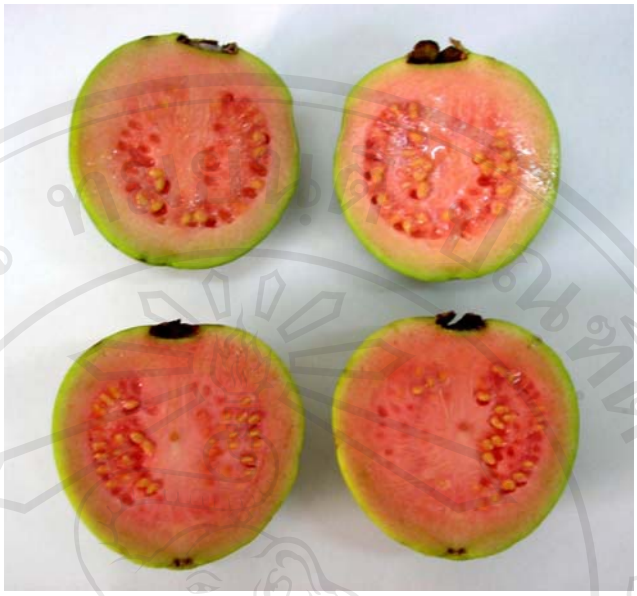
ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

ภาพแยมฝรั่งที่ผ่านการใช้ความร้อนและการใช้ความดันสูง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

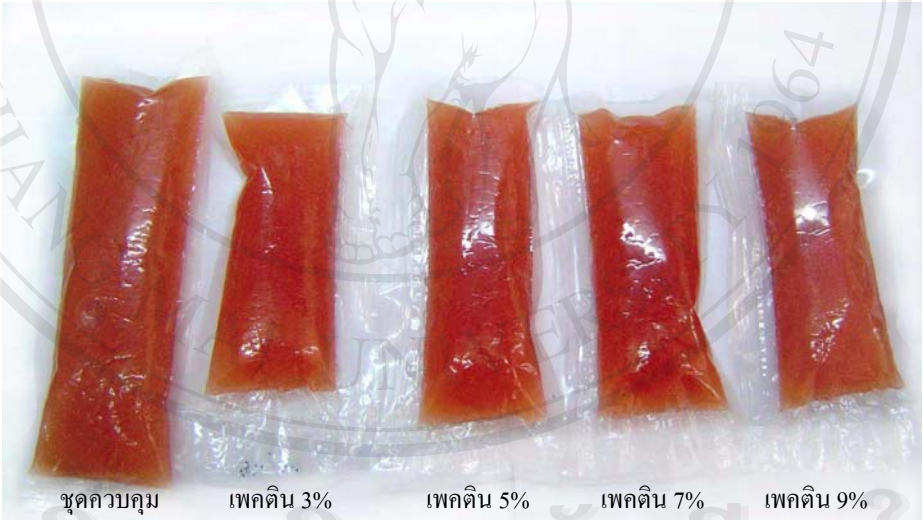


ภาพ ก1 ลักษณะผลสดของฝรั่งเนื้อแดง

ภาพ ก2 แยมที่ผ่านการใช้ความร้อนและแยมที่ผ่านการใช้ความดันสูง

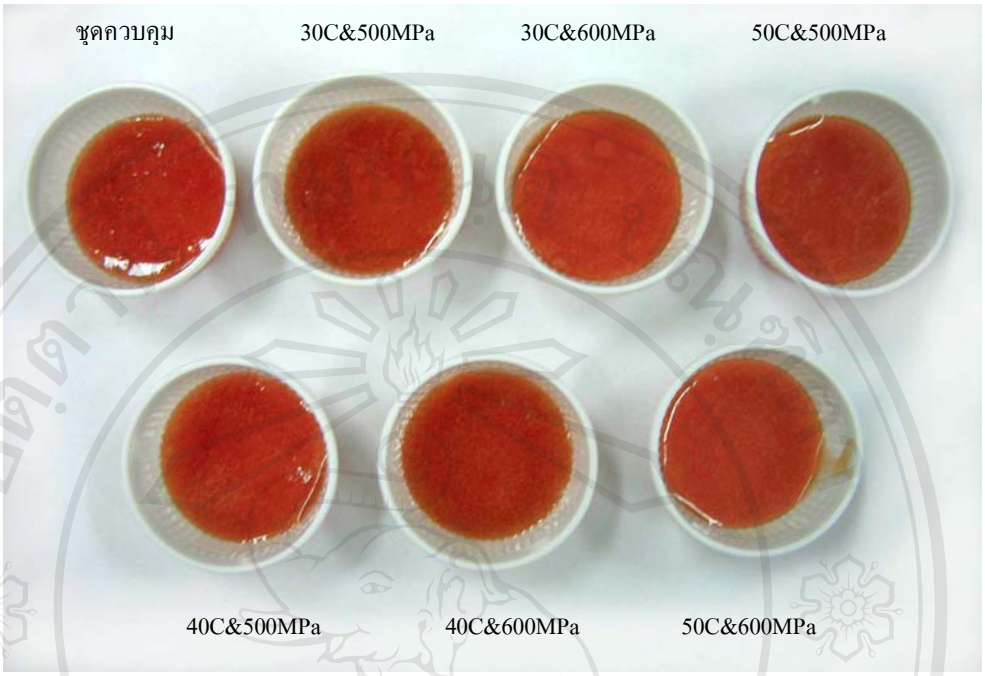
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก3 ลักษณะเนื้อสัมผัสของแยมที่ผ่านการใช้ความร้อนและแยมที่ผ่านการใช้ความดันสูง



ภาพ ก4 แยมที่ผ่านการใช้ความดันสูงและแปรผันปริมาณเพคติน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ ก5 แยมที่ผ่านการใช้ความดันสูงและแปรผันความดันร่วมกับอุณหภูมิ

ภาพ ก6 แยมที่ผ่านการใช้ความดันสูงเมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสนาน 60 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก7 แยมที่ผ่านการใช้ความร้อนเมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส นาน 60 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

ผลการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก ข1 ค่าสมดุลย์ความเค้น (Equilibrium Stress) ของแยมฝรั่งที่ผ่านการใช้ความร้อนโดยมีการแปรผันปริมาณเพคติน

ปริมาณเพคติน (ร้อยละ)	Equilibrium Stress (Pa)
ร้อยละ 0.5 (w/w)	$196.36^{a} \pm 0.26$
ร้อยละ 1.0 (w/w)	$842.54^{b} \pm 0.31$
ร้อยละ 1.5 (w/w)	$2282.85^{c} \pm 0.19$
ร้อยละ 2.0 (w/w)	$3960.27^{d} \pm 0.58$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข2 ค่าสมดุลย์ความเค้น (Equilibrium Stress) ของแยมฝรั่งที่ผ่านการใช้ความดันสูงโดยมีการแปรผันความดันและอุณหภูมิ

อุณหภูมิ ($^{\circ}$C)	ความดัน (MPa)	Equilibrium Stress (MPa)
ชุดควบคุม		52.57 ± 0.56
30	500	98.18 ± 0.12
30	600	96.90 ± 0.26
40	500	104.55 ± 0.54
40	600	103.04 ± 0.30
50	500	112.52 ± 0.58
50	600	110.53 ± 0.41

หมายเหตุ - ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก ข3 ค่าสมดุลย์ความเค้น (Equilibrium Stress) ของแยมฝรั่งที่ผ่านการใช้ความดันสูงโดยมีการแปรผันปริมาณเพคติน

ปริมาณเพคติน (ร้อยละ)	Equilibrium Stress (MPa)
ชุดควบคุม	$72.04^{a} \pm 0.32$
ร้อยละ 3 (w/w)	$85.56^{b} \pm 0.55$
ร้อยละ 5 (w/w)	$102.41^{c} \pm 0.68$
ร้อยละ 7 (w/w)	$127.43^{d} \pm 0.39$
ร้อยละ 9 (w/w)	$154.15^{e} \pm 0.47$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข4 ค่าสี L (ความสว่าง) ของแยมฝรั่งที่ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่าสี L			
	High Pressure	Heat 4 °C	Heat 30 °C	Heat 37 °C
0	$44.44^{a} \pm 0.19$	$34.78^{a} \pm 0.23$	$34.78^{a} \pm 0.23$	$34.78^{a} \pm 0.23$
15	$44.09^{a} \pm 0.76$	$32.82^{b} \pm 0.26$	$31.01^{b} \pm 0.46$	$30.44^{b} \pm 0.49$
30	$43.40^{b} \pm 0.14$	$32.03^{c} \pm 0.01$	$30.56^{c} \pm 0.06$	$29.38^{c} \pm 0.42$
45	$41.50^{c} \pm 0.03$	$31.54^{cd} \pm 0.51$	$30.10^{d} \pm 0.09$	$26.50^{d} \pm 0.40$
60	$40.53^{d} \pm 0.19$	$31.18^{d} \pm 0.14$	$29.49^{e} \pm 0.15$	$25.26^{e} \pm 0.24$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก ข5 ค่าสี a (สีแดง-เขียว) ของแยมฝรั่งที่ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่าสี a			
	High Pressure	**Heat 4 °C**	**Heat 30 °C**	**Heat 37 °C**
0	$14.43^{a} \pm 0.09$	$12.31^{a} \pm 0.23$	$12.31^{a} \pm 0.23$	$12.31^{a} \pm 0.23$
15	$14.22^{a} \pm 1.04$	$12.11^{ab} \pm 0.12$	$11.77^{ab} \pm 0.16$	$11.46^{b} \pm 0.36$
30	$14.18^{a} \pm 0.48$	$11.74^{bc} \pm 0.14$	$11.26^{bc} \pm 0.46$	$10.70^{c} \pm 0.10$
45	$13.64^{a} \pm 0.19$	$11.5^{c} \pm 0.15$	$10.85^{c} \pm 0.51$	$10.11^{d} \pm 0.31$
60	$13.26^{a} \pm 0.62$	$11.39^{c} \pm 0.49$	$10.20^{d} \pm 0.06$	$9.71^{d} \pm 0.07$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข6 ค่าสี b (สีเหลือง-น้ำเงิน) ของแยมฝรั่งที่ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่าสี b			
	High Pressure	**Heat 4 °C**	**Heat 30 °C**	**Heat 37 °C**
0	$6.90^{a} \pm 0.03$	$13.08^{a} \pm 0.05$	$13.08^{a} \pm 0.05$	$13.08^{a} \pm 0.05$
15	$6.62^{a} \pm 0.36$	$12.37^{b} \pm 0.19$	$12.17^{b} \pm 0.16$	$12.07^{b} \pm 0.03$
30	$6.38^{a} \pm 0.53$	$11.77^{c} \pm 0.20$	$11.55^{b} \pm 0.58$	$11.13^{c} \pm 0.52$
45	$6.25^{a} \pm 0.04$	$11.34^{d} \pm 0.18$	$10.62^{c} \pm 0.54$	$10.43^{d} \pm 0.19$
60	$6.21^{a} \pm 0.18$	$10.02^{e} \pm 0.17$	$9.42^{d} \pm 0.39$	$9.17^{e} \pm 0.07$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก ข7 ค่าสมดุลย์ความเค้น (Equilibrium Stress) ของแยมฝรั่งที่ผ่านการใช้ความร้อนและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	Equilibrium Stress (MPa)
0	$244.85^{a} \pm 0.54$
15	$251.42^{b} \pm 0.21$
30	$267.68^{c} \pm 0.28$
45	$280.48^{d} \pm 0.37$
60	$290.54^{e} \pm 0.68$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข8 ค่าสมดุลย์ความเค้น (Equilibrium Stress) ของแยมฝรั่งที่ผ่านการใช้ความร้อนและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	Equilibrium Stress (MPa)
0	$244.85^{a} \pm 0.54$
15	$233.80^{b} \pm 0.36$
30	$226.14^{c} \pm 0.42$
45	$215.07^{d} \pm 0.21$
60	$211.21^{e} \pm 0.19$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก ข9 ค่าสมดุลย์ความเค้น (Equilibrium Stress) ของแยมฝรั่งที่ผ่านการใช้ความร้อนและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	Equilibrium Stress (MPa)
0	$244.85^{a} \pm 0.54$
15	$224.09^{b} \pm 0.36$
30	$211.33^{c} \pm 0.42$
45	$205.95^{d} \pm 0.21$
60	$196.62^{e} \pm 0.19$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข10 ค่าสมดุลย์ความเค้น (Equilibrium Stress) ของแยมฝรั่งที่ผ่านการใช้ความดันสูงและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	Equilibrium Stress (MPa)
0	$99.36^{a} \pm 0.54$
15	$104.48^{b} \pm 0.36$
30	$107.24^{c} \pm 0.42$
45	$112.36^{d} \pm 0.21$
60	$115.16^{e} \pm 0.19$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก ข11 ปริมาณความชื้นของแยมฝรั่งที่ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)			
	High Pressure	**Heat 4 °C**	**Heat 30 °C**	**Heat 37 °C**
0	$45.30^{a} \pm 0.05$	$30.28^{a} \pm 0.10$	$30.28^{a} \pm 0.10$	$30.28^{a} \pm 0.10$
15	$45.20^{a} \pm 0.20$	$29.65^{a} \pm 0.89$	$30.42^{b} \pm 0.36$	$30.80^{b} \pm 0.17$
30	$44.52^{b} \pm 0.22$	$28.70^{a} \pm 1.57$	$30.90^{bc} \pm 0.32$	$31.06^{b} \pm 0.17$
45	$44.34^{b} \pm 0.21$	$28.48^{a} \pm 0.52$	$31.08^{cd} \pm 0.24$	$32.40^{c} \pm 0.46$
60	$43.58^{c} \pm 0.29$	$28.18^{a} \pm 0.09$	$32.05^{d} \pm 0.25$	$33.07^{d} \pm 0.33$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข12 ค่ากัมมันตภาพน้ำของแยมฝรั่งที่ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่ากัมมันตภาพน้ำ			
	High Pressure	**Heat 4 °C**	**Heat 30 °C**	**Heat 37 °C**
0	$0.903^{a} \pm 0.001$	$0.804^{a} \pm 0.001$	$0.804^{a} \pm 0.001$	$0.804^{a} \pm 0.001$
15	$0.901^{b} \pm 0.001$	$0.802^{ab} \pm 0.001$	$0.809^{b} \pm 0.001$	$0.817^{b} \pm 0.003$
30	$0.899^{c} \pm 0.001$	$0.801^{b} \pm 0.001$	$0.812^{c} \pm 0.002$	$0.824^{c} \pm 0.001$
45	$0.897^{d} \pm 0.001$	$0.795^{c} \pm 0.002$	$0.819^{d} \pm 0.001$	$0.830^{d} \pm 0.002$
60	$0.895^{e} \pm 0.001$	$0.790^{d} \pm 0.001$	$0.823^{e} \pm 0.001$	$0.834^{e} \pm 0.002$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก ข13 ค่าความเป็นกรด-ด่างของแยมฝรั่งที่ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง			
	High Pressure	**Heat 4 °C**	**Heat 30 °C**	**Heat 37 °C**
0	$3.22^{a} \pm 0.01$	$3.24^{a} \pm 0.01$	$3.24^{a} \pm 0.01$	$3.24^{a} \pm 0.01$
15	$3.21^{a} \pm 0.02$	$3.23^{a} \pm 0.01$	$3.23^{a} \pm 0.01$	$3.22^{b} \pm 0.01$
30	$3.21^{a} \pm 0.01$	$3.22^{a} \pm 0.01$	$3.21^{b} \pm 0.01$	$3.20^{bc} \pm 0.01$
45	$3.20^{a} \pm 0.01$	$3.22^{a} \pm 0.03$	$3.21^{b} \pm 0.01$	$3.19^{c} \pm 0.01$
60	$3.19^{a} \pm 0.01$	$3.21^{a} \pm 0.01$	$3.19^{c} \pm 0.01$	$3.17^{d} \pm 0.02$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข14 ปริมาณกรดทั้งหมดของแยมฝรั่งที่ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)			
	High Pressure	**Heat 4 °C**	**Heat 30 °C**	**Heat 37 °C**
0	$0.47^{a} \pm 0.02$	$0.46^{a} \pm 0.02$	$0.46^{a} \pm 0.02$	$0.46^{a} \pm 0.02$
15	$0.47^{a} \pm 0.02$	$0.46^{a} \pm 0.01$	$0.46^{ab} \pm 0.00$	$0.48^{ab} \pm 0.01$
30	$0.48^{a} \pm 0.01$	$0.46^{a} \pm 0.02$	$0.48^{abc} \pm 0.01$	$0.48^{b} \pm 0.01$
45	$0.48^{a} \pm 0.01$	$0.47^{a} \pm 0.01$	$0.49^{bc} \pm 0.02$	$0.51^{c} \pm 0.01$
60	$0.48^{a} \pm 0.02$	$0.48^{a} \pm 0.00$	$0.50^{c} \pm 0.02$	$0.52^{c} \pm 0.00$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก ข15 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของแยมฝรั่งที่ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ร้อยละ)			
	High Pressure	**Heat 4 °C**	**Heat 30 °C**	**Heat 37 °C**
0	$43.52^{a} \pm 0.49$	$45.08^{a} \pm 0.24$	$45.08^{a} \pm 0.24$	$45.08^{a} \pm 0.24$
15	$43.65^{a} \pm 0.24$	$44.93^{a} \pm 0.24$	$44.65^{ab} \pm 0.65$	$44.36^{a} \pm 0.24$
30	$43.81^{a} \pm 0.24$	$44.64^{a} \pm 0.42$	$44.37^{ab} \pm 0.73$	$43.38^{b} \pm 0.24$
45	$43.95^{a} \pm 0.42$	$44.48^{a} \pm 0.42$	$43.80^{b} \pm 0.24$	$42.54^{c} \pm 0.24$
60	$43.81^{a} \pm 0.49$	$44.50^{a} \pm 0.84$	$42.96^{c} \pm 0.42$	$42.12^{c} \pm 0.42$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข16 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของแยมฝรั่งที่ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ร้อยละ)			
	High Pressure	**Heat 4 °C**	**Heat 30 °C**	**Heat 37 °C**
0	$60.90^{a} \pm 1.24$	$61.27^{a} \pm 0.73$	$61.27^{a} \pm 0.73$	$61.27^{a} \pm 0.73$
15	$60.90^{a} \pm 1.24$	$60.67^{a} \pm 0.72$	$60.90^{a} \pm 0.00$	$60.14^{a} \pm 1.41$
30	$60.72^{a} \pm 0.71$	$60.49^{a} \pm 0.72$	$60.43^{a} \pm 1.46$	$59.24^{a} \pm 2.59$
45	$60.95^{a} \pm 1.22$	$60.25^{a} \pm 0.00$	$59.66^{a} \pm 1.24$	$58.26^{a} \pm 3.96$
60	$60.85^{a} \pm 1.27$	$60.01^{a} \pm 0.73$	$58.42^{a} \pm 1.24$	$57.47^{a} \pm 0.73$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก ข17 ปริมาณเพคตินของแยมฝรั่งที่ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ปริมาณเพคติน (ร้อยละ)			
	High Pressure	Heat 4 °C	Heat 30 °C	Heat 37 °C
0	$1.758^{a} \pm 0.003$	$1.759^{a} \pm 0.003$	$1.760^{a} \pm 0.003$	$6.205^{a} \pm 0.005$
15	$1.759^{a} \pm 0.001$	$1.757^{a} \pm 0.003$	$1.759^{a} \pm 0.002$	$6.205^{a} \pm 0.003$
30	$1.758^{a} \pm 0.001$	$1.758^{a} \pm 0.003$	$1.759^{a} \pm 0.004$	$6.206^{a} \pm 0.002$
45	$1.760^{a} \pm 0.002$	$1.758^{a} \pm 0.003$	$1.760^{a} \pm 0.003$	$6.207^{a} \pm 0.002$
60	$1.760^{a} \pm 0.001$	$1.760^{a} \pm 0.002$	$1.760^{a} \pm 0.004$	$6.206^{a} \pm 0.002$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางภาคผนวก ข18 ค่าคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสีของแยมฝรั่งที่ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่าคะแนนการทดสอบด้านสี			
	High Pressure	Heat 4 °C	Heat 30 °C	Heat 37 °C
0	$8.25^{a} \pm 0.64$	$7.30^{a} \pm 1.03$	$7.30^{a} \pm 1.03$	$7.30^{a} \pm 1.03$
15	$7.65^{b} \pm 0.88$	$7.05^{a} \pm 0.76$	$6.65^{b} \pm 0.67$	$6.25^{b} \pm 1.21$
30	$7.25^{bc} \pm 0.79$	$6.45^{b} \pm 0.51$	$5.95^{c} \pm 0.60$	$5.10^{c} \pm 0.72$
45	$6.95^{c} \pm 0.76$	$6.30^{b} \pm 0.66$	$5.25^{d} \pm 0.79$	$4.70^{c} \pm 0.80$
60	$6.85^{c} \pm 0.88$	$5.75^{c} \pm 0.72$	$5.05^{d} \pm 0.76$	$3.95^{d} \pm 0.94$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 10 ซ้ำ ทดสอบโดยวิธี 9-point hedonic scale คะแนนเต็ม 9 คะแนน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก ข19 ค่าคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของแยมฝรั่งที่ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่าคะแนนการทดสอบด้านกลิ่น			
	High Pressure	**Heat 4 °C**	**Heat 30 °C**	**Heat 37 °C**
0	$8.55^{a} \pm 0.51$	$6.40^{a} \pm 0.75$	$6.40^{a} \pm 0.75$	$6.40^{a} \pm 0.75$
15	$8.10^{b} \pm 0.64$	$5.75^{b} \pm 0.72$	$5.40^{b} \pm 0.60$	$5.25^{b} \pm 0.64$
30	$7.75^{bc} \pm 0.55$	$5.40^{bc} \pm 0.60$	$5.15^{bc} \pm 0.67$	$5.05^{b} \pm 0.89$
45	$7.45^{c} \pm 0.60$	$5.05^{c} \pm 0.76$	$4.80^{c} \pm 0.83$	$3.90^{c} \pm 0.72$
60	$7.05^{d} \pm 0.60$	$4.95^{c} \pm 0.60$	$4.10^{d} \pm 0.72$	$2.40^{d} \pm 0.99$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 10 ซ้ำ ทดสอบโดยวิธี 9-point hedonic scale คะแนนเต็ม 9 คะแนน

ตารางภาคผนวก ข20 ค่าคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะเนื้อสัมผัสของแยมฝรั่งที่ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่าคะแนนการทดสอบด้านลักษณะเนื้อสัมผัส			
	High Pressure	**Heat 4 °C**	**Heat 30 °C**	**Heat 37 °C**
0	$8.30^{a} \pm 0.66$	$6.75^{a} \pm 0.64$	$6.75^{a} \pm 0.64$	$6.75^{a} \pm 0.64$
15	$7.65^{b} \pm 0.59$	$5.95^{b} \pm 0.69$	$5.85^{b} \pm 0.75$	$5.40^{b} \pm 1.27$
30	$7.40^{bc} \pm 0.60$	$5.75^{bc} \pm 0.64$	$5.65^{bc} \pm 0.81$	$4.70^{c} \pm 0.73$
45	$7.10^{cd} \pm 0.64$	$5.45^{cd} \pm 0.60$	$5.30^{c} \pm 0.73$	$3.95^{d} \pm 0.76$
60	$6.80^{d} \pm 0.62$	$5.20^{d} \pm 0.62$	$4.65^{d} \pm 0.75$	$2.15^{c} \pm 0.67$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 10 ซ้ำ ทดสอบโดยวิธี 9-point hedonic scale คะแนนเต็ม 9 คะแนน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางภาคผนวก ข21 ค่าคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านการกระจายตัวบนแผ่นขนมปังของแยมฝรั่งที่ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่าคะแนนการทดสอบด้านการกระจายตัวบนแผ่นขนมปัง			
	High Pressure	**Heat 4 °C**	**Heat 30 °C**	**Heat 37 °C**
0	$7.40^{a} \pm 0.88$	$6.45^{a} \pm 0.94$	$6.45^{a} \pm 0.94$	$6.45^{a} \pm 0.94$
15	$7.15^{a} \pm 0.81$	$6.30^{a} \pm 0.73$	$6.20^{a} \pm 0.77$	$6.15^{a} \pm 1.39$
30	$6.95^{ab} \pm 0.76$	$6.05^{ab} \pm 0.76$	$5.75^{b} \pm 0.72$	$5.00^{b} \pm 0.79$
45	$6.85^{ab} \pm 0.81$	$5.75^{bc} \pm 0.79$	$5.60^{b} \pm 0.75$	$4.30^{c} \pm 0.73$
60	$6.55^{b} \pm 0.69$	$5.45^{c} \pm 0.89$	$4.95^{c} \pm 0.69$	$3.55^{d} \pm 0.94$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 10 ซ้ำ ทดสอบโดยวิธี 9-point hedonic scale คะแนนเต็ม 9 คะแนน

ตารางภาคผนวก ข22 ค่าคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านการยอมรับรวมของแยมฝรั่งที่ทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่าคะแนนการทดสอบด้านการยอมรับรวม			
	High Pressure	**Heat 4 °C**	**Heat 30 °C**	**Heat 37 °C**
0	$8.30^{a} \pm 0.57$	$7.20^{a} \pm 0.77$	$7.20^{a} \pm 0.77$	$7.20^{a} \pm 0.77$
15	$7.95^{ab} \pm 0.69$	$6.45^{b} \pm 0.60$	$6.40^{b} \pm 0.82$	$6.15^{b} \pm 1.23$
30	$7.65^{bc} \pm 0.49$	$6.20^{b} \pm 0.70$	$6.15^{b} \pm 0.75$	$5.55^{c} \pm 0.51$
45	$7.45^{c} \pm 0.51$	$5.70^{c} \pm 0.73$	$5.55^{c} \pm 0.60$	$4.35^{d} \pm 0.93$
60	$6.80^{d} \pm 0.62$	$5.45^{c} \pm 0.94$	$4.60^{d} \pm 0.99$	$3.25^{e} \pm 0.79$

หมายเหตุ - ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าความแตกต่างกันของข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

- ข้อมูลแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
- ตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 10 ซ้ำ ทดสอบโดยวิธี 9-point hedonic scale คะแนนเต็ม 9 คะแนน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่.....

โปรดทำการทดสอบผลิตภัณฑ์ตัวอย่างในด้านสีที่ปรากฏ กลิ่น ลักษณะเนื้อสัมผัส การกระจายบนแผ่นขนมปัง และการยอมรับรวม พร้อมทั้งให้ระดับความชอบต่อผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ตามระดับคะแนนดังต่อไปนี้

คะแนน	9 = ชอบมากที่สุด	4 = ไม่ชอบเล็กน้อย
	8 = ชอบมาก	3 = ไม่ชอบ
	7 = ชอบ	2 = ไม่ชอบมาก
	6 = ชอบเล็กน้อย	1 = ไม่ชอบมากที่สุด
	5 = เฉยๆ	

	รหัสผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง				
	___	___	___	___	___
สีที่ปรากฏ	.....	.....	.....	.....	.....
กลิ่น	.....	.....	.....	.....	.....
ลักษณะเนื้อสัมผัส	.....	.....	.....	.....	.....
การกระจายตัวบนแผ่นขนมปัง	.....	.....	.....	.....	.....
การยอมรับรวม	.....	.....	.....	.....	.....

ขอขอบคุณ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์คุณภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

1. การวัดสีระบบ Hunter ตามวิธีของ Minolta Co., Ltd.

เป็นการวัดค่าสี L ค่าสี a และค่าสี b ของผลิตภัณฑ์ด้วยเครื่องวัดสี Colorimeter ยี่ห้อ Minolta รุ่น CR300 โดยค่า L เป็นค่าความสว่าง (lightness) a เป็นค่าสีแดงและสีเขียว (redness/greenness) และ bเป็นค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (yellowness/blueness)

L คือ ค่าความสว่าง	มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100
a คือ ค่าสีแดงและสีเขียว	เมื่อ a มีค่าบวก เป็นสีแดง
	เมื่อ a มีค่าลบ เป็นสีเขียว
b คือ ค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน	เมื่อ b มีค่าบวก เป็นสีเหลือง
	เมื่อ b มีค่าลบ เป็นสีน้ำเงิน

ก่อนการวัดสีทุกครั้งต้องการปรับมาตรฐานเครื่อง (calibration) โดยใช้แผ่นสีขาวมาตรฐาน (white blank; L=97, a=-0.18, b=1.84) แล้วจึงวัดสีของผลิตภัณฑ์

2. การวัด Stress Relaxation โดยใช้เครื่องเครื่อง Texture Analyzer

การพักความเค้น (stress relaxation) คือความเค้น (stress) ที่ลดลงตามระยะเวลาโดยให้ความเครียด (strain) คงที่ การพักความเค้นหาได้จากการให้ความเครียดในอัตราคงที่กับวัสดุที่เป็นของไหลแล้วหยุดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างทันที วัดค่าความเค้นที่เปลี่ยนแปลงไปตามเวลา

การ Calibrate เครื่อง Texture Analyzer ก่อนการวัด

- File – New – graph
- T.A – calibrate – calibrate Force
- วางตุ้มน้ำหนัก 2 กิโลกรัมไว้ที่ฐานด้านบน
- Next – Finish – O.K
- T.A – calibrate – calibrate Height (เลื่อนก้านหัววัดลงไป ½ แก้ว)
- ใส่ค่าในช่อง Return Distance (mm) = 25
  Return Speed (mm/sec) = 10
  Contact Force (g) = 1
- O.K – calibrate complete – O.K

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- กดยกก้านหัววัดขึ้น – ใส่ตัวอย่าง

การวัดตัวอย่าง

- T.A – T.A setting – Library
- เลือกหมายเลข 3 (Hold unit time. SEQ) – OK
- ใส่ค่าในช่อง

Test Mode	=	Compression
Pre – Test Speed	=	1.00 mm / sec
Test – Speed	=	5.00 mm / sec
Post – Test Speed	=	10.00 mm / sec
Target mode	=	strain
Strain	=	5 %
Hold Time	=	300.00 sec
Trigger Type	=	Auto (Force)
Trigger Force	=	0.04903 N
Advance option	=	off

- Update project – T.A – Run a test

ในหน้าต่าง T.A – Run a test

- Probe selection = A / BE – d 45
- Parameter

Contact area	=	1590.43 mm^2 = 1.59043 m^2
Product height	=	15 mm

- Data Acquisition

Acquisition Rate (PPS)	=	5
Typical Test Time (sec)	=	150

- Apply – Run a test.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1. การทดสอบหาปริมาณความชื้นโดยใช้ตู้อบไฟฟ้า (AOAC 2000)

เป็นการหาน้ำหนักที่หายไปเนื่องจากการระเหยของน้ำและสารที่ระเหยได้ ภายใต้อุณหภูมิที่กำหนด

อุปกรณ์

1. กระป๋องอบความชื้น (Moisture can)
2. ที่คีบกระป๋อง (Tong)
3. ช้อนตักสาร (Spatula)
4. โถดูดความชื้น (Desicater) ที่มีสารดูดความชื้น

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Analytical Balance)
2. ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า (Hot air oven)

วิธีการวิเคราะห์

1. อบกระป๋องอบความชื้นพร้อมฝาที่ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 100± 2 °C นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนัก (W1)
2. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน (2-3 g) ใส่ในกระป๋องอบความชื้นที่อบเรียบร้อยแล้วและชั่งน้ำหนักไว้เรียบร้อยแล้ว (W2)
3. นำกระป๋องอบความชื้นพร้อมฝา โดยเปิดฝาออกไปอบที่ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100± 2 °C นาน 3 ชั่วโมง
4. นำกระป๋องอบความชื้นออกจากตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้าโดยปิดฝาทันที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
5. นำไปอบต่ออีก 1 ชั่วโมงจนได้น้ำหนักที่คงที่ (ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันต่างกันไม่เกิน 2 mg) (W3)

วิธีคำนวณ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณความชื้น ร้อยละของน้ำหนัก = $\frac{(W_2 - W_3)x100}{W_2 - W_1}$

W1 = น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้น เป็น g

W2 = น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้นและตัวอย่างก่อนอบ เป็น g

W3 = น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้นและตัวอย่างหลังอบ เป็น g

2. การวัดค่ากิจกรรมของน้ำอิสระ (Water Activity)

อุปกรณ์ที่ใช้

1. เครื่องวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ (Water Activity Meter; Aqua Lab: model series 3, Decagon Devices Inc., USA)

วิธีการวัด

บรรจุตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วลงในตลับพลาสติก (a_w box) โดยบรรจุไม่ให้เกินระดับที่กำหนดของตลับ แล้วนำไปวัดค่า a_w ด้วยเครื่อง Water activity Meter โดยวางตลับลงใน chamber ของเครื่องวัด ตั้งทิ้งไว้จนสภาพภายใน chamber สมดุลที่อุณหภูมิกำหนดไว้ แล้วจึงอ่านค่า a_w ของตัวอย่างและบันทึกผล

3. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลดาห์ล (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. ขวดเจลดาห์ล (Kjeldahl Method) ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. สคูป (Scoop)
3. บิวเรต ขนาด 50 มิลลิลิตร
4. กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 100 มิลลิลิตร
5. ขวดน้ำกลั่น (Wash bottle) ขนาด 250 มิลลิลิตร
6. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
7. ชุดกลั่นโปรตีน (Distillation Apparatus)
8. ชุดย่อยโปรตีน (Digestion unit)
9. เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Analytical Balance)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Concentrated Sulfuric Acid: H_2SO_4) ความเข้มข้น 98% (w/v)
2. คะตะลิสต์ผสมอัตราส่วนระหว่างคอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate:$CuSO_2 5H_2O$)ปราศจากไนโตรเจน 3.5%, โซเดียมซัลเฟต (Sodium sulfate: Na_2SO_4) ปราศจากไนโตรเจน 96%, ซิลิเนียมไดออกไซด์ (Selenium dioxide: SeO_2) ปราศจากไนโตรเจน 0.5%
3. เม็ดเดือด (glass beat)
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide: NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 40 (w/v)
5. กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid: H_2SO_4) ความเข้มข้น 0.1 N มีอายุการเก็บรักษา 1 เดือน หากครบกำหนดเวลาดังกล่าวให้นำสารละลายไปหาความเข้นข้นที่แน่นอนใหม่หรือนำไปใช้งานอื่นที่ไม่ต้องการความเข้มข้นที่แน่นอน
6. อินดิเคเตอร์ผสม (Mixed Indicators) ประกอบด้วยเมทิลเรด (Methyl Red) ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 (w/v) ในแอลกอฮอล์ ผสมกับโบรโมครีซอลกรีน (Bromocresol Green) ความเข้ม-ข้นร้อยละ 0.2 (w/v) ในแอลกอฮอล์ อัตราส่วน 1 : 5
7. กรดบอริก ความเข้มข้นร้อยละ 4 (w/v)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างที่มีน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 0.5-2.0 กรัม (W) ถ่ายตัวอย่างลงในหลอดเจลดาห์ ทำ Blank ควบคู่กันไปด้วย
2. เติมคะตะลิสต์ผสมจำนวน 8 กรัม
3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร โดยเอียงขวดและค่อยๆรินกรดลงข้างๆหลอด เพื่อล้างตัวอย่างที่อาจติดอยู่ข้างหลอดให้หมด และค่อยๆเขย่าตัวอย่างเบาๆ
4. นำไปย่อยที่ชุดย่อยโปรตีนในตู้ควันโดยใช้ความร้อนระดับ 5 ประมาณ 1 ชั่วโมงและจึงเพิ่มเป็นความร้อนระดับ 10 อีกประมาณ 2 ชั่วโมงหรือจนกระทั่งสารละลายใสจะปิดชุดย่อย รอจนกระทั่งสารละลายเย็นลงในอุณหภูมิห้อง ห้ามนำหลอดย่อยไปทำให้เย็นโดยใช้น้ำเพราะจะทำให้หลอดย่อยแตกได้
5. นำสารละลายที่ได้ต่อกับเครื่องกลั่นโปรตีน โดยนำขวดรูปชมพู่ที่มีกรดบอริกจำนวน 50 มิลลิลิตรและเติมอินดิเคเตอร์ผสม ลงไป 6-10 หยด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. อัตราการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้มีปริมาณมากเกินพอ(ประมาณ70มิลลิลิตร)
   <u>ข้อสังเกต</u> ถ้าปริมาณด่างมากเกินพอสารละลายจะมีสีดำ ถ้ายังไม่เกิดสีดำให้เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไปอีก 5-10 มิลลิลิตร
7. เปิดเครื่องเริ่มทำการกลั่น โดยให้ทำ Blank ก่อนตัวอย่าง
8. นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกจนได้จุดยุติคือสังเกตสีชมพูปรากฏขึ้นและสารละลายสีเทาอมม่วง

วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนร้อยละของน้ำหนัก} = \frac{(Va - Vb)xN.H_2SO_4x1.4007}{W}$$

V_a = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง หน่วย มิลลิลิตร

V_b = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไทเทรต Blank หน่วย มิลลิลิตร

$N.H_2SO_4$ = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก หน่วย นอร์มอล

W = น้ำหนักตัวอย่าง หน่วย มิลลิลิตร

ปริมาณโปรตีน ร้อยละของน้ำหนัก = ปริมาณไนโตรเจนร้อยละของน้ำหนัก x แฟกเตอร์

4. การวิเคราะห์ไขมันโดยวิธีซอล์กเลต (AOAC 2000)

อุปกรณ์

1. บิกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. ขวดก้นกลม ขนาด 250 มิลลิลิตร
3. ทิมเบอร์กระดาษ (Cellulose thimble)
4. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42
5. เดซิเคเตอร์ (Desiccator) ที่มีสารดูดความชื้น เช่น ซิลิกาเจล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Analytical Balance)
2. ตู้อบไอร้อนแบบไฟฟ้า (Hot Air Oven)
3. ตู้ดูดควัน (Fume Hood)
4. เครื่องอังไอน้ำ (Water bath)
5. ชุดสกัดซอล์กเลต (Soxhlet Extraction Apparatus)

สารเคมี

1. ไดเอทิล อีเทอร์ (Diethyl Ether)

วิธีวิเคราะห์

1. อบขวดก้นกลมด้วยตู้อบไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 100 $\pm$ 2°C นาน 30 นาที ทำให้เย็นในเดซิเค-เตอร์ชั่งน้ำหนัก (W1)
2. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบไล่ความชื้นแล้ว โดยใช้เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ปริมาณ 2 กรัม (W) ใส่ในบีกเกอร์ เทผ่านกรวยกรองลงในทิมเบอร์ที่มีกระดาษกรองรองรับภายใน แล้ววางทิมเบอร์ลงในชุดซอล์กเลต
3. สกัดโดยใช้ไดเอทิลอีเทอร์ ตามเวลาที่กำหนด (ขึ้นกับปริมาณไขมันในตัวอย่าง)
4. เมื่อทำการสกัดครบตามเวลาที่กำหนดแล้วให้ระเหยอีเทอร์ออกจากตัวอย่าง
5. นำขวดก้นกลมที่มีไขมันเหลืออยู่ไปอังที่เครื่องอังไอน้ำจนอีเทอร์ระเหยหมด แล้วนำไปอบที่ตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100-105 °C นาน 30 นาที ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก
6. อบต่ออีกครั้ง ครั้งละประมาณ 30 นาที จนได้น้ำหนักคงที่ (น้ำหนักคงที่คือผลต่างระหว่างการชั่งสองครั้งติดต่อกันมีค่าไม่เกิน 2 มิลลิกรัม) ชั่งน้ำหนัก (W2)

วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน ร้อยละของน้ำหนัก} = \frac{(W_2 - W_1)x100}{W}$$

W1 = น้ำหนักขวดก้นกลม เป็นกรัม

W2 = น้ำหนักขวดก้นกลมและไขมัน เป็นกรัม

W = น้ำหนักตัวอย่าง เป็นกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

5. การวิเคราะห์กากโดยวิธีการย่อยด้วยกรดและด่าง (AOAC 2000)

อุปกรณ์

1. บิกเกอร์ทรงสูงชนิดไม่มีปาก ขนาด 600 ml
2. บิกเกอร์ ขนาด 50 ml
3. บิกเกอร์ ขนาด 250 ml
4. กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 250 ml
5. ขวดก้นกลมบรรจุน้ำ (Round Bottle) ขนาด 500 ml
6. ผ้ากรองหรือผ้าลินิน (Linen Cloth) ขนาด 20 เมช หรือมีเส้นด้าย 18 เส้นต่อ 1 ซม.
7. แท่งแก้วคนสาร (Spatular)
8. กรวยบุชเนอร์ (Buchner Funnel)
9. ขวดสำหรับกรองดูด (Suction Flask) ขนาด 500 ml พร้อมอุปกรณ์
10. ขวดน้ำ (Wash Bottle) ขนาด 500 ml
11. กระดาษกรอง What man เบอร์ 541 หรือ 54
12. ถ้วยกระเบื้อง
13. กระดาษลิตมัส
14. เดซิเคเตอร์ (Desiccator) ที่มีสารดูดความชื้นอยู่เช่น ซิลิกาเจล

เครื่องมือ

1. เตาไฟฟ้า (Hot Plate)
2. ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้า (Hot Air Oven)
3. เตาเผาไฟฟ้าควบคุมอุณหภูมิได้ (Muffle Furnace)
4. เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Analytical Balance)
5. อ่างควบคุมความร้อน (Water Bath)

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid: H_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 (0.255 ± 0.005 นอร์มอล)
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์(Sodium Hydroxide: NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 (0.313 ± 0.005 นอร์มอล)
3. เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 95

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างที่ไขมันไม่เกิน 1 % หรือตัวอย่างที่สกัดไขมันออกและอบเรียบร้อยแล้ว ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน โดยใช้บิกเกอร์ (3.2) ใส่ตัวอย่าง 1 กรัมและชั่งน้ำหนัก (W1) ถ่ายตัวอย่างลงในบิกเกอร์ (3.1) แล้วชั่งน้ำหนักบิกเกอร์ที่ถ่ายตัวอย่างออกเรียบร้อยแล้ว (W2)
2. ตวงสารละลายกรดซัลฟิวริก (5.1) จำนวน 200 ml ด้วยกระบอกตวง (3.4) ถ่ายใส่บิกเกอร์ (3.3) แล้วนำไปต้มบนเตาไฟฟ้า (4.1) โดยปิดปากบิกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา
3. เมื่อสารละลายกรดซัลฟูริกเริ่มเดือดจึงถ่ายลงในบิกเกอร์ (3.1) โดยการหมุนบิกเกอร์แล้วใช้กรดซัลฟูริกค่อยๆล้างตัวอย่างที่ติดข้างบิกเกอร์ออก
4. นำไปต้มบนเตาไฟฟ้า โดยใช้ขวดก้นกลมปิดปากของบิกเกอร์ให้สนิท เพื่อป้องกันการระเหยของสารละลาย เมื่อเริ่มเดือดจับเวลา 30 นาที (ถ้าปริมาณของสารละลายกรดลดลงให้เติมน้ำร้อนเพิ่มจนได้ปริมาณเท่าเดิม)
5. กรองทันทีด้วยกรวยบุชเนอร์ (3.8) ที่มีผ้ากรอง (3.6) โดยใช้แรงสุญญากาศ
6. ฉีดล้างสิ่งที่เหลือบนบิกเกอร์ ด้วยน้ำร้อนหลายๆครั้ง ลงในกรวยบุชเนอร์
7. ล้างสิ่งที่ตกค้างบนผ้ากรองด้วยน้ำร้อนจนหมดกรด ทดสอบด้วยสารละลายที่กรองได้ไม่เปลี่ยนสีกระดาษลิสมัต (3.13) จากสีน้ำเงินเป็นสีแดง
8. ตวงสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (5.2) 200 ml ใส่ในบิกเกอร์ที่ใช้ต้มด่าง (3.3) นำไปต้มให้เดือดบนเตาไฟฟ้า แล้วล้างกากบนผ้ากรองในบิกเกอร์ใบเดิมให้หมด (ควรตั้งบิกเกอร์ด่างบนเตาไฟฟ้าเมื่อเริ่มทำการกรองในข้อ 6.5)
9. นำไปต้มบนเตาไฟฟ้าโดยใช้ขวดก้นกลมปิดปากของบิกเกอร์ให้สนิทเพื่อป้องกันการระเหยของสารละลาย เมื่อเริ่มเดือดจับเวลา 30 นาที (ถ้าปริมาณของสารละลายกรดลดลงให้เติมน้ำร้อนเพิ่มจนได้ปริมาณเท่าเดิม)
10. กรองทันทีผ่านกรวยบุชเนอร์ซึ่งบุด้วยกระดาษกรอง (3.11) ที่ตัดพอดีและฉีดน้ำให้แนบสนิทกับกรวยบุชเนอร์
11. ฉีดล้างสิ่งที่เหลือบนบิกเกอร์ด้วยน้ำร้อนหลายๆครั้งลงในกรวยบุชเนอร์
12. ล้างสิ่งที่ตกค้างบนกระดาษกรองด้วยน้ำร้อนจนหมดด่าง ทดสอบด้วยสารละลายที่กรองได้ไม่เปลี่ยนสีกระดาษลิสมัต (3.13) จากแดงเป็นสีน้ำเงิน
13. ถ่ายกากใส่ถ้วยกระเบื้องที่ทนร้อน (3.12) ด้วยน้ำร้อนจนหมดกาก นำไประเหยน้ำออกโดยใช้อ่างน้ำร้อน (4.5) จนแห้ง
14. นำไปอบที่ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 102±2 °C นาน 3 ชั่วโมง ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (W3)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

15. เผาถ้วยกระเบื้องพร้อมกากที่อบเรียบร้อยแล้วในเตาเผา (4.3) อุณหภูมิ 550±25 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (W4)

วิธีการคำนวณ

ใช้ตัวอย่างที่กำจัดความชื้นและไขมันออกเรียบร้อยแล้ว

ปริมาณกาก ร้อยละของน้ำหนัก = $\frac{(W3-W4)(100-\%H_2O-\%\,fat)}{(W1-W2)}$

W1 = น้ำหนักบิกเกอร์และตัวอย่าง หน่วย g

W2 = น้ำหนักบิกเกอร์ที่ถ่ายตัวอย่างออกแล้ว หน่วย g

W3 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องและกากหลังจากอบแห้ง หน่วย g

W4 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องและกากหลังจากการเผา หน่วย g

% H_2O = ปริมาณความชื้นของตัวอย่าง หน่วยเป็นร้อยละ

% fat = ปริมาณไขมันของตัวอย่าง หน่วยเป็นร้อยละ

6.การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC 2000)

อุปกรณ์

1. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ
2. ตะเกียงบุนเซน
3. เดซิเคเตอร์ ที่มีสารดูดความชื้น

เครื่องมือ

1. เตาเผาไฟฟ้าที่ปรับและควบคุมอุณหภูมิได้
2. เตาเผาไฟฟ้า
3. ตู้ดูดควัน
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า ชั่งน้ำหนักได้ละเอียด 0.1 มิลลิกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีวิเคราะห์

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบ (3.1) ในเตาเผาไฟฟ้า (4.1) ที่อุณหภูมิ 525-550 °C (เท่ากับอุณหภูมิที่ใช้เผาตัวอย่าง) นาน 30 นาที ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ (3.3) ชั่งน้ำหนัก (W1) และใส่ตัวอย่างทันทีในถ้วยกระเบื้องเคลือบ ชั่งให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2-3 กรัม (W2)
2. นำไปเผาด้วยไฟอ่อนบนเตาไฟฟ้า (4.2) โดยเพิ่มความร้อนขึ้นทีละน้อย จนตัวอย่างไหม้เกรียม และเผาต่อด้วยตะเกียงบุนเซน (3.2) ให้หมดควัน ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นของเหลวหรือกึ่งแข็งกึ่งเหลวให้นำตัวอย่างไประเหยแห้งบนเครื่องอังน้ำก่อนนำไปเผาบนเตาไฟฟ้า
3. นำไปเผาต่อในเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 525-550 °C จนได้เถ้าสีขาว (ใช้เวลา 2-3 ชั่วโมง)
4. ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักไว้
5. ถ้าเถ้าที่ได้ไม่ขาว ให้หยดน้ำเล็กน้อยพอเปียกชุ่ม (ระวังอย่าให้เถ้าฟุ้งหรือกระเด็น) นำไประเหยให้แห้งบนเครื่องอังน้ำ และทำซ้ำตามข้อ 5.2-5.4 โดยใช้เวลาในเตาเผาไฟฟ้าเพียง 1 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ (ผลต่างของการชั่งน้ำหนักสองครั้งติดกันมีค่าไม่เกิน 2 มิลลิกรัม ชั่งน้ำหนักที่ได้ (W3)

วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้าทั้งหมด ร้อยละของน้ำหนัก} = \frac{(W3 - W1)x100}{W2 - W1}$$

W1 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ หน่วย g

W2 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่าง หน่วย g

W3 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบและเถ้า หน่วย g

7. การวิเคราะห์หาความเป็นกรด- ด่าง (AOAC, 2000)

นำแยมฝรั่งไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างโดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรด (Microprocessor pH meter WTW: pH 537, Germany) ซึ่งได้มีการปรับค่ามาตรฐานด้วยสารละลายมาตรฐานที่มี pH เท่ากับ 4.00 และ 7.00 ตามลำดับแล้ว ทำการวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

8. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 2000)

สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยละลาย NaOH 4 กรัมด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร แล้วนำไปหาความเข้มข้นที่แน่นอน
2. ฟีนอฟธาลีน (Phenolphthalein) เตรียมโดยชั่ง Phenolphthalein 1 กรัม: 95% Ethanol 60 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำให้ครบ 100 มิลลิลิตร

อุปกรณ์

1. ขวดปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร
2. ปิเปตปรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร
3. กระดาษกรอง เบอร์ 1
4. ฟลาสก์ ขนาด 125 มิลลิลิตร
5. บิวเรต ขนาด 25 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 10 กรัม ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น แล้วนำตัวอย่างที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1
2. ปิเปตสารละลายใส 10 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ ขนาด 125 มิลลิลิตร หยดฟีนอฟธาลีน (อินดิเคเตอร์) 2 – 3 หยด
3. นำมาไทเทรตด้วยสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนสารละลายใสกลายเป็นสีชมพู จึงหยุดทำการไทเทรต
4. จดบันทึกจำนวนสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ใช้ไปในการไทเทรตแล้วนำมาคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการคำนวณ

1 มิลลิลิตร ของสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ สมมูลกับกรดซิตริก 0.07005กรัม

$$\% \text{ citric acid} = a \times M \times 0.07005 \times 100 / 10$$

เมื่อ a = จำนวนปริมาตรของสารละลาย NaOH

M = ความเข้มข้นของสารละลาย NaOH

9. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมด (AOAC, 2000)

สารเคมี

1. น้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 15 กรัม / ลิตร
2. กรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 %
4. DNS reagent เตรียมโดยละลาย DNS 10 กรัม ในสารละลาย 200 มิลลิลิตรของโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 โมลาร์ อุ่นและคนตลอดเวลา จากนั้นละลายโซเดียมโปแตสเซียมทาร์เทรท 300 กรัมในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ผสมเข้าด้วยกัน แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บในขวดสีชา

การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.25 และ 1.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่เตรียมไว้ใส่ลงในหลอดทดลองอย่างละ 1 มิลลิลิตร เติม DNS Reagent 1 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร นำไปต้มใน Water Bath 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

วิธีวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 3 กรัม ใส่ใน flask เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มใน Water Bath 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที
2. กรองด้วยกระดาษกรอง ล้างส่วนที่เหลือบนกระดาษกรองแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ใน Volumetric Flask
3. ดูดสารละลาย 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิลิตร แล้วดูดมา 1 มิลลิลิตร เติม DNS Reagent 1มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. นำไปต้มใน Water Bath 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

วิธีวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 1.0 – 1.2 กรัม เติมกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ จำนวน 10 มิลลิลิตรนำไปต้มใน Water Bath 100 องศาเซลเซียสนาน 20 นาทีแล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที
2. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 % จำนวน 12 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ดูดมา 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิลิตร
3. จากนั้นดูดสารละลายมา 1 มิลลิลิตร เติม DNS Reagent 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มใน Water Bath 100 องศาเซลเซียสนาน 5 นาที แล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที
4. ปรับปริมาตรให้เป็น 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

10. การวิเคราะห์ปริมาณเพคตินทั้งหมด (IFJU, 1964)

การเตรียมสารเคมี

1. เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (Absolute Ethanol)
2. เตรียมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 63 โดยตวง Absolute Ethanol ปริมาณ 65 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร
3. เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาณ 4 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร
4. เตรียมสารละลายแอมโมเนียมออกซาเลต ความเข้มข้นร้อยละ 0.75 โดยชั่งแอมโมเนียม-ออกซาเลตจำนวน 0.75 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร
5. สารละลาย Anti-foaming Agent

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

6. เตรียมสารละลาย Alcohol Carbazole ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยชั่ง Carbazole ปริมาณ 0.1 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยเอทานอลให้ครบ 100 มิลลิลิตร โดยเตรียมขึ้นมาใหม่ทุกครั้งเพื่อใช้ในการวิเคราะห์

การแยกตะกอนสารประกอบเพคตินทั้งหมด

1. ปิเปตตัวอย่างมาครั้งละ 15 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด Centifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วหยดสารละลาย Anti-foaming Agent 1-2 หยด
2. เติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ที่มีอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ปริมาณ 25 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด Centifuge คนให้เข้ากันด้วยเครื่องแก้ว จากนั้นนำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 85 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที ระหว่างนั้นใช้แท่งแก้วคนบางครั้ง เมื่อครบเวลานำหลอด Centifuge ขึ้นล้างแท่งแก้วคนด้วยเอทานอลอีก 10 มิลลิลิตร
3. นำหลอด Centifuge มาแยกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงโดยใช้อัตราเร็วรอบ 4500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นค่อยๆเทส่วนของเหลวทิ้งไป นำตะกอนที่ได้มาทำการสกัดต่อ
4. ทำการสกัดซ้ำตามขั้นตอนข้อ 2 และ 3 โดยเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 63 ที่มีอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ครั้งละ 40 มิลลิลิตร ทำการสกัดซ้ำเช่นนี้ 2 ครั้ง ตะกอนที่ได้เป็นตะกอนของสารประกอบเพคติน

วิธีวิเคราะห์

1. ใช้หลอดทดลองขนาดใหญ่เตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ต่อไปนี้

หลอด	สารเคมี
A	สารละลายเพคตินที่เตรียมได้ 1 มิลลิลิตร + สารละลาย Alcohol-carbazole 0.5 มิลลิลิตร
B	สารละลายเพคตินที่เตรียมได้ 1 มิลลิลิตร + สารละลาย Ethanol 0.5 มิลลิลิตร
C	น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร + สารละลายAlcohol-carbazole 0.5 มิลลิลิตร
D	น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร + สารละลาย Ethanol 0.5 มิลลิลิตร

2. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาณ 6 มิลลิลิตร โดยใช้สูบชักดูดสาร (Dispensette) ค่อยๆกดปล่อยกรดซัลฟูริกลงมาตามข้างหลอดช้าๆแต่ให้หมดภายใน 7 วินาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเหวี่ยงผสม (Vortex) จากนั้นนำหลอดทดลองลงไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 85 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที เมื่อครบกำหนดเวลานำหลอดขึ้นทิ้งให้เย็นประมาณ 15 นาที
4. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร บันทึกค่าการดูดกลืนคลื่นแสง เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบเพคตินที่มีในตัวอย่างโดยเทียบกับกราฟมาตราฐานของ Galacturonic Acid Monohydrate

การเตรียมกราฟมาตรฐาน

1. เตรียม Stock Solution ของสารละลาย Galacturonic Acid Monohydrate โดยชั่ง Galacturonic Acid Monohydrate ปริมาณ 120.5 มิลลิกรัม แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ข้ามคืนเพื่อให้เกิดการขยายตัวของสายโมเลกุล Galacturonic Acid Monohydrate สารละลายที่เตรียมได้นี้มีความเข้มข้นเท่ากับ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. เจือจาง Stock Solution ของสารละลาย Galacturonic Acid Monohydrate ตามข้อ 1 ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 10,20,40,50,60 และ 80 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร
3. เตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเพคตินเช่นเดียวกับในตัวอย่างจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงเช่นเดียวกัน
4. นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย Galacturonic Acid Monohydrate ที่ความเข้มข้นต่างๆมาหาความสัมพันธ์เชิงเส้นทำให้ได้สมการเส้นตรงและนำมาใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารประกอบเพคตินที่มีในตัวอย่าง

สมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตราฐาน $y = a(x)+b$

เมื่อ y คือ ปริมาณสารประกอบเพคติน มีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อลิตร

a คือ ค่าความชันของเส้นกราฟ

x คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานหลังจากหักลบด้วย blank แล้วหรือเขียนได้ว่า x = (ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดทดลอง A – ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดทดลอง B–ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดทดลอง C– ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดทดลอง D)

b คือ ค่าคงที่ของสมการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการคำนวณ

คำนวณค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของตัวอย่างเช่นเดียวกับของสารละลาย ทำให้ได้ค่า x นำไปแทนในสมการข้างต้นเพื่อคำนวณหาปริมาณสารประกอบเพคตินที่มีในตัวอย่างวิเคราะห์ ซึ่งจำเป็นต้องนำมาคำนวณให้อยู่ในหน่วย มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของตัวอย่างเริ่มต้นดังนี้

ปริมาณสารประกอบเพคตินในตัวอย่างวิเคราะห์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

$$= \frac{\text{ปริมาณสารประกอบเพคตินที่เทียบจากกราฟมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อลิตร) x 100}}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างเท่ากับ 15 มิลลิลิตร}}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

1. วิธีการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (APHA, 1992)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว
2. ปิเปตผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
3. ตู้บ่ม (Incubator) อุณหภูมิ 35-37°C
4. เครื่องตีป่น (Stomacher)
5. ถุงตีป่น

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. 0.1% peptone water
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA)

วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่าง 25 gใส่ในถุง Stomacher เติมสารละลาย 0.1% Peptone Water จำนวน 225 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องตีป่น (Stomacher) นาน 1-2 นาที
2. ทำเจือจางอาหารในสารละลาย 0.1% Peptone Water หลอดละ 9 มล. จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม
3. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายอาหารที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสมจำนวน 3 ระดับความเข้มข้นที่ติดกัน จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเชื้อ โดยทำแบบ Duplicate
4. เติมอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA อุณหภูมิ 44-46 °C ประมาณ 12-15 มิลลิลิตรใส่ในจานเพาะเชื้อ เขย่าจานให้สารละลายอาหารกระจายทั่วจานเพาะเชื้อ
5. ปล่อยให้อาหารวุ้นแข็งตัว คว่ำจานเพาะเชื้อ บ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37°ซ นาน 48 ± 3 ชั่วโมง
6. นับจำนวนโคโลนีจากจานที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี คำนวณ Log CFU/g ของอาหารได้จากสูตรนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการคำนวณ

$$\text{Log cfu/g} = \text{Log} \frac{\sum C}{(v1n1 + 0.1n2)\, d}$$

เมื่อ v1 = ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ

$\sum C$ = ผลรวมของโคโลนีที่นับได้ทั้งหมดจากจานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 25-250 โคโลนี

n1 = จำนวนจานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 25-250 โคโลนี ในระดับความเข้มข้นแรก

n2 = จำนวนจานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 25-250 โคโลนี ในระดับความเข้มข้นที่ 2

d = ระดับความเข้มข้นแรกที่สามารถนับเชื้อได้ในช่วง 25-250 โคโลนี

2. การตรวจหาเชื้อยีสต์และรา (APHA, 1992)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว
2. ปิเปตผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
3. ตู้บ่ม (Incubator) อุณหภูมิ 20-25°ซ
4. เครื่องตีป่น (Stomacher)
5. ถุงตีป่น (Stomacher Bag)

อาหารเลี้ยงเชื้อและรีเอเจ้นท์

1. 0.1% peptone water
2. Potato dextrose agar, pH 3.5

วิธีการวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในถุง Stomacher เติมสารละลาย 0.1% Peptone Water จำนวน 225 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องตีป่น (Stomacher) นาน 1-2 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ทำเจือจางอาหารในสารละลาย 0.1% Peptone Water หลอดละ 9 มล. จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม
3. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายอาหารที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสมจำนวน 3 ระดับความเข้มข้นที่ติดกัน จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเชื้อโดยทำแบบ ฏuplicate
4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ปรับ pH เป็น 3.5 อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส จำนวน 15-20 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ เขย่าจานให้สารละลายอาหารกระจายทั่วจานเพาะเชื้อ
5. ปล่อยให้อาหารวุ้นแข็งตัว บ่มในตู้เพาะเชื้ออุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ± 3 ชั่วโมง
6. นับจำนวนโคโลนีจากจานที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี คำนวณค่า Log CFU/g ของอาหารได้จากสูตรเดียวกับการหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด

3. การหาโคลิฟอร์มและอี. โคไลโดยวิธี MPN (APHA, 1992)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หลอดทดลอง ขนาด 16*150
2. หลอดดักก๊าซ (Durham tube)
3. ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
4. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายเจือจาง

1. สารละลายเปปโตนความเข้มข้น ร้อยละ 0.1
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Sulfate Tryptose Broth
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green Lactose Bile Broth
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ EC Broth
5. อาหารเลี้ยงเชื้อ Levine-EMB Agar
6. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar
7. อาหารเลี้ยงเชื้อ MR-VP Broth
8. อาหารเลี้ยงเชื้อ Simmons Citrate Agar
9. สารละลาย Gram Crystal Violet
10. สารละลาย Gram Iodine

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

11. สารละลาย Tryptone Broth
12. สารละลาย Kovac's Reagent
13. สารละลาย α-naphthol Solution
14. สารละลาย Potassium Hydroxide เข้มข้น 40%
15. สารละลาย Methyl Red Solution

วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตน้ำฝรั่ง 25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดดูแรนที่มีสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 จำนวน 225 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นาน 1-2 นาที
2. เจือจางอาหารในสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 หลอดละ 9 มิลลิลิตร จนได้ระดับความเจือจางที่ 10, 100 และ 1,000 เท่า
3. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายเจือจางที่เตรียมไว้ในข้อ 1 และ 2 ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Sulfate Tryptose broth หลอดละ 1 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 หลอด
4. อบเพาะเชื้อที่ 35°C นาน 48 ± 2 ชั่วโมง ตรวจดูการเกิดก๊าซหลังการอบเพาะเชื้อ 24 ± 2 ชั่วโมง ถ้าไม่มีก๊าซเกิดขึ้นนำไปอบเพาะเชื้อต่ออีก 24 ชั่วโมง ตรวจดูการเกิดก๊าซอีกครั้ง ถ้ามีก๊าซเกิดขึ้นนำไปทดสอบยืนยัน (confirmation) ต่อ
5. นำหลอดที่มีก๊าซเกิดขึ้นมาเขย่าเบาๆ แล้วใช้ห่วงเขี่ยเชื้อซึ่งเผาไฟฆ่าเชื้อแล้ว ถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green Broth 2% อบเพาะเชื้อที่ 35°C นาน 48 ± 2 ชั่วโมง ตรวจดูการเกิดก๊าซและบันทึกผล
6. คำนวณค่าเอ็มพีเอ็นต่อกรัม (MPN/ml) ของโคลิฟอร์มจากจำนวนหลอดอาหาร Brilliant Green Broth 2% ที่มีก๊าซเกิดขึ้นตามตาราง ค1
7. นำหลอดอาหาร Lauryl Sulfate Tryptose broth ที่มีก๊าซเกิดขึ้นมาเขย่าเบาๆ ใช้ห่วงถ่ายเชื้อเผาไฟฆ่าเชื้อ ถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหาร EC broth เพาะเชื้อในอ่างน้ำอุ่นควบคุมอุณหภูมิที่ 45.5 °ซ ตรวจดูการเกิดก๊าซหลังการบ่มเพาะนาน 24 ± 2 ชั่วโมง ถ้าไม่มีก๊าซเกิดขึ้นให้บ่มเพาะต่อ และตรวจดูการเกิดก๊าซอีกครั้งหลังจากบ่มนาน 48 ± 2 ชั่วโมง คำนวณหาปริมาณเชื้อ Faecal Coliform จากตาราง ค1
8. ใช้ห่วงถ่ายเชื้อเผาไฟฆ่าเชื้อ ถ่ายเชื้อจากหลอดอาหาร EC broth ที่เกิดก๊าซขีดเป็นเส้น (Streak) ลงบนผิวหน้าอาหาร Levine-EMB agar บ่มเพาะเชื้อที่ 35°ซ นาน 18-24 ชั่วโมง ตรวจดูโคโลนีที่มีสีม่วงแดงเข้ม ลักษณะแบน มี metallic sheen

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

9. ถ่ายเชื้อที่มีลักษณะเฉพาะตามข้อ 8 จานเพาะเชื้อละ 2 โคโลนี ลงในหลอดอาหาร Plate Count Agar ที่มีผิวหน้าเอียง โคโลนีละ 2 หลอด บ่มเพาะเชื้อที่ 35°ซ นาน 18-24 ชั่วโมง ถ้าไม่มีโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะตามข้อ 8 ให้เลือกโคโลนีที่ลักษณะใกล้เคียงมากที่สุด จานเพาะเชื้อละ 1 โคโลนี
10. นำเชื้อจากหลอดอาหาร Plate Count Agar ที่บ่มเพาะนาน 18 ชั่วโมง มาย้อมสีกรัม ดังนี้
    10.1 หยดน้ำกลั่นลงบนสไลด์ 1 หยด
    10.2 ใช้ห่วงถ่ายเชื้อแตะเชื้อจากหลอดอาหาร Plate Count Agar นำไปกระจายในหยดน้ำกลั่นบนสไลด์ ปล่อยให้แห้งในอากาศนำสไลด์ไปผ่านเปลวไฟ 2-3 ครั้ง เพื่อทำให้เชื้อติดแน่นบนสไลด์
    10.3 หยดสารละลาย Gram Crystal Violet ลงไปให้ท่วมบริเวณที่มีเชื้อ ทิ้งไว้นาน 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำ
    10.4หยดสารละลาย Gram Iodine ลงไปให้ท่วมบริเวณที่มีเชื้อ ทิ้งไว้นาน 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำ
    10.5 ล้างสี Crystal Violet ส่วนเกินออกโดยเอียงสไลด์แล้วหยดแอลกอฮอล์ เข้มข้น 95% ให้ไหลผ่านสไลด์ 15-30 วินาที ล้างออกด้วยน้ำ
    10.6 หยดสารละลาย Gram Safranin ลงไปให้ท่วมบริเวณที่มีเชื้อ ทิ้งไว้นาน 15 วินาที ล้างออกด้วยน้ำ ซับน้ำ ทิ้งไว้ให้แห้ง
    10.7 ตรวจดูรูปร่าง ลักษณะการเรียงตัว และการติดสีกรัมของเชื้อ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์

11. ถ้าพบเชื้อที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้นและกลม ติดสีกรัมลบ ไม่มีสปอร์ ให้นำหลอดอาหาร Plate Count Agar ที่เหลืออีกหลอดหนึ่งไปทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี ดังนี้
    11.1 **การทดสอบ Indole** - เพาะเชื้อลงใน Tryptone Broth บ่มเชื้อที่ 35°C นาน 24 ± 2 ชั่วโมง ทดสอบการสร้างอินโดลโดยหยด Kovac's Reagent 0.2-0.3 มิลลิลิตร เมื่อมีสีแดงเกิดขึ้นในชั้นบนของหลอดอาหารแสดงว่าเกิดการสร้างอินโดล รายงานผลการทดสอบเป็นบวก ถ้าเป็นสีเหลืองแสดงว่าไม่มีการสร้างอินโดล รายงานผลการทดสอบเป็นลบ
    11.2 **การทดสอบ Voges-Proskauer (VP)** - เพาะเชื้อลงใน MR-VP Medium บ่มเชื้อที่ 35°ซ นาน 48 ± 2 ชั่วโมง ใช้ปิเปตดูดอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง ขนาด 13x100 มิลลิเมตร ทดสอบ VP โดยเติมสารละลาย α-naphthol Solution จำนวน 0.6 มิลลิลิตร และสารละลาย Potassium Hydroxide ความเข้มข้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

40% จำนวน 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติม Creatin เล็กน้อย วางทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง เมื่อมีสีชมพู (Eosin Pink) เกิดขึ้น รายงานผลการทดสอบเป็นบวก ถ้าไม่เกิดการเปลี่ยนสี รายงานผลการทดสอบเป็นลบ

11.3 **การทดสอบ Methyl red** - นำ MR-VP medium ที่เหลือไปบ่มที่ 35°C ต่ออีก 48 ± 2 ชั่วโมง ทดสอบปฏิกิริยา Methyl Red โดยหยด Methyl red Solution จำนวน 5 หยด ในแต่ละหลอด เมื่อมีสีแดงเกิดขึ้นรายงานผลการทดสอบเป็นบวก ถ้าเป็นสีเหลืองรายงานผลการทดสอบเป็นลบ

11.4 **การทดสอบ Citrate** - เพาะเชื้อใน Simmons Citrate Agar โดยการแทง (Stab) ลงในวุ้น และขีดเป็นเส้นบนผิวหน้าของอาหารวุ้น บ่มที่ 35°C ต่ออีก 24 ± 2 ชั่วโมง เมื่อมีโคโลนีเกิดขึ้นและอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนสีรายงานผลการทดสอบเป็นบวก และถ้าสีของอาหารไม่เปลี่ยนแปลงรายงานผลการทดสอบเป็นลบ

11.5 **การเกิดก๊าซจากแลคโตส** - เพาะเชื้อลงในหลอดอาหาร Lauryl Sulfate Tryptose Broth บ่มที่ 35°C ต่ออีก 48 ± 2 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดก๊าซ

11.6 **คำนวณค่า MPN ของ *E. coli*** โดยเทียบค่าจากตาราง MPN ในภาคผนวก จากเชื้อที่ติดสีกรัมลบ รูปร่างเป็นท่อนสั้น ไม่มีสปอร์ ทำให้เกิดก๊าซจากน้ำตาลแลคโตส และให้ผลการทดสอบ IMViC (indole, methyl red, Voges-Proslauer และ citrate) เป็น + + - - หรือ - + - -

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ง1 ค่าเอ็มพีเอ็นต่อกรัม (MPN/ml) ของตัวอย่างอาหาร เมื่อใช้ตัวอย่าง 0.1, 0.01 และ 0.001 กรัม 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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ ง1 (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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาววัชราภรณ์ เวียงอินทร์

วัน เดือน ปีเกิด 18 เมษายน 2522

ประวัติการศึกษา พ.ศ. 2540 สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนพิริยาลัย

พ.ศ. 2544 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาฟิสิกส์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved