บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. วัตถุดิบ อุปกรณ์ สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

1.1 วัตถุดิบ

- มะม่วงแก้วและโชคอนันต์ (*Mangifera indica, Linn* var. Kaew and Choke anan) ส่วนที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพและเคมี มาจากสวนประพัฒน์ อำเภอแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ส่วนที่ใช้ในการทดลองพัฒนาสูตรและกระบวนการผลิตซื้อจากตลาดเมืองใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่
- น้ำตาลทราย (Sucrose, ตรามิตรผล)
- เกลือ (Sodium chloride, ตราปรุงทิพย์)
- กรดซิตริก (Citric acid, food grade)
- คาร์บอกซีเมธิลเซลลูโลส (Carboxy methyl cellulose, food grade)
- กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid, food grade)
- ผงชะเอม (ตลาดวโรรส อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่)
- เปปเปอร์มินต์อบแห้ง (โครงการอาหารสุขภาพดอยคำ มูลนิธิโครงการหลวง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่)
- คาโมมายล์อบแห้ง (โครงการอาหารสุขภาพดอยคำ มูลนิธิโครงการหลวง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่)

1.2 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ

- เครื่องวัดสี (Minolta camera : Model CR300)
- เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture analyser, Instron : Model 5565)
- เครื่องวัดความหนืด (Viscometer, Brookfield : ModelDV-II+)

1.3 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี

- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Analytical balance, Mettler-Toledo : Model BB 120)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance, Sartorious : Model B 3100 P)
- เครื่องปั่นผสมอาหาร (Blender, National : Model MX-T31 GN No.940823)
- เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter, Horiba : Horiba D-12 Model D-12E 526002)
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (UV / Visible Spectrophotometer, Jasco : Model V- 530)
- เซลวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (Cuvette, PlastiBrand® : Model PS 2.5 ml makco Cat. No. 759005)
- เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge Kubota : Model 5100)
- เครื่องวัดค่าของแข็งที่ละลายได้ (Hand Refractometer, Atago : Model N1 Brix 1-32 %)
- เครื่องกวนผสมแบบแม่เหล็กไฟฟ้า (Magnetic stirrer, Labinco : Model L344)
- ตู้แช่เยือกแข็ง (Freezer, Sanyo : Model SFC 65A)
- เครื่องย่อยโปรตีน (Digester, Buchi : Model 430)
- เครื่องกลั่นโปรตีน (Distillation unit, Buchi : Model 323)
- สูบชักดูดสาร ขนาด 1-10 มิลลิลิตร (Dispensette ® III, Brand : Model No. 4700140)
- ออโตปิเปต ขนาด 10-100 และ 200-1000 ไมโครกรัม (Autopipette, Varipette® 4810, Eppendorf : Model No. 181182)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, GFL : Model D1004 No.10695192e)
- นาฬิกาจับเวลา

1.4 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพด้านประสาทสัมผัส

- อุปกรณ์ชุดทดสอบชิม
- แบบทดสอบชิม

1.5 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลชีววิทยา

- เครื่องผสมแบบหมุนวน (Vortex Geniez, Scientific Industries : Model G-560E)
- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave, Hariyama : Model HA-300MIV)
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Incubator, Hareus : Model D-6450 Hanau)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, Memmert : Model WB14)

1.6 อุปกรณ์สำหรับการทดลองพัฒนาสูตรและผลิตภัณฑ์

- เครื่องคั้นน้ำผลไม้แบบแยกกาก (Juicer , National : Model MJ-68M No. 605231)
- เครื่องปั่นผสมความเร็วสูง (Homogeniser, Kinematica AG : Model PT 10/35 No.980769-4, Polytron-Aggregate®)
- เครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermometer, RKC : Model PP-300)
- เครื่องปิดฝากระป๋อง (Seamer, บริษัทลานนาฟู้ดส์แอนด์ซัพพลาย จำกัด)
- กระป๋องบรรจุชนิดเคลือบแลคเกอร์พร้อมฝา ขนาด 202x400 (บริษัทธนเสริมอุตสาหกรรมฝาขวด จำกัด)

1.7 สารเคมี

- แอมโมเนียมออกซาเลต (Ammonium oxalate; $(NH_4)_2C_2O_4 \cdot H_2O$: Merck)
- กรดบอริก (Boric acid ; H_3BO_3: Merck)
- บรอมครีซอลกรีน (Bromocresol green; $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$: Merck)
- คอปเปอร์ซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ (Copper (II) sulfate anhydrous; $CuSO_4$: Merck)
- กรดดีกาแลคทิวโรนิก (D-Galacturonic acid monohydrate; $(C_6H_{10}O_7 \cdot H_2O)$: Merck)
- ชุดวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีสำเร็จรูป (L-Ascorbic acid test kit No.409677 : Boehringer Mannheim)
- กรดเมตาฟอสฟอริก (meta-Phosphoric acid; $(HPO_3)_n$: Merck)

- เมธิลเรด (Methyl red; $(CH_3)_2NC_6H_4N$: May & Baker)
- ฟีนอล์ฟธาลีน (Phenolphthalein; $C_{20}H_{14}O_4$: Merck)
- ซีลีเนียมไดออกไซด์ (Selenium dioxide; SeO_2 : Merck)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH : Merck)
- โซเดียมคาร์บอเนตที่ปราศจากน้ำ (Sodium carbonate anhydrous; Na_2CO_3 : Merck)
- โซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ (Sodium sulfate anhydrous; Na_2SO_4 : Merck)
- ชุดวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลสำเร็จรูป (Sucrose / D-Glucose / D-Fructose test kit No.716260 : Boehringer Mannheim)
- กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid; H_2SO_4 : Merck)

1.8 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- Plate count agar (Becto ® Plate Count Agar, Difco Laboratory)
- Potato dextrose agar (Becto ® Potato Dextrose Agar, Difco Laboratory)
- กรดทาร์ทาริก (Tartaric acid; $HOOC(CHOH)_2COOH$, Carlo Erba Reagent)
- เปปโตน (Becto ® Peptone, Difco Laboratory)
- Brilliant green lactose bile broth (Becto ® Brilliant Green Lactose Bile Broth, Difco Laboratory)

1.9 การวิเคราะห์ข้อมูล

- เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล
- โปรแกรมคำนวณทางคณิตศาสตร์สำเร็จรูป Mathcad Professional 2000
- โปรแกรมประมวลผลทางสถิติสำเร็จรูป Statistix Version 4.1
- โปรแกรมประมวลผลทางสถิติสำเร็จรูป XVERT
- โปรแกรมประมวลผลทางสถิติสำเร็จรูป POM
- โปรแกรมประมวลผลทางสถิติสำเร็จรูป Statistica Version 10

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

2. วิธีการทดลอง

2.1 สูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์เนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพร

ตาราง 3.1 : สูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์เนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพร

ส่วนผสม	ร้อยละ	ปริมาณในชุดทดลอง1,000 กรัม
น้ำมะม่วง	30	300
น้ำตาลซูโครส	20	200
น้ำสมุนไพรผสม ความเข้มข้นร้อยละ 2 (ชะเอม : มินต์ : คาร์โมมายล์ เท่ากับ 1:1:1)	20	200
กรดซิตริก	0.10	1.0
คาร์บอกซีเมธิลเซลลูโลส	0.15	1.5
เกลือ	0.10	1.0
น้ำสะอาดใช้เพื่อปรับปริมาตรสุดท้าย	29.65	296.5
รวม	100	1,000

2.2 กระบวนการผลิตเนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพร

- **เตรียมน้ำมะม่วง** โดยนำผลมะม่วงที่มีระดับความสุกตามต้องการมาล้าง ปอกเปลือก และคั้นน้ำโดยใช้เครื่องคั้นน้ำ (Juicer) น้ำมะม่วงที่ได้นำมาเติมกรดแอสคอร์บิก 200 ppm เพื่อยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล จากนั้นนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส

- **เตรียมน้ำสมุนไพร** นำดอกคาโมมายล์อบแห้ง ใบมินต์อบแห้งและผงชะเอม ปริมาณร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก เติมลงในน้ำร้อนอุณหภูมิ 90-95 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที แล้วกรองกากออก นำน้ำสมุนไพรสกัดแต่ละชนิดมาผสมตามอัตราส่วนเป็นน้ำสมุนไพรผสม

- **เตรียมเป็นเนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพร** นำน้ำมะม่วง น้ำสมุนไพรผสม น้ำตาลซูโครส กรดซิตริก เกลือ คาร์บอกซีเมธิลเซลลูโลสและน้ำสะอาดมาผสมกันตามอัตราส่วน จากนั้นนำไป Homogenize ด้วยอัตราเร็วรอบ 38,000-38,500 รอบต่อนาที เวลา 1 นาที ให้ความร้อนจนถึง

ระดับ 85-90 องศาเซลเซียส บรรจุใส่กระป๋องขณะร้อนและปิดฝากระป๋องแล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิน้ำเดือด (ประมาณ 100 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 นาที

2.3 เค้าโครงผลิตภัณฑ์เนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพร

การสำรวจเค้าโครงผลิตภัณฑ์ (Ideal Ratio Profile) ของเนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพร ทำให้ทราบว่ามีคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ใดบ้างที่ผู้บริโภคให้ความสำคัญและต้องการให้พัฒนาไปในทิศทางใด ทำโดยใช้ผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่ผลิตจากสูตรพื้นฐานเป็นผลิตภัณฑ์อ้างอิงแล้วให้ผู้ทดสอบชิม 12 คนทำการกำหนดลักษณะสำคัญของผลิตภัณฑ์ด้วยตัวเอง ซึ่งลักษณะที่ใช้ทดสอบจะแบ่งเป็น 4 ลักษณะใหญ่คือ ลักษณะภายนอก ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นและรสชาติ และการยอมรับโดยรวม จากนั้นให้ผู้ทดสอบชิมทำเครื่องหมาย (I) ลงบนเสกลเส้นตรงแบบ Horizontal line scale ตรงตำแหน่งที่เห็นว่าเป็นระดับความมาก-น้อยของลักษณะคุณภาพนั้นซึ่งดีที่สุดของผลิตภัณฑ์เป็นค่าในอุดมคติ (Ideal) และทำเครื่องหมาย (X) ในตำแหน่งที่ผู้ทดสอบชิมเห็นว่าเป็นลักษณะของผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่ใช้ทดสอบ

ค่าคะแนนที่ผู้ทดสอบชิมแต่ละคนให้กับคุณลักษณะแต่ละอย่างของผลิตภัณฑ์ จะถูกนำมาหารด้วยค่าคะแนนที่ถูกกำหนดว่าดีที่สุด ทำให้ได้ค่าสัดส่วน (Ratio=X/I) ของผู้ทดสอบชิมแต่ละคน เมื่อนำค่าดังกล่าวมาหาค่าเฉลี่ยจะได้ค่าสัดส่วนเฉลี่ย (Mean ideal ratio score) สามารถนำมาเปรียบเทียบกับเค้าโครงผลิตภัณฑ์ในอุดมคติซึ่งมีสัดส่วนของทุกคุณลักษณะเท่ากับ 1.00 ว่ามีความใกล้เคียงหรือแตกต่างกันอย่างไร ตำแหน่งของค่าในอุดมคติของแต่ละคุณลักษณะจะถูกนำมาเฉลี่ยและกำหนดเป็น Fixed Ideal สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Ideal Ratio technique ต่อไป (ไพโรจน์, 2539)

2.4 การดำเนินการทดลอง

การทดลองแบ่งออกเป็น 4 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 : การวิเคราะห์คุณภาพวัตถุดิบและการทดลองเพื่อหาวัตถุดิบมะม่วงที่เหมาะสมในการนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพร

ประกอบด้วย 2 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1.1 : การวิเคราะห์คุณภาพวัตถุดิบ

ทำการวิเคราะห์และเปรียบเทียบคุณภาพวัตถุดิบมะม่วง 2 สายพันธุ์คือ มะม่วงแก้วและมะม่วงโชคอนันต์ ซึ่งแบ่งเป็นระดับความสุก 5 ระดับ โดยใช้หลักเกณฑ์คือสีเปลือกดังนี้

ตาราง 3.2 : หลักเกณฑ์การแบ่งระดับความสุกของมะม่วงโดยใช้สีเปลือก

ระดับความสุก	ลักษณะสีเปลือก
1. มะม่วงแก่ที่ยังดิบอยู่	เขียว
2. มะม่วงสุกเล็กน้อย	เขียวอมเหลือง
3. มะม่วงสุกปานกลาง	กึ่งเขียว-เหลือง
4. มะม่วงสุกมาก	เหลืองอมเขียว
5. มะม่วงสุกเต็มที่	เหลือง

จากนั้นทำการวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพและเคมีดังนี้

คุณภาพด้านกายภาพ ได้แก่

- ค่าสีในระบบ Hunter : L, a, b (Chroma meter CR-310; Minolta,1991)
- ค่าแรงเฉือน (Instron Universal Testing Machine Model 5565; Instron, 1993)

คุณภาพด้านเคมี ได้แก่

- ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้โดยวิธีไตเตรท (International Federation of Fruit Juice Producers,1962)
- ค่าความเป็นกรดด่าง (pH-meter, Horiba D-12 Model d-12E 526002)
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Hand refractometer, Atago)
- ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส โดยวิธี Enzymatic Bioanalysis Colorimetric method (Boehringer, 1998)
- ปริมาณวิตามินซี โดยวิธี Enzymatic Bioanalysis Colorimetric method (Boehringer, 1996)

- ปริมาณเพคตินทั้งหมด เพคตินที่ละลายน้ำ เพคตินที่ละลายในแอมโมเนียมออกซาเลต และเพคตินที่ละลายในด่าง (International Federation of Fruit Juice Producer, 1964)

ข้อมูลทั้งหมดจะถูกนำไปเปรียบเทียบความแตกต่างในคุณภาพด้านต่างๆ โดยใช้วิธีการทางสถิติทำให้ทราบถึงความแตกต่างของมะม่วงแต่ละสายพันธุ์และการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบที่ระดับความสุกต่างๆ ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นดัชนีบ่งบอกระดับความสุกที่เหมาะสมของมะม่วงแต่ละสายพันธุ์ได้

การทดลองที่ 1.2 : การทดลองหาสายพันธุ์มะม่วงและระดับความสุกที่เหมาะสมในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพร

ทำการทดลองโดยมี 2 ปัจจัยทดลองดังนี้

- สายพันธุ์มะม่วง มี 2 สายพันธุ์ได้แก่ มะม่วงแก้ว และมะม่วงโชคอนันต์
- ระดับความสุก โดยกำหนดจากดัชนีบ่งบอกความสุกที่เหมาะสมจากการทดลอง 1.1 ให้เป็น 3 ระดับ

ทำการทดลองแบบ 2x3 Factorial Experiment และวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) ดำเนินการทดลอง 2 ซ้ำ โดยเตรียมเป็นเนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพรตามสูตรพื้นฐานและกระบวนการผลิตในข้อ 2.1 จากนั้นนำสิ่งทดลองมาทำการวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

คุณภาพด้านกายภาพ ได้แก่

- ค่าสีในระบบ Hunter : L, a, b (Chroma meter CR-310; Minolta,1991)
- ค่าความหนืด (Brookfield digital viscometer Model DV-II+)

คุณภาพด้านเคมี ได้แก่

- ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ โดยวิธีไตเตรท (International Federation of Fruit Juice Producers,1962)

- ค่าความเป็นกรดด่าง (pH-meter, Horiba D-12 Model d-12E 526002)
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Hand refractometer, Atago)

คุณภาพด้านประสาทสัมผัส

ทดสอบคุณลักษณะด้านประสาทสัมผัสเพื่อประเมินความชอบของผู้บริโภคโดยวิธี Ideal Ratio Profile test ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถอธิบายคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ในเชิงปริมาณได้ ในขั้นตอนการทดสอบจะใช้ผู้ทดสอบชิมครั้งละ 8-12 คน ทำการทดสอบชิมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ปรับอุณหภูมิให้เท่ากับอุณหภูมิห้อง โดยแต่ละตัวอย่างได้กำหนดให้มีเลขรหัส 3 ตัว โดยใช้ตารางเลขสุ่ม ให้ผู้ทดสอบชิมประเมินคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ตามลักษณะที่ได้มีการสำรวจเค้าโครงผลิตภัณฑ์ไว้ในข้อ 2.3

นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดไปวิเคราะห์ผลทางสถิติเพื่อเลือกสายพันธุ์มะม่วงและระดับความสุกที่เหมาะสมในการแปรรูปเป็นเนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพร

ตอนที่ 2 : การทดลองเพื่อหาสูตรการผลิตที่เหมาะสมสำหรับเนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพร

ประกอบด้วย 3 การทดลองดังนี้

การทดลอง 2.1 : การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำสมุนไพรผสม

เนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพรมีการเติมน้ำสมุนไพรผสมจากสมุนไพร 3 ชนิดคือ ผงชะเอมใบมินต์ และดอกคาโมมายล์ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำสมุนไพรดังกล่าว ซึ่งทำให้เกิดการยอมรับในด้านประสาทสัมผัสมากที่สุด ดังนั้นจึงวางแผนการทดลองแบบ Mixture design (ไพโรจน์, 2539) ซึ่งแผนการทดลองนี้มีหลักการที่ว่าเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของส่วนประกอบใดส่วนประกอบที่เหลือในสูตรจะต้องเปลี่ยนแปลงด้วย และผลรวมของส่วนประกอบทั้งหมดต้องเท่ากับ 1.0 หรือ ร้อยละ 100 โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป XVERT ช่วยในการกำหนดสูตร ส่วนประกอบอื่นนอกเหนือจากนี้จะถูกกำหนดเป็นปัจจัยคงที่ ได้แก่ น้ำมะม่วง น้ำตาลซูโครส กรดซิตริก เกลือ และคาร์บอกซีเมธิลเซลลูโลส

ปัจจัยทดลองและระดับที่กำหนดเป็นดังนี้

ชะเอม	ระดับต่ำ (-)	ร้อยละ 10
	ระดับสูง (+)	ร้อยละ 30
มินต์	ระดับต่ำ (-)	ร้อยละ 30
	ระดับสูง (+)	ร้อยละ 50
คาโมมายล์	ระดับต่ำ (-)	ร้อยละ 30
	ระดับสูง (+)	ร้อยละ 60

จากนั้นทำการวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ เคมี และทดสอบด้านประสาทสัมผัสเช่นเดียวกับการทดลอง 1.2 ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพผลิตภัณฑ์กับปัจจัยทดลอง นำไปสู่การพิจารณาหาอัตราส่วนของสมุนไพรที่เหมาะสม

การทดลอง 2.2 : การกลั่นกรองปัจจัยทดลองเพื่อหาปัจจัยที่มีความสำคัญต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์เนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพรประกอบด้วยส่วนประกอบ 6 ชนิด ได้แก่ น้ำมะม่วง น้ำตาลซูโครส กรดซิตริก เกลือ คาร์บอกซีเมธิลเซลลูโลสและน้ำสมุนไพรผสม ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการกลั่นกรองปัจจัยทดลองทั้งหมดเพื่อคัดเลือกเอาเฉพาะปัจจัยที่มีความสำคัญต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์มาทำการศึกษาต่อไป การวางแผนการทดลองใช้ Plackett and Burman Design (N=12) ซึ่งทำให้ได้สิ่งทดลองดังตาราง 3.3

กำหนดให้ปัจจัยต่างๆแทนด้วยตัวอักษรและกำหนดช่วงค่าที่ทดลองโดยประมาณซึ่งมีที่มาจากสูตรทั่วไปสำหรับผลิตภัณฑ์ประเภทเนคต้า ดังต่อไปนี้

	ระดับต่ำ(-)	**ระดับสูง(+)**
A แทน น้ำมะม่วง (ร้อยละ)	30	40
B แทน น้ำตาลซูโครส (ร้อยละ)	5	10
C แทน กรดซิตริก (ร้อยละ)	0.1	0.3
D แทน เกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)	0.1	0.2
E แทน คาร์บอกซีเมธิลเซลลูโลส (ร้อยละ)	0.05	0.15
F แทน น้ำสมุนไพรสามชนิด (ร้อยละ)	10	20
G, H, I, J และ K แทน Dummy variables		

ตาราง 3.3 : สิ่งทดลองของแผนการทดลอง Plackett and Burman Design (N=12) ในการทดลองหาปัจจัยที่มีความสำคัญต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์

สิ่งทดลอง	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-
2	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+
3	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
4	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
5	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+
6	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+
7	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+
8	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
9	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-
10	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-
11	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : + หมายถึงการกำหนดให้ปัจจัยนั้นอยู่ในระดับสูง

\- หมายถึงการกำหนดให้ปัจจัยนั้นอยู่ในระดับต่ำ

ที่มา : ไพโรจน์, 2539

ดำเนินการทดลองและวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ เคมี และทดสอบด้านประสาทสัมผัสเช่นเดียวกับการทดลอง 1.2 นำข้อมูลที่ได้ไปทำการทดสอบทางสถิติจะทำให้ทราบว่ามีปัจจัยใดบ้างที่มีความสำคัญต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้จะต้องนำไปหาระดับที่เหมาะสมในสูตรต่อไป

การทดลอง 2.3 : การทดลองหาระดับที่เหมาะสมของปัจจัยหลักซึ่งมีความสำคัญต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์

นำปัจจัยที่กลั่นกรองได้ว่ามีความสำคัญต่อผลิตภัณฑ์มาทำการหาระดับที่เหมาะสม โดยทำการทดลองแบบ Factorial experiment และวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) กำหนดให้แต่ละปัจจัยทดลองมี 5 ระดับ คือระดับสูง (+1) ระดับต่ำ (-1) จุดกึ่งกลาง (0) และตำแหน่ง $\pm\alpha$ การคำนวณเพื่อกำหนดระดับของการทดลองแสดงดังภาคผนวก ง.

ดำเนินการทดลองและทดสอบผลิตภัณฑ์เช่นเดียวกับการทดลอง 1.2 ข้อมูลที่ได้จะถูกนำไปวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาระดับที่เหมาะสมของปัจจัยทดลองต่อไป ซึ่งการทดลองในตอนที่ 2 นี้ทำให้ทราบสูตรการผลิตที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์เนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพร

ตอนที่ 3 : การทดลองหากระบวนการผลิตที่เหมาะสม ประกอบด้วย 2 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 3.1 : การทดลองหาอัตราเร็วรอบและเวลาที่เหมาะสมในกระบวนการ Homogenization

การผลิตน้ำผลไม้ชนิดข้นจำเป็นต้องมีการนำเอากระบวนการ Homogenization มาใช้เพื่อทำให้เนื้อมะม่วงแตกตัวเป็นอนุภาคเล็กลง และเกิดการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความเป็นเนื้อเดียวกันและมีความคงตัวของความข้น (Cloud stability) ดี การทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการ Homogenize ประกอบด้วย 2 ปัจจัยทดลองดังนี้

- อัตราเร็วรอบ มี 2 ระดับคือ
  - ระดับต่ำ(-) 25,000-27,000 รอบต่อนาที
  - ระดับสูง(+) 38,000-38,500 รอบต่อนาที
- เวลาที่ใช้ มี 2 ระดับคือ
  - ระดับต่ำ(-) 10 วินาที
  - ระดับสูง(+) 30 วินาที

ทำการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment และวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized design (CRD) และมีสิ่งทดลองชุดควบคุมซึ่งใช้สภาวะของการ Homogenize ตามกระบวนการผลิตพื้นฐาน จากนั้นดำเนินการทดลองและทดสอบผลิตภัณฑ์ดังนี้

คุณภาพด้านกายภาพ ได้แก่

- ค่าสีในระบบ Hunter : L, a, b (Chroma meter CR-310; Minolta,1991)
- ค่าความหนืด (Brookfield digital viscometer Model DV-II+)

คุณภาพด้านประสาทสัมผัส โดยวิธี Ideal Ratio technique

ข้อมูลที่ได้จะถูกนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ เพื่อหาอัตราเร็วรอบและเวลาที่เหมาะสมในการ Homogenize ต่อไป

การทดลองที่ 3.2 : การทดลองหาระดับอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์

น้ำผลไม้บรรจุกระป๋องเป็นอาหารที่มีความเป็นกรดสูง จำเป็นต้องนำไปผ่านกระบวนการให้ความร้อนเพื่อยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ โดยเป้าหมายในการให้ความร้อนคือเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์และเอนไซม์ชนิดที่ก่อให้เกิดความเสื่อมเสียในผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้ระดับความร้อนที่ให้จะไม่สูงมากนักโดยสามารถใช้อุณหภูมิที่ต่ำกว่าอุณหภูมิน้ำเดือดในการฆ่าเชื้อได้ การทดลองหาสภาวะในฆ่าเชื้อที่เหมาะสม มี 2 ปัจจัยทดลองดังนี้

- อุณหภูมิ มี 3 ระดับคือ
  - ระดับต่ำ(-) 70 องศาเซลเซียส
  - ระดับกลาง(0) 85 องศาเซลเซียส
  - ระดับสูง(+) 100 องศาเซลเซียส
- เวลาที่ใช้ มี 3 ระดับคือ
  - ระดับต่ำ(-) 5 นาที
  - ระดับกลาง(0) 15 นาที
  - ระดับสูง(+) 25 นาที

ทำการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment with 3 center points และมีสิ่งทดลองชุดควบคุมซึ่งไม่ผ่านการให้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อแต่อย่างใด วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized design (CRD) จากนั้นดำเนินการทดลองและทดสอบผลิตภัณฑ์ดังต่อไปนี้

คุณภาพด้านกายภาพ ได้แก่

- ค่าสีในระบบ Hunter : L, a, b (Chroma meter CR-310; Minolta,1991)
- ค่าความหนืด (Brookfield digital viscometer Model DV-II+)

คุณภาพด้านเคมี ได้แก่

- ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ โดยวิธีไตเตรท (International Federation of Fruit Juice Producers,1962)
- ค่าความเป็นกรดด่าง (pH-meter, Horiba D-12 Model d-12E 526002)
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Hand refractometer, Atago)
- ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส โดยวิธี Enzymatic Bioanalysis Colorimetric method (Boehringer, 1998)
- ปริมาณวิตามินซี โดยวิธี Enzymatic Bioanalysis Colorimetric method (Boehringer, 1996)
- กิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ตามวิธีของ National canner association research laboratories. (1976)
- กิจกรรมของเอนไซม์เพคติเนส (AOAC, 1995)

คุณภาพด้านจุลินทรีย์

- เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC,1995)
- ยีสต์และรา (AOAC,1995)

คุณภาพด้านประสาทสัมผัส โดยวิธี Ideal Ratio technique

ข้อมูลที่ได้จะถูกนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ เพื่อหาระดับอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ต่อไป การทดลองในตอนที่ 3 นี้จะทำให้ทราบถึงกระบวนการผลิตที่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์เนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพร

ตอนที่ 4 การวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์สุดท้าย

ผลิตภัณฑ์เนคต้ามะม่วงผสมสมุนไพรที่พัฒนาจากสูตรและกระบวนการผลิตที่เหมาะสม จะถูกนำมาทดสอบดังนี้

คุณภาพด้านกายภาพ ได้แก่

- ค่าสีในระบบ Hunter : L, a, b (Chroma meter CR-310; Minolta,1991)
- ค่าความหนืด (Brookfield digital viscometer Model DV-II+)

คุณภาพด้านเคมี ได้แก่

- ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้โดยวิธีไตเตรท (International Federation of Fruit Juice Producers,1962)
- ค่าความเป็นกรดด่าง (pH-meter, Horiba D-12 Model d-12E 526002)
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Hand refractometer, Atago)
- ปริมาณของแข็งทั้งหมด โดย Gravimetric method (AOAC,1995)
- ปริมาณโปรตีน โดย Kjeldahl method (AOAC,1995)
- ปริมาณไขมัน โดย Rose-Gottlieb method (AOAC,1995)
- ปริมาณเถ้า โดยวิธีเผา (AOAC,1995)
- ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส โดยวิธี Enzymatic Bioanalysis Colorimetric method (Boehringer, 1998)
- ปริมาณวิตามินซี โดยวิธี Enzymatic Bioanalysis Colorimetric method (Boehringer, 1996)

คุณภาพด้านจุลินทรีย์

- เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC,1995)
- ยีสต์และรา (AOAC,1995)
- Coliform (AOAC,1995)
- *Eschericia coli* (AOAC,1995)

คุณภาพด้านประสาทสัมผัส โดยวิธี Ideal Ratio technique