ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก
ภาพเชื้อเริ่มต้น ส่วนผสม และผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากข้าวกล้อง

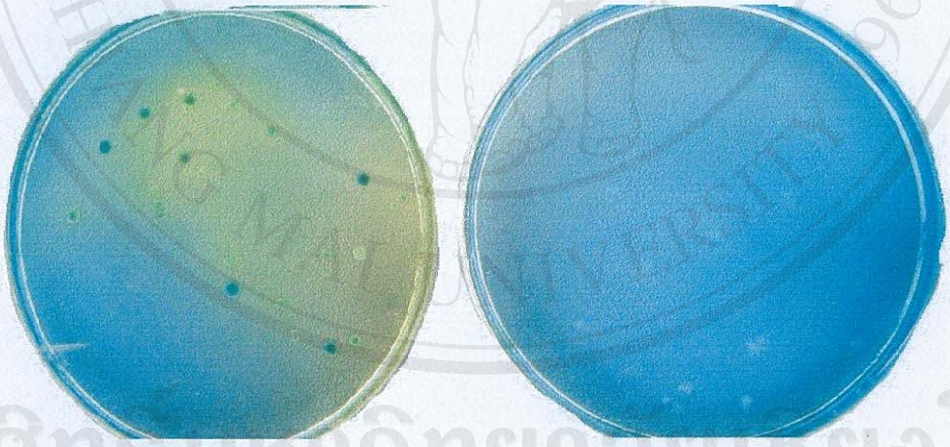
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ ก-1 ส่วนผสมแห้งที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติค

ภาพที่ ก-2 ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติค

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

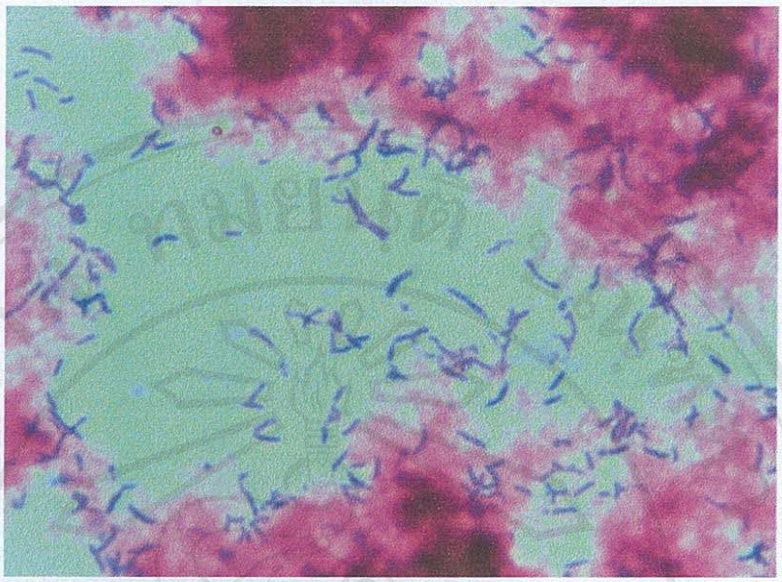
ภาพที่ ก-3 อาหารเลี้ยงเชื้อ HHD agar และอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar



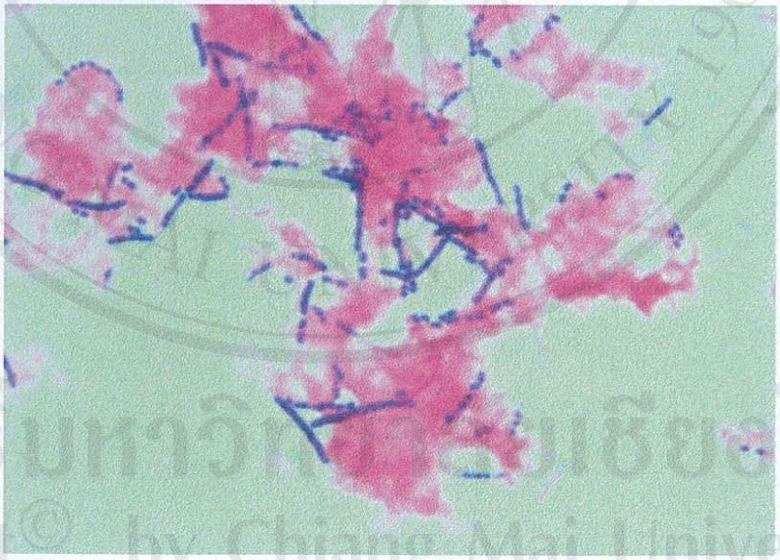
(1) เชื้อ *L. bulgaricus* + *S. themmophilus* (2) เชื้อ *B. longum*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ ก-4 ลักษณะการเจริญของ (1) เชื้อ *L. bulgaricus* (โคโลนีสีเขียวอ่อน) + *S. themmophilus* (โคโลนีสีเขียวเข้ม) และ (2) เชื้อ *B. longum* (โคโลนีสีขาว) บนอาหาร HHD agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง



ภาพที่ ก-5 เชื้อเริ่มต้น *Bifidobacterium longum* Bb-46
ย้อมสีแกรม กำลังขยาย 1,000 เท่า



ภาพที่ ก-6 เชื้อเริ่มต้นเชื้อ *S. thermophilus* ลักษณะ เซลล์กลมต่อกันเป็นสาย,
L. bulgaricus ลักษณะเซลล์เป็นท่อนผอมยาวต่อกันเป็นสายสั้น
ย้อมสีแกรม กำลังขยาย 1,000 เท่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข
แบบทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข-1 แบบทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์

(การจำแนกลักษณะต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์)

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

ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการพัฒนาคือ โยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติค

โปรดเขียนตามที่ท่านอยากอธิบายลักษณะของผลิตภัณฑ์ และลักษณะที่ท่านคิดว่าเป็นลักษณะที่ควรคำนึงถึงในผลิตภัณฑ์โดยกำหนดเครื่องหมาย **X** ในที่ที่ท่านคิดว่าลักษณะนั้น ๆ ของผลิตภัณฑ์เป็นระดับที่เป็นอยู่ในปัจจุบัน หรือน่าจะเป็นในท้องตลาด และกำหนดเครื่องหมาย **I** ในที่ที่ท่านคิดว่า ลักษณะนั้น ๆ ของผลิตภัณฑ์ควรจะเป็นในอุดมคติของท่าน

คำอธิบายลักษณะของผลิตภัณฑ์

1. ลักษณะปรากฏ

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

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

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

2. กลิ่น-รสชาติ

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

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

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

3. ลักษณะเนื้อสัมผัส

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

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

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

4. การยอมรับโดยรวม

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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข-2 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

(Ideal ratio profile test)

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

ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการพัฒนา คือ โยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติค

ให้กำหนดเครื่องหมาย **X** ในที่ที่ท่านคิดว่าเป็นระดับของลักษณะนั้น ๆของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติคในแต่ละตัวอย่างการทดลอง และทำการกำหนดเครื่องหมาย I ตามลักษณะในอุดมคติของท่านที่มีต่อผลิตภัณฑ์

คำอธิบายลักษณะของผลิตภัณฑ์

สี
สีเหลืองอ่อน ——— สีเหลือง

ความเรียบ-เนียน
น้อย ——— มาก

ความเป็นเนื้อเดียวกัน
น้อย ——— มาก

ความข้นหนืด
น้อย ——— มาก

กลิ่นนมผง
น้อย ——— มาก

กลิ่นข้าวกล้อง
น้อย ——— มาก

กลิ่นเปรี้ยว
น้อย ——— มาก

รสเปรี้ยว
น้อย ——— มาก

รสหวาน
น้อย ——— มาก

การยอมรับรวม
น้อย ——— มาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข-3 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

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

ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการพัฒนา คือ โยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติค

ให้กำหนดเครื่องหมาย X ในที่ที่ท่านคิดว่าเป็นระดับของลักษณะนั้น ๆของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติค

คำอธิบายลักษณะของผลิตภัณฑ์

สี
|----------I----------|
สีเหลืองอ่อน สีเหลืองเข้ม

ความเรียบ-เนียน
|----------I----------|
น้อย มาก

ความเป็นเนื้อเดียวกัน
|----------I----------|
น้อย มาก

ความข้นหนืด
|----------I----------|
น้อย มาก

กลิ่นข้าวกล้อง
|----------I----------|
น้อย มาก

กลิ่นนมผง
|----------I----------|
น้อย มาก

กลิ่นเปรี้ยว
|----------I----------|
น้อย มาก

รสเปรี้ยว
|----------I----------|
น้อย มาก

รสหวาน
|----------I----------|
น้อย มาก

การยอมรับรวม
|----------I----------|
น้อย มาก

หมายเหตุ: I หมายถึง ลักษณะผลิตภัณฑ์ในอุดมคติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์คุณภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ

ภาคผนวก ค-1 การวัดสีระบบ Hunter Lab(Hunter Lab,1997)

เป็นการวัดสีด้วยเครื่องวัดสี ColorQuest II ผลิตโดย Hunter Laboratory Inc. สหรัฐอเมริกา เครื่องวัดสีนี้ต้องต่อเข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล IBM PC compatible ที่พอร์ตอนุกรม (Serial port) เพื่อควบคุมการทำงานของเครื่องวัดสี การเปิดเครื่องต้องเปิดเครื่องวัดสีก่อนเปิดเครื่องคอมพิวเตอร์ เพื่อให้เครื่องคอมพิวเตอร์ตรวจจับเครื่องวัดสีได้ก่อนการใช้งาน ในคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคลที่ต่อกับเครื่องวัดสีต้องมีโปรแกรมใช้งานเครื่องวัดสีติดตั้งอยู่ด้วย เครื่องวัดสีนี้วัดได้หลายระบบ ได้แก่ Hunter Lab, CIE L a* b*, RGB, CMYK และ XYZ สามารถวัดค่าสีของตัวอย่างได้ทั้งแบบสะท้อนแสงและแบบโปร่งแสง

การ Calibrate เครื่องวัดสี

ก่อนการใช้งานต้องทำการ Calibrate เครื่องวัดสีก่อน โดยการตรวจเช็คการวัดสีให้เป็นแบบ R-sin คือการวัดแบบสะท้อนแสง แล้วคลิกที่ปุ่ม Calibrate นำแผ่นกระเบื้องมาตราฐานสีขาวมาวางที่ช่องวัดสี คลิก OK นำแผ่นกระเบื้องสีเทาเพื่อยืนยันการ Calibrate มาวางช่องวัดสี คลิก OK เครื่องวัดสีพร้อมใช้งานแล้ว

การวัดสีตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติค

ปรับรูปแบบการวัดสีเป็นแบบ R-sin (แบบสะท้อนแสง)เลือกระบบวัดสีเป็นแบบ Hunter Lab นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากข้าวกล้องตักใส่เซลล์วัดสี นำเซลล์วัดสีมาวางที่ช่องวัดสีคลิกปุ่ม Sample บนจอคอมพิวเตอร์ หรือกดปุ่ม F3 บนคีย์บอร์ด คอมพิวเตอร์จะสั่งให้เครื่องวัดสีส่งข้อมูลของสีผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากข้าวกล้องที่วัดได้มายังคอมพิวเตอร์ กรอกหมายเลขตัวอย่างในช่องใส่หมายเลขตัวอย่าง คลิก OK ค่าสีของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวกล้องจะปรากฏบนตารางบันทึกค่าสี

วัดค่าสีในระบบฮันเตอร์(Hunter Lab) โดยค่าสี L เป็นค่าความสว่าง(Lightness) มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100 ค่า L น้อยผลิตภัณฑ์มีความสว่างน้อย ค่า L มาก ผลิตภัณฑ์มีความสว่างมาก ค่าสี a เป็นค่าสีแดงและสีเขียว(Redness/Greeness) เมื่อ a มีค่าบวก ผลิตภัณฑ์จะมีโทนสีแดง เป็นสีแดงเมื่อ a มีค่าลบเป็นสีเขียว ผลิตภัณฑ์จะมีโทนสีเขียว และ b เป็นค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (Yellowness/Blueness) b มีค่าบวกผลิตภัณฑ์จะมีโทนสีเหลือง b มีค่าลบผลิตภัณฑ์มีโทนน้ำเงิน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค-2 การวัดความข้นหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscometer

Brookfield Viscometer เป็นเครื่องวัดความข้นหนืดแบบแกนหมุน (Rotatory viscometer) ใช้วัดความข้นหนืดของอาหารที่มีความข้นหนืดปานกลาง

การ Calibrate เครื่องวัดความหนืด

เปิดสวิทช์เครื่องวัดความหนืด เอาหัววัด(Spindle) ออกจากแกนมอเตอร์ กดปุ่มใด ๆ เครื่องจะทำการ Calibrate โดยอัตโนมัติ เมื่อการ Calibrate เสร็จสิ้น บนจดจะขึ้นข้อความว่าให้ใส่หัววัดได้ จึงใส่หัววัดที่จะใช้วัด หัววัดความหนืดมี 7 ขนาด หัววัดหมายเลข 1 จะวัดความข้นหนืดในช่วงความข้นหนืดต่ำ หัววัดหมายเลขสูงขึ้นจะวัดความข้นหนืดในช่วงที่สูงขึ้น

การวัดความข้นหนืดตัวอย่างผลิตภัณฑ์ โยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติค

การวัดความข้นหนืดต้องเลือกหัววัดและความเร็วรอบให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์โดยตักผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวกล้องจำนวนประมาณ 400 - 500 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร นำบีกเกอร์ไปวางใต้เครื่องวัดความข้นหนืด ใส่หัววัดที่แกนมอเตอร์ ลดระดับเครื่องวัดความข้นหนืดลงจนหัววัดจมลงในตัวอย่างจนถึงขีดที่กำหนดบนแกนหัววัด ตรวจสอบหมายเลขหัววัดที่แสดงบนจอให้ตรงกับหัววัดที่ต่อกับแกนมอเตอร์ ตั้งความเร็วรอบในการหมุน กดสวิทช์เปิดมอเตอร์ ค่า % Torque จะปรากฏบนจอก่อน การวัดที่ทำให้ได้ค่าความหนืดที่ถูกต้องที่สุดจะต้องมี % Torque เข้าใกล้ 100 มากที่สุด การเลือกหัววัดและความเร็วรอบต้องสังเกตด้วยสายตาก่อนว่าตัวอย่างที่นำมาวัดมีความข้นหนืดต่ำ ปานกลาง หรือสูง แล้วเลือกหัววัดและความเร็วรอบในการวัดที่ทำให้ค่า % Torque เข้าใกล้ 100 มากที่สุด

การวัดความข้นหนืดในการทดลองจะมีตัวอย่างที่มีความข้นหนืดแตกต่างกันต้องเลือกเอาตัวอย่างโยเกิร์ตข้าวกล้องที่สังเกตด้วยสายตาหรือจากสูตรการผสมว่ามีความข้นหนืดสูงที่สุดมาทำการคัดเลือกหัววัดและความเร็วรอบที่เหมาะสมก่อน และใช้หัววัดและความเร็วรอบนี้กับตัวอย่างอื่น ๆ เพื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างในการทดลองนั้น ๆ และแต่ละการทดลองอาจใช้หัววัดและความเร็วรอบในการวัดแตกต่างกันได้ ขึ้นกับความเหมาะสมในแต่ละการทดลอง

การวัดความข้นหนืด ของตัวอย่างเพื่อเปรียบเทียบในการทดลอง ต่อหัววัดที่เหมาะสมในการทดลองนั้น ๆ เข้ากับแกนมอเตอร์ ตั้งความเร็วรอบที่เหมาะสมในการทดลองนั้น ๆ โดยใช้หัววัดหมายเลข 4 ความเร็วรอบ 2.5 รอบต่อนาที ตั้งเวลาในการวัดประมาณ 15-60 วินาที กดปุ่มเปิดมอเตอร์ เมื่อครบเวลาที่ตั้งไว้ มอเตอร์จะหยุดหมุนอ่านค่าความข้นหนืดที่วัดได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค-3 การวัดลักษณะของเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติค (Back extrusion) ด้วยเครื่อง Instron (Series 5500)(Instron Corperation, 1993)

เป็นการวัดลักษณะของเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติคโดยวัดค่า peak force ค่าความคงตัว (consistency) และค่าต้านทานการไหล (resistance to flow)ด้วยเครื่อง Instron Series 5500, USA โดยใช้อุปกรณ์ชุด Back extrusion test มีค่าแรงกด 20 มิลลิเมตร/นาที

การวัดตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติค ต้องมีการปรับมาตรฐานเครื่องโดยใช้โปรแกรม Compression นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวกล้องใส่ในชุดอุปกรณ์จำนวน 300 มิลลิลิตร แล้ววัดค่า peak force ค่าความคงตัว(consistency) และค่าต้านทานการไหล (resistance to flow) ทำการวัด 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

ภาคผนวก ค-4 การวิเคราะห์หาความเป็นกรดด่าง (AOAC, 1998)

ชั่งตัวอย่างจำนวน 10.0 กรัม นำไปปั่นให้ละเอียดกับน้ำกลั่นจำนวน 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 นาที โดยใช้เครื่องบดผสมอาหาร ("National", Model MXT31GN) นำไปวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) โดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง ("Orion", Model 520A) ซึ่งได้มีการปรับค่ามาตรฐานด้วยสารละลายมาตรฐานที่มี pH เท่ากับ 4.00 และ 7.00 ตามลำดับแล้ว

ภาคผนวก ค-5 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด(Total titrable acidity) AOAC(1998)

สารเคมี

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ โดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

วิธีวิเคราะห์

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างโยเกิร์ตข้าวกล้อง 10 กรัม ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำตัวอย่างโยเกิร์ตจากข้าวกล้องที่เตรียมได้มากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นปิเปตสารละลายใส 10 มิลลิลิตรลงในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร นำมาไตรเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ โดยใช้ฟีนอฟธาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ คำนวณหาปริมาณกรดทั้งโดยเทียบจากค่ามาตรฐาน ดังนี้ คือ 1 มิลลิลิตร ของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ ทำปฏิกิริยาสมมูลย์พอดีกับกรดแลกติค 0.009 กรัม

ภาคผนวก ค-6 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugars) ก่อนและหลังอินเวอร์ชันตามวิธีของ Lane and Eynon (AOAC,1998)

สารเคมี

- สารละลาย Fehling no.1

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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- สารละลาย Fehling no.2

ละลายโซเดียมโปแตสเซียมตาร์เตรท (Sodium potassium tartrate หรือ Rochelle salt : $KNaC_4O_5.4H2O$) จำนวน 173 กรัม และโซเดียมไฮดรอกไซด์(sodium hydroxide) จำนวน 50 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร โดยขวดปรับปริมาตร

- สารละลาย Carrez I

ละลาย Zinc acetate dehydrate 21.9 กรัม ในน้ำกลั่นที่มีกรดอะซิติกเข้มข้น 3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ในขวดปรับปริมาตร

- สารละลาย Carrez II

ละลายโพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ 10.6 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

- สารละลายเมธิลีนบลูเข้มข้นร้อยละ 1

ละลายเมธิลีนบลู 1 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

วิธีวิเคราะห์

การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ก่อนอินเวอร์ชัน (D_1)

เตรียมตัวอย่างโยเกิร์ตข้าวกล้องโดยชั่งตัวอย่างโยเกิร์ต 42 กรัม แล้วทำการปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร เติม Clearing agent หรือ สารละลาย Carrez I และ Carrez II อย่างละ 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันดี ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที แล้วกรอง เก็บสารละลายที่กรองได้ไว้ใช้วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งก่อนอินเวอร์ชัน

Preliminary titration

นำสารละลายตัวอย่างโยเกิร์ตข้าวกล้องที่เตรียมไว้ใส่ในบิวเรตขนาด 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 ไตเตรทกับสารละลายน้ำตาลตัวอย่างจนสีน้ำเงินจางลง หยดสารละลายเมธิลีนบูลลงไป 1-2 หยด ไตเตรทจนสีฟ้าหายไปหมด เหลือแต่ตะกอนสีส้มแดง จดปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้ ทำการทดลองซ้ำ 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Accurate titration

ปิเปตสารละลาย Fehling reagent ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย Fehling no. 1 และ Fehling no. 2 อย่างละ 5 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร ใส่ลูกแก้วขนาดเล็กลงไป 2-3 เม็ด เติมสารละลายน้ำตาลจากบิวเรตลงไปทันที โดยใช้ปริมาตรน้อยกว่าที่ใช้ไตเตรทครั้งแรกประมาณ 1 – 2 มิลลิลิตร ปล่อยให้เดือดนาน 2 นาที หยดสารละลายเมธิลีนบูลลงไป 1 - 2 หยด แล้วไตเตรทต่อจนสีฟ้าหายไปหมด โดยต้องไตรเตรทให้เสร็จภายในเวลา 3 นาที ตั้งแต่เริ่มเดือด จดปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้ ทำการทดลองซ้ำ 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์หลังอินเวอร์ชั่น(D_2)

นำสารละลายน้ำตาลที่เหลือจากการไตรเตรทหาน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนอินเวอร์ชันปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดเกลือความเข้มข้น 6.34 นอร์มอล จำนวน 10 มิลลิลิตรแล้วนำไปอุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นานประมาณ 10 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว แล้วปรับปริมาตรส่วนผสมทั้งหมดให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 5 โมล่าร์ แล้วนำสารละลายที่ได้ไปปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปริมาตร แล้วทำการไตรเตรทเช่นเดียว กับการหาน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนอินเวอร์ชั่น

ปริมาณน้ำตาลซูโครส(Sucrose) ตามวิธีของ Lane and Eynon (AOAC,1998)

เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนและหลังอินเวอร์ชันแล้ว สามารถหาปริมาณน้ำตาลซูโครสได้ ดังนี้

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

โดยที่ D_1 = ร้อยละของน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดก่อนทำการอินเวอร์ชัน

D_2 = ร้อยละของน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดหลังทำการอินเวอร์ชัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ Proximate analysis

ภาคผนวก ค-7 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC,1998)

วิธีวิเคราะห์

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง
2. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน 2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว(W1)
3. อบตัวอย่างในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสนาน 5 ชั่วโมง
4. นำออกจากตัวอบใส่ในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก(W2)
5. คำนวณปริมาณความชื้นจากสูตร

วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้นร้อยละโดยน้ำหนัก} = \frac{(W1) - (W2) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

เมื่อ

W1 = น้ำหนักอบภาชนะสำหรับหาความชื้นและตัวอย่างก่อนอบเป็นกรัม

W2 = น้ำหนักอบภาชนะสำหรับหาความชื้นและตัวอย่างหลังอบเป็นกรัม

ภาคผนวก ค-8 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน/ไนโตรเจนทั้งหมด โดยวิธีเคลดาห์ล (Kjeldahl Method) (AOAC,1998)

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Sulfuric acid ; H_2SO_4) ความเข้มข้นร้อยละ 98 (w/v)
2. คะตะลิตส์ผสม ประกอบด้วยโซเดียมซัลเฟต (Sodium sulfate : Na_2SO_4) ปราศจากไนโตรเจน ร้อยละ 96 คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate : $CuSO_4.5H_2O$) ปราศจากไนโตรเจน ร้อยละ 3.5 ซิลิเนียมไดออกไซด์ (Selenium dioxide ; SeO_2) ปราศจากไนโตรเจนร้อยละ 0.5
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide : NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ40 (w/v)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid : H_2SO_4) ความเข้มข้น 0.1 N. มีอายุการเก็บรักษา 1 เดือน หากครบกำหนดเวลาดังกล่าวให้นำสารละลายไปหาความเข้มข้นที่แน่นอนใหม่ (re-standardize) หรือนำไปใช้งานอื่นที่ไม่ต้องการความเข้มข้นที่แน่นอน

5. อินดิเคเตอร์ผสม (Mix indicator) ประกอบด้วยเมทิลเรด (Methyl red) ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 (w/v) ในแอลกอฮอล์ ผสมกับโบโมครีศอลกรีน (Bromocresol green)ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 (w/v) 1:5

6. กรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 (w/v)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนักที่แน่นอนโดยใช้บีกเกอร์ ใส่ตัวอย่าง 0.5-2.0 กรัม และชั่งน้ำหนัก (W1) ถ่ายตัวอย่างลงในหลอกเคลดาห์ล แล้วชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ที่ถ่ายตัวอย่างออกแล้ว (W2) ทำ Blank ควบคู่ไปด้วย

2. เติมคะตะลิตส์จำนวน 8 กรัม

3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร โดยเอียงขวดและค่อยๆ รินกรดลงข้างๆ หลอด เพื่อล้างตัวอย่างที่อาจติดอยู่ข้างหลอดให้หมด และค่อยๆเขย่าตัวอย่างเบาๆ

4. นำไปย่อยที่ชุดโปรตีนในตู้ควัน โดยใช้ความร้อนระดับ 5 นาน 1 ชั่วโมง แล้วจึงเพิ่มเป็นระดับความร้อนระดับ 10 อีกนาน 2 ชั่วโมงหรือจนหระทั่งสารละลายใสจึงปิดชุดย่อย รอจนกระทั่งสารละลายเย็นลงในอุณหภูมิห้อง ห้ามนำหลอดย่อยไปทำให้เย็นด้วยน้ำเพราะจำทำให้หลอดย่อยแตกได้

5. นำสารละลายที่ได้ต่อกับเครื่องกลั่นโปรตีน โดยนำขวดรูปชมพู่ ที่มีกรดบอริกจำนวน 50 มิลลิลิตร และหยดอินดิเคเตอร์ผสม ลงไป 3-5 หยด

6. อัตราการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ให้มีปริมาณมากเกินพอ (ประมาณ 60 มิลลิลิตร) ข้อสังเกต ถ้าปริมาณด่างมากเกินพอ สารละลายจะมีสีดำถ้ายังไม่เกิดสีดำให้เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เพิ่มอีก 5 –10 มิลลิลิตร

7. เปิดเครื่องเริ่มทำการกลั่นโดยให้ทำ blank ก่อนตัวอย่างจึงทำการกลั่นตัวอย่าง

8. นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก จนได้จุดยุติ คือ สังเกตสีชมพูปรากฏขึ้นและสารละลายสีเทาอมม่วง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการคำนวณ

ปริมาณไนโตรเจนร้อยละของน้ำหนัก $= \frac{(V_a - V_b) \times N.\ H_2SO_4 \times 1.4007}{W1 - W2}$

V_a = ปริมาณของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

V_b = ปริมาณของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไทเทรต Blank มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

$N.\ H_2SO_4$ = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก มีหน่วยเป็นนอร์มอล

W1 = น้ำหนักสคูปและตัวอย่าง มีหน่วยเป็นกรัม

W2 = น้ำหนักสคูปที่ถ่ายตัวอย่างออกเรียบร้อยแล้ว มีหน่วยเป็นกรัม

ปริมาณโปรตีน ร้อยละของน้ำหนัก = ปริมาณไนโตรเจน ร้อยละของน้ำหนัก x แฟกเตอร์

ภาคผนวก ค-9 การวิเคราะห์ไขมันโดยวิธีโรส-กอตต์เลียบ (AOAC,1998)

สารเคมี

1. สารละลายแอมโมเนียม (Ammonium solution : NH_4OH) ความเข้มข้นร้อยละ 25-30 ใสและไม่มีสี
2. เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol : C_2H_5OH) ความเข้มข้นร้อยละ 95
3. ไดเอทิล อีเทอร์ (Diethyl ether) ปราศจากเปอร์ออกไซด์
4. ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether) จุดเดือด 30-60 องศาเซลเซียส
5. สารละลายผสม ข้อ 5.3 และ5.4 อัตราส่วน 1:1

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างด้วยน้ำหนักที่แน่นอน (0.5-1.0 กรัม) ใส่บีกเกอร์ ที่มีฝาปิด (W1)
2. ถ่ายตัวอย่างลงในกรวยแยก
3. ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ที่มีฝาปิดที่ถ่ายตัวอย่างออกแล้ว (W2)
4. เติมน้ำอุ่นเล็กน้อยให้ตัวอย่างละลาย เติมน้ำให้ครบ 10 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. เติมสารละลายแอมโมเนียม 1.25 มิลลิลิตร (ถ้าตัวอย่างมีรสเปรี้ยวให้เพิ่มปริมาณเป็น 2 มิลลิลิตร)

6. เติมเอทิลแอลกอฮอล์ 10 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ

7. เติมไดเอทิล อีเทอร์ 25 มิลลิลิตร ปิดจุกให้แน่น ทำการสกัดโดยการเขย่าแรงๆ 1 นาที เปิดจุกอย่างระมัดระวัง โดยค่อยๆปิดเหมือนเดิม ล้างจุกด้วยสารละลายผสม จำนวนเล็กน้อย

8. เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ 25 มิลลิลิตร ปิดจุกให้แน่น ทำการสกัดโดยการเขย่าแรงๆ 1 นาทีปิดจุกอย่างระมัดระวัง เหมือนเดิม ล้างจุกด้วยสารละลายผสม จำนวนเล็กน้อย

9. ตั้งทิ้งไว้ในสารละลายแยกชั้น (ประมาณ 30 นาที) ถ่ายสารละลายส่วนใสชั้นบนออกลงในบีกเกอร์

10. เติมเอทิลแอลกอฮอล์ อีก 1 มิลลิลิตร ทำการสกัดเหมือน ข้อ 7และ 8 แต่เปลี่ยนปริมาณไดเอทิล อีเทอร์ และปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นอย่างละ 15 มิลลิลิตร

11. นำบีกเกอร์ ไปอังที่เครื่องอังน้ำที่อยู่ในตู้ดูดควันจนปริมาณไดเอทิลอีเทอร์และปิโตรเลียมอีเทอร์ระเหยออกจนหมด จึงนำไปอบต่อในตู้ลมร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ102 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (W3)

12. นำบีกเกอร์ที่ช่างน้ำหนักเสร็จเรียบร้อยแล้ว ไปล้างไขมันออก โดยใช้ปิโตรเลี่ยมอีเทอร์ 3 ครั้ง ๆละ 15 มิลลิลิตร รินใส่ขวดแล้วนำไปกลั่นเพื่อนำกลับมาใช้ต่อไปได้

13. นำบีกเกอร์ที่ล้างไขมันออกแล้วไปอบต่อในตู้ลมร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 102 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (W4)

วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณร้อยละของน้ำหนัก} = \frac{(W3-W4) \times 100}{W1-W2}$$

เมื่อ

W1 = น้ำหนักบีกเกอร์ที่มีฝาปิดและตัวอย่างมีหน่วยเป็นกรัม

W2 = น้ำหนักบีกเกอร์ที่มีฝาปิดถ่ายตัวอย่างออกมีหน่วยเป็นกรัม

W3 = น้ำหนักบีกเกอร์ที่มีไขมันมีหน่วยเป็นกรัม

W4 = น้ำหนักบีกเกอร์ที่ล้างไขมันออกแล้วมีหน่วยเป็นกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค-10 การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย (AOAC,1998)

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1.25
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.25
3. เอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95

วิธีการวิเคราะห์

1. ใส่ตัวอย่างโยเกิร์ตจากข้าวกล้องที่ผ่านการการสกัดไขมันออกแล้ว ลงในบีกเกอร์ทรงสูงสำหรับวิเคราะห์ขนาด 600 มิลลิลิตร
2. เติมกรดซัลฟูริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาณ 200 มิลลิลิตร
3. วางบีกเกอร์บนอุปกรณ์ให้ความร้อน ปิดด้วยกระจกนาฬิกา ต้มให้เดือดนาน 30 นาที
4. กรองด้วยกระดาษกรองที่ชั่งน้ำหนักแล้ว
5. ล้างด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งหมดความเป็นกรด
6. ถ่ายกากที่ได้ลงในบีกเกอร์ใบเดิม
7. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาณ 200 มิลลิลิตร
8. วางบีกเกอร์บนอุปกรณ์ให้ความร้อนเช่นเดิม แล้วต้มต่อนาน 30 นาที
9. กรองขณะร้อนผ่านกระดาษกรองใบเดิม
10. ล้างด้วยน้ำร้อนจนหมดความเป็นด่าง
11. ล้างด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณ 10 มิลลิลิตร
12. ใส่กระดาษกรองพร้อมกากลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบ อบถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง (W3)
13. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบพร้อมกากที่อบแห้งแล้วในเตาเผาอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 30 นาที (W4)
14. คำนวณปริมาณเส้นใย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณร้อยละของน้ำหนัก} = \frac{(W3-W4)\ (100 - \%H_2O - Fat) \times 100}{(W1-W2)}$$

เมื่อ

W1 = น้ำหนักบีกเกอร์ที่มีฝาปิดและตัวอย่างมีหน่วยเป็นกรัม

W2 = น้ำหนักบีกเกอร์ที่มีฝาปิดถ่ายตัวอย่างออกมีหน่วยเป็นกรัม

W3 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องและกากหลังอบแล้วหน่วยเป็นกรัม

W4 = น้ำหนักบีกเกอร์ถ้วยกระเบื้องและกากหลังเผามีหน่วยเป็นกรัม

ภาคผนวก ค-11 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

วิธีวิเคราะห์

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 525 - 550 องศาเซลเซียส (เท่ากับอุณหภูมิที่เผาถ้วยตัวอย่าง) นาน 30 นาที ทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ ชั่งน้ำหนัก (W1) และใส่ตัวอย่างทันที ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ ชั่งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2-3 กรัม (W2)

2. นำไปเผาด้วยไฟอ่อนบนเตาไฟฟ้าโดยเพิ่มความร้อนขึ้นทีละน้อยจนตัวอย่างไหม้เกรียมและเผาต่อด้วยตะเกียงบุนเซน ให้หมดควัน ในกรณีที่ตัวอย่างเป็นของเหลวหรือกึ่งแข็งกึ่งเหลวให้นำตัวอย่างไประเหยแห้งบนเครื่องอังน้ำก่อนนำไปเผาบนเตาไฟฟ้า

3. นำไปเผาต่อในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 525 - 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาว (ใช้เวลา 2-3 ชั่วโมง)

4. ทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ชั่งน้ำหนักไว้

5. ถ้าเถ้าที่ได้ไม่ขาว ให้หยดน้ำเล็กน้อยพอเปียกชุ่ม (ระวังอย่าให้เถ้าฟุ้งหรือกระเด็น) นำไประเหยให้แห้ง บนเครื่องอังน้ำ และทำซ้ำตามข้อ 5.2-5.4 โดยใช้เวลาในเตาเผาเพียง 1 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ (น้ำหนักคงที่ หมายถึงผลต่างของการชั่งสองครั้ง ติดกันมีค่าไม่เกิน 2 มิลลิกรัม) ชั่งน้ำหนักที่ได้ (W2)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการคำนวณ

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

เมื่อ

W1 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบเป็นกรัม

W2 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่างเป็นกรัม

W3 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบและเถ้าเป็นกรัม

ภาคผนวก ค-12 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยวิธีการคำนวณ (By different) (AOAC, 1998)

การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตหาได้จาก 100 ลบด้วยผลรวมระหว่างปริมาณความชื้น ปริมาณไขมัน ปริมาณโปรตีน ปริมาณเส้นใย และปริมาณเถ้า ผลที่ได้คือ ปริมาณคาร์โบไฮเดรต หน่อยเป็นร้อยละ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

ภาคผนวก ค-13 การตรวจหาปริมาณเชื้อเริ่มต้นทั้งหมด

เครื่องมือและเครื่องแก้ว

1. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
2. หลอดทอลองขนาด 15X160 มิลลิเมตร
3. ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
4. เครื่องชั่งความละเอียด 0.01 กรัม
5. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่ 50 องศาเซลเซียส
6. ตู้บ่มเพาะเชื้อ ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส
7. Anaerobic jar (Merck, Germany)
8. สารจับออกซิเจน Anaerocult A (Merck, Germany)

สารละลายสำหรับเจือจาง

1. สารละลายสำหรับเจือจาง สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (NaCl, Merck, Germany) (มอก. 335/1-2523)
2. อาหารแข็ง MRS agar (Merck, Germany)

วิธีการวิเคราะห์

1. วิธีการเตรียมตัวอย่างอาหาร

1.1 ใช้ช้อนที่ปราศจากเชื้อ ตักตัวอย่างอาหารใส่ในขวดที่มีสารละลายเจือจาง 90 มิลลิลิตร บนเครื่องชั่ง ชั่งจนได้น้ำหนัก 10 กรัม เขย่าขวดขึ้นลงอย่างแรง ระยะการเขย่า 60 เซนติเมตร 20 ครั้ง จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10

1.2 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดสอบที่มีสารละลายสำหรับเจือจาง 9 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:100 (10^{-2})

1.3 เจือจางตัวอย่างอาหารจนได้ความเจือจาง 1:1,000,000 (10^{-6})

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. **การเพาะเชื้อตัวอย่างอาหาร**

2.1 ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายของตัวอย่างอาหารที่เจือจางที่ (10^{-5}) ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.2 ทำการ pour plate สารละลายให้ทั่วจาน ทิ้งไว้จนหน้าวุ้นแห้ง คว่ำจานเพาะเชื้อ

3. **การบ่มเชื้อ**

นำจานเพาะเชื้อใส่ลงใน Anaerobic jar ใส่สารจับออกซิเจนลงไป แล้วปิดฝาให้สนิท นำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

4. **การนับโคโลนีและการรายงานผล**

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากข้าวกล้อง บน MRS agar หลังบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีในการทำซ้ำ รายงานผลการตรวจนับเป็นจำนวนเชื้อเริ่มต้นในรูปของจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (CFU/g) หรือ $\log_{10}$ ของจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (log CFU/g)

ภาคผนวก ค-14 การตรวจหาปริมาณเชื้อ *B .longum* และเชื้อโยเกิร์ต

เครื่องมือและเครื่องแก้ว

1. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
2. หลอดทอลองขนาด 15X160 มิลลิเมตร
3. ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
4. เครื่องชั่งความละเอียด 0.01 กรัม
5. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่ 50 องศาเซลเซียส
6. ตู้บ่มเพาะเชื้อ ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส
7. Anaerobic jar (Merck, Germany)
8. สารจับออกซิเจน Anaerocult A (Merck, Germany)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สารละลายสำหรับเจือจาง

1. สารละลายสำหรับเจือจาง สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (NaCl, Merck, Germany) (มอก. 335/1-2523)
2. อาหารแข็ง HHD agar (Champagne et al., 1997 ; IDF, 1995)

วิธีการวิเคราะห์

HHD agar (Homofermentative Heterofermentative Differential Medium) เตรียมจากสูตรของ McDonal และคณะ ในปี 1978 เพื่อที่ใช้ติดตามการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ homofermentative และ heterofermentative ที่มีการผลิตกรดที่แตกต่างกันจากการใช้น้ำตาลฟรุคโทส โดยส่วนผสมอื่นในอาหารเลี้ยงเชื้อ HHD agar ที่ช่วยในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อกลุ่มแบคทีเรีย ได้แก่ trypticase peptone, phytone peptone, casamino acid และ yeast extract ส่วน potassium hydrogen phosphate เป็นแหล่งของ phosphate นอกจากนั้นยังทำหน้าที่เป็น buffer ในอาหารเลี้ยงเชื้อ HHD agar ในองค์ประกอบของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อมีการเติม Tween 80 เพื่อทำหน้าที่เป็นสารลดแรงตึงผิวของผนังเซลล์แบคทีเรียเพื่อที่จะช่วยให้แบคทีเรียนำอาหารจากภายนอกเข้าสู่เซลล์ได้ดีขึ้น และการเติม Bromcresol green เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ค่าการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรดด่าง ที่มีความแตกต่างกันของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ดังนั้นเมื่อเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดมีความสามารถในการผลิตกรดไม่เท่ากันจึงส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียด้วย ดังนั้นลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ HHD agar จึงมีความแตกต่างกัน โดยที่เป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม homofermentative จะมีลักษณะโคโลนีเป็นสีฟ้า-เขียว ส่วนเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม heterofermentative จะให้ลักษณะโคโลนีที่มีสีขาว

เชื้อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* เป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม homofermentative ซึ่งผลิตกรดแลคติค ส่วนเชื้อ *B. longum* เป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม heterofermentative ซึ่งผลิตกรดแลคติคและกรดอะซิติคในอัตราส่วน 3:2 (Gomes and Malcata, 1999) โดยที่ลักษณะโคโลนีของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* จะเป็นสีเขียว –ฟ้า ส่วน bifidobacteria จะมีลักษณะโคโลนีสีขาว (IDF, 1990)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ HHD agar มีดังนี้

Basal medium	**กรัม**
น้ำตาลฟรุคโทส	2.5
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	2.5
Trypticase peptone	10.0
Phytone peptone	1.5
Casamino acids	3.0
Yeast extract	1.0
Tween 80	1.0
ผงวุ้น	20.0

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผสมส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากัน ต้มจนเดือด (กวนบ่อยๆ) เพื่อให้ส่วนผสมละลายหมด ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้ได้ 6.8-7.0 ที่ 25 องศาเซลเซียส แบ่งอาหารใส่ขวดปลอดเชื้อ ใบละ 200 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สารละลายสี (Dry solution)

ละลาย Bromcresol green 0.1 กรัมในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมล์/ลิตร จำนวน 30 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จ HHD

เติมสารละลายสี 4 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลวที่อุณหภูมิ 45-48 องศาเซลเซียส เขย่าให้เข้ากัน ก่อนใช้

1. วิธีการเตรียมตัวอย่าง

1.1 ใช้ช้อนที่ปราศจากเชื้อ ตักตัวอย่างอาหารใส่ในขวดที่มีสารละลายเจือจาง 90 มิลลิลิตร บนเครื่องชั่ง ชั่งจนได้น้ำหนัก 10 กรัม เขย่าขวดขึ้นลงอย่างแรง ระยะการเขย่า 60 เซนติเมตร 20 ครั้ง จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดสอบที่มีสารละลายสำหรับเจือจาง 9 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:100 (10^{-2})

1.3 เจือจางตัวอย่างอาหารจนได้ความเจือจาง 1:1,000,000 (10^{-6})

2. การเพาะเชื้อตัวอย่างอาหาร

2.1 เตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้จนแข็งตัว ควั่ำจานเพาะเชื้อ วางทิ้งไว้เป็นเวลา 1 คืน เพื่อให้หนาวุ้นแข็ง

2.2 ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายของตัวอย่างอาหารที่เจือจางที่ (10^{-6}) จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนจานที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.3 ใช้แท่งแก้วสำหรับเกลี่ย (Spreader) เกลี่ยสารละลายให้ทั่วจาน ทิ้งไว้จนหน้าวุ้นแห้ง ควั่ำจานเพาะเชื้อ

3. การบ่มเชื้อ

นำจานเพาะเชื้อใส่ลงใน Anaerobic jar ใส่สารจับออกซิเจนลงไป แล้วปิดฝาให้สนิท นำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

4. การนับโคโลนีและการรายงานผล

4.1 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากข้าวกล้อง บน HHD agar หลังบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้วตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี โดยจำแนกลักษณะโคโลนีดังนี้ โคโลนีที่มีขนาดใหญ่ ผิวด้านไม่มันวาว ค่อนข้างโปร่งแสง ส่วนนูนตรงกลางมีสีเขียว-ฟ้า จะเป็นโคโลนีของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Stretococcus themophilus* ส่วนโคโลนีที่มีสีขาว คือ โคโลนีของ *Bifidobaterium longum*
รายงานการตรวจนับเป็นจำนวนเชื้อเริ่มต้นแต่ละชนิดในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (CFU/g) หรือ $\log_{10}$ จำนวนโคโคลีต่ออาหาร 1 กรัม (log CFU/g)

4.2 การคำนวณปริมาณของ *B. longum* โดยการนำปริมาณเชื้อเริ่มต้น (ภาคผนวก ค-13) รวมลบด้วยปริมาณของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Stretococcus themophilus* (Dave and Shah, 1996)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค-15 การตรวจหาเชื้อยีสต์และรา (IDF, 1991)

เครื่องมือและเครื่องแก้ว

1. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
2. หลอดทอลองขนาด 15X160 มิลลิเมตร
3. ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
4. เครื่องชั่งความละเอียด 0.01 กรัม
5. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่ 50 องศาเซลเซียส
6. ตู้บ่มเพาะเชื้อ ควบคุมอุณหภูมิที่ 25±1 องศาเซลเซียส

สารละลายสำหรับเจือจางและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลายสำหรับเจือจาง สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (NaCl, Merck, Germany) (มอก. 335/1-2523)
2. อาหารแข็ง Yeast extract-glucose-chloramphenical agar (Difco Laboratory, USA)

วิธีการวิเคราะห์

1. **การเตรียมตัวอย่างอาหาร**

ใช้ช้อนที่ปราศจากเชื้อ ตักตัวอย่างอาหารใส่ในขวดที่มีสารละลายเจือจาง 90 มิลลิลิตร บนเครื่องชั่ง ชั่งจนได้น้ำหนัก 10 กรัม เขย่าขวดขึ้นลงอย่างแรง ระยะการเขย่า 60 เซนติเมตร 20 ครั้ง จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10

2. **การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ**

2.1 ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายของตัวอย่างอาหารลงในจานเพาะเชื้อจานละ 1 มิลลิลิตร ความเจือจางละ 2 จาน

2.2 เทอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีตัวอย่างอาหาร จานละ 15-20 มิลลิลิตร

2.3 ผสมตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากัน วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว

3. **การบ่มเชื้อ**

บ่มจานเพาะเชื้อที่ 25±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. **การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล**

หลังบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 10-150 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีในการทำซ้ำ รายงานผลการตรวจนับ เป็นจำนวนเชื้อเริ่มต้นในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (log CFU/g) ถ้ามีหลายความเจือจางใช้สูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาณยีสต์และราต่อ 1 กรัม} = \frac{\Sigma C}{(n_1 + 0.1n_2)\, d}$$

โดยที่

ΣC คือ ผลรวมของโคโลนีที่นับได้บนจานเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี 10-150 โคโลนีทั้งหมด

n_1 คือ จำนวนจานเลี้ยงเชื้อในความเจือจางแรกที่สามารถนับได้

n_2 คือ จำนวนจานเลี้ยงเชื้อในความเจือจางสองที่สามารถนับได้

d คือ ความเจือจางแรกที่สามารถนับได้ เช่นเริ่มนับได้ที่ความเจือจาง 10^{-1} d เท่ากับ10^{-1}

ภาคผนวก ค-16 การตรวจโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

เครื่องมือและเครื่องแก้ว

1. หลอดทดลองขนาด 16x150 มิลลิเมตร
2. หลอดดักก๊าซ (Durham tube)
3. ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
4. เครื่องชั่งความละเอียด 0.01 กรัม
5. ตู้บ่มเพาะเชื้อ ควบคุมอุณหภูมิที่ 37±1 องศาเซลเซียส

สารละลายสำหรับเจือจางและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลายสำหรับเจือจาง สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (NaCl, Merck, Germany) (มอก. 335/1-2523)
2. อาหารเหลว Lauryl tryptose broth (Difco Laboratory, USA)
3. อาหารเหลว Brilliant green lactose bile broth (Difco Laboratory, USA)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่างอาหาร

1.1 ใช้ช้อนที่ปราศจากเชื้อ ตักตัวอย่างอาหารใส่ในขวดที่มีสารละลายเจือจาง 90 มิลลิลิตร บนเครื่องชั่ง ชั่งจนได้น้ำหนัก 10 กรัม เขย่าขวดขึ้นลงอย่างแรง ระยะการเขย่า 60 เซนติเมตร 20 ครั้ง จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10

1.2 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดสอบที่มีสารละลายสำหรับเจือจาง 9 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:100 (10^{-2})

1.3 เจือจางตัวอย่างอาหารจนได้ความเจือจาง 1:1,000 (10^{-3})

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ละลายผงอาหาร Lauryl tryptose broth ลงในน้ำกลั่นตามที่กำหนด ปิเปตอาหารลงในหลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตร ใส่หลอดดักก๊าซลงไป นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. การใส่ตัวอย่างอาหาร

ปิเปตตัวอย่างอาหารความเจือจางที่ 10^{-1}, 10^{-2}และ 10^{-3} ความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีอาหารเลี้ยวเชื้อ Lauryl tryptose broth ความเจือจางละ 3 หลอด รวมเป็น 9 หลอด

4. การบ่มเชื้อ

บ่มหลอดทดลองที่ใส่ตัวอย่างอาหารแล้วในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง

5. การตรวจนับโคโลนีและการรายงานผล

หลังจากบ่มเชื้อตามที่กำหนดแล้ว ตรวจนับจำนวนหลอดทอลองที่มีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดดักก๊าซ แล้วเทียบตามตารางที่ ค-1 รายงานผลเป็น MPN/g

6. การยืนยันผล

นำอาหารในหลอดที่มีก๊าซเกิดขึ้นหลอดละ 1 ลูป เพาะลงในหลอดทดลองที่มี Brilliant green lactose bile broth แล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง ถ้ามีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดดักก๊าซแสดงว่าเป็นโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ ค-1 การประมาณปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สำหรับความเจือจาง 0.1, 0.01 และ 0.001 กรัมอย่างละ 3 หลอด

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก			
0.1 กรัม	0.01 กรัม	0.001 กรัม	MPN/g
0	0	0	<3
0	1	0	3+
0	0	0	4
0	0	0	7+
0	0	0	7
0	0	0	11
0	0	0	9
0	0	0	14+
0	0	0	15
0	0	0	20+
0	0	0	21
0	0	0	23
0	0	0	39
0	0	0	43
0	0	0	75
0	0	0	93
0	0	0	150
0	0	0	210+
0	0	0	240
0	0	0	460
0	0	0	1100
0	0	0	>1100

ที่มา : Vanderzant and Splittstoesser, 1992

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค-17 การย้อมสีแกรม (Gram's stain)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ห่วงถ่ายเชื้อ
2. แผ่นสไลด์
3. สารละลาย crystal violet
4. สารละลาย gram's iodine
5. สารละลาย ethanol ร้อยละ 95
6. สารละลาย safranino carbon fuchsin
7. กล้องจุลทรรศน์

วิธีการการย้อมสีแกรม (เรณู, 2537)

1. ใช้ห่วงถ่ายเชื้อแตะน้ำสะอาดลงบนแผ่นสไลด์ จำนวน 1 ห่วง
2. ใช้ห่วงถ่ายเชื้อแตะเชื้อจากผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติคลงบนหยดน้ำบนสไลด์ เกลี่ยให้กระจาย
3. ปล่อยให้แห้งในอากาศ แล้วนำไปผ่านเปลวไฟ ประมาณ 1 วินาที
4. หยดสารละลาย crystal violet ลงให้ท่วมรอยที่เกลี่ยทิ้งไว้นาน 30 วินาที เทสารละลายทิ้งล้างด้วยน้ำสะอาด
5. หยดสารละลาย gram's iodineลงให้ท่วมรอยที่เกลี่ยทิ้งไว้นาน 30 วินาที เทสารละล้างทิ้งด้วยน้ำสะอาด
6. ล้างด้วยสารละลาย ethanol ร้อยละ 95 อย่างรวดเร็ว จนไม่มีสีน้ำเงินของสารละลาย crystal violet ออกมาแต่ต้องไม่เกิน 20 วินาที ล้างด้วยน้ำสะอาด
7. หยดสารละลาย safranino carbon fuchsin ลงให้ท่วมรอยที่เกลี่ยทิ้งไว้นาน 5 วินาที เทสารละลายทิ้งล้างด้วยน้ำ ซับน้ำออกให้แห้ง
8. นำไปตรวจลักษณะของเซลล์จุลินทรีย์ที่ติดสีแกรมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกลักษณะการติดสีแกรมและรูปร่างลักษณะของเซลล์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง
ตัวอย่างการคำนวณ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง-1 การถอดรหัสสมการถดถอย

สมการถดถอย(Regression equation)ที่ยังไม่ได้ถอดรหัสจากการทดลอง Factorial experiment ต้องนำไปถอดรหัสก่อนจะนำไปแทนค่าของตัวแปรโดยมีสูตรการคำนวณการถอดรหัสดังนี้

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

ตัวอย่างจากสมการ 3.1 ในบทที่ 4

(3.1) ค่าสีเหลือง-น้ำเงิน (b) = 11.320 + 0.542 (นมผงขาดมันเนย)- 0.175(นมผงขาดมันเนย)^2 $R^2 = 0.962$

ระดับของนมผงขาดมันเนยในการหมักที่ระดับสูงร้อยละ 12 และ ระดับต่ำร้อยละ 7

(ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น+ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น)/2 = 9.5

(ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น-ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น)/2 = 4

แทนค่าตามสูตรการถอดรหัส

ค่าสีเหลือง-น้ำเงิน (b) $=11.320+0.542[(a-9.5)/2.5] - 0.175[(a-9.5)/2.5]^2$ $R^2 = 0.962$

ค่าจริงในสมการต้องคงไว้ในรูปตัวแปรก่อน แก้สมการให้อยู่ในรูปที่ง่ายขึ้นได้ดังนี้

ค่าสีเหลือง-น้ำเงิน (b) = 9.26 + 0.2168 (นมผงขาดมันเนย) – 0.175(0.4*นมผงขาดมันเนย-3.8)^2 $R^2 = 0.962$

จากนั้นทดสอบโดยการแทนค่าระดับการใช้จริง(ค่าจริง)ของตัวแปรทั้งสองเข้าไป เช่น ร้อยละ 7

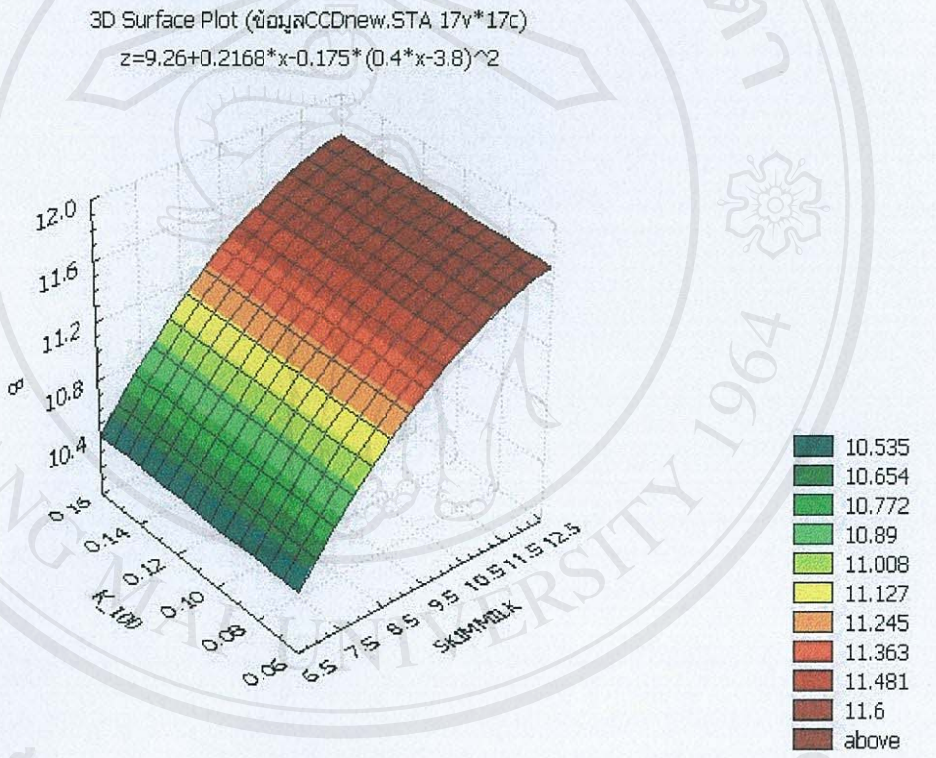
$f(7) = 9.26 + 0.2168\ (7) - 0.175(0.4*(7)-3.8)^2$

$= 10.603$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทำแผนภาพ Response surface

ใช้โปรแกรม Statistica V5.5 ในการทำ โปรแกรมนี้จะใช้ฟังก์ Custom function ในการทำ plot equation โดยการใส่สมการลงในช่องสมการ แล้วกำหนดช่วงระดับการใช้ของปัจจัยของตัวแปรพร้อมทั้งกำหนดตัวแปรที่ต้องการศึกษาและทำการเลือกค่าตอบสนองที่ต้องการให้โปรแกรมสร้างกราฟ 2/3 มิติ เช่นในสมการ 3.11



ภาพที่ ง-1 แสดงภาพพื้นที่การตอบสนอง แบบ 2D Contour plot ที่ได้จากสมการถดถอย (Regression equation) ของค่าสี b (เหลือง-น้ำเงิน)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก จ
ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก จ-1 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข
ฉบับที่ ๔๖ (พ.ศ.๒๕๒๓)
เรื่อง นมเปรี้ยว

อาศัยอำนาจตามความในมาตร ๕ และมาตรา ๖ (๑) (๒) และ (๗) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๒๒ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ให้ยกเลิกประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ ๒๗ (พ.ศ. ๒๕๒๒) เรื่องกำหนดนมเปรี้ยวเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน ลง วันที่ ๑๓ กันยายน พ.ศ. ๒๕๒๒

ข้อ ๒ ให้นมเปรี้ยวเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ

ข้อ ๓ นมเปรี้ยว (Cultured milk) หมายความว่า นมหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนมที่หมักด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคหรือที่ไม่ทำให้เกิดพิษ และมีจุลินทรีย์ดังกล่าวที่มีชีวิตคงเหลืออยู่จากกรรมวิธีการหมักนั้นอาจเติมวัตถุที่จำเป็นต่อกรรมวิธีการผลิต หรืออาจปรุงแต่สีกลิ่นรส ด้วยก็ได้

ความในข้อ ๓ นี้ถูกยกเลิกและใช้ความใหม่แทนแล้วโดยข้อ ๑ แห่งประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๙๙ (พ.ศ. ๒๕๒๙)

ข้อ ๔ นมเปรี้ยวต้องมีคุณภาพมาตรฐานต่อไปนี้

(๑) มีโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ ๑.๕ ของน้ำหนัก

(๒) ตรวจไม่พบบักเตเรียซนิด E coli ในอาหาร ๐.๑ กรัม

(๓) ไม่ใช้วัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาล

(๔) ไม่มีวัตถุกันเสีย

(๕) ไม่มีสารเป็นพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ

ข้อ ๕ นมเปรี้ยว ต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน ๑๐ องศาเซลเซียส และระยะเวลาจำหน่ายต้องไม่เกิน ๗ วัน นับแต่วันที่บรรจุในภาชนะบรรจุ

ความในข้อ ๕ นี้ถูกยกเลิกและใช้ความใหม่แทนแล้วโดยข้อ ๒ แห่งประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๙๙ (พ.ศ. ๒๕๒๙)

ข้อ ๖ ภาชนะบรรจุที่ใช้บรรจุนมเปรี้ยว ให้ปฏิบัติตามกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ภาชนะบรรจุ

ข้อ ๗ การแสดงฉลากของนมเปรี้ยวให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องฉลาก

ประกาศฉบับนี้ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๒๘ มกราคม ๒๕๒๓

บุญสม มาร์ติน

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

(๙๗ ร.จ. ตอนที่ ๒๙ (แผนกราชกิจจาฯ) ลงวันที่ ๒๒ กุมภาพันธ์ ๒๕๒๓)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก จ-2 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข
ฉบับที่ ๙๙ (พ.ศ.๒๕๒๙)
เรื่อง นมเปรี้ยว (ฉบับที่ ๒)

อาศัยอำนาจตามความในมาตร ๕ และมาตรา ๖ (๑) (๒) และ (๗) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๒๒ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ให้ยกเลิกความในข้อ ๓ ของประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๔๖ (พ.ศ. ๒๕๒๓) เรื่องนมเปรี้ยวลงวันที่ ๒๘ มกราคม ๒๕๒๓ และให้ใช้ความต่อไปนี้แทน

"ข้อ ๓ นมเปรี้ยว (Cultured milk) หมายความว่า นมหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนมที่หมักด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคหรือที่ไม่ทำให้เกิดพิษ และมีจุลินทรีย์ดังกล่าวที่มีชีวิตคงเหลืออยู่จากกรรมวิธีการหมักนั้นอาจเติมวัตถุที่จำเป็นต่อกรรมวิธีการผลิต หรืออาจปรุงแต่สีกลิ่นรส ด้วยก็ได้"

ข้อ ๒ ให้ยกเลิกข้อความในข้อ ๕ ของประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๔๖ (พ.ศ. ๒๕๒๓) เรื่องนมเปรี้ยวลงวันที่ ๒๘ มกราคม ๒๕๒๓ และให้ใช้ความต่อไปนี้แทน

"ข้อ ๕ นมเปรี้ยวที่มีจุลินทรีย์ที่ใช้ในกรรมวิธีการหมักมีชีวิตคงเหลืออยู่ต้อง ต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน ๑๐ องศาเซลเซียส และระยะเวลาจำหน่ายต้องไม่เกิน ๗ วัน นับแต่วันที่บรรจุในภาชนะบรรจุ"

ประกาศฉบับนี้ไม่กระทบกระเทือนถึงใบสำคัญของการขึ้นทะเบียนตำรับอาหารที่ออกให้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๖๒ (พ.ศ. ๒๕๒๔) เรื่องเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ลงวันที่ ๗ กันยายน ๒๕๒๔ ให้ผู้ที่ได้รับใบคำสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับดังกล่าวมาดำเนินการแก้ไขตำรับอาหารให้มีรายละเอียดถูกต้องตามประกาศฉบับนี้ภายในเก้าสิบวันนับตั้งแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ประกาศฉบับนี้ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๒๘ มกราคม ๒๕๒๓

มารุต บุญนาค

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

(๑๐๓ ร.จ. ตอนที่ ๕๕ (ฉบับพิเศษ แผนกราชกิจจาฯ) ลงวันที่ ๑๐ เมษายน ๒๕๒๙)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติการศึกษา

ชื่อ-นามสกุล		นางสาวอิศรา วัฒนนภาเกษม
วัน เดือน ปี เกิด		30 ธันวาคม 2521
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2539	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาปลาย โรงเรียนสระบุรีวิทยาคม จังหวัดสระบุรี
	พ.ศ. 2543	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved