ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

รูปภาพประกอบการทำไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำ

รูปที่ ก-1 ข้าวก่ำ

รูปที่ ก-2 น้ำข้าวก่ำ

รูปที่ ก-3 เครื่องทำไอศกรีม

รูปที่ ก-4 ส่วนผสมไอศกรีมก่อนการปั่นเยือกแข็ง

รูปที่ ก-5 ไอศกรีมหลังการปั่นเยือกแข็ง

รูปที่ ก-6 น้ำมันรำข้าวก่ำสกัดพันธุ์ลืมผัว

ภาคผนวก ข

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

1. **แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี** Hedonic scale scoring test

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์: ไอศกรีมดัดแปลงน้ำข้าวก่ำ

ชื่อ-สกุล.....**วันที่**.....**เวลา**.....**น.**

คำอธิบาย กรุณาทดสอบชิมตัวอย่างที่เสนอให้ตามรหัสแล้วให้คะแนนความชอบของตัวอย่างในแต่ละคุณลักษณะที่ตรงกับความรู้สึกชอบของท่านมากที่สุด

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

คุณลักษณะ	คะแนนความชอบของตัวอย่าง			
	รหัส.....	รหัส.....	รหัส.....	รหัส.....
สี				
ลักษณะปรากฏ				
ความแน่นแข็ง				
ความเรียบเนียน				
รสหวาน				
กลิ่นรสของไอศกรีม				
คุณลักษณะโดยรวม				

หมายเหตุ: คุณลักษณะโดยรวมพิจารณาจากสี ลักษณะปรากฏ ความแน่นแข็ง ความเรียบเนียน รสหวาน และกลิ่นรสของไอศกรีม

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

2. คุณลักษณะ และวิธีการประเมินทางประเมินทางประสาทสัมผัสของไอศกรีม

1. **สี** (Color) พิจารณาจาก สีของเนื้อไอศกรีม
2. **ลักษณะปรากฏ** (Appearance) พิจารณาจาก ความสม่ำเสมอ ความเรียบเนียน (Smoothness) ของเนื้อไอศกรีม
3. **เนื้อสัมผัส** (Texture)

3.1 ความแน่นแข็ง (Hardness) เป็นคุณลักษณะของเนื้อสัมผัสของไอศกรีม ซึ่งเกี่ยวข้อง กับแรงที่ใช้ในการทำให้ไอศกรีมยุบตัวลง **วิธีการประเมิน** ตักไอศกรีม 1 ช้อน เข้าในปาก จากนั้นประเมินความแน่นแข็ง (Firmness) ของไอศกรีมโดยใช้ลิ้นออกแรงกดต้านกับเพดานปากเพื่อทำให้ไอศกรีมยุบตัวลง

3.2 ความเรียบเนียน (Smoothness) เป็นการสัมผัสของลิ้นกับอนุภาคต่างๆ หรือผลึกน้ำแข็งในไอศกรีม **วิธีการประเมิน** ตักไอศกรีม 1 ช้อน เข้าในปาก จากนั้นใช้ลิ้นกวาดตัวอย่างไอศกรีมให้ทั่วเพดานปาก แล้วทำการประเมินความเรียบเนียน (Smoothness) ของไอศกรีม

4. **รสหวาน** (Sweetness) พิจารณาจาก การรับรสหวานของน้ำตาลที่เป็นส่วนผสมในไอศกรีม ซึ่งสามารถรับรสหวานได้ภายหลังจาการรับประทานไอศกรีม

5. **กลิ่นรสของไอศกรีม** (Ice cream flavor) พิจารณาจาก กลิ่นรสของน้ำนม ข้าวก่ำ และกะทิ ในไอศกรีมซึ่งสามารถรับรู้ได้ภายหลังจากรับประทานไอศกรีม

6. **คุณลักษณะโดยรวม** (Overall Acceptance) พิจารณาจากสี ลักษณะปรากฏ ความแน่นแข็ง ความเรียบเนียน รสหวาน และกลิ่นรสของไอศกรีม

3. การทดสอบลำดับความชอบ (Rank preference test) (ไพโรจน์, 2545)

เพื่อเป็นการช่วยให้นักพัฒนาผลิตภัณฑ์สามารถสืบค้นสูตรผลิตภัณฑ์สำหรับการทดสอบผู้บริโภคตัวอย่างที่แตกต่างกัน จะถูกนำเสนอเพื่อประเมินความชอบกับผู้ทดสอบชิมที่ไม่ได้ทำการฝึกฝนมาก่อน ผู้บริโภคที่มีการทดสอบผลิตภัณฑ์ และได้ลำดับผลิตภัณฑ์ที่สูง จะถูกเลือกเป็นผู้บริโภคสุดท้าย ในการทดสอบต่อไป โดยมีเหตุผลที่เชื่อว่าผู้บริโภคกลุ่มนี้จะมีสหสัมพันธ์กับผู้บริโภคในตลาดมากกว่า ผู้ทดสอบชิมในระดับห้องปฏิบัติการ ผลิตภัณฑ์ที่ถูกลำดับที่สูงสุดโดยผู้บริโภคสามารถถูกนำเสนอเป็นผลิตภัณฑ์ในการประเมินผู้บริโภคเพื่อตรวจสอบความชอบระหว่างผลิตภัณฑ์ด้วยกันหรือกับผลิตภัณฑ์ที่มีอยู่ในท้องตลาด

วิธีการเรียงลำดับความชอบนั้น เป็นการขยายวิธีการเปรียบเทียบแบบคู่ให้เป็นการเปรียบเทียบตัวอย่างจำนวนที่มากกว่า 2 ตัวอย่างนั่นเอง สามารถดำเนินการทดสอบได้ง่ายและการแปลผลไม่ยุ่งยาก การเรียงลำดับความชอบมากที่สุด – ชอบน้อยสุด หรือจากชอบน้อยที่สุด – ชอบมากที่สุด วิธีดังกล่าวนี้ผู้ทดสอบจะทำการทดสอบตัวอย่างโดยพิจารณาจากความชอบโดยรวม โดยจะไม่ระบุกรือพิจารณาลงไปในแต่ละคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ซึ่งการแปลผลสามารถทำได้ 2 วิธี โดยจะใช้วิธี rank sum (วิธีของ Basker) หรือวิธีของ Friedman ก็ได้

การเตรียมตัวอย่างเพื่อทดสอบทางประสาทสัมผัส เสริฟตัวอย่างเมื่อไอศกรีมมีอุณหภูมิ –13 องศาเซลเซียส (Roland *et al.*, 1999) โดยนำไอศกรีมจากตู้แช่แข็งมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3.5 นาที

4. แบบสอบถามการจัดลำดับความชอบ (Rank preference test)

แบบสอบถามการจัดลำดับความชอบ (Rank preference test)

ชื่อ-สกุลผู้ทดสอบ_____วันที่_____

คำแนะนำ: กรุณา**ทดสอบ**ตัวอย่างต่อไปนี้ โดยบ้วนปากด้วยน้ำที่เตรียมให้ก่อน**ทดสอบ**ตัวอย่างทุกตัวอย่าง และเริ่มทดสอบตัวอย่างตามลำดับจากซ้ายไปขวา เมื่อ**ทดสอบ**ตัวอย่างครบแล้ว กรุณาระบุว่า ท่านมีความความชอบตัวอย่างแต่ละตัวอย่างมาก **หรือน้อย**กว่าตัวอื่นอย่างไร โดยวิธีการจัดลำดับให้ตัวอย่างที่ท่าน**ชอบ**มากที่สุดเป็นลำดับที่ 1 และตัวอย่างที่ท่านชอบรองลงมาเป็นตัวอย่างที่ 2 และเรียงลำดับตามลำดับความชอบที่ลดลงมาเรื่อยๆ จนกระทั่งถึงลำดับ**สุดท้าย**ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ชอบน้อยที่สุด

543	427	822	915	731	389
ลำดับที่ _____	_____	_____	_____	_____	_____

ข้อเสนอแนะ(ถ้ามี)_____

_____

ขอขอบคุณที่ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดีค่ะ

5. การวิเคราะห์การทดสอบประสาทสัมผัสการจัดลำดับความชอบ (Rank preference test) **โดยวิธี** rank sum (**วิธีของ** Basker)

ตาราง ข-1 ผลคะแนนรวมของผลิตภัณฑ์ที่ทำการทดสอบประสาทสัมผัส

รหัส	**สิ่งทดลอง**	**คะแนนรวม**
A	เจลาติน 0.1%	130
B	เจลาติน 0.2%	120
C	เจลาติน 0.3%	149
D	แซนแทนกัม 0.1%	139
E	แซนแทนกัม 0.2%	123
F	แซนแทนกัม 0.3%	95

หาค่าวิกฤตจากตารางบัสเกอร์ เมื่อจำนวนผู้ทดสอบชิมเท่ากับ 18 และจำนวนผลิตภัณฑ์เท่ากับ 6 หาค่าวิกฤตจากตารางของบัสเกอร์เมื่อจำนวนผู้ทดสอบน้อยกว่า 20 คน (ตารางที่ ข-2) มีค่าวิกฤตเท่ากับ 32 จากนั้นหาผลต่างระหว่างผลรวมของคะแนนการจัดลำดับของตัวอย่างแต่ละคู่ (ตาราง ข-3)

ตารางที่ ข-2 ตารางของบัสเกอร์ เมื่อจำนวนผู้ทดสอบชิมน้อยกว่า 20 คน (ไพโรจน์, 2545)

Critical values of differences between rank sums, p=0.05

No. of assessors	No. of products							
	3	4	5	6	7	8	9	10
2	-	-	8	10	12	14	16	18
3	6	8	11	13	15	18	20	23
4	7	10	13	15	18	21	24	27
5	8	11	14	17	21	24	27	30
6	9	12	15	19	22	26	30	34
7	10	13	17	20	24	28	32	36
8	10	14	18	22	26	30	34	40
9	10	15	19	23	27	32	36	41
10	11	15	20	24	29	34	38	43
11	11	16	21	26	30	35	40	45
12	12	17	22	27	32	37	42	48
13	12	18	23	28	33	39	44	50
14	13	18	24	29	34	40	46	52
15	13	19	24	30	36	42	47	53
16	13.3	18.8	24.4	30.2	36.0	42.0	48.1	54.2
17	13.7	19.3	25.2	31.1	37.1	43.3	49.5	55.9
18	14.1	19.9	25.9	32.0	38.2	44.5	51.0	57.5
19	14.4	20.4	26.6	32.9	39.3	45.8	52.4	59.0

ตารางที่ ข-3 ตารางเปรียบเทียบผลต่างระหว่างผลรวมของคะแนนการจัดลำดับของคู่ตัวอย่าง

ผลต่างของคะแนนแต่ละคู่						
รหัส	**F (95)**	**B (120)**	**E (123)**	**A (130)**	**D (139)**	**C (149)**
F (95)	-	25	28	35	44	54
B (120)		-	3	10	19	29
E (123)			-	7	16	26
A (130)				-	9	19
D (139)					-	10
C (149)						-

จากตารางที่ ข-3 เปรียบเทียบผลต่างระหว่างผลรวมของคะแนนการจัดลำดับของตัวอย่างคู่ใดกับค่าวิกฤต คือ 32 ซึ่งพบว่ามีตัวอย่างที่มีผลต่างระหว่างผลรวมที่มีค่าสูงกว่าค่าวิกฤต มีตัวอย่างที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เพียง 3 คู่ คือ F-A, F-D และ F-C เนื่องจากทั้ง 3 คู่มีผลต่างของคะแนนรวม มากกว่า 32 (คือค่าวิกฤต)

แสดงกลุ่มตัวอย่างที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของการทดสอบประสาทสัมผัสครั้งนี้ได้ดังแสดงในตารางที่ ข-4

ตารางที่ ข-4 แสดงการจัดกลุ่มความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์	A	B	C	D	E	F
ผลรวมของคะแนน	130	120	149	139	123	95
กลุ่มความแตกต่าง ($p \leq 0.05$)	a	ab	a	a	ab	b

ดังนั้น เจลลาติน 0.1%, เจลลาติน 0.3% และ แซนแทนกัม 0.1% ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ภาคผนวก ค

การคำนวณส่วนผสมในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่ทดแทนไขมันด้วยน้ำมันรำข้าวก่ำ

1. ตัวอย่างการคำนวณส่วนผสมในการผลิตไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เพิ่มปริมาณน้ำมันรำข้าวก่ำเพื่อทดแทนไขมันจากกะทิ

ส่วนผสมที่ใช้ในการผลิตไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำ โดยผันแปรตามสูตรการผลิตไอศกรีมจากผลการศึกษาตอนที่ 4.3 ประกอบด้วย น้ำข้าวก่ำ ร้อยละ 55, กะทิ ร้อยละ 30 (ไขมัน 4.5 กรัม), น้ำตาล ร้อยละ 15 และ เจลาติน ร้อยละ 0.3

จากฉลากโภชนาการ

กะทิ 80 มิลลิลิตร มีไขมันเป็นองค์ประกอบ 12 กรัม

น้ำมันรำข้าวก่ำ 15 มิลลิลิตร มีไขมันเป็นองค์ประกอบ 14 กรัม

จากสูตรควบคุม ประกอบด้วยกะทิ ร้อยละ 30 มีไขมันเป็นองค์ประกอบ $\frac{12 \times 30}{80}$ = 4.5 กรัม

ถ้ากะทิ ร้อยละ 20 มีไขมันเป็นองค์ประกอบ $\frac{12 \times 20}{80}$ = 3.0 กรัม

ถ้ากะทิ ร้อยละ 10 มีไขมันเป็นองค์ประกอบ $\frac{12 \times 10}{80}$ = 1.5 กรัม

จากสูตรการทดลอง กะทิร้อยละ 30 มีไขมัน 4.5 กรัม ดังนั้นสูตรนี้ไม่มีน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0)

ถ้าต้องการเติมน้ำมันรำข้าวก่ำร้อยละ 10 ดังนั้นในสูตรจึงจะมีกะทิร้อยละ 20

ถ้ากะทิ ร้อยละ 20 มีไขมัน 3.0 กรัม ดังนั้นน้ำมันรำข้าวก่ำ ร้อยละ 10 จะมีไขมัน 1.5 กรัม

ถ้ากะทิ ร้อยละ 10 มีไขมัน 1.5 กรัม ดังนั้นน้ำมันรำข้าวก่ำ ร้อยละ 20 จะมีไขมัน 3.0 กรัม

ถ้ากะทิ ร้อยละ 0 มีไขมัน 0 กรัม ดังนั้นน้ำมันรำข้าวก่ำ ร้อยละ 30 จะมีไขมัน 4.5 กรัม

การคำนวณปริมาณน้ำมันรำข้าวก่ำที่เติมในสูตร 100 กรัม

ไขมัน 14 กรัม มาจากน้ำมันรำข้าว 15 มิลลิลิตร

สูตรน้ำมันรำข้าวก่ำร้อยละ 10 มีไขมัน 1.5 กรัม ดังนั้นเตรียมน้ำมันรำข้าว $\frac{15 \times 1.5}{14}$ = 1.61 มล.

สูตรน้ำมันรำข้าวก่ำร้อยละ 20 มีไขมัน 3.0 กรัม ดังนั้นเตรียมน้ำมันรำข้าว $\frac{15 \times 3.0}{14}$ = 3.21 มล.

สูตรน้ำมันรำข้าวก่ำร้อยละ 30 มีไขมัน 4.5 กรัม ดังนั้นเตรียมน้ำมันรำข้าว $\frac{15 \times 4.5}{14}$ = 4.82 มล.

ดังนั้นในการผลิตไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำ 100 กรัม สูตรที่เติมน้ำมันรำข้าวร้อยละ 10 ประกอบด้วย น้ำข้าวก่ำร้อยละ 55, กะทิร้อยละ 20, น้ำตาลร้อยละ 15 และเจลาตินร้อยละ 0.3 น้ำมันรำข้าวก่ำร้อยละ 1.61

สูตรที่เติมน้ำมันรำข้าวร้อยละ 20 ประกอบด้วย น้ำข้าวก่ำร้อยละ 55, กะทิร้อยละ 10, น้ำตาลร้อยละ 15 และเจลาตินร้อยละ 0.3 น้ำมันรำข้าวก่ำร้อยละ 3.21

สูตรที่เติมน้ำมันรำข้าวร้อยละ 30 ประกอบด้วย น้ำข้าวก่ำร้อยละ 55, น้ำตาลร้อยละ 15 และเจลาตินร้อยละ 0.3 น้ำมันรำข้าวก่ำร้อยละ 4.28

ภาคผนวก ง

การตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และทางจุลินทรีย์

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

1. การวัดค่าสีระบบ Hunter (L*, a*, b*)

วิธีการวัดค่าสี

1. เปิดเครื่องวัดสี Chromameter (Minolta รุ่น CR-400, Japan)

2. ก่อนทำการวัดทุกครั้งต้องทำการปรับค่ามาตรฐานเครื่อง (calibration) โดยใช้แผ่นมาตรฐาน (white blank; L=97.67, a=-0.18 และ b=1.84) แล้วทำการวัดสีของตัวอย่างผลิตภัณฑ์

3. สำหรับตัวอย่างน้ำข้าวใส่ในคิวเวตของเครื่องวัดสีให้มีความสูง 1 เซนติเมตร และสำหรับตัวอย่างไอศกรีมบรรจุไอศกรีมแช่แข็งในกล่องพลาสติกขนาด 1 ออนซ์ก่อนนำมาวัดค่าสี

4. ใช้หัววัดสีวางทาบลงบนตัวอย่างในแนวตั้งฉากและอ่านค่าการวัดสี L*, a*, b*

ค่าสี L*	หมายถึง	ค่าความสว่าง ซึ่งมีค่า 0 ถึง 100 (ค่า L มีค่าใกล้ 100 แสดงความสว่าง, ค่า L มีค่าใกล้ 0 แสดงความสว่างน้อยหรือแสดงความมืด)
ค่าสี a*	หมายถึง	ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและสีแดงที่อยู่ในตัวอย่าง (ค่าเป็น + แสดงความเป็นสีแดง, ค่าเป็น - แสดงความเป็นสีเขียว)
ค่าสี b*	หมายถึง	ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีน้ำเงินและสีเหลืองที่อยู่ในตัวอย่าง (ค่าเป็น + แสดงความเป็นสีเหลือง, ค่าเป็น - แสดงความเป็นสีน้ำเงิน)

2. การวัดความหนืด (ดัดแปลงวิธีของ Chang *et al.*, 1995)

วิธีการวัด

วัดความหนืดของน้ำข้าวก่ำงอกที่อุณหภูมิห้องและวัดความหนืดของไอศกรีมเหลวหลังผ่านการบ่มที่อุณหภูมิประมาณ 4 ± 1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 โดยเครื่อง Brookfield-Programmable Viscometer รุ่น LVDV-II+ ใช้หัวหมุนเบอร์ 18 อ่านค่าที่ได้หลังมอเตอร์หมุน 30 วินาที ควบคุมอุณหภูมิห้องที่ 25 ± 1 องศาเซลเซียส

3. ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids, %) (AOAC, 2000)

วิธีวิเคราะห์

วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ อุณหภูมิขณะวัดเท่ากับ 25±1 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (Hand refractometer) ซึ่งมีสเกลวัดค่าได้ระหว่าง 0-32% ปรับเทียบมาตรฐานโดยใช้น้ำกลั่นปรับให้อ่านได้ 0 ก่อนการใช้วัดตัวอย่างทุกครั้ง ค่าที่อ่านได้มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์

4. ความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้เครื่อง pH-meter (AOAC, 2000)

วิธีการวัด

นำตัวอย่างจำนวน 50 มิลลิลิตร ไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ก่อนทำการวัดจะต้องทำการปรับค่ามาตรฐานด้วยบัฟเฟอร์ที่มีพีเอชเท่ากับ 4.00 และ 7.00 ตามลำดับ

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1. ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solid, %) (AOAC, 2000)

วิธีวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างไอศกรีมที่ละลายแล้ว ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2.5-3.0 กรัม ใส่ในภาชนะสำหรับหาความชื้น (w2) ซึ่งอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และทราบน้ำหนัก (w1) นำไประเหยบนอ่างน้ำร้อนนาน 30 นาที หรือจนแห้งอบต่อที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง หรือจนได้น้ำหนักคงที่ ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนัก (w3) คำนวณหาปริมาณของแข็งทั้งหมดจากสูตร

$$\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด (ร้อยละของน้ำหนัก)} = \frac{(w2) - (w3)}{(w2) - (w1)} \times 100$$

เมื่อ

w1 = น้ำหนักภาชนะสำหรับหาความชื้น (กรัม)

w2 = น้ำหนักภาชนะสำหรับหาความชื้นและตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

w3 = น้ำหนักภาชนะสำหรับหาความชื้นและตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

2. การหาร้อยละของไขมัน โดยใช้ วิธี Rose – Gottileb (AOAC, 2000)

2.1. ชั่งตัวอย่างด้วยน้ำหนักที่แน่นอน 10 กรัม (บันทึกน้ำหนักตัวอย่างที่ใช้จริงทศนิยม 4 ตำแหน่ง) (W_1) ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วถ่ายลงในกรวยแยก (separatory funnel)

2.2. เติมน้ำกลั่นเพื่อล้างตัวอย่างในบีกเกอร์ที่ผ่านการอบและชั่งน้ำหนักแน่นอนแล้ว แล้วเทลงในกรวยแยก

2.3. เติมสารละลายแอมโมเนีย 1.25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2.4. เติมเอธิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2.5. เติมไอเอธิลอีเทอร์ (จุดเดือด 40-60 °C) 25 มิลลิลิตร ปิดจุกให้แน่น ทำการสกัดโดยการเขย่าแรงๆ 1 นาที เปิดจุกอย่างระมัดระวัง ล้างจุกด้วยสารละลายผสมจำนวนเล็กน้อย

หมายเหตุ: ควรระวังเนื่องจากความดันไอของสารสกัดที่เกิดขึ้นค่อนข้างสูงจึงต้องหมั่นคลายจุกเพื่อลดความดัน

2.6. เติมปิโตรเลียมอีเธอร์ 25 มิลลิลิตร ปิดจุกให้แน่น ทำการสกัดโดยการเขย่า 1 นาที เปิดจุกอย่างระมัดระวัง

2.7. ตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายแยกชั้นประมาณ 30 นาที

2.8. ไขของเหลวชั้นล่างใส่บีกเกอร์ที่ผ่านการอบและชั่งน้ำหนักแน่นอนใบเดิมที่ใส่ตัวอย่างในข้อ 1 และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน (W_2)

2.9. ไขชั้น mixed ether ที่เหลือลงในบีกเกอร์

2.10. นำของเหลวชั้นล่างที่ไขออกมาทำการสกัดอีก 2 ครั้งโดยใช้เอธิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 5 มิลลิลิตร ไดเอธิลอีเธอร์และปิโตรเลียมอีเธอร์ครั้งละ 15 มิลลิลิตร

2.11. ระเหย mixed ether ในตู้ดูดควันจนหมด จากนั้น นำไประเหยบนอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ100 °ซ ในตู้ดูดควันจนแห้ง

2.12. นำบีกเกอร์ไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 ±2 °ซ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

2.13. แล้วนำบีกเกอร์ใส่ในเดสิเคเตอร์ (desiccator) รอให้เย็นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2.14. ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์และไขมัน บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W_3)

วิธีคำนวณ

ปริมาณร้อยละของน้ำหนัก = $(W_3 - W_2) \times 100/W_1$

W_1 = น้ำหนักตัวอย่าง มีหน่วยเป็นกรัม

W_2 = น้ำหนักบีกเกอร์ มีหน่วยเป็นกรัม

W_3 = น้ำหนักบีกเกอร์ที่มีไขมัน มีหน่วยเป็นกรัม

หมายเหตุ : การทดลองทำสิ่งทดลองละ 2 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ตัวอย่าง

3. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน / ไนโตรเจนทั้งหมด โดยวิธีเคลดาห์ (Kjeldahl Method) (AOAC, 2000)

3.1 สารเคมี

3.1.1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Sulfuric Acid:H_2SO_4) ความเข้มข้น 98% (w/v)

3.1.2. คะตะลิสต์ผสมอัตราส่วนระหว่างคอปเปอร์ซัลเฟต (Copper Sulfate: $CuSO_2.5H_2O$) ปราศจากไนโตรเจน 3.5 % โซเดียมซัลเฟต (Sodium Sulfate:Na2SO4) ปราศจากไนโตรเจน 96% ซิลิเนียมไดออกไซด์ (Selenium dioxide:SeO_2) ปราศจากไนโตรเจน 0.5%)

3.1.3. เม็ดเดือด (glass beat)

3.1.4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 %(w/v)

3.1.5. กรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.1 N มีอายุการเก็บรักษา 1 เดือน หากครบกำหนดเวลาดังกล่าวให้นำสารละลายไปหาความเข้มข้นที่แน่นอนใหม่หรือนำไปใช้งานอื่นที่ไม่ต้องการความเข้มข้นที่แน่นอน

3.1.6. อินดิเคเตอร์ผสม ประกอบด้วยเมทิลเรดความเข้มข้นร้อยละ 0.2 (w/v) ในแอลกอฮอล์ ผสมกับโบรโมครีซอลกรีน ความเข้มข้นร้อยละ 0.2(w/v) ในแอลกอฮอล์ 1:1

3.1.7. กรอบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 (w/v)

3.2 วิธีการวิเคราะห์

3.2.1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (0.5 – 2.0 กรัม) (W1) ถ่ายตัวอย่างลงในหลอดย่อยโปรตีน ทำ blank ควบคู่ไปด้วย

3.2.2. เติมคะตะลิสต์ผสม จำนวน 8 กรัม

3.2.3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร โดยเอียงหลอดย่อยโปรตีนและค่อยๆ รินกรดลงข้างๆ หลอด เพื่อล้างตัวอย่างที่อาจติดอยู่ข้างหลอดให้หมด และค่อยๆเขย่าตัวอย่างเบาๆ

3.2.4. นำไปย่อยที่ชุดย่อยโปรตีน ใช้เวลาย่อยประมาณ 1 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งสารละลายใสจึงปิดชุดย่อย รอจนกระทั่งสารละลายเย็นลงในอุณหภูมิห้อง ห้ามนำหลอดย่อยไปทำให้เย็นด้วยน้ำ **เพราะจะทำให้หลอดย่อยแตกได้**

3.2.5. นำสารละลายที่ได้ต่อกับเครื่องกลั่นโปรตีน โดยนำขวดรูปชมพู่ที่มีกรดบอริก 4% จำนวน 50 มิลลิลิตร และหยดอินดิเคเตอร์ผสมลงไป 6 – 10 หยด เติมสารละลาย

โซเดียมไฮดรอกไซด์ 50% ให้มากเกินพอ (ประมาณ 70 – 90 มิลลิลิตร) ถ้าปริมาณด่างมากกินพอสารละลายจะมีสีดำ ถ้ายังไม่เกิดสีดำให้เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพิ่มอีก 5 – 10 มิลลิลิตร

3.2.6. เปิดเครื่องเริ่มทำการกลั่น โดยทำ blank ก่อนตัวอย่าง นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกจนได้จุดยุติ คือสังเกตสีชมพูปรากฏขึ้นและสาร ละลายสีเทาอมม่วง

วิธีคำนวณ

ปริมาณไนโตรเจน ร้อยละของน้ำหนัก = (Va-Vb) x N.H_2SO_4 x 1.4007/W

เมื่อ:

Va = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่างมีหน่วยเป็น mL

Vb = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไทเทรต blank มีหน่วยเป็น mL

N. H_2SO_4 = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก มีหน่วยเป็น N

W = น้ำหนักตัวอย่าง มีหน่วยเป็นกรัม

ปริมาณโปรตีน ร้อยละของน้ำหนัก = ปริมาณไนโตรเจนร้อยละของน้ำหนัก x แฟกเตอร์

เมื่อ : แฟกเตอร์ = 6.25

หมายเหตุ : การทดลองทำสิ่งทดลองละ 2 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ตัวอย่าง

4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

4.1 เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาไฟฟ้า ที่ 550 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

4.2 ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W_1) และใส่ตัวอย่างในถ้วยกระเบื้องเคลือบ ชั่งให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2–3 กรัม (W_2)

4.3 นำไปเผาด้วยไฟอ่อนบนเตาไฟฟ้าหรือตะเกียงบุนเซน โดยเพิ่มความร้อนขึ้นทีละน้อย จนตัวอย่างไหม้เกรียมและเผาจนหมดควัน

4.4 จากนั้นนำไปเผาต่อในเตาเผาไฟฟ้าที่ 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาว (ใช้เวลา 2–3 ชั่วโมง) จากนั้นทำให้เย็นในโถดูดความชื้น

4.5 ถ้าเถ้าที่ได้ไม่ขาว ให้นำเถ้าออกมาจากเตาเผา ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วหยดน้ำเล็กน้อยพอเปียกชุ่ม (ระวังอย่าให้เถ้าฟุ้งหรือกระเด็น) นำไประเหยให้แห้งบนเครื่องอังน้ำ และ

เผาซ้ำ โดยใช้เวลาในเตาเผาไฟฟ้าเพียง 1 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ (น้ำหนักที่คงที่หมายความว่า ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกัน ไม่เกิน 2 มิลลิกรัม) ชั่งน้ำหนักที่ได้ (W_3)

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

โดยที่ W_1 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่าง (กรัม)

W_3 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบและเถ้า (กรัม)

5. การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรทโดยการคำนวณ (AOAC, 2000)

ปริมาณคาร์โบไฮเดรท (ร้อยละโดยน้ำหนัก) = 100 – (ร้อยละของความชื้น + ร้อยละของโปรตีน + ร้อยละของไขมัน + ร้อยละของเถ้า + ร้อยละเส้นใย)

6. ปริมาณแอนโทไซยานินโดยวิธี pH differential method (Giusti and Wrolstad, 2005)

6.1 อุปกรณ์

6.1.1. บีกเกอร์ (beaker)

6.1.2. ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)

6.1.3. แท่งแก้วคนสาร

6.1.4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

6.1.5. สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

6.1.6. หลอดทดลอง (test tube)

6.2 สารเคมี

6.2.1. โพแทสเซียมคลอไรด์ (potassium chloride, KCl)

6.2.2. โซเดียมอะซิเตต (sodium acetate, CH_3COONa)

6.2.3. ไฮโดรคลอริก (hydrochloric, HCl)

6.2.4. น้ำกลั่น (distilled water)

6.3 การสกัดตัวอย่าง (Kanitha & Wanida, 2010)

6.3.1. เตรียมสารละลายผสมระหว่าง acetone: water (70 : 30) (v/v)

6.3.2. สกัดตัวอย่างโดยใช้ตัวอย่าง 1 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 แยกเฉพาะสารสกัดส่วนใสนำไปวิเคราะห์ต่อไป

6.4 วิธีการ

6.4.1. เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 1.0 (potassium chloride, 0.025M) : ชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ 1.86 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นประมาณ 980 มิลลิลิตร จากนั้น ปรับพีเอชของสารละลายให้เป็น 1.0 (±0.05) ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 38 (ประมาณ 6.3 มิลลิลิตร) และปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

6.4.2. เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 4.5 (sodium acetate, 0.4 โมลาร์) : ชั่งโซเดียม อะซิเตต 54.43 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นประมาณ 960 มิลลิลิตร จากนั้น ปรับพีเอชของสารละลายให้เป็น 4.5 (±0.05) ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 38 (ประมาณ 20 มิลลิลิตร) และปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

6.4.3. เจือจางสารกัดที่ต้องการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 1.0 และ 4.5 ให้ได้ประมาณ 10-20 เท่า

6.4.4. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายในข้อ 3 ที่ความยาวคลื่น 513 และ 700 นาโน-เมตร ภายใน 15-60 นาที หลังจากผสมให้เข้ากันจากข้อ 3

6.4.5. คำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานินในรูปไซยาดินิน-3-กลูโคไซด์ (cyanidin-3-glucoside) โดยใช้สมการ ดังนี้

$$\text{Monomeric anthocyanin pigment (mg/l)} = [\ A_{diff} \times MW \times DF \times 1000\ ]/\epsilon$$

เมื่อ $A_{diff} = (A_{513} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{513} - A_{700})_{pH4.5}$

MW = มวลโมเลกุลของ cyanidin-3-glucoside (449.2 g/mol)

DF = dilution factor

ϵ = molar absorptivity ของ cyanidin-3-glucoside (26,900 l/mol cm)

การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอล และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในไอศกรีม (ดัดแปลงวิธีการจาก Hwang *et al.*, 2009)

1. วางไอศกรีมให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง ชั่งไอศกรีมที่ละลายให้ได้ น้ำหนัก 10 กรัม

2. เติมเอทานอล ปริมาตร 20 มิลลิลิตร กวนผสมตัวอย่างให้เข้ากัน

3. นำตัวอย่างที่ได้ไป เซนตริฟิวส์ ที่ความเร็วรอบ 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาที

4. นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณสารปริมาณสารประกอบฟีนอล และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

7. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (Waterhouse, 2005)

7.1 อุปกรณ์

7.1.1. ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)

7.1.2. ไมโครปิเปต (micropipette)

7.1.3. หลอดทดลอง (test tube)

7.1.4. สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

7.2 สารเคมี

7.2.1 กรดแกลลิก (gallic acid)

7.2.2 โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate)

7.2.3 Folin–Ciocateu reagents

7.2.4 เมทานอล (methanol)

7.3 การเตรียมสารละลาย

7.3.1. สารประกอบฟีนอลมาตรฐานความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยชั่งสาร gallic acid น้ำหนัก 0.04 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร แล้วนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้สารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 0, 20, 50, 70 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

7.3.2. สารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 เตรียมโดยตวงเมทานอลร้อยละ 99.9 ปริมาตร 80 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

7.3.3. สารละลาย Folin–Ciocatea Reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 เตรียมโดยตวง Folin – Ciocatea reagent ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

7.3.4. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 เตรียมโดยชั่งโซเดียมคาร์บอเนตน้ำหนัก 7.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

7.4 วิธีการ

7.4.1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) ความเข้มข้น1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0, 20, 50, 70 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

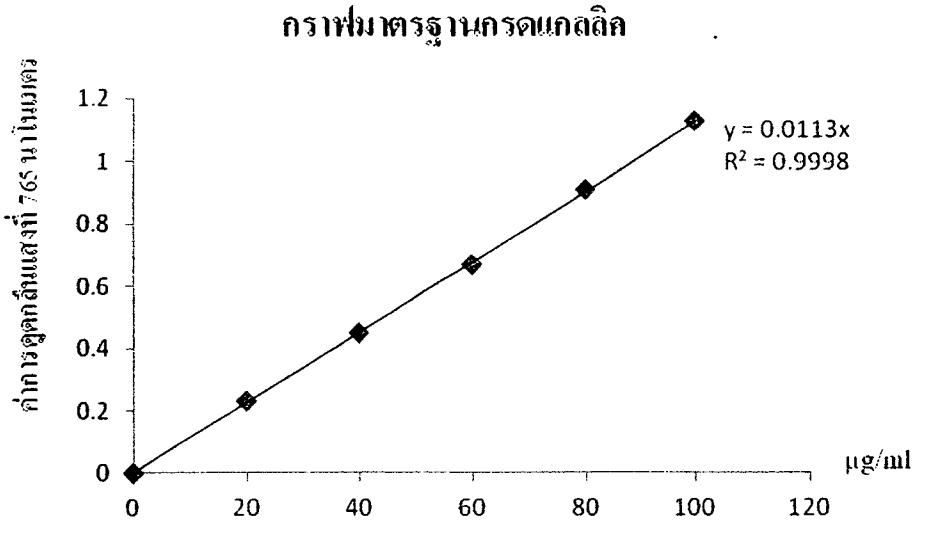
7.4.2. นำของเหลวใสที่สกัดได้มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง

7.4.3. เติมสารละลาย Folin – Ciocatea Reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 8 นาที

7.4.4. จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 4 มิลลิลิตรลงไป

7.4.5. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโทมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

7.4.6. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเปรียบเทียบหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลจากกราฟมาตรฐาน (รูป ข-1)



รูปที่ ง-1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ของวิธีการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก

7.5 การคำนวณหาสารประกอบฟีนอลทั้งหมด

นำค่าที่อ่านได้จากสารประกอบฟีนอลมาตรฐานที่เตรียมไว้ในขั้นตอนการสร้างกราฟมาตรฐานมาคำนวณหาสูตรสมการเส้นตรง ได้ดังนี้

y = 0.011x

โดยที่ y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้

x คือ ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่าง (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

จากนั้นนำค่า x ที่อ่านได้ มาคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในตัวอย่าง

8. DPPH Radical Scavenging Activity (Kanitha & Wanida, 2010)

8.1 อุปกรณ์

8.1.1. หลอดทดลอง (test tube)

8.1.2. ไมโครปิเปต (micropipette)

8.1.3. สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

8.1.4. ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)

8.2 สารเคมี

8.2.1. DPPH radical (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

8.2.2. เอทานอล (ethanol)

8.3 วิธีการ

8.3.1. เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

8.3.2. หลอดควบคุม: ผสมสารละลาย DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร กับเอทานอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

8.3.3. หลอดทดสอบ : ผสมสารละลาย DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร กับสารสกัด ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

8.3.4. ตั้งหลอดทดลองทิ้งไว้ในที่มืด เป็นระยะเวลา 30 นาที ณ อุณหภูมิห้อง

8.3.5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลเป็นแบลงก์

8.3.6. คำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% Free radical inhibition) จากสูตร

$$\% \text{ Free radical inhibition} = \left[\frac{\text{Absorbance}_{control} - \text{Absorbance}_{sample}}{\text{Absorbance}_{control}} \right] \times 100$$

9. Metal Chelating Activity (Mao *et al.*, 2006)

9.1 อุปกรณ์

9.1.1. หลอดทดลอง (test tube)

9.1.2. ไมโครปิเปต (micropipette)

9.1.3. สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

9.1.4. ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)

9.1.5. บีกเกอร์ (beaker)

9.2 สารเคมี

9.2.1. น้ำกลั่นปราศจากไอออน (deionized water)

9.2.2. ไอรอนคลอไรด์เตรตระไฮเดรต (Iron(II) chloride tetrahydrate, $FeCl_2 \cdot 4H_2O$)

9.2.3. เฟอร์โรซีน (ferrozine)

9.3 วิธีการ

9.3.1. เตรียมสารละลายไอรอนคลอไรด์ ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ : ชั่งไอรอนคลอไรด์-เตรตระไฮเดรต 0.0398 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

9.3.2. เตรียมสารละลายเฟอร์โรซีน ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ : ชั่งเฟอร์โรซีน 0.2463 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

9.3.3. สารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตร น้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 3.7 มิลลิลิตร เติมสารละลายไอรอนคลอไรด์ 100 ไมโครลิตรและสารละลายเฟอร์โรซีน 200 ไมโครลิตร ให้เข้ากัน

9.3.4. หลอดควบคุม : เติมน้ำกลั่นปราศจากไอออน 1 มิลลิลิตร แทนสารสกัด หลอดแบลงก์ : น้ำกลั่นปราศจากไอออน

9.3.5. บ่มสารละลายดังกล่าวทิ้งไว้ 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร

9.3.6. คำนวณหาค่าร้อยละการจับโลหะ จากสูตร

$$\% \text{ Metal chelating activity} = \left[\frac{\text{Absorbance}_{control} - \text{Absorbance}_{sample}}{\text{Absorbance}_{control}} \right] \times 100$$

10. การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระวิธี Reducing Power (Maorun *et al.*, 2009)

10.1 อุปกรณ์

10.1.1. หลอดทดลอง (test tube)

10.1.2. ไมโครปิเปต (micropipette)

10.1.3. สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

10.1.4. ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)

10.1.5 บีกเกอร์ (beaker)

10.2 สารเคมี

10.2.1. น้ำกลั่นปราศจากไอออน (deionized water)

10.2.2. โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Sodium dihydrogen phosphate, NaH_2PO_4)

10.2.3. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Disodium hydrogen phosphate, Na_2HPO_4)

10.2.4. โพแทสเซียมเฟอร์ริกไซยาไนด์ (Potassium ferricyanide)

10.2.5. กรดไตรคลอโรอะซิติก (Trichloroacetic acid)

10.2.6. เฟอร์ริกคลอไรด์ (Ferric chloride anhydrous)

10.3 การเตรียมสารละลาย

10.3.1. 0.2 M Phosphate buffer (pH = 6.6) เตรียมจาก0.2 M NaH_2PO_4 โดยชั่ง NaH_2PO_4 24.0g ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร 1L และ0.2 M Na_2HPO_4 ชั่ง Na_2HPO_4 28.4 g ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออน ปริมาตร 1 L วัด pH ของทั้งสอง solution แล้วผสมกันให้ได้ pH = 6.6

10.3.2. 1% w/v Potassium ferricyanide ชั่ง $K_3Fe(CN)_6$ 1 g ละลายด้วย 0.2 M phosphate buffer pH = 6.6 ปริมาตร 100 mL

10.3.3 10% Trichloroacetic acid (TCA) ชั่ง TCA 10 g ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร100 mL

10.3.4 0.1% $FeCl_3$ anhydrous ชั่ง $FeCl_3$ 0.1 g ละลายด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร 100 mL

10.4 วิธีการวิเคราะห์

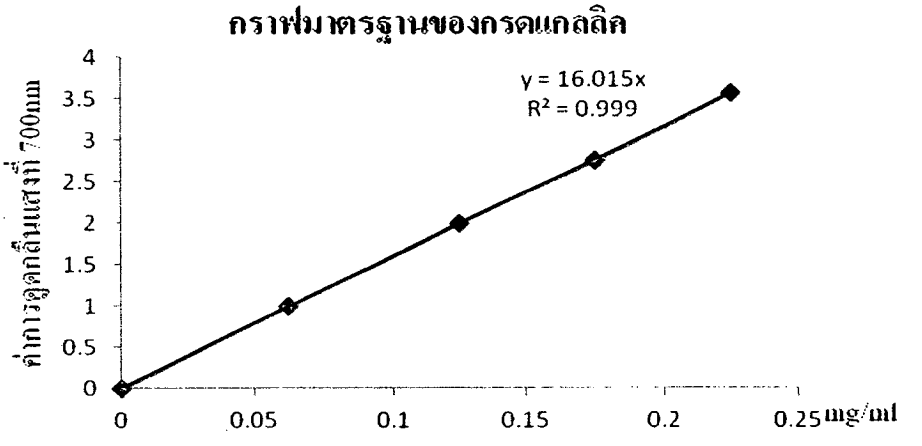
10.4.1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) ความเข้มข้น1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.06, 0.12, 0.15 และ 0.22 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

10.4.2. เตรียมตัวอย่างสารสกัดในหลอดทดลองปริมาตร 1.0 mL เติม 0.2 M phosphate buffer (pH = 6.6) ปริมาตร 1 mL และ1% w/v Potassium ferricyanide ($K_3Fe(CN)_6$) ปริมาตร 1 mL บ่มที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 20 นาที

10.4.3. เติม 10% Trichloroacetic acid (TCA) ปริมาตร1 mL นำไปปั่นที่ 3000 rpm นาน 5 นาที

10.4.4. ดูด supernatant ปริมาตร 2.5 mL มาเติมน้ำกลั่นปราศจากไอออนปริมาตร 2.5 mL และ 0.1% $FeCl_3$ 0.5 mL

10.4.5 นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 700 nm ใช้ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างมาหาความเข้มข้น (คำนวณในรูปกรดแกลลิก) เช่นเดียวกันกับการคำนวณหาสารประกอบฟีนอลิก



รูปที่ ง-2 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ของวิธีการวิเคราะห์ Reducing Power

11. การตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) ยีสต์และรา (Yeast and mold) (AOAC, 2000)

11.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

11.1.1. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)

11.1.2. ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร

11.1.3. หลอดทดลอง (Test tube)

11.1.4. ตู้บ่มเพาะเชื้อ

11.1.5. หม้อนึ่งความดัน

11.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

11.2.1. Peptone water ความเข้มข้นร้อยละ 0.1

11.2.2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA)

11.2.3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA)

11.3 วิธีการเตรียมตัวอย่าง

11.3.1. เตรียมตัวอย่างโดยใช้ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วดูดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มี peptone water ร้อยละ 0.1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาทีแล้ว ปริมาตร 9 มิลลิลิตร และนำไปเขย่าโดยเครื่อง vortex จะได้อาหารที่เจือจาง 1: 10 หรือ (10^{-1})

11.3.2. ปิเปตดูดตัวอย่างที่เจือจาง 10^{-1} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มี peptone water ร้อยละ 0.1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาทีแล้ว ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันโดยเครื่อง vortex และจะได้อาหารที่เจือจาง 10^{-2} ทำอย่างนี้เรื่อยไปจนถึง10^{-3}

11.4 การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

11.4.1. ใช้ปิเปตที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ดูดสารละลายของตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง 10^{-1} - 10^{-3} ลงในจานเพาะเชื้อจานละ 1 มิลลิลิตร ระดับเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูดจากความเข้มข้นต่ำสุด

11.4.2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และ PDA ที่หลอมเหลวลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่างลงในจานละ 15-20 มิลลิลิตร ให้เสร็จภายในเวลา 1-5 นาที

11.4.3. หมุนจานเชื้อเบาๆ สลับไปมาตามเข็มและทวนเข็มนาฬิกา เพื่อให้เชื้อกระจายทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อ ระวังอย่าให้อาหารกระจายออกมาที่ขอบของจานเพาะเชื้อ จากนั้นวางทิ้งไว้จนอาหารวุ้นแข็งตัว

11.5 การบ่มเชื้อ

คว่ำจานเพาะอาหารเลี้ยงเชื้อลง และบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส บ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

11.6 การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

การนับจำนวนโคโลนี ให้เลือกเฉพาะจานที่มีโคโลนีเจริญอยู่ประมาณ 30 – 300 โคโลนี จากความเจือจางเดียว ถ้าทำ 2 ซ้ำ รวมจำนวนโคโลนีทั้ง 2 จานเพาะเชื้อเข้าด้วยกัน แล้วหารด้วย 2 จะเท่ากับจำนวนเฉลี่ยของโคโลนีที่นับได้ต่อ 1 ความเจือจางต่อจาน รายงานผลเป็น CFU/mL. จากสูตร

CFU/mL = Average no. of colonies × Dilution factor

ภาคผนวก จ

ตารางผลการทดลอง

ตารางที่ จ-1 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช ในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่าพีเอช			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ -20 °C	
	0% RBO^{NS}	10% RBO^{NS}	0% RBO^{NS}	10% RBO^{NS}
0	6.37±0.01^{b}	6.36±0.01^{c}	6.37±0.01^{c}	6.36±0.01^{d}
15	6.37±0.01^{b}	6.37±0.01^{bc}	6.36±0.01^{bc}	6.36±0.01^{d}
30	6.38±0.01^{ab}	6.37±0.01^{bc}	6.37±0.01^{bc}	6.37±0.01^{cd}
45	6.38±0.00^{ab}	6.38±0.01^{ab}	6.38±0.01^{ab}	6.38±0.01^{bc}
60	6.39±0.01^{a}	6.38±0.02^{abc}	6.38±0.01^{ab}	6.38±0.01^{b}
75	6.39±0.00^{a}	6.38±0.01^{abc}	6.38±0.02^{a}	6.39±0.01^{b}
90	6.39±0.02^{a}	6.39±0.02^{a}	6.39±0.02^{a}	6.40±0.02^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ จ-2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณร้อยละของแข็งทั้งหมด ในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ร้อยละปริมาณของแข็งทั้งหมด			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ -20 °C	
	0% RBO	10% RBO	0% RBO	10% RBO
0	21.85±0.35^{Bc}	22.59±1.20^{Ad}	21.34±0.19^{Cd}	23.49±0.42^{Ac}
15	22.77±0.20^{Bab}	23.63±0.09^{Abc}	22.01±0.08^{Cabc}	23.55±0.72^{Ab}
30	22.94±0.18^{Ba}	23.55±0.25^{Ac}	21.80±0.02^{Cc}	23.68±1.19^{Aab}
45	22.56±0.07^{Bab}	24.34±0.19^{Aab}	22.15±0.06^{Ca}	23.44±0.29^{Ac}
60	22.86±0.06^{Bab}	24.32±0.16^{Aab}	22.05±0.13^{Cab}	23.90±0.37^{Aa}
75	22.45±0.26^{Bb}	24.43±0.61^{Aa}	21.91±0.27^{Cbc}	23.18±0.35^{Ad}
90	22.71±0.70^{Bab}	23.88±0.54^{Aabc}	21.90±0.24^{Cbc}	23.90±0.42^{Aa}

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ จ-3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (°Brix)			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ -20 °C	
	0% RBO^{ns}	10% RBO^{ns}	0% RBO^{ns}	10% RBO^{ns}
0	22.1±0.11^{A}	21.2±0.05^{B}	22.1±0.10^{A}	21.1±0.10^{B}
15	22.1±0.11^{A}	21.2±0.05^{B}	22.1±0.10^{A}	21.1±0.10^{B}
30	22.1±0.11^{A}	21.2±0.05^{B}	22.1±0.10^{A}	21.1±0.10^{B}
45	22.1±0.11^{A}	21.2±0.05^{B}	22.1±0.10^{A}	21.1±0.10^{B}
60	22.1±0.11^{A}	21.2±0.05^{B}	22.1±0.10^{A}	21.1±0.10^{B}
75	22.1±0.11^{A}	21.2±0.05^{B}	22.1±0.10^{A}	21.1±0.10^{B}
90	22.1±0.11^{A}	21.2±0.05^{B}	22.1±0.10^{A}	21.1±0.10^{B}

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ จ-4 ตารางที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	Phenolic (gallic acid equil mg./mL.)			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ -20 °C	
	0% RBO	10% RBO	0% RBO	10% RBO
0	0.153±0.00^{Ca}	0.207±0.01^{Aa}	0.168±0.00^{Ba}	0.195±0.00^{Aa}
15	0.153±0.01^{Ba}	0.196±0.00^{Aa}	0.159±0.01^{Bb}	0.194±0.00^{Aa}
30	0.145±0.00^{Bb}	0.194±0.00^{Aa}	0.143±0.00^{Bc}	0.194±0.00^{Aa}
45	0.134±0.00^{Bc}	0.170±0.00^{Ab}	0.137±0.00^{Bcd}	0.183±0.00^{Ab}
60	0.136±0.00^{Cc}	0.172±0.01^{Ab}	0.137±0.00^{Ccd}	0.167±0.01^{Bc}
75	0.124±0.00^{Cd}	0.169±0.00^{Ab}	0.133±0.01^{Bd}	0.170±0.01^{Ad}
90	0.110±0.00^{De}	0.167±0.01^{Bd}	0.126±0.01^{Ce}	0.170±0.01^{Ad}

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ จ-5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอนโทไซยานิน ในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	Antocyanin (cyanicin-3-glucoside mg./l)			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ -20 °C	
	0% RBO	10% RBO	0% RBO	10% RBO
0	75.68 ± 2.30^{Ba}	82.40 ± 1.25^{Aa}	74.16 ± 0.48^{Ba}	83.15 ± 1.39^{Aa}
15	67.60 ± 1.12^{Cc}	78.03 ± 1.08^{Ab}	70.19 ± 1.11^{Bb}	79.79 ± 0.92^{Ab}
30	64.86 ± 2.97^{Dd}	75.88 ± 2.09^{Bb}	67.67 ± 2.35^{Cbc}	79.88 ± 1.27^{Ab}
45	68.40 ± 0.64^{Cbc}	75.78 ± 1.72^{Bb}	67.70 ± 1.16^{Cbc}	78.33 ± 1.73^{Abc}
60	70.08 ± 2.44^{Cb}	72.79 ± 3.54^{Bc}	65.87 ± 3.79^{Dcd}	77.03 ± 2.15^{Ac}
75	61.30 ± 0.74^{Ce}	71.10 ± 3.11^{Bd}	62.37 ± 1.98^{Cde}	76.10 ± 3.77^{Ade}
90	58.62 ± 1.66^{Df}	71.47 ± 1.04^{Bd}	64.72 ± 3.29^{Ce}	74.27 ± 2.82^{Ae}

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ จ-6 การเปลี่ยนแปลงค่าสี L* ในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่าสี L*			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ -20 °C	
	0% RBO	10% RBO	0% RBO	10% RBO
0	50.31 ± 0.18^{Aa}	43.43 ± 1.37^{Bc}	50.13 ± 0.29^{Ab}	41.60 ± 1.59^{Cbc}
15	50.38 ± 0.16^{Ba}	45.86 ± 1.36^{Cab}	51.93 ± 1.84^{Aa}	44.80 ± 1.30^{Ca}
30	48.81 ± 1.43^{Ab}	44.52 ± 0.67^{Bbc}	48.81 ± 1.43^{Abc}	42.28 ± 0.81^{Cb}
45	50.28 ± 0.14^{Ba}	47.16 ± 2.23^{Ca}	52.27 ± 2.44^{Aa}	40.52 ± 0.26^{Dcd}
60	45.76 ± 0.29^{Bd}	40.08 ± 0.33^{Cd}	46.03 ± 1.10^{Ad}	40.03 ± 0.80^{Cd}
75	48.35 ± 1.36^{Ab}	38.45 ± 0.74^{Be}	48.04 ± 1.50^{Ac}	39.79 ± 1.28^{Bd}
90	47.04 ± 0.67^{Ac}	39.62 ± 0.11^{Bde}	47.86 ± 1.11^{Ac}	40.70 ± 0.30^{Bcd}

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ จ-7 การเปลี่ยนแปลงค่าสี a* ในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่าสี a*			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ -20 °C	
	0% RBO	10% RBO	0% RBO	10% RBO
0	10.23 ± 0.56^{Aab}	7.85 ± 0.39^{Bb}	10.06 ± 0.25^{Ab}	8.08 ± 0.93^{Bb}
15	9.82 ± 0.82^{Aab}	8.05 ± 0.27^{Bb}	10.05 ± 0.24^{Ab}	8.15 ± 0.35^{Bb}
30	9.89 ± 0.60^{Aab}	8.01 ± 0.48^{Bb}	10.08 ± 0.54^{Ab}	7.93 ± 0.21^{Bb}
45	9.73 ± 0.40^{Ab}	7.96 ± 0.35^{Bb}	10.03 ± 0.38^{Ab}	7.85 ± 0.27^{Bb}
60	10.11 ± 0.48^{Aa}	8.34 ± 0.67^{Bab}	10.02 ± 0.43^{Ab}	8.46 ± 0.35^{Ba}
75	9.89 ± 0.27^{Aab}	8.58 ± 0.15^{Ba}	10.25 ± 0.52^{Aab}	8.38 ± 0.61^{Ba}
90	10.47 ± 0.21^{Aab}	8.62 ± 0.34^{Ba}	10.37 ± 0.40^{Aab}	8.42 ± 0.45^{Ba}

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ จ-8 การเปลี่ยนแปลงค่าสี b* ในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ค่าสี b*			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ -20 °C	
	0% RBO	10% RBO	0% RBO	10% RBO
0	2.87 ± 0.37^{Bc}	1.96 ± 0.13^{Cc}	3.23 ± 0.09^{Ac}	2.12 ± 0.09^{Cb}
15	3.17 ± 0.32^{Bbc}	2.17 ± 0.30^{Cbc}	3.23 ± 0.11^{Ac}	2.17 ± 0.42^{Cb}
30	3.09 ± 0.27^{Bbc}	2.08 ± 0.18^{Dbc}	3.38 ± 0.15^{Abc}	2.41 ± 0.17^{Cab}
45	3.17 ± 0.12^{Bbc}	2.20 ± 0.09^{Dbc}	3.50 ± 0.26^{Ab}	2.33 ± 0.16^{Cab}
60	3.24 ± 0.15^{Bb}	2.35 ± 0.26^{Dab}	3.48 ± 0.22^{Ab}	2.50 ± 0.13^{Ca}
75	3.32 ± 0.30^{Bab}	2.15 ± 0.25^{Cbc}	3.56 ± 0.28^{Ab}	2.20 ± 0.20^{Cab}
90	3.56 ± 0.19^{Ba}	2.48 ± 0.21^{Ca}	3.78 ± 0.06^{Aa}	2.40 ± 0.26^{Cab}

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ จ-9 การเปลี่ยนแปลงค่าความแน่นแข็ง ในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ความแน่นแข็ง (กิโลกรัม)			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ -20 °C	
	0% RBO^{ns}	10% RBO^{ns}	0% RBO^{ns}	10% RBO^{ns}
0	2.828±0.13^{B}	3.381±0.17^{A}	2.781±0.17^{B}	2.328±0.15^{C}
15	2.780±0.13^{B}	3.305±0.17^{A}	2.721±0.10^{B}	2.331±0.23^{C}
30	2.832±0.08^{B}	3.365±0.06^{A}	2.696±0.16^{C}	2.326±0.10^{D}
45	2.660±0.12^{B}	3.288±0.17^{A}	2.626±0.14^{B}	2.249±0.13^{C}
60	2.724±0.18^{B}	3.268±0.16^{A}	2.742±0.19^{B}	2.237±0.14^{C}
75	2.811±0.14^{B}	3.342±0.26^{A}	2.666±0.13^{C}	2.202±0.13^{D}
90	2.667±0.08^{B}	3.311±0.21^{A}	2.678±0.16^{B}	2.373±0.08^{C}

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ จ-10 การเปลี่ยนแปลงอัตราการละลาย ในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	อัตราการละลาย (กรัม/นาที)			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ -20 °C	
	0% RBO	10% RBO	0% RBO	10% RBO
0	0.169±0.00^{Ca}	0.316±0.03^{Aa}	0.214±0.01^{Ba}	0.312±0.02^{Aab}
15	0.171±0.00^{Da}	0.295±0.00^{Bab}	0.203±0.00^{Cb}	0.333±0.03^{Aa}
30	0.159±0.01^{Cb}	0.269±0.00^{Bbc}	0.145±0.00^{Dcd}	0.289±0.01^{Abc}
45	0.149±0.01^{Bc}	0.273±0.00^{Abc}	0.152±0.01^{Bc}	0.278±0.03^{Acd}
60	0.130±0.01^{Cde}	0.257±0.05^{Bcd}	0.122±0.00^{Ce}	0.285±0.01^{Acd}
75	0.136±0.01^{Cd}	0.254±0.01^{Bcd}	0.126±0.00^{De}	0.263±0.02^{Ade}
90	0.124±0.01^{De}	0.233±0.00^{Bd}	0.138±0.01^{Cd}	0.247±0.02^{Ae}

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ จ-11 การเปลี่ยนแปลงค่าร้อยละการยับยั้ง DPPH ในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	DPPH (%Inhibiting)			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ -20 °C	
	0% RBO	10% RBO	0% RBO	10% RBO
0	59.01 ± 4.13^{Aa}	56.54 ± 1.10^{Ba}	60.77 ± 1.84^{Aa}	57.77 ± 1.72^{Ba}
15	56.89 ± 8.18^{Aab}	53.34 ± 5.37^{Bab}	57.71 ± 6.97^{Aab}	54.76 ± 4.43^{Bab}
30	52.57 ± 4.90^{NScd}	50.30 ± 1.68^{NSb}	54.64 ± 6.22^{NSbc}	51.74 ± 1.98^{NSbc}
45	54.15 ± 1.31^{Abc}	50.19 ± 1.49^{ABb}	52.94 ± 2.38^{Abc}	47.78 ± 1.22^{Bc}
60	50.87 ± 1.64^{Ad}	41.47 ± 4.33^{Bc}	50.25 ± 1.19^{Ac}	41.71 ± 1.58^{Bc}
75	39.43 ± 4.00^{Be}	44.44 ± 3.54^{Ac}	44.03 ± 2.51^{Ad}	38.91 ± 6.75^{Bd}
90	37.79 ± 2.02^{Ce}	44.62 ± 3.58^{Bc}	39.86 ± 1.22^{Cd}	48.27 ± 0.80^{Ad}

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ จ-12 การเปลี่ยนแปลงค่าร้อยละการยับยั้ง Metal Chelating ในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	Metal Chelating (%Inhibiting)			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ -20 °C	
	0% RBO	10% RBO	0% RBO	10% RBO
0	79.94 ± 0.60^{Aa}	60.12 ± 3.04^{Ca}	69.74 ± 1.87^{Ba}	61.08 ± 2.66^{Ca}
15	78.13 ± 0.55^{Ab}	52.15 ± 1.57^{Cb}	69.81 ± 3.36^{Ba}	51.74 ± 1.18^{Cb}
30	73.09 ± 1.70^{Ac}	39.39 ± 2.07^{Bc}	71.11 ± 3.91^{Aa}	40.94 ± 2.80^{Bcd}
45	72.82 ± 1.55^{Ac}	42.11 ± 7.93^{Bc}	68.58 ± 2.95^{Aab}	44.35 ± 2.66^{Bc}
60	65.67 ± 1.25^{Ad}	43.33 ± 5.11^{Bc}	64.74 ± 2.46^{Abc}	44.36 ± 4.38^{Bc}
75	64.09 ± 5.46^{Ad}	41.03 ± 5.82^{Cc}	59.86 ± 5.86^{Bd}	37.80 ± 4.10^{Dd}
90	56.44 ± 3.94^{Be}	41.85 ± 0.77^{Cc}	63.58 ± 3.12^{Acd}	37.47 ± 1.29^{Dd}

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ จ-13 การเปลี่ยนแปลงค่า Reducing Power ในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	Reducing Power (gallic acid equil mg./mL.)			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ -20 °C	
	0% RBO	10% RBO	0% RBO	10% RBO
0	0.098 ± 0.001^{Ba}	0.102 ± 0.002^{Aa}	0.095 ± 0.001^{Ba}	0.104 ± 0.001^{Aa}
15	0.098 ± 0.001^{Ba}	0.101 ± 0.001^{Aa}	0.094 ± 0.001^{Ba}	0.101 ± 0.001^{Ab}
30	0.095 ± 0.001^{Bb}	0.103 ± 0.001^{Aa}	0.095 ± 0.001^{Ba}	0.101 ± 0.001^{Ab}
45	0.092 ± 0.001^{Bc}	0.096 ± 0.002^{Ab}	0.090 ± 0.001^{Bb}	0.098 ± 0.001^{Ac}
60	0.087 ± 0.001^{Bd}	0.096 ± 0.002^{Ab}	0.092 ± 0.001^{Ab}	0.097 ± 0.001^{Ac}
75	0.086 ± 0.001^{Bd}	0.093 ± 0.002^{Ac}	0.083 ± 0.001^{Bd}	0.096 ± 0.001^{Ad}
90	0.085 ± 0.001^{Bd}	0.090 ± 0.001^{Ad}	0.087 ± 0.001^{Ac}	0.090 ± 0.001^{Ae}

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ จ-14 คะแนนการยอมรับด้านสีของผู้ทดสอบชิมในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	คะแนนความชอบด้านสี			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ-20 °C	
	$0\%\ RBO^{NSns}$	$10\%RBO^{NSns}$	$0\%\ RBO^{NSns}$	$10\%RBO^{NSns}$
0	6.27±1.19	6.70±0.71	6.39±1.12	6.73±1.14
15	6.27±1.65	6.73±1.31	6.37±1.66	6.77±1.38
30	6.27±1.01	6.70±1.07	6.37±1.18	6.73±0.91
45	6.26±1.65	6.73±1.23	6.37±1.31	6.77±1.27
60	6.26±1.07	6.72±1.04	6.38±1.03	6.73±1.22
75	6.25±1.19	6.70±1.58	6.37±0.89	6.73±1.10
90	6.27±1.26	6.70±1.05	6.37±1.61	6.77±0.97

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ จ-15 คะแนนการยอมรับด้านลักษณะปรากฏของผู้ทดสอบชิมในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	คะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ-20 °C	
	0% RBO^{NSns}	10%RBO^{NSns}	0% RBO^{NSns}	10%RBO^{NSns}
0	6.17±1.31	7.00±1.01	6.10±1.52	6.40±1.19
15	6.20±1.32	7.00±1.03	6.10±1.59	6.37±0.85
30	6.20±1.33	7.00±1.48	6.10±1.77	6.40±1.63
45	6.18±1.63	7.00±1.38	6.09±1.57	6.40±1.28
60	6.18±1.14	6.97±1.27	6.09±1.25	6.38±1.22
75	6.16±0.87	6.98±1.18	6.10±1.04	6.39±1.06
90	6.17±1.14	6.99±1.16	6.08±1.49	6.39±0.98

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ จ-16 คะแนนการยอมรับด้านความแน่นแข็งของผู้ทดสอบชิมในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	คะแนนความชอบด้านความแน่นแข็ง			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ-20 °C	
	0% RBO^{NSns}	10%RBO^{NSns}	0% RBO^{NSns}	10%RBO^{NSns}
0	6.27±1.26	6.38±1.16	6.30±1.56	7.05±1.29
15	6.30±1.36	6.35±1.06	6.33±1.46	7.03±1.13
30	6.30±1.39	6.35±1.60	6.32±1.68	7.03±1.55
45	6.28±1.39	6.37±1.33	6.30±1.26	7.00±1.49
60	6.30±0.91	6.37±1.35	6.33±1.22	7.01±1.01
75	6.28±0.93	6.38±1.57	6.30±1.00	7.03±1.52
90	6.27±1.41	6.37±1.19	6.32±1.16	7.02±1.48

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ จ-17 คะแนนการยอมรับด้านความเรียบเนียนของผู้ทดสอบชิมในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	คะแนนความชอบด้านความเรียบเนียน			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ-20 °C	
	0% RBO^{NSns}	10%RBO^{NSns}	0% RBO^{NSns}	10%RBO^{NSns}
0	6.14±1.35	6.65±1.24	6.45±1.64	6.77±1.07
15	6.18±1.30	6.67±0.99	6.45±1.38	6.76±1.11
30	6.13±1.59	6.67±2.04	6.43±1.93	6.77±1.61
45	6.10±1.83	6.65±1.53	6.40±1.91	6.73±1.72
60	6.18±1.19	6.65±1.26	6.40±1.14	6.77±1.11
75	6.13±1.13	6.67±1.15	6.43±0.90	6.73±1.14
90	6.15±1.36	6.66±1.66	6.40±1.35	6.73±1.05

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ จ-18 คะแนนการยอมรับด้านรสหวานของผู้ทดสอบชิมในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	คะแนนความชอบด้านรสหวาน			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ-20 °C	
	0% RBO^{NSns}	10%RBO^{NSns}	0% RBO^{NSns}	10%RBO^{NSns}
0	6.62±1.00	6.59±1.12	6.62±1.38	6.61±1.07
15	6.62±1.06	6.63±1.35	6.63±1.15	6.63±0.87
30	6.61±1.25	6.63±1.01	6.65±1.32	6.63±1.30
45	6.63±1.65	6.63±1.40	6.63±1.53	6.62±1.23
60	6.67±0.97	6.63±0.99	6.65±0.94	6.63±1.08
75	6.63±0.95	6.63±1.10	6.65±0.78	6.62±1.10
90	6.66±1.37	6.63±1.36	6.65±1.27	6.63±0.98

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ จ-19 คะแนนการยอมรับด้านกลิ่นรสไอศกรีมของผู้ทดสอบชิมในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	คะแนนความชอบด้านกลิ่นรสไอศกรีม			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ-20 °C	
	0% RBO^{NSns}	10%RBO^{NSns}	0% RBO^{NSns}	10%RBO^{NSns}
0	6.80±1.28	6.27±0.99	6.55±1.33	6.63±0.97
15	6.83±1.30	6.27±1.01	6.57±1.17	6.60±0.62
30	6.83±1.02	6.27±1.48	6.57±1.57	6.63±1.10
45	6.83±1.36	6.27±1.39	6.57±1.25	6.63±1.33
60	6.83±1.12	6.25±1.16	6.53±0.87	6.63±0.91
75	6.80±1.02	6.25±1.11	6.53±1.01	6.67±0.96
90	6.84±1.37	6.25±1.26	6.53±1.20	6.63±1.01

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
Ns หมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ จ-20 คะแนนการยอมรับด้านความชอบโดยรวมของผู้ทดสอบชิมในไอศกรีมดัดแปลงข้าวก่ำที่เติมน้ำมันรำข้าวก่ำ (ร้อยละ 0 และ 10) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 และ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 15, 30, 45, 60 และ 90 วัน

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	คะแนนความชอบด้านความชอบโดยรวม			
	อุณหภูมิการเก็บ-10 °C		อุณหภูมิการเก็บ-20 °C	
	0% RBO^{NSns}	10%RBO^{NSns}	0% RBO^{NSns}	10%RBO^{NSns}
0	6.40±0.88	6.52±1.03	6.62±1.48	6.95±0.86
15	6.43±1.25	6.53±0.90	6.63±1.25	7.03±0.84
30	6.43±1.31	6.52±1.63	6.65±1.88	6.95±1.48
45	6.47±1.57	6.53±1.51	6.60±1.44	6.93±1.26
60	6.47±1.14	6.56±0.97	6.63±0.91	7.05±1.11
75	6.43±1.01	6.53±1.23	6.60±0.93	6.99±1.16
90	6.47±1.17	6.53±1.23	6.63±1.19	7.02±0.85

หมายเหตุ: ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
Nsหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p > 0.05$)

ภาคผนวก ฉ

ข้อกำหนดและมาตรฐานตามกฎหมาย

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข
(ฉบับที่ 222) พ.ศ.2544
เรื่อง ไอศกรีม

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ไอศกรีม

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา 5 และมาตรา 6(1)(2)(4)(5)(6)(7) และ (10) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 อันเป็นพระราชบัญญัติที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการ
จำกัดสิทธิและ เสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา 29 ประกอบกับมาตรา 35 มาตรา 48 และมาตรา 50
ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทยบัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่ง
กฎหมาย รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ 1 ให้ยกเลิก

(1) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 33 (พ.ศ.2522) เรื่อง กำหนดไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต ลงวันที่ 13 กันยายน พ.ศ.2522

(2) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 101 (พ.ศ.2529) เรื่อง กำหนดไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 7 กรกฎาคม พ.ศ.2529

ข้อ 2 ให้ไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ

ข้อ 3 ไอศกรีมตามข้อ 2 แบ่งเป็น 5 ชนิด

(1) ไอศกรีมนม ได้แก่ ไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้นมหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนม

(2) ไอศกรีมดัดแปลง ได้แก่ ไอศกรีมตาม (1) ที่ทำขึ้นโดยใช้ไขมันชนิดอื่นแทนมันเนยทั้งหมดหรือแต่บางส่วน หรือไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันแต่ผลิตภัณฑ์นั้นมิใช่ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนม

(3) ไอศกรีมผสม ได้แก่ ไอศกรีมตาม (1) หรือ (2) แล้วแต่กรณี ซึ่งมีผลไม้หรือวัตถุอื่นที่
เป็นอาหารเป็นส่วนผสมอยู่ด้วย

(4) ไอศกรีมตาม (1) (2) หรือ (3) ชนิดเหลว หรือแห้ง หรือผง

(5) ไอศกรีมหวานเย็น ได้แก่ ไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้น้ำและน้ำตาล หรืออาจมีวัตถุอื่นที่เป็นอาหารเป็นส่วนผสมอยู่ด้วย

ไอศกรีมดังกล่าวอาจใส่วัตถุแต่งกลิ่น รส และสีด้วยก็ได้

ข้อ 4 ไอศกรีมทุกชนิด ยกเว้นไอศกรีมตามข้อ 3(4) ต้องผ่านกรรมวิธีตามลำดับดังต่อไปนี้

(1) การผ่านความร้อน ต้องผ่านกรรมวิธีหนึ่งวิธีใด ดังนี้

(1.1) ทำให้ร้อนขึ้นถึงอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 68.5 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า 30 นาที หรือ

(1.2) ทำให้ร้อนขึ้นถึงอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 80 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า 25 วินาที และจะต้องมีเครื่องวัดอุณหภูมิพร้อมด้วยเครื่องบันทึกอัตโนมัติแสดงอุณหภูมิเวลา ที่ใช้จริง หรือ

(1.3) ทำให้ร้อนโดยกรรมวิธีอื่นตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเห็นชอบด้วย

(2) ทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมินี้

(3) ปั่น กวน หรือผสม แล้วแต่กรณี และทำให้เยือกแข็งที่อุณหภูมิไม่สูงกว่า –2.2 องศาเซลเซียส ก่อนบรรจุลงในภาชนะบรรจุเพื่อจำหน่าย และต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิไม่สูงกว่า –2.2 องศา
เซลเซียสนี้จนกว่าจะจำหน่าย

ข้อ 5 ไอศกรีม ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

(1) ไอศกรีมนม ต้องมีมันเนยเป็นส่วนผสมไม่น้อยกว่าร้อยละ 5 ของน้ำหนัก และมีธาตุน้ำนมไม่รวมมันเนยไม่น้อยกว่าร้อยละ 7.5 ของน้ำหนัก

(2) ไอศกรีมดัดแปลง ต้องมีไขมันทั้งหมดไม่น้อยกว่าร้อยละ 5 ของน้ำหนัก

(3) ไอศกรีมผสม ต้องมีมาตรฐานเช่นเดียวกับ (1) หรือ (2) แล้วแต่กรณี ทั้งนี้โดยไม่นับรวมน้ำหนักของผลไม้หรือวัตถุที่เป็นอาหารอื่นผสมอยู่

(4) ไอศกรีมหวานเย็นและไอศกรีมตามข้อ 3(1)(2) หรือ (3) ต้อง

(4.1) ไม่มีกลิ่นหืน

(4.2) ใช้วัตถุที่ให้ความหวานแทนน้ำตาลหรือใช้ร่วมกับน้ำตาล นอกจากการใช้น้ำตาลได้โดยให้ใช้วัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาลได้ตามมาตรฐานอาหาร เอฟ เอ โอ/ดับบลิว เอช โอ, โคเด็กซ์ (Joint FAO/WHO Codex) ที่ว่าด้วยเรื่องวัตถุเจือปนอาหารและฉบับที่ได้แก้ไขเพิ่มเติม

ในกรณีที่ไม่มีมาตรฐานกำหนดไว้ตามวรรคหนึ่งให้สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

(4.3) ไม่มีวัตถุกันเสีย

(4.4) มีบักเตรีได้ไม่เกิน 600,000 ในอาหาร 1 กรัม

(4.5) ตรวจไม่พบบักเตรีชนิด อี.โคไล (*Escherichia coli*) ในอาหาร 0.01 กรัม

(4.6) ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

(4.7) ไม่มีสารเป็นพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ

(5) ไอศกรีมชนิดเหลวต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตาม (1) (2) หรือ (3) แล้วแต่กรณี และต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตาม (4) ด้วย

ข้อ 6 ไอศกรีมชนิดแห้ง หรือผง ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

(1) ไม่มีกลิ่นหืน

(2) มีกลิ่นตามลักษณะเฉพาะของไอศกรีมชนิดนั้น

(3) มีลักษณะไม่เกาะเป็นก้อน ผิดไปจากลักษณะที่ทำขึ้น

(4) ใช้วัตถุที่ให้ความหวานแทนน้ำตาลหรือใช้ร่วมกับน้ำตาล นอกจากการใช้น้ำตาลได้โดยให้ใช้วัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาลได้ตามมาตรฐานอาหาร เอฟ เอ โอ/ดับบลิว เอช โอ, โคเด็กซ์(Joint FAO/WHO Codex) ที่ว่าด้วยเรื่องวัตถุเจือปนอาหารและฉบับที่ได้แก้ไขเพิ่มเติม ในกรณีที่ไม่มีมาตรฐานกำหนดไว้ตามวรรคหนึ่งให้สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

(5) ไม่มีวัตถุกันเสีย

(6) มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 5 ของน้ำหนัก

(7) มีบักเตรีได้ไม่เกิน 100,000 ในอาหาร 1 กรัม

(8) ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

(9) ไม่มีสารเป็นพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ

ข้อ 7 การใช้วัตถุเจือปนอาหาร ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องวัตถุเจือปนอาหาร

ข้อ 8 ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าไอศกรีมเพื่อจำหน่าย ต้องปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ว่าด้วยเรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร

ข้อ 9 การใช้ภาชนะบรรจุไอศกรีม ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง

ภาชนะบรรจุ

ข้อ 10 การแสดงฉลากของไอศกรีม ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลาก

ข้อ 11 ประกาศฉบับนี้

(1) ไม่กระทบกระเทือนถึงใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับอาหาร ซึ่งออกให้ตามประกาศ
กระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 33 (พ.ศ.2522) เรื่อง กำหนดไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและ
กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต ลงวันที่ 13 กันยายน พ.ศ.2522 แก้ไขเพิ่มเติมโดย
ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 101 (พ.ศ.2529) เรื่อง กำหนดไอศกรีมเป็นอาหารควบคุม
เฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 7 กรกฎาคม พ.ศ.2529
ก่อนประกาศนี้ใช้บังคับยังคงใช้ได้ต่อไป

(2) ให้ใบสำคัญการใช้ฉลากอาหาร ซึ่งออกให้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 68 (พ.ศ.2525) เรื่อง ฉลาก ลงวันที่ 29 เมษายน พ.ศ.2525 แก้ไขเพิ่มเติมโดยประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 95 (พ.ศ.2528) เรื่อง ฉลาก (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 30 กันยายน พ.ศ.2528 และฉบับที่เกี่ยวข้องก่อนประกาศนี้ใช้บังคับยังคงใช้ต่อไปได้ไม่เกินสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ"

ข้อ 12 ให้ผู้ผลิต ผู้นำเข้าไอศกรีมที่ได้รับอนุญาตอยู่ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ ยื่นคำขอรับเลขสารบบอาหารภายในหนึ่งปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ เมื่อได้ยื่นคำขอดังกล่าวแล้วให้ได้รับการผ่อนผันการปฏิบัติตามข้อ 8 ภายในสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ และให้คงใช้
ฉลากเดิมที่เหลืออยู่ต่อไป จนกว่าจะหมด แต่ต้องไม่เกินสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 13 ประกาศนี้ ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันที่ 24 กรกฎาคม 2544 เป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ 24 กรกฎาคม พ.ศ.2544

ลงชื่อ สุดารัตน์ เกยุราพันธุ์

(นางสุดารัตน์ เกยุราพันธุ์)

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข