ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมสารละลายสำหรับการสกัด malonaldehyde ในหมูหวานกึ่งแห้งพร้อมรับประทาน

1.1 0.069 M 2-Thiobarbituric acid (1000 มิลลิลิตร)

2-Thiobarbituric acid	10.00	กรัม
conc. HCL	20.00	มิลลิกรัม
90% Acetic acid	1000	มิลลิลิตร

ทำการละลาย 2-Thiobarbituric acid 10.00 กรัม ใน 90% Acetic acid 600 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยให้ความร้อนพร้อมทั้งใช้แท่ง magnetic เพื่อช่วยในการกระจายตัวของสาร จากนั้นเติม conc. HCL 20.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย 90% Acetic acid ให้ครบ 1000 มิลลิลิตรด้วยขวดปรับปริมาตร เก็บในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.2 1 M Potassium dihydrogen orthophosphate (KH_2PO_4) (100 มิลลิลิตร)

Potassium dihydrogen orthophosphate (KH_2PO_4)	13.609	กรัม
Distilled water	100	มิลลิลิตร

ทำการละลาย KH_2PO_4 13.609 กรัม ใน Distilled water 70 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ครบ 100 มิลลิลิตร เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.3 50 mM Potassium phosphate (1000 มิลลิลิตร)

Dipotassium hydrogen orthophosphate (K_2HPO_4)	7.05	กรัม
Potassium dihydrogen orthophosphate (KH_2PO_4)	1.30	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ทำการละลาย K_2HPO_4 7.05 กรัม และ KH_2PO_4 1.30 กรัม ใน Distilled water 970 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH ให้เป็น 7.4 ด้วย 1 M KH_2PO_4 แล้วปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ครบ 1000 มิลลิลิตร เก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.4 4 N Hydrochloric acid (HCL) (250 มิลลิลิตร)

Hydrochloric acid	82.81	มิลลิลิตร
Distilled water		

เท Distilled water ลงในขวดปรับปริมาตร จากนั้นค่อยๆ เติม HCL 82.81 มิลลิลิตร ลงไป แล้วปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ครบ 250 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.5 0.2% Butylated hydroxytoluene (BHT) (100 มิลลิลิตร)

Butylated hydroxytoluene	0.2	กรัม
Ethanol	100	มิลลิลิตร

ทำการละลาย Butylated hydroxytoluene 0.2 กรัม ใน Ethanol 70 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย Ethanol ให้ครบ 100 มิลลิลิตร ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งเมื่อใช้งาน

1.6 Stock MDA 100 mM 1,1,3,3-Tetraethoxypropane (TEP) (1000 มิลลิลิตร)

1,1,3,3-Tetraethoxypropane	24.47	ไมโครลิตร
HCL		
Distilled water		

ทำการผสม 1,1,3,3-Tetraethoxypropane 24.47 ไมโครลิตร ใน Distilled water 950 มิลลิลิตร แล้วเติม HCL 5-6 หยด แล้วปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ครบ 1000 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. การวิเคราะห์หาความเข้มข้น malonadehyde ในหมูหวานกึ่งแห้งพร้อมรับประทาน

2.1 วิธีการสกัด malonadehyde ในหมูหวานกึ่งแห้งพร้อมรับประทาน ด้วยเทคนิค TBARs test

1) นำตัวอย่างหมูหวานกึ่งแห้งพร้อมรับประทานมาบดให้ละเอียด จากนั้นสุ่มชั่งตัวอย่างละ 10 กรัม

2) เติม 50 mM Potassium phosphate 9 มิลลิลิตร BHT 1 มิลลิลิตรและน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง จากนั้นนำมา homogenized ด้วยเครื่อง homogenizer ที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 1 นาที ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน

3) นำ stock MDA มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 ไมโครโมลต่อไมโครลิตร มาเป็นตัวเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน (standard curve) จากนั้นนำไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่นโปรตีน

4) ก่อนกลั่นจะเติม 4N HCL 1.25 มิลลิลิตรและ anti-foaming agent 5-6 หยด

5) นำหลอดย่อยโปรตีนต่อเข้ากับเครื่องกลั่นโปรตีน กลั่นจนได้ของเหลวในขวดลูกชมพู่ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วปิดด้วยอลูมิเนียมฟอยด์

6) นำสารละลายที่กลั่นได้มาปริมาณ 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเกลียวแล้วเติม 0.069 M TBA 5 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร

7) นำมาต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 55 นาที โดยเขย่าทุก ๆ 5 นาที เพื่อเร่งให้เกิดปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์

8) เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดแล้ว นำออกจากอ่างควบคุมอุณหภูมิ แล้วนำไปทำให้เย็นลงทันทีในน้ำแข็ง แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 10 นาที

9) นำตัวอย่างไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร

10) คำนวณค่า TBARs Value

3. การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของ malonaldehyde (MDA)

ทำกราฟมาตรฐานของสารละลาย MDA ในหมูหวานกึ่งแห้งพร้อมรับประทาน โดยนำ stock MDA มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 ไมโครโมลต่อไมโครลิตร จากนั้นนำสารละลาย stock MDA ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานและคำนวณสมการถดถอย $y = ax + b$ โดยค่า y เป็นค่าการดูดกลืนแสง และค่า x เป็นค่าความเข้มข้นของสารละลาย stock MDA แล้วนำไปคำนวณค่า TBARs Value จากสูตร

$$\text{TBARs Value (mg MDA/ kg sample)} = \frac{(X \times 10 \times 72)}{\text{น้ำหนักเนื้อตัวอย่าง}}$$

เมื่อ X = ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร

10 = dilution

72 = น้ำหนักโมเลกุลของ MDA

4. การเตรียมสารสำหรับวิเคราะห์ DPPH

4.1 สารละลายมาตรฐาน 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman- 2-carboxylic acid (Trolox)

ชั่ง Trolox 0.0015 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 95% 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐาน Trolox ความเข้มข้น 60 μM

4.2 สารละลาย 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

ชั่ง DPPH 0.0078 กรัม ละลายในเมทานอล ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.2 มิลิโมลาร์

5. การเตรียมสารสำหรับวิเคราะห์การออกซิเดชันของไขมัน

5.1 เตรียมสารละลาย TCA-TBA-HCL

ชั่ง Trichloroacetic acid 15 กรัม และ 2 – Thiobarbituric acid (TBA) 0.375 กรัม ละลายด้วยสารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.25 โมลาร์ จากนั้นผสมสารละลายให้เข้ากัน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ข

การประเมินความพึงพอใจต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์

หมูบด

วันที่.....

ลำดับที่.....

<u>ตอนที่ 1</u> รายละเอียดของผู้ประเมิน

1.1 เพศ O ชาย O หญิง

1.2 กรุณาระบุช่วงอายุของท่าน

O ต่ำกว่า 20 ปี O 20 - 35 ปี O 36 - 50 ปี O สูงกว่า 50 ปี

1.3 รายได้ของท่านต่อเดือน O น้อยกว่า 5,000 บาท O 5,001 - 15,000 บาท

O 15,001 - 25,000 บาท O มากกว่า 25,000 บาท

1.4 อาชีพ O นักเรียน นักศึกษา O รับราชการ พนักงานของรัฐ

O บริษัทเอกชน O ทำงานส่วนตัว

O อื่น ๆ โปรดระบุ……..

คุณชอบรับประทานหมูบดหรือไม่

O ไม่ชอบมาก O ไม่ชอบ O ไม่ค่อยชอบ O เฉยๆ

O ค่อนข้างชอบ O ชอบ O ชอบมาก

คุณชอบรับประทานแฮมเบอร์เกอร์หรือไม่

O ไม่ชอบมาก O ไม่ชอบ O ไม่ค่อยชอบ O เฉยๆ

O ค่อนข้างชอบ O ชอบ O ชอบมาก

🍸 กรุณากลั้วปากด้วยน้ำดื่มก่อนชิมตัวอย่างแรก

🍸 ก่อนชิมตัวอย่างถัดไป กรุณาทานแครกเกอร์เล็กน้อย ตามด้วยการกลั้วปากด้วยน้ำดื่มอีกเล็กน้อย (ท่านสามารถบ้วนทิ้งลงในถ้วยสูงที่เตรียมไว้ให้)

<u>ตอนที่ 2</u> กรุณาให้คะแนนระดับความชอบของท่าน (จาก 1 ถึง 7 คะแนน) ที่มีต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ท่านกำลังทดสอบชิมทีละตัวอย่าง โดยกรอกคะแนนลงให้ตรงกับรหัสตัวอย่างในตารางด้านล่าง

คะแนน		ระดับความชอบ
7	=	ชอบมากที่สุด
6	=	ชอบมาก
5	=	ชอบ
4	=	เฉยๆ
3	=	ไม่ชอบ
2	=	ไม่ชอบมาก
1	=	ไม่ชอบมากที่สุด

ลักษณะของผลิตภัณฑ์	**รหัสผลิตภัณฑ์**		
สี			
กลิ่น			
เนื้อสัมผัส			
รสชาติ			
ความชอบโดยรวม			

ความคิดเห็นเพิ่มเติม

……

……

……ขอบคุณที่กรุณาสละเวลาอันมีค่า ☺

การประเมินความพึงพอใจต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์
หมูหวานกึ่งแห้งพร้อมรับประทาน

วันที่.....
ลำดับที่.....

<u>ตอนที่ 1</u> รายละเอียดของผู้ประเมิน

1.1 เพศ O ชาย O หญิง

1.2 กรุณาระบุช่วงอายุของท่าน

O ต่ำกว่า 20 ปี O 20-35 ปี O 36-50 ปี O สูงกว่า 50 ปี

1.3 รายได้ของท่านต่อเดือน O น้อยกว่า 5,000 บาท O 5,001-15,000 บาท

O 15,001-25,000 บาท O มากกว่า 25,000 บาท

1.4 อาชีพ O นักเรียน นักศึกษา O รับราชการ พนักงานของรัฐ

O บริษัทเอกชน O ทำงานส่วนตัว

O อื่น ๆ โปรดระบุ.....

คุณชอบรับประทานหมูหวานหรือไม่

O ไม่ชอบมาก O ไม่ชอบ O ไม่ค่อยชอบ O เฉยๆ

O ค่อนข้างชอบ O ชอบ O ชอบมาก

คุณชอบรับประทานหมูแดดเดียวหรือไม่

O ไม่ชอบมาก O ไม่ชอบ O ไม่ค่อยชอบ O เฉยๆ

O ค่อนข้างชอบ O ชอบ O ชอบมาก

🍸 กรุณากลั้วปากด้วยน้ำดื่มก่อนชิมตัวอย่างแรก

🍸 ก่อนชิมตัวอย่างถัดไป กรุณาทานแครกเกอร์เล็กน้อย ตามด้วยการกลั้วปากด้วยน้ำดื่มอีกเล็กน้อย (ท่านสามารถบ้วนทิ้งลงในถ้วยสูงที่เตรียมไว้ให้)

<u>ตอนที่ 2</u> กรุณาให้คะแนนระดับความชอบของท่าน (จาก 1 ถึง 7 คะแนน) ที่มีต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ท่านกำลังทดสอบชิมทีละตัวอย่าง โดยกรอกคะแนนลงให้ตรงกับรหัสตัวอย่างในตารางด้านล่าง

คะแนน		ระดับความชอบ
7	=	ชอบมากที่สุด
6	=	ชอบมาก
5	=	ชอบ
4	=	เฉยๆ
3	=	ไม่ชอบ
2	=	ไม่ชอบมาก
1	=	ไม่ชอบมากที่สุด

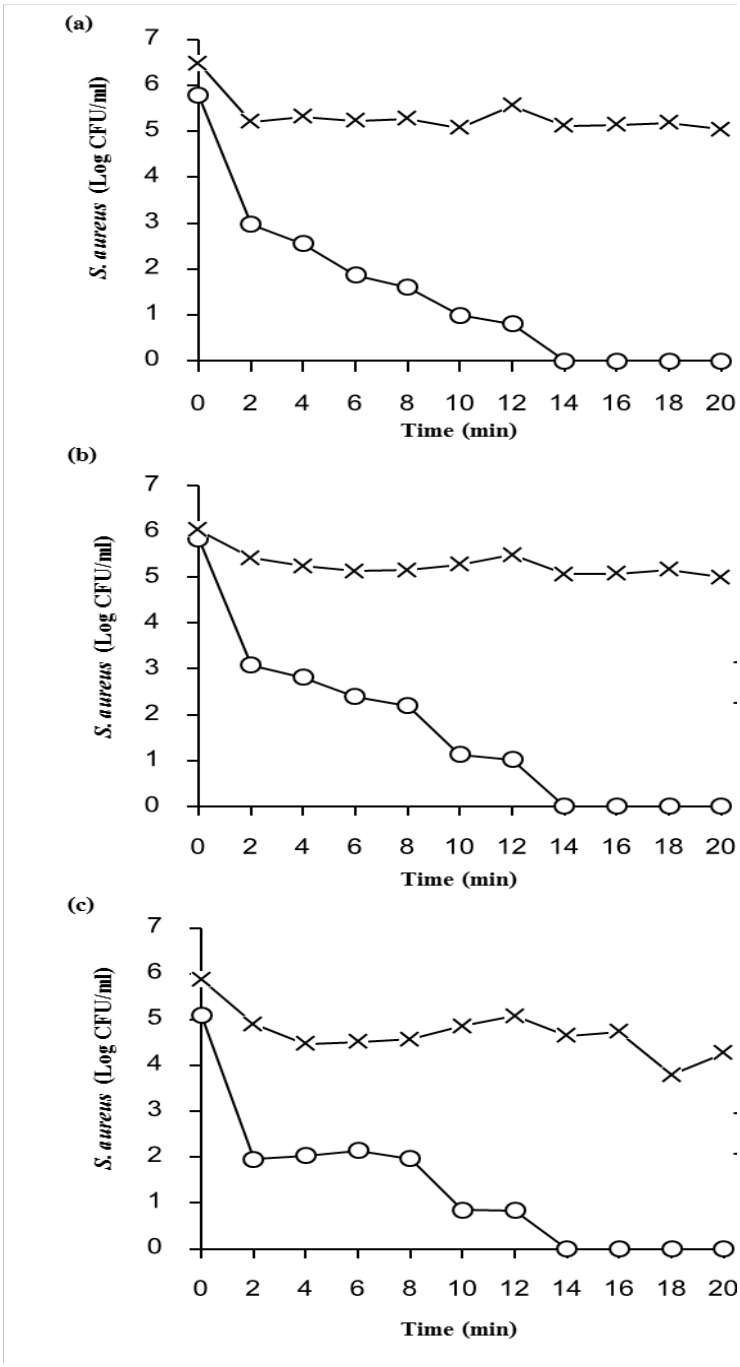
ลักษณะของผลิตภัณฑ์	**รหัสผลิตภัณฑ์**					
ลักษณะปรากฏโดยรวม						
สี						
กลิ่น						
เนื้อสัมผัส (ความยากง่ายในการกัดและเคี้ยวเพื่อกลืน)						
รสชาติ						
ความหวาน						
คุณภาพโดยรวม						

ความคิดเห็นเพิ่มเติม

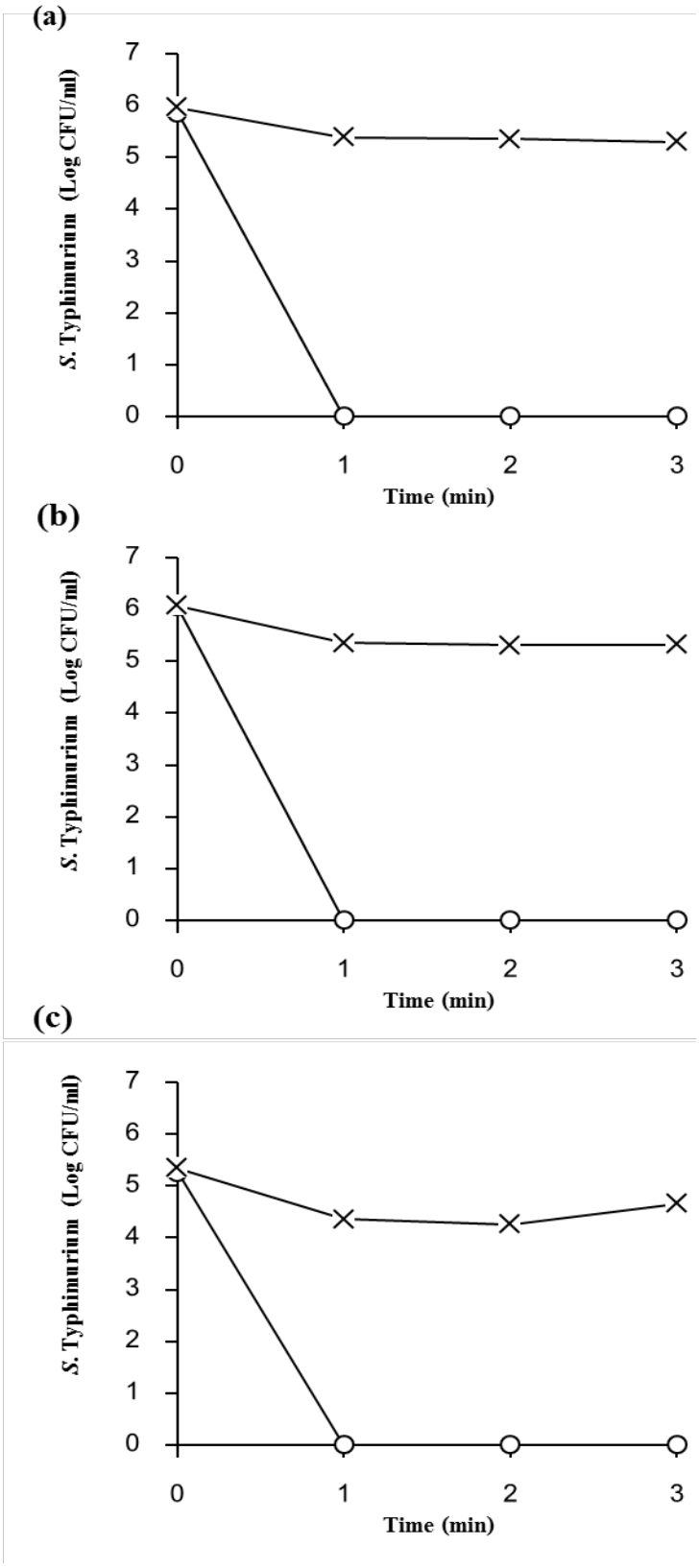
……

……ขอบคุณที่กรุณาสละเวลาอันมีค่า ☺

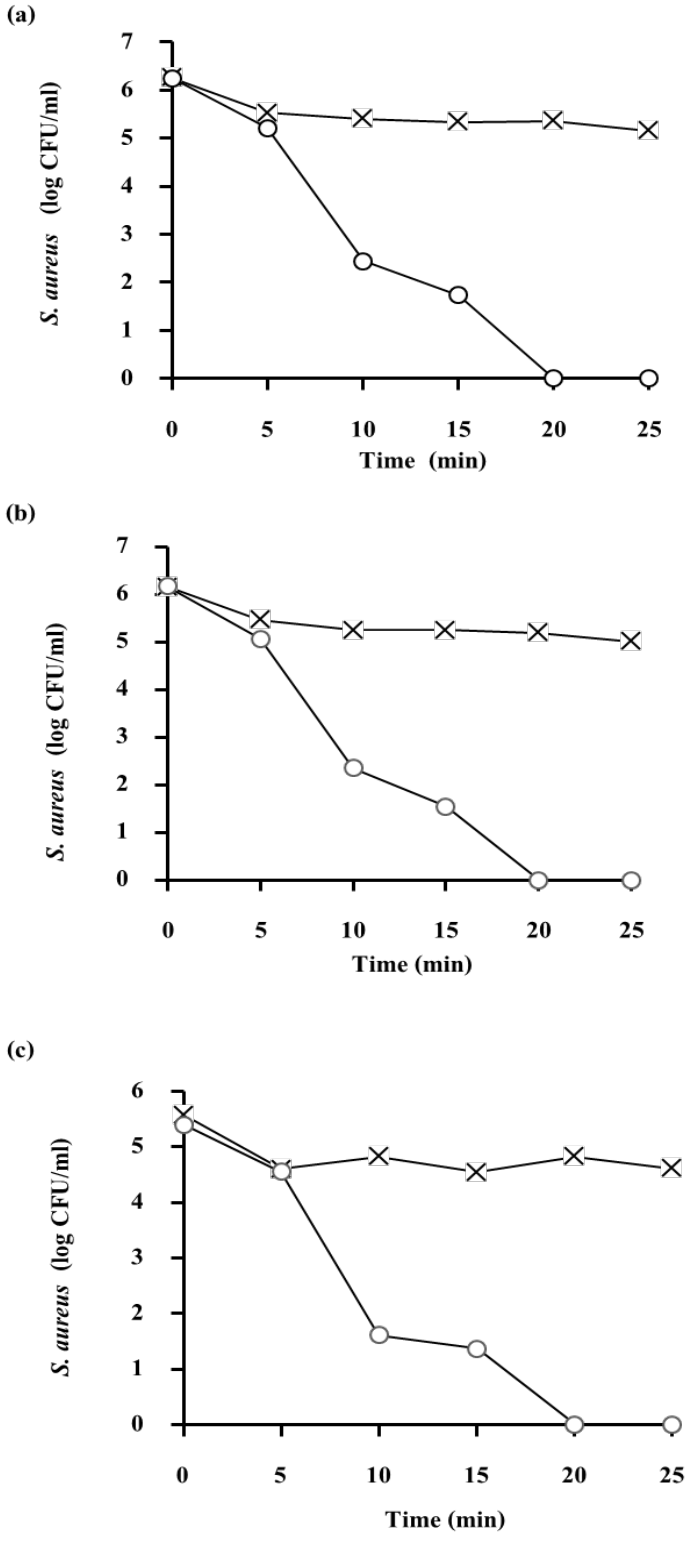
ภาคผนวก ค



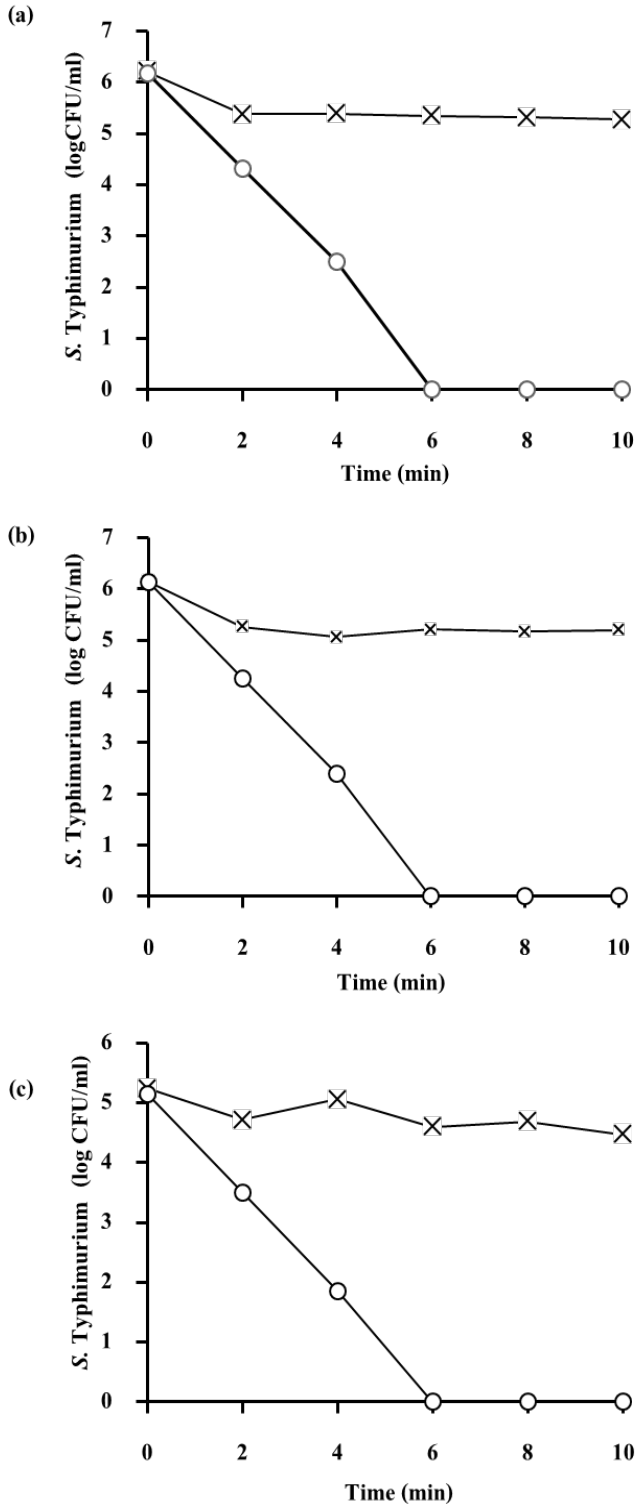
ภาพที่ 1 ผลของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงต่อการมีชีวิตรอดต่อเชื้อ *S. aureus* TISTR 118 (a) จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total culturable cells) (b) จำนวนเซลล์ที่ไม่บาดเจ็บ (Non-stressed cell) (c) เซลล์ที่บาดเจ็บ (Sressed cell) เมื่อ × แทนกลุ่มควบคุม (0 mg/ml) และ O แทนกลุ่มที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดง (50 mg/ml)



ภาพที่ 2 ผลของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงต่อการมีชีวิตรอดต่อเชื้อ *S.* Typhimurium TISTR 292 (a) จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total culturable cells) (b) จำนวนเซลล์ที่ไม่บาดเจ็บ (Non-stressed cell) (c) เซลล์ที่บาดเจ็บ (Sressed cell) เมื่อ × แทนกลุ่มควบคุม (0 mg/ml) และ **O** แทนกลุ่มที่เติมสารสกัดกระเจี๊ยบแดง (50 mg/ml)



ภาพที่ 3 ผลของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ต่อการมีชีวิตรอดต่อเชื้อ *S. aureus* TISTR 118 (a) จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total culturable cells) (b) จำนวนเซลล์ที่ไม่บาดเจ็บ (Non-stressed cell) (c) เซลล์ที่บาดเจ็บ (Sressed cell) เมื่อ × แทนกลุ่มควบคุม (0 mg/ml) และ O แทนกลุ่มที่เติมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ (25 mg/ml)



ภาพที่ 4 ผลของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ต่อการมีชีวิตรอดต่อเชื้อ *S.* Typhimurium TISTR 292 (a) จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total culturable cells) (b) จำนวนเซลล์ที่ไม่บาดเจ็บ (Non-stressed cell) (c) เซลล์ที่บาดเจ็บ (Sressed cell) เมื่อ × แทนกลุ่มควบคุม (0 mg/ml) และ **O** แทนกลุ่มที่เติมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ (50 mg/ml)