

## ภาคผนวก

### ภาคผนวก ก. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของไขมันและน้ำมัน

#### ก 1. การวิเคราะห์ค่าไอโอดีน

##### อุปกรณ์

1. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 มล.
2. จุกยาง
3. ปิเปตกระเปาะขนาด 25 มล.
4. บuretต์ขนาด 25 มล.
5. ลูกแก้วกันกระแทก
6. ขวดปรับปริมาตร
7. magnetic stirrer

##### สารเคมี

1. สารละลายวิจส์ (Wij's solution) การเตรียมสารละลายวิจส์ต้องทำในตู้ควันด้วยความระมัดระวังและควรสวมถุงมือขณะเตรียม โดยการชั่งสารสารไอโอดีนคลอไรด์ (ICI)หนัก 16.5 กรัม ละลายใน glacial acetic acid และปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร หรืออาจเตรียมโดยชั่งไอโอดีนไตรคลอไรด์ 9 กรัม ละลายในสารละลายผสมของกรดแอซิติค 700 มล. และคาร์บอนเตตราคลอไรด์ 300 มล. เก็บสารละลายในขวดสีชาปิดผนึกให้แน่น ด้วยพาราฟินจนกว่าจะนำมาใช้

2. โพแทสเซียมไอโอไดด์เข้มข้นร้อยละ 10

3. โซเดียมไทโอซัลเฟต ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) เข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยชั่งโซเดียมไทโอซัลเฟต ประมาณ 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มให้เดือดเบาๆ 5 นาที แล้วถ่ายลงในขวดเก็บสีชาขณะร้อนเก็บสารละลายในที่มืดและเย็น อย่าเทสารละลายที่ใช้แล้วกลับลงในขวดเก็บ ทำการหาความเข้มข้นมาตรฐานโดยอบสารโพแทสเซียมไดโครเมต

(K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) เอราร์เกรดที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งให้ได้น้ำหนักแน่นอนใส่ลงในขวดรูปชมพู่ 3 ขวดๆละ 0.1 กรัม (สำหรับความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล) แต่ละขวดเติมน้ำกลั่นที่ปราศจากคลอรีนปริมาณ 80 มล. ที่มีโพแทสเซียมไอโอไดด์ 2 กรัม และเติมสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 1 นอร์มัล ปริมาณ 20 มล. ตั้งทิ้งในที่มืดทันทีเป็นเวลา 10 นาที แล้วไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตข้างต้น โดยใช้น้ำแป้งเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นอินดิเคเตอร์ (เติมน้ำแป้งเมื่อปฏิกิริยาใกล้ถึงจุดยุติและจุดยุติเป็นจุดที่สีน้ำเงินหมดไป) คำนวณความเข้มข้นจากสูตร

ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต (นอร์มัล)

$$= \frac{\text{น้ำหนักโพแทสเซียมไดโครเมต (กรัม)}}{\text{ปริมาตรสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรท (มล.)} \times 0.0490}$$

\*สมมูลของโพแทสเซียมไดโครเมต = 49.032

4. โซโครเฮกเซน (cyclohexane)

5. น้ำแป้งเข้มข้นร้อยละ 1

### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน (น้ำหนักตัวอย่างที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับค่าไอโอดีนที่คาดคะเนดังแสดงในตารางผนวกที่ 1) ใส่ในขวดชมพู่ขนาด 500 มล. ที่สะอาดและแห้ง (ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นของแข็งให้หลอมและกรองก่อนชั่ง)

ตารางภาคผนวกที่ 1 ปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ค่าไอโอดีน

Appropriate sample weight for iodine value analyze.

Iodine value	Weight of sample (g)
< 5	3.00
5 – 20	1.00
21 – 50	0.40
51 – 100	0.20
101 – 150	0.13
151 – 200	0.10

Source : IUPAC (1979)

2. เติมไซโคลเฮกเซน 15 มล.
3. เติมสารละลายวิจส์ 25 มล. โดยใช้ปิเปตและให้ปลายปิเปตจรดข้างขวดด้วยจำนวนครั้งที่แน่นอนและเท่ากันทุกครั้งที่ทำกรทดลอง
4. เขย่าขวดและตั้งไว้ในที่มืด 1-2 ชั่วโมง
5. เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ปริมาณ 20 มล. และน้ำต้มใหม่ซึ่งเย็นแล้ว 150 มล.
6. ไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.1 นอร์มัล เขย่าอย่างสม่ำเสมอ ขณะไตเตรทจนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน เติมน้ำเป็ง 2-3 หยด จะกลายเป็นสีน้ำเงิน แล้วไตเตรทต่อไปจนสีน้ำเงินหมดไปก่อนปฏิกิริยาจะสิ้นสุดถึงจุดยุติให้ปิดขวดด้วยจุกยางเขย่าอย่างแรง เพื่อให้ไอโอดีนที่เหลืออยู่ในชั้นของคาร์บอนเตตราคลอไรด์ถูกดึงออกมาให้หมด
7. เตรียมแบลنگก์โดยวิธีเดียวกัน
8. คำนวณค่าไอโอดีนจากสูตร

$$\text{ค่าไอโอดีน} = \frac{(b - a) \times N \times 12.69}{W}$$

a = ปริมาณโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง (มล.)

b = ปริมาณโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรทกับแบลนก์ (มล.)

N = ความเข้มข้นโซเดียมไทโอซัลเฟต (นอร์มัล)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

หมายเหตุ ถ้าค่า  $b - a > b/2$  ให้ทดลองใหม่โดยใช้ปริมาณตัวอย่างให้น้อยลง

## ก 2. การวิเคราะห์ค่าสปอนิฟิเคชัน

### อุปกรณ์

1. ชุดกลั่นแบบรีฟลักซ์ (reflux) ซึ่งประกอบด้วย ขวดกลั่นขนาด 250 มล. ต่อกับ เครื่องควบแน่น (reflux condenser) ตั้งบนเตา (heating mantle)
2. ลูกแก้วกันกระแทก
3. บีกเกอร์
4. ปิเปต
5. บิวเรตต์

### สารเคมี

1. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.5 นอร์มัล ในเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ซึ่งเตรียมไว้อย่างน้อย 5 วันก่อนใช้ และสารละลายที่ได้ไม่ควรมีสีเหลืองฟาง
2. กรดเกลือ เข้มข้น 0.5 นอร์มัล
3. ฟีนอล์ฟทาลีนร้อยละ 1

### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1.2 กรัม ใส่ในขวดกลั่นที่สะอาดและแห้ง

2. เติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 25 มล. โดยใช้ปิเปตและใส่ลูกแก้วในขวดกลั่นด้วย
3. จัดเครื่องกลั่นพร้อมเปิดน้ำหล่อชุดควบแน่นและเปิดสวิทช์ไฟรีฟลักซ์สารละลายให้เดือดเบา ๆ นาน 60 นาที
4. นำขวดใส่สารละลายออกจากชุดกลั่น
5. เติมฟีนอล์ฟทาลีน 5 หยด แล้วไตเตรตด้วยกรดเกลือเข้มข้น 0.5 นอร์มัล
6. เตรียมและไตเตรต blank เช่นเดียวกับตัวอย่าง
7. คำนวณค่าสปอนิฟิเคชันจากสูตร

$$\text{ค่าสปอนิฟิเคชัน} = \frac{(b - a) \times N \times 56.1}{W}$$

- b = ปริมาณ โซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรตกับ blank (มล.)
- a = ปริมาณ โซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรตกับตัวอย่าง (มล.)
- N = ความเข้มข้นของกรดเกลือ (นอร์มัล)
- W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

### ก 3. การวิเคราะห์ค่ากรดและกรดไขมันอิสระ

#### อุปกรณ์

1. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มล.
2. กระจกตวง ขนาด 50 มล.
3. บิวเรตต์ ขนาด 25 มล.
4. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

#### สารเคมี

1. เอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95

2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์) เข้มข้น 0.1 หรือ 0.05 หรือ 0.01 นอร์มัล

สำหรับความเข้มข้น 0.1 N เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ เกรดสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร เก็บสารละลายต่างในขวดแก้วซึ่งฝาขวดที่ใช้ต้องไม่ใช่แก้ว ก่อนใช้ทำการหาความเข้มข้นมาตรฐานที่แน่นอนโดยการนำโพแทสเซียมแอสิดฟทาเทท (potassium acid phthalate :  $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ ) ใส่กระจกนาฬิกาไปอบในตู้อบอุณหภูมิ  $110^\circ\text{C}$  นาน 1-2 ชม. แล้วปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้นชั่งน้ำหนักให้ได้แน่นอน 0.8 กรัม (สำหรับความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล) ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากคาร์บอนेट 25 มล. ทำซ้ำ 3 ขวด แล้วไตเตรทกับสารละลายต่างข้างต้น โดยมีฟีนอล์ฟทาลินเป็นอินดิเคเตอร์ กำหนดความเข้มข้นต่างจากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นสารละลาย NaOH} = \frac{\text{น้ำหนักโพแทสเซียมแอสิดฟทาเทท (กรัม)}}{\text{ปริมาตรสารละลาย NaOH ที่ใช้ (มล.)} \times 0.2042}$$

\*สมมูลของโพแทสเซียมแอสิดฟทาเทท = 204.216

3. ฟีนอล์ฟทาลินเข้มข้นร้อยละ 1

### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1-10 กรัม ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล.
2. เตรียมสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ให้เป็นกลาง โดยการเติมฟีนอล์ฟทาลิน 5 หยด และปรับให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล หยดต่างที่ละหยดพร้อมทั้งเขย่าหรือกวนจนได้สารละลายแอลกอฮอล์เป็นสีชมพูถาวร
3. เติมเอทิลแอลกอฮอล์ที่เป็นกลาง 50 มล. ลงในตัวอย่างเขย่าอย่างแรงให้ตัวอย่างละลายในแอลกอฮอล์ ถ้าละลายได้ไม่ดีให้อุ่นที่อุณหภูมิ  $60-65$  องศาเซลเซียส
4. ไตเตรทสารละลายตัวอย่างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล ขณะไตเตรทต้องเขย่าอย่างแรงจนกระทั่งได้สารละลายสีชมพูคงที่อยู่นานประมาณ 1 นาที

### 5. คำนวณค่ากรดและปริมาณกรดไขมันอิสระจากสูตร

$$\text{ค่ากรด (มก.)} = \frac{\text{ปริมาตรค้างที่ใช้ (มล.)} \times \text{ความเข้มข้นค้าง(นอร์มัล)} \times 56.1}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

กรดไขมันอิสระร้อยละในรูปกรดโอเลอิก

$$= \frac{\text{ปริมาตรค้างที่ใช้ (มล.)} \times \text{ความเข้มข้นค้าง(นอร์มัล)} \times 28.2}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

หมายเหตุ	น้ำหนักโมเลกุลของกรดคลอริก	=	200
	กรดพาลมิติก	=	256
	กรด โอเลอิก	=	282

### ก 4. การวิเคราะห์ค่าเพอร์ออกไซด์

#### อุปกรณ์

1. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มล.
2. บuret ขนาด 10 มล.
3. ปิเปต ขนาด 5 มล.
4. โถดูดความร้อน

#### สารเคมี

1. สารละลายผสมแอสซิติคกับคลอโรฟอร์ม อัตราส่วน 3:2
2. สารละลายอิมตัวโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)

ละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ปริมาณมากเกินพอในน้ำต้มใหม่แล้วเก็บในที่มืดและทดสอบก่อนใช้ โดยนำมา 1 มล. แล้วเติมสารละลายผสมกรดแอสซิติค - คลอโรฟอร์ม 3:2 ในปริมาณ 25-30 มล. แล้วหยคน้ำแข็งลงไป 2-3 หยด ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินให้ทิ้งไปและเตรียมใหม่

### 3. สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) เข้มข้น 0.01 นอร์มัล

การเตรียมที่ระดับความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยชั่งโซเดียมไทโอซัลเฟต ประมาณ 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มให้เดือดเบา ๆ 5 นาที แล้วถ่ายลงในขวดเก็บสีชา ขณะร้อนเก็บสารละลายในที่มืดและเย็นอย่าเทสารที่ใช้แล้วกลับลงในขวดเก็บ ทำการหาความเข้มข้นมาตรฐาน โดยอบสารโพแทสเซียมไดโครเมต ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) เกรดสำหรับการวิเคราะห์ที่อุณหภูมิ  $100^\circ\text{C}$  เป็นเวลา 1-2 ชม. ทิ้งให้เย็นในโถดูดความร้อน แล้วชั่งให้ได้ น้ำหนักแน่นอนใส่ลงในขวดรูปชมพู่ 3 ขวด ๆ ละ 0.1 กรัม (สำหรับความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล) แต่ละขวดเติมน้ำกลั่นที่ปราศจากคลอรีนปริมาณ 80 มล. ที่มีโพแทสเซียมไอโอไดด์ 2 กรัม และเติมสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 1 นอร์มัล ปริมาณ 20 มล. ตั้งทิ้งในที่มืดทันทีเป็นเวลา 10 นาที แล้วไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตข้างต้น โดยใช้น้ำแป้งเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นอินดิเคเตอร์ (เติมน้ำแป้งเมื่อปฏิกิริยาใกล้ถึงจุดยุติ และจุดยุติเป็นจุดที่สีน้ำเงินหมดไป) คำนวณความเข้มข้นจากสูตร

ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต (นอร์มัล)

$$= \frac{\text{น้ำหนักโพแทสเซียมไดโครเมต (กรัม)}}{\text{ปริมาตรสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรท (มล.)} \times 0.0490}$$

### 4. น้ำแป้ง (soluble starch) เข้มข้นร้อยละ 1

#### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนใส่ในขวดขนาด 250 มล.
2. เติมสารละลายแอสซิดิก-คลอโรฟอร์ม 25 มล. เขย่าให้ตัวอย่างละลาย
3. เติมสารละลายอิมตัวโพแทสเซียมไอโอไดด์ 1 มล. ปิดจุกพร้อมเขย่านาน 1 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ที่มืด 5 นาที
4. เติมน้ำกลั่น 75 มล.
5. ไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตพร้อมเขย่าอย่างแรงจนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน เติมน้ำแป้ง 0.5 มล. แล้วไตเตรทต่อไปจนสีน้ำเงินหมดไป (ถ้าการไตเตรทใช้สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเข้มข้น 0.01 นอร์มัล ในปริมาณน้อยกว่า 0.5 มล.



ให้เปลี่ยนความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเป็น 0.002 นอร์มัล) เตรียมและไตเตรทแบลنگก์เช่นเดียวกับตัวอย่าง

ตารางภาคผนวกที่ 2 ปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์

Appropriate sample weight for peroxide value analyze.

Peroxide value (mg)	Weight of sample (g)
0 – 12	5.0-2.0
12 – 20	2.0-1.2
20 – 30	1.2-0.8
30 – 50	0.8-0.5
50 – 90	0.5-0.3

Source : IUPAC (1979)

#### 6. คำนวณค่าเปอร์ออกไซด์จากสูตร

$$\text{ค่าเปอร์ออกไซด์} = \frac{(a - b) \times N \times 1000}{W}$$

a = ปริมาตร (มล.) ของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

b = ปริมาตร(มล.)ของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรทกับแบลنگก์

N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต (นอร์มัล)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

## ภาคผนวก ข. การวิเคราะห์สารประกอบกลีเซอไรด์

### สารเคมี

1. สารประกอบกลีเซอไรด์ (tripalmitin, triolein, 1,2-dipalmitoyl-sn-glycerol, 1,3-dipalmitoyl-sn-glycerol, palmitic acid, oleic acid, 1-monopalmitoyl rac-glycerol, 1-monooleoly rac-glycerol)
2. กรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 3
3. คลอโรฟอร์ม
4. กรดอะซิติก
5. เบนซีน

### วิธีการวิเคราะห์

1. ละลายสารประกอบกลีเซอไรด์ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัมด้วยคลอโรฟอร์มและเจือจางเป็น 100 เท่า
2. เตรียม quartz rod (Chromarod S-III) โดยแช่ในกรดบอริกเป็นเวลา 3 นาที อบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 5 นาทีนำไปทำ blank scan ด้วยเครื่อง Iatroscan MK-5 ภายใต้สภาวะ 30 วินาทีต่อสแกน การไหลของอากาศเท่ากับ 200 มิลลิลิตรต่อนาที การไหลของแก๊สไฮโดรเจนเท่ากับ 160 มิลลิลิตรต่อนาที
3. หยดสารประกอบกลีเซอไรด์มาตรฐาน 1 ถึง 3 ไมโครลิตรบน quartz rods นำไปแช่ในสารตัวทำละลายที่มีสารผสมระหว่าง เบนซีน:คลอโรฟอร์ม:กรดอะซิติก (70:30:2, v/v) จนกระทั่งความสูงของสารตัวทำละลายสูงประมาณ 10 เซนติเมตร
4. นำ quartz rod ไปอบแห้งที่ 105 องศาเซลเซียสประมาณ 5 นาที อีกครั้งแล้วนำไปสแกนภายใต้สภาวะเดียวกับ blank scan
5. อ่านผลการวิเคราะห์จากโปรแกรม Chromstar light

## ภาคผนวก ค การวัดค่าความแข็ง (Ali et al., 2001)

### อุปกรณ์

เครื่อง Texture Analyzer ยี่ห้อ STABLE MICRO SYSTEM รุ่น TA-XT2

### วิธีการ

นำตัวอย่างซ็อกโกแลตชนิดแท่งแช่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 6 นาที ทำให้ซ็อกโกแลตมีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นำซ็อกโกแลตมาวัดค่าความแข็งโดยใช้หัว cylinder เส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ความเร็วก่อนเจาะตัวอย่าง 1.1 mm/s และความเร็วจนหลังเจาะตัวอย่าง 10.0 mm/s โดยเจาะตัวอย่างลึก 60 เปอร์เซ็นต์ ของความสูง



ภาพประกอบภาคผนวกที่ 1 เครื่อง TA-XT2 Texture Analyzer ติดตั้งหัว Cylinder เส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร

TA-XT2 Texture Analyzer by use cylinder head diameter 2 millimeter.

ภาคผนวก ง. การวัดค่าจุดหลอมเหลวของไขมันโดยใช้เครื่อง melting point apparatus

### อุปกรณ์

1. เครื่อง melting point apparatus ยี่ห้อ FISHER-JOHNS
2. Microscope Cover Glass

### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมัน 3-5 มิลลิกรัมบนแผ่น Cover glass
2. วางแผ่น cover glass บน plate ให้ความร้อน เปิดเครื่องให้ความร้อน
3. สังเกตการหลอมเหลวด้วยแว่นขยายอ่านอุณหภูมิเมื่อไขมันเริ่มหลอมเหลว และอุณหภูมิที่ไขมันหลอมทั้งหมด

### ภาคผนวก จ. การวัดค่าความหนืดของซ็อกโกแลตชนิดเคลือบ

#### อุปกรณ์

1. เครื่องวัดความหนืดยี่ห้อ BROOKFIELD รุ่น DV-II+
2. บีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
3. อ่างควบคุมอุณหภูมิ

#### วิธีการ

1. นำตัวอย่างซ็อกโกแลตชนิดเคลือบใส่บีกเกอร์ 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 200 มิลลิลิตร อุณหภูมิในอ่างควบคุมอุณหภูมิจนกระทั่งอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส
2. เปิดเครื่องวัดความหนืดเลือกหัววัดค่าความหนืดเบอร์ 6 และความหนืดเร็วรอบ 10 รอบ/นาที
3. อ่านค่าความหนืดหลังจากตั้งความเร็วรอบเสร็จแล้ว 20 วินาที โดยอ่านหน่วยความหนืดเป็นเซ็นต์พอยส์ (cps)

ภาคผนวก ฉ. การวัดปริมาณเคลือบติดของช็อกโกแลตบนชิ้นขนมปัง

### อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ METTLER รุ่น AB 204
2. บีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร

### วิธีการ

1. หลอมช็อกโกแลตชนิดเคลือบในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิจนช็อกโกแลตมีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส
2. นำแท่งขนมปังยาว 12 เซนติเมตร ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน จุ่มในช็อกโกแลตลึก 9 เซนติเมตร นาน 5 วินาที ยกแท่งขนมปังขึ้นพักไว้ 5 นาที
3. ชั่งน้ำหนักขนมปังเคลือบช็อกโกแลตหักกลับกับน้ำหนักขนมปังเริ่มต้นทำให้ทราบปริมาณช็อกโกแลตที่เคลือบติดบนแท่งขนมปัง

**ภาคผนวก ข. การวิเคราะห์รูปแบบการหลอมเหลวของไขมันและช็อกโกแลตดัดแปลง  
ตามวิธีของ Ali และ Dimick (1994)**

**อุปกรณ์**

1. เครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) รุ่น FP90 Central Processor และ FP85 TA Cell
2. aluminium pan
3. Mettler System Software FP89

**วิธีการ**

1. ชั่งตัวอย่างไขมันหรือช็อกโกแลต 3-5 มิลลิกรัมใส่ใน aluminium pan แล้วปิดผนึก
2. นำตัวอย่างใส่ในเครื่อง DSC ควบคุมอุณหภูมิในการวิเคราะห์ที่  $-4$  ถึง  $75$  องศาเซลเซียส และอัตราการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิเป็น  $10$  องศาเซลเซียสต่อนาที

ภาคผนวก ซ. การวัดค่าสัมประสิทธิ์ความสว่าง (fat bloom) ตามวิธีของ Lohman and Hartel (1994)

อุปกรณ์

เครื่องวัดสีที่หือ Hunter Lab รุ่น Color Flex

วิธีการ

1. ทำการ calibrate เครื่องด้วย black and white standard plate
2. วางตัวอย่างซ็อกโกแลตบน Port ขนาด 0.50 นิ้ว
3. เริ่มวัดค่าสีโดยใช้ระบบของ Hunter color System ค่าที่วัดได้จะเป็นค่า L\* a\* b\*
4. คำนวณค่า Whiteness Index (WI) จากสมการดังต่อไปนี้

$$WI = 100 - [(100-L^*)^2 + a^* + b^*]^{1/2}$$



## ภาคผนวก ฅ การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

**ฅ 1.** การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยวิธี Total viable count แบบ pour plate (AOAC, 1999)

### อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Plate count agar (PCA)
2. สารละลาย tween 80 เข้มข้นร้อยละ 0.1 (Speck, 1976)

### อุปกรณ์

1. เครื่องตีปั่นไฟฟ้า (Stomacher)
2. อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์

### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างซ็อกโกแลต 10 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ
2. เทสารละลาย tween 80 ปริมาตร 90 มิลลิลิตรผสมกับตัวอย่างก่อนนำไปตีปั่นด้วยเครื่องตีปั่นไฟฟ้าโดยใช้ความแรงระดับปานกลางเป็นระยะเวลา 1 นาที ตัวอย่างจะมีระดับความเจือจาง 1:10
3. เจือจางอาหารด้วยสารละลาย Tween 80 เข้มข้นร้อยละ 0.01 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ให้มีระดับความเจือจางที่ต้องการ (1:100 , 1:1000)
4. ปิ่เปิดตัวอย่างซ็อกโกแลต 1 มิลลิลิตร จากแต่ละระดับความเจือจางระดับละ 3 ซ้ำลงในจากเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ
5. เทหับตัวอย่างด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตรประมาณ 15–20 มิลลิลิตร
6. หมุนจานเพาะเชื้อเบาๆ แล้วตั้งทิ้งให้อาหารแข็งตัวประมาณ 15 นาที
7. บ่มจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยคว่ำจานเพาะเชื้อเป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง

8. ตรวจสอบจำนวนโคโลนีในงานเพาะเชื้อที่มีจำนวนเชื้อประมาณ 30-300 โคโลนี และรายงานผลเป็นจำนวน Colony Forming Unit (CFU) /กรัมตัวอย่าง

### การคำนวณจำนวน CFU /กรัมตัวอย่าง

$$\text{CFU} = \text{ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนี} \times \text{ระดับความเจือจาง}$$

ฅ 2. การวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราโดยวิธี pour plate

### อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Potato dextrose agar (PDA)
2. สารละลาย tween 80 เข้มข้นร้อยละ 0.1

### วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างซ็อกโกแลต 10 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกปิดสนิท
2. เทสารละลาย tween 80 ปริมาตร 90 มิลลิลิตรผสมกับตัวอย่างก่อนนำไปตีปั่นด้วยเครื่องตีปั่นไฟฟ้าโดยใช้ความแรงระดับปานกลางเป็นระยะเวลา 1 นาที ตัวอย่างจะมีระดับความเจือจาง 1:10
3. เจือจางอาหารด้วยสารละลาย Tween 80 เข้มข้นร้อยละ 0.01 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ให้มีระดับความเจือจางที่ต้องการ (1:100 , 1:1000)
4. ปิเปิดตัวอย่างซ็อกโกแลต 1 มิลลิลิตร จากแต่ละระดับความเจือจางระดับละ 3 ซ้ำ ลงในจากเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ
5. เททับตัวอย่างด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตรประมาณ 15–20 มิลลิลิตร
6. หมุนงานเพาะเชื้อเบาๆ แล้วตั้งทิ้งให้อาหารแข็งตัวประมาณ 15 นาที
7. บ่มงานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้องในลักษณะคว่ำงานเพาะเชื้อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง
8. ตรวจสอบจำนวนโคโลนีในงานเพาะเชื้อที่มีจำนวนเชื้อประมาณ 30-300 โคโลนี และรายงานผลเป็นจำนวน Colony Forming Unit (CFU) /กรัมตัวอย่าง

### ภาคผนวก ญ.

**ญ 1.** แบบประเมินความชอบทางประสาทสัมผัสแบบ Hedonic scale สำหรับประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ของผลิตภัณฑ์ช็อกโกแลตแท่งและชนิดเค็ลือบ

ชื่อ.....วันที่.....เวลา.....  
ชื่อผลิตภัณฑ์.....

**คำแนะนำ** กรุณาทดสอบตัวอย่างที่เสนอให้จากซ้ายไปขวา พร้อมทั้งให้คะแนนความชอบต่อตัวอย่างในแต่ละปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรู้สึของท่านมากที่สุด โดยรับประทานขนมปังและน้ำขึ้นระหว่างตัวอย่าง กำหนดให้

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

คุณลักษณะด้าน	คะแนนความชอบ				
รหัสตัวอย่าง	----	----	----	----	----
1. ลักษณะปรากฏ	.....	.....	.....	.....	.....
2. เนื้อสัมผัส	.....	.....	.....	.....	.....
3. กลิ่นรส	.....	.....	.....	.....	.....
4. ความชอบรวม	.....	.....	.....	.....	.....

ข้อเสนอแนะ.....

**ญ 2. แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบ Multisample Difference Test**  
**สำหรับประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลตชนิดแท่ง**

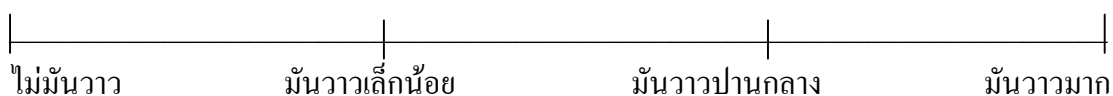
ผลิตภัณฑ์...ซ็อกโกแลตแท่ง.....

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่.....เวลา.....

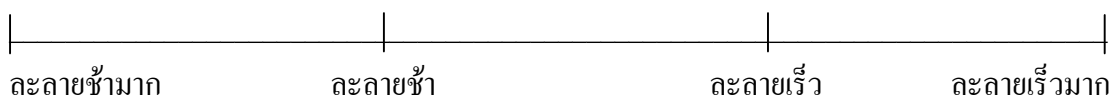
คำแนะนำ โปรดทำการทดสอบคุณลักษณะด้านต่างๆของซ็อกโกแลตแท่ง แล้วทำเครื่องหมายเส้นตรงตั้งฉากกับสเกลนอนที่ให้ไว้ เพื่อแสดงตำแหน่งที่ท่านให้ไว้กับตัวอย่างในคุณลักษณะนั้นๆตามที่ท่านเห็นว่าเหมาะสมที่สุด พร้อมทั้งเขียนรหัสของตัวอย่างบนเครื่องหมายเส้นตรงนั้นด้วย (โปรดทดสอบตัวอย่างเรียงตามลำดับต่อไปนี้)

**คุณลักษณะด้านประสาทสัมผัส**

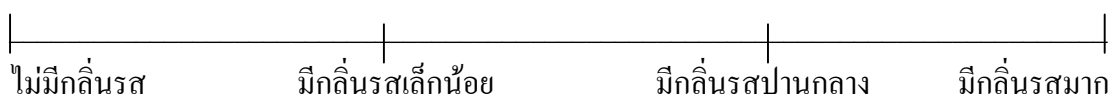
1. ความมันวาวของซ็อกโกแลต



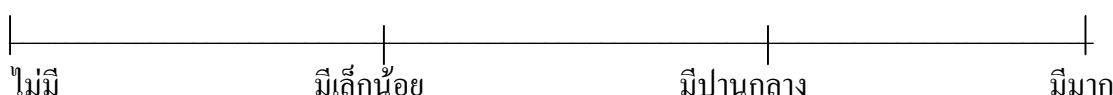
2. การละลายในปากของซ็อกโกแลต



3. ความแรงของกลิ่นรสซ็อกโกแลต



4. กลิ่นรสผิดปกติ



ข้อเสนอแนะ.....

**ญ 3. แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบ Multisample Difference Test**  
**สำหรับประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลตชนิดเคลือบ**

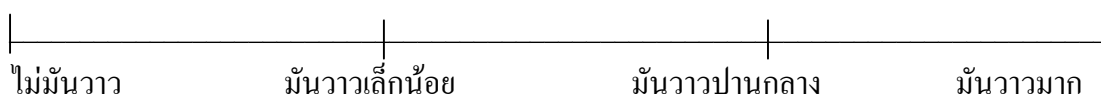
ผลิตภัณฑ์...ซ็อกโกแลตเคลือบขนมปัง.....

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่.....เวลา.....

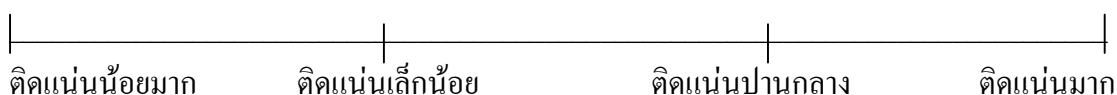
คำแนะนำ โปรดทำการทดสอบคุณลักษณะด้านต่างๆของซ็อกโกแลตเคลือบ แล้วทำเครื่องหมาย  
 เส้นตรงตั้งฉากกับสเกลอนที่ให้อไว้ เพื่อแสดงตำแหน่งที่ท่านให้อไว้กับตัวอย่างในคุณลักษณะนั้นๆ  
 ตามที่ท่านเห็นว่าเหมาะสมที่สุด พร้อมทั้งเขียนรหัสของตัวอย่างบนเครื่องหมายเส้นตรงนั้นด้วย  
 (โปรดทดสอบตัวอย่างเรียงตามลำดับต่อไปนี้)

**คุณลักษณะด้านประสาทสัมผัส**

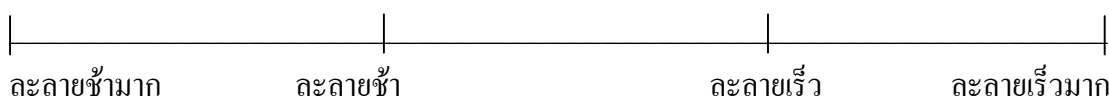
1. ความมันวาวของซ็อกโกแลต



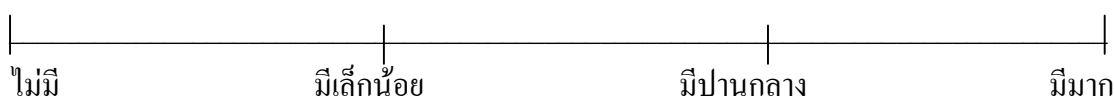
2. การเคลือบติดแน่นของซ็อกโกแลตบนชิ้นขนมปัง (โดยวัดแรงที่ใช้ในการดึงซ็อกโกแลตที่เคลือบ  
 ด้วยริมฝีปาก)



3. การละลายในปากของซ็อกโกแลต



4. กลิ่นรสผิดปกติ



ข้อเสนอแนะ.....

#### ญ4. แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบ Difference from control test

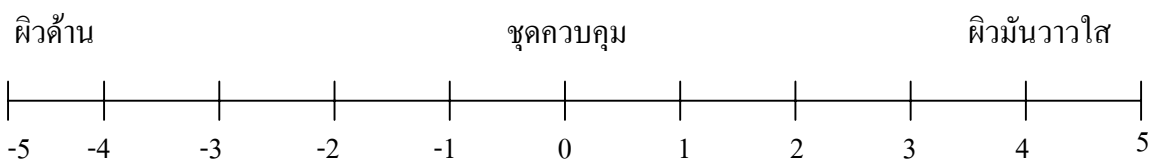
สำหรับประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลตชนิดแท่ง

ชื่อ.....วันที่.....เวลา.....

ชื่อผลิตภัณฑ์.....

**คำแนะนำ** กรุณาชิมตัวอย่างซ็อกโกแลตแท่งโดยทดสอบคุณลักษณะความมันวาว การละลายในปาก ความแตกเปราะ และความรู้สึกหลังชิม แล้วให้คะแนนความแตกต่างไปจากชุดควบคุมซึ่งมีคะแนนเป็น 0 คะแนน และเขียนรหัสของตัวอย่างลงบนสเกลคะแนน (ทดสอบชุดควบคุมก่อนแล้วจึงทดสอบตัวอย่างโดยรับประทานขนมปังและน้ำขึ้นระหว่างตัวอย่าง)

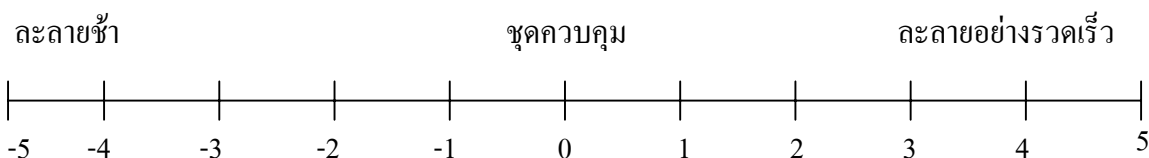
##### 1. ความมันวาว



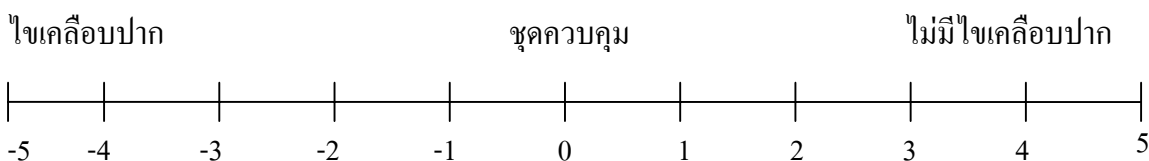
##### 2. ความแตกเปราะ



##### 3. การละลายในปาก



##### 4. ความรู้สึกหลังชิม



**ญ 5. แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ของการทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์  
ซ็อกโกแลตชนิดแท่งและเคลือบขนมปัง**

ชื่อผลิตภัณฑ์.....

ชื่อ.....วันที่.....เวลา.....

คำแนะนำ กรุณาชิมตัวอย่างซ็อกโกแลตจากซ้ายไปขวา แล้วทำการทดสอบการยอมรับรวมของ  
ตัวอย่างซ็อกโกแลต โดยให้คะแนนการยอมรับ 9 ระดับ คือ

9 = ยอมรับมากที่สุด	6 = ยอมรับเล็กน้อย	3 = ไม่ยอมรับปานกลาง
8 = ยอมรับมาก	5 = เฉยๆ	2 = ไม่ยอมรับมาก
7 = ยอมรับปานกลาง	4 = ไม่ยอมรับเล็กน้อย	1 = ไม่ยอมรับมากที่สุด

รหัสตัวอย่าง       .....       .....       .....       .....

การยอมรับรวม       .....       .....       .....       .....

ข้อเสนอแนะ.....  
.....  
.....

ขอบคุณครับ.

**ญ 6. แบบสอบถามสำหรับทดสอบผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลตชนิดแท่งและชนิดเคลือบขนมปัง**

**แบบสอบถาม**

แบบสอบถามนี้เป็นส่วนหนึ่งของรายวิชา วิทยานิพนธ์ของนักศึกษาปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทุกคำตอบจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการผลิตซ็อกโกแลตจากไขมันเลียนแบบเนยโกโก้ ขอขอบพระคุณอย่างยิ่งที่ให้ความร่วมมือ

**คำแนะนำ** กรุณาทำเครื่องหมายใน  หน้าข้อที่ท่านเลือก

**ส่วนที่ 1** ข้อมูลเกี่ยวกับพฤติกรรมการบริโภค

1. ท่านชอบทานซ็อกโกแลตหรือไม่

1. ชอบ       2. ไม่ชอบ

2. ท่านทานซ็อกโกแลตบ่อยแค่ไหน

1. น้อยกว่า 1 ครั้งต่อสัปดาห์  
 2. 1-3 ครั้งต่อสัปดาห์  
 3. 4-6 ครั้งต่อสัปดาห์  
 4. ทุกวัน

3. ท่านซื้อและ/หรือ ทานซ็อกโกแลตด้วยเหตุผลใด

กรุณาเรียงลำดับความสำคัญ 1-3 โดย 1 = สำคัญมากที่สุด

2 = สำคัญเป็นอันดับสอง 3 = สำคัญเป็นอันดับสาม

- ( ) 1. หาซื้อง่าย  
 ( ) 2. ราคาไม่แพง  
 ( ) 3. อยากลองรสชาติซ็อกโกแลตใหม่ๆ  
 ( ) 4. อร่อยกินแล้วมีความสุข  
 ( ) 5. เพื่อคลายเครียด  
 ( ) 6. เพื่อเป็นของขวัญ  
 ( ) 7. โฆษณาดีโน้มน้าวให้อยากซื้อ

สำหรับผู้วิจัย

B1

B2

B3





2. ท่านทราบหรือไม่ว่าผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลตในท้องตลาดได้นำไขมันพืช(ไขมันปาล์ม) มาใช้ในการผลิตซ็อกโกแลตแทนไขมันโกโก้
1. ทราบ                       2. ไม่ทราบ
3. ท่านมีความสนใจในซ็อกโกแลตที่ใช้ไขมันพืชอื่นมาทดแทนเนยโกโก้หรือไม่
1. สนใจ เพราะ.....       2. ไม่สนใจ เพราะ.....

 P1 P2 P3

4. ถ้าบนชั้นวางของมีซ็อกโกแลตที่ผลิตจากไขมันโกโก้ซึ่งมีราคาสูงกว่าซ็อกโกแลตที่ผลิตจากไขมันปาล์ม 6.50 บาทท่านจะเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ใด
1. ซ็อกโกแลตที่ผลิตจากไขมันโกโก้
2. ซ็อกโกแลตที่ผลิตจากไขมันปาล์ม
5. กรุณาชิมตัวอย่างของซ็อกโกแลตทั้งสองชนิดโดยทดสอบคุณลักษณะด้านความชอบรวม แล้วให้คะแนนแทนความชอบ 9 ระดับคือ
- 9 = ชอบมากที่สุด    6 = ชอบเล็กน้อย                      3 = ไม่ชอบปานกลาง
- 8 = ชอบมาก                      5 = เฉยๆ    2 = ไม่ชอบมาก
- 7 = ชอบปานกลาง    4 = ไม่ชอบเล็กน้อย                                      1 = ไม่ชอบมากที่สุด

 P4   
P5

คุณลักษณะ	ตัวอย่าง	
	ชนิดแท่ง	ชนิดเคลือบ
ความชอบรวม	-----	-----

ข้อเสนอแนะ :

6. ท่านต้องการให้ผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลตทั้ง 2 ชนิดบรรจุในปริมาณเท่าใดเพื่อวางจำหน่าย

ซ็อกโกแลตชนิดแท่ง	ซ็อกโกแลตชนิดเคลือบ
<input type="checkbox"/> 1. 2 ชิ้น/แพ็ค	<input type="checkbox"/> 1. 10 ชิ้น/แพ็ค
<input type="checkbox"/> 2. 3 ชิ้น/แพ็ค	<input type="checkbox"/> 2. 15 ชิ้น/แพ็ค
<input type="checkbox"/> 3. 4 ชิ้น/แพ็ค	<input type="checkbox"/> 3. 20 ชิ้น/แพ็ค
<input type="checkbox"/> 4. 5 ชิ้น/แพ็ค	<input type="checkbox"/> 4. 25 ชิ้น/แพ็ค
<input type="checkbox"/> 5. 6 ชิ้น/แพ็ค	<input type="checkbox"/> 5. 30 ชิ้น/แพ็ค

   
P6

7. ถ้าหากมีผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลตที่ผลิตจากไขมันปาล์มนี้ออกวางจำหน่าย  
ท่านจะซื้อหรือไม่

P7

7.1 ผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลตแท่งบรรจุ 6 ชัน/แพ็ค ราคา 10 บาท

1. ซื้อ เพราะ.....  2. ไม่ซื้อ เพราะ.....

7.2 ผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลตชนิดเคลือบบรรจุ 25 ชัน/แพ็ค ราคา 13 บาท

1. ซื้อ เพราะ.....  2. ไม่ซื้อ เพราะ.....

8. ส่วนใหญ่แล้วท่านจะได้รับข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์

อาหารจากสื่อชนิดใด โดยเรียงลำดับจาก 1 ถึง 3

P8

(1 = มากที่สุด , 2 = มากเป็นอันดับสอง , 3 = มากเป็นอันดับสาม )

( ) 1. โทรทัศน์

( ) 6. อินเทอร์เน็ต

( ) 2. วิทยุ

( ) 7. สัมมนาทางวิชาการ

( ) 3. หนังสือพิมพ์

( ) 8. บนฉลากผลิต

( ) 4. ไปปลิว

( ) 9. นิตยสาร

( ) 5. วารสาร

### ส่วนที่ 3 ข้อมูลผู้บริโภค

1. เพศ

1. ชาย  2. หญิง

G1

2. อายุ

1. 15-20 ปี  2. 21-30 ปี  3. 31-40 ปี  
 4. 41-50 ปี  5. มากกว่า 50 ปี

G2

3. การศึกษา

1. ระดับประถมศึกษา  4. ระดับอนุปริญญา หรือ ปวส.  
 2. ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น  5. ระดับปริญญาตรี  
 3. ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย  6. ระดับปริญญาโท หรือ เอก

G3

4. อาชีพ

1. นิสิต/นักศึกษา  5. รับจ้าง  
 2. ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ  6. ค้าขาย/ธุรกิจส่วนตัว  
 3. พนักงานบริษัทเอกชน  7. อื่นๆ โปรดระบุ.....  
 4. แม่บ้าน

G4

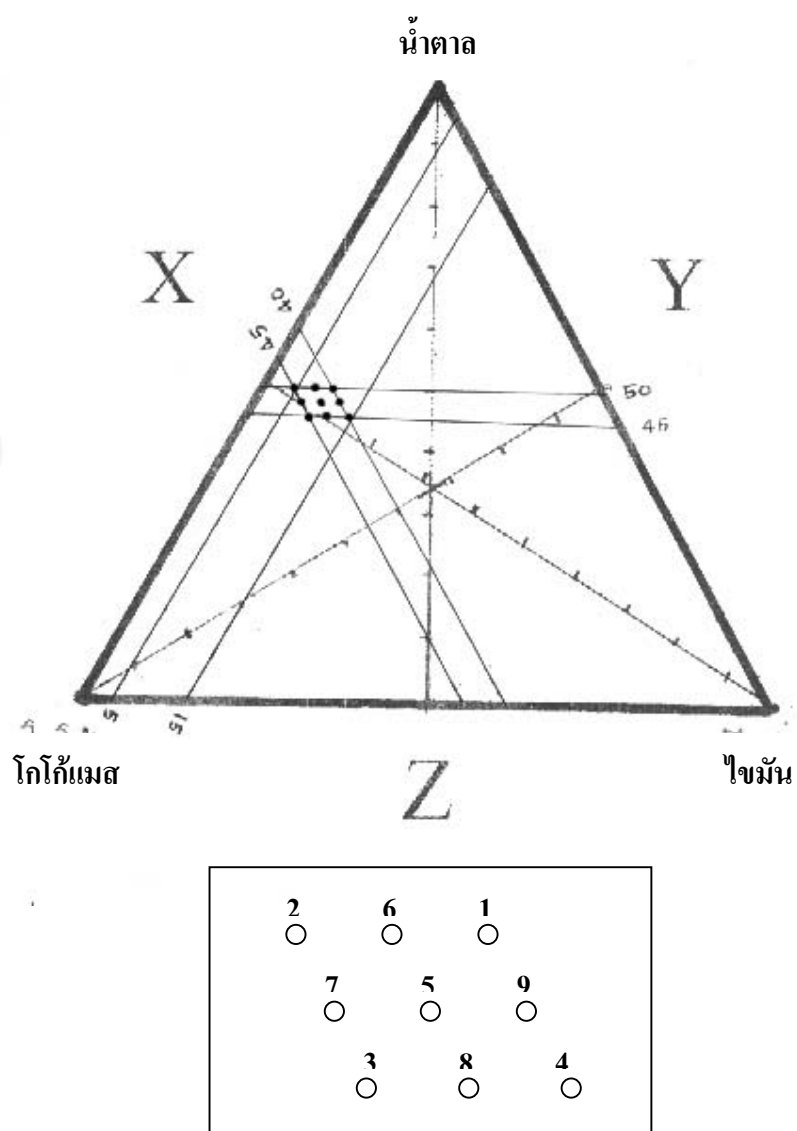
5. รายได้ต่อเดือน

1. <1,000 บาท  5. 6,001-7,000 บาท  
 2. 1,001-3,000 บาท  6. 7,001- 8,000 บาท  
 3. 3,001-5,000 บาท  7. 8,001-10,000 บาท  
 4. 5,001-6,000 บาท  9. >10,000 บาท

G5

ภาคผนวก ก. การพัฒนาสูตรโดยแผนการทดลองแบบ mixture design

ก1. แผนการทดลองแบบ mixture design ของช็อกโกแลตชนิดแท่ง



ภาพประกอบภาคผนวกที่ 2 แผนการทดลอง mixture design ของช็อกโกแลตชนิดแท่ง

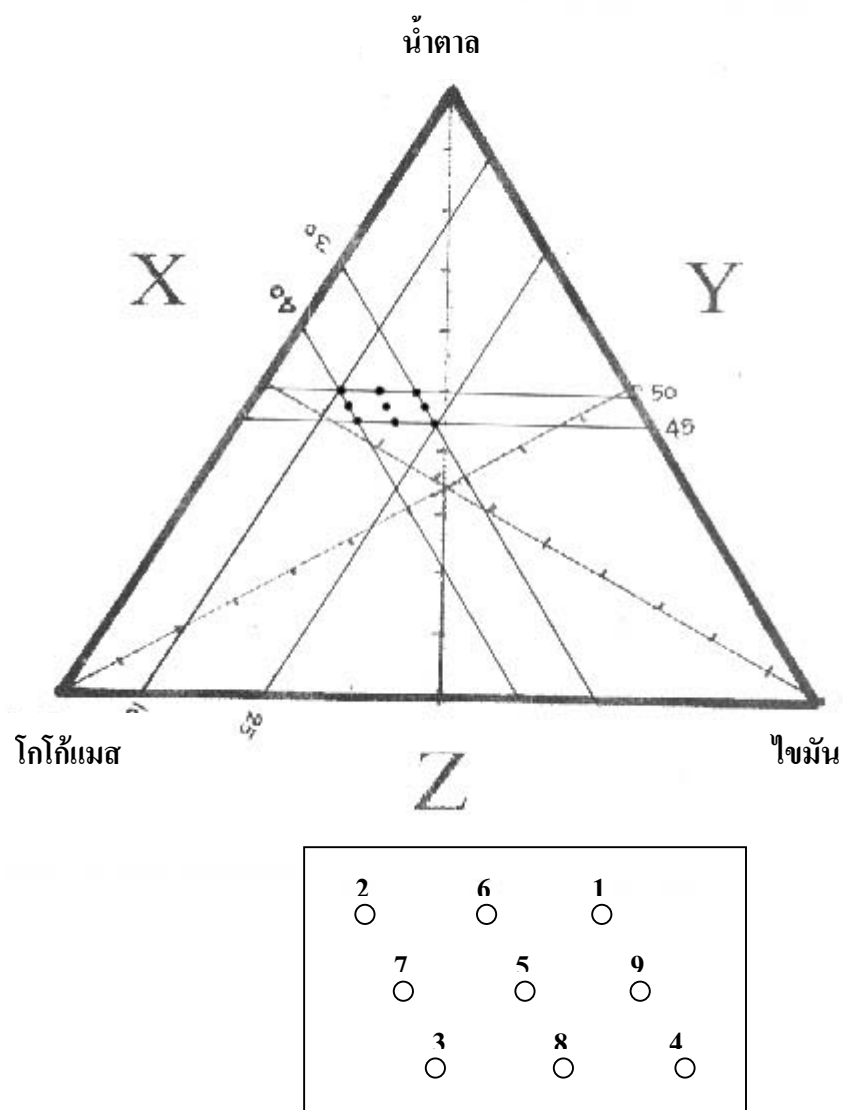
Mixture design of chocolate bar.

ตารางภาคผนวกที่ 3 สูตรช็อกโกแลตชนิดแท่งจากแผนการทดลอง mixture design.

Chocolate bar formulation from mixture design.

Formulation No.	Sugar (%)	Cocoa mass (%)	Fat (%)
1	50.0	40.0	10.0
2	50.0	45.0	5.0
3	45.0	45.0	10.0
4	45.0	40.0	15.0
5	47.5	42.5	10.0
6	50.0	42.5	7.5
7	47.5	45.0	7.5
8	45.5	42.5	12.5
9	47.5	40.0	12.5

ฉ 2. แผนการทดลองแบบ mixture design ของช็อกโกแลตชนิดเคลือบขนมปัง



ภาพประกอบภาคผนวกที่ 3 แผนการทดลอง mixture design ของช็อกโกแลตชนิดเคลือบขนมปัง

Mixture design of chocolate coating.

ตารางภาคผนวกที่ 4 สูตรช็อกโกแลตชนิดเคลือบขนมปังจากแผนการทดลอง  
mixture design.

Chocolate coating formulation from mixture design

Formulation No.	Sugar (%)	Cocoa mass (%)	Fat (%)
1	50.0	30.0	20.0
2	50.0	45.0	10.0
3	45.0	40.0	15.0
4	45.0	30.0	25.0
5	47.5	35.0	17.5
6	50.0	35.0	15.0
7	47.5	40.0	12.5
8	45.5	35.0	20.0
9	47.5	30.0	22.5