



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อและการทดสอบสมบัติทางจุลชีววิทยา

ก.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Plate Count Agar (PCA) (Difco™ 247940, France)

Approximate Formula Per Liter

Pancreatic Digest of Casein	5.0 g
Yeast Extract	2.5 g
Dextrose	1.0 g
Agar	15.0 g

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ 23.5 g ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ละลายส่วนผสมและให้ความร้อนเป็นเวลา 1 นาที ถ่ายใส่ขวด นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 °C นาน 15 นาที ก่อนเปิดหม้อนึ่งต้องรอให้อุณหภูมิต่ำกว่า 75 °C ปรับ pH ครั้งสุดท้ายเป็น 7.0 ± 0.2 เทใส่จานเพาะเชื้อจานละประมาณ 15 มิลลิลิตร

2. Potato Dextrose Agar (PDA) (Difco™ 213400, France)

Approximate Formula Per Liter

Potato Starch	4.0 g
Dextrose	20.0 g
Agar	15.0 g

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ 39 g ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ละลายส่วนผสมและให้ความร้อนเป็นเวลา 1 นาที ถ่ายใส่ขวด นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 °C นาน 15 นาที ก่อนเปิดหม้อนึ่งต้องรอให้อุณหภูมิต่ำกว่า 75 °C ปรับ pH ครั้งสุดท้ายเป็น 3.5 ด้วย 10% Tartaric acid ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาณ 1.8 ml/100 ml ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 40-45 °C เทใส่จานเพาะเชื้อจานละประมาณ 15 มิลลิลิตร

3. Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) (Difco™ 218661, France)

Approximate Formula Per Liter

Yeast Extract	3.0 g
Peptone	7.0 g
Bile Salts No. 3	1.5 g
Glucose	10.0 g
Sodium Chloride	5.0 g
Neutral Red	0.03 g
Crystal Violet	2.0 mg
Agar	15.0 g

ซังอาหารเลี้ยงเชื้อ 41.5 g ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ละลายส่วนผสมและให้ความร้อนเป็นเวลา 1 นาที ถ้ายใส่ขวด โดยไม่ต้องนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับ pH ครั้งสุดท้ายเป็น 7.4 ± 0.2 เทใส่จานเพาะเชื้อจานละประมาณ 15 มิลลิลิตร

4. de Man Rogosa Sharpe (MRS) Agar (Scharlau 01-135, Spain)

Formula (in g/L)

Peptone Proteose	10.0 g
Meat extract	8.0 g
Yeast extract	4.0 g
D(+)-Glucose	20.0 g
Sodium acetate	5.0 g
Triammonium citrate	2.0 g
Magnesium sulfate	0.2 g
Manganese sulfate	0.05 g
Dipotassium phosphate	2.0 g
Polysorbate 80	1.0 g
Agar	14.0 g

Final pH 6.2 ± 0.2

ซังอาหารเลี้ยงเชื้อ 66 g ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ละลายส่วนผสมและให้ความร้อนเป็นเวลา 1 นาที ถ้ายใส่ขวด นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 °C นาน 15 นาที ก่อนเปิดหม้อนึ่งต้องรอให้อุณหภูมิต่ำกว่า 75 °C ปรับ pH ครั้งสุดท้ายเป็น 6.2 ± 0.2 เทใส่จานเพาะเชื้อจานละประมาณ 15 มิลลิลิตร

ก.2 การทดสอบสมบัติทางจุลชีววิทยา

1. การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. Sterile Petri dish
2. Test tube
3. Duran ขนาด 250, 500 ml
4. Autopipette
5. Pipette ขนาด 1, 10 ml

เครื่องมือ

1. Autoclave
2. Vortex
3. Alcohol burner
4. Laminar flow
5. Stomacher
6. Water bath
7. Incubator

สารเคมี

1. Plate Count Agar (PCA) (Difco™ 247940, Le Pont de Claix, France)
2. 0.1% Peptone water
3. 70% Alcohol

วิธีการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างเนื้อไก่หนัก 25 กรัม ใส่ลงใน 0.1% Peptone water 225 ml จากนั้น homogenized ด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง
2. ทำ Serial dilution โดยใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่าง ปริมาณ 1 ml ใส่ลงใน 0.1% Peptone water 9 ml เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex

3. จากนั้นใช้ปิเปตขนาด 1 ml คูดตัวอย่างในระดับความเจือจางต่ำที่สุดปริมาณ 1 ml ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 จาน (duplicate) จากนั้นใช้ปิเปตอันเดมิคูดตัวอย่างที่ระดับการเจือจางเพิ่มมากขึ้นอันดับถัดไป ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 จานเช่นเดียวกัน

4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA อุณหภูมิไม่เกิน 50 °C ปริมาณ 10-15 ml ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้จากข้อ 3 ผสมสารละลายตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้กระจายเข้ากันดี โดยเขย่าไปข้างหน้า-หลัง 5 ครั้ง เขย่าไปทางซ้าย-ขวา 5 ครั้ง ในขณะที่เขย่าควรระมัดระวังไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อเลอะติดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

5. วางจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ให้อุ่นแห้งตัว คั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C นาน 48 ชั่วโมง

6. นับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีขึ้นอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี นำไปคำนวณหาจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในตัวอย่างเป็น CFU/g

2. การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อยีสต์และรา (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. Sterile Petri dish
2. Test tube
3. Duran ขนาด 250, 500 ml
4. Autopipette
5. Pipette ขนาด 1, 10 ml

เครื่องมือ

1. Autoclave
2. Vortex
3. Alcohol burner
4. Laminar flow
5. Stomacher
6. Water bath
7. Incubator

สารเคมี

1. Potato Dextrose Agar (PDA) (Difco™ 213400, Le Pont de Claix, France)
2. 10% Tartaric acid (Merck, Germany)

3. 0.1% Peptone water

4. 70% Alcohol

วิธีการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างเนื้อไก่หนัก 25 กรัม ใส่ลงใน 0.1% Peptone water 225 ml จากนั้น homogenized ด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง
2. ทำ Serial dilution ที่ 3 ระดับการเจือจาง โดยใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่าง ปริมาณ 1 ml ใส่ลงใน 0.1% Peptone water 9 ml เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex
3. ใช้ปิเปตขนาด 1 ml ดูดตัวอย่างในระดับความเจือจางต่ำที่สุดปริมาณ 1 ml ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 จาน (duplicate) จากนั้นใช้ปิเปตอันเดิมดูดตัวอย่างที่ระดับการเจือจางเพิ่มมากขึ้นอันดับถัดไป ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 จานเช่นเดียวกัน
4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ pH 3.5 (ปรับ pH ด้วยการเติม 10% Tartaric acid ปริมาณ 1.8 ml ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 100 ml) อุณหภูมิไม่เกิน 50 °C ปริมาณ 10-15 ml ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้จากข้อ 3 ผสมสารละลายตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้กระจายเข้ากันดี โดยเขย่าไปข้างหน้า-หลัง 5 ครั้ง เขย่าไปทางซ้าย-ขวา 5 ครั้ง ในขณะที่เขย่าควรระมัดระวังไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อเลอะติดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. วางจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ให้อุ่นแข็งตัว และนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C นาน 4-5 วัน ในที่มืด (โดยไม่ต้องคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ)
6. นับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีขึ้นอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี นำไปคำนวณหาจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในตัวอย่างเป็น CFU/g

3. การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* (Mossel et al., 1979)

อุปกรณ์

1. Sterile Petri dish
2. Test tube
3. Duran ขนาด 250, 500 ml
4. Autopipette
5. Pipette ขนาด 1, 10 ml

เครื่องมือ

1. Autoclave
2. Vortex

3. Alcohol burner
4. Laminar flow
5. Stomacher
6. Water bath
7. Incubator

สารเคมี

1. Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) (Difco™ 218661, France)
2. 0.1% Peptone water
3. 70% Alcohol

วิธีการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างเนื้อไก่หนัก 25 กรัม ใส่ลงใน 0.1% Peptone water 225 ml จากนั้น homogenized ด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง
2. ทำ Serial dilution โดยใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่าง ปริมาณ 1 ml ใส่ลงใน 0.1% Peptone water 9 ml เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex
3. จากนั้นใช้ปิเปตขนาด 1 ml ดูดตัวอย่างในระดับความเจือจางต่ำที่สุดปริมาณ 1 ml ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 จาน (duplicate) จากนั้นใช้ปิเปตอันเดิมดูดตัวอย่างที่ระดับการเจือจางเพิ่มมากขึ้นอันดับถัดไป ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 จานเช่นเดียวกัน
4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ VRBGA อุณหภูมิไม่เกิน 50 °C ปริมาณ 10-15 ml ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้จากข้อ 3 ผสมสารละลายตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้กระจายเข้ากันดี โดยเขย่าไปข้างหน้า-หลัง 5 ครั้ง เขย่าไปทางซ้าย-ขวา 5 ครั้ง ในขณะที่เขย่าควรระมัดระวังไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อเลอะติดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
5. วางจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ให้อุ่นแห้งตัว จากนั้นเททับ (overlay) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเดิมที่อุณหภูมิไม่เกิน 50 °C ปริมาณ 10 ml วางจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ให้อุ่นแห้งตัวอีกครั้งหนึ่ง คว่าจานอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C นาน 24 ชั่วโมง
6. นับจำนวนโคโลนี ที่เจริญภายใต้วุ้นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีโคโลนีขึ้นอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี นำไปคำนวณหาจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในตัวอย่างเป็น CFU/g

4. การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม Lactic acid bacteria (LAB) (Ntzimani et al, 2010)

อุปกรณ์

1. Sterile Petri dish
2. Test tube
3. Duran ขนาด 250, 500 ml
4. Autopipette
5. Pipette ขนาด 1, 10 ml

เครื่องมือ

1. Autoclave
2. Vortex
3. Alcohol burner
4. Laminar flow
5. Stomacher
6. Water bath
7. Incubator

สารเคมี

1. deMan Rogosa Sharpe (MRS) Agar (Scharlau 01-135, Spain)
2. 0.1% Peptone water
3. 70% Alcohol

วิธีการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างเนื้อไก่หนัก 25 กรัม ใส่ลงใน 0.1% Peptone water 225 ml จากนั้น homogenized ด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง
2. ทำ Serial dilution โดยใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่าง ปริมาณ 1 ml ใส่ลงใน 0.1% Peptone water 9 ml เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex
3. จากนั้นใช้ปิเปตขนาด 1 ml ดูดตัวอย่างในระดับความเจือจางต่ำที่สุดปริมาณ 1 ml ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 จาน (duplicate) จากนั้นใช้ปิเปตอันเดิมดูดตัวอย่างที่ระดับการเจือจางเพิ่มมากขึ้นอันดับถัดไป ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 จานเช่นเดียวกัน
4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS อุณหภูมิไม่เกิน 50 °C ปริมาณ 10-15 ml ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้จากข้อ 3 ผสมสารละลายตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้กระจายเข้ากันดี โดย

เขย่าไปข้างหน้า-หลัง 5 ครั้ง เขย่าไปทางซ้าย-ขวา 5 ครั้ง ในขณะที่เขย่าควรระมัดระวังไม่ให้อาหาร
เลี้ยงเชื้อเลอะติดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

5. วางจานอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ให้อุ่นแข็งตัว คำนวณอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C
นาน 5 วัน

6. นับจำนวนโคโลนีที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีขึ้นอยู่ระหว่าง 25-250
โคโลนี นำไปคำนวณหาจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในตัวอย่างเป็น CFU/g



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

การทดสอบสมบัติทางเคมี

ข.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไธโอบาบิฑูริค (Determination of Thiobarbituric acid number)
ตามวิธีการของ Pearson (1991) โดยอ้างอิงถึง Chouliara et al. (2007)

อุปกรณ์

1. Volumetric flask ขนาด 100 ml
2. Micropipette ขนาด 1,000 μ l
3. UV-visible Spectrophotometer (Thermo spectronic Biomate 5, USA)
4. เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Sartorius รุ่น CP224S, Germany)
5. Distillation unit
6. Blender (Moulinex รุ่น MNX-Y46, France)
7. Hot plate stirrer (IKA รุ่น C-MAG H7, Germany)

สารเคมี

1. Thiobarbituric acid reagent : ละลายกรด thiobarbituric (Merck, Germany) จำนวน 0.2883 กรัม ในสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 90% โดยการอุ่นเบาๆ แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml ด้วยกรดอะซิติกเข้มข้น 90% ใน volumetric flask

2. สารละลายกรด HCl (Merck, Germany) ความเข้มข้น 4 โมลาร์

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบมาให้ได้น้ำหนักแน่นอน 2 กรัม บดผสมกับน้ำกลั่น 50 ml ด้วย blender ประมาณ 2 นาที จากนั้นเทลงใน distillation flask ล้าง blender ด้วยน้ำกลั่น 47.5 ml เทใส่ distillation flask

2. เติมสารละลายกรด HCl ความเข้มข้น 4 โมลาร์ จำนวน 2.5 ml เพื่อปรับ pH ให้ได้ 1.5 แล้วเติม antifoaming agent (glass bead) ต่อ flask เข้ากับเครื่องกลั่น ให้ความร้อนโดย heating mantle

3. เก็บของเหลวที่กลั่นได้จำนวน 50 ml (ภายใน 10 นาทีหลังเดือด)
4. ปิเปตของเหลวที่กลั่นได้มา 5 ml ใส่ในหลอดแก้วที่มีฝาปิด เติม thiobarbituric acid reagent ลงไป 5 ml ปิดฝาแล้วเขย่า
5. นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 35 นาที (exactly) ทำให้เย็นภายใน 10 นาที
6. ทำ blank ไปพร้อมกัน โดยใช้น้ำกลั่น 5 ml และสารละลาย thiobarbituric acid reagent 5 ml
7. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร โดยใช้ cell กว้าง 1 cm

วิธีการคำนวณ

$$\text{TBA No.} = 7.8 \times \text{O.D. (as Malonaldehyde / kg sample)}$$

ข.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total Volatile Basic Nitrogen : TVB-N) ด้วยวิธีการกลั่น (distillation) (Malle and Poumeyrol, 1989)

อุปกรณ์

1. ขวดปริมาตรขนาด 200 ml
2. Centrifuge tube ขนาด 15 ml
3. กระจกตวงขนาด 50 ml
4. ปิเปตขนาด 10 ml
5. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml
6. บิวเรตขนาด 25 ml

เครื่องมือ

1. Centrifuge (Hermle รุ่น Z200A, Germany)
2. Kjeldahl-type distillator
3. เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Sartorius รุ่น CP224S, Germany)
4. Blender (Moulinex รุ่น MNX-Y46, France)

สารเคมี

1. 7.5% Trichloroacetic acid (TCA) (Merck, Germany)
2. 10% Sodium hydroxide (RANKEM, India)
3. 4% Boric acid (RANKEM, India)
4. Protein indicator (methyl red ผสมกับ bromocresol green)
5. 0.1 N Sulfuric acid (Merck, Germany)

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 100 กรัม และเติม 7.5% trichloroacetic acid (TCA) 200 มิลลิลิตร
2. ปั่นเนื้อไก่ให้ เป นเนื้อเดียวกัน ค วยโฮโมจีไนเซอร์ ที่ความเร็วสูงนาน 1 นาที
3. ป นเหวี่ยงที่ 4000 rpm นาน 15 นาที นำส วนใส 25 มิลลิลิตร ใส่ ในหลอดกลั่น (distillation tube)
4. ทำการกลั่นค วย Kjeldahl-type distillator เติม 10% โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 6 มิลลิลิตร ลงในหลอดกลั่น ระวังอย่า ให้ความร้อนที่ติดที่ค อย ว่างหลอด
5. นำบีกเกอร์ ที่บรรจุ 4% กรดบอริก (boric acid) 10 มิลลิลิตรและหยดโปรตีนอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด (protein indicator) (methyl red ผสมกับ bromocresol green) ไปวางที่ปลายคอนเดนเซอร์ (condenser) เริ่มทำการกลั่นจนกระทั่งได้สารละลายที่กลั่นได้ (distillate) 40 มิลลิลิตร โดยทำการกลั่นภายใต้ สภาวะดังต่อไปนี้ (ก ่อนที่จะทำการกลั่นควรทำการกลั่นค วยน้ำกลั่น เพื่อล ้างทำความสะอาด)

ขั้นตอนที่ 1. เวลาในการเติมน้ำ	0 วินาที
ขั้นตอนที่ 2. เวลาในการเติมค <input type="checkbox"/> วย NaOH	0 วินาที
ขั้นตอนที่ 3. เวลาในการเกิดปฏิกิริยาระหว่างน้ำกับค <input type="checkbox"/> วย	0 วินาที
ขั้นตอนที่ 4. เวลาในการกลั่น	300 วินาที
ขั้นตอนที่ 5. การผลิตไอน้ำ (Steam generation)	80 %

จะสังเกตเห็นว าสารละลายกรดบอริก (boric acid solution) จะเปลี่ยนเป นสีเขียว จากนั้นไทเทรตกับ 0.1 N กรดซัลฟูริก (sulfuric acid) จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป นสีชมพู

คำนวณ TVB-N content จาก (แสดงค อยออกเป น mg TVB-N/100 g ตัวอย่าง วย)

$$\text{mg TVB-N (mg / 100 g ตัวอย่าง)} = \frac{(\text{ปริมาณของกรดที่ใช้} \times 14 \times \text{ความเข้มข้นของกรดที่ใช้ไทเทรต})}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้}}$$

ข.3 การวิเคราะห์ปริมาณเกลือ โดยวิธี Mohr titration (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. บิวเรตขนาด 25 ml
2. ปิเปตขนาด 10 ml
3. ขวดปริมาตรขนาด 250 ml
4. ขวดรูปหมฟุ้งขนาด 125 ml
5. กรวยกรอง
6. บีกเกอร์ขนาด 50, 250 ml
7. ซ้อนตักสาร

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Sartorius รุ่น CP224S, Germany)
2. Blender (Moulinex รุ่น MNX-Y46, France)

สารเคมี

1. Silver nitrate (BDH, Leuven, Belgium) ; AgNO_3 เข้มข้น 0.1 M
 - 1.1 ชั่ง AgNO_3 ความบริสุทธิ์ 99.9-100 % ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 120°C นาน 2 ชั่วโมง จำนวน 16.9880 g ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง นำสารที่ชั่งได้ละลายด้วยน้ำกลั่นประมาณ 200 ml
 - 1.2 เทใส่ขวดปริมาตรขนาด 1000 ml แล้วปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำกลั่น
 - 1.3 ถ้า AgNO_3 มีความบริสุทธิ์น้อยกว่า 99.9-100 % ให้นำสารละลายที่เตรียมได้ไปหาความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยสารละลายมาตรฐาน NaCl เข้มข้น 0.1 M
2. Sodium chloride ; NaCl เข้มข้น 0.1 M
 - 2.1 ชั่ง NaCl บริสุทธิ์ 99.9-100 % และผ่านการอบที่อุณหภูมิ 100°C นาน 2 ชั่วโมง จำนวน 0.5844 g ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง นำสารที่ชั่งได้ละลายด้วยน้ำกลั่นประมาณ 50 ml
 - 2.2 เทใส่ขวดปริมาตรขนาด 200 ml แล้วปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำกลั่น
3. Potassium chromate ; K_2CrO_4 indicator
 - 3.1 ชั่ง K_2CrO_4 4.2 g ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง ใส่ในบีกเกอร์ 100 ml

3.2 ชั่ง $K_2Cr_2O_7$ 0.7 g ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง ใส่ในบีกเกอร์ใบเดิม

3.3 เติมน้ำกลั่นประมาณ 80 ml คนให้สารละลาย

3.4 เทใส่ขวดปรับปริมาตร 100 ml ปรับให้ครบด้วยน้ำกลั่น

วิธีการวิเคราะห์

1. สุ่มตัวอย่างอาหารมาประมาณ 100 กรัม นำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น
2. ชั่งตัวอย่างอาหารมา 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นลงไป 50 ml คนให้เข้ากัน
3. เทใส่ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 ml ปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำกลั่น นำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4
4. บีบส่วนที่กรองมาได้ 10 ml ใส่ในขวดรูปชมพู่ เติมน้ำกลั่น K_2CrO_4 indicator 1 ml
5. นำไปไทเทรตด้วย 0.1 M $AgNO_3$ จุดยุติสารละลายจะมีสีแดงอิฐ บันทึกผล (หากใช้ 0.1 M $AgNO_3$ ในการไทเทรตน้อยกว่า 0.5 ml ให้เพิ่มปริมาณตัวอย่างหรือถ้าใช้มากกว่า 25 ml ให้ลดตัวอย่างลง)

วิธีการคำนวณ

1 ml ของ 0.1 M Silver nitrate จะทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับเกลือแกงปริมาณ 0.005844 g

ข.4 การวัดค่าปริมาณน้ำอิสระ (Water activity ; a_w)

อุปกรณ์

1. บีกเกอร์ขนาด 50 ml
2. แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)

เครื่องมือ

1. เครื่องวัด Water activity (Aqua lab รุ่น CX3TE, USA)
2. เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Sartorius รุ่น CP224S, Germany)

วิธีการวิเคราะห์

1. เสียบปลั๊กเปิดเครื่อง ทำการวอร์มเครื่องประมาณ 30 นาที เพื่อให้การวัดมีประสิทธิภาพสูงสุด
2. ชั่งตัวอย่างอาหารมา 5 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ บดให้ละเอียดจากนั้นตักใส่ลงในตลับวัด Water Activity ที่แห้งสะอาดโดยใส่ตัวอย่างประมาณ 1 ใน 3 ของตลับ หรือไม่เกินครึ่งหนึ่งของตลับ เกลี่ยตัวอย่างให้ครอบคลุมก้นตลับเพื่อประสิทธิภาพในการวัด

3. ตรวจสอบให้แน่ใจว่าที่ขอบริมและด้านนอกของตลับวัดสะอาด ห้ามมีตัวอย่างติดบริเวณขอบตลับวัด Water Activity
4. ตัวอย่างควรมีอุณหภูมิเดียว หรือต่างกันไม่เกิน 4°C ของอุณหภูมิ chamber เครื่องวัด Water Activity
5. นำตลับวัด Water Activity บรรจุลงในลิ้นชักวัดตัวอย่างด้วยความระมัดระวัง ห้ามให้ตัวอย่างหกหล่น
6. หมุนปุ่มของลิ้นชักในตำแหน่ง Open/Load ไปยังตำแหน่ง Read เครื่องจะเริ่มวัดค่า Water Activity เมื่อเครื่องเริ่มมีสัญญาณเตือน 1 ครั้ง
7. เมื่อเครื่องวัดเสร็จใช้เวลาประมาณ 4-5 นาที จะมีสัญญาณเตือนถี่ๆ ให้อ่านค่า Water Activity และอุณหภูมิที่หน้าจอ
8. หมุนปุ่มของลิ้นชักในตำแหน่ง Read ไปยังตำแหน่ง Open/Load นำตลับออก
9. ทำการวัดซ้ำ 3 ซ้ำ ตั้งขึ้นตอนเดิม ตามลำดับ
10. เมื่อวัดเสร็จ ปิดเครื่องและถอดปลั๊กออก

ข.5 การวัดปริมาณกรดและด่าง

อุปกรณ์

1. บีกเกอร์ขนาด 50 ml
2. แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)

เครื่องมือ

1. เครื่องวัดค่า pH (pH meter) (SCHOTT รุ่น CG842, Germany)
2. เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Sartorius รุ่น CP224S, Germany)
3. Blender (Moulinex รุ่น MNX-Y46, France)

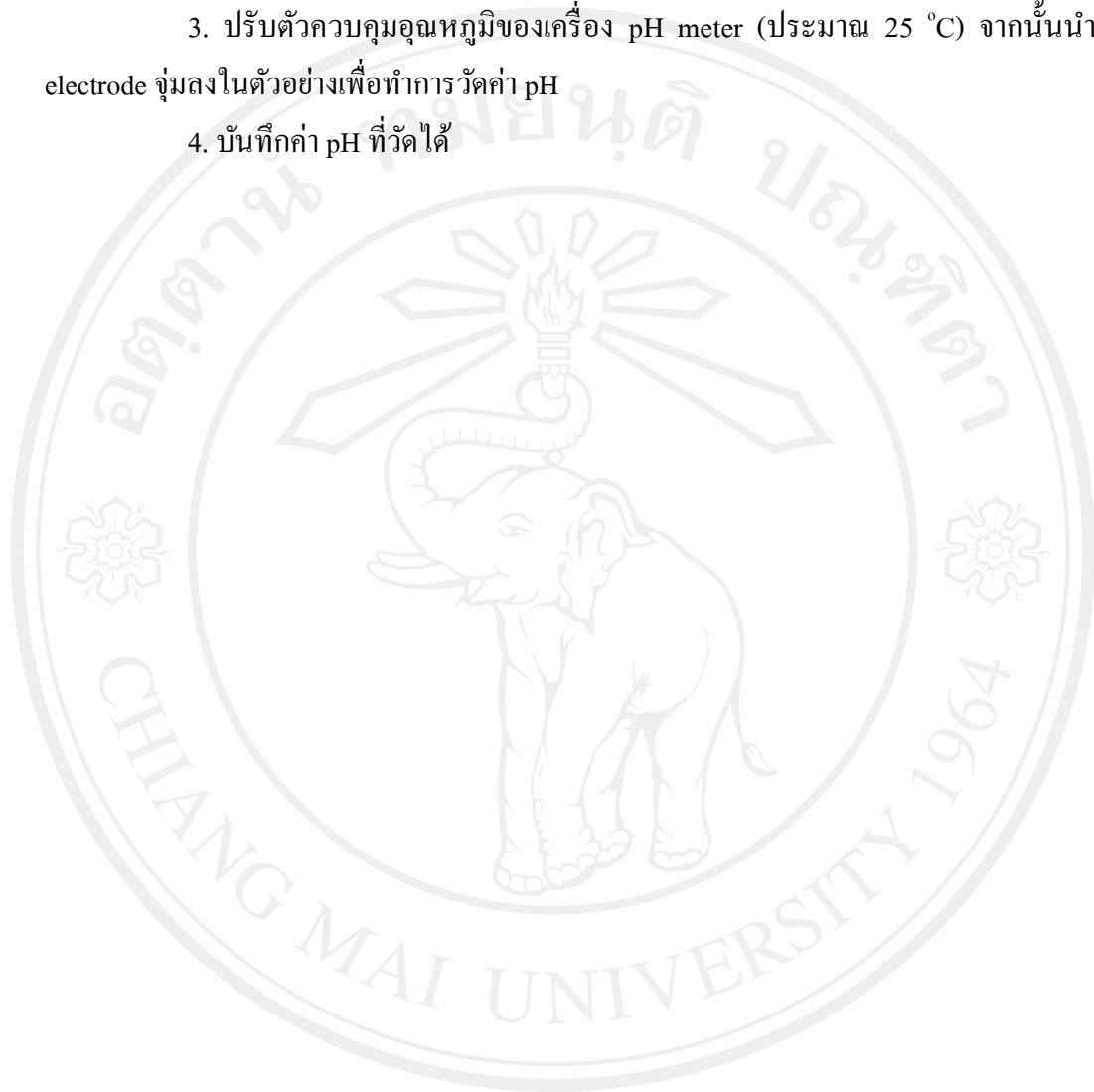
สารเคมี

1. Distillation water
2. Certified buffer solution ที่มีค่า pH 7 และ pH 4

วิธีการวิเคราะห์

1. ทำการ Calibrate เครื่อง pH meter ด้วย certified buffer solution ที่มีค่า pH 7.00 และ pH 4.00

2. นำตัวอย่างอาหารมาทำการเจือจางที่อัตราส่วน 1 : 10 ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเทใส่ลงใน blender jar ที่สะอาด ทำการปั่นจนได้สารที่ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน
3. ปรับตัวควบคุมอุณหภูมิของเครื่อง pH meter (ประมาณ 25 °C) จากนั้นนำ pH electrode จุ่มลงในตัวอย่างเพื่อทำการวัดค่า pH
4. บันทึกค่า pH ที่วัดได้



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

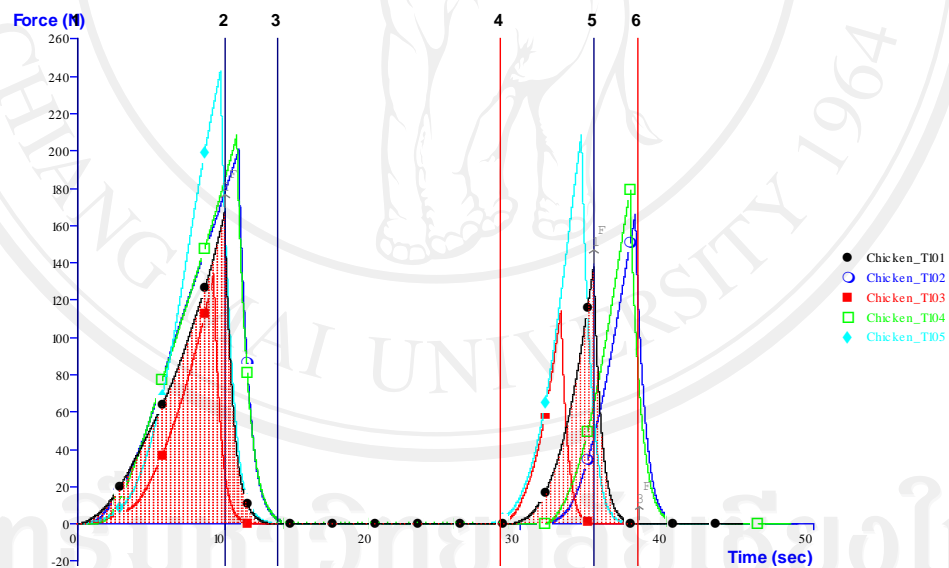
ภาคผนวก ค

การทดสอบสมบัติทางกายภาพ

ค.1 การทดสอบเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไก่ต้มน้ำปลาพร้อมบริโอค ที่แปรรูปโดยเทคโนโลยีเฮอรัลด์และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$) เป็นระยะเวลา 30 วัน ด้วยวิธี Texture profile analysis (TPA)

1. วันที่ 0 ของการเก็บรักษา

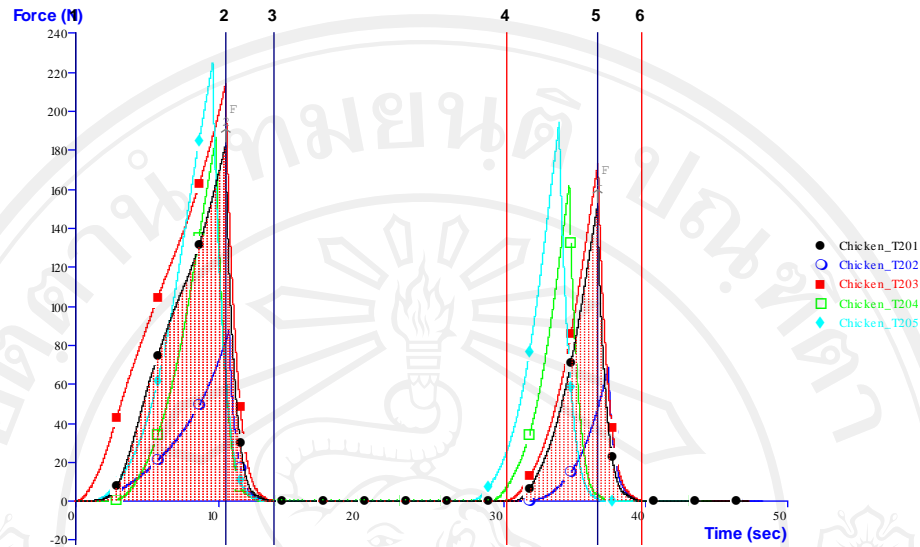
1.1 ตัวอย่างควบคุม



ภาพที่ ค-1 การทดสอบ TPA ของตัวอย่างควบคุม เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$)

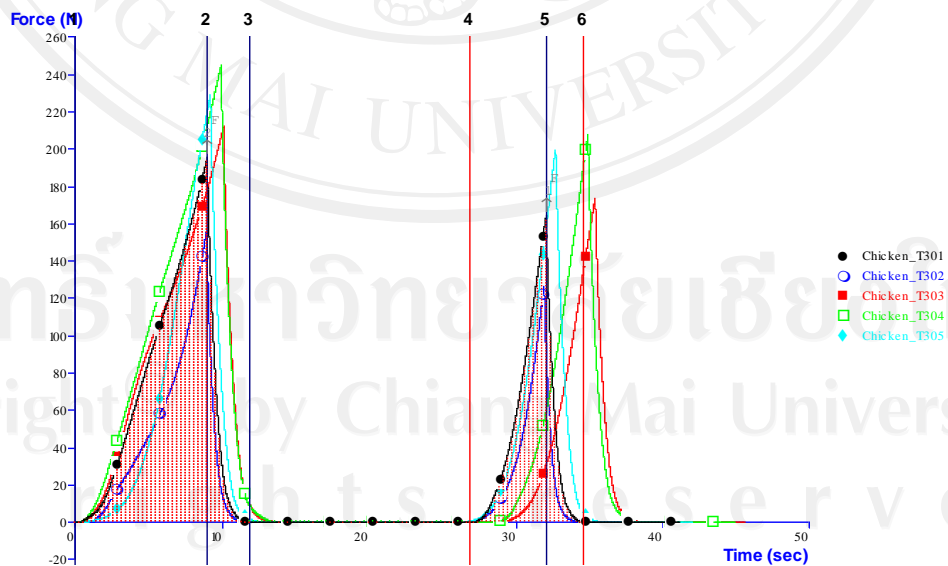
ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา

1.2 ตัวอย่างที่เติม sodium benzoate ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่



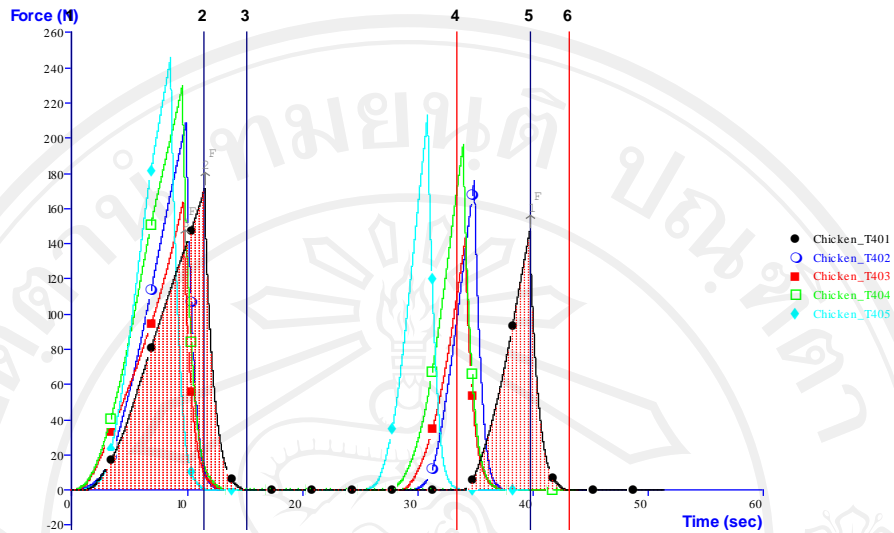
ภาพที่ ค-2 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T2 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$)
ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา

1.3 ตัวอย่างที่เติม BHA ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่



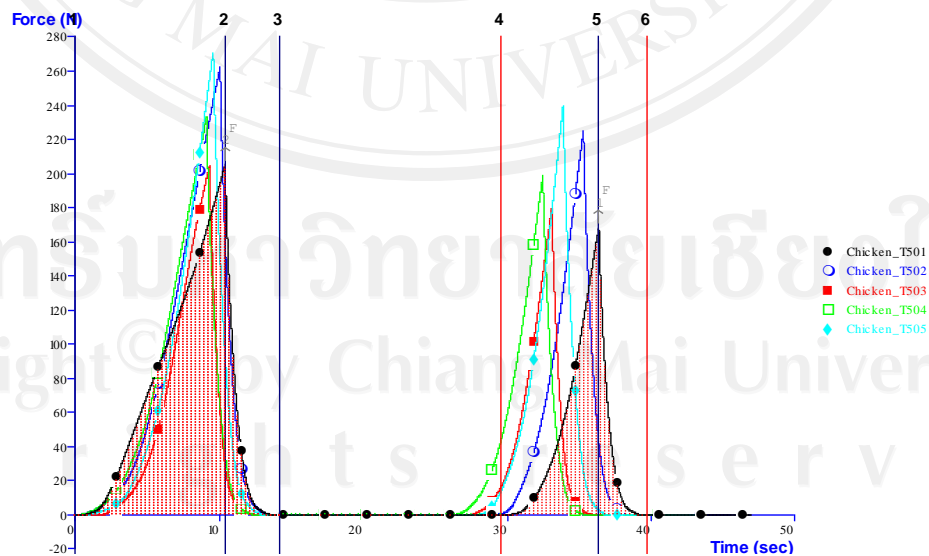
ภาพที่ ค-3 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T3 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$)
ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา

1.4 ตัวอย่างที่เติม BHT ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่



ภาพที่ ค-4 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T4 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$)
ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา

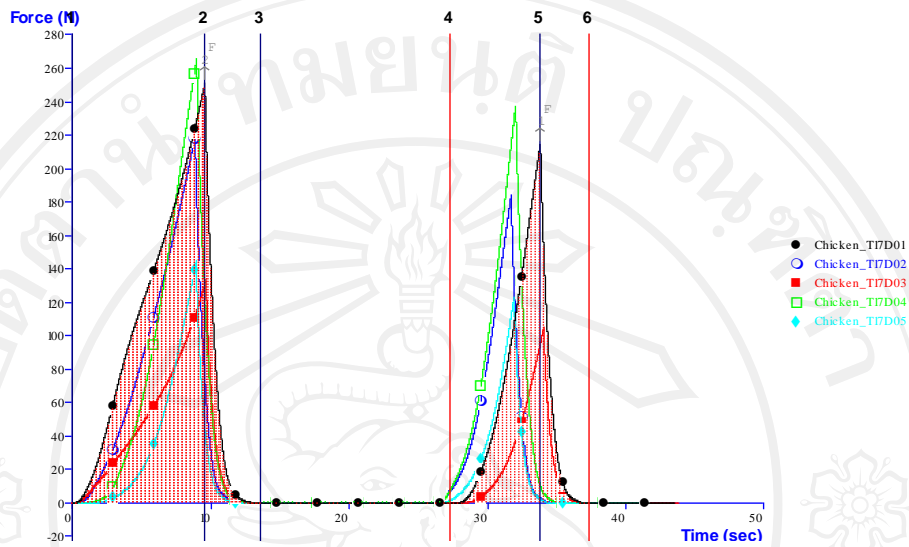
1.5 ตัวอย่างที่เติม sodium benzoate ร่วมกับ BHA และ BHT ปริมาณชนิดละ 30 mg/kg ของเนื้อไก่



ภาพที่ ค-5 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T5 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$)
ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา

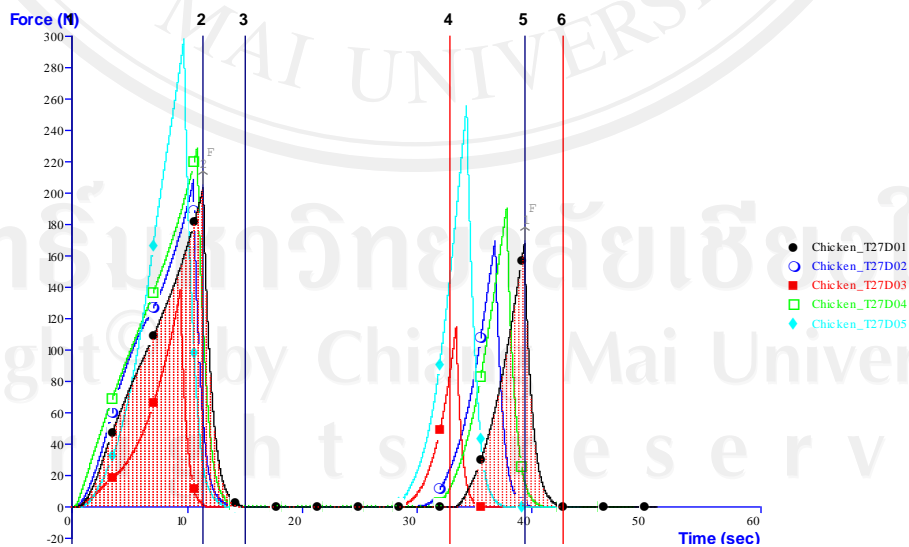
2. วันที่ 7 ของการเก็บรักษา

2.1 ตัวอย่างควบคุม



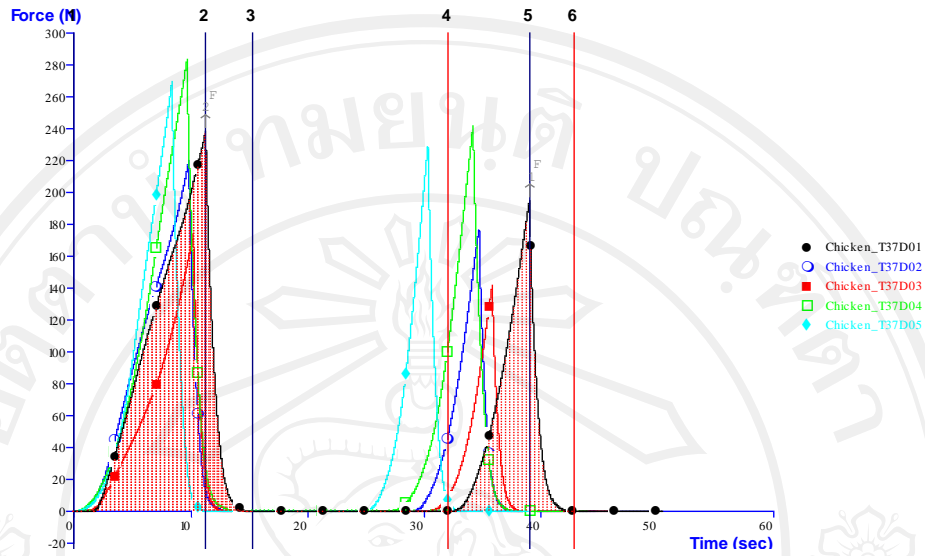
ภาพที่ ค-6 การทดสอบ TPA ของตัวอย่างควบคุม เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8^\circ\text{C}$)
ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา

2.2 ตัวอย่างที่เติม sodium benzoate ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่



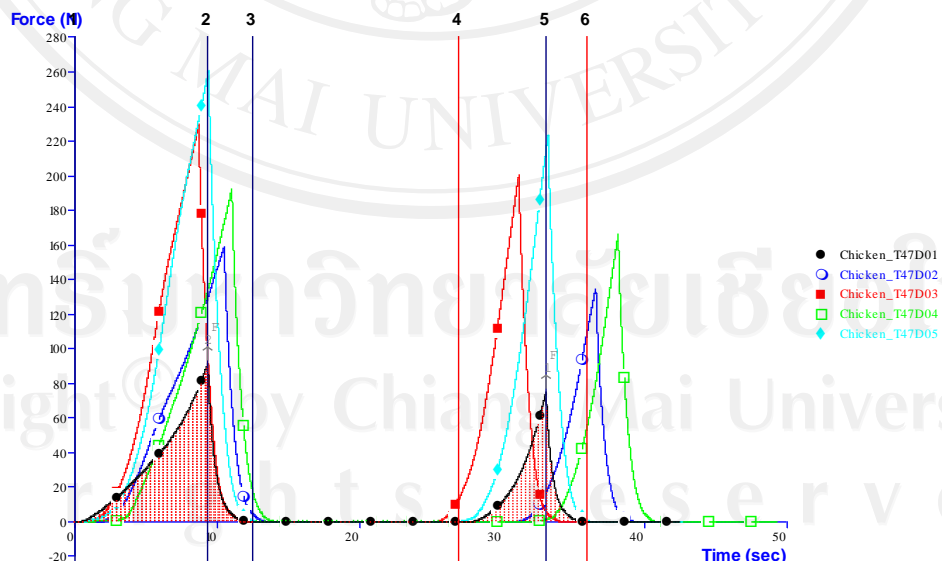
ภาพที่ ค-7 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T2 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8^\circ\text{C}$)
ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา

2.3 ตัวอย่างที่เติม BHA ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่



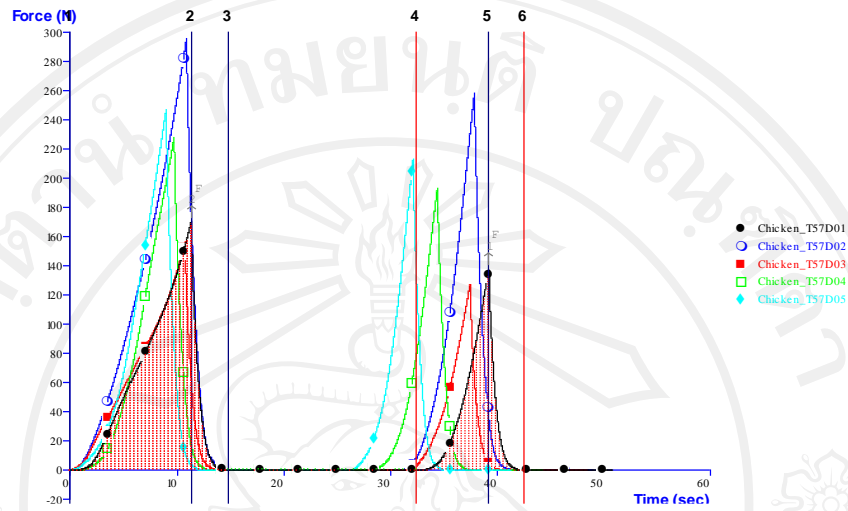
ภาพที่ ค-8 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T3 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$)
ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา

2.4 ตัวอย่างที่เติม BHT ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่



ภาพที่ ค-9 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T4 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$)
ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา

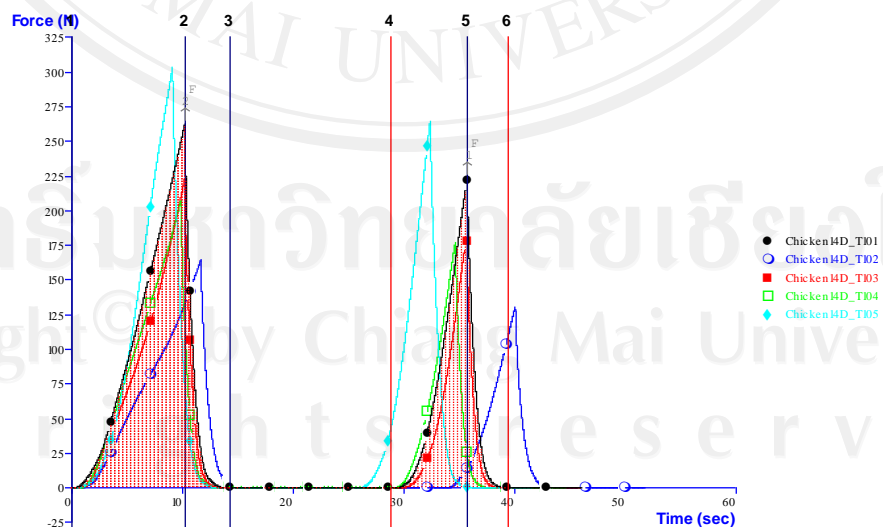
2.5 ตัวอย่างที่เติม sodium benzoate ร่วมกับ BHA และ BHT ปริมาณชนิดละ 30 mg/kg ของเนื้อไก่



ภาพที่ ค-10 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T5 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$) ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา

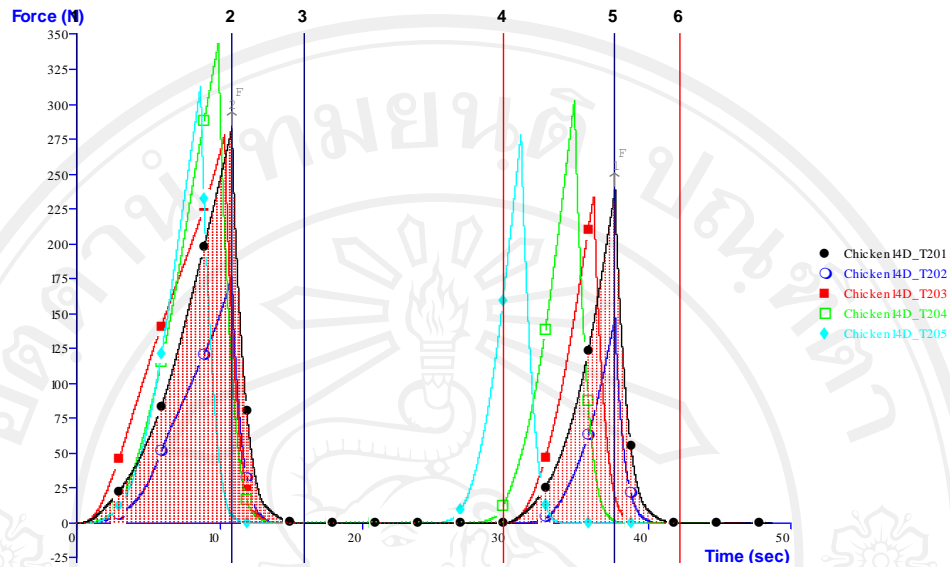
3. วันที่ 14 ของการเก็บรักษา

3.1 ตัวอย่างควบคุม



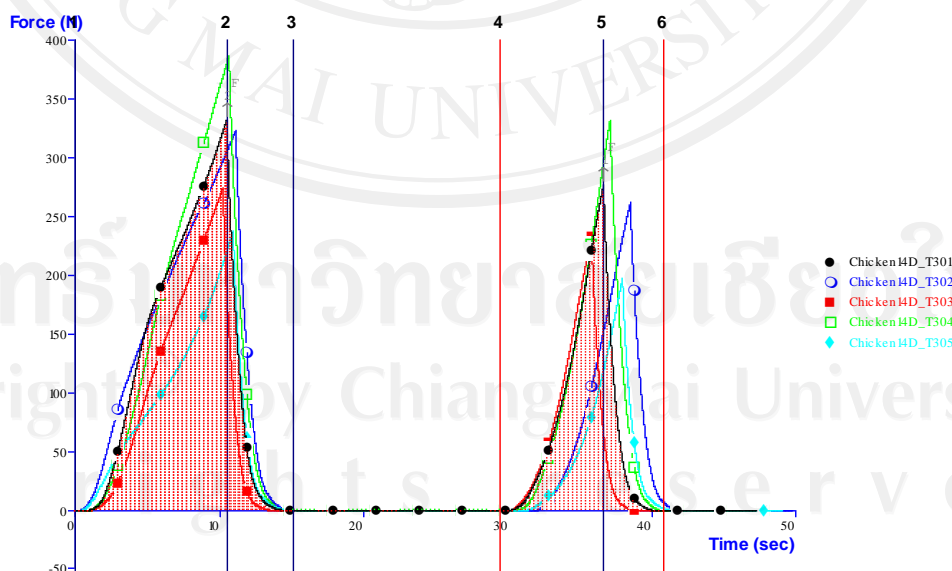
ภาพที่ ค-11 การทดสอบ TPA ของตัวอย่างควบคุม เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$) ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษา

3.2 ตัวอย่างที่เติม sodium benzoate ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่



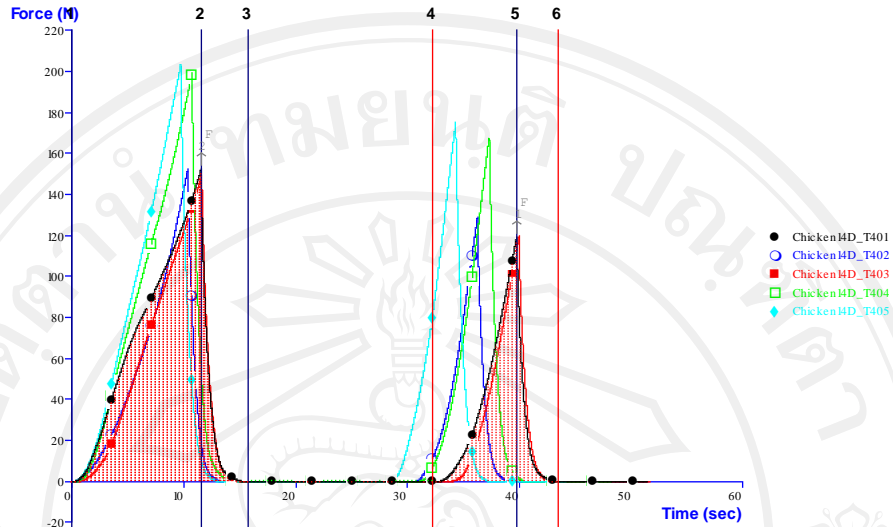
ภาพที่ ค-12 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T2 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$)
ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษา

3.3 ตัวอย่างที่เติม BHA ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่



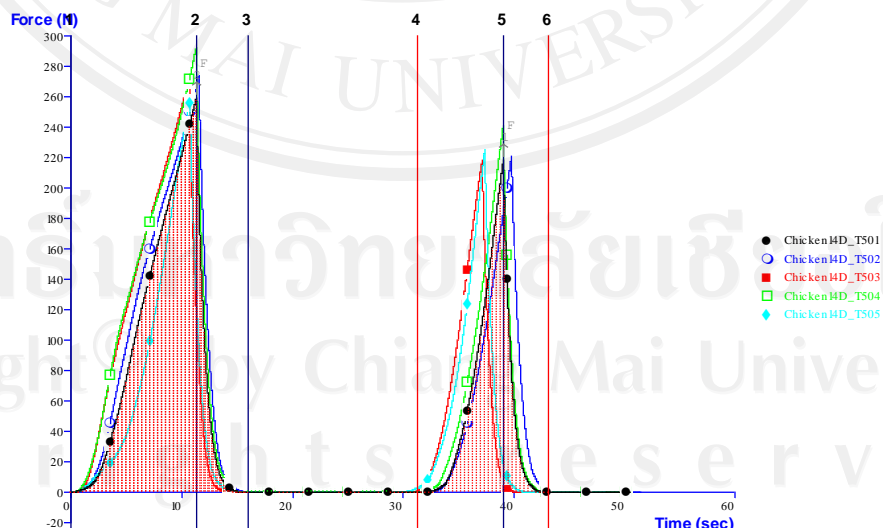
ภาพที่ ค-13 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T3 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$)
ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษา

3.4 ตัวอย่างที่เติม BHT ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่



ภาพที่ ค-14 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T4 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8^\circ\text{C}$)
ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษา

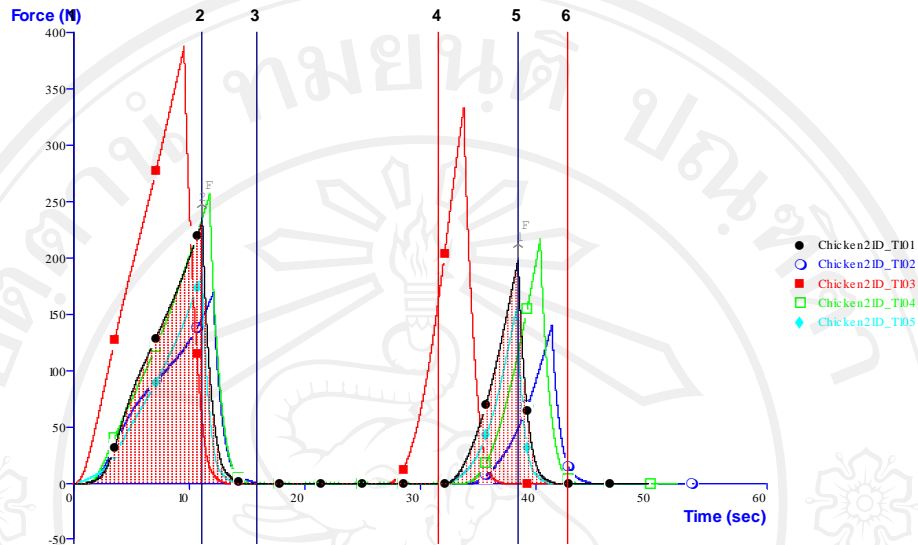
3.5 ตัวอย่างที่เติม sodium benzoate ร่วมกับ BHA และ BHT ปริมาณชนิดละ 30 mg/kg ของเนื้อไก่



ภาพที่ ค-15 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T5 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8^\circ\text{C}$)
ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษา

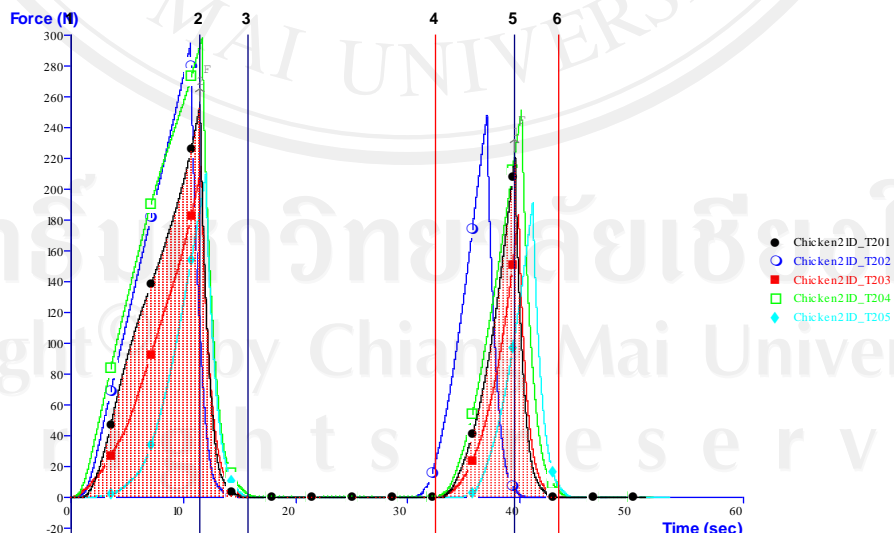
4. วันที่ 21 ของการเก็บรักษา

4.1 ตัวอย่างควบคุม



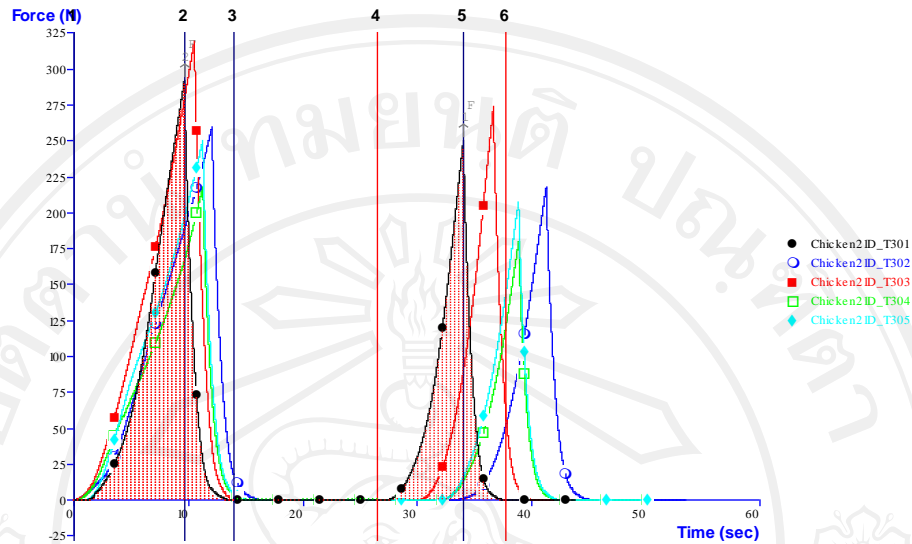
ภาพที่ ค-16 การทดสอบ TPA ของตัวอย่างควบคุม เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8^\circ\text{C}$)
ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา

4.2 ตัวอย่างที่เติม sodium benzoate ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่



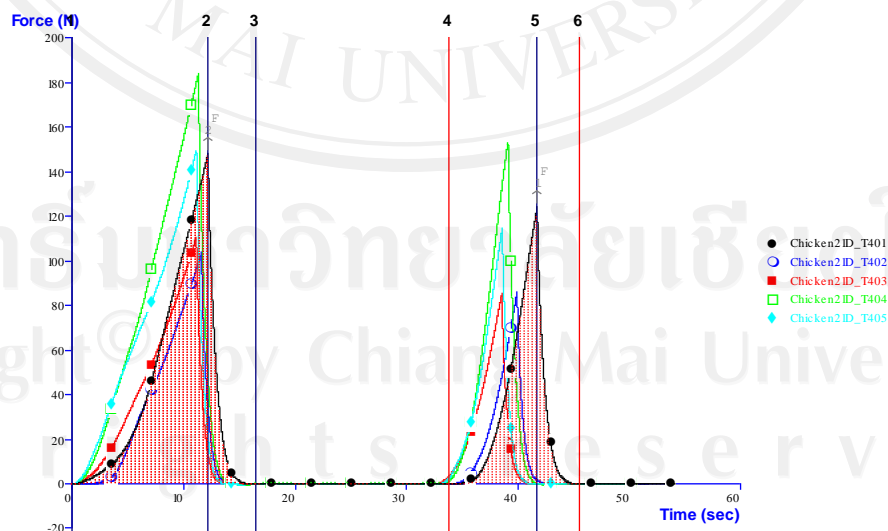
ภาพที่ ค-17 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T2 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8^\circ\text{C}$)
ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา

4.3 ตัวอย่างที่เติม BHA ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่



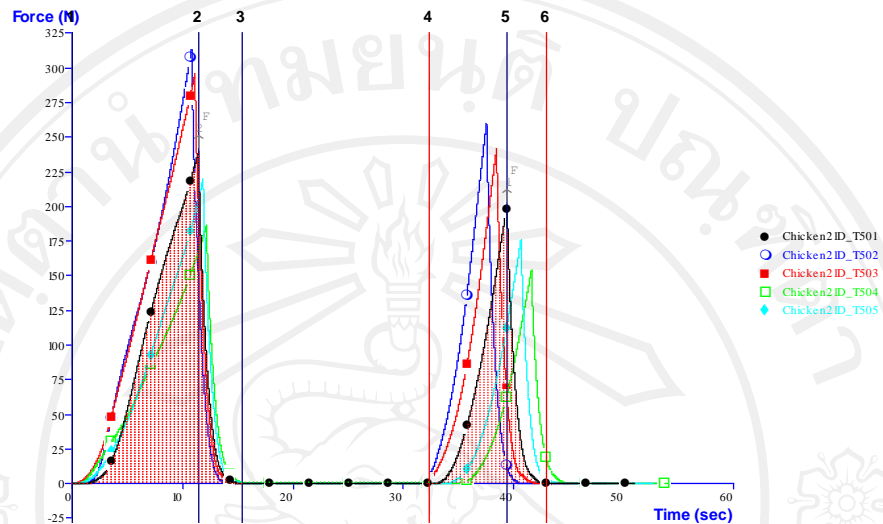
ภาพที่ ค-18 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T3 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8^{\circ}\text{C}$)
ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา

4.4 ตัวอย่างที่เติม BHT ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่



ภาพที่ ค-19 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T4 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8^{\circ}\text{C}$)
ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา

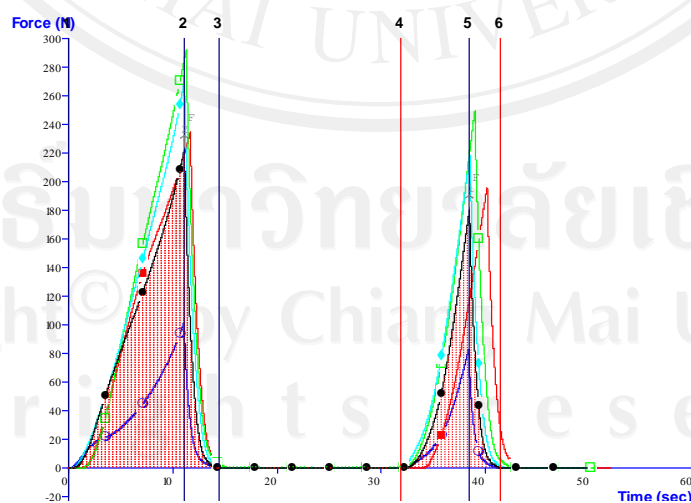
4.5 ตัวอย่างที่เติม sodium benzoate ร่วมกับ BHA และ BHT ปริมาณชนิดละ 30 mg/kg ของเนื้อไก่



ภาพที่ ค-20 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T5 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$) ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา

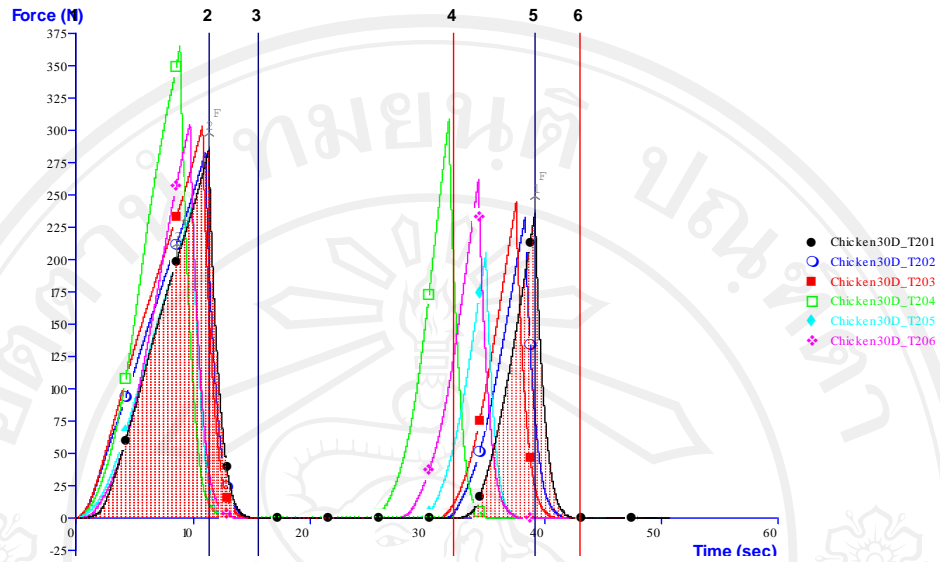
5. วันที่ 30 ของการเก็บรักษา

5.1 ตัวอย่างควบคุม



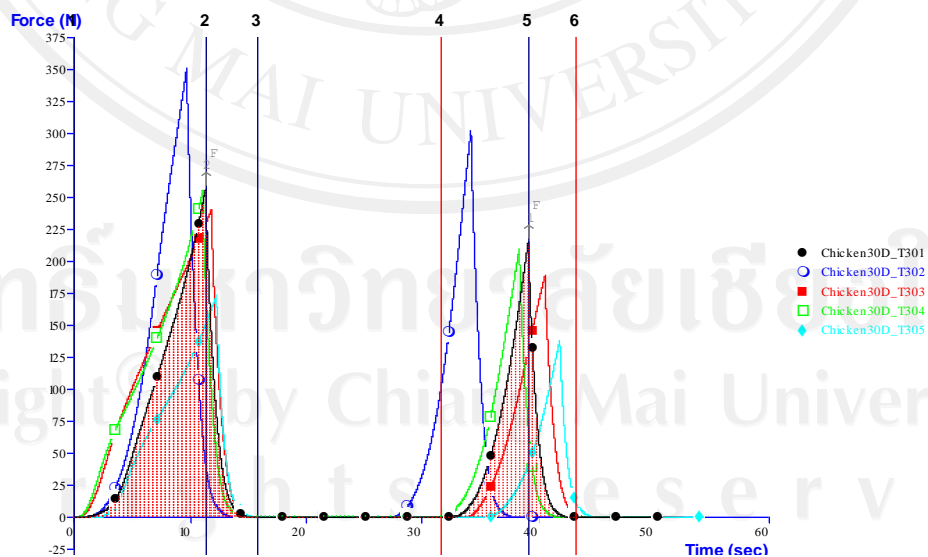
ภาพที่ ค-21 การทดสอบ TPA ของตัวอย่างควบคุม เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$) ในวันที่ 30 ของการเก็บรักษา

5.2 ตัวอย่างที่เติม sodium benzoate ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่



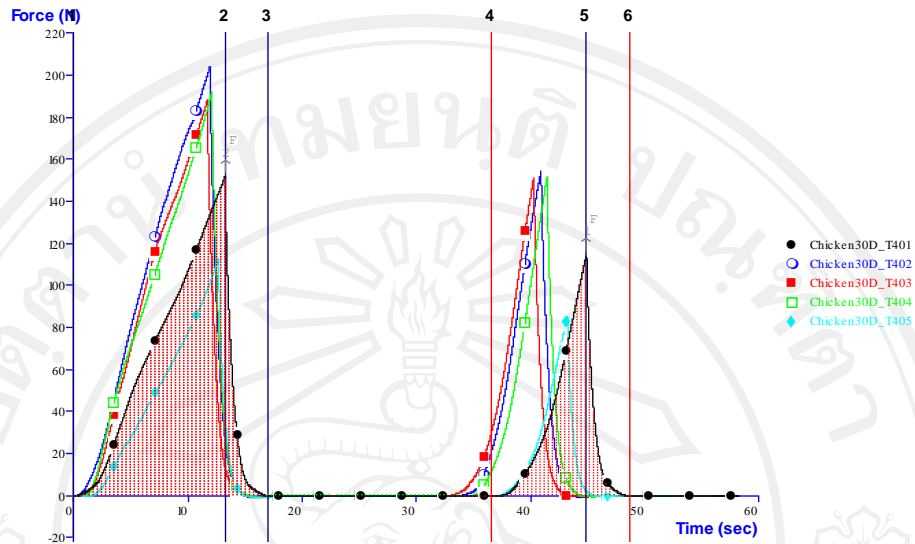
ภาพที่ ค-22 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T2 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$)
ในวันที่ 30 ของการเก็บรักษา

5.3 ตัวอย่างที่เติม BHA ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่



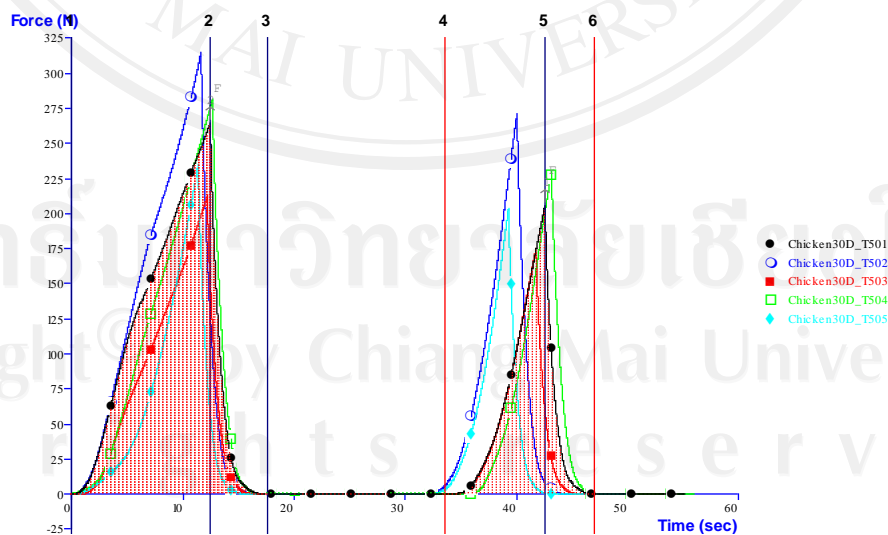
ภาพที่ ค-23 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T3 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$)
ในวันที่ 30 ของการเก็บรักษา

5.4 ตัวอย่างที่เติม BHT ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่



ภาพที่ ค-24 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T4 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$)
ในวันที่ 30 ของการเก็บรักษา

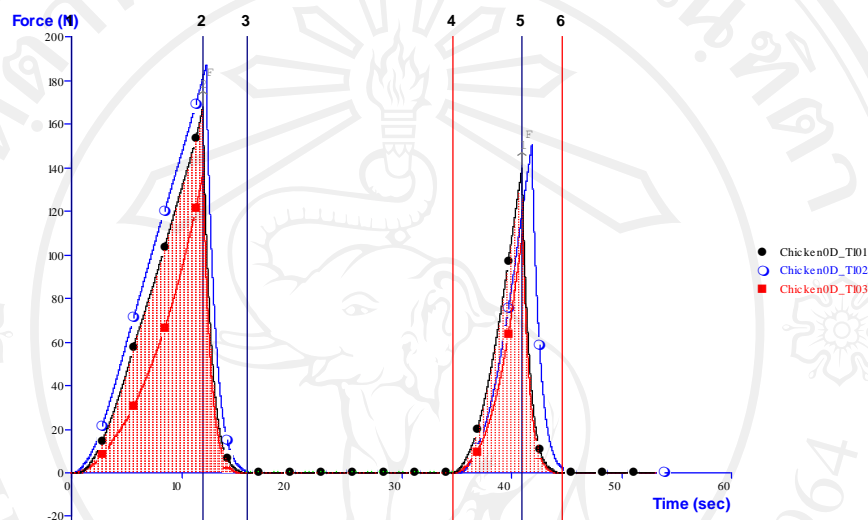
5.5 ตัวอย่างที่เติม sodium benzoate ร่วมกับ BHA และ BHT ปริมาณชนิดละ 30 mg/kg ของเนื้อไก่



ภาพที่ ค-25 การทดสอบ TPA ของตัวอย่าง T5 เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$)
ในวันที่ 30 ของการเก็บรักษา

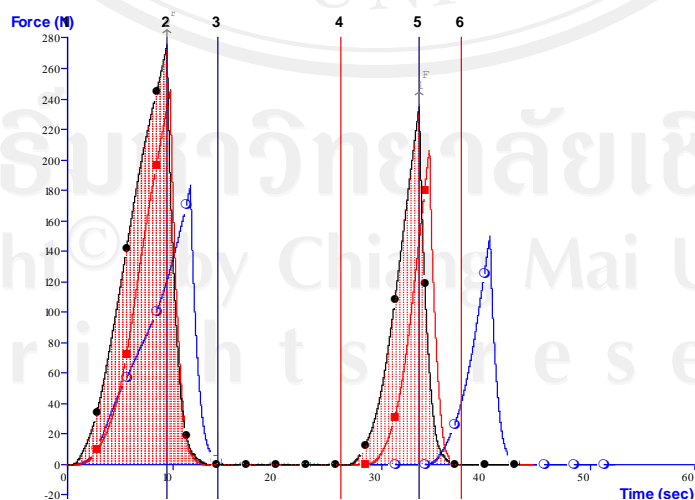
ค.2 การทดสอบเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไก่ต้มน้ำปลาพร้อมบริโกลที่ผ่านการเติม sodium benzoate ร่วมกับ BHA และ BHT ปริมาณชนิดละ 30 mg/kg ของเนื้อไก่ ที่แปรรูปโดยเทคโนโลยีเซอร์เดิล และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นระยะเวลา 30 วัน ด้วยวิธี Texture profile analysis (TPA)

1. วันที่ 0 ของการเก็บรักษา



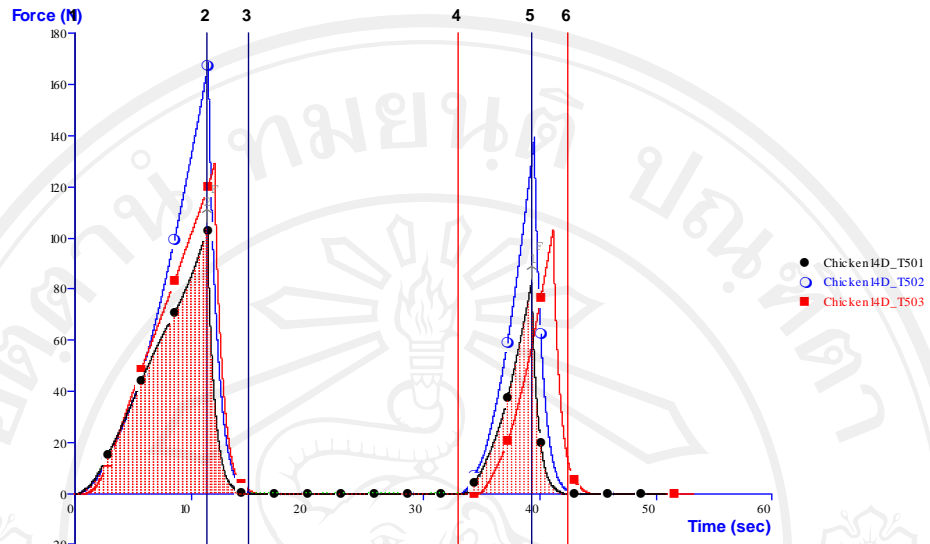
ภาพที่ ค-26 การทดสอบ TPA ของตัวอย่างเก็บที่อุณหภูมิ $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา

2. วันที่ 7 ของการเก็บรักษา



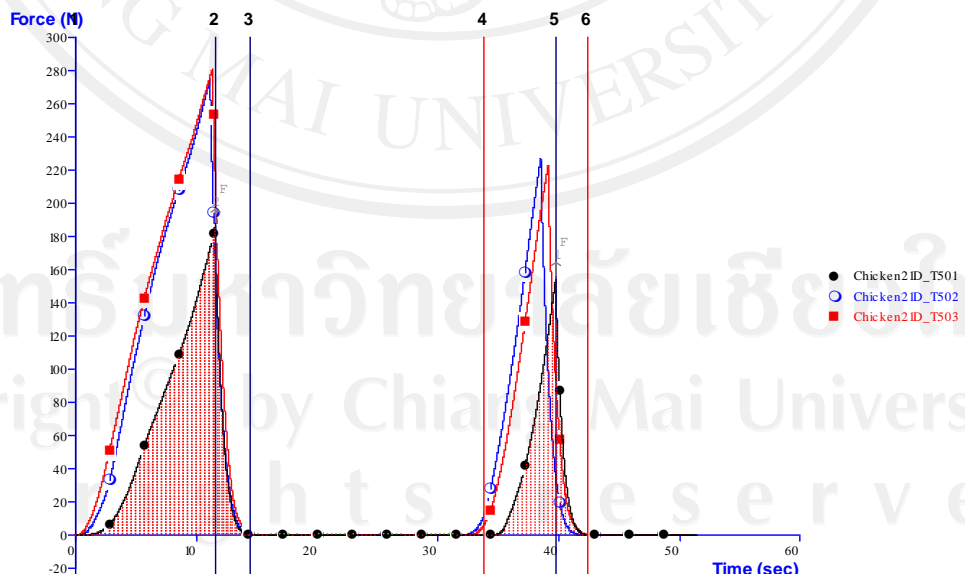
ภาพที่ ค-27 การทดสอบ TPA ของตัวอย่างเก็บที่อุณหภูมิ $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา

3. วันที่ 14 ของการเก็บรักษา



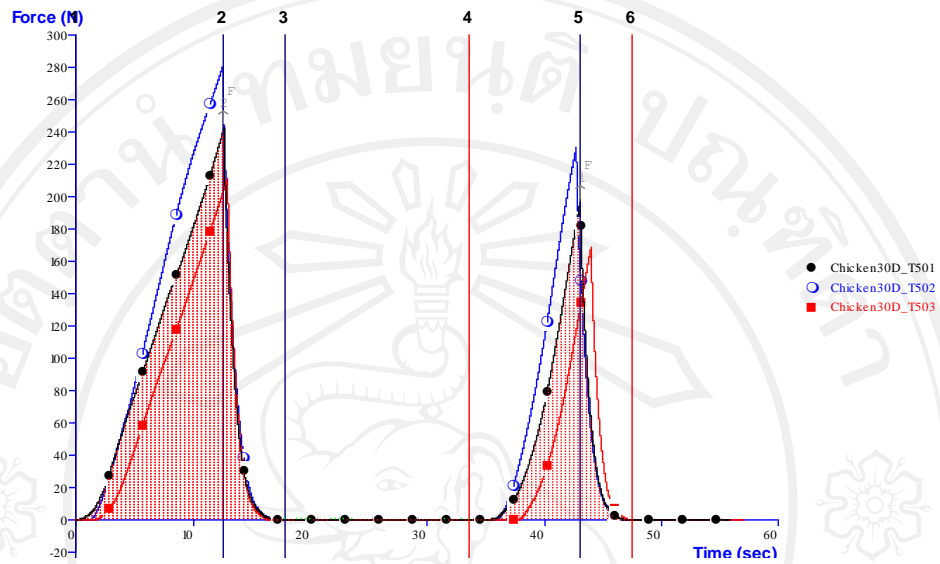
ภาพที่ ค-28 การทดสอบ TPA ของตัวอย่างเก็บที่อุณหภูมิ $5 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษา

4. วันที่ 21 ของการเก็บรักษา



ภาพที่ ค-29 การทดสอบ TPA ของตัวอย่างเก็บที่อุณหภูมิ $5 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา

5. วันที่ 30 ของการเก็บรักษา

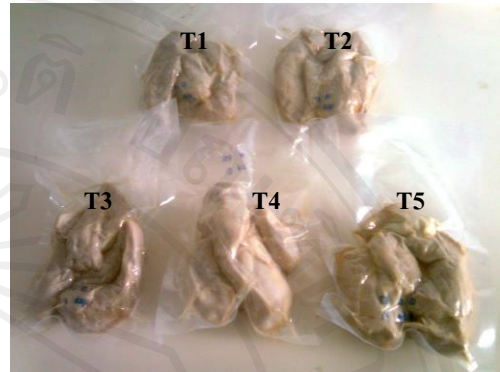


ภาพที่ ค-30 การทดสอบ TPA ของตัวอย่างเก็บที่อุณหภูมิ $5 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ในวันที่ 30 ของการเก็บรักษา

ค.3 ลักษณะของผลิตภัณฑ์ไก่ต้มน้ำปลาพร้อมบริโภคนที่แปรรูปโดยเทคโนโลยีฮีโร่เดิล และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 30 วัน



ภาพที่ ค-31 ผลิตภัณฑ์ไก่ต้มน้ำปลา
(วันที่ 0 ของการเก็บรักษา)



ภาพที่ ค-32 ผลิตภัณฑ์ไก่ต้มน้ำปลา
(วันที่ 7 ของการเก็บรักษา)



ภาพที่ ค-33 ผลิตภัณฑ์ไก่ต้มน้ำปลา
(วันที่ 14 ของการเก็บรักษา)



ภาพที่ ค-34 ผลิตภัณฑ์ไก่ต้มน้ำปลา
(วันที่ 21 ของการเก็บรักษา)



ภาพที่ ค-35 ผลิตภัณฑ์ไก่ต้มน้ำปลา
(วันที่ 30 ของการเก็บรักษา)

- T1 : ตัวอย่างควบคุม
- T2 : ตัวอย่างที่เติม sodium benzoate 90 mg/kg ของเนื้อไก่
- T3 : ตัวอย่างที่เติม BHA 90 mg/kg ของเนื้อไก่
- T4 : ตัวอย่างที่เติม BHT 90 mg/kg ของเนื้อไก่
- T5 : ตัวอย่างที่เติม sodium benzoate ร่วมกับ BHA และ BHT ชนิดละ 30 mg/kg ของเนื้อไก่

ค.4 ลักษณะของผลิตภัณฑ์ไก่ต้มน้ำปลาพร้อมบริโภคน้ำปลา ที่แปรรูปโดยเทคโนโลยีฮีโร่เดิล และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 ± 2 °C เป็นระยะเวลา 30 วัน



ภาพที่ ค-36 ผลิตภัณฑ์ไก่ต้มน้ำปลา
(วันที่ 0 ของการเก็บรักษา)



ภาพที่ ค-37 ผลิตภัณฑ์ไก่ต้มน้ำปลา
(วันที่ 7 ของการเก็บรักษา)



ภาพที่ ค-38 ผลิตภัณฑ์ไก่ต้มน้ำปลา
(วันที่ 14 ของการเก็บรักษา)



ภาพที่ ค-39 ผลิตภัณฑ์ไก่ต้มน้ำปลา
(วันที่ 21 ของการเก็บรักษา)



ภาพที่ ค-40 ผลิตภัณฑ์ไก่ต้มน้ำปลา
(วันที่ 30 ของการเก็บรักษา)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล

นายธีรวัฒน์ อภิปรัชญาฐิติกุล

วัน เดือน ปี เกิด

27 พฤษภาคม 2530

ประวัติการศึกษา

สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษา โรงเรียนท่าตะโกพิทยาคม
ปีการศึกษา 2547

สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา
มหาวิทยาลัยนเรศวร ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved