

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

หน่อไม้ไผ่หวานพันธุ์ห่อจากแหล่งปลูกพื้นที่ อำเภอมะเข่เตง จังหวัดเชียงใหม่ โดยคัดเลือกหน่อไม้ไผ่หวานพันธุ์ห่อ ขนาดสม่ำเสมอ ไม่มีบาดแผล ไม่มีโรคและแมลงเข้าทำลาย

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น CP3202S ของบริษัท Sartorius ประเทศเยอรมันนี ชั่งน้ำหนักสูงสุดได้ 3200 กรัม และแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น BP210S ของบริษัท Sartorius ประเทศเยอรมันนี ชั่งน้ำหนักสูงสุดได้ 210 กรัม

3.2.2 เครื่องปั่นผักและผลไม้ (blender) รุ่น MX-795N ของบริษัท Panasonic ประเทศมาเลเซีย

3.2.3 เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (texture analyzer) รุ่น Texture Instron 5565 ของบริษัท Instron ประเทศอังกฤษ

3.2.4 เครื่องไตเตรทอัตโนมัติ รุ่น TitroLine easy ของบริษัท SCHOTT ประเทศสิงคโปร์

3.2.5 เครื่องวัดสี (chroma meter) รุ่น CR-10 ของบริษัท Minolta ประเทศญี่ปุ่น ซึ่งวัดสีออกมาเป็นค่า L^* , a^* และ b^* โดยมีรายละเอียดดังนี้ คือ

L^* = The lightness factor (value)

- เมื่อมีค่าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมีสีขาว
- เมื่อมีค่าใกล้ 0 แสดงว่าวัตถุมีสีดำ

a^* , b^* = The chromaticity coordinates (hue, chroma)

- ค่า a^* ที่เป็นบวก แสดงว่าวัตถุมีสีแดง และที่เป็นลบ แสดงว่าวัตถุมีสีเขียว
- ค่า b^* ที่เป็นบวก แสดงว่าวัตถุมีสีเหลือง และที่เป็นลบ แสดงว่าวัตถุมีน้ำเงิน

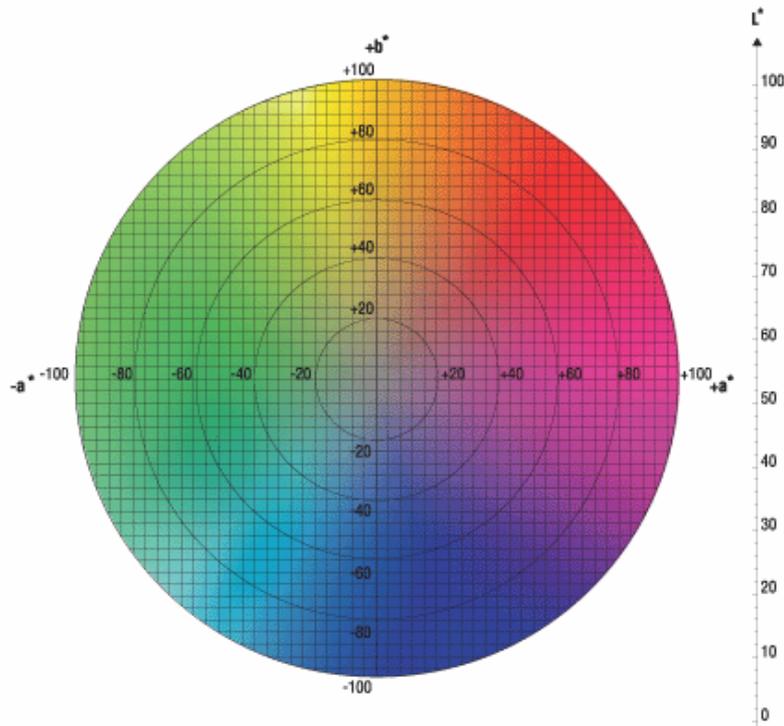
ทั้ง a^* และ b^* หากมีค่าเป็นศูนย์ แสดงว่าวัตถุมีสีเทา
คำนวณหาค่า chroma และ hue angle จากสมการ ดังนี้

chroma	$= (a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$	
hue angle	$= \arctangent (b^*/a^*)$	เมื่อ a^* มีค่าเป็นบวก และ b^* มีค่าเป็นบวก
	$= \arctangent (b^*/a^*) + 180^\circ$	เมื่อ a^* มีค่าเป็นลบ
	$= \arctangent (b^*/a^*) + 360^\circ$	เมื่อ a^* มีค่าเป็นบวก และ b^* มีค่าเป็นลบ

โดยที่ค่า chroma แสดงความเข้มของสี มีค่าเข้าใกล้ 0 เมื่อวัตถุมีสีซีดจาง (เทา)
และมีค่าเข้าใกล้ 60 เมื่อวัตถุมีสีเข้ม

ค่า hue angle (h°) เป็นค่าที่แสดงมุมในการตกกระทบของค่า chroma ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 องศา ซึ่งจะแสดงช่วงสีของวัตถุ

- | | |
|-----------------------------------------|-------------------------------------------|
| 0-45 องศา แสดงสีม่วงแดงถึงส้มแดง | 45-90 องศา แสดงสีส้มแดงถึงเหลือง |
| 90-135 องศา แสดงสีเหลืองถึงเหลืองเขียว | 135-180 องศา แสดงสีเหลืองเขียวถึงเขียว |
| 180-225 องศา แสดงสีเขียวถึงน้ำเงินเขียว | 225-270 องศา แสดงสีน้ำเงินเขียวถึงน้ำเงิน |
| 270-315 องศา แสดงสีน้ำเงินถึงม่วง | 315-360 องศา แสดงสีม่วงถึงม่วงแดง |



ภาพที่ 5 แผนภาพสีแสดงค่า L^* , chroma และ hue angle

3.2.6 เครื่องกวนสารเคมีด้วยแท่งแม่เหล็ก และให้ความร้อน รุ่น Yellow MAG HS7 ของบริษัท IKA-WERKE GMBH&Co.KG ประเทศเยอรมันนี

3.2.7 ชุดดูดคักไอกรด (Scrubber unit) รุ่น scrubber 2001 ของบริษัท FOSS ประเทศเดนมาร์ก

3.2.8 เครื่องกลั่นโปรตีน รุ่น Kjeltec™ 2200 ของบริษัท FOSS ประเทศเดนมาร์ก

3.2.9 เครื่องทำน้ำเย็น รุ่น EYELA cool ACE CA-111 ของบริษัท EYELA ประเทศญี่ปุ่น

3.2.10 ตู้ดูดควัน รุ่น TOPLAB ของบริษัท ออฟฟิเชียล ประเทศไทย

3.2.11 เครื่องสกัดไขมัน รุ่น Soxtherm/Multistat ของบริษัท Gerhardt ประเทศสหราชอาณาจักร

3.2.12 ตู้อบ รุ่น UM500 ของบริษัท Memmert ประเทศเยอรมันนี

3.2.13 เตาเผาเต้าอุณหภูมิ (Furnace) รุ่น CWF-chamber ของบริษัท Carbolite ประเทศอังกฤษ

3.2.14 Desicator

3.2.15 Crucible

3.2.16 กระดาษกรอง ยี่ห้อ Whatman No.4 เส้นผ่านศูนย์กลาง 125 มิลลิเมตร ของบริษัท Whatman International ประเทศอังกฤษ

3.2.17 Boiling stones Cat. No. 18310

3.2.18 ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส รุ่น LC203LD ของบริษัท LAW-CHAIN ประเทศไทย

3.2.19 มีดทำครัว

3.2.20 เขียงพลาสติก

3.2.21 ตะกร้าพลาสติก

3.2.22 เครื่องแก้ว

- ปีกเกอร์ (Beaker)
- ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
- ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)
- กระบอกตวง (Cylinder)
- แท่งแก้วคนสารละลาย (Stirrer)
- กรวยกรอง
- ซ้อนตักสารเคมี

3.3 สารเคมี

3.3.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

- สารละลายกรดบอริก (boric acid, Ajax Fineche pty)
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide, Ajax Fineche pty)
- สารละลายแอนไฮไดรอสโซเดียมคาร์บอเนต (anhydrous sodium carbonate, Fisher Scientific)
- สารละลายโบรโมกรีน (bromocresol green, Baker Analyze)
- สารละลายเมทิลเรด (methyl red, Panreac)
- สารละลายเอทานอล (ethanol, Merck)
- กรดซัลฟูริก (concentrated sulfuric acid, Lab-Scan)
- กรดไฮโดรคลอริก (concentrated hydrochloric acid, Merck)
- kjeltabs catalysts (Kjeltabs, Foss)
- น้ำกลั่น

3.3.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

- ปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether, Lab-Scan)

3.4 สถานที่ปฏิบัติงานวิจัย

- ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาวิศวกรรมกระบวนการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์ถุงพลาสติก (ฟิล์มแอคทีฟ) กับหน่อไม้ไผ่หวานพันธุ์ห่อแปรรูปพร้อมบริโภค

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) มี 5 วิธีการ แต่ละวิธีการมี 3 ซ้ำ โดยบรรจุหน่อไม้ไผ่หวานที่ทำการตัดแต่งให้มีขนาด ลงในถุงพลาสติกชนิดต่าง ๆ ปิดผนึกด้วยความร้อนปริมาณ 300 กรัม ดังนี้

วิธีการที่ 1 ชุดควบคุม (ถุงพลาสติกโพลีเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ; LDPE)

วิธีการที่ 2 ถุงโพลีโพรพิลีน (Polypropylene : PP)

วิธีการที่ 3 ถุงที่มีการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนปานกลาง (Polyethylene with Moderate Oxygen Transmission Rate 7,600-8,500 cc.m⁻¹.day⁻¹)

วิธีการที่ 4 ถุงที่มีการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนสูง (Polyethylene with High Oxygen Transmission Rate 11,000 cc.m⁻¹.day⁻¹)

วิธีการที่ 5 ถุงที่มีการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนสูงมาก (Polyethylene with Very High Oxygen Transmission Rate 14,500 cc.m⁻¹.day⁻¹)

นำหน่อไม้ไผ่หวานที่บรรจุถุงพลาสติกชนิดต่างๆ เก็บรักษา ไว้ที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส โดย นำหน่อไม้ไผ่หวานออกมาตรวจวัดผล ทุก 4 วัน ดังนี้

คุณค่าทางโภชนาการ (nutrition fact)

ก. โปรตีน (crude protein) โดยวิธี Kjeldahl

- การย่อย
 - เตรียม scrubber unit ตรวจสอบสารละลายใน flask
 - flask ด้านซ้ายใส่ Neutralizing solution (สาร NaOH 40 เปอร์เซ็นต์ 0.4 ลิตร และน้ำ 0.8 ลิตร)
 - flask ด้านขวาใส่น้ำ โดยเติมในระดับต่ำสุด
 - เปิดสวิตซ์เครื่อง ตั้งอุณหภูมิของเครื่องเท่ากับ 420 องศาเซลเซียส
- เตรียมตัวอย่างก่อนย่อย
 - ชั่งน้ำหนักตัวอย่างใส่ในหลอดย่อยพร้อมเติม Reagent ต่าง ๆ ที่ใช้ในการย่อย
 - นำหลอดย่อยใส่ใน tube rack แล้วนำไปวางไว้ข้าง ๆ digester
 - ตรวจสอบให้แน่ใจว่าอุณหภูมิของ digester พร้อมสำหรับการย่อยแล้ว
 - ใส่ heat shields ให้อยู่ในตำแหน่งบน rack
 - สวม exhaust manifold ลงบนหลอดย่อย
 - เปิด scrubber unit
 - ยก rack ใส่งไปใน digester
 - ปรับระดับการดูดของ exhaust manifold ในส่วนของ scrubber unit ในระยะแรกให้แรงสุดแล้วหลังจากนั้นค่อยปรับระดับให้เบาลง (สวิตซ์ที่ใช้ปรับอยู่ด้านซ้ายเครื่อง ถ้าต้องการให้มีการดูดควันมากให้ปรับสวิตซ์มาที่ตำแหน่ง II ถ้าต้องการน้อยให้ปรับมาที่ตำแหน่ง I)
 - เมื่อการย่อยสมบูรณ์แล้วยก tube rack ออก โดยยังมี exhaust สวมอยู่ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
 - เมื่อเย็นแล้วยก exhaust manifold ออกวางบนถาดรองรับ เพื่อป้องกันการหยดของกรด จากนั้นปิด scrubber unit

- การกลั่น

ทำการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องกลั่นโปรตีน เมื่อเสร็จแล้วนำไปไตเตรตกับกรดที่เตรียมไว้เพื่อหาเปอร์เซ็นต์ โปรตีนต่อไป

- การไตเตรต

นำสารละลายที่ได้จากขั้นตอนการกลั่นมาไตเตรตกับสารละลายมาตรฐาน 0.1 mol/L HCL จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดง แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนและปริมาณโปรตีนโดยใช้สมการที่ 1 และ 2 ดังนี้

การคำนวณหา ปริมาณไนโตรเจน

$$\text{เปอร์เซ็นต์ nitrogen} = \frac{1.401 \times (V_s - V_b) \times N}{W} \quad (\text{สมการ 1})$$

การคำนวณหาปริมาณโปรตีน

$$\text{เปอร์เซ็นต์ protein} = 6.25 \times \text{เปอร์เซ็นต์ nitrogen} \quad (\text{สมการ 2})$$

ข. ไขมัน โดยวิธี Soxlet apparatus

ทำการหาโดยใช้เครื่องสกัดไขมัน soxtherm แล้วนำมาคำนวณปริมาณไขมันจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ Crude Fat (Ether extract)} = \frac{(W_2 - W_1) \times 100}{W_3}$$

เมื่อ	W_1	=	น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น, กรัม
	W_2	=	น้ำหนักถ้วยสกัดกับ boiling stone, กรัม
	W_3	=	น้ำหนักถ้วยสกัดกับ boiling stone และไขมันที่สกัดได้, กรัม

ค. การหาความชื้น

วิธีวิเคราะห์

- อบกระป๋องอบความชื้นพร้อมฝาที่คู่อบไอร้อนแบบไฟฟ้า (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นใน โถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนัก (W_1)

- ชั่งตัวอย่างปริมาณ 3 กรัม ใส่ในกระป๋องอบความชื้นที่อบเรียบร้อยแล้ว และชั่งน้ำหนัก (W_2)
- นำกระป๋องอบความชื้นพร้อมฝาโดยเปิดฝาทิ้งไว้ที่ตู้อบอุณหภูมิ 100 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง
- นำกระป๋องอบความชื้นออกจากตู้อบโดยปิดฝาทันทีและทำให้เย็นในโถดูดความชื้น นาน 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
- นำไปอบต่ออีก 1 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ (น้ำหนักที่คงที่ หมายถึงผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 2 มิลลิกรัม) (W_3)

วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้นร้อยละของน้ำหนัก} = \frac{(W_2 - W_3) \times 100}{W_2 - W_1}$$

เมื่อ	W_1	=	น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้น เป็น กรัม
	W_2	=	น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้นและตัวอย่างก่อนอบเป็น กรัม
	W_3	=	น้ำหนักของกระป๋องอบความชื้นและตัวอย่างหลังอบ เป็น กรัม

ง. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (ash)

วิธีวิเคราะห์

- เเผาะกระเบื้องเคลือบในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส ถึง 550 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W_1) และใส่ตัวอย่าง 3 กรัม (W_2)
- นำไปเผาด้วยไฟอ่อนบนเตาไฟฟ้าหรือตะเกียบบุเซินโดยเพิ่มความร้อนขึ้นทีละน้อย จนตัวอย่างไหม้เกรียมและเผาจนหมดควัน
- นำไปต่อในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส ถึง 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาว แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก (W_3)

วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้าทั้งหมด ร้อยละของน้ำหนัก} = \frac{(W_2 - W_1)}{W_2 - W_1} \times 100$$

เมื่อ	W_1	=	น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบ เป็น กรัม
	W_2	=	น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่าง เป็น กรัม
	W_3	=	น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องเคลือบและเถ้า เป็น กรัม

จ. การหา dietary fiber

วิธีวิเคราะห์

- การเตรียมตัวอย่างมีขนาดไม่เกิน 0.3-0.5 มิลลิเมตร
- ชั่งน้ำหนักตัวอย่างๆ ละ 2 ซ้ำ น้ำหนัก 1 กรัม
- ใส่ phosphate buffer 50 มิลลิลิตร และ termamyl enzyme 0.1 มิลลิลิตร ปรับ pH อยู่ในช่วง 6.0 ± 0.2 ปิดฝา flask ด้วย aluminium foil บ่มที่ 100 องศาเซลเซียส 30 นาที (เขย่าทุก ๆ 5 นาที)
- ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติม 0.275 N NaOH ประมาณ 10 มิลลิลิตร ปรับ pH อยู่ในช่วง 7.5 ± 0.2 เติม protease enzyme 5 มิลลิกรัม บ่มที่ 60 องศาเซลเซียส ด้วย shaking waterbath 30 นาที
- ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วเติม 0.325 N HCL 10 มิลลิลิตร ปรับ pH อยู่ในช่วง 4.0-4.6 เติม Amyloglucosidase 0.3 มิลลิลิตร บ่มที่ 60 องศาเซลเซียส ด้วย shaking waterbath 30 นาที
- เติม alcohol (95 เปอร์เซ็นต์ ethanol) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ลงใน flask flask ละ 280 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 ชั่วโมง
- กรองใส่ใน crucible ที่มี residue + celite อบที่ 105 องศาเซลเซียส ค้างคืน ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักโดยหักค่า crucible และ celite (จะได้ค่า residue weight)
- นำ crucible ซ้ำที่ 1 ไปหาปริมาณโปรตีน (จะได้ mg_{protein} , B_{protein}) นำ crucible ซ้ำที่ 2 และ blank ซ้ำที่ 2 ไปเผาที่ 525 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักที่เหลือ (จะได้ B_{ash} , mg_{ash})

วิธีการคำนวณ

$$\text{TDF (g/100g)} = \frac{[\frac{((R_1+R_2)/2 - \text{mg}_{\text{protein}} - \text{mg}_{\text{ash}} - B)}{(M_1+M_2)/2}]}{\times 100}$$

$$\text{Residue weight (R)} = (\text{residue+celite+crucible})_{\text{หลังอบ}} - (\text{celite+crucible})$$

$$\text{เมื่อ } B = (B_1+B_2)/2 - B_{\text{protein}} - B_{\text{ash}}$$

$$B = \text{Blank (mg)}$$

$$R_1/R_2 = \text{Residue weight (mg) of sample duplicate}$$

$$M_1/M_2 = \text{Weight (mg) of sample duplicate}$$

จ. การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดออกซาลิก (oxalate content)

● การเตรียมตัวอย่าง

- นำตัวอย่างที่ทำการ freeze-dried มา 1 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
- ใส่ 2 M HCL ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ 250 มิลลิลิตร
- นำไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที
- ทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำไปใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร และทำการปรับ

ปริมาตรด้วย 2 M HCL

- นำสารละลายที่ได้มาปั่นที่ความเร็วรอบ 3000 rpm
- นำสารละลายที่ได้ปริมาณ 10 มิลลิลิตร มากรองด้วย 0.5 มิลลิเมตร cellulose acetate

membrane

- นำสารตัวอย่าง 5 ไมโครลิตร มาวิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC ตาม condition ของ

Savage *et al.* (2000)

ข. การเปลี่ยนแปลงปริมาณแก๊สภายในบรรจุภัณฑ์ (ปริมาณ O₂ และ CO₂ ในบรรจุภัณฑ์ที่เวลาเก็บรักษาต่าง ๆ)

โดยทำการวัดการเปลี่ยนแปลงปริมาณแก๊สออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ภายในถุงทุกสองวัน ด้วยเครื่อง Check Point หน่วยที่วัดได้เป็น เปอร์เซ็นต์

ข. อัตราการหายใจ

วัดอัตราการหายใจในระบบปิด โดยบรรจุหน่อไม้ไผ่หวานในภาชนะ ปิดฝาภาชนะนาน 1 ชั่วโมง จากนั้นวัดปริมาณแก๊สในภาชนะบรรจุ (head space) โดยใช้เครื่อง Check Point เพื่อหาอัตราการหายใจโดยวัดปริมาณ คาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น แล้วนำค่าที่ได้ มาคำนวณหาอัตราการหายใจ ดังต่อไปนี้

$$\text{อัตราการหายใจของหน่อไม้ไผ่หวาน} = \frac{(\text{เปอร์เซ็นต์ CO}_2 \text{ ที่วัดได้} - 0.033) \times V \text{ (มล.)} \times A \times C \times E}{(\text{มก.CO}_2 / \text{กก.ชม.}) \quad 100 \times W \text{ (กก.)} \times \text{เวลา (ชม.)} \quad B (C+D) F}$$

เมื่อ	V	=	ปริมาตรของอากาศภายในภาชนะ (มิลลิลิตร)
	W	=	น้ำหนักของหน่อไม้ไผ่หวาน (กิโลกรัม)
	A	=	น้ำหนักโมเลกุล CO ₂ เท่ากับ 44
	B	=	ปริมาตรของแก๊สที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน เท่ากับ 22.4
	C	=	อุณหภูมิมาตรฐานในหน่วยของเคลวิน (K) เท่ากับ 273 องศาเซลเซียส
	D	=	อุณหภูมิในขณะที่ทำการวัด (องศาเซลเซียส)
	E	=	ความดันบรรยากาศที่เชียงใหม่ เท่ากับ 740 มิลลิเมตร.ปรอท
	F	=	ความดันบรรยากาศที่ระดับน้ำทะเล เท่ากับ 760 มิลลิเมตร.ปรอท

ฅ. การสูญเสียน้ำหนัก

ชั่งน้ำหนักเริ่มต้นหลังจากบรรจุหน่อไม้ไผ่หวานลงในถุงพลาสติกชนิดต่างๆ จากนั้นชั่งน้ำหนักทุกสองวันนำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนัก ณ วันที่ทำการตรวจผล}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100$$

ฉ. การเปลี่ยนแปลงสี

วัดการเปลี่ยนแปลงสีบริเวณจุดกึ่งกลางชิ้นหน่อไม้ไผ่หวานด้วยเครื่อง color reader (Minolta Model CR-10, Japan) ค่าที่ได้จากการวัดจะแสดงออกมา คือ L*, a* และ b*

โดยค่า L^* = The lightness factor (value)
 a^* , b^* = The chromaticity coordinats

เมื่อ L^* เป็นค่าความสว่าง ถ้าค่า L^* มีค่าเข้าใกล้ 0 หมายถึงวัตถุมีสีทึบ ถ้าค่า L^* มีค่าเข้าใกล้ 100 แสดงว่าวัตถุมีสีสว่าง

a^* เป็นค่าที่แสดงถึงสีแดงและสีเขียว ถ้าค่า a^* เป็นบวก (+) วัตถุมีสีออกแดง แต่ถ้าค่า a^* เป็นลบ (-) วัตถุจะมีสีเขียว โดยมีค่าตั้งแต่ -60 ถึง +60

b^* เป็นค่าที่แสดงถึงสีเหลืองและสีน้ำเงิน ถ้าค่า b^* เป็นบวก (+) วัตถุมีสีออกเหลือง แต่ถ้าค่า b^* เป็นลบ (-) วัตถุจะมีสีน้ำเงิน โดยมีค่าตั้งแต่ -60 ถึง +60

ก. การเกิดสีน้ำตาล

ทำการประเมิน โดยมีหลักการให้คะแนน ดังนี้

- 0 คะแนน = ไม่มีสีน้ำตาล (ปกติ)
- 1 คะแนน = มีจำนวนสีน้ำตาลระหว่าง 1-25 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งหมด
- 2 คะแนน = มีจำนวนสีน้ำตาลระหว่าง 25-50 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งหมด
- 3 คะแนน = มีจำนวนสีน้ำตาลระหว่าง 51-75 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งหมด
- 4 คะแนน = มีจำนวนสีน้ำตาลระหว่าง 76-100 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งหมด

ก. ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) (AOAC, 2000: method 966.23)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

- ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar (PCA; Merck, Germany) 23.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มจนเดือด

- นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้ไปทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ในหม้อนึ่งความดัน

วิธีการวิเคราะห์

● การเตรียมตัวอย่าง

- ใช้ปากคีบที่ปราศจากเชื้อ โดยการลนไฟและเช็ดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ คีบตัวอย่างชิ้นเนื้อหน่อไม้ไผ่หวานมาประมาณ 10 กรัม ใส่ในถุงตีบด (stomacher bag) ที่มีสารละลายบัฟเฟอร์เพปโตน 9

มิลลิลิตร แล้วนำไปเข้าเครื่องตีบด เพื่อให้สารละลายตัวอย่างผสมเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้อาหารที่เจือจาง 1:10 หรือ 10^{-1}

- เขย่าตัวอย่างให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้ปิเปตดูดสารละลายเนื้อหน่อไม้หวานที่เจือจาง 1:10 หรือ 10^{-1} ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายบัฟเฟอร์ เพปโตน 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันจะได้อาหารที่เจือจาง 1:100 หรือ 10^{-2}

- นำอาหารเจือจาง 1:100 หรือ 10^{-2} มาเจือจางอีกครั้งเพื่อให้ได้อาหารที่เจือจาง 1:1000 หรือ 10^{-3}

- การใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

- ใช้ปิเปตขนาด 1 มิลลิลิตร ที่ฆ่าเชื้อแล้วดูดสารละลายอาหารตัวอย่างที่ระดับเจือจางต่างๆ (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) ลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 1 มิลลิลิตร ระดับเจือจางละ 2 จาน โดยเริ่มดูจากที่ความเข้มข้นต่ำสุด

- เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ที่กำลังหลอมเหลวลงในจานเพาะเชื้อที่มีตัวอย่าง โดยใส่ลงในจาน ๆ ละประมาณ 15-20 มิลลิลิตร ให้เสร็จภายในเวลา 1-2 นาที

- ผสมสารละลายตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้ากันดี วางทิ้งไว้จนอาหารแข็งตัวคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อลง

- การบ่ม

บ่มอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 34 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ± 3 ชั่วโมง

ฐ. การเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อ

วัดความแน่นเนื้อบริเวณกึ่งกลางชิ้นหน่อไม้ไผ่หวานด้วยเครื่อง Instron (Model 5565, USA) หัววัดรูปทรงกระบอก (cylinder stainless) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แทะผ่านชิ้นหน่อไม้ไผ่หวานลึก 10 มิลลิเมตร ด้วยอัตราเร็ว 1.0 มิลลิเมตรต่อวินาที ค่าความแน่นเนื้อที่ได้มีหน่วยเป็นนิวตัน (N)

ท. อายุการเก็บรักษา

อายุการเก็บรักษาของหน่อไม้จะนับโดยการนับจำนวนวันในการเก็บรักษา โดยเริ่มจากวันแรกของการทดลอง จนหน่อไม้เริ่มแสดงอาการเน่าเสีย หรือมีคะแนนการเกิดสีน้ำตาลมากกว่า 2.5 คะแนน จะถือว่าหน่อไม้สิ้นสุดอายุการเก็บรักษา

3.5.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์ถุงพลาสติกกับหน่อไม้หวานพันธุ์ห่อแปรรูป บรรจุร่วมกับผักกาดแก้ว (lettuce) และแครอทพร้อมบริโภคน้ำหนัก

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) มี 5 วิธีการ แต่ละวิธีการมี 3 ซ้ำ โดยบรรจุหน่อไม้หวานแปรรูปบรรจุร่วมกับผักกาดแก้วและแครอทพร้อมบริโภคน้ำหนักชนิดละ 100 กรัม ลงในถุงพลาสติกชนิดต่าง ๆ ปิดผนึกด้วยความร้อน ดังนี้

วิธีการที่ 1 ชุดควบคุม (ถุงพลาสติกโพลีเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ; LDPE)

วิธีการที่ 2 ถุงโพลีโพรพิลีน (Polypropylene : PP)

วิธีการที่ 3 ถุงที่มีการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนปานกลาง (Polyethylene with Moderate Oxygen Transmission Rate 7,600-8,500 cc.m⁻¹.day⁻¹)

วิธีการที่ 4 ถุงที่มีการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนสูง (Polyethylene with High Oxygen Transmission Rate 11,000 cc.m⁻¹.day⁻¹)

วิธีการที่ 5 ถุงที่มีการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนสูงมาก (Polyethylene with Very High Oxygen Transmission Rate 14,500 cc.m⁻¹.day⁻¹)

นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 ± 1 องศาเซลเซียส โดยนำออกมาตรวจวัดผลทุก 4 วัน ดังนี้

ก. การสูญเสียน้ำหนัก

ชั่งน้ำหนักเริ่มต้นหลังจากบรรจุหน่อไม้หวาน ผักกาดหอมและแครอทลงในถุงพลาสติกชนิดต่างๆ จากนั้นชั่งน้ำหนักทุกวันนำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก} = \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนัก ณ วันที่ทำการตรวจผล}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100$$

ข. การเกิดสีน้ำตาลของหน่อไม้พันธุ์ห่อแปรรูป

ทำการประเมิน โดยมีหลักการให้คะแนน ดังนี้

0 คะแนน = ไม่มีสีน้ำตาล (ปกติ)

1 คะแนน = มีจำนวนสีน้ำตาลระหว่าง 1-25 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งหมด

2 คะแนน = มีจำนวนสีน้ำตาลระหว่าง 25-50 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งหมด

3 คะแนน = มีจำนวนสีน้ำตาลระหว่าง 51-75 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งหมด

4 คะแนน = มีจำนวนสีน้ำตาลระหว่าง 76-100 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งหมด

ค. การเกิดสีชมพูบริเวณรอยตัดของฝักกาดหอมหัว

ทำการประเมิน โดยมีหลักการให้คะแนน ดังนี้

- 0 คะแนน = ไม่มีสีชมพู (ปกติ)
- 1 คะแนน = มีจำนวนสีชมพูระหว่าง 1-25 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งหมด
- 2 คะแนน = มีจำนวนสีชมพูระหว่าง 25-50 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งหมด
- 3 คะแนน = มีจำนวนสีชมพูระหว่าง 51-75 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งหมด
- 4 คะแนน = มีจำนวนสีชมพูระหว่าง 76-100 เปอร์เซ็นต์ ของทั้งหมด

ง. การเปลี่ยนแปลงปริมาณแก๊สภายในบรรจุภัณฑ์ (ปริมาณ O_2 และ CO_2 ในบรรจุภัณฑ์ที่เวลาเก็บรักษาต่าง ๆ)

โดยทำการวัดการเปลี่ยนแปลงปริมาณแก๊สออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ภายในถุงทุกวัน ด้วยเครื่อง Check Point หน่วยที่วัดได้เป็น เปอร์เซ็นต์

จ. อายุการเก็บรักษา

อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์จะนับโดยการนับจำนวนวันในการเก็บรักษา โดยเริ่มจากวันแรกของการทดลอง จนหน่อไม้เริ่มแสดงอาการเน่าเสีย หรือมีคะแนนการเกิดสีน้ำตาลมากกว่า 2.5 คะแนน จะถือว่าผลิตภัณฑ์ทั้งหมดสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา

3.6 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จากนั้นนำผลการวิเคราะห์ทางกายภาพและทางเคมีของหน่อไม้หวานพันธุ์หิจู มาหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์