บทที่ 3
อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย

3.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการวิจัย

1. หม่อน พันธุ์เชียงใหม่ จากศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติ สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ เชียงใหม่
2. เสาวรสผลสีม่วง จากตลาดเมืองใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่
3. สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย จากตลาดเมืองใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่
4. น้ำตาลทรายขาว (ตรามิตรผล)

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

1. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Iland *et al*., 2000)
   - Sodium thiosulphate (Ajex, Australia)
   - Sulfuric acid (Merck, Germany)
   - Sodium hydroxide (Merck, Germany)
   - Soluble starch (Food grade)
   - Copper sulphate (Merck, Germany)
   - Sodium potassium tartrate (Merck, Germany)
   - Potassium iodide (Ajex, Australia)
2. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 2000)
   - 0.1 M Sodium hydroxide (Merck, Germany)
   - 1% Phenolphthalein indicator (May & Baker, England)
3. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี (AOAC, 2000)
   - 2,6 ไดคลอโรฟีนอลอีนโดฟีนอล (2,6 dichlorophenolindophenol; $C_{12}HCL_2NO_2.2H_2O$, Merch, Germany)
   - กรดแอสคอร์บิค (ascorbic acid)
   - เอธิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) ความเข้มข้น 70%
4. อาหารเลี้ยงที่ใช้ในการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและเชื้อยีสต์และรา (BAM, 2001)
   - 10% Tartaric acid (Merck, Germany)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- Lauryl sulfate tryptose broth (Merck, Germany)
- 0.1% Peptone water (Merck, Germany)
- Potato dextrose agar (Merck, Germany)
- Plate count agar (Merck, Germany)
- Brilliant green lactose bile broth (Merck, Germany)

3.3 วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือ

1. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ขนาด 0-32 และ 28-62 °Brix (Hand refractometer : ATAGO Model N-2E, Japan)
2. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด- ด่าง (pH meter : Cyber scan-510, Singapore)
3. เครื่องวัดสี (Minolta chroma meter : CR-300, Japan)
4. เครื่องวัดความข้นหนืด (Viscosity meter)
5. ขวดแก้วขนาดบรรจุ 250 ml พร้อมฝาจีบ
6. เครื่องชั่งดิจิตอล (Tanita, KD-200, China)
7. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Ohaus TS2KS, USA)
8. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (AND HR-200, Japan)
9. เครื่องปั่นอาหาร (Smart blender : Sharp Model: EM-11, Japan)
10. เครื่องสร้างผลึกน้ำแข็ง ICE START (R22 Compressor 2 H.P)
11. เครื่องเหวี่ยงแยกแบบตะกร้า (Basket centrifuge)
12. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)
13. เครื่องปิดฝาขวด
14. นาฬิกาจับเวลา
15. ชุดเครื่องมือ และอุปกรณ์วิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์
16. ชุดเครื่องมือที่ใช้ในการไตรเทรต
17. อุปกรณ์อื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ถุงพลาสติก (ถุงเย็น) ผ้าขาวบาง มีด หม้อ เขียงไม้ และพลาสติก ยางรัด ชามขนาดใหญ่ และช้อนตักสาร

3.4 วิธีการวิจัย

3.4.1 การเตรียมน้ำผลไม้สกัดคุณภาพด้านกายภาพ และด้านเคมีของน้ำผลไม้แต่ละชนิด

งานวิจัยนี้ใช้ผลไม้ 3 ชนิดคือ หม่อนพันธุ์เชียงใหม่ เสาวรสผลสีม่วง และสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย ซึ่งน้ำผลไม้แต่ละชนิดนั้นมีวิธีการสกัดที่แตกต่างกันดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1) น้ำหม่อนสกัด คัดเลือกเอาผลหม่อนที่มีความสุกเต็มที่เป็นสีม่วงดำทั้งผล ล้างให้สะอาดผึ่งให้สะเด็ดน้ำ นำไปบดให้ละเอียดคั้นเอาเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำออก โดยใช้เครื่องเหวี่ยงแยกแบบตะกร้า และเครื่องบีบคั้นด้วยแรงดัน จากนั้นกรองผ่านผ้าขาวบางสามชั้นเป็นจำนวนสองครั้ง เพื่อแยกเอาอนุภาคของแข็งที่มีขนาดใหญ่ออกไป ได้เป็นน้ำผลหม่อนสกัด

2) น้ำเสาวรสสกัด เลือกผลเสาวรสที่มีความสุกพอดี และไม่เป็นโรค นำไปล้างให้สะอาด ผ่าเป็นสองส่วนคว้านเอาเมล็ดออก ปั่นด้วยเครื่องปั่นเบา ๆ คั้นเอาเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำออก โดยการเหวี่ยงแยกด้วยเครื่องเหวี่ยงแยกแบบตะกร้า กรองผ่านผ้าขาวบางสามชั้นเป็นจำนวนสองครั้ง เพื่อแยกเอาอนุภาคของแข็งที่มีขนาดใหญ่ออกไป ได้เป็นน้ำเสาวรสสกัด

3) น้ำสับปะรดสกัด คัดเลือกผลสับปะรดที่มีความสุกพอดี ไม่มีโรค นำไปปอกเปลือกหั่นเป็นชิ้นพอเหมาะ ปั่นด้วยเครื่องปั่น แล้วเหวี่ยงแยกเอาเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำออก โดยใช้เครื่องเหวี่ยงแยกแบบตะกร้า และเครื่องบีบคั้นด้วยแรงดัน จากนั้นกรองผ่านผ้าขาวบางสามชั้นเป็นจำนวนสองครั้ง เพื่อแยกเอาอนุภาคของแข็งที่มีขนาดใหญ่ออกไป ได้เป็นน้ำสับปะรดสกัด

จากน้ำผลไม้สกัดที่ได้ทั้ง 3 ชนิด นำมาคำนวณหาปริมาณของผลผลิตที่ได้จากการสกัด (%yield) ต่อน้ำหนักของวัตถุดิบที่ใช้ทั้งหมด และทำการตรวจวิเคราะห์ด้านคุณภาพต่าง ๆ เป็นจำนวน 3 ซ้ำ ในน้ำผลไม้สกัดแต่ละชนิดดังนี้

- ค่าสีโดยการใช้ Chroma Meter: CR-310, Minolta Camera. Co., Ltd., 1991
- ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (AOAC, 2000)
- ปริมาณกรดทั้งหมด (Total acidity) ในรูปของกรดซิตริก ด้วยวิธีการไตเตรทด้วย 0.1 N NaOH (AOAC, 2000)
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solids) โดยวัดด้วยเครื่อง Hand Refract meter (AOAC, 2000)
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี Rebelein method (Iland *et al*, 2000)

3.4.2 ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำผลไม้ผสม

งานวิจัยนี้หาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำผลไม้ทั้ง 3 ชนิดเช่น น้ำหม่อนสกัด น้ำเสาวรสสกัด และน้ำสับปะรดสกัด เพื่อให้ได้สูตรน้ำผลไม้ผสมที่ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุด โดยใช้แผนการทดลองแบบ Mixture Design ซึ่งเป็นแผนการทดลองที่ใช้ในการหาอัตราส่วนของส่วนผสม โดยใช้หลักการที่ว่า เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของส่วนประกอบใด ส่วนประกอบที่เหลือในสูตรจะต้องมีการเปลี่ยนแปลงด้วย และผลรวมของส่วนประกอบทั้งหมดต้องเท่ากับ 1.0 หรือ 100% โดยกำหนดระดับต่ำสุด (lowest level) และสูงสุด (highest level) ของน้ำผลไม้สกัดแต่ละชนิด คือ น้ำหม่อนสกัด 5-15% น้ำเสาวรสสกัด 5-25% และน้ำสับปะรดสกัด 60-90% (ไพโรจน์, 2550) ได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นสูตรน้ำผลไม้ผสมทั้งหมด 10 สูตร เติมน้ำตาลทรายเพื่อปรับให้ได้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเป็น 16.5°Brix ในแต่ละสูตร น้ำผลไม้ผสมในแต่ละสูตรบรรจุในขวดพลาสติกทนความร้อน (ซึ่งสามารถสามารถต้มในน้ำเดือดได้) นำไปต้มในน้ำเดือด เริ่มจับเวลาเมื่อน้ำเริ่มเดือดนาน 5 นาที แล้วทำให้เย็นโดยการจุ่มในน้ำ จากนั้นนำไปเปรียบเทียบการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน ประเมินผลทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรสชาติ และความชอบโดยรวม โดยการให้คะแนนการยอมรับแบบ 9 Point Hedonic scale (1 คือไม่ชอบมากที่สุด และ 9 คือชอบมากที่สุด) จากข้อมูลทดสอบชิมที่ได้ นำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert เพื่อให้โปรแกรมคำนวณหาสูตรที่เหมาะสม และคะแนนคุณภาพที่น่าจะได้รับจากผู้ทดสอบชิม

3.4.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำน้ำผลไม้ผสมเข้มข้นโดยใช้เทคนิคแบบแช่เยือกแข็ง

นำน้ำผลไม้ผสมที่มีอัตราส่วนที่เหมาะสมที่ได้จากการคัดเลือกจากข้อ 3.4.2 ใส่ลงในเครื่องสร้างผลึกน้ำแข็ง ใช้เวลาในการสร้างผลึกน้ำแข็งที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 20 40 และ 60 นาที จากนั้นนำส่วนผสมที่ได้ไปเหวี่ยงแยกเอาเกร็ดน้ำแข็งออก เป็นจำนวน 3 ครั้ง คือครั้งที่ 1 2 และ 3 โดยแต่ละครั้งใช้เวลาในการเหวี่ยงแยก 10 นาที นำน้ำผลไม้เข้มข้นที่ได้จากการเหวี่ยงแยกในแต่ละครั้งไปตรวจวิเคราะห์คุณภาพเช่นเดียวกันกับข้อ 3.4.1 และวิเคราะห์เพิ่มดังนี้

- ค่าความหนืด โดยเครื่องวัดความหนืด Brookfield viscometer มีหน่วยเป็นเซนติพอยต์ (cP)
- วิตามินซี ด้วยวิธีการไตเตรท (AOAC, 2000)

จากข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

3.4.4 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อในน้ำผลไม้ผสมเข้มข้น

ทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) เชื้อยีสต์และรา (yeasts and molds) เริ่มต้น (ก่อนการฆ่าเชื้อ) ของน้ำผลไม้ผสมเข้มข้นที่ได้ แล้วบรรจุน้ำผลไม้ผสมเข้มข้นลงในขวดแก้วขนาด 250 ml นำไปต้มฆ่าเชื้อในน้ำเดือด เป็นระยะเวลาแตกต่างกัน คือ 2 4 และ 6 นาที ตามลำดับ ครบเวลาแล้วทำให้เย็น โดยการจุ่มลงในน้ำ ทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อยีสต์ และรา หลังการฆ่าเชื้อ จากนั้นนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 วัน ครบเวลาการเก็บรักษา นำน้ำผลไม้ผสมเข้มข้นที่ได้ไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อยีสต์และรา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4.5 ศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้เข้มข้นหลังการเก็บรักษา

นำผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.4 จากการเก็บรักษาในอุณหภูมิห้องเป็นระยะ 30 วัน ไปทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ และด้านเคมี เช่นเดียวกับข้อ 3.4.3 วางแผนการทดลองโดยวิธีสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) จากนั้นนำน้ำผลไม้เข้มข้นที่ได้ไปเจือจางด้วยน้ำสะอาดประมาณหนึ่งเท่า แล้วทดสอบคุณภาพการยอมรับทางประสาทสัมผัส เพื่อเปรียบเทียบกับน้ำผลไม้ผสมพร้อมดื่ม 100% (ในอัตราส่วนเดียวกัน) และน้ำผลไม้ผสมเข้มข้นบรรจุขวด ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน โดยการให้คะแนนการยอมรับแบบ 9 Point Hedonic scale (1 คือไม่ชอบมากที่สุด และ 9 คือชอบมากที่สุด) วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved