การผลิตแหนมมังสวิรัติจากกลูเตนในแป้งสาลี

PRODUCTION OF VEGETARIAN NHAM FROM WHEAT GLUTEN

ศิริรัตน์ ตั้นอุ้ย
สุมณฑา เขียวหวาน
อภิชญา ธิษณ์ชยางกูร

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PRODUCTION OF VEGETARIAN NHAM FROM WHEAT GLUTEN

SIRIRAT TANOUI
SUMONDHA KEOWAN
APICHAYA TISCHAYANGKULL

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(INDUSTIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การผลิตแหนมมังสวิรัติจากกลูเตนในแป้งสาลี Production of vegetarian nham from wheat gluten
ชื่อนักศึกษา	นางสาวศิริรัตน์ ตั้นอุ้ย รหัสนักศึกษา 58050983 นางสาวสุมณฑา เขียวหวาน รหัสนักศึกษา 58051002 นางสาวอภิชญา ธิษณ์ชยางกูร รหัสนักศึกษา 58051007
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ธนาวดี ก่ออานันต์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ. ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ประธานกรรมการ	
ดร. กานต์ วงศาริยะ กรรมการ	
อ. ธนาวดี ก่ออานันต์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตแหนมมังสวิรัติจากกลูเตนในแป้งสาลี
Production of vegetarian nham from wheat gluten

ชื่อนักศึกษา นางสาวศิริรัตน์ ตั้นอุ้ย รหัสนักศึกษา 58050983
นางสาวสุมณฑา เขียวหวาน รหัสนักศึกษา 58051002
นางสาวอภิชญา ธิษณ์ชยางกูร รหัสนักศึกษา 58051007

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา ชีววิทยา
คณะ วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561
อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ธนาวดี ก่ออานันต์

บทคัดย่อ

การผลิตแหนมมังสวิรัติโดยใช้กลูเตนจากแป้งสาลีเป็นองค์ประกอบแทนเนื้อหมู เพื่อเป็นอาหารทางเลือกเพื่อสุขภาพ ซึ่งได้ผลิตแหนมกลูเตน 3 ชนิด ได้แก่ แหนมกลูเตนที่ผลิตโดยใช้น้ำกรองผลิตกลูเตน แหนมกลูเตนที่ผลิตโดยใช้น้ำเกลือ 2% ผลิตกลูเตน และแหนมกลูเตนที่ผลิตโดยใช้น้ำส้มสายชูเข้มข้น 0.1% ผลิตกลูเตน หมักเป็นเวลา 5 วัน พบว่าแหนมกลูเตนมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ประมาณ 4.21–4.44 แหนมหมูมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมากกว่าแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด โดยแหนมหมูมีจุลินทรีย์ทั้งหมดมากกว่าแหนมกลูเตน แหนมหมูมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 3.86×10^{6} CFU/g แหนมกลูเตนมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดประมาณ 1.3×10^{5}–4.3×10^{5} CFU/g แหนมหมูมีจำนวน lactic acid bacteria (LAB) น้อยกว่าแหนมกลูเตน แหนมหมูมี LAB ประมาณ 2.0×10^{7} CFU/g แหนมกลูเตนมีจำนวน LAB ประมาณ 3.3×10^{7}-4.3×10^{7} CFU/g ไม่พบการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคชนิด *Staphylococcus aureus* , *Escherichia coli* และ *Salmonella* spp. ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าแหนมหมูได้รับคะแนนความชอบโดยรวมมากกว่าแหนมกลูเตน การทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงความชอบของผู้บริโภค 30 คน แหนมกลูเตนที่ผลิตโดยใช้น้ำกรองผลิตกลูเตนได้รับคะแนนความชอบโดยรวมมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับแหนมโปรตีนรังไหม แหนมโปรตีนเกษตรและแหนมเห็ด ตามลำดับ

คำสำคัญ : กลูเตนจากแป้งสาลี การหมัก แหนมกลูเตน แหนมมังสวิรัติ และ Lactic acid bacteria (LAB)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Production of vegetarian Nham from gluten in wheat flour		
Students	Miss Sirirat	Tanoui	student ID 58050983
	Miss Sumondha	Keowan	Student ID 58051002
	Miss Apichaya	Tischayangkull	Student ID 58051007
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut' Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2018		
Advisor	Thanavadee	Korarnan	

Abstract

The production of vegetarian nham from wheat gluten instead of pork composition for healthier choice. Three types of gluten nham ingredient with filter water producing gluten, NaCl at 2% producing gluten and vinegar at 0.1% producing gluten were fermented for 5 days until pH reducing to 4.21–4.44. Pork nham was a control, showed higher total microbials than gluten nhams, the total microbials count of pork gluten was 3.86×10^{6} CFU/g and total microbials count gluten nhams were 1.3×10^{5}–4.3×10^{5} CFU/g. Gluten nhams were higher lactic acid bacteria (LAB) than pork nham, LAB in pork nham was 2.0×10^{7} CFU/g and LAB in gluten nhams were 3.3×10^{7}-4.3×10^{7} CFU/g. All samples were not contaminated with pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* and *Salmonella* spp. Finally, the tradition pork nham was the most sensory acceptance and gluten nhams were not significant sensory acceptance at 95%. Gluten nham composition with gluten producing with filter water was higher overall liking (30 consumers) than cocoon protein nham, soy protein nham, mushroom nham, respectively

Keywords : wheat gluten, fermentation, gluten nham, vegetarian nham and Lactic acid bacteria (LAB)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากคณะผู้จัดได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลผู้มีพระคุณดังนี้ ขอขอบพระคุณ อาจารย์ธนาวดี ก่ออานันต์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ได้ให้แนะนำคำปรึกษาอย่างใกล้ชิดทั้งยังคอยเสนอแนะแนวทางการแก้ปัญหา และให้คำแนะนำในตลอดระยะเวลาการทดลอง รวมทั้งขอขอบคุณคณะกรรมการโครงงานพิเศษ ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล และดร.กานต์ วงศาริยะ อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ตลอดจนอาจารย์ท่านอื่นๆที่ได้ให้ความรู้ ข้อเสนอแนะ ประสบการณ์ที่เป็นประโยชน์และคอยช่วยเหลือคณะผู้จัดทำในทุกๆด้าน

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ในการให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องอุปกรณ์การทำการทดลองประกอบงานวิจัยต่างๆ ทั้งสารเคมี ตลอดจนอุปกรณ์ และเครื่องมือที่เกี่ยวข้องในการทดลอง และยังให้คำแนะนำในระหว่างการปฏิบัติงาน รวมทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ดูแลอาคาร คุณป้าแม่บ้านที่คอยให้ความร่วมมืออำนวยความสะดวกในการใช้ห้องในการทำงานวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี สุดท้ายนี้คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และบุคคลในครอบครัวมีพระคุณและผู้เกี่ยวข้องอื่น ๆ รวมทั้งเพื่อนๆที่ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจตลอดระยะเวลาของการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้

ศิริรัตน์ ตั้นอุ้ย
สุมณฑา เขียวหวาน
อภิชญา ธิษณ์ชยางกูร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ฌ
คำย่อ / สัญลักษณ์	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 แหนม	3
2.2 กลูเตน	4
2.3 เชื้อก่อโรคในอาหาร	5
2.3.1 Salmonella spp.	6
2.3.2 *Staphylococcus aureus*	5
2.3.3 *Escherichia coli*	6
2.4 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์	7
2.4.1 Plate Count Agar (PCA)	7
2.4.2 De Man Rogosa and Sharpe (MRS)	8
2.4.3 Mannitol salt agar (MSA)	8
2.4.4 MacConkey agar (MC)	8
2.4.5 Xylose lysine deoxycholate (XLD)	8
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	12
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	12
3.1.1 วัสดุ	12
3.1.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	12
3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ	13
3.2 วิธีการทดลอง	14
3.2.1 ขั้นตอนการทำกลูเตน	14
3.2.2 ขั้นตอนการทำแหนมจากกลูเตน	14
3.2.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในกลูเตนและเนื้อหมู	14
3.2.4 ขั้นตอนการวัดไขมันในแหนมกลูเตนและแหนมหมู	15
3.2.5 การวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งในกลูเตนและเนื้อหมู	15
3.2.6 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเชื้อจากแหนมกลูเตนและแหนมหมู	16
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	18
4.1 ทดสอบองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์แหนมแต่ละชนิด	18
4.2 ทดสอบค่าความเป็นกรด – ด่าง ในการหมักของผลิตภัณฑ์แหนมแต่ละชนิด	19
4.3 การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์จากแหนมแต่ละชนิด	20
4.3.1 การนับจำนวนจุลินทรีย์จากแหนมหมูและแหนมกลูเตน	20
4.3.2 ผลการศึกษาลักษณะของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร MRS ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	21
4.4 ศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์แหนมแต่ละชนิด	23
4.4.1 ผลการศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อแหนมกลูเตนแต่ละชนิด	23
4.4.2 ผลการศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อแหนมมังสวิรัติแต่ละชนิด	24
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	26
5.1 สรุปผลการวิจัย	26
5.2 ข้อเสนอแนะ	27
เอกสารอ้างอิง	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก	30
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	31
ภาคผนวก ข สารเคมี	32
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ทางเคมี	33
ภาคผนวก ง การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส	38
ง-1 แสดงคะแนนทั้งหมดจากการทำแบบทดสอบทางประสาทสัมผัส เรื่องการเปรียบเทียบแหนมกลูเตนชนิดต่างๆกับแหนมหมู โดยมีคะแนนความเหมือนหมูจากน้อยไปมากตั้งแต่ 1 – 6 ตามลำดับ จำนวนผู้ทดสอบ 30 คน	39
ง-2 แสดงคะแนนทั้งหมดจากการทำแบบทดสอบทางประสาทสัมผัส เรื่องความชอบแหนมมังสวิรัติชนิดต่างๆ โดยมีคะแนนความชอบจากน้อยไปมากตั้งแต่ 1 – 6 ตามลำดับจำนวนผู้ทดสอบ 30 คน	40
ภาคผนวก จ แป้ง กลูเตน และตัวอย่างแหนม	41
ภาคผนวก ฉ ข้อมูลผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน	44
ฉ-1 แสดงข้อมูลผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของเนื้อหมู และกลูเตนทั้ง 3 ชนิด (น้ำกรอง น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู)	44
ฉ-2 แสดงข้อมูลผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันของเนื้อหมู และกลูเตนทั้ง 3 ชนิด (น้ำกรอง น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู)	45
ฉ-3 แสดงข้อมูลผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักแห้งของเนื้อหมูและกลูเตนทั้ง 3 ชนิด (น้ำกรอง น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู)	46
ฉ-4 แสดงข้อมูลผลการวัดค่ากรด – ด่างของเนื้อหมู และกลูเตนทั้ง 3 ชนิด (น้ำกรอง น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู)	47
ภาคผนวก ช การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์จากแหนมแต่ละชนิด	48
ช-1 แสดงจำนวนโคโลนีที่นับได้จากตัวอย่างแหนมแต่ละชนิด 1 ml ในอาหาร PCA	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ช-2 แสดงจำนวนโคโลนีที่พบจากแหนมหมู และแหนมกลูเตน (น้ำกรอง น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู) ในอาหาร MRS จาก 3 ระดับความเจือจาง 50

ช-3 แสดงผลการเลี้ยงจุลินทรีย์จากแหนมหมู และแหนมกลูเตน (น้ำกรอง น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู) ในอาหาร MSA จากระดับความเจือจาง 10^{-2} 53

ช-4 แสดงผลการเลี้ยงจุลินทรีย์จากแหนมหมู และแหนมกลูเตน (น้ำกรอง น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู) ในอาหาร MC จากระดับความเจือจาง 10^{-2} เพื่อตรวจดูเชื้อ *Eschrichia coli* 54

ช-5 แสดงผลการเลี้ยงจุลินทรีย์จากแหนมหมู และแหนมกลูเตน (น้ำกรอง น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู) ในอาหาร XLD จากระดับความเจือจาง 10^{-2} 56

ภาคผนวก ซ ตัวอย่างวิธีการคำนวณ 58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 แสดงค่าเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีในด้านโปรตีน ไขมัน และน้ำหนักแห้งของผลิตภัณฑ์แหนมแต่ละชนิด	18
4.2 แสดงค่าความเป็นกรด – ด่าง ของผลิตภัณฑ์แหนมแต่ละชนิดและหลังการหมัก 3 วัน	19
4.3 แสดงจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ที่พบในการเลี้ยงเชื้อจากแหนมชนิดต่างๆบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด	20
4.4 แสดงลักษณะของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร MRS ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า	22
4.5 คะแนนตั้งแต่ 1-6 แสดงความเหมือนแหนมหมูของแหนมจากกลูเตนชนิดต่างๆ	23
4.6 คะแนนตั้งแต่ 1-6 แสดงความชอบแหนมมังสวิรัติชนิดต่างๆของผู้บริโภคตามคุณสมบัติของแหนมแต่ละชนิด	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ตัวอย่างแหนมหมู	3
2.2 ส่วนประกอบของแป้งสาลีที่มีกลูเตนเป็นองค์ประกอบ	4
2.3.1 ลักษณะของเชื้อ *Salmonella typhi* จากการย้อมแกรม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า	5
2.3.2 ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus* จากการย้อมแกรมภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า	6
2.3.3 ลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli* จากการย้อมแกรม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า	7
ค-1 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในขั้นตอนการย่อย	34
ค-2 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในขั้นตอนการกลั่น	34
ค-3 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในขั้นตอนการไตเตรท	35
ค-4 การกลั่นไขมันด้วยเครื่องกลั่นไขมัน	36
ค-5 การระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ	37
จ-6 White Swan Bread Flour แป้งขนมปัง ตราห่าน (แป้งสาลี)	41
จ-7 แป้งสาลีที่ผสมกับน้ำ (น้ำกรอง น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู) ที่นวดให้แป้งสาลีเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง	41
จ-8 กลูเตนที่ผ่านการต้มแล้ว	42
จ-9 กลูเตนที่นำไปอบหาน้ำหนักแห้ง	42
จ-10 แหนมหมู และแหนมกลูเตน	42
จ-11 แหนมขาเห็ดหอม	43
จ-12 แหนมโปรตีนรังไหม	43
จ-13 แหนมโปรตีนเกษตร	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ / สัญลักษณ์	ความหมาย
แหนมกลูเตนน้ำกรอง	แหนมที่ผลิตโดยใช้กลูเตนที่ล้างแป้งสาลีด้วยน้ำกรอง
แหนมกลูเตนน้ำเกลือ	แหนมที่ผลิตโดยใช้กลูเตนที่ล้างแป้งสาลีด้วย น้ำเกลือเข้มข้น 2%
แหนมกลูเตนน้ำส้มสายชู	แหนมที่ผลิตโดยใช้กลูเตนที่ล้างแป้งสาลีด้วย น้ำส้มสายชูเข้มข้น 0.1%
MC	อาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey agar
MRS	อาหารเลี้ยงเชื้อ De Man Rogosa and Sharpe
MSA	อาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol salt agar
PCA	อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count agar
XLD	อาหารเลี้ยงเชื้อ Xylose lysine deoxycholate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

แหนมเป็นอาหารพื้นเมืองทางภาคเหนือของไทยที่เกิดจากกระบวนการถนอมอาหารชนิดหนึ่งซึ่งคนทั่วไปนิยมรับประทานกันอย่างแพร่หลาย และหาซื้อได้ง่ายตามร้านค้าทั่วไป นิยมทำมาจากเนื้อหมูส่วนต่างๆ เช่น ซี่โครงหมู สะโพกหมู เนื้อสันในหมู ในขณะเดียวกันยังมีแหนมมังสวิรัติที่ได้รับความนิยมในการรับประทานแต่เปลี่ยนวัตถุดิบหลักจากเนื้อสัตว์เป็นวัตถุดิบมังสวิรัติแทน วัตถุดิบมังสวิรัติที่นิยมนำมาทำเป็นแหนม ได้แก่ เห็ดชนิดต่างๆ โปรตีนเกษตร เป็นต้น แต่แหนมมังสวิรัติที่จำหน่ายโดยทั่วไปมีรสสัมผัสแตกต่างจากแหนม ที่ผลิตจากเนื้อหมูจึงอาจทำให้ไม่ได้อรรถรสในการรับประทานเท่าที่ต้องการ

งานวิจัยนี้สนใจศึกษาการนำกลูเตนมาใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการทำแหนมมังสวิรัติ เนื่องจากกลูเตนเป็นวัตถุดิบอีกชนิดที่นิยมนำมาประกอบอาหารมังสวิรัติที่มีเนื้อสัมผัสที่เหนียวหยุ่น ซึ่งความเหนียวหยุ่นของกลูเตนทำให้การศึกษาครั้งนี้คาดว่าแหนมจากกลูเตนจะมีรสสัมผัสคล้ายแหนมหมูมากกว่าแหนมมังสวิรัติทั่วไป เช่น แหนมเห็ด แหนมโปรตีนเกษตร โดยแหนมกลูเตนที่งานวิจัยได้ทำการศึกษาในครั้งนี้อาจเป็นอีกหนึ่งทางเลือกใหม่สำหรับผู้ที่ต้องการทานแหนมมังสวิรัติ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อผลิตแหนมที่เป็นทางเลือกใหม่สำหรับคนทั่วไป และคนที่รับประทานมังสวิรัติ โดยใช้กลูเตนจากแป้งสาลีเป็นวัตถุดิบหลักแทนเนื้อหมู

2) เพื่อเปรียบเทียบข้อมูลทางโภชนาการให้เกิดทางเลือกที่ง่ายขึ้นสำหรับผู้ที่เลือกรับประทานแหนมระหว่างแหนมที่ใช้เนื้อหมูเป็นวัตถุดิบหลักกับแหนมที่ใช้กลูเตนเป็นวัตถุดิบหลัก

3) เพื่อเปรียบเทียบปริมาณเชื้อทั้งหมดและปริมาณเชื้อที่สามารถก่อให้เกิดโรคในอาหารได้หลังการหมัก ระหว่างแหนมที่ใช้เนื้อหมูเป็นวัตถุดิบหลักกับแหนมที่ใช้กลูเตนเป็นวัตถุดิบหลัก เพื่อหาความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรคในอาหาร

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

การศึกษาการทำแหนมโดยใช้กลูเตนเป็นวัตถุดิบหลักแทนเนื้อหมู ซึ่งต้องมีการควบคุมเวลาในการหมักแหนม อุณภูมิที่ใช้ในการหมัก ค่าความเป็นกรด–ด่าง และการหมักในบรรจุภัณฑ์ที่มีสภาวะไร้อากาศ เพื่อให้แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการหมักสามารถเจริญเติบโตและเกิดการหมักขึ้นได้ ในการศึกษาครั้งนี้จะใช้ตัวอย่างแหนมหมูในการเปรียบเทียบค่าต่าง ๆ เพื่อวิเคราะห์ผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ได้แหนมมังสวิรัติที่มีกลูเตนจากแป้งสาลีเป็นวัตถุดิบหลัก

2) ได้แหนมมังสวิรัติที่มีคุณค่าทางโภชนาการเทียบเท่าหรือมากกว่าแหนมที่ใช้เนื้อหมูเป็นวัตถุดิบหลัก

3) ได้แหนมมังสวิรัติที่มีปริมาณเชื้อทั้งหมดที่มีความเสี่ยงในการก่อโรคน้อยกว่าแหนมที่ใช้เนื้อหมูเป็นวัตถุดิบหลัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

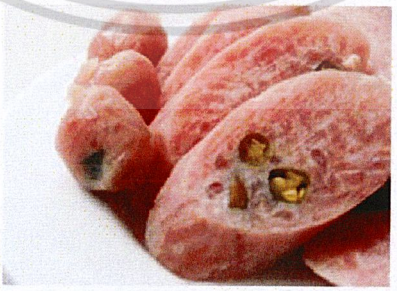
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แหนม (Nham)

แหนม เป็นอาหารหมักพื้นเมือง ผลิตได้โดยการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรียในสภาวะไร้อากาศ โดยแหนมทั่วไปจะมีวัตถุดิบหลัก คือ เนื้อหมู ซึ่งเป็นเนื้อสัตว์ที่มีความนิยมสูงในการนำมาผลิตแหนม แต่โดยทั่วไปแหนมหมูจะอุดมไปด้วยโปรตีน ไขมัน และสารอาหารอื่นๆ ซึ่งการบริโภคอาหารที่อุดมไปด้วยไขมันสูง อาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อการทำงานของหลอดเลือด และผนังเซลล์ของหลอดเลือดนอกจากนี้ยังอาจทำให้มีความเสี่ยงต่อการเกิดอาการความดันสูง (Christian,2005) ดังนั้นการลดระดับปริมาณไขมันในอาหาร จึงเป็นวิธีสำคัญในการป้องกันการเกิดโรคต่างๆได้ โดยแบคทีเรียที่พบในแหนมหมูมักจะเป็นแบคทีเรียชนิด *Lactobacillus* ซึ่งเกิดจากการหมักในสภาวะที่ไม่มีอากาศ เป็นสภาวะที่ lactic acid bacteria เจริญได้ดี และสามารถสร้างกรดแลคติกได้ (Visessanguan et al., 2015)

แบคทีเรียที่พบในแหนมหมูยังมีทั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ โดยในระยะแรกมักพบ *Pediococcus cerevisiae* มีค่าความเป็นกรด–ด่าง ประมาณ 5.9-6.3 จากนั้นจะพบ *lactobacillus* 2 ชนิด คือ *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus brevis* จะเจริญต่อจากแบคทีเรียชนิดแรกและสร้างกรดแลกติกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ประมาณ 4.4-4.5 (Ratanaburee et al., 2013) ซึ่งทำให้แหนมเกิดรสเปรี้ยว การหมักแหนมโดย *Lactobacillus* เป็นการหมักแบบ heterofermentative นอกจากจะได้กรดแลคติกเป็นหลัก แล้วยังได้สารอื่นๆที่ให้กลิ่นและรสชาติอีกด้วย ส่วนผสมในการผลิตแหนมหมูทั้งหมดจะมี เนื้อหมูบด เกลือ ข้าวสวย กระเทียม และพริกขี้หนู บรรจุลงในถุงพลาสติกที่ปิดปากถุงสนิทให้อยู่ในสภาวะที่ไร้อากาศ จากนั้นจะนำมาหมักเป็นเวลา 4-5 วัน (Ratanaburee et al., 2013) เพื่อให้เชื้อแบคทีเรียพวก *Lactobacillus* มีการเจริญเติบโตและสร้างกรดแลคติคจนได้เป็นผลิตภัณฑ์แหนม (Visessanguan et al., 2015)



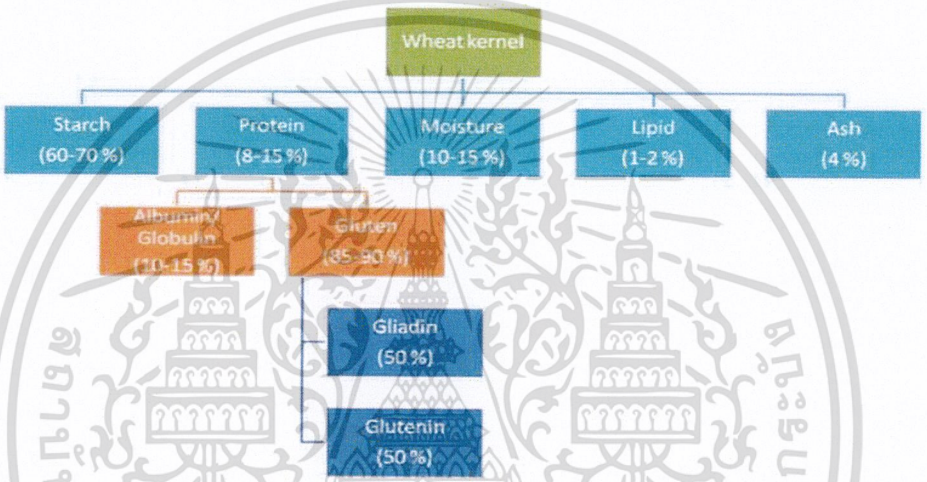
รูปที่ 2.1 ตัวอย่างแหนมหมู

ที่มา : https://consumersouth.org/paper/335

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 กลูเตน (Gluten)

กลูเตนคือโปรตีนชนิดหนึ่งที่ส่วนใหญ่พบได้ในธัญพืช เช่น ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เลย์ มีคุณสมบัติที่สำคัญคือความเหนียว หยุ่น ไม่ละลายน้ำของพันธะไดซัลไฟต์ระหว่างโปรตีนกลูเตนิน และโปรตีนไกลอะดิน (Wrigley and Bietz, 1988; Wieser, 2007) โดยไกลอะดินควบคุมความหนืดของแป้ง ส่วนกลูเตนินควบคุมความยืดหยุ่นของแป้ง (Sladana, 2013) จากคุณสมบัตินี้ทำให้กลูเตนมีเนื้อสัมผัสที่เหมาะจะนำมาผลิตเป็นเนื้อสัตว์เทียม ซึ่งกลูเตนก็ได้ความนิยมมากในการนำมาประกอบเป็นอาหารมังสวิรัติ เช่น พะโล้กลูเตน ยำกลูเตน



รูปที่ 2.2 ส่วนประกอบของข้าวสาลีที่มีกลูเตนเป็นองค์ประกอบ
ที่มา : Biesiekierski (2016)

และอีกหนึ่งเหตุผลที่กลูเตนนิยมนำมาประกอบในอาหารมังสวิรัติ คือกลูเตนเป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่มีค่าโปรตีนสูงมากอีกชนิด โดยมีองค์ประกอบโปรตีน 80–85% (Wall, 1979; Wieser, 2007) ทำให้โปรตีนในกลูเตนสามารถทดแทนโปรตีนจากเนื้อสัตว์ได้ในผู้ที่รับประทานอาหารมังสวิรัติ

ถึงแม้กลูเตนจะมีโปรตีนสูง และเนื้อสัมผัสเหมาะจะนำมาประกอบอาหาร แต่กลูเตนก็ไม่เป็นที่นิยมสำหรับประชากรตะวันตก เพราะมีประชากรจำนวน 0.2-1% ของประชากรสหรัฐอเมริกาและประชากรตะวันตกที่เป็นโรคภูมิแพ้กลูเตน (Peter,2014) หรือโรคความผิดปกติของภูมิคุ้มกันร่างกายส่งผลถึงช่องท้อง ทำให้ร่างกายดูดซึมสารอาหารได้ไม่ปกติ อย่างไรก็ตามสำหรับคนทั่วไปที่ไม่ได้เป็นโรคภูมิแพ้กลูเตนสามารถรับประทานกลูเตนได้อย่างไม่เป็นอันตราย คนไทยส่วนใหญ่ที่รับประทานข้าวเป็นอาหารหลักมีโอกาสเกิดโรคดังกล่าวได้น้อย (สุพิศ, 2015)

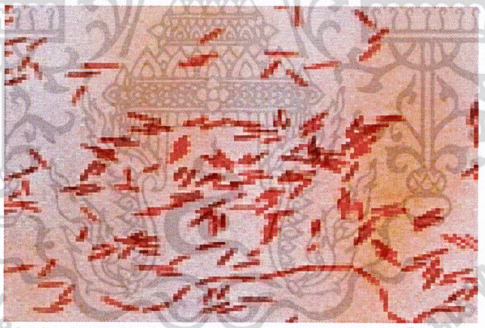
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 เชื้อก่อโรคในอาหาร

จุลินทรีย์ก่อโรค (Pathogen) หมายถึง จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุในการเกิดโรคในสิ่งมีชีวิตทั้งมนุษย์และสัตว์ ซึ่งอาจปนเปื้อนมาจากอาหาร ทำให้เกิดความผิดปกติได้ 2 ลักษณะ คือ อาหารเป็นพิษ (Foodborne intoxication) และโรคติดเชื้อจากอาหาร (Foodborne infection) ที่อาจมีอันตรายถึงชีวิตได้ (ภาวิน, 2004) เช่น Salmonella spp. , *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*

2.3.1 *Salmonella* spp.

Salmonella spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะเป็นท่อน เจริญได้ดีในอุณหภูมิห้อง สามารถเจริญทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (Facultative Anaerobe) ไม่ทนต่อความร้อน จัดอยู่ในสกุล Enterobacteraceae (สุชาติ, 2005) ช่วงความเป็นกรด–ด่าง ในการเจริญอยู่ระหว่าง4.1-9.0 โดยสามารถติดต่อจากสัตว์มาสู่คนได้ ส่วนมากจะได้รับเชื้อปะปนมากับน้ำและอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญในการเกิดอาการท้องร่วง และโรคติดเชื้อจากอาหาร ซึ่งเกิดจากการที่เชื้อซาลโมเนลลาที่ปนเปื้อนมาในอาหารเข้าไปเพิ่มจำนวนในทางเดินอาหาร และทำให้เกิดความผิดปกติขึ้น บางชนิดที่มีความรุนแรงสามารถแทรกซึมผ่านผนังลำไส้เข้าสู่กระแสเลือด ทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด (Septicemia) และอาจเป็นอันตรายถึงชีวิตได้ (ภาวิน, 2004)



รูปที่ 2.3.1 ลักษณะของเชื้อ *Salmonella typhi* จากการย้อมแกรม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า

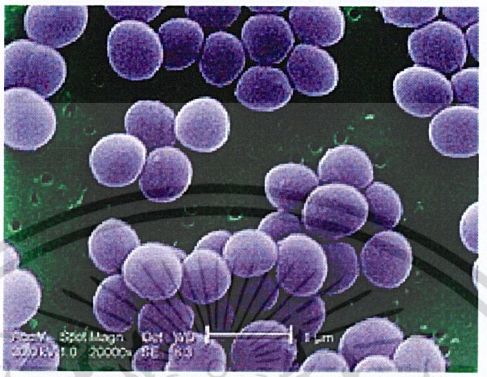
ที่มา : http://textbookofbacteriology.net/salmonella.html

2.3.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ไม่มีการเคลื่อนที่ อยู่ในสภาวะที่มีอากาศได้ดีกว่าที่ไม่มีอากาศ บางสายพันธุ์มีการสร้างสารพิษเอนเทอโรทอกซิน (Enterotoxin) ที่เป็นสาเหตุในการก่อโรคในอาหาร แบ่งสารพิษได้เป็น 8 ชนิด แต่มีชนิด A กับ D ที่พบบ่อยว่าเป็นสาเหตุของโรคในอาหารเนื่องจากเป็นสารพิษที่มีการทน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความร้อนได้นาน และยังทนต่อรังสีแกมมาที่ใช้กับอาหาร (Kasten, 2015) สามารถพบเชื้อชนิดนี้ได้ตามร่างกาย เช่น ทางเดินอาหาร เยื่อบุโพรงจมูก บาดแผล หรือในฝุ่นละอองทั่วไป (โสภณ, 1981) โดยอาการเมื่อได้รับสารพิษเข้าไปคือ ท้องร่วงรุนแรง อาเจียน เป็นตะคริวในช่องท้อง



รูปที่ 2.3.2 ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus* จากการย้อมแกรม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus

2.3.3 *Escherichia coli*

E. coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบในกลุ่มของโคลิฟอร์ม (coliform) รูปร่างเป็นแท่งสั้น (rod shape) เจริญได้ทั้งที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (Doyle, 1989) พบได้ทั่วไปในลำไส้ของคนและสัตว์ (Schroeder et al., 2002) ปกติจะไม่ก่อโรคและไม่มีอันตรายอีกทั้งยังช่วยในเรื่องย่อยอาหาร แต่หากเชื้อไปอยู่ในส่วนอื่นของร่างกายอาจก่อให้เกิดโรคได้ เช่น การติดเชื้อในกระแสเลือด ทางเดินปัสสาวะ อักเสบ ไส้ติ่งอักเสบ เป็นต้น และมีบางสายพันธุ์ที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย เพราะสามารถสร้างสารพิษเอนเทอโรทอกซิน (Enterotoxin) ทำให้เกิดการท้องร่วงอย่างรุนแรง บางสายพันธุ์ก็สร้างสารพิษชนิด Shiga toxin ที่ก่อเกิดเกิดอาการท้องร่วงรุนแรง ถ่ายเป็นมูกเลือด เม็ดเลือดแดงแตก และไตวาย (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2014) โดยเชื้อชนิดนี้พบได้ในอุจจาระของสัตว์ที่ติดเชื้อหรือปนเปื้อนมากับอาหารและน้ำ โดยเฉพาะเนื้อสัตว์ที่ดิบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.3.3 *Escherichia coli*

ที่มา : https://www.bbc.com/news/health-13639241

2.4 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

อาหารเลี้ยงเชื้อ (Culture medium) เป็นอาหารที่ใช้เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์ เกิดการเจริญเติบโต โดยมีทั้งชนิดเหลวและแข็ง (เติมวุ้น) อาหารเลี้ยงเชื้อมีหลายชนิดซึ่ง จะใช้เลี้ยงจุลินทรีย์ที่ต่างชนิดกัน โดยชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่โดดเด่นจะมี 5 ชนิด คือ Nutrient media เป็นอาหารที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนและไนโตรเจน Minimal media เป็นอาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญของแบคทีเรีย Selective media ใช้สำหรับคัดเลือกจุลินทรีย์เฉพาะที่ต้องการ Differential media เป็นอาหารที่ประกอบด้วยธาตุอาหารพิเศษ หรืออินดิเคเตอร์ Enriched media ประกอบด้วยธาตุอาหารที่สนับสนุนการเจริญของสิ่งมีชีวิต ใช้เพื่อเก็บเกี่ยวจุลินทรีย์หลายชนิดในตัวอย่าง (นงลักษณ์,1998) เช่น Plate count agar (PCA) , De Man Rogosa and Sharpe (MRS),Mannitol salt agar (MSA) , MacConkey agar (MC) และ Xylose lysine deoxycholate (XLD)

2.4.1 Plate Count Agar (PCA)

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดทั่วไปที่ใช้วัดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของตัวอย่าง เพราะอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้จุลินทรีย์ทุกชนิดสามารถเจริญเติบโตได้ โดยค่าความเป็นกรด - ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้ควรอยู่ที่ 7.0–7.4 หรือเป็นกลาง แต่การตรวจเจอชนิดของจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารนี้ ขึ้นอยู่กับสภาวะในการบ่ม เช่น หากบ่มที่อุณภูมิห้องจะพบแบคทีเรียคนละกลุ่มกับการบ่มไว้ที่อุณภูมิต่ำเช่นเดียวกับตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ หากผ่านความร้อนมา ส่วนใหญ่ก็จะเจอจุลินทรีย์กลุ่ม Thermophile (Downes & Ito, 2001) อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้ส่วนใหญ่จะใส่วุ้นเพื่อเลี้ยงในจานเพาะเชื้อ ซึ่งจะทำให้การนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดง่ายกว่าการเลี้ยงในอาหาร PCA ชนิดเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 De Man Rogosa and Sharpe (MRS)

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเฉพาะกลุ่ม (Selective media) โดยจุลินทรีย์ชนิด Lactobacilli สามารถเจริญได้ ซึ่งในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้ มีส่วนประกอบของโซเดียมอะซิเตดที่ทำให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆเจริญได้ยาก อีกทั้งยังมีวิตามินและกรดอะมิโนจำเป็นที่ช่วยในการเจริญ และมีส่วนช่วยในการลดแรงตึงผิวของจุลินทรีย์กลุ่ม Lactobacilli อีกด้วย

2.4.3 Mannitol saltagar (MSA)

เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบบ selective media และ differential media ใช้แยกจุลินทรีย์เฉพาะกลุ่ม และแยกในกลุ่มที่ใกล้เคียงกันออกจากกันด้วย โดยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนี้มีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงประมาณ 7.5–10% และมีน้ำตาลแมนนิทอล (Mannitol) เป็นส่วนประกอบอาหารชนิดนี้มีสีแดงจากการเติม Phenol red เพื่อดูการเปลี่ยนสีของอาหารเมื่อจุลินทรีย์มีการใช้น้ำตาลในอาหารแล้วเกิดการสร้างกรด อาหารจะเปลี่ยนจากสีแดงเป็นสีเหลือง (De Visscher และคณะ 2013)

2.4.4 MacConkey agar (MC)

MacConkey agar (MC) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อประเภท Selective media มักนิยมใช้ในการคัดเลือก และเพาะเลี้ยงเชื้อที่จำเพาะเจาะจง โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมลบที่อยู่ในลำไส้ เพื่อดูการเกิดสีที่แตกต่างกันตามปฏิกิริยาการหมักแลคโตส โดยมีการใส่สีคริสตัลไวโอเลต และเติมเกลือน้ำดี (Bile salt) เพื่อใช้เป็นตัวคัดเลือก โดยเกลือน้ำดีมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก และมีน้ำตาลแลคโตสในอาหารเป็นอินดิเคเตอร์บอกความแตกต่างของจุลินทรีย์แกรมลบที่คัดเลือกได้ ซึ่งแบคทีเรียที่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสได้ โคโลนีจะเป็นสีแดง เช่น *E. coli* ในขณะที่ *Salmonella* sp. ซึ่งไม่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสได้ โคโลนีจะเป็นสีเหลือง (Anita J. G. , 1990)

2.4.5 Xylose lysine deoxycholate (XLD)

Xylose lysine deoxycholate (XLD) ใช้แยกแบคทีเรียแกรมลบที่สามารถใช้ และไม่ใช้แลคโตสออกจากกันได้เช่นเดียวกับอาหารเลี้ยงเชื้อ MC โดยแบคทีเรียที่สามารถใช้ แลคโตสได้โคโลนีจะมีสีเหลือง ส่วนแบคทีเรียที่ใช้แลคโตสไม่ได้โคโลนีจะมีสีชมพู แต่แบคทีเรียบางชนิด เช่น *Salmonella* จะมีลักษณะเฉพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD คือ โคโลนีจะมีสีชมพูใส และมีจุดสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์อยู่ตรงกลาง (นงลักษณ์ , 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุชาติ และคณะ (2005) ได้ศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดในตัวอย่างเนื้อหมู และนำไปตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของแบคทีเรียก่อโรค พบว่าในฤดูฝนมีค่าเฉลี่ยการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทั้งหมด สูงมากที่สุด คือ $4.3x10^4$ CFU/g รองลงมาคือฤดูหนาว และฤดูร้อน ซึ่งมีค่าเฉลี่ยการปนเปื้อนฯ ที่ $7.8x10^3$ และ $2.4x10^4$ CFU/g ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์สูงมากที่สุดคือ ตัวอย่างเลือดหมูสดที่เก็บตัวอย่างจากเขียง โดยเก็บในฤดูฝนพบการปนเปื้อนถึง $1.6x10^6$ CFU/g สำหรับการตรวจสอบการปนเปื้อนของ *E. coli* มีค่า MPN *E. coli* อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่ยอมรับได้ทั้งหมด ในขณะที่มี 5 ตัวอย่างที่มีปริมาณการปนเปื้อน *E. coli* ที่สูงเกินเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ (>1,100 MPN/g) ได้แก่ ตัวอย่างเนื้อหมูจากเขียง 2 ที่เก็บในฤดูร้อน เขียงเนื้อหมู 3 ที่เก็บในฤดูหนาว ตัวอย่างเลือดหมูสดจากโรงฆ่าสัตว์เทศบาลฯ ในฤดูฝน และตัวอย่างเลือดหมูสดจากเขียง 3 ที่เก็บในฤดูหนาว และฤดูร้อน ในขณะที่การตรวจสอบการปนเปื้อน *S . aureus* และ *Salmonella* sp. ในทุกตัวอย่างเนื้อหมูและเลือดสดที่ถูกสุ่มเก็บในสถานที่ และช่วงฤดูกาลต่างๆ นั้นพบว่า มีค่าการปนเปื้อนแบคทีเรียดังกล่าวต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ในทุกตัวอย่าง ยกเว้นในตัวอย่างเลือดสดจากเขียง 2 เก็บในช่วงฤดูฝนเท่านั้น ที่พบการปนเปื้อนของ *Salmonella* sp.

ภาวิน (2004) ได้ศึกษาแบคทีเรียก่อโรคในอาหารที่ทำให้เกิดความผิดปกติได้ 2 ลักษณะ คือ อาหารเป็นพิษและโรคติดเชื้อจากอาหาร โรคจากอาหารที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในสัตว์ที่สำคัญ ได้แก่ Salmonellosis, Campylobacteriosis, Listeriosis, *Vibrio parahaemolyticus* gastroenteritis และโรคติดเชื้อ *E. coli* จากการศึกษาในประเทศไทยพบว่ามีการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella* และ *Campylobacter* ในสุกรและไก่ในระดับสูงทั้งที่ฟาร์ม โรงฆ่าสัตว์ และตลาดสดที่จำหน่ายเนื้อสัตว์ นอกจากนี้ยังพบเชื้อดื้อยาต้านจุลชีพอีกด้วย แบคทีเรียก่อโรคในอาหารสามารถปนเปื้อนอาหารได้ในหลายขั้นตอนตั้งแต่ที่ฟาร์มจนถึงผู้บริโภค การลดการติดเชื้อแบคทีเรียในสัตว์ที่ฟาร์ม และการควบคุมสุขอนามัยในการผลิตอาหารจากเนื้อสัตว์ จะเป็นการลดโอกาสของการเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรีย และลดโอกาสของการแพร่กระจายไปสู่ผู้บริโภคได้

นงลักษณ์ และคณะ (1998) ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดต่างๆบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยทำการเลี้ยงจุลินทรีย์หลายประเภท เช่น แบคทีเรียที่ก่อโรค โดยแบคทีเรียชนิดก่อโรคส่วนมากสามารถเพาะเลี้ยงได้ในหลอดทดลองได้โดยใช้อาหารที่มนุษย์ปรุงขึ้น (Artificial Media) ยกเว้นแบคทีเรียที่เจริญยาก บางชนิดเท่านั้นที่ไม่สามารถเลี้ยงในหลอดทดลองได้ เช่น *Mycobacterium laprae* แบคทีเรียชนิดก่อโรคเป็นพวก heterotrophic microorganism ซึ่งมีความสามารถในการสังเคราะห์อาหารจำกัด จึงต้องการอาหารที่ซับซ้อนขึ้น ดังนั้นจึงมักใช้อาหารซึ่งเป็นแหล่งของโปรตีนในธรรมชาติ แต่แบคทีเรียพวกนี้ไม่สามารถใช้โปรตีนนี้ได้โดยตรง ต้องทำให้อยู่ในรูปซึ่งสามารถนำไปใช้ได้โดยการย่อยโปรตีนด้วยกรด ด่าง หรือ เอนไซม์ต่างๆ โปรตีนซึ่งถูกย่อยแล้ว เรียกว่า peptones ซึ่งเป็นสารที่ละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำได้ง่ายและประกอบด้วยเอนไซม์ Polypeptidase และ พวก amino acids ในปริมาณต่างๆ กันซึ่งสารเหล่านี้แบคทีเรียสามารถนำไปใช้ได้ทันที อาหารเลี้ยงเชื้อโดยทั่วไปต้องประกอบด้วยสารอาหารที่จำเป็น ได้แก่ แหล่งของไนโตรเจน คาร์บอน เกลือแร่ และ วิตามิน รวมทั้งน้ำ และ Growth factor ต่าง ๆ ในปริมาณที่เหมาะสม นอกจากนั้นความเป็นกรด – ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อต้องเหมาะสมต่อการเจริญแบคทีเรียที่ต้องการเพาะเลี้ยงอีกด้วย

Roberts และคณะ (2004) การบริโภคอาหารที่มีไขมันและซูโครสสูง อาจก่อให้เกิดความผิดปกติของเซลล์เยื่อบุผิวหนังหลอดเลือด ซึ่งเกิดจากการรวมกันอันเนื่องมาจากความไม่สมดุลของสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านอนุมูลอิสระจะยับยั้งการแสดงออกของโปรตีน NOS (สารสำคัญที่ควบคุมสรีรวิทยาของหลอดเลือด ถูกสร้างโดยเอนไซม์ Nitric oxide synthase ; NOS) ของหลอดเลือด ทำให้ลดลงและไม่สามารถผลิตได้ การออกซิเดชันจากอาหารที่มีไขมันและซูโครสสูงจะส่งผลให้ไม่มีการยับยั้ง และทำให้เกิดความผิดปกติของเซลล์บุผนังหลอดเลือด และพัฒนาไปสู่โรคความดันโลหิตสูง

Wieser (2007) พบว่า โปรตีนกลูเตนมีบทบาทในการกำหนดประสิทธิภาพ การทนความร้อนของข้าวสาลี จากการดูดซับน้ำ การยึดเกาะกันทางโมเลกุล ความหนืด และความยืดหยุ่นของโด โปรตีนในกลูเตนได้เป็น 2 ชนิดใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ ไกลอะดีนที่ละลายในแอลกอฮอล์ได้ และกลูเตนินที่ละลายในแอลกอฮอล์ไม่ได้ จะประกอบด้วยกรดอะมิโนกลูตามีนและกรดอะมิโนโปรลีนคล้ายกัน โปรตีนไกลอาร์ดีนมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 28,000–55,000 มีโครงสร้างปฐมภูมิหลายแบบ ได้แก่ α/β-, γ- และ ω-type มีพันธะไดซัลไฟด์หรือไม่มีเชื่อมแบบ crosslinks ขณะที่โปรตีน glutenin จะเชื่อมพันธะกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ และมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 500,000 ถึงมากกว่า 10 ล้าน การลดพันธะไดซัลไฟด์ลงจะทำให้กลูเตนินและไกลอะดินละลายในแอลกอฮอล์ได้ สามารถแบ่งกลูเตนินได้ 2 หน่วยย่อยคือ high-molecular-weight (HMW) subunits (MW ¼ 67,000–88,000) และ low-molecular-weight (LMW) subunits (MW ¼ 32,000–35,000) ในแต่ละกลูเตนสามารถแบ่งได้เป็น 2-3 บริเวณ ได้แก่ บริเวณที่มีกรดอะมิโนกลูตามีนและโปรลีนมาก, บริเวณที่เป็นหน่วยย่อย HMW และ LMW และบริเวณที่ไม่มีพันธะโควาเลนต์ แต่มีพันธะไฮโดรเจน พันธะอิออนิกและพันธะไฮโดรโฟบิก ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการรวมตัวกัน (aggregation) ของไกลอะดินและกลูเตนิน ซึ่งจะมีผลต่อลักษณะสมบัติของโด

Kantachote และคณะ (2016) ได้ศึกษาการลดปริมาณของ biogenic amines และคอเลสเตอรอลในแหนมหมู โดยใช้เชื้อแบคทีเรียที่ผลิต γ-aminobutyric acid (GABA) ที่ได้จาก *Pediococcus pentosaceus* HN8 และ *Lactobacillus namurensis* NH2 โดยปริมาณคอเลสเตอรอลลดลง 35% ในแหนมหมูที่มี GABA และยังมีการหมักกรดแลคติคที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียอย่างต่อเนื่อง จึงสามารถยืนยันได้ว่าการเติมเชื้อเริ่มต้น *Pediococcus pentosaceus* HN8 และ *Lactobacillus namurensis* NH2 เพื่อผลิต GABA เริ่มมีบทบาทสำคัญในการลดทั้ง biogenic amines และระดับคอเลสเตอรอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 วัสดุ

1. White Swan Bread Flour แป้งขนมปัง ตราหงส์ (แป้งสาลี)
2. เกลือบริโภคเสริมไอโอดีนความบริสุทธิ์ 99.99 % ตราปรุงทิพย์
3. กระเทียม
4. ข้าวสวย
5. พริกขี้หนู

3.1.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ตัวเร่งปฏิกิริยาของวิธีเจลดาห์ล (Kjeldahl catalyst tablets) โดย 1 เม็ด ประกอบด้วย โพแทสเซียมซัลเฟต 3.5 กรัม คอปเปอร์ซัลเฟต 0.105 กรัม และไททาเนียมไดออกไซด์ 0.105 กรัม
2. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 98% สัดส่วนโดยมวล (ความถ่วงจำเพาะ 1.84 g/mL)
3. สารละลายกรดบอริก (boric acid) เข้มข้น 40 g/L
4. สารละลายอินดิเคเตอร์ผสมเมทิลเรดและโบรโมคลีซอลกรีน
5. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40% สัดส่วนโดยมวลต่อปริมาตร
6. สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.1 M
7. น้ำกลั่น
8. น้ำกรอง
9. น้ำเกลือ
10. น้ำส้มสายชูกลั่น 5% ตรา อสร.
11. สารละลายแอมโมเนีย 25% สัดส่วนโดยมวล
12. เอทานอล ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 94% สัดส่วนโดยปริมาตร
13. สารละลายผสมปิโตรเลียมอีเทอร์
14. Plate count agar (P55) (HIMEDIA , INDIA)
15. Xylose lysine desoxyscholate (XLD) (HIMEDIA , INDIA)
16. Mannitol salt agar (MSA) (HIMEDIA , INDIA)
17. *Lactobacillus* MRS Agar (MRS) (HIMEDIA , INDIA)
18. MacConkey Agar (MC) (HIMEDIA , INDIA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

19. สี crystal violet
20. สารละลายไอโอดีน (iodine treatment)
21. แอลกอฮลอล์ (ethyl alcohol 95%) (RCI-Labscan, Thailand)
22. สี Safranin

3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ตู้บ่มเชื้อ (Laminar air flow) (Memmert, Germany)
2. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (ConthermThermotec2000, Germany)
3. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (TOMY รุ่น ES-315, Japan)
4. ตู้เขี่ยเชื้อ (Holten Lamina, Denmark)
5. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (Mettler-Toledo , CH 8603 ,Japan)
6. เครื่องระเหยสูญญากาศ (Heidoph, Germany)
7. กล้องจุลทรรศน์
8. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร (SCHOTT , Germany)
9. บีกเกอร์ ขนาด 25, 50, 250, 500, 1000 และ 2000 มิลลิลิตร (SCHO ,Germany)
10. กระบอกตวงแก้ว ขนาด 25 มิลลิลิตร
11. จานเพาะเชื้อ
12. เครื่องชั่ง (analytical balance) (Sartorius, Germany)
13. ช้อนตักสาร
14. แท่งแก้วคนสาร
15. ลวดเขี่ยเชื้อ (loop)
16. ตะเกียงแอลกอฮอล์
17. ขวดดูแรน ขนาด 250 มิลลิลิตร
18. โถดูดความชื้น
19. ถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝา (Moisture Can) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 60 มิลลิเมตร × 25 มิลลิเมตร
20. หม้อ
21. ทัพพี
22. ลูปเขี่ยเชื้อ
23. ชุดเครื่องย่อยตัวอย่าง (digestion block)
24. หลอดเจลดาห์ล (Kjeldahl tube) ขนาด 250 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25. ชุดเครื่องกลั่นตัวอย่าง (distillation unit)
26. บิวเรตต์ ขนาด 50 มิลลิลิตร
27. แร่ง เบอร์ 8 เส้นผ่านศูนย์กลาง 20 เซนติมตร รูเปิดสี่เหลี่ยมขนาด 2.4 มิลลิเมตร × 2.4 มิลลิเมตร
28. อุปกรณ์แยกไขมัน ชนิดมอจอนเนียร์ (Mojonnier type fat-extraction flasks)
29. เครื่องอังน้ำ (water bath)
30. เครื่องอังทราย (sand bath)
31. เครื่องระเหยหมุนสุญญากาศ (rotary vacuum evaporator)
32. เครื่องสกัดซอกซ์เล็ต (soxhlet extraction) พร้อมขวดก้นกลม (round flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร และเตานำความร้อน (heating mantle)
33. ทิมเบิลสำหรับสกัด (extraction thimble) ชนิดกระดาษ

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 ขั้นตอนการทำกลูเตน

ผสมแป้งสาลีกับน้ำ (น้ำกรอง น้ำเกลือ น้ำกลั่น) ค่อยๆนวดให้แป้งสาลีเป็นเนื้อเดียวกันทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง และนำแป้งมาล้างด้วยน้ำกรองค่อยๆนวดและล้างเบาๆ พยายามนวดให้แป้งจับตัวเป็นก้อนเดียวกัน และอย่าให้แป้งแตกออกจากกัน จากนั้นล้างด้วยน้ำกรองประมาณ 8–9 รอบ แป้งจะจับตัวเป็นก้อน ล้างแป้งออกจนน้ำที่ใช้ล้างมีลักษณะใส จะเหลือแต่กลูเตนที่ต้องการ ชั่งน้ำหนักของก้อนแป้งก่อนต้ม แล้วบันทึกค่า นำแป้งที่ล้างจนเหลือแต่กลูเตนไปต้มในน้ำเดือด แป้งที่สุกแล้วจะลอยขึ้นมา นำแป้งที่ต้มสุกแล้วมาวางทิ้งไว้บนกระชอนจนน้ำแห้ง ชั่งน้ำหนักของก้อนแป้งหลังต้ม แล้วบันทึกค่า

3.2.2 ขั้นตอนการทำแหนมจากกลูเตน

นำก้อนแป้งที่ต้มเสร็จแล้วมาสับให้ละเอียด ผสมแป้งที่สับจนละเอียดกับเกลือ กระเทียมสับ ข้าวสวย ผสมจนเป็นเนื้อเดียวกัน นำมาบรรจุใส่ถุงพลาสติก ไล่อากาศออกจากถุงจนหมดแล้วรัดด้วยหนังยางให้แน่น ทิ้งไว้ประมาณ 4-5 คืน (ในอุณหภูมิห้อง)

3.2.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในกลูเตน และเนื้อหมู

1) ขั้นตอนการย่อย

ชั่งตัวอย่างกลูเตนและเนื้อหมู (Control) ตัวอย่างละ 0.5 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อย ใส่คะตะลิสต์ลงไปประมาณ 5 กรัม เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 98% ลงไป 25 มิลลิลิตร แล้วเขย่าเบาๆ เปิดเครื่องย่อยแล้วตั้งหลอดย่อยในเครื่อง สวมเครื่องดักจับไอกรดลงบนส่วนบนของหลอดย่อย และเปิดพาวเวอร์ของเครื่องดักจับไอกรด โดยทำการย่อยในตู้ดูดควัน กดปุ่มเริ่มเครื่องย่อย เมื่ออุณหภูมิประมาณ 380 องศาเซลเซียส ให้ทำการย่อยต่อไปอีก 2 ชั่วโมง ตัวอย่างจะเริ่มมีลักษณะเป็นสีดำหรือน้ำตาล และจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนเป็นสีเขียวใส จากนั้นหยิบหลอดย่อยออกมาตั้งพักไว้ให้เย็น ปิดปุ่มพาวเวอร์ของเครื่องย่อย แต่ยังคงเปิดเครื่องดักจับไอกรดไว้เพื่อดักจับไอกรดที่ยังหลงเหลืออยู่

2) ขั้นตอนการกลั่น

เปิดพาวเวอร์เครื่องหล่อเย็น แล้วทำการเซ็ทระบบการทำงานของเครื่องกลั่นจากนั้นเปิดเครื่องกลั่น ทำการล้างระบบด้วยน้ำกลั่น ตวงสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4% ปริมาตร 25 มิลลิลิตร และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร พร้อมหยดอินดิเคเตอร์ 3 หยด ซึ่งจะทำให้สารละลายเป็นสีชมพูอ่อน นำหลอดย่อยประกอบเข้ากับเครื่องกลั่น และวางขวดรูปชมพู่ที่บรรจุสารละลายผสมกรดบอริก และโซเดียมไฮดรอกไซด์ไว้บริเวณเพลทฟอร์มให้แท่งพลาสติกของเครื่องกลั่นจุ่มอยู่ใต้กรดบอริค ปิดเครื่องกลั่นเพื่อทำการกลั่นเป็นเวลาประมาณ 4 นาที เมื่อกลั่นเสร็จนำขวดรูปชมพู่ และหลอดย่อยออกจากเครื่องกลั่น สารละลายที่อยู่ในขวดรูปชมพู่จะมีลักษณะสีเขียวใส จากนั้นฉีดน้ำกลั่นล้างสายยางที่จุ่มในขวดรูปชมพู่

3) ขั้นตอนการไตเตรท

นำสารละลายในขวดรูปชมพู่ไปไตเตรทกับสารละลายไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 N สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวใสเป็นสีชมพูอ่อน นำผลที่ได้ไปคำนวณละวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

3.2.4 ขั้นตอนการวัดไขมันในแหนมกลูเตน และแหนมหมู

อบฟลาสก์สกัดไขมันที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ในตู้อบลมร้อนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของฟลาสก์ ชั่งตัวอย่างแหนม ตัวอย่างละ 2 กรัม ที่บดละเอียดแล้วห่อด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จดน้ำหนักที่แน่นอนก่อนนำไปใส่ในทิมเบิล เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในฟลาสก์สำหรับสกัดไขมัน 150 มิลลิลิตร ต่อฟลาสก์ที่มีปิโตรเลียมอีเทอร์เข้ากับส่วนของหลอดสกัด และตัวหล่อเย็น ทำการสกัดประมาณ 3 ชั่วโมง แยกเอาฟลาสก์ออกจากเครื่องสกัด แล้วใช้คีมคีบทิมเบิลที่ใส่ตัวอย่างแหนมออกจากฟลาสก์ นำฟลาสก์ไประเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนตัวทำละลายระเหยจนหมด จากนั้นทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งและจดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณไขมันในแต่ละตัวอย่าง

3.2.5 การวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งในกลูเตนและเนื้อหมู

อบภาชนะสำหรับหาความน้ำหนักแห้ง (Moisture can) พร้อมด้วยฝาปิดในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 – 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมฝา จดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ชั่งกลูเตนและเนื้อหมูประมาณ 5 กรัม ใส่ในภาชนะหาความชื้นพร้อมฝาปิดที่ผ่านการอบแล้ว นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100–105 องศาเซลเซียส ประมาณ 72 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักและจดบันทึก คำนวณปริมาณร้อยละของน้ำหนักแห้งของกลูเตนและเนื้อหมู (% moisture content) และปริมาณร้อยละของของแข็งทั้งหมดของกลูเตนและเนื้อหมู (% total solid)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.6 ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเชื้อจากแหนมกลูเตนและแหนมหมู

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 การตรียมอาหารที่ใช้ตรวจวิเคราะห์เชื้อทั้งหมดด้วยวิธี Total Plate Count ในอาหาร Plate Count Agar (PCA)

ชั่ง Plate count agar (P55) 23.5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เทน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ที่มีอาหาร แล้วคนให้อาหารละลายเข้ากับน้ำกลั่น นำไปต้มและคนอย่างสม่ำเสมอ เพื่อไม่ให้วุ้นติดก้นภาชนะ ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมด แล้วแบ่งใส่ในขวดดูแรนขนาด 250 มิลลิลิตร นำอาหารที่เทใส่ในขวดดูแรนแล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อครบเวลา ปิดหม้อนึ่งฆ่าเชื้อและรอให้ความดันลดลงเป็น 0 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว จึงค่อยเปิดเอาอาหารออก

1.2 การเตรียมอาหารที่ใช้วิเคราะห์เชื้อ Lactic acid bacteria โดยเลี้ยงในอาหาร *Lactobacillus* MRS Agar (MRS)

ชั่ง *Lactobacillus* MRS Agar 67.15 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เทน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ที่มีอาหาร แล้วคนให้อาหารละลายเข้ากับน้ำกลั่น นำไปต้มและคนอย่างสม่ำเสมอ เพื่อไม่ให้วุ้นติดก้นภาชนะ ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมด แล้วแบ่งใส่ในขวดดูแรนขนาด 250 มิลลิลิตร นำอาหารที่เทใส่ในขวดดูแรนแล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อครบเวลา ปิดหม้อนึ่งฆ่าเชื้อและรอให้ความดันลดลงเป็น 0 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว จึงค่อยเปิดเอาอาหารออก

1.3 การเตรียมอาหารที่ใช้วิเคราะห์เชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยเลี้ยงในอาหาร Mannitol salt agar (MSA)

ชั่ง Mannitol salt agar (MSA) 111.02 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เทน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ที่มีอาหาร แล้วคนให้อาหารละลายเข้ากับน้ำกลั่น นำไปต้มและชั่งวุ้น 15 กรัม ใส่เพิ่มลงไปในอาหาร และคนอย่างสม่ำเสมอ เพื่อไม่ให้วุ้นติดก้นภาชนะ ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมด แล้วแบ่งใส่ในขวดดูแรนขนาด 250 มิลลิลิตร นำอาหารที่เทใส่ในขวดดูแรนแล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อครบเวลา ปิดหม้อนึ่งฆ่าเชื้อและรอให้ความดันลดลงเป็น 0 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว จึงค่อยเปิดเอาอาหารออก

1.4 การเตรียมอาหารที่ใช้วิเคราะห์เชื้อ *Escherichia coli* โดยเลี้ยงในอาหาร MacConkey Agar (MC)

ชั่ง MacConkey Agar (MC) 50 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เทน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ที่มีอาหาร แล้วคนให้อาหารละลายเข้ากับน้ำกลั่น นำไปต้มและชั่งวุ้น 15 กรัม ใส่เพิ่มลงไปในอาหารคนอย่างสม่ำเสมอเพื่อไม่ให้วุ้นติดก้นภาชนะ ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมด แล้วแบ่งใส่ในขวดดูแรนขนาด 250 มิลลิลิตร นำอาหารที่เทใส่ในขวดดูแรนแล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15 นาที เมื่อครบเวลา ปิดหม้อนึ่งฆ่าเชื้อและรอให้ความดันลดลงเป็น 0 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว จึงค่อยเปิดเอาอาหารออก

1.5 การเตรียมอาหารที่ใช้วิเคราะห์เชื้อ *Salmonella* sp. โดยเลี้ยงในอาหาร Xylose lysine deoxyscholate (XLD)

ชั่ง Xylose lysine deoxyscholate (XLD) 56.68 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เทน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ที่มีอาหาร แล้วคนให้อาหารละลายเข้ากับน้ำกลั่น นำไปต้มและคนอย่างสม่ำเสมอ เพื่อไม่ให้วุ้นติดก้นภาชนะ ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมด แล้วแบ่งใส่ในขวดดูแรนขนาด 250 มิลลิลิตร นำอาหารที่เทใส่ในขวดดูแรนแล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่อครบเวลา ปิดหม้อนึ่งฆ่าเชื้อและรอให้ความดันลดลงเป็น 0 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว จึงค่อยเปิดเอาอาหารออก

2. การลงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ

นำบีกเกอร์ ช้อนแสตนเลส เพลท ปิเปต ที่คีบสแตนเลส มาอบที่ตู้อบลมร้อน 180 องศาเซลเซียส เป็นวลา 3 ชั่วโมง ชั่งตัวอย่างแหนมกลูเตนและแหนมหมู ตัวอย่างละ 25 กรัม ลงในบีกเกอร์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว เตรียมน้ำเกลือโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85 % ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เพื่อใช้ในการเจือจางตัวอย่างแหนม กลูเตนทั้ง 3 ชนิด และแหนมหมู นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เจือจางตัวอย่างแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด และแหนมหมู ที่ระดับความเจือจาง 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3},..., 10^{-10} โดยชั่งน้ำหนักแหนมตัวอย่างประมาณ 25 กรัม เติมน้ำเกลือ NaCl เข้มข้น 0.85 % ปริมาตร ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยการ Pour plate โดยปิเปตตัวอย่างแหนมทั้ง 3 ชนิด มาตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร โดยเลือกจากระดับการเจือจางที่ 10^{-3}, 10^{-5}, 10^{-7} ใส่ลงในอาหาร PCA และ MRS ส่วนอาหาร MSA, MC และ XLD จะเลือกปิเปตจากระดับความเจือจางที่ 10^{-1} โดยทั้งหมดจะทำการเพาะเลี้ยงลงในเพลททั้งหมด 3 ซ้ำ นำไปบ่มที่ตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 48 ชั่วโมง ตรวจผลโดยวิธีการนับจำนวนโคโลนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ทดสอบองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์แหนมแต่ละชนิด

ผลการทดสอบองค์ประกอบทางเคมี ได้ทำการทดสอบแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด และแหนมหมู เพื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีในด้านโปรตีน, ไขมัน และ น้ำหนักแห้ง ได้ผลทดสอบดังนี้

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีในด้านโปรตีน ไขมัน และน้ำหนักแห้งของผลิตภัณฑ์แหนมแต่ละชนิด

องค์ประกอบทางเคมี	ชนิดของแหนม			
	แหนมหมู	แหนมกลูเตน		
		นวดแป้งด้วยน้ำกรอง	นวดแป้งด้วยน้ำเกลือ (ความเข้มข้น 2%)	นวดแป้งด้วยด้วยน้ำส้มสายชู (ความเข้มข้น 0.1%)
โปรตีน (%)	6.90 ± 0.24^{b}	9.71 ± 0.22^{a}	9.20 ± 0.60^{a}	9.19 ± 0.34^{a}
ไขมัน (%)	6.86 ± 0.90^{a}	0.21 ± 0.21^{b}	0.27 ± 0.12^{b}	0.24 ± 0.08^{b}
น้ำหนักแห้ง (กรัม)	2.74 ± 0.11^{a}	2.65 ± 0.23^{a}	2.53 ± 0.08^{a}	2.65 ± 0.19^{a}

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

** ตัวอักษรตามแนวนอนที่ต่างกันแสดงถึงความต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 4.1 ผลการทดสอบองค์ประกอบทางเคมีในด้านโปรตีนจะเห็นได้ว่าแหนมหมูมีปริมาณโปรตีนอยู่ที่ 6.90% ต่อปริมาณตัวอย่าง 0.5 กรัม ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิดแล้ว แหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด จะมีปริมาณโปรตีนอยู่ที่ 9.71%, 9.20% และ 9.19% ต่อปริมาณตัวอย่าง 0.5 กรัม ตามลำดับที่แสดงในตาราง จึงสามารถสรุปได้ว่าแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณโปรตีนมากกว่าแหนมหมูอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณไขมันระหว่างแหนมหมู และแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด จะเห็นได้ว่าแหนมหมูมีปริมาณไขมันสูงถึง 6.86% ต่อปริมาณตัวอย่าง 2 กรัม ในขณะที่แหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณไขมันเพียง 0.21%, 0.27% และ 0.24% ต่อปริมาณตัวอย่าง 2 กรัม ตามลำดับที่แสดงในตาราง ซึ่งมีปริมาณไขมันที่น้อยกว่าแหนมหมูอย่างเห็นได้ชัด และเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบจากน้ำหนักแห้งเพื่อคำนวณหาความคุ้มค่าของวัตถุดิบ ตัวอย่างเนื้อหมู 5 กรัม และตัวอย่างกลูเตนทั้ง 3 ชนิด อย่างละ 5 กรัม เมื่อนำไปอบด้วยความร้อน 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เหลือปริมาณน้ำหนักแห้งอยู่ที่ 2.74, 2.65, 2.53 และ 2.65 กรัม ตามลำดับที่แสดงในตาราง ซึ่งผลการทดสอบทั้ง 4 ค่า ไม่แตกต่างกัน เมื่อนำมาวิเคราะห์กับราคาวัตถุดิบตามท้องตลาด เนื้อหมูบดจะมีราคาอยู่ที่ประมาณกิโลกรัมละ 120 บาท ในขณะที่แป้งสาลีอเนกประสงค์มีราคากิโลกรัมละ38 บาท แต่การนำแป้งสาลีมาทำเป็นกลูเตน จะต้องใช้แป้งสาลีประมาณ 2 กิโลกรัม จึงจะได้ปริมาณกลูเตน 1 กิโลกรัม ดังนั้นราคากลูเตน 1 กิโลกรัม จะอยู่ที่ราคา 76 บาทโดยประมาณ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อหมูบดที่เป็นวัตถุดิบหลักในการทำแหนมหมูแล้ว จะเห็นได้ว่าราคากลูเตนมีราคาถูกกว่าเนื้อหมูบด เมื่อสรุปผลการทดสอบทั้ง 3 องค์ประกอบทางเคมีแล้วแหนมที่ผลิตจากกลูเตนทั้ง 3 ชนิดมีราคาถูกกว่า และยังมีโปรตีนมากกว่าแหนมหมูในขณะที่ปริมาณไขมันมีน้อยกว่าอย่างเห็นได้ชัด

4.2 ทดสอบค่าความเป็นกรด–ด่าง ในการหมักของผลิตภัณฑ์แหนมแต่ละชนิด

ผลการทดสอบค่าความเป็นกรด–ด่าง ในการหมักของผลิตภัณฑ์แหนม ได้ทำการทดสอบแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด และแหนมหมู เพื่อเปรียบเทียบค่าความเป็นกรด–ด่าง ก่อนและหลังหมัก 5 วัน ได้ผลทดสอบดังนี้

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าความเป็นกรด–ด่าง ของผลิตภัณฑ์แหนมแต่ละชนิดก่อนและหลังการหมัก 5 วัน ณ อุณหภูมิห้อง

ชนิดของแหนม	ค่าความเป็นกรด - ด่าง	
	ก่อนการหมัก	หลักการหมัก
แหนมหมู	5.96 ± 0.01^{b}	4.35 ± 0.03^{a}
แหนมกลูเตนจากน้ำกรอง	6.50 ± 0.04^{a}	4.44 ± 0.07^{a}
แหนมกลูเตนจากน้ำเกลือ (ความเข้มข้น 2%)	6.39 ± 0.09^{a}	4.35 ± 0.40^{a}
แหนมกลูเตนจากน้ำส้มสายชู (ความเข้มข้น 0.01%)	6.39 ± 0.09^{a}	4.21 ± 0.21^{a}

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบ 3 ซ้ำ

** ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนคือแตกต่างกัน

*** ตัวอักษรตามแนวตั้งที่ต่างกันแสดงถึงความต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบความเป็นกรด ด่าง ของผลิตภัณฑ์แหนมแต่ละชนิดก่อนและหลังการหมัก 5 วัน แสดงให้เห็นว่า ค่าความเป็นกรด – ด่าง ของแหนมหมู และแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด ก่อนการหมักจะอยู่ที่ 5.96, 6.50, 6.38 และ 6.39 ตามลำดับที่แสดงในตาราง และค่าความเป็นกรด – ด่าง ของแหนมหมูและแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด หลังการหมักจะอยู่ที่ 4.35, 4.44, 4.35 และ 4.21 ตามลำดับที่แสดงในตาราง จะเห็นได้ว่า ค่าความเป็นกรด–ด่าง ของตัวอย่างแหนมหมู และแหนมกลูเตน 3 ชนิด ทั้งก่อนการหมักและหลังการหมักมีค่าใกล้เคียงกัน จึงสรุปได้ว่าทั้งเนื้อหมูบด และกลูเตนทั้ง 3 ชนิด สามารถนำมาเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตแหนม และสามารถหมักด้วย Lactic acid bacteria ได้อย่างมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน

4.3 การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์จากแหนมแต่ละชนิด

4.3.1 การนับจำนวนจุลินทรีย์จากแหนมหมูและแหนมกลูเตน

การนับจำนวนโคโลนีจะนับหลังจากการบ่ม 18 - 48 ชั่วโมง โดยเลือกเฉพาะจานที่มีโคโลนีเจริญอยู่ประมาณ 30 - 300 โคโลนี ระดับความเจือจางที่ใช้ คือ 10^{-3} , 10^{-5} และ 10^{-7} ในอาหาร Plate Count Agar (PCA) และอาหาร *Lactobacillus* MRS Agar (MRS) โดยจะทำการเจือจางเพลทละ 3 ซ้ำ เมื่อนับจำนวนโคโลนีในแต่ละเพลทได้แล้ว นำมาบวกกันแล้วหารด้วย 3 จะเท่ากับจำนวนเฉลี่ยของโคโลนีที่นับได้ต่อ 1 เพลท การรายงานผลจะรายงานเป็นหน่วย CFU/g

ตารางที่ 4.3 แสดงถึงจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ที่พบในการเลี้ยงเชื้อจากแหนมชนิดต่างๆบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด ได้ผลดังนี้

ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ	จำนวนโคโลนีในแหนมตัวอย่าง (CFU/g)			
	แหนมหมู	แหนมกลูเตน (น้ำกรอง)	แหนมกลูเตน (น้ำเกลือ 2%)	แหนมกลูเตน (น้ำส้มสายชู 0.1%)
PCA	3.86×10^{6}	4.3×10^{5}	1.6×10^{5}	1.3×10^{5}
MRS	2.0×10^{7}	3.3×10^{7}	4.0×10^{7}	4.3×10^{7}
MSA	0.00	0.00	0.00	0.00
MC	0.00	0.00	0.00	0.00
XLD	0.00	0.00	0.00	0.00

หมายเหตุ : ผลในตารางคำนวณจากการทำการเลี้ยงเชื้อ 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตาราง 4.3 แสดงถึงจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ที่พบในการเลี้ยงเชื้อจากแหนมชนิดต่างๆบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 ชนิด ได้ผลดังนี้

การเลี้ยงเชื้อบนอาหารชนิด PCA เพื่อตรวจหาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่า แหนมหมูมีจำนวนเชื้อขึ้นมากที่สุด ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ $3.86x10^5$ CFU/g ในขณะที่แหนมกลูเตนมีจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นอยู่ในช่วงค่าเฉลี่ย $1.3x10^5$ ถึง $4.3x10^5$ CFU/g เท่านั้น จึงสรุปได้ว่า จำนวนเชื้อทั้งหมดของแหนมหมูมีมากกว่าจำนวนเชื้อทั้งหมดของแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด

การเลี้ยงเชื้อบนอาหารชนิด MRS เพื่อตรวจหาจำนวนเชื้อ Lactic acid bacteria พบว่าแหนมหมูมีจำนวนเชื้อขึ้นน้อยที่สุด ค่าเฉลี่ยอยู่ที่ $2.0x10^7$ CFU/g ในขณะที่แหนมกลูเตน มีจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นอยู่ในช่วงค่าเฉลี่ย $3.3x10^7$ ถึง $4.3x10^7$ CFU/g จึงสรุปได้ว่า จำนวนเชื้อ Lactic acid bacteria ของแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด มีมากกว่าจำนวนเชื้อ Lactic acid bacteria ของแหนมหมู

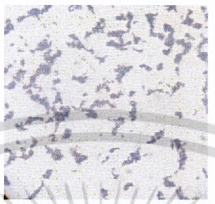
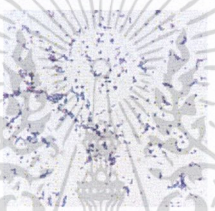
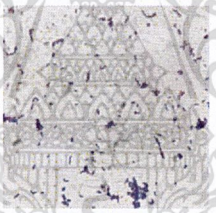
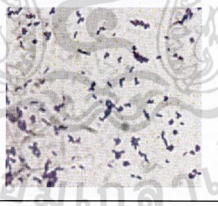
การเลี้ยงเชื้อบนอาหารชนิด MSA MC XLD เพื่อตรวจหาจำนวนเชื้อ *S. aureus* , *E. coli* และ *Salmonella* sp. ตามลำดับ ได้ผลคือ จากการเลี้ยงเชื้อไม่พบโคโลนีของเชื้อเกิดขึ้น จึงสรุปได้ว่า ไม่พบเชื้อก่อโรคทั้ง 3 ชนิดนี้ในตัวอย่างแหนมทั้ง 4 ชนิด

4.3.2 ผลการศึกษาลักษณะของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร MRS ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ในการศึกษาลักษณะของแบคทีเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ในครั้งนี้ ได้ใช้วิธีการย้อมสีแกรมแบคทีเรียที่ได้มาจากการเลี้ยงเชื้อจากแหนมทั้ง 4 ชนิด คือ แหนมหมู แหนมกลูเตน (น้ำกรอง) แหนมกลูเตน(น้ำเกลือ) และแหนมกลูเตน (น้ำส้มสายชู) บนอาหาร MRS เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยนำเชื้อที่เจริญบนอาหารมาทำการย้อมแกรมและส่องดูลักษณะด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า ได้ผลดังตารางที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงลักษณะของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร MRS ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1,000 เท่า

ตัวอย่างแหนม	ลักษณะแบคทีเรีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	การติดสีแกรม	ลักษณะทาง สัณฐานวิทยา
แหนมหมู		แกรมบวก	โคโลนีเดี่ยว รูปร่างท่อน (rod) เรียงตัว เป็นเส้นสาย
แหนมกลูเตน (น้ำกรอง)		แกรมบวก	โคโลนีเดี่ยว รูปร่างท่อน (rod) เรียงตัว เป็นเส้นสาย
แหนมกลูเตน (น้ำเกลือ)		แกรมบวก	โคโลนีเดี่ยว รูปร่างท่อน (rod) เรียงตัว เป็นเส้นสาย
แหนมกลูเตน (น้ำส้มสายชู)		แกรมบวก	โคโลนีเดี่ยว รูปร่างท่อน (rod) เรียงตัว เป็นเส้นสาย

จากตารางที่ 4.4 จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียทุกไอโซเลตที่ได้จากแหนมทั้ง 4 ชนิด ย้อมติดสี crystal violet จึงจัดได้ว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวก อีกทั้งยังมีรูปร่างเป็นท่อนสั้น อยู่กันเดี่ยวๆและเรียงกันเป็นสายเหมือนกันหมดทุกไอโซเลตดังในตาราง จึงคาดเดาได้ว่าเป็นแบคทีเรียสกุล *Lactobacillus* sp (นวัฒน์ และ ธีระชัย, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์แหนมแต่ละชนิด

4.4.1 ผลการศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อแหนมกลูเตนแต่ละชนิด

การศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคนี้ ได้ทำการทดสอบแหนมกลูเตน 3 ชนิด เทียบคุณลักษณะต่างๆกับแหนมหมู เพื่อทดสอบความเหมือนกันของตัวแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด ได้ผลทดสอบดังนี้

ตารางที่ 4.5 คะแนนตั้งแต่ 1-6 แสดงความเหมือนแหนมหมูของแหนมจากกลูเตนชนิดต่างๆ

คุณลักษณะ	ชนิดของแหนมกลูเตน			แหนมหมูต้นแบบ
	นวดแป้งด้วยน้ำกรอง	นวดแป้งด้วยน้ำเกลือ (ความเข้มข้น 2%)	นวดแป้งด้วยด้วยน้ำส้มสายชู (ความเข้มข้น 0.1%)	
ลักษณะที่ปรากฏ	1.10 ± 0.31 f	1.03 ± 0.18 f	1.03 ± 0.18 f	6.00 ± 0.00 a
สี	1.00 ± 0.00 f	1.00 ± 0.00 f	1.00 ± 0.0 f	6.00 ± 0.00 a
กลิ่น	4.10 ± 0.40 b	4.07 ± 0.45 b	4.07 ± 0.37 b	6.00 ± 0.00 a
รสชาติ	2.93 ± 0.69 d	2.87 ± 0.6 de	2.73 ± 0.58 de	6.00 ± 0.00 a
เนื้อสัมผัส	2.83 ± 0.70 de	2.70 ± 0.54 e	2.73 ± 0.58 de	6.00 ± 0.00 a
ความคล้ายแหนมหมูโดยรวม	3.37 ± 0.89 c	3.30 ± 0.79 c	3.37 ± 0.81 c	6.00 ± 0.00 a

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบ 30 ซ้ำ

** ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้งคือ แตกต่างกัน

*** ตัวอักษรตามแนวนอนที่ต่างกันแสดงถึงความต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 4.5 ผลการยอมรับของผู้บริโภคบ่งชี้ว่า แหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิดนั้นมีคุณลักษณะที่เหมือนกันทุกข้อ และจากตารางหัวข้อคุณลักษณะเรื่องความเหมือนแหนมหมูโดยรวมของแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด มีช่วงค่าเฉลี่ยคะแนนอยู่ที่ 3.30–3.37 เป็นช่วงคะแนนที่บ่งชี้ว่า แหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด มีความไม่เหมือนแหนมหมูเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 ผลการศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อแหนมมังสวิรัติแต่ละชนิด

การคัดเลือกแหนมกลูเตนชนิดที่นวดแป้งจากน้ำกรองมาทำการทดลอง เทียบคุณลักษณะต่าง ๆ กับแหนมอีก 3 ชนิด ซึ่งการศึกษานี้ทดสอบความชอบของผู้บริโภคต่อแหนมมังสวิรัติทั้ง 4 ได้ผลทดสอบดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 คะแนนตั้งแต่ 1–6 แสดงความชอบแหนมมังสวิรัติชนิดต่างๆของผู้บริโภคตามคุณสมบัติของแหนมแต่ละชนิด

คุณลักษณะ	ชนิดแหนมมังสวิรัติ			
	แหนมโปรตีนเกษตร	แหนมกลูเตน	แหนมเห็ด	แหนมโปรตีนรังไหม
ลักษณะปรากฏ	2.37 ± 0.10^{hij}	3.47 ± 0.94^{ef}	2.93 ± 0.91^{g}	3.93 ± 0.94^{bcde}
สี	1.67 ± 0.92^{kl}	4.10 ± 1.09^{bcd}	2.90 ± 1.03^{g}	4.33 ± 0.99^{ab}
กลิ่น	2.10 ± 0.92^{ijkl}	4.67 ± 0.80^{a}	2.13 ± 0.97^{ijk}	3.63 ± 1.22^{def}
รสชาติ	1.97 ± 0.93^{jkl}	4.00 ± 1.02^{bcd}	1.63 ± 0.67^{k}	2.83 ± 0.91^{gh}
เนื้อสัมผัส	3.80 ± 1.03^{cdef}	3.87 ± 0.97^{bcdef}	2.47 ± 0.82^{l}	2.10 ± 0.80^{ijkl}
ความชอบโดยรวม	2.40 ± 1.19^{hij}	4.17 ± 0.10^{bc}	2.10 ± 0.84^{ijkl}	3.43 ± 0.97^{f}

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบ 30 ซ้ำ

** ตัวอักษรตามแนวนอนที่ต่างกันแสดงถึงความต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p< 0.05$)

จากตาราง 4.6 แสดงผลคะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะต่อแหนมมังสวิรัติทั้ง 4 ชนิดของผู้บริโภค ซึ่งบ่งชี้ได้ดังนี้ ลักษณะปรากฏของแหนมทั้ง 4 ชนิด ไม่มีความเหมือนกัน และสรุปจากค่าในตาราง ผู้บริโภคชอบสีของแหนมกลูเตนและแหนมโปรตีนรังไหมเล็กน้อย โดยมีช่วงค่าเฉลี่ยคะแนนอยู่ที่ 4.1–4.33 ในขณะที่ผู้บริโภคไม่ชอบสีของแหนมอีก 2 ชนิด ที่มีช่วงค่าเฉลี่ยคะแนนอยู่ที่ 1.67–2.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้บริโภคชอบกลิ่นของแหนมกลูเตนเล็กน้อย โดยมีค่าเฉลี่ยคะแนนอยู่ที่ 4.67 ในขณะที่ผู้บริโภคไม่ชอบกลิ่นของแหนมอีก 3 ชนิด ที่มีช่วงค่าเฉลี่ยคะแนนอยู่ที่ 2.1–3.63 ผู้บริโภคชอบรสชาติของ แหนมกลูเตนเล็กน้อย โดยมีค่าเฉลี่ยคะแนนอยู่ที่ 4.00 ในขณะที่ผู้บริโภคไม่ชอบรสชาติของแหนมอีก 3 ชนิด ที่มีช่วงค่าเฉลี่ยคะแนนอยู่ที่ 1.63–2.83 ผู้บริโภคไม่ชอบเนื้อสัมผัสของแหนมเห็ดและแหนมโปรตีนรังไหมมาก โดยมีค่าเฉลี่ยคะแนนอยู่ที่ 2.1–2.47 ซึ่งคะแนนน้อยกว่าแหนมกลูเตนที่มีค่าเฉลี่ยคะแนนอยู่ที่ 3.87 และผู้บริโภคมีความชอบโดยรวมต่อแหนมกลูเตนคะแนนเฉลี่ยอยู่ที่ 4.17 ซึ่งมากกว่าแหนมอีก 3 ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการผลิตแหนมมังสวิรัติที่มีวัตถุดิบหลักจากกลูเตนในแป้งสาลี โดยมีต้นแบบจากแหนมหมูซึ่งเป็นแหนมที่ได้รับความนิยมในคนหมู่มาก พบว่าแหนมกลูเตนที่ผลิตนั้นสามารถทำให้เกิดการหมักเป็นแหนมตามธรรมชาติได้โดยไม่ต้องเติมเชื้อแบคทีเรียแลคติก อ้างอิงจากการนำแหนมกลูเตนที่ผลิตได้กับแหนมหมูมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อที่เจริญขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด MRS ที่เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบบ Selective media โดยเชื้อที่สามารถเจริญได้จะเป็นเชื้อกลุ่ม *Lactobacilli* หลังจากบ่มที่อุณภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง พบว่ามีโคโลนีลักษณะสีขาวขุ่นและมีโซนโดยรอบเป็นลักษณะใสเจริญขึ้น เมื่อทำการย้อมแกรมแล้วส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบไอโซเลตของแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างเป็นท่อนสั้น อยู่เดี่ยวๆ เรียงกันเป็นสาย จึงคาดเดาว่าเป็นแบคทีเรียสกุล *Lactobacillus* sp. ในแหนมทั้ง 2 ชนิด และแหนมหมูกับแหนมกลูเตนมีค่าความเป็นกรด - ด่างไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งก่อนการหมัก และหลังการหมัก โดยใช้เวลาในการหมัก 5 วัน วัดความเป็นกรด–ด่าง ก่อนการหมักและหลังการหมัก พบว่ามีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 6.3 ก่อนการหมัก และ 4.34 หลังการหมัก

นอกจากนี้ยังได้ทำการคัดเลือกแหนมกลูเตน 3 ชนิดคือ แหนมกลูเตน (น้ำกรอง) แหนมกลูเตน (น้ำเกลือ) และแหนมกลูเตน (น้ำส้มสายชู) มาทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเทียบกับแหนมหมูที่เป็นต้นแบบพบว่า กลูเตนทั้ง 3 ชนิดนั้นมีองค์ประกอบทางเคมี อาทิ ไขมัน โปรตีน น้ำหนักแห้งเหมือนกันทั้ง 3 แบบ แต่แหนมกลูเตนทั้ง 3 แบบมีองค์ประกอบทางเคมีต่างจากแหนมหมูสรุปได้ดังนี้ แหนมกลูเตนมีปริมาณไขมันน้อยกว่าแหนมหมู แต่มีปริมาณโปรตีนมากกว่าแหนมหมู อีกทั้งแหนมกลูเตนในปริมาณน้ำหนักแห้งที่เท่ากันกับแหนมหมูมีต้นทุนน้อยกว่าแหนมหมู 44 บาท จึงสรุปว่าได้คัดเลือกแหนมกลูเตน (น้ำกรอง) มาใช้ผลิตแหนมมังสวิรัติเนื่องจากแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และแหนมกลูเตน (น้ำกรอง) มีต้นทุนในการทำน้อยกว่าแหนมอีก 2 ชนิด ที่ต้องเพิ่มต้นทุนในเรื่องของเกลือและน้ำส้มสายชูในกระบวนการทำกลูเตน

งานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อแหนมมังสวิรัติ 4 ชนิด ดังนี้ แหนมกลูเตน แหนมโปรตีนเกษตร แหนมเห็ด และแหนมโปรตีนรังไหมพบว่าผู้บริโภคมีความชอบโดยรวมสูงสุดไปน้อยสุดอยู่ที่แหนมกลูเตน แหนมโปรตีนรังไหม แหนมโปรตีนเกษตร และแหนมเห็ด ตามลำดับ โดยเหตุผลที่แหนมกลูเตนได้รับความชอบสูงสุดเพราะมีกลิ่น เนื้อสัมผัส และรสชาติที่ตรงกับความชอบของผู้บริโภคมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาในลำดับถัดไปควรศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีเพิ่มเติมของเชื้อที่เกิดจากการหมักของแหนมกลูเตน เพื่อระบุให้แน่ชัดได้ว่าเป็นเชื้อสกุลใด และควรตรวจและระบุชนิดของโปรตีนในกลูเตนด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

นวัฒน์ เกตุสวัสดิวงศ์, ธีระชัย ธนานันต์, นฤมล ธนานันต์. (2016) การคัดกรองแบคทีเรียกรดแลคติกจากน้ำพริก. Thai Journal of Science and Technology,5,67-76.

สุชาติ มูลสวัสดิ์, พิเชษฐ ฟักบัว, ไกรแก้ว คำดี. (2005). การศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อซัมโมเนลลาในเนื้อสุกรเขตภาคเหนือตอนล่าง. วารสารวิชาการปศุสัตว์เขต5. 2, 67-75.

ภาวิน ผดุงทศ. (2004). แบคทีเรียก่อโรคในอาหาร. เชียงใหม่สัตวแพทยสาร. 2, 51-65. Anita J. G. Okrend, Bonnie E. Rose, Charles P. Lattuada. (1990). Use of 5-Bromo-4-Chloro3-lndoxyl-B-D-Glucuronide in MacConkey Sorbitol Agar to Aid in the Isolation of *Escherichia coli*0157:H7 from Ground Beef. Journal of Food Protection. 11, 941-943.

Christian K. Roberts, R. James Barnard, Ram K. Sindhu, Michael Jurczak, Ashkan Ehdaie, Nosratola D. Vaziri3. (2005). A high-fat, refined-carbohydrate diet induces endothelial dysfunction and oxidant/antioxidant imbalance and depresses NOS protein expression. J Appl Physiol. 96, 203-210.

Biesiekierski, J.R., 2017. What is gluten?. *Journal of gastroenterology and hepatology*, *32*, pp.78-81.

Kantachote, D., Ratanaburee, A., Sukhoom, A., Sumpradit, T., & Asavaroungpipop, N. 2016. Use of γ-aminobutyric acid producing lactic acid bacteria as starters to reduce biogenic amines and cholesterol in Thai fermented pork sausage (Nham) and their distribution during fermentation. *LWT - Food Science and Technology*, 70: 171-177.

Kasten, B., Robert, S. and Christof E. (2015). Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci. In James, J and Michael, P (Eds.). Manual of Clinical Microbiology Washington, DC : USA.

Peter, D. (2014). Coeliac disease. Retrieved May 25, 2019, from http://www.hillingdongp.org.uk/documents/bmjcoliacdisease3.3.2014.pdf

Ratanaburee A., Kantachote D., Charernjiratrakul W., Sukhoom A. (2013). Enhancement of γ-aminobutyric acid (GABA) in Nham (Thai fermented pork sausage) using starter cultures of *Lactobacillus namurensis* NH2 and*Pediococcus pentosaceus* HN8. International Journal of Food Microbiology. 167, 170-176.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wieser, H. (2007). Chemistry of gluten proteins. Food Microbiology. 24(2), 115-119.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2560). เกณฑ์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของอาหารและภาชนะสัมผัสอาหาร ฉบับบที่ 2. *กระทรวงสาธารณสุข.*

ธีระชัย ธนานันต์ และนวัฒน์ เกตสุวัสดิวงศ์. (2016). การคัดกรองแบคทีเรียกรดแลคติกจากน้ำพริก. Thai Journal of Science and Technology, 5(1).

เครือข่ายคุ้มครองผู้บริโภคภาคใต้. 2552. ระวังสีสวย ๆ ในแหนม. [Online]. Available : https://consumersouth.org/paper/335. เข้าถึงเมื่อวันที่ 8 ก.ค. 2562

Todar's Online Textbook of Bacteriology. 2012. [Online]. Available : http://textbookofbacteriology.net/index.html เข้าถึงเมื่อวันที่ 8 ก.ค. 2562

Wikipedia The Free Encyclopedia. 2019. [Online]. Available : https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus. เข้าถึงเมื่อวันที่ 8 ก.ค. 2562.

BBC. 2011. [Online]. Available : https://www.bbc.com/news/health-13639241. เข้าถึงเมื่อวันที่ 8 ก.ค. 2562.

Biesiekierski, J. R. (2017). What is gluten?. *Journal of gastroenterology and Hepatology*, *32*, 78-81.Slover, H. T., Thompson, R. H., Dams, C. S., & Merola, G. V. (1987). *The lipid composition of raw and cooked fresh pork. Journal of Food Composition and Analysis, 1(1), 38–52.*

González-Thuillier, I., Salt, L., Chope, G., Penson, S., Skeggs, P., Tosi, P., ... & Haslam, R. P. (2015). Distribution of lipids in the grain of wheat (cv. Hereward) determined by lipidomic analysis of milling and pearling fractions. *Journal of agricultural and food chemistry*, *63*(49), 10705-10716.

Rotsatchakul, P., Visesanguan, W., Smitinont, T., & Chaiseri, S. (2009). Changes in volatile compounds during fermentation of nham (Thai fermented susage). *International Food Research Journal*, *16*, 391-414.

Santiyanont, P., Chantarasakha, K., Tepkasikul, P., Srimarut, Y., Mhuantong, W., Tangphatsornruang, S., ... & Chokesajjawatee, N. (2019). Dynamics of biogenic amines and bacterial communities in a Thai fermented pork product Nham. *Food Research International*, *119*, 110-118

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Plate Count Agar (PCA)

ใช้อาหารสำเร็จรูปโดยละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปต้มจนอาหารละลาย แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (autoclave) ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

2. *Lactobacillus* MRS Agar (MRS)

ใช้อาหารสำเร็จรูปโดยละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร เติมวุ้นเพิ่ม 15 กรัม นำไปต้มจนอาหารละลาย นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (autoclave) ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

3. Mannitol salt agar (MSA)

ใช้อาหารสำเร็จรูปโดยละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปต้มจนอาหารละลาย นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (autoclave) ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

4. MacConkey Agar (MC)

ใช้อาหารสำเร็จรูปโดยละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร เติมวุ้นเพิ่ม 15 กรัม นำไปต้มจนอาหารละลาย นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (autoclave) ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

5. lysine desoxyscholate (XLD)

ใช้อาหารสำเร็จรูปโดยละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปต้มจนอาหารละลาย นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (autoclave) ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

สารเคมี

1. การเตรียมสารเคมีสำหรับการสกัดโปรตีนด้วยวิธีคเจลดาห์ล (Kjeldahl method)

1.1 สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 (4% Boric acid)

ชั่งสารละลายกรดบอริก 20 กรัม ใส่ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เพื่อใช้ในขั้นตอนของการกลั่นโปรตีน โดยจะตวงสารละลายกรดบอริก ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

1.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)

ชั่งสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 กรัม ใส่ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เพื่อใช้ในขั้นตอนของการกลั่นโปรตีน โดยจะตวงสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร (ใส่รวมกับขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายกรดบอริกอยู่แล้ว)

1.3 ปิโตรเลียมอีเทอร์

การเตรียมนำสารละลายไดเอทิลอีเทอร์ ผสมกับไลท์ปิโตรเลียม ในอัตราส่วนที่เท่ากันแล้วผสมให้เข้ากัน (สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง)

1.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40% สัดส่วนโดยมวลต่อปริมาตร

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

1.5 สารละลายอินดิเคเตอร์ผสมเมทิลเรดและโบรโมคลีซอลกรีน

1.5.1 ละลายเมทิลเรด 0.20 กรัม ในน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ไม่น้อยกว่า 94% สัดส่วนโดยปริมาตร

1.5.2 ละลายโบรโมคลีซอลกรีน 0.50 กรัม ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิลิตร ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ ไม่น้อยกว่า 94% สัดส่วนโดยปริมาตร

1.5.3 นำสารละลายข้อ 1.5.1 ผสมกับสารละลายข้อ 1.5.2 ในอัตราส่วน 1:5

1.6 สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.1 M

ใช้ปิเปตต์ดูดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 36.5% สัดส่วนโดยมวล (ความถ่วงจำเพาะ 1.19 กรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดแก้วปริมาตรขนาด 1,000 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นอยู่ประมาณ 500 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตรหาความเข้มข้นที่แน่นอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนรวมโดยวิธี Kjeldahl Method (AOAC, 2000)

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม ใส่ลงใน Kjeldalh flask เติม Mixed catalyst: $CuSO_4$ ประมาณ 0.1 กรัม, Na_2SO_4 ประมาณ 2 กรัม และ conc.H_2SO_4 ประมาณ 25 กรัม

<u>การย่อย (Digestion)</u>

2. ย่อยบน heating mantle โดยให้ความร้อนอ่อนๆจนกระทั่งหมดฟอง แล้วค่อยเพิ่มความร้อนอุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสารละลายใส ทิ้งไว้ให้เย็น

<u>การกลั่น (Distillation)</u>

3. เติมน้ำกลั่นลงในหลอดย่อย 10-15 ml นำหลอดย่อยมาต่อเข้ากับเครื่องกลั่น

4. เติม 40% NaOH 40-50 ml

5. นำ receiving flask ที่มี 4% boric acid อยู่ 20-25 ml และเติม indicator เรียบร้อยแล้วมารองรับสารละลายที่กลั่นได้

6. กลั่นจนได้สารละลายประมาณ 25 ml

<u>การไทเทรต (Titration)</u>

7. ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วย 0.1 N HCl จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสี เขียวเป็นสีม่วงอมชมพู

8. ทำ blank ตามข้อ 1-7 โดยไม่ต้องใส่ตัวอย่าง

9. คำนวณหาปริมาณโปรตีนจากสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณ

การวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธีนี้ ควรทำตัวอย่างไว้ตรวจสอบ เรียกว่า Blank (โดยใส่สารเคมี และขั้นตอนการวิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่าง)

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(A-B)\times N\times 1.4\times F}{Wt}$$

A คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

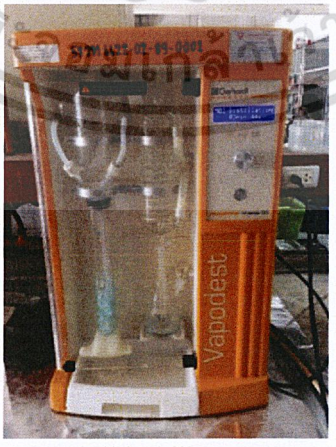
B คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับ blank (มิลลิลิตร)

Wt คือ น้ำหนักของตัวอย่าง

N คือ ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (N)

F คือ ค่าแฟคเตอร์

รูปที่ ค-1 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในขั้นตอนของการย่อย



รูปที่ ค-2 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในขั้นตอนของการกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ค-3 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในขั้นตอนของการไทเทรต

2.การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ด้วย soxhlet (AOAC, 2000)

วิธีวิเคราะห์

1. ใส่ขวดกลม (การเตรียมขวดก้นกลม นำขวดกลมก้นแบนไปอบที่ 102 ± 2 องศาเซลเซียส หรือ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ ชั่งให้ละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง ก่อนนำไปใส่ไขมันที่สกัดจากตัวอย่าง) สำหรับการหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้า ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

2. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก 3-5 กรัม ห่อให้มิดชิดใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง

3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงใน Soxhlet เติมสารตัวทาละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในขวดหาไขมันประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตา

4. ประกอบอุปกรณ์ชุดกลั่นไขมัน พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่นและเปิดสวิทช์ให้ความร้อน

5. ปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที

6. เมื่อครบ 6 ชั่วโมงแล้ว นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจาก Soxhlet ทิ้งให้ตัวทำละลายไหลจาก Soxhlet ลงในขวดก้นกลมจนหมด

7.ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. นำขวดหาไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสจนแห้ง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

9. ชั่งน้ำหนัก แล้วอบซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

10. คำนวณหาปริมาณไขมันจากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(A-B)-(C-D)}{E} \times 100$$

เมื่อ A คือ มวลตัวอย่างไขมันในขวดที่อบหลังสกัด

B คือ มวลขวดเปล่าที่อบสำหรับใส่ตัวอย่าง

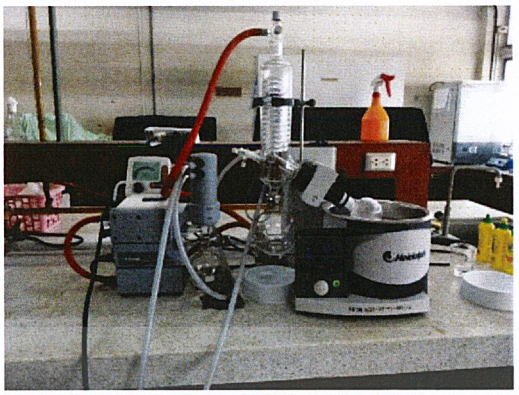
C คือ มวลแบลงค์ในขวดที่อบหลังสกัด

D คือ มวลขวดเปล่าที่อบสำหรับทำแบลงค์

E คือ มวลตัวอย่างที่ใส่ในขวดก่อนสกัด

รูปที่ ค-4 การกลั่นไขมันด้วยเครื่องกลั่นไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค-5 การระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของแหนมมังสวิรัติจากกลูเตนในแป้งสาลี

เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง **วันที่** .....

คำแนะนำ ให้ผู้ทดสอบรับประทานแหนมหมูที่เป็นมาตรฐานก่อน จากนั้นรับประทานและประเมินตัวอย่างจำนวน 4 ตัวอย่างต่อไปนี้ ตามลำดับจากซ้ายไปขวา เปรียบเทียบความเหมือนของตัวอย่างทั้ง 4 กับแหนมหมูที่เป็นมาตรฐาน จากนั้นให้คะแนนตามหัวข้อที่กำหนดในตาราง โดยมีคะแนนความเหมือน 1 – 6 ตามความรู้สึกของผู้ทดสอบต่อตัวอย่าง กรุณาบ้วนปากด้วยน้ำเปล่าระหว่างเปลี่ยนตัวอย่างการทดสอบ โดยกำหนดให้

1 = ไม่เหมือนแหนมหมูมากที่สุด 2 = ไม่เหมือนแหนมหมูมาก 3 = ไม่เหมือนแหนมหมู

4 = เหมือนแหนมหมูเล็กน้อย 5 = เหมือนแหนมหมูมาก 6 = เหมือนแหนมหมูมากที่สุด

คุณลักษณะ	รหัสตัวอย่าง		
	447	562	783
ลักษณะปรากฏโดยรวม			
สี			
กลิ่น			
รสชาติ			
เนื้อสัมผัส			
ความคล้ายโดยรวม			

คำแนะนำเพิ่มเติม

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-1 แสดงคะแนนทั้งหมดจากการทำแบบทดสอบทางประสาทสัมผัส เรื่องการเปรียบเทียบแหนมกลูเตนชนิดต่างๆกับแหนมหมู โดยมีคะแนนความเหมือนหมูจากน้อยไปมากตั้งแต่ 1 – 6 ตามลำดับ จำนวนผู้ทดสอบ 30 คน

คะแนน (คน) / คุณลักษณะ	ชนิดของแหนม																		
	แหนมกลูเตน (น้ำกรอง)						แหนมกลูเตน (น้ำเกลือ 2%)						แหนมกลูเตน (น้ำส้มสายชู 0.1%)						แหนมหมู
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	6
ลักษณะที่ปรากฏ	27	3	0	0	0	0	29	1	0	0	0	0	29	1	0	0	0	0	30
สี	30	0	0	0	0	0	30	0	0	0	0	0	30	0	0	0	0	0	30
กลิ่น	0	0	1	25	4	0	0	0	2	24	4	0	1	26	3	0	0	0	30
รสชาติ	1	5	19	5	0	0	1	5	21	3	0	0	1	7	21	1	0	0	30
เนื้อสัมผัส	0	9	18	2	1	0	0	10	19	1	0	0	0	10	18	2	0	0	30
ความเหมือนหมูโดยรวม	0	6	9	13	2	0	0	5	12	12	1	0	0	5	10	14	1	0	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-2 แสดงคะแนนทั้งหมดจากการทำแบบทดสอบทางประสาทสัมผัส เรื่องความชอบแหนมมังสวิรัติชนิดต่างๆ โดยมีคะแนนความชอบจากน้อยไปมากตั้งแต่ 1 – 6 ตามลำดับ จำนวนผู้ทดสอบ 30 คน

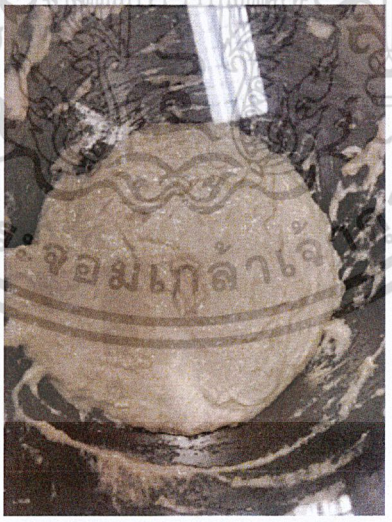
คุณลักษณะ / คะแนน(คน)	ชนิดของแหนม																							
	แหนมโปรตีนเกษตร						แหนมกลูเตน						แหนมเห็ด						แหนมโปรตีนรังไหม					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
ลักษณะที่ปรากฏ	5	14	7	3	1	0	0	5	9	14	1	1	1	9	12	7	1	0	0	2	6	16	4	2
สี	17	8	3	2	0	0	1	1	5	12	9	2	3	6	14	5	2	0	0	1	4	13	8	4
กลิ่น	8	14	5	3	0	0	0	0	2	10	14	4	7	16	4	2	1	0	2	4	5	10	8	1
รสชาติ	14	13	3	0	0	0	0	3	5	12	9	1	10	14	3	3	0	0	2	9	12	6	1	0
เนื้อสัมผัส	0	2	11	10	5	2	0	2	9	11	6	1	3	13	11	3	0	0	7	14	8	1	0	0
ความเหมือนหมูโดยรวม	8	12	9	1	0	0	0	2	5	18	4	1	8	9	8	3	2	0	1	4	9	13	3	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

แป้ง กลูเตนและตัวอย่างแหนม

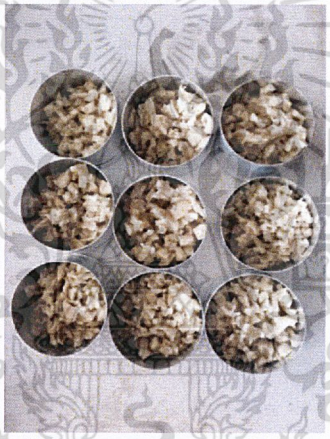
รูปที่ จ-6 White Swan Bread Flour แป้งขนมปัง ตราห่าน (แป้งสาลี)



รูปที่ จ-7 แป้งสาลีที่ผสมกับน้ำ (น้ำกรอง, น้ำเกลือ, น้ำกลั่น) ที่นวดให้แป้งสาลีเป็นเนื้อเดียวกันแล้วทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ จ-8 กลูเตนที่ผ่านการต้มแล้ว



รูปที่ จ-9 กลูเตนที่จะนำไปอบหาน้ำหนักแห้ง

รูปที่ จ-10 แหนมหมูและแหนมกลูเตน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ จ-11 แหนมขาเห็ดหอม

รูปที่ จ-12 แหนมโปรตีนรังไหม

รูปที่ จ-13 แหนมโปรตีนเกษตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

ตารางที่ ฉ-1 แสดงข้อมูลผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของเนื้อหมู และกลูเตนทั้ง 3 ชนิด (น้ำกรอง น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู)

ตัวอย่าง	จำนวนซ้ำ	ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรต (ml)	ปริมาณโปรตีน (%)
Bank	1	1.20	0
	2	1.10	0
	3	1.30	0
เฉลี่ย		1.20	0
เนื้อหมู	1	5.30	7.10
	2	5.00	6.64
	3	5.90	8.17
เฉลี่ย		5.40	7.30
กลูเตนที่ล้างด้วยน้ำกรอง	1	6.70	8.74
	2	6.50	8.37
	3	6.30	8.07
เฉลี่ย		6.50	8.39
กลูเตนที่ล้างด้วยน้ำเกลือ ความเข้มข้น 2%	1	6.30	8.11
	2	6.70	8.74
	3	6.50	8.74
เฉลี่ย		6.50	8.26
กลูเตนที่ล้างด้วยน้ำส้มสายชู ความเข้มข้น 0.1%	1	6.00	7.59
	2	6.40	8.25
	3	6.70	8.74
เฉลี่ย		6.37	8.19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ฉ-2 แสดงข้อมูลผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันของแหนมหมู และแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด (น้ำกรอง น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู)

ตัวอย่าง	จำนวนซ้ำ	ปริมาณไขมัน (g)	ปริมาณไขมัน (%)
Bank	1	0.01	0.01
	2	0.00	0.00
	3	0.01	0.01
เฉลี่ย		0.01	0.01
แหนมหมู	1	0.1421	6.16
	2	0.1682	7.88
	3	0.1483	6.54
เฉลี่ย		0.1529	6.86
แหนมกลูเตนที่ล้างด้วยน้ำกรอง	1	0.0140	0.19
	2	0.0103	0.01
	3	0.0186	0.43
เฉลี่ย		0.0143	0.21
แหนมกลูเตนที่ล้างด้วยน้ำเกลือความเข้มข้น 2%	1	0.0130	0.15
	2	0.0160	0.28
	3	0.0181	0.38
เฉลี่ย		0.0157	0.27
แหนมกลูเตนที่ล้างด้วยน้ำส้มสายชู ความเข้มข้น 0.1%	1	0.0130	0.15
	2	0.0154	0.26
	3	0.0166	0.31
เฉลี่ย		0.0150	0.24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ฉ-3 แสดงข้อมูลผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักแห้งของเนื้อหมู และกลูเตนทั้ง 3 ชนิด (น้ำกรอง น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู

ตัวอย่าง	จำนวนซ้ำ	ปริมาณน้ำหนักแห้ง (g)
เนื้อหมู	1	2.85
	2	2.73
	3	2.64
เฉลี่ย		2.74
กลูเตนที่ล้างด้วยน้ำกรอง	1	2.89
	2	2.63
	3	2.44
เฉลี่ย		2.65
กลูเตนที่ล้างด้วยน้ำเกลือ ความเข้มข้น 2%	1	2.62
	2	2.47
	3	2.51
เฉลี่ย		2.53
กลูเตนที่ล้างด้วยน้ำส้มสายชู ความเข้มข้น 0.1%	1	2.44
	2	2.80
	3	2.72
เฉลี่ย		2.65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ฉ-4 แสดงข้อมูลผลการวัดค่ากรด – ด่างของแหนมหมู และแหนมกลูเตนทั้ง 3 ชนิด (น้ำกรองน้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู)

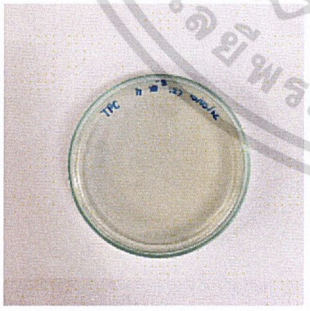
ตัวอย่าง	จำนวนซ้ำ	ค่าความเป็นกรด – ด่าง ก่อนการหมัก	ค่าความเป็นกรด - ด่าง หลังการหมัก
แหนมหมู	1	5.97	4.38
	2	5.96	4.33
	3	5.96	4.33
เฉลี่ย		5.96	4.35
แหนมกลูเตนที่ล้างด้วยน้ำกรอง	1	6.46	4.48
	2	6.52	4.48
	3	6.53	4.36
เฉลี่ย		6.50	4.44
แหนมกลูเตนที่ล้างด้วยน้ำเกลือ ความเข้มข้น 2%	1	6.30	3.95
	2	6.37	4.39
	3	6.48	4.70
เฉลี่ย		6.43	4.35
แหนมกลูเตนที่ล้างด้วย น้ำส้มสายชู ความเข้มข้น 0.1%	1	6.31	4.03
	2	6.37	4.17
	3	6.48	4.45
เฉลี่ย		6.39	4.22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

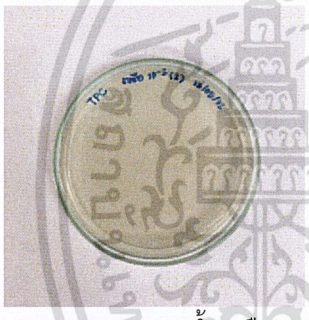
ภาคผนวก ช

การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์จากแหนมแต่ละชนิด

ตารางที่ ช-1 แสดงจำนวนโคโลนีที่นับได้จากตัวอย่างแหนมแต่ละชนิด 1 ml ในอาหาร PCA

ตัวอย่างแหนม	ความเจือจาง	จำนวนโคโลนีที่นับได้ (โคโลนี)	จำนวนโคโลนีที่พบ (CFU/g)
แหนมหมู	10^{-5}	เพลทที่ 1 = 48 เพลทที่ 2 = 32 เพลทที่ 3 = 36	3.86×10^{6}
 แหนมกลูเตน (น้ำกรอง)	10^{-5}	เพลทที่ 1 = 4 เพลทที่ 2 = 2 เพลทที่ 3 = 7	4.3×10^{5}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างแหนม	ความเจือจาง	จำนวนโคโลนีที่นับได้ (โคโลนี)	จำนวนโคโลนีที่พบ (CFU/g)
แหนมกลูเตน (น้ำส้มสายชู)	10^{-5}	เพลทที่ 1 = 3 เพลทที่ 2 = 0 เพลทที่ 3 = 1	1.3×10^{5}
 แหนมกลูเตน (น้ำเกลือ)	10^{-5}	เพลทที่ 1 = 3 เพลทที่ 2 = 2 เพลทที่ 3 = 0	1.6×10^{5}

หมายเหตุ : ภาพตัวอย่างเพลทในตารางถูกเลือกมา 1 เพลท จากจำนวน 3 เพลท ที่ได้ทำการเลี้ยงเชื้อ 3 ซ้ำ ในแต่ละตัวอย่างแหนม

จากตาราง ช. 1 คำนวณจำนวนโคโลนีต่อแหนมแต่ละชนิดปริมาณ 1 ml แสดงได้ดังนี้

แหนมหมู 10^{-5} มิลลิลิตร นับจำนวนโคโลนีเฉลี่ย (48+32+36)/3 = 38.6×10^{5} CFU/g

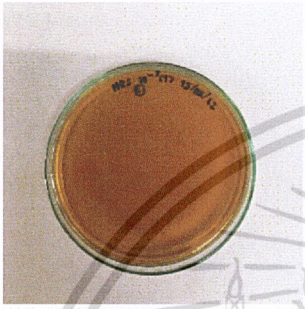
แหนมกลูเตน (น้ำกรอง) 10^{-5} มิลลิลิตร นับจำนวนโคโลนีเฉลี่ย (4+2+7)/3 = 4.3×10^{5} CFU/g

แหนมกลูเตน (น้ำเกลือ) 10^{-5} มิลลิลิตร นับจำนวนโคโลนีเฉลี่ย (3+2+0)/3 = 1.6×10^{5} CFU/g

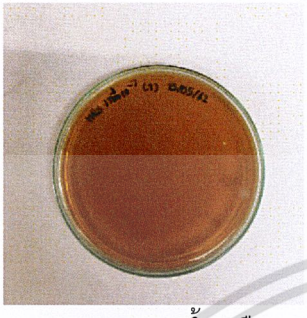
แหนมกลูเตน (น้ำส้มสายชู) 10^{-5} มิลลิลิตร นับจำนวนโคโลนีเฉลี่ย (3+0+1)/3 = 1.3×10^{5} CFU/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ช-2 แสดงจำนวนโคโลนีที่พบจากแหนมหมูและแหนมกลูเตน (น้ำกรอง น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู) ในอาหาร MRS จาก 3 ระดับความเจือจาง

ตัวอย่างแหนม	ความเจือจาง	จำนวนโคโลนีที่นับได้ (โคโลนี)	จำนวนโคโลนีที่พบ (CFU/ml)
 แหนมหมู	10^{-7}	เพลทที่ 1 = 2 เพลทที่ 2 = 3 เพลทที่ 3 = 1	2×10^{7}
แหนมกลูเตน (น้ำกรอง)	10^{-7}	เพลทที่ 1 = 3 เพลทที่ 2 = 3 เพลทที่ 3 = 4	3.3×10^{7}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างแหนม	ความเจือจาง	จำนวนโคโลนีที่นับได้ (โคโลนี)	จำนวนโคโลนีที่พบ (CFU/ml)
 แหนมกลูเตน(น้ำเกลือ)	10^{-7}	เพลทที่ 1 = 4 เพลทที่ 2 = 4 เพลทที่ 3 = 4	4×10^{7}
แหนมกลูเตน (น้ำส้มสายชู)	10^{-7}	เพลทที่ 1 = 5 เพลทที่ 2 = 4 เพลทที่ 3 = 4	4.3×10^{7}

หมายเหตุ : ภาพตัวอย่างเพลทในตารางถูกเลือกมา 1 เพลท จากจำนวน 3 เพลท ที่ได้ทำการเลี้ยงเชื้อ 3 ซ้ำ ในแต่ละตัวอย่างแหนม

จากตาราง ช 2 คำนวณจำนวนโคโลนีต่อแหนมแต่ละชนิดปริมาณ 1 ml แสดงได้ดังนี้

แหนมหมู 10^{-7} มิลลิลิตร นับจำนวนโคโลนีเฉลี่ย (2+1+3)/3= 2×10^{7} CFU/g

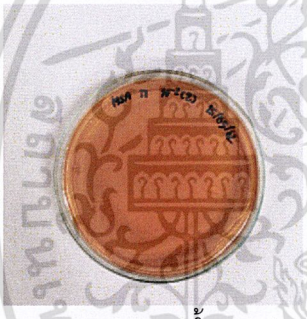
แหนมกลูเตน (น้ำกรอง) 10^{-7} มิลลิลิตร นับจำนวนโคโลนีเฉลี่ย (3+3+4)/3 = 3.3×10^{7} CFU/g

แหนมกลูเตน (น้ำเกลือ) 10^{-7} มิลลิลิตร นับจำนวนโคโลนีเฉลี่ย (4+4+4)/3 = 4×10^{7} CFU/g

แหนมกลูเตน (น้ำส้มสายชู) 10^{-7} มิลลิลิตร นับจำนวนโคโลนีเฉลี่ย (5+4+4)/3 = 4.3×10^{7} CFU/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ช-3 แสดงผลการเลี้ยงจุลินทรีย์จากแหนมหมูและแหนมกลูเตน (น้ำกรอง น้ำเกลือ และ น้ำส้มสายชู) ในอาหาร MSA จากระดับความเจือจาง 10^{-2}

ตัวอย่างแหนม	ความเจือจาง	ผลการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์
แหนมหมู	10^{-2}	-
 แหนมกลูเตน (น้ำกรอง)	10^{-2}	-
แหนมกลูเตน (น้ำเกลือ)	10^{-2}	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างแหนม	ความเจือจาง	ผลการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์
แหนมกลูเตน (น้ำส้มสายชู)	10^{-2}	-

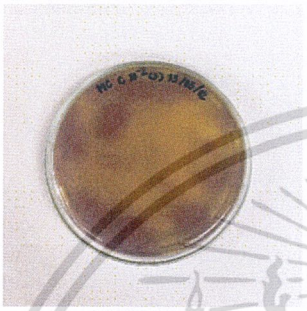
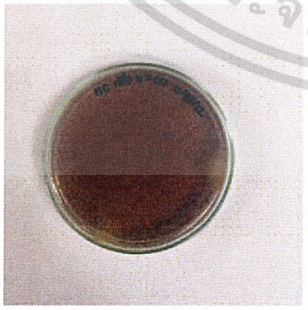
หมายเหตุ : * Positive (+) : มีโคโลนีเกิดขึ้น

** Negative (-) : ไม่มีโคโลนีเกิดขึ้น

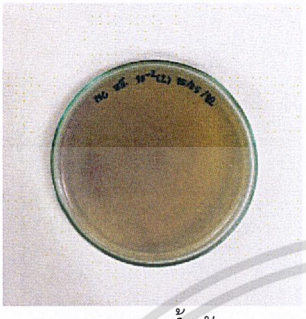
*** ภาพตัวอย่างเพลทในตารางถูกเลือกมา 1 เพลท จากจำนวน 3 เพลท ที่ได้ทำการเลี้ยงเชื้อ 3 ซ้ำ ในแต่ละตัวอย่างแหนม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ช-4 แสดงผลการเลี้ยงจุลินทรีย์จากแหนมหมูและแหนมกลูเตน (น้ำกรอง น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู) ในอาหาร MC จากระดับความเจือจาง 10^{-2} เพื่อตรวจดูเชื้อ *Escherichia coli*

ตัวอย่างแหนม	ความเจือจาง	ผลการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์
 แหนมหมู	10^{-2}	-
แหนมกลูเตน (น้ำกรอง)	10^{-2}	-
 แหนมกลูเตน (น้ำเกลือ)	10^{-2}	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างแหนม	ความเจือจาง	ผลการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์
 แหนมกลูเตน (น้ำส้มสายชู)	10^{-2}	-

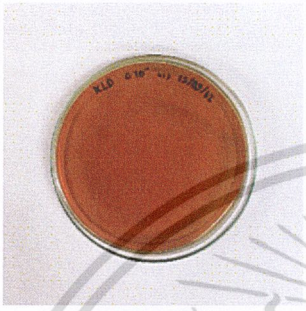
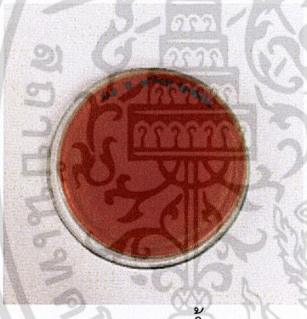
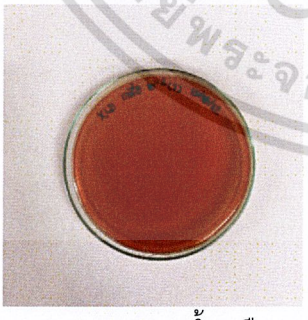
หมายเหตุ : * Positive (+) : เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีอาหาร และมีโคโลนีเกิดขึ้น

** Negative (-) : ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีอาหาร และไม่มีโคโลนีเกิดขึ้น

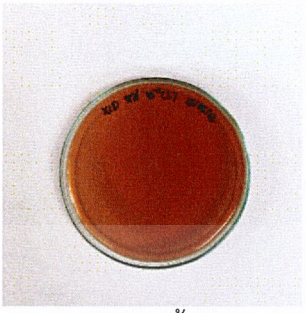
*** ภาพตัวอย่างเพลทในตารางถูกเลือกมา 1 เพลท จากจำนวน 3 เพลท ที่ได้ทำการเลี้ยงเชื้อ 3 ซ้ำ ในแต่ละตัวอย่างแหนม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ช-5 แสดงผลการเลี้ยงจุลินทรีย์จากแหนมหมูและแหนมกลูเตน (น้ำกรอง น้ำเกลือ และน้ำส้มสายชู) ในอาหาร XLD จากระดับความเจือจาง 10^{-2}

ตัวอย่างแหนม	ความเจือจาง	ผลการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์
 แหนมหมู	10^{-2}	-
 แหนมกลูเตน (น้ำกรอง)	10^{-2}	-
 แหนมกลูเตน (น้ำเกลือ)	10^{-2}	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างแหนม	ความเจือจาง	ผลการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์
 แหนมกลูเตน (น้ำส้มสายชู)	10^{-2}	-

หมายเหตุ : Positive (+) : มีโคโลนีเกิดขึ้น

Negative (-) : ไม่มีโคโลนีเกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ

ตัวอย่างวิธีการคำนวณ

1. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(A-B)\times N\times 1.4\times F}{Wt}$$

A คือ ตัวอย่างแหนมหมู ซ้ำที่ 1 มีค่าการไทเทรต = 5.30 ml

B คือ Blank มีค่าการไทเทรต = 1.20

Wt คือ น้ำหนักตัวอย่างแหนมหมู ซ้ำที่ 1 = 0.51 g

N คือ ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรต = 0.1 N

F คือ ค่าแฟคเตอร์ของเนื้อหมู = 6.25, ค่าแฟคเตอร์ของกลูเตนจากแป้งสาลี = 5.7

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(5.30 - 1.20) \times 0.1 \times 1.4 \times 6.25}{0.5050}$$

ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ) = 7.10

ดังนั้น ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างเนื้อหมูซ้ำที่1 มี 7.10%

2. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

$$\text{ปริมาณไขมัน (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(A-B)-(C-D)}{E} \times 100$$

A คือ น้ำหนักตัวอย่างไขมันแหนมหมูซ้ำที่ 1 ในขวดที่อบหลังสกัด =106.0569 g

B คือ น้ำหนักขวดเปล่าที่อบสำหรับใส่ตัวอย่างแหนมหมูซ้ำที่ 1 = 105.9148 g

C คือ น้ำหนักแบลงค์ในขวดที่อบหลังสกัด = 105.9345 g

D คือ น้ำหนักขวดเปล่าที่อบสำหรับทำแบลงค์ = 105.9245 g

E คือ น้ำหนักตัวอย่างแหนมหมูซ้ำที่ 1 ที่ใส่ในขวดก่อนสกัด = 2.146 g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณไขมัน (เปอร์เซ็นต์) $\frac{(106.0569 - 105.9148) - (105.9345 - 105.9245)}{2.146} = x100$

ปริมาณไขมัน (เปอร์เซ็นต์) = 6.16

ดังนั้น ปริมาณไขมันในตัวอย่างแหนมหมูซ้ำที่1 มี 6.16%

3.การคำนวณน้ำเกลือ 2%

ใช้สูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

C_1 คือ ความเข้มข้นแรกของเกลือปรุงทิพย์ = 99.9%

V_1 คือ ปริมาตรแรกของเกลือปรุงทิพย์ = ?

C_2 คือ ความเข้มข้นของเกลือปรุงทิพย์ที่ต้องการ = 2%

V_2 คือ ปริมาตรสุดท้ายของน้ำเกลือที่นำไปใช้ทำกลูเตน = 200 ml

$(99.9)(V_1) = (2)(200)$

$V_1 = \frac{(2)(200)}{99.9}$

$V_1 = 4.00$

ดังนั้น ต้องใช้เกลือปรุงทิพย์ 4 g ต่อน้ำ 196 ml

4.การคำนวณน้ำส้มสายชู 0.1%

ใช้สูตร $C_1 V_1 = C_2 V_2$

C_1 คือ ความเข้มข้นแรกของน้ำส้มสายชูอสร. = 5%

V_1 คือ ปริมาตรแรกของน้ำส้มสายชูอสร. = ?

C_2 คือ ความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูอสร.ที่ต้องการ = 0.1%

V_2 คือ ปริมาตรสุดท้ายของน้ำส้มสายชูอสร.ที่นำไปใช้ทำกลูเตน = 200 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$(5)\ (V_1) = (0.1)\ (200)$

$$V_1 = \frac{(0.1)(200)}{5}$$

$V_1 = 4$

ดังนั้น ต้องใช้น้ำส้มสายชูอสร. 4 ml ต่อน้ำ 196 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้