



จิฬิสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา

อิชสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright[©] by Chiang Mai University
All rights reserved

1. การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

1.1 การตรวจสอบค่าสี

ตรวจสอบค่าสีโดยเครื่องวัดสี (HunterLab, model Color Quest XE, USA) วัดการเปลี่ยนสีด้วยระบบ CIE L, a^* , b^* , C และ H° โดยตั้งค่าการทำงานของเครื่อง ดังนี้

Model	:	Total transmission
Scale	:	CIE Lab และ CIE LCh
Illuminant	:	D 65
Observer	:	10°
MI Illuminant	:	Fcw

ค่า L คือ Lightness เป็นค่าความสว่าง มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100

L มีค่าเข้าใกล้ศูนย์ หมายถึง ตัวอย่างมีความสว่างน้อยจนเป็นสีคล้ำ

L มีค่าเข้าใกล้ 100 หมายถึง ตัวอย่างมีความสว่างมากจนเป็นสีขาว

ค่า a^* คือ Redness/Greenness เป็นค่าแสดงถึงความเป็นสีแดงหรือสีเขียวของวัตถุ

a^* มีค่าบวก หมายถึง ตัวอย่างมีสีแดง

a^* มีค่าลบ หมายถึง ตัวอย่างมีสีเขียว

ค่า b^* คือ Yellowness/Blueness เป็นค่าแสดงถึงความเป็นสีเหลืองหรือสีน้ำเงินของวัตถุ

b^* มีค่าบวก หมายถึง ตัวอย่างมีสีเหลือง

b^* มีค่าลบ หมายถึง ตัวอย่างมีสีน้ำเงิน

ค่า C คือ Chroma เป็นค่าแสดงถึงความเข้มของสี

C มีค่าเข้าใกล้ศูนย์ หมายถึง วัตถุมีความเข้มสีต่ำลงจนเป็นสีเทา

C มีค่าเพิ่มขึ้น หมายถึง วัตถุมีความเข้มสีเพิ่มมากขึ้น

ค่า H° คือ Hue angle เป็นค่าแสดงถึงสีที่แท้จริงที่ปรากฏให้เห็น ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง

0-360 องศา Hue angle แต่ละช่วงองศา แสดงสีแตกต่างกันดังนี้

0-45 องศา แสดงสีม่วงแดงถึงสีส้มแดง

45-90 องศา แสดงสีส้มแดงถึงสีเหลือง

90-135 องศา แสดงสีเหลืองถึงสีเหลืองเขียว

135-180 องศา แสดงสีเหลืองเขียวถึงสีเขียว

180-225 องศา แสดงสีเขียวถึงสีน้ำเงิน

225-270 องศา แสดงสีน้ำเงินเขียวถึงสีน้ำเงิน

270-315 องศา แสดงสีน้ำเงินถึงสีม่วง

2. การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids, °Brix) โดยใช้ Hand refractometer ตามวิธีของ (AOAC, 2000)

นำตัวอย่างประมาณ 1 มิลลิลิตร หยดลงบน Hand Refractometer กดปุ่ม start รอจนกว่าอักษร RRR ปรากฏแล้วกดปุ่ม start อีกครั้งจะดับนึกค่าที่ได้ในหน่วย °Brix

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total Solids, %) โดยใช้ตู้อบลมร้อน ตามวิธีของ (AOAC, 2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. กระป๋องอบความชื้น
2. ที่คีบกระป๋อง
3. ช้อนตักตัวอย่าง
4. โถดูดความชื้นที่มีสารดูดความชื้น เช่น ซิลิกาเจล
5. เครื่องซั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Satorius A120S, Germany)
6. ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้า (Memmert, Germany)

วิธีการวิเคราะห์

1. อบกระป๋องอบความชื้นพร้อมฝ่าในตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ $100 \pm 2^\circ\text{C}$ นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น นาน 30 นาที ชั่งน้ำหนัก (W_1) ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 5 กรัม ใส่ในกระป๋องอบความชื้นที่อบเรียบร้อยแล้ว และชั่งน้ำหนัก (W_2)
2. นำกระป๋องอบความชื้นพร้อมฝ่าโดยเปิดฝ่าออกไปอบที่ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้าที่ อุณหภูมิ $100 \pm 2^\circ\text{C}$ นาน 3 ชั่วโมง
3. นำกระป๋องอบความชื้นออกจากตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้า โดยปิดฝ่าทันที และทำให้เย็น ในโถดูดความชื้น นาน 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
4. นำไปอบต่ออีก 1 ชั่วโมง หรืออบจนได้น้ำหนักที่คงที่ (น้ำหนักที่คงที่หมายความว่า ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 2 มิลลิกรัม) (W_3) (วิวิล, 2546)

วิธีการคำนวณ

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

- เมื่อ $W1 =$ น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้น (กรัม)
 $W2 =$ น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้นและตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)
 $W3 =$ น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้นและตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

2.3 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตามวิธีของ (AOAC, 2000)

นำตัวอย่างประมาณ 10-15 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปรดค่าโดยใช้เครื่อง pH meter ยี่ห้อ sartorius ที่ทำการ calibration แล้วด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4.00 และ 7.00 ตามลำดับ โดยใช้ pH probe จุ่มลงในตัวอย่างเช่นทึบไว้จนหน้าจอแสดงคำว่า ready อ่านค่าที่ได้และบันทึกผล

2.4 วิเคราะห์ปริมาณกรดอะเซียติก (Asiatic acid) ด้วย HPLC ตามวิธีของ Inamdar (1996)

สารเคมี

- กรดอะเซียติก (asianic acid; Fluka analytical, France)
- เมทานอล (methanol HPLC Grade; Fisher Science, UK)
- อะซิโตไน ไตรเลชัน (acetonitrile; Lab scan analytical science, Germany)
- น้ำ (water HPLC grade; Lab-Scan analytical science)

การเตรียมตัวอย่าง

- นำตัวอย่างน้ำในบัวบกผงที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) 1 กรัม ละลายด้วยสารละลายผสมของเมทานอล:น้ำ อัตราส่วน 9:1 โดยปริมาตร ปริมาณ 10 มิลลิลิตร เป็นเวลา นาน 5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง
- นำสารละลายที่ได้ไปกรองด้วย Nylon syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วจึงนำไปวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC

Condition ของ HPLC – UV/Vis Detection Analyses

Column : C18 (GL Science Inc, Japan)

Reversed phase column : อะซิโตไน ไตรเลชัน (สารละลาย A) และน้ำ (สารละลาย B)

อัตราเร็ว : 1.4 มิลลิลิตรต่อนาที

อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง

ปริมาตรของตัวอย่างที่ฉีดเข้า column : 20 ไมโครลิตร

UV detector : 220 นาโนเมตร

การควบคุม mobile phase โดยใช้ระบบ gradient

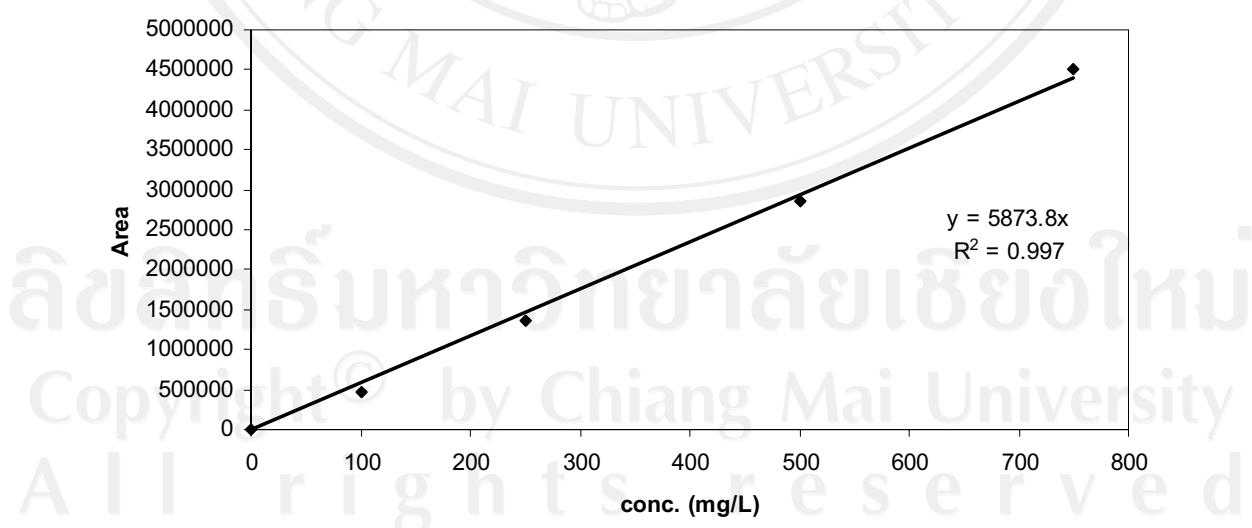
นาทีที่ 0 B ร้อยละ 80 A ร้อยละ 20

นาทีที่ 30 B ร้อยละ 45 A ร้อยละ 55

นาทีที่ 45 B ร้อยละ 80 A ร้อยละ 20

การสร้างกราฟมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายน้ำมาตรฐานกรดอะเซียติกด้วยสารละลายน้ำพสมของเมทานอล:น้ำอัตราส่วน 9:1 โดยปริมาตร ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้น 100 250 500 และ 750 มิลลิกรัมต่อลิตร
2. นำมารองด้วย Nylon syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร
3. นำสารละลายน้ำมาตรฐานกรดอะเซียติกไปนិគิเคราะห์ โดยใช้ HPLC
4. สร้างกราฟมาตรฐานของสารกรดอะเซียติก โดยการ plot กราฟระหว่างค่าพื้นที่ที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ HPLC (แกน Y) กับระดับความเข้มข้น (แกน X) แสดงกราฟมาตรฐานดังรูป 3.1



รูป ก. 1 กราฟมาตรฐานกรดอะเซียติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)

การคำนวณหาปริมาณกรดอะเซียติก

นำค่าที่อ่านได้จากสารละลายน้ำที่มีปริมาณกรดอะเซียติกที่เตรียมไว้ในขั้นตอนการสร้างกราฟ
มาตรฐาน มาคำนวณหาสูตรสมการเส้นตรงได้ดังนี้

$$y = 5873.8x \text{ โดย } R^2 = 0.997$$

โดย $y = \text{พื้นที่ที่อ่าน} \text{ ได้ของตัวอย่างกรดอะเซียติก}$

$x = \text{ปริมาณกรดอะเซียติกในตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)}$

จากนั้นนำค่า x ที่ได้มาคำนวณหาปริมาณกรดอะเซียติกในตัวอย่าง ต่อไป

ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะเซียติกในน้ำใบบัวบกสดด้วย HPLC เมื่อเทียบกับกราฟ
มาตรฐานพบปริมาณกรดอะเซียติกในน้ำใบบัวบกสดมีค่าเท่ากับ 205.18 มิลลิกรัมต่อลิตร
หมายถึง สารสกัดเจือจากปริมาตร 1000 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดอะเซียติก

$$= 205.18 \text{ มิลลิกรัม}$$

สารสกัดเจือจากปริมาตร 10 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดอะเซียติก $= (205.18 \times 10) / 1000$
 $= 2.052 \text{ มิลลิกรัม}$

โดยสารสกัดเจือจากปริมาตร 10 มิลลิลิตร สกัดจากตัวอย่างน้ำใบบัวบก 1 กรัมที่ผ่านการทำแท่งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแข็ง เชือกแข็ง และตัวอย่างน้ำใบบัวบก 1 กรัม ได้มาจากการน้ำใบบัวบกสด 27.25 มิลลิลิตร

ดังนั้น น้ำใบบัวบกสด 27.25 มิลลิลิตร จะมีปริมาณกรดอะเซียติก $= 2.052 \text{ มิลลิกรัม}$
เมื่อคำนวณให้อยู่ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตรนี้ ร้อยมิลลิลิตรจะได้ดังนี้

น้ำใบบัวบกสด 27.25 มิลลิลิตร มีปริมาณกรดอะเซียติก $= 2.052 \text{ มิลลิกรัม}$

น้ำใบบัวบกสด 100 มิลลิลิตร จะมีปริมาณกรดอะเซียติก $= (2.052 \times 100) / 27.25$

$$= 7.53 \text{ มิลลิกรัมต่อลิตร}$$

2.5 วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี (Vitamin C) ด้วย HPLC ตามวิธีของ Rodriguez *et al.*

(2002)

สารเคมี

1. กรดแอสคอร์บิก (L-ascorbic acid; Asia Pacific Specialty Chemicals, Australia)
2. เมทานอล (methanol HPLC grade; Fisher Science, UK)
3. กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid; Merck, Germany)
4. กรดอะเซติก (acetic acid; Lab scan analytical science)

การเตรียมสารเคมี

1. เตรียมกรดซัลฟูริก pH 2.2 โดยตวงน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำไปวัดค่า pH เริ่มต้น จากนั้นค่อยๆ หยดกรดซัลฟูริกเข้มข้นลงไปในน้ำกลั่น จนกระทั่งค่า pH ในน้ำกลั่นลดลงเหลือเท่ากับ 2.2

2. เตรียมกรดอะซิติก 0.1 โมลาร์ โดยปีเปตกรดอะซิติกที่มีความเข้มข้น 99.99% ปริมาตร 5.87 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร

การเตรียมตัวอย่าง

1. นำตัวอย่างน้ำใบบัวบกผงที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) 1 กรัม สักด้วยกรดซัลฟูริก pH 2.2 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เบย่าแรงๆ ให้เข้ากัน

2. กรองสารสักดี้ได้ด้วย Nylon syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร แล้วจึงนำไปวินิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC

Condition ของ HPLC – UV/Vis Detection Analyses

Column : C18 (GL Science Inc, Japan)

Reversed phase column : กรดอะซิติก 0.1 โมลาร์ (สารละลายน้ำ A)

และเมทานอล (สารละลายน้ำ B)

อัตราเร็ว : 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที

อุณหภูมิ : 30°C

ปริมาตรของตัวอย่างที่ฉีดเข้า column : 20 ไมโครลิตร

UV detector : 250 นาโนเมตร

การสร้างกราฟมาตรฐาน

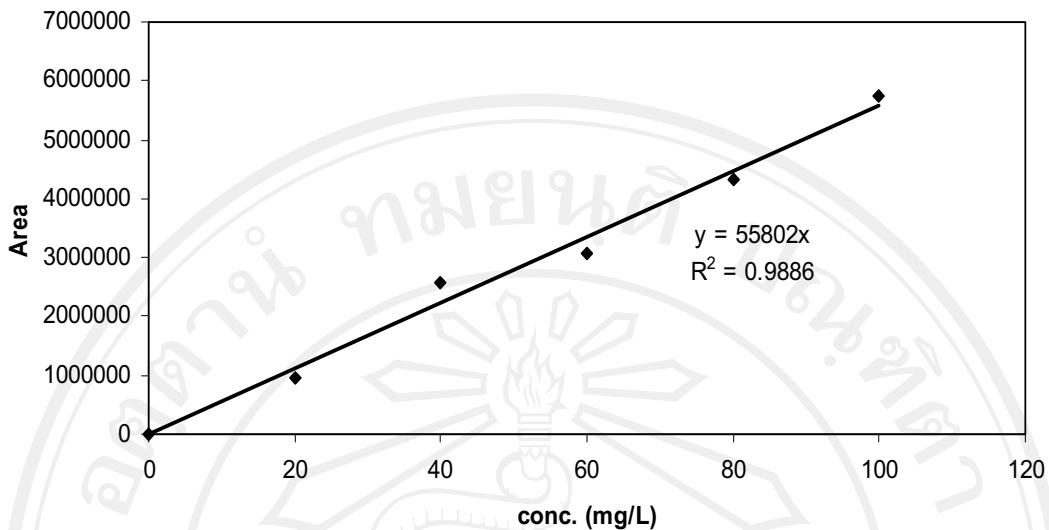
1. เตรียมสารละลายน้ำมาตรฐานกรดแอกโซอร์บิกด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก pH 2.2 ให้มีความเข้มข้น 20 40 60 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. นำมากรองด้วย Nylon syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

3. นำสาร Standards ไปฉีดวิเคราะห์ โดยใช้ HPLC

3. นำสารละลายน้ำมาตรฐานกรดแอกโซอร์บิกไปฉีดวิเคราะห์ โดยใช้ HPLC

4. สร้างกราฟมาตรฐานของสารกรดแอกโซอร์บิก โดยการ plot กราฟระหว่างค่าพื้นที่ที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ HPLC (แกน Y) กับระดับความเข้มข้น (แกน X) แสดงกราฟมาตรฐานดังรูป



รูป ก. 2 กราฟมาตรฐานวิตามินซี (มิลลิกรัมต่อลิตร)

การคำนวณหาปริมาณวิตามินซี

นำค่าที่อ่านได้จากสารละลายมาตรฐานกรดแอกโซอร์บิกที่เตรียมไว้ในขั้นตอนการสร้างกราฟมาตรฐาน มาคำนวณหาสูตรสมการเส้นตรงได้ ดังนี้

$$y = 55802x \text{ โดยที่ } R^2 = 0.9886$$

โดย y = พื้นที่ที่อ่านได้ของตัวอย่างวิตามินซี

x = ปริมาณวิตามินซีในตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)

จากนั้นนำค่า x ที่ได้มาคำนวณหาปริมาณวิตามินซีในตัวอย่าง ต่อไป

ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในน้ำใบบัวบกสดด้วย HPLC เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานพบปริมาณวิตามินซีในน้ำใบบัวบกสดมีค่าเท่ากับ 70.97 มิลลิกรัมต่อลิตร

หมายถึง สารสกัดเจือจากปริมาตร 1000 มิลลิลิตร มีปริมาณวิตามินซี

$$= 70.97 \text{ มิลลิกรัม}$$

สารสกัดเจือจากปริมาตร 10 มิลลิลิตร มีปริมาณวิตามินซี

$$= (70.97 \times 10) / 1000$$

$$= 0.71 \text{ มิลลิกรัม}$$

โดยสารสกัดเจือจากปริมาตร 10 มิลลิลิตร สกัดจากตัวอย่างน้ำใบบัวบก 1 กรัมที่ผ่านการทำแท่งด้วยเครื่องอบแท่งแบบแข็ง เชือกแข็ง และตัวอย่างน้ำใบบัวบก 1 กรัม ได้มาจากน้ำใบบัวบกสด 27.25 มิลลิลิตร

$$\begin{aligned}
 \text{ดังนั้น นำใบบัวบกสด } 27.25 \text{ มิลลิกรัม จะมีปริมาณวิตามินซี} &= 0.71 \text{ มิลลิกรัม} \\
 \text{เมื่อคำนวณให้ออยู่ในหน่วยมิลลิกรัมต่อหนึ่งร้อยมิลลิกรัมจะได้ดังนี้} \\
 \text{นำใบบัวบกสด } 27.25 \text{ มิลลิกรัม มีปริมาณวิตามินซี} &= 0.71 \text{ มิลลิกรัม} \\
 \text{นำใบบัวบกสด } 100 \text{ มิลลิกรัม จะมีปริมาณวิตามินซี} &= (0.71 \times 100) / 27.25 \\
 &= 2.60 \text{ มิลลิกรัมต่อหนึ่งร้อยมิลลิกรัม}
 \end{aligned}$$

2.6 วิเคราะห์ปริมาณแครอทีนอยด์ ด้วย UV-Vis Spectrophotometer ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC (2000)

สารเคมี

1. เบต้าแครอทีนมาตรฐาน (Standard β -carotene ; Fluka analytical, France)
2. คลอโรฟอร์ม (Chloroform AR Grade; Carlo, Italy)
3. เอ็กเซน (Hexane AR Grade; Lab scan analytical science)
4. อัซตีโตน (Acetone AR Grade; Fisher scientific)

การเตรียมสารเคมี

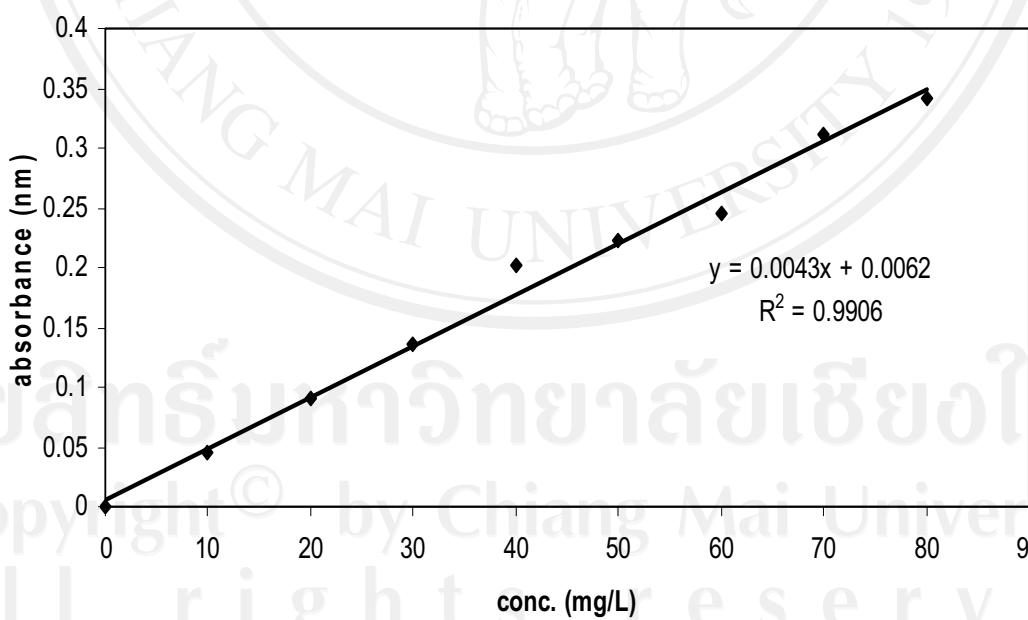
เตรียมสารพสมอะซีโตนความเข้มข้น 10% ในเอกเซน โดยปีเปตอะซีโตน 10 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยเอกเซนให้ครบ 100 มิลลิลิตร

การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างนำใบบัวบกผงที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) 1 กรัม สะัดด้วยตัวทำละลายพสมอะซีโตน 10% ในเอกเซน 90% นำไปกวานบนเครื่อง hot plate stirrer นาน 10 นาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 แยกกาเกน้ำใบบัวบกผงกับส่วนใส โดยเก็บส่วนใสในรายແยกขนาด 250 มิลลิลิตร ล้างกาเกน้ำใบบัวบกผงด้วยอะซีโตน 25 มิลลิลิตร ซ้ำ 2 ครั้ง และเอกเซน 25 มิลลิลิตร อีก 1 ครั้ง นำส่วนใสของอะซีโตนและเอกเซนที่ใช้ล้างกาเกน้ำใบบัวบกผง ไปรวมกับส่วนแรกที่อยู่ในรายແยก ทำการล้างแยกເອาอะซีโตนออกด้วยน้ำกลั่นครั้งละ 100 มิลลิลิตร 5 ครั้ง แยกส่วนของน้ำที่มีอะซีโตนพสมอยู่ออกจากส่วนที่เป็นเอกเซนที่มีสารแครอทีนอยด์ละลายอยู่ นำสารพสมแครอทีนอยด์ในเอกเซนไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 2 นำสารที่กรองได้ไประเหยในตู้ดูดควันจนแห้ง และนำสารที่ระเหยแห้งแล้วมาละลายด้วยสารละลายพสมอะซีโตนความเข้มข้น 10% ในเอกเซน ปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์โดยใช้เครื่องสเปกโตก็อฟตومิเตอร์ (Rotina 46R, Germany) ที่ความยาวคลื่น 450 nm จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณสารแครอทีนอยด์โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของเบتاแครอทีน

การสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ชั่งสารมาตรฐานเบตาแครอทีน 0.005 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ ขนาด 50 มิลลิลิตร ละลายสารมาตรฐานด้วยคลอโรฟอร์มจำนวน 2.5 มิลลิลิตร
2. ปรับปริมาตรสารละลายในข้อ 1 ด้วยเชกเชนให้ครบ 50 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
3. ปีเปตสารละลายในข้อ 2 มา 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยเชกเชน ให้ครบ 50 มิลลิลิตร
4. ปีเปตสารละลายในข้อ 3 มา 1 2 3 4 5 6 7 และ 8 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ โดยใช้สารละลายผสมอะซีโตน 10% กับเชกเชน 90%
5. นำสารละลายเบتاแครอทีนมาตรฐานในข้อ 4 มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายผสมอะซีโตน 10% กับ เชกเชน 90% เป็น blank บันทึกค่าที่วัดได้
6. สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายเบตาแครอทีน โดยการ plot กราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากการตรวจเคราะห์ (แกน Y) กับระดับความเข้มข้น (แกน X) แสดงกราฟมาตรฐานดังรูป 3.3



รูป ก. 3 กราฟมาตรฐานสารแครอทีนอยด์ (มิลลิลิตรส่วนมูลของเบตาแครอทีนต่อลิตร)

การคำนวณหาปริมาณแคร์ทีนอยด์
นำค่าที่อ่านได้จากสารละลายน้ำมาราฐานเบตาแคร์ทีนที่เตรียมไว้ในขั้นตอนการสร้างกราฟ
มาตราฐาน มาคำนวณหาสูตรสมการเส้นตรงได้ดังนี้

$$y = 0.0043x + 0.0062 \text{ โดยที่ } R^2 = 0.9906$$

โดย y = ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้ของตัวอย่างแคร์ทีนอยด์

x = ปริมาณแคร์ทีนอยด์ในตัวอย่าง (มิลลิลิตรสมมูลของเบتاแคร์ทีนต่อลิตร)

จากนั้นนำค่า x ที่ได้มาคำนวณหาปริมาณแคร์ทีนอยด์ในตัวอย่างต่อไป

ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์หาปริมาณแคร์ทีนอยด์ในน้ำในบัวบกสดด้วยเครื่อง Spectrophotometer เมื่อเทียบกับกราฟมาตราฐานพบปริมาณแคร์ทีนอยด์ในน้ำในบัวบกสดมีค่าเท่ากับ 33.96 มิลลิลิตรสมมูลของเบตาแคร์ทีนต่อลิตร

หมายถึง สารสกัดเจื้องปรมิมาตรฐาน 1000 มิลลิลิตร มีปริมาณแคร์ทีนอยด์ = 33.96 มิลลิกรัม
สารสกัดเจื้องปรมิมาตรฐาน 50 มิลลิลิตร มีปริมาณแคร์ทีนอยด์ = $(33.96 \times 50) / 1000$
= 1.70 มิลลิกรัม

โดยสารสกัดเจื้องปรมิมาตรฐาน 50 มิลลิลิตร สกัดจากตัวอย่างน้ำในบัวบก 1 กรัมที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแข็ง เชือกแข็ง และตัวอย่างน้ำในบัวบก 1 กรัม ได้มามาก
น้ำในบัวบกสด 27.25 มิลลิลิตร

ดังนั้น น้ำในบัวบกสด 27.25 มิลลิลิตร จะมีปริมาณแคร์ทีนอยด์ = 1.70 มิลลิกรัม
เมื่อคำนวณให้อยู่ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร ร้อยมิลลิลิตรจะได้ดังนี้
น้ำในบัวบกสด 27.25 มิลลิลิตร มีปริมาณแคร์ทีนอยด์ = 1.70 มิลลิกรัม
น้ำในบัวบกสด 100 มิลลิลิตร จะมีปริมาณแคร์ทีนอยด์ = $(1.70 \times 100) / 27.25$

= 6.23 มิลลิกรัมสมมูลของเบตาแคร์ทีนต่อลิตร

2.7 วิเคราะห์ปริมาณคลอร์ฟิลล์ทั้งหมด ด้วย UV-Vis Spectrophotometer ตามวิธีของ

Mahanom *et al.* (1999)

สารเคมี

1. แคลเซียมคาร์บอนเนต (Merck, Germany)

2. อะซีโตน (Acetone AR Grade; Fisher scientific)

การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างน้ำใบบัวบกผงที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแข็งเยือกแข็ง (freeze dry) 1 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง เดิมแคลเซียมคาร์บอเนต (Merck, Germany) 0.2 กรัม และสารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 80% ปริมาณ 10 มิลลิลิตร เขย่านาน 3 นาที นำไปเทวิ่งด้วยเครื่องหมุน เทวิ่งหนีสูนย์กลางด้วยความเร็ว 4,200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่า การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ คำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ดังสมการต่อไปนี้ (Marcano *et al.*, 2007)

$$\text{Chl a} (\text{ไมโครกรัมต่อกรัม}) = \frac{((12.7 \times \text{Abs}_{663}) - (2.6 \times \text{Abs}_{645})) \times \text{ปริมาตรของอะซิโตน}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

$$\text{Chl b} (\text{ไมโครกรัมต่อกรัม}) = \frac{((22.9 \times \text{Abs}_{645}) - (4.68 \times \text{Abs}_{663})) \times \text{ปริมาตรของอะซิโตน}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

$$\text{Total chlorophyll} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

การคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด

สารละลายตัวอย่าง มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 663 นาโนเมตร เท่ากับ 7.158

สารละลายตัวอย่าง มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 645 นาโนเมตร เท่ากับ 2.685

$$\begin{aligned} \text{คลอโรฟิลล์ a} (\text{ไมโครกรัมต่อกรัม}) &= ((12.7 \times 7.158) - (2.6 \times 2.685)) \times 10 \\ &= 839.26 \text{ ไมโครกรัมต่อกรัม} \\ &= 0.84 \text{ มิลลิกรัมต่อกรัม} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{คลอโรฟิลล์ b} (\text{ไมโครกรัมต่อกรัม}) &= ((22.9 \times 2.685) - (4.68 \times 7.158)) \times 10 \\ &= 279.87 \text{ ไมโครกรัมต่อกรัม} \\ &= 0.28 \text{ มิลลิกรัมต่อกรัม} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด} &= 0.84 + 0.28 \\ &= 1.12 \text{ มิลลิกรัมต่อกรัม} \end{aligned}$$

โดยปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้มาจากการตัวอย่างน้ำในบัวบกผง 1 กรัมที่ผ่านการทำแท่งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และตัวอย่างน้ำในบัวบกผง 1 กรัม ได้มาจากน้ำในบัวบกสด 27.25 มิลลิลิตร

ดังนั้น น้ำในบัวบกสด 27.25 มิลลิลิตร จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด = 1.12 มิลลิกรัม

เมื่อคำนวณให้อยู่ในหน่วยมิลลิกรัมต่อหนึ่งร้อยมิลลิลิตรจะได้ดังนี้

น้ำในบัวบกสด 27.25 มิลลิลิตร มีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด = 1.12 มิลลิกรัม

น้ำในบัวบกสด 100 มิลลิลิตร จะมีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด = $(1.12 \times 100) / 27.25$

= 4.11 มิลลิกรัมต่อหนึ่งร้อยมิลลิลิตร

2.8 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบพืโนอลทั้งหมด ด้วย UV-Vis Spectrophotometer ตามวิธีของ Ketsa et al. (1998)

สารเคมี

- สารละลายน้ำครามาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid; Purum AR, 100 gm : Fluka, Germany)
- เอทานอล (ethanol; Fisher Scientific, UK)
- ฟอลิน ซิโอดีคลูรี (Folin-ciocalteu reagent; Merck, Germany)
- โซเดียมคาร์บอนเนตแอนไฮดรัส (sodium carbonate anhydrous; Merck, Germany)

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายน้ำ ethanol เย็นความเย็นขั้น 80% เตรียมโดยตวงเอทานอล ความเย็นขั้น 95% ปริมาตร 210.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 250 มิลลิลิตร

2. สารฟอลิน ซิโอดีคลูรี ความเย็นขั้น 10% เตรียมโดยปีเปตสารฟอลิน ซิโอดีคลูรี ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

3. สารละลายน้ำโซเดียมคาร์บอนเนตแอนไฮดรัส ความเย็นขั้น 7.5% เตรียมโดยชั่งโซเดียมคาร์บอนเนตแอนไฮดรัส 7.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

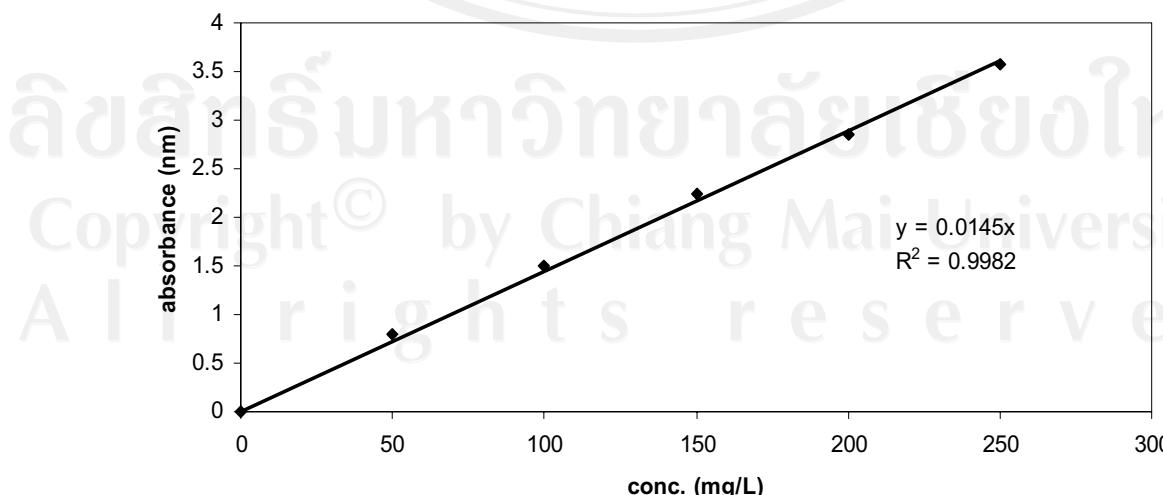
4. สารละลายน้ำครามาตรฐานกรดแกลลิก เตรียมโดยชั่งกรดแกลลิก 0.01 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

การเตรียมตัวอย่าง

1. นำตัวอย่างน้ำในบัวบกผงที่ผ่านการทำแท่งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) 1 กรัม ใส่ในโกร่งบดที่แช่เย็นแล้ว

2. เติมเอทานอลเย็นความเย็นขั้น 80% ปริมาตร 12 มิลลิลิตร บดให้เข้ากัน

3. นำไปเทวีงด้วยเครื่องหมุนเทวีงหนีสูนย์กลางที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C
4. ปีเปตของเหลวใสที่ได้มานิลลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 10 มิลลิลิตร
5. ปีเปตสารละลายนิข้อ 4 มา 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลายนอกินซิโอลแคลตตูร์ ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมแล้ววางไว้เป็นเวลา 8 นาที
6. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอนเนตแอนไฮดรัส ความเข้มข้น 7.5% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมแล้ววางไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
7. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร
- การสร้างกราฟมาตรฐาน**
1. ปีเปตสารละลายนมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50, 100, 150, 200 และ 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง
 2. เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรรวมเท่ากัน 500 ไมโครลิตร
 3. เติมสารละลายนอกินซิโอลแคลตตูร์ ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมแล้ววางไว้เป็นเวลา 8 นาที
 4. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอนเนตแอนไฮดรัส ความเข้มข้น 7.5% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมแล้ววางไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
 5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร
 6. สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำกรดแกลลิกโดยการ plot กราฟระหว่างค่าพื้นที่ที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ (แกน Y) กับระดับความเข้มข้น (แกน X) แสดงกราฟมาตรฐานดังรูป 3.4



รูป ก. 4 กราฟมาตรฐานสารประกอบฟีโนอลทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อลิตร)

การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมด

นำค่าที่อ่านได้จากสารละลามาตรฐานกรดแกลลิกที่เตรียมไว้ในขั้นตอนการสร้างกราฟ มาตรฐาน นำคำนวณหาสูตรสมการเส้นตรงได้ดังนี้

$$y = 0.0145x \text{ โดยที่ } R^2 = 0.9982$$

โดย y = ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้ของตัวอย่างสารประกอบฟีโนอลทั้งหมด

x = ปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมดในตัวอย่าง (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อลิตร)

จากนั้นนำค่า x ที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมดในตัวอย่างคือไป

ตัวอย่าง จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมดในน้ำในบัวนกสุดด้วยเครื่อง Spectrophotometer เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานพนบุญปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมดในน้ำในบัวนกสุดมีค่าเท่ากับ 154.04 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อลิตร แต่เนื่องจากในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์มีการเจือจางน้ำในบัวนกสุดลง 100 เท่า ดังนั้นปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมดในน้ำในบัวนกสุดจึงมีค่าเท่ากับ 154.04×100

$$= 15,404 \text{ มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อลิตร}$$

หมายถึง สารสกัดเจือจางปริมาตร 1000 มิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมด
 $= 15,404 \text{ มิลลิกรัม}$

สารสกัดเจือจางปริมาตร 10 มิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมด
 $= (15,404 \times 10) / 1000$
 $= 154.04 \text{ มิลลิกรัม}$

โดยสารสกัดเจือจางปริมาตร 10 มิลลิลิตร สกัดจากตัวอย่างน้ำในบัวนก 1 กรัมที่ผ่านการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแข็ง เชือกแข็ง และตัวอย่างน้ำในบัวนก 1 กรัม ได้มาจากน้ำในบัวนกสุด 27.25 มิลลิลิตร

ดังนั้น น้ำในบัวนกสุด 27.25 มิลลิลิตร จะมีปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมด
 $= 154.04 \text{ มิลลิกรัม}$

เมื่อคำนวณให้อยู่ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตรจะได้ดังนี้
 น้ำในบัวนกสุด 27.25 มิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมด = 154.04 มิลลิกรัม
 น้ำในบัวนกสุด 100 มิลลิลิตร จะมีปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมด
 $= (154.04 \times 100) / 27.25$
 $= 565.30 \text{ มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อลิตร}$

3. การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) ตามวิธีของ BAM (2000)

อุปกรณ์ และเครื่องมือ

1. จานเพาะเชื้อที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว
2. ปีปตที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
3. ตู้บ่อม (Incubator; Termaks, Norway) อุณหภูมิ 35-37°ซ

อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารละลายเจือจาง

1. peptone water 0.1% (Merck, Germany)
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA; Merck, Germany)

วิธีการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่าง 25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดดูแรนที่มีสารละลาย peptone water ความเข้มข้น 0.1% จำนวน 225 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนาน 1-2 นาที
2. ทำการเจือจางอาหาร โดยปีเปตนาด 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย peptone water ความเข้มข้น 0.1% หลอดละ 9 มิลลิลิตร จะได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม
3. ใช้ปีเปตนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายเจือจางที่เตรียมไว้ในข้อ 2 ที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสมจำนวน 3 ระดับ ความเข้มข้นที่ติดกัน จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเชื้อ โดยทำ duplicate
4. เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA อุณหภูมิ 44-46°ซ ประมาณ 12-15 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเชื้อ เขย่าจากให้สารละลายอาหารกระจายทั่วจานเพาะเชื้อ
5. ปล่อยให้อาหารวุ่นแข็งตัว กว่าจานเพาะเชื้อ แล้วนำไปบ่อมในตู้บ่อมอุณหภูมิ 35-37°ซ นาน 48±3 ชั่วโมง
6. นับจำนวนโโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โโคโลนี คำนวนค่า CFU/mL ได้จากสูตร

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

เมื่อ $\sum C$ = ผลรวมของโโคโลนีที่นับได้ทั้งหมดจากจานเพาะเชื้อที่นับได้ ในช่วง 25-250 โโคโลนี

v_1 = ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ

n1	=	จำนวนงานเพาะเชื้อที่นับโคลนีได้ในช่วง 25-250 โคลนี ในระดับความเข้มข้นแรก
n2	=	จำนวนงานเพาะเชื้อที่นับโคลนีได้ในช่วง 25-250 โคลนี ในระดับความเข้มข้นที่ 2
d	=	ระดับความเข้มข้นแรกที่สามารถคุณนับเชื้อได้ในช่วง 25-250 โคลนี

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณยีสต์ และรา ตามวิธีของ BAM (2000)

อุปกรณ์ และเครื่องมือ

1. งานเพาะเชื้อที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว
 2. ปีเปตที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
 3. ตู้บ่ม (Incubator; Termaks, Norway) อุณหภูมิ 22-25°ซ
- อาหารเตี้ยงเชื้อ และสารละลายเจือจาง

1. peptone water 0.1% (Merck, Germany)
2. อาหารเตี้ยงเชื้อ Plate Dextrose Agar (pH 3.5) (Merck, Germany)
3. กรดทาร์ทาริก 10% (Tartaric acid; Merck, Germany)

วิธีการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่าง 25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดคูแรงที่มีสารละลาย peptone water ความเข้มข้น 0.1% จำนวน 225 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนาน 1-2 นาที
2. ทำการเจือจางโดยปีเปตมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย peptone water ความเข้มข้น 0.1% หลอดละ 9 มิลลิลิตร จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม
3. ใช้ปีเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายจากข้อ 2 ที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสมจำนวน 3 ระดับ ความเข้มข้นที่ติดกัน จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในงานเพาะเชื้อ โดยทำ duplicate
4. เติมอาหารเตี้ยงเชื้อ PDA ที่ปรับ pH เป็น 3.5 ด้วยกรดกรดทาร์ทาริก อุณหภูมิ 44-46°ซ ประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ใส่ในงานเพาะเชื้อ เขย่างานให้สารละลายอาหารกระจายทั่วงานเพาะเชื้อ
5. ปล่อยให้อาหารรุนแรงตัว แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 25-30°ซ นาน 72 ± 3 ชั่วโมง
6. นับจำนวนโคลนีจากงานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคลนีอยู่ระหว่าง 15-150 โคลนี คำนวณค่า CFU/mL ได้จากสูตรเดียวกับการหาจำนวนปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 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 ว่าอยู่ระหว่างมากกว่า 5 โดยถ้าเลขน้อยกว่า 5 ให้ปัดลง เช่น $445 = 440$ แต่ถ้าเลขหลักที่ 2 มากกว่าหรือเป็น 5 ให้ปัดขึ้น เช่น $455 = 460$
4. กรณีที่ไม่พบโโคโนนีของเชื้อขึ้นเลยทุกระดับความเข้มข้น ให้รายงานว่าพบเชื้อยีสต์และราน้อยกว่า 1 คุณด้วยระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณ coliform bacteria และ *Escherichia coli* โดยวิธี MPN BAM (2000)

อุปกรณ์ และเครื่องมือ

1. หลอดทดลองขนาด 16×150 มิลลิเมตร
2. หลอดดักก้าช (Durham tube)
3. ปีเปตที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
4. ตู้บ่อมเชื้อ (Incubator; Termaks, Norway) อุณหภูมิ 35°C

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายเจือจาง

1. peptone water ร้อยละ 0.1 (Merck, Germany)
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Sulfate Tryptose Broth (Merck, Germany)
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green Lactose Bile Broth 2% (Merck, Germany)

วิธีการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่าง 25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดดูแรนที่มีสารละลาย peptone water ความเข้มข้น 0.1% จำนวน 225 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนาน 1-2 นาที
2. ทำการเจือจางโดยปีเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย peptone water ความเข้มข้น 0.1% หลอดละ 9 มิลลิลิตร จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม
3. ใช้ปีเปตขนาด 1 มิลลิลิตร คูณสารละลายเจือจางที่เตรียมไว้ในข้อ 2 ที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสมจำนวน 3 ระดับ ความเข้มข้นที่ติดกัน ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Sulfate Tryptose Broth หลอดละ 1 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 หลอด
4. นำไปบ่อมที่อุณหภูมิ 35°C นาน 48 ± 2 ชั่วโมง โดยตรวจดูการเกิดก้าชหลังการบ่มเพียงเชื้อที่เวลา 24 ± 2 ชั่วโมง ถ้าไม่มีก้าชเกิดขึ้นให้นำไปบ่มเพิ่มอีก 24 ชั่วโมง แล้วตรวจดูการเกิดก้าชอีกรอบ ถ้ามีก้าชเกิดขึ้นนำไปทดสอบเพื่อยืนยันผลต่อ

5. นำหลอดทดลองจากข้อ 4 ที่มีก้าชเกิดขึ้นมาเทย่างๆ แล้วใช้ห่วงเขี่ยเชือซึ่งแพ้าไฟม่าเชือ แล้ว ทำการถ่ายเชือลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชือที่มี Brilliant Green Broth ร้อยละ 2 นำไปปั่นที่ อุณหภูมิ 35°ช นาน 48±2 ชั่วโมง ตรวจดูการเกิดก้าชและบันทึกผล

6. คำนวณหาปริมาณแบนค์ที่เรียกโคลิฟอร์มในหน่วยเอ็นต์อมิลลิตร (MPN/mL) จาก จำนวนหลอดอาหาร Brilliant Green Broth ที่มีก้าชเกิดขึ้น

ตาราง ก. 1 ค่าเอ็นพีเอ็นต์อมิลลิตร (MPN/mL) ของตัวอย่างอาหาร เมื่อใช้ตัวอย่าง 0.1, 0.01 และ 0.001 mL ความเข้มข้นละ 3 หลอด

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก				จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก			
0.1	0.01	0.001	MPN/mL	0.1	0.01	0.001	MPN/mL
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
0	3	2	16	2	3	2	44
0	3	3	19	2	3	3	53

ตาราง ก.1 (ต่อ)

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก				จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก			
0.1	0.01	0.001	MPN/mL	0.1	0.01	0.001	MPN/mL
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



อิชสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright[©] by Chiang Mai University
All rights reserved

1. คุณภาพทางกายภาพของน้ำในบัวนกเข้มข้นในระหว่างการเก็บรักษา

ตาราง ฯ. 1 การเปลี่ยนแปลงค่าสี L ของน้ำในบัวนกเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

เก็บรักษา (วัน)	ค่าสี L (ความสว่าง)			
	น้ำในบัวนกสด	น้ำในบัวนกสด	น้ำในบัวนกเข้มข้น	น้ำในบัวนกเข้มข้น
	เข้มข้น	เข้มข้น	ไม่เติมน้ำตาล	เติมน้ำตาล 10%
0	28.43±0.03 ^d	26.73±0.14 ^d	31.44±0.02 ^a	28.56±0.03 ^b
7	28.28±0.03 ^e	26.60±0.10 ^e	31.03±0.02 ^b	29.63±0.03 ^a
14	31.56±0.03 ^a	27.32±0.04 ^c	30.66±0.03 ^c	27.74±0.02 ^c
21	29.74±0.04 ^b	28.75±0.10 ^a	28.82±0.02 ^d	25.61±0.10 ^d
28	29.56±0.04 ^c	27.79±0.04 ^b	-	-

หมายเหตุ เปรียบเทียบตามแนวตั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ยของการทดสอบ 3 ชั้้± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
HP หมายถึง ความดันสูงยิ่ง Evap หมายถึง การเพิ่มความเข้มข้นภายในตัวกล่อง
- หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

ตาราง ข. 2 การเปลี่ยนแปลงค่าสี a^* ของน้ำในบัวกเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

เก็บรักษา (วัน)	ค่าสี a^* (สีเขียว)				
	น้ำในบัวกสดด	น้ำในบัวกสดด	น้ำในบัวกเข้มข้น	น้ำในบัวกเข้มข้น	
	เข้มข้น	เข้มข้น	ไม่เติมน้ำตาล	เติมน้ำตาล10%	
0	-1.13±0.02 ^c	-2.84±0.02 ^d	5.09±0.03 ^d	6.83±0.03 ^c	
7	-1.12±0.03 ^c	-2.82±0.10 ^d	5.72±0.04 ^c	7.03±0.05 ^b	
14	-0.79±0.10 ^a	-2.77±0.04 ^c	5.78±0.03 ^b	7.01±0.04 ^b	
21	-1.03±0.04 ^b	-2.11±0.03 ^a	6.36±0.04 ^a	7.49±0.03 ^a	
28	-1.05±0.03 ^b	-2.70±0.03 ^b	-	-	

หมายเหตุ เปรียบเทียบตามแนวตั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ชุด ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 HP หมายถึง ความดันสูงยิ่ง
 Evap หมายถึง การเพิ่มความเข้มข้นภายในให้สูญญากาศ
 - หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

ตาราง ข. 3 การเปลี่ยนแปลงค่าสี b^* ของน้ำในบัวกเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

เก็บรักษา (วัน)	ค่าสี b^* (สีเหลือง)			
	น้ำในบัวกสดด เข้มข้น	น้ำในบัวกสดด เติมน้ำตาล10%	น้ำในบัวกเข้มข้น ไม่เติมน้ำตาล	น้ำในบัวกเข้มข้น เติมน้ำตาล10%
	ไม่เติมน้ำตาล แบบ HP	เติมน้ำตาล10% แบบ HP	แบบ Evap	แบบ Evap
0	$5.97 \pm 0.04^{\text{d}}$	$6.17 \pm 0.02^{\text{e}}$	$84.64 \pm 0.03^{\text{a}}$	$85.23 \pm 0.03^{\text{b}}$
7	$5.83 \pm 0.02^{\text{e}}$	$6.22 \pm 0.03^{\text{d}}$	$83.88 \pm 0.10^{\text{b}}$	$85.95 \pm 0.02^{\text{a}}$
14	$7.13 \pm 0.02^{\text{a}}$	$6.59 \pm 0.03^{\text{c}}$	$83.10 \pm 0.03^{\text{c}}$	$83.22 \pm 0.02^{\text{c}}$
21	$6.84 \pm 0.01^{\text{b}}$	$7.25 \pm 0.02^{\text{a}}$	$81.47 \pm 0.03^{\text{d}}$	$80.46 \pm 0.02^{\text{d}}$
28	$6.79 \pm 0.05^{\text{c}}$	$6.88 \pm 0.04^{\text{b}}$	-	-

หมายเหตุ เปรียบเทียบตามแนวตั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ชุด ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

HP หมายถึง ความดันสูงยิ่ง

Evap หมายถึง การเพิ่มความเข้มข้นภายในให้สูญญากาศ

- หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

2. คุณภาพทางเคมีของน้ำในบัวบกเข้มข้นในระหว่างการเก็บรักษา

ตาราง ฯ. 4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดในน้ำในบัวบกเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

เก็บรักษา (วัน)	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ($^{\circ}\text{Brix}$)			
	น้ำในบัวบกสด	น้ำในบัวบกสด	น้ำในบัวบกเข้มข้น	น้ำในบัวบกเข้มข้น
	เข้มข้น	เข้มข้น	ไม่เติมน้ำตาล	เติมน้ำตาล 10%
0	3.4 ± 0.00	13.3 ± 0.04	5.8 ± 0.10	26.1 ± 0.00
7	3.1 ± 0.10	13.3 ± 0.00	5.8 ± 0.00	26.3 ± 0.00
14	3.4 ± 0.00	13.1 ± 0.04	5.7 ± 0.10	26.1 ± 0.00
21	3.4 ± 0.04	13.3 ± 0.00	5.8 ± 0.00	26.1 ± 0.05
28	3.3 ± 0.10	13.2 ± 0.00	-	-

หมายเหตุ เปรียบเทียบตามแนวตั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ชุด ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
HP หมายถึง ความดันสูงขึ้น

Evap หมายถึง การเพิ่มความเข้มข้นภายในไส้สุญญากาศ

- หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

ns (non significant) หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตาราง ข. 5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำใบบัวบกเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ

เก็บรักษา (วัน)	ปริมาณของแข็งทั้งหมด (%)			
	นำใบบัวบกสด เข้มข้น	นำใบบัวบกสด เข้มข้น	นำใบบัวบกเข้มข้น ไม่เติมน้ำตาล	เติมน้ำตาล 10%
	ไม่เติมน้ำตาล แปรรูปโดย HP ^{ns}	เติมน้ำตาล 10% แปรรูปโดย HP ^{ns}	แปรรูปโดย Evap ^{ns}	แปรรูปโดย Evap ^{ns}
0	24.35±0.65	13.68±0.58	5.65±0.24	3.79±0.45
7	24.43±0.62	13.66±1.10	5.59±0.73	3.67±0.30
14	24.38±1.16	13.75±0.71	5.64±0.30	3.56±0.54
21	24.35±1.01	13.61±0.92	5.72±0.50	3.78±0.24
28	24.33±0.71	13.59±0.51	-	-

หมายเหตุ เปรียบเทียบตามแนวตั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ชุด ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
HP หมายถึง ความดันสูงอิ่ง

Evap หมายถึง การเพิ่มความเข้มข้นภายในให้สูญญากาศ

- หมายถึง "ไม่ได้ทำการวิเคราะห์"

ns (non significant) หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตาราง ข. 6 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในน้ำในบัวกเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°^ศ

เก็บรักษา (วัน)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)			
	น้ำในบัวกสด	น้ำในบัวกสด	น้ำในบัวกเข้มข้น	น้ำในบัวกเข้มข้น
	เข้มข้น	เข้มข้น	ไม่เติมน้ำตาล	เติมน้ำตาล 10%
	ไม่เติมน้ำตาล	เติมน้ำตาล 10%	แปรรูปโดย Evap	แปรรูปโดย Evap
	แปรรูปโดย HP ^{ns}	แปรรูปโดย HP ^{ns}		
0	5.99±0.00	5.94±0.00	5.96±0.01 ^a	5.88±0.00 ^a
7	6.01±0.01	5.91±0.00	5.72±0.00 ^b	5.41±0.01 ^b
14	5.98±0.00	5.90±0.00	5.33±0.00 ^c	5.09±0.01 ^c
21	5.97±0.01	5.86±0.00	5.05±0.01 ^d	4.89±0.01 ^d
28	5.98±0.00	5.88±0.01	-	-

หมายเหตุ เปรียบเทียบตามแนวตั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ชั้้า ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
HP หมายถึง ความดันสูงอิ่ง

Evap หมายถึง การเพิ่มความเข้มข้นภายในให้สูญญากาศ

- หมายถึง "ไม่ได้ทำการวิเคราะห์"

ns (non significant) หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตาราง ข. 7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอะเซียติกในน้ำในบัวกเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

เก็บรักษา (วัน)	ปริมาณกรดอะเซียติก (mg/100 mL)			
	น้ำในบัวกสด เข้มข้น	น้ำในบัวกสด เข้มข้น	น้ำในบัวกเข้มข้น ไม่เติมน้ำตาล	เติมน้ำตาล 10%
	ไม่เติมน้ำตาล แปรรูปโดย HP	เติมน้ำตาล 10% แปรรูปโดย Evap	แปรรูปโดย Evap	แปรรูปโดย Evap
0	7.11±0.10 ^a	6.67±0.21 ^a	5.28±0.11 ^a	4.83±0.11 ^a
7	7.07±0.10 ^a	6.73±0.10 ^a	4.95±0.21 ^b	4.71±0.10 ^a
14	6.92±0.14 ^{ab}	6.52±0.10 ^{ab}	4.75±0.03 ^{bc}	4.37±0.10 ^b
21	6.77±0.10 ^{bc}	6.53±0.10 ^{ab}	4.61±0.10 ^c	4.28±0.04 ^b
28	6.65±0.04 ^c	6.38±0.20 ^b	-	-

หมายเหตุ เปรียบเทียบตามแนวตั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ชุด ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
HP หมายถึง ความดันสูงอิ่ง

Evap หมายถึง การเพิ่มความเข้มข้นภายในให้สูญญากาศ

- หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

ตาราง ข. 8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำในบัวกเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

เก็บรักษา (วัน)	ปริมาณวิตามินซี (mg/100 mL)			
	น้ำในบัวกสด	น้ำในบัวกสด	น้ำในบัวกเข้มข้น	น้ำในบัวกเข้มข้น
	เข้มข้น ไม่เติมน้ำตาล	เข้มข้น เติมน้ำตาล10%	ไม่เติมน้ำตาล แปรรูปโดย Evap	เติมน้ำตาล10% แปรรูปโดย Evap
0	1.83±0.03 ^a	1.72±0.01 ^a	1.21±0.02 ^a	1.13±0.00 ^a
7	1.71±0.00 ^b	1.66±0.02 ^b	1.00±0.3 ^b	0.96±0.03 ^b
14	1.57±0.02 ^c	1.56±0.01 ^c	0.9±0.02 ^c	0.93±0.03 ^b
21	1.49±0.14 ^{cd}	1.41±0.02 ^d	0.86±0.02 ^c	0.84±0.04 ^c
28	1.40±0.02 ^d	1.38±0.02 ^d	-	-

หมายเหตุ เปรียบเทียบตามแนวตั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ชุด ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

HP หมายถึง ความดันสูงอิ่ง

Evap หมายถึง การเพิ่มความเข้มข้นภายในให้สูญญากาศ

- หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

ตาราง ข. 9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแครอทีนอยด์ในน้ำในบัวกเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

เก็บรักษา (วัน)	ปริมาณแครอทีนอยด์ (mg BCE/100 mL)			
	น้ำในบัวกสด	น้ำในบัวกสด	น้ำในบัวกเข้มข้น	น้ำในบัวกเข้มข้น
	เข้มข้น ไม่เติมน้ำตาล	เข้มข้น เติมน้ำตาล10%	ไม่เติมน้ำตาล	เติมน้ำตาล10%
	แปรรูปโดย HP	แปรรูปโดย HP	แปรรูปโดย Evap	แปรรูปโดย Evap
0	5.83±0.01 ^a	5.69±0.02 ^a	4.23±0.02 ^a	3.97±0.01 ^a
7	5.72±0.00 ^b	5.65±0.01 ^b	3.98±0.01 ^b	3.72±0.02 ^b
14	5.47±0.02 ^c	5.53±0.03 ^c	3.59±0.10 ^c	3.66±0.02 ^b
21	5.36±0.02 ^d	5.42±0.00 ^d	3.61±0.04 ^c	3.47±0.10 ^c
28	5.38±0.02 ^d	5.33±0.02 ^e	-	-

หมายเหตุ เปรียบเทียบตามแนวตั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ชุด ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
HP หมายถึง ความดันสูงอิ่ง

Evap หมายถึง การเพิ่มความเข้มข้นภายในให้สูญญากาศ

BCE (beta-carotene equivalent) หมายถึง ปริมาณแครอทีนอยด์คำนวณเทียบจากค่าของเบต้าแครอทีนต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

- หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

ตาราง ข. 10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดในน้ำในบัวกเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

เก็บรักษา (วัน)	ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (mg/100 mL)				
	น้ำในบัวกสด	น้ำในบัวกสด	น้ำในบัวกเข้มข้น	น้ำในบัวกเข้มข้น	เติมน้ำตาล 10%
	เข้มข้น ไม่เติมน้ำตาล	เข้มข้น เติมน้ำตาล 10%	ไม่เติมน้ำตาล แปรรูปโดย Evap	เติมน้ำตาล 10% แปรรูปโดย Evap	แปรรูปโดย HP
0	3.62±0.00 ^a	3.59±0.01 ^a	2.54±0.04 ^a	2.44±0.01 ^a	
7	3.54±0.02 ^b	3.56±0.03 ^b	2.41±0.16 ^a	2.27±0.03 ^b	
14	3.38±0.01 ^c	3.48±0.00 ^c	2.15±0.03 ^b	2.26±0.01 ^b	
21	3.31±0.01 ^d	3.45±0.00 ^d	2.08±0.01 ^b	2.03±0.02 ^c	
28	3.23±0.03 ^e	3.31±0.00 ^e	-	-	

หมายเหตุ เปรียบเทียบตามแนวตั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ชุด ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

HP หมายถึง ความดันสูงอิ่ง

Evap หมายถึง การเพิ่มความเข้มข้นภายในให้สูญญากาศ

- หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

ตาราง ข. 11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมดในน้ำใบบัวบกเข้มข้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ

เก็บรักษา ^(วัน)	ปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมด (mg GAE/100 mL)			
	น้ำใบบัวบกสด	น้ำใบบัวบกสด	น้ำใบบัวบกเข้มข้น	น้ำใบบัวบกเข้มข้น
	เข้มข้น ไม่เติมน้ำตาล	เติมน้ำตาล 10%	เติมน้ำตาล 10% แปรรูปโดย Evap	ไม่เติมน้ำตาล แปรรูปโดย Evap
0	428.83±0.98 ^a	430.69±1.93 ^a	301.52±1.01 ^a	305.77±1.02 ^a
7	402.39±1.04 ^b	413.62±1.43 ^b	286.54±1.02 ^b	274.22±1.01 ^b
14	388.82±1.80 ^c	407.09±2.56 ^c	274.43±1.02 ^c	255.51±1.10 ^c
21	380.55±0.94 ^d	393.33±0.90 ^d	248.98±1.10 ^d	240.52±1.04 ^d
28	372.62±0.98 ^e	386.73±1.05 ^e	-	-

หมายเหตุ เปรียบเทียบตามแนวตั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ชั้ม ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน HP หมายถึง ความดันสูงขึ้น

Evap หมายถึง การเพิ่มความเข้มข้นภายในตัวอย่างให้สูญญากาศ

GAE (gallic acid equivalent) หมายถึง ปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมดคำนวณเทียบจากค่าของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

- หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

3. คุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำในบัวบกเข้มข้นในระหว่างการเก็บรักษา

ตาราง ฯ. 12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณยีสต์และรา ในน้ำในบัวบกสักดัด เข้มข้นที่ผ่านการแปรรูปโดยเทคนิคความดันสูงยิ่งระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C

เก็บรักษา (วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด		ปริมาณยีสต์และรา	
	(log CFU/mL)		(log CFU/mL)	
	น้ำในบัวบกสักดัด เข้มข้น	น้ำในบัวบกสักดัด เติมน้ำตาล 10%	น้ำในบัวบกสักดัด เข้มข้น	น้ำในบัวบกสักดัด เติมน้ำตาล 10%
	แปรรูปโดย HP	แปรรูปโดย HP	แปรรูปโดย HP ^{ns}	แปรรูปโดย HP ^{ns}
0	1.73±0.00 ^c	1.94±0.01 ^d	<1	<1
7	1.86±0.02 ^b	2.10±0.01 ^c	<1	<1
14	1.91±0.01 ^{ab}	2.06±0.01 ^c	<1	<1
21	1.88±0.01 ^{ab}	2.14±0.02 ^b	<1	<1
28	1.94±0.04 ^a	2.21±0.01 ^a	<1	<1

หมายเหตุ เปรียบเทียบตามแนวตั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ชั้้ง ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

HP หมายถึง ความดันสูงยิ่ง

ns (non significant) หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตาราง ข. 13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณยีสต์และรา ในน้ำในบัวบก เข้มข้นที่ผ่านการเพิ่มความเข้มข้นภายใต้สภาวะสุญญากาศระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ฉ

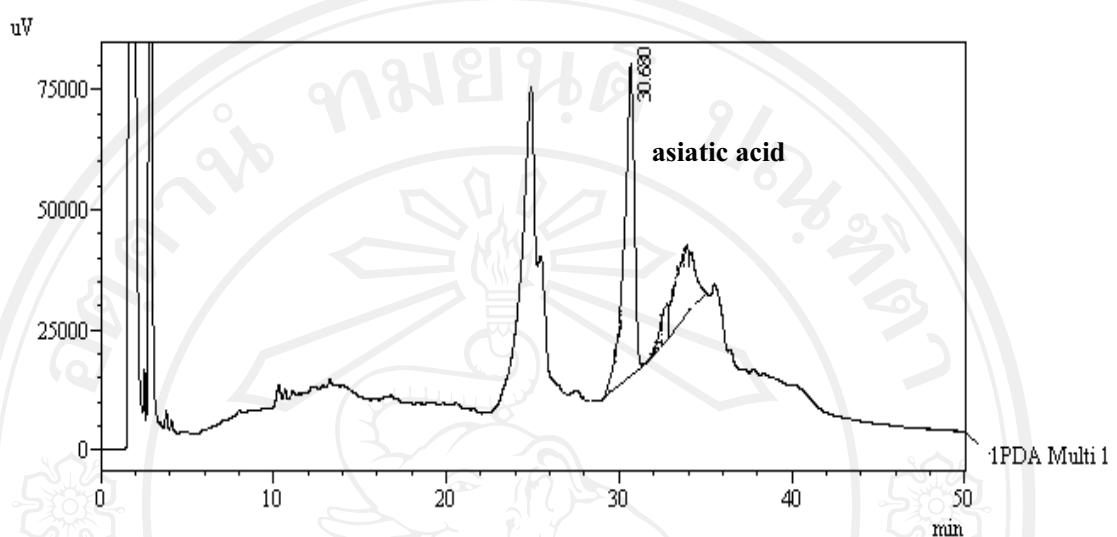
เก็บรักษา ^(วัน)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด		ปริมาณยีสต์และรา	
	น้ำในบัวบกเข้มข้น ไม่เติมน้ำตาล	น้ำในบัวบกเข้มข้น เติมน้ำตาล 10%	น้ำในบัวบกเข้มข้น ไม่เติมน้ำตาล	น้ำในบัวบกเข้มข้น เติมน้ำตาล 10%
	แปรรูปโดย Evap	แปรรูปโดย Evap	แปรรูปโดย Evap ^{ns}	แปรรูปโดย Evap ^{ns}
0	2.65±0.04 ^d	2.87±0.03 ^d	<1	<1
7	3.41±0.03 ^c	3.70±0.03 ^c	<1	<1
14	3.94±0.01 ^b	4.31±0.01 ^b	<1	<1
21	4.52±0.03 ^a	4.86±0.04 ^a	<1	<1

หมายเหตุ เปรียบเทียบตามแนวตั้ง ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกัน แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
 ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ชั้้า ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน Evap หมายถึง การเพิ่มความเข้มข้นภายใต้สุญญากาศ ns (non significant) หมายถึง ค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

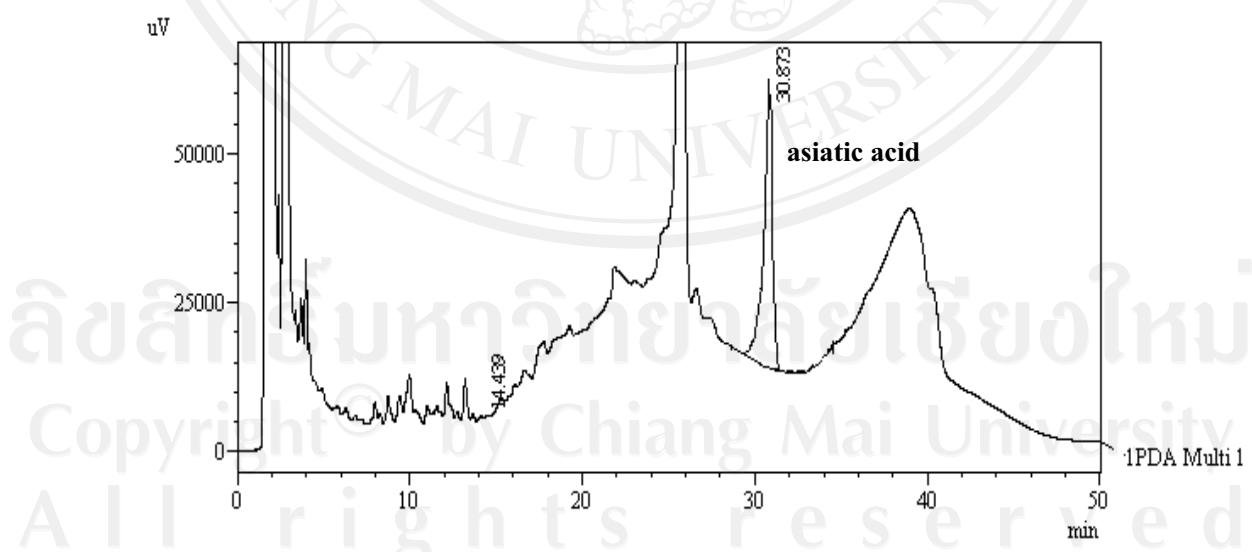


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright[©] by Chiang Mai University
All rights reserved

1. โปรแกรมห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะเซียติกในน้ำใบบัวบกเข้มข้นที่ผ่านการแปรรูปโดยเทคนิคความดันสูงยิ่ง

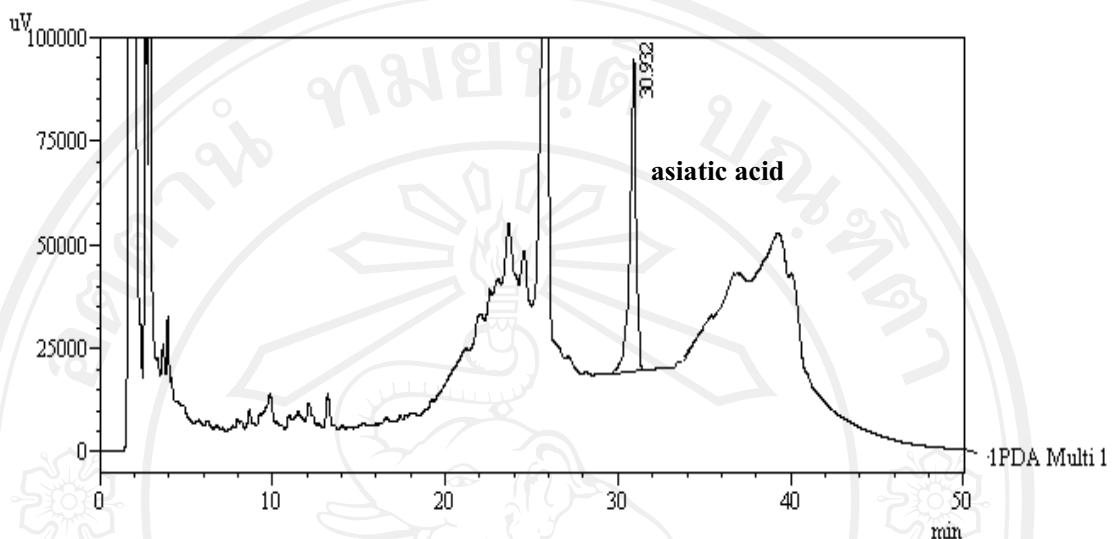


รูป ค. 1 โปรแกรมห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะเซียติกในน้ำใบบัวบกเข้มข้นชนิดไม่เติมน้ำตาลที่ผ่านการแปรรูปโดยเทคนิคความดันสูงยิ่งที่ความดัน 600 MPa เป็นเวลา 40 นาที เวลาเฉลี่ยประมาณ 30.6 นาที

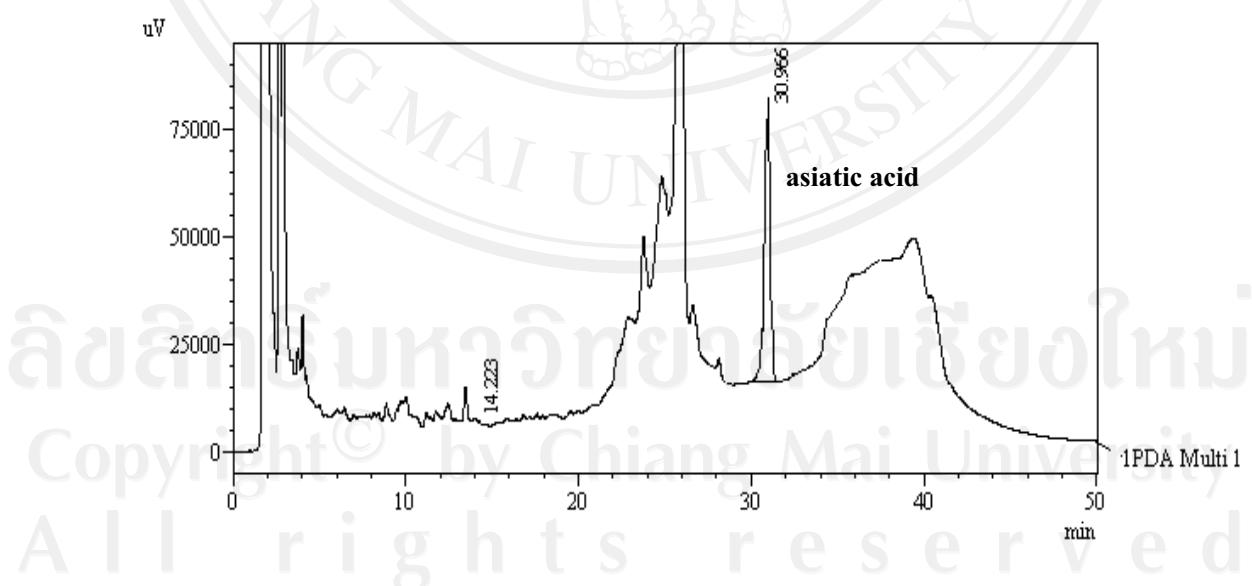


รูป ค. 2 โปรแกรมห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะเซียติกในน้ำใบบัวบกเข้มข้นชนิดเติมน้ำตาล 10% ที่ผ่านการแปรรูปโดยเทคนิคความดันสูงยิ่งที่ความดัน 600 MPa เป็นเวลา 40 นาที เวลาเฉลี่ยประมาณ 30.8 นาที

2. โปรแกรมของวิเคราะห์ปริมาณกรดอะเซียติกในน้ำใบบัวบกเข้มข้นที่ผ่านการเพิ่มความเข้มข้นภายใต้สภาวะสุญญาการ



รูป ค. 3 โปรแกรมของวิเคราะห์ปริมาณกรดอะเซียติกในน้ำใบบัวบกเข้มข้นชนิดไม่เติมน้ำตาลที่ผ่านการเพิ่มความเข้มข้นภายใต้สภาวะสุญญาการ ที่อุณหภูมิ 80°C เวลาเฉลี่ยประมาณ 30.9 นาที



รูป ค. 4 โปรแกรมของวิเคราะห์ปริมาณกรดอะเซียติกในน้ำใบบัวบกเข้มข้นชนิดเติมน้ำตาล 10% ที่ผ่านการเพิ่มความเข้มข้นภายใต้สภาวะสุญญาการ ที่อุณหภูมิ 80°C เวลาเฉลี่ยประมาณ 30.9นาที



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright[©] by Chiang Mai University
All rights reserved

รูปภาพงานวิจัย



รูป 1 ผลิตภัณฑ์น้ำใบบัวบกสกัดเข้มข้นที่ผ่านความดันสูงยิ่งที่ 600 MPa เป็นเวลา 40 นาที



รูป 2 ผลิตภัณฑ์น้ำใบบัวบกเข้มข้นที่ผ่านการเพิ่มความเข้มข้นภายใต้สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ 80°C



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เครื่องแปรรูปอาหารความดันสูงยิ่ง
(High Pressure Processor)

1. วิธีการเตรียมตัวอย่าง

1.1 ตัวอย่างที่เป็นอาหารเหลวนำมาบรรจุในถุงโพลีเออทิลีน ขนาด 5x15 เซนติเมตร ปริมาตรถุงละ 100 มิลลิลิตร โดยทำการรีดໄล้ออากาศในถุงออก ปิดผนึกด้วยความร้อน แล้วใส่ลงไปใน basket ได้เลย หรือจะนำมาระจุในถุงร้อนแบบหนาที่มีน้ำสะอาดอบร้อนอุ่น แล้วทำการรีดໄล้ออากาศออก ปิดผนึกให้แน่น

1.2 ตัวอย่างที่เป็นอาหารแข็ง ต้องนำมาบรรจุในถุงโพลีเออทิลีน ที่มีน้ำสะอาดอบร้อนอุ่น แล้วทำการรีดໄล้ออากาศออก ปิดผนึก

2. วิธีการใช้งาน

2.1 เปิดสะพานไฟที่ติดอยู่ที่ผนังห้อง โดยทำการเปิดสะพานไฟจำนวน 2 ชุด คือ

- สะพานไฟสำหรับเครื่อง high pressure
- สะพานไฟสำหรับเครื่องปั๊มน้ำ

2.2 ไฟของปุ่ม “Supply on” จะสว่าง

2.3 ตรวจสอบความพร้อมในการใช้งานโดย

-ปุ่ม “Emergency stop” จะต้องอยู่ในตำแหน่งปกติ คือ ไม่บุบลง

-ปุ่ม “Panel on” ที่หน้าจอแผงควบคุม (main control) จะต้องสว่าง

-ไฟสีเขียวของ Chamber temperature, Compress air, Interlocks closed และ Drive fluid จะสว่าง

2.4 เปิดฝ่าเครื่องโดยผู้ปฏิบัติงานยืนอยู่ด้านหน้าเครื่องดึงส่วนของ “Handle” ที่อยู่ข้างมือ ค้างไว้แล้วดันไปในทิศทางเข้มนาฬิกาจนสุด โดยต้องทำอย่างระมัดระวังมากที่สุด ห้ามดันหรือกระแทกแรง

2.5 เลือกหมุน “UP” (หมุนทวนเข็มนาฬิกา) ของปุ่มควบคุมการขึ้นลงด้านหน้าของเครื่อง high pressure แล้วกดปุ่มสีแดงด้านข้างที่ติดกับปุ่มควบคุมการขึ้นลงขณะหมุนปุ่มสีแดงต้องดึง Handle ค้างไว้ ฝ่าเครื่องจะเลื่อนขึ้น

2.6 เมื่อฝ่าเครื่องเลื่อนขึ้นแล้วจะเห็น basket ใน การใช้งานยก basket ขึ้นจาก chamber เกือบทั้งอัน หยุดเครื่องโดยปล่อยปุ่มสีแดง และ Handle

2.7 หมุนถอด basket ออก ต้องระวังอย่าให้โดน thermocouple ที่ยืนออกมา แล้วใส่ตัวอย่างที่บรรจุในถุงโพลีเออทิลีนลงไปใน basket ให้ตัวอย่างพอดีกับ basket ไม่แน่นหรือหลวมจนเกินไป

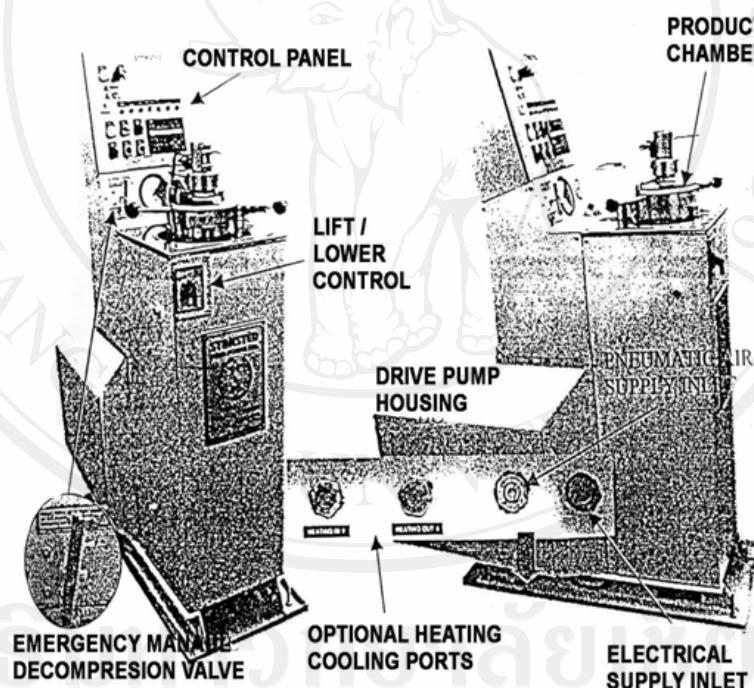
2.8 ใส่ basket ที่บรรจุตัวอย่างกลับเข้าไปใน chamber โดยระดับของ fluid ต้องอยู่ต่ำกว่าขอบ chamber ประมาณ 2.5 เซนติเมตร ระวังอย่าให้ fluid ล้นออกมา (ถ้าล้นให้ดูดคืน tank)

2.9 เลื่อนฝ่าเครื่องลง โดยดึงเลือกปุ่มควบคุมการขึ้นลงเป็น “Down” (หมุนตามเข็มนาฬิกา) โดยดึง Handle ค้างไว้ และกดปุ่มสีแดงด้านข้าง เลื่อนฝ่าเครื่องลงครึ่งหนึ่งของระยะทางที่เลื่อนขึ้น

2.10 ดึง basket ที่อยู่ใน chamber ขึ้นใส่เขากับฝ่าเครื่อง

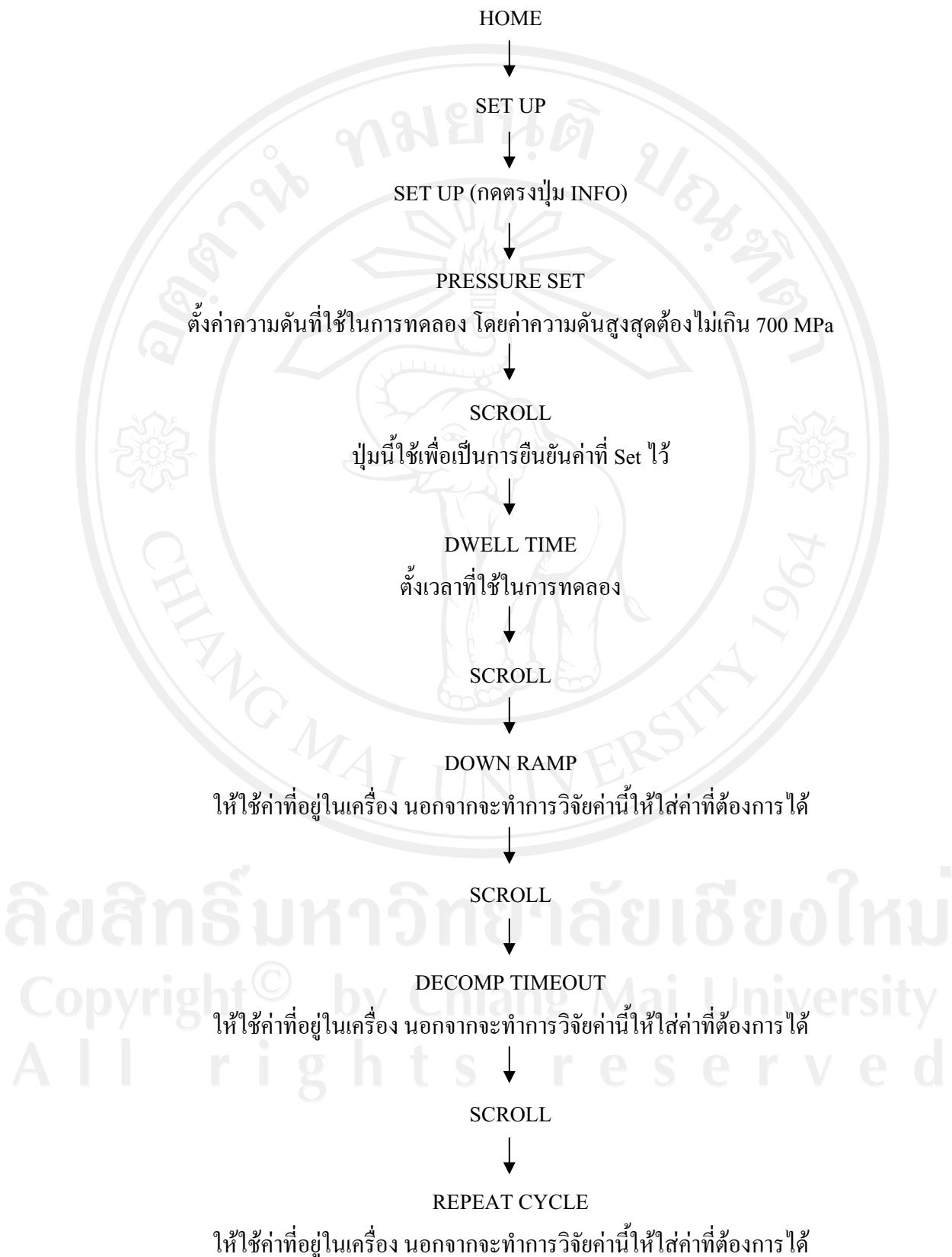
2.11 เลื่อนฝ่าเครื่องลงสุด ล็อกฝ่าเครื่องโดยหมุนตามเข็มนาฬิกา ปล่อย Handle และปุ่มสีแดงด้านข้างพร้อมกับสังเกตไฟสีเขียว “INTERLOCKS CLOSED” ที่แสดงควบคุมจะสว่างถ้าการล็อกสมบูรณ์

2.12 ตั้งค่าความดัน (pressure) และเวลาในการ hold ตัวอย่าง โดยกดปุ่มดังนี้



รูป จ. 1 เครื่องมือที่ใช้ในกระบวนการความดันสูงยิ่ง

3. การตั้งค่าการใช้งานต่างๆ ของเครื่อง





SCROLL

รูป จ. 2 แผนผังการใช้เครื่องแปรรูปอาหารโดยความดันสูง

4. ข้อควรปฏิบัติในการใช้เครื่อง High Pressure

- 4.1 ห้ามใส่ตัวอย่างอาหารเข้าไปใน basket โดยตรงต้อง pack ให้ดีก่อน
- 4.2 การ pack ตัวอย่างต้อง pack ด้วยถุง vacuum pack หรือถุงร้อนแบบหนาเท่านั้น
- 4.3 ต้องรีดໄล่อากาศออกให้หมด
- 4.4 ควรพนึกถุงให้สนิດหากถุงรั่ว การทดลองและเครื่องอาจจะเสียหายได้



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เครื่องระเหยภายในตัวสภาวะสุญญากาศ (Vacuum Evaporator)

1. ข้อแนะนำในการใช้เครื่อง

เครื่องระเหยภายในตัวสภาวะสุญญากาศ เพื่อไม่ให้เกิดความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นได้ ผู้ใช้ควรอ่านคู่มือการทำงาน และศึกษาวิธีการใช้เครื่องให้เข้าใจก่อนการปฏิบัติงาน เนื่องจากอุปกรณ์ชนิดนี้เป็นอุปกรณ์ไฟฟ้า ดังนั้นเพื่อให้เกิดความปลอดภัยในการใช้งานควรปฏิบัติตามดังนี้

- 1.1 อ่านคำแนะนำการใช้เครื่องในคู่มือให้เข้าใจอย่างละเอียด และทำตามขั้นตอนที่ระบุไว้ในคู่มือ
- 1.2 ก่อนเริ่มใช้งานควรเปิดชุดดักจับไอน้ำ Steam trap ทิ้งไว้ก่อนประมาณ 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง
- 1.3 ห้ามเปิดชุดอีทเตอร์ โดยที่ไม่มีน้ำอยู่ในถังน้ำร้อน
- 1.4 หากเครื่องมีอาการผิดปกติ เช่น เปิดเครื่องแต่ไม่มีความร้อนเกิดขึ้น หรือเครื่องไม่ทำงาน เสียงดังผิดปกติ ควรหยุดการทำงาน และทำการตรวจสอบโดยช่างผู้ชำนาญเท่านั้น
- 1.5 ภายในถังระเหยต้องเป็นสารละลายหรือของเหลวที่ละลายน้ำได้และใช้ในสภาวะสุญญากาศได้เท่านั้น

2. เครื่องระเหยภายในตัวสภาวะสุญญากาศ (Vacuum evaporator)

เครื่องระเหยภายในตัวสภาวะสุญญากาศ แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

- 2.1 เครื่องระเหย (Vacuum evaporator) ประกอบด้วยถังบรรจุสารละลายหรือของเหลว ทำจากสแตนเลส 304 ชนิดทนแรงดันใช้สำหรับอุตสาหกรรม โดยวางอยู่ภายในถังบรรจุน้ำร้อนอีกชั้นหนึ่ง ซึ่งถังบรรจุน้ำร้อนดังกล่าวจะมีท่อน้ำเข้าและท่อน้ำทิ้งอยู่ทางด้านล่างของถัง และทางด้านในบริเวณก้นถังดังกล่าวจะติดตั้งอีทเตอร์ให้ความร้อนแบบวงแหวนขนาด 1,000 วัตต์และมีชุดควบคุมการจ่ายพลังงานความร้อนอยู่ทางด้านหน้าของเครื่อง โดยแสดงผลแบบตัวเลขดิจิตอล
- 2.2 ชุดปั๊มสุญญากาศและตัวดักจับไอน้ำ (Steam trap) ซึ่งตัวดักจับไอน้ำจะเป็นตัวที่ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของปั๊มไม่ลดลงตามปริมาณของไอน้ำที่ขยายตัวเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นปั๊มสุญญากาศและตัวดักจับไอน้ำจึงต้องทำงานไปพร้อมๆ กัน โดยต้องทำให้ตัวดักจับไอน้ำเกิดความเย็นเพียงพอที่จะดักจับไอน้ำได้ตลอดการทำงาน



(η)



(η)



(κ)

รูป ฉ. 1 (η) เครื่องระเหยภายใต้สภาวะสุญญากาศ (Vacuum evaporator) (η) เครื่องระเหย (Vacuum evaporator) (κ) ชุดปั๊มสุญญากาศและตัวดักจับไอน้ำ (Steam trap)

3. หลักการทำงานของเครื่องระเหยภายใต้สภาวะสุญญากาศ

เครื่องระเหยภายใต้สภาวะสุญญากาศ เป็นเครื่องระเหยไอน้ำที่สุญญากาศประมาณ -600 mmHg vacuum gauge เพื่อให้น้ำหรือตัวทำละลายที่อยู่ในสารละลายหรือของเหลวเกิดการระเหย กลายเป็นไออกตามอุณหภูมิที่กำหนด โดยใช้ความร้อนจากน้ำร้อนที่อยู่ในถังบรรจุน้ำร้อนซึ่งให้พลังงานความร้อนโดยสีท์เตอร์ที่อยู่กันถัง ความร้อนจากน้ำร้อนจะทำให้ของเหลวหรือ

สารละลายในถังบรรจุร้อนขึ้น และทำให้น้ำในของเหลวหรือสารละลายเปลี่ยนสภาพกลายเป็นไอซ์ชั่งจะลอยออกไปตามท่อความดัน และจะถูกดักจับโดยตัวดักจับไอ้น้ำเพื่อเปลี่ยนสภาพไอ้น้ำให้กลับเป็นหยดน้ำไหลลอกออกสู่ด้านนอกของตัวเครื่อง ปริมาณไอ้น้ำที่ระเหยออกจากสารละลายหรือของเหลวในสภาวะสุญญาการศน์ จะส่งผลให้สารละลายหรือของเหลวที่ได้มีความเข้มข้นเพิ่มสูงขึ้น

4. หลักการทำงานของเครื่องดักจับไอ้น้ำ

เนื่องจากการระเหยภายในสภาวะสุญญาการศโดยทั่วไปนั้นเป็นการทำให้น้ำในของเหลวระเหยออกจากสารละลายหรือของเหลวในสภาวะสุญญาการศซึ่งเป็นระบบปิด (ภายในถังระเหย) เมื่อน้ำในของเหลวระเหยกลายเป็นไอ ไอ้น้ำจะถูกดูดออกจากถังโดยปั๊มสุญญาการศได้ทางเดียว ขณะเดียวกันเมื่อน้ำในของเหลวระเหยกลายเป็นไอ้น้ำมากขึ้นเรื่อยๆ จนปั๊มสุญญาการศไม่สามารถที่จะดูดอากาศออกได้ทันกับปริมาตรไอ้น้ำที่ขยายตัวในหม้อระเหย ทำให้ไอ้น้ำที่เพิ่มระเหยออกมาจากของเหลวกลับตัวภายในถังระเหยทำให้การระเหยไอ้น้ำไม่สามารถทำงานได้ดี ดังนั้นวิธีที่จะทำให้ปั๊มสุญญาการศทำงานได้เต็มประสิทธิภาพต้องดูแลเวลาในการระเหยไอ้น้ำคือ ต้องมีอุปกรณ์ในการลดปริมาตรของไอ้น้ำก่อนเข้าสู่ปั๊มสุญญาการศ เราจึงเรียกอุปกรณ์นี้ว่าเครื่องดักจับไอ้น้ำ (Steam trap)

ลักษณะและการทำงานของเครื่องดักจับไอ้น้ำ ภายในตัวเครื่องจะมีชุดทำความเย็นมีลักษณะเป็นแพงท่อวางทางอากาศ ไอ้น้ำที่มาจากการระเหยที่มีอุณหภูมิสูงและปริมาตรมากเมื่อมาสัมผัสกับชุดแพงทำความเย็นก็จะกลับตัวเป็นหยดน้ำภายในตัวดักจับไอ้น้ำ ดังนั้นาอากาศและไอ้น้ำเมื่อผ่านเครื่องดักจับไอ้น้ำแล้วจะมีปริมาตรน้อยลงส่งผลให้ปั๊มสุญญาการศทำงานได้เต็มประสิทธิภาพตลอดช่วงเวลาของการระเหย

5. วิธีการใช้งาน

5.1 การใช้เครื่องดักจับไอ้น้ำ

5.1.1 เปิดคูบบริเวณด้านบนเครื่องเพื่อให้แน่ใจว่ามีน้ำอยู่ในถังพกน้ำด้านบนก่อนจะเปิดให้เครื่องดักจับไอ้น้ำทำงาน

5.1.2 ต่อปลั๊กไฟฟ้าจากเครื่องระเหย และเครื่องดักจับไอ้น้ำเข้ากับระบบไฟฟ้า

5.1.3 เปิดระบบดักจับไอ้น้ำ (Stream trap) ซึ่งมีหน้าจอกับควบคุมอยู่ด้านหน้าเครื่องดักจับไอ้น้ำโดยเปิดสวิตซ์ควบคุม Power, Compressor, Water pump ตามลำดับ อย่าเพิ่งเปิด Vacuum pump

5.1.4 ปรับค่าอุณหภูมิตามที่กำหนดหรือตามที่ช่างเทคนิคแนะนำจากแผนหน้าควบคุมของเครื่องดักจับไอ้น้ำ การใช้งานเครื่องระเหยในครั้งแรกนั้นจะต้องเปิดเครื่องดักจับไอ้น้ำทิ้งไว้

ก่อนประมาณ 30-50 นาที โดยห้ามเปิด Vacuum pump จนกว่าเครื่องดักจับไอน้ำ และเครื่องระเหย จะมีอุณหภูมิที่พร้อมใช้งาน และในการใช้งานเครื่องดักจับไอน้ำครั้งต่อๆ ไป สามารถใช้งานได้ทันทีโดยไม่ต้องรอให้ชุดทำความเย็นของเครื่องดักจับไอน้ำมีอุณหภูมิต่ำกว่า

5.2 การใช้เครื่องระเหย

5.2.1 เดินนำลงในถังบรรจุน้ำร้อนที่ให้พลางงานความร้อนโดยอิฐเตอร์ที่กันถังให้อยู่ในระดับที่ช่างเทคนิคได้แนะนำไว้

5.2.2 เปิดสวิตซ์ Power เพื่อเดินเครื่องถ่านไม่น้ำอยู่ในถุงน้ำร้อนดวงไฟสีแดง Light จะสว่างเตือนให้รู้ว่าต้องเดินนำลงในถังน้ำร้อนก่อนจะเปิดระบบความร้อนได้ หากเปิดระบบความร้อนจากสีทึเตอร์ทั้งที่ไฟสีแดงยังสว่างอยู่ ระบบพัฒนาคงจะไม่ทำงานใดๆ ทั้งสิ้น เมื่อตรวจสอบว่าพร้อมแล้วจึงเปิดระบบความร้อนจากสีทึเตอร์โดยการหมุนปุ่มคำว่า heater

5.2.3 ตั้งค่าอุณหภูมิที่ใช้ในการระเหยของเหลวตามที่ต้องการจากหน้าปัดควบคุมอุณหภูมิ ตามที่ช่างเทคนิคแนะนำ จากนั้นรอนกว่าน้ำร้อนถึงอุณหภูมิตามที่กำหนด

5.2.4 เมื่อเห็นว่าอุณหภูมิของเครื่องดักจับไอน้ำและอุณหภูมิของน้ำร้อนในเครื่องระเหยมีอุณหภูมิตามที่ต้องการแล้วจึงเริ่มขั้นตอนต่อไป

5.2.5 นำของเหลวหรือสารละลายที่ใส่ถังบรรจุสารละลาย โดยวางลงในถังบรรจุน้ำร้อนที่มีน้ำร้อนอยู่ภายใน

5.2.6 ปิดฝาโดยการหมุนฝาปิดให้ตรงกับตำแหน่งของถังบรรจุสารละลาย และกดคันโยกลงเพื่อกดให้ฝาปิดสนิทกับถังบรรจุของเหลว เพื่อป้องกันไม่ให้อากาศไหลเข้าไปในถังบรรจุสารละลายได้

5.2.7 เปิดปั๊มสูญญากาศโดยหมุนปุ่ม vacuum pump ที่อยู่ด้านหน้าเครื่องดักจับไอน้ำเพื่อคุ้มอาการออกซิเจน ซึ่งจะทำให้ภายในถังบรรจุของเหลวเริ่มเกิดเป็นสูญญากาศ

5.2.8 สังเกตุที่เกจวัดความดันถ้าเกจวัดความดันมีค่าความดันลดลงจาก 0 จนถึง -600 mmHg แสดงว่าภายในถังบรรจุของเหลวกลายเป็นระบบสูญญากาศแล้ว

5.2.9 เมื่อเครื่องทำงานจนครบตามเวลาที่กำหนดไว้แล้วให้ปิด Vacuum pump ที่เครื่องดักจับไอน้ำ หากไม่ต้องการใช้งานต่อให้ปิดปุ่ม Water pump, Compressor และ Power เพื่อปิดเครื่องแต่ถ้ายังต้องการใช้งานต่อให้ปิดปุ่ม Vacuum pump ของเครื่องดักจับไอน้ำ และปิด heater ที่เครื่องระเหยไว้ก่อนเท่านั้น

5.2.10 ดึงคันโยกที่ปิดฝาของถังบรรจุสารละลายออกโดยการโยกขึ้น

5.2.11 ไขน็อตที่ยึดถังบรรจุสารละลายออกจากเครื่อง heater และนำสารละลายที่บรรจุอยู่ในถังบรรจุสารละลายเทใส่ภาชนะที่เตรียมไว้

5.2.12 เมื่อต้องการทำรอบต่อๆ ไป ให้ทำตามขั้นตอนเหมือนที่ผ่านมา

5.2.13 เมื่อใช้งานเสร็จสิ้นในแต่ละวันอย่าลืมระบายน้ำทิ้งจากเครื่องระเหยและเครื่องดักจับไอน้ำ โดยเปิดก๊อกระบายน้ำทิ้งที่อยู่ทางด้านหลังของเครื่องทั้งสอง



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright[©] by Chiang Mai University

All rights reserved



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright[©] by Chiang Mai University
All rights reserved

ประกาศสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม
ฉบับที่ 1517 (พ.ศ. 2552)

**เรื่อง ยกเลิกและกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน
 นำ้ในบัวก**

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนำ้ในบัวก มาตรฐานเลขที่ มพช.163/2546 และคณะกรรมการพิจารณามาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน คณะที่ 1 มีมติในการประชุมครั้งที่ 16-2/2552 เมื่อวันที่ 24 กันยายน พ.ศ. 2552 ให้ยกเลิกมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนำ้ในบัวก มาตรฐานเลขที่ มพช.163/2546 และกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนำ้ในบัวกขึ้นใหม่

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมจึงออกประกาศยกเลิกประกาศสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ฉบับที่ 169 (พ.ศ. 2546) ลงวันที่ 25 ธันวาคม พ.ศ. 2546 และออกประกาศกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนำ้ในบัวก มาตรฐานเลขที่ มพช.163/2552 ขึ้นใหม่ ดังนี้

ทั้งนี้ ให้มีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ประกาศ เป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ 16 พฤษภาคม พ.ศ. 2552
 รัตนาภรณ์ จึงส่งวนสิทธิ์
 เลขาธิการสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright © by Chiang Mai University
 All rights reserved

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน น้ำใบบัวบก

1. ขอบข่าย

1.1 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ครอบคลุมน้ำใบบัวบกพร้อมดื่มน้ำที่มีสารสกัดจากใบบัวบก เป็นส่วนประกอบหลัก ผ่านกรรมวิธีการให้ความร้อน โดยวิธีการพาสเจอร์ไซด์ก่อนบรรจุในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทที่ไม่ใช่กระปองโลหะ วัสดุอื่นที่คงรูป หรือขวดแก้วที่ฝาเมียงหรือวัสดุอื่นพนึกที่สามารถป้องกันมิให้อากาศภายในออกเข้าไปในภาชนะบรรจุได้ และต้องเก็บรักษา ขนส่ง และวางจำหน่ายโดยการแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ยังคงคุณภาพ

2. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ มีดังต่อไปนี้

2.1 น้ำใบบัวบก หมายถึง เครื่องดื่มที่ได้จากการนำใบของต้นบัวบกที่มีชื่อทางพฤกษศาสตร์ *Centella asiatica* (L.) Urban. ซึ่งสดหรือแห้งและอยู่ในสภาพเดิมลักษณะเดิม ให้สะอาด หรือนำมาตีป่นกับน้ำในอัตราส่วนที่เหมาะสม กรองแยกออกจากอุดมน้ำตาล น้ำผึ้ง สารเพิ่มความเป็นกรด เช่น กรดซิตริก สารให้ความหวานแทนน้ำตาล น้ำสกัดจากพืชหรือผลไม้ชนิดอื่น เช่น น้ำใบเตย อย่างใดอย่างหนึ่งหรือผสมกันในปริมาณเล็กน้อยเพื่อปูรงแต่งกลิ่นรส นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสม บรรจุในภาชนะบรรจุขณะร้อนแล้วทำให้เย็นลงทันที

2.2 วิธีการพาสเจอร์ไซด์ หมายถึง กรรมวิธีการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิสูงแต่ไม่เกิน 100°C โดยใช้เวลาที่เหมาะสมแล้วทำให้เย็นลงทันที

3. คุณลักษณะที่ต้องการ

3.1 ลักษณะทั่วไป

ต้องเป็นของเหลว อาจใสหรือขุ่น อาจตกตะกอนเมื่อตั้งทิ้งไว้ การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจ

3.2 สี

ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของน้ำใบบัวบก และส่วนประกอบที่ใช้

3.3 กลิ่น

ต้องมีกลิ่นที่ดีตามธรรมชาติของน้ำในบัวบกและส่วนประกอบที่ใช้ ปราศจากกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นบูด

3.4 กลิ่นรส

ต้องมีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติของน้ำในบัวบกและส่วนประกอบที่ใช้ ปราศจากกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นรสเปรี้ยวบูด เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ 8.1 แล้ว ต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคน ไม่น้อยกว่า 2 คะแนน และไม่มีลักษณะใดได้ 1 คะแนน จากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

3.5 สิ่งแปรปัจฉน

ต้องไม่พบสิ่งแปรปัจฉนที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ดิน กรวด ทราย ชิ้นส่วน หรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์ การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจ

3.6 วัตถุเจือปนอาหาร

3.6.1 ห้ามใช้สีสังเคราะห์ทุกชนิด

3.6.2 หากมีการใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาล และวัตถุกันเสียให้ใช้ได้ตามชนิดและปริมาณที่กฎหมายกำหนด การทดสอบให้ปฎิบัติตาม AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

3.7 จุลินทรีย์

3.7.1 จุลินทรีย์ทั่วไป ต้องไม่เกิน 1×10^4 โโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

3.7.2 ชาลโอมเนกลา ต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 มิลลิลิตร

3.7.3 สตาฟิโลโคคัส ออร์เรียส ต้องไม่พบในตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร

3.7.4 บาซิลัส ซีเรียส ต้องไม่เกิน 100 โโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

3.7.5 คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ ต้องไม่เกิน 100 โโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

3.7.6 โคลิฟอร์ม โดยวิธีเอ็มพีเอ็น ต้องน้อยกว่า 2.2 ต่อตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร

3.7.7 เอสเซอร์เชีย โคลิ ต้องไม่พบในตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร

3.7.8 ยีสต์และรา ต้องไม่พบในตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

การทดสอบให้ปฎิบัติตาม AOAC หรือ BAM (U.S.FDA) หรือวิธีทดสอบอื่นที่เทียบเท่า

4. สุขลักษณะ

4.1 สุขลักษณะในการผลิตน้ำในบัวบก สถานประกอบการต้องได้รับอนุญาตจากกระทรวงสาธารณสุข และให้เป็นไปตามภาคผนวก ก.

5. การบรรจุ

5.1 ให้บรรจุน้ำในบัวบกในภาชนะบรรจุที่สะอาด ปิดได้สนิท และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกภายนอกได้ การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจ

5.2 ปริมาตรสุทธิของน้ำในบัวบกในแต่ละภาชนะบรรจุ ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก การทดสอบให้ใช้เครื่องวัดปริมาตรที่เหมาะสม

6. เครื่องหมายและฉลาก

6.1 ที่ภาชนะบรรจุน้ำในบัวบกทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้ ให้เห็นได้ง่าย และชัดเจน

(1) ชื่อเรียกผลิตภัณฑ์ เช่น น้ำในบัวบก น้ำในบัวบกพร้อมดื่ม

(2) ส่วนประกอบที่สำคัญ เป็นร้อยละของน้ำหนักโดยประมาณ และเรียงจากมากไปน้อย

(3) ชนิดและปริมาณวัตถุเจือปนอาหาร (ถ้ามี)

(4) ปริมาตรสุทธิ เป็นมิลลิลิตรหรือลิตร

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

(6) ข้อแนะนำในการเก็บรักษา เช่น ต้องเก็บไว้ในตู้เย็น

(7) ชื่อผู้ทำ หรือสถานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

7. การซักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

7.1 รุ่น ในที่นี่ หมายถึง น้ำในบัวบกที่มีส่วนประกอบเดียวกัน ทำในระยะเวลาเดียวกัน

7.2 การซักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการซักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้

7.2.1 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบการบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 3 หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 5 และข้อ 6 ทุกรายการ จึงจะถือว่า น้ำในบัวนกรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

7.2.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบลักษณะทั่วไป สี กลิ่น กลิ่นรส และสิ่งแปรปัลлом ให้ใช้ตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบตามข้อ 7.2.1 แล้ว จำนวน 3 หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 3.1 ถึงข้อ 3.5 ทุกรายการ จึงจะถือว่า น้ำในบัวนกรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

7.2.3 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบวัตถุเจือปนอาหาร ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 3 หน่วยภาชนะบรรจุ เพื่อทำเป็นตัวอย่างรวม โดยมีปริมาตรรวมไม่น้อยกว่า 600 มิลลิลิตร กรณีตัวอย่างไม่พอให้ชักตัวอย่างเพิ่มโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันให้ได้ตัวอย่างที่มีปริมาตรรวมตามที่กำหนด เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 3.6 จึงจะถือว่า น้ำในบัวนกรุ่นนั้น เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

7.2.4 การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบจุลินทรีย์ ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน 3 หน่วยภาชนะบรรจุ เพื่อทำเป็นตัวอย่างรวม โดยมีปริมาตรรวมไม่น้อยกว่า 200 มิลลิลิตร กรณีตัวอย่างไม่พอให้ชักตัวอย่างเพิ่มโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันให้ได้ตัวอย่างที่มีปริมาตรรวมตามที่กำหนด เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 3.7 จึงจะถือว่า น้ำในบัวนกรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

7.3 เกณฑ์ตัดสิน

7.3.1 ตัวอย่างน้ำในบัวกต้องเป็นไปตามข้อ 7.2.1 ข้อ 7.2.2 ข้อ 7.2.3 และข้อ 7.2.4 ทุกข้อ จึงจะถือว่า น้ำในบัวนกรุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้

8. การทดสอบ

8.1 การทดสอบสี กลิ่น และกลิ่นรส

8.1.1 ให้แต่งตั้งคณะกรรมการตรวจสอบ ประกอบด้วยผู้ที่มีความชำนาญในการตรวจสอบน้ำในบัวก 5 คน แต่ละคนจะแยกกันตรวจ และให้คะแนนโดยอิสระ

8.1.2 เทตัวอย่างน้ำในบัวลงในแก้วใสโดยมีกระดาษสีขาวเป็นฉากหลัง ตรวจสอบโดยการตรวจพินิจ คุณ และชิม

8.1.3 หลักเกณฑ์การให้คะแนน ให้เป็นไปตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 หลักเกณฑ์การให้คะแนนในการทดสอบสี กลิ่น และกลิ่นรส (ข้อ 8.1.3)

ลักษณะที่ตรวจสอบ	ระดับการตัดสิน	คะแนนที่ได้รับ
สี	สีดีตามธรรมชาติของน้ำในบัวบกและส่วนประกอบที่ใช้สีพอกไกลีคีียงกับสีตามธรรมชาติของน้ำในบัวบกและส่วนประกอบที่ใช้สีพิเศษปกติหรือมีการเปลี่ยนสี	3
		2
		1
กลิ่น	กลิ่นดีตามธรรมชาติของน้ำในบัวบกและส่วนประกอบที่ใช้กลิ่นพอกไกลีคีียงกับกลิ่นตามธรรมชาติของน้ำในบัวบกและส่วนประกอบที่ใช้กลิ่นพิเศษปกติหรือมีกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นบูด	3
		2
		1
กลิ่นรส	กลิ่นรสของน้ำในบัวบกและส่วนประกอบที่ใช้เข้มข้นดี กลิ่นรสของน้ำในบัวบกและส่วนประกอบที่ใช้ชื้อย กลิ่นรสพิเศษปกติหรือมีกลิ่นรสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นรสเปรี้ยวบูด	3
		2
		2

ภาคผนวก ก.

สุขลักษณะ

(ข้อ 4.1)

ก.1 สถานที่ตั้งและอาคารที่ทำ

ก.1.1 สถานที่ตั้งตัวอาคารและที่ไกลีคีียงอยู่ในที่ที่จะไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ทำเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย โดย

ก.1.1.1 สถานที่ตั้งตัวอาคารและบริเวณโดยรอบสะอาด ไม่มีน้ำขังและสกปรก

ก.1.1.2 อยู่ห่างจากบริเวณหรือสถานที่ที่มีฝุ่น เบ้า ควัน มากพิเศษ

ก.1.1.3 ไม่อุ่นไกลีคีียงกับสถานที่น่ารังเกียจ เช่น บริเวณแพะเลี้ยงสัตว์ แหล่งเก็บหรือกำจัด

ขยะ

ก.1.2 อาคารที่ทำมีขนาดเหมาะสม มีการออกแบบและก่อสร้างในลักษณะที่ง่ายแก่การบำรุงรักษา การทำความสะอาด และสะดวกในการปฏิบัติงาน โดย

ก.1.2.1 พื้น ฝาผนัง และเพดานของอาคารที่ทำ ก่อสร้างด้วยวัสดุที่คงทน เรียบ ทำความสะอาด และซ่อมแซมให้อยู่ในสภาพที่ดีตลอดเวลา

ก.1.2.2 แยกบริเวณที่ทำออกเป็นสัดส่วน ไม่อยู่ใกล้ห้องสุขา ไม่มีสิ่งของที่ไม่ใช้แล้ว หรือไม่เกี่ยวข้องกับการทำอยู่ในบริเวณที่ทำ

ก.1.2.3 พื้นที่ปฏิบัติงาน ไม่แออัด มีแสงสว่างเพียงพอ และมีการระบายอากาศที่เหมาะสม

ก.2 เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ในการทำ

ก.2.1 ภาชนะหรืออุปกรณ์ในการทำที่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์ที่มาจากวัสดุมีพิษเรียบ ไม่เป็นสนิม ล้างทำความสะอาดได้ง่าย

ก.2.2 เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้สะอาด เหนماะสมกับการใช้งาน ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อน ติดตัวได้ง่าย มีปริมาณเพียงพอ รวมทั้งสามารถทำความสะอาดได้ง่ายและทั่วถึง

ก.3 การควบคุมกระบวนการการทำ

ก.3.1 วัตถุดิบและส่วนผสมในการทำความสะอาด มีคุณภาพดี มีการล้างหรือทำความสะอาดก่อนนำไปใช้

ก.3.2 การทำ การเก็บรักษา การขนย้าย และการขนส่ง มีการป้องกันการปนเปื้อนและการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์

ก.4 การสุขาภิบาล การบำรุงรักษา และการทำความสะอาด

ก.4.1 นำที่ใช้ล้างทำความสะอาดเครื่องมือ เครื่องจักร อุปกรณ์ และมือของผู้ทำ ต้องเป็นนำ สะอาดและมีปริมาณเพียงพอ

ก.4.2 มีวิธีการป้องกันและกำจัดสัตว์นำเชื้อ แมลง และผุนผง ไม่ให้เข้าในบริเวณที่ทำการตามความเหมาะสม

ก.4.3 มีการกำจัดขยะ ถังสกปรก และน้ำทิ้ง อย่างเหมาะสม เพื่อไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนกลับลงสู่ผลิตภัณฑ์

ก.4.4 สารเคมีที่ใช้ล้างทำความสะอาดและใช้กำจัดสัตว์นำเชื้อและแมลง ใช้ในปริมาณที่เหมาะสม และเก็บแยกจากบริเวณที่ทำ เพื่อไม่ให้ปนเปื้อนลงสู่ผลิตภัณฑ์ได้

ก.5 บุคลากรและสุขลักษณะของผู้ทำ

ก. 5.1 ผู้ทำทุกคนต้องรักษาความสะอาดส่วนบุคคลให้ดี เช่น สวมเสื้อผ้าที่สะอาด มีผ้าคลุม ผมเพื่อป้องกันไม่ให้เสื้อผามหล่นลงในผลิตภัณฑ์ ไม่ไว้เล็บยา ล้างมือให้สะอาดทุกครั้งก่อนปฏิบัติงาน หลังการใช้ห้องสุขาและเมื่อมือสกปรก

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล

นายนพทวี พกาแดง

วัน เดือน ปีเกิด

21 กรกฎาคม 2527

ประวัติการศึกษา

สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยนเรศวร ปีการศึกษา 2551



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright[©] by Chiang Mai University

All rights reserved