

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบ

แคนตาลูปที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการวิจัย คือ แคนตาลูปพันธุ์ชั้นเลดี ที่อยู่ในระยะพัฒนาเต็มที (รอยแตกขั้วมากกว่า 50% เปลือกมีสีขาวครีม และมีกลิ่นหอม) น้ำหนักประมาณ 1.5-1.8 กิโลกรัมต่อผล จากตลาดมหานาค กรุงเทพมหานคร (เก็บเกี่ยวในช่วงปี พ.ศ. 2550-2551)

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพ

Acetic acid	Merck, Germany	A.R. grade
Ammonium molybdate	Univar, Australia	A.R. grade
Barium chloride	Univar, Australia	A.R. grade
Copper sulfate pentahydrate	Univar, Australia	A.R. grade
D-(+)-glucose	Merck, Germany	A.R. grade
Lithium chloride	Unilab, Australia	A.R. grade
Magnesium chloride	Univar, Australia	A.R. grade
Magnesium nitrate	Unilab, Australia	A.R. grade
Phenolphthalein	Merck, Germany	A.R. grade
Potassium acetate	Univar, Australia	A.R. grade
Potassium carbonate	Rankem, India	A.R. grade
Potassium chloride	Univar, Australia	A.R. grade
Potassium iodide	Univar, Australia	A.R. grade
Potassium sodium tartrate	Univar, Australia	A.R. grade
Strontium chloride	Univar, Australia	A.R. grade
Sodium bromide	Unilab, Australia	A.R. grade
Sodium chloride	Univar, Australia	A.R. grade
Sodium hydroxide	Univar, Australia	A.R. grade
Sodium sulfate anhydrous	Carlo Erba, France	A.R. grade
di-Sodium hydrogen arsenate heptahydrate	Sigma, Germany	A.R. grade

di-Sodium hydrogen phosphate anhydrous	Carlo Erba, France	A.R. grade
Sulfuric acid	Carlo Erba, France	A.R. grade

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์จุลชีววิทยา

Peptone	Univar, Australia	A.R. grade
Plate count agar	Himedia, India	A.R. grade
Potato dextrose agar	Himedia, India	A.R. grade
Tartaric acid	Univar, Australia	A.R. grade

สารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิต

น้ำตาลทรายขาว (Food grade)	บริษัทมิตรผล จำกัด, กรุงเทพฯ, ประเทศไทย
Calcium chloride (Food grade)	Tokuyama, Tokyo, Japan
Citric acid (Food grade)	Foodchem International Corporation, Shanghai, China
Maltodextrin (DE 5, 10, 18) (Food grade)	Tate & Lyle, Edgewood, New York, USA
Sodium metabisulfite (Food grade)	BASF-The chemical company, Ludwigshafen, Germany

อุปกรณ์

Hand refractometer (Atago รุ่น 2110-w06, Tokyo, Japan)
เครื่อง Spectrophotometer (Thermo Spectronic® รุ่น Genesys 10UV, Waltham, Massachusetts, USA)
เครื่องวัดสี ColorFlex (HunterLab Reston รุ่น 45/0-s, Reston, Virginia, USA)
เครื่อง Instron universal materials testing machine (Instron Corporation รุ่น 5565, Canton, Massachusetts, USA)
เครื่อง Aqualab (Decagon Devices รุ่น AquaLink 3.0, Pullman, Washington, USA)
เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (Varian รุ่น INOVA, Palo Alto, California, USA)
เครื่อง Scanning Electron Microscope (JEOL รุ่น JSM-5410LV, Tokyo, Japan)
เครื่องฆ่าเชื้อ (Tomy Autoclave รุ่น SS832, Tokyo, Japan)
เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดหยาบ (Sartorius รุ่น BP 310s, Bradford, Germany)

เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด (Sartorius รุ่น ED 224s, Bradford, Germany)

เครื่องปั่นผสม (OTTO รุ่น BE-120, Beijing, China)

เครื่อง Vortex (Labnet รุ่น VX100, Woodbridge, New Jersey, USA)

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

เครื่อง Stomacher (Seward stomacher รุ่น 400, London, England)

ตู้อบลมร้อน 60 (บริษัทเหี่ยวเฮง จำกัด, รุ่น HA-100S, กรุงเทพฯ, ประเทศไทย)

ตู้อบ 105 องศาเซลเซียส (WTB Binder รุ่น 78532, Tuttlingen, Germany)

ตู้อบฆ่าเชื้อ 200 องศาเซลเซียส (Memmert รุ่น 600, Schwabach, Germany)

ตู้อบเชื้อ 37 องศาเซลเซียส (Memmert รุ่น 500, Schwabach, Germany)

ตู้อบควบคุมอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (WTB Binder รุ่น 7200, Tuttlingen, Germany)

ตู้ควบคุมความชื้น (บริษัท เอฟ. จี. อี. จำกัด, กรุงเทพฯ, ประเทศไทย)

ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของแคนตาลูป

ทำความเข้าใจความสะอาดผิวแคนตาลูปพันธุ์ชั้นเลิศที่อยู่ในระยะพัฒนาเต็มที่ น้ำหนักประมาณ 1.5-1.8 กิโลกรัมต่อผล จากนั้นวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพ ดังต่อไปนี้

3.1.1 ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2006) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.1

3.1.2 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (total soluble solids) โดยใช้ hand refractometer

3.1.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Nelson, 1944; Somogyi, 1952) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.2

3.1.4 ปริมาณความเป็นกรดในรูปกรดซิตริก (Titratable acidity) (A.O.A.C., 2006) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.3

3.1.5 อัตราส่วนปริมาณน้ำตาลต่อกรด โดยคำนวณค่าจากข้อ 3.1.2 และข้อ 3.1.4

3.1.6 ลักษณะเนื้อสัมผัสด้านความแข็ง (hardness) ด้วยเครื่อง Instron universal materials testing machine ใช้หัววัดใบมีด Noodle shear blade วัดค่าความแข็งโดยใช้แรงตัดขาด โดยใช้แคนตาลูปที่หั่นเป็นชิ้นตามความยาวผล หนาประมาณ 1.5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 10 เซนติเมตร วัดทั้งหมด 15 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1 ครั้ง หาค่า peak force (N) จากกราฟ ซึ่งแรงที่ได้เป็นค่าที่บ่งบอกถึงความแข็งของเนื้อแคนตาลูป รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.4

3.1.7 ค่าสี ในระบบ CIE L*a*b* แหล่งกำเนิดแสง D65 มุมการมอง 10° วัดทั้งหมด 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 10 ครั้ง รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.5 พิจารณาผลที่ได้เพื่อกำหนดเกณฑ์สำหรับคัดเลือกวัตถุดิบมาใช้ในการทดลองทุกครั้ง

3.2 ศึกษาผลของการทดแทนซูโครสบางส่วนด้วยมอลโทเดกซ์ทรินชนิดต่าง ๆ ต่อการถ่ายเทมวลสารระหว่างการออสโมซิสแคนตาลูป

คัดเลือกแคนตาลูปที่มีองค์ประกอบทางเคมีและกายภาพใกล้เคียงกันตามเกณฑ์ในข้อ

3.1 ปอกเปลือกแคนตาลูปแล้วหั่นเป็นชิ้นตามความยาวผล หนาประมาณ 1.5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 10 เซนติเมตร แช่ในสารละลายผสมที่ประกอบด้วยโซเดียมเมแทไบซัลไฟต์ 0.5% (w/v) กรดซิตริก 1.0% (w/v) และแคลเซียมคลอไรด์ 1.0% (w/v) นาน 6 วัน อัตราส่วนเนื้อแคนตาลูปต่อสารละลายผสมเป็น 1:3 นำชิ้นแคนตาลูปที่ผ่านการแช่ในสารละลายผสมมาล้างน้ำแล้วต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที จากนั้นแช่ชิ้นแคนตาลูปในสารละลายซูโครสสองความเข้มข้น คือ 40 และ 50 องศาบริกซ์ ใช้เวลาในการแช่ความเข้มข้นละ 24 ชั่วโมง อุณหภูมิเริ่มต้นของสารละลาย 55 องศาเซลเซียส กวาระหว่างการออสโมซิสทุก 2-3 ชั่วโมง อัตราส่วนเนื้อแคนตาลูปต่อสารละลายเป็น 1:3 ซึ่งในสารละลายซูโครสที่ความเข้มข้น 50 องศาบริกซ์ ทดแทนซูโครสบางส่วนด้วยมอลโทเดกซ์ทรินปริมาณ 10% (w/v) ของสารละลายออสโมติกทั้งหมด แปรชนิดของมอลโทเดกซ์ทรินสามชนิด คือ มอลโทเดกซ์ทรินที่มีค่า DE เท่ากับ 5, 10 และ 18 (ชุดมอลโทเดกซ์ทริน DE5, ชุดมอลโทเดกซ์ทริน DE10 และชุดมอลโทเดกซ์ทริน DE18 ตามลำดับ) โดยเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่มีการทดแทนซูโครสด้วยมอลโทเดกซ์ทริน (ชุดควบคุม) และเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่มีการทดแทนซูโครสด้วยน้ำตาลอินเวิร์ตปริมาณ 10% (v/v) (ชุดเปรียบเทียบ)

ติดตามการถ่ายเทมวลสารในรูปของอัตราการสูญเสียน้ำ (water loss; WL) และอัตราการเพิ่มขึ้นของของแข็ง (solid gain; SG) ในเนื้อแคนตาลูปตลอดระยะเวลาของการออสโมซิสจนเข้าสู่สมดุล รายละเอียดการคำนวณแสดงในภาคผนวก ก.6 วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทดลองสามซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของข้อมูล (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.3 ศึกษาผลของการทดแทนซูโครสบางส่วนด้วยมอลโทเดกซ์ทรินชนิดต่าง ๆ ต่อจลนพลศาสตร์การอบแห้งแคนตาลูป

อบแห้งแคนตาลูปที่ผ่านการออสโมซิสในสารละลายออสโมติกทั้งห้าชุดการทดลองที่ได้จากข้อ 3.2 ด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วลม 1.3 เมตรต่อวินาที

ความชื้นสัมพัทธ์ 18% บันทึกน้ำหนักของแคนตาลูปตามช่วงเวลาของการอบแห้งตั้งแต่เริ่มอบแห้งจนผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีน้ำหนักคงที่ ทดลองสองซ้ำ ใช้ข้อมูลการอบแห้งที่ได้เลือกแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายจลนพลศาสตร์การอบแห้งของแคนตาลูป โดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์แบบ Page's ซึ่งมีรูปแบบสมการ $MR = \exp(-kt^n)$ และ Henderson and Pabis ซึ่งมีรูปแบบสมการ $MR = a \exp(-kt)$

3.4 ศึกษาผลของการทดแทนซูโครสบางส่วนด้วยมอลโทเดกซ์ทรินชนิดต่าง ๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์แคนตาลูปแช่อิ่มอบแห้งในระหว่างการอบแห้ง

คัดเลือกข้อมูลที่มีการกระจายตัวตลอดช่วงของกราฟการอบแห้งที่ได้จากข้อ 3.3 โดยใช้ค่าความชื้นเริ่มต้น ค่าความชื้นวิกฤต และค่าความชื้นสุดท้ายของผลิตภัณฑ์ที่ต่ำกว่า 18% (โดยน้ำหนักเปียก) หรือประมาณ 21.95% (โดยน้ำหนักแห้ง) เป็นตัวกำหนดเพื่อคัดเลือกเวลาการอบแห้งที่ใช้ในการสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ในด้านต่าง ๆ ดังนี้

3.4.1 ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2006) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.1

3.4.2 ค่า a_w ด้วยเครื่อง AquaLab รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.7

3.4.3 ค่าสี ในระบบ CIE $L^*a^*b^*$ แหล่งกำเนิดแสง D65 มุมการมอง 10° ด้วยเครื่อง Color Flex รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.5

ทดลองสองซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลและหาค่าเฉลี่ย จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากข้อ 3.4.1-3.4.3 มาสร้างความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการอบแห้งกับการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ระหว่างการอบแห้ง

3.5 ศึกษาผลของการทดแทนซูโครสบางส่วนด้วยมอลโทเดกซ์ทรินชนิดต่าง ๆ ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์แคนตาลูปแช่อิ่มอบแห้งหลังการอบแห้ง

นำผลิตภัณฑ์สุดท้ายหลังการอบแห้งของทั้งห้าชุดการทดลอง ซึ่งมีปริมาณความชื้นต่ำกว่า 18% (โดยน้ำหนักเปียก) ที่ได้จากข้อ 3.4 มาวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ ดังนี้

3.5.1 ลักษณะเนื้อสัมผัสด้านความแข็ง (hardness) ความเหนียว (adhesiveness) และค่างานที่ใช้ในการตัด (cutting work) ด้วยเครื่อง Instron universal materials testing machine ใช้หัววัดใบมีด Noodle shear blade วัดทั้งหมด 15 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1 ครั้ง รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.4

3.5.2 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Ranganna, 1977) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.8

3.5.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ โดยใช้

วิธีการทดสอบเชิงพรรณนา โดยใช้สเกลเส้นตรงระดับความเข้ม 0-10 (Descriptive analysis with scaling) ประเมินลักษณะทางด้านสี ความคงรูปหรือการหดตัว ลักษณะเนื้อสัมผัส รสหวาน และรสแปลกปลอมของผลิตภัณฑ์ ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน 15 คน จำนวนสองซ้ำ (Meilgaard, Civille and Carr, 2007) ตัวอย่างแบบทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงในภาคผนวก ข.1

วิธีการทดสอบการยอมรับ (Acceptance test) โดยใช้สเกลวัดระดับความชอบ 9 ระดับ (9-Point Hedonic scale) ประเมินลักษณะทางด้านสี ความคงรูปหรือการหดตัว ลักษณะเนื้อสัมผัส ความชุ่มน้ำ รสหวาน และการยอมรับโดยรวมของผลิตภัณฑ์ ใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน 50 คน (Meilgaard et al., 2007) ตัวอย่างแบบทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงในภาคผนวก ข.2

3.5.4 พฤติกรรมการเคลื่อนที่ของน้ำของผลิตภัณฑ์ ด้วยเครื่อง nuclear magnetic resonance spectrometer (NMR) รายละเอียดแสดงดังภาคผนวก ก.9

3.5.5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ของผลิตภัณฑ์ ด้วยเครื่อง scanning electron microscope (SEM) รายละเอียดแสดงดังภาคผนวก ก.10

ข้อ 3.5.1-3.5.2 วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลองสามซ้ำ และข้อ 3.5.3 วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของข้อมูล (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากนั้นคัดเลือกชนิดของมอลโทเดกซ์ทรินที่เหมาะสมในการผลิตแคนตาลูปแช่อิ่มอบแห้ง โดยพิจารณาจากข้อมูลการอบแห้งและคุณภาพของผลิตภัณฑ์สุดท้ายหลังการอบแห้ง

3.6 ศึกษาผลของการทดแทนซูโครสบางส่วนด้วยมอลโทเดกซ์ทรินชนิดต่าง ๆ ต่อ moisture sorption isotherm ของผลิตภัณฑ์แคนตาลูปแช่อิ่มอบแห้ง

นำผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการคัดเลือกจากข้อ 3.5 ใส่ใน equilibration chamber ที่มีสารละลายเกลืออิ่มตัวครอบคลุมช่วงความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 10-90% หรือมีค่า a_w ประมาณ 0.1-0.9 ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่และปิดฝาโถแก้วให้สนิท เพื่อให้ความชื้นสมดุลตลอดระยะเวลาการทดลอง บันทึกน้ำหนักของผลิตภัณฑ์จนน้ำหนักคงที่ ใช้เวลาประมาณ 4 สัปดาห์ นำข้อมูลที่ได้แทนในแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ โดยใช้ The Brunauer, Emmett and Teller (BET) model และคำนวณหา BET monolayer รายละเอียดแสดงดังภาคผนวก ก.11

3.7 ศึกษาผลของการทดแทนซูโครสบางส่วนด้วยมอลโทเดกซ์ทรินชนิดต่าง ๆ ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์แคนตาลูปแช่อิ่มอบแห้งในระหว่างการเก็บรักษา

เก็บผลิตภัณฑ์แคนตาลูปแช่อิ่มอบแห้งทั้งสามชุดการทดลองในถุง Polypropylene (PP) ปิดสนิท ขนาด 15x25 เซนติเมตร บรรจุถุงละ 5 ชั้น (น้ำหนักประมาณ 50 กรัมต่อถุง) เก็บรักษาในสภาพบรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 สัปดาห์ สุ่มตัวอย่างทุก 4 สัปดาห์ (ยกเว้นข้อ 3.7.4 และ 3.7.6 สุ่มตัวอย่างที่ 2 และ 10 สัปดาห์ ตามลำดับ) ติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษา ดังนี้

- 3.7.1 ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2006) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.1
- 3.7.2 ค่า a_w โดยเครื่อง AquaLab รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.7
- 3.7.3 ลักษณะเนื้อสัมผัสด้านความแข็ง (hardness) ความเหนียว (adhesiveness) และค่างานที่ใช้ในการตัด (cutting work) ด้วยเครื่อง Instron universal materials testing machine ใช้หัววัดใบมีด Noodle shear blade วัดทั้งหมด 15 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1 ครั้ง รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.4
- 3.7.4 ค่าสี ใช้เครื่องวัดสีระบบ CIE $L^*a^*b^*$ ด้วยเครื่อง Color Flex รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.5 และคำนวณหาค่าการเปลี่ยนแปลงสี (ΔE^*_{ab}) ตามวิธีของ Hunt (1998) ดังนี้

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

โดยที่

$\Delta L^* =$ ค่า L^* ของแคนตาลูปหลังผ่านการเก็บรักษา - ค่า L^* ของแคนตาลูปเริ่มต้น

$\Delta a^* =$ ค่า a^* ของแคนตาลูปหลังผ่านการเก็บรักษา - ค่า a^* ของแคนตาลูปเริ่มต้น

$\Delta b^* =$ ค่า b^* ของแคนตาลูปหลังผ่านการเก็บรักษา - ค่า b^* ของแคนตาลูปเริ่มต้น

- 3.7.5 การเกิดสีน้ำตาล (Baloch, Buckle and Edwards, 1973) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.12

- 3.7.6 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด ยีสต์และรา (Harrigan and McCance, 1976)

รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.13 และ ก.14

- 3.7.7 ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีการทดสอบการยอมรับ โดยใช้สเกลวัดระดับความชอบ 9 ระดับ ประเมินการยอมรับด้านสี ความคงรูปหรือการหดตัว การเกิดผลึกน้ำตาลที่ผิวหน้า ความชุ่มน้ำ และการยอมรับลักษณะปรากฏโดยรวมของผลิตภัณฑ์ ใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน 50 คน (Meilgaard et al., 2007) ตัวอย่างแบบทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงในภาคผนวก ข.3

ข้อ 3.7.1-3.7.3 และข้อ 3.7.5 วางแผนการทดลองแบบ CRD ทดลองสามซ้ำ และข้อ 3.7.7 วางแผนการทดลองแบบ RCBD วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของข้อมูล (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%