ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ปริมาณวิตามิน

การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1 และวิตามินบี 2 ในตัวอย่างข้าวกล้องงอก

1. การทำกราฟมาตรฐานของไทอะมิน หรือวิตามินบี 1

1.1 เตรียมสารมาตรฐานวิตามินบี 1 ความเข้มข้น 1000 ppm ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

ชั่งสารมาตรฐานวิตามินบี 1 ประมาณ 0.5 g ละลายน้ำกลั่น และปรับปริมาตรจนครบ 500 มิลลิลิตรพอดี

1.2 เตรียมสารมาตรฐานวิตามินบี 1 ความเข้มข้น 100 ppm ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานวิตามินบี 1 ความเข้มข้น 1000 ppm มา 10 มิลลิลิตร และ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลิลิตรพอดี

1.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 1 ให้มีความเข้มข้น 5 10 15 20 25 30 35 และ 40 ppm จากสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 1 ความเข้มข้น 100 ppm และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 238 nm ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer

2. การทำกราฟมาตรฐานของไรโบฟลาวิน หรือวิตามินบี 2

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 2 ความเข้มข้น 100 ppm ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งสารมาตรฐานวิตามินบี 2 ประมาณ 0.01 g ละลายน้ำกลั่น และปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร พอดี

2.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 2 ให้มีความเข้มข้น 2 4 6 8 และ 10 ppm จากสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 2 ความเข้มข้น 100 ppm และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 271 nm ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer

3. การเตรียมสารละลายตัวอย่างข้าว

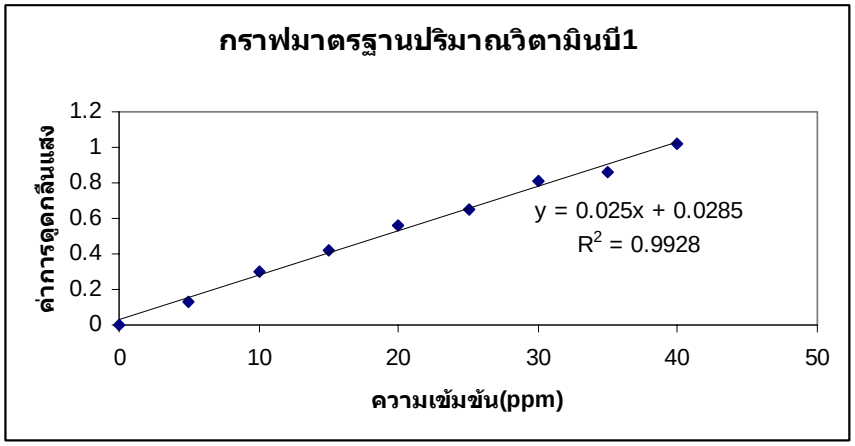
3.1 นำตัวอย่างข้าวเปลือก และข้าวกล้อง บดให้ละเอียด และร่อนผ่านตะแกรงร่อน

3.2 ชั่งตัวอย่างข้าว ประมาณ 0.4 กรัม ละลายน้ำกลั่นจนครบ 10 มิลลิลิตร ใส่ขวด Erlenmayer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร

3.3 นำไปเขย่า ด้วยเครื่อง Shaker เป็นเวลา 15 นาที

3.4 นำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 โดยตั้งทิ้งไว้จนกรองเสร็จสมบูรณ์ เก็บสารละลายที่ได้ใส่ในหลอดทดลอง

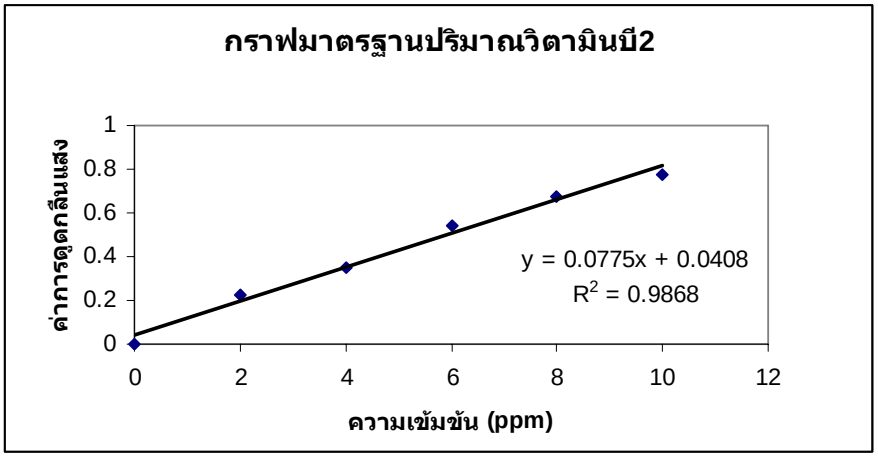
3.5 นำสารละลายที่ได้ วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี 1 และบี 2 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 238 และ 271 nm ตามลำดับ ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer



ภาพที่ ก1 กราฟมาตรฐานสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 1

ตารางที่ ก1 ค่าการดูดกลืนแสงในการวัดปริมาณวิตามินบี 1 ของตัวอย่างข้าวเพาะงอกที่เวลาต่างๆ

ระยะเวลาการเพาะข้าว (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง
12	0.685
18	0.6604
24	0.694
36	0.6925



ภาพที่ ก2 กราฟมาตรฐานของสารละลายวิตามินบี 2

ตารางที่ ก2 ค่าการดูดกลืนแสงในการวัดปริมาณวิตามินบี 2 ของตัวอย่างข้าวเพาะงอกที่เวลาต่างๆ

ระยะเวลาการเพาะข้าว (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง
12	0.5912
18	0.6563
24	0.6321
36	0.7143

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

1. การวัดค่า Water activity (Aw)

อุปกรณ์ / เครื่องมือ

1. can สำหรับบรรจุตัวอย่าง
2. อุปกรณ์สำหรับบดตัวอย่าง

ขั้นตอนการ Calibrate เครื่องวัดค่า Aw

1. เปิดเครื่องและรอให้เครื่อง warm จนกว่าขึ้นคำว่า NOVASINA จึงเริ่มทำการ Calibrate ได้
2. นำตัว Calibrate ใส่ลงในเครื่อง (ดูค่าที่ตัว Calibrate) ปิดฝาเครื่องวัดให้สนิท แล้วกดปุ่มสตาร์ทค้างไว้
3. ที่ตัวเครื่องจะมีไฟสีเหลืองกระพริบขึ้นที่ Analyzing รอให้เครื่องวัดตัวอย่างจนกระทั่งไฟสีเหลืองเปลี่ยนมาขึ้นที่คำว่า OK
4. กด Menu 2 โดยเลือกที่มีลูกศร ↓ ↑ กดสตาร์ท แล้ว Set Yet
5. กด Menu 3 แล้วกด Set 2 ครั้ง

วิธีการวิเคราะห์ค่า Aw มีวิธีการดังนี้

1. เตรียมตัวอย่างที่จะทำการวัดค่า (บดให้ละเอียดใส่ can สำหรับวัด Aw ประมาณ ½ ของความสูงของ can)
2. เปิดเครื่องและรอให้เครื่อง warm จนกว่าจะขึ้นคำว่า NOVASINA จึงเริ่มทำการวัดตัวอย่าง
3. ใช้ที่คีบ คีบตัวอย่างใส่ลงไปในเครื่อง ปิดเครื่องวัดให้สนิท แล้วกดปุ่มสตาร์ทค้างไว้
4. ที่ตัวเครื่องจะมีไฟสีเหลืองกระพริบขึ้นที่ Analyzing รอให้เครื่องวัดตัวอย่างจนกระทั่งไฟสีเหลืองเปลี่ยนมาขึ้นที่คำว่า OK
5. จดค่า Aw ที่เครื่องวัดได้

2. การวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer)

วัดค่าแรงกดแตกด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer TA-XT2I / England) โดยใช้หัววัด Knife Blade

อุปกรณ์ / เครื่องมือ

1. หัววัด Knife Blade

วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเครื่อง Texture Analyzer โดยมีวิธีการวัดดังนี้

(1) การเข้าสู่โปรแกรม Texture Expert ทำได้โดย Double Click ที่ Icon ของ Texture Expert (Englich)

(2) เลือก User name (Charpa) แล้วกดปุ่ม OK

(3) เลือก Click ที่ File ทำการเลือก New Project แล้ว Double Click

(4) กดปุ่ม Restart จะเข้าสู่หน้าจอหลักของโปรแกรม Texture Analyzer

(5) ทำการ Calibrate Force โดยเลือก Manu T.A. จากนั้น Double Click ที่ Calibrate Force

(6) ตรวจสอบให้แน่ใจว่าไม่มีหัววัด และตัวอย่างที่อยู่ Test Bed ของเครื่องแล้วกดปุ่ม OK

(7) รอให้เครื่องแสดงข้อความ Calibration weight on the T.A. Set Calibration Platform ก่อน จากนั้นวางลูกตุ้มน้ำหนักขนาด 5 กิโลกรัม บน Calibration Platform กดปุ่ม OK

(8) รอจนเครื่องแสดงข้อความ Successful Calibration กดปุ่ม OK จากนั้นเอาลูกตุ้มน้ำหนักออกจาก Calibration Platform

(9) การ Calibrate probe เข้า Manu T.A. Double Click ที่ Calibrate probe

(10) ตรวจสอบให้แน่ใจว่าไม่มีตัวอย่างหรือสิ่งกีดขวางทิ้งไว้ที่ Test Bed กดปุ่ม Fast เพื่อเลื่อนตำแหน่งหัว probe ให้มาอยู่ใกล้กับ Test Bed เครื่องจากนั้นกำหนดระยะทางในการเคลื่อนที่กลับไปของหัว probe เมื่อหัววัดสัมผัส Test Bed ของเครื่องโดยใช้ความสูงของตัวอย่างที่ต้องการวัดเป็นเกณฑ์ (ให้ระยะทางมากกว่าความสูงตัวอย่างที่ต้องการวัดเล็กน้อย) กดปุ่มOK

(11) ทำการ Calibration probe ก่อนการ Calibrate ต้องทำการ Set หัว probe ให้เรียบร้อยก่อน จากนั้นเข้า Manu T.A. Double Click ที่ T.A. Setting เพื่อ Set ค่า Condition ต่างๆ ที่ได้เลือกไว้แล้วซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ ค่าที่ต้องการ และหัว probe

(12) เมื่อ Set ค่า Condition ต่างๆ เรียบร้อยแล้ว กดปุ่ม Update

(13) การวัดเนื้อสัมผัสเข้า Manu T.A. Double Click ที่ Run a Test (ก่อนเข้าเมนู Run a Test ให้เตรียมตัวอย่างให้เรียบร้อยและพร้อมที่จะทำการวัดค่า)

(14) Click ที่ปุ่ม Auto Save เพื่อให้เครื่องบันทึกข้อมูลโดยอัตโนมัติ

- File Id : พิมพ์รหัสของตัวอย่าง
- File No : จำนวนของการวัดตัวอย่าง
- Probe and Product Data : เลือกชนิดของหัววัดที่จะทำการวัดค่า
- Configure : กำหนดรายละเอียดของตัวอย่าง
- Acquisition Rate : กำหนดความละเอียดของการบันทึกข้อมูล

(15) เมื่อ Set ค่าต่างๆ เรียบร้อยแล้วกดปุ่มOKเครื่องจะทำงานและปรากฏกราฟที่ได้จากการวัดบนหน้าจอคอมพิวเตอร์เมื่อทำการวัดตัวอย่างเสร็จเรียบร้อยแล้ว และจะต้องนำกราฟที่ได้มาวิเคราะห์ผลจากกราฟ

โดยใช้เครื่องวัดค่าลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer TA-XT2I / England) ตั้งค่าการวัด ดังนี้

Mode	:	Measure force in compression
Option	:	Return to start
Pre-test Speed	:	2.0 mm/s
Test Speed	:	2.0 mm/s
Post – Test speed	:	10.0 mm/s
Distance	:	17 mm
Trigger Type	:	10 g
Data Acquisition Rate	:	200 pps

3. การวิเคราะห์หาค่าสีระบบฮันเตอร์ (Hunter Lab)

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดสี (Hunter Colorimeter) รุ่น NR-3000 ญี่ปุ่น

2. หลอดคิวเวท (Cuvette Tube)

วิธีการ

1. การวัดสีตัวอย่างสีแดง โดยปรับมาตรฐานเครื่องซึ่งจะใช้แผ่นเทียบมาตรฐานสีขาวและสีแดง

2. นำตัวอย่างใส่ในหลอดคิวเวท (Cuvette Tube) และนำมาวัดสีโดยเลือกฟังก์ชันเป็นแบบฮันเตอร์ (Hunter) บันทึกค่าที่ได้จากการวัด โดยประกอบด้วยตัวแปรสี 3 ตัว คือ L*, a* , b* โดยที่ค่า L* เป็นค่าที่แสดงถึงความสว่าง มีค่าตั้งแต่ 0 (ดำ) ถึง 100 (ขาว) ค่าสี a* เป็นค่าสีหลักวัดชั้นสีแดงและสีเขียว เมื่อ a* มีค่าบวกให้สีทางสีแดง แต่ถ้า a* มีค่าลบให้ค่าสีทางสีเขียว ค่าสี b* เป็นค่าสีหลักวัดชั้นสีเหลืองและสีน้ำเงิน เมื่อ b* มีค่าบวกให้สีทางสีเหลือง แต่ถ้า b* มีค่าลบให้ค่าสีทางสีน้ำเงิน

4. การวัดความข้นหนืด (Goff , 1990)

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดความข้นหนืด (Brookfield Digital Viscometer ร่น RVDV II)

2. บีกเกอร์

วิธีการ

1. นำส่วนผสมไอศกรีมที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 500 มิลลิลิตร

2. วัดความข้นหนืดด้วยเครื่องวัดความข้นหนืด (Brookfield Digital Viscometer ร่น RVDV II) ใช้หัววัดเบอร์ 2 หมุนที่ความเร็ว 10 รอบต่อวินาที หน่วยที่วัดได้เป็น Centipoise (cP)

3. อุณหภูมิส่วนผสมของไอศกรีมขณะวัดอยู่ที่ 10 ± 1 องศาเซลเซียส

ค่าความหนืด (cP) = ค่าที่อ่านได้ × ค่า Factor จากเครื่อง

5. การวัดอัตราการขึ้นฟู (Overtun) (Arbuckle, 1986)

อุปกรณ์

1. เครื่องปั่นไอศกรีม
2. ถ้วยพลาสติก
3. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

ชั่งน้ำหนักส่วนผสมไอศกรีมที่มีอุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส ที่ผ่านการบ่มแล้ว บรรจุเต็มถ้วยพลาสติกก่อนนำไปปั่น และเมื่อปั่นไอศกรีมจนแข็งตัวแล้ว ตักไอศกรีมที่ได้ลงในถ้วยพลาสติกใบเดิมให้เต็มถ้วย โดยมีปริมาตรเท่ากันกับปริมาตรส่วนผสมไอศกรีม ชั่งน้ำหนักไอศกรีมภายหลังการปั่น

$$\text{ค่าโอเวอร์รัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักส่วนผสมไอศกรีม} - \text{น้ำหนักไอศกรีม}}{\text{น้ำหนักไอศกรีม}} \times 100$$

6. การวัดอัตราการละลาย (Arbuckle, 1986)

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. บีกเกอร์
3. กรวยแก้ว

วิธีการ

ชั่งไอศกรีมที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 50-60 กรัม ใส่ในกรวยแก้วที่วางบนขวดรูปชมพู่เปล่า ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ให้ไอศกรีมหลอมละลาย ชั่งน้ำหนักไอศกรีมที่ละลายสู่ขวดรูปชมพู่เปล่า เทียบกับน้ำหนักไอศกรีมตัวอย่างเริ่มต้นทุกๆ 1 นาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อหาการสูญเสียน้ำหนักไอศกรีมในแต่ละช่วงเวลาที่ทราบอัตราการหลอมละลายของไอศกรีม

$$\text{น้ำหนักที่สูญเสีย (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักไอศกรีมที่ละลายทั้งหมดในช่วงเวลานั้นๆ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักไอศกรีมเริ่มต้น}} \times 100$$

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (Moisture Content) AOAC (2002)

อุปกรณ์ / เครื่องมือ

1. ถ้วยหาความชื้น (Aluminum can)
2. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
3. โถดูดความชื้น (desicator)
4. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
5. Tongs หรือ Forceps

วิธีวิเคราะห์

1.หาน้ำหนักที่คงที่ของถ้วยเปล่า โดยเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 100±5 องศาเซลเซียส นาน 2-4 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วนำเข้าอบใหม่ดำเนินการเหมือนครั้งแรก จนได้น้ำหนักคงที่ (น้ำหนักเปลี่ยนแปลงไม่มากกว่า 0.005 กรัม)

2. ชั่งตัวอย่างที่แน่นอนจำนวน 2 กรัม ใส่ลงในถ้วยที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว

3. เกลี่ยตัวอย่างแผ่ออกอย่างสม่ำเสมอให้มีเนื้อที่มากที่สุดเท่าที่จะทำได้

4. นำเข้าคู้อบที่อุณหภูมิ 100±5 องศาเซลเซียส นาน 2-4 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (น้ำหนักเปลี่ยนแปลงไม่มากกว่า 0.005 กรัม) แล้วนำเข้าตู้อบใหม่ดำเนินการเหมือนครั้งแรกจนได้น้ำหนักคงที่

5. นำผลที่ได้ไปคำนวนปริมาณความชื้นดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลังอบ})}{\text{น้ำหนักก่อนอบ}} \times 100$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Crude fat) AOAC (2002)

อุปกรณ์ / เครื่องมือ

1. ชุดอุปกรณ์และเครื่องมือ 2050 Soxtec Extraction Unit
2. ตู้อบลมร้อน
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง

สารเคมี

1. เฮกเซน (Hexane)

วิธีวิเคราะห์

1. อบ Extraction Cup ที่ 100 ± 5 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ทำให้เย็นใ โถดูดความชื้น
2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงไปใน thimble
3. ใส่ thimble ลงไปใน Extraction Cup ที่เติมเฮกเซน ประมาณ 50 มิลลิลิตร แล้ว นำเข้าเครื่อง Soxtec
4. เปิดเครื่อง Cooling ให้มีอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส
5. เปิดเครื่อง Soxtec ตั้งค่าเวลาใน Four automatic step

โดยกำหนดเวลาใน	Boiling	=	15 นาที
	Rinsing	=	15 นาที
	Recovery	=	30 นาที
	Pre-drying	=	45 นาที

6. เปิดโปรแกรมทำงาน
7. เมื่อครบเวลาตามที่กำหนดแล้วนำ thimble ออกจาก Extraction Cup แล้วนำ Extraction Cup มาอบใน Hot air oven ที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที แล้วทำไปทำให้เย็นโดยโถดูดความชื้น แล้วทำการชั่งน้ำหนักที่แน่นอน อบ Extraction Cup ซ้ำ จนกว่าน้ำหนักจะคงที่

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

W_1 = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

W_2 = น้ำหนักของ Extraction Cup ที่ผ่านการอบจนคงที่

W_3 = น้ำหนักของ Extraction Cup + น้ำหนักไขมันที่สกัดได้ภายหลัง drying แล้ว (กรัม)

3. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl AOAC (2002)

อุปกรณ์ / เครื่องมือ

1. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
2. หลอดย่อยโปรตีน (Kjeldahl fiask) ขนาด 250 – 300 มล.
3. ชุดกลั่นโปรตีน (semi – microdistillation apparatus)
4. ขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 1000 มล.
5. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มล.
6. บิวเรตต์ ขนาด 50 มล.
7. Glass bead

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น ถพ. 1.84 , N_2 – free
2. สารเร่งปฏิกิริยา : คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$) 1 ส่วน ต่อโปตัสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 32
4. สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มัล : HCl 8.2 มล. ในน้ำกลั่น 1 ลิตร
5. สารละลายกรดบอริกร้อยละ 4 : เตรียมโดยใช้น้ำร้อน
6. Mix indicator : Methyl red 0.1 กรัม ผสมกับ Bromocresol green 0.1 กรัม ในเอทานอล 100 มล.

วิธีวิเคราะห์

1. พับกระดาษกรองเป็นรูปซองจดหมาย ชั่งตัวอย่างลงในกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ให้ได้น้ำหนักแน่นนอนประมาณ 0.5 – 1.0 กรัม

2. เติมคอปเปอร์ซัลเฟต 0.5 กรัม โปตัสเซียมซัลเฟต 10 กรัม และ Glass bead 2 เม็ด ลงในหลอดย่อย

3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 12 มล.

4. ต่อชุดย่อยเข้ากับชุดจับไอกรด เสียบปลั๊ก เปิดสวิทซ์เครื่องย่อย ตั้งอุณหภูมิที่ 420 องศา - เซลเซียส

5. ตั้งหลอดย่อยบน stand ปิด heat shield ยก stand ที่มีหลอดย่อยใส่ลงในหลุมของเตาย่อย ปิดฝาหลอดย่อย (exhaust manifold) เปิดสวิทซ์ชุดจับไอกรด (Scrubber unit)

6. ย่อยจนได้สารละลายใส ในตู้ควัน (ใช้เวลาประมาณ 30 – 60 นาที) ย้าย stand พร้อมหลอดย่อยมาตั้งไว้ข้างๆเครื่องย่อย โดยไม่ได้ถอดฝาหลอดย่อย รอให้ไอกรดหมดก่อนทิ้งให้เย็น

7. นำไปกลั่น โดยเติมน้ำกลั่น 30 มล. และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 32 ปริมาตร 50 มล.

8. รองรับสิ่งที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 25 มล. และหยด mix indicator 2 – 3 หยด (สารละลายในฟลาสค์เปลี่ยนเป็นสีชมพู) นำฟลาสค์ไปตั้งไว้ที่ตำแหน่งรองรับของเครื่องกลั่น และเลื่อนฐานขึ้นให้ปลายเครื่องแก้วจุ่มลงอยู่ใต้สารละลาย

9. กลั่นประมาณ 7 นาที (สารละลายในฟลาสค์เปลี่ยนเป็นสีเขียว) ล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วนยน้ำกลั่นลงในฟลาสค์รองรับ

10. ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้กับสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดคลอริก 0.1 นอร์มัล จนได้สีชมพู (จุดยุติ) จดปริมาณกรดไฮโดคลอริกที่ใช้

11. ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกันตั้งแต่ข้อ 2 – 10

12. ก่อนกลั่นตัวอย่างต่อไป ควรล้างระบบโดยใช้น้ำกลั่นใส่ในหลอดย่อยแล้วทำการกลั่นโดยไม่เติมด่าง ประมาณ 3 นาที

13. เมื่อกลั่นตัวอย่างสุดท้ายเสร็จแล้ว ใส่หลอดเปล่าและฟลาสค์ในตำแหน่งที่รองรับ ปิดสวิทซ์ เช็ดทำความสะอาดเครื่องทั้งหมด

การคำนวน

$$\text{ไนโตรเจน (ร้อยละ)} = \frac{(T - B) \times 14.007 \times 100 \times N}{\text{Weight of sample (mg)}}$$

$$\text{โปรตีน (ร้อยละ)} = \%\text{Nitrogen} \times \textit{conversion factor (F)}$$

T = ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง (มล.)

B = ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรต blank (มล.)

N = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มัล)

conversion factor = แฟคเตอร์สำหรับแปลงกลับ = 6.25
(น้ำหนักกรัมสมบูรณ์ของไนโตรเจนเท่ากับ 14.007)

การ standardize สารละลายมาตรฐาน HCl 0.1 นอร์มัล

ชั่ง anhydrous Na_2CO_3 ประมาณ 5 กรัม ใส่ในโกร่ง แล้วบดให้ละเอียด นำไปอบที่อุณภูมิ 265 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือที่ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์

ชั่ง Na_2CO_3 ที่อบไว้มา 0.13 กรัม อย่างละเอียด ใส้ในฟลาสค์ เติมน้ำกลั่น 20 มล. แล้วหยดอินดิเคเตอร์ฟีนอฟทาลีน 2 – 3 หยด นำไปไทเทรตกับสารละลาย HCl 0.1 นอร์มัล จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีใส ให้จดปริมาณเป็น A1 จากนั้นนำสารละลายไปต้มประมาณ 2 – 3 นาที จนเดือดสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปไทเทรตกับ HCl 0.1 นอร์มัล ให้เป็นสีใสอีกครั้ง จดปริมาตรเป็น A2 แล้วนำไปคำนวณความเข้มข้นของสารละลาย HCl ตามสมการ

$$\text{Concentration of HCl (mol/L)} = \frac{2002 \times \text{accurate weight of } Na_2CO_3}{\text{MW of } Na_2CO_3 \times (A_1 + A_2)}$$

ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

1. การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (โดยวิธี Total Aerobic plate Count) AOAC (2002)

อุปกรณ์ / เครื่องมือ

1. เครื่องตีป่นอาหาร
2. ปิเปต
3. ถุงพลาสติก
4. จานเพาะเชื้อ
6. ตู้บ่ม

สารเคมี

1. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Standard plate count agar

วิธีวิเคราะห์

1. สุ่มตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อเทสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร ลงไป เพื่อให้สารละลายตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1:10
2. นำไปตีป่นให้ละเอียด โดยใช้เครื่องตีป่นอาหารเป็นเวลา 2 นาที
3. ปิเปตตัวอย่างอาหารมาเจือจาง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร
4. จนได้ระดับความเจือจางที่มีความเหมาะสม 3 ระดับ
5. ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจางอาหารต่างๆ 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อโดยทำความเจือจางละ 2 ซ้ำ
6. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Standard plate count agar ที่หลอมเหลวและมีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 15-20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากับตัวอย่างอาหารอย่างทั่วถึง
7. ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว กลับจานเพาะเชื้อ
8. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนจุลินทรีย์ที่มีจำนวนระหว่าง 30-300 โคโลนี
9. หาผลเฉลี่ยของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ออาหาร 1 กรัม

2. การวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และรา AOAC (2002)

อุปกรณ์ / เครื่องมือ

1. เครื่องตีป่นอาหาร
2. ปิเปต
3. ถุงพลาสติก
4. จานเพาะเชื้อ
6. ตู้บ่ม

สารเคมี

1. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA)
3. Tartaric acid

วิธีการวิเคราะห์

1. สุ่มตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกที่ปราศจากเชื้อเทสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 225 มิลลิลิตร ลงไป เพื่อให้สารละลานตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 1:10
2. นำไปตีป่นให้ละเอียด โดยใช้เครื่องตีป่นอาหารเป็นเวลา 2 นาที
3. ปิเปตตัวอย่างอาหารมาเจือจาง 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 9 มิลลิลิตร
4. จนได้ระดับความเจือจางที่มีความเหมาะสม 3 ระดับ
5. ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจางอาหารต่างๆ 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อโดยทำความเจือจางละ 2 ซ้ำ
6. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ก่อนเทอาหารให้ปรับ pH 3.5 $\pm$ 0.2โดยใช้ Tartaric acid ที่หลอมเหลวและมีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 15-20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากับตัวอย่างอาหารอย่างทั่วถึง
7. ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว
8. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน
9. นำมาตรวจนับปริมาณยีสต์ และรา