



ภาคผนวก

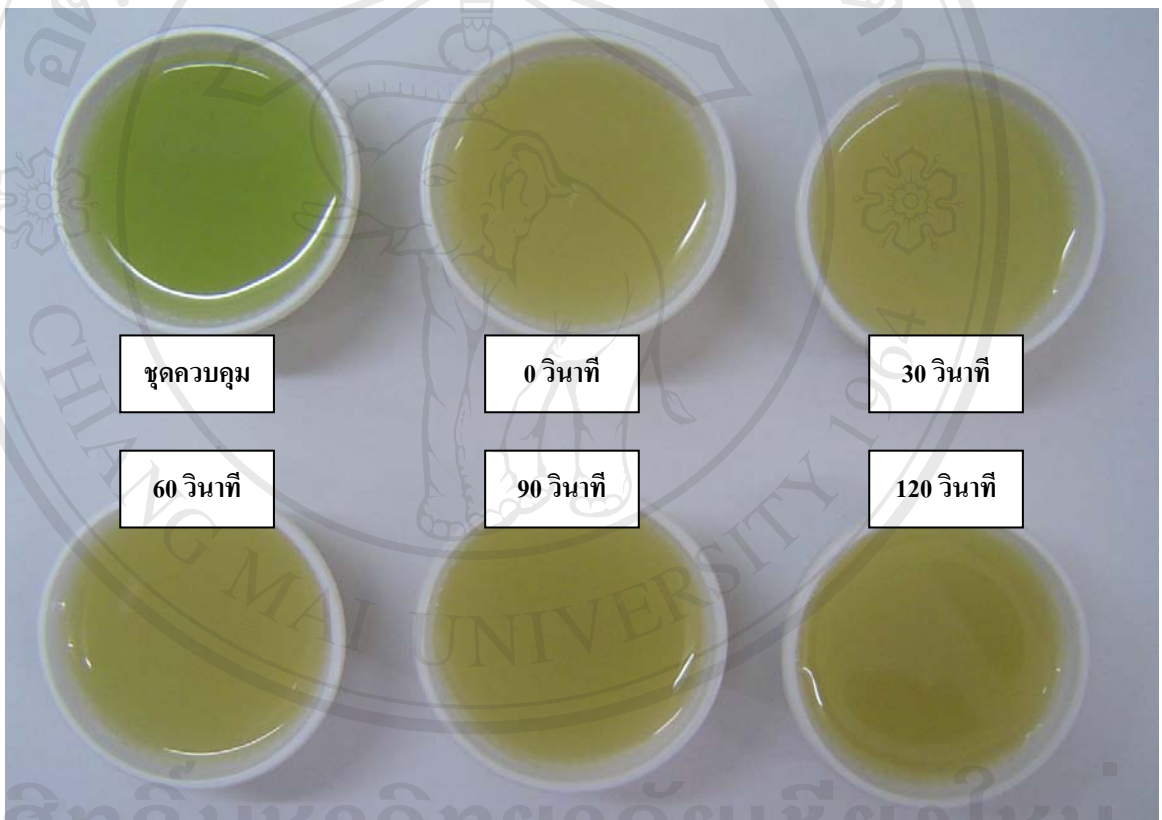
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright © by Chiang Mai University

All rights reserved

ภาคผนวก ก

ภาพผลิตภัณฑ์น้ำฝรั่ง

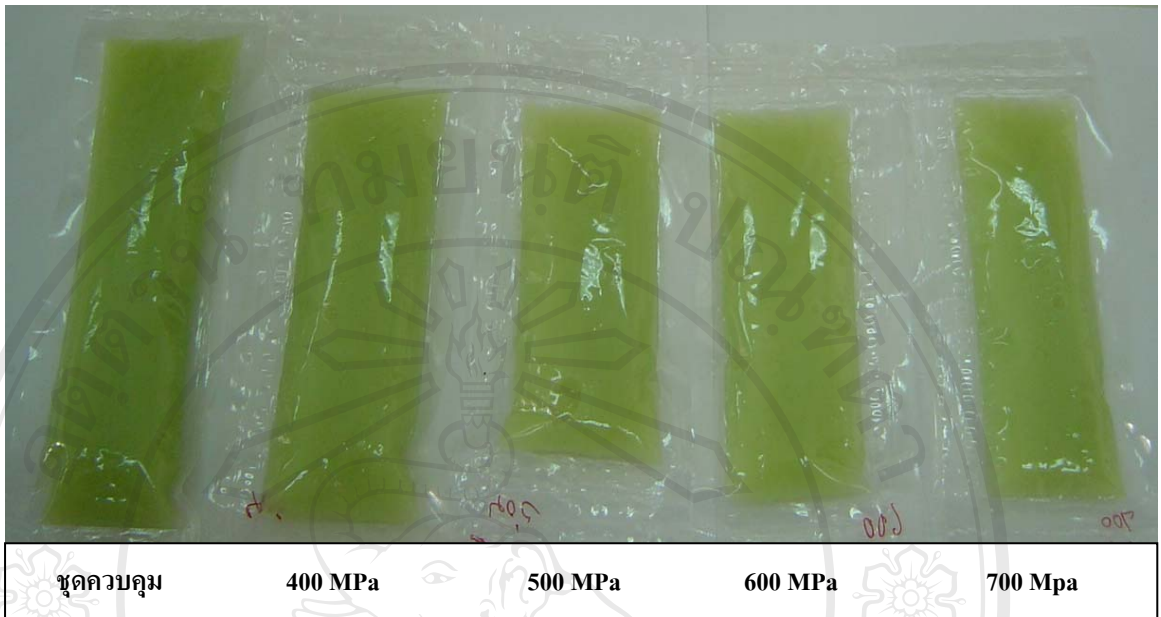


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright © by Chiang Mai University

All rights reserved

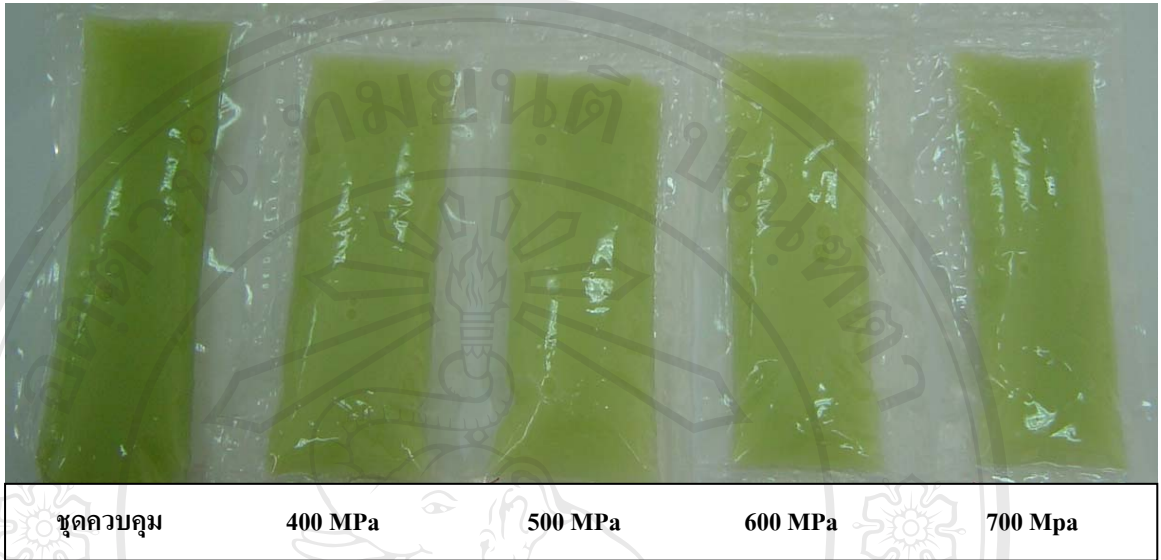
รูปภาคผนวก ก1 น้ำฝรั่งที่ผลิตด้วยเทคนิคความร้อน



รูปภาคผนวก ก2 น้ำฝรั่งผลิตด้วยเทคนิคความดันสูง ที่อุณหภูมิ 30 °C



รูปภาคผนวก ก3 น้ำฝรั่งผลิตด้วยเทคนิคความดันสูง ที่อุณหภูมิ 40 °C



รูปภาคผนวก ก4 น้ำฝรั่งผลิตด้วยเทคนิคความดันสูง ที่อุณหภูมิ 60 °C



รูปภาคผนวก ก5 น้ำฝรั่งผลิตด้วยเทคนิคความดันสูงที่ 500 MPa อุณหภูมิ 30 °C

ชุดควบคุม    เทคนิคความร้อนที่ 90 °C    เทคนิคความดันสูงที่ 500 MPa  
 30 วินาที    60 วินาที    15 นาที    20 นาที

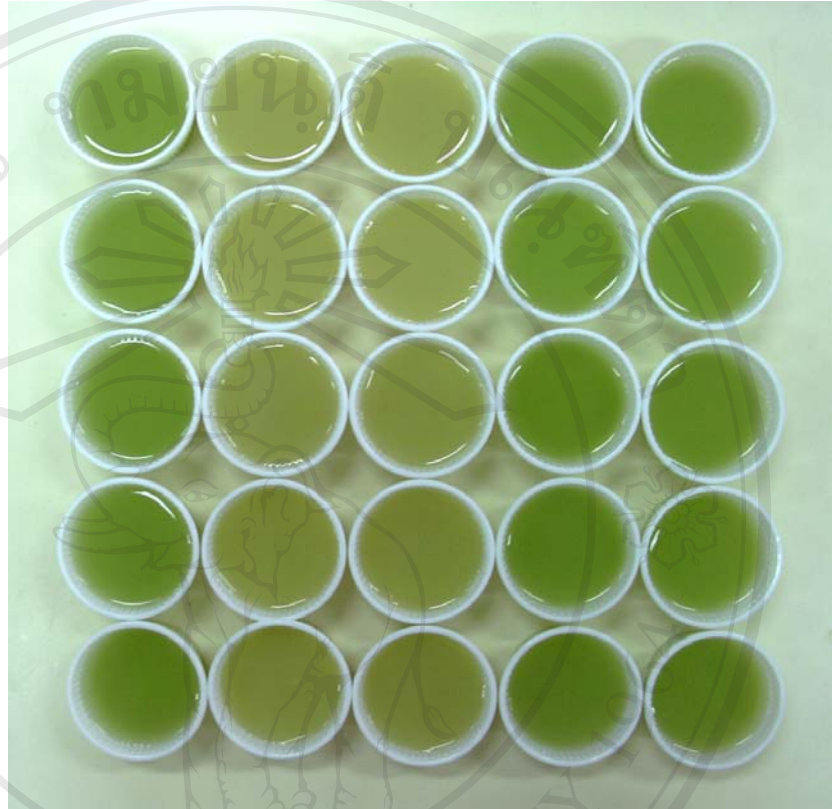
เริ่มต้น

7 วัน

14 วัน

21 วัน

28 วัน



รูปภาคผนวก ก6 น้ำฝรั่งผลิตด้วยเทคนิคความร้อนและเทคนิคความดันสูง  
 เก็บรักษาที่ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
 Copyright © by Chiang Mai University  
 All rights reserved

## ภาคผนวก ข

## ตารางผลการทดลอง

ตารางภาคผนวก ข1 ค่าความสว่าง (L) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	ค่าความสว่าง (L)			
		เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	49.14 ± 0.04	55.46 ± 0.21	53.02 ± 0.47	48.50 ± 0.18	49.07 ± 0.07
7	48.18 ± 0.11	55.44 ± 0.15	54.95 ± 0.20	49.02 ± 0.19	48.66 ± 0.06
14	48.35 ± 0.27	55.19 ± 0.33	54.02 ± 0.54	48.75 ± 0.37	48.79 ± 0.25
21	48.28 ± 0.48	55.03 ± 0.27	53.92 ± 0.57	48.59 ± 0.41	48.72 ± 0.12
28	48.55 ± 0.17	54.59 ± 0.68	53.73 ± 0.83	48.34 ± 0.88	48.88 ± 0.16

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข2 ค่าสีแดง-เขียว (a) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	ค่าสีแดง-เขียว (a)			
		เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	-7.40 ± 0.08	-4.28 ± 0.08	-4.09 ± 0.16	-7.49 ± 0.06	-7.39 ± 0.06
7	-7.24 ± 0.03	-4.43 ± 0.02	-4.23 ± 0.10	-7.39 ± 0.11	-7.12 ± 0.06
14	-7.10 ± 0.06	-4.35 ± 0.15	-4.11 ± 0.15	-7.21 ± 0.05	-7.12 ± 0.04
21	-7.04 ± 0.03	-4.22 ± 0.10	-4.07 ± 0.26	-7.17 ± 0.52	-7.08 ± 0.12
28	-6.88 ± 0.02	-4.13 ± 0.15	-3.88 ± 0.23	-6.94 ± 0.30	-7.06 ± 0.05

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข3 ค่าสีเหลือง-น้ำเงิน (b) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	ค่าสีเหลือง-น้ำเงิน (b)			
		เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	10.83 ± 0.14	14.73 ± 0.13	13.61 ± 0.15	10.40 ± 0.09	10.75 ± 0.09
7	10.54 ± 0.14	14.21 ± 0.08	14.50 ± 0.13	10.75 ± 0.10	10.12 ± 0.02
14	10.43 ± 0.11	14.25 ± 0.10	14.12 ± 0.54	10.70 ± 0.10	10.31 ± 0.04
21	10.35 ± 0.13	14.39 ± 0.08	14.10 ± 0.05	10.77 ± 0.21	10.35 ± 0.06
28	10.25 ± 0.05	14.55 ± 0.27	13.66 ± 0.35	10.87 ± 0.89	10.41 ± 0.14

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข4 ค่าความหนืด (viscosity; cP) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	ค่าความหนืด (cP)			
		เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	12.51 ± 1.56	4.57 ± 0.15	4.75 ± 0.23	14.65 ± 1.01	13.88 ± 1.75
7	13.35 ± 0.26	5.63 ± 0.08	5.13 ± 0.08	13.52 ± 0.32	11.47 ± 0.23
14	12.73 ± 0.11	5.94 ± 0.28	5.29 ± 0.05	12.33 ± 1.69	11.38 ± 0.34
21	12.41 ± 0.31	6.31 ± 0.27	5.44 ± 0.16	11.63 ± 0.17	11.31 ± 1.16
28	12.28 ± 0.43	6.55 ± 0.34	5.53 ± 0.34	11.18 ± 0.15	11.00 ± 0.18

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	4.15 ± 0.01	4.16 ± 0.02	4.15 ± 0.01	4.13 ± 0.02	4.12 ± 0.01
7	4.21 ± 0.01	4.22 ± 0.01	4.23 ± 0.04	4.18 ± 0.02	4.18 ± 0.02
14	4.27 ± 0.02	4.25 ± 0.01	4.25 ± 0.02	4.20 ± 0.01	4.21 ± 0.01
21	4.39 ± 0.01	4.25 ± 0.03	4.25 ± 0.01	4.21 ± 0.01	4.20 ± 0.04
28	4.51 ± 0.02	4.27 ± 0.01	4.26 ± 0.02	4.20 ± 0.01	4.22 ± 0.03

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข6 ปริมาณกรดที่ไทเตรตได้ (acidity; % citric acid equivalent) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	0.33 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.34 ± 0.02	0.34 ± 0.01	0.34 ± 0.02
7	0.34 ± 0.01	0.32 ± 0.02	0.32 ± 0.02	0.33 ± 0.19	0.31 ± 0.01
14	0.33 ± 0.01	0.32 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.33 ± 0.01	0.33 ± 0.01
21	0.34 ± 0.01	0.32 ± 0.01	0.32 ± 0.02	0.32 ± 0.02	0.33 ± 0.01
28	0.33 ± 0.01	0.32 ± 0.02	0.31 ± 0.02	0.33 ± 0.01	0.32 ± 0.01

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ



ตารางภาคผนวก ข7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar; %) ระหว่างการเก็บรักษา  
น้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	0.57 ± 0.03	0.54 ± 0.01	0.54 ± 0.01	0.53 ± 0.01	0.53 ± 0.01
7	0.55 ± 0.01	0.55 ± 0.01	0.54 ± 0.02	0.52 ± 0.01	0.53 ± 0.01
14	0.51 ± 0.01	0.53 ± 0.03	0.53 ± 0.02	0.49 ± 0.01	0.49 ± 0.02
21	0.49 ± 0.01	0.53 ± 0.02	0.51 ± 0.03	0.49 ± 0.01	0.49 ± 0.03
28	0.51 ± 0.02	0.54 ± 0.01	0.54 ± 0.02	0.49 ± 0.01	0.50 ± 0.01

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข8 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar ; %) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	6.66 ± 0.03	6.61 ± 0.20	6.61 ± 0.46	6.58 ± 0.31	6.65 ± 0.15
7	6.65 ± 0.73	6.61 ± 1.46	6.64 ± 0.20	6.62 ± 0.19	6.59 ± 0.06
14	6.61 ± 0.32	6.55 ± 0.15	6.62 ± 0.54	6.55 ± 0.54	6.59 ± 0.25
21	6.51 ± 0.28	6.57 ± 0.03	6.62 ± 0.11	6.59 ± 0.26	6.52 ± 0.16
28	6.22 ± 0.08	6.62 ± 0.15	6.58 ± 0.08	6.55 ± 0.08	6.51 ± 0.06

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข9 ปริมาณวิตามินซี (vitamin C; mg/100ml) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำฝรั่ง  
แปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	77.80 ± 0.27	74.20 ± 0.27	72.47 ± 0.20	77.29 ± 0.25	77.76 ± 0.82
7	76.67 ± 0.10	72.70 ± 0.27	68.57 ± 0.48	77.29 ± 0.48	76.98 ± 0.27
14	76.35 ± 0.27	74.02 ± 0.14	65.19 ± 0.10	76.75 ± 0.21	76.72 ± 0.16
21	76.83 ± 0.27	68.57 ± 0.06	69.03 ± 0.30	76.30 ± 0.14	76.16 ± 0.27
28	76.54 ± 0.41	64.33 ± 0.41	67.46 ± 1.37	75.90 ± 0.48	75.96 ± 0.14

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข10 ปริมาณวิตามินซีที่เหลืออยู่ (residue vitamin C content; %) ระหว่างการ  
เก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	100.00	95.37	93.15	99.34	99.95
7	98.55	93.44	88.14	99.34	98.95
14	98.14	95.14	86.71	98.65	98.61
21	98.75	88.14	88.73	98.07	97.89
28	98.38	82.69	83.79	97.56	97.63

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าความสัมพันธ์เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นของชุดควบคุม

ตารางภาคผนวก ข11 ปริมาณเพคติน (pectin; mg/100 ml) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	6.85 ± 0.04	7.04 ± 0.03	6.99 ± 0.02	6.70 ± 0.03	6.63 ± 0.03
7	6.41 ± 0.03	6.96 ± 0.03	6.90 ± 0.02	6.66 ± 0.03	6.54 ± 0.02
14	6.09 ± 0.04	6.89 ± 0.02	6.87 ± 0.04	6.60 ± 0.02	6.52 ± 0.02
21	5.75 ± 0.04	6.87 ± 0.04	6.81 ± 0.01	6.52 ± 0.03	6.43 ± 0.02
28	5.24 ± 0.04	6.79 ± 0.03	6.75 ± 0.02	6.43 ± 0.02	6.37 ± 0.03

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข12 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เพคตินเมทิลเอสเทอร์เรส (pectin methylesterase; unit/ml) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	0.95 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.27 ± 0.01	0.69 ± 0.02	0.64 ± 0.01
7	0.83 ± 0.02	0.31 ± 0.01	0.30 ± 0.01	0.66 ± 0.02	0.65 ± 0.02
14	0.85 ± 0.01	0.36 ± 0.01	0.31 ± 0.02	0.65 ± 0.01	0.69 ± 0.02
21	0.85 ± 0.01	0.36 ± 0.02	0.33 ± 0.01	0.67 ± 0.01	0.65 ± 0.01
28	0.79 ± 0.01	0.42 ± 0.01	0.37 ± 0.01	0.75 ± 0.01	0.70 ± 0.01

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข13 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เพคตินเมทิลเอสเทอร์เรสที่เหลืออยู่ (residual pectin methylesterase activity;%) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	100.00	34.74	28.42	72.63	67.37
7	87.37	32.63	31.58	69.47	68.42
14	89.47	37.89	32.63	68.42	72.63
21	89.47	37.89	34.74	70.53	68.42
28	83.16	44.21	38.95	78.95	73.68

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าความสัมพัทธ์เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นของชุดควบคุม

ตารางภาคผนวก ข14 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (peroxidase ; unit/ml) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	6.52 ± 0.06	ND	ND	3.52 ± 0.13	3.38 ± 0.24
7	6.13 ± 0.17	ND	ND	3.80 ± 0.20	3.66 ± 0.24
14	4.69 ± 0.11	ND	ND	4.01 ± 0.21	3.95 ± 0.19
21	3.94 ± 0.16	ND	ND	4.11 ± 0.24	4.37 ± 0.17
28	2.60 ± 0.04	ND	ND	4.35 ± 0.21	4.71 ± 0.10

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ND = ตรวจไม่พบ (not detected)

ตารางภาคผนวก ข15 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสที่เหลืออยู่ (residual peroxidase activity;% ) ระหว่างเก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	100.00	0.00	0.00	53.99	51.84
7	94.02	0.00	0.00	58.28	56.13
14	71.93	0.00	0.00	61.50	60.58
21	60.43	0.00	0.00	63.04	67.02
28	39.88	0.00	0.00	66.72	72.24

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าความสัมพันธ์เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นของชุดควบคุม

ตารางภาคผนวก ข16 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenoloxidase; unit/ml) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	2.16 ± 0.02	1.44 ± 0.02	1.13 ± 0.01	1.65 ± 0.03	1.78 ± 0.01
7	2.20 ± 0.01	1.40 ± 0.01	1.13 ± 0.02	1.71 ± 0.10	1.80 ± 0.02
14	2.14 ± 0.02	1.41 ± 0.01	1.15 ± 0.01	1.87 ± 0.27	1.92 ± 0.02
21	2.09 ± 0.02	1.43 ± 0.01	1.14 ± 0.02	1.98 ± 0.48	1.89 ± 0.01
28	2.03 ± 0.03	1.49 ± 0.01	1.19 ± 0.02	1.92 ± 0.17	1.87 ± 0.01

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข17 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสที่เหลืออยู่ (residual polyphenol-oxidase activity) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	100.00	66.67	52.31	82.41	76.39
7	101.85	64.81	52.31	83.33	79.17
14	99.07	65.28	53.24	88.89	86.57
21	96.76	66.20	52.78	87.50	91.67
28	93.98	68.98	55.09	86.57	88.89

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าความสัมพันธ์เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นของชุดควบคุม

ตารางภาคผนวก ข18 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count ; log cfu/ml) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	3.49	ND	ND	ND	ND
7	3.48	ND	ND	ND	ND
14	3.59	< 1.4	< 1.4	ND	ND
21	3.86	< 1.4	< 1.4	ND	ND
28	4.01	< 1.4	< 1.4	ND	ND

หมายเหตุ : ND = ตรวจไม่พบ (not detected)

ตารางภาคผนวก ข19 ปริมาณเชื้อยีสต์และรา (yeast and mold; log cfu/ml) ระหว่างการเก็บ  
รักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	3.43	ND	ND	ND	ND
7	3.54	ND	ND	ND	ND
14	3.76	< 1.4	< 1.4	ND	ND
21	3.90	< 1.4	< 1.4	ND	ND
28	3.87	< 1.4	< 1.4	ND	ND

หมายเหตุ : ND = ตรวจไม่พบ (not detected)

ตารางภาคผนวก ข20 ปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรีย (coliform bacteria; MPN/ml) ระหว่างการ  
เก็บรักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
7	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
14	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
21	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
28	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3

ตารางภาคผนวก ข21 ค่าคะแนนทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสี (colour) ระหว่างการเก็บรักษา  
น้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	หาคความคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	7.40 ± 0.84	3.80 ± 1.03	3.80 ± 1.40	7.00 ± 1.41	7.20 ± 1.03
7	7.70 ± 0.82	4.00 ± 1.85	3.50 ± 1.43	7.60 ± 0.52	7.10 ± 0.88
14	7.30 ± 0.95	3.60 ± 1.84	3.60 ± 1.07	7.00 ± 0.41	7.20 ± 1.03
21	7.20 ± 0.63	3.70 ± 0.95	3.60 ± 1.17	7.30 ± 0.95	7.10 ± 0.88
28	7.10 ± 0.74	3.90 ± 0.99	3.90 ± 1.29	7.10 ± 0.88	7.20 ± 0.63

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 15 ซ้ำ

ทดสอบโดยวิธี 9-point hedonic scale คะแนนเต็ม 9 คะแนน

ตารางภาคผนวก ข22 ค่าคะแนนทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น (odor) ระหว่างการเก็บ  
รักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	หาคความคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	7.20 ± 0.79	4.10 ± 1.66	3.70 ± 1.64	7.10 ± 1.10	7.10 ± 1.10
7	7.30 ± 1.16	4.10 ± 0.74	4.30 ± 0.95	7.20 ± 0.79	6.80 ± 1.23
14	7.00 ± 0.82	4.00 ± 0.67	4.10 ± 0.74	7.20 ± 0.79	7.10 ± 0.88
21	6.70 ± 0.82	4.00 ± 0.67	4.00 ± 0.67	7.20 ± 0.79	7.20 ± 0.92
28	5.70 ± 0.95	3.80 ± 0.42	3.60 ± 0.70	7.30 ± 0.67	7.30 ± 0.82

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 15 ซ้ำ

ทดสอบโดยวิธี 9-point hedonic scale คะแนนเต็ม 9 คะแนน



ตารางภาคผนวก ข23 ค่าคะแนนทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏระหว่างการเก็บ  
รักษาน้ำฝรั่งแปรรูปที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 28 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ชุดควบคุม	เทคนิคความร้อน (90 °C)		เทคนิคความดันสูง (500 MPa)	
		30 วินาที	60 วินาที	15 นาที	20 นาที
0	7.50 ± 0.71	3.90 ± 1.37	3.60 ± 1.26	7.60 ± 0.52	7.40 ± 0.52
7	7.40 ± 0.42	4.00 ± 1.25	4.00 ± 0.67	7.30 ± 0.48	7.30 ± 0.67
14	6.90 ± 0.57	3.90 ± 1.10	4.00 ± 0.82	7.20 ± 0.63	7.30 ± 0.67
21	6.60 ± 1.17	3.90 ± 0.88	3.90 ± 1.10	7.30 ± 0.67	7.20 ± 0.79
28	6.00 ± 1.05	3.80 ± 0.92	3.90 ± 0.74	7.30 ± 0.67	7.40 ± 0.07

หมายเหตุ : ข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 15 ซ้ำ

ทดสอบโดยวิธี 9-point hedonic scale คะแนนเต็ม 9 คะแนน

## ภาคผนวก ก

## แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

## แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์น้ำฝรั่ง

ชื่อผู้ทดสอบ.....

วันที่.....

โปรดทำการทดสอบผลิตภัณฑ์ตัวอย่างในด้านสีที่ปรากฏ กลิ่น และการยอมรับรวม พร้อมทั้งให้ระดับความชอบต่อผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ตามระดับคะแนนดังต่อไปนี้

คะแนน	9 = ชอบมากที่สุด	4 = ไม่ชอบเล็กน้อย
	8 = ชอบมาก	3 = ไม่ชอบ
	7 = ชอบ	2 = ไม่ชอบมาก
	6 = ชอบเล็กน้อย	1 = ไม่ชอบมากที่สุด
	5 = เฉยๆ	

รหัสผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright © by Chiang Mai University

All rights reserved

สีที่ปรากฏ .....

กลิ่น .....

ลักษณะปรากฏ .....

ขอขอบคุณ

## ภาคผนวก ง

## การวิเคราะห์คุณภาพ

## การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

## การวัดสีระบบ Hunter ตามวิธีของ Minolta Co., Ltd.

เป็นการวัดค่าสี L ค่าสี a และค่าสี b ของผลิตภัณฑ์ด้วยเครื่องวัดสี Colorimeter ยี่ห้อ Minolta รุ่น CR300 โดยค่า L เป็นค่าความสว่าง (lightness) a เป็นค่าสีแดงและสีเขียว (redness/greenness) และ b เป็นค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (yellowness/blueness)

L คือ ค่าความสว่าง	มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100
a คือ ค่าสีแดงและสีเขียว	เมื่อ a มีค่าบวก เป็นสีแดง เมื่อ a มีค่าลบ เป็นสีเขียว
b คือ ค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน	เมื่อ b มีค่าบวก เป็นสีเหลือง เมื่อ b มีค่าลบ เป็นสีน้ำเงิน

ก่อนการวัดสีทุกครั้งต้องการปรับมาตรฐานเครื่อง (calibration) โดยใช้แผ่นสีขาวมาตรฐาน (white blank;  $L=97$ ,  $a=-0.18$ ,  $b=1.84$ ) แล้วจึงวัดสีของผลิตภัณฑ์

## การวัดความหนืด (Viscosity) ตามวิธีของ Cannon Co., Ltd. (1998)

วัดความหนืดของน้ำฝรั่งด้วย rotating cylinder (Cannon, Model V-2000 series II) ใช้ spindle เบอร์ 1 ความเร็วรอบ 6 รอบ/นาที แรงเฉือน 7.34 /วินาที บีบคั้นน้ำฝรั่งปริมาตร 25 ml โดยวัดที่อุณหภูมิสารละลาย 25 °C ความหนืดที่วัดได้มีหน่วยเป็น cP

## การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

### การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

1. อบกระป๋องอบความชื้นพร้อมฝาที่ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ  $100 \pm 2$  °C นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนัก(W1)
2. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนใส่ในกระป๋องอบความชื้นที่อบและชั่งน้ำหนักไว้เรียบร้อยแล้ว(W2)
3. กระป๋องอบความชื้นพร้อมฝาโดยเปิดฝาทิ้งไปอบที่ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ  $100 \pm 2$  °C นาน 3 ชั่วโมง
4. นำกระป๋องอบความชื้นออกจากตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า โดยปิดฝาทันที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
5. นำไปอบต่ออีก 1 ชั่วโมงจนได้น้ำหนักที่คงที่ (W3)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(W2-W3) \times 100}{W2-W1}$$

### การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลดาคาล์ (AOAC, 2000)

#### อุปกรณ์

1. ขวดเจลดาคาล์ (Kjeldahl method) ขนาด 250 ml
2. สกूप (scoop)
3. บิวเรต ขนาด 50 ml
4. กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 100 ml
5. ขวดน้ำกลั่น (wash bottle) ขนาด 250 ml
6. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 250 ml
7. ชุดกลั่นโปรตีน (distillation apparatus)
8. ชุดย่อยโปรตีน (digesion unit)
9. เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (analysis balance)

### สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (sulfuric acid :  $H_2SO_4$ ) ความเข้มข้น 98% (w/v)
2. ค่ะตะลิสต์ผสมอัตราส่วนระหว่างคอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulfate :  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) ปราศจากไนโตรเจน 3.5 % (w/w) , โซเดียมซัลเฟต (sodium sulfate :  $Na_2SO_4$ ) ปราศจากไนโตรเจน 96 % (w/w) ,ซีลีเนียมไดออกไซด์ (selenium dioxide :  $SeO_2$ ) ปราศจากไนโตรเจน 0.5% (w/w)
3. เม็ดเคียด (glass beat)
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide :  $NaOH$ ) ความเข้มข้น 40 % (w/v)
5. กรดซัลฟิวริก (sulfuric acid :  $H_2SO_4$ ) ความเข้มข้น 0.1 N มีอายุการเก็บรักษา 1 เดือน หากครบกำหนดเวลาดังกล่าวให้นำสารละลายไปหาความเข้มข้นที่แน่นอนใหม่ หรือนำไปใช้งานอื่นที่ไม่ต้องการความเข้มข้นที่แน่นอน
6. อินดิเคเตอร์ผสม (mix indicator) ประกอบด้วยเมทิลเรด (methyl red) ความเข้มข้น 0.2 % (w/v) ในแอลกอฮอล์ ผสมกับโบรโมครีซอลกรีน (bromocresol green) ความเข้มข้น 0.2 % (w/v) ในแอลกอฮอล์ อัตราส่วน 1 : 5
7. กรดบอริก ความเข้มข้น 4 % (w/v)

### วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างที่มีน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 0.5 – 2.0 g (W) ถ่ายตัวอย่างลงในหลอดเจลาตลห์ ทำ blank ควบคู่กันไปด้วย
2. เติมค่ะตะลิสต์ผสมจำนวน 8 g
3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 ml โดยเอียงขวดและค่อยๆรินกรดลงข้างๆหลอด เพื่อล้างตัวอย่างที่อาจติดอยู่ข้างหลอดให้หมด และค่อยๆเขย่าตัวอย่างเบาๆ
4. นำไปย่อยที่ชุดย่อยโปรตีนในตู้ควันโดยใช้ความร้อนระดับ 5 ประมาณ 1 ชั่วโมงและจึงเพิ่มเป็นความร้อนระดับ 10 อีกประมาณ 2 ชั่วโมงหรือจนกระทั่งสารละลายใสจะปิดชุดย่อย รอจนกระทั่งสารละลายเย็นลงในอุณหภูมิห้อง ห้ามนำหลอดย่อยไปทำให้เย็นโดยใช้น้ำเพราะจะทำให้หลอดย่อยแตกได้
5. นำสารละลายที่ได้ต่อกับเครื่องกลั่นโปรตีน โดยนำขวดรูปชมพู่ที่มีกรดบอริกจำนวน 50 ml และเติมอินดิเคเตอร์ผสม ลงไป 6 – 10 หยด

6. อัตราการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้มีปริมาณมากเกินไป (ประมาณ 70 ml) ข้อสังเกต ถ้าปริมาณต่างมากเกินไปสารละลายจะมีสีดำ ถ้ายังไม่เกิดสีดำให้เติมสารละลาย NaOH ลงไปอีก 5 – 10 ml

6.1 เปิดเครื่องเริ่มทำการกลั่น โดยให้ทำ blank ก่อนตัวอย่าง

6.2 นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก จนได้จุดยุติ คือสังเกตสีชมพูปรากฏขึ้นและสารละลายสีเทาอมม่วง

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนร้อยละของน้ำหนั} = \frac{(V_a - V_b) \times N.H_2SO_4 \times 1.4007}{W}$$

เมื่อ

$V_a$  = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง หน่วย ml

$V_b$  = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไทเทรต blank หน่วย ml

$N.H_2SO_4$  = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก หน่วย N

$W$  = น้ำหนักตัวอย่าง หน่วย ml

ปริมาณโปรตีน ร้อยละของน้ำหนั = ปริมาณไนโตรเจนร้อยละของน้ำหนั x แฟกเตอร์

การวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธีซอร์คเลต (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 50 ml
2. ขวดกั่นกลม ขนาด 250 ml
3. ทิมเบอร์กระดาษ (cellulose thimble )
4. กระดาษกรอง whatman เบอร์ 42
5. เดซิเคเตอร์ (desiccator) ที่มีสารดูดความชื้น เช่น ซิลิกา

สารเคมี

ไดเอทิล อีเทอร์ (diethyl ether)

### วิธีวิเคราะห์

1. อบขวดก้นกลมด้วยตู้อบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ  $100 \pm 2^{\circ}\text{C}$  นาน 30 นาที ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (W1)
2. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบไล่ความชื้นแล้ว โดยใช้เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ปริมาณ 2 g (W) ใส่ในบีกเกอร์ เทผ่านกรวยกรองลงในทิมเบอร์ที่มีกระดาษกรองรองรับภายใน แล้ววางทิมเบอร์ลงในชุดชอล์กเลต
3. สกัดโดยใช้ไดเอทิลอีเทอร์ ตามเวลาที่กำหนด (ขึ้นกับปริมาณไขมันในตัวอย่าง)
4. เมื่อทำการสกัดครบตามเวลาที่กำหนดแล้วให้ระเหยอีเทอร์ออกจากตัวอย่าง
5. นำขวดก้นกลมที่มีไขมันเหลืออยู่ไปอังที่เครื่องอังไอน้ำจนอีเทอร์ระเหยหมด แล้วนำไปอบที่ตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ  $100 - 105^{\circ}\text{C}$  นาน 30 นาที ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก
6. อบต่ออีกครั้ง ครั้งละประมาณ 30 นาที จนได้น้ำหนักคงที่ (น้ำหนักคงที่คือผลต่างระหว่างการชั่งสองครั้งติดต่อกันมีค่าไม่เกิน 2 mg) ชั่งน้ำหนัก (W2)

$$(W2 - W1) \times 100$$

$$\text{ปริมาณไขมัน ร้อยละของน้ำหนัก} = \frac{\quad}{W}$$

เมื่อ

$$W1 = \text{น้ำหนักขวดก้นกลม เป็น g}$$

$$W2 = \text{น้ำหนักขวดก้นกลมและไขมัน เป็น g}$$

$$W = \text{น้ำหนักตัวอย่าง เป็น g}$$

การวิเคราะห์ภาคโดยวิธีการย่อยด้วยกรดและด่าง (AOAC, 2000)

### อุปกรณ์

1. เตาให้ความร้อนแบบไฟฟ้า
2. เตาเผาถ้ำ
3. ตู้อบลมร้อน
4. เดซิเคเตอร์
5. บีกเกอร์ 500 ml
6. กรวยบุชเนอร์
7. ถ้วยกระเบื้อง

### สารเคมี

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide : NaOH) ความเข้มข้น 1.25 % ( $0.313 \pm 0.005$  N)
2. เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol :  $C_2H_5OH$ ) ความเข้มข้น 95 %
3. กรดซัลฟูริก (sulfuric acid:  $H_2SO_4$ ) ความเข้มข้น 1.25 % ( $0.255 \pm 0.005$  N)

### วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน โดยใช้บีกเกอร์ใส่ตัวอย่าง 1 g และชั่งน้ำหนัก(W1) ถ่ายตัวอย่างลงในบีกเกอร์แล้วชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ที่ถ่ายตัวอย่างออกเรียบร้อยแล้ว(W2)
2. ตวงสารละลายกรดซัลฟูริก จำนวน 200 ml ด้วยกระบอกตวงถ่ายใส่บีกเกอร์แล้วนำไปต้มบนเตาไฟฟ้าโดยปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระดาษฟิวส์
3. เมื่อสารละลายกรดซัลฟูริกเริ่มเดือด จึงถ่ายลงในบีกเกอร์ โดยการหมุนบีกเกอร์แล้วใช้กรดซัลฟูริกค่อยๆ ล้างตัวอย่างที่ติดข้างบีกเกอร์ออก
4. นำไปต้มบนเตาไฟฟ้า โดยใช้ขวดกั้นกรมปิดปากของบีกเกอร์ให้สนิทเพื่อป้องกันการระเหยของสารละลาย เมื่อเริ่มเดือดจับเวลา 30 นาที
5. กรองทันทีด้วยกรวยบุษเนอรัที่มีผ้ากรองโดยใช้แรงสุญญากาศ
6. หนีตล้างสิ่งที่เหลือบนบีกเกอร์ ด้วยน้ำร้อนหลายๆ ครั้งลงในกรวยบุษเนอรั
7. ล้างสิ่งที่ติดค้างบนผ้ากรองด้วยน้ำร้อนจนหมดครด ทดสอบด้วยสารละลายที่กรองได้ไม่เปลี่ยนสีกระดาษลิตมัสสีน้ำเงินเป็นแดง
8. ตวงสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 200 ml ใส่ในบีกเกอร์ที่ใส่ต้มค้าง นำไปต้มให้เดือดบนเตาไฟฟ้า แล้วล้างกากบนผ้ากรองลงในบีกเกอร์ใบเดิมให้หมด
9. นำไปต้มบนเตาไฟฟ้า โดยใช้ขวดกั้นกรมปิดปากของบีกเกอร์ให้สนิทเพื่อป้องกันการระเหยของสารละลาย เมื่อเริ่มเดือดจับเวลา 30 นาที
10. กรองทันทีผ่านกรวยบุษเนอรัซึ่งบุด้วยกระดาษกรอง ที่ตัดพอดีและหนีตน้ำให้เนบสนิทกับกรวยบุษเนอรัแล้ว
11. หนีตล้างสิ่งที่เหลือบนบีกเกอร์ ด้วยน้ำร้อนหลายๆ ครั้งลงในกรวยบุษเนอรั
12. ล้างสิ่งที่ติดค้างบนกระดาษกรอง ด้วยน้ำร้อนจนหมดค้าง ทดสอบด้วยสารละลายที่กรองได้ไม่เปลี่ยนสีกระดาษลิตมัสแดงเป็นสีน้ำเงิน
13. ถ่ายกากใส่ด้วยกระเบื้องที่ทนร้อนด้วยน้ำร้อนจนหมดกากนำไประเหยน้ำออกโดยใช้อ่างน้ำร้อนจนแห้ง



14. นำไปอบที่ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ  $100 \pm 2$  °C นาน 3 ชั่วโมง ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (W3)
15. เผาด้วยกระบือียงพร้อมกากที่อบเรียบร้อยแล้วในเตาเผาอุณหภูมิ  $550 \pm 25$  °C นาน 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (W4)

$$(W3 - W4) (100 - \%H_2O - \%fat)$$

$$\text{ปริมาณกากร้อยละของน้ำหนัก} = \frac{\quad}{(W1 - W2)}$$

#### การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

1. เผาด้วยกระบือียงเคลือบในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ  $525-550$  °C นาน 30 นาที จากนั้นทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ชั่งน้ำหนัก(W1) และใส่ตัวอย่างทันทีในถ้วยกระบือียงเคลือบ ชั่งให้ได้ น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2-3 g (W2)
2. นำไปเผาด้วยไฟอ่อนบนเตาไฟฟ้าโดยเพิ่มความร้อนขึ้นทีละน้อยจนตัวอย่างไหม้เกรียม และเผาต่อด้วยตะเกียงเบนเซนให้หมดควัน ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นของเหลวหนืดกึ่งแข็งกึ่งเหลวให้นำตัวอย่างไประเหยแห้งบนเครื่องอ้งน้ำก่อนนำไปเผาบนเตาไฟฟ้า
3. นำไปเผาต่อในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ  $525-550$  °C จนได้เถ้าสีขาว
4. ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ชั่งน้ำหนักไว้(W3)

$$(W3 - W1) \times 100$$

$$\text{ปริมาณเถ้าร้อยละของน้ำหนัก} = \frac{\quad}{(W2 - W1)}$$

#### การวิเคราะห์หาความเป็นกรด-ด่าง (AOAC, 2000)

นำน้ำฝรั่งไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (Hanna instrument, Model HI 9321) ซึ่งได้มีการปรับค่ามาตรฐานด้วยสารละลายมาตรฐานที่มี pH เท่ากับ 4.00 และ 7.00 ตามลำดับแล้ว ทำการวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย

## การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 2000)

### สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 M โดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 g ด้วยน้ำกลั่น ปริมาตรเป็น 1 L โดยใช้ขวดปรับปริมาตร แล้วนำไปหาความเข้มข้นที่แน่นอน
2. ฟีนอล์ฟธาเลิน (phenolphthalein) เตรียมโดยชั่งฟีนอล์ฟธาเลิน 1 g : 95% เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol :C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) 60 ml แล้วเติมน้ำให้ครบ 100 ml

### อุปกรณ์

1. ขวดปรับปริมาตร 1000 ml
2. บีเปตปรับปริมาตร 10 ml
3. กระดาษกรอง เบอร์ 1
4. ฟลาสก์ ขนาด 125 ml
5. บิวเรต ขนาด 25 ml

### วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 10 g ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วยน้ำกลั่น แล้วนำตัวอย่างที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1
2. บีเปตสารละลายใส 10 ml ลงในฟลาสก์ ขนาด 125 ml หยดฟีนอล์ฟธาเลิน (อินดิเคเตอร์) 2 – 3 หยด
3. นำมาไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 M จนสารละลายใสกลายเป็นสีชมพู จึงหยุดทำการไทเทรต
4. จดบันทึกจำนวนสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 M ที่ใช้ในการไตเตรตแล้วนำมาคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมด

1 ml ของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 M สมมูลกับกรดซิตริก 0.07005 g

$$\% \text{ citric acid} = \frac{a \times M \times 0.07005 \times 100}{10}$$

เมื่อ  $a$  = จำนวนปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์  
 $M$  = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

### การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี (AOAC, 2000)

#### การเตรียมสารเคมี

1. เตรียมสารละลายกรดออกซาลิก (oxalic acid) ความเข้มข้น 0.4 % (w/v) โดยชั่งกรดออกซาลิก 0.4 g ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml โดยใช้ขวดปรับปริมาตร
2. เตรียมสารละลายอินโดฟีนอลมาตรฐาน โดยชั่ง 2,6 dichlorophenolindophenol 0.05 g ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml โดยใช้ขวดปรับปริมาตร แล้วกรองสารละลายนี้เก็บในตู้เย็นได้ 2 – 3 สัปดาห์ ก่อนใช้ทุกครั้งควรไตเตรตเทียบกับสารละลายวิตามินซีมาตรฐาน
3. เตรียมสารละลายวิตามินซีมาตรฐาน โดยชั่งวิตามินซีบริสุทธิ์ 0.05 g ละลายในสารละลายกรดออกซาลิกความเข้มข้น 0.4 % (w/v) จำนวน 60 ml เติมน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 250 ml โดยใช้ขวดปรับปริมาตร สารละลายวิตามินซีที่ได้ 1 ml มีวิตามินซี 0.2 mg สารละลายนี้เตรียมทันทีก่อนใช้

#### วิธีวิเคราะห์

ปิเปตน้ำฝรั่งตัวอย่างมา 50 ml ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 ml เติมสารละลายกรดลงไป 25 ml แล้วปรับปริมาตร 100 ml ด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน ปิเปตน้ำฝรั่งที่เจือจางแล้วมา 10 ml ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 ml ไตเตรตด้วยสารละลายอินโดฟีนอลจนกระทั่งได้สีชมพูอ่อน ซึ่งสีจะคงตัวนานกว่า 15 วินาที จดปริมาตรสารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้ ทำการไตเตรตซ้ำ 3 ครั้ง ปิเปตสารละลายวิตามินซีมาตรฐานมา 10 ml ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 ml ไตเตรตเช่นเดียวกับน้ำฝรั่งตัวอย่าง คำนวณหาปริมาณวิตามินซีในน้ำฝรั่ง ในรูป mg/ 100 ml

## การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมด (AOAC, 2000)

### สารเคมีที่ใช้

1. น้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 15 g / L
2. กรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 1.5 M
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 % (w/v)
4. สารละลาย DNS เตรียมโดยละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid 10 g ในสารละลาย 200 ml ของ 2 M สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ อุณหภูมิและคนตลอดเวลา จากนั้นละลายโซเดียมโปแตสเซียมทาร์เทรต 300 g ในน้ำกลั่น 500 ml นำสารละลายที่ได้ผสมเข้าด้วยกัน แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 L ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บในขวดสีชา

### การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.25 และ 1.5 mg/ml ปิเปตสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่เตรียมไว้ใส่ลงในหลอดทดลองอย่างละ 1 ml เติมสารละลาย DNS 1 ml และเติมน้ำกลั่น 2 ml นำไปต้มในน้ำเดือด นาน 5 นาที แล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 20 ml แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm

### วิธีวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 3 g ใส่ใน flask เติมน้ำกลั่น 50 ml แล้วนำไปอุ่นใน Water bath 50 °C นาน 10 นาที
2. กรองด้วยกระดาษกรอง ล้างส่วนที่เหลือบนกระดาษกรองแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml ใน volumetric flask
3. ดูดสารละลาย 10 ml แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 250 ml แล้วดูมา 1 ml เติมสารละลาย DNS 1 ml และน้ำกลั่น 2 ml ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer
4. นำไปต้มน้ำเดือด นาน 5 นาที แล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 20 ml แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm

### วิธีวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 1.0 – 1.2 g เติม 1.5 M กรดซัลฟูริก จำนวน 10 ml นำไปต้มในน้ำเดือด นาน 20 นาที แล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที
2. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 % จำนวน 12 ml เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 ml คูดมา 10 ml แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 250 ml
3. จากนั้นดูดสารละลายมา 1 ml เติมสารละลาย DNS 1 ml และน้ำกลั่น 2 ml เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด นาน 5 นาที แล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที
4. ปรับปริมาตรให้เป็น 20 ml แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm

### การวิเคราะห์ปริมาณเพคตินทั้งหมด (IFJU, 1964)

#### การเตรียมสารเคมี

1. เอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 %
2. เตรียมสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 63 % โดยตวง 95 % เอทิลแอลกอฮอล์ ปริมาณ 65 ml เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml
3. เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 M โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาณ 4 g ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 ml
4. เตรียมสารละลายแอมโมเนียมออกซาลेट ความเข้มข้น 0.75 % โดยชั่งแอมโมเนียมออกซาลेटจำนวน 0.75 g ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 ml
5. สารละลาย anti-foaming agent
6. เตรียมสารละลายแอลกอฮอล์คาร์บาโซล (alcohol carbazole) ความเข้มข้น 0.1% โดยชั่งคาร์บาโซล ปริมาณ 0.1 g ละลายและปรับปริมาตรด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ให้ครบ 100 ml โดยเตรียมขึ้นมาใหม่ทุกครั้งเพื่อใช้ในการวิเคราะห์

### การแยกตะกอนสารประกอบเพคตินทั้งหมด

1. ปิเปตตัวอย่างมาครั้งละ 15 ml ใส่ในหลอดหมุนเหวี่ยง ขนาด 50 ml แล้วหยดสารละลายด้านการเกิดโฟม (anti-foam) 1-2 หยด
2. เติมเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 % อุณหภูมิ 75 °C ปริมาณ 25 ml ใส่ในหลอดหมุนเหวี่ยง คนให้เข้ากันด้วยแท่งแก้ว จากนั้นนำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 85 °C เป็นเวลา 10 นาที ระหว่างนั้นใช้แท่งแก้วคนบางครั้ง เมื่อครบเวลานำหลอดหมุนเหวี่ยงขึ้นล้างแท่งแก้วคนด้วยเอทิลแอลกอฮอล์อีก 10 ml
3. นำหลอดหมุนเหวี่ยงมาแยกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงที่อัตราเร็ว 4500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นค่อยๆเทส่วนของเหลวทิ้งไป นำตะกอนที่ได้มาทำการสกัดต่อ
4. ทำการสกัดซ้ำตามขั้นตอนข้อ 2 และ 3 โดยเติมเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 63 % อุณหภูมิ 75 °C ครั้งละ 40 ml ทำการสกัดซ้ำเช่นนี้ 2 ครั้ง ตะกอนที่ได้เป็นตะกอนของสารประกอบ เพคติน

### วิธีวิเคราะห์

1. ใช้หลอดทดลองขนาดใหญ่เตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ต่อไปนี้

หลอด

สารเคมี

- A สารละลายเพคตินที่เตรียมได้ 1 ml + สารละลาย Alcohol-carbazole 0.5 ml
  - B สารละลายเพคตินที่เตรียมได้ 1 ml + สารละลาย Ethanol 0.5 ml
  - C น้ำกลั่น 1 ml + สารละลาย Alcohol-carbazole 0.5 ml
  - D น้ำกลั่น 1 ml + สารละลาย Ethanol 0.5 ml
2. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาณ 6 ml โดยใช้สับซัคคูดสาร (Dispensette) ค่อยๆกดปล่อยกรดซัลฟูริกลงตามข้างหลอดซ้ำๆแต่ให้หมดภายใน 7 วินาที
  3. ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเหวี่ยงผสม (Vortex) จากนั้นนำหลอดทดลองลงไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 85 °C เป็นเวลา 5 นาที เมื่อครบกำหนดเวลานำหลอดขึ้นทิ้งให้เย็นประมาณ 15 นาที
  4. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 525 nm บันทึกค่าการดูดกลืนคลีนแสง เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบเพคตินที่มีในตัวอย่าง โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดกาแลคตูลูโรนิก (galacturonic acid monohydrate)

### การเตรียมกราฟมาตรฐาน

1. เตรียม stock solution ของสารละลายกรดกาแลกทูโรนิกโมโนไฮเดรต (galacturonic acid monohydrate) โดยชั่งกรดกาแลกทูโรนิกโมโนไฮเดรต ปริมาณ 120.5 mg แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 M ปริมาณ 0.5 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1000 ml ทิ้งไว้ข้ามคืนเพื่อให้เกิดการขยายตัวของสายโมเลกุลของกรดกาแลกทูโรนิกโมโนไฮเดรต สารละลายที่เตรียมได้นี้มีความเข้มข้นเท่ากับ 100  $\mu\text{g/ml}$
2. เจือจาง stock solution ของสารละลายกรดกาแลกทูโรนิกโมโนไฮเดรต ตามข้อ 1 ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 10, 20, 40, 50, 60 และ 80 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 ml
3. เตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเพคตินเช่นเดียวกับในตัวอย่าง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงเช่นเดียวกัน
4. นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกรดกาแลกทูโรนิกโมโนไฮเดรตที่ความเข้มข้นต่างๆ มาหาความสัมพันธ์เชิงเส้น ทำให้ได้สมการเส้นตรงและนำมาใช้ในการคำนวณหาปริมาณสาร ประกอบเพคตินที่มีในตัวอย่าง

สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน  $y = a(x)+b$

เมื่อ  $y$  คือ ปริมาณสารประกอบเพคติน มีหน่วยเป็น  $\mu\text{g/ml}$

$a$  คือ ค่าความชันของเส้นกราฟ

$x$  คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานหลังจากหักลบด้วย

blank แล้วหรือเขียนได้ว่า  $x = (\text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดทดลอง A} - \text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดทดลอง B} - \text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดทดลอง C} - \text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดทดลอง$

D)

$b$  คือ ค่าคงที่ของสมการ (จุดตัดแกน  $y$ )

คำนวณค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเช่นเดียวกับของสารละลาย ทำให้ได้ค่า  $x$  นำไปแทนในสมการข้างต้นเพื่อคำนวณหาปริมาณสารประกอบเพคตินที่มีในตัวอย่างวิเคราะห์ ซึ่งจำเป็นต้องนำมาคำนวณให้อยู่ในหน่วย  $\text{mg}/100 \text{ g}$  ของตัวอย่างเริ่มต้นดังนี้

ปริมาณสารประกอบเพคตินในตัวอย่างวิเคราะห์ (mg/L)

$$= \frac{\text{ปริมาณสารประกอบเพคตินที่เทียบจากกราฟมาตรฐาน (\mu\text{g/L}) \times 100}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างเท่ากับ 15 ml}}$$

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เพคตินเมทิลเอสเทอร์ส (Hagerman and Austin, 1986)

#### การเตรียมสาร

1. สารละลายเพคตินความเข้มข้น 0.5 % (w/v) ซึ่งเพคติน 0.50 g ละลายในน้ำกลั่น 85 ml ปรับ pH เป็น 7.5 จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายจนครบ 100 ml เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C
2. สารละลายโบรโมไธมอลบลูความเข้มข้น 0.1 % (w/v) ซึ่งโบรโมไธมอลบลู 0.1 g ละลายใน 0.003 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - $\text{K}_2\text{HPO}_4$  buffer pH 7.5 ปริมาตร 100 ml
3. น้ำกลั่น ปรับ pH เป็น 7.5 ด้วย 2 N NaOH

#### การสกัดเอนไซม์

1. ปิเปิดน้ำฝรั่ง 10 ml ผสมกับ 0.003 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - $\text{K}_2\text{HPO}_4$  buffer pH 7.5 ปริมาตร 10 ml คนให้เข้ากัน
2. นำสารละลายที่ได้ไปเหวี่ยงแยกตะกอนที่ 3500 rpm, 4 °C เป็นเวลา 20 นาที เก็บส่วนสารละลายใสมาวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์

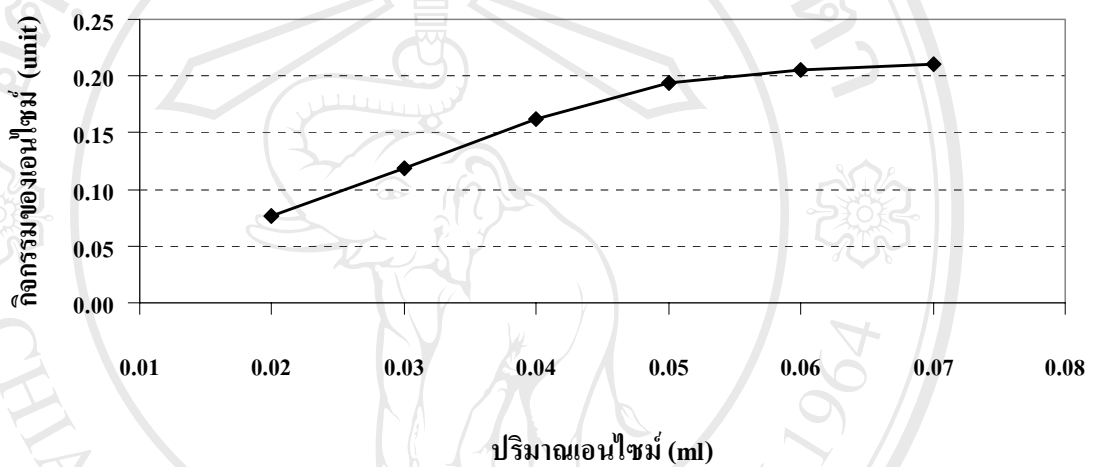
#### วิธีวิเคราะห์

หาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมโดยใส่สารละลายเพคติน 2 ml ในหลอดวัด เติมสารละลายโบรโมไธมอลบลู 0.15 ml และผันแปรปริมาณน้ำกลั่น และปริมาณเอนไซม์ โดยให้มีปริมาตรรวมในการวิเคราะห์ 4 ml ดังนี้



หลอดที่	1	2	3	4	5	6	
ปริมาณเอนไซม์	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	ml
ปริมาณน้ำกลั่น	1.83	1.82	1.81	1.80	1.79	1.78	ml

ผสมให้เข้ากันวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 nm 5 นาที และคำนวณหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์ ที่เปลี่ยนไปใน 1 นาที ได้ผลดังรูปภาคผนวก ง1



รูปภาคผนวก ง1 กิจกรรมของเอนไซม์เพคตินเมทิลเอสเทอร์เรส (unit)

จากรูปภาคผนวก ง1 จะเห็นว่าปริมาณเอนไซม์มีค่าสูงที่สุดในช่วงเส้นตรงเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์ 0.05 ml ดังนั้นจึงใช้ปริมาณสารตัวอย่าง 0.05 ml ในการวิเคราะห์

ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ 1 หน่วย (unit) มีค่าเท่ากับ ค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปใน 1 นาที ที่ความยาวคลื่น 620 nm มีหน่วยเป็น unit/ml

## การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (ดัดแปลงจาก Yen and Lin, 1996)

### การเตรียมสาร

1. 0.1 M Guajacol ซึ่ง guajacol 1.25 g ละลายใน 0.2 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$  buffer pH 6.0 จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายจนครบ 100 ml เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C
2. 0.05 M  $\text{H}_2\text{O}_2$  บีเปิด  $\text{H}_2\text{O}_2$  0.5 ml ละลายใน 0.2 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$  buffer pH 6.0 จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายจนครบ 100 ml เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C
3. สารละลายสกัดเอนไซม์ ละลาย 1.5 % Polyvinylpyrrolidone (PVP) และ 1 M KCl ใน 0.05 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$  buffer pH 7.0

### การสกัดเอนไซม์

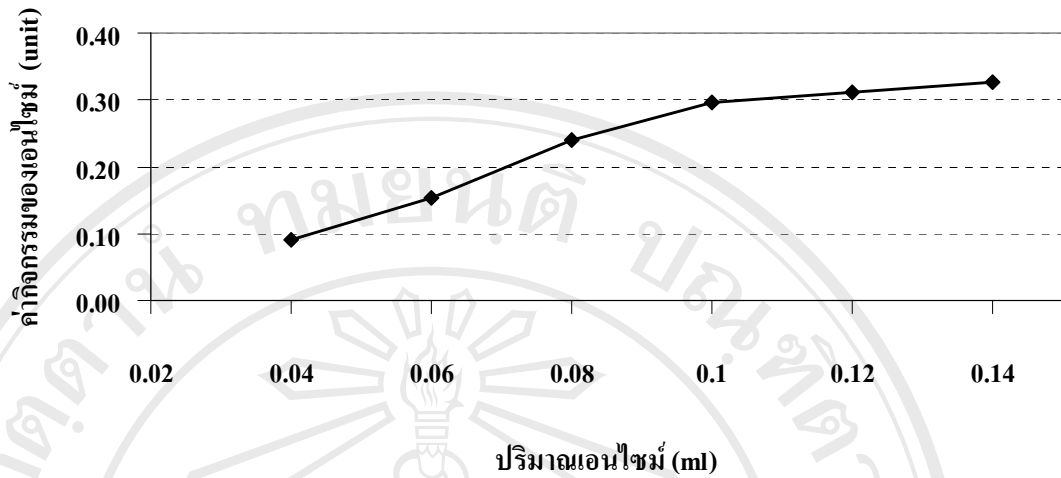
1. บีเปิดน้ำฝรั่ง 10 ml ผสมกับสารละลายสกัด ปริมาตร 10 ml คนให้เข้ากัน
2. นำสารละลายที่ได้ไปเหวี่ยงแยกตะกอนที่ 3500 rpm เป็นเวลา 20 นาที เก็บส่วนสารละลายใสมาวิเคราะห์หากิจกรรมของเอนไซม์

### วิธีวิเคราะห์

หาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสม โดยใช้สารละลาย 0.1 M guaiacol 0.08 ml ในหลอดวัด เติม 0.05 M  $\text{H}_2\text{O}_2$  0.02 ml และผันแปร 0.2 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$  buffer (pH 6.0) และสารตัวอย่าง ให้มีปริมาตรรวมในการวิเคราะห์ 3 ml ดังนี้

หลอดที่	1	2	3	4	5	6
ปริมาณเอนไซม์	0.04	0.06	0.08	0.10	0.12	0.14 ml
ปริมาณบัฟเฟอร์	2.86	2.84	2.82	2.80	2.78	2.76 ml

ผสมให้เข้ากันวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 470 nm คำนวณหาค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปต่อ 1 นาที ได้ผลดังรูปภาคผนวก ง2



รูปภาคผนวก ง2 กิจกรรมของเอนไซม์เปอร้ออกซิเดส (unit)

จากรูปภาคผนวก ง2 จะเห็นว่าปริมาณเอนไซม์มีค่าสูงที่สุดในช่วงเส้นตรงเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์ 0.1 ml ดังนั้นจึงใช้ปริมาณสารตัวอย่าง 0.1 ml ในการวิเคราะห์

ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ 1 หน่วย (unit) มีค่าเท่ากับ ค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปใน 1 นาที ที่ความยาวคลื่น 470 nm มีหน่วยเป็น unit/ml

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (ดัดแปลงจาก Flurkey and Jen, 1978)

#### การเตรียมสาร

- 0.2 M catechol ซึ่ง catechol 2.20 g ละลายใน 0.2 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$  buffer pH 6.8 จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายจนครบ 100 ml เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C
- สารละลายสกัดเอนไซม์ ละลาย 1.5 % polyvinylpyrrolidone (PVP) และ 1 M KCl ใน 0.2 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$  buffer pH 6.8

#### การสกัดเอนไซม์

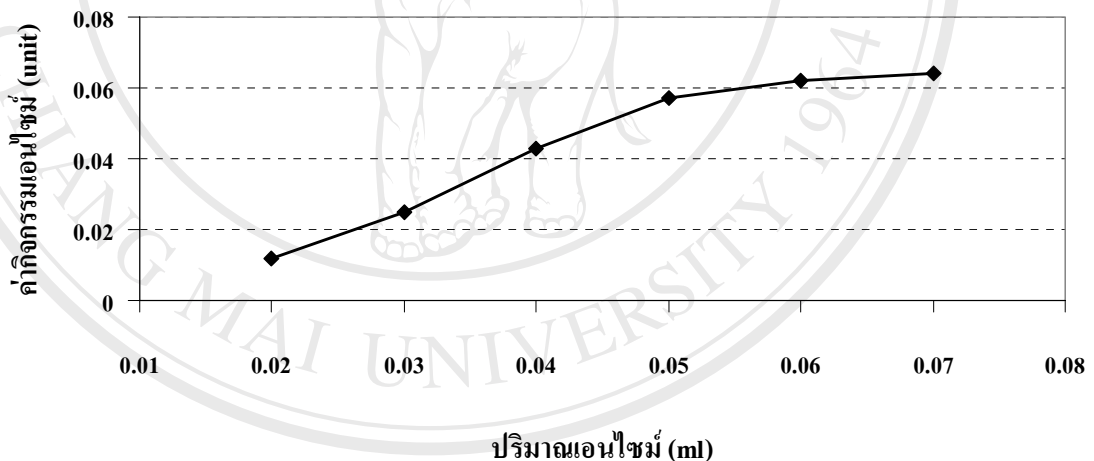
- ปีเปิดน้ำฝรั่ง 10 ml ผสมกับสารละลายสกัด ปริมาตร 10 ml คนให้เข้ากัน
- นำสารละลายที่ได้ไปเหวี่ยงแยกตะกอนที่ 3500 rpm เป็นเวลา 20 นาที เก็บส่วนสารละลายใสมาวินิจฉัยหากิจกรรมของเอนไซม์

### วิธีวิเคราะห์

หาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสม โดยใส่สารละลาย 0.2 M Catechol ใน 0.2 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$  buffer (pH 6.8) 0.25 ml ลงในหลอดวัด และผันแปร 0.2 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-K}_2\text{HPO}_4$  buffer (pH 6.8) และสารตัวอย่าง ให้มีปริมาตรรวมในการวิเคราะห์ 2.5 ml ดังนี้

หลอดที่	1	2	3	4	5	6	
ปริมาณเอนไซม์	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	ml
ปริมาณบัฟเฟอร์	2.23	2.22	2.21	2.20	2.19	2.18	ml

ผสมให้เข้ากันวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 nm คำนวณหาค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปต่อ 1 นาที ดังรูปภาคผนวก ง3



รูปภาคผนวก ง3 กิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (unit)

จากรูปภาคผนวก ง3 จะเห็นว่า ปริมาณเอนไซม์มีค่าสูงที่สุดในช่วงเส้นตรง เมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์ 0.05 ml ดังนั้นจึงใช้ปริมาณสารตัวอย่าง 0.05 ml ในการวิเคราะห์

ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ 1 หน่วย (unit) มีค่าเท่ากับ ค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปใน 1 นาที ที่ความยาวคลื่น 420 nm มีหน่วยเป็น unit/ml

## การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

### การตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (APHA, 1992)

#### เครื่องมือและอุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว
2. ปิเปตผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 1 และ 10 ml
3. ตู้บ่ม (incubator) อุณหภูมิ 35-37 °C
4. เครื่องตีปั่น (stomacher)
5. ถังตีปั่น

#### อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. 0.1%(w/v) peptone water
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar (PCA)

#### วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่างน้ำฝรั่ง 25 ml ใส่ในถังตีปั่น เติมน้ำละลาย 0.1%(w/v) peptone water จำนวน 225 ml นำเข้าเครื่องตีปั่น นาน 1-2 นาที
2. ทำเจือจางอาหารในสารละลาย 0.1%(w/v) peptone water หลอดละ 9 ml จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม
3. ใช้ปิเปตขนาด 1 ml คูดสารละลายอาหารที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสมจำนวน 3 ระดับ ความเข้มข้นที่ติดกัน จำนวน 1 ml ใส่ในจานเพาะเชื้อ โดยทำสองซ้ำ
4. เติมหาอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA อุณหภูมิ 44-46 °C ประมาณ 12-15 ml ใส่ในจานเพาะเชื้อ เขย่าจานให้สารละลายอาหารกระจายทั่วจานเพาะเชื้อ
5. ปล่อยให้อาหารวันแห้งตัว คว่ำจานเพาะเชื้อ บ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 °C นาน  $48 \pm 3$  ชั่วโมง
6. นับจำนวนโคโลนีจากจานที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี คำนวณ Log cfu/ml ของอาหารได้จากสูตรนี้

$$\log \text{ cfu/ml} = \log \frac{\Sigma C}{(v_1 n_1 + 0.1 n_2) d}$$

เมื่อ	$v_1$	=	ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ
	$\Sigma C$	=	ผลรวมของโคโลนีที่นับได้ทั้งหมดจากงานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 25-250 โคโลนี
	$n_1$	=	จำนวนงานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 25-250 โคโลนี ในระดับความเข้มข้นแรก
	$n_2$	=	จำนวนงานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 25-250 โคโลนี ในระดับความเข้มข้นที่ 2
	$d$	=	ระดับความเข้มข้นแรกที่สามารถนับเชื้อได้ในช่วง 25-250 โคโลนี

#### การตรวจหาเชื้อยีสต์และรา (APHA, 1992)

##### เครื่องมือและอุปกรณ์

1. งานเพาะเชื้อผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว
2. ปิเปตผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 1 และ 10 ml
3. ตู้บ่ม (incubator) อุณหภูมิ 20-25 °C
4. เครื่องตีป่น (stomacher)
5. ถังตีป่น (stomacher)

##### อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. 0.1%(w/v) peptone water
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PCA), pH 3.5

### วิธีการวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่างน้ำฝรั่ง 25 ml ใส่ในถุงตีปั่น เติมสารละลาย 0.1%(w/v) peptone water จำนวน 225 ml นำเข้าเครื่องตีปั่น นาน 1-2 นาที
2. ทำเจือจางอาหารในสารละลาย 0.1%(w/v) peptone water หลอดละ 9 ml จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม
3. ใช้ปิเปตขนาด 1 ml คูดสารละลายอาหารที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสมจำนวน 3 ระดับ ความเข้มข้นที่ติดกัน จำนวน 1 ml ใส่ในจานเพาะเชื้อ โดยทำสองซ้ำ
4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ปรับ pH เป็น 3.5 อุณหภูมิ 40-45 °C จำนวน 15-20 ml ลงในจานเพาะเชื้อ เขย่าจนให้สารละลายอาหารกระจายทั่วจานเพาะเชื้อ
5. ปล่อยให้อาหารอุ่นแข็งตัว บ่มในตู้เพาะเชื้ออุณหภูมิ 30 ± 2 °C เป็นเวลา 72 ± 3 ชั่วโมง
6. นับจำนวนโคโลนีจากงานที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี คำนวณค่า Log cfu/ml ของอาหารได้จากสูตรเดียวกับการหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด

### การหาโคลิฟอร์มและ *E. coli* โดยวิธี MPN (APHA, 1992)

#### เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หลอดทดลอง ขนาด 16\*150 mm
2. หลอดดักก๊าซ (Durham tube)
3. ปิเปตขนาด 1 และ 10 ml
4. ตู้บ่มเชื้อ (incubator)

#### อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายเจือจาง

1. สารละลายเปปโตนความเข้มข้น ร้อยละ 0.1(w/v)
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ lauryl sulfate tryptose broth
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ brilliant green lactose bile broth
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ *E. coli* broth (EC broth)
5. อาหารเลี้ยงเชื้อ Levine-eosinmethyleneblue agar (Levine-EMB agar)
6. อาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar
7. อาหารเลี้ยงเชื้อ methylred Voges-Proskauer (MR-VP broth)
8. อาหารเลี้ยงเชื้อ simmons citrate agar

9. สารละลาย gram crystal violet
10. สารละลาย gram iodine
11. สารละลาย tryptone broth
12. สารละลาย Kovac's reagent
13. สารละลาย  $\alpha$ -naphthol solution
14. สารละลาย potassium hydroxide เข้มข้น 40% (w/v)
15. สารละลาย methyl red solution

### วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตน้ำฝรั่ง 25 ml ใส่ในขวดคูแรนที่มีสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1 (w/v) จำนวน 225 ml เขย่าให้เข้ากัน นาน 1-2 นาที
2. เจือจางอาหารในสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1 (w/v) หลอดละ 9 ml จนได้ระดับความเจือจางที่ 10, 100 และ 1,000 เท่า
3. ใช้ปิเปตขนาด 1 ml คูดสารละลายเจือจางที่เตรียมไว้ในข้อ 1 และ 2 ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ lauryl sulfate tryptose broth หลอดละ 1 ml ความเข้มข้นละ 3 หลอด
4. อบเพาะเชื้อที่ 35 °C นาน 48 ± 2 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดก๊าซหลังการอบเพาะเชื้อ 24 ± 2 ชั่วโมง ถ้าไม่มีก๊าซเกิดขึ้นนำไปอบเพาะเชื้อต่ออีก 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดก๊าซอีกครั้ง ถ้ามีก๊าซเกิดขึ้นนำไปทดสอบยืนยัน (confirmation) ต่อ
5. นำหลอดที่มีก๊าซเกิดขึ้นมาเขย่าเบาๆ แล้วใช้ห่วงเขี่ยเชื้อซึ่งเผาไฟฆ่าเชื้อแล้ว ถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ brilliant green broth 2% อบเพาะเชื้อที่ 35 °C นาน 48 ± 2 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดก๊าซและบันทึกผล
6. คำนวณค่า MPN/ml ของโคลิฟอร์มจากจำนวนหลอดอาหาร brilliant green broth 2% ที่มีก๊าซเกิดขึ้นตามตาราง ค1
7. นำหลอดอาหาร lauryl sulfate tryptose broth ที่มีก๊าซเกิดขึ้นมาเขย่าเบาๆ ใช้ห่วงถ่ายเชื้อเผาไฟฆ่าเชื้อ ถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหาร EC broth เพาะเชื้อในอ่างน้ำอุ่นควบคุมอุณหภูมิที่ 45.5 °C ตรวจสอบการเกิดก๊าซหลังการบ่มเพาะนาน 24 ± 2 ชั่วโมง ถ้าไม่มีก๊าซเกิดขึ้นให้บ่มเพาะต่อ และตรวจสอบการเกิดก๊าซอีกครั้งหลังจากบ่มเพาะนาน 48 ± 2 ชั่วโมง คำนวณหาปริมาณเชื้อ faecal coliform จากตาราง ค1
8. ใช้ห่วงถ่ายเชื้อเผาไฟฆ่าเชื้อ ถ่ายเชื้อจากหลอดอาหาร EC broth ที่เกิดก๊าซขีดเป็นเส้น (streak) ลงบนผิวหน้าอาหาร Levine-EMB agar บ่มเพาะเชื้อที่ 35 °C นาน 18-24



ชั่วโมง ตรวจดูโคโลนีที่มีสีม่วงแดงเข้ม ลักษณะแบน มีเงาเลื่อมโลหะสีเขียว (metallic sheen)

9. ถ่ายเชื้อที่มีลักษณะเฉพาะตามข้อ 8 งานเพาะเชื้อละ 2 โคโลนี ลงในหลอดอาหาร plate count agar ที่มีผิวหน้าเอียง โคโลนีละ 2 หลอด บ่มเพาะเชื้อที่ 35 °C นาน 18-24 ชั่วโมง ถ้าไม่มีโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะตามข้อ 8 ให้เลือกโคโลนีที่ลักษณะใกล้เคียงมากที่สุด งานเพาะเชื้อละ 1 โคโลนี
10. นำเชื้อจากหลอดอาหาร plate count agar ที่บ่มเพาะนาน 18 ชั่วโมง มาข้อมสิกรัม ดังนี้
  - 10.1 หยคน้ำกลั่นลงบนสไลด์ 1 หยด
  - 10.2 ใช้หว่งถ่ายเชื้อแต่ละเชื้อจากหลอดอาหาร plate count agar นำไปกระจายในหยดน้ำกลั่นบนสไลด์ ปลอ่ยให้แห้งในอากาศ นำสไลด์ไปผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง เพื่อทำให้เชื้อติดแน่นบนสไลด์
  - 10.3 หยดสารละลาย gram crystal violet ลงไปให้ทั่วบริเวณที่มีเชื้อ ทิ้งไว้นาน 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำ
  - 10.4 หยดสารละลาย gram iodine ลงไปให้ทั่วบริเวณที่มีเชื้อ ทิ้งไว้นาน 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำ
  - 10.5 ล้างสี crystal violet ส่วนเกินออกโดยเอียงสไลด์แล้วหยดเอทานอล เข้มข้น 95% ให้ไหลผ่านสไลด์ 15-30 วินาที ล้างออกด้วยน้ำ
  - 10.6 หยดสารละลาย gram safranin O ลงไปให้ทั่วบริเวณที่มีเชื้อ ทิ้งไว้นาน 15 วินาที ล้างออกด้วยน้ำ ชับน้ำ ทิ้งไว้ให้แห้ง
  - 10.7 ตรวจดูรูปร่าง ลักษณะการเรียงตัว และการติดสีของเชื้อ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์
11. ถ้าพบเชื้อที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้นและกลม ติดสีกลบ ไม่มีสปอร์ ให้นำหลอดอาหาร plate count agar ที่เหลืออีกหลอดหนึ่งไปทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี ดังนี้
  - 11.1 การทดสอบ **Indole** - เพาะเชื้อลงใน tryptone broth บ่มเชื้อที่ 35 °C นาน 24 ± 2 ชั่วโมง ทดสอบการสร้างอินโดลโดยหยด Kovac's reagent 0.2-0.3 ml เมื่อมีสีแดงเกิดขึ้นในชั้นบนของหลอดอาหารแสดงว่าเกิดการสร้างอินโดล รายงานผลการทดสอบเป็นบวก ถ้าเป็นสีเหลืองแสดงว่าไม่มีการสร้างอินโดล รายงานผลการทดสอบเป็นลบ
  - 11.2 การทดสอบ **Voges-Proskauer (VP)** - เพาะเชื้อลงใน MR-VP medium บ่มเชื้อที่ 35 °C นาน 48 ± 2 ชั่วโมง ใช้ปิเปตดูดอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ml ใส่ในหลอด

ทดลอง ขนาด 13 X 100 mm ทดสอบ VP โดยเติมสารละลาย  $\alpha$ -naphthol solution จำนวน 0.6 ml และสารละลาย 40% potassium hydroxide จำนวน 0.2 ml เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติม creatin เล็กน้อย วางทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง เมื่อมีสีชมพู (eosin pink) เกิดขึ้น รายงานผลการทดสอบเป็นบวก ถ้าไม่เกิดการเปลี่ยนสี รายงานผลการทดสอบเป็นลบ

- 11.3 การทดสอบ **methyl red** - นำ MR-VP medium ที่เหลือไปบ่มที่ 35 °C นาน  $48 \pm 2$  ชั่วโมง ทดสอบปฏิกิริยา methyl red โดยหยด methyl red solution จำนวน 5 หยด ในแต่ละหลอด เมื่อมีสีแดงเกิดขึ้น รายงานผลการทดสอบเป็นบวก ถ้าเป็นสีเหลือง รายงานผลการทดสอบเป็นลบ
- 11.4 การทดสอบ **citrate** - เพาะเชื้อใน simmons citrate agar โดยการแทง (stab) ลงในวุ้น และขีดเป็นเส้นบนผิวหน้าของอาหารวุ้น บ่มที่ 35 °C ต่ออีก  $24 \pm 2$  ชั่วโมง เมื่อมีโคโลนีเกิดขึ้นและอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนสี รายงานผลการทดสอบเป็นบวก และถ้าสีของอาหารไม่เปลี่ยนแปลง รายงานผลการทดสอบเป็นลบ
- 11.5 การเกิดก๊าซจากแลคโตส - เพาะเชื้อลงในหลอดอาหาร lauryl sulfate tryptose broth บ่มที่ 35 °C นาน  $48 \pm 2$  ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดก๊าซ
- 11.6 คำนวณค่า MPN ของ *E. coli* โดยเทียบค่าจากตาราง MPN ในภาคผนวก จากเชื้อที่ติดสีกลบ รูปร่างเป็นท่อนสั้น ไม่มีสปอร์ ทำให้เกิดก๊าซจากน้ำตาลแลคโตส และให้ผลการทดสอบ IMViC (indole, methyl red, Voges-Proslauer และ citrate) เป็น ++-- หรือ -+--

ตาราง ง1 ค่า MPN/ml ของตัวอย่างอาหาร เมื่อใช้ตัวอย่าง 0.1 0.01 และ 0.001 ml ความเข้มข้น  
ละ 3 หลอด

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก				จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก			
0.1	0.01	0.001	MPN/ml	0.1	0.01	0.001	MPN/ml
0	0	0	<3	2	0	0	9.1
0	0	1	3	2	0	1	14
0	0	2	6	2	0	2	20
0	0	3	9	2	0	3	26
0	1	0	3	2	1	0	15
0	1	1	6.1	2	1	1	20
0	1	2	9.2	2	1	2	27
0	1	3	12	2	1	3	34
0	2	0	6.2	2	2	0	21
0	2	1	9.3	2	2	1	28
0	2	2	12	2	2	2	35
0	2	3	16	2	2	3	42
0	3	0	9.4	2	3	0	29
0	3	1	13	2	3	1	36
0	3	2	16	2	3	2	44
0	3	3	19	2	3	3	53

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved

ตารางที่ ง1 (ต่อ)

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก				จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก			
0.1	0.01	0.001	MPN/ml	0.1	0.01	0.001	MPN/ml
1	0	0	3.6	3	0	0	23
1	0	1	7.2	3	0	1	39
1	0	2	11	3	0	2	64
1	0	3	15	3	0	3	95
1	1	0	7.3	3	1	0	43
1	1	1	11	3	1	1	75
1	1	2	15	3	1	2	120
1	1	3	19	3	1	3	160
1	2	0	11	3	2	0	93
1	2	1	15	3	2	1	150
1	2	2	20	3	2	2	210
1	2	3	24	3	2	3	290
1	3	0	16	3	3	0	240
1	3	1	20	3	3	1	460
1	3	2	24	3	3	2	1100
1	3	3	29	3	3	3	>1100

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นายเรวัตกร พงษ์พิสุทธินันท์
วัน เดือน ปีเกิด	8 ตุลาคม 2520
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2538 สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนศรีสวัสดิ์วิทยาคาร  พ.ศ. 2542 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved