

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบ

มะละกอนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการวิจัยคือ มะละกอฟันธุ์แขกดำ ชื่อจากตลาดมหานาค (ในช่วง ปี พ.ศ 2549 ถึงเมษายน ปี พ.ศ 2551) น้ำหนักผลอยู่ระหว่าง 0.8-1.2 กิโลกรัม เปลือกมีสีเขียวเข้มปนเหลือง ผิวเรียบ จากนั้นนำมาบ่มในกล่องปิดฝาเป็นเวลาประมาณ 12-16 ชั่วโมง เมื่อบ่มแล้วจะมีระยะการสุกหนึ่งในสองซึ่งผิวผลประมาณครึ่งหนึ่งเปลี่ยนเป็นสีเหลืองในขณะที่อีกครึ่งหนึ่งยังคงเป็นสีเขียวอยู่ เนื้อภายในผลมีสีแดงอมชมพูตลอดทั้งผล

สารเคมี

สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี และกายภาพ

Acetic acid	Merck	A.R. grade
Ammonium molybdate	Univar	A.R. grade
Copper sulfate pentahydrate	Univar	A.R. grade
Hydrochloric acid	Carlo Erba	A.R. grade
Iodine	Univar	A.R. grade
Lanthanum oxide	Ajax	A.R. grade
Methylene blue	Merck	A.R. grade
Mercury chloride	Carlo Erba	A.R. grade
Nitric acid	Merck	A.R. grade
Potassium iodine	Merck	A.R. grade
Potassium hydrogen phthalate	Univar	A.R. grade
Potassium sodium tartrate	Univar	A.R. grade
Sodium bisulfite	Univar	A.R. grade
Sodium chloride	Univar	A.R. grade
Sodium hydroxide	Univar	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
สำหรับวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา		
Plate count agar	Merck	A.R. grade
Potato dextrose agar	Merck	A.R. grade
Sodium chloride	Univar	A.R. grade
Tartaric acid	Univar	A.R. grade
สำหรับใช้ในกระบวนการผลิต		
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 (Horiba รุ่น F-21, Japan)

Spectrophotometer (Perkin Elmer รุ่น Lamda 25, USA)

เครื่องวัดสี Color Flex (HunterLab Reston รุ่น 45/0, USA)

เครื่อง Instron's universal testing machines
(Instron Corporation รุ่น 5565, USA)

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

ตู้อบลมร้อน (Kobishi รุ่น BZ-17H, Japan)

เตาเผา (Carbolite รุ่น CWT 1200, UK)

เครื่องวัด Water activity (Decagon Devices รุ่น AquaLab 3.0, USA)

เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดหยาบ (Sartorius รุ่น BP 310s, Germany)

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

ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพของมะละกอ

ปมมะละกอที่ซื้อจากตลาดในกล่องพลาสติกปิดฝาเป็นเวลาประมาณ 12-16 ชั่วโมง ปมแล้วมีระยะเวลาการสุกหนึ่งในสองจากนั้นทำความสะอาดและปอกเปลือก นำมาตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีและกายภาพ ดังต่อไปนี้

- 3.1.1 ปริมาณความชื้น (A.O.A.C, 1995) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.1
- 3.1.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solids) โดยใช้ Hand refractometer
- 3.1.3 ค่าความเป็นกรด (titratable acidity) ในรูปกรดซิตริก (A.O.A.C, 1990) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.3
- 3.1.4 ค่าความแข็ง (hardness) โดยใช้เครื่อง Instron's universal testing machines ใช้หัวกด Puncture probe ขนาด 3 มิลลิเมตร (Test speed 1.5 มิลลิเมตรต่อวินาที) วัดค่าความแข็งใช้แรงเจาะทะลุ โดยหันมะละกอขนาด 1.5x1.5x3.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยวัดทั้งหมด 8 ตัวอย่าง หาค่า peak force (gf) จากกราฟ รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.4
- 3.1.5 ค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี Color Flex ในระบบ CIE L*a*b* แหล่งกำเนิดแสง D 65 มุมการมอง 10° ดังแสดงในภาคผนวก ก.5

3.2 ศึกษาการซึมเข้าของแคลเซียมคลอไรด์ในเนื้อมะละกอช่วงการแช่สารละลายผสมเพื่อปรับปรุงคุณภาพ (pretreatment)

ศึกษาผลของความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับต่าง ๆ และระยะเวลาในการแช่ต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของมะละกอ โดยเลือกมะละกอที่มีสมบัติทางเคมีและกายภาพใกล้เคียงกันเป็นวัตถุดิบโดยใช้เกณฑ์ในข้อ 3.1.2 และ 3.1.4 นำมะละกอมาปอกเปลือกแล้วหันเป็นชิ้นขนาด 1.5x1.5x3.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร แช่มะละกอในสารละลายผสมที่ประกอบด้วยกรดซิตริก 1.0%(w/v) โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 0.5%(w/v) และแคลเซียมคลอไรด์ที่แปรความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5% (w/v) อัตราส่วนของเนื้อมะละกอต่อสารละลายเป็น 1:3 เป็นเวลา 10 วัน ส่งตัวอย่างตรวจวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมที่เข้าไปในเนื้อมะละกอ ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยใช้วิธี atomic absorption spectrophotometry รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.7 และวัดความแข็งของเนื้อมะละกอโดยใช้เครื่อง Instron's universal testing machines รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.4 วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดย

ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1992) เลือกความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ และเวลาที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากปริมาณการซึมเข้าของแคลเซียมและลักษณะเนื้อสัมผัส ด้านความแข็งของเนื้อมะละกอ

3.3 ศึกษาผลของการใช้น้ำตาลอินเวิร์ตร่วมกับชูโครสที่มีต่อเวลาในการอบแห้งมะละกอ

นำมะละกอที่ผ่านการแช่สารละลายที่เลือกความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมจากข้อ 3.2 มาล้างน้ำเปล่า จากนั้นจึงเข้าสู่กระบวนการผลิตดังภาพที่ 3.1 โดยในสารละลายชูโครสความเข้มข้น 65 องศาบริกซ์ แปรเปอร์เซ็นต์น้ำตาลอินเวิร์ตเป็น 2 ระดับ คือ 0 และ 10% (v/v) ของสารละลายออสโมติกทั้งหมด (น้ำตาลอินเวิร์ตที่ใช้ในการทดลองเตรียมโดยเติมกรดซิตริก 5% (w/v) ในสารละลายชูโครสความเข้มข้น 65 องศาบริกซ์ และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน)

มะละกอ ล้างแล้วปอกเปลือก



ตัดแต่งขนาด 1.5x1.5x3.0 เซนติเมตร³ แช่ในสารละลายผสมระหว่างโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 0.5% กรดซิตริก 1.0% และใช้ความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ ที่ระดับและเวลาที่เลือกภาวะได้จากข้อ 3.2 อัตราส่วนสารละลายผสมต่อเนื้อมะละกอ เป็น 3:1



ล้างน้ำ



ต้มในน้ำเดือด เพื่อไล่ออกฟอสฟอรัส เป็นเวลา 15 นาที อัตราส่วนน้ำต่อเนื้อมะละกอเป็น 3:1



แช่ในสารละลายชูโครสที่ความเข้มข้น 35, 45, 55 และ 65 °Brix ความเข้มข้นละ 4 ชั่วโมง แปรเปอร์เซ็นต์น้ำตาลอินเวิร์ตในสารละลายชูโครสที่ความเข้มข้น 65 °Brix เป็น 2 ระดับ คือ 0% และ 10% อัตราส่วนเนื้อมะละกอต่อน้ำเชื่อมต่อเป็น 1:3 (w/v) อุณหภูมิเริ่มต้นของน้ำเชื่อม 55°C ระหว่างการออสโมซิสกวนทุก 1 ชั่วโมง



สะเด็ดน้ำเชื่อม 5 นาที ก่อนอบ

ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตมะละกอแช่อิ่ม

นำมาประกอบที่ผ่านการอบสโมคในสารละลายออสโมติกที่แปรอัตราส่วนน้ำตาลอินเวิร์ตในสารละลายซูโครสที่ความเข้มข้น 65 องศาบริกซ์ เป็น 2 ระดับ คือ 0% และ 10% (v/v) มาวางเรียงบนตะแกรงที่วางพาดบนถาดอะลูมิเนียม จากนั้นนำเข้าตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยบันทึกน้ำหนักของมะละกอทุก 1 ชั่วโมง ตั้งแต่เริ่มอบแห้งจนกระทั่งผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีความชื้นไม่เกิน 18%(w.b) และสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์เพื่อหาค่า a_w ทำการทดลอง 2 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการอบแห้งและอัตราส่วนความชื้น (Moisture ratio) เพื่อใช้พิจารณาระยะเวลาในการอบแห้งที่อุณหภูมิสูงในช่วงแรกก่อนจะลดอุณหภูมิลงในช่วงหลังสำหรับการอบแห้งแบบสองขั้นตอน ดังมีรายละเอียดในหัวข้อที่ 3.4

3.4 ศึกษาผลของน้ำตาลอินเวิร์ตร่วมกับซูโครสและอบแห้งโดยใช้อุณหภูมิในการอบแห้งสองระดับแบบต่อเนื่อง

ในการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากข้อ 3.3 นำข้อมูลมาคำนวณหาค่าอัตราส่วนความชื้น (MR) (Mandala และคณะ, 2005) และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง MR กับเวลาที่ใช้ในการอบแห้ง ซึ่งข้อมูลที่ได้จากกราฟใช้ในการพิจารณาเลือกจุดในการเปลี่ยนระดับอุณหภูมิอบแห้งในขั้นตอนที่สอง คำนวณอัตราส่วนความชื้นได้จาก

$$MR = \frac{M - M_0}{M_0 - M_e}$$

เมื่อ	MR	=	อัตราส่วนความชื้น (Moisture ratio)
	M	=	ปริมาณความชื้นที่เวลาใด ๆ (โดยน้ำหนักแห้ง)
	M_0	=	ปริมาณความชื้นเริ่มต้น (โดยน้ำหนักแห้ง)
	M_e	=	ปริมาณความชื้นที่สมดุล (โดยน้ำหนักแห้ง)

*ปริมาณความชื้นที่สมดุล (M_e) ในที่นี้จะใช้ค่าปริมาณความชื้นสุดท้ายในการอบแห้งผลิตภัณฑ์เพื่อให้มีค่า a_w ไม่เกิน 0.65

ระยะเวลาที่ใช้การอบแห้งในช่วงแรก จะพิจารณาจากระยะเวลาที่อัตราการอบแห้งเปลี่ยนจากอัตราการอบแห้งคงที่ไปเป็นอัตราการอบแห้งลดลง เมื่อได้ระยะเวลาสำหรับอบแห้งในช่วงแรกแล้ว การอบแห้งในช่วงที่สองจะแปรอุณหภูมิในการอบแห้งเป็น 50 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียส อบผลิตภัณฑ์ในช่วงที่สองนี้จนผลิตภัณฑ์มีค่า a_w เท่ากับ 0.65 โดยบันทึกค่า a_w ทุกชั่วโมง

โดยผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการอบแห้ง จะนำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในช่วงการเก็บรักษาต่อไป

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์มะละกอแช่อิ่มอบแห้งที่นำมาใช้ในการศึกษามีทั้งหมด 4 ตัวอย่าง ได้แก่ ก. ผลิตภัณฑ์มะละกอแช่อิ่มที่ไม่เติมน้ำตาลอินเวิร์ตและผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส, ข. ผลิตภัณฑ์มะละกอแช่อิ่มที่เติมน้ำตาลอินเวิร์ต 10% และผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส, ค. ผลิตภัณฑ์มะละกอแช่อิ่มที่เติมน้ำตาลอินเวิร์ต 10% และผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ตามด้วย 50 องศาเซลเซียส, ง. ผลิตภัณฑ์มะละกอแช่อิ่มที่เติมน้ำตาลอินเวิร์ต 10% และผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ตามด้วย 40 องศาเซลเซียส

3.5 ศึกษาผลของการใช้น้ำตาลอินเวิร์ตและการอบแห้งแบบสองขั้นตอนที่มีต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์มะละกอแช่อิ่มอบแห้งและการเปลี่ยนแปลงในช่วงการเก็บรักษา

นำผลิตภัณฑ์มะละกอแช่อิ่มอบแห้งจากข้อ 3.4 มาเก็บในถุง polypropylene ขนาด 6 เซนติเมตร \times 10 เซนติเมตร บรรจุผลิตภัณฑ์จำนวน 6 ชิ้นต่อถุง และปิดผนึกด้วยความร้อนในภาวะบรรยากาศปกติ เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 18 สัปดาห์ โดยตรวจสอบคุณภาพดังนี้

- 3.5.1 ปริมาณความชื้น (A.O.A.C, 1995) และค่า a_w สุ่มตัวอย่างมาตรวจสอบทุก 6 สัปดาห์ รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.1
- 3.5.2 ลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ โดยใช้เครื่อง Instron's universal testing machines ใช้หัววัดใบมีด Noodle Shear Blade สุ่มตัวอย่างมาตรวจสอบทุก 3 สัปดาห์ รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.4
- 3.5.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Somogyi, 1952) สุ่มตัวอย่างมาตรวจสอบทุก 3 สัปดาห์ รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.2
- 3.5.4 การเกิดสีน้ำตาล (Baloch และคณะ, 1973) สุ่มตัวอย่างมาตรวจสอบทุก 3 สัปดาห์ รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.8
- 3.5.5 ค่าสีของผลิตภัณฑ์ โดยใช้เครื่องวัดสี Color Flex ระบบ CIE $L^*a^*b^*$ แหล่งกำเนิดแสง D 65 มุมการมอง 10° สุ่มตัวอย่างมาตรวจสอบทุก 3 สัปดาห์ รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.5 และคำนวณหาค่าการเปลี่ยนแปลงสี (ΔE^*) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.6

- 3.5.6 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา (Harrigan และ McCance, 1976) สุ่มตัวอย่างมาตรวจสอบในสัปดาห์เริ่มต้นและสัปดาห์สุดท้ายของการเก็บรักษา รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.9 และ ก.10
- 3.5.7 ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบ acceptance test โดยดูความชอบด้านสี ลักษณะปรากฏ (การเกิดผลึกน้ำตาลของผลิตภัณฑ์) และการยอมรับโดยรวมต่อลักษณะปรากฏ ใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน จำนวน 2 ซ้ำ แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสดังแสดงในภาคผนวก

ในข้อ 3.5.1-3.5.4 วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และในข้อ 3.5.7 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยตาราง ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1992)