ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เครื่องกำเนิดอัลตราซาวด์ (High Intensity Ultrasonic Processor) รุ่น VC/VCX 130, 500, 750 ผลิตภัณฑ์ Sonic

วิธีการใช้งาน

1. เสียบปลั๊กไฟเข้ากับเต้ารับไฟฟ้าที่เหมาะสม (110 V หรือ 220 V) และเปิดสวิทช์เครื่อง
2. กดปุ่ม TIMER เพื่อทำการตั้งค่าของเวลาการทำงาน หากไม่ต้องการตั้งเวลาให้ใส่ค่าเลข 0 ลงไป
3. กดปุ่ม PULSE เพื่อทำการตั้งค่าช่วงการทำงานของ PULSE ON หรือ PULSE OFF
4. ตั้งค่า Amplitude ที่ใช้งาน โดยกดปุ่ม AMPLITUDE
5. กดปุ่ม TEMP เพื่อตั้งค่าของอุณหภูมิ Cut off
6. ตรวจสอบ ความหนาแน่นของ Tip (ควรเลือก Tip ให้เหมาะสมกับการใช้งาน)
7. ใส่ตัวอย่างลงในภาชนะที่เหมาะสมกับ Tip ที่ใช้
8. จุ่มปลาย Tip ลงในตัวอย่าง
9. กดปุ่ม Start เพื่อเริ่มการทำงาน เครื่องจะทำงานตามระยะเวลาที่ตั้งไว้ หากต้องการหยุดกลางคัน หรือหยุดการทำงานแบบ Manual สามารถทำได้โดยกดปุ่ม Stop
10. ภายหลังการใช้งาน ทำความสะอาด Tip ทุกครั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

การวัดสีระบบฮันเตอร์ (Hunter Lab)

เป็นการวัดสีด้วยเครื่องวัดสี Color Quest II Sphere (Chroma meter CR 300 Series, Japan) วัดค่าสีในระบบฮันเตอร์ โดยค่าสี L เป็นค่าความสว่าง (Lightness) a เป็นค่าสีแดงและเขียว (Redness/Green) และ b เป็นค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (Yellowness/Blueness)

L	คือค่าความสว่าง	มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100
a	คือค่าสีแดงและสีเขียว	เมื่อ a มีค่าบวก เป็นสีแดง
		เมื่อ a มีค่าลบ เป็นสีเขียว
b	คือค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน	เมื่อ b มีค่าบวก เป็นสีเหลือง
		เมื่อ b มีค่าลบ เป็นสีน้ำเงิน

ก่อนการวัดทุกครั้งต้องปรับมาตรฐานเครื่อง (Calibration) โดยการใช้กระบอกสีดำ

แผ่นสีขาวมาตรฐาน	(x=81.17, y=86.12, z=91.78)
แผ่นสีเทามาตรฐาน	(x=48.58, y=51.74, z=54.01)
แผ่นสีเขียวมาตรฐาน	(x=17.73, y=23.35, z=18.91)

การวัดตัวอย่างน้ำผึ้ง

1. นำตัวอย่างใส่ภาชนะที่เครื่องวัดสีสามารถวัดได้
2. ปรับมาตรฐานเครื่องวัดสี
3. ใช้เครื่องวัดสีวัดค่าสีของตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แบบบันทึกผลการวิเคราะห์ค่าสี

ซ้ำ	C	U1	U2	U3	U4	U5	H1	H2	H3
1									
2									
3									
Avg									

<u>หมายเหตุ</u>

C = น้ำผลึกดอกทานตะวันตกผลึกเริ่มต้น

U = น้ำผลึกดอกทานตะวันที่ละลายผลึกด้วยอัลตราซาวด์กำลังสูง

U1 = แอมพลิจูด ร้อยละ 20

U2 = แอมพลิจูด ร้อยละ 25

U3 = แอมพลิจูด ร้อยละ 30

U4 = แอมพลิจูด ร้อยละ 25

U5 = แอมพลิจูด ร้อยละ 40

H = น้ำผึ้งดอกทานตะวันที่ละลายผลึกด้วยการแช่ในอ่างน้ำร้อน

H1 = 50 องศาเซลเซียส

H2 = 55 องศาเซลเซียส

H3 = 60 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวัดความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscometer

เครื่องวัดความหนืด Brookfield Viscometer เป็นเครื่องวัดความข้นหนืดแบบแกนหมุน (Rotatory viscometer) ใช้วัดความข้นหนืดของอาหารที่มีความข้นหนืดปานกลาง

วิธีการ Calibrate เครื่องวัดความหนืด

1. เปิดสวิทซ์เครื่องวัดความหนืด
2. เอาหัววัด (Spindle) ออกจากแกนมอเตอร์
3. กดปุ่มใดๆ เครื่องจะทำการ Calibrate โดยอัตโนมัติ เมื่อการ Calibrate เสร็จสิ้น หน้าจอจะขึ้นข้อความว่าให้ใส่หัววัดได้ จึงใส่หัววัดที่จะใช้วัด โดยหัววัดความหนืดมี 7 ขนาด หัววัดหมายเลข 1 จะวัดความข้นหนืดในช่วงความข้นหนืดต่ำ ส่วนหัววัดหมายเลขสูงขึ้นจะวัดความหนืดในช่วงที่สูงขึ้น

การวัดความหนืดตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำผึ้ง

การวัดความข้นหนืดต้องเลือกหัววัดและความเร็วรอบให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์

1. โดยตักผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งประมาณ 400-500 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร
2. นำบีกเกอร์ไปวางใต้เครื่องวัดความข้นหนืด ใส่หัววัดที่แกนมอเตอร์ ลดระดับเครื่องวัดความหนืดลงจนหัววัดจมลงในตัวอย่างจนถึงขีดที่กำหนดในแกนหัววัด ตรวจสอบหมายเลขหัววัดที่แสดงบนจอให้ตรงกับหัววัดที่ต่อกับแกนมอเตอร์
3. ตั้งความเร็วรอบในการหมุน กดสวิทซ์เปิดมอเตอร์ ให้ค่าร้อยละของ Torque เข้าใกล้ 100 มากที่สุด

การวัดความข้นหนืดในการทดลองจะมีตัวอย่างที่มีความข้นหนืดต่างกัน ต้องเลือกเอาตัวอย่างน้ำผึ้งที่สังเกตด้วยสายตามาคัดเลือกหัววัดและความเร็วรอบที่เหมาะสมก่อน และใช้หัววัดและความเร็วรอบนี้กับตัวอย่างอื่นๆ เพื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างในการทดลองนั้นๆ และแต่ละการทดลองอาจใช้หัววัดและความเร็วรอบในการวัดที่แตกต่างกันได้ ขึ้นกับความเหมาะสมในแต่ละชนิดน้ำผึ้ง

การวัดความข้นหนืดของตัวอย่างเพื่อเปรียบเทียบในการทดลอง ต่อหัววัดที่เหมาะสมในการทดลองนั้นๆ เข้ากับแกนมอเตอร์ ตั้งความเร็วรอบที่เหมาะสมในการทดลองนั้นๆ โดยใช้หัววัดหมายเลข 4 ความเร็วรอบ 2.5 รอบต่อนาที ตั้งเวลาในการวัดประมาณ 15-60 วินาที กดปุ่มเปิดมอเตอร์ เมื่อครบเวลาที่ตั้งไว้ มอเตอร์ก็จะหยุดหมุนอ่านค่าความข้นหนืดที่วัดได้

หมายเหตุ : ค่าความหนืด วัดด้วยเข็มเบอร์ 2 ที่อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แบบบันทึกผลการวิเคราะห์ค่าความหนืด

ซ้ำ	C	U1	U2	U3	U4	U5	H1	H2	H3
1									
2									
3									
Avg									

<u>หมายเหตุ</u>

C = น้ำผลึกดอกทานตะวันตกผลึกเริ่มต้น

U = น้ำผลึกดอกทานตะวันที่ละลายผลึกด้วยอัลตราซาวด์กำลังสูง

U1 = แอมพลิจูด ร้อยละ 20

U2 = แอมพลิจูด ร้อยละ 25

U3 = แอมพลิจูด ร้อยละ 30

U4 = แอมพลิจูด ร้อยละ 25

U5 = แอมพลิจูด ร้อยละ 40

H = น้ำผึ้งดอกทานตะวันที่ละลายผลึกด้วยการแช่ในอ่างน้ำร้อน

H1 = 50 องศาเซลเซียส

H2 = 55 องศาเซลเซียส

H3 = 60 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์รูปร่างและขนาดของผลึก โดยกล้องจุลทรรศน์

Light microscope เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสง(visible light) เป็นตัวกลางที่ทำให้เกิดภาพ และมีเลนส์แก้วเป็นตัวรับแสง และขยายภาพเข้าสู่ตาเรา ซึ่งสามารถขยายเซลล์ หรือวัตถุที่มีขนาดไม่น้อยกว่า 1 ไมโครเมตร (10^{-6}เมตร) เช่น เซลล์แบคทีเรีย สาหร่าย โปรโตซัว รา และยิสต์ เป็นต้น

กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้โดยทั่วไปจะเป็นกล้องที่เรียกว่า Compound microscope เป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงเป็นตัวกลาง เลนส์ที่ใช้ขยายภาพจะแบ้งออกเป็น 2ส่วน คือเลนส์ใกล้ตา (ocular lens หรือ eye piece) และเลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) ในปัจจุบันกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้จะมีเลนส์ใกล้ตาสองอัน จึงเรียกว่า Biocular microscope

การคิดกำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์

โดยทั่วไป oculars lens จะมีกำลังขยายต่างกันแล้วแต่กล้องนั้นๆแต่ส่วนมากจะมีกำลังขยาย 10 และ 15 เท่า objective lens จะมีกำลังขยายตั้งแต่ 4 10 40 และ 100 เท่า ดังนั้นการคิดกำลังขยายจึงต้องคิดทั้ง 2 เลนส์คูณกัน เช่นตรวจสอบวัตถุที่ใช้ oculars lens ขนาด 10 เท่า และใช้ objective lens ขนาด 40 เท่า จะมีกำลังขยาย = 10 เท่า 40 = 400 เท่า เป็นต้น

การเลือกใช้เลนส์ที่กำลังขยายใดขึ้นอยู่กับขนาดของวัตถุที่ต้องการศึกษา ถ้าต้องการศึกษาละเอียดของแบคทีเรียต้องใช้ objective lens ที่ 100 เท่า หรือเรียกว่าหัวน้ำมัน (oil-immersion oil)

หมายเหตุ : สังเกตขนาดผลึกใช้กำลังขยาย 4 เท่า และ 40 เท่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สมบัติทางเคมี

การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

หลักการ

เป็นการหาน้ำหนักที่เหลืออยู่หลังจากการระเหยน้ำและสารที่ระเหยได้ออกไปจากผลิตภัณฑ์ ภายใต้อุณหภูมิที่กำหนด

วิธีการ

1. อบกระป๋องอบความชื้น พร้อมฝาปิดในตู้อบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W1)
2. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนัก 5 กรัม ใส่ใน กระป๋องอบความชื้น ที่อบและชั่งน้ำหนักไว้เรียบร้อยแล้ว (W2)
3. นำกระป๋องอบความชื้น ที่ใส่ตัวอย่างแล้วไปอบในตู้อบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส หรือในตู้อบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 40±2 องศาเซลเซียส โดยเปิดฝาออก อบเป็นเวลานาน 4 ชั่วโมง
4. นำออกจากตู้อบโดยปิดฝาทันทีและทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นชั่งน้ำหนักไว้
5. นำเข้าอบต่ออีกครั้งละ 1 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ (W3) (น้ำหนักคงที่ หมายความว่า ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 2 มิลลิกรัม)
6. บันทึกข้อมูลและผลการคำนวณลงในแบบบันทึกผลการวิเคราะห์หาของแข็งทั้งหมด ดังนี้

วิธีการคำนวณ

ปริมาณความชื้น ร้อยละของน้ำหนัก = (W2 - W3) x 100 / (W2 - W1)

เมื่อ

W1 = น้ำหนักของ moisture can (กรัม)

W2 = น้ำหนักของ moisture can + น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W3 = น้ำหนักของ moisture can + น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

หมายเหตุ: ใช้ตู้อบสุญญากาศในการไล่ความชื้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ค่าวอเทอร์แอกทิวิตี

สภาวะแวดล้อม

1. ตั้งเครื่องไว้บนพื้นเรียบและแข็งแรง หลีกเลี่ยงการเคลื่อนย้ายเครื่อง
2. วางเครื่องไว้ในห้องที่มีสภาวะอุณหภูมิคงที่

การเตรียมตัวอย่าง

1. ใส่ตัวอย่างในตลับวัด water activity ประมาณ 1/3 ของตลับหรือไม่เกินครึ่งหนึ่งของตลับ (ประมาณ 7 มิลลิลิตร) เกลี่ยตัวอย่างให้ครอบคลุมทั่วทั้งตลับ เพื่อประสิทธิภาพในการวัด
2. ตรวจสอบให้แน่ชัดว่าที่ขอบริม และด้านนอกของตลับวัดสะอาด ห้ามมีตัวอย่างติดบริเวณขอบตลับวัด water activity
3. ตัวอย่างควรมีอุณหภูมิใกล้เคียงหรือต่างกันไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส ของอุณหภูมิ chamber ของเครื่องวัด water activity

การเปิดเครื่อง

1. เสียบปลั๊กเปิดเครื่องซึ่งอยู่ด้านหลังเครื่อง (แนะนำให้ใช้ปลั๊กที่มีการต่อสายดิน) วอร์มเครื่องประมาณ 30 นาที เพื่อให้การวัดมีประสิทธิภาพสูงสุด
2. นำตลับ water activity บรรจุลงสู่ลิ้นชักตัวอย่างด้วยความระมัดระวัง ห้ามให้ตัวอย่างหกหล่น
3. หมุนปุ่มของลิ้นชักในตำแหน่ง Open/Load ไปยังตำแหน่ง Read เครื่องจะเริ่มวัดค่า water activity เมื่อเครื่องเริ่มวัดจะมีสัญญาณเตือน 1 ครั้ง
4. เมื่อเครื่องวัดเสร็จใช้เวลาประมาณ 5-10 นาที จะมีสัญญาณเตือนถี่ๆ ให้อ่านค่า water activity และอุณหภูมิที่หน้าจอ
5. หมุนปุ่มของลิ้นชักในตำแหน่ง Read ไปยังตำแหน่ง Open/Load นำตลับออก
6. ถ้ามีตัวอย่างต่อไปให้ทำตามขั้นตอนเดิมตามลำดับ
7. เมื่อวัดเสร็จปิดเครื่องและดึงปลั๊กออก วิเคราะห์ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมด (AOAC, 2000)

สารเคมี

1. สารละลาย Fehling no. 1 : เตรียมโดยละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$) 69.278 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร
2. สารละลาย Fehling no. 2 : เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) จำนวน 100 กรัม และ โซเดียมโพแตสเซียมทาร์เทรท ($NaKC_4O_6.4H_2O$) 346 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร
3. สารละลาย ซิงค์ เฟอร์โรไซยาไนด์ ประกอบด้วยสารละลาย Carrez I&II

   สารละลาย Carrez I : เตรียมโดยละลาย ซิงค์ อะซิเตต ไดไฮเดรต 21.9 กรัม ในน้ำกลั่นที่มีกรดแอซิติก 3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวกปรับปริมาตร

   สารละลาย Carrez II : เตรียมโดยละลายโพแตสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ 10.6 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร
4. สารละลายไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6.34 M : เตรียมโดยตวง กรดไฮโดรคลอริก จำนวน 528.33 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น
5. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 M : เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 200 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น
6. สารละลายเมทิลีนบูลอินดิเคเตอร์ : เตรียมโดยละลายเมทิลีนบลู จำนวน 1 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์

1. ชั่งตัวอย่าง 3.0 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นพอประมาณเทลงในขวดปรับปริมาตร 250 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย Carrez I&II อย่างละ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ครบ 250 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที
3. กรองผ่านกระดาษกรอง Wathman เบอร์ 4
4. นำสารละลายที่กรองได้ใส่บิวเรต ขนาด 50 มิลลิลิตร ไล่ฟองอากาศในบิวเรตออกให้หมด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. ปิเปตสารละลาย Fehling no.1 และ 2 อย่างละ 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม glass bead ลงไป 8-10 เม็ด กรณีใช้ Hot plate ธรรมดาหรือใส่แท่งแม่เหล็ก กรณีใช้ Hot plate stirrer
6. ต้มสารละลายในขวดรูปชมพู่ให้เดือดบนตะเกียงบุนเซ็นหรือเตาไฟ เติมเมทิลีนบลูอินดิเคเตอร์ 1 หยด ไทเทรทจนเกิดตะกอนสีแดงส้ม สารละลายที่ใช้ในการไทเทรทต้องอยู่ในช่วง 15-51 มิลลิลิตร
7. ไทเทรทซ้ำ โดยปิเปตสารละลาย Fehling no. 1 และ 2 อย่างละ 5 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ ปล่อยสารละลายตัวอย่างจากบิวเรตลงในปริมาณที่ใกล้ถึงจุดยุติประมาณ 2-3 มิลลิลิตร
8. ต้มสารละลายในขวดรูปชมพู่ให้เดือด เติมเมทิลีนบลูอินดิเคเตอร์ 1 หยด ไทเทรทจนเกิดตะกอนสีแดงส้ม บันทึกปริมาตรที่ใช้ในการไทเทรท
9. นำไปเทียบหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายตัวอย่างจากตาราง และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์ก่อน (D_1)

การวิเคราะห์ซูโครส

1. ปิเปตสารละลายที่กรองได้จากการหาน้ำตาลรีดิวซ์มา 100 มิลลิลิตร หรือในปริมาณที่เหมาะสมกับตัวอย่าง ลงในขวดปรับปริมาตร ขนาด 200 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้น 6.34 M 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปแช่ใน wather bath ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว
3. ปรับส่วนผสมให้มีสภาพเป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 5 M แล้วปรับปริมาตร ให้ครบ 200 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ได้สารละลายตัวอย่างหลังการอินเวอร์ท
4. ทำการไตรเตรทเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำตาลรีดิวซ์ในข้อ 4-8 บันทึกปริมาตรที่ใช่ในกรไตรเตรท นำไปเทียบหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังอินเวอร์ท

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลซูโครส และน้ำตาลทั้งหมด

การคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (D_1)

เตรียมตัวอย่างน้ำผึ้ง 3.21 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร (แสดงว่าใช้ตัวอย่างน้ำผึ้งมีความเข้มข้น 1.284 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร) เมื่อไทเทรทกับ fehling 10 มิลลิลิตร พบว่าใช้สารละลายน้ำผึ้งในการไทเทรท 21.3 มิลลิลิตร นำค่าที่ได้ไปเทียบกับตารางน้ำตาล

สารละลายน้ำตาลที่ 21 มิลลิลิตร จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 242.9 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

สารละลายน้ำตาลที่ 22 มิลลิลิตร จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 231.8 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

ผลต่าง = 242.9 – 231.8 = 11.1 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

แสดงว่า สารละลายน้ำตาล 1 มิลลิลิตร มีผลต่าง 11.1 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

ดังนั้น ถ้าสารละลายน้ำตาล 0.3 มิลลิลิตร มีผลต่าง $\frac{0.3 \times 11.1}{1}$ = 33.3 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

นั้นคือ สารละลายน้ำตาลที่ 21.3 มิลลิลิตร

จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 242.9-33.3 = 239.57 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

จากการเตรียมตัวอย่างข้างต้น ใช้น้ำผึ้ง 1.284 กรัม ละลายน้ำให้ครบ 100 ml แสดงว่า

น้ำผึ้ง 1.284 กรัม มีน้ำตาลรีดิวซ์ 239.7 มิลลิกรัม

ถ้าน้ำผึ้ง 100 กรัม มีน้ำตาลรีดิวซ์ $\frac{239.7 \times 100}{1.284}$ = 18658 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

คิดเป็น % ของน้ำตาลรีดิวซ์ ในน้ำผึ้ง (D_1) = $\frac{18658}{1000}$ = 18.658%

แบบบันทึกผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ตัวอย่าง น้ำผึ้งดอกทางตะวันตกผลึก	ปริมาณตัวอย่าง ที่ใช้ไทเทรท	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์
ครั้งที่ 1		
ครั้งที่ 2		
ครั้งที่ 3		
เฉลี่ย		

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณหาปริมาณน้ำตาลหลัง อินเวอร์ท (D_2)

ปิเปตสารละลายน้ำผึ้งที่เตรียมครั้งแรกมา 100 มิลลิลิตร นำไปย่อยด้วยสารละลายกรดและปรับให้เป็นกลาง จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 200 มิลลิลิตร จากสารละลายน้ำผึ้ง 1.284 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร เมื่อปรับปริมาตรเป็น 200 มิลลิลิตร จะมีปริมาณน้ำผึ้งในสารละลายเท่ากับ 0.642 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร

เมื่อไตเตรทกับ Fehling 10 มิลลิลิตร พบว่าใช้สารละลายน้ำผึ้งในการไตเตรท 18.6 มิลลิลิตร นำค่าที่ได้ไปเทียบกับตารางน้ำตาล

สารละลายน้ำตาลที่ 18 มิลลิลิตร จะมีปริมาณน้ำตาลอินเวอร์ท 282.0 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

สารละลายน้ำตาลที่ 22 มิลลิลิตร จะมีปริมาณน้ำตาลอินเวอร์ท 267.0 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

ผลต่าง = 282.0 – 267.0 = 15 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

แสดงว่า สารละลายน้ำตาล 1 มิลลิลิตร มีผลต่าง 15 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

ดังนั้น ถ้าสารละลายน้ำตาล 0.6 มิลลิลิตร มีผลต่าง $\frac{0.6 \times 15}{1}$ = 9 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

นั้นคือ สารละลายน้ำตาลที่ 18.6 มิลลิลิตร

จะมีปริมาณน้ำตาลอินเวอร์ท 282-9 = 273 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

จากการเตรียมตัวอย่างข้างต้น ใช้น้ำผึ้ง 0.642 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร แสดงว่า

น้ำผึ้ง 0.642 กรัม มีน้ำตาลอินเวอร์ท 273 มิลลิกรัม

ถ้าน้ำผึ้ง 100 กรัม มีน้ำตาลอินเวอร์ท $\frac{273 \times 100}{0.642}$ = 42523 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

คิดเป็น % ของน้ำตาลอินเวอร์ท ในน้ำผึ้ง (D_2) = $\frac{42523}{1000}$ = 42.523 %

แบบบันทึกผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลอินเวอร์ท

ตัวอย่าง น้ำผึ้งดอกทางตะวันตกผลึก	ปริมาณตัวอย่าง ที่ใช้ไทเทรท	ปริมาณน้ำตาลอินเวอร์ท
ครั้งที่ 1		
ครั้งที่ 2		
ครั้งที่ 3		
เฉลี่ย		

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณหาปริมาณซูโครส และน้ำตาลทั้งหมด

จากสูตร

เปอร์เซ็นต์ซูโครส (S) = เปอร์เซ็นต์ของผลต่าง $(D_2 - D_1)$ x 0.95

เปอร์เซ็นต์น้ำตาลทั้งหมด = $D_1 - S$

แบบบันทึกผลการวิเคราะห์ปริมาณซูโครส และน้ำตาลทั้งหมด

ตัวอย่าง น้ำผึ้งดอกทางตะวันตกผลึก	ปริมาณซูโครส	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด
ครั้งที่ 1		
ครั้งที่ 2		
ครั้งที่ 3		
เฉลี่ย		

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณ และชนิดของน้ำตาลด้วยวิธี HPLC (AOAC, 2000)

ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง และการวัดปริมาณและชนิดของน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

1. ชั่งตัวอย่างน้ำผึ้ง 5 กรัม ลงในหลอดทดลอง
2. ผสมน้ำกลั่นให้ได้ 8 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่อง Vortex Mixer เพื่อผสมน้ำผึ้งและน้ำกลั่นให้เข้ากัน
3. เทใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
4. ล้างหลอดทดลองด้วยน้ำกลั่น 8 มิลลิลิตร โดยนำเข้าเครื่อง Vortex Mixer เพื่อล้างน้ำผึ้งจากหลอดทดลองให้หมด จากนั้นเทลงในขวดปรับปริมาตรในข้อ 3
5. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร แล้วเขย่าให้เข้ากัน
6. ดูดสารละลายใส่หลอดทดลอง 10 มิลลิลิตร
7. ใช้ syringe ขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายจากหลอดทดลองครั้งละ 1 มิลลิลิตร แล้วปล่อยทิ้ง เพื่อล้าง syringe 2 ครั้ง ในครั้งที่ 3 ดูดสารละลาย 1 มิลลิลิตรแล้วใส่ filter (Nylon 0.45 μm) เพื่อกรองแบคทีเรีย และกากต่างๆออก
8. ฉีดสารละลายลงใน vial แล้วปิดฝา จากนั้นนำเข้าเครื่อง HPLC เพื่อวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของน้ำตาล

แบบบันทึกผลการวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของน้ำตาล

	ชนิด	ปริมาณ		
		ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	เฉลี่ย
ตัวอย่าง	กลูโคส			
	ฟรักโทส			

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ค่า pH (pH meter รุ่น CG 842 schott)

การ Calibrate เครื่องวัดค่า pH

1. Auto Cal. TEC
   ใช้ Standard buffer 2.00; 4.00; 7.00; 10.00 ที่ 25 องศาเซลเซียส
2. Auto Cal. DIN
   ใช้ Standard buffer according to DIN 19266/NIST (give in pH)
3. Con Cal.
   ใช้ Standard buffer ตามต้องการ แต่ขณะ Cal. จะต้องป้องค่า standard โดยใช้ปุ่มลูกศรขึ้นลง เพื่อปรับค่าให้หน้าจอแสดงค่าตรงกับ standard ที่จุ่มอยู่

ขั้นตอนการ Calibrate

1. เปิดเครื่อง
2. กดปุ่ม Cal.
3. จุ่ม probe ลงใน Standard ตัวแรก (pH เป็นกลาง)
4. กดปุ่ม Run/Enter
5. รอสักครู่ หน้าจอตัวอักษร AR จะกระพริบ หลังจากนั้นหน้าจอจะแสดง - - 2 รอจนกว่า AR จะหยุดกระพริบ
6. นำ probe ล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วเช็ดเบาๆด้วยกระดาษชำระ
7. จุ่ม probe ลงใน standard ตัวที่ 2 อาจจะเป็นกรด หรือ ด่าง ขึ้นอยู่กับช่วงการใช้งาน ถ้าตัวอย่างที่จะวัดอยู่ในช่วง กรด-กลาง ให้ใช้ standard pH 4.00
8. รอประมาณ 30 วินาที กดปุ่ม Run/Enter รอจน AR หยุดกระพริบ
9. หน้าจอจะแสดงค่า slope - - XX.XX rnV/pH
10. กดปุ่ม Run/Enter เพื่อยอมรับค่าการ Cal. ใหม่
11. กดปุ่ม pH อีกครั้ง เพื่อเข้าสู่ Mode วัดปกติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัล (มอก. 470-2526)

สารเคมี

1. สารละลายกรดบาร์บิทูริก : โดยชั่งกรดบาร์บิทูริก 500 มิลลิกรัม ใส่ลงในขวดแก้วปริมาตร 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ซึ่งบรรจุน้ำ 70 ลูกบาศก์เซนติเมตร หลังจากนั้นนำไปตั้งบนอ่างน้ำเดือด คนเป็นระยะจนกระทั่งกรดบาร์บิทูริกละลายหมด ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร
2. สารละลายพาราโทลูอิดีน : โดยละลายพาราโทลูอิดีน 10 กรัม ใน 2-โพรพานอล 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร จากนั้นค่อยๆให้ความร้อนด้วยอ่างน้ำร้อน แล้วถ่ายลงขวดแก้วปริมาตร 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้หมด เติมกรดกลาเชียลอะซิติก 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทิ้งให้เย็น จึงเติม 2-โพรพานอล เพื่อปรับปริมาตรจนได้ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ถ่ายลงขวดแก้วสีชา ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดประมาณ 24 ชั่วโมง จึงสามารถนำไปใช้งานได้
3. น้ำกลั่น

เครื่องมือ

1. สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

การเตรียมตัวอย่าง

1. ละลายตัวอย่าง 10 กรัม ในน้ำกลั่น 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยไม่ต้องให้ความร้อน
2. ถ่ายตัวอย่างที่ละลายแล้วลงในขวดแก้วปริมาตร 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรจนได้ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร (ให้ใช้ตัวอย่างที่เตรียมใหม่ทุกครั้ง)

วิธีวิเคราะห์

1. ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่าง 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร สารละลายพาราโทลูอิดีน 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร และสารละลายกรดบาร์บิทูริก 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับใส่ลงในหลอดแก้วทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ผสมให้เข้ากัน
3. นำไปวัดค่าการดูดกลืนทันที ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร โดยใช้เซลล์ขนาด 1 เซนติเมตร บันทึกค่าการดูดกลืนสูงสุดไว้ (A_1)
4. ทำ Blank เช่นเดียวกัน บันทึกค่าการดูดกลืนสูงสุดไว้

วิธีการคำนวณ

ไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัล = $192(A_1 - A_0)$

แบบบันทึกผลการวิเคราะห์ปริมาณไฮดรอกซีเมทิลเฟอร์ฟิวรัล

ซ้ำ	C	U1	U2	U3	U4	U5	H1	H2	H3
1									
2									
3									
Avg									

<u>หมายเหตุ</u>

C = น้ำผลึกดอกทานตะวันตกผลึกเริ่มต้น

U = น้ำผลึกดอกทานตะวันที่ละลายผลึกด้วยอัลตราซาวด์กำลังสูง

U1 = แอมพลิจูด ร้อยละ 20

U2 = แอมพลิจูด ร้อยละ 25

U3 = แอมพลิจูด ร้อยละ 30

U4 = แอมพลิจูด ร้อยละ 25

U5 = แอมพลิจูด ร้อยละ 40

H = น้ำผึ้งดอกทานตะวันที่ละลายผลึกด้วยการแช่ในอ่างน้ำร้อน

H1 = 50 องศาเซลเซียส

H2 = 55 องศาเซลเซียส

H3 = 60 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณ Diastase activity (AOAC, 2000)

หลักการ

สารละลายบัฟเฟอร์ของน้ำผึ้ง และ starch บ่มในระยะเวลาที่เหมาะสมเพื่อให้ถึงจุด end point แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง ผลที่ได้แสดงค่าเป็น มิลลิลิตร ของ 1% starch ที่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ในน้ำผึ้ง 1 กรัม ในเวลา 1 ชั่วโมง

อุปกรณ์

1. Reaction vessel ยึด side arm ขนาด 18 x 175 มิลลิเมตร ติดกับหลอดทดลอง ขนาด 18 x 60 มิลลิเมตร ด้านล่างของ side arm อยู่ต่ำกว่าก้นหลอดทดลอง 100 มิลลิเมตร ก้นหลอดทำมุม 45 องศา
2. Photoelectric photometer ใช้ red filter ที่ 660 นาโนเมตร หรือ interference filter ที่ 600 นาโนเมตร และเซลล์ขนาด 1 เซนติเมตร

สารเคมี

1. Iodine stock solution : โดยละลาย KI 22.0 กรัม ในน้ำ 1 ลิตร จากนั้นดูดสารออกมา 30-40 มิลลิลิตร แล้วเติม I_2 8.80 กรัม
2. สารละลายไอโอดีน : ชั่ง KI 20 กรัม และสารละลายไอโอดีน 5 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ปรับ pH ด้วย $NaCH_3$ หรือ CH_3COOH ให้มี pH 5.3 (สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกวัน)
3. สารละลายแป้ง : ชั่งแป้งที่ละลายน้ำได้ 2 กรัม (เกรดสำหรับวัด diastase) ละลายในน้ำ 90 มิลลิลิตร ในกระบอกตวงขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นรีบให้ความร้อนจนถึงจุดเดือด คนบ่อยๆพร้อมลดความร้อน ทิ้งให้เดือดประมาณ 3 นาที ปิดฝา ตั้งทิ้งไว้จนเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง ถ่ายใส่ขวด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตร จากนั้นจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของ starch-I_2 blank

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทำมาตรฐาน

ปิเปตสารละลายแป้ง 5 มิลลิลิตร ลงในน้ำ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นปิเปตสารละลายที่ผสมเข้ากันแล้วนี้ 1 มิลลิลิตร ไปผสมกับสารละลายไอโอดีนเจือจาง 10 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง

การวิเคราะห์

1. ชั่งน้ำผึ้ง 5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 11-15 มิลลิลิตร และสารละลายบัฟเฟอร์ 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
2. เทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรจนครบ 25 มิลลิลิตร (สารละลายจะต้องมีสภาพเป็นบัฟเฟอร์ก่อนเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์)
3. ปิเปตสารละลายแป้ง 5 มิลลิลิตร ลงใน side arm ของหลอดทดลอง และเติมสารละลายน้ำผึ้ง 10 มิลลิลิตร ลงก้นหลอดทดลอง โดยพยายามไม่ให้ผสมกับสารละลายแป้ง นำหลอดไปแช่ในอ่างน้ำร้อน 15 นาที ที่ 40±0.2 องศาเซลเซียส แล้วทำการผสมโดยการกลับหลอดทดลองขึ้นลงหลายๆครั้ง เริ่มจับเวลาเมื่อผ่านไป 5 นาที ดูดสารละลาย (aliquot) ออกมา 1 มิลลิลิตร ด้วย serological pipet ขนาด 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายไอโอดีนเจือจาง 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตร จนครบ 50 มิลลิลิตร
4. นำไปทดสอบค่าการดูดกลืนแสงด้วย photometer บันทึกเวลาที่ได้ตั้งแต่ผสมน้ำแป้งและน้ำผึ้งจนถึงขั้นตอนการเติม aliquot ลงในไอโอดีน เรียกว่าเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา
5. เติม aliquot ครั้งละ 1 มิลลิลิตร จนกว่าจะได้ค่าการดูดกลืนแสงน้อยกว่า 0.235 จากตารางที่ ก-2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่สอดคล้องกับ end point time วิเคราะห์ซ้ำ

ตารางที่ ก-2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่ากรดูดกลืนแสงกับ end point times

ค่าการดูดกลืนแสง	End point (min)
0.70	>25
0.65	20-25
0.60	15-18
0.55	11-13
0.50	9-10
0.45	7-8

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณ

พล๊อตค่าการดูดกลืนแสงและระยะเวลา (นาที) ลงในกระดาษกราฟ ลากเส้นเชื่อมระหว่างจุดเป็นเส้นตรง โดยผ่านจุดต่างๆให้มากที่สุด จากกราฟคำนวณหาเวลาที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.235 นำเวลาที่ได้หารด้วย 300 จะได้ค่า Diastase number (DN)

แบบบันทึกผลการวิเคราะห์ปริมาณ เอนไซม์ไดแอสเทสแอกทิวิตี

ซ้ำ	C	U1	U2	U3	U4	U5	H1	H2	H3
1									
2									
3									
Avg									

หมายเหตุ

C = น้ำผลึกดอกทานตะวันตกผลึกเริ่มต้น

U = น้ำผลึกดอกทานตะวันที่ละลายผลึกด้วยอัลตราซาวด์กำลังสูง

U1 = แอมพลิจูด ร้อยละ 20

U2 = แอมพลิจูด ร้อยละ 25

U3 = แอมพลิจูด ร้อยละ 30

U4 = แอมพลิจูด ร้อยละ 25

U5 = แอมพลิจูด ร้อยละ 40

H = น้ำผึ้งดอกทานตะวันที่ละลายผลึกด้วยการแช่ในอ่างน้ำร้อน

H1 = 50 องศาเซลเซียส

H2 = 55 องศาเซลเซียส

H3 = 60 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

การเตรียมตัวอย่าง

1.ชั่งตัวอย่างน้ำผึ้ง

การวิเคราะห์โดยวิธีวิเคราะห์หาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

วิธี DPPH radical scavenging activity (Ferreiral *et al.*, 2009)

1. เตรียม DPPH ความเข้มข้น 6×10^{-5} mol/L

จาก g/M.W. = mol

โดย M.W. DPPH = 394.33 g/mol (สำหรับ DPPH ความเข้มข้น 85%)

จะได้ g = 394.33 (g/mol) × 6×10^{-5} (mol)

= 0.0236598 g

DPPH ความเข้มข้น 85 % เตรียม 0.0236598 g

ถ้าต้องการความเข้มข้น 100 % เตรียม = 1(100 x 0.0236598)/85

= 0.0278351 g (mol/L)

เตรียมปริมาตร 100 ml = (100 x 0.0278351)/1,000

= 0.00278 g

เตรียมสารละลาย DPPH โดย ละลาย DPPH 0.00278 g ลงใน methanol 100 ml พร้อมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm ที่ 0 นาที

2. ผสมตัวอย่างน้ำผึ้ง 0.3 ml กับ สารละลาย DPPH 2.7 ml เก็บไว้ในที่มืด 60 นาที
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm คำนวณค่า radical – scavenging activity (RSA) จากสูตร

$$\% \text{ RSA} = [(A_{DPPH} - As)/ A_{DPPH}] \times 100$$

เมื่อ As = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

A_{DPPH} = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) (Ferreiral *et al.*, 2009)

ผสมตัวอย่างน้ำผึ้ง 2.5 ml กับ 2.5 ml buffer pH 6.6 และ 2.5 ml 1% potassium ferricyanide บ่มที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 20 นาที

1. เติม 10% trichloroacetic acid 2.5 ml แล้วนำไปเหวี่ยงที่ 1000 rpm 8 นาที
2. ดูดของเหลวส่วนบนมา 5 ml ผสมกับ D.I. water 5 ml ผสมกับ 1% ferric chloride 1 ml นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 nm

   * ถ้าหากค่าการดูดกลืนแสงมีค่าสูง แสดงว่ามีค่า reducing power ที่สูง

การเตรียมสาร reducing power

1. 1% potassium ferricyanide

   ใช้ potassium ferricyanide 1 g + น้ำกลั่น 99 ml
2. 10% trichloroacetic acid

   ใช้ trichloroacetic acid 10 g + น้ำกลั่น 99 ml
3. 0.1% ferric chloride

   ใช้ ferric chloride 0.1 g + น้ำกลั่น 99 ml
4. เตรียม sodium phosphate buffer

   A: 0.2 M dibasic sodium phosphate ($Na_2HPO_4.2H_2O$) 7.5 g + น้ำกลั่น 1 L

   B: 0.2 M monobasic sodium phosphate ($Na_2H_2PO_4.2H_2O$) 8.9 g + น้ำกลั่น 1 L

   pH 6.6 = A 18.75 ml + B 31.25 ml

   ** ตรวจสอบ pH อีกครั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีวิเคราะห์ Diastase activity

คำจำกัดความ unit ของ D.A. (Gothe unit) หาได้จากปริมาณเอนไซม์ที่จะเปลี่ยน 0.01 g ของ starch จนกระทั่งถึง end point ที่กำหนดในเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 °C ผลแสดงด้วย Gothe unit ต่อ g น้ำผึ้ง

หลักการ Standard solution ของ starch ที่มีไอโอดีน ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ในตัวอย่าง ภายใต้สภาวะมาตรฐาน วัดค่าสีน้ำเงินที่ลดลง สร้างกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลา หา t_x ที่ต้องการให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 0.235

$$\text{Diastase Number} = 300/t_x$$

การเตรียมสารเคมี

1. NaCl solution : ละลาย NaCl 2.9 g ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วย volumetric flask ขนาด 100 ml
2. Acetate buffer solution (pH 5.3) : ละลาย 43.5 g ของ $CH_3COONa.3H_20$ ในน้ำ ปรับ pH ให้ได้ 5.3 โดยเติม 5 ml ของ glacial acetic acid ปรับปริมาตรให้ครบ 250 ml ด้วยน้ำกลั่น
3. Starch solution : ใช้ starch 2 g ละลายด้วยน้ำ 90 ml ให้ความร้อนอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งเดือด ลดอุณหภูมิลงและให้ความร้อนต่อ 3 นาที จากนั้นปิดฝาและทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วย volumetric flask ขนาด 100 ml
4. Iodine stock solution (a) : ละลาย I_2 11 g ด้วยน้ำ 30-40 ml เติม 2.2 g KI ลงไป เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนครบ 500 ml เก็บในขวดสีชา
5. Iodine solution 0.0007 M : ละลาย KI 20 g เติม 2 ml ของ iodine stock solution (a) แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 500 ml
   หมายเหตุ : ทำต่อวัน และต้องปิดฝาหลังใช้ทันที ระวังการสัมผัสกับอากาศ

อุปกรณ์

1. Water bath (40±0.2°c)
2. curvette (1 cm.)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. spectrophotometer
4. นาฬิกาจับเวลา

การเตรียมตัวอย่างน้ำผึ้ง : ชั่งน้ำผึ้ง 10 g ละลายด้วยน้ำกลั่น 15 ml เติม 5 ml ของ buffer ไม่ใช้ความร้อน จากนั้นถ่ายลงใน flask ขนาด 50 ml เติม 3 ml ของ NaCl solution ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 50 ml

Note: ควรปรับ pH น้ำผึ้งด้วย buffer ก่อน เพราะ Nacl ที่มี pH ต่ำกว่า 4 จะไปลด D.N. ของน้ำผึ้งลง การเตรียมตัวอย่างสามารถอยู่ได้ไม่กี่ชั่วโมง ควรเตรียมแล้วทดสอบทันที

1. การทำมาตรฐาน

ดูด 0.5 ml ของน้ำ 10 ml + สารละลายแป้ง 5 ml วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 nm

ทดสอบ starch ก่อน โดยใช้ 0.5 ml ของสารละลายแป้ง ผสมกับน้ำ 20, 21, 22, 23, 24 และ 25 ml

ผสม 5 ml ไอโอดีน วัดค่าการดูดกลืนแสง

* ถ้าค่าการดูดกลืนแสงน้อยกว่า 0.745 ในระดับน้ำ 20 ml หรือ มากกว่า 0.770 ในระดับ 25 ml แสดงว่า starch ใช้ไม่ได้

เลือกใช้ปริมาณน้ำที่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.745-0.770

2. การทดลอง

ปิเปตสารละลายน้ำผึ้ง 10 ml ใส่ลงใน flask 50 ml ให้ความร้อน 40°c 15 นาที

ปิเปตสารละลายแป้ง 10 ml ใส่ลงใน flask 50 ml ให้ความร้อน 40°c 15 นาที

ปิเปตสารละลายแป้ง 5 ml ที่ต้มแล้วใส่ลงในสารละลายน้ำผึ้ง 10 ml จับเวลา 5 นาที

เมื่อครบ 5 นาที ดูดสารละลาย ผสม 0.5 ml เติม 5 ml ไอโอดีน ปรับปริมาตรด้วยปริมาตรน้ำที่เลือกมา 1 ค่าจากข้อ 1.2 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 nm จนกว่าจะได้ค่าการดูดกลืนแสง 0.235

3. การทำ Blank

ตัวอย่างสารละลายน้ำผึ้ง 10 ml ผสมน้ำ 5 ml ดูดออกมา 0.5 ml

เติมน้ำให้เหมาะกับปริมาตรที่ใช้ ผสมไอโอดีนลงไป 5 ml

วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 nm

นำค่าที่ได้ไปพล๊อตกราฟ หาเวลาที่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.235 นำเวลาที่ได้ หารด้วย 300 จะได้ diastase number (Diastase Number = $300/t_x$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งดอกทานตะวันละลายผลึก

ชื่อ.....วันที่.....ชุดที่.....

คำชี้แจง กรุณาชิมตัวอย่าง และให้คะแนนความชอบตรงกับระดับความความชอบที่มีต่อผลิตภัณฑ์ และกรุณาบ้วนปากก่อนทดสอบตัวอย่างต่อไปทุกครั้ง

คำอธิบายระดับความชอบ

9 = ชอบมากที่สุด 8 = ชอบมาก 7 = ชอบปานกลาง 6 = ชอบน้อย
5 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 3 = ไม่ชอบปานกลาง
2 = ไม่ชอบ 1 = ไม่ชอบที่สุด

คุณลักษณะ	**ตัวอย่าง**	
สี		
กลิ่นรส		
กลิ่น		
ความชอบรวม		

ข้อเสนอแนะ

.....
.....
.....

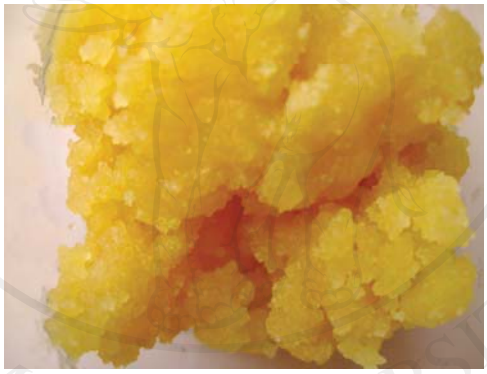
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

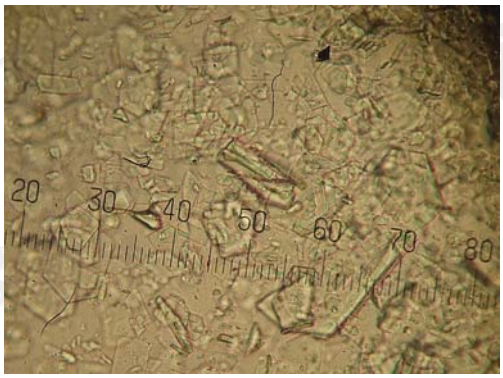
รูปภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ ค-1 ลักษณะการแยกชั้นระหว่างส่วนที่เป็นผลึกและส่วนที่เป็นของเหลวในน้ำผึ้งดอกทานตะวันตกผลึก



ภาพที่ ค-2 ลักษณะผลึกน้ำผึ้งดอกทานตะวัน ที่แยกออกมาจากส่วนที่เป็นของเหลว



ภาพที่ ค-3 ผลึกน้ำผึ้ง ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40 เท่า

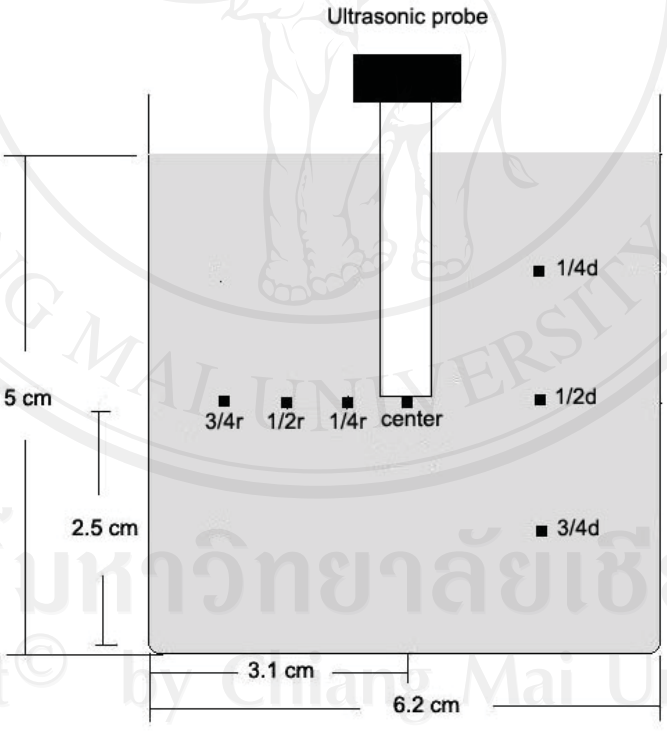
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ ค-4 น้ำผึ้งดอกทานตะวันที่ผ่านการละลายผลึกแล้ว

ภาพที่ ค-5 เครื่องกำเนิดอัลตราซาวด์ (High Intensity Ultrasonic Processer) รุ่น VC/VCX 130, 500, 750 ผลิตภัณฑ์ Sonic และการวัดอุณหภูมิด้วยเทอร์โมคัปเปิลในระหว่างละลายผลึก โดยการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ กำลังสูง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ ค-6 อัลตราซาวด์โพรบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร



ภาพที่ ค-7 ตำแหน่งติดตั้งสายเทอร์โมคัปเปิลในบีกเกอร์ (r = รัศมี, d = ความลึก)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล นางสาวรจเรจ นันตา

วัน เดือน ปี เกิด 20 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2529

ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย
โรงเรียนห้องสอนศึกษา
ปีการศึกษา 2546

สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร
คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยนเรศวร
ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved