ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ค่าทางกายภาพ

ก1. การวัดค่าแรงดึง

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดเนื้อสัมผัส ยี่ห้อ Texture Analyzer รุ่น TA-XT2i
2. หัววัด Tensile roller grip

วิธีการทดลอง

1. นำตัวอย่างชิ้นปลาหมึกที่ได้จากการแล่กล้ามเนื้อส่วนลำตัว ขนาด 1.5 x 10 x 0.2 เซนติเมตร วัดค่าแรงดึงโดยใช้ Tensile roller grip ดึงตัวอย่างด้วยความเร็ว 2 มิลลิเมตรต่อวินาที จนตัวอย่างขาดออกจากกัน รายงานผลเป็นค่าแรงดึง (Tensile force) หน่วยเป็น กรัม

ก2. การวัดค่าเนื้อสัมผัส (ดัดแปลงจาก Ueng and Chow, 1998)

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดเนื้อสัมผัส ยี่ห้อ Texture Analyzer รุ่น TA-XT2i
2. หัววัด Warner-Bratzler (WB)

วิธีการทดลอง

1. นำตัวอย่างชิ้นปลาหมึกขนาด 2 x 3 เซนติเมตร มาวัดค่าเนื้อสัมผัส โดยใช้หัววัด Warner-Bratzler (WB) ความเร็ว 2 มิลลิเมตรต่อวินาที ตัดชิ้นตัวอย่างจากทางด้านนอกของลำตัว รายงานผลเป็นค่าแรงเฉือน (Shear force) หน่วยเป็น กรัม

ก3. การตรวจสอบการสูญเสียน้ำหนัก (Ueng and Chow, 1998)

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักก่อนและหลังการแปรรูป (แช่สารละลายหรือแช่แข็ง)

การคำนวณ

$$\text{การสูญเสียน้ำหนัก (ร้อยละ)} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักก่อนและหลังการแปรรูป}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนการแปรรูป}} \times 100$$

ก4. การตรวจสอบความสามารถในการอุ้มน้ำ (ดัดแปลงจาก Ng, 1978)

อุปกรณ์

1. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เส้นผ่าศูนย์กลาง 11 เซนติเมตร
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
3. ตุ้มน้ำหนักมาตรฐาน ขนาด 5 กิโลกรัม
4. นาฬิกาจับเวลา

วิธีการทดลอง

1. ตัดตัวอย่างเป็นชิ้นขนาด 1 x 10 เซนติเมตร ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง (A1)
2. นำตัวอย่างมาวางบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จำนวน 3 แผ่น
3. ปิดทับด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จำนวน 2 แผ่น
4. กดทับด้วยตุ้มน้ำหนักขนาด 5 กิโลกรัม จับเวลา 5 นาที
5. นำชิ้นตัวอย่างออกจากกระดาษกรอง แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (A2)

การคำนวณ

$$\text{ความสามารถในการอุ้มน้ำ (ร้อยละ)} = \frac{(A1-A2)}{A1} \times 100$$

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ค่าทางเคมี

ข1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 1999)

อุปกรณ์

1. ตู้อบไฟฟ้า
2. ภาชนะหาความชื้น (ฐานอลูมิเนียม พร้อมฝา)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งหาน้ำหนัก
2. ทำเช่นเดียวกับข้อที่ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนอย่างละเอียด ประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงใน
4. ภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว
5. นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง
6. นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งหาน้ำหนัก
7. อบซ้ำอีกครั้งละประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = 100 \times \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างก่อนและหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}}$$

ข2. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 1999)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (Soxhlet apparatus) ประกอบด้วยขวดกลม สำหรับใส่ตัวทำละลาย ซอคเลต (Soxhlet) เครื่องควบแน่น (Condenser) และเตาให้ความร้อน (Heating Mantle)
2. หลอดใส่ตัวอย่าง (Extraction thimble)
3. สำลี

4. ตู้อบไฟฟ้า
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
6. โถดูดความชื้น

สารเคมี

1. ปิโตรเลียม อีเทอร์ (ตัวทำละลาย)

วิธีการ

1. อบขวดก้นกลมสำหรับหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้าทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก ประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิด แล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยสำลีเพื่อให้ตัวทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ
3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซอคเลต
4. เติมตัวทำละลายลงในขวดหาไขมันปริมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตา
5. ประกอบอุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่นและเปิดสวิทซ์ให้ความร้อน
6. ทำการสกัดไขมันเป็นเวลา 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของตัวทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่น ด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที
7. เมื่อครบ 14 ชั่วโมง นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอคเลต ทิ้งให้ตัวทำละลายไหลจากซอคเลตลงในขวดก้นกลมจนหมด
8. ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ
9. นำขวดหาไขมันอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส จนแห้งใช้เวลาประมาณ 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
10. ชั่งน้ำหนัก แล้วอบซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = 100 \times \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

ข3. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 1999)

อุปกรณ์

1. เตาเผา (Muffle furnace)
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Porcelain crucible)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ปิดสวิตซ์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาลดลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
2. เผาซ้ำอีกครั้ง ครั้งละประมาณ 30 นาที และทำเช่นเดียวกับข้อที่1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้ง ติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส และทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

ข4. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

อุปกรณ์

1. ขวดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask) ขนาด 250-300 มิลลิลิตร
2. ชุดกลั่นโปรตีน
3. ขวดปรับปริมาตร (Volumemetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
4. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 50 มิลลิลิตร
5. ปิเปต ขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
6. บิวเรต ขนาด 25 มิลลิลิตร
7. กระดาษกรอง

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารเร่งปฏิกิริยา คอปเปอร์ซัลเฟต (Cu_2SO_4) 1 ส่วนต่อโปแตสเซียมซัลเฟต (N_2SO_4) 9 ส่วน
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้นร้อยละ 40
4. กรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4
5. กรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 0.02 นอร์มอล
6. อินดิเคเตอร์เป็นสารผสมระหว่าง เมทิลเรด เมทิลีนบลูและโบรโมครีซอลกรีน

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหารลงบนกระดาษกรองให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิดใส่ลงในขวดย่อยโปรตีน
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 5 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 15 มิลลิลิตร
3. นำไปย่อยในเครื่องย่อยโปรตีนในตู้ดูดควันจนกระทั่งได้สารละลายใส ปล่อยทิ้งให้เย็น
4. เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ในหลอดย่อย วางหลอดในเครื่องกลั่น
5. เติม กรดบอริก 40 มิลลิลิตรลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมอินดิเคเตอร์ นำไปรองรับของเหลวที่ได้จากการกลั่น กลั่นจนสารละลายในขวดรูปชมพู่เปลี่ยนเป็นสีเขียว
6. นำสารที่ได้จากการกลั่นมาไตเตรทด้วย 0.1 N จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง
7. ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกัน ตั้งแต่ข้อ 2-6

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(A-B)xNx1.4007\,x6.25}{W}$$

โดยที่ A = ปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรทกับ blank (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของกรด (นอร์มอล)

W = น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

1.4007 = น้ำหนักสมมูลของไนโตรเจน

6.25 = แฟกเตอร์

ข5. การวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (AOAC, 1999)

อุปกรณ์

1. Hot plate
2. ตู้ดูดควัน
3. บิวเรต ขนาด 50 และ 20 มิลลิลิตร
4. ปิเปต ขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
5. กระดาษกรอง Whatman No.1

สารเคมี

1. สารละลายซิลเวอร์ไนเตรท 0.1 นอร์มอล
2. สารละลายโพแทสเซียมไธโอไซนาเนท (KSCN) 0.1 นอร์มอล
3. กรดไนตริกเข้มข้น
4. 5 % Ferric alum indicator

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนักแน่นอนในช่วง 1-2 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่
2. เติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท 0.1 นอร์มอล 10-20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
3. ต้มสารผสมในตู้ดูดควันประมาณ 10 นาที แล้วทิ้งให้เย็น
4. กรองสารละลายที่ได้ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
5. เติมสารละลาย Ferric alum ลงไป 5 มิลลิลิตร แล้วไตเตรทด้วย 0.1 N KSCN จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีชมพูอ่อน

การคำนวณ

$$\text{เกลือ (\%)} = 5.8 \times \frac{[(\text{มล. x N}) AgNO_3 - (\text{มล. x N}) KSCN)]}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

ข6. การวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟต (AOAC, 1999)

อุปกรณ์

1. หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร
2. โฮโมจิไนเซอร์
3. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
4. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

สารเคมี

1. กรดไตรคลอโรอะซิติก (TCA) เข้มข้นร้อยละ 10
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 นอร์มอล
3. 1.5 % Ammonium molybdate เข้มข้นร้อยละ 1.5
4. ไฮดราซีนซัลเฟต เข้มข้นร้อยละ 1
5. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 1000 μg P/ml

(Stack std. Solution)

Intermediate std. Solution 10 μg P/ml

Working std. Solution 10, 20, 30, 40 และ 50 μg P/ml

การสกัด

1. ชั่งตัวอย่างที่บดผสมแล้ว 10 กรัม
2. เติม 10 % TCA 20 มิลลิลิตร โฮโมจิไนส์นาน 5 นาที
3. กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ชะตะกอนด้วย 10 % TCA 10 มิลลิลิตร
4. ปรับพีเอชสารละลายที่กรองได้ด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล จนได้พีเอช 4.5-5 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
5. ปิเปตสารละลายในข้อที่ 4 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ด้วยน้ำกลั่น

วิธีการ

1. ปิเปตสารที่สกัดได้ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นอีก 9 มิลลิลิตร
2. เติม 1.5 % Ammonium molybdate 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
3. จุ่มในน้ำเดือดนาน 10 นาที เติม 1 %ไฮดราซีนซัลเฟต 2 มิลลิลิตรและผสมให้เข้ากัน

4. จุ่มในน้ำเดือดนาน 20 นาที
5. ทำให้เย็นด้วยน้ำเย็น นาน 20 นาที
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 830 nm
7. หาค่าการดูดกลืนแสงของ working std. solution เช่นเดียวกับตัวอย่างตั้งแต่ข้อที่ 1-6 เพื่อหากราฟมาตรฐาน

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณฟอสเฟต (ppm as P)} = \frac{Cx\ 25\ x50}{Wx\ 1x1}$$

$$\text{หรือ ปริมาณฟอสเฟต (ppm as phosphorus pentoxide; } P_2O_5) = \frac{Cx25x50x71}{wx1x1x31}$$

C = ปริมาณฟอสเฟตจากกราฟมาตรฐาน

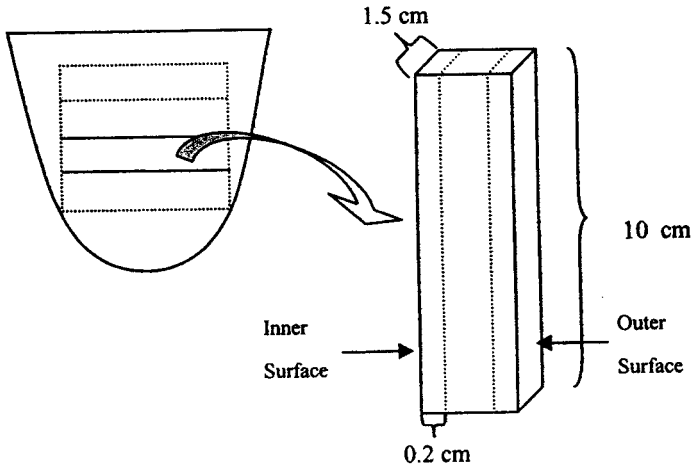
W = น้ำหนักตัวอย่าง

25/1 = dilution factor

71/31= factor changing P to P_2O_5

ภาคผนวก ค การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ค่าทางกายภาพและค่าทางเคมี

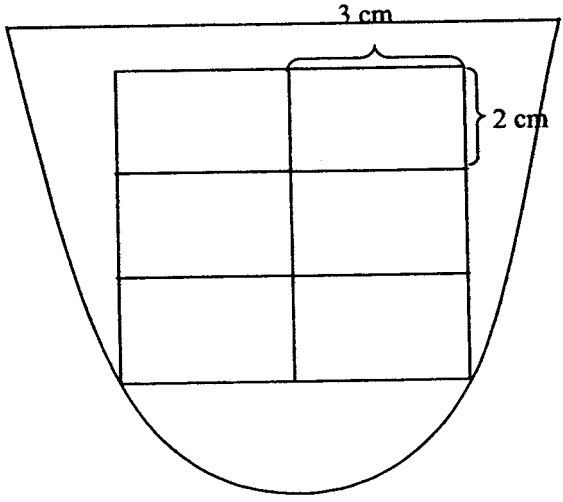
ค1. การตัดตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ค่าแรงดึง



ภาพภาคผนวกที่ 1 การตัดตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ค่าแรงดึง

Appendix figure1 Sampling diagram for excising the cuttlefish mantle for tensile force.

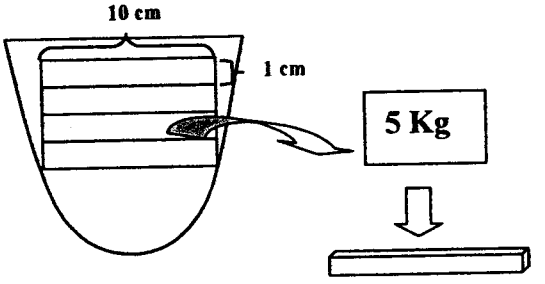
ค2. การตัดตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ค่าแรงเฉือน (ดัดแปลงจาก Ueng และ Chow, 1998)



ภาพภาคผนวกที่ 2 การตัดตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ค่าแรงเฉือน

Appendix figure 2 Sampling diagram for excising the cuttlefish mantle for shear force.

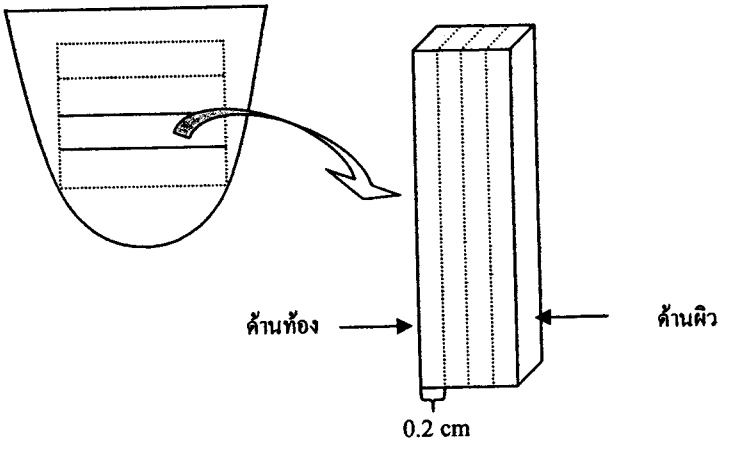
ค3. การตัดตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์การสูญเสียของเหลวด้วยแรงบีบอัด



ภาพภาคผนวกที่ 3 การตัดตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำ

Appendix figure 3 Sampling diagram for excising the cuttlefish mantle for water holding capacity.

ค4. การตัดตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ค่าความชื้น, ค่าเกลือและคอลลาเจน



ภาพภาคผนวกที่ 4 การตัดตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ค่าความชื้น, ค่าเกลือและคอลลาเจน

Appendix figure 4 Sampling diagram for excising the cuttlefish mantle for moisture, NaCl and collagen.

ภาคผนวก ง วิธีการเตรียมตัวอย่างสำหรับการตรวจสอบโครงสร้างทางจุลภาคด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (ดัดแปลงจาก Palka และ Daun, 1999)

สารเคมี

1. 2.5 % กลูทารอลดีไฮด์ (glutaraldehyde) ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.2 โดยปริมาตรต่อปริมาตร

2. สารละลายเอธานอล ความเข้มข้นร้อยละ 25 50 70 90 และ 100 โดยปริมาตรต่อปริมาตร

วิธีการ

1. ตัดตัวอย่าง ขนาด กว้าง x ยาว x หนา เท่ากับ 0.5 x 1.0 x ความหนาของส่วนลำตัวปลาหมึก เซนติเมตร แช่ชิ้นตัวอย่างในสารละลายกลูทาราลดีไฮด์ ให้สารละลายท่วมชิ้นตัวอย่าง นาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ล้างตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นจนน้ำที่ล้างไม่มีสีเหลือง

2. ดึงน้ำออกจากตัวอย่างโดยการแช่ในสารละลายเอธานอล ที่ความเข้มข้น 25 50 70 90 และ 100 นานความเข้มข้นละ 1 ชั่วโมง

3. ตัดชิ้นตัวอย่างให้บาง (ตัดขณะที่ชิ้นเนื้อแช่อยู่ในสารละลายเอธานอล ความเข้มข้น ร้อยละ 100 (v/v))

การตรวจสอบตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM JOEL JSM-5200) ใช้กำลังขยาย x 5,000 เพื่อตรวจสอบตัวอย่างทั้งในแนวขวาง (transverse section) และแนวยาวของลำตัว (longitudinal section) working distance 15 mm. , 10 kv