ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ

1. การปรุงข้าวซูชิ การหุงข้าวซูชิ

ส่วนผสม

- ข้าวกล้องมะลิแดง 3 กิโลกรัม
- ข้าวเหนียวเขี้ยวงู 1 กิโลกรัม
- น้ำสะอาด 4 ลิตร

วิธีหุง

- เอาข้าวกล้องมะลิแดงผสมกับข้าวเหนียว (3:1) ซาวน้ำตามปกติ เสร็จแล้วแช่น้ำไว้ 15 นาที หลังจากนั้นพักให้สะเด็ดน้ำ 15 นาที
- นำข้าวทั้งหมดใส่ในหม้อหุงข้าว เติมน้ำสะอาด หุงตามปกติ
- พอหุงข้าวสุกพักให้ระอุประมาณ 5 – 10 นาที

2. น้ำส้มสำหรับปรุงข้าวซูชิ

ส่วนผสม

- น้ำส้มญี่ปุ่น 900 กรัม
- น้ำตาลทราย 750 กรัม
- มิริน 20 กรัม
- สาเก 20 กรัม
- เกลือป่น 150 กรัม
- สาหร่ายคอมบุ 1 ชิ้นเล็ก

วิธีทำ

- นำน้ำส้มญี่ปุ่น น้ำตาลทรายและเกลือป่นผสมให้เข้ากันใส่สาเกและมิรินลงไปคนผสมให้เข้ากัน
- ใส่คอมบุลงไป ตั้งไฟให้เดือดอีกครั้งแล้วยกลงพักให้เย็น

วิธีผสมข้าวซูชิ

- นำข้าวที่สุกแล้วและกำลังร้อน ใส่ลงในภาชนะไม้ขนาดความจุ 5,000 กรัมนำน้ำส้มที่ต้มแล้ว 500 กรัม มาพรมใส่คลุกเคล้าให้ทั่ว ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วจึงนำไปปั้นเป็นข้าวปั้นต่อไป

3. ส่วนผสมที่สำคัญของเครื่องปรุงซูชิ

- **มิริน เหล้าหวาน** ได้จากการหมักข้าวเป็นแอลกอฮอล์ ใช้ใส่อาหาร นำไปแช่หรือหมักอาหารได้

- **สาเก เหล้าญี่ปุ่น** สำหรับใส่ปรุงรสหรือหมักอาหาร มีแอลกอฮอล์สูงกว่ามิริน

- **โชยุ ซีอิ้วญี่ปุ่น** ใช้ปรุงอาหารทุกชนิด ทั้งใส่ในอาหารและทำน้ำจิ้ม มี 2 ชนิด คือ เค็มมากและเค็มน้อย

- **สาหร่ายคอมบุ** เป็นสาหร่ายทะเลอีกชนิดหนึ่งที่มีไอโอดีนและวิตามินจำนวนมาก แผ่นหนาแห้ง สีดำและแข็ง ก่อนนำมาปรุงอาหารต้องหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ และใช้ผ้าเช็ดทำความสะอาดแล้วจึงนำไปต้ม

- **โนริ** สาหร่ายทะเลชนิดแผ่น สีเขียวเข้ม นำมาใช้ห่อซูชิ คือข้าวห่อสาหร่ายชนิดต่าง ๆ

วิธีการทำซูชิข้าวกล้องมะลิแดงหน้าแครอทและสับปะรด

-นำเสื่อไม้ไผ่วางและนำสาหร่ายโนริวางบนเสื่อ

- นำข้าวซูชิวางบนสาหร่ายเกลี่ยให้เกือบทั่วแผ่นสาหร่าย เว้นด้านบนและด้านล่างอย่างละ 0.5 เซนติเมตร นำวาซาบิ (ผสมโชยุ) ทาที่ข้าวซูชิให้ยาวจากซ้ายไปขวา

- วางสับปะรดและแครอท (ลวก) ใช้มือยกเสื่อม้วนเข้าหากันกดไส้ไว้ให้แน่นให้ไส้อยู่ตรงกลาง

- จากนั้นม้วนไปจนจบสาหร่ายอีกด้าน แล้วใช้มือล็อกเสื่อให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมให้แน่น ใช้มีดคม ๆ ตัดเป็นคำ ๆ

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอล และกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมด (Total phenolic content)

สารเคมี

1. สารละลาย Folin-Ciocaltue phenol reagent ที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) โดยใช้ Folin-Ciocaltue phenol reagent 10 ml ปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

2. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 7.5% ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 7.5 กรัม ปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

3. เอธิลอัลกอฮอล์ 80% เจือจางอัลกอฮอล์ 95% ให้เป็นเอธิลอัลกอฮอล์ 80%

การสกัดตัวอย่าง

1. ปั่นผสมตัวอย่างในสารละลายเอธิลอัลกอฮอล์ 80% ด้วยเครื่อง blender นาน 1 นาที

2. นำตัวอย่างที่ปั่นผสมแล้วมากรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1

3. เจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น โดยใช้อัตราส่วน 1 :10 ส่วน (ปริมาตรต่อปริมาตร) ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม Vortex mixer

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมด

1. ดูดตัวอย่าง มา 2 ml
2. ใส่สารละลาย Folin-Ciocaltue phenol reagent 5 ml
3. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม Vortex mixer ทิ้งไว้ 10 นาที
4. เติมสารละลาย โซเดียมคาร์บอเนต 4 ml ผสมให้เข้ากัน
5. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 15 นาที ในอ่างควบคุมอุณหภูมิจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร
7. ทำ blank ควบคู่ไปด้วยโดยใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง

2.2 การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity)

ฤทธิ์ในการต้านอุมูลอิสระ (Antioxigant activity) วิเคราะห์โดยใช้วิธี DPP

สารเคมี

1. เตรียมสารละลาย DPPH 0.1 มิลลิโมลาร์ ใน Methanol
2. Methanol

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.3 กรัม ใส่ Methanol 50 ml
2. ปั่นผสมด้วยเครื่อง blender ประมาณ 1 นาที
3. แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 4

4. นำส่วนใสที่กรองได้มามาใส่หลอดทดลอง 1 ml
5. เติมสาร DPPH ลงไปในหลอดทดลอง 2 ml
6. จากนั้นนำไปเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 60 นาที
7. นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยใช้ Methanol เป็น blank คำนวณหาร้อยละของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) จากสูตรดังนี้

$$AA\ (\%) = \frac{Abscontrol - Abssample \times 100}{Abscontrol}$$

Abscontrol ค่าดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ใน Methanol 0.1 มิลลิโมลาร์

Abssample ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

หมายเหตุ

Blank ใช้ Methanol

Control ใช้ Methanol 1 ml DPPH 2 ml

3. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของซูชิข้าวกล้องมังสวิรัติเพื่อจัดทำฉลากโภชนาการ

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

หลักการ (Principle)

ความชื้นเป็นน้ำหรือสารที่ระเหยได้ทั้งหมดที่สูญเสียไปจากอาหาร เมื่อเพิ่มความร้อนให้แก่อาหาร อุณหภูมิที่ให้แก่อาหารต้องไม่สูงกว่าจุดเดือดของน้ำ หรือให้ความชื้นในสภาพสุญญากาศ หรืออาจปล่อยอาหารทิ้งไว้ในสารดูดความชื้น ส่วนกากหรือของแข็งที่เหลืออยู่หลังจากน้ำออกไปหมดแล้วเรียกว่า ของแข็งทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำ หรือความชื้น อาจมีพวกน้ำมันระเหยที่เป็นส่วนประกอบอยู่ในตัวสูญเสียไปด้วย เมื่ออบที่อุณหภูมิ 100 °C น้ำที่สูญเสียไปจะเป็นน้ำอิสระ ส่วนน้ำที่ไม่สามารถแยกออกได้ และน้ำที่ถูกดูดซับแยกออกจากอาหารได้ยาก เพราะมันเกาะอยู่กับโปรตีนที่มีอยู่ในอาหาร โดยเฉพาะพวกธัญพืชและถั่วเมล็ดแห้งต่างๆ

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณความชื้น เป็นการวัดที่สำคัญที่สุดวิธีหนึ่งและเป็นวิธีที่

ใช้กันอย่างกว้างขวางในการผลิตและตรวจสอบอาหาร ปริมาณของแข็งนั้นจะสัมพันธ์กับปริมาณความชื้น ปริมาณความชื้นมีความสำคัญโดยตรงในเชิงเศรษฐศาสตร์ต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค เนื่องจากการซื้อขายใช้น้ำหนักเป็นหน่วยกำหนดปริมาณการซื้อขาย นอกจากนี้ปริมาณความชื้นเป็นดัชนีบ่งชี้ความคงตัวของอาหาร และบ่งชี้คุณภาพของอาหารได้

เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and Supplies)

เครื่องมือและอุปกรณ์

- ตู้อบลมร้อน
- เครื่องชั่ง
- ถ้วยอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น
- tong
- โถดูดความชื้น

วิธีการดำเนินการ (Procedures)

1. ชั่งน้ำหนักถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาที่ผ่านการอบแห้งจนมีน้ำหนักคงที่แล้ว บันทึกน้ำหนัก

2. ชั่งตัวอย่าง 2-5 กรัม ใส่ในถ้วยอลูมิเนียม เกลี่ยให้ตัวอย่างแผ่ด้วยความหนาสม่ำเสมอ ปิดฝาบันทึกน้ำหนัก

3. นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 °C โดยเปิดฝาครอบไว้เล็กน้อยเป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำออกจากตู้อบลมร้อน (ปิดฝาครอบให้สนิท) ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 30 นาที นำตัวอย่างมาชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนัก

4. นำตัวอย่างเข้าอบอีกประมาณ 30 นาที แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก ถ้าน้ำหนักเปลี่ยนแปลงไปจากครั้งแรกน้อยกว่า 0.003 กรัม ให้ยุติการอบ บันทึกน้ำหนักสุดท้าย

5. คำนวณหาปริมาณความชื้นจากน้ำหนักที่หายไป

การคำนวณ (Calculations)

$$\text{ความชื้น } \% = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มแรก} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มแรก}}$$

3.2 การวิเคราะห์โปรตีน

หลักการ (Principle)

เป็นวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ ซึ่งมีทั้งโปรตีนและสารประกอบอื่นที่ไม่ใช่โปรตีน แต่มีไนโตรเจนอยู่ด้วยอาหารจะถูกย่อยด้วยกรดกำมะถันเข้มข้น เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไนโตรเจนอินทรีย์ได้เป็นแอมโมเนียมซัลเฟต ในการย่อยจะเติมโซเดียมหรือโปแตสเซียมซัลเฟตลงไปเพื่อเพิ่ม จุดเดือดของการย่อยให้สูงขึ้น และมีคอบเปอร์ซัลเฟตหรือเมอร์คิวริคออกไซด์เป็นคะตะลิสเพื่อเร่งปฏิกริยาให้เกิดเร็วขึ้น (ควันเมอร์คิวริคออกไซด์มีอันตราย) แอมโมเนียมออกมาแล้วทำการกลั่นโดยตรง เพื่อไล่แอมโมเนียออกให้หมด จับก๊าซแอมโมเนียด้วยสารละลายกรดบอริค หลังจากนั้น ไตเตรทหาปริมาณแอมโมเนียด้วยสารละลายกรดกำมะถันมาตรฐาน

เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and Supplies)

เครื่องมือและอุปกรณ์

- เครื่องวิเคราะห์โปรตีน รุ่น BUCHI
- เครื่องชั่ง และอุปกรณ์การชั่ง
- บิวเรต
- ขวดรูปชมพู่ 250 ml
- บีกเกอร์ 100 ml
- กระบอกตวง 100 ml
- ขวดปรับปริมาตร 1000 ml
- ขวดน้ำกลั่น

สารเคมี

- กรดซัลฟูริคเข้มข้น
- สารละลายกรดซัลฟูริค 0.1 N
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ 32%
- บอริค 2%
- Mixed catalyst
- Mixed indicator

วิธีการดำเนินการ (Procedures)

ขั้นตอนการย่อย

1. ชั่งตัวอย่างของแข็งให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.5-1 กรัม (ตัวอย่างของเหลวใช้ ปริมาตร 10-15 ml.) ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีนและทำ Blank ด้วย

2. ใส่ Mixed Catalyst ปริมาณ 10 กรัม

3. เติมกรดซัลฟูริคเข้มข้นปริมาณ 20 ml.

4. วางหลอดย่อยในเตาย่อย ประกอบสายยางระหว่าง ฝาครอบ ขวดใส่ด่างและเครื่องดักจับไอกรดให้เรียบร้อย

5. เปิดสวิทซ์เครื่องดักจับไอกรดและเตาย่อย ตั้งอุณหภูมิที่หมายเลข 8 จนได้สารละลายสีใส

6. ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 20 นาที

ขั้นตอนการกลั่นและไตเตรท

1. เปิดสวิทซ์เครื่องและเปิดน้ำหล่อเย็น

2. นำหลอดเปล่ามาใส่น้ำกลั่น ประมาณ 30 ml. นำมาวางใต้ก้าน Condenser เพื่อทำการ Pre-heat เครื่อง (ล้างเครื่อง)

3. นำหลอดที่ได้จากการย่อยมาวางที่ก้าน Condenser

4. นำขวดรูปชมพู่ ซึ่งบรรจุบอริค (เข้มข้น 2%) ปริมาณ 60 ml. ซึ่งเติม Mixed indicator จำนวน 2-3 หยดเรียบร้อยแล้วมารองรับของเหลวที่กลั่นได้โดยให้ส่วนปลายของก้าน Condenser จุ่มลงในสารละลายนี้

5. เติมน้ำกลั่นประมาณ 50 ml และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32% ปริมาณ 150 ml ตั้งเวลากลั่นปริมาณ 3 นาที

6. กลั่นจนได้ของเหลวอย่างน้อย 50 ml ใช้น้ำกลั่นล้างก้าน Condenser ในหลอดกลั่นและส่วนปลายของก้าน Condenser ที่ขวดรูปชมพู่

7. นำสารละลายทั้งหมดไปไตเตรทกับสารละลายกรดซัลฟูริคมาตรฐาน 0.1 N จนได้จุดยุติเป็นสีชมพู

การคำนวณ (Calculations)

$$\text{ปริมาณโปรตีนคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = \frac{(A - B) \times N \times F \times 14.007}{W}$$

A = ปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง

B = ปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรทกับแบลงค์

N = ความเข้มข้นของกรด (นอร์มาล)

F = แฟกเตอร์ (ดูจากตาราง)

W = น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น

3.3 การวิเคราะห์ไขมัน (Crude Fat)

หลักการ (Principle)

ส่วนประกอบที่เป็นไขมันในอาหารจะเป็นสารประกอบจำพวกลิปิด สามารถสกัดออกได้ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ เช่น อีเทอร์ ทั้งปิโตรเลียมอีเทอร์ และไดเอทิลอีเทอร์ ซึ่งเป็นตัวทำละลายชนิดไม่มีขั้ว (Non-polar solvent) สารที่สกัดได้จะเรียกว่า ether extract หรือ crude fat เป็นลิปิดอิสระ (free lipid) แต่ถ้าสกัดด้วยตัวทำละลายมีขั้ว เช่น แอลกอฮอล์ ส่วนที่สกัดได้จะมี bound lipid ปนอยู่ด้วย

Bound lipid ถูกทำให้สลายตัวได้โดยการไฮโดรไลซีส หรือใช้ปฏิกิริยาทางเคมีให้กลายเป็นลิปิดอิสระ ดังนั้นปริมาณของลิปิดในอาหารที่สกัดออกมาได้จึงขึ้นอยู่กับวิธีการสกัดที่ใช้

ส่วนลิปิดอิสระมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ ไตรกลีเซอร์ไรด์และมีกรดไขมันอิสระอยู่บ้างเล็กน้อยสามารถวิเคราะห์ปริมาณได้โดยการสกัดอาหารตัวอย่างที่แห้งและบดละเอียดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ (bp. 40-60 °C) หรือใช้ไดเอทิลอีเทอร์ สกัดใน Soxhlet

เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and Supplies)

เครื่องมือและอุปกรณ์

- Soxhlet
- Thimble
- Hot air oven
- Disicator Cabinet
- Analytical and Precision Balance

สารเคมี

- ปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีการดำเนินการ (Procedures)

1. เปิดเครื่องทำน้ำเย็น

2. บดตัวอย่างที่ต้องการจะวิเคราะห์ให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 2-20 กรัม (W1) บนกระดาษกรองและห่อให้มิดชิด จากนั้นนำมาใส่ลงในทิมเบิล (Thimble) อุดด้วยสำลี

3. นำทิมเบิล (Thimble) ใส่ใน Soxhlet

4. นำบีกเกอร์ไปอบและชั่งน้ำหนัก (W2) แล้วเติมตัวทำละลายลงในบีกเกอร์ประมาณ 170 มล. จากนั้นนำบีกเกอร์เข้าไปใน Soxhlet

5. เปิดเครื่องทำความร้อนเพื่อให้เกิดการกลั่นตัวของปิโตรเลียมอิเทอร์ นานประมาณ 2 ชม. หรือประมาณ 20 ไซฟอน

6. หลังจากสกัดเสร็จระเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ออก

7. นำบีกเกอร์ที่มีไขมันไปอบอุณหภูมิ 100° C นาน 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก (W3)

การคำนวณ (Calculations)

$$\% \text{ Crude fat} = (W3 - W2)100 / W1$$

W3 = น้ำหนักบีกเกอร์และไขมันหลังอบ

W2 = น้ำหนักบีกเกอร์

W1 = น้ำหนักตัวอย่าง

3.4 **การวิเคราะห์เถ้า** Ash Content

หลักการ (Principle)

ปริมาณเถ้าในอาหารคือ ส่วนของสารอินทรีย์ที่เหลืออยู่หลังจากที่สารอินทรีย์ถูกเผาไหม้ไป องค์ประกอบของเถ้าได้แก่ โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม คลอรีน กำมะถัน แมกนีเซียม และฟอสฟอรัส ซึ่งพบในปริมาณมาก และแร่ธาตุที่พบปริมาณน้อย ได้แก่ เหล็ก ทองแดง สังกะสี ซีลีเนียม ไอโอดีน อลูมิเนียม ดีบุก แมงกานีส เป็นต้น ธาตุที่เป็นพิษ ได้แก่ ตะกั่ว ปรอท แคดเมียม ธัลเลียม เป็นต้น ปริมาณเถ้าบ่งชี้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ ใช้เป็นตัวระบุชนิดขององค์ประกอบในอาหาร และใช้ในการควบคุมกระบวนการผลิตอาหารได้ อาหารบางชนิดที่

มีปริมาณเถ้ามากเกินไปอาจแสดงว่ามีสิ่งปลอมปน เช่น อาหารพวกเครื่องเทศ เจลาติน น้ำตาลทราย และแป้ง เป็นต้น ดังนั้นปริมาณเถ้าที่วิเคราะห์ได้ควรอยู่ในช่วงที่เหมาะสมตามที่กำหนดไว้

ในการวิเคราะห์เถ้า อุณหภูมิที่เผาไหม้สารอินทรีย์ต้องสูงเพียงพอที่จะทำให้เกิดการเผาไหม้อย่างสมบูรณ์ ต้องให้ความร้อนจนกระทั่งได้เถ้ามีสีสม่ำเสมอ เป็นสีขาวหรือเทาไม่เป็นก้อน หรือไม่เหลือคาร์บอนที่เผาไหม้ไม่หมด ความคลาดเคลื่อนของปริมาณเถ้าเกิดได้จากการสลายของคาร์บอเนตที่เกิดอย่างต่อเนื่อง หรือการสูญเสียสารระเหย เช่น คลอไรด์ นอกจากนี้น้ำหนักเถ้า จะเปลี่ยนอย่างเร็ว เนื่องจากสามารถดูดความชื้นได้ดี ดังนั้นต้องระมัดระวังระหว่างการชั่งน้ำหนักด้วย

เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and Supplies)

เครื่องมือและอุปกรณ์

- เตาเผา Muffle furnace
- ถ้วยซิลิกา
- Hot plate
- โถดูดความชื้น
- tong

วิธีการดำเนินการ (Procedures)

1. นำถ้วยซิลิกาไปเผาในเตาเผาอุณหภูมิประมาณ 500 °C นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก

2. ชั่งตัวอย่าง 2 - 5 กรัม ใส่ในถ้วยซิลิกาที่ทราบน้ำหนักแล้วถ้าตัวอย่างเป็นของเหลวนำไปทำแห้งบน water bath เสียก่อน สำหรับตัวอย่างที่เป็นขอแข็ง ให้นำไปเผาบน hot plate จนไม่มีควันดำ แล้วจึงนำตัวอย่างใส่ในเตาเผาอุณหภูมิประมาณ 500-550 °C (คลอไรด์จะเกิดการระเหยที่อุณหภูมิสูงกว่า 600 °C)

3. เผาตัวอย่างจนกระทั่งได้เถ้าสีขาว (อาจนานถึง 6 ชม.) ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ (Calculations)

สูตร % Crude ash = (A-B)100 / W

A = น้ำหนักถ้วย + เถ้า

B = น้ำหนักถ้วย

W = น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (Crude Fiber)

หลักการ (Principle)

เส้นใยอาหาร (Crude fiber) หมายถึง ส่วนของสารประกอบอินทรีย์ที่ไม่ละลายเหลืออยู่ หลังจากที่ตัวอย่างอาหารผ่านขั้นตอนการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ส่วนที่เหลือจากการสกัดจะเป็นเส้นใยและอาจมีแร่ธาตุปนอยู่ด้วย เส้นใยมีส่วนประกอบหลักเป็นเซลลูโลส ส่วนที่เหลือเป็นลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ปริมาณของส่วนประกอบแต่ละชนิดในเส้นใยจะผันแปรขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่างอาหารและวิธีการที่ใช้วิเคราะห์

เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and Supplies)

เครื่องแก้วและอุปกรณ์

- เตาเผา
- ตู้อบความร้อน
- เครื่องทำน้ำเย็น
- โถดูดความชื้น
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- Crucible
- Tong
- กรวยกรอง
- หลอดหยด
- กระบอกตวง 100 ml
- บีกเกอร์แสตนเลส 2000 ml
- บีกเกอร์ 250 ml

สารเคมี

- Sulfuric acid 0.128 M
- Potassium hydroxide 0.223 M
- n- Octanol
- Acetone

วิธีการดำเนินการ (Procedures)

1. เปิดเครื่องทำน้ำเย็น

2. อบตัวอย่างเพื่อไล่ความชื้นด้วยตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 105°C ประมาณ 60-90 นาที แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

3. นำตัวอย่างมาชั่งน้ำหนักประมาณ 1 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ใน Crucible แล้วนำเข้าเครื่องหาไฟเบอร์

4. บิดปุ่มควบคุมไปที่ตำแหน่ง Close

5. ใส่กรด Sulfuric acid 1.25% ปริมาณ 150 ml ลงในแต่ละตัวอย่าง (กรด Sulfuric 1.25 % ควรอุ่นในเตาให้ความร้อนประมาณ 85 °C ก่อนเติมลงในเครื่อง)

6. ใส่สารละลาย n- Octanol เพื่อป้องกันการเกิด Foaming ประมาณ 3-5 หยด

7. หมุนปุ่มตั้งเวลาการให้ความร้อนไปที่ 30 นาที และหมุนปุ่มตั้งระดับความร้อนประมาณ 80%

8. กรองสารละลายกรด Sulfuric acid 1.25% ออกจากเครื่องโดยบิดปุ่มควบคุมไปที่ตำแหน่ง Vacuum

9. ล้างกรดที่เหลืออยู่ด้วยน้ำกลั่น (น้ำกลั่นให้อุ่นในเตาให้ความร้อนประมาณ 80 °C ก่อนเติมลงในเครื่อง) 3 ครั้ง ครั้งละ 30 ml ดังนี้

9.1 หมุนปุ่มควบคุมไปที่ตำแหน่ง Pressure

9.2 เติมน้ำกลั่น 30 ml

9.3 หมุนปุ่มควบคุมไปที่ตำแหน่ง Vacuum

9.4 ทำซ้ำตามข้อ 9.1 ถึง 9.3 อีก 2 ครั้ง

10. ทำซ้ำตั้งแต่ข้อ 4 ถึง ข้อ 7 แต่เปลี่ยนสารละลายเป็น Potassium hydroxide1.25 11. ล้างด่างที่เหลือด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ครั้งละ 50 ml (ทำเหมือนข้อ 9.1 – 9.4)

12. ล้างตัวอย่างด้วยสารละลาย Acetone 3 ครั้ง ครั้งละ 25 ml ดังนี้

12.1 หมุนปุ่มควบคุมไปที่ตำแหน่ง Pressure

12.2 เติม Acetone 25 ml

12.3 มุนปุ่มควบคุมไปที่ตำแหน่ง Vacuum

12.4 ทำซ้ำตามข้อ 12.1 ถึง 12.3 อีก 2 ครั้ง

13. นำ Crucible ที่มีตัวอย่างอยู่ออกจากเครื่อง แล้วไปอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 105°C ประมาณ 60-90 นาที หรืออบที่อุณหภูมิ 130 °C นาน 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นใน Disicator นำ Crucible ไปชั่งน้ำหนัก

14. นำ Crucible จากข้อ 13 ไปเผาใน Furnance ที่อุณหภูมิ 500 °C ประมาณ 3 ชั่วโมง ทำให้เย็น ใน Disicator นำ Crucible ไปชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ (Calculations)

สูตร % Crude Fiber = (F1 – F2) 100 / F0

F1 = น้ำหนัก Crucible ที่ได้จากการอบ 130 °C

F2 = น้ำหนัก Crucible ที่ได้จากการเผา 500 °C

F0 = น้ำหนักตัวอย่าง

3.6 การวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมโดยวิธี Mohr titration

อุปกรณ์

- บิวเรตขนาด 25 ml
- ปิเปต ขนาด 10 ml
- ขวดปริมาตรขนาด 250 ml
- กรวยกรอง
- บิกเกอร์ขนาด 50, 250 ml
- ช้อนตักสาร

เครื่องมือ

- เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์
- เครื่องบดปั่น

สารเคมี

- Silver; $AgNO_3$ เข้มข้น 0.1 M
- ชั่ง $AgNO_3$ บริสุทธ์ 99.9 – 100 % ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 120°C นาน 2 ชั่วโมง จำนวน 16.9880 g ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- นำสารที่ชั่งได้ละลายด้วยน้ำกลั่นประมาณ 200 ml
- เทใส่ขวดปริมาตรขนาด 1000 ml แล้วปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำกลั่น

- ถ้า $AgNO_3$ มีความบริสุทธ์น้อยกว่า 99.9 – 100% ให้นำสารละลายที่เตรียมได้ไปหาความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยสารละลายมาตรฐาน NaCl เข้มข้น 0.1 M

- Sodium chloride; NaCl เข้มข้น 0.1 M

- ชั่ง NaCl บริสุทธ์ 99.9 – 100% และผ่านการอบที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 2 ชั่วโมง จำนวนกรัมด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง

- นำสารที่ชั่งได้ละลายด้วยน้ำกลั่นประมาณ 100 ml

- เทใส่ขวดปริมาตรขนาด 200 ml แล้วปรับปริมาตรครบด้วยน้ำกลั่น

- Potassium chromate ; K_2CrO_4 indicator

- ชั่ง K_2CrO_4 ปริมาณ 4.2 g ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง ใส่ในบิกเกอร์ 100 ml

- ชั่ง K_2CrO_7 ปริมาณ 0.7 g ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง ใส่ในบิกเกอร์ ใบเดิม

- เติมน้ำกลั่นประมาณ 80 ml คนให้ละลาย

- เทใส่ขวดปรับปริมาตร 100 ml ปรับให้ครบด้วยน้ำกลั่น

วิธีวิเคราะห์

1. ตักอาหารมาประมาณ 100 – 200 กรัมนำไปบดปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องบดปั่น
2. ชั่งตัวอย่างอาหาร (ที่บดปั่น) มา 10 กรัมใส่ในบิกเกอร์ เติมน้ำกลั่นลงไป คนให้เข้ากัน
3. เทใส่ขวดปริมาตรขนาด 250 ml ปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำกลั่น
4. นำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4
5. ปิเปตส่วนที่กรองได้มา 10 ml ใส่ในขวดรูปชมพู่เติม K_2CrO_4 indicator 1 ml
6. นำไปไตเทรตด้วย 0.1 $AgNO_3$ จุดยุติสารละลายจะมีสีแดงอิฐ บันทึกผล

3.7 การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมด

เครื่องมือ

- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- เตาให้ความร้อน

อุปกรณ์

- Erlenmeyer ขนาด 250 ml

- ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 , 250 ml
- บิกเกอร์ขนาด 100 ml
- ช้อนตักสาร
- Volume pipette ขนาด 5 ml
- Burette ขนาด 50 ml

สารเคมี

- สารละลาย Fehling no. 1 : ละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 . 5H_2O$) 69.278 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร โดยใช้ Volumetric flask

- สารละลาย Fehling no. 2 : ละลายโซเดียมไฮดรอกไซค์ (NaOH) จำนวน 100 กรัม และโซเดียมโปแตสเซียมตาร์เตรต ($NaKC_4O_6.4H_2O$) 346 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร โดยใช้ Volumetric flask

- สารละลายZinc ferrocyanide ประกอบด้วยสารละลาย Carrez I & II

- สารละลาย Carrez I : ละลาย Zinc acetate dehydrate 21.9 กรัม ในน้ำกลั่นที่มีกรดอะเซติค (glacial) 3 ml. ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml. โดยใช้ Volumetric flask

- สารละลายกรดเกลือความเข้มข้น 6.34 M : ตวงกรดไฮโดรคลอริคจำนวน 528.33 ml. ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

- สารละลายโซเดียมไฮดรอดไซค์ความเข้มข้น 5 M : ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซค์ จำนวน 200 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร

- สารละลายเมธิลีนบลูอินดิเคเตอร์ :ละลายเมธิลีนบลูจำนวน 1 กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml.

การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์

- ชั่งตัวอย่าง 3.0 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นพอประมาณ

- เติมสารละลาย Carrez I & II อย่างละ 5 ml. เขย่าให้เข้ากัน ปรับปริมาตร ให้ครบ 200 ml. ด้วยน้ำกลั่นใน Volumetric flask ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที

- กรองผ่านกระดาษกรอง Wathman เบอร์ 4

- นำสารละลายที่กรองได้ใส่บิวเรตชนิดปลายงอ ขนาด 50 ml. ไล่ฟองอากาศในบิวเรตออกให้หมด

- ปิเปตสารละลาย Fehling 1 และ 2 อย่างละ 5 ml. ใส่ใน flask ขนาด 250 ml.เติม glass bead ลงไป 8 – 10 เม็ด

- ต้มสารละลายใน flask ให้เดือดบนตะเกียงบุนเซ่น เติมเมธิลีนบลูอินดิเคเตอร์ 1 หยดไตเตรทจนได้ตะกอนสีส้มแดง สารละลายที่ใช้ในการไตเตรทต้องอยู่ในช่วง 15 – 50 ml.

- ทำการไตเตรทซ้ำ โดยปิเปตสารละลาย Fehling 1 และ 2 อย่างละ 5 ml.ใน flask ปล่อยสารละลายตัวอย่างจากบิวเรตลงไปก่อนถึงจุดยุติประมาณ 1- 2 ml.

- ต้มสารละลายใน flask ให้เดือดเติมเมธิลีนบลูอินดิเคเตอร์ แล้วจึงทำการไตเตรทจนได้ตะกอนสีส้มแดง บันทึกปริมาณที่ใช้ในการไตเตรท

- นำไปเทียบหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายตัวอย่างจากตาราง และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำตาลรีดิวซ์ก่อนอินเวอร์เตอร์ (D_1)

การวิเคราะห์น้ำตาลซูโครส

- ปิเปตสารละลายที่กรองได้จากการหาน้ำตาลรีดิวซ์มาจำนวน 50 มิลลิลิตร ใส่ใน Volumetric flask

- เติมสารละลายกรดเกลือที่มีความเข้มข้น 6.34 M 10 ml. นำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว

- ปรับส่วนผสมให้มีสภาพเป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซค์ที่มีความเข้มข้น 5 M แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml. ด้วยน้ำกลั่น ได้สารละลายตัวอย่างหลังการอินเวอร์ชั่น

- ทำการไตเตรทเช่นเดียวกับการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์หลังอินเวอร์ชั่น (D_2)

การคำนวณ

เปอร์เซ็นต์น้ำตาลซูโครส (S) = เปอร์เซ็นต์ของผลต่าง ($D_2 - D_1$) * 0.95

เปอร์เซ็นต์ทั้งหมด = $D_1 + S$

ค่าพลังงานความร้อนโดยการคำนวณ

หลักการ

เป็นการหาค่าพลังงานความร้อนเป็นกิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม โดยการคำนวณจากผลรวมของ (% คาร์โบไฮเดรท * 4)+ (% ไขมัน*9)+ (% โปรตีน* 4)

4. การศึกษาอายุการเก็บรักษาซูชิข้าวกล้องมังสวิรัติในภาชนะบรรจุที่แตกต่างกัน ได้แก่

- กล่องพลาสติกใสชนิด PE
- กล่องพลาสติกใสชนิด PP
- กล่องโฟม Wrap ด้วยฟิล์ม

เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและตู้เย็น

4.1 การวัดค่าความเป็น กรด - ด่าง

ใช้น้ำคั้นจากการบดซูชิโดยละเอียดแล้วนำมาวัดค่าความเป็น กรด – ด่างโดยใช้ pH meter

วิธีการดำเนินการ (Procedures)

1. ปรับ pH meter ให้อ่านค่าได้ถูกต้อง โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่ทราบ pH แน่นอน

2. จุ่มอิเลคโทรดลงในน้ำกลั่นเพื่อล้างให้สะอาดเช็ดให้แห้ง แล้วจุ่มลงในตัวอย่างอาหารที่ ต้องการวัดอ่านค่าพีเอชที่ได้จาก pH meter

3. ล้างอิเลคโทรดด้วยน้ำกลั่นเช็ดให้แห้งแล้วจึงแช่ไว้ในน้ำกลั่นหรือในสารละลายบัพเพอร์เพื่อ จะได้นำไปใช้งานได้ทันที

4.2 การวัดค่าเปอร์ออกไซด์

การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value)

หลักการและเหตุผล

ในระหว่างการเก็บรักษาไขมันและน้ำมันจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่น รส ที่ไม่ต้องการ เรียกว่า เหม็นหืน (rancidity)การเหม็นหืนที่เกิดขึ้นกับไขมันหรือน้ำมันส่วนใหญ่เกิดจาก Oxidative rancidity ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกับออกซิเจนในอากาศ โดยมีความร้อน แสง ความชื้น และโลหะพวกเหล็กและทองแดงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดเปอร์ออกไซด์

เปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะไม่อยู่ตัวจึงสลายตัวต่อไปเป็นสารประกอบที่ระเหยได้ (volatile compounds) เช่น อัลดีไฮด์ คีโตน แอลกอฮอล์ และกรด ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นหืนที่ไม่ต้องการ แม้ว่าเปอร์ออกไซด์ไม่ใช่ตัวที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นหืนโดยตรงเนื่องจากเปอร์ออกไซด์ไม่มีกลิ่น รส แต่ปริมาณเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นก็เป็นประโยชน์ในการประเมินหาการเสื่อมเสียของไขมันและน้ำมัน

ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value) เป็นการวัดปริมาณเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างน้ำมันหรือไขมัน เปอร์ออกไซด์จะเกิดขึ้นช้าๆ ในระยะแรกของการเก็บรักษาซึ่งอาจกินเวลา 2-3 สัปดาห์หรือ 2-3 เดือน ขึ้นอยู่กับชนิดของไขมันและน้ำมัน และสภาพการเก็บรักษา

ค่าเปอร์ออกไซด์สามารถวิเคราะห์หาได้จากปฏิกิริยาของ potassium iodide (KI) กับ bound oxygen ทำให้เกิดไอโอดีนขึ้น ซึ่งสามารถไตเตรทหาปริมาณไอโอดีนที่เกิดขึ้นด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต (sodium thiosulphate)

วัสดุอุปกรณ์

- ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml.
- บิวเรต ขนาด 50 ml.
- ปิเปต ขนาด 1 ml.
- กระบอกตวง 100 ml.

สารเคมี

- สารละลายกรดอะซิติกกับคลอโรฟอร์ม อัตราส่วน 3 : 2
- สารละลายอิ่มตัวโพแตสเซียมไอโอไดด์ (KI)
- สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต เข้มข้น 0.01 N
- น้ำแป้ง เข้มข้น 1%

วิธีการดำเนินการ

1. ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ใส่ใน flask ขนาด 250 ml.
2. เติมสารละลายอะซิติก-คลอโรฟอร์ม อัตราส่วน 3 : 2 ลงไป 25 ml. เขย่าให้ตัวอย่างละลาย
3. เติมสารละลายอิ่มตัวโพแตสเซียมไอโอไดด์ 1 ml. ปิดจุกพร้อมเขย่านาน 1 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ที่มืด 5 นาที
4. เติมน้ำกลั่น 75 ml.
5. ไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตพร้อมเขย่าอย่างแรงจนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน เติมน้ำแป้ง 0.5 ml. แล้วไตเตรทต่อไปจนสีน้ำเงินหมดไป
6. เตรียมและไตเตรท blank เช่นเดียวกับตัวอย่าง
7. คำนวณค่าเปอร์ออกไซด์จากสูตร

การคำนวณ

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

(มิลลิอิควิวาเลนต์ต่อกิโลกรัม) W

b = ปริมาตร (มล) ของโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรตกับ blank

a = ปริมาตร (มล) ของโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรตตัวอย่าง

N = ความเข้มข้นของโซเดียมไทโอซัลเฟต (นอร์มัล)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

หมายเหตุ

ถ้าการไตเตรทใช้สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต เข้มข้น 0.01 N ในปริมาณน้อยกว่า 0.5 ml. ให้เปลี่ยนความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเป็น 0.002 N

ภาคผนวก ข การศึกษาทางจุลชีววิทยา

ภาคผนวก ข การศึกษาทางจุลชีววิทยา

1. ปิเปตตัวอย่างอาหารที่เป็นของเหลวมา 10 กรัมใส่ในถุง Stomacher bag ที่ปราศจากเชื้อ เทสารละลายสำหรับเจือจาง ใช้ 0.1% peptone water 90 ml. เขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างที่เจือจางแล้วที่ความเข้มข้น 1:10

2. นำตัวอย่างตามข้อ 2 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลายเจือจาง 9 ml จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเข้มข้น1 : 100 (10^{-2})

3. เตรียมตัวอย่างอาหารให้เจือจาง 1 : 1000(10^{-3}) 1 : 10000(10^{-4}) ไปตามลำดับจนถึง 1 : 1000000000(10^{-8})

4. หลอมอาหารเลี้ยงเชื้อ Standard plate count agar (SPC) ให้ละลายแล้วทิ้งไว้ให้เย็น 50 °C

5. ในขณะที่ทำตัวอย่างอาหารให้เจือจางลงตามลำดับ ปิเปตตัวอย่างอาหารของทุกระดับความเจือจาง 1 มิลลิลิตร ในลงในจานเพาะเชื้อ โดยแต่ละระดับควรความเจือจาง ควรทำ 2 จาน (duplicate plate)

6. เทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจาน 15-20 ml

7. เขย่าจานให้หมุนไปทางขวา 5-10 ครั้ง ทางซ้าย 5-10 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้จนวุ้นแข็ง

8. บ่มเชื้อที่ 35-37 °C 48 ชั่วโมง โดยการกลับคว่ำจานลง (การบ่มเชื้อหาปริมาณอาจแตกต่างกันเล็กน้อย เช่นวิธีของ Association of Official Analytical Chemist (A.O.A.C) ใช้ 35°C 48 ชั่วโมง

9. Internation Dairy Federation ใช้ 32 °C นาน 48 ชั่วโมง

10.นับจำนวนโคโลนีทั้งบนผิวและในอาหารเลี้ยงเชื้อ

5. การตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ในอาหารโดยตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count) โดยใช้วิธี Pour Plate : วิเคราะห์ตาม A.O.A.C. (1990) การตรวจนับยีสต์และรา (yeast and mold) ด้วยอาหาร Rose Bengal Agar วิเคราะห์ตาม Fernces pouch downes keith it o, 2001

1. เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับการหาจุลินทรีย์ทั้งหมด

2. ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Rose Bengal แทน

3. ในขณะที่ทำตัวอย่างอาหารให้เจือจางลงตามลำดับ ปิเปตตัวอย่างอาหารของทุกระดับความเจือจาง 0.1 ml ลงในจานเพาะเชื้อ โดยแต่ละระดับความเจือจาง ควรทำ 2 จาน (duplicate plate)

4.บ่มเชื้อที่ 25 °C 3 วัน

5.นับจำนวนโคโลนีของเชื้อยีสต์ และราที่ขึ้นบนจานเพาะเชื้อในช่วง 25-250 โคโลนี รายงานผลเป็นค่า CFU/ml แล้วเปลี่ยนให้อยู่ในรูปค่า Log number

การตรวจนับ *B. cereus*

การเตรียมตัวอย่าง นำตัวอย่างมาตรวจทันที ถ้าไม่ได้ให้เก็บตัวอย่างไว้ที่ 4 °C ในกรณีที่ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ภายใน 4 วัน ให้แช่แข็งไว้ที่ – 20 °C เมื่อต้องการตรวจตัวอย่างให้นำมาละลายที่อุณหภูมิห้อง ตัวอย่าง อาหารแห้ง ให้เก็บที่อุณหภูมิห้องและขนส่งตัวอย่างโดยไม่ต้องแช่เย็น

Direct plate Count

ชั่งตัวอย่าง 25 กรัมใน Butterfield phosphate buffer 225 ml

(dilution 1:10)

↓

เจือจางต่อให้ได้ 10^{-2},10^{-3}, ...

↓

ปิเปต 0.1 ml **ของทุก** dilution ลงบน MYP agar เพลท

↓

เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยแท่งแก้ว

↓

บ่มที่ 30 °C, 24 ชั่วโมง

↓

นับจำนวนโคโลนี สีชมพูมีวงสีขาวขุ่นล้อมรอบ (Mannitol -, lecithinase+)

↓

streak โคโลนีลงบน Nutrient agar slant

↓

บ่มที่ 30 °C , 24 ชั่วโมง

↓

นำมาทดสอบยืนยันต่อไป

- Gram stain: แกรมบวกรูปร่างแท่ง มีสปอร์ภายในเซลล์ เซลล์โป่งพอง

- Motility Test: +

- Slide test: บ่มเชื้อใน nutrient ที่ 30 °C นาน 6 - 8 ชั่วโมง แตะเชื้อบนสไลด์แล้วหยดน้ำลงไป ผสมให้ทั่ว ปิดด้วย cover slip แล้วนำไปตรวจดูการเคลื่อนที่ของเซลล์ในน้ำด้วยกล้องจุลทรรศน์

- Nitrate reduction: + สีส้ม

- Hemolytic activity: complete hemolysis (β-hemolysis)

การรายงานผล รายงานเป็น CFU/g

ภาคผนวก ค การศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ภาคผนวก ค การศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัส

วิธีการศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัส ประกอบด้วยขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.1 การทดสอบทางประสาทสัมผัสด้าน สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม การทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลและกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ

1. การประเมินคุณภาพอาหารโดยวิธี Hedonic Rating Scale Test

เป็นวิธีการทดสอบ เพื่อใช้ทดสอบหาความรู้สึกของผู้บริโภคแต่ละคนที่มีต่อตัวอย่างทดสอบหรือผลิตภัณฑ์ โดยไม่ต้องการการตัดสินใจของผู้บริโภค

Hedonic Scale เป็นวิธีการทดสอบหาการยอมรับของตัวอย่าง โดยตัวอย่างจะถูกนำเสนอพร้อมกันมากกว่า 2 ตัวอย่าง ผู้ชิมจะต้องบันทึกขั้นของความชอบและความไม่ชอบต่อตัวอย่างออกมาเป็นคะแนน แบบทดสอบจะต้องอธิบายค่าของคะแนนที่กำหนด การทดสอบจะได้ผลผู้ทดสอบชิมจะต้องชิมและตัดสินใจทันที โดยไม่ให้มีเวลาในการชั่งน้ำหนัก หรือการตัดสินใจเพราะอาจผิดพลาดได้

วิธีการ

1. การเตรียมใบบันทึกงาน

กรอกข้อมูลสำคัญลงบนใบบันทึกงาน สุ่มหมายเลขตัวอย่างอาหารและลำดับการเสนอตัวอย่างอาหาร

2. การเตรียมใบประเมินผลทดสอบ

กรอกข้อมูลสำคัญลงบนใบประเมินผลทดสอบ สำหรับผู้ทดสอบชิมแต่ละคน

3. การเสนอตัวอย่างอาหาร

การเสริฟถาดตัวอย่างอาหารพร้อมใบประเมินผลทดสอบ ให้ผู้ทดสอบชิมแต่ละคนโดยกำหนดคะแนนให้

1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด

9 หมายถึง ชอบมากที่สุด

4. การแปรผลทดสอบ

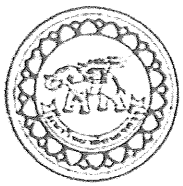
ผลการทดสอบจะถูกนำมาวิเคราะห์โดยใช้ Analysis of variance หรือ Rank analysis

ภาคผนวก ง ภาพซูชิที่ผ่านการคัดเลือก

ภาพที่ 17 ซูชิหน้าแครอท

ภาพที่ 18 ซูชิหน้าสับปะรด

ภาพที่ 19 ซูชิหน้ารวม



เอกสารรับรองโครงการวิจัยในมนุษย์
คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ชื่อโครงการ การพัฒนาผลิตภัณฑ์และอายุการเก็บรักษาซูชิข้าวกล้องมังสวิรัติ
Product Development and shelf life of vegetarian brown rice sushi

ชื่อหัวหน้าโครงการ นายอนุวัธน์ นิสัยสุข

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.เหรียญทอง สิงห์จานุสงค์

เลขที่โครงการ/รหัส 52 02 02 (007)

สังกัดหน่วยงาน/คณะ เกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

การรับรอง ขอรับรองโครงการวิจัยดังกล่าวข้างบนนี้ให้ผ่านการพิจารณาและรับรอง
จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
ครั้งที่ 3/2552 เมื่อวันที่ 18 มีนาคม 2552

ประเภทการรับรอง รับรองแบบเร่งรัด

ลงนาม

(ศาสตราจารย์ พิเศษ ดร.กาญจนา โงวรังษี)
ประธานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์