บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

1.1. น้ำนมดิบจากฟาร์มคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

1.2. น้ำนมดิบจากฟาร์มสมาชิกองค์การส่งเสริมกิจการโคนม (อ.ส.ค.) ห้วยแก้ว เชียงใหม่

1.3. น้ำนมดิบจากฟาร์มสมาชิกสหกรณ์โคนมเชียงใหม่

1.4. เชื้อ *Escherichia coli* TISTR 887 (ATCC 25922) จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

2.1. เมมเบรนฟิวเตอร์ (syringe membrane filter) ขนาดรูของแผ่นกรอง 0.20 μm (Sartorius, Germany)

2.2. กระบอกฉีดยาปลอดเชื้อ (syringe) ขนาด 1 มิลลิลิตร (NISSHO, Japan)

2.3. ห้องเย็นอุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส

2.4. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Precisa ; XT320M, France)

2.5. ปิเปต (HBG, Germany)

2.6. บีกเกอร์ (Pyrex, USA)

2.7. ถังพลาสติก ขนาด 5 ลิตร

3. อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

3.1. ปิเปต ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร (HBG, Germany)

3.2. จานเพาะเชื้อ (Petri dishes; Pyrex, USA)

3.3. หลอดแก้วทดลอง

3.4. หม้อนึ่งความดัน (autoclave; MT sterilizer 100, Thailand)

3.5. ตู้อบฆ่าเชื้อแบบลมร้อน (hot air oven; Memmert , Germany)

3.6. ขวดดูแรน ขนาด 100, 250 และ 500 มิลลิลิตร (Schott Duran, Germany)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.7. ตู้บ่มเพาะเชื้อ (incubator)

3.8. อ่างน้ำอุ่นควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

3.9. เครื่องนับจำนวนโคโลนี

3.10. ตู้เย็น (ธานินทร์, ประเทศไทย)

3.11. เครื่องเขย่า (Vortex Genie 2 model G-560b, USA)

4. อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

4.1. Kjeldahl digestion set (Tecator, USA)

4.2. Kjeldahl distillation set (Tecator, USA)

4.3. บิวเรต ขนาด 25 มิลลิลิตร (HBG, Germany)

4.4. จานอลูมิเนียมมีฝาปิด (moisture can)

4.5. โถแก้วดูดความชื้น (desicator) ที่มีสารดูดความชื้น

4.6. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, Germany)

4.7. ตู้อบไฟฟ้าควบคุมอุณหภูมิได้ (Termaks)

4.8. กรวยแยก (Pyrex, USA)

4.9. กระบอกตวง ขนาด 50 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)

4.10. บีกเกอร์ ขนาด 25 และ 250 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)

4.11. ตู้ดูดควัน

5. อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณของสารไธโอไซยาเนต

5.1. กระดาษกรอง Whatman No. 4 และ 40

5.2. Cuvette ขนาด 4.3 มิลลิลิตร (Plastibrand®)

5.3. Spectrophotometer (Spectro 22, USA)

5.4. กรวยกรอง

5.5. ฟลาส ขนาด 25 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)

5.6. Auto-pipette (Biohit Proline, Finland)

5.7. Tip (Scientific plastic, USA)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ค่ากิจกรรม (activity) ของเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส

6.1. Cuvette ขนาด 4.3 มิลลิลิตร (Plastibrand®)

6.2. Spectrophotometer ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร (Spectro 22, USA)

6.3. เครื่องวัดพีเอช (pH meter; Consort C830, Belgium)

6.4. Auto-pipette (Biohit Proline, Finland)

6.5. Tip (Scientific plastic, USA)

7. สารเคมี

7.1. น้ำกลั่น

7.2. แอมโมเนีย (Merck, Germany)

7.3. เอทิล แอลกอฮอล์ (ethyl alcohol; Merck, Germany)

7.4. ไดเอทิล อีเทอร์ (diethyl ether; Carlo Erba, Itary)

7.5. ปิโตรเลียม อีเทอร์ (petroleum ether; Carlo Erba, Itary)

7.6. กรดซัลฟูริก (sulfuric acid; Merck, Germany)

7.7. คอปเปอร์ซัลเฟต (copper sulphate) ปราศจากไนโตรเจน (Merck, Germany)

7.8. โพแทสเซียมซัลเฟต (potassium sulphate) ปราศจากไนโตรเจน (Merck, Germany)

7.9. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide; Merck, Germany)

7.10. กรดบอริก (boric acid; Merck, Germany)

7.11. Methylene blue (B.D.H. Ltd)

7.12. Peptone (Merck, Germany)

7.13. Nutrient broth (Difco, USA)

7.14. ผงวุ้น (agar)

7.15. Lauryl Sulphate Tryptone Broth (Difco, USA)

7.16. Brilliant Green Lactose Bile Broth (Difco, USA)

7.17. Trichloroacetic acid (TCA; Merck, Germany)

7.18. Ferric nitrate (Fluka, Switzerland)

7.19. Nitric acid (Merck, Germany)

7.20. Sodium Thiocyanate (Fluka, Switzerland)

7.21. Lactoperoxidase (Sigma, Germany)

7.22. 2,2-Azino-bis(3-ethylbenz-thioline-6-sulfonic acid) (ABTS; Sigma, England)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

7.23. di-Sodium hydrogen orthophosphate (Riedel-de Haën, Germany)

7.24. Sodium dihydrogen orthophosphate (May&Baker LTD. Dagenham, England)

7.25. Hydrogen peroxide (Riedel-de Haën, Germany)

7.26. Sodium percarbonate (Riedel-de Haën, Germany)

7.27. Trypticase Soy Broth (Merck, Germany)

8. เครื่องประมวลผลข้อมูล

8.1. เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล

9. โปรแกรมประยุกต์

9.1. โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10

9.2. โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft Excel 97 (Microsoft corp., USA)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แผนและวิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 : ศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาและเคมีของน้ำนมดิบจากฟาร์มของเกษตรกร

1.1 ศึกษาคุณภาพทางด้านจุลชีววิทยาของน้ำนมดิบ

โดยการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาด้วยวิธี methylene blue reduction test (Harrigan, 1998) ตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Standard Plate Count) และเชื้อแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (coliform bacteria) (FDA, 2000) โดยการสุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบจากฟาร์มโคนม 3 แห่ง คือ ฟาร์มของเกษตรกรที่เป็นสมาชิกของสหกรณ์โคนมเชียงใหม่ ฟาร์มของเกษตรกรที่เป็นสมาชิกขององค์การส่งเสริมกิจการโคนม (อ.ส.ค.) ห้วยแก้ว และฟาร์มของภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ทำการสุ่มตัวอย่างเดือนละ 2 ครั้ง ครั้งละ 3 ซ้ำ เป็นระยะเวลา 2 เดือนติดต่อกัน

1.2 ศึกษาคุณภาพทางด้านเคมีของน้ำนมดิบ

ทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน และปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำนมดิบ (AOAC, 2000) โดยใช้ตัวอย่างเดียวกันกับข้อ 1.1

ตอนที่ 2 : ศึกษาปริมาณของสารไธโอไซยาเนตและค่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสที่มีอยู่ในน้ำนมดิบ

2.1 ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณของสารไธโอไซนาเนตในน้ำนมดิบตามธรรมชาติ

ตรวจหาปริมาณของสารไธโอไซยาเนตในน้ำนมดิบ (FAO, 1999) โดยการสุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบจากฟาร์มของเกษตรกรที่เป็นสมาชิกของสหกรณ์โคนมเชียงใหม่ องค์การส่งเสริมกิจการโคนม (อ.ส.ค.) ห้วยแก้ว และฟาร์มของภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมดิบแหล่งละ 3 ซ้ำ ทำการสุ่มตัวอย่างเดือนละ 2 ครั้ง เป็นระยะเวลา 2 เดือนติดต่อกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารไธโอไซยาเนตในน้ำนม (FAO, 1999)

หลักการ

ตรวจหาสารไธโอไซยาเนตในน้ำนมหลังจากตกตะกอนโปรตีนด้วยกรดไตรคลอโรอะซิติก (trichloroacetic acid; TCA) ได้เป็นสารประกอบเฟอริค (ferric complex) วัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 460 นาโนเมตร วิธีนี้สามารถวัดปริมาณสารไธโอไซยาเนต (SCN) ได้ต่ำสุด 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิธีการตรวจวัด

- ผสมน้ำนม 4.0 มิลลิลิตร กับสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก ความเข้มข้นร้อยละ 20 จำนวน 2.0 มิลลิลิตร ให้เข้ากันดี แล้วตั้งทิ้งไว้นาน 30 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 40
- นำสารละลายใสที่ได้จากการกรอง 1.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายเฟอร์ริกไนเตรต จำนวน 1.5 มิลลิลิตร ให้เข้ากันดี วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 460 นาโนเมตร สำหรับชุดควบคุม (blank) เตรียมได้จากการผสมสารละลายเฟอร์ริกไนเตรต ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร กับน้ำกลั่น จำนวน 1.5 มิลลิลิตร ต้องทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงภายในเวลา 10 นาที หลังจากที่เติมสารละลายเฟอร์ริกไนเตรต เพราะสีของสารประกอบที่ได้ไม่คงตัว
- หาปริมาณของสารไธโอไซยาเนตได้ จากการเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแล้ว คือ 5, 10, 15 และ 20 มิลลิกรัม

2.2 ตรวจหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส (enzyme activity) ในน้ำนมดิบ

ทำการตรวจหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสในตัวอย่างน้ำนมดิบตามข้อ 2.1

วิธีการตรวจค่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส (Fonteh, 2000)

วิธีตรวจวัดค่ากิจกรรมเอนไซม์นี้ปรับปรุงมาจากวิธีของ IDF method (1994) เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของ chrogenic substance คือ ABTS (2,2′-Azino-bis(3-ethylbenz-thiozoline-6-sulfonic acid)) กับไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์จะเกิดเป็นสีเขียวแล้วตรวจวัดปริมาณด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer สมการการเกิดปฏิกิริยาดังนี้

$$ABTS + H_2O_2 \xrightarrow{\text{lactoperoxidase}} 2H_2O + ABTS^{+} \text{ (green-coloured radical cation)}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีทำ

1. ผสมน้ำนมดิบ 0.1 มิลลิลิตร กับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 6.7 จำนวน 0.1 มิลลิลิตรให้เข้ากันดี หลังจากนั้นดูดสารละลายเพียง 0.1 มิลลิลิตร ใส่ใน cuvettes ขนาด 4.3 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย ABTS solution จำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
3. ตั้ง cuvettes ไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที อุณหภูมิของสารละลาย 19-22 องศาเซลเซียส แล้วเติมไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ เข้มข้น 0.3 mM จำนวน 1 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ภายในเวลาเพียง 15 วินาทีเท่านั้นหลังการเติมไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ และวัดซ้ำอีกครั้งหลังจากปล่อยให้เกิดปฏิกิริยานาน 1 นาที 15 วินาที อุณหภูมิของสารละลายประมาณ 21 องศาเซลเซียส คำนวณหาค่า enzyme activity จากสมการ

$$[E]_{milk} = \left\{ \frac{(R + R_0)(V_s + V_a)}{V_s} \right\} - 93$$

เมื่อ $[E]_{milk}$ = lactoperoxidase activity (μM product/minute)

V_{sample} = 0.1 มิลลิลิตร

V_{assy} = 3.0 มิลลิลิตร

R_o = 3 μM product/minute

R = initiation rate ของ generation of oxidized product

= $(\Delta A/\Delta t) / 32.4 \times 10^{-3}$ μM product/minute

เมื่อ

ΔA = ผลต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ ณ เวลา 15 วินาที และ 1 นาที 15 วินาที

Δt = เวลาที่เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับ substrate

= 1.15 นาที – 15 วินาที = 1 นาที

และ 32.4×10^{-3} เป็นค่า extinction coefficient ของ ABTS oxidation product ที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 3 : ศึกษาหาสัดส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารไธโอไซยาเนตและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ทำให้ระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสมีประสิทธิภาพ

เติมเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922 อายุ 18-20 ชั่วโมง ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth (TSB) จำนวน 10 มิลลิลิตร ให้มีปริมาณเชื้อสุดท้ายเป็น 10^3-10^4 cfu/ml ปรับให้เกิดระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส โดยการเติมสารละลายเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 10 µg/ml และเติมสารละลายโซเดียมไธโอไซยาเนต (sodium thiocyanate; NaSCN) เพื่อเป็นแหล่งของไธโอไซยาเนต และสารละลายโซเดียมเปอร์คาร์บอเนต (sodium percarbonate; $2Na_2CO_3.3H_2O_2$) เพื่อเป็นแหล่งของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ซึ่งสารละลายทั้งหมดผ่านการกรองด้วย membrane filter ขนาดรูแผ่นกรอง 0.20 µm แล้ว ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายแตกต่างกันดังนี้ (แสดงรายละเอียดในตารางที่ 3.1)

การทดลองที่ 1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth เติมเชื้อ *E. coli*

กาทดลองที่ 2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth เติมเชื้อ *E. coli* และสารละลายเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 10 µg/ml เติมสารละลายโซเดียมไธโอไซยาเนต และสารละลายโซเดียมเปอร์คาร์บอเนต ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 30 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Ridley และ Shalo, 1990)

การทดลองที่ 3 อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth เติมเชื้อ *E. coli* และสารละลายเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 10 µg/ml เติมสารละลายโซเดียมไธโอไซยาเนต และสารละลายโซเดียมเปอร์คาร์บอเนต ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 14 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Joint FAO/WHO, 1991)

การทดลองที่ 4 อาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth เติมเชื้อ *E. coli* และสารละลายเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสให้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 10 µg/ml เติมสารละลายโซเดียมไธโอไซยาเนต และสารละลายโซเดียมเปอร์คาร์บอเนต ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 17 และ 28 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ เก็บในตู้บ่ม (incubator) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สุ่มตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Total Plate Count (FDA, 2000) หลังจากบ่มนาน 0, 4, 8, 12 และ 16 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.1 การปรับอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Broth (TSB) ให้เกิดระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส

ปัจจัยศึกษา	อาหารเลี้ยงเชื้อ TSB (มิลลิลิตร)	สารละลายเอนไซม์ * เข้มข้น 200 µg/ml (µl)	สารละลาย โซเดียมไธโอไซยาเนต เข้มข้น 10 mg/ml (µl)	สารละลาย โซเดียมเปอร์คาร์บอเนต เข้มข้น 10 mg/ml (µl)	สารละลายเชื้อ *E. coli* เจือจาง 10^{-3} (µl)	อัตราส่วนความเข้มข้นของไธโอไซยาเนตและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (mM)
1. ชุดควบคุม	9.900	-	-	-	100	-
2. ระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสที่มีโซเดียมไธโอไซยาเนตร่วมกับโซเดียมเปอร์คาร์บอเนต เข้มข้น 30 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร	9.330	500	30	40	100	0.36 : 0.32
3. ระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส ที่มีโซเดียมไธโอไซยาเนตร่วมกับโซเดียมเปอร์คาร์บอเนต เข้มข้น 14 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร	9.356	500	14	30	100	0.17 : 0.24
4. ระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส ที่มีโซเดียมไธโอไซยาเนตร่วมกับโซเดียมเปอร์คาร์บอเนต เข้มข้น 17 และ 28 มิลลิกรัมต่อลิตร	9.355	500	17	28	100	0.20 : 0.22

หมายเหตุ * ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 10 µg/ml

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 4 : ศึกษาประสิทธิภาพของระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสในการยืดอายุการเก็บรักษา (shelf-life) ของน้ำนมดิบ

4.1 ศึกษาประสิทธิภาพของระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสในน้ำนมดิบ ที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นแตกต่างกัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

เติมสารโซเดียมไธโอไซยาเนตและโซเดียมเปอร์คาร์บอเนตในอัตราส่วนที่ดีที่สุด (ได้จากการทดลองในตอนที่ 3) ลงในน้ำนมดิบจำนวน 200 มิลลิลิตร ที่สุ่มจากแหล่งผลิตที่มีการจัดการสุขาภิบาลที่ดีและมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ต่ำ (ได้จากการทดลองในตอนที่ 1 และ 2) และตัวอย่างน้ำนมดิบชนิดเดียวกันนี้แต่เติมเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 อายุ 18-20 ชั่วโมง ให้มีเชื้อประมาณ 10^6 cfu/ml เก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการทดลอง 3 ซ้ำ รายละเอียดของชุดการทดลองแสดงในตารางที่ 3.2 สุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบหลังการบ่มนาน 0, 2, 4, 8, 12 และ 16 ชั่วโมง เพื่อตรวจหาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี Total Plate Count (FDA, 2000) และวัดค่ากิจกรรมเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส (Fonteh, 2000)

ตารางที่ 3.2 สิ่งทดลองในการศึกษาประสิทธิภาพของระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสในน้ำนมดิบที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นแตกต่างกัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

สิ่งทดลอง	ปัจจัยศึกษา
1	น้ำนมดิบ จำนวน 200 มิลลิลิตร (ชุดควบคุม)
2	น้ำนมดิบเติมสารโซเดียมไธโอไซยาเนตร่วมกับโซเดียมเปอร์คาร์บอเนตในระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุด (ได้จากผลการทดลองตอนที่ 3) เพื่อกระตุ้นให้เกิดระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส
3	น้ำนมดิบเติมเชื้อ *E. coli* ให้มีเชื้อปริมาณ 10^6 cfu/ml
4	น้ำนมดิบเติมเชื้อ *E. coli* ให้มีเชื้อปริมาณ 10^6 cfu/ml และเติมสารโซเดียมไธโอไซยาเนตร่วมกับโซเดียมเปอร์คาร์บอเนตในระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุด (ได้จากผลการทดลองตอนที่ 3) เพื่อกระตุ้นให้เกิดระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2 ศึกษาประสิทธิภาพของระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสในการเก็บรักษาน้ำนมดิบ ที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส และผลกระทบที่มีต่อค่ากิจกรรมเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส

เติมโซเดียมไธโอไซยาเนตและโซเดียมเปอร์คาร์บอเนตในอัตราส่วนที่ดีที่สุด (ได้จากการทดลองในตอนที่ 3) ลงในน้ำนมดิบ จำนวน 4 ลิตร ที่สุ่มจากแหล่งผลิตที่มีการจัดการสุขาภิบาลที่ดีและมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ต่ำ (ได้จากการศึกษาในตอนที่ 1 และ 2) เก็บน้ำนมดิบไว้ที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส ทำการทดลอง 3 ซ้ำ รายละเอียดของสิ่งทดลองแสดงใน ตารางที่ 3.3 สุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบหลังเก็บรักษานาน 0, 2, 4, 8, 12 และ 16 ชั่วโมง ตรวจหาปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี Total Plate Count (FDA, 2000) และวัดค่ากิจกรรมเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสในน้ำนมดิบ (Fonteh, 2000) หลังการเก็บรักษานาน 0, 4, 8, 12 และ 16 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.3 สิ่งทดลองในการศึกษาประสิทธิภาพของระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสในน้ำนมดิบ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส นาน 16 ชั่วโมง

สิ่งทดลอง	ปัจจัยศึกษา
1	น้ำนมดิบ จำนวน 4 ลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส (ชุดควบคุม)
2	น้ำนมดิบเติมสารโซเดียมไธโอไซยาเนตและโซเดียมเปอร์คาร์บอเนต ในระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุด (ได้จากผลการทดลองตอนที่ 3) เพื่อกระตุ้นให้เกิดระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส

4.3 ศึกษาประสิทธิภาพของระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส นาน 6 วัน

เติมโซเดียมไธโอไซยาเนตและโซเดียมเปอร์คาร์บอเนตในอัตราส่วนที่ดีที่สุด (ได้จากการทดลองในตอนที่ 3) ลงในน้ำนมดิบ จำนวน 4 ลิตร ที่สุ่มจากแหล่งผลิตที่มีการจัดการสุขาภิบาลที่ดีและมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ต่ำ (ได้จากการศึกษาในตอนที่ 1 และ 2) เก็บน้ำนมดิบหลังการเติมสารกระตุ้นไว้ที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส ทำการทดลอง 3 ซ้ำ รายละเอียดของสิ่งทดลองแสดงในตารางที่ 3.4 สุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบทุกวันเป็นระยะเวลา 6 วัน เพื่อตรวจหาปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ด้วยวิธี Total Plate Count (FDA, 2000) และตรวจวัดค่ากิจกรรมเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดสในน้ำนมดิบ (Fonteh, 2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.4 **สิ่งทดลองในการศึกษาประสิทธิภาพของระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส เพื่อใช้ยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบ ที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส นาน 6 วัน**

สิ่งทดลอง	ปัจจัยศึกษา
1	น้ำนมดิบ จำนวน 4 ลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส (ชุดควบคุม)
2	น้ำนมดิบเติมสารโซเดียมไธโอไซยาเนต และโซเดียมเปอร์คาร์บอเนตในระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุด (ได้จากผลการทดลองตอนที่ 3) เพื่อกระตุ้นให้เกิดระบบเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส เก็บที่อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส

ก
63711
ก544ก
e.4
เลขหมู่.....
สำนักหอสมุด มหาวิ ยงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved