ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ทางกายภาพ

ก1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยวิธีของ A.O.A.C. (2000)

อุปกรณ์

1. ตู้อบไฟฟ้า
2. ภาชนะหาความชื้น (จานอลูมิเนียมพร้อมฝา)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับดูดความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบไฟฟ้าใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง ใช้เวลานานประมาณ 30 นาที ชั่งน้ำหนัก
2. กระทำเช่นข้อ 1 ซ้ำ จนกระทั่งได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ต้องการหาความชื้นให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1-3 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นที่ทราบน้ำหนักแล้ว นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบไฟฟ้าใส่ในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่าง แล้วนำไปอบอีกครั้ง กระทำซ้ำเช่นเดิมจนกระทั่งได้ผลแตกต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(a - b) \times 100}{a}$$

กำหนดให้

a = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

b = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

ก2. การวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกทิวิตี ยี่ห้อ NOVASINA รุ่น THERMOCONSTANTER

วิธีการ

1. ตั้งค่าอุณหภูมิของเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตีให้ได้ 25 องศาเซลเซียส แล้วคาริเบตเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตีด้วยเกลือมาตรฐาน
2. บดตัวอย่างให้ละเอียดและบรรจุลงในตลับพลาสติกให้ได้ปริมาณโดยประมาณร้อยละ 80-90 แล้วนำตลับตัวอย่างใส่ลงใน Measuring chamber
3. ค่าที่เครื่องวัดได้เป็นค่า Equilibrium relative humidity (ERH) เมื่อหารด้วย 100 จะได้ค่าวอเตอร์แอกทิวิตีตามที่ต้องการ

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ทางเคมี

ข1. กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ดัดแปลงวิธีของ Arima และคณะ (2000)

สารเคมี

1. สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 20
2. สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85
3. สารละลายเคซีนเข้มข้นร้อยละ 0.6

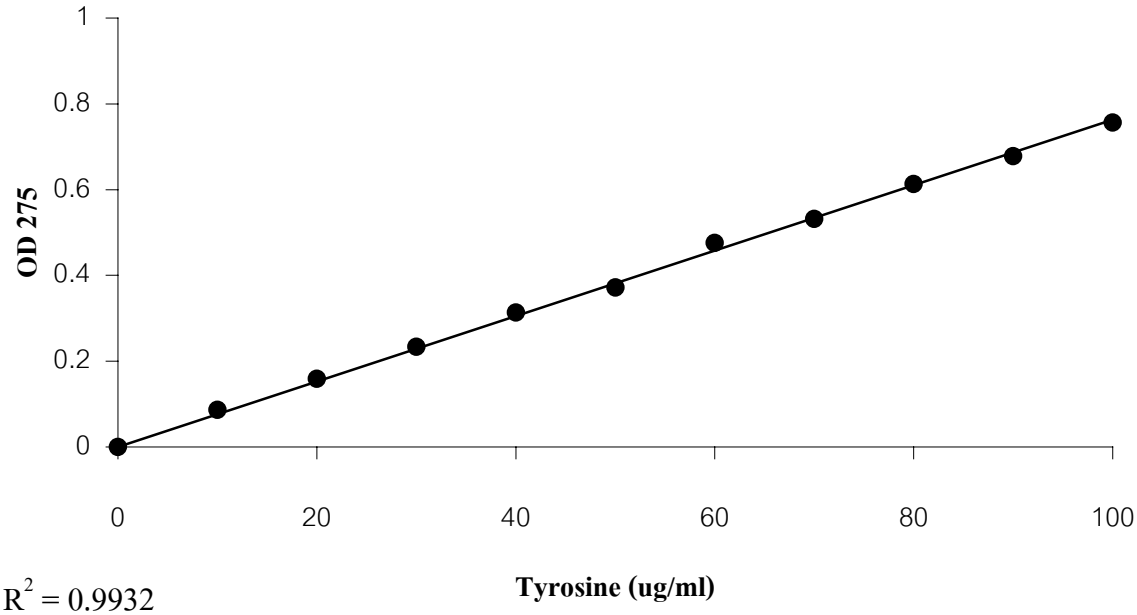
เตรียมโดย ละลายเคซีนจำนวน 0.6 กรัม ในสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) เข้มข้น 0.05 โมลาร์ ปริมาตร 80 มิลลิลิตร ตั้งบนแท่นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียส กวนด้วยแท่งแม่เหล็กตลอดเวลาจนเคซีนละลายหมด แล้วปรับ pH ให้เท่ากับ 7.0 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มัล และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร

4. สารละลายโปรตีนมาตรฐานไทโรซีน

วิธีการ

การเตรียมกราฟมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายไทโรซีนความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายไทโรซีน 10 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
2. เจือจางสารละลายไทโรซีนในช่วง 10-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 275 นาโนเมตร
4. เขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไทโรซีนกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 275 นาโนเมตร



$R^2 = 0.9932$

$Y = 0.0078\ X$

ภาพประกอบภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานไทโรซีน ที่ความยาวคลื่น 275 นาโนเมตร

Standard curve of tyrosine at OD 275 nm

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส

1. เติมขิงผงที่เจือจางในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลายเคซีนเข้มข้นร้อยละ 0.6 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

2. บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

3. หยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 20 จำนวน 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 20 นาที

4. กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 275 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank

สำหรับหลอดควบคุม (Control) ปฏิบัติในทำนองเดียวกัน แต่เติมสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติกก่อนเติมสารละลายเคซีน นำค่าการดูดกลืนแสง (absorbance, A_{275}) ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของไทโรซีน

การคำนวณปฏิกิริยาของเอนไซม์

กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส 1 ยูนิต หมายถึง ความสามารถของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสารละลายเคซีนที่เป็นสับสเตรตได้กรดอะมิโนในรูปของไทโรซีน 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พีเอชเท่ากับ 7

กิจกรรมจำเพาะ (specific activity) ของเอนไซม์โปรติเอส มีค่าเท่ากับยูนิตของเอนไซม์ต่อมิลลิกรัมโปรตีน

การคำนวณ

$$\text{กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)} = \frac{(E - E_0) \times b \times c}{E_s \times a \times t} \times \frac{v}{w}$$

กำหนดให้

E = A_{275}ที่วัดได้เมื่อให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้นเคซีนเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

E_0 = A_{275}ที่วัดได้เมื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ก่อนจึงเติมสารตั้งต้นเคซีน

E_s = ค่าคงที่ที่ได้จากความชันของกราฟมาตรฐานไทโรซีน

a = ปริมาตรสารละลายเอนไซม์ (มิลลิลิตร) ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ในที่นี้เท่ากับ 1 มิลลิลิตร

b = ปริมาตรสารละลายเอนไซม์ (มิลลิลิตร) ทั้งหมดก่อนการวิเคราะห์ ในที่นี้เท่ากับ 10 มิลลิลิตร

c = จำนวนเท่าของการเจือจางสารละลายเอนไซม์เริ่มต้น

v = ปริมาณเอนไซม์ที่ได้ทั้งหมดจากตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์

w = น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาใช้สกัดเอนไซม์

t = เวลาในการทำปฏิกิริยา (นาที) ในที่นี้ใช้ 10 นาที

ข2. กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรติเอส ดัดแปลงวิธีของ Arima และคณะ (2000)

การคำนวณ

$$\text{กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์โปรติเอส (ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน)} = \frac{\text{ค่ากิจกรรมของเอนไซม์}}{\text{ความเข้มข้นของโปรตีน}}$$

ข3. ปริมาณโปรตีน โดยวิธีของ Bradford (1976)

สารเคมี

1. สารละลายแบรดฟอร์ด

เตรียมโดย ละลาย Coomassie Brilliant Blue G-250 จำนวน 100 มิลลิกรัม ในสารละลายเอทานอลร้อยละ 95 จำนวน 50 มิลลิลิตร และเติมสารละลายกรดฟอสฟอริกร้อยละ 85 จำนวน 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร

2. สารละลายโปรตีนมาตรฐานโบไวนซีรัมอัลบูมิน

วิธีการ

การเตรียมกราฟมาตรฐาน

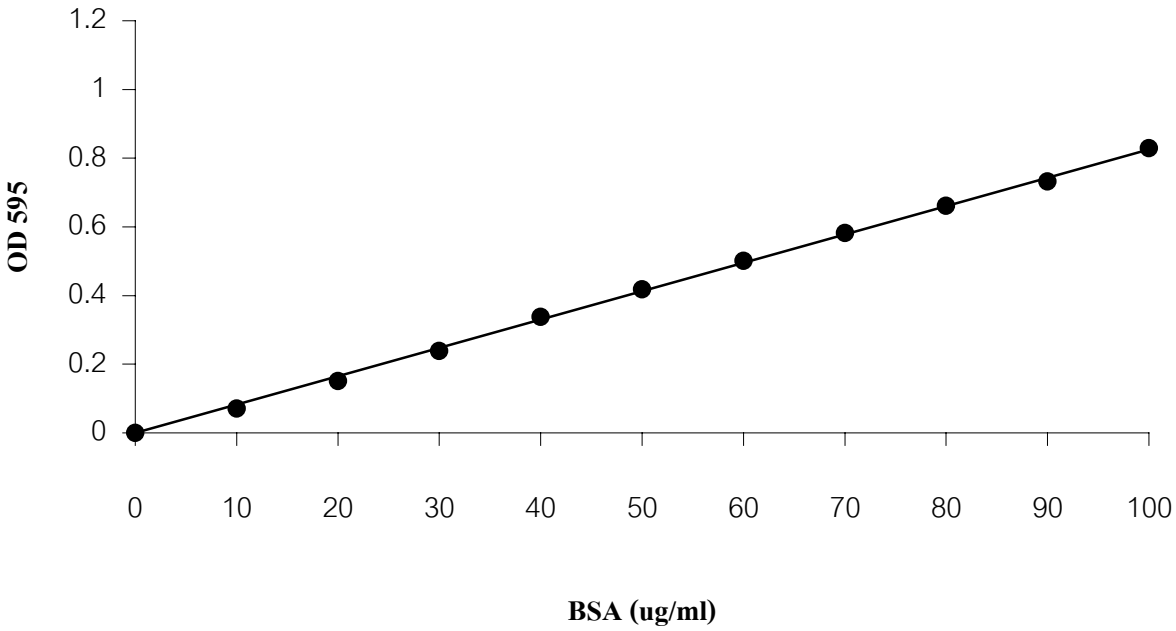
1. เตรียมสารละลายโบไวนซีรัมอัลบูมินความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายโบไวนซีรัมอัลบูมิน 10 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2. เจือจางสารละลายโบไวนซีรัมอัลบูมินในช่วง 10-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

3. ปิเปตสารละลายโบไวนซีรัมอัลบูมินจำนวน 0.1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายแบรดฟอร์ด ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที

4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร

5. เขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโบไวนซีรัมอัลบูมินกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร



$R^2 = 0.9989$

$Y = 0.0009 X$

ภาพประกอบภาคผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานโบไวนซีรัมอัลบูมิน ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

Standard curve of bovin serum albumin (BSA) at OD 595 nm

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

1. เจือจางตัวอย่างให้มีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 10-100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
2. ปิเปตตัวอย่างจำนวน 0.1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายแบรดฟอร์ดจำนวน 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที
3. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร
4. คำนวณปริมาณโปรตีนโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของโบไวนซีรัมอัลบูมิน

ข4. ระดับการย่อยสลายโปรตีน ดัดแปลงวิธีของ Beak และ Codwallader (1995)

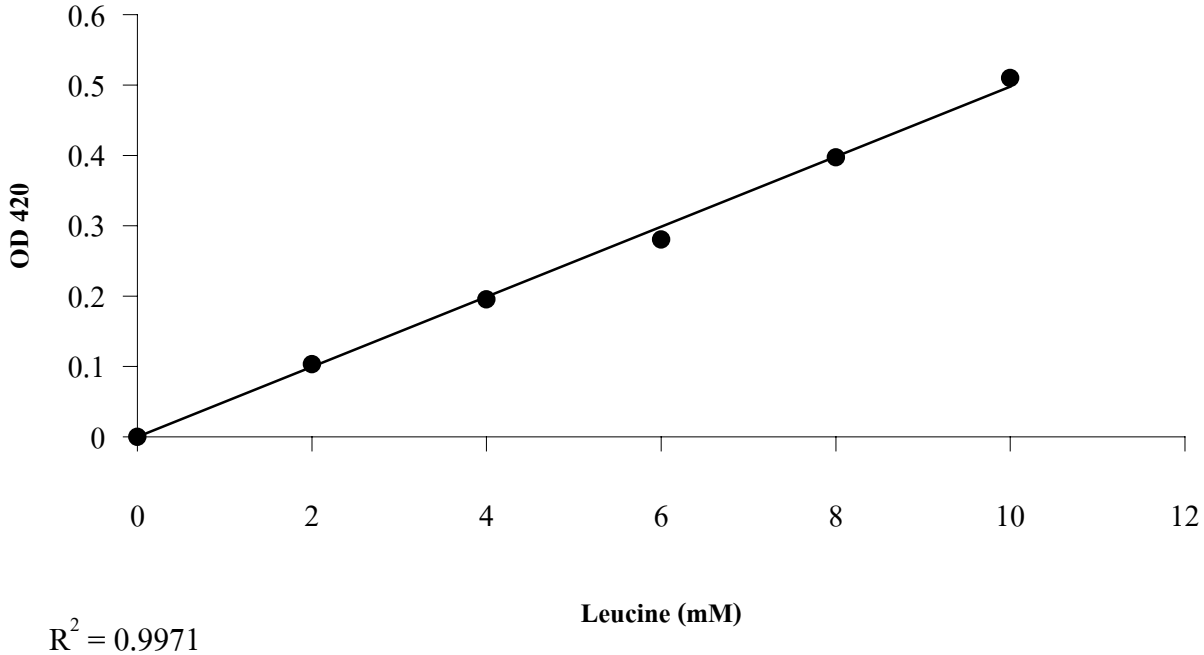
สารเคมี

1. ฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.215 โมลาร์
2. ทีเอ็นบีเอสเข้มข้นร้อยละ 0.01
3. โซเดียมซัลไฟด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์
4. สารละลายโปรตีนมาตรฐานแอล-ลิวซีน
5. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 นอร์มัล
6. โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 6 นอร์มัล

วิธีการ

การเตรียมกราฟมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายแอล-ลิวซีน เข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายแอล-ลิวซีน จำนวน 100 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 10 มิลลิลิตร
2. เจือจางสารละลายแอล-ลิวซีน ให้มีความเข้มข้นในช่วง 1-10 มิลลิโมลาร์
3. เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 8.2 ความเข้มข้น 0.215 โมลาร์ จำนวน 2 มิลลิลิตร และเติมสารละลายทีเอ็นบีเอส ความเข้มข้นร้อยละ 0.01 จำนวน 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่ไร้แสงในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
4. เติมสารละลายโซเดียมซัลไฟด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ จำนวน 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร
6. เขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอล-ลิวซีนกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร



$R^2 = 0.9971$

$Y = 0.0498\ X$

ภาพประกอบภาคผนวกที่ 3 กราฟมาตรฐานแอล-ลิวซีน ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

Standard curve of L-leucine at OD 420 nm

การวิเคราะห์ระดับการย่อยสลาย

นำตัวอย่างจำนวน 500 ไมโครลิตร ทำตามขั้นตอนที่ 3-5 แล้วคำนวณปริมาณกรดอะมิโน โดยนำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของแอล-ลิวซีน

การวิเคราะห์หาค่า L_{max}

1. นำสารละลายตัวอย่าง จำนวน 500 ไมโครลิตร เติมสารละลายไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 นอร์มัล จำนวน 9.5 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง แล้วพ่นด้วยก๊าซไนโตรเจน ปิดฝาหลอดทดลอง

2. นำตัวอย่างมาบ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง กรองตัวอย่างผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และทำให้สารละลายมีสภาวะเป็นกลางโดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 6 นอร์มัล

3. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร และหาความเข้มข้นของกรดอะมิโน

การคำนวณ

$$DH = \left[(L_t - L_o) / (L_{max} - L_o) \right] \times 100$$

กำหนดให้

L_t = ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่าง

L_o = ปริมาณกรดอะมิโนในตัวอย่างเริ่มต้น

L_{max} = ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดในตัวอย่างเมื่อย่อยด้วยกรด

ข5. รูปแบบโปรตีน โดยวิธี Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) ดัดแปลงวิธีของ Laemmli (1970)

อุปกรณ์

1. ชุดอิเลคโตรโฟรีซีส

สารเคมี

1. Acrylamide/bis-acrylamide เตรียมโดยละลาย Acrylamide 29.2 กรัม และ bis-acrylamide 0.8 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิกรัม เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ใช้ได้ประมาณ 1 เดือน หลังจากการเตรียม
2. สารละลายทริส-ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์เข้มข้น 1.5 โมลาร์ พีเอช 8.8
3. สารละลายทริส-ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์เข้มข้น 0.5 โมลาร์ พีเอช 6.8
4. สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 10 (เก็บที่อุณหภูมิห้อง)
5. สารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 5 (เก็บที่อุณหภูมิห้อง)
6. Sample buffer (SDS reducing buffer):

0.5 M Tris-HCl, pH 6.8	2.5	มิลลิลิตร
กลีเซอรอล	2	มิลลิลิตร
10 % SDS	4	มิลลิลิตร
เบต้า-เมอแคปโตเอทานอล	1	มิลลิลิตร
0.3 % โบรโมฟีนอลบลู	0.03	กรัม

นำมาละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร

7. Electrode (running) buffer:

Tris-HCl	3.0	กรัม
ไกลซีน	14.4	กรัม
โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต	1.0	กรัม

นำมาละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

8. Catalyst ประกอบด้วย

สารละลายแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 10 (เตรียมก่อนใช้) TEMED (N,N,N,N-tetramethyl ethylenediamine)

9. โปรตีนมาตรฐานที่ทราบน้ำหนักโมเลกุล Low Molecular Weight (Sigma) ประกอบด้วย Albumin, Ovalbumin, Glyceradehyde-3-phosphate Dehydrogenase, Carbonic Anhydrase, Tryp sinogen, Trypsin Inhibitor, Lactalbumin และ Aprotinin มีน้ำหนักโมเลกุล 66,000 45,000 36,000 29,000 24,000 20,000 14,200 และ 6,500 ตามลำดับ

10. สีย้อมโปรตีน Coomassie Brilliant Blue R-250

11. Staining solution: ละลาย Coomassie Brilliant Blue R-250 จำนวน 0.04 กรัม ในเมธานอล 100 มิลลิลิตร คนจนละลายหมด แล้วเติม Glacial acetic acid 15 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 85 มิลลิลิตร

12. Destaining solution 1: ผสมเมธานอล 200 มิลลิลิตร กรดอะซิติก 30 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 170 มิลลิลิตร

13. Destaining solution 2: ผสมเมธานอล 50 มิลลิลิตร กรดอะซิติก 75 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 875 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่าง 3 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต เข้มข้นร้อยละ 5 จำนวน 27 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วนำมาผสมกับ Sample buffer (อัตราส่วน 1:1) ให้มีความเข้มข้นโปรตีนเท่ากับ 4 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ต้มสารผสมในน้ำเดือด นาน 3 นาที ทำให้เย็น เก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

2. การเตรียม running gel (10% gel) (สำหรบเจล 2 แผ่น)

30 % Acrylamide/0.8% bis-acrylamide	3.333	มิลลิลิตร
1.5 M Tris-HCl buffer, pH 8.8	2.500	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	4.012	มิลลิลิตร
10 % SDS	100	ไมโครลิตร
10 % Ammonium persulfate	50	ไมโครลิตร
เขย่าให้เข้ากัน		
TEMED	5	ไมโครลิตร

เขย่าให้เข้ากัน แล้วดูดใส่ในแผ่นเจล แผ่นละ 3.5 มิลลิลิตร

3. การเตรียม stacking gel (สำหรับเจล 2 แผ่น)

30 % Acrylamide/0.8% bis-acrylamide	0.665	มิลลิลิตร
0.5 M Tris-HCl buffer, pH 6.8	1.250	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	3.000	มิลลิลิตร
10 % SDS	50	ไมโครลิตร
10 % Ammonium persulfate	25	ไมโครลิตร
เขย่าให้เข้ากัน		
TEMED	3	ไมโครลิตร

เขย่าให้เข้ากัน แล้วเทใส่ในแผ่นเจล

4. การแยกโปรตีนโดยเจลอิเลคโตรโฟรีซีส

ประกอบชุดเจลอิเลคโตรโฟรีซีส เติม electrode buffer ให้เต็ม chamber ด้านใน จากนั้น load ตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 1 จำนวน 5 ไมโครลิตร แล้วเติม electrode buffer ใน chamber ด้านนอก ต่อชุดอิเลคโตรโฟรีซีสเข้ากับ power supply เปิดกระแสไฟฟ้า 50 volt จนสีของโบรโมฟีนอลบลูเคลื่อนถึง running gel (ประมาณ 30 นาที) เปลี่ยนกระแสไฟฟ้าเป็น 150 volt จนสีของโบรโมฟีนอลบลูเคลื่อนที่จนเกือบสุดปลายกระจก จึงหยุดการให้กระแสไฟฟ้า

5. การย้อยสีโปรตีนในเจล

นำเจลมาย้อมสีโดยแช่ใน Staining solution นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาแช่ใน Destaining solution 1 นาน 30 นาที แล้วนำมาแช่ทิ้งไว้ข้ามคืนใน Destaining solution 2

ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

ค1. การวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี Total viable count เทคนิคการ pour plate โดยวิธีของ A.O.A.C. (2000)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Plate count agar (PCA)
2. เปปโตน (peptone water) ร้อยละ 0.1 ในหลอดทดลองปริมาตร 9 มิลลิลิตร และในขวดฝาเกลียวปริมาตร 225 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกทนร้อน เติมเปปโตนร้อยละ 0.1 จากขวดฝาเกลียวปริมาตร 225 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตัวอย่างอาหารที่ได้จะมีระดับความเจือจาง 10^{-1}
2. เจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเจือจางเป็น 10^{-2}-10^{-4} โดยใช้เปปโตนร้อยละ 0.1
3. ปิเปตตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตร จากแต่ละระดับความเจือจางลงในจานเพาะเชื้อที่ปลอดเชื้อ
4. เททับด้วยอาหาร PCA ประมาณ 15-20 มิลลิลิตร แกว่งจานเพาะเชื้อเบาๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว
5. บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในลักษณะคว่ำจานเพาะเชื้อ เป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง
6. ตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี และรายงานผลเป็นจำนวน Colony Forming Unit (CFU) ต่อกรัมตัวอย่าง

การคำนวณ

Total viable count = ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนี × ระดับความเจือจาง (CFU/กรัมตัวอย่าง)

ค2. การวิเคราะห์หาปริมาณโคลิฟอร์ม โดยวิธีของ A.O.A.C. (2000)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Lauryl sulphate tryptose broth (LST)
2. Brilliant green lactose bile broth (BGLB)
3. เปปโตนร้อยละ 0.1 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกทนร้อน เติมเปปโตนร้อยละ 0.1 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตัวอย่างอาหารที่ได้จะมีระดับความเจือจาง 10^{-1}
2. เจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเจือจางเป็น 10^{-2}และ 10^{-3} โดยใช้เปปโตนร้อยละ 0.1
3. ปิเปตตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตร จากแต่ละระดับความเจือจางลงในหลอดทดลองที่มี LST พร้อมหลอดดักก๊าซ (Durham tube) ตัวอย่างละ 3 หลอด
4. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง
5. ตรวจผลโดยสังเกตการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ
6. เลือกหลอดที่มีก๊าซมาทำการถ่ายเชื้อ 1-2 ลูป ลงในหลอดอาหาร BGLB บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง
7. ตรวจผลโดยดูการเกิดก๊าซในหลอดดักก๊าซ แล้วอ่านค่าจากตาราง Most Probable Number (MPN)

ค3. การวิเคราะห์หาเชื้อ *Salmonella sp.* โดยวิธีของ A.O.A.C. (2000)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Lactose broth (LB) เข้มข้นร้อยละ 0.5
2. Selenite cysteine broth (SCB)
3. Salmonella shigella agar (SSA)
4. Bismuth sulfite agar (BSA)
5. Xylose lysine desaxycholate (XLD) agar

6. Triple sugar iron (TSI) agar
7. Lysine iron agar (LIA)

วิธีการ

Pre-enrichment

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกทนร้อน เติม Lactose broth เข้มข้นร้อยละ 0.5 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำของผสมที่ได้มาเทใส่ในขวดดูแรนที่ปลอดเชื้อ
2. นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

Selective enrichment

1. ปิเปตตัวอย่างอาหารมา 1 มิลลิลิตร จากขั้นตอน Pre-enrichment ลงในอาหาร SCB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
2. นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

การเพาะเชื้อใน selective agar

1. Streak เชื้อจากขั้นตอน selective enrichment มาเพาะบน SSA BSA และ XLD agar
2. นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง
3. ตรวจสอบลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้นดังนี้

SSA: โคโลนีของเชื้อ *Salmonella sp.* จะไม่มีสี หรือสีชมพูอ่อน บางโคโลนีมีสีดำตรงกลาง

BSA: โคโลนีของเชื้อ *Salmonella sp.* จะมีสีน้ำตาลเข้ม หรือสีดำ บางครั้งอาจมีโคโลนีที่สะท้อนแสง อาหารรอบๆ โคโลนีมีสีน้ำตาล

XLD agar: โคโลนีของเชื้อ *Salmonella sp.* จะมีสีชมพู บางโคโลนีมีสีดำตรงกลาง

การจำแนกและการทดสอบทางชีวเคมี

1. เลือกโคโลนีที่มีลักษณะของ *Salmonella sp.* จาก SSA BSA และ XLD agar ถ่ายลงใน TSI agar และ LIA โดย steak ลงบนผิวหน้าของอาหาร (slant) และ stab จนถึงก้นหลอดทดลอง (butt)
2. นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง
3. ตรวจสอบลักษณะเฉพาะของเชื้อ *Salmonella sp.* ดังนี้

TSI agar: จะมีสีแดงที่ slant และมีสีเหลืองที่ butt อาจมีการสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟต์ โดยอาหารจะมีสีดำที่ butt

LIA: อาหารจะมีสีม่วงทั่วหลอด และหากมีการสร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟต์ อาหารจะมีสีดำ

ค4. การวิเคราะห์หาเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยวิธีของ A.O.A.C. (2000)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Baird parker agar (BPA)
2. Nutrient broth (NB)
3. เปปโตน (peptone water) ร้อยละ 0.1 ในหลอดทดลองปริมาตร 9 มิลลิลิตร และในขวดฝาเกลียวปริมาตร 225 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกทนร้อน เติมเปปโตนร้อยละ 0.1 จากขวดฝาเกลียวปริมาตร 225 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตัวอย่างอาหารที่ได้จะมีระดับความเจือจาง 10^{-1}
2. เจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเจือจางเป็น 10^{-2} โดยใช้เปปโตนร้อยละ 0.1
3. ปิเปตตัวอย่างอาหาร 0.1 มิลลิลิตร จากแต่ละระดับความเจือจางลงในจานอาหาร BPA

4. จุ่มแท่งแก้วสำหรับ spread ลงในแอลกอฮอล์ แล้วนำแท่งแก้วมาผ่านเปลวไฟถือให้เย็นลง เปิดฝาจานอาหาร ทำการกระจายตัว

5. ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที กลับจานเพาะเชื้อและนำมาบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

6. ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Staphylococcus aureus* จะเรียบ นูน สีดำ และมี Clear zone รอบโคโลนี

7. เลือกโคโลนีที่คาดว่าเป็น *Staphylococcus aureus* มาทดลอง โดยเขี่ยเชื้อลงในอาหาร NB และนำมาบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

8. ปิเปตเชื้อจากข้อ 7 ใส่หลอดทดลองปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมพลาสมาของกระต่าย (rabbit plasma) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

9. นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ถ้าไม่เกิดการแข็งตัวของพลาสมา ทำการบ่มต่อไปจนครบ 24 ชั่วโมง ถ้าพลาสมาแข็งตัวแสดงว่าผลเป็นบวก

ค5. การวิเคราะห์หาเชื้อ *Clostridium perfringens* โดยวิธีของ A.O.A.C. (2000)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Tryptose sulfite cycloserine agar (TSC)
2. Clostridium welchii egg york agar (CWEY)
3. เปปโตน (peptone water) ร้อยละ 0.1 ในหลอดทดลองปริมาตร 9 มิลลิลิตร และในขวดฝาเกลียวปริมาตร 225 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกทนร้อน เติมเปปโตนร้อยละ 0.1 จากขวดฝาเกลียวปริมาตร 225 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตัวอย่างอาหารที่ได้จะมีระดับความเจือจาง 10^{-1}

2. เจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเจือจางเป็น $10^{-2} - 10^{-4}$ โดยใช้เปปโตนร้อยละ 0.1

3. ดูดตัวอย่างจากระดับความเจือจางต่างๆ จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร TSC

4. ใช้แท่งแก้วงอที่ฆ่าเชื้อแล้วเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วจาน

5. อบเพาะเชื้อในสภาพที่ไม่มีอากาศที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

6. ตรวจนับโคโลนีที่มีลักษณะโคโลนีสีดำ แสดงว่ามีปฏิกิริยาของ Lecithinase เลือกจานที่มีเชื้อเจริญ 30-300 โคโลนี

7. เกลี่ย antitoxin type A ของ *C. perfringens* 0.1 มิลลิลิตร ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร CWEY ประมาณครึ่งจานเพาะเชื้อ

8. เขี่ยเชื้อที่คาดว่าเป็น *C. perfringens* ลากเชื้อผ่านจานเพาะเชื้อทั้งสองด้าน อบเพาะเชื้อในสภาพที่ไม่มีอากาศที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

9. อาหาร CWEY ด้านที่มี antitoxin จะไม่เกิดปฏิกิริยาของ Lecithinase (positive)

10. คำนวณจำนวน *C. perfringens* ต่อกรัม

ค6. การวิเคราะห์หาปริมาณยีสต์และรา โดยวิธีของ A.O.A.C. (2000)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Potato dextrose agar (PDA)
2. เปปโตน (peptone water) ร้อยละ 0.1 ในหลอดทดลองปริมาตร 9 มิลลิลิตร และในขวดฝาเกลียวปริมาตร 225 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกทนร้อน เติมเปปโตนร้อยละ 0.1 จากขวดฝาเกลียวปริมาตร 225 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตัวอย่างอาหารที่ได้จะมีระดับความเจือจาง 10^{-1}

2. เจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีระดับความเจือจางเป็น $10^{-2} – 10^{-4}$ โดยใช้เปปโตนร้อยละ 0.1

3. ปิเปตตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตร จากแต่ละระดับความเจือจางลงในจานเพาะเชื้อที่ปลอดเชื้อ

4. เททับด้วยอาหาร PDA ประมาณ 15-20 มิลลิลิตร แกว่งจานเพาะเชื้อเบาๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว

5. บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3-5 วัน

6. ตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อและรายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง

ภาคผนวก ง การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ง1. แบบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบ Hedonic – 5 – scale

ชื่อผู้ทดสอบ_____วันที่_____เวลา_____

ชื่อผลิตภัณฑ์ น้ำนมถั่วเหลืองรสขิง

คำชี้แจง กรุณาทดสอบตัวอย่างที่เสนอให้จากซ้ายไปขวา แล้วให้คะแนนความชอบของแต่ละตัวอย่างที่ตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด

คำแนะนำ กรุณาบ้วนปากก่อนชิมตัวอย่าง

5 = ชอบมาก 2 = ไม่ชอบ

4 = ชอบ 1 = ไม่ชอบมาก

3 = เฉยๆ

ปัจจัย/รหัส	…….	…….	…….	…….
กลิ่นรส	…….	…….	…….	…….
ความชอบรวม	…….	…….	…….	…….

ข้อเสนอแนะ

……..……

……..

ขอบคุณค่ะ

ง2. แบบทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์ขิงผงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสจากผู้บริโภค

แบบสอบถาม

แบบสอบถามนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ของ นางสาวนันทพร สุขกระจ่าง นักศึกษาปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ใคร่ขอความร่วมมือจากท่านช่วยตอบแบบสอบถาม ข้อมูลทุกอย่างที่ท่านตอบมาจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับงานวิจัยครั้งนี้ และจะไม่มีผลใดๆ ต่อผู้ตอบทั้งสิ้น ขอขอบคุณทุกท่านที่ให้ความร่วมมือ

คำอธิบาย ขิงผงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส คือขิงที่ผ่านกรรมวิธีทำแห้งและบดให้เป็นผง ซึ่งยังคงรักษาเอนไซม์ตามธรรมชาติไว้ เมื่อเติมลงในผลิตภัณฑ์อาหารจะช่วยย่อยโปรตีนบางส่วนในผลิตภัณฑ์อาหาร ทำให้ร่างกายสามารถย่อยและดูดซึมโปรตีนได้เร็วยิ่งขึ้น

คำแนะนำ กรุณาทำเครื่องหมาย ✓ ในวงเล็บ ( ) หน้าคำตอบที่ท่านเห็นว่าเหมาะสมที่สุด

ส่วนที่ 1 ข้อมูลเกี่ยวกับผู้ตอบแบบสอบถาม

1. เพศ

   ( ) ชาย ( ) หญิง

2. อายุ

   ( ) ต่ำกว่า 15 ปี ( ) 15 – 20 ปี ( ) 21 - 25 ปี

   ( ) 26 – 30 ปี ( ) 31 – 35 ปี ( ) 36 – 40 ปี ( ) มากกว่า 40 ปี

3. การศึกษา

   ( ) มัธยมศึกษาตอนปลายหรือ ป.ว.ช. ( ) อนุปริญญาหรือ ป.ว.ส.

   ( ) ปริญญาตรี ( ) สูงกว่าปริญญาตรี

4. อาชีพ

( ) นักเรียน ( ) นักศึกษา

( ) ข้าราชการ ( ) ลูกจ้าง

( ) ธุรกิจส่วนตัว ( ) แม่บ้าน

( ) อื่นๆ โปรดระบุ ……..

5. รายได้ต่อเดือน

( ) ต่ำกว่า 5,000 บาท ( ) 5,001 – 10,000 บาท

( ) 10,001-15,000 บาท ( ) มากกว่า 15,000 บาท

ส่วนที่ 2 พฤติกรรมการบริโภค

6. ท่านชอบบริโภคขิงหรือไม่

( ) ชอบ ( ) ไม่ชอบ ( ) เฉย ๆ

7. ท่านนิยมบริโภคขิงในรูปแบบใด

( ) รับประทานสด ( ) ปรุงอาหาร

( ) เครื่องดื่ม ( ) อื่นๆ โปรดระบุ …….……

8. ท่านรู้จักผลิตภัณฑ์ขิงผงสำเร็จรูปหรือไม่

( ) รู้จัก ( ) ไม่รู้จัก

9. ท่านชอบบริโภคเครื่องดื่มขิงผงสำเร็จรูปหรือไม่

( ) ชอบ ( ) ไม่ชอบ ( ) เฉย ๆ

10. ความถี่ในการบริโภคเครื่องดื่มขิงผงสำเร็จรูปของท่านต่อสัปดาห์

( ) นาน ๆ ครั้ง ( ) 1 ครั้ง

( ) 2-3 ครั้ง ( ) มากกว่า 3 ครั้ง

11. ท่านซื้อ และ/หรือ เลือกบริโภคเครื่องดื่มขิงผงสำเร็จรูปด้วยเหตุผลใด
(เลือกตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

( ) ความสะดวกในการซื้อ ( ) ราคาไม่แพง

( ) ต้องการคุณค่าทางอาหาร ( ) ดื่มเพื่อดับกระหาย

( ) อยากลองรสชาติใหม่ ( ) ภาชนะบรรจุ

( ) อื่น ๆ โปรดระบุ .....

12. โดยส่วนใหญ่ท่านซื้อผลิตภัณฑ์ขิงผงสำเร็จรูปจากที่ใด (เลือกตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

( ) ร้านสะดวกซื้อ เช่น 7 – Eleven

( ) ร้านค้าทั่วไป เช่น ร้านขายของชำ หรือสหกรณ์ร้านค้า

( ) ซุปเปอร์สโตร์ เช่น โลตัส บิ๊กซี แมคโคร

( ) ซุปเปอร์มาเก็ต เช่น ทอปส์

( ) อื่นๆ โปรดระบุ .....

ส่วนที่ 3 ข้อมูลเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์

13. คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองรสขิง

คำแนะนำ โดยทั่วไปขิงผง สามารถนำมาบริโภคร่วมกับผลิตภัณฑ์อาหารได้หลากหลายชนิด อาทิเช่น แกงจืด น้ำซุป ข้าวต้ม/โจ๊ก เต้าหู้ เต้าฮวย น้ำนม (อื่นๆ โปรดระบุ).....

คำชี้แจง น้ำนมถั่วเหลืองรสขิง เตรียมโดยการชงขิงผงในน้ำนมถั่วเหลืองอุ่น (ที่ระดับอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 นาที

หมายเหตุ ขิงผง 1 ซอง ต่อ น้ำนมถั่วเหลือง 1 กล่อง (ปริมาตร 200 มิลลิลิตร)

กรุณาชิมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่เสนอให้ แล้วทำเครื่องหมาย ✓ ในช่องระดับความชอบที่ตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด

คุณลักษณะ	ชอบมาก	ชอบเล็กน้อย	เฉยๆ	ไม่ชอบ	ไม่ชอบมาก
ลักษณะปรากฏ					
สี					
กลิ่น					
เนื้อสัมผัส					
รสชาติ					
ความชอบโดยรวม					

14. ท่านยอมรับผลิตภัณฑ์ที่ท่านชิมหรือไม่

( ) ยอมรับ (ทำต่อข้อ 14.1) ( ) ไม่ยอมรับ (ทำต่อข้อ 14.2)

14.1 ถ้าท่านรู้สึกยอมรับผลิตภัณฑ์นี้ ท่านคิดว่าเพราะอะไร

( ) อร่อย ( ) กลิ่นรสแปลกใหม่ ( ) มีคุณค่าทางอาหารเพิ่มขึ้น

( ) สะดวกในการบริโภค ( ) อื่น ๆ โปรดระบุ .....

14.2 ถ้าท่านรู้สึกไม่ยอมรับ ท่านคิดว่าเพราะอะไร

( ) ไม่คุ้นเคย ( ) ไม่มีรสชาติ ( ) กลิ่นรสผิดปกติ

( ) อื่นๆ โปรดระบุ .....

15. ถ้าผลิตภัณฑ์ขิงผงชนิดนี้มีวางจำหน่ายในท้องตลาด ราคา 35 บาทต่อกล่อง (กล่องละ 10 ซอง) ท่านจะซื้อหรือไม่ (จินเจน 10 ซอง (× 5 กรัม) ราคา 54 บาท) (ฮอทต้า 10 ซอง (× 7 กรัม) ราคา 56 บาท)

( ) ซื้อ ( ) ไม่ซื้อ

ข้อเสนอแนะ.....

.....

ขอบคุณค่ะ

ภาคผนวก จ ข้อมูลเกี่ยวกับผู้บริโภคทั่วไป

ตารางภาคผนวกที่ 1 ข้อมูลเกี่ยวกับผู้บริโภคที่ทดสอบผลิตภัณฑ์

Demographic data of consumer.

Demographic factors	Consumer (%)
Gender	
Male	50
Female	50
Age (year)	
15-20	37
21-25	4
26-30	4
31-35	12
36-40	19
> 40	24
Education	
secondary school	46
diploma	10
bachelor’s degree	39
> bachelor’s degree	5

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

(Continued)

Demographic factors	Consumer (%)
Occupation	
pupil	25
student	5
government official	26
employee	12
business	28
housekeeper	3
others	1
Income (baht)	
< 5,000	34
5,001-10,000	24
10,001-15,000	25
> 15,001	17

ภาคผนวก ฉ การคำนวณต้นทุนการผลิตขิงผงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส

ต้นทุนการผลิตขิงผงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสครั้งนี้ คำนวณจากต้นทุนทางตรง อันได้แก่ ขิงสด สารเคมีสำหรับการแปรรูป และซองถุงชาสำหรับบรรจุ และต้นทุนทางอ้อม ซึ่งประกอบด้วย ค่าไฟฟ้า และค่าน้ำ รายละเอียดการคำนวณต้นทุนในการผลิตขิงผงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส แสดงดังตารางภาคผนวกที่ 2 ต้นทุนการผลิตขิงผงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส มีค่าเท่ากับ 635.40 บาทต่อน้ำหนักผลิตภัณฑ์ 1 กิโลกรัม ได้ผลิตภัณฑ์ขิงผงบรรจุซองทั้งหมด 500 ซอง (ขนาดบรรจุ 2 กรัม) คิดเป็นราคาต้นทุนการผลิตขิงผงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสเท่ากับ 1.27 บาทต่อซอง

ตารางภาคผนวกที่ 2 การคำนวณต้นทุนการผลิตขิงผงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส

Cost calculation of dried ginger powder containing active protease.

Raw material	Amount (unit)	Baht/kilogram	Total
1. Direct cost			
Fresh ginger	5	70	350
Ascorbate	0.005	280	1.40
Sachet	500	0.35	175
2. Indirect cost*			
Electricity of cost	2.5		94
Water of cost	5		15
Baht per kilogram unit			635.40
Price per unit			1.27

Product contained 2 gm. per sachets or 500 sachets/kg.

หมายเหตุ * **ต้นทุนทางอ้อม เป็นค่าใช้จ่ายในการผลิต ประกอบด้วย ค่าไฟฟ้า และค่าน้ำ ซึ่งมีวิธีการคำนวณ ดังนี้**

- ค่าไฟฟ้า สำหรับกิจการขนาดเล็ก มีอัตรา ดังนี้

35 หน่วยแรก หรือน้อยกว่า 94 บาท

115 หน่วยต่อไป หน่วยละ 1.14 บาท

250 หน่วยต่อไป หน่วยละ 2.22 บาท

เกินกว่า 400 หน่วย ขึ้นไป หน่วยละ 2.53 บาท

ค่าไฟฟ้าต่ำสุด เดือนละ 94 บาท

(ข้อมูลจากกรมพัฒนาและส่งเสริมพลังงาน กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม, 2538)

- ค่าน้ำ ลูกบาศก์เมตรละ 3 บาท

ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่จากวิทยานิพนธ์

การเผยแพร่ในการประชุมวิชาการ

นันทพร สุขกระจ่าง, พิทยา อดุลยธรรม และสุกัญญา จันทะชุม. 2548. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ขิงผงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (ภาคบรรยาย). *ใน* การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ครั้งที่ 3 วันที่ 11 มีนาคม 2548. หน้า 8. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นันทพร สุขกระจ่าง, พิทยา อดุลยธรรม และสุกัญญา จันทะชุม. 2548. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ขิงผงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (ภาคโปสเตอร์). *ใน* การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ครั้งที่ 3 วันที่ 11 มีนาคม 2548. หน้า 111. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.