ภาคผนวก

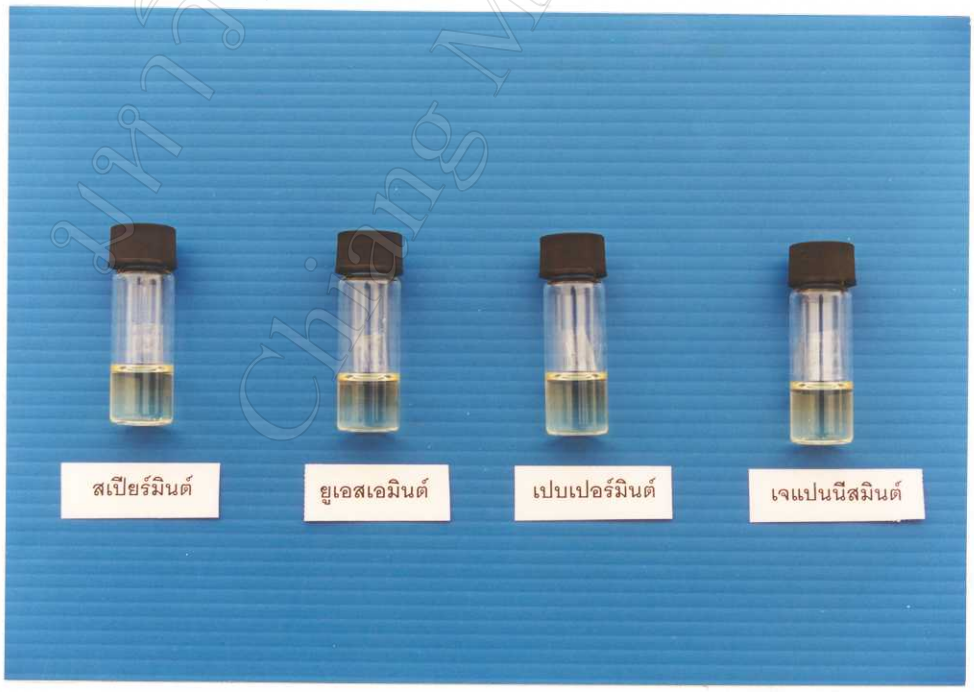
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาคผนวก ก

ภาพผลิตภัณฑ์ลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง วัตถุดิบและเครื่องมือในการผลิต

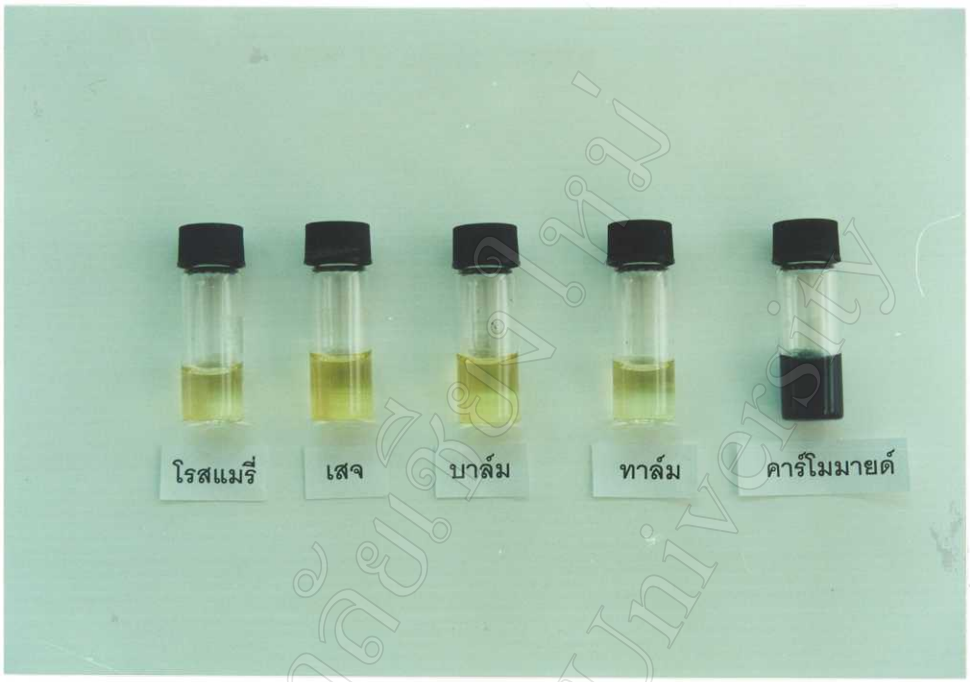
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพที่ ก.1 ชุดเครื่องกลั่นน้ำมันหอมระเหย

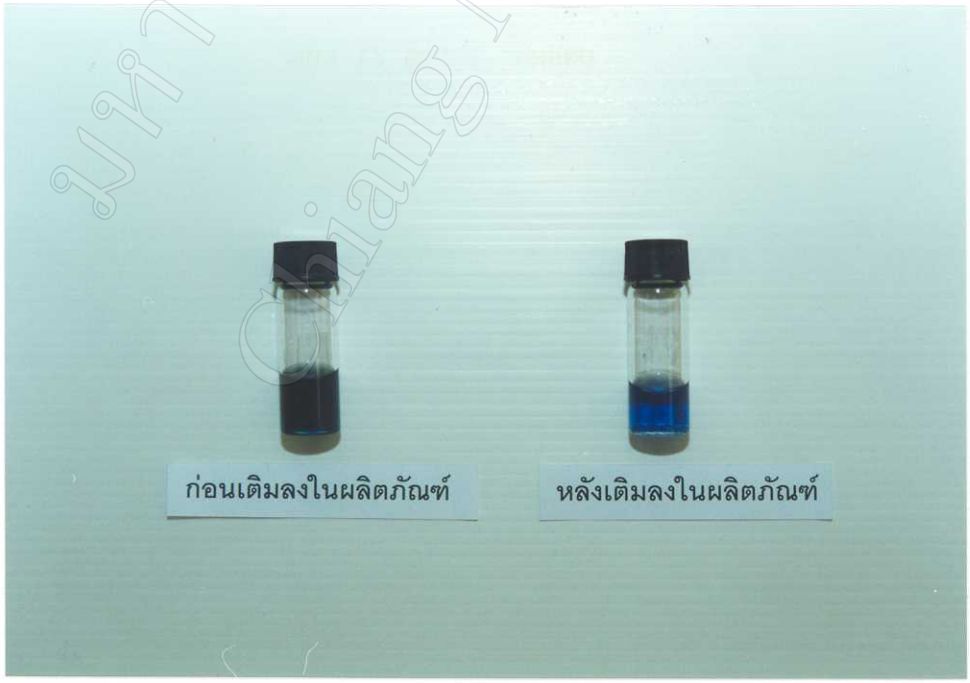


ภาพที่ ก.2 น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากสเปียร์มินต์ ยูเอสเอมินต์ เปบเปอร์มินต์ และเจแปนนีสมินต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



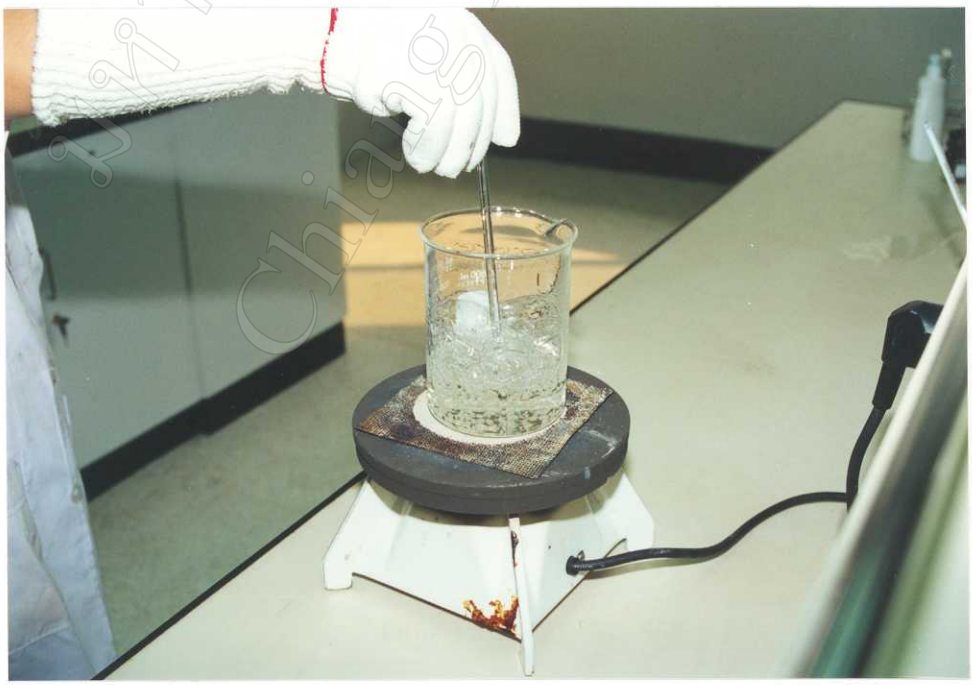
ภาพที่ ก.3 น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากโรสแมรี่ เสจ บาล์ม ทาล์ม และคาร์โมมายด์



ภาพที่ ก.4 น้ำมันหอมระเหยเปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังเติมลงในผลิตภัณฑ์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ภาพที่ ก.5 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง



ภาพที่ ก.6 อุปกรณ์สำหรับการเคี่ยวส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพที่ ก.7 แม่พิมพ์สำหรับการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์ลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

ภาพที่ ก.8 ผลิตภัณฑ์ลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

ภาคผนวก ข

แบบทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

แบบทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์

(Ideal Ratio Profile Test)

ผลิตภัณฑ์ : ผลิตภัณฑ์ลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

ลักษณะผลิตภัณฑ์ : เป็นลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง ที่ผลิตโดยใช้สารให้กลิ่นซึ่งเป็นน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชสมุนไพร 9 ชนิด ได้แก่ โรสแมรี่ เสจ ทาล์ม บาล์ม คาร์โมมายด์ ยูเอสเอ - มินต์ สเปียร์มินต์ เปบเปอร์มินต์ และเจแปนนีสมินต์

กรุณากรอกแบบสอบถามให้ตรงกับความต้องการของท่านมากที่สุด โดย...

1. ระบุหัวข้อ "ลักษณะของผลิตภัณฑ์" ที่ท่านคิดว่าสำคัญลงไปในแต่ละหัวข้อ
2. กำหนดเครื่องหมาย I ลงบนสเกลในตำแหน่งที่คิดว่าเป็นลักษณะที่ดีที่สุดของผลิตภัณฑ์ในอุดมคติ (Ideal)
3. กำหนดเครื่องหมาย X ลงบนสเกลในตำแหน่งที่คิดว่าเป็นลักษณะของผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง

ลักษณะปรากฏภายนอก (External Appearance)

.....

....

.....

....

.....

....

กลิ่นและรสชาติ (Flavor and Taste)

.....

....

.....

....

.....

....

แบบทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ผลิตภัณฑ์ลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

ชื่อผู้ทดสอบชิม.....วันที่.....

กรุณากำหนดเครื่องหมาย X บนตำแหน่งที่ท่านคิดว่าเป็นระดับของลักษณะนั้นของผลิตภัณฑ์ ตัวอย่าง เมื่อกำหนดให้เครื่องหมาย ! เป็นระดับในอุดมคติของลักษณะนั้นที่ท่านต้องการ

ลักษณะปรากฏภายนอก

สีที่ปรากฏ : เขียวอ่อน — เขียวเข้ม

ความใส : ใสน้อย — ใสมาก

กลิ่นและรสชาติ

กลิ่นสมุนไพร : กลิ่นอ่อน — กลิ่นแรง

รสหวาน : หวานน้อย — หวานมาก

รสเย็น : เย็นน้อย — เย็นมาก

ลักษณะเนื้อสัมผัส

ความแข็ง : แข็งน้อย — แข็งมาก

การละลาย : ละลายช้า — ละลายเร็ว

การยอมรับรวม

การละลาย : ไม่ยอมรับมากที่สุด — ยอมรับมากที่สุด

ขอขอบคุณในความร่วมมือในครั้งนี้

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

คำอธิบายประกอบการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง สามารถแบ่งได้เป็น 4 ด้าน ได้แก่ ลักษณะปรากฏภายนอก กลิ่นและรสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม คุณลักษณะที่ใช้ในการพิจารณา ประกอบด้วย สีของผลิตภัณฑ์ ความใส กลิ่นสมุนไพร รสหวาน รสเย็น ความแข็ง การละลาย และการยอมรับโดยรวม

คำอธิบายลักษณะของผลิตภัณฑ์ลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง มีดังนี้

1. สีของผลิตภัณฑ์

พิจารณาจากสีของผลิตภัณฑ์โดยรวม ซึ่งควรมีสีเขียวสด สม่ำเสมอ

2. ความใส

พิจารณาจากความใสของผลิตภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์ควรมีลักษณะใสไม่มีตะกอน ฟองอากาศ รูพรุนหรือสิ่งแปลกปลอม

3. กลิ่นสมุนไพร

พิจารณาจากกลิ่นสมุนไพร ผลิตภัณฑ์ควรมีกลิ่นของสมุนไพร ไม่ควรมีกลิ่นแปลกปลอมอื่นๆ เช่น กลิ่นน้ำตาลไหม้

4. รสหวาน

พิจารณาจากรสหวานของผลิตภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์ควรมีรสหวานที่พอเหมาะ ไม่มากเกินไปจนกลบรสเย็น

5. รสเย็น

พิจารณาจากรสเย็นของผลิตภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์ควรมีรสเย็นพอที่เหมาะ ไม่มากเกินไปจนเกิดรสขม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

6. ความแข็ง

ผลิตภัณฑ์ควรมีความแข็งที่พอเหมาะ เมื่อเคี้ยวสามารถกัดแตกได้และไม่เหนียวจนติดฟัน ขณะละลายผลิตภัณฑ์ควรยังคงลักษณะแข็งอยู่ ไม่อ่อนตัวในปาก

7. การละลาย

เมื่อพิจารณาจากลักษณะปรากฏผลิตภัณฑ์ไม่ควรมีหยดน้ำเกาะบริเวณผิวภายนอกของเม็ดหรือเหนียวเหนอะหนะขณะสัมผัส มีระยะเวลาในการละลายที่พอเหมาะไม่เร็วหรือช้าจนเกินไป

8. การยอมรับโดยรวม

เป็นการประเมินผลการยอมรับโดยรวมของผลิตภัณฑ์ โดยพิจารณาจากคุณลักษณะทั้งหมด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

แบบทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส น้ำมันหอมระเหยของพืชตระกูลมินต์

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่.....

ชื่อผลิตภัณฑ์.....

คำชี้แจง โปรดทดสอบตัวอย่างต่อไปนี้และให้ระดับความชอบและไม่ชอบต่อผลิตภัณฑ์แต่ละตัวอย่าง ใช้สเกลที่เหมาะสมเพื่อแสดงให้เห็นว่าท่านได้อธิบายความรู้สึกชอบและไม่ชอบในระดับใด โปรดให้เหตุผลในการอธิบายความรู้สึกของท่านด้วย

ท่านเป็นผู้ทดสอบผู้หนึ่งที่สามารถบอกว่าท่านชอบผลิตภัณฑ์ใด ในระดับความชอบอย่างไร การแสดงความรู้สึกของท่านอย่างแท้จริงจะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการทดลองครั้งนี้

ระดับความชอบ	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์								
รหัสผลิตภัณฑ์	212	356	984	717	625	491	672	303	500

ชอบมากที่สุด									
ชอบมาก									
ชอบปานกลาง									
ชอบเล็กน้อย									
เฉย ๆ									
ไม่ชอบเล็กน้อย									
ไม่ชอบปานกลาง									
ไม่ชอบมาก									
ไม่ชอบมากที่สุด									

เหตุผลของความชอบหรือไม่ชอบผลิตภัณฑ์

รหัส 212 : ..... รหัส 356 : .....

รหัส 984 : ..... รหัส 717 : .....

รหัส 625 : ..... รหัส 491 : .....

รหัส 672 : ..... รหัส 303 : .....

รหัส 500 : .....

ขอขอบคุณในความร่วมมือในครั้งนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

แบบทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส น้ำมันหอมระเหยของพืชสมุนไพรทั้ง 9 ชนิด

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่.....

ชื่อผลิตภัณฑ์.....

<u>คำชี้แจง</u> โปรดทดสอบตัวอย่างต่อไปนี้และให้ระดับความชอบและไม่ชอบต่อผลิตภัณฑ์แต่ละตัวอย่าง ใช้สเกลที่เหมาะสมเพื่อแสดงให้เห็นว่าท่านได้อธิบายความรู้สึกชอบและไม่ชอบในระดับใด โปรดให้เหตุผลในการอธิบายความรู้สึกของท่านด้วย

ท่านเป็นผู้ทดสอบผู้หนึ่งที่สามารถบอกว่าท่านชอบผลิตภัณฑ์ใด ในระดับความชอบอย่างไร การแสดงความรู้สึกของท่านอย่างแท้จริงจะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการทดลองครั้งนี้

ระดับความชอบ	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์											
รหัสผลิตภัณฑ์	315	528	954	167	435	894	264	137	946	825	104	616

ชอบมากที่สุด												
ชอบมาก												
ชอบปานกลาง												
ชอบเล็กน้อย												
เฉย ๆ												
ไม่ชอบเล็กน้อย												
ไม่ชอบปานกลาง												
ไม่ชอบมาก												
ไม่ชอบมากที่สุด												

เหตุผลของความชอบหรือไม่ชอบผลิตภัณฑ์

รหัส 315 : ..... รหัส 528 : .....

รหัส 954 : ..... รหัส 167 : .....

รหัส 435 : ..... รหัส 894 : .....

รหัส 264 : ..... รหัส 137 : .....

รหัส 946 : ..... รหัส 825 : .....

รหัส 104 : ..... รหัส 616 : .....

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์คุณภาพ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

การวัดสีระบบ Hunter Lab

เป็นการวัดสีด้วยเครื่องวัดสี ColorQuest II Colorrimeter วัดค่าสีในระบบฮันเตอร์ (Hunter Lab) โดยค่าสี L เป็นค่าความสว่าง (Lightness) a เป็นค่าสีแดงและสีเขียว (Redness/Greeness) และ b เป็นค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (Yellowness/Blueness)

เมื่อ	L คือ ค่าความสว่าง	มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100
	a คือ ค่าสีแดง	เมื่อ a มีค่าบวก เป็นสีแดง
		เมื่อ a มีค่าลบ เป็นสีเขียว
	b คือ ค่าสีเหลือง	เมื่อ b มีค่าบวก เป็นสีเหลือง
		เมื่อ b มีค่าลบ เป็นสีน้ำเงิน

ก่อนทำการวัดสีทุกครั้งต้องปรับมาตรฐานเครื่อง (Calibration) ก่อนทำการวัดทุกครั้ง จึงวัดสีตัวอย่างผลิตภัณฑ์โดยทำการวัดซ้ำ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

การเตรียมตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งตามวิธีของ Pearson, 1981

ในการวิเคราะห์จะเตรียมสารละลายตัวอย่างความเข้มข้น ร้อยละ 20 โดยชั่งตัวอย่างมา 20 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นลงไปประมาณ 70 มิลลิลิตร คนจนกระทั่งตัวอย่างละลายหมด ถ้าละลายไม่หมดนำไปอุ่นให้ร้อน หรือใช้น้ำอุ่นช่วยในการละลาย หลังจากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร กรองสารละลายที่ได้ เก็บสารละลายส่วนที่กรองได้ไว้ใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (Moisture content) **โดยวิธี** Karl Fisher titration method (AOAC, 1995)

<u>สารเคมีที่ใช้</u>

1. Karl Fisher reagent โดยการละลายไอโอดีนจำนวน 63 กรัม ในไพริดีน(ในรูปปราศจากน้ำ) 110 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปแช่ไว้ในที่เย็นจัด ผ่านก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ลงไปอย่างช้า ๆ คนอยู่ตลอดเวลาจนกระทั่งน้ำหนักของสารละลายเพิ่มขึ้นอีก 32 กรัม ปล่อยสารละลายตั้งทิ้งไว้ 30 นาที หลังจากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร ด้วยเมธานอลที่ปราศจากน้ำ

สารละลายนี้ 1 มิลลิลิตร จะทำปฏิกิริยาพอดีกับน้ำประมาณ 5 มิลลิกรัม และต้องปรับมาตรฐาน (standardize) ทุกวัน การเติม Pyridinium hydriodide ลงไปจะช่วยให้สารละลายนี้คงตัวยิ่งขึ้น

2. สารละลายมาตรฐาน Water - methanol เตรียมสารละลายดังกล่าวให้มีน้ำจำนวน 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของเมธานอลที่ปราศจากน้ำ

<u>วิธีการ</u>

ชั่งตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งที่บดละเอียดด้วยความรวดเร็วมาจำนวนหนึ่งซึ่งทราบน้ำหนักที่แน่นอน (ตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งควรสมดุลกับ Karl Fisher

reagent ประมาณ 20 มิลลิลิตร) เติมเมธานอลที่ปราศจากน้ำลงไป 10 มิลลิลิตร ให้ความร้อนแก่สารละลายจนเดือด และลดความร้อนลง ปล่อยให้ค่อยๆ เดือด 15 นาที ผ่านก๊าซไนโตรเจนลงไปแล้วไตเตรตสารละลายด้วย Karl Fisher reagent และทำการไตเตรตกลับกับสารละลายมาตรฐาน Water - methanol คำนวณหาปริมาณความชื้นในตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง

การตรวจวัดค่าความเป็น กรด - ด่าง (pH) ตามวิธีของ Pearson, 1981

เตรียมตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งในรูปสารละลายความเข้มข้น ร้อยละ 10 นำตัวอย่างมาตรวจวัดค่าความเป็น กรด - ด่าง ด้วยเครื่อง Microprocessor pH meter โดยปรับค่ามาตรฐานในการวัดแต่ละครั้งด้วยสารละลายมาตรฐานที่มีความเป็นกรด - ด่างเท่ากับ 4.00 และ 7.00 ตามลำดับ ทำการตรวจวัด 3 ครั้ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid) **ตามวิธีของ** Pearson, 1981

<u>โดยวิธีวัดความถ่วงจำเพาะ</u>

นำสารละลายตัวอย่างมาหาค่าความถ่วงจำเพาะโดยใช้ขวดวัดความถ่วงจำเพาะ (Specific gravity bottle) ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

<u>วิธีการหาความถ่วงจำเพาะ</u>

ชั่งหาน้ำหนักของขวดหาความถ่วงจำเพาะที่สะอาดและแห้งสนิท นำน้ำกลั่นหรือของเหลวตัวอย่างมาจำนวนหนึ่ง ค่อยๆ เทใส่ลงในขวดจนเต็ม ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ น้ำหรือของเหลวควรลดอุณหภูมิให้ต่ำลงกว่าอุณหภูมิที่ต้องการวัดเล็กน้อย เมื่อใส่น้ำหรือของเหลวเต็มขวดแล้วปล่อยตั้งทิ้งไว้จนได้อุณหภูมิตามที่ต้องการ ปิดจุก ค่อยๆ เช็ดข้างๆ ขวดให้แห้งสนิทด้วยกระดาษทิชชู หรือกระดาษกรอง นำไปชั่งหาน้ำหนัก คำนวณหาน้ำหนักของน้ำหรือของเหลว ทำซ้ำ 2 - 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ยแล้วนำไปคำนวณหาความถ่วงจำเพาะได้โดยกำหนดให้

$$d_t = \frac{W_1}{W}$$

W = น้ำหนักของน้ำ

W1 = น้ำหนักของของเหลวที่มีปริมาตรเท่ากับน้ำ

d = ความถ่วงจำเพาะของของเหลว

t = อุณหภูมิที่ทำการวัด (20 องศาเซลเซียส)

จากนั้นคำนวณหาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ จากสมการดังนี้

$$\text{ร้อยละของแข็งที่ละลายได้ในสารละลาย (กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร)} = \frac{\text{ค่าความถ่วงจำเพาะ - 1}}{0.00386}$$

$$\text{ร้อยละของแข็งที่ละลายได้} = \frac{\text{ของแข็งที่ละลายได้ในสารละลาย}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้}} \times 100$$

การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าซัลเฟต (Sulphated ash) ตามวิธีของ AOAC, 1995

ชั่งตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งประมาณ 5 กรัม ใส่ถ้วยครูซิเบิล (crucible) ที่สะอาดและทราบน้ำหนักแล้ว นำไปเผาโดยใช้ตะเกียงบุนเซ่นจนไม่มีควันดำ นำไปเผาต่อในเตาเผาเถ้า (Muffle furnace) ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาว จากนั้นหยดกรดกำมะถันชนิดเข้มข้นลงในเถ้าให้ชุ่มทั่วกัน นำไปเผาต่อที่อุณหภูมิ 800 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาวหรือน้ำหนักคงที่ ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) นำไปชั่งน้ำหนัก รายงานผลในรูปร้อยละของเถ้าซัลเฟต

การหาวิเคราะห์ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid - insoluble ash) **ตามวิธีของ** Pearson, 1981

ชั่งตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง 5 กรัม ใส่ถ้วยครูซิเบิล (Crucible) ที่สะอาดและทราบน้ำหนักแล้ว นำไปเผาโดยใช้ตะเกียงบุนเซ่นจนไม่มีควันดำ นำไปเผาต่อที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาว นำเถ้าที่ได้มาเติมกรดเกลือเจือจางความเข้มข้น ร้อยละ 10 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) จำนวน 25 มิลลิลิตร นำไปต้มเบาๆ ประมาณ 5 นาที กรองผ่านกระดาษกรองชนิดปราศจากเถ้าแล้วล้างตะกอนที่กรองได้บนกระดาษกรองให้ทั่วด้วยน้ำร้อน นำกระดาษกรองที่มีตะกอนไปใส่ในถ้วยครูซิเบิลใบเดิม แล้วนำไปเผาซ้ำในเตาเผาจนเป็นเถ้าอีกครั้งหนึ่ง จนได้เถ้าสีขาวหรือน้ำหนักคงที่ ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น (Desiccator) ชั่งหาน้ำหนักเถ้าที่ได้ รายงานผลในรูปร้อยละของเถ้าที่ไม่ละลายในกรด

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugars) **ก่อนและหลังอินเวอร์ชั่น ตามวิธีของ** Lane and Eynon (AOAC, 1995)

<u>การเตรียมสารเคมี</u>

- สารละลาย Fehling no. 1

ละลายคอปเปอร์ซัลเฟท (Copper sulfate pentahydrate : $CuSO_4.5H_2O$) จำนวน 34.639 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตรโดยใช้ขวดปรับปริมาตร

- สารละลาย Fehling no. 2

ละลายโซเดียมโปแตสเซียมตาร์เตรท (Sodium potassium tartrate หรือ Rechelle salt : $KNaC_4O_6 . 4H_2O$) จำนวน 173 กรัม และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) จำนวน 50 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร โดยขวดปรับปริมาตร

- สารละลายเมธิลีนบลูเข้มข้นร้อยละ 1

ละลายเมธิลีนบลู 1 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

วิธีวิเคราะห์

การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ก่อนอินเวอร์ชั่น (D_1)

ชั่งตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็ง 3.75 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

Preliminary titration

นำสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้ใส่ในบิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร (ชนิดปลายงอ) ไล่ฟองอากาศให้หมด ปิเปตสารละลาย Fehling reagent ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย Fehling no. 1 และ Fehling no. 2 อย่างละ 5 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร ใส่ลูกแก้วขนาดเล็กลงไป 2 - 3 เม็ด นำไปต้มให้เดือดบนตะเกียงบุนเซน ไตเตรตกับสารละลายน้ำตาลตัวอย่างจนสีน้ำเงินจางลง หยดสารละลายเมธิลีนบลูลงไป 1 - 2 หยด ไตเตรตจนสีฟ้าหายไปหมด เหลือแต่ตะกอนสีส้มแดง จดปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้ ทำการทดลองซ้ำ 3 ซ้ำ

Accurate titration

ปิเปตสารละลาย Fehling reagent ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย Fehling no. 1 และ Fehling no. 2 อย่างละ 5 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร ใส่ลูกแก้วขนาดเล็กลงไป 2 - 3 เม็ด เติมสารละลายน้ำตาลจากบิวเรตลงไปทันที โดยใช้ปริมาตรน้อยกว่าที่ใช้ไตเตรตครั้งแรกประมาณ 1 - 2 มิลลิลิตร ปล่อยให้เดือดนาน 2 นาที หยดสารละลายเมธิลีนบลูลงไป 1 - 2 หยด แล้วไตเตรตต่อจนสีฟ้าหายไปหมด โดยต้องไตเตรตให้เสร็จภายในเวลา 3 นาที ตั้งแต่เริ่มเดือด จดปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้ ทำการทดลองซ้ำ 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์หลังอินเวอร์ชั่น (D_2)

นำสารละลายน้ำตาลที่เหลือจากการไตเตรตหาน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนอินเวอร์ชั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดเกลือความเข้มข้น 6.34 นอร์มัล จำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปอุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 70

องศาเซลเซียส นานประมาณ 10 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว แล้วปรับปริมาตรส่วนผสมทั้งหมดให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 5 โมล่าร์ แล้วนำสารละลายที่ได้ไปปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร แล้วทำการไตเตรตเช่นเดียวกับการหาน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนอินเวอร์ชั่น

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลซูโครส (Sucrose) **ตามวิธีของ** Lane and Eynon (AOAC, 1995)

เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนและหลังเอินเวอร์ชั่นแล้ว สามารถหาปริมาณน้ำตาลซูโครสได้ ดังนี้

ร้อยละของน้ำตาลซูโครส = ร้อยละของผลต่าง $(D_2 - D_1) \times 0.95$

โดยที่ D_1 = ร้อยละของน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดก่อนทำการอินเวอร์ชั่น

D_2 = ร้อยละของน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดหลังทำการอินเวอร์ชั่น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

การหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) ตามวิธีของเรณู, 2537

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

- จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- หลอดทดลอง (Test Tube)
- ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert : Model WB14, Germany)
- ตู้บ่มเชื้อ (Heraeus : Model D - 6450 hanau, Germany)
- หม้อนึ่งความดัน (Hirayama : Model HA - 300MIV, Japan)

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง</u>

- สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (Becto® Peptone , Difgo Laboratory, USA.)
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (Becto® Plate Count Agar, Difgo Labolatory, USA.)

<u>การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ</u>

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นหรือน้ำดีไอออไนซ์ 1 ลิตร
2. ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด
3. นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 - 124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จะมีค่าความเป็นกรด - ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.0 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง

1. บดตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งในถุงพลาสติกปิดสนิท

2. ใช้ช้อนตักสารที่ผ่านการเช็ดแอลกอฮอล์และลนไฟแล้วตักตัวอย่างลูกกวาด 10 กรัม ใส่ลงในถุงสำหรับตีปั่น (Stomacher bag) เติมสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 90 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องตีปั่น (Stomacher) เพื่อให้สารละลายตัวอย่างผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้อาหารที่เจือจาง 1 : 10 หรือ (10^{-1})

3. เขย่าตัวอย่างให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งที่เจือจาง 1 : 10 หรือ (10^{-1}) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้อาหารที่เจือจาง 1 : 100 หรือ 10^{-2}

2. การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรที่ฆ่าเชื้อแล้ว ดูดสารละลายของตัวอดย่างอาหารที่ระดับเจือจางต่างๆ (1, 10^{-1}, 10^{-2}) ลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ระดับเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูดจากที่ความเข้มข้นต่ำสุด

2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่กำลังหลอมเหลวลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่างโดยใส่ลงในจาน จานละประมาณ 15 - 20 มิลลิลิตร ให้เสร็จภายในเวลา 1 - 5 นาที

3. ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว คว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อลง

3. การบ่ม

บ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 34 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 3 ชั่วโมง

4. การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 - 300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีทั้ง 2 จานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับว่ามีจำนวน Mesophilic aerobic bacteria ในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 มิลลิลิตร

การหาปริมาณเชื้อยีสต์และรา (Yeast and Mold) ตามวิธีของเรณู, 2537

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- หลอดทดลอง (Test Tube)
- ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert : Model WB14, Germany)
- ตู้บ่มเชื้อ (Heraeus : Model D - 6450 hanau, Germany)
- หม้อนึ่งความดัน (Hirayama : Model HA - 300MIV, Japan)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

- สารละลายบัฟเฟอร์เปบโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (Becto® Peptone , Difgo Laboratory, USA.)
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (Becto® Potato Dextrose Agar, Difgo Labolatory, USA.)
- สารละลายกรดตาร์ตาริก ความเข้มข้นร้อยละ 10

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ 39 กรัม ละลายในน้ำกลั่นหรือน้ำดีไอออไนซ์ 1 ลิตร
2. ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด
3. นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 - 124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
4. ปรับอาหารเลี้บงเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้วให้มีค่าความเป็นกรด - ด่างเท่ากับ 3.5 โดยการเติมสารละลายกรดตาร์ตาริก ความเข้มข้นร้อยละ 10 ลงไป (อาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร ใช้สารละลายกรดตาร์ตาริก 1.9 มิลลิลิตร)

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง

1. บดตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งในถุงพลาสติกปิดสนิท
2. ใช้ช้อนตักสารที่ผ่านการเช็ดแอลกอฮอล์และลนไฟแล้วตักตัวอย่างลูกกวาด 10 กรัม ใส่ลงในถุงสำหรับตีปั่น (Stomacher bag) เติมสารละลายบัฟเฟอร์เปบโตน 90 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องตีปั่น (Stomacher) เพื่อให้สารละลายตัวอย่างผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้อาหารที่เจือจาง 1 : 10 หรือ (10^{-1})
3. เขย่าตัวอย่างให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งที่เจือจาง 1 : 10 หรือ (10^{-1}) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปบโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้อาหารที่เจือจาง 1 : 100 หรือ 10^{-2}

2. การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรที่ฆ่าเชื้อแล้ว ดูดสารละลายของตัวอดย่างอาหารที่ระดับเจือจางต่างๆ (1, 10^{-1}, 10^{-2}) ลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ระดับเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูดจากที่ความเข้มข้นต่ำสุด
2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่กำลังหลอมเหลวลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่างโดยใส่ลงในจาน จานละประมาณ 15 - 20 มิลลิลิตร ให้เสร็จภายในเวลา 1 - 2 นาที

3. ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว คว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อลง

3. การบ่ม

บ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ± 3 ชั่วโมง

4. การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 - 300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีทั้ง 2 จานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 มิลลิลิตร

การหาโคลิฟอร์มและอี โคไล (Coliforms and E. coli) โดยวิธี MPN (Most Probable Number Method) ตามวิธีของเรณู, 2537

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- หลอดทดลอง (Test tube) พร้อมหลอดเดอแฮม (Durham tube)
- ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert : Model WB14, Germany)
- หม้อนึ่งความดัน (Hirayama : Model HA - 300MIV, Japan)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

- สารละลายบัฟเฟอร์เปบโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (Becto® Peptone , Difgo Laboratory, USA.)
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green Lactose Bile Broth (Becto® Brilliant Green Lactose Bile Broth, Difgo Laboratory, USA.)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green Lactose Bile Broth 40 กรัม ละลายในน้ำดีไอออไนซ์ 1 ลิตร

2. ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อลงในหลอดทดลองที่มีหลอดเดอแฮม

3. นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 - 124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จะมีค่าความเป็นกรด - ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.0 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

วิธีวิเคราะห์

การเตรียมตัวอย่าง

1. บดตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งในถุงพลาสติกปิดสนิท

2. ใช้ช้อนตักสารที่ผ่านการเช็ดแอลกอฮอล์และลนไฟแล้วตักตัวอย่างลูกกวาด 10 กรัม ใส่ลงในถุงสำหรับตีปั่น (Stomacher bag) เติมสารละลายบัฟเฟอร์เปบโตน 90 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องตีปั่น (Stomacher) เพื่อให้สารละลายตัวอย่างผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้อาหารที่เจือจาง 1 : 10 หรือ (10^{-1})

3. เขย่าตัวอย่างให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งที่เจือจาง 1 : 10 หรือ (10^{-1}) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปบโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้อาหารที่เจือจาง 1 : 100 หรือ 10^{-2}

4. ทำให้ตัวอย่างมีความเจือจาง 10^{-3} ด้วยวิธีเดียวกับข้อ 2 และ 3

1. การตรวจแบคทีเรียที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์ม (Presumptive coliforms)

1. เจือจางตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งด้วยสารละลายเปบโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1

2. ดูดตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งที่เจือจางแล้วจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด

ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียนกรีนแลคโตสไบล์บรอท (Brilliant Green Lactose Bile Broth) จำนวน 10 มิลลิลิตร จำนวน 3 ชุด ชุดละ 5 หลอด ดังนี้

ชุดที่ 1 ปิเปตตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งที่ระดับเจือจาง 10^{-1} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จำนวน 5 หลอด ซึ่งในหลอดมีอาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียนกรีนแลคโตสไบล์บรอท หลอดละ 10 มิลลิลิตร

ชุดที่ 2 ปิเปตตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งที่ระดับเจือจาง 10^{-2} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จำนวน 5 หลอด ซึ่งในหลอดมีอาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียนกรีนแลคโตสไบล์บรอท หลอดละ 10 มิลลิลิตร

ชุดที่ 3 ปิเปตตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งที่ระดับเจือจาง 10^{-3} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จำนวน 5 หลอด ซึ่งในหลอดมีอาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียนกรีนแลคโตสไบล์บรอท หลอดละ 10 มิลลิลิตร

บ่มหลอดเลี้ยงเชื้อในอ่างน้ำหรือตู้บ่มเชื้อที่ 37 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หากหลอดเลี้ยงเชื้อมีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดเดอแฮม (Durham tube) แสดงว่าให้ผลบวก ซึ่งคาดว่ามีโคลิฟอร์มแบคทีเรียในตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพรชนิดแข็งที่ตรวจ

การที่จะทราบว่ามีจำนวนโคลิฟอร์มในตัวอย่างจำนวนเท่าไรนั้น ให้เปิดตารางแมคคาร์ดี ซึ่งจะบอกจำนวนโคลิฟอร์มหรือแบคทีเรียในอาหาร 1 กรัม

2. <u>การยืนยันโคลิฟอร์ม</u>

1. ใช้ห่วง (loop) เขี่ยเชื้อจากหลอดเลี้ยงเชื้อที่ให้ปฏิกิริยาบอกจากการทดสอบแบคทีเรียที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์มลงบนอาหารเลี้ยงเชื้ออีโอซินเมทีลีนบลูเอการ์ (Eosin methylene blue agar) ในจานเลี้ยงเชื้อ

2. บ่มเชื้อที่ 37 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

3. ตรวจหาโคโลนีที่เป็นลักษณะเฉพาะของโคลิฟอร์ม โดยโคโลนีของโคลิฟอร์มจะมีสีดำหรือสีดำตรงกลางล้อมรอบด้วยบริเวณโปร่งใสไม่มีสี โคลิฟอร์มบางโคโลนีมีลักษณะนูนเปียกเยิ้ม (mucoid)

4. บันทึกจำนวนหลอดของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชุดที่มีเชื้อโคลิฟอร์มที่ได้รับการยืนยันแล้ว

3. การตรวจหาแบคทีเรียที่คาดว่าเป็น E. coli (Presumptive E. coli)

1. ใช้เข็มเขี่ยเชื้อปลายตรงเขี่ยเชื้อจากหลอดทดสอบที่ได้ผลคาดว่ามีแบคทีเรียโคลิฟอร์มใส่ลงในหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียนกรีนแลคโตสไบล์บรอท จำนวน 10 มิลลิลิตร หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ต้องอุ่นไว้ที่ 44.5 องศาเซลเซียสก่อนนำไปใช้

2. ให้เขี่ยเชื้อ E. coli ซึ่งเป็นเชื้อมาตรฐานลงในหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียนกรีนแลคโตสไบล์บรอทอีก 2 หลอด สำหรับเป็นหลอดเปรียบเทียบ (Control)

3. บ่มหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อในอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 44.5 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4. หลอดที่มีก๊าซเกิดขึ้น แสดงว่าในอาหารมีแบคทีเรียที่คาดว่าเป็น E. coli ให้เคาะหลอดทั้งหมดเบาๆ ก่อนตรวจ

4. การยืนยัน E. coli

1. ให้เขี่ยเชื้อจากหลอดที่มีแบคทีเรียที่คาดว่าเป็น E. coli ลงในอาหารเลี้ยงเชื้ออีโอซีนเมทีลีนบลูเอการ์

2. บ่มจานเลี้ยงเชื้อที่ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง

3. เขี่ยเชื้อโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะเป็น E. coli จากอาหารเลี้ยงเชื้อจานละโคโลนีลงในน้ำทริปโตน (Tryptone water) และบ่มในอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 44.5 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยลักษณะของโคโลนี E. coli จะมีลักษณะสีน้ำเงินอมดำตรงกลาง และมีสีเลื่อมมันอมเขียวสะท้อนแสง บางครั้งสีเลื่อมมันอาจไม่ปรากฏ

4. ถ่ายเชื้อ E. coli มาตรฐาน ในหลอดน้ำทริปโตน เพื่อเป็นตัวอย่างควบคุม

5. ทดสอบสารอินโดล หลอดที่มีสารอินโดลเกิดขึ้น แสดงว่าเป็นเชื้อ E. coli

6. บันทึกจำนวนหลอดที่มี E. coli

7. ให้คำนวณและเขียนรายงานค่า MPN ของ coliform และ E. coli ในตัวอย่างลูกกวาดสมุนไพร 1 มิลลิลิตร

8. การทดสอบยืนยันเพิ่มเติมเกี่ยวกับ coliform และ E. coli ควรทดสอบเมทิลเรด (Methyl red) โวเกส - พรอสเกาเออร์ (Voges - Proskauer) และซิเตรต (Citrate test) โดยก่อนจะทดสอบปฏิกิริยาเหล่านี้ต้องแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ก่อน

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ตารางที่ ค. 1 ตารางแมคคราดี

แสดงความน่าจะเป็นของปริมาณแบคทีเรียที่ได้จากการประเมินโดยวิธีหลอดเจือจาง (Dilution tube technique) หรือค่าเอ็มพี - เอ็น (Most Probable Number) ในอาหาร 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตร เทียบจากหลอดที่ให้ปฏิกิริยาบวก โดย 5 หลอด มีตัวอย่างอาหารเจือจางที่ 10^{-1} จำนวน 1 มิลลิลิตร อีก 5 หลอด มีตัวอย่างอาหารเจือจางที่ 10^{-2} จำนวน 1 มิลลิลิตร และอีก 5 หลอด มีตัวอย่างอาหารเจือจางที่ 10^{-3} จำนวน 1 มิลลิลิตร

จำนวนหลอดอาหารเลี้ยงและจำนวนตัวอย่างที่เจือจางระดับต่างๆ ที่เติมในแต่ละหลอด			MPN ของแบคทีเรียต่อกรัมตัวอย่าง	จำนวนหลอดอาหารเลี้ยงและจำนวนตัวอย่างที่เจือจางระดับต่างๆ ที่เติมในแต่ละหลอด			MPN ของแบคทีเรียต่อกรัมตัวอย่าง
5 หลอดที่10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่10^{-1} จำนวน 1 มล.		5 หลอดที่10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่10^{-1} จำนวน 1 มล.	
0	0	0	0	3	0	1	11
0	0	1	2	3	0	2	13
0	0	2	4	3	1	0	11
0	1	0	2	3	1	1	14
0	1	1	4	3	1	2	17
0	1	2	6	3	3	3	20
0	2	0	4	3	2	0	14
0	2	1	6	3	2	1	17
0	3	0	6	3	2	2	20
1	0	0	2	3	3	0	17
1	0	1	4	3	3	1	21
1	0	2	6	3	4	2	21
1	0	3	8	3	4	1	24
1	1	0	4	3	5	0	25
1	1	1	6	4	0	0	13
1	1	2	6	4	0	1	17
1	2	0	6	4	0	2	21
1	2	1	8	4	0	3	25
1	2	2	10	4	1	0	17
1	3	0	8	4	0	1	21
1	3	1	10	4	1	2	26

ตารางที่ ค. 1 ตารางแมคครากี (ต่อ)

จำนวนหลอดอาหารเลี้ยงและจำนวนตัวอย่างที่เจือจางระดับต่างๆ ที่เติมในแต่ละหลอด			MPN ของแบคทีเรียต่อกรัมตัวอย่าง	จำนวนหลอดอาหารเลี้ยงและจำนวนตัวอย่างที่เจือจางระดับต่างๆ ที่เติมในแต่ละหลอด			MPN ของแบคทีเรียต่อกรัมตัวอย่าง
5 หลอดที่10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่10^{-1} จำนวน 1 มล.		5 หลอดที่10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่10^{-1} จำนวน 1 มล.	
1	4	0	11	4	2	0	22
2	0	0	5	4	2	1	26
2	0	1	7	4	2	2	32
2	0	2	9	4	3	0	27
2	0	3	12	4	3	1	33
2	1	0	7	4	3	2	39
2	1	1	9	4	4	0	34
2	1	2	12	4	4	1	40
2	2	0	9	4	5	0	41
2	2	1	12	4	5	1	48
2	2	2	14	5	0	0	23
2	3	0	12	5	0	1	31
2	3	1	14	5	3	2	43
2	4	0	15	5	4	3	58
3	0	0	8	5	4	4	76
5	1	0	33	5	4	5	253
5	1	1	46	5	4	0	130
5	1	2	63	5	4	1	172
5	1	3	64	5	4	2	221
5	2	0	49	5	5	3	278
5	2	1	70	5	5	4	345
5	2	2	94	5	5	5	246
5	2	3	120	5	5	0	240
5	2	4	148	5	5	1	348

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ตารางที่ ค. 1 ตารางแมคคราดี (ต่อ)

จำนวนหลอดอาหารเลี้ยงและจำนวนตัวอย่างที่เจือจางระดับต่างๆ ที่เติมในแต่ละหลอด			MPN ของแบคทีเรียต่อกรัมตัวอย่าง	จำนวนหลอดอาหารเลี้ยงและจำนวนตัวอย่างที่เจือจางระดับต่างๆ ที่เติมในแต่ละหลอด			MPN ของแบคทีเรียต่อกรัมตัวอย่าง
5 หลอดที่ 10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่ 10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่ 10^{-1} จำนวน 1 มล.		5 หลอดที่ 10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่ 10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่ 10^{-1} จำนวน 1 มล.	
5	2	5	177	5	5	2	542
5	3	0	79	5	5	3	920
5	3	1	109	5	5	4	1500
5	3	2	141	5	5	5	>1600
5	3	3	175				
5	3	4	212				

ที่มา : เรณู (2537)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ - นามสกุล	นางสาวรัตติกร ธเนศราภา
วัน เดือน ปี เกิด	3 พฤษภาคม 2520
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2537 สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเฉลิมขวัญสตรี จังหวัดพิษณุโลก
	พ.ศ. 2541 สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร
ทุนการศึกษา	ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากมูลนิธิโครงการหลวง ปี 2542 - 2543

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University