ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

1.1 การวัดสี (Chroma meter; Minolta CR-300, Japan)

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* เป็นค่าลบเป็นสีเขียว
b* คือ ค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน	เมื่อ b* มีค่าบวก เป็นสีเหลือง
	เมื่อ b* เป็นค่าลบ เป็นสีน้ำเงิน

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

1.2 การวัดค่าความหนืด (Ahmed *et al*., 2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดความหนืด Brookfield-Programmable Viscometer, LVDV-II+
2. หัวเข็มเบอร์ 3
3. เทอร์โมคัพเปอร์
4. บีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร

วิธีการปรับมาตรฐาน

ให้ตั้งเครื่องให้อยู่ในแนวระดับโดยสังเกตลูกน้ำให้อยู่กึ่งกลาง เสียบปลั๊กและเปิดสวิทช์ เครื่องจะให้ Remove spindle (ถ้ามีหัวเข็มอยู่ให้เอาออกหรือถอด Cap spindle ออก) หลังจากนั้นกดปุ่มใดๆ เครื่องจะทำการ Set Autozero แล้วเครื่องจะบอกให้ Replace spindle ให้ใส่หัวเข็มที่ใช้วัดลงไปให้แน่นพอดี การเลือกใช้หัวเข็มที่ใช้วัดพิจารณาจากลักษณะอาหารที่ต้องการจะวัด

อาหารที่ข้นหนืดมากให้ใช้หัวเข็มวัดขนาดเล็กและความเร็วต่ำ

อาหารที่ข้นหนืดน้อยให้ใช้หัวเข็มวัดขนาดใหญ่ความเร็วสูง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การตั้งค่าการวัด

ตั้งค่าหัววัดเป็น S63 ใช้ความเร็วรอบในการหมุนในช่วง 0.5 – 25 RPM

วิธีการวัด

เทตัวอย่างน้ำลิ้นจี่เข้มข้นจำนวน 500 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตรปรับหัววัดจุ่มอยู่ในตัวอย่างที่จะวัดโดยให้ตัวอย่างตรงกับระดับเครื่องหมายที่กำกับในหัววัด เปิดให้เครื่องทำการวัดพร้อมกับจับเวลา 1 นาทีแล้วอ่านค่า เปอร์เซ็นต์การบิด (% Torque) ความหนืด (เซนติพอยส์) และอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) บันทึกค่าความหนืดที่ให้ค่า %Torque > 75 ขึ้นไป (โดยปกติค่าความหนืดที่ยอมรับได้มีค่า % Torque อยู่ระหว่าง 10-100 แต่ถ้าต้องการค่าที่ถูกต้องมากๆ ควรปรับให้ค่า % Torque ที่อ่านได้ใกล้เคียง 100) ทำการวัด 3 ซ้ำ โดยควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่างที่วัดให้อยู่ในช่วง 25 ± 1 องศาเซลเซียส

1.3 ความหนาแน่นของโฟม (ดัดแปลงจากวิธีของ Akintoye and Oguntunde, 1991)

นำโฟมที่ต้องการวัดความหนาแน่น บรรจุลงในถ้วยพลาสติก บรรจุให้เต็มพยายามไม่ให้มีโพรงอากาศภายในถ้วย เกลี่ยโฟมที่ล้นบริเวณปากถ้วยพลาสติก บรรจุให้เต็มพยายามไม่ให้มีโพรงอากาศมนถ้วย เกลี่ยโฟมที่ล้นบริเวณปากถ้วยพายยางเช็ดบริเวณรอบนอกถ้วยมิให้มีเศษโฟมเหลือติดอยู่ จากนั้นชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของถ้วยที่บรรจุโฟมนั้น นำมาคำนวณหาความหนาแน่นของโฟมดังนี้

$$\text{ความหนาแน่นของโฟม (กรัมต่อมิลลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักของโฟม}}{\text{ปริมาตรของถ้วย}}$$

$$= \frac{\text{น้ำหนักของถ้วยเมื่อบรรจุโฟม} - \text{น้ำหนักถ้วย}}{\text{ปริมาตรของถ้วย}}$$

1.4 ค่า % Overrun (สมชาย, 2548)

ค่า % Overrun (โดยน้ำหนัก) สามารถคำนวณได้จาก

$$\% \text{ Overrun} = \frac{\text{น้ำหนักต่อหน่วยปริมาตรของส่วนผสม} - \text{น้ำหนักต่อหน่วยปริมาตรของโฟม}}{\text{น้ำหนักต่อหน่วยปริมาตรของโฟม}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.5 ความสามารถในการละลาย (solubility) (Al–Kahtani and Hassan, 1990)

นำตัวอย่าง 10 กรัม ละลายในน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร กวนของผสมด้วย magnetic stirrer ที่ความเร็วระดับ 5 วัดเวลา (นาที) ที่ใช้ในการละลายของผงอย่างสมบูรณ์

2. การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

2.1 การวัดค่า pH (AOAC, 2000)

วิธีการวิเคราะห์

นำตัวอย่างประมาณ 10 มิลลิลิตร หรือ 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นนำไปวัดค่า โดยใช้เครื่อง pH meter ยี่ห้อ sartorius ที่ทำการ calibration แล้ว ด้วย pH 4 และ 7 อ่านค่าที่หน้าจอเครื่องวัด จดบันทึกค่าที่ได้และทำการวัด 3 ซ้ำ

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณของกรดทั้งหมด (Total titratable acidity) (AOAC, 2000)

สารเคมี

1. 0.1 N NaOH เตรียมสารเคมีโดยชั่ง NaOH 4 g ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 1000 ml

2. โพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (KHP; $KHC_8H_4O_4$)

3. Phenolphthalein

การทำ Standard NaOH

1. อบ KHP 104 ± 1 องศาเซลเซียส ปิ้นเวลา 24 ชั่วโมง

2. เตรียม KHP ให้ได้ความเข้มข้น 0.1 N คำนวณจากสูตรโมเลกุล 204.22 กรัม ชั่งมา 2.0422 ถ้าเตรียม 1 N ต้องชั่ง KHP 204.22 กรัมละลายในน้ำ 1000 ml ถ้าเตรียม 0.1 N ต้องชั่ง KHP 20.422 กรัมละลายในน้ำ 1000 ml

3. ไตเตรท 0.1N KHP ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ด้วย 0.1 N NaOH

หมายเหตุ ใช้ฟีนอลทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ จุดยุติสีชมพูอ่อน

การคำนวณของการทำ standard NaOH

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อ N_1 คือ ความเข้มข้น KHP

V_1 คือ ปริมาตรของ KHP

N_2 คือ ความเข้มข้น NaOH

V_2 คือ ปริมาตรของ NaOH

วิธีการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร หรือ 10 กรัม ใส่บีกเกอร์ 100 มิลลิลิตร เติมน้ำ DI 50 มิลลิลิตรคนให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

2. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ด้วย Suction pump

3. ปิเปตของเหลว 10 มิลลิลิตร ใส่ flask 125 มิลลิลิตร หยด ฟีนอลทาลีน 2-3 หยด

4. ไตเตรทด้วย 0.1 N NaOH โดยใช้เครื่องกวนผสมแบบแม่เหล็กไฟฟ้าพร้อมวัดค่า pH จนถึงจุดยุติ บันทึกปริมาตร NaOH ที่ใช้ ทดลอง 3 ซ้ำ

หมายเหตุ: ถ้าตัวอย่างถูกรบกวนด้วยสีให้หาปริมาณกรดโดยใช้การวัด pH จุดยุติอยู่ที่ pH 8.1

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมด (AOAC, 2000)

สารเคมี

1. น้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร

2. กรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์

3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

4. DNS reagent เตรียมโดยละลาย DNS 10 กรัม ในสารละลาย 200 มิลลิลิตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 โมลาร์ อุ่นและคนตลอดเวลา จากนั้นละลายโซเดียมโปแตสเซียมทาร์เทรท 300 กรัมในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ผสมเข้าด้วยกัน แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บในขวดสีชา

การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0,1.25 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่เตรียมไว้ใส่ลงในหลอดทดลองอย่างละ 1 มิลลิลิตร เติม DNS reagent 1 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร นำไปต้มใน water bath 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์

1. นำตัวอย่างมาประมาณ 5 มิลลิตร หรือ 5 กรัม ใส่ใน flask เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มใน Water bath 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

2. กรองด้วยกระดาษกรอง ล้างส่วนที่เหลือบนกระดาษกรองแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ใน Volumetric Flask

3. ดูดสารละลาย 0.1 มิลลิลิตร เติม DNS reagent 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 2.9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

4. นำไปต้มใน water bath 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

วิธีวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด

1. นำตัวอย่างมาประมาณ 5 มิลลิลิตร หรือ 5 กรัม เติมกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ จำนวน 10 มิลลิลิตร นำไปต้มใน water bath 100 องศาเซลเซียสนาน 20 นาทีแล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที

2. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 12 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

3. จากนั้นดูดสารละลายมา 0.1 มิลลิลิตร เติม DNS Reagent 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 2.9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มใน water bath 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที

4. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total soluble solids, %) โดยใช้ Hand refractometer ตามวิธี (AOAC, 2000)

วิธีการวิเคราะห์

นำตัวอย่างมาประมาณ 10 มิลลิลิตร หรือ 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ผสมหรือปั่นให้เข้ากัน กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 นำสวนที่กรองได้มาหยดลงบน Hand refractometer โดยกดปุ่ม start รอจนกว่าค่า RRR จะปรากฏแล้วกดปุ่ม start อีกครั้งบันทึกค่าที่ได้ในหน่วยเปอร์เซ็นต์ โดยคำนวณจาก ค่าที่อ่านได้คูณด้วยสาม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.5 การวิเคราะห์กรดอะมิโนไลซีน (Easton, 2009)

สารเคมี

1. Ethanol

2. Borate buffer (ชั่ง sodium borate ($Na_2B_4O_7.10H_2O$) 9.52 กรัม ละลายในน้ำ 1 ลิตร ปรับ pH ที่ 8.4 ด้วย 1 N HCl เก็บสารละลายนี้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส)

3. Lysine

การเตรียมสารตัวอย่าง

1. นำเอาตัวอย่าง 100 มิลลิกรัม เติม 70% Ethanol 25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันใน Ultra–Turax ที่อุณหภูมิห้อง

2. นำไป centrifuge ที่ 2000 rpm, 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที

3. นำเอา supernatants ที่ได้เก็บไว้และสกัดซ้ำอีก 1 ครั้ง

4. จากนั้นนำเอา supernatants ที่ได้ทั้ง 2 ครั้งมารวมกันจากนั้นนำไปทำให้แห้งภายในสุญญากาศ โดยใช้ rotary evaporater ที่ 45 องศาเซลเซียส

5. เก็บตัวอย่างที่ได้ด้วยสารละลาย borate buffer ปริมาตร 10 มิลลิลิตรแล้วกรองด้วย Nylon filter ขนาด 0.45 µm, 13 mm

6. นำสารละลายใสไปวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC

Condition สำหรับวิเคราะห์หากรดอะมิโนไลซีนในตัวอย่างโดยใช้เครื่อง HPLC

Condition ของ HPLC – UV/Vis Detection Analyses ใช้ระบบ Isoceatic

Column : ODS C18 (ID 4.6 mm, 150 mm)

Reversed phase Column : MeOH และ DI Water (70:30)

Temperature : not control

UV detecter : 254 nm

Flow rate : 1.0 ml/min

Inject sample : 10 µl

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.6 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแอสคอร์บิค (Rodriguez-Comesana *et al*., 2002)

สารเคมี

1. L-Ascrobic acid

2. Methanol

3. Sulphuric acid

4. Acetic acids

การสร้างกราฟมาตรฐาน

1. การเตรียม Standards สาร Ascorbic acid ในสารละลายซัลฟูริก pH 2.2 ให้มีความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 mg/L

2. นำมากรองด้วย Nylon filter ขนาด 0.45 µm, 13 mm

3. นำสาร Standards ไปฉีดวิเคราะห์ โดยใช้ HPLC

การสกัดตัวอย่าง

1. ใช้ตัวอย่าง 1 กรัม สกัดด้วยกรดซัลฟูริก pH 2.2 ปริมาตร 9 ml. เขย่าแรงๆให้เข้ากัน

2. กรองสารสกัดที่ได้ด้วย nylon syringe filter ขนาด 13 mm. 0.45 µm. ใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

Condition สำหรับวิเคราะห์หากรดแอสคอร์บิคในตัวอย่างโดยใช้เครื่อง HPLC

Condition ของ HPLC – UV/Vis Detection Analyses ใช้ระบบ Isoceatic

Column : Eclipse C18 (ID 4.6 mm, 150 mm)

Reversed phase Column : 0.1M Acetic acid (Sovent A) และ Methanol (Sovent B)

Temperature : 30°C

UV detecter : 250 nm

Flow rate : 1.5 ml/min

Inject sample : 20 µl

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.7 การวิเคราะห์หากรดอินทรีย์ (Ball, 2008)

สารเคมี

1. Malic acid
2. Citric acid
3. Succinic acid
4. Methanol
5. 25 mM phosphate buffer (ชั่ง Potassium dihydrogen Phosphate 3.4025 กรัม ละลายในน้ำ 1000 มิลลิลิตร ปรับกรดด้วย HCl 6 N)

การสร้างกราฟมาตรฐาน

1. การเตรียม Standards สารละลายซัลฟูริกเมทานอลให้มีความเข้มข้น 5, 10, 50 และ100 mg/L

2. นำมากรองด้วย Nylon filter ขนาด 0.45 µm, 13 mm

3. นำสาร Standards ไปฉีดวิเคราะห์ โดยใช้ HPLC

การเตรียมตัวอย่าง

1.ใช้ตัวอย่าง 0.1 กรัม ละลายในน้ำปริมาตร 10 มิลลิลิตร

2.นำไป centrifuged ที่ 5000 rpm ประมาณ 10 นาที

3. กรองเอาแต่สารละลายใสแล้วจึงนำไปวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC

Condition สำหรับวิเคราะห์หา Orangic acid ในตัวอย่างโดยใช้เครื่อง HPLC

Condition ของ HPLC – UV/Vis Detection Analyses ใช้ระบบ Isocreatic

Column :	Eclipse C18 (ID 4.6 mm, 150 mm)
Reversed phase Column :	25 mM phosphate buffer (pH 2.4) ใน methanol 1% (Solvent A)
Flow rate :	1.0 ml/min
Temperature :	room temperature
Inject Sample :	20 µm
UV detect :	270 nm

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.8 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (Moisture content) (AOAC, 2000) โดยใช้ตู้อบลมร้อน

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. กระป๋องอบความชื้น
2. ที่คีบกระป๋อง
3. ช้อนตักสาร
4. โถดูดความชื้นที่มีสารดูดความชื้น เช่น ซิลิกาเจล
5. เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์
6. ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า

วิธีการวิเคราะห์

1. อบกระป๋องอบความชื้นพร้อมฝาในตู้อบความร้อนแบบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น นาน 30 นาที ชั่งน้ำหนัก (W1) ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 5 กรัม ใส่ในกระป๋องอบความชื้นที่อบเรียบร้อยแล้ว และชั่งน้ำหนัก (W2)

2. นำกระป๋องอบความชื้นพร้อมฝาโดยเปิดฝาออกไปอบที่ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง

3. นำกระป๋องอบความชื้นออกจากตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า โดยปิดฝาทันที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น นาน 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

4. นำไปอบต่ออีก 1 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักที่คงที่ (น้ำหนักที่คงที่หมายความว่าผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 2 มิลลิกรัม) (W3)

วิธีการคำนวณ

ปริมาณความชื้น ร้อยละของน้ำหนัก $= \frac{(W2 - W3) \times 100}{W2 - W1}$

เมื่อ W1 = น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้น (กรัม)

W2 = น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้นและตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W3 = น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้นและตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.9 การวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของน้ำด้วยเครื่อง Water Activity Meter

วิธีการวิเคราะห์

ใส่ตัวอย่างในตลับพลาสติกสำหรับวัดค่ากิจกรรมของน้ำปริมาณของตัวอย่างไม่ควรเกินครึ่งหนึ่งของตลับ นำไปใส่ในเครื่องวัดค่ากิจกรรมของน้ำ (Water Activity Meter) หมุนปุ่มจากตำแหน่งเปิด (open)ไปที่ตำแหน่งอ่านค่า (read) เครื่องเริ่มทำการวัด ใช้เวลาประมาณ 5 นาที เมื่อเครื่องวัดเสร็จจะมีเสียงสัญญาณเตือน บันทึกค่า ทำการวัด 3 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ย ก่อนวัดทุกครั้งต้องมีการปรับค่ามาตรฐานโดยใช้สารละลายมาตรฐาน

วิธีการวัด

บรรจุตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วลงในตลับพลาสติก (a_w box) โดยบรรจุไม่ให้เกินระดับที่กำหนดของตลับ แล้วนำไปวัดค่ากิจกรรมของน้ำด้วยเครื่อง Water Activity Meterโดยวางตลับลงใน chamber ของเครื่องวัด ตั้งทิ้งไว้จนสภาพภายใน chamber สมดุลที่อุณหภูมิที่กำหนดไว้ แล้วจึงอ่านค่ากิจกรรมของน้ำของตัวอย่างและบันทึกผล

2.10 การวิเคราะห์สารประกอบที่ระเหยง่ายโดยใช้ SPME และ GC-MS (Sriseadka *et al*., 2006)

สารเคมีที่ใช้

1. DI water

การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 5 กรัมผสมกับน้ำ DIให้ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวด vial ขนาด 25 มิลลิลิตร ใส่ magnetic bar แล้วจึงปิดฝาด้วยจุกยางทนความร้อนสูง และฝาอะลูมิเนียม

วิธีการวิเคราะห์สารประกอบที่ระเหยง่าย

ให้ความร้อนกับขวดตัวอย่างที่บรรจุตัวอย่าง โดยวางขวดตัวอย่างบนเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้าและถาดให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นประกอบเข็มไฟเบอร์ที่ประกอบเข้ากับอุปกรณ์ SPME (solid-phase micro-extraction) เข้าไปในขวดตัวอย่าง แล้วจึงให้ความร้อนต่อเป็นเวลา 12 นาที เพื่อให้ไฟเบอร์ทำการจับกับสารประกอบที่ระเหยง่าย แล้วจึงนำชุดอุปกรณ์ SPME ไปวิเคราะห์โดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี รุ่น Agilent Technologies 6890 N Network GC System เข้าไปตรงตำแหน่งที่ฉีดสารของเครื่องโดยใช้โหมดการทำงานแบบ Splitless mode ผ่านแคปปิลาลีคอลัมน์ (DB-DURABOND) HP-5 (30 m x 0.32 mm 0.25 µm film thickness)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Condition ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ดังนี้

แก๊สตัวพา: แก๊สฮีเลียม

อุณหภูมิที่ inlet : 230 องศาเซลเซียส

อัตราการไหล : 2.5 มิลลิลิตรต่อนาที

อุณหภูมิของเตาอบ : ตั้งโปรแกรมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเพิ่มเป็น 220 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร็ว 15 องศาเซลเซียสต่อนาที และคงอุณหภูมิไว้ที่ 220 องศาเซลเซียส นาน 8 นาที

การวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบที่ระเหยง่าย

วิเคราะห์และระบุชนิดของสารประกอบที่ระเหยง่ายโดยเปรียบเทียบ mass spectrum กับ Library search ของ NIST

3. การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

3.1 วิธีการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC, 2000)

เครื่องมือ และอุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว
2. ปิเปตผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
3. ตู้บ่ม (Incubator) อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส
4. เครื่องตีป่น (Stomacher)
5. ถุงตีป่น (Stomacher Bag)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. 0.1% peptone water
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA)

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม หรือ 25 มิลลิลิตร ใส่ในถุง Stomacher เติมสารละลาย 0.1% peptone water จำนวน 225 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องตีป่น (Stomacher) นาน 1-2 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ทำการเจือจางตัวอย่างในสารละลาย 0.1% peptone water จำนวน 9 มิลลิลิตร จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม

3. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสมจำนวน 3 ระดับความเข้มข้นที่ติดกัน จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเชื้อ โดยทำ 3 ซ้ำในแต่ระดับความเข้มข้น

4. เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA อุณหภูมิ 44-46 องศาเซลเซียส ประมาณ 12-15 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเชื้อเขย่าจานให้สารละลายอาหารกระจายทั่วจานเพาะเชื้อ

5. ปล่อยให้อาหารวุ้นแข็งตัว คว่ำจานเพาะเชื้อ บ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 48±3 ชั่วโมง

6. นับจำนวนโคโลนีจากจานที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี คำนวณ CFU/g ของตัวอย่าง

วิธีการคำนวณ

$$CFU/g = \frac{\sum C}{(v_1 n_1 + 0.1\, n_2)\, d}$$

เมื่อ v_1 = ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการเพาะเชื้อ

$\sum C$ = ผลรวมของโคโลนีที่นับได้ทั้งหมดจากจานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 25-250 โคโลนี

n_1 = จำนวนจานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 25-250 โคโลนี ในระดับความเข้มข้นแรก

n_2 = จำนวนจานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 25-250 โคโลนี ในระดับความเข้มข้นที่ 2

d = ระดับความเข้มข้นแรกที่สามารถนับเชื้อได้ในช่วง 25-250 โคโลนี

3.2 การตรวจหาเชื้อยีสต์และรา (AOAC, 2000)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว

2. ปิเปตผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร

3. ตู้บ่ม (Incubator) อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส

4. เครื่องตีป่น (Stomacher)

5. ถุงตีป่น (Stomacher Bag)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. Sterile bent glass rod

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. 0.1% peptone water

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Dextrose Agar (PDA)

3. 10% Tartaric Acid

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม หรือ 25 มิลลิลิตร ใส่ถุงตีป่น เติมสารละลาย 0.1% peptone water จำนวน 225 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องตีป่น (Stomacher) นาน 1-2 นาที

2. ทำการเจือจางสารละลายตัวอย่างในสารละลาย 0.1% peptone water หลอดละ 9 มิลลิลิตร จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม

3. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสมจำนวน 3 ระดับความเข้มข้นที่ติดกัน จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเชื้อ โดยทำ 3 ซ้ำในแต่ระดับความเข้มข้น

4. เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA pH 3.5 อุณหภูมิ 44-46 องศาเซลเซียส ประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเชื้อเขย่าจานให้สารละลายอาหารกระจายทั่วจานเพาะเชื้อ

5. ปล่อยให้อาหารวุ้นแข็งตัว หงายจานเพาะเชื้อ บ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30±2 องศา-เซลเซียส นาน 72±3 ชั่วโมง

6. นับจำนวนโคโลนีจากจานที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 15-150 โคโลนี คำนวณ CFU/g ของตัวอย่าง ได้จากสูตรเดียวกับการหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด

วิธีการคำนวณเหมือนกับการคำนวณปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด และมีการคำนวณเพิ่มเติมดังนี้

1. กรณีตัวเลขหลักที่ 3 เป็นเลข 6 หรือสูงกว่านี้ให้ปัดขึ้น เช่น 456 = 460
2. กรณีตัวเลขหลักที่ 3 เป็นเลข 4 หรือต่ำกว่านี้ให้ปัดลง เช่น 454 = 450
3. กรณีตัวเลขหลักที่ 3 เป็นเลข 5 ให้พิจารณาตัวเลขหลักที่ 2 ว่าน้อยหรือมากกว่า 5 โดยถ้าเลข น้อยกว่า 5 ให้ปัดลง เช่น 445 = 440 แต่ถ้าเลข 2 มากกว่าหรือเป็น 5 ให้ปัดขึ้น เช่น 455 = 460
4. กรณีที่ไม่พบโคโลนีของเชื้อขึ้นเลยทุกระดับความเข้มข้น ให้รายงานการพบเชื้อยีสต์และราน้อยกว่า 1 คูณด้วยระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3 การวิเคราะห์หา coliform bacteria และ *Escherichia coli* โดยวิธี MPN (AOAC, 2000)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หลอดทดลองขนาด 16 x150 mm

2. หลอดดักก๊าซ (Durham tube)

3. ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร

4. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายเจือจาง

1. สารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Sulfate Tryptose Broth (HiMedium; HiMedia Laboratories, India)

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green Lactose Bile Broth (HiMedium; HiMedia Laboratories, India)

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ EC Broth (HiMedium; HiMedia Laboratories, India)

5. อาหารเลี้ยงเชื้อ Levine-EMB Agar (HiMedium; HiMedia Laboratories, India)

6. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (HiMedium; HiMedia Laboratories, India)

7. อาหารเลี้ยงเชื้อ MR-VP Broth (HiMedium; HiMedia Laboratories, India)

8. อาหารเลี้ยงเชื้อ Simmons Citrate Agar (HiMedium; HiMedia Laboratories, India)

9. สารละลาย Gram Crystal Violet (Merck, Germany)

10. สารละลาย Gram Iodine (Merck, Germany)

11. สารละลาย Tryptone Broth (HiMedium; HiMedia Laboratories, India)

12. สารละลาย Kovac's Reagent (Merck, Germany)

13. สารละลาย α-naphthol Solution (Merck, Germany)

14. สารละลาย Potassium Hydroxide เข้มข้น 40% (Merck, Germany)

15. สารละลาย Methyl Red Solution (Merck, Germany)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 25 กรัมหรือ 25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดดูแรนที่มีสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 จำนวน 225 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นาน 1-2 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. เจือจางอาหารในสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 หลอดละ 9 มิลลิลิตร จนได้ระดับความเจือจางที่ 10, 100 และ 1,000 เท่า

3. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายเจือจางที่เตรียมไว้ในข้อ 1 และ 2 ลงในหลอดทดลองอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Sulfate Tryptose Broth หลอดละ 1 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 หลอด

4. อบเพาะเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 48±2 ชั่วโมง ตรวจดูการเกิดก๊าซหลังการอบเพาะเชื้อ 24±2 ชั่วโมง ถ้าไม่มีก๊าซเกิดขึ้นนำไปอบเพาะเชื้อต่ออีก 24 ชั่วโมง ตรวจดูการเกิดก๊าซอีกครั้ง ถ้ามีก๊าซเกิดขึ้นนำไปทดสอบยืนยันต่อ

5. นำหลอดที่มีก๊าซเกิดขึ้นมาเขย่าเบาๆ แล้วใช้ห่วงเขี่ยเชื้อซึ่งเผาไฟฆ่าเชื้อแล้ว ถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green Broth 2% อบเพาะเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 48±2 ชั่วโมง ตรวจดูการเกิดก๊าซและบันทึกผล

6. คำนวณค่าเอ็มพีเอ็นต่อกรัม (MPN/g) ของโคลิฟอร์มจากจำนวนหลอดอาหาร Brilliant Green Broth 2% ที่มีก๊าซเกิดขึ้นตามตาราง ก1

7. นำหลอดอาหาร Lauryl Sulfate Tryptose Broth ที่มีก๊าซเกิดขึ้นมาเขย่าเบาๆ ใช้ห่วงถ่ายเชื้อเผาไฟฆ่าเชื้อ ถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหาร EC broth เพาะเชื้อในอ่างน้ำอุ่นควบคุมอุณหภูมิที่ 45.5 องศาเซลเซียส ตรวจดูการเกิดก๊าซหลังการบ่มเพาะนาน 24±2 ชั่วโมง ถ้าไม่มีก๊าซเกิดขึ้นให้บ่มต่อเพาะต่อและตรวจดูการเกิดก๊าซอีกครั้งหลังจากบ่มนาน 48±2 ชั่วโมง คำนวณหาปริมาณเชื้อ Faecal Coliform จากตาราง ก1

8. ใช้ห่วงถ่ายเชื้อเผาไฟฆ่าเชื้อ ถ่ายเชื้อจากหลอดอาหาร EC Broth ที่เกิดก๊าซขีดเป็นเส้น (Streak) ลงบนผิวหน้าอาหาร Levine-EMB agar บ่มเพาะเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง ตรวจดูโคโลนีที่มีสีม่วงแดงเข้ม ลักษณะแบนมี metallic sheen

9. ถ่ายเชื้อที่มีลักษณะเฉพาะตามข้อ 8 จานเพาะเชื้อละ 2 โคโลนี ลงในหลอดทดลอง Plate Count Agar ที่มีผิวหน้าเอียง โคโลนีละ 2 หลอด บ่มเพาะเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง ถ้าไม่มีโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะตามข้อ 8 ให้เลือกโคโลนีที่มีลักษณะใกล้เคียงมากที่สุดจานเพาะเชื้อละ 1 โคโลนี

10. นำเชื้อจากหลอดอาหาร Plate Count Agar ที่บ่มเพาะนาน 18 ชั่วโมง มาย้อมสีกรัม ดังนี้

10.1 หยดน้ำกลั่นลงบนไสลด์ 1 หยด

10.2 ใช้ห่วงถ่ายเชื้อแตะเชื้อจากหลอดอาหาร Plate Count Agar นำไปกระจายในหยดน้ำกลั่นบนไสลด์ ปล่อยให้แห้งในอากาศนำสไลด์ไปผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง เพื่อทำการตรึงให้เชื้อติดแน่นบนไสลด์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

10.3 หยดสารละลาย Gram Crystal Violet ลงไปให้ท่วมบริเวณที่มีเชื้อ ทิ้งไว้นาน 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำ

10.4 หยดสารละลาย Gram Iodine ลงไปให้ท่วมบริเวณที่มีเชื้อ ทิ้งไว้นาน 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำ

10.5 ล้างสี Crystal Violet ส่วนเกินออกโดยเอียงสไลด์แล้วหยดแอลกอฮอล์ เข้มข้น 95% ให้ไหลผ่านสไลด์ 15-30 วินาที ล้างออกด้วยน้ำ

10.6 หยดสารละลาย Gram Safranin ลงไปให้ท่วมบริเวณที่มีเชื้อ ทิ้งไว้นาน 15 วินาที ล้างออกด้วยน้ำ ซับน้ำ ทิ้งไว้ให้แห้ง

10.7 ตรวจดูรูปร่าง ลักษณะการเรียงตัว และการติดสีกรัมของเชื้อ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์

11. ถ้าพบเชื้อที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้นและกลม ติดสีกรัมลบ ไม่มีสปอร์ ให้นำหลอดอาหาร Plate Count Agar ที่เหลืออีกหลอดหนึ่งไปทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี ดังนี้

11.1 การทดสอบ Indole – เพาะเชื้อลงใน Tryptone Broth บ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 24±2 ชั่วโมง ทดสอบการสร้างอินโดลโดยหยด Kovac's Reagent 0.2-0.3 มิลลิลิตร เมื่อมีสีแดงเกิดขึ้นในชั้นบนของหลอดอาหารแสดงว่าเกิดการสร้างอินโดล รายงานผลการทดสอบเป็นลบ

11.2 การทดสอบ Voges-Proskauer (VP) – เพาะเชื้อลงใน MR-VP Medium บ่มเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 48±2 ชั่วโมง ใช้ปิเปตดูอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 13x100 มิลลิลิตร ทดสอบ VP โดยเติมสารละลาย α-Naphthol Solution จำนวน 0.6 มิลลิลิตร และสารละลาย Potassium Hydroxide ความเข้มข้น 40% จำนวน 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติม Casein เล็กน้อย วางทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง เมื่อมีสีชมพู (Eosin Pink) เกิดขึ้น รายงานผลการทดสอบเป็นบวก ถ้าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสี รายงานผลการทดสอบเป็นลบ

11.3 การทดสอบ Methyl Red – นำ MR-VP medium ที่เหลือไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส ต่ออีก 48±2 ชั่วโมง ทดสอบปฏิกิริยา Methyl Red โดยหยด Methyl Red Solution จำนวน 5 หยด ในแต่ละหลอด เมื่อมีสีแดงเกิดขึ้นรายงานผลการทดสอบเป็นบวก ถ้าเป็นสีเหลืองรายงานผลการทดสอบเป็นลบ

11.4 การทดสอบ Citrate – เพาะเชื้อใน Simons Citrate Agar โดยการแทง (Stab) ลงในวุ้น และขีดเป็นเส้นบนผิวหน้าของอาหารวุ้น บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส ต่ออีก 24±2 ชั่วโมง เมื่อมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โคโลนีเกิดขึ้นและอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนสีรายงานผลการทดสอบเป็นบวกและถ้าสีของหารไม่เปลี่ยนแปลงรายงานผลการทดสอบเป็นลบ

11.5 การเกิดก๊าซจากแลคโตส – เพาะเชื้อลงในหลอดอาหาร Lauryl Sulfate Tryptose Broth บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส ต่ออีก 48±2 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดก๊าซ

11.6 คำนวนค่า MPN ของ *E. coli* โดยเทียบค่าจากตาราง MPN จากตาราง ง1 จากเชื้อที่ติดกรัมลบ รูปร่างเป็นท่อนสั้น ไม่มีสปอร์ ทำให้เกิดก๊าซจากน้ำตาลแลคโตส และให้ผลการทดสอบ IMViC (Indole, Methyl Red, Voges-Proslauer และ Citrate) เป็น + + - - หรือ - + - -

ตาราง ก1 ค่าเอ็มพีเอ็นต่อกรัม (MPN/g) เมื่อใช้ตัวอย่าง 0.1, 0.01 และ 0.001 g ความเข้มข้นละ 3 หลอด

จำนวนหลอดที่ใช้ผลบวก				จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก			
0.1	**0.01**	**0.001**	**MPN/g**	**0.1**	**0.01**	**0.001**	**MPN/g**
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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ก1 (ต่อ)

จำนวนหลอดที่ใช้ผลบวก				จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก			
0.1	**0.01**	**0.001**	**MPN/g**	**0.1**	**0.01**	**0.001**	**MPN/g**
0	3	2	16	2	3	2	44
0	3	3	19	2	3	3	53
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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์น้ำลิ้นจี่ผงพร้อมดื่ม

ชื่อผู้ทดสอบ……วันที่……ชุดที่.....

คำแนะนำ : กรุณาชิมตัวอย่างน้ำลิ้นจี่ผงพร้อมดื่ม และให้คะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะดังนี้

คะแนน 5 = ชอบมาก
4 = ชอบเล็กน้อย
3 = เฉยๆ
2 = ไม่ชอบเล็กน้อย
1 = ไม่ชอบมาก

คุณลักษณะ	….	….	….
ลักษณะปรากฏ			
สี			
กลิ่น			
รสชาติ			
ความหวาน			
ความเค็ม			
ความข้นหนืด			
ความเป็นเนื้อเดียวกัน			
การยอมรับโดยรวม			

ข้อเสนอแนะ .....
.....
.....

ขอบคุณ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

โครมาโตแกรม HPLC

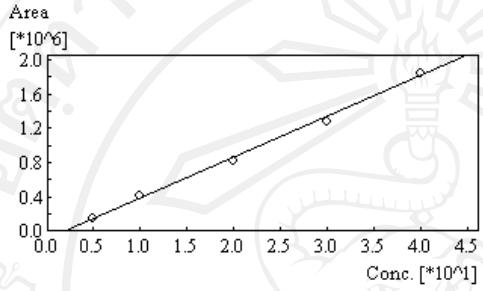
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. การวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิค

Calibration Curve

ID# : 1
Name : Ascorbic acid
Quantitative Method : External Standard
Function : f(x)=47743.2*x-97231.1
Rr1=0.9991228 Rr2=0.9982463
MeanRF:40321.4 RFSD:5916.03 RFRSD:14.6722
FitType : Linear
ZeroThrough : Not Through
Weighted Regression : None
Detector Name : PDA

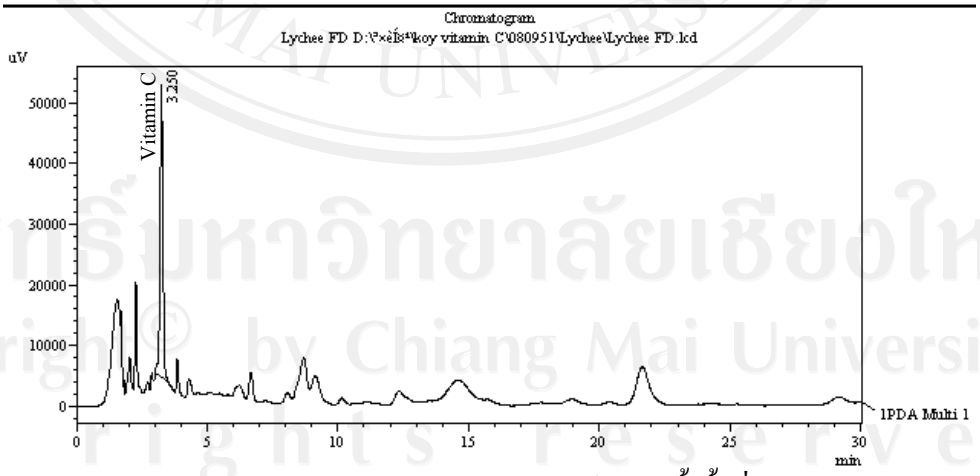
#	Conc. ()	MeanArea	Area
1	5.000	151687.6	151688
2	10.000	412385.8	412386
3	20.000	825021.4	825021
4	30.000	1281917.6	1281918
5	40.000	1841976.3	1841976



รูป ค1 กราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิค (วิตามินซี)

Sample Information

Sample Name	: Lychee FD
Sample ID	: Lychee FD
Injection Volume	: 20 uL
Data Filename	: Lychee FD.lcd
Method Filename	: postrun vitamin C repeat.lcm
Batch Filename	: batch sample.lcb
Report Filename	: Default.lcr
Date Acquired	: 13/8/2551 16:26:19
Data Processed	: 6/12/2551 16:09:35

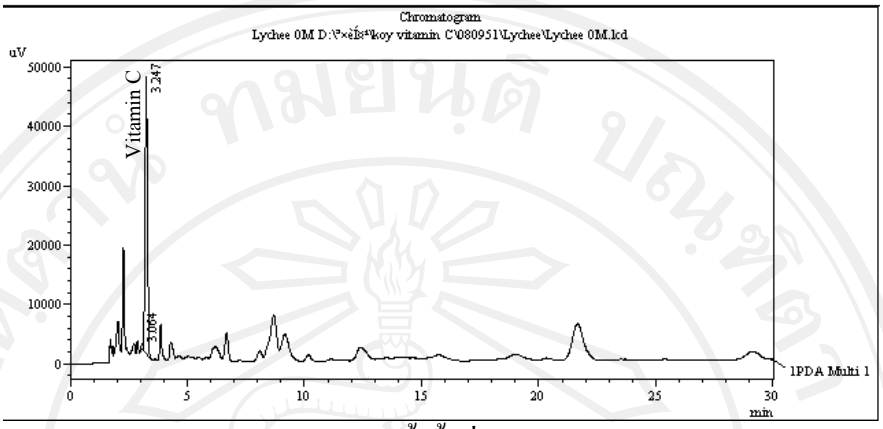


รูป ค2 โครมาโตแกรมของกรดแอสคอร์บิคในน้ำลิ้นจี่เข้มข้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Sample Information

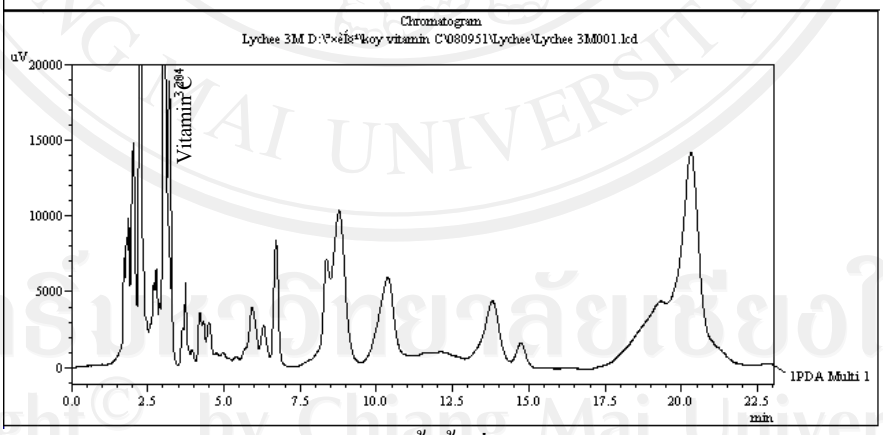
Sample Name	: Lychee 0M
Sample ID	: Lychee 0M
Injection Volume	: 20 uL
Data Filename	: Lychee 0M.lcd
Method Filename	: postrun vitamin C repeat.lcm
Batch Filename	: batch sample.lcb
Report Filename	: Default.lcr
Date Acquired	: 13/8/2551 18:07:22
Data Processed	: 6/12/2551 16:09:11



รูป ค3 โครมาโตแกรมของกรดแอสคอร์บิคในน้ำลิ้นจี่ผงเก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศในบรรจุภัณฑ์ชนิดลามิเนทฟอยล์ที่อุณหภูมิห้องเดือนที่ 0

Sample Information

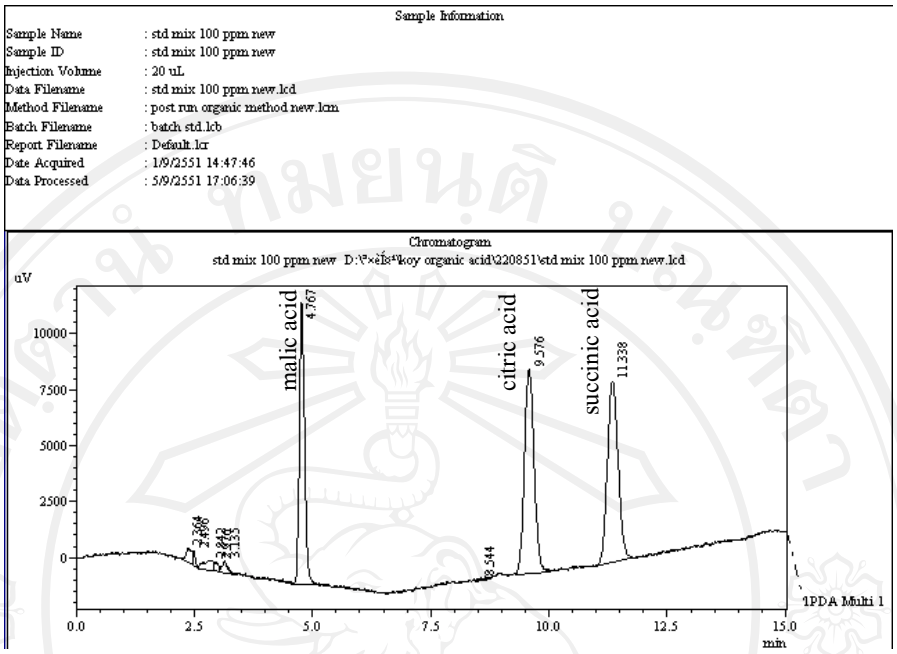
Sample Name	: Lychee 3M
Sample ID	: Lychee 3M
Injection Volume	: 20 uL
Data Filename	: Lychee 3M001.lcd
Method Filename	: postrun vitamin C repeat.lcm
Batch Filename	: batch sample.lcb
Report Filename	: Default.lcr
Date Acquired	: 8/9/2551 21:40:23
Data Processed	: 6/12/2551 16:09:32



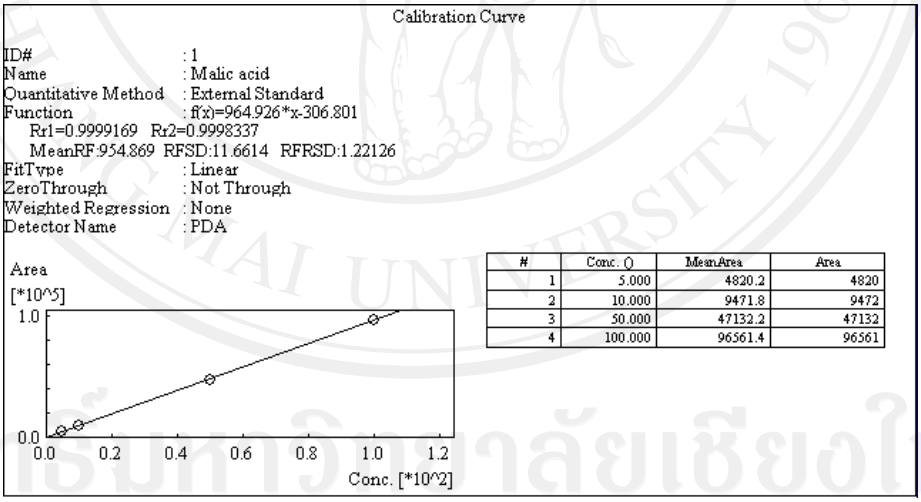
รูป ค4 โครมาโตแกรมของกรดแอสคอร์บิคในน้ำลิ้นจี่ผงเก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศในบรรจุภัณฑ์ชนิดลามิเนทฟอยล์ที่อุณหภูมิห้องเดือนที่ 3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์



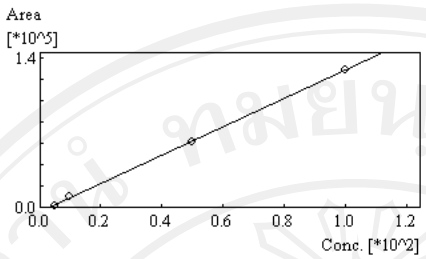
รูป ค5 โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์มาตรฐาน (malic acid, citric acid และ succinic acid)



รูป ค6 กราฟมาตรฐานของกรดมาลิค

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

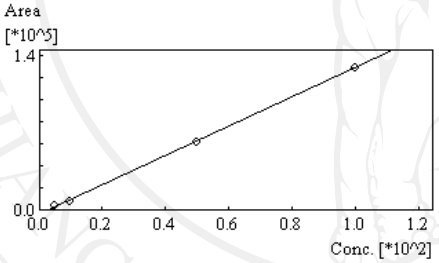
ID# : 2
Name : Citric acid
Quantitative Method : External Standard
Function : f(x)=1320.5*x-4078.06
Rr1=0.9998032 Rr2=0.9996065
MeanRF:966.338 RFSD:457.289 RFRSD:47.3218
FitType : Linear
ZeroThrough : Not Through
Weighted Regression : None
Detector Name : PDA



#	Conc. ()	MeanArea	Area
1	5.000	1472.7	1473
2	10.000	10640.5	10640
3	50.000	61220.6	61221
4	100.000	128235.8	128236

รูป ค7 กราฟมาตรฐานของกรดซิตริค

ID# : 3
Name : Succinic acid
Quantitative Method : External Standard
Function : f(x)=1324.28*x-3997.56
Rr1=0.9997870 Rr2=0.9995741
MeanRF:1035.77 RFSD:260.739 RFRSD:25.1733
FitType : Linear
ZeroThrough : Not Through
Weighted Regression : None
Detector Name : PDA

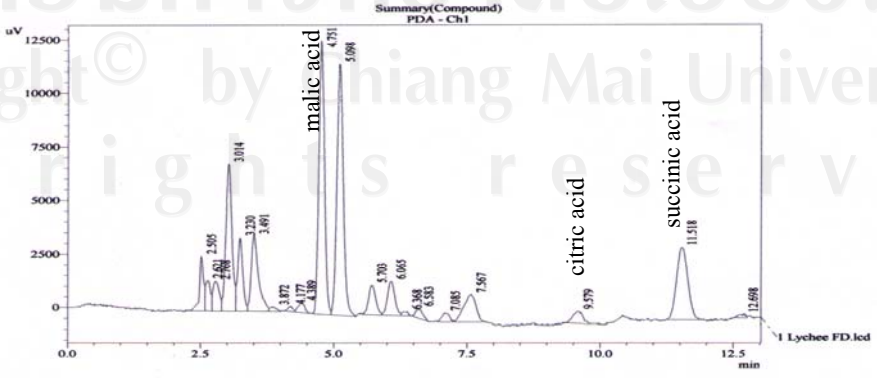


#	Conc. ()	MeanArea	Area
1	5.000	4133.3	4133
2	10.000	7954.4	7954
3	50.000	61671.7	61672
4	100.000	128755.9	128756

รูป ค8 กราฟมาตรฐานของกรดซัคซินิค

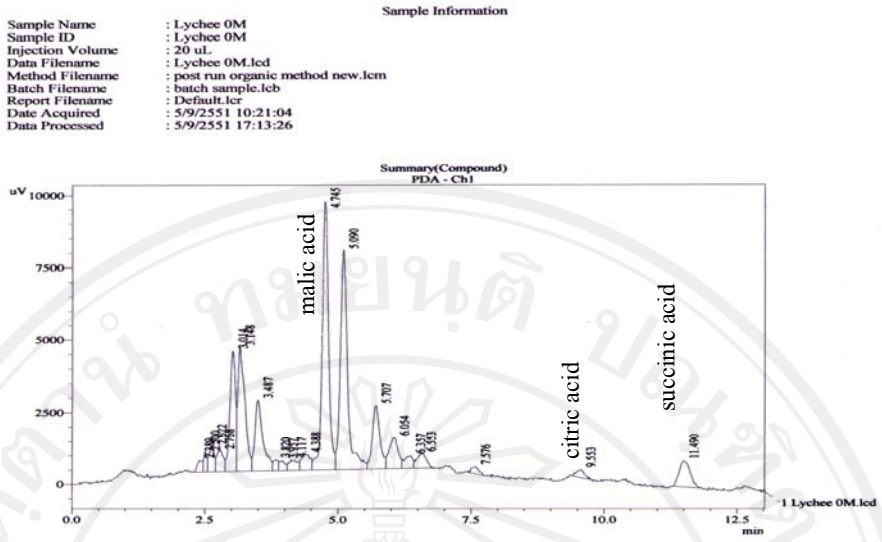
Sample Information

Sample Name	: Lychee FD
Sample ID	: Lychee FD
Injection Volume	: 20 uL
Data Filename	: Lychee FD.lcd
Method Filename	: post run organic method new.lcm
Batch Filename	: batch sample.lcb
Report Filename	: Default.lcr
Date Acquired	: 5/9/2551 8:18:15
Data Processed	: 5/9/2551 17:13:29

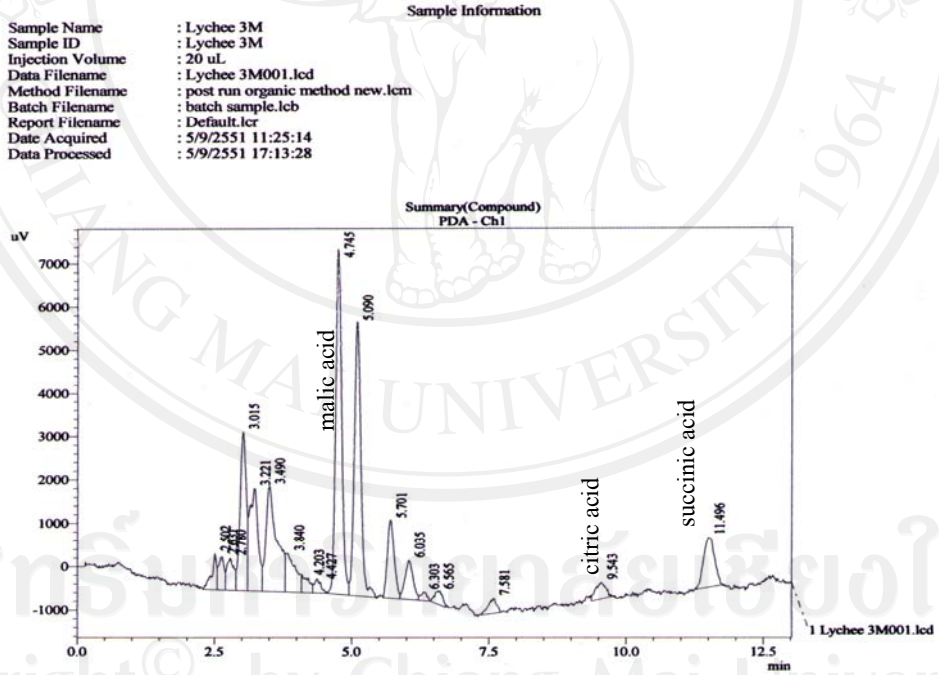


รูป ค9 โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ในน้ำลิ้นจี่เข้มข้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



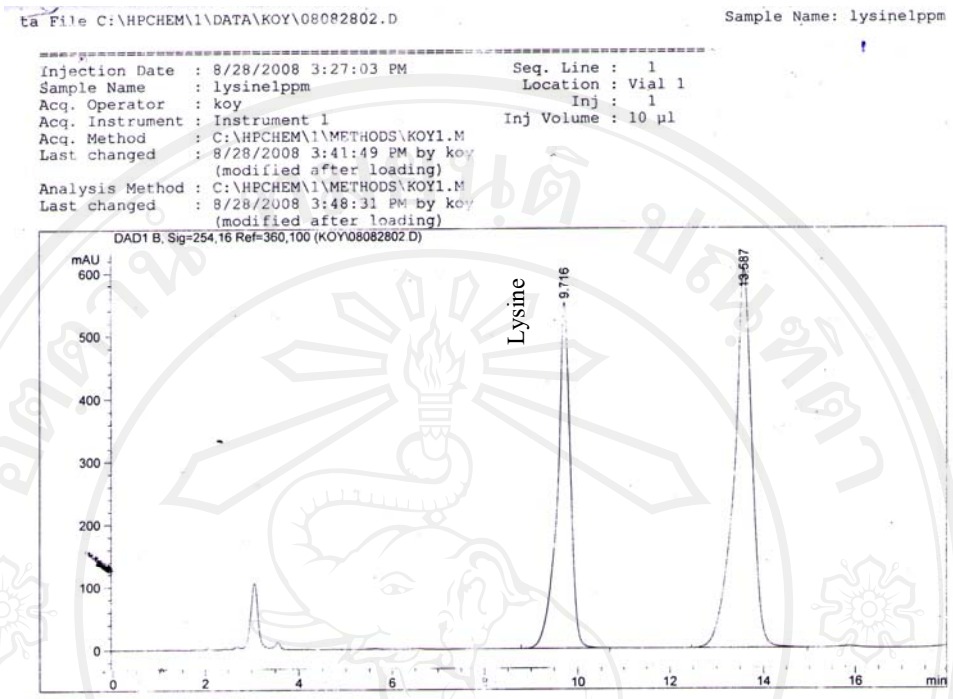
รูป ค10 โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ในน้ำลิ้นจี่ผงเก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศในบรรจุภัณฑ์ชนิดลามิเนทฟอยล์ที่อุณหภูมิห้องเดือนที่ 0



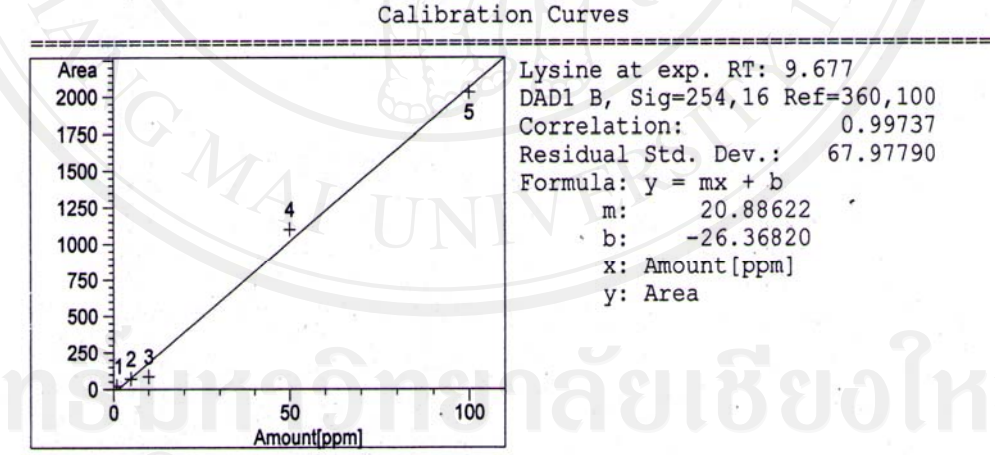
รูป ค11 โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ในน้ำลิ้นจี่ผงเก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศในบรรจุภัณฑ์ชนิดลามิเนทฟอยล์ที่อุณหภูมิห้องเดือนที่ 3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนไลซีน

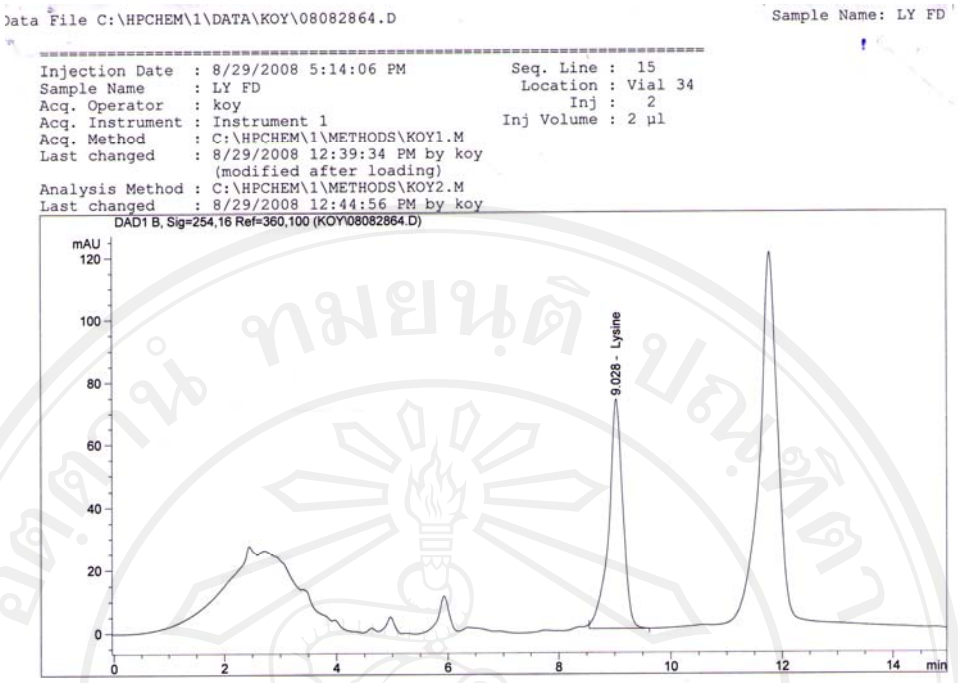


รูป ค12 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐานกรดอะมิโนไลซีน

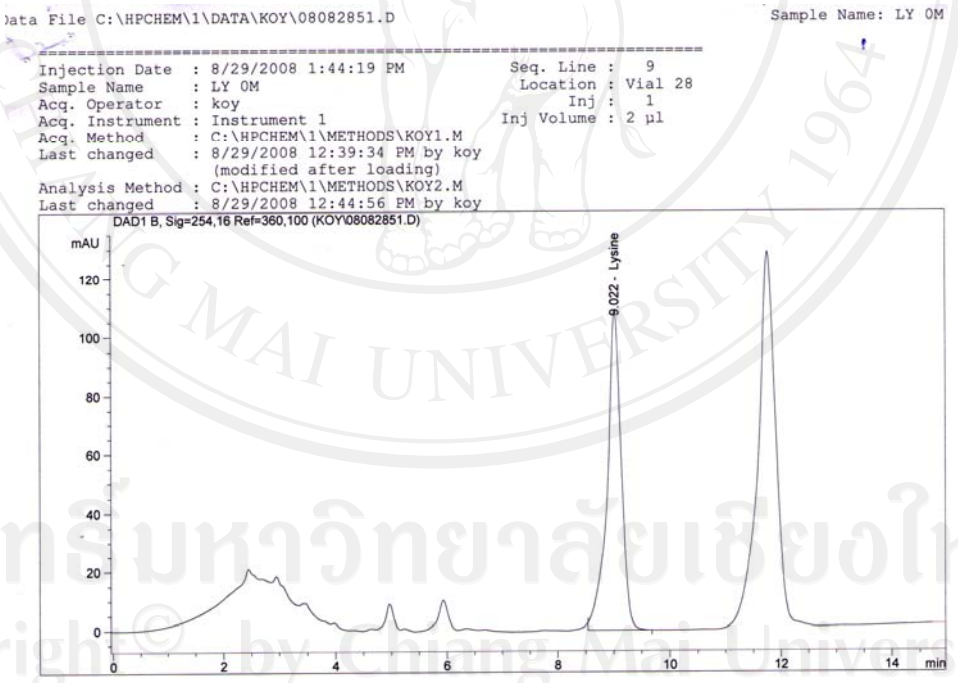


รูป ค13 กราฟมาตรฐานของกรดอะมิโนไลซีน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

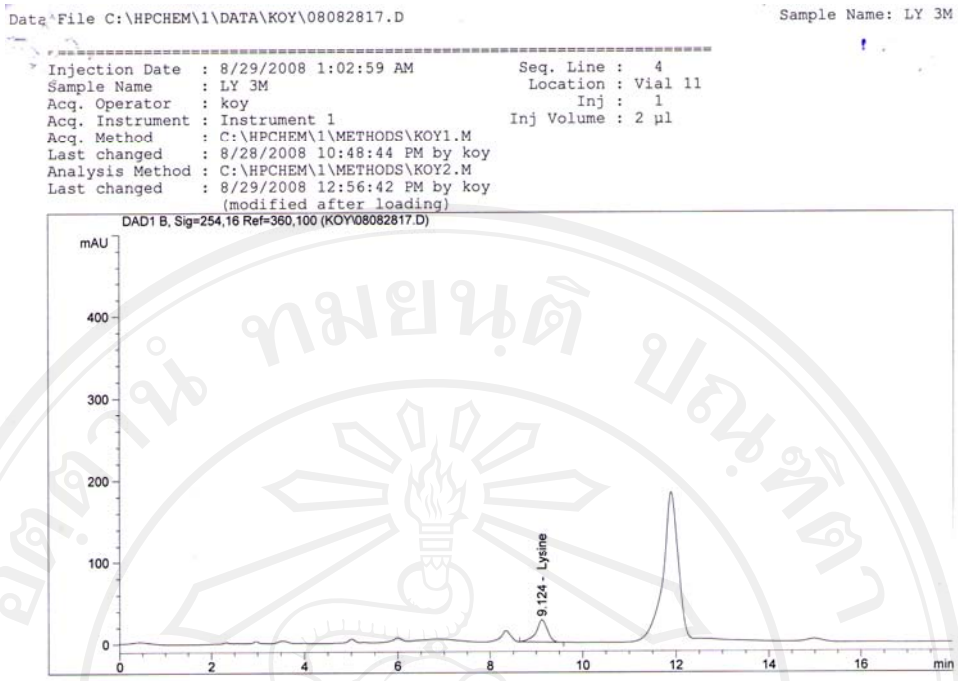


รูป ค14 โครมาโตแกรมของกรดอะมิโนไลซีนในน้ำลิ้นจี่เข้มข้น



รูป ค15 โครมาโตแกรมของกรดอะมิโนไลซีนในน้ำลิ้นจี่ผงเก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศในบรรจุภัณฑ์ชนิดลามิเนทฟอยล์ที่อุณหภูมิห้องเดือนที่ 0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



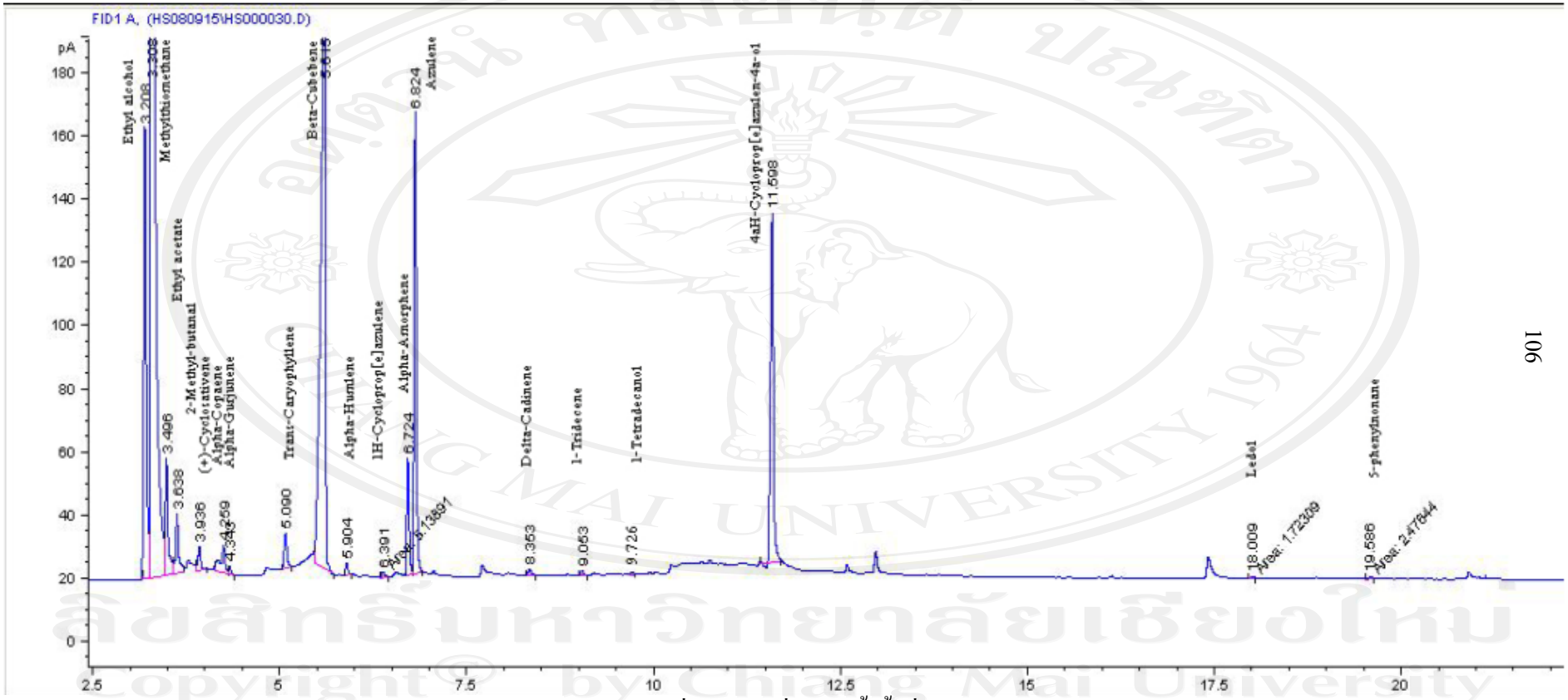
รูป ค16 โครมาโตแกรมของกรดอะมิโนไลซีนในน้ำลิ้นจี่ผงเก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศในบรรจุภัณฑ์ชนิดลามิเนทฟอยล์ที่อุณหภูมิห้องเดือนที่ 3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง

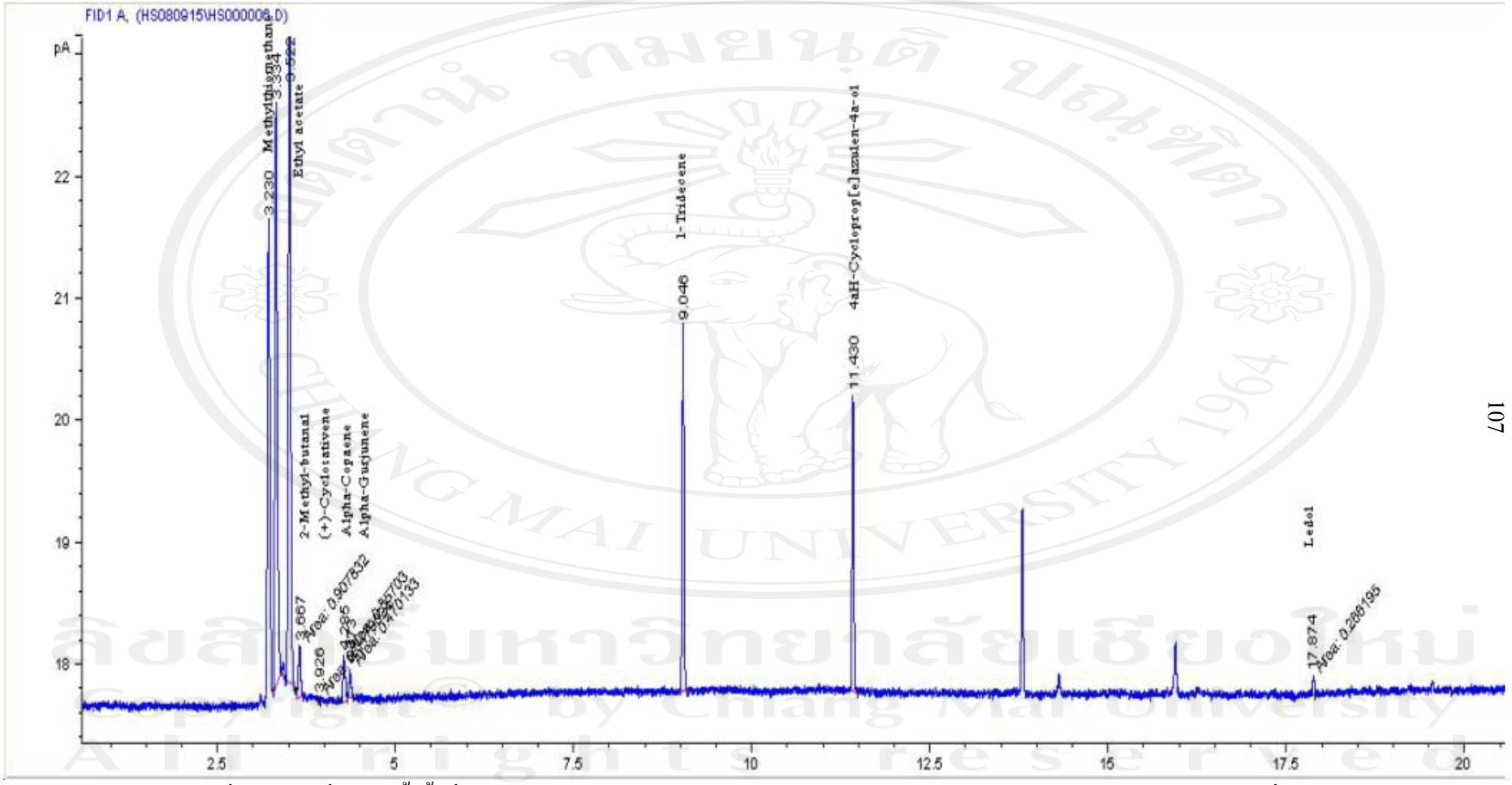
โครมาโตแกรม GC-MS

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



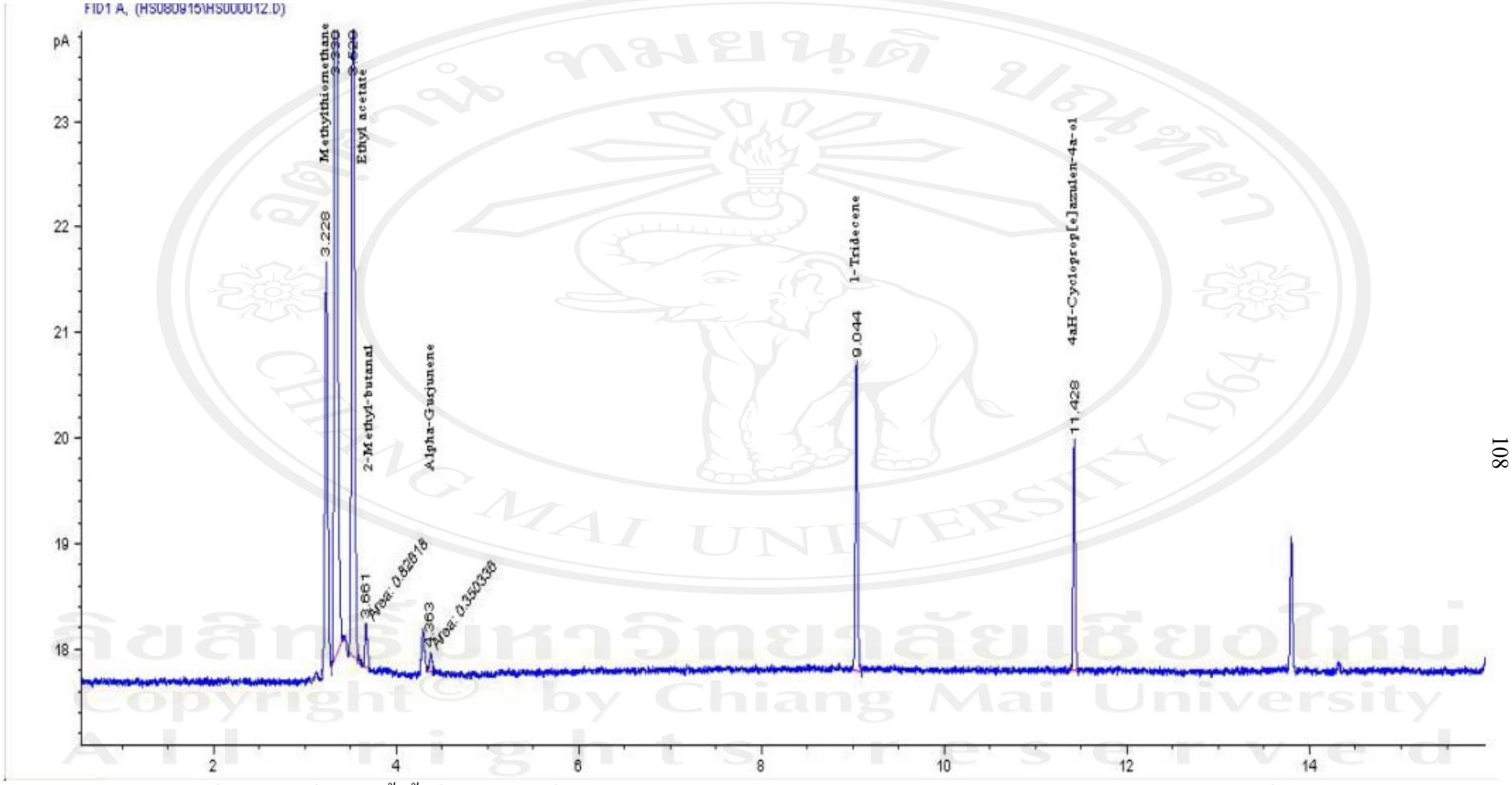
รูป ง1 สารที่ระเหยได้ที่พบในน้ำลิ้นจี่เข้มข้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



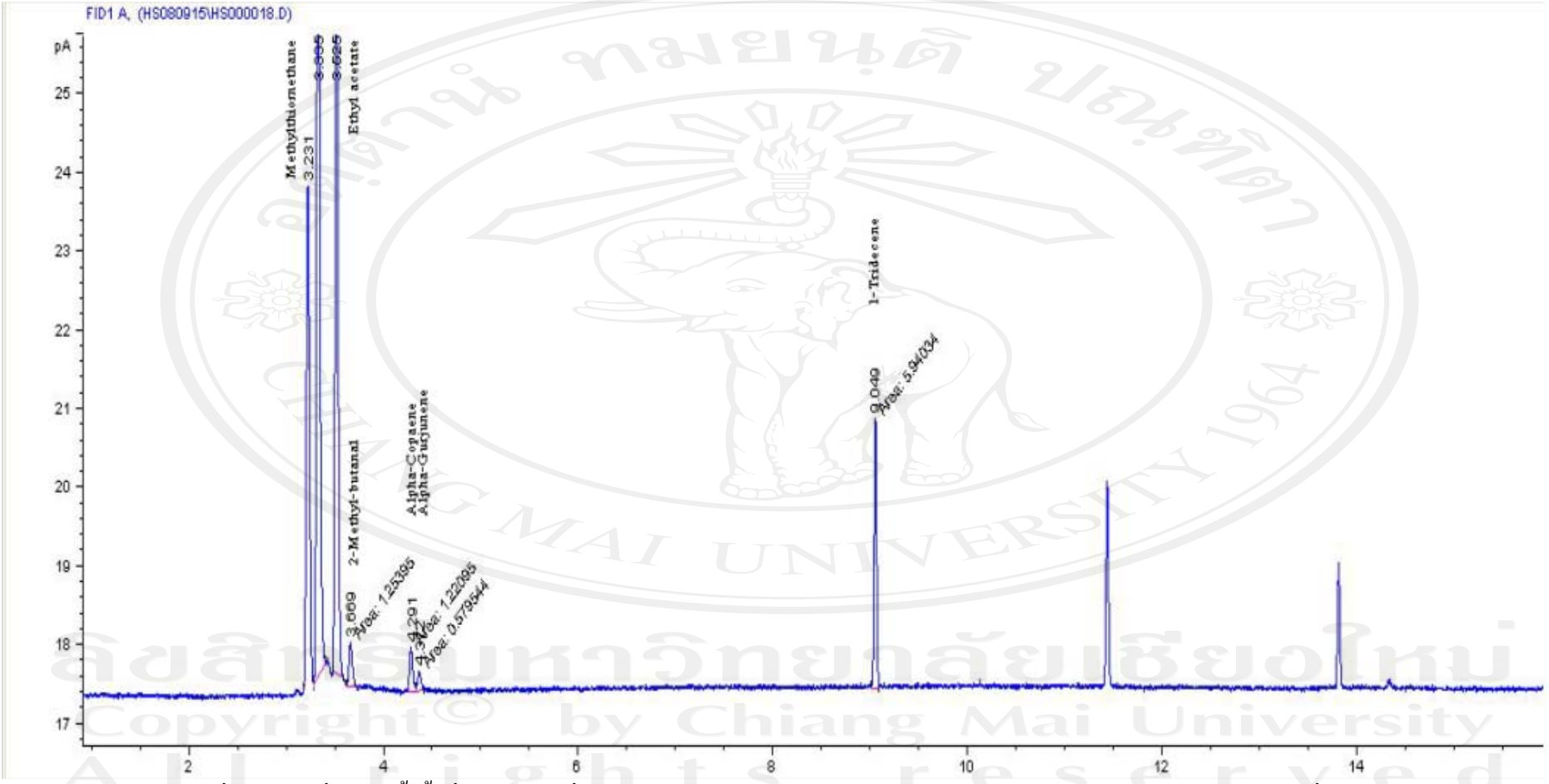
รูป ง2 สารที่ระเหยได้ที่พบในน้ำลิ้นจี่ผงในวันแรกของการเก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศในบรรจุภัณฑ์ชนิดลามิเนทฟอยล์ที่อุณหภูมิห้อง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



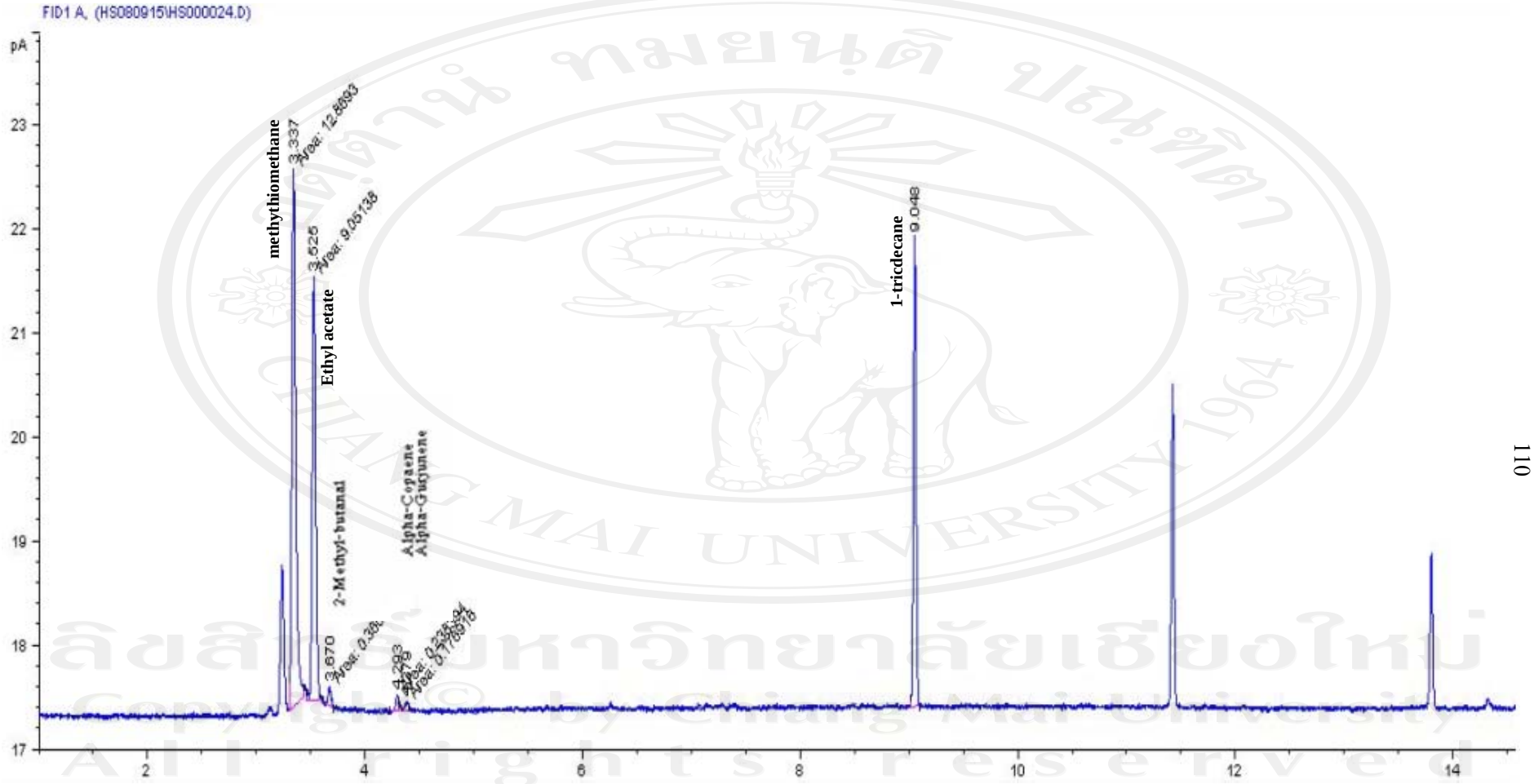
รูป ง3 สารที่ระเหยได้ที่พบในน้ำลิ้นจี่ผงในเดือนที่ 1 ของการเก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศในบรรจุภัณฑ์ชนิดลามิเนทฟอยล์ที่อุณหภูมิห้อง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูป ง4 สารที่ระเหยได้ที่พบในน้ำลิ้นจี่ผงในเดือนที่ 2 ของการเก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศในบรรจุภัณฑ์ชนิดลามิเนทฟอยล์ที่อุณหภูมิห้อง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูป ง5 สารที่ระเหยได้ที่พบในน้ำลิ้นจี่ผงในเดือนที่ 3 ของการเก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศในบรรจุภัณฑ์ชนิดลามิเนทฟอยล์ที่อุณหภูมิห้อง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก จ

ตัวอย่างมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน
ลำไยผงชงดื่ม

1. ขอบข่าย

1.1 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ครอบคลุมเฉพาะลำไยผงผสมน้ำตาลพร้อมชงดื่มที่บรรจุในภาชนะบรรจุ

2. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานชุมชนนี้ มีดังต่อไปนี้

2.1 ลำไยผงชงดื่ม หมายถึง เครื่องดื่มผงทำจากการใช้น้ำสกัดเนื้อลำไยแห้งแล้วนำไปทำให้เข้มข้นผสมกับน้ำตาล เคียวจนตกผลึกเป็นผงหรือเกล็ด แล้วทำให้แห้ง

3. คุณลักษณะที่ต้องการ

3.1 ลักษณะทั่วไป

ต้องเป็นผลหรือเกล็ด แห้ง ไม่จับตัวเป็นก้อน

3.2 สี

ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้

3.3 กลิ่นรส

ต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้ และปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์

3.4 การละลายในน้ำเดือด

ของเหลวที่ได้ต้องมีลักษณะที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ 8.1 แล้ว ต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคนไม่น้อยกว่า 3 คะแนน และไม่มีลักษณะใดได้ 1 คะแนน จากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

3.5 สิ่งแปลกปลอม

ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นขน ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์

3.6 วัตถุเจือปนอาหาร

ห้ามใช้สีสังเคราะห์ทุกชนิด

3.7 วอเตอร์แอกทิวิตี

ต้องไม่เกิน 0.5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หมายเหตุ : วอเตอร์แอกทิวิตี เป็นปัจจัยสำคัญในการคาดคะเนอายุการเก็บรักษา และเป็นตัวบ่งชี้ความปลอดภัยของอาหาร โดยทำหน้าที่ควบคุมการอยู่รอด การเจริญ และการสร้างสารพิษของจุลินทรีย์

3.8 จุลินทรีย์

3.8.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน 1 x 10^3 โคลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

3.8.2 โคลิฟอร์ม โดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม

3.8.3 ยีสต์และรา ต้องน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

4. สุขลักษณะ

4.1 สุขลักษณะในการทำลำไยผงชงดื่ม ให้เป็นไปตามคำแนะนำตามภาคผนวก ก.

5. การบรรจุ

5.1 ให้บรรจุลำไยผงชงดื่มในภาชนะที่สะอาด แห้ง ผนึกได้เรียบร้อย และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกภายนอกได้

5.2 น้ำหนักสุทธิของลำไยผงชงดื่มในแต่ละภาชนะบรรจุ ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก

6. เครื่องหมายและฉลาก

6.1 ที่ภาชนะบรรจุลำไยผงชงดื่มทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้

1. ชื่อเรียกผลิตภัณฑ์ เช่น ลำไยผงชงดื่ม ลำไยผงสำเร็จรูป ลำไยผง

2. ปริมารน้ำตาล

3. ส่วนประกอบที่สำคัญ

4. น้ำหนักสุทธิ

5. วัน เดือน ปีที่ทำ และวัน เดือน ปีที่หมดอายุ หรือข้อความว่า “ควรบริโภคก่อน (วัน เดือน ปี)”

6. ข้อแนะนำในการเก็บรักษาและการบริโภค

7. ชื่อผู้ทำ หรือสถานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียนในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

7. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

7.1 รุ่น ในที่นี้ หมายถึง ลำไยผงชงดื่มที่ทำโดยกรรมวิธีเดียวกัน ในระยะเวลาเดียวกัน

7.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้

7.2.1 การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้

ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 3 หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 3.5 ข้อ 5 และ ข้อ 6. จึงจะถือว่าลำไยผงชงดื่มรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7.2.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับลักษณะทั่วไป สี กลิ่นรส และการละลายในน้ำเดือดให้ใช้ตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบตามข้อ 7.2.1 แล้วจำนวน 3 หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 3.1 ถึงข้อ 3.4 จึงถือว่าลำไยผงชงดื่มรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

7.2.3 การชักตัวอย่างงและการยอมรับ สำหรับการทดสอบวัตถุเจือปนอาหาร วอเตอร์แอกทิวิตี และจุลินทรีย์ ใช้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 5 หน่วยภาชนะบรรจุ นำมาทำเป็นตัวอย่างรวม เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 33.6 ถึงข้อ 3.8 จึงถือว่าลำไยผงชงดื่มรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

7.3 เกณฑ์ตัดสิน

ตัวอย่างลำไยผงชงดื่มต้องเป็นไปตามข้อ 7.2.1 ข้อ 7.2.2 และข้อ 7.2.3 ทุกข้อ จึงถือว่าลำไยผงชงดื่มรุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้

8. การทดสอบ

8.1 การทดสอบลักษณะทั่วไป สี กลิ่นรส และการละลายในน้ำเดือด

8.1.1 ให้แต่งตั้งคณะผู้ตรวจสอบ ประกอบด้วยผู้ที่มีความชำนาญในการตรวจสอบลำไยผงชงดื่มอย่างน้อย 5 คน แต่ละคนจะแยกกันตรวจและให้คะแนนโดยอิสระ

8.1.2 เทตัวอย่างลำไยผงชงดื่มลงในจานกระเบื้องสีขาว แล้วตรวจสอบลักษณะทั่วไปและสีโดยการตรวจพินิจ

8.1.3 ใส่ตัวอย่างลำไยผงชงดื่มในภาชนะที่เหมาะสม เติมน้ำเดือดตามปริมาณที่ระบุไว้ในฉลาก ทิ้งในละลาย 30 วินาที ตรวจสอบโดยการตรวจพินิจและชิม

8.1.4 หลักเกณฑ์การให้คะแนน ให้เป็นไปตามตารางที่ 1

ตาราง จ1 หลักเกณฑ์การให้คะแนน

(ข้อ 8.1.4)

ลักษณะที่ตรวจสอบ	เกณฑ์ที่กำหนด	ระดับการตัดสิน(คะแนน)			
		ดีมาก	ดี	พอใช้	ต้องปรับปรุง
ลักษณะทั่วไป	ต้องเป็นผงหรือเกล็ด แห้ง ไม่จับตัวเป็นก้อน				
สี	ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้				
กลิ่นรส	ต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้ และปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์				
การละลายในน้ำเดือด	ของเหลวที่ได้ต้องมีลักษณะที่ดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้				

8.2 การทดสอบสิ่งแปลกปลอม ภาชนะบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก

ให้ตรวจพินิจ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

8.3 การทดสอบวัตถุเจือปนอาหาร

ให้ใช้วิธีทดสอบตาม AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

8.4 การทดสอบวอเตอร์แอกทิวิตี

ให้ใช้เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกทิวิตีที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ (25$\pm$ 2) องศาเซลเซียส

8.5 การทดสอบจุลินทรีย์

ให้ใช้วิธีทดสอบตาม AOAC หรือBAM หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

8.6 การทดสอบน้ำหนักสุทธิ

ให้ใช้เครื่องชั่งที่เหมาะสม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นาย พันธ์ลพ สินธุยา

วัน เดือน ปี เกิด 15 พฤษภาคม 2526

ประวัติการศึกษา

สำเร็จการศึกษาระดับ มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนจักรคำคณาทร จังหวัดลำพูน ปีการศึกษา 2543

สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2548

ประวัติการทำงาน

ปี 2548-2552 นักวิทยาศาสตร์ สถาบันบริการตรวจสอบคุณภาพ และมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

ปี 2552-ปัจจุบัน รักษาการหัวหน้าแผนกเคมี บริษัท แปซิฟิกไทม์ จำกัด จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved