รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ปัทมา วิตยากร. 2529. สารต้านโภชนาการในผักกินใบบางชนิด. แก่นเกษตร 14: 230-236.

ปัทมา วิตยากร. 2530. ผักโขม: ผักพื้นบ้านของไทย. แก่นเกษตร 15: 205-210.

ลักขณา อมรสิน. 2540. การศึกษาปริมาณและการเปลี่ยนแปลงของไนเตรตและไนไตรต์ในผักกาดหอม ผักคะน้า ผักกวางตุ้ง ผักบุ้งและผักโขม หลังจากเก็บไว้ในตู้เย็น 1-5 วัน. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง 5: 22-31.

สมชาย ชคตระการ. 2537. เรื่องของผักโขม. ศักยภาพ 4: 26-30.

สมชาย ชคตระการ. 2539. การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโต และผลผลิตของผักโขม (*Amaranthus* spp.) สายพันธุ์ต่างประเทศในประเทศไทย. ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

สมชาย ชคตระการ. 2541. การเปรียบเทียบการเจริญเติบโต และผลผลิตของผักโขมพันธุ์ผักในดินผสมปุ๋ยอินทรีย์ชนิดต่างๆ. ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

สาธารณสุข, กระทรวง. 2527. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 84) พ.ศ. 2527 เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับพิเศษ เล่มที่ 102 ตอนที่ 23 (20 กุมภาพันธ์ 2528): 167.

สาธารณสุข, กระทรวง. 2530. ตารางแสดงคุณค่าทางอาหารไทยในส่วนที่กินได้ 100 กรัม. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข.

สาธารณสุข, กระทรวง. 2541. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 182) พ.ศ. 2541 เรื่อง ฉลากโภชนาการ. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับทั่วไป เล่มที่ 115 ตอนที่ 47ง (11 มิถุนายน 2541).

สาธารณสุข, กระทรวง. 2548. สถานการณ์ภาวะโภชนาการของประเทศไทย[ออนไลน์]. กรุงเทพมหานคร: กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. แหล่งที่มา: http://www.anamai.moph.go.th/nutri/newpage3.htm[2548, 23 มีนาคม]

อุตสาหกรรม, กระทรวง. 2532. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ผลไม้แห้ง (มอก. 919-2532). ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 107 ตอนที่ 12 (18 มกราคม 2533): 7.

ภาษาอังกฤษ

Andrews, J. C. and Viser, E. T. 1951. The oxalic acid content of some common foods. Food Res. 16: 306-312.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

AOAC. 1995. Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists International.

Baker, C. J. L. 1952. The determination of oxalates in fresh plant material. Analyst Lond. 77: 340-344.

Bressani, R. 1993. Amaranth. Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition 1: 135-140.

Burrows, S. 1950. A colorimetric method for the determination of oxalate. Analyst 75: 80-84.

Der Marderosian, A. D., Beutler, J., Pfendner, W., Chambers, J., Yoder, R., Weinsteiger, E. and Senft, J. 1980. Nitrate and oxalate content of vegetable amaranth. In Proceedings of the Second Amaranth Conference, pp. 31-41. Emmaus, PA: Rodale Press.

FDA. 1998. Bacteriological Analytical Manual (BAM). 8th ed. Rev. A. Washington, DC: Technical Editing Branch, Center for Food Safety and Applied Nutrition, U.S. Food and Drug Administration.

Fellows, P. J. 2000. Food Processing Technology: Principles and Practice. 2nd ed. New York: CRC Press.

Fennema, O. R., ed. 1996. Food Chemistry. 3rd ed. New York: Marcel Dekker.

Geankoplis, C. J. 1993. Transport Processes and Unit Operations. 3th ed. Englewood Cliffs, NJ: A Simon & Schsuter Company.

Grubben, G. J. H. 1976. The cultivation of amaranth as a tropical leaf vegetable. In Communication 67 of the department of Agriculture research. Amsterdam: Koniuklizk Institute voor de Tropen.

Grubben, G. J. H. 1993. Amranthus L. In Seimonsama, J. S. and Piluek, K. (eds). PROSEA: Plant Resources of South-East Asia, Vol. 8: Vegetables, pp. 82-86. Wageningen: Pudoc Scientific Publishers.

Grubben, G. J. H. and van Stolen, D. H. 1981. Genetic resources of amaranths. In International Board for Plant Genetic Resources. Rome: Food and Agricultural Organization.

Heisler, E. G., Siciliano, J., Krulick, S., Porter, W. L. and White, J. W., Jr. 1973. Nitrate and nitrite content of market potatoes. J. Agr. Food Chem. 21: 970-973.

Hill, R. M. and Rawate, P. D. 1982. Evaluation of food potential, some toxicological aspects and preparation of a protein isolate from the aerial part of amaranth (pigweed). J. Agr. Food Chem. 30: 465-469.

Hodgkinson, A. and Williams, A. 1972. An improved colorimetric procedure for urine oxalate. Clinica. Chimica. Acta. 36: 127-132.

Kauffman, C. S. and Gilbert, L. 1981. Vegetable Amaranth Summary. Emmaus, PA: Rodale Press.

Kramer, A. and Kwee, W. H. 1977. Utilization of tomato processing waste. J. Food Sci. 42: 212.

Lakshmi, B. and Vimala, V. 2000. Nutritive value of dehydrated green leafy vegetable powders. J. Food Sci. Technol. 37: 465-471.

Marais, J. P. 1997. Nitrate and oxalates. In D'Mello, J. P. F. (ed.), Handbook of Plant and Fungal Toxicants, pp. 205-218. New York: CRC Press.

Martin, F. W. and Ruberte, R. M. 1979. Edible Leaves of the Tropics. Mayagüez, Puerto Rico: Mayagüez Institute of Tropical Agriculture, U.S. Department of Agriculture.

McLaughlin, C. P. and Magee, T. R. A. 1998. The determination of sorption isotherm and the isosteric heats of sorption for potatoes. J. Food Eng. 35: 267-280.

Meena, B. A., Umapathy, K. P., Pankaja N. and Prakash, J. 1987. Soluble and insoluble oxalate in selected foods. J. Food Sci. Technol. 24: 43-44.

Meiselman, H. L. 1984. Consumer studies of food habits. In Piggott, J. R. (ed.), Sensory Analysis of Food, pp. 243-303. New York: Elsevier Applied Science Publishers.

National Research Council. 1984. Amaranth: Modern Prospects for an Ancient Crop. Washington, DC: National Academy Press.

Negi, P. S. and Roy, S. K. 2001. Effect of drying conditions on quality of green leaves during long term storage. Food Res. Int. 34: 283-287.

Oke, O. L. 1980. Amaranth in Nigeria. In Proceedings of the Second Amaranth Conference, p. 22. Emmaus, PA: Rodale Press.

Oke, O. L. 1983. Amaranth. In Chan, H. T., Jr. (ed.). Handbook of Tropical Foods, pp.1-29. New York: Marcel-Dekker.

Peredez- López, O. 1994. Amaranth: Biology, Chemistry and Technology. Boca Raton, FL: CRC Press.

Pingle, U. and Ramasastri, B. V. 1978a. Absorption of calcium from a leafy vegetable rich in oxalates. Br. J. Nutr. 39: 119-125.

Pingle, U. and Ramasastri, B. V. 1978b. Effect of water-soluble oxalates in *Amaranthus* spp. leaves on the absorption of milk calcium. Br. J. Nutr. 40: 591-594.

Robertson, G. L. 1993. Food Packaging: Principles and Practice. New York: Marcel Dekker.

Saunders, R. M. and Becker, R. 1984. Amaranthus: a potential food and feed resource. In Pomeranz, Y. (ed.), Advanced Cereal Science and Technology, Vol. 6, p. 357. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists.

Schüep, W. and Schierle, J. 1997. Determination of β-carotene in commercial foods: interlabolatory study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int. 80: 1057-1064.

Singh, P. P., Kothari, L. K., Sharma, D. C. and Saxena, S. N. 1972. Nutritional value of foods in relation to their oxalic acid content. Am. J. clin. Nutr. 25: 1147-1152.

Singh, P. P. and Saxena, S. N. 1972. Effect of maturity on the oxalate and cation contents of six leafy vegetables. Indian J. Nutr. Dietet. 9: 269-276.

Teutonico, R. A. and Knorr, D. 1985. Amaranth: composition, properties and applications of a rediscovered food crop. Food Technol. 39: 49-61.

Tucker, J. B. 1986. Amaranth: The once and future crop. Bioscience 36: 9-13.

Walters, R. D., Coffey, D. L. and Sams, C. E. 1988. Fiber, nitrate and protein content of *Amaranthus* accessions as affected by soil nitrogen application and harvest date. Hortsci. 23: 338-341.

WHO. 1995. Evaluation of certain food additives and contaminants. In WHO Technical Report Series. No. 859. pp. 29-35. Geneva: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, World Health Organization.

Wills, R. B. H., Wong, A. W. K., Scriven, F. M. and Greenfield, H. 1984. Nutrient composition of Chinese vegetables. J. Agri. Food Chem. 32: 413-416.

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพ

ก.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ตามวิธีของ AOAC (1995)

อุปกรณ์

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

hot air oven

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 2 g ใส่ถ้วยชั่งอลูมิเนียม และชั่งน้ำหนักเอาไว้
2. นำตัวอย่างเข้าตู้อบ ที่อุณหภูมิ 105°C จนน้ำหนักคงที่
3. ทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนัก
4. คำนวณปริมาณความชื้น (% โดยน้ำหนักแห้ง)

$$\text{ปริมาณความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบแห้ง} - \text{น้ำหนักหลังอบแห้ง}}{\text{น้ำหนักหลังอบแห้ง}} \times 100$$

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

ตามวิธีของ AOAC (1995)

อุปกรณ์

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

ชุดวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

สารเคมี

boric acid

catalyst-selenium mixture

methyl red-methylene blue indicator

sodium hydroxide

sulfuric acid

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 1 g ใส่ใน digestion flask
2. เติม catalyst-selenium mixture 5 g
3. เติม sulfuric acid เข้มข้น 20 ml

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. ย่อยด้วยเครื่อง Buchi digestion จนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน

5. กลั่นตัวอย่างที่ย่อยได้ด้วยเครื่อง Buchi distillation โดยใช้ sodium hydroxide เป็นตัวทำปฏิกิริยา เก็บสารละลายที่กลั่นได้ใน boric acid ที่เติม methyl red-methylene blue indicator ลงไป 2-3 หยด

6. titrate สารละลายที่กลั่นได้ ด้วย sulfuric acid 0.1 N

7. คำนวณปริมาณโปรตีน (%)

$$\text{ปริมาณโปรตีน} = \frac{0.1 \times \text{ปริมาตร sulfuric acid ที่ใช้ titrate} \times 6.25 \times 1.4}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้}}$$

ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณ crude fiber

ตามวิธีของ AOAC (1995)

อุปกรณ์

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

hot air oven

hot plate

muffle furnace

สารเคมี

ethanol

sodium hydroxide

sulfuric acid

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่าง 2 g ใส่ในบีกเกอร์
2. เติม sulfuric acid 5% 50 ml แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรเป็น 200 ml
3. ต้มให้เดือดนาน 30 นาที หมุนบีกเกอร์เป็นครั้งคราว
4. กรองผ่านกระดาษกรอง ใน Buchner funnel
5. ล้างบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่นร้อน 75 ml แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง ใน Buchner funnel
6. ล้างกากบนกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่นอีก 3 ครั้งๆ ละ 50 ml
7. นำกากที่ได้ใส่ในบีกเกอร์ แล้วเติม sodium hydroxide 5% 50 ml
8. ต้มให้เดือดนาน 30 นาที
9. กรองผ่าน asbestos ใน gooch crucible
10. ล้างกากด้วย sulfuric acid 1.25% 25 ml, น้ำกลั่นเดือด 50 ml และ ethanol 25 ml

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

11. อบในตู้อบที่ 130°C นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนักไว้

12. เผาใน furnace ที่ 600°C นาน 30 นาที ทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนักไว้

13. คำนวณปริมาณ crude fiber (%)

$$\text{ปริมาณ crude fiber} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนเผา} - \text{น้ำหนักหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้}} \times 100$$

ก.4 การวิเคราะห์ปริมาณ calcium

ตามวิธีของ AOAC (1995)

อุปกรณ์

- กระดาษกรอง Whatman no.1
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- centrifuge
- crucible sinter glass no.4
- muffle furnace
- water bath

สารเคมี

- acetic acid
- ammonium hydroxide
- ammonium oxalate
- ethanol
- hydrochloric acid
- methyl red
- potassium permanganate
- sodium oxalate
- sulfuric acid

วิธีทดลอง

การเตรียมสาร

potassium permanganate 0.02 N เตรียมโดย ละลาย potassium permanganate 1.6 g ในน้ำกลั่น 500 ml แล้วต้มที่อุณหภูมิ 90°C ใน water bath นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วกรองเอาตะกอนออกด้วย crucible sinter glass no.4

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การหาความเข้มข้นของ potassium permanganate

1. เตรียมสารละลาย primary standard ของ sodium oxalate โดยชั่ง sodium oxalate ที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 105°C นาน 2 ชั่วโมงมาแล้ว 0.67 g ใส่ใน volumetric flask 100 ml แล้วทำให้มีปริมาตรเป็น 100 ml ด้วยน้ำกลั่น แล้วคำนวณความเข้มข้น

2. ปิเปตสารละลาย sodium oxalate 25 ml เติม sulfuric acid 2.0 F 75 ml และน้ำกลั่น 50 ml เขย่าให้เข้ากัน

3. titrate กับ potassium permanganate 0.02 N จนเกิดสีชมพูอ่อน และไม่จางหายไป

4. นำสารละลายไปให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิ 50-60°C ใน water bath

5. titrate ต่อกับ potassium permanganate 0.02 N ทันที จนเกิดสีชมพูอ่อน และไม่จางหายไปภายใน 30 วินาที

6. คำนวณความเข้มข้นที่แท้จริงของ potassium permanganate (N)

$$\text{ความเข้มข้น} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ sodium oxalate} \times 25}{\text{ปริมาตร potassium permanganate ที่ใช้ titrate}}$$

การหาปริมาณ calcium

1. ชั่งตัวอย่าง 2 g ใส่ใน crucible แล้วนำไปเผาใน furnace ที่ 500-550°C

2. ละลายเถ้าที่ได้ใน hydrochloric acid (1+4) แล้วเทใส่ในบีกเกอร์ 100 ml

3. เติม hydrochloric acid 5 ml แล้วนำไประเหยจนแห้งใน water bath

4. เติม hydrochloric acid 5 ml ตามด้วยน้ำกลั่น 50 ml จากนั้นนำไปต้ม 2-3 นาที ใน water bath แล้วเทใส่ใน volumetric flask 100 ml

5. ทำให้เย็นอย่างรวดเร็วจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วทำให้มีปริมาตรเป็น 100 ml ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman no.1 ทิ้งส่วนที่กรองได้ในช่วงแรกทิ้งไป

6. ปิเปตส่วนที่กรองได้ 15 ml ใส่ในหลอด centrifuge ที่มีสารละลายอิ่มตัวของ ammonium oxalate อยู่ 2 ml และ methyl red (methyl red 1 g ใน ethanol 200 ml) อยู่ 2 หยด

7. เติม acetic acid (1+4) 2 ml หมุนหลอดให้สารผสมกัน

8. เติม ammonium hydroxide (1+4) โดยหมุนหลอดไปพร้อมๆ กัน จน pH เป็นด่าง

9. หยด acetic acid ลงไป 2-3 หยด จนเกิดสีชมพูจางๆ โดยหมุนหลอดไปด้วย

10. ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 4 ชั่วโมง

11. centrifuge นาน 15 นาที (หลังจากเสร็จแล้วตะกอนควรจะรวมตัวกันแน่นที่ก้นหลอด)

12. ค่อยๆ ดูดส่วนใสทิ้งไป โดยพยายามไม่ไปกวนให้ตะกอนลอยขึ้นมา

13. ล้างตะกอน โดยเติม ammonium hydroxide (1+49) 2 ml หมุนหลอดไปรอบๆ เพื่อทำให้ตะกอนแตกออกจากกัน แล้วนำไป centrifuge นาน 10 นาที

14. ค่อยๆ ดูดส่วนใสทิ้งไป จากนั้นล้างตะกอนด้วยวิธีเดิมอีกอย่างน้อย 3 ครั้ง

15. หลังจากทิ้งส่วนใสจากการล้างตะกอนครั้งสุดท้ายไปแล้ว เติม sulfuric acid (1+4) 2 ml หมุนหลอดไปรอบๆ เพื่อทำให้ตะกอนแตกออกจากกัน แล้วนำไปต้มใน water bath จนมีอุณหภูมิ 80-90°C

16. titrate กับ potassium permanganate 0.02 N โดยมีจุดยุติเป็นสีชมพูอ่อน

17. เตรียมสารละลาย blank จาก sulfuric acid (1+4) 2 ml จากนั้นต้มเหมือนข้อ 15

18. titrate กับ potassium permanganate 0.02 N โดยมีจุดยุติเป็นสีชมพูอ่อน

19 นำปริมาณ potassium permanganate ที่ใช้ในการ titrate ครั้งที่ 2 ไปลบออกจากปริมาณ potassium permanganate ที่ใช้ไปทั้งหมด

20. คำนวณปริมาณ calcium โดย potassium permanganate ที่ใช้ titrate 1 ml จะ equivalent กับ calcium 0.000400 g

ก.5 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินเอ (β-carotene)

ตามวิธีของ Schüep และ Schierle (1997)

อุปกรณ์

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

แผ่นกรอง nylon ขนาด pore size 0.45 μm

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ประกอบด้วย autosampler, column ODS-3 C_{18} 5 μm ขนาด 4.6 x 150 mm, multisolvent delivery system และ UV detector

rotary evaporator

shaker

spectrophotometer

สารเคมี

acetonitrile

β-carotene standard

dichloromethane

ethanol

methanol

n-hexane

tetrahydrofuran

วิธีทดลอง

การเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 1 g ใส่ใน volumetric flask 500 ml
2. เติมน้ำกลั่น 10 ml แล้วเขย่าบน shaker นาน 5 นาที
3. เติม ethanol 100 ml แล้วเติม dichloromethane จนได้ปริมาตรเกือบถึง 500 ml
4. ทิ้งไว้ในที่มืด จนตัวอย่างเย็นลงถึงอุณหภูมิห้อง
5. เติม dichloromethane จนได้ปริมาตรเป็น 500 ml เขย่า แล้วทิ้งให้ตกตะกอน
6. ปิเปตส่วนใสออกมา 50 ml แล้วทำให้แห้งด้วย rotary evaporator ที่อุณหภูมิไม่เกิน 50°C ภายใต้สุญญากาศบางส่วน
7. นำกากที่ได้ไปละลายใน mobile phase ที่จะใช้ run ใน HPLC 5 ml คือ methanol, acetonitrile และ tetrahydrofuran ในอัตราส่วน 55 : 40 : 5 ซึ่งจะได้ความเข้มข้นเป็น 5 μg/ml จากนั้นกรองผ่านแผ่นกรอง nylon

การเตรียมสารมาตรฐาน

1. ชั่ง β-carotene standard 3 mg ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml
2. เติม dichloromethane 20 ml เขย่าบน shaker นาน 30 วินาที
3. เติม n-hexane จนได้ปริมาตรเป็น 100 ml
4. ปิเปตสารละลายที่ได้มา 10 ml ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml แล้วเติม n-hexane ลงไปอีก จนได้ปริมาตรเป็น 100 ml ซึ่งจะได้สารละลายมาตรฐาน β-carotene 3 μg/ml ใน n-hexane 98% และ dichloromethane 2%
5. นำไปวัด absorbance ที่ 450 nm แล้วคำนวณความเข้มข้น โดยใช้ค่า E เป็น 2592
6. ปิเปตสารละลายมา 20 ml แล้วทำให้แห้งด้วย rotary evaporator ที่อุณหภูมิไม่เกิน 50°C ภายใต้สุญญากาศบางส่วน
7. นำกากที่ได้ไปละลายใน mobile phase 20 ml

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วย HPLC

flow rate = 15 ml/นาที

retention time = 22-24 นาที

detector wavelength = 450 nm

ก.6 การวิเคราะห์ปริมาณ oxalate

ตามวิธีของ Baker (1952)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อุปกรณ์

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

blender

centrifuge

crucible sinter glass no.4

suction pump

universal pH paper

water bath

สารเคมี

acetic acid

ammonium hydroxide

calcium chloride

calcium oxalate

capryl alcohol (octanol)

glacial acetic acid

hydrochloric acid

phosphoric acid

potassium permanganate

sodium acetate

sodium oxalate

sodium tungstate

sulfuric acid

วิธีทดลอง

การเตรียมสาร

1. hydrochloric acid เจือจาง เตรียมจาก hydrochloric acid ในน้ำกลั่น 1 : 1

2. phosphoric-tungstate reagent เตรียมโดยละลาย sodium tungstate 24 g ในน้ำกลั่น เติม phosphoric acid 40 ml แล้วทำให้มีปริมาตรเป็น 1 ลิตร

3. calcium chloride buffer เตรียมโดยละลาย calcium chloride 25 g ใน glacial acetic acid 50% (v/v) จากนั้นผสมกับสารละลาย sodium acetate 330 g ในน้ำกลั่น แล้วทำให้มีปริมาตรเป็น 500 ml

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. wash solution เตรียมจาก acetic acid 5% (v/v) ที่อิ่มตัวด้วย calcium oxalate ที่อุณหภูมิห้อง เขย่าให้เข้ากัน แล้วกรองผลึก calcium oxalate ออกด้วย crucible sinter glass no.4 ก่อนใช้งาน

5. potassium permanganate 0.02 N เตรียมโดย ละลาย potassium permanganate 1.6 g ในน้ำกลั่น 500 ml แล้วต้มที่อุณหภูมิ 90°C ใน water bath นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วกรองเอาตะกอนออกด้วย crucible sinter glass no.4 จากนั้นนำไปหาความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยวิธีเดียวกับที่กล่าวถึงในภาคผนวก ก.4

การหาปริมาณ total oxalate

1. homogenize ตัวอย่าง 60 g ที่สับแล้ว ในน้ำกลั่น 100 ml
2. เติม hydrochloric acid เจือจางต่อตัวอย่าง 2:10 ส่วนโดยปริมาตร และเติม capryl alcohol 1-2 หยด
3. ต้มนาน 15 นาที ทิ้งให้เย็น เติมน้ำจนมีปริมาตรเป็น 500 ml เขย่าแล้วทิ้งข้ามคืน
4. เขย่าให้เข้ากัน แล้วกรองผ่านกระดาษทิชชู
5. นำส่วนที่กรองได้ 25 ml มาเติม phosphoric-tungstate reagent 5 ml
6. ทิ้งไว้นาน 5 ชั่วโมง แล้ว centrifuge ที่ 3000 rpm นาน 10 นาที
7. นำส่วนใส (deproteinized extract) มา 20 ml ปรับให้เป็นด่างด้วย ammonium hydroxide โดยสังเกตจากการเกิดตะกอนสีขาวขุ่น หรือวัดด้วย pH paper
8. เติม calcium chloride buffer 5 ml กวน แล้วแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5-7°C ข้ามคืน
9. centrifuge นาน 10 นาที เก็บตะกอนไว้
10. เติม wash solution 20 ml ลงไปในส่วนตะกอน แล้วกวนให้เข้ากัน
11. centrifuge นาน 10 นาที เก็บตะกอนไว้
12. ละลายตะกอนใน sulfuric acid 10% 5 ml แล้วต้มที่ 100°C นาน 2 นาที
13. titrate กับ potassium permanganate 0.02 N โดยมีจุดยุติเป็นสีชมพูอ่อน
14. คำนวณปริมาณ oxalate โดย potassium permanganate ที่ใช้ titrate 1 ml จะ equivalent กับ oxalate 0.00090 g และ deproteinized extract 20 ml จะ equivalent กับตัวอย่าง 2 g

การหาปริมาณ soluble oxalate

1. homogenize ตัวอย่าง 60 g ที่สับแล้ว ในน้ำกลั่น 100 ml
2. เติม hydrochloric acid เจือจางต่อตัวอย่าง 2:10 ส่วนโดยปริมาตร และเติม capryl alcohol 1-2 หยด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. ต้มนาน 15 นาที ทิ้งให้เย็น เติมน้ำจนมีปริมาตรเป็น 500 ml เขย่าแล้วทิ้งข้ามคืน

4. เขย่าให้เข้ากัน แล้วกรองผ่าน crucible sinter glass no.4

5. นำส่วนที่กรองได้ 25 ml มาเติม hydrochloric acid เจือจาง และ phosphoric-tungstate reagent ลงไปอย่างละ 5 ml

6. ขั้นตอนที่เหลือทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณ total oxalate

ก.7 การวิเคราะห์ปริมาณ nitrate

ตามวิธีของ Heisler (1973)

อุปกรณ์

กระดาษกรอง Whatman no.1

กระดาษกรอง Whatman no.42

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

เครื่องร่อนแยกขนาด

ชุดกลั่น Kjeldahl

ตะแกรงร่อน ความละเอียด 0.5 mm

centrifuge

digestion flask ขนาด 500 ml

glass bead

hot air oven

iodine flask ขนาด 125 ml

shaker

spectrophotometer

สารเคมี

3,4-dimethyl phenol

potassium nitrate

sodium hydroxide

sulfuric acid

วิธีทดลอง

1. อบตัวอย่างที่อุณหภูมิ 60-70°C จนน้ำหนักคงที่

2. บดให้ละเอียดด้วยโกร่งบดยา แล้วร่อนผ่านตะแกรงร่อน ความละเอียด 0.5 mm

3. ชั่งตัวอย่างแห้ง 1 g ใส่ใน flask 250 ml

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. เติมน้ำกลั่น 100 ml เขย่าบน shaker นาน 30 นาที

5. centrifuge ที่ 5000 rpm นาน 10 นาที

6. นำส่วนใสมากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman no.1 และตามด้วย no.42

7. ปิเปตส่วนที่กรองได้ (หรือสารละลาย potassium nitrate มาตรฐาน ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในกรณีที่จะหา standard curve) มา 5 ml ใส่ใน iodine flask ขนาด 125 ml

8. เติม 3,4-dimethyl phenol 0.1 g

9. sulfuric acid 10 ml ปิดฝา แล้วทิ้งไว้ 10 นาที

10. เติมน้ำกลั่น 30 ml ทำให้ flask เย็น โดยให้น้ำเย็นไหลผ่าน แล้วทิ้งไว้ 30 นาที

11. เทสารละลายใส่ใน digestion flask ขนาด 500 ml แล้วใส่ glass bead ลงไป

12. กลั่นด้วยชุดกลั่น Kjeldahl โดยเก็บ distillate ใน volumetric flask 25 ml ที่มี sodium hydroxide 5% อยู่ 3 ml จนได้ปริมาตรเกือบถึง 25 ml แล้วทำให้มีปริมาตรเป็น 25 ml ด้วยน้ำกลั่น (ใช้น้ำกลั่นเป็น blank) นำไปวัด absorbance ที่ 430 nm

13. คำนวณปริมาณ nitrate จาก standard curve

ก.8 การหา adsorption isotherm

ตามวิธีของ McLaughlin และ Magee (1998)

อุปกรณ์

ขวดโหลแก้วฝาเกลียว ขนาด 16 x 16 x 16 cm

ขาตั้ง 3 ขา stainless steel

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

ถ้วยชั่งอลูมิเนียม

hot air oven

สารเคมี

lithium chloride

magnesium chloride

potassium acetate

potassium carbonate

potassium chloride

potassium nitrate

sodium bromide

sodium chloride

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

sodium nitrite

toluene

วิธีทดลอง

การเตรียมสารละลายเกลืออิ่มตัว

1. ชั่งเกลือชนิดต่างๆ ใส่ในขวดโหลแก้วฝาเกลียว ดังนี้

   1) lithium chloride 375 g
   2) potassium acetate 800 g
   3) magnesium chloride 1000 g
   4) potassium carbonate 500 g
   5) sodium bromide 500 g
   6) sodium nitrite 205 g
   7) sodium chloride 700 g
   8) potassium chloride 500 g
   9) potassium nitrate 80 g

2. เติมน้ำกลั่น (อุณหภูมิห้อง) ลงไปในขวดโหล ดังนี้

   1) 212.5 ml
   2) 260 ml
   3) 125 ml
   4) 225 ml
   5) 200 ml
   6) 250 ml
   7) 210 ml
   8) 200 ml
   9) 250 ml

3. ปิดฝา ตั้งทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง คนให้เข้ากันทุกวันๆ ละ 1 ครั้ง (สำหรับขวดที่เป็น lithium chloride และ sodium bromide คนด้วย spatula โลหะ)

4. วางบีกเกอร์ ที่มี toluene 25 ml ในขวดโหลที่ 5 ถึง 9 บน ขาตั้ง 3 ขา

การสร้าง adsorption isotherm

1. หาปริมาณความชื้นของตัวอย่างตามวิธีของ AOAC (1995)
2. ชั่งตัวอย่าง 2 g ใส่ในถ้วยชั่งอลูมิเนียม
3. วางถ้วย บนขาตั้ง 3 ขา ในขวดโหลแต่ละขวด ปิดฝา แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง
4. ชั่งน้ำหนักทุกๆ 4 วัน จนน้ำหนักคงที่ (± ไม่เกิน 0.001 g) เวลาในการชั่งแต่ละถ้วยไม่เกิน 30 วินาที น้ำหนักตัวอย่างจะคงที่ภายใน 3 สัปดาห์
5. นำตัวอย่างไปหาปริมาณความชื้นของตัวอย่างตามวิธีของ AOAC (1995)
6. plot กราฟระหว่างปริมาณความชื้น (% โดยน้ำหนักแห้ง) กับค่า water activity โดยค่า water activity ของสารละลายเกลืออิ่มตัวชนิดต่างๆ มีค่าดังนี้

   1) lithium chloride 0.113
   2) potassium acetate 0.216
   3) magnesium chloride 0.324
   4) potassium carbonate 0.432
   5) sodium bromide 0.577
   6) sodium nitrite 0.635
   7) sodium chloride 0.750
   8) potassium chloride 0.834
   9) potassium nitrate 0.930

ก.9 การวัดค่า tensile strength

อุปกรณ์

probe สำหรับวัดค่า tensile strength (Tensile Grip)

texturometer (Texture Analyzer)

วิธีทดลอง

1. ตัดตัวอย่างให้มีขนาดเป็น 2 x 7 cm
2. ตั้งค่าต่างๆ ของเครื่อง texturometer สำหรับการ calibrate และวัดค่า ดังนี้
   - calibrate probe : 30 mm
   - mode : force in tension, probe : A/TG
   - return to start
   - stop plot at final
   - test speed : 1.0, pre-test speed : 1.0
   - distance : 15 mm
   - accuracy : 400.00
   - trigger : auto 10 g
   - break mode : off
   - units: force = grams
   - threshold : 300 g
3. คำนวณค่า tensile strength จาก macro โดยตั้ง macro ดังนี้

   1) clear graph result
   2) redraw
   3) search forwards
   4) go to min time
   5) % of max +ve force
   5) mark force
   6) mark distance

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

ข.1 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

ตามวิธีของ FDA BAM (1998)

อุปกรณ์

- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เตาอบไมโครเวฟ
- autoclave
- blender
- colony counter
- hot air oven
- incubator
- pH meter

สารเคมี

- plate count agar
- potassium dihydrogen phosphate
- sodium hydroxide

วิธีทดลอง

การเตรียมสารเคมี

1. Butterfield's phosphate-buffered dilution water เตรียมโดยละลาย potassium dihydrogen phosphate 34 g ในน้ำกลั่น 500 ml ปรับ pH เป็น 7.2 ด้วย sodium hydroxide 1 N ทำให้มีปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที
2. dilution blank เตรียมโดยผสม Butterfield's phosphate-buffered dilution water 1.25 ml ในน้ำกลั่น 1 ลิตร แล้วนำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที

การเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 50 g ใส่ใน blender
2. เติม Butterfield's phosphate-buffered dilution water 450 ml
3. ปั่นให้เข้ากันนาน 2 นาที จะได้สารละลายตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1}

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. เตรียมสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} จนถึงความเข้มข้นที่ต้องการ โดยปิเปตสารละลายที่มีความเข้มข้นสูงกว่า 10 เท่า 10 ml ใส่ในหลอดทดลองที่มี dilution blank อยู่ 90 ml เขย่าให้เข้ากัน 30 ครั้งภายใน 7 วินาที จะได้สารละลายที่ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นลดลง 10 เท่า

การเลี้ยงเชื้อ

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 ml ใส่ใน petri dish
2. เท plate count agar 12-15 ml (อุณหภูมิประมาณ 45°C) ลงใน petri dish หมุน petri dish และเลื่อนไปมา ตามแนวนอน ให้ agar ผสมกับตัวอย่าง
3. ทิ้งไว้ให้ agar แข็งตัว
4. กลับด้าน perti dish แล้วนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 35°C นาน 48 ชั่วโมง
5. นับจำนวนโคโลนี เฉพาะใน perti dish ที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี ด้วย colony counter ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง 2 ความเข้มข้น
6. คำนวณปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/g)

$$\text{ปริมาณ} = \frac{\Sigma C / [(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2)]}{d}$$

ΣC = จำนวนโคโลนีจากทุก perti dish รวมกัน

n_1 = จำนวน petri dish ที่ระดับความเข้มข้นของตัวอย่างสูงกว่า

n_2 = จำนวน petri dish ที่ระดับความเข้มข้นของตัวอย่างต่ำกว่า

d = ระดับความเข้มข้นของตัวอย่างต่ำกว่า

ข.2 การวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และรา

ตามวิธีของ FDA BAM (1998)

อุปกรณ์

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

เตาอบไมโครเวฟ

autoclave

colony counter

hot air oven

incubator

stomacher

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารเคมี

dichloran rose bengal chloramphenical (DRBC) agar

peptone

วิธีทดลอง

การเตรียมสารเคมี

peptone water 0.1% เตรียมโดยละลาย peptone 1 g ในน้ำกลั่น 1 ลิตร แล้วนำไป autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที

การเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 50 g ใส่ในถุง stomacher
2. เติม peptone water 0.1% 450 ml
3. ตีให้เข้ากันนาน 2 นาที จะได้สารละลายตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1}
4. เตรียมสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} จนถึงความเข้มข้นที่ต้องการ โดยปิเปตสารละลายที่มีความเข้มข้นสูงกว่า 10 เท่า 10 ml ใส่ในหลอดทดลองที่มี peptone water 0.1% อยู่ 90 ml เขย่าให้เข้ากัน 30 ครั้งภายใน 7 วินาที จะได้สารละลายที่ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นลดลง 10 เท่า

การเลี้ยงเชื้อ

1. เท dichloran rose bengal chloramphenical agar 12-15 ml (อุณหภูมิประมาณ 45°C) ลงใน petri dish หมุน petri dish และเลื่อนไปมา ตามแนวนอน ให้ agar กระจายให้ทั่ว
2. ทิ้งไว้ให้ agar แข็งตัว
3. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 ml ลงบน agar
4. spread plate ด้วย bent glass rod
5. incubate ที่อุณหภูมิ 35°C นาน 5 วัน ถ้ายังไม่พบเชื้อ ให้ incubate ต่ออีก 48 ชั่วโมง
6. นับจำนวนโคโลนี เฉพาะใน perti dish ที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 10-150 โคโลนี ด้วย colony counter ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง 2 ความเข้มข้น
6. คำนวณปริมาณยีสต์และรา (CFU/g) เช่นเดียวกับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

ภาคผนวก ค

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ค.1 แบบทดสอบสำหรับการเลือกปริมาณและสูตรเครื่องปรุงรส

ชื่อผู้ทดสอบ .... วันที่ ....

โปรดชิมผลิตภัณฑ์ผักโขมปรุงรสอบแห้งนี้ แล้วตอบคำถามด้านล่าง ระบุระดับความพอใจที่มีต่อตัวอย่างผลิตภัณฑ์แต่ละตัวอย่าง โดยเติมตัวเลขระดับคะแนน ลงไปด้านหน้าของหมายเลขตัวอย่าง ดังนี้

1 – ไม่ชอบมาก　　2 – ไม่ชอบ　　3 – เฉยๆ

4 – ชอบ　　5 – ชอบมาก

1. กรุณาบอกความพอใจที่มีต่อลักษณะต่างๆ ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ ประกอบด้วย

   1.1 รสหวาน

   ......______　......______　......______　......______

   ......______　......______　......______　......______

   1.2 รสเค็ม

   ......______　......______　......______　......______

   ......______　......______　......______　......______

   1.3 กลิ่นหอมของซีอิ้วขาว

   ......______　......______　......______　......______

   ......______　......______　......______　......______

2. กรุณาบอกความพอใจโดยรวมที่มีต่อตัวอย่างผลิตภัณฑ์

   ......______　......______　......______　......______

   ......______　......______　......______　......______

3. ข้อคิดเห็นหรือข้อเสนอแนะอื่นๆ

   ....

   ....

   ....

   ....

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค.2 แบบทดสอบสำหรับการเลือกปริมาณพริกไทย

ชื่อผู้ทดสอบ .... วันที่ ....

โปรดชิมผลิตภัณฑ์ผักโขมปรุงรสอบแห้งนี้ แล้วตอบคำถามด้านล่าง ระบุระดับความพอใจที่มีต่อตัวอย่างผลิตภัณฑ์แต่ละตัวอย่าง โดยเติมตัวเลขระดับคะแนน ลงไปด้านหน้าของหมายเลขตัวอย่าง ดังนี้

1 – ไม่ชอบมาก 2 – ไม่ชอบ 3 – เฉยๆ

4 – ชอบ 5 – ชอบมาก

1. กรุณาบอกความพอใจที่มีต่อกลิ่นหอมของพริกไทยของตัวอย่างผลิตภัณฑ์

   ......______ ......______ ......______ ......______

2. กรุณาบอกความพอใจโดยรวมที่มีต่อตัวอย่างผลิตภัณฑ์

   ......______ ......______ ......______ ......______

3. ข้อคิดเห็นหรือข้อเสนอแนะอื่นๆ

   ....

   ....

   ....

   ....

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค.3 แบบทดสอบสำหรับการศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์

ชื่อผู้ทดสอบ .... วันที่ ....

โปรดชิมผลิตภัณฑ์ผักโขมปรุงรสอบแห้งนี้ แล้วตอบคำถามด้านล่าง ระบุระดับความพอใจที่มีต่อตัวอย่างผลิตภัณฑ์แต่ละตัวอย่าง โดยเติมตัวเลขระดับคะแนน ลงไปด้านหน้าของหมายเลขตัวอย่าง ดังนี้

1 – ไม่ชอบมาก	2 – ไม่ชอบ	3 – เฉยๆ
4 – ชอบ	5 – ชอบมาก	

1. กรุณาบอกความพอใจที่มีต่อลักษณะต่างๆ ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ ประกอบด้วย

   1.1 รสหวาน

   ......_____ ......_____

   1.2 รสเค็ม

   ......_____ ......_____

   1.3 กลิ่นหอมของซีอิ๊วขาว

   ......_____ ......_____

   1.4 กลิ่นหอมของพริกไทย

   ......_____ ......_____

2. กรุณาบอกความพอใจโดยรวมที่มีต่อตัวอย่างผลิตภัณฑ์

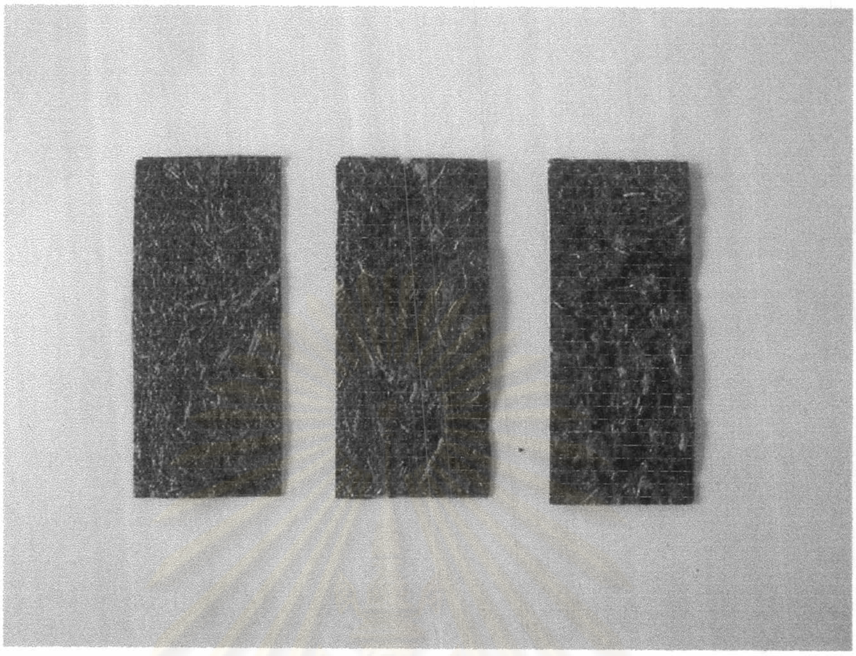
   ......_____ ......_____

3. ข้อคิดเห็นหรือข้อเสนอแนะอื่นๆ

   ....
   ....
   ....
   ....

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง



รูปที่ ง.1 ผลิตภัณฑ์ผักโขมปรุงรสอบแห้ง

รูปที่ ง.2 ถุง laminate ที่บรรจุผลิตภัณฑ์เรียบร้อยแล้ว

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายณัฐ เทพหัตถี เกิดเมื่อวันที่ 19 พฤษภาคม 2523 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2543 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร ที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2544

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย