ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารละลาย

ก.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7 น้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ชั่งสารโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) หนัก 0.7 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ ละลายด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเทสารละลายลงไปในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ให้ครบ 100 มิลลิลิตร และเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

ก.2 การเตรียมสารละลาย 0.2 มิลลิโมลาร์ DPPH ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

ชั่งสาร DPPH (MW = 394.33) หนัก 0.0039 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ ละลายด้วยสารละลายเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 จากนั้นเทสารละลายลงไปในในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ให้ครบ 50 มิลลิลิตร และเก็บไว้ในขวดสีขาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การคำนวณ

จากสูตร $g / M.W. = CV / 1,000$

$g = CV \times M.W. / 1,000$

$g = (0.2 \times 10^{-3}) \times 50 \times 394.32 / 1,000$

$g = 0.0039$ กรัม

หมายเหตุ g = น้ำหนักที่ต้องชั่ง (กรัม)

M.W. = มวลโมเลกุล (กรัมต่อโมล)

C = ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ

V = ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการ

ก.3 การเตรียมกรดทาร์ทาริกความเข้มข้นร้อยละ 10

ชั่งกรดทาร์ทาริก 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นทำการฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

ก.4 การเตรียมสารละลายเปปโตนร้อยละ 10 ประกอบด้วย

Peptone	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายเปปโตนในน้ำกลั่นบรรจุใส่ในหลอดทดลอง หลอดละ 9 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)ที่อุณหภูมิ121องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

ภาคผนวก ข
การตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์

ข.1 สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (AOAC, 2000)

1. อาหาร Plate Count Agar (PCA) ประกอบด้วย

Tryptone	5	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Glucose	1.0	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำกลั่นและให้ความร้อนจนเดือดถ่ายใส่ขวดแก้วดูแรนหรือขวดรูปชมพู่ จากนั้นทำการฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2. อาหาร Potato Dextrose Agar + กรดทาร์ทาริกความเข้มข้นร้อยละ 10 ประกอบด้วย

มันฝรั่ง	200	กรัม
D-glucose	20	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำกลั่นให้ความร้อนจนเดือดถ่ายใส่ขวดดูแรนหรือขวดรูปชมพู่ จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว จากนั้นนำกรดทาร์ทาริกความเข้มข้นร้อยละ 10 ที่ฆ่าเชื้อแล้วเติมลงไปในอาหารเลี้ยง PDAในปริมาตร 1.9 มิลลิลิตรต่อ PDA100 มิลลิลิตร เพื่อเป็นการปรับ pH ให้เหมาะสมกับเชื้อราและยีสต์

หมายเหตุ : มันฝรั่งต้องนำไปหั่นเป็นลูกเต๋าและนำไปต้มกับน้ำกลั่นจนเนื้อมันฝรั่งนิ่มแล้วเอามากรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อเอาสารละลายไปใช้งาน

ข.2 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC, 2000)

1.ชั่งผงชาใบชะมวง 10 กรัม ใส่ในถุงพลาสติก (Polyethylene: PE) ภายใต้สภาวะที่ปลอดเชื้อ

2.เติมสารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปรับปริมาตร 90 มิลลิลิตร

3.นำถุงพลาสติกที่บรรจุตัวอย่างและสารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1 เข้าเครื่องตีป่นอาหาร (Stomacher) ตีป่นเป็นเวลา 2 นาที ตัวอย่างจะระดับเจือจางเท่ากับ 1:10 หรือ 10^{-1}

4.นำตัวอย่างที่ผ่านการตีป่นมาเจือจางด้วยสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1 ในหลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตร โดยทำการเจือจางที่ 10^{-1} ถึง 10^{-4}

5.ตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี Pourplateโดยใช้ไมโครปิเปตดูดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร จากแต่ละระดับการเจือจาง ระดับเจือจางละ 3 ซ้ำ เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar เททับจุลินทรีย์ หมุนจานเลี้ยงเชื้อเบา ๆ ทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที เพื่อให้อาหารแข็งตัว

6. บ่มอาหารเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 $\pm$ 3 ชั่วโมง โดยคว่ำจานเพาะเชื้อ เมื่อครบระยะเวลาการบ่มตรวจนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น โดยเลือกนับเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี รายงานผลจำนวนเชื้อเป็น log CFU/กรัม

การคำนวณ

$$\text{จำนวนเชื้อ/ มิลลิลิตร ของตัวอย่าง} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้ x dilution factor}}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่นำมา pour plate}}$$

dilution factor คือ อัตราส่วนการเจือจาง เป็นค่าส่วนกลับของ dilution เช่น dilution 10^{-4} มีค่า dilution factor เป็น 10^{4}

ข.3 การวิเคราะห์จำนวนยีสต์และราทั้งหมด (AOAC, 2000)

1.ชั่งผงชาใบชะมวง 10 กรัม ใส่ในถุงพลาสติก (Polyethylene : PE) ภายใต้สภาวะที่ปลอดเชื้อ

2.เติมสารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปรับปริมาตร 90 มิลลิลิตร

3.นำถุงพลาสติกที่บรรจุตัวอย่างและสารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1เข้าเครื่องตีป่นอาหาร (Stomacher) ตีป่นเป็นเวลา 2 นาที ตัวอย่างจะระดับเจือจางเท่ากับ 1:10 หรือ 10^{-1}

4.นำตัวอย่างที่ผ่านการตีป่นมาเจือจางด้วยสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1 ในหลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตร โดยทำการเจือจางที่ 10^{-1} ถึง 10^{-4}

5.ตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี Pour plateโดยใช้ไมโครปิเปตดูดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร จากแต่ละระดับการเจือจาง ระดับเจือจางละ 3 ซ้ำ เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar ที่เติมกรดทาร์ทาริกความเข้มข้นร้อยละ 10 ในปริมาณ 1.9 มิลลิลิตรต่อ PDA 100 มิลลิลิตร เพื่อเป็นการปรับ pH ของ PDA ให้เหมาะสมกับเชื้อราและยีสต์ และหมุนจานเลี้ยงเชื้อเบา ๆ ทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที เพื่อให้อาหารแข็งตัว

6.บ่มอาหารเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 $\pm$ 3 ชั่วโมง โดยคว่ำจานเพาะเชื้อ เมื่อครบระยะเวลาการบ่มตรวจนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น โดยเลือกนับเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี รายงานผลจำนวนเชื้อเป็น log CFU/กรัม

การคำนวณ

$$\text{จำนวนเชื้อ/ มิลลิลิตร ของตัวอย่าง} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้ x dilution factor}}{\text{ปริมาตรตัวอย่างที่นำมา pour plate}}$$

dilution factor คือ อัตราส่วนการเจือจาง เป็นค่าส่วนกลับของ dilution เช่น dilution 10^{-4} มีค่า dilution factor เป็น 10^{4}

ภาคผนวก ค
วิธีการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี

ค.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้นในชา (AOAC, 2000)

1.1 อุปกรณ์

1.1.1 ถ้วยอะลูมิเนียม (Aluminium Can)
1.1.2 โถดูดความชื้น (Desiccator)
1.1.3 ที่คีบ (Forcep)
1.1.4 ถาดอบ (Tray)
1.1.5 ช้อนตักสาร (Spatuta)
1.1.6 เครื่องชั่ง 1 ตำแหน่ง (Balance 2 Digital)
1.1.7 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Balance 2 Digital)
1.1.8 ตู้อบความร้อนแห้ง (Hot Air Oven)
1.1.9 ผงชาใบชะมวง

วิธีการทดลอง

อบถ้วยอลูมิเนียม ในตู้อบลมร้อน
อุณหภูมิ 103±2 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง

ทิ้งให้เย็นใน Desiccator 30 นาที

ชั่งน้ำหนักถ้วยอลูมิเนียม
และใส่ชาไป 3 g (w_1)

อบในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ
103 ± 2 องศาเซลเซียส 30

ทิ้งให้เย็นใน Desiccator 30 นาที

ชั่งน้ำหนักหลังอบ (w_2)

นำไปอบอีกครั้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 103 ± 2 องศาเซลเซียส 30 นาที
หรือจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ ข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาร้อยละความชื้น

การคำนวณ

จากสูตร

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \frac{(W_1 - W_2)}{W}$$

W = น้ำหนักตัวอย่าง

W_1 = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและน้ำหนักอลูมิเนียม

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบและน้ำหนักอลูมิเนียม

ค.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดที่สกัดได้ด้วยน้ำร้อนในชา (ดัดแปลงวิธีการของ มาตรฐานการวิเคราะห์อาหารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2558)

4.1 อุปกรณ์และสารเคมี

4.1.1 ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร

4.1.2 ถ้วยระเหย (Evaporating Dish)

4.1.3 ดินน้ำมัน (Plasticine)

4.1.4 กระดาษกรอง เบอร์ 1 (Whatman Filter Paper No. 1)

4.1.5 กรวยแก้ว (Funnel)

4.1.6 ฟลาสก์ (Flask)

4.1.7 ปิเปต (Pipette)

4.1.8 ผงชาใบชะมวง

4.1.9 อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

4.1.10 เตาไฟฟ้า (Hot plate)

4.1.11 โถดูดความชื้น (Desiccator)

4.1.12 ที่คีบ (forcep)

4.1.13 จุกยางดำแบบเจาะรู 1 รู

4.1.14 น้ำกลั่น

4.1.15 กระบอกตวง (Cylinder)

4.1.16 ถาดอบ (Tray)

วิธีการทดลอง

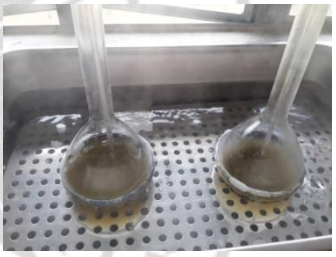
อบถ้วยระเหยในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

ทิ้งให้เย็นใน Desiccator 30 นาที

ชั่งน้ำหนักถ้วยระเหย (W_1)

ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม (W)

เทตัวอย่างใส่ขวดวัดปริมาตร ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำร้อนประมาณ 200 มิลลิลิตร



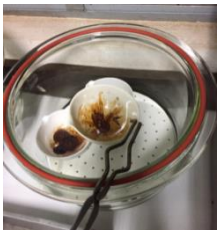
ตั้งบนอ่างน้ำร้อน เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

ปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1

ตวงสารที่ได้ 50 มิลลิลิตร ตั้งบนเตาไฟฟ้า จนแห้ง

อบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง



ชั่งน้ำหนัก (W_2) ทิ้งให้เย็นใน Desiccator 30 นาที

การคำนวณ

$$\text{สารสกัดได้ด้วยน้ำร้อน (ร้อยละโดยน้ำหนักชาแห้ง)} = \frac{(W_1-W_2) \times 10^4 \times 500}{[W \times (100 - (\text{ร้อยละความชื้น})) \times 50]}$$

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)
W_1 = น้ำหนักถ้วย (กรัม)
W_2 = น้ำหนักถ้วยพร้อมสารที่สกัดได้ด้วยน้ำร้อน (กรัม) และร้อยละความชื้น

ค.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด วิธี Folin-Ciocalteu (ดัดแปลงวิธีการของ ชมพูนุท สินธุพิบูลยกิจ และคณะ, 2557)

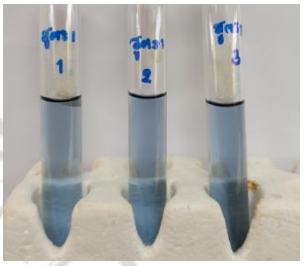
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 หลอดทดลอง (Test Tube)
3.1.2 คิวเวตต์ (Cuvette)
3.1.3 ที่วางหลอดทดลอง (Test Tube Rock)
3.1.4 ไมโครปิเปต (Micro Pipette) ขนาด 200 และ 1,000 ไมโครลิตร
3.1.5 ไมโครปิเปต ทิป (Micro Pipette tip) ขนาด 200 และ 1,000 ไมโครลิตร
3.1.6 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (UV-VIS spectrophotometer)
3.1.7 Folin-Ciocalteu reagent และโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 7
3.1.8 น้ำกลั่น
3.1.9 น้ำชาใบชะมวง

วิธีการทดลอง

ปิเปตน้ำชา 200 ไมโครลิตร ผสมน้ำกลั่น 2.6 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้อง 6 นาที

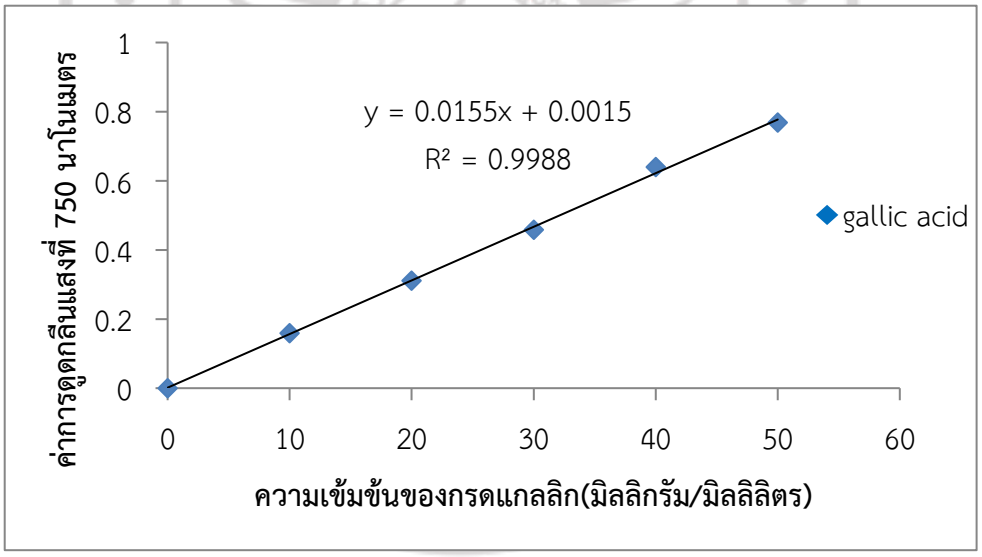
เติมโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 7 ปริมาตร 2 ml



เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 90 นาที

การคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด



จากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ได้สมการเส้นตรงคือ y = 0.0155x + 0.0015 R^2 = 0.9988

ในการคำนวณจะนำค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ของผลิตภัณฑ์ชาชะมวงมาเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก โดยคำนวณได้ดังตัวอย่างต่อไปนี้

การคำนวณ

นำค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ชาชะมวงไปแทนค่า y ในสมการ

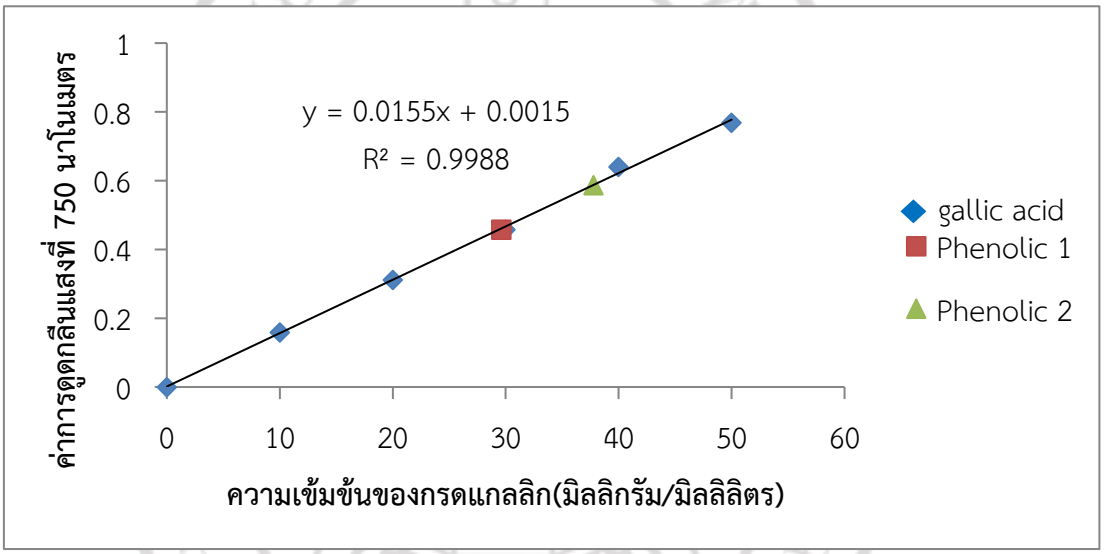
y = 0.0155x + 0.0015

จากกราฟมาตรฐาน จะได้ x = (0.460 – 0.0015) / 0.0155

จะได้ x = 29.58 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างกรดแกลลิก และปริมาณสารประกอบฟีนอกลิกทั้งหมด

นำข้อมูลปริมาณสารประกอบฟีนอกลิกที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก เพื่อหาความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่า ปริมาณสารฟีนอกลิกที่ได้จากชาชะมวงทั้ง 2 สูตร เท่ากับ 29.62 และ 37.79 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ



ภาพที่ ค.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร กับปริมาณกรดแกลลิก และปริมาณสารประกอบฟีนอกลิก

ค.4 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ วิธี DPPH (2,2Diphynyl-1-picrylhydrazyl) assay (ดัดแปลงวิธีการของ ประนอม สุขเกื้อ, 2556)

2.1 อุปกรณ์และสารเคมี

2.1.1 อะลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminium Foil)

2.1.2 หลอดทดลอง (Test Tube)

2.1.3 คิวเวตต์ (Cuvette)

2.1.4 ช้อนตักสาร (Spatuta)

2.1.5 บีกเกอร์ (Beaker)

2.1.6 ขวดสีชา (Amber Bottle)

2.1.7 ที่วางหลอดทดลอง (Test Tube Rock)

2.1.8 ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask)

2.1.9 ไมโครปิเปต (Micro Pipette) ขนาด 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

2.1.10 ไมโครปิเปต ทิป (Micro Pipette tip) ขนาด 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

2.1.11 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (UV-VIS spectrophotometer) รุ่น

2.1.12 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

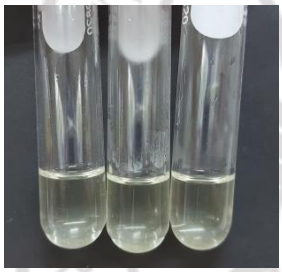
2.1.13 เมทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ (95 Methanol, CH_3OH)

2.1.14 น้ำชาใบชะมวง

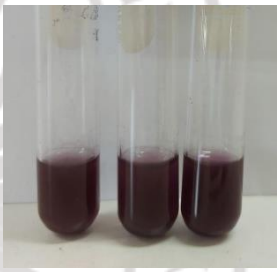
2.2 การเตรียมสาละลาย 0.2 มิลลิโมลาร์ DPPH

ชั่ง DPPH (MW = 394.33) หนัก 0.0039 กรัมใส่บีกเกอร์ ละลายในเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 95ปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีขาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

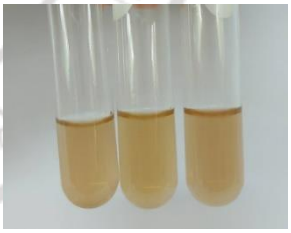
วิธีการทดลอง



ปิเปตน้ำชาปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง



เติม 0.2 มิลลิโมลาร์ DPPH 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน



ตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที

นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

การคำนวณ

จากสูตร

$$\text{ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ} = \left(\frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}}\right) \times 100$$

$A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

ค.5 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) (ดัดแปลงวิธีการของ ชมพูนุท สินธุพิบูลยกิจ และคณะ, 2557)

1.1การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความแข้มข้น 1000มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

1.1.1เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งกรดแกลลิก 0.05 กรัมใส่ในบีกเกอร์ ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร จากนั้นทำการเจือจาง 10 เท่า เพื่อให้ได้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยการปิเปตกรดแกลลิกมา 5มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารลายมาตรฐานกรดแกลลิก 100มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นเป็น 10, 20, 30, 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ ค.1 ด้วยการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 10 มิลลิลิตร

ตารางที่ ค.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

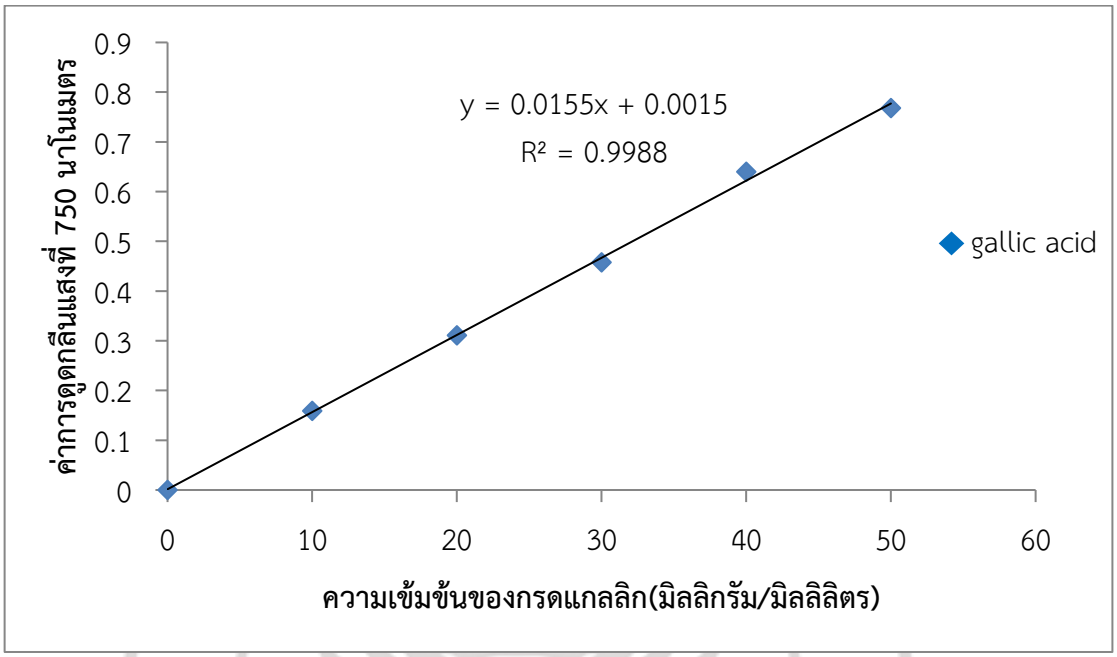
ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	**ปริมาตรสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร**	**น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)**
10	1	9
20	2	8
30	3	7
40	4	6
50	5	5

1.2 การสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

นำสารละลายที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ มาอย่าง 200 ไมโครลิตรผสมน้ำกลั่นปริมาตร 2.6 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7 น้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสง และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกมาเขียนกราฟมาตรฐาน

ตาราง ค.2 ค่าการดูดกลืนแสง (OD) ของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่า OD			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย ± SD
10	0.149	0.159	0.162	0.157 ± 0.00
20	0.301	0.311	0.313	0.308 ± 0.00
30	0.447	0.458	0.460	0.455 ± 0.00
40	0.629	0.640	0.642	0.637 ± 0.00
50	0.757	0.768	0.769	0.767 ± 0.00



ภาพที่ ค.2 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

ค.6 การทดสอบคุณสมบัติทางด้านประสาทสัมผัส (ดัดแปลงวิธีการของสุนันทา คะเนนอก, 2556)

5.1 อุปกรณ์

5.1.1 แบบฟอร์มใบประเมิน แสดงดังภาพ

แบบทดสอบความพึงพอใจด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ชาชะมวง สูตรที่ 1

โครงการ ผลิตภัณฑ์ชาเพื่อสุขภาพจากใบชะมวง

คณะผู้จัดทำ พัชรินทร์ เวรุตัง

ตอนที่ 1 สถานภาพของผู้ทดสอบ

เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง

อายุ ☐ ต่ำกว่า 12 ปี ☐ 12-25 ปี ☐ 26-45 ปี ☐ มากกว่า 45 ปีขึ้นไป
อาชีพ ☐ นักเรียน/นักศึกษา ☐ รับจ้าง ☐ เกษตรกร ☐ ข้าราชการ ☐ อื่นๆ...

ตอนที่ 2 ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ชาชะมวง
จงให้คะแนนความพึงพอใจด้านสี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม โดยให้คะแนนดังนี้

5 คะแนน หมายถึง ชอบมาก 4 คะแนน หมายถึง ชอบ
3 คะแนน หมายถึง ชอบปานกลาง 2 คะแนน หมายถึง ไม่ชอบ
1 คะแนน หมายถึง ไม่ชอบ

ปริมาณผงชา / ความพึงพอใจ	**ชาชะมวง สูตรที่ 1**		
	1 g	**2 g**	**3 g**
สี			
กลิ่น			
รสชาติ			
ความชอบโดยรวม			

ข้อเสนอแนะ

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

ขอขอบพระคุณที่ให้ความร่วมมือ

5.1.2 ผลิตภัณฑ์ชาชะมวง จำนวน 2 สูตร แสดงดังภาพที่ ค.3 และ ค.4

ภาพที่ ค.3 ซองบรรจุปริมาณผงชา

ภาพที่ ค.4 น้ำชาชะมวง

5.2 วิธีการทดสอบ

5.2.1ทดสอบคุณสมบัติทางด้านประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น รส ลักษณะสัมผัส และความชอบโดยรวมของชาชะมวงทั้ง 2 สูตร

5.2.2 บรรจุในซองในปริมาณแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 1 2 และ 3 กรัม

5.2.3 โดยใช้ผู้ชิมจำนวนไม่น้อยกว่า 50 คน โดยวิธี 5-Point Hedonic Scale

5.2.4เกณฑ์การให้คะแนน แบ่งออกเป็น 5 ระดับ โดย 5 คะแนน หมายถึง ชอบมาก 4 คะแนน หมายถึง ชอบ 3 คะแนน หมาถึง ชอบปานกลาง 2 คะแนน หมายถึง ไม่ชอบ และ 1 คะแนน หมายถึง ไม่ชอบมาก

ภาพที่ ค.5 ผู้ประเมินแบบสอบถามทดสอบชิมผลิตภัณฑ์ชาชะมวง