รายการอ้างอิง

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาษาไทย

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2537. การสัมมนาทางวิชาการแนวทางพัฒนาอุตสาหกรรมการเลี้ยงผึ้งและผลิตภัณฑ์ผึ้ง. วันที่ 12-13 มิถุนายน 2537. กองป้องกันและกำจัดศัตรูพืช กรมส่งเสริมการเกษตร.

ข่าวงานวิจัยและเทคโนโลยี. 2533. การศึกษาถึงผลของอายุการเก็บต่อองค์ประกอบของน้ำผึ้ง ปีที่ 9 (12): 3-5.

ตรีทิพย์ เชี่ยวชาญวิทย์. 2529. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของนมผึ้งและคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของนมผึ้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาชีวเคมี บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

นรินทร์ ทองศิริ. 2531. กระบวนการผลิตนมเปรี้ยว. เทคโนโลยีอาหารนม. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

บุญมี กวินเสกสรรค์. 2536. การผลิตและคุณภาพของรอยัลเยลลีจากผึ้งโพรง(Apis cerana) วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 10. 2515. เรื่องกำหนดอาหารที่ควบคุม กำหนดคุณภาพมาตรฐาน วิธีการผลิต และฉลากสำหรับบริโภค และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากน้ำนมโค. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงสาธารณสุข.

_____. ฉบับที่ 99. 2529. เรื่องนมเปรี้ยว. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงสาธารณสุข.

_____. ฉบับที่ 133. 2533. เรื่องรอยัลเยลลี และผลิตภัณฑ์รอยัลเยลลี. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงสาธารณสุข.

ฝ่ายวิชาการธนาคารกสิกรไทย. 2533. อาหารเสริมสุขภาพ. เอกสารวิชาการ 11(1).

พงศ์เทพ อัครธนกุล. 2527. ว่าด้วยผึ้ง และการเลี้ยงผึ้ง. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช. หน้า 9-162.

มยุร วิเศษกุล. 2534. องค์ประกอบทางวิทยาศาสตร์ และประโยชน์ทางโภชนาการและการแพทย์ของนมผึ้ง. Royal Jelly. นมผึ้ง. : 1-7.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำผึ้ง: มอก 470. 2526. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงอุตสาหกรรม.

รายงานกิจกรรมกรมวิทยาศาสตร์. 2524. เล่มที่ 39: 147-148. กรุงเทพมหานคร.

วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม หน้า 189-209. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

ศยามน ปริยวงศ์สกุล. 2536. การผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่มด้วยวิธีเติมกรด. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศูนย์พาณิชยกรรม ณ รอตเตอร์ดัม. 2532. น้ำผึ้งสิ่งปรารถนาของชาวยุโรป. ผู้ส่งออก 2(43): 61-64.

สมพร หิรัญรามเดช. 2535. ผึ้งและผลิตภัณฑ์ผึ้ง. นสพ.กสิกร 65(1): 55-62.

สิรนุช รัชชุศานติ. 2536. ผลของนมผึ้งต่อเซลมะเร็งกล่องเสียง. ภาคนิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สิริวัฒน์ วงษ์สิริ. 2536. ความเร้นลับของผลิตภัณฑ์จากผึ้ง. เอกสารประกอบการสัมมนา Ajinomoto's Forum. กรุงเทพมหานคร.

_____. และเพ็ญศรี ดังคณะสิงห์. 2529. ชีววิทยาผึ้ง. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: ฝ่ายวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุภาภรณ์ พงศกร. 2531. นมผึ้ง. ใกล้หมอ. กรกฎาคม: 72-73.

หิรัญรัตน์ สุวรรณทึ และ มาลี ศรีสดสุข. 2532. การศึกษาผลของอายุการเก็บต่อองค์ประกอบของน้ำผึ้ง. รายงายผลการวิจัยประจำปี 2532. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภาษาอังกฤษ

AOAC. 1984. Official Method of Analysis 14 th ed. The Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C.

Barker, S.A., Foster, A.B., Lamb, D.C., and Jackman, L.M. 1959. Biological Origin and Configuration of 10-Hydroxy-2-decenoic Acid. Nature 184: 634.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Blum, M.S., Naovak, A.F., and Taber, S. 1959. 10-Hydroxy-2-decenoic Acid and Antibiotic Found in Royal Jelly. Science 130: 452-453.

Butenandt, A., and Rembold, H. 1957. Hoppe-Seylers' Z. Phisiol. Chem. 308: 284-289.

Callow, R.K., Jonhston, N.C., and Simpson, J. 1959. 10-Hydroxy-2-decenoic Acid in the Honey Bee (Apis mellifera). Experientia 15 : 421-422.

Colhoun, E.H., and Smith, M.V. 1960. Neurohormonal Properties of Royal Jelly. Nature 188: 854-855.

Crane, E. 1975. Honey:A Comprehensive Survey Honey. Heinemann, London.

_____. 1990. Honey:A Comprehensive Survey Honey. Heinemann, London.

Daly, C. 1991. Lactic Acid Bacteria and Milk Fermentations. J. Chem. Technol. Biotechnol. 51(4): 544-548.

Davidson, R.L. 1980. Handbook of Water-Soluble Gums and Resins. New York: McGraw-Hill.

Dixit, P.K., and Patel, N.G. 1964. Insulin-Like Activity in Larval Food of the Honeybee. Nature 202: 189-190.

Echigo, T., Takenaka, T., and Kakahashi, K. 1982. On Chemical Composition of Carboxylic Acid in Royal Jelly. Bull. Fac. Agr., Tamagawa Univ. 22: 67-78.

Fujiwara, S., Imai, J., Fujiwara, M., Yaeshima, T., Kawashima, T., and Kobayashi, K. 1990. A Potent Antibacterial Protein in Royal Jelly Protein in Royal Jelly Purification and Determination of Primary Structure of Royalisin. J. Biol. Chem. 265(19) : 11333-11337.

Gardner, T.S. 1948. The Use of Drosophila Melanogaster as a Screening Agent for Longevity Factors. J. Gerontology 3(1): 1-8.

Ingenpass, P. 1980. Do Sour Milk Drink Have a Future ?. Food, Flavoring, Ingredients, Packaging and Processing. 2(1): 15-17,19.

Kosikowski, F. 1978. Cheese and Fermented Milk Foods 2nd ed. pp. 86. F.V. Kosikowski and Associates, Brooktondale, NY.

Kuang, C.L., Mei En, L.T., and Kuang, H.K. 1992. Growth Inhibition of Ascosphaera apis by Royal Jelly and 10-HDA. Bull. Inst. Zool., Acad. Sin. 31(2) :73-79.

Lochhead, A.G. 1933. Factors Concerned with the Fermentation of Honey. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionstr., Abt.2. 88 :296-302.

Morley, R.G. 1978. New and Versatile Fluid Dairy Product-Yogurt Drink. Amer. Dairy Rev. 40(5): 28-29.

National Royal Jelly Fair Trade Conference (Japan). 1980. Manual for Examination of Royal Jelly. Japan Food Research Laboratories. pp. 2-12.

National Yoghurt Association. 1989. Yogurt: Nutrition and Health Properties. (ed. Ramesh C. Chandan), NYA, McLean, VA.

Rattanatayarom, W., Luankosolchai, R., Phivthongngam, L., Thamavit, W., and Pongsakorn, S.V. 1992. The Study on Acute Toxicity of Royal Jelly. Abstracts of Papers and Bibliography on Asian Honey Bees 1979-1991: 40.

Rembold, H., and Hanser, G. 1960. Z. Physiol. Chem. 319: 206.

Robinson, R.K., and Tamine, A.Y. 1985. Yoghurt Science and Technology. Pergamon Press, Oxford.

Tamine, A.Y., and Deeth, H.C. 1980. Yogurt:Technology and Biochemistry. J. Food Prot. 43(12): 939-977.

The Copenhagen Pectin Factory Ltd. n.d. 1990. Stabilization of Fermented and Directly Acidified Sour Milk Drink. Denmark: n.p.

Townsend, G.F., and Lucus, C.C. 1940. The Chemical Nature of Royal Jelly. Biochem. J. 34: 1155-1162.

_____. G.F., Morgan, J.F., Tolnai, S., Hazlett, B., Morton, H.J., and Shuel, R.W. 1960. Studies on the In Vitro Antitumor Activity of Fatty Acid I. 10-Hydroxy-2-decenoic Acid from Royal Jelly. Cancer Res. 20(4): 503-510.

Vedamuthu, E.R. 1991. The Yoghurt Story-Past, Present and Future Part VII. Dairy, Food and Environmental Sanitation 11(10) : 583-585.

Vittek, J., and Slomiany, B.L. 1984. Testosterone in Royal Jelly. Experientia 40: 104-106.

Yatsunami, K., and Echigo, T. 1985. Antibacterial Activity of Royal Jelly. Bull. Fac. Agr., Tamagawa Univ. 25: 13-22.

White, J. W., Jr. 1975. Honey. The Hive and the Honeybee. (R.A.Grout, ed.) pp. 491-530. Dadant and Sons, Hamilton, Illinois.

_____., J. W., Jr. 1978. Honey. Adv. Food Res. 24: 287-374.

_____., J. W., Jr., and Subers, M.H. 1963. Studies on Honey Inhibine. 2. A Chemical Assay. J. Apic. Res. 2(2): 93-100.

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี

ก.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น

(National Royal Jelly Fair Trade Conference, 1980)

สารเคมี

diatom earth หรือ sea sand ขนาด 20-40 mesh

วิธีการวิเคราะห์

1. เท diatom earth หรอ sea sand ลงใน aluminum dish (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 mm สูง 40 mm) ประมาณครึ่งหนึ่งของความสูง dish วาง glass rod (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 mm ยาว 50 mm) ไว้ใน dish

2. นำ dish ข้อ 1 เข้าไปอบในตู้อบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 70 $\pm$ 2 °C และความดัน 25 $\pm$ 5 mmHg จนได้น้ำหนักคงที่

3. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่าง 2-3 กรัม ใส่ใน dish ใช้ glass rod คนให้เข้ากัน

4. นำไปอบในตู้อบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 70 $\pm$ 2 °C และความดัน 25 $\pm$ 5 mmHg นานประมาณ 6 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน desiccator ประมาณ 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่ได้

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{B-C}{B-A} \times 100$$

A = น้ำหนักที่แน่นอนของ dish (กรัม)

B = น้ำหนักที่แน่นอนของ dish และ ตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

C = น้ำหนักที่แน่นอนของ dish และ ตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

ก.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

(National Royal Jelly Fair Trade Conference, 1980)

สารเคมี

1. catalyst

เตรียมโดยผสม copper sulfate ($CuSO_4$) และ potassium sulfate (K_2SO_4) ในอัตราส่วน 1:9

2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 %

เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 400 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร

3. สารละลาย boric acid 4 %

เตรียมโดยชั่ง boric acid 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร

4. indicator mixture

เตรียมโดยชั่ง bromocresol green 0.3 กรัม และ methyl red 0.2 กรัม ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ 400 ml

5. สารละลายมาตรฐาน sulfuric acid ความเข้มข้น 0.1 N

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ใน digestion flask

2. เติม catalyst 5.0 กรัม และ sulfuric acid เข้มข้น 15 ml ผสมให้เข้ากัน

3. นำไปย่อยจนได้ของเหลว หลังจากเริ่มใสให้ความร้อนต่ออีก 1 ชั่วโมง จึงทิ้งไว้ให้เย็น

4. นำของเหลวใสในข้อ 3. มาเติมน้ำกลั่น 100 ml ผสมให้เข้ากัน

5. เตรียม boric acid 40 ml เพื่อใช้เป็นตัวจับ ammonia ที่จะกลั่นได้จากตัวอย่าง

6. นำตัวอย่างที่ย่อยแล้วมาเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 ml นำไปกลั่นจนกระทั่งได้ distillate ประมาณ 100 ml

7. นำสารละลายที่กลั่นได้ใน boric acid มาเติม indicator mixture 2-3 หยด ก่อนไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน sulfuric acid

การคำนวณ

ปริมาณโปรตีน (%) = $\frac{A \times B \times 6.25 \times 1.4}{C}$

A = ความเข้มข้นของ sulfuric acid ที่ใช้ไตเตรท (N)

B = ปริมาณของ sulfuric acid ที่ใช้ไตเตรท (ml)

C = น้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่าง (กรัม)

ก.3 วิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 1984)

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่าง 2-5 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง แล้วนำไปใส่ thimble ใน extraction tube ของ soxhlet apparatus

2. เติม diethyl ether ประมาณ 200 ml ลงในขวดก้นกลม ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน

3. นำไป reflux บน heating mantle ใช้อุณหภูมิปานกลาง โดยให้อัตรากลั่นของ diethyl ether เป็น 2-3 หยดต่อวินาที ใช้เวลาในการ reflux 16 ชั่วโมง

4. ระเหย diethyl ether ออกจากขวดก้นกลม จากนั้นนำไปอบที่ 100°C เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งให้เย็นใน desiccator

5. ชั่งน้ำหนักขวดก้นกลม

การคำนวน

ปริมาณไขมัน (%) = $\frac{A - B \times 100}{C}$

A = น้ำหนักที่แน่นอนของขวดก้นกลม และตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

B = น้ำหนักที่แน่นอนของขวดก้นกลม (กรัม)

C = น้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่าง (กรัม)

ก.4 วิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 1984)

วิธีการวิเคราะห์

1. เผา crucible ที่อุณหภูมิ 550 °C จนได้น้ำหนักคงที่

2. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างปริมาณ 1 กรัม ใส่ใน crucible

3. นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 550 °C นาน 1-2 ชั่วโมง

4. นำไปเผาต่อที่อุณหภูมิ 550 °C จนได้น้ำหนักคงที่

5. ทิ้งให้เย็นใน desiccator ชั่งน้ำหนักที่ได้

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{A - B}{C} \times 100$$

A = น้ำหนักที่แน่นอนของ crucible และตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

B = น้ำหนักที่แน่นอนของ crucible (กรัม)

C = น้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่าง (กรัม)

ก.5 วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดของรอยัลเยลลี

(National Royal Jelly Fair Trade Conference, 1980)

สารเคมี

สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ใส่ใน beaker

2. เติมน้ำกลั่น 80 ml

3. คนให้เข้ากันด้วย rotary stirrer

4. นำมาไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N จนได้ pH 8.3

การคำนวณ

ปริมาณกรดทั้งหมด (ml ของ 0.1 N โซเดียมไฮดรอกไซด์ต่อนมผึ้ง 100 กรัม)

$$= \frac{A \times B}{C} \times 100$$

A = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N ที่ใช้ไตเตรท (ml)

B = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (N)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

C = น้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่าง (กรัม)

ก.6 วิเคราะห์ปริมาณ 10-hydroxy-2-decenoic acid

(National Royal Jelly Fair Trade Conference, 1980)

วิธีการเตรียมสารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 30 %

เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 ml

2. สารละลาย hydrochloric acid 1 N

เตรียมโดยปิเปต hydrochloric acid เข้มข้น 9 ml เจือจางในน้ำกลั่นให้ได้ 100 ml

3. TMS reagent

เตรียมโดยผสม N,O-bis (trimethylsilyl) acetamide (BSA) และ trimethylchlorosilane (TMCS) ในอัตราส่วน 2:1

4. สารละลาย internal standard

เตรียมโดยชั่ง margaric acid 0.5 mg ละลายใน chloroform 1 ml

5. สารละลาย standard 10-hydroxy-2-decenoic acid

เตรียมโดยชั่ง 10-hydroxy-2-decenoic acid 0.2 mg นำมาละลายใน chloroform 1 ml ถ้าตัวอย่างมีไขมันต้องใช้สารเคมีเพิ่มเติมตามข้อ 6-8

6. Ethyl alcohol

7. Chloroform

8. Developing solvent

เตรียมโดยผสม hexane : diethyl ether : acetic acid, 80:30:1

ก.6.1 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ 10-hydroxy-2-decenoic acid จากตัวอย่างที่ไม่มีไขมัน

1. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างโดยให้มี 10-hydroxy-2-decenoic acid อยู่ในปริมาณ 2-10 mg ลงใน volumetric flask ขนาด 100 ml

2. เติมน้ำกลั่นเล็กน้อย และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2-3 หยด คนให้

เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 ml

3. ปิเปตสารละลายข้อ 2. มา 5-20 ml ใส่ในกรวยสกัด

4. ปรับสารละลายให้เป็นกรดด้วยสารละลาย hydrochloric acid โดยให้มี pH น้อยกว่า 3

5. สกัดด้วย diethyl ether 40 ml และตามด้วย diethyl ether 20 ml อีก 3 ครั้ง โดยการเขย่าสกัด

6. แยกชั้น diethyl ether และนำมาใส่ใน fig shaped flask

7. ระเหย diethyl ether ออกโดยใช้ rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C

8. เติมสารละลาย internal standard 2 ml แล้วระเหย chloroform ออกโดยใช้ rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C

9. เติม TMS reagent 0.5 ml ลงใน fig shaped flask ที่ระเหยแห้ง แล้วเขย่าให้เข้ากัน แล้วฉีดเข้าเครื่อง gas chromatography ปริมาณ 2 μl

<u>การสร้างกราฟมาตรฐาน</u>

1. เติมสารละลาย standard 10-hydroxy-2-decenoic acid 1, 2, 3, 4 และ 5 ml ลงใน flask

2. เติมสารละลาย internal standard 2 ml ลงในแต่ละ flask

3. ระเหย chloroform ออกโดยใช้ rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C

4. เติม TMS reagent 0.5 ml ลงใน fig shaped flask ที่ระเหยแห้งแล้วเขย่าให้เข้ากัน แล้วฉีดเข้าเครื่อง gas chromatography ปริมาณ 2 μl

5. เขียนกราฟมาตรฐาน โดยใช้พื้นที่ของ internal standard ต่อ standard 10-hydroxy-2-decenoic acid และความเข้มข้นของสารละลาย standard 10-hydroxy-2-decenoic acid (mg)

<u>การคำนวณ</u>

$$\text{ปริมาณ 10-hydroxy-2-decenoic acid(\%)} = \frac{A \times B}{C} \times 100$$

A = ปริมาณ 10-hydroxy-2-decenoic acid (mg) ที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

B = dilution factor

C = น้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่าง (กรัม)

ก.6.2 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณ 10-hydroxy-2-decenoic acid จากตัวอย่างที่มีไขมัน

1. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างโดยให้มี 10-hydroxy-2-decenoic acid อยู่ในปริมาณ 2-10 mg

2. ละลายตัวอย่างด้วย diethyl ether 100 ml , ethyl alcohol 50 ml และน้ำ 150 ml แล้วถ่ายลงในกรวยสกัด ขนาด 500 ml

3. ปรับสารละลายให้เป็นกรดด้วยสารละลาย hydrochloric acid โดยให้มี pH น้อยกว่า 3

4. สกัดด้วย diethyl ether 70 ml 3 ครั้ง โดยการเขย่าสกัด

5. แยกชั้น diethyl ether และนำมาใส่ใน fig shaped flask

6. ล้างกรวยสกัดด้วย diethyl ether เล็กน้อย แล้วเทรวมกับส่วนที่สกัดได้ใน fig shaped flask

7. ระเหย diethyl ether ออกโดยใช้ rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C

8. ละลายส่วนที่สกัดด้วย chloroform แล้วเทลงใน volumetric flask ขนาด 10 ml ปรับปริมาตรด้วย chloroform ให้เป็น 10 ml

9. หยด 0.3-0.5 ml ของส่วนที่สกัดได้บนแผ่น TLC ขนาด 20X20 cm ที่ตำแหน่งเหนือขอบล่าง 2 cm โดยใช้ microsyringe

10. วางแผ่น TLC ลงใน chamber ที่มี developing solvent (hexane : diethyl ether : acetic acid = 80:30:1

11. ตั้งไว้จน solvent ขึ้นเป็นระยะทาง 15 cm

12. นำแผ่น TLC ไปตากให้แห้งและขูดแถบของส่วนที่มีค่า R_f = 0-0.1 เป็นระยะกว้าง 2 cm

13. สกัดส่วนที่ขูดได้ด้วย diethyl ether และระเหยออกด้วย rotary evaporator

14. เติมสารละลาย internal standard 2 ml แล้ว ระเหย chloroform ออกโดยใช้ rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °C

15. เติม TMS reagent 0.5 ml ลงใน fig shaped flask ที่ระเหยแห้งแล้ว เขย่าให้เข้ากัน แล้วฉีดเข้าเครื่อง gas chromatography ปริมาณ 2 μl

การสร้างกราฟมาตรฐาน

1. นำสารละลาย standard 10-hydroxy-2-decenoic acid ปริมาณ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 ml มาแยกบนแผ่น TLC เช่นเดียวกับข้อ ก.6.2 (9-15)

2. เขียนกราฟมาตรฐาน โดยใช้พื้นที่ของ internal standard ต่อ standard 10-hydroxy-2-decenoic acid และความเข้มข้นของ standard 10-hydroxy-2-decenoic acid (mg) คำนวณปริมาณ 10-hydroxy-2-decenoic acid เช่นเดียวกับการสร้างกราฟมาตรฐานจากตัวอย่างที่ไม่มีไขมัน (ก.6.1)

สภาวะของเครื่อง gas chromatography ที่ใช้วิเคราะห์

- อุณหภูมิของ column : 200°C
- อุณหภูมิของ injector : 220°C
- detector : flame ionization detector (FID)
- carrier gas : nitrogen
- flow rate : 40 ml/min
- ปริมาณที่ฉีดเข้าเครื่อง : 2 μl

ก.7 วิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก (titratable acidity) (AOAC, 1981)

วิธีเตรียมสารเคมี

1. สารละลายฟีนอฟธาลีน (phenolphthalein indicator)

เตรียมโดยชั่งฟีนอฟธาลีน 1.0 กรัม นำมาละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้น 95 % ปริมาตร 100 ml เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N ทีละหยด จนหยดแรกที่ให้เป็นสีชมพู แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่น

2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N

เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์กับน้ำกลั่นปริมาณเท่า ๆ กัน ในภาชนะพลาสติก ทิ้งไว้เป็นเวลา 3-4 วัน เพื่อให้โซเดียมไฮดรอกไซด์ส่วนที่ไม่ละลายตกตะกอนจากนั้นทำสารละลายส่วนใส มาเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N โดยนำสาร

ละลายส่วนใสประมาณ 8 ml มาละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ก่อนนำไปไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานโพตัสเซียมไฮโดรเจนพธาเลต (potassium hydrogenphthalate) เพื่อให้รู้ความเข้มข้นที่แน่นอน

ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

$$= \frac{\text{กรัมของโปตัสเซียมไฮโดรเจนพธาเลต X 100}}{\text{ml ของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ X 204.229}}$$

3. สารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมไฮโดรเจนพธาเลต

เตรียมโดยชั่งโปตัสเซียมไฮโดรเจนพธาเลต ซึ่งผ่านการอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 110 °C เป็นเวลา 2 ชม. จำนวน 0.7-0.9 กรัม ให้รู้น้ำหนักที่แน่นอน ก่อนนำมาละลายในน้ำกลั่น 50 ml

วิธีการวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่าง 10 ml เจือจางในน้ำกลั่น 10 ml
2. หยดสารละลายฟีนอฟธาลีน 2-3 หยด
3. ไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่รู้ความเข้มข้นที่แน่นอน จนถึงจุดยุติเป็นสีชมพู

การคำนวณ

ปริมาณกรดแลคติก (% w/v)

$$= \frac{\text{ความเข้มข้นของ NaOH (N) X ml ของ NaOH X 0.09 X 100}}{\text{ml ของตัวอย่าง}}$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

รายละเอียดข้อมูลเพิ่มเติม

ตารางที่ ข.1 เปรียบเทียบมาตรฐานรอยัลเยลลีประเภทต่าง ๆ ระหว่างมาตรฐานประเทศญี่ปุ่นและของประเทศไทย

องค์ประกอบ	รอยัลเยลลีสด		รอยัลเยลลีแห้ง		ผลิตภัณฑ์รอยัลเยลลี	
	ญี่ปุ่น	ไทย	ญี่ปุ่น	ไทย	ญี่ปุ่น	ไทย
ความชื้น (%)	62.5-68.5		$\leq$ 5	$\leq$ 5		
โปรตีน (%)	11.0-14.5	$\geq$11.0	30.0-41.0	$\geq$ 30.0		
ความเป็นกรด (ml ของ 1 N NaOH ต่อรอยัลเจลลี 100 กรัม)	32.0-53.0					
10-hydroxy-2-decenoic acid (%)	$\geq$ 1.4	$\geq$ 1.5	$\geq$ 3.5	$\geq$ 3.5	$\geq$ 0.16	$\geq$ 0.16

ที่มา : National Royal Jelly Fair Trade Conference, 1980 และประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 133, 2533

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ข.2 ปริมาตรส่วนใสที่แยกชั้นของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มผสมน้ำผึ้งลำไยและรอยัลเยลลี เมื่อเติมเพคตินในระดับ 0 0.1 0.2 และ 0.3 % w/v เมื่อเก็บที่ 5-8 °C เป็นระยะเวลา 30 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณเพคติน (% w/v)			
	0	0.1	0.2	0.3
0	0.0	0.0	0.0	0.0
2	1.0	0.5	0.5	0.5
4	1.5	1.0	0.5	0.5
6	2.0	1.5	1.0	0.5
8	3.0	2.0	1.5	1.0
10	3.5	2.5	1.5	1.0
12	4.0	3.0	2.0	1.5
14	4.5	3.5	2.0	1.5
16	5.5	4.0	2.5	1.5
18	6.0	4.0	3.0	1.5
20	6.5	4.0	3.0	1.5
22	7.0	4.0	3.0	2.0
24	7.5	4.0	3.0	2.0
26	8.0	4.0	3.0	2.0
28	8.5	4.0	3.0	2.0
30	8.5	4.0	3.0	2.0

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ข.1 Nutrient Agar

Peptone	5.0	กรัม
Beef extract	3.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

นำสารที่ชั่งได้ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

ข.2 Lactic Agar

Tryptone	20.0	กรัม
Yeast extract	5.0	กรัม
Gelatin	2.5	กรัม
Glucose	5.0	กรัม
Lactose	5.0	กรัม
Sucrose	5.0	กรัม
Sodium chloride	1.5	กรัม
Sodium acetate	0.5	กรัม
Ascorbic acid	0.5	กรัม
Agar	15.0	กรัม

นำสารที่ชั่งได้ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

แบบ Numerical Scoring Test

ชื่อ.....วันที่.....

โปรดพิจารณาลักษณะและดื่มผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มกลิ่นน้ำผึ้ง ที่ให้มา รวมทั้งให้คะแนนตามรายละเอียดที่กำหนดให้ ซึ่งตรงกับความคิดเห็นของท่านมากที่สุด

ลักษณะ	รายละเอียด	ตัวอย่างหมายเลข		
ลักษณะปรากฏ (15 คะแนน)	-ไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน เช่น แยกชั้น (1-5) - มีลิ่มนม (curd) เล็ก ๆ ปนอยู่ (6-10) - รวมเป็นเนื้อเดียวกันดีเหมือนนมเปรี้ยวพร้อมดื่มทั่วไป (11-15)			
กลิ่น (15 คะแนน)	- มีกลิ่นแปลกปลอมผิดไปจากที่ควรเป็น (1-5) - มีกลิ่นหอมของน้ำผึ้ง อ่อนหรือแรงเกินไป (6-10) (โปรดระบุ) - มีกลิ่นหอมของน้ำผึ้ง พอเหมาะน่ารับประทาน (11-15)			

ลักษณะ	รายละเอียด	ตัวอย่างหมายเลข		
รสชาติ (15 คะแนน)	- ไม่อร่อยต้องปรับปรุง (1-5) - ความหวาน หรือเปรี้ยว มาก/น้อย เกินไป (6-10) (โปรดระบุ) - รสชาติกลมกล่อมดี (11-15)			
การยอมรับรวม (20 คะแนน)	- ไม่ยอมรับ ต้องปรับปรุง (1-5) - พอยอมรับได้ (6-10) - ชอบเล็กน้อย (11-15) - ชอบมาก (16-20)			

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

Ranking Test Preference

ชื่อ.....วันที่.....

โปรดทำการทดสอบชิมผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มผสมน้ำผึ้ง ต่อไปนี้ และให้ระดับความชอบต่อผลิตภัณฑ์ดังกล่าว โดยตัวอย่างที่ท่านชอบมากที่สุดให้ระดับความชอบลำดับแรก และตัวอย่างที่ท่านชอบน้อยที่สุดให้ระดับความชอบเป็นลำดับสุดท้าย

ระดับความชอบ	ผลิตภัณฑ์ตัวอย่างรหัส
ลำดับที่ 1	_____
ลำดับที่ 2	_____
ลำดับที่ 3	_____

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

แบบ Hedonic Scale

ชื่อ.....วันที่.....

โปรดทดสอบ **ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มกลิ่นน้ำผึ้งผสมรอยัลเยลลี** ต่อไปนี้ และให้ระดับความชอบและไม่ชอบต่อผลิตภัณฑ์แต่ละตัวอย่างใช้สเกลที่เหมาะสม เพื่อแสดงให้เห็นว่าได้อธิบายความรู้สึกชอบและไม่ชอบในระดับใด

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

ลักษณะความชอบ	ผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง			
ลักษณะปรากฏ	_____	_____	_____	_____
สี	_____	_____	_____	_____
กลิ่น	_____	_____	_____	_____
รสชาติ	_____	_____	_____	_____
ความรู้สึกหลังดื่ม	_____	_____	_____	_____
ความชอบโดยรวม	_____	_____	_____	_____

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางแสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ คำนวณโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติของ Michigan State University (MSTAT)

ตารางที่ ค.1 ค่า F ที่ได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบทางประสาทสัมผัสของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มผสมน้ำผึ้งลำไย แปรปริมาณน้ำตาลทรายเป็น 4 6 และ 8 % แปรปริมาณกรดเป็น 0.6 0.7 และ 0.8 % (กรดแลคติก)

SOV	F-value			
	ลักษณะปรากฏ^{ns}	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
ปริมาณน้ำตาลทราย (A)	0.11	6.55*	50.11*	36.92*
ปริมาณกรด (B)	1.16	2.02^{ns}	15.38*	21.44*
AB	0.34	0.14^{ns}	2.02^{ns}	0.16^{ns}
Block	33.10	7.56	0.95	3.43

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns หมายถึง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ค.2 ค่า F ที่ได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบทางประสาทสัมผัสของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มผสมน้ำผึ้งลิ้นจี่ แปรปริมาณน้ำตาลทรายเป็น 2 4 และ 6 % แปรปริมาณกรดเป็น 0.6 0.7 และ 0.8 % (กรดแลคติก)

SOV	F-value			
	ลักษณะปรากฏ[ns]	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
ปริมาณน้ำตาลทราย (A)	0.79	13.16*	68.18*	63.30*
ปริมาณกรด (B)	0.60	3.31*	34.61*	15.41*
AB	1.98	1.21[ns]	2.07[ns]	1.51[ns]
Block	120.73	7.48	2.34	3.82

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns หมายถึง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ค.3 ค่า F ที่ได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบทางประสาทสัมผัสของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มผสมน้ำผึ้งสาบเสือ แปรปริมาณน้ำตาลทรายเป็น 2 4 และ 6 % แปรปริมาณกรดเป็น 0.6 0.7 และ 0.8 % (กรดแลคติก)

SOV	F-value			
	ลักษณะปรากฏ^{ns}	กลิ่น^{ns}	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
ปริมาณน้ำตาลทราย (A)	0.35	1.20	26.03*	32.20*
ปริมาณกรด (B)	1.62	0.46	29.19*	2.48^{ns}
AB	1.15	0.66	2.36^{ns}	2.23^{ns}
Block	30.23	4.20	1.29	3.01

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns หมายถึง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ค.4 ค่า F ที่ได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณยีสต์/รา และจุลินทรีย์ทั้งหมดในสารละลายน้ำผึ้งล่าไย ในสัดส่วน น้ำ:น้ำผึ้ง:น้ำตาลทราย 45:8:8 โดยแปรอุณหภูมิเป็น 60 65 และ 70 °C แปรระยะเวลาการพาสเจอไรซ์เป็น 5 10 15 และ 20 นาที

SOV	F-value	
	ยีสต์/รา	จุลินทรีย์ทั้งหมด
อุณหภูมิ (A)	25.16*	87.54*
ระยะเวลา (B)	12.00*	60.39*
AB	0.52ns	1.19ns

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns หมายถึง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ค.5 ค่า F ที่ได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบทางประสาทสัมผัสของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มผสมน้ำผึ้งลำไยและรอยัลเยลลี เมื่อศึกษาอายุการเก็บที่อุณหภูมิ 5-8 °C โดยแปรปริมาณเพคตินเป็น 0 0.1 0.2 และ 0.3 % แปรระยะเวลาที่ 0 1 2 และ 3 สัปดาห์

SOV	F-value					
	ความหนืด	สี	กลิ่น	รสชาติ	ความรู้สึกหลังดื่ม	ความชอบโดยรวม
ระยะเวลา (A)	8.17*	0.40	9.83*	6.02*	7.26*	3.73*
ปริมาณเพคติน (B)	165.48*	0.12	0.97	2.70*	102.51*	165.61*
AB	1.41ns	0.19	0.30ns	0.58ns	0.80ns	0.98ns
Block	1.41	8.15	2.53	5.29	3.18	2.86

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns หมายถึง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ค.6 ค่า F ที่ได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า pH ปริมาณกรด TSS 10-HDA และความหนืดของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มผสมน้ำผึ้งลำไยและรอยัลเยลลี เมื่อศึกษาอายุการเก็บที่อุณหภูมิ 5-8 °C โดยแปรระยะเวลาเป็น 0 1 2 และ 3 สัปดาห์

SOV	F-value				
	pH^{ns}	ปริมาณกรด^{ns}	TSS^{ns}	10-HDA	ความหนืด
ระยะเวลา (A)	1.79	1.25	2.00	130.91*	0.60^{ns}
ปริมาณเพคติน (B)	1.06	1.97	0.00	1.48^{ns}	2.73x10^{5} *
AB	0.33	0.46	0.67	0.28^{ns}	0.94^{ns}

* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns หมายถึง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ค.7 ค่า F ที่ได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกในนมเปรี้ยวพร้อมดื่มผสมน้ำผึ้งลำไยและรอยัลเยลลี เมื่อศึกษาอายุการเก็บที่อุณหภูมิ 5-8 °C โดยแปรปริมาณเพคตินเป็น 0 0.1 0.2 และ 0.3 % แปรระยะเวลาเป็น 0 1 2 และ 3 สัปดาห์

SOV	F-value
	แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก
ระยะเวลา (A)	749.33*
ปริมาณเพคติน (B)	1.17ns
AB	0.51ns

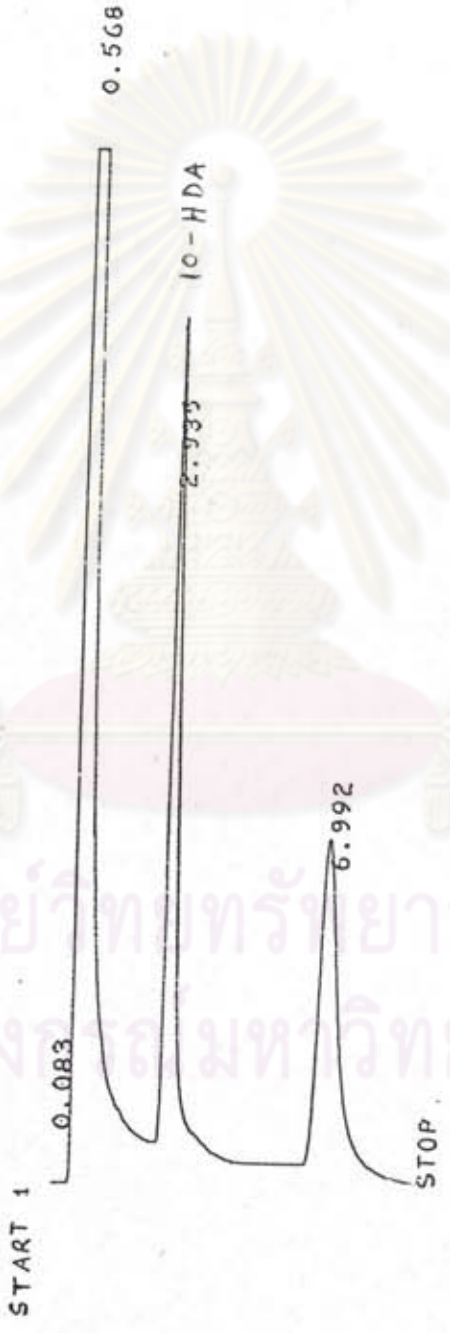
* หมายถึง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns หมายถึง ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

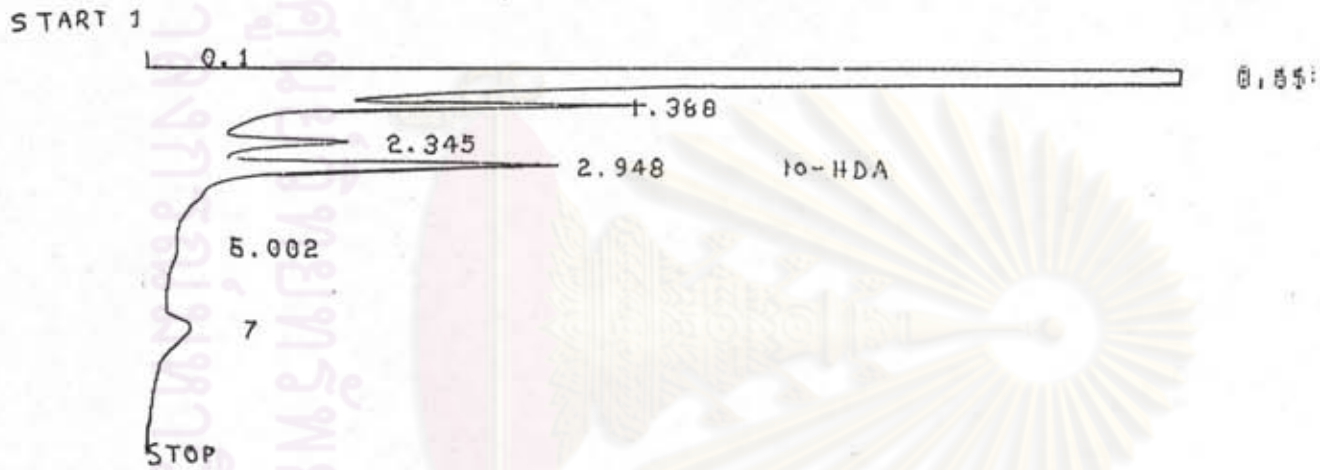
ภาคผนวก ง

ข้อมูลเพิ่มเติม

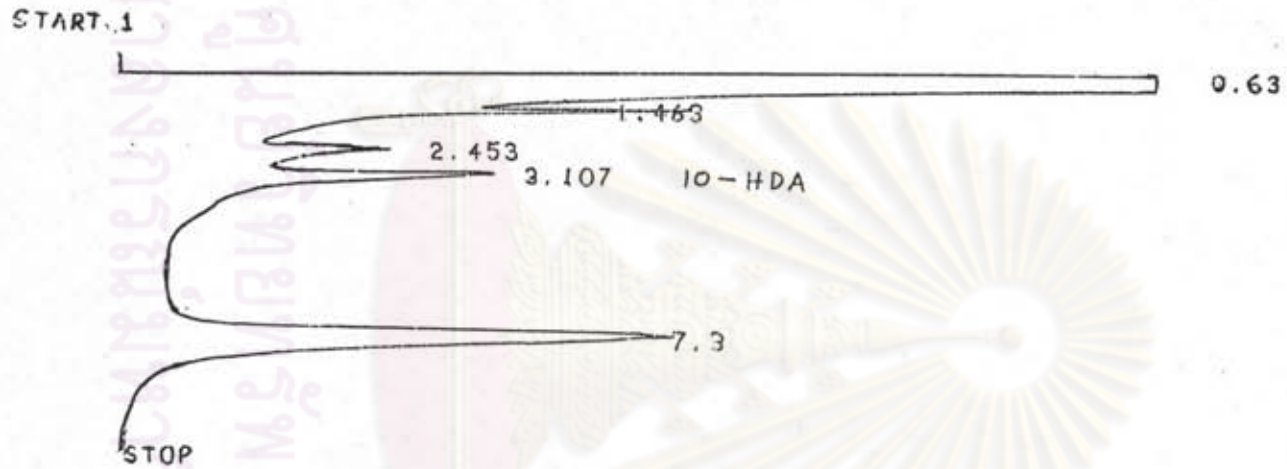


รูปที่ ง.1 โครมาโตแกรม แสดงปริมาณ standard 10-hydroxy-2-decenoic acid

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ ง.2 โครมาโตแกรม แสดงปริมาณ 10-hydroxy-2-decenoic acid ในรอยัลเยลลี่สด



รูปที่ ง.3 โครมาโตแกรม แสดงปริมาณ 10-hydroxy-2-decenoic acid ในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มผสมน้ำผึ้งลำไยและวอยัลเอลลี

ประวัติผู้เขียน

นายชานนทร์ ห้องประดับมุกข์ เกิดเมื่อวันที่ 26 กรกฎาคม พ.ศ. 2513 ที่จังหวัดราชบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า ธนบุรี ในปี พ.ศ. 2535 และได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีเดียวกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย