

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

1. น้ำตาลโตนด จากสวนของเกษตรกร อ.สิงหนคร จ.สงขลา โดยมีการเติมไม้เคี่ยม 5 กรัมต่อน้ำตาลโตนดสด 1 ลิตร มีระยะเวลานับจากเริ่มร่อนน้ำตาลโตนด ประมาณ 15 ชั่วโมง และเก็บไว้ในถังโพนเติมน้ำแข็งจนเต็มตลอดการขนส่งจากสวนถึงคณะอุตสาหกรรมเกษตรภายใน 40 นาที
2. วัสดุและเคมีภัณฑ์สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี
3. วัสดุและเคมีภัณฑ์สำหรับการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา
4. กระจงเคลือบแลคเกอร์ 2 ชั้น ชนิด Epoxy-phenolic ขนาด 307 x 409 จากบริษัทคาร์โนคัมคัลตัลบ็อกซ์ (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน)
5. ขวดแก้ว ขนาดบรรจุ 300 มิลลิลิตรพร้อมฝาปิด
6. กวโพลีไวนิลคลอไรด์ (polyvinylchloride) ขนาด 6 x 15 เซนติเมตร ความหนา 0.013 มิลลิเมตร

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการแปรรูปน้ำตาลโตนด
 - 1) เครื่องมือผลิตอาหารกระป๋อง
 - 2) เครื่องมือชุดตรวจหาค่า F_0 ของการผลิตอาหารกระป๋อง ยี่ห้อ Elab ประเทศสหรัฐอเมริกา
 - 3) เครื่องทำความดันสูง (High hydrostatic pressure equipment) ยี่ห้อ SFP รุ่น S-FL-850-9-W ประเทศอังกฤษ
 - 4) เครื่องปิดผนึกถุง ประเทศจีน
2. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับวิเคราะห์ทางด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์
 - 1) เครื่องวัดค่าพีเอช ยี่ห้อ Sartorius รุ่น PB-20 ประเทศเยอรมันนี
 - 2) เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ยี่ห้อ ATAGO รุ่น -1E ประเทศญี่ปุ่น

- 3) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BP310S ประเทศเยอรมันนี
- 4) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BP210S ประเทศเยอรมันนี
- 5) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert รุ่น WB10B7-45 ประเทศเยอรมันนี
- 6) เครื่องกวนสารละลายพร้อมให้ความร้อน ยี่ห้อ Bibby รุ่น SB162-3 ประเทศอังกฤษ
- 7) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ Jasco รุ่น V-530 ประเทศญี่ปุ่น
- 8) เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Sorvall รุ่น RC 5 B plus ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 9) เครื่องวัดสี ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น Color Quest XT ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 10) เครื่อง Gas Chromatography ยี่ห้อ HEWLETT PACKARD รุ่น 5890 SERIES II ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 11) เครื่อง Mass Spectrometry ยี่ห้อ HEWLETT PACKARD รุ่น 5972A MS Detector ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 12) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ยี่ห้อ Tommy รุ่น SS-320 ประเทศญี่ปุ่น
- 13) ตู้บ่มเชื้อ ยี่ห้อ Memmert รุ่น BE500 ประเทศเยอรมันนี
- 14) อุปกรณ์สำหรับทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

วิธีการ

1. ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาของน้ำตาลโดนดสด โดยนำน้ำตาลโดนดสดมาวิเคราะห์คุณภาพต่างๆ ดังนี้

1.1 วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี

(Palou *et al.*, 1999) และความขุ่นในรูปของการทะลุผ่านของแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร (Palou *et al.*, 1999)

1.2 วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี ได้แก่ พีเอช โดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ (A.O.A.C.,

1990) ปริมาณกรดทั้งหมด (A.O.A.C., 1990) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยใช้ Hand refractometer (A.O.A.C., 1990) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธีของ Lane Eynon and Volumetric Method (A.O.A.C., 1990) ความจำเพาะสัมพัทธ์ของ เอนไซม์ โพลีฟีนอลออกซิเดส (relative activity of polyphenoloxidase: PPO) ความจำเพาะสัมพัทธ์

เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (relative activity of peroxidase: POD) (Cano *et al.*, 1997) กิจกรรมของเอนไซม์อินเวอร์เทส (activity of invertase) (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additive, 2001)

1.3 วิเคราะห์ชนิด/ปริมาณสารประกอบที่ระเหยได้ของน้ำตาลโตนดสดโดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน ไคคลอโรมีเทน และไดเอทิลอีเทอร์ (ดัดแปลงจาก Zabetakis *et al.*, 2000) แล้วคัดเลือกตัวทำละลายที่ดีที่สุด โดยพิจารณาจากโครมาโตแกรมของสารประกอบที่ระเหยได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC/MS มาใช้ในการวิเคราะห์สารประกอบที่ระเหยได้ต่อไป

1.4 วิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลชีววิทยา ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนยีสต์และรา จำนวนแลกติกแบคทีเรีย (Kiss, 1984)

2. ศึกษาผลของความร้อนต่อคุณภาพของน้ำตาลโตนดและการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา

นำน้ำตาลโตนดสดมาผ่านกระบวนการให้ความร้อน โดยแบ่งออกเป็น 2 ชุด การทดลอง คือการให้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์และการให้ความร้อนระดับสเตอริไลส์

2.1 การให้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์ (ใช้วิธีการพาสเจอร์ไรส์อาหารก่อนการบรรจุ)

2.1.1 นำน้ำตาลโตนดสดมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 4 ระดับ คือ 70 80 90 และ 100 องศาเซลเซียส นาน 10 15 และ 20 นาที

2.1.2 บรรจุน้ำตาลโตนดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ลงในขวดแก้วที่ผ่านการลวกด้วยน้ำร้อน โดยบรรจุปริมาตร 300 มิลลิลิตรต่อขวด แล้วปิดฝา

2.1.3 นำไปแช่ในน้ำที่อุณหภูมิห้องเพื่อลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว

2.1.4 เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.1.5 สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์คุณภาพตามข้อที่ 1.1-1.4 ทุกๆ สัปดาห์ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานาน 5 สัปดาห์

2.1.6 นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติ ดังนี้

1) เปรียบเทียบคุณภาพระหว่างน้ำตาลโตนดสดและน้ำตาลโตนดหลังผ่านการพาสเจอร์ไรส์ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละครั้งของการทดลองวิเคราะห์ 3 ซ้ำ วิเคราะห์

ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (Steel and Torrie, 1980)

2) คุณภาพของน้ำตาลโตนดพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษา โดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (4x3x6) ในการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละครั้งของการทดลองวิเคราะห์ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (Steel and Torrie, 1980)

2.2 การให้ความร้อนระดับสเตอริไลส์

2.2.1 ศึกษาหาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อน้ำตาลโตนดกระป๋อง โดยกำหนดค่า F_0 เท่ากับ 3.5 (Adams and Moss, 1995 อ้างโดย สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) บรรจุในกระป๋องขนาด 307 x 409 ปริมาตรบรรจุ 550 มิลลิลิตร แล้วนำน้ำตาลโตนดที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาทดสอบ Sterility test (สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม, มอก. 645-2529)

2.2.2 นำค่าอุณหภูมิและระยะเวลาการฆ่าเชื้อที่ได้จากข้อที่ 2.2.1 มาใช้ในการแปรูปน้ำตาลโตนดบรรจุกระป๋องโดยใช้กระป๋อง ขนาด 307 x 409 ปริมาตรบรรจุ 550 มิลลิลิตร

2.2.3 เก็บรักษาน้ำตาลโตนดบรรจุกระป๋องไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2.2.4 สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์คุณภาพตามข้อที่ 1.1, 1.2 (ยกเว้นกิจกรรมของเอนไซม์) และข้อที่ 1.3 ทุกๆ 2 สัปดาห์ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานาน 6 เดือน

2.2.5 นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติ ดังนี้

1) เปรียบเทียบคุณภาพระหว่างน้ำตาลโตนดสดและน้ำตาลโตนดหลังผ่านการสเตอริไลส์ โดยใช้การวิเคราะห์ t-test (Steel and Torrie, 1980)

2) คุณภาพของน้ำตาลโตนดสเตอริไลส์ระหว่างการเก็บรักษา โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละครั้งของการทดลองวิเคราะห์ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (Steel and Torrie, 1980)

3. ศึกษาผลของความดันสูงต่อคุณภาพของน้ำตาลโตนดและการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา

3.1 นำน้ำตาลโตนดสดบรรจุในถุงโพลีไวนิลคลอไรด์ ขนาด 6 x 15 เซนติเมตร ปริมาตรบรรจุ 120 มิลลิลิตรต่อถุง แล้วปิดผนึก

3.2 นำมาให้ความดัน 4 ระดับ คือ 200 400 600 และ 800 เมกกะปาสกาล นาน 15 และ 30 นาที

3.3 เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.4 สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ตามข้อที่ 1.1-1.4 ทุกๆ สัปดาห์ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานาน 5 สัปดาห์

3.5 นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติ ดังนี้

1) เปรียบเทียบคุณภาพระหว่างน้ำตาลโตนดสดและน้ำตาลโตนดหลังผ่านความดันสูง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละครั้งของการทดลองวิเคราะห์ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) (Steel and Torrie, 1980) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (Steel and Torrie, 1980)

2) คุณภาพของน้ำตาลโตนดความดันสูงระหว่างการเก็บรักษา โดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (4x2x6) ในการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละครั้งของการทดลองทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (Steel and Torrie, 1980)

4. ศึกษาการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

4.1 เลือกชุดการทดลองแต่ละกระบวนการแปรรูป (พาสเจอร์ไรส์ สเตอริไลส์ และผ่านความดันสูง) ที่มีชนิดและปริมาณสารประกอบที่ระเหยได้ใกล้เคียงกับน้ำตาลโตนดสดมากที่สุดและมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนยีสต์และราเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐาน เครื่องดื่มประเภทน้ำผลไม้ (สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม, มอก.187-2519)

4.2 นำตัวอย่างน้ำตาลโตนดที่ได้จากการคัดเลือกในข้อที่ 4.1 มาวิเคราะห์จำนวนโคลิฟอร์มแบคทีเรียและอีโคไล (Kiss, 1984)

4.3 นำมาทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสโดยทำการเปรียบเทียบแบบ Multisample Difference Test ด้านกลิ่นน้ำตาลโตนด กลิ่นน้ำตาลไหม้ กลิ่นรสน้ำตาลโตนด รสหวานและรสฝาด โดยใช้น้ำตาลโตนดสดเป็นชุดควบคุมใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน (trained panelist) จำนวน 15 คน และทดสอบการยอมรับทางด้านประสาทสัมผัสด้วยวิธี hedonic scale (9 คะแนน) ด้านสี ลักษณะปรากฏ กลิ่น กลิ่นรส และความชอบรวม โดยผู้บริโภคร่วมไปที่คุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์น้ำตาลโตนด 30 คน

4.4 วิเคราะห์ทางสถิติผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกอย่างสมบูรณ์ (Randomized Completely Block Design, RCBD) ทดลอง 1 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (Steel and Torrie, 1980)