ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์คุณภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

การวัดสีระบบ Hunter Lab โดยเครื่องวัดสี Minolta Camera

การวัดสีด้วยเครื่องวัดสี Minolta Camera ในระบบ Hunter Lab จะให้ค่าสี L เป็นค่าความสว่าง (Lightness) ค่าสี a เป็นค่าสีแดงและสีเขียว (Redness/Greeness) และค่าสี b เป็นค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (Yellowness/Blueness)

โดยที่ ค่าสี L* คือ ค่าแสดงความสว่างของสี มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100

กรณีถ้า L* มีค่าเป็น 0 หมายถึงมืด (darkness)

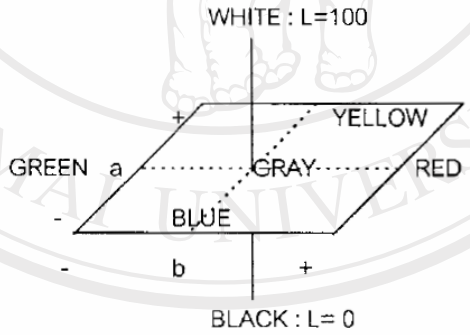
แต่ถ้ามีค่าเป็น 100 หมายถึง สว่าง (lightness)

ค่าสี a* คือ แสดงความเป็นสีแดงและเขียว (redness/greenness)

กรณีถ้า a* มีค่าเป็นบวก หมายถึง สีแดง และกรณี ถ้า a* มีค่าเป็นลบ หมายถึง สีเขียว

ค่าสี b* คือ แสดงความเป็นสีเหลืองและน้ำเงิน (yellowness/blueness)

กรณีถ้า b* มีค่าเป็นบวก หมายถึง สีเหลือง และกรณี ถ้า b* มีค่าเป็นลบ หมายถึง สีน้ำเงิน



รูป ก.1 ระบบการวัดสีโดยใช้ค่า L, a และ b

ที่มา : Pomeranz and Meloan, 1971

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องวัดสี (Minolta Camera ; Chroma Meter : CR-310, Japan)

วิธีการวัด

ก่อนการวัดทุกครั้งต้องทำการปรับมาตรฐานเครื่องด้วยแผ่นสีขาวมาตรฐาน (White blank; L = 97.67, a = -0.18, b = +1.84) แล้วจึงทำการวัดสีตัวอย่าง ในกรณีที่เป็นกล้วยน้ำว้าให้นำตัวอย่างกล้วยวางบน Petri dish รองพื้นด้วยกระดาษสีขาว ส่วนถ้าเป็นซอสพริกและซอสพริกผสมกล้วยน้ำว้าให้บรรจุตัวอย่างซอสประมาณ 25-30 มิลลิลิตร ลงในถ้วยพลาสติกสีขาวและจึงนำหัววัดของเครื่องวัดสีจุ่มลงในซอสที่ต้องการวัด โดยวัด 3 ซ้ำ บันทึกค่าสี L*, a*, b* นำมาหาค่าเฉลี่ย

การวัดค่าความแข็ง (Salvador *et al*., 2006 : Boudhrioua *et al*., 2001 : Buguad *et al*., 2007)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องมือวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture Analyser, TA.XTplus)

Probe P/2 ; 2 mm.$\varnothing$ cylindle stainless

ตุ้มน้ำหนักขนาด 10 กิโลกรัม

Load Cell ขนาด 50 กิโลกรัม

วิธีการปรับมาตรฐาน

เข้าโปรแกรมเลือก TA setting ปรับมาตรฐานน้ำหนักโดยใช้ตุ้มน้ำหนัก 10 กิโลกรัม และปรับมาตรฐานความสูงโดยกำหนดให้สูงกว่าตัวอย่างโดยงานวิจัยนี้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางกล้วยโดยเฉลี่ยมีขนาด 3.0-3.5 เซนติเมตรจึงกำหนดความสูงเป็น 5 เซนติเมตร

การตั้งค่าการวัด

Test Mode	: Compression	Pre-Test Speed	: 1 mm./sec.
Test Speed	: 2 mm./sec	Post Speed	: 10.00 mm./sec
Target Mode	: Distance	Distance	: 15 mm.
Trigger Type	: Auto (Force)	Trigeger force	: 5 g

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการวัด

สุ่มตัวอย่างกล้วยน้ำว้าอย่างน้อยประมาณ 9 ผลขนาดความยาวของผลใกล้เคียงกันทำการวัดจากตำแหน่งตรงกลางผลและวัดตรงตำแหน่งที่เหนือจุดตรงกลางขึ้นไปอีกและลงมาอีก 2.5 เซนติเมตรรวมทั้งหมด 3 จุดนำไปหาค่าแรงเฉลี่ยสูงสุดที่ใช้ต่อผล

การวัดค่าความข้นหนืด (Ahmed *et al*., 2000 ; Dak *et al*., 2006)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องวัดความหนืด Brookfield-Programmable Viscometer, LVDV-II+

หัวเข็มเบอร์ 3

เทอร์โมคัพเปอร์

บีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร

วิธีการปรับมาตรฐาน

ให้ตั้งเครื่องให้อยู่ในแนวระดับโดยสังเกตลูกน้ำให้อยู่กึ่งกลาง เสียบปลั๊กและเปิดสวิทช์เครื่องจะให้ Remove spindle (ถ้ามีหัวเข็มอยู่ให้เอาออกหรือถอด Cap spindle ออก) หลังจากนั้นกดปุ่มใดๆ เครื่องจะทำการ Set Autozero แล้วเครื่องจะบอกให้ Replace spindle ให้ใส่หัวเข็มที่ใช้วัดลงไปให้แน่นพอดี การเลือกใช้หัวเข็มที่ใช้วัดพิจารณาจากลักษณะอาหารที่ต้องการจะวัด

อาหารที่ข้นหนืดมากให้ใช้หัวเข็มวัดขนาดเล็กและความเร็วต่ำ

อาหารที่ข้นหนืดน้อยให้ใช้หัวเข็มวัดขนาดใหญ่ความเร็วสูง

การตั้งค่าการวัด

ตั้งค่าหัววัดเป็น S63 ใช้ความเร็วรอบในการหมุนในช่วง 0.5 – 25 RPM

วิธีการวัด

เทซอสตัวอย่างที่จะวัดจำนวน 500 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตรปรับหัววัดจุ่มอยู่ในตัวอย่างซอสที่จะวัดโดยให้ตัวอย่างซอสตรงกับระดับเครื่องหมายที่กำกับในหัววัด เปิดให้เครื่องทำการวัดพร้อมกับจับเวลา 1 นาทีแล้วอ่านค่า % การบิด (% Torque) ความหนืด (เซนติพอยส์) และอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) บันทึกค่าความหนืดที่ให้ค่า %Torque > 75 ขึ้นไป (โดยปกติค่าความหนืดที่ยอมรับได้มีค่า %Torque อยู่ระหว่าง 10-100 แต่ถ้าต้องการค่าที่ถูกต้องมากๆ ควรปรับให้ค่า % Torque ที่อ่านได้ใกล้เคียง 100) ทำการวัด 3 ซ้ำ โดยควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่างที่วัดให้อยู่ในช่วง 25 ± 1 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวัดอัตราส่วนน้ำหนักเนื้อต่อน้ำหนักเปลือก (Von Loesecke, 1950)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องชั่ง ทศนิยม 2 ตำแหน่ง

วิธีการวัด

สุ่มตัวอย่างผลกล้วยมาจำนวน 25% ของกล้วยทั้งเครือ จากนั้นชั่งน้ำหนักตัวอย่างผลกล้วยที่สุมมาทั้งหมด แล้วจึงปอกเปลือกกล้วยออก โดยแยกส่วนเนื้อและเปลือกออกจากกันและนำชั่งน้ำหนักส่วนที่เป็นเนื้อกล้วยทั้งหมด คำนวณอัตราส่วนของน้ำหนักเนื้อต่อน้ำหนักเปลือกโดยใช้สูตร

น้ำหนักเนื้อต่อน้ำหนักเปลือก = น้ำหนักเนื้อกล้วย / (น้ำหนักผลกล้วย – น้ำหนักเนื้อกล้วย)

วิธีการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid) ด้วย Hand refractometer

อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Hand refractometer ; ATAGO, Japan ขนาด 0-32^{o}Brix)

วิธีการปรับมาตรฐาน

ปรับมาตรฐานของเครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้โดยใช้น้ำกลั่นโดยจะให้ค่าเป็น 0 องศาบริกซ์

วิธีการวิเคราะห์

ให้ชั่งตัวอย่างกล้วยน้ำว้าหรือซอส 20 กรัมเติมน้ำกลั่นลงไปในสัดส่วน 1:4 ปั่นผสมให้เข้ากันจนละเอียด กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 นำส่วนใสไปวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้อ่านค่าออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์คำนวณกลับด้วยการคูณกับแฟกเตอร์ที่เจือจาง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ บันทึกแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวัดปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 2002)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter ; Santorious : PB-10)

สารเคมี

1.โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide; NaOH) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นต้มที่ทิ้งไว้ให้เย็นแล้ว ปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตรนำไปหาความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยโพแทสเซียมไฮโดรเจนแทลเลต เข้มข้น 0.1 นอร์มัล

2. สารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนธาเลต (Potassium Hydrogen Phthalate; $KHC_8H_4O_4$) ความเข้มข้น 0.1 M

นำ $KHC_8H_4O_4$ ประมาณ 5 g อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน Desecrator ชั่ง $KHC_8H_4O_4$ ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1.6338 g ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง เติมน้ำกลั่นประมาณ 50 ml คนให้ละลายเทใส่ขวดปริมาตรขนาด 100 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

การคำนวณหาความเข้มข้นของ $KHC_8H_4O_4$

มวลโมเลกุลของ $KHC_8H_4O_4$ คือ 204.22

ความเข้มข้นของ $KHC_8H_4O_4$ = (1.6338 x 1000)/(204.22 x 100)

= 0.0800 N

3. ฟีนอฟทาลีน (Phenolpthaline; $C_{20}H_{14}O_4$) เข้มข้น 1%

ชั่งฟีนอฟทาลีน 1 กรัม ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง เติมเอทานอล 95% ลงไปจำนวน 60 มิลลิลิตร คนให้สารละลาย ปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วยน้ำกลั่น

การหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์

ใช้สารละลายโปตัสเซียมไฮโดรเจนธาเลต (Potassium hydrogen Phthalate) ที่เตรียมไว้ไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยใช้การหาจุดยุติของการไตเตรชัน โดยวิธีโพเทนธิโอเมตริก ไตเตรชัน (Potentiometric titration) คือ หาจุดยุติโดยการใช้ เครื่องพีเอชมิเตอร์ จุดยุติคือ เมื่อมีค่าพีเอช 8.2 คำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยใช้สูตร $N_1V_1=N_2V_2$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการวิเคราะห์

สุ่มตัวอย่างกล้วยน้ำว้าและซอสพริกมาประมาณ 30 กรัม นำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (กรณีซอสพริกไม่ต้องนำไปปั่น) ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นลงไป คนให้เข้ากันปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยขวดปรับปริมาตร กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ปิเปตส่วนที่กรองได้ 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ ใช้ฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด นำไปไตเตรทกับ 0.1N NaOH (พร้อมกับวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง) ทำการไตเตรทจนกระทั่งได้จุดยุติที่ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8.2 (อินดิเคเตอร์เปลี่ยนเป็นสีชมพู) บันทึกปริมาตรของ 0.1N NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ คำนวณปริมาณกรดทั้งหมดในรูปร้อยละของกรดมาลิค (ในกรณีที่เป็นกล้วยน้ำว้า) และในรูปของกรดอะซิติค (ในกรณีที่เป็นซอสพริก)

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมดโดยการไตเตรท (ร้อยละ)} = \frac{A \times B \times C \times D \times 1000}{E \times F}$$

เมื่อ A = ปริมาตรของ 0.1N NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท

B = volume made up (ml)

C = equivalent weight of acid

D = ความเข้มข้นของ NaOH (N)

E = น้ำหนักของตัวอย่างอาหาร (g)

F = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้ในการไตเตรท (ml)

โดยที่ equivalent weight of acid

สารละลาย 0.1N NaOH จำนวน 1 มิลลิลิตร ทำปฏิกริยาสมมูลพอดีกับกรดมาลิค 0.006706 กรัม

สารละลาย 0.1N NaOH จำนวน 1 มิลลิลิตร ทำปฏิกริยาสมมูลพอดีกับกรดอะซิติค 0.006005 กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวัดค่ากัมมันตภาพน้ำ (a_w) ด้วยเครื่องวัด Water Activity Meter

อุปกรณ์และเครื่องมือ

ตลับพลาสติก (a_w box)

เครื่องวิเคราะห์ค่ากัมมันตภาพน้ำ (Water Activity Meter ; Aqualab, CX3TE, USA)

วิธีการวัด

เปิดเครื่องและอุ่นเครื่องประมาณ 30 นาที ก่อนทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง บรรจุตัวอย่างลงไปในตลับพลาสติก (a_w box) ที่สะอาด โดยไม่เกินครึ่งของตลับพลาสติก (a_w box) ดึงลิ้นชักของเครื่องออกมาจากตัวเครื่องจากตำแหน่ง open/load และทำการใส่ตลับพลาสติก (a_w box) ลงไป ดันลิ้นชักเข้าไปในตัวเครื่องกลับเข้าตำแหน่งเดิมหมุนปุ่มของลิ้นชักจากตำแหน่ง open/load ไปยังตำแหน่ง read เครื่องจะเริ่มทำการวิเคราะห์ เมื่อเครื่องทำการวิเคราะห์เรียบร้อยแล้ว จะมีสัญญาณเตือนดังถี่และมีไฟสีเหลืองกระพริบขึ้นอ่านผลตัวเลขที่หน้าจอ บันทึกค่า ทำการวัด 3 ครั้ง นำมาหาค่าเฉลี่ย

การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter ; Santorious : BP-10, Germany)

วิธีการปรับมาตรฐาน

ปรับมาตรฐานของเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายมาตรฐานที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.00 และ 4.01 ตามลำดับ

วิธีการวัด

ชั่งตัวอย่างจำนวน 20 กรัม เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตรแล้วจึงนำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่มีการปรับมาตรฐานแล้ว นำหัวอิเลคโทรดจุ่มลงในสารละลายที่วัด รอจนกว่าค่าที่อ่านได้จากเครื่องจะหยุดนิ่ง แล้วจึงบันทึกผลค่าที่วัดได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณแป้ง (Adao R. C. *et al*., 2003 ; พิทยา, 2542)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (PerkinElmer, UV/VIS spectrophotometer Lambda 35)

เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, CP224S)

เครื่องอบ 100 องศาเซลเซียส (Memmert, UM 500)

อ่างควบคุมอุณหภูมิ 20-120 องศาเซลเซียส (GFL, 1032)

เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Sartorius, PB-01)

เครื่องผสม (Vortex-2 Gene, G-560E)

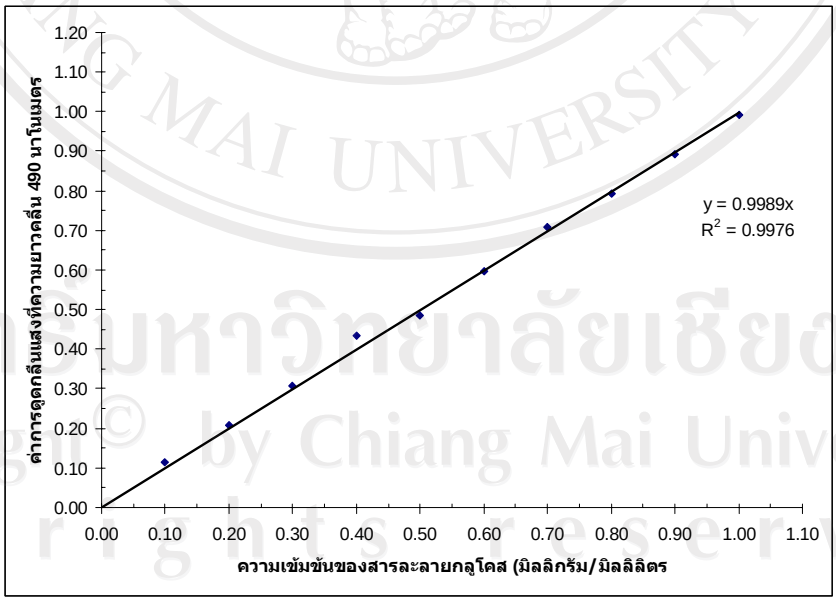
สารเคมี

1. เอทธานอล ความเข้มข้นร้อยละ 80 เตรียมจากเอทธานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณ 1680 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 2 ลิตร
2. ไดเอทิลอีเทอร์
3. กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.25 โมลาร์ เตรียมจากกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 96.4 ปริมาณ มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร
4. สารละลายฟีนอล 5% เตรียมจาก ฟีนอล 5 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร
5. สารละลาย Carrez I เตรียมจาก $ZnOAc.2H_2O$ 21.9 กรัมละลายในน้ำกลั่นที่มี glacial acetic acid 3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร
6. สารละลาย Carrez II เตรียมจาก $K_4Fe(CN)_6.3H_2O$ 10.6 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร
7. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์เตรียมจากชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร
8. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
9. สารละลายมาตรฐานกลูโคส 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เตรียมจากสารมาตรฐานกลูโคส 0.1000 กรัมละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างจำนวน 20 กรัมสกัดไขมันออกด้วยการเติมไดเอทิลอีเทอร์จำนวน 100 มิลลิลิตร แล้วเทได้เอทิลอีเทอร์ออกทำการสกัดอย่างน้อย 3 ครั้งจากนั้นนำตัวอย่างไปสกัดด้วยเอทานอลร้อน (70 องศาเซลเซียส) ความเข้มข้นร้อยละ 80 จำนวน 100 มิลลิลิตรสกัดอย่างน้อย 3 ครั้ง นำกากที่เหลือไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสนาน 4 ชั่วโมง ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบมา 1 กรัม เติมน้ำ 20 มิลลิลิตรนำไปต้มนาน 15 นาทีเพื่อให้แป้งเกิดเจลาติไนซ์แล้วทำให้เย็นในอ่างน้ำเย็น จากนั้นนำไปเติมสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.25 โมลาร์ จำนวน 80 มิลลิลิตรแล้วจึงนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสนาน 1 ชั่วโมง ปิเปตสารละลายที่ได้มา 25 มิลลิลิตรนำไปปรับความเป็นกรด-ด่างให้เป็นกลางด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ปรับปริมาตรให้ได้ 250 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายที่ได้มา 25 มิลลิลิตรเติมสารละลาย Carrez I และ Carrez II อย่างละ 5 มิลลิลิตรปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ทิ้งไว้นาน 20-30 นาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ปิเปตส่วนใสมา 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอลร้อยละ 5 ลงไป 1 มิลลิลิตรและสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้นอีก 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีแล้วนำไปแช่ในน้ำอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียสนาน 30 นาทีแล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank แล้วเทียบความเข้มข้นกับกราฟสารละลายกลูโคสมาตรฐาน นำไปคำนวณหาปริมาณแป้งโดยนำไปคูณกับค่าคงที่ 0.9 จะได้ปริมาณสตาร์ชในตัวอย่าง



รูป ก.2 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยการบันทึกน้ำหนักของ moisture can ที่สะอาด และผ่านการอบเป็นเวลา 30 นาที และปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น จากนั้นทำการชั่งตัวอย่างประมาณ 5 กรัม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ใส่ลงใน moisture can แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ แล้วนำ moisture can ออกจากตู้อบและปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น บันทึกน้ำหนักของ moisture can และของแข็งที่เหลืออยู่ คำนวณปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น ร้อยละของน้ำหนัก} = \frac{(W_2-W_3) \times 100}{W_2-W_1}$$

เมื่อ W1 = น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้น (กรัม)
W2 = น้ำหนักของประป๋องอบความชื้นและตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)
W3 = น้ำหนักของประป๋องอบความชื้นและตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

การตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในอาหาร (AOAC, 2002)

การเตรียมสารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้น 0.1% (Peptone AR Grade) ชั่งเปปโตน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดหรือ หลอดทดลอง นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (AR Grade) ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อมา 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส

วิธีการวิเคราะห์

1. ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์ 70 % เช็ดขวดซอสตัวอย่างก่อนการเปิดขวด
2. ใช้ช้อนที่ผ่านการฆ่าเชื้อเช็ดสำลีชุบแอลกอฮอล์ลนไฟแล้วตักตัวอย่างซอส 25 กรัม ใส่ในถุงตีป่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว(ทำภายในตู้ถ่ายเชื้อ) เติมสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 225 มิลลิลิตร นำไปตีป่นด้วยเครื่องตีป่นจนตัวอย่างแตกละเอียดและผสมเป็นเนื้อเดียวกัน สารละลายที่ได้เป็นตัวอย่างเจือจาง 1:10 หรือ 10^{-1}
3. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-1} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าตัวอย่างให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ได้เป็นสารละลายตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 หรือ 10^{-2}
4. นำตัวอย่างที่เจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-2} มาเจือจางต่อให้เป็น 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6} โดยทำเช่นเดียวกับข้อ 3
5. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปิเปตตัวอย่างอาหารที่เจือจางที่เตรียมไว้ลงในจานเพาะเชื้อจานละ 1 มิลลิลิตร ระดับความเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูดจากตัวอย่างอาหารที่เจือจางมากที่สุด
6. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar ที่หลอมเหลวอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่าง โดยใส่จานละประมาณ 15-20 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7. ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากัน โดยการเลื่อนจานเพาะเชื้อในแนวตั้ง, แนวตามเข็มนาฬิกา, แนวนอน และแนวทวนเข็มนาฬิกา แนวละ 5 ครั้ง แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แข็งตัว
8. กลับจานเพาะเชื้อบรรจุในถุงพลาสติกโดยวางซ้อนกันไม่เกิน 5 ชั้น แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48±2 ชั่วโมง
9. ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ ระหว่าง 25-250 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากทั้ง 2 จานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับว่ามี Mesophillic aerobic bacteria ในรูปจำนวนโคโลนีต่อซอส 1 กรัม (cfu/g)

การตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์

1. กรณีที่จำนวนเชื้อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง 25-250 โคโลนี/จานเพาะเชื้อ
   1.1 ถ้าจานเพาะเชื้อทั้ง 2 จานจากตัวอย่างที่ทำให้เจือจาง (dilution) ระดับเดียวกันมีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง25-250 โคโลนี ให้นำจำนวนแบคทีเรียทั้ง 2 จานมาหาค่าเฉลี่ยแล้วคูณด้วยแฟกเตอร์การทำให้เจือจาง (dilution factor) ดังในตัวอย่างที่ 1 ของตารางภาคผนวก ค1
   1.2 ถ้าจานเพาะเชื้อจานใดจานหนึ่งจากตัวอย่างที่ทำให้เจือจางระดับเดียวกันมีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 25 หรือมากกว่า 250 โคโลนี นำจำนวนแบคทีเรียทั้ง 2 จาน แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยแล้วคูณด้วยแฟกเตอร์การทำให้เจือจาง ดังตัวอย่างที่ 2 และ 3 ในตารางภาคผนวก ค1
   1.3 ถ้ามีตัวอย่างที่ทำให้เจือจาง 2 ระดับที่ติดกันมีจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้ออยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี ให้นับจำนวนแบคทีเรีย ทั้ง 2 ระดับ แล้วนำค่าที่นับได้ของแต่ละระดับแล้วนำค่าที่นับได้ของแต่ละระดับคูณด้วยแฟกเตอร์การทำให้เจือจาง เช่น เดียวกับข้อที่ 1 หาอัตราส่วนความแตกต่างของค่าที่สูงต่อค่าที่ต่ำ ถ้าไม่เกิน 2 เท่าแล้วนำค่าที่ได้จากทั้ง 2 ระดับที่เจือจางมาหาค่าเฉลี่ย (ตัวอย่างที่ 4 ในตารางภาคผนวก ค1) แต่ถ้าเกินให้รายงานที่ได้ต่ำกว่า (ตัวอย่างที่ 5 ในตารางภาคผนวก ค1)
2. กรณีที่ไม่มีเชื้อเจริญอยู่ในช่วง 25-250 โคโลนี/จานเพาะเชื้อ แต่ยังสามารถนับได้ทั้งหมด ถ้ามีจำนวนเชื้อมากกว่า 250 โคโลนี เลือกรายงานผลค่าที่ใกล้เคียง 250 โดยรายงานว่าเป็นค่าประมาณ (est.) ดังตัวอย่างที่ 6 ในตารางภาคผนวก ค1
3. กรณีที่ทุกจานเพาะเชื้อมีจำนวนเชื้อน้อยกว่า 25 โคโลนี/จานเพาะเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ให้รายงานผลเป็นค่าจริงที่นับได้จากการทำให้เจือจ่างที่ต่ำที่สุด (เข้มข้นที่สุด) และรายงานว่าเป็นค่าประมาณ (est.) ดังตัวอย่างที่ 7 ในตารางภาคผนวก ค1

4. กรณีที่ทุกจานเพาะเชื้อไม่มีโคโลนีเจริญเลย
ให้รายงานผลเป็น ค่าน้อยกว่า (<) ค่าของการทำให้เจือจางที่ต่ำที่สุด และรายงานว่า เป็นค่าประมาณ (est.) ดังตัวอย่างที่ 8 ในตารางภาคผนวก ค1
5. กรณีที่จำนวนเชื้อจุลินทรีย์เจริญมากกว่า 250 โคโลนี/จานเพาะเชื้อ
   5.1 ถ้าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญจากระดับการทำให้เจือจางสูงสุด (เจือจางที่สุด) อยู่ระหว่าง 4-10 โคโลนี/ตารางเซนติเมตร ให้นับจำนวนแบคทีเรียเป็นพื้นที่ 12 ตารางเซนติเมตร (นับในแนวนอน 6 ตารางที่ติดกัน และนับในแนวตั้ง 6 ตารางที่ติดกัน) หาค่าเฉลี่ยต่อ ตารางเซนติเมตร แล้วคูณด้วยจำนวนพื้นที่ของจานเพาะเชื้อทั้งหมด
   5.2 ถ้าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญในระดับการทำให้เจือจางสูงสุดมีมากกว่า 10 โคโลนี/ตารางเซนติเมตร แต่ประมาณจำนวนด้วยสายตาแล้วสามารถที่จะนับได้ ให้นับจำนวนจากพื้นที่ที่เป็นตัวแทนของจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเพียง 4 ตารางเซนติเมตร หาค่าเฉลี่ยต่อ ตารางเซนติเมตร แล้วคูณด้วยจำนวนพื้นที่ของจานเพาะเชื้อทั้งหมดดังตัวอย่างที่ 9 ในตารางภาคผนวก ค1 (พื้นที่มาตรฐานของจานเพาะเชื้อขนาด 15 x 100 มม. ประมาณ 56 ตารางเซนติเมตร) โดยที่ระดับการทำให้เจือจางที่ต่ำกว่านั้นให้รายงานผลเป็น too numerous to count หรือ TNTC
   5.3 ถ้าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่นับมีค่าเกิน 100 โคโลนี ต่อ ตารางเซนติเมตร ให้รายงานผลเป็นค่ามากกว่า (>) พื้นที่ของจานเพาะเชื้อคูณด้วย 100 คูณด้วยค่าแฟกเตอร์การทำให้เจือจางที่สูงที่สุดซึ่งก็คือ 5,600 เท่าของค่าการทำให้เจือจางที่สูงที่สุดและรายงานว่าเป็นค่าประมาณ (est.) ดังตัวอย่างที่ 10 ในตารางภาคผนวก ค1 กรณีที่จานเพาะเชื้อมี spreader มากกว่า 25% ให้รายงานว่า “SPR” (spreader) และถ้าจำเป็นต้องนับให้นับโคโลนีที่ spreader เป็น 1 โคโลนี และนำไปรวมกับจำนวนโคโลนีปกติ แล้วนำไปคำนวณ และกรณีที่เกิดการปนเปื้อนหรือเกิดการผิดพลาด ให้รายงานผลว่า “LA” (laboratory accident) ดังตัวอย่างที่ 11 ในตารางภาคผนวก ค1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การรายงานผล

ให้ปัดค่าที่คำนวณได้ในหน่วยของ CFU/ml หรือ CFU/g ให้มีเลขนัยสำคัญเพียง 2 ตัว ถ้าตัวเลขตำแหน่งที่ 3 เป็น 6, 7, 8, หรือ 9 ให้ปัดตัวเลขตำแหน่งที่ 2 สูงขึ้น แต่ถ้าตัวเลขตำแหน่งที่ 3 เป็น 1, 2, 3, หรือ 4 ให้ปัดทิ้งไป เมื่อตัวเลขตำแหน่งที่ 3 เป็น 5 ให้ปัดขึ้น ถ้าตัวเลขตำแหน่งที่ 2 เป็นเลขคี่ และให้ปัดลงถ้าเป็นเลขคู่ ในการรายงานผลสามารถใช้สูตรการคำนวณจากสมการต่อไปนี้

ค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรียที่นับได้ x แฟกเตอร์การทำให้เจือจาง = CFU/g หรือ CFU/ml

ตัวอย่างเช่น

การนับเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารชนิดหนึ่ง ถ้าระดับการทำให้เจือจางมีค่าเป็น 10^{-6} และนับจำนวนแบคทีเรียได้ 210 และ 195 โคโลนีในแต่ละเพลท ดังนั้น การรายงานผลสามารถคำนวณได้ดังนี้

ค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรียที่นับได้ = [(210+195)/2]

แฟกเตอร์การทำให้เจือจาง = 10^6

จะรายงานผลได้เป็น $[(210+195)/2] \times 10^6 = 202.5 \times 10^6$ CFU/g

$= 2.0 \times 10^8$ CFU/g

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ก.1 ตัวอย่างการคำนวณปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จากจานเพาะเชื้อที่ระดับการเจือจางต่างๆ กัน

ตัวอย่างที่	จำนวนโคโลนีที่ dilution			Count ratio	CFU/g หรือ CFU/ml
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		
1	TNTC, TNTC	245, 187	23, 17	-	$[(245+187)/2] \times 10^2 = 2.2 \times 10^4$
2	TNTC, TNTC	260, 245	22, 24	-	$[(260+245)/2] \times 10^2 = 2.5 \times 10^4$
3	280, 270	26, 23	2, 3	-	$[(26+23)/2] \times 10^2 = 2.4 \times 10^4$
4	230, 228	35, 25	1, 1	-	$[(230+228)/2] \times 10^1 = 2.3 \times 10^3$ $[(35+25)/2] \times 10^2 = 3.0 \times 10^3$ ค่าเฉลี่ย = 2.6×10^3
5	138, 162	42, 30	4, 3	-	$[(138+162)/2] \times 10^1 = 1.5 \times 10^3$
6	287, 263	23, 19	2, 1	-	$[(138+162)/2] \times 10^1 = 1.5 \times 10^3$ ค่าประมาณ
7	18, 16	2, 0	0, 0	-	$[(18+16)/2] \times 10^1 = 1.7 \times 10^2$ ค่าประมาณ
8	0, 0	0, 0	0, 0	-	< 10 ค่าประมาณ
9	TNTC	TNTC	840	-	84×10^5 ค่าประมาณ
10	TNTC	TNTC	7150	-	$> 5.6 \times 10^6$ ค่าประมาณ
11	LA, LA	289, 293	18, 22	-	$[(289+293)/2] \times 10^2 = 2.9 \times 10^4$ ค่าประมาณ

ที่มา : วลัยรัตน์, 2549

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การตรวจหาปริมาณยีสต์และราในอาหาร โดยวิธี pour plate (AOAC, 2002)

การเตรียมสารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้น 0.1% (Peptone AR Grade) ชั่งเปปโตน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดหรือ หลอดทดลอง นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Drextrose Agar (AR Grade) ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ 39 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ก่อนนำอาหารเลี้ยงเชื้อมาใช้ต้องปรับความเป็นกรด-ด่างเป็น 3.5 โดยการเติมสารละลายกรดทาร์ทาริค ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 1.9 มิลลิลิตรต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

1. ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์ 70 % เช็ดขวดซอสตัวอย่างก่อนการเปิดขวด
2. ใช้ช้อนที่ผ่านการฆ่าเชื้อเช็ดสำลีชุบแอลกอฮอล์ลนไฟแล้วตักตัวอย่างซอส 25 กรัม ใส่ในถุงตีป่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว(ทำภายในตู้ถ่ายเชื้อ) เติมสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 225 มิลลิลิตร นำไปตีป่นด้วยเครื่องตีป่นจนตัวอย่างแตกละเอียดและผสมเป็นเนื้อเดียวกัน สารละลายที่ได้เป็นตัวอย่างเจือจาง 1:10 หรือ 10^{-1}
3. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-1} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าตัวอย่างให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ได้เป็นสารละลายตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 หรือ 10^{-2}
4. นำตัวอย่างที่เจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-2} มาเจือจางต่อให้เป็น 10^{-3}โดยทำเช่นเดียวกับข้อ 3
5. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายของตัวอย่างอาหารที่ความเจือจางต่างๆ ลงในจานอาหารเพาะเชื้อจานละ 1 มิลลิลิตร ความเจือจางละ 3 จาน
6. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Drextrose Agar Agar ที่หลอมเหลวอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียสที่ผ่านการปรับความเป็นกรด-ด่างให้เท่ากับ 3.5 แล้วลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่าง โดยใส่จานละประมาณ 15-20 มิลลิลิตร
7. ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากัน โดยการเลื่อนจานเพาะเชื้อในแนวตั้ง, แนวตามเข็มนาฬิกา, แนวนอน และแนวทวนเข็มนาฬิกา แนวละ 5 ครั้ง แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แข็งตัว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

8. กลับจานเพาะเชื้อบรรจุในถุงพลาสติกโดยวางซ้อนกันไม่เกิน 3 ชั้น แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน
9. ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ ระหว่าง 25-250 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากทั้ง 3 จานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับว่ามีปริมาณเชื้อยีสต์และราในรูปจำนวนโคโลนีต่อซอส 1 กรัม (cfu/g) ใช้วิธีการตรวจนับเช่นเดียวกับการหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในอาหาร

การตรวจหาปริมาณเชื้อโคลิฟอร์มและเชื้ออีโคไล (AOAC, 2002)

การเตรียมสารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้น 0.1% (Peptone AR Grade) ชั่งเปปโตน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ถ่ายใส่ขวดหรือ หลอดทดลอง นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
2. อาหารเหลว Lauryl Sulfate Tryptose Broth (LST) ชั่งอาหาร LST (dehydrate) จำนวน 35.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปิเปตลงในหลอดทดสอบหลอดละ 10 มิลลิลิตร (ที่มีหลอดดักก๊าซบรรจุอยู่) แล้วจึงนำไปฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
3. อาหารเหลว Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB) ชั่งอาหาร BGLB (dehydrate) จำนวน 40.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปิเปตลงในหลอดทดสอบหลอดละ 10 มิลลิลิตร (ที่มีหลอดดักก๊าซบรรจุอยู่) แล้วจึงนำไปฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

วิธีการวิเคราะห์

1. ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์ 70 % เช็ดขวดซอสตัวอย่างก่อนการเปิดขวด
2. ใช้ช้อนที่ผ่านการฆ่าเชื้อเช็ดสำลีชุบแอลกอฮอล์ลนไฟแล้วตักตัวอย่างซอส 25 กรัม ใส่ในถุงตีป่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว(ทำภายในตู้ถ่ายเชื้อ) เติมสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 225 มิลลิลิตร นำไปตีป่นด้วยเครื่องตีป่นจนตัวอย่างแตกละเอียดและผสมเป็นเนื้อเดียวกัน สารละลายที่ได้เป็นตัวอย่างเจือจาง 1:10 หรือ 10^{-1}

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-1} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าตัวอย่างให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ได้เป็นสารละลายตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 หรือ 10^{-2}
4. นำตัวอย่างที่เจือจางที่ความเข้มข้น 10^{-2} มาเจือจางต่อให้เป็น 10^{-3} โดยทำเช่นเดียวกับข้อ 3
5. Presumtive Test : ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายของตัวอย่างอาหารที่ความเจือจางต่างๆ ลงในอาหาร Lauryl Sulfate Tryptose Broth หลอดละ 1 มิลลิลิตร ความเจือจางละ 3 หลอด (MPN-method) นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24±2 ชั่วโมง และ 48±2 ชั่วโมง โดยสังเกตการณ์เกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซในหลอดอาหารแต่ละหลอด หลังจากบ่มครบ 24 ชั่วโมง และหากไม่มีหลอดใดไม่เกิดก๊าซให้บ่มต่ออีก 24 ชั่วโมงจึงนำมาตรวจผลอีกครั้งหนึ่ง บันทึกจำนวนหลอดที่เกิดก๊าซในแต่ละความเจือจางไปเทียบกับตาราง MPN รายงานผลเป็น MPN ของโคลิฟอร์ม (ขั้นแรก) ต่อกรัม หรือมิลลิลิตรของตัวอย่างอาหาร
6. Confirm Test : ใช้ห่วงถ่ายเชื้อจากหลอดที่เกิดก๊าซในข้อที่ 5 ลงในอาหาร Brilliant Green Lactose Bile Broth จำนวน 3 หลอด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง บันทึกจำนวนหลอดที่เกิดก๊าซในแต่ละความเจือจางไปเทียบกับตาราง MPN รายงานผลเป็น MPN ของโคลิฟอร์ม (ขั้นยืนยัน) ต่อกรัม หรือ มิลลิลิตรของตัวอย่างอาหาร
7. กรณีทดสอบว่า โคลิฟอร์มนั้นเป็น Faecal Coliform : นำหลอดที่เกิดก๊าซในอาหารเหลว LST มาถ่ายเชื้อลงในอาหาร EC broth เพาะเชื้อในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 44.5 ± 0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ดูการเกิดก๊าซ คำนวณหาปริมาณเชื้อ Faecal Coliform ต่อกรัม หรือมิลลิลิตรของตัวอย่างอาหาร
8. กรณีทดสอบว่า Faecal Coliform นั้นเป็นเชื้อ *E. coli* : ใช้ห่วงถ่ายเชื้อจากอาหาร EC broth มาขีดเป็นเส้น (Streak) บนอาหาร Levine-EMB Agar (Eosin Methylene Blue Agar) บ่มที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ลักษณะโคโลนีของ *E. coli* จะที่มีสีม่วงแดงเข้ม ลักษณะแบน มี metallic sheen จากนั้นให้ถ่ายโคโลนีของ *E. coli* จำนวน 2-3 โคโลนีลงในหลอดอาหาร Plate Count Agar- Slant บ่มเพาะเชื้อที่ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปทดสอบขั้นสมบูรณ์ (Complete Test)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

9. Complete Test : นำไปทดสอบการติดสีกรัม ลักษณะรูปร่าง การจัดเรียงตัวของเชื้อ *E. coli* โดยเชื้อจะมีรูปร่างเป็นท่อนสั้นและกลม ติดสีกรัมลบ ไม่มีสปอร์ ย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสทำให้เกิดก๊าซขึ้นได้ แล้วจึงนำไปทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี (IMViC) ของเชื้อ *E. coli* ได้แก่ Indole production, Methyl red Test, Voges- Proskauer และ Citrate utilization ซึ่งให้ผลทดสอบเป็น ++-- (Biotype 1) หรือ -+-- (Biotype 2)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

รูปภาพประกอบการวิจัย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. พริกที่ผ่านการเตรียมแบบต่าง

รูป ข.1 พริกที่ผ่านการเตรียมแบบต่างๆ (ด้านซ้ายสุดคือ พริกสด, ตรงกลางเป็นพริกที่ผ่านการดอง นาน 1 สัปดาห์ และด้านขวามือสุด คือพริกที่ผ่านการดอง 2 สัปดาห์)

2. ซอสพริกที่ผลิตได้จากพริกแบบต่างๆ

รูป ข.2 ซอสพริกจากพริกที่ผ่านการเตรียมแบบต่างๆ (ด้านซ้ายสุดคือ ซอสพริกจากพริกสด, ตรงกลางเป็นซอสพริกจากพริกที่ผ่านการดอง 1 สัปดาห์ และด้านขวามือสุด คือซอสพริกจากพริกที่ผ่านการดอง 2 สัปดาห์)

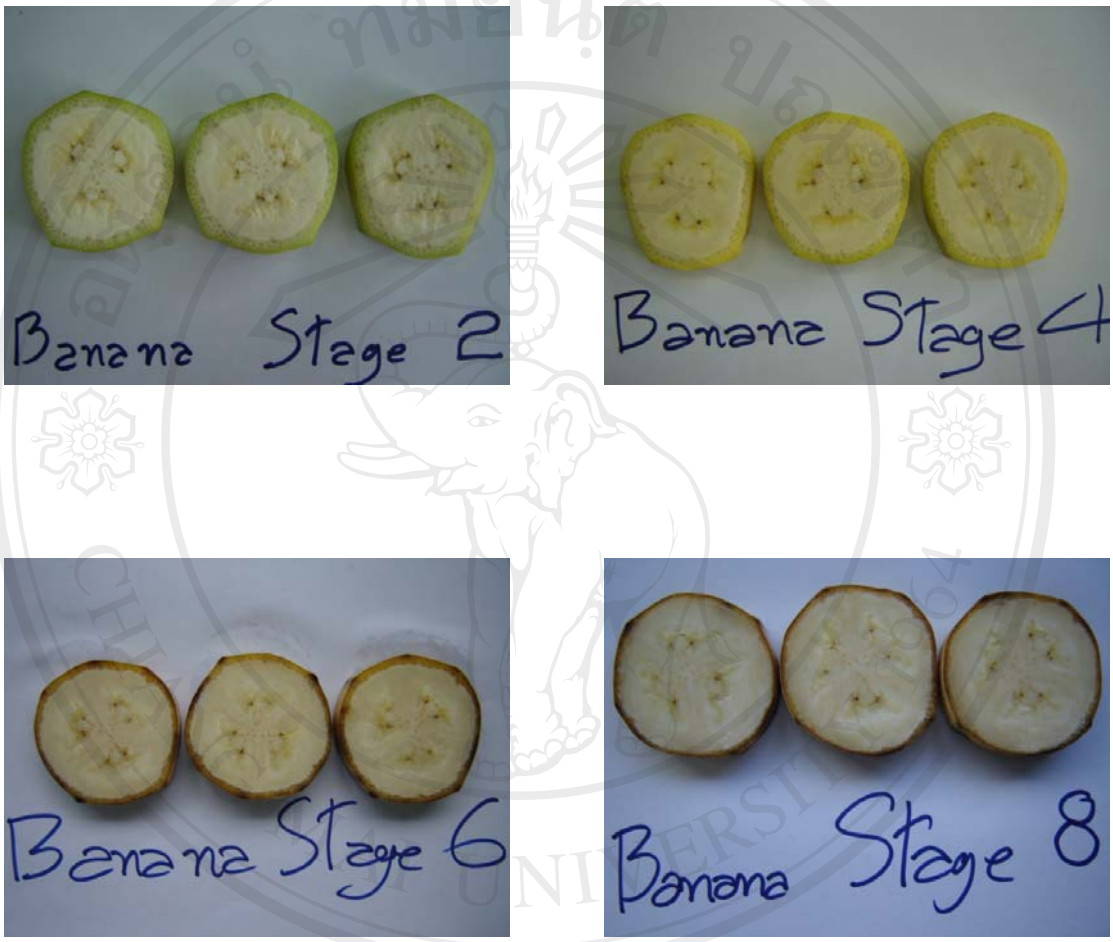
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. กล้วยน้ำว้าที่ระยะความสุกต่างๆ (ทั้งผล)

รูป ข.3 กล้วยน้ำว้าความสุกระยะต่างๆ (บนซ้ายคือกล้วยน้ำว้าความสุกระยะที่ 2, บนขวาคือกล้วยน้ำว้าความสุกระยะที่ 4, ล่างซ้ายคือกล้วยน้ำว้าความสุกระยะที่ 6 และล่างขวาคือกล้วยน้ำว้าความสุกระยะที่ 8)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

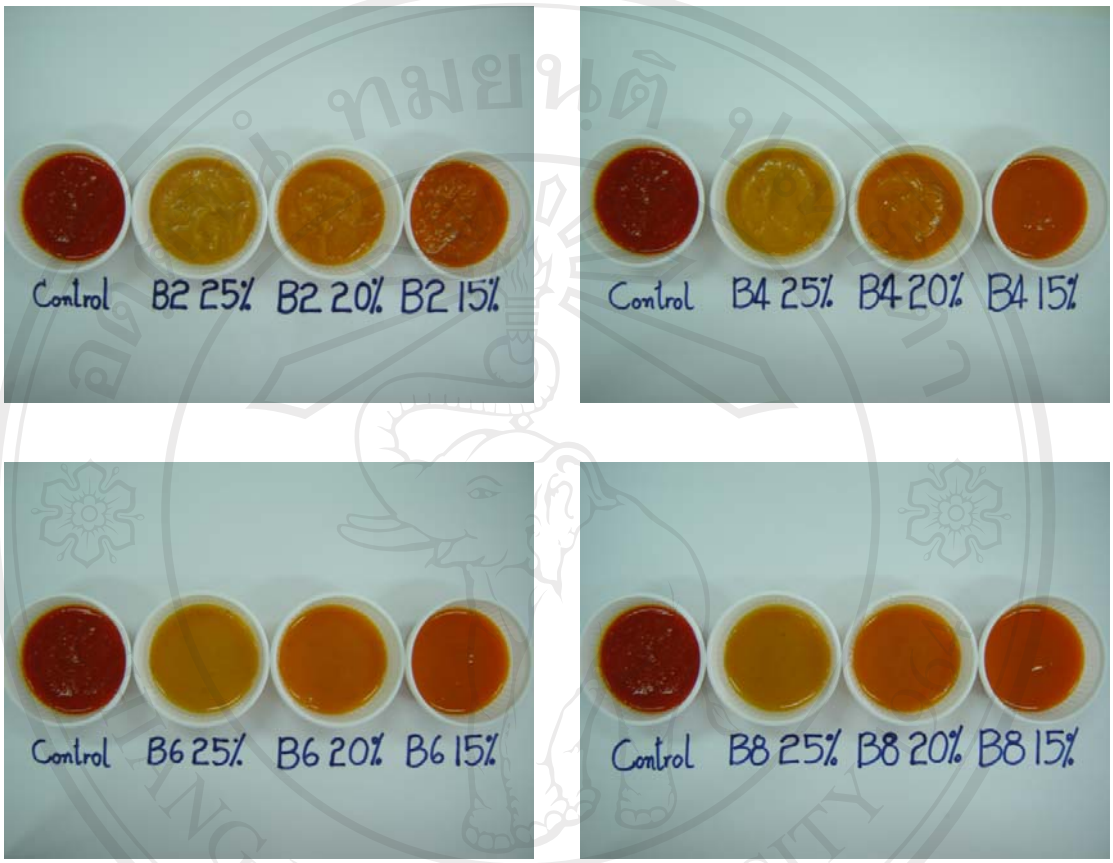
4. กล้วยน้ำว้าที่ระยะความสุกต่างๆ (ภาพตัดขวาง)



รูป ข.4 กล้วยน้ำว้าความสุกระยะต่างๆ ในภาพตัดขวาง (บนซ้ายคือกล้วยน้ำว้าความสุกระยะที่ 2, บนขวาคือกล้วยน้ำว้าความสุกระยะที่ 4, ล่างซ้ายคือกล้วยน้ำว้าความสุกระยะที่ 6 และล่างขวาคือกล้วยน้ำว้าความสุกระยะที่ 8)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. ซอสพริกผสมกล้วยน้ำว้า



รูป ข.5 ผลิตภัณฑ์พริกผสมซอสกล้วยน้ำว้า
(บนซ้ายคือซอสพริกผสมกล้วยน้ำว้าความสุกระยะที่ 2 , บนขวาคือซอสพริกผสมกล้วยน้ำว้าความสุกระยะที่ 4, ล่างซ้ายคือซอสพริกผสมกล้วยน้ำว้าความสุกระยะที่ 6 และล่างขวาคือกล้วยซอสพริกผสมน้ำว้าความสุกระยะที่ 8 โดยทั้งหมดมีปริมาณกล้วยผสมอยู่ร้อยละ 25, 20 และ15 ตามลำดับเปรียบเทียบกับชุดควบคุม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

9-point Hedonic Scale

ชื่อผู้ทดสอบ…….. **วันที่**.....

ผลิตภัณฑ์ : ซอสพริกผสมกล้วยน้ำว้า **เวลา**.....

คำแนะนำ : กรุณาทดสอบตัวอย่างจากซ้ายไปขวา แล้วให้คะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ให้ตรงกับรหัสของตัวอย่าง โดยมีคำอธิบายรายละเอียดของคะแนนความชอบด้านล่างนี้ และให้ทดสอบทีละตัวอย่าง ไม่ให้ชิมย้อนกลับ (กรุณาบ้วนปากทุกครั้งระหว่างตัวอย่าง)

คำอธิบายคะแนนความชอบ

ระดับความชอบ	คะแนน
ไม่ชอบมากที่สุด	1
ไม่ชอบมาก	2
ไม่ชอบปานกลาง	3
ไม่ชอบเล็กน้อย	4
ไม่รู้สึกว่าชอบหรือไม่ชอบ (เฉยๆ)	5
ชอบเล็กน้อย	6
ชอบปานกลาง	7
ชอบมาก	8
ชอบมากที่สุด	9

คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์	รหัสตัวอย่าง			
ลักษณะปรากฏ				
สี				
กลิ่นกล้วย				
รสชาติ				
ความเผ็ด				
ความข้นหนืด				
ความคงตัว				
การยอมรับรวม				

ข้อเสนอแนะ

.....

ขอขอบคุณในความร่วมมือ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นายอัครเดช ใหม่นา
วัน เดือน ปี เกิด	23 กันยายน 2523
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนฟากกว๊านวิทยาคม ปีการศึกษา 2542 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยนเรศวร ปีการศึกษา 2546
ประสบการณ์	อาจารย์คณะวิชาอุตสาหกรรมเกษตร วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีพะเยา 2546 - 2548

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved