ภาคผนวก ก

ภาพประกอบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก-1 สภาพร้านค้าผลิตภัณฑ์มั่มพื้นบ้าน

ภาพ ก-2 ลักษณะของผลิตภัณฑ์มั่มที่ผลิตจากเนื้อแบบต่างๆ

มั่มหมู (สองแถวบน)

มั่มเนื้อ(สองแถวล่าง)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก-3 ลักษณะของผลิตภัณฑ์มั่มหมู

ภาพ ก-4 ลักษณะของผลิตภัณฑ์มั่มเนื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก-5 ลักษณะของผลิตภัณฑ์มั่มพกเนื้อ

ภาพ ก-6 ลักษณะผลิตภัณฑ์มั่มหมูพื้นบ้าน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สูตร และ กระบวนการผลิต
ผลิตภัณฑ์มั่มโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นผสม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก-7 (ซ้ายบน)เนื้อสะโพกหมูที่ผ่านการเอามันออกและบดแล้ว

ภาพ ก-8 (ขวาบน)ตับหมูที่ผ่านการต้มและบดละเอียดแล้ว

ภาพ ก-9 (ซ้ายกลาง)ข้าวเหนียวและกระเทียมที่บดผสมรวมกัน

ภาพ ก-10 (ขวากลาง)ส่วนผสมที่พร้อมบรรจุลงในไส้คอลลาเจน

ภาพ ก-11 (ภาพล่าง)ส่วนผสมที่กำลังบรรจุลงในไส้คอลลาเจน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก-12 ส่วนผสมที่บรรจุลงไส้ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

ภาพ ก-13 ส่วนผสมที่บรรจุลงไส้ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง

ภาพ ก-14 ส่วนผสมที่บรรจุลงไส้ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก-15 ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมัก 48 ชั่วโมง(ก่อนทำให้สุก)

ภาพ ก-16 ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมัก 48 ชั่วโมง(หลังทำให้สุก)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การผลิตมั่ม โดยเทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น เพื่อการศึกษาอายุการเก็บรักษา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก-17 มั่มที่บรรจุลงไส้คอลลาเจนและมัดแล้ว ไม่แช่สารละลายโปแตสเซียมซอร์เบท

ภาพ ก-18 กระบวนการแช่มั่มในสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบท

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก-19 (ซ้ายบน)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่บรรจุในถุงป้องกันการแลกเปลี่ยนความชื้น สัปดาห์ที่ 1
ภาพ ก-20 (ขวาบน)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่มีการควบคุมความชื้นที่ระดับร้อยละ 84 สัปดาห์ที่ 1
ภาพ ก-21 (ซ้ายล่าง)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่มีการควบคุมความชื้นที่ระดับร้อยละ 51 สัปดาห์ที่ 1
ภาพ ก-22 (ขวาล่าง)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่มีการควบคุมความชื้นที่ระดับร้อยละ 73 สัปดาห์ที่ 1

ด้านซ้าย เป็นตัวอย่างที่ไม่ผ่านการแช่สารละลายโปแตสเซียมซอร์เบท
ด้านขวา เป็นตัวอย่างที่ผ่านการแช่สารละลายโปแตสเซียมซอร์เบท

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก-23 (ซ้ายบน)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่บรรจุในถุงป้องกันการแลกเปลี่ยนความชื้น สัปดาห์ที่ 2
ภาพ ก-24 (ขวาบน)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่มีการควบคุมความชื้นที่ระดับร้อยละ 84 สัปดาห์ที่ 2
ภาพ ก-25 (ซ้ายล่าง)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่มีการควบคุมความชื้นที่ระดับร้อยละ 51 สัปดาห์ที่ 2
ภาพ ก-26 (ขวาล่าง)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่มีการควบคุมความชื้นที่ระดับร้อยละ 73 สัปดาห์ที่ 2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ด้านซ้าย เป็นตัวอย่างที่ไม่ผ่านการแช่สารละลายโปแตสเซียมซอร์เบท
ด้านขวา เป็นตัวอย่างที่ผ่านการแช่สารละลายโปแตสเซียมซอร์เบท

ภาพ ก-27 (ซ้ายบน)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่บรรจุในถุงป้องกันการแลกเปลี่ยนความชื้น สัปดาห์ที่ 3
ภาพ ก-28 (ขวาบน)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่มีการควบคุมความชื้นที่ระดับร้อยละ 84 สัปดาห์ที่ 3
ภาพ ก-29 (ซ้ายล่าง)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่มีการควบคุมความชื้นที่ระดับร้อยละ 51 สัปดาห์ที่ 3
ภาพ ก-30 (ขวาล่าง)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่มีการควบคุมความชื้นที่ระดับร้อยละ 73 สัปดาห์ที่ 3

เป็นตัวอย่างที่ผ่านการแช่สารละลายโปแตสเซียมซอร์เบท

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก-31 (ซ้ายบน)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่บรรจุในถุงป้องกันการแลกเปลี่ยนความชื้น สัปดาห์ที่ 4
ภาพ ก-32 (ขวาบน)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่มีการควบคุมความชื้นที่ระดับร้อยละ 84 สัปดาห์ที่ 4
ภาพ ก-33 (ซ้ายล่าง)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่มีการควบคุมความชื้นที่ระดับร้อยละ 51 สัปดาห์ที่ 4
ภาพ ก-34 (ขวาล่าง)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่มีการควบคุมความชื้นที่ระดับร้อยละ 73 สัปดาห์ที่ 4

เป็นตัวอย่างที่ผ่านการแช่สารละลายโปแตสเซียมซอร์เบท

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก-35 (ซ้ายบน)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่บรรจุในถุงป้องกันการแลกเปลี่ยนความชื้น สัปดาห์ที่ 5
ภาพ ก-36 (ขวาบน)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่มีการควบคุมความชื้นที่ระดับร้อยละ 84 สัปดาห์ที่ 5
ภาพ ก-37 (ซ้ายล่าง)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่มีการควบคุมความชื้นที่ระดับร้อยละ 51 สัปดาห์ที่ 5
ภาพ ก-38 (ขวาล่าง)ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่มีการควบคุมความชื้นที่ระดับร้อยละ 73 สัปดาห์ที่ 5

เป็นตัวอย่างที่ผ่านการแช่สารละลายโปแตสเซียมซอร์เบท

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก-39 ลักษณะการเสื่อมเสียจากเชื้อจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์มั่ม

ภาพ ก-40 ลักษณะการเสื่อมเสียจากเชื้อราที่พบในผลิตภัณฑ์มั่ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

แบบทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์

ผู้ทดสอบชิม..... วันที่.....

ผลิตภัณฑ์ : ผลิตภัณฑ์มั่ม

ลักษณะผลิตภัณฑ์ : เป็นไส้กรอกหมักที่มีส่วนผสมหลักได้แก่ เนื้อ และตับ (นิยมใช้เนื้อวัว หรือหมู) มีรสเปรี้ยว และมีกลิ่นเฉพาะตัว นิยมนำไปปิ้ง ทอด ย่างโดยรับประทานกับผักสด ขิง พริกและกระเทียมหรือนำไปประกอบอาหารก่อนรับประทาน

กรุณากรอกแบบสอบถามให้ตรงกับความต้องการของท่านมากที่สุด

1. ระบุหัวข้อ “ลักษณะของผลิตภัณฑ์” ที่ท่านคิดว่ามีความสำคัญลงในแต่ละหัวข้อ
2. กำหนดเครื่องหมาย I ลงบนสเกลในตำแหน่งที่ท่านคิดว่าเป็นระดับที่ดีที่สุดของลักษณะผลิตภัณฑ์นั้น ๆ ของลักษณะผลิตภัณฑ์ในอุดมคติ (Ideal)
3. กำหนดเครื่องหมาย x ลงบนสเกลในตำแหน่งที่คิดว่าเป็นระดับของลักษณะผลิตภัณฑ์นั้น ๆ ของผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง

ลักษณะปรากฏ

....

....

....

....

กลิ่นและรสชาติ

....

....

....

....

ลักษณะเนื้อสัมผัส

....

....

....

....

การยอมรับโดยรวม

....

ขอขอบคุณที่กรุณาให้ความร่วมมือ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์มั่ม

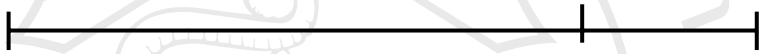
ผู้ทดสอบชิม..... วันที่.....

กรุณากำหนดเครื่องหมาย **x** ลงบนสเกลในตำแหน่งที่คิดว่าเป็นระดับของลักษณะผลิตภัณฑ์นั้น ๆ ของผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง เมื่อ **I** เป็นระดับค่าในอุดมคติของลักษณะผลิตภัณฑ์

สีของผลิตภัณฑ์

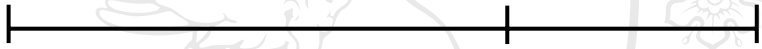
น้ำตาลอ่อน น้ำตาลเข้ม

ความเป็นเนื้อเดียวกัน



น้อย มาก

ความเปรี้ยว



น้อย มาก

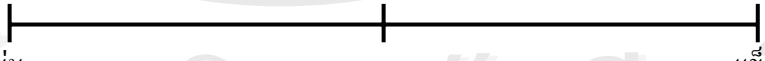
ความเค็ม

น้อย มาก

กลิ่นเฉพาะของผลิตภัณฑ์

น้อย มาก

ความนุ่ม-ความแข็ง



นุ่ม แข็ง

การยอมรับโดยรวม

น้อย มาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขอขอบคุณที่กรุณาให้ความร่วมมือ

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์คุณภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

การวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ตามวิธีของ AOAC (2000)

ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มมาจำนวน 10 กรัม ปั่นผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างด้วยเครื่อง Microprocessor pH-meter โดยก่อนวัดต้องปรับค่ามาตรฐานในการวัดแต่ละครั้ง(Calibrate) ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานที่มีความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 4.00 และ 7.00 ตามลำดับ ทำการวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติค ตามวิธีของ AOAC (2000)

การเตรียมสารเคมี

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรโดยใช้ขวดปรับปริมาตร

วิธีวิเคราะห์

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่ม 10 กรัม ปั่นผสมกับน้ำกลั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น โดยใช้ขวดปรับปริมาตร นำตัวอย่างที่เตรียมได้กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 จากนั้นปิเปตสารละลายส่วนใสที่ได้ 10 มิลลิลิตรลงใน ฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร นำไปไตเตรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ โดยใช้ฟีนอฟธาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ คำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดโดยคิดเทียบจากค่ามาตรฐาน โดยที่ 1 มิลลิลิตร ของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมล่าร์ ทำปฏิกิริยาสมมูลย์พอดีกับกรดแลคติค 0.009 กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณโปแตสเซียมซอร์เบทในรูปกรดซอร์บิค ตามวิธีของ AOAC (2000)

การเตรียมสารเคมี

- สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก

ละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 5 กรัม ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วยเอธิลแอลกอล์

- 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 เก็บของชั้นของอีเธอร์ไว้ แล้วทำให้แห้งด้วยโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ 5 กรัม รินสารละลายส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 250 นาโนเมตร เขียนกราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณกรดซอร์บิค (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของอีเธอร์) กับค่าการดูดกลืนแสง

การเตรียม Blank

เตรียมสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก 5 มิลลิลิตร เติมสารละลายอื่น ๆ เหมือนการเตรียมสารละลายมาตรฐานของโปแตสเซียมซอร์เบท

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีวิเคราะห์ปริมาณโปแตสเซียมซอร์เบทในรูปกรดซอร์บิค

ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่ม 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

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ AOAC (2000)

การเตรียมสารเคมี

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 50

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

- สารละลายกรดบอริก ความเข้มข้นร้อยละ 2

ละลายกรดบอริก 2 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

- สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น
- สารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐาน ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล
- สารละลายเมธิลเรดอินดิเคเตอร์

ละลายเมธิลเรด 0.016 กรัม และบรอมโมครีซอลกรีน 0.083 กรัม ด้วยเอธานอล แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

- คะตะลิสต์ผสม (Catalyst mixture)

ชั่งโซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ 96 กรัม คอปเปอร์ซัลเฟต 3.5 กรัม และซิลิเนียม ไดออกไซด์ 0.5 กรัม ผสมให้เข้ากัน

วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่บดละเอียดแล้วประมาณ 0.5-2.0 กรัม (ต้องทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ใน Kjeldahl digestion flask พร้อมด้วยคะตะลิสต์ผสม 8 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร นำไปย่อยด้วยความร้อนโดยใช้ชุดย่อยโปรตีน (Digestion unit) ทำการย่อยตัวอย่างจนได้สารละลายใส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ตั้งทิ้งไว้จนเย็นและไม่มีไอระเหยของกรด จากนั้นนำ Kjeldahl digestion flask ไปต่อกับชุดกลั่นโปรตีน (Distillation apparatus) นำฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตรที่มีสารละลายกรดบอริก 50 มิลลิลิตร และเมธิลเรด 2-3 หยด เพื่อใช้เป็นอินดิเคเตอร์มารองรับที่ปลาย Condenser โดยให้ปลาย Condenser อยู่ต่ำกว่าระดับของสารละลาย

3. เติมน้ำกลั่นปริมาณ 125 มิลลิลิตร ลงใน Kjeldahl digestion flask จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 75 มิลลิลิตร จากนั้นจึงทำการกลั่นด้วยความร้อน จะได้ของเหลวที่ควบแน่นลงมาทาง Condenser อย่างน้อย 300 มิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นชะปลาย Condenser ลงมาในฟลาสก์ และนำสารละลายทั้งหมดไปไตเตรตกับสารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐานความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนถึงจุดยุติที่สารละลายเป็นสีส้มแดง

4. บันทึกปริมาตรสารละลายกรดซัลฟูริกมาตรฐานที่ใช้ในการไตเตรต นำไปคำนวณหาปริมาณโปรตีนทั้งหมด (Crude protein)

5. ทำการวิเคราะห์ Blank โดยวิธีเดียวกับตัวอย่าง แต่ใช้เพียงคะตะลิสต์ผสมกับกรดซัลฟูริกเข้มข้นเท่านั้น

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละของน้ำหนัก)} = \frac{(V_a - V_b) * C * 1.4007}{W}$$

โดยที่

V_a คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

V_b คือ ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไตเตรต Blank (มิลลิลิตร)

C คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก (นอร์มัล)

W คือ น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

ปริมาณโปรตีน (ร้อยละของน้ำหนัก) = ปริมาณไนโตรเจน * Factor

โดย Factor ของผลิตภัณฑ์มั่มในการทดลองนี้เท่ากับ 6.25

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ตามวิธีของ AOAC (2000)

1. นำกระป๋องอลูมิเนียมของเครื่องสกัดไขมัน (Soxhlet extraction apparatus) ไปอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส แล้วปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักของกระป๋องอลูมิเนียม

2. ชั่งตัวอย่างแห้งผลิตภัณฑ์มั่มที่ได้ผ่านการหาความชื้นมาเรียบร้อยแล้ว ประมาณ 1 กรัม ใส่ลงในกระดาษกรองแล้วห่อลงใน Thimble

3. นำ Thimble ใส่ลงในกระป๋องอลูมิเนียมสำหรับสกัดไขมัน สวมหัวยึดที่เป็นโลหะกับส่วนบนของ Thimble แล้วนำไปติดกับตัวยึด Thimble ที่เป็นแม่เหล็กของเครื่องสกัดไขมัน แล้วสกัดไขมันด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์ที่มีจุดเดือด 40-60 องศาเซลเซียส ปริมาตร 150-200 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการสกัดประมาณ 2 ชั่วโมง

4. ถอด Thimble ที่มีห่อกระดาษกรองออกจากเครื่องสกัดไขมัน แล้วนำกระป๋องอลูมิเนียมที่มีไขมันที่สกัดได้อยู่ภายใน ไปอบที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที หรือจนน้ำหนักคงที่ นำกระป๋องอลูมิเนียมไปทำให้เย็นในโถดูดความชื้น บันทึกน้ำหนักของไขมันที่สกัดได้ แล้วคำนวณหาปริมาณไขมันดังนี้

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{A * 100}{B}$$

โดยที่ A คือ น้ำหนักไขมันที่สกัดได้ (กรัม)

B คือ น้ำหนักตัวอย่างแห้งที่นำมาวิเคราะห์ไขมัน รวมนำหนักความชื้น (กรัม)

การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมด (Reducing and total sugar) โดยวิธีของ James,1995 ตามวิธีของ AOAC (2000)

การเตรียมสารเคมี

- น้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร
- กรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10
- DNS reagent เตรียมโดยละลาย DNS 10 g ในสารละลาย 200 มิลลิลิตร ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 โมลลาร์ จากนั้นละลายโซเดียมโปแตสเซียมทาร์เทรต 300 g ใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

น้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ผสมเข้าด้วยกัน แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเก็บไว้ในขวดสีชา

การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.25 และ1.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่เตรียมไว้ใส่ลงในหลอดทดลองอย่างละ 1 มิลลิลิตร เติม DNS reagent 1 มิลลิลิตรและเติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร นำไปต้มใน Water bath 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีแล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้เป็น 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

วิธีวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวส์

ชั่งตัวอย่างมั่มมาประมาณ 3 กรัม ใส่ในฟลาสก์ เติมน้ำกลั่นลงไป 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มใน Water bath 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

กรองส่วนผสมที่ต้มแล้วด้วยกระดาษกรอง โดยล้างส่วนที่เหลือบนกระดาษกรองแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ใน Volumetric flask

ดูดสารละลายมา 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร แล้วดูดสารละลายมา 1 มิลลิลิตร เติม DNS reagent 1 มิลลิลิตรและเติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร นำไปต้มใน Water bath 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีแล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้เป็น 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

วิธีวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด

ชั่งตัวอย่างประมาณ 1.0 – 2.0 กรัมเติมกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 1.5 โมลลาร์จำนวน 10 มิลลิลิตร นำไปต้มใน Water bath 100 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที แล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที

เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 จำนวน 12 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ดูดมา 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ดูดสารละลายมา 1 มิลลิลิตร เติม DNS reagent 1 มิลลิลิตรและเติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร นำไปต้มใน Water bath 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีแล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้เป็น 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AOAC (2000)

ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 2-3 กรัม ใส่ลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ผ่านการเผาและทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว นำไปเผาโดยใช้ตะเกียง บุนเซนจนไม่มีควัน จากนั้นนำไปเผาต่อในเตาเผา (muffle furnace) อุณหภูมิประมาณ 500 องศาเซลเซียสจนกระทั่งได้เถ้าสีขาว นำไปทำให้เย็นลงในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักเถ้าแล้วคำนวณหาปริมาณเถ้า ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (กรัม ต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า (กรัม)} * 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

การวิเคราะห์ปริมาณกากโดยวิธีการย่อยด้วยกรดและด่าง ตามวิธีของ AOAC (2000)

การเตรียมสารเคมี

- สารละลายกรดซัลฟูริก ความเข้มข้นร้อยละ 1.25
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1.25
- เอธิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 95

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่ผ่านการสกัดไขมันออกและอบเรียบร้อยแล้ว ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (W1) ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 1 ลิตร เติมสารละลายกรดซัลฟูริกความ เข้มข้นร้อยละ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1.25 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ใส่ลูกแก้วขนาดเล็กประมาณ 2-3 เม็ด ต้มบนเตา ไฟฟ้าโดยปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา

2.ทิ้งให้เดือด 30 นาที (ควรปิดปากฟลาสก์ด้วยกระจกนาฬิกา พยายามรักษาปริมาตรสารละลาย ถ้าลดลงให้เติมน้ำร้อนให้ปริมาตรเท่าเดิมโดยทำเครื่องหมายไว้) ขณะต้มควรเขย่าฟลาสก์เป็นครั้งคราว

3.เตรียมกรวยกรองชนิดพิเศษ (Buchner funnel) โดยใช้แรงสุญญากาศ กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 54 หรือ 531 ค่อย ๆ เทน้ำเดือดลงใส่ลงในกรวยกรอง ปล่อยทิ้งไว้ให้ กรวยกรองร้อน

4.นำสารละลายกรดที่ต้มเดือด 30 นาที ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที เทใส่ในกรวยกรองและกรองกากทั้งหมดให้เสร็จภายใน 10 นาที ล้างกากด้วยน้ำร้อนหลาย ๆ ครั้ง จนแน่ใจว่าไม่มีกรดเหลืออยู่ในกาก เทกากที่ล้างแล้วนี้ กลับลงฟลาสก์ใบเดิม

5.ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 จำนวน 200 มิลลิลิตร ล้างกากออกจากกระดาษกรองใส่ลงฟลาสก์ให้หมด ต้มให้เดือดภายใน 1 นาที และปล่อยให้เดือด 30 นาที กรองผ่านกระดาษกรองโดยใช้แรงสุญญากาศ ให้เสร็จภายใน 10 นาที (เหมือนข้อ 4.) ล้างด้วยน้ำร้อนจนแน่ใจว่าไม่มีด่างเหลืออยู่ เทกากที่ล้างแล้วนี้ กลับลงฟลาสก์ใบเดิม

6.นำกากไปล้างด้วยเอธิลแอลกอฮอล์อีก 2 ครั้ง และนำกากที่เหลือทั้งหมดใส่ลงบนกระดาษกรองชนิดปราศจากเถ้า หรือ Porcelain dish (ที่ผ่านการอบและทราบน้ำหนัก) นำไประเหยให้แห้งบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

7.นำไปอบต่อที่ 100$\pm$2 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W2)

8.เผาถ้วยกระเบื้องพร้อมกากที่อบเรียบร้อยแล้วในเตาเผา อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W3)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณกาก (ร้อยละของน้ำหนัก)} = \frac{(W2 - W3)(100 - MC - F)}{W1}$$

โดยที่ W1 คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

W2 คือ น้ำหนักถ้วยกระเบื้องและกากหลังจากอบแห้ง (กรัม)

W3 คือ น้ำหนักถ้วยกระเบื้องและกากหลังจากการเผา (กรัม)

MC คือ ปริมาณความชื้นของตัวอย่าง (กรัม)

F คือ ปริมาณไขมันของตัวอย่าง (กรัม)

การวิเคราะห์หาปริมาณ Thiobarbituric acid number (TBA) ตามวิธีของ Pearson (1976)

การเตรียมสารเคมี

TBA reagent

ชั่ง 2-thiobarbituric acid 0.2883 กรัม นำไปละลายในสารละลายกรดอะซิติคเข้มข้นร้อยละ 90 โดยการอุ่นเบาๆ แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยกรดอะซิติคความเข้มข้นร้อยละ 90 ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างที่บดแล้ว 10 กรัม ปั่นกับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ในเครื่องปั่นผสมเป็นเวลา 2 นาที
2. เทใส่ในขวดแก้วก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร ล้างเครื่องปั่นผสมด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 47.5 มิลลิลิตร เทรวมในขวดแก้วก้นกลม
3. เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริคความเข้มข้น 2 โมลลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตรเพื่อปรับความเป็นกรดเป็นด่างให้ได้ประมาณ 1.5
4. เติมสารป้องกันการเกิดฟอง
5. ต่อเครื่องกลั่นเข้าด้วยกัน กลั่นโดยใช้เตาไฟฟ้า จนเก็บของเหลวที่กลั่นได้ (distillate) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ภายในเวลา 10 นาที หลังเดือด
6. ปิเปตของเหลวที่กลั่นได้ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดแก้วที่มีฝาปิด
7. เติมสารละลาย TBA reagent ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไป ปิดฝา เขย่าให้เข้ากัน
8. นำหลอดแก้วไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลานาน 35 นาที
9. ทำ Blank พร้อมกันไปด้วยโดยใช้น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และสารละลายกรด thiobarbituric acid reagent 5 มิลลิลิตร แล้วทำให้เย็นภายใน 10 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

10. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยใช้ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตรเปรียบเทียบกับ Blank

วิธีการคำนวณ

TBA value(มิลลิกรัมของมาโลนัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัม) = 7.8 x O.D.

การวิเคราะห์หา Sorption isotherm ในผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง ตามวิธีของ ไพโรจน์ (2547)

วิธีทำการทดลอง

นำเอากระดาษกรองเบอร์ 42 ที่ผ่านการทำแห้งแล้วมาเก็บในภาชนะพลาสติก(Mini-desiccator) หรือ Proximity Equilibration Cells (PEC) ที่มีสารละลายเกลืออิ่มตัวแต่ละชนิด ซึ่งจะมีความชื้นสัมพัทธ์สมดุลของสารละลายเกลืออิ่มตัวที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสแตกต่างกัน ดังนี้คือ Lithium chloride (a_w 0.113), Potassium acetate (a_w 0.216), Magnesium chloride (a_w 0.324), Potassium carbonate (a_w 0.432), Magnesium nitrate (a_w 0.514), Potassium iodide (a_w 0.679), Sodium chloride (a_w 0.751), Potassium chloride (a_w 0.836) และ Potassium sulfate (a_w 0.970) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักกระดาษกรอง

จากนั้นนำตัวอย่างมั่มที่ผ่านกระบวนการหมักเป็นเวลา 2 วันมาสุ่มชั่งน้ำหนักของตัวอย่างประมาณ 1-2 กรัม และนำมาใส่ในภาชนะพลาสติกบนกระดาษกรอง นำตัวอย่างมั่มทิ้งไว้ในในภาชนะดังกล่าวเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสจากนั้นนำกระดาษกรองพร้อมทั้งตัวอย่างมาชั่งหาน้ำหนักเพื่อหาปริมาณความชื้น (กรัมน้ำต่อกรัมของแข็ง) ที่เปลี่ยนแปลงไป โดยจะทำการทดลองเช่นเดียวกันนี้ 3 ครั้ง แล้วจึงนำไปคำนวณแล้วสร้างกราฟหาความสัมพันธ์กับ a_w ก็จะได้กราฟของ Sorption isotherm (ไพโรจน์, 2547(c)) โดยในการทดลองนี้จะมีการหาคุณลักษณะที่มีความสัมพันธ์กับการทำ Sorption isotherm ด้วยคือการหาคุณลักษณะความชื้น (AOAC,2000) และคุณลักษณะปริมาณน้ำอิสระในอาหาร (a_w) (a_w -box, Novasina : AWC 200, Switzerland)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

การวัดค่าสีในระบบ Hunter Lab (Minolta Camera Co.,Ltd. , 2002)

เป็นการวัดสีด้วยเครื่องวัดสี Minolta Camera : Model CR-310 ซึ่งวัดค่าสีในระบบ Hunter Lab โดยค่าสี L เป็นความสว่าง (Lightness) ค่าสี a เป็นค่าสีแดงและเขียว (Redness/Greeness) และค่าสี b เป็นค่าสีเหลืองและน้ำเงิน (Yellowness/Blueness)

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

ก่อนการวัดค่าสีทุกครั้งต้องทำการปรับมาตรฐานเครื่อง (Calibration) โดยใช้แผ่นสีขาวมาตรฐาน (White blank ; L = 97.67, a = -0.18 และ b = 1.84) แล้วจึงทำการวัดสีของตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่ม โดยนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มที่ผ่านการบดละเอียดแล้วใส่ลงในภาชนะใส (Petri dish) แล้วรองด้วยกระดาษสีขาว ทำการวัดทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

การวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (ค่าแรงเฉือน หรือ Shear force) ด้วยเครื่อง Instron (Series 5565) (Instron Corporation, 1993)

เป็นการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารโดยใช้ค่าแรงเฉือน หรือ Shear force (นิวตัน) ด้วยเครื่อง Instron series 5565 ชนิดของใบมีดที่ใช้ คือ Warner Bratzler Meat Shear-Compression (2830-013) น้ำหนัก Load cell เท่ากับ 5 กิโลกรัม ความเร็วของ Crosshead เท่ากับ 200 มิลลิเมตรต่อนาที ระยะทางในการเคลื่อนที่ลงทั้งหมดเท่ากับ 5 เซนติเมตร และมีแรงกระทบกลับร้อยละ 60

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ทำการทดสอบเป็นผลิตภัณฑ์มั่มที่ผ่านการทำให้สุก โดยใช้อุปกรณ์เตาไมโครเวฟ โดยปรับความร้อนที่ปานกลางถึงสูงอุณหภูมิ นาน 2 นาที และให้ขนาดของตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ทั้งหมดมีความหนาและมีขนาดเท่ากันตามที่กำหนดไว้ และในขั้นตอนการวัดจะใช้ใบมีดเฉือนลงมาบนพื้นที่หน้าตัดของผลิตภัณฑ์มั่ม ซึ่งจะมีขนาดที่ใกล้เคียงกันมากที่สุด โดยถือเอาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของไส้เทียมที่มีมาตรฐาน(30 มิลลิเมตร)เป็นตัวกำหนด และก่อนวัดทุกครั้งต้องทำการปรับมาตรฐานเครื่อง (Calibration) และเพื่อป้องกันความคลาดเคลื่อนของผลการทดลองอันเนื่องจากลักษณะของตัวอย่างที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกันทั้งหมด ดังนั้นจึงทำการวัดหลายๆ ครั้ง แล้วจึงนำเอาข้อมูลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย

วิธีการวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์(a_w) ด้วยเครื่อง (a_w -box, Novasina : AWC 200, Switzerland)

ใส่ตัวอย่างที่ผ่านการบดแล้วในตลับพลาสติกสำหรับใช้กับเครื่องวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ แล้วนำไปใส่ในเครื่องวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ (a_w -box, Novasina : AWC 200, Switzerland) บันทึกค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ที่คงที่ ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการตรวจวัดซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

การหาปริมาณยีสต์และรา ตามวิธีของ AOAC (2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- หลอดทดลอง (Test tube)
- ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
- ตู้บ่มเชื้อ
- หม้อนึ่งความดัน

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

- สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar
- สารละลายกรดทาร์ทาริก ความเข้มข้นร้อยละ 10

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ 39 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มจนเดือด
2. นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ในหม้อนึ่งความดัน
3. ปรับอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวให้มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างประมาณ 3.5 ด้วยสารละลายกรดทาร์ทาริก ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมีอัตราส่วน อาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร ต่อ สารละลายกรดทาร์ทาริก 1.8 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 ใช้กรรไกรและปากคีบที่ปราศจากเชื้อ โดยการลดไฟและเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ ตัดตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มจากบริเวณต่าง ๆ มาผสมกัน ชั่งน้ำหนักให้ได้ 10 กรัม ใส่ในถุงตีบด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

(Stomacher bag) ที่มีสารลายลายบัฟเฟอร์เปปโตน 90 มิลลิลิตร ผสมอยู่ นำไปตีบดด้วยเครื่องตีบดอาหาร (Stomacher) เป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10 หรือ (10^{-1})

1.2เขย่าให้อาหารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 (10^{-1}) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมแบบหมุนวน (Vortex) จะได้อาหารที่เจือจาง 1:100 (10^{-2})

1.3ทำให้อาหารตัวอย่างมีความเจือจาง 1:1000 (10^{-3}) ด้วยวิธีตามข้อ 1.2

2. การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ดูดสารละลายตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจางต่าง ๆ (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}) ลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ระดับความเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูดจากระดับความเข้มข้นที่เจือจางสุด

2.2เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar ที่กำลังหลอมเหลวลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่าง โดยใส่ลงในจานละประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ให้เสร็จภายในเวลา 1-2 นาที หลังจากที่ใส่ตัวอย่างลงไปแล้ว

2.3ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัวจึงคว่ำจานเพาะเชื้อลง

2.4ทำตัวอย่างควบคุม โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่างอาหาร

3. การบ่มเชื้อ

บ่มจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้เสร็จเรียบร้อยแล้วที่อุณหภูมิ 30$\pm$1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72$\pm$3 ชั่วโมง

4. การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 1-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีจากทั้งสองจานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การหาปริมาณแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้ ตามวิธีของ AOAC (2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- หลอดทดลอง (Test tube)
- ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
- ตู้บ่มเชื้อ
- หม้อนึ่งความดัน

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

- สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Lactobacilli MRS broth

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ 55 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มจนเดือด
2. นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ในหม้อนึ่งความดัน

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 ใช้กรรไกรและปากคีบที่ปราศจากเชื้อ โดยการลนไฟและเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ สุ่มตัดตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มจากบริเวณต่าง ๆ มาผสมกัน ชั่งน้ำหนักให้ได้ 10 กรัม ใส่ในถุงตีบด (Stomacher bag) ที่มีสารลายลายบัฟเฟอร์เปปโตน 90 มิลลิลิตร ผสมอยู่ นำไปตีบดด้วยเครื่องตีบดอาหาร (Stomacher) เป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10 หรือ (10^{-1})

1.2 เขย่าให้ตัวอย่างผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 (10^{-1}) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมแบบหมุนวน (Vortex) จะได้อาหารที่เจือจาง 1:100 (10^{-2})

1.3 ทำให้ตัวอย่างมีความเจือจาง 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9} และ 10^{-10} ด้วยวิธีตามข้อ 1.2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1 ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ดูดสารละลายตัวอย่างที่มีความเจือจางต่าง ๆ (10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9} และ 10^{-10}) ลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ระดับความเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูดจากระดับความเข้มข้นที่เจือจางสุด

2.2 เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Lactobacilli MRS broth ที่กำลังหลอมเหลวลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่าง โดยใส่ลงในจานละประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ให้เสร็จภายในเวลา 1-2 นาที หลังจากที่ใส่ตัวอย่างลงไปแล้ว

2.3 ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัวจึงคว่ำจานเพาะเชื้อลง

2.4 ทำตัวอย่างควบคุม โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่างอาหาร

3. การบ่มเชื้อ

บ่มจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้เสร็จเรียบร้อยแล้วที่อุณหภูมิ 30$\pm$1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24$\pm$3 ชั่วโมง

4. การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีจากทั้งสองจานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม

การหาปริมาณโคลิฟอร์มและอี.โคไล (Coliform and *E. coli*) โดยวิธี MPN (Most probable number method) ตามวิธีของ AOAC (2000)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- หลอดทดลอง (Test tube) พร้อมหลอดดักก๊าซ (Durham tube)
- ปิเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
- ตู้บ่มเชื้อ
- หม้อนึ่งความดัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

- สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl sulphate broth
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Brillant green lactose bile broth

วิธีวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 ใช้กรรไกรและปากคีบที่ปราศจากเชื้อ โดยการลดไฟและเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ ตัดตัวอย่างผลิตภัณฑ์มั่มจากบริเวณต่าง ๆ มาผสมกัน ชั่งน้ำหนักให้ได้ 10 กรัม ใส่ในถุงตีบด (Stomacher bag) ที่มีสารลายลายบัฟเฟอร์เปปโตน 90 มิลลิลิตร ผสมอยู่ นำไปตีบดด้วยเครื่องตีบดอาหาร (Stomacher) เป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10 หรือ (10^{-1})

1.2 เขย่าให้อาหารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 (10^{-1}) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมแบบหมุนวน (Vortex) จะได้อาหารที่เจือจาง 1:100 (10^{-2})

2. การวิเคราะห์แบคทีเรียที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์ม (Presumptive coliforms)

2.1 ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างที่ระดับเจือจางต่าง ๆ (1, 10^{-1} และ 10^{-2}) ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl sulphate broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จำนวน 3 ชุด ชุดละ 5 หลอด

ชุดที่ 1 ปิเปตตัวอย่างจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง 3 หลอด
ชุดที่ 2 ปิเปตตัวอย่างที่ระดับ 10^{-1} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง 3 หลอด
ชุดที่ 3 ปิเปตตัวอย่างที่ระดับ 10^{-2} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง 3 หลอด

2.2 บ่มหลอดเลี้ยงเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 37$\pm$1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48$\pm$2 ชั่วโมง หากหลอดทดลองใดมีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดดักก๊าซ แสดงว่าให้ผลเป็นบวก (Positive) ซึ่งคาดว่าจะมีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดโคลิฟอร์มเจริญอยู่ในตัวอย่างนั้น ถ้าไม่พบก๊าซในหลอดทดลองใดเลย แสดงว่าให้ผลลบ (Negative) และไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดโคลิฟอร์มเจริญอยู่ในตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3 การรายงานจำนวนโคลิฟอร์มในตัวอย่างที่เกิดก๊าซขึ้น ให้เปิดตารางแมคคราดีแล้วรายงานเป็นจำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียต่อตัวอย่าง 1 กรัม

3. การยืนยันโคลิฟอร์ม

3.1 ใช้ห่วง (Loop) เขี่ยเชื้อจากหลอดเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลบวก (Positive) จากการทดสอบแบคทีเรียที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์ม ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin methylene blue agar ในจานเพาะเชื้อ

3.2 บ่มจานเพาะเชื้อในตู้บ่มอุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3.3 ตรวจหาโคโลนีที่เป็นลักษณะเฉพาะของโคลิฟอร์ม โดยโคโลนีของโคลิฟอร์มจะมีสีดำหรือมีสีดำตรงกลางล้อมรอบด้วยบริเวณที่โปร่งใสไม่มีสี โคลิฟอร์มบางโคโลนีมีลักษณะนูนเปียกเยิ้ม (Mucoid)

3.4 บันทึกจำนวนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชุดที่มีเชื้อจุลินทรีย์โคลิฟอร์มที่ได้รับการยืนยันแล้ว

4. การวิเคราะห์แบคทีเรียที่คาดว่าเป็น *E.coli*

4.1 ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle) เขี่ยเชื้อจากหลอดเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลบวก (Positive) จากการทดสอบแบคทีเรียที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์ม ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Brillant green lactose bile broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อต้องปรับให้มีอุณหภูมิเท่ากับ 44.5 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้

4.2 เขี่ยเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นเชื้อมาตรฐานลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Brillant green lactose bile broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร อีก 2 หลอด เพื่อใช้เป็นหลอดควบคุม (Control)

4.3 บ่มหลอดเลี้ยงเชื้อลงในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 44.5±0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

4.4 หลอดทดลองที่มีก๊าซเกิดขึ้นหรือให้ผลบวก (Positive) แสดงว่ามีแบคทีเรียที่คาดว่าจะเป็น *E. coli* ให้ทำการวิเคราะห์เพื่อยืนยัน *E. coli*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

5. การวิเคราะห์เพื่อยืนยัน *E. coli*

5.1 เขี่ยเชื้อจากหลอดเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลบวก (Positive) จากการทดสอบแบคทีเรียที่คาดว่าเป็น *E. coli* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin Methylene Blue agar ในจานเพาะเชื้อ

5.2 บ่มจานเพาะเชื้อในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

5.3 เลือกโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะของ *E. coli* ซึ่งมีสีน้ำเงินอมดำตรงกลางและมีสีเลื่อมมันอมเขียวสะท้อนแสงโดยบางครั้งสีเลื่อมมันอาจไม่ปรากฏ เขี่นเชื้อครั้งละ 1 โคโลนีลงในน้ำทริปโตน (Tryptone water) แล้วบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 44.5±0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5.4 เขี่ยเชื้อ *E. coli* มาตรฐานในหลอดน้ำทริปโตน (Tryptone water) เพื่อเป็นตัวอย่างควบคุม

5.5 ทดสอบสารอินโดล หลอดทดลองที่มีอินโดลเกิดขึ้น แสดงว่าเป็นเชื้อ *E. coli* จากนั้นบันทึกจำนวนหลอดทดลองที่ให้ผลบวก (Positive)

5.6 คำนวณและรายงานค่า MPN ของ Coliform และ *E.coli* ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ 1 กรัม

5.7 การทดสอบยืนยันเพิ่มเติมเกี่ยวกับ Coliform และ *E.coli* ควรทำการทดสอบเมธิลเรด (Methyl red) โวเกส-พรอสเกาเออร์ (Voges-Proskauer) และซิเตรต (Citrate test) โดยก่อนจะทดสอบปฏิกิริยาเหล่านี้ต้องแยกเชื้อ *E. coli* ให้บริสุทธิ์ก่อน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ง-2 : ตารางแมคคราดี

จำนวนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อและจำนวนตัวอย่างที่เจือจางระดับต่างๆ ที่เติมในแต่ละหลอด			MPN ของแบคทีเรียต่อกรัมตัวอย่าง
3 หลอดที่1:10 จำนวน 1 มล.	3 หลอดที่1:100 จำนวน 1 มล.	3 หลอดที่1:1000 จำนวน 1 มล.	
0	0	0	<3
0	0	1	<3
0	1	0	3
0	2	0	6
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
2	3	0	30
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1,100
3	3	3	≥2,400

ที่มา : AOAC (2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นายอรรถพล สุจริตรักษ์
วัน เดือน ปี เกิด	29 ตุลาคม 2522
ทุนการศึกษา	ได้รับทุนอุดหนุนการศึกษาจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพายัพ ปีการศึกษา 2545

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved