บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุเกษตร

ผลลำไยสด 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ดอและเบี้ยวเขียว (ภาพที่ 3.1) ที่มีระยะแก่ทางการค้า เก็บเกี่ยวจากสวนลำไยในจังหวัดลำพูน ในเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2552 มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้อยู่ในช่วง 18-20% เก็บรักษาผลลำไยสดไว้ที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน และทำการทดลองในวันรุ่งขึ้น นำผลลำไยมาตัดก้านให้เหลือขั้วประมาณ 0.5 เซนติเมตร คัดเลือกผลลำไยที่ดี ไม่มีตำหนิ และมี ขนาดผลลำไย ใกล้เคียงกัน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 เซนติเมตร น้ำหนักผลอยู่ในช่วง 10-13 กรัม

(ก) (ข)

ภาพที่ 3.1 ลักษณะของผลลำไยพันธุ์ดอ (ก) และพันธุ์เบี้ยวเขียว (ข)

3.2 อุปกรณ์การทดลอง

1. กล่องพลาสติกใสมีฝาปิด (clampshell) ขนาด กว้างxยาวxสูง เท่ากับ 13x14x8 เซนติเมตร
2. เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Digital balance, Model PB 1502-5, Mettler – Toledo, Swizerland)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Digital balance, AB204-S,Mettler Toledo, Switzerland)
4. เครื่องวัดสี (Colorimeter, ColorQuestXE, Hunter Laboratory Inc., Virginia, USA)
5. เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture analyzer, TA-XTi/50, Stable Micro Systems, Ltd., Godalming, UK)
6. เครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter, Model C831, Consort, Turnhout, Belgium)
7. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด วัดได้ในช่วง 0-45% (Digital refractometer, Model PR-101, Atago, Japan)
8. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-Visible spectrophotometer, Specord 40, Analytik jena, Germany)
9. ตู้เพาะเชื้อ (Safety cabinet, HF safe 900/c+, Heal Force, China)
10. ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Incubator for bacteria culture, FOC 225 I, Velp Scientifica, Italy)
11. ตู้บ่มเชื้อ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (Incubator for bacteria culture, UFB 500, Memmert Schwalbach, Germany)
12. ตู้แช่เย็นควบคุมอุณหภูมิ (Controlled humidity and temperature chamber, MIR-553, Sanyo, Japan)
13. เครื่องตีปั่นตัวอย่าง (Stomacher, IUL Masticator 400, Spain)
14. หม้อนึ่งความดันอัดไอ (Autoclave, HL-341, HUXLEY, Taiwan)
15. อ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิ (Heat circulate water bath, YCW-010, Taipei, China)

3.3 สารเคมี

1. กรดเพอร์ออกซีแอซีติก ความเข้มข้น 5% (Peroxyacetic acid ($C_2H_4O_3$); Thaiperoxide Co., Ltd., Saraburi, Thailand)
2. สารละลาย Clorox® ที่มีโซเดียมไฮโพคลอไรต์ 5.7% (Sodium hypochlorite (NaOCl); Clorox, USA)
3. แคลเซียมคลอไรด์ ความบริสุทธิ์ 94-97% (Calcium chloride ($CaCl_2$); OV Chemical and Supply Ltd., Chiang Mai, Thailand)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. กรดซัลฟูริก ความถ่วงจำเพาะ 1.84 ความบริสุทธิ์ 95-97% (Sulfuric acid (H_2SO_4); Merck, Germany)
5. โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความบริสุทธิ์ 98% (Sodium hydroxide (NaOH); Merck, Germany)
6. กรด 3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิก ความบริสุทธิ์ 98% (3,5-Dinitrosalicylic acid ($C_7H_4N_2O_7$); Fluka, China)
7. โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต ความบริสุทธิ์ 99% (Potassium sodium tartrate tetrahydrate ($C_4H_4KNaO_6.4H_2O$); Merck, Germany)
8. กรดทาร์ทาริก ความบริสุทธิ์ 99% (Tartaric acid ($C_4H_6O_6$); Ajax, Australia)
9. Plate Count Agar, Standard Methods Agar (Difco, France)
10. Potato Dextrose Agar (Difco, France)
11. โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรต ความบริสุทธิ์ 99% (Sodium dihydrogen phosphate dehydrate ($NaH_2PO_4.2H_2O$); Scharlau, Spain)
12. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรต ความบริสุทธิ์ 99.5% (Disodium hydrogen phosphate dehydrate ($Na_2HPO_4.2H_2O$); Scharlau, Spain)
13. เอทานอล ความเข้มข้น 95% (Ethanol; OV Chemical and Supply Ltd., Chiang Mai, Thailand)

3.4 วิธีการทดลอง

งานวิจัยนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 6 การทดลอง

การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความเข้มข้น และระยะเวลาการแช่ผลลำไยในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นที่เปลือก

การทดลองที่ 2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกกับสารละลาย Clorox® ในการลดจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นที่เปลือกของผลลำไย

การทดลองที่ 3 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และระยะเวลาในการแช่เพื่อปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อลำไยสดพร้อมบริโภค

การทดลองที่ 4 การศึกษาระดับความเข้มข้น และระยะเวลาการแช่เนื้อลำไยสดพร้อมบริโภคในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกเพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 5 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกกับสารละลาย Clorox® ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ของเนื้อลำไยสดพร้อม-บริโภค

การทดลองที่ 6 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อลำไยสดพร้อมบริโภคระหว่างการเก็บรักษา

การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับความเข้มข้น และระยะเวลาการแช่ผลลำไยในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นที่เปลือก

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ได้สิ่งทดลองทั้งหมด 11 สิ่งทดลอง ดังนี้

สิ่งทดลองที่ 1 ไม่แช่น้ำ (ชุดควบคุม)

สิ่งทดลองที่ 2 แช่ในน้ำประปา

สิ่งทดลองที่ 3 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 นาที

สิ่งทดลองที่ 4 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 นาที

สิ่งทดลองที่ 5 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 นาที

สิ่งทดลองที่ 6 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 นาที

สิ่งทดลองที่ 7 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 นาที

สิ่งทดลองที่ 8 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 นาที

สิ่งทดลองที่ 9 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 5 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สิ่งทดลองที่ 10 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 5 นาที

สิ่งทดลองที่ 11 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 5 นาที

การเตรียมสารละลาย

ก) สารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก ความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเจือจางสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก 5% ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ด้วยน้ำประปาให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

ข) สารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเจือจาง สารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก 5% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ด้วยน้ำประปาให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

ค) สารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเจือจาง สารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก 5% ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ด้วยน้ำประปาให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

ในแต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้ผลลำไย 5 ผล นำตัวอย่างผลลำไยมาวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM, 2001) และยีสต์รา (AOAC, 2000) โดยวิธี total plate count ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง โดยใช้ผลลำไยจากแหล่งต่างกัน นำข้อมูลทั้ง 3 ครั้ง (n=9) มาหาค่าเฉลี่ย และรายงานผลเป็น log cfu/ผล

วิธีวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและยีสต์และรา

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7.2 ความเข้มข้น 0.1%

ละลาย ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ไดไฮเดรต 1 กรัม ในน้ำกลั่น ให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร และละลาย โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ไดไฮเดรต 1 กรัม ในน้ำกลั่น ให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร ใช้แท่งแก้วคนจนละลาย หมด ปรับค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟตโดยเติมสารละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตลงในสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต จนได้ค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์เท่ากับ 7.2 เทใส่ขวดหรือหลอดทดลอง นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว) เป็นเวลา 15 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์ทั้งหมด (plate count agar, PCA)

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวน 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการอบให้ปราศจากเชื้อ รอจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวจึงทำการเพาะเชื้อต่อไป

3. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับยีสต์และรา (potato dextrose agar, PDA)

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับยีสต์และรา จำนวน 39 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ปรับอาหารเลี้ยงเชื้อให้ได้ค่าพีเอชเท่ากับ 3.5 ด้วยสารละลายกรดทาร์ทาริกความเข้มข้น 10% ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการอบให้ปราศจากเชื้อ รอจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวจึงทำการเพาะเชื้อได้

วิธีวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

นำผลลำไย 5 ผล ใส่ในถุงพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใช้มือถูผลลำไยจากด้านนอกของถุงเบาๆ ให้ทั่วทั้ง 5 ผล เป็นเวลา 2 นาที นำสารละลายตัวอย่างที่ได้มาเจือจาง โดยปิเปตต์สารละลายตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ได้เป็น 1 ระดับความเจือจาง สารละลายตัวอย่างที่ได้มีความเข้มข้น 10^{-1} ทำการเจือจางเช่นนี้จนถึงระดับความเจือจาง 1:1000 (10^{-3}) จากนั้นปิเปตต์สารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ทำการเกลี่ยเชื้อ (spread) ให้ทั่วทั้งจานเพาะเชื้อ คว่ำจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48$\pm$3 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี บันทึกจำนวนโคโลนีที่นับได้ และนำไปคำนวณเป็น log cfu/ผล

วิธีวิเคราะห์จำนวนยีสต์และรา

ปิเปตต์สารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ทำการเกลี่ยเชื้อให้ทั่วทั้งจานเพาะเชื้อ คว่ำจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48$\pm$3 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี บันทึกจำนวนโคโลนีที่นับได้ และนำไปคำนวณเป็น log cfu/ผล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การตรวจนับจำนวนโคโลนีและรายงานผล

ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีจากทั้ง 3 จานเพาะเชื้อ รายงานผลการตรวจนับเป็นหน่วย log cfu/กรัมของตัวอย่าง (log โคโลนี/กรัม) หรือ log cfu/ผล (log โคโลนี/ผล) (APHA, 2001)

1. ถ้าทุกความเจือจางไม่มีโคโลนีขึ้นเลย : รายงานว่ามีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า (<) ความเจือจางที่ต่ำสุด เช่น ที่ความเจือจาง 1:100 ไม่มีโคโลนีเกิดขึ้นเลย รายงานผลการตรวจนับว่ามีจำนวนแบคทีเรีย <100 โคโลนี/อาหาร 1 กรัม (โดยประมาณ) หรือ ที่ความเจือจาง 1:10 ไม่มีโคโลนีเกิดขึ้นเลย รายงานผลการตรวจนับว่ามีจำนวนแบคทีเรีย <10 cfu/อาหาร 1 กรัม (โดยประมาณ)

2. ถ้าทุกความเจือจางมีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 30 โคโลนี : รายงานผลการตรวจนับโคโลนีที่ความเจือจางต่ำสุด ในรูป log cfu/กรัมของตัวอย่าง ตามวิธีคำนวณในข้อ 3 เป็นค่าโดยประมาณ (estimate aerobic plate count)

3. ถ้าจำนวนโคโลนีที่ขึ้นมีจำนวนอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี : ถ้าจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นมีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี นับจำนวนโคโลนี และคำนวณให้อยู่ในรูป log cfu/กรัม ของตัวอย่าง ดังสมการ

$$\text{cfu/กรัม} = \frac{\Sigma c}{(V1n1 + 0.1n2)\, d}$$

เมื่อ V1 = ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการเพาะเชื้อ

Σc = ผลรวมของโคโลนีที่นับได้ทั้งหมดจากจานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 30-300 โคโลนี

n1 = จำนวนจานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 30-300 โคโลนี ในระดับความเข้มข้นแรก

n2 = จำนวนจานเพาะเชื้อที่นับได้ในช่วง 30-300 โคโลนี ในระดับความเข้มข้นที่สอง

d = ระดับความเข้มข้นแรกที่สามารถนับเชื้อได้ในช่วง 30-300 โคโลนี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการคำนวณในรูป cfu/ผล

วิธีการคำนวณแสดงดังตัวอย่างต่อไปนี้ เช่น นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อได้ 20 โคโลนี ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} หรือ 1:10 ปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการเพาะเชื้อ 0.1 มิลลิลิตร มีจำนวนโคโลนีเฉลี่ย 20 โคโลนี ปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการเพาะเชื้อ 1 มิลลิลิตร มีจำนวนโคโลนีเฉลี่ย 20/0.1 = 200 โคโลนี

แสดงว่า ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} มีจำนวนโคโลนี จำนวน 200 โคโลนี/1 มิลลิลิตร ถ้าที่ระดับความเข้มข้น 1 จะมีจำนวนโคโลนี (200 x 1)/10^{-1} โคโลนี หรือ 200 x 10 โคโลนี หรือ 2,000 โคโลนี/1 มิลลิลิตร ดังนั้น ปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการเพาะเชื้อ 1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเข้มข้น 1 จะมีจำนวนโคโลนีทั้งหมด 2,000 โคโลนี

ปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการเพาะเชื้อทั้งหมด 50 มิลลิลิตร ที่ระดับความเข้มข้น 1 จะมีจำนวนโคโลนีทั้งหมด 2,000 x 50 = 100,000 โคโลนี แสดงว่า ตัวอย่างผลลำไย 5 ผล มีจำนวนโคโลนีทั้งหมด 100,000 โคโลนี ดังนั้น เมื่อคิดเป็นจำนวนโคโลนี/ผล เท่ากับ 100,000/5 = $2x10^4$ cfu/ผล (โคโลนี/ผล) และเขียนในรูปลอการิทึมฐานสิบ ($\log_{10}$) ได้เท่ากับ 4.30 log cfu/ผล

4. ถ้ามีจำนวนโคโลนีมากกว่า 300 โคโลนี

ถ้ามีจำนวนโคโลนีอยู่ในช่วง 300-400 โคโลนี นับจำนวนโคโลนีทั้งหมดที่พบในความเจือจางสูงสุด คำนวณเป็นค่าเฉลี่ยและรายงานผลเป็นค่าโดยประมาณของแบคทีเรียทั้งหมด

ถ้าจำนวนโคโลนีมากเกิน 300 โคโลนี หรือมากเกิน 10 โคโลนีต่อพื้นที่ 1 ตารางเซนติเมตร นับจำนวนโคโลนีที่พบในพื้นที่ 1 ตารางเซนติเมตร โดยแบ่งเป็นช่องขนาด 1 ตารางเซนติเมตร แล้วนับจำนวนโคโลนีที่อยู่ในช่องนั้นจำนวน 13 ช่อง แบบสุ่ม รวมจำนวนโคโลนีทั้งหมดแล้วหาค่าเฉลี่ยโดยประมาณต่ออาหาร 1 กรัม ของอาหารตัวอย่างนั้น

ถ้าจำนวนโคโลนีเกิน 300 โคโลนี มากจนไม่สามารถนับได้ ให้รายงานว่า “TNTC” (Too Numerous To Count) และต้องทำการทดลองใหม่โดยการเจือจางตัวอย่างอาหารให้มีระดับความเจือจางที่เหมาะสม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพ ของสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกกับ สารละลาย Clorox® ในการลดจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นที่เปลือกของผลลำไย

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ได้สิ่งทดลองทั้งหมด 4 สิ่งทดลอง ดังนี้

สิ่งทดลองที่ 1 ไม่แช่น้ำ (ชุดควบคุม)

สิ่งทดลองที่ 2 แช่ในน้ำประปา

สิ่งทดลองที่ 3 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกที่ให้ผลดีจากการทดลองที่ 1

สิ่งทดลองที่ 4 แช่ในสารละลาย Clorox® ที่มีโซเดียมไฮโพคลอไรต์ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Narciso and Plotto, 2005)

การเตรียมสารละลาย

โซเดียมไฮโพคลอไรต์ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเจือจางสารละลาย Clorox® ที่มีโซเดียมไฮโพคลอไรต์ 5.7% ปริมาตร 3.51 มิลลิลิตร ด้วยน้ำประปาปริมาตร 1 ลิตร แล้วปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 6.5-7.0 ด้วยสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 50%

แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้ผลลำไย 5 ผล นำตัวอย่างผลลำไยมาวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM, 2001) และยีสต์รา (AOAC, 2000) โดยวิธี total plate count เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง โดยใช้ผลลำไยจากแหล่งต่างกัน นำข้อมูลทั้ง 3 ครั้ง (n=9) มาหาค่าเฉลี่ย และรายงานผลเป็น log cfu/ผล

การทดลองที่ 3 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และระยะเวลาในการแช่เพื่อปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสของเนื้อลำไยสดพร้อมบริโภค

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ได้สิ่งทดลองทั้งหมด 13 สิ่งทดลอง ดังนี้

สิ่งทดลองที่ 1 ไม่แช่เนื้อลำไยในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (ชุดควบคุม)

สิ่งทดลองที่ 2 แช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.25% เป็นเวลา 1 นาที

สิ่งทดลองที่ 3 แช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.50% เป็นเวลา 1 นาที

สิ่งทดลองที่ 4 แช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75% เป็นเวลา 1 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สิ่งทดลองที่ 5 แช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.00% เป็นเวลา 1 นาที
สิ่งทดลองที่ 6 แช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.25% เป็นเวลา 3 นาที
สิ่งทดลองที่ 7 แช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.50% เป็นเวลา 3 นาที
สิ่งทดลองที่ 8 แช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75% เป็นเวลา 3 นาที
สิ่งทดลองที่ 9 แช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.00% เป็นเวลา 3 นาที
สิ่งทดลองที่ 10 แช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.25% เป็นเวลา 5 นาที
สิ่งทดลองที่ 11 แช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.50% เป็นเวลา 5 นาที
สิ่งทดลองที่ 12 แช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75% เป็นเวลา 5 นาที
สิ่งทดลองที่ 13 แช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.00% เป็นเวลา 5 นาที

การเตรียมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

ก) สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.25% เตรียมโดยชั่งแคลเซียมคลอไรด์ 2.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

ข) สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.50% เตรียมโดยชั่งแคลเซียมคลอไรด์ 5.0 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

ค) สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.75% เตรียมโดยชั่งแคลเซียมคลอไรด์ 7.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

ง) สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.00% เตรียมโดยชั่งแคลเซียมคลอไรด์ 10.0 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

วิธีการคว้านผลลำไย

นำผลลำไยที่ผ่านการแช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 นาที มาคว้านเอาเมล็ดออกด้วยอุปกรณ์คว้านเมล็ด (ตุ๊ดตู่) ที่สะอาดและผ่านการฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโพคลอไรต์ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร คว้านลำไยจนได้ปริมาณตามที่ต้องการ หลังจากนั้นปอกเปลือกผลลำไยออก ดังภาพในภาคผนวก ข.1

แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้เนื้อลำไย 5 ผล นำตัวอย่างเนื้อลำไยมาวัดค่าความแน่นเนื้อของชิ้นเนื้อลำไยด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส นำข้อมูลทั้ง 3 ซ้ำ (n=15) มาหาค่าเฉลี่ยและรายงานผลเป็นค่าแรงเจาะทะลุ มีหน่วยเป็นนิวตัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีวัดความแน่นเนื้อโดยใช้เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส

ทำการผ่าเนื้อลำไยออกเป็น 2 ส่วน จากนั้นหงายชิ้นเนื้อลำไย และทำการวัดค่าความแน่นเนื้อของเนื้อลำไยสด ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (TA-XTi/50, UK) โดยวัดค่าแรงเจาะทะลุเป็นค่านิวตัน ด้วยหัวเจาะทรงกระบอกเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร (P/2N) ดังภาพที่ 3.2 โดยตั้งค่าดังนี้

Test Model: Measure Force in Compression

Pre-test speed: 5 mm/sec

Test speed: 3 mm/sec

Post-test speed: 10 mm/sec

Distance: 15 mm.

ภาพที่ 3.2 การวัดความแน่นเนื้อของเนื้อลำไยด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส

การทดลองที่ 4 การศึกษาระดับความเข้มข้นและระยะเวลาการแช่ เนื้อลำไยสดพร้อมบริโภค ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกเพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ได้สิ่งทดลองทั้งหมด 11 สิ่งทดลอง ดังนี้

สิ่งทดลองที่ 1 ไม่แช่น้ำ (ชุดควบคุม)

สิ่งทดลองที่ 2 แช่ในน้ำกลั่น เป็นเวลา 3 นาที

สิ่งทดลองที่ 3 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 นาที

สิ่งทดลองที่ 4 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 65 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สิ่งทดลองที่ 5 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 นาที

สิ่งทดลองที่ 6 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 นาที

สิ่งทดลองที่ 7 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 65 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 นาที

สิ่งทดลองที่ 8 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 นาที

สิ่งทดลองที่ 9 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 5 นาที

สิ่งทดลองที่ 10 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 65 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 5 นาที

สิ่งทดลองที่ 11 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 5 นาที

การเตรียมสารละลาย

ก) สารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเจือจางสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก 5% ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

ข) สารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก ความเข้มข้น 65 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเจือจางสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก 5% ปริมาตร 1.3 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

ค) สารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก ความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเจือจางสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก 5% ปริมาตร 1.6 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้เนื้อลำไย 5 ผล นำตัวอย่างเนื้อลำไยมาวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM, 2001) และยีสต์รา (AOAC, 2000) โดยวิธี total plate count ทำการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง โดยใช้ผลลำไยจากแหล่งต่างกัน นำข้อมูลทั้ง 3 ครั้ง (n=9) มาหาค่าเฉลี่ย และรายงานผลเป็น log cfu/กรัม

วิธีวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และยีสต์และรา

การเตรียมสารเคมี

ทำการเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA และ อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

วิธีวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

นำตัวอย่างเนื้อลำไย 5 ผล มาสุ่มตัดโดยชั่งให้ได้ 10 กรัม ใส่ในถุงตีป่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปริมาตร 90 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องตีป่น (stomacher) เป็นเวลา 1 นาที สารละลายตัวอย่างที่ได้มีความเข้มข้น 10^{-1} จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างที่ได้มาเจือจาง โดยปิเปตต์สารละลายตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ได้เป็นระดับความเจือจาง 1:100 (10^{-2}) หลังจากนั้นปิเปตต์สารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 10^{-1}, 10^{-2} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ทำการเกลี่ยเชื้อให้ทั่วทั้งจานเพาะเชื้อ คว่ำจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48$\pm$3 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี บันทึกจำนวนโคโลนีที่นับได้ และนำไปคำนวณเป็น log cfu/กรัม

วิธีวิเคราะห์จำนวนยีสต์และรา

ปิเปตต์สารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 10^{-1} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ทำการเกลี่ยเชื้อให้ทั่วทั้งจานเพาะเชื้อ คว่ำจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48$\pm$3 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี บันทึกจำนวนโคโลนีที่นับได้ และนำไปคำนวณเป็น log cfu/กรัม วิธีการนับและการคำนวณทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 5 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกกับ สารละลาย Clorox® ในการลดปริมาณจุลินทรีย์ของเนื้อลำไยสดพร้อมบริโภค

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ได้สิ่งทดลองทั้งหมด 4 สิ่งทดลอง ดังนี้

สิ่งทดลองที่ 1 ไม่แช่น้ำ (ชุดควบคุม)

สิ่งทดลองที่ 2 แช่ในน้ำกลั่น

สิ่งทดลองที่ 3 แช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกที่ให้ผลดีจากการทดลองที่ 3

สิ่งทดลองที่ 4 แช่ในสารละลาย Clorox® ที่มีโซเดียมไฮโพคลอไรต์ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (Luna-Guzman et al., 1999)

การเตรียมสารละลาย

สารละลายโซเดียมไฮโพคลอไรต์ ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเจือจางสารละลาย Clorox® ที่มีโซเดียมไฮโพคลอไรต์ 5.7% ปริมาตร 1.31 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร แล้วปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 6.5-7.0 ด้วยสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 50%

แต่ละการทดลองทำ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้เนื้อลำไย 5 ผล นำตัวอย่างเนื้อลำไยมาวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM, 2001) และยีสต์รา (AOAC, 2000) โดยวิธี total plate count เช่นเดียวกับการทดลองที่ 4 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง โดยใช้ผลลำไยจากแหล่งต่างกัน นำข้อมูลทั้ง 3 ครั้ง (n=9) มาหาค่าเฉลี่ย และรายงานผลเป็น log cfu/กรัม

การทดลองที่ 6 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อลำไยสดพร้อมบริโภคระหว่างการเก็บรักษา

นำผลลำไยมาแช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกที่ให้ผลดีจากการทดลองที่ 1 (ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 นาที) จากนั้นนำผลลำไยมาคว้านเมล็ด ปอกเปลือก และนำเนื้อลำไยมาแช่ใน สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ให้ผลดีจากการทดลองที่ 5 (ความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 5 นาที) ปล่อยให้สะเด็ดน้ำ และนำเนื้อลำไยไปแช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติกที่ให้ผลดีจากการทดลองที่ 3 (ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 นาที) ปล่อยให้สะเด็ดน้ำ บรรจุเนื้อลำไยสดลงในกล่องพลาสติกใสที่มีฝาปิด จำนวน 20 ผล/กล่อง เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90-95% เป็นเวลา 8 วัน ขั้นตอนการผลิตเนื้อลำไยสดพร้อมบริโภคแสดงดังภาพในภาคผนวก ข.2

สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ของเนื้อลำไยสดพร้อมบริโภค ในวันเริ่มต้น และระหว่างการเก็บรักษาทุกๆ 2 วัน และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทุกวัน (สี ลักษณะปรากฏ กลิ่นและรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม) ดังนี้

การวิเคราะห์ทางกายภาพ

1. การวัดความแน่นเนื้อ

วัดความแน่นเนื้อของชิ้นเนื้อลำไย ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัสเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3

2. การสูญเสียน้ำหนัก

ชั่งน้ำหนักชิ้นเนื้อลำไย ที่บรรจุอยู่ในกล่องพลาสติกใส โดยใช้ตัวอย่างชุดเดียวกันตลอดการทดลอง ด้วยเครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ บันทึกข้อมูลน้ำหนักเนื้อลำไยที่ได้แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \left(\frac{\text{น้ำหนักวันเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักวันที่ชั่ง}}{\text{น้ำหนักวันเริ่มต้น}}\right) \times 100$$

3. ปริมาณของเหลวที่ไหลออกมา (drip loss)

วัดปริมาณของเหลวที่ไหลออกมาโดยใช้กระบอกฉีดยา (syringe) ดูดของเหลวที่อยู่ก้นภาชนะออก จากนั้นชั่งน้ำหนักของเนื้อลำไยที่เหลือ โดยใช้ตัวอย่างชุดเดียวกันตลอดการทดลอง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และนำข้อมูลน้ำหนักที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของเหลวที่ไหลออกมา มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อน้ำหนัก

$$\text{เปอร์เซ็นต์ของเหลวที่ไหลออกมา} = \left(\frac{\text{น้ำหนักเนื้อลำไยวันเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักเนื้อลำไยที่เหลือ}}{\text{น้ำหนักเนื้อลำไยวันเริ่มต้น}}\right) \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. การวัดสี

วัดสีของชิ้นเนื้อลำไยผลละ 2 จุด โดยใช้เนื้อลำไย 5 ผลต่อซ้ำ และทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้ระบบ CIE อ่านค่า L* ด้วยเครื่องวัดสี และก่อนใช้เครื่องวัดสีทุกครั้งปรับ ค่ามาตรฐานด้วยแผ่นเทียบสีมาตรฐาน (light trap และ white trap) ทำการวัดสีและบันทึกค่าสีที่อ่านได้เป็นค่า L*

ค่า L* เท่ากับ 0 คือสีดำ ค่า L* เท่ากับ 100 คือสีขาว เนื่องจากเนื้อลำไยมีสีขาวจึงรายงานผลการวัดสีเฉพาะค่า L* เท่านั้น

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. ค่าพีเอช

การวัดค่าพีเอชเป็นการวัดค่าความเป็นกรดหรือความเป็นด่างของสารละลายใดๆ ซึ่งผันแปรตามความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนที่มีอยู่ในสารละลายนั้นๆ

$pH = -\log [H^+]$ เมื่อ $[H^+]$ คือความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน

เมื่อความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนเพิ่มขึ้น ค่าพีเอชจะลดลง (นิธิยา, 2549)

ชั่งตัวอย่างเนื้อลำไยที่ปั่นละเอียดมา 10 กรัม เติมน้ำกลั่น (ที่ผ่านการต้มเดือดและปล่อยไว้ให้เย็นก่อนใช้) 20 มิลลิลิตร แล้ววัดค่าพีเอชของสารละลายด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ โดยก่อนทำการวัดทุกครั้งต้องตรวจสอบความถูกต้อง ของเครื่องพีเอชมิเตอร์ ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน ที่มีค่าพีเอช 10.1, 7.1 และ 4.1 ตามลำดับ ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ บันทึกค่าพีเอชที่วัดได้ เปลี่ยนค่าพีเอชที่วัดได้เป็นค่าความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน หาค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน แล้วคำนวณกลับเป็น ค่าพีเอชเท่ากับ $-\log [H^+]$

2. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS)

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ หมายถึง ปริมาณของสารประกอบชนิดต่างๆ ที่ละลายได้ในน้ำ ของแข็งที่ละลายน้ำได้ส่วนใหญ่คือน้ำตาลและกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ

นำตัวอย่างเนื้อลำไยที่ปั่นละเอียดมา วัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ด้วยเครื่อง วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ที่อ่านค่าได้ 0-45% โดยใช้น้ำกลั่นปรับเครื่องวัดให้เป็น 0 ก่อนการวัดตัวอย่างทุกครั้ง วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ บันทึกค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และหาค่าเฉลี่ย มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (TA)

วิเคราะห์ หาปริมาณกรดทั้งหมด ที่ไทเทรตได้ในตัวอย่างเนื้อลำไย โดยนำตัวอย่างที่มีน้ำหนักแน่นอนมาไทเทรตกับสารละลายด่างมาตรฐาน จนถึงจุดยุติ โดยสังเกตจากการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์ หรือวัดค่าพีเอชให้ได้ 8.1 และคำนวณผลในรูปเปอร์เซ็นต์ของกรดซิตริก (AOAC, 2000)

การเตรียมสารละลาย

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยชั่งโซเดียม - ไฮดรอกไซด์ จำนวน 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเดือด และปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร

วิธีวิเคราะห์

นำตัวอย่างเนื้อลำไยที่ปั่นละเอียดจำนวน 10 กรัม เติมน้ำกลั่น (ที่ผ่านการต้มเดือดและปล่อยไว้ให้เย็น) 40 มิลลิลิตร ผสมตัวอย่างกับน้ำกลั่นให้เข้ากัน นำสารละลายตัวอย่างไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล วัดค่าพีเอชของสารละลายที่ไทเทรตจนอ่านค่าพีเอชได้ 8.1 จึงยุติ บันทึกปริมาตรของสารละลายด่างที่ใช้ ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ในรูปกรดซิตริก มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ โดย milliequivalent weight of citric acid = 0.07

$$\text{กรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (\%)} = \frac{\text{ความเข้มข้น NaOH (N) x ปริมาตร NaOH (ml) x 0.07 x 100}}{\text{น้ำหนักของเนื้อลำไย (g)}}$$

4. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง

วิธีวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงเป็นการวัดปริมาณของหมู่คาร์บอนิล (C=O) ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำตาลรีดิวซิงที่ในโมเลกุลมีหมู่แอลดีไฮด์ เช่น น้ำตาลกลูโคส และมีหมู่คีโทนเป็น เช่น น้ำตาลฟรักโทส น้ำตาลรีดิวซิง 1 โมล จะทำปฏิกิริยากับกรดไดไนโตรซาลิไซลิก 1 โมล ซึ่งจะถูกรีดิวซ์ในสภาวะที่เป็นด่าง ภายหลังการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีน้ำตาลแดง วัดความเข้มของสีโดยการวัดค่าการ ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นอกจากนี้ยังมีการเติม สารละลายโพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต เพื่อลดแก๊สออกซิเจน ที่ละลายอยู่ ในสารละลายและทำให้สีของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารละลายมีความคงตัว อย่างไรก็ตาม น้ำตาลรีดิวซิงแต่ละชนิดจะให้ความเข้มของสีแตกต่างกัน จึงต้องทำกราฟมาตรฐานของน้ำตาลชนิดที่ต้องการวิเคราะห์ (Miller, 1959)

การเตรียมสารละลาย

ก) สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร เตรียมโดยชั่งน้ำตาลกลูโคสจำนวน 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นคนให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

ข) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 10% เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์จำนวน 100 กรัม ละลายในน้ำกลั่น คนให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

ค) สารละลายไดไนโตรซาลิไซลิก (DNS reagent) เตรียมโดยละลายกรด 3,5-ไดไนโตร-ซาลิไซลิก 1 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร หลังจากนั้นละลายโพแทสเซียมทาร์เทรต 30 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้มาผสมกัน คนจนละลายหมดแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร เก็บรักษาไว้ในขวดสีชา

การสร้างกราฟมาตรฐานน้ำตาล

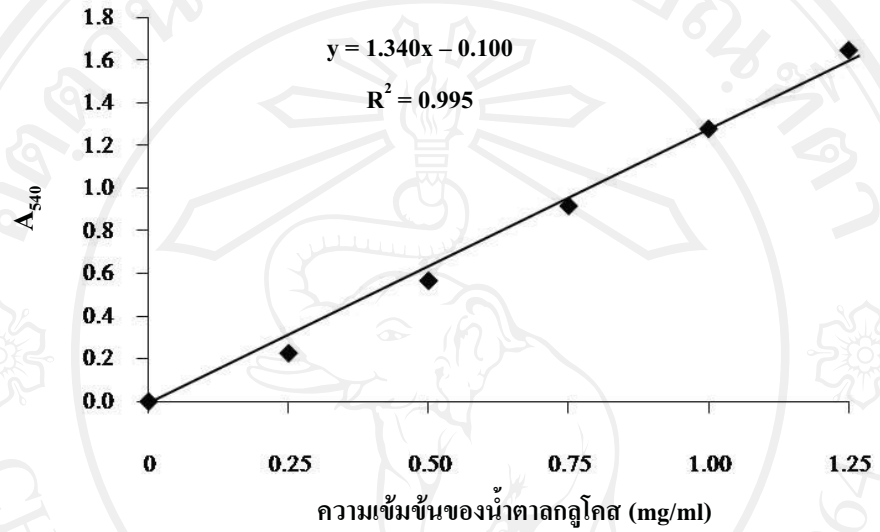
เตรียมสารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 0.00, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยปิเปตต์สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตต์สารละลายกลูโคสมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น ใส่ในหลอดทดลองความเข้มข้นละ 1 มิลลิลิตร เติม DNS reagent 1 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร นำไปต้มในอ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปแช่ในน้ำเย็นทันที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร (A_{540}) โดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง บันทึกค่าที่อ่านได้ จากนั้นนำค่าที่วัดได้และความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ไปสร้างกราฟมาตรฐาน ดังแสดงในภาพที่ 3.3

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง

ชั่งตัวอย่างเนื้อลำไยที่ปั่นละเอียดมา 5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร นำไปต้มในอ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรอง ล้างส่วนที่เหลือบนกระดาษกรอง แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นำตัวอย่างที่สกัดได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล โดยปิเปตต์สารละลายตัวอย่าง 0.10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 2.90 มิลลิลิตร เติม DNS reagent 1.00 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นจุ่มในน้ำเย็นทันที แล้วนำไปวัดค่า A_{540} โดยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง



ภาพที่ 3.3 กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลกลูโคส

5. ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

วิธีวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมด เป็นการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงภายหลังถูกไฮโดรไลซ์ด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก และนำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงทั้งหมด โดยใช้วิธีการเช่นเดียวกับการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงในข้อ 4.

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

การเตรียมสารละลาย

สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ เตรียมโดยนำกรดซัลฟูริก 147 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

วิธีการไฮโดรไลซ์น้ำตาลทั้งหมด

ชั่งตัวอย่างเนื้อลำไยที่ปั่นละเอียดมา 2.5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ จำนวน 10 มิลลิลิตร นำไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วจุ่มลงในน้ำเย็นทันที เติมสารละลายโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10% จำนวน 12 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำสารละลายที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรอง ล้างส่วนที่เหลือบนกระดาษกรองแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

นำตัวอย่างที่สกัดได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง โดยปิเปตต์สารละลาย 0.10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 2.90 มิลลิลิตร เติม DNS reagent 1.00 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในอ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นจุ่มในน้ำเย็นทันที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร (A_{540}) โดยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง

การคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง

นำค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง เนื้อลำไยที่วัดได้จากเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ไปเปรียบเทียบกับ กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลกลูโคส (ภาพที่ 3.3) ยกตัวอย่างค่า Y เท่ากับ 0.650

จากสมการเส้นตรงของกราฟกลูโคสมาตรฐาน $Y = 1.340X - 0.1$

โดย Y = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้

X = ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงในตัวอย่าง (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

ดังนั้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงในตัวอย่าง = $(0.650 + 0.1)/1.340 = 0.56$

จากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง ดังนี้

สารละลายตัวอย่างปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร มีน้ำตาลรีดิวซิงเท่ากับ 0.56 มิลลิกรัม ดังนั้น สารละลายตัวอย่างปริมาณ 1 มิลลิลิตร มีปริมาณน้ำตาลรีดิงซิงเท่ากับ $0.56/0.1 = 5.6$ มิลลิกรัม

สารละลายตัวอย่างปริมาณ 100 มิลลิลิตร มีปริมาณน้ำตาลรีดิงซิงเท่ากับ 560 มิลลิกรัม

เนื่องจากสารละลายตัวอย่างปริมาณ 100 มิลลิลิตร มีเนื้อผลไม้ 5 กรัม แสดงว่าเนื้อผลไม้ 1 กรัม มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงเท่ากับ $560/5 = 112$ มิลลิกรัม/เนื้อผลไม้ 1 กรัม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 11.20% ดังนั้นตัวอย่างเนื้อลำไยมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง เท่ากับ 11.20%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์

สุ่มตัวอย่างเนื้อลำไยสดที่อยู่ในกล่องพลาสติกใสมาจำนวน 10 กรัม วิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM, 2001) และยีสต์และรา (AOAC, 2000) โดยวิธี total plate count เช่นเดียวกับการทดลองที่ 4

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

การเตรียมตัวอย่างเนื้อลำไยสดพร้อมบริโภคสำหรับประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

นำตัวอย่างเนื้อลำ ไยสดพร้อมบริโภคในตู้แช่เย็นที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ใส่ลงในถ้วยพลาสติกสีขาวที่เตรียมไว้ โดยใช้เนื้อลำ ไย 1 ผลต่อ 1 ถ้วย แล้วนำไปให้ผู้ ประเมินที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนทั้งหมด 15 คน เป็นนักศึกษาทั้งเพศหญิงและชาย มีอายุประมาณ 21-25 ปี

การประเมินคุณภาพของเนื้อลำไยใช้วิธีการประเมินแบบ Hedonic five point scale (คะแนน 1-5) โดยทดสอบความชอบของชุดควบคุม ชุดทดลองที่ 1 และชุดทดลองที่ 2 โดยแบ่งคุณลักษณะที่ใช้ประเมินเนื้อลำ ไยออกเป็น 5 ลักษณะ คือ สี ลักษณะปรากฏภายนอก กลิ่น รส เนื้อสัมผัส (ความกรอบ) และการยอมรับโดยรวม โดยใช้เกณฑ์คะแนนคือ 5 = ชอบมาก 4 = ชอบปานกลาง 3 = เฉยๆ 2 = ไม่ชอบปานกลาง 1 = ไม่ชอบมาก กำหนดให้เนื้อลำไยสดพร้อมบริโภคสิ้นสุดอายุการเก็บรักษาเมื่อคะแนนผลการประเมินการยอมรับโดยรวมได้ต่ำกว่า 3 คะแนน

ตัวอย่างแบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนื้อ ลำไยสดพร้อมบริโภค แสดงในภาคผนวก ข

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลผลการทดลองที่ได้มา วิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธีการ หาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Version 15, Windows 2006, Statistical Analysis)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved