7. ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 1980)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ภาชนะอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น (Aluminium dish)
2. ตู้อบไฟฟ้า (Electric oven)
3. เดสิกเคเตอร์ (Desiccator)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า

วิธีการวิเคราะห์

1. อบภาชนะอลูมิเนียมสำหรับหาปริมาณความชื้นที่อุณหภูมิ 105 °ซ จนน้ำหนักคงที่ ใช้เวลาประมาณ 2 - 3 ชั่วโมง
2. ชั่งตัวอย่างอาหารให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1 - 3 กรัม
3. ใส่ตัวอย่างอาหารลงในภาชนะสำหรับหาปริมาณความชื้น และอบที่อุณหภูมิ 105 °ซ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง แล้วอบซ้ำจนน้ำหนักตัวอย่างคงที่ หรือเปลี่ยนแปลงไม่เกิน 3 มก.

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (A.O.A.C., 1980)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. อุปกรณ์ย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask) ขนาด 250 - 300 มล.
2. อุปกรณ์กลั่นโปรตีน (Semi-microdistillation Apparatus)
3. ปิเปต (Pipette) ขนาด 5 และ 10 มล.

4. flask ขนาด 50 มล. และ Volumetric flask ขนาด 100 มล.
5. บิวเรตต์ (Burette) ขนาด 25 มล.
6. ลูกแก้ว (glass bead)
7. กระดาษกรองชนิด Ashless
8. สารผสมระหว่างคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) และโปตัสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) อัตราส่วน 1 : 10
9. กรดซัลฟุริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4)
10. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 60 %
11. กรดเกลือ (HCl) เข้มข้น 0.02 นอร์มอล
12. อินดิเคเตอร์ผสม ระหว่างเมทิลเรด, เมทิลีนบูล และโบรโมครีซอลกรีน

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ห่อตัวอย่าง 0.5 - 1 กรัม ด้วยกระดาษกรอง แล้วใส่ใน kjeldahl flask
2. เติมสารผสม $CuSO_4$ และ K_2SO_4 (อัตราส่วน 1 : 10) 5 กรัม
3. เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 20 มล.
4. ใส่ลูกแก้ว
5. ย่อยบนเตาไฟจนได้สารละลายใสแล้วย่อยต่อประมาณ 30 นาที
6. ทิ้งให้เย็น
7. ล้างคอขวดด้วยน้ำกลั่นร้อน
8. ปรับปริมาตรเมื่อเย็น ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล.
9. จัดอุปกรณ์กลั่น (Semi-microdistillation apparatus)
10. นำ flask ขนาด 100 มล. ซึ่งบรรจุกรดบอริก 4% 5 มล. และน้ำกลั่น 5 มล. โดยเติมอินดิเคเตอร์ผสมเรียบร้อยแล้วไปรองรับของเหลวที่ได้จากการกลั่น
11. เติมสารละลายตัวอย่างในช่องใส่สารตัวอย่าง เติม 60% โซเดียมไฮดรอกไซด์ 20 มล.

12. กลั่น 10 นาที

13. ไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดเกลือ 0.02 นอร์มอล สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง

14. ทำ Blank

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\%)} = \frac{(A - B)\ N \times 14 \times 6.25}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

A = ปริมาตร HCl ที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่าง

B = ปริมาตร HCl ที่ใช้ในการไตเตรท Blank

N = ความเข้มข้น HCl หน่วยเป็นนอร์มอล

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (A.O.A.C., 1980)

<u>อุปกรณ์และสารเคมี</u>

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (Soxhlet apparatus) ประกอบด้วยขวดกลมสำหรับใส่ตัวทำละลาย, ซอคเลท (Soxhlet), เครื่องควบแน่น (Condenser) และเตาให้ความร้อน (heating mantle)

2. หลอดใส่ตัวอย่าง (Extraction thimble)

3. ใยแก้วหรือสำลี

4. ตู้อบไฟฟ้า

5. เดสิกเคเตอร์ (Desiccator)

6. ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether)

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. อบขวดกลมสำหรับหาปริมาณไขมันที่ 105 °ซ ชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักที่แน่นอน

2. ห่อตัวอย่างอาหาร 3 - 5 กรัม ด้วยกระดาษกรอง แล้วใส่ในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่างคลุมด้วยใยแก้วหรือสำลี

3. นำหลอดตัวอย่าง (thimble) ใส่ลงใน Soxhlet

4. เติมตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ลงในขวดกลมหาไขมัน ขนาด 250 มล. ปริมาณ 150 มล.

5. ประกอบชุดสกัดไขมัน และทำการสกัดเป็นเวลา 14 ชั่วโมง

6. เมื่อครบเวลา ทำการสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์เพื่อนำกลับไปใช้ใหม่ จนสารละลายในขวดกลั่นเหลือเพียงเล็กน้อย

7. นำขวดหาไขมันไปอบที่ 50 - 90 °ซ จนแห้ง ใช้เวลาประมาณ 30 นาที ชั่งน้ำหนัก

8. อบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักที่คงที่

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย (A.O.A.C., 1980)

<u>อุปกรณ์และสารเคมี</u>

1. อุปกรณ์ชุดหาปริมาณเส้นใย ประกอบด้วยบีกเกอร์ขนาด 600 มล. อุปกรณ์ควบแน่นและอุปกรณ์ให้ความร้อน

2. กระดาษกรองชนิด Ashless

3. กรวยกรอง

4. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Crucible)

5. ตู้อบไฟฟ้า (Electric oven)

6. เตาเผา (Muffle furnace)

7. เดสิกเคเตอร์ (Desiccator)

8. กรดซัลฟุริก (H_2SO_4) เข้มข้น 1.25 %

9. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 1.25%

10. เอธิลอัลกอฮอล์ 95%

วิธีการวิเคราะห์

1. ใส่ตัวอย่างที่ผ่านการสกัดไขมันออกแล้ว ลงในบีกเกอร์หาปริมาณเส้นใย ขนาด 600 มล.

2. เติม 1.25 % กรดซัลฟุริก ปริมาณ 200 มล.

3. ย่อยโดยการต้มให้เดือด 30 นาที บนอุปกรณ์ควบแน่น

4. กรองขณะร้อนผ่านกระดาษกรอง

5. ล้างด้วยน้ำกลั่นร้อนจนกระทั่งหมดความเป็นกรด

6. ถ่ายกากที่ได้ลงในบีกเกอร์ใบเดิม

7. เติม 1.25% โซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาณ 200 มล.

8. ย่อยต่ออีก 30 นาที บนอุปกรณ์ควบแน่น

9. กรองขณะร้อนผ่านกระดาษกรองชนิด Ashless

10. ล้างตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นร้อนจนหมดความเป็นด่าง

11. ล้างด้วยเอธิลอัลกอฮอล์ 95% ปริมาณ 25 มล.

12. นำกระดาษกรองพร้อมกาก ใส่ใน crucible อบที่ 105 °ซ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนัก

13. อบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักคงที่

14. นำไปเผาที่ 550 °ซ เวลา 30 นาที ชั่งน้ำหนัก

15. เผาซ้ำครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักที่คงที่

$$\text{ปริมาณเส้นใย (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนเผา} - \text{น้ำหนักหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

การวิเคราะห์ปริมาณเถ้าและทราย (A.O.A.C., 1980)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เตาเผา (Muffle furnace)
2. ตู้อบไฟฟ้า (Electric oven)
3. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Porcelain crucible)
4. เครื่องอังไอน้ำ (Water bath)
5. กระจกนาฬิกา (Watch glass)
6. เดสิกเคเตอร์ (Desiccator)
7. กรดเกลือเข้มข้น (conc. HCl)
8. สารละลายซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) 0.1 นอร์มอล

วิธีการวิเคราะห์

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบที่อุณหภูมิ 550 °ซ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วทำการชั่งน้ำหนักอบซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่

2. ชั่งตัวอย่างอาหารให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องแล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 °ซ เป็นเวลา 3 - 4 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนัก (ก่อนเผาที่อุณหภูมิ 550 °ซ เผาไล่ควันก่อน)

3. ทำซ้ำโดยเผาครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักคงที่ (ต่างกันไม่เกิน 3 มก.)

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

4. จากข้อ 3 เติมกรดเกลือเข้มข้น 5 มล. ตั้งบนเครื่องอังไอน้ำจนแห้ง

5. เติมกรดเกลือเข้มข้น 25 มล. ปิดด้วยกระจกนาฬิกา ให้ความร้อน 15 นาที

6. กรองด้วยกระดาษกรองชนิด Ashless แล้วล้างด้วยน้ำจนหมดคลอไรด์ (ทดสอบน้ำล้างด้วยสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท)

7. นำกระดาษกรองอบที่ 105 °ซ จนแห้ง
8. เผาในถ้วยกระเบื้องใบเดิมที่ 550 °ซ เป็นเวลา 1 - 2 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนัก
9. เผาซ้ำครั้งละ 30 นาที โดยให้ได้น้ำหนักคงที่

$$\text{ปริมาณทราย (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักทราย (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรท (A.O.A.C., 1980)

ปริมาณคาร์โบไฮเดรททั้งหมด = น้ำหนักแห้ง - (โปรตีน + ไขมัน + เถ้า)

การวิเคราะห์หาปริมาณเกลือ (A.O.A.C., 1980)

<u>อุปกรณ์และสารเคมี</u>

1. Erlenmeyer flask ขนาด 300 มล.
2. กระบอกตวง (Cylinder)
3. บิวเรตต์ (Burette)
4. ปิเปต (Pipette)
5. เตาให้ความร้อน
6. สารละลายซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) 0.1 นอร์มอล
7. Ferric Indicator ($FeNH_4SO_4.12H_2O$)
8. Nitrobenzene
9. แอมโมเนียมไทโอไซยาเนต (NH_4SCH) 0.1 นอร์มอล

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. นำตัวอย่างมาประมาณ 100 กรัม บดให้ละเอียด
2. ชั่งตัวอย่างที่บดแล้วจำนวน 2 กรัม ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 300 มล.

3. เติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรท 0.1 นอร์มอล 20 มล.

4. เติม กรดไนตริกเข้มข้น ปริมาณ 20 มล.

5. ย่อยบนเตาให้ความร้อนเป็นเวลาประมาณ 10 นาที

6. ทิ้งให้เย็น เติม Ferric indicator ($FeNH_4SO_4.12H_2O$) และ 1 มล. Nitrobenzene

7. ไตเตรทกับสารละลาย 0.1 นอร์มอล แอมโมเนียมไทโอไซยาเนตจนได้สารละลายสีน้ำตาลอ่อน

$$\text{ปริมาณเกลือ (\%)} = \frac{0.00585 \times \text{มล.ไตเตอร์} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (นัยทัศน์ ภู่ศรันย์, 2531)

<u>วัสดุอุปกรณ์</u>

1. จานเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์
2. ปิเปตขนาด 1 5 และ 10 มล.
3. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 30 - 37 °ซ
4. Plate Count Agar (PCA)
5. โถปั่นปราศจากเชื้อ
6. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.01 โมลาร์

<u>วิธีการตรวจวิเคราะห์</u>

1. ชั่งตัวอย่าง 100 กรัม ใส่ในโถปั่นปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ ปั่น 30 วินาที
2. ชั่งตัวอย่างที่บดแล้ว 10 กรัม ใสขวดเจือจางที่มีสารละลายบัฟเฟอร์ 90 มล.
3. เขย่า 25 ครั้ง
4. เจือจางให้ได้ระดับความเจือจาง 10^{-2}

5. pour plate จากตัวอย่างที่ทำการเจือจาง 10^{-2} ครั้งละ 1 มล. โดยใช้อาหาร PCA ทำซ้ำ 2 ครั้ง

6. บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 2 วัน ตรวจสอบผลการวิเคราะห์