



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ก : ข้อมูลกลุ่มผู้ผลิตผลิตภัณฑ์ปลาร้าใน จ.มหาสารคาม

| ผลิตภัณฑ์ | ประธานกลุ่ม | สถานที่ผลิต | จำนวนสมาชิกกลุ่ม | กำลังการผลิต/เดือน | รายได้/เดือน |
|----------------------|--|--|------------------|--------------------|--------------|
| ปลาร้าหมักปลาร้าพริก | นางทองม้วน ศรีทัตยศ | 1 หมู่บ้าน หนอง ล่ามใต้ หมู่ 1 ต. เหล่าบังบาน อ. เชียงยืน จ. มหาสารคาม โทร 08-7226-4294 | 50 | 15 โอ่ง | 85,000 |
| ปลาร้าบอง | นางมนตรี โคกสีอำนวย กลุ่มแม่บ้านเกษตรกร หนองมันปลา | 117 หมู่ 7 หนอง มันปลา ต.คูทอง อ. เชียงยืน จ. มหาสารคาม โทร 08-7063-1631 | 70 | 200 กระปุก | 4,000 |
| ปลาร้าบอง | นางเรียบ แสนพาน | 202 หมู่บ้านคุ้ม | 20 | 200-300 กระปุก | 6,000 – |
| | กลุ่มส่งเสริมอาชีพแปรรูป อาหาร | กลาง ต.รามภูธร บวรณะ หมู่ 13 ต. หัวขวาง อ.โกสุม พิสัย จ. มหาสารคาม โทร.089-277-9672 | | | 7,000 |

| ผลิตภัณฑ์ | ประธานกลุ่ม | สถานที่ผลิต | จำนวนสมาชิกกลุ่ม | กำลังการผลิต/เดือน | รายได้/เดือน |
|--|---|---|------------------|--------------------|------------------------|
| -ปลาร้าปลา บดบรรจุ กระปุก -ปลาร้าผง -น้ำปลาร้าดี บรรจุ ขวด | นางสาวกิมลภรณ์ แสงสี | 112 ถ.สารคาม โกสุม หมู่บ้านหัว ข้าว หมู่ 8 ต.แก้งแก อ.โกสุมพิสัย จ. มหาสารคาม โทร.08-1913-5451 | | ปลาร้าผง 40-50 | 1,000,000 |
| ปลาร้า ทรงเครื่อง | นางทองมาก มูลเหลา | 26 หมู่บ้านหัว แคน หมู่ที่ 5 ต. หนองแวง อ.กุฉีกรัง โทร.08-9230-4083 | | 1,000 กระปุก | 10,000 |
| ปลาร้า ,ปล่า้อม | นางจ่าปี ประดาทะโย | 99 หมู่ที่ดงบัง หมู่ 5 ต.ดงบัง อ.นาคูน โทร.080-1765-919 | 25 | 40-50 ปีบ | 10,000- 20,000 |
| ปลาร้าบอง | นางนภาพร ปักกะลีนัง กลุ่มปลาร้าบองบ้านโพธิ์ ทอง | 29 โพธิ์ทอง หมู่ 1 ต.พระราชอุ อ.นา คูน จ.มหาสารคาม โทร.043-700133 | | | ติดต่oไม่ได้ |
| ปลาร้าบอง | นางคำจันทร์ จุลนาค กลุ่มสตรีสหกรณ์บ้าน กอก | 6 หมู่กอก ต.หัวเรือ อ.วาปีปทุม โทร.084-7995602 | 75 | 100 กระปุก | 3,000 |
| ปลาร้าบอง | นางประไพพิศ บัตรศิริ มงคล | 58 หนองแคน หมู่ 5 ต.เมืองเสื่อ ยัคณ ภูมิพิสัย | | | ไม่มีเบอร์ โทรศัพท์ |

ภาคผนวก ข : กลุ่มผู้ผลิตปลาร้าในจังหวัดมหาสารคาม

1. กลุ่มปลาร้าโบราณอีสานดั้งเดิมปราศจากสารพิษ

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป

หัวหน้ากลุ่ม : นางทองม้วน ศรีพิศยศ อายุ 53 ปี

สถานที่ผลิต : 1 หมู่บ้าน หนองลำไต้ หมู่ 1 ต.เหล่าบังบาน อ.เชียงยืน จ.

มหาสารคาม โทร 08-7226-4294

จำนวนสมาชิกกลุ่ม : 50 คน

ประเภทผลิตภัณฑ์ : ปลาร้าหมัก ปลาร้าพริก

ส่วนที่ 2 ข้อมูลลักษณะผลิตภัณฑ์

ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ : ปลาขาวสร้อย ปลาแปบ ปลานิล เกลือ ร้าคั่ว

วิธีการทำ

1. ล้างปลาให้สะอาด ขอดเกล็ดปลาออก ล้างเครื่องใน ตากปลากับเกลือ ทิ้งไว้นาน 3 วัน
2. ผสมร้าคั่ว มีอัตราส่วนคือ ปลา 10 กิโลกรัม/ เกลือ 15 กิโลกรัม/ ร้า

คั่ว 15 กิโลกรัม บรรจุใส่ไหหรือโอ่งมังกร ทิ้งไว้ไม่ต่ำกว่า 5 เดือน

แหล่งที่มาของวัตถุดิบ : ปลาจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติ โดยรับซื้อปลาจากสมาชิก และชาวบ้าน

กำลังการผลิต : 15 โอ่ง/เดือน

ราคา : 3,150 บาท/โอ่ง

ส่วนที่ 3 ข้อมูลด้านการตลาด

แหล่งจำหน่ายหลัก : ที่กลุ่ม ศูนย์ OTOP ตามต่างจังหวัด เช่น อุตรธานี
ขอนแก่น ชัยภูมิ

จำนวนแหล่งจำหน่าย : 10 แห่ง

รายได้ในการจัดจำหน่าย /เดือน : 85,000 บาท

ส่วนที่ 4 ข้อเสนอแนะ และปัญหาที่ต้องการให้ทีมวิจัยช่วยเหลือ

1. ต้องการทำปลาร้าผงเพิ่มเติม
2. อยากได้โรงเก็บปลาร้าที่ถูกต้องตามหลัก GMP

2. กลุ่มปลาร้าของแม่ปลาทอง หมู่ 7

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป

หัวหน้ากลุ่ม : นางกฤษรัตน์ โคนสีอำนวย อายุ 58 ปี

สถานที่ผลิต : 117 หมู่ 7 หนองมันปลา ต.คูทอง อ.เชียงยืน จ.มหาสารคาม

โทร 08-7063-1631

จำนวนสมาชิกกลุ่ม : 70 คน

ประเภทผลิตภัณฑ์ : ปลาร้าของ ปลาป่น น้ำพริกตาแดง

ส่วนที่ 2 ข้อมูลลักษณะผลิตภัณฑ์

ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ : เนื้อปลาร้าตัดหัวออก ตรีโครแห้งคั่วสุก บดละเอียด ใบมะกรูดแห้งคั่วสุกบดละเอียด หอมแดง กระเทียม พริกขี้หนูคั่วบดละเอียด พริกแห้งดอกใหญ่ ข่าแห้งคั่วสุกบดละเอียด มะขามเปียก และน้ำตาลทราย

วิธีการทำ

- นำปลาร้าที่หมักไว้ประมาณ 8 เดือนขึ้นไป นำมาสับหรือบดให้ละเอียด จากนั้นนำมาคั่วให้สุก ใส่มะขามเปียก น้ำตาลทราย คั่วให้สุก
 - ผสมเครื่องปรุงต่างๆตามอัตราส่วนลงผสมในปลาร้า นำมาบดให้เข้ากันอีกครั้ง นำปลาร้าที่ได้มาคั่วไฟให้แห้ง
 - ยกลงทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นนำมาบรรจุในภาชนะที่เตรียมไว้ เก็บไว้ได้นานประมาณ 3 เดือน
- แหล่งที่มาของวัตถุดิบ : ปลาจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติ และชาวบ้าน
- กำลังการผลิต : 200 กระปุก
- ราคา : กระปุกละ 20 และ 50 บาท

ส่วนที่ 3 ข้อมูลด้านการตลาด

แหล่งจำหน่ายหลัก : ที่หมู่บ้าน หน่วยงานราชการ

จำนวนแหล่งจำหน่าย : 4 แหล่ง

รายได้ในการจัดจำหน่าย /เดือน : 4,000 บาท

ส่วนที่ 4 ข้อเสนอแนะ และปัญหาที่ต้องการให้ทีมวิจัยช่วยเหลือ

- อยากให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บนานมากขึ้น
- อยากได้บรรจุภัณฑ์ที่ไม่ให้อากาศเข้าได้

3. กลุ่มส่งเสริมอาชีพแปรรูปอาหาร

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป

หัวหน้ากลุ่ม : นางเรียบ แสนพานอายุ 68 ปี

สถานที่ผลิต : 202 หมู่บ้านคุ้มกลาง ถ.ราษฎร์บูรณะ หมู่ 13 ต.หัวขวาง

อ.โกสุมพิสัย จ.มหาสารคาม โทร.089-277-9672

จำนวนสมาชิกกลุ่ม : 20 คน

ประเภทผลิตภัณฑ์ : ปลาرائبอง

ส่วนที่ 2 ข้อมูลลักษณะผลิตภัณฑ์

ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ : เนื้อปลาร้าตัดหัวออก ตระไคร้แห้งคั่วสุก บดละเอียด ใบมะกรูดแห้งคั่วสุกบดละเอียด หอมแดง กระเทียม พริกขี้หนูคั่วบดละเอียด พริกแห้งดอกใหญ่ ข่าแห้งคั่วสุกบดละเอียด มะขามเปียก และน้ำตาลทราย

วิธีการทำ

1. นำปลาร้าที่หมักไว้ประมาณ 8 เดือนขึ้นไป นำมาสับหรือบดให้ละเอียด จากนั้นนำมาคั่วให้สุก ใส่มะขามเปียก น้ำตาลทราย คั่วให้สุก
2. ผสมเครื่องปรุงต่างๆตามอัตราส่วนลงผสมในปลาร้า นำมาบดให้เข้ากันอีกครั้ง นำปลาร้าที่ได้มาคั่วไฟให้แห้ง
3. ยกลงทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นนำมาบรรจุในภาชนะที่เตรียมไว้ เก็บไว้ได้นานประมาณ 3 เดือน

แหล่งที่มาของวัตถุดิบ : ซื้อปลาจากตลาด

กำลังการผลิต : 200-300 กระปุก

ราคา : กระปุกละ 10 บาท

ส่วนที่ 3 ข้อมูลด้านการตลาด

แหล่งจำหน่ายหลัก : ที่กลุ่ม

จำนวนแหล่งจำหน่าย : 1 แหล่ง

รายได้ในการจัดจำหน่าย /เดือน : 6,000 – 7,000 บาท

ส่วนที่ 4 ข้อเสนอแนะ และปัญหาที่ต้องการให้ทีมวิจัยช่วยเหลือ

1. ขาดเงินทุน
2. อยากได้บรรจุภัณฑ์ ที่ไม่ให้อากาศเข้าได้

4. โรงงานปลาร้าโกสุมฟาร์ม

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป

หัวหน้ากลุ่ม : นางสาวกมลภรณ์ แสงสี อายุ 32 ปี

สถานที่ผลิต : 112 ถ.สารคาม-โกสุม หมู่บ้านหัวขัว หมู่ 8 ต.แก้งแก

อ.โกสุมพิสัย จ.มหาสารคาม โทร.08-1913-5451

ประเภทผลิตภัณฑ์ : ปลาร้าผง แจ่วบอง ปลาบรจจุสุญญาภาค

ส่วนที่ 2 ข้อมูลลักษณะผลิตภัณฑ์

ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ : ปลาร้าปลากระตัก กระเทียม หัวหอมแดง และพริกแห้ง

วิธีการทำ

1. นำปลาร้ามาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ
2. หั่นหัวหอม กระเทียม และพริกแห้ง
3. จากนั้นนำส่วนผสมทั้งหมดเข้าตู้อบลมร้อนใช้ไฟประมาณ 100 °C
อบนานประมาณ 8 ชั่วโมง
4. ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วอบอีก 8 ชั่วโมงจนแห้ง นำส่วนผสมทั้งหมดมาบด

รวมกันในเครื่องบดจนละเอียด

แหล่งที่มาของวัตถุดิบ : ปลากระตักจาก จ.สมุทรปราการ

กำลังการผลิต : 40-50 กิโลกรัม/เดือน

ราคา : ซองละ 15 บาท (น้ำหนัก 15 กรัม)

ส่วนที่ 3 ข้อมูลด้านการตลาด

แหล่งจำหน่ายหลัก : ที่โรงงาน และ ขายทางอินเทอร์เน็ต

รายได้ในการจัดจำหน่าย /เดือน : 1,000,000 บาท

ส่วนที่ 4 ข้อเสนอแนะ และปัญหาที่ต้องการให้ทีมวิจัยช่วยเหลือ

1. ต้องการพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาร้าผง
2. ตรวจสอบ ในเตรด ในไตร์ท ในปลาร้าดิบ

5. ปลาร้าทรงเครื่อง ของ นางทองมาก มูลเหลา

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป

หัวหน้ากลุ่ม : นางทองมาก มูลเหลา อายุ 61 ปี

สถานที่ผลิต : 26 หมู่บ้านห้วยแคน หมู่ที่ 5 ต.หนองแวง อ.กุฉีกรัง

โทร.08-9230-4083

ประเภทผลิตภัณฑ์ : ปลาร้าทรงเครื่อง

ส่วนที่ 2 ข้อมูลลักษณะผลิตภัณฑ์

ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ : ปลาร้า พริกชี้ฟ้าเผา หอมแดงเผา กระเทียม

เผา ข่า ตะไคร้ ใบมะกรูด

วิธีการทำ

1. ตั้งไฟอ่อนๆ นำปลาร้ามาผัด
2. เติม ข่า ตะไคร้ พริก และเครื่องปรุงอื่นๆ

แหล่งที่มาของวัตถุดิบ : ปลาจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติจากตลาด

กำลังการผลิต : 1,000 กระปุก/เดือน

ราคา : 5-10 บาท/กระปุก

ส่วนที่ 3 ข้อมูลด้านการตลาด

แหล่งจำหน่ายหลัก : ที่บ้าน ศูนย์ OTOP

รายได้ในการจัดจำหน่าย /เดือน : 10,000 บาท

ส่วนที่ 4 ข้อเสนอแนะ และปัญหาที่ต้องการให้ทีมวิจัยช่วยเหลือ

1. ต้องการเครื่องปั่นขนาดใหญ่

6.กลุ่มปลาร้าโบราณอีสานดั้งเดิมปราศจากสารพิษ

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป

หัวหน้ากลุ่ม : นางทองม้วน ศรีทัตยศ อายุ 53 ปี

สถานที่ผลิต : 99 หมู่ที่ดงบัง หมู่ 5 ต.ดงบัง อ.นาอุดม จ.มหาสารคาม

โทร.080-1765-919

จำนวนสมาชิกกลุ่ม : 25 คน

ประเภทผลิตภัณฑ์ : ปลาร้า ปลาจ่อม

ส่วนที่ 2 ข้อมูลลักษณะผลิตภัณฑ์

ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ : ปลาร้า

วิธีการทำ : นำปลามาหมักรวมกับเกลือและรำ นาน 6 เดือน - 1 ปี

ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ : ปลาจ่อม

วิธีการทำ : ล้างปลาให้ สะอาด แล้วนำเกลือมาเคล้ากับปลาจนเหนียว เอาข้าวเหนียวแช่น้ำเอามาขาวให้เข้าและตามด้วยข้าวคั่ว ทิ้งไว้ 2 - 3 วัน

แหล่งที่มาของวัตถุดิบ : ปลาจากตลาด

กำลังการผลิต : 40-50 ปี๊บ

ราคา : 350 บาท/ปี๊บ

ส่วนที่ 3 ข้อมูลด้านการตลาด

แหล่งจำหน่ายหลัก : ในชุมชน

รายได้ในการจัดจำหน่าย /เดือน : 10,000 - 20,000 บาท

ส่วนที่ 4 ข้อเสนอแนะ และปัญหาที่ต้องการให้ทีมวิจัยช่วยเหลือ

1. ต้องการเงินทุน

7.กลุ่มสตรีสหกรณ์บ้านกอก

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป

หัวหน้ากลุ่ม : นางคำจันทร์ จุลนาถ อายุ 50 ปี

สถานที่ผลิต : 6 หมู่กอก ต.หัวเรือ อ.วาปีปทุม โทร.084-7995602

จำนวนสมาชิกกลุ่ม : 75 คน

ประเภทผลิตภัณฑ์ : ปลาย่าง

ส่วนที่ 2 ข้อมูลลักษณะผลิตภัณฑ์ : เนื้อปลาย่างตัดหัวออก ตรีโครแห้งคั่วสุก

บดละเอียด ไบเมกรูดแห้งคั่วสุกบดละเอียด หอมแดง กระเทียม พริกขี้หนูคั่วบดละเอียด

พริกแห้งดอกใหญ่ ข่าแห้งคั่วสุกบดละเอียด มะขามเปียก และน้ำตาลทราย

วิธีการทำ

1. นำปลาย่างมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ
2. หั่นหัวหอม กระเทียม และพริกแห้ง
3. จากนั้นนำส่วนผสมทั้งหมดเข้าตู้อบลมร้อนใช้ไฟประมาณ 100 °C

อบนานประมาณ 8 ชั่วโมง

4. ที่งไว้ให้เย็นแล้วอบอีก 8 ชั่วโมงจนแห้ง นำส่วนผสมทั้งหมดมาบด

รวมกันในเครื่องบดจนละเอียด

แหล่งที่มาของวัตถุดิบ : ปลาจากตลาดชุมพล อ.สตึก

กำลังการผลิต : 100 กระปุก/เดือน

ราคา : กระปุกเล็ก 15 บาท กระปุกใหญ่ 50 บาท

ส่วนที่ 3 ข้อมูลด้านการตลาด

แหล่งจำหน่ายหลัก : ที่กลุ่มสหกรณ์

รายได้ในการจัดจำหน่าย /เดือน : 3,000 บาท

ส่วนที่ 4 ข้อเสนอแนะ และปัญหาที่ต้องการให้ทีมวิจัยช่วยเหลือ

1. ต้องการลดต้นทุนการผลิต

ภาคผนวก ก : แบบสอบถามข้อมูลของผลิตภัณฑ์ปลาร้าแปรรูปในด้านต่าง ๆ

แบบสอบถาม

แบบสอบถามนี้จัดทำขึ้นเพื่อใช้ประกอบโครงการวิจัย เรื่อง การพัฒนาศักยภาพการผลิตผลิตภัณฑ์ปลาร้าแปรรูป เพื่อการแข่งขันในตลาดของกลุ่มชุมชนในจังหวัดมหาสารคาม

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป

คำแนะนำ กรุณาแสดงเครื่องหมาย ลงในช่องหน้าข้อมูล และกรอกข้อมูลของท่านลงในช่องว่าง

1.เพศ

() ชาย () หญิง

2.อายุ () ต่ำกว่า 15 ปี () 16-25 ปี

() 26- 35 ปี () 36-45 ปี

() 46 ปีขึ้นไป

3. ชื่อ-นามสกุล.....

4. หน้าที่ของท่านในกลุ่ม.....

5. ชื่อกลุ่ม.....

6. จำนวนสมาชิกกลุ่ม.....

7. ประเภทผลิตภัณฑ์.....

8. สถานที่ตั้ง.....

.....

9. เบอร์โทรศัพท์ต่อ.....

ส่วนที่ 2 ข้อมูลลักษณะผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์.....

1. ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์

.....

.....

2. วิธีการทำ

.....

.....

.....

.....

3. แหล่งที่มาของวัตถุดิบ

.....

.....

4. กำลังการผลิตศักยภาพการผลิต.....

5. รูปแบบของบรรจุภัณฑ์.....

.....

ส่วนที่ 3 ข้อมูลด้านการตลาด

1. แหล่งจำหน่ายหลัก

2. จำนวนแหล่งจำหน่าย.....

3. รายได้ในการจัดจำหน่าย /เดือน และราคาต่อหน่วย.....

4. ความต่อเนื่องของตลาด.....

5. ช่องทางการจำหน่าย.....

6. การสร้างแรงจูงใจ.....

7. ความพึงพอใจของลูกค้า

8. รูปแบบในการโฆษณา

ส่วนที่ 4 ข้อเสนอแนะ และปัญหาที่ต้องการให้ทีมวิจัยช่วยเหลือ

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ภาคผนวก ง : การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

ภาคผนวก ง 1 : การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl (AOAC, 1990)

วิธีการทดลอง

1) การย่อย

- 1.1) ชั่งปลาร้าผงเสริมสมุนไพร 2 กรัม ใส่ในหลอดสำหรับย่อย
- 1.2) เติมสารเร่งปฏิกิริยา (catalyst : K_2SO_4 : $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ = 20:1) 2.000 กรัม แล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร แล้วเขย่าเบาๆ
- 1.3) ทำ blank เปรียบเทียบโดยทำเหมือนกับข้อ 1.2) แต่ไม่ต้องเติมปลาร้าผงเสริมสมุนไพร
- 1.4) นำหลอดย่อยวางบนเครื่องย่อยพร้อมกับให้ความร้อน ค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิขึ้นเรื่อยๆ จนสารที่ได้เป็นสารละลายใส และมีสีฟ้า ใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง
- 1.5) นำหลอดย่อยออกจากเครื่องย่อย ทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดเก็บสารตัวอย่าง ปิดฝาให้สนิท เก็บไว้สำหรับการกลั่นหาแอมโมเนีย

2) การกลั่น

- 2.1) นำสารละลายที่ได้จากการย่อยมาจำนวน 10 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 60 จำนวน 20 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดสำหรับกลั่น (distillation apparatus)
- 2.2) ขณะกลั่น นำสารละลายบอริกอินดิเคเตอร์ 5 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ไปรองรับสารที่กลั่นได้ (สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีม่วงแดงเป็นสีเขียว) นาน 10 นาที

3) การไทเทรต

- 3.1) นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน 0.1 N H_2SO_4 จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นม่วงแดง บันทึกปริมาตรของ H_2SO_4 ที่ใช้ไป
- 3.2) นำไปคำนวณหาปริมาณไนโตรเจน จากสูตร

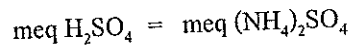
$$\text{ปริมาณ โปรตีนคิดเป็นร้อยละ โดยน้ำหนัก} = \frac{(A-B) \times 14.007 \times F}{W} \times 100$$

A = ปริมาณกรดที่ใช้ไทเทรตกับตัวอย่าง (ml)

B = ปริมาณกรดที่ใช้ไทเทรตกับ Blank (ml)

F = แฟกเตอร์ (6.25)

W = น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น(กรัม)



$$N_1 \cdot V_1 = \frac{g}{\text{MW}/x} \times 1000$$

$$(N_1) \times (A) = \frac{g}{14} \times 1000$$

$$(N_1) \times (A-B) = \frac{g}{14} \times 1000$$

$$g = \frac{14 \times N_1 \times (A-B)}{1000}$$

$$g = C \text{ กรัม}$$

สารละลาย 10 ml มีไนโตรเจนอยู่ = C กรัม

สารละลาย 100 ml มีไนโตรเจนอยู่ = $\frac{C \times 100}{10}$ กรัม

ปลาร้า 2.000 กรัม มีไนโตรเจนอยู่ = D กรัม

$$\text{ปลาร้า 100 กรัม จะมีไนโตรเจน} = \frac{D \times 100}{2}$$

$$= E \text{ กรัม}$$

จากปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่ตามข้อ 2.1 จะเป็นปริมาณเท่าไรคูณด้วยค่า Protein Factor (อาหารชนิดอื่นๆ) เท่ากับ 6.25 เพราะฉะนั้นร้อยละโปรตีน = 6.25 x E

$$= F$$

ภาคผนวก ง 2 : การวิเคราะห์หาปริมาณไขมันโดยใช้ Soxhlet Apparatus (AOAC, 1990)

วิธีการทดลอง

- 1) อบปีกเกอร์สำหรับหาปริมาณไขมัน ที่ อุณหภูมิ 110 °C ซึ่งมีขนาด ความจุ 250 มิลลิลิตรในตู้อบไฟฟ้า แล้วทิ้งไว้ให้เย็น ใน โถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอนจน น้ำหนักคงที่
- 2) ชั่งตัวอย่างปลา ร้าผงเสริมสมุนไพรที่แน่นอน 2 กรัม ลงในกระดาษกรองและใส่ลงในทิมเบลสำหรับใส่ตัวอย่าง
- 3) นำหลอดทิมเบลใส่ลงใน เครื่องช็อกเส็ด
- 4) เติมหะกษณ 100 มิลลิลิตร ลงในปีกเกอร์สำหรับหาปริมาณไขมัน แล้ววางลงบนเตา
- 5) ประกอบอุปกรณ์ชุดสกัด ไขมัน พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ความแน่นแล้วเปิด สวิตซ์ให้ความร้อน
- 6) ใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ในการสกัดไขมันจนได้น้ำมันออกมา โดยปรับความ ร้อนของสารละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ความแน่นด้วยอัตรา 150 หยด ต่อ 1 นาที
- 7) นำตัวอย่างปลา ร้าผงเสริมสมุนไพรที่สกัดไขมันออกแล้ว ไปอบที่อุณหภูมิ 110 °C นาน 30 นาที เพื่อระเหยตัวทำละลายออก ทิ้งไว้ให้เย็นใน โถดูดความชื้น
- 8) ชั่งน้ำหนักตัวอย่างปลา ร้าผงเสริมสมุนไพรจากข้อ 7 และอบซ้ำ 30 นาที จนกระทั่ง ผลต่างของน้ำหนักผลต่างของน้ำหนักสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.001 - 0.002 กรัม
- 9) คำนวณหาปริมาณ ไขมันที่มีอยู่ในปลา ร้าผงเสริมสมุนไพรทั้งหมด ได้จากสูตร

$$\text{ปริมาณ ไขมันคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = \frac{\text{น้ำหนักของไขมันหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

ภาคผนวก ง 3 : การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (AOAC, 1990)

วิธีการทดลอง

- 1) อบด้วยกระบะเบี่ยงสำหรับหาปริมาณเถ้า ที่อุณหภูมิ 110 °C ในตู้อบไฟฟ้าแล้วทิ้งไว้ให้เย็น ในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอนอบซ้ำจนน้ำหนักเคลื่อน แล้วนำไปเผาที่ 550 °C เป็นเวลาประมาณ 5 ชั่วโมง
- 2) ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของปลาร้าผงเสริมสมุนไพร 3 กรัม ใส่ลงในถ้วยกระบะเบี่ยง
- 3) นำตัวอย่างปลาร้าผงเสริมสมุนไพรที่ได้การเผาไปอบที่อุณหภูมิ 110 °C 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น
- 4) ชั่งน้ำหนักตัวอย่างปลาร้าผงเสริมสมุนไพรจากข้อ 3) และอบซ้ำ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.001 - 0.002 กรัม
- 5) คำนวณหาปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้า} = \frac{(A-B) \times 100}{W}$$

A = น้ำหนักถ้วยกระบะเบี่ยง + น้ำหนักเถ้าภายหลังการอบ

B = น้ำหนักถ้วยกระบะเบี่ยง

W = น้ำหนักของตัวอย่างอาหาร

ภาคผนวก ง 4 : การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (AOAC, 1990)

วิธีการทดลอง

- 1) ทำการอบด้วยอะลูมิเนียมที่จะใช้หาความชื้นที่อุณหภูมิ 110 °C นาน 24 ชั่วโมง
ทิ้งให้เย็นใน desiccator แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
- 2) ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของปลาร้าผงเสริมสมุนไพร 3 กรัม ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียม
ที่เตรียมไว้แล้ว
- 3) ปิดฝาด้วยอะลูมิเนียมอย่างหลวมๆ แล้วนำไปอบใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 110
°C จนน้ำหนักคงที่
- 4) นำมาทิ้งให้เย็นใน desiccator โดยปิดฝาให้สนิท แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
- 5) คำนวณหาปริมาณความชื้นได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละปริมาณความชื้น} = \frac{(A-B) \times 100}{A}$$

A = น้ำหนักตัวอย่างอาหารก่อนอบแห้ง

B = น้ำหนักตัวอย่างอาหารหลังอบแห้ง

ภาคผนวก ง 5 : การวิเคราะห์หาปริมาณเกลือ (AOAC, 1990)

วิธีการทดสอบ

- 1) ลูบตัวอย่างปลาร้าผงเสริมสมุนไพรมา 150 กรัม นำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น
- 2) ชั่งปลาร้าผงเสริมสมุนไพรมา 10 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นลงไป คนให้เข้า

กัน

- 3) เทใส่ขวดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำกลั่น
- 4) นำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4
- 5) บีบอัดส่วนที่กรองได้มา 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่เติม K_2CrO_4 1 มิลลิลิตร
- 6) นำไปไทเทรตด้วย 0.1 N $AgNO_3$ จนกระทั่งเปลี่ยนเป็นสีแดงอิฐ
- 7) อ่านปริมาตรของ $AgNO_3$ ที่ใช้ในการไทเทรต แล้วนำไปคำนวณผลจากสูตร

$$meqAgNO_3 = meqNaCl$$

$$C \times V = \frac{g \times 1000}{Mw/x}$$

C = ความเข้มข้นของ $AgNO_3$ (N)

V = ปริมาตรของ $AgNO_3$ ที่ใช้ในการไทเทรต (ml)

g = มวลของเกลือ (กรัม)

MW = มวลโมเลกุลของ NaCl

$$\text{สารละลาย 10 ml มี NaCl} = A \text{ กรัม}$$

$$\text{สารละลาย 250 ml มี NaCl} = \frac{A \times 250}{10} \text{ กรัม}$$

$$\text{ปลาร้า 10 กรัม มี NaCl} = \frac{A \times 250}{10} \text{ กรัม}$$

$$\text{ปลาร้า 100 กรัม มี NaCl} = \frac{A \times 250 \times 100}{100} \text{ กรัม}$$

ภาคผนวก ง 6 : วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (By different)

คำนวณจากสูตร

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต} = 100 - \text{ความชื้น} - \text{โปรตีน} - \text{ไขมัน} - \text{เถ้า}$$



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก ง 7 : การวัดความเป็นกรด - ด่าง (pH) โดยเครื่อง pH meter

วิธีการทดลอง

1) ปรับ pH meter ให้อ่านค่าได้ถูกต้อง โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่ทราบความเป็นกรด - ด่างที่แน่นอน

2) จุ่มอิเล็กโทรดลงในน้ำกลั่นเพื่อล้างให้สะอาด เช็ดให้แห้งแล้วจุ่มลงในตัวอย่างปลาร้าผงเสริมสมุนไพรสูตรที่ 4 ที่ผสมผสมกับน้ำอัตราส่วนปลาร้าผงเสริมสมุนไพร 25 กรัม : น้ำ 100 มิลลิลิตร อ่านค่าความเป็นกรด - ด่าง บันทึกผล

3) ล้างอิเล็กโทรดด้วยน้ำกลั่นเพื่อล้างให้สะอาดเช็ดให้แห้ง



มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

ภาคผนวก จ : การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การชิมโดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน ให้ทดสอบจับปลา ร้าผงเสริมสมุนไพรจำนวน 5 หน่วยทดลอง และให้คะแนนตามความชอบในสเกล 1-7 ระดับ ระดับการทดสอบการยอมรับจากคะแนนน้อยที่สุด คือ 1 ชอบมากที่สุดเท่ากับ 7

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยใช้วิธี Hedonic scale

แบบทดสอบชิม

ชื่อผู้ทดสอบชิม.....เพศ.....อายุ.....
วันที่ทดสอบชิม.....เวลา.....

จากตัวอย่างอาหาร กรุณาชิมตัวอย่างตามลำดับ แล้วให้คะแนนตามความชอบของท่านที่มีต่อตัวอย่างอาหาร ตาม scale ที่ให้ไว้ดังนี้

| | | | | | |
|-----------------|-------|---|---------------|-------|---|
| ชอบมากที่สุด | คะแนน | 7 | ชอบปานกลาง | คะแนน | 6 |
| ชอบเล็กน้อย | คะแนน | 5 | เฉยๆ | คะแนน | 4 |
| ไม่ชอบเล็กน้อย | คะแนน | 3 | ไม่ชอบปานกลาง | คะแนน | 2 |
| ไม่ชอบมากที่สุด | คะแนน | 1 | | | |

| คุณภาพผลิตภัณฑ์ | เลขรหัสตัวอย่าง | | | | |
|------------------|-----------------|-----|-----|-----|-----|
| | 246 | 542 | 827 | 019 | 795 |
| สี | | | | | |
| กลิ่น | | | | | |
| รสชาติ | | | | | |
| ความชอบโดยทั่วไป | | | | | |

ชื่อเสนอแนะ

.....
.....

ภาคผนวก ข : การตรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยา (AOAC, BAM, 1998)

การเตรียมตัวอย่างอาหารเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์

1. เตรียมตัวอย่างอาหารด้วย Aseptic technique
2. ใช้สาลีสบูบแอลกอฮอล์ ร้อยละ 70 เช็ดโดยรอบบรรจุภัณฑ์ของตัวอย่างอาหาร
3. เปิดบรรจุภัณฑ์และใช้ช้อนที่ปราศจากเชื้อผสมตัวอย่างอาหารให้เข้ากัน
4. ชั่งตัวอย่าง 50 กรัม ใส่ลงไปลงในถุงพลาสติกหรือภาชนะที่ปราศจากเชื้อ

การเจือจางตัวอย่างอาหารเพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างอาหาร 50 กรัม ใส่ลงไปลงในน้ำยาเจือจาง (Butterfield's phosphate-buffered dilution, BF) 450 มิลลิลิตรที่บรรจุอยู่ในขวดและทำให้ปราศจากเชื้อแล้ว เขย่าขวดแรงๆ อย่างน้อย 25 ครั้งเพื่อให้ตัวอย่างอาหารกระจายอยู่ในน้ำยาเจือจางอย่างทั่วถึง ในขั้นแรกจะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเจือจาง 1:10

2. ทำให้เจือจางโดยการปิเปตสารละลายตัวอย่างอาหารในข้อ 1 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวด BF 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน (ประมาณ 25 ครั้ง) จะได้ตัวอย่างที่มีความเจือจาง 1:100

3. ทำให้เจือจางเป็น 1:1000, 1:10000, ด้วยวิธีการเดียวกับข้อ 2 ตัวอย่างอาหารที่ได้จะใช้ในการตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาต่างๆ ต่อไป

วิธีการวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมดในอาหาร

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้ 1 มิลลิลิตรลงในจานเลี้ยงเชื้อความเจือจางละ 2 จาน (ทำการเขย่าขวดก่อนปิเปต)
2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar ที่มีอุณหภูมิประมาณ 45 °C จานละ 12-15 มิลลิลิตร
3. ผสมให้ตัวอย่างกับอาหารเลี้ยงเชื้อเข้ากันดี โดยหมุนตามเข็มนาฬิกา ทวนเข็มนาฬิกา หน้าหลัง และซ้ายขวา สลับกัน
4. ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว
5. นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35±1 °C เป็นเวลา 48±2 ชั่วโมง โดยวางจานเพาะเลี้ยงในลักษณะคว่ำจาน

6. เมื่อครบกำหนดนำงานอาหารเลี้ยงเชื้อมานับโคโลนีและคำนวณหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่าง 1 กรัม (CFU/g)

วิธีการวิเคราะห์ยีสต์และราในอาหาร

1. ปิเปิดสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้ 1 มิลลิลิตรลงในจานเลี้ยงเชื้อความเจือจางละ 2 จาน (ทำการเขย่าขวดก่อนปิเปิด)
2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (ซึ่งใส่ 10% Tartaric acid 1.1 มิลลิลิตรต่ออาหาร % PDA 100 มิลลิลิตร) ที่มีอุณหภูมิประมาณ 45 °C จานละ 12-15 มิลลิลิตร
3. ผสมให้ตัวอย่างกับอาหารเลี้ยงเชื้อเข้ากันดี โดยหมุนตามเข็มนาฬิกา ทวนเข็มนาฬิกา หน้าหลัง และซ้ายขวา สลับกัน
4. ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว
5. นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25±1 °C เป็นเวลา 5 วัน โดยวางจานเพาะเลี้ยงในลักษณะปกติ ห้ามเคลื่อนย้ายจนกว่าจะครบเวลา
6. เมื่อครบกำหนดนำงานอาหารเลี้ยงเชื้อมานับโคโลนีและคำนวณหาจำนวนยีสต์และราในตัวอย่าง 1 กรัม (CFU/g)

วิธีการวิเคราะห์ *Staphylococcus aureus* ในอาหาร

1. ปิเปิดสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้ 1 มิลลิลิตรลงในจานเลี้ยงเชื้อความเจือจางละ 2 จาน (ทำการเขย่าขวดก่อนปิเปิด)
2. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird parker agar ที่มีอุณหภูมิประมาณ 45 °C จานละ 12-15 มิลลิลิตร
3. ผสมให้ตัวอย่างกับอาหารเลี้ยงเชื้อเข้ากันดี โดยหมุนตามเข็มนาฬิกา ทวนเข็มนาฬิกา หน้าหลัง และซ้ายขวา สลับกัน
4. ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว
5. นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35±1 °C เป็นเวลา 48±2 ชั่วโมง โดยวางจานเพาะเลี้ยงในลักษณะคว่ำจาน เมื่อครบกำหนดนำงานอาหารเลี้ยงเชื้อมานับโคโลนีและคำนวณหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่าง 1 กรัม (CFU/g)

กาตัดเลือกและการนับจำนวนโคโลนี

1. งานเพาะเชื้อที่เกิด โค โลนีของแบคทีเรียแพร่กระจายอย่างสม่ำเสมอและมีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โค โลนีเท่านั้น (กรณีเชื้อยีสต์และรา อยู่ระหว่าง 15-150) ที่เหมาะสมจะนำมา
นับจำนวน

2. เฉลี่ยจำนวน โค โลนีของแบคทีเรียจากงานที่นับได้ในความเข้มข้นติดกัน ถ้าจำนวนที่สูงกว่ามีจำนวนมากกว่าจำนวนที่ต่ำกว่าสองเท่าหรือน้อยกว่าให้นำไปหาค่าเฉลี่ย แต่ถ้าจำนวนที่สูงกว่ามีจำนวนมากกว่าจำนวนที่ต่ำกว่าเกินกว่าสองเท่าตัวไม่ต้องหาค่าเฉลี่ย ให้ใช้จำนวนที่ต่ำกว่าเท่านั้น

3. ถ้าจำนวนโค โลนีในงานเพาะเชื้อทุกความเจือจางมีน้อยกว่า 30 โค โลนี (กรณีเชื้อยีสต์และราคือต่ำกว่า 15 โค โลนี) ให้บันทึกจำนวนโค โลนีในงานเพาะเชื้อที่มีความเจือจางต่ำสุด แล้วรายงานเป็น Estimated SPC (ESPC) ต่อมิลลิลิตรหรือต่อกรัม

4. ถ้าไม่เกิด โค โลนีของจุลินทรีย์ในงานเพาะเชื้อทุกงานให้รายงานค่า SPC ต่อมิลลิลิตรหรือต่อกรัมเป็นน้อยกว่า 1 (< 1) เท่าของความเจือจางต่ำสุด

5. ถ้าจำนวนโค โลนีของแบคทีเรียในงานเพาะเชื้อทุกงานมีมากกว่า 300 โค โลนี (กรณีเชื้อยีสต์และราคือถ้ามากกว่า 150 โค โลนี) ให้คัดเลือกงานที่มีโค โลนีใกล้เคียงกับ 300 มากที่สุด (กรณีเชื้อยีสต์และราคือใกล้เคียงกับ 150 โค โลนี) (หรืองานที่มีการเจือจางสูงสุด) แล้วรายงานเป็นค่า ESPC ต่อมิลลิลิตรหรือต่อกรัม

จำนวนโค โลนีที่นับได้ในงานเพาะเชื้อ จะต้องนำมาคูณด้วยส่วนกลับของอัตราส่วนการเจือจางของงานตัวอย่าง จะได้จำนวนของแบคทีเรียต่อมิลลิลิตรหรือต่อกรัมในตัวอย่างอาหาร รายงานผลเป็น SPC ต่อมิลลิลิตร หรือ SPC ต่อกรัม

วิธีการวิเคราะห์ Salmonella ในอาหาร

1. เตรียมหลอดอาหาร Selenite cystine broth และ Tetrathionate broth หลอดละ 10 มิลลิลิตร

2. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้และเชื้อควบคุมลงในหลอดอาหารทั้งสอง หลอดละ 1 มิลลิลิตร

3. นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4. ใช้ลูปแตะเชื้อจากข้อ 3 จัดเชื้อบนอาหาร SS agar เพื่อให้ได้โค โลนีเดี่ยว บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 40 ชั่วโมง

5. สังเกตโคโลนีของ *Salmonella* ซึ่งโคโลนีจะไม่มีสี โคโลนีใสหรือทึบบางสายพันธุ์ อาจมีสีเข้ากลางโคโลนี

การตรวจสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี

6. เชื้อเชื้อจากโคโลนีลักษณะดังกล่าวในข้อ 5 ลงในอาหารเพาะเชื้อต่อไปนี้ บ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

- TSI agar (Slant และ Butt) เชื้อ *Salmonella* จะไม่สร้าง Urease อาหารจะไม่เปลี่ยนสี
- Lysine decarboxylase broth *Salmonella* จะสร้าง Lysine decarboxylase ทำให้อาหารเปลี่ยนเป็นสีม่วง
- ONPG broth เชื้อ *Salmonella* ไม่สร้างเอนไซม์ D-galactosidase อาหารจะยังคงไม่มีสีตามเดิม

7. เมื่อครบกำหนดจะสังเกตได้ว่า

- อาหาร TSI agar จะไม่เปลี่ยนสี เนื่องจากเชื้อ *Salmonella* จะไม่สร้าง Urease อาหาร
- อาหาร Lysine decarboxylase broth เปลี่ยนเป็นสีม่วง เนื่องจาก *Salmonella* จะสร้าง Lysine

decarboxylase

- อาหาร ONPG broth จะไม่เปลี่ยนสี เนื่องจากเชื้อ *Salmonella* ไม่สร้างเอนไซม์ D-galactosidase
- การตรวจสอบแอนติเจน

8. ถ่ายเชื้อจากข้อ 2 ลงบน NA slant บ่มที่ 27 °C 24 ชั่วโมง ทำ Suspension ด้วยน้ำเกลือ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

9. หยด Suspension ลงบนสไลด์ 3 หยด จากนั้นทำการหยด Polyvalent "O" Antiserum ลงใน Suspension หยดแรก Polyvalent "N" Antiserum ลงในหยดที่สอง

10. เขียงสไลด์ไปมาและสังเกตการตกตะกอน (Agglutination)

- อ่านผลเป็นบวก ถ้าเกิดการตกตะกอนในหยดซึ่งมี Antiserum แต่ไม่มีตะกอนเกิดขึ้นในหยดที่สามซึ่งไม่มี Antiserum อยู่
- อ่านผลเป็นลบ ในกรณีที่เกิดตะกอน Suspension หยดที่ไม่ได้เติม Antiserum แสดงว่าเกิด Autoagglutination

● ในกรณีที่เกิดปฏิกิริยาเฉพาะกับ "H" Antiserum หยด "Vi" Antigen ลงใน Suspension หยดที่สาม หรือทดสอบกับ "O" Antiserum ใหม่ หลังจากต้ม Suspension ประมาณ 1 นาที

11. การรายงานผลในตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใช้เกณฑ์ดังนี้

- ถ้าเชื้อให้ผลการทดสอบทางชีวเคมีแสดงว่าเป็น *Salmonella* และตกตะกอนแยกกับ Antiserum รายงานว่าพบเชื้อ *Salmonella*
- ถ้าเชื้อให้ผลการทดสอบทางชีวเคมีเพียงบางการทดสอบ ไม่ตกตะกอนกับ Antiserum รายงานผลว่าไม่พบ *Salmonella*

วิธีการวิเคราะห์โคลิฟอร์มในอาหาร

ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ การวิเคราะห์ขั้นแรก (Presumptive test), การตรวจสอบขั้นยืนยัน (Confirmed test) และการตรวจสอบขั้นสมบูรณ์ (Completed test) ดังนี้

การวิเคราะห์ขั้นแรก (Presumptive test)

1. ปิ่ปัดสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้ ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl tryptose broth (LST) ที่บรรจุหลอดดักแก๊ส ความเงิองจางละ 3 หลอด (ทำการเขย่าขวดก่อนปิ่ปัด) หลอดละ 1 มิลลิลิตร

2. เขย่าหลอดเลี้ยงเชื้อเบาๆ เพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายตัวอย่างเข้ากัน

3. นำไปบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อ ที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 48 ± 2 ชั่วโมง

4. เมื่อครบกำหนด สังเกตหลอดที่ขุ่นและเกิดแก๊สขึ้นในหลอดดักแก๊สแต่ละหลอด ถ้าหลอดใดที่ขุ่นและเกิดแก๊สขึ้นให้อ่านผลเป็นบวก จากนั้นนำหลอดที่ให้ผลเป็นบวกไปถ่ายเชื้อลงในอาหาร Brilliant green lactose blic broth (BGLB) ในขั้นยืนยัน ต่อไป

การตรวจสอบขั้นยืนยัน (Confirmed test)

1. เขย่าหลอดอาหาร LST ที่ให้ผลบวกจากการวิเคราะห์ขั้นแรก แล้วใช้หัวงี๋ยเชื้อถ่ายเชื้อจากแต่ละหลอดๆ ละ 1 ลูบ ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ BGLB

2. จากนั้นนำหลอดบ่มที่ตู้บ่มเพาะเชื้อที่ 35°C นาน 48 ± 2 ชั่วโมง

3. เมื่อครบกำหนด สังเกตหลอดที่ขุ่นและเกิดแก๊สขึ้นในหลอดดักแก๊สแต่ละหลอด ถ้าหลอดใดที่ขุ่นและเกิดแก๊สขึ้นให้อ่านผลเป็นบวก นำไปคำนวณหาปริมาณโคลิฟอร์ม MPN/g จากตาราง MPN ชนิด 3 หลอด จากนั้นนำหลอดที่ให้ผลเป็นบวกไปถ่ายเชื้อลงในอาหาร Eosin methylene blue agar (EMB) ในขั้นสมบูรณ์ต่อไป

การตรวจสอบขั้นสมบูรณ์ (Completed test)

1. เขย่าหลอดอาหาร BGLB ที่ให้ผลบวกจากการวิเคราะห์ขั้นยืนยัน แล้วใช้ห่วงเขี่ยเชื้อถ่ายเชื้อจากแต่ละหลอดนำไปปาดเชื้อ (streak) ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB
2. นำจานเข้าในตู้บ่มเพาะเชื้อที่ 35°C นาน 24 ชั่วโมง ในลักษณะกลับจาน
3. เมื่อครบกำหนดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะสีเข้ม ตรงกลางโคโลนีสีเกือบดำ และที่ผิวมีสีเขียวเหลืองเป็นเงาโลหะ ถ้าไม่มีให้ใช้โคโลนีที่มีลักษณะทึบแสง เข้มเมือกเป็นสีชมพู นำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA
4. นำอาหาร Nutrient agar (NA) เข้าในตู้บ่มเพาะเชื้อที่ 35°C นาน 24 ชั่วโมง
5. เมื่อครบกำหนด
 - นำเชื้อจากอาหาร NA ไปย้อมสีแกรมตรวจรูปร่างและลักษณะของโคลิฟอร์มแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์
 - ถ่ายเชื้อจาก NA ลงใน LST และนำไปบ่มเพาะเชื้อที่ 35°C นาน 48 ± 2 ชั่วโมง ถ้าแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น และมีแก๊สเกิดขึ้นในหลอดดักแก๊ส แสดงว่ามีโคลิฟอร์มแบคทีเรียอย่างสมบูรณ์

วิธีการวิเคราะห์ *E.coli* ในอาหาร

ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนเกี่ยวกับการตรวจวิเคราะห์โคลิฟอร์มแบคทีเรีย โดยเมื่อผลการการวิเคราะห์ขั้นแรกในการตรวจหาโคลิฟอร์มให้นำหลอดที่ให้ผลบวกใช้ในการตรวจสอบขั้นยืนยันและการตรวจสอบขั้นสมบูรณ์ ดังต่อไปนี้

การตรวจสอบขั้นยืนยัน (Confirmed test)

1. เขย่าหลอดอาหาร LST ที่ให้ผลบวกจากการวิเคราะห์ขั้นแรกของการตรวจสอบโคลิฟอร์ม แล้วใช้ห่วงเขี่ยเชื้อถ่ายเชื้อจากแต่ละหลอดๆ ละ 1 หลบ ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ EC
2. จากนั้นนำหลอดบ่ม Waterbath $45.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ นาน 48 ± 2 ชั่วโมง
3. เมื่อครบกำหนด สังเกตหลอดที่ขุ่นและเกิดแก๊สขึ้นในหลอดดักแก๊สแต่ละหลอด ถ้าหลอดใดที่ขุ่นและเกิดแก๊สขึ้นให้อ่านผลเป็นบวก นำผลไปคำนวณหาปริมาณ *E.coli* MPN/g จากตาราง MPN ชนิด 3 หลอด จากนั้นนำหลอดที่ให้ผลเป็นบวกไปถ่ายเชื้อลงในอาหาร EMB ในขั้นสมบูรณ์ต่อไป

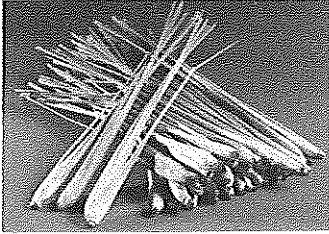
การตรวจสอบขั้นสมบูรณ์ (Completed test)

1. เขย่าหลอดอาหาร EC ที่ให้ผลบวกจากการวิเคราะห์ขั้นยืนยัน แล้วใช้ห่วงจ็อบบี้ถ่ายเชื้อจากแต่ละหลอดนำไป streak ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB
2. นำจานเข้าในตู้บ่มเพาะเชื้อที่ 35 °C นาน 24 ชั่วโมง ในลักษณะกลับจาน
3. เมื่อครบกำหนด ตรวจสอบผลและถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โดยเลือกโคโลนีที่มีลักษณะสีเข้ม ตรงกลางโคโลนีสีเกือบดำ และที่ผิวมีสีเขียวเหลืองเป็นเงาโลหะ
4. นำอาหาร NA เขย่าบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ ที่ 35 °C นาน 24 ชั่วโมง
5. เมื่อครบกำหนดนำเชื้อจากอาหาร NA ไปย้อมสีแกรมตรวจดูรูปร่างและลักษณะของโคลิฟอร์มแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถ้าแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น และมีแก๊สเกิดขึ้นในหลอดดักแก๊ส แสดงว่าเป็น *E.coli* อย่างสมบูรณ์

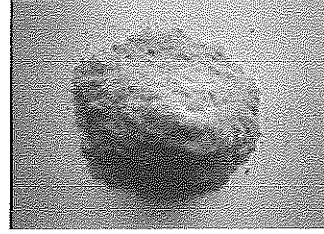


มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
RAJABHAT MAHASARAKHAM UNIVERSITY

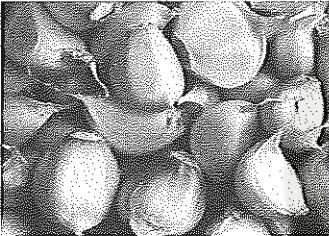
ภาคผนวก ข : สมุนไพรที่ใช้เป็นส่วนผสมในการแปรรูปตำรา้ผงเสริมสมุนไพร



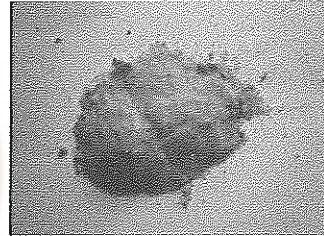
ตะไคร้



ตะไคร้ผง



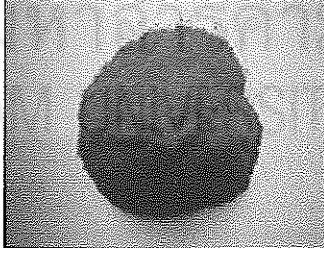
กระเทียม



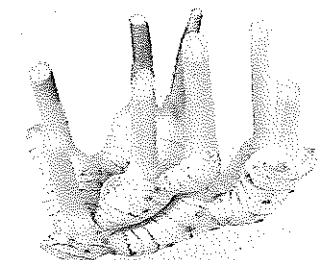
กระเทียมผง



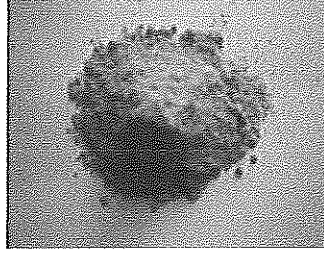
ใบมะกรูด



ใบมะกรูดผง

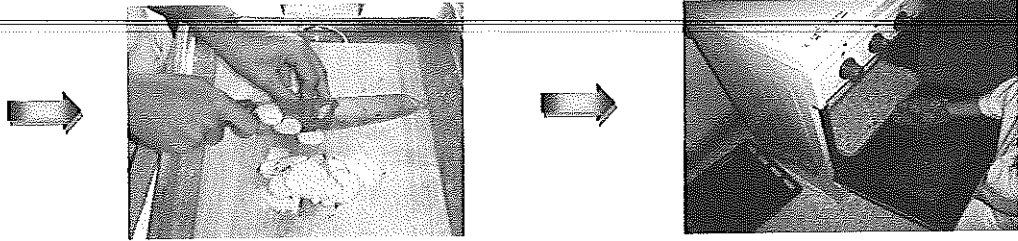


ข่า



ข่าผง

ภาคผนวก ฅ : ขั้นตอนการผลิตปลาร้าผงเสริมสมุนไพร



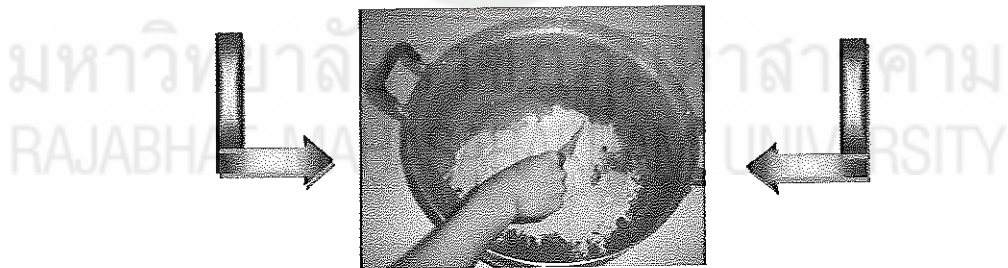
หั่น ตะไคร้, ข่า, กระเทียม และใบมะกรูด

อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 65 °C

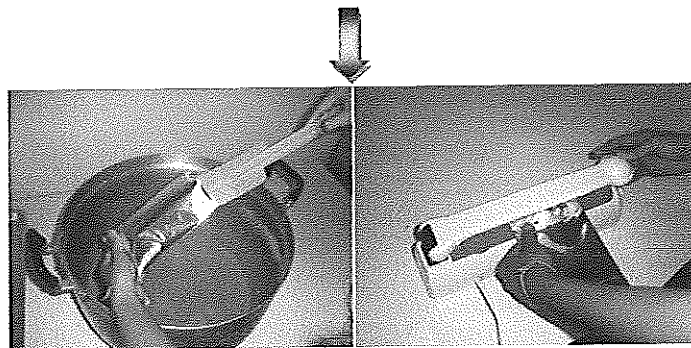


อบปลาร้าที่อุณหภูมิ 65 °C

บดเป็นผง



ผสมรวมกันตามสูตร



นำมาบรรจุลงถุงอะลูมิเนียมฟอยล์

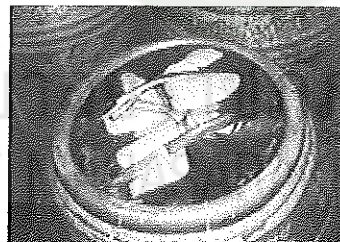
ภาคผนวก ญ : ภาพขั้นตอนการผลิตปลาร้า



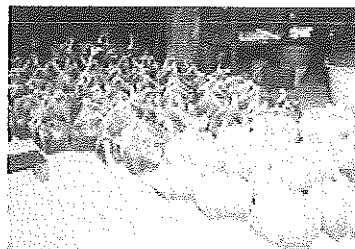
เตรียมวัสดุอุปกรณ์ ขอดเกร็ด กวักใส่ปลา ล้างทำความสะอาด
(ส่วนปลาเล็กไม่ต้องขอดเกร็ด และกวักใส่)



หมักเกลือประมาณ 3 เดือน (ระยะเวลาการหมักขึ้นอยู่กับขนาดปลา)



นำปลาหมักที่ได้ ผสมส่วนผสมต่างๆ ที่เตรียมไว้ หมักนานมากกว่า 3 เดือน
(ใช้ไม้ไผ่สานขัดไว้หรือใช้ถุงพลาสติกปิดปากโอ่งไว้)



นำปลาหมักได้ที่มาบรรจุลงหรือถังที่เตรียมไว้ (อาจต้มปลาร้าก่อน)

จะได้ปลาร้าพร้อมบริโภคหรือจำหน่าย