บทที่ 2
วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุ

1. มังคุดสด มีน้ำหนักผลระหว่าง 80-110 กรัม มีสีผิวอยู่ในระยะสีเหลืองอ่อนมีจุดสีชมพูกระจายบางส่วน หรือจัดอยู่ในระดับสีที่ 1 ตามดัชนีแสดงระดับสีของผลมังคุดของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (2529)

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมมังคุดสดตัดแต่งพร้อมบริโภค (Commercial Grade)

- กรดซิตริก
- โพแทสเซียมอะลูมิเนียมซัลเฟต
- โซเดียมคลอไรด์
- แคลเซียมคลอไรด์

2.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมี (Analytical Grade)

2.2.1 ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (A.O.A.C., 2000)

- ฟีนอฟทาลีน
- โซเดียมไฮดรอกไซด์

2.2.2 ปริมาณกรดแอสคอร์บิก โดยวิธี 2,6-Dichlorophenol Indolphenol Visual Titration Method (A.O.A.C., 2000)

- กรดเมตาฟอสฟอริก
- กรดอะซิติก
- กรดแอสคอร์บิก
- 2,6-ไดคลอโรฟีนอล
- โซเดียมไบคาร์บอเนต

2.2.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดโดย Lane and Eynon Volumetric Method (A.O.A.C., 2000)

- คอปเปอร์ซัลเฟต เพนตาไฮเดรต
- โปตัสซียมโซเดียมทาเทรต เตตราไฮเดรต
- เมทิลีนบลู

- นิวทรัลเลดอะซิเตท
- โปตัสเซียมออกซาเลท
- กรดไฮโดรคลอริก
- น้ำตาลเดรกซ์โตส

2.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์และอาหารเลี้ยงเชื้อ (Analytical Grade)

2.3.1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Count) โดยวิธี Pour Plate (BAM, 2001)

- Plate Count Agar (PCA)

2.3.2 ปริมาณยีสต์และรา โดยวิธี Spread Plate (BAM, 2001)

- Potato Dextrose Agar (PDA)

2.3.3 ปริมาณ *Escherichia coli* (BAM, 2001)

- Lauryl Sulphate Tryptone Broth (LST)
- EC Medium
- Levine's Eosin Methylene Blue Agar (EMB)
- Lactose Broth

2.3.4 ปริมาณ *Salmonella* sp. (BAM, 2001)

- Lactose Broth 0.5 %
- Tetrathionate (TT) Broth
- Rappaport-Vassiliadis (RV) Medium
- Bismuth Sulfite Agar (BS)
- Hektoen Enteric (HE) Agar (SS) Agar
- Xylose Lysine Desaxycholate Agar (XLD)
- Triple Sugar Iron Agar (TSI)
- Lysine Iron Agar (LIA)

2.3.5 ปริมาณแบคทีเรียแลกติก โดยวิธี Pour Plate (ดัดแปลงจากวิธีของ O'Connor-Shaw และคณะ, 1994)

- De, Man Rogosa and Sharpe (MRS) Agar

3. บรรจุภัณฑ์

- ถาดโฟมโพลีสไตรีน (PS) ขนาด 14.20 x 14.20 x 2.00 ซม.
- ถุงพลาสติกพลาสติกโพลีโพรพิลีน (PP) ขนาด 7 x 11 นิ้ว หนา 0.09 มม. อัตราการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิ 23°ซ ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 0 เท่ากับ 1,007 และ 2,380 ซม.^{3}/ม.^{2}/วัน/ความดันบรรยากาศ ตามลำดับ และอัตราการซึมผ่านของไอน้ำที่อุณหภูมิ 23°ซ ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85 เท่ากับ 0.66 กรัม/ม.^{2}/วัน
- ถุงพลาสติกพลาสติกไนลอน/แอลแอลดีพีอี (Nylon/LLDPE) ขนาด 7.70 x 9.50 นิ้ว หนา 0.08 มม. อัตราการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิ 23°ซ ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 0 เท่ากับ 36.60 และ 81.40 ซม.^{3}/ม.^{2}/วัน/ความดันบรรยากาศ ตามลำดับ และอัตราการซึมผ่านของไอน้ำที่อุณหภูมิ 23°ซ ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85 เท่ากับ 1.05 กรัม/ม.^{2}/วัน
- แผ่นรองซับน้ำทำจากเยื่อกระดาษเซลลูโลสผสมด้วยโพลีโพรพีลีน (Wipers Foodservice Towel) ขนาด 23.11 x 42.67 ซม. น้ำหนัก 8.50 กรัม/แผ่น

อุปกรณ์

- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น Ab 204 ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
- เครื่องวัดสียี่ห้อ Hunterlab รุ่น Colorflex ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องวัดเนื้อสัมผัส Texture Analyser ยี่ห้อ Stable Micro Systems รุ่น TA-xt2i ประเทศอังกฤษ
- เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Hand Refractometer) รุ่น Atago-n1 ประเทศญี่ปุ่น
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่างยี่ห้อ Sartorius รุ่น PB-20 ประเทศเยอรมัน
- เครื่อง Gas Chromatography (GC) ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น GC-8A ประเทศญี่ปุ่น
- เครื่องปิดผนึกสุญญากาศ ยี่ห้อ Henkorac รุ่น 1000 ประเทศอิตาลี
- เครื่องปั่นอาหาร (Stomacher) ยี่ห้อ Seward รุ่น M. 400 ประเทศอังกฤษ
- เครื่องโฮโมจิไนเซอร์ยี่ห้อ Ika รุ่น T18 Basic ประเทศสหรัฐอเมริกา
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิ/ความชื้น (-20 ถึง 100°ซ)/(20 ถึง 98%RH) ยี่ห้อ Tabai Espec Corp รุ่น Pr-2ft ประเทศญี่ปุ่น

- ห้องเย็นที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 10°ซ
- อุปกรณ์ในการวัดอัตราการหายใจ (ภาพที่ 3) ใช้ที่ห้องปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

ภาพที่ 3 ชุดอุปกรณ์วัดอัตราการหายใจของมังคุดคัดที่อุณหภูมิ 10°ซ

Apparatus for measuring respiration rate of fresh-cut unripe mangosteen at 10°C

วิธีการ

1. การเตรียมวัตถุดิบ

1.1 คัดเลือกมังคุดที่อยู่ในระยะผิวสีเหลืองอ่อนจุดสีชมพูกระจายบางส่วน หรือจัดอยู่ในระดับสีที่ 1 ตามดัชนีแสดงระดับสีของผลมังคุดของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (2529) นำมาตัดเปลือกส่วนหัวและท้ายออก หลังจากนั้นนำมาล้างทำความสะอาด ตั้งให้สะเด็ดน้ำ และนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2^{o}ซ เป็นเวลา 15-20 ชม.

1.2 เตรียมสารละลายผสม (ชุดควบคุม) ประกอบด้วยโพแทสเซียมอะลูมิเนียมซัลเฟตร้อยละ 1 และโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1 (w/v)

1.3 นำมังคุดจากข้อ 1.1 มาล้างทำความสะอาดอีกครั้ง ทำการตัดแต่งเพื่อให้ได้เนื้อมังคุดในสารละลายผสม (เนื้อ : สารละลายผสม = 1 : 3) แล้วนำขึ้นมาแช่ในสารละลายผสม (เนื้อ : สารละลายผสม = 1 : 7) เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำเนื้อมังคุดมาวางให้สะเด็ดน้ำ

2. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและอัตราการหายใจของเนื้อมังคุดคัด

2.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อมังคุดจากข้อ 1.3 เปรียบเทียบกับเนื้อมังคุดคัดที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 3. ของวิธีการทดลอง ดังนี้

- ค่าความเป็นกรดด่าง โดยนำตัวอย่างมังคุดคัดผสมน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:2 (w/v) ปั่นนาน 2 นาที กรองผ่านผ้าขาวบางแล้วนำมาวัดด้วยพีเอชมิเตอร์ที่ผ่านการปรับด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานพีเอช 4.0 และ 7.0
- ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก โดยไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐาน 0.1 N (A.O.A.C., 2000)
- ปริมาณกรดแอสคอร์บิก ใช้ 2,6-Dichlorophenol-Indophenol Visual Titration Method (A.O.A.C., 2000)
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดด้วย Hand Refractometer
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด วัดโดย Lane and Eynon Volumetric Method (A.O.A.C., 2000)

2.2 การวัดอัตราการหายใจ

วัดอัตราการหายใจของมังคุดคัดที่ผ่านการตัดแต่งและแช่ในสารละลายผสมจากข้อ 1.3 ด้วยชุดอุปกรณ์วัดอัตราการหายใจ (ภาพที่ 3) ที่อุณหภูมิ 10^{o}ซ โดยเก็บตัวอย่างแก๊สในขวดโหลแก้วที่บรรจุมังคุดคัดทุก ๆ 24 ชม. เป็นเวลา 6 วัน เพื่อตรวจสอบปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยเครื่อง GC ทำการทดลอง 12 ซ้ำ (Claypool *et al*., 1942)

3. ศึกษากระบวนการผลิตและแนวทางการป้องกันการเสื่อมคุณภาพของเนื้อมังคุดคัด

ศึกษาผลของการใช้สารเคมีในการป้องกันการเกิดสีน้ำตาล และรักษาเนื้อสัมผัสของมังคุดคัด โดยนำมังคุดจากข้อ 1.1 มาล้างทำความสะอาดอีกครั้ง ทำการตัดแต่งเพื่อให้ได้เนื้อมังคุดในสารละลายผสม (เนื้อ : สารละลายผสม = 1 : 3) แล้วนำขึ้นมาแช่ในสารละลายผสม (เนื้อ : สารละลายผสม = 1 : 7) โดยมีปัจจัยที่ทำการศึกษาดังนี้

3.1 ชนิดและความเข้มข้นของสารละลายผสม

- โพแทสเซียมอะลูมิเนียมซัลเฟตร้อยละ 1 ร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 1 (w/v) (ชุดควบคุม)
- กรดซิตริกร้อยละ 0.50 ร่วมกับแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 0.25 (w/v)
- กรดซิตริกร้อยละ 0.50 ร่วมกับแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 0.50 (w/v)

3.2 ระยะเวลาที่ใช้ในการตัดแต่งและแช่สารละลายผสมเป็นเวลา 20 และ 30 นาที

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) และจัดชุดการทดลองแบบแฟกทอเรียลประกอบด้วย 3 x 2 รวมเป็น 6 ชุดการทดลอง (ทรีทเม้นต์) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ หลังจากแช่ในสารละลายที่อุณหภูมิห้องแล้ววางให้สะเด็ดน้ำประมาณ 1 นาที หลังจากนั้นนำเนื้อมังคุดคัดน้ำหนักประมาณ 200 กรัม/ถาด มาบรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่ประกอบด้วยถาดโฟมโพลีสไตรีน + แผ่นรองซับน้ำ + ถุงพลาสติกโพลีโพรพิลีน ปิดผนึกภายใต้บรรยากาศปกติ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2^{o}ซ ทำการสุ่มตัวอย่างในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 ของการเก็บรักษามาตรวจสอบคุณภาพดังนี้

- ค่าสี (*L a* และ *b*) โดยเครื่องวัดสี Hunterlab (ดังแสดงรายละเอียดในภาคผนวก ก ข้อ 1)
- ความแน่นเนื้อ โดยวัดความต้านทานแรงกด (Compression force) ด้วยเครื่อง Texture Analyser (ดังแสดงรายละเอียดในภาคผนวก ก ข้อ 2)
- คุณภาพทางประสาทสัมผัส ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีพรรณนาเชิงปริมาณ (QDA) ทางด้านลักษณะปรากฏ สี ความแน่นเนื้อ และการยอมรับรวม (ยกเว้นการประเมินคุณลักษณะทางด้านรสฝาดตรวจสอบในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาเท่านั้น) (Lawless and Heymann, 1999) (ดังแสดงรายละเอียดในภาคผนวก ข)

คัดเลือกชุดการทดลองที่เหมาะสมซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงสีน้อยที่สุดและมีเนื้อสัมผัสที่ดีที่สุดเพื่อศึกษาในขั้นตอนของการยืดอายุการเก็บรักษาต่อไป

4. การยืดอายุการเก็บรักษามังคุดคัด

นำเนื้อมังคุดคัดที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 3 มาบรรจุ (น้ำหนักประมาณ 200 กรัม/ถาด) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2^{o}ซ ภายในบรรจุภัณฑ์และสภาวะบรรยากาศดัดแปลงต่าง ๆ ดังนี้

4.1 บรรจุภัณฑ์

- ถาดโฟมโพลีสไตรีน + แผ่นรองซับน้ำ + ถุงพลาสติกโพลีโพรพิลีน
- ถาดโฟมโพลีสไตรีน + แผ่นรองซับน้ำ + ถุงพลาสติกไนลอน/แอลแอลดีพีอี

4.2 สภาวะการบรรจุ

- สภาวะที่มีแก๊ส O_2 และ CO_2 เริ่มต้นร้อยละ 15 และ 10 ตามลำดับ
- สภาวะที่มีแก๊ส O_2 และ CO_2 เริ่มต้นร้อยละ 15 และ 15 ตามลำดับ
- สภาวะบรรยากาศปกติ

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) และจัดชุดการทดลองแบบแฟกทอเรียล 2 x 3 รวมเป็น 6 ชุดการทดลอง (ทรีทเม้นต์) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ทำการสุ่มตัวอย่างในวันที่ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 ของการเก็บรักษามาตรวจสอบคุณภาพ ดังนี้

- คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรดด่างด้วย pH meter ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก ปริมาณกรดแอสคอร์บิก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (A.O.A.C., 2000) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดด้วย Hand Refractometer

- คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี (*L a* และ *b*) โดยเครื่องวัดสี Hunterlab และความแน่นเนื้อโดยวัดความต้านทานแรงกด (Compression force) ด้วยเครื่อง Texture Analyser (ดังแสดงรายละเอียดในภาคผนวก ก)

- คุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่ จุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา *Escherrichia coli Salmonella* sp. (BAM, 2001) และแบคทีเรียแลคติก (ดัดแปลงจากวิธีของ O'Connor-Shaw และคณะ, 1994)

- คุณภาพทางประสาทสัมผัส ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนเล็กน้อยจำนวน 10 คน ประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีพรรณนาเชิงปริมาณ (QDA) ทางด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นผิดปกติ ความแน่นเนื้อ และการยอมรับรวม (Lawless and Heymann, 1999) (ดังแสดงรายละเอียดในภาคผนวก ข)

5. ตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของแก๊สภายในบรรจุภัณฑ์

นำเนื้อมังคุดคัดที่ผ่านการตัดแต่งและแช่ในสารละลายผสมระหว่างกรดซิตริกร้อยละ 0.50 ร่วมกับแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 0.25 (w/v) บรรจุ (น้ำหนักประมาณ 200 กรัม/ถาด) ภายในบรรจุภัณฑ์และสภาวะบรรยากาศดัดแปลงที่เหมาะสมจากข้อ 4 (สภาวะดัดแปลงบรรยากาศที่มีแก๊สออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์เริ่มต้นร้อยละ 15 และ 10 ในถุงพลาสติกไนลอน/แอลแอลดีพีอี) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ± 2^{o}ซ จากนั้นทำการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของแก๊ส โดยการเก็บตัวอย่างแก๊สในบรรจุภัณฑ์ที่บรรจุมังคุดคัดทุก ๆ 24 ชม. เพื่อตรวจสอบปริมาณแก๊สออกซิเจนและแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography (Claypool *et al*., 1942) จนกว่าคุณภาพทางจุลินทรีย์ไม่เป็นที่ยอมรับ (เป็นเวลา 9 วัน) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) และการทดสอบค่าที (T-Test) (Steel and Torrie, 1980) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์สถิติ SPSS เวอร์ชั่น 11.0