ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพ

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

1. ความหนืด ด้วยเครื่อง Brookfield Viscometer รุ่น DV-III (rheometer)

อุปกรณ์

- เครื่องวัดความหนืด Brookfield Viscometer รุ่น DV-III (rheometer)
- หัววัด Small Sample Adapter

วิธีการ

1. ทำการตรวจสอบระดับลูกน้ำและเปิดสวิทช์ Power ด้านหลังเครื่อง Brookfield Viscometer รุ่น DV-III (Rheometer)

2. เปิดเครื่อง Computer และ Double Click ที่ Icon Rheocal และตรวจให้แน่ใจว่าไม่มีหัวหมุนต่ออยู่ที่เครื่อง Brookfield

3. กดปุ่ม Zero ที่โปรแกรม Rheocal ในหน้า Dashboard ซึ่งตัวเครื่อง Brookfield จะทำการปรับศูนย์ที่แกนหมุน ซึ่งเมื่อเสร็จแล้ว ตรงค่า %Torque จะเป็นศูนย์

4. ทำการใส่หัวหมุนที่จะใช้วัด Small Sample Adapter เข้ากับแกนหมุนของเครื่อง และใส่ Guard leg บรรจุตัวอย่างที่ต้องการวัดในบีกเกอร์ที่ขนาดเหมาะสม โดยให้หัวหมุนจุ่มลงในตัวอย่างจนถึงระดับที่กำหนด (รอย Mark ที่หัวหมุน) และตัวอย่างไม่ควรมีฟองอากาศ

5. เข้าหน้าโปรแกรมแล้วกำหนดความเร็วรอบ ชนิดของหัวหมุน ตามที่ต้องการ

6. กดปุ่ม Start หัวหมุนจะเริ่มทำงานตามขั้นตอนในโปรแกรมที่เรากำหนดไว้ และแสดงค่า %Torque และ Viscosity บนหน้าจอ ในกรณีต้องการทราบอุณหภูมิของตัวอย่างขณะวัดให้ต่อปลั๊ก RTD Probe เข้ากับด้านหลังเครื่อง และจุ่มปลายของ RTD Probe ลงในตัวอย่าง

2. ความหนาแน่นสัมพันธ์ (Relative Density) (AOAC, 2005)

อุปกรณ์

- ขวดค่าความถ่วงจำเพาะ (Pycnometer)
- อ่างน้ำ (Water Bath)

วิธีการ

1. ชั่งขวดหาค่าความถ่วงจำเพาะที่แห้งและบันทึกน้ำหนัก

2. เปิดจุก เติมน้ำที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จนเต็ม แล้วจุ่มลงในอ่างน้ำ (Water Bath) ที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 30 นาที

3. ยกขวดออกมาเช็ดให้แห้งสนิทแล้วชั่งน้ำหนัก

4. กรองน้ำมันด้วยกระดาษกรอง แล้วปรับอุณหภูมิให้ได้ที่ 25 องศาเซลเซียส

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

5. ทดลองเช่นเดียวกันโดยใช้น้ำมันแทนน้ำ

6. คำนวณความถ่วงจำเพาะจาก

$$\text{ความถ่วงจำเพาะ} = \frac{\text{น้ำหนักน้ำมัน}}{\text{น้ำหนักน้ำที่ปริมาตรเท่ากัน}}$$

7. ในกรณีที่อุณหภูมิ T ไม่เป็น 25 องศาเซลเซียส ให้ใช้สูตรในการคำนวณความถ่วงจำเพาะที่ 25 องศาเซลเซียส

3. ความชื้นและสารระเหยได้ที่ 105 องศาเซลเซียส (water and volatile materials at 105 ° C) (AOAC,2005)

อุปกรณ์

- ถ้วยหาความชื้น
- เดซิเคเตอร์ (Desicatoe)
- ตู้อบ (Oven)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 5 $\pm$ 0.2 กรัม ใน Moisture Can พร้อมฝาที่ล้างสะอาด อบและชั่งน้ำหนัก
2. อบที่ 105 องศาเซลเซียส 1ชั่วโมง
3. หลังอบ ทิ้ง Moisture Can พร้อมฝาไว้ในโถดูดความชื้นจนเย็น
4. ชั่งน้ำหนัก แล้วอบแห้งซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่
5. คำนวณน้ำและสารระเหยได้ที่ 105 องศาเซลเซียสจากสูตร

การคำนวณ

$$\text{น้ำและสารระเหยที่ได้ที่ 105 องศาเซลเซียส} = \frac{100 \times \text{น้ำหนักตัวอย่างที่หายไป (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)}}$$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. ค่าเปอร์ออกซิไซด์ (Peroxide value) (AOAC, 2005)

อุปกรณ์

- ฟลาสก์แก้วขนาด 125 มิลลิลิตร
- บิวเรต

สารเคมี

- สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัว
- สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 ชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์มา 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร
- สารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$) ความเข้มข้น 0.002 นอร์มอล ชั่งโซเดียมไธโอซัลเฟตมา 0.4954 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร
- สารละลายน้ำแป้ง ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

วิธีการ

1. ชั่งน้ำมันตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ลงขวดแก้วที่สะอาดและแห้ง (ทำ blank ไปพร้อมกันโดยไม่ต้องใส่น้ำมันตัวอย่าง)
2. เติมสารละลายอิ่มตัวของโพแทสเซียมไอโอไดด์ 0.5 มิลลิลิตร
3. เติมตัวทำละลายผสม(ประกอบด้วยกรดแอซิติก 3 ส่วนและคลอโรฟอร์ม 2 ส่วน ปริมาตรต่อปริมาตร) ลงไป 20 มิลลิลิตรทำในตู้ดูดควัน
4. นำหลอดแก้วไปต้มในน้ำเดือด ปล่อยให้เดือดไม่เกิน 30 วินาที
5. เทของเหลวที่กำลังเดือดลงในฟลาส์กขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 20 มิลลิลิตร
6. ล้างหลอดแก้วด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ครั้งละ 15 และ 10 มิลลิลิตรตามลำดับ เทน้ำที่ล้างลงในฟลาส์ก
7. ไตเตรทสารละลายในฟลาส์กด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ความเข้มข้น 0.002 นอร์มอล จนสีเหลืองจางลง เติมน้ำแป้งลงไป 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ ไตเตรทต่อจนถึงจุดยุติ จนเป็นสารละลายไม่มีสี
8. บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้กับน้ำมันตัวอย่าง (= A มิลลิลิตร) และที่ใช้กับ blank (= B มิลลิลิตร)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การคำนวณ

$$PV = \frac{2 \times (A - B)}{\text{น้ำหนักของน้ำมันตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)}}$$

5. ค่า Acid Value (AOAC, 2005)

อุปกรณ์

- ฟลาส์ก 250 มิลลิลิตร
- ปิเปต 10 มิลลิลิตร
- บิวเรต 50 มิลลิลตร

สารเคมี

- สารละลายผสมระหว่างไดเอทิลอีเทอร์ และเอทิลแอลกอฮอล์ (1:1)
- สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ชั่งโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 5.610 กรัม ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ใส่ในบิกเกอร์ 100 ml เติมน้ำกลั่นประมาณ 60 มล. คนจนสารละลาย เทใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 ml แล้วปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำกลั่น
- สารละลายพีนอฟทาลีน ความเข้มข้นร้อยละ 1

วิธีการ

1. ผสมไดเอทิลอีเทอร์ 25 มิลลิลิตร รวมกับเอทิลแอลกอฮอล์ 25 มิลลิลิตร ให้เป็นตัวทำละลายผสม
2. เติมสารละลายฟีนอฟทาลีน ลงไป 0.5 มิลลิลิตร
3. ค่อยๆ ไตเตรทตัวทำละลายผสมให้เป็นกลางด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มเข้น 0.1 โมลาร์
4. ชั่งน้ำมันตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม
5. ละลายน้ำมันตัวอย่างในตัวทำละลายผสมที่เป็นกลาง
6. ไตเตรทด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์
7. เขย่าพร้อมกับไตเตรทจนได้สารละลายสีชมพูมีความคงตัว

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การคำนวณ

$$\text{Acid Value} = \frac{V \times 5.61}{W}$$

V = จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

6. ค่า Iodine number I.N. (AOAC, 2005)

อุปกรณ์

- ฟลาส์ก 250 มิลลิลิตร
- บิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร

สารเคมี

- สารละลาย Hanus reagent (ชั่งไอโอดีนมา 13.2 กรัม เติมกรดแอซิติริก(Glacial Acetic Acid ความเข้มข้น 99.5 เปอร์เซ็นต์) จำนวน 1 ลิตรเมื่อไอโอดีนละลายหมดแล้วทำการเติมโปรมีนลงไป 3 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมเข้ากันดี เก็บในขวดสีชา)
- สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ ความเข้มข้นร้อยละ 15 (ชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์มา 15 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นให้ละลาย ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรโดยใช้ขวดปรับปริมาตร)
- สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตมาตรฐานความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (ชั่งโซเดียมไทโอซัลเฟตมา 24.82 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเดือดและปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร
- น้ำแป้งอินดิเคเตอร์ ความเข้มข้นร้อยละ 1 ชั่งแป้งมา 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือด ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำมาใช้ เตรียมทันทีก่อนใช้
- คลอโรฟอร์ม

วิธีการ

1. ชั่งน้ำมันที่กรองแล้ว 0.2 กรัม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนใส่ลงในฟลาส์ก 250 มิลลิลิตร (ทำblank โดยไม่ต้องเติมน้ำมัน)
2. เติมคลอโรฟอร์มลงไป 10 มิลลิลิตร ใช้กระบอกตวง
3. เติมสารละลาย Hanus Reagent ลงไป 10 มิลลิลิตร ปิดจุกเขย่าเบา ๆ แล้วเก็บในที่มืดนาน 30 นาที เขย่าเบา ๆ เป็นครั้งคราว

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์เข้มข้นร้อยละ 15 ลงไป 10 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

5. ไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต มาตรฐานความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน

6. เติมน้ำแป้งลงไป 2-3 หยด สารละลายจะกลายเป็นสีฟ้า ไตรเตรทต่อไปจนกระทั่งสีฟ้าจางหายไปจนไม่มีสี

7. บันทึกปริมาณของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ (= a มิลลิลิตร)

8. นำ blank มาไตรเตรทเช่นเดียวกับตัวอย่าง (= b มิลลิลิตร)

9. คำนวณหาผลต่างของปริมาตรสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ (= b - a มิลลิลิตร)

การคำนวณ

$$\text{ค่าไอโอดีน} = \frac{(b-a) \times N \times 1.269}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)}}$$

7. ค่าสปอนนิฟาย (Saponification number) (AOAC, 2005)

อุปกรณ์

- ขวดรูปชมพู่
- ขวดก้นกลม พร้อมชุดรีฟลักซ์
- ปิเปตขนาด 25 มิลลิลิตร
- บิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร

สารเคมี

- สารละลายแอลกอฮอลลิกโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Alcoholic Potassium Hydroxide) ชั่งโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์มาประมาณ 35-40 กรัม ละลายลงในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร แล้วเติมเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ให้มีปริมาตรครบ 1 ลิตร
- สารละลายมาตฐานกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล ตรงกรดไฮโดรคลอริก 41.4 มิลลิลิตร เทใส่บิกเกอร์ขนาด 500 ml ที่มีน้ำกลั่นอยู่ประมาณ 300 ml คนจนสารละลายเทใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 ml ปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำกลั่น
- สารละลายฟีนอฟทาลีน ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วิธีการ

1. ชั่งน้ำมัน 2 กรัมใส่ฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร (ทำ Blank ไปพร้อมกัน)

2. เติม สารละลายแอลกอฮอลลอกโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 25 มิลลิลิตร

3. รีฟลักซ์ 1 ชั่วโมง ใน Boiling Water Bath

4. นำสารผสมในฟลาส์กมาไตเตรทหาด่างที่เหลือกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐานความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล โดยหยดสารละลายฟีนอล์ฟธาลีนความเข้มข้น ร้อยละ 1 เป็นอินดิเคเตอร์ 3-4 หยด

5. ไตเตรทจนมีสีชมพูอ่อน และเก็บฟาส์กสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารที่ซาปอนิไฟด์ไม่ได้ (Unsaponifiable Matter)

6. บันทึกปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐานความเข้มข้น 0.5 นอร์มอล ที่ใช้กับน้ำมันตัวอย่างมีค่า = A และที่ใช้กับ Blank มีค่า = B

การคำนวณ

$$\text{ค่าสปอนนิฟิเคชั่น} = \frac{56.1 \times N (B-A)}{W}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรคลอริกมาตรฐานเป็นมอร์มอล (0.5 นอร์มอล)

A = ปริมาณของกรดไฮโดรคลอริค ที่ใช้ในการไตเตรทกับตัวอย่าง

B = ปริมาณของกรดไฮโดรคลอริค ที่ใช้ในการไตเตรทกับ blank

W = น้ำหนักตัวอย่าง

8. การวิเคราะห์ค่าไทโอบาร์บิวทิริคนัมเบอร (Thiobarbituric acid, TBA number) (AOAC,1995)

TBA เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณของมาโลนัลดีไฮด์ (Malonaldehyde) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการเกิดออกซิเดชันของไขมัน การวิเคราะห์ค่า TBA โดยทั่วไปนิยมใช้เพื่อประเมินคุณภาพทางด้านการเหม็นหืน ของผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันหรือน้ำมันเป็นองค์ประกอบมากกว่าที่จะใช้ทดสอบคุณภาพของไขมันโดยตรง ซึ่งนิยมวิเคราะห์ปริมาณ PV และ AV โดยจะใช้ผลที่ดีกว่า

อุปกรณ์

- ขวดปรับปริมาตร (Volumetric Flask) ขนาด 25 และ 100 มิลลิลิตร
- ปิเปต 5 มิลลิลิตร
- หลอดทดลองพร้อมจุกแก้ว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 –15 มิลลิเมตร
- Glass Cell ขนาด 10 มิลลิเมตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

- อ่างควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 95 องศาเซลเซียส
- Spectrometer อ่านค่าความยาวคลื่นที่ 530 นาโนเมตร

สารเคมี

- 1- Butanol บริสุทธิ์มีน้ำไม่เกิน 0.5 %
- 2- Thiobarbituric Acid
- สารละลาย TBN เตรียมโดยละลาย 200 มิลลิกรัม ของ 2- Thiobarbituric Acid ใน 100 มิลลิลิตร ของ 1- Butanol ทิ้งไว้ค้างคืน หรือใช้เครื่องอัลทราโซนิก ช่วยในการละลาย จากนั้นกรองหรือเข้าเครื่องเหวี่ยงขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรโดยใช้ 1- Butanol สารนี้ต้องเก็บในตู้เย็นและใช้ได้ภายใน 1 สัปดาห์

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 50 – 200 มิลลิกรัม ใส่ลงขวดปรับปริมาตร (Volumetric Flask) ขนาด 25มิลลิลิตร เติม 1- Butanol ลงเล็กน้อย เพื่อละลายตัวอย่าง จากนั้นปรับปริมาตรที่เหลือโดยเติม 1-Butanol ลงไป

2. ปีเปตตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีจุกแก้วที่แห้ง จากนั้นปีเปตสารละลาย TBA 5 มิลลิลิตร ใส่ลงไป ปิดจุกแก้ว แล้วผสมให้เข้ากันดี จากนั้นใส่ลงในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

3. เมื่อครบเวลา นำหลอดตัวอย่างขึ้นมาทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิห้อง โดยการให้น้ำไหลผ่าน เพื่อลดความร้อน

4. นำสารละลายที่ได้ใส่ใน Glass Cell ขนาด 10 มิลลิเมตร วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น Reference Cell

5. เตรียม Blank พร้อมกับตัวอย่างด้วย โดยค่าของ Blank ไม่ควรเกิน 0.1

การคำนวณ

$$\text{TBN Value} = \frac{50 \times (A-B)}{M}$$

A = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

B = ค่าการดูดกลืนแสงของ Blank

M = มวลเป็นมิลลิกรัมของตัวอย่าง

50 = ค่าตัวแปรที่ใช้เมื่อเตรียมตัวอย่าง โดยใช้ขวดปรับปริมาตร (Volumetric Flask) ขนาด 25 มิลลิลิตร และใช้ Glass Cell ขนาด 10 มิลลิเมตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

9. ปริมาณของกรดไขมัน (AOAC Da 14-48)

สารเคมี

- โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 โมล
- แอทิลแอลกอฮอร์ 95% โดยปริมาตร เตรียมโดยเติมฟีนอฟทาลีน 3-5 หยดทำให้เดือดและทำให้เป็นกลาง โดยใช้สารละลายโซดาไฟ 0.1-0.2 โมลต่อลิตร
- ฟีนอฟทาลีน อินดิเคเตอร์ ร้อยละ 1 ใน แอลกอฮอล์ ร้อยละ 95

วิธีการ

1. ชั่งน้ำมันตัวอย่าง 2 กรัม เติมแอทิลแอลกอฮอร์ขณะร้อนและมีสภาพเป็นกลาง 20-30 มิลลิลิตร
2. นำสารละลายที่ได้ขณะร้อนมาไตรเตรทกับสารละลายโซดาไฟ 0.5 โมลต่อลิตร โดยใช้ฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ หยดเพียง 0.5 มิลลิลิตร ขณะที่เขย่ากับโซดาไฟ 0.5 โมลต่อลิตร ดูให้สีคงอยู่ประมาณ 30 วินาที อ่านค่าที่ได้

ตัวอย่างการคำนวณ

สารละลายกรดไขมัน 30 ml. ทำปฏิกิริยาสมมูลย์กับสารละลายโซดาไฟ 0.5 โมลต่อลิตร 18.5 ml. ดังนั้นสามารถคำนวณความเข้มข้นของกรดไขมันจาก

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

0.5 x 18.5 = ความเข้มข้นของสารละลายกรดไขมัน x 30

ความเข้มข้นของสารละลายกรดไขมัน = 0.308 โมลต่อลิตร

สารละลายเข้มข้น 0.308 โมลต่อลิตร ปริมาณ 30 มิลลิลิตรใช้ กรดไขมัน 2 กรัม ถ้าต้องการเตรียมสารละลายจำนวน 1 ลิตรจึงต้องใช้กรดไขมันปริมาณ 66.67 กรัม และคำนวนหามวลโมเลกุลเฉลี่ยของกรดไขมันได้จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลายกรดไขมัน (โมล)} = \frac{\text{น้ำหนัก (กรัม)}}{\text{มวลโมเลกุลเฉลี่ยของกรดไขมัน}}$$

ดังนั้นมวลโมเลกุลเฉลี่ยของกรดไขมัน = 66.667/0.308

= 216.45

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

10. การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมัน (AOAC 2005)

อุปกรณ์และสารเคมี

- เครื่อง GC : Agilent Technology รุ่น 6890 N
- Column : SP$_{TM}$ – 2560 Fused Silica Capillary Column, 100 m x 0.25 m i.d.

วิธีการสกัดและการทำเอสเทอร์ริฟิเคชัน

1. ดูดสารตัวอย่างใน Vial 1 mL ลงใน Screw Cap Tube แล้วเติม Methanol: Hexane (4:1) 2 mL

2. ค่อยเติม 200 µl ของ Acetyl Cholride Solution ที่ละหยด พร้อม Vortex ตลอดเวลา

3. นำให้ความร้อนที่ อุณหภูมิ 100 องซาเซลเซียส ใน Heat Block นาน 1 ชั่วโมง ปิดฝาหลอดให้แน่นป้องกันการระเหยของกรดไขมันในรูป FAME

4. ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติมสารละลาย 6% KCO_3 5 mL เขย่าให้เข้ากัน

5. เติม Hexane 1ml แล้ว เขย่าให้เข้ากัน

6. นำไปเซนติฟิวจ์ที่ 1,000 rpm นาน 15 นาที

7. ดูดสารที่ส่วนใส่ชั้นบนลงใน Vial พันทับด้วยพาราฟิน

วิธีการคำนวณ

การคำนวณหาปริมาณกรดไขมันในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

$$\text{Fatty Acid (mg/g)} = (As.x\ W\ in\ x\ RRF)/(A\ in.x\ Ws\ x\ 1.014)$$

$$\text{RRF (Relative response factor)} = (As.x\ Ws)/(A\ in.x\ Ws\ )$$

เมื่อ As. = พื้นที่ของกรดไขมันที่สนใจ

W in = น้ำหนักของกรดไขมันมาตรฐาน (C:17) (mg)

A in. = พื้นที่ของกรดไขมันที่สนใจกรดไขมันมาตรฐาน (C:17)

Ws. = น้ำหนักตัวอย่างที่ชั่งก่อนการสกัด (g)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ข

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์และการวิเคราะห์จุลินทรีย์

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

1. การเตรียมเชื้อ *Lactobacillus plantarum*

นำเชื้อ *Lactobacillus plantarum* มาเลี้ยงใน MRS medium ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเทอาหารเลี้ยงเชื้อออก (ระหว่างบ่มเชื้อ เชื้อจะตกตะกอนอยู่ที่ก้นหลอดแก้ว) เท PBS ผสมกับเชื้อสามในสี่ของหลอด centrifuge แล้วนำไป vortex ก่อนที่จะนำไปหมุนเหวี่ยง จำนวน 2 ครั้ง จากนั้นนำไปวัดค่าโดยใช้ Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เทียบค่ากับ McFarland standards เท่ากับ 0.132 ปริมาณเชื้อที่มีอยู่เทียบเป็น 1.5×10^{8} CFU/mL

ตารางที่ ข-1 McFarland Nephelometer Standards

McFarland Standard No.	0.5	1	2	3	4
1.0% Barium chloride (ml)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4
1.0% Sulfuric acid (ml)	9.95	9.9	9.8	9.7	9.6
Approx. cell density ($1X10^{8}$ CFU/mL)	1.5	3.0	6.0	9.0	12.0
% Transmittance*	74.3	55.6	35.6	26.4	21.5
Absorbance*	0.132	0.257	0.451	0.582	0.669

*at wavelength of 600 nm

ปรับปริมาณเชื้อเทียบเป็น 1.5×10^{8} CFU/mL โดยใช้ PBS เจือจางเพื่อปรับปริมาณเชื้อ

2. ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) โดยวิธี Pour plate (AOAC, 2002)

สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

- สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้น 0.1%
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในถุงตีป่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 225 มิลลิลิตร นำไปตีป่นด้วยเครื่องตีป่นจนตัวอย่างแตกละเอียดและผสมเป็นเนื้อเดียวกับสารละลายที่ได้เป็นตัวอย่างที่เจือจาง 1: 10 หรือ 10^{-1}

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าตัวอย่างให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ได้เป็นสารละลายตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 หรือ10^{-2}

3. นำตัวอย่างที่เจือจาง 10^{-2} มาเจือจางให้เป็น 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} โดยทำเช่นเดียวกับข้อ 2

4. ใช้ปิเปต (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ) ปิเปตตัวอย่างอาหารที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสมลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ระดับเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูดจากตัวอย่างอาหารที่มีระดับการเจือจางมากที่สุด

5. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar ที่หลอมเหลวลงในจานเพาะเชื้อ ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากัน วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว

6. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง การตรวจนับจำนวนโคโลนีและรายงานผล

ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อ โดยจำนวนจุลินทรีย์อยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี นำค่าเฉลี่ยจากทั้ง 2 จานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับในรูปจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม

3. การย้อมสีแกรม

สารเคมี

- crystal violet
- lugol iodine
- แอลกอฮอลล์ 95 %
- safanin

วิธีทำ

1. การเกลี่ยเชื้อบนสไลด์ให้กระจายเป็นฟิล์มบาง ๆ ไม่ให้หนาแน่นมากเกินไปและปล่อยให้แห้งในอากาศ

2. การตรึงเชื้อให้ติดแน่นกับสไลด์ทำให้ไม่หลุดออกขณะย้อมสี การตรึงเชื้อทำได้โดยการผ่านสไลด์ที่เกลี่ยเชื้อไว้แล้ว ลนบนเปลวไฟอย่างรวดเร็ว 2 – 3 ครั้ง

3. หยด crystal violct บนรอยเกลี่ยของเชื้อให้ท่วม ทิ้งไว้ 1 นาที แล้วเทสีทิ้ง แล้วล้างน้ำออกอย่างช้าประมาณ 5 วินาที อย่าปล่อยให้ถูกรอยเสมียร์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. หยดสารละลาย lugol iodine บนรอยเกลี่ยของเชื้อ ทิ้งไว้ 1 นาที เทสารละลายทิ้ง สารละลายไอโอดีนทำหน้าที่เป็นมอร์แดนต์ (mordant) ช่วยให้เซลล์ติดสีย้อมให้ดีขึ้น

5. ล้างสีออกด้วยแอลกอฮอลล์ 95 % ทิ้งไว้ประมาณ 15 วินาที ล้างน้ำให้สะอาด ขั้นตอนการล้างน้ำนี้สำคัญมากเพราะเป็นการหยุดปฏิกิริยาการล้างสี

6. หยด safanin บนรอยเกลี่ย ประมาณ 15 – 30 วินาที ล้างน้ำ และซับให้แห้งตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

การอ่านผล

แบคทีเรียแกรมบวกจะติดสีม่วงของคริสตัลไวโอเลต และแบคทีเรียแกรมลบจะติดสีแดงของซาฟานิน

4. ทดสอบ Coagulase test (ศิริโฉม ทุ่งเก้า, 2554)

สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Brain heart infunsion (BHI)
- Coagulase plasma

วิธีการ

1. ถ่ายเชื้อซึ่งเจริญใน BPEY ที่มีลักษณะ สีดำ กลมนูน เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี 2 – 3 มิลลิเมตร มีวงแหวนขาวขุ่นล้อมรอบ ซึ่งมีวงแหวนใส ๆ ล้อมรอบอีกชั้นหนึ่ง ลงใน Brain heart Infusion broth 0.2-0.3 มิลลิลิตร ซึ่งอยู่ในหลอด ขนาด 13x100 มิลลิเมตร

2. บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

3. เติมพลาสม่า plasma จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในอาหาร Brain heart Infusion Broth ที่มีเชื้ออยู่ เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อ่านผลหลังบ่ม 1, 2 และ 6 ชั่วโมง

การอ่านผล

ผลบวก พลาสม่าจับตัวกันเป็นก้อนทั้งหลอด ถ้ าเกิดน้อยกว่านี้ให้ทดสอบทางชีวเคมีเพิ่มเติม

ผลลบ ไม่เกิดการจับตัวเป็นก้อนของพลาสม่าหรือเกิดน้อยมาก

หมายเหตุ: S. aureus ให้ผลบวกกับการทดสอบ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

5. ทดสอบการทนเกลือ (ศิริโฉม ทุ่งเก้า, 2554)

สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Thiosulfate Citrate Bile Salt (TCBS) Agar
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Broth ที่มีเกลือ 8 และ 10%

วิธีการ

1. ถ่ายเชื้อจาก PCA ที่มีเกลือ 2% ที่มีลักษณะสีเหลือง กลม นูน มันวาว ลงใน TCBS บ่มที่อุณหภูมิ 37± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

2. เลือกโคโลนีสีเขียวเข้ม กลม นูน มันวาว ขอบเรียบ ถ่ายเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Broth ที่มีเกลือ 8 และ 10%

3. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส สังเกตอาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นให้ผลเป็นบวก

การอ่านผล

ผลบวก มีการเจริญของเชื้อ

ผลลบ ไม่มีการเจริญของเชื้อ

หมายเหตุ: V. parahaemolyticus จะเจริญที่ Tryptic Broth มีเกลือ 8 แต่ไม่เจริญใน Tryptic Broth ที่มีเกลือ 10%

6. การเจริญแบบไรซอยด์ (Tallent, Rhodehamel, Harmon , & Bennett 2001)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA)

วิธีการ

1. นำโคโลนีที่คาดว่าจะเป็น *B. cereus และ B. subtilis* จาก MYP ที่มีลักษณะโคโลนีใหญ่ สีเหลืองอ่อนหรือสีนวลออกชมพู ขอบหยัก เปลี่ยนอาหารเป็นสีชมพูและโคโลนีกลม แบนผิวหน้าด้าน สีเหลืองนวล อาจมีการสร้างไบโอฟิล์มบริเวณด้านบนโคโลนี เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสีเหลือง ตามลำดับ ทำการเพาะลงใน NB บ่มที่ 35 องศาสเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. เพาะเชื้อ 1 loop ลงบนอาหาร NA (ทิ้งให้ผิวหน้าแห้งก่อนใช้) โดยแตะบริเวณกลางจาน รอให้แห้ง

3. บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง ตรวจดูการเจริญแบบไรซอยด์ของโคโลนี ซึ่งมีลักษณะคล้ายรากไม้หรือเส้นผมแผ่ออกจากรอยที่เพาะเชื้อ

หมายเหตุ: B. cereus และ B. subtilis ไม่มีการเจริญแบบไรซอยด์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ค

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ สารเคมี

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

1. Mueller-Hinton Agar (MHA)

Beef Extract Powder	2.0	กรัม
Acid Digest of Casein	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar	17.0	กรัม

เตรียมโดยชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton Agar (MHA) 38 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ต้มจนวุ้นละลาย แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2. Tryptic soy broth (TSB)

Trytic Soy broth	17	กรัม
Soytone	3.0	กรัม
Dextrose	2.5	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Dipotassium Phosphate	2.5	กรัม

เตรียมโดยนำส่วนผสมอาหารเลี้ยงเชื้อ 30 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ต้มจนสารละลายใส แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

3. Nutrient agar (NA)

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

เตรียมโดยนำส่วนผสมอาหารมา 23 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ต้มจนวุ้นละลาย นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

4. Plate Count Agar

Tryptone	5.0	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Glucose	1.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

เตรียมโดยชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA มา 23.5 กรัม ละลายในน้ำ กลั่น 1 ลิตร ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที

5. Baird Parker Agar (BPEY)

Peptone	10.0	กรัม
Meat extract	5.0	กรัม
Yeast extract	1.0	กรัม
Sodium pyruvate	10.0	กรัม
Glycine	12.0	กรัม
Lithium chloride	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

เตรียมโดยละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ BPEY 63.0 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส เติม egg-yolk tellurite emulsion จำนวน 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

6. Brain Heart Infusion Broth (BHI)

Calf brain infusion solid	12.5	กรัม
Beef heart infusion solid	5.0	กรัม
Proteose peptone	10.0	กรัม
Glucose	2.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Di-sodium phosphate	2.5	กรัม

เตรียมโดยละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI 37.0 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

7. Mannitol Egg Yolk-Polymycin Agar (MYP)

Meat extract	10.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
Mannitol	10.0	กรัม
Sodium chloride	10.0	กรัม
Phenol red	0.025	กรัม
Agar	12.0	กรัม

เตรียมโดยละลายอาหารเลี้ยงเชื้อ MYP 21.5 กรัม ในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส เติม egg-yolk emulsion จำนวน 50 มิลลิลิตร และ Polymyxin B (*Bacillus cereus* selective supplement; SR 99E) 1 vial (2 มิลลิลิตร/vial) ผสมให้เข้ากัน

8. Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose Agar (TCBS)

Yeast extract	5	กรัม
Tripteine	5	กรัม
Peptone	5	กรัม
Sodium citrate	10	กรัม
Sodium thiosulfate	10	กรัม
Oxgall	8	กรัม
Sucrose	20	กรัม
Sodium chloride	10	กรัม
Ferric citrate	1	กรัม
Thymol blue	0.04	กรัม
Bromothymol blue	0.04	กรัม
Agar	15	กรัม

เตรียมโดยนำส่วนผสมต้มอาหารเลี้ยงเชื้อ 86 กรัมในน้ำ 1 ลิตร ต้มจนเป็นเนื้อเดียวกัน โดยไม่ต้องนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

9. McFarland Standard

Sulfuric acid 1 เปอร์เซ็นต์	0.05	มิลลิลิตร
Barium chloride 1.175 เปอร์เซ็นต์	9.95	มิลลิลิตร

ผสมสารละลาย Sulfuric acid 1.0 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร และสารละลาย Barium chloride 1.175 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9.95 มิลลิลิตร ผสมสารทั้งสองชนิดเข้าด้วยกันในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 16x150 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่มืดระวังอย่าให้ถูกแสง

10. NaCl 0.85 เปอร์เซ็นต์

ชั่ง NaCl 0.85 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ เติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

11. สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้น 0.1%

ชั่งเปปโตน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดหรือหลอดทดลอง นำไปฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

12. Phosphate buffer saline (PBS) pH 7.4

สารเคมี

NaCl	8.0	กรัม
KCl	0.2	กรัม
Na_2HPO_4	1.5	กรัม
KH_2PO_4	0.1	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำกลั่นปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 7.2-7.4 จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที แล้วจึงเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

13. Alkaline peptone water (APW)

เปปโตน (peptone) 10 กรัม

โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) 10 กรัม

นำเปปโตนและโซเดียมคลอไรด์ผสมกับน้ำกลั่น หรือน้ำกรอง (deionized water) ปริมาตร 1 ลิตร ต้มจนละลาย ปรับค่าความเป็นกรด-เบส ให้ได้ค่าความเป็นกรด-เบส 8.6 และทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา15 นาที

14. ยาปฏิชีวนะ Tetracycline

ชั่งยาปฏิชีวนะ Tetracycline 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นสุดท้าย 1,000 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร กรองด้วยหัวกรอง 0.45 ไมโครเมตร จากนั้นนำยาที่ผ่านการกรองมา 3,200 ไมโครลิตร (32 มิลลิลิตร) เจือจางในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 6,800 ไมโครลิตร (6.8 มิลลิลิตร)จะได้สารละลายยาปฏิชีวนะเข้มข้น 320 ไมโครลิตร ทำการเจือจางสารละลายยาปฏิชีวนะโดยเจือจางกับน้ำกลั่นปราศจากเชื้อแบบ two-fold dilution เรื่อยๆ เป็นจำนวน 6 หลอดทดลอง จะได้ความเข้มข้นของสารละลายเป็น 160, 80, 40, 20, 10 และ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อทำการปิเปตสารละลายยาปฏิชีวนะปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจากนั้นเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton agar หลอมเหลว จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 16, 8, 4, 2, 1, 0.5 และ 0.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ง

จำนวนเชื้อแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์ปลาทูชุบแป้งทอดกึ่งสุกและผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์ปลาทูชุบแป้งทอดกึ่งสุก

เมื่อเติมเชื้อแต่ละชนิด ซึ่งได้แก่ *S. aureus, B. subtilis, B. cereus* และ *V. arahaemolyticus* ลงในอาหาร จากนั้นเติมกรดไขมันลงไป 0.4% นำอาหารไปเก็บที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส และทำการนับจำนวนเชื้อที่เวลาต่าง ๆ ให้ผลดังตาราง

ตารางที่ ง-1 จำนวน *S. aureus* ในเนื้อปลาทูชุบแป้งทอดกึ่งสุกที่เติมและไม่เติมกรดไขมันที่เวลาต่าง ๆ

วันที่	ซ้ำ	ตัวอย่างควบคุม	กรดไขมันชีวภาพ 0.39%w/v	กรดไขมันชีวภาพ 0.78%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.39%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.78%w/v
0	1	$3.4x10^5$	$1.95x10^5$	$6x10^4$	$9.1x10^4$	$5.2x10^4$
	2	$2.0x10^5$	$4.2x10^4$	$1.5x10^4$	$1.8x10^4$	$3x10^4$
	3	$2.0x10^5$	$1.84x10^4$	$6x10^4$	$5x10^4$	$3.2x10^4$
	ค่าเฉลี่ย	$2.47x10^5$	$8.51x10^4$	$8.51x10^4$	$5.3x10^4$	$3.8x10^4$
1	1	$4.2x10^5$	$1.13x10^5$	$8.3x10^4$	$5.7x10^4$	$3.1x10^4$
	2	$2.3x10^5$	$1x10^4$	$1x10^4$	$8x10^3$	$2.6x10^3$
	3	$2.3x10^5$	$8x10^3$	$3.7x10^3$	$6x10^3$	$1.3x10^4$
	ค่าเฉลี่ย	$2.9x10^5$	$4.3x10^4$	$3.2x10^4$	$2.37x10^4$	$1.55x10^4$
2	1	$3.5x10^5$	$1.83x10^5$	$5.4x10^4$	$4.1x10^4$	$4.3x10^4$
	2	$2.2x10^5$	$8.2x10^4$	$7x10^3$	$1.18x10^4$	$2.0x10^3$
	3	$2.2x10^5$	$2.1x10^4$	$1x10^3$	$7.7x10^3$	$2.41x10^4$
	ค่าเฉลี่ย	$2.6x10^5$	$9.5x10^4$	$2.0x10^4$	$2.01x10^4$	$2.3x10^4$
3	1	$3.7x10^5$	$7.6x10^4$	$2.3x10^4$	$4.9x10^4$	$3.5x10^4$
	2	$2.3x10^5$	$4.3x10^4$	$2x10^3$	$9x10^2$	$1.8x10^3$
	3	$2.2x10^5$	$6.5x10^4$	$2.2x10^3$	$1.85x10^4$	$1.7x10^3$
	ค่าเฉลี่ย	$2.7x10^5$	$5.4x10^4$	$9x10^3$	$2.28x10^4$	$1.28x10^4$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ ง-1 (ต่อ)

วันที่	ซ้ำ	ตัวอย่างควบคุม	กรดไขมันชีวภาพ 0.39%w/v	กรดไขมันชีวภาพ 0.78%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.39%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.78%w/v
4	1	$4.7x10^5$	$2.8x10^4$	$4.5x10^4$	$8.5x10^4$	$1.1x10^4$
	2	$2.2x10^5$	$3.9x10^4$	$1.3x10^3$	$1.31x10^4$	$6.5x10^2$
	3	$2.2x10^5$	$3.99x10^4$	$7.6x10^3$	$1.2x10^4$	$1.1x10^3$
	ค่าเฉลี่ย	$3.03x10^5$	$3.56x10^4$	$1.8x10^4$	$3.67x10^4$	$4.25x10^3$
7	1	$2.2x10^5$	$6.5x10^4$	$4.8x10^4$	$5x10^4$	$1.1x10^4$
	2	$1.5x10^5$	$1.75x10^4$	$3.85x10^3$	$1.54x10^4$	$2.79x10^3$
	3	$1.5x10^5$	$8.5x10^3$	$1.95x10^3$	$5x10^3$	$1.16x10^4$
	ค่าเฉลี่ย	$1.73x10^5$	$3.03x10^4$	$1.79x10^4$	$2.35x10^4$	$8.46x10^3$
14	1	$2.8x10^5$	$5.2x10^4$	$2.6x10^4$	$4.5x10^4$	$2.12x10^4$
	2	$1.5x10^5$	$8.55x10^4$	$49x10^3$	$6.8x10^3$	$4.5x10^3$
	3	$1.5x10^5$	$1.9x10^4$	$2.95x10^3$	$1.5x10^4$	$1.33x10^4$
	ค่าเฉลี่ย	$1.9x10^5$	$5.22x10^4$	$3.48x10^4$	$2.22x10^4$	$1.3x10^4$
21	1	$2.6x10^5$	$5.1x10^4$	$3.1x10^4$	$3.6x10^4$	$1.38x10^4$
	2	$1x10^5$	$2.95x10^4$	$3.5x10^3$	$2.40x10^4$	$4.1x10^3$
	3	$1x10^5$	$4.3x10^4$	$3.5x10^3$	$3.6x10^4$	$1.43x10^4$
	ค่าเฉลี่ย	$1.53x10^5$	$4.12x10^4$	$1.27x10^4$	$3.2x10^4$	$1.07x10^4$
28	1	$4x10^5$	$8.2x10^4$	$1.2x10^4$	$3.4x10^4$	$1.4x10^4$
	2	$2.3x10^4$	$1.7x10^4$	$8.1x10^3$	$6.5x10^3$	$2.8x10^3$
	3	$2.3x10^4$	$3x10^4$	$2.1x10^4$	$1.3x10^4$	$6.6x10^3$
	ค่าเฉลี่ย	$1.49x10^5$	$4.3x10^4$	$1.37x10^4$	$1.78x10^4$	$7.8x10^3$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ ง-2 จำนวน *B. subtilis* ในเนื้อปลาทูชุบแป้งทอดกึ่งสุกที่เติมและไม่เติมกรดไขมันที่เวลาต่าง ๆ

วันที่	ซ้ำ	ตัวอย่างควบคุม	กรดไขมันชีวภาพ 0.39%w/v	กรดไขมันชีวภาพ 0.78%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.39%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.78%w/v
0	1	$4.19x10^{6}$	$8x10^{3}$	$3x10^{3}$	$8.3x10^{2}$	$2.6x10^{2}$
	2	$4.19x10^{6}$	$2x10^{3}$	$4.5x10^{3}$	$1x10^{3}$	$2.2x10^{2}$
	3	$4.19x10^{6}$	$5x10^{3}$	$4x10^{3}$	$2x10^{3}$	$3.2x10^{2}$
	ค่าเฉลี่ย	$4.19x10^{6}$	$5x10^{3}$	$3.83x10^{3}$	$1.28x10^{3}$	$2.67x10^{2}$
1	1	$1x10^{5}$	$1.3x10^{3}$	$2.5x10^{3}$	$5x10^{2}$	$1.2x10^{2}$
	2	$1x10^{5}$	$1.7x10^{3}$	$1.4x10^{3}$	$6.2x10^{2}$	$1.3x10^{2}$
	3	$1x10^{5}$	$1.6x10^{3}$	$3.2x10^{3}$	$7.4x10^{2}$	$1.6x10^{2}$
	ค่าเฉลี่ย	$1x10^{5}$	$1.53x10^{3}$	$2.37x10^{3}$	$6.2x10^{2}$	$1.37x10^{2}$
2	1	$2.6x10^{4}$	$1.1x10^{3}$	$2.2x10^{3}$	$6.5x10^{2}$	$7x10^{1}$
	2	$2.6x10^{4}$	$9.8x10^{2}$	$2.4x10^{3}$	$7.2x10^{2}$	$1.1x10^{2}$
	3	$2.6x10^{4}$	$1.6x10^{3}$	$1.6x10^{3}$	$7x10^{2}$	$9x10^{1}$
	ค่าเฉลี่ย	$2.6x10^{4}$	$1.23x10^{3}$	$2.07x10^{3}$	$6.9x10^{2}$	$9x10^{1}$
3	1	$2.6x10^{4}$	$5x10^{3}$	$1.8x10^{3}$	$8.6x10^{2}$	$4x10^{1}$
	2	$2.6x10^{4}$	$9x10^{2}$	$1.6x10^{3}$	$6.6x10^{2}$	$8x10^{1}$
	3	$2.6x10^{4}$	$1.2x10^{3}$	$1.5x10^{3}$	$1x10^{3}$	$1.6x10^{2}$
	ค่าเฉลี่ย	$2.6x10^{4}$	$2.37x10^{3}$	$1.63x10^{3}$	$8.4x10^{2}$	$9.33x10^{1}$
4	1	$5.7x10^{3}$	$8.5x10^{2}$	$5x10^{2}$	$2.4x10^{2}$	$5x10^{1}$
	2	$5.7x10^{3}$	$8.5x10^{2}$	$3.3x10^{2}$	$5.6x10^{2}$	$3x10^{1}$
	3	$5.7x10^{3}$	$4.5x10^{2}$	$4.8x10^{2}$	$9.4x10^{2}$	$1x10^{2}$
	ค่าเฉลี่ย	$5.7x10^{3}$	$7.17x10^{2}$	$4.37x10^{2}$	$5.8x10^{2}$	$6x10^{1}$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ ง-2 (ต่อ)

วันที่	ซ้ำ	ตัวอย่างควบคุม	กรดไขมันชีวภาพ 0.39%w/v	กรดไขมันชีวภาพ 0.78%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.39%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.78%w/v
7	1	$5.5x10^{3}$	$7.6x10^{2}$	$4.5x10^{2}$	$3.6x10^{2}$	$3x10^{1}$
	2	$5.5x10^{3}$	$6.8x10^{2}$	$2.8x10^{2}$	$4.6x10^{2}$	$4x10^{1}$
	3	$5.5x10^{3}$	$5.5x10^{2}$	$2.4x10^{2}$	$6.8x10^{2}$	$2x10^{1}$
	ค่าเฉลี่ย	$5.5x10^{3}$	$6.63x10^{2}$	$3.23x10^{2}$	$5x10^{2}$	$3x10^{1}$
14	1	$4.2x10^{4}$	$1.65x10^{3}$	$7.4x10^{2}$	$1x10^{2}$	$3x10^{1}$
	2	$4.2x10^{4}$	$1.32x10^{3}$	$9.1x10^{2}$	$2x10^{2}$	$5x10^{1}$
	3	$4.2x10^{4}$	$1.57x10^{3}$	$5x10^{2}$	$5.2x10^{2}$	$4x10^{1}$
	ค่าเฉลี่ย	$4.2x10^{4}$	$1.51x10^{3}$	$7.17x10^{2}$	$2.73x10^{2}$	$4x10^{1}$
21	1	$2.93x10^{4}$	$9.9x10^{2}$	$1.1x10^{2}$	$2.1x10^{2}$	$2x10^{1}$
	2	$2.93x10^{4}$	$5.1x10^{2}$	$2.2x10^{2}$	$1.8x10^{2}$	$1x10^{1}$
	3	$2.93x10^{4}$	$6x10^{2}$	$1.8x10^{2}$	$1.6x10^{2}$	$2x10^{1}$
	ค่าเฉลี่ย	$2.93x10^{4}$	$7x10^{2}$	$1.7x10^{2}$	$1.83x10^{2}$	$1.67x10^{1}$
28	1	$7.8x10^{3}$	$6.3x10^{2}$	$1x10^{2}$	$1.3x10^{2}$	$3x10^{1}$
	2	$7.8x10^{3}$	$2.9x10^{2}$	$3.2x10^{2}$	$9x10^{1}$	$2x10^{1}$
	3	$7.8x10^{3}$	$5.3x10^{2}$	$2.8x10^{2}$	$1.2x10^{2}$	$2x10^{1}$
	ค่าเฉลี่ย	$7.8x10^{3}$	$4.8x10^{2}$	$2.33x10^{2}$	$1.13x10^{2}$	$2.33x10^{1}$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ ง-3 จำนวน *B. cereus* ในเนื้อปลาทูชุบแป้งทอดกึ่งสุกที่เติมและไม่เติมกรดไขมันที่เวลาต่าง ๆ

วันที่	ซ้ำ	ตัวอย่างควบคุม	กรดไขมันชีวภาพ 0.39%w/v	กรดไขมันชีวภาพ 0.78%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.39%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.78%w/v
0	1	$1.0x10^5$	$5x10^3$	$5x10^3$	$5.5x10^3$	$5x10^3$
	2	$1.0x10^5$	$1x10^3$	$3x10^3$	$6x10^3$	$1.9x10^3$
	3	$1.0x10^5$	$5x10^3$	$3x10^3$	$5x10^3$	$6x10^3$
	ค่าเฉลี่ย	$1.0x10^5$	$3.67x10^3$	$3.67x10^3$	$5.5x10^3$	$4.3x10^3$
1	1	$2.7x10^4$	$1.1x10^3$	$2.3x10^3$	$3.5x10^3$	$2.5x10^3$
	2	$2.7x10^4$	$1.4x10^3$	$1.9x10^3$	$3.8x10^3$	$1.3x10^3$
	3	$2.7x10^4$	$1.3x10^3$	$2x10^3$	$3.6x10^3$	$1.9x10^3$
	ค่าเฉลี่ย	$2.7x10^4$	$1.27x10^3$	$2.07x10^3$	$3.63x10^3$	$1.9x10^3$
2	1	$1.2x10^4$	$3x10^3$	$2.37x10^3$	$1.72x10^3$	$2.3x10^3$
	2	$1.2x10^4$	$1.7x10^3$	$1.4x10^3$	$1.63x10^3$	$1.41x10^3$
	3	$1.2x10^4$	$1.7x10^3$	$1.9x10^3$	$1.9x10^3$	$1.8x10^3$
	ค่าเฉลี่ย	$12x10^4$	$2.13x10^3$	$1.67x10^3$	$1.75x10^3$	$1.84x10^3$
3	1	$1.02x10^4$	$2.51x10^3$	$1.78x10^3$	$2.03x10^3$	$2.15x10^3$
	2	$1.02x10^4$	$1.41x10^3$	$2.76x10^3$	$1.31x10^3$	$1.05x10^3$
	3	$1.02x10^4$	$1.06x10^3$	$2.7x10^3$	$1.73x10^3$	$1.75x10^3$
	ค่าเฉลี่ย	$1.02x10^4$	$1.66x10^3$	$2.41x10^3$	$1.69x10^3$	$1.65x10^3$
4	1	$1x10^4$	$1.99x10^3$	$2.33x10^3$	$2.05x10^3$	$2x10^3$
	2	$1x10^4$	$1.26x10^3$	$2.03x10^3$	$1.93x10^3$	$2x10^3$
	3	$1x10^4$	$2x10^3$	$2.37x10^3$	$1.94x10^3$	$1.81x10^3$
	ค่าเฉลี่ย	$1x10^4$	$1.75x10^3$	$2.24x10^3$	$1.97x10^3$	$1.94x10^3$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ ง-3 (ต่อ)

วันที่	ซ้ำ	ตัวอย่างควบคุม	กรดไขมันชีวภาพ 0.39%w/v	กรดไขมันชีวภาพ 0.78%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.39%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.78%w/v
7	1	$1.11x10^4$	$2x10^3$	$2.1x10^3$	$3x10^3$	$2.35x10^3$
	2	$1.11x10^4$	$2.05x10^3$	$2.25x10^3$	$2x10^3$	$1.85x10^3$
	3	$1.11x10^4$	$1.7x10^3$	$1.55x10^3$	$2.3x10^3$	$1.7x10^3$
	ค่าเฉลี่ย	$1.11x10^4$	$1.97x10^3$	$1.97x10^3$	$2.43x10^3$	1.97x103
14	1	$1.1x10^4$	$1.6x10^3$	$1.07x10^3$	$1.82x10^3$	$2.14x10^3$
	2	$1.1x10^4$	$1.64x10^3$	$2.13x10^3$	$2.40x10^3$	$1.08x10^3$
	3	$1.1x10^4$	$1.84x10^3$	$1.86x10^3$	$1.89x10^3$	$2.2x10^3$
	ค่าเฉลี่ย	$1.1x10^4$	$1.69x10^3$	$1.69x10^3$	$2.04x10^3$	$1.8x10^3$
21	1	$6.2x10^3$	$1.79x10^3$	$1.96x10^3$	$1.33x10^3$	$1.94x10^3$
	2	$6.2x10^3$	$1.54x10^3$	$1.27x10^3$	$1.81x10^3$	$1.22x10^3$
	3	$6.2x10^3$	$2.04x10^3$	$1.39x10^3$	$1.57x10^3$	$1.21x10^3$
	ค่าเฉลี่ย	$6.2x10^3$	$1.79x10^3$	$1.54x10^3$	$1.57x10^3$	$1.46x10^3$
28	1	$5.2x10^3$	$1.61x10^3$	$2.01x10^3$	$1.78x10^3$	$1.64x10^3$
	2	$5.2x10^3$	$1.45x10^3$	$1.31x10^3$	$1.56x10^3$	$1.85x10^3$
	3	$5.2x10^3$	$2.04x10^3$	$2.16x10^3$	$1.25x10^3$	$2.28x10^3$
	ค่าเฉลี่ย	$5.2x10^3$	$1.7x10^3$	$1.83x10^3$	$1.53x10^3$	$1.92x10^3$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ ง-4 จำนวน *V. parahaemolyticus* ในเนื้อปลาทูชุบแป้งทอดกึ่งสุกที่เติมและไม่เติมกรดไขมันที่เวลาต่าง ๆ

วันที่	ซ้ำ	ตัวอย่างควบคุม	กรดไขมันชีวภาพ 0.39%w/v	กรดไขมันชีวภาพ 0.78%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.39%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.78%w/v
0	1	$1.5x10^5$	$8x10^4$	$8x10^3$	$1.3x10^5$	$1.4x10^3$
	2	$1.5x10^5$	$5x10^4$	$1.2x10^3$	$1.1x10^5$	$1x10^3$
	3	$1.5x10^5$	$6.5x10^4$	$4.7x10^3$	$1x10^5$	$9.1x10^2$
	ค่าเฉลี่ย	$1.5x10^5$	$6.5x10^4$	$4.6x10^3$	$1.13x10^5$	$1.1x10^3$
1	1	$2.2x10^4$	$8x10^3$	$9x10^2$	$3.1x10^3$	$4x10^2$
	2	$2.2x10^4$	$3.7x10^3$	$1x10^3$	$5.2x10^3$	$3.1x10^2$
	3	$2.2x10^4$	$9.2x10^3$	$6.2x10^2$	$4.4x10^3$	$5.6x10^2$
	ค่าเฉลี่ย	$2.2x10^4$	$6.97x10^3$	$8.4x10^2$	$4.23x10^3$	$4.23x10^2$
2	1	$1.5x10^4$	$2x10^3$	$1.9x10^2$	$5x10^3$	$2x10^2$
	2	$1.5x10^4$	$9.5x10^2$	$8.8x10^1$	$2.2x10^3$	$1.1x10^2$
	3	$1.5x10^4$	$1.8x10^3$	$3.2x10^2$	$1.6x10^3$	$8x10^1$
	ค่าเฉลี่ย	$1.5x10^4$	$1.58x10^3$	$1.99x10^2$	$2.93x10^3$	$1.3x10^2$
3	1	$2x10^3$	$5x10^1$	<10	$1x10^1$	<10
	2	$2x10^3$	$4x10^1$	<10	$2x10^1$	<10
	3	$2x10^3$	$7x10^1$	<10	$2x10^1$	<10
	ค่าเฉลี่ย	$2x10^3$	$5.33x10^1$	<10	$1.67x10^1$	<10
4	1	$3x10^2$	<10	<10	<10	<10
	2	$3x10^2$	<10	<10	<10	<10
	3	$3x10^2$	<10	<10	<10	<10
	ค่าเฉลี่ย	$3x10^2$	<10	<10	<10	<10

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ ง-4 (ต่อ)

วันที่	ซ้ำ	ตัวอย่างควบคุม	กรดไขมันชีวภาพ 0.39%w/v	กรดไขมันชีวภาพ 0.78%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.39%w/v	กรดไขมันความร้อน 0.78%w/v
7	1	<10	<10	<10	<10	<10
	2	<10	<10	<10	<10	<10
	3	<10	<10	<10	<10	<10
	ค่าเฉลี่ย	<10	<10	<10	<10	<10
14	1	<10	<10	<10	<10	<10
	2	<10	<10	<10	<10	<10
	3	<10	<10	<10	<10	<10
	ค่าเฉลี่ย	<10	<10	<10	<10	<10
21	1	<10	<10	<10	<10	<10
	2	<10	<10	<10	<10	<10
	3	<10	<10	<10	<10	<10
	ค่าเฉลี่ย	<10	<10	<10	<10	<10
28	1	<10	<10	<10	<10	<10
	2	<10	<10	<10	<10	<10
	3	<10	<10	<10	<10	<10
	ค่าเฉลี่ย	<10	<10	<10	<10	<10

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนแบคทีเรียที่ตรวจนับ

ตารางที่ ง-5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวน *S. aureus* ในเนื้อปลาทูชุบแป้งทอดกึ่งสุกที่เติมและไม่เติมกรดไขมันที่เวลาต่าง ๆ

แหล่งความแปรปรวน		SS	df	MS	F	Sig
วันที่ 0	ระหว่างกลุ่ม	1.389	4	0.347	3.138	0.065
	ภายในกลุ่ม	1.106	10	0.111		
	รวมทั้งหมด	2.495	14			
วันที่1	ระหว่างกลุ่ม	4.136	4	1.034	3.470	0.050
	ภายในกลุ่ม	2.980	10	0.298		
	รวมทั้งหมด	7.116				
วันที่ 2	ระหว่างกลุ่ม	4.775	4	1.194	3.668	0.043
	ภายในกลุ่ม	3.255	10	0.325		
	รวมทั้งหมด	8.029	14			
วันที่ 3	ระหว่างกลุ่ม	7.153	4	1.788	5.031	0.017
	ภายในกลุ่ม	3.555	10	0.355		
	รวมทั้งหมด	10.708	14			
วันที่ 4	ระหว่างกลุ่ม	7.715	4	1.929	7.454	0.005
	ภายในกลุ่ม	2.588	10	0.259		
	รวมทั้งหมด	10.303	14			
วันที่ 7	ระหว่างกลุ่ม	3.853	4	0.963	4.327	0.027
	ภายในกลุ่ม	2.226	10	0.223		
	รวมทั้งหมด	6.078	14			
วันที่ 14	ระหว่างกลุ่ม	3.005	4	0.751	4.508	0.024
	ภายในกลุ่ม	1.667	10	0.167		
	รวมทั้งหมด	4.671	14			
วันที่ 21	ระหว่างกลุ่ม	3.220	4	0.805	8.386	0 .003
	ภายในกลุ่ม	0.960	10	0.096		
	รวมทั้งหมด	4.180	14			
วันที่ 28	ระหว่างกลุ่ม	1.749	4	0.437	2.359	0.124
	ภายในกลุ่ม	1.853	10	0.185		
	รวมทั้งหมด	3.602	14			

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

หมายเหตุ $P \leq 0.05$

ตารางที่ ง-6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวน *B. subtilis* ในเนื้อปลาทูชุบแป้งทอดกึ่งสุกที่เติมและไม่เติมกรดไขมันที่เวลาต่าง ๆ

แหล่งความแปรปรวน		SS	df	MS	F	Sig
วันที่ 0	ระหว่างกลุ่ม	31.325	4	7.831	263.854	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.297	10	0.0303		
	รวมทั้งหมด	1.622	14			
วันที่1	ระหว่างกลุ่ม	13.617	4	3.404	346.912	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.098	10	0.0101		
	รวมทั้งหมด	3.716	14			
วันที่ 2	ระหว่างกลุ่ม	9.468	4	2.367	385.487	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.061	10	0.006		
	รวมทั้งหมด	9.529	14			
วันที่ 3	ระหว่างกลุ่ม	6.325	4	1.581	30.34	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.521	10	0.052		
	รวมทั้งหมด	6.846	14			
วันที่ 4	ระหว่างกลุ่ม	6.268	4	1.567	40.614	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.386	10	0.039		
	รวมทั้งหมด	6.653	14			
วันที่ 7	ระหว่างกลุ่ม	7.971	4	1.993	150.737	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.132	10	0.013		
	รวมทั้งหมด	8.103	14			
วันที่ 14	ระหว่างกลุ่ม	15.179	4	3.795	116.288	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.326	10	0.0331		
	รวมทั้งหมด	5.506	14			
วันที่ 21	ระหว่างกลุ่ม	17.324	4	4.331	268.566	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.161	10	0 .0161		
	รวมทั้งหมด	7.486	14			
วันที่ 28	ระหว่างกลุ่ม	10.456	4	2.614	102.641	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.255	10	0.0251		
	รวมทั้งหมด	0.710	14			

หมายเหตุ $P \leq 0.05$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ ง-7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวน *B. cereus* ในเนื้อปลาทูชุบแป้งทอดกึ่งสุกที่เติมและไม่เติมกรดไขมันที่เวลาต่าง ๆ

แหล่งความแปรปรวน		SS	df	MS	F	Sig
วันที่ 0	ระหว่างกลุ่ม	4.911	4	1.228	24.245	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.506	10	0.051		
	รวมทั้งหมด	5.417	14			
วันที่ 1	ระหว่างกลุ่ม	3.341	4	0.835	157.812	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.053	10	0.005		
	รวมทั้งหมด	3.394	14			
วันที่ 2	ระหว่างกลุ่ม	1.583	4	0.396	43.648	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.091	10	0.009		
	รวมทั้งหมด	1.674	14			
วันที่ 3	ระหว่างกลุ่ม	1.464	4	0.366	22.393	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.163	10	0.016		
	รวมทั้งหมด	1.628	14			
วันที่ 4	ระหว่างกลุ่ม	1.225	4	0.306	100.718	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.030	10	0.0031		
	รวมทั้งหมด	0.255	14			
วันที่ 7	ระหว่างกลุ่ม	1.337	4	0 .334	73.539	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.045	10	0.0051		
	รวมทั้งหมด	0.383	14			
วันที่ 14	ระหว่างกลุ่ม	1.540	4	0.385	31.354	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.123	10	0.0121		
	รวมทั้งหมด	0.663	14			
วันที่ 21	ระหว่างกลุ่ม	0.870	4	0.217	33.347	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.065	10	0.007		
	รวมทั้งหมด	0.935	14			
วันที่ 28	ระหว่างกลุ่ม	0.583	4	0.146	24.164	0.000
	ภายในกลุ่ม	0.060	10	0.006		
	รวมทั้งหมด	0.643	14			

หมายเหตุ $P \leq 0.05$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ ง-8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวน *V. parahaemolyticus* ในเนื้อปลาทูชุบแป้งทอดกึ่งสุกที่เติมและไม่เติมกรดไขมันที่เวลาต่าง ๆ

แหล่งความแปรปรวน		SS	df	MS	F	Sig
วันที่ 0	ระหว่างกลุ่ม	11.238	4	2.809	69.517	.000
	ภายในกลุ่ม	0.404	10	0.040		
	รวมทั้งหมด	11.642	14			
วันที่ 1	ระหว่างกลุ่ม	5.811	4	1.453	83.689	.000
	ภายในกลุ่ม	.174	10	.017		
	รวมทั้งหมด	5.985	14			
วันที่ 2	ระหว่างกลุ่ม	9.038	4	2.260	51.268	.000
	ภายในกลุ่ม	.441	10	.044		
	รวมทั้งหมด	9.479	14			
วันที่ 3	ระหว่างกลุ่ม	22.643	4	5.661	617.527	.000
	ภายในกลุ่ม	.092	10	.009		
	รวมทั้งหมด	22.734	14			
วันที่ 4	ระหว่างกลุ่ม	14.761	4	3.690	.	.
	ภายในกลุ่ม	.000	10	.000		
	รวมทั้งหมด	14.761	14			

หมายเหตุ $P \leq 0.05$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก จ

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสและผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของน้ำมันมะพร้าวและกรดไขมันที่สกัดจากน้ำมันมะพร้าวที่มีต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหารและการประยุกต์ใช้เป็นสารกันเสียในอาหาร

EFFECT OF COCONUT OIL AND FATTY ACID FROM COCONUT OIL ON FOODBORNE PATHOGENS AND APPLICATION AS FOOD PRESERVATIVE.

วันให้คำยินยอม วันที่ .....เดือน.....พ.ศ. .....

ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย ประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียดและมีความเข้าใจดีแล้ว ข้าพเจ้ายินดีเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ด้วยความสมัครใจ และข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกการเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เมื่อใดก็ได้ และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลกระทบใด ๆ ต่อข้าพเจ้า

ผู้วิจัยรับรองว่าจะตอบคำถามต่าง ๆ ที่ข้าพเจ้าสงสัยด้วยความเต็มใจ ไม่ปิดบัง ซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ ข้อมูลเฉพาะเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าจะถูกเก็บเป็นความลับและจะเปิดเผยในภาพรวมที่เป็นการสรุปผลการวิจัย

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นแล้ว และมีความเข้าใจดีทุกประการ และได้ลงนามในใบยินยอมนี้ด้วยความเต็มใจ

ลงนาม.....ผู้ยินยอม

(.....)

ลงนาม.....พยาน

(.....)

ลงนาม.....ผู้ทำวิจัย

(.....)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

หัวข้อวิทยานิพนธ์เรื่อง ผลของน้ำมันมะพร้าวและกรดไขมันที่สกัดจากน้ำมันมะพร้าวที่มีต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหารและการประยุกต์ใช้เป็นสารกันเสียในอาหาร

EFFECT OF COCONUT OIL AND FATTY ACID FROM COCONUT OIL ON FOODBORNE PATHOGENS AND APPLICATION AS FOOD PRESERVATIVE.

เรียน ท่านผู้เข้าร่วมวิจัยในครั้งนี้

ท่านเป็นบุคคลหนึ่งที่ได้รับเลือกให้เข้าร่วมในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ก่อนที่ท่านจะตกลงเข้าร่วมการศึกษาในครั้งนี้ ขอเรียนให้ท่านทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัย

มะพร้าวเป็นพืชพื้นเมืองของไทย เป็นต้นไม้สารพัดประโยชน์ น้ำมันมะพร้าว มีกรดไขมันอิ่มตัวประมาณ 92 % ซึ่งประกอบด้วย กรดไขมันอิ่มตัวห่วงโซ่สั้น (C6:0) ประมาณ 0.5% กรดไขมันอิ่มตัวห่วงโซ่ปานกลาง (C8:0, C10:0 และ C12:0) ประมาณ 63% ซึ่งกรดไขมันที่สำคัญได้แก่ กรดคาปริก (Carpic Acid, C10) 6-7 % กรดลอริก (Lauric Acid, C12) 48 - 53 % และกรดไมริสติก (Myristic Acid, C14) นอกจากนี้ น้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์ยังประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated Fatty Acid) 9 % ซึ่งแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Mono Unsaturated Fatty Acid) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated Fatty Acid) ได้แก่ กรดลิโนเลอิก (Linoleic Acid, C18) 2.3% และ กรดโอเลอิก (Oleic Acid, C18) เมื่อเราบริโภคน้ำมันมะพร้าวเข้าไปในร่างกาย กรดลอริกในน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์จะเปลี่ยน เป็นโมโน-กลีเซอไรด์ (Monoglyceride) ที่มีชื่อว่า โมโนลอริน (Monolaurin) ซึ่งเป็นสารตัวเดียวกับที่อยู่ในน้ำนมมารดา ที่ช่วยสร้างภูมิคุ้มกันโรค และการฆ่าเชื้อโรค ที่ทำลายเชื้อโรคทุกชนิดดีกว่ายาปฏิชีวนะที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน เพราะสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์ โปรโตซัว และไวรัสบางชนิดที่ยาปฏิชีวนะทั่วไปทำลายไม่ได้เนื่องจากมีเกราะที่เป็นไขมันห่อหุ้ม (Lipid-Coated Membrane) แต่เกราะนี้ก็จะถูกละลายโดยกรดไขมันที่มีอยู่ในน้ำมันมะพร้าว

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันมะพร้าวและกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหาร และการใช้กรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวเป็นสารกันเสียในอาหารเพื่อทดแทนการใช้สารกันเสียสังเคราะห์

โดยมีวัตถุประสงค์ดังนี้คือ

1. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันมะพร้าวและกรดไขมันที่สกัดจากน้ำมันมะพร้าวในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในหลอดทดลองและตัวอย่างอาหาร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. เพื่อประยุกต์ใช้น้ำมันมะพร้าวหรือกรดไขมันที่สกัดจากน้ำมันมะพร้าว เป็นสารกันเสียในผลิตภัณฑ์อาหาร

ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ผู้เข้าร่วมศึกษาวิจัยจะเป็นผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยการดมกลิ่นอาหารที่มีส่วนผสมของน้ำมันมะพร้าวหรือกรดไขมันที่สกัดจากน้ำมันมะพร้าวเพื่อเปรียบเทียบกับการวิเคราะห์ทางด้านเคมี ด้วยวิธีการวิเคราะห์ประเภทการพรรณนาเชิงปริมาณ (Quantitative Descriptive Analysis ; QDA) และการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Hedonic Scaling

ผู้ที่เข้าร่วมการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ท่าน**จะต้องไม่เป็นผู้ที่แพ้กลิ่นของมะพร้าว กลิ่นหืน หรือกลิ่นของเนื้อสัตว์โดยมีอาการ เวียนศรีษะ คลื่นไส้อาเจียน** การเข้าร่วมการศึกษานี้จะเป็นไปโดยสมัครใจ ท่านอาจจะปฏิเสธที่จะเข้าร่วม หรือถอนตัวจากการศึกษานี้ได้ทุกเมื่อ โดยไม่กระทบใด ๆ ต่อท่านที่เข้าร่วมวิจัย ผลของการเข้าร่วมวิจัยในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่องานวิจัย และใช้ปรับปรุงผลิตภัณฑ์ต่อไป โดยข้อมูลต่าง ๆ รวมทั้งชื่อของผู้เข้าร่วมวิจัยจะถูกเก็บไว้อย่างดีไม่มีผู้ใดสามารถล่วงรู้ได้นอกจากตัวผู้วิจัย

หากท่านมีปัญหา หรือข้อมูลสงสัยประการใด สามารถสอบถามได้โดยตรงจากผู้วิจัยที่เก็บรวบรวมข้อมูลในวันทำการเก็บรวบรวมข้อมูล หรือสามารถติดต่อสอบถาม ได้ตลอดเวลาที่ อาคารวิศวกรรมอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา เบอร์โทรติดต่อ 089-4918158 ติดต่อทาง E-Mail : nan_nantida@hotmail.com

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แบบสอบถามเกี่ยวกับการแพ้อาหาร

แบบสอบถามชุดนี้เป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยของสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการทราบว่าท่านมีการแพ้กลิ่นของอาหาร โดยผลิตภัณฑ์นี้มีส่วนประกอบของ เครื่องเทศ เนื้อสัตว์ เกลือ น้ำตาล น้ำ แป้ง น้ำมันมะพร้าวหรือไขมัน โดยข้อมูลของท่านจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับงานวิจัยนี้ และเป็นความลับโดยไม่มีผลกระทบใด ๆ ต่อท่านทั้งสิ้น ขอบคุณทุกท่านที่ให้ความร่วมมือ ไว้ ณ โอกาสนี้

คำชี้แจง โปรดทำเครื่องหมาย ✓ ลงใน ❒ หรือเติมข้อความลงในช่องว่างตรงตามความเป็นจริง

<u>ข้อมูลทั่วไป</u>

1. เพศ

   ❒ ชาย ❒ หญิง

2. อายุ (โปรดระบุ).....ปี

<u>ข้อมูลการแพ้อาหาร</u>

3. ท่านเคยมีอาการแพ้กลิ่นเนื้อสัตว์หรือไม่

   ❒มีอาการแพ้ ❒ไม่มีอาการแพ้ ❒ไม่ทราบ

   ถ้าเคยท่านเคยมีอาการแพ้อย่างไร

   ❒อาการหอบหืด ❒อาการคลื่นไส้ ❒อาการช็อค (กระตุก เป็นลม แน่นิ่ง)

   ❒ไม่ทราบ ❒ไม่มีอาการ ❒อื่นๆ (โปรดระบุ).....

4. ท่านเคยมีอาการแพ้กลิ่นน้ำมันมะพร้าว ไขมันจากพืชกลิ่นหืนจากไขมันหรือไม่

   ❒มีอาการแพ้ ❒ไม่มีอาการแพ้ ❒ไม่ทราบ

   ถ้าเคยท่านเคยมีอาการแพ้อย่างไร

   ❒อาการหอบหืด ❒อาการคลื่นไส้ ❒อาการช็อค (กระตุก เป็นลม แน่นิ่ง)

   ❒ไม่ทราบ ❒ไม่มีอาการ ❒อื่นๆ (โปรระบุ).....

5. ท่านเคยมีอาการแพ้กลิ่นเครื่องเทศหรือไม่

   ❒มีอาการแพ้ ❒ไม่มีอาการแพ้ ❒ไม่ทราบ

   ถ้าเคยโปรดระบุชนิดของเครื่องเทศที่แพ้คือ_____ มีอาการแพ้อย่างไร

   ❒อาการหอบหืด ❒อาการคลื่นไส้ ❒อาการช็อค (กระตุก เป็นลม แน่นิ่ง)

   ❒ไม่ทราบ ❒ไม่มีอาการ ❒อื่นๆ (โปรดะบุ).....

6. ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วิธีการวิเคราะห์ลักษณะทางสัมผัสแบบพรรณนาเชิงปริมาณ (Quantitative Descriptive Analysis ;QDA)

การฝึกฝนผู้ทดสอบ

1. การคัดเลือกผู้ทดสอบ ผู้ทดสอบที่คัดเลือกมาเป็นผู้มีประสาทสัมผัสทางกลิ่นและรสชาติปกติ และไม่มีอคติใด ๆ ต่อการทดสอบ ซึ่งผู้ทดสอบได้ให้คะแนนความรับรู้รสชาติและกลิ่น โดยเรียงลำดับความเข้มข้นได้อย่างถูกต้อง จำนวน 6 คน

2. การคิดค้นคำศัพท์

2.1. การเตรียมตัวอย่างกลิ่นเพื่อการฝึกฝน ซึ่งได้แก่ เนื้อปลาทูทอด น้ำมันปาล์ม กรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยความร้อน และ พริกไทย

2.2 การทดสอบกลิ่นตัวอย่าง นำเสนอตัวอย่างกลิ่นที่เตรียมไว้ ภายในห้องที่ทำการฝึกฝนต้องไม่มีกลิ่นรบกวน มีแสงส่องสว่างเพียงพอ โดยให้ผู้ฝึกฝนแต่ละคนนั่งใน Booth แยกจากกัน นำตัวอย่างกลิ่นที่เตรียมไว้จัดส่งให้ผู้ฝึกฝนแต่ละคน ให้ผู้ฝึกฝนเขียนอธิบายลักษณะของกลิ่นที่สามารถรับรู้ได้ลงในกระดาษ

2.3 การนำเสนอตัวอย่าง โดยนำเนื้อปลาทูทอด (วิธีเตรียมดังข้อ 3.1.1) น้ำมันปาล์ม สารละลายกรดไขมันจากน้ำมันมะพร้าวสกัดโดยความร้อนในน้ำมันปาล์ม 0.8 % และ พริกไทย ใส่ลงในถ้วยพลาสติกสีขาว ปิดด้วยกระดาษสีขาวที่ทำการเจาะรูเพื่อต่อท่อยาว 4 เซนติเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.8 เซนติเมตร 2 รู โดยให้ระยะห่างประมาณ 2 เซนติเมตร

2.4 การอภิปราย ทำการรวบรวมข้อมูลที่ได้มาทำการอภิปรายกันในกลุ่มทดสอบ ซึ่งผู้ทดลองจะทำการเตรียมกลิ่นที่ต้องการฝึกฝนในปริมาณที่เข้มข้นไว้ให้ผู้ฝึกฝนได้ดมกลิ่นในระหว่างการอธิปรายผู้ฝึกฝนต้องมีความเข้าใจตรงกัน มีวิธีบอกความรู้สึกตรงกัน และต้องสามารถบอกระดับความเข้มของกลิ่น ซึ่งจากการอภิปรายได้ให้นิยามของกลิ่นที่สามารถรับรู้ได้ดังนี้ กลิ่นเนื้อปลา กลิ่นพริกไทย กลิ่นกรดไขมัน และกลิ่นน้ำมันปาล์ม

3. การฝึกฝนการบอกระดับความเข้มของคำศัพท์

3.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อใช้ในการฝึกฝน ดังนี้

3.1.1 การเตรียมกลิ่นเนื้อปลา โดยนำเนื้อปลาทูแล่ตัดแต่งเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าให้มีน้ำหนักประมาณ 12.5 กรัม ปรุงรสด้วยเกลือ 2 % นำไปนึ่งสุกที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำมาคลุกกับแป้งเทมปุระประมาณ 1.5 กรัม (น้ำหนักสุดท้ายประมาณ 12.5 กรัม) จากนั้นนำเนื้อปลาทูชุบแป้งที่เตรียมได้ผ่านการทอดในน้ำมันปาล์ม 160-180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 นาที

3.1.2 การเตรียมกลิ่นน้ำมันปาล์มโดยนำเนื้อปลาทูแล่ตัดแต่งเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าให้มีน้ำหนักประมาณ 12.5 กรัม ปรุงรสด้วยเกลือ 2 % นำไปนึ่งสุกที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำมาคลุกกับแป้งเทมปุระประมาณ 1.5 กรัม (น้ำหนักสุดท้ายประมาณ 12.5 กรัม) จากนั้นนำเนื้อปลาทูชุบแป้งที่เตรียมได้ผ่านการทอดในน้ำมันปาล์ม 160-180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 นาที

3.1.3 การเตรียมกลิ่นกรดไขมันโดยนำเนื้อปลาทูแล่ตัดแต่งเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าให้มีน้ำหนักประมาณ 12.5 กรัม ปรุงรสด้วยเกลือ 2 % และเติมกรดไขมัน 0.8 %v/w นำไปนึ่งสุกที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำมาคลุกกับแป้งเทมปุระประมาณ 1.5 กรัม (น้ำหนักสุดท้ายประมาณ 12.5 กรัม) จากนั้นนำเนื้อปลาทูชุบแป้งที่เตรียมได้ผ่านการทอดในน้ำมันปาล์ม 160-180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 นาที

3.1.4 การเตรียมกลิ่นพริกไทย โดยนำเนื้อปลาทูแล่ตัดแต่งเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าให้มีน้ำหนักประมาณ 12.5 กรัม ปรุงรสด้วยเกลือ 2 % และพริกไทย 0.1 % นำไปนึ่งสุกที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำมาคลุกกับแป้งเทมปุระประมาณ 1.5 กรัม (น้ำหนักสุดท้ายประมาณ 12.5 กรัม) จากนั้นนำเนื้อปลาทูชุบแป้งที่เตรียมได้ผ่านการทอดในน้ำมันปาล์ม 160-180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 นาที

3.2 การฝึกฝนการบอกระดับความเข้มของคำศัพท์ โดยใช้สเกลเส้นตรงความยาว 10 เซนติเมตร ผู้ฝึกฝนจะให้คะแนนความรับรู้ โดยการทำเครื่องหมายลงบนจุดใดจุดหนึ่งของเส้นตรง (แบบประเมินผลการฝึกฝนทางด้านประสาทสัมผัสในหน้า 167) ซึ่งได้มีการตกลงกันในขั้นตอนการอภิปราย การทำการฝึกฝนจะทำการฝึกฝนวันละ 2 รอบ รอบละ 2 กลิ่น โดยทำการฝึกฝนทั้งหมดรวม 6 วัน เพื่อให้ผู้ฝึกฝนคุ้นชินกับการให้คะแนนบนสเกลเส้นตรง

3.3 การทดลองประเมินตัวอย่าง ผู้ฝึกฝนต้องทดลองประเมินตัวอย่างเหมือนกับการประเมินจริงในทุกคำศัพท์ที่คัดเลือกได้ โดยทำการทดสอบใน Booth ของแต่ละคน ไม่มีการปรึกษากัน เพื่อที่จะสามารถตรวจสอบความเที่ยงตรงของผู้ทดสอบ และทำให้ทราบว่าผู้ทดสอบแต่ละคนสามารถแยกความแตกต่างของผลิตภัณฑ์ได้หรือไม่ ความเข้มของคุณลักษณะหาได้จากการวัดความยาวจากปลายด้านซ้ายของสเกลถึงตำแหน่งที่ผู้ทดสอบขีดไว้ นำคะแนนที่ได้มาทำการพิจารณาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่ได้ หาก SD มีค่าน้อยกว่า 0.5 แสดงถึงผู้ฝึกฝนทั้งหมดมีความเที่ยงตรงและสามารถแยกความแตกต่างของผลิตภัณฑ์ได้ กล่าวได้ว่าผู้ทดสอบมีประสิทธิภาพที่สามารถประเมินความเข้มกลิ่นทดสอบได้ ผลการทดสอบครั้งสุดท้ายซึ่งได้ผลค่า SD เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด แสดงดังตารางที่ จ-1

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบพรรณนาเชิงปริมาณ

นำเสนอตัวอย่างให้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน โดยทำการทดสอบใน Booth ของแต่ละคน ไม่มีการปรึกษากัน กลิ่นที่ทดสอบได้แก่ กลิ่นเนื้อปลา กลิ่นน้ำมันปาล์ม กลิ่นกรดไขมัน และกลิ่นพริกไทย โดยใช้แบบประเมินผลการฝึกฝนทางด้านประสาทสัมผัสในหน้า 168

ตารางที่ จ-1 คะแนนความเข้มของคุณลักษณะด้านกลิ่นเนื้อปลา กลิ่นพริกไทย กลิ่นน้ำมันปาล์ม และ กลิ่นกรดไขมัน จากผู้ทดสอบ 6 คนที่ผ่านการฝึกฝน

ผู้ทดสอบ	คะแนนความเข้มคุณลักษณะด้านกลิ่น			
	เนื้อปลา	พริกไทย	น้ำมันปาล์ม	กรดไขมัน
1	1.4	1.1	1.4	8.6
2	1.1	1.3	1.2	8.7
3	1.0	1.1	1.4	8.4
4	1.3	1.2	1.5	8.8
5	1.2	1.0	1.5	8.5
6	1.4	1.3	1.1	8.5
ค่าเฉลี่ย	1.23	1.17	1.35	8.58
SD	0.16	0.12	0.16	0.15

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แบบประเมินผลการฝึกฝนทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสวิธีวิเคราะห์ลักษณะทางสัมผัสแบบพรรณนาเชิงปริมาณ

(Quantitative Descriptive Analysis ;QDA)

คำชี้แจง โปรดทดสอบตัวอย่างด้วยการดมและขีดเส้นตรงในแนวตั้งบนเส้นที่กำหนดที่สามารถอธิบายคุณสมบัติของตัวอย่างได้ดีที่สุด

ถ้าหากท่านทำแบบสอบถามทั้งหมดแล้ว กรุณาส่งแบบสอบถามคืน และกรุณารอคอยตัวอย่างต่อไป หากท่านมีข้อซักถามกรุณาสอบถามจากผู้ทำการวิจัยได้

ขอบคุณ

ผู้ทดสอบชิม ..... ชุดตัวอย่างที่ .....วันที่.....

กลิ่นทดสอบ	อ่อน	ปานกลาง	แรง
กลิ่นเนื้อปลา			
กลิ่นพริกไทย			

แบบประเมินผลการฝึกฝนทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสวิธีวิเคราะห์ลักษณะทางสัมผัสแบบพรรณนาเชิงปริมาณ

(Quantitative Descriptive Analysis ;QDA)

คำชี้แจง โปรดทดสอบตัวอย่างด้วยการดมและขีดเส้นตรงในแนวตั้งบนเส้นที่กำหนดที่สามารถอธิบายคุณสมบัติของตัวอย่างได้ดีที่สุด

ถ้าหากท่านทำแบบสอบถามทั้งหมดแล้ว กรุณาส่งแบบสอบถามคืน และกรุณารอคอยตัวอย่างต่อไป หากท่านมีข้อซักถามกรุณาสอบถามจากผู้ทำการวิจัยได้

ขอบคุณ

ผู้ทดสอบชิม ..... ชุดตัวอย่างที่ .....วันที่.....

กลิ่นทดสอบ	อ่อน	ปานกลาง	แรง
กลิ่นน้ำมันปาล์ม			
กลิ่นกรดไขมัน			

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แบบประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสวิธีวิเคราะห์ลักษณะทางสัมผัสแบบพรรณนาเชิงปริมาณ

(Quantitative Descriptive Analysis ;QDA)

ผลิตภัณฑ์ .....

คำชี้แจง โปรดทดสอบตัวอย่างด้วยการดมและขีดเส้นตรงในแนวตั้งบนเส้นที่กำหนดที่สามารถอธิบายคุณสมบัติของตัวอย่างได้ดีที่สุด

ถ้าหากท่านทำแบบสอบถามทั้งหมดแล้ว กรุณาส่งแบบสอบถามคืน และกรุณารอคอยตัวอย่างต่อไป หากท่านมีข้อซักถามกรุณาสอบถามจากผู้ทำการวิจัยได้

ขอบคุณ

ผู้ทดสอบชิม ..... ตัวอย่างที่ .....วันที่.....

กลิ่นของผลิตภัณฑ์	อ่อน	ปานกลาง	แรง
กลิ่นเนื้อปลา			
กลิ่นน้ำมันปาล์ม			
กลิ่นพริกไทย			
กลิ่นกรดไขมัน			

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แบบประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสวิธี Hedonic scaling

ชื่อ ..... อายุ..... เพศ.....

ผลิตภัณฑ์ .....วันที่ .....

กรุณาชิมตัวอย่างต่อไปนี้ แล้วให้คะแนนตามความชอบโดย

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

กรุณาบ้วนปากก่อนชิมตัวอย่างทุกครั้ง

รหัสตัวอย่าง .	.....	.....	.....	.....
ลักษณะปรากฏ	.....	.....	.....	.....
สี	.....	.....	.....	.....
กลิ่นโดยรวม	.....	.....	.....	.....
รสชาติ	.....	.....	.....	.....
ลักษณะเนื้อสัมผัส	.....	.....	.....	.....
ความชอบโดยรวม	.....	.....	.....	.....

ข้อเสนอแนะ.....

.....

.....

หมายเหตุ: - รสชาติ หมายถึง รสชาติของผลิตภัณฑ์โดยรวม

- ความชอบโดยรวม หมายถึง ความชอบที่มีต่อผลิตภัณฑ์เมื่อพิจารณาจากลักษณะโดยรวมทั้งหมด

- ขอบคุณที่สละเวลาในการทดสอบ-

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ จ-2 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านประสาทสัมผัสด้วยวิธี QDA ของผลิตภัณฑ์ที่วันที่ 0

ตัวแปร	กลิ่น	SS	df	MS	F	Sig.
ตัวอย่าง	ปลา	0.000	1	0.000	1.000	0.363
	น้ำมันปาล์ม	0.000	1	0.000	0.000	1.000
	พริกไทย	0.005	1	0.005	4.310	0.93
	กรดไขมัน	223.603	1	223.603	348.654	0.00
ผู้ทดสอบ	ปลา	0.021	5	0.004	20.200	0.002
	น้ำมันปาล์ม	0.402	5	0.080	9.451	0.014
	พริกไทย	0.394	5	0.079	65.276	0.000
	กรดไขมัน	3.207	5	0.641	1.000	0.500
ความคาดเคลื่อน	ปลา	0.001	5	0.000		
	น้ำมันปาล์ม	0.043	5	0.009		
	พริกไทย	0.006	5	0.001		
	กรดไขมัน	3.207	5	0.641		

หมายเหตุ $P \leq 0.05$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ จ-3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านประสาทสัมผัสด้วยวิธี QDA ของผลิตภัณฑ์ที่วันที่ 7

ตัวแปร	กลิ่น	SS	df	MS	F	Sig.
ตัวอย่าง	ปลา	0.001	1	0.001	0.669	0.451
	น้ำมันปาล์ม	0.000	1	0.000	0.002	0.966
	พริกไทย	8.33E-006	1	8.33E-006	0.004	0.950
	กรดไขมัน	223.603	1	0 223.603	468.443	0.000
ผู้ทดสอบ	ปลา	0.148	5	0.030	19.564	0.003
	น้ำมันปาล์ม	1.578	5	0 316	4.773	0.056
	พริกไทย	0 .172	5	0.034	17.623	0.003
	กรดไขมัน	2.387	5	0.477	1.000	0.500
ความคาดเคลื่อน	ปลา	0.008	5	0.002		
	น้ำมันปาล์ม	.331	5	0.066		
	พริกไทย	.010	5	0.002		
	กรดไขมัน	2.387	5	0.477		

หมายเหตุ $P \leq 0.05$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ จ-4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านประสาทสัมผัสด้วยวิธี QDA ของผลิตภัณฑ์ที่วันที่ 14

ตัวแปร	กลิ่น	SS	df	MS	F	Sig.
ตัวอย่าง	ปลา	0.001	1	0.001	0.094	0.771
	น้ำมันปาล์ม	0.000	1	0.000	0.000	1.000
	พริกไทย	0.001	1	0.001	0.004	0.950
	กรดไขมัน	217.601	1	217.601	1032.099	0.000
ผู้ทดสอบ	ปลา	0.114	5	0.023	2.585	0.160
	น้ำมันปาล์ม	1.570	5	0.314	3.140	0.117
	พริกไทย	0.340	5	0.068	0.431	0.812
	กรดไขมัน	1.054	5	0.211	1.000	0.500
ความคาดเคลื่อน	ปลา	0.044	5	0.009		
	น้ำมันปาล์ม	0.500	5	0.100		
	พริกไทย	0.789	5	0.158		
	กรดไขมัน	1.054	5	0.211		

หมายเหตุ $P \leq 0.05$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ จ-5 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านประสาทสัมผัสด้วยวิธี QDA ของผลิตภัณฑ์ที่วันที่ 21

ตัวแปร	กลิ่น	SS	df	MS	F	Sig.
ตัวอย่าง	ปลา	0.008	1	0.008	0.028	0.873
	น้ำมันปาล์ม	0.008	1	0.008	0.046	0.838
	พริกไทย	0.000	1	0.000	0.001	0.979
	กรดไขมัน	205.841	1	205.841	334.791	0.000
ผู้ทดสอบ	ปลา	3.039	5	0.608	2.294	0.192
	น้ำมันปาล์ม	0.847	5	0.169	1.050	0.479
	พริกไทย	0.806	5	0.161	0.610	0.700
	กรดไขมัน	3.074	5	0.615	1.000	0.500
ความคาดเคลื่อน	ปลา	1.325	5	0.265		
	น้ำมันปาล์ม	0.807	5	0.162		
	พริกไทย	1.321	5	0.264		
	กรดไขมัน	3.074	5	0.615		

หมายเหตุ $P \leq 0.05$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ จ-6 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านประสาทสัมผัสด้วยวิธี QDA ของผลิตภัณฑ์ที่วันที่ 28

ตัวแปร	กลิ่น	SS	df	MS	F	Sig.
ตัวอย่าง	ปลา	0.013	1	0 013	0.066	0.808
	น้ำมันปาล์ม	0.083	1	0.083	0.676	0.448
	พริกไทย	0.001	1	0.001	0.003	0.958
	กรดไขมัน	200.083	1	200.083	2291.031	0.000
ผู้ทดสอบ	ปลา	2.000	5	0.400	1.967	0.238
	น้ำมันปาล์ม	2.217	5	0.443	3.595	0.093
	พริกไทย	0.564	5	0.113	0.408	0.826
	กรดไขมัน	0.437	5	0.087	1.000	0.500
ความคาดเคลื่อน	ปลา	1.017	5	0.203		
	น้ำมันปาล์ม	0.617	5	0.123		
	พริกไทย	1.384	5	0.277		
	กรดไขมัน	0.437	5	0.087		

หมายเหตุ $P \leq 0.05$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ จ-7 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านประสาทสัมผัสด้วยวิธี Hedonic scaling ของผลิตภัณฑ์ที่วันที่ 0

ตัวแปร	การทดสอบ	SS	df	MS	F	Sig.
ตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ	0.267	1	0.267	0.607	0.442
	สี	0.267	1	0.267	0.413	0.526
		36.817	1	36.817	18.509	0.000
		62.017	1	62.017	33.010	0.000
	เนื้อสัมผัส	0.017	1	0.017	0.025	0.876
	ลักษณะโดยรวม	45.067	1	45.067	43.661	0.000
ผู้ทดสอบ	ลักษณะปรากฏ	52.933	29	1.825	4.157	0.000
	สี	36.933	29	1.274	1.972	0.036
		72.483	29	2.499	1.257	0.271
		55.683	29	1.920	1.022	0.477
	เนื้อสัมผัส	51.483	29	1.775	2.642	0.005
	ลักษณะโดยรวม	53.600	29	1.848	1.791	0.061
ความคาดเคลื่อน	ลักษณะปรากฏ	12.733	29	0.439		
	สี	18.733	29	0.646		
		57.683	29	1.989		
		54.483	29	1.879		
	เนื้อสัมผัส	19.483	29	0.672		
	ลักษณะโดยรวม	29.933	29	1.032		

หมายเหตุ $P \leq 0.05$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ จ-8 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านประสาทสัมผัสด้วยวิธี Hedonic scaling ของผลิตภัณฑ์ที่วันที่ 7

ตัวแปร	การทดสอบ	SS	df	MS	F	Sig.
ตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ	2.817	1	2.817	3.949	0.0562
	สี	0.017	1	2.017	2.601	0.118
		43.350	1	43.350	36.813	0.000
		32.267	1	32.267	30.447	0.000
	เนื้อสัมผัส	3.267	1	3.267	5.661	0.0243
	ลักษณะโดยรวม	6.817	1	36.817	38.568	0.000
ผู้ทดสอบ	ลักษณะปรากฏ	68.683	29	2.368	3.321	0.001
	สี	55.683	29	1.920	2.477	0.009
		58.683	29	2.024	1.718	0.075
		59.733	29	2.060	1.944	0.039
	เนื้อสัมผัส	74.733	29	2.577	4.466	0.000
	ลักษณะโดยรวม	59.683	29	2.058	2.156	0.021
ความคาดเคลื่อน	ลักษณะปรากฏ	20.683	29	0.713		
	สี	22.483	29	0.775		
		34.150	29	1.178		
		30.733	29	01.060		
	เนื้อสัมผัส	16.733	29	0.577		
	ลักษณะโดยรวม	27.683	29	0.955		

หมายเหตุ $P \leq 0.05$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ จ-9 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านประสาทสัมผัสด้วยวิธี Hedonic scaling ของผลิตภัณฑ์ที่วันที่ 14

ตัวแปร	การทดสอบ	SS	df	MS	F	Sig.
ตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ	0.017	1	0.017	0.014	0.908
	สี	3.267	1	3.26	75.661	0.0243
	กลิ่น	3.750	1	33.750	18.913	0.000
	รสชาติ	17.067	1	17.067	15.499	0.000
	เนื้อสัมผัส	1.350	1	1.350	1.000	0.326
	ลักษณะโดยรวม	13.067	1	13.067	9.257	0.005
ผู้ทดสอบ	ลักษณะปรากฏ	33.083	29	1.141	.932	.574
	สี	48.000	29	1.655	2.869	0.003
	กลิ่น	66.150	29	2.281	1.278	0.256
	รสชาติ	61.733	29	2.129	1.933	0.041
	เนื้อสัมผัส	60.350	29	2.081	1.542	0.125
	ลักษณะโดยรวม	31.933	29	1.101	0.780	0.746
ความคาดเคลื่อน	ลักษณะปรากฏ	35.483	29	1.224		
	สี	16.733	29	0.577		
	กลิ่น	51.750	29	1.784		
	รสชาติ	31.933	29	1.101		
	เนื้อสัมผัส	39.150	29	1.350		
	ลักษณะโดยรวม	40.933	29	1.411		

หมายเหตุ $P \leq 0.05$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ จ-10 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านประสาทสัมผัสด้วยวิธี Hedonic scaling ของผลิตภัณฑ์ที่วันที่ 21

ตัวแปร	การทดสอบ	SS	df	MS	F	Sig.
ตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ	3.750	1	3.750	5.000	0.033
	สี	3.267	1	3.267	6.43	0.017
	กลิ่น	68.267	1	68.267	36.171	0.000
	รสชาติ	48.600	1	48.600	27.420	0.000
	เนื้อสัมผัส	6.667	1	6.667	13.488	0.001
	ลักษณะโดยรวม	40.017	1	40.017	42.225	0.000
ผู้ทดสอบ	ลักษณะปรากฏ	56.683	29	1.955	2.606	0.006
	สี	48.933	29	1.687	3.321	0.001
	กลิ่น	76.333	29	2.632	1.395	0.188
	รสชาติ	121.933	29	4.205	2.372	0.012
	เนื้อสัมผัส	100.733	29	3.474	7.028	0.000
	ลักษณะโดยรวม	59.083	29	2.037	2.150	0.022
ความคาดเคลื่อน	ลักษณะปรากฏ	21.750	29	0.750		
	สี	14.733	29	0.508		
	กลิ่น	54.733	29	1.887		
	รสชาติ	51.400	29	1.772		
	เนื้อสัมผัส	14.333	29	0.4942		
	ลักษณะโดยรวม	7.483	29	0.948		

หมายเหตุ $P \leq 0.05$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ จ-11 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านประสาทสัมผัสด้วยวิธี Hedonic scaling ของผลิตภัณฑ์ที่วันที่ 28

ตัวแปร	การทดสอบ	SS	df	MS	F	Sig.
ตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ	15.000	1	15.000	15.536	0.000
	สี	16.017	1	16.017	18.227	0.000
	กลิ่น	56.067	1	56.067	47.916	0.000
	รสชาติ	52.267	1	52.267	22.052	0.000
	เนื้อสัมผัส	8.067	1	8.067	9.774	0.004
	ลักษณะโดยรวม	35.267	1	35.267	25.108	0.000
ผู้ทดสอบ	ลักษณะปรากฏ	71.933	29	2.480	2.569	0.007
	สี	65.350	29	2.253	2.564	0.007
	กลิ่น	74.733	29	2.577	2.202	0.019
	รสชาติ	82.933	29	2.860	1.207	0.308
	เนื้อสัมผัส	110.333	29	3.805	4.610	0.000
	ลักษณะโดยรวม	54.733	29	1.887	1.344	0.216
ความคาดเคลื่อน	ลักษณะปรากฏ	28.000	29	0.966		
	สี	25.483	29	0.879		
	กลิ่น	33.933	29	1.170		
	รสชาติ	68.733	29	2.3702		
	เนื้อสัมผัส	3.933	29	0.825		
	ลักษณะโดยรวม	40.733	29	1.405		

หมายเหตุ $P \leq 0.05$

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University