

บทที่ 3

การทดลอง

วัตถุดิบ

ผลขนุน (*Artocarpus heterophyllus* Lamk.) พันธุ์มาเลย์ และ จำปากรอบ ผลแก่จัด ปรากฏโรคและแมลง น้ำหนักประมาณ 13-18 กิโลกรัม/ผล นำมาจากสวนขนุน อ.ลาดหลุมแก้ว จ.ปทุมธานี

เอนไซม์

เอนไซม์เพคตินเนส ชื่อทางการค้า Pectinex[®] Ultra SP-L (Novo Nordisk Ferment Ltd.) ลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาล แอคติวิตี 26000 ยูนิต PG / มิลลิลิตร แสดงสมบัติในภาคผนวก ก.

สารเคมี

- สารเคมีทุกชนิดใช้ A.R. grade
- กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid)
 - กรดบอริก (Boric acid)
 - โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)
 - กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)
 - อินดิเคเตอร์ในการวิเคราะห์โปรตีน (Methyl red indicator)
 - สารเร่งปฏิกิริยา (Kjeltabs Cu 3.5)
 - บีโตรเลียมอีเธอร์ (Petroleum ether)
 - แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride)
 - เอทานอล 95% (Ethanol 95%)
 - เอทานอลบริสุทธิ์ (Absolute Ethanol)
 - Potassium hydrogenphthalate
 - ไดเอทิลอีเธอร์ (Diethyl ether)
 - ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalene)

- กรดอะซิติก (Acetic acid)
- ซิลเวอร์ไนเตรท (Silver nitrate)
- สารมาตรฐานเบตาแคโรทีน (standard β -carotene, Fluka)
- อะซีโตน (Acetone)
- แอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟต (Anhydrous sodium sulfate)
- แอนไฮดรัสโซเดียมคาร์บอเนต (Anhydrous sodium carbonate)
- โพแทสเซียมโซเดียมตราเตรต (Potassium sodium tartrate)
- คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate)
- โพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodine)
- โพแทสเซียมไอโอเดต (Potassium iodate)
- โพแทสเซียมออกซาเลต (Potassium oxalate)
- โซเดียมไธโอซัลเฟต (Sodium thiosulfate)
- สารละลายแป้ง (Soluble starch)
- กลูโคส (Glucose)
- โซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium bicarbonate)
- Plate count agar
- Potato dextrose agar
- กรดทาร์ทาริก (Tartaric acid)
- สารละลายมาตรฐานเมทานอล (Methanol, HPLC grade)

อุปกรณ์

- ชุดย่อยและกลั่นโปรตีน (Kjeldaltherm and Vapodest gerhardt, KT 85)
- เตาเผาช่วงอุณหภูมิ 500-700°C (Furnace Carbolite, MEL 11-2)
- เตาอบวิเคราะห์ความชื้น ช่วงอุณหภูมิ 0-250°C (WTB Binde, E53)
- เครื่องชั่งน้ำหนักศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, A200S)
- เครื่องระเหยแบบหมุน (Buchi Rotavapor, R-114)
- ชุดอุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน (Soxtherm Automatic, S-226)
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius, BA4100S)
- เครื่องบดผสมอาหาร (Classic)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Julabo, SW23)

- เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (hand refractometer °บริกซ์ Atago)
- นาฬิกาจับเวลา (Casio, HS-5M)
- เต้าไฟฟ้า
- ขวดแก้วขนาดบรรจุ 250 มล. พร้อมฝา
- เครื่องวัดสี (Minolta Chroma meter, CR-300series)
- เครื่องวัดความหนืด (Brookfield, Model DV-I+)
- Spectrophotometer (Jusco, V-530)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (Seradus-Christ Varifuge K)
- เครื่องวัดพีเอช (Horiba, F-21)
- เครื่องแยกของเหลวโดยสุญญากาศ (Buchi Vacuum-System, B-169)
- เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Hetro, Dry winner8)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแช่แข็ง (Hetro, CBN18-50)
- เครื่องวัดวอเตอร์แอกติวิตี (Novasina, TH500)
- Gas chromatography

ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

1. ศึกษาระดับความสุกของขนุนที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการแปรรูปน้ำเชื่อมขนุน

1.1 ขนุนพันธุ์มาเลย์

นำขนุนที่แก่จัดมาบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4-6 วัน เพื่อให้ได้ผลขนุนที่มีความสุกแตกต่างกัน 3 ระดับ โดยใช้ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) ของยวงขนุนที่แกะได้เป็นตัวกำหนด โดยกำหนดให้ความสุกระดับที่ 1 คือผลขนุนที่มีของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของยวงอยู่ในช่วง 14-17°บริกซ์ ความสุกระดับที่ 2 คือผลขนุนที่มีของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของยวงอยู่ในช่วง 17-20°บริกซ์ และ ความสุกระดับที่ 3 คือผลขนุนที่มีของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ของยวงอยู่ในช่วง 20-23°บริกซ์ นำส่วนยวงที่แกะได้มาตีปนให้ละเอียดโดยเครื่องบดผสมอาหาร ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น ได้แก่ กลิ่นหอมของขนุน กลิ่นผิดปกติ (ได้แก่ กลิ่นแอลกอฮอล์ กลิ่นกรด และกลิ่นหมัก) และการยอมรับรวม โดยคะแนนเป็นคะแนนเต็ม 10 คะแนน ให้ผู้ทดสอบลากเส้นตรงตัดลงบนแกนที่กำหนดคุณภาพด้านต่างๆ จากนั้นวัดระยะทางจากจุดเริ่มต้นได้เป็นคะแนนเพื่อใช้ใน

การคำนวณทางสถิติ (แบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข.1) โดยใช้ ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนแล้ว จำนวน 9 คน (แบบทดสอบที่ใช้ฝึกฝนแสดงในภาคผนวก ข.2)

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (Cochran and Cox, 1957) ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ยวงขนุนที่แกะได้จากขนุนที่มีความสุกในระดับที่ต้องการจะถูกบรรจุลงในถุง High Density Polyethylene (HDPE) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18°C และนำมาละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิห้องเมื่อต้องการนำมาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

1.2 ขนุนพันธุ์จำปากรอบ ดำเนินการทดลองและประเมินผลเช่นเดียวกับพันธุ์มาเลย์

2. วิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติทางเคมีของยวงขนุนสุก

นำยวงขนุนที่เลือกได้จากข้อ 1 มาวิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติทางเคมี ดังต่อไปนี้

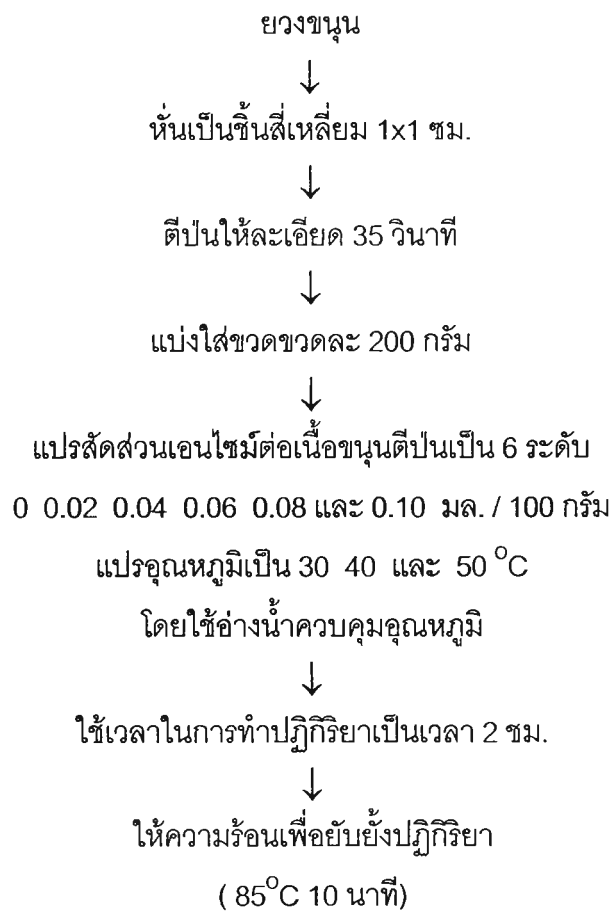
- ความชื้น ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค.1
- โปรตีน ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค.2
- ไขมัน ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค.3.1
- เถ้า ตามวิธีการของ A.O.A.C. (1995) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค.4
- เส้นใยหยาบ ตามวิธีการของ A.O.A.C. (1995) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค.5
- เพคติน ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Ranganna (1977) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค.6
- คาร์โบไฮเดรต วิธีคำนวณแสดงในภาคผนวก ค.7
- แคลโรทีน ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Ranganna (1977) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค.8
- ปริมาณกรดทั้งหมด (total acidity) ในรูปของกรดซิตริก ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค.9
- pH โดยเครื่อง pH meter

3. พิจารณาสภาวะที่เลือกใช้ในการแปรรูปน้ำเชื่อมขนุนโดยเอนไซม์เพคตินเนส (Pectinex® Ultra SP-L)

3.1 สัดส่วนเอนไซม์ต่อเนื้อขนุนตีป่น และอุณหภูมิที่เลือกใช้ในการทำปฏิกิริยา

3.1.1 ขนุนพันธุ์มาเลย์

หั่นยวงขนุนที่มีขของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด อยู่ในช่วงที่เลือกได้จากข้อ 1.1 เป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดประมาณ 1x1 ซม. ตีป่นให้ละเอียดด้วยเครื่องบดผสมอาหารเป็นเวลา 35 วินาที นำขนุนตีป่นแบ่งใส่ขวด ขวดละ 200 กรัม แปรรัดส่วนเอนไซม์ต่อเนื้อขนุนตีป่นเป็น 6 ระดับ คือ 0 0.02 0.04 0.06 0.08 และ 0.10 มล. / 100 กรัม และ แปรรอุณหภูมิเป็น 3 ระดับ คือ 30 40 และ 50°C ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นหยุดปฏิกิริยาเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 85 °C 10 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงทันทีจนถึงอุณหภูมิ 25 °C ขั้นตอนการทดลองแสดงในภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนพิจารณาสัดส่วนเอนไซม์ต่อเนื้อขนุนตีป่น และอุณหภูมิที่เลือกใช้ในการทำปฏิกิริยา

ประเมินผลโดยวัดความหนืดโดยเครื่อง Brookfield viscometer ที่อุณหภูมิ 25 °C ความเร็วรอบของเข็ม 100 รอบต่อนาที และหาร้อยละของน้ำขุ่นที่สกัดได้โดยชั่งน้ำหนักของเหลวที่กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 ที่สุญญากาศ 27 นิ้วปรอท ในเวลา 30 นาที โดยร้อยละของน้ำขุ่นที่สกัดได้หาได้จากสูตร

$$\text{ร้อยละของน้ำขุ่นที่สกัดได้} = \frac{\text{น้ำหนักน้ำขุ่นที่กรองผ่านกระดาษกรอง (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักขุ่นตีปั่น (กรัม)}}$$

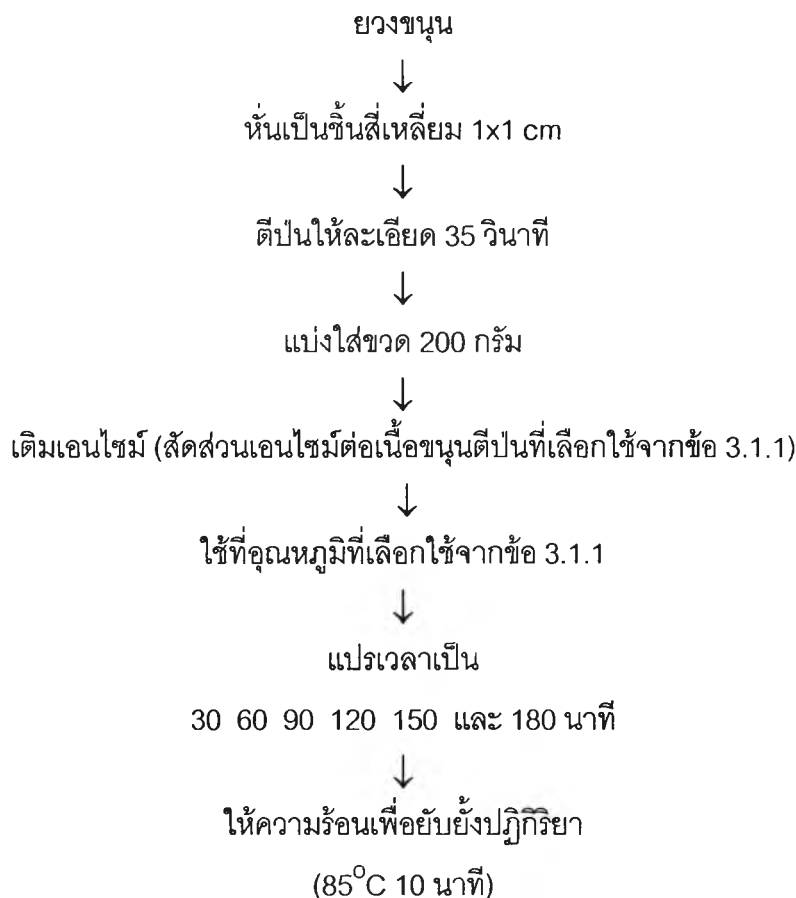
วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric factorial design 6 x 3 in CRD (Cochran and Cox, 1957) ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.1.2 ขนุนพันธุ์จำป่ากรอบ ใช้วงขนุนที่เลือกได้จากข้อ 1.2 ดำเนินการทดลองและประเมินผลเช่นเดียวกับขนุนพันธุ์มาเลย์

3.2 พิจารณาเวลาที่สั้นที่สุดในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการย่อยสลายสูงสุด

3.2.1 ขนุนพันธุ์มาเลย์

หั่นวงขนุนเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดประมาณ 1x1 ซม. ตีปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องบดผสมอาหารเป็นเวลา 35 วินาที นำขนุนตีปั่นแบ่งใส่ขวด ขวดละ 200 กรัม ใช้สัดส่วนเอนไซม์ต่อเนื้อขนุนตีปั่นและอุณหภูมิที่เลือกใช้จากข้อ 3.1 แปรระยะเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาเป็น 6 ระดับ คือ 30 60 90 120 150 และ 180 นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 85 °C 10 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงทันทีจนถึงอุณหภูมิ 25 °C ขั้นตอนการทดลองแสดงในภาพที่ 3.2



ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนพิจารณาเวลาที่สั้นที่สุดในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์
ที่ทำให้เกิดการย่อยสลายสูงที่สุด

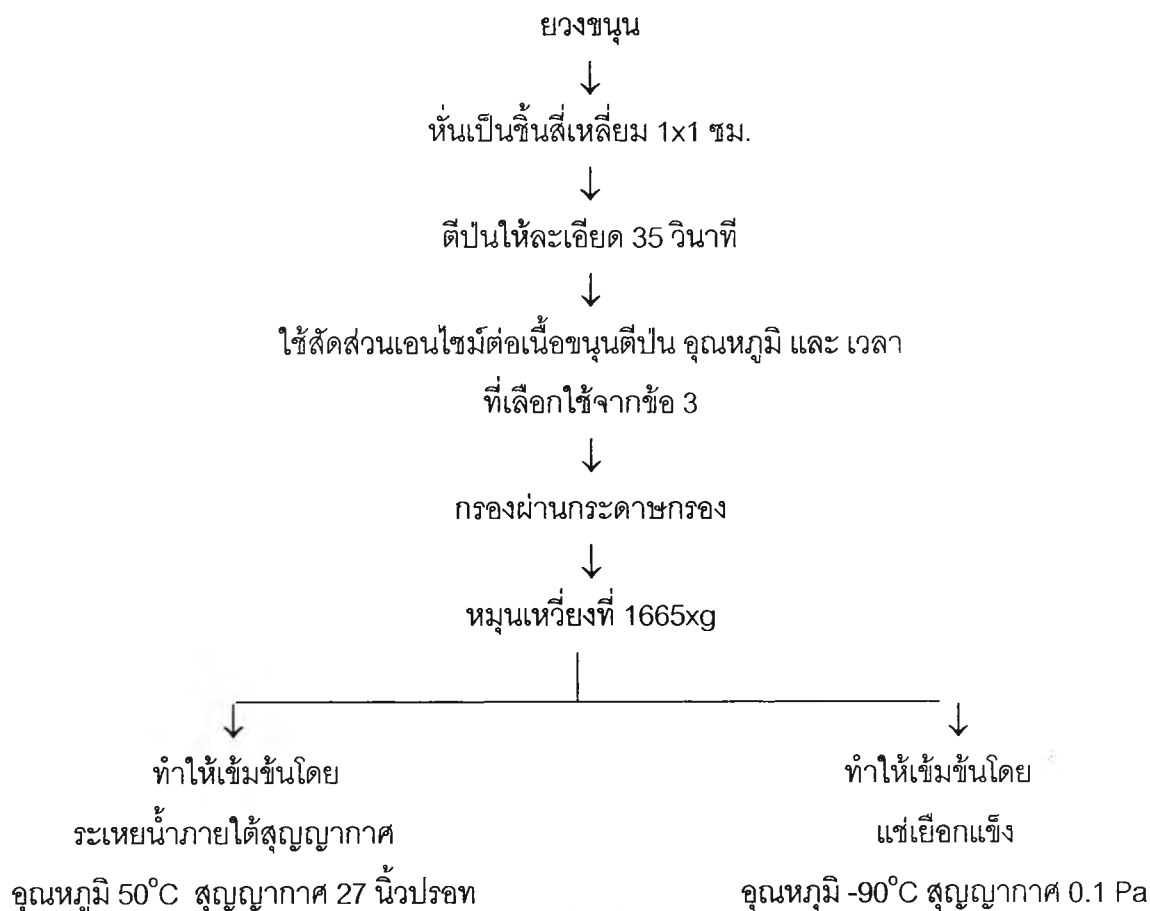
ประเมินผลโดยวัดความหนืดโดยเครื่อง Brookfield viscometer ที่อุณหภูมิ 25 °C ความเร็วรอบของเข็ม 100 รอบต่อนาที และหาร้อยละของน้ำขนุนที่สกัดได้โดยชั่งน้ำหนักของเหลวที่กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 ที่สูญญากาศ 27 นิ้วปรอท ในเวลา 30 นาที

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomize Design (Cochran and Cox, 1957) ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.2.2 ขนุนพันธุ์จำปากรอบ ดำเนินการทดลองและประเมินผลเช่นเดียวกับพันธุ์มาเลย์ โดยใช้สัดส่วนเอนไซม์ต่อเนื้อขนุนตีปั่นและอุณหภูมิที่เลือกใช้จากข้อ 3.1.2

4. ศึกษาองค์ประกอบและสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำเชื่อมขุ่น

เตรียมน้ำเชื่อมขุ่นจากขุ่นทั้ง 2 พันธุ์ โดยหั่นขุ่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดประมาณ 1x1 ซม. ตีปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องบดผสมอาหารเป็นเวลา 35 วินาที นำขุ่นตีปั่นแบ่งใส่ขวด ใช้สัดส่วน เอนไซม์ต่อเนื้อขุ่นตีปั่น อุณหภูมิ และเวลาจากข้อ 3 จากนั้นนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No 1 ที่สุญญากาศ 27 นิ้วปรอท นำน้ำขุ่นที่กรองได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ 1665xg แยกส่วนที่เป็นตะกอนทิ้งไป พาสเจอร์ไร้น้ำขุ่นที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 15 วินาที แบ่งน้ำขุ่นที่ได้เป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำไปทำให้เข้มข้นโดยการระเหยน้ำภายใต้สุญญากาศ (vacuum evaporation) ด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (rotary evaporator) ใช้อุณหภูมิในการระเหย 50°C ที่สุญญากาศ 27 นิ้วปรอท จนได้ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เป็น 60 °บริกซ์ น้ำขุ่นอีกส่วนหนึ่งนำไปทำเข้มข้นโดยวิธีการแช่เยือกแข็ง (freeze concentration) โดยนำน้ำขุ่นไปแช่แข็งใน cooling bath ที่อุณหภูมิ -20°C จากนั้นระเหิดน้ำผลึกน้ำแข็งออกบางส่วนโดยใช้เครื่อง freeze drier ที่สุญญากาศ 0.1 Pa อุณหภูมิ condenser เป็น -90°C จนได้ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เป็น 60 °บริกซ์ ขั้นตอนการทดลองแสดงในภาพที่ 3.3



ภาพที่ 3.3 วิธีเตรียมน้ำเชื่อมขนุน

จากนั้นนำน้ำเชื่อมขนุนที่ได้มาวิเคราะห์หองค์ประกอบ สมบัติทางเคมีและกายภาพ ได้แก่

- ความชื้น ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค.1
- โปรตีน ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค.2
- ไขมัน ตามวิธีของ A.O.A.C. (1995) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค.3.2
- เถ้า ตามวิธีการของ A.O.A.C. (1995) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค.4
- คาร์โบไฮเดรต วิธีคำนวณแสดงในภาคผนวก ค.7
- น้ำตาลรีดิวิซ ตามวิธีการของ A.O.A.C. (1995) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค.10
- แคลโรทีน ตามวิธีการของ Ranganna (1977) วิธีวิเคราะห์แสดงวิธี วิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค.8
- ปริมาณกรดทั้งหมด (total acidity) ในรูปของกรดซิตริก ตามวิธีของ AOAC. (1995) วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค.9

- pH โดยเครื่อง pH meter
- ความหนืด โดยเครื่อง Brookfield Viscometer ความเร็วรอบของเข็ม 100 รอบต่อนาที
- วอเตอร์แอกติวิตี โดยเครื่อง Novasina TH500
- สี โดยเครื่อง Minolta CR-300 แสดงเป็นค่า L, a*, b*

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (Cochran and Cox, 1957) ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

5. พิจารณาลักษณะเฉพาะด้านกลิ่นรสของน้ำเชื่อมขนุน

5.1 ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านความพอใจต่อลักษณะต่างๆ ของน้ำเชื่อมขนุน

นำน้ำเชื่อมขนุนที่เตรียมโดยวิธีในข้อ 4 มาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้านสี ความคงตัวของความขุ่น กลิ่นขนุน และการยอมรับรวม โดยคะแนนเป็นคะแนนเต็ม 10 คะแนน ให้ผู้ทดสอบลากเส้นตรงตัดลงบนแกนที่กำหนดคุณภาพด้านต่างๆ จากนั้นวัดระยะทางจากจุดเริ่มต้นได้เป็นคะแนนเพื่อใช้ในการคำนวณทางสถิติ (แบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข.3) โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนแล้ว จำนวน 9 คน

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (Cochran and Cox, 1957) ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

5.2 ทดลองศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นน้ำเชื่อมขนุนต่ออุณหภูมิ

นำน้ำเชื่อมขนุนที่ได้รับการยอมรับสูงที่สุดที่เลือกใช้จากข้อ 5.1 ไปทดสอบความคงตัวของกลิ่นน้ำเชื่อมขนุนโดยทำให้น้ำเชื่อมขนุนมีอุณหภูมิเป็น 0 4 25 60 และ 100°C

ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านความแรงกลิ่นขนุน กลิ่นผิดปกติ (เช่น กลิ่นดَّمَ) และการยอมรับรวม โดยคะแนนเป็นคะแนนเต็ม 10 คะแนน ให้ผู้ทดสอบลากเส้นตรงตัดลงบนแกนที่

กำหนด คุณภาพด้านต่างๆ จากนั้นวัดระยะทางจากจุดเริ่มต้นได้เป็นคะแนนเพื่อใช้ในการคำนวณทางสถิติ (แบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข.4) โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนแล้ว จำนวน 9 คน

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (Cochran and Cox, 1957) ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

6. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำเชื่อมขนุน

นำน้ำเชื่อมขนุนที่เตรียมตามวิธีในข้อ 4 ทั้ง 4 ตัวอย่าง ที่เตรียมเสร็จใหม่ๆ ได้แก่ น้ำเชื่อมขนุนจากขนุนพันธุ์มาเลย์ที่ทำให้เข้มข้นด้วยวิธีระเหยน้ำที่สุญญากาศ น้ำเชื่อมขนุนจากขนุนพันธุ์มาเลย์ที่ทำให้เข้มข้นด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง น้ำเชื่อมขนุนจากขนุนพันธุ์จำปากรอบที่ทำให้เข้มข้นด้วยวิธีระเหยน้ำที่สุญญากาศ น้ำเชื่อมขนุนจากขนุนพันธุ์จำปากรอบที่ทำให้เข้มข้นด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง นำไปหาปริมาณแบคทีเรีย ยีสต์และรา วิธีวิเคราะห์ดัดแปลงมาจาก A.O.A.C. (1995) แสดงวิธีในภาคผนวก ง.1 และ ง.2

7. วิเคราะห์ปริมาณเมธานอลในน้ำเชื่อมขนุน

นำน้ำเชื่อมขนุนที่เตรียมตามวิธีในข้อ 4 ทั้ง 4 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำเชื่อมขนุนจากขนุนพันธุ์มาเลย์ที่ทำให้เข้มข้นด้วยวิธีระเหยน้ำที่สุญญากาศ น้ำเชื่อมขนุนจากขนุนพันธุ์มาเลย์ที่ทำให้เข้มข้นด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง น้ำเชื่อมขนุนจากขนุนพันธุ์จำปากรอบที่ทำให้เข้มข้นด้วยวิธีระเหยน้ำที่สุญญากาศ น้ำเชื่อมขนุนจากขนุนพันธุ์จำปากรอบที่ทำให้เข้มข้นด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง นำไปหาปริมาณเมธานอลโดยใช้ gas chromatography ดัดแปลงจากวิธีการของ A.O.A.C. (1995) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ค.11