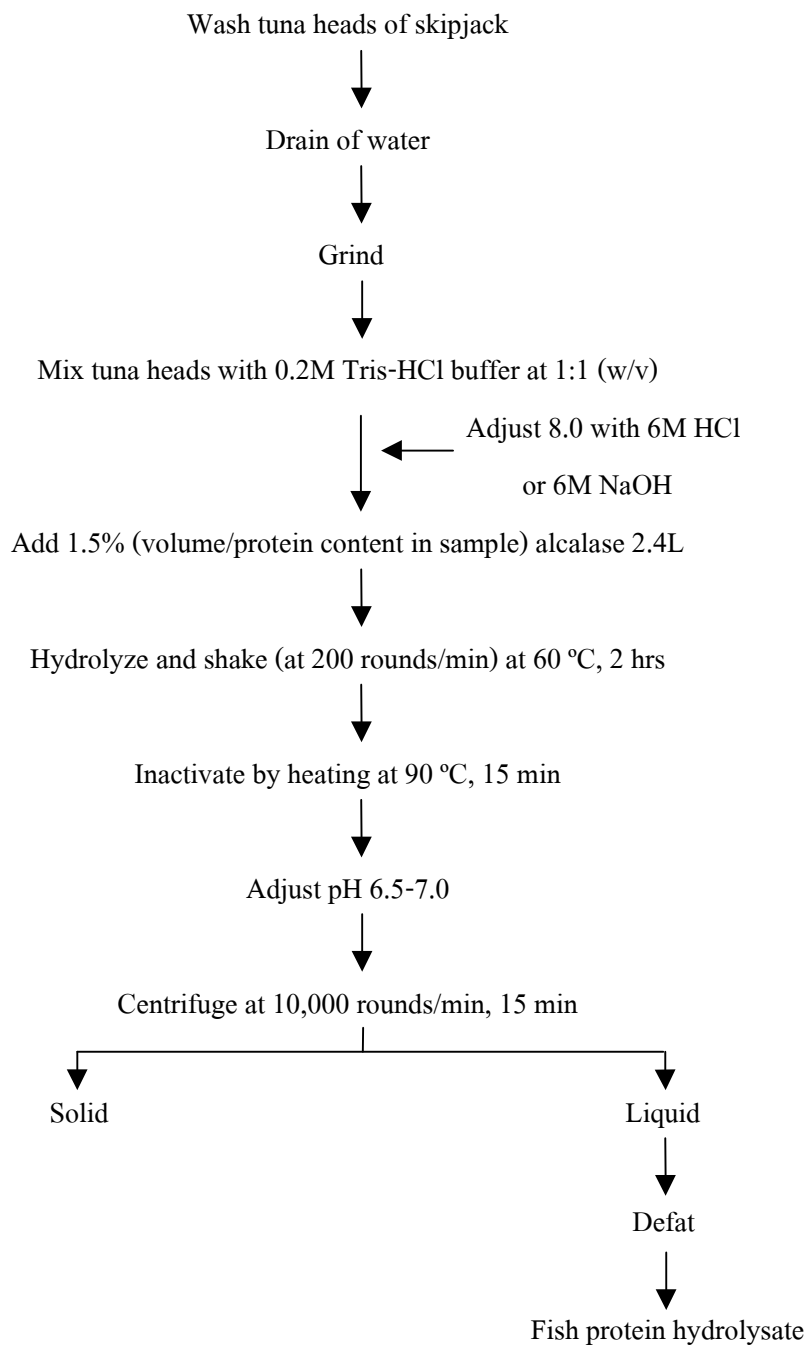


ภาคผนวก ก การผลิตโปรตีนปลาไฮโดรไลเสต



ภาพภาคผนวกที่ 1 การย่อยสลายหัวปลาทูน่าพันธุ์โอแถบด้วยเอนไซม์อัลคาเลส

The alcalase hydrolysis of tuna heads of skipjack.

ที่มา: คัดแปลงจาก อัจฉริยา เชื้อช่วยชู (2542)

Source: Modified from Chouchaychoo (1999)

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบทางเคมี

ข1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. ตู้อบไฟฟ้าอุณหภูมิ
2. ภาชนะหาคความชื้น
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาคความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้ถึงไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างอาหารที่ต้องการหาคความชื้นให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาคความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว

4. นำไปอบในตู้ไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้ถึงไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่างนั้น จากนั้นนำกลับไปเข้าตู้อบอีกครั้ง

5. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 4 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ โดยน้ำหนัก)} = \frac{(W_1 - W_2) \times 100}{W_1}$$

กำหนดให้ W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

ข2. การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (soxhlet apparatus) ประกอบด้วย ขวดกลมสำหรับใส่ตัวทำละลาย ซอกเลต (soxhlet) เครื่องควบแน่น (condenser) และเตาให้ความร้อน (heating mantle)
2. หลอดใส่ตัวอย่าง (extraction thimble)
3. ตู้อบไฟฟ้าอุณหภูมิ
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

วิธีการ

1. อบขวดกลมสำหรับหาปริมาณไขมันซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิของขวดก่อนกลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิดแล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง กลุ่มด้วยสำลี เพื่อให้สารทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ

4. นำตัวอย่างใส่ลงในซอกเลต เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในขวดหาไขมัน ปริมาตร 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตาให้ความร้อน

5. ทำการสกัดไขมันเป็นเวลา 14 ชั่วโมง โดยปรับเตาความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที

6. เมื่อครบ 14 ชั่วโมง นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอกเลต และกลั่นเก็บสารทำละลายจนเหลือสารทำละลายในขวดกลมเพียงเล็กน้อยด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลาย

7. นำขวดหาไขมันนั้นไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 ± 2 องศาเซลเซียส จนแห้งจึงนำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิของขวดก่อนกลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

8. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 7 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{W_2 \times 100}{W_1}$$

กำหนดให้ W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)
 W_2 คือ น้ำหนักไขมันหลังอบ (กรัม)

ข3. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ย่อยโปรตีน ประกอบด้วย เต้าและหลอดย่อยสำหรับใส่ตัวอย่าง
2. อุปกรณ์กลั่นโปรตีน
3. บีเปิด
4. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
5. บิวเรตขนาด 25 มิลลิลิตร
6. เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น
2. สารเร่งปฏิกิริยา ใช้คอปเปอร์ซัลเฟต 1 ส่วน ต่อโปแตสเซียมซัลเฟต 9 ส่วน
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40
4. กรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4
5. สารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.02 นอร์มอล
6. อินดิเคเตอร์ สารผสมระหว่างเมทิลดีนบลู เมทิลเรด และ โบรโมครีซอลกรีน

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร (ของแข็ง) ให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 1-2 กรัม (ของเหลว) ใช้ปริมาตร 10-15 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน และทำแบลงค์ด้วย
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 5 กรัม
3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 20 มิลลิลิตร
4. วางหลอดย่อยลงในเต้าย่อย แล้วประกอบสายยางระหว่างฝาครอบขวดใส่ค้าง และเครื่องจับไอกรดให้เรียบร้อย

5. เปิดสวิทช์เครื่อง scrubber และเตาย่อย แล้วตั้งอุณหภูมิเป็น 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปรับอุณหภูมิเป็น 380 องศาเซลเซียส แล้วย่อยต่ออีก 120 นาที จนได้สารละลายใส

6. ปิดสวิทช์เตาย่อย นำออกจากเตาย่อยและวางทิ้งไว้ให้เย็น

7. จัดอุปกรณ์กลั่น เปิดสวิทช์ไฟ แล้วเปิดน้ำหล่อเย็นและเครื่องควบแน่น

8. นำขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งเติมอินดิเคเตอร์แล้ว เติมกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และรองรับของเหลวที่ได้จากการกลั่น โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลาย

9. ต่อหลอดย่อยโปรตีนเข้ากับเครื่องกลั่น เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จนสีของตัวอย่างในหลอดย่อยเปลี่ยนเป็นสีดำ

10. กลั่นให้ได้ของเหลวในขวดรูปชมพู่ ประมาณ 100-150 มิลลิลิตร

11. ใสเตรทสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายกรดเกลือที่มีความเข้มข้น 0.02 นอร์มอล จนสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ โดยน้ำหนัก)} = \frac{(a-b) \times N \times 14.007 \times F}{W}$$

กำหนดให้ a คือ ปริมาตรของสารละลายกรดเกลือที่ใช้กับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

b คือ ปริมาตรของสารละลายกรดเกลือที่ใช้กับ blank (มิลลิลิตร)

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือ (นอร์มอล)

W คือ น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

F คือ factor เป็นตัวเลขที่เหมาะสม

(น้ำหนักกรัมสมมูลของไนโตรเจน = 14.007)

ข4. การวิเคราะห์หาปริมาณถั่ว (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. เตาเผา (muffle furnace)
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

วิธีการ

1. เฝาด้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ปิดสวิทซ์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาตกลงก่อนแล้วนำออกจากเตาเผาใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิของด้วยกระเบื้องเคลือบลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
2. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างอาหารให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในด้วยกระเบื้องเคลือบที่รู้น้ำหนักแน่นอน แล้วนำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน
4. นำด้วยกระเบื้องเคลือบที่ใส่ตัวอย่างอาหารเข้าเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส กระทำเช่นเดียวกับข้อที่ 1-2

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{W_2 \times 100}{W_1}$$

กำหนดให้ W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)

ข5. การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมด (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. ด้วยกระเบื้องสำหรับระเหย
2. ตู้อบไฟฟ้าอุณหภูมิ
3. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
4. โถดูดความชื้น
5. เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

วิธีการ

1. นำด้วยกระเบื้องล้างให้สะอาด อบให้แห้งในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105±2 องศาเซลเซียส นานเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิของด้วยกระเบื้องลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
2. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม และเติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร (สำหรับของแข็ง) หรือตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร (สำหรับของเหลว) ใส่ลงในถ้วยกระเบื้องสำหรับระเหยที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว
4. นำไประเหยให้แห้งในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 95 ± 2 องศาเซลเซียส
5. อบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิของถ้วยกระเบื้องลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
6. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 5 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{W_2 \times 100}{W_1}$$

กำหนดให้ W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักของแข็งหลังอบ (กรัม)

ข6. การวิเคราะห์ TBA number (Thiobarbituric acid) (Egan *et al.*, 1981)

อุปกรณ์

1. ชุดกลั่นและเตาไฟฟ้า
2. บีเปิด
3. หลอดทดลองชนิดมีจุกปิด
4. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

สารเคมี

1. สารละลายกรดเกลือเข้มข้น 4 นอร์มอล
2. สารป้องกันการเกิดฟอง
3. สารละลายกรดไซโอบาร์บิทริก ละลายกรดไซโอบาร์บิทริก 0.2883 กรัม ลงในกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 90

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 10 กรัม ลงในขวดกลั่น และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 97.5 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 4 นอร์มอล ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร (pH ควรจะเป็น 1.5) แล้วเติมสารป้องกันการเกิดฟอง
3. กลั่นให้ได้ของเหลว ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ภายในเวลา 10 นาที
4. คูดสารที่กลั่นได้ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีฝาจุกปิด
5. เติมสารละลายกรดไซโอบาร์บิทูริก ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าและให้ความร้อนด้วยน้ำเดือด เป็นเวลานาน 35 นาที
6. ทำ blank ด้วยวิธีเดียวกัน โดยใช้น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร แทนสารที่กลั่นได้
7. นำตัวอย่างและ blank ที่เย็นแล้ว ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร

การคำนวณ

TBA number (มิลลิกรัมมาโลนอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง) = $7.8 \times (a-b)$

กำหนดให้ a คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ 532 นาโนเมตร

b คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ blank ที่ 532 นาโนเมตร

ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ทางกายภาพ

ค1. การวิเคราะห์ค่าความหนาแน่น (bulk density) (ธงชัย สุวรรณดิษฐ์, 2535)

อุปกรณ์

1. กระจกตวงขนาด 250 มิลลิลิตร
2. กระจกตวงขนาด 500 มิลลิลิตร
3. กรวยพลาสติก
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

วิธีการ

1. นำเมล็ดงาใส่กระจกตวงขนาด 250 มิลลิลิตร จนเต็ม ปาดปากแก้วให้เรียบ
2. นำเมล็ดงาจากข้อที่ 1 ไปเทใส่กระจกตวงขนาด 500 มิลลิลิตร ซึ่งมีกรวยรองรับอยู่บนปากกระจกตวง และอ่านปริมาตรของเมล็ดงา
3. นำตัวอย่างอาหารประมาณ 3 ช้อน มาชั่งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน
4. นำตัวอย่างอาหารใส่กระจกตวงขนาด 250 มิลลิลิตร และเทเมล็ดงาใส่ลงไปจนเต็ม ปาดปากแก้วให้เรียบ
5. นำเมล็ดงาจากข้อที่ 4 ไปเทใส่กระจกตวงขนาด 500 มิลลิลิตร ซึ่งมีกรวยรองรับอยู่บนปากกระจกตวง และอ่านปริมาตรของเมล็ดงา

การคำนวณ

$$\text{ค่าความหนาแน่น (กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)} = \frac{100 \times A}{V_1 - V_2}$$

กำหนดให้ A คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

V_1 คือ ปริมาตรของเมล็ดงาหนึ่งกระจกตวงซึ่งไม่มีตัวอย่างอยู่ (มิลลิลิตร)

V_2 คือ ปริมาตรของเมล็ดงาหนึ่งกระจกตวงซึ่งมีตัวอย่างอยู่ (มิลลิลิตร)

ค2. การวิเคราะห์ค่าความสามารถในการดูดซับน้ำ (Ning *et al.*, 1991)

อุปกรณ์

1. เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ
2. ปีเปต
3. ตู้อบไฟฟ้า
4. ภาชนะหาความชื้น

5. โดคูดความชื้น
6. เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหารหนัก 2 ± 0.002 กรัม ใส่ลงภาชนะหาความชื้นที่ทราบน้ำหนักแน่นอน และนำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้งจึงออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถคูดความชื้น ปล่อยให้ถึงไว้จนกระทั่งอุณหภูมิจากภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างอาหารหนัก 2 ± 0.002 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

4. เขย่าให้เข้ากันที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลานาน 30 นาที

5. นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 rpm อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที

6. รินส่วนใสทิ้ง แล้วเอียงหลอดทดลองที่ใส่ตัวอย่างนาน 10 นาที และทิ้งส่วนใสที่เหลือ

7. ถ่ายตัวอย่างที่ได้ลงภาชนะหาความชื้นที่ทราบน้ำหนักนอน ชั่งน้ำหนัก และนำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 ± 2 องศาเซลเซียส จนแห้งจึงนำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถคูดความชื้น ปล่อยให้ถึงไว้จนกระทั่งอุณหภูมิจากภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

8. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 7 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ความสามารถในการดูดซับน้ำ (กรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง)} = \frac{A-B}{C}$$

กำหนดให้ A คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)
 B คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)
 C คือ น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

ค3. การวิเคราะห์ค่าสี

อุปกรณ์

เครื่องวัดค่าสี ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น Color Flex

วิธีการ

1. เปิดคอมพิวเตอร์ และเลือกโปรแกรมสำเร็จรูป
2. ทำการ calibrate เครื่องวัดค่าสีด้วยแผ่นสีมาตรฐาน ดังนี้
 - 2.1. เลือก standardize แล้วเลือกขนาด port 0.5 นิ้ว
 - 2.2. วางแผ่นสีดำ โดยวางด้านสีดำมันลงบน Port
 - 2.3. วางแผ่นสีขาว โดยให้จุดสีขาวบนแผ่นสีอยู่กึ่งกลาง port
3. กำหนดค่าในการวัด โดยเลือก active view
 - 3.1. scale เลือก CIE Lab เพื่อให้เครื่องวัดค่าสีในระบบ Hunter Lab (ค่าที่วัดได้จะเป็นค่า L^* , a^* และ b^*)
 - 3.2. Illuminant เลือกเพื่อกำหนดแหล่งกำเนิดแสงที่ใช้เลือก D65
4. บดตัวอย่างให้ละเอียดและบรรจุลงถ้วยแก้วสำหรับใส่ตัวอย่าง และวางลงบน port แล้วปิดฝาครอบ เพื่อไม่ให้มีแสงรบกวนจากภายนอก
5. เริ่มวัดค่าสีโดยเลือก read sample และรอจนเครื่องอ่านค่าเสร็จ

ค4. การวิเคราะห์ห่อแอกติวิตี (water activity, a_w)

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดค่าห่อแอกติวิตี ยี่ห้อ Novasina รุ่น Thermoconstanter
2. เครื่องคอมพิวเตอร์พร้อมโปรแกรมสำเร็จรูป

วิธีการ

1. เปิดเครื่องวัดค่าห่อแอกติวิตี และตั้งค่าอุณหภูมิของเครื่องวัดค่าห่อแอกติวิตีให้ได้ 25 องศาเซลเซียส แล้ว Calibrate เครื่องวัดค่าห่อแอกติวิตีด้วยสารละลายเกลือมาตรฐาน
2. เปิดคอมพิวเตอร์และเลือกโปรแกรมสำเร็จรูป
3. บดตัวอย่างให้ละเอียดและบรรจุลงในตลับพลาสติกให้ได้ปริมาณโดยประมาณร้อยละ 80-90 แล้วนำตลับตัวอย่างใส่ลงใน measuring chamber
4. ค่าที่เครื่องวัดได้เป็นค่า equilibrium relative humidity (ERH) ซึ่งเมื่อหารด้วย 100 จะได้ค่าห่อแอกติวิตีตามที่ต้องการ

ค5. การวัดความยืดหยุ่นของโด (dough stickiness) (Chen and Hosney, 1995)

อุปกรณ์

1. เครื่อง Texture Analyzer ยี่ห้อ Stable Micro System รุ่น TA-XT2i
2. เครื่องคอมพิวเตอร์พร้อมโปรแกรมสำเร็จรูป

วิธีการ

1. เปิดเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัสและคอมพิวเตอร์ และเลือกโปรแกรมสำเร็จรูป
2. ทำการ calibrate เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส โดยใช้ลูกตุ้มหนัก 5,000 กรัม
3. ดัดหัวเข็ม (cylinder probe; P/25P) และฐานวางตัวอย่าง (A/DSC) บนเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส แล้วทำการ calibrate หัววัด

4. เลือก T.A. setting เพื่อตั้งสถานะของเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส ดังนี้

Test Option	Adhesive Test
Pre-Test Speed	2.0 mm/s
Test Speed	2.0 mm/s
Post-Test Speed	10.0 mm/s
Distance	4.0 mm
Force	40 g
Time	0.1 s
Trigger Type	Auto – 5 g
Data Acquisition Rate	400 pps

5. บรรจุตัวอย่างลงในฐานวัด หมุนปิดฝาเกลียว แล้วหมุนบิดฐานเพื่อดันตัวอย่างโดของแป้งให้สูงประมาณ 1 มิลลิเมตร รอให้เส้นโดคงตัวประมาณ 10 วินาที โดยใช้แผ่นพลาสติกปิดไว้เพื่อป้องกันน้ำที่ผิวเส้นโดระเหยออก

6. เลือก run a test เพื่อวัดค่า แล้วเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างแรงที่ใช้ในการยึดตัวอย่างกับระยะทางที่ตัวอย่างถูกยึดออก อ่านค่าเฉลี่ยของแรงสูงสุดของกราฟ ระยะทางที่ตัวอย่างถูกยึดออกได้มากที่สุด และพื้นที่ของกราฟในด้านที่มีค่าเป็นบวก ซึ่งจะสัมพันธ์กับค่าความยืดหยุ่น(stickiness) การยึดเกาะ/ความแข็งแรง (cohesion/dough strength) และการยึดติด (adhesion) ตามลำดับ

7. ประมวลผล โดยเลือก process data และเลือกคำสั่ง macro เพื่อตั้งสถานะต่างๆ

ดังนี้

GO TO FORCE 0.0 g
 DROP ANCHOR
 MAX +ve FORCE
 MARK FORCE
 GO TO FORCE 1.0 g
 DROP ANCHOR
 AREA
 DISTANCE

ค6. การวัดความแข็ง (hardness) และความกรอบ (crispness) (Anon, 1996)

อุปกรณ์

1. เครื่อง Texture Analyzer ยี่ห้อ Stable Micro System รุ่น TA-XT2i
2. เครื่องคอมพิวเตอร์พร้อมโปรแกรมสำเร็จรูป

วิธีการ

1. เปิดเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัสและคอมพิวเตอร์ และเลือกโปรแกรมสำเร็จรูป
2. ทำการ calibrate เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส โดยใช้ลูกตุ้มหนัก 5,000 กรัม
3. ติดหัวเข็ม (spherical probe; P/5S) และฐานวางตัวอย่าง (HDP/90) บนเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส แล้วทำการ calibrate หัววัด

4. เลือก T.A. setting เพื่อตั้งสถานะของเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส ดังนี้

Test Mode	Measure Force in
Compression	
Test Option	Return to Start
Pre-Test Speed	1.0 mm/s
Test Speed	1.0 mm/s
Post-Test Speed	10.0 mm/s
Distance	10.0 mm
Force	10 g
Trigger Type	Button
Data Acquisition Rate	400 pps

5. บรรจตัวอย่างลงในฐานวัด เลือก run a test เพื่อวัดค่าแรงกดแตก (compression) แล้วพิจารณาหาค่าเฉลี่ยของแรงสูงสุดของกราฟ เป็นค่าแรงที่ตกลงบนผลิตภัณฑ์แล้วทำให้ตัวอย่างแตก และนับจำนวนพีคที่มีค่าแรงกดมากกว่า 10 กรัม ต่อความหนาเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์ ทั้งสองค่านี้จะสัมพันธ์กับความแข็ง (hardness) และความกรอบ (crispness) ตามลำดับ

6. ประมวลผล โดยเลือก process data และเลือกคำสั่ง macro เพื่อตั้งสถานะต่างๆ ดังนี้

GO TO MIN TIME

DROP ANCHOR

MAX +ve FORCE

MARK FORCE

GO TO MAX TIME

DROP ANCHOR

SET FORCE THRESHOLD 10 g

COUNT FORCE +ve PEAKS

ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

ง1. การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Speck, 1984)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. plate count agar (PCA)
2. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.85 หรือสารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1

วิธีการ

1. ทำการเจือจางตัวอย่างด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 หรือสารละลายเปปโตนเข้มข้นร้อยละ 0.1 ให้มีระดับความเจือจาง 1:10, 1:100, 1:1000 และ 1:10000
2. ปิเปิดตัวอย่างในแต่ละระดับความเจือจางใส่จานเพาะเชื้อจานละ 1.0 มิลลิลิตร ทำระดับความเจือจางละ 3 ซ้ำ
3. เทอาหาร PCA ซึ่งกำลังหลอมเหลวและมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียสลงในจานเพาะเชื้อจานละ 15-20 มิลลิลิตร
4. เขย่าจานเพาะเชื้อให้อาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับตัวอย่างอาหาร โดยการหมุนจานเพาะเชื้อในทิศตามเข็มนาฬิกา 5 ครั้ง ทวนเข็มนาฬิกาอีก 5 ครั้ง ทำอย่างระมัดระวังและรวดเร็วเพื่อไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวก่อน
5. ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว กลับจานเพาะเชื้อ แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (35-37 องศาเซลเซียส) นาน 48 ชั่วโมง
6. นับจำนวนโคโลนีที่ปรากฏในจานเพาะเชื้อ โดยเลือกนับจานที่มีจำนวนจุลินทรีย์ 30-300 โคโลนี แล้วหาค่าเฉลี่ย คิดเป็นจำนวนโคโลนีต่อ 1 กรัมตัวอย่าง (CFU/g sample)

การคำนวณ

$$\text{CFU} = \text{ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนี} \times \text{ระดับความเจือจาง}$$

ง2. การวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และรา (Speck, 1984)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. potato dextrose agar (PDA)
2. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.85 หรือสารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1
3. สารละลายกรดทาร์ทาริกเข้มข้นร้อยละ 1

วิธีการ

1. ปิเปิดสารละลายกรดทาร์ทาริกเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ลงในอาหาร PDA ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2. เทอาหาร PDA ซึ่งกำลังหลอมเหลวและมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ลงในงานเพาะเชื้อจานละ 15-20 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว

3. ทำการเจือจางตัวอย่างด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 หรือสารละลายเปปโตนเข้มข้นร้อยละ 0.1 ให้มีระดับความเจือจาง 1:10, 1:100, 1:1000 และ 1:10000

4. ปิเปิดตัวอย่างในแต่ละระดับความเจือจางใส่จานเพาะเชื้อจานละ 0.1 มิลลิลิตร ทำระดับความเจือจางละ 3 ซ้ำ

5. ใช้ spreader เกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วบริเวณผิวหน้าอาหาร

6. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (35-37 องศาเซลเซียส) นาน 3-5 วัน

7. นับจำนวนโคโลนีที่ปรากฏในงานเพาะเชื้อ โดยเลือกนับจานที่มีปริมาณยีสต์และราอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี แล้วหาค่าเฉลี่ย คิดเป็นจำนวนโคโลนีต่อ 1 กรัมตัวอย่าง

การคำนวณ

$$\text{CFU} = \text{ค่าเฉลี่ยของจำนวน โคโลนี} \times \text{ระดับความเจือจาง}$$

จ3. แบบสอบถามสำหรับผู้บริโภคทั่วไปต่อผลิตภัณฑ์อาหารอบกรอบที่ใช้โปรตีนปลาไฮโดรไลเสตเป็นส่วนประกอบ

แบบสอบถามนี้เป็นส่วนหนึ่งของรายงานวิจัย เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารอบกรอบที่ใช้โปรตีนปลาไฮโดรไลเสตเป็นส่วนประกอบของ นางสาวกฤตลักษณ์ ปะสะกะวี นักศึกษาระดับปริญญาโท ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ข้อมูลที่ท่านตอบจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับงานวิจัยครั้งนี้ โดยข้อมูลเหล่านี้จะไม่มีผลกระทบต่อท่านทั้งสิ้น ขอขอบคุณทุกท่านที่ให้ความร่วมมือ

คำอธิบาย 1. ผลิตภัณฑ์อาหารอบกรอบที่ใช้เป็นตัวอย่างในการทดสอบครั้งนี้จัดเป็นอาหารขบเคี้ยวที่รับประทานระหว่างมื้ออาหารหลัก ซึ่งสามารถรับประทานได้ทันทีโดยไม่ต้องปรุง

2. ผลิตภัณฑ์อาหารอบกรอบที่ใช้เป็นตัวอย่างในการทดสอบครั้งนี้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำจากแป้ง ริดเป็นแผ่น นำไปอบให้กรอบ แล้วปรุงรสอย่างถูกสุขลักษณะและปลอดภัยต่อผู้บริโภค

คำแนะนำ กรุณาทำเครื่องหมาย / ในวงเล็บ () หน้าคำตอบที่ท่านเห็นว่าเหมาะสมที่สุด

ส่วนที่ 1 ข้อมูลเกี่ยวกับพฤติกรรมการบริโภคอาหารขบเคี้ยว

1. ท่านชอบรับประทานอาหารขบเคี้ยวหรือไม่ (หากท่านไม่ชอบรับประทานให้ข้ามไปตอบส่วนที่ 2)

() ชอบ () ไม่ชอบ () เฉยๆ

2. ท่านรับประทานอาหารขบเคี้ยวบ่อยครั้งแค่ไหน

() น้อยกว่า 2 ครั้ง/สัปดาห์ () 2-4 ครั้ง/สัปดาห์

() 5-6 ครั้ง/สัปดาห์ () ทุกวัน

3. กรุณาเรียงลำดับความสำคัญของเหตุผลในการเลือกซื้ออาหารขบเคี้ยว จาก 1 ถึง 5

โดยกำหนดให้ 1 = มีความสำคัญมากที่สุด และ 5 = มีความสำคัญน้อยที่สุด

() รสชาติ

() คุณค่าทางอาหาร

() ภาชนะบรรจุ

() ราคา

() โฆษณาจูงใจ

4. ท่านเคยรับประทานอาหารขบเคี้ยวอบกรอบที่มีส่วนผสมของปลาหรือกลิ่นรสปลาหรือไม่ (ถ้าหากท่านไม่เคยรับประทานให้ข้ามไปตอบส่วนที่ 2)

() เคยรับประทาน

() ไม่เคยรับประทาน

5. ท่านชอบรับประทานอาหารขบเคี้ยวกรอบที่มีส่วนผสมของปลาหรือกลั่นรสปลาหรือไม่
 ชอบ ไม่ชอบ เฉยๆ
6. สถานที่ที่ท่านจะเลือกซื้อผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวกรอบที่มีส่วนผสมของปลาหรือกลั่นรสปลา (ตอบได้มากกว่า 1 คำตอบ)
 ร้านขายของชำ ร้านสะดวกซื้อ เช่น 7-Eleven
 ห้างสรรพสินค้า ตลาดสด
 อื่นๆ ระบุ.....

ส่วนที่ 2 ข้อมูลเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ให้ท่านชิมผลิตภัณฑ์แล้วประเมินคุณลักษณะต่างๆ ดังนี้

7. ท่านประเมินลักษณะปรากฏ (สี ขนาด และรูปร่าง) ของผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบในระดับใด
 ชอบมากที่สุด ชอบปานกลาง ชอบเล็กน้อย
 เฉยๆ ไม่ชอบเล็กน้อย ไม่ชอบปานกลาง
 ไม่ชอบมากที่สุด
8. ท่านประเมินด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบในระดับใด
 ชอบมากที่สุด ชอบปานกลาง ชอบเล็กน้อย
 เฉยๆ ไม่ชอบเล็กน้อย ไม่ชอบปานกลาง
 ไม่ชอบมากที่สุด
9. ท่านประเมินด้านรสชาติของผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบในระดับใด
 ชอบมากที่สุด ชอบปานกลาง ชอบเล็กน้อย
 เฉยๆ ไม่ชอบเล็กน้อย ไม่ชอบปานกลาง
 ไม่ชอบมากที่สุด
10. ท่านประเมินด้านความกรอบของผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบในระดับใด
 ชอบมากที่สุด ชอบปานกลาง ชอบเล็กน้อย
 เฉยๆ ไม่ชอบเล็กน้อย ไม่ชอบปานกลาง
 ไม่ชอบมากที่สุด
11. ท่านประเมินด้านความชอบรวม (คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์โดยรวมในทุกๆ ด้าน) ของผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบในระดับใด
 ชอบมากที่สุด ชอบปานกลาง ชอบเล็กน้อย
 เฉยๆ ไม่ชอบเล็กน้อย ไม่ชอบปานกลาง
 ไม่ชอบมากที่สุด

12. ถ้าวงจำหน่ายผลิตภัณฑ์อาหารรอบกรอบที่ใช้โปรตีนปลาไฮโดรไลเสตเป็นส่วนประกอบ ในราคาและขนาดเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวในท้องตลาด คือ 5 บาท/ถุง (30 กรัม) ท่านจะซื้อหรือไม่

ซื้อ ไม่ซื้อ เพราะ.....

13. ถ้าวงจำหน่ายผลิตภัณฑ์อาหารรอบกรอบที่ใช้โปรตีนปลาไฮโดรไลเสตเป็นส่วนประกอบ ในราคาและขนาดเช่นเดียวกับอาหารขบเคี้ยวทั่วไปในท้องตลาด คือ 5 บาท/ถุง (30 กรัม) และมีข้อมูลบ่งชี้ให้ท่านทราบว่า “อาหารรอบกรอบที่ใช้โปรตีนปลาไฮโดรไลเสตเป็นส่วนประกอบมีโปรตีนสูงร้อยละ 10 ซึ่งมากกว่าอาหารขบเคี้ยวทั่วไปในท้องตลาดที่มีโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 3-7 และโปรตีนองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์ที่วงจำหน่ายยังเป็นโปรตีนที่ผ่านการย่อยสลายให้มีขนาด-เล็กแล้ว ร่างกายจึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้เลย” ท่านจะซื้อผลิตภัณฑ์ที่วงจำหน่ายหรือไม่

ซื้อ ไม่ซื้อ เพราะ.....

ส่วนที่ 3 ข้อมูลเกี่ยวกับผู้บริโภค

14. เพศ

ชาย หญิง

15. อายุ

ต่ำกว่า 15 ปี 15-20 ปี 21-25 ปี
 26-30 ปี 31-35 ปี 36 ปีขึ้นไป

16. อาชีพ

นักเรียน/นักศึกษา ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ พนักงานบริษัท
 แม่บ้าน ค้าขาย/ธุรกิจส่วนตัว ลูกจ้าง
 เกษตรกร อื่นๆ ระบุ.....

17. การศึกษา

มัธยมศึกษาตอนต้นหรือต่ำกว่า มัธยมศึกษาตอนปลายหรือเทียบเท่า
 อนุปริญญาหรือเทียบเท่า ปริญญาตรี
 สูงกว่าปริญญาตรี

18. รายได้ต่อเดือน

ต่ำกว่า 5,000 บาท 5,000-10,000 บาท
 10,001-30,000 บาท สูงกว่า 30,000 บาท

ข้อเสนอแนะ.....

ขอบพระคุณค่ะ

ภาคผนวก ฉ คุณสมบัติและองค์ประกอบของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารอบกรอบ

ตารางภาคผนวกที่ 1 คุณสมบัติและองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนปลาไฮโดรไลเสตเข้มข้น

Properties and chemical compositions of concentrated fish protein hydrolysate.

Properties and chemical composition	Content / score
Moisture	46.29 ± 0.32 % wet basis
Protein	68.82 ± 0.33 % dry basis
Fat	1.99 ± 0.44 % dry basis
Ash	13.36 ± 0.19 % dry basis
Total suspended solid	59.67 ± 0.03 % wet basis
Viscosity	824.67 ± 3.79 cps
L*	4.17 ± 0.01
a*	1.06 ± 0.07
b*	2.26 ± 0.03

All values are means ± standard deviations of 9 determinations (3 determinations on each of 3 lots of concentrated fish protein hydrolysate).

ตารางภาคผนวกที่ 2 องค์ประกอบของแป้งที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารอบกรอบ

Compositions of various flours used for production of crispy snack.

Flour	Content (%)			
	Fat	Protein	Amylose	Amylopectin
Flour A ¹	1.0±0.2	10.6±0.3	28.0	72.0
Flour B ²	1.0-1.2	0.4-0.8	25.0	75.0
Flour C ³	4.0-5.0	6.0-7.0	9.0	91.0

Source: ¹UFM Food Centre Co., Ltd.

²Ben and Go Co., Ltd.

³Cho Heng rice vermicelli factory Co., Ltd.

ภาคผนวก ข คุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารอบกรอบที่วางจำหน่ายในท้องตลาดทั่วไป

ตารางภาคผนวกที่ 3 คุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์อาหารอบกรอบที่วางจำหน่ายในท้องตลาดทั่วไป

Physical properties of the commercial crispy snacks.

Sample	Bulk density (g/100 ml)	Water absorption index (g /g sample dry basis)	Compression force (g)	Number of peaks (major peak>10 g)
1	25.54±0.29	6.73±0.08	132.35±58.98	5.60±2.40
2	21.39±0.30	2.20±0.07	229.57±34.06	13.40±2.50
3	36.33±0.47	6.37±0.09	346.23±30.37	15.60±3.00
4	40.65±0.50	7.14±0.09	604.11±113.59	3.00±1.10

Values are means ± standard deviations of duplicate determinations.

ภาคผนวก ข การตัดสินใจซื้อของผู้บริโภค

ตารางภาคผนวกที่ 4 แนวโน้มการตัดสินใจซื้อของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์อาหารอบกรอบที่ใช้โปรตีนปลาไฮโดรไลเสตเป็นส่วนประกอบ

Purchase intent of consumer on the crispy snack containing fish protein hydrolysate.

Purchase intent before	Purchase intent after		Total
	Yes	No	
Yes	165	0	165
No	11	24	35
Total	176	24	200

** $X^2_0 = 11$, $X^2_{test} = 3.84$