บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. วัสดุและอุปกรณ์

1. วัสดุเกษตร

มะม่วง จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ โชคอนันต์ และมหาชนก เก็บเกี่ยวจากสวนที่ปลูกในจังหวัดเชียงใหม่ คัดเลือกผลมะม่วงดิบที่แก่จัดโดยเลือกให้เฉพาะผลมะม่วงที่จมน้ำ (จริงแท้, 2546) นำมะม่วงที่มีขนาดสม่ำเสมอกัน ไม่มีโรคและแมลงทำลาย บ่มด้วยแคลเซียมคาร์ไบด์ในอัตราส่วน 100 กรัมต่อมะม่วง 15 กิโลกรัม ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน แล้วนำผลมะม่วงที่บ่มแล้วมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 15±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน ก่อนนำไปปอกเปลือก และหั่นชิ้นรูปแบบต่างๆ

สับปะรด จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สับปะรดพันธุ์ศรีราชาและภูเก็ต จากตลาดเมืองใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ไม่มีโรคและแมลงทำลาย เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 15±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน ก่อนนำไปปอกเปลือกและหั่นชิ้นรูปแบบต่างๆ

2. อุปกรณ์วิทยาศาสตร์

1. เครื่องชั่งแบบดิจิตอล ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Mettle-Toledo รุ่น PB3002-S และรุ่น PB1502-S, Greifensee, Switzerland
2. เครื่องชั่งแบบดิจิตอล ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius รุ่น EA35EDE-I, Goettingen, Germany)
3. เครื่องชั่งแบบดิจิตอล ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettle-Toledo รุ่น AB204-S, Greifensee, Switzerland)
4. เครื่องวัดสี (HunterLab, รุ่น ColorQuestXE, Virginia, USA)
5. เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Stable Micro Systems รุ่น TA – XTi /50, Surrey, UK)
6. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ แบบดิจิตอล (Atago รุ่น PR-101, Tokyo, Japan)
7. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) (CONSORT รุ่น C831T Turnhout, Belgium)
8. เครื่องทำน้ำปราศจากไอออน (EASY pure RF รุ่น Series 1051, Iowa, USA)
9. เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (Sartorius รุ่น PP-20, Goettingen, Germany)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

10. แก๊สโครมาโทรกราฟฟี่สำหรับวัดปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ (SHIMADSU รุ่น GC-8A, Tokyo, Japan)
11. หม้อนึ่งความดันไอ ขนาด 7.2 ลิตร (Huxley รุ่น HL-341, Taipei, Taiwan)
12. ตู้อบไฟฟ้าที่ควบคุมอุณหภูมิ (Binder รุ่น BD/ED/FD with R3- Controller, Neckarsulm, Germany)
13. ตู้อบลมร้อน (MEMMERT รุ่น UFB 500 และรุ่น UM 500, Frankfurt, Germany)
14. Stomacher (IUL Masticator รุ่น IUL Masticator 400, Barcelona, Spain)
15. Digital burette (Brand, Werthiem, Germany)
16. แก๊สโครมาโทรกราฟฟี่สำหรับวัดปริมาณเอทิลีน (Thermo Finnigan รุ่น Trace GC, Milan, Italia)
17. UV visible spectrophotometer (Analytik Jena รุ่น SPECORD 40, Bath, UK)
18. เครื่องบดสับอาหาร (Moulinex รุ่น AT71R1F, Paris, France)
19. เครื่องคั้นน้ำผลไม้
20. ผ้าขาวบาง
21. มีดปอกผลไม้และเขียงพลาสติก
22. Magnetic stirrer (Aris, ME-20, Bangkok, Thailand)
23. Magnetic bar
24. Spreader
25. Transfer pipette
26. Pipette pump
27. ตะเกียงแอลกอฮอล์
28. จานเพาะเชื้อ
29. เครื่องแก้วชนิดต่างๆ
30. Polystyrene clampshell ขนาด กว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 13.0 x 13.7 x 7.3 เซนติเมตร
31. ถุงพลาสติกทนความร้อน
32. กระดาษกรอง (Whatman, Kent, UK)
33. แผ่นอลูมิเนียมฟอลย์
34. เข็มฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3. สารเคมี

1. สารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก 5 เปอร์เซ็นต์ (PAA) (Birlox, Saraburi, Thailand)
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) (AR grade, Ajex Chemicals, Australia)
3. กรดออกซาลิก (oxalic acid) (AR grade,Fisher Chemicals, Leicestershire, UK)
4. 2,6-dichlorophenol indophenol (Merck, Darmstadt, Germany)
5. วิตามินซีมาตรฐาน (L(+)-ascorbic acid sodium salt [Sodium ascorbate]) (Fluka, Laemmli, UK)
6. สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานพีเอช 4.0, 7.0 และ 10.0 (HANNA, Padova, Italy)
7. โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$) (AR grade, Scharlau, Barcelona, Spain)
8. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) (AR grade, Scharlau, Barcelona, Spain)
9. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์ทั้งหมด (Difgo™, Maryland, U.S.A.)
10. เอทิลแอลกอฮอล์ (C_2H_5OH) ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ (OV chemical & supply, Chiang Mai, Thailand)
11. โพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) (AR grade, QReC™, Hamburg, Germany)
12. กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) (AR grade, LAB-SCAN, Bangkok, Thailand)

2. วิธีการทดลอง

การเตรียมตัวอย่าง

มะม่วง นำผลมะม่วง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์น้ำดอกไม้ โชคอนันต์ และมหาชนกที่บ่มสุกแล้ว เลือกผลมะม่วงสุกที่มีขนาดผลใกล้เคียงกัน สุ่มชั่งน้ำหนักผลมะม่วงสุกด้วยเครื่องชั่ง โดยผลที่จะใช้ในการศึกษามีน้ำหนักอยู่ในช่วง 350-430 กรัม และมีความแน่นเนื้อเฉลี่ยอยู่ในช่วง 5-10 นิวตัน เมื่อวัดด้วยเครื่องวัดความแน่นเนื้อ บริเวณสันผลที่ปอกเปลือกแล้วทั้งหมด 3 จุด คือ กลางผล ห่างจากขั้วผลและปลายผลประมาณ 1 นิ้ว นำผลมะม่วงไปแช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยปิเปตต์สารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก ปริมาตร 2 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร เป็นเวลา 3 นาที (Narciso and Plotto, 2005) หลังจากนั้นผึ่งให้ผิวนอกแห้ง ปอกเปลือกและหั่นชิ้นเนื้อมะม่วงสุกตามกรรมวิธีต่างๆ (ภาพที่ 3.1) นำชิ้นเนื้อมะม่วงสุกที่หั่นแล้วไปแช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วินาที (Narciso and Plotto, 2005) ปล่อยให้สะเด็ดน้ำ บรรจุชิ้นเนื้อมะม่วงลงใน clamshell ประมาณครึ่งผล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 92±2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 วัน กรรมวิธีในการหั่นชิ้นมีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ผลมะม่วงปอกเปลือกทั้งผล (ชุดควบคุม)
กรรมวิธีที่ 2 ผลมะม่วงหั่นชิ้นครึ่งผล
กรรมวิธีที่ 3 ผลมะม่วงหั่นชิ้นตามขวางสองชิ้นต่อครึ่งผล
กรรมวิธีที่ 4 ผลมะม่วงหั่นชิ้นตามยาวสองชิ้นต่อครึ่งผล
กรรมวิธีที่ 5 ผลมะม่วงหั่นชิ้นตามยาวและขวางสี่ชิ้นต่อครึ่งผล
กรรมวิธีที่ 6 ผลมะม่วงหั่นชิ้นตามขวางสี่ชิ้นต่อครึ่งผล
กรรมวิธีที่ 7 ผลมะม่วงหั่นชิ้นตามยาวและขวางแปดชิ้นต่อครึ่งผล

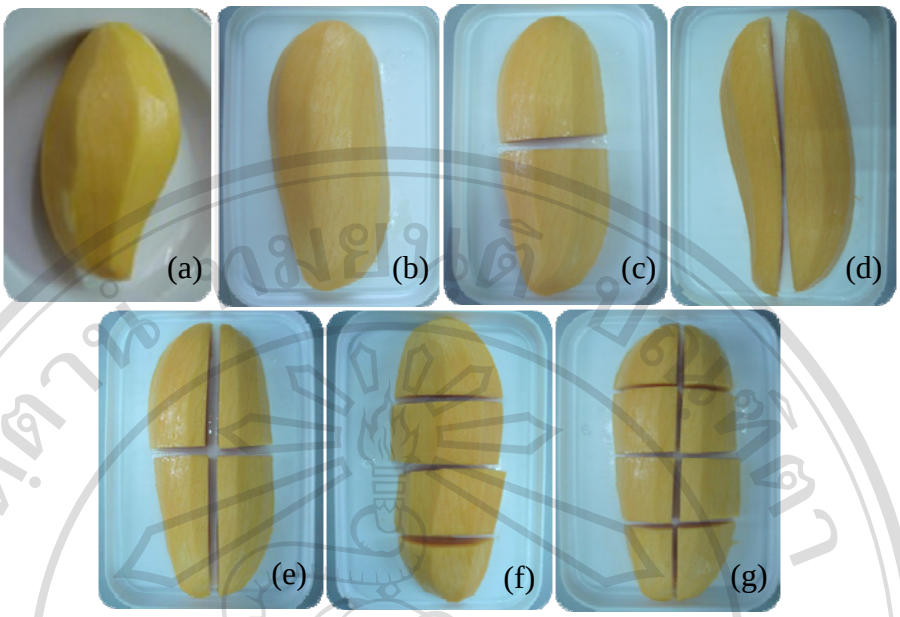
สับปะรด นำผลสับปะรด 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ศรีราชา และภูเก็ต เลือกผลสับปะรดแก่ที่มีขนาดผลใกล้เคียงกัน สุ่มชั่งน้ำหนักผลสับปะรดด้วยเครื่องชั่ง ให้มีน้ำหนักอยู่ในช่วง 1.00-1.20 กิโลกรัม ตัดปลายผลทั้งสองด้านออก แล้วนำผลสับปะรดไปแช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 นาที ผึ่งให้แห้ง ปอกเปลือกและหั่นชิ้นเนื้อสับปะรดตามกรรมวิธีต่างๆ (ภาพที่ 3.2) นำชิ้นเนื้อสับปะรดที่หั่นแล้วแช่ในสารละลายกรดเพอร์ออกซีแอซีติก ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 นาที ปล่อยให้สะเด็ดน้ำ บรรจุใน clamshell นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 92±2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 วัน กรรมวิธีในการหั่นชิ้นมีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ผลสับปะรดปอกเปลือกทั้งผล (ชุดควบคุม)
กรรมวิธีที่ 2 ผลสับปะรดหั่นชิ้นตามยาวครึ่งผล
กรรมวิธีที่ 3 ผลสับปะรดหั่นชิ้นตามยาวสองชิ้นต่อครึ่งผล
กรรมวิธีที่ 4 ผลสับปะรดหั่นชิ้นตามยาวสี่ชิ้นต่อครึ่งผล
กรรมวิธีที่ 5 ผลสับปะรดหั่นตามยาวและขวางสิบหกชิ้นต่อครึ่งผล

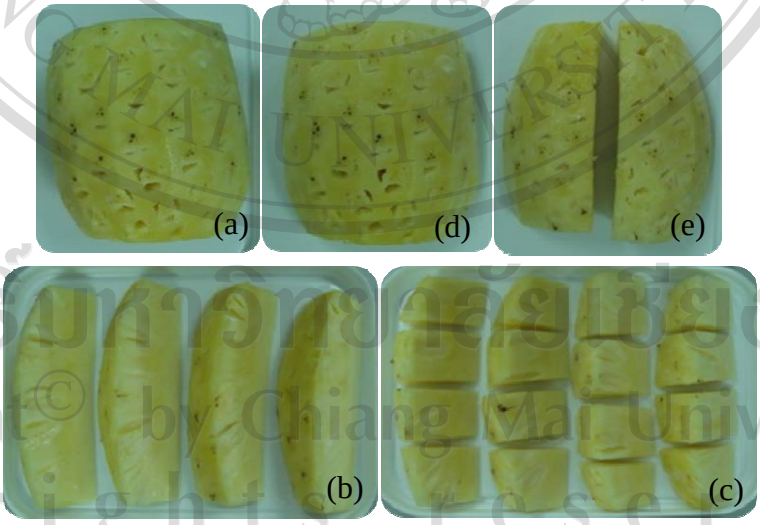
การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ completely randomize design (CRD) มี 7 และ 5 กรรมวิธีตามลำดับ ลำดับละ 3 ซ้ำ วัดคุณภาพทางกายภาพ เคมี และสรีวิทยาในวันเริ่มต้นการทดลอง และสุ่มตัวอย่าง ระหว่างการเก็บรักษาทุกๆ 2 วัน ครั้งละ 3 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 3.1 รูปแบบการหั่นชิ้นของมะม่วงในแต่ละกรรมวิธี (a) = ชุดควบคุม (b) = ผลมะม่วงหั่นชิ้นครึ่งผล (c) = ผลมะม่วงหั่นชิ้นตามขวางสองชิ้นต่อครึ่งผล (d) = ผลมะม่วงหั่นชิ้นตามยาวสองชิ้นต่อครึ่งผล (e) = ผลมะม่วงหั่นชิ้นตามยาวและขวางสี่ชิ้นต่อครึ่งผล (f) = ผลมะม่วงหั่นชิ้นตามขวางสี่ชิ้นต่อครึ่งผล และ (g) = ผลมะม่วงหั่นชิ้นตามยาวและขวางแปดชิ้นต่อครึ่งผล



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 3.2 รูปแบบการหั่นชิ้นของสับปะรดในแต่ละกรรมวิธี (a) = ชุดควบคุม (b) = ผลสับปะรดหั่นชิ้นครึ่งผล (c) = ผลสับปะรดหั่นชิ้นตามยาวสองชิ้นต่อครึ่งผล (d) = ผลสับปะรดหั่นชิ้นตามยาวสองสี่ชิ้นต่อครึ่งผล และ (e) = ผลสับปะรดหั่นชิ้นตามยาวและขวางสิบหกชิ้นต่อครึ่งผล

3. การวิเคราะห์ผลการทดลอง

การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ

1. การสูญเสียน้ำหนักสด

การสูญเสียน้ำหนักสด คิดในรูปเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด โดยนำเนื้อผลไม้ที่หั่นชิ้นบรรจุใน clamshell มาชั่งน้ำหนักเริ่มต้นและชั่งน้ำหนักทุกๆ 2 วัน ระหว่างการเก็บรักษา นำค่าที่ได้มาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังการเก็บรักษา}}{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา}} \times 100$$

2. การเปลี่ยนแปลงสีของชิ้นเนื้อ

วัดสีเนื้อด้านที่ติดกับเปลือก โดยใช้เครื่องวัดสี ระบบ CIE 1976 รายงานค่าสีที่วัดได้ในรูปของ L*, a* และ b* (ภาพที่ 3.3) โดย

ค่า L* เป็นค่าที่แสดงสีดำและสีขาวของวัตถุ มีค่าตั้งแต่ 0-100 ถ้าค่า L* ที่มีค่าเท่ากับ 0 หมายถึง วัตถุมีสีดำ หากค่า L* มีค่าเท่ากับ 100 หมายถึง วัตถุมีสีขาว

ค่า a* เป็นค่าที่แสดงสีแดงและสีเขียว ถ้าค่า a* มีค่าเป็นบวก หมายถึง วัตถุมีสีแดง หากค่า a* มีค่าเป็นลบ หมายถึง วัตถุมีสีเขียว

ค่า b* เป็นค่าที่แสดงสีเหลืองและสีน้ำเงิน ถ้าค่า b* มีค่าเป็นบวก หมายถึง วัตถุมีสีเหลือง หากค่า b* มีค่าเป็นลบ หมายถึง วัตถุมีสีน้ำเงิน

เมื่อทั้ง a* และ b* มีค่าเท่ากับ 0 แสดงว่าวัตถุมีสีเทา นำค่า a* และ b* มาคำนวณหาค่า Chroma (C*) และ Hue angle (H°) ได้จากสมการ

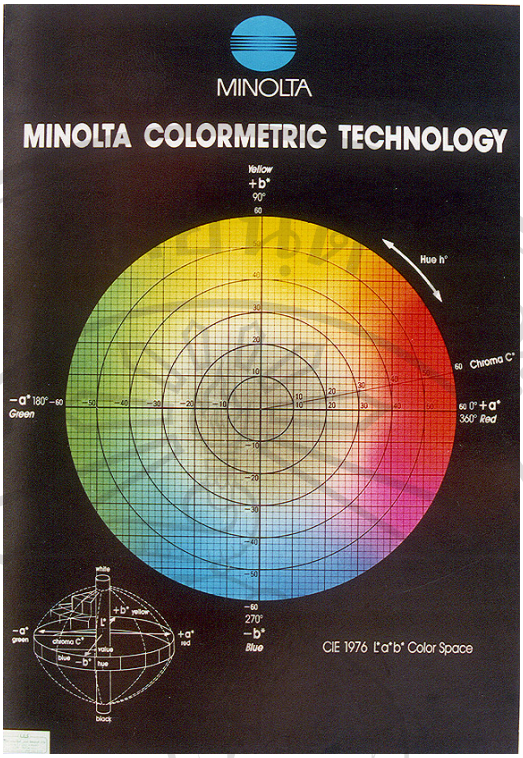
$$\text{Chroma (C*)} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

$$\text{Hue angle (h°)} = \text{arctangent (b*/a*)}$$

ค่า chroma หรือค่า C* เป็นค่าที่บ่งบอกถึงความเข้มของสีที่ปรากฏ ค่า C* ที่สูงเข้าใกล้ 60 แสดงว่าความเข้มของสีนั้นจะยิ่งมากขึ้น

ค่า hue angle หรือค่า h° เป็นค่าที่บอกถึงสีที่แท้จริงของวัตถุ ถ้าค่า hue มีค่าเข้าใกล้ 0 องศา แสดงว่าวัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีแดง ถ้ามีค่าเข้าใกล้ 90 องศา แสดงว่าวัตถุอยู่ในกลุ่มสีเหลือง หากมีค่าเข้าใกล้ 180 องศา แสดงว่าวัตถุอยู่ในกลุ่มสีเขียว และหากมีค่าเข้าใกล้ 270 องศา แสดงว่าวัตถุอยู่ในกลุ่มสีน้ำเงิน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 3.3 CIE 1976 L* a* b* Color Space.

ที่มา: Konica Minolta Sensing, Inc. (1998)

3. การเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อสัมผัส

วัดความแน่นเนื้อของชิ้นเนื้อผลไม้ ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส การวัดความแน่นเนื้อของชิ้นมะม่วงจะใช้ cylinder probe ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (6 mm-diameter probe) และชิ้นเนื้อสับปะรดใช้ blade set (HDP/BS) ความเร็ว 5 มิลลิเมตรต่อวินาที ค่าแรงกดที่วัดได้ มีหน่วยเป็นนิวตัน นำค่าที่วัดได้มาหาค่าเฉลี่ย

การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

1. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS)

นำเนื้อผลไม้หั่นชิ้นจากแต่ละกรรมวิธีมาคั้นเอาเฉพาะน้ำ วัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ด้วย digital refractometer ปรับค่า 0 ด้ายน้ำกลั่นก่อนใช้ อ่านค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เป็นเปอร์เซ็นต์ TSS วัดตัวอย่างซ้ำละ 3 ครั้ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (TA)

การวัดปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ ใช้วิธีของ AOAC (2000) โดยอาศัยหลักการ คือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) มาตรฐานที่ทราบค่าความเข้มข้นแน่นอนทำปฏิกิริยากับกรดในสารละลายตัวอย่างอาหาร โดยอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดและด่างที่ทำปฏิกิริยากันพอดี หรือจุดสมมูล ซึ่งทราบได้จากการใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ เพราะฟีนอล์ฟทาลีนจะเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพูที่จุดสมมูล จุดที่อินดิเคเตอร์เปลี่ยนสีจะเรียกว่าจุดยุติ หากใช้เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง จะมีค่ามากกว่า 7 (ประมาณ 8.1-8.2) เนื่องจากเป็นการไทเทรตระหว่างกรดอ่อนกับด่างแก่

การเตรียมสารละลาย

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ มาตรฐานความเข้มข้น 0.10 นอร์มัล โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเดือดและปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ใน volumetric flask คำนวณหาความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ได้จากสมการ ดังนี้

วิธีการวิเคราะห์

ในการวัดปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของเนื้อมะม่วง จะนำชิ้นมะม่วงมาปั่นเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องบดสับอาหาร จากนั้นนำเนื้อมะม่วงปั่นปริมาณ 10 กรัม เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการต้มเดือดปริมาณ 40 กรัม ผสมให้เข้ากัน ส่วนสับปะรดจะนำมาคั้นน้ำ จากนั้นปิเปตต์น้ำคั้นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐานความเข้มข้น 0.10 นอร์มัล จนถึงจุดยุติที่ค่าพีเอช 8.1 บันทึกปริมาตรของสารละลายด่างมาตรฐานที่ใช้ ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ในรูปกรดซิตริกต่อ 100 กรัม ของน้ำหนักสด โดยเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานดังนี้

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.10 นอร์มัล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับกรดซิตริก 0.07 กรัม

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้} = \frac{A \times B \times 0.07 \times 100}{C}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยที่ A = ความเข้มข้นของสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.10 นอร์มัล

B = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (มิลลิลิตร)

C = ปริมาตรและ/หรือน้ำหนักของตัวอย่าง (มิลลิลิตรและ/หรือกรัม)

3. ค่าความเป็นกรด-ด่างหรือค่าพีเอช (pH)

นำเนื้อมะม่วงปั่นและน้ำคั้นสับปะรดมาวัดค่าพีเอช ด้วยเครื่อง pH meter ก่อนวัดค่าทุกครั้งต้องตรวจสอบความถูกต้องของเครื่องวัด โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานที่มีค่าพีเอช 4.0, 7.0 และ 10.0 ตามลำดับ ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ แล้วนำค่าที่วัดได้มาหาค่าเฉลี่ย

4. ปริมาณกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) หรือวิตามินซี

วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีของเนื้อมะม่วงและสับปะรด ตามวิธี AOAC (2000) โดยอาศัยหลักการ คือวิตามินซีจะทำปฏิกิริยา oxidation-reduction กับ 2,6-dichlorophenol-indophenol (dye) ดังนี้

ascorbic acid + dye (pink) ⟶ dehydroascorbic acid + dye (colorless)

2,6-dichlorophenol-indophenol เมื่ออยู่ในสภาวะกรดจะเป็นสีชมพู และในสภาวะด่างจะเป็นสีน้ำเงิน ดังนั้น วิตามินซี + dye (excess) จะได้เป็นสีชมพู การสกัดวิตามินซีจากตัวอย่างผลไม้โดยใช้สารละลายกรดออกซาลิก (oxalic acid) หรือสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก (metaphosphoric acid) ซึ่งภาวะที่เป็นกรดจะช่วยป้องกันการเกิด auto-oxidation และช่วยจับโลหะอื่นที่รบกวนต่อการวิเคราะห์

การเตรียมสารละลาย

ก. สารละลายกรดออกซาลิก ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ โดยชั่งกรดออกซาลิก 4 กรัม ละลายในกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร บรรจุขวดเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น

ข. สารละลายอินโดฟีนอล โดยชั่ง 2,6-dichorophenol indophenol (sodium salt) 50 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ที่มีโซเดียมไบคาร์บอเนตละลายอยู่ 42 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 200 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรอง บรรจุในขวดสีชา เก็บรักษาไว้ในตู้เย็น

ค. สารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เตรียมโดยชั่งกรดแอสคอร์บิกบริสุทธิ์ 50 มิลลิกรัม ละลายในสารละลายกรดออกซาลิกที่เตรียมไว้แล้วใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาตร 40 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร ใน volumetric flask ด้วยสารละลายกรดออกซาลิก สารละลายวิตามินซีมาตรฐานที่ได้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

นำชิ้นมะม่วงมาปั่นเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องบดสับอาหาร จากนั้นนำเนื้อมะม่วงปั่นจำนวน 10 กรัม ส่วนสับปะรดนำมาคั้นน้ำ จากนั้นปิเปตต์น้ำคั้นปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำตัวอย่างที่เตรียมไว้มาเติมสารละลายกรดออกซาลิก แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร สำหรับเนื้อมะม่วง หรือ 100 มิลลิลิตรสำหรับน้ำคั้นสับปะรดใน volumetric flask นำสารละลายที่เตรียมไว้มา 10 มิลลิลิตร ไทเทรตกับสารละลายอินโดฟีนอล จดได้จุดยุติเป็นสีชมพูอ่อนที่คงตัว วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณวิตามินซีของตัวอย่างต่อ 100 กรัม ของน้ำหนักสดโดยเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานดังนี้

$$\text{ปริมาณวิตามินซีในตัวอย่าง (มิลลิกรัม/100 กรัม)} = \frac{V_1 \times V_3 \times 100}{V_2 \times W}$$

โดยที่ V_1 = ปริมาตรของตัวอย่างที่เตรียม (มิลลิลิตร)

V_2 = ปริมาตรของตัวอย่างของเหลวที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)

V_3 = ปริมาตรของสารละลายอินโดฟีนอลที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิตร)

W = น้ำหนักของตัวอย่างมะม่วงปั่น (กรัม) และ/หรือน้ำคั้นสับปะรด (มิลลิตร)

การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา

1. อัตราการหายใจ

นำตัวอย่างผลไม้ที่ปอกเปลือกแล้วหั่นชิ้นตามกรรมวิธีต่างๆ บรรจุในขวดแก้วขนาด 1 ลิตร ปิดฝาที่มีจุกยางปิดอยู่ให้สนิทสำหรับใช้วัดอัตราการหายใจ ชั่งน้ำหนักตัวอย่างเนื้อผลไม้ในแต่ละขวด วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเข็มฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฉีดไล่แก๊สออกซิเจนออกด้วยแก๊สฮีเลียม แทงปลายเข็มเข้าไปที่จุกยางบริเวณกึ่งกลางฝาขวดแก้ว ดูดเอาแก๊สออกมาจากขวดแก้ว 1 มิลลิลิตร ฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้คอลัมน์ CTR-1 column (2 m × 6 mm o.d.) เพื่อวัดปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นระหว่างการหายใจของเนื้อผลไม้ นำพื้นที่ใต้กราฟที่ได้มาคำนวณหาอัตราการหายใจ โดยเปรียบเทียบกับแก๊สมาตรฐานจากสมการ ดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

$$\text{Respiration rate } (mgCO_2/kg/hr) = \frac{\text{difference in } CO_2 \times \text{free volume (ml)} \times 321.75}{\text{sealed time} \times \text{sample wt} \times (273+\text{storage temperature } {}^{o}C)}$$

โดยที่ Difference in CO_2 (%) = CO_2 ชุดทดลอง – ความเข้มข้นของ CO_2 ในบรรยากาศ

Free volume (ml) = ปริมาตรของขวดแก้ว – ปริมาตรของผลไม้

Sealed time (min) = ระยะเวลาที่เก็บผลไม้ไว้ในขวดแก้ว

Sample wt (kg) = น้ำหนักของผลไม้

2. อัตราการผลิตเอทิลีน

นำตัวอย่างผลไม้ที่ปอกเปลือกแล้วหั่นชิ้นตามกรรมวิธีต่างๆ บรรจุในขวดแก้วขนาด 1 ลิตร ปิดฝาที่มีจุกยางปิดอยู่ให้สนิทเช่นเดียวกับการวัดอัตราการหายใจ จากนั้นดูดแก๊สออกมาจากขวดแก้ว 1 มิลลิลิตร ฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้ flame ionization detector (FID) คอลัมน์ activated alumina column นำพื้นที่ใต้กราฟที่ได้มาคำนวณหาอัตราการผลิตเอทิลีนของเนื้อผลไม้ที่สะสมหรือเกิดขึ้นหลังการหั่นชิ้นในระยะเวลา 5 ชั่วโมง จากสมการ ดังนี้

$$\text{Ethylene production rate } (\mu l/kg/hr) = \frac{\text{free volume (l)} \times \text{ppm ethylene measured}}{\text{sample wt (kg)} \times \text{sealed time (hr)}}$$

โดยที่ free volume (l) = ปริมาตรขวดแก้ว - ปริมาตรผลไม้

ppm ethylene measured = ปริมาตรเอทิลีนที่วัดได้จากเครื่อง

sample wt (kg) = น้ำหนักของตัวอย่าง

seal time (hr) = ระยะเวลาที่เก็บผลไม้ไว้ในขวดแก้ว

3. ปริมาณแอทานอล

การวิเคราะห์ปริมาณการผลิตเอทานอลของตัวอย่าง ดัดแปลงมาจากวิธีการทดลองด้วยขวดแยม (ศศิธรและคณะ, 2549)

การเตรียมสาร

กรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 2.5 โมลาร์ โดยนำกรดซัลฟูริกปริมาตร 135.9 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 200 มิลลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โพแทสเซียมไดโครเมต ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ในสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 2.5 โมลาร์ โดยชั่งโพแทสเซียสไดโครเมตมา 29.42 กรัม ละลายในกรดซัลฟูริกที่เตรียมไว้บรรจุในขวดสีชา

วิธีการวิเคราะห์

นำตัวอย่างจากกรรมวิธีต่างๆ มาคั้นน้ำ จากนั้นนำน้ำคั้นปริมาตร 30 ไมโครลิตร บรรจุลงในขวดแก้วขนาด 20 มิลลิลิตร นำไปบรรจุในขวดแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตในสารละลายกรดซัลฟูริกที่เตรียมไว้ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ปิดฝาขวดให้สนิท วางไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปวัดปริมาณเอทานอลโดยนำสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตที่ได้ไปวัดค่าการกลืนแสงด้วยเครื่อง UV visible spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร นำค่าการกลืนแสงที่ได้คำนวณหาปริมาณเอทานอลโดยแทนค่าในสูตรที่ได้จากกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ก. 1)

4. การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลท์ (Electrolyte Leakage; EL)

การวัดการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ เป็นวิธีการที่ใช้เพื่อประเมินว่าวิธีการผลิตผลไม้หั่นชิ้นนั้น ทำให้เซลล์ของเนื้อเยื่อผลไม้เสียหายมากน้อยเท่าใด โดยนำตัวอย่างผลไม้ปอกเปลือกหั่นชิ้นในแต่ละกรรมวิธีที่เตรียมไว้ แช่ลงในน้ำกลั่นปราศจากไอออน (Lu, 2005) ปริมาตร 350 มิลลิลิตร และวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง วัดค่าการนำไฟฟ้าของสารอิเล็กโทรไลต์ที่รั่วไหลตามรอยบาดแผลออกมาในน้ำกลั่นปราศจากไอออน ด้วยเครื่อง conductivity meter หลังจากนั้นนำตัวอย่างในน้ำกลั่นปราศจากไอออนทุกชุดทดลองไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อทำลายผนังเซลล์ ปล่อยให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง นำสารละลายมาวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารอิเล็กโทรไลต์ทั้งหมด คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ ดังสูตร (Hong and Gross, 1998)

$$\% EL = \frac{EL_{hr}}{EL_{total}} \times 100$$

โดยที่ % EL = เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์

EL_{hr} = ค่าการนำไฟฟ้าของสารอิเล็กโทรไลต์ภายหลังการแช่ในน้ำปราศจากไอออน เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

EL_{total} = ค่าการนำไฟฟ้าของสารอิเล็กโทรไลต์ทั้งหมด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด

การเตรียมสารเคมี

สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ โดยชั่งไดโซเดียม-ไฮโดรเจนฟอสเฟต จำนวน 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ใช้แท่งแก้วคนจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน และชั่งโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต จำนวน 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร เตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ โดยเติมโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตลงในสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต จนกระทั่งค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ได้มีค่าเท่ากับ 7.2 แบ่งใส่ขวดหรือหลอดทดลอง นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

อาหารเลี้ยงเชื้อ Total Plate Count Agar โดยชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

วิธีการวิเคราะห์

นำชิ้นตัวอย่างผลไม้ในแต่ละกรรมวิธีจำนวน 10 กรัม ใส่ในถุงทนความร้อนปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ บรรจุสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ฆ่าเชื้อแล้วความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ใช้เครื่อง stomacher ตีด้วยความเร็ว 5 ครั้งต่อวินาที เป็นเวลา 120 วินาที สารละลายตัวอย่างที่ได้มีความเจือจาง 1:10 (10^{-1})

การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) ด้วยวิธี spread plate โดยเทอาหาร plate count agar ที่ฆ่าเชื้อแล้วลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ปล่อยไว้ให้อาหารวุ้นแข็งตัว ปิเปตต์สารละลายตัวอย่างที่เจือจางในระดับต่างๆ ที่เหมาะสมปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนกลางผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้แท่งแก้ว spreader เกลี่ยให้เชื้อกระจายทั่วผิวหน้าและสารละลายไม่ไหลมารวมกัน ปิดฝา และวางทิ้งไว้เป็นเวลา 10-15 นาที เพื่อให้สารละลายซึมเข้าไปในวุ้น ก่อนนำไปบ่มให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 35±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์บนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวน 30-300 โคโลนี (APHA, 2001) ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 จาน

การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสและการยอมรับของผู้ประเมิน

การประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสและการยอมรับของผู้ประเมิน ใช้จำนวนผู้ประเมินจำนวน 5 คน โดยใช้การประเมินระบบ hedonic 5-scale (5 = ดีมาก, 4 = ดี, 3 = พอใช้,

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2 = เลว และ 1 = เลวมาก) โดยพิจารณาจากลักษณะที่ปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส ความชอบต่อรูปแบบ และการยอมรับโดยรวม วิธีการทดสอบทำโดยนำตัวอย่างที่บรรจุในกล่องบรรจุเปิดฝาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 25 องศาเซลเซียส) พิจารณาการยอมรับใช้คะแนนที่ผู้ประเมิน 3 ใน 5 คน ให้คะแนนการยอมรับเท่ากับ 3 (ตัวอย่างแบบสอบถามอยู่ในภาคผนวกที่ 1)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved