ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาคผนวก ก
ภาพส่วนผสม เชื้อเริ่มต้น และผลิตภัณฑ์นมหมัก

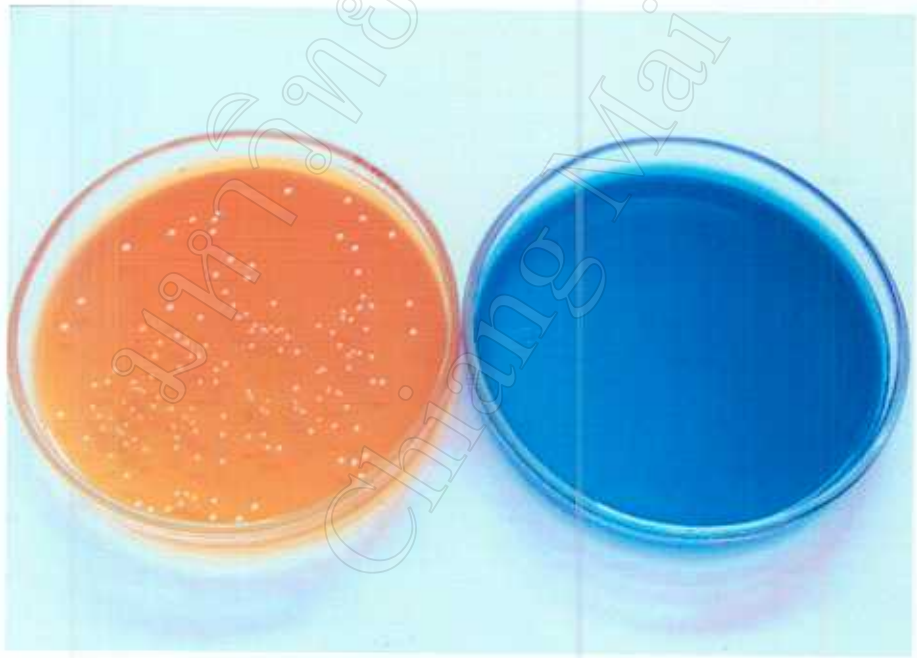
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพที่ ก-1 ส่วนผสมแห้งที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมหมัก

ภาพที่ ก-2 ผลิตภัณฑ์นมหมักคล้ายโยเกิร์ตเทียบกับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตตราดัชชี่
ซ้าย คือผลิตภัณฑ์นมหมักคล้ายโยเกิร์ต ขวา คือ โยเกิร์ตตราดัชชี่

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ภาพที่ ก-3 เชื้อเริ่มต้น *Bifidobacterium bifidum* Bb-12
ย้อมสีกรัม กำลังขยาย 1,000 เท่า



ภาพที่ ก-4 การเจริญเติบโตของ *B. bifidum* Bb-12 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ HHD agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมงในสภาพไร้ออกซิเจน

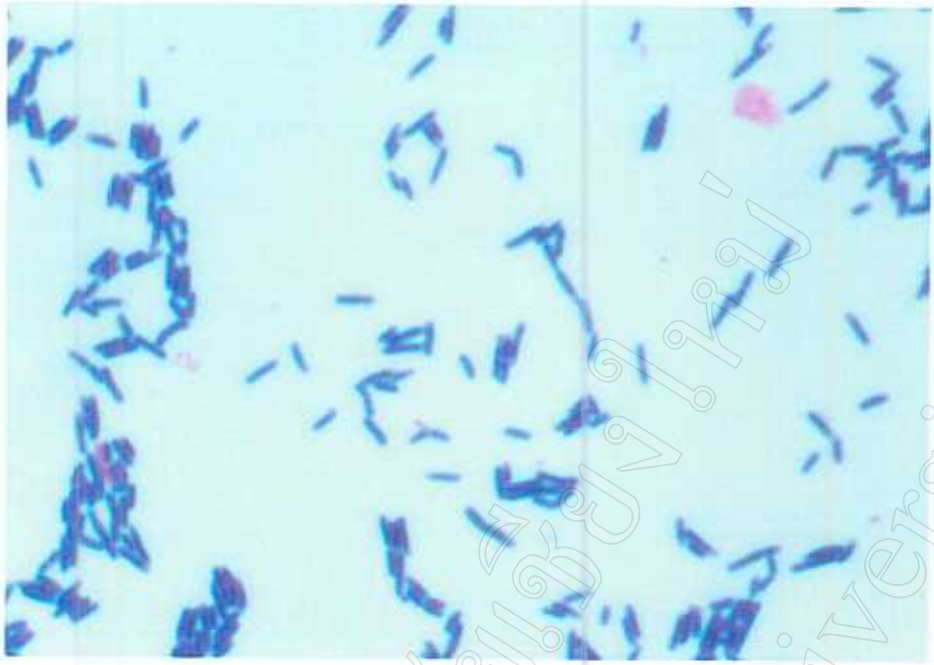
ซ้าย MRS agar ขวา HHD agar จะเห็นว่า *B. bifidum* ไม่เจริญบน HHD agar

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

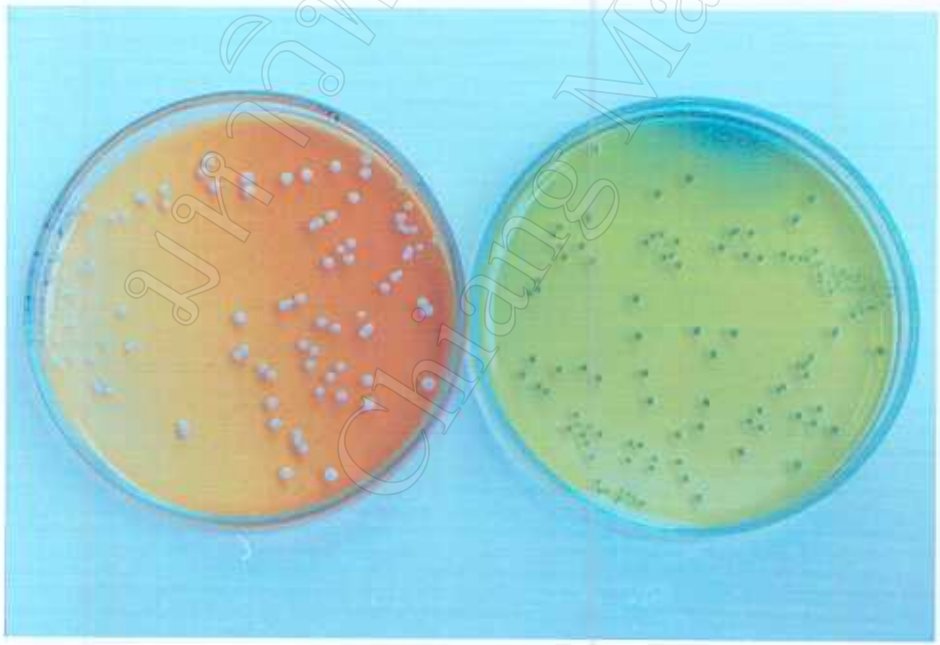
ภาพที่ ก-5 เชื้อเริ่มต้น *Lactobacillus acidophilus* La-5
ย้อมสีกรัม กำลังขยาย1,000 เท่า

ภาพที่ ก-6 การเจริญเติบโตของ *L. acidophilus* La-5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ HHD agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมงในสภาพไร้ออกซิเจน
ซ้าย MRS agar ขวา HHD agar

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



ภาพที่ ก-7 เชื้อเริ่มต้น *Lactobacillus casei* Lc-01
ย้อมสีกรัม กำลังขยาย1,000 เท่า



ภาพที่ ก-8 การเจริญเติบโตของ *L. casei* Lc-01 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ HHD agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมงในสภาพไร้ออกซิเจน
ซ้าย MRS agar ขวา HHD agar

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาคผนวก ช
แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

แบบสำรวจผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส

ชื่อ.....วันที่.....

1. ลักษณะปรากฏ

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2. ลักษณะเนื้อสัมผัส

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

3. กลิ่นและรสชาติ

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

แบบทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์

ชื่อ.....วันที่.....

ผลิตภัณฑ์ โยเกิร์ต

จงเขียนคำที่ท่านอยากอธิบายลักษณะแต่ละลักษณะของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต กำหนดเครื่องหมาย X ในตำแหน่งที่ท่านคิดว่าลักษณะนั้นๆของผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบเป็นลงบนสเกล พร้อมทั้งกำหนดหมายเลขของตัวอย่างไว้ด้านบนของเครื่องหมาย X และกำหนดเครื่องหมาย I ในที่ที่ท่านคิดว่าลักษณะนั้นๆของผลิตภัณฑ์ควรจะเป็น หรือดีเลิศที่สุดบนสเกล เส้นสเกลมีความยาว 15 เซนติเมตร ท่านต้องคิดจากปลายเส้นทั้งสองด้าน แบบทดสอบนี้มี 3 หน้า

ลักษณะปรากฏ

สี

สีขาว — สีเหลือง

ลักษณะเนื้อ

หยาบ — เนียน

การแยกตัวของน้ำ (Whey off)

แยกน้อย — แยกมาก

เนื้อสัมผัส

เนื้อโยเกิร์ต

หยาบ — ละเอียด

ความรู้สึกในปาก

ติดปากติดคอ ลื่นคอ

ความเข้มข้น

เจือจาง เข้มข้น

ความขันหนืด

เหลว ข้นหนืดมาก

กลิ่นและรสชาติ

กลิ่นนม

อ่อน แรง

กลิ่นเปรี้ยว

อ่อน แรง

รสเปรี้ยว

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

เปรี้ยวน้อย เปรี้ยวมาก

รสหวาน

หวานน้อย หวานมาก

การยอมรับรวม

ยอมรับน้อย ยอมรับมาก

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

.....

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ชื่อ.....วันที่.....

ผลิตภัณฑ์ โยเกิร์ต

จงเขียนคำที่ท่านอยากอธิบายลักษณะแต่ละลักษณะของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต กำหนดเครื่องหมาย X ในที่ที่ท่านคิดว่าลักษณะนั้นๆของผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบเป็นลงบนสเกล พร้อมทั้งกำหนดหมายเลขของตัวอย่างไว้ด้านบนของเครื่องหมาย X เส้นสเกลมีความยาว 15 เซนติเมตร ท่านต้องคิดจากปลายเส้นทั้งสองด้าน แบบทดสอบนี้มี 3 หน้า

ลักษณะปรากฏ

สี

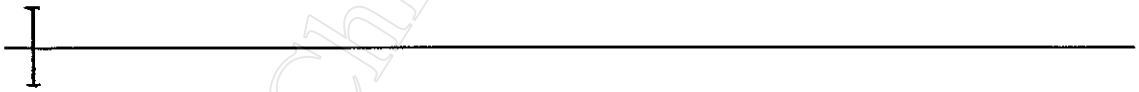
สีขาว — สีเหลือง

ลักษณะเนื้อ

หยาบ — เนียน

การแยกตัวของน้ำ (Whey off)

แยกน้อย — แยกมาก



เนื้อสัมผัส

เนื้อโยเกิร์ต

หยาบ — ละเอียด

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ความรู้สึกในปาก

ติดปากติดคอ ลื่นคอ

ความเข้มข้น

เจือจาง เข้มข้น

ความข้นหนืด

เหลว ข้นหนืดมาก

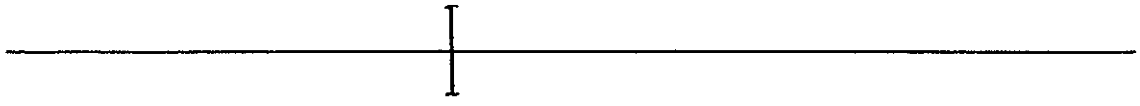
กลิ่นและรสชาติ

กลิ่นนม

อ่อน แรง

กลิ่นเปรี้ยว

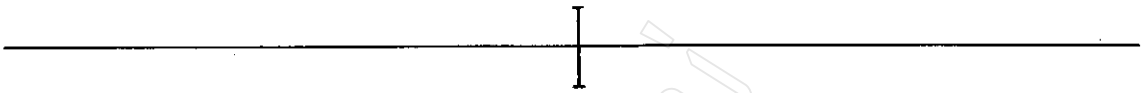
อ่อน แรง



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

รสเปรี้ยว

เปรี้ยวน้อย เปรี้ยวมาก



รสหวาน

หวานน้อย หวานมาก

การยอมรับรวม

ยอมรับน้อย ยอมรับมาก

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

.....

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาคผนวก ค
วิธีวิเคราะห์คุณภาพ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

1. การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

1.1 การตรวจหาปริมาณเชื้อเริ่มต้น

เครื่องมือ/เครื่องแก้ว

1. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
2. ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
3. เครื่องชั่งความละเอียด 0.01 กรัม
4. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่ 50 องศาเซลเซียส
5. ตู้บ่มเพาะเชื้อ ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส
6. Anaerobic jar (Merck, Germany)
7. สารจับออกซิเจน Anaerocult A (Merck, Germany)

สารละลายสำหรับเจือจางและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลายสำหรับเจือจาง สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (NaCl, Merck, Germany) (มอก. 335/1-2523)
2. อาหารแข็ง MRS agar (Merck, Germany)
3. อาหารแข็ง HHD agar (Champagne et al., 1997; IDF, 1995)

วิธีการวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่างอาหาร

1.1.ใช้ช้อนที่ปราศจากเชื้อ ตักตัวอย่างอาหารใส่ในขวดที่มีสารละลายเจือจาง 90 มิลลิลิตร บนเครื่องชั่ง ชั่งจนได้น้ำหนัก 10 กรัม เขย่าขวดขึ้นลงอย่างแรง ระยะการเขย่า 60 เซนติเมตร 20 ครั้ง จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10

1.1.ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดสอบที่มีสารละลายสำหรับเจือจาง 9 มิลลิลิตร จะได้อาหารที่เจือจาง 1:100 (10^{-2})

1.2.เจือจางอาหารจนได้ความเจือจาง 1:1,000,000 (10^{-6})

2. การเพาะเชื้อตัวอย่างอาหาร

2.1.เตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้จนแข็งตัว คว่ำจานเพาะเชื้อ วางทิ้งไว้เป็นเวลา 1 คืน เพื่อให้หน้าวุ้นแห้ง

2.2.ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายของตัวอย่างอาหารที่เจือจางที่ 10^{-6} จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนจานที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.3.ใช้แท่งแก้วสำหรับเกลี่ย (Spreader) เกลี่ยสารละลายให้ทั่วจาน ทิ้งไว้จนหน้าวุ้นแห้ง คว่ำจานเพาะเชื้อ

3. การบ่มเชื้อ

นำจานเพาะเชื้อใส่ลงใน Anaerobic jar ใส่สารจับออกซิเจนลงไป แล้วปิดฝาให้สนิท นำไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 72-96 ชั่วโมง

4. การตรวจนับโคโลนีและการรายงานผล

4.1 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมหมักบน MRS agar หลังบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโลโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีในการทำซ้ำ รายงานผลการตรวจนับ เป็นจำนวนเชื้อเริ่มต้นในรูปของจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (cfu/g) หรือ $\log_{10}$ ของจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (log cfu/g)

4.2 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมหมักบน HHD agar หลังบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโลโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี โดยจำแนกลักษณะโคโลนีดังนี้ โคโลนีที่มีลักษณะขนาดใหญ่ ผิวด้านไม่เป็นมันวาว ค่อนข้างโปร่งแสง ส่วนนูนตรงกลางมีสีน้ำเงิน จะเป็นโคโลนีของ *L. acidophilus* ส่วนโคโลนีที่มีสีเขียวเข้มขอบโคโลนีสีขาว ผิวเป็นมันวาว คือโคโลนีของ *L. casei* รายงานผลการตรวจนับเป็นจำนวนเชื้อเริ่มต้นแต่ละชนิดในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (cfu/g) หรือ $\log_{10}$ ของจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (log cfu/g)

4.3 การคำนวณปริมาณของ *B. bifidum* โดยการนำปริมาณเชื้อเริ่มต้นรวมลบด้วยปริมาณ *L.acidophilus* และปริมาณ *L. casei* (Dave and Sha, 1996)

HHD agar

Basal medium	กรัม
น้ำตาลฟรุคโตส	2.5
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	2.5
Trypticase peptone	10.0
Phytone peptone	1.5
Casamino acids	3.0
Yeast extract	1.0
Tween 80	1.0
ผงวุ้น	20.0

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผสมส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร กวนให้เข้ากัน ต้มจนเดือด (กวนบ่อย ๆ) เพื่อให้ส่วนผสมละลายหมด ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างให้ได้ 6.8-7.0 ที่ 25 องศาเซลเซียส แบ่งอาหารใส่ในขวดปลอดเชื้อ ใบละ 200 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

สารละลายสี (Dye solution)

ละลาย Bromcresol green 0.1 กรัมในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 mol/l จำนวน 30 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จ

เติมสารละลายสี 4 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว ที่อุณหภูมิ 45-48 องศาเซลเซียส เขย่าให้เข้ากัน ก่อนใช้

1.2 การตรวจหาเชื้อยีสต์และรา (IDF Standard, 1991)

เครื่องมือ/เครื่องแก้ว

1. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
2. ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
3. เครื่องชั่งความละเอียด 0.01 กรัม
4. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่ 50 องศาเซลเซียส
5. ตู้บ่มเพาะเชื้อ ควบคุมอุณหภูมิที่ 25±1 องศาเซลเซียส

สารละลายสำหรับเจือจางและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลายสำหรับเจือจางโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (NaCl, Merck, Germany)
2. อาหารแข็ง Yeast extract-glucose-chloramphenical agar (Difco Laboratory, USA)

วิธีการวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่างอาหาร

1.1 ใช้ช้อนที่ปราศจากเชื้อ ตักตัวอย่างอาหารใส่ในขวดที่มีสารละลายเจือจาง 90 มิลลิลิตร บนเครื่องชั่ง ชั่งจนได้น้ำหนัก 10 กรัม เขย่าขวดขึ้นลงอย่างแรง ระยะการเขย่า 60 เซนติเมตร 20 ครั้ง จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10

2. การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1 ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตรดูดสารละลายของตัวอย่างอาหารลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ความเจือจางละ 2 จาน

2.2 เทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่าง จานละ 15-20 มิลลิลิตร

2.3 ผสมตัวอย่างกับอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากัน วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัว

3. การบ่มเชื้อ

บ่มจานเพาะเชื้อที่ 25±1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

4. การตรวจนับจำนวนโคโลนีและการรายงานผล

หลังบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโลโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 10-150 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีในการทำซ้ำ รายงานผลการตรวจนับ เป็นจำนวนเชื้อเริ่มต้นในรูปโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (cfu/g) ถ้ามีหลายความเจือจาง ใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาณยีสต์และราต่อ 1 กรัม} = \frac{\Sigma C}{(n_1+0.1n_2)d}$$

โดยที่

ΣC คือ ผลรวมของโคโลนีที่นับได้บนจานเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี 10-150 โคโลนีทั้งหมด

n_1 คือ จำนวนจานเลี้ยงเชื้อในความเจือจางแรกที่สามารถนับได้

n2 คือ จำนวนจานเลี้ยงเชื้อในความเจือจางที่สองที่สามารถนับได้

d คือ ความเจือจางแรกที่สามารถนับได้ เช่นเริ่มนับได้ที่ความเจือจาง 10^{-1} d เท่ากับ 10^{-1}

1.3 การตรวจโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

เครื่องมือ/เครื่องแก้ว

1. หลอดทดลองขนาด 16x150 มิลลิเมตร
2. หลอดดักก๊าซ (Durham tube)
3. ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
4. เครื่องชั่งความละเอียด 0.01 กรัม
5. ตู้บ่มเพาะเชื้อ ควบคุมอุณหภูมิที่ 37±1 องศาเซลเซียส

สารละลายสำหรับเจือจางและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (NaCl, Merck, Germany)
2. อาหารเหลว Lauryl tryptose broth (Difco Laboratory, USA)
3. อาหารเหลว Brilliant green lactose bile broth (Difco Laboratory, USA)

วิธีการวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่างอาหาร

1.1.ใช้ช้อนที่ปราศจากเชื้อ ตักตัวอย่างอาหารใส่ลงในขวดที่มีสารละลายเจือจาง 90 มิลลิลิตร บนเครื่องชั่ง ชั่งจนได้น้ำหนัก 10 กรัม เขย่าขวดขึ้นลงอย่างแรง ระยะการเขย่า 60 เซนติเมตร 20 ครั้ง จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10

1.2.ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายสำหรับเจือจาง 9 มิลลิลิตร จะได้อาหารที่เจือจาง 1:100 (10^{-2})

1.3.เจือจางอาหารจนได้ความเจือจาง 1:1,000 (10^{-3})

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ละลายผงอาหาร Lauryl tryptose broth ลงในน้ำกลั่นตามที่กำหนด ปิเปตอาหารลงในหลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตร ใส่หลอดดักก๊าซลงไป นำไปเข้าออโต้เคลฟที่ 121 องศาเซลเซียส 15นาที

3. การใส่ตัวอย่างอาหาร

ปิเปตตัวอย่างอาหารความเจือจางที่ 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3} ความเจือจางละ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl tryptose broth ความเจือจางละ 3 หลอด รวมเป็น 9 หลอด

4. การบ่มเชื้อ

บ่มหลอดทดลองที่ใส่ตัวอย่างอาหารแล้วในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง

5. การตรวจนับโคโลนีและการรายงานผล

หลังจากบ่มเชื้อตามกำหนดแล้ว ตรวจนับจำนวนหลอดทดลองที่มีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดดักก๊าซ แล้วเทียบตามตารางที่ ค-1 รายงานผลเป็น MPN/g

6. การยืนยันผล

นำอาหารในหลอดทดลองที่มีก๊าซเกิดขึ้นหลอดละ 1 ลูป เพาะลงในหลอดทดลองที่มี Brilliant green lactose bile broth แล้วนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง ถ้ามีก๊าซเกิดขึ้นในหลอดดักก๊าซ แสดงว่าเป็นโคลิฟอร์มแบคทีเรีย

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ตารางที่ ค-1 การประมาณปริมาณโคลิฟอร์มแบคทีเรียที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สำหรับความเจือจาง 0.1, 0.01 และ 0.001 กรัม อย่างละ 3 หลอด

จำนวนหลอดที่ให้ผลบวก			
0.1 กรัม	0.01 กรัม	0.001 กรัม	MPN/g
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: Vanderzant and Splittstoesser (1992)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

2. การวิเคราะห์ทางเคมี

ปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 1995)

ชั่งหรือตวงตัวอย่างในปริมาณพอเหมาะ (20 กรัม หรือ 20 มิลลิลิตร) ลงในถ้วย เจือจางด้วยน้ำที่ปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์เป็นสองเท่าของปริมาตรที่ตวงได้ เติมฟินอล์ฟชาลีน 2 มิลลิลิตร ไตเตรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนมีสีชมพู ถ้าตวงตัวอย่างมาต้องคำนวณกลับเป็นน้ำหนักโดยใช้ความถ่วงจำเพาะ คำนวณปริมาณกรดทั้งหมดเป็นกรดแลคติก โดยที่ 1 มิลลิลิตร ของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัลทำปฏิกิริยากับกรดแลคติกได้ 0.0090 กรัม

3. การวัดสีด้วยเครื่องวัดสี ColorQuest II

เครื่องวัดสี ColorQuest II ผลิตโดย Hunter Laboratory Inc. สหรัฐอเมริกา เครื่องวัดสีนี้ต้องต่อกับเครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล IBM PC compatible ที่พอร์ตอนุกรม (Serial port) เพื่อควบคุมการทำงานของเครื่องวัดสี การเปิดเครื่องต้องเปิดเครื่องวัดสีก่อนเปิดเครื่องคอมพิวเตอร์ เพื่อให้คอมพิวเตอร์ตรวจจับเครื่องวัดสีได้ก่อนการใช้งาน ในคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคลที่ต่อกับเครื่องวัดสีต้องมีโปรแกรมใช้งานเครื่องวัดสีติดตั้งอยู่ด้วย เครื่องวัดสีนี้วัดสีได้หลายระบบ ได้แก่ Hunter L a b, CIE L a* b*, RGB, CMYK และ XYZ และสามารวัดสีของตัวอย่างได้ทั้งแบบสะท้อนแสงและแบบโปร่งแสง

การ Calibrate เครื่องวัดสี

ก่อนใช้งานต้องทำการ Calibrate เครื่องวัดสีก่อน โดยตรวจเช็คการวัดสีให้เป็นแบบ R-sin คือวัดแบบสะท้อนแสง แล้วคลิกที่ปุ่ม Calibrate นำแผ่นกระเบื้องมาตรฐานสีขาวมาวางที่ช่องวัดสี คลิก OK นำแผ่นกระเบื้องสีเทาเพื่อยืนยันการ Calibrate มาวางที่ช่องวัดสี คลิก OK เครื่องวัดสีพร้อมใช้งานแล้ว

การวัดสีตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมหมัก

ปรับรูปแบบการวัดสีเป็นแบบ R-sin (แบบสะท้อนแสง) เลือกระบบการวัดสีเป็นระบบ Hunter L a b นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมหมักตักใส่ในเซลล์วัดสี นำเซลล์วัดสีมาวางที่ช่องวัดสี คลิกปุ่ม Sample บนจอคอมพิวเตอร์ หรือกดปุ่ม F3 บนคีย์บอร์ด คอมพิวเตอร์จะสั่งให้เครื่องวัดสีส่งข้อมูลสีของผลิตภัณฑ์มายังคอมพิวเตอร์ กรอกหมายเลขตัวอย่างในช่องใส่หมายเลขตัวอย่าง คลิก OK ค่าสีของผลิตภัณฑ์จะปรากฏบนตารางบันทึกค่าสี

ค่าสีในระบบ Hunter L a b นั้น ค่า L คือความสว่าง มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 100 ค่า L น้อย ผลิตภัณฑ์มีความสว่างน้อย ค่า L มาก ผลิตภัณฑ์มีความสว่างมาก ค่าสี a คือค่าสีแดง-เขียว ถ้าค่าสี a มีค่าเป็นบวก ผลิตภัณฑ์จะมีโทนสีแดง ถ้าค่าสี a มีค่าเป็นลบผลิตภัณฑ์จะมีโทน

สีเขียว ค่าสี b คือสีเหลือง-ม่วง ถ้าค่าสี b มีค่าเป็นบวก ผลิตภัณฑ์จะมีโทนสีเหลือง ถ้าค่าสี b มีค่าเป็นลบ ผลิตภัณฑ์จะมีโทนสีม่วง

4. การวัดความข้นหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscometer

Brookfield Viscometer เป็นเครื่องวัดความข้นหนืดแบบแกนหมุน (Rotatory viscometer) ใช้วัดความข้นหนืดของอาหารที่มีความข้นหนืดปานกลาง

การ Calibrate เครื่องวัดความหนืด

เปิดสวิทช์เครื่องวัดความหนืด เอาหัววัด (Spindle) ออกจากแกนมอเตอร์ กดปุ่มใดๆ เครื่องจะทำการ Calibrate โดยอัตโนมัติ เมื่อการ Calibrate เสร็จสิ้น บนจอจะขึ้นข้อความว่าให้ใส่หัววัดได้ จึงใส่หัววัดที่จะใช้วัด หัววัดความข้นหนืดมี 7 ขนาด หัววัดหมายเลข 1 จะวัดความข้นหนืดในช่วงความข้นหนืดต่ำ หัววัดหมายเลขสูงขึ้นจะวัดความข้นหนืดในช่วงที่สูงขึ้น

การวัดความข้นหนืดตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมหมัก

การวัดความข้นหนืดต้องเลือกหัววัดและความเร็วรอบให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์โดยตักผลิตภัณฑ์นมหมักจำนวนประมาณ 400-500 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร นำบีกเกอร์ไปวางใต้เครื่องวัดความข้นหนืด ใส่หัววัดที่แกนมอเตอร์ ลดระดับเครื่องวัดความข้นหนืดลงจนหัววัดจมลงในตัวอย่างจนถึงขีดที่กำหนดบนแกนหัววัด ตรวจสอบหมายเลขหัววัดที่แสดงบนจอให้ตรงกับหัววัดที่ต่อกับแกนมอเตอร์ ตั้งความเร็วรอบในการหมุน กดสวิทช์เปิดมอเตอร์ ค่า %Torque จะปรากฏบนจอก่อน การวัดที่ทำให้ได้ค่าความหนืดที่ถูกต้องที่สุดจะต้องมี %Torque เข้าใกล้ 100 มากที่สุด การเลือกหัววัดและความเร็วรอบต้องสังเกตด้วยสายตาก่อนว่าตัวอย่างที่นำมาวัดมีความข้นหนืดต่ำ ปานกลาง หรือสูง แล้วเลือกหัววัดและความเร็วรอบในการวัดที่ทำให้ค่า %Torque เข้าใกล้ 100 มากที่สุด

การวัดความข้นหนืดในการทดลองจะมีตัวอย่างที่มีความข้นหนืดแตกต่างกัน ต้องเลือกเอาตัวอย่างที่สังเกตด้วยสายตาหรือจากสูตรการผสมว่ามีความข้นหนืดสูงที่สุดมาทำการคัดเลือกหัววัดและความเร็วรอบที่เหมาะสมก่อน และใช้หัววัดและความเร็วรอบนี้กับตัวอย่างอื่นๆ เพื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างในการทดลองนั้นๆ และแต่ละการทดลองอาจใช้หัววัดและความเร็วรอบในการวัดแตกต่างกันได้ ขึ้นกับความเหมาะสมในแต่ละการทดลอง

การวัดความข้นหนืดของตัวอย่างเพื่อเปรียบเทียบในการทดลอง ต่อหัววัดที่เหมาะสมในการทดลองนั้นๆ เข้ากับแกนมอเตอร์ ตั้งความเร็วรอบที่เหมาะสมในการทดลองนั้นๆ เช่นการทดลองข้อ 2.1 ในบทที่ 3 ใช้หัววัดหมายเลข 4 ความเร็วรอบ 2.5 รอบต่อนาที ตั้งเวลาในการวัดประมาณ 15-60 วินาที กดปุ่มเปิดมอเตอร์ เมื่อครบเวลาที่ตั้งไว้ มอเตอร์จะหยุดหมุน อ่านค่าความข้นหนืดที่วัดได้

ภาคผนวก ง
ผลการวิเคราะห์คุณภาพนมผง

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ผลการวิเคราะห์คุณภาพนมผงที่เป็นวัตถุดิบ

ตารางที่ ง-1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพของนมผงที่เป็นวัตถุดิบ

คุณภาพ	นมผงธรรมดาชนิดละลายทันที	นมผงขาดมันเนย
ค่าสี L	91.40±0.16*	89.94±0.24
ค่าสี a	-2.73±0.04	-1.65±0.04
ค่าสี b	13.97±.013	16.93±0.11
ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)	2.64±0.09	4.19±0.10
ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)	28.15±0.20	0.19±0.03
ปริมาณน้ำตาลแลคโตส (ร้อยละ)	18.95±0.06	16.37±0.17
ปริมาณโปรตีน (Nx6.38, ร้อยละ)	22.84±0.71	35.57±0.20
ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)	1.10±0.05	1.57±0.01
ความสามารถในการละลาย (ร้อยละ)	100	100

หมายเหตุ * หมายถึง ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ภาคผนวก จ
การเจริญเติบโตของเชื้อเริ่มต้นแต่ละชนิด

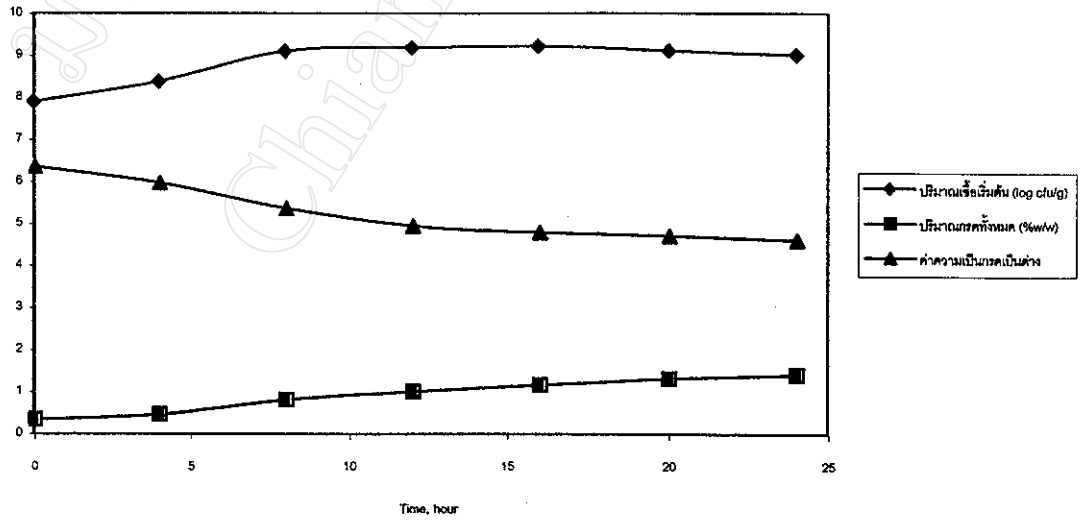
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

การเจริญเติบโตของเชื้อเริ่มต้นแต่ละชนิด

เตรียมเชื้อเริ่มต้นแต่คือ *L. acidophilus, L. casei* และ *B. bifidum* ตามขั้นตอนการเตรียมเชื้อเริ่มต้นในบทที่ 3 แล้วนำเชื้อเริ่มต้นที่เป็น Intermediate starter ของเชื้อเริ่มต้นแต่ละชนิด มาศึกษาการเจริญเติบโต โดยนำมาบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณกรด ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง และปริมาณเชื้อเริ่มต้น สำหรับ *B. bifidum* บ่มเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างที่ 0, 4, 8, 12, 16, 20 และ 24 ชั่วโมง สำหรับ *L. acidophilus* และ *L. casei* บ่มเป็นเวลานาน 36 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างที่ 0, 6, 12, 18, 24, 30 และ 36 ชั่วโมง ผลการทดลองเป็นไปดังตารางที่ ง.1 ถึง

ตารางที่ จ-1 คุณภาพของเชื้อเริ่มต้น *B. bifidum* Bb-12 ระหว่างการเจริญเติบโตที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

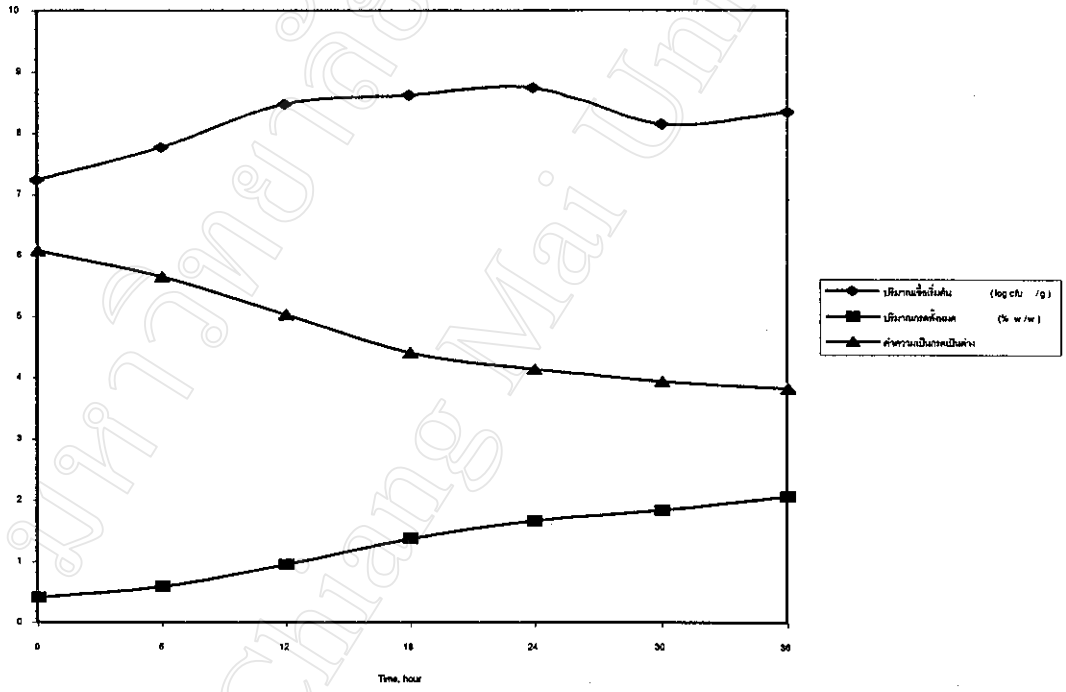
เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดทั้งหมด (%w/w)	ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง	ปริมาณเชื้อเริ่มต้น (log cfu/g)
0	0.34	6.35	7.89
4	0.46	5.97	8.38
8	0.81	5.35	9.10
12	1.01	4.94	9.18
16	1.16	4.79	9.21
20	1.31	4.71	9.11
24	1.41	4.61	9.00



ภาพที่ จ-1 การเจริญเติบโตของเชื้อเริ่มต้น *B. bifidum* Bb-12 Intermediate starter ในเวลา 24 ชั่วโมง

ตารางที่ จ-2 คุณภาพของเชื้อเริ่มต้น *L. acidophilus* La-5 ระหว่างการเจริญเติบโตที่ 37 องศาเซลเซียส 36 ชั่วโมง

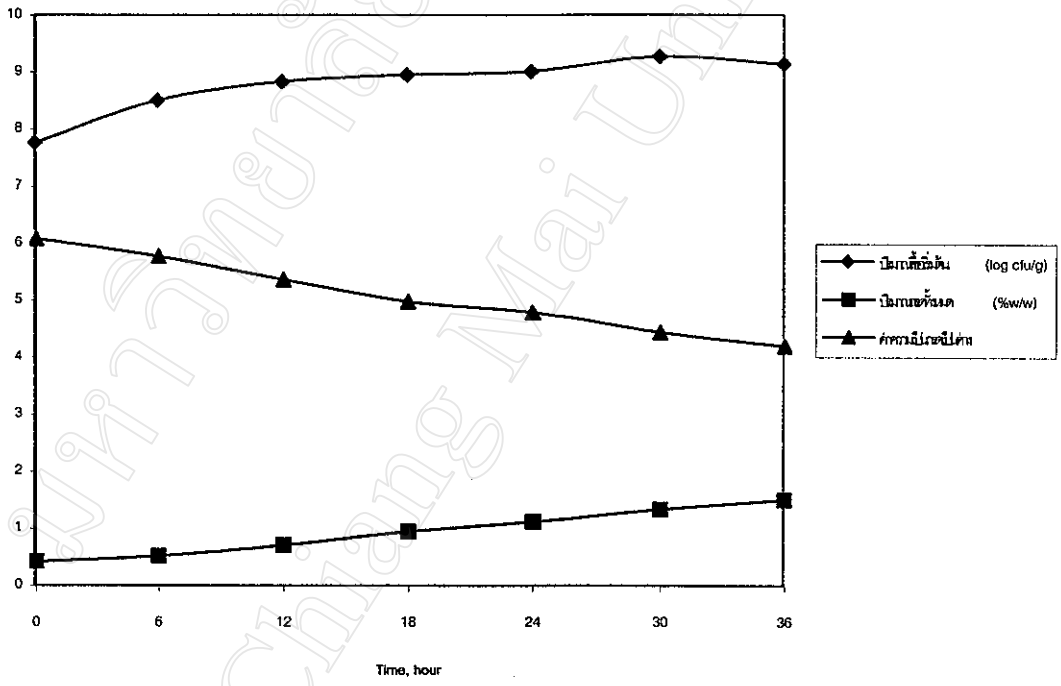
เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดทั้งหมด (%w/w)	ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง	ปริมาณเชื้อเริ่มต้น (log cfu/g)
0	0.41	6.08	7.23
6	0.59	5.65	7.77
12	0.95	5.03	8.47
18	1.37	4.41	8.62
24	1.67	4.14	8.74
30	1.84	3.94	8.14
36	2.07	3.83	8.34



ภาพที่ จ-2 การเจริญเติบโตของเชื้อเริ่มต้น *L. acidophilus* La-5 Intermediate starter ในเวลา 36 ชั่วโมง

ตารางที่ จ-3 คุณภาพของเชื้อเริ่มต้น *L. casei* Lc-01 ระหว่างการเจริญเติบโตที่ 37 องศาเซลเซียส ในเวลา 36 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดทั้งหมด (%w/w)	ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง	ปริมาณเชื้อเริ่มต้น (log cfu/g)
0	0.42	6.08	7.76
6	0.52	5.77	8.50
12	0.71	5.36	8.83
18	0.95	4.98	8.95
24	1.12	4.79	9.01
30	1.34	4.44	9.27
36	1.51	4.20	9.14



ภาพที่ จ-3 การเจริญเติบโตของเชื้อเริ่มต้น *L.casei* Lc-01 Intermediate starter ในเวลา 36 ชั่วโมง

ภาคผนวก ฉ
ข้อกำหนดทางกฎหมาย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

ฉบับที่ ๔๖ (พ.ศ. ๒๕๒๓)

เรื่อง นมเปรี้ยว

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ และมาตรา ๖ (๑) (๒) และ (๗) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๒๒ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ให้ยกเลิกประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๒๗ (พ.ศ. ๒๕๒๒) เรื่องกำหนดนมเปรี้ยวเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ และกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน ลงวันที่ ๑๓ กันยายน พ.ศ. ๒๕๒๒

ข้อ ๒ ให้นมเปรี้ยวเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ

ข้อ ๓ นมเปรี้ยว (Cultured milk) หมายความว่า นมหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนมที่หมักด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคหรือที่ไม่ทำให้เกิดพิษ และมีจุลินทรีย์ดังกล่าวที่มีชีวิตคงเหลืออยู่จากกรรมวิธีการหมักนั้น หรืออาจเติมวัตถุที่จำเป็นต่อกรรมวิธีการผลิต หรืออาจปรุงแต่งสี กลิ่น รสด้วยก็ได้

ความในข้อ ๓ นี้ ถูกยกเลิก และใช้ความใหม่แทนแล้วโดยข้อ ๑ แห่งประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๙๙ (พ.ศ. ๒๕๒๙)

ข้อ ๔ นมเปรี้ยวต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานดังต่อไปนี้

(๑) มีโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ ๑.๕ ของน้ำหนัก

(๒) ตรวจไม่พบบักเตรีชนิด E. coli ในอาหาร ๐.๑ กรัม

(๓) ไม่ใช้วัตถุที่ให้ความหวานแทนน้ำตาล

(๔) ไม่มีวัตถุกันเสีย

(๕) ไม่มีสารเป็นพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ

ข้อ ๕ นมเปรี้ยว ต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน ๑๐ องศาเซลเซียส และระยะเวลาที่จำหน่ายจะต้องไม่เกิน ๗ วัน นับแต่วันที่บรรจุในภาชนะบรรจุ

ความในข้อ ๕ นี้ถูกยกเลิกและใช้ความใหม่แทนแล้วโดยข้อ ๒ แห่งประกาศฯ ฉบับที่ ๙๙ (พ.ศ. ๒๕๒๙)

ข้อ ๖ ภาชนะบรรจุที่ใช้บรรจุนมเปรี้ยว ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารสุขว่าด้วยเรื่อง ภาชนะบรรจุ

ข้อ ๗ การแสดงฉลากของนมเปรี้ยวให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลาก

ประกาศฉบับนี้ ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๒๘ มกราคม ๒๕๒๓

บุญสม มาร์ติน

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

(๙๗ ร.จ. ๖๔๗ ตอนที่ ๒๙ (แผนกราชกิจจาฯ) ลงวันที่ ๒๖ กุมภาพันธ์ ๒๕๒๓)

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข
ฉบับที่ ๙๙ (พ.ศ. ๒๕๒๙)
เรื่อง นมเปรี้ยว (ฉบับที่ ๒)

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ และมาตรา ๖ (๑) (๒) และ (๗) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๒๒ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ให้ยกเลิกความในข้อ ๓ ของประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๔๖ (พ.ศ. ๒๕๒๓) เรื่อง นมเปรี้ยว ลงวันที่ ๒๘ มกราคม ๒๕๒๓ และให้ใช้ความต่อไปนี้แทน

"ข้อ ๓ นมเปรี้ยว (Cultured milk)) หมายความว่า นมหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนมที่หมักด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคหรือที่ไม่ทำให้เกิดพิษ อาจเติมวัตถุที่จำเป็นต่อกรรมวิธีการผลิต หรืออาจปรุงแต่งสี กลิ่น รส ด้วยก็ได้"

ข้อ ๒ ให้ยกเลิกความในข้อ ๕ ของประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๔๖ (พ.ศ. ๒๕๒๓) เรื่อง นมเปรี้ยว ลงวันที่ ๒๘ มกราคม ๒๕๒๓ และให้ใช้ความต่อไปนี้แทน

"ข้อ ๕ นมเปรี้ยวที่มีจุลินทรีย์ที่ใช้ในกรรมวิธีการหมักมีชีวิตคงเหลืออยู่ต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน ๑๐ องศาเซลเซียส และระยะเวลาจำหน่ายจะต้องไม่เกิน ๗ วัน นับแต่วันที่บรรจุในภาชนะบรรจุ"

ประกาศฉบับนี้ไม่กระทบกระเทือนถึงใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับอาหารที่ออกให้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๖๒ (พ.ศ. ๒๕๒๔) เรื่อง เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ลงวันที่ ๗ กันยายน ๒๕๒๔ ให้ผู้ที่ได้รับใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับดังกล่าวมาดำเนินการแก้ไขตำรับอาหารให้มีรายละเอียดถูกต้องตามประกาศฉบับนี้ภายในเก้าสิบวันนับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ประกาศฉบับนี้ ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๑๒ มีนาคม ๒๕๒๙

มารุต บุนนาค

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

(๑๐๓ ร.จ. ๕ ตอนที่ ๕๕ (ฉบับพิเศษ แผนกราชกิจจาฯ) ลงวันที่ ๑๐ เมษายน ๒๕๒๙)

ภาคผนวก ช
ตัวอย่างการคำนวณ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

การถอดรหัสสมการถดถอย

สมการถดถอย (Regression equation) ที่ยังไม่ได้ถอดรหัสจากการทดลอง Factorial experiment ต้องนำไปถอดรหัสก่อนจะนำไปแทนค่าระดับของตัวแปรโดยมีสูตรคำนวณการถอดรหัสดังนี้

ตัวแปรที่ยังไม่ได้ถอดรหัส = ค่าจริง-(ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น+ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น)/2
(ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น-ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น)/2

ตัวอย่าง จากสมการที่ (1) ในบทที่ 4

(1) ค่าสี L = 83.566-0.557(นมผงธรรมดา)^2-0.105(คาราจีแนน);
R^2=0.8256

แทนตัวแปรด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษเพื่อความสะดวกในการคำนวณ

ให้ a แทน นมผงธรรมดา
c แทน คาราจีแนน

(53) ค่าสี L = 83.566-0.557a^2-0.105c

ระดับของนมผงธรรมดาที่ระดับสูง = 15.5% ระดับต่ำ = 12.5%
(ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น+ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น)/2 = 14
(ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น-ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น)/2 = 1.5
ระดับของคาราจีแนนที่ระดับสูง = 0.1% ระดับต่ำ = 0.05%
(ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น+ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น)/2 = 0.075
(ค่าที่ระดับสูงของปัจจัยนั้น-ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัยนั้น)/2 = 0.025

แทนค่าตามสูตรการถอดรหัส

$$83.566 - 0.557\left(\frac{a-14}{1.5}\right)^2 - .105\left(\frac{c-.075}{.025}\right)$$

ค่าจริงในสมการต้องคงไว้ในรูปตัวแปรก่อน แก้สมการให้อยู่ในรูปที่ง่ายได้ดังนี้

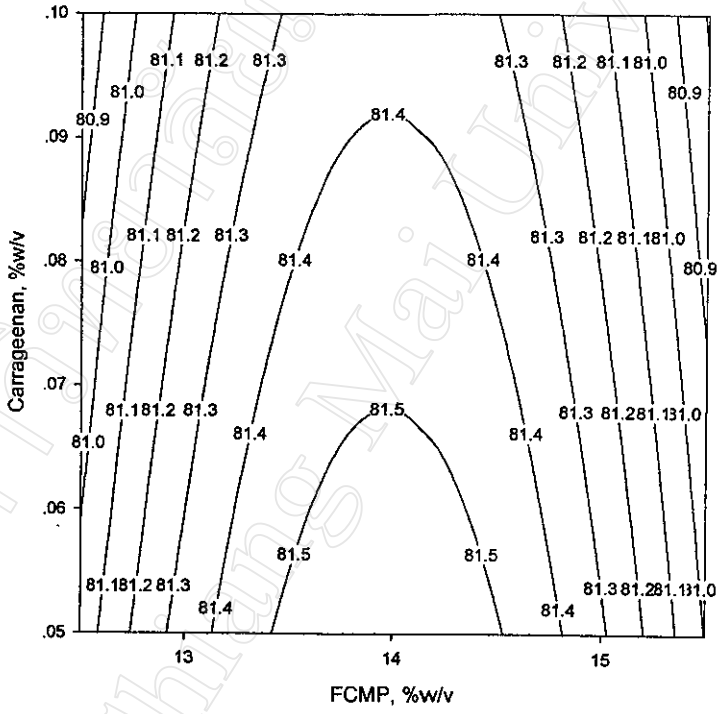
(54) ค่าสี L = 33.360-0.248a^2+6.931a-4.200c

จากนั้นแทนค่าระดับการใช้จริง (ค่าจริง) ของตัวแปรทั้งสองเข้าไป เช่น

$$f(12.5,0.05) = 33.360-0.248(12.5)^2+6.931(12.5)-4.200(0.05)$$
$$= 83.114$$

การทำแผนภาพ Response surface

ใช้โปรแกรม SigmaPlot 2000 ในการทำ โปรแกรมนี้จะฟังก์ชั่น Plot equation โดยการใส่สมการลงในช่องสมการ แล้วกำหนดช่วงระดับการใช้ของตัวแปร จากนั้น คลิก Plot โปรแกรมจะทำการแทนค่าตัวแปรในสมการโดยละเอียด (100 จุดต่อ 1 ตัวแปร) และพลอตแผนภาพออกมาโดยอัตโนมัติ เช่น สมการที่ (13)



ภาพที่ ช-1 ผลของนมผงธรรมดาและคาราจีแนนต่อค่าสี L

ประวัติการศึกษา

ชื่อ-นามสกุล	นายภวัต สังชะวัฒนะ	
วัน เดือน ปี เกิด	31 ตุลาคม 2511	
ประวัติการศึกษา	พ.ศ.2530	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนวัฒโนทัยพายัพ จังหวัดเชียงใหม่
	พ.ศ.2534	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ประสบการณ์	พ.ศ.2535-38	เจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพ บริษัท ภูพิงค์แดรี่โปรดักส์ จำกัด
	พ.ศ.2538-39	รักษาการณ์ผู้จัดการฝ่ายวิจัยและพัฒนา บริษัท ภูพิงค์แดรี่โปรดักส์ จำกัด

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University