ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก.

ภาพแสดงผลิตเนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพร
และ
ขั้นตอนการผลิตและการเคลือบฟิล์มสองชั้นของ
เนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1. รูปภาพขั้นตอนการผลิตเนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพร

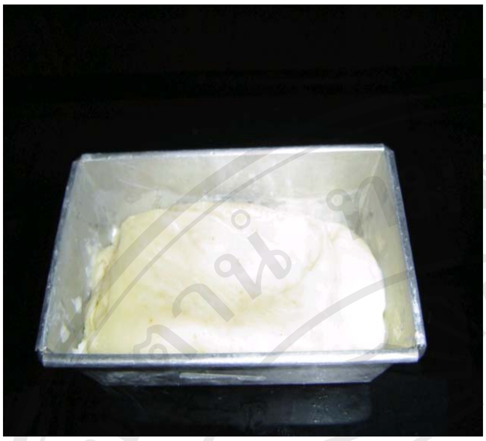
ภาพ ก. 1 การเกิดเคิร์ดภายหลังการเติมเอนไซม์เรนเนท (rennet) เป็นเวลา 15 นาที

ภาพ ก. 2 หลังตัดเคิร์ดให้มีขนาด 4-6 ลูกบาศก์เซนติเมตร

ภาพ ก. 3 แยกเคิร์ดออกจากน้ำเวย์เพื่อนำมาชั่งน้ำหนัก

ภาพ ก.4 ลวกเคิร์ดในน้ำอุณหภูมิ 85 - 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที

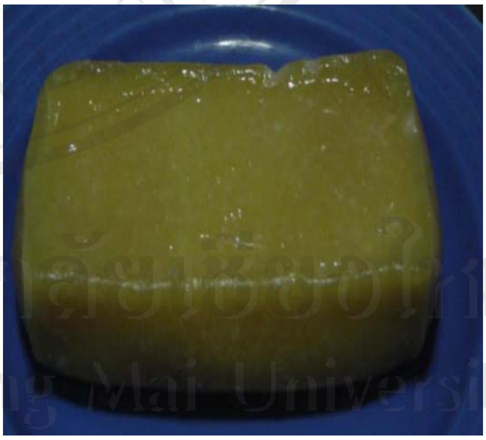
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ ก.5 เคิร์ดที่ขึ้นรูปภายหลังการนวดเคิร์ดโดยใช้ลูกกลิ้งเพื่อแยกน้ำเวย์ออก

ภาพ ก.6 แช่เนยแข็งในน้ำดื่ม 3 ลิตร ที่อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

ภาพ ก.7 แช่เนยแข็งในน้ำเกลือร้อยละ 20 ปริมาตร 1.5 ลิตร เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง



ภาพ ก.8 เนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพรที่ได้ภายหลังการผลิต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. รูปภาพผลิตภัณฑ์เนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพรที่ผลิตได้

ก.

ข.

ค.

ภาพ ก.9 เนยแข็งมอซซาเรลลาที่เติมสมุนไพรร้อยละ 0.4 (ก.), 0.6 (ข.) และ 0.8 (ค.) ของปริมาณเคิร์ด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ก.

ข.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

<u>ภาพ ก.10</u> เนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพร

(ก.) สูตรสมุนไพรที่ 1-3

(ข.) สูตรสมุนไพรที่ 4-7

ก.

ข.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

<u>ภาพ ก.11</u> เนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพร

(ก.) สูตรสมุนไพรที่ 8-10

(ข.) สูตรสมุนไพรที่ 11-14

ภาพ ก. 12 เนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพร ที่มีปริมาณและสัดส่วนสมุนไพรที่เหมาะสม

3. รูปภาพการเคลือบฟิล์มสองชั้น

ภาพ ก.13 สารละลายคาราจีแนน (carageenan) ที่ใช้เป็นฟิล์มเคลือบ

ภาพ ก. 14 เนยขาวที่หลอมละลายที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ก

ข

ค.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก. 15 เนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพร

ก. ไม่เคลือบฟิล์มสองชั้นในวันแรกที่ผลิต

ข. เคลือบฟิล์มสองชั้นเก็บรักษา 28 วัน

ค. ไม่เคลือบฟิล์มสองชั้นเก็บรักษา 28 วัน

ก.

ข.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ ก.16 สมุนไพรที่ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพร

ก. ตะไคร้

ข. ข่า

ภาพ ก. 17 หอมแดงที่ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข.

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

แบบทดสอบ ข. 1

แบบทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์

(Ideal Ratio Profile Test)

ผลิตภัณฑ์: เนยแข็งมอซซาเรลลารสมุนไพร

ลักษณะผลิตภัณฑ์: เนยแข็งมอซซาเรลลารสสมุนไพร มีการเติมสมุนไพรได้แก่ ผงข่า หอมแดง ตะไคร้ เพื่อเพิ่มรสชาติให้กับเนยแข็ง

กรุณากรอกแบบสอบถามให้ตรงกับความต้องการของท่าน โดย

1. ระบุหัวข้อ “ ลักษณะผลิตภัณฑ์” ที่ท่านเห็นว่าสำคัญลงไปในแต่ละหัวข้อ
2. กำหนดเครื่องหมาย | ลงบนสเกลในตำแหน่งที่คิดว่าเป็นลักษณะที่ดีที่สุดของผลิตภัณฑ์ในอุดมคติ
3. กำหนดเครื่องหมาย × ลงบนสเกลในตำแหน่งที่คิดว่าเป็นลักษณะของผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง

ชื่อผู้ชิม...วันที่......................

คำอธิบายลักษณะผลิตภัณฑ์

1. ลักษณะปรากฏภายนอก

--------------- |————————————————————|

----------- -----------

--------------- |————————————————————|

----------- -----------

--------------- |————————————————————|

----------- -----------

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. รสชาติและกลิ่น

3. เนื้อสัมผัส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4. การยอมรับรวม

ขอขอบคุณที่ให้ความร่วมมือค่ะ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

แบบทดสอบ ข. 2

แบบทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์

(Ideal Ratio Profile Test)

ผลิตภัณฑ์: เนยแข็งมอซซาเรลลารสมุนไพร

ลักษณะผลิตภัณฑ์: เนยแข็งมอซซาเรลลารสสมุนไพร เป็นเนยแข็งไม่ผ่านกระบวนการหมักที่ใช้เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตพิซซ่า มีการเติมสมุนไพรได้แก่ ผงข่า หอมแดง ตะไคร้ เพื่อเพิ่มรสชาติให้กับเนยแข็ง

กรุณากรอกแบบสอบถามให้ตรงกับความต้องการของท่านให้มากที่สุด โดย

กรุณากำหนดเครื่องหมาย X บนตำแหน่งที่ท่านคิดว่าเป็นระดับของลักษณะนั้นของผลิตภัณฑ์ตัวอย่างที่นำเสนอบนสเกลเดียวกัน พร้อมทั้งกำหนดรหัสตัวอย่างบนเครื่องหมาย X โดยกำหนดให้เครื่องหมาย | เป็นระดับในอุดมคติของลักษณะนั้นที่ท่านต้องการ

ชื่อผู้ชิม..วันที่.....................

คำอธิบายลักษณะผลิตภัณฑ์

1. ลักษณะปรากฏภายนอก

สี

|―――――――――――――――――|

เหลืองอ่อน เหลืองเข้ม

การกระจายตัวของเนื้อสมุนไพร

|―――――――――――――――――|

น้อย มาก

ความมันวาว

|―――――――――――――――――|

มันวาวน้อย มันวาวมาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. รสชาติและกลิ่น

กลิ่นนม

น้อย มาก

กลิ่นสมุนไพร

น้อย มาก

3. เนื้อสัมผัส

ความกลมกลืนของเนื้อสมุนไพรกับเนยแข็ง

น้อย มาก

4. การยอมรับรวม

การยอมรับรวม

น้อย มาก

คำแนะนำ ....

....

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

คำอธิบายประกอบการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพร ใช้ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการศึกษากระบวนวิชา 601751 (การพัฒนากระบวนการผลิตและผลิตภัณฑ์อาหารขั้นสูง) จำนวน 10 คน สามารถแบ่งได้เป็น 4 ด้าน คือ ลักษณะปรากฏภายนอก ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นและรสชาติ และการยอมรับรวม โดยคุณลักษณะที่ใช้ในการพิจารณาประกอบด้วย สีของผลิตภัณฑ์ การกระจายตัวของเนื้อสมุนไพร ความมันวาว กลิ่นรสนม กลิ่นรสสมุนไพร ความเป็นเนื้อเดียวกัน และการยอมรับรวม

คำอธิบายลักษณะของผลิตภัณฑ์เนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพร

สี หมายถึง สีโดยรวมของผลิตภัณฑ์ที่พิจารณาด้วยสายตาว่าเนยแข็งมอซซาเรลลามีสีเหลืองอ่อนหรือเข้ม

การกระจายตัวของเนื้อสมุนไพร หมายถึงการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอของผงสมุนไพรในเนยแข็งโมซซาเรลลาสมุนไพรที่สังเกตได้จากภายนอก

ความมันวาว หมายถึงลักษณะเนื้อผิวของผลิตภัณฑ์เนยแข็งโมซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพรที่มีความมันวาว ที่สังเกตได้จากภายนอก

กลิ่นรสนม หมายถึง กลิ่นและรสนมที่รู้สึกได้ ขณะเนยแข็งซึ่งมีนมเป็นส่วนประกอบหลักอยู่ในปาก

กลิ่นรสสมุนไพร หมายถึง กลิ่นและรสชาติสมุนไพรที่รู้สึกได้ ขณะเนยแข็งที่มีสมุนไพรเป็นส่วนประกอบอยู่ในปาก

ความกลมกลืนของเนื้อสมุนไพรกับเนยแข็ง หมายถึงลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ขณะที่อยู่ในปาก มีความกลมกลืนกันของเนื้อสมุนไพรกับเนยแข็ง ไม่รู้สึกเหมือนมีเม็ดทรายในผลิตภัณฑ์

การยอมรับรวม หมายถึงการยอมรับในทุกๆ ด้านทั้ง 6 ด้านของผลิตภัณฑ์เนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค.

การวิเคราะห์คุณภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

1. การตรวจวัดค่าสีระบบ Hunter

เป็นการวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี Minolta Camera ; Model CR 300 วัดค่าสีในระบบฮันเตอร์ (Hunter values, color – L a b) โดยค่าสี L เป็นค่าของความสว่าง (Lightness) a เป็นค่าสีแดงและเขียว (Redness/Geeeness) และ b เป็นค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (Yellowness/ Blueness)

เมื่อ	L	คือค่าความสว่าง	มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100
	a	มีค่าเป็นบวก	เป็นสีแดง
		มีค่าเป็นลบ	เป็นสีเขียว
	b	มีค่าเป็นบวก	เป็นสีเหลือง
		มีค่าเป็นลบ	เป็นสีน้ำเงิน

ก่อนการวัดสีทุกครั้งต้องทำการปรับมาตรฐานเครื่อง (Calibration) ทุกครั้งโดยใช้แผ่นสีขาวมาตรฐาน (White blank ; illuminant D 65 10^0 ; Y = 94.10, X = 0.3157 และ Y = 0.3324) ทำการวัดสีตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนยแข็งมอซซาเรลที่มีขนาด 2 x 2 x 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2. การตรวจวัดค่าแรงกด (Compression force)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Compression force หรือ การตรวจวัดค่าแรงกด คือวัดค่าของแรงด้านการบีบ ซึ่งทำให้ปริมาตรผลิตภัณฑ์ลดลง แต่รูปทรงเหมือนเดิมไม่แตกต่างออกจากกัน

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์ และสวิตซ์เครื่องวัดค่าแรงกด
2. เข้าสู่โปรแกรม Texture Exponent 32 ปรากฏหน้าต่าง TEE 32 ทำการสอบเทียบเครื่องมือ (calibration)

- การสอบเทียบ (calibration) เครื่องวัดค่าแรงกด

การสอบเทียบเครื่องมือมี 2 ขั้นตอน คือ

ก. การสอบเทียบแรงกด (Calibrate Force)

- เลือก Menu bar ตรงปุ่ม T.A. / Calibrate/ Calibrate Force ปรากฏหน้าต่าง Zero Reading เลือก Next

- ปรากฏหน้าต่าง Apply Calibration Value กำหนดน้ำหนักที่ใช้สอบเทียบ (Calibration Weight) ในที่นี้ใช้น้ำหนัก 2000 กรัม

- วางตุ้มน้ำหนัก 2000 กรัม ที่ฐานรับน้ำหนักของเครื่องวัดแรงกด และคลิกที่ Next โปรแกรมทำการสอบเทียบและแสดงหน้าต่าง Calibration Status เพื่อแสดงผลลัพธ์ของการสอบเทียบ และคลิกที่ Finish เพื่อแสดงการสิ้นสุดการสอบเทียบ

ข. การสอบเทียบความสูง (Calibrate Height)

- เลือก Menu bar ตรงปุ่ม T.A. / Calibrate/ Calibrate Height ปรากฏหน้าต่าง Probe Height Calibration กำหนดข้อมูล

Return Distance (nm) = 15

Return Speed (mm/s) = 10

Contact Force (g) = 5

- โปรแกรมทำการสอบเทียบความสูง และแสดงผลการสอบเทียบ

- การวัดค่าแรงกด

เตรียมตัวอย่างเนยแข็งมอซซาเรลลาที่ผลิตพร้อมกันสูตรละ 2 ก้อน (ซ้ำ) ก้อนละ 3 ซ้ำ โดยตัดเนยแข็งแต่ละก้อนขนาด 2 x 2 x 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำตัวอย่างที่ได้วัดค่าแรงกด โดยใช้หัววัด P/50 กำหนด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Mode	:	Compression
Pre – Test	:	2.0 mm/sec
Test – Speed	:	1.0 mm/sec
Post – Test	:	1.0 mm/sec
Strain	:	75 %

ทดสอบการอัด 75 เปอร์เซ็นต์ ตั้งอัตราเร็วในการกด 1 มิลลิเมตรต่อวินาที วัดออกมาเป็นค่าของ Compression ในหน่วยของนิวตัน

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1. การวิเคราะห์หาความชื้น (AOAC, 2000)

ชั่งตัวอย่างเนยแข็งมอซซาเรลลาประมาณ 5 กรัม ใส่ลงในกระป๋องโลหะมีฝาปิดที่ผ่านการอบและทราบน้ำหนักแน่นอน นำกระป๋องโลหะไปอบในตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้แน่นอนที่ 100 – 105 องศาเซลเซียส นานประมาณ 3 ชั่วโมง นำออกมาจากตู้อบและปล่อยให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งหาน้ำหนัก นำไปอบซ้ำหลายๆ ครั้งจนได้น้ำหนักที่คงที่ ซึ่งค่าจะต้องไม่แตกต่างกันเกิน 0.05 กรัม ชั่งหาน้ำหนักของของแข็งที่เหลืออยู่ คำนวณหาน้ำหนักของน้ำที่หายไป และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. วิเคราะห์หาเถ้า (AOAC, 2000)

อบถ้วยกระเบื้องซิลิก้าก้นแบน (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 7 เซนติเมตร) ในเตาเผา (muffle furnance) ที่อุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccator ชั่งน้ำหนักของถ้วยเปล่า

ชั่งเนยแข็งมอซซาเรลลา 2-5 กรัม ใส่ลงในจานสำหรับหาเถ้า เผาไหม้อาหารจนกระทั่งหมดควันดำด้วยตะเกียงบุนเซน แล้วนำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิประมาณ 500-550 องศาเซลเซียส คำนวณหาปริมาณเถ้าดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

3. วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนและโปรตีน (AOAC, 2000)

ชั่งเนยแข็งมอซซาเรลลาลงในบีกเกอร์ (beaker) ปริมาณ 0.5-2.0 กรัม ถ่ายตัวอย่างลงในหลอดเคลดาห์ล (Kjeldahl Method) ทำ Blank ควบคู่ไปด้วย เติมคะตะลิสต์ผสม ประกอบด้วยโซเดียมซัลเฟต (Sodium sulfate; Na_2SO_4) ปราศจากไนโตรเจน 96 % และคอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate; $CuSO_4.5H_2O$) ปราศจากไนโตรเจน 4.0 % ปริมาณรวม 8 กรัม เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร โดยเอียงหลอดและค่อยๆ รินกรดลงข้างหลอด เพื่อล้างตัวอย่างที่อาจติดอยู่ข้างหลอดให้หมด และค่อยๆ เขย่าตัวอย่างเบาๆ นำไปย่อยที่ชุดย่อยโปรตีน (Digestion unit) จนกระทั่งสารละลายใสจึงปิดชุดย่อย รอให้สารละลายเย็นลงในอุณหภูมิห้อง ห้ามนำหลอดย่อยไปทำให้เย็นด้วยน้ำเพราะจะทำให้หลอดย่อยแตกได้ นำสารละลายที่ได้ต่อกับเครื่องกลั่นโปรตีน (Distillation Apparatus) โดยนำขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีกรดบอริกจำนวน 50 มิลลิตร และหยดอินดิเคเตอร์ผสมลงไป 3 - 5 หยด นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไตเตรตกับสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก จนได้จุดยุติ คือ สังเกตสีชมพูปรากฏขึ้นและสารละลายสีเทาอมม่วง บันทึกปริมาณซัลฟูริกที่ไตเตรตได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

<u>วิธีคำนวณ</u>

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน ร้อยละของน้ำหนัก} = \frac{(V_a - V_b) \times N.H_2SO_4 \times 1.4007}{W_{1} - W_2}$$

V_a = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่าง มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

V_b = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไตเตรต Blank มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

N. H_2SO_4 = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก มีหน่วยเป็นนอร์มอล

W1 = น้ำหนักบีกเกอร์และตัวอย่าง มีหน่วยเป็นกรัม

W2 = น้ำหนักบีกเกอร์ที่ถ่ายตัวอย่างออกเรียบร้อยแล้ว มีหน่วยเป็นกรัม

ปริมาณโปรตีน ร้อยละของน้ำหนัก = ปริมาณไนโตรเจน ร้อยละของน้ำหนัก x แฟกเตอร์

ค่าแฟกเตอร์ของอาหารแต่ละชนิด

ข้าวสาลีทั้งเม็ด	5.83	ถั่วเหลือง	5.71
แป้ง	5.70	นัท ถั่วลิสง บราซิลนัท	5.41
มักโรนี	5.70	อัลมอนด์	5.18
รำ	6.31	นัทชนิดอื่นๆ	5.30
ข้าวจ้าว	5.95	น้ำนมและผลิตภัณฑ์นม	6.38
ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโอด ข้าวไรย์	5.83	เจลาติน	5.55
ข้าวโพด	6.25	อาหารชนิดอื่น ๆ	6.25

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4. วิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธี Werner Schmid (AOAC, 2000)

ชั่งเนยแข็งมอซซาเรลลาตัวอย่างมาประมาณ 1-2 กรัม (ให้มีไขมันประมาณ0.3-0.7 กรัม) ใส่ลงในบีกเกอร์ 100 มล. เติมสารละลายแอมโมเนีย 2-3 หยด ใช้ปลายแท่งแก้วบดให้เข้ากัน เติมสารละลายกรดเกลือเจือจาง (7+3 ปริมาตร) จำนวน 10 มิลลิลิตร ปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา นำไปให้ความร้อนโดยใช้ไฟอ่อนๆ และคนบ่อยๆ เมื่อเนยแข็งละลายหมด ทำให้เย็นลงเล็กน้อย เติมเอธิลแอลกอฮอล์ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและปล่อยให้เย็น เทของเหลวทั้งหมดลงใน separatory funnel ล้างบีกเกอร์ด้วยไดเอธิลอีเทอร์ครั้งละเล็กน้อย 2-3 ครั้งและเติมไดเอธิลอีเทอร์ลงไป 25 มล.เขย่าอย่างแรง 1 นาที เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงไป 25 มิลลิตร ปิดจุกเขย่าอีกครั้ง เปิดจุก ปล่อยทิ้งไว้ให้แยกชั้น เทเอาชั้นของอีเทอร์ออกใส่ในฟลาสก์ที่ผ่านการอบและทราบน้ำหนักแน่นอนสกัดซ้ำอีก 3 ครั้ง นำอีเทอร์ที่สกัดไขมันได้มารวมกัน ระเหยไล่อีเทอร์ออกแล้วนำไปอบให้แห้ง จะได้ปริมาณไขมัน ชั่งหาน้ำหนักไขมันและคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไขมันในเนยแข็งตัวอย่าง

5. วิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด **(AOAC, 2000)**

บดเนยแข็งมอซซาเรลลาตัวอย่าง 10 กรัม ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น กรองตัวอย่างที่ได้กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ปิเปตสารละลายใส 10 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร หยดฟีนอฟธาลีน (อินดิเคเตอร์) 2-3 หยด นำมาไตเตรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1โมลาร์ จนสารละลายใสกลายเป็นสีชมพู จึงหยุดทำการไตเตรต จดบันทึกจำนวนสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ใช้ไปในการไตเตรต แล้วนำมาคำนวณหาปริมาตรกรดทั้งหมด

1 มิลลิลิตรของสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1โมลาร์ทำปฏิกิริยาสมมูลย์พอดีกับกรดแลคติค 0.009 กรัม

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดแลคติค} = \frac{\text{มิลลิลิตรของ 0.1 โมลาร์ (M) ของ NaOH} \times 0.1 \times 0.009 \times 100}{\text{กรัมของตัวอย่าง}}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

6. วิเคราะห์ปริมาณเกลือ (AOAC, 2000)

ชั่งเนยแข็งมอซซาเรลลา 10 กรัม ใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ทำให้เป็นกลางโดยใช้ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.5 โมลาร์ (M) ใช้กระดาษลิตมัสเป็นอินดิเคเตอร์ เติมสารละลายโปแตสเซียมโครเมต (K_2CrO_4) 5 % ลงไป 2 มิลลิลิตรเพื่อทำหน้าที่เป็นอินดิเคเตอร์ ไตเตรตสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$) 0.1 โมลาร์ ได้จุดยุติสีส้ม จดปริมาตรของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต คำนวณหาปริมาณเกลือ โดย 1 มิลลิลิตร ของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต 0.1 โมลาร์ ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับเกลือ 0.00585 กรัม

คำนวณเกลือที่อยู่ใน Aqueous Phase ได้ดังนี้

$$\text{\% เกลือที่อยู่ใน Aqueous Phase} = \frac{\text{\% เกลือ}}{\text{\%เกลือ} + \text{\% น้ำ}} \times 100$$

7. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) (AOAC, 2000)

ก่อนวัดค่า pH จะต้องตรวจสอบความถูกต้องของเครื่องมือด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานที่มีความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.00 และ 7.00 เตรียมตัวอย่างเนยแข็งมอซซาเรลลา 10 กรัม นำไปปั่นให้ละเอียดกับน้ำกลั่นจำนวน 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 นาที โดยเครื่องบดผสม นำไปวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

8. ปริมาณกรดไขมันอิสระ (Free Fatty Acid) หรือ Acid Value (AOAC, 2000)

เตรียมตัวทำละลายผสมโดยใช้ไดเอธิลอีเทอร์ 25 มิลลิลิตร รวมกับเอทิลแอลกอฮอล์ 25 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอฟธาลีนความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ลงไป 1 มิลลิลิตร ค่อยๆ ไตเตรตตัวทำละลายผสมให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

ชั่งเนยแข็งมอซซาเรลลา 2-5 กรัม ใส่ฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่แห้งสนิท เทตัวทำละลายผสมที่เป็นกลางละลายเนยแข็ง ไตเตรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เขย่าขณะทำการไตเตรตจนกระทั่งได้สีชมพูซึ่งคงตัว 15 วินาที จดปริมาตรของด่างที่ใช้

$$\text{Acid Value} = \frac{V \times 5.61}{W}$$

V = จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

W = น้ำหนักของเนยแข็งตัวอย่างที่ใช้

ถ้าต้องการคำนวณเป็นปริมาณกรดไขมันอิสระ ให้คำนวณอยู่ในรูปของเปอร์เซ็นต์กรดปาล์มมิติค (ใช้กับน้ำมันปาล์ม) หรือกรดลอริค (ใช้กับน้ำมันมะพร้าว) หรือกรดโอเลอิค (ใช้กับน้ำมันอื่นๆ) คำนวณได้จากค่ามาตรฐานดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

1 มิลลิลิตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ทำปฏิกิริยาสมมูลย์พอดีกับกรดโอเลอิค 0.0282 กรัม หรือกรดปาล์มิติค 0.0256 กรัมหรือกรดลอริค 0.0200 กรัม

Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยปกติน้ำมันจะมีปริมาตรกรดไขมันอิสระประมาณ 0.5-1.5 เปอร์เซ็นต์ ในรูปกรดไขมันโอเลอิค

9. วิเคราะห์หาค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value ; P.V.) (AOAC, 2000)

ชั่งตัวอย่างเนยแข็ง 1 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 25 มิลลิลิตรที่สะอาดและแห้งสนิท ทำ blank ไปพร้อมกัน โดยไม่ต้องใส่ตัวอย่าง ชั่งโปแตสเซียมไอโอไดด์ใส่ลงไป 1 กรัม เติมตัวทำละลายผสมลงไป 20 มิลลิลิตร(กรดอะซิติก 2 ส่วน และคลอโรฟอร์ม 1 ส่วน ผสมกันก่อนเทใส่ลงในบีกเกอร์) นำบีกเกอร์ไปต้มในน้ำเดือดนานไม่เกิน 1 นาที เทของเหลวที่กำลังเดือดลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายโปแตสเซียมไอโอไดด์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 20 มิลลิลิตร ล้างบีกเกอร์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้งๆ ละ 15 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ เทน้ำที่ล้างลงในฟลาสก์ด้วยสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.002 โมลาร์ โดยใช้น้ำแป้งเป็นอินดิเคเตอร์ ไตเตรตจนถึงจุดยุติคือ สีฟ้าจะจางหายไปจนไม่มีสี จดปริมาตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตที่ใช้กับตัวอย่างเนยแข็ง สมมุติให้เป็น A มิลลิลิตร และที่ใช้กับ blank สมมุติให้เป็น B มิลลิลิตร

การคำนวณหา P.V. เป็นจำนวนมิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.002 โมลาร์ต่อกรัม ของไขมันหรือน้ำมัน

$$\text{P.V.} = \frac{\text{A-B (มิลลิลิตร)}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)}}$$

หรือ เมื่อคำนวณเป็นมิลลิสมมูลของเปอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อกิโลกรัมตัวอย่าง

$$\text{P.V.} = 2 \times \frac{\text{A-B (มิลลิลิตร)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)}}$$

น้ำมันใหม่ (Fresh oil) จะมี P.V. ต่ำกว่า 10 มิลลิสมมูลต่อกิโลกรัม ส่วนน้ำมันที่มีกลิ่นหืนจะมี P.V. ประมาณ 20-40 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

1. การหาปริมาณเชื้อทั้งหมด (Total Plate Count) ตามวิธีของเรณู, 2537

อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม

- สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (Bacto® Peptone, Difco Laboratory, USA.)

ชั่งเปปโตน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้มจนเปปโตนละลายหมด เตรียมในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 100 มิลลิลิตร จำนวนขวดละ 90 มิลลิลิตร และใส่หลอดเลี้ยงเชื้อจำนวน 9 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Gallenkamp, England) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar; PCA (Bacto® Plate Count Agar, Difco Laboratory, USA)

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาณ 1 ลิตร ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Gallenkamp, England) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จะมีค่าความเป็นกรด-ด่างสุดท้ายเท่ากับ 7.0 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

วิธีทำ

1. สุ่มเก็บตัวอย่างเนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพรจำนวน 10 กรัม ด้วยวิธีปลอดเชื้อ Aseptic techmique) ใส่เนยแข็งลงในโถปั่นที่ปลอดเชื้อ เติมสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตนที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นผสมเป็นเวลา 4 วินาที จะได้ความเข้มข้น 10^{-1}
2. เจือจางตัวอย่างอาหารให้ได้ความเข้มข้น 10^{-2}- 10^{-3} ด้วยสารละลายเปปโตนหลอดละ 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
3. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ดูดสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆ ตั้งแต่ $10^{-1} – 10^{-3}$ จำนวนจานละ 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว ระดับความเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูดจากความเข้มข้นที่ต่ำสุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่หลอมเหลวแล้วและมีอุณหภูมิ 45-48 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อกับตัวอย่างโดยหมุนวนด้านซ้าย ขวา บน และล่าง อย่างละ 5 รอบ

5. บ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อ (Gallenkamp, England) ที่อุณหภูมิ 37 ± 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 48 ± 3 ชั่วโมง

6. ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้ออยู่ในช่วง 30 - 300 โคโลนี คำนวณโดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (โคโลนี/ กรัม)} = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0.1n_2)d}$$

$\sum C$	คือ ผลรวมของโคโลนีที่นับได้บนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี 30 – 300 โคโลนี
V	คือ ปริมาตรของ inoculum
n_1	คือ จำนวนจานเลี้ยงเชื้อในความเจือจางแรกที่สามารถนับได้
n_2	คือจำนวนจานเลี้ยงเชื้อในความเจือจางที่สองที่สามารถนับได้
d	คือ ความเจือจางแรกที่สามารถนับได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การหาปริมาณยีสต์และรา (Yeast and Mold) ตามวิธีของเรณู, 2537

อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีเตรียม

- สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1(Bacto® Peptone, Difco Laboratory, USA)

ชั่งเปปโตน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้มจนเปปโตนละลายหมด เตรียมในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 100 มิลลิลิตรจำนวน 9 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Gallenkamp, England) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar

dextrose	20	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำซุปจากมันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำกลั่น	800	ลูกบาศก์เซนติเมตร

นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ในน้ำกลั่น ต้มให้ละลาย ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้มีค่าประมาณ 3.5 แบ่งใส่ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งนึ่งความดันไอ (Gallenkamp, England) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

วิธีทำ

1. สุ่มเก็บตัวอย่างเนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพรจำนวน 10 กรัม ด้วยวิธีปลอดเชื้อ (aseptic technique) ใส่ตัวอย่างเนยแข็งลงในโถปั่นผสมที่ปลอดเชื้อ เติมสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตนที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จำนวน 90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นผสมเป็นเวลา 4 วินาที จะได้ความเข้มข้น 10^{-1}
2. เจือจางตัวอย่างอาหารให้ได้ความเข้มข้น 10^{-2} – 10^{-3} ด้วยสารละลายเปปโตนหลอดละ 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ดูดสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆ ตั้งแต่ 10^{-1}- 10^{-3} จำนวนจานละ 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ ระดับความเจือจางละ 3 จาน โดยเริ่มดูดจากความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด

4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่หลอมเหลวและมีอุณหภูมิ 45-48 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อกับตัวอย่างโดยหมุนวนด้านซ้าย ขวา บน และล่าง อย่างละ 5 รอบ

5. บ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อ (Gallenkamp, England) ที่อุณหภูมิ 30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 72 $\pm$ 3 ชั่วโมง

6. ตรวจนับจำนวนโคโลนีเช่นเดียวกับวิธี Total Plate Count

3. การหาโคลิฟอร์มและอี โคไล (Coliform and *E. coli*) โดยวิธี MPN (Most Probable Number Method) ตามวิธีของเรณู, 2537

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีเตรียม</u>

- สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (Bacto® Peptone, Difco Laboratory, USA)

ชั่งเปปโตน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้มจนเปปโตนละลายหมด เตรียมในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 100 มิลลิลิตรจำนวน 9 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Gallenkamp, England) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Sulphate Broth (LSB , Difco Laboratory, USA)

ชั่งอาหาร Lauryl Sulphate Broth จำนวน 35.6 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองจำนวน 10 มิลลิตร และใส่หลอดเดอแฮมลงไป นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Gallenkamp, England) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- อาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียน กรีน แล็คโตส ไบล์บรอท (Brilliant Green Lactose Bile Broth; BGLBB, Schrlau, Spain)

ชั่งบริลเลียน กรีน แล็คโตส ไบล์บรอท 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร มิลลิลิตร ต้มจนอาหารละลาย เตรียมในหลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตรจำนวน 10 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Gallenkamp, England) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

วิธีทำ

การตรวจแบคทีเรียที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์ม

1. สุ่มเก็บตัวอย่างเนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพรจำนวน 10 กรัม ด้วยวิธีปลอดเชื้อ (aseptic technique) ใส่ในตัวอย่างเนยแข็งมอซซาเรลลาลงในโถปั่นผสมที่ปลอดเชื้อ เติมสารละลายบัฟเฟอร์เปปโตนที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จำนวน 90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นผสมเป็นเวลา 4 วินาที จะได้ความเข้มข้น 10^{-1}
2. เจือจางตัวอย่างอาหารให้ได้ความเข้มข้น 10^{-2} และ 10^{-3} ด้วยสารละลายเปปโตนหลอดละ 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
3. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ดูดสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆ ตั้งแต่ 10^{-1}- 10^{-3} จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร Lauryl Sulphate Broth(LSB) จำนวน 10 มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 หลอด รวมเป็น 9 หลอด
4. บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง หากหลอดเลี้ยงเชื้อมีแก๊สเกิดขึ้น (สังเกตจากหลอดดักแก๊ส) แสดงให้ผลเป็นบวก ซึ่งคาดว่าจะมีโคลิฟอร์มเจริญในตัวอย่างเนยแข็งมอซซาเรลลากลิ่นรสสมุนไพร ให้ทำการยืนยันต่อไป

การยืนยันโคลิฟอร์ม

1. ใช้ห่วง (loop) เขี่ยเชื้อจากหลอดเลี้ยงเชื้อที่ให้ปฏิกิริยาเป็นบวกจากการทดสอบแบคทีเรียที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์ม ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BGLBB จำนวน 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง
2. สังเกตหลอดที่ให้ผลบวก คำนวณหาปริมาณโคลิฟอร์มได้จากตารางแมคคราดี (ตารางที่ ค.2) รายงานผลเป็น MPN/ กรัม แล้วทำการยืนยัน *E. coli* ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

<u>การยืนยัน *E. coli*</u>

1. ใช้ห่วง (loop) เขี่ยเชื้อจากหลอดเลี้ยงเชื้อที่ให้ปฏิกิริยาเป็นบวกจากการทดสอบยืนยันว่าเป็นโคลิฟอร์ม ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ BGLBB จำนวน 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 44.5 ± 0.5 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง และเขี่ยเชื้อจากหลอดเดียวกัน steak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง
2. สังเกตหลอดที่ให้ผลบวกในอาหาร BGLBB ทำการยืนยันผลอีกครั้งตามข้อ 3 และสังเกตโคโลนีของเชื้อบนอาหาร EMB ซึ่งจะมีลักษณะโคโลนีสีม่วงขนาด 2-4 นาโนเมตร (nm) มี Metalic sheen รอบโคโลนี ถ้าสังเกตเห็นโคโลนีลักษณะดังกล่าวให้ทำการย้อมสีแกรมเพื่อยืนยัน *E. coli* ซึ่งจะติดสีแกรมลบและเป็นแท่งสั้น
3. ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ 1 loop จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ BGLBB ที่ให้ผลบวกลงบนสารละลายทริปโตน (Tryptone water) จำนวน 5 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส และ 44 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง ทำการทดสอบ Indole ผลจากการตรวจสอบสามารถยืนยันได้จากตาราง ค.1

<u>ตาราง ค. 1</u> แสดงคุณสมบัติของเชื้อ Coliform และ *E. coli*

	Gas in BGLBB $37^{o}C$	Gas in BGLBB $44^{o}C$	Indole
Coliform	+	-	+ or -
E. coli	+	+	+

ที่มา : เรณู (2537)

<u>ตาราง ค.2</u> แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของจุลินทรีย์

	Indole	Methyl Red	Voges-Proskauer	Citrate
E. Coli	+ / -	+	-	-
Citrobacter	-	+	-	+
Klebsiella - Enterobacter	- / +	-	+	+

ที่มา : เรณู (2537)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4. บันทึกจำนวนหลอดที่มี *E. coli* คำนวณหาปริมาณของ E. coli ตามตารางแมคคราดี (ตาราง ค.2)รายงานผลเป็น MPN/ กรัม

5. ทำการทดสอบผลเพิ่มเติมเกี่ยวกับ Coliform และ *E. coli* โดยทดสอบเมเทิลเรด (Methyl red) โวเกส-พรอสเกาเออร์ (Voges-Proskauer) และซิเตรต (Citrate test) ประเมินผลดังตาราง ค.2)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง ค.3 ตารางแมคคราดีแสดงปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สำหรับความเจือจาง 0.1, 0.01 และ 0.001 กรัม ระดับละ 3 หลอด

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก			
0.1 กรัม	0.01 กรัม	0.001 กรัม	MPN/ กรัม
0	0	0	< 3
0	1	0	3+
1	0	0	4
1	0	1	7+
1	1	0	7
1	2	0	11+
2	0	0	9
2	0	1	14+
2	1	0	15
2	1	1	20+
2	2	0	21
3	0	0	23
3	0	1	39
3	1	0	43
3	1	1	75
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210+
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1100
3	3	3	>1100

ที่มา : เรณู (2537)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4. การหาปริมาณพิวทรีแฟกตีฟแอนแอโรบส์ (Putrefastive anaerobe) (มอก. 335, 2523)

- อาหารเลี้ยงเชื้อคุกมีตมีเดียม (cook meat medium)

หัวใจวัดบด	1,000	กรัม
สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.05 N	1,000	กรัม
Nutrient broth No. 2		
- Beef extract	10	กรัม
- Peptone	10	กรัม
- Sodium chloride	5	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดนาน 10 นาที กรองปรับความเป็นกรด-ด่าง ให้ได้ประมาณ 7.5 ต้มสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1,000 มิลลิลิตร ให้เดือดแล้วเติมหัวใจวัวบด คนให้เข้ากัน ต้มให้เดือดนาน 20 นาที คนบ่อยๆ ระหว่างต้ม ตักส่วนเป็นไขมันออกปรับความเป็นกรด-ด่างให้ได้ประมาณ 7.5 กรองด้วยผ้าโปร่ง บีบเอาน้ำออก แผ่เนื้อ ลงบนกระดาษกรองเพื่อทำให้แห้งพอหมาดๆ ที่อุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส แบ่งเนื้อใส่หลอดให้มีปริมาณของเนื้อสูง 2.5 เซนติเมตร เติม Nutrient broth NO.2 ให้สูงประมาณ 4 เซนติเมตร ปิดฝาฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที

<u>วิธีทำ</u>

นำตัวอย่างเนยแข็งมอซซาเรลลาประมาณ 2 กรัม เพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อคุกมีตมีเดียม (cook meat medium) ซึ่งได้ต้มไล่อากาศออกและทำให้เย็นจำนวน 4 หลอด แบ่งต้มที่ 80 องศาเซลเซียส 20 นาที 2 หลอด ทำให้เย็นแล้วเทพาราฟินหรืออะการ์ (agar) ที่ปราศจากเชื้อทับผิวหน้าอาหารในหลอดทั้ง 4 หรือใส่ในแอนแอโรบิกจาร์ (anaerobic jar) บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง

ข้อมูลเพิ่มเติม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1. Certificate of Enzyme

CHY - MAX^{TM} Powder Extra

Certificate of Analysis

Powder Coagulant

Prodcut no.: 142514

Batch no. : 2539780

CHY-MAX Powder Extra is a pure standardized chymosin powder produced by fermentation of *Aspergillus niger* var. *awamori*

CHY-MAX Powder Extra does not contain a detectable level of starch degrading enzymes.

Methods used: Glucoamylase AP – 021 and Amylase AP – 20).

Assay for	Method	Unit	Specification
- Strength - Guarateed min. Strength at expiry date*	IDF 157 IDF 157	IMCU / g IMCU / g	2235±approx. 7% 2080
- Enzymatic composition	IDF 1108	% Chymosin	100

Actual value measured : 2144

CHY – MAX Powder Extra is produced in accordance with validated processes and fulfils the following microbiological specifications;

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Assay	Method	Specification
- Total count per g	E08	< 1000
- Salt tolerant bacteria per g	E09	< 100
- Yeast per g	E10	< 10
- Mould per g	E11	< 10
- Coliform bacteria in 0.5 g	E12	negative
- Gasproducing lactobacilli per g	E13	< 10
- Anaerobic gasproducing sporeformers per g	E14	< 10
- Salmonella in 25 g	E15	negative
- Listeria in 25 g	E16	negative

* Expiry date is shown on the label

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ขนาดสมุนไพรที่ใช้เป็นส่วนประกอบ

1. ข่า

- ราคากิโลกรัมละ 140 บาท
- ขนาดสมุนไพร ที่ขนาดรูตะแกรง 40 mesh มีปริมาณไม่เกินร้อยละ 20 ของปริมาณสมุนไพรทั้งหมด
- ขนาดสมุนไพร ที่ขนาดรูตะแกรง 60 mesh มีปริมาณไม่เกินร้อยละ 60 ของปริมาณสมุนไพรทั้งหมด
- ขนาดสมุนไพร ที่ขนาดรูตะแกรง 100 mesh มีปริมาณไม่เกินร้อยละ 40 ของปริมาณสมุนไพรทั้งหมด

2. ตะไคร้

- ราคากิโลกรัมละ 140 บาท
- ขนาดสมุนไพร ที่ขนาดรูตะแกรง 40 mesh มีปริมาณไม่เกินร้อยละ 20 ของปริมาณสมุนไพรทั้งหมด
- ขนาดสมุนไพร ที่ขนาดรูตะแกรง 60 mesh มีปริมาณไม่เกินร้อยละ 35 ของปริมาณสมุนไพรทั้งหมด
- ขนาดสมุนไพร ที่ขนาดรูตะแกรง 100 mesh มีปริมาณไม่เกินร้อยละ 40 ของปริมาณสมุนไพรทั้งหมด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3. หอมแดง

- ราคากิโลกรัมละ 240 บาท
- ขนาดสมุนไพร ที่ขนาดรูตะแกรง 40 mesh มีปริมาณไม่เกินร้อยละ 20 ของปริมาณสมุนไพรทั้งหมด
- ขนาดสมุนไพร ที่ขนาดรูตะแกรง 60 mesh มีปริมาณไม่เกินร้อยละ 35 ของปริมาณสมุนไพรทั้งหมด
- ขนาดสมุนไพร ที่ขนาดรูตะแกรง 100 mesh มีปริมาณไม่เกินร้อยละ 40 ของปริมาณสมุนไพรทั้งหมด

(ห้างหุ้นส่วนจำกัด เอี่ยมกสิกิจ)

4. ผลการตรวจคุณภาพน้ำนมดิบ

	ค่าที่กำหนด	ค่าที่วัดได้
- ปริมาณกรดแลคติก (%)	0.12 - 0.16	0.16
- ความถ่วงจำเพาะ	1.028 – 1.034	1.030
- ปริมาณของแข็งทั้งหมด	min 12.5	12.42
- ปริมาณไขมัน (%)	min 3.3	4.91
- ความเป็นกรด-ด่าง	-	6.72
- ปริมาณของแข็งไม่รวมไขมัน (%)	min 8.35	8.32
- ปริมาณโปรตีน	-	2.90
- ปริมาณน้ำตาลแลคโตส (%)	-	4.89

ที่มา : กลุ่มวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์นม กรมปศุสัตว์ (2548)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวดุสิดา วงศ์ไวศยวรรณ
วัน เดือน ปีเกิด	15 สิงหาคม 2520
ภูมิลำเนา	40 หมู่ 1 ต. พระบาท อ. เมือง จ. ลำปาง
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลายโรงเรียนลำปางกัลยาณี จังหวัด ลำปาง ปีการศึกษา 2538 สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2543
ประสบการณ์	- มีนาคม - สิงหาคม พ.ศ. 2543 Quality Supervisor บริษัทพรีม่า ไฮ ควอลิตี้ จำกัด นิคมอุตสาหกรรมลำพูน จังหวัดลำพูน - สิงหาคม พ.ศ. 2543 – กันยายน 2544 หัวหน้าแผนกพัฒนาผลิตภัณฑ์ บริษัทลานนาโปรดักส์ นิคมอุตสาหกรรมลำพูน จังหวัดลำพูน - กันยายน พ.ศ. 2544 – เมษายน พ.ศ. 2546 หัวหน้าแผนกประเมินคุณภาพ บริษัทลานนาโปรดักส์ นิคมอุตสาหกรรม จังหวัดลำพูน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved