

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- กระทรวงสาธารณสุข. สำนักงานปลัดกระทรวง. กองสถิติสาธารณสุข. 2533. รายงานสถิติการเกิด-การตายในโรงพยาบาลของรัฐ พ.ศ.2528-2532. กรุงเทพมหานคร: กองสถิติสาธารณสุข สำนักงานปลัดกระทรวง กระทรวงสาธารณสุข.
- ณรงค์ นียมวิทย์. 2538. องค์ประกอบและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของอาหาร. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นธิยา รัตนพานนท์. 2534. คอลลอยด์. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- เนื่อทอง วานนุวัธ. 2539. น้ำมัน ไขมัน และผลิตภัณฑ์. ในวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รมณี สงวนดีกุล. 2538. โครงสร้าง องค์ประกอบ และคุณค่าทางอาหารของไข่. ในเอกสารการสอนชุดวิชา วิทยาศาสตร์การอาหารเบื้องต้น. สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.
- รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2541. โฮโมจีไนเซชัน. ในวิศวกรรมอาหาร. หน่วยปฏิบัติการในอุตสาหกรรม. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วรรณวิบูลย์ กาญจนกฤษ. 2539. ไข่และผลิตภัณฑ์. ในวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วินัย ดะห์ลัน และคณะ. 2536. การวิเคราะห์เลซิทินโดยตรงในน้ำมันปรุงอาหารโดยวิธีฟอสฟอรัสที่ปรับปรุงใหม่. ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 19. หน้า 524-525. 27-29 ตุลาคม 2536 ณ โรงแรมดุสิต เจ.บี. ทาดใหญ่ จังหวัดสงขลา.

### ภาษาอังกฤษ

- Abe, Y. ; Itoh, T., and Adachi, S. 1982. Fractionation and characterization of hen's egg yolk phosvitin. *J. Food Sci.* 47: 1903-1906.

- Alais, C., and Linden, G. 1991. Food Biochemistry. pp.193-197. London: Ellis Horwood.
- American Heart Association. 1993. Heart and Stroke Facts. Washington, D.C.
- Anton, M. and Gandemer, G. 1997. Composition, solubility and emulsifying properties of granules and plasma of egg yolk. J. Food Sci. 62: 484-487.
- A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis. The Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C.
- Artz, W.E. 1990. Emulsifiers. In A.L. Branen (ed.), Food Additives, pp.347-365. New York: Marcel Dekker.
- Awad, A.C., and Smith, D.M. 1996. Method for reduction of egg cholesterols in egg materials. United States Patent. 5,484,624.
- Baianu, I.C. 1992. Physical Chemistry of Food Processes, pp.115-122. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Baldwin, R.E. 1990. Functional properties of eggs in foods. In W.J. Stadelman (ed.), Egg Science and Technology, pp. 345-376. Westport : AVI.
- Bee, R.D. ; Richmond, P., and Mingins, J. 1989. Food Colloids, pp. 74-94. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Belitz, H.D. 1963. Egg yolk proteins and their cleaved products 3 phosphopeptides from  $\alpha$ - and  $\beta$ - vitellin. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 119: 492.
- Bennion, M. 1980. The Science of Food, p. 384. New York: John Wiley & Sons.
- Bennion, M. 1995. Introductory Foods. 10<sup>th</sup> ed. pp. 377-378. New Jersey: Printice-Hall.
- Bergenstahl, B. 1995. Emulsions. In S.T. Beckett ( ed.), Physico-Chemical Aspects of Food Processing, pp. 49-62. London: Chapman & Hall.
- Bergquist, D.H. 1974. Eggs and egg products. Encyclopedia of Food Technology. pp. 351-352. New York: AVI.
- Birbaum, H. 1981. The monoglycerides: manufacture, concentration, derivative and application. Baker's Digest. 55: 6-18.
- Boehringer - mannheim. 1989. Methods of Biochemical Analysis and Food Analysis. West Germany.
- Bracco, U. and Viret, J.L. 1982. Decholesterization of egg yolk. United States Patent 4,333,959.

- Brennan, J.G. ; Butters, J.E. ; Cowell, N.D., and Lilley, A.E.V. 1990. Food Engineering Operation. 3<sup>rd</sup> ed. London: Elsevier Applied Science.
- Brekke, O.L. 1980. Oil Degumming and Soybean Lecithin. In D.R. Erickson, E.H. Pryde, O.L. Brekke, T.L. Mounts and R.A. Falb (eds.). Handbook of Soy Oil Processing and Utilization. St.Louis: American Soybean Association.
- Brekke, O.L. 1990. Oil Degumming and Soybean Lecithin. In D.R. Erickson, E.H. Pryde, O.L. Brekke, T.L. Mounts and R.A. Falb (eds.). Handbook of Soy Oil Processing and Utilization. Champaign, IL: American Soybean Association.
- Burnardi, G., and Cook, W.H. 1960. Separation and characterization of the two high-density lipoprotein of egg yolk,  $\alpha$ - and  $\beta$ - lipovitellins. Biochem. Biophys. Acta. 44: 96-99.
- Burley, K.W., and Cook, W.H. 1961. Isolation and composition of avian egg yolk granules and their constituents  $\alpha$ - and  $\beta$ - lipovitellins. Can. J. Biochem. Physiol. 39: 1295-1307.
- Burley, K.W., and Cook, W.H. 1962. The dissociation of  $\alpha$ - and  $\beta$ - lipovitellins in aqueous solution. Part I: Effect of pH, Temperature and other factors. Can. J. Biochem. Physiol. 40: 363-372.
- Causseret, D. ; Matringe, E., and Lorient, D. 1991. Ionic strength and pH effects on composition and microstructure of yolk granules. J. Food Sci. 56(6): 1532-1536.
- Chang, C.M. ; Powrie, W.D., and Fennema, O.R. 1977. Microstructure of egg yolk. J. Food Sci. 42: 1193-1200.
- Charalambous, G. 1989. Food Emulsifiers: Chemistry, Technology, Functional Properties and Application, pp. 417-443. New York: Elsevier.
- Chen, J., and Dickinson, E. 1998. Viscoelastic properties of protein-stabilized emulsions: effect of protein-surfactant interactions. J. Agri. Food Chem. 46: 91-97.
- Christie, W.W. 1991. Competitive adsorption of lecithin and  $\beta$ - casein in oil in water emulsions. J. Agric. Food Chem. 39. 1365-1368.
- Chow, M.C., and Ho, C.C. 1996. Properties of palm-oil-in-water emulsions: effect of mixed emulsifiers. JAOCS. 73(1). 47-53.

- Clark, D.C. 1993. Emulsifiers. In R. Macrae, R.K. Robinson and M.J. Sadler. (eds.), Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition. Vol.3. pp. 1577-1582. London: Academic Press.
- Connelly, C., and Taborsky, G. 1961. Chromatographic fractionation of phosphatidylcholine. J. Biol Chem. 236: 1364-1369.
- Conte, J. A. ; Johnson, B.R. ; Hsieh, R.J., and Ko, S.S. 1992. Method for removing cholesterol from eggs. United State Patent. 5,091,203.
- Cook, F., and Briggs, G.M. 1990. The nutritive value of eggs. In W.J. Stadelman (ed.), Egg Science and Technology, pp. 141-157. Westport : AVI.
- Cook, W.A. 1968. Macromolecular components of egg yolk. In T.C. Carter ( ed. ), Egg Quality: A Study of The Hen's Egg. Edinburg: Dilver & Boyd.
- Courthaudon , J.L., and Dickinson , E. 1991. Competitive adsorption of lecithin and  $\beta$ -casein in oil-in-water emulsions. J. Agric. Food Chem. 39 : 1365-1368.
- Dickinson, E. ; Euston, S., and Woskett, C.M. 1990. Competitive adsorption of food macromolecules and surfactants at the oil-water interface. Prog. Colloid Polym. Sci. 82: 65-75.
- Dickinson , E., and Tanai , S. 1992. Protein displacement from the emulsion droplet surface by oil-soluble and water-soluble surfactants. J. Agric. Food Chem. 40: 179-183.
- Dickinson , E., and Woskett , C. M. 1989. Competitive adsorption between proteins and small-molecule surfactants in food emulsions. In R.D. Bee ; P. Richmond and J. Mingins ( eds. ), Food Colloids, pp. 74-96. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Dyer-Hurdon, J.N., and Nnanna, I.A. 1993. Cholesterol content and functionality of plasma and granules fractionated from egg yolk. J. Food Sci. 58(6): 1277-1281.
- Evans, R.J. ; Bauer, D.H., and Flegal, C.J. 1974. Lipovitellins in fresh and stored eggs. Poultry Sci. 53: 745-750.
- Euston, S.E. ; Singh, H. ; Munro, P.A., and Dalgleish, D.E. 1996. Oil-in-water emulsions stabilized by sodium caseinate or whey protein isolate as influenced by glycerol monostearate. J. Food Sci. 61: 916-920.
- Farrall, A.W. 1976. Food Engineering Systems. Vol. 1. Westport: AVI.

- Friedman, R. B. 1991. Linear and cyclic dextrans. In I. Goldberg and R. Williams (eds), Biotechnology and Food Ingredient, pp.327-330. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Froning, G.W. ; Wehling, R.L. ; Cuppett, S.L. ; Pierce, M.M. ; Niemann, L., and Siekman, D.K. 1990. Extraction of cholesterol and other lipids from dried egg yolk using supercritical carbon dioxide. J. Food Sci. 55(1): 95-98.
- Gaulin. 1982. Operation Manual. Wilmington. Massachusetts.
- Greengard, O. ; Sentenac, A., and Mendelsonn, H. 1964. Phosvitin, the iron carrier of egg yolk. Biochem. Biophys. Acta. 90: 406-407.
- Halling, P.J. 1981. Protein-stabilized foams and emulsions. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 15: 155-203.
- Hartnett, D.I. 1977. Cake shortenings. JAOCs. 54: 557-560.
- Hegsted, D.M. et al. 1993. Am. J. Clin. Nutr. 57(6): 875. cited in H. Lawson. Food Oils and Fats: Technology, Utilization and Nutrition. New York: Chapman & Hall.
- Hung, T.V., and Unger, M.A. 1995. Application of supercritical fluid extraction in the Japanese food industry. Food Australia. 46(5): 235-239.
- Itoh, T. ; Kubo, M., and Adachi, S. 1986. Isolation and characterization of major apoproteins from hen's egg yolk granule. J. Food Sci. 51: 1115-1117.
- Jiang, Z., and Sim, J.S. 1994. Fatty acid composition of yolk lipids and cholesterol lowering Eggs. In J. S. Sim and S. Nakai (eds), Egg Uses and Processing Technologies, pp. 349-361. Wallingford, UK: Cab International.
- Johnson, A.H. 1974. Encyclopedia of Food Technology. New York: AVI Publishing.
- Kamet, V.B. ; Lawrence, G.A. ; Hart, C.J., and Yoell, R. 1973. Contribution of egg yolk lipoproteins to cake structure. J. Sci. Food Agric. 24: 74-88.
- Kinsella, J.E. 1976. Functional properties of proteins in foods. A Survey Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 7: 219-280.
- Kiosseoglou, V., and Sherman, P. 1983. Influence of egg yolk lipoproteins on the rheology and stability of o/w emulsions and mayonnaise. Journal of Texture Studies. 14: 397-417.
- Knightly, W.H. 1992. Emulsifier Technology in Foods. In Y.H. Hui ( ed. ), Encyclopedia of Food Science and Technology, Vol. 2. pp. 690-697. New York: John Wiley & Sons.

- Kullenberg, F.W. 1989. Lecithin in animal health and nutrition. In B.F. Szuhaj ( ed.), Lecithins: Sources, Manufacture & Uses, pp. 237-252. Champaign, IL: American Oil Chemists' Society.
- Lantz, R.A. 1989. Industrial methods of analysis. In B.F. Szuhaj ( ed. ). Lecithins: Sources, Manufacture & Uses. Champaign, IL: American Oil Chemists' Society.
- Larbier, M., and Leclereq, B. 1994. Nutrition and Feeding of Poultry. England: Nottingham University Press.
- Larsson, K. 1976. Food emulsifiers and their association with water. In F. Stiberg (ed.), Food emulsion. New York: Marcel Dekker.
- Lawson, H. 1995. Food Oils and Fats: Technology, Utilization and Nutrition. New York: Chapman & Hall.
- Lepage, G., and Roy, C.C. 1986. Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. J. Lipid Res. 25: 1391-1396.
- List, G.R. 1989. Commercial manufacture of lecithin. In B.F. Szuhaj ( ed. ). Lecithins: Sources, Manufacture & Uses, pp. 145-161. Champaign, IL: American Oil Chemists' Society.
- Loncin, M., and Merson, R.L. 1979. Food Engineering: Principles and Selected Application. London: Academic Press.
- Marion, J.E. ; Woodroof, J.G., and Cook, R.E. 1965. Some physical and chemical properties of eggs from hens of five different stocks. Poult. Sci. 44: 529-534.
- Marion, W.W. ; Nordskog, A.W. ; Tolman, H.S., and Forsythe, R.H. 1964. Egg composition as influenced by breeding, egg size, age and season. Poult. Sci. 43: 255-264.
- Martin, W.G. ; Tattie, W.G., and Cook, W.H. 1963. Lipid extraction and distribution Studies of egg yolk lipoproteins. Can. J. Biochem. Physiol. 41: 657-666.
- Mine ,Y. 1998. Adsorption Behavior of Egg Yolk Low-Density Lipoproteins in Oil-in-water Emulsions. J. Agric. Food Chem. 46 :36-41.
- Mok, C.C. ; Martin, W.G. and Common, R.H. 1961. A comparison of phosvitin prepared from hen's serum and from hen's egg yolk. Can. J. Biochem. Physiol. 39; 109.
- Nath, K.R. and Newbold, M.W. 1976. Fractionated egg yolk product. United State Patent 3,958,034.

- Nichols, A.V., Rubin, L., and Lindgren, F.T. 1954. Interaction of heparin active factor and egg yolk lipoprotein. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 85: 352-355.
- Nieuwenhuyzen, W.V. 1976. Lecithin production and properties. *JAOCS*. 53: 425-427.
- Paraskevopoulou, A., and Kiosseoglou, V. 1994. Cholesterol and other lipid extraction from egg yolk using organic solvents: Effect on functional properties of yolk. *J. Food Sci.* 59(4): 766-768.
- Paraskevopoulou, A., and Kiosseoglou, V. 1995. Use of polysorbate 80 to reduce cholesterol in dehydrated egg yolk. *International Journal of Food Science and Technology*. 30: 57-63.
- Parker, N.S. 1987. Properties and functions of stabilizing agents in food emulsions. *CRC Reviews in Food Science and Nutrition*. 25: 289-316.
- Penfield, M.P., and Campbell, A.M. 1990. *Experimental Food Science*, 3rd ed. New York: Academic Press.
- Pomeranz, Y. 1985. *Functional Properties of Food Components*, p. 569. San Diego, CA: Academic Press.
- Pomeranz, Y. 1991. *Functional Properties of Food Components*, p. 560. San Diego, CA: Academic Press.
- Powrie, W.D., and Nakai, S. 1985. The chemistry of egg. In O.R. Fennema (ed.), *Food Chemistry*. 2<sup>nd</sup> ed. pp. 832-844. New York: Marcel Dekker.
- Powrie, W.D., and Nakai, S. 1990. The chemistry of egg and egg products. In W.J. Stadelman (ed.), *Egg Science and Technology*, pp.102-105. Westport: AVI.
- Pryde, E.H. 1980. Soybean Oil. In D.R. Erickson ; E.H. Pryde ; O.L. Brekke ; T.L. Mounts and R.A. Falb (eds.), *Handbook of Soy Oil Processing and Utilization*, pp. 14-17. Champaign: American Oil Chemist's Society.
- Radomski, M.W., and Cook, W.H. 1964. Fractionation and dissociation of the avian lipoproteins and their interaction with phosvitin. *Can. J. Biochem.* 42: 349-406.
- Rakosky, J. 1989. *Protein Additives in Foodservice Preparations*, pp. 258-261. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Romanoff, A.L., and Romanoff, A. 1949. *The Avian Egg*. New York: John Wiley & Son.
- Rose, D. ; Gridgeman, N.T., and Fletcher, D.A. 1966. Solids content of eggs. *Poult. Sci.* 45: 221.

- Salunkhe, D.K. ; Chavan, J.K. ; Adsule, R.N., and Kadam, S.S. 1992. World Oilseeds Chemistry Technology and Utilization, pp. 554-557. New York: AVI.
- Schneider, M. 1989. Fractionation and purification of lecithin. In B.F. Szuhaj ( ed. ), Lecithins: Sources, Manufacture & Uses, pp. 109-130. Champaign, IL: American Oil Chemists' Society.
- Schuster, G., and Adams, W.F. 1984. Emulsifiers as additives in bread and fine baked products. Adv. Cereal Sci 6: 139.
- Shafey, T.M., and Cham, B.E. 1994. Alteration fatty acid and cholesterol content of eggs for human consumption. In J. S. Sim and S. Nakai (eds), Egg Uses and Processing Technologies, pp. 349-361. Wallingford, UK: Cab International.
- Shepherd, I.S., and Yoell, R.W. 1976. Cake emulsions. In S. Friberg (ed.), Food Emulsions, pp. 215-276. New York: Marcel Dekker.
- Sherman, P. 1968. Emulsion Science. pp. 496-501. London: Academic Press.
- Shukla, V.K.S. 1994. Present and future outlook of the world fats and oil supplies. In B.S. Kamel and Y. Kakuda (eds.), Technological Advances in Improved and Alternative Sources of Lipids, pp. 1-5. London: Chapman & Hall.
- Smith, D.M. ; Awad, A.C. ; Bennink, M.R., and Gill, J.L. 1995. Cholesterol reduction in liquid egg yolk using  $\beta$ -cyclodextrin. J. Food Sci, 60(4): 691-694, 720.
- Stadelman, W.J. 1993. Eggs. In R. Macrae, R.K. Robinson and M.J. Sadler. (eds.), Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition, Vol.3. pp. 1530-1535. London: Academic Press.
- Stanley, J. 1951. Production and Utilization of Lecithin. In K.S. Markley (ed.), Soybeans and Soybean Products. New York: Interscience.
- Stauffer, C.E. 1992. Emulsifiers, Stabilizers and Thickeners. In Y.H. Hui. (ed.), Encyclopedia of Food Science and Technology, Vol.2. pp. 680-690. New York: John Wiley & Son.
- Tarborsky, G. 1974. Phosphoproteins. Adv. Protein Chem. 28: 1-210.
- Thomus, L.M., and Holub, B.J. 1994. Nutritional aspects of fats and oils. In B.S. Kamel and Y. Kakuda. Technological Advances in Improved and Alternative Sources of Lipids, pp. 16-22. London: Blackie Academic & Professional.
- Tuckerman, M.M. 1983. Human Nutrition, pp. 49-53. Philadelphia: Lea & Febiger.



- Vogel, H.J. 1983. Structure of hen phosvitin. Biochemistry, 22: 668-674.
- Wells, R.G., and Belyavin, C.G. 1985. Poultry Science Symposium, pp.36-49. London: Butterworths.
- Williams, S.R. 1986. Essentials of Nutrition and Diet Therapy. 4 ed. St. Louis: Times Mirror/ Mosby College.
- Zayas, J.F. 1997. Functionality of Proteins in Food, pp. 192-196. Berlin: Springer.

ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

### วิธีวิเคราะห์

#### ก.1 ความชื้น

ตามวิธีของ A.O.A.C. , 1990

#### อุปกรณ์

ตู้อบลมร้อน ช่วงอุณหภูมิ 0-250 องศาเซลเซียส

#### วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 5 กรัม ใส่ในภาชนะอลูมิเนียมซึ่งอบแห้งและชั่งน้ำหนักไว้แล้ว
2. นำตัวอย่างเข้าอบแห้งในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่
3. นำมาทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก

#### การคำนวณ

$$\text{ความชื้น ( \% )} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

#### ก.2 เถ้า

ตามวิธีของ A.O.A.C. , 1990

#### อุปกรณ์

Muffle furnace ช่วงอุณหภูมิ 500-550 องศาเซลเซียส

#### วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ใส่ใน porcelain crucible หรือจานซิลิกา
2. นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500-550 °C จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว
3. นำมาทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก

#### การคำนวณ

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

### ก.3 โปรตีน

ดัดแปลงจากวิธีของ A.O.A.C. ,1990

#### อุปกรณ์

Gerhardt Kjeldatherm Digestion Unit และ Gerhardt Vapodest I

#### สารเคมี

1. สารละลายกรด sulfuric เข้มข้น
2. สารละลายกรด sulfuric ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล
3. สารละลาย sodium hydroxide ความเข้มข้น 50%
4. สารละลายกรด boric ความเข้มข้น 4%
5. Catalyst ( ส่วนผสมของ  $K_2SO_4$  10 กรัม และ  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  0.5 กรัม ผสมกัน )
6. Indicator ซึ่งเป็นส่วนผสมของ สารละลายเมทิลเรดและสารละลายโบรโมครีซอลกรีนใน

แอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในอัตราส่วน 1:5

#### วิธีทดลอง

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ทราบแน่นอนประมาณ 2 กรัม กรณีเป็นของเหลวใช้ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ใน Kjeldahl flask ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. เติมคตะลิสต์ 10 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 30 มิลลิลิตร
3. ย่อยตัวอย่างด้วยเครื่อง Kjeldatherm ซึ่งควบคุมอุณหภูมิในการย่อยเป็น
  - ช่วงที่ 1 ใช้อุณหภูมิ  $250^{\circ}C$  เป็นเวลา 15-20 นาที
  - ช่วงที่ 2 ใช้อุณหภูมิ  $380^{\circ}C$  เป็นเวลา 50-75 นาที ในการย่อยต้องค่อยๆเพิ่มอุณหภูมิ ย่อยตัวอย่างจนใสเป็นสีเขียวย่อน
4. ทิ้งให้เย็น แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ต่อ Kjeldahl flask เข้ากับเครื่อง Vapodest
5. รอรับสารที่กลั่นด้วยสารละลายกรดบอริกที่มีความเข้มข้น 4% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ซึ่งเติมเมทิลโบรโมครีซอลกรีน อินดิเคเตอร์ (สารละลายเมทิลเรดและสารละลายโบรโมครีซอลกรีนในแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในอัตราส่วน 1:5 ) 3-4 หยด
6. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในขวดกลั่น กลั่นจนกระทั่งในขวดรองรับมีสารละลายปริมาตร 300 มิลลิลิตร
7. หยุดกลั่นแล้วนำสารละลายในขวดรองรับมาไตเตรดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง
8. คำนวณหาปริมาณไนโตรเจนและปริมาณโปรตีน

### การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด} = \frac{A \times B \times 1.4}{C}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน ( ร้อยละ )} = \text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด} \times 6.25$$

A = ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรต ( นอร์มัล )

B = ปริมาตรของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรต ( มิลลิลิตร )

C = น้ำหนักตัวอย่าง ( กรัม )

### ก.4 ไขมัน

ตามวิธีของ A.O.A.C. ,1990

#### อุปกรณ์

Majonnier fat extraction tube

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

ตู้อบลมร้อนช่วงอุณหภูมิ 0-250°C

#### สารเคมี

สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

ไดเอทิลอีเทอร์

ปิโตรเลียมอีเทอร์

#### วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนักประมาณ 2 กรัม ใส่ใน Majonnier fat extraction tube
2. เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในข้อ 1 แล้วเขย่าให้เข้ากัน
3. นำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่มีอุณหภูมิ 70°C จนเดือด แล้วให้ความร้อนต่ออีก 30 นาที โดยเขย่าทุกๆ 5 นาที
4. นำ tube ออกจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ เติมน้ำจนถึงขีดกลางของกระเปาะ ทิ้งไว้ให้เย็น
5. เติมไดเอทิลอีเทอร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ลงใน tube เขย่าให้เข้ากัน
6. เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ (bp < 60°C ) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ลงใน tube เขย่าให้เข้ากัน
7. ตั้งทิ้งไว้จนชั้นสารละลายใส
8. แยกส่วน ether-fat solution ออกโดยการกรองผ่านกระดาษกรอง เก็บสารละลายในเบีกเกอร์ อบแห้งที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน

9. สกัดไขมันในของเหลวที่เหลืออยู่ใน tube อีก 2 ครั้ง โดยแต่ละครั้งใช้ไดเอทิลอีเทอร์ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และ ปีโตรเลียมอีเทอร์ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
10. กรองแยกส่วน ether-fat solution ผ่านกระดาษกรอง เก็บสารละลายในบีกเกอร์ในข้อ 8
11. ล้างส่วนกรวยกรองด้วยไดเอทิลอีเทอร์และปีโตรเลียมอีเทอร์ในปริมาณที่เท่ากัน ( สารละลายผสม ปริมาตรประมาณ 2-3 มิลลิลิตร )
12. ระเหยอีเทอร์บน steam bath
13. นำบีกเกอร์ไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 90 นาทีหรือจนน้ำหนักคงที่
14. นำบีกเกอร์ออกจากตู้อบ ทิ้งให้เย็นในอากาศประมาณ 30 นาที จนน้ำหนักคงที่ แล้วชั่งน้ำหนัก

#### การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน} = \frac{(\text{น้ำหนักบีกเกอร์} + \text{ไขมัน}) - \text{น้ำหนักบีกเกอร์เปล่า} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง ( กรัม )}}$$

#### ก.5 คอเลสเทอรอล

ดัดแปลงจากวิธีของ Boehringer-mannheim , 1989

##### อุปกรณ์

1. Heating/Stirring Module
2. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิช่วง 0-100 °C
3. Spectrophotometer
4. Vortex
5. Magnetic bar
6. Glass bead

##### สารเคมี

1. สารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 10 โมลาร์
2. สารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ในเมทานอลความเข้มข้น 1 โมลาร์
3. ไอโซโพรพานอล
4. น้ำยาวีเคราะห์คอเลสเทอรอล ซึ่งประกอบด้วย

สารละลายชนิดที่ 1 ประมาณ 95 ml โดยมีส่วนประกอบดังนี้

- สารละลายแอมโมเนียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0
- สารละลายเมทานอลความเข้มข้น 2.6 โมลาร์
- เอนไซม์คเคตเลส 220,000 U
- Stabilizers

สารละลายชนิดที่ 2 ประมาณ 60 ml โดยมีส่วนประกอบดังนี้

- สารละลายอะเซทิลอะซิโตนความเข้มข้น 0.05 โมลาร์
- สารละลายเมทานอลความเข้มข้น 0.3 โมลาร์
- Stabilizers

สารละลายชนิดที่ 3 ประมาณ 0.8 ml โดยมีส่วนประกอบดังนี้

- เอนไซม์คอเลสเทอรอลออกซิเดส 12 U

5. สารละลายคอเลสเทอรอลมาตรฐานความเข้มข้น 1 mg cholesterol / ml

#### การเตรียม Cholesterol reagent mixture

ผสมสารละลายชนิดที่ 1 กับสารละลายชนิดที่ 2 ในอัตราส่วน 3 : 2 เก็บในขวดสีชา ที่อุณหภูมิห้อง ( ประมาณ 20-25°C ) เป็นเวลา 1 ชั่วโมงก่อนใช้

#### วิธีเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 0.1 กรัม ใส่หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ในเมทานอลความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร และไอโซโพรพานอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองข้อ 1
3. ผสมตัวอย่างให้เข้ากัน
4. ใส่ glass bead 1 กรัม และ magnetic bar ลงในหลอดทดลอง
5. นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C โดยมีการกวนตลอดเวลา เป็นเวลา 30 นาที
6. ทิ้งสารละลายให้เย็นแล้วเอา magnetic bar และ glass bead ออก
7. ชะ magnetic bar และ glass bead ด้วยไอโซโพรพานอล
8. ทำปริมาตรของสารละลายให้เป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยไอโซโพรพานอล
9. กรองสารละลายที่ได้ผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จำนวน 2 ชั้น
10. นำสารละลายสีเหลืองใสที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเทอรอล

#### วิธีทดลอง

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เตรียมได้ ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง
2. เติม Cholesterol reagent mixture ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองข้อ 1
3. ผสมตัวอย่างให้เข้ากัน ใช้สารละลายที่ได้นี้เป็น sample blank
4. ปิเปต sample blank ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองใหม่
5. เติม Cholesterol oxidase suspension ลงในหลอดทดลองข้อ 4
6. ผสมตัวอย่างให้เข้ากัน ใช้สารละลายที่ได้นี้เป็น sample
7. ปิดฝาหลอดทดลอง นำไป incubate ที่อุณหภูมิในช่วง 37-40°C ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

8. ทิ้งสารละลายให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที
9. นำไปวัด absorbance ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร

#### การคำนวณ

ความเข้มข้นของคอเลสเทอรอลในสารละลายตัวอย่าง ( g/l ) = ( B-A ) × 0.711

ความเข้มข้นของคอเลสเทอรอลในตัวอย่าง ( mg/100g ) =  $\frac{(B-A) \times 0.711 \times 100 \times 10}{C}$

C

A = absorbance ของ sample blank

B = absorbance ของ sample

C = น้ำหนักตัวอย่าง ( กรัม )

#### ก6. ฟอสโฟลิปิด

ดัดแปลงจากวิธีของ Bartlett ( วินัย ตะหัลัน และคณะ , 2536 )

#### อุปกรณ์

1. Sand bath
2. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิช่วง 0-100 °C
3. Spectrophotometer
4. Vortex

#### สารเคมี

1. ไตคลอโรมีเทน
2. เมทานอล
3. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 30
4. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตความเข้มข้นร้อยละ 5
5. ไตโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรต
6. โซเดียมไดซัลไฟด์
7. โซเดียมซัลไฟด์
8. อะมีโนแนบทอลซัลฟามิคแอซิด
9. กรดซัลฟูริก

#### การเตรียมน้ำยาและสารละลายมาตรฐาน

1. Fisk-Subbarow Chromogent

ละลาย  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  30g. , Amino-naphthal-sulfamic acid 0.5g. และ  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  1g. ในน้ำกลั่น 200 ml. แล้วให้ความร้อนซ้ำๆ ( 60°C ) เก็บ Chromogent ที่เตรียมได้ในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4°C



## 2. Fisk-Subbarow Reagent

ผสม Fisk-Subbarow Chromogent 0.2 ml. , 5% ammonium molybdate 0.2 ml. ในน้ำกลั่น 4.6 ml. โดยเตรียมก่อนใช้ในแต่ละวัน

## 3. Standard phospholipid 8 mg/dl

ซึ่ง  $\text{HNa}_2\text{O}_4\text{P} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.046g. เติมน้ำจนปริมาตรครบ 100 ml. เก็บที่อุณหภูมิ  $4^\circ\text{C}$

**วิธีเตรียมตัวอย่าง**

1. ชั่งตัวอย่าง น้ำหนักประมาณ 2 กรัม ใส่ crucible
2. นำไปให้ความร้อนบนเตาจนตัวอย่างหมดควันสีขาว
3. นำตัวอย่างไปเผาใน muffle furnace ที่อุณหภูมิ  $550^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
4. หึ่งตัวอย่างให้เย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร และกรดซัลฟูริกเข้มข้น ปริมาตร

## 2 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง

5. นำไปให้ความร้อนปานกลางบนเตาเป็นเวลา 15 นาที
6. กรองสารละลายขณะร้อนผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42
7. ชะ crucible ด้วยน้ำกลั่นร้อน
8. ทำปริมาตรของสารละลายที่กรองได้ให้เป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นร้อน
9. นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสโฟลิปิด

**วิธีทดลอง**

1. บีบดูดตัวอย่าง 20  $\mu\text{l}$  หรือสารละลายมาตรฐาน 50  $\mu\text{l}$  ลงในหลอดทดลอง
2. เติมน้ำกลั่น conc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ลงไป 200  $\mu\text{l}$  ผสมให้เข้ากัน นำไปให้ความร้อนบน sand bath ที่อุณหภูมิ  $190^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 30 นาที
3. ตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
4. หยด 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  1-2 หยด ( เติมน้ำกลั่นถ้าหายไป ) ค่อยๆเติมน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน นำไปให้ความร้อนบน sand bath ที่อุณหภูมิ  $190^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 45 นาที
5. ตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
6. เติมน้ำกลั่น Fisk-Subbarow Reagent ลงไป 5 ml. ผสมให้เข้ากัน นำไปแช่ในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที
7. ตั้งทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัด absorbance ที่ 830 nm.
8. คำนวณความเข้มข้นของฟอสโฟลิปิด

### การคำนวณ

$$\text{ความเข้มข้นของฟอสโฟลิปิด ( mg/100g )} = \frac{A \times C \times D}{B \times W} \times 25$$

A = absorbance ของตัวอย่าง

B = absorbance ของสารละลายมาตรฐาน

C = ความเข้มข้นของฟอสโฟลิปิดในสารละลายมาตรฐาน ( 8 mg/100 ml )

D = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง ( ml )

W = น้ำหนักตัวอย่าง ( กรัม )

### ก.7 ขนาดอนุภาคของหยดน้ำมัน

โดยวิธี Light Scattering ( Gaulin , 1982 )

#### อุปกรณ์

1. Emulsion Quality Analyzer ( EQA )
2. Micropipette
3. Sample cell

#### สารเคมี

สารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 โมลาร์

#### การเตรียม Diluent Solution

1. เทสารละลายโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 โมลาร์ ลงใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร
2. ชะขวดใส่สารละลายด้วยน้ำกลั่น 4 ครั้ง เทสารละลายลงใน volumetric flask
3. เจือจางสารละลายด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 1 ลิตร

#### การเตรียมตัวอย่าง

1. เติม Diluent Solution ที่เตรียม ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นอยู่ 250 มิลลิลิตร
2. ให้ความร้อนแก่ตัวอย่างจนมีอุณหภูมิ 27-38 องศาเซลเซียส
3. เปิดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร โดยใช้ Micropipette
4. เจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นจนมีเปอร์เซ็นต์ไขมันอยู่ในช่วงของ absorbance index chart ที่กำหนดมา
5. เปิดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร โดยใช้ Micropipette
6. ใส่ตัวอย่างลงในบีกเกอร์ในข้อ 1 คนให้เข้ากัน

7. นำตัวอย่างที่เตรียมได้ในข้อ 6 ไปวัดค่า absorbance ด้วยเครื่อง EQA

#### การหาขนาดอนุภาคของหยดน้ำมัน

1. ใส่ น้ำกลั่นลงใน sample cell แล้วนำไปใส่ในช่องใส่ cell ที่เครื่อง EQA
2. ปรับค่า absorbance ที่ปรากฏที่หน้าปัดจนเป็นศูนย์
3. ใส่ตัวอย่างที่เตรียมลงใน sample cell แล้วนำไปใส่ในช่องใส่ cell ที่เครื่อง EQA
4. อ่านค่า absorbance ที่ได้ แล้วนำไปเทียบหาขนาดอนุภาคของหยดน้ำมันโดยเฉลี่ย โดยการเทียบกับ absorbance index chart ( ภาคผนวก ข. )

#### ก.8 กรดไขมัน

ตามวิธีของ Lepage และ Roy ( 1986 )

##### อุปกรณ์

1. Heating/Stirring Module
2. Vortex
3. Vacuum Rotary Evaporator
4. Gas Chromatography
5. Magnetic bar
6. เครื่องเซนตริฟิวจ์

##### สารเคมี

1. เมทานอล
2. ไดคลอโรมีเทน
3. ไดคลอโรมีเทนต่อเมทานอล 2:1 โดยปริมาตร
4. เมทานอลต่อน้ำ 1:1 โดยปริมาตร
5. สารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.88% ( w/v )
6. เมทานอลต่อเฮกเซน 4:1 โดยปริมาตร
7. อะเซทิลคลอไรด์
8. สารละลายโปแตสเซียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 6% ( w/v )

##### การสกัดไขมัน

1. ชั่งตัวอย่าง น้ำหนักประมาณ 2 กรัม ใส่หลอดทดลอง
2. เติมเมทานอล 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
3. นำไปเขย่าให้เข้ากันโดยใช้ Vortex เป็นเวลา 1 นาที

- 4.เติมไดคลอโรมีเทน 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
- 5.นำไปเขย่าให้เข้ากันโดยใช้ Vortex เป็นเวลา 2 นาที
- 6.กรองของผสมผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
- 7.เก็บส่วนของเหลวที่กรองได้ในกรวยแยกขนาด 250 มิลลิลิตร
- 8.นำส่วนของแข็งที่เหลืออยู่ไปสกัดไขมันซ้ำ ด้วยสารละลายไดคลอโรมีเทนต่อเมทานอล อัตราส่วน 2:1 โดยปริมาตร โดยใช้ 30 มิลลิลิตร
- 9.นำไปเขย่าให้เข้ากันโดยใช้ Vortex เป็นเวลา 3 นาที
- 10.กรองของผสมผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
- 11.เก็บส่วนของเหลวที่กรองได้ในกรวยแยกขนาด 250 มิลลิลิตร อันเดิม
- 12.ชะกระดาษกรองด้วยไดคลอโรมีเทนปริมาตร 20 มิลลิลิตร และเมทานอล 10 มิลลิลิตร
- 13.เก็บส่วนของเหลวที่กรองได้ในกรวยแยกขนาด 250 มิลลิลิตร อันเดิม
- 14.เติมสารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.88 ลงในกรวยแยก
- 15.เขย่าเป็นเวลา 3 นาที
- 16.ตั้งกรวยแยกทิ้งไว้ให้ของเหลวแยกชั้นจนชัดเจน
- 17.ดูดของเหลวส่วนบนทิ้ง โดยบันทึกปริมาตรส่วนนี้ด้วย
- 18.เติมสารละลายเมทานอลต่อน้ำ 1:1 โดยปริมาตร ลงในชั้นของเหลวชั้นล่าง โดยใช้ปริมาตรสารละลาย 1 ใน 4 ของปริมาตรของเหลวในส่วนนี้
- 19.เขย่าเป็นเวลา 3 นาที
- 20.ตั้งกรวยแยกทิ้งไว้ให้ของเหลวแยกชั้นจนชัดเจน
- 21.แยกของเหลวส่วนล่างที่เป็นชั้นของไดคลอโรมีเทนออก
- 22.นำไประเหยไดคลอโรมีเทนออกโดยใช้ Vacuum Rotary Evaporator ที่อุณหภูมิ 27°C
- 23.นำส่วนไขมันที่ได้ไปทำ methylation

#### การทำ Methylation

- 1.ดูดส่วนไขมันที่สกัดได้ 200 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดแก้วที่มีจุกเกลียว
- 2.เติมเมทานอลต่อเฮกเซน 4:1 โดยปริมาตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดแก้ว
- 3.ผสมให้เข้ากัน
- 4.เติมอะเซตติลคลอไรด์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในหลอดแก้ว โดยค่อยๆหยดทีละหยดและขณะที่หยดก็ผสมไปด้วย
- 5.ใส่ magnetic bar แล้วปิดฝาเกลียวให้แน่น
- 6.นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- 7.นำหลอดทดลองมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

8. เติมสารละลายโปแตสเซียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 6 ลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

9. นำไปเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 1000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

10. ดูดของเหลวส่วนบนซึ่งเป็นชั้นของเฮกเซนเก็บในขวดแก้วขนาดเล็กที่มีฝาปิด

11. นำไปฉีดเข้าเครื่อง Gas Chromatography ( GC ) โดยใช้ปริมาตร 1 ไมโครลิตร

#### ก9. Emulsifying capacity

ตามวิธีของ Nath และ Newbold ( 1976 )

#### อุปกรณ์

Blender ( Waring, 32BT80 )

#### วิธีทดลอง

1. ชั่งไข่แดง 2 กรัม ใส่โถปั่น
2. เติมน้ำ 10 มิลลิลิตร และน้ำมัน 40 มิลลิลิตร
3. ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 15 วินาที ที่ความเร็วปานกลาง โดยใช้ conventional blender
4. หลังจาก 15 วินาที ค่อยๆ เติมน้ำมันลงในของผสมขณะที่ blender กำลังหมุน
5. หยุดเติมน้ำมันเมื่ออิมัลชันเริ่มแยกชั้น

#### ก10. อุณหภูมิในการเกิด coagulation

#### อุปกรณ์

Heater

#### วิธีทดลอง

1. ชั่งไข่แดง 1 กรัม ใส่หลอดทดลองขนาดเล็ก
2. นำไปแช่ในอ่างน้ำที่มีการให้ความร้อน
3. บันทึกอุณหภูมิที่ไข่แดงเกิด coagulation

ภาคผนวก ข

**Absorbance Index Chart**  
**For Oils with Refractive Index in the**  
**Range 1.470-1.482 ( 25° )**

Percentage of Oil

	2.50	2.60	2.70	2.80	2.90	3.00	3.10	3.20	3.30	3.40	3.50	3.60	3.70	3.80	3.90	4.00
0.300	.035	.036	.038	.039	.041	.042	.043	.045	.046	.048	.049	.050	.052	.053	.055	.056
0.325	.052	.054	.056	.058	.060	.062	.064	.066	.068	.070	.072	.074	.076	.078	.081	.083
0.350	.057	.070	.072	.075	.078	.080	.083	.086	.088	.091	.094	.096	.099	.102	.105	.107
0.375	.081	.085	.088	.091	.094	.098	.101	.104	.107	.111	.114	.117	.120	.124	.127	.130
0.400	.095	.098	.102	.106	.110	.114	.117	.121	.125	.129	.133	.136	.140	.144	.148	.151
0.425	.107	.112	.116	.120	.124	.129	.133	.137	.142	.146	.150	.154	.159	.163	.167	.172
0.450	.119	.124	.129	.133	.138	.143	.148	.152	.157	.162	.167	.171	.176	.181	.186	.191
0.475	.130	.135	.141	.146	.151	.156	.162	.167	.172	.177	.182	.188	.193	.198	.203	.209
0.500	.141	.147	.152	.158	.163	.169	.175	.180	.186	.192	.197	.203	.209	.214	.220	.225
0.525	.151	.157	.163	.169	.175	.181	.187	.193	.199	.205	.211	.217	.224	.230	.236	.242
0.550	.161	.167	.174	.180	.186	.191	.199	.206	.212	.219	.225	.231	.238	.245	.251	.257
0.575	.170	.177	.183	.190	.197	.204	.211	.217	.224	.231	.238	.245	.251	.258	.265	.272
0.600	.179	.186	.193	.200	.207	.214	.222	.229	.236	.243	.250	.257	.264	.272	.279	.286
0.625	.187	.195	.202	.210	.217	.225	.232	.240	.247	.255	.262	.270	.277	.284	.292	.299
0.650	.195	.203	.211	.219	.227	.234	.242	.250	.258	.266	.273	.281	.289	.297	.305	.312
0.675	.203	.211	.219	.227	.236	.244	.252	.260	.268	.276	.284	.292	.301	.309	.317	.325
0.700	.211	.219	.227	.236	.244	.253	.261	.270	.278	.286	.295	.303	.312	.320	.329	.337
0.725	.218	.227	.235	.244	.253	.261	.270	.279	.288	.296	.305	.314	.323	.331	.340	.349
0.750	.225	.234	.243	.252	.261	.270	.279	.288	.297	.306	.315	.324	.333	.342	.351	.360
0.775	.232	.241	.250	.260	.269	.278	.287	.297	.306	.315	.324	.334	.343	.352	.361	.371
0.800	.238	.248	.257	.267	.276	.286	.296	.305	.315	.324	.334	.343	.353	.362	.372	.381
0.825	.245	.254	.264	.274	.284	.294	.303	.313	.323	.333	.343	.352	.362	.372	.382	.391
0.850	.251	.261	.271	.281	.291	.301	.311	.321	.331	.341	.351	.361	.371	.381	.391	.401
0.875	.257	.267	.277	.288	.298	.308	.319	.329	.339	.349	.360	.370	.380	.390	.401	.411
0.900	.263	.273	.284	.294	.305	.315	.326	.336	.347	.357	.368	.378	.389	.399	.410	.420
0.925	.268	.279	.290	.301	.311	.322	.333	.344	.354	.365	.375	.386	.397	.408	.419	.429
0.950	.274	.285	.296	.307	.318	.329	.340	.351	.362	.373	.383	.394	.405	.416	.427	.438
0.975	.279	.290	.302	.313	.324	.335	.346	.358	.369	.380	.391	.402	.413	.425	.436	.447
1.000	.285	.296	.307	.319	.330	.341	.353	.364	.376	.387	.398	.410	.421	.433	.444	.455
1.025	.290	.301	.313	.324	.336	.348	.359	.371	.382	.394	.406	.417	.429	.440	.452	.463
1.050	.295	.306	.318	.330	.342	.354	.365	.377	.389	.401	.413	.424	.436	.448	.460	.471
1.075	.300	.312	.323	.335	.347	.359	.371	.383	.395	.407	.419	.431	.443	.455	.467	.479
1.100	.304	.316	.329	.341	.353	.365	.377	.390	.402	.414	.426	.438	.450	.463	.475	.487
1.125	.309	.321	.334	.346	.358	.371	.383	.395	.408	.420	.433	.445	.457	.470	.482	.494
1.150	.314	.326	.339	.351	.364	.376	.389	.401	.414	.426	.439	.451	.464	.477	.489	.502
1.175	.318	.331	.343	.356	.369	.382	.394	.407	.420	.432	.445	.458	.471	.483	.496	.509
1.200	.322	.335	.348	.361	.374	.387	.400	.413	.425	.438	.451	.464	.477	.490	.503	.516
1.225	.327	.340	.353	.366	.379	.392	.405	.418	.431	.444	.457	.470	.483	.496	.510	.523
1.250	.331	.344	.357	.370	.384	.397	.410	.423	.437	.450	.463	.476	.490	.503	.516	.529
1.275	.335	.348	.362	.375	.388	.402	.415	.429	.442	.455	.469	.482	.496	.509	.522	.536
1.300	.339	.352	.366	.380	.393	.407	.420	.434	.447	.461	.474	.488	.502	.515	.529	.542
1.325	.343	.357	.370	.384	.398	.411	.425	.439	.453	.466	.480	.494	.507	.521	.535	.549
1.350	.347	.361	.374	.388	.402	.416	.430	.444	.458	.472	.485	.499	.513	.527	.541	.555
1.375	.351	.365	.379	.393	.407	.421	.435	.449	.463	.477	.491	.505	.519	.533	.547	.561
1.400	.354	.368	.383	.397	.411	.425	.439	.453	.468	.482	.496	.510	.524	.538	.553	.567

Average Droplet Diameter (micrometers)

Not For Use with Butterfat  
 Copyright Gaultin Corporation, 1982

## ภาคผนวก ค

### รายละเอียดของ Gas Chromatography

Gas Chromatography 8000 Series II , Fisons Instruments ประกอบด้วย flame ionization detector และ fused silica capillary column ความยาว 30 เมตร ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.32 มิลลิเมตร เคลือบผิวด้วย DB-23 P/N, 123-2332 ทน 0.25 ไมโครเมตร ( J&W Scientific, USA )

Carrier gas : Helium

Split ratio 10:1

Injector port temperature : 250°C

Detector temperature : 300°C

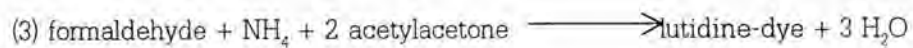
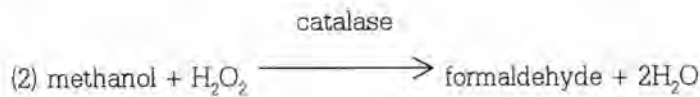
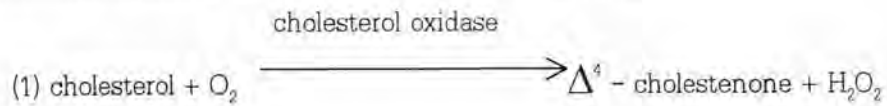
Oven temperature program

เริ่มต้นอุณหภูมิของคอลัมน์ที่ 80°C หลังจากฉีดตัวอย่างจะเพิ่มอุณหภูมิของคอลัมน์จนถึง 180°C ในอัตรา 10°C/min และคงไว้ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นจะเพิ่มอุณหภูมิของคอลัมน์จนถึง 220°C ในอัตรา 4°C/min และคงไว้ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 7 นาที

## ภาคผนวก ง

### หลักการวิเคราะห์คอเลสเตอรอลโดยวิธี Colorimetric

คอเลสเตอรอลในตัวอย่างจะถูกออกซิไดซ์โดยเอนไซม์คอเลสเตอรอลออกซิเดส เปลี่ยนเป็นคอเลสเตโรน (1) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาในขั้นที่ 1 จะออกซิไดซ์เมทานอลให้เปลี่ยนไปเป็นฟอร์มาลดีไฮด์ในภาวะที่มีเอนไซม์คะตะเลส (2) จากนั้นฟอร์มาลดีไฮด์จะทำปฏิกิริยากับอะเซตติลอะซีโตนในภาวะที่มีแอมโมเนียมอออน เกิดเป็น lutidine-dye ที่มีสีเหลือง (3)



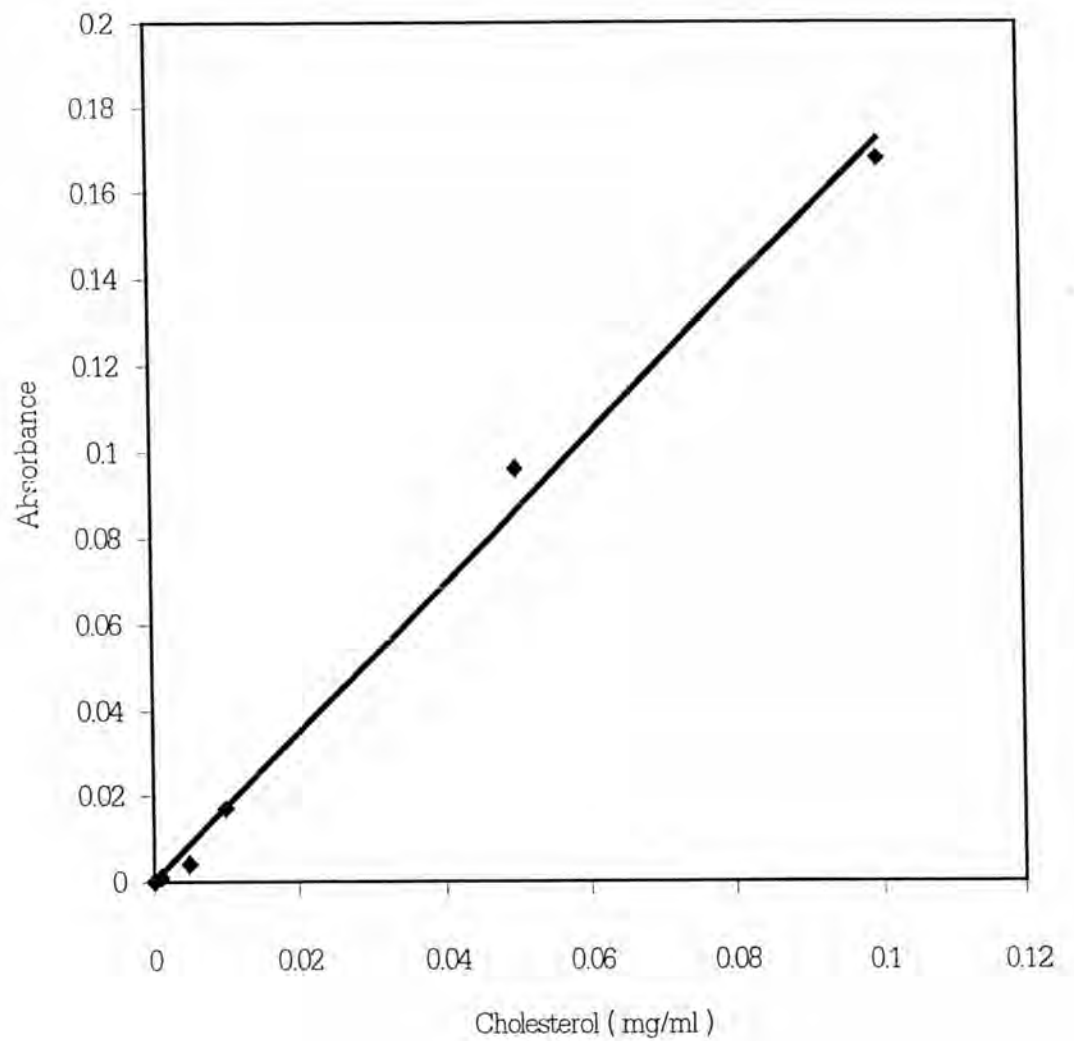
ความเข้มข้นของ lutidine-dye ( 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidine ) ที่เกิดขึ้น จะสมมูลกับปริมาณคอเลสเตอรอลและวัดได้จากค่า absorbance ที่เพิ่มขึ้นในช่วง visible ที่ความยาวคลื่น 405 nm



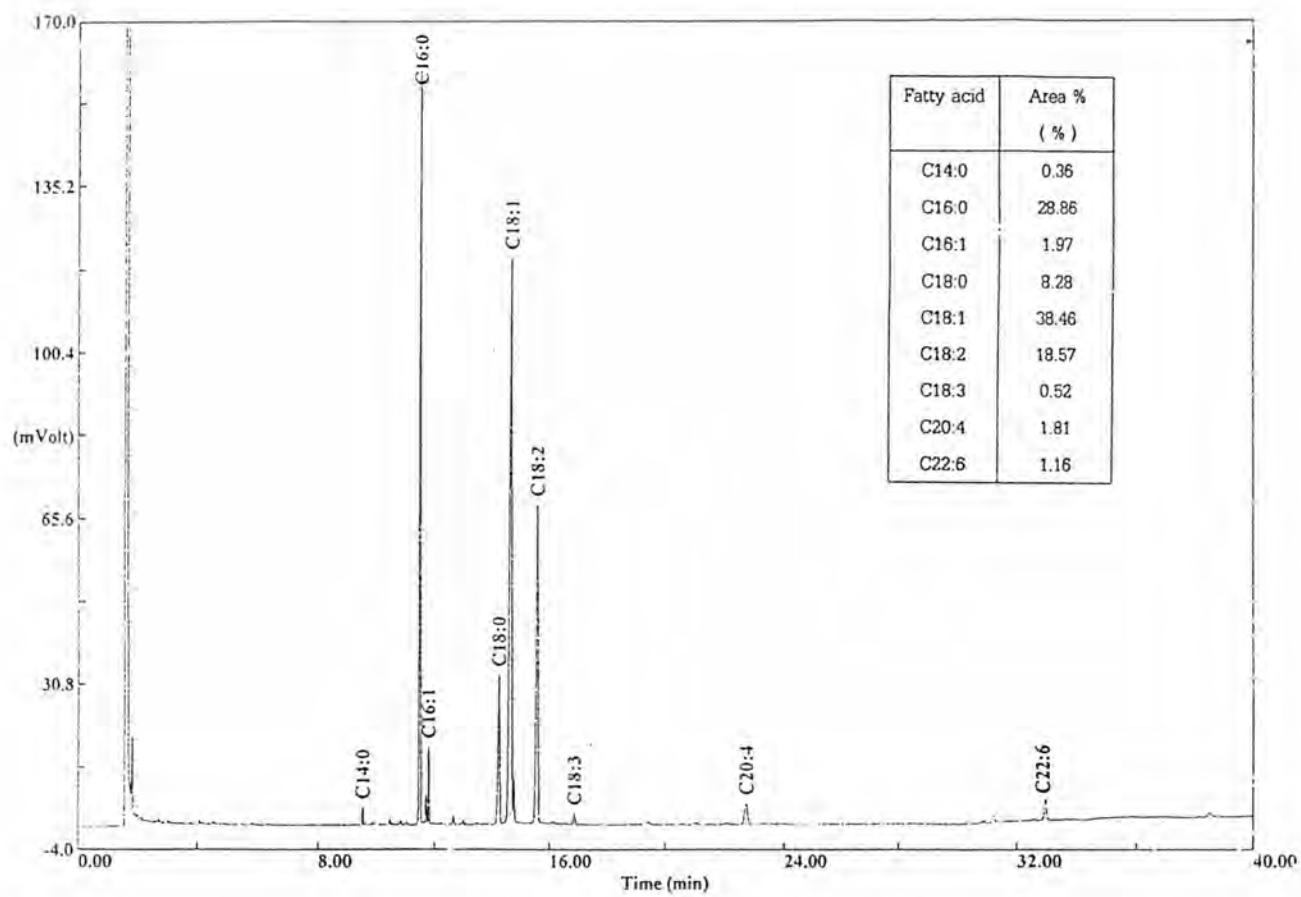
## ภาคผนวก จ

### ข้อมูลเพิ่มเติม

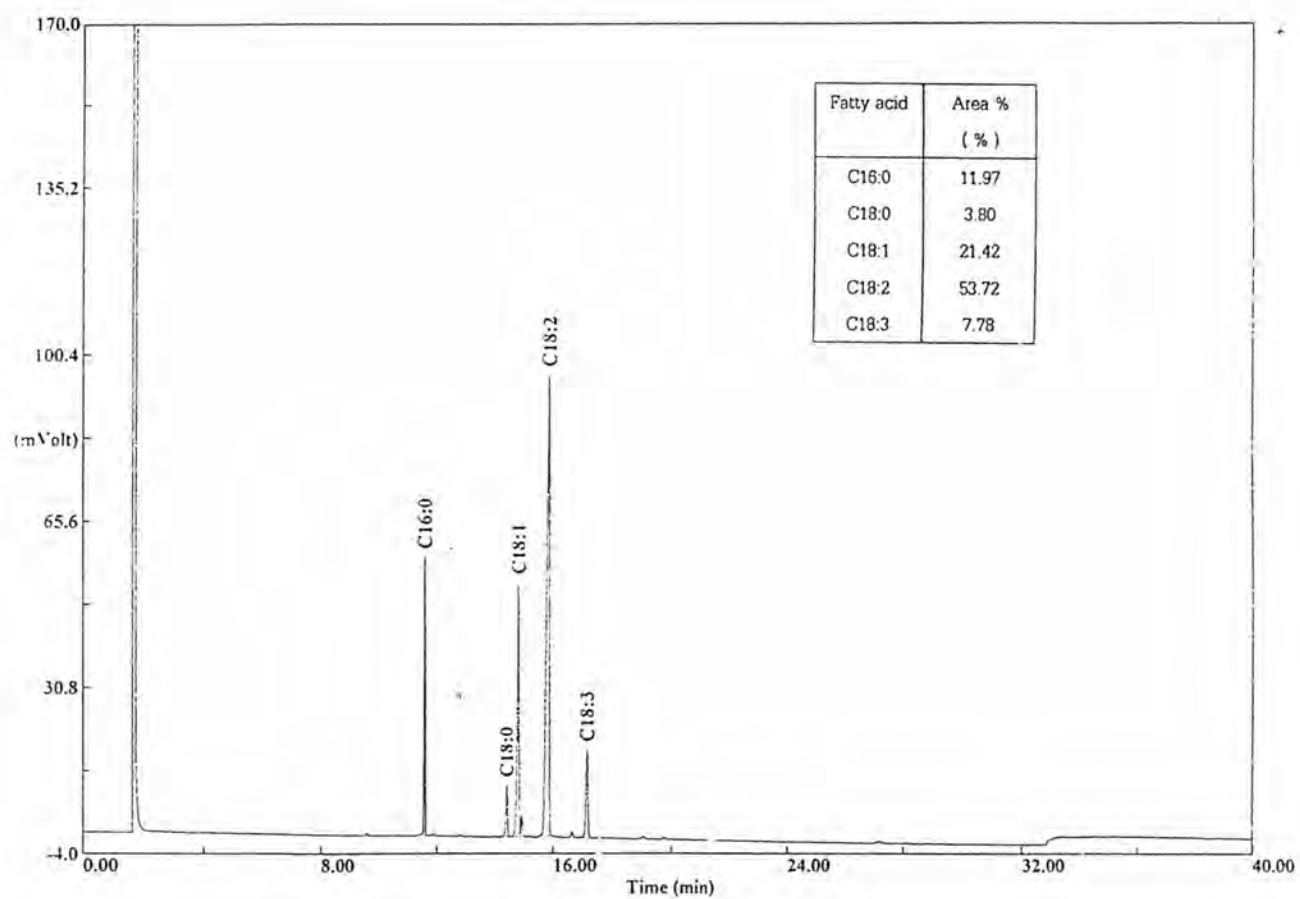
- รูปที่ จ.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า absorbance กับความเข้มข้นของคอเลสเทอรอล(mg/ml)
- รูปที่ จ.2 Chromatogram แสดงค่าปริมาณของ fatty acids ในไข่แดง
- รูปที่ จ.3 Chromatogram แสดงค่าปริมาณของ fatty acids ในน้ำมันถั่วเหลือง
- รูปที่ จ.4 Chromatogram แสดงค่าปริมาณของ fatty acids ในไข่แดงที่มีปริมาณคอเลสเทอรอลลดลง
- รูปที่ จ.5 เครื่องวัดความหนืด Brookfield Digital Viscometer DV-II+
- รูปที่ จ.6 เครื่องวัดสี Minalta Chroma Meter CR 300 และแผ่น calibrate สี
- รูปที่ จ.7 เครื่องวัดสี Minalta Chroma Meter CR 300 และอุปกรณ์วัดสี
- รูปที่ จ.8 Chromaticity Diagram
- รูปที่ จ.9 Emulsion Quality Analyzer ( Gaulin )
- ตารางที่ จ.1 ปริมาณคอเลสเทอรอล ( mg/100g ) และปริมาณฟอสโฟลิปิด ( mg/100g ) ในชั้นผลิตภัณฑ์ไข่แดง เมื่อใช้ GMO 8% , 10% และ 12%
- ตารางที่ จ.2 ปริมาณคอเลสเทอรอล ( mg/100g ) และปริมาณฟอสโฟลิปิด ( mg/100g ) ในชั้นผลิตภัณฑ์ไข่แดง เมื่อใช้ SMO 8% , 10% และ 12%
- ตารางที่ จ.3 ปริมาณคอเลสเทอรอล ( mg/100g ) และปริมาณฟอสโฟลิปิด ( mg/100g ) ในชั้นผลิตภัณฑ์ไข่แดง เมื่อใช้ LC 8% , 10% และ 12%
- ตารางที่ จ.4 ปริมาณคอเลสเทอรอล ( mg/100g ) และปริมาณฟอสโฟลิปิด ( mg/100g ) ในชั้นผลิตภัณฑ์ไข่แดง เมื่อแปรปริมาณน้ำมันถั่วเหลือง โดยใช้ LC 8% ที่ pH 4.5
- ตารางที่ จ.5 ปริมาณคอเลสเทอรอล ( mg/100g ) และปริมาณฟอสโฟลิปิด ( mg/100g ) ในชั้นผลิตภัณฑ์ไข่แดง เมื่อแปรความดัน โดยใช้ LC 8% ที่ pH 4.5



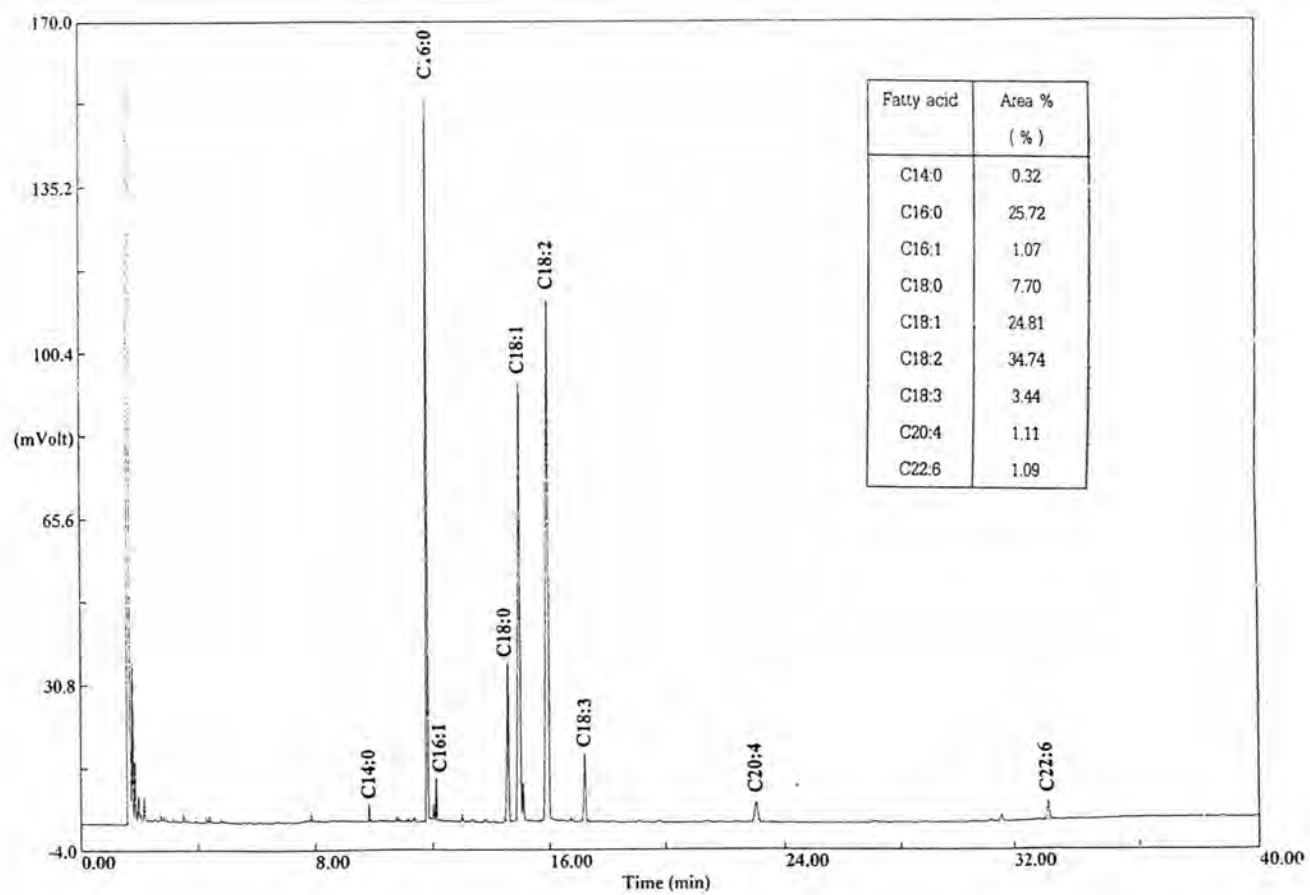
รูปที่ จ.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า absorbance กับความเข้มข้นของคอเลสเตอรอล(mg/ml)



รูปที่ จ.2 Chromatogram แสดงค่าปริมาณของ fatty acids ในไข่แดง



รูปที่ จ.3 Chromatogram แสดงค่าปริมาณของ fatty acids ในน้ำมันถั่วเหลือง



รูปที่ จ.4 Chromatogram แสดงค่าปริมาณของ fatty acids ในไข่แดงที่มีปริมาณคอเลสเตอรอลลดลง



รูปที่ จ.5 เครื่องวัดความหนืด Brookfield Digital Viscometer DV-1+

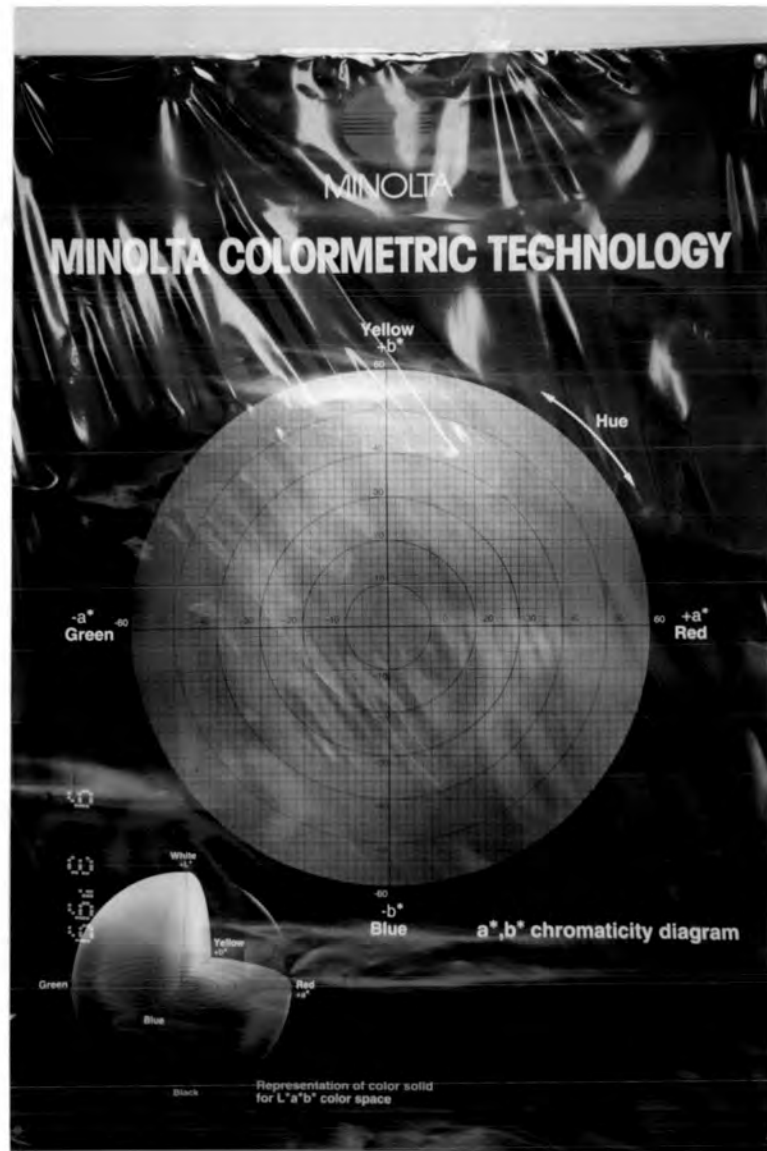


รูปที่ ๑.๖ เครื่องวัดสี Minolta Chroma Meter CR 300 และแผ่น calibrate สี



รูปที่ จ.7 เครื่องวัดสี Minolta Chroma Meter CR 300 และอุปกรณ์วัดสี





รูปที่ ๑.๘ Chromaticity Diagram



รูปที่ ๑.๑ Emulsion Quality Analyzer ( Gaulin )

**ตารางที่ จ.1** ปริมาณคอเลสเทอรอล ( mg/100g ) และปริมาณฟอสโฟลิปิด ( mg/100g ) ในชั้นผลิตภัณฑ์ไข่แดง เมื่อใช้ GMO 8% 10% และ 12%

pH	ปริมาณ GMO ( % )	ค่าเฉลี่ย ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน <sup>1,2</sup>	
		ปริมาณคอเลสเทอรอล ( mg/100g )	ปริมาณฟอสโฟลิปิด ( mg/100g )
Control	-	2104.76 ± 29.09	8445.92 ± 413.90
4.5	8	1691.83 <sup>b</sup> ± 69.53	9509.83 <sup>ab</sup> ± 255.16
	10	1409.21 <sup>c</sup> ± 36.71	8778.67 <sup>bc</sup> ± 497.14
	12	1686.54 <sup>b</sup> ± 36.39	8913.08 <sup>b</sup> ± 269.04
9.0	8	1790.39 <sup>a</sup> ± 35.38	9666.50 <sup>a</sup> ± 424.35
	10	1614.27 <sup>b</sup> ± 51.40	9060.33 <sup>ab</sup> ± 431.74
	12	1643.38 <sup>b</sup> ± 31.43	8171.75 <sup>c</sup> ± 411.83

<sup>1</sup> Mean ± SD ; n = 3

<sup>2</sup> ค่าที่แสดงเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง

a , b , ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถวเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( p ≤ 0.05 )

**ตารางที่ จ.2** ปริมาณคอเลสเทอรอล ( mg/100g ) และปริมาณฟอสโฟลิปิด ( mg/100g ) ในชั้นผลิตภัณฑ์ไข่แดง เมื่อใช้ SMO 8% 10% และ 12%

pH	ปริมาณ SMO ( % )	ค่าเฉลี่ย ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน <sup>1,2</sup>	
		ปริมาณคอเลสเทอรอล ( mg/100g )	ปริมาณฟอสโฟลิปิด ( mg/100g )
Control	-	2104.76 ± 29.09	8445.92 ± 413.90
4.5	8	1776.25 <sup>ab</sup> ± 22.95	9828.17 <sup>b</sup> ± 307.37
	10	1552.01 <sup>d</sup> ± 58.30	8065.75 <sup>c</sup> ± 538.21
	12	1788.82 <sup>a</sup> ± 62.45	7980.50 <sup>c</sup> ± 267.53
9.0	8	1624.03 <sup>cd</sup> ± 30.29	11169.25 <sup>a</sup> ± 348.04
	10	1351.50 <sup>e</sup> ± 75.42	9116.25 <sup>b</sup> ± 244.63
	12	1691.99 <sup>bc</sup> ± 24.48	7971.67 <sup>c</sup> ± 280.87

<sup>1</sup> Mean ± SD ; n = 3

<sup>2</sup> ค่าที่แสดงเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง

a , b , ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถวเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( p ≤ 0.05 )

**ตารางที่ ๑.๓** ปริมาณคอเลสเทอรอล ( mg/100g ) และปริมาณฟอสโฟลิปิด ( mg/100g ) ในชั้นผลิตภัณฑ์ไข่แดง เมื่อใช้ LC 8% 10% และ 12%

pH	ปริมาณ LC ( % )	ค่าเฉลี่ย ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน <sup>1,2</sup>	
		ปริมาณคอเลสเทอรอล ( mg/100g )	ปริมาณฟอสโฟลิปิด ( mg/100g )
Control	-	291.33 ± 10.26	8445.92 ± 413.90
4.5	8	1396.73 <sup>c</sup> ± 35.81	11795.42 <sup>d</sup> ± 628.50
	10	1509.93 <sup>b</sup> ± 50.42	13838.42 <sup>c</sup> ± 501.27
	12	1739.65 <sup>a</sup> ± 56.31	15247.67 <sup>b</sup> ± 366.44
9.0	8	1508.93 <sup>b</sup> ± 33.92	13842.83 <sup>c</sup> ± 239.66
	10	1572.60 <sup>b</sup> ± 40.93	15269.17 <sup>b</sup> ± 301.27
	12	1808.58 <sup>a</sup> ± 59.72	16567.33 <sup>a</sup> ± 554.29

<sup>1</sup> Mean ± SD ; n = 3

<sup>2</sup> ค่าที่แสดงเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง

a , b , ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวตั้งเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( p ≤ 0.05 )

**ตารางที่ ๑.๔** ปริมาณคอเลสเทอรอล ( mg/100g ) และปริมาณฟอสโฟลิปิด ( mg/100g ) ในชั้นผลิตภัณฑ์ไข่แดง เมื่อแปรปริมาณน้ำมันถั่วเหลือง โดยใช้ LC 8% ที่ pH 4.5

ปริมาณน้ำมันถั่วเหลือง ( เท่า )	ค่าเฉลี่ย ± เบี่ยงเบนมาตรฐาน <sup>1,2</sup>	
	ปริมาณคอเลสเทอรอล ( mg/100g )	ปริมาณฟอสโฟลิปิด ( mg/100g )
2	1388.31 <sup>a</sup> ± 23.66	11508.50 <sup>a</sup> ± 247.83
3	1174.80 <sup>b</sup> ± 35.16	10715.50 <sup>b</sup> ± 464.99
4	1102.08 <sup>b</sup> ± 30.34	9096.31 <sup>c</sup> ± 213.73

<sup>1</sup> Mean ± SD ; n = 3

<sup>2</sup> ค่าที่แสดงเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง

a , b , ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแถวตั้งเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( p ≤ 0.05 )

**ตารางที่ ๑.5** ปริมาณคอเลสเทอรอล ( mg/100g ) และปริมาณฟอสโฟลิปิด ( mg/100g ) ในชั้นผลิตภัณฑ์ไข่แดง เมื่อแปรความดัน โดยใช้ LC 8% ที่ pH 4.5

ความดัน ( psi )	ค่าเฉลี่ย $\pm$ เบี่ยงเบนมาตรฐาน <sup>1,2</sup>	
	ปริมาณคอเลสเทอรอล ( mg/100g )	ปริมาณฟอสโฟลิปิด ( mg/100g )
1000	796.41 <sup>a</sup> $\pm$ 51.12	10535.88 <sup>a</sup> $\pm$ 222.44
2000	650.90 <sup>b</sup> $\pm$ 30.85	9969.94 <sup>b</sup> $\pm$ 290.68
3000	566.43 <sup>c</sup> $\pm$ 48.01	8875.31 <sup>c</sup> $\pm$ 228.27

<sup>1</sup> Mean  $\pm$  SD ; n = 3

<sup>2</sup> ค่าที่แสดงเป็นร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง

a , b , ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวตั้งเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (  $p \leq 0.05$  )

### ประวัติผู้เขียน

นางสาวจุฑามาส แก้วประเสริฐ เกิดวันที่ 11 ธันวาคม 2516 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2538 และศึกษาต่อหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2538