

### บทที่ 3

#### วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

##### 3.1 วัสดุ

##### 3.1.1 วัสดุดิบ

กลุ่มตัวอย่างสัตว์น้ำ ได้แก่ ปลาทะเล ปลาน้ำจืด ปลาหมึกและกุ้งรายละเอียดของตัวอย่างแสดงในตารางที่ 10-13

ก. ปลาทะเลจากท่าเรือปัตตานี แหล่งจับปลาของเรือประมงคืออ่าวไทยและแถบอินโดจีน

ตารางที่ 10 ชนิดของปลาทะเล

ลำดับที่	ชื่อไทย	ชื่อสามัญ (common name)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name)
1	ปลาหางเหลือง	Yellowtail fusilier	<i>Caesio erythrogaster</i>
2	ปลาทราย	Silver sillago	<i>Sillago sihama</i>
3	ปลาจะละเม็ดดำ	Black pomfret	<i>Parastromateus niger</i>
4	ปลาสีกุนเหลือง	Yellowtail scad	<i>Atule mate</i>
5	ปลาทรายแดงโมง	Ornate threadfin bream	<i>Nemipterus hexodon</i>
6	ปลาหู	Short-bodied mackerel	<i>Rastrelliger brachysoma</i>
7	ปลาโอลาย	Eastern little tuna	<i>Euthynnus affinis</i>
8	ปลาหางแข็ง	Horntail scads	<i>Megalaspis cordyla</i>
9	ปลาหลังเขียว	Sardine	<i>Sardinella albella</i>
10	ปลาเกลียว	Smoothlelly sardinella	<i>Amblygaster leiogaster</i>
11	ปลาจวดเตียน	Tiger-toothed croaker	<i>Otolithes rubber</i>
12	ปลาตะกรับจุด	Scat	<i>Scatophagus argus</i>
13	ปลากระบอกหัวแบน	Flathead mullet	<i>Mugil cephalus</i>
14	ปลาสีกุนตาโต	Bigeye scad	<i>Selar crumenophthalmus</i>
15	ปลากะมง	Blundger	<i>Carangoides gymnostethus</i>
16	ปลาโคก	Chacunda gizzard-shad	<i>Anodontostoma chacunda</i>
17	ปลากะพงเกล็ดห่าง	John's snapper	<i>Lutjanus johni</i>
18	ปลากูรา	Fourfinger threadfin	<i>Eleutheronema tetradactylum</i>

ตารางที่ 10 (ต่อ) ชนิดของปลาทะเล

ลำดับที่	ชื่อไทย	ชื่อสามัญ (common name)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name)
19	ปลาจะละเม็ดขาว	Silver pomfret	<i>Pampus argenteus</i>
20	ปลากล้วยเกาะ	Rainbow runner	<i>Elagatis bipinnulata</i>

ข. ปลาน้ำจืดซึ่งเป็นปลาธรรมชาติและปลาเลี้ยงจากตลาดในจังหวัดปัตตานี

ตารางที่ 11 ชนิดของปลาน้ำจืด

ลำดับที่	ชื่อไทย	ชื่อสามัญ (common name)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name)
1	ปลาจระจก*	Malacanthus	<i>Hoplostethus sp.</i>
2	ปลาคอด*	Asian red tail catfish	<i>Arius truncatus</i>
3	ปลาคุก**	Catfish	<i>Clarias batrachus</i>
4	ปลาเป็นยักษ์*	Glassy perchlet	<i>Leiogathus splendens</i>
5	ปลาเนื้ออ่อนหนวดขาว*	Opok hypophthalmus	<i>Ompok urbaini</i>
6	ปลาหมอ*	Kissing gourami	<i>Helostomi temmincki</i>
7	ปลาสลาด*	Grey frathernack	<i>Notoplerus notooptopterus</i>
8	ปลาซ่อน*	Snake-head fish	<i>Chonna striata</i>
9	ปลาตะเพียนขาว*	Common sill barb	<i>Puntius gonionotus</i>

หมายเหตุ: \* ปลาน้ำจืดจากแหล่งธรรมชาติ และ \*\* ปลาน้ำจืดจากการเลี้ยง

ค. ปลาหมึกจากท่าเรือปัตตานีโดยแหล่งจับปลาหมึกของเรือประมงคืออ่าวไทยและแถบอินโดจีน

ตารางที่ 12 ชนิดของปลาหมึก

ลำดับที่	ชื่อไทย	ชื่อสามัญ (common name)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name)
1	ปลาหมึกกระดอง	Rainbow cuttlefish	<i>Sepia pharaonis</i>
2	ปลาหมึกกล้วย	Indian squid	<i>Photololigo duvaucelii</i>

ง. กุ้งจากท่าเรือปัตตานีโดยที่เรือประมงจับปลาในอ่าวไทยและแถบอินโดจีน

ตารางที่ 13 ชนิดของกุ้ง

ลำดับที่	ชื่อไทย	ชื่อสามัญ (common name)	ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name)
1	กุ้งแชบ๊วย	Banana prawn	<i>Penaeus merguensis</i>
2	กุ้งขาว	Whiteleg shrimp	<i>Litopenaeus vannamei</i>
3	กุ้งกุลาดำ	Giant tiger prawn	<i>Penaeus monodon Fabricius</i>
4	กุ้งก้ามกราม*	Giant freshwater prawn	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>

หมายเหตุ : \* กุ้งนำจืดจากแหล่งธรรมชาติ

### 3.1.2 สารเคมี

#### ก. สารเคมีใช้ในการสกัด

- คลอโรฟอร์ม (Chloroform;  $\text{CHCl}_3$ ), เมทานอล (Methanol;  $\text{CH}_3\text{OH}$ ), ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether;  $\text{C}_5\text{H}_{12}$ ) และ 10 % บียูเอสเอ (Butylated hydroxyanisole) (BHA ใน 98 % เอทานอล (Ethanol;  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ) Analytical grade บริษัท Labscan Asia co, Ltd., ประเทศไทย

- 0.88 % สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride solution;  $\text{NaCl}$ ) บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน

#### ข. การทำเอสเทอร์รีฟิเคชัน

- เฮกเซน (Hexane;  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ ) Analytical grade บริษัท Mallinckrodt Baker, Inc., ประเทศสหรัฐอเมริกา

- สารละลาย อะซิetyl คลอไรด์ (Acetyl Chloride Solution;  $\text{CH}_3\text{COCl}$ ) บริษัท Sigma Chemical Company, Inc., ประเทศสหรัฐอเมริกา

- 6% สารละลาย โพแทสเซียมคาร์บอเนต (Potassium carbonate;  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) บริษัท Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย

### 3.2 เครื่องมือวิเคราะห์และอุปกรณ์

- เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography) ยี่ห้อ Aligent Technology รุ่น 6890N ประเทศสหรัฐอเมริกา ใช้ตัวตรวจวัดแบบ Flame Ionization Detectors (FID)
- คอลัมน์ที่ใช้แยกกรดไขมันชนิด SP 2560 ชนิดซิลิกาคาร์ปิลารีคอลัมน์ (ขนาด 100 m x 0.25 mm, Supelco Inc.) ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องสกัดไขมัน ยี่ห้อ Gerhardt soxtherm automatic รุ่น S 306 MK ประเทศเยอรมัน
- เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) ยี่ห้อ Buchi รุ่น R-210 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
- เครื่องเซนตริฟิวจ์ ยี่ห้อ Sanyo รุ่น HARRIER 15/80 แบบ Bench Top Refrigerated Centrifuge ประเทศญี่ปุ่น
- เครื่องชั่งน้ำหนัก ยี่ห้อ Sartorius TE 313S-DS 310 max 310 g. ความละเอียด 4 ตำแหน่ง ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (Homogenizer) ยี่ห้อ Staufen รุ่น T 25 basic ประเทศเยอรมัน
- Heating block ยี่ห้อ Stuart Scientific ประเทศอังกฤษ
- Vortex mixer ยี่ห้อ Scientific industries รุ่น Vortex Genic 2 ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องบด (Blender) ยี่ห้อ Sanyo ประเทศญี่ปุ่น
- ตู้อบไฟฟ้า (Hot air oven) ยี่ห้อ Heraeus รุ่น ประเทศ
- ขวด Vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Aligent Technology ประเทศสหรัฐอเมริกา
- Pipet ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Precicolor HBG บริษัท Merck ประเทศเยอรมัน
- บีกเกอร์ขนาด 100, 150 และ 250 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Pyrex ® ประเทศเยอรมัน
- กระบอกตวงขนาด 5, 10 และ 25 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Witeg บริษัท Scientific Huntington Beach ประเทศเยอรมัน

### 3.3 วิธีการ

#### 3.3.1 วิธีการสกัดไขมันที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในสัตว์น้ำ

##### 3.3.1.1 การเตรียมตัวอย่าง

การเตรียมตัวอย่างของปลาทะเล 3 ชนิด ได้แก่ ปลาโอลาย ปลาสีกุนตาโตและปลาทรายแดงโมง โดยใช้เกณฑ์คัดเลือกตัวอย่างปลาที่มีไขมันสูงพอประมาณเพื่อลดความคลาดเคลื่อนของปริมาณไขมันในการสกัด

นำตัวอย่างปลาทั้ง 3 ชนิด ชนิดละ 5 ตัว เปิดท้อง เอาอวัยวะภายในท้องปลาออกทำความสะอาด แล่ปลาส่วที่เป็นเนื้อแดงและขาวที่อยู่บริเวณตั้งแต่ต้นหัวปลาจนถึงปลายหาง แล้วนำเนื้อดังกล่าวแต่ละชนิด บดให้ละเอียด เก็บตัวอย่างลงถุงโดยทำการแยกชนิดละถุง ใส่ลงในภาชนะพลาสติกปิดสนิท เก็บที่อุณหภูมิต่ำ -20 องศาเซลเซียส

##### 3.3.1.2 วิธีการสกัดไขมันที่เหมาะสม

นำตัวอย่างจากข้อ 3.3.1.1 ทำการสกัดไขมันโดยการเปรียบเทียบ 3 วิธีการ คือวิธี SX<sub>1</sub> (Solvent extraction 1; Bligh and Dyer, 1959), SX<sub>2</sub> (Solvent extraction 2; Folch *et al.*, 1957) และ SOX (Soxhlet extraction; A.O.A.C., 2000) ซึ่งวิธีการสกัดมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

##### 1. วิธี SX<sub>1</sub> (Bligh and Dyer, 1959) อ้างโดย Manirakiza *et al.* (2000)

- 1.) ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม เติม เมทานอล 10 มิลลิลิตรและคลอโรฟอร์ม 10 มิลลิลิตร ปั่นผสมด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ นาน 2 นาที
- 2.) เติมคลอโรฟอร์ม 10 มิลลิลิตรแล้วปั่นผสมด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ นาน 2 นาที เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ปั่นผสมด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ นาน 2 นาที นำไปเซนตริฟิวส์ที่ 1,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แยกเอาส่วนสารละลายชั้นล่างของคลอโรฟอร์ม แล้วระเหยสารละลายด้วย เครื่องระเหยสูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
- 3.) เก็บตัวอย่างวิเคราะห์หาปริมาณไขมันและค่า RSD (Reflex Sympathetic Dystrophy) จากสูตรดังนี้

$$\text{ร้อยละของปริมาณไขมันที่ถูกสกัด (\% Yield)}^* = \frac{\text{น้ำหนักของไขมันที่สกัดได้ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างเนื้อ (กรัม)}} \times 100$$

หมายเหตุ : \* สกัดไขมันจำนวน 3 ชั่วโมง

$$\text{RSD (\%)} = \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)}}{\text{ค่าเฉลี่ยเลขคณิต} (\bar{X})} \times 100$$

### 2. วิธี SX<sub>2</sub> (Folch *et al.*, 1957) อ้างโดย Du *et al* (1999)

- 1.) ชั่งเนื้อบดประมาณ 2 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำละลายคลอโรฟอร์ม: เมทานอล (2:1) 20 มิลลิลิตร โฮโมจิไนส์ นาน 5 นาที
- 2.) เติมน้ำละลาย ร้อยละ 10 BHA (ร้อยละ 10 BHA ที่เตรียมในสารละลาย ร้อยละ 98 เอทานอล) ปริมาณ 25 ไมโครลิตร แล้วทำการปั่นผสมให้เข้ากัน
- 3.) กรองด้วยกระดาษกรอง Whatmant No. 1 ลงใน ขวดฝาเกลียว เติมน้ำละลาย ร้อยละ 0.88 โซเดียมคลอไรด์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร
- 4.) แยกเอาส่วนสารละลายชั้นล่างของคลอโรฟอร์ม แล้วระเหยสารละลายด้วย เครื่องระเหยสูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
- 5.) เก็บตัวอย่างวิเคราะห์หาปริมาณไขมันและ ค่า RSD จากสูตรดังนี้

$$\text{ร้อยละของปริมาณไขมันที่ถูกสกัด (\% Yield)} = \frac{\text{น้ำหนักของไขมันที่สกัดได้ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างเนื้อ (กรัม)}} \times 100$$

หมายเหตุ : \* สกัดไขมันจำนวน 3 ซ้ำ

$$\text{RSD (\%)} = \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)}}{\text{ค่าเฉลี่ยเลขคณิต} (\bar{X})} \times 100$$

### 3. วิธี SOX (ดัดแปลงจาก A.O.A.C., 2000)

- 1.) นำขวดกลมขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร ออบในตู้อบไฟฟ้าอุณหภูมิที่ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที แล้วนำออกทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักกระทำซ้ำจนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่
- 2.) ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก 3-5 กรัม ห่อให้มีซิติกใส่ลงใน หลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยใยแก้วหรือสำลีเพื่อให้สารตัวทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในชอกเลด

3.) เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ประมาณ 150 มิลลิลิตร ลงในขวดสำหรับวิเคราะห์ไขมัน แล้ววางบนเตา

4.) ประกอบอุปกรณ์ชุดกลั่นไขมัน พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่นและเปิดสวิทซ์ให้ความร้อน ปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาทีและใช้เวลาในการสกัดไขมันนาน 14 ชม.

5.) เมื่อครบ 14 ชม. แล้ว นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากชอคเลต ที่ให้ตัวทำละลายไหลจากชอคเลตลงในขวดก้นกลมจนหมด ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ

6.) อบขวดไขมันที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียสจนแห้ง ใช้เวลาประมาณ 30 นาที ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักกระทำซ้ำจนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่

7.) คำนวณหาปริมาณไขมันและค่า RSD จากสูตรดังนี้

$$\text{ร้อยละของปริมาณไขมันที่ถูกสกัด (\% Yield)} = \frac{\text{น้ำหนักของไขมันที่สกัดได้ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างเนื้อ (กรัม)}} \times 100$$

หมายเหตุ : \* สกัดไขมันจำนวน 3 ซ้ำ

$$\text{RSD (\%)} = \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)}}{\text{ค่าเฉลี่ยเลขคณิต (X)}} \times 100$$

### 3.3.1.3 การหาประสิทธิภาพในการสกัดไขมัน

ทดสอบประสิทธิภาพในการสกัดไขมัน โดยวัดปริมาณ ร้อยละการนำกลับของไขมันที่มีการเติมลงไปในตัวอย่งที่สกัดไขมันจากตัวอย่าง ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1. นำตัวอย่างจากข้อ 3.3.1.1 สกัดไขมันที่มีอยู่เดิมในตัวอย่าง 3 ชนิดดังกล่าวด้วยวิธี SX<sub>1</sub>, SX<sub>2</sub> และ SOX ตามรายละเอียดข้อ 3.3.1.2

2. นำตัวอย่างจากข้อ 3.3.1.1 สกัดไขมันในตัวอย่าง 3 ชนิดดังกล่าว โดยการเติมน้ำมันพืช 1 กรัม (Manirakiza *et al.*, 2001) แล้วทำการสกัดด้วยวิธี SX<sub>1</sub>, SX<sub>2</sub> และ SOX ตามรายละเอียดข้อ 3.3.1.2



### 3. คำนวณร้อยละการนำกลับของไขมันและค่า RSD โดยคิดจากสูตรดังนี้

$$\text{ร้อยละการนำกลับ (\% Recovery)}^{**} = \frac{\text{น้ำหนักสุทธิของไขมัน (กรัม)}^*}{\text{น้ำหนักของไขมันที่เติมลงไป (กรัม)}} \times 100$$

หมายเหตุ: \* น้ำหนักของไขมันที่สกัดได้ (กรัม)-น้ำหนักไขมันที่มีอยู่เดิมในตัวอย่าง (กรัม)

\*\* สกัดไขมันจำนวน 3 ซ้ำ

$$\text{RSD (\%)} = \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)}}{\text{ค่าเฉลี่ยเลขคณิต} (\bar{X})} \times 100$$

#### 3.3.1.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRC) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำข้อมูลปริมาณไขมันที่สกัดได้ตามข้อ 3.3.1.2 และร้อยละการนำกลับของไขมัน ตามข้อ 3.3.1.2 วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan' new multiple range test (DMRT) (Steel and Torrie, 1980) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS for window version 13

ผลการศึกษาคัดเลือกวิธีการสกัดที่ให้ปริมาณไขมันและร้อยละการนำกลับสูงเพื่อใช้ในการศึกษาในหัวข้อ 3.3.2 ต่อไป

### 3.3.2 ปริมาณและชนิดกรดไขมันของตัวอย่างสัตว์น้ำ

#### 3.3.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

ทำการสุ่มตัวอย่างตามที่ระบุในข้อ 3.1.1 จำนวนเดือนละ 1 ครั้ง จากท่าเรือและจากที่มีจำหน่ายในตลาด จังหวัดปัตตานี ตลอดระยะเวลา 10 เดือน เริ่มเก็บตัวอย่าง วันที่ 15 กรกฎาคม 2550-15 เมษายน 2551 ตัวอย่างสัตว์น้ำถูกเก็บลงภาชนะพลาสติกปิดสนิท โดยคองน้ำแข็ง อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการเดินทางจากสถานที่สุ่มตัวอย่างถึงห้องปฏิบัติการประมาณ 15 นาที ตัวอย่างทุกประเภทสกัดไขมันภายใน 24 ชั่วโมง และนำตัวอย่างที่บดผสมแล้วสุ่มวิเคราะห์ 3 ซ้ำ



### การเตรียมตัวอย่างการวิเคราะห์

#### ก. การเตรียมเนื้อปลา

เปิดท้อง เอาอวัยวะภายในท้องปลาออก ทำความสะอาด แล่เนื้อปลา แล้วนำตัวอย่างแต่ละชนิด ชนิดละ 15 ตัว บดเข้าด้วยกันให้ละเอียด เก็บตัวอย่างบรรจุถุง แยกชนิดและเก็บที่อุณหภูมิต่ำ -20 องศาเซลเซียส

#### ข. การเตรียมเนื้อกุ้ง

แกะเปลือกกุ้งออก ทำความสะอาด เอาส่วนที่เป็นเนื้อ แล้วนำตัวอย่างแต่ละชนิด ชนิดละ 15 ตัว บดเข้าด้วยกันให้ละเอียด เก็บตัวอย่างบรรจุถุง แยกชนิดและเก็บที่อุณหภูมิต่ำ -20 องศาเซลเซียส

#### ค. การเตรียมเนื้อปลาหมึก

ทำความสะอาด หั่นเนื้อปลาหมึกให้มีขนาดเล็ก แล้วนำตัวอย่างแต่ละชนิด ชนิดละ 15 ตัว บดเข้าด้วยกันให้ละเอียด เก็บตัวอย่างบรรจุถุง แยกชนิดและเก็บที่อุณหภูมิต่ำ -20 องศาเซลเซียส

### 3.3.2.2 การวิเคราะห์กรดไขมันของตัวอย่างสัตว์น้ำ

3.3.2.2.1 สกัดไขมันจากตัวอย่างจากวิธีที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาข้อ 3.3.1

3.3.2.2.2 ทำเอสเทอร์รีฟิเคชันด้วย Acetyl chloride (ดัดแปลงจาก Folch *et al.*, 1959) อ้างโดย (Lepage and Roy, 1986) (รายละเอียดดังภาคผนวก ก 1. การวิเคราะห์ทางเคมี) ตัวอย่างไขมันจะอยู่ในรูปเมทิลเอสเทอร์กรดไขมัน (Fatty acid methyl ester; FAME)

3.3.2.2.3 การวิเคราะห์กรดไขมันด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี

1.) ตั้งค่าสภาพของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (รายละเอียดดังภาคผนวก ก 2. การวิเคราะห์ทางเคมี)

2.) ทำการฉีดสารละลายมาตรฐานผสม เมทิลเอสเทอร์กรดไขมัน 37 ชนิด (Supelco 47885-U)

3.) ฉีดตัวอย่างกรดไขมันของสัตว์น้ำแต่ละชนิด แล้วคำนวณหาปริมาณกรดไขมันเป็นร้อยละของกรดไขมันทั้งหมดและมีลิทีกัมต่อกรัมน้ำมัน แสดงดังสูตร

$$\text{กรดไขมัน (ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด)} = \frac{A_s \times 100}{A_{\text{total}}}$$

$$\text{กรดไขมัน (มิลลิกรัม/กรัมไขมัน)} = \frac{(A_s \times W_{is})}{(A_{is} \times W_s \times 1.04)}$$

เมื่อ	$A_s$	= Peak area ของกรดไขมัน
	$W_s$	= น้ำหนักของตัวอย่าง (g)
	$A_{is}$	= Peak area ของ Internal standard
	$A_{\text{total}}$	= Peak area ของกรดไขมันทั้งหมด
	$W_{is}$	= น้ำหนักของ Internal standard (mg)

### 3.3.2.3 การจัดทำฐานข้อมูลกรดไขมันตัวอย่างสัตว์น้ำ

การจัดทำฐานข้อมูลกรดไขมันตัวอย่างสัตว์น้ำจากการศึกษาข้อที่ 3.3.2.2 โดยมีวิธีการดังนี้

- 1.) จัดจำแนกความแตกต่างของชนิดกรดไขมันในตัวอย่างสัตว์น้ำแต่ละชนิด โดยจำแนกเป็นกลุ่ม ปลาทะเล ปลาน้ำจืด กุ้งและปลาหมึก
- 2.) จัดทำฐานข้อมูลกรดไขมันสัตว์น้ำ โดยจำแนกเป็นกลุ่ม ปลาทะเล ปลาน้ำจืด กุ้ง และปลาหมึก และแยกชนิดกลุ่มกรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว 1 พันธะคู่ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวมากกว่า 1 พันธะคู่ กรดไขมันชนิดกลุ่มโอเมกา 3 คือ EPA, DHA และ ALA ( $\alpha$ -Linolenic acid; C18:3n3) และ กรดไขมันชนิดโอเมกา 6 คือ AA
- 3.) จัดกลุ่มของกรดไขมันใหม่จากปลาทะเล ปลาน้ำจืด กุ้ง และปลาหมึกเพื่อวัตถุประสงค์การใช้เป็นข้อมูลจำแนกชนิดของสัตว์น้ำ

### 3.3.3 ปริมาณกรดไขมันชนิดโอเมกา 3 และโอเมกา 6

การศึกษาปริมาณกรดไขมันชนิดโอเมกา 3 และ โอเมกา 6 ที่ได้รับจากการบริโภคเนื้อสัตว์น้ำ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1.) ปริมาณกรดไขมันชนิดโอเมกา 3 และ โอเมกา 6 (มิลลิกรัม) ต่อน้ำหนักเนื้อ 100 กรัม แสดงสูตรการคำนวณดังนี้

ปริมาณกรดไขมันชนิดโอเมกา 3 และ โอเมกา 6 = X x Y

โดยที่ X คือ ปริมาณของกรดไขมันชนิดโอเมกา 3 และ โอเมกา 6 (มิลลิกรัม) ในไขมัน 1 กรัม

Y คือ ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัม) ต่อน้ำหนักเนื้อ 100 กรัม

2.) ปริมาณเนื้อที่บริโภคได้

คำนวณปริมาณร้อยละเนื้อที่สามารถบริโภคในตัวอย่างสัตว์น้ำ โดยการชั่งน้ำหนักของตัวอย่างสัตว์น้ำสด แล้วกำจัดส่วนต่างๆที่ไม่สามารถบริโภคได้ ชั่งน้ำหนักเนื้อสุดท้ายแล้วคำนวณร้อยละเนื้อที่สามารถบริโภค ซึ่งวิธีคำนวณดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณเนื้อที่สามารถบริโภคได้ (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักของเนื้อ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของสัตว์น้ำสด (กรัม)}} \times 100$$

### 3.3.4 ศึกษาการจัดทำไดอะแกรม

การจัดทำไดอะแกรม ใช้ข้อมูลของกรดไขมันจากข้อ 3.3.2.3 ในกลุ่มตัวอย่างปลาทะเล ปลาน้ำจืดและกลุ่มปลาหมึกและกุ้ง แสดงดังนี้

- เรียงลำดับปริมาณของกรดไขมันจากมากไปหาน้อย เพื่อเป็นจุดตั้งเป็นเงื่อนไขในการแยกชนิดของกรดไขมันแต่ละชนิดออกจากกัน ยกตัวอย่างเช่น กรดไขมันจากปลาชนิดหนึ่งมีปริมาณกรดไขมันมากที่สุด ร้อยละ X ใช้ค่านี้ในการใช้ตั้งเป็นเงื่อนไขเพื่อแยกกรดไขมันอื่นๆออกจากกัน

- จัดจำแนกกลุ่มตัวอย่าง กรดไขมันแต่ละประเภท ได้แก่ ปลาทะเล ปลาน้ำจืด กุ้ง และปลาหมึก ออกจากกัน

- เขียนไดอะแกรมแบบมีเงื่อนไข โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel

### 3.3.5 ศึกษาการทวนสอบไดอะแกรม

การทวนสอบไดอะแกรมมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ไดอะแกรมที่ถูกต้องและสามารถใช้ในการระบุชนิดของตัวอย่างสัตว์น้ำและตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากสัตว์น้ำ โดยมีรายละเอียดดังนี้

- สุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากสัตว์น้ำในกลุ่มปลาทะเล ปลาน้ำจืดและกลุ่มปลาหมึกและกุ้ง จากตลาดในจังหวัดปัตตานี จำนวน 15 ชนิด วิเคราะห์หากรดไขมันด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี แล้วทวนสอบไดอะแกรมตามเงื่อนไข

- สุ่มตัวอย่างสัตว์น้ำในกลุ่มปลาทะเล ปลาน้ำจืด และกลุ่มปลาหมึกและกุ้ง จากตลาดในจังหวัดปัตตานี จำนวน 15 ชนิด จากรายการวัตถุดิบ ข้อ 3.1.1 วิเคราะห์หากรดไขมันด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี แล้วทวนสอบไดอะแกรมตามเงื่อนไข

Prince of Songkla University  
Pattani Campus