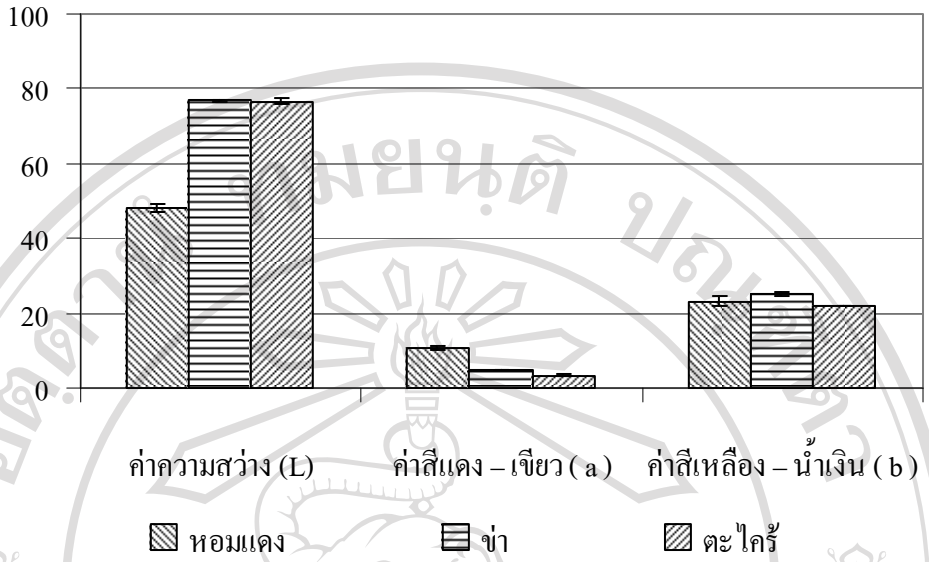
ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

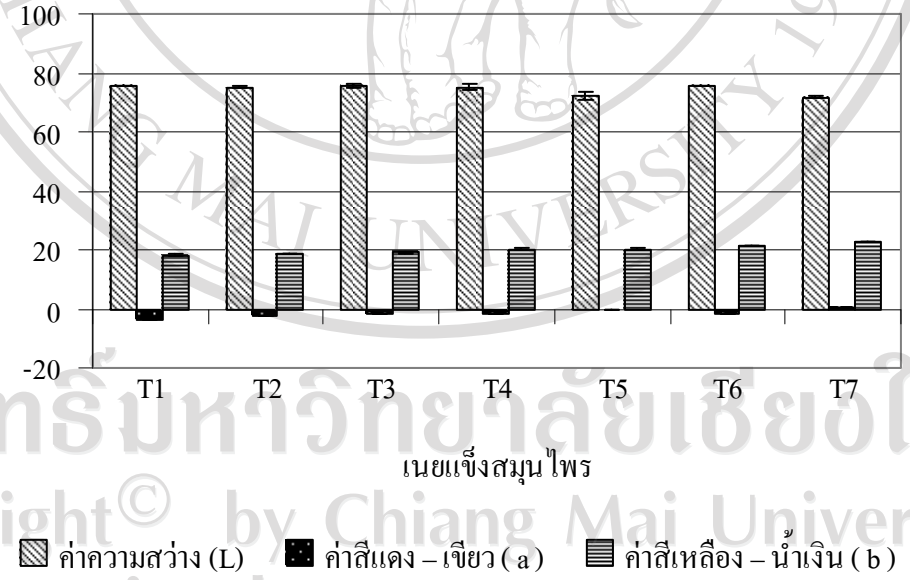
ภาคผนวก ก

ภาพจากผลการทดลอง(กราฟ)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

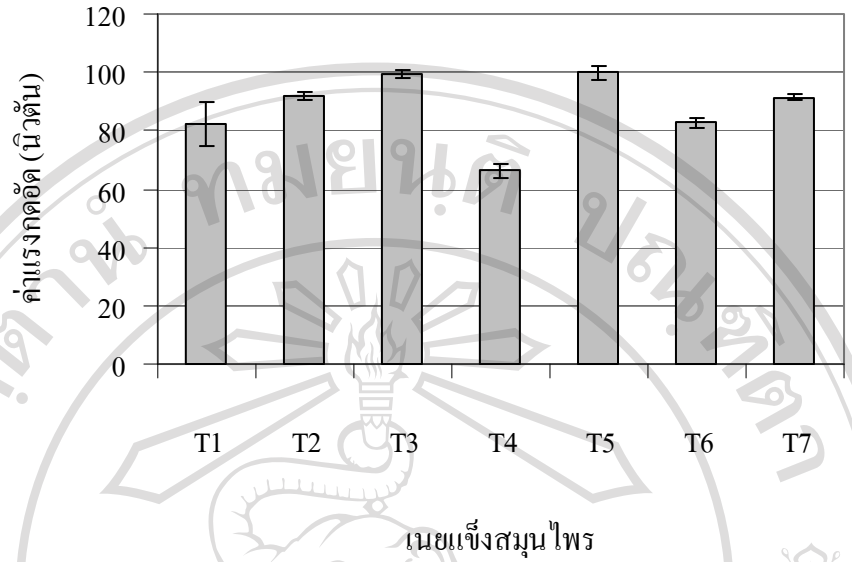


ภาพที่ ก-1 แผนภูมิแบบแท่งแสดงค่าสี Lab ของสมุนไพรผงหอมแดง ข่า และตะไคร้

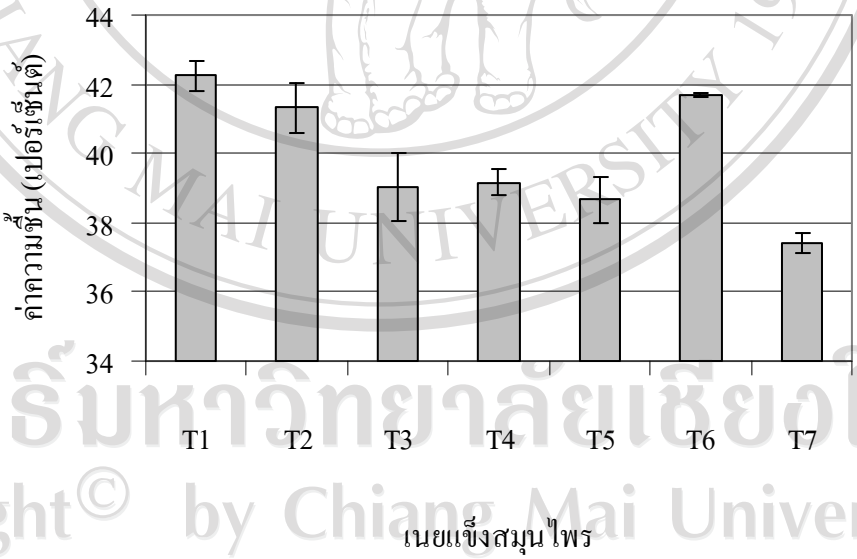


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ ก-2 แผนภูมิแบบแท่งแสดงค่าสี Lab ของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 วัน

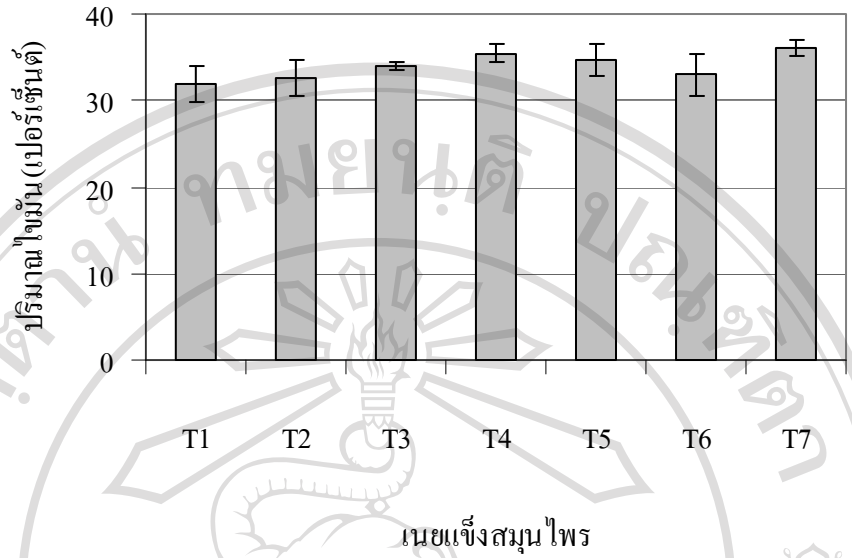


ภาพที่ ก-3 แผนภูมิแบบแท่งแสดงค่าแรงกดอัดของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 วัน

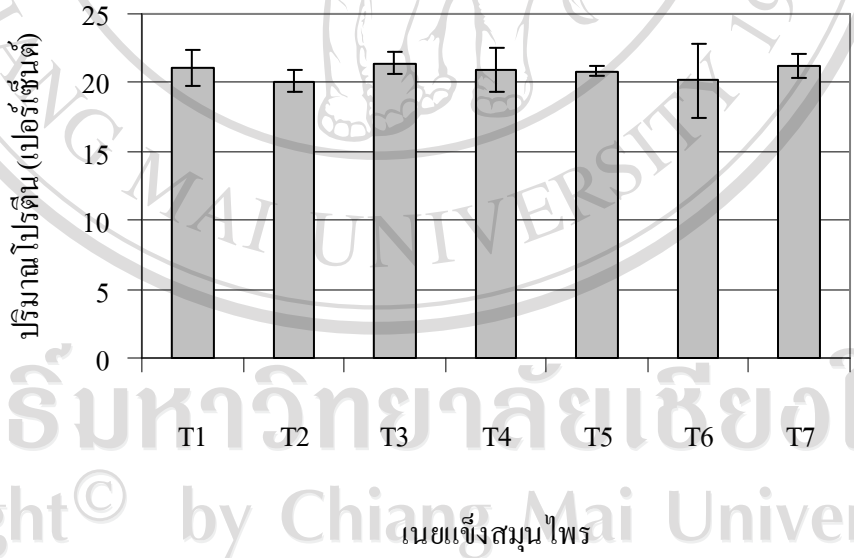


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ ก-4 แผนภูมิแบบแท่งแสดงค่าความชื้นของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 วัน

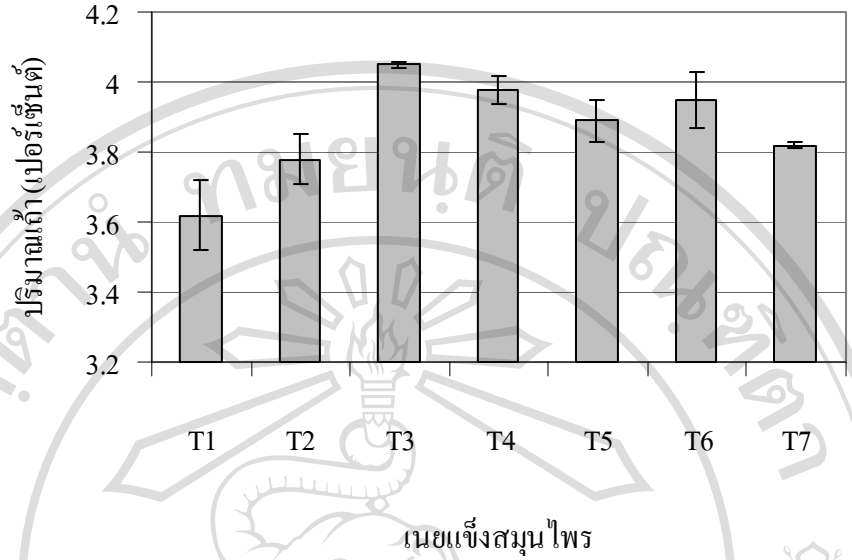


ภาพที่ ก-5 แผนภูมิแบบแท่งแสดงค่าไขมันของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 วัน

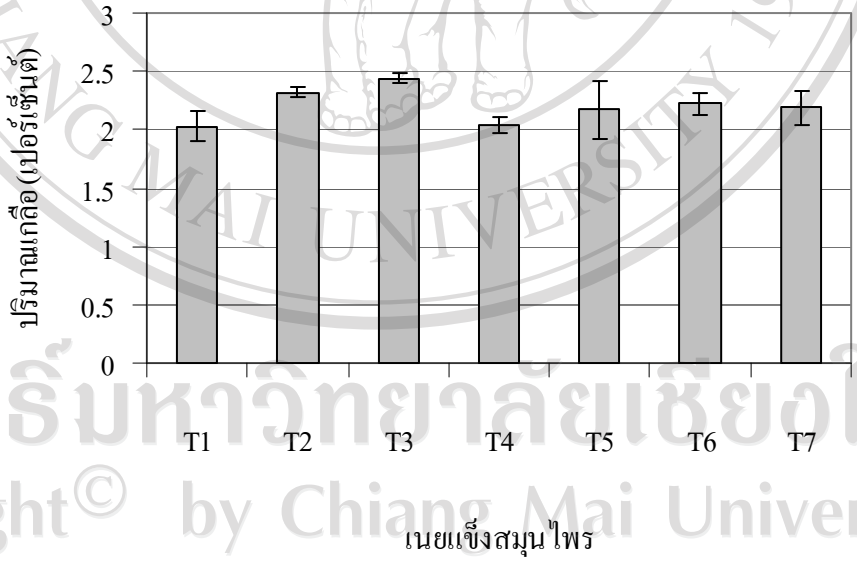


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ ก-6 แผนภูมิแบบแท่งแสดงค่าโปรตีนของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 วัน

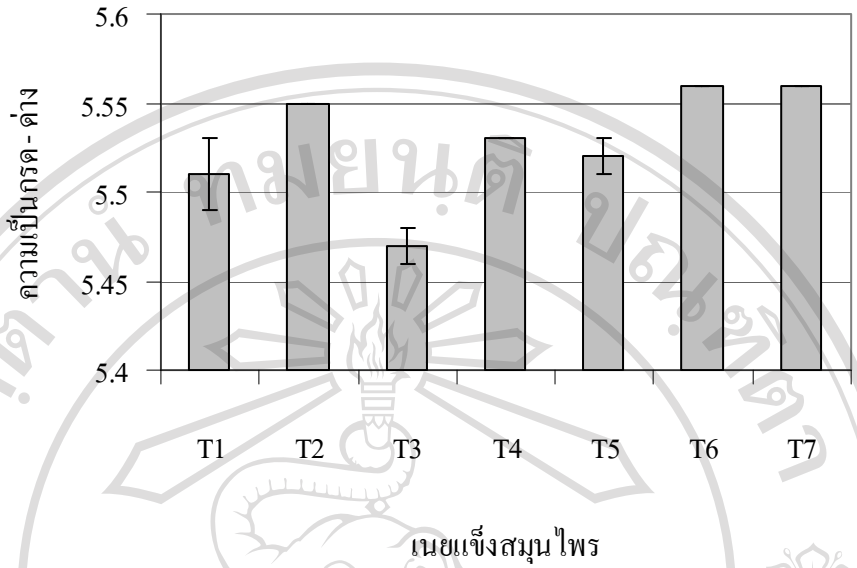


ภาพที่ ก-7 แผนภูมิแบบแท่งแสดงค่าเถ้าของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 วัน

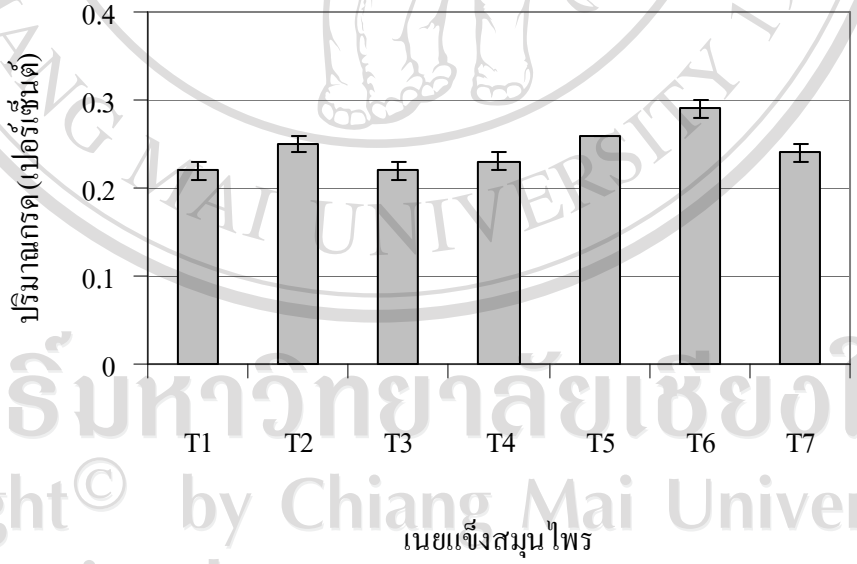


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ ก-8 แผนภูมิแบบแท่งแสดงค่าเกลือของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 วัน

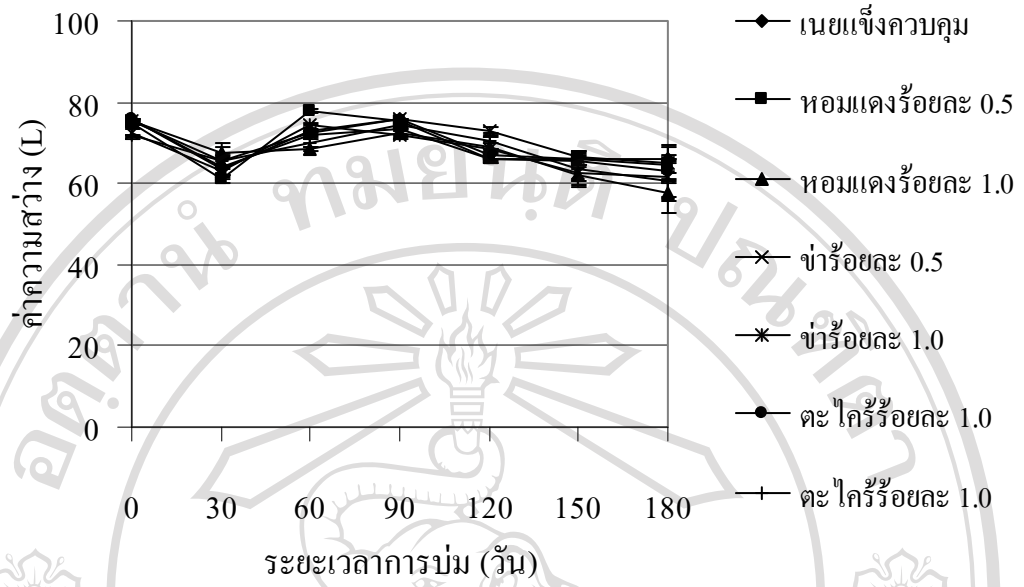


ภาพที่ ก-9 แผนภูมิแบบแท่งแสดงค่าความเป็นกรด - ด่างของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 วัน

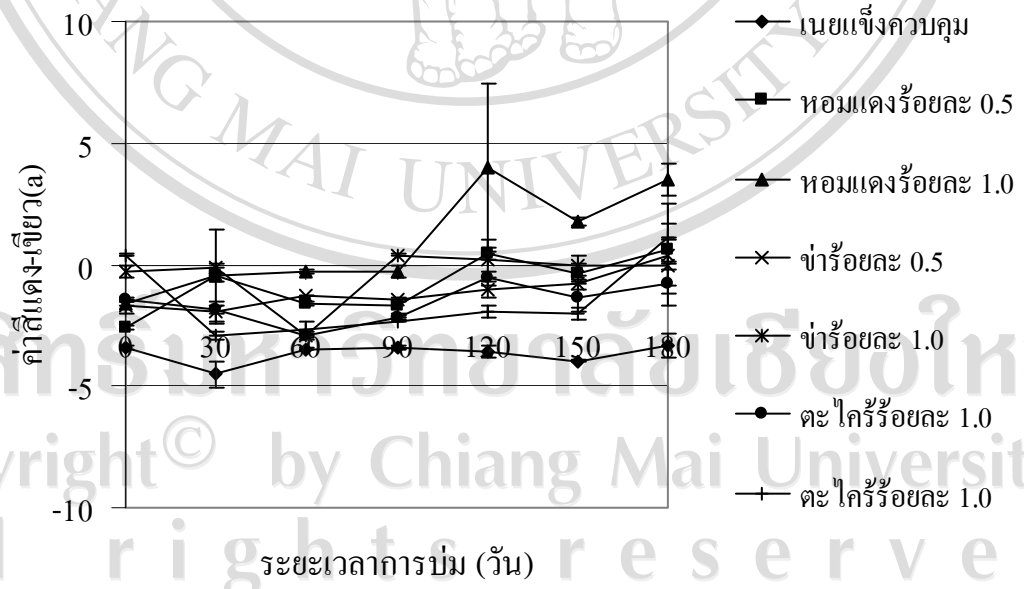


ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ ก-10 แผนภูมิแบบแท่งแสดงค่าปริมาณกรดของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 วัน

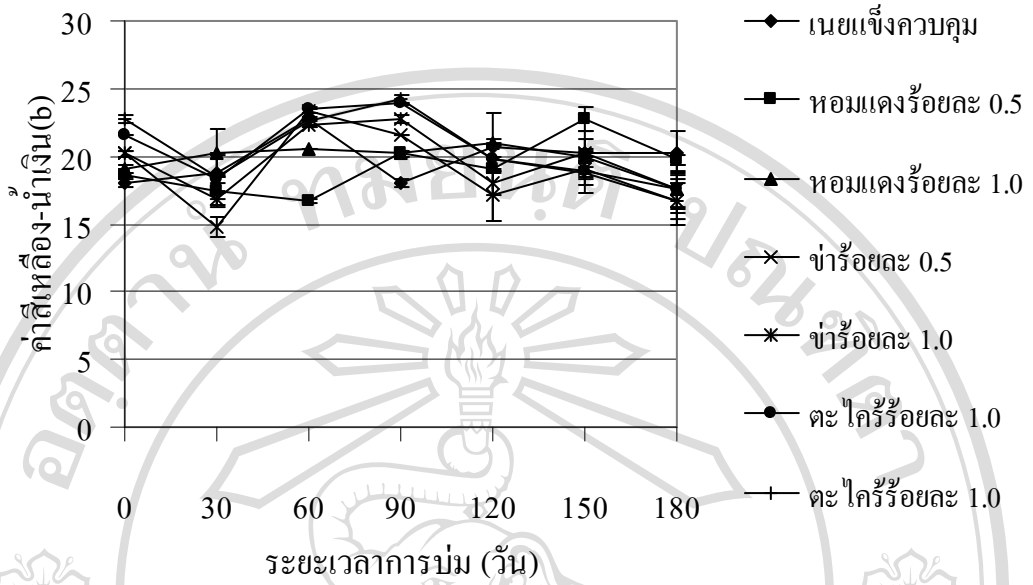


ภาพที่ ก-11 แผนภูมิแบบเส้นแสดงค่าความสว่าง (L) ของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 , 30, 60, 90, 120, 150, และ 180 วัน

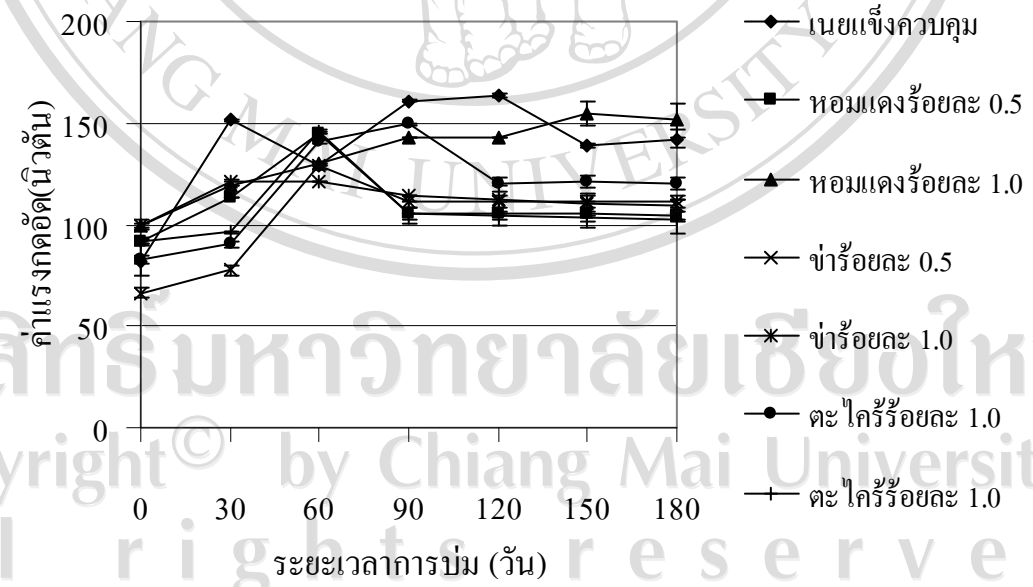


ภาพที่ ก-12 แผนภูมิแบบเส้นแสดงค่าสีแดง - เขียว(a)ของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 , 30, 60, 90, 120, 150, และ 180 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

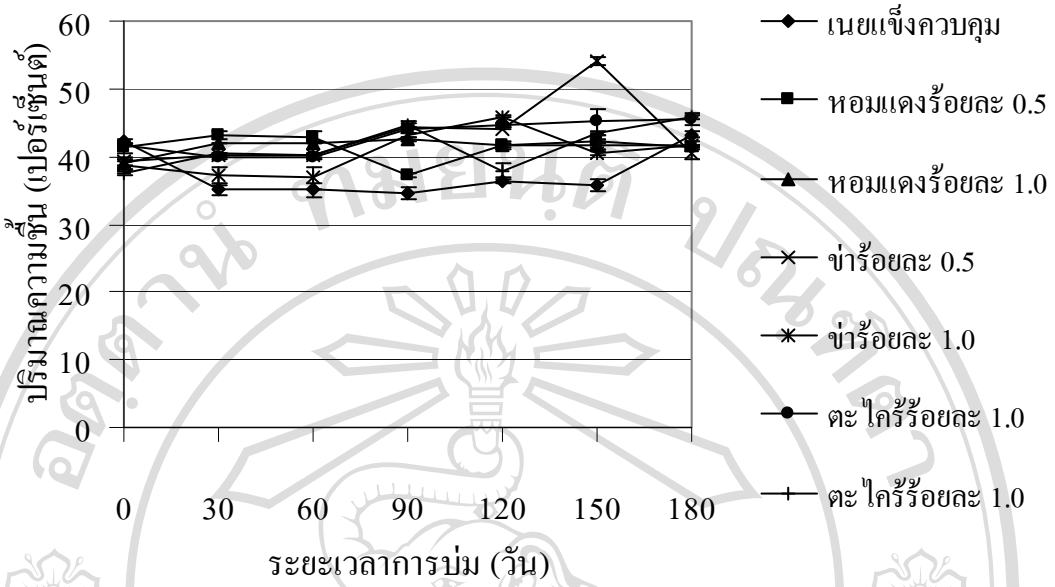


ภาพที่ ก-13 แผนภูมิแบบเส้นแสดงค่าสีเหลือง – น้ำเงิน (b)ของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 , 30, 60, 90, 120, 150, และ 180 วัน

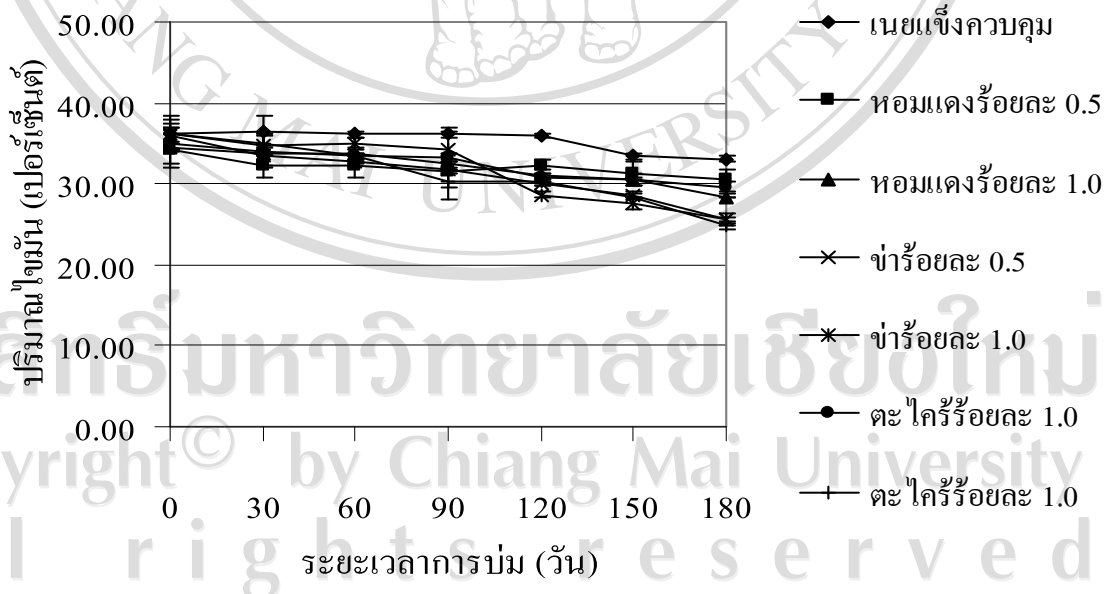


ภาพที่ ก-14 แผนภูมิแบบเส้นแสดงค่าแรงกดอัดของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 , 30, 60, 90, 120, 150, และ 180 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

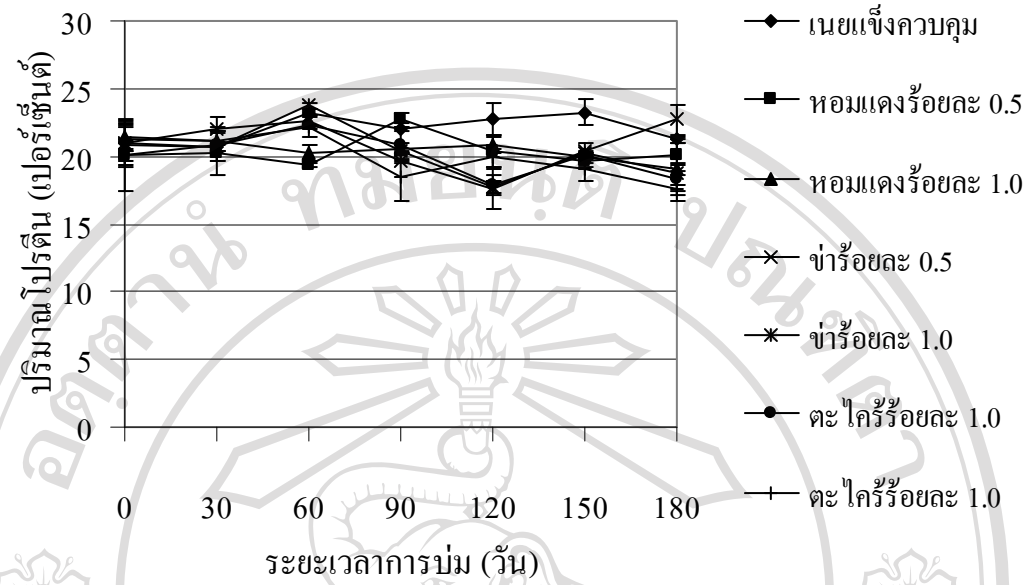


ภาพที่ ก-15 แผนภูมิแบบเส้นแสดงปริมาณความชื้น ของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 , 30, 60, 90, 120, 150, และ 180 วัน

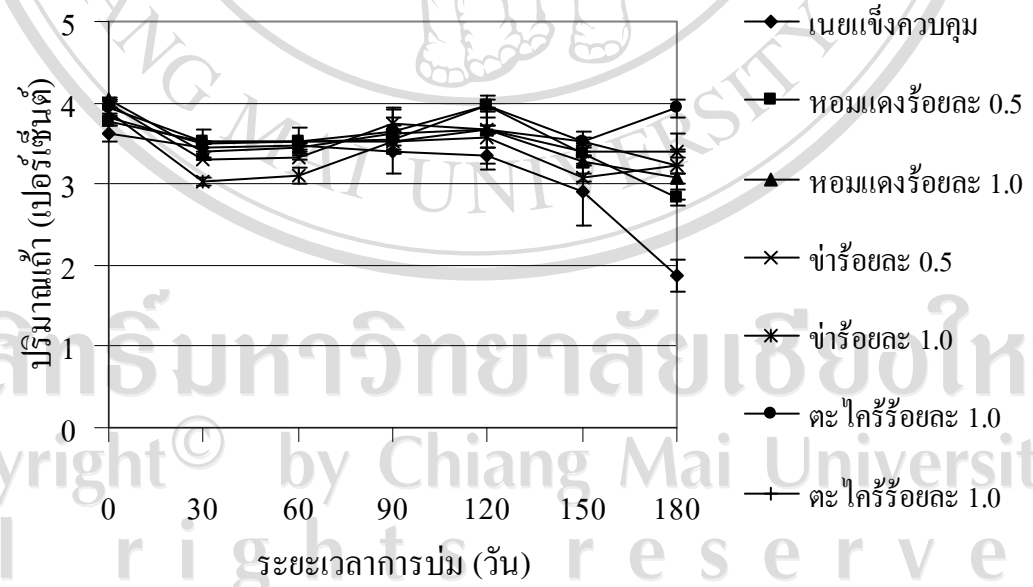


ภาพที่ ก-16 แผนภูมิแบบเส้นแสดงปริมาณไขมันของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 , 30, 60, 90, 120, 150, และ 180 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

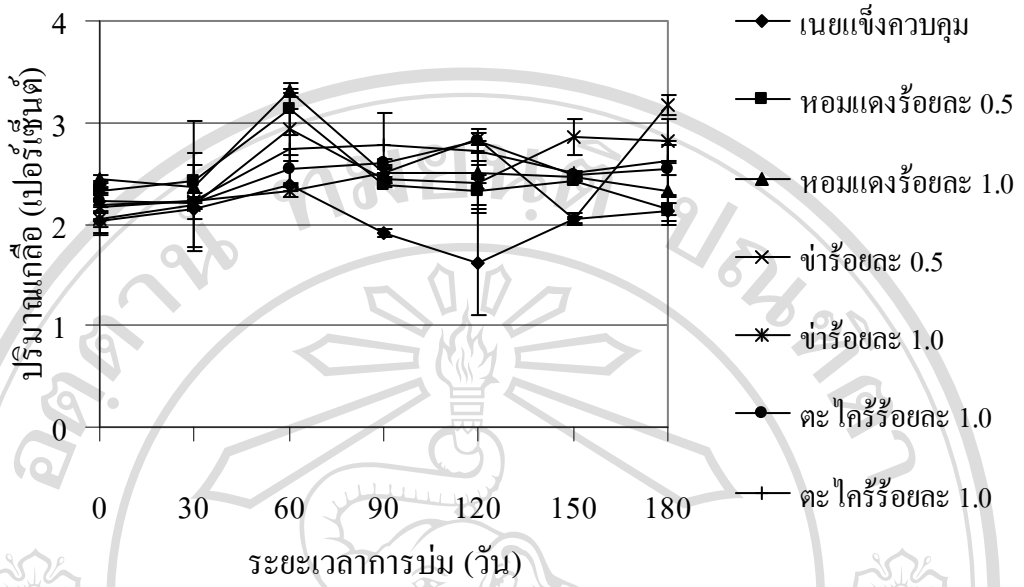


ภาพที่ ก-17 แผนภูมิแบบเส้นแสดงปริมาณโปรตีนของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 , 30, 60, 90, 120, 150, และ 180 วัน

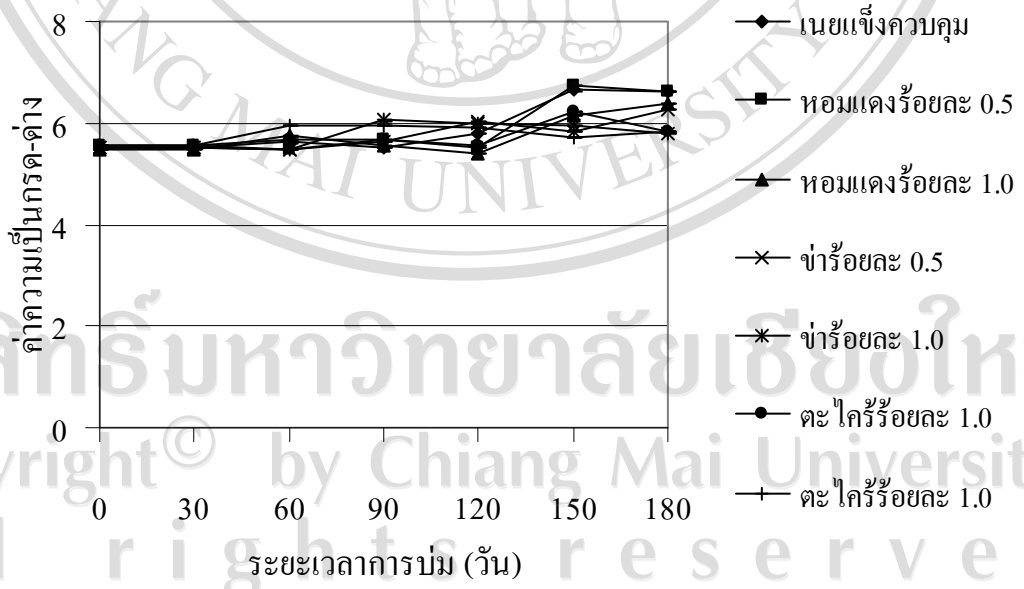


ภาพที่ ก-18 แผนภูมิแบบเส้นแสดงปริมาณเถ้าของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 , 30, 60, 90, 120, 150, และ 180 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

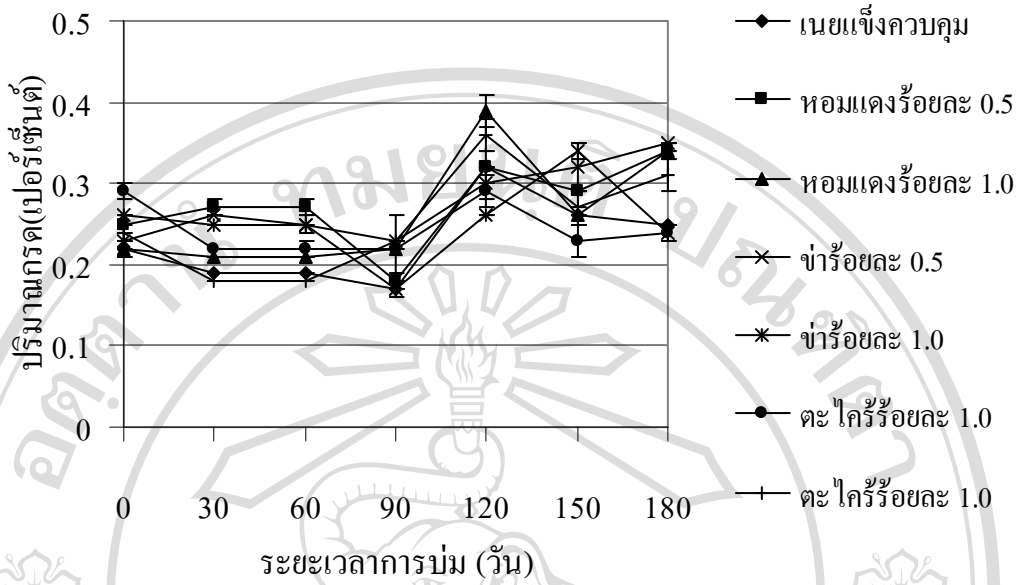


ภาพที่ ก-19 แผนภูมิแบบเส้นแสดงปริมาณเกลือ ของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 , 30, 60, 90, 120, 150, และ 180 วัน

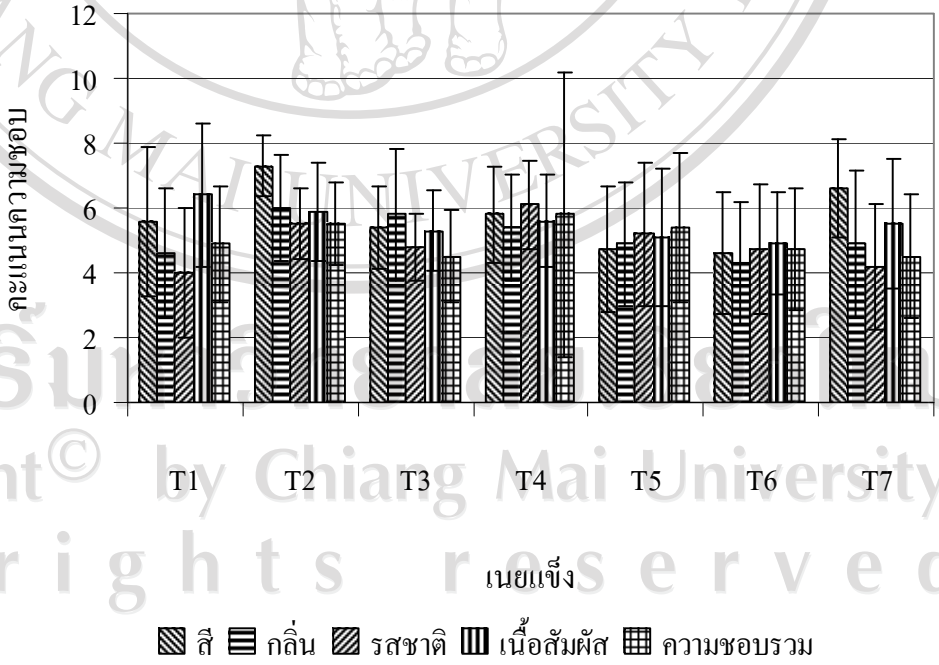


ภาพที่ ก-20 แผนภูมิแบบเส้นแสดงค่าความเป็นกรด - ด่าง ของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 , 30, 60, 90, 120, 150, และ 180 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ ก-21 แผนภูมิแบบเส้นแสดงปริมาณกรดของเนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร และเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 , 30, 60, 90, 120, 150, และ 180 วัน



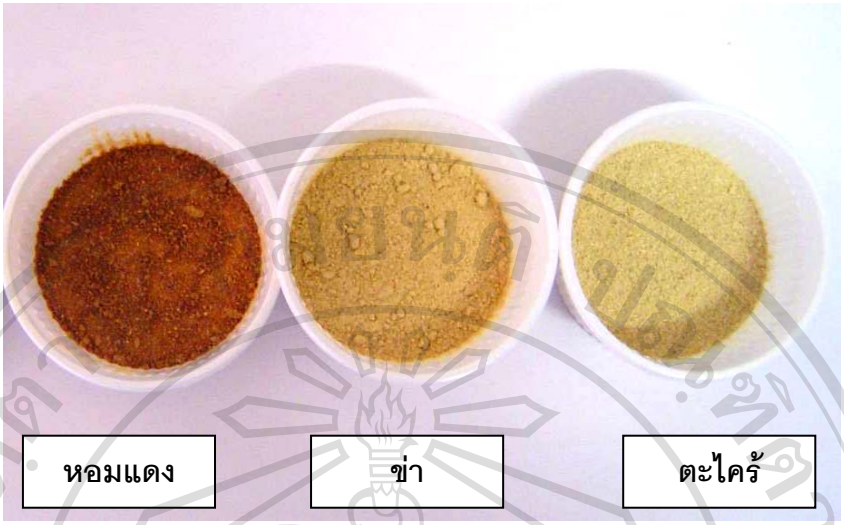
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ ก-22 แผนภูมิแบบแท่งแสดงค่าการยอมรับของผู้บริโภคจำนวน 50 คน

ภาคผนวก ข

ภาพประกอบงานวิจัย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ ข-1 สมุนไพรผงที่ใช้เป็นส่วนผสมในเนยแข็งเชดดาร์รสสมุนไพร

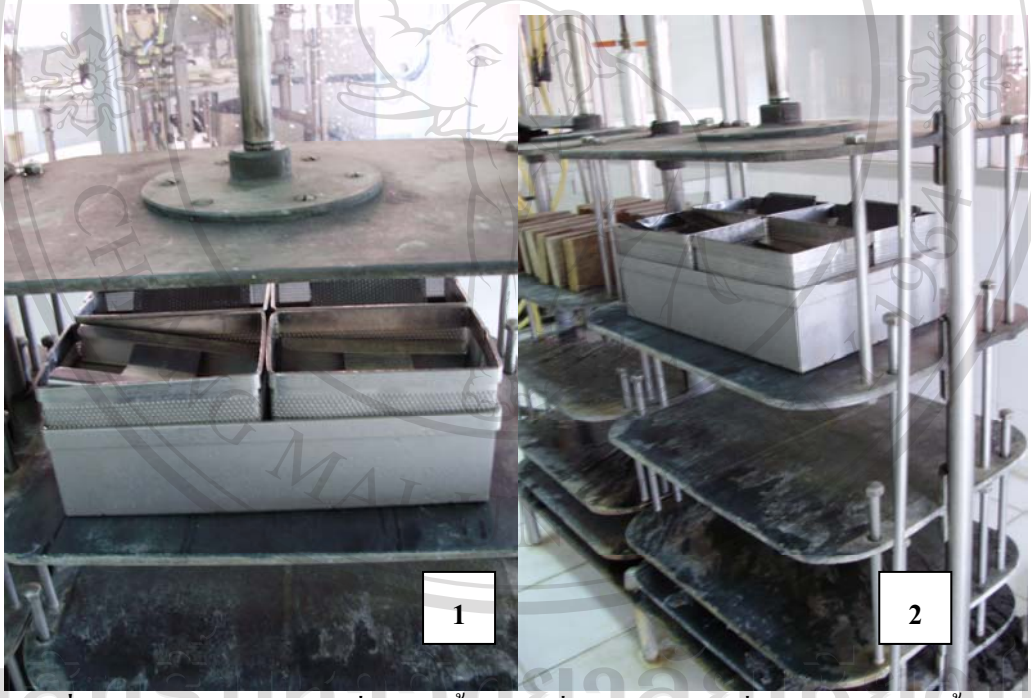
ภาพจากกระบวนการผลิตเนยแข็ง

ภาพที่ ข-2 การพาสเจอร์ไรส์น้ำนมดิบในถังนมที่ให้ความร้อนผ่านโดยน้ำร้อนจากไอน้ำและการทำให้อุณหภูมิน้ำนมลดลงโดยเครื่องทำให้เย็น

ภาพที่ ข-3 ลักษณะเคิร์ดของน้ำนมที่ตกตะกอนและการแยกเอาน้ำเวย์ออกผ่านรูเปิดของถังผลิต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

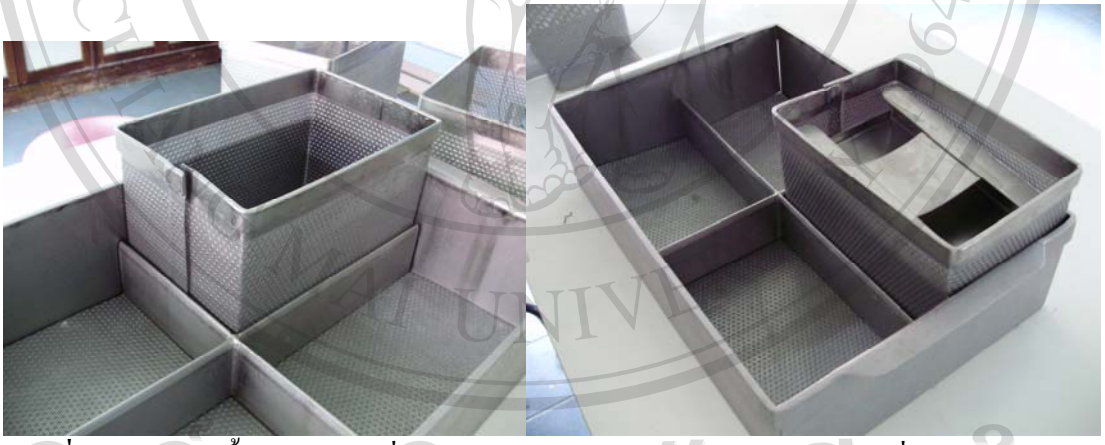
ภาพที่ ข-4 การวางเนยแข็งซ้อนทับกันในถังผลิตเนยแข็ง



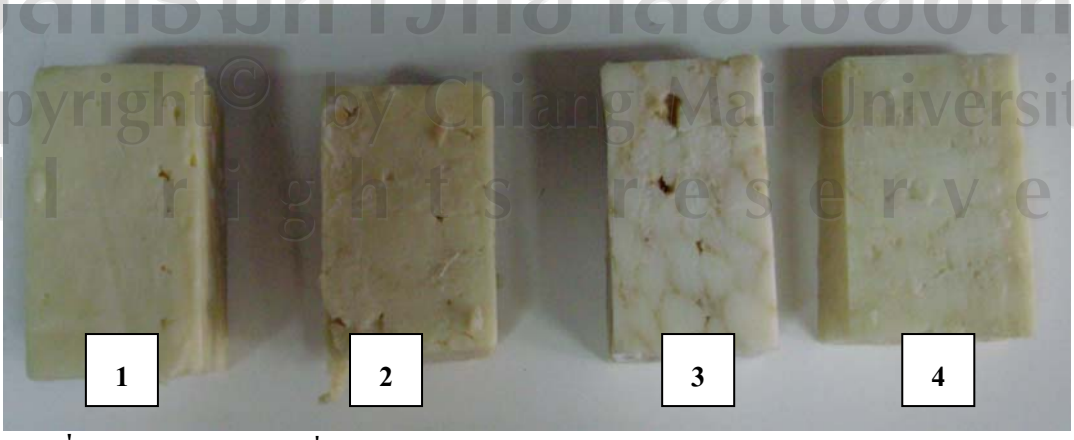
ภาพที่ ข-5 พิมพ์บรรจุเนยแข็งที่วางบนชั้นของเครื่องอัด(1)และเครื่องบีบอัดเนยแข็งขึ้นรูป(2)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ ข-6 พิมพ์ที่ใช้อัดขึ้นรูปเนยแข็งประกอบด้วย แท่นรองพิมพ์(1) พิมพ์ที่บรรจุเนยแข็ง(2) แผ่นรองเนยแข็งก่อนวางแท่นกด(3) และแท่นกดพิมพ์(4)



ภาพที่ ข-7 พิมพ์อัดขึ้นรูปเนยแข็งที่ประกอบกันสำหรับการบรรจุเนยแข็งลงไปเพื่อกดอัด



ภาพที่ ข-8 เนยแข็งเชดดาร์ที่ไม่เติมสมุนไพร(1) และรสหอมแดง(2) รสข่า(3) และรสตะไคร้(4)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ ข-9 ตู้บ่มเนยแข็งอุณหภูมิ 4 -10 องศาเซลเซียส(เฉลี่ย 7.2-7.4 องศาเซลเซียส) และการจัดวางเนยแข็งที่หอด้วยพลาสติกโพลีไวนิลคลอไรด์ในตู้บ่ม

ภาพที่ ข-10 เนยแข็งที่มีรา(1) และผ่านการเอาราออก (2)ในระหว่างกระบวนการบ่ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์คุณภาพทาง กายภาพ เคมี จุลชีววิทยา

และการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการวิเคราะห์จุลินทรีย์ในสมุนไพรที่ใช้เป็นส่วนผสม

วิเคราะห์จุลินทรีย์ตามวิธีของเรณู (2543)

นำตัวอย่างสมุนไพร 10.0 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร จำนวน 1 ขวด ตั้งทิ้งไว้ให้สมุนไพรตกตะกอน ดูดสารละลายด้านบนไปทำเจือจางที่อัตราการเจือจาง 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4}

ก. ตรวจปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total count) ทำเทคนิค pour plate ตัวอย่างสมุนไพรเจือจางที่อัตราการเจือจาง 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA, ยี่ห้อ) ความเข้มข้นละ 2 จาน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชม.

ข. ตรวจปริมาณยีสต์และรา (yeast and mold) และแบคทีเรียที่ทนต่อกรด (acid tolerant bacteria) ทำ pour plate ตัวอย่างสมุนไพรเจือจางที่อัตราการเจือจาง 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Potatoes dextrose agar พีเอช 3.5 ความเข้มข้นละ 2 จาน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 48 ชม.

ค. ตรวจเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ในสภาพที่มีอากาศและอุณหภูมิ 45-60 องศาเซลเซียส (aerobic thermophiles) ทำ pour plate ตัวอย่างสมุนไพรเจือจางที่อัตราการเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-4} โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar (PCA, ยี่ห้อ) ความเข้มข้นละ 2 จาน บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 48 ชม.

ง. ตรวจจุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์ในสภาพที่มีอากาศ (aerobic spore former) นำตัวอย่างสมุนไพรมาทำเจือจางที่อัตราการเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-4} ต้มเดือดนาน 5 นาที แล้วหยดน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อลงในหลอดจนได้ปริมาตรเท่าเดิมก่อนต้ม และหาเชื้อดังต่อไปนี้

ชนิดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20-45 องศาเซลเซียส (mesophilic type)

- ทำ pour plate ตัวอย่างสมุนไพรมาทำเจือจางที่อัตราการเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-4} ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ dextrose tryptone agar หลังจากอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว เททับด้วยวุ้น 2 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 48 ชม.
- ตรวจหา acid former bacteria โดยการทำ pour plate ตัวอย่างสมุนไพรมาทำเจือจางที่อัตราการเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-4} ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ dextrose tryptone bromocresol purple agar (DTBPA) ความเข้มข้นละ 2 จาน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 48 ชม.

ชนิดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิ 45-65 องศาเซลเซียส และสร้างกรด (thermophilic flate sour type)

- ปิเปตตัวอย่างอาหารที่อัตราการเจือจาง 10^{-2} จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ dextrose tryptone bromocresol purple agar (DTBPA) จำนวน 50 มิลลิลิตร จากนั้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นำไปฆ่าเชื้อที่ 110 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ทำให้เย็นลง 45 องศาเซลเซียส เทใส่จานเพาะเชื้อ 2 จาน ทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว บ่มที่ 55 องศาเซลเซียส นาน 48 ชม. นับเฉพาะโคโลนีที่มีสีเหลืองล้อมรอบ ต่อตัวอย่างสมุนไพรจำนวน 1 กรัม รายงานผลเป็นโคโลนีต่อกรัมของตัวอย่างสมุนไพร

จ. ตรวจจุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์ในสภาพไร้อากาศ (Anaerobic spore formers)

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total count) ทำ pour plate ในอาหาร PCA ที่อัตราการเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-4} ความเข้มข้นละ 2 จาน เททับด้วยวุ้น 2 เปอร์เซ็นต์ บ่มภายใต้สภาวะไร้อากาศ (anaerobic jar) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 72 ชม.
- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total count) ปิเปตตัวอย่างสมุนไพรเจือจางที่อัตราการเจือจาง 10^{-2} และ 10^{-4} จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดอาหาร PCA ที่อุณหภูมิ 45 - 55 องศาเซลเซียส ที่บรรจุในหลอดๆละ 10 มิลลิลิตร จำนวน 2 หลอด เขย่าให้เข้ากันเบาๆ เมื่อวุ้นแข็งตัวแล้วทาทับด้วย reduced methylene blue agar ลงไปในหลอดอาหารหลอดละ 2 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48-72 ชม. ตรวจผลโดยการใช้แว่นขยายในการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์
- จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์และเจริญได้ที่อุณหภูมิ 45-65 องศาเซลเซียส (Thermophilic type-producing hydrogen sulfile iron agar) ปิเปตตัวอย่างสมุนไพรที่เจือจางระดับความเข้มข้น 10^{-2} จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด sulfile iron agar (หลอดละ 1 0มิลลิลิตร ที่หลอมเหลวที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จำนวน 2 หลอด) เขย่าเบาๆให้ทั่ว ปล่อยให้แข็งตัวและบ่มในอ่างน้ำอุ่น อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที หลังจากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 48 ชม. นับจำนวนโคโลนีที่มีสีดำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การรายงานผลของจุลินทรีย์

รายงานผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ต่อกรัม หรือต่อมิลลิลิตรของตัวอย่างอาหารโดยคูณจำนวนที่นับได้ตามหลักการที่กล่าวถึงด้วยระดับความเจือจางที่ตรวจนับ ในกรณีที่จำนวนนับได้ในระดับความเจือจางนั้นเป็นตัวเลขสามหลัก ให้ปัดเลขหลักหน่วยขึ้นเป็นหลักสิบโดยอาศัยหลักการตามวิธีเลขคณิต

1. สำหรับการตรวจนับที่ทุกซ้ำ หรือไม่น้อยกว่าครึ่งหนึ่งของจำนวนซ้ำที่ระดับความเจือจางเดียวกันเท่านั้น ที่สามารถนับจำนวนได้ระหว่าง 30-300 โคโลนี ให้หาค่าเฉลี่ยของจำนวนที่ตรวจนับได้ของทุกซ้ำที่ระดับความเจือจางนั้น

2. สำหรับการตรวจนับซึ่งสามารถนับจำนวนได้ระหว่าง 30-300 โคโลนีที่ระดับความเจือจางสองระดับติดกัน โดยที่ในแต่ละระดับจะมีเพียงบางซ้ำหรือทุกซ้ำที่นับจำนวนได้ดังกล่าว และจำนวนเฉลี่ยของทุกซ้ำในระดับความเจือจางที่ให้การตรวจนับได้สูง มีค่าไม่ถึงสองเท่าของจำนวนเฉลี่ยของทุกซ้ำในระดับความเจือจางที่ให้การตรวจนับได้ต่ำ ให้ค่าเฉลี่ยของจำนวนที่นับได้ของทุกซ้ำทั้งสองระดับความเจือจาง

3. สำหรับการตรวจนับซึ่งสามารถนับจำนวนได้ระหว่าง 30-300 โคโลนี ที่ระดับความเจือจางสองระดับติดกัน และแต่ละระดับนับจำนวนได้ในช่วงดังกล่าวทุกซ้ำ แต่ค่าเฉลี่ยของจำนวนที่นับได้จากระดับความเจือจางที่ให้การตรวจนับได้สูงมีค่าถึงสองเท่า หรือมากกว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนที่นับได้จากระดับความเจือจางที่ให้การตรวจนับได้ต่ำ ให้ใช้แต่เฉพาะค่าเฉลี่ยจากทุกซ้ำที่ระดับความเจือจางที่ให้การตรวจนับได้ต่ำ

4. ในการตรวจนับครั้งใดก็ตามที่ไม่มีโคโลนีเกิดขึ้นจานใดจานหนึ่งโดยที่แน่ใจแล้วว่าอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่บ่มเชื้อถูกต้องแล้วให้รายงายผลว่าอาหารนั้นมีจุลินทรีย์อยู่น้อยกว่าตัวเลขของระดับความเจือจางต่ำสุดที่ตรวจนับโดยประมาณ

5. การตรวจนับที่ไม่มีจานใดเลยที่มีโคโลนีเกิดขึ้นถึง 30 โคโลนี ให้รายงายจำนวนเฉลี่ยที่นับได้จาก ระดับความเจือจางต่ำสุดโดยกำกับคำว่า

6. การตรวจนับที่จำนวนโคโลนีเกิดขึ้นหนาแน่นทุกจาน ในทุกระดับความเจือจาง ให้รายงานว่าอาหารนั้นมีจุลินทรีย์มากกว่าตัวเลขของระดับความเจือจางสูงสุดคูณด้วย 300 โดยประมาณ

7. ในกรณีที่มีโคโลนีแผ่ลาม (spreader) เกิดขึ้น ถ้าการแผ่ลามนั้นไม่ถึงครึ่งหนึ่งของจานเพาะเชื้อ ให้นับจำนวนโคโลนีที่แผ่ลามเป็นหนึ่ง และนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นทั้งในและนอกบริเวณการแผ่ลาม

8. ไม่ควรรายงานผลที่มีความผิดพลาดดังต่อไปนี้เช่น จำนวนที่นับได้จากระดับความเจือจางสูงมีค่ามากกว่าที่นับได้จากระดับความเจือจางต่ำมีโคโลนีแผ่ลามคลุมทั้งจาน มีมดหรือแมลงเดินบนผิวหน้าอาหารให้เกิดโคโลนีเรียงต่อกันเป็นสาย หรือจานซึ่งโคโลนีเกาะกลุ่มหนาแน่นเฉพาะบริเวณใดบริเวณหนึ่ง ซึ่งแสดงถึงเขย่าจานไม่มากพอที่จะทำให้ตัวอย่างอาหารกระจายไปทั่วถึง หรือทิ้งตัวอย่างอาหารนานเกินไปจนแห้งติดจาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คุณภาพทางกายภาพ

วัดค่าสีในระบบฮันเตอร์ (L*a*b*) โดยเครื่องวัดสี Color Quest II (HunterLab, 1997)

ค่าสีในระบบฮันเตอร์ (Hunter values : color – L a b)

ค่าสีในระบบฮันเตอร์มีค่า L เป็นค่าความสว่าง (Brightness) มีค่าตั้งแต่ 0 - 100 ถ้าค่า L น้อย ตัวอย่างมีความสว่างน้อย ถ้าค่า L มาก ตัวอย่างมีความสว่างมาก ค่า a เป็นค่าสีแดง - เขียว ถ้าค่า a มีค่าเป็นบวก ตัวอย่างจะมีโทนมีแดง ถ้าค่า a มีค่าเป็นลบ ตัวอย่างจะมีโทนสีเขียว ค่า b เป็นค่าสีเหลือง-น้ำเงิน ถ้าค่า b มีค่าเป็นบวก ตัวอย่างจะมีโทนสีเหลือง ถ้าค่า b เป็นลบ ตัวอย่างจะมีโทนสีน้ำเงิน การวัดจะนำเอาตัวอย่างมาลดให้ละเอียด จากนั้นใส่ลงในภาชนะสำหรับการวัดสีของเครื่องวัดสี (Color Quest II) ทำการวัดทั้งหมด 3 ค่าต่อตัวอย่าง ซึ่งเครื่องวัดสีจะต้องสอบเทียบ (Calibrate) ทุกครั้ง ทำโดยการเลือกวัดสีแบบสะท้อนแสง (R - sin) แล้วปรับค่ามาตรฐาน (Standardize) โดยใช้แผ่นสีขาวมาตรฐาน (X = 81.17, Y = 86.12, Z = 91.78) กับแผ่นสีเทามาตรฐาน (X = 48.58, Y = 51.74, Z = 54.10) ตามลำดับ

เนื้อสัมผัส วัดค่าแรงกดอัด (Compression force) โดยใช้ Instron Universal Testing Machine Model 5565 (Instron, 1993) มีหน่วยวัดเป็นนิวตัน

นำตัวอย่างขนาด 2 x 2 x 1 เซนติเมตร (กว้าง x ยาว x หนา) มาวัดค่าแรงเนื้อสัมผัส วัดค่าแรงกดอัด (compression force) จำนวน 3 ครั้งต่อตัวอย่าง โดยใช้เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer; Stable Micro System Ltd., UK) มีหน่วยวัดเป็นนิวตัน Probe ที่ใช้เป็น P/50 และกำหนดค่าตาม guide cheese ที่มีดังนี้

TA Settings: Mode: Measure Force in Compression

Option:	Return to Start
Pre-Test Speed:	1.0 mm/s
Test Speed:	2.0 mm/s
Post-Test Speed:	10.0 mm/s
Distance:	10mm
Trigger Type:	Auto - 5g
Tare Mode:	Auto
Data Acquisition Rate:	400pps

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คุณภาพทางเคมี

ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC, 2000

อุปกรณ์ที่ใช้

- จานโลหะ (Moisture can)
- เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
- โถแก้วดูดความชื้น (Desiccator)
- ตู้อบลมร้อนสำหรับหาความชื้น (Hot air oven)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างเนยแข็งมา 2 - 3 กรัม ใส่ลงในภาชนะจานโลหะที่ผ่านการอบและทราบน้ำหนักที่แน่นอน
2. นำตัวอย่างไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ทิ้งค้างคืนไว้
3. ปล่อยให้เย็นในโถแก้วดูดความชื้นนาน 30 นาที แล้วชั่งหาน้ำหนักที่หายไป อบซ้ำอีกครั้งจนกระทั่งได้น้ำหนักที่คงที่
4. คำนวณหาปริมาณความชื้น (%) ได้ดังนี้

$$\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด (\%)} = \frac{W1 - W2 \times 100}{W3 - W2}$$

เมื่อ W1 เป็นน้ำหนักของจานโลหะและตัวอย่างหลังการอบ (กรัม)

W2 เป็นน้ำหนักของจานโลหะ (กรัม)

W3 เป็นน้ำหนักของจานโลหะและตัวอย่างก่อนการอบ (กรัม)

ปริมาณความชื้น (%) = 100 - % ปริมาณของแข็งทั้งหมด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณไขมันโดยวิธีของ Werner Schmid ตามวิธีของ ลักขณา, 2544

อุปกรณ์

- บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
- เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
- หลอดดูดสารเพื่อหยด
- แท่งแก้วคนสาร
- กระจกนาฬิกาปิดปากบีกเกอร์
- เตาให้ความร้อนแบบแผ่น (hot plate)
- กรวยแยก (seperatory funnel)
- กระบอกตวงขนาด 10 และ 50 มิลลิลิตร
- อ่างน้ำร้อน (water bath) สำหรับระเหยอีเทอร์
- ฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร

สารเคมี

- สารละลายแอมโมเนีย (ความถ่วงจำเพาะ 0.88)
- สารละลายกรดเกลือเจือจาง
- สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์
- สารละลายไดเอทิลอีเทอร์
- สารละลายปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างเนยแข็งประมาณ 1 – 2 กรัม (ให้มีไขมันประมาณ 0.3 – 0.7 กรัม) ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายแอมโมเนีย (ความถ่วงจำเพาะ 0.88) ลงไป 2 – 3 หยด ใช้ปลายแท่งแก้วบดให้เข้ากัน
3. เติมสารละลายกรดเกลือเจือจาง (7 + 3 ปริมาตร) จำนวน 10 มิลลิลิตร
4. ปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา นำไปทำให้ร้อน โดยใช้ไฟอ่อน ๆ คอยคนเสมอ ๆ
5. เมื่อเนยแข็งละลายหมดแล้ว ทำให้เย็นลงเล็กน้อย แล้วเติมสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ลงไป 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและปล่อยให้เย็น
6. เทของเหลวทั้งหมดใส่ในกรวยแยก(seperatory funnel) ล้างบีกเกอร์ด้วยไดเอทิลอีเทอร์ครั้งละเล็กน้อย 2 – 3 ครั้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7. เติมไดเอทิลอีเทอร์ 25 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรง 1 นาที
8. เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงไป 25 มิลลิลิตร ปิดจุก เขย่าอีกครั้งหนึ่ง เปิดจุกให้แก๊สภายในระบายออก
9. ปล่อยตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น เทเอาส่วนชั้นของอีเทอร์ (ส่วนใสด้านบน) ออกไปใส่ในฟลาสก์ที่อบแล้วทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว
10. สกัดซ้ำด้วยไดเอทิลอีเทอร์และปิโตรเลียมอีเทอร์ซ้ำอีก 3 ครั้ง ใช้สารอย่างละ 25 มิลลิลิตร
11. นำอีเทอร์ที่แยกออกมาได้มารวมกัน ระเหยไล่เอาอีเทอร์ออก แล้วนำไปอบให้แห้งจะได้ปริมาณไขมัน ชั่งหาน้ำหนักของไขมันและคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของไขมันในเนยแข็งตัวอย่าง

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{(W1 - W2) \times 100}{W}$$

เมื่อ W เป็นน้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)
W1 เป็นน้ำหนักของไขมัน + น้ำหนักของฟลาสก์ (กรัม)
W2 เป็นน้ำหนักของฟลาสก์หลังจากเทไขมันออกแล้ว (กรัม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ AOAC, 2000

อุปกรณ์

- Kheldahl digestion apparatus
- Markham Semi-micro Kjeldahl distillation apparatus

สารเคมี

- กรดกำมะถันเข้มข้น
- สารละลายบอริกความเข้มข้น 2 %
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 50 %
- สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.05 โมลาร์(0.1 นอร์มอล)
- สารละลายเมธิลเรดประกอบด้วยโบรโมครีซอลกรีนเมธิลออเร้นจ์ 0.083 % และเมธิลเรด 0.016 % ในเอทิลแอลกอฮอล์
- คะตะลิสต์ผสม (catalyst mixture) ประกอบด้วยโซเดียมซัลเฟตปราศจากน้ำ 96 % คอปเปอร์ซัลเฟต 3.5 % และเซเลเนียมไดออกไซด์ 0.5 %

วิธีการ

ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียด 1 – 2 กรัม ใส่ลงใน Kjeldahl digestion flask เติมคะตะลิสต์ผสมลงไป 8 กรัม และกรดกำมะถันเข้มข้น 20 มิลลิลิตร นำไปย่อยจนได้ส่วนผสมเป็นของเหลวใส (ประมาณ 2 ชั่วโมง) ทิ้งไว้ให้เย็น (ทำ blank ควบคู่ไปด้วยโดยย่อยเฉพาะคะตะลิสต์ผสมและกรด) นำของเหลวที่ได้ไปปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร แล้วปิเปตสารละลายที่ได้มา 10 มิลลิลิตร นำไปเทลงในส่วนที่ใช้สำหรับกลั้นของเครื่อง Markham Semi-micro Kjeldahl distillation เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 50 % ลงไป 15 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกแก้ว กลั่นไนโตรเจนในรูปแอมโมเนีย โดยใช้ Steam Distillation ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายบอริกความเข้มข้น 2 % จำนวน 10 มิลลิลิตรและเทธิลเรดอินดิเคเตอร์ 2 – 3 หยด กลั่นนาน 10 – 15 นาที แล้วล้างปลายคอนเดนเซอร์ด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย นำของเหลวที่กลั่นได้ทั้งหมดไปไตเตรทกับสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.05 โมดาร์ บันทึกปริมาตรกรดที่ใช้เพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการคำนวณ

ปริมาณไนโตรเจนร้อยละโดยน้ำหนัก = $\frac{(Va - Vb)N.H_2SO_4 \times 1.4007}{W}$

โดยที่ Va = ปริมาตรสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไตเตรทตัวอย่างมีหน่วยเป็นมิลลิลตร

Vb = ปริมาตรสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไตเตรท blank มีหน่วยเป็นมิลลิลิตร

$N.H_2SO_4$ = ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริกมีหน่วยเป็นนอร์มอล

W = น้ำหนักตัวอย่างมีหน่วยเป็นกรัม

ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AOAC, 2000

อุปกรณ์

- จานแพลตินั่มสำหรับเผา (crucible)
- เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
- เตาเผาที่อุณหภูมิไม่เกิน 500 องศาเซลเซียส
- โถแก้วดูดความชื้น (Desicator)
- ตะเกียงบุนเซ่น

วิธีการ

ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 3 – 5 กรัมใส่ใน crucible ที่ผ่านการเผาและชั่งน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไปเผาโดยใช้ตะเกียงบุนเซ่นจนกระมั่งไม่มีควันดำเกิดขึ้น จากนั้นค่อย ๆ เผาเนยแข็งในเตาเผาที่อุณหภูมิต่ำสุดเท่าที่จะทำได้ไม่เกิน 500 องศาเซลเซียส จนเกิดการเผาไหม้อย่างสมบูรณ์จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว ทำให้เย็นในโถแก้วดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักและนำมาคำนวณหาปริมาณเถ้าทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการคำนวณ

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

เมื่อ W1 เป็นน้ำหนักของจานแพลตินั่มและตัวอย่างหลังการเผา (กรัม)

W2 เป็นน้ำหนักของจานแพลตินั่ม (กรัม)

W3 เป็นน้ำหนักของจานแพลตินั่มและตัวอย่างก่อนการเผา (กรัม)

ปริมาณเกลือ ตามวิธีของ AOAC, 2000

อุปกรณ์

- ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร
- กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร
- ปิเปตขนาด 2 มิลลิลิตร
- กระดาษลิสมัส

สารเคมี

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
- สารละลายโปแตสเซียมโครเมต
- สารละลายซิลเวอร์ไนเตรท

วิธีการ

ชั่งตัวอย่างเนยแข็งมา 10 กรัมใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน นำไปทำให้เป็นกลางโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ใช้กระดาษลิสมัสเป็นอินดิเคเตอร์ ไตเตรทสารละลายทั้งหมดกับสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จุดยุติจะมีสีส้ม จดปริมาตรของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทที่ใช้ไป คำนวณหาปริมาณเกลือได้ 1 มิลลิลิตร ของสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ทำปฏิกิริยาสมมูลกันพอดีกับเกลือ 0.00585 กรัม

วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณเกลือ (\%)} = \frac{\text{ปริมาตรสารละลายซิลเวอร์ไนเตรทที่ใช้ไป(มล.)} \times 0.00585 \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเนยแข็ง}}$$

คำนวณหาเกลือใน aqueous phase ได้ดังนี้

$$\text{\% เกลือที่อยู่ใน aqueous phase} = \frac{\text{เปอร์เซ็นต์เกลือ} \times 100}{\text{\% เกลือ + \% น้ำ}}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ความเป็นกรดด่าง (pH - meter)

อุปกรณ์

เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH - meter)

วิธีการ

ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดจำนวน 10 กรัม ผสมเข้ากับน้ำกลั่น ปรับปริมาณให้ได้ 100 มิลลิลิตร นำไปใช้วัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างโดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (“Hanna” Model HI 9321) ซึ่งได้มีการปรับค่ามาตรฐานโดยใช้สารละลายมาตรฐานที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.0 และ 4.00 ตามลำดับ การวัดค่าทำได้โดยใช้ Glass electrode จุ่มลงในสารละลายตัวอย่างแล้วอ่านค่าที่ได้ออกมา

ปริมาณกรดทั้งหมด ตามวิธีของ AOAC, 2000

สารเคมี

- สารละลายฟีนอล์ฟธาลีน
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

วิธีการ

ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดจำนวน 10 กรัม ผสมเข้ากับน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 4 ปิเปตสารละลายที่กรองได้จำนวน 25 มิลลิลิตรมาไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซม์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ที่ผ่านการ Standardized กับสารละลายไฮโดรเจนพาธาเลต (KHP) โดยมีสารละลายฟีนอล์ฟธาลีนเป็นอินดิเคเตอร์จนได้จุดยุติเป็นสีชมพูอ่อน ๆ ที่คงตัวอย่างน้อย 30 วินาที คำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแลคติค

วิธีการคำนวณ

1 มิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ทำปฏิกิริยาสมมูลย์พอดีกับกรดแลคติค 0.009 กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

คุณภาพทางจุลชีววิทยา

ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี Total plate count และปริมาณเชื้อยีสต์และรา (yeast and mold) (เรณู, 2537)

เครื่องมือ/เครื่องแก้ว

- ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
- จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส และ37 ± 1 องศาเซลเซียส

สารละลายสำหรับเจือจางและอาหารเลี้ยงเชื้อ

- สารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1 % (Peptone water) (Difco Laboratory, USA)
- อาหารแข็ง Total plate count agar (Difco Laboratory, USA)
- อาหารแข็ง Potato dextrose agar (Difco Laboratory, USA)

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count agar)

- Pancreatic digest of casein	5	กรัม
- Yeast extract	2.5	กรัม
- กลูโคส (Glucose)	1	กรัม
- ผงวุ้น (Agar)	15	กรัม

ผสมส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำกลั่น 1 ลิตร กวนให้เข้ากันต้มจนเดือดเพื่อให้ส่วนผสมทั้งหมดละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที อาหารที่ได้ควรมีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7.0 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อตรวจหาเชื้อราและยีสต์ (Potato dextrose agar)

- Potato, infusion form	200	กรัม
- Dextrose	20	กรัม
- ผงวุ้น (Agar)	15	กรัม

ผสมส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำกลั่น 1 ลิตร กวนให้เข้ากัน ต้มจนเดือดเพื่อให้ส่วนผสมละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที อาหารที่ได้

ควรมีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.6 $\pm$ 0.2 และปรับความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 3.5 เพื่อป้องกันการเจริญของแบคทีเรีย โดยใช้สารละลายกรดทาร์ทาริคเข้มข้น 10 % ที่ผ่านการฆ่าเชื้อจำนวน 1.8 มิลลิลิตร ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร ทำการผสมที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

วิธีการ

การเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัมผสมลงในสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1 % ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 90 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ตัวอย่างที่มีความเจือจาง 1 : 10 ปั่นผสมด้วยเครื่อง Stomacher นาน 2 นาที
2. ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1 : 10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงหลอดทดลองที่มีสารละลาย เปปโตน 9 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างที่เจือจาง 1 : 100
3. เจือจางส่วนผสมที่ได้ด้วยสารละลายเปปโตนจนได้ระดับความเจือจาง (Dilution) ที่เหมาะสม

การเพาะเชื้อและการบ่มเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อราและยีสต์

1. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางมา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ โดยทำ 2 ซ้ำ ในแต่ละระดับความเจือจาง
2. ในตัวอย่างที่ตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมด เทอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar (PCA) ลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นและกลับจาน นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 $\pm$ 3 ชั่วโมง
3. ในตัวอย่างที่ตรวจหาเชื้อราและยีสต์ เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็นและกลับจาน นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นับเชื้อยีสต์เมื่อเพาะเชื้อนาน 2 วัน ส่วนเชื้อรานับปริมาณเชื้อเมื่อเพาะเชื้อนาน 3 – 4 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 – 300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีในการทำซ้ำแต่ละระดับความเจือจาง รายงานผลการตรวจนับเป็นจำนวนหัวเชื้อในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (cfu/g) หรือ log 10 โคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (log cfu/g)

ปริมาณของเชื้อที่สร้างกรดแลคติค (*Lactococcus lactis* ssp *lactis, Lactococcus lactis* ssp *cremoris*) ตามวิธีของ เรณู (2537)

วิธีการ

เครื่องมือ/เครื่องแก้ว

- จานเพาะเชื้อ (petri dish)
- ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ควบคุมอุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส

สารละลายสำหรับเจือจางและอาหารเลี้ยงเชื้อ

- สารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1 % (Peptone water) (Difco Laboratory, USA)
- อาหารแข็ง MRS agar (Merck, Germany)
- สารย้อมสี (Dye solution)

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (MRS agar)

- เปปโตนจากคาเซอีน	10	กรัม
- กลูโคส (Glucose)	20	กรัม
- Meat extract	8	กรัม
- Yeast extract	4	กรัม
- ผงวุ้น	14	กรัม
- Magnesium sulfate	0.2	กรัม
- di–Potassium hydrogen phosphate	2	กรัม
- di-Ammonium hydrogen citrate	2.0	กรัม
- Manganese sulfate	0.04	กรัม
- Tween 80	1	กรัม
- Sodium acetate	5	กรัม

ผสมส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำกลั่น 1 ลิตร กวนให้เข้ากัน ต้มจนเดือดเพื่อให้ส่วนผสมทั้งหมดละลาย นำไปฆ่าเชื้อภายใต้ความดันและอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที อาหารที่ได้ควรมีความเป็นกรดด่าง 5.2 ± 0.2 ก่อนใช้อาหาร MRS agar ให้เติมสารย้อมสีจำนวน 4 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารย้อมสี (Dye solution)

ละลาย Bromcresol purple 0.1 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 M

วิธีการ

การเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัมผสมลงในสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1 % ซึ่งนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 90มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ตัวอย่างที่มีความเจือจาง 1 : 10 ปั่นผสมด้วยเครื่อง Stomacher นาน 2 นาที
2. ให้ปิเปตดูดสารตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1 : 10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร จะได้อาหารที่เจือจาง 1 : 100
3. เจือจางส่วนผสมที่ได้ด้วยสารละลายเปปโตนจนได้ระดับความเจือจาง (Dilution) ที่เหมาะสม

การเพาะเชื้อและการบ่มเชื้อ

1. ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางมา 1 มิลลิลิตรใส่ลงในจานอาหารเพาะเชื้อ โดยทำ 2 ซ้ำโดยในแต่ละระดับความเจือจาง
2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อทับลงไปบนผิวหน้าบาง ๆ ทิ้งไว้ให้เย็นและกลับจาน บ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30 – 300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีในการทำซ้ำแต่ละระดับความเจือจาง รายงานผลการตรวจนับเป็นจำนวนแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (cfu/g) หรือ log 10 ของจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (log cfu/g)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์หาปริมาณโคลิฟอร์มและอีโคไล (Coliform และ Escherichia coli) โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (Most Probable Number) (เรณู, 2537)

เครื่องมือ/เครื่องแก้ว

- ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
- หลอดดูแรม (Durham tube)
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- หลอดทดลองขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร
- ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส และ 44 ± 0.5 องศาเซลเซียส

สารละลายสำหรับเจือจางและอาหารเลี้ยงเชื้อ

- อาหารเหลว Lauryl Tryptose broth (Difco Laboratory, USA)
- สารละลายเปปโตนเข้มข้น 0.1 % (Peptone water) (Difco Laboratory, USA)
- อาหารเหลว Brilliant green lactose bile broth (Difco Laboratory, USA)

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl tryptose broth

- Tryptose peptone	20	กรัม
- แลกโตส (Lactose)	5	กรัม
- Dipotassium phosphate	2.75	กรัม
- Monopotassium phosphate	2.75	กรัม
- โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride)	5	กรัม
- Sodium lauryl sulfate	0.1	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร อาหารที่ได้ควรมีความเป็น กรด – ด่างที่ 6.8 ± 0.2 บรรจุลงในหลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตร ใส่หลอดดูแรมในลักษณะคว่ำลง นำไปฆ่าเชื้อภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียนกรีนแลคโตสไบล์บรอท

- เปปโตนจากเนื้อ 10 กรัม
- แลกโตส (Lactose) 20 กรัม
- บริลเลียนกรีน (Brilliant green) 0.0133 กรัม
- น้ำดีวัวแห้ง 20 กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นจนได้ปริมาณ 1 ลิตร อาหารที่ได้ควรมีความเป็นกรด – ด่าง 7.0 $\pm$ 0.2 (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส) บรรจุในหลอดทดลองหลอดละ 10 มิลลิลิตร ใส่หลอดดูแรมในลักษณะคว่ำลง และนำไปฆ่าเชื้อภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

วิธีการ

1. การตรวจนับแบคทีเรียที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์ม (Presumptive coliform)

1.1 ชั่งตัวอย่าง 10 กรัมผสมลงในสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1 % ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 90 มิลลิลิตรเพื่อให้ได้ตัวอย่างที่มีความเจือจาง 1:10 ปั่นผสมด้วยเครื่อง Stomacher นาน 2 นาที

1.2 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร จะได้อาหารที่เจือจาง 1 : 100

1.3 เจือจางอาหารจนได้ความเจือจาง 1:1000

1.4 ปิเปตตัวอย่างที่ความเจือจาง 1:10 1:100 และ 1:1000 ความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร จำนวน 3 ซ้ำ ใส่ในหลอดทดลองอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl tryotose broth ที่มีหลอดดูแรมบรรจุอยู่ด้วย

1.5 นำตัวอย่างไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 – 48 ชั่วโมง

1.6 หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดแล้ว ตรวจนับจำนวนหลอดทดลองที่มีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดดูแรม แล้วเทียบตามตารางแมคคราดี รายงานผลเป็น MPN/g

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การยืนยันโคลิฟอร์ม

ทำการยืนยันโคลิฟอร์มโดยใช้ห่วง (Loop) เขี่ยเชื้อจากหลอดทดลองที่ให้ปฏิกิริยาเป็นบวกจากการทดลองที่คาดว่าเป็นโคลิฟอร์มลงในอาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียนกรีนแลคโตสไบร์บรอท บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง ถ้ามีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดดูแรมแสดงว่าเป็นโคลิฟอร์มแบคทีเรียจริง

3. การตรวจแบคทีเรียที่คาดว่าเป็นอีโคไล (Presumptive *E. coli*)

3.1 ตรวจหาเชื้อแบคทีเรียที่คาดว่าจะเป็น *E. coli* โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อปลายตรงเขี่ยจากหลอดทดสอบที่ได้ผลคาดว่ามีแบคทีเรียโคลิฟอร์มลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อบริลเลียนกรีนแลคโตสไบร์บรอทจำนวน 10 มิลลิลิตร

3.2 บ่มหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 44.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง หลอดที่มีแก๊สเกิดขึ้นแสดงว่าในอาหารมีแบคทีเรียคาดว่าเป็น *E. coli* ให้ทำการทดลองยืนยันต่อไป

4. การยืนยันอีโคไล

4.1 เขี่ยเชื้อจากหลอดทดลองที่คาดว่าเป็น *E. coli* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้ออีโอซินเมทิลีนบลูเอการ์ บ่มจานเลี้ยงเชื้อที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง ตรวจหาโคโลนีที่เป็นลักษณะเฉพาะของ *E. coli* โดยโคโลนีจะคล้ายโคลีฟอร์มแต่มีสีเลื่อมมัน อมเขียว สะท้อนแสง

4.2 ทดสอบยืนยันเพิ่มเติมเกี่ยวกับโคลีฟอร์มและอีโคไลโดยใช้ IMVIC test ถ้าให้ผลเป็น ++ - - และการเคลื่อนที่ให้ผลเป็นบวก ให้นับจำนวนจานเลี้ยงเชื้อที่เกิดอีโคไลรายงานค่าเป็น MPN/g

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ ค-1 ตารางแมคคราดี (Mc Crady's Table)

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก			MPN/g
ระดับความเจือจาง 1:10	ระดับความเจือจาง 1:100	ระดับความเจือจาง 1:1000	
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

หมายเหตุ: ตารางแมคคราดีแสดงความเป็นไปได้ของปริมาณโคลิฟอร์มที่ได้จากการประเมินวิธี MPN ในอาหาร 1 กรัม เทียบจากหลอดทดลองที่ให้ผลบวก โดย 3 หลอดมีตัวอย่างอาหารเจือจางที่ 1:10 จำนวน 1 มิลลิลิตร อีก 3 หลอดมีตัวอย่างอาหารเจือจาง 1:100 จำนวน 1 มิลลิลิตร และอีก 3 หลอดมีตัวอย่างอาหารเจือจางที่ 1:1000 จำนวน 1 มิลลิลิตร

ที่มา : Vanderzant and Splittstoesser (1992)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

การทดสอบความชอบด้านสี กลิ่น รสชาด เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม (Preference test)

ให้ผู้ทดสอบชิมที่เป็นผู้บริโภคทั่วไป ทำการทดสอบความชอบด้านสี กลิ่น รสชาด เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมที่มีต่อผลิตภัณฑ์ โดยใช้แบบทดสอบ Hedonic scale scoring test ในเสกลความชอบ 9 จุด แสดงดังภาพที่ 1 ซึ่งจะทำการแปรระดับความรู้สึกของผู้ทดสอบเป็นตัวเลข เช่น ชอบมากที่สุดมีคะแนนเป็น 9 และไม่ชอบมากที่สุดมีคะแนนเป็น 1 (ไพโรจน์, 2539)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

HEDONIC SCALE SCORING TEST
(PREFERENCE TEST)

ชื่อผู้ทดสอบชิม.....วันที่.....

ชื่อผลิตภัณฑ์.....

คำชี้แจง โปรดทดสอบตัวอย่างต่อไปนี้ ในด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม และให้ระดับความชอบและไม่ชอบต่อผลิตภัณฑ์แต่ละตัวอย่าง ใช้เสกลที่เหมาะสมเพื่อแสดงให้เห็นว่าท่าน รู้สึกชอบและไม่ชอบระดับใด โปรดให้เหตุผลในการอธิบายความรู้สึกของท่านด้วย

ท่านเป็นผู้ทดสอบผู้หนึ่งที่สามารถบอกว่าท่านชอบผลิตภัณฑ์ใด ในระดับความชอบอย่างไร การแสดงความรู้สึกของท่านอย่างแท้จริงจะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการทดลองครั้งนี้

ระดับความชอบ 9 = ชอบมากที่สุด, 8 = ชอบมาก, 7 = ชอบปานกลาง, 6 = ชอบเล็กน้อย, 5 = เฉยๆ, 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย, 3 = ไม่ชอบปานกลาง, 2 = ไม่ชอบมาก และ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด

ลักษณะด้านที่ทดสอบ	ผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง		
	515	648	237
สี	……..	…….	……..
กลิ่น	……..	…….	……..
รสชาติ	……..	…….	……..
เนื้อสัมผัส	……..	…….	……..
ความชอบโดยรวม	……..	…….	……..

เหตุผลของความชอบหรือไม่ชอบผลิตภัณฑ์

515.....

648.....

237.....

ภาพที่ ค-1 แบบทดสอบความชอบโดยวิธี Hedonic scale scoring test

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง

ตัวอย่างผลการคำนวณทางสถิติและการแปลผลการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ ง-1 แสดงตารางที่คำนวณได้จากโปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 10.0 ของไขมันของเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 , 30, 60, 90, 120, 150, และ 180 วัน

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	zero	49.159[a]	6	8.193	3.511	.025
	thirty	34.261[b]	6	5.710	2.565	.069
	sixty	42.092[c]	6	7.015	13.701	.000
	ninety	410.129[d]	6	68.355	27.260	.000
	one.twenty	108.047[e]	6	18.008	116.533	.000
	one.fifty	41.976[f]	6	6.996	13.757	.000
	one.eigthty	41.976[f]	6	6.996	13.757	.000
Intercept	zero	23558.012	1	23558.012	10095.838	.000
	thirty	22009.360	1	22009.360	9887.376	.000
	sixty	23978.533	1	23978.533	46829.126	.000
	ninety	17292.187	1	17292.187	6896.096	.000
	one.twenty	20418.017	1	20418.017	132129.2	.000
	one.fifty	23980.560	1	23980.560	47155.595	.000
	one.eigthty	23980.560	1	23980.560	47155.595	.000
trt	zero	49.159	6	8.193	3.511	.025
	thirty	34.261	6	5.710	2.565	.069
	sixty	42.092	6	7.015	13.701	.000
	ninety	410.129	6	68.355	27.260	.000
	one.twenty	108.047	6	18.008	116.533	.000
	one.fifty	41.976	6	6.996	13.757	.000
	one.eigthty	41.976	6	6.996	13.757	.000
Error	zero	32.668	14	2.333		
	thirty	31.164	14	2.226		
	sixty	7.169	14	.512		
	ninety	35.105	14	2.508		
	one.twenty	2.163	14	.155		
	one.fifty	7.120	14	.509		
	one.eigthty	7.120	14	.509		
Total	zero	23639.838	21			
	thirty	22074.786	21			
	sixty	24027.793	21			
	ninety	17737.421	21			
	one.twenty	20528.228	21			
	one.fifty	24029.656	21			
	one.eigthty	24029.656	21			
Corrected Total	zero	81.827	20			
	thirty	65.425	20			
	sixty	49.260	20			
	ninety	445.234	20			
	one.twenty	110.211	20			
	one.fifty	49.096	20			
	one.eigthty	49.096	20			

a. R Squared = .601 (Adjusted R Squared = .430)

b. R Squared = .524 (Adjusted R Squared = .320)

c. R Squared = .854 (Adjusted R Squared = .792)

d. R Squared = .921 (Adjusted R Squared = .887)

e. R Squared = .980 (Adjusted R Squared = .972)

f. R Squared = .855 (Adjusted R Squared = .793)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หลักการพิจารณาจากตารางในช่องของค่า sig. ถ้าค่านี่มีค่าน้อยกว่า 0.05(เนื่องจากทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) แสดงว่าในเนยแข็งแต่ละรสชาตินั้นมีค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากนั้นจึงให้โปรแกรมคำนวณค่าความแตกต่างของเนยแข็งแต่ละรสออกมาได้ดังตารางที่ ง-2 ซึ่งหลักในการใช้โปรแกรม SPSS สามารถศึกษาได้จากหนังสือการใช้โปรแกรม SPSS ทั่วไป

ตารางที่ ง-2 แสดงตารางที่คำนวณความแตกต่างระหว่างเนยแข็งรสสมุนไพรแต่ละชนิดได้จากโปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 10.0 ของไขมันของเนยแข็งเชดดาร์กลิ่นรสหอมแดง ข่า และตะไคร้ ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 0 วัน

zero

Duncan[a,b,c]

trt	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3
1	3	31.3503		
2	3	32.1573		
6	3	32.4526	32.4526	
5	3	33.5082	33.5082	33.5082
3	3	33.8524	33.8524	33.8524
4	3		35.2507	35.2507
7	3			35.8825
Sig.		.089	.056	.100

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = 2.333.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = .05.

เมื่อคำนวณค่าความแตกต่างระหว่างเนยแข็งแต่ละรสแล้วหลักการแปรผลคือ ค่าเฉลี่ยของเนยแข็งรสใดที่อยู่ในช่อง Subset เดียวกันจะให้อักษรกำกับตัวเดียวกัน และกำกับใต้ตารางแสดงผลในผลการทดลองทุกครั้งเป็นหมายเหตุ ว่าค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่มีอักษรไม่เหมือนกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก จ

ข้อกำหนดทางกฎหมาย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

(ฉบับที่ 209) พ.ศ.2543

เรื่อง เนยแข็ง

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง เนยแข็ง

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา 5 และมาตรา 6(3)(4)(5)(6)(7) และ (10) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 อันเป็นพระราชบัญญัติที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและ เสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา 29 ประกอบกับมาตรา 35 มาตรา 48 และมาตรา 50 ของรัฐธรรมนูญแห่ง ราชอาณาจักรไทยบัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมายรัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ดังต่อไปนี้

ข้อ 1 ให้ยกเลิกประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 31 (พ.ศ.2522) เรื่อง กำหนดเนยแข็ง (Cheese) เป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน ลงวันที่ 13 กันยายน พ.ศ. 2522

ข้อ 2 ให้เนยแข็งเป็นอาหารที่กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน

ข้อ 3 เนยแข็ง หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำนม ครีมบัตเตอร์มิลค์ (Butter Milk) หรือเวย์ (Whey) อย่างหนึ่งอย่างใดหรือหลายอย่างมาผสมกับเอนไซม์ (Enzyme) หรือกรด หรือจุลินทรีย์ จนเกิดการรวมตัวเป็นก้อนแล้วแยกส่วนที่เป็นน้ำออก และจะนำมาใช้ในลักษณะสดหรือนำมาบ่มให้ได้ที่ก่อนใช้

ข้อ 4 เนยแข็ง แบ่งออกเป็น 5 ชนิด ดังต่อไปนี้

(1) ครีมชีส (Cream Cheese) หมายความว่า เนยแข็งตามข้อ 3 ที่ใช้ครีมเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิต

(2) โฮลมิลค์ชีส (Whole Milk Cheese) หมายความว่า เนยแข็งตามข้อ 3 ที่ใช้นมเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิต

(3) สกิมมิลค์ชีส (Skimmed Milk Cheese) หมายความว่า เนยแข็งตามข้อ 3 ที่ใช้นมพร่องมันเนยหรือนมขาดมันเนย หรือบัตเตอร์มิลค์ หรือเวย์ เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิต

(4) โพรเซสชีส (Processed Cheese) หมายความว่า เนยแข็งตามข้อ 3 ซึ่งได้ผ่านกรรมวิธีทำให้เล็กลง เติมสารอีมัลซิฟาย และนำมาพาสเจอร์ไรส์ และจะแต่งสี กลิ่น รสหรือไม่ก็ได้

(5) เนมชีส (Named Cheese) หมายความว่า เนยแข็งตามข้อ 3 ที่มีชื่อตามชนิดของเนยแข็งหรือสถานที่ผลิต ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปและมีกรรมวิธีการผลิตเฉพาะตามชนิดของเนยแข็งนั้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ข้อ 5 เนยแข็งตามข้อ 4(1) ถึง 4(4) ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

(1) มีมันเนยคำนวณโดยไม่รวมน้ำ ดังต่อไปนี้

(1.1) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 60 ของน้ำหนัก สำหรับครีมชีส

(1.2) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 50 ของน้ำหนัก สำหรับโฮลมิลค์ชีส

(1.3) ไม่ถึงร้อยละ 45 ของน้ำหนัก สำหรับสกิมมิลค์ชีส

(1.4) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 45 ของน้ำหนัก สำหรับโพรเซสชีส

(2) มีน้ำได้ ดังต่อไปนี้

(2.1) ไม่เกินร้อยละ 55 ของน้ำหนัก สำหรับครีมชีส

(2.2) ไม่เกินร้อยละ 37 ของน้ำหนัก สำหรับโฮลมิลค์ชีส

(2.3) ไม่เกินร้อยละ 60 ของน้ำหนัก สำหรับสกิมมิลค์ชีส

(2.4) ไม่เกินร้อยละ 45 ของน้ำหนัก สำหรับโพรเซสชีส

(3) ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

(4) ไม่มีสารเป็นพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ

ข้อ 6 เนยแข็งตามข้อ 4(5) ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 5(3) และ 5(4) และมีคุณภาพหรือมาตรฐานอื่นตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเห็นชอบด้วย

ข้อ 7 การใช้วัตถุเจือปนอาหาร ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องวัตถุเจือปนอาหาร

ข้อ 8 ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าเนยแข็งเพื่อจำหน่าย ต้องปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร

ข้อ 9 การใช้ภาชนะบรรจุเนยแข็ง ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องภาชนะบรรจุ

ข้อ 10 การแสดงฉลากเนยแข็ง ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องฉลาก

ข้อ 11 ให้ใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับอาหารหรือใบสำคัญการใช้ฉลากอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 31 (พ.ศ.2522) เรื่อง กำหนดเนยแข็ง (Cheese) เป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน ลงวันที่ 13 กันยายน พ.ศ.2522 ซึ่งออกให้ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับยังคงใช้ต่อไปได้อีกสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 12 ให้ผู้ผลิต ผู้นำเข้าเนยแข็งที่ได้รับอนุญาตอยู่ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ ยื่นคำขอรับเลขสารอาหารภายในหนึ่งปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ เมื่อยื่นคำขอดังกล่าวแล้วให้ได้รับการผ่อนผันการปฏิบัติตามข้อ 8 ภายในสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ และให้คงใช้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ฉลากเดิมที่เหลืออยู่ต่อไป จนกว่าจะหมดแต่ต้องไม่เกินสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 13 ประกาศนี้ ให้ใช้บังคับเมื่อพ้นกำหนดหนึ่งร้อยแปดสิบวันนับแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ 19 กันยายน พ.ศ.2543

กร ทัพพะรังสี

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

(ราชกิจจานุเบกษาฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 118 ตอนพิเศษ 6 ง. ลงวันที่ 24 มกราคม พ.ศ.2544)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

CODEX INTERNATIONAL INDIVIDUAL STANDARD FOR CHEDDAR
CODEX STAN C-1-1966

1 DESIGNATION OF CHEESE
Cheddar
2 DEPOSITING COUNTRY
United Kingdom (country of origin)
3 RAW MATERIALS
3.1 KIND OF MILK: cow's milk
3.2 AUTHORIZED ADDITIONS
3.2.1 Necessary additions
- cultures of harmless lactic acid producing bacteria (starter)
- rennet or other suitable coagulating enzymes
- sodium chloride

3.2.2 Optional additions
- calcium chloride, max. 200 mg/kg of the milk used
- annatto1 and beta carotene, singly or in combination, max. 600 mg/kg of cheese
- sorbic acid and its sodium and potassium salts, max. 1000 mg/kg calculated as sorbic acid
- a preparation of safe and suitable enzymes of animal or plant origin capable of aiding in the curing or development of flavour of Cheddar cheese may be added during the procedure, in such quantity that the weight of the solid of such preparation is not more than 1000 mg/kg of the milk used

4 PRINCIPAL CHARACTERISTICS OF THE CHEESE READY FOR CONSUMPTION
4.1 TYPE (CONSISTENCY): hard pressed
4.2 SHAPE: cylindrical or block (cuboid)
4.3 DIMENSIONS AND WEIGHTS: various
4.4 RIND
4.4.1 Consistency: hard
4.4.2 Appearance: smooth, may be coated with wax or cloth wrapped
4.4.3 Colour: pale straw through dark straw to orange; rindless blocks may be in air-tight, flexible film.
4.5 BODY
4.5.1 Texture: firm, smooth and waxy
4.5.2 Colour: uniform, pale straw through dark straw to orange
4.6 HOLES: gas holes should be absent; none to few mechanical openings
4.7 MINIMUM FAT CONTENT IN DRY MATTER: 48%
4.8 MAXIMUM MOISTURE CONTENT: 39%
MINIMUM DRY MATTER CONTENT: 61%
4.9 OTHER PRINCIPAL CHARACTERISTICS: normally consumed mild from three months or mature up to twelve months or more. Flavour typical of the variety, varying in intensity from mild to sharp and typical of ripening controlled by lactic acid producing bacteria.
5 METHOD OF MANUFACTURE
5.1 Method of coagulation: rennet or other suitable coagulating enzymes.
5.2 HEAT TREATMENT

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5.2.1 Heat treatment of the milk: milk for cheese-making may be raw, heat treated or pasteurized to 161°F (71.7°C) for 15 seconds.

5.2.2 Heat treatment of the coagulum: the curd is subsequently cut and scalded to 100° - 106°F (37.5°- 40°C) depending on the season.

5.3 FERMENTATION PROCEDURE: 1.0 – 2.5% lactic starter is added to the milk, to give a ripening period of up to two hours before rennetting.

5.4 MATURATION PROCEDURE: after scalding the curd, it is stirred until slight acid development, customarily 0.18 or 0.19% expressed as lactic acid, is reached. The whey is run off and the process of "cheddaring" (which may take place in a separate container) continues, during which the curd is cut into blocks, which are turned and progressively piled. During this process the curd is kept warm and the drainage of whey, together with the development of acidity, results in the curd becoming compressed smooth and elastic. When a substantial acidity which may reach 0.90% expressed as lactic acid has been reached, the curd is milled. About 2.0 – 2.5% salt is added to the curd to give 1.5 – 1.8% salt in the cheese. The curd is then mixed and moulded. The cheeses are stored and subsequently graded. They may mature in store for 3-12 months according to temperature of the store and degree of maturity required.

6 SAMPLING AND ANALYSIS

See Volume 13 of the *Codex Alimentarius*.

7 MARKING AND LABELLING

Only cheese conforming with this standard may be designated "Cheddar". It shall be labelled in conformity with the appropriate sections of Article 4 of FAO/WHO Standard A.6, "General Standard for Cheese".

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นามสกุล	นางสาววารุณี ตองหว้าน
วัน เดือน ปีเกิด	18 ตุลาคม 2523
ภูมิลำเนา	12 หมู่ 2 ตำบลเขาหลวง อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย 42130
ประวัติการศึกษา	มัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียนศรีสงครามวิทยา จังหวัดเลย 2541 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล คณะเกษตรศาสตร์บางพระ จังหวัดชลบุรี 2545

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved