

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบ

นมผึ้ง จากผึ้งพันธุ์ *Apis mellifera* พาร์มผึ้งนางพญา จังหวัดพิษณุโลก
ผลิตแบบการค้ำทั่วไป บรรจุนมผึ้งในถุงพลาสติก high density polyethylene (HDPE)
และเก็บในกล่องพลาสติกที่มีฝาเกลียวปิดสนิท เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18°C เป็นเวลาไม่เกิน 1 ปี
ก่อนนำมาใช้งาน (ได้รับความอนุเคราะห์จากศาสตราจารย์ ดร. สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ)

สับปะรด พันธุ์ปัตตาเวีย ใช้ผลแก่จัด (ซื้อจากตลาดสดสามย่าน)

เสาวรส พันธุ์ *Passiflora edulis*, var. *flavicarpa*
ใช้ผลสุกเต็มที่ (ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ไรโรก จำกัด)

แครอท พันธุ์ *Daucus carota* L. Umbelliferae
ใช้ผลขนาดน้ำหนัก 150-300 กรัม (ซื้อจากตลาดสดสามย่าน)

น้ำตาลทรายขาว (ซื้อของบริษัท มิตรผล จำกัด)

กรดซิตริก (ซื้อของบริษัท อุตสาหกรรมกรดมะนาวไทย จำกัด)

เพคตินที่มีกลุ่ม methoxyl ต่ำ, LM-101 AS และ carrageenan, x-2406
(Copenhagen Co., Ltd. : ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ฟูดส์แอนด์คอสเมติกส์ จำกัด)

สารเคมี

การผลิตและเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

- calcium chloride, food grade (Merck)
- sodium benzoate, food grade (Merck)

การวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- copper sulfate, A.R. (Merck)

- potassium sulfate, A.R. (Merck)
- sulfuric acid, A.R. (Merck)
- boric acid, A.R. (Merck)
- sodium hydroxide, A.R. (Univar)
- bromocresol green-methyl red indicator, A.R. (Merck)
- phenolphthalein indicator, A.R. (Merck)
- potassium hydrogen phthalate, A.R. (Merck)
- diethyl ether, A.R. (Baker Analyzed)
- oxalic acid monohydrate, A.R. (Merck)
- standard ascorbic acid, A.R. (Merck)
- 2,6-dichlorophenol indophenol, A.R. (Merck)
- acetic acid, A.R. (Baker Analyzed)
- ethyl alcohol 95%, A.R. (Merck)

การวิเคราะห์คุณภาพด้วยเครื่อง Gas Chromatography

- standard 10-hydroxy-2-decenoic acid (Nippon Shoji, lot AU22)
- hydrochloric acid, A.R. (Merck)
- margaric acid, A.R. (Merck)
- N,O-bis (trimethylsilyl) acetamide, A.R. (Merck)
- trimethylchlorosilane, A.R. (Merck)
- chloroform, A.R. (Baker Analyzed)
- hexane, A.R. (Baker Analyzed)

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

- plate count agar (Difco)
- potato dextrose agar (Difco)
- tartaric acid, A.R. (Merck)

อุปกรณ์

การผลิตและเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

- Waring blender (blender 8010, model 32BL79)
Dynamics corporation of America
- Hand homogenizer (Ystral GmbH D-7801)
ชนิด shafts 23/T หัวปั่นเบอร์ 34
ปรับความเร็วรอบปั่นได้จาก 0-20,000 รอบ/นาที
- Basket centrifuge (model Verified F)
- ขวดแก้วขนาด 1 ลิตร และ 300 มิลลิลิตร พร้อมฝาพลาสติกขนาดใหญ่ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.2 เซนติเมตร และขนาดเล็กที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร ตามลำดับ
- ถุงผ้าขาวบาง ชนิดตาละเอียด
- เทอร์มิเตอร์ (วัดได้ 0-100°C)
- ห้องแช่เย็นอุณหภูมิ 4-10°C
- ห้องแช่แข็งอุณหภูมิ -18°C

การวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- ตู้อบลมร้อน (hot air oven, WTB Binder W-Germany, B53)
- ตู้อบแห้งสุญญากาศ (vacuum oven, Hotpack)
- ชุดย่อยและกลั่นโพรตีน (Kjeldatherm and Vapodest I, Gerhardt, KT 85)
- ชุดสกัดไขมัน (Gerhardt Soxtherm Automatic, S-166)
- เตาเผา (Muffle furnace, T 500-700°C Carbolite, EML11-2)
- pH-meter (Hanna Instruments, model 8417)
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง ชนิด Top loading
(Sartorius, model 1907)
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, model A200S)
- เครื่องแก้วสำหรับงานวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์คุณภาพด้วยเครื่อง Gas Chromatography

- Gas chromatography (Shimadzu, GC-9A)

column : packed column ชนิดแก้ว,
เส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ยาว 7 เมตร
carrier; chromosorb WAW-DMCS 60-80 mesh
liquid phase; 2% silicone OV-17

- Rotary evaporator (Heidolph, VV2000)

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- Brookfield viscometer (model RVTD)

- Hand refractometer (Atago N1 Brix 0-32%)

- Spectrophotometer (Milton Roy, Spectronic 610)

- Chromameter (Minolta-CR 300)

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

- Autoclave (Sanyo, MLS-2400)

- Incubator T 25-70°C (Memmert, B30)

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1. เตรียมน้ำผักและผลไม้ผสม เตรียมผักและผลไม้สำหรับการผลิต น้ำผักและผลไม้ผสม
ดังนี้

สับปะรด ใช้พันธุ์ปัตตาเวียที่แก่จัด ล้างทำความสะอาด บอกเปลือก เจาะตา ตัด
ส่วนเนื้อเป็นชิ้นขนาด 0.2x0.4x2 เซนติเมตร ตีบดหยาบใน Waring blender ที่ความ
เร็วต่ำ เป็นเวลา 10 นาที ต้มที่ 70°C นาน 7 นาที แล้วตีบดละเอียดเป็นเวลา 10 นาที
ด้วย hand homogenizer ที่ความเร็ว 6,000 รอบ/นาที น้ำและเนื้อสับปะรดที่ได้นำมา
วิเคราะห์ activity ของ polyphenol oxidase (Kader and Chordas, 1984)
(ภาคผนวก ก.10)

เสาวรส ใช้พันธุ์ *Passiflora edulis*, var. *flavicarpa* นำมาทำความสะอาด
ผ่าครึ่งผล แยกส่วนเนื้อ และเมล็ดออกจากเปลือก กรองผ่านถุงผ้าขาวบางปิดปากถุงให้สนิท
นำใบแยกน้ำจากเนื้อ ใดยใช้เครื่อง basket centrifuge บั่นแยกที่ความเร็ว 2000 รอบ/
นาทีเป็นเวลา 20 นาที นำส่วนน้ำที่แยกได้ ใต้มที่ 70°C นาน 7 นาที นำเสาวรสนี้ได้นำ

มาวิเคราะห์ activity ของ polyphenol oxidase (Kader and Chordas, 1984)

แคโรท ทำความสะอาด ปอกเปลือก ตัดเป็นชิ้นขนาด 0.2x0.2x0.2 เซนติเมตร ชั่งตัวอย่าง 500 กรัม นำมาตีปนหยาบกับน้ำสะอาด 300 มิลลิลิตร ใน waring blender ใช้ความเร็วสูง เป็นเวลา 15 นาที กรองผ่านผ้าขาวบาง แล้วต้มที่ 70°C นาน 7 นาที นำแคโรทที่ได้มาวิเคราะห์ activity ของ polyphenol oxidase (Kader and Chordas, 1984)

3.2. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตดูดิบ

นมคั่งสด วิเคราะห์ค่าต่อไปนี้

- 3.2.1 ปริมาณความชื้น
- 3.2.2 ปริมาณโปรตีน
- 3.2.3 ปริมาณเถ้า
- 3.2.4 ปริมาณไขมัน
- 3.2.5 ปริมาณกรดทั้งหมด
- 3.2.6 ปริมาณ 10-hydroxy-2-decenoic acid

วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง gas chromatography ที่ภาวะ ดังต่อไปนี้

- อุณหภูมิของ column : 200°C
- อุณหภูมิของ injector : 220°C
- detector : flame ionization detector (FID)
- carrier gas : ไนโตรเจน
- flow rate : 40 มิลลิลิตร/นาที
- ปริมาณที่ฉีดเข้าเครื่อง : 2 ไมโครลิตร

ข้อ 3.2.1 - 3.2.6 วิเคราะห์ตามวิธีของ National Royal Jelly Fair Trade Conference (1980) (ภาคผนวก ก.1-ก.6)

น้ำผลไม้มัน วิเคราะห์ค่าต่อไปนี้

- 3.2.7 ปริมาณเพคติน (Kertesz, 1951) (ภาคผนวก ก.9)
- 3.2.8 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดโดยวิธี hand refractometer
- 3.2.9 ปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 1984) (ภาคผนวก ก.7)

ตัวอย่างน้ำผักและผลไม้แต่ละสูตร นำมาผ่านขั้นตอนในการเตรียมน้ำผัก-ผลไม้ผสมดั่งแผนภูมิข้างต้น ผลิตรสชาติที่ได้นำมาประเมินคุณภาพเพื่อเลือกสูตรที่ดีที่สุด ดังนี้

3.3.1.1 ทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยใช้ 9-point Hedonic Scale Test 1 ถึง 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด , 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด และ 5 หมายถึง ไม่ยอมรับ (แบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ค.) ใช้ผู้ทดสอบ 40 คน วางแผนการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Randomized Complete Block design วิเคราะห์ค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Processing System (SPS) (Buhyoff and Kirk, 1983) ทดลอง 2 ซ้ำ

3.3.1.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด วัดด้วยเครื่อง
hand refractometer

3.3.1.3 ปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC, 1984)

3.3.1.4 pH วัดด้วย pH meter

3.3.1.5 ปริมาณวิตามินซี (Pearson, 1976)

3.3.2 ศึกษาปริมาณน้ำตาลทรายที่เหมาะสม จากตัวอย่างเครื่องดื่มน้ำผักและผลไม้ผสมที่ดีที่สุดที่เลือกจากข้อ 3.3.1 ศึกษาปริมาณน้ำตาลที่ต้องเติมโดยแปรเป็น 5, 10 และ 15% w/v ตัวอย่างที่เตรียมได้นำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 76°C นาน 15 นาที แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 5-8°C ก่อนนำมาประเมินคุณภาพผลิตรสชาติ โดยวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้

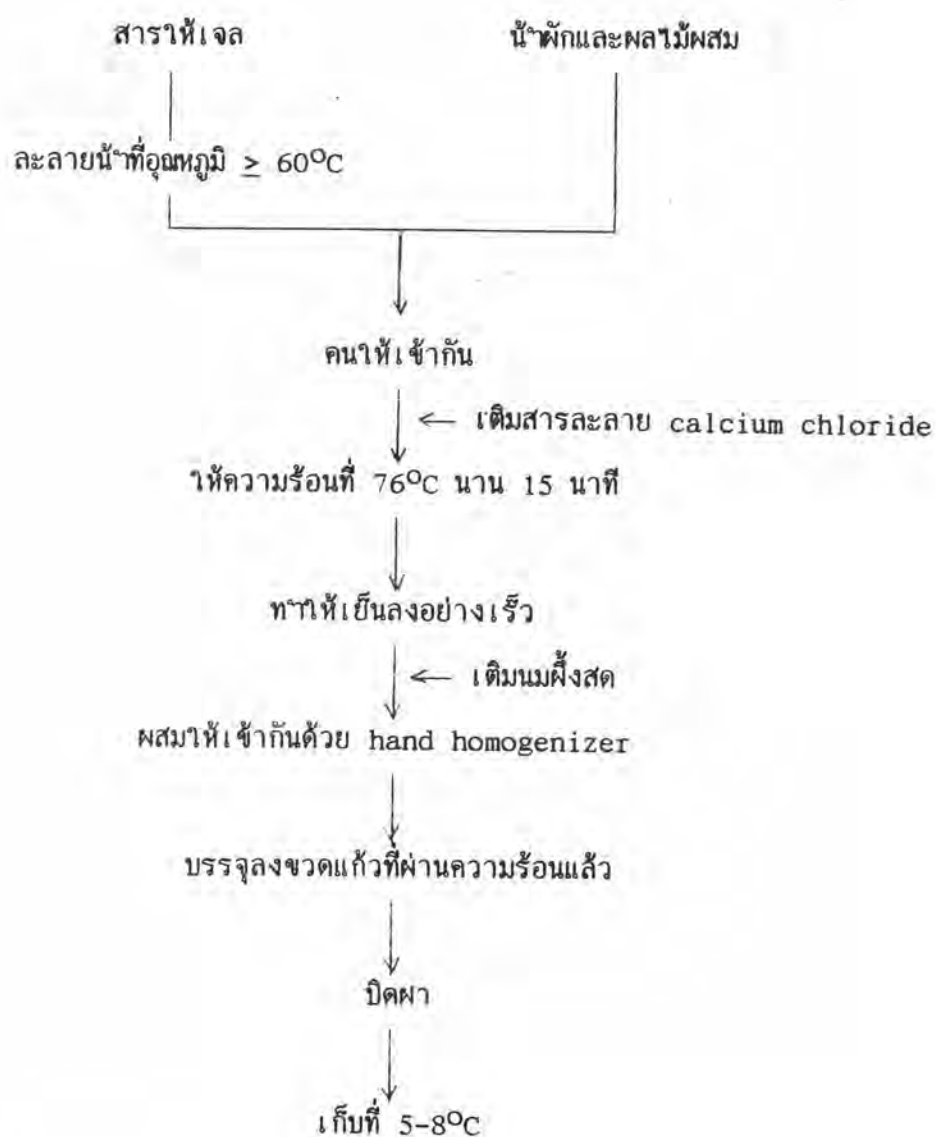
3.3.2.1 วิเคราะห์คุณภาพเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.1-3.3.1.5

3.3.2.2 ปริมาณเพคติน (Kertesz, 1951)

จากตัวอย่างที่ดีที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.3.1 และ 3.3.2 ใช้องค์ประกอบต่างๆที่วิเคราะห์ได้กำหนดเป็นมาตรฐาน สำหรับการผลิตน้ำผักและผลไม้ผสมให้มีคุณภาพเหมือนกันทุกรุ่น โดยปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดด้วยน้ำตาลทราย ปรับปริมาณกรดทั้งหมดด้วยสารละลายกรด citric ความเข้มข้น 50% w/v และปรับปริมาณเพคตินตั้งต้นด้วยเพคตินที่มีกลุ่ม methoxyl สูง

3.4. ศึกษาตัวแปรในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มนผสมนมผง

ขั้นตอนในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มนผสมนมผง ได้แก่



3.4.1 ศึกษาชนิดและปริมาณสารห้เจล แปรชนิดและปริมาณสารห้เจลที่ใช้ ดังนี้
เพคตินที่มีกลุ่ม methoxy ต่ำ แปรปริมาณเป็น 0, 0.1, 0.2 และ 0.3%
 w/V เติมสารละลาย calcium chloride 0.01% ปริมาณ 4% ในทุกระดับที่แปร
carrageenan แปรปริมาณเป็น 0.025, 0.05, 0.075, 0.1, 0.2 และ
 0.3% w/V

ตัวอย่างที่เตรียมมาค่น้ำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 76°C นาน 15 นาที แล้วเก็บ
 ที่อุณหภูมิ 5-8°C ก่อนนำมาประเมินคุณภาพ อดยวิเคราะห์ค่าต่างๆ ต่อไปนี้

3.4.1.1 ความหนืด วัดโดยใช้เครื่อง Brookfield viscometer ที่
 อุณหภูมิ 25°C วางแผนการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely Randomized

design วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPS ทดลอง 5 ซ้ำ

3.4.1.2 ทดสอบทางประสาทสัมผัส ใช้วิธีตามข้อ 3.3.1.1

3.4.1.3 เก็บผลิตภัณฑ์ ใน measuring cylinder ขนาด 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 5-8°C วัดปริมาณการตกตะกอนทุกวัน เป็นเวลา 2 เดือน

3.4.2 ศึกษาปริมาณเม็ลงที่ผสม เตรียมน้ำผัก-ผลไม้ผสมเม็ลงจากตัวอย่างที่ดีที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.4.1 แปรปริมาณเม็ลงเป็น 7.0, 8.0 และ 9.0% w/v เติมในตัวอย่างน้ำผักและผลไม้ผสมที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 76°C นาน 15 นาที แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 5-8°C ก่อนนำมาประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์ โดยวิเคราะห์ค่าต่างๆ ต่อไปนี้

3.4.2.1 ทดสอบทางประสาทสัมผัส ใช้ 9-point Hedonic Scale Test ใช้ผู้ทดสอบ 20 คน ทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล เช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.1

3.4.2.2 วัดสี โดยใช้เครื่อง Chromameter (Minolta-CR 300) วางแผนการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely Randomized design วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPS ทดลอง 2 ซ้ำ

3.4.2.3 วิเคราะห์องค์ประกอบโดยประมาณของเครื่องคั้นผสมเม็ลง เช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.2-3.3.1.5 วางแผนการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely Randomized design วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPS ทดลอง 2 ซ้ำ

ตัวอย่างน้ำผัก-ผลไม้ผสมเม็ลงที่ดีที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.4.2 นำมาวิเคราะห์ เช่นเดียวกับข้อ 3.2.6 เพื่อศึกษาปริมาณกรด 10-hydroxy-2-decenoic acid ในเม็ลงที่สูงเสียเปรียบระหว่างกระบวนการผลิต ทดลอง 2 ซ้ำ

3.5. ศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์น้ำผัก-ผลไม้ผสมเม็ลง

เตรียมน้ำผัก-ผลไม้ผสมเม็ลง โดยใช้สูตรและกรรมวิธีการผลิตที่สรุปได้จากข้อ 3.3 และ 3.4 ศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ โดยแปรปริมาณ sodium benzoate เป็น 0, 100 และ 200 ppm (ส่วนในล้านส่วน) โดยละลาย sodium benzoate 0.1% w/v (1000

ppm) ในน้ำผัก-ผลไม้ผสมน้ำแข็ง เพื่อเป็น stock solution แล้วจึงเจือจาง stock solution ด้วยน้ำผัก-ผลไม้ผสมน้ำแข็งอีกครั้งในระหว่างการให้ความร้อน คนผสมให้เข้ากัน เพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ ดังนี้

ความเข้มข้น (ppm)	ปริมาณ stock solution (มิลลิลิตร)	น้ำผัก-ผลไม้ผสมน้ำแข็ง (มิลลิลิตร)
0	0	100
100	10	90
200	20	80

ผลิตภัณฑ์ที่ำดับบรรจุานขวดแก้วที่ล้างสะอาดและต้มานน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที ปิดฝาที่ผ่านการลวกด้วยน้ำเดือด 2 ครั้งๆละ 10 นาที ทาให้เป็นลงอย่างรวดเร็วโดยนํ้าขวดที่บรรจุและปิดฝาแล้วมาแช่นภาชนะที่ปล่อยให้นํ้าประปาไหลออกตลอดเวลา และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5-8°C ติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพที่เวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ โดยการวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังต่อไปนี้

3.5.1 ทดสอบทางประสาทสัมผัส เช่นเดียวกับข้อ 3.4.2.1 วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Factorial Randomized Complete Block ขนาด 3x5 วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPS ทดลอง 2 ซ้ำ

3.5.2 วิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรีย ยีสต์และรา (Harringen and McCance, 1976) วางแผนการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely Randomized Factorial Experiment ขนาด 3x5 วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPS ทดลอง 2 ซ้ำ (ภาคผนวก ก.11-ก.12)

3.5.3 วัตถุประสงค์ ตามวิธีในข้อ 3.4.3.2 วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely Randomized Factorial Experiment ขนาด 3x5 วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPS ทดลอง 2 ซ้ำ

3.5.4 วิเคราะห์องค์ประกอบโดยประมาณของน้ำผักและผลไม้ผสมนมผง เช่นเดียวกับ
ข้อ 3.2.6 และ 3.3.1.2-3.3.1.5 วางแผนการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ
Completely Randomized Factorial Experiment ขนาด 3x5 วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย
วิธี Duncan's New Multiple Range Test ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPS
ทดลอง 2 ซ้ำ