

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

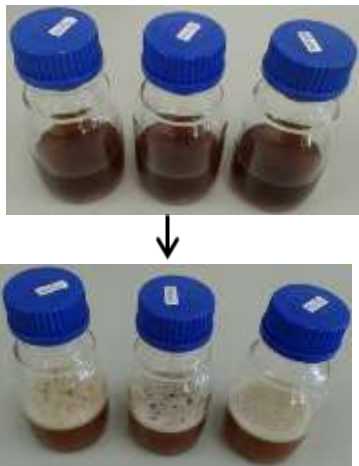
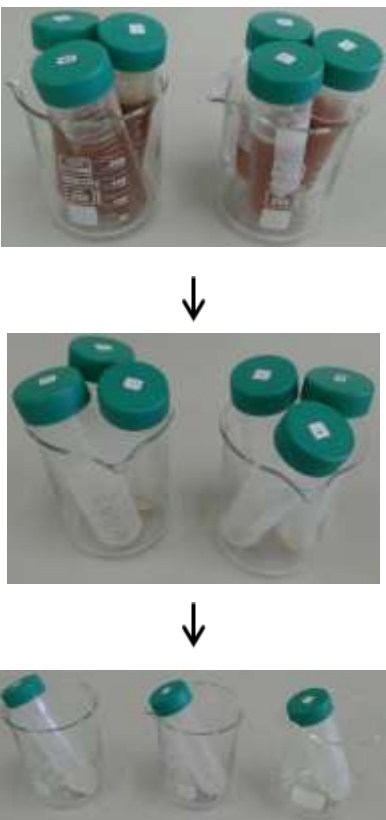
1. การเตรียมกล้าเชื้อ *Lactobacillus fermentum* TISTR 945

	<p>1. เตรียมหลอดเชื้อแห้งแข็ง (revival of freeze-dried cultures) ของ <i>L. fermentum</i> TISTR 945</p>
	<p>2. ขยายกล้าเชื้อ <i>L. fermentum</i> TISTR 945 จากหลอดเชื้อแห้งแข็งลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร และฉีดเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth บ่มเป็นเวลา 21.40 ชั่วโมง</p>
	<p>3. ขยายกล้าเชื้อ <i>L. fermentum</i> TISTR 945 จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 19 ชั่วโมง และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอนำไปใช้งาน เก็บไว้ 22 ชั่วโมง</p>
	<p>4. ขยายกล้าเชื้อ <i>L. fermentum</i> TISTR 945 จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 10 มิลลิลิตร มา 6 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 200 มิลลิลิตร (ร้อยละ 3) นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 23 ชั่วโมง</p>





	<p>5. นำกล้าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 200 มิลลิลิตร โดยกล้าเชื้อมีจำนวน 1.9×10^9 โคโลนีต่อมิลลิลิตร จากการตรวจวิเคราะห์จำนวนด้วยเทคนิคเกลี่ยเชื้อ (spread plate technique) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar บ่มในตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำกล้าเชื้อไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอน ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที และล้างเซลล์ด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 24 มิลลิลิตร นำมาปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนในสภาวะเดิม และแขวนลอยเซลล์ในสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 4 มิลลิลิตร และนำไปใช้ในการผลิตขนมจีนแป้งหมัก</p>
---	--

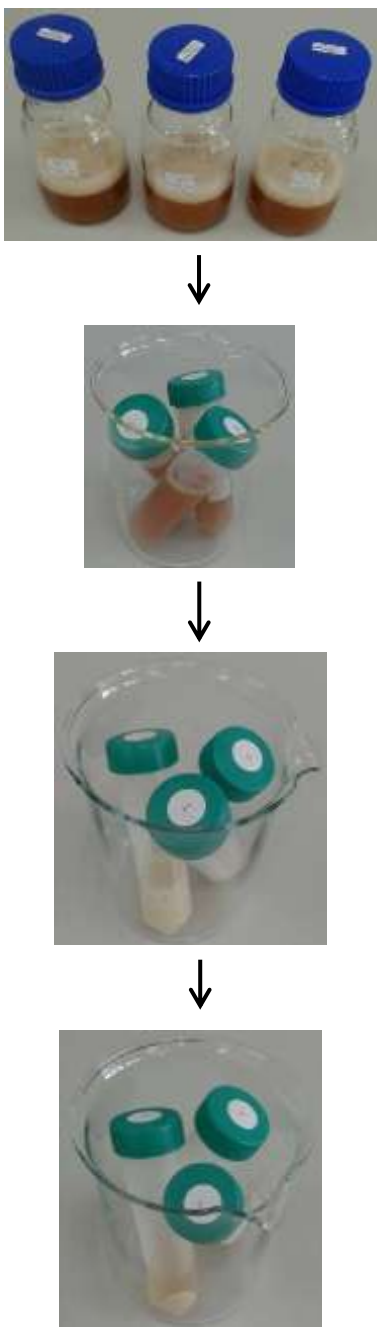
2. การเตรียมกล้าเชื้อ *Lactobacillus fermentum* TISTR 950

	<p>1. เตรียมหลอดเชื้อแห้งแข็งของ <i>L. fermentum</i> TISTR 950</p>
	<p>2. ขยายกล้าเชื้อ <i>L. fermentum</i> TISTR 950 จากหลอดเชื้อแห้งแข็งลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร และฉีดเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง 25 นาที</p>
	<p>3. ขยายกล้าเชื้อ <i>L. fermentum</i> TISTR 950 จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง</p>

	<p>4. ขยายกล้าเชื้อ <i>L. fermentum</i> TISTR 950 จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 10 มิลลิลิตร มา 3 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 100 มิลลิลิตร (ร้อยละ 3) นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 23 ชั่วโมง</p>
	<p>5. นำกล้าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 100 มิลลิลิตร โดยกล้าเชื้อที่มีจำนวน $1.62 \times 10^9 \pm 2.86 \times 10^8$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร จากการตรวจวิเคราะห์จำนวนด้วยเทคนิคเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar บ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำกล้าเชื้อไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอน ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที และล้างเซลล์ด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 12 มิลลิลิตร นำมาปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนในสถานะเต็ม และแขวนลอยเซลล์ในสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 2 มิลลิลิตร และนำไปใช้ในการผลิตขนมจีนแป้งหมัก</p>

3. การเตรียมกล้าเชื้อ *Lactobacillus plantarum* TISTR 951







	<p>1. เตรียมหลอดเชื้อแห้งแข็งของ <i>L. plantarum</i> TISTR 951</p>
	<p>2. ขยายกล้าเชื้อ <i>L. plantarum</i> TISTR 951 จากหลอดเชื้อแห้งแข็งลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร และขีดเชื้อบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth บ่มเป็นเวลา 22 ชั่วโมง</p>
	<p>3. ขยายกล้าเชื้อ <i>L. plantarum</i> TISTR 951 จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 19.30 ชั่วโมง</p>
	<p>4. ขยายกล้าเชื้อ <i>L. plantarum</i> TISTR 951 จากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 10 มิลลิลิตร มา 3 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 100 มิลลิลิตร (ร้อยละ 3) นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 23.30 ชั่วโมง</p>













	<p>5. นำกล้าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 100 มิลลิลิตร โดยกล้าเชื้อที่มีจำนวน 4.63×10^9 โคโลนีต่อมิลลิลิตร จากการตรวจวิเคราะห์จำนวนด้วยเทคนิคเกลี่ยเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ที่นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอน ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที และล้างเซลล์ด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 15 มิลลิลิตร นำมาปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนในสถานะเดิม และแขวนลอยเซลล์ในสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาณ 2 มิลลิลิตร และนำไปใช้ในการผลิตขนมจีนแป้งหมัก</p>
--	--

ภาคผนวก ข

ขั้นตอนการผลิตขนมจีนแปงหมัก



ขนมจีนแป้งหมัก ใส่กรดเบนโซอิก	ขนมจีนแป้งหมัก จากเชื้อธรรมชาติ	ขนมจีนแป้งหมักจากกล้าเชื้อ แบคทีเรียกรดแลคติก
 <p data-bbox="343 772 582 817">เตรียมข้าว 250 กรัม</p>	 <p data-bbox="726 772 965 817">เตรียมข้าว 250 กรัม</p>	 <p data-bbox="1109 772 1348 817">เตรียมข้าว 250 กรัม</p>
 <p data-bbox="327 1142 598 1243">ล้างข้าวให้สะอาด 5 ครั้ง น้ำ 500 มิลลิลิตร/ครั้ง</p>	 <p data-bbox="710 1142 981 1243">ล้างข้าวให้สะอาด 5 ครั้ง น้ำ 500 มิลลิลิตร/ครั้ง</p>	 <p data-bbox="1093 1142 1364 1243">ล้างข้าวให้สะอาด 5 ครั้ง น้ำ 500 มิลลิลิตร/ครั้ง</p>
 <p data-bbox="367 1545 558 1646">แช่ข้าว 30 นาที อุณหภูมิ 35 °C</p>	 <p data-bbox="750 1545 941 1646">แช่ข้าว 30 นาที อุณหภูมิ 35 °C</p>	 <p data-bbox="1125 1545 1316 1646">แช่ข้าว 30 นาที อุณหภูมิ 37 °C</p>

		 <p>เทน้ำแช่ข้าวออก แยกผสมเชื้อ <i>L. plantarum</i> TISTR 951, <i>L. fermentum</i> TISTR 945 และ <i>L. fermentum</i> TISTR 950</p> <p>อัตราส่วน ข้าว 500 กรัม : เชื้อ 200 มิลลิลิตร</p>
 <p>หมักข้าวแบบแห้ง 72 ชั่วโมง อุณหภูมิ 35 °C</p>	 <p>หมักข้าวแบบแห้ง 72 ชั่วโมง อุณหภูมิ 35 °C</p>	 <p>หมักข้าวแบบแห้ง 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 37 °C</p>
 <p>ล้างน้ำเข้า-เย็น</p>	 <p>ล้างน้ำเข้า-เย็น</p>	

 <p>ปั่นข้าวหมัก เป็นเวลา 4 นาที เติมน้ำ 150 มิลลิลิตร</p>	 <p>ปั่นข้าวหมัก เป็นเวลา 4 นาที เติมน้ำ 150 มิลลิลิตร</p>	 <p>ปั่นข้าวหมัก เป็นเวลา 4 นาที เติมน้ำ 150 มิลลิลิตร</p>
 <p>เตรียมน้ำแช่ 500 มิลลิลิตร (น้ำกรอง 400 มิลลิลิตร น้ำเกลือแกงเข้มข้น 7% 100 มิลลิลิตร)</p>	 <p>เตรียมน้ำแช่ 500 มิลลิลิตร (น้ำกรอง 400 มิลลิลิตร น้ำเกลือแกงเข้มข้น 7% 100 มิลลิลิตร)</p>	 <p>เตรียมน้ำแช่ 500 มิลลิลิตร (น้ำกรอง 400 มิลลิลิตร น้ำเกลือแกงเข้มข้น 7% 100 มิลลิลิตร)</p>
 <p>นอมน้ำแป้ง 1 คีน (ประมาณ 20 ชั่วโมง) อุณหภูมิ 35 °C</p>	 <p>นอมน้ำแป้ง 1 คีน (ประมาณ 20 ชั่วโมง) อุณหภูมิ 35 °C</p>	 <p>นอมน้ำแป้ง 1 คีน (ประมาณ 20 ชั่วโมง) อุณหภูมิ 37 °C</p>
 <p>รินน้ำส่วนบนทิ้ง</p>	 <p>รินน้ำส่วนบนทิ้ง</p>	 <p>รินน้ำส่วนบนทิ้ง</p>

 <p>แยกแป้งส่วนที่นอนน้ำ ลงในถุงโพลีพรอปิลีน</p>	 <p>แยกแป้งส่วนที่นอนน้ำ ลงในถุงโพลีพรอปิลีน</p>	 <p>แยกแป้งส่วนที่นอนน้ำ ลงในถุงโพลีพรอปิลีน</p>
 <p>ทับน้ำแป้ง ด้วยเครื่องคั้น แบบแยกกาก-น้ำ</p>	 <p>ทับน้ำแป้ง ด้วยเครื่องคั้น แบบแยกกาก-น้ำ</p>	 <p>ทับน้ำแป้ง ด้วยเครื่องคั้น แบบแยกกาก-น้ำ</p>
 <p>แบ่งแป้งเป็น 2 ส่วน</p>	 <p>แบ่งแป้งเป็น 2 ส่วน</p>	 <p>แบ่งแป้งเป็น 2 ส่วน</p>
 <p>นำก้อนแป้งไปนึ่งให้แป้งสุก เป็นเวลา 5 นาที</p>	 <p>นำก้อนแป้งไปนึ่งให้แป้งสุก เป็นเวลา 5 นาที</p>	 <p>นำก้อนแป้งไปนึ่งให้แป้งสุก เป็นเวลา 5 นาที</p>

 <p>ผสมแป้งสุก และแป้งดิบให้เข้า กันด้วยเครื่องผสมอาหาร ขนาดเป็นเวลา 30 นาที</p>	 <p>ผสมแป้งสุก และแป้งดิบให้เข้า กันด้วยเครื่องผสมอาหาร ขนาดเป็นเวลา 30 นาที</p>	 <p>ผสมแป้งสุก และแป้งดิบให้เข้า กันด้วยเครื่องผสมอาหาร ขนาดเป็นเวลา 30 นาที</p>
 <p>เติมน้ำร้อนเรื่อย ๆ ระหว่างนวด น้ำร้อน อุณหภูมิ 60-80 °C</p>	 <p>เติมน้ำร้อนเรื่อย ๆ ระหว่างนวด น้ำร้อน อุณหภูมิ 60-80 °C</p>	 <p>เติมน้ำร้อนเรื่อย ๆ ระหว่างนวด น้ำร้อน อุณหภูมิ 60-80 °C</p>
 <p>กรองแป้งด้วยผ้าขาวบาง</p>	 <p>กรองแป้งด้วยผ้าขาวบาง</p>	 <p>กรองแป้งด้วยผ้าขาวบาง</p>
 <p>เติมกรดเบนโซอิก อัตราส่วน 1,000 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม</p>		

 <p>ต้มน้ำเดือด อุณหภูมิประมาณ 75-95 °C</p>	 <p>ต้มน้ำเดือด อุณหภูมิประมาณ 75-95 °C</p>	 <p>ต้มน้ำเดือด อุณหภูมิประมาณ 75-95 °C</p>
 <p>โรยเส้นในน้ำเดือด เป็นเวลา 3 นาที</p>	 <p>โรยเส้นในน้ำเดือด เป็นเวลา 3 นาที</p>	 <p>โรยเส้นในน้ำเดือด เป็นเวลา 3 นาที</p>
 <p>นำมาผ่านน้ำเย็น 3 ครั้ง</p>	 <p>นำมาผ่านน้ำเย็น 3 ครั้ง</p>	 <p>นำมาผ่านน้ำเย็น 3 ครั้ง</p>
 <p>จับให้เป็นเส้น พักให้เส้นให้สะเด็ดน้ำ 10-15 นาที</p>	 <p>จับให้เป็นเส้น พักให้เส้นให้สะเด็ดน้ำ 10-15 นาที</p>	 <p>จับให้เป็นเส้น พักให้เส้นสะเด็ดน้ำ 10-15 นาที</p>

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (ดัดแปลงจากวิธี AOAC, 2000)

เครื่องมือ

- 1) เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (ยี่ห้อ Sartorius รุ่น Docu-pH+ Meter)
- 2) เครื่องผสมสารละลาย vortex mixer (ยี่ห้อ Scientific Industries รุ่น G560E Vortex Mixer Genie 2)

วิธีทดลอง

- 1) ชั่งตัวอย่างขนมจีนแห้ง 5 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 2) เติมน้ำปราศจากไอออน 45 มิลลิลิตร
- 3) นำไปเขย่าผสมด้วยเครื่องผสมสารละลาย vortex mixer นาน 1 นาที
- 4) นำตัวอย่างไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่างซึ่งมีการปรับเทียบมาตรฐาน (calibration) ด้วยระบบ two-point calibration คือ สารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4 และ 7 โดยให้ค่า stop ที่ยอมรับได้อยู่ในช่วงตั้งแต่ร้อยละ 95 ขึ้นไป

2. การวัดค่าแอกทิวิตี (water activity: a_w)

อุปกรณ์ เครื่องมือ

- 1) เครื่องวัดค่าแอกทิวิตี (ยี่ห้อ AquaLab รุ่น 3TE)
- 2) ถלבพลาสติกสำหรับวัดค่า

วิธีทดลอง

การเตรียมตัวอย่าง

- 1) ใส่ตัวอย่างขนมจีนที่ตัดเป็นชิ้นขนาดเล็ก ๆ ในถלבพลาสติกสำหรับวัดค่า ประมาณ 1 ใน 3 ของถלבหรือไม่เกินครึ่งหนึ่งของถלב เคลี่ยตัวอย่างให้ครอบคลุมทั่วถלבเพื่อประสิทธิภาพในการวัด
- 2) ตรวจสอบให้แน่ชัดว่าที่ขอบริม และด้านนอกของถלבวัดสะอาด ห้ามมีตัวอย่างติดบริเวณถלבพลาสติกสำหรับวัดค่า
- 3) ตัวอย่างควรมีอุณหภูมิใกล้เคียงหรือต่างกันไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส ของอุณหภูมิ chamber ของเครื่องวัดค่า a_w โดยก่อนวัดค่า a_w ให้นำถלבวางไว้บริเวณข้าง ๆ เครื่อง เพื่อให้อุณหภูมิของตัวอย่างและเครื่องมีความใกล้เคียงกัน

การวัดค่า

- 1) เปิดเครื่องวัดค่า a_w ที่ไว้ประมาณ 30 นาที เพื่อการวัดที่มีประสิทธิภาพสูง
- 2) ทำการปรับเทียบมาตรฐานเครื่องวัดค่า a_w ด้วยน้ำกลั่น
- 3) นำถלבที่ใส่ตัวอย่างใส่ลงในที่ใส่ถלבพลาสติกสำหรับวัดค่า (sample drawer) ของเครื่องวัดค่า a_w ห้ามใส่ตัวอย่างหกหล่น และหมุนปุ่มจาก OPEN/LOAD ไปยัง READ เพื่อเริ่มการวัดค่า เมื่อเครื่องเริ่มวัดจะมีสัญญาณเตือน 1 ครั้ง
- 4) เมื่อเครื่องวัดเสร็จจะมีสัญญาณเตือนให้อ่านค่า a_w และอุณหภูมิที่หน้าจอ บันทึกค่าที่เครื่องวัดได้

3. การหาปริมาณความชื้น โดยใช้วิธีอบในตู้อบลมร้อน (AOAC, 2000)

อุปกรณ์ เครื่องมือ

- 1) ตู้อบลมร้อน
- 2) ถ้วยครุชชีเบิ้ล (crucible)
- 3) โถดูดความชื้น
- 4) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีทดลอง

- 1) อบถ้วยครุชชีเบิ้ลในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ถึง 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้ถึงไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก
- 2) ทำเช่นเดียวกับข้อ 1 ซ้ำ จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1 ถึง 3 มิลลิกรัม
- 3) ชั่งน้ำหนักตัวอย่างขนมจีนให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 3 ถึง 5 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักดีแล้ว
- 4) นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ถึง 6 ชั่วโมง แล้วจึงนำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่างนั้น จากนั้นนำกลับไปเข้าตู้อบอีก และทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักแห้งที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1 ถึง 3 มิลลิกรัม ชั่งน้ำหนักที่หายไปเป็นน้ำหนักของความชื้น

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละต่อน้ำหนัก)} = \frac{(W_1 - W_2)}{W_1} \times 100$$

$$\begin{aligned} \text{เมื่อ } W_1 &= \text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)} \\ W_2 &= \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)} \end{aligned}$$

4. ปริมาณกรดจากการไตเตรท (titratable acidity: TA) (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

- 1) เครื่องผสมสารละลาย vortex mixer (ยี่ห้อ Scientific Industries รุ่น G560E Vortex Mixer Genie 2)
- 2) บิวเรต ที่จับบิวเรต ฐานตั้งเหล็ก
- 3) ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร

สารเคมี

- 1) สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน ($C_{20}H_{14}O_4$) เข้มข้นร้อยละ 1
ชั่งฟีนอล์ฟทาลีน 1 กรัม ละลายในเอธิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 75 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
- 2) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 0.1 นอร์มอล
ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

วิธีทดลอง

- 1) ชั่งตัวอย่างขนมจีนแห้งน้ำหนักแน่นอนประมาณ 3 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 2) ผสมให้เข้ากันกับน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องผสมสารละลาย vortex mixer
- 3) หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 2 ถึง 3 หยด เขย่าให้เข้ากัน แล้วทำการไตเทรตด้วย สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนได้จุดยุติสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูใส บันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้
- 4) นำผลที่ได้มาคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดแลคติก

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละต่อน้ำหนัก)} = \frac{\text{ปริมาตร NaOH ที่ใช้} \times \text{ความเข้มข้น NaOH} \times 0.09 \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้}}$$

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ทางกายภาพ

1. การวัดค่าสีของแผ่นฟิล์ม

อุปกรณ์ เครื่องมือ

1. แผ่นสีมาตรฐาน (black glass, white calibrated tile)
2. เครื่องวัดสี (ยี่ห้อ HunterLab รุ่น ColorFlex Model 45⁰/0⁰) (ภาพที่ ง.1)

วิธีทดลอง

1. ปรับมาตรฐานของเครื่องวัดสี (calibration) ด้วยแผ่นสีมาตรฐาน (black glass, white calibrated tile)
2. วัดค่าสีของขนมจีนแป้งหมัก โดยนำตัวอย่างขนมจีนใส่ในจานแก้วให้เต็มจาน และนำไปวางบน port วางตัวอย่างขนาด 1 นิ้ว (port insert 1 inch with glass) ของเครื่องวัดสี วัด 5 จุดต่อจาน (ภาพที่ ง.1)
3. อ่านค่าสีที่ได้จากเครื่อง โดยใช้ระบบ C.I.E. Lab โดยค่าที่วัดได้เป็นค่า L^* a^* b^*
 - L^* คือ ความสว่างของสี (lightness) โดยมีค่าจาก 0 คือสีดำ ถึง 100 คือสีขาว
 - a^* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและสีแดงที่อยู่ในตัวอย่าง (redness/greenness) โดย ค่า a^+ แสดงถึงความเป็นสีแดง และค่า a^- แสดงถึงความเป็นสีเขียว
 - b^* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงินที่อยู่ในตัวอย่าง (yellowness/blueness) โดยค่า b^+ แสดงถึงความเป็นสีเหลือง และค่า b^- แสดงถึงความเป็นสีน้ำเงิน



(ก)



(ข)

ภาพที่ ง.1 เครื่องวัดสี (ก) และการวัดค่าสีของขนมจีน (ข)

2. การวัดลักษณะเนื้อสัมผัส

อุปกรณ์ เครื่องมือ

- 1) เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (ยี่ห้อ Stable Micro Systems รุ่น TA.XT.plus) (ภาพที่ ง.2)
- 2) หัววัดแบบหัวใบมีดตัด (knife and blade) รหัส HDP/BSW (ภาพที่ ง.2)

วิธีทดลอง

การวิเคราะห์ค่าความแน่นเนื้อ (firmness) ความเหนียว (toughness) และการยึดติด (adhesiveness) ของขนมจีนแบ่งหมักจากการวัดแรงตัดด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส มีขั้นตอน ดังนี้

- 1) เปิดเครื่องสำรองไฟ เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์ และเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส
- 2) การเข้าโปรแกรม Texture Exponent 32 ให้ดับเบิ้ลคลิกที่ไอคอนของ Texture Exponent 32 บนหน้าจอคอมพิวเตอร์ และใส่รหัสผ่าน (password) ที่หน้าจอคอมพิวเตอร์
- 3) ปรากฏหน้าจอพร้อมใช้งานของโปรแกรม Texture Exponent 32
- 4) เปิด Graph Texture โดยคลิก File Menu คลิกเลือก New และคลิกเลือกไอคอน Graph
- 5) ทำการสอบเทียบแรงกด (calibrate force) โดยคลิกที่แถบเมนู I.A. และคลิกเลือก Calibrate Force
- 6) ตรวจสอบให้แน่ใจว่าไม่มีหัววัดและตัวอย่างอยู่ที่ฐานของเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส
- 7) คลิกที่ Next พิมพ์น้ำหนักสอบเทียบที่ใช้ (calibration weight) 1,000 กรัม วางค้อนน้ำหนักที่ฐานรับน้ำหนักของเครื่องวัดแรงกด (T.A.'s Calibration Platform) และคลิก Next
- 8) โปรแกรมทำการสอบเทียบและแสดงหน้าต่าง Calibration Status เพื่อแสดงผลการสอบเทียบ โดยหน้าจอปรากฏข้อความว่า "Calibrate Complete" ยกค้อนน้ำหนักลงจากที่ฐานรับน้ำหนักและคลิกที่ Finish เพื่อสิ้นสุดการสอบเทียบ
- 9) ทำการสอบเทียบความสูง (calibrate height) เพื่อให้หัววัดรู้จักตำแหน่งของฐาน โดยต่อชุดหัววัดแบบหัวใบมีดตัดเข้ากับแขนและฐานของเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส
- 10) คลิกที่แถบเมนู I.A. และคลิกเลือก Calibrate Height
- 11) วางตัวอย่างบนแท่นตัด โดยนำเส้นขนมจีนมาจัดเรียงชิดกันให้ได้ 6 เส้น ให้มีความยาว 10 เซนติเมตร
- 12) เลื่อนหัววัดให้ใกล้กับฐานมากที่สุดเพื่อลดระยะเวลาในการ Calibrate
- 13) กำหนดข้อมูลลงบนหน้าต่าง Probe Height Calibration ดังนี้
 - 13.1 Return Distance หมายถึง ระยะทางที่หัววัดเคลื่อนที่กลับหลังจากหัววัดสัมผัสฐานแล้ว โดยให้ระยะทางสูงกว่าตัวอย่างเล็กน้อย ในการทดลองเท่ากับ 30 mm
 - 13.2 Return Speed หมายถึง อัตราที่หัววัดเคลื่อนที่กลับหลังแตะถูกฐาน ในการทดลองเท่ากับ 10 mm/Sec
 - 13.3 Contact Force (g) หมายถึง แรงที่กำหนดให้เครื่องทราบว่าเป็นฐานแล้ว และดึงหัววัดกลับ ในการทดลองเท่ากับ 1 g
- 14) คลิกที่ OK โดยหัวใบมีดตัดที่ต่อเข้ากับแขนจะค่อย ๆ เลื่อนลงมาหาฐาน และเคลื่อนที่กลับเมื่อแตะฐาน จากนั้นหน้าจอปรากฏข้อความว่า "Calibrate Complete" และคลิกที่ Finish เพื่อสิ้นสุดการสอบเทียบความสูง
- 15) การวิเคราะห์ค่าแรงตัด คลิกเมนู I.A. และคลิกเลือก I.A. Setting

- 16) กดปุ่ม Library ด้านขวา และคลิกเลือก 1 RETURN TO START และกด OK เพื่อ กำหนดรูปแบบการวัด และตั้งค่า Value เพื่อกำหนดการเคลื่อนที่ของหัววัดแบบหัวใบมีดตัด
- 17) ตั้งค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในการทดสอบ กำหนดดังนี้

Caption	Value	
Test Mode	Compression	
Pre-Test Speed	2.00	mm/sec
Test Speed	2.00	mm/sec
Post-Test Speed	5.00	mm/sec
Target Mode	Distance	
Distance	15.000	mm
Trigger Type	Auto (Force)	
Trigger Force	5.0	g
Break Mode	Off	
Stop Plot At	Start Position	
Tare Mode	Auto	
Advanced Options	On	
Control Oven	Disabled	
Wait For Temperature	No	
Frame Deflection Correction	Off (XT2 compatibility)	

- 18) คลิก OK

19) เข้าสู่หน้า Exponent ตรงกราฟ เปลี่ยนหน่วยการวัดของ Force แกนตั้งบนกราฟ คลิก ขวาที่หน่วย kg เป็น g

20) นำตัวอย่างเส้นขนมเงินมาจัดเรียงชิดกันให้ได้ 6 เส้น ให้มีความยาว 10 เซนติเมตร บนแท่นตัด

21) เริ่มการทดสอบ เลือกเมนู I.A. คลิกเลือก Run a Test เครื่องจะแสดงกล่องตอบโต้ Test Configuration เพื่อให้ข้อมูลต่าง ๆ เกี่ยวกับการวัด

21.1) Archive Information ไปที่ File ID เพื่อตั้งชื่อไฟล์ที่ทำการทดสอบและคลิกช่องที่เป็น Auto Save

21.2) Probe Selection เลือกชุด หัววัดแบบหัวใบมีดตัด (knife and blade) รหัส HDP/BSW

22.2) Data Acquisition เพื่อกำหนดอัตราการเก็บข้อมูล โดยเลือก Data Acquisition Rate เป็น 200 จุดต่อวินาที (point per sec: pps)

22.3) กด Start Test เครื่องจะทำการวัดตัวอย่างให้อัตโนมัติ โดยหัววัดแบบหัวใบมีดตัดจะ เคลื่อนที่ลงมาตัดเส้นขนมเงิน พร้อมกับปรากฏเส้นกราฟบนหน้าต่างกราฟ ทำการวัด 5 ตัวอย่างต่อซ้ำ

23) เมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำต่อไปให้เลือกเมนู I.A. คลิกเลือก Quick Test Run โปรแกรม จะทำการบันทึกชื่อกับจำนวนซ้ำของตัวอย่าง และวิเคราะห์ตัวอย่างให้อัตโนมัติ (ภาพที่ ง.3)

24) วิเคราะห์ผลการทดลอง

ข้อมูลที่ได้จะอยู่ในรูปกราฟ การหาค่าจากกราฟที่ได้ สามารถทำได้โดยการใช้คำสั่งใน Process data การกำหนดค่าใน Process data หรือการเขียน Macro ซึ่งโปรแกรมจะแปรผลจาก กราฟออกมาเป็นตัวเลข

24.1) คลิกซ้ายลากคลุมทุกซ้ำที่ทำการทดลอง

24.2) เลือกแถบคำสั่ง Process data คลิกเลือก Quick Calculation

24.3) จะปรากฏหน้าต่างคำสั่ง เลือกคำสั่งย่อยที่ต้องการจากคำสั่งต่าง ๆ ที่แสดง

เลือก Peak Positive Force
 Positive Area
 Negative Area

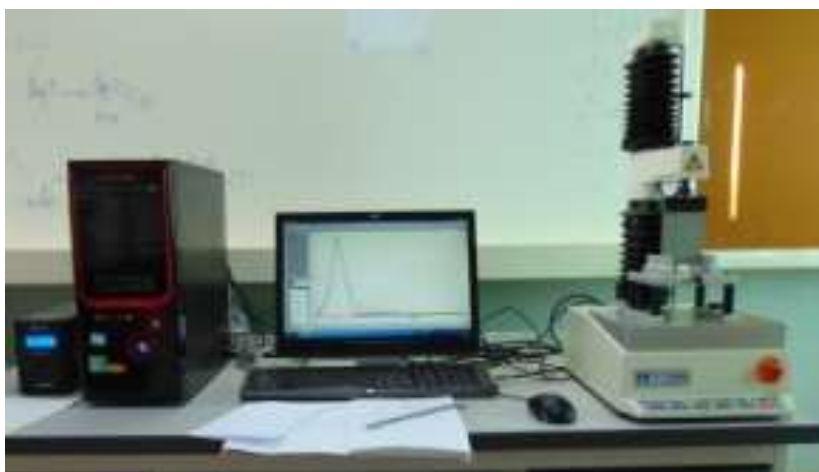
โดยที่ Peak Positive Force คือ ความสูงของกราฟ ซึ่งก็คือแรงที่มีค่ามากที่สุดในการตัด หรือค่าความแข็ง (hardness) ของขนมจลิน

Positive Area คือ พื้นที่ของแรงที่เป็นบวกในการตัด ซึ่งก็คืองานจากการตัดทั้งหมด หรือค่าความเหนียว (toughness) ของขนมจลิน

Negative Area : พื้นที่ของแรงที่เป็นลบในการตัด ซึ่งก็คืองานที่ต้องใช้ในการ ดึงหรือความสามารถในการยึดติด (adhesiveness) ของขนมจลิน

24.4) คลิก OK

24.5) เมื่อหาข้อมูลจากกราฟได้แล้ว ผลที่ได้จะอยู่ในภาพตารางข้อมูล

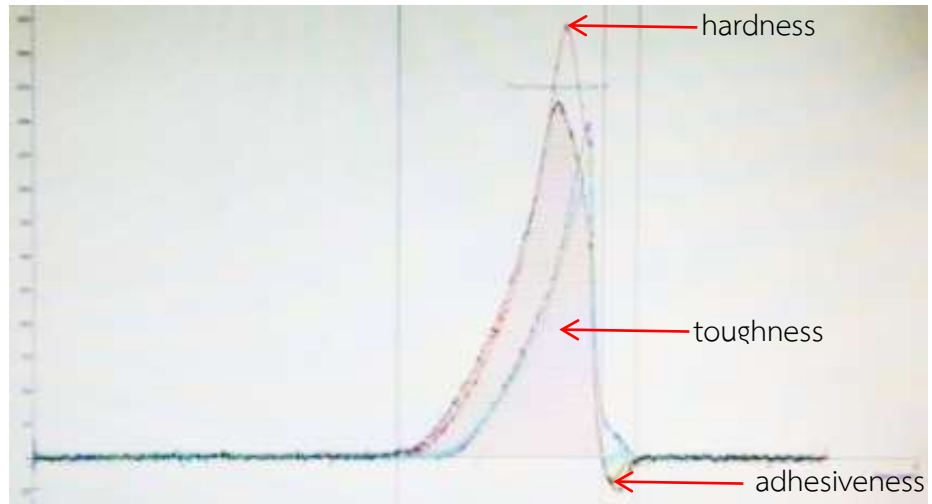


(ก)



(ข)

ภาพที่ ง.2 เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (ก) และหัววัดแบบหัวไบเมียดตัด (ข)



ภาพที่ ง.3 ตัวอย่างกราฟลักษณะเนื้อสัมผัสของขนมจีนแข็งหมัก

ภาคผนวก จ

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเชื้อจาก

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) (Difco, France)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Pancreatic Digest of Casein	5.00 กรัม
Yeast Extract	2.50 กรัม
Dextrose	1.00 กรัม
Agar	15.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA 23.50 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดและคนบ่อย ๆ จนวุ้นละลาย เทใส่ขวดแก้วฝาเกลียว นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) (Himedia, India)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Potatoes, infusion from	200.00 กรัม
Dextrose	20.00 กรัม
Agar	15.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

ชั่งอาหารอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 39 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดและคนบ่อย ๆ จนวุ้นละลาย เทใส่ขวดแก้วฝาเกลียว นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิ 45 ถึง 50 องศาเซลเซียส ปรับความเป็นกรด-ด่าง เป็น 3.5 โดยใช้กรดทาร์ทาริกปลอดเชื้อ เข้มข้นร้อยละ 10 และผสมให้เข้ากัน

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Lactobacillus MRS Broth (MRS Broth) (Himedia, India)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Proteose peptone	10.00 กรัม
Beef extract	10.00 กรัม
Yeast extract	5.00 กรัม
Dextrose	20.00 กรัม
Polysorbate 80	1.00 กรัม
Ammonium citrate	2.00 กรัม
Sodium acetate	5.00 กรัม
Magnesium sulphate	0.10 กรัม
Manganese sulphate	0.05 กรัม
Dipotassium phosphate	2.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

ซั่งอาหารอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Broth 55.15 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แบ่งเทใส่ขวดแก้วฝาเกลียว นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ : การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar เติมผงวุ้น 15 กรัมต่อลิตร

4. สารละลายเปปโตน วอเตอร์ (Peptone Water) (Himedia, India)

สูตรอาหารและวิธีการเตรียม

Peptone	10.00 กรัม
Sodium chloride	5.00 กรัม
น้ำกลั่น	1,000.00 มิลลิลิตร

ซั่ง Peptone Water 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แบ่งเทใส่ขวดแก้วฝาเกลียว และหลอดทดลอง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ฉ

แบบประเมินคุณภาพทางประสาธน์สัมพันธ์

วันที่.....

ฉบับที่.....

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส
ชื่อผลิตภัณฑ์ ขนมหินแปงหมักจากกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทางประชากรศาสตร์

คำแนะนำ : กรุณาใส่เครื่องหมาย / ในวงเล็บ () หน้าคำตอบที่ตรงกับคุณสมบัติของท่าน

1. เพศ

<input type="checkbox"/> 1. หญิง	<input type="checkbox"/> 2. ชาย
----------------------------------	---------------------------------

2. อายุ

<input type="checkbox"/> 1. ต่ำกว่า 20 ปี	<input type="checkbox"/> 2. 21 – 30 ปี
<input type="checkbox"/> 3. 31 – 40 ปี	<input type="checkbox"/> 4. 41 – 45 ปี
<input type="checkbox"/> 4. 45 ปี ขึ้นไป	

3. วุฒิการศึกษาปัจจุบัน

<input type="checkbox"/> 1. ประถมศึกษา	<input type="checkbox"/> 2. มัธยมศึกษาหรือเทียบเท่า
<input type="checkbox"/> 3. อนุปริญญา หรือเทียบเท่า	<input type="checkbox"/> 4. ปริญญาตรี
<input type="checkbox"/> 4. สูงกว่าปริญญาตรี	

4. อาชีพ

<input type="checkbox"/> 1. นิสิต/นักศึกษา	<input type="checkbox"/> 2. ค้าขาย/ธุรกิจส่วนตัว
<input type="checkbox"/> 3. แม่บ้าน	<input type="checkbox"/> 4. ข้าราชการ/รัฐวิสาหกิจ
<input type="checkbox"/> 5. พนักงานเอกชน	<input type="checkbox"/> 6. รับจ้าง
<input type="checkbox"/> 7. อื่นๆ โปรดระบุ.....	

5. รายได้ต่อเดือน

<input type="checkbox"/> 1. น้อยกว่า 1,000 บาท	<input type="checkbox"/> 2. 1,000 – 5,000 บาท
<input type="checkbox"/> 3. 5,001 – 10,000 บาท	<input type="checkbox"/> 4. 10,001 – 15,000 บาท
<input type="checkbox"/> 5. 15,001 – 20,000 บาท	<input type="checkbox"/> 6. มากกว่า 20,000 บาท

ส่วนที่ 2 ข้อมูลด้านการยอมรับผลิตภัณฑ์ ขนมจีนแบ่งหมักจากกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

คำอธิบาย

1. ลักษณะปรากฏ
 - 1) จับเรียงเส้น และมีรูปร่าง ขนาดใกล้เคียงกัน อาจมีเส้นขาดได้เล็กน้อย เท่ากับ 9 คะแนน
 - 2) ไม่จับเส้นและมีรูปร่าง ขนาดใกล้เคียงกัน มีเส้นขาดจำนวนมาก เท่ากับ 1 คะแนน
2. สี
 - 1) สีขาวตามธรรมชาติ และมีสีสม่ำเสมอ เท่ากับ 9 คะแนน
 - 2) สีคล้ำ และมีสีไม่สม่ำเสมอ เท่ากับ 1 คะแนน
3. กลิ่น
 - 1) มีกลิ่นหมักตามธรรมชาติ เท่ากับ 9 คะแนน
 - 2) มีกลิ่นอับหรือกลิ่นเหม็นบูด เท่ากับ 1 คะแนน
4. รสชาติ
 - 1) มีรสชาติที่ดีตามธรรมชาติของการหมัก เท่ากับ 9 คะแนน
 - 2) มีรสเปรี้ยว เท่ากับ 1 คะแนน
5. เนื้อสัมผัส
 - 1) เส้นนุ่ม เหนียว ไม่เละ เท่ากับ 9 คะแนน
 - 2) เส้นแฉะ เท่ากับ 1 คะแนน
6. ความชอบโดยรวม
 - 1) ชอบมากที่สุด เท่ากับ 9 คะแนน
 - 2) ไม่ชอบมากที่สุด เท่ากับ 1 คะแนน

คำแนะนำ : กรุณาพิจารณา ทดสอบดม และทดสอบชิมผลิตภัณฑ์ต่อไปนี้จากซ้ายไปขวา จากนั้นให้คะแนนความชอบให้ตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยมีเกณฑ์การให้คะแนนกำหนดไว้ด้านล่าง และกรณาบ้วนปากระหว่างผลิตภัณฑ์

ชอบมากที่สุด	9 คะแนน	ไม่ชอบเล็กน้อย	4 คะแนน
ชอบมาก	8 คะแนน	ไม่ชอบปานกลาง	3 คะแนน
ชอบปานกลาง	7 คะแนน	ไม่ชอบมาก	2 คะแนน
ชอบเล็กน้อย	6 คะแนน	ไม่ชอบมากที่สุด	1 คะแนน
เฉยๆ	5 คะแนน		

ลักษณะที่ประเมิน	รหัสผลิตภัณฑ์				
	015	081	426	539	568
ลักษณะปรากฏ					
ฉม					
กลิ่น					
รสชาติ					
เนื้อสัมผัส					
ความชอบโดยรวม					

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

.....