ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

ตารางผลการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ก-1 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีนในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 180 วัน ที่อุณหภูมิ 30±5 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ในสีผสมอาหาร			
	ชุดควบคุม	เติม BHA	เติม BHT	เติม TBHQ
0	1,387.74±21.57	1,366.16±33.31	1,359.58±14.13	1,396.54±20.91
20	1,445.21±92.63	1,417.39±78.48	1,420.76±21.98	1,453.87±51.38
40	1,431.86±31.98	1,398.55±27.93	1,404.40±69.69	1,452.57±23.43
60	1,412.37±35.97	1,428.54±45.99	1,423.13±19.10	1,379.13±65.70
80	1,423.56±9.77	1,367.94±8.23	1,375.49±10.63	1,416.34±31.19
100	1,404.35±24.35	1,377.42±22.05	1,358.66±37.68	1,450.45±42.67
120	1,405.83±49.65	1,368.33±23.28	1,349.96±9.49	1,435.48±16.44
140	1,366.36±15.56	1,348.01±66.52	1,373.32±9.83	1,461.45±71.67
160	1,428.67±87.05	1,383.43±95.34	1,359.52±14.10	1,347.08±31.62
180	1,398.69±47.44	1,339.22±3.60	1,427.32±46.56	1,459.62±11.61

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ก-2 การเปลี่ยนแปลงค่ากรดในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 180 วัน ที่อุณหภูมิ 30±5 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	ค่ากรด (มิลลิกรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อกรัม) ในสีผสมอาหาร			
	ชุดควบคุม	เติม BHA	เติม BHT	เติม TBHQ
0	0.668±0.035	0.642±0.017	0.683±0.012	0.659±0.019
20	0.727±0.046	0.720±0.058	0.691±0.070	0.669±0.025
40	0.745±0.096	0.639±0.069	0.701±0.037	0.580±0.053
60	0.677±0.137	0.650±0.056	0.619±0.056	0.570±0.067
80	0.528±0.062	0.508±0.039	0.508±0.058	0.487±0.051
100	0.572±0.102	0.506±0.024	0.551±0.017	0.520±0.144
120	0.687±0.111	0.637±0.109	0.761±0.062	0.600±0.036
140	0.745±0.005	0.719±0.142	0.683±0.081	0.628±0.048
160	0.759±0.008	0.750±0.013	0.742±0.055	0.716±0.030
180	0.761±0.056	0.695±0.024	0.737±0.032	0.737±0.031

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ก-3 การเปลี่ยนแปลงค่าเพอร์ออกไซด์ในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 180 วัน ที่อุณหภูมิ 30±5 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	ค่าเพอร์ออกไซด์ (มิลลิสมมูลต่อกิโลกรัม) ในสีผสมอาหาร			
	ชุดควบคุม	เติม BHA	เติม BHT	เติม TBHQ
0	6.535±0.964	6.197±0.626	6.247±0.775	7.024±0.835
20	6.458±0.160	6.112±0.319	6.794±0.077	6.011±1.044
40	7.469±0.237	7.253±0.388	5.492±1.799	7.143±1.318
60	7.072±1.340	7.980±1.317	6.811±2.613	7.141±1.388
80	8.148±2.240	7.332±1.492	8.208±1.515	7.723±2.636
100	7.041±1.827	7.549±1.450	7.763±0.540	6.756±1.889
120	8.099±0.628	7.430±2.761	8.488±1.800	7.449±1.563
140	7.303±1.803	8.190±2.052	9.476±0.582	8.354±0.633
160	8.140±1.131	8.157±0.999	9.829±0.881	8.614±0.866
180	8.932±0.911	8.537±0.846	9.779±0.767	9.227±1.550

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ก-4 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณบีตาแคโรทีนในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 180 วัน ที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ในสีผสมอาหาร						
	ชุดควบคุม	เติม BHA	เติม BHT	เติม TBHQ	เติม BHA และสารกันเชื้อรา	เติม BHT และสารกันเชื้อรา	เติม TBHQ และสารกันเชื้อรา
0	1,408.08±65.13	1,241.75±18.07	1,235.09±53.10	1,172.96±36.43	1,297.24±93.88	1,177.22±85.82	1,219.85±15.29
20	1,390.46±83.80	1,194.91±53.81	1,295.14±81.79	1,247.52±31.74	1,293.57±49.31	1,110.58±13.73	1,212.88±120.46
40	1,480.08±80.27	1,207.53±33.17	1,326.23±38.01	1,156.45±62.92	1,339.24±118.05	1,260.81±33.27	1,245.07±23.37
60	1,433.15±130.71	1,151.04±41.23	1,183.80±75.27	1,182.90±65.10	1,192.06±10.75	1,229.48±70.66	1,169.10±78.19
80	1,443.69±74.92	1,272.46±61.31	1,247.55±47.58	1,191.81±17.40	1,246.85±38.40	1,267.19±99.61	1,323.26±55.87
100	1,485.96±28.45	1,205.07±91.46	1,301.06±62.04	1,153.02±90.05	1,211.47±18.14	1,218.66±65.48	1,316.92±63.18
120	1,370.29±18.04	1,269.94±7.65	1,293.27±77.09	1,140.45±56.47	1,244.86±70.72	1,173.13±24.81	1,259.65±37.19
140	1,415.01±65.28	1,122.58±48.71	1,125.11±32.01	1,107.90±34.04	1,186.37±41.48	1,212.33±42.26	1,226.21±77.93
160	1,397.36±110.04	1,165.12±39.14	1,155.24±41.35	1,064.82±60.53	1,188.09±30.22	1,200.29±101.27	1,173.26±67.06
180	1,360.20±69.38	1,202.95±68.51	1,153.42±64.27	1,158.97±73.39	1,195.21±113.75	1,190.61±55.60	1,213.77±28.90

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ก-5 ปริมาณบีตาแคโรทีนในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน เมื่อผ่านความร้อนอุณหภูมิ 140.0 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ในสีผสมอาหาร			
	ชุดควบคุม	เติม BHA	เติม BHT	เติม TBHQ
0	1,309.10±41.31	1,236.02±11.00	1,327.63±9.82	1,276.81±75.54
2	591.31±46.99	-	-	-
4	287.74±9.30	426.33±21.59	396.16±34.83	659.48±1.12
6	144.67±33.62	-	-	-
8	46.16±28.79	94.76±14.84	52.72±28.00	240.90±40.35
12	-	34.88±3.27	36.20±3.04	213.57±74.52
16	-	7.25±0.38	18.90±0.34	55.69±0.60

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตาราง ก-6 ปริมาณบีตาแคโรทีนในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน เมื่อผ่านความร้อนอุณหภูมิ 145.0 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ในสีผสมอาหาร			
	ชุดควบคุม	เติม BHA	เติม BHT	เติม TBHQ
0	1,169.24±4.08	1,117.25±7.68	1,143.78±3.60	1,244.42±0.78
1.5	474.09±45.80	-	-	-
3	136.46±0.01	242.31±93.86	205.52±5.48	387.97±57.14
4.5	73.05±22.65	-	-	-
6	10.07±2.64	18.45±3.87	12.91±7.69	136.63±23.63
9	-	4.86±1.80	4.81±0.30	24.05±7.66
12	-	3.72±0.50	6.37±3.61	14.63±13.97

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ก-7 ปริมาณบีตาแคโรทีนในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน เมื่อผ่านความร้อนอุณหภูมิ 150.0 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ในสีผสมอาหาร			
	ชุดควบคุม	เติม BHA	เติม BHT	เติม TBHQ
0	1,220.72±7.78	1,215.16±8.94	1,081.13±17.26	1,266.66±50.90
1	574.13±12.07	-	-	-
2	294.59±119.69	359.05±44.62	757.27±79.19	559.15±5.04
3	207.42±132.23	-	-	-
4	38.01±4.03	55.88±5.49	221.82±92.69	366.68±131.45
6	-	23.04±10.40	70.72±3.76	120.92±10.97
8	-	10.33±3.07	15.43±11.46	54.80±13.31

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตาราง ก-8 ปริมาณบีตาแคโรทีนในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน เมื่อผ่านความร้อนอุณหภูมิ 155.0 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ในสีผสมอาหาร			
	ชุดควบคุม	เติม BHA	เติม BHT	เติม TBHQ
0	1,079.64±54.39	1,097.75±11.48	1,114.40±69.56	1,128.33±66.73
0.5	445.01±96.60	-	-	-
1	417.51±10.83	525.92±53.18	468.86±14.95	649.92±106.03
1.5	250.55±31.54	-	-	-
2	142.71±51.84	191.86±2.05	202.20±100.53	516.78±11.12
3	-	78.77±12.45	79.14±5.24	233.55±72.61
4	-	38.21±17.90	15.63±1.01	152.67±90.59

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ก-9 ปริมาณบีตาแคโรทีนในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน เมื่อผ่านความร้อนอุณหภูมิ 160.0 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ในสีผสมอาหาร			
	ชุดควบคุม	เติม BHA	เติม BHT	เติม TBHQ
0	985.15±15.58	972.87±55.94	1,071.53±71.65	1,087.26±34.52
0.5	547.12±87.78	-	-	-
1	306.50±28.96	438.71±21.81	507.89±35.68	542.43±51.26
1.5	143.86±10.19	-	-	-
2	105.09±2.88	118.59±8.05	97.98±11.39	346.43±112.84
3	-	48.63±15.01	38.92±4.95	291.53±43.64
4	-	15.23±4.71	16.23±1.27	28.90±1.44

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตาราง ก-10 ปริมาณบีตาแคโรทีนในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน เมื่อผ่านความร้อนอุณหภูมิ 90.0 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ในสีผสมอาหาร			
	ชุดควบคุม	เติม BHA	เติม BHT	เติม TBHQ
0	1,111.84±34.14	1,002.98±19.11	972.24±96.33	872.63±42.28
4	755.37±74.87	-	-	-
8	535.68±54.01	494.45±77.39	641.89±46.12	524.79±41.03
12	319.23±67.08	-	-	-
16	175.67±37.33	512.25±139.75	473.17±86.96	343.27±82..31
24	-	417.75±83.01	242.96±41.71	186.55±34.03
32	-	170.94±1.11	147.39±35.55	234.63±27.37

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ก-11 ปริมาณบีตาแคโรทีนในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน เมื่อผ่านความร้อนอุณหภูมิ 92.5 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ในสีผสมอาหาร			
	ชุดควบคุม	เติม BHA	เติม BHT	เติม TBHQ
0	1,125.38±30.87	1,111.87±48.40	900.72±0.73	960.19±21.23
4	624.81±151.68	-	-	-
8	443.58±56.74	292.84±58.70	531.97±43.89	436.23±107.86
12	187.79±77.29	-	-	-
16	123.18±17.28	254.01±54.24	334.78±103.38	284.69±61.61
24	-	243.10±12.75	194.70±17.48	197.02±31.07
32	-	111.35±46.72	88.65±98.49	56.48±36.00

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตาราง ก-12 ปริมาณบีตาแคโรทีนในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน เมื่อผ่านความร้อนอุณหภูมิ 95.0 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ในสีผสมอาหาร			
	ชุดควบคุม	เติม BHA	เติม BHT	เติม TBHQ
0	1,153.75±24.13	1,127.02±18.55	1,019.06±83.26	1,080.71±23.40
3	739.18±84.82	-	-	-
6	617.72±7.68	691.40±27.98	566.92±51.27	818.99±40.35
9	463.02±25.21	-	-	-
12	138.70±21.51	547.20±33.04	341.09±2.52	552.17±29.45
18	-	225.56±42.67	235.92±3.66	337.44±64.97
24	-	199.84±79.02	129.53±8.31	169.93±1.39

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ก-13 ปริมาณบีตาแคโรทีนในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน เมื่อผ่านความร้อนอุณหภูมิ 97.5 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ในสีผสมอาหาร			
	ชุดควบคุม	เติม BHA	เติม BHT	เติม TBHQ
0	805.89±26.86	943.02±139.59	742.59±60.81	848.97±71.57
2	502.84±58.06	-	-	-
4	411.83±76.55	731.56±39.03	553.60±29.62	486.58±69.03
6	172.06±4.96	-	-	-
8	179.20±48.69	617.54±22.99	169.96±9.78	443.75±95.22
12	-	349.84±73.18	136.72±2.45	198.93±73.92
16	-	244.15±108.59	87.95±61.64	128.96±3.69

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตาราง ก-14 ปริมาณบีตาแคโรทีนในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน เมื่อผ่านความร้อนอุณหภูมิ 100.0 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ในสีผสมอาหาร			
	ชุดควบคุม	เติม BHA	เติม BHT	เติม TBHQ
0	1,162.55±47.47	1,230.19±101.68	1,200.39±21.04	1,131.95±122.30
2	601.82±94.31	-	-	-
4	316.16±43.34	757.27±77.91	885.68±30.15	548.22±98.83
6	186.55±21.27	-	-	-
8	112.15±6.56	517.73±140.44	175.96±42.96	375.27±93.48
12	-	334.40±12.10	142.26±59.05	151.05±27.05
16	-	115.21±33.93	85.40±11.24	131.79±46.51

ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ก-15 ปริมาณบีตาแคโรทีนในสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน โดยพ่นแก๊สไนโตรเจนที่ผิวหน้า เมื่อผ่านความร้อนอุณหภูมิ 100.0 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณบีตาแคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัม) ในสีผสมอาหาร			
	ชุดควบคุม	เติม BHA	เติม BHT	เติม TBHQ
0	1,182.16±29.63	1,153.70±92.15	1,248.32±0.56	1,122.92±24.23
5	765.12±6.41	1,033.36±55.46	1,097.68±145.71	1,063.83±69.45
10	866.56±43.23	991.79±39.59	1,139.97±35.83	1,054.35±150.45
15	915.97±6.32	775.08±54.50	937.40±55.73	890.83±131.68
20	921.38±124.49	919.12±2.44	1,030.81±144.43	1,009.49±25.44

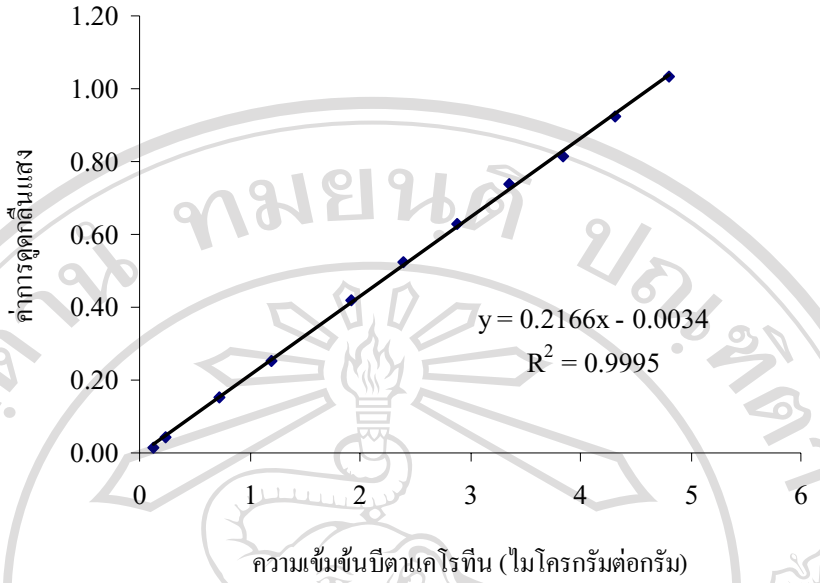
ข้อมูลได้จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

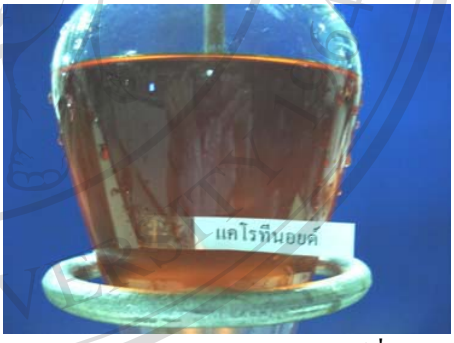
ภาพประกอบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ ข-1 กราฟมาตรฐานของบีตาแคโรทีนในเตตระไฮโดรฟูแรน

ภาพ ข-2 น้ำมันปาล์มดิบ

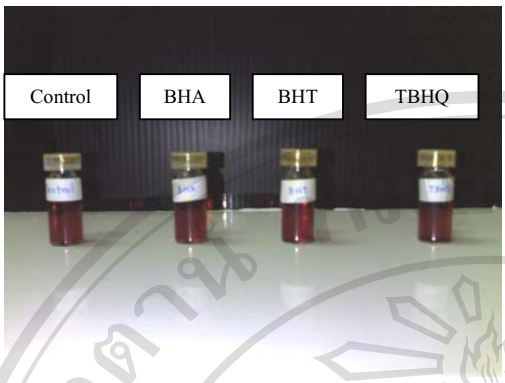


ภาพ ข-3 สารสกัดแคโรทีนอยด์ที่ผ่านกระบวนการสะปอนิฟิเคชัน

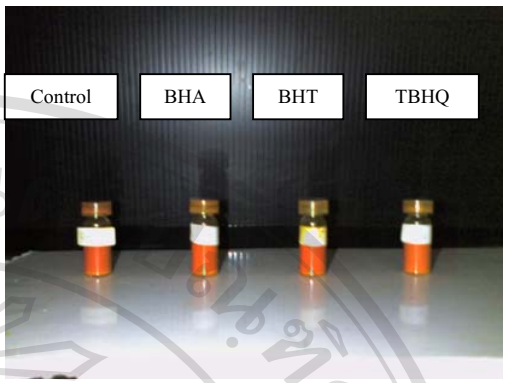
ภาพ ข-4 สารสกัดแคโรทีนอยด์หลังจากระเหยเฮกเซนออกด้วยระบบสุญญากาศ

ภาพ ข-5 เครื่องสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิต่ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



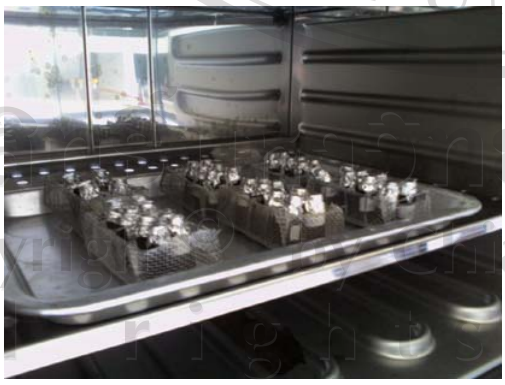
ภาพ ข-6 สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน



ภาพ ข-7 สีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน

ภาพ ข-8 การเก็บรักษาสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ในตู้บ่มอุณหภูมิ 30±5 องศาเซลเซียส

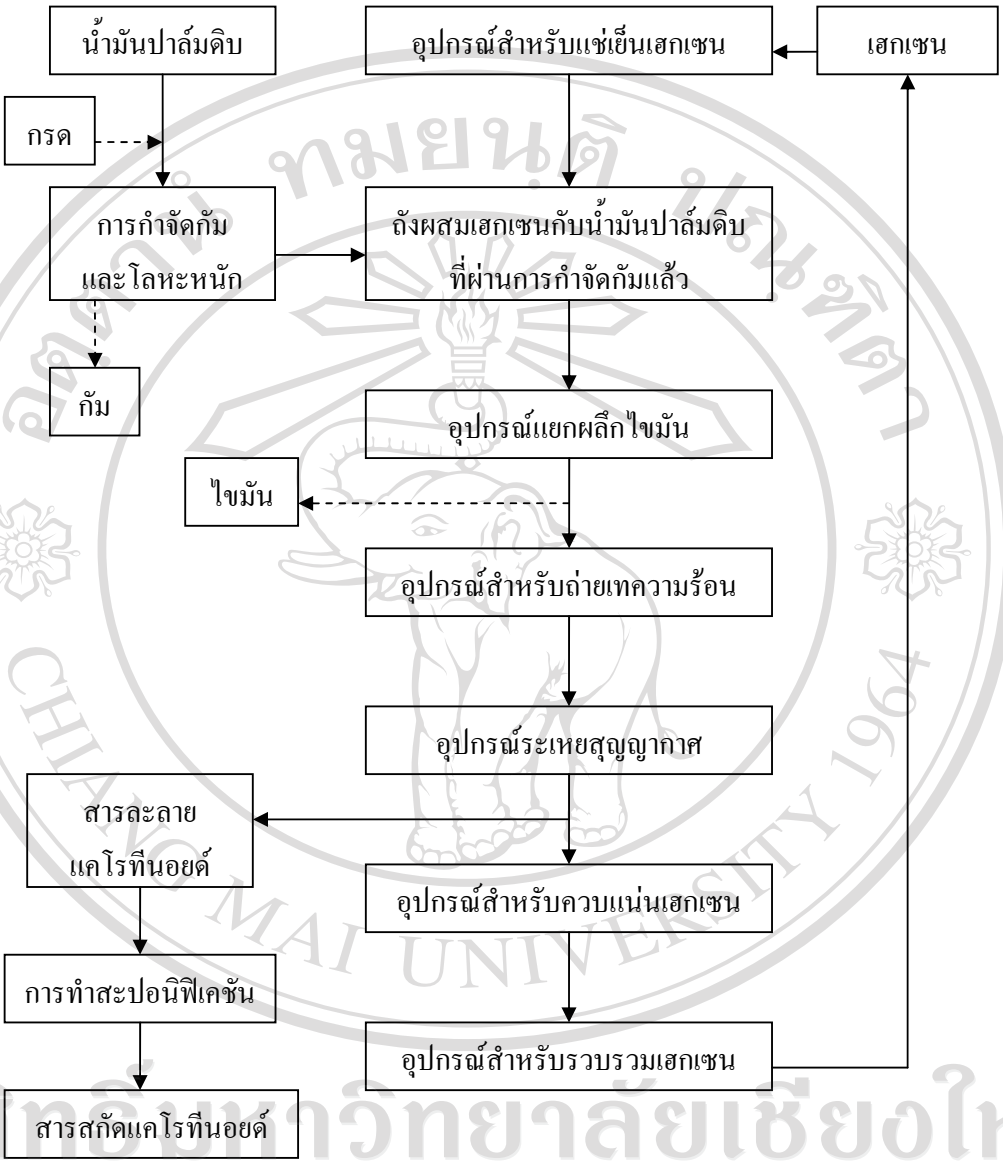
ภาพ ข-9 การเก็บรักษาสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ในตู้เย็นอุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส



ภาพ ข-10 การศึกษาความคงตัวต่อความร้อนของสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปน้ำมัน ด้วยตู้อบลมร้อน

ภาพ ข-11 การศึกษาความคงตัวต่อความร้อนของสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ชนิดที่อยู่ในรูปอิมัลชัน ด้วยตู้อบลมร้อน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ ข-12 ขั้นตอนการสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ ด้วยเฮกเซนที่อุณหภูมิต่ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

วิธีการสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ และวิธีการวิเคราะห์คุณภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ค-1 การสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ ด้วยเฮกเซนที่อุณหภูมิต่ำ

ใช้วิธีการและสภาวะที่ใช้ในการสกัดของ พัชรินทร์ และคณะ (2548)

1. การกำจัดกัมและโลหะหนักในน้ำมันปาล์มดิบ ชั่งน้ำมันปาล์มดิบใส่หม้อต้ม แล้วให้ความร้อนโดยนำขึ้นตั้งไฟ และกวนตลอดเวลา จนกระทั่งวัดอุณหภูมิของน้ำมันปาล์มดิบได้ประมาณ 80 องศาเซลเซียส แล้วค่อยๆ เติมกรดซิตริกเข้มข้นร้อยละ 20 และกรดฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 75 ในปริมาณร้อยละ 0.02 และ 0.08 ของน้ำหนักน้ำมันปาล์มดิบ ตามลำดับจากนั้นกวนผสมต่อเป็นเวลา 15-20 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงเป็น 60 องศาเซลเซียสแล้วจึงนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 โดยใช้ระบบการกรองแบบสุญญากาศ นำน้ำมันส่วนที่กรองได้ใส่ขวดเก็บไว้ในที่มืด

2. การสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยเฮกเซนที่อุณหภูมิต่ำแบบไม่ต่อเนื่อง ด้วยเครื่องสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิต่ำ

ก. ปรับตั้งอุณหภูมิของอุปกรณ์ที่ใช้ในการแช่เย็นเฮกเซนเป็น -10 องศาเซลเซียส แล้วเติมเฮกเซนปริมาณ 4,300 มิลลิลิตร ลงในอุปกรณ์ที่ใช้ในการผสมเฮกเซนกับน้ำมันปาล์มดิบที่ผ่านการกำจัดกัมออกไปแล้ว รอจนกระทั่งอุณหภูมิของเฮกเซนลดลงเท่ากับ -10 องศาเซลเซียส

ข. ชั่งน้ำมันปาล์มดิบที่ผ่านการกำจัดกัมและโลหะหนักที่ได้จากข้อ 1. ปริมาณ 1,434 กรัม (อัตราส่วนน้ำมันต่อเฮกเซนเป็น 1 ต่อ 3) นำเข้าอุปกรณ์ที่ใช้ในการผสมเฮกเซนกับน้ำมันปาล์มดิบที่ผ่านการกำจัดกัมออกไปแล้ว โดยใช้ Peristaltic pump เพื่อช่วยให้อัตราการไหลของน้ำมันคงที่ ทั้งนี้จะปรับให้น้ำมันที่ไหลลงถังผสมมีลักษณะค่อยๆ ไหลทีละหยด และปรับความเร็วรอบของใบกวนในระหว่างการผสมเป็น 250 รอบต่อนาที เมื่อน้ำมันไหลลงถังผสมจนหมดแล้วจึงจับเวลาให้น้ำมันผสมกับเฮกเซนต่ออีกเป็นระยะเวลา 5 นาที

ค. กรองสารละลายที่ได้ ด้วยอุปกรณ์แยกผลึกไขมัน เพื่อแยกส่วนของไขมันที่แข็งตัวออกด้วยกระดาษกรอง โดยใช้ระบบการกรองแบบสุญญากาศ ทั้งนี้จะควบคุมอุณหภูมิตลอดการกรองให้ไม่สูงเกินกว่า -10 องศาเซลเซียส

ง. นำสารละลายส่วนที่กรองได้ใส่ขวดสีชาทึบแสง เก็บไว้ในที่มืด เพื่อให้อุณหภูมิของสารละลายเพิ่มสูงขึ้นจนมีอุณหภูมิเท่าบรรยากาศ

3. การระเหยแยกเอาเฮกเซนออก ด้วยเครื่องสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบด้วยตัวทำละลายที่อุณหภูมิต่ำ โดยตั้งอุณหภูมิของอุปกรณ์ควบแน่นเฮกเซนไว้ที่ -15 องศาเซลเซียส แล้วนำสารละลายส่วนที่กรองได้ที่ได้จากข้อ 2. เข้าอุปกรณ์ระเหยสุญญากาศ ซึ่งตั้งอุณหภูมิและ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. การทำสะปอนิฟิเคชัน เพื่อกำจัดไขมันส่วนเกินออกจากสารสกัดแคโรทีนอยด์ โดยนำสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่ได้จากข้อ 3. มาผสมกับเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ในโถแก้วด้วยอัตราส่วน 1 ต่อ1 (ใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์ 400 กรัม ผสมกับเอทานอล 400 กรัม) แล้วให้ทำปฏิกิริยากับด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ในสัดส่วนที่เท่ากัน (ถ้าใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์ 400 กรัม จะใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 400 กรัม) โดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 20 ในเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 (ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 400 กรัม ละลายในเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณ 1,600 กรัม ซึ่งในระหว่างการละลายสารละลายจะร้อน ให้หล่อเย็นด้วยน้ำและใช้เครื่องปั่นช่วยให้ด่างละลายดีขึ้น) ทั้งนี้หลังจากเติมสารละลายด่างลงผสมกับสารละลายแคโรทีนอยด์ในโถแก้ว ให้รีบเขย่าอย่างแรงเพื่อให้สารละลายด่างเข้าทำปฏิกิริยาอย่างทั่วถึง จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง จากการทำปฏิกิริยาจะได้แคโรทีนอยด์และสบู่ ทำการแยกแคโรทีนอยด์ออกจากสบู่ ด้วยการเติมเฮกเซนประมาณ 1,000 มิลลิลิตร แล้วล้างด่างส่วนเกิน สบู่ และกลีเซอรีนออกด้วยน้ำและเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 จนกว่าจะได้แคโรทีนอยด์ตามต้องการ (ประยุกต์จาก Godoy and Rodriguez-Amaya, 1998) จากนั้นจึงนำไประเหยเฮกเซนออกอีกครั้งหนึ่ง ด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน จะได้แคโรทีนอยด์

ค-2 การวิเคราะห์ค่ากรด (Acid Value, AV) หรือ Free Fatty Acid (FFA)

การวิเคราะห์ค่ากรด (AV) ประยุกต์จากวิธี AOAC (2000) เป็นการตรวจสอบการสลายตัวและการหืนของไขมันและน้ำมัน

ค่ากรดของไขมันหรือน้ำมัน คือ จำนวนมิลลิกรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการทำให้กรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมัน 1 กรัมเป็นกลางพอดี ผลการทดลองอาจจะนำมาคำนวณเป็นร้อยละของกรดไขมันอิสระ

ค่ากรดที่วิเคราะห์ได้ ใช้เป็นตัวชี้บ่งว่าไตรเอซิลกลีเซอรอลที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมันถูกทำลายด้วยเอนไซม์ไลเพสเป็นกรดไขมันอิสระมากน้อยเพียงใด ถ้าค่า AV สูง แสดงว่าโมเลกุลของไตรกลีเซอรอลถูกสลายตัวได้เป็นกรดไขมันอิสระมาก แสดงว่ามี hydrolytic rancidity เกิดขึ้นที่ไขมันหรือน้ำมัน ความร้อน และแสงช่วยเร่งให้เกิดการหืนได้เร็วขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีทำ

1. ผสมไดเอทิลอีเทอร์ 25 มิลลิลิตร กับเอทานอล 25 มิลลิลิตร ให้เป็นตัวทำละลายผสม
2. เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน (ความเข้มข้นร้อยละ 1) ลงไป 0.5 มิลลิลิตร
3. ไทเทรตตัวทำละลายผสมให้เป็นกลางด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (ใช้ด่างประมาณ 2-3 หยด)
4. ชั่งน้ำมันตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักแน่นอน (ใช้น้ำมัน 2 กรัม หรือไขมัน 10 กรัม)
5. ละลายน้ำมันตัวอย่างในตัวทำละลายผสมที่เป็นกลาง
6. ไทเทรตด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์
7. เขย่าพร้อมกับไทเทรตจนกระทั่งได้สารละลายสีชมพู ซึ่งคงตัวนานกว่า 15 วินาที
8. ผลการไทเทรตไม่ควรใช้สารละลายด่างเกิน 10 มิลลิลิตร ถ้าใช้มากกว่านี้ต้องทดลองใหม่ โดยใช้น้ำมันตัวอย่างให้น้อยลง

วิธีคำนวณ

$$AV = \frac{V \times 5.61}{W}$$

V = จำนวนมิลลิลิตรของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ใช้

W = น้ำหนักของน้ำมันตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)

1 มิลลิลิตรของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เท่ากับ 5.6 มิลลิกรัมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์

หากต้องการเปลี่ยนค่ากรดเป็นปริมาณของกรดไขมันอิสระในรูปร้อยละของกรดปาล์มมิติก (ใช้กับน้ำมันปาล์ม) หรือกรดลอริก (ใช้กับน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันปาล์มเคอร์เนล) หรือกรดโอเลอิก (ใช้กับน้ำมันพืชอื่นๆ) สามารถคำนวณได้ดังนี้

1 มิลลิลิตรของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดโอเลอิก 0.0282 กรัม หรือกรดปาล์มมิติก 0.0256 กรัม หรือกรดลอริก 0.0200 กรัม

AV = 2.19 × % FFA (ในรูปกรดปาล์มมิติก)

= 2.81 × % FFA (ในรูปกรดลอริก)

= 1.99 × % FFA (ในรูปกรดโอเลอิก)

น้ำมันที่มีกรดไขมันอิสระประมาณร้อยละ 0.5-1.5 ในรูปกรดโอเลอิกจะเริ่มสังเกตการหืนได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

บางครั้งค่า acidity ของไขมันหรือน้ำมันสามารถรายงานเป็นมิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 นอร์มัล ที่ทำปฏิกิริยากับกรดไขมันอิสระที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมัน 100 กรัม เป็นกลางพอดี

กรดไขมันอิสระในน้ำมันพืชยังสามารถวัดปริมาณได้โดยใช้ colorimeter วิธีการทำใช้เบนซินสกัดกรดไขมันอิสระออกมา แล้วนำมาเขย่ากับสารละลายคอปเปอร์อะซีเตต กรดไขมันอิสระจะทำปฏิกิริยากับคอปเปอร์ได้เป็นสีน้ำเงินในชั้นของเบนซิน ซึ่งวัดความเข้มของสีได้ที่ความยาวคลื่น 640-690 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานโดยใช้กรดโอเลอิกที่ทราบปริมาณแน่นอน

ค-3 การวิเคราะห์ค่าเพอร์ออกไซด์ (Peroxide Value, PV)

การวิเคราะห์ค่าเพอร์ออกไซด์ (Peroxide Value, PV) ประยุกต์จากวิธี AOAC (2000)

ค่าเพอร์ออกไซด์ เป็นการวัด degree of lipid oxidation โดยการหาปริมาณออกไซด์ที่มีอยู่ในไขมันหรือน้ำมัน สารเพอร์ออกไซด์จะเกิดขึ้นในไขมันหรือน้ำมันอย่างช้าๆ ในระหว่างที่ไขมันหรือน้ำมันถูกเก็บไว้ให้สัมผัสกับอากาศ เรียกว่าเกิด oxidation rancidity เป็นการเกิดออโตออกซิเดชันขึ้นที่พันธะคู่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ดังนั้นไขมันหรือน้ำมันที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลมาก หรือมีค่าไอโอดีนสูง จะเกิด oxidation rancidity ได้ง่าย จึงนิยมวัดค่าเพอร์ออกไซด์ เพื่อใช้ชี้บ่งการเกิดออกซิเดชันของไขมันและน้ำมัน เพราะเพอร์ออกไซด์เป็นอินเทอร์มิเดียของปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน

PV หมายถึง จำนวนมิลลิกรัมของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.002 นอร์มัล ที่ใช้ในการไทเทรตไขมันหรือน้ำมัน 1 กรัม หรือหมายถึง จำนวนมิลลิสมมูลของเพอร์ออกไซด์ต่อไขมันหรือน้ำมัน 1 กิโลกรัม หรือมิลลิโมลของออกซิเจนต่อกิโลกรัมของไขมัน (1 มิลลิโมลเท่ากับ 2 มิลลิสมมูล)

หลักการ การวิเคราะห์หาค่า PV ตามวิธีของ Lea ซึ่งเป็นปฏิกิริยาของสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ในสารละลายกรดกับ bound oxygen ที่เกิดจากเพอร์ออกไซด์ได้เป็นไอโอดีนอิสระ ซึ่งจะหาปริมาณไอโอดีนอิสระที่เกิดขึ้นได้ โดยนำไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต โดยใช้น้ำแป้งเป็นอินดิเคเตอร์

$$ROOH\ (peroxide) + KI \longrightarrow KOH + I_2 + ROH$$

$$I_2 + 2\ Na_2S_2O_3 \longrightarrow Na_2S_4O_6 + 2\ NaI$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารเคมีที่ใช้

1. โพแทสเซียมไอโอไดด์

2. สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 เตรียมได้โดยชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์มา 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

3. สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.002 นอร์มัล (โมลาร์) เตรียมได้โดยชั่งโซเดียมไทโอซัลเฟตมา 0.4954 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร (เตรียมก่อนใช้)

4. สารละลายน้ำแป้ง ความเข้มข้นร้อยละ 1 เตรียมได้โดยชั่งแป้ง 1 กรัม ละลายน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดแล้วปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น (เตรียมก่อนใช้)

วิธีทำ

1. ชั่งน้ำมันตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักแน่นอน (ประมาณ 1 กรัม) ใส่ในหลอดแก้วที่สะอาดและแห้งสนิท

2. ทำ blank ไปพร้อมกัน โดยไม่ต้องใส่น้ำมันตัวอย่าง

3. ชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์ ใส่ลงไป 1 กรัม หรือใช้สารละลายอิ่มตัวของโพแทสเซียมไอโอไดด์ 0.5 มิลลิลิตร

4. เติมตัวทำละลายผสมลงไป 20 มิลลิลิตร (ตัวทำละลายผสม ประกอบด้วยกรดอะซีติก 3 ส่วน และคลอโรฟอร์ม 2 ส่วน ปริมาตรต่อปริมาตร ผสมให้เข้ากันก่อนเทใส่ลงไปในหลอดแก้ว) ควรทำในตู้ดูดควัน (fume hood)

5. นำหลอดแก้วไปต้มในน้ำเดือด ปล่อยให้เดือด นานไม่เกิน 30 วินาที

6. เทของเหลวที่กำลังเดือดลงในฟลาส์คขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 จำนวน 20 มิลลิลิตร

7. ล้างหลอดแก้วด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ครั้งละ 15 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ เทน้ำที่ล้างลงในฟลาส์ค

8. ไทเทรตสารละลายในฟลาส์คด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.002 นอร์มัล จนสีเหลืองจางลง เติมน้ำแป้งลงไป 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ ไทเทรตต่อจนถึงจุดยุติ คือ เมื่อสีฟ้าจางหายไปหมดจนสารละลายไม่มีสี

9. บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้กับน้ำมันตัวอย่างเท่ากับ A มิลลิลิตร และที่ใช้กับ blank เท่ากับ B มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ข้อควรระวัง ไม่ควรเติมน้ำแป้งลงไปในช่วงแรกขณะที่สารละลายไอโอดีนมีความเข้มข้นสูง เพราะไอโอดีนจะไปทำลายโมเลกุลของสตาร์ช ทำให้สมบัติในการเป็นอินดิเคเตอร์ของน้ำแป้งเสียไปด้วย ยกเว้น blank ถ้าใช้สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.002 นอร์มัล ในการไทเทรตมากกว่า 5 มิลลิลิตรต่อกรัมของตัวอย่างน้ำมัน แสดงว่าตัวอย่างน้ำมันเกิดออโตออกซิเดชัน หรือ oxidation rancidity ซึ่งอาจรู้สึกได้โดยการชิม

การคำนวณ

ค่าเพอร์ออกไซด์จะคำนวณออกมาเป็นจำนวนมิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.002 นอร์มัลต่อกรัมของไขมันหรือน้ำมัน

$$PV = \frac{A - B \text{ (มิลลิลิตร)}}{\text{น้ำหนักของน้ำมันตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)}} \quad (1)$$

หรือค่าเพอร์ออกไซด์คำนวณเป็นมิลลิสมมูลของเพอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อกิโลกรัมของน้ำมันตัวอย่าง (mEq/kg)

$$PV = \frac{(A - B) \times N \times 1{,}000}{\text{น้ำหนักของน้ำมันตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)}} \quad (2)$$

$$= \frac{(A - B) \times 0.002 \times 1{,}000}{\text{น้ำหนักของน้ำมันตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)}}$$

น้ำมันใหม่ (fresh oil) จะมีค่าเพอร์ออกไซด์ต่ำกว่า 10 มิลลิสมมูลต่อกิโลกรัม

ส่วนน้ำมันที่มีกลิ่นหืน จะมีค่าเพอร์ออกไซด์ประมาณ 20-40 มิลลิสมมูลต่อกิโลกรัม

ค-4 การหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count)

การหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ด้วยวิธี Pour plate (ประยุกต์จาก AOAC, 2002)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 เตรียมโดยชั่งเปปโตน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดหรือหลอดทดลอง นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar เตรียมโดยละลายอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยน้ำกลั่นตามอัตราส่วนที่ระบุข้างขวด ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

วิธีทำ

1. ดูดตัวอย่างสีผสมอาหาร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน สารละลายที่ได้เป็นตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 หรือ 10^{-1}

2. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าตัวอย่างให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ได้เป็นสารละลายตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 หรือ 10^{-2}

3. นำสารละลายตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 มาเจือจางให้เป็น 1:1000 หรือ 10^{-3} โดยทำเช่นเดียวกับข้อ 2.

การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ใช้ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อดูดสารละลายตัวอย่างอาหารเจือจางที่เตรียมไว้ (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}) ลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ระดับเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูดจากตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางมากที่สุด

2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar ที่ยังเป็นของเหลวที่อุณหภูมิประมาณ 45-55 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อที่มีสารละลายตัวอย่าง จานละประมาณ 15-20 มิลลิลิตร

3. ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว คว่ำจานเพาะเชื้อลง และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 3 ชั่วโมง

การตรวจนับจุลินทรีย์

หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 25-250 โคโลนี นำค่าเฉลี่ยจากทั้ง 2 จานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับว่ามีจำนวน Mesophilic aerobic bacteria ในรูปจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ในกรณีที่ไม่พบโคโลนีของเชื้อขึ้นเลยทุกระดับความเข้มข้น ให้รายงานการพบเชื้อจุลินทรีย์น้อยกว่า 25 × ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ค-5 การตรวจหาเชื้อยีสต์และรา (Yeast and Mould)

การตรวจหาเชื้อยีสต์และรา ประยุกต์จากวิธีของ AOAC (2002)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 เตรียมโดยชั่งเปปโตน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดหรือหลอดทดลอง นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar เตรียมโดยละลายอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยน้ำกลั่นตามอัตราส่วนที่ระบุข้างขวด ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

วิธีทำ

1. ดูดตัวอย่างสีผสมอาหาร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน สารละลายที่ได้เป็นตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 หรือ 10^{-1}

2. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าตัวอย่างให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ได้เป็นสารละลายตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 หรือ 10^{-2}

3. นำสารละลายตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 มาเจือจางให้เป็น 1:1000 หรือ 10^{-3} โดยทำเช่นเดียวกับข้อ 2.

การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ใช้ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อดูดสารละลายตัวอย่างอาหารเจือจางที่เตรียมไว้ (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}) ลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ระดับเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูดจากตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางมากที่สุด

2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar ที่ปรับ pH เป็น 3.5 ด้วยกรดทาร์ทาริกเข้มข้นร้อยละ 10 ที่ยังเป็นของเหลวที่อุณหภูมิประมาณ 45-55 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อที่มีสารละลายตัวอย่างจานละประมาณ 15-20 มิลลิลิตร

3. ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน โดยไม่ต้องคว่ำจานเพาะเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การตรวจนับจุลินทรีย์

หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 10-150 โคโลนี นำค่าเฉลี่ยจากทั้ง 2 จานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับว่าพบเชื้อยีสต์และราในรูปจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ในกรณีที่ไม่พบโคโลนีของเชื้อขึ้นเลยทุกระดับความเข้มข้น ให้รายงานการพบเชื้อยีสต์และราน้อยกว่า 10 × ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวกฤติกา บูรณโชคไพศาล
วัน เดือน ปี เกิด	6 ตุลาคม 2522
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมกระบวนการอาหาร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2544
	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเฉลิมขวัญสตรี พิษณุโลก ปีการศึกษา 2539

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved