



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวก ก-1

แบบทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์
ผลิตภัณฑ์ ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

ชื่อ..... วันที่..... ชุดที่.....

กรุณากรอกแบบสอบถามให้ตรงกับความต้องการของท่านมากที่สุด โดย

1. ระบุหัวข้อ “ลักษณะของผลิตภัณฑ์” ที่ท่านคิดว่าสำคัญลงในแต่ละหัวข้อ
2. กำหนดเครื่องหมาย X ลงบนสเกลในตำแหน่งที่ท่านคิดว่าเป็นลักษณะของผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง
3. กำหนดเครื่องหมาย I ลงบนสเกลในตำแหน่งที่ท่านคิดว่าเป็นลักษณะที่ดีที่สุดของผลิตภัณฑ์ในอุดมคติ

คำอธิบายลักษณะของผลิตภัณฑ์

1. ลักษณะปรากฏ

.....				
.....			
.....			

2. กลิ่นและรสชาติ

.....				
.....			
.....			
.....			

3. ลักษณะเนื้อสัมผัส

..... |-----|

..... |-----|

..... |-----|

..... |-----|

..... |-----|

4. การยอมรับรวม

..... |-----|

..... |-----|

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

.....

ขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ

ภาคผนวก ก-2

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง

ชื่อ..... วันที่..... ชุดที่.....

กรุณาทำเครื่องหมายลงบนเส้นแสดงลักษณะต่าง ๆ โดยกำหนดเครื่องหมายดังนี้

I คือ ระดับของลักษณะในอุดมคติหรือระดับของลักษณะที่ท่านต้องการ

X คือ ระดับของลักษณะที่เป็นจริงของตัวอย่างหรือท่านรู้สึกได้จากการชิมตัวอย่าง

คำอธิบายลักษณะของผลิตภัณฑ์

1. สีเหลือง	----- ----- -----	
	อ่อน	เข้ม
2. กลิ่นถั่วเหลือง	----- ----- -----	
	น้อย	มาก
3. กลิ่น โยเกิร์ต	----- ----- -----	
	น้อย	มาก
4. รสหวาน	----- ----- -----	
	น้อย	มาก
5. รสเปรี้ยว	----- ----- -----	
	น้อย	มาก
6. ความเรียบเนียน	----- ----- -----	
	น้อย	มาก
7. ความหนืด	----- ----- -----	
	น้อย	มาก
8. การละลายในปาก	----- ----- -----	
	เร็ว	ช้า
7. การยอมรับรวม	----- ----- -----	
	ไม่ยอมรับ	ยอมรับ

ข้อเสนอแนะ

.....

ภาคผนวก ก-3

แบบทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส
ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมอ้วนเหลือง

ชื่อผู้ทดสอบชิม..... วันที่ ชุดที่.....

คำแนะนำ : กรุณาทดสอบตัวอย่างตามลำดับที่นำเสนอ แล้วให้คะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ โดยกำหนดให้

1 = ไม่ชอบมากที่สุด

2 = ไม่ชอบมาก

3 = ไม่ชอบปานกลาง

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย

5 = เฉยๆ

6 = ชอบเล็กน้อย

7 = ชอบปานกลาง

8 = ชอบมาก

9 = ชอบมากที่สุด

และกรุณาตีมน้ำระหว่างตัวอย่างทุกครั้ง

คุณลักษณะ	รหัสตัวอย่าง			
สี				
กลิ่นตัวเหลือง				
กลิ่นโยเกิร์ต				
รสหวาน				
รสเปรี้ยว				
ความเรียบเนียน				
ความหนืด				
การละลายในปาก				
ความชอบโดยรวม				

คำอธิบายเพิ่มเติม ความเรียบเนียน : การสัมผัสของลื่นกับอนุภาคต่างๆ หรือผลึกน้ำแข็ง

ความหนืด : ความหนืดของไอศกรีมในปาก

การละลายในปาก : ระยะเวลาของการละลายไอศกรีมในปาก

ข้อเสนอแนะ

.....
.....

ภาคผนวก ข

การตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

ภาคผนวก ข-1 การวัดสีระบบ C.I.E

วัดสีด้วยเครื่องวัดสี Minolta รุ่น CR-300 ในระบบ C.I.E. แบบ L C h° โดยค่าสี L เป็นค่าความสว่าง (Lightness) C เป็นค่าความเข้มของสีหรือความบริสุทธิ์ของสี (Chroma) และ h° เป็นค่าเฉดสี (Hue) มีหน่วยเป็นองศา เมื่อ

L คือ ค่าความสว่าง มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100

C คือ ค่าความเข้มสี มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100

h° คือ ค่าเฉดสี มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 360

ถ้าค่า hue = 0 องศา แสดงว่าเป็นสีแดง

ค่า hue = 90 องศา แสดงว่าเป็นสีเหลือง

ค่า hue = 180 องศา แสดงว่าเป็นสีเขียว

ค่า hue = 270 องศา แสดงว่าเป็นสีน้ำเงิน

ก่อนทำการวัดสีตัวอย่างทุกครั้งต้องทำการสอบเทียบเครื่อง (calibration) ด้วยแผ่นสีขาวมาตรฐาน (calibration plate) ซึ่งมีค่ามาตรฐาน $Y = 92.1$, $x = 0.3137$ และ $y = 0.3197$ โดยใช้แหล่งกำเนิดแสงแบบ C จากนั้นจึงทำการวัดสีของตัวอย่างไอศกรีม

All rights reserved

ภาคผนวก ข-2 การวัดการเปลี่ยนเฟสของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองและโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง
ด้วยเครื่อง Differential scanning calorimeter (DSC)

(1) การเตรียมตัวอย่าง

(1.1) **น้ำนมถั่วเหลือง** นำน้ำนมถั่วเหลืองแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -24 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 12 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ผสมตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองแห้งกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 จากนั้นชั่งตัวอย่างประมาณ 35 มิลลิกรัม ลงในถ้วยอะลูมิเนียม (aluminium pan) ขนาด 40 ไมโครลิตร ความหนา 0.15 ไมโครลิตร ปิดฝาด้วยเครื่องปิดผนึก

(1.2) **โยเกิร์ตนมถั่วเหลือง** ทำการปั่นโยเกิร์ตด้วยเครื่องปั่นผสมที่ความเร็วระดับต่ำ เป็นเวลา 1 นาที ชั่งโยเกิร์ตที่ถูกปั่นเป็นเนื้อเดียวกันประมาณ 35 มิลลิกรัม ลงในถ้วยอะลูมิเนียม (aluminium pan) ขนาด 40 ไมโครลิตร ความหนา 0.15 ไมโครลิตร ปิดฝาด้วยเครื่องปิดผนึก

(2) การวัดการเปลี่ยนเฟส

ก่อนเริ่มวัดตัวอย่างทำการสอบเทียบเครื่อง DSC ด้วยสารมาตรฐานอินเดียม (Indium standard) ซึ่งมีจุดหลอมเหลว 156 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงทำการวัดตัวอย่างดังต่อไปนี้

(1.1) **น้ำนมถั่วเหลือง** ศึกษาการเสียดสภาพของโปรตีนโดยให้ความร้อนตัวอย่างจากอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ถึง 100 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการให้ความร้อน 10 องศาเซลเซียสต่อ นาที และใช้แก๊สฮีเลียมบริสุทธิ์เป็น purge gas ด้วยอัตราการไหล 20 มิลลิลิตรต่อนาที คำนวณหาค่า onset denaturation temperature (T_o), peak denaturation temperature (T_p) และการเปลี่ยนแปลงของ enthalpy (ΔH) จากกราฟที่ปรากฏ

(1.2) **โยเกิร์ตนมถั่วเหลือง** ลดอุณหภูมิตัวอย่างลงอย่างรวดเร็วด้วยไนโตรเจนเหลวจากอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ถึง -50 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อ นาที จากนั้นให้ความร้อนด้วยอัตราการให้ความร้อน 10 องศาเซลเซียสต่อ นาที และใช้แก๊สไนโตรเจนบริสุทธิ์เป็น purge gas ด้วยอัตราการไหล 20 มิลลิลิตรต่อ นาที คำนวณหาค่า glass transition temperature (T_g) และ melting temperature (T_m) จากกราฟที่ปรากฏ

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

ภาคผนวก ข-3 การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน โดยใช้ Roese-Gottlieb method

(AOAC 905.02, 2000)

สารเคมี

- (1) สารละลายแอมโมเนียม (ammonium solution) ความเข้มข้นร้อยละ 25-30
- (2) เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) ความเข้มข้นร้อยละ 95
- (3) ไดเอทิล อีเทอร์ (diethyl ether)
- (4) ปีโตรเลียม อีเทอร์ (petroleum ether) จุดเดือด 30-60 องศาเซลเซียส
- (5) สารละลายผสมข้อ 3 และ 4 อัตราส่วน 1 ต่อ 1

วิธีวิเคราะห์

- (1) ชั่งตัวอย่างน้ำหนักแน่นอน 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ (W1) ถ่ายตัวอย่างลงในกรวยแยก
- (2) เติมสารละลายแอมโมเนียม 1.25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเติมเอทิลแอลกอฮอล์ 10 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ
- (3) เติมไดเอทิล อีเทอร์จำนวน 25 มิลลิลิตร ปิดจุกให้แน่น ทำการสกัดโดยเขย่าแรงๆ 1 นาที เปิดจุกอย่างระมัดระวัง เติมปีโตรเลียม อีเทอร์จำนวน 25 มิลลิลิตร ปิดจุกให้แน่น ทำการสกัดโดยเขย่าแรงๆ 1 นาที เปิดจุกอย่างระมัดระวังเพื่อไล่ก๊าซ ล้างจุกด้วยสารละลายผสมจำนวนเล็กน้อย
- (4) ตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายแยกชั้น (ประมาณ 30 นาที) เก็บสารละลายชั้นล่าง (ตัวอย่าง) ลงในบีกเกอร์ใบเดิม และถ่ายสารละลายชั้นบนลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
- (5) สกัดตัวอย่างซ้ำโดยเติมเอทิลแอลกอฮอล์จำนวน 5 มิลลิลิตร แล้วทำการสกัดเหมือนข้อ 3 และ 4 แต่เปลี่ยนปริมาณไดเอทิล อีเทอร์ และปีโตรเลียม อีเทอร์ เป็น 15 มิลลิลิตร
- (6) นำบีกเกอร์ที่มีตัวทำละลายไปอังบนอ่างน้ำร้อนที่อยู่ในตู้ดูดควัน จนตัวทำละลายระเหยหมด จึงนำไปอบต่อในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 102 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ (W2)

(7) ล้างไขมันออกจากบีกเกอร์ที่ชั่งน้ำหนักเรียบร้อยแล้วด้วยปิโตรเลียม อีเทอร์ 3 ครั้งๆ ละ 15 มิลลิลิตร

(8) นำบีกเกอร์ไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 102 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ (W3)

วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละของน้ำหนัก)} = \frac{W2 - W3}{W1} \times 100$$

เมื่อ

W1 = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

W2 = น้ำหนักบีกเกอร์ที่มีไขมัน (กรัม)

W3 = น้ำหนักบีกเกอร์ที่ล้างไขมันออกแล้ว (กรัม)

ภาคผนวก ข-4 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน โดยใช้ Kjeldahl method
(AOAC 991.20, 2000)

สารเคมี

- (1) กรดซัลฟูริกเข้มข้นความเข้มข้นร้อยละ 98 (w/v)
- (2) กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เตรียมจากละลายกรดไฮโดรคลอริก 8.5 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 1 ลิตร
- (3) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 50 (w/v) เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จำนวน 50 กรัม แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
- (4) อินดิเคเตอร์ผสม (mix indicator) ประกอบด้วยเมทิลเรด (methyl red) ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 (w/v) ในแอลกอฮอล์ ผสมกับโบรโมครีซอลกรีน (bromocresol green) ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 (w/v) ในแอลกอฮอล์ อัตราส่วน 1 ต่อ 5
- (5) โปแตสเซียมซัลเฟต
- (6) สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตความเข้มข้นร้อยละ 5 (w/v)

(7) ควบคุมปริมาณความเข้มข้นร้อยละ 4 (w/v) ละลายบอริกจำนวน 40 กรัม และเจือจางให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น เติมอินดิเคเตอร์ผสมจำนวน 3 มิลลิลิตร ได้สารละลายสีส้ม

วิธีวิเคราะห์

(1) ชั่งตัวอย่างน้ำหนักแน่นอนโดยใช้บีกเกอร์ใส่ตัวอย่าง 0.5-2.0 กรัม และชั่งน้ำหนัก (W1) ถ่ายตัวอย่างลงในหลอดเคลด้าห์ล จากนั้นชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ที่ถ่ายตัวอย่างออกแล้ว (W2) โดยทำ blank ควบคู่ไปด้วย

(2) เติมโปแตสเซียมซัลเฟตจำนวน 15 กรัม และสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต 1 มิลลิลิตร

(3) เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นจำนวน 25 มิลลิลิตร นำไปย่อยด้วยชุดย่อยโปรตีนจนกระทั่งได้สารละลายใส

(4) ปล่อยให้หลอดเย็นลง จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไป 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปต่อกับเครื่องกลั่นไอน้ำ

(5) เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 50 (w/v) จำนวน 75 มิลลิลิตร ทำการกลั่นด้วยไอน้ำและดักเก็บก๊าซแอมโมเนียที่กลั่นได้ด้วยกรควบคุมความเข้มข้นร้อยละ 4 (w/v) จำนวน 50 มิลลิลิตร จนกระทั่งปริมาตรทั้งหมดได้ 200 มิลลิลิตร

(6) นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนกระทั่งได้สีชมพูจางๆ

วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละของน้ำหนัก)} = \frac{1.4007 \times (V_s - V_b) \times M}{W_1 - W_2}$$

เมื่อ

V_s = ปริมาตรสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

V_b = ปริมาตรสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

M = ความเข้มข้นแน่นอนสารละลายไฮโดรคลอริก (โมลาร์)

W_1 = น้ำหนักบีกเกอร์และตัวอย่าง (กรัม)

W_2 = น้ำหนักบีกเกอร์หลังถ่ายตัวอย่างออกแล้ว (กรัม)

และ ปริมาณโปรตีน (ร้อยละของน้ำหนัก) = ปริมาณไนโตรเจน x 6.38

ภาคผนวก ข-5 การวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหาร โดยวิธีการย่อยด้วยกรดและด่าง

(ดัดแปลงจาก AOAC 945.39 , 2000; Egan *et al.*, 1981)

สารเคมี

(1) สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1.25 (0.255 ± 0.005 นอร์มอล) ปิเปตกรดซัลฟูริกเข้มข้นจำนวน 7.15 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1 ลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

(2) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 (0.313 ± 0.005 นอร์มอล) ซึ่งโซเดียมไฮดรอกไซด์จำนวน 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นเล็กน้อย เทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 2 ลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำกลั่น

วิธีวิเคราะห์

(1) ชั่งตัวอย่างนมถั่วเหลืองอบแห้งเรียบริยแล้วให้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 1 กรัม (W1) ถ่ายตัวอย่างลงในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร แล้วชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ที่ถ่ายตัวอย่างออกเรียบริยแล้ว (W2)

(2) เติมสารละลายกรดซัลฟูริกจำนวน 200 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มบนเตาไฟฟ้า โดยปิดปากบีกเกอร์ด้วยขวดก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร ซึ่งมีน้ำกลั่นบรรจุอยู่ข้างใน ต้มให้เดือดนาน 30 นาที

(3) กรองทันทีด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41 (อบและชั่งน้ำหนักแล้ว) (W3) ล้างด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งหมดความเป็นกรด จากนั้นล้างกากที่กรองได้ลงในบีกเกอร์ใบเดิมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

(4) เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จนครบ 200 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มบนเตาไฟฟ้า โดยปิดปากบีกเกอร์ด้วยขวดก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร ซึ่งมีน้ำกลั่นบรรจุอยู่ข้างใน ต้มให้เดือดนาน 30 นาที

(5) กรองทันทีด้วยกระดาษกรองแผ่นเดิม ล้างด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งหมดความเป็นด่าง จากนั้นนำกระดาษกรองไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 102 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์ (W4)

(6) ใส่กระดาษกรองพร้อมกากที่ชั่งน้ำหนักแล้วลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบซึ่งเผาที่อุณหภูมิ 550 ± 25 องศาเซลเซียส ชั่งน้ำหนัก (W5)

(7) เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบพร้อมกากในเตาเผาอุณหภูมิสูง ที่อุณหภูมิ 550 ± 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W6)

วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณเส้นใยอาหาร (ร้อยละของน้ำหนัก)} = \frac{[(W4-W3)-(W6-W5)]-(100-\%H_2O)}{W2-W1} \times 100$$

เมื่อ

- W1 = น้ำหนักบีกเกอร์และตัวอย่าง (กรัม)
- W2 = น้ำหนักบีกเกอร์หลังถ่ายตัวอย่างออกแล้ว (กรัม)
- W3 = น้ำหนักกระดาษกรอง (กรัม)
- W4 = น้ำหนักกระดาษกรองและกาก (กรัม)
- W5 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ (กรัม)
- W6 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบและเถ้า (กรัม)

ภาคผนวก ข-6 การหาความเข้มข้นแน่นอนของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์

(AOAC 947.05, 2000)

สารเคมี

เตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จำนวน 4 กรัม ด้วยน้ำกลั่นลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

วิธีการไตเตรทหาความเข้มข้นเน่อน

ชั่ง KHP น้ำหนักเน่อน 0.3 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่น 70 มิลลิลิตร หยดฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ จำนวน 2-3 หยด ไตเตรทกับสารละลายมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์

วิธีการคำนวณ

$$\text{ความเข้มข้นเน่อน NaOH (N)} = \frac{\text{น้ำหนัก KHP (กรัม)} \times 1,000}{204.22 \times \text{ปริมาตร NaOH}}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

ภาคผนวก ข-7 การตรวจหาปริมาณเชื้อ *S. thermophilus* (IDF, 1997)

เครื่องมือและเครื่องแก้ว

- (1) จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- (2) หลอดทดลองขนาด 15x160 มิลลิลิตร
- (3) ขวดแก้วมีฝาพลาสติกชนิดเกลียวขนาด 200 มิลลิลิตร
- (4) ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
- (5) เครื่องชั่งความละเอียด 0.001 กรัม
- (6) อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส
- (7) ตู้บ่มเพาะเชื้อ ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจาง

- (1) อาหารเลี้ยงเชื้อ M17 agar เตรียมโดยชั่งอาหาร M17 broth (Merck, Germany) จำนวน 8.4 กรัมและผงวุ้นจำนวน 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
- (2) สารละลายสำหรับเจือจาง สารละลายเปปโตน (peptone) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (w/v) ชั่งเปปโตน 1.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เตรียมในขวดแก้วมีฝาพลาสติกชนิดเกลียวขนาด 200 มิลลิลิตร จำนวนขวดละ 90 มิลลิลิตร และใส่ในหลอดทดลองจำนวน 9 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
- (3) สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ตวงกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นจำนวน 85 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรที่มีน้ำกลั่นรองรับ ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

วิธีวิเคราะห์

(1) วิธีเตรียมตัวอย่างอาหาร

(1.1) ใช้น้ำซอสปราศจากเชื้อตัดตัวอย่างไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองจำนวน 10 กรัม ใส่ในขวดที่มีสารละลายสำหรับเจือจางจำนวน 90 มิลลิลิตร บนเครื่องชั่ง จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1 ต่อ 10

(1.2) บีบตัวอย่างอาหารข้อ 1.1 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายสำหรับเจือจางจำนวน 9 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1 ต่อ 100 (10^{-2})

(1.3) เจือจางตัวอย่างอาหารจนได้ความเจือจาง 1 ต่อ 100,000,000 (10^{-8})

(2) การเพาะเชื้อตัวอย่างอาหาร

(2.1) บีบตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 10^{-6} ถึง 10^{-8} จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงบนจานเพาะเชื้อ

(2.2) ทำการ pour plate สารละลายให้ทั่วจานด้วยอาหาร M17 agar (ประมาณ 10-15 มิลลิลิตร) ซึ่งปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.8 ด้วยสารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ทิ้งไว้จนหน้าวุ้นแห้ง คั่วจานเพาะเลี้ยงเชื้อ

(3) การบ่มเชื้อ

นำจานเพาะเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีออกซิเจน

(4) การตรวจนับโคโลนีและการรายงานผล

ทำการตรวจนับจำนวนเชือบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 30-300 โคโลนี หากค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีในการทำซ้ำ รายงานผลการตรวจนับในรูป log ฐาน 10 ของจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม ($\log \text{cfu/g}$) ถ้ามีหลายความเจือจางใช้สูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาณเชื้อ (โคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม)} = \frac{\Sigma C}{V \times (n_1 + 0.1n_2) \times d}$$

เมื่อ

ΣC = ผลรวมของโคโลนีที่นับได้บนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี 30-300 โคโลนี

V = ปริมาตรของสารละลายเชื้อจางที่ใช้ในการตรวจ (มิลลิลิตร)

n_1 = จำนวนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้นแรก

n_2 = จำนวนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้นที่สอง

d = ระดับความเข้มข้นแรก

ภาคผนวก ข-8 การตรวจหาปริมาณเชื้อ *L. acidophilus*

(IDF, 1995; Vinderola and Reinheimer, 1999)

เครื่องมือและเครื่องแก้ว

- (1) จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- (2) หลอดทดลองขนาด 15x160 มิลลิลิตร
- (3) ขวดแก้วมีฝาพลาสติกชนิดเกลียวขนาด 200 มิลลิลิตร
- (4) บีเปตขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
- (5) เครื่องชั่งความละเอียด 0.001 กรัม
- (6) อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส
- (7) ตู้บ่มเพาะเชื้อ ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเชื้อจาง

- (1) อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar เตรียมโดยชั่งอาหาร MRS agar (Merck, Germany) จำนวน 26.48 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 400 มิลลิลิตร ลงในขวดควมเรนขนาด 500 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
- (2) สารละลายสำหรับเชื้อจาง สารละลายเปปโตน (peptone) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (w/v) ชั่งเปปโตน 1.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เตรียมในขวดแก้วมีฝาพลาสติกชนิดเกลียวขนาด 200 มิลลิลิตร จำนวนขวดละ 90 มิลลิลิตร และใส่ในหลอดทดลองจำนวน 9 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

(3) Bile solution ละลาย Bile bovine (Oxgall, B3883) จำนวน 10 กรัมในน้ำกลั่นเล็กน้อย ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

วิธีวิเคราะห์

(1) วิธีเตรียมตัวอย่างอาหาร

(1.1) ใช้ช้อนปราศจากเชื้อตักตัวอย่างไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองจำนวน 10 กรัม ใส่ในขวดที่มีสารละลายสำหรับเจือจางจำนวน 90 มิลลิลิตร บนเครื่องชั่ง จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1 ต่อ 10

(1.2) ปิเปิดตัวอย่างอาหารข้อ 1.1 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายสำหรับเจือจางจำนวน 9 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1 ต่อ 100 (10^{-2})

(1.3) เจือจางตัวอย่างอาหารจนได้ความเจือจาง 1 ต่อ 100,000 (10^{-5})

(2) การเพาะเชื้อตัวอย่างอาหาร

(2.1) เตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยเทอาหาร MRS agar ซึ่งเติม Bile solution จำนวน 1.5 มิลลิลิตร ต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัวจึงคว่ำจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 คืน เพื่อให้หน้าวุ้นแห้ง

(2.2) ปิเปิดตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 10^{-3} ถึง 10^{-5} จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ลงบนตรงกลางผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้แท่งแก้วเกลี่ยเชื้อให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

(2.3) วางหยาจานเพาะเชื้อนานประมาณ 15 นาที เพื่อให้สารละลายอาหารซึมเข้าไปในวุ้น แล้วจึงคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

(3) การบ่มเชื้อ

นำจานเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีออกซิเจน

(4) การตรวจนับโคโลนีและการรายงานผล

ทำการตรวจนับจำนวนเชื้อบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 10-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีในการทำซ้ำ รายงานผลการตรวจนับในรูป log ฐาน 10 ของจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม (log cfu/g)

ภาคผนวก ข-9 การตรวจหาปริมาณเชื้อ *B. bifidum*

(Lapierre *et al.*, 1992; Vinderola and Reinheimer, 1999)

เครื่องมือและเครื่องแก้ว

- (1) จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- (2) หลอดทดลองขนาด 15x160 มิลลิลิตร
- (3) ขวดแก้วมีฝาพลาสติกชนิดเกลียวขนาด 200 มิลลิลิตร
- (4) ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
- (5) เครื่องชั่งความละเอียด 0.001 กรัม
- (6) อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส
- (7) ตู้บ่มเพาะเชื้อ ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส
- (8) Anaerobic jar (Merck, Germany)
- (9) สารจับออกซิเจน Anaerocult A (Merck, Germany)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเชื้อจาง

- (1) อาหารเลี้ยงเชื้อ LP-MRS agar เตรียมโดยชั่งอาหาร MRS agar (Merck, Germany) จำนวน 26.48 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 400 มิลลิลิตร ลงในขวดดูแรนขนาด 500 มิลลิลิตร เติมลิเทียมคลอไรด์ จำนวน 0.8 กรัม และโซเดียม โพรพิโอเนตจำนวน 1.2 กรัม คนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 6.7 ± 0.2 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
- (2) สารละลายสำหรับเชื้อจาง สารละลายเปปโตน (peptone) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (w/v) ชั่งเปปโตน 1.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เตรียมในขวดแก้วมีฝาพลาสติกชนิดเกลียวขนาด 200 มิลลิลิตร จำนวนขวดละ 90 มิลลิลิตร และใส่ในหลอดทดลองจำนวน 9 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
- (3) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 4 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

(1) วิธีเตรียมตัวอย่างอาหาร

(1.1) ใช้น้ำซอสปราศจากเชื้อตัดตัวอย่างไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองจำนวน 10 กรัม ใส่ในขวดที่มีสารละลายสำหรับเจือจางจำนวน 90 มิลลิลิตร บนเครื่องชั่ง จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1 ต่อ 10

(1.2) ปิเปตตัวอย่างอาหารข้อ 1.1 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายสำหรับเจือจางจำนวน 9 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1 ต่อ 100 (10^{-2})

(1.3) เจือจางตัวอย่างอาหารจนได้ความเจือจาง 1 ต่อ 100,000 (10^{-5})

(2) การเพาะเชื้อตัวอย่างอาหาร

(2.1) เตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยเทอาหาร LP-MRS agar ประมาณ 10-15 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัวจึงคว่ำจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 คืน เพื่อให้หน้าวุ้นแห้ง

(2.2) ปิเปตตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 10^{-3} ถึง 10^{-5} จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ลงบนตรงกลางผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้แท่งแก้วเกลี่ยเชื้อให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

(2.3) วางหยาจานเพาะเชื้อนานประมาณ 15 นาที เพื่อให้สารละลายอาหารซึมเข้าไปในวุ้น แล้วจึงคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

(3) การบ่มเชื้อ

นำจานเพาะเชื้อใส่ใน anaerobic jar ซึ่งมีสารจับออกซิเจน ปิดฝาให้สนิท นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน

(4) การตรวจนับโคโลนีและการรายงานผล

ทำการตรวจนับจำนวนเชื้อบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 10-300 โคโลนี หากค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีในการทำซ้ำ รายงานผลการตรวจนับในรูป log ฐาน 10 ของจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม ($\log \text{cfu/g}$)

ภาคผนวก ข-10 การตรวจหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (เรณู, 2543)

เครื่องมือและเครื่องแก้ว

- (1) จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- (2) หลอดทดลองขนาด 15x160 มิลลิลิตร
- (3) ขวดแก้วมีฝาพลาสติกชนิดเกลียวขนาด 200 มิลลิลิตร
- (4) ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร
- (5) เครื่องชั่งความละเอียด 0.001 กรัม
- (6) อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส
- (7) ตู้บ่มเพาะเชื้อ ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเชื้อจาง

(1) อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) เตรียมโดยชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA จำนวน 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

(2) สารละลายสำหรับเชื้อจาง สารละลายเปปโตน (peptone) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (w/v) ชั่งเปปโตน 1.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร เตรียมในขวดแก้วมีฝาพลาสติกชนิดเกลียวขนาด 200 มิลลิลิตร จำนวนขวดละ 90 มิลลิลิตร และใส่ในหลอดทดลองจำนวน 9 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

วิธีวิเคราะห์

(1) วิธีเตรียมตัวอย่างอาหาร

(1.1) ใช้ช้อนปราศจากเชื้อตักตัวอย่างไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองจำนวน 10 กรัม ใส่ในขวดที่มีสารละลายสำหรับเชื้อจางจำนวน 90 มิลลิลิตร บนเครื่องชั่ง จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1 ต่อ 10

(1.2) ปิเปตตัวอย่างอาหารข้อ 1.1 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายสำหรับเชื้อจางจำนวน 9 มิลลิลิตร จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1 ต่อ 100 (10^{-2})

(1.3) เจือจางตัวอย่างอาหารจนได้ความเจือจาง 1 ต่อ 10,000 (10^{-4})

(2) การเพาะเชื้อตัวอย่างอาหาร

(2.1) ปิเปตตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 10^{-2} ถึง 10^{-4} จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงบนจานเพาะเชื้อ

(2.2) ทำการ pour plate สารละลายให้ทำงานด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA (ประมาณ 10-15 มิลลิลิตร) ที่งไว้นานหน้าวันหนึ่ง คว่ำจานเพาะเลี้ยงเชื้อ

(3) การบ่มเชื้อ

นำจานเพาะเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในสภาวะที่มีออกซิเจน

(4) การตรวจนับโคโลนีและการรายงานผล

ทำการตรวจนับจำนวนเชื้อบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีระหว่าง 30-300 โคโลนี หากค่าเฉลี่ยจากจำนวนโคโลนีในการทำซ้ำ รายงานผลการตรวจนับในรูปแบบ \log ฐาน 10 ของจำนวนโคโลนีต่ออาหาร 1 กรัม ($\log \text{cfu/g}$)

ภาคผนวก ค

ตัวอย่างการถอดรหัสสมการถดถอย

ในการศึกษาระดับที่เหมาะสมของปัจจัยหลัก (นมผงขาดมันเนย และน้ำตาลทรายขาว) ในการผลิตผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง โดยวางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment with 4 center points จะได้สมการถดถอยที่ยังไม่ได้ถอดรหัส (coded equation) ของคุณลักษณะรสหวานจากการทดสอบทางประสาทสัมผัส ดังนี้

$$\text{รสหวาน} = 0.955 + 0.0225(\text{นมผง}) + 0.108(\text{น้ำตาล}) + 0.0225(\text{น้ำตาล})^2 - 0.0275(\text{นมผง} \times \text{น้ำตาล}) \dots\dots\dots(1)$$

จากนั้นแก้สมการถดถอยที่ยังไม่ได้ถอดรหัสด้วยสูตรความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรเดิม กับ ตัวแปรที่ยังไม่ได้ถอดรหัส (coded variables) ดังนี้

$$\text{ตัวแปรที่ยังไม่ได้ถอดรหัส} = \frac{\text{ตัวแปรเดิม} - (\text{ค่าที่ระดับสูงของปัจจัย} + \text{ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัย})/2}{(\text{ค่าที่ระดับสูงของปัจจัย} - \text{ค่าที่ระดับต่ำของปัจจัย})/2} \dots\dots\dots(2)$$

โดย ระดับของนมผงขาดมันเนย (A) ที่ระดับต่ำ = 12 และระดับสูง = 16
 ระดับของน้ำตาลทรายขาว (B) ที่ระดับต่ำ = 14 และระดับสูง = 18

แทนค่าระดับของนมผงขาดมันเนย และน้ำตาลทรายขาว ลงในสมการที่ 2 ได้

$$\text{นมผง} = \frac{A - [(16+12)/2]}{[(16-12)/2]} = \frac{A - 14}{2} \dots\dots\dots(3)$$

$$\text{น้ำตาลทรายขาว} = \frac{B - [(18+14)/2]}{[(18-14)/2]} = \frac{B - 16}{2} \dots\dots\dots(4)$$

แทนค่า สมการที่ 3 และ 4 ลงในสมการที่ 1 คำนวณโดยใช้โปรแกรม Mathcad version 7.0 จะได้สมการที่ถอดรหัส ดังนี้

$$\begin{aligned}
\text{รศหวน} &= 0.955 + 0.0225[(A - 14)/2] + 0.108[(B - 16)/2] + \\
& 0.0225[(B - 16)/2]^2 - 0.0275[(A - 14)/2]x[(B - 16)/2] \\
&= -0.1665 + 0.1213(A) - 0.02975(B) + 0.005625(B)^2 - \\
& 0.006875(A \times B) \\
&= -0.1665 + 0.1213(\text{นมผง}) - 0.02975(\text{น้ำตาล}) + \\
& 0.005625(\text{น้ำตาล})^2 - 0.006875(\text{นมผง} \times \text{น้ำตาล}) \dots\dots\dots(5)
\end{aligned}$$

คาดคะเนผลลัพธ์ที่เกิดขึ้น โดยแทนค่าปริมาณนมผงขาดมันเนยและน้ำตาลทรายขาวในช่วงที่ทำการศึกษาคือ นมผงขาดมันเนยร้อยละ 12-16 และน้ำตาลทรายขาวร้อยละ 14-18 โดยการเติมสมการที่ 5 ในโปรแกรม Mathcad version 7.0 และระดับของนมผงขาดมันเนย (x) และน้ำตาลทรายขาว (y) ในรูป $f(x, y)$ ได้ค่าคาดคะเนสัดส่วนเฉลี่ยของคุณลักษณะรศหวนดังนี้

$f(12,14) = 0.820$	$f(12,15) = 0.871$	$f(12,16) = 0.933$	$f(12,17) = 1.006$
$f(12,18) = 1.091$	$f(13,14) = 0.845$	$f(13,15) = 0.889$	$f(13,16) = 0.944$
$f(13,17) = 1.011$	$f(13,18) = 1.089$	$f(14,14) = 0.870$	$f(14,15) = 0.907$
$f(14,16) = 0.956$	$f(14,17) = 1.015$	$f(14,18) = 1.086$	$f(15,14) = 0.895$
$f(15,15) = 0.925$	$f(15,16) = 0.967$	$f(15,17) = 1.020$	$f(15,18) = 1.084$
$f(16,14) = 0.920$	$f(16,15) = 0.944$	$f(16,16) = 0.978$	$f(16,17) = 1.024$
$f(16,18) = 1.081$			

จะได้ระดับของนมผงขาดมันเนย และน้ำตาลทรายขาวที่ทำให้ค่าสัดส่วนเฉลี่ยของคุณลักษณะรศหวนมีค่าเข้าใกล้ 1 (ค่าคะแนนของตัวอย่างมีค่าเข้าใกล้ค่าคะแนนในอุดมคติมากที่สุด) เท่ากับร้อยละ 12 และ 17 ตามลำดับ ซึ่งสามารถพิจารณาร่วมกับพื้นที่การตอบสนองของคุณลักษณะรศหวนที่แปรผันตามระดับการใช้ของนมผงขาดมันเนย และน้ำตาลทรายขาว โดยการออกแบบพื้นที่การตอบสนองด้วยโปรแกรม STATISTICA version 5.0 ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

เข้าสู่โปรแกรม แล้วเลือกวิธีวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Multiple regression จากนั้นทำการป้อนข้อมูลโดยเติมระดับของตัวแปรอิสระ ได้แก่ นมผงขาดมันเนย และน้ำตาลทรายขาว และป้อนค่าสัดส่วนเฉลี่ยของรศหวน (ภาพที่ ก-1)

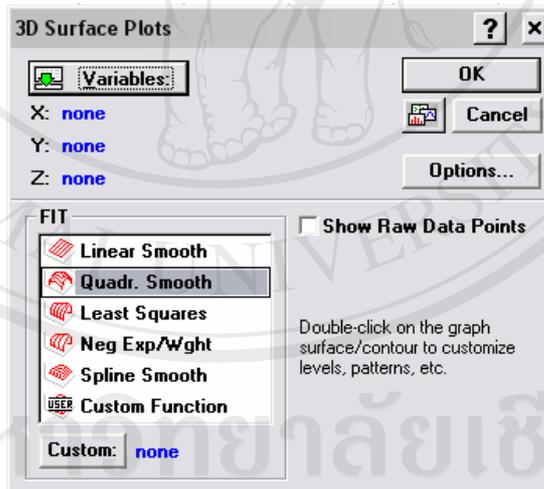
STATISTICA: Multiple Regression

Data: regression2.STA 13v * 10c

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
MILK	SUGAR	SWEET	VAR4	VAR5	VAR6	VAR7	VAR8	VAR9	VAR10	VAR11	VAR12	VAR13
12	14	.82										
16	14	.92										
12	18	1.09										
16	18	1.08										
14	16	.93										
14	16	.94										
14	16	.98										
14	16	.97										

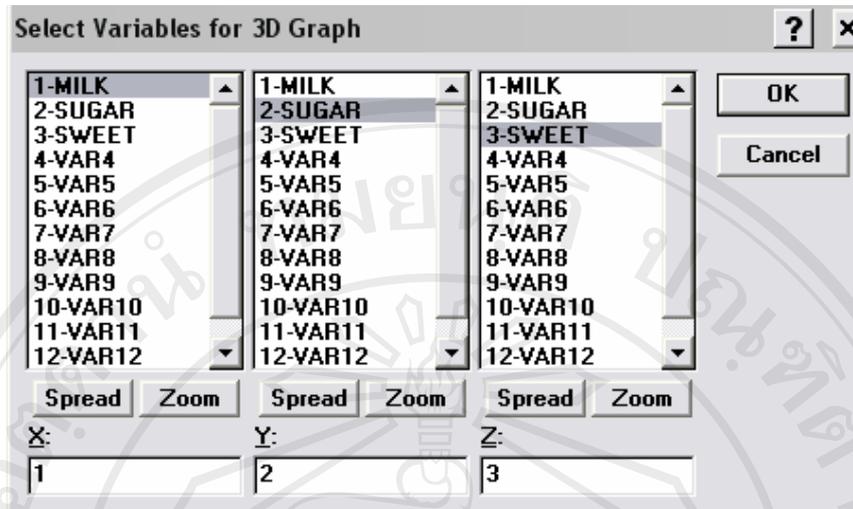
ภาพที่ ค-1 การป้อนตัวแปร และข้อมูลใน Work sheet ของโปรแกรม STATISTICA

เมื่อป้อนข้อมูลเรียบร้อยแล้ว สร้างกราฟโดยเลือกเมนู Graphs\ Stat 3D XYZ Graphs และเลือกชนิดของกราฟแบบ Surface Plots โปรแกรมจะแสดงหน้าต่างย่อยให้เลือกรูปแบบกราฟที่ต้องการสร้าง เนื่องจากสมการที่ถอดรหัสเป็นแบบเชิงเส้นโค้งจึงเลือกวิธีการสร้างแบบ Quadr. Smooth (ภาพที่ ค-2)



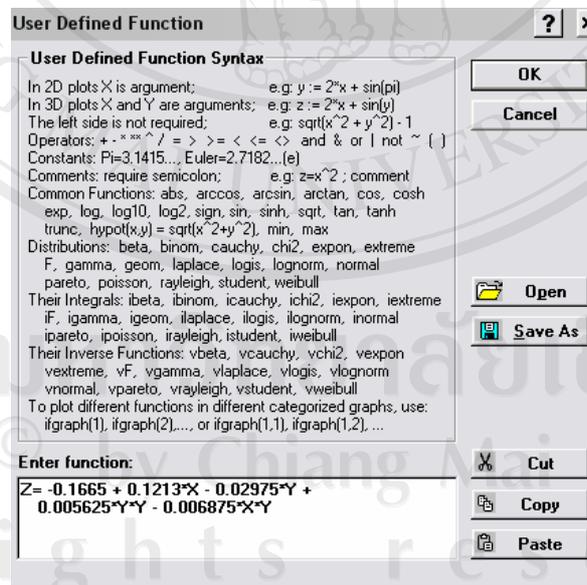
ภาพที่ ค-2 การเลือกรูปแบบกราฟในการสร้างพื้นที่ตอบสนองของคุณลักษณะรสหวาน

จากนั้นคลิกปุ่ม Variables เพื่อกำหนดตัวแปรที่จะใช้ในการสร้างกราฟ ในกรณีนี้ กำหนดให้ตัวแปรนมผงขาดมันเนย (Milk) เป็นแกน X ส่วนตัวแปรน้ำตาลทรายขาว (Sugar) เป็นแกน Y และค่าสัดส่วนเฉลี่ยของคุณลักษณะรสหวานเป็นแกน Z แล้วคลิก OK กลับมาหน้าต่างเดิม



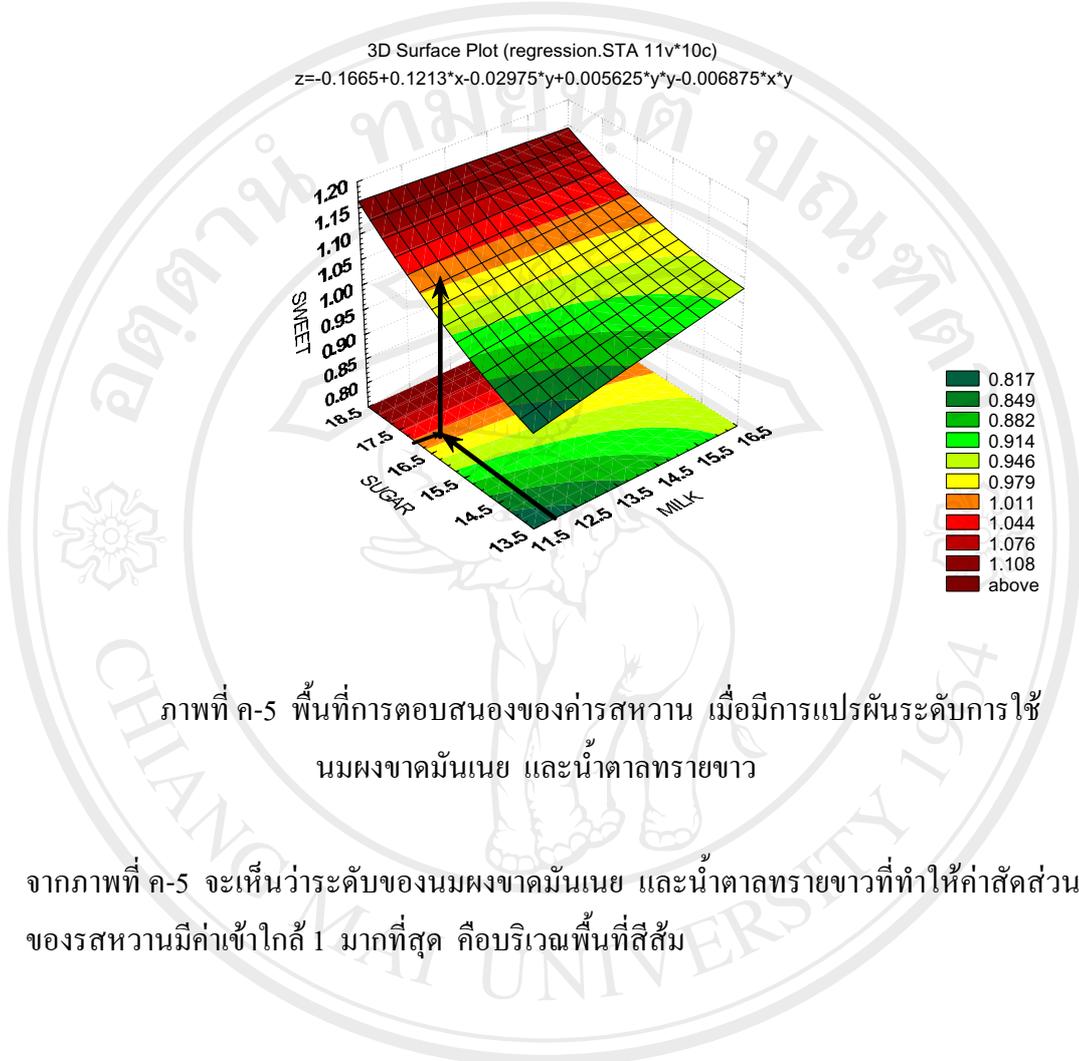
ภาพที่ ค-3 การกำหนดตัวแปรในแกน X, Y และ Z สำหรับการสร้างกราฟพื้นที่ตอบสนอง

ทำการกำหนดสมการที่ใช้ในการสร้างกราฟ โดยคลิกปุ่ม Custom และป้อนสมการถดถอยที่ถอดรหัสแล้วของคุณลักษณะรสหวาน (สมการที่ 5) ลงในช่อง Enter function (ภาพที่ ค-4) แล้วคลิก OK



ภาพที่ ค-4 การกำหนดสมการที่ใช้ในการสร้างกราฟพื้นที่ตอบสนอง

จะได้พื้นที่ตอบสนองของคุณลักษณะรสหวานที่แปรผันตามระดับการใช้นมผงขาดมันเนย และน้ำตาลทรายขาว ดังภาพที่ ค-5



ภาพที่ ค-5 พื้นที่การตอบสนองของค่ารสหวาน เมื่อมีการแปรผันระดับการใช้นมผงขาดมันเนย และน้ำตาลทรายขาว

จากภาพที่ ค-5 จะเห็นว่าระดับของนมผงขาดมันเนย และน้ำตาลทรายขาวที่ทำให้ค่าสัดส่วนเฉลี่ยของรสหวานมีค่าเข้าใกล้ 1 มากที่สุด คือบริเวณพื้นที่สีส้ม

ตารางที่ ค-1 สมการถดถอยที่ยังไม่ได้ถดถอยของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองที่
แปรผันตามระดับของนมผงขาดมันเนย และน้ำตาลทรายขาว

คุณลักษณะ	สมการถดถอยที่ยังไม่ได้ถดถอย	R ²
ทางกายภาพและทางเคมี		
ค่าสี C	$= 17.093 + 0.752(\text{นมผง}) - 0.878(\text{น้ำตาล}) - 0.145(\text{น้ำตาล})^2 - 0.0325(\text{นมผง} \times \text{น้ำตาล})$	0.973
ค่าสี h°	$= 90.825 - 0.6(\text{นมผง}) + 0.55(\text{น้ำตาล}) - 0.725(\text{น้ำตาล})^2 + 0.05(\text{นมผง} \times \text{น้ำตาล})$	0.962
อัตราการหลอมเหลว	$= 0.062 - 0.0075(\text{นมผง}) + 0.0115(\text{น้ำตาล}) - 0.004(\text{น้ำตาล})^2 - 0.003(\text{นมผง} \times \text{น้ำตาล})$	0.969
ค่าโอเวอร์รัน	$= 20.003 - 1.923(\text{นมผง}) + 0.862(\text{น้ำตาล}) - 3.295(\text{น้ำตาล})^2 - 0.878(\text{นมผง} \times \text{น้ำตาล})$	0.956
ค่าความแข็ง	$= 24.876 - 1.255(\text{นมผง}) - 4.28(\text{น้ำตาล}) - 3.939(\text{น้ำตาล})^2 + 1.704(\text{นมผง} \times \text{น้ำตาล})$	0.989
ปริมาณของแข็งทั้งหมด	$= 30.213 + 0.758(\text{นมผง}) + 1.342(\text{น้ำตาล}) - 0.35(\text{น้ำตาล})^2 - 0.292(\text{นมผง} \times \text{น้ำตาล})$	0.925
ค่าความเป็นกรด-ต่าง	$= 4.632 + 0.155(\text{นมผง}) + 0.095(\text{น้ำตาล}) + 0.0875(\text{น้ำตาล})^2$	0.962
ทางประสาทสัมผัส		
ความหวาน	$= 0.955 + 0.0625(\text{นมผง}) + 0.108(\text{น้ำตาล}) + 0.0225(\text{น้ำตาล})^2 - 0.0275(\text{นมผง} \times \text{น้ำตาล})$	0.969
ความเปรี้ยว	$= 0.967 - 0.0625(\text{นมผง}) - 0.0825(\text{น้ำตาล}) - 0.015(\text{น้ำตาล})^2 + 0.0025(\text{นมผง} \times \text{น้ำตาล})$	0.971
ค่าการยอมรับรวม	$= 0.750 + 0.01(\text{นมผง}) - 0.005(\text{น้ำตาล}) - 0.045(\text{น้ำตาล})^2 - 0.01(\text{นมผง} \times \text{น้ำตาล})$	0.961

ภาคผนวก ง

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

(ฉบับที่ 222) พ.ศ.2544

เรื่อง ไอศกรีม

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องไอศกรีม อาศัยอำนาจตามความในมาตรา 5 และมาตรา 6(1)(2)(4)(5)(6)(7) และ (10) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 อันเป็นพระราชบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา 29 ประกอบกับมาตรา 35 มาตรา 48 และมาตรา 50 ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทยบัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมาย รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ 1 ให้ยกเลิก

(1) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 33 (พ.ศ. 2522) เรื่อง กำหนดไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต ลงวันที่ 13 กันยายน พ.ศ. 2522

(2) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 101 (พ.ศ. 2529) เรื่อง กำหนดไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 7 กรกฎาคม พ.ศ. 2529

ข้อ 2 ให้ไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ

ข้อ 3 ไอศกรีมตามข้อ 2 แบ่งเป็น 5 ชนิด

(1) ไอศกรีมนม ได้แก่ ไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้นมหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนม

(2) ไอศกรีมตัดแปลง ได้แก่ ไอศกรีมตาม (1) ที่ทำขึ้นโดยใช้ไขมันชนิดอื่นแทนมันเนยทั้งหมดหรือแต่บางส่วน หรือไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันแต่ผลิตภัณฑ์นั้นมิใช่ผลิตภัณฑ์ได้จากนม

(3) ไอศกรีมผสม ได้แก่ ไอศกรีมตาม (1) หรือ (2) แล้วแต่กรณี ซึ่งมีผลไม้หรือวัตถุดิบที่เป็นอาหารเป็นส่วนผสมอยู่ด้วย

(4) ไอศกรีมตาม (1) (2) หรือ (3) ชนิดเหลว หรือ แห้ง หรือ ผง

(5) ไอศกรีมหวานเย็น ได้แก่ ไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้น้ำและน้ำตาล หรืออาจมีวัตถุดิบที่เป็นอาหารเป็นส่วนผสมอยู่ด้วย

ไอศกรีมดังกล่าวอาจใส่วัตถุแต่งกลิ่น รส และสีด้วยก็ได้

ข้อ 4 ไอศกรีมทุกชนิด ยกเว้นไอศกรีมตามข้อ 3(4) ต้องผ่านกรรมวิธีตามลำดับ ดังต่อไปนี้

(1) การผ่านความร้อน ต้องผ่านกรรมวิธีหนึ่งวิธีใด ดังนี้

(1.1) ทำให้ร้อนขึ้นถึงอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 68.5 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า 30 นาที หรือ

(1.2) ทำให้ร้อนขึ้นถึงอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 80 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า 25 วินาที และต้องมีเครื่องวัดอุณหภูมิพร้อมด้วยเครื่องบันทึกอัตโนมัติแสดงอุณหภูมิเวลาที่ใช้จริง หรือ

(1.3) ทำให้ร้อนโดยกรรมวิธีอื่นตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเห็นชอบด้วย

(2) ทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมินี้

(3) ปั่น กวน หรือผสม แล้วแต่กรณี และทำให้เยือกแข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า -2.2 องศาเซลเซียส ก่อนบรรจุลงในภาชนะบรรจุเพื่อจำหน่าย และต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า -2.2 องศาเซลเซียสนี้จนกว่าจะจำหน่าย

ข้อ 5 ไอศกรีม ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

(1) ไอศกรีมนม ต้องมีมันเนยเป็นส่วนผสมไม่น้อยกว่าร้อยละ 5 ของน้ำหนัก และมีธาตุน้ำนมไม่รวมมันเนยไม่น้อยกว่าร้อยละ 7.5 ของน้ำหนัก

(2) ไอศกรีมตัดแปรง ต้องมีไขมันทั้งหมดไม่น้อยกว่าร้อยละ 5 ของน้ำหนัก

(3) ไอศกรีมผสม ต้องมีมาตรฐานเช่นเดียวกับ (1) หรือ (2) แล้วแต่กรณี ทั้งนี้โดยไม่นับรวมน้ำหนักของผลไม้หรือวัตถุที่เป็นอาหารอื่นผสมอยู่

(4) ไอศกรีมหวานเย็นและไอศกรีมตามข้อ 3(1) (2) หรือ (3) ต้อง

(4.1) ไม่มีกลิ่นหืน

(4.2) ใช้วัตถุที่ทำให้ความหวานแทนน้ำตาลหรือใช้ร่วมกับน้ำตาล นอกจากการใช้น้ำตาลได้

โดยให้ใช้วัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาลได้ตามมาตรฐานอาหาร เอฟ เอ โอ/ดับบลิว เอช โอ, โคเดกซ์ (Joint FAO/WHO Codex) ที่ว่าด้วยเรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร และฉบับที่ได้แก้ไขเพิ่มเติม

ในกรณีที่ไม่มีมาตรฐานกำหนดไว้ตามวรรคหนึ่ง ให้สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

(4.3) ไม่มีวัตถุกันเสีย

(4.4) มีบัคเทรีได้ไม่เกิน 600,000 ในอาหาร 1 กรัม

(4.5) ตรวจไม่พบบัคเทรีชนิด อี. โคไล (Escherichia coli) ในอาหาร 0.01 กรัม

(4.6) ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

(4.7) ไม่มีสารเป็นพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ

(5) ไอศกรีมชนิดเหลวต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตาม (1) (2) หรือ (3) แล้วแต่กรณี และต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตาม (4) ด้วย

ข้อ 6 ไอศกรีมชนิดแข็ง หรือ ผง ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

(1) ไม่มีกลิ่นหืน

(2) มีกลิ่นตามลักษณะเฉพาะของไอศกรีมชนิดนั้น

(3) มีลักษณะไม่เกาะเป็นก้อน ผิดไปจากลักษณะที่ทำขึ้น

(4) ใช้วัตถุที่ให้ความหวานแทนน้ำตาลหรือใช้ร่วมกับน้ำตาล นอกจากการใช้น้ำตาลได้

โดยให้ใช้วัตถุให้ความหวานแทนน้ำตาลได้ตามมาตรฐานอาหาร เอฟ เอ โอ/ดับบลิว เอช โอ, โคเดกซ์ (Joint FAO/WHO Codex) ที่ว่าด้วยเรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร และฉบับที่ได้แก้ไขเพิ่มเติม

ในกรณีที่ไม่มีมาตรฐานกำหนดไว้ตามวรรคหนึ่ง ให้สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

(5) ไม่มีวัตถุกันเสีย

(6) มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 5 ของน้ำหนัก

(7) มีบัคเทรีได้ไม่เกิน 100,000 ในอาหาร 1 กรัม

(8) ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

(9) ไม่มีสารเป็นพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ

ข้อ 7 การใช้วัตถุเจือปนอาหาร ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร

ข้อ 8 ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าไอศกรีมเพื่อจำหน่าย ต้องปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร

ข้อ 9 การใช้ภาชนะบรรจุไอศกรีม ให้ปฏิบัติตามกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ภาชนะบรรจุ

ข้อ 10 การแสดงฉลากของไอศกรีม ให้ปฏิบัติตามกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลาก

ข้อ 11 ประกาศฉบับนี้

(1) ไม่กระทบกระเทือนถึงใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับอาหาร ซึ่งออกให้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 33 (พ.ศ. 2522) เรื่อง กำหนดไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต ลงวันที่ 13 กันยายน พ.ศ. 2522 แก้ไขเพิ่มเติมโดยประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 101 (พ.ศ. 2529) เรื่อง กำหนดไอศกรีมเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 7 กรกฎาคม พ.ศ. 2529 ก่อนประกาศนี้ใช้บังคับยังคงใช้ได้ต่อไป

(2) ให้ใบสำคัญการใช้ฉลากอาหาร ซึ่งออกให้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 68 (พ.ศ.2525) เรื่อง ฉลาก ลงวันที่ 29 เมษายน พ.ศ.2525 แก้ไขเพิ่มเติมโดยประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 95 (พ.ศ.2528) เรื่อง ฉลาก (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 30 เมษายน พ.ศ.2528 และฉบับที่เกี่ยวข้องก่อนประกาศนี้ใช้บังคับยังคงใช้ได้ไปได้ไม่เกินสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 12 ให้ผู้ผลิต ผู้นำเข้าไอศกรีมที่ได้รับอนุญาตอยู่ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ ยื่นคำขอรับเลขสารบบอาหารภายในหนึ่งปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ เมื่อได้ยื่นคำขอดังกล่าวแล้วให้ได้รับการผ่อนผันการปฏิบัติตามข้อ 8 ภายในสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ และให้คงใช้ฉลากเดิมที่เหลืออยู่ต่อไป จนกว่าจะหมดแต่ต้องไม่เกินสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 13 ประกาศนี้ ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันที่ 24 กรกฎาคม พ.ศ.2544 เป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ 24 กรกฎาคม พ.ศ.2544

สุดารัตน์ เกตุราพันธ์

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

(ราชกิจจานุเบกษาฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 118 ตอนพิเศษ 70 ง. ลงวันที่ 26 กรกฎาคม พ.ศ.2544)

ภาคผนวก จ

ใบรับรองผลวิเคราะห์ของเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น

CHR HANSEN

ABT-5

Certificate of Analysis

Form: Freeze-dried DVS
 Item no: 100134
 Batch no: 2698127
 Date of Manufacture: 06/2006
 Best Before Date: 06/2008

Performance	Result	Specification
pH 6h 43°C [pH]	4.6	4.4 - 4.7
Total cell count [cfu/g]	1.8E+11	>=5E+10
Purity	Result	Specification
Coliforms [MPN/g]	<1.0	<10
Enterococci [cfu/g]	<100	<100
Mould [cfu/g]	<10	<10
Non lactic acid bacteria [cfu/g]	<10	<500
Staphylococcus aureus [cfu/g]	<10	<10
Yeasts [cfu/g]	<10	<10
Salmonella spp. *	* See note below	Absent in 25 g
Listeria monocytogenes *	* See note below	Absent in 25 g

* Production is systematically tested on an ongoing basis - details can be supplied on request

Conditions for activity analysis
 pH 6h 43°C 500U / 2500 I

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright © by Chiang Mai University
 All rights reserved

Version 2/MAY/2001 ENGLISH

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวปิ่นนรี ชินวรรณวงศ์
วัน เดือน ปี เกิด	12 ตุลาคม 2519
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลายโรงเรียนจอมทอง ปีการศึกษา 2536 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีการศึกษา 2541
ประสบการณ์ทำงาน	พ.ศ. 2542 ถึงปัจจุบันทำงานในฝ่ายวิเคราะห์อาหาร กลุ่มงาน คุ้มครองผู้บริโภค ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์เชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved