ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและทางเคมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. การวัดค่าสีระบบ CIE (Minolta Camera Co., Ltd., 1991)

วัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี Minolta Chroma Meter ในระบบ CIE โดยวัดค่าสีออกมาเป็น L*, a* และ b*

ค่าสี L* เป็นค่าความสว่าง (lightness)
เริ่มจากสีขาว (L* = 100) ไปจนถึงสีดำ (L* = 0)

a* เป็นค่าสีแดง (a* เป็นบวก) และสีเขียว (a* เป็นลบ)

b* เป็นค่าสีเหลือง (b* เป็นบวก) และสีน้ำเงิน (b* เป็นลบ)

2. การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวส์และน้ำตาลทั้งหมด (James, 1995)

การเตรียมสารเคมี

- น้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เตรียมโดยชั่งกลูโคส 1 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

- กรดซัลฟูริค ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ เตรียมโดยปิเปตกรดซัลฟูริค 20 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 250 มิลลิลิตร

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 % เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 25 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 250 มิลลิลิตร

- DNS reagent เตรียมโดยละลาย DNS 10 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จากนั้นละลายโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทต 300 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ผสมเข้าด้วยกัน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร เก็บในขวดสีชา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, และ 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลาย 1 มิลลิลิตร เติม DNS reagent 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

3. นำไปต้มใน water bath 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที

4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

2.1 วิธีวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวส์

1. ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มใน water bath 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

2. กรองด้วยกระดาษกรอง ล้างส่วนที่เหลือบนกระดาษกรอง ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3. ปิเปตสารละลาย 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

4. ปิเปตสารละลาย 1 มิลลิลิตร เติม DNS reagent 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

5. นำไปต้มใน water bath 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที

6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยเปรียบเทียบกับเส้นกราฟมาตรฐาน

2.2 วิธีวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด

1. ชั่งตัวอย่าง 2.5 กรัม เติมกรดซัลฟูริค ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ จำนวน 10 มิลลิลิตร นำไปต้มใน water bath 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที

2. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 % จำนวน 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน กรองด้วยกระดาษกรอง ล้างส่วนที่เหลือบนกระดาษกรอง ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3. ปิเปตสารละลาย 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

4. ปิเปตสารละลาย 1 มิลลิลิตร เติม DNS reagent 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

5. นำไปต้มใน water bath 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที

6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยเปรียบเทียบกับเส้นกราฟมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การวิเคราะห์ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (AOAC, 2000)

การเตรียมสารเคมี

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

การวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างเนื้อลิ้นจี่ปั่นจำนวน 10 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 100 กรัม เติมน้ำกลั่นจำนวน 50 มิลลิลิตร

2. นำไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล โดยใช้เครื่องกวนผสมแบบแม่เหล็กไฟฟ้า พร้อมวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัดพีเอช

3. ไทเทรตจนกระทั่งได้จุดยุติที่ความเป็นกรดด่าง เท่ากับ 8.1 (สำหรับคิดเทียบเป็นกรดมาลิก) จึงยุติ บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ ทดลอง 3 ซ้ำ

1 มิลลิลิตร สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับกรดมาลิก 0.067 กรัม

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (\%) (ในรูปกรดมาลิก)} = \frac{\text{ความเข้มข้น NaOH (N) x ปริมาตร NaOH (ml) x 0.067 x 100}}{\text{น้ำหนักเนื้อลิ้นจี่}}$$

4. การหาปริมาณกรดแอสคอร์บิค

การเตรียมสารเคมี

- สารละลายกรดออกซาลิค ความเข้มข้นร้อยละ 0.4 เตรียมโดยชั่งกรดออกซาลิค 0.4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

- สารละลายอินโดฟีนอลมาตรฐาน เตรียมโดยชั่ง 2,6 dichlorophenolindophenol 0.05 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดออกซาลิกความเข้มข้นร้อยละ 0.4 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน

2. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจาง 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ ไทเทรตด้วยสารละลายอินโดฟีนอลจนกระทั่งได้สีชมพูอ่อน ซึ่งสีคงตัวนานกว่า 15 วินาที จดปริมาตรสารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้ คำนวณวิตามินซี ในรูปมิลลิกรัมต่อ 100 กรัม

5. การวัดกิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (Flurkey and Jen, 1978)

การเตรียมสารเคมี

- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 6.2 เตรียมโดยชั่ง ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟส 0.1597 กรัม โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟส 1.7746 กรัม และโพแทสเซียมคลอไรด์ 18.6375 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 250 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 6.2

- โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 6.5 เตรียมโดยชั่ง ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟส 0.5785 กรัม และโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟส 3.2645 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 250 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 6.5

- แคทีคอลความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ เตรียมโดยชั่งแคทีคอล 2.2022 กรัม ปรับปริมาตรด้วยโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ให้ครบ 100 มิลลิลิตร

5.1 การสกัดสารละลายเอนไซม์เพื่อวัดกิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส

1. บดเนื้อลิ้นจี่ 10 กรัม ในโกร่งที่แช่เย็น เติมสารละลายสำหรับสกัด คือ สารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 6.2 ที่มีสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จำนวน 40 มิลลิลิตร บดเนื้อลิ้นจี่ให้เข้ากับสารละลาย

2. นำไปเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลางด้วยความเร็ว 3,000xg ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

3. แยกเอาของเหลวใสซึ่งเป็นสารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ไปใช้วัดกิจกรรมของเอนไซม์

5.2 การวัดกิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส

1. ปิเปตสารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ 0.05 มิลลิลิตร เติมสารละลายสับสเตรต คือ โซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ pH 6.5 (ซึ่งประกอบด้วย catechol ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร) ปริมาตร 2.15 มิลลิลิตร

2. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร อ่านค่าทุก 30 วินาที เป็นเวลา 5 นาที

3. นำค่าที่วัดได้ไปเขียนกราฟระหว่างระยะเวลากับค่าการดูดกลืนแสง วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ที่มีอยู่ในตัวอย่างในช่วงของเส้นกราฟที่มีความชันเป็นเส้นตรง โดยกำหนดให้กิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส 1 หน่วย เท่ากับปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร เพิ่มขึ้น 0.001 หน่วย ในเวลา 1 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (Singleton and Rossi, 1965 และ Ketsa and Atantee, 1998)

การเตรียมสารเคมี

- สารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 80 % เตรียมโดยตวงเอทานอล ความเข้มข้น 95 % ปริมาตร 210.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วนน้ำกลั่นให้ครบ 250 มิลลิลิตร

- Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 10 % เตรียมโดย ปิเปต Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

- สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7.5 % เตรียมโดยชั่งโซเดียมคาร์บอเนตแอนไฮดรัส 7.5 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

- สารละลายกรดแกลลิค ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดย ชั่งกรดแกลลิค 0.01 กรัมปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

การสร้างกราฟสารประกอบฟีนอลมาตรฐาน

1. ปิเปตสารละลายกรดแกลลิค ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50, 100, 150, 200 และ 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง

2. เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมเท่ากับ 500 ไมโครลิตร

3. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 10 % ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมแล้ววางไว้เป็นเวลา 8 นาที

4. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7.5 % ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมแล้ววางไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์

1. ชั่งเนื้อลิ้นจี่ที่บดละเอียด 3 กรัม ใส่ในโกร่งบดที่แช่เย็นแล้ว

2. เติม 80 % เอทานอลเย็น 12 มิลลิลิตร บดให้เข้ากัน

3. นำไปเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลางด้วยความเร็ว 3,000xg ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

4. นำของเหลวใสที่ได้ 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ให้ครบ 10 มิลลิลิตร

5. ปิเปตมา 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 10 % ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมแล้ววางไว้เป็นเวลา 8 นาที

6. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7.5 % ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมแล้ววางไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

7. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร หาปริมาณฟีนอลโดยเปรียบเทียบกับเส้นกราฟมาตรฐานมีหน่วยเป็น มิลลิกรัม/กรัมเนื้อลิ้นจี่

7. การหาปริมาณลิวโคแอนโทไซยานิดิน (Chandler and Clegg, 1970)

การเตรียมสารเคมี

- กรดไฮโดรคลอริค ความเข้มข้น 6 นอร์มอล เตรียมโดย ปิเปตกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

การวิเคราะห์

1. นำเนื้อลิ้นจี่ป่น 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมโซเดียมคลอไรด์ 1.5 กรัม เติมกรดไฮโดรคลอริค ความเข้มข้น 6 นอร์มอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และบิวทานอล 50 มิลลิลิตร คนอย่างสม่ำเสมอ 10 นาที

2. นำไปเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง แยกเอาสารละลายใสที่เป็นบิวทานอล

3. นำสารละลายใสที่แยกได้ไปต้มใน water bath 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วทำให้เย็น

4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร นำผลที่ได้ไปคูณด้วย 1000 รายงานเป็นค่า leucoanthocyanidin number

8. การหาปริมาณแอนโทไซยานิน (Ranganna, 1997)

การเตรียมสารเคมี

- กรดไฮโดรคลอริค ความเข้มข้น 1.5 นอร์มอล เตรียมโดย ปิเปตกรดไฮโดรคลอริคเข้มข้น ปริมาตร 125 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์

1. นำเนื้อลิ้นจี่ปั่น 9 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ ที่มีสารละลาย ethanolic HCl (95 %ethanol : 1.5 N HCl = 85 : 15) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2. ปิดฝาขวดด้วยแผ่นฟอยล์ เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3. เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำมากรองเอาเนื้อลิ้นจี่ออกด้วยสำลี

4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร โดยใช้ ethanolic HCl เป็น blank

$$\text{Total absorbance} = \frac{\text{Absorbance at 535 nm x final volume x 100}}{\text{weight(g)}}$$

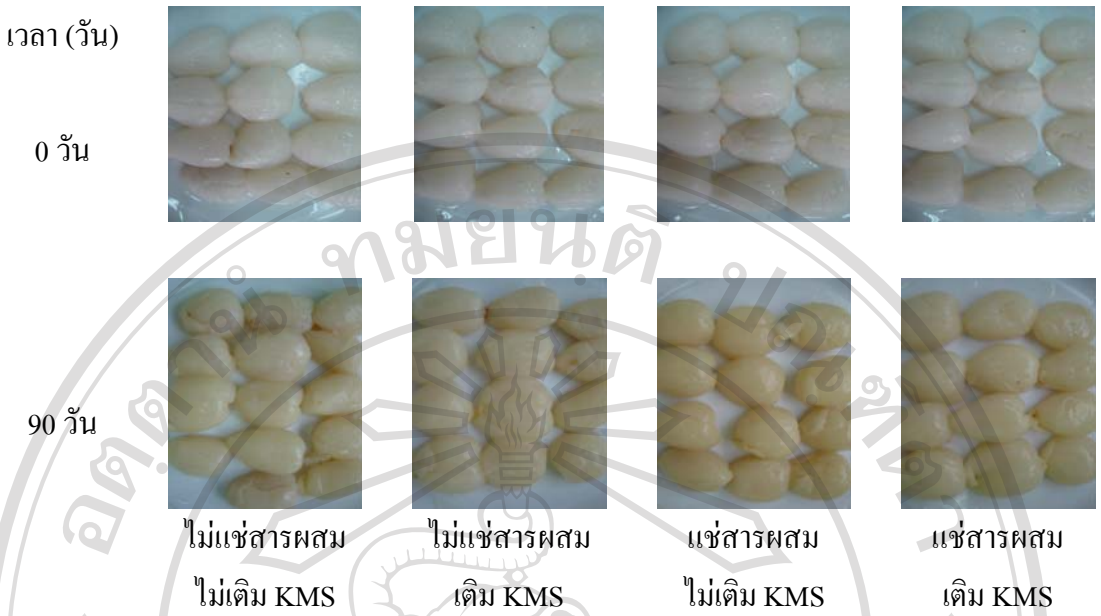
$$\text{Total anthocyanin content (mg/100g fresh weight)} = \frac{\text{Total absorbance}}{98.2}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

ภาพผลิตภัณฑ์ลิ้นจี่ในน้ำเชื่อมและกราฟมาตรฐาน

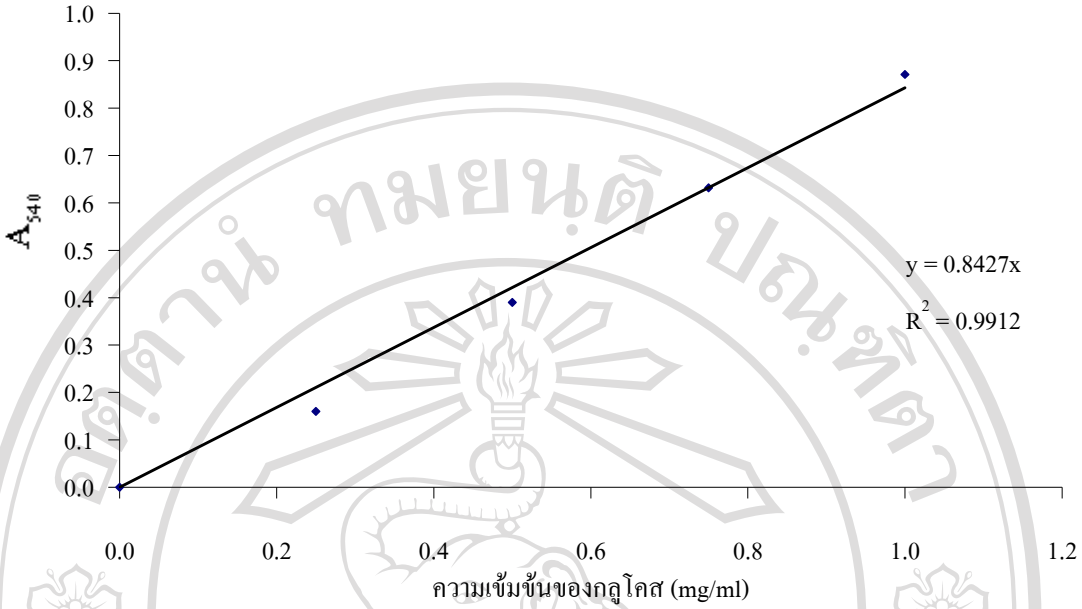
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



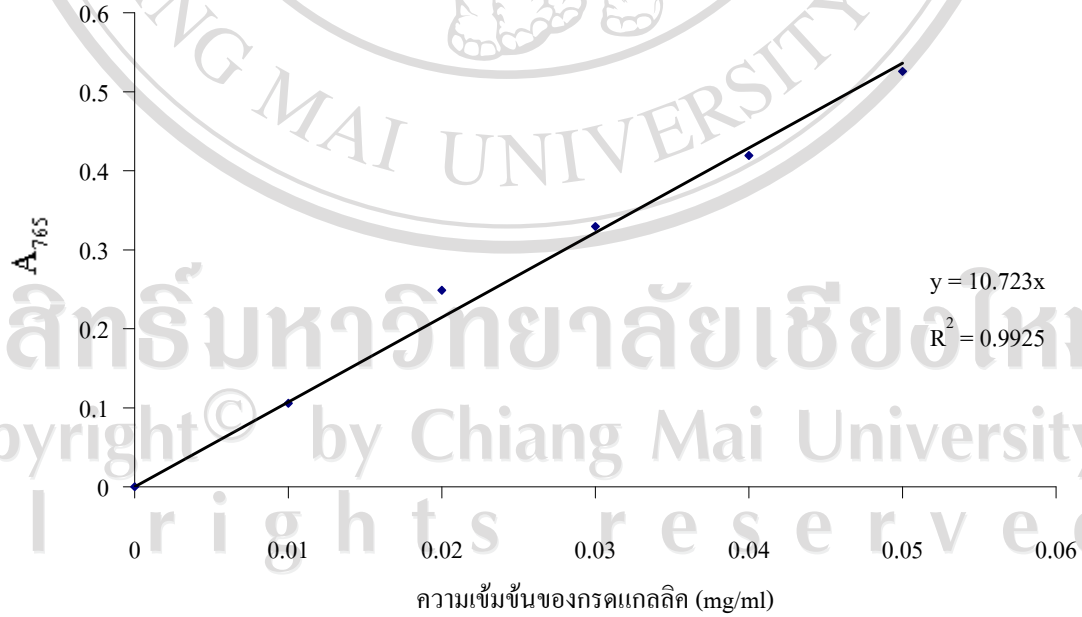
รูป ข-1 ลิ้นจี่ที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วัน

รูป ข-2 ลิ้นจี่ที่ผ่านการแปรรูปด้วยความดันสูงยิ่งระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



รูป ข-3 ตัวอย่างกราฟมาตรฐานกลูโคส



รูป ข-4 ตัวอย่างกราฟมาตรฐานสารประกอบฟีนอล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวสุนทรี สมแสง
วัน เดือน ปี เกิด	1 มีนาคม 2526
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนยุพราชวิทยาลัย จังหวัดเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2543
	สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมีและชีวเคมีเทคโนโลยี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2547

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved