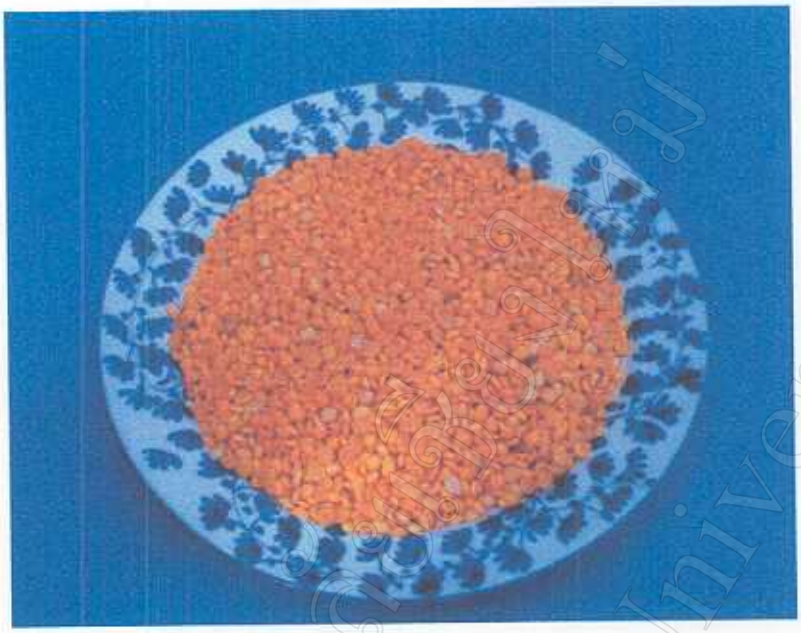
ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาคผนวก ก

ภาพส่วนผสม การเตรียมหัวเชื้อและผลิตภัณฑ์สุดท้าย

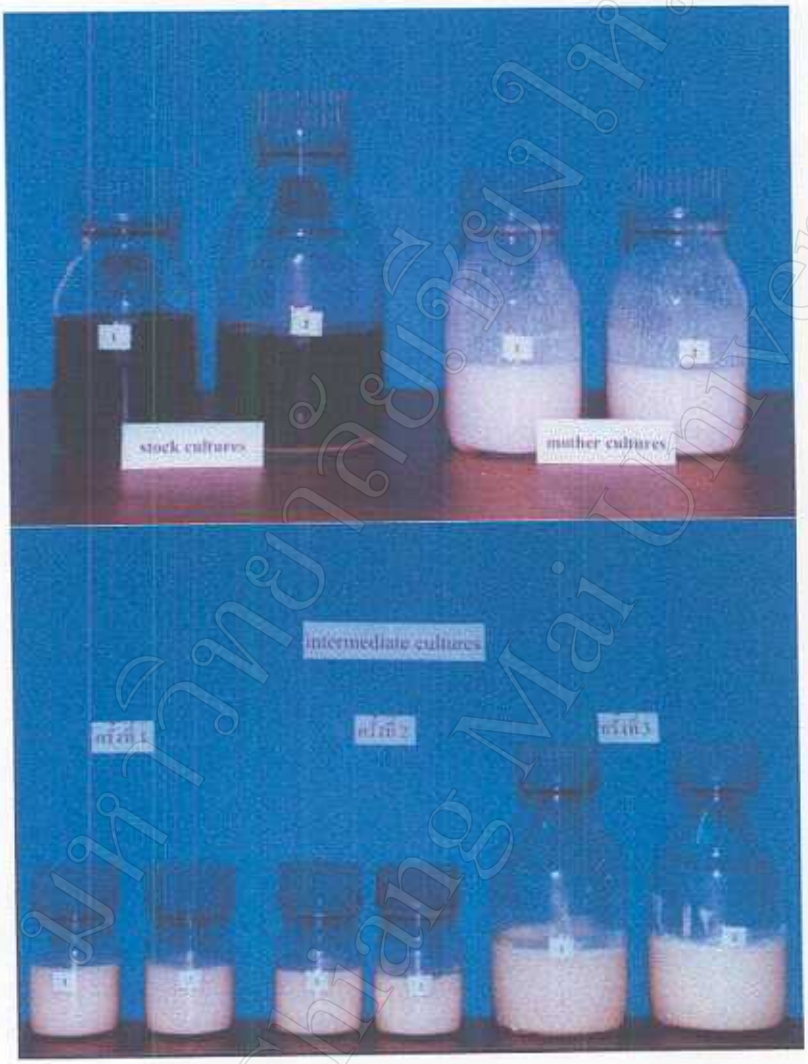
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



ภาพ ก-1 ถั่วเหลืองที่ใช้ในการทดลอง

ภาพ ก-2 ส่วนผสมแห้งที่ใช้ในการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



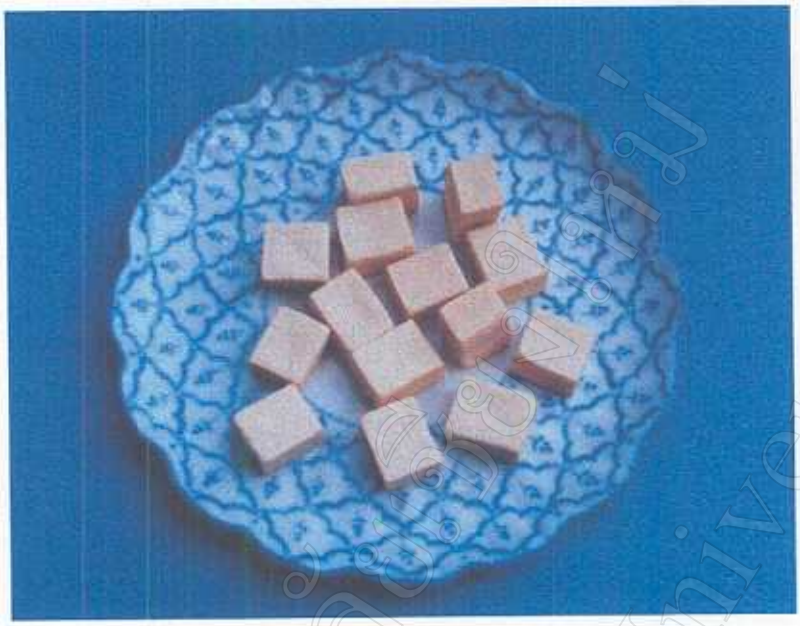
ภาพ ก-3 การเตรียมหัวเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

บน คือ หัวเชื้อขั้นแรก (Stock cultures) และหัวเชื้อหลัก (Mother cultures)

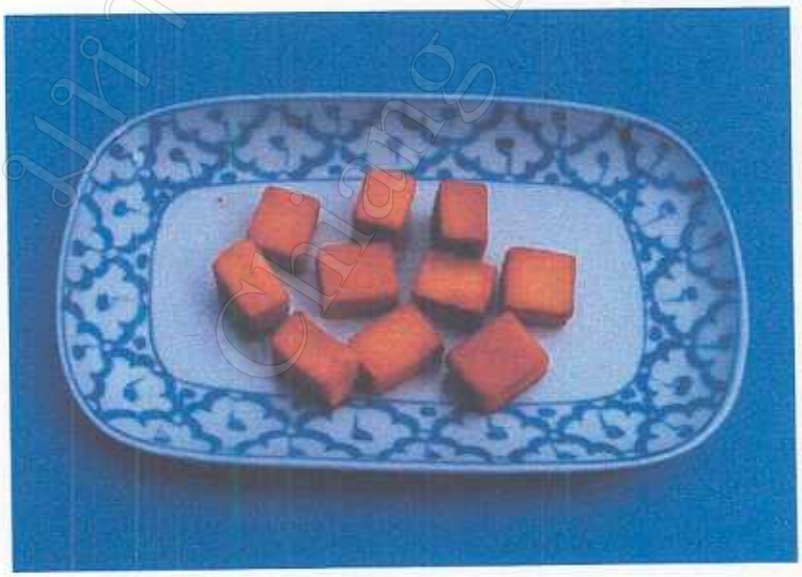
ล่าง คือ หัวเชื้อที่ใช้ในระหว่างการหมัก (Intermediate cultures)

(1) คือ เชื้อ *S. thermophilus* และ (2) คือ เชื้อ *L. fermentum*

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



ภาพ ก-4 ผลิตภัณฑ์เนยแข็งจากนมถั่วเหลือง



ภาพ ก-5 ผลิตภัณฑ์เนยแข็งจากนมถั่วเหลืองที่ทอดในน้ำมัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาคผนวก ข

อิเลคโตรโฟรีซีส

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

โพลีอะคริละไมด์เจลอิเลคโตรโฟริซีสแบบเอสดีเอส

(SDS-polyacrylamide gel electrophoresis)

เครื่องมือ/เครื่องแก้ว

-ตู้ดูดควัน
-ช้อนตักสาร
-Pasteur pipette
-แท่งแก้วคนสาร
-ชุด Suction flask
-เครื่องเหวี่ยงและ Eppendoft
-เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter)
-บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตรและ100 มิลลิลิตร
-เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่งและ 4 ตำแหน่ง
-Transfer pipette 10 100 และ1000 ไมโครลิตร
-ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 100 มิลลิลิตรและ1000 มิลลิลิตร

สารเคมีที่ใช้

-Glycine (Merck, Germany)
-Bromophenol blue (UCB, England)
-Tris (hydroxymethyl aminomethane: UCB, USA)
- 2-mercaptoethanol (Sigma Chemicals Inc., USA)
-Acrylamide (plusone® Pharmacia Biotech, Sweden)
-Sodium dodecylsulfate (Sigma Chemicals Inc., USA)
-Coomassie brilliant blue R (Sigma Chemicals Inc., USA)
-Ammonium persulfate (plusone® Pharmacia Biotech, Sweden)
-N,N′-methylene –bis acrylamide (plusone® Pharmacia Biotech, Sweden)

-N,N,N′,N′-tetramethyl ethylenediamine (TEMED: plusone® Pharmacia Biotech, Sweden)

-Methanol (Lab-scan Ltd, Ireland)

-Hydrochloric acid (Merk, Germany)

-Glycerine (Anala R® BDH Laboratory Supplies, England)

-Acetic acid (Anala R® BDH Laboratory Supplies, England)

อุปกรณ์ที่ใช้

ชุดสำหรับทำอิเลคโตรโฟรีซีส (Mighty Small Mini-Gel Unit SE 250) ประกอบด้วย

-Dual gel caster

-Transfer tank unit

-หวี (Comb) ขนาด 10 ช่อง

-Spacers ความหนา 1.00 มิลลิเมตร

-Notched alumina plates และ Rectangular glass plates 10×8 เซนติเมตร

-เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า 300v maximum (Power supply)

ภาพ ข-1 การแยกโปรตีนโดย SDS-PAGE ซึ่งประกอบด้วย
เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า (1) และชุดอิเลคโตรโฟริซิส (2)

การเตรียมสารละลายสำหรับทำอิเลคโตรโฟริซิส (ตามวิธีของLaemmli, 1970)

-Monomer solution (30.8%T, 2.7%C_{bis}) เตรียมโดยชั่ง Bisacrylamide (MW154.2) 0.08 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร นำมาผสมเข้ากับสารละลาย Acrylamide 40%T จำนวน 7.5 มิลลิลิตร จะได้ Stock acrylamide ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทำในตู้ดูดควัน

-4X Running gel buffer (1.5M Tris-HCl, pH 8.8) เตรียมโดยชั่ง Tris (MW121.1) 36.3 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 150 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 8.8 ด้วย HCl ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ครบ 200 มิลลิลิตร

-4X Stacking gel buffer (0.5M Tris-HCl, pH 6.8) เตรียมโดยชั่ง Tris (MW121.1) 3 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 6.8 ด้วย HCl ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ครบ 50 มิลลิลิตร

-10% SDS เตรียมโดยชั่ง SDS 10 กรัม ละลายน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

-10% Ammonium persulfate เตรียมโดยชั่ง Ammonium persulfate 0.1 กรัม ละลายน้ำกลั่นให้ครบ 1 มิลลิลิตร

-Sample buffer เตรียมโดยผสม Tris (MW121.1) 1.5 กรัม สารละลาย SDS ความเข้มข้น 10% จำนวน 20 มิลลิลิตร และBromophenol blue จำนวน 2 มิลลิกรัม เข้าด้วยกันในน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตรแล้วเติม Glycerine จำนวน 10 มิลลิลิตร ปรับความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 6.8 ด้วย HCl ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น เมื่อจะใช้งานให้ผสมตัวอย่างกับ Sample buffer ที่เตรียมไว้จำนวน 1 มิลลิลิตร หรือถ้าทำในสภาวะรีดิวส์ซิ่งให้ผสมตัวอย่างกับ Sample buffer 0.98 มิลลิลิตรและ 2-mercaptoethanol 20 ไมโครลิตร แล้วต้มในน้ำเดือดนาน 3 นาที

-Tank buffer (0.025 M Tris, 0.192 M Glycine, 0.1 % SDS, pH 8.3) เตรียมโดยชั่ง Tris (MW 121.1) 30.28 กรัม เติม Glycine 144.13 กรัม เติม SDS จำนวน 10 กรัม ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ครบ 10 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

-TEMED ไม่ต้องทำการเจือจาง

หมายเหตุ : (1) %T (Total monomer concentration) เป็นร้อยละโดยน้ำหนักของโมโนเมอร์ทั้งหมด (Acrylamide + Bisacrylamide)

(2) %C (Crosslinking monomer concentration) เป็นปริมาณของ Bisacrylamide จากโมโนเมอร์ทั้งหมด

(3) น้ำกลั่นที่ใช้ในการทดลองต้องนำไปไล่ออกซิเจนออกก่อนโดยใช้ Suction หรือต้มน้ำให้เดือดประมาณ 15 นาที

การเตรียมสารละลายสำหรับการย้อมเจล

-Staining solution (0.025% Coomassie brilliant blue R250, 40% Methanol, 7 % Acetic acid) เตรียมโดยชั่ง Coomassie brilliant blue R250 จำนวน 0.5 กรัม เติม Methanol ลงไป 800 มิลลิลิตร คนจนกระทั่งละลายหมด แล้วเติม Acetic acid ลงไป 140 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ครบ 2 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

-Destain solution I (40% Methanol, 7% Acetic acid) เตรียมโดยผสม Methanol จำนวน 400 มิลลิลิตรและ Acetic acid จำนวน 70 มิลลิลิตรเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ครบ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

-Destain solution II (7% Acetic acid, 5% Methanol) เตรียมโดยผสม Acetic acid จำนวน 700 มิลลิลิตรและ Methanol จำนวน 500 มิลลิลิตรเข้าด้วยกัน ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ครบ 10 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

การเตรียมตัวอย่าง

-ตัวอย่างที่เป็นของเหลวหรือกึ่งเหลว ให้ผสม Sample buffer ลงไปโดยใช้อัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยปริมาตร แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงในเครื่องเหวี่ยงด้วยความเร็ว 11,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที นำส่วนใส (Supernatant)ไปใช้งาน

-ตัวอย่างที่เป็นของแข็ง ให้ละลายด้วย Sample buffer โดยใช้ตัวอย่างประมาณ 0.003–0.010 กรัมต่อบัฟเฟอร์ 400 ไมโครลิตร แล้วหมุนเหวี่ยงตัวอย่างในเครื่องเหวี่ยงด้วยความเร็ว 11,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที นำส่วนใส (Supernatant)ไปใช้งาน

การเตรียมเจล

-สารละลาย Running gel (12.5% gel) เตรียมโดยผสม Monomer solution 4.2 มิลลิลิตร 4X Running gel buffer 2.5 มิลลิลิตร 10%SDS 0.1 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 3.2 มิลลิลิตร

Ammonium persulfate 50 ไมโครลิตรและ TEMED 3.3 ไมโครลิตร เขย่าวนเบาๆ ระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศ (เตรียมแล้วใช้ทันที)

-สารละลาย **Stacking gel** เตรียมโดยผสม Monomer solution 0.44 มิลลิลิตร 4X Stacking gel buffer 0.83 มิลลิลิตร 10%SDS 33 ไมโครลิตร น้ำกลั่น 2.03 มิลลิลิตร Ammonium persulfate 16.7 ไมโครลิตรและ TEMED 1.7 ไมโครลิตร เขย่าวนเบาๆ ระวังไม่ให้เกิดฟองอากาศ (เตรียมแล้วใช้ทันที)

วิธีการทำอิเลคโตรโฟริซิส

1.ในการเตรียมเจล 1 แผ่นจะใช้ Notched alumina กับ Glass plate อย่างละ 1 อันและ Spacer 2 อัน นำมาประกบกันให้แน่น โดยให้ Spacer คั่นขอบ 2 ข้างระหว่าง Notched alumina กับ Glass plate แล้วยึดแผ่นให้ติดกันด้วยที่หนีบ (Clamp) ขันสกูรให้แน่น ทั้งนี้แผ่นแก้วต้องสะอาดและแห้ง รวมถึงการประกอบเครื่องต้องสวมถุงมือด้วย

2. เตรียมสารละลาย Running gel แล้วใช้ Pasteur pipette ดูดเจลค่อยๆใส่ลงช่องระหว่างแผ่นแก้ว จนกระทั่งต่ำกว่า plate ด้านบนประมาณ 3 เซนติเมตร ต้องระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศและทำอย่างรวดเร็วก่อนเจลจะแข็งตัว

3.ใช้ Pasteur pipette อันใหม่ดูดน้ำกลั่นใส่ลงบริเวณใกล้ๆ Spacer เพื่อปิดหน้าเจลไม่ให้สัมผัสกับออกซิเจน ตั้งทิ้งไว้ให้เจลแข็งตัวประมาณ 1 ชั่วโมง

4. เตรียมสารละลายของ Stacking gel

5. เทน้ำที่ปิดหน้าเจลออก ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรอง

6.ใช้ Pasteur pipette ดูดเจลค่อยๆใส่ลงช่องระหว่างแผ่นแก้ว จนกระทั่งต่ำกว่าด้านบนของ glass plate ประมาณ 0.5 เซนติเมตร แล้วค่อยๆสอดหวี (Comb) ลงในชั้น Stacking gel เพื่อให้เกิดหลุม (Well) ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศในแต่ละหลุม ตั้งทิ้งไว้จนเจลแข็งตัวอย่างสมบูรณ์ (ประมาณ 1 ชั่วโมง) จากนั้นเอาหวีออก จะได้ช่องว่างสำหรับใส่ตัวอย่าง ระวังอย่าให้เจลเกิดฉีกขาด

7.วาง Well-locating decal ให้แนบกับ Glass plate เพื่อให้เห็นหลุมชัดเจนก่อนจะเติมสารตัวอย่าง แล้วเติม Tank buffer ที่เตรียมไว้ลงใน Sample well และ Upper buffer chamber เติมสารตัวอย่างปริมาณ 5-10 ไมโครลิตรโดยใช้ไมโครปิเปตค่อยๆหยอดผ่านบัฟเฟอร์ลงในช่องที่เตรียมไว้

8. คลายตัว Caster ออก เอาเจลที่เตรียมเสร็จเรียบร้อยวางลงใน Lower buffer chamber เติม Tank buffer ลงใน Lower buffer chamber ให้ท่วม Electrode

9.ใส่ Safety lid แล้วต่อขั้วไฟฟ้าลบและบวกจากเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า (Power supply) เข้ากับขั้วไฟฟ้าใน Chamber โดยให้ขั้วสีแดงต่อกับสีแดง ขั้วสีดำต่อกับสีดำ ผ่านกระแสไฟฟ้า 30 มิลลิแอมแปร์ที่ 250 โวลต์ (ต่อ 2 เจล) จนกระทั่งเห็นสีน้ำเงินของ Bromophenol blue เคลื่อนที่ถึงด้านล่างของ Plate ซึ่งใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมงต่อเจล 2 แผ่น ปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า เอาปลั๊กออกแล้วดึง Safety lid ออก

10. เทบัฟเฟอร์ออกจาก Chamber แล้วเอาที่หนีบออก ค่อยๆเอา Spacer ออกทางด้านข้าง แล้วใช้ Spatula งัดเบาๆ เอา Glass plate ออก เจลจะติดอยู่ที่ Notched alumina ให้ยกไปทั้งแผ่น แล้วค่อยๆเทลงในถาดย้อม

วิธีการย้อมสี

1.นำแผ่นเจลที่ได้จากการทำอิเลคโตรโฟริซีสวางลงใน Staining solution นาน ประมาณ 4 ชั่วโมงหรือตั้งทิ้งไว้ค้างคืน

2. เทกำจัด Staining solution ออกแล้วเติม Destaining solution I ลงไป เขย่าช้าๆ ประมาณ 30 นาที เพื่อกำจัดสีส่วนที่เกินออก

3. เทกำจัด Destaining solution I ออกแล้วเติม Destaining solution II ลงไป โดยเปลี่ยน 2 ครั้งต่อ 1 วัน จนกว่าจะเห็นแถบน้ำเงินของโปรตีนอย่างชัดเจน

4. ถ่ายรูปเก็บรักษาผลเอาไว้หรือทำการสแกนด้วยเครื่องสแกนเนอร์

ภาคผนวก ค

วิธีการวิเคราะห์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

1. วิธีการวิเคราะห์สมบัติทางจุลชีววิทยา

1.1 การตรวจหาปริมาณแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติค

เครื่องมือ/เครื่องแก้ว

-จานเพาะเชื้อ (Petri dish)

-ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร

-เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง

-ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 ± 1 °ซ

สารละลายสำหรับเจือจางและอาหารเลี้ยงเชื้อ

-สารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1% (Peptone water) (Difco Laboratory, USA)

-อาหารแข็ง MRS agar (Merck, Germany)

-สารย้อมสี (Dye solution)

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (MRS Agar)

-เปปโตนจากเคเซอีน	10 กรัม
-กลูโคส (Glucose)	20 กรัม
-Meat extract	8 กรัม
-Yeast extract	4 กรัม
-ผงวุ้น	14 กรัม
-Magnesium sulfate	0.2 กรัม
-*di*-Potassium hydrogen phosphate	2 กรัม
-*di*-Ammonium hydrogen citrate	2.0 กรัม
-Manganese sulfate	0.04 กรัม
-Tween 80	1 กรัม
-Sodium acetate	5 กรัม

ผสมส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำกลั่น 1 ลิตร กวนให้เข้ากัน ต้มจนเดือดเพื่อให้ส่วนผสมละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121°ซ นาน 15 นาที อาหารที่ได้

ควรมีความเป็นกรด-ด่าง 5.2±0.2 ก่อนใช้อาหาร MRS agarให้เติมสารย้อมสีจำนวน 4 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากัน

สารย้อมสี (Dye solution)

ละลาย Bromcresol purple 0.1 กรัมในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 M

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 ชั่งตัวอย่าง 10 กรัมผสมลงในสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1% ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 90 มิลลิลิตรเพื่อให้ได้ตัวอย่างที่มีความเจืองจาง 1:10 ปั่นผสมด้วยเครื่อง Stomacher นาน 2 นาที

1.2 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร จะได้อาหารที่เจือจาง 1:100

1.3 เจือจางส่วนผสมที่ได้ด้วยสารละลายเปปโตนจนได้ระดับความเจือจาง (Dilution) ที่เหมาะสม

2. การเพาะเชื้อและบ่มเชื้อ

2.1 ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางมา 1 มิลลิลิตรใส่ลงในจานเพาะเชื้อ โดยทำ 2 ซ้ำในแต่ละความระดับเจือจาง

2.2 เทอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar ลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็นแล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อทับลงไปบนผิวหน้าบางๆ ทิ้งไว้ให้เย็นและกลับจาน บ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37°ซ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

3. การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีในการทำซ้ำแต่ละระดับความเจือจาง รายงานผลการตรวจนับเป็นจำนวนแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติคในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (cfu/g) หรือ $\log_{10}$ของจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (log cfu/g)

1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Count) ปริมาณราและยีสต์ (Mold&Yeast) (เรณู, 2537)

เครื่องมือ/เครื่องแก้ว

- ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
- จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) อุณหภูมิ 30±1 °ซ และ 37±1 °ซ

สารละลายสำหรับเจือจางและอาหารเลี้ยงเชื้อ

- สารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1% (Peptone water) (Difco Laboratory, USA)
- อาหารแข็ง Total plate count agar (Difco Laboratory, USA)
- อาหารแข็ง Potato dextrose agar (Difco Laboratory, USA)

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count agar)

- Pancreatic digest of casein	5 กรัม
- Yeast extract	2.5 กรัม
- กลูโคส (Glucose)	1 กรัม
- ผงวุ้น (Agar)	15 กรัม

ผสมส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำกลั่น 1 ลิตร กวนให้เข้ากัน ต้มจนเดือดเพื่อให้ส่วนผสมละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 °ซ นาน 15 นาที อาหารที่ได้ควรมีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7.0 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 °ซ

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อตรวจหาเชื้อราและยีสต์ (Potato dextrose agar)

- Potato, infusion form	200 กรัม
- Dextrose	20 กรัม
- ผงวุ้น (Agar)	15 กรัม

ผสมส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำกลั่น 1 ลิตร กวนให้เข้ากัน ต้มจนเดือดเพื่อให้ส่วนผสมละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121°ซ นาน 15 นาที อาหารที่ได้

ควรมีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.6 ± 0.2 และปรับความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 3.5 เพื่อป้องกันการเจริญของแบคทีเรีย โดยใช้สารละลายกรดทาร์ทาริคเข้มข้น 10% ที่ฆ่าเชื้อ จำนวน 1.8 มิลลิลิตรต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร ทำการผสมที่อุณหภูมิ 50 °ซ

วิธีการ

1.การเตรียมตัวอย่าง

1.1 ชั่งตัวอย่าง 10 กรัมผสมลงในสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1% ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 90 มิลลิลิตรเพื่อให้ได้ตัวอย่างที่มีความเจืองจาง 1:10 ปั่นผสมด้วยเครื่อง Stomacher นาน 2 นาที

1.2 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร จะได้อาหารที่เจือจาง 1:100

1.3 เจือจางส่วนผสมที่ได้ด้วยสารละลายเปปโตนจนได้ระดับความเจือจาง (Dilution) ที่เหมาะสม

2. การเพาะเชื้อและบ่มเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อราและยีสต์

2.1 ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางมา 1 มิลลิลิตรใส่ลงในจานเพาะเชื้อ โดยทำ 2 ซ้ำในแต่ละความระดับเจือจาง

2.2 ในตัวอย่างที่ตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมด เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) ลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็นและกลับจาน นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37°ซ เป็นเวลา 48±3 ชั่วโมง

2.3 ในตัวอย่างที่ตรวจหาเชื้อราและยีสต์ เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็นและกลับจาน นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30°ซ นับเชื้อยีสต์เมื่อทำการบ่มเพาะเชื้อนาน 2 วัน ส่วนเชื้อรานับปริมาณเชื้อเมื่อทำการบ่มเพาะนาน 3-4 วัน

3. การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีในการทำซ้ำ

แต่ละระดับความเจือจาง รายงานผลการตรวจนับเป็นจำนวนหัวเชื้อในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (cfu/g) หรือ $\log_{10}$ของจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (log cfu/g)

1.3 การวิเคราะห์หาปริมาณโคลิฟอร์มและ *E. coli* (Coliform และ *Escherichia coli*) โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (Most Probable Number) (เรณู, 2537)

เครื่องมือ/เครื่องแก้ว

-ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร

-หลอดเดอแฮม (Durham tube)

-เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง

-หลอดทดลองขนาด 16×150 มิลลิเมตร

-ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) อุณหภูมิ 37 ±1 °ซ และ 44 ±1 °ซ

สารละลายสำหรับเจือจางและอาหารเลี้ยงเชื้อ

-อาหารเหลว Lauryl tryptose broth (Difco Laboratory, USA)

-สารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1% (Peptone water) (Difco Laboratory, USA)

-อาหารเหลว Brilliant green lactose bile broth (Difco Laboratory, USA)

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl tryptose broth

- Tryptose peptone	20 กรัม
- แลกโตส (Lactose)	5 กรัม
- Dipotassium phosphate	2.75 กรัม
- Monopotassium phosphate	2.75 กรัม
- โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride)	5 กรัม
- Sodium lauryl sulfate	0.1 กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร อาหารที่ได้ควรมีความเป็นกรด-ด่างที่ 6.8±0.2 บรรจุลงในหลอดแก้วหลอดละ 9 มิลลิลิตร ใส่หลอดเดอแฮมในลักษณะคว่ำลง นำไปฆ่าเชื้อภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 °ซ นาน 15 นาที

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียนกรีนแลกโตสไบล์บรอท (Brilliant green lactose bile broth)

- เปปโตนจากเนื้อ 10 กรัม
- แลกโตส (Lactose) 20 กรัม
- บริลเลียนกรีน (Brilliant green) 0.0133 กรัม
- น้ำดีวัวแห้ง 20 กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร อาหารที่ได้ควรมีความเป็นกรด-ด่างที่ 7.0±0.2 (ที่อุณหภูมิ 25°ซ) บรรจุลงในหลอดแก้วหลอดละ10 มิลลิลิตร ใส่หลอดเดอแฮมในลักษณะคว่ำลง และนำไปฆ่าเชื้อภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 °ซ นาน 15 นาที

วิธีการ

1. การตรวจแบคทีเรียที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์ม (Presumptive coliform)

1.1 ชั่งตัวอย่าง 10 กรัมผสมลงในสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1% ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 90 มิลลิลิตรเพื่อให้ได้ตัวอย่างที่มีความเจือจาง 1:10 ปั่นผสมด้วยเครื่อง Stomacher นาน 2 นาที

1.2 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร จะได้อาหารที่เจือจาง 1:100

1.3 เจือจางอาหารจนได้ความเจือจาง 1:1000

1.4 ปิเปตตัวอย่างอาหารความเจือจางที่ 1:10 1:100 และ 1:1000 ความเจือจางละ 1 มิลลิลิตรจำนวน 3 ซ้ำ ใส่ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl tryptose broth ที่มีหลอดเดอแฮมบรรจุอยู่ด้วย

1.5 นำตัวอย่างไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

1.6 หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดแล้ว ตรวจนับจำนวนหลอดทดลองที่มีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดเดอแฮม แล้วเทียบตามตารางแมคคราดี (ตาราง ค-1) รายงานผลเป็น MPN/g

2. การยืนยันโคลิฟอร์ม

ทำการยืนยันโคลิฟอร์มโดยใช้ห่วง (Loop) เขี่ยเชื้อจากหลอดที่ให้ปฏิกิริยาเป็นบวกจากการทดลองที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์มลงในอาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียนกรีนแลกโตส

ไบล์บรอท บ่มที่อุณหภูมิ 37°ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ถ้ามีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดเดอแฮมแสดงว่าเป็นโคลิฟอร์มแบคทีเรียจริง

3. การตรวจแบคทีเรียที่คาดว่าเป็น *E. coli* (Presumptive *E. coli*)

3.1 ตรวจหาแบคทีเรียที่คาดว่าจะเป็น *E. coli* โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อปลายตรงเขี่ยจากหลอดทดสอบที่ได้ผลคาดว่ามีแบคทีเรียโคลิฟอร์มลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียนกรีนแลกโตสไบล์บรอทจำนวน 10 มิลลิลิตร

3.2 บ่มหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 44.5°ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลอดที่มีแก๊สเกิดขึ้นแสดงว่าในอาหารมีแบคทีเรียคาดว่าเป็น *E. coli* ให้ทำการทดลองยืนยันต่อไป

4. การยืนยัน *E. coli*

4.1 เขี่ยเชื้อจากหลอดที่มีแบคทีเรียคาดว่าเป็น *E. coli* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้ออีโอซินเมทิลีนบูลเอการ์ บ่มจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตรวจหาโคโลนีที่เป็นลักษณะเฉพาะของ *E. coli* โดยโคโลนีจะคล้ายโคลิฟอร์มแต่มีสีเหลื่อมมันอมเขียว สะท้อนแสง

4.2 ทดสอบยืนยันเพิ่มเติมเกี่ยวกับโคลิฟอร์มและ *E. coli* โดยใช้ IMVIC test ถ้าให้ผลเป็น ++ - - และการเคลื่อนที่ให้ผลเป็น + ให้นับจำนวนจานเลี้ยงเชื้อที่เกิด *E. coli* รายงานค่าของ *E. coli* เป็น MPN/g

ตาราง ค-1 ตารางแมคคราดี (Mc Crady's Table)

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก			MPN/g
ระดับความเจือจาง 1:10	ระดับความเจือจาง 1:100	ระดับความเจือจาง 1:1000	
0	0	0	<3
0	1	0	3+
1	0	0	4
1	0	1	7+
1	1	0	7
1	2	0	11+
2	0	0	9
2	0	1	14+
2	1	0	15
2	1	1	20+
2	2	0	21
3	0	0	23
3	0	1	39
3	1	0	43
3	1	1	75
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210+
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	>1100

หมายเหตุ: ตารางแมคคราดี แสดงความน่าจะเป็นไปได้ของปริมาณโคลิฟอร์มที่ได้จากการประเมินโดยวิธี MPN ในอาหาร 1 กรัม เทียบจากหลอดที่ให้ผลบวก โดย 3 หลอดมีตัวอย่างอาหารเจือจางที่ 1:10 จำนวน 1 มิลลิลิตร อีก 3 หลอดมีตัวอย่างอาหารเจือจางที่ 1:100 จำนวน 1 มิลลิลิตรและอีก 3 หลอดมีตัวอย่างอาหารเจือจางที่ 1:1000 จำนวน 1 มิลลิลิตร

ที่มา: Vanderzant and Splittstoesser (1992)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

2.วิธีการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

2.1 ค่าสี ในระบบฮันเตอร์ (Hunter values; color-L a b)

ค่าสีในระบบฮันเตอร์มีค่า L เป็นค่าความสว่าง (Brightness) มีค่าตั้งแต่ 0-100 ถ้าค่า L น้อย ตัวอย่างมีความสว่างน้อย ถ้าค่า L มาก ตัวอย่างมีความสว่างมาก ค่า a เป็นค่าสีแดง-เขียว ถ้าค่า a มีค่าเป็นบวก ตัวอย่างจะมีโทนสีแดง ถ้าค่า a มีค่าเป็นลบ ตัวอย่างจะมีโทนสีเขียว ค่า b เป็นค่าสีเหลือง-น้ำเงิน ถ้าค่า b มีค่าเป็นบวก ตัวอย่างจะมีโทนสีเหลือง ถ้าค่า b มีค่าเป็นลบ ตัวอย่างจะมีโทนสีน้ำเงิน การวัดจะนำเอาตัวอย่างมาบดให้ละเอียด จากนั้นใส่ลงในภาชนะสำหรับการวัดสีของเครื่องวัดสี (ColorQuest II) ทำการวัดทั้งหมด 10 ค่าต่อตัวอย่าง ซึ่งเครื่องวัดสีจะต้องสอบเทียบ (Calibrate) ทุกครั้ง ทำโดยเลือกการวัดสีแบบสะท้อนแสง (R-sin) แล้วปรับค่ามาตรฐาน (Standardize) โดยใช้แผ่นสีขาวมาตรฐาน (X=81.17 Y=86.12 Z=91.78) กับแผ่นสีเทามาตรฐาน (X=48.58 Y=51.74 Z=54.10) ตามลำดับ

2.2 ค่าแรงเจาะทะลุ (Penetration force; Newtons)

นำตัวอย่างขนาด 2×2×1 เซนติเมตร (กว้าง×ยาว×หนา) มาวัดค่าแรงเจาะทะลุ จำนวน 10 ครั้งต่อตัวอย่าง โดยใช้เครื่องวัดลักษณะอาหาร (“ *Instron*” Model 5565) Probe ที่ใช้เป็น Plunger ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 เซนติเมตร กำหนดค่า Full scale load = 100 นิวตัน และ Crosshead speed = 20 มิลลิเมตรต่อนาที

3.วิธีการวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าทั้งหมด (Total ash) (AOAC, 1995)

อุปกรณ์ที่ใช้

-จานแพลตินั่ม

-ตะเกียงบุนเซ่น

-เตาเผา (Muffle Furnace)

-โถแก้วดูดความชื้น (Desiccator)

วิธีการ

ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียด 3-5 กรัม ใส่ในจานแพลตินั่มที่ผ่านการเผาและชั่งหาน้ำหนักที่แน่นอน นำไปเผาโดยใช้ตะเกียงบุนเซ่นจนไม่มีควันดำเกิดขึ้น จากนั้นนำไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550°ซ จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว ทำให้เย็นลงในโถแก้วดูดความชื้นแล้วชั่งหาน้ำหนัก คำนวณหาปริมาณเถ้าทั้งหมด (%)

วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้าทั้งหมด (\%)} = \frac{W1 - W2}{W3 - W2} \times 100$$

เมื่อ W1 เป็นน้ำหนักของจานแพลตินั่มและตัวอย่างหลังการเผา (กรัม)

W2 เป็นน้ำหนักของจานแพลตินั่ม (กรัม)

W3 เป็นน้ำหนักของจานแพลตินั่มและตัวอย่างก่อนการเผา (กรัม)

3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (Moisture content) (AOAC, 1995)

อุปกรณ์ที่ใช้

-จานโลหะ (Moisture can)

-โถแก้วดูดความชื้น (Desiccator)

-ตู้อบลมร้อนสำหรับหาความชื้น (Hot air oven)

วิธีการ

ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียด 2-3 กรัม ใส่ในจานโลหะที่มีฝาปิดซึ่งผ่านการอบแห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว นำตัวอย่างไปอบทิ้งค้างคืนในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 °ซ ปล่อยให้เย็นลงในโถแก้วดูดความชื้น แล้วชั่งหาน้ำหนักที่หายไปและทำการอบซ้ำจนได้น้ำหนักที่คงที่ คำนวณหาปริมาณความชื้น (%) ได้ดังนี้

วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด (\%)} = \frac{W1 - W2}{W3 - W2} \times 100$$

เมื่อ W1 เป็นน้ำหนักของจานโลหะและตัวอย่างหลังการเผา (กรัม)

W2 เป็นน้ำหนักของจานโลหะ (กรัม)

W3 เป็นน้ำหนักของจานโลหะและตัวอย่างก่อนการเผา (กรัม)

ปริมาณความชื้น (%) = 100 - %ปริมาณของแข็งทั้งหมด

3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณเกลือ (ตามวิธีของ Volhard) (Pearson, 1976)

สารเคมีที่ใช้

-ไนโตรเบนซิน

-กรดไนตริคเข้มข้น

-สารละลายเงินไนเตรตความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์

-สารละลายอิ่มตัวของแอมโมเนียมเฟอริคซัลเฟต

-สารละลายโปแตสเซียมไธโอไซยาเนตความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์

วิธีการ

ชั่งตัวอย่างจำนวน 5 กรัมใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 10 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายเงินไนเตรตความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ใส่ลงไป 25 มิลลิลิตร เติมกรดไนตริคเข้มข้นลงไป 10 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปต้มนานประมาณ 10 นาที จนกระทั่งสารละลายในฟลาสก์มีสีเหลืองอ่อนปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่นลงไป 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายอิ่มตัวของแอมโมเนียมเฟอริคซัลเฟตลงไป 5 มิลลิลิตรและหยดไนโตรเบนซินลงไป 2-3 หยด เขย่าให้ผสมกัน

นำสารละลายทั้งหมดไปไตเตรตหาปริมาณเงินไนเตรตที่มากเกินพอด้วยสารละลายโปแตสเซียมไธโอไซยาเนตความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ จนกระทั่งได้สีน้ำตาลแดงที่อยู่นานเกิน 15 วินาที ทำ Blank ควบคู่กันไปด้วยโดยไตเตรตเฉพาะสารเคมีที่ใช้ทั้งหมด คำนวณหาผลต่างของการไตเตรชั่นระหว่าง Blank และตัวอย่าง คำนวณหาปริมาณเกลือในตัวอย่าง (%)

วิธีการคำนวณ

1 มิลลิลิตรของสารละลายเงินไนเตรตความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ทำปฏิกิริยาสมมูลย์พอดีกับเกลือแกง 0.005844 กรัม

$$\text{ปริมาณเกลือ} = \frac{(\text{ผลต่างของการไตเตรตระหว่าง Blank และตัวอย่าง}) \times 0.005844 \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้}}$$

3.4 การหาความเป็นกรด-ด่าง (Final pH) (AOAC, 1995)

อุปกรณ์ที่ใช้

-เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter)

วิธีการ

ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดจำนวน 10 กรัม ผสมเข้ากับน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างโดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (“*Hanna*” Model HI 9321) ซึ่งได้มีการปรับค่ามาตรฐานด้วยสารละลายมาตรฐานที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.00 และ 4.00 ตามลำดับ การวัดทำโดยใช้ Glass electrode จุ่มลงในสารละลายตัวอย่างแล้วอ่านค่าที่ได้ออกมา

3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด (Total titrable acidity, %) (AOAC, 1995)

สารเคมีที่ใช้

-สารละลายฟีนอล์ฟธาลีน

-สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์

วิธีการ

ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดจำนวน 10 กรัม ผสมเข้ากับน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman NO.4 ปิเปตสารละลายที่กรองได้จำนวน 25 มิลลิลิตรมาไตเตรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ที่ผ่านการ Standardized กับสารละลายโปแตสเซียมไฮโดรเจนธาเลต (KHP) โดยมีสารละลายฟีนอล์ฟธาลีนเป็นอินดิเคเตอร์จนได้จุดยุติเป็นสีชมพูอ่อนๆที่คงตัวอย่างน้อย 30 วินาที คำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแลกติค

วิธีการคำนวณ

1 มิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ทำปฏิกิริยาสมมูลย์พอดีกับกรดแลกติค 0.009 กรัม

3.6 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (Pearson, 1976)

อุปกรณ์ที่ใช้

-Kjeldahl digestion apparatus

-Markham Semi–micro Kjeldahl distillation apparatus

สารเคมีที่ใช้

-กรดกำมะถันเข้มข้น

-สารละลายบอริกความเข้มข้น 2 %

-สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 50%

-สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์

-สารละลายเมธิลเรดประกอบด้วยโบรโมครีซอลกรีนเมธิลออเร้นจ์ 0.083% และเมธิลเรด 0.016% ในเอทิลแอลกอฮอล์

-คะตะลิสต์ผสม (Catalyst mixture) ประกอบด้วยโซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ 96% คอปเปอร์ซัลเฟต 3.5% และเซเลเนี่ยมไดออกไซด์ 0.5%

วิธีการ

ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียด 1-2 กรัม ใส่ลงใน Kjeldahl digestion flask เติมคะตะลิสต์ผสมลงไป 8 กรัม และกรดกำมะถันเข้มข้น 20 มิลลิลิตร นำไปย่อยจนได้ส่วนผสมเป็นของเหลวใส (ประมาณ 2 ชั่วโมง) ทิ้งไว้ให้เย็น (ทำ Blank ควบคู่ไปด้วยโดยย่อยเฉพาะคะตะลิสต์ผสมและกรด) นำของเหลวที่ได้ไปปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร แล้วปิเปตสารละลายที่ได้มา 10 มิลลิลิตร นำไปเทลงในส่วนที่ใช้สำหรับกลั่นของเครื่อง Markham Semi –micro Kjeldahl distillation เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 50% ลงไป 15 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกแก้ว กลั่นไนโตรเจนในรูปแอมโมเนีย โดยใช้ Steam Distillation ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตรที่มีสารละลายบอริกความเข้มข้น 2% จำนวน 10 มิลลิลิตรและเมธิลเรดอินดิเคตอร์ 2-3 หยด กลั่นนาน 10-15 นาที แล้วล้างปลายคอนเดนเซอร์ด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย นำของเหลวที่กลั่นได้ทั้งหมดไปไตเตรตกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ บันทึกปริมาตรกรดที่ใช้เพื่อนำไปคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนในอาหารตัวอย่าง

วิธีการคำนวณ

1 มิลลิลิตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ทำปฏิกิริยาสมมูลย์พอดีกับไนโตรเจน 0.0014 กรัม

ปริมาณโปรตีน = ปริมาณไนโตรเจน × 5.71

3.7 การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (Fat content) (Pearson, 1976)

อุปกรณ์ที่ใช้

-ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

-โถแก้วดูดความชื้น (Desiccator)

-ชุดเครื่องวิเคราะห์ไขมัน (Soxlet extraction apparatus)

สารเคมีที่ใช้

-ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether)

วิธีการ

นำตัวอย่างที่ผ่านการหาปริมาณความชื้นแล้วมาสกัดหาปริมาณไขมันด้วยชุดเครื่องวิเคราะห์ไขมัน ("*Soxtec*" avanti 2050) โดยนำของแข็งใส่ใน Thimble ปิดด้วยสำลีที่สกัดเอาไขมันออกแล้ว นำ Thimble ไปใส่ใน Extraction unit ของเครื่องวิเคราะห์ไขมัน นำภาชนะโลหะ (Can) ที่ผ่านการอบและทราบน้ำหนักแน่นอนต่อเข้ากับ Extraction unit และเปิด Condenser เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงไปให้มีปริมาณเพียงพอที่จะให้เกิดการสกัดอย่างสมบูรณ์ (ประมาณ 45 มิลลิลิตรต่อตัวอย่าง) จากนั้นเริ่มสกัดที่อุณหภูมิ 135 °ซ จนครบเวลา 110 นาที หยุดการสกัด แยกภาชนะโลหะและ Thimble ที่ใส่ของแข็งออกจาก Extractor นำเอาภาชนะโลหะไประเหยเอาตัวทำละลายออกในตู้อบที่ 100 °ซ นานประมาณ 45 นาที ปล่อยทิ้งให้เย็นในโถแก้วดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก คำนวณหาปริมาณไขมันโดยคิดเทียบน้ำหนักแห้งดังนี้

วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{W1 - W2}{W3} \times 100$$

เมื่อ W1 เป็นน้ำหนักภาชนะโลหะและไขมันที่สกัดได้หลังอบแห้ง (กรัม)

W2 เป็นน้ำหนักภาชนะโลหะ (กรัม)

W3 เป็นน้ำหนักตัวอย่างที่ผ่านการหาความชื้นแล้ว (กรัม)

3. วิธีการทดสอบด้านประสาทสัมผัส

1. การทดสอบความชอบด้านความเค็ม (Preference test)

ให้ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกฝน ทำการทดสอบความชอบด้านรสเค็มระหว่างผลิตภัณฑ์ โดยใช้แบบทดสอบ Hedonic scale scoring test ในสเกลความชอบ 9 จุด แสดงในภาพ ค-1 ซึ่งจะทำการแปรระดับความรู้สึกของผู้ทดสอบเป็นตัวเลข เช่น ชอบมากที่สุดมีคะแนนเป็น 9 และไม่ชอบมากที่สุดมีคะแนนเป็น 1

2. การทดสอบความแตกต่างด้านความแน่นเนื้อ (Difference test)

ให้ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกฝน ทำการทดสอบความแตกต่างด้านความแน่นเนื้อ ระหว่างผลิตภัณฑ์ โดยใช้แบบทดสอบ Hedonic scale scoring test ในสเกลความแตกต่าง 6 จุด แสดงในภาพ ค-2 ซึ่งจะทำการแปรระดับสเกลของผู้ทดสอบเป็นตัวเลข เช่น ดีที่สุดมีคะแนนเป็น 1 และไม่ดีมากมีคะแนนเป็น 6

3. การทดสอบในเชิงพรรณนา (Descriptive test)

ใช้แบบทดสอบ Structured scaling ซึ่งมีสเกลเป็นเส้นตรงในแนวนอนความยาว 12 เซนติเมตร ที่ปลายแต่ละข้างและจุดกึ่งกลางภายในเส้นมีคำศัพท์ที่ต้องการบ่งบอกถึงลักษณะของผลิตภัณฑ์วางไว้เพื่ออธิบายลักษณะนั้นจากความเข้มหนึ่งไปยังอีกความเข้มหนึ่ง ตัวอย่างแบบทดสอบที่ใช้แสดงดังภาพ ค-3 สำหรับการหาคำศัพท์ต้องให้สัมพันธ์กับผลิตภัณฑ์นั้นๆ โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนมาเป็นอย่างดี ทำการทดสอบผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้ผลิตขึ้นแล้วจำแนกลักษณะต่างๆของผลิตภัณฑ์ตั้งแต่ลักษณะปรากฏ กลิ่นและรสชาติ ตลอดจนลักษณะเนื้อสัมผัส จากนั้นให้ผู้ทดสอบอธิบายลักษณะของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวไปตามคุณสมบัติต่างๆ ให้ได้มากที่สุดเท่าที่ผู้ทดสอบจะบอกได้โดยอิสระ ซึ่งลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ผู้ทดสอบให้ความสนใจได้แก่

<u>ลักษณะปรากฏ</u>

- สี คือ สีของเนื้อผลิตภัณฑ์ซึ่งมีสีขาว สีเหลืองจนถึงสีน้ำตาล
- ความเป็นเนื้อเดียวกัน คือ ลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่สังเกตได้ด้วยสายตาว่ามีความหยาบหรือเนียนเป็นเนื้อเดียวกัน

กลิ่นและรสชาติ

- กลิ่นถั่วเหลือง คือ กลิ่นของถั่วเหลืองที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์
- กลิ่นเปรี้ยว คือ กลิ่นของสารให้กลิ่นจากการหมักของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติค
- รสเค็ม คือ รสเค็มของเกลือที่เติมลงในผลิตภัณฑ์
- รสเปรี้ยว คือ รสเปรี้ยวที่เกิดจากการหมักน้ำตาลของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติคให้เป็นกรด
- ความเฝื่อนคือ ความรู้สึกแห้งในปากที่สัมผัสได้ขณะที่ผลิตภัณฑ์อยู่ในปาก

ลักษณะเนื้อสัมผัส

- ความแน่นเนื้อ คือ ลักษณะเนื้อสัมผัสที่รู้สึกได้ เมื่อผลิตภัณฑ์เข้าปากและถูกเคี้ยวว่าเนื้อแน่นมากน้อยเพียงใด

การยอมรับโดยรวม คือ การยอมรับลักษณะทางประสาทสัมผัสโดยรวมๆ ของผลิตภัณฑ์

ในการทดสอบผู้ทดสอบทุกคนได้รับการอธิบายให้มีความเข้าใจตรงกันถึงการประเมินค่าคุณลักษณะต่างๆของผลิตภัณฑ์ก่อน แล้วจึงทำการประเมินคุณลักษณะต่างๆ (Attributes) ของผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้ผู้ทดสอบแต่ละคนต้องดำเนินการประเมินด้วยตนเองด้วยการทำเครื่องหมายลงบนสเกลในตำแหน่งที่ตรงกับความรู้สึกหรือความเข้มข้นมากน้อยที่ผู้ทดสอบชิมรู้สึกได้ เมื่อเสร็จสิ้นการทดสอบนำผลมาประเมินเป็นคะแนน

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

HEDONIC SCALE SCORING TEST

(PREFERENCE TEST)

ชื่อ.....วันที่.....

คำชี้แจง โปรดทำการประเมินตัวอย่างต่อไปนี้ ในด้านรสเค็ม และให้ระดับความชอบและไม่ชอบต่อผลิตภัณฑ์แต่ละตัวอย่าง ใช้สเกลที่เหมาะสมเพื่อแสดงให้เห็นว่าท่านรู้สึกชอบและไม่ชอบระดับใด โปรดให้เหตุผลในการอธิบายความรู้สึกของท่านด้วย

	ผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง			
ระดับความชอบ	576	121	896	255
ชอบมากที่สุด	.....	.....	.....	.....
ชอบมาก	.....	.....	.....	.....
ชอบปานกลาง	.....	.....	.....	.....
ชอบเล็กน้อย	.....	.....	.....	.....
เฉยๆ	.....	.....	.....	.....
ไม่ชอบเล็กน้อย	.....	.....	.....	.....
ไม่ชอบปานกลาง	.....	.....	.....	.....
ไม่ชอบมาก	.....	.....	.....	.....
ไม่ชอบมากที่สุด	.....	.....	.....	.....

เหตุผลของความชอบหรือไม่ชอบผลิตภัณฑ์

576.....

121.....

896.....

255.....

ภาพ ค-1 แบบทดสอบความชอบ โดยวิธี Hedonic scale scoring test

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

HEDONIC SCALE SCORING TEST

(DIFFERENCE TEST)

ชื่อ.....วันที่.....

คำชี้แจง โปรดทำการประเมินตัวอย่างต่อไปนี้ ในด้านความแน่นเนื้อ (Firmness) และให้ระดับที่เหมาะสมของสเกล เพื่อแสดงถึงการประเมินของท่าน

โปรดทำเครื่องหมายที่แสดงจุดที่สามารถอธิบายได้ดีที่สุดในความรู้สึกของท่านเกี่ยวกับความแน่นเนื้อ และโปรดให้เหตุผลในการอธิบายความรู้สึกของท่านด้วย

	ผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง			
ระดับความชอบ	418	053	311	265
ดีที่สุด	.....	.....	.....	.....
ดีมาก	.....	.....	.....	.....
ดี	.....	.....	.....	.....
ปานกลาง	.....	.....	.....	.....
ไม่ดี	.....	.....	.....	.....
ไม่ดีมาก	.....	.....	.....	.....

เหตุผล

418.....

053.....

311.....

265.....

ภาพ ค-2 แบบทดสอบความแตกต่าง โดยวิธี Hedonic scale scoring test

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

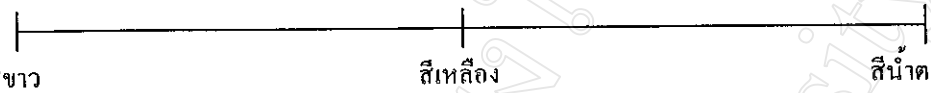
แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส (Structured scale)

ชื่อผลิตภัณฑ์ **soy cheese/ fried soy cheese**

ชื่อ ..... **วันที่** .....

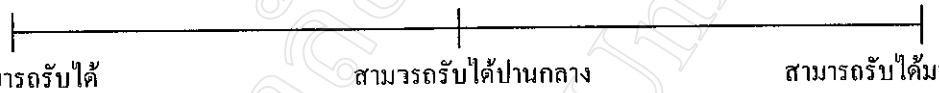
คำชี้แจง ขอให้ท่านโปรดทำการประเมินตัวอย่างที่ท่านได้รับ โดยทำเครื่องหมาย I ในตำแหน่งที่ท่านเห็นว่าเหมาะสมกับลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ท่านกำลังทดสอบชิม

1. สีของผลิตภัณฑ์

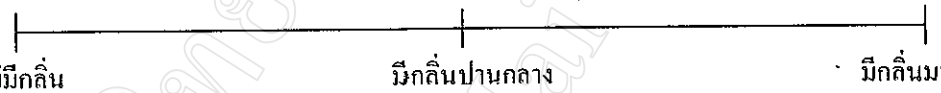


2. ความเป็นเนื้อเดียวกัน

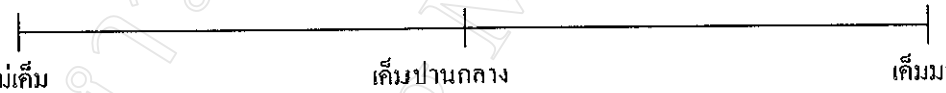
3. กลิ่นถั่วเหลือง



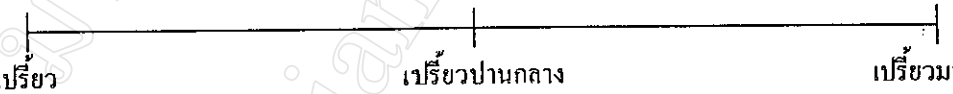
4. กลิ่นเปรี้ยว



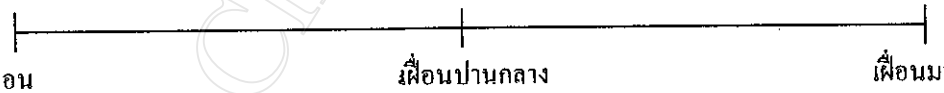
5. รสเค็ม



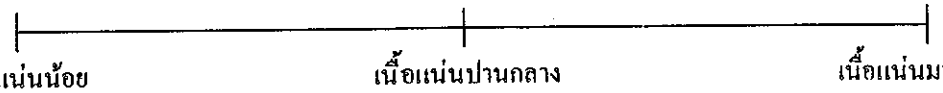
6. รสเปรี้ยว



7. ความเฝื่อน



8. ลักษณะเนื้อสัมผัส



9. การยอมรับรวม

ภาพ ค-3 แบบทดสอบในเชิงพรรณนา โดยใช้ Structured scale

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาคผนวก ง

ผลการวิเคราะห์สมบัติของถั่วเหลือง นมถั่วเหลืองและหัวเชื้อเริ่มต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ตาราง ง-1 ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของถั่วเหลือง

ส่วนประกอบทางเคมี	ผลวิเคราะห์
ปริมาณความชื้น (%)	7.54±0.06*
ปริมาณโปรตีน (%)	47.72±1.26
ปริมาณเถ้า (%)	5.19±0.12

หมายเหตุ: * หมายถึง ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง ง-2 ผลการวิเคราะห์สมบัติของนมถั่วเหลือง

สมบัติ	ผลวิเคราะห์
ค่าสี L	69.84±2.64*
ค่าสี a	-1.71±0.06
ค่าสี b	9.30±041
ปริมาณน้ำ (%)	95.62±0.01
ปริมาณไขมัน (%)	0.97±0.32
ปริมาณโปรตีน (N×5.71, %)	2.79±0.51
ปริมาณเถ้า (%)	0.26±0.08

หมายเหตุ: * หมายถึง ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตาราง ง-3 ผลการวิเคราะห์สมบัติของหัวเชื้อเริ่มต้น

เชื้อ	ความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแลกติค (%)	ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น(cfu/ml)
L. fermentum	4.15±0.05*	0.46±0.01	1.51×10^{7}
S. thermophilus	4.30±0.04	0.36±0.02	6.60×10^{6}

หมายเหตุ * หมายถึง ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ภาคผนวก จ

การเจริญของหัวเชื้อในนมถั่วเหลือง

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ตาราง จ-1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด ความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณหัวเชื้อทั้งหมด ในระหว่างการหมักนมถั่วเหลืองที่เติมไฮโดรคอลลอยด์ที่ 37 °ซ 24 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดทั้งหมด ในรูปกรดแลกติค(%)	ความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณหัวเชื้อทั้งหมด (cfu/ml)
0	0.032	6.66	4.47×10^{5}
4	0.140	5.20	2.09×10^{6}
8	0.153	5.17	1.91×10^{8}
12	0.207	4.70	1.70×10^{8}
16	0.320	4.55	1.17×10^{8}
20	0.324	4.55	2.09×10^{8}
22	0.351	4.49	1.91×10^{8}
24	0.378	4.43	2.19×10^{8}

ตาราง จ-2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด ความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณหัวเชื้อทั้งหมด ในระหว่างการหมักนมถั่วเหลืองที่ไม่เติมไฮโดรคอลลอยด์ที่ 37 °ซ 24 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดทั้งหมด ในรูปกรดแลกติค(%)	ความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณหัวเชื้อทั้งหมด (cfu/ml)
0	0.045	6.61	2.75×10^{6}
4	0.126	5.72	1.70×10^{8}
8	0.171	4.92	1.23×10^{8}
12	0.315	4.60	1.66×10^{8}
16	0.374	4.52	1.51×10^{8}
20	0.367	4.49	1.44×10^{8}
22	0.432	4.43	1.17×10^{8}
24	0.473	4.40	1.91×10^{8}

ภาคผนวก ฉ

ตัวอย่างการคำนวณ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ตัวอย่างจากตอนที่ 4.1 การศึกษาผลของโลดัสต์บีนกัมและคาร์ราจีแนนต่อค่าแรงเจาะทะลุ โดยที่แต่ละปัจจัยมีการผันแปร 3 ระดับ จัดสิ่งทดลองแบบ 3×3 Factorial

การวิเคราะห์ Multiple linear regression (โดยใช้ SX 4.0)

ทำการป้อนข้อมูล โดยสร้างตัวแปรให้ครบจำนวนและป้อนในแนวคอลัมน์ ระดับของตัวแปรต่างๆจะใช้รหัส (Coded) แทนและสร้างตัวแปรสำหรับกำลังสอง ซึ่ง L2 แทน L^2, C2 แทน C^2 และ CL แทน C×L ดังนี้

	TRT	REP	C	L	FORCE	CL	L2	C2
1	1	1	-1	-1	6.96	1	1	1
2	1	2	-1	-1	6.84	1	1	1
3	2	1	0	-1	9.48	0	1	0
4	2	2	0	-1	10.88	0	1	0
5	3	1	1	-1	9.12	-1	1	1
6	3	2	1	-1	11.43	-1	1	1
7	4	1	-1	0	6.28	0	0	1
8	4	2	-1	0	7.77	0	0	1
9	5	1	0	0	11.59	0	0	0
10	5	2	0	0	12.81	0	0	0
11	6	1	1	0	10.31	0	0	1
12	6	2	1	0	10.23	0	0	1
13	7	1	-1	1	9.39	-1	1	1
14	7	2	-1	1	7.61	-1	1	1
15	8	1	0	1	12.22	0	1	0
16	8	2	0	1	14.38	0	1	0
17	9	1	1	1	17.71	1	1	1
18	9	2	1	1	15.94	1	1	1

หมายเหตุ: ให้ L แทน โลดัสต์บีนกัม; C แทน คาร์ราจีแนน
Rep หมายถึง ซ้ำที่; Trt หมายถึง สิ่งทดลองที่

ในการวิเคราะห์ผลเลือกเมนู Linear Models \ Linear Regression... เลือกตัวแปรตามและตัวแปรอิสระ ได้ผลการวิเคราะห์ดังนี้

UNWEIGHTED LEAST SQUARES LINEAR REGRESSION OF FORCE

PREDICTOR VARIABLES	COEFFICIENT	STD ERROR	STUDENT'S T	P	VIF
CONSTANT	11.1167	0.70398	15.79	0.0000	
L2	1.16500	0.66785	1.74	0.1066	1.0
L	1.87833	0.38559	4.87	0.0004	1.0
C2	-1.1927	0.66785	-2.89	0.0137	1.0
C	2.49083	0.38559	6.46	0.0000	1.0
CL	1.23750	0.47224	2.62	0.0224	1.0

R-SQUARED	0.8746	RESID. MEAN SQUARE (MSE)	1.78412
ADJUSTED R-SQUARED	0.8224	STANDARD DEVIATION	1.33571

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
REGRESSION	5	149.330	29.8660	16.74	0.0000
RESIDUAL	12	21.4094	1.78412		
TOTAL	17	170.739			

CASES INCLUDED 18 MISSING CASES 0

จากผลการวิเคราะห์ (สังเกตจากตาราง ANOVA) พบว่า ค่า P ของตัวแปร L2 ไม่มีนัยสำคัญ คือ มีค่า P>0.05 จึงให้นำตัวแปร L2 ออกจากตัวแปรอิสระและทำการวิเคราะห์เหมือนเดิม จะได้ค่า R^2 จากเฉพาะตัวแปร C, L, CL และ C2 ซึ่งผลการวิเคราะห์แสดงดังนี้

UNWEIGHTED LEAST SQUARES LINEAR REGRESSION OF FORCE

PREDICTOR VARIABLES	COEFFICIENT	STD ERROR	STUDENT'S T	P	VIF
CONSTANT	11.8933	0.58658	20.28	0.0000	
L	1.87833	0.41478	4.53	0.0006	1.0
C2	-1.1927	0.71842	-2.68	0.0188	1.0
C	2.49083	0.41478	6.01	0.0000	1.0
CL	1.23750	0.50800	2.44	0.0300	1.0

R-SQUARED 0.8428 RESID. MEAN SQUARE (MSE) 2.06449

ADJUSTED R-SQUARED 0.7944 STANDARD DEVIATION 1.43683

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
REGRESSION	4	143.901	35.9752	17.43	0.0000
RESIDUAL	13	26.8383	2.06449		
TOTAL	17	170.739			

CASES INCLUDED 18 MISSING CASES 0

ดังนั้นสมการถดถอยที่ได้จากการวิเคราะห์ คือ

แรงเจาะทะลุ (Force) $= 11.893 + 1.878\,(L) + 2.491\,(C) - 1.193\,(C)^2 + 1.238\,(C)\,(L)$

สมการที่ได้ต้องนำไปถอดรหัสก่อนจะนำไปแทนค่าระดับของตัวแปร โดยมีสูตรคำนวณการถอดรหัส ดังนี้

$$\text{ตัวแปรที่ยังไม่ได้ถอดรหัส} = \frac{\text{ตัวแปรเดิม}-(\text{ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น}+\text{ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น})/2}{(\text{ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น}-\text{ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น})/2}$$

ระดับของโลคัสต์บีนกัมที่ระดับสูง (+1) = 0.15% ระดับต่ำ (-1) = 0%

(ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น+ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น)/2 = 0.075

(ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น-ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น)/2 = 0.075

ระดับของคาร์ราจีแนนที่ระดับสูง (+1) = 0.2% ระดับต่ำ (-1) = 0%

(ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น+ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น)/2 = 0.1

(ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น-ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น)/2 = 0.1

แทนค่าตามสูตรการถอดรหัส

$$11.893 + 1.878\left(\frac{L - 0.075}{0.075}\right) + 2.491\left(\frac{C - 0.10}{0.10}\right) - 1.193\left(\frac{C - 0.10}{0.10}\right)\left(\frac{C - 0.10}{0.10}\right) + 1.238\left(\frac{C - 0.10}{0.10}\right)\left(\frac{L - 0.075}{0.075}\right)$$

ตัวแปรเดิมในสมการต้องคงรูปไว้ในรูปตัวแปรก่อน แก้สมการให้อยู่ในรูปที่ง่ายได้ดังนี้

ค่าแรงเจาะทะลุ = $7.569 + 36.388\,(C) - 119.275\,(C)^2 + 8.544\,(L) + 165\,(C)\,(L)$

จากนั้นแทนค่าระดับการใช้จริง (ค่าจริง) ของตัวแปรทั้งสองเข้าไป คือ f = (L, C)

f (0, 0) = 7.569	f (0.075, 0) = 8.210	f (0.15, 0) = 8.851
f (0, 0.1) = 10.015	f (0.075, 0.1) = 11.893	f (0.15, 0.1) = 13.772
f (0, 0.2) = 10.076	f (0.075, 0.2) = 13.191	f (0.15, 0.2) = 16.307

ภาคผนวก ช

คำอธิบายศัพท์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

คำอธิบายศัพท์

กรดแลกติค (Lactic acid) กรดอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่เกิดจากการสลายตัวของน้ำตาลในสภาวะที่ไม่มีอากาศ ทำให้โปรตีนตกตะกอน มีกลิ่นและรสของนมเปรี้ยว

การหมัก (Fermentation) กระบวนการเมตาบอลิซึมซึ่งเกิดภายใต้สภาวะที่มีคาร์บอนและปราศจากออกซิเจน

เจล (Gel) ลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลวคล้ายวุ้น

เนยแข็งจากนมถั่วเหลือง (Soy cheese) ผลิตภัณฑ์จากนมถั่วเหลืองที่เกิดจากการตกตะกอนโปรตีนถั่วเหลืองโดยกรดแลกติคซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ จากนั้นนำมาผสมเกลือโดยไม่มีการบ่ม มีลักษณะคล้ายเต้าหู้แข็ง

พีเอช (pH) เป็นคำย่อที่ใช้บอกค่าความเป็นกรด-ด่างของสาร มีค่าเท่ากับลบล็อกความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออน มีหน่วยเป็นกรัมอะตอมต่อลิตร มีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 14 ค่าพีเอชของน้ำบริสุทธิ์เท่ากับ 7 ถ้าพีเอชต่ำกว่า 7 เป็นกรด สูงกว่า 7 เป็นด่าง

ลิ่มนม (Curd) โปรตีนที่ตกตะกอนแยกตัวจากนม

เวย์ (Whey) ของเหลวที่เหลือหลังจากแยกโปรตีนและไขมันออกจากนม

หัวเชื้อหรือเชื้อเริ่มต้น (Starter) เชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะขึ้นเพื่อเพิ่มจำนวนเซลให้มากขึ้น

หมายเหตุ: คำอธิบายศัพท์ข้างต้นจะครอบคลุมการใช้งานในวิทยานิพนธ์เล่มนี้เท่านั้น

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวทัตดาว ภาษีผล
วัน เดือน ปี เกิด	4 พฤษภาคม 2520
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลายโรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2537 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2541
ทุนการศึกษา	ได้รับทุนอุดหนุนบัณฑิตศึกษาภายในประเทศ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) 2542-2543

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University