รายงานปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

“ณ บริษัท คอร์น โปรดักส์ อำมาด๊าส (ประเทศไทย) จำกัด”

“At Corn Products Amadass (Thailand), Ltd”

โดย

นางสาวปภิญญา จันทร์สกุล B4450801

นางสาววสาวี ถ้วยทอง B4451327

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของรายวิชา 305497 สหกิจศึกษา

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

สำนักวิชาเทาคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วันที่ 21 ธันวาคม 2547

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รายงานปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

“ณ บริษัท คอร์น โปรดักส์ อำมาด๊าส (ประเทศไทย) จำกัด”

“At Corn Products Amadass (Thailand), Ltd”

โดย

นางสาวปภิญญา จันทร์สกุล B4450801

นางสาววสาวี ถ้วยทอง B4451327

ปฏิบัติงาน ณ

บริษัท คอร์น โปรดักส์ อำมาด๊าส (ประเทศไทย) จำกัด

43/1 หมู่ 3 ตำบลสีคิ้ว อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา 30140

วันที่ 21 ธันวาคม พ.ศ. 2547

เรื่อง ขอส่งรายงานการปฏิบัติงานสหกิจ

เรียน อาจารย์ที่ปรึกษาสหกิจศึกษา สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

ตามที่คณะผู้จัดทำ นางสาวปภิญญา จันทร์สกุล และนางสาววสาวี ถ้วยทอง นักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ได้ไปปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ระหว่างวันที่ 30 สิงหาคม ถึง วันที่ 17 ธันวาคม พ.ศ. 2547 ในตำแหน่งผู้ช่วยเจ้าหน้าที่ประกันคุณภาพ ณ บริษัท คอร์น โปรดักส์ อำมาด้าส (ประเทศไทย) จำกัด โดยได้รับมอบหมายจาก Job Supervisor ให้ทำการวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ในส่วนของ แป้งมันสำปะหลัง กลูโคส และมอลโตเดกซ์ตริน รวมถึงการวิเคราะห์น้ำเสียภายในโรงงาน

บัดนี้ การปฏิบัติงานสหกิจศึกษาได้สิ้นสุดลงแล้ว ทางคณะจึงขอส่งรายงานดังกล่าวมาพร้อมกันนี้ จำนวน 1 เล่ม เพื่อขอรับคำปรึกษาต่อไป

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

ขอแสดงความนับถือ

คณะผู้จัดทำ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

กิตติกรรมประกาศ

(Acknowledgment)

การที่คณะผู้จัดทำได้มาปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ณ บริษัท คอร์น โปรดักส์ อำมาต้าส (ประเทศไทย) จำกัด ตั้งแต่วันที่ 30 สิงหาคม ถึง วันที่ 17 ธันวาคม พ.ศ. 2547 ส่งผลให้ทางคณะได้รับความรู้และประสบการณ์ต่างๆ ที่มีค่ามากมาย สำหรับรายงานวิชาสหกิจศึกษาฉบับนี้ สำเร็จลงได้ด้วยดีจากความร่วมมือ และสนับสนุนของหลายฝ่าย ดังนี้

1. คุณพนิตา จุฑาสมิต ผู้จัดการฝ่ายประกันคุณภาพ
2. คุณวิศาล ปึงพิพัฒน์ตระกูล ผู้ช่วยผู้จัดการฝ่ายประกันคุณภาพ
3. คุณสันทัด ราชประมา ผู้ช่วยผู้จัดการฝ่ายประกันคุณภาพ
4. คุณสรินยาพร เฉียงไธสง หัวหน้าฝ่ายประกันคุณภาพ
5. คุณจิตรา ด้วงสง หัวหน้าฝ่ายประกันคุณภาพ
6. คุณพันณี เสกรัมย์ หัวหน้าฝ่ายประกันคุณภาพ

และบุคคลท่านอื่นๆที่ไม่ได้กล่าวนามทุกท่าน ที่ได้ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการจัดทำรายงาน

คณะจัดทำใคร่ขอขอบพระคุณผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน ที่มีส่วนร่วมในการให้ข้อมูล เป็นที่ปรึกษาในการทำรายงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ตลอดจนให้การดูแลและให้ความเข้าใจเกี่ยวกับชีวิตของการทำงานจริง คณะจัดทำขอขอบคุณ ไว้ ณ ที่นี้

คณะจัดทำ

21 ธันวาคม 2547

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

(Abstract)

บริษัท คอร์น โปรดักส์ อำมาด้าส (ประเทศไทย) จำกัด เป็นบริษัทที่ผลิต แป้งมัน,แป้งดัดแปลง ,กลูโคสไซรัป ,และมอลโตเดกซ์ทริน จากการที่ได้เข้าปฏิบัติงานในโครงการสหกิจศึกษาใน บริษัท คอร์น โปรดักส์ อำมาด้าส (ประเทศไทย) จำกัด ได้รับมอบหมายให้ไปปฏิบัติหน้าที่ในแผนกประกันคุณภาพ (Quality Assurance)ซึ่งในการเข้าปฏิบัติงานนั้น ได้รับมอบหมายในการวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ของแป้งมัน, กลูโคสไซรัป ,มอลโตเดกซ์ทริน และวิเคราะห์น้ำเสียภายในโรงงานรวมถึงบ่อบำบัดน้ำเสีย ซึ่งใช้ข้อมูลในการประกันคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้แก่ลูกค้า นอกจากนี้ยังมีส่วนร่วมในการฝึกอบรมการจัดการระบบ ISO 9001 : 2000 , GMP และ HACCP

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

		หน้า
จดหมายนำส่ง		ก
กิตติกรรมประกาศ		ข
บทคัดย่อ		ค
สารบัญ		ง
สารบัญตาราง		จ
สารบัญรูป		จ
บทที่ 1	บทนำ	
	1. วัตถุประสงค์	1
	2. รายละเอียดเกี่ยวกับบริษัทคอร์น โปรดักส์ อำมาต้าส (ประเทศไทย) จำกัด	1
	3. นโยบายของบริษัทคอร์น โปรดักส์ อำมาต้าส (ประเทศไทย) จำกัด	2
บทที่ 2	พื้นฐานความรู้เกี่ยวกับอุตสาหกรรมแป้ง	
	1. การเพาะปลูกมันสำปะหลัง	3
	2. แป้ง (starch)	6
	3. จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมแป้ง	8
	4. กระบวนการผลิตของโรงงาน	
	4.1 กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง	12
	4.2 กระบวนการผลิตกลูโคสไซรัป	15
	4.3 กระบวนการผลิตมอลโตเดกซ์ทริน	16
	4.4 น้ำเสียจากกระบวนการผลิต	17
บทที่ 3	รายละเอียดการปฏิบัติงาน	
	1. วิธีการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์แป้งมันสำปะหลัง,กลูโคสไซรัปและมอลโตเดกซ์ทริน	19
	2. วิธีการวิเคราะห์น้ำเสียภายในโรงงานและบ่อบำบัดน้ำเสีย	28
	3. วิธีการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์แป้งมันสำปะหลัง,กลูโคสไซรัปและมอลโตเดกซ์ทรินด้านชีวภาพ	30
	4. วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	43
เอกสารอ้างอิง		50

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ตารางแสดงสมบัติของอะไมโลสและอะไมโลเพกติน 7

ตารางที่ 2 ตารางแสดง Functional properties ของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแป้ง 8

สารบัญรูป

รูปที่ 1 โครงสร้างของอะไมโลส 6

รูปที่ 2 ภาพจำลองการจับตัวของอะไมโลสกับสารอินทรีย์ 7

รูปที่ 3 เครื่องมือวัดความหนาแน่นของหัวมัน (Reimann scale) 12

รูปที่ 4 ลานกองมันสำปะหลัง 13

รูปที่ 5 เครื่องล้างหัวมัน 13

รูปที่ 6 สายพานลำเลียง 13

รูปที่ 7 เครื่องสลัดแห้ง (centrifugal) 15

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่1
บทนำ

1. วัตถุประสงค์

- เพื่อศึกษาการทำงานภายในบริษัท คอร์น โปรดักส์ อำมาด้าส (ประเทศไทย) จำกัด
- เพื่อเข้าใจเกี่ยวกับวิธีการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ต่างๆ
- เพื่อเข้าใจเกี่ยวกับวิธีการวิเคราะห์น้ำเสียภายในโรงงานและบ่อบำบัดน้ำเสีย
- เพื่อเข้าใจเกี่ยวกับกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆอย่างคร่าวๆ
- เพื่อเพิ่มพูนประสบการณ์จากการปฏิบัติงานจริง

2. รายละเอียดเกี่ยวกับบริษัท

บริษัท คอร์น โปรดักส์ อำมาด้าส (ประเทศไทย) จำกัด ได้รับโอนกิจการจากโรงงานแป้งมันอำมาด้าสของห้างหุ้นส่วนจำกัดอำมาด้าส จำปี เมื่อวันที่ 27 เมษายน 2544 ซึ่งได้เปิดดำเนินการผลิตแป้งมันมาแล้วตั้งแต่ปี 2538 ด้วยกำลังการผลิต 200 ตันต่อวัน แบ่งเป็น 2 หน่วยการผลิตๆ ละ 100 ตันต่อวัน ในปี 2545 บริษัทได้วางแผนเปลี่ยนแปลงการผลิตของโรงงานโดยยกเลิกการใช้งานเครื่องจักรในปัจจุบันทั้งหมดและก่อสร้างโรงงานผลิตแป้งมัน (Food Starch) แป้งดัดแปร (Modified Starch) กลูโคสไซรัป (Glucose Syrup) มอลโตเดกซ์ทริน (Maltodextrin) ขึ้น

ชื่อ-ที่ตั้ง สถานประกอบการ

บริษัท คอร์น โปรดักส์ อำมาด้าส (ประเทศไทย) จำกัด ตั้งอยู่ที่ 43/1 หมู่ 3 ตำบลสีคิ้ว อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา รหัสไปรษณีย์ 30140

จำนวนพนักงาน : มีทั้งสิ้น 350 คน

ผู้บริหาร : คุณต่อศักดิ์ ชอบพานิช

เนื้อที่ : บริษัท คอร์น โปรดักส์ อำมาด้าส (ประเทศไทย) จำกัดมีเนื้อที่ทั้งหมด 350 ไร่ พื้นที่โดยรอบโรงงานส่วนใหญ่เป็นไร่มันสำปะหลังและพื้นที่รกร้าง ซึ่งได้แบ่งพื้นที่โรงงานออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนการผลิตและส่วนของระบบบำบัดน้ำเสีย

1. ส่วนการผลิต ประกอบด้วยส่วนต่างๆ ที่สำคัญดังนี้

สำนักงาน

- หน่วยผลิตน้ำแป้ง (Starch Slurry)
- หน่วยผลิตแป้งมัน (Food Starch)
- หน่วยผลิตแป้งดัดแปลง (Modified Starch)
- หน่วยผลิตกลูโคสไซรัป (Glucose Syrup)
- หน่วยผลิตมอลโตเดกซ์ทริน (Maltodextrin)

2. ส่วนของระบบบำบัดน้ำเสีย

- พื้นที่ที่ 1 (บ่อใต้) ซึ่งระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานแบ่งเป็นบ่อต่างๆ จำนวน 9 บ่อ น้ำเสียจากกระบวนการผลิตจะไหลผ่านบ่อบำบัดน้ำเสียทั้ง 9 บ่อ จากนั้นจะไหลเข้าสู่บ่อกักเก็บ (บ่อเหนือ) ต่อไป
- พื้นที่ที่ (บ่อเหนือ) แบ่งเป็นพื้นที่ปลูกต้นยูคาลิปตัส 42.52 ไร่ และบ่อกักเก็บน้ำที่ผ่านการบำบัดน้ำเสีย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3. นโยบายของบริษัท

นโยบายคุณภาพ ปี 2547

บริษัท คอร์นโปรดักส์ อำมาต้าส (ประเทศไทย) จำกัด มุ่งมั่นที่จะผลิตผลิตภัณฑ์จากมันสำปะหลังรวมทั้งผลิตภัณฑ์ให้ความหวาน ที่มีคุณภาพตรงต่อความต้องการของลูกค้า สอดคล้องกับกฎหมายที่เกี่ยวข้องและข้อกำหนดของมาตราฐานระบบการบริหารงานคุณภาพ ISO9001:2000 และระบบการจัดการด้านความปลอดภัยของอาหาร ตามมาตราฐานสากล (GMP and HACCP –Codex) โดยให้พนักงานทุกระดับมีส่วนร่วมในการปรับปรุงระบบการบริหารงานคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพอย่างต่อเนื่อง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2
พื้นฐานความรู้เกี่ยวกับอุตสาหกรรมแป้ง

1. การเพาะปลูกมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังมีชื่อภาษาอังกฤษว่า CASSAVA , MANIOC หรือ TAPIOCA เป็นพืชอยู่ในตระกูล *Euphorbiaceae* มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Manihot esculenta Crantz* เป็นไม้พุ่มยืนต้น สูงประมาณ 1-4 เมตร ลำต้นมีสีแตกต่างกันตั้งแต่สีเขียวหม่นถึงสีน้ำตาลแก่ขึ้นกับชนิดของพันธุ์ ใบของมันสำปะหลังจะมีลักษณะเป็นแฉกๆ มีตั้งแต่ 5-9 แฉก สีของใบเป็นสีเขียวเข้ม ดอกเป็นแบบ Panicle มีทั้งดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่บนช่อเดียวกัน

ส่วนที่ถูกใช้เป็นวัตถุดิบในการนำมาสกัดเอาแป้งออกจากเซลล์ของพืช คือ รากของมันสำปะหลังซึ่งมีลักษณะเป็นรากฝอย (Fibrous root system) แต่รากมีจำนวนน้อยเส้นและแผ่กระจายไม่ลึกจากผิวดิน รวมทั้งมีการสะสมอาหารทำให้มีลักษณะโตกว่ารากธรรมดา

มันสำปะหลังมีประมาณ 150 พันธุ์ แต่ละพันธุ์มีลักษณะแตกต่างกันไปทั้งลักษณะภายนอกและปริมาณของกรดไฮโดรไซยานิกซึ่งเป็นส่วนประกอบทางสรีระวิทยาอยู่แล้ว จากการที่ปริมาณของกรดไฮโดรไซยานิกไม่เท่ากันนี้เองจึงแบ่งมันสำปะหลังออกเป็น 2 ชนิด คือ ชนิดขม (Bitter Type) และชนิดหวาน (Sweet Type) โดยชนิดที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตแป้งมันสำปะหลัง คือ ชนิดขม เนื่องจากในรากมีปริมาณแป้งสูง เนื้อหยาบ ไม่เหนียว รสขม เกิดจากกรดไฮโดรไซยานิก ซึ่งมีอยู่ทุกส่วนของแป้งมันสำปะหลัง ในรากมีประมาณ 40-60 มิลลิกรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่ทำให้คนตายได้ แต่ที่เปลือกจะมีปริมาณมากกว่าส่วนเนื้อ อย่างไรก็ตาม กรดนี้จะมีปริมาณลดลงเมื่อต้นมันสำปะหลังอายุมากขึ้นและจะสลายตัวเมื่อได้รับความร้อน ดังนั้น กรดไฮโดรไซยานิกจึงสลายตัวไปในระหว่างกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังด้วย และจะมีอยู่ในปริมาณน้อยมากในวัสดุเศษเหลือที่เกิดจากการผลิต

มันสำปะหลังจะเจริญเติบโตได้ดีในดินที่มีเนื้อหยาบและร่วนซุย มีการระบายน้ำดี โดยส่วนใหญ่เกษตรกรจะเริ่มปลูกในระยะก่อนต้นฤดูฝน เนื่องจากต้นมันสำปะหลังจะงอกและแตกตาดี ให้ผลผลิตสูงเพราะจะได้รับน้ำสม่ำเสมอในฤดูฝน รวมทั้งระยะที่เก็บเกี่ยวได้จะเป็นระยะที่อากาศเริ่มแล้ง การขุดและการขนส่งรากมันสำปะหลังจากไร่ทำได้สะดวกและไม่เปลืองค่าใช้จ่ายมาก

การปลูกมันสำปะหลังจะใช้ลำต้นที่มีอายุประมาณ 1 ปี ตัดเป็นท่อนยาวประมาณท่อนละ 6-8 นิ้ว โดยระยะห่างของหลุมปลูกและแถวปลูกที่เกษตรกรนิยมปฏิบัติมี 3 ระยะ คือ ระยะ 1.0 x 0.7 เมตร ระยะ 0.9 x 0.7 เมตร และระยะ
1.0 x 1.0 เมตร

กรมวิชาการเกษตรได้ทำการศึกษาผลผลิตของมันสำปะหลังที่อายุแตกต่างกัน พบว่ารากมันสำปะหลังที่มีอายุ 6เดือน จนถึงอายุ 18 เดือน มีเปอร์เซ็นต์แป้งในระดับที่ใกล้เคียงกัน แต่ผลิตต่อไร่จะมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยเมื่อต้นมันสำปะหลังมีอายุมากขึ้นผลผลิตต่อไร่ก็จะเพิ่มขึ้นด้วย อย่างไรก็ตาม กรมวิชาการเกษตรเสนออายุเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม คือ 12 เดือน เพราะเปลือกของรากมันสำปะหลังยังไม่แข็ง คุณภาพดี และสามารถปลูกรุ่นต่อไปได้ทันทีในฤดูที่เหมาะสมอีกด้วย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

โดยเฉลี่ยแล้วส่วนประกอบในรากมันสำปะหลัง มีดังนี้

- น้ำ 60-70 %
- แป้ง 20-30 %
- โปรตีน 1 %
- เยื่อใย 2 %
- ไขมันและน้ำมัน 1 %
- เถ้า 0.9-2.4 %
- กรดไฮโดรไซยานิก 0.02 %

ในปัจจุบันน้ำทิ้งหลังผ่านการบำบัดแล้วจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังบางส่วนจะถูกนำไปใช้ในการเพาะปลูกพืชไร่ต่างๆ ได้แก่ มันสำปะหลัง อ้อย และข้าวโพด เป็นต้น

ลักษณะที่สำคัญทางอุตสาหกรรม

ลักษณะที่สำคัญทางอุตสาหกรรมของมันสำปะหลัง คือ องค์ประกอบต่างๆที่มีอยู่ในหัวมันสำปะหลัง ซึ่งกล่าวถึงสิ่งสำคัญที่สุด 4 องค์ประกอบ คือ ปริมาณแป้ง ปริมาณไซยาไนด์ ปริมาณเปลือก (เยื่อใย) และสารประกอบที่ทำให้เกิดสีในเนื้อแป้ง

1.) **ปริมาณแป้ง**

ในขณะที่ประเทศผู้ปลูกมันสำปะหลังรายใหญ่ๆ เช่น บราซิล อินโดนีเซีย และประเทศในทวีปแอฟริกา บริโภคมันสำปะหลังเป็นอาหารและสนใจคุณสมบัติการรับประทานเป็นอาหาร (Organic Cooking Quality) เป็นหลักนั้น ประเทศไทยถือได้ว่าเป็นประเทศที่ใช้มันสำปะหลังในแง่อุตสาหกรรมแป้งและแป้งแปรรูปมากที่สุด ปริมาณแป้งในหัวมันคือปัจจัยที่สำคัญที่สุดขององค์ประกอบทั้งหมด ปริมาณแป้งในหัวมันสำปะหลังพันธุ์ต่างๆที่มีอยู่ประมาณ 14-28%

ปัจจุบันมีการพยายามที่จะให้เกษตรกรเปลี่ยนแปลงพันธุ์ โดยปลูกพันธุที่เหมาะสมมีปริมาณแป้งและผลผลิตที่สูง โดยทั่วไปหัวมันที่มีอายุมากขึ้นจะมีปริมาณแป้งสูงขึ้น จากการศึกษาพบว่าพันธุ์ อายุ และสิ่งแวดล้อมมีผลต่อคุณภาพของแป้ง เช่น ปริมาณน้ำฝน ช่วงเวลาในการเก็บเกี่ยว ดังนั้นในการนำหัวมันสำปะหลังมาแปรรูปเป็นแป้งจำเป็นต้องมีกาตรวจสอบหรือควบคุมการเก็บเกี่ยวด้วย

2.) **ปริมาณไซยาไนด์**

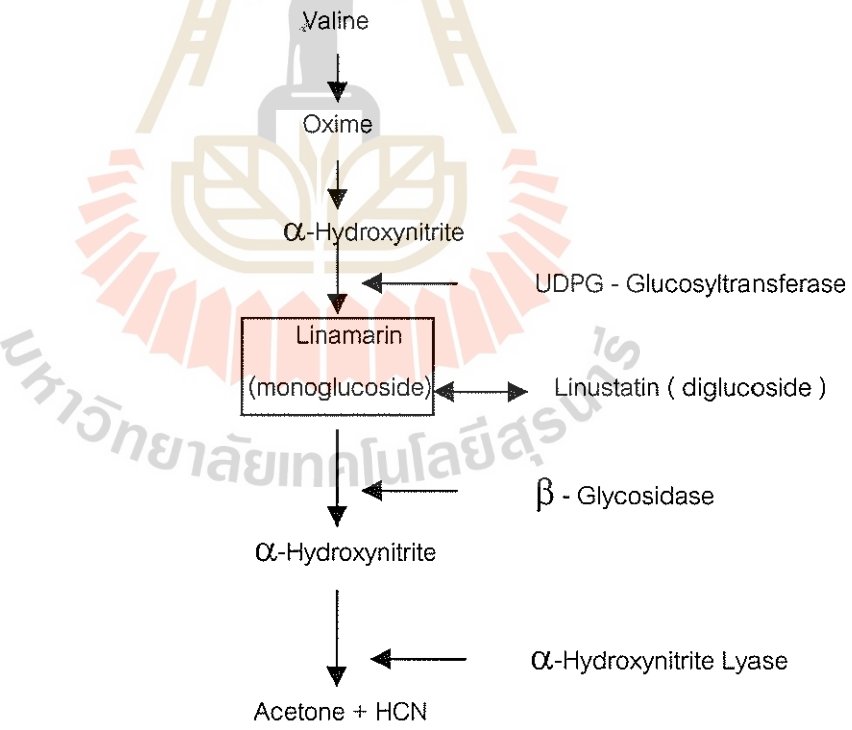
ไซยาไนด์เป็นสารพิษที่พบในพืชกว่า 3,000 ชนิด รวมทั้งมันสำปะหลังด้วย ไซยาไนด์ในมันสำปะหลังถูกสร้างขึ้นจากกรดอะมิโน 2 ตัว คือ แวลีน (Valine) และไอโซลิวซีน (Isoleucine) การสังเคราะห์จากแวลีนจะได้เป็นไกลโคไซด์ (glycoside) ของแอซีโตนไซยาโนไฮดริน (acetone cyanohydrin) เรียกว่า ลินามาริน (linamarin หรือ 2-hydroxy isobutyronitrile-β-D-glycoside) ถ้าสังเคราะห์จากไอโซลิวซีนจะได้โลทอสตราลิน (Lotaustralin หรือ 2-hydroxy-2-methybutyronitrile-b-β-D-glycoside)ซึ่งเป็นไกลโคไซด์ของเมทิลเอทิลคีโตนไซยาโนไฮดริน (methylethyl ketone cyanohydrin) ในมันสำปะหลังจะมีลินามารินอยู่ 93 ส่วน และทอสตราลินอยู่ 7 ส่วน สารประกอบที่สังเคราะห์ได้นี้ จะอยู่ในเนื้อเยื่อของพืช เมื่อเนื้อเยื่อพืชถูกทำลายจะมีการสลายตัวของสารประกอบนี้โดยกระบวนการไฮโดรไลซิสของน้ำย่อยลินามาเรส (Linamarase) และน้ำย่อยออกซีไนตริเลส (Oxynitrilase) หรือไฮดรอกซีไนไทรต์ไลเอส (Hydroxynitrite lyase) ย่อยสลายจนได้กรดอะมิโนและกรดไฮโดรไซยานิก ปรากฏการณ์ที่พืชสามารถปล่อยกรดไฮโดร

ไซยานิกออกมานี้ เรียกว่า ไซยาโนเจเนซิส(cyanogenesis) ซึ่งเป็นที่เข้าใจว่าเป็นการป้องกันตนเองของพืชจากการถูกทำร้ายโดยสัตว์หรือแมลง

ในปัจจุบันยังไม่มีรายงานว่ามีมันสำปะหลังพันธุ์ที่ปราศจากกรดไฮโดรไซยานิก (HCN)เลย โดยทั่วไปปริมาณ HCN ในหัวมันสำปะหลังมีตั้งแต่ 14-400 มิลลิกรัม/กิโลกรัม แบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มที่ไม่มีพิษ (Innocuous) คือ หัวมันที่มีปริมาณ HCN อยู่น้อยกว่า 50 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัมหัวมันที่ปอกเปลือก
2. กลุ่มที่มีพิษปานกลาง (Moderately poisonous) คือ หัวมันที่มีปริมาณ HCN อยู่ตั้งแต่ 50 - 100 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัมหัวมันที่ปอกเปลือก
3. กลุ่มที่มีพิษอันตราย (Dangerous poisonous) คือ หัวมันที่มีปริมาณ HCN อยู่มากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัมหัวมันที่ปอกเปลือก

จากการวิจัยพบว่าอายุการเก็บเกี่ยวมันสำปะหลังมีผลต่อปริมาณไซยาไนด์ในหัวมันสำปะหลัง โดยหัวมันสำปะหลังที่เก็บเกี่ยวในช่วงอายุ 8 - 10 เดือน จะมีปริมาณไซยาไนด์สูง (210 ไมโครกรัม/กรัม) แต่หัวมันสำปะหลังที่เก็บในช่วง 12 เดือน จะมีปริมาณไซยาไนด์ต่ำ คือ 16 ไมโครกรัม/กรัม ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างในระหว่างการเพาะปลูกและการเก็บเกี่ยว โดยมีรายงานว่า ปริมาณไซยาไนด์ในหัวมันสำปะหลังที่ปลูกในสภาวะแล้งจะมีมากกว่าในหัวมันที่ปลูกในสภาวะที่มีน้ำเพียงพอ ความสมบูรณ์ของแร่ธาตุในดินโดยเฉพาะปริมาณโพแทสซียมจะส่งผลต่อปริมาณไซยาไนด์ในหัวมันด้วยเช่นกัน



ภาพ การสร้างและการย่อยสลายสารประกอบไซยาโนกลูโคไซด์ลินามาริน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.) **ปริมาณเปลือก (เยื่อใย)**

ปริมาณเปลือก ความหนาของเปลือก ถึงแม้ว่าจะเป็นประโยชน์ในการขนส่ง ทนทานต่อการสูญเสียระหว่างการเก็บเกี่ยว แต่เมื่อผ่านกระบวนการผลิตตั้งแต่การชั่งน้ำหนักเพื่อหาปริมาณแป้ง เมื่อผ่านการล้างและยังมีเปลือกและเยื่อใยในเนื้อของตัวมันเองติดอยู่ จะเป็นการเพิ่มปริมาณเยื่อใยหรือกากมัน (Pulp) และจะเพิ่มภาระในการสกัด ลดประสิทธิภาพในการสกัดลง เปลือกมันสำปะหลังประกอบด้วยเนื้อเยื่อในชั้น periderm,schlerenchyma,cortical parenchyma และ phoem

ลักษณะสรีระของหัวมันนั้นเป็นไปตามพันธุ์ การศึกษาลักษณะของการเปลี่ยนแปลงเยื่อใย (รวมทั้งเปลือกและเยื่อ) ในระหว่างการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังพันธุ์ต่างๆจึงจำเป็นต่อการศึกษาวิจัยมาก เพราะเยื่อใยเป็นปัจจัยที่บ่งบอกถึง rasping effect และ rasping energy ของการสกัดในโรงงาน

4.) **สารประกอบที่ทำให้เกิดสีในเนื้อแป้ง**

หัวมันพันธุ์ต่างๆกัน จะมีสีเนื้อที่แตกต่างกัน นอกจากสีขาวยังมีสีขาวนวลจนถึงสีเหลือง ยังไม่มีรายงานการวิเคราะห์หาสารประกอบสีหรือการสร้างและการเปลี่ยนแปลงตามอายุของหัวมันต่างๆ ที่เกิดสีของพันธุ์ที่มีในประเทศไทย มีรายงานถึงการเปลี่ยนแปลงหลังเก็บเกี่ยวแล้ว พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงชัดเจนที่ parenchyma พบสารประกอบพวก phenolic,ieucoanthocyanin และ coumain ในขณะนี้พบสารเหล่านี้น้อยมากในหัวมันสด

ลักษณะของสีที่มาจากพันธุ์หรือมาจากการเปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยวในเนื้อมัน จะมีผลอย่างยิ่งต่อกระบวนการผลิต แม้ว่าสีเหล่านั้นจะเป็นพวกละลายน้ำได้ก็ตาม โอกาสของการพัฒนาพันธุ์ในอนาคตสำหรับมันสำปะหลังเพื่ออุตสาหกรรมนั้นควรจะมีเนื้อมันสีขาว และเมื่อเก็บเกี่ยวก็ยังมีสีขาวอยู่ได้เป็นเวลานานพอควร เพื่อให้ได้แป้งมันสำปะหลังที่มีคุณภาพดีต่อไป

2. แป้ง (starch)

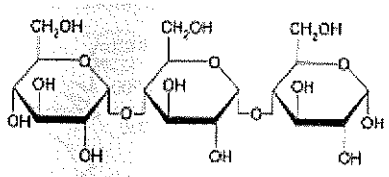
แป้ง เป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสและเป็นโฮโมพอลิเมอร์แซ็กคาไรด์ชนิดหนึ่งที่พบมากในพืช ที่ได้จากการสังเคราะห์แสง พืชเก็บสะสมสตาร์ชไว้ตามส่วนต่างๆ เช่น หัว ราก เมล็ด ลำต้น และผล โดยรวมตัวกันอยู่เป็นเม็ดแป้ง แป้งเป็นสารอาหารที่ให้พลังงานที่สำคัญที่สุดแก่มนุษย์

แป้งส่วนใหญ่ได้มาจากเมล็ดของธัญพืช เช่น ข้าวเจ้า ข้าวโพด ข้าวลี ข้าวฟ่าง และบางส่วนได้มาจากหัวและรากของพืช เช่น มันเทศ มันฝรั่ง และมันสำปะหลัง แป้งที่ได้จากพืชแต่ละชนิดจะมีลักษณะเฉพาะ คือ มีโครงสร้างทางเคมีในโมเลกุลที่แตกต่างกัน และเม็ดแป้งจะมีขนาดรูปร่าง และสมบัติทางกายภาพแตกต่างกันด้วย

โครงสร้างของเม็ดแป้ง

ภายในเม็ดแป้งประกอบด้วยพอลิเมอร์กลูแคน 2 ชนิดผสมกันคือ อะไมโลส (amylose) และอะไมโลเพกติน (amylopectin)

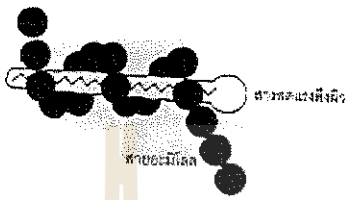
อะไมโลส (amylose) เป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นที่ประกอบกลูโคสประมาณ 2,000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก(glucosidic linkage) ชนิด α-(1→4) ซึ่งเป็นสายยาวที่มีขนาดใหญ่มาก ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 โครงสร้างของอะไมโลส

อะไมโลสไม่ละลายน้ำ แต่เมื่อเติมน้ำลงไป อะไมโลสจะเกาะตัวกันเป็นตะกอนที่ไม่ละลาย และเนื่องจากโมเลกุลของของอะไมโลสเป็นสายยาว จึงมีโอกาสที่จะจับคู่กับอะไมโลสอีกโมเลกุลหนึ่งด้วยพันธะไฮโดรเจนหลายเป็นตาข่ายมีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้มีความสามารถอุ้มน้ำลดลงและตกตะกอนได้

อะไมโลสสามารถจับกับไอโอดีน โดยจะพันเป็นเกลียว (helical structure) รอบๆไอโอดีน ได้สารประกอบเชิงซ้อน amylase-iodine complex มีสีน้ำเงิน สีที่เกิดขึ้นจะผันแปรตามความยาวของสายอะไมโลส และจำนวนเกลียวของสายอะไมโลสซึ่งใช้เป็นลักษณะเฉพาะของอะไมโลสดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ภาพจำลองการจับตัวของอะไมโลสกับสารอินทรีย์

อะไมโลเพกติน (amylopectin) เป็นโฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในเม็ดแป้ง มีโครงสร้างของโมเลกุลเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสที่มีสายแขนงแยกออกมา อะไมโลเพกตินจึงมีทั้งพันธะ α-(1→4) และ α-(1→6) โดยปกติอะไมโลเพกตินมีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่าอะไมโลสมาก และทำปฏิกิริยากับไอโอดีนได้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีแดง

ตารางที่ 1 สมบัติของอะไมโลสและอะไมโลเพกติน

สมบัติ	อะไมโลส	อะไมโลเพกติน
โครงสร้างโมเลกุล	สายยาว	สายแขนง
การเกิดสีกับไอโอดีน	สีน้ำเงิน	สีแดง
การดูดกลืนแสงของ iodine complex	650 ไมโครเมตร	540 ไมโครเมตร
Iodine affinity	19 – 20 %	< 1 %
จำนวนน้ำตาลกลูโคสในสาย	100 – 10,000	20 – 30
จำนวนน้ำตาลกลูโคสในโมเลกุล	100 – 10,000	10,000 – 100,000
ความสามารถในการละลายน้ำ	ไม่ละลายน้ำ	ละลาย
ความคงตัวในสารละลาย	เกิดรีโทรเกรเดชัน	คงตัว
การเปลี่ยนเป็นน้ำตาลมอลโทส โดย β-amylase	70 %	55 %

(ที่มา : Manners, 1979)

คุณสมบัติของแป้ง

- เป็นแหล่งสะสมพลังงานของพืช และเป็นสารอาหารที่ให้พลังงานแก่สัตว์
- ไม่มีรสหวาน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

- ไม่ละลายในน้ำเย็นแต่จะพองตัวได้เป็นสารละลายข้นหนืดในน้ำร้อนและกลายเป็นเจล
- เมื่อเม็ดแป้งกระจายกระจายตัวในน้ำร้อน และนำไปทำให้ร้อน เม็ดแป้งจะดูดน้ำทำให้พองตัวออกมีขนาดใหญ่ขึ้น และเกิดเจลาติไนเซชันได้เป็นสารละลายที่มีความข้นหนืด และเมื่อปล่อยให้เย็นจะเกิดเป็นเจลจึงใช้เป็นสารเพิ่มความหนืดให้แก่ผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิด จะเกิดการตกตะกอน เรียกว่า รีโทรเกรเดชัน
- แป้งที่ถูกไฮโดรไลซ์เพียงบางส่วนจะได้เป็นเดกซ์ตริน แต่ถ้าเกิดการไฮโดรไลซิสอย่างสมบูรณ์จะได้น้ำตาลมอลโตสและกลูโกส

ตารางที่ 2 Functional properties ของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสแป้ง

สมบัติที่ได้เมื่อเกิดไฮโดรไลซิสมาก	สมบัติที่ได้เมื่อเกิดไฮโดรไลซิสน้อย
ความหวานเพิ่มขึ้น	มีความหนืด
ดูดความชื้นมากขึ้น	มีปริมาณเนื้อ
จุดเยือกแข็งลดลง	ทำให้โฟมคงตัว
เพิ่มรสชาติ	ป้องกันไม่ให้น้ำตาลตกผลึก
เกิดการหมัก	ป้องกันไม่เกิดผลึกน้ำแข็ง
เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล	ไม่เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล

(ที่มา : Bemiller และ Whistler , 1996)

การย่อยสลายแป้ง

การผลิตสารให้ความหวานที่ได้จากการย่อยแป้ง ทำได้โดยการใช้เอนไซม์ย่อยแป้ง ซึ่งขอกล่าวถึงเอนไซม์ที่ใช้ย่อยแป้งเพียง 3 ชนิด ดังนี้

- α-Amylase เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลาย α-1,4 glycosidic bond ในโมเลกุลของแป้ง เป็นเอนไซม์จำพวก endo-splitting enzyme แต่ไม่ย่อย α-1,6 glycosidic bond ของอะไมโลเพกติน เมื่อโมเลกุลของแป้งถูกย่อยสลายเกิดเป็นโมเลกุลเล็กลงเรียกว่า เดกซ์ตริน และจะไม่เกิดสีน้ำเงินเมื่อทำปฏิกิริยากับไอโอดีน
- β- Amylase เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลาย α-1,4 glycosidic bond จาก nonreducing end ในโมเลกุลของแป้ง จึงจัดเป็นเอนไซม์จำพวก exo-splitting enzyme ทำให้ได้มอลโทสซึ่งมีโครงสร้างในรูป β ไม่สามารถย่อย α-1,6 glycosidic bond ของอะไมโลเพกตินได้
- Glucoamylase พบได้ในเชื้อราและแบคทีเรีย เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลาย α-1,4 glycosidic bond จาก nonreducing end และยังสามารถย่อย α-1,6 glycosidic bond ของอะไมโลเพกตินได้ แต่ด้วยอัตราที่ช้า จัดเป็นเอนไซม์จำพวก exo-splitting enzyme เช่นเดียวกับ β- Amylase

3. จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมแป้ง

อาหารของเรามักจะถูกจุลินทรีย์ใช้เป็นแหล่งอาหารเพื่อการเจริญเพิ่มจำนวน เป็นผลทำให้อาหารนั้นเสื่อมคุณภาพลงเพราะการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์จะมีการนำเอาสารอาหาร การเปลี่ยนแปลงของอาหารเกิดขึ้นโดยการ

กระทำของเอนไซม์ เป็นผลทำให้อาหารมีกลิ่นรสและลักษณะเปลี่ยนไปในทางที่ไม่ต้องการเพราะมีการสลายตัวหรือการสังเคราะห์สารประกอบเกิดขึ้นทำให้อาหารนั้นเสียได้ โดยจุลินทรีย์จะมีกิจกรรมในการเปลี่ยนสารประกอบคาร์บอน ไนโตรเจน และกำมะถันให้เปลี่ยนรูปจากสภาพรีดิวส์ไปอยู่ในสภาพออกซิไดซ์ เพื่อป้องกันมิให้อาหารเปลี่ยนสภาพไป เราจึงต้องพยายามป้องกันไม่ให้อาหารปนเปื้อนกับจุลินทรีย์ หรือขจัดจุลินทรีย์ออกจากอาหารของเรามากที่สุด หรืออย่างน้อยที่สุด ทำให้สภาพของอาหารไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนมา

รา (Molds)

ลักษณะทั่วไปของรา

รา เป็นคำที่เรียกฟังไจ(fungi) ที่มีลักษณะเป็นเส้นสายประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์ เมื่อเจริญในอาหารจะเห็นมีลักษณะคล้ายปุยฝ้าย ส่วนใหญ่จะมีสีขาวแต่บางทีก็มีสีสด หรือมีสีหม่นๆ จนถึงดำได้ สีของสปอร์จะแสดงถึงการเจริญเต็มที่ของราบางชนิด ซึ่งทำให้ที่เจริญมีสีเพียงบางส่วนหรือทั้งหมด

ราแบ่งออกเป็น 2 พวก คือ

1. ราชนิดที่สมบูรณ์ (Perfect molds) เป็นราที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ซึ่งจะได้สปอร์ชนิดอาศัยเพศเกิดขึ้น ได้แก่ Oomycetes หรือ Zygomycetes ถ้าเป็นพวกนอนเซพเทต และ Ascomycetes หรือ Basidiomycetes ถ้าเป็นราพวกเซพเทต
2. ราชนิดทีไม่สมบูรณ์ (Imperfect molds) เป็นราที่พบว่ามีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเพียงอย่างเดียว หรือยังไม่พบว่ามีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ได้แก่ Fungi imperfecti ซึ่งมีแต่สปอร์ชนิดไม่อาศัยเพศ

ลักษณะการเจริญของรา

ลักษณะของราที่ปรากฏเมื่อเจริญในอาหารบางชนิดจะมีลักษณะการเกาะกันของไมซีเลียมเป็นแบบหลวมๆ มองเห็นเป็นปุย แตบางชนิดไมซีเลียมจะเกาะกันแน่น บางชนิดมีลักษณะคล้ายกำมะหยี่อ่อนนุ่ม ในขณะที่บางชนิดมีลักษณะคล้ายแป้งฝุ่น และบางชนิดเปียกและเหนียวคล้ายเจลลาติน ขนาดของโคโลนี (colony) ของราบางชนิดค่อนข้างจำกัด แต่บางชนิดเจริญขยายขนาดไปได้เรื่อยๆ จนเต็มภาชนะ โคโลนีของราบางชนิดก็มีลักษณะเป็นวงๆ เช่น *Aspergillus niger* ไมซีเลียมของราอาจจะมีสี แดง ม่วง เหลือง น้ำตาล เทาดำ เป็นต้น เช่นเดียวกับสปอร์ชนิดไม่ใช้เพศมีสีเขียว เขียวแกมน้ำเงิน เหลือง ส้ม ชมพู ม่วง น้ำตาล เทาดำ และลักษณะของราที่ปรากฏให้เห็นที่ก้นจานเพาะเชื้อก็จะแปลกไปอีก เช่น *Cladosporium* จะมีสีน้ำเงินเกือบดำ และสีดำแกมเขียว

ลักษณะทางสรีระวิทยา

ราต้องการปัจจัยหลายอย่างในการเจริญ ได้แก่

1. **ความชื้น** ตามปกติราต้องการความชื้นน้อยกว่ายีสต์และแบคทีเรีย ถ้าความชื้นในอาหารต่ำกว่าร้อยละ 14 ถึง 15 เช่น ในแป้ง เมล็ดพืช และในอาหารแห้งต่างๆ จะสามารถป้องกันหรือยับยั้งการเจริญของราได้
2. **อุณหภูมิ** ราส่วนใหญ่จะเป็นพวก mesophiles อุณหภูมิที่เหมาะสมจะประมาณ 25-30^{0}C มีราส่วนหนึ่งที่เป็นพวก psychrophiles คือเจริญได้ดีที่อุณหภูมิเท่าในตู้เย็น และมีราไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่เป็นพวก thermophiles โดยต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมค่อนข้างสูง
3. **ออกซิเจนและพีเอช** ราเป็นพวกที่ต้องออกซิเจนในการเจริญและสามารถเจริญได้ในช่วงพีเอชกว้างคือตั้งแต่2-8.5 แต่ส่วนใหญ่แล้วจะชอบพีเอชที่ค่อนข้างเป็นกรด
4. **อาหาร** ราสามารถใช้อาหารได้หลายชนิดราทั่วไปมักจะมีเอนไซม์พวกไฮโดรไลทิกหลายชนิด และบ้างก็มีเอนไซม์อะไมเลส เพกทิเนส และไลเปส

ยีสต์ (Yeasts)

ลักษณะทั่วไปของยีสต์

ยีสต์เป็นฟังไจที่อยู่ในแอสโคไมซิทิสที่ไม่มีการเจริญแบบเส้นสาย แต่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ มีรูปร่างเป็นรูปไข่หรือกลม ส่วนใหญ่ยีสต์จะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ ซึ่งการแตกหน่ออาจจะเกิดขึ้นได้ที่ทุกส่วนของเซลล์หรือเกิดได้เฉพาะที่ขั้วของเซลล์เท่านั้น ยีสต์มีทั้งประโยชน์และโทษ กระบวนการหมักของยีสต์มีความสำคัญทางด้านอุตสาหกรรมของอาหารหลายอย่าง เช่น ขนมปัง เบียร์ ไวน์ น้ำส้มสายชู ในทางตรงกันข้ามยีสต์จะเป็นโทษเนื่องจากเป็นตัวทำให้อาหารหลายชนิด

ลักษณะการเจริญของยีสต์

การเจริญของยีสต์บนอาหารไม่มีประโยชน์ในการวิเคราะห์ชนิดของยีสต์มากนัก แม้ว่าการเจริญของยีสต์บนผิวหน้าของอาหารเหลวจะบอกได้ว่าเป็นออกซิเดทีฟหรือฟิล์มยีสต์ก็ตาม เป็นการยากที่จะแยกลักษณะโคโลนีของยีสต์กับแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อออกจากกันด้วยตาเปล่าได้ จึงจำเป็นต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ตรวจดูเท่านั้น โคโลนีของยีสต์ที่มีอายุน้อยจะขึ้นมากหรือเป็นเมือก ส่วนใหญ่จะมีสีขาว ครีมและชมพู บางโคโลนีเมื่ออายุมากขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย ในขณะที่บางโคโลนีจะเริ่มแห้งและย่น

ลักษณะทางสรีระวิทยา

1. **ความชื้น** ยีสต์มีความต้องการความชื้นน้อยกว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่ แต่อย่างไรก็ตามยีสต์ต้องการความชื้นมากกว่ารา

2. **อุณหภูมิ** ยีสต์เจริญในช่วงอุณหภูมิเดียวกันกับรา ช่วงที่เหมาะสมอยู่ที่ 25-35 ^{0}C และอุณหภูมิขั้นสูงที่เจริญได้คือ 35-47 ^{0}C ยีสต์บางชนิดเจริญได้ที่ 0 ^{0}C

3. **ออกซิเจนและพีเอช** ยีสต์เจริญได้ดีที่พีเอช 4-4.5 และเจริญได้ไม่ดีในอาหารที่เป็นด่าง การเจริญในสภาวะที่มีออกซิเจนจะเป็นไปได้ดีมาก ในขณะที่พวกเฟอร์เมนเททีฟจะเจริญอย่างช้าๆในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน

4. **อาหาร** ยีสต์อาหารที่มีไนโตรเจนเป็นแหล่งของไนโตรเจนได้หลายอย่าง เช่น แอมโมเนีย ยูเรีย กรดอะมิโน จนถึงโพลีเปปไทด์ นอกจากนี้ยีสต์ยังต้องการสารช่วยในการเจริญบางอย่างด้วย

แบคทีเรีย (Bacteria)

ลักษณะทั่วไปของแบคทีเรีย

รูปร่างของแบคทีเรียแบ่งเป็น 3 แบบด้วยกัน แต่ชนิดที่มีความสำคัญทางอาหารมักจะเป็นรูปกลมและรูปท่อน โครงสร้างของแบคทีเรียที่สำคัญ ได้แก่

- **แคปซูล** (capsule) การสร้างแคปซูลหรือสารเมือกของแบคทีเรียทำให้อาหารมีลักษณะเป็นเมือกลื่น หรือเป็นยางเหนียว นอกจากนี้การสร้างแคปซูลยังช่วยเพิ่มความต้านทานต่อสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมอีกด้วย

- **เอนโดสปอร์** (endospore) เอนโดสปอร์เกิดขึ้นภายในเซลล์ สามารถหักเหแสงและต้านทานความร้อน แสงอุลตร้าไวโอเล็ต และความแห้งได้ดี

- **การจับกลุ่มของเซลล์** เป็นลักษณะเฉพาะตัวของแบคทีเรียบางชนิดอาจจะจับกันเป็นลูกโซ่ หรือเป็นกลุ่มก้อนก็ได้ ทำให้การทำลายแบคทีเรียทำได้ลำบากขึ้นกว่าการทำลายเซลล์ที่อยู่เดี่ยวๆ

ลักษณะการเจริญของแบคทีเรีย

การเจริญของแบคทีเรียในอาหารจะทำให้อาหารไม่น่ารับประทาน แบคทีเรียบางชนิดจะมีสีทำให้สีของอาหารเปลี่ยนไป หรืออาจมีการเจริญเป็นฟิล์มบนอาหารเหลว การเจริญบางทีก็ทำให้อาหารเป็นเมือกที่ผิวหน้าของอาหาร หรือการเจริญในอาหารเหลวอาจทำให้อาหารขุ่นตกตะกอน

ลักษณะทางสรีระวิทยา

การเจริญและการมีกิจกรรมในอาหาร ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของสารเคมีในอาหาร การเปลี่ยนแปลงนี้ได้แก่ การสลายตัวของสารประกอบคาร์โบไฮเดรตไปเป็นน้ำตาล โปรตีนสลายตัวเป็นโพลีเปปไทด์ กรดอะมิโน แอมโมเนีย และเอมีน ไขมันสลายตัวเป็นกรดไขมันกับกลีเซอรอล มีปฏิกิริยาออกซิชัน-รีดักชันของอาหารเกิดขึ้นโดยกิจกรรมของแบคทีเรียเพื่อให้ได้พลังงานออกมา ซึ่งจะได้กรดอินทรีย์ แอลกอฮอล์ อัลดีไฮด์ คีโตน และก๊าซต่างๆด้วย

แบคทีเรียที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่

Pseudomonas spp. แบคทีเรียพวกนี้ติดสีแกรมลบ เคลื่อนที่ได้ มีรูปร่างเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ ลักษณะที่สำคัญบางประการที่สำคัญ คือ

- ความสามารถใช้สารประกอบคาร์บอนที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรตได้หลายชนิดให้ได้พลังงาน
- มีความสามารถในการให้อาหารที่ประกอบด้วยไนโตรเจนชนิดไม่ซับซ้อนได้
- สามารถสังเคราะห์สารช่วยการเจริญและวิตามินได้เอง
- เนื่องจากเป็นพวกแอโรบจึงสามารถเจริญอย่างรวดเร็วและผลิตสารออกซิไดซ์ และสารเมือกบนผิวหน้าของอาหาร
- เจริญได้ดีในอุณหภูมิต่ำ เช่น ในตู้เย็น
- ต้องการความชื้นสูง (0.97-0.98) ถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน
- เจริญได้ไม่ดีในที่มีออกซิเจนน้อย
- เจริญได้ช้าที่อุณหภูมิสูงกว่า 43 ^{o}C

Escherichia พบในอุจจาระของคนและสัตว์ ติดสีแกรมลบ รูปท่อน แยกได้จากลำไส้ของสัตว์เลือดอุ่น และแพร่กระจายทั่วไปในธรรมชาติ เป็นตัวหนึ่งที่อยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม ในสกุลยังแบ่งออกเป็นหลายไบโอไทป์ (biotype) และซีโรไทป์ (serotype) บางชนิดเป็นสาเหตุให้เกิดโรคในคน

Salmonella เป็นเชื้อโรคที่มีผลต่อทางเดินอาหารของคนและสัตว์ ถ่ายทอดไปทางอาหาร

Staphylococcus เป็นพวกที่ย้อมติดสีแกรมบวก เจริญเป็นเซลล์เดี่ยวๆหรือเป็นคู่ หรือเกาะกันเป็น 4 เซลล์ หรือเกาะกลุ่มกันคล้ายพวงองุ่น สปีชีส์ที่สำคัญที่สุด คือ *S. aureus* ซึ่งมักจะสร้างสีเหลืองจนถึงสีส้มในขณะเจริญ แต่บางครั้งก็เป็นสีขาว สปีชีส์ที่สร้างเอนไซม์โคแอกูเลส (coagulase) และทำให้เม็ดเลือดแดงแตกแบบเบตา ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค และบางชนิดยังสร้างเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ซึ่งทำให้อาหารเป็นพิษอีกด้วย

กลุ่มต่าง ๆของแบคทีเรียที่มีความสำคัญทางอาหาร

เทอร์โมฟิลิกแบคทีเรีย (*Thermophilic bacteria*) หรือเทอร์โมฟายล์ (*Thermophiles*) แบคทีเรียเหล่านี้จะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญไม่ต่ำกว่า 45 ^{o}C ปกติจะอยู่ที่ 55 ^{o}C มีความสำคัญในอาหารที่เก็บไว้ในอุณหภูมิสูงได้แก่ *Bacillus spp.* เป็นสาเหตุของการเสียของอาหารกระป๋องแฟลตซาวร์ และ Clostridium thermosaccharolyticum ทำให้อาหารกระป๋องเสียชนิดมีก๊าซ ส่วน Lactobacillus thermophilus เป็นพวกออฟลิเกตเทอร์โมฟิลิกแล็กทิกแอสิดแบคทีเรีย

กลุ่มไซโครฟิลิกแบคทีเรีย (*Psychrophilic bacteria*) **หรือไซโครฟายล์** (*Psychrophiles*) แบคทีเรียเหล่านี้สามารถเจริญที่อุณหภูมิเหนือจุดเยือกแข็งเล็กน้อยทำให้มีความสำคัญในอาหารที่เก็บไว้ในตู้เย็น มักจะพบเสมอว่าไซโครฟิลิกแบคทีเรียอยู่ในสกุล *Pseudomonas* , *Flavobacterium* และ *Alcaligenes* แม้ว่าในสกุล *Lactobacillus* , *Enterobacter* , *Arthrobacter* และอื่นๆ จะมีไซโครฟายล์รวมอยู่ด้วย

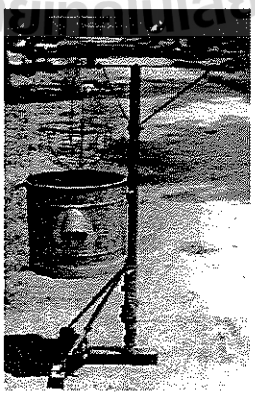
โคลิฟอร์ม (*Coliform bacteria*) แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นพวกที่มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น เป็นแบคทีเรียพวกที่เป็นทั้งแอโรบิก ฟาคัลเททีฟ และแอนแอโรบิกแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ ซึ่งจะสลายน้ำตาลแล็กโทสแล้วให้ก๊าซ สปีชีส์หลักของกลุ่มโคลิฟอร์ม ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Enterobacter aerogenes* เนื่องจาก *E.coli* มีถิ่นอาศัยอยู่ที่ลำไส้ และ *E. aerogenes* พบเสมอในพืช แบคทีเรียทั้ง 2 สปีชีส์แตกต่างกัน คือ *E.coli* จะผลิตกรดจากการสลายกลูโคสในอาหารเหลวมาก ซึ่งแสดงให้เห็นได้จากการเปลี่ยนสีของเมธิลเรด (methyl red) และให้อินโดล แต่ไม่ให้อะซิโทอิน (acetoin = acetyl methyl carbinol) และผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับไฮโดรเจนในอัตราส่วน 1 : 1 ไม่สามารถย่อยซิเทรต (citrate) ไปเป็นแหล่งคาร์บอนได้ ส่วน *E. aerogenes* นั้นจะผลิตกรดปริมาณน้อยกว่าจะเกิดอะซิโทอิน แต่ไม่สร้างอินโดลและจะให้คาร์บอนไดออกไซด์กับไฮโดรเจนในอัตราส่วน 2 : 1 สามารถใช้ซิเทรตเป็นแหล่งคาร์บอนได้ มักจะให้ก๊าซมากกว่า *E.coli* เพราะฉะนั้นจึงเป็นอันตรายต่อการผลิตเนยแข็ง น้ำนมและอาหารอื่นถ้ามีการปนเปื้อนของเชื้อในอาหาร ทั้ง 2 สปีชีส์สลายน้ำตาลแล้วให้กรดแล็กทิก เอธานอล กรดอะซิทิก กรดซักซินิก คาร์บอนไดออกไซด์ และไฮโดรเจน มีโคลิฟอร์มแบคทีเรียจำนวนหนึ่ง มีคุณสมบัติกึ่งกลางระหว่าง *E.coli* กับส่วน *E. aerogenes* การนับจำนวน *E.coli* ในอาหารเป็นที่ยอมรับกันทั่วไป และใช้เป็นตัวชี้บอกถึงความสะอาดของอาหารนั้นๆด้วย พวกโคลิฟอร์มแบคทีเรียมักจะทำให้อาหารไม่น่ารับประทาน

4. กระบวนการผลิตของโรงงาน แบ่งได้ดังนี้

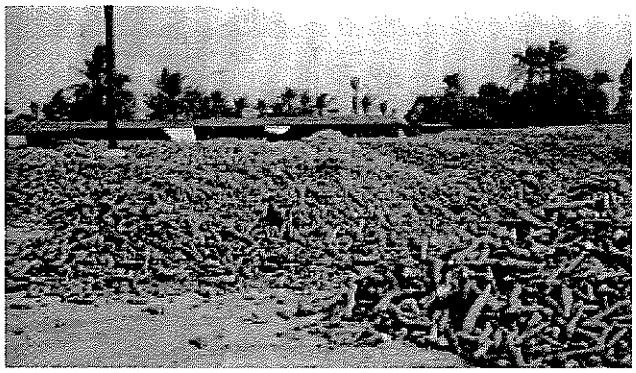
4.1 กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง

การเตรียมวัตถุดิบ

หลังจากมันสำปะหลังถูกส่งมายังโรงงาน ทางโรงงานจะสุ่มตัวอย่างนำมาตรวจวัดความหนาแน่น โดยใช้เครื่องวัดแบบ Reimann scale (ดังรูปที่ 3) เพื่อประมาณปริมาณของแข็งในหัวมันเพื่อตกลงราคาซื้อขาย แล้วนำมาเทไว้บนลาน (ดังภาพที่ 4) เพื่อรอเข้าสู่กระบวนการผลิตต่อไป โดยทั่วไปมันมักจะถูกส่งเข้าสู่กระบวนการผลิตภายใน 24 ชั่วโมง เพื่อป้องกันมิให้ปริมาณแป้งในหัวมันลดต่ำลง การเก็บรักษาหัวมันสดควรจะกระทำในที่ร่มเพื่อป้องกันแสงแดด นอกจากนี้ยังควรแบ่งหัวมันสดเป็นส่วน ๆ ตามระยะเวลาที่ส่งถึงโรงงานที่แตกต่างกันอีกด้วย



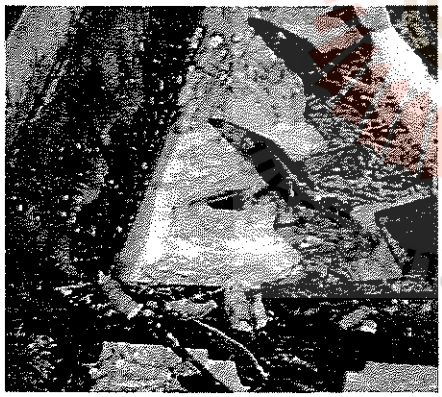
รูปที่ 3 เครื่องมือวัดความหนาแน่นของหัวมัน (Reimann scale)



รูปที่4 ลานกองมันสำปะหลัง

การล้างมันสำปะหลัง (Washing)

เพื่อการกำจัดสิ่งปนเปื้อนที่ติดมากับวัตถุดิบ และ ป้องกันไม่ให้สิ่งปลอมปนทำความเสียหายแก่เครื่องจักรในกระบวนการผลิต เริ่มจากการป้อนหัวมันเข้าสู่กระบวนการผลิต หัวมันจะผ่านสู่ขั้นตอนการล้างทำความสะอาด ด้วยเครื่องล้าง (ดังภาพที่ 5)เพื่อแยกสิ่งปนเปื้อนต่าง ๆ ได้แก่ หิน ทราย ดิน เปลือก โลหะ จากนั้นจึงล้างด้วยน้ำในบ่อล้างให้หัวมันสะอาดยิ่งขึ้น จึงทำการแยกเง้า หัวมันเน่า และส่วนที่ไม่ใช่หัวมันทิ้งที่สายพานลำเลียง (ดังภาพที่ 6) โดยพนักงานสับเง้า



รูปที่ 5 เครื่องล้างหัวมัน

รูปที่ 6 สายพานลำเลียง

การสับและการโม่ (Chopping & Rasping)

หัวมันที่ผ่านการล้างจนสะอาดปราศจากสิ่งเจือปน ปกติจะมีขนาดและรูปร่างที่แตกต่างกัน ทำให้ยากต่อการโม่ จึงจำเป็นต้องผ่านหัวมันเข้าเครื่องสับ (Chopper) เพื่อสับให้หัวมันเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นจึงป้อนมันที่ผ่านการสับเข้าลูกโม่ (Rasper)ชิ้นมันที่มีขนดเล็กจะทำให้ง่ายต่อการโม่ ช่วยให้การโม่เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพได้ pulp ที่ละเอียด

สามารถสกัดแป้งออกจากหัวมันได้มาก ปกติแป้งที่อยู่ในหัวมันตามธรรมชาติเป็นแป้งที่อยู่ภายในเส้นไยที่เรียกว่า Bound Starch ไม่สามารถสกัดเป็นแป้งออกได้ จำเป็นต้องเปลี่ยนแป้งเหล่านี้ให้อยู่ในรูปแป้งอิสระที่เรียกว่า Free Starch เสียก่อนโดยใช้ลูกโม่ที่มีฟันโม่ (Saw blade) ติดอยู่ เมื่อลูกโม่หมุนด้วยความเร็วสูง ฟันโม่บดชิ้นมันจนละเอียด ทำให้เส้นไยแตก แป้งที่อยู่ภายในถูกปล่อยออกมาเป็นแป้งอิสระที่จะนำไปแยกออกในขั้นตอนต่อไป ประสิทธิภาพของการทำงานของลูกโม่ นอกจากขึ้นกับชิ้นมันที่มีขนาดเล็ก ยังขึ้นกับความสมบูรณ์ของฟันโม่ ความเร็วของลูกโม่ ระยะห่างระหว่าง cutter block กับฟันโม่ และปริมาณชิ้นมันที่ป้อนเข้าลูกโม่ ในระหว่างการโม่จะใช้น้ำเข้าช่วยเพื่อละลายแป้ง และเติมน้ำกำมะถัน เพื่อป้องกันการเจริญของแบคทีเรีย และฟอกแป้งให้มีสีขาว ก่อนป้อนสู่กระบวนการผลิต

การสกัดแป้ง (Extraction)

ขั้นตอนนี้เป็นการแยกไฟเบอร์ออกจากแป้ง โดยภายหลังการโม่แป้งจะถูกสกัดออกด้วย Rotary screen ที่อยู่ภายในเครื่องสกัด (Extractor) เครื่องสกัด 1 ชุด จะประกอบด้วย Rotary screen แป้งที่มีขนาด 5-35 μ จะลอดผ่าน Rotary screen ออกไปในขณะที่ไฟเบอร์จะติดอยู่บน Rotary screen พร้อมกันนี้จะมีน้ำฉีดล้างแป้งที่ตกค้างอยู่บนกากและ Rotary screen จนน้ำแป้งมีความเข้มข้นประมาณ 6-7 Be' จากนั้นจึงป้อนสู่ถังเก็บ ก่อนส่งไปยังกระบวนการต่อไป ส่วน pulp ที่ได้จาก Rotary screen ก็จะถูกกำจัดทิ้งไป

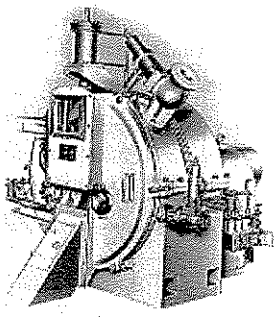
การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำแป้ง (Concentration)

น้ำแป้งจากถังเก็บหลังผ่านเครื่องสกัด ก่อนจะถูกป้อนสู่เครื่องแยก (Separator) จะผ่านน้ำแป้งเข้าเครื่องกรองที่เรียกว่า rotary brush strainer เพื่อแยกเอาสิ่งสกปรกขนาดใหญ่ออกเสียก่อน จึงสามารถส่งน้ำแป้งเข้าเครื่องแยกได้ น้ำแป้งจะถูกทำให้เข้มข้นขึ้นโดยอาศัยแรงเหวี่ยง (Centrifugal force) ที่เกิดจากการหมุนของ blow และ แผ่นดิสค์ เม็ดแป้งซึ่งมีน้ำหนักมากกว่า ก็จะถูกเหวี่ยงไปรวมตัวกัน บริเวณหน้านมหนู (Nozzle) โดยหน้านมหนูจะมีน้ำสะอาดป้อนเข้ามา เพื่อทำความสะอาดแป้ง ก่อนที่แป้งจะไหลผ่านออกไป แป้งที่ได้จะมีความเข้มข้นและสะอาดขึ้น ส่วนน้ำและสิ่งสกปรกที่เบากว่าที่ปะปนเข้ามากับน้ำแป้งตอนต้นรวมถึงไฟเบอร์บางส่วนที่ยังตกค้างมากับน้ำแป้งก็จะไหลออกไปยังอีกทาง

น้ำแป้งข้นที่ออกมาจะถูกปั๊มด้วย De-forming pump เพื่อไล่อากาศ ก่อนะถูกล้างและเจือจางอีกครั้งด้วยน้ำสะอาดและป้อนไปยัง Hydrocyclone ดังภาพที่ 11 การทำงานของ Hydrocyclone ในขั้นนี้เรียกว่า Washing Stage แบ่งเป็น Recovery Stage และ Washing Stage อาศัยหลักการ cyclone ซึ่งภายในจะมี cyclonet ขนาดเล็กจำนวนมากล้างไปมาหลายครั้งจนได้แป้งที่ข้นและสะอาดขึ้น

การทำให้แป้งแห้ง (Drying)

น้ำแป้งจะถูกแยกน้ำออกจากแป้งโดยการใช้เครื่องเซนติฟิวจ์ (centrifuge) แป้งที่ถูกแยกน้ำออกแล้วจะถูกพ่นเข้าสู่ท่อไอร้อนซึ่งมีลมร้อนประมาณ 200^{o}C เป่าด้วยความดันสูง ความแรงของลมจะพัดเอาแป้งขึ้นไปตามปล่องสูงแล้วตกมาสู่ไซโคลน (cyclone) แป้งที่ได้จากไซโคลนจะเป็นแป้งที่แห้งและละเอียดแต่ยังร้อนอยู่ ซึ่งต้องทำให้แห้งทันทีด้วยการใช้ไซโคลนเย็น หลังจากนั้นแป้งมันมีความชื้นอยู่ระหว่าง 12-13 ก่อนจะถูกปล่อยลงสู่เครื่องร่อนแป้ง (Sifter) และทำการบรรจุต่อไป ซึ่งการบรรจุแป้งลงถุงของโรงงานที่มีขนาดเล็กจะใช้ระบบอัตโนมัติ ส่วนโรงงานที่มีขนาดใหญ่จะใช้ระบบอัตโนมัติในการเปิดถุงและบรรจุแป้งลงถุง



รูปที่ 7 เครื่องสลัดแห้ง (centrifugal)

4.2 กระบวนการผลิตกลูโคสไซรัป

น้ำแป้งจะถูกส่งเข้าสู่กระบวนการเตรียมน้ำแป้ง (Starch Preparation) เพื่อปรับสภาพความหนาแน่นและความเป็นกรด-ด่างของน้ำแป้ง ด้วยการเติมกรดและเอนไซม์ จากนั้นจะถูกส่งเข้าสู่หม้อต้ม (Hydroheaters) แบบ Steam jet cookers ซึ่งเอนไซม์จะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำแป้งจากขาวขุ่นให้อยู่ในรูปของเจลาติน โดยจะมีการตรวจวัดระดับการย่อยสลายโครงสร้างแป้ง (Degree of conversion) ในรูปของค่า Dextrose Equivalent (D.E.) ค่า D.E. สูงหมายถึง มีระดับการย่อยสลายโครงสร้างของแป้งสูง (แป้งจะมีค่า D.E. เท่ากับ 0 และเดกซ์โทรสจะมีค่า D.E. เท่ากับ 100) น้ำแป้งในรูปของเจลาติน ที่ได้จะมีค่า D.E. ประมาณ 10 จากนั้นจะถูกส่งต่อไปยังถังพักน้ำเพื่อให้น้ำแป้งเย็นลงและเข้าสู่ขั้นตอนการสะเทิน (Neutralization) โดยการเติมโซดาแอซและเข้าสู่ถังเปลี่ยนโครงสร้างแป้งเป็นน้ำตาล (Saccharification Tank) เพื่อเพิ่มค่า D.E. ให้มีค่าอยู่ในช่วง 20-65 (ขึ้นกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการในแต่ละกระบวนการผลิต)

ของเหลวที่ได้จะส่งต่อไปยังกระบวนการกรอง (Clarification Process) เพื่อแยกสารปนเปื้อนที่ไม่ละลายน้ำออก โดยผ่านการกรองด้วย Clarification Filters (เรียกว่า RVFs หรือ Rotary Vacuum Filters) ตัวกรองแบบหมุน จะถูกปกคลุมบริเวณผิวด้วยสารกรอง Filter Aid (หรือ Diatomaceous Earth) ภายใต้ระบบสูญญากาศ เพื่อดักจับสารปนเปื้อนต่างๆ นอกจากนี้ ยังมีการลดความสามารถในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่หลงเหลืออยู่ด้วยการให้ความร้อนผ่านทางแผ่นแลกเปลี่ยนความร้อน เรียกว่า Heat Kill ทั้งนี้เพื่อป้องกันการย่อยสลายโครงสร้างแป้งทำให้ค่า D.E. เปลี่ยนแปลง ของเหลวที่ผ่านขั้นตอนนี้เรียกว่า Clarified Liquor

Clarified Liquor ที่ได้จะถูกส่งต่อไปยังกระบวนการฟอกสี (Decolorization Process) ผ่านเครื่องกรองทรงกระบอก ที่มีบริเวณผิวโดยรอบทรงกระบอกเป็นแผ่นกรองใยสังเคราะห์ปกคลุมชั้นบางๆ ของถ่านกัมมันต์ไว้ ถ่านกัมมันต์จะทำหน้าที่กำจัดสีและแผ่นกรองจะช่วยดักจับสารปนเปื้อนที่เหลือออกไปอีกครั้ง อย่างไรก็ตามของเหลวที่ได้ยังคงมีสารปนเปื้อนไม่ละลายน้ำที่มีประจุปนอยู่ ดังนั้นจึงทำการกำจัดสารปนเปื้อนอีกครั้งด้วยวิธีการจับประจุบวกและลบเพื่อให้ได้ของเหลวบริสุทธิ์ โดยผ่านเข้าสู่กระบวนการแลกเปลี่ยนไอออน (Ion Exchange Process หรือ Demineralization) ด้วยเรซินชนิดกรดแก่และเรซินชนิดด่างอ่อน ของเหลวบริสุทธิ์ที่ผ่านกระบวนการกรอง กระบวนการฟอกสีและกระบวนการแลกเปลี่ยนไอออนที่ได้ จะนำไปเข้าเครื่องระเหยของกระบวนการระเหย (Evaporation Process หรือ Concentration) เครื่องระเหยภายใต้ระบบสุญญากาศจะถูกนำมาใช้เพื่อป้องกันการเปลี่ยนสีของกลูโคสไซรัป ที่ระเหยจนมีค่าร้อยละของน้ำหนักแห้งเท่ากับ 78 แล้วเข้าสู่ถังพักเพื่อรอให้เย็นลงและเข้าสู่ถังเก็บกลูโคสไซรัปต่อไป

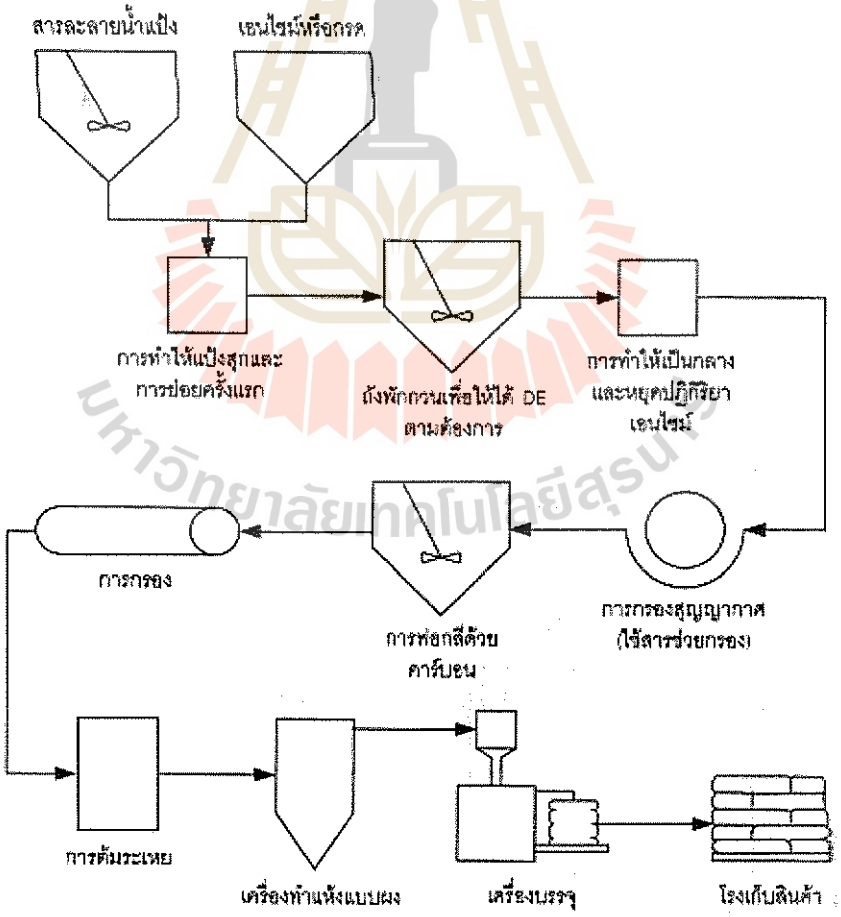
4.3 กระบวนการผลิตมอลโตเดกซ์ทริน

น้ำแป้งจากหน่วยผลิตแป้งของโรงงานจะถูกส่งเข้าสู่กระบวนการผลิตมอลโตเดกซ์ทริน โดยเข้าสู่กระบวนการเตรียมน้ำแป้ง (Starch Preparation) เพื่อปรับสภาพความหนาแน่นและความเป็นกรด-ด่างของน้ำแป้ง ด้วยการเติมกรดและเอนไซม์ จากนั้นจะถูกส่งเข้าสู่หม้อต้ม (Hydroheaters) เพื่อเปลี่ยนลักษณะของน้ำแป้งจากขาวขุ่นให้ใส และให้มีค่า D.E. อยู่ในช่วง < 20 (ขึ้นกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการในแต่ละกระบวนการผลิต)

น้ำแป้งใสจะเข้าสู่กระบวนการกรอง (Clarification Process) เพื่อแยกสารปนเปื้อนที่ไม่ละลายน้ำออก โดยผ่านการกรองด้วย Clarification Filters หรือ Rotary Vacuum Filters ที่มีสารกรอง Filter Aid เคลือบผิวของแผ่นกรอง โดยสารปนเปื้อนที่ถูกจับไว้ที่ผิวของแผ่นกรองจะถูกกวาดออกอย่างต่อเนื่องโดยมีดตัด

Clarified Liquor จะส่งต่อไปยังกระบวนการฟอกสี (Decolorization Process) ด้วยแผ่นกรองคาร์บอน เพื่อฟอกสีของเหลวและกำจัดสารปนเปื้อนที่ยังเหลืออยู่ และเข้าสู่กระบวนการแลกเปลี่ยนไอออน ผ่านเรซินชนิดกรดแก่และด่างอ่อน ของเหลวบริสุทธิ์ที่ผ่านกระบวนการแลกเปลี่ยนไอออนแล้วจะผ่านเข้าสู่กระบวนการระเหยโดยเครื่องระเหยภายใต้ระบบสูญญากาศ จนได้มอลโตเดกซ์ตรินที่มีความเข้มข้นในรูปร้อยละของน้ำหนักแห้งเท่ากับ 76 จากนั้นจะถูกส่งไปยัง Spray Tower เพื่อเปลี่ยนรูปของมอลโตเดกซ์ตรินจากของเหลวให้เป็นผงละเอียด ซึ่งจะมีค่าความเข้มข้นในรูปร้อยละของน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 96

ขั้นตอนการผลิตมอลโตเดกซ์ตริน



4.4 น้ำเสียจากกระบวนการผลิต

น้ำเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตของโครงการ สามารถแบ่งออกได้เป็นดังนี้

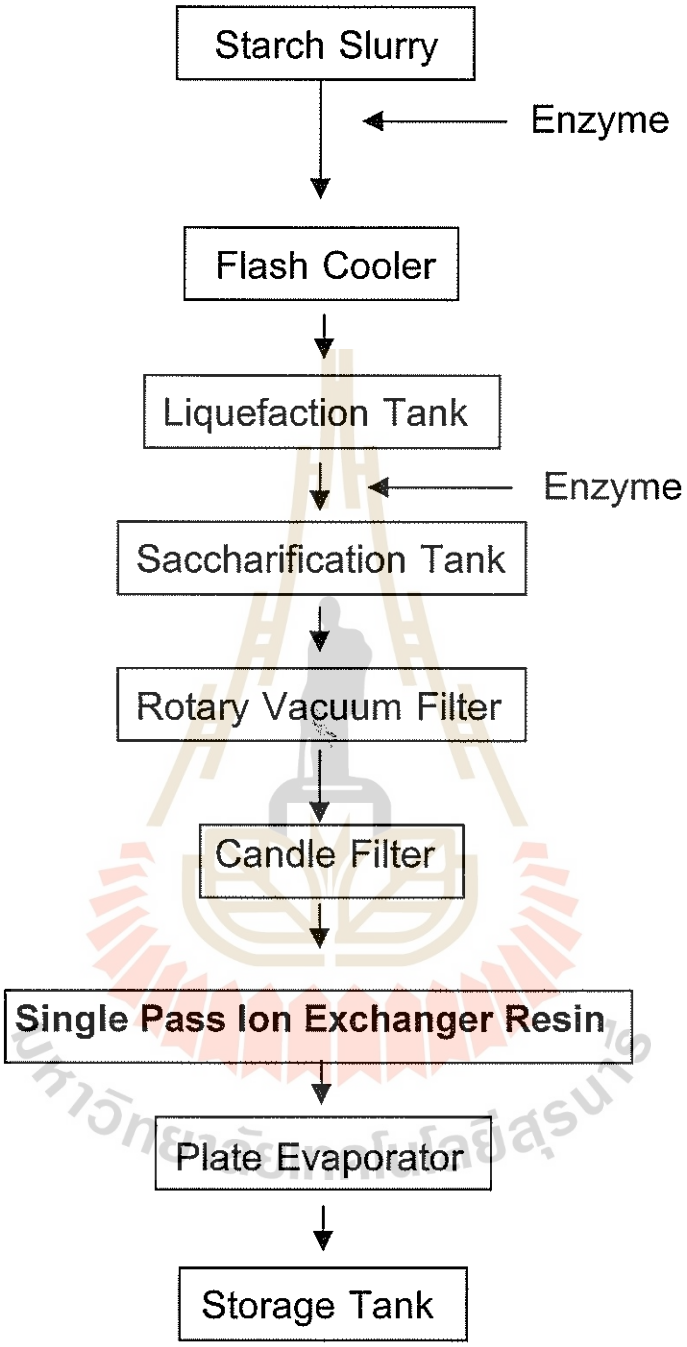
- น้ำเสียจากหน่วยผลิตน้ำแป้ง
- น้ำเสียจากหน่วยกลูโคสไซรัป
- น้ำเสียจากหน่วยมอลโตเดกซ์ตริน

น้ำเสียที่เกิดขึ้นทั้งหมด จะถูกรวบรวมเข้าสู่บำบัดน้ำเสียซึ่งจัดทำเป็นระบบบ่อ มีจำนวน 9 บ่อ ประกอบด้วย บ่อบำบัดแบบไร้อากาศ 1 (Anaerobic Pond 1), บ่อบำบัดแบบไร้อากาศ 2 (Anaerobic Pond 2) ,บ่อบำบัดแบบไร้อากาศ 3 (Anaerobic Pond 3), บ่อบำบัดแบบกึ่งหมัก (Facutative Pond), บ่อเติมอากาศ (Aerated Lagoon), บ่อตกตะกอน (Solid Separation Pond), บ่อขัดแต่ง (Polishing Pond), บ่อบ่ม(Maturation Pond), และบ่อพัก 1 (Holding Pond 1) ตามลำดับ โดยการไหลของน้ำเสียจะไหลตามความลาดเอียงของพื้นที่ เมื่อน้ำเสียผ่านการบำบัดจากระบบบ่อแล้วจะมีค่าบีโอดีลดลงอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรมคือ < 20 mg/l เมื่อน้ำทิ้งผ่านบ่อพัก 1 แล้ว จะไหลตามระดับความลาดเอียงของพื้นที่ไปสู่บ่อกักเก็บซึ่งเป็นบ่อสุดท้าย ซึ่งสามารถเก็บกักน้ำเสียได้นานประมาณ 4 เดือน

น้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดแล้ว บางส่วน จะนำไปใช้รดน้ำต้นไม้ในพื้นที่สีเขียวของโครงการ ต้นไม้ส่วนใหญ่ที่ปลูกจะเป็นต้นยูคาลิปตัส และน้ำบางส่วนจะระเหยกลายเป็นไอตามธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Glucose Refinery Process



บทที่ 3
รายละเอียดการปฏิบัติงาน

วิธีการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์แป้งมันสำปะหลัง,กลูโคสไซรัปและมอลโตเดกซ์ทริน

1. วิธีการวัดค่า Baume

เครื่องมือ

1. Cylinder 250 ml.
2. Hydrometer scale 0-10,10-20,20-30,30-40
3. Thermometer 0-100 °C

วิธีการ

1. เทตัวอย่างลงใน Cylinder 250 ml.จนถึงขอบบน Cylinder
2. เลือก Hydrometer ที่มีช่วงที่เหมาะสมจุ่มลงใน Cylinder ที่มีน้ำเชื่อมหรือน้ำแป้งอยู่
3. ปล่อยไปจนกระทั่ง Hydrometer นิ่งจึงอ่านค่า Baume
4. วัดอุณหภูมิน้ำเชื่อมหรือน้ำแป้ง ขณะที่วัดค่า Baume
5. นำค่า Baume , อุณหภูมิ ที่อ่านได้มาคำนวณค่า Baume Correct ตามตาราง
6. สำหรับการหาค่า DS ในน้ำเชื่อมให้นำค่า Baume Correct ที่ได้มาหาค่า%DS ตามตาราง

2. วิธีการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

เครื่องมือ

1. pH meter
2. Beaker 50 , 250 ml.
3. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
4. กระบอกตวงขนาด 50 มล.

สารเคมี

1. KCl
2. น้ำกลั่น
3. กระดาษทิชชู

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 แป้งแห้ง

ชั่งตัวอย่าง 50 กรัม เติมน้ำกลั่น 245 มล. คนแป้งให้เข้ากัน

1.2 กลูโคสซีรัป

ชั่งตัวอย่าง 30 กรัม เติมน้ำกลั่น 30 มล. คนให้ละลายเข้ากัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1.3 มอลโตเด็กซ์ตริน

ชั่งตัวอย่าง 20 กรัม เติมน้ำกลั่น 400 มล. คนให้ละลายเข้ากัน

2. การวัดค่า

1.4 นำตัวอย่างที่เตรียมเสร็จแล้วมาวัดค่า โดยล้าง Electrode ด้วยน้ำกลั่นและซับหัว Electrode ด้วยกระดาษทิชชูให้แห้งก่อนที่จะนำไปจุ่มในตัวอย่าง

1.5 อ่านค่า pH ที่ได้แล้วบันทึกผล

3. วิธีการวิเคราะห์ค่า Conductivity (CD)

เครื่องมือ

1. Conductivity meter
2. Beaker 50 , 250 ml.
3. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
4. กระบอกตวงขนาด 50 มล.

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง

1.1 แป้งแห้ง

ชั่งตัวอย่าง 50 กรัม เติมน้ำกลั่น 245 มล. คนแป้งให้เข้ากัน

1.2 กลูโคสซีรัป

ชั่งตัวอย่าง 30 กรัม เติมน้ำกลั่น 30 มล. คนให้ละลายเข้ากัน

1.3 มอลโตเด็กซ์ตริน

ชั่งตัวอย่าง 20 กรัม เติมน้ำกลั่น 400 มล. คนให้ละลายเข้ากัน

2. การวัดค่า

2.1 นำตัวอย่างที่เตรียมเสร็จแล้วมาวัดค่า โดยล้าง Electrode ด้วยน้ำกลั่นและซับหัว Electrode ด้วยกระดาษทิชชูให้แห้งก่อนที่จะนำไปจุ่มในตัวอย่าง

2.2 อ่านค่า CD ที่ได้แล้วบันทึกผล

4. วิธีการตรวจวัดค่าซัลเฟอร์ไดออกไซด์

เครื่องมือ

1. Auto Burette 25 ml.
2. Erlenmeyer flask 125 ml. หรือ 250 ml.
3. Cylinder 100 ml.
4. Beaker 250 ml.
5. กระดาษกรองเบอร์ 1 : 180 mm.

สารเคมี

1. 1%Starch indicator

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2. 0.005N I_2
3. น้ำกลั่น

วิธีการตรวจสอบ

1. วิธีการหาซัลเฟอร์ในแป้งแห้ง
   1.1 ชั่งแป้ง 50 กรัม เติมน้ำกลั่น 245 มล. คนให้ละลายเข้ากัน
   1.2 กรองผ่านกระดาษกรอง
   1.3 นำส่วนใสมา 100 มล.
   1.4 เติม 9N H_2SO_4 5 มล.
   1.5 เติมน้ำแป้ง 1% 2 มล.
   1.6 นำไปไตเตรทกับสารละลาย 0.005N ไอโอดีนจนได้สีน้ำเงินจางๆ
   1.7 บันทึกปริมาตรที่ไตเตรทได้ (A)
   1.8 เตรียม Blank โดยใช้น้ำกลั่น 100 มล. จากนั้นทำตามข้อ 1.4-1.6
   1.9 คำนวณ

$$SO_2 \text{ (ppm.)} = \frac{\text{(A-Blank) X ความเข้มข้นของไอโอดีน X 0.032 X 1,000,000}}{\text{0.4 X น้ำหนักแป้ง}}$$

2. วิธีการหาซัลเฟอร์ในกลูโคสซีรัปและมอลโตเด็กตรินซ์
   2.1 ชั่งกลูโคสซีรัปหรือมอลโตเด็กตรินซ์ 25 กรัม เติมน้ำกลั่นให้ครบ 200 มล. คนให้ละลายเข้ากัน
   2.2 เติม 1.5N NaOH 10 ml.
   2.3 เติมน้ำแป้ง 10 ml.
   2.4 เติม H_2SO_4 10 มล.
   2.5 ไตเตรทกับ 0.005N I_2 จนกระทั่งเกิดสีน้ำเงิน
   2.6 สำหรับ Blank ใช้น้ำกลั่น 200 มล และสารเคมีเหมือนกัน

$$SO_2 \text{ (ppm.)} = \frac{\text{(ml. ตัวอย่าง – ml. Blank) x N } I_2 \text{ X 32,000}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

5. วิธีการตรวจวัดค่า Refractive Index , Brix , Dry Substance (DS)

เครื่องมือ

1. Refractometer
2. Hand Refractometer ช่วง 28-62 Brix และ 58-90 Brix

วิธีการของเครื่อง Hand Refractometer

1. ปาดตัวอย่างใส่ลงบนผิวหน้าปริซึม และปิดฝาครอบทันที
2. ดูที่เลนส์ อ่านค่า Brix จากค่าที่เส้นแบ่งส่วนสีน้ำเงินกับสีขาวแยกออกจากกัน
3. ทำความสะอาดปริซึมด้วยสำลีชุบน้ำกลั่นที่อุ่นเช็ดให้สะอาด แล้วจึงเช็ดปริซึมให้แห้ง

วิธีการของเครื่อง Abbe Refractometer

1. ตรวจดูอุณหภูมิที่ Water bath ได้ตามความต้องการแล้ว
2. ปาดตัวอย่างใส่ลงบนผิวหน้าปริซึม และปิดฝาครอบทันที

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3. ดูที่เลนส์ ให้ส่วนมืดกับส่วนสว่างอยู่กลางกากบาท ถ้าส่วนมืดกับส่วนสว่างแยกกันไม่ชัด ให้ทำความสะอาดปริซึมแล้วใส่ตัวอย่างลงไปใหม่
4. อ่านค่าดัชนีการหักเหหรืออ่านค่าเป็น Brix ด้านล่าง
5. ทำความสะอาดปริซึมด้วยสำลีชุบน้ำกลั่นที่อุ่นเช็ดให้สะอาด แล้วจึงเช็ดปริซึมให้แห้ง

การคำนวณ

ค่า Brix , Dry Substance , Be' ได้จากการเทียบค่าในตารางความสัมพันธ์ระหว่าง RI , Be' ,%DS

6. วิธีการตรวจวัดค่า Dextrose Equivalent

เครื่องมือ

1. Hot plate
2. Burette 50 ml.
3. Erlenmeyer flask 250 ml.
4. Glass bead (ลูกแก้ว)
5. Volumetric pipette 25 ml.
6. Tonge (คีมคีบ)

สารเคมี

1. Fehling solution
2. Methylene blue indicator

วิธีการ

1. นำตัวอย่างกลูโคสหรือมอลโตเด็กส์ทรินมาตรวจวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดก่อนเพราะตัวอย่างเป็นของเหลว
2. ชั่งตัวอย่างกลูโคสหรือมอลโตเด็กส์ทริน ประมาณ 12-14 กรัม แล้วเติมน้ำร้อนผสม คนให้ละลาย
3. นำสารละลายที่ได้มาเจือจางให้ได้ปริมาตร 250 มล
4. นำไปไทเทรตกับ Fehling solution โดยใช้ Methylene blue เป็น indicator โดยเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นแดงอิฐ
5. อ่านค่าที่ได้ และคำนวณผล

$$D.E. = \frac{\text{Factor}}{\text{DS X น้ำหนักตัวอย่าง X ml}}$$

7. วิธีการตรวจวัดค่า Salt

เครื่องมือ

1. Burette 25 ml.
2. Beaker 250 ml.
3. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
4. แท่งคน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารเคมี

1. 0.1 N $AgNO_3$
2. 10% $K_2Cr_2O_4$

วิธีการ

1. เติมน้ำกลั่นลงในตัวอย่าง แล้วจึงคนให้ละลาย
2. เติม 10% $K_2Cr_2O_4$ จะได้สารละลายสีเหลืองอ่อน
3. ไตเตรทด้วย 0.1 N $AgNO_3$จนสีเปลี่ยนเป็นสีส้ม
4. อ่านค่าที่ไตเตรทได้มาคำนวณตามสูตร

$$\text{ค่าเกลือ} = \frac{(\text{ml of 0.10.1 N } AgNO_3 - 0.15) \times 0.585 \times \text{conc. Of 0.1 N } AgNO_3}{\text{Weight of sample}} \quad (\text{หน่วย ppm})$$

8. วิธีการตรวจวัดค่าความชื้น

เครื่องมือ

1. เครื่องวัดความชื้น Halogen Moisture Analyzer รุ่น HB 43 ยี่ห้อ Mettler

วิธีการใช้งาน

1. ใส่ตัวอย่างแป้งประมาณ 3-5 กรัม โดยวัดค่าความชื้นที่อุณหภูมิ 115 ^{o}C ซึ่งเครื่องจะทำงานอัตโนมัติ
2. เมื่อเครื่องอ่านค่าเสร็จแล้วจะเกิดแถบสีดำบนตัวเลขซึ่งเป็นค่าความชื้น

9. วิธีการตรวจสอบปริมาณ Fiber

เครื่องมือ

1. Beaker
2. เครื่องชั่ง 2 และ 3 ตำแหน่ง
3. น้ำกลั่น
4. ตะแกรง 325 mesh
5. กระดาษกรอง No.1
6. ตู้อบ
7. ปั๊มดูดอากาศ (Suction pump)
8. กรวยบุชเนอร์
9. คีมคีบ (Forceps)
10. Desiccator

วิธีการ

1. วัดความชื้นตัวอย่างแป้ง
2. นำตัวอย่างแป้งมาละลายน้ำ คนให้เข้ากัน
3. กรองผ่านตะแกรง 325 mesh โดยค่อยๆเทใส่ตะแกรง เปิดน้ำช่วยให้กรองง่ายขึ้น กรองจนแป้งหมด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4. นำส่วนที่ค้างบนตะแกรงไปกรองด้วยกระดาษกรอง ซึ่งทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว(A) โดยใช้ Suction pump ดูดให้กระดาษกรองแห้ง
5. นำกระดาษกรองไปอบที่ 110 ^{o}C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปพักใน Desiccator 15 นาที จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก (B)

สูตร $$\text{Fiber (ppm)} = \frac{(B-A) \times 1{,}000{,}000}{(100-mc) \times \text{น้ำหนักแป้ง}}$$

10. วิธีการตรวจสอบปริมาณ Pulp

เครื่องมือ

1. ตะแกรง 150 micron
2. หลอดแก้วก้นกรวย (Graduated Tube with conical bottom) ขนาด 15 ml.
3. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
4. บีกเกอร์
5. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

วิธีการ

1. นำตัวอย่างแป้งมาละลายน้ำ คนให้เข้ากัน
2. กรองผ่านตะแกรง 150 micron โดยค่อยๆเทใส่ตะแกรง เปิดน้ำช่วยให้กรองง่ายขึ้น กรองจนแป้งหมด
3. นำส่วนที่ค้างบนตะแกรงไปใส่หลอดแก้วก้นกรวย แล้วฉีดน้ำล้างส่วนที่ค้างบนตะแกรงลงบนหลอดแก้วให้หมด
4. เติมน้ำให้เติมหลอดแก้ว แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge 2 นาที ที่ 2000 rpm.

11. วิธีการตรวจสอบความละเอียดของแป้ง

เครื่องมือ

1. ตะแกรง 150 micron
2. เครื่อง Shaker
3. เครื่องชั่ง 2 และ 3 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. นำแป้งเทใส่ตะแกรง 150 micron โดยใต้ตะแกรงมีถาดรองเพื่อป้องกันการฟุ้งกระจายแป้ง
2. นำไปใส่เครื่อง Shaker โดยใส่ให้ตรงช่องฝาปิดล็อกให้สนิท กด Start ตั้งค่าเครื่องไว้ที่เวลา 5 นาที Amplitude1.5 mm.
3. นำแป้งที่เหลือด้านบนสุดมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

12. วิธีการตรวจสอบ NSR (Non Soluble Residual)

เครื่องมือ

1. ปั๊ม
2. กรวย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3. กระดาษกรองเบอร์ 41 เส้นผ่านศูนย์กลาง 47 mm.
4. น้ำกลั่น

วิธีการ

1. นำตัวอย่างมอลโตเด็กส์ทรินมาละลายน้ำ คนให้เข้ากัน
2. นำตัวอย่างมากรองด้วย Vacuum ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 41
3. ล้างกระดาษกรองด้วยน้ำร้อน
4. ปล่อยให้แห้งแล้วเทียบดูกับมาตรฐาน

13. วิธีการตรวจสอบค่าความหนาแน่น (Density)

เครื่องมือ

1. กระบอกตวงขนาด 250 ml.
2. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
3. ช้อนตักสาร

วิธีการ

1. นำกระบอกตวงชั่งน้ำหนักแล้ว Tare เครื่องชั่งให้เป็น 0.00 กรัม
2. นำกระบอกตวงลงจากเครื่องชั่ง แล้วนำมอลโตเด็กตรินซ์ใส่ในกระบอกตวงให้ถึงขีด 250 มล.
3. นำกระบอกตวงที่ใส่มอลโตเด็กตรินซ์แล้วขึ้นชั่งน้ำหนัก
4. นำน้ำหนักที่ได้ไปคำนวณ

$$\text{ความหนาแน่น (Density)} = \frac{\text{นน.ที่อ่านได้ X 1,000}}{250} \qquad \text{(หน่วย : กรัม/ลิตร)}$$

14. วิธีการวัดค่า % starch

สารเคมี

1. Hydrochloric acid 25 % (w/w)
2. Hydrochloric acid 1.128 % (w/V)
3. Carrez solution I
4. Carrez solution II
5. Ethanol 40%

อุปกรณ์

1. เครื่องมือและอุปกรณ์ขวดปรับปริมาตร 100 ml. (Erlenmeryer flask 100 ml.)
2. กระบอกตวง 50 , 100 ml. (cylinder 50 , 100 ml.)
3. ขวดปรับปริมาตร 100 ml. (Erlenmeryer flask 100 ml.)
4. กระบอกตวง 50 , 100 ml. (cylinder 50 , 100 ml.)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิธีปฏิบัติ : Polarimeter Method

การวัดค่า P

1. ชั่งตัวอย่าง 2.5 กรัม ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 ml เติม Hydrochloric acid 1.128 %(w/V) 25 ml. เขย่าให้เข้ากัน
2. เติม Hydrochloric acid 1.128 %(w/V) อีก 25 ml.
3. นำไปต้มในน้ำเดือด 3 นาที เขย่า ต้มต่อจนครบ 15 นาที
4. ทำให้เย็นประมาณ 20 C ทันที(แช่ในน้ำแข็ง)
5. เติม Carrez solution I ประมาณ 25 ml. เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติม Carrez solution II ประมาณ 25 ml. เขย่าปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml.ด้วยน้ำกลั่น
6. กรองด้วยกระดาษกรอง whatman No.1 ถ้าสารละลายที่กรองได้ไม่ใสให้เริ่มทำใหม่โดยเติม Carrez solution Iและ Carrez solution II เพิ่มขึ้น
7. นำไปวัดค่า P โดยเครื่อง Polarimeter

การวัดค่า P'

1. ชั่งตัวอย่าง 5.0 กรัม ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 ml เติม Ethanol 40 % 80ml. เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เขย่าประมาณ 6 ครั้ง
2. ปรับปริมาตรโดยเติม Ethanol 40 % เขย่ากรองด้วยกระดาษกรอง whatman No.42
3. ตวงของเหลวที่กรองได้ 50 ml. (ทดสอบสารละลายที่กรองได้โดยแบ่ง 2 ml. หยด I_2ต้องไม่มีสีน้ำเงิน)ใส่ขวดปรับปริมาตร 100 ml ปิเปต 2.1 ml.Hydrochloric acid 25 % เขย่า
4. นำไปต้มในน้ำเดือด 3 นาที เขย่า ต้มต่อจนครบ 15 นาที
5. ทำให้เย็นประมาณ 20 C ทันที (แช่ในน้ำแข็ง) เติมน้ำเย็น 30 ml.
6. เติม Carrez solution I ประมาณ 5 ml. เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติม Carrez solution II ประมาณ 5 ml.เขย่าปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml.ด้วยน้ำกลั่น
7. กรองด้วยกระดาษกรอง whatman No.42
8. นำไปวัดค่า P โดยเครื่อง Polarimeter

การรายงานผล

$$\% \text{ Starch} = 2000 (P-P') / 184$$

15. วิธีการวัดค่าความหนืดแป้ง โดยใช้เครื่อง Brabender

สารเคมี

1. น้ำกลั่น

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดความหนืด Brabender
2. หัวเข็มวัดความหนืด เบอร์ 700 cmg.
3. บีกเกอร์ ขนาด 500 ml. (Beaker size 500 ml.)
4. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Balance)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิธีการ

การเตรียมตัวอย่าง

1. วัดความชื้นตัวอย่างแป้งที่ต้องการหาค่าความหนืด
2. คำนวณน้ำหนักแป้งที่ใช้จากสูตร $\frac{\%\text{ ตัวอย่างที่ต้องการวัด} \times 500}{(100 - \%mc)}$ = น้ำหนักตัวอย่าง หน่วยเป็นกรัม

   สำหรับแป้งมันสำปะหลัง ใช้ % ตัวอย่างที่ต้องการวัด เท่ากับ 6 %
3. ชั่งน้ำหนักแป้งตามที่คำนวนได้ใส่บีกเกอร์ขนาด 500 ml. และคำนวนปริมาตรน้ำกลั่นจาก 500 – น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ จากนั้นเทน้ำกลั่นลงในตัวอย่างแป้ง คนให้เข้ากัน
4. ใส่ถ้วยสำหรับวัดความหนืดลงในเครื่อง Brabender และเทตัวอย่างแป้งที่ผสมน้ำกลั่นแล้วลงในถ้วย
5. ประกอบเข็มวัดความหนืด เบอร์ 700 cmg.กับแกนด้านบนของเครื่อง เลื่อนหัวเครื่องวัดความหนืดลง และหมุนใบกวนลง

16. วิธีการวิเคราะห์เถ้า

อุปกรณ์

1. ถ้วยกระเบื้อง (Crucible)
2. คีมคีบ (Crucible tong)
3. โถดูดความชื้น (Desiccator)

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
2. เตาเผา (Electric Muffle Furnace)
3. ตู้อบสุญญากาศ (Vacuum Oven)

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักถ้วยกระเบื้องที่ทนความร้อนสูง(Crucible)ได้ โดยนำไปใส่ตู้อบสุญญากาศ (Vacuum Oven) อุณหภูมิ 120 ±10 C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือจนแห้งสนิท ทำให้เย็นโดยใส่ในโถดูดความชื้น (desiccator) จากนั้นชั่งน้ำหนักถ้วยกระเบื้องโดยใช้เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่งและบันทึก
2. ชั่งตัวอย่างแป้ง 5.00+0.5 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องที่ทราบน้ำหนัก จดน้ำหนักแป้งจริงที่ชั่งได้ ถ้าตัวอย่างเป็นของเหลวให้ทำให้แห้งด้วย Hot plate ควรทำในตู้ดูดควัน
3. นำถ้วยกระเบื้องพร้อมตัวอย่างใส่ในเตาเผาพร้อมกับเปิดฝาถ้วย อุณหภูมิ 600 C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงหรือจนไม่มีคาร์บอนเหลืออยู่เถ้าที่ได้จะมีสีขาว
4. ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น จากนั้นชั่งน้ำหนักสุดท้าย

วิธีการคำนวณ

$$\%\text{ เถ้า Ash} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่เหลือ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)}}$$

น้ำหนักตัวอย่างที่เหลือ = (น้ำหนักถ้วยกระเบื้อง+น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ)–น้ำหนักถ้วยกระเบื้องพร้อมตัวอย่างหลังอบ

17. วิธีการวัดค่า% Whiteness

อุปกรณ์

1. เครื่องวัด % ความขาว Whiteness meter
2. จานรองตลับ
3. ตลับใส่ตัวอย่างแป้ง
4. ตลับสอบเทียบเครื่อง
5. แผ่นกรองแสงสีน้ำเงิน
6. แปรงปัด
7. ผ้าทำความสะอาด

วิธีการ

วิธีการทวนสอบเครื่องวัดความขาว

1. ในการตรวจวัดแป้ง ใช้แผ่นกรองแสงสีน้ำเงิน โดยใส่ลงในเครื่องตลอดการใช้งาน
2. ทำการสอบเทียบเครื่องวัดความขาวก่อนใช้งาน โดยนำตลับสอบเทียบเครื่องบรรจุลงใน จานรองตลับต้องใส่ให้ตรงล็อคของจานรอง
3. นำจานรองดังกล่าวใส่ลงในช่องของเครื่อง ใช้เวลาประมาณ 5 นาที ต่อการสอบเทียบแต่ละครั้ง หลังจากนั้นเครื่องจะอ่านค่า ประมาณ 85.9 ทำ 2 ซ้ำ
4. กด Ave. เพื่อหาค่าเฉลี่ย แล้ว กด Sens. เพื่อสอบเทียบค่ามาตราฐาน จะได้ค่าเป็น 85.9

วิธีการวัดความขาวตัวอย่าง

1. นำตัวอย่างแป้งบรรจุลงในตลับสำหรับใส่ตัวอย่างแป้ง โดยบรรจุตัวอย่างให้เต็มตลับ ไม่ให้มีช่องว่าง
2. นำตลับตัวอย่างที่บรรจุแป้งแล้ว ใส่ในจานรองตลับ หมุนให้ตรงล็อคของจานรอง
3. ใส่ลงในช่องของเครื่อง รอ 1 นาที เครื่องจะอ่านค่า %ความขาวของตัวอย่าง ทำ 2 ซ้ำ
4. กด Ave. เพื่อหาค่าเฉลี่ย บันทึก

<u>วิธีการวิเคราะห์น้ำเสียภายในโรงงานและบ่อบำบัดน้ำเสีย</u>

1. วิธีการตรวจสอบค่า Chemical Oxygen Demand (COD)

- Chemical Oxygen Demand (COD) หมายถึง ความต้องการ Oxygen ของจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการย่อยสลายสารเคมี

เครื่องมือ

1. เครื่อง COD Reflux HACH
2. Reagent H^+, H , L
3. น้ำกลั่น
4. Pipette

วิธีการ

1. Warm เครื่อง COD Reflux ให้มีอุณหภูมิ 150 ^{o}C
2. แบ่งจำพวกของตัวอย่างน้ำที่ต้องการวัด

   COD ที่อยู่ในช่วง 0 – 150 ppm. ใช้ Reagent L

   COD ที่อยู่ในช่วง 0 – 1500 ppm. ใช้ Reagent H

   COD ที่อยู่ในช่วง 0 – 15000 ppm. ใช้ Reagent H^{+}

   โดย Reagent L และ Reagent H ใช้ Sample 2 ml. ส่วน Reagent H^{+} ใช้ Sample 0.2 ml.
3. ปิเปตตัวอย่างน้ำใส่ลงใน Reagent ปิดฝาให้สนิท และเขย่าให้เข้ากัน
4. ทำ Blank ของแต่ละ Reagent โดยใช้น้ำกลั่นในปริมาณเท่ากับ Sample ที่ใช้
5. นำข้อ 3 และ ข้อ 4 ใส่ลงในเครื่อง COD Reflux ให้มีอุณหภูมิ 150 ^{o}C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
6. ทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงเท่าอุณหภูมิห้อง
7. อ่านค่าด้วย HACH Colorimeter DR/890 โดยค่าที่ได้ H^{+} คูณ 10

2. วิธีการตรวจสอบปริมาณกลูโคสในน้ำทิ้ง

เครื่องมือ

1. ชุด Glucose Test Kit

วิธีการ

1. จุ่มแผ่นกลูโคส strip ลงในน้ำเสีย แล้วยกขึ้น
2. เทียบสีแผ่นกลูโคส strip กับข้างหลอด อ่านค่าเป็น mg/dL

3. วิธีการตรวจสอบปริมาณน้ำแป้งในน้ำทิ้ง

เครื่องมือ

1. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
2. หลอดเหวี่ยง 15 ml.

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างน้ำทิ้ง เขย่าให้เข้ากันแล้วเทลงในหลอด Centrifuge 15 ml.
2. ทำการหมุนเหวี่ยงที่ 2000 rpm. โดยใช้เวลา 3 นาที
3. อ่านปริมาตรแป้งที่ตกตะกอนที่ก้นหลอด

$$\%v/v\ Starch = \frac{\text{ปริมาณแป้งที่อ่านได้ (ml) X 100}}{15}$$

4. วิธีการตรวจสอบค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

เครื่องมือ

1. pH meter
2. Beaker 50 ml.

สารเคมี

1. KCl
2. น้ำกลั่น

วิธีการ

1 นำน้ำเสียมาวัดค่า โดยล้าง Electrode ด้วยน้ำกลั่นและซับหัว Electrode ด้วยกระดาษทิชชูให้แห้งก่อนที่จะนำไปจุ่มในตัวอย่าง

2. อ่านค่า pH ที่ได้แล้วบันทึกผล

5. วิธีการวิเคราะห์ค่า Conductivity (CD)

เครื่องมือ

1. Conductivity meter
2. Beaker 50 ml.

วิธีการ

1. นำน้ำเสียมาวัดค่า โดยล้าง Electrode ด้วยน้ำกลั่นและซับหัว Electrode ด้วยกระดาษทิชชูให้แห้งก่อนที่จะนำไปจุ่มในตัวอย่าง
2. อ่านค่า CD ที่ได้แล้วบันทึกผล

วิธีการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์แป้งมันสำปะหลัง,กลูโคสไซรัปและมอลโตเดกซ์ทรินด้านชีวภาพ

วิธีการตรวจเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ

(Mesophilic Aerobic Bacteria)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Plate Count Agar (PCA)
2. สารละลายเจือจาง (Water Dilution Blank) 9 ml. และ 225 ml.

อุปกรณ์

1. ปิเปต 1 ml. และ 2 ml. (Pipette 1, 2 ml.)
2. หลอดทดลอง ขนาด 15 x 150 mm. (Tube size15 x 150 mm.)
3. จานเลี้ยงเชื้อ (Plate size 100 x 15 mm.)
4. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 ml. (Flask size 500 ml.)
5. กระบอกตวง ขนาด 250 ml. (Cylinder size 250 ml.)

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Balance)
2. เครื่องผสม (Vortex Mixer)
3. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath)
5. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

วิธีปฏิบัติ : Standard Plate Count or Total Plate Count Method

วิธีการเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 25.00+0.2 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายเจือจาง 225 ml. ด้วยวิธีปลอดเชื้อและป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ภายนอก ตัวอย่างที่ได้มีความเจือจาง 10^{-1} เขย่าให้เข้ากัน
2. ปิเปตตัวอย่างจากขวดรูปชมพู่ 1 ml. ใส่หลอดที่มีสารละลายเจือจาง 9 ml.เขย่าโดยใช้เครื่องผสม (Vortex Mixer) ตัวอย่างในหลอดที่ได้มีความเจือจาง 10^{-2}
3. ทำการเจือจางตัวอย่างต่อไปโดยใช้หลอดทดลองที่เตรียมไว้ เช่น 10^{-3} , 10^{-4} ,10^{-5} จนได้ความเจือจางที่ต้องการ

วิธีการวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางเสร็จเรียบร้อยแล้ว 1 ml. ใส่ลงบริเวณกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ความเจือจางละ 2 plate
2. ทำการเทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่มีอุณหภูมิประมาณ 45 °C ประมาณ15 – 20 ml. ปิดฝาให้เรียบร้อย หมุนจานเลี้ยงเชื้อเป็นวงกลมสักครู่จนแน่ใจว่าตัวอย่างผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นตั้งทิ้งไว้จนแข็ง
3. คว่ำจานเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปบ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 – 37 °C เป็นเวลา 48 + 3 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลานับจำนวนโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในจานเลี้ยงเชื้อ ที่อยู่ในช่วง 25 –250 โคโลนี เฉลี่ยจำนวนโคโลนีที่นับได้ ความเจือจางเดียวกันทั้ง 2 จานอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อนำมารายงานผล ถ้าความเจือจางของตัวอย่างที่ต่ำสุดแล้วมีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 25 โคโลนี สามารถนับและนำมารายงานผลได้

การรายงานผล

จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ต่อกรัม (CFU / g.) = จำนวนโคโลนีเฉลี่ย x Dilution factor

หมายเหตุ

- ในขั้นตอนการเตรียม Water Dilution Blank การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์จะมีน้ำบางส่วนที่สูญเสียไปให้ทำการปรับปริมาตรก่อนทำการฆ่าเชื้อ เพื่อให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับที่กำหนดไว้
- จำนวนตัวอย่างและการเจือจางตัวอย่างที่ดีที่สุดขึ้นอยู่กับแต่ละห้องปฏิบัติการ สามารถใช้วิธีการกรอง (Membrane filter technique) สำหรับตัวอย่างน้ำตาลและน้ำเชื่อมหรือกรณีที่ตัวอย่างเชื้อต่ำมาก

วิธีการตรวจเชื้อยีสต์และรา

(Mesophilic Yeast and Mold)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Potato Dextose Agar (PDA)
2. สารละลายเจือจาง (Water Dilution Blank) 9 ml. และ 225 ml.

อุปกรณ์

1. ปิเปต 1 ml. และ 2 ml. (Pipette 1, 2 ml.)
2. หลอดทดลอง ขนาด 15 x 150 mm. (Tube size15 x 150 mm.)
3. จานเลี้ยงเชื้อ (Plate size 100 x 15 mm.)
4. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 ml. (Flask size 500 ml.)
5. กระบอกตวง ขนาด 250 ml. (Cylinder size 250 ml.)

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Balance)
2. เครื่องผสม (Vortex Mixer)
3. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
4. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath)
5. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

วิธีปฏิบัติ : Standard Plate Count or Total Plate Count

วิธีการเตรียมตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 25.00 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายเจือจาง 225 ml. ด้วยวิธีปลอดเชื้อและป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ภายนอก ตัวอย่างที่ได้มีความเจือจาง 10^{-1} เขย่าให้เข้ากัน
2. ปิเปตตัวอย่างจากขวดรูปชมพู่ 1 ml. ใส่หลอดที่มีสารละลายเจือจาง 9 ml.เขย่าโดยใช้เครื่องผสม(Vortex Mixer) ตัวอย่างในหลอดที่ได้มีความเจือจาง 10^{-2}
3. ทำการเจือจางตัวอย่างต่อไปโดยใช้หลอดทดลองที่เตรียมไว้ เช่น 10^{-3} , 10^{-4} จนได้ความเจือจางที่ต้องการ

วิธีการวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางเสร็จเรียบร้อยแล้ว 1 ml. ใส่ลงบริเวณกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ความเจือจางละ 2 plate
2. ทำการเทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีอุณหภูมิประมาณ 45 °C ประมาณ15 – 20 ml. ปิดฝาให้เรียบร้อย หมุนจานเลี้ยงเชื้อเป็นวงกลมสักครู่จนแน่ใจว่าตัวอย่างผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นตั้งทิ้งไว้จนแข็ง

3. คว่ำจานเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปบ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30-32 °C นับจำนวนโคโลนียีสต์และราเมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง ถ้าโคโลนีมีขนาดเล็กสามารถบ่มต่อได้ถึง 96 - 120 ชั่วโมง เฉลี่ยจำนวนโคโลนีที่นับได้ความเจือจางเดียวกันทั้ง 2 plate เพื่อนำมารายงานผล
4. การนับจำนวนโคโลนีของเชื้อรา (Mold) ให้นับในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อราเจริญมากที่สุด แต่ลักษณะโคโลนีไม่รวมกันจนไม่สามารถนับได้
5. การนับจำนวนเชื้อยีสต์ (Yeast) ให้นับในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อยีสต์เจริญอยู่ในช่วง 20 – 200 โคโลนี

การรายงานผล

จำนวนเชื้อยีสต์ / รา ต่อกรัม (CFU / g.) = จำนวนโคโลนียีสต์ / ราเฉลี่ย x Dilution factor

หมายเหตุ

- ในขั้นตอนการเตรียม Water Dilution Blank การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์จะมีน้ำบางส่วนที่สูญเสียไปให้ทำการปรับปริมาตรก่อนทำการฆ่าเชื้อ เพื่อให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับที่กำหนดไว้
- ไม่ควรเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่า pH ต่ำ ไว้นานเกิน 8 ชั่วโมง จะทำให้ความเป็นกรดน้อยลง
- สามารถใช้วิธี Membrane filter technique สำหรับตัวอย่างน้ำตาลและน้ำเชื่อม หรือกรณีที่ตัวอย่างเชื้อต่ำมาก

วิธีการตรวจเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย
(Coliform Group of Bacteria)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Brilliant green lactose bile broth (BGLB) 2 %
2. Violet Red Bile Agar (VRB)
3. สารละลายเจือจาง (Water Dilution Blank) 9 ml. และ 225 ml.

อุปกรณ์

1. ปิเปต 1 ml. และ 2 ml. (Pipette 1, 2 ml.)
2. หลอดทดลอง ขนาด 15 x 150 mm. (Tube size15 x 150 mm.)
3. หลอดดักก๊าซ (Durham tube)
4. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 ml. (Flask size 500 ml.)
5. จานเลี้ยงเชื้อ (Plate size 100 x 15 ml.)
6. ลวดถ่ายเชื้อ (Loop)
7. กระบอกตวง ขนาด 250 ml. (Cylinder size 250 ml.)

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Balance)
2. เครื่องผสม (Vortex Mixer)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
4. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath)
5. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

วิธีปฏิบัติ : Standard Plate Countวิธีการเตรียมตัวอย่าง

1 ชั่งตัวอย่าง 25.00+ 0.2 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายเจือจาง 225 ml. ด้วยวิธีปลอดเชื้อและป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ภายนอก ตัวอย่างที่ได้มีความเจือจาง 10^{-1} เขย่าให้เข้ากัน

2 ปิเปตตัวอย่างจากขวดรูปชมพู่ 1 ml. ใส่หลอดที่มีสารละลายเจือจาง 9 ml.เขย่าโดยใช้เครื่องผสม ตัวอย่างในหลอดที่ได้มีความเจือจาง 10^{-2}

3 ทำการเจือจางตัวอย่างต่อไปโดยใช้หลอดทดลองที่เตรียมไว้ เช่น 10^{-3} , 10^{-4} ,10^{-5} จนได้ความเจือจางที่ต้องการ

วิธีการวิเคราะห์

การนับจำนวนเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Coliform Bacteria) ทั้งหมด

1. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางเสร็จเรียบร้อยแล้ว 1 ml. ใส่ลงบริเวณกลางจานเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ความเจือจางละ 2 plate
2. ทำการเทอาหารเลี้ยงเชื้อ Violet Red Bile Agar (VRB)ที่มีอุณหภูมิประมาณ 45 C ประมาณ15 – 20 ml. ปิดฝาให้เรียบร้อย หมุนจานเลี้ยงเชื้อเป็นวงกลมสักครู่ จนแน่ใจว่าตัวอย่างผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นตั้งทิ้งไว้จนแข็ง
3. เททับด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Violet Red Bile Agar (VRB) ประมาณ 3 – 4 ml. ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง
4. คว่ำจานเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปบ่มเชื้อในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 – 37 °C เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง
5. เมื่อครบตามเวลานับจำนวนโคโลนีของเชื้อโคลิฟอร์มที่มีสีดำปนแดงและมีวงรอบๆ สีแดงในจานเลี้ยงเชื้อ เฉลี่ยจำนวนโคโลนีที่นับได้ความเจือจางเดียวกันทั้ง 2 plate เพื่อนำมารายงานผล

การยืนยันผล

1. เลือกโคโลนีโคลิฟอร์มแบคทีเรีย Coliform Bacteria มากกว่า 2 โคโลนี ที่มีสีดำปนแดงและมีวงรอบๆ สีแดงในจานเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ลวดถ่ายเชื้อแตะ แล้วนำไปจุ่มในหลอดที่มี Brilliant green lactose bile broth (BGLB) 2 % พร้อมหลอดดักก๊าซที่เตรียมไว้
2. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 – 37 °C เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นสังเกตหลอดดักก๊าซ ถ้ามีก๊าซเกิดขึ้นแสดงว่าให้ผลบวกเป็นเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย Coliform Bacteria แต่ถ้าไม่มีก๊าซเกิดขึ้นแสดงว่าไม่ใช่เชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรีย Coliform Bacteria

การรายงานผล

จำนวนเชื้อ โคลิฟอร์ม Coliform Bacteria ต่อกรัม (CFU / g.) = จำนวนโคโลนีเชื้อโคลิฟอร์มเฉลี่ย x Dilution factor

วิธีการตรวจเชื้ออีโคไล

(Escherichia Coli)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Lactose Broth (LB)
2. MacConkey Agar (MA)
3. Lauryl Tryptose Broth with MUG (LTB-MUG)
4. สารละลายเจือจาง (Water Dilution Blank) 9 ml. และ 225 ml.

อุปกรณ์

1. ปิเปต 1 ml. และ 2 ml. (Pipette 1, 2 ml.)
2. หลอดทดลอง ขนาด 15 x 150 mm. (Tube size15 x 150 mm.)
3. หลอดดักก๊าซ (Durham tube)
4. จานเลี้ยงเชื้อ (Plate size 100 x 15 mm.)
5. ลวดถ่ายเชื้อ (Loop)
6. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml. (Flask size 250 ml.)

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Balance)
2. เครื่องผสม (Vortex Mixer)
3. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
4. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

วิธีปฏิบัติ : Culture Method

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 10.00 + 0.2 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml. ที่มีอาหารแลคโตส Lactose Broth (LB) 100 ml. ที่เตรียมไว้ด้วยวิธีปลอดเชื้อและป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ภายนอก เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 – 37 °C เป็นเวลา 46 – 50 ชั่วโมง ในตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
2. เมื่อบ่มเสร็จแล้วใช้ลวดถ่ายเชื้อจากขวดรูปชมพู่ มาขีดลากบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey Agar (MA) และถ่ายเชื้อลงในหลอดที่มี Lauryl Tryptose Broth with MUG (LTB-MUG) เขย่าโดยใช้เครื่องผสม Vortex Mixer ให้เข้ากัน
3. คว่ำจานเลี้ยงเชื้อและนำไปบ่มเชื้อที่ 35 – 37 °C เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง พร้อมกับหลอดทดลองที่ถ่ายเชื้อแล้วนำไปใส่ใน ตู้บ่มเชื้อด้วย
4. ตรวจสอบจานเลี้ยงเชื้อที่บ่มแล้วว่าพบโคโลนีสีแดงอิฐหรือไม่ ถ้าพบแสดงว่าให้ผลบวกมีการใช้แลคโตส(lactose) ของอีโคไล *E.Coli* และตรวจสอบการเรืองแสงโดยใช้แสง UV ส่องผ่านหลอด LTB-MUG จะมีการเรืองแสงเป็นสีน้ำเงิน

การรายงานผล

นับจำนวนเชื้อที่ให้ผลบวกต่อตัวอย่าง 10 กรัมคือโคโลนีมีสีแดงอิฐและเมื่อส่องผ่านหลอด LTB-MUG จะมีการเรืองแสงเป็นสีน้ำเงิน

หมายเหตุ

- การทดสอบด้วย MUG test จะทำให้เกิดกิจกรรม beta glucuronidase activity ในเชื้ออีโคไล *E.Coli* 94 % ซึ่งอาจจะพบในเชื้อ *Salmonella* , *Shigella* และ *Yersinia* อย่างไรก็ดีเชื้อเหล่านี้จะไม่มีการใช้แลคโตส ดังนั้นสามารถเห็นความแตกต่างได้ง่าย เมื่อใช้หลอดที่ Lauryl Tryptose Broth with MUG (LTB-MUG) ซึ่งจะให้ผลบวกเฉพาะ *E.Coli*

วิธีการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ทนความร้อน

(Thermophilic spore-forming bacteria,Aerobic Thermophilic spores)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Dextose tryptone Agar (DTA)
2. วุ้น 2 % (2 % Plain Agar)
3. สารละลายเจือจาง (Water Dilution Blank) 80 ml.

อุปกรณ์

1. ปิเปต 10 ml. (Pipette 10 ml.)
2. จานเลี้ยงเชื้อ (Plate size 100 x 15 mm.)
3. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml. (Flask size 250 ml.)
4. กระบอกตวง ขนาด 100 ml. (Cylinder size 100 ml.)

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Balance)
2. เครื่องผสม (Vortex Mixer)
3. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
4. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath)
5. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

วิธีปฏิบัติ :Culture method

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิธีการวิเคราะห์

- ตัวอย่างแป้ง

1. เตรียมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 80 ml. โดยตวงน้ำกลั่น 80 ml. ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml. ปิดฝาด้วยจุกสำลี นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ อุณหภูมิ 121 °C เวลา 15 นาที เสร็จแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
2. ชั่งตัวอย่าง 20.00+0.2 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายเจือจาง 80 ml.ที่เตรียมไว้ ด้วยวิธีปลอดเชื้อและป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ภายนอก เขย่าให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสม (Vortex Mixer)
3. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ได้ 10 ml.ใส่ลงในขวดรูชมพู่ที่มี Dextose tryptone Agar (DTA)100 ml. อุณหภูมิประมาณ 50 – 60 °C ผสมให้เข้ากัน
4. นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้ไปต้มในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ(Autoclave) 110 °C ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 10 นาที เสร็จแล้วระบายความดันออกจากหม้อนึ่งอย่างเร็วและนำตัวอย่างออกใส่อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 50 – 60 °C
5. เทตัวอย่างใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 จาน รอจนแข็งเททับด้วยวุ้น 2% เมื่อวุ้นแข็งตัวคว่ำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 53-57°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลานับจำนวนโคโลนีเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีลักษณะเรียบรอบวงสีเหลืองรวมโคโลนีที่ปรากฏในจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด

- ตัวอย่างกลูโคส / มอลโตเด็กซ์ตริน

1. ชั่งตัวอย่าง 20.00+0.2 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายเจือจาง 80 ml.ที่เตรียมไว้ ด้วยวิธีปลอดเชื้อและป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ภายนอก เขย่าให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสม (Vortex Mixer)
2. นำสารละลายที่ได้ไปต้มในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ(Autoclave) 110 °C ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 10 นาที เสร็จแล้วระบายความดันออกจากหม้อนึ่งอย่างเร็วและนำตัวอย่างออกใส่อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 50 – 60 °C
3. เทสารละลายตัวอย่างที่ได้ประมาณ 10 ml.ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 5 จาน เท่าๆกัน และเทอาหารเลี้ยงเชื้อ Dextrose Tryptone Agar (DTA) 15 – 20 ml. อุณหภูมิประมาณ 45 °C ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 จานปิดฝาให้เรียบร้อย หมุนจานเลี้ยงเชื้อเป็นวงกลมสักครู่จนแน่ใจว่าตัวอย่างผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ รอจนแข็งเททับด้วยวุ้น 2 % เมื่อวุ้นแข็งตัวคว่ำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 53 - 57 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลานับจำนวนโคโลนีเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีลักษณะเรียบรอบวงสีเหลืองและโคโลนีอื่นๆที่ปรากฏในจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด

การรายงานผล

- จำนวนสปอร์ที่ทำให้เน่าเสียต่อ 20 กรัม(CFU/20g.) = นับจำนวนโคโลนีลักษณะเรียบรอบวงสีเหลืองทั้ง 5 จานรวมกัน
- จำนวนสปอร์ของเชื้อจุลินทรีย์ทนความร้อนทั้งหมดต่อ 20 กรัม (CFU / 20 g.) = นับจำนวนโคโลนีลักษณะเรียบรอบวงสีเหลืองและโคโลนีอื่นๆที่เจริญบนจานทั้ง 5 จานรวมกัน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิธีการตรวจเชื้อซาโมเนลลา

(Salmonella spp.)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Lactose Broth (LB)
2. Selenite Cystine Broth (SC)
3. Tetrathionate Broth Base with iodine (TT)
4. XLD Agar (XLD)
5. Bismuth Sulfite Agar (BSA)
6. Hextoen Enteric Agar (HEA)
7. Triple Sugar Iron Agar (TSI)
8. Lysine Iron Agar (LI)
9. Urea Broth
10. 1 N NaOH
11. 1 N HCl

อุปกรณ์

1. ปิเปต 1,10 ml. (Pipette 1, 10 ml.)
2. จานเลี้ยงเชื้อ (Plate size 100 x 15 mm.)
3. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 ml. (Flask size 500 ml.)
4. กระบอกตวง ขนาด 100 ml. (Cylinder size 100 ml.)
5. ลวดถ่ายเชื้อ (Loop)

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Balance)
2. เครื่องผสม (Vortex Mixer)
3. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
4. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath)
5. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

วิธีปฏิบัติ : Identification Test

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 25.00+0.2 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Lactose Broth (LB) 225 ml. ที่เตรียมไว้ด้วยวิธีปลอดเชื้อและป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ภายนอก เขย่าให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสม (Vortex Mixer) จนตัวอย่างกระจายตัว ตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้อง 60 นาที

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2. เขย่าตัวอย่างให้เข้ากันวัด pH ตัวอย่างด้วยกระดาษวัด pH ปรับpH ให้อยู่ในช่วง 6.6 – 7.0 ด้วย 1 N NaOH 1 หรือ 1 N HClนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 - 37 °C ในตู้บ่มเชื้อ เป็นเวลา 22-26 ชั่วโมง
3. เขย่าให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสม (Vortex Mixer) จากนั้นปิเปตตัวอย่างที่บ่มเสร็จ 1 ml. ใส่ลงในหลอดทดลอง 2 หลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Selenite Cystine Broth และ Tetrathionate Broth 10 ml. หลอดละ 1 ml. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 - 37 °C ในตู้บ่มเชื้อ เป็นเวลา 24 +2 ชั่วโมง
4. เสร็จแล้วใช้ลวดถ่ายเชื้อจากตัวอย่างที่บ่มไว้ทั้ง 2 หลอดขีดลากบนอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD Agar (XLD), Bismuth Sulfite Agar (BSA), Hextoen Enteric Agar (HEA) ปิดฝาและคว่ำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 - 37 °C เป็นเวลา 22 - 26 ชั่วโมง
5. ทดสอบโคโลนีที่สงสัยว่าเป็นเชื้อ Salmonella

XLD Agar (XLD) โคโลนีสีชมพูตรงกลางอาจมีหรือไม่มีสีดำ โดยส่วนมากเชื้อ Salmonella มีขนาดใหญ่ ตรงกลางโคโลนีสีดำใสหรืออาจมีดำทั้งหมด พบส่วนน้อยเจริญเป็นสีเหลือง

Hextoen Enteric Agar (HEA) โคโลนีสีน้ำเงินปนเขียวตรงกลางอาจมีหรือไม่มีสีดำ โดยส่วนมากเชื้อ Salmonella มีขนาดใหญ่ ตรงกลางโคโลนีสีดำใสขนาดใหญ่หรืออาจมีดำทั้งหมด

Bismuth Sulfite Agar (BSA) โคโลนีสีน้ำตาล เทา หรือดำ บ่างครั้งสีเหมือนโลหะวาว รอบๆมีสีน้ำตาล กลายเป็นสีดำเมื่อบ่ม นานขึ้น บางสายพันธุ์มีสีเขียว

6. เลือก 2 โคโลนีหรือมากกว่า จากอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD, HEA, BSA ถ่ายเชื้อโดยขีดลากลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Triple Sugar Iron Agar (TSI)บ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 - 37 °C เป็นเวลา24 + 2 ชั่วโมง และขีดลากลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Lysine Iron Agar (LI)บ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 - 37 °C เป็นเวลา 48 + 2 ชั่วโมง

TSI Agar	เมื่อบ่มเสร็จอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นด่างมีสีแดง ส่วนล่างเป็นกรดจะมีสีเหลือง อาจมีการสร้างไฮโดรเจนซัลไฟด์อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีดำ
LI Agar	เมื่อบ่มเสร็จอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นด่างมีสีม่วง ส่วนล่างเป็นกรดจะมีสีเหลือง

7. เมื่อบ่มหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อให้ผลบวกทำการยืนยันด้วยวิธีชีวเคมี

Urease Test ทดสอบด้วยยูเรีย ถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Triple Sugar Iron Agar (TSI) ใส่ลงใน Urea Brothนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 - 37 °C ในตู้บ่มเชื้อ เป็นเวลา 24 +2 ชั่วโมง เมื่อบ่มเสร็จให้ผลบวกเกิดสีม่วงแดง

การรายงานผล

รายงานผลบวกเมื่อทดสอบด้วยวิธีชีวเคมีให้ผลบวก คือ พบเชื้อ *Salmonella* ต่อตัวอย่าง 25 กรัม

วิธีการตรวจเชื้อซูโดโมแนส
(Pseudomonas aeruginosa)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Glycerol
2. Tryptic Soy broth (TSB)
3. Cetrimide Agar (CEA)
4. *Pseudomonas* Agar F-PAF (PAF)
5. *Pseudomonas* Agar P-PAP (PAP)

อุปกรณ์

1. ปิเปต 10 ml. (Pipette 10 ml.)
2. จานเลี้ยงเชื้อ (Plate size 100 x 15 mm.)
3. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml. (Flask size 250 ml.)
4. กระบอกตวง ขนาด 100 ml. (Cylinder size 100 ml.)
5. ลวดถ่ายเชื้อ (Loop)

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Balance)
2. เครื่องผสม (Vortex Mixer)
3. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
4. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath)
5. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

วิธีปฏิบัติ : Culture Method

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 10.00+0.2 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy broth (TSB)ที่เตรียมไว้ ด้วยวิธีปลอดเชื้อและป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ภายนอก เขย่าให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสม(Vortex Mixer)
2. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 - 37 C ในตู้บ่มเชื้อ เป็นเวลา 48 +2 ชั่วโมง เสร็จแล้วใช้ลวดถ่ายเชื้อจาก ตัวอย่างที่บ่มไว้ขีดลากบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Cetrimide Agar (CEA) ปิดฝาและคว่ำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 - 37 C เป็นเวลา 46 - 50 ชั่วโมง
3. เมื่อครบตามเวลาเลือก 1 โคโลนีของเชื้อที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อดูลักษณะ โดยขีดลากบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี *Pseudomonas Agar* P-PAP (PAF) และ *Pseudomonas Agar* P-PAP (PAP)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4. นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 - 37 C เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง ทดสอบเชื้อที่แยกมาว่ามีการสร้างรงค์วัตถุหรือไม่ *Pseudomonas aeruginosa* จะสร้างรงค์วัตถุสีเหลืองและเขียวเรืองแสงกระจายในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Pseudomonas* Agar F-PAF หรือสีน้ำเงินใน *Pseudomonas* Agar P-PAP

การรายงานผล

นับจำนวนเชื้อที่ให้ผลบวกต่อตัวอย่าง 10 กรัมคือสร้างรงค์วัตถุสีเหลืองและเขียวเรืองแสงกระจายในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Pseudomonas* Agar F-PAF หรือสีน้ำเงินใน *Pseudomonas* Agar P-PAP คือ จำนวนโคโลนีเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ต่อตัวอย่าง 10 กรัม (CFU / 10 g.)

วิธีการตรวจเชื้อสแตฟฟิโลค็อคคัส

(Staphylococci aureus)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Tryptic Soy broth (TSB)
2. Baird – Parker Agar Base (BPA)
3. Mannitol Salt Agar (MSA)
4. Vogel-John Agar (VJA)
5. Rabbit Coagulase Plasma EDTA
6. Gram Stain

อุปกรณ์

1. ปิเปต 10 ml. (Pipette 10 ml.)
2. จานเลี้ยงเชื้อ (Plate size 100 x 15 mm.)
3. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml. (Flask size 250 ml.)
4. กระบอกตวง ขนาด 100 ml. (Cylinder size 100 ml.)
5. ลวดถ่ายเชื้อ (Loop)

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Balance)
2. เครื่องผสม (Vortex Mixer)
3. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
4. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

วิธีปฏิบัติ : Culture Method

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่าง 10.00+0.2 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy broth (TSB) 100 ml.ที่เตรียมไว้ ด้วยวิธีปลอดเชื้อและป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ภายนอก เขย่าให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสม (Vortex Mixer)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 - 37 C ในตู้บ่มเชื้อเป็นเวลา 46 - 50 ชั่วโมง เสร็จแล้วใช้ลวดถ่ายเชื้อจากตัวอย่างขีดลากบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol Salt Agar (MSA), Baird – Parker Agar Base (BPA)หรือ Vogel-John Agar (VJA)ปิดฝาและคว่ำจานเลี้ยงเชื้อนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 - 37 C เป็นเวลา 48 + 2 ชั่วโมง
3. เมื่อครบตามเวลาเลือกโคโลนีของเชื้อที่เจริญขึ้นโดยถ่ายลงในหลอดที่มี 0.5 ml. Rabbit Coagulase Plasma EDTA ด้วยลวดถ่ายเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 – 37 C ในตู้บ่มเชื้อเมื่อผ่านไป 3 ชั่วโมง ตรวจสอบการเปลี่ยนจากของเหลวเป็นก้อนหนาหนืดเป็นช่วงๆ ตามความเหมาะสมจนครบ 24 ชั่วโมง

ลักษณะของโคโลนีเชื้อ *Staphylococci aureus* ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ	ลักษณะโคโลนี	การย้อมสี
1. Vogel-John Agar (VJA)	โคโลนีสีดำรอบๆมีสีเหลือง	ผลบวก-รูปทรงกลม
2. Mannitol Salt Agar (MSA)	โคโลนีสีเหลืองรอบๆมีสีเหลือง	ผลบวก-รูปทรงกลม
3. Baird – Parker Agar Base (BPA)	โคโลนีสีดำมันวาวรอบๆสีใส 2 – 5 mm.	ผลบวก-รูปทรงกลม

การรายงานผล

รายงานผลบวกเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงจากของเหลวเป็นก้อนหนาหนืด ในหลอดที่มี 0.5 ml. Rabbit Coagulase Plasma EDTA คือ พบเชื้อ *Staphylococci aureus* ต่อตัวอย่าง 10 กรัม

วิธีการตรวจเชื้อโดยกลั้วด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. สารละลายเจือจาง (Water Dilution Blank) 9 ml.
2. น้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 ลิตร

เครื่องมือ

1. เครื่องผสม (Vortex Mixer)

วิธีการเตรียมตัวอย่าง

1. เตรียมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 1 ลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น
2. เทน้ำกลั่นลงในพื้นผิวภาชนะที่ต้องการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ เขย่าให้ทั่วภาชนะเทน้ำล้างใส่ลงในขวดเดิม ตัวอย่างที่ได้มีความเจือจาง 10^0
3. นำไปเจือจางโดยปิเปต 1 ml. ใส่ในละลายเจือจาง 9 ml. ตัวอย่างที่ได้มีความเจือจาง 10^{-1}เขย่าให้เข้ากัน
4. ปิเปตตัวอย่างจากหลอด 1 ml. ใส่หลอดที่มีสารละลายเจือจาง 9 ml.เขย่าโดยใช้เครื่องผสม (Vortex Mixer) ตัวอย่างในหลอดที่ได้มีความเจือจาง 10^{-2}
5. ทำการเจือจางตัวอย่างต่อไปโดยใช้หลอดทดลองที่เตรียมไว้ เช่น 10^{-3} , 10^{-4} ,10^{-5} จนได้ความเจือจางที่ต้องการ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิธีปฏิบัติ : กลั้วน้ำกลั่น

วิธีการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ตามวิธีวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด

การรายงานผล

จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ต่อกรัมต่อ1 ลิตร (CFU / 1 g./ 1 ลิตร) = จำนวนโคโลนีเฉลี่ย x Dilution factor

หมายเหตุ

ในขั้นตอนการเตรียม Water Dilution Blank การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์จะมีน้ำบางส่วนที่สูญเสียไปให้ทำการปรับปริมาตรก่อนทำการฆ่าเชื้อ เพื่อให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับที่กำหนดไว้ ในบริเวณพื้นผิวที่ไม่สามารถ Swab Test ได้ให้ใช้วิธีกลั้วด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อแทน

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. การเตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ Phosphate Buffer

สารเคมี

1. โปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium dihydrogen phosphate :KH_2PO_4)
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide : NaOH) 1 N
3. น้ำกลั่น

อุปกรณ์

1. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 1,000 ml. (Volumetric flask 1,000 ml.)
2. กระบอกตวง ขนาด 500 ml. (Cylinder 500 ml.)
3. ขวดปรับปริมาตร 1,000 ml. (Volumetric flask ขนาด 1,000 ml.)
4. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Balance)
5. เครื่องวัด pH (pH meter)

วิธีปฏิบัติ

1. ชั่งน้ำหนักโปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium dihydrogen phosphate : KH_2PO_4) 34.0 กรัม เติมน้ำกลั่น 500 ml. โดยใช้กระบอกตวงขนาด 500 ml. คนให้ละลาย
2. ปรับ pH จนได้ 7.2 โดยใช้สารละลาย NaOH 1 N ประมาณ 175 ml.
3. เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรเท่ากับ 1 ลิตร โดยใช้ Volumetric flask ขนาด 1000 ml. เก็บเป็น Stock Solution ไว้ในตู้เย็น

2. การเตรียม Phosphate Diluent

สารเคมี

1. Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)
2. Sodium Hydroxide

อุปกรณ์

1. ปิเปต ขนาด 2 ml . (Pipette 2 ml.)
2. กระบอกตวง ขนาด 250 ml. (Cylinder 250 ml.)
3. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 ml. (Flask 500 ml.)
4. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 1,000 ml. (Volumetric flask 1,000 ml.)
5. จุกสำลี
6. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

วิธีการ

การเตรียม Sodium Hydroxide solution (NaOH) 1 N

1. ชั่ง Sodium Hydroxide 40 กรัม ใส่ใน beaker ขนาด 1 ลิตร
2. เติมน้ำ 200 ml. ผสมให้เข้ากัน
3. เทลงใน Volumetric flask ขนาด 1 ลิตร ซึ่งมีน้ำกลั่นเล็กน้อย แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร ผสมให้เข้ากัน

การเตรียม Stock Solution

1. ชั่งน้ำหนัก Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) 34 กรัม เติมน้ำกลั่น 500 ml.
2. ปรับ pH จนได้ 7.2 โดยใช้สารละลาย NaOH 1 N ประมาณ 175 ml.
3. เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรเท่ากับ 1 ลิตร โดยใช้ Volumetric flask ขนาด 1,000 ml. เก็บ Stock Solution ไว้ในตู้เย็น

การเตรียม Water Dilution Blank

1. ปิเปต Stock Solution 1.25 ml. ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 ml. ด้วยน้ำกลั่น
2. นำสารละลายที่ได้ทำ Blank diluent ปิเปต 9 ml. ใส่หลอดทดลองปิดฝาหลอดให้เรียบร้อย และตวง 225 ml. ใส่ flask ขนาด 500 ml. ด้วย Cylinder ปิดปากให้แน่นด้วยจุกสำลี
3. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121^0 C ความดัน 15 ปอนด์

3. วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (Media)

อุปกรณ์

1. ขวดปรับปริมาตร ขนาด 1,000 ml. (Volumetric flask 1000 ml.)
2. ช้อนตักสาร (Spatula)
3. บีกเกอร์ขนาด 1,000 ml.
4. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Balance)
5. ปิเปต ขนาด 2 ml . (Pipette 2 ml.)
6. กระบอกตวง ขนาด 250 ml. (Cylinder 250 ml.)
7. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 ml. (Flask 500 ml.)
8. จุกสำลี
9. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิธีปฏิบัติ

การเตรียม Agar

1. ชั่ง Agar (2 % W/ V) 2 .0 กรัม เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 ml. โดยใช้ ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 ml. คนให้ละลาย
2. เทใส่ขวดฝาเกลียว ปิดฝาหลวมๆ นำไปตั้งให้ละลายใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 90 – 95 ^{0}C 1 นาที
3. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์
4. เสร็จแล้วนำมาใส่ไว้ใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 45 ^{0}C

การเตรียม Baird – Parker Agar Base

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird – Parker Agar Base 63.0 กรัม เติมน้ำกลั่น 950 ml. คนให้ละลาย
2. เทใส่ขวดฝาเกลียว ปิดฝาหลวมๆ นำไปตั้งให้ละลายใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 90 – 95 ^{0}C 1 นาที
3. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์
4. เสร็จแล้วนำมาใส่ไว้ใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 45 ^{0}C
5. เติม Egg Yolk Tellurite Solution 50 ml. ผสมให้เข้ากันเบา ๆ

การเตรียม Bismuth Sulfite Agar

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Bismuth Sulfite Agar 52 .0 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย
2. เทใส่ขวดฝาเกลียว ปิดฝาหลวมๆ นำไปตั้งให้ละลายใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 90 – 95 ^{0}C 1 นาที
3. ห้ามนำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave
4. เสร็จแล้วนำมาใส่ไว้ใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 45 ^{0}C

การเตรียม Brilliant Green Bile 2 %

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant green lactose bile broth (BGLB) 40.0 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย
2. ปิเปต 10 ml. ใส่ในหลอดทดลองและใส่หลอดดักก๊าซจำนวน 1 หลอดต่อหลอดทดลอง 1 หลอด ปิดฝาหลอดให้เรียบร้อย
3. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์
4. เสร็จแล้วทิ้งทิ้งไว้ให้เย็น

การเตรียม Cetrimide Agar Base (CEA)

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Cetrimide Agar Base 45.3 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย
2. เทใส่ขวดฝาเกลียว ปิดฝาหลวมๆ นำไปตั้งให้ละลายใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 90 – 95 ^{0}C
3. เติมกลีเซอรอล 10 ml. ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร คนให้ทั่ว
4. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์
5. เสร็จแล้วนำมาใส่ไว้ใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 45 ^{0}C

การเตรียม Dextrose Tryptone Agar

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Dextrose Tryptone Agar 30.0 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย
2. เทใส่ขวดฝาเกลียว ปิดฝาหลวมๆ นำไปตั้งให้ละลายใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 90 – 95 ^{0}C นาน 1 นาที

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์
4. เสร็จแล้วนำมาใส่ไว้ใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 45 ^{0}C

การเตรียม Hektoen Enteric Agar

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Hektoen Enteric Agar 76.0 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย
2. เทใส่ขวดฝาเกลียว ปิดฝาหลวมๆ นำไปตั้งให้ละลายใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 90 – 95 ^{0}C นาน 1 นาที
3. ห้ามนำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave
4. เสร็จแล้วนำมาใส่ไว้ใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 45 ^{0}C

การเตรียม Lactose Broth

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Lactose Broth (LB) 13.0 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย
2. ตวง 100 ml. ใส่ใน flask ขนาด 250 ml. ปิดปากให้แน่นด้วยจุกสำลี
3. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์ เสร็จแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

การเตรียม Lysine Iron Agar

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Lysine Iron Agar 34.5 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย
2. เทใส่ขวดฝาเกลียว ปิดฝาหลวมๆ นำไปตั้งให้ละลายใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 90 – 95 ^{0}C นาน 1 นาที
3. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์
4. เสร็จแล้วนำมาใส่ไว้ใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 45 ^{0}C

การเตรียม Lauryl Tryptose Broth with MUG (LTB-MUG)

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Tryptose Broth with MUG (LTB-MUG) 35.7 กรัมผสมกับน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้เข้ากัน
2. ปิเปต 10 ml. ใส่ในหลอดทดลองและใส่หลอดดักก๊าซจำนวน 1 หลอดต่อหลอดทดลอง 1 หลอด ปิดฝาหลอดให้เรียบร้อย
3. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์
4. เสร็จแล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

การเตรียม MacConkey Agar

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey Agar (MA) 50.0 กรัม ผสมน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้เข้ากัน
2. นำไปต้มจนละลายประมาณ 1 นาที ฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์
3. เสร็จแล้วนำไปเทลง plate ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ประมาณ 15 – 20 ml. ทิ้งไว้จนแข็ง
4. เก็บไว้เพื่อใช้ในขั้นตอนการวิเคราะห์

การเตรียม Mannitol Salt Agar

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol Salt Agar 111.0 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย
2. เทใส่ขวดฝาเกลียว ปิดฝาหลวมๆ นำไปตั้งให้ละลายใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 90 – 95 ^{0}C นาน 1 นาที
3. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์

4. เสร็จแล้วนำมาใส่ไว้ใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 45 ^{0}C

การเตรียม Plate Count Agar

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar 23.5 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย
2. เทใส่ขวดฝาเกลียว ปิดฝาหลวมๆ นำไปตั้งให้ละลายใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 90 – 95 ^{0}C นาน 1 นาที
3. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์
4. เสร็จแล้วนำมาใส่ไว้ใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 45 ^{0}C

การเตรียม Potato Dextrose Agar

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar 39.0 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย
2. เทใส่ขวดฝาเกลียว ปิดฝาหลวมๆ นำไปตั้งให้ละลายใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 90 – 95 ^{0}C นาน 1 นาที
3. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์
4. เสร็จแล้วนำมาใส่ไว้ใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 45 ^{0}C

การเตรียม Pseudomonas F-PAF

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Pseudomonas F-PAF 38.0 กรัม เติมน้ำ 1 ลิตร คนให้ละลาย
2. เทใส่ขวดฝาเกลียว ปิดฝาหลวมๆ นำไปตั้งให้ละลายใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 90 – 95 ^{0}C
3. เติมกลีเซอรอล 10 ml. ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร
4. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์
5. เสร็จแล้วนำไปเทลง plate ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ประมาณ 15 – 20 ml. ทิ้งไว้จนแข็ง
6. เก็บไว้เพื่อใช้ในขั้นตอนการวิเคราะห์

การเตรียม Pseudomonas P-PAP

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Pseudomonas P-PAP 46.4 กรัม เติมน้ำ 1 ลิตร คนให้ละลาย
2. เทใส่ขวดฝาเกลียว ปิดฝาหลวมๆ นำไปตั้งให้ละลายใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 90 – 95 ^{0}C
3. เติมกลีเซอรอล 10 ml. ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร
4. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์
5. เสร็จแล้วนำไปเทลง plate ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ประมาณ 15 – 20 ml. ทิ้งไว้จนแข็ง
6. เก็บไว้เพื่อใช้ในขั้นตอนการวิเคราะห์

การเตรียม Rabbit Coagulase Plasma EDTA

1. ใช้ Coagulase Plasma , Rabbit with EDTA Cat. No. 240827 ผสมกับน้ำกลั่น 3.0 ml.
2. เสร็จแล้ว เก็บในตู้เย็น อุณหภูมิ 2 – 8 ^{0}C ภายใน 14 วัน เพื่อป้องกันการระเหย และการปนเปื้อน

การเตรียม Selenite Cystine Broth

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Selenite Cystine Broth 23.0 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย
2. ปิเปต 10 ml. ใส่ในหลอดทดลองและใส่หลอดดักก๊าซจำนวน 1 หลอดต่อหลอดทดลอง 1 หลอด ปิดฝาหลอดให้เรียบร้อย
3. ห้ามนำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave
4. เสร็จแล้วนำมาใส่ไว้ใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 45 ^{0}C

การเตรียม Triple Sugar Iron Agar

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Triple Sugar Iron Agar 65.0 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย นำไปต้มให้เดือด 1 นาที
2. ปิเปต 10 ml. ใส่ในหลอดทดลองจำนวน 1 หลอดต่อหลอดทดลอง 1 หลอด ปิดฝาหลอดให้เรียบร้อย
3. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์
4. นำหลอดมาวางเอียง ทำ slant ทิ้งไว้ให้เย็น

การเตรียม Tryptic Soy Broth (TSB)

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth (TSB) 30.0 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย
2. ตวง 100 ml. ใส่ใน flask ขนาด 250 ml. ปิดปากให้แน่นด้วยจุกสำลี
3. นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์
4. เสร็จแล้วทิ้งไว้ให้เย็น

การเตรียม Violet Red Bile Agar

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Violet Red Bile Agar (VRB) 41.5 กรัม เติมน้ำ 1 ลิตร คนให้เข้ากัน
2. นำไปต้มจนละลาย ประมาณ 1 นาที
3. ห้ามนำใส่ Autoclave
4. นำไปใส่ใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 45 – 50 ^{0}C
5. เสร็จแล้วนำไปเทลง plate ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ประมาณ 15 – 20 ml. ทิ้งไว้จนแข็ง เก็บไว้เพื่อใช้ในขั้นตอนการวิเคราะห์

การเตรียม XLD Agar

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ XLD Agar 57.0 กรัม เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย
2. เทใส่ขวดฝาเกลียว ปิดฝาหลวมๆ นำไปตั้งให้ละลายใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 90 – 95 ^{0}C นาน 1 นาที
3. ห้ามนำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave
4. เสร็จแล้วนำมาใส่ไว้ใน Water bath อุณหภูมิประมาณ 45 ^{0}C

4. วิธีการเตรียมอุปกรณ์

อุปกรณ์

1. จานเลี้ยงเชื้อ (Plate)

วิธีการ

1. ล้างจานเลี้ยงเชื้อ ให้สะอาดทิ้งไว้ให้แห้ง นำใส่กระบอกจานเลี้ยงเชื้อหรือห่อด้วยกระดาษ จากนั้นฆ่าเชื้อด้วย Autoclave
   เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121 ^{0}C ความดัน 15 ปอนด์
2. หลังจากฆ่าเชื้อแล้วนำไปใส่ใน Hot Air Oven อุณหภูมิประมาณ 120 +10 ^{0}C เวลา 3 ชม.หรือจนแห้งสนิท

อุปกรณ์

1. ปิเปต ขนาด 1 ml. 2 ml. และ 5 ml. (Pipette Volume 1 ml, 2 ml, 5 ml.)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วิธีการ

1. ล้างปิเปตให้สะอาดทิ้งไว้ให้แห้ง นำใส่กระบอกปิเปต จากนั้นฆ่าเชื้อด้วย Autoclave เวลา 15 นาที อุณหภูมิ 121^{0} C ความดัน 15 ปอนด์
2. หลังจากฆ่าเชื้อแล้วนำไปใส่ใน Hot Air Oven อุณหภูมิประมาณ 120 +10 C เวลา 3 ชม.หรือจนแห้งสนิท

อุปกรณ์

1. หลอดดักก๊าซ (Durham tube)

วิธีการ

1. ล้างหลอดดักก๊าซให้สะอาด ใส่ในตู้อบหรือทิ้งไว้ให้แห้งสนิท โดยยังต้องฆ่าเชื้อ
2. เมื่อต้องการใช้งานนำไปใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อหลอดละ 1 อัน จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เอกสารอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอต.**เทคโนโลยีของแป้ง**.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ : กรุงเทพฯ.2546.

คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร.คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. **วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ : กรุงเทพฯ.2546.

นิธิยา รัตนาปนนท์.**เคมีอาหาร**.โอเดียนสโตร์: กรุงเทพฯ.2545.

วราวุฒิ ครูสง.**จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร**.โอเดียนสโตร์: กรุงเทพฯ.2538.

สุมาลี เหลืองสกุล.**จุลชีววิทยาทางอาหาร**.ชัยเจริญ : กรุงเทพฯ.2539.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี