ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

วิธีการคำนวณ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. คุณภาพทางกายภาพ

1.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

จากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (\% wet basis)} = \frac{(w_2) - (w_3 - w_1)}{w_2}$$

เมื่อ

w1 คือ น้ำหนักของ moisture can ที่ผ่านการอบแล้ว (g)

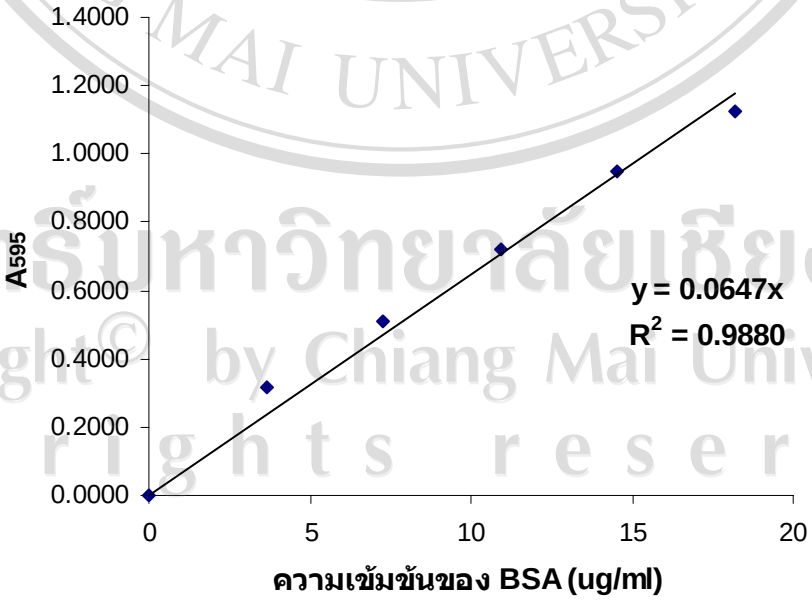
w2 คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนผ่านการอบ (g)

w3 คือ น้ำหนักของ moisture can รวมกับตัวอย่างที่ผ่านการอบแล้ว (g)

2. คุณภาพทางเคมี

2.1 เอนไซม์

1. ปริมาณโปรตีนในสารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ (Bradford, 1976)



ภาพ ก.1 ตัวอย่างกราฟมาตรฐานโปรตีน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในการทดลองใช้ปริมาตร crude enzyme ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.40 ml สมมติวัดค่า A_{595} ได้เท่ากับ 0.4405 สามารถคำนวณปริมาณโปรตีนในรูป mg / ml ของ crude enzyme ได้ดังนี้

จากภาพ ก.1 กราฟมาตรฐานโปรตีนได้สมการเส้นตรง คือ y = 0.0647x

แทนค่า A_{595} = 0.4225 ลงในค่า y ของสมการจะได้ค่า x คือความเข้มข้นของโปรตีน (µg/ml) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 6.5309 µg/ml

ปริมาตรสารละลายที่เกิดปฏิกิริยา 1 ml มีปริมาณโปรตีน = 6.5309 µg

ดังนั้น ปริมาตรสารละลายที่เกิดปฏิกิริยา 5.5 ml มีปริมาณโปรตีน = (5.5) (6.5309) µg

= 35.9200 µg

ปริมาตร crude enzyme ที่ใช้ 0.40 ml มีปริมาณโปรตีน = 35.9200 µg

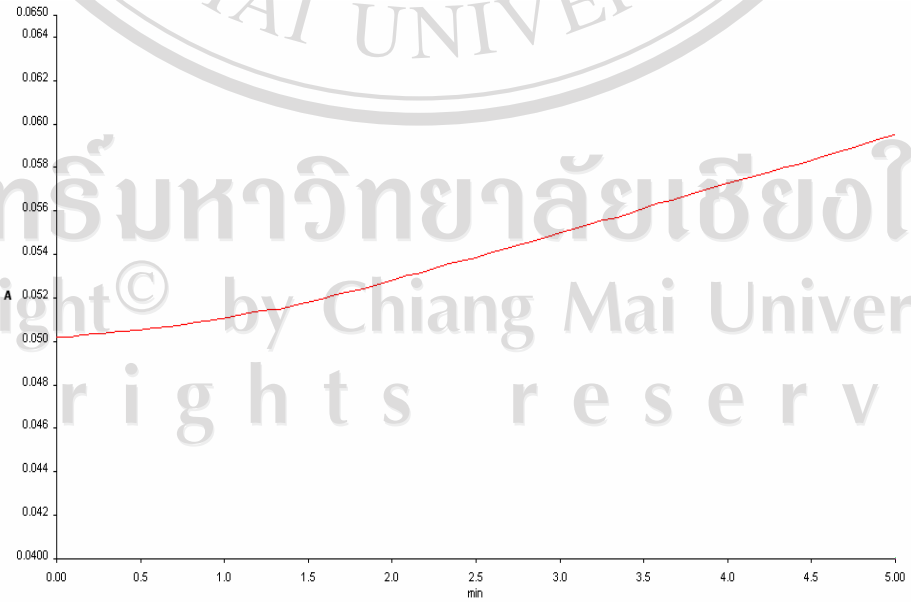
ดังนั้น ปริมาตร crude enzyme ที่ใช้ 1.00 ml มีปริมาณโปรตีน = 35.9200 / 0.40 µg/ml

= 89.80 µg/ml

= 0.0898 mg/ml

ดังนั้น ตัวอย่าง crude enzyme มีปริมาณโปรตีน เท่ากับ 0.0898 mg/ml

2. กิจกรรมเอนไซม์ Polyphenol Oxidase (ดัดแปลงมาจาก Flurkey and Jen, 1978)



ภาพ ก.2 ตัวอย่างกราฟการวัดกิจกรรมเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

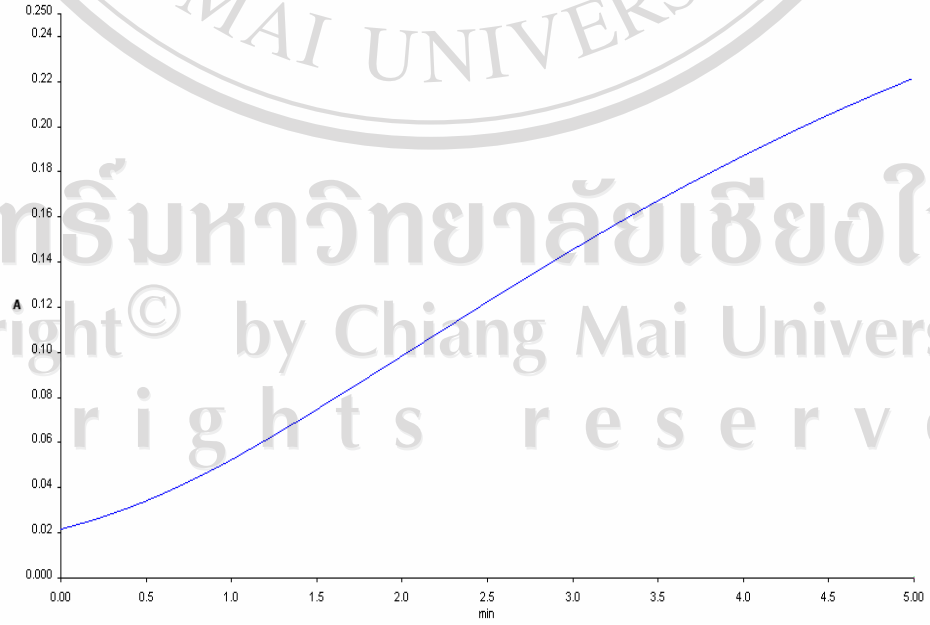
ตัวอย่างการคำนวณกิจกรรมเอนไซม์ Polyphenol oxidase ในการทดลองใช้ปริมาตรของ crude enzyme 0.25 ml ในการวิเคราะห์ สมมติวัดกิจกรรมเอนไซม์แล้วคำนวณ slope ได้เท่ากับ 0.00086134 ΔA_{420}/min (คำนวณโดยโปรแกรมจากเครื่อง Spectrophotometer) วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนได้เท่ากับ 0.0898 mg/ml of crude enzyme สามารถคำนวณกิจกรรมเอนไซม์ในรูป Unit/mg protein ได้ดังนี้

นิยาม : เอนไซม์ 1 Unit เท่ากับ ปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้ค่า A_{420} เพิ่มขึ้น 0.001 หน่วย ภายในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่ทำการทดลอง

ค่า A_{420} เพิ่มขึ้น 0.001 หน่วย/นาที เท่ากับเอนไซม์ 1 Unit
ดังนั้น ค่า A_{420} เพิ่มขึ้น 0.00086134 หน่วย/นาที เท่ากับเอนไซม์ 0.86134 Unit

Crude enzyme 0.25 ml มีกิจกรรมเอนไซม์ 0.86134 Unit
Crude enzyme 1.00 ml มีกิจกรรมเอนไซม์ 3.4454 Unit
ดังนั้น Crude enzyme มีกิจกรรมเอนไซม์ 3.4454 Unit /ml of crude enzyme
และ คำนวณในรูป Unit/mg protein ได้โดย 3.4454 / 0.0898 = 38.37 Unit/mg protein

3. กิจกรรมเอนไซม์ Peroxidase (ดัดแปลงมาจาก Flurkey and Jen, 1978)



ภาพ ก.3 ตัวอย่างกราฟการวัดกิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

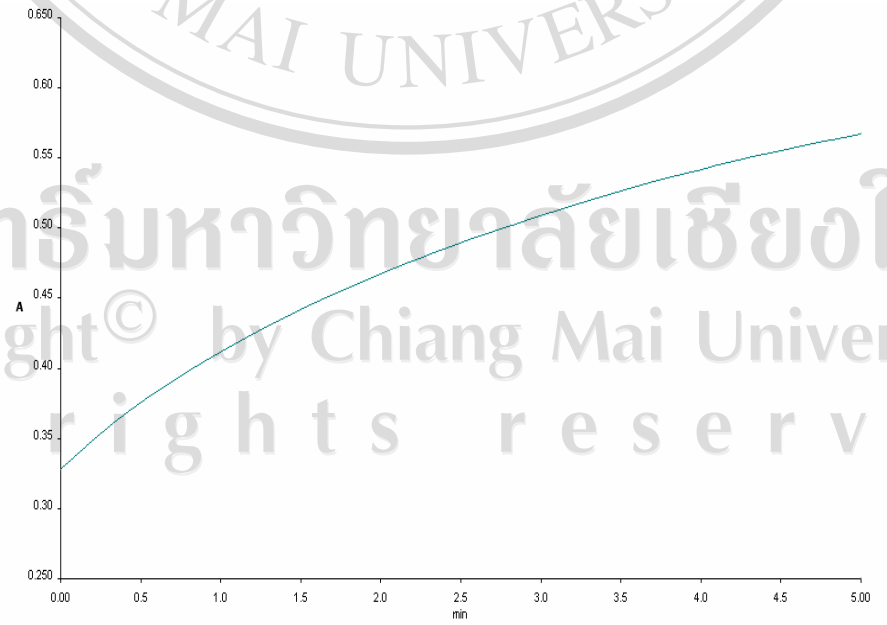
ตัวอย่างการคำนวณกิจกรรมเอนไซม์ Peroxidase ในการทดลองใช้ปริมาตรของ crude enzyme 0.20 ml ในการวิเคราะห์ สมมติวัดกิจกรรมเอนไซม์แล้วคำนวณ slope ได้เท่ากับ 0.02976776 ΔA_{470}/min (คำนวณโดยโปรแกรมจากเครื่อง Spectrophotometer) วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนได้เท่ากับ 0.0898 mg/ml of crude enzyme สามารถคำนวณกิจกรรมเอนไซม์ในรูป Unit/mg protein ได้ดังนี้

นิยาม : เอนไซม์ 1 Unit เท่ากับ ปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้ค่า A_{470} เพิ่มขึ้น 0.001 หน่วย ภายในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่ทำการทดลอง

ค่า A_{470} เพิ่มขึ้น 0.001 หน่วย/นาที เท่ากับเอนไซม์ 1 Unit
ดังนั้น ค่า A_{470} เพิ่มขึ้น 0.02976776 หน่วย/นาที เท่ากับเอนไซม์ 29.76776 Unit

Crude enzyme 0.20 ml มีกิจกรรมเอนไซม์ 29.76776 Unit
Crude enzyme 1.00 ml มีกิจกรรมเอนไซม์ 148.8388 Unit
ดังนั้น Crude enzyme มีกิจกรรมเอนไซม์ 148.8388 Unit /ml of crude enzyme
และ คำนวณในรูป Unit/mg protein ได้โดย 148.8388/0.0898 = 1657.45 Unit/mg protein

4. กิจกรรมเอนไซม์ Lipoxygenase (ดัดแปลงมาจาก Gokmen, 2004 ; Ding, 2006)



ภาพ ก.4 ตัวอย่างกราฟการวัดกิจกรรมเอนไซม์ไลพอกซีจิเนส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตัวอย่างการคำนวณกิจกรรมเอนไซม์ lipoxygenase ในการทดลองใช้ปริมาตรของ crude enzyme 0.10 ml ในการวิเคราะห์ สมมติวัดกิจกรรมเอนไซม์แล้วคำนวณ slope ได้เท่ากับ 0.00196829 ΔA_{234}/min (คำนวณโดยโปรแกรมจากเครื่อง Spectrophotometer) วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนได้เท่ากับ 0.0898 mg/ml of crude enzyme สามารถคำนวณกิจกรรมเอนไซม์ในรูป Unit/mg protein ได้ดังนี้

นิยาม : เอนไซม์ 1 Unit เท่ากับ ปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้ค่า A_{234} เพิ่มขึ้น 0.001 หน่วย ภายในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่ทำการทดลอง

ค่า A_{234} เพิ่มขึ้น 0.001 หน่วย/นาที เท่ากับเอนไซม์ 1 Unit
ดังนั้น ค่า A_{234} เพิ่มขึ้น 0.00196829 หน่วย/นาที เท่ากับเอนไซม์ 1.96829 Unit

Crude enzyme 0.10 ml มีกิจกรรมเอนไซม์ 1.96829 Unit
Crude enzyme 1.00 ml มีกิจกรรมเอนไซม์ 19.6829 Unit
ดังนั้น Crude enzyme มีกิจกรรมเอนไซม์ 19.6829 Unit /ml of crude enzyme
และ คำนวณในรูป Unit/mg protein ได้โดย 19.6829 / 0.0898 = 219.19 Unit/mg protein

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี (ดัดแปลงจาก AOAC, 2000 ; ลักขณาและนิธิยา, 2533)

สมมติชั่งตัวอย่างน้ำพริกหนุ่มมา 20.98 กรัม มาสกัดวิตามินซีแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 ml จากนั้นนำตัวอย่างที่สกัดได้ 10 ml มาไทเทรตกับสารละลายอินโดฟีนอลมาตรฐานพบว่าปริมาตรของสารละลายอินโดฟีนอลมาตรฐานที่ใช้เท่ากับ 1.10 ml และสารละลายวิตามินซีมาตรฐานมีความเข้มข้น 2.276 mg / 10 ml และใช้ปริมาตรสารละลายอินโดฟีนอลมาตรฐานในการไทเทรตสารละลายวิตามินซีมาตรฐานเฉลี่ยเท่ากับ 18.50 ml สามารถคำนวณปริมาณวิตามินซีในรูป mg/100 g ของตัวอย่างน้ำพริกหนุ่ม ได้ดังนี้

สารละลายวิตามินซีมาตรฐานมีวิตามินซี 2.276 mg ใช้สารละลายอินโดฟีนอล 18.50 ml
ใช้สารละลายอินโดฟีนอล 18.50 ml มีปริมาณวิตามินซี 2.276 mg
ใช้สารละลายอินโดฟีนอล 1.10 ml มีปริมาณวิตามินซี $\frac{(2.276)\ (1.10)}{18.50}$ mg = 0.135 mg
ดังนั้น ในตัวอย่างสารละลายที่สกัดวิตามินซี 10 ml มีปริมาณวิตามินซี 0.135 mg

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารสกัดวิตามินซี 10 ml มีปริมาณวิตามินซี 0.135 mg

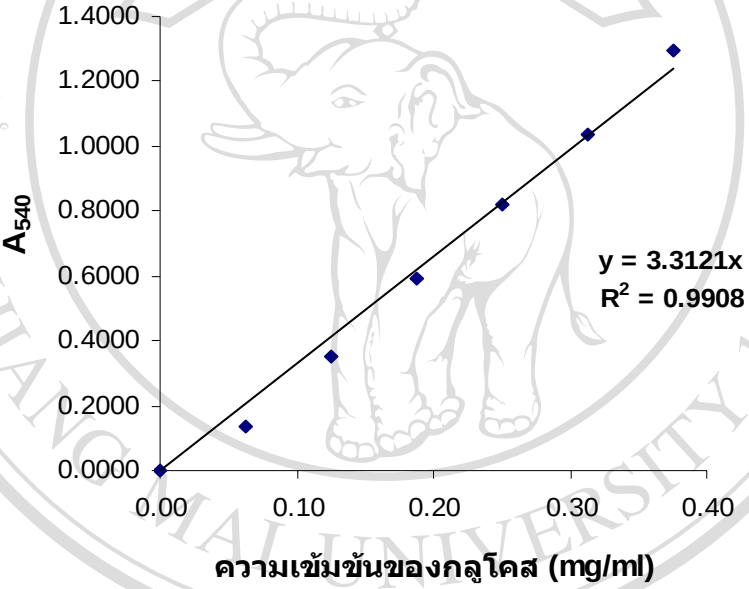
ดังนั้น สารสกัดวิตามินซี 100 ml มีปริมาณวิตามินซี (0.135) (100) / 10 = 1.35 mg

ตัวอย่างน้ำพริกหนุ่ม 20.98 กรัม มีปริมาณวิตามินซี 1.35 mg

ดังนั้น ตัวอย่างน้ำพริกหนุ่ม 100 กรัม มีปริมาณวิตามินซี (1.35) (100) / 20.98 = 6.43 mg

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมด (James, 1995)

ตัวอย่างการคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของน้ำพริกหนุ่ม



ภาพ ก.5 ตัวอย่างกราฟมาตรฐานกลูโคส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. น้ำตาลรีดิวซ์

สมมติชั่งตัวอย่างน้ำพริกหนุ่มมา 4.97 กรัม วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวัดค่า A_{540} ได้เท่ากับ 0.4896 สามารถคำนวณปริมาณน้ำตาลในรูป g /100 g ของตัวอย่างได้ดังนี้

จากภาพ ก.5 กราฟมาตรฐานกลูโคสได้สมการเส้นตรง คือ y = 3.3121x

แทนค่า A_{540} = 0.4896 ลงในค่า y ของสมการจะได้ค่า x คือความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (mg/ml) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.1478 mg/ml

ปริมาตรสารละลายที่เกิดปฏิกิริยา 1 ml มีปริมาณน้ำตาลกลูโคส 0.1478 mg
ดังนั้น ปริมาตรสารละลายที่เกิดปฏิกิริยา 4 ml มีปริมาณน้ำตาลกลูโคส (4) (0.1478) mg
= 0.5912 mg

ปริมาณน้ำตาล 0.5912 mg มาจากสารละลายที่สกัดน้ำตาล 0.50 ml
สารละลายน้ำตาลสกัด 0.50 ml มีปริมาณน้ำตาล 0.5912 mg
ดังนั้น สารละลายน้ำตาลสกัด 100 ml มีปริมาณน้ำตาล (0.5912) (100) / 0.50 = 118.24 mg

ปริมาณน้ำตาล 118.24 mg มาจากตัวอย่างน้ำพริกหนุ่ม 4.97 g
ตัวอย่างน้ำพริกหนุ่ม 4.97 g มีปริมาณน้ำตาล 118.24 mg
ดังนั้น ตัวอย่างน้ำพริกหนุ่ม 100 g มีปริมาณน้ำตาล (118.24) (100) /4.97 = 2379.07 mg
ตัวอย่างน้ำพริกหนุ่ม 100 g มีปริมาณน้ำตาล 2379.07/1000 = 2.3791 g

2. น้ำตาลทั้งหมด

สมมติชั่งตัวอย่างน้ำพริกหนุ่มมา 5.03 กรัม วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยวัดค่า A_{540} ได้เท่ากับ 0.7556 สามารถคำนวณปริมาณน้ำตาลในรูป g /100 g ของตัวอย่างได้ดังนี้

จากภาพ ก.5 กราฟมาตรฐานกลูโคสได้สมการเส้นตรง คือ y = 3.3121x

แทนค่า A_{540} = 0.7556 ลงในค่า y ของสมการจะได้ค่า x คือความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (mg/ml) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.2281 mg/ml

ปริมาตรสารละลายที่เกิดปฏิกิริยา 1 ml มีปริมาณน้ำตาลกลูโคส 0.2281 mg
ดังนั้น ปริมาตรสารละลายที่เกิดปฏิกิริยา 4 ml มีปริมาณน้ำตาลกลูโคส (4) (0.2281) mg
= 0.9124 mg

ปริมาณน้ำตาล 0.9124 mg มาจากสารละลายที่สกัดน้ำตาล 0.25 ml
สารละลายน้ำตาลสกัด 0.25 ml มีปริมาณน้ำตาล 0.9124 mg
ดังนั้น สารละลายน้ำตาลสกัด 100 ml มีปริมาณน้ำตาล (0.9124) (100) /0.25 = 364.96 mg

ปริมาณน้ำตาล 364.96 mg มาจากตัวอย่างน้ำพริกหนุ่ม 5.03 g
ตัวอย่างน้ำพริกหนุ่ม 5.03 g มีปริมาณน้ำตาล 364.96 mg

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ดังนั้น ตัวอย่างน้ำพริกหนุ่ม 100 g มีปริมาณน้ำตาล (364.96) (100) /5.03 = 7255.67 mg

ตัวอย่างน้ำพริกหนุ่ม 100 g มีปริมาณน้ำตาล 7255.67/1000 = 7.2557 g

3. คุณภาพทางจุลชีววิทยา

3.1 เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) (AOAC, 1998)

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

เมื่อ v1 = ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ

ΣC = ผลรวมของโคโลนีที่นับได้ทั้งหมดจากจานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 25 - 250 โคโลนี

n1 = จำนวนจานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 25 - 250 โคโลนี ในระดับความเข้มข้นแรก

n2 = จำนวนจานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 25 - 250 โคโลนี ในระดับความเข้มข้นที่ 2

d = ระดับความเข้มข้นแรกที่สามารถนับเชื้อได้ในช่วง 25 – 250 โคโลนี

3.2 การวิเคราะห์หาเชื้อยีสต์และรา (Yeast and Mould) (AOAC, 1998)

วิธีการคำนวณเหมือนกับการคำนวณปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และมีหลักการคำนวณเพิ่มเติมดังนี้

1. กรณีที่ตัวเลขหลักที่ 3 เป็นเลข 6 หรือสูงกว่านี้ให้ปัดขึ้น เช่น 456 = 460

2. กรณีที่ตัวเลขหลักที่ 3 เป็นเลข 4 หรือต่ำกว่านี้ให้ปัดลง เช่น 454 = 450

3. กรณีที่ตัวเลขหลักที่ 3 เป็นเลข 5 ให้พิจารณาตัวเลขหลักที่ 2 ว่าน้อยกว่าหรือมากกว่า 5 โดยถ้าเลขหลักที่ 2 น้อยกว่า 5 ให้ปัดลง เช่น 445 = 440 แต่ถ้าเลขหลักที่ 2 มากกว่าหรือเป็น 5 ให้ปัดขึ้น เช่น 455 = 460

4. กรณีที่ไม่พบโคโลนีของเชื้อขึ้นเลยทุกระดับความเข้มข้น ให้รายงานการพบเชื้อยีสต์และราน้อยกว่า 1 คูณด้วยระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ใช้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

ภาพเครื่องบรรจุสุญญากาศและเครื่องความดันสูง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. เครื่องบรรจุสุญญากาศ

ภาพ ข.1 เครื่องบรรจุสุญญากาศ

2. เครื่องความดันสูง

ภาพ ข.2 เครื่องความดันสูง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค
ภาพน้ำพริกหนุ่มในสิ่งทดลองต่างๆและ
ภาพวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต
น้ำพริกหนุ่ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำพริกหนุ่ม

1.1 พริกหนุ่มพันธุ์จักรพรรดิ์

ภาพ ค.1 พริกหนุ่มพันธุ์จักรพรรดิ์

1.2 พริกหนุ่มพันธุ์จักรพรรดิ์เผา

ภาพ ค.2 พริกหนุ่มพันธุ์จักรพรรดิ์เผา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3 หอมแดงเผา

ภาพ ค.3 หอมแดงเผา

1.4 กระเทียมลวก

ภาพ ค.4 กระเทียมลวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. น้ำพริกหนุ่มในสิ่งทดลองต่างๆ

2.1 น้ำพริกหนุ่มที่บรรจุภายใต้สภาวะปกติ (ชุดควบคุม)

ภาพ ค.5 น้ำพริกหนุ่มชุดควบคุม เก็บรักษาที่ 4 °C ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

2.2 น้ำพริกหนุ่มที่ผ่านการบรรจุสุญญากาศ

2.2.1 ถุงสุญญากาศ (Nylon/LLDPE)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ค.6 น้ำพริกหนุ่มที่ผ่านการบรรจุสุญญากาศในถุงสุญญากาศ (Nylon/LLDPE) เก็บรักษาที่ 4 °C ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

2.2.2 ถุงสุญญากาศ (Aluminium Foil)

ภาพ ค.7 น้ำพริกหนุ่มที่ผ่านการบรรจุสุญญากาศในถุงสุญญากาศ (Aluminium Foil) เก็บรักษาที่ 4 ˚C ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

2.3 น้ำพริกหนุ่มที่ผ่านกระบวนการความดันสูง

2.3.1 ระดับความดัน 400 MPa เวลา 20 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ค.8 น้ำพริกหนุ่มที่ผ่านกระบวนการความดันสูง 400 MPa 20 นาที เก็บรักษาที่ 4 ˚C ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

2.3.2 ระดับความดัน 400 MPa เวลา 40 นาที

ภาพ ค.9 น้ำพริกหนุ่มที่ผ่านกระบวนการความดันสูง 400 MPa 40 นาที เก็บรักษาที่ 4 ˚C ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

2.3.3 ระดับความดัน 600 MPa เวลา 20 นาที

ภาพ ค.10 น้ำพริกหนุ่มที่ผ่านกระบวนการความดันสูง 600 MPa 20 นาที เก็บรักษาที่ 4 ˚C ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3.4 ระดับความดัน 600 MPa เวลา 40 นาที

ภาพ ค.11 น้ำพริกหนุ่มที่ผ่านกระบวนการความดันสูง 600 MPa 40 นาที เก็บรักษาที่ 4 °C ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นายสุทธิศักดิ์ เจษฎาไพสิฐ
วัน เดือน ปี เกิด	18 พฤศจิกายน 2526
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนพนมสารคามพนมอดุลวิทยา ปีการศึกษา 2540 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาชีวเคมีและชีวเคมีเทคโนโลยี ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2544

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved