ภาคผนวก ก การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์

ก1 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยใช้วิธีอบในตู้อบไฟฟ้า (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์

1. ตู้อบอุณหภูมิปรับอุณหภูมิได้
2. ภาชนะหาความชื้น (ถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝา)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105°ซ นาน 2-3 ชม. นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้ จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิ ห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก

2. กระทำเช่นเดียวกับข้อ 1 ซ้ำ จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มก.

3. ชั่งตัวอย่างอาหารที่ต้องการหาความชื้นให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1-3 ก. ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักดีแล้ว นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105°ซ นาน 5-6 ชม. นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่างนั้น จากนั้นนำกลับไปเข้าตู้อบอีก และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักแห้งที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มก.

การคำนวณ

$$M = \frac{(W_1 - W_2)}{W_1} \times 100$$

โดยที่ M = ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)

W_1 = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ใช้วิธีเจลดาห์ล (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์

1. ขวดย่อยโปรตีน (kjeldahl flask) ขนาด 250-300 มล.
2. ชุดกลั่นโปรตีน (semi-microdistillation apparatus)
3. ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล. (volumetric flask)
4. ขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มล. (erlenmeyer flask)
5. ปิเปตขนาด 5 และ 10 มล. (volumetric pipette)
6. บิวเรตขนาด 25 และ 50 มล.
7. ลูกแก้ว

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารเร่งปฏิกิริยาใช้คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) 1 ส่วนต่อโปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 9 ส่วน
3. สารละลายของโซเดียมไฮดรอกไซด์และโซเดียมไธโอซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 60 โดยชั่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ 60 ก. และโซเดียมไธโอซัลเฟต 5 ก. ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มล.
4. สารละลายกรดบอร์ริกเข้มข้นร้อยละ 4 โดยละลายกรดบอร์ริก 40 ก. ด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล.
5. สารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.02 นอร์มอล
6. อินดิเคเตอร์ใช้ fashiro indicator เตรียมเป็น stock solution : ชั่งเมทิลลีนบลู (methylene blue) 0.2 ก. ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ 200 มล. และชั่งเมธิลเรด (methyl red) 0.05 ก. ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ 50 มล. เวลาใช้นำมาผสมในอัตราส่วน stock solution 1 ส่วนต่อเอทิลแอลกอฮอล์ 1 ส่วนต่อน้ำกลั่น 2 ส่วน

วิธีการ

1. ชั่งอาหารลง ให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 1-2 ก. ใส่ลงในขวดย่อยโปรตีน
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 5 ก. และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มล.
3. ใส่ลูกแก้ว 2 เม็ด นำไปย่อยในเตาไฟในตู้ควันจนกระทั่งได้สารละลายใส ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น
4. เติมน้ำกลั่นร้อนลงไปล้างคอขวดให้ทั่ว และให้ความร้อนต่อไปจนหมดควันของกรดซัลฟูริก ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น

5. นำมาถ่ายลงในขวดรับปริมาตรขนาด 100 มล. ใช้น้ำกลั่นล้างขวดย่อยโปรตีนให้หมดสารละลายตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล.

6. จัดอุปกรณ์กลั่น

7. นำขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มล. เติมกรดบอร์ริกเข้มข้นร้อยละ 4 ลงไป 5 มล. ผสมน้ำกลั่น 5 มล. และเติมอินดิเคเตอร์เรียบร้อยแล้วไปรองรับของเหลวที่จะกลั่น โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มในสารละลายกรดนี้

8. ดูดสารละลายตัวอย่างด้วยปิเปตขนาดความจุ 10 มล. ใส่ลงในช่องใส่ตัวอย่าง แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป 20 มล.

9. กลั่นประมาณ 10 นาที ล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ

10. ไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายเกลือที่มีความเข้มข้น 0.02 นอร์มอล จะได้จุดยุติเป็นสีม่วง

11. ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกันตั้งแต่ข้อ 2-10

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณโปรตีน(ร้อยละ)} = \frac{(a-b) \times N \times 14 \times \text{Factor}}{W}$$

a = ปริมาณสารละลายกรดเกลือที่ใช้กับตัวอย่างเป็น มล.

b = ปริมาณสารละลายกรดเกลือที่ใช้กับ blank เป็นมล.

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือเข้มข้นเป็นนอร์มอล

W = น้ำหนักตัวอย่างเป็นก.

Factor = 6.25 (น้ำหนักสมมูลย์ของไนโตรเจน = 14.007)

3. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Harbers, 2000)

อุปกรณ์

1. เตาเผา (muffle furnance)
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

วิธีการ

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550°ซ เป็นเวลาประมาณ 12-18 ชม. (ข้ามคืน) ปิดสวิทซ์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาลดลงเหลือประมาณ 250°ซ แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโดดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 ก. ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่รู้น้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 550°ซ และกระทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา-น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น x สัมประสิทธิ์น้ำหนักโดยแห้ง}}$$

สัมประสิทธิ์น้ำหนักโดยแห้ง (Dry matter coefficient) = ร้อยละของแข็ง/100

4. การวัดค่าพีเอช (Grigelmo-Miguel *et al.*, 1999)

อุปกรณ์

1. พีเอชมิเตอร์
2. บีกเกอร์ ขนาด 50 มล.

วิธีการ

1. ตัวอย่างที่เป็นของแข็ง (เพกติน) ชั่งตัวอย่าง 5 ก. ลงในบีกเกอร์แล้วเติมน้ำกลั่นปราศจากอิออน 50 มล. ส่วนตัวอย่างที่เป็นของเหลว นำน้ำฝรั่งตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนประมาณ 2-3 ชม. นำส่วนใสปริมาตร 50 มล.

2. วัดความเป็นกรดด่างโดยใช้พีเอชมิเตอร์ที่ผ่านการปรับด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน พีเอช 4.0 และ 7.0

5. การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

อุปกรณ์

1. Hand refractometer

วิธีการ

1. นำน้ำฝรั่งตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนประมาณ 2-3 ชม.

2. นำส่วนใสของน้ำฝรั่ง วัดด้วย hand refractometer อ่านปริมาณของของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในหน่วย °บริกซ์

6. การหาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์

1. บิวเรต
2. ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มล.

สารเคมี

1. ฟีนอล์ฟทาลีน
2. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล

การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล

1. นำโพแทสเซียมแอซิดพาทาเลท ($KHC_8H_4O_4$) ใส่กระจกนาฬิกาไปอบที่ 110 ° ซ นาน 1-2 ชม. ปล่อยให้เย็นใน desiccator
2. ชั่งน้ำหนักให้ได้แน่นอน 0.8 ก. ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล.
3. เติมน้ำกลั่นต้ม 25 มล. (ทำซ้ำ 3 ขวด)
4. ไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล โดยใช้ฟีนอล์ฟ-ทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

วิธีการ

1. นำน้ำฝรั่งที่ได้กรองผ่านสำลี
2. ปิเปตส่วนที่กรองได้ 5 มล. ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มล. เติมน้ำกลั่นลงไป 20 มล. และเติมฟีนอล์ฟทาลีน 1-2 หยด เขย่าให้เข้ากัน
3. นำไปไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล จนได้จุดยุติเป็นสีชมพู

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (ร้อยละ)} = \frac{\text{ไตเตอร์} \times N \times n \times 100}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

เมื่อ N = ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มอล)

n = มิลลิอิควิวาเลนท์ = 0.07 (กรดซิตริก)

7. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธี Lane and Eynon volumetric method (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์

1. บิวเรตขนาด 50 มล.
2. ขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 250 มล.
3. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 250 มล.
4. ปิเปต
5. กระดาษกรองเบอร์ 4

สารเคมี

1. สารละลายเฟห์ลิง A: ชั่งคอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) 69.28 ก. ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4

2. สารละลายเฟห์ลิง B: ชั่งโพแทสเซียมโซเดียมทาเทรตเตตราไฮเดรต ($KNaC_4H_4O_6 \cdot 5H_2O$) 346 ก. ละลายในน้ำกลั่น เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 100 ก. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

3. เมธิลีนบลูเข้มข้นร้อยละ 1: ละลายเมทิลีนบลู 1 ก. ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มล.

4. สารละลายนิวทรัลเลดอะซิเตท เข้มข้นร้อยละ 45: ละลายนิวทรัลเลดอะซิเตต 225 ก. ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 500 มล.

5. โปตัสเซียมออกซาเลท เข้มข้นร้อยละ 22: ละลายโปตัสเซียมออกซาเลท 110 ก. ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 500 มล.

6. สารละลายน้ำตาลอินเวอร์ท (กลูโคส) มาตรฐานเข้มข้น 2.5 มก./มล. : ชั่งกลูโคสให้ได้น้ำหนักแน่นอน 250 ก. ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มล.

วิธีการ

1. การหาค่ามาตรฐานสารละลายเฟ-ลิง

Preliminary method

- ปิเปตสารละลายเฟ-ลิง A และ B มาอย่างละ 5 มล. ใส่ขวดรูปชมพู่ 250 มล.
- ปล่อยสารละลายน้ำตาลมาตรฐานจากบิวเรต 15 มล. เขย่าให้เข้ากันและต้มให้เดือดโดยเร็วนาน 15 วินาที
- เติมเมธิลีนบลู 1-2 หยด (ถ้าไม่เกิดสีน้ำเงินแสดงว่าน้ำตาลมากเกินไป)

ไตเตรทจนสีน้ำเงินหายไป (ขณะที่ไตเตรทภายในขวดรูปชมพู่ต้องเดือดและเขย่าให้เข้ากันตลอดเวลา)

- อ่านปริมาตรของสารละลายน้ำตาลอินเวอทร์มาตรฐานที่ใช้

Accurate method

- ปิเปตสารละลายเฟ-ลิง A และ B มาอย่างละ 5 มล. ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล.
- ใส่สารละลายน้ำตาลจากบิวเรต ลงในขวดรูปชมพู่ให้ปริมาตรน้อยกว่าจุดยุติประมาณ 1 มล.
- เขย่าและต้มให้เดือดโดยเร็วและสม่ำเสมอ 2 นาที
- เติมเมธิลีนบลู 1-2 หยด
- ไตเตรทโดยปล่อยครั้งละ 1-2 หยด ให้ถึงจุดยุติภายในเวลา 1 นาที (ขณะไตเตรทสารละลายในขวดรูปชมพู่ต้องเดือดอยู่ตลอดเวลา และเขย่าให้เข้ากันเสมอ)
- อ่านปริมาตรของสารละลายน้ำตาลมาตรฐานที่ใช้
- คำนวณค่า factor ของสารละลายเฟห์ลิงจากสูตร

Factor = ไตเตอร์(มล.) x กลูโคส (ก./มล.)

2. การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

2.1 กรองน้ำผลไม้ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ปิเปตสารละลายที่ได้ 20 ก. ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มล. เติมน้ำกลั่น 100 มล. ทำให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 นอร์มอล

2.2 เติมสารละลายนิวทรัลเลดอะซีเตท 2 มล. เขย่าและตั้งทิ้งไว้นาน 10 วินาที

2.3 เติมโปตัสเซียมออกซาเลทลงไป 1.5 มล.

2.4 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 250 มล.

2.5 กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 (แบ่งตัวอย่างส่วนหนึ่งไว้สำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด)

2.6 นำไปไตเตรทตามวิธีในข้อ 1

2.7 อ่านปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้

3. การหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

3.1 ปิเปตตัวอย่างที่กรองได้จากข้อ 2 มา 50 มล. ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล.

3.2 เติมกรดไฮโดรคลอริกลงไป 5 มล.

3.3 เติมน้ำกลั่น 50 มล.

3.4 ต้มให้เดือดเบา ๆ เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำให้เย็น

3.5 ถ่ายสารละลายลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มล.

3.6 ปรับให้เป็นกลางด้วย NaOH 1 นอร์มอล โดยใช้ฟีนอล์ฟธาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

3.7 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 250 มล.

3.8 นำไปไตเตรทตามวิธีในข้อ 1

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ , น้ำตาลทั้งหมด (ร้อยละ)} = \frac{\text{factor x ปริมาณที่เจือจาง x 100}}{\text{ไตเตอร์ (มล.) x น้ำหนักตัวอย่าง (ก.)}}$$

8. การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีโดยวิธี Microfluorometric method (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์

1. Spectrofluorophotometer
2. Vortex mixer
3. ปิเปตขนาด 2, 5 และ 10 มล.
4. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
5. ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มล.
6. ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล.
7. กรวยแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15-20 ซม.
8. กระดาษกรองเบอร์ 42
9. หลอดทดลองกลางขนาด 10 มล.

สารเคมีและการเตรียม

1. สารละลาย A (metphosphoric acid 3 % w/v): เตรียมโดยชั่งกรดเมตาฟอสฟอริก 30 ก. เติมน้ำกลั่น 500 มล. จากนั้นเติมกรดอะซิติก 80 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร แล้วกรอง เก็บที่ 4°ซ นาน 10 วัน

2. สารละลาย B (sodium acetate solution): เตรียมโดยชั่งโซเดียมอะซิเตดไตร-ไฮเดรต 500 ก. ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เก็บที่ 4°ซ นาน 1 เดือน

3. สารละลาย C (boric acid-sodium acetate solution): เตรียมโดยชั่งกรดบอริก 3 ก. ละลายด้วย สารละลาย B ปรับปริมาตรเป็น 100 มล. โดยต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง

4. สารละลาย D (O-phenylenediamine solution): เตรียมโดยชั่งโอฟีนิลลีนไดเอ-มีน 40 มก. ละลายด้วยน้ำ DI 200 มล. ควรเตรียมก่อนใช้ทันที

5. สารละลาย E (ascorbic acid standard): เตรียมโดยชั่งกรดแอสคอร์บิกมาตร ฐาน 100 มก. ละลายด้วย สารละลาย A ปรับปริมาตรเป็น 100 มล.

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 ตัวอย่างที่เป็นของเหลวกรองผ่านสำลี ให้ได้ประมาณ 50 มล.

1.2 นำตัวอย่างที่กรองได้ 10 มล. ทำการสกัดด้วย สารละลาย A 30 มล. ต่อครั้ง จำนวน 2 ครั้ง

1.3 ปรับปริมาตรด้วย สารละลาย A จนครบ 100 มล. เขย่านาน 15 นาที

2. การวิเคราะห์

2.1 เจือจาง สารละลาย E: โดยนำสารละลาย E 1, 3, 5 และ 10 มล. ใส่ในขวดปรับปริมาตร 100 มล. ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย A จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐานเป็น 10, 30, 50 และ 100 ไมโครก./มล. ตามลำดับ

2.2 นำสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกในข้อ 3.1 และสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้จากข้อ 2.3 มา 100 มล. เติมลงในขวดรูปชมพู่ในข้อ 1.2 เขย่า 2 นาที กรองผ่านกระดาษกรองลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มล. จนได้สารละลายใส

2.3 การทำ blank ของตัวอย่างและสารละลายมาตรฐาน โดยนำสารละลายใสจากข้อ 3.2 ของสารละลายมาตรฐานและตัวอย่างมาอย่างละ 5 มล. ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล. เติมสารละลาย C ปริมาตร 5 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI เขย่าตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

2.4 นำสารละลายใสจากข้อ 3.2 ของสารละลายมาตรฐานและตัวอย่างมาอย่างละ 5 มล. ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล. เติม สารละลาย B จำนวน 5 มล. ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI เขย่าตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

2.5 นำสารละลายจากข้อ 3.3 และ 3.4 มา 2 มล. ใส่ในหลอดทดลองอย่างละ 2 หลอด

2.6 เติมสารละลาย D หลอดละ 5 มล. เขย่าด้วย vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ในห้องมืด 35 นาที เริ่มจับเวลาตั้งแต่เริ่มเขย่าหลอดทดลองครั้งแรก

2.7 เปิด spectrophotometer ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที เพื่อ warm up เครื่อง

2.8 ใช้ค่า Ex เป็น 350 นาโนเมตร และค่า Em เป็น 430 นาโนเมตร บันทึกค่าของ blank, sample และ standard

การคำนวณ

ทำกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแอสคอร์บิก

3.1 คำนวณปริมาณกรดแอสคอร์บิกในตัวอย่างหน่วยเป็น ไมโครกรัม/มล. จากกราฟมาตรฐาน

3.2 ปริมาณกรดแอสคอร์บิก คำนวณในตัวอย่าง 100 มล.

3.3 รายงานผลเป็น มก./100 มล.ตัวอย่าง

9. การวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหารละลายน้ำ (A.O.A.C.., 2000) (993.19)

อุปกรณ์

1. หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50 มล.
2. Filtering crucible ชนิดรูพรุนหยาบ (Por.1) ขนาด 40-90 ไมครอน ความจุ 30 มล. เตรียมโดยการเผาข้ามคืนที่อุณหภูมิ 525°ซ แล้วรอให้อุณหภูมิลดลงที่ 130°ซ จึงนำเอาครูซิเบิลออก จุ่มใน cleaning solution เข้มข้นร้อยละ 2 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชม. ชะครูซิเบิลด้วยน้ำกลั่นปราศจากอิออน แล้วตามด้วยอะซิโตน 15 มล. ปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง เติม celite ประมาณ 2 ก. ชะ celite ด้วยน้ำกลั่นปราศจากอิออน (อย่าให้มีฟองอากาศ) อบที่อุณหภูมิ 105°ซ เพื่อให้น้ำหนักคงที่ ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 1 ชม. บันทึกน้ำหนักครูซิเบิลบรรจุ celite (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
3. เครื่องดูดสุญญากาศ พร้อมขวดสำหรับกรอง ขนาด 1000 มล.
4. แผงแม่เหล็กให้ความร้อน
5. เครื่องชั่งอย่างละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)
6. เตาเผา (muffle furnace)
7. ตู้อบอุณหภูมิ 60 และ 105°ซ
8. โถดูดความชื้น
9. พีเอชมิเตอร์
10. ไมโครปิเปต ความจุ 20-100 ไมโครลิตร

11. บีกเกอร์ทรงสูงขนาด 600 มล.

12. แท่งแม่เหล็กขนาดเล็กสำหรับกวน

สารเคมี (เตรียมโดยใช้น้ำปราศจากอิออน)

1. สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์

- เข้มข้นร้อยละ 85: ตวงร้อยละ 95 เอทิลแอลกอฮอล์ 895 มล. แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

- เข้มข้นร้อยละ 78: ตวงร้อยละ 95 เอทิลแอลกอฮอล์ 821 มล. แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

2. อะซีโตน

3. Heat-stable α-amylase solution เก็บที่อุณหภูมิ 0-5°ซ

4. Protease: เตรียมสารละลายเอนไซม์ protease 50 มก./มล. ใน phosphate buffer เก็บที่ 0-5°ซ (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)

5. Amyloglucosidase solution เก็บที่ 0-5°ซ

6. Diatomaceous earth : Celite 545 a_w

7. Cleaning solution (liquid surfactant type) ความเข้มข้นร้อยละ 2

8. Phosphate buffer solution (0.08 โมลาร์ พีเอช 6.0): เตรียมโดยละลาย 1.4 ก. Na_2HPO_4 (หรือ 1.753 ก. dihydrate) และ 9.68 ก. NaH_2PO_4 (หรือ 10.94 ก. dihydrate) เติมน้ำ 700 มล. ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร ตรวจสอบพีเอช ด้วยพีเอชมิเตอร์

9. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.325 นอร์มอล : เตรียมโดยใช้ 325 มล. 1.0 นอร์มอล HCl ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

10. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.275 นอร์มอล : เตรียมโดยละลาย 11 ก. NaOH ในน้ำ 700 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

11. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

วิธีการ

1. การเตรียมสารละลาย

1.1 กรณีตัวอย่างเป็นของแข็ง บดตัวอย่างผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มล. ตัวอย่างที่มีไขมันมากกว่าร้อยละ 10 ต้องสกัดไขมันโดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ 3 ครั้ง ๆ ละ 25 มก./ก. ก่อนการบด ตัวอย่างที่มีปริมาณน้ำตาลสูงต้องกำจัดน้ำตาลโดยใช้เมทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 85 10 มล./ก. 2-3 ครั้ง อบข้ามคืนที่อุณหภูมิ 60°ซ (ต้องนำน้ำหนักของไขมัน น้ำตาลและความชื้นที่หายไปใช้ในการคำนวณด้วย)

1.2 ชั่งตัวอย่าง 0.500±0.001 ก. 2 ซ้ำ (M_1 และ M_2) ใส่ในหลอด centrifuge ขนาด 50 มล.

1.3 เติม phosphate buffer 25 มล. และตรวจพีเอชให้อยู่ในช่วง 5.5±0.1

1.4 เติมเอนไซม์ heat-stable α-amylase solution 50 ไมโครลิตร ใส่แท่งแม่เหล็กสำหรับกวน ปิดปากหลอดหมุนเหวี่ยงด้วยฝาเกลียว บ่มในบีกเกอร์ขนาด 1000 ลิตร ที่เติมน้ำ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95-100°ซ ด้วยแผงความร้อน โดยให้มีการกวนด้วยความเร็วต่ำเขย่าตลอดเวลาเป็นเวลานาน 15 นาที

1.5 เอาหลอดหมุนเหวี่ยงออกจากบีกเกอร์ เขี่ยตัวอย่างที่ติดข้างหลอดและกระจายตัวอย่างที่ส่วนก้นหลอดด้วย spatula ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

1.6 ปรับพีเอชเป็น 7.5±0.1 ด้วย 0.275 N NaOH ประมาณ 5 มล. ตรวจพีเอชด้วยพีเอชมิเตอร์

1.7 เติมเอนไซม์ protease 100 ไมโครลิตร ลงในหลอดหมุนเหวี่ยงปิดฝา บ่มที่อุณหภูมิ 60°ซ 30 นาที โดยมีการกวนตลอดเวลา

1.8 ทำให้เย็นและเติม 0.325 N HCl 5 มล.เพื่อปรับพีเอชเป็น 4.3±0.3 ตรวจพีเอชด้วยพีเอชมิเตอร์

1.9 เติมเอนไซม์ amyloglucosidase 100 ไมโครลิตร ลงในหลอดหมุนเหวี่ยงปิดฝา บ่มที่อุณหภูมิ 60°ซ 20 นาที โดยมีการกวนตลอดเวลา

1.10 ล้างตัวอย่างในหลอดหมุนเหวี่ยงด้วยสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95 ครั้งละ 35 มล. จำนวน 4 ครั้ง ถ่ายลงในบีกเกอร์ขนาด 600 มล. ทิ้งให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิห้องนาน 1 คืน

2. การวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหารที่ละลายน้ำ

2.1 ล้างและกระจาย celite ในครูซิเบิลที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้วด้วยน้ำ 3 มล. ใช้เครื่องดูดสุญญากาศช่วย

2.2 กรองตัวอย่างที่เตรียมด้วยวิธีการในข้อ 1 ผ่านครูซิเบิล โดยรองรับส่วนสารละลายด้วยขวดสำหรับกรองที่สะอาด

2.3 ชะบีกเกอร์และล้างตะกอนด้วยน้ำที่มีอุณหภูมิ 70°ซ 2 ครั้ง ครั้งละ 10 มล. รวบรวมสารละลายและน้ำที่ใช้ล้างตะกอนที่ทราบปริมาตรสารละลายตัวอย่างลงในบีกเกอร์ขนาด 600 มล.

2.4 เติมสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95 อุณหภูมิ 60°ซ ในปริมาณ 4 เท่าของปริมาตรสารละลายตัวอย่าง โดยใช้สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ส่วนหนึ่งชะบีกเกอร์และขวดสำหรับกรองที่ใช้รองรับตัวอย่าง

2.5 ทิ้งให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิห้องนาน 1 คืน

2.6 ล้างและกระจายผง celite ในครูซิเบิลที่ทราบน้ำหนักแน่นอนด้วยสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 78 ใช้เครื่องดูดสุญญากาศเพื่อให้ผง celite ติดกับแผ่นกรอง

2.7 กรองตัวอย่างผ่านครูซิเบิล ใช้ spatula และสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 78 ในปริมาณที่ช่วยถ่ายตะกอนจนหมด ใช้เครื่องดูดสุญญากาศช่วย

2.8 ล้างตะกอนในครูซิเบิลด้วย 20 มล.ของสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 78 3 ครั้ง ตามด้วย 10 มล.ของสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95 2 ครั้ง และ 10 มล.ของสารละลายอะซิโตน 2 ครั้ง

2.9 นำครูซิเบิลไปอบที่ตู้อบอุณหภูมิ 100-105°ซ ข้ามคืน ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 1 ชม.

2.10 ชั่งน้ำหนักครูซิเบิล (R_1 และ R_2)

2.11 นำตะกอนตัวอย่างในครูซิเบิล 1 ซ้ำ มาหาปริมาณโปรตีน (P) ใช้ 6.25 เป็น conversion factor และนำครูซิเบิลบรรจุตัวอย่างอีก 1 ซ้ำที่เหลือมาหาปริมาณเถ้า (A) โดยการเผาที่อุณหภูมิ 525°ซ นาน 5 ชม.

หมายเหตุ ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกันโดยไม่ใช้ตัวอย่าง

การคำนวณ

$$B = \left[(BR_1+BR_2)/2\right]-P_B-A_B$$

โดยที่ B = blank (มล.)

BR_1 และ BR_2 = น้ำหนักตะกอนที่เหลือของ blank ในครูซิเบิลหลังอบซ้ำที่ 1 และ 2 ตามลำดับ (มก.)

P_B = น้ำหนักโปรตีนของ blank (มก.)

A_B = น้ำหนักเถ้าของ blank (มก.)

$$DF = \frac{\left[(R_1+R_2)/2\right]-P-A-B}{(M_1+M_2)/2} \times 100$$

โดยที่ DF = ปริมาณใยอาหารทั้งหมด (ร้อยละ)

R_1 และ R_2 = น้ำหนักตะกอนที่เหลือหลังอบ ซ้ำที่ 1 และตามลำดับ (มก.)

P = น้ำหนักโปรตีนของตัวอย่าง (มก.)

A = น้ำหนักเถ้าของตัวอย่าง (มก.)

B = blank (มก.)

M_1 และ M_2 = น้ำหนักตัวอย่างซ้ำที่ 1 และ 2 ตามลำดับ (มล.)

10. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH° scavenging assay (Hatano, *et al*., 1989 และ Yamasaki, *et al*., 1994)

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 20-1000 ไมโครลิตร
2. Microplate ขนาด 96 หลุม
3. Microtiter plate reader
4. หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 15 มล. (สำหรับเจือจางตัวอย่าง)
5. หลอดเก็บตัวอย่างฝาเกลียวขนาด 15 มล.

สารเคมี

1. Absolute ethanol
2. BHT (Butylhydroxytoluene)
3. DPPH° (1,1-diphenyl-2-picryhydrazyl)

วิธีการ

1. การเตรียมสารละลายของ DPPH° ใน Ethanol

1.1 เตรียม DPPH° ให้มีความเข้มข้น $6x10^{-5}$ โมลาร์ จำนวน 100 มล. โดยชั่งน้ำหนัก DPPH 2.4 มก. ละลายและปรับปริมาตรให้ครบ 100 มล. ด้วย absolute ethanol แล้วเก็บไว้ในขวดสีชา <u>หมายเหตุ</u> ควรเตรียมทันทีก่อนใช้ เก็บที่ 4°ซ ใช้ได้ประมาณ 3 วัน

1.2 การคำนวณความเข้มข้นของ DPPH (น้ำหนักโมเลกุลของ DPPH = 394.32) น้ำหนักสาร (ก.) = $6x10^{-5}$ โมล/ล. x 394.32 กรัม/โมล = 0.024 ก./ล.

ถ้าต้องการเตรียม DPPH ให้มีความเข้มข้น $6x10^{-5}$ โมลาร์ จำนวน 100 มล. จะต้องชั่ง DPPH = (0.024 ก. x 100 มล.)/1000 มล.= 0.0024 ก. (2.4 มก.)

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

สารมาตรฐานที่ใช้คือ BHT เตรียมให้มีความเข้มข้น 100, 50, 25, 10 และ 5 ไมโครกรัม/มล. (ความเข้มข้นสุดท้ายคือ 200, 100, 50, 20 และ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ) ความเข้มข้นละ 2 มล. โดยใช้ absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย

3. การเตรียมสารตัวอย่าง

เตรียมสารละลายของสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 200, 100, 50, 20 และ 10 ไมโครกรัม/มล. ความเข้มข้นละ 2 มล. สำหรับสารสกัดที่เตรียมด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น acetone extract, chloroform extract และ alcohol extract จะใช้ absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย ส่วนสารตัวอย่างที่เป็น water extract จะใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

4. วิธีการทดสอบ

4.1 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลุม microtiter plate ในแต่ละความเข้มข้น

4.2 เติมสารละลายของ DPPH° ใน absolute ethanol 100 ไมโครลิตร (ความเข้มข้นสุดท้ายของตัวอย่างคือ 100, 50, 25, 10 และ 5 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ)

4.3 นำไปเขย่าให้สารผสมเข้ากันดี ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

4.4 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 100 ไมโครลิตร ผสมกับ absolute ethanol 100 ไมโครลิตร เป็น blank ของสารละลายตัวอย่าง

4.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน BHT และ control ที่ 520 นาโนเมตร โดยที่ control ประกอบด้วยน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร และ DPPH 100 ไมโครลิตร และใช้น้ำกลั่น 100 ไมโครลิตรผสมกับ absolute ethanol 100 ไมโครลิตร เป็น blank ของ control

<u>หมายเหตุ</u> ในแต่ละความเข้มข้นจะทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง (Triplicate)

5. การคำนวณหา % inhibition

$$\% \text{ inhibition} = \left[\frac{\text{OD.control} - \text{OD.sample}}{\text{OD.control}} \right] \times 100$$

คำนวณค่าเฉลี่ยของ % inhibition ในแต่ละความเข้มข้น แล้วนำไปทำ linear regression เพื่อหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งการเกิด oxidation ได้ 50 % (EC_{50})

11. การวิเคราะห์หาปริมาณ Total phenolic compound (ดัดแปลงจาก Miliauskas *et al*., 2004)

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 20-1000 ไมโครลิตร
2. Microplate ขนาด 96 หลุม
3. Microtiter plate reader
4. หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 15 มล. (สำหรับเจือจางตัวอย่าง)
5. หลอดเก็บตัวอย่างฝาเกลียวขนาด 15 มล.

สารเคมี

1. Folin-Ciocalteu phenol reagent: เตรียมโดยเจือจางสารละลาย 10 มล. ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น
2. Gallic acid
3. Sodium carbonate anhydrous (Na_2CO_3): เตรียมโดยละลาย Na_2CO_3 7.5 ก. ในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มล.
4. Absolute ethanol

วิธีการ

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมให้มีความเข้มข้น 80,40,20,10,5 และ 2.5 ไมโครกรัม/มล. ความเข้มข้นละ 2 มล. โดยใช้ absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย

2. การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

เตรียมให้มีความเข้มข้น 1000, 500, 250 และ 100 ไมโครกรัม/มล. ความเข้มข้นละ 2 มล. โดยใช้ absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย สำหรับสารสกัดที่เตรียมด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เช่น acetone extract, chloroform extract และ alcohol extract จะใช้ absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย ส่วนสารตัวอย่างที่เป็น water extract จะใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

3. วิธีการทดสอบ

3.1 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ใส่ในหลุม microtiter plate ในแต่ละความเข้มข้น

3.2 เติมสารละลายของ Folin-Ciocalteu phenol เจือจาง 10 เท่า 100 ไมโครลิตร ในแต่ละหลุม

3.3 เติมสารละลาย Sodium carbonate anhydrous 80 ไมโครลิตร นำไปเขย่าให้สารผสมเข้ากันดี ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

3.4 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

3.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน gallic acid ตามวิธีการทดสอบข้อ 3.1-3.4 โดยเปลี่ยนจากสารตัวอย่างเป็นสารละลายมาตรฐาน gallic acid

4. การคำนวณ

4.1 นำค่า OD.ที่วัดได้ทำกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน gallic acid และหาค่า linear regression

4.2 หาค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างจากกราฟมาตรฐาน gallic acid

ก2 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ

1. ค่า Bulk Density (Prakongpan *et al.,* 2002)

อุปกรณ์

กระบอกตวงขนาด 25 มล.

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักของกระบอกตวง บันทึกปริมาตร
2. ใส่ตัวอย่างลงในกระบอกตวง เขย่าเบา ๆ ชั่งน้ำหนักและบันทึกปริมาตร

การคำนวณ

คำนวณหาความหนาแน่นจากสูตร D = M/V

เมื่อ D = ความหนาแน่น (ก./มล.)

M = มวล (ก.)

V = ปริมาตร (มล.)

2. ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water Holding Capacity: WHC) (ดัดแปลงจาก Chen *et al*., 1988)

อุปกรณ์

1. หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50 มล.
2. เครื่องหมุนเหวี่ยงยี่ห้อ Sorvall รุ่น RC-5B Plus
3. ตู้อบอุณหภูมิปรับอุณหภูมิได้
4. โถดูดความชื้น
5. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. นำตัวอย่าง 0.25 ก. ผสมกับน้ำกลั่น 25 มล. ในหลอดหมุนเหวี่ยง
2. เขย่า ผสมให้เข้ากันที่อุณหภูมิห้องนาน 60 นาที
3. นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 10,000xg เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 20°ซ
4. นำสารละลายส่วนบนทิ้งไป นำหลอดมาคว่ำไว้ 10 นาที
5. ถ่ายลงภาชนะหาความชื้น (moisture can) หาความชื้นของตะกอนตามวิธีการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยใช้วิธีตู้อบไฟฟ้า

การคำนวณ

คำนวณจากสูตร $WHC = (W_1-W_2) / W_1$

เมื่อ WHC = ความสามารถในการอุ้มน้ำ (ก.น้ำ/ก.ของแข็ง)

W_1 = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

3. การวัดค่าสี

เครื่องมือ

เครื่องวัดค่าสี ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น Color Flex (สำหรับตัวอย่างผง) และรุ่น Color Quest XT (สำหรับตัวอย่างของเหลว)

วิธีการ

1. เลือกโปรแกรม Hunter Lab ($L^* a^* b^*$) illuminate=D65 และ observer=10^0
2. ทำการปรับมาตรฐานสีโดยใช้แผ่นเทียบสีดำมาตรฐาน แผ่นเทียบสีขาวมาตรฐานสำหรับตัวอย่างผงและน้ำกลั่นสำหรับตัวอย่างของเหลว
3. เทตัวอย่างผงหรือรินตัวอย่างของเหลวแล้วนำไปวางในตำแหน่งที่วัดค่าสี
4. ค่าที่วัดได้เป็น $L^* a^* b^*$

4. การวัดค่าความขุ่น (ดัดแปลงจาก Franworth *et al*., 2001)

เครื่องมือ

เครื่องวัดค่าสี ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น Color Quest XT

วิธีการ

1. เลือกโปรแกรมการทะลุผ่านของแสง (transmittance)
2. ทำการปรับมาตรฐานโดยใช้แผ่นเทียบสีดำมาตรฐานและน้ำกลั่น

3. เขย่าตัวอย่างแล้วตั้งทิ้งไว้ 3 ชม. นำส่วนใสที่ได้รินใส่ในคิวเวตแล้วนำไปวางในตำแหน่งที่วัดค่าการทะลุผ่านของแสง

4. อ่านค่าการทะลุผ่านของแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร

5. การวัดค่าความหนืด (ดัดแปลงจาก Chopda and Barrett, 2001)

เครื่องมือ

เครื่องวัดความหนืด ยี่ห้อ Brookfield รุ่น DV-II+

วิธีการ

1. เลือกรหัสของหัวเข็มเป็นเบอร์1 และความเร็วรอบเป็น 100 rpm
2. เขย่าตัวอย่างให้ผสมกันแล้วรินตัวอย่างลงในบีกเกอร์ให้ท่วมรอยที่หัวเข็ม
3. วัดค่าความหนืดของตัวอย่างที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส โดยจับเวลา 10 วินาที
4. อ่านค่าความหนืดในหน่วย cps

ก3 การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

1. การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total viable count) โดยวิธี pour plate (Speak, 1976)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Plate count agar (PCA)
2. สารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1 (0.1% peptone solution)

วิธีการ

1. เขย่าตัวอย่างน้ำฝรั่ง แล้วเปิดฝาด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ
2. ทำการเจือจางตัวอย่างให้เป็น 1:10, 1:100 และ 1:1000 ตามลำดับ โดยใช้สารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1
3. ดูดตัวอย่างจากข้อ 2 อย่างละ 1 มล. (ทำ 2 ซ้ำ) ลงในจานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว
4. เททับด้วยอาหาร PCA ประมาณ 15 มล.
5. หมุนจานเพาะเชื้อเบา ๆ เป็นวงกลม แล้วตั้งไว้ให้วุ้นแข็งตัวประมาณ 15 นาที
6. อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35°ซ ในลักษณะจานคว่ำเป็นเวลา 24 ชม.
7. ตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนประมาณ 30-300 โคโลนี รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อมล. ตัวอย่าง (CFU/มล.)

2. การวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และรา โดยวิธี spread plate (Speak, 1976)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Potato dextrose agar (PDA) ที่ผ่านการปรับพีเอช (3.5) ด้วยกรดทาร์ทาริก ร้อยละ 10
2. สารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1 (0.1% peptone solution)

วิธีการ

1. เขย่าตัวอย่างน้ำฝรั่ง แล้วเปิดฝาด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ
2. ทำการเจือจางตัวอย่างให้เป็น 1: 10, 1:100 และ 1:1000 ตามลำดับ โดยใช้สารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1
3. ดูดตัวอย่างจากข้อ 2 อย่างละ 0.1 มล. (ทำ 2 ซ้ำ) ลงในจานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว
4. ใช้แท่งแก้วปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วผิวหน้าอาหาร
5. อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 25°ซ ในลักษณะจานคว่ำเป็นเวลา 3-5 วัน
6. ตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนประมาณ 30-300 โคโลนี รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อมล.ตัวอย่าง (CFU/มล.)

3. การวิเคราะห์ coliform bacteria (USFDA, 2001)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Brillient-green lactose bile broth (BGLB)
2. Lauryl sulphate tryptose broth (LST) 2X และ 1X
3. EC broth
4. Eosin methylene blue agar (EMB)
5. Nutrient agar (NA)

วิธีการ

การตรวจนับจำนวนขั้นแรก (Presumptive test)

1. เขย่าตัวอย่างอาหารให้เข้ากัน ดูดตัวอย่างใส่หลอดอาหาร LST (2X) หลอดละ 10 มล. จำนวน 5 หลอด ส่วนหลอดอาหาร LST (1X) ดูดตัวอย่างหลอดละ 1 มล. จำนวน 5 หลอด และ 0.1 มล. จำนวน 5 หลอด
2. บ่มหลอดอาหารทั้งหมดที่อุณหภูมิ 37±1°ซ 24 และ 48 ชม.

3. สังเกตการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซในหลอดอาหารแต่ละหลอดหลังจากบ่มเชื้อไว้ 24 ชม. หากหลอดใดไม่เกิดก๊าซให้บ่มเชื้อต่ออีก 24 ชม. ตรวจผลเช่นเดียวกัน

4. บันทึกจำนวนหลอดที่เกิดก๊าซในแต่ละหลอด นำไปเปิดตาราง MPN รายงานผลเป็น MPN ของแบคทีเรียโคลิฟอร์มขั้นแรก/มล.

การตรวจนับจำนวนขั้นยืนยัน (Confirm test)

1. ถ่ายเชื้อจากหลอดที่เกิดก๊าซในขั้นแรกแต่ละหลอดลงในอาหารเหลว BGLB หลอดต่อหลอด

2. บ่มหลอดอาหารไว้ที่อุณหภูมิ 37±1°ซ เป็นเวลา 48 ชม.

3. บันทึกผลหลอดที่เกิดก๊าซ นำไปเปิดตาราง MPN รายงานผลเป็น MPN ของแบคทีเรียขั้นยืนยัน/มล.

การตรวจนับจำนวนขั้นสมบูรณ์ (Complete test)

1. นำหลอดที่เกิดก๊าซในขั้นที่สองมาเขย่าเบา ๆ ใช้ลูปที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ถ่ายเชื้อจากหลอดดังกล่าวไปลากแนวบนอาหารแข็ง EMB ในลักษณะโคโลนีเดี่ยวหลังจากบ่มเชื้อ

2. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ 24 ชม. ตรวจดูโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะของโคลิฟอร์ม โดยโคโลนีมีสีเข้ม อาจเป็นแดงหรือม่วงเข้ม

3. ถ่ายเชื้อจากโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะดังกล่าว ลงในอาหารเหลว BGLB หรือ LST และบนอาหาร NA

4. บ่มเชื้อที่ 35-37°ซ 24 ชม. ดูการเกิดก๊าซในอาหารเหลว ถ้ามีก๊าซเกิดขึ้นให้นำเชื้อจากอาหาร NA ไปย้อมสีแกรม ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถ้าติดสีแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น ไม่สร้างสปอร์ แสดงว่าเป็นโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

4. การวิเคราะห์ flat sour bacteria (USFDA, 2001)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Acid broth
2. Malt extract broth
3. Nutrient agar
4. Potato dextrose agar ที่ผ่านการปรับพีเอช (3.5) ด้วยกรดทาร์ทาริกร้อยละ 10

วิธีการ

กรณีตัวอย่างมีพีเอชต่ำกว่า 4.6

1. ใส่ตัวอย่างอาหารลงในอาหารเหลว acid broth จำนวน 4 หลอด และ malted extract broth 2 หลอด ใช้ตัวอย่างอาหาร 2 มล./หลอด
2. บ่มอาหารเลี้ยงเชื้อตามตารางที่ ก3-1
3. ถ้ามีแบคทีเรียพวก flat sour อาหารเลี้ยงเชื้อจะขุ่น
4. ตรวจสอบโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ loop จุ่มตัวอย่างอาหารมาเกลี่ยบนสไลด์ รอให้แห้งแล้วตรึงเซลล์ ทำการย้อมแกรม ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ บันทึกลักษณะรูปร่างและการติดสีของจุลินทรีย์

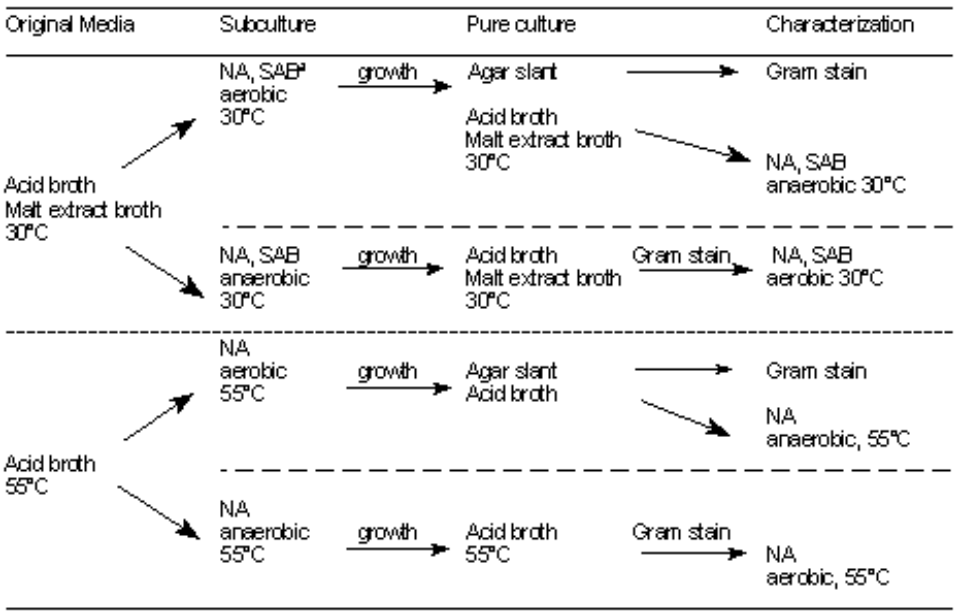
ตารางภาคผนวกที่ ก3-1 การบ่มเชื้อเมื่อใช้ acid broth และ malt extract broth สำหรับอาหารประเภทกรด (พีเอช 4.6)

Incubation of acid broth and malt extract broth used for acid food (pH 4.6)

Medium	No. of tubes	Temperature (°C)	Time of incubation (hr.)
Acid broth	2	55	48
Acid broth	2	30	96
Malt extract broth	2	30	96

ตารางภาคผนวกที่ ก3-2 แผนผังการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์สำหรับอาหารประเภทกรด (พีเอช 4.6)

Pure culture scheme for acid foods (pH 4.6)



ภาคผนวก ข การศึกษาหาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการผลิตน้ำฝรั่งพร้อมดื่มเติมใยอาหารบรรจุขวดแก้วพาสเจอร์ไรซ์

ตารางภาคผนวกที่ ข-1 สภาวะการศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในกระบวนการผลิต

เวลา (นาทีที่)	อุณหภูมิภายในน้ำฝรั่งบรรจุขวดแก้ว (°ซ)	อุณหภูมิภายในเครื่องฆ่าเชื้อ (°ซ)
0	36.6	36.8
1	37.7	47.8
2	39.6	58.0
3	42.6	68.4
4	48.2	78.4
5	54.8	85.6
6	62.9	92.9
7	70.7	97.5
8	77.7	99.0
9	83.5	100.2
10	88.0	101.1
11	91.3	101.2
12	93.7	101.2
13	95.4	101.3
14	96.7	101.3
15	97.6	101.4
16	98.3	101.5
17	98.8	101.5
18	99.1	95.2
19	97.7	89.8
20	94.4	84.2
21	90.3	79.5
22	86.1	72.9

23	80.5	64.5
24	74.1	58.1
เวลา (นาทีที่)	อุณหภูมิภายในน้ำฝรั่งบรรจุขวดแก้ว (°ซ)	อุณหภูมิภายในเครื่องฆ่าเชื้อ (°ซ)
25	68.4	53.8
26	63.7	50.5
27	59.8	48.0
28	56.6	45.8
29	53.9	44.4
30	51.5	43.1
31	49.6	42.1
32	47.7	41.3
33	46.2	40.6
34	44.8	40.1
35	43.4	39.6
36	42.4	39.1
37	41.6	38.7
38	40.9	38.4
39	40.4	38.3
40	39.9	38.0
41	39.5	37.8
42	39.1	37.6
43	38.9	37.4
44	38.6	37.2
45	38.3	37.0
46	38.0	36.9
47	37.8	36.8
48	37.6	36.7
49	37.4	36.6
50	37.2	36.5

51	37.1	36.4
52	36.9	36.3

การทดสอบ Sterility test (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2523)

วิธีวิเคราะห์อาหารกระป๋องทางจุลชีววิทยา

1. ใช้จำนวนตัวอย่างตามที่ระบุไว้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมอาหารกระป๋อง

2. ตรวจลักษณะภายนอกของกระป๋อง ก่อนจะลอกฉลากให้บันทึกรายละเอียดบนฉลากไว้ก่อน พร้อมทั้งทำเครื่องหมายไว้บนกระป๋อง

3. ตรวจสอบความผิดปกติภายนอกของกระป๋องเช่น บวม ยุบ เป็นสนิม เป็นต้น (ถ้ากระป๋องบวมไม่ต้องบ่มและไม่ต้องวิเคราะห์ ถือว่าไม่เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้)

4. เก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 กระป๋อง

5. นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่เหลือ ซึ่งผ่านการตรวจข้อ 3 เข้าบ่มเชื้อดังนี้

5.1 อาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ (อาหารที่มีพีเอชสูงกว่า 4.5) ให้นำตัวอย่างส่วนหนึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 4-30 วัน ส่วนที่เหลือบ่มที่อุณหภูมิ 55°ซ เป็นเวลา 7-10 วัน

5.2 อาหารที่มีความเป็นกรด (อาหารที่มีพีเอชระหว่าง 3.7-4.5) ให้นำตัวอย่างบ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 14 วัน

5.3 อาหารที่มีความเป็นกรดสูง (อาหารที่มีพีเอชต่ำกว่า 3.7) ให้นำตัวอย่างบ่มที่อุณหภูมิ 35-37°ซ เป็นเวลา 14 วัน

หมายเหตุ ตัวอย่างที่บ่มแต่ละอุณหภูมิต้องไม่น้อยกว่า 3 กระป๋อง

6. ในกรณีที่กระป๋องบวมหรือมีลักษณะผิดปกติเกิดขึ้นระหว่างการบ่มเชื้อ ไม่ต้องวิเคราะห์ ถือว่าไม่เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้

7. หลังจากบ่มครบตามกำหนดแล้ว ให้ตรวจสอบดังนี้

7.1 ล้างตัวอย่างกระป๋องให้สะอาดด้วยสบู่และน้ำ เช็ดให้แห้งด้วยผ้าสะอาด เช็ดฝากระป๋องด้านที่ไม่มีรหัสให้ทั่วด้วยเอทานอล แล้วลนด้วยเปลวไฟจากตะเกียง ใช้เครื่องเปิดกระป๋องที่ลนไฟร้อนจัดเพื่อฆ่าเชื้อ เปิดกระป๋องออกให้กว้างพอที่จะนำอาหารออกมาวิเคราะห์ได้ ถ้าเป็นของเหลว ให้เจาะรูมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 ถึง 2 ซม.

7.2 ดูลักษณะอาหารทั่วไปภายหลังการบ่ม คือ สี กลิ่น ลักษณะอาหาร ความเป็นกรดด่าง ถ้าอาหารมีลักษณะดังกล่าวข้างต้นเปลี่ยนไปจากเดิมจนผิดปกติอย่างเห็นได้ชัด ให้ถือว่าไม่เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้

8. ถ้าอาหารผ่านการตรวจสอบตามข้อ 7 แล้ว ไม่ผิดปกติ ให้นำไปวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ต่อไป วิธีวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์สำหรับอาหารที่มีความเป็นกรดให้วิเคราะห์ดังนี้

1. Flat sour spoilage bacteria ทั้ง mesophiles และ thermophiles (USFDA, 2002)
2. Coliform bacteria (USFDA, 2001)
3. ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count)
4. ปริมาณยีสต์และรา

ภาคผนวก ค การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบชิมทางประสาทสัมผัสแบบ 9 - point hedonic scale

ผลิตภัณฑ์ น้ำฝรั่งชนิด 100%

ชื่อ-สกุล ผู้ทดสอบ .....**วันที่** .....**เวลา**.....

<u>คำอธิบาย</u> กรุณาทดสอบชิมตัวอย่างที่เสนอให้จากซ้ายไปขวา แล้วให้คะแนนความชอบของตัวอย่างในแต่ละคุณลักษณะที่ใกล้เคียงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยกำหนดให้

9 = ชอบมากที่สุด	4 = ไม่ชอบเล็กน้อย
8 = ชอบมาก	3 = ไม่ชอบปานกลาง
7 = ชอบปานกลาง	2 = ไม่ชอบมาก
6 = ชอบน้อยที่สุด	1 = ไม่ชอบมากที่สุด
5 = เฉย ๆ	

คะแนนความชอบรวมของตัวอย่าง

คุณลักษณะ/รหัสตัวอย่าง	……	……	……	……
สี	.....	.....	……	……
ความข่น	.....	.....	……	……
กลิ่น	……...	……	……	……รส
ชาติ	.....	.....	.....	.....
คุณลักษณะโดยรวม	.....	.....	.....	……

ข้อเสนอแนะ ……

.....

ขอบคุณค่ะ

แบบทดสอบชิมทางประสาทสัมผัสแบบ 9 - point hedonic scale

ผลิตภัณฑ์ น้ำฝรั่งชนิด 100% พร้อมดื่มเติมใยอาหาร

ชื่อ-สกุล ผู้ทดสอบ .....**วันที่** .....**เวลา**.....

<u>คำอธิบาย</u> กรุณาทดสอบชิมตัวอย่างที่เสนอให้จากซ้ายไปขวา แล้วให้คะแนนความชอบของตัวอย่างในแต่ละคุณลักษณะที่ใกล้เคียงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยกำหนดให้

9 = ชอบมากที่สุด	4 = ไม่ชอบเล็กน้อย
8 = ชอบมาก	3 = ไม่ชอบปานกลาง
7 = ชอบปานกลาง	2 = ไม่ชอบมาก
6 = ชอบน้อยที่สุด	1 = ไม่ชอบมากที่สุด
5 = เฉย ๆ	

คะแนนความชอบรวมของตัวอย่าง

คุณลักษณะ/รหัสตัวอย่าง	……	……	……	……
สี	.....	.....	……	……
ความข้น	.....	.....	……	……
กลิ่น	……	……..	……	……รส
ชาติ	.....	.....	.....	.....
Mouthfeel	.....	.....	.....	.....
คุณลักษณะโดยรวม	.....	.....	.....	……

ข้อเสนอแนะ …….....

.....

ขอบคุณค่ะ

ภาคผนวก ง ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ ง-1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนร้อยละของผลผลิตน้ำฝรั่งที่สกัดได้ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการบ่มต่าง ๆ

Analysis of variance in yield of extracted guava juice at various enzyme concentration and time for incubation

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2259.760	15	150.651	1625.168	.000
Intercept	504334.685	1	504334.685	5440589.203	.000
Concentration	969.718	3	323.239	3486.994	.000
Time	919.763	3	306.588	3307.363	.000
Concentration * Time	370.279	9	41.142	443.827	.000
Error	7.416	80	9.270E-02		
Total	506601.861	96			
Corrected Total	2267.176	95			

R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .996)

ตารางภาคผนวกที่ ง-2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าพีเอชของน้ำฝรั่งที่สกัดได้ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการบ่มต่าง ๆ

Analysis of variance in pH of extracted guava juice at various enzyme concentration and time for incubation

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.499	15	.167	196.411	.000
Intercept	1460.316	1	1460.316	1721394.111	.000
Concentration	1.054	3	.351	414.334	.000
Time	1.075	3	.358	422.493	.000
Concentration * Time	.370	9	4.107E-02	48.409	.000
Error	6.787E-02	80	8.483E-04		
Total	1462.883	96			

a R Squared = .974 (Adjusted R Squared = .969)

ตารางภาคผนวกที่ ง-3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (° บริกซ์) ของน้ำฝรั่งที่สกัดได้ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการบ่มต่าง ๆ

Analysis of variance in total soluble solid (°Brix) of extracted guava juice at various enzyme concentration and time for incubation

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	56.026	15	3.735	100.159	.000
Intercept	9813.170	1	9813.170	263146.469	.000
Concentration	23.557	3	7.852	210.566	.000
Time	24.111	3	8.037	215.520	.000
Concentration * Time	8.358	9	.929	24.903	.000
Error	2.983	80	3.729E-02		
Total	9872.180	96			
Corrected Total	59.010	95			

a R Squared = .949 (Adjusted R Squared = .940)

ตารางภาคผนวกที่ ง-4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า L^* ของน้ำฝรั่งที่สกัดได้ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการบ่มต่าง ๆ

Analysis of variance in L^* value of extracted guava juice at various enzyme concentration and time for incubation

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	22371.619	15	1491.441	3247.955	.000
Intercept	212554.023	1	212554.023	462885.060	.000
Concentration	9585.049	3	3195.016	6957.879	.000
Time	9584.029	3	3194.676	6957.139	.000
Concentration * Time	3202.541	9	355.838	774.919	.000
Error	36.736	80	.459		
Total	234962.377	96			
Corrected Total	22408.354	95			

a R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .998)

ตารางภาคผนวกที่ ง-5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า a^* ของน้ำฝรั่งที่สกัดได้ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการบ่มต่าง ๆ

Analysis of variance in a^* value of extracted guava juice at various enzyme concentration and time for incubation

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.839	15	.323	2.900	.001
Intercept	498.910	1	498.910	4484.992	.000
Concentration	1.448	3	.483	4.338	.007
Time	1.418	3	.473	4.249	.008
Concentration * Time	1.974	9	.219	1.971	.054
Error	8.899	80	.111		
Total	512.648	96			
Corrected Total	13.738	95			

a R Squared = .352 (Adjusted R Squared = .231)

ตารางภาคผนวกที่ ง-6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า b^* ของน้ำฝรั่งที่สกัดได้ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการบ่มต่าง ๆ

Analysis of variance in b^* value of extracted guava juice at various enzyme concentration and time for incubation

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	282.301	15	18.820	69.002	.000
Intercept	69994.260	1	69994.260	256625.608	.000
Concentration	130.034	3	43.345	158.918	.000
Time	101.195	3	33.732	123.673	.000
Concentration * Time	51.072	9	5.675	20.806	.000
Error	21.820	80	.273		
Total	70298.381	96			
Corrected Total	304.121	95			

a R Squared = .928 (Adjusted R Squared = .915)

ตารางภาคผนวกที่ ง-7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้านสีของน้ำฝรั่งสูตรต่าง ๆ

Analysis of variance in color attribute of guava juice at various °Brix-acid ratio formulas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	96.447	33	2.923	30.746	.000
Intercept	7675.527	1	7675.527	80746.169	.000
Treat	1.773	4	.443	4.664	.002
Rep	94.673	29	3.265	34.343	.000
Error	11.027	116	9.506E-02		
Total	7783.000	150			
Corrected Total	107.473	149			

a R Squared = .897 (Adjusted R Squared = .868)

ตารางภาคผนวกที่ ง-8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้านความขุ่นของน้ำฝรั่งสูตรต่าง ๆ

Analysis of variance in turbidity attribute of guava juice at various °Brix-acid ratio formulas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	129.113	33	3.913	40.668	.000
Intercept	6626.727	1	6626.727	68879.955	.000
Treat	2.040	4	.510	5.301	.001
Rep	127.073	29	4.382	45.546	.000
Error	11.160	116	9.621E-02		
Total	6767.000	150			
Corrected Total	140.273	149			

a R Squared = .920 (Adjusted R Squared = .898)

ตารางภาคผนวกที่ ง-9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้านกลิ่นของน้ำฝรั่งสูตรต่าง ๆ

Analysis of variance in odor attribute of guava juice at various °Brix-acid ratio formulas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	91.780	33	2.781	19.249	.000
Intercept	6494.460	1	6494.460	44949.723	.000
Treat	3.240	4	.810	5.606	.000
Rep	88.540	29	3.053	21.131	.000
Error	16.760	116	.144		
Total	6603.000	150			
Corrected Total	108.540	149			

a R Squared = .846 (Adjusted R Squared = .802)

ตารางภาคผนวกที่ ง-10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้านรสชาติของน้ำฝรั่งสูตรต่าง ๆ

Analysis of variance in flavor attribute of guava juice at various °Brix-acid ratio formulas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	162.653	33	4.929	31.006	.000
Intercept	6746.907	1	6746.907	42442.580	.000
Treat	31.960	4	7.990	50.262	.000
Rep	130.693	29	4.507	28.350	.000
Error	18.440	116	.159		
Total	6928.000	150			
Corrected Total	181.093	149			

a R Squared = .898 (Adjusted R Squared = .869)

ตารางภาคผนวกที่ ง-11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้านการยอมรับโดยรวมของน้ำฝรั่งสูตรต่าง ๆ

Analysis of variance in overall acceptability attribute of guava juice at various °Brix-acid ratio formulas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	121.933	33	3.695	31.986	.000
Intercept	6800.667	1	6800.667	58871.443	.000
Treat	21.000	4	5.250	45.448	.000
Rep	100.933	29	3.480	30.129	.000
Error	13.400	116	.116		
Total	6936.000	150			
Corrected Total	135.333	149			

a R Squared = .901 (Adjusted R Squared = .873)

ตารางภาคผนวกที่ ง-12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนคุณลักษณะทางเคมีและกายภาพของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณต่าง ๆ

Analysis of variance in chemical and physical characteristics of fortified guava juice with various pectin concentration

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
pH	Between Groups	.075	3	.025	12.010	.000
	Within Groups	.042	20	.002		
	Total	.117	23			
TSS	Between Groups	1.152	3	.384	3.113	.049
	Within Groups	2.467	20	.123		
	Total	3.618	23			
Total acidity	Between Groups	.176	3	.059	330.227	.000
	Within Groups	.004	20	.000		
	Total	.179	23			
*L**	Between Groups	15.781	3	5.260	6.920	.002
	Within Groups	15.203	20	.760		
	Total	30.985	23			
*a**	Between Groups	1.378	3	.459	15.935	.000
	Within Groups	.577	20	.029		
	Total	1.955	23			
*b**	Between Groups	9.661	3	3.220	13.631	.000
	Within Groups	4.725	20	.236		
	Total	14.386	23			
Transmittance (%)	Between Groups	.030	3	.010	58.245	.000
	Within Groups	.003	20	.000		
	Total	.034	23			
Turbidity	Between Groups	76.178	3	25.393	49.400	.000
	Within Groups	10.280	20	.514		
	Total	86.459	23			
Viscosity	Between Groups	398.295	3	132.765	195.171	.000
	Within Groups	13.605	20	.680		
	Total	411.900	23			

ตารางภาคผนวกที่ ง-13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้านสีของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณต่าง ๆ

Analysis of variance in color attribute of fortified guava juice with various pectin concentration

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	49.467	32	1.546	15.776	.000
Intercept	6293.008	1	6293.008	64221.903	.000
Treat	8.225	3	2.742	27.979	.000
Rep	41.242	29	1.422	14.513	.000
Error	8.525	87	9.799E-02		
Total	6351.000	120			
Corrected Total	57.992	119			

a R Squared = .853 (Adjusted R Squared = .799)

ตารางภาคผนวกที่ ง-14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้านความขุ่นของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณต่าง ๆ

Analysis of variance in turbidity attribute of fortified guava juice with various pectin concentration

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	45.267	32	1.415	19.850	.000
Intercept	5768.533	1	5768.533	80945.548	.000
Treat	1.800	3	.600	8.419	.000
Rep	43.467	29	1.499	21.032	.000
Error	6.200	87	7.126E-02		
Total	5820.000	120			
Corrected Total	51.467	119			

a R Squared = .880 (Adjusted R Squared = .835)

ตารางภาคผนวกที่ ง-15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้านกลิ่นของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณต่าง ๆ

Analysis of variance in odor attribute of fortified guava juice with various pectin concentration

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	108.867	32	3.402	29.233	.000
Intercept	4700.008	1	4700.008	40385.257	.000
Treat	31.625	3	10.542	90.580	.000
Rep	77.242	29	2.664	22.886	.000
Error	10.125	87	.116		
Total	4819.000	120			
Corrected Total	118.992	119			

a R Squared = .915 (Adjusted R Squared = .884)

ตารางภาคผนวกที่ ง-16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้านรสชาติของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณต่าง ๆ

Analysis of variance in flavor attribute of fortified guava juice with various pectin concentration

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	62.133	32	1.942	17.121	.000
Intercept	5880.000	1	5880.000	51847.297	.000
Treat	11.133	3	3.711	32.723	.000
Rep	51.000	29	1.759	15.507	.000
Error	9.867	87	.113		
Total	5952.000	120			
Corrected Total	72.000	119			

a R Squared = .863 (Adjusted R Squared = .813)

ตารางภาคผนวกที่ ง-17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้าน mouthfeel ของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณต่าง ๆ

Analysis of variance in mouthfeel attribute of fortified guava juice with various pectin concentration

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	41.367	32	1.293	13.027	.000
Intercept	5880.000	1	5880.000	59254.054	.000
Treat	2.867	3	.956	9.629	.000
Rep	38.500	29	1.328	13.378	.000
Error	8.633	87	9.923E-02		
Total	5930.000	120			
Corrected Total	50.000	119			

a R Squared = .827 (Adjusted R Squared = .764)

ตารางภาคผนวกที่ ง-18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้านการยอมรับโดยรวมของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณต่าง ๆ

Analysis of variance in overall acceptability attribute of fortified guava juice with various pectin concentration

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	48.033	32	1.501	12.689	.000
Intercept	5754.675	1	5754.675	48646.807	.000
Treat	12.958	3	4.319	36.514	.000
Rep	35.075	29	1.209	10.224	.000
Error	10.292	87	.118		
Total	5813.000	120			
Corrected Total	58.325	119			

a R Squared = .824 (Adjusted R Squared = .759)

ตารางภาคผนวกที่ ง-19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าพีเอชของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณร้อยละ 0 และ 0.25 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 8°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Analysis of variance in pH value of guava juice with dietary fiber (0% and 0.25% pectin) during storage at 4 and 8°C for 8 weeks

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.603	35	4.580E-02	473.817	.000
Intercept	3585.511	1	3585.511	37091494.330	.000
DAY	1.456	8	.182	1883.058	.000
CONC	8.720E-02	1	8.720E-02	902.088	.000
TEMP	9.600E-03	1	9.600E-03	99.310	.000
DAY * CONC	2.948E-02	8	3.685E-03	38.123	.000
DAY * TEMP	1.158E-02	8	1.448E-03	14.978	.000
CONC * TEMP	2.017E-03	1	2.017E-03	20.862	.000
DAY * CONC * TEMP	6.967E-03	8	8.708E-04	9.009	.000
Error	1.740E-02	180	9.667E-05		
Total	3587.132	216			
Corrected Total	1.620	215			

R Squared = .989 (Adjusted R Squared = .987)

ตารางภาคผนวกที่ ง-20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริกของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณร้อยละ 0 และ 0.25 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 8°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Analysis of variance in total acidity (% as citric acid) of guava juice with dietary fiber (0% and 0.25% pectin) during storage at 4 and 8°C for 8 weeks

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.458	35	1.307E-02	79.853	.000
Intercept	41.782	1	41.782	255231.900	.000
DAY	1.237E-02	8	1.546E-03	9.444	.000
CONC	.334	1	.334	2043.269	.000
TEMP	1.042E-02	1	1.042E-02	63.631	.000
DAY * CONC	5.087E-02	8	6.358E-03	38.841	.000
DAY * TEMP	4.866E-02	8	6.082E-03	37.154	.000
CONC * TEMP	6.667E-05	1	6.667E-05	.407	.524
DAY * CONC * TEMP	6.583E-04	8	8.229E-05	.503	.853
Error	2.947E-02	180	1.637E-04		
Total	42.269	216			
Corrected Total	.487	215			

R Squared = .939 (Adjusted R Squared = .928)

ตารางภาคผนวกที่ ง-21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณวิตามินซี (มก./น้ำฝรั่ง 100 มล.) ของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณร้อยละ 0 และ 0.25 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 8°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Analysis of variance in ascorbic acid of guava juice with dietary fiber (0% and 0.25% pectin) during storage at 4 and 8°C for 8 weeks

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4767.114	35	136.203	52.856	.000
Intercept	468212.017	1	468212.017	181698.826	.000
DAY	4229.654	8	528.707	205.175	.000
CONC	108.163	1	108.163	41.975	.000
TEMP	3.450E-02	1	3.450E-02	.013	.908
DAY * CONC	146.629	8	18.329	7.113	.000
DAY * TEMP	59.443	8	7.430	2.883	.005
CONC * TEMP	9.903	1	9.903	3.843	.051
DAY * CONC * TEMP	213.289	8	26.661	10.346	.000
Error	463.834	180	2.577		
Total	473442.965	216			
Corrected Total	5230.948	215			

R Squared = .911 (Adjusted R Squared = .894)

ตารางภาคผนวกที่ ง-22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำตาลรีดิวซ์ (ร้อยละ) ของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณร้อยละ 0 และ 0.25 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 8°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Analysis of variance in reducing sugar (%) of guava juice with dietary fiber (0% and 0.25% pectin) during storage at 4 and 8°C for 8 weeks

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.129	35	8.941E-02	13.862	.000
Intercept	8170.029	1	8170.029	1266652.980	.000
DAY	1.822	8	.228	35.304	.000
CONC	.177	1	.177	27.502	.000
TEMP	2.894E-04	1	2.894E-04	.045	.833
DAY * CONC	.554	8	6.920E-02	10.729	.000
DAY * TEMP	.269	8	3.357E-02	5.205	.000
CONC * TEMP	8.206E-02	1	8.206E-02	12.722	.000
DAY * CONC * TEMP	.226	8	2.820E-02	4.372	.000
Error	1.161	180	6.450E-03		
Total	8174.319	216			
Corrected Total	4.290	215			

R Squared = .729 (Adjusted R Squared = .677)

ตารางภาคผนวกที่ ง-23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำตาลทั้งหมด (ร้อยละ) ของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณร้อยละ 0 และ 0.25 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 8°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Analysis of variance in total sugar (%) of guava juice with dietary fiber (0% and 0.25% pectin) during storage at 4 and 8°C for 8 weeks

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	61.259	35	1.750	14.347	.000
Intercept	39487.864	1	39487.864	323693.374	.000
DAY	33.738	8	4.217	34.570	.000
CONC	8.564	1	8.564	70.203	.000
TEMP	.850	1	.850	6.968	.009
DAY * CONC	9.737	8	1.217	9.977	.000
DAY * TEMP	5.058	8	.632	5.183	.000
CONC * TEMP	.767	1	.767	6.286	.013
DAY * CONC * TEMP	2.544	8	.318	2.607	.010
Error	21.958	180	.122		
Total	39571.082	216			
Corrected Total	83.217	215			

R Squared = .736 (Adjusted R Squared = .685)

ตารางภาคผนวกที่ ง-24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า L^* ของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณร้อยละ 0 และ 0.25 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 8°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์
Analysis of variance in L^* value of guava juice with dietary fiber (0% and 0.25% pectin) during storage at 4 and 8°C for 8 weeks

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	638.806	35	18.252	59.513	.000
Intercept	241097.251	1	241097.251	786146.812	.000
DAY	575.593	8	71.949	234.605	.000
CONC	7.950	1	7.950	25.924	.000
TEMP	9.425	1	9.425	30.732	.000
DAY * CONC	15.887	8	1.986	6.476	.000
DAY * TEMP	11.519	8	1.440	4.695	.000
CONC * TEMP	4.872	1	4.872	15.886	.000
DAY * CONC * TEMP	13.559	8	1.695	5.527	.000
Error	55.203	180	.307		
Total	241791.260	216			
Corrected Total	694.009	215			

R Squared = .920 (Adjusted R Squared = .905)

ตารางภาคผนวกที่ ง-25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า a^* ของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณร้อยละ 0 และ 0.25 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 8°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Analysis of variance in a^* value of guava juice with dietary fiber (0% and 0.25% pectin) during storage at 4 and 8°C for 8 weeks

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5.727	35	.164	18.905	.000
Intercept	147.081	1	147.081	16993.762	.000
DAY	2.368	8	.296	34.198	.000
CONC	1.335	1	1.335	154.225	.000
TEMP	.556	1	.556	64.254	.000
DAY * CONC	.375	8	4.685E-02	5.413	.000
DAY * TEMP	.792	8	9.895E-02	11.433	.000
CONC * TEMP	7.482E-02	1	7.482E-02	8.644	.004
DAY * CONC * TEMP	.227	8	2.835E-02	3.276	.002
Error	1.558	180	8.655E-03		
Total	154.366	216			
Corrected Total	7.285	215			

R Squared = .786 (Adjusted R Squared = .745)

ตารางภาคผนวกที่ ง-26 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า b^* ของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณร้อยละ 0 และ 0.25 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 8°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Analysis of variance in b^* value of guava juice with dietary fiber (0% and 0.25% pectin) during storage at 4 and 8°C for 8 weeks

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	12.527	35	.358	10.328	.000
Intercept	307083.094	1	307083.094	8861100.934	.000
DAY	9.792	8	1.224	35.318	.000
CONC	8.963E-04	1	8.963E-04	.026	.872
TEMP	6.667E-05	1	6.667E-05	.002	.965
DAY * CONC	1.232	8	.154	4.442	.000
DAY * TEMP	1.256	8	.157	4.529	.000
CONC * TEMP	8.067E-03	1	8.067E-03	.233	.630
DAY * CONC * TEMP	.239	8	2.984E-02	.861	.551
Error	6.238	180	3.466E-02		
Total	307101.858	216			
Corrected Total	18.765	215			

R Squared = .668 (Adjusted R Squared = .603)

ตารางภาคผนวกที่ ง-27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความขุ่น (%transmittance) ของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณร้อยละ 0 และ 0.25 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 8°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Analysis of variance in turbidity (%transmittance) of guava juice with dietary fiber (0% and 0.25% pectin) during storage at 4 and 8°C for 8 weeks

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7973.868	35	227.825	60.062	.000
Intercept	324373.151	1	324373.151	85514.786	.000
DAY	1726.166	8	215.771	56.884	.000
CONC	3847.290	1	3847.290	1014.264	.000
TEMP	24.766	1	24.766	6.529	.011
DAY * CONC	1024.246	8	128.031	33.753	.000
DAY * TEMP	1265.626	8	158.203	41.707	.000
CONC * TEMP	7.889	1	7.889	2.080	.151
DAY * CONC * TEMP	77.886	8	9.736	2.567	.011
Error	682.773	180	3.793		
Total	333029.792	216			
Corrected Total	8656.641	215			

R Squared = .921 (Adjusted R Squared = .906)

ตารางภาคผนวกที่ ง-28 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้านสีของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณร้อยละ 0 และ 0.25 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 8°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Analysis of variance in sensory attribute (color) of guava juice with dietary fiber (0% and 0.25% pectin) during storage at 4 and 8°C for 8 weeks

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	101.087	35	2.888	2.777	.000
Intercept	26895.780	1	26895.780	25862.642	.000
DAY	85.937	8	10.742	10.329	.000
CONC	2.017	1	2.017	1.939	.164
TEMP	.669	1	.669	.643	.423
DAY * CONC	1.900	8	.238	.228	.986
DAY * TEMP	7.181	8	.898	.863	.548
CONC * TEMP	.313	1	.313	.301	.584
DAY * CONC * TEMP	3.070	8	.384	.369	.937
Error	524.133	504	1.040		
Total	27521.000	540			
Corrected Total	625.220	539			

a R Squared = .162 (Adjusted R Squared = .103)

ตารางภาคผนวกที่ ง-29 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้านความขุ่นของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณร้อยละ 0 และ 0.25 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 8°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Analysis of variance in sensory attribute (turbidity) of guava juice with dietary fiber (0% and 0.25% pectin) during storage at 4 and 8°c for 8 weeks

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	75.193	35	2.148	1.365	.083
Intercept	23973.341	1	23973.341	15227.563	.000
DAY	66.259	8	8.282	5.261	.000
CONC	.600	1	.600	.381	.537
TEMP	2.963E-02	1	2.963E-02	.019	.891
DAY * CONC	3.400	8	.425	.270	.975
DAY * TEMP	3.837	8	.480	.305	.964
CONC * TEMP	.267	1	.267	.169	.681
DAY * CONC * TEMP	.800	8	.100	.064	1.000
Error	793.467	504	1.574		
Total	24842.000	540			
Corrected Total	868.659	539			

a R Squared = .087 (Adjusted R Squared = .023)

ตารางภาคผนวกที่ ง-30 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้านกลิ่นของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณร้อยละ 0 และ 0.25 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 8°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Analysis of variance in sensory attribute (odor) of guava juice with dietary fiber (0% and 0.25% pectin) during storage at 4 and 8°C for 8 weeks

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	48.815	35	1.395	1.262	.148
Intercept	24590.252	1	24590.252	22253.089	.000
DAY	19.481	8	2.435	2.204	.026
CONC	11.267	1	11.267	10.196	.001
TEMP	.363	1	.363	.328	.567
DAY * CONC	9.067	8	1.133	1.026	.415
DAY * TEMP	3.437	8	.430	.389	.927
CONC * TEMP	.474	1	.474	.429	.513
DAY * CONC * TEMP	4.726	8	.591	.535	.831
Error	556.933	504	1.105		
Total	25196.000	540			
Corrected Total	605.748	539			

a R Squared = .081 (Adjusted R Squared = .017)

ตารางภาคผนวกที่ ง-31 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้านรสชาติของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณร้อยละ 0 และ 0.25 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 8°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Analysis of variance in sensory attribute (flavor) of guava juice with dietary fiber (0% and 0.25% pectin) during storage at 4 and 8°C for 8 weeks

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	84.467	35	2.413	1.645	.013
Intercept	25544.067	1	25544.067	17410.128	.000
DAY	65.433	8	8.179	5.575	.000
CONC	7.407E-03	1	7.407E-03	.005	.943
TEMP	.474	1	.474	.323	.570
DAY * CONC	5.893	8	.737	.502	.855
DAY * TEMP	6.826	8	.853	.582	.793
CONC * TEMP	1.896	1	1.896	1.292	.256
DAY * CONC * TEMP	3.937	8	.492	.335	.952
Error	739.467	504	1.467		
Total	26368.000	540			
Corrected Total	823.933	539			

a R Squared = .103 (Adjusted R Squared = .040)

ตารางภาคผนวกที่ ง-32 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้าน mouthfeel ของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณร้อยละ 0 และ 0.25 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 8°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Analysis of variance in sensory attribute (mouthfeel) of guava juice with dietary fiber (0% and 0.25% pectin) during storage at 4 and 8°C for 8 weeks

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	108.983	35	3.114	2.349	.000
Intercept	24442.017	1	24442.017	18441.282	.000
DAY	99.733	8	12.467	9.406	.000
CONC	1.852E-03	1	1.852E-03	.001	.970
TEMP	9.074E-02	1	9.074E-02	.068	.794
DAY * CONC	2.148	8	.269	.203	.990
DAY * TEMP	5.459	8	.682	.515	.846
CONC * TEMP	4.630E-02	1	4.630E-02	.035	.852
DAY * CONC * TEMP	1.504	8	.188	.142	.997
Error	668.000	504	1.325		
Total	25219.000	540			
Corrected Total	776.983	539			

a R Squared = .140 (Adjusted R Squared = .081)

ตารางภาคผนวกที่ ง-33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบทางประสาทสัมผัสคุณลักษณะด้านการยอมรับโดยรวมของน้ำฝรั่งเติมเพกตินปริมาณร้อยละ 0 และ 0.25 ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 8°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Analysis of variance in sensory attribute (overall acceptability) of guava juice with dietary fiber (0% and 0.25% pectin) during storage at 4 and 8°C for 8 weeks

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	88.598	35	2.531	2.287	.000
Intercept	25944.535	1	25944.535	23439.375	.000
DAY	72.781	8	9.098	8.219	.000
CONC	.150	1	.150	.136	.713
TEMP	1.157	1	1.157	1.046	.307
DAY * CONC	4.100	8	.513	.463	.882
DAY * TEMP	7.426	8	.928	.839	.569
CONC * TEMP	.224	1	.224	.202	.653
DAY * CONC * TEMP	2.759	8	.345	.312	.962
Error	557.867	504	1.107		
Total	26591.000	540			
Corrected Total	646.465	539			

a R Squared = .137 (Adjusted R Squared = .077)

ภาคผนวก จ การคำนวณต้นทุนการผลิตผลิตภัณฑ์น้ำฝรั่งพร้อมดื่มเติมใยอาหารในขวดแก้ว (สถาบันพัฒนาวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม, 2547)

รายการต้นทุนในการผลิต

ต้นทุนในการผลิตน้ำฝรั่งพร้อมดื่มเติมใยอาหารบรรจุขวดแก้วประกอบด้วยวัตถุดิบ ค่าแรง และค่าใช้จ่ายโรงงาน (โสหุ้ยการผลิต)

1. วัตถุดิบ ได้แก่
   - ผลฝรั่งสด (รวมค่าขนส่ง) ราคาเฉลี่ย กก.ละ 13 บาท
   - น้ำตาลทราย กก.ละ 14 บาท
   - ภาชนะบรรจุ ขวดแก้วพร้อมฝาเกลียวล็อค (รวมค่าขนส่ง) (บริษัท บางกอกกล๊าส จำกัด) ราคาขวดละ 4 บาท
2. ค่าแรง ได้แก่
   - ค่าแรงขั้นต่ำ ชั่วโมงละ 18 บาท
     (กรมแรงงาน จังหวัดสงขลา, 2549)
3. ค่าใช้จ่ายโรงงาน ได้แก่
   - ค่าราคาเครื่อง retort (อายุการใช้งาน 20 ปี) 3,000,000 บาท
   - ค่าน้ำประปา ลูกบาศก์เมตรละ 3 บาท
   - ค่าน้ำมันดีเซล ราคาลิตรละ 25 บาท
   - ค่าพลังงานไฟฟ้า โดยคิดตามการใช้ไฟฟ้าในประเภทที่ 2 กิจการขนาดเล็กในอัตราปกติซึ่งมีแรงดัน 22-33 กิโลโวลท์ (การไฟฟ้าส่วนภูมิภาค, 2549) 2.46 บาท/หน่วย โดยที่ 1 ยูนิต หรือ 1 หน่วย = 1 กิโลวัตต์/ชม. (กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม, 2549)

การคำนวณ

1. วัตถุดิบ
   - ผลฝรั่งสด 120 กก. ๆ ละ 13 บาท เป็น 1,560 บาท/ครั้ง** (ได้น้ำฝรั่ง 59.64 ลิตร)
   - น้ำตาลทราย 4.20 กก. ๆ ละ 14 บาท เป็น 58.80 บาท/ครั้ง**
   - ภาชนะบรรจุ ขวดแก้วพร้อมฝาเกลียวล็อคจำนวน 213 ขวด ๆ ละ 4 บาท (นำกลับมาใช้ใหม่อีก 1 ครั้ง) เป็น 852 บาท/ครั้ง**
   - เอนไซม์เพกติเนส (EC 3.2.1.15) (food grade) 1 มล. ราคา 100 บาท ใช้เอนไซม์ทั้งหมด 10 มล. เป็น 1,000 บาท/ครั้ง**

2. ค่าแรง

ใช้แรงงานจำนวน 3 คน ทำงานคนละ 2 ชม./ครั้ง ดังนั้นเวลาการทำงานทั้งหมด 3 คน x 2 ชม.=6 ชม. ๆ ละ 18 บาท เป็น 108 บาท/ครั้ง**

3. ค่าใช้จ่ายโรงงาน

- ค่าเสื่อมราคาคิดจาก มูลค่าสินทรัพย์ถาวร/จำนวนปีการใช้งาน โดยค่าเสื่อมราคาเครื่อง retort เท่ากับ 3,000,000 บาท/20 ปี หรือ 150,000 บาท/ปี ดังนั้นค่าเสื่อมราคาเครื่อง retort จึงเท่ากับ 150,000 บาท/1,152 ครั้ง เป็น 130.21 บาท/ครั้ง **

- ค่าน้ำประปา เนื่องจากน้ำประปาที่ใช้ในกระบวนการฆ่าเชื้อเป็นระบบหมุนเวียนความจุ 1,000 ลิตร โดยใช้ 2,000 ลิตร/ปี ลิตรละ 3 บาท เป็น 6,000 บาท/ปี ดังนั้นค่าน้ำประปา เท่ากับ 6,000 บาท/1,152 ครั้ง 5.21 บาท/ครั้ง **

- ค่าน้ำมันดีเซลใช้ทั้งหมดดังนี้ ผลิตครั้งที่ 1 และ 3 ใช้ไปทั้งหมด 53+53= 106 ลิตร ผลิตครั้งที่ 2 และ 4 ใช้ไปทั้งหมด 26.5+26.5=53 ลิตร รวมเป็น 106+53=159 ลิตร/4 ครั้งการผลิต หรือ 39.75 ลิตร/ครั้ง ราคาลิตรละ 25 บาท คิดเป็น 993.75 บาท/ครั้ง**

** ในการคำนวณต้นทุนการผลิตภัณฑ์น้ำฝรั่งพร้อมดื่มเติมใยอาหารจะวางแผนกำลังการผลิต/ปี โดยทำการเดินเครื่อง retort 4 ครั้ง/วัน และกำลังการผลิต 6 วัน/สัปดาห์ จึงมีกำลังการผลิตเป็น 1,152 ครั้ง/ปี

- ค่าพลังงานไฟฟ้า มีส่วนประกอบที่สำคัญ ดังนี้

1) เครื่องกำเนิดไอน้ำ (boiler) ประกอบด้วย

- เครื่องปั๊มพ์น้ำ 2 เครื่องจะทำงานสลับกัน แต่ละเครื่องมีกำลังไฟฟ้าเท่ากับ 2.20 กิโลวัตต์/ชม. หรือ 2,200 วัตต์/ชม. ดังนั้นเครื่องปั๊มพ์น้ำ 1 เครื่องจะทำงาน 30 นาที จึงมีกำลังไฟฟ้าเป็น 1,100 วัตต์/30 นาที

- Burner มีกำลังไฟฟ้าเท่ากับ 1.408 กิโลวัตต์/ชม. หรือ 1,408 วัตต์/ชม. burner เริ่มทำงานจนเสร็จสิ้นกระบวนการฆ่าเชื้อใช้เวลาทั้งหมด 2 ชม. มีกำลังไฟฟ้าเป็น 1,408 วัตต์ x2= 2,816 วัตต์/ 2 ชม. หรือ 704 วัตต์/30 นาที

โดยต้องเปิดเครื่องกำเนิดไอน้ำให้ทำงานก่อนจะเริ่มเข้าสู่ขั้นตอนการฆ่าเชื้อ ½ ชม. (30 นาที) และกระบวนการฆ่าเชื้อจนเสร็จสิ้นกระบวนการใช้เวลาทั้งหมดเท่ากับ 1½ ชม. (90 นาที)

2) ตัวปั๊มพ์น้ำเข้าเครื่องฆ่าเชื้อ มีจำนวน 2 ตัวมีกำลังไฟฟ้าเท่ากับ 286 และ 220 วัตต์ รวมเป็น 506 วัตต์/ชม. ดังนั้นตัวปั๊มพ์น้ำมีกำลังไฟฟ้ารวมเท่ากับ 506 วัตต์/2 = 253 วัตต์/30 นาที

3) เครื่องฆ่าเชื้อ มีกำลังไฟฟ้าเท่ากับ 1.50 กิโลวัตต์/ชม. หรือ 1,500 วัตต์/ชม. ดังนั้นในกระบวนการฆ่าเชื้อเครื่องฆ่าเชื้อ (เวลา 1½ ชม.) จะมีกำลังไฟฟ้าเท่ากับ 1,500 วัตต์/2 = 750 วัตต์/30นาที กำลังไฟฟ้าทั้งหมดที่ใช้ในกระบวนการผลิตดังแสดงในตารางภาคผนวกที่ จ-1

ตารางภาคผนวกที่ จ-1 กำลังไฟฟ้าในแต่ละขั้นตอนของการผลิตน้ำฝรั่งพร้อมดื่มเติมใยอาหาร Electric power in each stage of production of guava juice fortified with dietary fiber

ขั้นตอน (ผลิตครั้งที่ 1	เปิดเครื่องกำเนิดไอน้ำ	กระบวนการฆ่าเชื้อ		
หรือ 3 ใน 1 วัน)	30 นาที	30 นาที	60 นาที	90 นาที
Boiler				
Water pump (watt)	1,100	1,100	1,100	1,100
Burner (watt)	704	704	704	704
Diesel oil (litre): ไม่รวมในค่ากำลังไฟฟ้า	26.5	-	26.5	-
Water system (watt)	-	253	253	253
Operated retort (watt)	-	750	750	750
Total (watt)	1,804	2,807	2,807	2,807
Total (watt)	10,225 x 2 ครั้งการผลิต (ครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 3) = 20,450			

ขั้นตอน (ผลิตครั้งที่ 2	เปิดเครื่องกำเนิดไอน้ำ	กระบวนการฆ่าเชื้อ		
หรือ 4 ใน 1 วัน)	30 นาที	30 นาที	60 นาที	90 นาที
Boiler				
Water pump (watt)	-	1,100	1,100	1,100
Burner (watt)	-	704	704	704
Diesel oil (litre): ไม่รวมในค่ากำลังไฟฟ้า	-	-	26.5	-
Water system (watt)	-	253	253	253
Operated retort (watt)	-	750	750	750
Total (watt)		2,807	2,807	2,807
Total (watt)	8,421 x 2 ครั้งการผลิต (ครั้งที่ 2 และ ครั้งที่ 4) = 16,842			
Total per day (watt)	**20,450+16,842 = 37,292**			

กำลังไฟฟ้ารวมทั้งหมด (4 ครั้งการผลิต/วัน) เป็น 20,450+16,842 = 37,292 วัตต์ หรือ 37.292 หน่วย (กิโลวัตต์/ชม.) /4 ครั้งการผลิต คิดเป็นค่ากำลังไฟฟ้าเท่ากับ 9.32 หน่วย/ครั้งการผลิต/วัน โดยค่าพลังงานไฟฟ้า 1 หน่วย=2.46 บาท ดังนั้นค่าพลังงานไฟฟ้าทั้งหมดเท่ากับ 9.32 หน่วย x 2.46 บาท/หน่วย เป็น 22.93 บาท/ครั้ง

ตารางภาคผนวกที่ จ-2 การคำนวณต้นทุนการผลิตผลิตภัณฑ์น้ำฝรั่งพร้อมดื่มเติมใยอาหาร
Cost calculation of guava juice fortified with dietary fiber

รายการ	ค่าใช้จ่าย/ครั้ง	
	ไม่ใช้เอนไซม์	ใช้เอนไซม์
วัตถุดิบ		
- ผลฝรั่งสด	1,560	1,560
- น้ำตาลทราย	58.80	58.80
- ขวดแก้วฝาเกลียวล็อค	852	852
- เอนไซม์เพกติเนส (food grade) (EC 3.2.1.15)	-	1,000
ค่าแรง	108	108
ค่าใช้จ่ายโรงงาน		
- ค่าเสื่อมราคา	130.21	130.21
- ค่าน้ำประปา	5.21	5.21
- ค่าน้ำมันดีเซล	993.75	993.75
- ค่าพลังงานไฟฟ้า	22.93	22.93
รวม (บาท)	3,730.90	4,730.90
ต้นทุนต่อหน่วย (บาท/ขวดผลิตภัณฑ์ปริมาตร 280 มล.)	17.52	22.21

ตารางภาคผนวกที่ ฉ-1 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการบ่มต่อน้ำฝรั่ง

Effect of enzyme concentrations and incubation times on guava juice

Enzyme concentration (%)	Incubation time (hr)	Yield (%)	pH	Total soluble solids (°Brix)	Color		
					*L**	*a**	*b**
0	0	67.56±0.31^{j}	4.08±0.03^{a}	9.27±0.24^{d}	64.35±0.60^{a}	2.18±0.08^{ns}	25.23±0.21^{e}
0.05	1.5	70.71±0.42^{i}	3.84±0.03^{b}	10.37±0.14^{c}	33.90±0.58^{bc}	2.10±0.17^{ns}	27.96±0.44^{c}
	2.0	74.18±0.15^{h}	3.78±0.02^{c}	10.57±0.15^{bc}	33.51±0.94^{bc}	2.26±0.36^{ns}	27.03±0.60^{d}
	2.5	75.42±0.27^{f}	3.74±0.02^{de}	10.78±0.08^{b}	34.36±0.52^{bc}	2.02±0.38^{ns}	26.54±0.50^{d}
0.10	1.5	74.71±0.15^{g}	3.79±0.03^{c}	10.68±0.10^{b}	33.97±0.48^{bc}	2.77±0.29^{ns}	28.98±0.47^{ab}
	2.0	77.81±0.36^{d}	3.77±0.02^{cd}	10.78±0.16^{b}	33.66±1.01^{bc}	2.48±0.43^{ns}	29.08±0.74^{ab}
	2.5	79.40±0.30^{b}	3.73±0.02^{ef}	11.07±0.21^{a}	34.18±0.56^{bc}	2.03±0.44^{ns}	28.90±0.96^{ab}
0.15	1.5	76.45±0.35^{e}	3.77±0.03^{cd}	10.68±0.08^{b}	33.67±0.62^{bc}	2.42±0.46^{ns}	28.51±0.61^{abc}
	2.0	78.56±0.34^{c}	3.73±0.02^{ef}	10.78±0.19^{b}	31.78±0.99^{d}	2.80±0.82^{ns}	29.20±0.93^{a}
	2.5	79.89±0.24^{a}	3.70±0.03^{f}	11.18±0.13^{a}	33.36±0.64^{bc}	2.33±0.28^{ns}	29.23±0.56^{a}

Means ± standard deviation in each column with the same letters are not significantly different ($P<0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ฉ-2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (%inhibition และ EC_{50}) และปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของน้ำฝรั่งพร้อมดื่มไม่เติมและเติมใยอาหาร DPPH°scavenging assay (%inhibition and EC_{50}) and total phenolic compound of guava juice fortified without and with pectin

Values	Guava juice without the addition of pectin			Guava juice fortified with pectin		
	DPPH°scavenging assay		Total phenolic contents (as gallic acid)	DPPH° scavenging assay		Total phenolic contents (as gallic acid)
	% inhibition* (100 μg/ml.)	EC_{50}** (μg/ml)		% inhibition* (100 μg/ml)	EC_{50}** (μg/ml)	
1	26.75	190.70	5.21	32.72	216.16	5.91
2	26.17	161.48	5.21	31.05	219.40	5.21
3	21.02	166.46	5.09	30.38	216.60	5.80
4	29.30	196.69	5.15	30.00	236.65	5.33
5	28.66	189.02	5.44	31.72	249.34	5.74
6	24.50	206.36	5.09	34.05	257.28	5.85
$\bar{X}$±SD	26.07±3.02	185.12±17.54	5.20±0.13	31.65±1.52	232.57±17.92	5.64±0.29

* % inhibition indicates the inhibition percentage of radical scavenging activity of 100 μg freeze-dried powder/ml. fresh guava juice.

*EC_{50} value (Efficient Concentration, μg/ml) indictes the effective concentration of sample required to scavenging DPPH° by 50% using BHT standard (EC_{50}= 19.19±0.09 μg/ml)