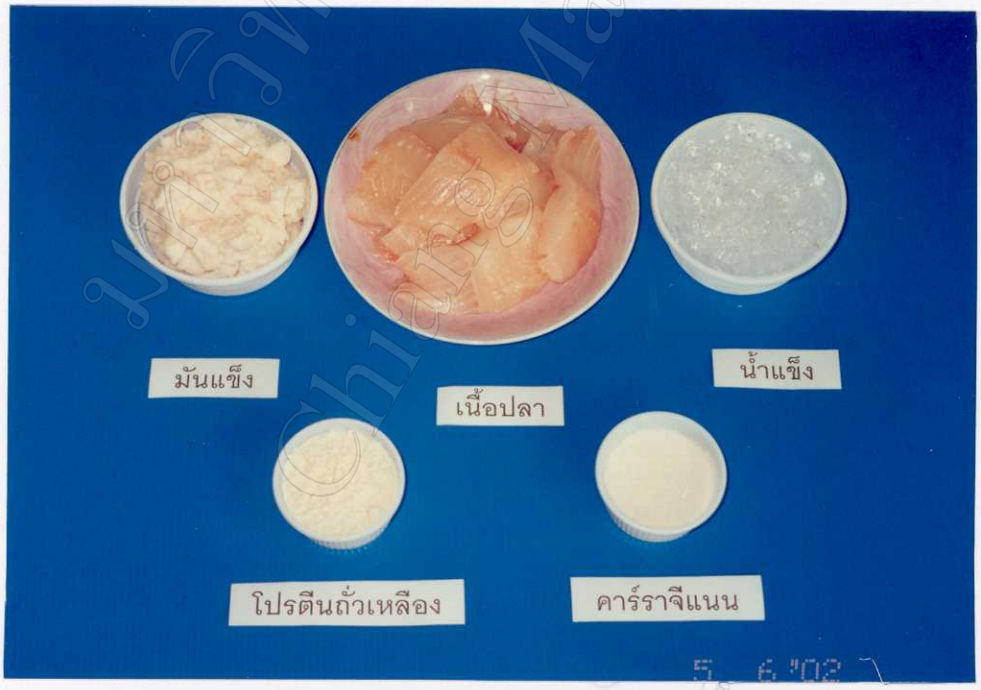
ภาคผนวก ก

รูปภาพ

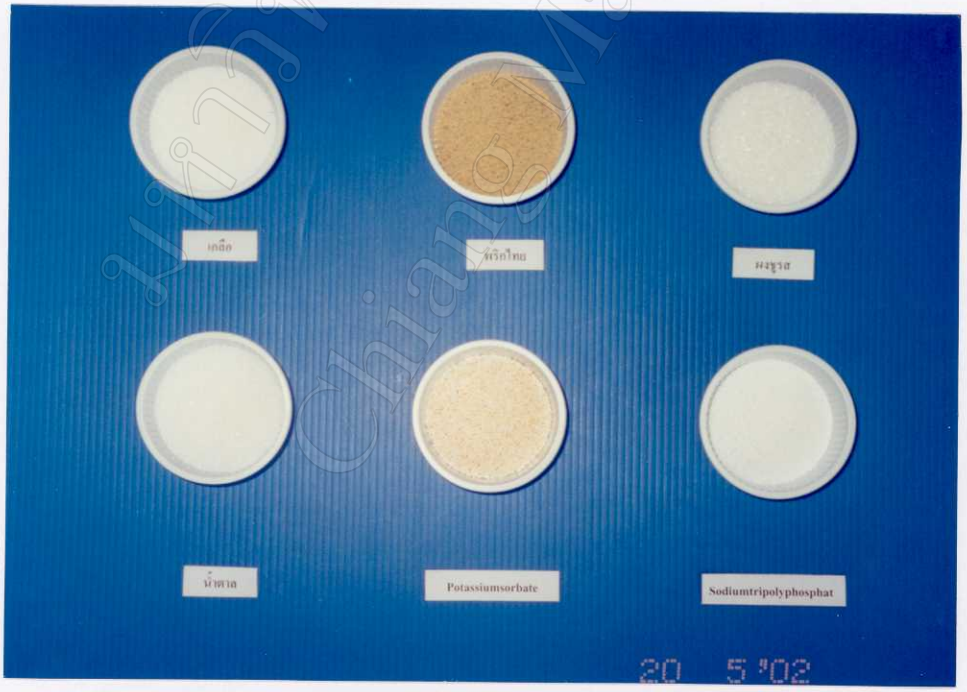
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพ ก-1 : ปลา *Oreochromis niloticus* Linn. พันธุ์ทับทิม หรือปลาทับทิม



ภาพ ก-2 : ส่วนผสมหลักของการผลิตปลายอ ลดไขมันผสมเส้นใยอาหารและสมุนไพร

ภาพ ก-3 : ส่วนผสมสมุนไพรและส่วนผสมเส้นใยอาหารที่ใช้ในการผลิตปลายอ ลดไขมันผสมเส้นใยอาหารและสมุนไพร



ภาพ ก-4 : ส่วนประกอบอื่น ๆ ที่ใช้ในการผลิตปลายอ ลดไขมันผสมเส้นใยอาหารและสมุนไพร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพ ก-5 : แบบพิมพ์ในการบรรจุปลายอ ลดไขมันผสมเส้นใยอาหารและสมุนไพร

ภาพ ก-6 : เครื่องสับนวดที่ใช้ในการผลิตปลายอ ลดไขมันผสมเส้นใยอาหารและสมุนไพร

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ภาพ ก-7 : เครื่องอัดบรรจุผลิตภัณฑ์ปลายอ ลดไขมันผสมเส้นใยอาหารและสมุนไพร

ภาพ ก-8 : ผลิตภัณฑ์ปลายอ ลดไขมันผสมเส้นใยอาหารและสมุนไพร

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University ©ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ภาคผนวก ข

แบบทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

แบบทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์

การจำแนกลักษณะต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์

ชื่อ.....วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการพัฒนา คือ ผลิตภัณฑ์ปลายอ ลดไขมันผสมเส้นใยอาหารและสมุนไพร

โปรดเขียนคำที่ท่านอยากอธิบายลักษณะแต่ละลักษณะของผลิตภัณฑ์ และลักษณะที่ท่านคิดว่าเป็นลักษณะที่ควรคำนึงถึงในผลิตภัณฑ์ โดยกำหนดเครื่องหมาย X ในที่ที่ท่านคิดว่าลักษณะนั้น ๆ ของผลิตภัณฑ์เป็นระดับที่เป็นอยู่ในปัจจุบันในตลาด หรือน่าจะเป็นในตลาด และกำหนดเครื่องหมาย I ในที่ที่ท่านคิดว่าลักษณะนั้น ๆ ของผลิตภัณฑ์ควรจะเป็นในอุดมคติของท่าน

คำอธิบายลักษณะของผลิตภัณฑ์

1. ลักษณะปรากฏ

..... |----------| .....

..... |----------| .....

..... |----------| .....

2. กลิ่น – รสชาติ

..... |----------| .....

..... |----------| .....

..... |----------| .....

3. ลักษณะเนื้อสัมผัส

..... |----------| .....

..... |----------| .....

..... |----------| .....

4. การยอมรับโดยรวม

..... |----------| .....

การทดสอบทางประสาทสัมผัส

ชื่อ.....วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการพัฒนา คือ ผลิตภัณฑ์ปลายอ ลดไขมันผสมเส้นใยอาหารและสมุนไพร

โปรดกำหนดเครื่องหมาย X ในที่ที่ท่านคิดว่าเป็นระดับของลักษณะนั้น ๆ ของผลิตภัณฑ์

คำอธิบายลักษณะของผลิตภัณฑ์

5. ลักษณะปรากฏ

สี

เข้มน้อย ——— เข้มมาก

กระจายตัวของส่วนผสม

น้อย ——— มาก

6. กลิ่น – รสชาติ

กลิ่นปลา

น้อย ——— มาก

กลิ่นรสสมุนไพร

น้อย ——— มาก

รสเค็ม

น้อย ——— มาก

7. ลักษณะเนื้อสัมผัส

ความแน่นเนื้อ

น้อย ——— มาก

ความฉ่ำน้ำ

น้อย ——— มาก

8. การยอมรับโดยรวม

น้อย ——— มาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ภาคผนวก ค

วิธีการวิเคราะห์คุณภาพ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

การวัดสีระบบ Hunter Lab

เป็นการวัดสีด้วยเครื่องวัดสี Minolta Camera : Model CR-310 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

ก่อนการวัดสีทุกครั้งต้องทำการปรับมาตรฐานเครื่อง (Calibration) โดยใช้แผ่นสีขาวมาตรฐาน (White blank ; L = 97.67, a = -0.18, b = 1.84) แล้วจึงทำการวัดสีตัวอย่างผลิตภัณฑ์ โดยนำตัวอย่างไปบด แล้วใส่ในภาชนะ (Petri dish) และรองพื้นด้วยกระดาษสีขาว ทำการวัด 3 ซ้ำ แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

การวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (ค่าแรงเฉือน หรือ Shear force) **ด้วยเครื่อง** Instron (Series 5500) (Instron Corperation, 1993)

เป็นการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารโดยใช้ค่าแรงเฉือน หรือ shear force (นิวตัน) ด้วยเครื่อง Instron Series 5500 ชนิดของใบมีดที่ใช้ได้แก่ Warner Bratzler Meat Shear-Compression (2830-013) ความเร็วของ Crosshead เท่ากับ 200 มิลลิเมตร/นาที

ก่อนวัดทุกครั้งต้องมีการปรับมาตรฐานเครื่อง (Calibration) และตัวอย่างจะต้องมีขนาดเท่ากันโดยมีความกว้างเท่ากับ 1 เซนติเมตร ความยาวเท่ากับ 2 เซนติเมตร และความหนาเท่ากับ 1 เซนติเมตร เพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อนของผลการทดลอง ทำการวัดซ้ำ 5 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

การตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตามวิธีของ AOAC, 1998

ปั่นตัวอย่างที่บดแล้ว 10 กรัม กับน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัด pH ด้วยเครื่อง Microprocessor pH meter โดยปรับค่ามาตรฐานในการวัดแต่ละครั้งด้วยสารละลายมาตรฐานที่มีความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.00 และ 7.00 ตามลำดับ ทำการตรวจวัด 3 ครั้ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

วิธีวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ (Aw)

ใส่ตัวอย่างที่บดแล้วในตลับพลาสติกสำหรับวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ แล้วนำไปใส่ในเครื่องวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ (Aw– box, Novasina : AWC 200,Switzerland) บันทึกค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ที่คงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการตรวจวัด 3 ครั้ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC, 1998

1. บันทึกน้ำหนักของกระป๋องอลูมิเนียม (mouisture can) ที่สะอาดผ่านการอบเป็นเวลา 30 นาที และปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้ว
2. ชั่งตัวอย่างที่บดแล้วประมาณ 5 กรัม ลงในกระป๋องอลูมิเนียมแล้วนำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่
3. นำกระป๋องอลูมิเนียมออกจากตู้อบ และปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้นไม่น้อยกว่า 20 นาที
4. บันทึกน้ำหนักของกระป๋องอลูมิเนียมและของแข็งที่เหลืออยู่ และคำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ, เทียบ น้ำหนักเปียก)} = \frac{(A - B) \times 100}{A}$$

เมื่อ A = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

B = น้ำหนักของแข็งที่เหลืออยู่หลังการอบ (กรัม)

การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AOAC, 1998

1. เผา porcelain crucible หรือจานซิลิก้า (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร) ในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500-550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชม. นำไปปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งหาน้ำหนักของจานเปล่า
2. ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ใส่ลงใน porcelain crucible แล้วนำไปเผาไหม้โดยใช้ตะเกียงบุนเซนจนไม่มีควันดำ แล้วจึงนำไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500-550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว
3. ทำให้เย็นใน desiccator จากนั้น ชั่งหาน้ำหนักเถ้า และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เถ้าทั้งหมดในอาหารตัวอย่าง

วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{(\text{น้ำหนัก crucible หลังเผา} - \text{น้ำหนัก crucible}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

การวิเคราะห์หาปริมาณเกลือ ตามวิธีของ Mohr (AOAC, 1998)

สารเคมีที่ใช้

- โปแตสเซียมโครเมต ความเข้มข้นร้อยละ 5 เตรียมได้โดยละลายโปแตสเซียมโครเมต 4.2 กรัม และโปแตสเซียมไดโครเมต 0.7 กรัม ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น โดยใช้ขวดปรับปริมาตร
- สารละลายเงินไนเตรต ความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ เตรียมโดยละลายเงินไนเตรต 16.988 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมล่าร์ เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 20 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

วิธีวิเคราะห์

1. นำเถ้าที่เหลือจากการวิเคราะห์เถ้า เติมน้ำกลั่นคนให้ทั่ว
2. เทสารละลายเถ้าทั้งหมดใส่ใน porcelain basin

3. เติมสารละลายโปแตสเซียมโครเมต ความเข้มข้นร้อยละ 5 ลงไป 0.5 มิลลิลิตร

4. ไตเตรตกับสารละลายเงินไนเตรต ความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ จนกระทั่งได้สีส้มอ่อน ๆ

1 มิลลิลิตรของสารละลายเงินไนเตรตความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับเกลือแกง 0.005845 กรัม

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน ตามวิธีของ AOAC, 1998

สารเคมีที่ใช้

- ปิโตรเลียมอีเทอร์ จุดเดือด 40 – 60 องศาเซลเซียส

วิธีการ

1. นำตัวอย่างแห้งหลังจากการหาค่าความชื้นมาประมาณ 2 กรัม

2. ห่อด้วยกระดาษกรองชนิดปราศจากเถ้าใส่ใน Thimble ที่ผ่านการล้างด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์และอบแห้งแล้ว

3. จากนั้นใส่ Thimble เข้าไปในอุปกรณ์ชุด Soxlet Extraction Apparatus ซึ่งประกอบด้วยหอกลั่น กรวยใส่ trimble และ Flask ก้นกลมที่ทราบน้ำหนักแห้งที่แน่นอนแล้ว จากนั้นเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ผ่านตัวอย่างใน Trimble จนมีระดับปิโตรเลียมอีเทอร์ที่ไหลรวมอยู่ใน Flask ก้นกลมปริมาณหนึ่ง

4. จากนั้นนำ Flask ไปอุ่นใน Water – bath ที่อุณหภูมิประมาณ 65 องศาเซลเซียส (ปิโตรเลียมอีเทอร์มีจุดเดือด 40 – 60^{0}C) ระยะเวลาการสกัดแยกไขมันขึ้นกับปริมาณไขมันที่อยู่

5. เมื่อสกัดแยกเรียบร้อยแล้วจึงนำ Flask ไปทำการระเหยแห้งบน Water bath แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นานประมาณ 45 นาที

6. ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก คำนวณหาร้อยละของไขมันในตัวอย่าง

วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน} = \frac{(\text{น้ำหนักฟลาสก์หลังอบแห้ง} - \text{น้ำหนักฟลาสก์}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ AOAC, 1998

อุปกรณ์ที่ใช้

- Kjeldahl digestion flask
- Markham Semi – micro Kjeldahl distillation Apparatus

สารเคมีที่ใช้

- คะตะลิสต์ผสม (Catalyst mixture) ประกอบด้วยโซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำร้อยละ 96 คอปเปอร์ซัลเฟตร้อยละ 3.5 และเซเลเนี่ยมไดออกไซด์ร้อยละ 0.4
- สารละลายบอริกเข้มข้นร้อยละ 2 เตรียมโดยชั่งกรดบอริก 2 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร
- สารละลายเมธิลเรดอินดิเคเตอร์ ประกอบด้วยเมธิลเรดร้อยละ 0.016 และโบรโมครีซอลกรีนร้อยละ 0.083 ในเอทิลแอลกอฮอล์
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 50 เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
- สารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐาน ความเข้มข้น 0.05 โมล่าร์

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดมา 1 – 2 กรัม ใส่ลงใน Kjeldahl digestion flask เติมคะตะลิสต์ผสมลงไป 8 กรัม และกรดกำมะถันเข้มข้นชนิดปราศจากไนโตรเจน 20 มิลลิลิตร ย่อยจนส่วนผสมเป็นของเหลวใสแล้วย่อยต่ออีก 1 ชั่วโมง (ประมาณ 2 ชั่วโมง) ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น (ทำ Blank ควบคู่ไปด้วยโดยย่อยเฉพาะกรด และคะตะลิสต์ผสม)

2. ตั้งทิ้งไว้จนเย็นและไม่มีไอระเหยของกรด จากนั้นนำ Kjeldahl digestion flask ไปต่อกับเครื่องกลั่นโปรตีน นำฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตรที่บรรจุสารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร และเมธิเรด 2 – 3 หยด เพื่อใช้เป็นอินดิเคเตอร์มารองรับปลาย Condenser โดยให้ปลาย Condenser จุ่มอยู่ต่ำกว่าระดับของสารละลาย

3. เติมน้ำกลั่นปริมาณ 125 มิลลิลิตรลงใน Kjeldahl digestion flask จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาณ 75 มิลลิลิตร จากนั้นจึงทำการกลั่นด้วยความร้อน จะได้ของเหลวที่ควบแน่นลงมาทาง Condenser อย่างน้อย 300 มิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นล้างปลาย Condenser ลงมาในฟลาสก์ที่รองรับสิ่งที่กลั่นได้ และนำสารละลายทั้งหมดไป

ไตเตรตกับสารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐานความเข้มข้น 0.05 โมล่าร์ จนถึงจุดยุติที่สารละลายเป็นสีส้มแดง

4. บันทึกปริมาณสารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐานที่ใช้ไตเตรต นำไปคำนวณหาปริมาณโปรตีนทั้งหมด (Crude protein)

วิธีการคำนวณ

ปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง (กรัมต่อร้อยกรัมตัวอย่าง) คำนวณได้จาก

$$= \frac{(ml.H_2SO_{4Sample} - ml.\ H_2SO_{4Blank}) \text{ X conc. } H_2SO_4 \text{ X } 0.014 \text{ X } 6.25 \text{ X } 100}{\text{g. Sample}}$$

เมื่อ $ml.H_2SO_{4Sample}$ คือ ปริมาตรสารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐานที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่าง หน่วยเป็นมิลลิลิตร

$ml.\ H_2SO_{4Blank}$ คือ ปริมาตรสารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐานที่ใช้ในการไตเตรต Blank หน่วยเป็นมิลลิลิตร

conc. H_2SO_4 คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานของกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไตเตรต หน่วยเป็นนอร์มัล

g. Sample คือ น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ หน่วยเป็นกรัม

การวิเคราะห์หาปริมาณ Thiobarbituric acid number (TBA) **ตามวิธี** Pearson, 1976

สารเคมีที่ใช้

- Thiobarbituric acid reagent เตรียมโดย ละลายกรด Thiobarbituric จำนวน 0.2883 กรัม ในสารละลายกรดอะซิติคเข้มข้นร้อยละ 90 โดยการอุ่นเบา ๆ แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยกรดอะซิติคเข้มข้นร้อยละ 90
- Acetic acid เข้มข้นร้อยละ 90
- กรดเกลือ เข้มข้น 4 โมล่าร์
- anti-foaming

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างมา 10 กรัม ปั่นกับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ใน mechanical blender แล้วเทใส่ใน distillation flask ขนาดพอเหมาะ
2. ล้าง blender ด้วยน้ำกลั่นจำนวน 47.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดเกลือความเข้มข้น 4 โมล่าร์จำนวน 2.5 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ pH 1.5
3. เติม anti-foaming ต่อเครื่องกลั่นเข้าด้วยกัน และนำไปต้มโดยใช้ electric mantle
4. กลั่นจนเก็บของเหลวที่กลั่นได้ 50 มิลลิลิตร (ภายในเวลา 10 นาที หลังเดือด)
5. ปิเปตของเหลวที่กลั่นได้มา 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดแก้วที่มีฝาปิด เติมสารละลาย Thiobarbituric acid reagent ลงไป 5 มิลลิลิตร เขย่าแล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลานาน 35 นาที เท่านั้น
6. ทำ blank พร้อมไปด้วยโดยใช้น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และสารละลายกรด Thiobarbituric acid reagent 5 มิลลิลิตร ทำให้เย็น
7. ทำให้เย็นภายใน 10 นาที นำไปวัดค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ blank

วิธีการคำนวณ

TBA number = 7.8 * O.D. (มิลลิกรัม malonaldehyde ต่อกิโลกรัม)

การวิเคราะห์เส้นใย ตามวิธี The Fertilisers and Feeding Stuffs Regulation, 1976 **(ลักขณาและนิธิยา**, 2544)

สารเคมีที่ใช้

- ปิโตรเลียมอีเทอร์ มีจุดเดือดที่อุณหภูมิ 40 – 60 องศาเซลเซียส
- สารละลายกรดกำมะถันความเข้มข้น 0.1275 โมล่าร์ (0.255 นอร์มัล) เตรียมได้โดยเจือจางกรดกำมะถันเข้มข้นจำนวน 1.25 กรัม ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.313 โมล่าร์ เตรียมได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์มา 1.25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร สารละลายนี้จะต้องปราศจากโซเดียมคาร์บอเนต
- สารละลายกรดเกลือความเข้มข้นร้อยละ 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เตรียมได้โดยเจือจางกรดเกลือเข้มข้น จำนวน 10 มิลลิลิตร ให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

- เอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 (ปริมาตรต่อปริมาตร)
- ไดเอทิลอีเทอร์

วิธีการ

1. นำกระดาษกรองชนิดปราศจากเถ้า ไปอบให้แห้งและชั่งหาน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักกระดาษกรอง

2. ชั่งอาหารตัวอย่างที่บดละเอียด มา 2.7 – 3.0 กรัม ใส่ในกระดาษกรอง ห่ออาหารตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง นำไปสกัดเอาไขมันออกด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยใช้เครื่องสกัดไขมัน

3. นำกากที่แห้งแล้วไปใส่ในฟลาสค์ขนาด 1 ลิตร เติมสารละลายกรดกำมะถันเข้มข้น 0.1275 โมล่าร์ ลงไป 200 มิลลิลิตร (โดยเติมลงไปประมาณ 30 – 40 มิลลิลิตรก่อน เพื่อช่วยให้กากที่แห้งกระจายตัวได้ดี แล้วจึงเติมให้ครบ 200 มิลลิลิตร)

4. นำไปต้มให้เดือด ภายใน 1 นาที อาจเติมสารป้องกันการเกิดฟอง (เช่น glass bead) ปล่อยทิ้งไว้ให้เดือดนาน 30 นาที ขณะต้มควรปิดปากฟลาสก์ด้วยกระจกนาฬิกา และพยายามรักษาปริมาตรของสารละลายให้คงที่ ถ้าปริมาตรลดให้เติมน้ำร้อนลงไป (ควรทำเครื่องหมายของระดับปริมาตรไว้) ขณะต้มควรเขย่าเป็นครั้งคราว

5. เตรียมกรวยชนิดพิเศษ และตัดกระดาษกรองให้พอดีกับกรวยโดยใช้กระดาษเบอร์ 54 หรือ 531 เทน้ำเดือดลงใส่ลงในกรวย ปล่อยทิ้งไว้ให้กรวยร้อน แล้วจึงเปิด suction นำฟลาสค์ที่ใส่สารละลายกรดที่ต้มเดือดครบ 30 นาทีแล้ว ปล่อยตั้งทิ้งไว้ 1 นาที เทใส่ลงในกรวย กรองกากทั้งหมดโดยใช้ suction ให้เสร็จภายใน 10 นาที ล้างกากด้วยน้ำร้อนหลาย ๆ ครั้งจนแน่ใจว่าไม่มีกรดเกลือเหลืออยู่ในกาก

6. เทกากที่ล้างแล้วนี้กลับลงไปในฟลาสค์ใบเดิม ใช้ washed bottle ที่มีสารละลายโซเดียม ไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.313 โมล่าร์ จำนวน 200 มิลลิลิตร ล้างกากออกจากกระดาษกรอง ใส่ลงในฟลาสค์ให้หมด ต้มให้เดือดภายใน 1 นาที และปล่อยให้เดือดนาน 30 นาที

7. นำตัวอย่างที่ต้มเดือดนาน 30 นาทีจากข้อ 6 ไปกรองโดย suction เช่นเดียวกับข้อ 5 ล้างด้วยน้ำร้อนจนแน่ใจว่าไม่มีด่างเหลืออยู่

8. เทกากที่ล้างแล้วนี้กลับลงไปในฟลาสค์ใบเดิม ล้างกากด้วยสารละลายกรดเกลือความเข้มข้นร้อยละ 1 ล้างตามด้วยน้ำร้อนอีกจนแน่ใจว่าไม่มีกรดเกลืออยู่

9. นำกากไปล้างด้วยเอทิลแอลกอฮอล์อีก 2 ครั้ง และล้างด้วยไดเอทิลอีเทอร์อีก 3 ครั้ง

10. นำกากที่เหลือทั้งหมดใส่ลงบนกระดาษกรองซนิดปราศจากเถ้า ที่ผ่านการอบและทราบน้ำหนักแน่นอน ล้างส่วนที่ติดกระดาษกรองด้วยน้ำร้อนเล็กน้อย นำไประเหยให้แห้งบน boiling-water bath

11. นำไปอบต่อในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ ชั่งหาน้ำหนักของกากที่เหลือ

12. นำกากไปเผาต่อในเตาเผาให้เป็นเถ้าที่อุณหภูมิประมาณ 500 – 550 องศาเซลเซียส นาน 3 ชม. ปล่อยให้เย็นใน desiccator ชั่งหาน้ำหนักเถ้าที่ได้

วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณเส้นใยในอาหารตัวอย่าง (ร้อยละ)} = \frac{(\text{น้ำหนักแห้งของกาก} - \text{น้ำหนักเถ้า}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

การวิเคราะห์ปริมาณโปแตสเซียมซอร์เบทในรูปกรดซอร์บิค ตามวิธีของ AOAC (1998)

การเตรียมสารเคมี

- สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก

ละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 5 กรัม ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วยเอธิลแอลกอฮอล์

- สารละลายผสม

ผสมปิโตรเลียมอีเธอร์และไดเอธิลอีเทอร์ ในอัตราส่วน 1 : 1

- โซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ

การเตรียมกราฟมาตรฐานของโปแตสเซียมซอร์เบท

ชั่งโปแตสเซียมซอร์เบท 0.134 กรัม นำมาเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ดูดสารละลายที่ได้ดังกล่าว 1 2 3 4 5 6 มิลลิลิตร ตามลำดับ ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ด้วยสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก ผสมให้เข้ากันแล้วดูดสารละลายในแต่ละขวดมา 5 มิลลิลิตร ใส่ในกรวยแยกขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสม 100 มิลลิลิตร เขย่านาน 1 นาที ตั้งให้แยกชั้น เก็บของเหลวในชั้นของอีเธอร์ไว้ แล้วทำให้แห้งด้วยโซเดียมซัลเฟต

ที่ปราศจากน้ำ 5 กรัม รินสารละลายส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 250 นาโนเมตร เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณกรดซอร์บิค (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของอีเธอร์) กับค่าการดูดกลืนแสง

การเตรียม Blank

เตรียมสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 5 มิลลิลิตร เติมสารละลายอื่น ๆ เหมือนการเตรียมสารละลายมาตรฐานของโปแตสเซียมซอร์เบท

วิธีวิเคราะห์ปริมาณโปแตสเซียมซอร์เบทในรูปกรดซอร์บิค

ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์ 10 กรัม (ควรทำ Blank ควบคู่ไปด้วย) ปั่นกับสารละลายกรดฟอสฟอริก 100 มิลลิลิตร นาน 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ปิเปตของเหลวที่ได้จากการกรองปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในกรวยแยก จากนั้นเติมสารละลายผสม ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในกรวยแยก เขย่าสารละลายในกรวยแยกนาน 1 นาที เก็บชั้นของอีเธอร์ (ชั้นบน) ไว้ เติมโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ จำนวน 5 กรัม ลงไปเพื่อดูดความชื้น รินสารละลายส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 250 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) ตามวิธีของ AOAC, 1998

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- จานเพาะเชื้อ (Petri dish)*
- หลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตรพร้อมฝาปิด (Test tube)*
- ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร*
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (memmert : Model WB14, Germany)
- ตู้บ่มเชื้อ (Hareus : Model D-6450 Hanau, Germany)
- หม้อนึ่งความดัน (Hariyama : Model HA-300MIV, Japan)

หมายเหตุ * จะต้องทำการอบฆ่าเชื้อในตู้อบไอร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 160 – 180 องศาเซลเซียส เวลา 1.5 ชั่วโมง

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (Bactor® Plate Count Agar, Difco Laboratory, USA)
- Peptone (Bactor® Peptone, Difco Laboratory, USA)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) ปริมาณ 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 – 124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.0 $\pm$ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

การเตรียมสารละลายสำหรับเจือจาง

เตรียมเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยละลายเปปโตนปริมาณ 25 กรัมในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร หรือเตรียมตามปริมาณที่ต้องการใช้ ใช้ปิเปตดูดสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง และปริมาณ 90 มิลลิลิตรลงในขวดที่มีฝาปิด จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 – 124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ลงในหลอดทดลอง และปริมาณ 90 มิลลิลิตรลงในขวดที่มีฝาปิด จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 – 124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง

1. ตัดตัวอย่างให้มีขนาดเล็กด้วยมีดที่ผ่านการเช็ดแอลกอฮอล์และลนไฟ

2. ใช้ช้อนตักสารที่ผ่านการเช็ดแอลกอฮอล์และลนไฟ ตักตัวอย่าง 10 กรัมใส่ลงในถุงสำหรับตีป่น (Stomacher bag) เติมสารละลายเปปโตน 90 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องตีป่น (Stomacher) เพื่อให้สารละลายตัวอย่างผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้อาหารที่เจือจาง 1:10 หรือ (10^{-1})

3. เขย่าตัวอย่างให้เข้ากัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 หรือ (10^{-1}) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้อาหารที่เจือจาง 1:100 หรือ (10^{-2})

2. การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรที่ฆ่าเชื้อแล้ว ดูดสารละลายของตัวอย่างอาหารที่ระดับเจือจางต่าง ๆ (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}) ลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ระดับเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูดจากที่ความเข้มข้นต่ำสุด

2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) ที่ยังคงเป็นของเหลวที่อุณหภูมิประมาณ 45 – 55 องศาเซลเซียส จานละประมาณ 15 – 20 มิลลิลิตร

3. ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว คว่ำจานเพาะเชื้อลง

3. การบ่ม

บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 34 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ± 3 ชั่วโมง

4. การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 – 300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีทั้ง 2 จานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับว่ามีจำนวน Mesophilic aerobic bacteria ในรูปจำนวนโคโลนีต่อกรัมอาหาร

การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อยีสต์และรา (Yeast and Mold) ตามวิธีของ AOAC, 1998

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- จานเพาะเชื้อ (Petri dish)*
- หลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตรพร้อมฝาปิด (Test tube)*
- ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร*
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (memmert : Model WB14, Germany)
- ตู้บ่มเชื้อ (Hareus : Model D-6450 Hanau, Germany)
- หม้อนึ่งความดัน (Hariyama : Model HA-300MIV, Japan)

หมายเหตุ * จะต้องทำการอบฆ่าเชื้อในตู้อบไอร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 160 – 180 องศาเซลเซียส เวลา 1.5 ชั่วโมง

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (Bactor® Dextrose Agar, Difco Laboratory, USA)
- Peptone (Bactor® Peptone, Difco Laboratory, USA)
- สารละลายกรดทาร์ทาริก ความเข้มข้นร้อยละ 10

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Count Agar (PDA) ปริมาณ 39 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 – 124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ก่อนการใช้ปรับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.5 โดยการเติมสารละลายกรดทาร์ทาริก ความเข้มข้นร้อยละ 10 ลงไป (อาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดทาร์ทาริก 1.9 มิลลิลิตร)

การเตรียมสารละลายสำหรับเจือจาง

เตรียมเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยละลายเปปโตนปริมาณ 25 กรัมในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร หรือเตรียมตามปริมาณที่ต้องการใช้ ใช้ปิเปตดูดสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร ลงหลอดทดลอง และปริมาณ 90 มิลลิลิตรลงในขวดที่มีฝาปิด จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 – 124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง

1. ตัดตัวอย่างให้มีขนาดเล็กด้วยมีดที่ผ่านการเช็ดแอลกอฮอล์และลนไฟ

2. ใช้ช้อนตักสารที่ผ่านการเช็ดแอลกอฮอล์และลนไฟ ตักตัวอย่าง 10 กรัมใส่ลงในถุงสำหรับตีป่น (Stomacher bag) เติมสารละลายเปปโตน 90 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องตีป่น (Stomacher) เพื่อให้สารละลายตัวอย่างผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้อาหารที่เจือจาง 1:10 หรือ (10^{-1})

3. เขย่าตัวอย่างให้เข้ากัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 หรือ (10^{-1}) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้อาหารที่เจือจาง 1:100 หรือ (10^{-2})

2. การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรที่ฆ่าเชื้อแล้ว ดูดสารละลายของตัวอย่างอาหารที่ระดับเจือจางต่าง ๆ (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}) ลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ระดับเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูดจากที่ความเข้มข้นต่ำสุด

2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Count Agar (PDA) ที่ยังคงเป็นของเหลวที่อุณหภูมิประมาณ 45 – 55 องศาเซลเซียส จานละประมาณ 15 – 20 มิลลิลิตร

3. ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว คว่ำจานเพาะเชื้อลง

3. การบ่ม

บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 72 $\pm$ 3 ชั่วโมง

5. การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 – 300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีทั้ง 2 จานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับว่ามีจำนวนยีสต์และรา ในรูปจำนวนโคโลนีต่อกรัมอาหาร

การวิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มและอี.โคไล (Coliform and *E.coli*) **โดยวิธี** MPN (Most Probable Number Method) **ตามวิธีของ** AOAC, 1998

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- จานเพาะเชื้อ (Petri dish)*
- หลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตรแบบมีฝาปิด (Test tube) พร้อมหลอดดักแก๊ส (Durham tube)*
- ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร*
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (memmert : Model WB14, Germany)
- ตู้บ่มเชื้อ (Hareus : Model D-6450 Hanau, Germany)
- หม้อนึ่งความดัน (Hariyama : Model HA-300MIV, Japan)

หมายเหตุ * จะต้องทำการอบฆ่าเชื้อในตู้อบไอร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 160 – 180 องศาเซลเซียส เวลา 1.5 ชั่วโมง

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green Lactose Bile Broth (Bactor® Brilliant Green Lactose Bile Broth, Difco Laboratory, USA)
- Peptone (Bactor® Peptone, Difco Laboratory, USA)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green Lactose Bile Broth ปริมาณ 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ดูดสารละลาย Brilliant Green Lactose Bile Broth ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแบบมีฝาปิดพร้อมหลอดดักแก๊สในหลอดทดลอง จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 – 124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

การเตรียมสารละลายสำหรับเจือจาง

เตรียมเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยละลายเปปโตนปริมาณ 25 ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร หรือเตรียมตามปริมาณที่ต้องการใช้

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง

1. ตัดตัวอย่างให้มีขนาดเล็กด้วยมีดที่ผ่านการเช็ดแอลกอฮอล์และลนไฟ

2. ใช้ช้อนตักสารที่ผ่านการเช็ดแอลกอฮอล์และลนไฟ ตักตัวอย่าง 10 กรัมใส่ลงในถุงสำหรับตีปั่น (Stomacher bag) เติมสารละลายเปปโตน 90 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องตีปั่น (Stomacher) เพื่อให้สารละลายตัวอย่างผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้อาหารที่เจือจาง 1:10 หรือ (10^{-1})

3. เขย่าตัวอย่างให้เข้ากัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 หรือ (10^{-1}) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้อาหารที่เจือจาง 1:100 หรือ (10^{-2})

2. การวิเคราะห์แบคทีเรียที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์ม (Presumptive coliform)

1. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรที่ฆ่าเชื้อแล้ว ดูดสารละลายของตัวอย่างอาหารที่ระดับเจือจางต่าง ๆ (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}) ลงหลอดทดลองอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green Lactose Bile Broth ที่มีหลอดดักแก๊ส จำนวน 3 ชุด ชุดละ 5 หลอดทดลองดังนี้

ชุดที่ 1	ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง 5 หลอด
ชุดที่ 2	ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-2} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง 5 หลอด
ชุดที่ 3	ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-3} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง 5 หลอด

2. บ่มหลอดทดลองในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 $\pm$ 3 ชั่วโมง หากหลอดทดลองใดมีแก๊สเกิดขึ้นในหลอดดักแก๊สหรือให้ผลบวก (Positive) ซึ่งคาดว่าจะมีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดโคลิฟอร์มเจริญอยู่ในตัวอย่าง ถ้าไม่พบว่ามีแก๊สเกิดขึ้นในหลอดทดลองใดเลย แสดงว่าให้ผลลบ (Negative) และไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดโคลิฟอร์มเจริญอยู่ในตัวอย่างนั้น

3. การยืนยันโคลิฟอร์ม

1. ใช้ห่วง (Loop) เขี่ยเชื้อจากหลอดเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลบวกจากการทดสอบแบคทีเรียที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์ม ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin Methyl Blue Agar ในจานเพาะเชื้อ

2. บ่มจานเพาะเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง

3. ตรวจหาโคโลนีที่เป็นลักษณะเฉพาะของโคลิฟอร์ม โดยโคโลนีของโคลิฟอร์มจะมีสีดำหรือสีดำตรงกลางล้อมรอบด้วยบริเวณโปร่งใสไม่มีสี โคลิฟอร์มบางโคโลนีมีลักษณะนูนเปียกเยิ้ม (Mucoid)

4. บันทึกจำนวนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชุดที่มีเชื้อจุลินทรีย์โคลิฟอร์มที่ได้รับการยืนยันแล้ว

4. การวิเคราะห์แบคทีเรียที่คาดว่าเป็น *E.coli*

1. ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle) เขี่ยเชื้อจากหลอดทดลองที่ให้ผลบวกจากการทดลองแบคทีเรียที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์ม ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green Lactose Bile Broth จำนวน 10 มิลลิลิตร โดยหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ต้องปรับอุณหภูมิเท่ากับ 44.5 องศาเซลเซียสก่อนนำไปใช้

2. เขี่ยเชื้อ *E.coli* ซึ่งเป็นเชื้อมาตรฐานลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green Lactose Bile Broth จำนวน 10 มิลลิลิตร อีก 2 หลอด สำหรับเป็นหลอดเปรียบเทียบ

3. บ่มหลอดเลี้ยงเชื้อในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 44.5 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4. หลอดทดลองที่มีแก๊สเกิดขึ้นหรือให้ผลบวก แสดงว่ามีแบคทีเรียที่คาดว่าจะเป็น *E.coli* ให้ทำการวิเคราะห์เพื่อยืนยัน *E.coli*

5. การวิเคราะห์เพื่อยืนยัน *E.coli*

1. เขี่ยเชื้อจากหลอดเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลบวกจากการทดสอบแบคทีเรียที่คาดว่าเป็น *E.coli* ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin Methyl Blue Agar
2. บ่มจานเพาะเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง
3. เลือกโคโลนีที่เป็นลักษณะเฉพาะของ *E.coli* ซึ่งมีสีน้ำเงินอมดำตรงกลาง และมีสีเลื่อมมันอมเขียวสะท้อนแสงซึ่งบางครั้งสีเลื่อมอาจไม่ปรากฏ เขี่ยเชื้อครั้งละ 1 โคโลนีลงในน้ำทริปโตน (Tryptone water) และบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 44.5 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
4. เขี่ยเชื้อ *E.coli* มาตรฐานในหลอดน้ำทริปโตน เพื่อเป็นตัวอย่างเปรียบเทียบ

5. ทดสอบสารอินโดล หลอดที่มีอินโดลเกิดขึ้นแสดงว่าเป็นเชื้อ *E.coli* จากนั้นบันทึกจำนวนหลอดทดลองที่ให้ผลบวก
6. คำนวณและรายงานค่า MPN ของ Coliform และ *E.coli* ในตัวอย่าง 1 กรัม
7. การทดสอบยืนยันเพิ่มเติมเกี่ยวกับ Coliform และ *E.coli* ควรทำการทดสอบเมธิลเรด (Methyl red) โวเกส-พรอสเกาเออร์ (Voges-Proskauer) และซิเตรต (Citrate test) โดยก่อนจะทดสอบปฏิกิริยาเหล่านี้ต้องแยกเชื้อ *E.coli* ให้บริสุทธิ์ก่อน

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ตาราง ค.1 : ตารางแมคคราดี

แสดงความน่าจะเป็นของปริมาณแบคทีเรียที่ได้จากการประเมินโดยวิธีหลอดเจือจาง (Dilution tube method) หรือค่าเอ็มพีเอ็น (Most probably number) ในอาหาร 1 กรัมหรือ 1 มิลลิลิตร เทียบจากหลอดที่ให้ปฏิกิริยาบวก โดย 5 หลอดมีตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 10^{-1} จำนวน 10 มิลลิลิตร อีก 5 หลอดมีตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 10^{-2} และอีก 5 หลอดมีตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 10^{-3} จำนวน 1 มิลลิลิตร

จำนวนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อและจำนวนตัวอย่างที่เจือจางระดับต่างๆ ที่เติมในแต่ละหลอด			MPN ของแบคทีเรียต่อกรัมตัวอย่าง	จำนวนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อและจำนวนตัวอย่างที่เจือจางระดับต่าง ๆ ที่เติมในแต่ละหลอด			MPN ของแบคทีเรียต่อกรัมตัวอย่าง
5 หลอดที่ 10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่ 10^{-2} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่ 10^{-3} จำนวน 1 มล.		5 หลอดที่ 10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่ 10^{-2} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่ 10^{-3} จำนวน 1 มล.	
0	0	0	0	3	0	1	11
0	0	1	12	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	6	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
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

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ตาราง ค.1 : ตารางแมคคราดี (ต่อ)

จำนวนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อและจำนวนตัวอย่างที่เจือจางระดับต่างๆ ที่เติมในแต่ละหลอด			MPN ของแบคทีเรียต่อกรัมตัวอย่าง	จำนวนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อและจำนวนตัวอย่างที่เจือจางระดับต่าง ๆ ที่เติมในแต่ละหลอด			MPN ของแบคทีเรียต่อกรัมตัวอย่าง
5 หลอดที่ 10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่ 10^{-2} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่ 10^{-3} จำนวน 1 มล.		5 หลอดที่ 10^{-1} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่ 10^{-2} จำนวน 1 มล.	5 หลอดที่ 10^{-3} จำนวน 1 มล.	
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	45	3	58
2	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	67	5	5	5	246
5	2	3	120	5	5	0	240
5	2	4	148	5	5	1	348
5	2	5	177	5	5	2	542
5	3	0	79	5	5	3	920
5	3	1	109	5	5	4	1600
5	3	2	141	5	5	5	>1600
5	3	3	175				
5	3	4	212				

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ภาคผนวก ง

ตัวอย่างการวิเคราะห์ทางสถิติ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตัวอย่างการคำนวณเพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของปัจจัยทดลองในแผนการทดลอง Mixture design

ตารางที่ ง.1 อัตราส่วนของปัจจัยหลักที่ใช้ในแต่ละสิ่งทดลองและ interaction

สูตร	S	L	I	F	SL	SI	SF	LI	LF	IF
1	0.01	0.05	0.1	0.84	0.0005	0.001	0.0084	0.005	0.042	0.084
2	0.01	0.05	0.2	0.74	0.0005	0.002	0.0074	0.01	0.037	0.148
3	0.01	0.15	0.1	0.74	0.0015	0.001	0.0074	0.015	0.111	0.074
4	0.03	0.05	0.1	0.82	0.0015	0.003	0.0246	0.005	0.041	0.082
5	0.03	0.05	0.2	0.72	0.0015	0.006	0.0216	0.01	0.036	0.144
6	0.03	0.15	0.1	0.72	0.0045	0.003	0.0216	0.015	0.108	0.072
7	0.01	0.09	0.2	0.7	0.0009	0.002	0.007	0.018	0.063	0.14
8	0.01	0.15	0.14	0.7	0.0015	0.0014	0.007	0.021	0.105	0.098
9	0.03	0.07	0.2	0.7	0.0021	0.006	0.021	0.014	0.049	0.14
10	0.03	0.15	0.12	0.7	0.0045	0.0036	0.021	0.018	0.105	0.084

หมายเหตุ : เมื่อกำหนด S หมายถึง สารทดแทนไขมัน

L หมายถึง ไขมัน

I หมายถึง น้ำแข็ง

F หมายถึง เนื้อปลา

ตัวอย่าง ง.1 การหาสมการอัตราส่วนของปัจจัยหลัก (สารทดแทนไขมัน: ไขมัน : น้ำแข็ง : เนื้อปลา) ที่เหมาะสมสำหรับด้านสีปรากฏ

การหาสมการความสัมพันธ์ระหว่างคะแนนความชอบด้านสีปรากฏกับปัจจัยทดลอง ทำโดยนำค่า Mean ideal ratio score ของความชอบด้านสีปรากฏที่ได้จากการทดลองทางประสาทสัมผัสมาวิเคราะห์ Linear regression กับปัจจัยทดลองทีละ 2 ปัจจัย โดยใช้ความสัมพันธ์แบบ polynomial

ทำโดยนำค่า Mean ideal ratio score ของลักษณะสีที่ปรากฏที่ได้จากการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส มาทำการ Regression กับเทอมของปัจจัยหลักทีละคู่ (ตารางที่ ง.1) จะได้สมการทั้งหมด 6 สมการ (เท่ากับจำนวน Interaction)

สมการ regression ของลักษณะด้านสีที่ปรากฏ มีดังนี้

สีที่ปรากฏ = 38.124S + 7.933L – 317.88SL -------- (1)

สีที่ปรากฏ = 37.674S + 5.871I – 231.77SI -------- (2)

สีที่ปรากฏ = 35.697S + 1.273F – 47.549SF -------- (3)

สีที่ปรากฏ = 10.144L + 6.648I – 76.45LI -------- (4)

สีที่ปรากฏ = 11.823L + 1.305F – 16.408LF -------- (5)

สีที่ปรากฏ = 6.573I + 1.28F – 8.906IF -------- (6)

สมการที่ (1) ได้จากการ regression ระหว่างค่า Mean ideal ratio score ของลักษณะสีที่ปรากฏกับค่าในคอลัมน์ของ S, L และ SL ในตารางที่ ง.1

สมการที่ (2) ได้จากการ regression ระหว่างค่า Mean ideal ratio score ของลักษณะสีที่ปรากฏกับค่าในคอลัมน์ของ S , I และ SI ในตารางที่ ง.1

สมการที่ (3) ได้จากการ regression ระหว่างค่า Mean ideal ratio score ของลักษณะสีที่ปรากฏกับค่าในคอลัมน์ของ S , F และ SF ในตารางที่ ง.1

สมการที่ (4) ได้จากการ regression ระหว่างค่า Mean ideal ratio score ของลักษณะสีที่ปรากฏกับค่าในคอลัมน์ของ L , I และ LI ในตารางที่ ง.1

สมการที่ (5) ได้จากการ regression ระหว่างค่า Mean ideal ratio score ของลักษณะสีที่ปรากฏกับค่าในคอลัมน์ของ L , F และ LF ในตารางที่ ง.1

สมการที่ (6) ได้จากการ regression ระหว่างค่า Mean ideal ratio score ของลักษณะสีที่ปรากฏกับค่าในคอลัมน์ของ I , F และ IF ในตารางที่ ง.1

สมการที่ได้ทั้ง 6 สมการจะนำมาทำ Partial derivatives จากนั้นจึงนำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ต่อในโปรแกรมเชิงเส้น (POM) การทำ Partial derivatives จะทำเทียบกับตัวแปรที่ปรากฏใน สมการ เช่น 38.124S + 7.933L – 317.88SL จะทำ Partial derivatives สองครั้ง

โดยเทียบกับ S และ L สมการที่ได้หลังจากทำ Partial derivatives จะใช้เทคนิค Lag range และนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมเชิงเส้น

การทำ Partial derivatives ของสมการที่วิเคราะห์ได้ของลักษณะสีที่ปรากฏ

สมการที่ (1) สีที่ปรากฏ = 38.124S + 7.933L – 317.88SL

Partial derivatives

$$\frac{\delta \text{ สีที่ปรากฏ}}{\delta S} = 0 = 38.124 - 317.88\ L \qquad \text{-------- (1.1)}$$

$$\frac{\delta \text{ สีที่ปรากฏ}}{\delta L} = 0 = 7.933 - 317.88\ S \qquad \text{-------- (1.2)}$$

สมการที่ (2) สีที่ปรากฏ = 37.674S + 5.871I – 231.77SI

Partial derivatives

$$\frac{\delta \text{ สีที่ปรากฏ}}{\delta S} = 0 = 37.674 - 231.77\ I \qquad \text{-------- (2.1)}$$

$$\frac{\delta \text{ สีที่ปรากฏ}}{\delta I} = 0 = 5.871 - 231.77S \qquad \text{-------- (2.2)}$$

สมการที่ (3) สีที่ปรากฏ = 35.697S + 1.273F – 47.549SF

Partial derivatives

$$\frac{\delta \text{ สีที่ปรากฏ}}{\delta S} = 0 = 35.697 - 47.549\ F \qquad \text{-------- (3.1)}$$

$$\frac{\delta \text{ สีที่ปรากฏ}}{\delta F} = 0 = 1.273 - 47.549S \qquad \text{-------- (3.2)}$$

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

สมการที่ 4 ถึง 6 ก็ทำ Partial derivatives เช่นเดียวกับ สมการที่ 1 , 2 และ 3 ข้างต้น จากนั้นจึงนำมาลบค่า Lag range (λ) สมการที่ 1.1 ถึง 3.2 เมื่อลบค่า λ จะได้สมการคือ

$317.88\ L - \lambda = 38.124$

$317.88\ S - \lambda = 7.933$

$231.77\ I - \lambda = 37.674$

$231.77\ S - \lambda = 5.871$

$47.549\ F - \lambda = 35.697$

$47.549\ S - \lambda = 1.273$

นำสมการที่ได้ไปเข้าโปรแกรมเชิงเส้น เพื่อหาอัตราส่วนของปัจจัยหลักที่เหมาะสมสำหรับลักษณะด้านสีที่ปรากฏ ทั้งนี้จะต้องอยู่ภายใต้สมการข้อจำกัด (Constrains) ที่ตั้งไว้ก่อนการทดลอง คือ

$0.70 \leq F \leq 0.90$ $0.05 \leq L \leq 0.15$

$0.10 \leq I \leq 0.200$ $0.01 \leq S \leq 0.03$

$F + L + I + S = 1.00$

จากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมเชิงเส้น (POM) พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมของปัจจัยหลักสำหรับลักษณะด้านสีที่ปรากฏประกอบด้วย เนื้อปลา ร้อยละ 73.83, ไขมัน ร้อยละ 9.11, น้ำแข็ง ร้อยละ 14.44 และ สารทดแทนไขมัน ร้อยละ 2.62

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

การคาดคะเนอายุการเก็บรักษา (Man and Jones, 1994)

การศึกษาอันดับและอัตราเร็วของปฏิกิริยา (Order and rate constant or reaction)

การคาดคะเนอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์โดยการศึกษาอัตราเร็วและอันดับของปฏิกิริยา สามารถอธิบายได้ด้วยทฤษฎีจลศาสตร์

$$-\frac{d\,C_A}{dt} = k.\,C_A^{\,n}$$

เมื่อ C_A = ความเข้มข้นของสารที่สนใจที่เวลา t

t = เวลา

k = อัตราเร็วของปฏิกิริยา

n = อันดับของปฏิกิริยา

- ปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (n=0)

มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของสารตั้งต้นหรือผลิตภัณฑ์กับเวลา t

$$C_{At} = -kt + C_{A0}$$

สร้างกราฟระหว่าง C_{At} กับเวลา t เพื่อหาค่า k

- ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (n=1)

มีการเปลี่ยนแปลงแบบ Logarithmic ของความเข้มข้นของสารตั้งต้นหรือผลิตภัณฑ์กับเวลา t

$$\ln (C_{At}/C_{A0}) = -kt$$

สร้างกราฟระหว่าง $\ln (C_{At}/C_{A0})$ กับเวลา t เพื่อหาค่า k

- ปฏิกิริยาอันดับสอง (n=2)

มีความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารตั้งต้นหรือผลิตภัณฑ์กับเวลา t แบบ Hyperbolic หรือมีความสัมพันธ์ระหว่าง $1/C_A$ กับเวลาเป็นเส้นตรง

$$(1/C_{At}) - (1/C_{A0}) = -kt$$

สร้างกราฟระหว่าง $1/C_{At}$ กับเวลา t เพื่อหาค่า k

จากข้อมูลที่ได้จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัส กายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ระหว่างการเก็บรักษา ทำให้ทราบว่ามีคุณภาพบางประการที่สามารถใช้ชี้บ่งคุณภาพของผลิตภัณฑ์ปลายอ ลดไขมันผสมเส้นใยอาหารและสมุนไพรได้ นั่นคือคุณภาพนั้นจะนำมาใช้เป็นดัชนีบ่งอายุการเก็บรักษาต่อไป

การคาดคะเนอายุการเก็บรักษาทำได้โดย นำค่าคุณภาพที่เป็นดัชนีชี้บ่งอายุการเก็บรักษาข้างต้นมาสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตั้งต้นหรือผลิตภัณฑ์กับเวลา t เพื่อดูว่าการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยามีความสัมพันธ์กันด้วยปฏิกิริยาอันดับที่เท่าใด และทำการสร้างกราฟตามความสัมพันธ์ของปฏิกิริยาอันดับนั้น ๆ เพื่อคำนวณหาอัตราคงที่ (Rate constant ; k values) จากการหาความชัน (slope) ของเส้นกราฟ และนำค่า k ที่ได้มาคำนวณหาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ หรือค่า t ในสมการ

ตัวอย่างเช่น โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์อาหารมีการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาเป็นปฏิกิริยาอันดับ 1 โดยเมื่อสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตั้งต้นกับเวลา จะพบว่ามีความสัมพันธ์แบบ Logarithmic จากนั้นสร้างกราฟระหว่าง $\ln(C_{At}/C_{A0})$ กับเวลา t เพื่อคำนวณหาค่าอัตราเร็วของปฏิกิริยา หรือค่า k จากความชันของกราฟ และสามารถหาอายุการเก็บรักษา (t) ได้จากสูตร

$$\ln (C_{At} / C_{A0}) = -kt$$

ประวัติการศึกษา

ชื่อ – นามสกุล นางสาวสุภาพร พุทธโศภิษฐ์

วัน เดือน ปี เกิด 28 กุมภาพันธ์ 2521

ประวัติการศึกษา

พ.ศ.2533 สำเร็จการศึกษาชั้นประถมศึกษา
โรงเรียนวัดคูยาง จังหวัดกำแพงเพชร

พ.ศ.2539 สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย
โรงเรียนกำแพงเพชรพิทยาคม จังหวัดกำแพงเพชร

พ.ศ.2543 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์
ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยนเรศวร

ทุนการศึกษา

ได้รับทุนโครงการพัฒนาอาจารย์จากมหาวิทยาลัยนเรศวร
ได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัยจากมูลนิธิโครงการหลวง
ได้รับทุนอุดหนุนการศึกษาจากบัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University