะปรากฏ (appearance)	กลิ่น (smell)	การยอมรับรวม (overall acceptability)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวภัทวรา ปฐมรังษิยังกุล
วัน เดือน ปีเกิด	6 มิถุนายน 2515
ประวัติการศึกษา	พ.ศ.2532 สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนมงฟอร์ตวิทยาลัย จังหวัดเชียงใหม่ พ.ศ.2536 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ประสบการณ์	พ.ศ.2540 - ปัจจุบัน อาจารย์ประจำภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University