



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก
รูปภาพประกอบการวิจัย



รูปที่ ก.1 ผลมะเกี๋ยงสุก (สีม่วงดำทั้งผล)



รูปที่ ก.2 ผลหม่อนสุก (สีม่วงดำทั้งผล) พันธุ์เชียงใหม่



รูปที่ ก.3 เครื่องคั้นน้ำแบบไฮดรอลิก



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ ก.4 (ก) เครื่องระเหยไอน้ำภายใต้สุญญากาศ (vacuum evaporator) แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ (ข) เครื่องระเหยไอน้ำ (vacuum evaporator) (ค) ชุดปั๊มสุญญากาศและตัวดักจับไอน้ำ



(น้ำมะเข็ญ)

(น้ำหม่อน)

รูปที่ ก.5 ลักษณะของน้ำมะเข็ญและน้ำหม่อนหลังการสกัด (แถวบน)
น้ำมะเข็ญและน้ำหม่อนหลังการทำเข้มข้น (แถวล่าง)



รูปที่ ก.6 ลักษณะของผลิตภัณฑ์น้ำมะเข็ญผสมน้ำหม่อนสกัดเข้มข้นพร้อมดื่มบรรจุขวด

ภาคผนวก ข
การทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

ตาราง ข.1 จำนวนผู้ทดสอบชิมที่เลือกสูตรในแต่ละลักษณะคุณภาพของน้ำมะเงี๋ยงผสมน้ำหม่อนสกัดเข้มข้นพร้อมดื่ม

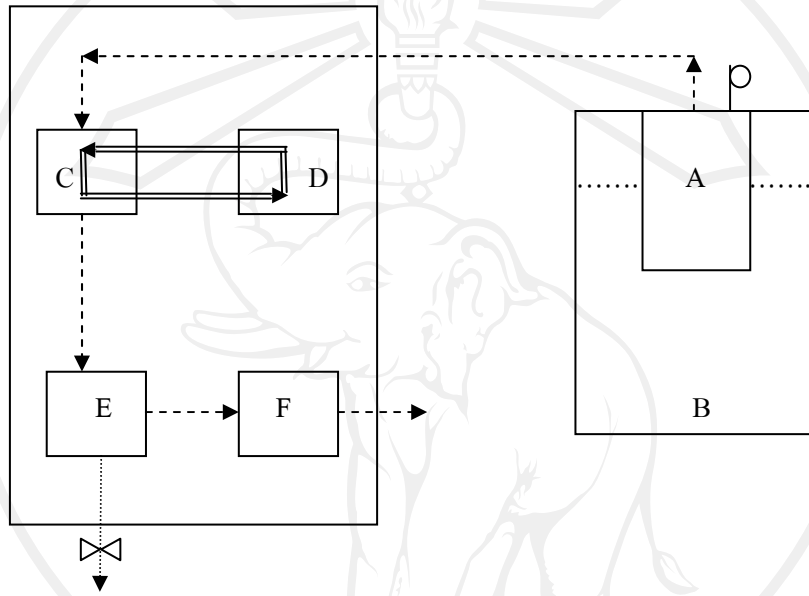
ลักษณะคุณภาพทางประสาทสัมผัส	ผู้ทดสอบชิม (ร้อยละ) ที่ระบุความชอบมากที่สุด ในแต่ละสูตรของน้ำมะเงี๋ยงผสมน้ำหม่อนสกัดเข้มข้นพร้อมดื่ม								
	สูตร 1	สูตร 2	สูตร 3	สูตร 4	สูตร 5	สูตร 6	สูตร 7	สูตร 8	สูตร 9
กลิ่น	6	14	8	41	6	0	3	3	19
ความเปรี้ยว	6	14	3	46	0	0	0	6	25
ความหวาน	0	10	0	56	0	0	0	3	31

ตาราง ข.2 จำนวนผู้ทดสอบชิมที่เลือกสูตรในแต่ละลักษณะคุณภาพของน้ำมะเงี๋ยงผสมน้ำหม่อนสกัดเข้มข้นพร้อมดื่มที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

ลักษณะคุณภาพทางประสาทสัมผัส	ผู้ทดสอบชิม (ร้อยละ) ที่ระบุความชอบมากที่สุด ในแต่ละเวลาในการฆ่าเชื้อ		
	2 นาที	4 นาที	6 นาที
กลิ่น	14.28	42.86	42.86
ความเปรี้ยว	7.14	50.00	42.86
ความหวาน	14.29	35.71	50.00

ภาคผนวก ค

ผังการทำงานของเครื่องระเหยไอน้ำภายใต้สุญญากาศ



รูปที่ ค.1 ผังการทำงานของเครื่องระเหยไอน้ำภายใต้สุญญากาศ

A = ถังบรรจุของเหลวที่ต้องการระเหย

B = หม้อน้ำร้อนใช้ไฟฟ้า

C = ชุดควบแน่น

D = ระบบทำความเย็นสำหรับน้ำหล่อเย็น

E = ถังบรรจุน้ำควบแน่น

F = ปั๊มสุญญากาศ

⇒ = เส้นทางไหลของน้ำหล่อเย็น

---> = เส้นทางไหลของไอ

.....> = เส้นทางไหลของน้ำควบแน่น

⊗ = วาล์ว

ที่มา : สมชาย และคณะ (2553)

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลทรรศน์

1. การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

1.1 การวิเคราะห์ค่าสี (L C h°)

เครื่องมือที่ใช้

เครื่องวัดสี Minolta chroma meter รุ่น CR-300 ค่าที่ทำการวัดประกอบด้วย

- ค่า L (Lightness) คือค่าความสว่าง: เมื่อมีค่าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมีสีขาว และเมื่อเข้าใกล้ 0 แสดงว่าวัตถุมีสีดำ

- ค่า C (chroma) คือ ค่าแสดงความเข้มของสี มีค่าเข้าใกล้ 0 เมื่อวัตถุมีสีซีดจาง (เทา) และมีค่าเข้าใกล้ 60 เมื่อวัตถุมีสีเข้ม

- ค่า h° (hue angle) คือ ค่าแสดงช่วงสีของวัตถุมีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 องศา คือ

0-45 องศา แสดงสีม่วงแดงถึงสีส้มแดง 180-225 องศา แสดงสีเขียวถึงสีน้ำเงิน

45-90 องศา แสดงสีส้มแดงถึงเหลือง 225-270 องศา แสดงสีน้ำเงินเขียวถึงน้ำเงิน

90-135 องศา แสดงสีเหลืองถึงสีเขียว 270-315 องศา แสดงสีน้ำเงินถึงม่วง

135-180 องศา แสดงสีเหลืองเขียวถึงเขียว 315-360 องศา แสดงสีม่วงถึงม่วงแดง

วิธีการวัดค่าสี

1. ก่อนทำการวัดสีทุกครั้งต้องทำการปรับมาตรฐานเครื่อง (Calibration) โดยการวางหัววัดทาบบนผิวหน้าของแผ่น calibrate สีขาว กดปุ่ม measure ให้เครื่องวัดค่าสี เครื่องวัดสีจะบันทึกข้อมูลของแผ่น calibrate สีขาวไว้

2. ทำการวัดสีตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำหมอนสกัดเข้มข้น วัดตัวอย่างประมาณ 50 มิลลิลิตร นำหัววัดทาบบนผิวหน้าของตัวอย่าง แล้วกดปุ่ม measure ให้เครื่องวัดอ่านค่าสี แล้วจดบันทึกข้อมูล

1.2 การวัดความหนืด

เครื่องมือที่ใช้

เครื่อง Brookfield-Programmable Viscometer รุ่น LV DV-II+

วิธีการวัด

1. ก่อนทำการวัดทุกครั้งต้องทำการปรับตั้งหัว spindle ก่อน โดยใช้ไม้ส้อมผัสกับ spindle

เบาๆ โดยที่ %T (torque) ต้องมีค่าอยู่ที่ ร้อยละ 0 ± 0.3

2. เลือกหัว spindle เบอร์ S18

3. การวัดความหนืดน้ำหมอนสกัดเข้มข้น ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ใส่ลงในกระบอกใส่ตัวอย่างแล้วจึงบรรจุเข้ากับ cell เพื่อวัดความหนืด

4. ทำการวัดโดยควบคุมอุณหภูมิห้องที่ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความหนืดที่วัดได้มีหน่วยเป็น centipoises; cP

2. การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

1. อบกระป๋องหาความชื้นพร้อมฝาที่ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนัก (W_1)

2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 3 กรัม ใส่กระป๋องหาความชื้นที่อบ และชั่งน้ำหนักไว้เรียบร้อยแล้ว (W_2)

3. นำกระป๋องหาความชื้นพร้อมฝา โดยเปิดฝาทิ้งไปอบที่ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง

4. นำกระป๋องหาความชื้นออกจากตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้า โดยปิดฝาทันที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

5. นำไปอบต่ออีก 1 ชั่วโมงจนได้น้ำหนักคงที่ (W_3)

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(W_2 - W_3)}{(W_2 - W_1)} \times 100$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักของกระป๋องหาความชื้น (กรัม)

W_2 = น้ำหนักของกระป๋องหาความชื้น และตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_3 = น้ำหนักของกระป๋องหาความชื้น และตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid) (AOAC, 2000)

1. อบกระป๋องหาความชื้นพร้อมฝาที่ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนัก (W_1)

2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 3 กรัม ใส่กระป๋องหาความชื้นที่อบ และชั่งน้ำหนักไว้เรียบร้อยแล้ว (W_2)

3. นำกระป๋องหาความชื้นพร้อมฝา โดยเปิดฝาทิ้งไว้ที่ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง

4. นำกระป๋องหาความชื้นออกจากตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้า โดยปิดฝาทันที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

5. นำไปอบต่ออีก 1 ชั่วโมงจนได้น้ำหนักคงที่ (W_3)

$$\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด ร้อยละของน้ำหนัก} = 1 - \frac{(W_2 - W_3)}{(W_2 - W_1)} \times 100$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักของกระป๋องหาความชื้น (กรัม)

W_2 = น้ำหนักของกระป๋องหาความชื้น และตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_3 = น้ำหนักของกระป๋องหาความชื้น และตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

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

1. ก่อนทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ทุกครั้ง ต้องปรับค่ามาตรฐานของเครื่อง pH meter ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 4.00 และ pH 7.00

2. นำน้ำหมอนสกัดเข้มข้นเทใส่ลงในบีกเกอร์ปริมาณ 20 มิลลิลิตร

3. ทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้ electrode ของ pH meter จุ่มลงไป อ่านค่าพีเอชจากจอ monitor

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solid) (AOAC, 2000)

1. ปรับค่ามาตรฐาน โดยหยดน้ำกลั่นที่ปริซึมของ Refractometer ปิดฝาทันที จากนั้นส่องดูกับแสง ปรับขีดบอกจำนวนบริกซ์ให้อยู่ที่ 0 องศาบริกซ์ แล้วเช็ดให้แห้ง

2. หยดตัวอย่างลงในปริซึมของ Refractometer ปิดฝาทันที ส่องดูกับแสง

3. อ่านค่าที่ได้ แล้วบันทึกผล

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 2000)

วิธีการเตรียมสารเคมี

1. Phenolphthalein ($C_{20}H_{14}O_4$) ร้อยละ 1 : เตรียมโดยชั่ง phenolphthalein 1 กรัม ละลายด้วย 60% ethanol แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

2. 0.1 M NaOH : เตรียมโดยชั่ง NaOH 4 กรัม ด้วยเครื่องชั่งที่มีความละเอียดอย่างน้อย 3 ตำแหน่ง ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วถ่ายใส่ volumetric flask ขนาด 1 ลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1

ลิตร ทำการ Standardize 0.1 M NaOH ที่เตรียมได้ด้วย 0.1 M Potassium hydrogen phthalate เพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารที่เตรียมได้

3. 0.1 M Potassium hydrogen phthalate ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$) : นำ potassium hydrogen phthalate ไปอบไล่ความชื้นที่ 120°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำไปตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในเดสซิเคเตอร์ จากนั้นชั่งมา 2.0422 กรัม นำไปละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

นำหมอนสกัดเข้มข้นเจือจางด้วยน้ำกลั่น 30-60 เท่า จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด ดังนี้

1. เปิดน้ำหมอนสกัดเข้มข้นที่เจือจางมาแล้วมา 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่
2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร
3. เติม phenolphthalein indicator 2-3 หยด แล้วผสมให้เข้ากัน
4. ไทเทรตตัวอย่างในขวดรูปชมพู่ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 M

หาจุดยุติโดยใช้เครื่อง pH meter จุดยุติ คือ เมื่อมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 8.2 หรือจนเป็นสีชมพูอ่อนๆ แล้วบันทึกปริมาตรของ 0.1 M NaOH ที่ใช้

วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดซัลฟิวริก (\%w/w)} = \frac{a \times 0.7 \times \text{dilution factor} \times 100}{1000}$$

a = ปริมาตรของสารละลาย 0.1 M NaOH ที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)

2.6 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (Waterman and Mole, 1994)

วิธีการทำกราฟมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000 ppm โดยชั่งกรดแกลลิก 100 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล ร้อยละ 95 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2. ทำการ dilution สารละลายที่ได้ในข้อ 1) โดยการเปิดมา 0.5 1 2 3 4 5 6 7 8 และ 9 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 9 มิลลิลิตร ก็จะได้ความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิกเป็น 50 100 200 300 400 500 600 700 800 และ 900 ppm ตามลำดับ

3. เปิดสารละลายแต่ละความเข้มข้นในข้อ 1) และ 2) มา 0.25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร เติมสาร Folin-Ciocalteu's phenol 0.25 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ร้อยละ 7 อีก 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixture

4. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอล ร้อยละ 95 เป็นแบล็ก

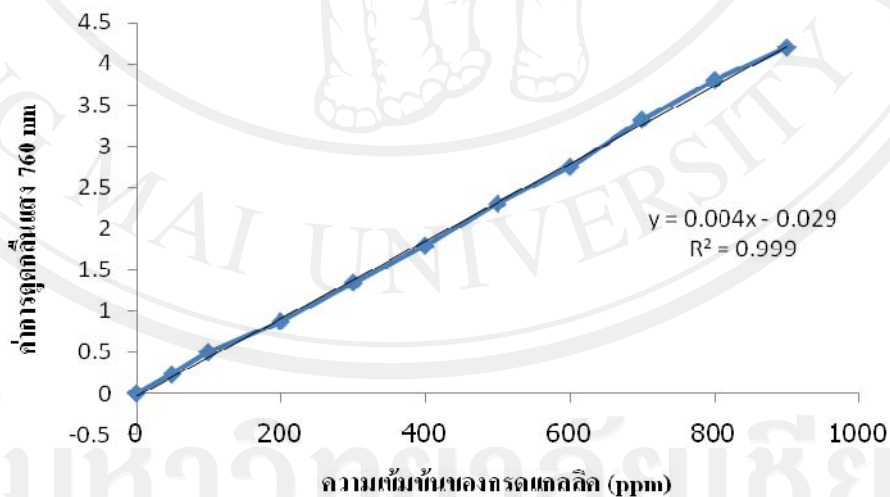
5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ในแต่ละความเข้มข้นไปเขียนกราฟมาตรฐานต่อไป

วิธีสร้างกราฟมาตรฐาน

1. เปิดโปรแกรม excel แล้วป้อนข้อมูลค่าการดูดกลืนแสง และความเข้มข้นใน column
2. ลากเป็นกรอบคำกำกับตัวเลขทั้งหมด แล้วคลิกที่รูปกราฟแท่งทางด้านขวามือบนจะปรากฏ chart wizard- step 1 of 4 ให้คลิกที่ XY (scatter) ดูกรอบทางขวา เลือกกราฟรูปที่ 2 คลิก next จะปรากฏ chart wizard- step 2 of 4 ให้คลิกที่ next
3. จะเข้าสู่ chart wizard- step 3 of 4 พิมพ์ chart title พิมพ์ value (X) axis และ value (Y) axis จากนั้นคลิกที่ next
4. จะเข้าสู่ chart wizard- step 4 of 4 พิมพ์ finish ก็จะได้กราฟ
5. คลิกจุดบนเส้นกราฟ จะพบจุดสี่เหลี่ยม คลิกขวาที่จุดสี่เหลี่ยม แล้วคลิกที่ Add

Trendline

6. คลิกที่ linear คลิกที่ option คลิกเครื่องหมายถูกที่ display equation on chart และ display R-squared แล้วคลิกที่ OK ก็จะได้กราฟพร้อมสมการ และค่า R^2



รูปที่ 1.1 กราฟมาตรฐานสารละลายกรดแกแลคติก

วิธีการวิเคราะห์

1. นำน้ำมะเข็ญ 10 มิลลิลิตร นำไปปรับปริมาตรด้วยเอทานอล ร้อยละ 95 ให้ครบ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 5,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แยกเอาเฉพาะสารละลายใส่ไปวิเคราะห์ต่อไป

2. ปิเปตสารละลายที่ได้ 0.25 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร เติมสาร Folin-Ciocalteu's phenol 0.25 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ร้อยละ 7 อีก 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixture

3. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอล ร้อยละ 95 เป็นเบลงค์ นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปแทนค่า Y ในสมการกราฟมาตรฐาน เพื่อหาค่า X แล้วนำค่า X คูณด้วยค่า dilution factor ก็จะได้ค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่าง มีหน่วยเป็น ppm หรือไมโครกรัมต่อกรัม as gallic acid

2.7 การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด (AOAC, 2005)

วิธีการวิเคราะห์

การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์

1. เตรียม pH 1.0 buffer โดยชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCL 0.025 M) 1.86 กรัม ลงในบีกเกอร์แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 980 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH ให้ได้ 1.0 (± 0.05) ด้วย HCL (ปริมาตร 6.3 มิลลิลิตร) เทลงใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

2 เตรียม pH 4.5 buffer โดยชั่ง โซเดียมอะซิเตทไตรไฮเดรต ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.4 M) 54.43 กรัม ลงในบีกเกอร์แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 960 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH ให้ได้ 4.5 (± 0.05) ด้วย HCL (ปริมาตร 20 มิลลิลิตร) เทลงใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

การเตรียมสารละลายทดสอบ

1. กำหนดปัจจัยที่เหมาะสมโดยการเจือจางน้ำมะเข็ญ กับ pH 1.0 buffer (ไม่ควรเกิน 1:4 ส่วน เพื่อไม่ให้เกินความจุของสารละลายบัฟเฟอร์) จนได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร คืออยู่ในช่วงเส้นตรงของ spectrophotometer

2. เตรียมปัจจัยที่เหมาะสมในการเจือจางน้ำมะเข็ญมา 2 ส่วน ใช้กับ pH 1.0 buffer และ pH 4.5 buffer

การวิเคราะห์

1. ปิเปตน้ำมะเข็ญเจือจางกับ pH 1.0 buffer นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นทั้ง 520 และ 700 นาโนเมตร

2. ปิเปตน้ำมะเข็ญเจือจางกับ pH 4.5 buffer นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นทั้ง 520 และ 700 นาโนเมตร

3. ส่วนหลอดเบลงค์ใช้น้ำกลั่น

4. คำนวณปริมาณแอนโทไซยานิน (cyanidine-3-glucoside equivalence, mg/l) ดังสูตร
ต่อไปนี้

สูตรการคำนวณ

$$\text{ปริมาณแอนโทไซยานิน (mg/l)} = \frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon \times l}$$

เมื่อ $A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH1}} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH4.5}}$

MW = น้ำหนักโมเลกุล 499.2 g/mol (cyanidine-3-glucoside)

DF = dilution factor

ϵ = molar extinction coefficient 26,900 (l.mol⁻¹.cm⁻¹) (cyanidine-3-glucoside)

l = ความกว้างของคิวเวต (cm)

10³ = การเปลี่ยนจาก กรัมเป็นมิลลิกรัม

2.8 การวิเคราะห์ปริมาณสารเคอร์ซีทิน (Fecka and Turek, 2008)

1. นำน้ำหม่อน 10 มิลลิลิตร นำไปปรับปริมาตรด้วยเมทานอลให้ครบ 100 มิลลิลิตร
แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 10,000 rpm อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แยกเอา
สารละลายใส่ไปวิเคราะห์ต่อไป

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีทินความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อกรัม ในเมทานอล
แล้วนำสารละลายในข้อ 1) บรรจุลงใน vial ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำ vial ของสารสกัด
ตัวอย่าง และสารมาตรฐานเคอร์ซีทิน ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ตามสภาวะดังต่อไปนี้

HPLC condition

- Column : Zorbax SB-C18, 5 um (4.6×150 mm.)
- Mobile phase : Solvent A; 0.2% formic acid in acetonitrile and Solvent B; 0.2%
formic acid in water
- Flow rate : 0.9 ml/min
- Injection volume : 20 µl
- UV detector : 280 nm

2.9 การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ

โดยใช้ 3 วิธี คือ Scavenging effect on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH Method), Scavenging effect on 2,2- azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS Method) และ Ferric reducing Antioxidant Power (FRAP Method)

2.9.1 DPPH Method (Brand-Williams *et al.*, 1995 และ Šircelj *et al.*, 2010)

การเตรียมสารมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน ไทโรลอกซ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.0-0.2 มิลลิโมล) โดยเจือจางด้วยน้ำกลั่น (ความเข้มข้นต้องอยู่ในช่วง 20 – 100 % inhibition)
2. ปิเปตสารละลาย DPPH 0.1 mM ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง 10 อัน เติมสารละลายมาตรฐาน ไทโรลอกซ์แต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixture ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

3. สำหรับหลอดควบคุมใช้เมทานอลปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แทนสารละลายมาตรฐาน ไทโรลอกซ์ ส่วนหลอดเบลงค์ใช้เมทานอล

4. คำนวณหา % inhibition จากสูตรต่อไปนี้

$$\% \text{ inhibition} = \left[\frac{A_{517\text{control}} - A_{517\text{test sample}}}{A_{517\text{control}}} \right] \times 100$$

5. นำ % inhibition ที่คำนวณได้ของแต่ละความเข้มข้น ไปเขียนกราฟมาตรฐานต่อไปนี้

วิธีสร้างกราฟมาตรฐาน

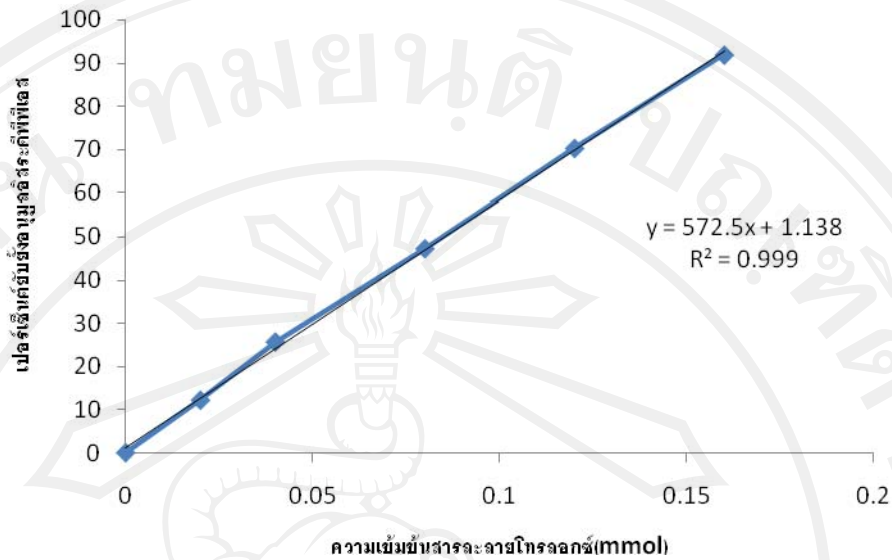
- 6.1 เปิดโปรแกรม excel แล้วป้อนข้อมูลค่า % inhibition และความเข้มข้นลงใน column
- 6.2 ลากเป็นกรอบคำกำกับตัวเลขทั้งหมด แล้วคลิกที่รูปกราฟแท่งทางด้านขวามือบนจะปรากฏ chart wizard- step 1 of 4 ให้คลิกที่ XY (scatter) ดูกรอบทางขวา เลือกรูปที่ 2 คลิก next จะปรากฏ chart wizard- step 2 of 4 ให้คลิกที่ next

- 5.3 จะเข้าสู่ chart wizard- step 3 of 4 พิมพ์ chart title พิมพ์ value (X) axis และ value (Y) axis จากนั้นคลิกที่ next

- 5.4 จะเข้าสู่ chart wizard- step 4 of 4 พิมพ์ finish ก็จะได้กราฟ

- 5.5 คลิกจุดบนเส้นกราฟ จะพบจุดสี่เหลี่ยม คลิกขวาที่จุดสี่เหลี่ยม แล้วคลิกที่ Add Trendline

- 5.6 คลิกที่ linear คลิกที่ option คลิกเครื่องหมายถูกที่ display equation on chart และ display R-squared แล้วคลิกที่ OK ก็จะได้กราฟพร้อมสมการ และค่า R²



รูปที่ 2.2 กราฟมาตรฐานสารละลาย Trolox จากวิธี DPPH

6. หาความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการยับยั้งสารอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) คำนวณจากสมการที่ได้จากการพล็อตกราฟ โดยแทนค่า $y = 50$ จะได้ค่า x คือ IC_{50} ของสารละลายมาตรฐาน Trolox การวิเคราะห์สารตัวอย่าง

1. เจือจางน้ำมะเขือเทศด้วยเมทานอลให้ได้ความเข้มข้น 0.1-1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
2. ทำการวิเคราะห์เหมือนสารละลายมาตรฐาน Trolox (ข้อ 2-6) โดยใช้ น้ำมะเขือเทศแทนสารละลายมาตรฐาน Trolox จะได้ค่า IC_{50} ของน้ำมะเขือเทศ
3. คำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมะเขือเทศเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Trolox เรียกว่า TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity; mM Trolox/g sample) ซึ่งค่านี้แสดงถึงความเข้มข้นของ Trolox ที่มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระเท่ากับสารที่ทดสอบ 1.0 มิลลิกรัม ดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{Antioxidant activity (TE mmol/g ของน้ำมะเขือเทศ)} = \frac{IC_{50} \text{ ของ trolox (mmol/L)}}{IC_{50} \text{ ของน้ำมะเขือเทศ (mg/ml)}}$$

2.9.2 ABTS Method (Re *et al.*, 1999)

การเตรียมสารมาตรฐาน

1. เตรียมอนุมูลอิสระของ ABTS โดยใช้สารละลาย ethanolic ของ ABTS ตั้งต้นที่มีความเข้มข้น 7 mM ในบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต pH 4.5 ปริมาตร 176 ไมโครกรัม ทำปฏิกิริยากับสาร

ละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) 2.45 mM ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง

2. เจือจางสารละลายผสมที่ได้จากข้อ 1 ด้วยเอทานอล 95% จนได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 เท่ากับ 0.7 ± 0.02 หน่วย ($A_{734Control}$)

3. เตรียมสารละลายมาตรฐาน โทรลอกซ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.0-2.5 มิลลิโมล) โดยเจือจางด้วยน้ำกลั่น (ความเข้มข้นต้องอยู่ในช่วง 20 – 100 % inhibition)

4. ปิเปตสารละลายผสมเจือจางที่ได้จากข้อ 2 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอด 10 อัน เตรียมสารละลายมาตรฐาน โทรลอกซ์แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixture ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง) (สารละลายเจือจางจากข้อ 2 มีค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงเร็วมาก ควรใช้ในการทดสอบที่ละ 5 หลอด)

5. สำหรับหลอดแบลลงค์ใช้เอทานอล 95%

6. คำนวณหา % inhibition จากสูตรต่อไปนี้

$$\% \text{ inhibition} = \left[\frac{A_{734control} - A_{734 \text{ test sample}}}{A_{734control}} \right] \times 100$$

7. นำ % inhibition ที่คำนวณได้ของแต่ละความเข้มข้นไปเขียนกราฟมาตรฐานต่อไปนี้

วิธีสร้างกราฟมาตรฐาน

7.1 เปิดโปรแกรม excel แล้วป้อนข้อมูลค่า % inhibition และความเข้มข้นใน column

7.2 ลากเป็นกรอบคำกำกับตัวเลขทั้งหมด แล้วคลิกที่รูปกราฟแท่งทางด้านขวามือบนจะปรากฏ chart wizard- step 1 of 4 ให้คลิกที่ XY (scatter) ดูกรอบทางขวา เลือกรูปกราฟที่ 2 คลิก next จะปรากฏ chart wizard- step 2 of 4 ให้คลิกที่ next

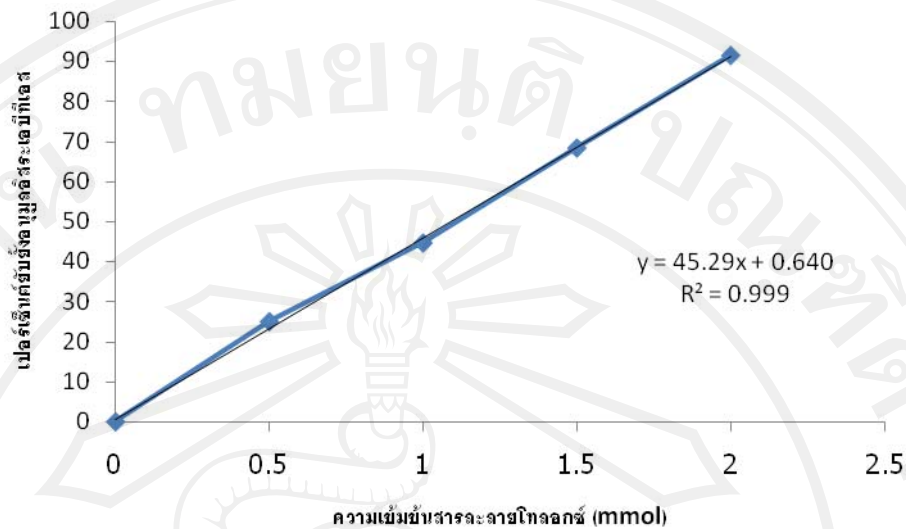
7.3 จะเข้าสู่ chart wizard- step 3 of 4 พิมพ์ chart title พิมพ์ value (X) axis และ value (Y) axis จากนั้นคลิกที่ next

7.4 จะเข้าสู่ chart wizard- step 4 of 4 พิมพ์ finish ก็จะได้กราฟ

7.5 คลิกจุดบนเส้นกราฟ จะพบจุดสี่เหลี่ยม คลิกขวาที่จุดสี่เหลี่ยม แล้วคลิกที่ Add

Trendline

7.6 คลิกที่ linear คลิกที่ option คลิกเครื่องหมายถูกที่ display equation on chart และ display R-squared แล้วคลิกที่ OK ก็จะได้กราฟพร้อมสมการ และค่า R^2



รูปที่ 3.3 กราฟมาตรฐานสารละลาย Trolox จากวิธี ABTS

8. หาความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการยับยั้งสารอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) คำนวณจากสมการที่ได้จากการพล็อตกราฟ โดยแทนค่า $y = 50$ จะได้ค่า x คือ IC_{50} ของสารละลายมาตรฐาน Trolox การวิเคราะห์สารตัวอย่าง

1. เจือจางน้ำมะเขือเทศด้วยเอทานอล 95% ให้ได้ความเข้มข้น 0.1-1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
2. ทำการวิเคราะห์เหมือนสารละลายมาตรฐาน Trolox (ข้อ 4-8) โดยใช้ น้ำมะเขือเทศแทนสารละลายมาตรฐาน Trolox จะได้ค่า IC_{50} ของน้ำมะเขือเทศ (เนื่องจากน้ำมะเขือเทศมีความขุ่นและสีเข้มอาจไปรบกวนค่าการดูดกลืนแสงที่วัดออกมาได้ ดังนั้นค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ต้องเป็นค่าที่วัดได้จากสีของน้ำมะเขือเทศที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากับสารละลาย ABTS จริงๆ โดยนำค่า A_{734} (สารละลาย ABTS 2 ml + น้ำมะเขือเทศ 20 μ l) - A_{734} (น้ำกลั่น 2 ml + น้ำมะเขือเทศ 20 μ l))

3. คำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมะเขือเทศเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Trolox เรียกว่า TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity; mM Trolox/g sample) ซึ่งค่านี้แสดงถึงความเข้มข้นของ Trolox ที่มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระเท่ากับสารที่ทดสอบ 1.0 มิลลิกรัม ดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{Antioxidant activity (TE mmol/g ของน้ำมะเขือเทศ)} = \frac{IC_{50} \text{ ของ trolox (mmol/L)}}{IC_{50} \text{ ของน้ำมะเขือเทศ (mg/ml)}}$$

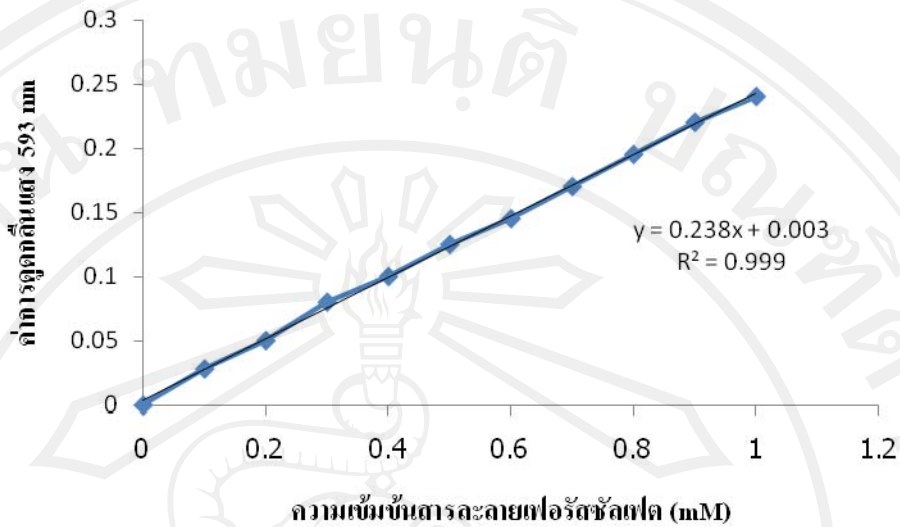
2.9.3 FRAP Method (Benzie and Strain, 1996)

การเตรียมสารมาตรฐาน

1. เตรียม FRAP reagent โดยผสมสารละลายดังนี้ TPTZ 10 mM ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ใน HCL 40 mM ผสมกับสารละลาย FeCl_3 20 mM ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร แล้วเติม acetate buffer pH 3.6 300 mM ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ที่เตรียมเสร็จใหม่ๆ ลงไปผสมให้เข้ากัน
2. การทำการภาพมาตรฐาน ใช้ Deionised water (dH_2O) อุ่นจนได้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 1 มิลลิลิตร เติม $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ แต่ละความเข้มข้น (0.1-1.0 mM) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และ FRAP reagent 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที
3. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยใช้และ FRAP reagent เป็นแบลคค์ (เก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกัน)
4. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน ต่อไปนี้

วิธีสร้างกราฟมาตรฐาน

- 4.1 เปิดโปรแกรม excel แล้วป้อนข้อมูลค่าการดูดกลืนแสง และความเข้มลงใน column
- 4.2 ลากเป็นกรอบคำกำกับตัวเลขทั้งหมด แล้วคลิกที่รูปกราฟแท่งทางด้านขวามือบนจะปรากฏ chart wizard- step 1 of 4 ให้คลิกที่ XY (scatter) ดูรอบทางขวา เลือกกราฟรูปที่ 2 คลิก next จะปรากฏ chart wizard- step 2 of 4 ให้คลิกที่ next
- 4.3 จะเข้าสู่ chart wizard- step 3 of 4 พิมพ์ chart title พิมพ์ value (X) axis และ value (Y) axis จากนั้นคลิกที่ next
- 4.4 จะเข้าสู่ chart wizard- step 4 of 4 พิมพ์ finish ก็จะได้กราฟ
- 4.5 คลิกจุดบนเส้นกราฟ จะพบจุดสี่เหลี่ยม คลิกขวาที่จุดสี่เหลี่ยม แล้วคลิกที่ Add Trendline
- 4.6 คลิกที่ linear คลิกที่ option คลิกเครื่องหมายถูกที่ display equation on chart และ display R-squared แล้วคลิกที่ OK ก็จะได้กราฟพร้อมสมการ และค่า R^2



รูปที่ 4.4 กราฟมาตรฐานสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟตจากวิธี FRAP

การวิเคราะห์สารตัวอย่าง

1. ใช้ Deionised water (dH₂O) อุ่นจนได้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 1 มิลลิลิตร เติมน้ำมะเกลือ ปริมาตร 25 ไมโครลิตร และ FRAP reagent 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที
2. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยใช้และ FRAP reagent เป็นแบล็ค (เก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกัน)
3. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปแทนค่า Y ในสมการกราฟมาตรฐานจากสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO₄·7H₂O) เพื่อหาค่า X แล้วนำค่า X คูณด้วย dilution factor ก็จะได้ค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระในตัวอย่าง มีหน่วยเป็น มิลลิโมลต่อกรัมเฟอร์รัสซัลเฟต

2.10 การวิเคราะห์ปริมาณแทนนิน (AOAC, 2000 และ Atanassova and Christova-Bagdassarian, 2009)

หลักการ โดยปฏิกิริยาของการออกซิเดชันของสารละลายโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต

วิธีเตรียมสารเคมี

1. สารละลายโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต 0.1 โมลาร์ ซึ่งโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต 15.803 กรัม ละลายน้ำกลั่นครบ 1 ลิตร

2. สารละลาย Indigo carmine (Potassium หรือ Sodium sulphingotat) โดยละลาย Indigo carmine 6 กรัม ละลายในน้ำ (dH₂O) 1,000 มิลลิลิตรที่มีซัลฟิวริกเข้มข้น 96% 50 มิลลิลิตร กรองก่อนใช้

3. สารละลายเจลาติน (25 กรัม) แช่ในสารละลายเกลือแกงที่ต้มตัวนาน 1 ชั่วโมง อุ่นจนกระทั่งเจลาตินละลาย ทำให้เย็นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วยสารละลายเกลือแกงที่ต้มตัว

4. สารละลาย Acid sodium chloride (เติมกรดกำมะถันเข้มข้น 25 มิลลิลิตรลงในสารละลายเกลือแกงที่ต้มตัว 975 มิลลิลิตร)

วิธีทดลอง

1. ปิเปตน้ำมะเกลือ 10-20 มิลลิลิตร ซึ่งควรจะมีความหนาแน่น ประมาณ 100 มิลลิกรัม ในขวดรูปชมพู่ขนาด 150 มิลลิลิตร

2. เติม Indigo carmine solution 20 มิลลิลิตร เติมน้ำ 10 มิลลิลิตร

3. เติมสารละลายโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนตจากบิวเรต 1 มิลลิลิตร และเขย่าสารละลายตลอดเวลาจนสารละลายเป็นสีเขียวอ่อน

4. ไทเทรตด้วยโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนตจนกระทั่งได้สารละลายสีเหลือง หรือสีชมพูอ่อน จดปริมาตรของโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ใช้ (ปริมาตร = V)

5. เติมน้ำมะเกลือ 25 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 150 มิลลิลิตร เติมสารละลายเจลาติน 25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และเติมสารละลายกรดโซเดียมคลอไรด์ 1.0 N 75 มิลลิลิตร

6. เติมสารที่ช่วยในการกรอง Kaolin 10 กรัม เขย่าทิ้งไว้ 15 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง

7. ปิเปตสารละลายที่กรองได้ 50 มิลลิลิตร และเติม Indigo carmine solution 20 มิลลิลิตร เติมน้ำ 10 มิลลิลิตร ไทเทรตด้วยโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนตจนถึงจุดยุติ (ปริมาตร = V₀)

8. คำนวณหา % แทนิน (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในน้ำมะเกลือ ดังสูตรต่อไปนี้

สูตรการคำนวณ

$$\% \text{ แทนิน (น้ำหนัก/น้ำหนัก)} = \frac{(V - V_0) \times 0.043 \times 100}{V_s}$$

เมื่อ V = ปริมาณแทนินทั้งหมด

V₀ = ปริมาณสารละลายที่ไม่ใช่แทนิน

V - V₀ = ปริมาตรของโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ทำปฏิกิริยากับแทนินในสารละลาย

ตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

- 0.043 = กรัมของแทนนินในโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต (KMnO_4) 0.1 M ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
- V_s = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
- 100 = เปอร์เซนต์, %

3. การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

3.1 การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM, 2001)

1. น้ำหม่อน 25 มิลลิลิตร ใส่ในถุง stomacher เติมสารละลาย peptone water ร้อยละ 0.1 จำนวน 225 กรัม นำเข้าเครื่องตีปั่น stomacher นาน 1-2 นาที
2. ทำเจือจางอาหารโดยปิเปต มา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย peptone water ร้อยละ 0.1 ปริมาณ 9 มิลลิลิตร และทำการเจือจางต่อจนได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม
3. ปิเปตสารละลายอาหารที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสมจำนวน 3 ระดับความเข้มข้นที่ติดกันจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในงานเพาะเชื้อ
4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA อุณหภูมิ 44-46 องศาเซลเซียส ประมาณ 12-15 มิลลิลิตร ใส่ในงานเพาะเชื้อ แล้วเอียงงานไปมาให้กระจายทั่วงานเพาะเชื้อ
5. ปลอ่ยให้อาหารอุ่นแข็งตัว แล้วคว่ำงานเพาะเชื้อในถุงพลาสติก นำไปบ่มในตู้บ่ม อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 3 ชั่วโมง
6. นับจำนวนโคโลนีจากงานที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี คำนวณ cfu/g หรือ cfu/ml ของอาหาร ได้ตามสมการดังนี้

$$\text{cfu/g หรือ cfu/ml} = \frac{\sum C}{(v_1 n_1 + 0.1 n_2) d}$$

เมื่อ v_1 = ปริมาตรของสารละลายอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ

$\sum C$ = ผลรวมของโคโลนีที่นับได้ทั้งหมดจากงานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 25-250 โคโลนี

n_1 = จำนวนงานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 25-250 โคโลนี ในระดับความเข้มข้นแรก

n_2 = จำนวนงานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 25-250 โคโลนี ในระดับความ

เข้มข้นที่ 2

d = ระดับความเข้มข้นแรกที่สามารถนับเชื้อได้ในช่วง 25-250 โคโลนี

3.2 การวิเคราะห์จำนวนยีสต์ และรา

วิเคราะห์เช่นเดียวกับวิธีการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แต่เปลี่ยนจากอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ปรับ pH ด้วย สารละลายกรดทาร์ทริก ร้อยละ 10 แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส 3-5 วัน จากนั้นนำไปนับจำนวนโคโลนีจากจานที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี คำนวณ cfu/g หรือ cfu/ml ของอาหาร เช่นเดียวกับวิธีการคำนวณจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

ภาคผนวก จ

ตัวอย่างแบบทดสอบของผู้ทดสอบชิมที่ใช้ในงานวิจัย

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

เพื่อหาสูตรที่เหมาะสมในการทำน้ำมะเกี๋ยงผสมน้ำหอมรสกักเข้มข้นพร้อมดื่ม

ผลิตภัณฑ์น้ำมะเกี๋ยงผสมน้ำหอมรสกักเข้มข้นพร้อมดื่ม โดยวิธีการระเหยภายใต้สุญญากาศ ชุดที่...

ชื่อผู้ทดสอบ..... วันที่...../...../.....

คำแนะนำ : กรุณาทดสอบทีละตัวอย่าง แล้วให้คะแนนตามความชอบของในแต่ละลักษณะคุณภาพ
ในระหว่างการเปลี่ยนตัวอย่างให้บ้วนน้ำล้างปากก่อน การให้คะแนนในแต่ละคุณภาพ พิจารณาตาม
ระดับความชอบดังนี้

- | | | |
|------------------|-------------------------------|---------------------|
| 9 = ชอบมากที่สุด | 6 = ชอบเล็กน้อย | 3 = ไม่ชอบปานกลาง |
| 8 = ชอบมาก | 5 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ | 2 = ไม่ชอบมาก |
| 7 = ชอบปานกลาง | 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย | 1 = ไม่ชอบมากที่สุด |

ลักษณะคุณภาพ	รหัสตัวอย่าง									

กลิ่น										
ความเปรี้ยว										
ความหวาน										
ความกลมกล่อม										
ความชอบรวม										

1. ท่านชอบกลิ่นตัวอย่างหมายเลขใดมากที่สุด
2. ท่านชอบความเปรี้ยวตัวอย่างหมายเลขใดมากที่สุด
3. ท่านชอบความหวานตัวอย่างหมายเลขใดมากที่สุด

ข้อเสนอแนะ.....

.....

*****ขอขอบคุณในความร่วมมือเป็นอย่างยิ่ง*****

ภาคผนวก จ

ต้นทุนการผลิตน้ำมะเขี๋ยงผสมน้ำหมอนสกัดเข้มข้นพร้อมดื่ม

ต้นทุนการผลิต

การคำนวณต้นทุนการผลิตนี้ ได้คำนวณมาจากราคาวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต รวมกับค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิต ได้แก่ ค่าแรงงาน ค่าไฟฟ้า และค่าน้ำ ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 30 ของราคาวัตถุดิบที่ใช้ (ไพโรจน์, 2539) ซึ่งต้นทุนการผลิตนี้ไม่รวมค่าเสื่อมราคาของเครื่องมือ

1. ต้นทุนการผลิตน้ำมะเขี๋ยงและน้ำหมอนสกัด

1.1 ต้นทุนของวัตถุดิบในการผลิตน้ำมะเขี๋ยงผสมน้ำหมอนสกัด

ผลมะเขี๋ยง 1 กิโลกรัม ราคา 30 บาท ผลิตเป็นน้ำมะเขี๋ยงสกัดได้ 755 กรัม ดังนั้นน้ำมะเขี๋ยง

1 กิโลกรัม ราคา 39.73 บาท

ผลหมอน 1 กิโลกรัม ราคา 35 บาท ผลิตเป็นน้ำหมอนสกัดได้ 728 กรัม ดังนั้นน้ำมะเขี๋ยง

1 กิโลกรัม ราคา 48.10 บาท

1.2 ต้นทุนในการใช้เครื่องปั่นน้ำผลไม้

ต้นทุนในการหาค่าพลังงานไฟฟ้า ในการผลิตน้ำหมอนสกัดโดยใช้เครื่องปั่นน้ำผลไม้ จากผลหมอนสุก 90 กิโลกรัม ใช้ระยะเวลาในการปั่น 54 นาที หาได้จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\text{Power (W)} = \text{Ampere} \times \text{Voltage} \times \text{Power factor} \quad (\text{โดยทั่วไป power factor จะประมาณ } 0.80 - 0.85)$$

$$= 3.6 \times 380 \times 0.85$$

$$= 1,162.80 \text{ W}$$

จากสูตรการคำนวณหน่วยทางไฟฟ้าทั่วไป

จำนวนหน่วยหรือยูนิต = $\frac{\text{กำลังไฟฟ้า (วัตต์) ชนิดนั้นๆ} \times \text{จำนวนเครื่องใช้ไฟฟ้า} \times \text{จำนวนชั่วโมงที่ใช้}}{1,000}$

$$\text{แทนค่าจะได้} \quad \frac{1,162.80 \times 1 \times (54/60)}{1,000} = 1.05 \text{ หน่วย}$$

เมื่อนำจำนวนหน่วยที่ใช้ไปคูณกับราคาค่าไฟฟ้า (ค่าไฟฟ้าราคาหน่วยละ 3.16 บาท อ้างอิงจากค่าไฟฟ้าคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในช่วงเดือนเมษายนถึงมิถุนายน 2554) จะได้เป็น $1.05 \times 3.61 = 3.78$ บาทต่อการปั่นน้ำหมอน 90 กิโลกรัม ดังนั้นการปั่นน้ำหมอน 1 กิโลกรัม จะมีค่าพลังงานไฟฟ้า 0.04 บาท

ต้นทุนในการหาค่าพลังงานไฟฟ้า ในการผลิตน้ำมะเข็ญสกัดโดยใช้เครื่องปั่นน้ำผลไม้ จากผลมะเข็ญสุก 10 กิโลกรัม ใช้ระยะเวลาในการปั่น 10 นาที แทนค่าการคำนวณหาค่าพลังงานไฟฟ้า ดังนั้นการปั่นน้ำมะเข็ญ 1 กิโลกรัม จะมีค่าพลังงานไฟฟ้า 1.02 บาท

1.3 ต้นทุนในการใช้เครื่องไฮดรอลิก

ต้นทุนในการหาค่าพลังงานไฟฟ้า ในการผลิตน้ำหมอนสกัดโดยใช้เครื่องไฮดรอลิก จากผลหมอนปั่นสุกละเอียด 90 กิโลกรัม ใช้ระยะเวลาในการคั้น 225 นาที หาได้จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\begin{aligned} \text{Power (W)} &= \text{Ampere} \times \text{Voltage} \times \text{Power factor} \quad (\text{โดยทั่วไป power factor จะประมาณ } 0.80 - 0.85) \\ &= 3.6 \times 380 \times 0.85 \\ &= 1,162.80 \text{ W} \end{aligned}$$

จากสูตรการคำนวณหน่วยทางไฟฟ้าทั่วไป

จำนวนหน่วยหรือยูนิท = กำลังไฟฟ้า (วัตต์) ชนิดนั้นๆ x จำนวนเครื่องใช้ไฟฟ้า x จำนวนชั่วโมงที่ใช้

$$\begin{aligned} \text{แทนค่าจะได้} & \frac{1,162.80 \times 1 \times (225/60)}{1,000} = 4.36 \text{ หน่วย} \end{aligned}$$

เมื่อนำจำนวนหน่วยที่ใช้ไปคูณกับราคาค่าไฟฟ้า (ค่าไฟฟ้าราคาหน่วยละ 3.16 บาท อ้างอิงจากค่าไฟฟ้าคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในช่วงเดือนเมษายนถึงมิถุนายน 2554) จะได้เป็น $4.36 \times 3.61 = 15.74$ บาทต่อการปั่นน้ำหมอน 90 กิโลกรัม ดังนั้นการปั่นน้ำหมอน 1 กิโลกรัม จะมีค่าพลังงานไฟฟ้า 0.17 บาท

ต้นทุนในการหาค่าพลังงานไฟฟ้า ในการผลิตน้ำหมอนสกัดโดยใช้เครื่องปั่นน้ำผลไม้ จากผลมะเข็ญสุก 10 กิโลกรัม ใช้ระยะเวลาในการคั้น 30 นาที แทนค่าการคำนวณหาค่าพลังงานไฟฟ้า ดังนั้นการปั่นน้ำมะเข็ญ 1 กิโลกรัม จะมีค่าพลังงานไฟฟ้า 0.73 บาท

ดังนั้น น้ำหมอนสกัด 1 กิโลกรัม ราคา 48.10 บาท รวมค่าไฟฟ้าจากการใช้เครื่องปั่นน้ำผลไม้และเครื่องคั้นไฮดรอลิกราคา 0.04 และ 0.17 ตามลำดับ มีราคา 49.31 บาท

ส่วน น้ำมะเข็ญสกัด 1 กิโลกรัม ราคา 39.73 บาท รวมค่าไฟฟ้าจากการใช้เครื่องปั่นน้ำผลไม้และเครื่องคั้นไฮดรอลิกราคา 1.02 และ 0.05 ตามลำดับ มีราคา 40.80 บาท

1.4 ต้นทุนในการใช้เอนไซม์ในการสกัดน้ำมะเข็ญ

ต้นทุนเอนไซม์เพคตินาส 1 ลิตรมีราคา 2,500 บาท การใช้เอนไซม์เพคตินาสในผลหมอน 1 กิโลกรัม ใช้ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร โดยใช้เอนไซม์เพคตินาส 1 มิลลิลิตร ราคาซื้อขายเฉลี่ยเป็น 2.5 บาท ดังนั้นน้ำหมอนสกัดที่ได้ 1 กิโลกรัม มีราคา 52.85 บาท (คิดรวมค่าน้ำมะเข็ญสกัด ไฟฟ้า และเอนไซม์เพคตินาส)

ต้นทุนเอนไซม์เพคตินเอส 1 ลิตรมีราคา 2,500 บาท การใช้เอนไซม์เพคตินเอสในผลมะกึ่ง 1 กิโลกรัม ใช้ปริมาณ 2.0 มิลลิลิตร โดยใช้เอนไซม์เพคตินเอส 1 มิลลิลิตร ราคาซื้อขายเฉลี่ยเป็น 2.5 บาท ดังนั้นน้ำมะกึ่งสกัดที่ได้ 1 กิโลกรัม มีราคา 4.80 บาท (คิดรวมค่าน้ำมะกึ่งสกัด ไฟฟ้า และเอนไซม์เพคตินเอส)

ต้นทุนการผลิตน้ำมะกึ่งผสมน้ำหมอนสกัดเข้มข้นโดยวิธีระเหยภายใต้สุญญากาศ

2.1 ต้นทุนการใช้เครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศผลิตน้ำหมอนสกัดเข้มข้น

ราคาน้ำหมอนสกัด 1 กิโลกรัม มีราคา 52.85 บาท (ค่าน้ำหมอนสกัด + ค่าไฟฟ้า + ค่าเอนไซม์เพคตินเอส) ซึ่งการผลิตน้ำหมอนสกัดเข้มข้นโดยการใช้เครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศนั้น จำเป็นที่จะต้องใช้ปริมาณวัตถุดิบเริ่มต้นอย่างต่ำ 2 กิโลกรัม ดังนั้นราคาวัตถุดิบเริ่มต้นจึงเท่ากับ 105.70 บาท

ในกระบวนการผลิตน้ำหมอนสกัดเข้มข้น โดยการใช้เครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศที่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาในการระเหย 110 นาที ได้น้ำหมอนสกัดเข้มข้น 34±2 องศาบริกซ์ มีการใช้ไฟฟ้าและน้ำที่ใช้สำหรับหล่อเย็นไป 1.44 กิโลวัตต์ชั่วโมง และ 49.0 ลิตร คิดเป็น 5.20 และ 0.49 บาท ตามลำดับ (ค่าไฟฟ้าราคาหน่วยละ 3.61 บาท และค่าน้ำราคาลิตรละ 0.01 บาท อ้างอิงจากค่าไฟฟ้าและค่าน้ำคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในช่วงเดือน เมษายนถึงมิถุนายน 2554) ดังนั้นในการผลิตน้ำหมอนสกัดเข้มข้นโดยวิธีการระเหยภายใต้สุญญากาศ มีราคารวม 111.39 บาท

ต้นทุนการผลิตน้ำหมอนสกัดเข้มข้นโดยวิธีการระเหยภายใต้สุญญากาศ คิดเฉพาะค่าน้ำหมอนสกัด ไฟฟ้าและน้ำหล่อเย็นมีราคา รวม 210.97 บาท/กิโลกรัมของน้ำหมอนสกัดเข้มข้น

2.2 ต้นทุนการใช้เครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศผลิตน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้น

ราคาน้ำมะกึ่งสกัด 1 กิโลกรัม มีราคา 45.80 บาท (ค่าน้ำหมอนสกัด + ค่าไฟฟ้า + ค่าเอนไซม์เพคตินเอสและเซลลูโลส) ซึ่งการผลิตน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นโดยการใช้เครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศนั้น จำเป็นที่จะต้องใช้ปริมาณวัตถุดิบเริ่มต้นอย่างต่ำ 2 กิโลกรัม ดังนั้นราคาวัตถุดิบเริ่มต้นจึงเท่ากับ 91.90 บาท

ในกระบวนการผลิตน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้น โดยการใช้เครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศที่ อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาในการระเหย 90 นาที เพื่อให้ได้น้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้น 12±2 องศาบริกซ์ มีการใช้ไฟฟ้าและน้ำที่ใช้สำหรับหล่อเย็นไป 1.10 กิโลวัตต์ชั่วโมง และ 49.0 ลิตร คิดเป็น 3.97 และ 0.49 บาท ตามลำดับ (ค่าไฟฟ้าราคาหน่วยละ 3.61 บาท และค่าน้ำราคาลิตรละ 0.01 บาท อ้างอิงจากค่าไฟฟ้าและค่าน้ำคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในช่วง

เดือนเมษายนถึงมิถุนายน 2554) ดังนั้นในการผลิตน้ำหมอนสกัดเข้มข้นโดยวิธีการระเหยภายใต้สุญญากาศ มีราคาารรวม 96.06 บาท

ต้นทุนการผลิตน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้นโดยวิธีการระเหยภายใต้สุญญากาศ คัดเฉพาะค่าน้ำมะกึ่งสกัด ไฟฟ้า เอนไซม์เพคตินเนส และน้ำหล่อเย็นมีราคาารรวม 85.70 บาท/กิโลกรัมของน้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้น

ดังนั้นในการผลิตน้ำมะกึ่งผสมน้ำหมอนสกัดเข้มข้น (สูตรที่เหมาะสมคือ น้ำมะกึ่งสกัดเข้มข้น ร้อยละ 60 น้ำหมอนสกัดเข้มข้น ร้อยละ 30 และปริมาณน้ำตาลที่เติม ร้อยละ 10) โดยวิธีการระเหยภายใต้สุญญากาศ มีราคาารรวม 83.24 บาท/กิโลกรัม

2. ต้นทุนผลิตภัณฑ์และภาชนะบรรจุ

จากต้นทุนผลิตน้ำมะกึ่งผสมน้ำหมอนสกัดเข้มข้นโดยวิธีการระเหยภายใต้สุญญากาศ มีราคา 83.24 บาท/กิโลกรัม โดยเมื่อบรรจุในขวดแก้วขนาด 45 มิลลิลิตร จะมีต้นทุนการผลิตไม่รวมบรรจุภัณฑ์ขวดละ 3.74 บาท โดยขวดแก้วพร้อมฝาขนาด 45 มิลลิลิตรมีราคาขวดละ 3 บาท ดังนั้นต้นทุนในการผลิตน้ำมะกึ่งผสมน้ำหมอนสกัดเข้มข้นปริมาณ 45 มิลลิลิตร ในขวดแก้วมีราคาเท่ากับ 6.74 บาท/ขวด และเมื่อบวกค่าแก๊สหุงต้ม (0.61 บาท/ขวด) รวมทั้งเพิ่มอีกร้อยละ 30 เพื่อเป็นค่าแรงงาน ค่าเสื่อมราคา และค่าการจัดการ มีราคามีราคาเท่ากับ 9.55 บาท/ขวด

ภาคผนวก ข

การคำนวณการคงเหลือของสารต้านอนุมูลอิสระในขั้นตอนการผลิต

การคำนวณการคงเหลือของสารต้านอนุมูลอิสระนี้ เป็นการคำนวณในแต่ละขั้นตอนที่สำคัญ ของการผลิตน้ำมะกึ่งผสมน้ำหม่อนสกัดเข้มข้นพร้อมดื่ม โดยมีวิธีการหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญต่างๆ น้ำมะกึ่งสกัด น้ำมะกึ่งสกัดหลังทำให้เข้มข้น น้ำมะกึ่งผสมน้ำหม่อนสกัดเข้มข้น น้ำมะกึ่งผสมน้ำหม่อนสกัดเข้มข้นที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ เปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ยังคงเหลืออยู่ โดยเทียบกับผลมะกึ่งสุกและผลหม่อนสุก (สีม่วงดำทั้งผล) โดยมีวิธีการคำนวณจากสูตรดังนี้

1. ปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่าง (ไมโครกรัม)

$$= \frac{\text{ผลผลิต (w/w)} \times \text{ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่าง (ไมโครกรัม/มิลลิกรัม)}}{100}$$

2. ปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างเทียบในผลมะกึ่งสุกและผลหม่อนสุก (ร้อยละ)

$$= \frac{\text{ปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่าง (ไมโครกรัม)}}{\text{ปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในผลมะกึ่งสุกและผลหม่อนสุก (ไมโครกรัม)}} \times 100$$

ภาคผนวก ข
ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (สำเนา)
(ฉบับที่ 214) พ.ศ.2543
เรื่อง เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงแก้ไขประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท อาศัยอำนาจตามความในมาตรา 5 และมาตรา 6(1)(2)(4)(6)(7) และ (10) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 อันเป็นพระราชบัญญัติที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา 29 ประกอบกับมาตรา 35 มาตรา 48 และมาตรา 50 ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทยบัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมาย รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ 1 ให้ยกเลิกประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 62 (พ.ศ.2524) เรื่อง เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ลงวันที่ 7 กันยายน พ.ศ.2542 และประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 180) พ.ศ.2542 เรื่อง เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 12 พฤศจิกายน พ.ศ.2540

ข้อ 2 ให้เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ

ข้อ 3 เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทตามข้อ 2 แบ่งออกเป็น 5 ชนิด ดังต่อไปนี้

- (1) น้ำที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือออกซิเจนผสมอยู่ด้วย
- (2) เครื่องดื่มที่มีหรือทำจากผลไม้ พืชหรือผัก ไม่ว่าจะมิกซ์คาร์บอนไดออกไซด์หรือออกซิเจนผสมอยู่ด้วยหรือไม่ก็ตาม
- (3) เครื่องดื่มที่มีหรือทำจากส่วนผสมที่ไม่ใช่ผลไม้ พืชหรือผัก ไม่ว่าจะมิกซ์คาร์บอนไดออกไซด์ หรือออกซิเจน ผสมอยู่ด้วยหรือไม่ก็ตาม

(4) เครื่องดื่มตาม (2) หรือ (3) ชนิดเข้มข้นซึ่งต้องเจือจางก่อนบริโภค

(5) เครื่องดื่มตาม (2) หรือ (3) ชนิดแห้ง

ข้อ 4 เครื่องดื่มตามข้อ 2 ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

- (1) มีกลิ่นและรสตามลักษณะเฉพาะของเครื่องดื่มนั้น
- (2) ไม่มีตะกอน เว้นแต่ตะกอนอันมีตามธรรมชาติของส่วนประกอบ
- (3) น้ำที่ใช้ผลิตต้องเป็นน้ำที่มีคุณภาพหรือมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท
- (4) ตรวจพบแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์มน้อยกว่า 2.2 ต่อเครื่องดื่ม 100 มิลลิลิตร โดย

วิธี เอ็ม พี เอ็น (Most Probable Number)

- (5) ตรวจไม่พบแบคทีเรียชนิด อี. โคไล (*Escherichia coli*)
- (6) ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค
- (7) ไม่มีสารเป็นพิษจากจุลินทรีย์หรือสารเป็นพิษอื่นในปริมาณที่อาจเป็นอันตราย

ต่อสุขภาพ

- (8) ไม่มียีสต์และเชื้อรา
- (9) ไม่มีสารปนเปื้อน เว้นแต่ดังต่อไปนี้

(9.1) สารหนู	ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัม ต่อเครื่องดื่ม 1 กิโลกรัม
(9.2) ตะกั่ว	ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัม ต่อเครื่องดื่ม 1 กิโลกรัม
(9.3) ทองแดง	ไม่เกิน 5 มิลลิกรัม ต่อเครื่องดื่ม 1 กิโลกรัม
(9.4) สังกะสี	ไม่เกิน 5 มิลลิกรัม ต่อเครื่องดื่ม 1 กิโลกรัม
(9.5) เหล็ก	ไม่เกิน 15 มิลลิกรัม ต่อเครื่องดื่ม 1 กิโลกรัม
(9.6) คีบูก	ไม่เกิน 250 มิลลิกรัม ต่อเครื่องดื่ม 1 กิโลกรัม
(9.7) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์	ไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อเครื่องดื่ม 1 กิโลกรัม

(10) วัสดุที่ให้ความหวานแทนน้ำตาลหรือใช้ร่วมกับน้ำตาล นอกจากการใช้ น้ำตาลได้โดยให้วัสดุที่ให้ความหวานแทนน้ำตาลได้ตามมาตรฐานอาหาร เอฟ เอ โอ/ดับบลิวเอช โอ, โคเด็กซ์ (Joint FAO/WHO, Codex) ที่ว่าด้วยเรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร และฉบับที่ได้แก้ไข เพิ่มเติม ในกรณีที่ไม่มีความกำหนดไว้ตามวรรคหนึ่งให้สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ประกาศกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

(11) มีแอลกอฮอล์อันเกิดขึ้นจากธรรมชาติของส่วนประกอบและแอลกอฮอล์ที่ใช้ ในกรรมวิธีการผลิต รวมกันได้ไม่เกินร้อยละ 0.5 ของน้ำหนัก ถ้าจำเป็นต้องมีแอลกอฮอล์ใน ปริมาณสูงกว่าที่กำหนดไว้ต้อง ได้รับความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา แอลกอฮอล์ที่ใช้ในกรรมวิธีการผลิตต้องไม่ใช่เมทิลแอลกอฮอล์ เครื่องดื่มชนิดเข้มข้นที่ต้องเจือจาง หรือเครื่องดื่มชนิดแห้งที่ต้องละลายก่อนบริโภคตามที่กำหนดไว้ในฉลาก เมื่อเจือจางหรือละลาย แล้วตรวจพบแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์มได้ตาม (4) และมี สารปนเปื้อน ได้ตามที่กำหนดไว้ใน (9)

ข้อ 5 เครื่องดื่มตามข้อ 3 นอกจากต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 4 แล้ว ต้องมีคุณภาพ หรือมาตรฐานเฉพาะ ดังต่อไปนี้ด้วย

(1) เครื่องดื่มตามข้อ 3(2) ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามประเภทหรือชนิดของ ผลไม้ พืชหรือผักนั้น ๆ ที่ได้รับความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

(2) เครื่องดื่มตามข้อ 3(2) ชนิดเข้มข้นหรือชนิดแห้ง เมื่อเจือจางหรือละลายแล้ว ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามประเภทหรือชนิดของผลไม้ พืชหรือผักนั้น ๆ ที่ได้รับความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

(3) เครื่องดื่มชนิดแห้งมีความชื้นไม่เกินร้อยละ 6 ของน้ำหนัก ถ้าเป็นเครื่องดื่มชนิดแห้งที่ผลิตจากพืชหรือผัก ให้มีความชื้นได้ตามที่ได้รับความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

(4) เครื่องดื่มตามข้อ 3(2) หรือ 3(3) มีวัตถุกันเสียได้ ดังต่อไปนี้

(4.1) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ไม่เกิน 70 มิลลิกรัม ต่อเครื่องดื่ม 1 กิโลกรัม

(4.2) กรดเบนโซอิก หรือกรดซอร์บิก หรือเกลือของกรดทั้งสองนี้ โดยคำนวณเป็นตัวกรดได้ไม่เกิน 200 มิลลิกรัม ต่อเครื่องดื่ม 1 กิโลกรัม เครื่องดื่มตามข้อ 3(2) หรือ 3(3) ชนิดเข้มข้น เมื่อเจือจางแล้วมีวัตถุกันเสียได้ ไม่เกินที่กำหนดไว้ใน (4) เครื่องดื่มตามข้อ 3(2) หรือ 3(3) ชนิดแห้ง เมื่อละลายแล้วมีวัตถุกันเสียได้ ไม่เกินที่กำหนดไว้ใน (4) การใช้วัตถุกันเสียให้ใช้ได้เพียงชนิดหนึ่งชนิดใดตามปริมาณที่กำหนดใน (4.1) หรือ (4.2) ถ้าใช้เกินหนึ่งชนิด ต้องมีปริมาณของชนิดที่ใช้รวมกันไม่เกินปริมาณของวัตถุกันเสียชนิดที่กำหนดให้ใช้น้อยที่สุด เมื่อจำเป็นต้องใช้วัตถุกันเสียแตกต่างไปจากที่กำหนดไว้ดังกล่าวข้างต้น ต้องได้รับความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

ข้อ 6 ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทเพื่อจำหน่าย ต้องปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร

ข้อ 7 ภาชนะบรรจุที่ใช้บรรจุเครื่องดื่ม ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ภาชนะบรรจุ

ข้อ 8 การแสดงฉลากของเครื่องดื่ม ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลาก เว้นแต่การใช้ชื่อเครื่องดื่มตามข้อ 3(2) ที่มีหรือทำจากน้ำผลไม้ทั้งชนิดเหลวหรือชนิดแห้ง และ เครื่องดื่มตามข้อ 3(3) ซึ่งมีกลิ่นหรือรสผลไม้ที่ได้จากการสังเคราะห์ทั้งชนิดเหลวและชนิดแห้งให้ปฏิบัติ ดังต่อไปนี้

(1) เครื่องดื่มตามข้อ 3(2) ให้ใช้ชื่อ ดังนี้

(1.1) “น้ำ 100% (ความที่เว้นไว้ให้ระบุชื่อผลไม้) สำหรับเครื่องดื่มที่มีหรือทำจากผลไม้ล้วน

(1.2) “น้ำ 100% จากน้ำ เข้มข้น” (ความที่เว้นไว้ให้ระบุชื่อผลไม้)

สำหรับเครื่องดื่มน้ำที่ทำจากการนำผลไม้ชนิดเข้มข้นมาเจือจางด้วยน้ำ เพื่อให้มีคุณภาพหรือมาตรฐานเหมือนกับเครื่องดื่มตาม (1.1)

(1.3) “น้ำ%” (ความที่เว้นไว้ให้ระบุชื่อและปริมาณเป็นร้อยละของผลไม้)

สำหรับเครื่องดื่มที่มีหรือทำจากผลไม้ตั้งแต่ร้อยละ 20 ของน้ำหนักขึ้นไป แต่ไม่ใช่เครื่องดื่มตาม (1.1)

(1.4) “น้ำรส%” (ความที่เว้นไว้ให้ระบุชื่อและปริมาณเป็นร้อยละของผลไม้)

สำหรับเครื่องดื่มที่มีหรือทำจากผลไม้ไม่ถึงร้อยละ 20 ของน้ำหนัก (2) เครื่องดื่มตามข้อ 3(3) ซึ่งมีกลิ่นหรือรสของผลไม้ที่ได้จากการสังเคราะห์เป็นส่วนผสมให้ใช้ชื่อ ดังนี้ “น้ำหวานกลิ่น.....” (ความที่เว้นไว้ให้ระบุชื่อกลิ่นของผลไม้ที่ได้จากการสังเคราะห์) (3) เครื่องดื่มตามข้อ 3(4) นอกจากจะต้องใช้ชื่อเครื่องดื่มตาม (1) หรือ (2) โดยไม่ต้องแสดงปริมาณของผลไม้แล้วจะต้องมีข้อความ “เข้มข้น” ต่อท้ายชื่อดังกล่าว และให้แสดงข้อความ “เมื่อเจือจางแล้วมีน้ำ%” (ความที่เว้นไว้ให้ระบุชนิดและปริมาณของผลไม้) ไว้ใต้ชื่อเครื่องดื่มด้วย (4) เครื่องดื่มตามข้อ 3(5) นอกจากจะต้องใช้ชื่อเครื่องดื่มตาม (1) หรือ (2) โดยไม่ต้องแสดงปริมาณของผลไม้แล้วจะต้องแสดงข้อความ “เมื่อละลายแล้วมีน้ำ%” (ความที่เว้นไว้ให้ระบุชนิดและปริมาณของผลไม้) ไว้ใต้ชื่อเครื่องดื่มแล้ว เครื่องดื่มที่ใช้วัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาล ต้องแสดงข้อความว่า “ใช้ เป็นวัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาล” (ความที่เว้นไว้ให้ระบุชื่อของวัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาลที่ใช้) ด้วยตัวอักษรขนาดไม่เล็กกว่า 2 มิลลิเมตร สีของตัวอักษรตัดกับสีพื้นของฉลากข้อความที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศกำหนด(ถ้ามี)

ข้อ 9 ประกาศนี้ ไม่ใช้บังคับกับเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทที่ผลิตเพื่อจำหน่ายในการส่งออก

ข้อ 10 ให้ใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับอาหารหรือใบสำคัญการใช้ฉลากอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 62 (พ.ศ.2524) เรื่อง เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ลงวันที่ 7 กันยายน พ.ศ.2524 แก้ไขเพิ่มเติมโดยประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 180) พ.ศ. 2540 เรื่อง เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 12 พฤศจิกายน พ.ศ.2542 ซึ่งออกให้ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับยังคงใช้ต่อไปได้อีกสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 11 ให้ผู้ผลิต ผู้นำเข้าเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทที่ได้รับอนุญาตอยู่ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ ยื่นคำขอรับเลขสารบบอาหารภายในหนึ่งปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ เมื่อยื่นคำขอดังกล่าวแล้วให้ได้รับการผ่อนผันการปฏิบัติตามข้อ 6 ภายในสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ และให้คงใช้ฉลากเดิมที่เหลืออยู่ต่อไปจนกว่าจะหมดแต่ต้องไม่เกินสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 12 ประกาศนี้ให้ใช้บังคับเมื่อพ้นกำหนดหนึ่งร้อยแปดสิบวัน นับแต่วันถัดจากวัน
ประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป
ประกาศ ณ วันที่ 19 กันยายน พ.ศ.2543

กร ทัพพะรังสี
รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข
(ราชกิจจานุเบกษาฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 118 ตอนพิเศษ 6 ง. ลงวันที่ 24 มกราคม พ.ศ.2544)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ฅ

ข้อมูลผลิตภัณฑ์เอนไซม์เพคตินเนส (Pectinex[®] Ultra SP-L)

และเอนไซม์เซลลูเลส (Celluclast[®] 1.5L)

Fruit & Vegetable / 2001-07235-03.pdf

Product Sheet

Page 1:3

novozymes[®]

Pectinex[®] Ultra SP-L

Description

Pectinex Ultra SP-L is a highly active pectolytic enzyme preparation produced by a selected strain of *Aspergillus aculeatus*. This enzyme preparation contains pectolytic and a range of hemicellulolytic activities. It has the ability to disintegrate plant cell walls.

Product Properties

Product Type

Pectinex Ultra SP-L is a brownish liquid with a slight smell typical of fermented products and a pH of approx. 4.5.

Activity

Pectinex Ultra SP-L has a standard activity of 26,000 PG/ml (pH 3.5). The standard activity is determined by the measurement of the viscosity reduction of a solution of pectic acid at pH 3.5 and 20°C (68°F). See the Analytical Method for further information.

Solubility

The active components of Pectinex Ultra SP-L are readily soluble in water at all concentrations that occur in normal usage. Turbidity which may occur in the enzyme preparation has no influence on the volumetric activity or handling characteristics of the product.

Food-grade status

The product complies with FAO/WHO, JECFA and FCC specifications for food-grade enzymes, supplemented by maximum limits of 10² moulds/g. The product is bottled aseptically after sterile filtration and therefore practically germ-free.

Packaging

See the standard Packaging List for more packaging information.

Application

The preparation is especially designed for the treatment of fruit and vegetable mashes and the maceration of plant tissues. Soluble and insoluble pectins as well as haze-provoking polysaccharides are also efficiently degraded. Pectinex Ultra SP-L applied on fruit and vegetable mashes and/or pomaces leads to drastically increased capacities in solid/liquid separation (e.g. press, decanter) and higher juice yields.

Reaction Parameters
Pectinex Ultra SP-L Activity

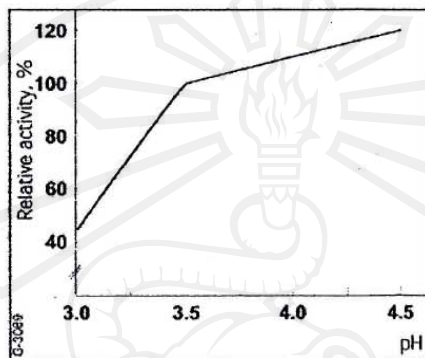


Fig. 1. Pectinase activity versus pH.
 Polygalacturonase activity at 20°C (68°F)

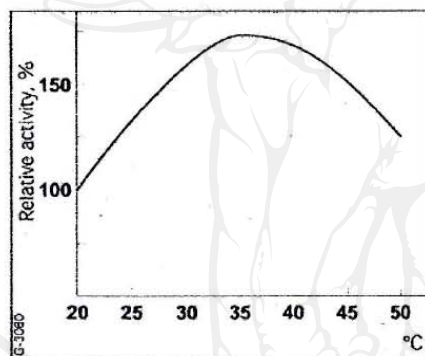


Fig. 2. Pectinase activity versus temperature.
 Polygalacturonase activity at pH 3.5

Safety

Enzymes are proteins and inhalation of dust or aerosols may induce sensitization and may cause allergic reactions in sensitized individuals. Some enzymes may irritate the skin, eyes and mucous membranes upon prolonged contact.

The product may create easily inhaled aerosols if splashed or vigorously stirred. Spilled product may dry out and create dust.


Spilled material should be flushed away with water (avoid splashing). Left-over material may dry out and create dust.

A Material Safety Data Sheet is supplied with all products. See the Safety Manual for further information regarding how to handle the product safely.

Storage

When the product is stored at a temperature of 20°C (68°F), the declared activity is maintained for three months. For longer storage periods, a loss in activity of 1-2% per month may occur. When stored at 0-10°C (32-50°F), this product will maintain the declared activity for at least one year.

Page 3/5


 novozymes®

Novozymes Switzerland AG
 Neumatt
 4243 Dittingen
 Switzerland

Tel. +41 61 7656111
 Fax +41 61 7656333

Novozymes A/S
 Krogshoejvej 36
 2880 Bagsvaerd
 Denmark

Tel. +45 8824 9999
 Fax +45 8824 9998
 info@novozymes.com
 www.novozymes.com

Laws, regulations and third party rights may prevent customers from importing, processing, applying and/or reselling certain products in a given manner. It is the responsibility of the customers that their specific use of products from Novozymes does not infringe relevant laws and regulations and, furthermore, does not infringe patents or other third party rights. The contents of this document are subject to change without further notice.

Date © Novozymes A/S

ลิขสิทธิ์ในประเทศไทย
 Copyright © Chiang Mai University
 All rights reserved

Product Sheet

Page 1:5

NOVOZYME

Celluclast[®] 1.5 L

Description

Celluclast 1.5 L is a liquid cellulase preparation produced by submerged fermentation of a selected strain of the fungus *Trichoderma reesei*. The enzyme catalyzes the breakdown of cellulose into glucose, cellobiose and higher glucose polymers. The relative amounts of reaction products formed depend on the reaction conditions. Celluclast has a pronounced viscosity-reducing effect on soluble cellulosic substrates.

Product Properties

Appearance

Celluclast 1.5 L is a brown liquid with a density of approximately 1.2 g/ml.

Activity

Celluclast 1.5 L700 EGU/g.

EGU = Endo-Glucanase Units.

See the Analytical Method for further information. °

Solubility

The active enzyme components of Celluclast are readily soluble in water at all concentrations which occur in normal usage. Turbidity which may occur in the enzyme preparation has no influence on the volumetric activity or handling characteristics of the product.

Food-grade status

Celluclast 1.5 L complies with the recommended purity specifications for food-grade enzymes given by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemicals Codex (FCC), supplemented with maximum limits of 5×10^4 /g for total viable count and 10^2 /g for moulds.

Packaging

See the standard Packaging List for more packaging information.

Application

Celluclast 1.5 L can be used whenever the aim is the breakdown of cellulosic material for the production of fermentable sugars, reduction of viscosity or increase in extraction yield of valuable products of plant origin.

Production of fermentable sugars from cellulosic material

The main reaction products of cellulose material hydrolysis with Celluclast are cellobiose and glucose. Cellobiose is not a fermentable sugar.

Therefore, when maximum conversion to fermentable sugar is desired, we recommend the use of a cellobiase such as Novozym® 188 in combination with Celluclast or Cellubrix® L.

For initial trials with industrial substrates, the following dosages of the products are recommended (% w/w based on the cellulose content):

Celluclast 1.5 L.....	1%
Novozym 188.....	0.2%
Cellubrix L.....	1%

The optimal enzyme dosages depend on the reaction conditions, such as pH, temperature and substrate concentration, and the above dosages may be changed when the process is optimized.

Reduction of viscosity and increase in extraction yield of vegetable products

For initial trials aiming at a reduction of viscosity or increase in extraction yield, a dosage of 0.1% w/w (based on raw material dry matter) of Celluclast 1.5 L is recommended. Depending on the circumstances, it may be possible to reduce the dosage substantially.

Reaction Parameters

Activity and Stability

Figures 1 and 2 illustrate the activity of Celluclast at different pH values and temperatures, using CMC as substrate. The heat and pH stability of the enzyme in aqueous solutions can be seen from Figures 3 and 4. For practical applications, the optimum conditions are about 50-60°C (122-140°F) and a pH of 4.5-6.0.

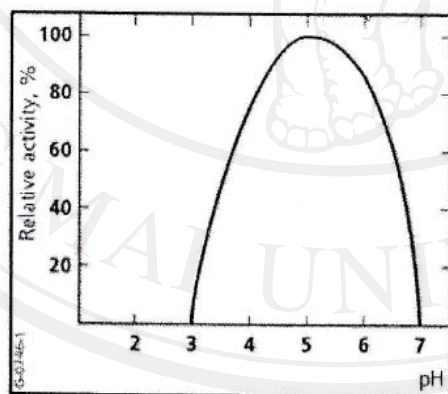


Fig. 1. Influence of pH on the activity of Celluclast.

Concentration of enzyme: 0.009 EGU/ml
 Temperature: 50°C (122°F)
 Reaction time: 20 minutes

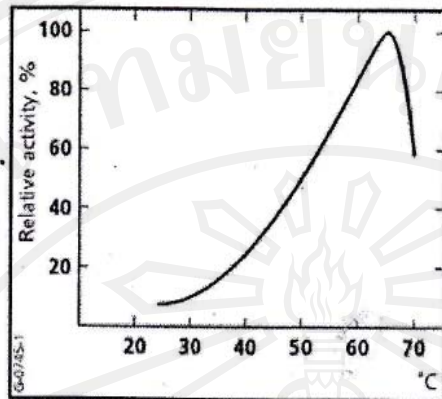


Fig. 2. Influence of temperature on the activity of Celluclast.

Concentration of enzyme: 0.009 EGU/ml
 pH: 4,8
 Reaction time: 20 minutes

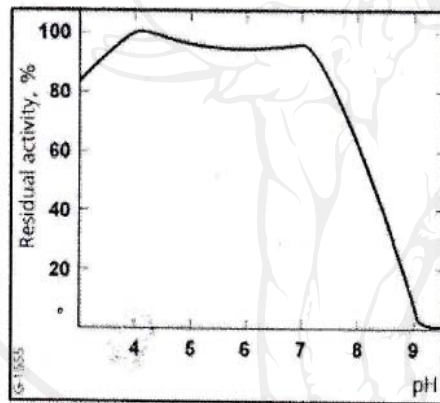


Fig. 3. Influence of pH on the stability of Celluclast.

Concentration of enzyme: 0.9 EGU/ml
 Temperature: 25°C (77°F)
 Incubation time: 16 hours
 Buffer system: McIlvaine

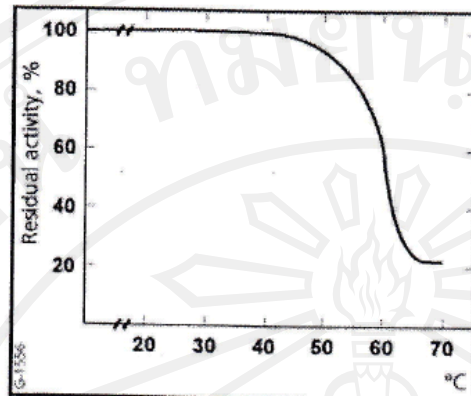


Fig. 4. Influence of pH on the activity of Celluclast.

Concentration of enzyme: 0.9 EGU/ml
 pH: 4.8
 Reaction time: 20 minutes

Safety

Enzymes are proteins. Inhalation of dust or aerosols may induce sensitization and may cause allergic reactions in sensitized individuals. Some enzymes may irritate the skin, eyes and mucous membranes upon prolonged contact. This product has been developed to resist mechanical effects. However, excessive mechanical wear and tear or crushing may create dust.

All spills, however minor, should be removed immediately. Use respiratory protection. Major spills should be carefully shovelled into plastic-lined containers. Minor spills and the remains of major spills should be removed by vacuum cleaning or flushing with water (avoid splashing). Vacuum cleaners and central vacuum systems should be equipped with HEPA filters. Wear suitable protective clothing, gloves and eye/face protection as prescribed on the warning label. Wash contaminated clothes.

Handling Precautions

Celluclast 1.5 L is non-flammable, completely miscible with water and safe when used according to directions. Observe standard handling precautions to avoid direct contact with the product or inhalation of dust from the dried product. In case of accidental spillage and contact with the skin or eyes, rinse promptly with water.

A Material Safety Data Sheet is supplied with all products. See the Safety Manual for further information regarding how to handle the product safely.

Storage

Enzymes gradually lose activity over time depending on storage temperature and humidity. It is recommended to store the product under cool and dry conditions in closed containers at 0-10°C (32-50°F) (e.g. in the hop storage room). Extended storage and/or adverse conditions including higher temperature or high humidity, may lead to a higher dosage requirement. Further information on product stability is available on request.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ – สกุล

นางจิราวรรณ ภูจิตร์

วัน เดือน ปี เกิด

18 มีนาคม 2529

ประวัติการศึกษา

สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนธีรภานุบำรุงบ้านไผ่ จังหวัด
ลำพูน ปีการศึกษา 2547

สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2551

ทุนวิจัย

ได้รับทุนสนับสนุน จากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจาก
พระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามราชกุมารี (อพ.สธ.)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved