บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบ

แคนตาลูปที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการวิจัย คือ แคนตาลูปพันธุ์ซันเลดี้ (*Cucumis melo* L.) ที่อยู่ในระยะพัฒนาเต็มที่ (รอยแตกที่ขั้วมากกว่า 50%) จากตลาดมหานาค กรุงเทพมหานคร (เก็บเกี่ยวในช่วงปี พ.ศ.2548 - 2549)

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพ

Acetic acid	Merck	A.R. grade
Ammonium molybdate	Univar	A.R. grade
Benzoic acid	Merck	A.R. grade
Copper sulfate pentahydrate	Univar	A.R. grade
Formaldehyde	Merck	A.R. grade
Hydrochloric acid	Carlo Erba	A.R. grade
Iodine	Univar	A.R. grade
Lanthanum oxide	Ajax	A.R. grade
Methyleneblue	Merck	A.R. grade
Mercury chloride	Carlo Erba	A.R. grade
Nitric acid	Merck	A.R. grade
Potassium iodide	Merck	A.R. grade
Potassium hydrogen phthalate	Univar	A.R. grade
Potassium sodium tartrate	Univar	A.R. grade
p-Rosaniline hydrochloride	Fluka	A.R. grade
Sodium bisulfite	Himedia	A.R. grade
Sodium chloride	Univar	A.R. grade
Sodium hydroxide	Univar	A.R. grade
Sodium sulphate anhydrous	Carlo Erba	A.R. grade
di-Sodium hydrogen arsenate heptahydrate	Sigma	A.R. grade

di-Sodium hydrogen phosphate anhydrous	Carlo Erba	A.R. grade
Sulfuric acid	Carlo Erba	A.R. grade
Sucrose	Univar	A.R. grade

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

Plate count agar	Merck	A.R. grade
Potato dextrose agar	Merck	A.R. grade
Tartaric acid	Univar	A.R. grade

สารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิต

น้ำตาลทรายขาว	บริษัทมิตรผล จำกัด
Calcium chloride	Food grade
Citric acid	Food grade
Sodium metabisulfite	Food grade

อุปกรณ์

Hand refractometer (Atago รุ่น 2110-w06, Japan)

pH meter (Eutech รุ่น Cyber Scan pH 1000 Bench, Singapore)

UV/Vis Spectrophotometer (Jasco รุ่น V-530, Japan)

เครื่องวัดสี ColorFlex (HunterLab Reston รุ่น 45/0, USA)

เครื่อง Texture analyzer (Instron Corporation รุ่น 5565P8935, USA)

เครื่อง Image Analyzer (Nikon Corporation รุ่น ACT-1 version 2.63, Japan)

ตู้อบ 100-110 องศาเซลเซียส (Memmert รุ่น 600, Germany)

ตู้อบลมร้อน (Kobishi รุ่น BZ-17H, Japan)

เตาเผา (Carbolite รุ่น CWT1200, UK)

เครื่องฆ่าเชื้อ (Tomy รุ่น SS832, Japan)

เครื่องวัด water activity (Decagon Devices รุ่น AquaLink 3.0, USA)

เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดหยาบ (Sartorius รุ่น BP 310s, Germany)

เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด (A&D รุ่น HR-200, Japan)

ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของแคนตาลูป

ทำความสะอาดผิวแคนตาลูปพันธุ์ซันเลดี้ที่อยู่ในระยะพัฒนาเต็มที่ (รอยแตกที่ขั้วมากกว่า 50%) จากนั้นตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีและกายภาพ ดังต่อไปนี้

3.1.1 ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2000) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.1

3.1.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solids) โดยใช้ Hand refractometer

3.1.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Somogyi, 1952) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.2

3.1.4 ค่าความเป็นกรดในรูปกรดซิตริก (titratable acidity) (A.O.A.C., 2000) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.3

3.1.5 ค่า sugar : acid ratio โดยคำนวณค่าจากข้อ 3.1.2 และข้อ 3.1.4

3.1.6 ค่าความแข็ง (hardness) โดยใช้เครื่อง Texture analyzer ใช้หัวกด Puncture probe ขนาด 3 มิลลิเมตร (Test speed 1.5 มิลลิเมตรต่อวินาที) วัดค่าความแข็งโดยใช้แรงเจาะทะลุ โดยหั่นชิ้นแคนตาลูปตามยาวของผล หนาประมาณ 1.5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 10 เซนติเมตร วัด 4 ครั้งต่อ 1 ตัวอย่าง โดยวัดทั้งหมด 5 ตัวอย่าง หาค่า peak force (gf) จากกราฟซึ่งแรงที่ได้เป็นค่าบ่งบอกถึงความแข็งของเนื้อแคนตาลูป รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.4

3.1.7 ค่าสี ในระบบ CIE L*a*b* แหล่งกำเนิดแสง D 65 มุมการมอง 10° รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.5

นำผลที่ได้มาพิจารณาเพื่อกำหนดเกณฑ์สำหรับคัดเลือกวัตถุดิบมาใช้ในการทดลองแต่ละครั้ง

3.2 ศึกษาการซึมเข้าของแคลเซียมคลอไรด์สู่เนื้อแคนตาลูปในช่วง pretreatment ก่อนเข้าสู่กระบวนการออสโมซิส

ศึกษาผลของความเข้มข้นที่ระดับต่าง ๆ ของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาการแช่ต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของแคนตาลูป โดยเลือกแคนตาลูปที่มีสมบัติทางเคมีและกายภาพใกล้เคียงกันเป็นวัตถุดิบโดยใช้เกณฑ์ในข้อ 3.1 ปอกเปลือกแคนตาลูปแล้วหั่นเป็นชิ้นตามความยาวผล หนาประมาณ 1.5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 10 เซนติเมตร แช่แคนตาลูปในสารละลายผสมที่ประกอบด้วยกรดซิตริก 1% โซเดียมเมแทไบซัลไฟต์ 0.5% และแคลเซียมคลอไรด์ แปรความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0 0.5 1.0 1.5 2.0% (w/v) อัตราส่วนของเนื้อแคนตาลูปต่อสารละลายผสมเป็น 1:3 ติดตามการซึมเข้าของแคลเซียมทุกวันจนกระทั่งปริมาณแคลเซียมในชิ้นแคนตาลูปเริ่มคงที่ วัดปริมาณแคลเซียมที่เข้าไปในเนื้อแคนตาลูปโดยใช้วิธี Atomic absorption

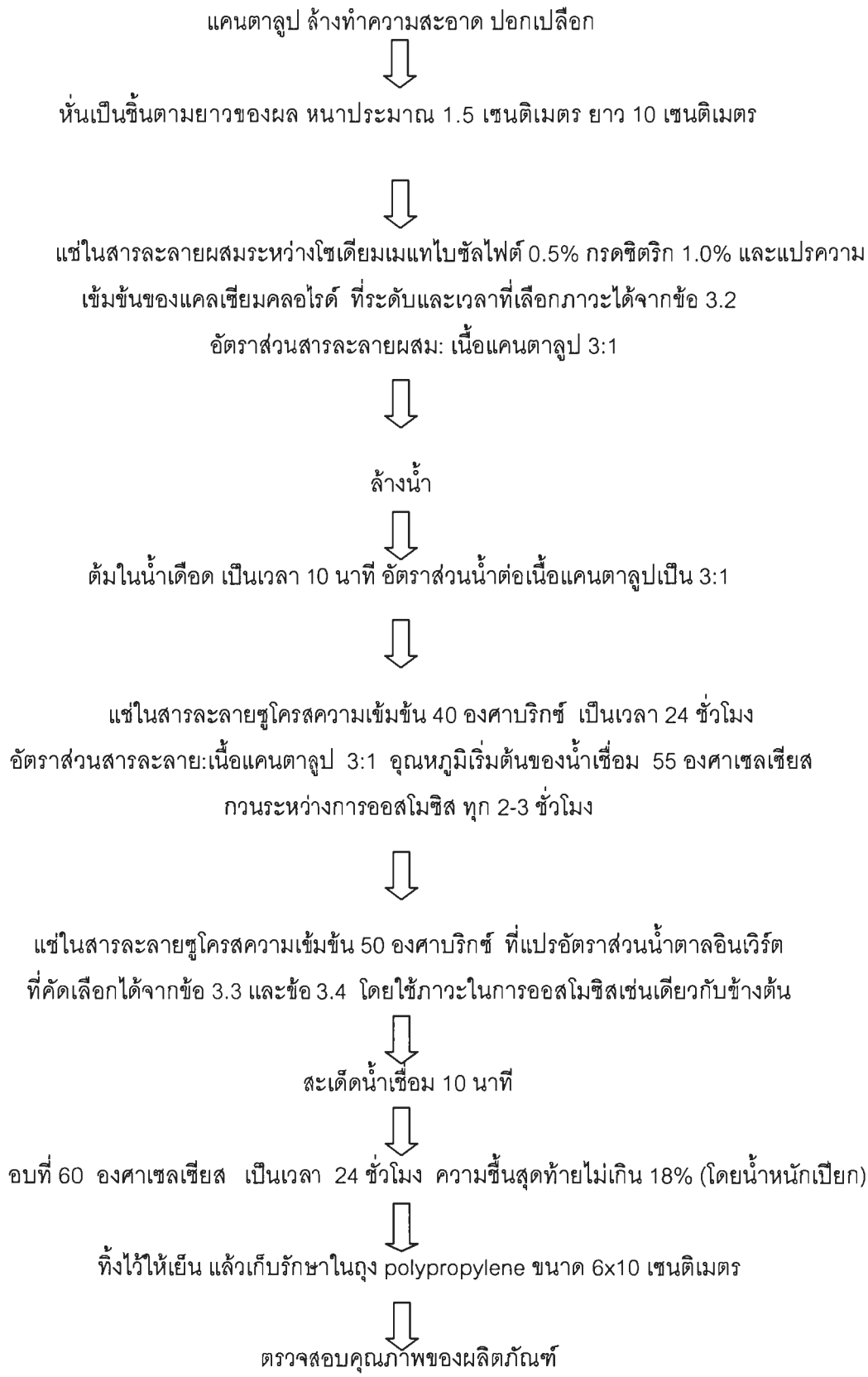
spectrophotometry (A.O.A.C., 2000) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.7 และวัดค่าความแข็งของเนื้อแคนตาลูปโดยใช้เครื่อง Texture analyzer ใช้หัวกด Puncture probe ขนาด 3 มิลลิเมตร (Test speed 1.5 มิลลิเมตรต่อวินาที) วัดค่าความแข็งโดยใช้แรงเจาะทะลุ วัด 4 ครั้งต่อ 1 ตัวอย่าง โดยวัดทั้งหมด 5 ตัวอย่าง วางแผนการทดลองแบบ factorial design โดยมีสองตัวแปรคือ ความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์และระยะเวลาการแช่ ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test (Cochran and Cox, 1992) เลือกความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์และเวลาที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากอัตราการซึมเข้าของแคลเซียม ค่าความแข็งของแคนตาลูป และตรวจดูโครงสร้างภายในเพื่อดูการซึมเข้าของแคลเซียมในชิ้นแคนตาลูปโดยใช้ Cryogenic Scanning Electron Microscopy (Cryo-SEM)

3.3 ศึกษาอิทธิพลของการใช้น้ำตาลอินเวิร์ตร่วมกับน้ำตาลซูโครสที่มีต่อเวลาในการอบแห้ง

นำแคนตาลูปที่ผ่านการแช่สารละลายที่เลือกความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.2 มาล้างน้ำเปล่า และผ่านเข้าสู่กระบวนการออสโมซิสดังรูปที่ 3.1 โดยในสารละลายซูโครสความเข้มข้น 50 องศาบริกซ์ แปรอัตราส่วนน้ำตาลอินเวิร์ตเป็น 4 ระดับ คือ 0 5 10 และ 15% (v/v) ของสารละลายออสโมติกทั้งหมด (โดยน้ำตาลอินเวิร์ตที่ใช้ในการทดลองเตรียมโดยเติมกรดซิตริก 5% (w/v) ในสารละลายซูโครสความเข้มข้น 50 องศาบริกซ์ และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน) จากนั้นนำแคนตาลูปที่ผ่านการออสโมซิสในสารละลายออสโมติกที่แปรอัตราส่วนน้ำตาลอินเวิร์ตทั้งสี่ชุดการทดลอง ไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วลม 1.3 เมตรต่อวินาที ความชื้นสัมพัทธ์ 18% บันทึกน้ำหนักของแคนตาลูปตามช่วงเวลาของการอบแห้งตั้งแต่เริ่มอบแห้งจนผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีน้ำหนักคงที่ ทดลอง 2 ซ้ำ นำข้อมูลการอบแห้งที่ได้ไปศึกษาจลนพลศาสตร์การอบแห้งและสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อใช้ทำนายลักษณะการอบแห้งของผลิตภัณฑ์

3.4 ศึกษาอิทธิพลของการใช้น้ำตาลอินเวิร์ตร่วมกับน้ำตาลซูโครสที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์แคนตาลูปแช่อิ่มอบแห้งในระหว่างการอบแห้ง

เลือกข้อมูลจากกราฟการอบแห้งที่ได้จากข้อ 3.3 เพื่อสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์โดยเลือกข้อมูลให้ครอบคลุมตลอดช่วงของการอบแห้ง โดยใช้ค่าความชื้นเริ่มต้น ความชื้นวิกฤต (critical moisture content) และค่าความชื้นสุดท้ายของผลิตภัณฑ์ต่ำกว่า 18% (โดยน้ำหนักเปียก) หรือประมาณ 21.95 กรัมน้ำต่อ 100 กรัมของแข็ง เป็นตัวกำหนดเพื่อคัดเลือก



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตแคนตาลูปแช่อิ่มอบแห้ง

เวลาการอบแห้งระหว่างสามจุดนี้มาตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ในแต่ละช่วงของการอบแห้ง โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงในด้านต่าง ๆ ดังนี้

3.4.1 ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2000) และค่า water activity (a_w) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.1 และ ก.9

3.4.2 ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยใช้เครื่อง Texture analyzer ใช้หัววัดใบมีด Noodle Shear Blade (Test speed 2.0 มิลลิเมตรต่อวินาที) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.4

3.4.3 ค่าสี ใช้เครื่องวัดสีระบบ CIE L*a*b* แหล่งกำเนิดแสง D65 มุมการมอง 10° รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.5

3.4.4 การเกิดสีน้ำตาล (Baloch, Buckle and Edwards, 1973) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.10

3.4.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Somogyi, 1952) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.2

3.4.6 ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (A.O.A.C., 2000) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.11

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของแคนตาลูปแช่อิ่มในระหว่างการอบแห้ง เพื่อนำไปสร้างกราฟการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ในด้านต่าง ๆ ในระหว่างการอบแห้งโดยมีตัวแปรคือปริมาณน้ำตาลอินเวิร์ตและเวลาในการอบแห้ง ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลและหาค่าเฉลี่ย จากนั้นประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์สุดท้ายหลังการอบแห้งแบบ quantitative descriptive analysis โดยประเมินคุณภาพด้านสีของผลิตภัณฑ์ ความคงรูปของผลิตภัณฑ์ การมีผลึกน้ำตาลบนผิวหน้า ค่าความแข็ง ค่าความเหนียวของผลิตภัณฑ์ และความชอบโดยรวม (แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสดังแสดงในภาคผนวก ง.1) โดยใช้ผู้ทดสอบประเภทไม่ฝึกฝนจำนวนทั้งหมด 30 คน ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) คัดเลือกปริมาณน้ำตาลอินเวิร์ตโดยพิจารณาอัตราการอบแห้งและคะแนนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสจากผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่อบแห้งเรียบร้อยแล้ว

3.5 ศึกษาปริมาณน้ำตาลอินเวิร์ตที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์แคนตาลูปแช่อิ่มอบแห้งในระหว่างการเก็บรักษา

แช่ชิ้นแคนตาลูปในสารละลายผสมโดยเลือกภาวะจากข้อ 3.2 จากนั้นผ่านกระบวนการออสโมซิสวิธีเดียวกับข้อ 3.3 โดยในสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 50 องศาบริกซ์ แปรอัตราส่วนน้ำตาลอินเวิร์ตที่เลือกได้จากข้อ 3.3 และข้อ 3.4 นำแคนตาลูปที่ได้ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ

60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งความชื้นของผลิตภัณฑ์ต่ำกว่า 18% (โดยน้ำหนักเปียก) โดยการคำนวณเวลาที่ใช้ในการอบแห้งจากจลนพลศาสตร์การอบแห้งในข้อ 3.3 จากนั้นวิเคราะห์คุณภาพแคนตาลูปแช่อิ่มอบแห้งที่ได้และศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์แคนตาลูปแช่อิ่มอบแห้งในระหว่างการเก็บรักษา โดยเก็บในถุง polypropylene (PP) ขนาด 6x10 เซนติเมตร บรรจุในสภาพบรรยากาศปกติเก็บที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) สุ่มตัวอย่างทุก 3 สัปดาห์ (ยกเว้นข้อ 3.5.6 สุ่มตัวอย่างทุก 4 สัปดาห์) เป็นเวลา 24 สัปดาห์ โดยการตรวจสอบคุณภาพดังนี้

3.5.1 ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2000) และค่า a_w รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.1 และ ก.9

3.5.2 ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยใช้เครื่อง Texture analyzer ใช้หัววัดใบมีด Noodle Shear Blade (Test speed 2.0 มิลลิเมตรต่อวินาที) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.4

3.5.3 ค่าสี ใช้เครื่องวัดสีระบบ CIE L*a*b* แหล่งกำเนิดแสง D65 มุมการมอง 10° รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.5 และคำนวณหาค่าการเปลี่ยนแปลงสี (ΔE^*_{ab}) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.6

3.5.4 การเกิดสีน้ำตาล (Baloch et al., 1973) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.10

3.5.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Somogyi, 1952) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.2

3.5.6 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา (A.O.A.C.,2000) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.12 และ ก.13

3.5.7 ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบ acceptance test โดยประเมินการยอมรับคุณภาพในด้านสีของผลิตภัณฑ์ การเกิดสีน้ำตาล ความคงรูปของผลิตภัณฑ์ การเกิดผลึกน้ำตาล และการยอมรับด้านการยอมรับโดยรวม โดยใช้ผู้ทดสอบประเภทไม่ฝึกฝน จำนวนทั้งหมด 30 คน จำนวน 2 ซ้ำ แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสดังแสดงในภาคผนวก ง.2

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) สำหรับการตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพและเคมี เนื่องจากงานวิจัยในส่วนนี้มีตัวแปรที่ต้องศึกษา 2 ตัวแปรคือ ปริมาณน้ำตาลอินเวิร์ตและระยะเวลาในการเก็บรักษา แต่ต้องการศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลอินเวิร์ตที่แตกต่างกันที่มีต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเดียวกันเป็นสำคัญ และวางแผนแบบ RCBD สำหรับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test (Cochran and Cox, 1992) เลือกระดับน้ำตาลอินเวิร์ตที่เหมาะสมโดยพิจารณาผลิตภัณฑ์ที่

ได้จากการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษาร่วมกับคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัส และตรวจดูโครงสร้างภายในของผลิตภัณฑ์ที่ระยะเวลา 0 และ 24 สัปดาห์เพื่อดูการเกิดผลึกน้ำตาลโดยใช้ Cryo-SEM