รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กองบรรณาธิการกลุ่มเกษตรก้าวหน้า. 2530. นิตรสารเพื่อพัฒนาการผลิตผลไม้ไทย มะขามหวาน. หจก.รุ่งเรืองสาสน์การพิมพ์, กรุงเทพฯ. 60 หน้า

กองบรรณาธิการเฉพาะกิจฐานเกษตรกรรม.2530. สนท.ฐานเกษตรกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 3.กรุงเทพฯ.

นิรนาม. 20-22 ตุลาคม 2537. คุณค่าทางโภชนาการอาหารเพื่อใช้ในการพัฒนาทรัพยากรมนุษย์. ประชาชาติ : 9

นิรนาม. 1 พฤษภาคม 2538. เด็กไทยอย่างไรก็โค้ก. คู่แข่งธุรกิจ : 2

นิรนาม. 13 พฤศจิกายน 2538. ตลาดน้ำอัดลมหมื่นล้าน. เดลินิวส์ : 3

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2533. เอนไซม์ทางอาหาร ตอนที่ 1. พิมพ์ครั้งที่2. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.หน้า 38-53.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2543. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 316,318.

เพ็ญพรรณ จรรยาวงษ์. 2524. การคัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์เพคติเนส. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 220 หน้า

วิภาดา ศุภจรรยา และ ปราณี อ่านเปรื่อง. 2537. การสกัดหัวน้ำเชื้อทุเรียนโดยการใช้เอนไซม์เพคติเนส เซลลูเลส และอะมัยเลส ภายใต้ภาวะปฏิกิริยาแบบต่อเนื่องและแบบตามลำดับ. วารสารอาหาร 24(3) : 174-180.

เสวียน หอมนาน. 2535. การเก็บเกี่ยวผลผลิตมะขามและจัดการหลังการเก็บเกี่ยว. วารสารแก่นเกษตร 20(2): 55-59.

ภาษาอังกฤษ

Anaya, M.L., Lopez, M.C.A ., and Arijona, J.L. 1982. Continuous clarification of pectin solution in a basket reactor with immobilized commercial pectinase. Use of enzyme in food technology. Technique et. Documentation Lavoisier. 503-512

Anonymous. 1982. Tamarind juice concentrate plant start production in Mysore. Indian Food Industry 1(1/2) : 43-44

A.O.A.C. 1990.Official Methed of Analysis. The Association of Official Analytical Chemists, 15 th ed. U.S.A : Association of Official Analytical Chemists.

Ashurst, P.R. 1995. Production and packaging of non-carbonated fruit juice and fruit beverage. 2 nd ed., New York:Blackie Academic & Professionnal.

ASTM. 1968. Manual on sensory testing methods. ASTM STP 434. American Society for Testing and Material, Philadephia, Pa.

Baumann, J.W. 1981. Application of enzymes in fruit juice technology. Enzyme and Food Processing. London:Application Science Publisher Ltd

Banwart, G.J. 1983. Basic Food Microbiology. Westport : AVI Publishing company,Inc.

Benero, J. R., Rodriguez, A. J and Rivera A. C. 1972. A mechanical method of extracting tamarind pulp. J. Agriculture of the University of Puerto Rico 56(2): 185-186.

Bielig, H.J. 1973. Fruit juice processing. Mumber of staff of the Institute of Fruit and Vegetable Technology, Techical University, Berlin.

Bhattacharya, S. 1994. Function and nutritional properties of tamarind. Food Chemistry. 49(1) : 1-9.

Chang, T.S..,Siddiq, M.,Sinha, N.K and Cash, J.N. 1994. Plum juice quality affected by enzyme treatment and fining. J of Food Sci. 59(5) : 1065-1069.

Charley, H. 1972. Fruit and vegetable. In J. Bowers, Food theory and applications, pp. 251-254. Singapore : Macmillian.

Crandall, P.G., Mathew, R. F and Baker, R.A. 1983. Citrus beverage clouding agent. Food Technology. 37 : 106-109.

Dalpat, S.K and Islam. 1995. Processing and storage of carbonated guava bbeverage. J of Food Processing and Preservation. 20(1) : 79-86.

Diliello, L.R. 1982. Methods in food and dairy microbiology. Westport : AVI Publishing.

Doores, S. 1984. Control agents & acidulant. In Branen, A. L. (ed), Food Additives, pp. 477-510. New York : Marcel Dekkes, Inc.

Feller, P.J., Carter, R.D. and Jagar, G.D. 1988. Influence of ratio of brix to percent acid on consumer acceptance of processed modified grapefruit juice. J. of Food Sci. 53(2) : 513-515.

Fennma, O.R. 1996. Food Chemistry. New York : Marcel Dekker.

Fisher, R.A. and Yates, F. 1940. Statistical tables for biological agriculture and medical research. 3 rd ed . England : Oliver and Boyd Ltd.

Gous, F., Van Wyk, P.J. and McGill, A.E.J. 1987. The use of commercial enzyme in the processing of banana. Lebensm.-Wiss.U.-Technol. 20 : 229-232

Grassin, C. and Fauquembergue, P. 1996. Fruit juice. Industrial Enzymology. New York : Macmillan Press Ltd.

Hart, F.L. and Fisher, H.J. 1971. Modern food analysis. New York, Springer Verlag New York Inc.

Irish, J.H. 1982. Fruit juice and fruit juice beverage . Univ. Calif. Agr. Expt..Sta. Circ.

Jacobs, M. B. 1959. Manufacture and analysis of carbonated beverage. New York : Chemical Publishing.

Jaleel, S. A and Sreekantiah. 1978. Development studies on certain aspects of enzymic processing of banana: Laboratory study. Indian Food Packer 5 :17-21.

Janda, W. 1983. Fruit juice. In T. Godfred and J. Reichelt, Industrial enzymology, pp. 315-320. Aslib : Macmillian.

Jilance, G.F. 1995. Ennzyme formulation for optimizing juice yields. Food Technology. 49 : 7-9

Joshi, V.K.,Chuhan, S.K.. and Lal, B.B. 1991. Extraction of juice from peaches, plums and apricot by pectinolytic treatment. J Food Sci Techno. 28 : 64-65.

Kertesz, Z.I. 1951. A new method for enzyme clarification of unfermemted apple juice. N.Y. State Agr. Expt. Sta., Bull.

Kilara, A. 1982. Enzyme and their uses in the processed apple industry : A Review. Process Biochemisty. July/August : 35-41.

Kimball. D.A. 1991. Citrus processing quality control and technology. New York : Van Nostrand Reinold Company.

Krop, J.J. and Pilnik, W. 1974. Effect of pectic acid and bivalent cations and cloud loss of citrus juice. Lebensm-Wiss.u.Technol. 7: 62-63

Lea, A.G.H. 1990. Enzyme in the production of beverage and fruit juices. Enzyme in Food Processing. New York : The AVI Publishing Co., Inc.,Westport, CT.

Lee , P.L., Swords, G. and Hunter, G.L.K. 1975. Volatile constituents of tamarind. J. Agric. Food Chem. 23 : 1195-1199.

Leu, S.R. and Chang, K.J. 1971. Study on the development of a juice clarifying enzyme preparation. J. of the Korean Agricultural Chemical Society. 14 : 1-7.

Lewis, Y.S. and Neelakantan, S. 1964. The chemistry, biochemistry and technology of tamarind. J. Sci Ind. Res. 23 : 204-206.

Mandel, M. and Sternberg, D. 1976. Recent advance in cellulase technology. J. Ferment . Technol. 54(4) : 276-288.

Mashall, L.F. and Joseph, J.J. 1986. Chemistry and function of pectins. American Chemical Society, Washington.

McCready, R.M. and McComb, E.A. 1952. Colorimetric determination of pectin substance. Anal. Chem. 44 : 1630-1635.

Merchessult, R.H. and Sandararajan, P.R. 1983. Cellulase, In Aspinall,G.O. The Polysaccharide. 2. New York, Academic Press.

Nagaraga, K. V., Manjunath, M. N. and Nalini, M. L. 1975. Chemical composition of commercial tamarind juice concentrate. India Food Packer 29(5): 17-20.

Nagy, S.,Attaway, J.A. and Rhodes, M.E. 1988. Aduiterration of fruit juice beverage. New York, Marcel Dekker.

Nelson, P.E. and Tressler, D.K. 1980. Fruit and vegetable juice processing technology. 3 nd ed. The AVI Publ, Westport.

Noach, B.S. 1986. Hindrance of hemicellulose and cellulose hydrolysis by pectin substances. J of Food Sci. 51 : 720-721, 730.

Piggott, J.R. 1984. Sensory analysis of food. England : Elsevierr Applied Science Publisher

Pinik, W. and Rombouts, F.M. 1979. Pectic enzyme. Polysaccharide in food. London : Butterworths.

Pollard, A. and Timberlake, C.F. 1971. Fruit juice. The biochemistry of fruit and their products. 2. London, Academic Press .

Rangana, S. 1977. Manual of analysis of fruit and vegetable product. New Delhi : Tata McGraw-Hill.

Robertson, G.L., Eschenbruch, R. and Cresswell, K.J. 1980. Seasonal changes in the pectic substance of grapes and their implication in juice extraction. Am. J. Enol. Vitic. 31(2) : 162-164.

Schreier, P., Drawert, F., Steiger, G. and Mic, W. 1978. Effect of enzyme treatment of apple pulp with a commercial pectinase and cellulase on the volatiles of the juice. J. of Food Sci. 43(4): 1797-1800.

Shamsiah, S. and Abdullah, A. 1995. Optimizing enzyme concentration, pH and temperature in banana juice extraction. Asean Food Journal 10(3): 107-111.

Singleton, V.L. and Rossi, J.R. 1964. Colorimeter of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. Am. J. Enol. Vitic. 16 : 144-158.

Snedecor, G. W. and Cochran, W. G. 1967. Statistical methods. Ames: Iowa State University Press.

Sreekantiah, S., Jaleel, S. A. and Ramachandra, T. N. 1971. Utilization of fungal enzymes in the liquefaction of soft fruit and clarification of fruit juice. J. of Food Sci & Techno. 8: 201-203.

Sweeny, J. P., Chapman, V. P. and Hepner, P. A. 1970. Sugar, acid and flavor in fresh fruits. J. Am. Diet. Assoc. 57(5): 432.

Thijssen, H.A.C. 1970. Concentration process for liquid foods containing volatile flavor and aromas. J. Food Technol. 5 : 211-223

Ulrich, R. 1970. Organic acids. In the biochemistry of fruits and their product. New York, Academic Press.

Ward, O.P. 1985. Hydrolytic enzyme. In comprehensive biotechnology. 3(4) New York, Pergamon.

Whiting, G.C. 1970. Sugars. In the biochemistry of fruit and their products. New York, Academic Press.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ก1. รายละเอียดของเอนไซม์

ก1.1 เอนไซม์ทางการค้า Pectinex Ultra SP-L

จากบริษัท Novo Nordisk Ferment Ltd. ผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus niger* ประกอบด้วย polygalacturonase, pectinasterase, pectintranseliminase และ hemicellulase เป็นของเหลวสีน้ำตาลไม่มีกลิ่นมีกิจกรรม 1360 หน่วย/มล.ที่ pH4.0 ของ Endopolygalacturonase เมื่อใช้เอนไซม์ Endopolygalacturonase เป็นตัวอ่านค่ามาตรฐาน

ก1.2 เอนไซม์ทางการค้า Celluclast 1.5 L

จากบริษัท Novo Nordisk Ferment Ltd. ผลิตจากเชื้อรา *Trichoderma reesei* เป็นของเหลวสีน้ำตาล มีกลิ่น มีกิจกรรม 1500 เอ็นซียู/กรัม สภาวะที่เหมาะสมคือที่อุณหภูมิ 50 – 60 องศาเซลเซียส pH ที่เหมาะสมคือ 4.5 – 6.0

ก2. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์

ก2.1 ตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์เพคติเนส

วิธีของ Anaya และ คณะ (1982)

<u>วิธีทดลอง</u>

1. เติมเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายเพคตินความเข้มข้น 0.1 % w/v ในอะซิเตตบัฟเฟอร์ 0.1 M pH 4.0 จำนวน 9 มิลลิลิตร ใน shanking bath ที่อุณหภูมิ 35 เซลเซียส เป็นเวลานาน 5 นาที
2. หยุดปฏิกิริยาในน้ำเดือด ทำให้เย็นลง นำไปวัดความหนืดใน Oswald viscometer (รูปที่ 24) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยดูดสารละลายตัวอย่าง ขึ้นมาทางปลาย B ให้สารตัวอย่างขึ้นมาเหนือขีด C จากนั้นปล่อยให้สารตัวอย่างไหลลงมาเมื่อถึงขีด C ให้เริ่มจับเวลา จนกระทั่งสารตัวอย่างไหลลงมาถึงขีด D

   หน่วยเอนไซม์ คำนวณได้จาก การเปลี่ยนแปลงความหนืดในเวลา 1 นาที โดยเอนไซม์ที่ใช้ทดสอบ 1 มิลลิลิตร

$$U = \left[(1/t_x) - (1/t_0) \right] / (1/5)$$

เมื่อ

U = หน่วยเอนไซม์

t_x = เวลาที่สารละลายเพคตินใช้ในการใช้ในการเคลื่อนที่ หลังผสมกับเพคติเนส (วินาที)

t_o = เวลาที่สารละลายเพคตินใช้ในการเคลื่อนที่หลังผสมกับอะซิเตตบัฟเฟอร์ (วินาที)

ก2.2 ตรวจสอบกิจกรรมของเซลลูเลส

โดยวิธีของ Anaya และ คณะ (1982)

วิธีทดลอง

1. เติมเอนไซม์ Celluclast 1.5 L 1 มิลลิลิตร ลงใน carboxymethylcellulose 0.1 M ในอะซิเตต บัฟเฟอร์ pH 5.0 จำนวน 9 มิลลิลิตร ใน shanking bath ที่อุณหภูมิ 37 เซลเซียส เป็นเวลานาน 5 นาที
2. หยุดปฏิกิริยาในน้ำเดือด ทำให้เย็นลง นำไปวัดความหนืดใน Oswald viscometer (รูปที่ 24) ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยดูดสารละลายตัวอย่าง ขึ้นมาทางปลาย B ให้สารตัวอย่างขึ้นมาเหนือขีด C จากนั้นปล่อยให้สารตัวอย่างไหลลงมาเมื่อถึงขีด C ให้เริ่มจับเวลา จนกระทั่งสารตัวอย่างไหลลงมาถึงขีด D

หน่วยเอนไซม์ คำนวณได้จาก การเปลี่ยนแปลงความหนืดในเวลา 1 นาที โดยเอนไซม์ที่ใช้ทดสอบ 1 มิลลิลิตร

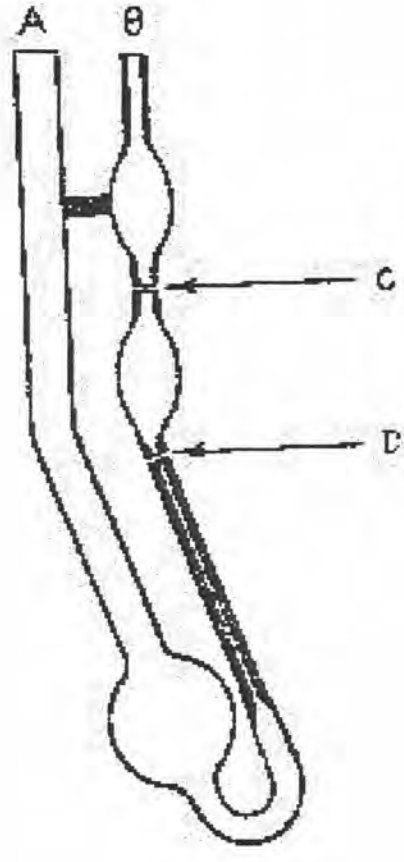
$$U = \left[(1/t_x) - (1/t_o) \right] / (1/5)$$

เมื่อ

U = หน่วยเอนไซม์

t_x = เวลาที่สารละลายคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูโลสใช้ในการใช้ในการเคลื่อนที่ หลังผสมกับเซลลูเนส (วินาที)

t_o = เวลาที่สารละลายคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูโลสใช้ในการเคลื่อนที่หลังผสมกับอะซิเตตบัฟเฟอร์ (วินาที)



รูปที่ 24 วิธีการใช้ Osward viscometer

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางกายภาพและเคมี

ข1. วิเคราะห์หาความชื้น

วิธีของ Hart และ Fisher (1971)

วิธีทดลอง

1. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด
2. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างมะขาม (ประมาณ 5 กรัม) พร้อมจานอลูมิเนียม
3. นำเข้าอบในตู้อบแห้งอุณหภูมิ 100 $\pm$ 5 องศาเซลเซียส
4. ภายหลัง 6 ชั่วโมงนำจานตัวอย่างออกทิ้งไว้ให้เย็นใน desicator แล้วชั่งน้ำหนัก อบจานตัวอย่างซ้ำเดิมทุก 2 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักที่ชั่งได้แตกต่างกันไม่มากกว่า 0.5 มิลลิกรัม

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่าง} - \text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

ข2. ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (°Brix)

โดยวิธีของกองบรรณาธิการเฉพาะกิจฐานเกษตรกรรม (2530)

วิธีทดลอง

1. ชั่งเนื้อมะขามจำนวน 5 กรัม ผสมกับน้ำ 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้สักครู่ แล้วบดให้จนเป็นเนื้อเดียว
2. บีบน้ำจากเนื้อมะขาม วัดด้วย refractometer คำนวณค่าองศาบริกซ์ที่แท้จริงของเนื้อมะขามดังนี้

$$^{\circ}\text{Brix (ของเนื้อมะขาม)} = {}^{\circ}\text{Brix (ที่อ่านได้)} \times \text{dilution factor}$$

เมื่อ dilution factor คือ ผลบวกของอัตราส่วนในการเจือจางด้วยน้ำ ในการทดลองครั้งนี้ เท่ากับ 2 (เจือจางเนื้อมะขามต่อน้ำ เป็นอัตราส่วน 1:1)

ข3. วิเคราะห์หาปริมาณกรด (%titratable acidity)

AOAC 947.05, 1990

สารเคมี

1. สารละลายฟีนอฟธาลีน (phenolphthalein indicator) เตรียมโดยชั่งฟีนอฟธาลีน 1 กรัม ใน

เอธิลแอลกอฮอล์ 95% 100 มล. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล ทีละหยดจนหยดแรกที่ให้สีชมพู แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 200 มล.

2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์มาละลายกับน้ำในปริมาณเท่าๆกันในภาชนะพลาสติก ทิ้งไว้ 3-4 วัน เพื่อให้โซเดียมไฮดรอกไซด์ส่วนที่ไม่ละลายตกตะกอน จากนั้นใช้สารละลายส่วนใสมาเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล โดยใช้สารละลายส่วนใสประมาณ 8 มล. ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปไตเตรตกับสารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมไฮโดรเจนแพลทธาเลต (potassium hydrogen phthalate) เพื่อรู้ความเข้มข้นที่แน่นอน ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์หาได้โดย

$$\text{ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์} = \frac{\text{กรัมของโปตัสเซียมแพลทธาเลต} \times 100}{\text{มล. ของ NaOH} \times 204.229}$$

3. สารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมไฮโดรเจนแพลทธาเลต โดยโปตัสเซียมไฮโดรเจนแพลทธาเลตที่ผ่านการอบไล่ความชื้น ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง มาประมาณ 0.7 – 0.9 กรัม โดยให้รู้น้ำหนักที่แน่นอน ละลายในน้ำกลั่น 50 มล.

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. ปิเปตตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์มา 10 มล. ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. เจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น 30 มล. ผสมให้ตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกับ
2. ไตเตรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล ใช้ฟีนอฟธาลีนเป็นอินดิเคเตอร์จนถึงจุดยุติ (end point) เป็นสีชมพู่อ่อน
3. คำนวณหาปริมาณกรด ตามสูตร

$$\text{ร้อยละปริมาณกรด (W/V)} = \frac{\text{N of NaOH x ml. NaOH x meq. wt of tartaric acid} \times 100}{W}$$

เมื่อ

N = normality ของโซเดียมไฮดรอกไซด์

V = ปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (มล.) ที่ใช้ในการไตเตรท

1 ml. 0.1 N NaoH = 0.0075 g. tartaric acid

W = น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาทดสอบน้ำผลไม้ คิดเป็นปริมาตรเริ่มต้น (มล)

ข4. วิเคราะห์ปริมาณเพคติน

วิธีของ McComb และ McCready (1952)

สารเคมี

1. Versene solution : สารละลาย EDTA เตรียม EDTA 5 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร

   กรดอะซิติก

   กรดซัลฟูริก

   เอธิลแอลกอฮอล์ 95%

   เอธิลแอลกอฮอล์ 99%

   Carbozole reagent : Carbozole 0.150 กรัม ใน 100 มิลลิลิตร เอธิลแอลกอฮอล์ 99%

   Galacturonic acid monohydrate ตรวจความบริสุทธิ์โดยการไตเตรต 0.5 กรัม ด้วย 0.1 นอร์มอล NaOH ให้ pH=8.0 MW = 212

วิธีการทดลอง

ก. เตรียมกราฟมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลาย Galacturonic acid 6 ความเข้มข้น ตั้งแต่ 10 – 60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
2. ดูดสารละลายแต่ละความเข้มข้นมา 2 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองที่มีกรดซัลฟูริกเข้มข้น 12 มิลลิลิตร แช่หลอดทดลองใน ice bath ให้อุณหภูมิลดต่ำลงจนถึง 3 –5 องศาเซลเซียส
3. นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที แล้วจึงลดอุณหภูมิให้ต่ำลงเหลือ 20 องศาเซลเซียส
4. เติม Carbozole reagent 0.15%1 มล. ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 30 นาที
5. วัดค่า การดูดกลืนแสง (A) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

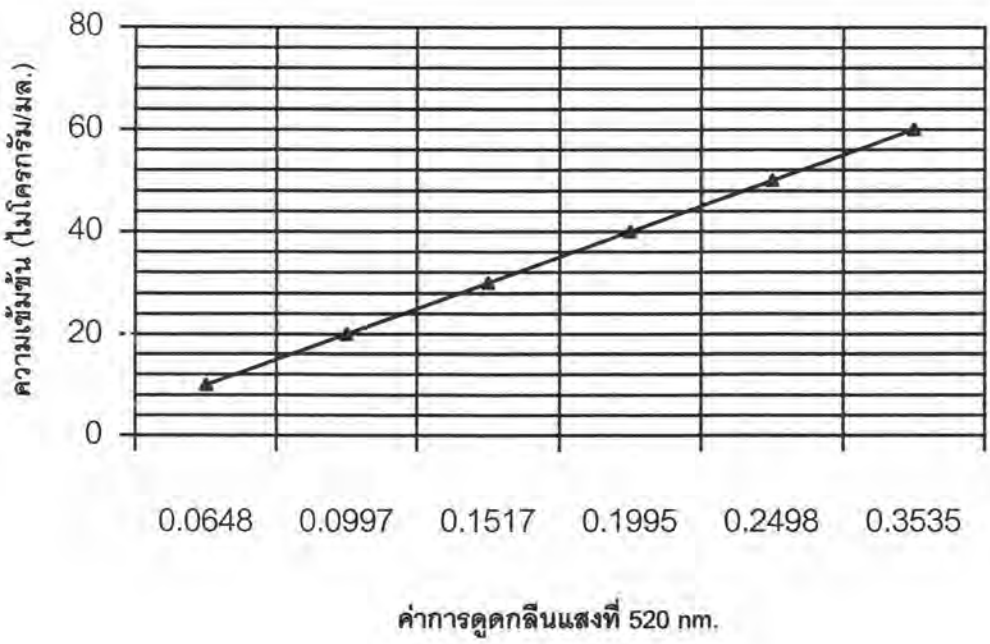
ข. วิเคราะห์เพคตินในน้ำผลไม้

1. นำน้ำผลไม้ที่ผ่านการเซนทริฟิวส์เพื่อกำจัดสารแขวนลอย ตวงเอาส่วนใส 25 มล. ผสมกับเอธานอล 99.99% ในอัตราส่วน 1:3 ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 10 นาที
2. เซนทริฟิวส์นาน 10 นาที เก็บส่วนที่เป็นตะกอนไว้ จากนั้นล้างตะกอนด้วยเอธานอล 75% 3 ครั้ง
3. ละลายตะกอนด้วยน้ำกลั่น 25 มล.
4. ปรับ pH ให้เป็น 11.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา40 นาที
5. ปรับ pH เป็น 5.0 โดยใช้กรดอะซิติก
6. ดูดสารละลายตัวอย่าง 2 มล. ใส่ในหลอดทดลอง
7. ทำการทดลองเช่นเดียวกับการหากราฟมาตรฐานข้อ 2 - 5

8. วิเคราะห์หาปริมาณ galacturonic acid โดยเปรียบเทียบกับ standard curve

ค. วิเคราะห์เพคตินในเนื้อผลไม้

1. เนื้อผลไม้สด 25 g ปั่นผสมกับ 95 % ethyl alcohol 152 ml. เพื่อกำจัดน้ำตาลออกจากเนื้อมะขาม
2. กรองและทิ้งส่วนที่เป็นชั้นของ alcohol ซึ่งมีน้ำตาลอยู่ออกไป ล้างผลไม้ที่ปั่นแล้ว (pulp) 2 ครั้ง ด้วย 75 % ethyl alcohol
3. ถ่าย pulp ที่ชื้น (แต่ไม่เปียกชุ่ม) ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มล.
4. เติม 0.5 % Versene solution 200 ml. ปรับ pH ให้ได้ 11.5 ด้วย NaOH ทิ้งไว้ 30 นาที เพื่อให้ EDTA ไปจับกับ divalent ion พร้อมกับ De-esterify pectin
5. ปรับ pH ให้ได้ 5.0-5.5 ด้วย acetic acid
6. เติม เพคติเนส 0.1 ml. คนให้เข้ากันนาน 1 ชั่วโมง
7. เจือจางสารละลาย ให้ได้ 250 มล. ใน volume flask
8. นำตัวอย่างที่เจือจางแล้ว 2 มล. ทำการทดลองเช่นเดียวกับการหากราฟมาตรฐานข้อ 2 – 5



รูปที่ 25 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของกรดกาแลคทูโรนิคกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

ข5. ความใส

โดยวิธีของ Krop และ Pilnik (1974)

วิธีทดลอง

1. นำน้ำมะขาม 10 มล. ไปเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็ว 3,600 รอบต่อนาที
2. แยกเอาส่วนตะกอนออกจากส่วนใส
3. นำส่วนใสไปวัดค่าการส่องผ่านของแสงที่ความยามคลื่น 660 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปตโตรโฟโตมิเตอร์

ข6. วิเคราะห์หาปริมาณแทนนิน

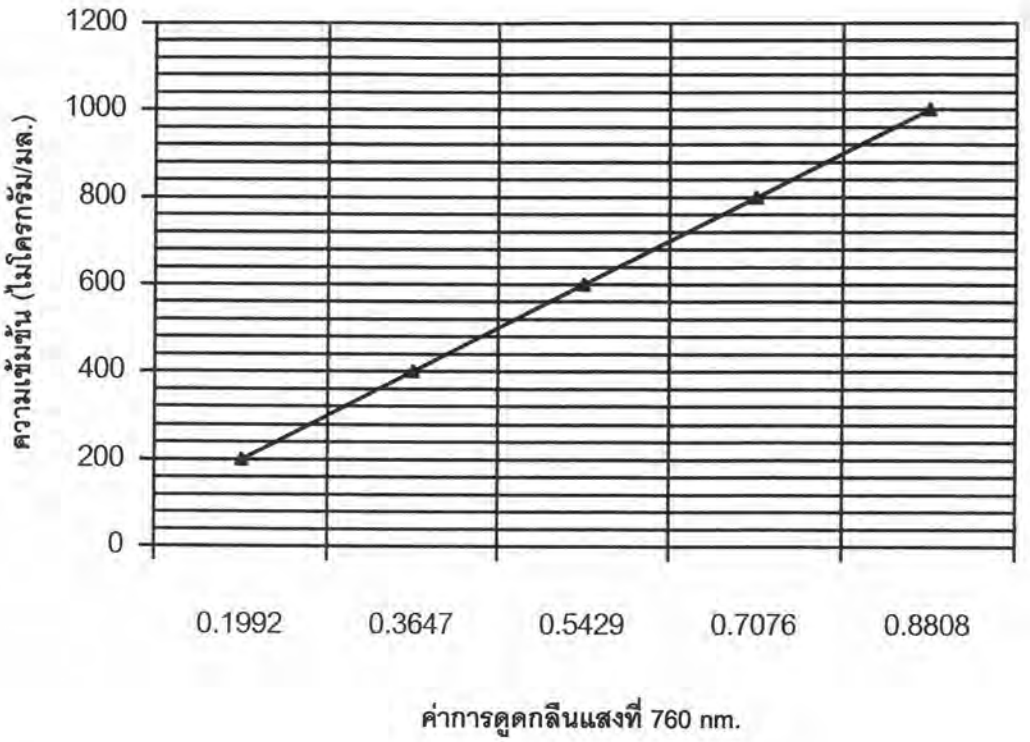
วิธีของ Singleton and Rossi (1965)

สารเคมี

1. folin ciocalteu phenol
2. 20% Na_2CO_3
3. สารละลายมาตรฐานแทนนิน (ในรูปกรดแทนนิค)

วิธีการทดลอง

1. ปิเปตน้ำกลั่น 5 มล. ลงในหลอดทดลอง
2. ปิเปตตัวอย่างที่ประกอบด้วยแทนนิค หรือสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิคที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.1-0.5 มก./มล. 0.05 มล. ลงในหลอดทดลองตามข้อ 1 ผสมให้เข้ากันดี
3. ปิเปตสารละลาย folin ciocateu phenol 0.1 มล. เขย่าผสมให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ตั้งทิ้งไว้นาน 3-6 นาที
4. ปิเปตสารละลาย 1.0 มล. ลงในหลอดทดลอง เพื่อหยุดปฏิกิริยาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันตั้งทิ้งไว้นาน 30-60 นาที
5. นำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร
6. แบลงค์เตรียมได้โดยใช้น้ำกลั่น 5.1 มล. แทนตัวอย่าง ส่วนวิธีการอื่น ๆ ตามแบบที่ทำการทดลองเหมือนกับตัวอย่าง
7. คำนวณหาปริมาณกรดแทนนิคในตัวอย่าง โดยเทียบกับสารละลายกรดแทนนิคมาตรฐาน โดยเตรียมสารละลายในช่วงความเข้มข้น 100 – 500 ไมโครกรัม/มล. อ่านค่าปริมาณกรดแทนนิคจากกราฟมาตรฐานที่เตรียมไว้



รูปที่ 26 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแทนนินกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

ข7. วิธีการวัดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล

วิธีของ Ranganna (1977)

<u>สารเคมี</u>

เอธิลแอลกอฮอล์ 60%

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. เจือจางตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ด้วยน้ำกลั่น (ถ้าตัวอย่างมีตะกอนให้กรองออกก่อนไปวิเคราะห์)
2. ดวงเอธิลแอลกอฮอล์ 60% 30 มล. ลงในตัวอย่างตามข้อ 1 ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน
3. นำตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 มล. โดยใช้เอธิลแอลกอฮอล์ 60% เป็นแบลงค์

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

ตรวจสอบจำนวนยีสต์ และรา

โดยวิธีของ Diliello (1982)

วิธีทดลอง

1. เตรียม dilution สำหรับหาจำนวนยีสต์และราในตัวอย่าง ที่ dilution 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3} ด้วยวิธี aseptic technique
2. เทอาหาร potato dextrose agar ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ รอจนอาหารแข็งตัว
3. ปิเปตตัวอย่างในแต่ละ dilution มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงบน อาหารเลี้ยงเชื้อที่แข็งตัวที่เตรียมไว้ ใช้แท่งแก้ว spread ตัวอย่างให้กระจาย โดยวิธีปลอดเชื้อ ทิ้งไว้ 10 นาที
4. นำไปเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
5. นำจานเพาะเชื้อทั้งหมดมานับจำนวน colony โดยเลือกเฉพาะที่มี colony อยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี

จำนวนยีสต์และรา = จำนวนโคโลนี x dilution facter

ภาคผนวก ง

ประเมินผลทางด้านประสาทสัมผัส มีรายละเอียดดังนี้ (Piggott, 1984)

1. วิธีการเตรียมผู้ทดสอบ ตัวอย่าง การเสริฟ

1.1 คัดเลือกผู้ทดสอบที่ดื่มน้ำผลไม้และน้ำอัดลม จำนวน 30 คน ซึ่งและต้องมีความรู้ความเข้าใจในลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ประเมิน (ผู้ทดสอบทุกคนผ่านการเรียนวิชา Food Quality Assurance)

1.2 สถานที่ ภาชนะบรรจุและการเตรียมตัวอย่าง (ASTM, 1986) โดยสถานที่ในการประเมินที่มีแสงสว่างเพียงพอ สม่ำเสมอ มีอากาศถ่ายเท และเงียบสงบ

1.3 ภาชนะบรรจุ ใช้ภาชนะบรรจุแก้วใสไม่มีสี ขนาดบรรจุ 25 มิลลิลิตร

1.4 ปริมาณตัวอย่าง ประมาณ 16 มิลลิลิตร (0.5 ออนซ์) ต่อ 1 ตัวอย่าง

1.5 อุณหภูมิของตัวอย่าง เสริฟตัวอย่างที่อุณหภูมิประมาณ 7-10 องศาเซลเซียส และมีการล้างปากด้วยน้ำเปล่าที่ไม่มีรสก่อนประเมินตัวอย่างใหม่ทุกครั้ง

2. ในการประเมินทางประสาทสัมผัสใช้แบบสอบถามแบบ ดังต่อไปนี้

2.1 scoring test เพื่อหาความแตกต่างในด้านกลิ่นของหัวเชื้อน้ำมะขาม โดยที่ตัวอย่างที่ทดสอบได้ให้รหัสทางสถิติก่อน ผลการทดลองที่ได้นำมาเปลี่ยนเป็นคะแนน โดยคะแนนแทนลักษณะต่อไปนี้

1 = มีกลิ่นแปลกปลอมมากที่สุดและกลิ่นมะขามน้อยที่สุด
2 = มีกลิ่นแปลกปลอมมากและกลิ่นมะขามน้อย
3 = มีกลิ่นแปลกปลอมปานกลางและกลิ่นมะขามปานกลาง
4 = มีกลิ่นแปลกปลอมน้อยและกลิ่นมะขามน้อย
5 = มีกลิ่นมะขามน้อย
6 = มีกลิ่นมะขามแรงปานกลาง
7 = มีกลิ่นมะขามแรงมาก
8 = มีกลิ่นมะขามแรงมากที่สุด

2.2 Linear Scaling test ประกอบด้วยเส้นตรงตามยาวแนวนอนยาว 10 เซนติเมตร ที่

ไม่มีหมายเลขกำกับ ผู้ทดสอบระบุจุด ที่เป็น ideal หรือจุดที่ผู้ทดสอบชิมคิดว่าดีเลิศในแต่ละคุณสมบัติที่ทดสอบนั้นว่าอยู่ตำแหน่งใด และตัวอย่างที่ให้ทดสอบชิมอยู่ในตำแหน่งใดบนสเกลเดียวกัน คำนวณค่าคะแนนเฉลี่ย โดยค่าคะแนนที่ผู้ทดสอบแต่ละคนให้หารด้วยคะแนนที่ถูกกำหนดไว้ว่าดีเลิศ ในแต่ละลักษณะตัวอย่าง เพื่อดูเค้าโครง ของผลิตภัณฑ์ในแต่ละสิ่งทดลองว่ามีลักษณะทางประสาทสัมผัสต่างไปจากลักษณะดีเลิศ มากน้อยเพียงใด พิจารณา ค่าอัตราส่วนที่ได้แต่ละลักษณะที่เข้าใกล้ 1 มากที่สุด

2.3 preference ranking test หลังจากที่ผู้ทดสอบประเมินโดยจัดอันดับตัวอย่างแล้ว ผลการทดสอบจะถูกเปลี่ยนจากอันดับไปเป็นคะแนนโดยใช้ตารางที่ 34 (Fisher และ Yates, 1940)

2.4 Hedonic scaling แบบทดสอบเป็นคะแนนความชอบคะแนน 9 แทนชอบมากที่สุด คะแนน 1 แทนไม่ชอบมากที่สุด

แบบทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่.....

คำชี้แจง โปรดทดสอบตัวอย่างต่อไปนี้โดยการดมและกลั้วไว้ในปาก 1 นาที จากนั้นจึงคายทิ้ง ให้ระดับคะแนนด้านกลิ่น แต่ละตัวอย่าง

โดยที่ 1 = มีกลิ่นแปลกปลอมมากที่สุดและกลิ่นมะขามน้อยที่สุด
2 = มีกลิ่นแปลกปลอมมากและกลิ่นมะขามน้อย
3 = มีกลิ่นแปลกปลอมปานกลางและกลิ่นมะขามปานกลาง
4 = มีกลิ่นแปลกปลอมน้อยและกลิ่นมะขามน้อย
5 = มีกลิ่นมะขามน้อย
6 = มีกลิ่นมะขามแรงปานกลาง
7 = มีกลิ่นมะขามแรงมาก
8 = มีกลิ่นมะขามแรงมากที่สุด

ตัวอย่างที่.....	.....	.....
คะแนน	.....	.....

แบบรายงานการทดสอบในด้านการพัฒนาสูตรโดยวิธี Ratio profile test

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่.....

คำแนะนำ ทดสอบผลิตภัณฑ์ให้คะแนนของแต่ละปัจจัยคุณภาพ โดยเขียน I ลงบนเส้นส่วนที่เป็นความรู้สึกที่ท่านต้องการให้มีในผลิตภัณฑ์ และเขียน ↓ ลงบนเส้นที่ท่านรู้สึกได้จากการชิมผลิตภัณฑ์

รหัสตัวอย่าง ....

1. สีน้ำตาล

2. ความหนืด (การมีบอดี้)

3. รสหวาน

4. รสเปรี้ยว

5. กลิ่นรสมะขาม

6. การยอมรับรวม

แบบทดสอบความชอบ ชนิด Hedonic scaling

ชื่อ.....วันที่.....

<u>คำชี้แจง</u> โปรดทดสอบตัวอย่างต่อไปนี้ โดยให้ระดับความชอบและความไม่ชอบ ในด้านสี กลิ่นรส รสชาติ และความชอบรวม ของผลิตภัณฑ์ที่ท่านเห็นว่าเหมาะสม

ความหมาย	สี	กลิ่นรส	รสชาติ	ความชอบรวม
9 = ชอบมากที่สุด				
8 = ชอบมาก				
7 = ชอบปานกลาง				
6 = ไม่ชอบเล็กน้อย				
5 = เฉยๆ				
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย				
3 = ไม่ชอบปานกลาง				
2 = ไม่ชอบมาก				
1 = ไม่ชอบมากที่สุด				

ข้อเสนอแนะ.....

แบบทดสอบเรียงลำดับความชอบ

วันที่ .....ผลิตภัณฑ์ น้ำมะขามพร้อมดื่มอัดแก๊ส ผู้ทดสอบ.....

คำแนะนำ กรุณาชิมตัวอย่างตามลำดับที่นำเสนอและเรียงลำดับความชอบของท่าน โดยชอบมากที่สุดเป็นลำดับที่ 1 และตัวอย่างที่ท่านชอบน้อยที่สุดเป็นลำดับที่ 3 กรุณาบ้วนปากก่อนชิมตัวอย่างทุกครั้ง

รหัสตัวอย่าง ....

ลำดับความชอบ..... ....

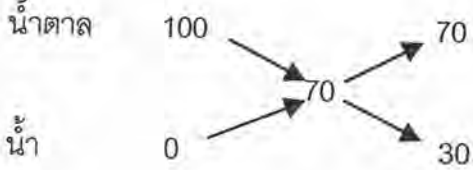
ภาคผนวก จ

การเตรียมสารละลายน้ำตาล และหัวเชื้อ

สามารถคำนวณได้จากสูตร Pearson square ดังนี้

1. ความเข้มข้นของน้ำเชื่อม

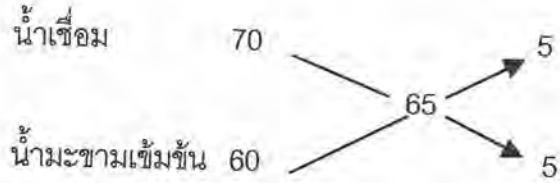
ต้องการเตรียมน้ำเชื่อม 70 องศาบริกซ์ ลิตร จากน้ำตาลทรายและน้ำ สามารถคำนวณได้จากสัดส่วน ดังนี้



การคำนวณ

นำองศาบริกซ์ของน้ำตาลทรายลบออกจากองศาบริกซ์ของสารละลายที่ต้องการเตรียม จะได้ทางล่างซ้าย คือปริมาณน้ำที่ต้องเติม จากนั้นนำองศาบริกซ์ของน้ำลบออกจากค่าองศาบริกซ์ของสารละลายที่ต้องการเตรียมจะได้มุมขวาบน (ไม่คิดเครื่องหมาย) เป็นปริมาณของน้ำตาลที่ต้องเติม

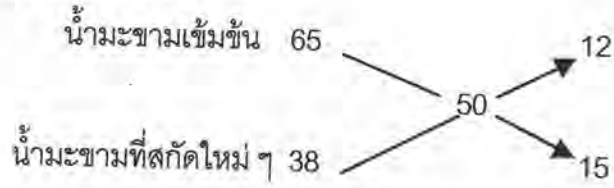
2. หัวเชื้อเข้มข้น 65 องศาบริกซ์



การคำนวณ

นำองศาบริกซ์ของน้ำเชื่อมลบออกจากองศาบริกซ์ของหัวเชื้อที่ต้องการเตรียม จะได้ทางล่างซ้าย คือปริมาณน้ำมะขามเข้มข้น ที่ต้องเติม จากนั้นนำองศาบริกซ์ของน้ำมะขามเข้มข้นลบออกจากค่าองศาบริกซ์ของหัวเชื้อที่ต้องการเตรียม จะได้มุมขวาบน (ไม่คิดเครื่องหมาย) จะได้เป็นปริมาณเชื่อมที่ต้องเติม

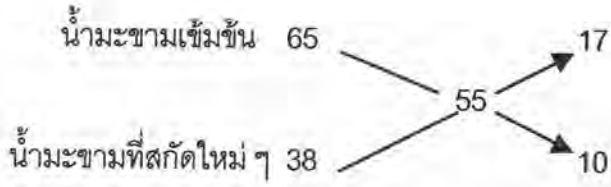
3. หัวเชื้อ 50 องศาบริกซ์



การคำนวณ

นำองศาบริกซ์ของน้ำมะขามเข้มข้นลบออกจากองศาบริกซ์ของหัวเชื้อที่ต้องการเตรียม จะได้ทางล่างซ้าย คือปริมาณน้ำมะขามที่สกัดได้ใหม่ ๆ ที่ต้องเติม จากนั้นนำองศาบริกซ์ของน้ำมะขามที่สกัดได้ใหม่ ๆ ลบออกจากค่าองศาบริกซ์ของหัวเชื้อที่ต้องการเตรียม จะได้มุมขวาบน (ไม่คิดเครื่องหมาย) จะได้เป็นปริมาณน้ำมะขามเข้มข้นที่ต้องเติม

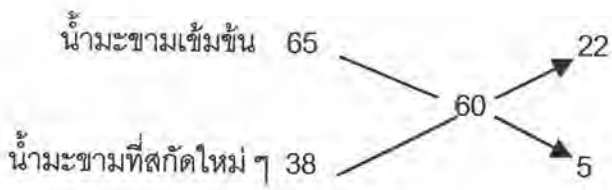
4. หัวเชื้อ 55 องศาบริกซ์



การคำนวณ

นำองศาบริกซ์ของน้ำมะขามเข้มข้นลบออกจากองศาบริกซ์ของหัวเชื้อที่ต้องการเตรียม จะได้ทางล่างซ้าย คือปริมาณน้ำมะขามที่สกัดได้ใหม่ ๆ ที่ต้องเติม จากนั้นนำองศาบริกซ์ของน้ำมะขามที่สกัดได้ใหม่ ๆ ลบออกจากค่าองศาบริกซ์ของหัวเชื้อที่ต้องการเตรียม จะได้มุมขวาบน (ไม่คิดเครื่องหมาย) จะได้เป็นปริมาณน้ำมะขามเข้มข้นที่ต้องเติม

5. หัวเชื้อ 60 องศาบริกซ์



การคำนวณ

นำองศาบริกซ์ของน้ำมะขามเข้มข้นลบออกจากองศาบริกซ์ของหัวเชื้อที่ต้องการเตรียม จะได้ทางล่างซ้าย คือปริมาณน้ำมะขามที่สกัดได้ใหม่ ๆ ที่ต้องเติม จากนั้นนำองศาบริกซ์ของน้ำมะขามที่สกัดได้ใหม่ ๆ ลบออกจากค่าองศาบริกซ์ของหัวเชื้อที่ต้องการเตรียม จะได้มุมขวาบน (ไม่คิดเครื่องหมาย) จะได้เป็นปริมาณน้ำมะขามเข้มข้นที่ต้องเติม

ตารางที่ 34 ค่าทางสถิติสำหรับการเปลี่ยนอันดับไปเป็นคะแนนในการประเมินผลแบบ preference ranking test

The mean deviations of the 1st, 2nd, 3rd . . . largest members of samples of different sizes; zero and negative values omitted.

Ordinal number	Size of Sample									
	—	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1		0.56	0.85	1.03	1.16	1.27	1.35	1.42	1.49	1.54
2				0.30	0.50	0.64	0.76	0.85	0.93	1.00
3						0.20	0.35	0.47	0.57	0.66
4								0.15	0.27	0.38
5										0.12
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	1.59	1.63	1.67	1.70	1.74	1.76	1.79	1.82	1.84	1.87
2	1.06	1.12	1.16	1.21	1.25	1.28	1.32	1.35	1.38	1.41
3	0.73	0.79	0.85	0.90	0.95	0.99	1.03	1.07	1.10	1.13
4	0.46	0.54	0.60	0.66	0.71	0.76	0.81	0.85	0.89	0.92
5	0.22	0.31	0.39	0.46	0.52	0.57	0.62	0.67	0.71	0.75
6		0.10	0.19	0.27	0.34	0.39	0.45	0.50	0.55	0.59
7				0.09	0.17	0.23	0.30	0.35	0.40	0.45
8						0.08	0.15	0.21	0.26	0.31
9								0.07	0.13	0.19
10										0.06
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	1.89	1.91	1.93	1.95	1.97	1.98	2.00	2.01	2.03	2.04
2	1.43	1.46	1.48	1.50	1.52	1.54	1.56	1.58	1.60	1.62
3	1.16	1.19	1.21	1.24	1.26	1.29	1.31	1.33	1.35	1.36
4	0.95	0.98	1.01	1.04	1.07	1.09	1.11	1.14	1.16	1.18
5	0.78	0.82	0.85	0.88	0.91	0.93	0.96	0.98	1.00	1.03
6	0.63	0.67	0.70	0.73	0.76	0.79	0.82	0.85	0.87	0.89
7	0.49	0.53	0.57	0.60	0.64	0.67	0.70	0.73	0.75	0.78
8	0.36	0.41	0.45	0.48	0.52	0.55	0.58	0.61	0.64	0.67
9	0.24	0.29	0.33	0.37	0.41	0.44	0.48	0.51	0.54	0.57
10	0.12	0.17	0.22	0.26	0.30	0.34	0.38	0.41	0.44	0.47
11		0.06	0.11	0.16	0.20	0.24	0.28	0.32	0.35	0.38
12				0.05	0.10	0.14	0.19	0.22	0.26	0.29
13						0.05	0.09	0.13	0.17	0.21
14								0.04	0.08	0.12
15										0.04

Tests of psychological preference and some other experimental data suffice to place a series of magnitudes in order of preference, without supplying metrical values. Analyses of variance, correlations, etc., can be carried out on such data by using the normal scores appropriate to each position in order in a sample of the size observed. Ties may be scored with the means of the ordinal values involved, but in such cases the sums of squares given will require correction.

ประวัติผู้เขียน

นางสาวปวลี วงษ์มา เกิดเมื่อวันที่ 20 กรกฎาคม 2516 ภูมิลำเนาจังหวัดหนองบัวลำภู ได้รับปริญญาวิทยาศาตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ในปีการศึกษา 2539 เข้าเรียนต่อในหลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีเดียวกัน