

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- เกียรติเกษตร กาญจนพิสุทธิ, มโนธรรม สัจจถาวร, และ อุดลย์ พงศ์สุวรรณ. 2531. ถั่วเหลือง. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์มิตรสยาม.
- ไทยเทพรสผลิตภัณฑ์อาหาร จำกัด, บริษัท. สัมภาษณ์. 25 มิถุนายน 2535.
- นภา ไส้ทอง. 2531. ซีอีว. วิทยาศาสตร์ 42: 217-224.
- ประไพร์ พลอนันต์. 2528. เคมีวิเคราะห์ 1. กรุงเทพมหานคร: มิตรนราการพิมพ์.
- ปราณี อ่านเปรื่อง. 2533. เอนไซม์ทางอาหาร ตอนที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เพ็ญศิริ ศรีบุรี และ ปราณี อ่านเปรื่อง. 2536. เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพเซลล์ห่อหุ้มแบบแคปซูลเล็กสำหรับการหมักน้ำซีอีว ตอนที่ 1: การเตรียมและลักษณะของแคปซูลเล็กบรรจุเซลล์ที่มีชีวิตของ *Lactobacillus delbrueckii* TISTR 108 และ *Zygosaccharomyces rouxii* NRRL Y-2547. อาหาร 23 (1): 22-34.
- ไพบูลย์ สีสสุวรรณ, บรรณาธิการ. 2530. ดัชนีการค้าของไทย. กรุงเทพมหานคร: บริษัทอินเตอร์เทรดการพิมพ์จำกัด.
- มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, สำนักงาน. 2513. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 8-2513 ซอสปรุงรส. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์กระทรวงอุตสาหกรรม.
- _____. 2521. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก.252-2521 ซีอีว. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์กระทรวงอุตสาหกรรม.
- วารุณี ประดิษฐ์ศรีกุล. 2532. ซีอีว. อาหาร 19: 58-62.
- วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, สถาบัน. 2527. ถั่วเหลืองและการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: บริษัทสยามออฟเซตจำกัด.
- วิเชียร สีสาวชมาศ. 2534. ซีอีว. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
- เศรษฐกิจการเกษตร, สำนักงาน. 2529. สถิติการเกษตร ปีเพาะปลูก 2529/30. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- ศุลกากร, กรม. 2530. ข้อมูลสถิติการค้าระหว่างประเทศของไทย พ.ศ. 2530. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์กระทรวงการคลัง.

- ____. 2531. ข้อมูลสถิติการค้าระหว่างประเทศของไทย พ.ศ. 2531. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์กระทรวงการคลัง.
- สถิติแห่งชาติ, สำนักงาน. 2531. ประมวลสถานประกอบการอุตสาหกรรมในเขตเทศบาลและเขตสุขาภิบาลทั่วประเทศไทย พ.ศ. 2530. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์สำนักงานนายกรัฐมนตรี.
- สุทธิศักดิ์ สุขานศิลป์. 2522. บทบาทความสำคัญของเชื้อจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมซีอิ๊วหมัก. เคมีวิศวกรรมเทคโนโลยีทางอาหารและเชื้อเพลิง 1: 89-95.

ภาษาอังกฤษ

- Atlas, R. M., Brown, A. E., Dobra, K. W., and Miller, L. 1984. Experimental microbiology. New York: MacMillan Publishing.
- Atthasampunna, P., ed. 1985. TISTR culture collection: List of cultures. 3rd ed. Bangkok: Funny Press.
- Buchanan, R. E., and Gibbons, N. E., eds. 1975. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. Baltimore: Willium and Wilkins.
- Bucke, C. 1987. Cell immobilization in calcium alginate. Method in Enzymology 135: 175-189.
- Chibata, I., ed. 1978. Immobilized enzyme: Reseach and development. Tokyo: Kodansha Co,Ltd.
- Chibata, I., and Wingard, L. B., eds. 1983. Immobilized microbial cells. New York: Academic Press, Inc.
- Fukui, S., and Tanaka, A. 1982. Immobilized microbial cells. Ann. Rev. Microbiol. 36: 145-172.
- Fukushima, D. 1968. Component of soy sauce II. Nippon Jozo Kyokai Zasshi 62: 861-864, quoted in Pederson, C. S., ed. 1971. Microbiology of food fermentation. Connecticut: AVI Publishing.

- Fukushima, Y., Okamaru, K., Imai, K., and Motai, H. 1988. A new immobilization technique of whole cells and enzymes with colloidal silica and alginate. Biotechnol. Bioeng. 32: 582-594.
- Ghazali, H. M., and Cheetham, P. S. J. 1982. Ethanol production by co-immobilized Saccharomyces uvarum and glucoamylase: In Flegel, T. W., Meevootisom, V., Bhumiratana, A., and Matangkasombut, P., eds. Immobilized microbial enzymes and cells, Proceeding of a Regional Workshop, Bangkok, Dec.13-17, pp. 137-144.
- Grant, G. T., Morris, E. R., Rees, D. A., Smith, P. J. C., and Thom, D. 1973. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. FEBS Lett. 32 (1): 195-198.
- Hamada, T., Ishiyama, T., and Motai, H. 1989. Continuous fermentation of soy sauce by immobilized cells of Zygosaccharomyces rouxii in an airlift reactor. Appl. Microbiol. Biotechnol. 31: 346-350.
- Hesseltine, C. W. 1965. A millenium of fungi, food and fermentation. Mycologia 57: 149-197.
- Horitsu, H., Maseda, Y., and Kawai, K. 1990. A new process for soy sauce fermentation by immobilized yeast. Agri. Biol. Chem. 54: 295-300.
- Horwitz, W., ed. 1975. Official method of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 12th ed. Wisconsin: George Benta Company.

- _____. 1980. Official method of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 13th ed. Wisconsin: George Benta Company.
- Hough, J. S., and Lyon, T. P. 1972. Coupling of enzymes onto microorganisms. Nature 235: 389.
- Jose, H., Ysukada, Y., and Sugimori, T. 1976. Fermentation of lactic acid in soy sauce. J. Japan Soy Sauce Inst. 2: 172-176, quoted in Yokotsuka, T. 1986. Soy sauce biochemistry. Adv. Food Res. 30: 195-329.
- Kreger-van Rij, N. J. W. 1984. The yeast: a taxonomic study. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier Science Publisher B.V.
- Kierstan, M., and Bucke, C. 1977. The immobilization of microbial cells, subcellular organelles and enzyme in calcium alginate gel. Biotechnol. Bioeng. 19: 387-397.
- Kurosawa, H., and Tanaka, H. 1990. Advance in immobilized cell culture: Development of co-immobilized mixed culture system of aerobic and anaerobic microorganisms. Process Biochem. Inter. 51: 189-196.
- Lockwood, L. B. 1947. The production of Chinese soy sauce. Soybean Dig. 7: 10-11, quoted in Prescott, S. C., and Dunn, C. G., eds. 1959. Industrial microbiology. New York: McGraw-Hill Co., Inc.
- Noda, F., Hayashi, K., and Mizunuma, T. 1980. Antagonism between osmophilic lactic acid bacteria and yeasts in brine fermentation of soy sauce. Appl. Env. Microbiol. 40: 452-457.

- _____. 1982. Influence of pH on inhibitory activity of acetic acid on osmophilic yeasts used in brine fermentation of soy sauce. Appl. Env. Microbiol. 43: 245-246.
- Ogbonna, J. C., Amano, Y., and Nakamura, K. 1989. Elucidation of optimum conditions for immobilization of viable cells by using calcium alginate. J. Ferment. Technol. 67 (2): 92-96.
- Osaki, K., Okamoto, Y., Akao, T., Nagata, S., and Takamatsu, H. 1985. Fermentation of soy sauce with immobilized whole cells. J. Food Sci. 50: 1289-1292.
- Rees, D. A. 1972. Shaply polysaccharides. Biochem. J. 126: 257-273.
- Sharf, J. M., ed. 1966. Recommended methods for the microbiological examination of foods. 2nd ed. New York: American Public Health Association.
- Smidsrod, O., and Skjak-Braek, G. 1990. Alginate as immobilization metrix for cells. TIBTECH 8: 71-78.
- Thatcher, F. S., and Clark, D. S., eds. 1968. Microorganisms in foods: Their significance and methods of enumeration. Canada: University of Toronto Press.
- Tipayang, P., and Kozaki, M. 1982. Lactic acid production by a new Lactobacillus sp., Lactobacillus vaccinostercus Kozaki and Okada sp. nov., immobilized in calcium alginate. J. Ferment. Technol. 60: 595-598.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., and Case, C.L. 1992. Microbiology. 4th ed. California: The Benjamin/Cummings Publishing Co., Inc.

- Wood, B. J. B. 1982. Soy sauce and miso. In Rose, A. H. (ed.), Fermented foods., pp. 39-85. London: Academic Press, Inc. Ltd.
- Yokotsuka, T. 1986. Soy sauce biochemistry. Adv. Food Res. 30: 195-329.
- Yong, F. M., and Wood, B. J. B. 1976. Microbial succession in experimental soy sauce fermentation. J. Food Technol. 11: 525-532.
- _____. 1977a. Microbial succession in experimental soy sauce koji. J. Food Technol. 12: 163-157.
- _____. 1977b. Biochemical changes in experimental soy sauce moromi. J. Food Technol. 12: 263-273.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์

ก-1 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติก (Horwitz, 1980)

(1.1) วิธีเตรียมสารเคมี

สารละลายเมธิลเรด-เมธิลีนบลูอินดิเคเตอร์ : ผสมสารละลายเมธิลเรดความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ในแอลกอฮอล์ 2 ส่วน และสารละลายเมธิลีนบลู ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ในแอลกอฮอล์ 2 ส่วน

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.05 โมล/ลิตร : ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

สารละลายโบแตสเซียมไฮดรเจนพธาลเลต ความเข้มข้น 0.10 โมล/ลิตร : ชั่งโบแตสเซียมไฮดรเจนพธาลเลต 2.0000 กรัม (จากโบแตสเซียมไฮดรเจนพธาลเลต ที่ผ่านการอบ ณ อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง และทิ้งให้เป็นใน desiccator) ถ่ายสารลงไปใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปละลาย แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

สารละลายฟีนอล์ฟธาเลอินอินดิเคเตอร์ ความเข้มข้นร้อยละ 1 : ชั่งฟีนอล์ฟธาเลอิน 1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

(1.2) วิธีหามาตรฐานสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ประพัวร์, 2528)

ปิเปตสารละลายโบแตสเซียมไฮดรเจนพธาลเลต 25 มิลลิลิตร ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอล์ฟธาเลอินอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด แล้วไตเตรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่อยู่ในบิวเรต จนสารละลายใน Erlenmeyer flask เปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพูอ่อนอย่างถาวร บันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์คำนวณผลจากสูตร

$$M_2 = \frac{M_1 V_1}{V_2}$$

เมื่อ M_1 และ M_2 คือ ความเข้มข้นของสารละลายโบแตสเซียมไฮโดรเจนพธาลเตต และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (มิลลิลิตร) ตามลำดับ

V_1 และ V_2 คือ ปริมาตรของสารละลายโบแตสเซียมไฮโดรเจนพธาลเตต และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ไมล/ลิตร) ตามลำดับ

(1.3) วิธีทำ

ปิเปตตัวอย่างเหลว 10.00 มิลลิลิตร ใสเตตรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ผ่านการทำมาตรฐานแล้ว ความเข้มข้น 0.05 ไมล/ลิตร โดยมีสารละลายเมธิลเรด-เมธิลีนบลูเป็นอินดิเคเตอร์ ณ จุดยุติ ตัวอย่างเหลวจะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเขียว

(1.4) วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณกรดแลคติก (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)} = \frac{M_1 V_1}{V_2} \times 90$$

เมื่อ M_1 คือ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ไมล/ลิตร)

V_1 คือ ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไตเตรต (มิลลิลิตร)

V_2 คือ ปริมาตรของตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

ก-2 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ (Horwitz, 1980)

(2.1) วิธีเตรียมสารเคมี

สารละลายโบแตสเซียมไดโครเมต : เหน้กากลับประมาณ 400 มิลลิลิตร ลงใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร เติมกรดกำมะถันเข้มข้น ปริมาตร 325 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปล่อยให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิลดลงถึง 80-90 องศาเซลเซียส เติมโบแตสเซียมไดโครเมต 33.768 กรัม เขย่าให้ละลาย ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร โดย

ใช้น้ำกลั่น

สารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต : ชั่งเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ที่มีน้ำ 6 โมเลกุล 135.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร แล้วเทลงใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร เติมกรดกำมะถันเข้มข้น ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร โดยใช้น้ำกลั่น

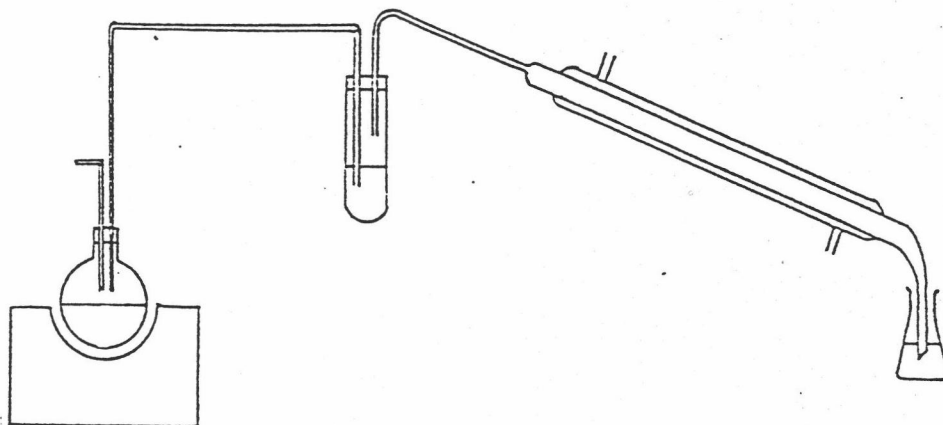
สารละลาย 1,10-ฟีแนนโธรลีน-เฟอร์รัสซัลเฟต อินดิเคเตอร์ : ชั่งเฟอร์รัสซัลเฟตที่มีน้ำ 7 โมเลกุล 0.695 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วเทลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เติม 1,10-ฟีแนนโธรลีน 1.485 กรัม เขย่าให้ละลาย ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่น

(2.2) วิธีทำ

การกลั่นแอลกอฮอล์ใช้เครื่องกลั่นระดับจุลภาค ดังรูปที่ ก-1

ปิเปตสารละลายโบแตสเซียมาโคโครเมต 25.00 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 50 มิลลิลิตร นำไปรองรับส่วนที่กลั่นได้ (distillate) โดยให้ปลายเครื่องควบแน่น (condenser) ของเครื่องกลั่นจุ่มอยู่ในสารละลายโบแตสเซียมาโคโครเมต แล้วปิเปตตัวอย่างเหลว 1.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดแก้วสำหรับกลั่น ล้างให้ตัวอย่างที่ติดอยู่ลงไปในหลอดแก้วด้วยน้ำกลั่น จนมีปริมาตรน้ำ 1 ใน 3 ของปริมาตรทั้งหมดของหลอดแก้วสำหรับกลั่น ปิดท่อที่เติมตัวอย่าง จากนั้นปล่อยให้ไอน้ำกลั่นแอลกอฮอล์ จนกระทั่งปริมาตรรวมของของเหลวภายใน Erlenmeyer flask ที่รองรับส่วนที่กลั่นได้ ประมาณ 40 มิลลิลิตร ล้างปลายก้านเครื่องควบแน่นด้วยน้ำกลั่น ปิด Erlenmeyer flask ด้วยจุกยาง แล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นานประมาณ 20-25 นาที จากนั้นถ่ายของเหลวลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นล้างให้สะอาดประมาณ 2-3 ครั้ง นำไปไตเตรตกับสารละลายสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต จนกระทั่งมีสีเขียว แล้วหยดสารละลาย 1,10-ฟีแนนโธรลีน-เฟอร์รัสซัลเฟต อินดิเคเตอร์ 3 หยด นำไปไตเตรตต่อจนถึงจุดยุติ ของเหลวจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลม่วง บันทึกปริมาตรของสารละลายสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไตเตรต

ทำ blank ควบคู่กันไปด้วย



รูปที่ ก-1 เครื่องกลั่นระดับจุลภาคสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์

(2.3) วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณแอลกอฮอล์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)} = [25 - (25 A/B)] \times 10$$

เมื่อ A คือ ปริมาตรของสารละลายสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ที่ใช้ไตเตรตกับ ไตโครเมตที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ในตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรของสารละลายสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ที่ใช้ไตเตรตกับ ไตโครเมตที่เหลือจากการทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ใน blank (มิลลิลิตร)

ก-3 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Horwitz, 1975)

(3.1) วิธีเตรียมสารเคมี

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 40 : ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 : ชั่งกรดบอริก 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วเทลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่น

สารละลายกรดกำมะถันเข้มข้น 0.1 นอร์มัล : ละลายกรดกำมะถันเข้มข้น 5.33 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น แล้วเทลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่น

(3.2) วิธีทำ

ย่อยตัวอย่างจำนวน 10 มิลลิลิตร ในขวด Kjeldahl ด้วยตัวเร่งปฏิกิริยา เซเลเนียม (selenium catalyst) จำนวน 0.05 กรัม และกรดกำมะถันเข้มข้นจำนวน 20 มิลลิลิตร จนกระทั่งได้สารละลายใสและย่อยต่อไปอีก 1-2 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็น ถ่ายสารละลายที่ได้ลงในขวดกลั่นให้หมด โดยใช้น้ำกลั่นล้างจนได้ปริมาตร 200 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 ประมาณ 90 มิลลิลิตร แล้วกลั่นแอมโมเนียที่เกิดลงในสารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 50 มิลลิลิตร ซึ่งมีอินดิเคเตอร์เมธิลเรด-เมธิลีนบลูอยู่ 2-3 หยด จนกระทั่งปริมาตรของสารละลายในขวดกลั่นเหลืออยู่ประมาณ 1 ใน 3 ของปริมาตรเดิม ไตเตรตแอมโมเนียที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดกำมะถันเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

(3.3) วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (กรัม/ลิตร)} = y N \times 28$$

เมื่อ y = ปริมาตรของสารละลายกรดกำมะถันที่ใช้ในการไตเตรต (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดกำมะถันที่ใช้ในการไตเตรต (นอร์มัล)

ก-4 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณเกลือ (โซเดียมคลอไรด์) (Horwitz, 1975)

(4.1) วิธีเตรียมสารเคมี

สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล : ชั่งซิลเวอร์ไนเตรต
กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายลงใน volumetric flask ขนาด 1 ลิตร ปรับปริมาตร
เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

สารละลายโบแตสเซียมเปอร์มังกาเนต ความเข้มข้นร้อยละ 5 : ชั่งโบแตส-
เซียมเปอร์มังกาเนต 5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

สารละลายโบแตสเซียมโรโอโซยานาต ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล : ชั่งโบ-
แตสเซียมโรโอโซยานาต กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ถ่ายลงใน volumetric flask
ขนาด 1 ลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

สารละลายเพอร์ริกแอมโมเนียมซัลเฟตอิมตัว : ละลายเพอร์ริกแอมโมเนียมซัล-
เฟต ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ทีละน้อยๆ จนกระทั่งได้สารละลายอิมตัว

(4.2) วิธีทำ

ปิเปตตัวอย่าง 5.00 มิลลิลิตร ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 250
มิลลิลิตร เติมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล ที่มากเกินไป (ประมาณ
30 มิลลิลิตร) แล้วผสมให้เข้ากัน เติมกรดไนตริกเข้มข้น ลงไป 15 มิลลิลิตร นำสารละลาย
ที่ได้ไปต้มนานประมาณ 10 นาที จนกระทั่งสารละลายใน Erlenmeyer flask มีสีเหลืองอ่อน
เติมสารละลายโบแตสเซียมเปอร์มังกาเนต ความเข้มข้นร้อยละ 5 ครั้งละ 5 มิลลิลิตร 3 ครั้ง
ภายหลังการเติมแต่ละครั้งให้เขย่าจนเข้ากัน เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร แล้วกรองลงใน
volumetric flask ขนาด 200 มิลลิลิตร ล้างจรรยากรองปราศจากซิลเวอร์ไนเตรต
จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 200 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายผสมมา 100 มิลลิลิตร
ไตเตรตกับสารละลายโบแตสเซียมโรโอโซยานาต ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยมีสารละลาย
เพอร์ริกแอมโมเนียมซัลเฟตอิมตัว เป็นอินดิเคเตอร์ จนกระทั่งได้สีแดงอย่างถาวรนานเกิน 15
วินาที

ทำ blank ควบคู่ไปด้วย

(4.3) วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณเกลือ (กรัม)} = 0.005844 (A-B)$$

เมื่อ A คือ ปริมาตรของสารละลายโบแตสเซียมไรโอไฮยาเนตที่ใช้ไตเตรตกับ blank

B คือ ปริมาตรของสารละลายโบแตสเซียมไรโอไฮยาเนตที่ใช้ไตเตรตกับตัวอย่าง

ก-5 วิธีวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลอินเวอร์ต (Horwitz, 1975)

(5.1) วิธีเตรียมสารเคมี

สารละลายเฟห์ลิง หมายเลข 1 (Fehling's solution number 1) :
ละลายคอปเปอร์ 69.278 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ใน volumetric flask

สารละลายเฟห์ลิง หมายเลข 2 (Fehling's solution number 2) :
ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 100 กรัม และโซเดียมโบแตสเซียมคาร์เตรต 346 กรัม ในน้ำกลั่น
แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ใน volumetric flask

สารละลายเฟห์ลิง : ประกอบด้วยสารละลายเฟห์ลิงหมายเลข 1 และ 2 ผสม
ด้วยปริมาตรเท่ากันในทันทีก่อนใช้

สารละลายเมธิลีนบลู ความเข้มข้นร้อยละ 1 : ชั่งเมธิลีนบลู 1 กรัม ละลาย
ด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

(5.2) วิธีทำ

ปิเปตตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ใน
volumetric flask เก็บสารละลายเจือจางของตัวอย่างไว้วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลต่อไป
การไตเตรตเบื้องต้น (preliminary titration) : ใส่สารละลายเจือจาง
ของตัวอย่างลงในบิวเรต ขนาด 50 มิลลิลิตร ใส่ฟองอากาศบริเวณปลายหลอดให้หมด ปิเปต
สารละลายเฟห์ลิง 25 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม
ลูกแก้วเล็กๆ ลงไป นำไปต้มให้เดือดบนเตาburner (Bunsen burner) ไตเตรตกับสาร

ละลายเจือจางของตัวอย่างจนสีน้ำเงินจางลง หยดสารละลายเมธิลีนบลู 1-2 หยด แล้วไทเทรตจนสีฟ้าหายหมด เหลือตะกอนสีส้มแดง จดปริมาตรสารละลายเจือจางของตัวอย่างที่ใช้ ถ้าปริมาตรที่ใช้อ้อยู่ระหว่าง 15-50 มิลลิลิตร ต้องทำห้หมอีก 2 ครั้ง เพื่อให้ได้ปริมาตรที่แน่นอน

การไทเทรตอย่างถูกต้อง (accurate titration) : ปิเปตสารละลายเพอร์ลิง 25 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมลูกแก้วเล็กๆ ลงไป เติมสารละลายเจือจางของตัวอย่างลงไปปริมาตรน้อยกว่าที่ใช้ไทเทรตครั้งแรก ประมาณ 1-2 มิลลิลิตร ปล่อยให้เดือดนาน 2 นาที หยดสารละลายเมธิลีนบลู 1-2 หยด แล้วไทเทรตด้วยอัตราเร็ว 0.25 มิลลิลิตร/วินาที จนสีฟ้าหายหมด พยายามไทเทรตให้เสร็จสิ้นภายใน 3 นาที ตั้งแต่เริ่มเดือด จดปริมาตรสารละลายเจือจางของตัวอย่างที่ใช้ ทำซ้ำอีก 2-3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ยปริมาตร นำไปเปรียบเทียบกับปริมาณน้ำตาลอินเวอร์ตตามตาราง

ก-6 วิธีตรวจนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตด้วยการเพาะเลี้ยงบนจานเลี้ยงเชื้อ (Atlas et al, 1984)

(6.1) วิธีเตรียมตัวอย่าง

เตรียมสารละลายเจือจางของตัวอย่างโดยใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ดังนี้ 1:100, 1:1,000, 1:10,000, 1:100,000, 1:1,000,000 และ 1:10,000,000 ภายใต้อากาศปลอดเชื้อ

(6.2) วิธีตรวจนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ L. delbrueckii

ปิเปตสารละลายเจือจาง 1:100,000, 1:1,000,000 และ 1:10,000,000 อย่างละ 1 มิลลิลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อ ความเจือจางละ 3 จาน เทอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง กลูโคส-ยีสต์สกัด-เบปโตน ที่ยังเหลวอยู่ อุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส ลงในจาน แล้วผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว จากนั้นเทวันความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ที่ยังเหลวอยู่ อุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส ทับลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่แข็งตัวแล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงตรวจผล

(6.3) วิธีตรวจนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ S. rouxii

ปิเปตสารละลายเจือจาง 1:100,000, 1:1,000,000 และ 1:10,000,000 อย่างละ 1 มิลลิลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อ ความเจือจางละ 3 จาน เทอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง ยีสต์สกัด-มอลต์สกัด pH 5 ที่ยังเหลวอยู่ อุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส ลงในจาน แล้วผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงตรวจผล

ก-7 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

(7.1) อาหารเลี้ยงเชื้อกลูโคส ยีสต์สกัด เปปโตน (GYP)

กลูโคส	10.0 กรัม
ยีสต์สกัด	10.0 กรัม
เปปโตน	5.0 กรัม
แคลเซียมคาร์บอเนต	15.0 กรัม
โซเดียมอะซีเตต	5.0 กรัม
โบแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	2.0 กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต·7 น้ำ	0.20 กรัม
แมงกานีสซัลเฟต·4 น้ำ	0.05 กรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

(7.2) อาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์สกัด มอลต์สกัด (YM)

กลูโคส	10.0 กรัม
ยีสต์สกัด	3.0 กรัม
มอลต์สกัด	3.0 กรัม
เปปโตน	5.0 กรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

ภาคผนวก ข

ตัวอย่างแบบทดสอบแบบทดสอบการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำช็อคโกแลต

แบบทดสอบการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำช็อคโกแลต

ชื่อ _____

วันที่ _____

กรุณาทดสอบผลิตภัณฑ์น้ำช็อคโกแลตทางด้านประสาทสัมผัสแล้วให้คะแนนลักษณะต่อไปนี้

<u>รายการ</u>	<u>คะแนนเต็ม</u>
ความใส	25
กลิ่น	25
รส	25
สี	25
	รวม 100

หลักเกณฑ์การให้คะแนน

0 - 5 = ไม่ดี

6 - 10 = พอใช้

11 - 15 = ดีพอใช้

16 - 20 = ดี

21 - 25 = ดีมาก

ลักษณะ	ตัวอย่างที่			
ความใส กลิ่น รส สี ความชอบรวม				

หมายเหตุ _____

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ค-1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน

การวิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลในการทดลองนี้ใช้วิธีคำนวณดังตารางที่ ค-1, ค-2 และ ค-3

ตารางที่ ค-1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD)

Source of variation (SOV)	Degree of freedom (df)	Sum of square (SS)	Mean square (MS)	F calculated	F table
Treatment	t-1	$\sum_i EX_i^2 / r - X..^2 / rt$	SS_T / df_T	MS_T / MS_E	f(%sig., df _T , df _E)
Error	t(r-1)	by subtraction	SS_E / df_E		
Total	rt-1	$\sum_{ij} EX_{ij}^2 / r - X..^2 / rt$			

ตารางที่ ค-2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลแบบแฟคทอเรียล (Factorial Completely Randomized Design)

Source of variation (SOV)	Degree of freedom (df)	Sum of square (SS)	Mean square (MS)	F calculated	F table
Factor					
A	(a-1)	$\sum_i EX_i^2 / br - X_{..}^2 / abr$	SS_A / df_A	MS_A / MS_E	$f(\%sig., df_A, df_E)$
B	(b-1)	$\sum_j EX_{.j}^2 / ar - X_{..}^2 / abr$	SS_B / df_B	MS_B / MS_E	$f(\%sig., df_A, df_E)$
AB	(a-1)(b-1)	$\sum_{ij} EX_{ij}^2 / r - X_{..}^2 / abr - SS_A - SS_B$	SS_{AB} / df_{AB}	MS_{AB} / MS_E	$f(\%sig., df_{AB}, df_E)$
Error	(ab)(r-1)	by subtraction	SS_E / df_E		
Total	abr-1	$\sum_{ij} EX_{ij}^2 / r - X_{..}^2 / rt$			

ตารางที่ ค-3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD)

Source of variation (SOV)	Degree of freedom (df)	Sum of square (SS)	Mean square (MS)	F calculated	F table
Treatment	t-1	$\sum_i EX_i^2 / r - X_{..}^2 / rt$	SS_T / df_T	MS_T / MS_E	$f(\%sig., df_T, df_E)$
Block	r-1	$\sum_j EX_j^2 / r - X_{..}^2 / rt$	SS_{blk} / df_{blk}	MS_{blk} / MS_E	$f(\%sig., df_{blk}, df_E)$
Error	(t-1)(r-1)	by subtraction	SS_E / df_E		
Total	rt-1	$\sum_{ij} EX_{ij}^2 - X_{..}^2 / rt$			

ค-2 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test สำหรับการทดลองแบบแฟคทอเรียล

หาค่าเฉลี่ยของข้อมูลแบบแฟคทอเรียล (factorial) ที่ได้สำหรับแต่ละ treatment combination ดังตารางที่ ค-4 แล้วเรียงลำดับจากค่ามากไปหาน้อย จากนั้นคำนวณค่า $S_y = (MS_E / r)^{1/2}$ เมื่อ r คือ จำนวนซ้ำ การมีข้อมูลแบบแฟคทอเรียล = R เปิดตารางหาค่า Significant Studentized Range (SSR) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($SSR_{0.05}$) ตั้งแต่ค่า p = 2 ถึง p = n-1 ที่ df_E (n คือ จำนวนค่าเฉลี่ยทั้งหมดที่ต้องการเปรียบเทียบ) แล้วคำนวณหาค่า $LSR = S_y \times SSR$ จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละคู่กับค่า LSR ตามค่า p ถ้าผลต่างของค่าเฉลี่ยดังกล่าวมีค่ามากกว่า LSR แสดงว่าค่าเฉลี่ยคู่นั้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ ค-4 การหาค่าเฉลี่ยของข้อมูลแบบแฟคทอเรียล

ปัจจัย	ค่าเฉลี่ย	R
A	$iEX_{i..}/R$	br
B	$jEX_{.j}/R$	ar
AB	$ijEX_{ij}/R$	r

ตัวอย่างการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test สำหรับการทดลองแบบแฟคทอเรียล

เช่น จากข้อมูลในตารางที่ 5.1 เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนจะได้ผลดังตารางที่ 5.2 ซึ่งมีค่า $MS_E = 0.004$

เมื่อแทนค่าใน $S_Y = (MS_E/r)^{1/2}$ เมื่อ r คือ จำนวนซ้ำ

$$\begin{aligned} \text{จะได้ว่า } S_Y &= (0.004/2)^{1/2} \\ &= 0.045 \end{aligned}$$

เปิดตารางหาค่า SSR ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($SSR_{0.05}$) ตั้งแต่ค่า $p = 2$ ถึง $p = 8$ ที่ $df_E = 9$

ตัวอย่างเช่น ที่ค่า $p = 2$ ค่า $SSR_{0.05} = 3.032$

ที่ค่า $p = 3$ ค่า $SSR_{0.05} = 3.225$

และ ที่ค่า $p = 4$ ค่า $SSR_{0.05} = 3.082$ เป็นต้น

คำนวณหาค่า $LSR = S_Y \times SSR$

ตัวอย่างเช่น ที่ค่า $p = 2$ จะได้ค่า $LSR = 0.1378$

ที่ค่า $p = 3$ จะได้ค่า $LSR = 0.1442$

และ ที่ค่า $p = 4$ จะได้ค่า $LSR = 0.1482$

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยที่เรียงลำดับจากมากไปหาน้อย โดยให้ค่าเฉลี่ยที่มีค่ามากที่สุดแทนด้วย t_{12} และค่าเฉลี่ยที่มีค่าน้อยรองลงมาแทนด้วย $t_{11}, t_{10}, t_9, \dots, t_1$ ตามลำดับ

เช่น เมื่อเปรียบเทียบผลต่างของค่าเฉลี่ยของ t_{12} และ t_6

$$\text{จะได้ว่า } t_{12} - t_6 = 0.2050$$

ซึ่งมีค่ามากกว่าค่า LSR ที่ $p = 6$ คือ 0.1525

แสดงว่าค่าเฉลี่ยคู่นี้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ให้กำกับ
ค่าเฉลี่ยที่ t_6 ด้วยอักษร a โดยตัวเลขที่มีอักษรต่างกันกำกับจะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($p \leq 0.05$)

หรือเมื่อเปรียบเทียบผลต่างของค่าเฉลี่ยของ t_8 และ t_5

$$\text{จะได้ว่า } t_8 - t_5 = 0.1720$$

ซึ่งมีค่ามากกว่าค่า LSR ที่ $p = 5$ คือ 0.1507

แสดงว่าค่าเฉลี่ยคู่นี้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ให้กำกับ
ค่าเฉลี่ยที่ t_5 ด้วยอักษร b

ประวัติผู้เขียน

นายพันธ์ณรงค์ จันทรแสงศรี เกิดเมื่อวันที่ 30 สิงหาคม พ.ศ.2510 ที่จังหวัดตาก สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต จากภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อปี พ.ศ.2532 เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2532 เข้าร่วมกิจกรรมทางวิชาการ คือ เสนอผลงานวิจัยภาคปสเตอร์และเข้าร่วมประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 18 ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ เมื่อวันที่ 27-29 ตุลาคม พ.ศ.2535 และเข้าร่วมประชุมทางวิชาการ FoSAT Food Conference 1993 ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ เมื่อวันที่ 25 มีนาคม พ.ศ.2536 และมีผลงานทางวิชาการซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของผลงานวิจัยวิทยานิพนธ์ คือ

1. พันธุ์ณรงค์ จันทรแสงศรี และปราณี อำนเป็ร้อง. 2535. การตรึงรูปร่วมกันของเซลล์จุลินทรีย์สำหรับทดลองผลิตน้ำชีอิ้ว ตอนที่ 1: ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรึงรูปร่วมกันของ Lactobacillus delbrueckii TISTR 108 และ Saccharomyces rouxii TISTR 5058 ในเจลแคลเซียมอัลจิเนต. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 18. หน้า 626-627. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

2. พันธุ์ณรงค์ จันทรแสงศรี และปราณี อำนเป็ร้อง. 2537. การตรึงรูปร่วมกันของเซลล์จุลินทรีย์สำหรับทดลองผลิตน้ำชีอิ้ว ตอนที่ 1: ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรึงรูปร่วมกันของเซลล์จุลินทรีย์ในเจลแคลเซียมอัลจิเนต. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3(1): (อยู่ในระหว่างการตีพิมพ์).