ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลินทรีย์

ภาคผนวก ก-1 การตรวจหาปริมาณเชื้อเริ่มต้นทั้งหมด

เครื่องมือและเครื่องแก้ว

1. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
2. หลอดทดลองขนาด 15 x 160 มิลลิเมตร
3. ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
4. เครื่องชั่งความละเอียด 0.01 กรัม
5. ตู้บ่มเพาะเชื้อ ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
6. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่ 50 องศาเซลเซียส
7. Anaerobic jar (Merck, Germany)
8. สารจับออกซิเจน Anaerocult A (Merck, Germany)

อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารละลายสำหรับเจือจาง

1. อาหารแข็ง MRS agar (Merck, Germany)
2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (NaCI, Merck, Germany) (มอก. 335/1-2523) ใช้เป็นสารละลายสำหรับเจือจาง

อาหารเลี้ยงเชื้อ และวิธีเตรียม

- สารละลายโซเดียมไซด์ไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.85 กรัม ในน้ำกลั่น 100 กรัม เตรียมในขวด duran ขนาด 250 มิลลิตร จำนวนขวดละ 90 มิลลิลิตร และใส่หลอดทดลองปริมาตร 9.0 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- อาหารแข็ง MRS agar

ชั่งอาหาร MRS 55.15 กรัม ผสมกับวุ้นผง (agar) (ร้อยละ 1.5) 15 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อ และวุ้นผงละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จะมีค่า pH สุดท้ายเท่ากับ 6.5 $\pm$ 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

วิธีการวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 ใช้ช้อนซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ตักตัวอย่างใส่ในขวด ที่มีสารละลายเจือจาง 90 มิลลิลิตร ชั่งจนได้น้ำหนักตัวอย่าง 10.0 กรัม เขย่าขวดขึ้นลงอย่างแรง ระยะการเขย่า 60 เซนติเมตร 20 ครั้ง จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10

1.2 ถือปิเปตที่ฆ่าเชื้อแล้วในแนวดิ่ง จุ่มปลายปิเปตให้ต่ำกว่าผิวของสารละลายที่เตรียมได้จากข้อ 1.1 ประมาณ 1 นิ้ว ดูดตัวอย่างขึ้นลง 10 ครั้ง แล้วดูดสารละลายนี้จำนวน 1.0 มิลลิลิตร แตะปลายปิเปตกับคอขวด เพื่อกำจัดของเหลวที่ติดทางด้านนอกของปิเปต นำไปใส่ในสารละลายสำหรับเจือจาง คือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จำนวน 9.0 มิลลิลิตร โดยแตะปลายปิเปตที่มีสารละลาย จากข้อ 1.1 ที่ข้างหลอด เหนือระดับสารละลายที่อยู่ในหลอด แล้วเป่าปิเปตให้สารละลายไหลลงไปในหลอด คาปิเปตไว้ในตำแหน่งเดิม 3 วินาที จึงเป่ากำจัดสารละลายของเชื้อออกจากปิเปตให้หมด เก็บปิเปตที่ใช้แล้วนี้ใส่ในภาชนะสำหรับนำไปทำความสะอาด จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:100 เขียนตัวเลขกำกับที่ข้างหลอดนี้เป็น 10^{-2}

1.3 ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิเมตร ที่ฆ่าเชื้อแล้วดูดสารละลายของเชื้อจากหลอดที่มีความเข้มข้นต่ำที่สุด จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อ แล้วทำจำนวน 2 จานต่อ 1 ความเข้มข้น จากนั้นใช้ปิเปตอันเดิมดูดสารละลายของเชื้อที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นอันดับถัดไปลงในจานเลี้ยงเชื้อทำจำนวน 2 จานต่อ 1 ความเข้มข้นเช่นกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. การเพาะเชื้อตัวอย่างอาหาร

2.1 ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายของตัวอย่างอาหารที่เจือจางที่เหมาะสม ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.2 ทำการ pour plate สารละลายให้ทั่วจาน ทิ้งไว้จนหน้าวุ้นแห้ง คว่ำจานเพาะเชื้อ

3. การบ่มเชื้อ

นำจานเพาะเชื้อใส่ลงใน Anaerobic jar ใส่สารจับออกซิเจนลงไป แล้วปิดฝาให้สนิท นำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

4. การนับโคโลนี

หลังบ่มครบเวลา แล้วตรวจนับจำนวนโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโคโลนีระหว่าง 25-250 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากจำนวนซ้ำ รายงานผลในรูปของจำนวนโคโลนี ต่ออาหาร 1 กรัม (CFU/g) หรือ $\log_{10}$ ของจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (logCFU/g)

ภาคผนวก ก-2 การตรวจหาปริมาณเชื้อ B. longum และเชื้อโยเกิร์ต

เครื่องมือและเครื่องแก้ว

1. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
2. หลอดทดลองขนาด 15 x 160 มิลลิเมตร
3. ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
4. เครื่องชั่งความละเอียด 0.01 กรัม
5. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส
6. ตู้บ่มเพาะเชื้อ ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส
7. Anaerobic jar (Merck, Germany)
8. สารจับออกซิเจน Anaerocult A (Merck, Germany)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารละลายสำหรับเจือจาง

1 . สารละลายสำหรับเจือจาง สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (NaCl, Merck, Germany) (มอก. 335/1-2523) ใช้เป็นสารละลายสำหรับเจือจาง

2. อาหารแข็ง HHD agar (Champagne et al., 1997 ; IDF, 1997)

วิธีการวิเคราะห์

อาหารเลี้ยงเชื้อ HHD agar (Homofermentative Heterofermentative Differential Medium) เป็นอาหารที่ใช้เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ homofermentative และ heterofermentative ที่มีการผลิตกรดที่แตกต่างกันจากการใช้น้ำตาลฟรุคโตส โดยส่วนผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ HHD agar เตรียมจากสูตรของ McDonal และคณะในปี 1987 มีส่วนผสมได้แก่ trypticase peptone, phytone peptone, casamino acids และ yeast extract ส่วน potassium hydrogen phosphate เป็นแหล่งของ phosphate นอกจากนั้นยังทำหน้าที่เป็น buffer ในอาหารเลี้ยงเชื้อ HHD agar ในองค์ประกอบของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการเติม Tween 80 เพื่อทำหน้าที่เป็นสารลดแรงตึงผิวของผนังเซลล์แบคทีเรีย เพื่อที่จะช่วยให้แบคทีเรีย นำอาหารจากภายนอกเข้าสู่เซลล์ได้ดีขึ้น และการเติม Bromcresol green เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ค่าการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรดด่าง ที่มีความแตกต่างกันของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ดังนั้นเมื่อเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด มีความสามารถในการผลิตกรดไม่เท่ากัน จึงส่งผลให้ค่า pH แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียด้วย ดังนั้นลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ HHD agar จึงมีความแตกต่างกัน โดยที่เป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม homofermentative จะมีลักษณะโคโลนีเป็นสีฟ้า–เขียว ส่วนเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม heterofermentative จะให้ลักษณะโคโลนีที่มีสีขาว

เชื้อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* เป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม homofermentative ซึ่งผลิตกรดแลคติค ส่วนเชื้อ *B. longum* เป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม heterofermentative ซึ่งผลิตกรดแลคติค และกรดอะซิติคในอัตราส่วน 3 : 2 (Gomes and Malcata, 1999) โดยที่ลักษณะโคโลนีของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* จะเป็นสีเขียว – ฟ้า ส่วน bifidobacteria จะมีลักษณะโคโลนีสีขาว (IDF, 1990)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ HHD agar มีดังนี้

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 กวนให้เข้ากันต้มจนเดือด (ควนบ่อยๆ) เพื่อให้ส่วนผสมละลายหมด ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้ได้ 6.8-7.0 ที่ 25 องศาเซลเซียส แบ่งอาหารใส่ขวดปลอดเชื้อ ใบละ 200 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สารละลายสี (Dry solution)

ละลาย Bromcresol green 0.1 กรัมในสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.01 โมล์/ลิตร จำนวน 30 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จ HHD

เติมสารละลายสี 4 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลวที่อุณหภูมิ 45-48 องศาเซลเซียส เขย่าให้เข้ากันก่อนใช้

1. วิธีการเตรียมตัวอย่าง

1.1 ใช้ช้อนที่ปราศจากเชื้อ ตักตัวอย่างอาหารใส่ในขวดที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 สำหรับเจือจาง ปริมาณ 90 มิลลิลิตร บนเครื่องชั่ง ชั่งจนได้น้ำหนัก 10.0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กรัม เขย่าขวดขึ้นลงอย่างแรง ระยะการเขย่า 60 เซนติเมตร 20 ครั้ง จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10

1.2 ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 1:10 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดสอบที่มีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 สำหรับเจือจาง ปริมาณ 9 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:100 เขียนตัวเลขกำกับที่ข้างหลอดนี้เป็น 10^{-2}

1.3 เจือจางตัวอย่างอาหารจนได้ความเจือจางที่เหมาะสม

2. การเพาะเชื้อตัวอย่างอาหาร

2.1 เตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้จนแข็งตัว คว่ำจากเพาะเชื้อ วางทิ้งไว้เป็นเวลา 1 คืน เพื่อให้หน้าวุ้นแข็ง

2.2 ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดสารละลายของตัวอย่างอาหารที่เจือจางที่เหมาะสม จำนวน 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนจานที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.3 ใช้แท่งแก้วสำหรับเกลี่ย (Spreader) เกลี่ยสารละลายให้ทั่วจาน ทิ้งไว้จนหน้าวุ้นแห้ง คว่ำจานเพาะเชื้อ

3. การบ่มเชื้อ

นำจานเพาะเชื้อใส่ลงใน Anaerobic jar ใส่สารจับออกซิเจนลงไป แล้วปิดฝาให้สนิท นำไปบ่มในตู้เพาะเชื้อเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง

4. การนับโคโลนีและการรายงานผล

4.1 หลังบ่มเชื้อตามกำหนดเวลาแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี โดยจำแนกลักษณะโคโลนีดังนี้ โคโลนีที่มีขนาดใหญ่ ผิวด้านไม่มันวาว ค่อนข้างโปร่งแสง ส่วนนูนตรงกลางมีสีเขียว-ฟ้า จะเป็นโคโลนีของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ส่วนโคโลนีที่มีสีขาว คือ โคโลนีของ *Bifidobaterium longum* รายงานการตรวจนับเป็นจำนวนเชื้อเริ่มต้นแต่ละชนิดในรูป โคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (CFU/g) หรือ $\log_{10}$ ของจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (log CFU/g)

4.2 การคำนวณปริมาณของ *B. logum* โดยการนำปริมาณเชื้อเริ่มต้นรวม (ภาคผนวก ก-1) ลบด้วยปริมาณของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* (Dave and Shah, 1996)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก-3 การย้อมสีแกรม (Gram's stain)

อุปกรณ์และสารเคมี

1. ห่วงถ่ายเชื้อ
2. แผ่นสไลด์
3. สารละลาย crystal violet
4. สารละลาย gram's iodine
5. สารละลาย ethanol ร้อยละ 95
6. สารละลาย safranin-o carbon fuchsin
7. กล้องจุลทรรศน์

วิธีการย้อมสีแกรม (เรณู, 2537)

1. ใช้ห่วงถ่ายเชื้อแตะน้ำสะอาดลงบนแผ่นสไลด์ จำนวน 1 ห่วง
2. ใช้ห่วงถ่ายเชื้อแตะเชื้อ หรือโคโลนีของเชื้อลงบนหยดน้ำบนสไลด์ เกลี่ยให้กระจาย
3. ปล่อยให้แห้งในอากาศ แล้วนำไปผ่านเปลวไฟ ประมาณ 1 วินาที
4. หยดสารละลาย crystal violet ลงให้ท่วมรอยที่เกลี่ย ทิ้งไว้ 30 วินาที เทสารละลายทิ้ง ล้างด้วยน้ำสะอาด
5. หยดสารละลาย gram's iodine ลงให้ท่วมรอยที่เกลี่ย ทิ้งไว้นาน 30 วินาที เทสารละลายทิ้งล้างด้วยน้ำสะอาด
6. ล้างสารละลาย ethanol ร้อยละ 95 อย่างรวดเร็วด้วยน้ำสะอาด จนไม่มีสีน้ำเงินของสารละลาย crystal violet ออกมา แต่ต้องไม่เกิน 20 วินาที
7. หยดสารละลาย safranin o carbon fuchsin ลงให้ท่วมรอยที่เกลี่ย ทิ้งไว้นาน 5 วินาที เทสารละลายทิ้ง ล้างด้วยน้ำ แล้วซับน้ำออกให้แห้ง
8. นำไปตรวจลักษณะของเซลล์จุลินทรีย์ที่ติดสีแกรมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกลักษณะการติดสีแกรมและรูปร่างลักษณะของเซลล์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี

ภาคผนวก ข-1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ ตามวิธี (AOAC, 1998)

วิธีการวิเคราะห์

1. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N เตรียมได้โดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4.00 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ในน้ำกลั่นที่ผ่านการต้ม แล้วทำให้เย็น ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา

2. สารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลท (Potassium hydrogen phthalate, KTP) เตรียมได้โดยนำ KHP ($KHC_8H_4O_4$) 2.0-2.4 กรัม ไปอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง นำมาทำให้เย็นในเดสิคเคเตอร์ (Desiccator) จากนั้นชั่งน้ำหนักละเอียดของ KHP (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) แล้วนำมาละลายกับน้ำกลั่นที่ผ่านการต้ม แล้วทำให้เย็น เพื่อไม่ให้มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

วิธีคำนวณความเข้มข้นของ KHP

มวลโมเลกุลของ KHP = 204.22

น้ำหนัก KHP ที่ชั่งได้จริง = 2.0510

ละลายในขวดปรับปริมาตรให้ได้ปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

ดังนั้นความเข้มข้นของ KHP $= \frac{2.0510 \times 1000}{204.22 \times 100}$

$= 0.10043$ N

การหาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่แน่นอน

นำ KHP ไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาตร KHP ที่ใช้ครั้งละ 10 มิลลิลิตร หยดฟีนอล์ฟธาลีนไป 2-3 หยด ไตเตรทจากไม่มีสี จนเป็นสีชมพูอ่อนๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาตรของสารละลาย NaOH ที่ได้จากบิวเรต

ครั้งที่ 1	ปริมาตรของ KHP ที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร)	ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร)
1	10	9.70
2	10	9.76
		เฉลี่ย = 9.73

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่แน่นอน

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

$$0.10043 \times 10 = N_2 \times 9.73$$

$$N_2 = \frac{0.10043 \times 10}{9.73}$$

$$= 0.1032 \text{ N}$$

<u>หมายเหตุ</u> ทุกครั้งที่วิเคราะห์หาปริมาตรกรดต้องทำการไตเตรทหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์

วิธีวิเคราะห์ปริมาตรกรดทั้งหมด (ในรูปกรดแลคติค)

ชั่งตัวอย่าง 10.0 กรัมในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร หยดฟีนอล์ฟธาลีนไป 2-3 หยด นำไปไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล จนถึงจุดยุติ เมื่อสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง คำนวณหาค่าเฉลี่ยของด่างที่ใช้ และคำนวณหากรดทั้งหมด (ร้อยละ) คำนวณเทียบเป็นกรดแลคติค

เปอร์เซ็นต์กรดแลคติค (ร้อยละ)

1 มิลลิลิตร 0.1 N NaOH = 0.0090 กรัม กรดแลคติค

ตัวอย่างการคำนวณ

1 มิลลิลิตร 0.1 N NaOH = 0.0090 กรัม กรดแลคติค

1 มิลลิลิตร 0.1032 N NaOH = $\frac{0.0090 \times 0.1032}{0.1}$ = 0.009288 กรัม กรดแลคติค

3.3 มิลลิลิตร 0.1043 N NaOH = 3.3×0.009288 = 0.03065 กรัม กรดแลคติค

ตัวอย่างหนัก 10 กรัม มีกรดแลคติค = 0.03065 กรัม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตัวอย่างหนัก 100 กรัม มีกรดแลคติค = $\frac{0.03065 \times 100 \text{ กรัม}}{10}$

กรดแลคติค (ร้อยละ) = 0.3065

ภาคผนวก ข-2 การวัดค่า pH (Hanna Instrument, Italy)

วิธีการใช้เครื่องวัดค่า pH

1. ก่อนใช้เครื่องวัด pH ให้ปรับค่ามาตรฐานในการวัดด้วยสารละลายมาตรฐานที่มีความเป็นกรดด่าง เท่ากับ 4.00 และ 7.00 ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส
2. อุณหภูมิของส่วนผลิตภัณฑ์ขณะวัด pH อยู่ที่ 20 ± 1 องศาเซลเซียส
3. นำไปวัด pH โดยก่อนวัดทุกครั้งต้องล้างอิเลคโทรดที่ใช้วัดค่า pH ให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น ซับด้วยกระดาษทิชชู แล้วจุ่มลงในตัวอย่างที่ต้องการวัด
4. หลังจากทำการทดลองเสร็จแล้ว ทำการล้างอิเลคโทรดให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น

ภาคผนวก ข-3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธีของ Lane and Eynon (AOAC, 1998)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟท (Copper sulfate pentahydrate : $CuSO_4.5H_2O$) จำนวน 334.639 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

สารละลาย Fehling no.2

สารละลายโซเดียมโปแตสเซียมตาร์เตรท (Sodium potassium tartrate หรือ Rochelle salt : $KNaC_4O_5.4H_2O$) จำนวน 173.0 กรัม และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) จำนวน 50.0 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

สารละลาย Carrez I

สารละลาย Zinc acetate dehydrate 21.9 กรัม ในน้ำกลั่น ที่มีกรดอะซิติกเข้มข้น 3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารละลาย Carrez II

ละลายโพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ 10.6 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

สารละลายเมธิลีนบลูเข้มข้นร้อยละ 1

ละลายเมธิลีนบลู 1.0 กรัม ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

วิธีวิเคราะห์

การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ก่อนอินเวอร์ชั่น (D_1)

เตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ โดยชั่งตัวอย่างอยู่ในช่วง 10-20 กรัม แล้วทำการปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร เติม Clearing agent หรือ สารละลาย Carrez I และ CarrezbII อย่างละ 5.0 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตร เป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันดี ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที แล้วกรอง เก็บสารละลายที่กรองได้ไว้ใช้วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนอินเวอร์ชัน (ปริมาณ D1 ควรอยู่ในช่วง 15-50 มิลลิลิตร)

Preliminary titration

นำสารละลายตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากข้างต้นใส่ในบิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร (ชนิดปลายงอ) ไล่ฟองอากาศให้หมด ปิเปตสารละลาย Fehling reagent ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย Fehling no.1 และ Fehling no.2 อย่างละ 5.0 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร ใส่ลูกแก้วขนาดเล็กลงไป 2-3 เม็ด นำไปต้มให้เดือดบนตะเกียงบุนเสน ไตเตรทกับสารละลายน้ำตาลตัวอย่างจนสีน้ำเงินจางลง หยดสารละลายเมธิลีนบลูลงไป 2-3 หยด ไตเตรทจนสีฟ้าหายไปหมดเหลือแต่ตะกอนสีส้มแดง จดปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

Accurate titration

ปิเปตสารละลาย Fehling reagent ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย Fehling no.1 และ Fehling no.2 อย่างละ 5 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร ใส่ลูกแก้วขนาดเล็กลงไป 2 -3 เม็ด เติมสารละลายน้ำตาลจากบิวเรตลงไปทันที โดยใช้ปริมาตรน้อยกว่าที่ใช้ไตเตรทครั้งแรกประมาณ 1 – 2 มิลลิลิตร ปล่อยให้เดือดนาน 2 นาที หยดสารละลายเมธิลีนบลูลงไป 1-2 หยด แล้วไตเตรทต่อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จนสีฟ้าหมดไป โดยต้องไตเตรทให้เสร็จภายในเวลา 3 นาที ตั้งแต่เริ่มเดือด จดปริมาตรของสารละลายน้ำตาลที่ใช้ทำการทดลองซ้ำ 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์หลังอินเวอร์ชัน (D_2)

นำสารละลายน้ำตาลที่เหลือจากการไตเตรทหาน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนอินเวอร์ชันปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 6.34 นอร์มัล จำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปอุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นานประมาณ 10 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว แล้วปรับปริมาตรส่วนผสมทั้งหมดให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 5 โมล่าร์ นำสารละลายที่ได้ไปปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร แล้วทำการไตเตรทเช่นเดียวกับการหาน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนอินเวอร์ชัน

การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์

น้ำตาลรีดิวซ์ (ร้อยละ) = น้ำตาลรีดิวซ์หลังอินเวอร์ชัน (D_2) - น้ำตาลรีดิวซ์ก่อนอินเวอร์ชั่น (D_1)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ

ภาคผนวก ค-1 การวัดสีระบบฮันเตอร์ (Hunter Lap)

เป็นการวัดสีด้วยเครื่องวัดสี Color Quest II Sphere (Hunter Associates Laboratories Inc., USA) วัดค่าสีในระบบฮันเตอร์ โดยค่าสี L* เป็นค่าความสว่าง (Lightness) a* เป็นค่าสีแดง และสีเขียว (Redness/Green) และ b* เป็นค่าสีเหลือง และน้ำเงิน (Yellowness/Blueness)

L*คือค่าความสว่าง	มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100
a* คือค่าสีแดง	เมื่อ a*มีค่าบวก เป็นสีแดง
	เมื่อ a*มีค่าลบ เป็นสีเขียว
b* คือค่าสีเหลือง	เมื่อ b* มีค่าบวก เป็นสีเหลือง
	เมื่อ b* มีค่าลบ เป็นสีน้ำเงิน

ก่อนการวัดสีทุกครั้งต้องทำการปรับมาตรฐานเครื่อง (Calibration) โดยใช้กระบอกสีดำ

แผ่นสีขาวมาตรฐาน	(x = 81.17, y = 86.12, z = 91.78)
แผ่นสีเทามาตรฐาน	(x = 48.58, y = 51.74, z = 54.01)
แผ่นสีเขียวมาตรฐาน	(x = 17.73, y = 23.35, z = 18.91)

โดยนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ในหลอดแก้วสำหรับวัดสี แล้วทำการวัดตัวอย่าง

ภาคผนวก ค-2 การวัดความหนืดด้วยเครื่อง Brook field Viscometer

เครื่องวัดความหนืด Brookfield Viscometer เป็นเครื่องวัดความข้นหนืดแบบแกนหมุน (Rotatory viscometer) ใช้วัดความข้นหนืดของอาหารที่มีความข้นหนืดปานกลาง

วิธีการ Calibrate เครื่องวัดความหนืด

เปิดสวิทช์เครื่องวัดความหนืด เอาหัววัด (Spindle) ออกจากแกนมอเตอร์ กดปุ่มใด ๆ เครื่องจะทำการ Calibrate โดยอัตโนมัติ เมื่อการ Calibrate เสร็จสิ้น บนจอจะขึ้นข้อความว่าให้ใส่หัวได้ จึงใส่หัววัดที่จะใช้วัด หัววัดความหนืดมี 7 ขนาด หัววัดหมายเลข 1 จะวัดความข้นหนืดในช่วงความข้นหนืดต่ำ หัววัดหมายเลขสูงขึ้นจะวัดความข้นหนืดในช่วงที่สูงขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวัดความข้นหนืดตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อ *B. longum*

การวัดความข้นหนืดต้องเลือกหัววัด และความเร็วรอบให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ โดยตักผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวกล้อง จำนวนประมาณ 400-500 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร นำบีกเกอร์ไปวางใต้เครื่องวัดความข้นหนืด ใส่หัววัดที่แกนมอเตอร์ ลดระดับเครื่องวัดความข้นหนืดลงจนหัววัดจมลงในตัวอย่างจนถึงขีดที่กำหนดบนแกนหัววัด ตรวจสอบหมายเลขหัววัดที่แสดงบนจอให้ตรงกับหัววัดที่ต่อกับแกนมอเตอร์ ตั้งความเร็วรอบในการหมุน กดสวิทช์เปิดมอเตอร์ ค่า% Torque จะปรากฏบนจอก่อน การวัดที่ทำให้ได้ค่าความข้นหนืดที่ถูกต้องที่สุดจะต้องมี % Torque เข้าใกล้ 100 มากที่สุด การเลือกหัววัด และความเร็วรอบต้องสังเกตด้วยสายตาก่อนว่าตัวอย่างที่นำมาวัดมีความข้นหนืดต่ำ ปานกลาง หรือสูง แล้วเลือกหัววัด และความเร็วรอบในการวัดที่ทำให้ค่า % Torque เข้าใกล้ 100 มากที่สุด

การวัดความข้นหนืดของตัวอย่างเพื่อเปรียบเทียบในการทดลอง ต่อหัววัดที่เหมาะสมในการทดลองนั้น ๆ เข้ากับแกนมอเตอร์ ตั้งความเร็วรอบที่เหมาะสมในการทดลองนั้น ๆ โดยใช้หัววัดหมายเลข 2 ความเร็วรอบ 15-60 รอบต่อนาที ตั้งเวลาในการวัดประมาณ 10-40 วินาที กดปุ่มเปิดมอเตอร์ เมื่อครบเวลาที่ตั้งไว้ มอเตอร์จะหยุดหมุนอ่านค่าความข้นหนืดที่วัดได้ ที่อุณหภูมิ 23 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ค-3 การวัดค่าการตีฟู (ลักขณา และนิธิยา, 2544)

ชั่งน้ำหนักส่วนผสมไอศกรีมที่มีอุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส ที่ผ่านการบ่มแล้ว บรรจุเต็มถ้วยพลาสติกก่อนไปปั่นแช่แข็ง และเมื่อปั่นไอศกรีมจนแข็งตัวแล้ว ตักไอศกรีมที่ได้ลงในถ้วยพลาสติกใบเดิมให้เต็มถ้วย โดยมีปริมาตรเท่ากันกับปริมาตรส่วนผสมไอศกรีม ชั่งน้ำหนักไอศกรีมภายหลังการปั่น

$$\text{ค่าการตีฟู (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักส่วนผสมไอศกรีม} - \text{น้ำหนักไอศกรีม}}{\text{น้ำหนักไอศกรีม}} \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ค-4 การวัดอัตราการละลาย (Ting-Jang Lu et al., 2001)

วิธีการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างไอศกรีมที่บรรจุเต็มถ้วยพลาสติก น้ำหนักประมาณ 60-65 กรัมไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -12 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาทดสอบการละลาย
2. นำเฉพาะเนื้อไอศกรีมวางบนตระแกรงขนาด 3 mesh วางลงบนกรวยที่รองรับด้วยบีกเกอร์ ภายในห้องปรับอากาศที่มีอุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส
3. จับเวลาต่อทุก ๆ 30 นาที ชั่งน้ำหนักไอศกรีมที่ละลายผ่านตะแกรง
4. คำนวณน้ำหนักไอศกรีมที่ละลายคิดเทียบน้ำหนักไอศกรีม 100 กรัม

$$\text{น้ำหนักไอศกรีมที่ละลาย (ร้อยละต่อนาที)} = \frac{\text{น้ำหนักไอศกรีมที่ละลาย} \times 100}{\text{น้ำหนักไอศกรีมที่เริ่มต้น} \times \text{เวลาที่ละลาย (นาที)}}$$

5. รายงานเป็นอัตราการละลายต่อ 100 กรัม (ร้อยละต่อนาที)

ภาคผนวก ค-5 การวัดเนื้อสัมผัสของไอศกรีม (Bolliger et al., 2000)

วิธีการวิเคราะห์

นำไอศกรีมที่บรรจุเต็มถ้วยพลาสติก ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 เซนติเมตร ความสูง 5 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 60-65 กรัม (ถ้วยไอศกรีมสามารถบรรจุน้ำได้ปริมาตรประมาณ 90 มิลลิลิตร) ที่ผ่านการแช่แข็ง ณ อุณหภูมิ -12 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วันและ 35 วัน ไปวัดเนื้อสัมผัสโดยใช้เครื่อง TAXTplus Texture Analyser อาศัยหลักการวัดค่าแรงเจาะทะลุ (penetration force; newtons)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการใช้เครื่อง Texture

คู่มือการใช้เครื่อง Textrue Analyzer

วิธีการใช้เครื่อง Textrue

การเข้าสู่โปรแกรม โดยคลิกที่ short cut จากนั้นจะปรากฏหน้าต่าง Select a User เพื่อให้กรอก Password ที่ถูกกำหนดขึ้นมา (ในที่นี้ใช้ fst โดยให้พิมพ์เป็นตัวเล็กเท่านั้น) เพื่อเข้าสู่โปรแกรมทำงาน หลังจากนั้นจะปรากฏ Menu bar เพื่อเข้าสู่โปรแกรม TEE คลิกเข้าสู่โปรแกรม TEE32

วิธีการ Calibrate

หลังจากที่เข้าสู่โปรแกรม TEE32 แล้ว ควรทำการ calibrate เครื่อง เพื่อความถูกต้องแม่นยำในการทำงาน การ calibrate เครื่องจะมีอยู่ 2 ขั้นตอน คือ การ Calibrate Force และ Calibrate Height ซึ่งจะดำเนินการต่าง ๆ ตามขั้นตอนดังนี้

1. ทำการ Calibrate Force โดยคลิก Menu ตรงปุ่ม T.A → Calibrate → Calibrate Force... ตามลำดับ

2. หลังจากนั้นจะปรากฏหน้าต่าง Zero Reading ดังรูปข้างล่างดังนี้ คลิกที่ Next เพื่อดำเนินการต่อไป

3. จากนั้นจะปรากฏหน้าต่าง Apply Calibration Value ขึ้นมาเพื่อถามว่าต้องการ Calibrate weight ที่น้ำหนักเท่าไร (ในที่นี้คือ 2000 กรัม) ให้วางตุ้มน้ำหนัก 2000 กรัม ที่ฐานบนของเครื่อง (ต้องสวมถุงมือผ้าก่อนจับลูกตุ้มทุกครั้ง) และให้คลิกที่ Next > เพื่อดำเนินการต่อไป

4. โปรแกรมก็จะทำการ Calibrate ให้ และจะแสดงหน้าต่าง Calibration Status เพื่อแสดงผลลัพธ์ของการทำการ Calibrate และคลิกที่ Finish เพื่อแสดงการสิ้นสุดการ Calibrate

5. โปรแกรมจะแสดงหน้าต่างออกมายืนยันว่าเครื่องได้ทำการ Calibrate สำเร็จแล้ว

เมื่อทำการ Calibrate Force แล้ว ต้องทำการ Calibrate Height ต่อไป ดังนี้

1. ทำการ Calibrate Height โดยคลิก Menu bar ตรงปุ่ม T.A → Calibrate → Calibrate Height.. ตามลำดับ

2. หลังจากนั้นจะปรากฏหน้าต่าง Probe Height Calibration ขึ้นมา ให้กรอกข้อมูลลงไปในช่อง เพื่อให้สามารถทำการวัดผลได้อย่างถูกต้อง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยในช่อง Return Distance (mm), Return Speed (mm/Sec) และ Contact Force (g) นั้น ให้กรอกข้อมูลลงไปตามความเหมาะสม ซึ่งในช่อง Return Distance (mm) นั้น ต้องวัดความสูงของตัวอย่าง แล้วบวกเพิ่มอีกประมาณ 10 mm เป็นอย่างน้อย และคลิก OK

3. โปรแกรมจะทำการ Calibrate Height ให้ และแสดงผลการ Calibrate เสร็จสิ้น ให้คลิก OK เพื่อตอบตกลง

การหา Maximum Force

เป็นการหาแรงสูงที่สุด โดยกระทำดังนี้

1. ให้คลิกที่ T.A. ⟶ T.A. setting...
2. จากนั้นเปิดหน้าต่าง T.A. Setting ขึ้นมาแล้วให้คลิกที่ Library
3. เลือก RETURN TO START. SEQ เพื่อการคำนวณหา Maximum Force
4. หลังจากนั้นจะปรากฏหน้าต่าง T.A. Setting : Return to Start (Set Dist) ให้คลิกที่ Target Mode เพื่อเปลี่ยน Distance ให้เป็น Strain แล้วคลิกยืนยันคำสั่ง
5. เมื่อทำการ Setting แล้ว ให้ทำการ Run คำสั่ง โดยการคลิกที่ T.A. ⟶ Run a Test
6. จากนั้นจะปรากฏหน้าต่าง Test Configuration ให้คลิกที่หน้าต่างย่อย Archieve Information เพื่อกรอกข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างที่จะทำการวิเคราะห์
7. คลิกที่หน้าต่างย่อย Probe Selection เพื่อเลือก Probe ที่เหมาะสมกับตัวอย่าง
8. คลิกไปที่หน้าต่างย่อย Data Acquisition โดยในช่อง Acquisition Rate (PPS) ให้เลือกที่ 4 เพื่อเป็นการเลือกความถี่ในการอ่านข้อมูล
9. จากนั้นคลิกที่ Apply เพื่อบันทึกคำสั่งและให้คลิกที่ Run to test เพื่อเริ่มต้นวิเคราะห์ตัวอย่างเครื่องจะทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ง

ตารางแสดงผลการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ ง -1 คุณภาพทางด้านกายภาพของผลิตภัณฑ์จากโยเกิร์ตข้าวกล้อง เติมเชื้อ *B. longum*

คุณภาพทางด้านกายภาพ	ระยะเวลาเก็บผลิตภัณฑ์	
	1 วัน	35 วัน
โยเกิร์ตข้าวกล้อง เติมเชื้อ *B. longum*		
- ค่าความหนืด (เซนติพอยส์)	748.80 ± 27.83[b]	1,232.50 ± 210.897[a]
ไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้อง เติมเชื้อ *B. longum*		
- ค่าการตีฟู (ร้อยละ)	48.75 ± 2.63[a]	11.80 ± 1.26[b]
- ค่าการละลาย (ร้อยละต่อนาที)	1.80 ± 0.03[a]	1.37 ± 0.17[a]
- ค่าความแน่นเนื้อ (นิวตันต่อวินาที)	5.38 ± 0.57[b]	12.45 ± 1.14[a]

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน มาจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

- ตัวเลขในแถวเดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ง-2 ค่า pH ของผลิตภัณฑ์จากโยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อ *B. longum* ในระยะเวลา 35 วัน

ผลิตภัณฑ์	ระยะเวลาเก็บผลิตภัณฑ์ (วัน)					
	1	7	14	21	28	35
โยเกิร์ตข้าวกล้อง	4.06±0.12[a]	4.03±0.13[a]	4.00±0.12[a]	3.98±0.13[a]	3.96±0.12[a]	3.96±0.13[a]
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม (น้ำตาล)	3.84±0.09[a]	3.80±0.12[a]	3.77±0.13[a]	3.74±0.14[a]	3.69±0.16[a]	3.64±0.17[a]
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม (น้ำผึ้ง)	3.88±0.05[a]	3.87±0.05[a]	3.85±0.05[a]	3.83±0.05[a]	3.82±0.06[a]	3.81±0.06[a]
ไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้อง	3.92±0.02[a]	3.90±0.01[a]	3.88±0.02[a]	3.86±0.02[a]	3.84±0.02[a]	3.82±0.03[a]

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน มาจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

- ตัวเลขในแถวเดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ ง -3 ปริมาณกรดแลคติคที่ไตเตรทได้ (ร้อยละ)ในผลิตภัณฑ์จากโยเกิร์ตข้าวกล้อง เติมเชื้อ *B. longum* ในระยะเวลา 35 วัน

ผลิตภัณฑ์	ระยะเวลาเก็บผลิตภัณฑ์ (วัน)					
	1	7	14	21	28	35
โยเกิร์ตข้าวกล้อง	0.64±0.10^{a}	0.90±0.12^{a}	1.21±0.28^{a}	1.50±0.39^{a}	1.62±0.40^{a}	1.54±0.75^{a}
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม (น้ำตาล)	0.31±0.07^{c}	0.33±0.06^{bc}	0.38±0.03^{bc}	0.43±0.03^{ab}	0.52±0.00^{a}	0.54±0.03^{a}
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม (น้ำผึ้ง)	0.34±0.07^{a}	0.36±0.08^{a}	0.39±0.12^{a}	0.47±0.02^{a}	0.53±0.02^{a}	0.55±0.01^{a}
ไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้อง	0.67±0.10^{a}	0.70±0.01^{a}	0.73±0.01^{a}	0.74±0.00^{a}	0.74±0.02^{a}	0.70±0.11^{a}

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน มาจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

- ตัวเลขในแถวเดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ง -4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ร้อยละ) ในผลิตภัณฑ์จากโยเกิร์ตข้าวกล้อง เติมเชื้อ *B. longum* ในระยะเวลา 35 วัน

ผลิตภัณฑ์	ระยะเวลาเก็บผลิตภัณฑ์ (วัน)					
	1	7	14	21	28	35
โยเกิร์ตข้าวกล้อง	11.38±0.66^{a}	11.19±0.48^{a}	11.16±0.74^{a}	11.12±0.30^{a}	10.95±0.30^{a}	11.05±0.35^{a}
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม (น้ำตาล)	5.02±1.10^{a}	5.00±0.99^{a}	4.94±0.83^{a}	4.77±0.98^{a}	4.89±1.24^{a}	4.74±0.97^{a}
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม (น้ำผึ้ง)	25.11±2.26^{a}	24.64±2.00^{a}	24.54±2.14^{a}	24.27±2.02^{a}	24.36±2.19^{a}	24.28±2.02^{a}
ไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้อง	10.94±0.22^{a}	11.21±0.41^{a}	10.92±0.17^{a}	10.98±0.37^{a}	10.83±0.42^{a}	10.74±0.26^{a}

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน มาจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

- ตัวเลขในแถวเดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ ง-5 การเหลือรอดของเชื้อ *B. longum* (logCFU/g.) ในผลิตภัณฑ์จากโยเกิร์ตข้าวกล้อง ในระยะเวลา 35 วัน

ผลิตภัณฑ์	ระยะเวลาเก็บผลิตภัณฑ์ (วัน)					
	1	7	14	21	28	35
โยเกิร์ตข้าวกล้อง	10.37±0.50^{a}	10.54±0.48^{a}	9.97±0.69^{a}	10.44±0.54^{a}	10.00±0.96^{a}	10.49±0.51^{a}
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม(น้ำตาล)	9.23±0.71^{a}	8.98±0.41^{a}	8.64±0.49^{a}	9.25±0.38^{a}	9.38±0.47^{a}	9.32±0.47^{a}
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม(น้ำผึ้ง)	8.29±0.76^{a}	9.10±0.53^{a}	9.17±0.31^{a}	9.15±0.42^{a}	8.98±0.75^{a}	8.82±0.91^{a}
ไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้อง	9.22±0.80^{a}	9.42±0.64^{a}	9.25±0.38^{a}	9.28±0.55^{a}	9.50±0.62^{a}	9.00±0.64^{a}

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน มาจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

- ตัวเลขในแถวเดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ง-6 การเหลือรอดของเชื้อ *B. longum* (logCFU/g.)ในผลิตภัณฑ์จากโยเกิร์ตข้าวกล้อง ในน้ำย่อย pH 2.0

ผลิตภัณฑ์	ระยะเวลาที่ผลิตภัณฑ์สัมผัสน้ำย่อย (pH 2)					
	0 นาที	20 วินาที	15 นาที	30 นาที	60 นาที	120 นาที
โยเกิร์ตข้าวกล้อง	10.63±0.32^{a}	9.43±0.47^{b}	8.64±0.40^{c}	7.77±0.23^{d}	7.66±0.26^{d}	6.77±0.22^{c}
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม(น้ำตาล)	9.16±0.31^{a}	8.37±0.50^{b}	7.41±0.49^{c}	6.35±0.48^{d}	6.088±0.13^{d}	5.34±0.26^{c}
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม(น้ำผึ้ง)	9.33±0.35^{a}	8.53±0.57^{ab}	7.90±0.84^{bc}	7.21±0.47^{cd}	6.29±0.54^{d}	5.13±0.17^{c}
ไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้อง	9.10±0.44^{a}	7.91±0.79^{b}	7.44±0.12^{b}	6.24±0.20^{c}	6.19±0.65^{c}	5.43±0.42^{c}

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน มาจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

- ตัวเลขในแถวเดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ ง-7 การเหลือรอดของเชื้อ *B. longum* (logCFU/g.)ในผลิตภัณฑ์จากโยเกิร์ตข้าวกล้อง ในน้ำย่อย pH 3.0

ผลิตภัณฑ์	ระยะเวลาที่ผลิตภัณฑ์สัมผัสน้ำย่อย (pH 3)					
	0 นาที	20 วินาที	15 นาที	30 นาที	60 นาที	120 นาที
โยเกิร์ตข้าวกล้อง	10.72±0.23^{a}	10.56±0.13^{a}	9.88±0.43^{b}	9.76±0.24^{b}	9.16±0.32^{c}	8.56±0.06^{d}
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม(น้ำตาล)	9.06±0.63^{a}	8.68±0.55^{a}	8.34±0.36^{ab}	7.80±0.42^{bc}	7.80±0.26^{bc}	7.19±0.46^{c}
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม(น้ำผึ้ง)	9.60±0.27^{a}	9.35±0.40^{a}	8.62±0.15^{b}	8.51±0.11^{bc}	8.11±0.36^{cd}	7.71±0.07^{d}
ไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้อง	9.19±0.38^{a}	9.17±0.50^{a}	8.85±0.45^{ab}	8.64±0.89^{ab}	7.80±0.77^{bc}	7.17±0.33^{c}

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน มาจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

- ตัวเลขในแถวเดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ง-8 การเหลือรอดของเชื้อ *B. longum* (logCFU/g.) ในผลิตภัณฑ์จากโยเกิร์ตข้าวกล้อง ในน้ำดีความเข้มข้นร้อยละ 0.5

ผลิตภัณฑ์	ระยะเวลาที่ผลิตภัณฑ์สัมผัสน้ำดี (ความเข้มข้นร้อยละ 0.5)					
	0 นาที	20 วินาที	15 นาที	30 นาที	60 นาที	120 นาที
โยเกิร์ตข้าวกล้อง	10.60±0.41^{a}	10.60±0.30^{a}	10.41±0.41^{ab}	9.72±0.36^{bc}	9.22±0.51^{cd}	8.61±0.55^{d}
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม(น้ำตาล)	9.45±0.44^{a}	9.23±0.31^{a}	9.01±0.29^{ab}	8.69±0.26^{ab}	8.46±0.55^{bc}	7.73±0.67^{c}
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม(น้ำผึ้ง)	9.52±0.51^{a}	9.31±0.37^{ab}	8.85±0.25^{abc}	8.45±0.51^{bcd}	8.16±0.38^{cd}	7.62±0.74^{d}
ไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้อง	9.31±0.46^{a}	9.18±0.42^{ab}	8.83±0.28^{ab}	8.63±0.55^{ab}	8.19±0.57^{bc}	7.46±0.93^{c}

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน มาจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

- ตัวเลขในแถวเดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ ง-9 การเหลือรอดของเชื้อ *B. longum* (logCFU/g.) ในผลิตภัณฑ์จากโยเกิร์ตข้าวกล้อง ในน้ำดีความเข้มข้นร้อยละ 2.0

ผลิตภัณฑ์	ระยะเวลาที่ผลิตภัณฑ์สัมผัสน้ำดี (ความเข้มข้นร้อยละ 2.0)					
	0 นาที	20 วินาที	15 นาที	30 นาที	60 นาที	120 นาที
โยเกิร์ตข้าวกล้อง	10.39 ± 0.52^{a}	9.77 ± 0.67^{ab}	8.75 ± 0.96^{bc}	8.40 ± 0.80^{bc}	7.56 ± 0.68^{cd}	6.32 ± 0.76^{d}
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม (น้ำตาล)	9.57 ± 0.55^{a}	8.87 ± 0.94^{ab}	7.84 ± 0.54^{bc}	7.24 ± 0.59^{c}	6.80 ± 0.63^{c}	5.30 ± 0.68^{d}
โยเกิร์ตข้าวกล้องพร้อมดื่ม (น้ำผึ้ง)	9.23 ± 0.39^{a}	8.31 ± 0.73^{b}	7.43 ± 0.23^{c}	6.78 ± 0.22^{c}	6.57 ± 0.18^{c}	5.41 ± 0.71^{d}
ไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้อง	9.34 ± 0.47^{a}	8.42 ± 0.96^{b}	7.43 ± 0.13^{c}	6.74 ± 0.12^{cd}	6.30 ± 0.30^{dc}	5.75 ± 0.12^{c}

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน มาจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

- ตัวเลขในแถวเดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวเกศินี อุปลศิลป์
วัน เดือน ปีเกิด	20 มิถุนายน 2520
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนส่วนบุญโญปถัมภ์ จังหวัดลำพูน ปีการศึกษา 2537
	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2543
ประสบการณ์การทำงาน	ปี พ. ศ. 2543-2546 ทำงานตำแหน่ง ผู้จัดการฝ่ายประกันคุณภาพ และ พัฒนาผลิตภัณฑ์ บริษัท นิธิฟู้ดส์ จำกัด จังหวัดเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved