

### บทที่ 3

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

### วัสดุอุปกรณ์

#### วัตถุดิบ

- ♣ พลัมพันธุ์แดงบ้านหลวง
- ♣ แครอท
- ♣ บีท
- ♣ มะเขือเทศพันธุ์เชอร์รี่

#### อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตน้ำผักผสมผลไม้

- ♣ เครื่องบด (Crusher, ผลิตภายในประเทศ)
- ♣ เครื่องปั่น (Blender, National : Model MXT1PN , Taiwan)
- ♣ ตู้แช่แข็ง (Freezer, Sanyo : Model SFC 65 A, Thailand)
- ♣ อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, Memmert : Model WB14, Germany)
- ♣ เครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum pump, Thomas, USA)
- ♣ เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Analytical balance, Mettler : Model BB120 , Switzerland)
- ♣ เครื่องกรองเมมเบรน (Membrane Filtration, Sartorius : Model Sartocon II Plus, Germany)
- ♣ เครื่องปิดฝากระป๋อง (Seamer, ผลิตภายในประเทศ)
- ♣ กระป๋องพร้อมฝา (มูลนิธิโครงการหลวง)

### เครื่องกรองเมมเบรน

เครื่องกรองเมมเบรนที่ใช้ในการทดลองคือ เครื่องกรองยี่ห้อ Sartorius รุ่น Sartocan II Plus จากประเทศเยอรมัน เมมเบรนที่ใช้ในการทดลอง คือ Sartobran P (Mini cartridge)

#### ส่วนประกอบและคุณสมบัติของ Sartobran P

- Pleating Construction ประกอบด้วย
  - Protective polypropylene layer
  - Reinforced cellulose acetate membrane
  - Reinforced cellulose acetate membrane
  - Polypropylene drainage layer
- Material
  - Capsule housing, outer support, core and endcaps : polypropylene
- มี pore size ขนาด 0.45 / 0.2  $\mu$  ประกอบด้วยเมมเบรน 2 ชั้น ชั้นที่ 1 ทำหน้าที่เป็น prefilter มี pore size ขนาด 0.45  $\mu$  ชั้นที่ 2 อยู่ด้านในทำหน้าที่เป็น final filter มี pore size ขนาด 0.2  $\mu$
- สามารถนึ่งฆ่าเชื้อได้ (autoclaved cartridge)
- มีพื้นที่ผิวการกรอง 0.2 ตารางเมตร

เพื่อให้เครื่องเกิดการกรองแบบ Dead-end filtration ต้องประกอบเครื่องตามภาพที่ ก.9 ในภาคผนวก ก ก่อนทำการกรองทุกครั้งจะต้องทำเมมเบรนให้เปียก หากเมมเบรนที่ใช้เป็นชนิด hydrophilic membrane การทำให้เปียก จะใช้น้ำดีไอออไนซ์ (DI water) หากเป็นเมมเบรนชนิด hydrophobic membrane ต้องทำให้เปียกด้วยไอโซโพรพานอล ร้อยละ 60 หรือเอทิลแอลกอฮอล์ ร้อยละ 60 ในการทดลองนี้ใช้น้ำดีไอออไนซ์ในการทำให้เปียก ด้วยการ circulate น้ำผ่านเมมเบรน ประมาณ 5 นาที

สำหรับเมมเบรนที่จะใช้งาน ต้องทำการฆ่าเชื้อโดยใช้ไอน้ำหรือ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ส่วนเครื่องกรองเมมเบรนจะทำการฆ่าเชื้อด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 circulate เป็นเวลา 5 นาที น้ำผักผสมผลไม้ก่อนนำมากรองด้วย

Sartobran P ที่มี pore size ขนาด 0.2  $\mu$  จำเป็นต้องผ่านการกรองแบบทยาบหรือ prefiltration ด้วยเมมเบรนที่มี pore size ขนาด 20  $\mu$  ก่อนเพื่อเป็นการกำจัดอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ออกไป เพื่อป้องกันการเกิด concentration polarization ในระหว่างการกรองด้วยเมมเบรน 0.2  $\mu$  และเพื่อยืดอายุการใช้งานของเมมเบรนด้วย

### อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

#### 1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- ♣ เครื่องวัดสี (Minolta Camera : Model CR-310, Japan และ HunterLab : ColorQuest II Colorimeter, USA)
- ♣ เครื่องวัดความหนืด (Ostwald viscometer, ผลิตภายในประเทศ)
- ♣ เครื่องวัดความขุ่น (Turbidimeter, HACH : Model 2100A, Germany)

#### 2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- ♣ เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Microprocessor pH meters, Hanna Instruments: Model HI1131, USA)
- ♣ เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Hand refractometer, Atago : Model N1 Brix1~ 32%, Japan)
- ♣ เครื่องกวนผสมแบบแม่เหล็กไฟฟ้า (Magnetic stirrer)
- ♣ อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, Memmert : Model WB14, Germany)
- ♣ เครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum pump, Thomas, USA)

#### 3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- ♣ หม้อนึ่งความดัน (Autoclave, Hirayama : Model HA-300MIV , Japan)
- ♣ ตู้บ่มเชื้อ (Incubator, Heraeus : Model D-6450 Hanau , Germany)
- ♣ อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, Memmert : Model WB14, Germany)

#### 4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- ♣ ชุดอุปกรณ์ทดสอบชิม
- ♣ แบบสอบถาม

#### สารเคมี

- ♣ เอนไซม์เพคตินเอส (Pectinex Ultra SP-L, Switzerland)
- ♣ กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid ; food grade, OV Chemical & Supply Ltd.Part.)
- ♣ กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid ; Analytical grade, Merch, Germany)
- ♣ ซูโครส (sucrose ; food grade)
- ♣ โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride ; food grade)
- ♣ กรดอะซิติก (acetic acid ;  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , J.T. Baker, USA)
- ♣ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide ;  $\text{NaOH}$ , Fluka, Germany)
- ♣ โบแทสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (potassium hydrogen phthalate ;  $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$ , Fluka , Germany)
- ♣ ฟีนอล์ฟทาเลน (phenolphthalene ;  $\text{C}_{20}\text{H}_{10}\text{O}_4$ , Fluka , Germany)
- ♣ คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตาไฮเดรต (copper sulfate pentahydrate ;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , AnalaR, England)
- ♣ โซเดียมโบแทสเซียมทาร์เตรต (sodium potassium tartrate ;  $\text{NaKC}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  , Merck , Germany)
- ♣ เมธิลีนบลู (methylene blue ;  $(\text{CH}_2)_2\text{NC}_6\text{H}_3\text{N}:\text{C}_6\text{H}_3[\text{N}(\text{CH}_3)_2]:\text{SCL} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  , J.T. Baker , USA)
- ♣ โบแทสเซียมโครเมต (potassium chromate ;  $\text{K}_2\text{CrO}_4$ , AnalaR, England)
- ♣ โบแทสเซียมไดโครเมต (potassium dichromate ;  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , AnalaR, England)
- ♣ เงินไนเตรต (silver nitrate ;  $\text{AgNO}_3$ , Merch, Germany)
- ♣ กรดออกซาลิก (oxalic acid ;  $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , Carlo Erba Reagenti, Germany)

- ♣ 2,6- ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอล ( 2, 6 - dichlorophenolindophenol ;  $C_{12}H_6Cl_2NnaO_2 \cdot 2H_2O$ , Merch, Germany)
- ♣ Plate Count Agar (Becto<sup>®</sup> Plate Count Agar, Difco Laboratory, USA)
- ♣ Potato Dextrose Agar (Becto<sup>®</sup> Potato Dextrose Agar, Difco Laboratory, USA)
- ♣ กรดตาร์ทาริก (tartaric acid ;  $HOOC(CHOH)_2COOH$ , Carlo Erba Reagenti, Germany)
- ♣ เปปโตน ( Becto<sup>®</sup> Peptone, Difco Laboratory, USA)
- ♣ Brilliant green lactose bile broth (Becto<sup>®</sup> Brilliant green lactose bile broth, Difco Laboratory, USA)
- ♣ เอธิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 70

#### เครื่องประมวลผลข้อมูลทางสถิติ

- ♣ เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล
- ♣ โปรแกรมสำเร็จรูป POM
- ♣ โปรแกรมสำเร็จรูป Statistix version 4.0
- ♣ โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft excel
- ♣ โปรแกรมสำเร็จรูป Mathcad 7 professional
- ♣ โปรแกรมสำเร็จรูป Sigmaplot 2000

#### วิธีการทดลอง

##### การสร้างเค้าโครงผลิตภัณฑ์

ก่อนที่จะทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำผักผสมผลไม้หรือผลิตภัณฑ์ใด ๆ ขึ้นนั้น จำเป็นต้องมีการสร้างเค้าโครงผลิตภัณฑ์ เพื่อหาคุณลักษณะที่สำคัญตามความคิดของผู้บริโภค ซึ่งวิธีการสร้างเค้าโครงผลิตภัณฑ์นั้นสามารถใช้หลักการของ Ideal Ratio Profile ได้

Ideal Ratio Profile Test เป็นวิธีการทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์ เพื่อดูลักษณะผลิตภัณฑ์ ด้วยค่าสัดส่วน เป็นวิธีการที่ให้ผู้บริโภคแสดงความเข้ม หรือความมากน้อยของลักษณะคุณภาพ ทางด้านประสาทสัมผัสที่มีต่อผลิตภัณฑ์ โดยผู้บริโภคจะเป็นผู้กำหนดลักษณะของผลิตภัณฑ์เอง ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่กำลังพัฒนามีเค้าโครงลักษณะที่เหมือนหรือคล้ายกับที่ผู้บริโภคต้องการ เค้าโครงลักษณะที่ผู้บริโภคชอบหรือต้องการที่สร้างขึ้น จะเป็นแนวทางในการเปรียบเทียบกับ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่กำลังพัฒนา ในการทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์ จำเป็นต้องมีตัวอย่าง ผลิตภัณฑ์เพื่อเป็นแนวทางในการสร้างเค้าโครง ซึ่งในกรณีนี้ใช้น้ำผักผสมผลไม้ที่มีอยู่ในท้องตลาด ตรายูนิฟ โดยผู้บริโภคแต่ละคนอาจจะให้ Ideal product profile ที่ต่างกัน แต่ Ratio profile ที่ได้ จากค่าเฉลี่ยของสัดส่วน (Ratio) ของแต่ละคนสามารถนำมาใช้เป็นค่าความคิดผลิตภัณฑ์คงที่ (Fixed ideal) เพื่อใช้เป็นเกณฑ์หรือทิศทางในการเปรียบเทียบต่อไป

ค่าคะแนนที่ผู้บริโภคแต่ละคนให้กับลักษณะแต่ละอย่างของผลิตภัณฑ์ จะกำหนดให้เป็น ตัวตั้งและหารด้วยค่าคะแนนที่ถูกกำหนดว่าดีที่สุดหรือดีเลิศ หรือ Ideal หรือคะแนนที่เหมาะสมกับ ความต้องการของผู้บริโภค ซึ่งจะได้สัดส่วน (Ratio) ของแต่ละคน นำค่าดังกล่าวมาหาค่าเฉลี่ย จะ ได้ค่าสัดส่วนเฉลี่ย (Ratio mean score) ค่าสัดส่วนเฉลี่ยที่ได้ของแต่ละลักษณะจะนำมาพิจารณา เปรียบเทียบได้ง่ายกับเค้าโครงลักษณะที่ต้องการ ซึ่งเป็นค่าสัดส่วนเท่ากับ 1.00 ภาพรวมจากค่า สัดส่วนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะเรียกว่า Numerical product profile จากนั้นนำค่าสัดส่วนเฉลี่ย ดังกล่าวมาสร้างเป็นรูปเค้าโครงลักษณะรูปวงกลมไขว้ (Cyclic profile)

ในการทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์น้ำผักผสมผลไม้เพื่อทำการพัฒนานี้ ให้ผู้บริโภคจำนวน 15 คน โดยให้ผู้บริโภคเป็นผู้กำหนดลักษณะคุณภาพที่ผู้บริโภคคิดว่าสำคัญสำหรับผลิตภัณฑ์ ชนิดนี้ และใช้น้ำผักผสมผลไม้ตรายูนิฟเป็นตัวอย่างในการทดสอบ จากนั้นจึงทำการสร้างกราฟ เค้าโครงผลิตภัณฑ์ในลักษณะไขว้วงกลมขึ้นเพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาต่อไป

## การเตรียมน้ำผักและน้ำผลไม้

### การเตรียมน้ำพลัม

นำพลัมสดมาล้างด้วยน้ำสะอาด คัดเลือกผลที่มีคุณลักษณะดีไม่เน่าเสียหรือมีตำหนิ โดยนำมาต้มในน้ำเดือดประมาณ 7-10 นาที หรือจนกระทั่งเปลือกของพลัมเริ่มหลุดออกจากผล นำมาแช่ในน้ำเย็น แล้วยีที่ผิวเพื่อแยกเอาเปลือกออก ทำการแยกเอาเมล็ดออกด้วย นำเนื้อพลัมที่ได้เข้าเครื่องบด (crusher) บดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ในการเตรียมน้ำพลัม จะเติมน้ำลงในเนื้อพลัมตีป่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 (โดยน้ำหนัก) เพื่อลดความหนืดและเพื่อให้สะดวกในการกรอง เติมน้ำมันพืชเพื่อลดกลิ่นเหม็นเปรี้ยว ทำการบดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยปริมาณของน้ำมันพืชและเวลาที่ใช้ในการบดจะได้จากการทดลองในตอนที่ 1 เมื่อครบตามเวลาแล้ว นำน้ำพลัมมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 90 วินาที เพื่อยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์เพคตินเนสและทำลายจุลินทรีย์บางส่วน ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ (suction pump) บรรจุในถุงเย็น (โพลีเอทิลีน) แล้วนำไปแช่แข็ง

### การเตรียมน้ำมะเขือเทศเชอร์รี่

นำมะเขือเทศพันธุ์เชอร์รี่มาล้างด้วยน้ำสะอาด คัดผลที่เน่าเสียและเป็นโรคออก นำเข้าเครื่องบด (crusher) เพื่อให้มีขนาดชิ้นเล็กลง เติมน้ำมันพืชเพื่อลดกลิ่นเหม็นเปรี้ยว บดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยปริมาณของน้ำมันพืชและเวลาที่ใช้ในการบดจะได้จากการทดลองในตอนที่ 1 เมื่อบดครบตามเวลาแล้ว นำน้ำมะเขือเทศมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วินาที เพื่อยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์เพคตินเนสและทำลายจุลินทรีย์บางส่วน ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ (suction pump) บรรจุในถุงเย็น (โพลีเอทิลีน) จึงนำไปแช่แข็ง

### การเตรียมน้ำบีท

นำหัวบีทมาล้างด้วยน้ำสะอาด ปอกเปลือก ตัดแต่งส่วนที่เน่าเสียออก หั่นบีทเป็นชิ้น นำไปนึ่ง นาน 4 นาที เพื่อยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ betacyanine decolorizing แล้วทำให้เย็นลง การเตรียมน้ำบีท จะเติมน้ำลงไปให้เนื้อบีท ในอัตราส่วน 4 ต่อ 1 (โดยน้ำหนัก) หรือความเข้มข้น

ร้อยละ 20 บ่มให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (blender) แล้วเติมเอนไซม์เพคตินเนส นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยปริมาณของเอนไซม์เพคตินเนสและเวลาที่ใช้ในการบ่มจะได้จากการทดลองในตอนที่ 1 เมื่อบ่มครบตามเวลาแล้ว นำน้ำบีทมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วินาที เพื่อยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์เพคตินเนสและทำลายจุลินทรีย์บางส่วน ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ (suction pump) บรรจุในถุงเย็น (โพลีเอทิลีน) จึงนำไปแช่แข็ง

### การเตรียมน้ำแครอท

นำแครอทมาล้างด้วยน้ำสะอาด ทำการปอกเปลือกแล้วนำไปต้มใน 0.05 N สารละลายกรดอะซิติก ทำให้เย็น หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ในการเตรียมน้ำแครอทนั้นจะเติมน้ำลงไปผสมกับเนื้อแครอทในอัตราส่วนน้ำต่อแครอท เท่ากับ 4 ต่อ 1 (โดยน้ำหนัก) หรือความเข้มข้นร้อยละ 20 เติมเอนไซม์เพคตินเนส บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยปริมาณของเอนไซม์เพคตินเนสและเวลาที่ใช้ในการบ่มจะได้จากการทดลองในตอนที่ 1 เมื่อบ่มครบตามเวลาแล้ว นำน้ำแครอทมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 90 วินาที เพื่อยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์เพคตินเนสและทำลายจุลินทรีย์บางส่วน ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ (suction pump) บรรจุในถุงเย็น (โพลีเอทิลีน) จึงนำไปแช่แข็ง

### การวางแผนการทดลอง

การทดลองแบ่งออกเป็น 5 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของเอนไซม์เพคตินเนสต่อการสกัดน้ำผักและน้ำผลไม้

ตอนที่ 1.1 ศึกษาผลของการใช้เอนไซม์เพคตินเนสต่อการสกัดน้ำผักและน้ำผลไม้

เติมเอนไซม์เพคตินเนสลงในน้ำผักและน้ำผลไม้แต่ละชนิด (น้ำพลัม น้ำมะเขือเทศ น้ำบีท และน้ำแครอท) โดยความเข้มข้นของเอนไซม์เพคตินเนสที่ใช้ คือ ร้อยละ 0.0, 0.2, 0.4 และ 0.6 (ปริมาตร/น้ำหนัก) ในการทดลองใช้น้ำผักหรือน้ำผลไม้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แต่ละสิ่งทดลองมีจำนวนซ้ำเท่ากับ 3 นำน้ำผักหรือน้ำผลไม้ที่ทดลองไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส คนอย่าง



สม่ำเสมอ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทำการยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์เพคตินเนสในน้ำเดือดนาน 10 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว กรองผ่านกระดาษกรอง เบอร์ 2 ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ (suction pump) ที่ความดัน 23 นิ้วปรอท น้ำผักและน้ำผลไม้ที่ได้นำมาหาค่าร้อยละของปริมาณผลผลิต (%Yield) และวัดความหนืดด้วย Ostwald viscometer โดยทำการวัดความหนืดเทียบกับ น้ำกลั่น ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

### ตอนที่ 1.2 ศึกษาหาความเข้มข้นของเอนไซม์เพคตินเนสและเวลาที่ใช้ในการบ่มที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำผักและน้ำผลไม้

การทดลองในขั้นตอนนี้ผ่านมา ทำให้ทราบแนวโน้มของการใช้เอนไซม์เพคตินเนสเพื่อสกัดน้ำผักและน้ำผลไม้แต่ละชนิด โดยถ้าเอนไซม์เพคตินเนสสามารถเพิ่มปริมาณร้อยละของผลผลิต หรือสามารถลดความหนืดลง จะทำการศึกษาในขั้นนี้ต่อไป โดยจะศึกษาปริมาณเอนไซม์เพคตินเนส และเวลาในการบ่มที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำผักและน้ำผลไม้แต่ละชนิด แผนการทดลองที่ใช้ในการทดลองตอนนี้ คือ  $2^2$  Factorial experiment with 3 center points โดยกำหนดให้

ปัจจัย A คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์เพคตินเนส (ร้อยละ (ปริมาตร/น้ำหนัก)) โดย

-1 แทน ระดับต่ำ

0 แทน จุดกึ่งกลาง

1 แทน ระดับสูง

ปัจจัย B คือ เวลาที่ใช้ในการบ่ม (นาที) โดย

-1 แทน ระดับต่ำ

0 แทน จุดกึ่งกลาง

1 แทน ระดับสูง

สิ่งทดลองทั้งหมดแสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สิ่งทดลองของแผนการทดลอง  $2^2$  Factorial experiment with 3 center points

สิ่งทดลองที่	ปัจจัย A	ปัจจัย B
1 (1)	-1	-1
2 (a)	1	-1
3 (b)	-1	1
4 (ab)	1	1
5 (cp <sub>1</sub> )	0	0
6 (cp <sub>2</sub> )	0	0
7 (cp <sub>3</sub> )	0	0

หมายเหตุ

ปัจจัย A ความเข้มข้นของเอนไซม์เพคตินเอส

สำหรับน้ำผลไม้และน้ำแครอท

ระดับต่ำ ร้อยละ 0.1 (ปริมาตร/น้ำหนัก)

ระดับกลาง ร้อยละ 0.2 (ปริมาตร/น้ำหนัก)

ระดับสูง ร้อยละ 0.3 (ปริมาตร/น้ำหนัก)

สำหรับน้ำมะเขือเทศและน้ำบีท

ระดับต่ำ ร้อยละ 0.3 (ปริมาตร/น้ำหนัก)

ระดับกลาง ร้อยละ 0.4 (ปริมาตร/น้ำหนัก)

ระดับสูง ร้อยละ 0.5 (ปริมาตร/น้ำหนัก)

ปัจจัย B เวลาที่ใช้ในการบ่ม

ระดับต่ำ 120 นาที

ระดับกลาง 150 นาที

ระดับสูง 180 นาที

นำสิ่งทดลองไปป้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนครบตามเวลาที่กำหนด นำมาหาค่าร้อยละของปริมาณผลผลิต (%Yield) และวัดความหนืด โดยใช้ Ostwald viscometer ข้อมูลที่ได้จะนำมาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาสมการถดถอยโดยใช้โปรแกรม Statistix version 4.0 สมการที่ได้สามารถใช้หาปริมาณเอนไซม์เพคตินเอส และเวลาในการบ่มที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำผักและน้ำผลไม้แต่ละชนิด

## ตอนที่ 2 การหาอัตราส่วนน้ำผักและน้ำผลไม้ที่เหมาะสมที่จะใช้ในสูตรการผลิต

การทดลองนี้จะหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำผลไม้ น้ำมะเขือเทศ น้ำบีท และน้ำแครอท เพื่อให้ได้สูตรน้ำผักผสมผลไม้ที่ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุด โดยใช้แผนการทดลองแบบ Mixture Design ซึ่งเป็นแผนการทดลองที่ใช้ในการหาส่วนผสมของสูตร โดยใช้หลักการที่ว่า เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของส่วนประกอบใด ส่วนประกอบที่เหลือในสูตรจะต้องมีการเปลี่ยนแปลง

ด้วย และผลรวมของส่วนประกอบทั้งหมดต้องเท่ากับ 1.0 หรือ ร้อยละ 100 (ไพโรจน์, 2536) ในการทดลองจะกำหนดระดับต่ำ (Low level) และระดับสูง (High level) ของน้ำผักและน้ำผลไม้ ทั้ง 4 ชนิด และใช้โปรแกรม XVERT ในการเลือกสิ่งทดลองที่อยู่ในพื้นที่ที่เป็นไปได้ (feasible area) โดยอัตราส่วนน้ำผักและน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิดจะกำหนดให้อยู่ในช่วงระดับต่ำและระดับสูงดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ค่าของระดับต่ำและระดับสูงของอัตราส่วนน้ำผักและน้ำผลไม้

น้ำผัก/น้ำผลไม้	ระดับต่ำ (ร้อยละ)	ระดับสูง (ร้อยละ)
น้ำพลัม	30	60
น้ำมะเขือเทศ	15	35
น้ำบีท	10	30
น้ำแครอท	30	50

ผลของ Mixture Design ที่ประกอบด้วยตัวแปร 4 ตัวที่ได้จากโปรแกรม XVERT สามารถเลือกนำมาใช้เป็นสิ่งทดลองได้ ดังแสดงในตารางที่ 3.3

ตาราง 3.3 สิ่งทดลองของ Mixture Design ที่ประกอบด้วยตัวแปร 4 ตัว

สิ่งทดลองที่	น้ำพลัม (ร้อยละ)	น้ำมะเขือเทศ (ร้อยละ)	น้ำบีท (ร้อยละ)	น้ำแครอท (ร้อยละ)
1	45	15	10	30
2	30	15	10	45
3	30	30	10	30
4	30	15	25	30

นำสิ่งทดลองที่ได้ไปทำการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์น้ำผักผสมผลไม้ โดยกำหนดให้ส่วนผสมอื่น ๆ ที่เหลือในสูตรคงที่ ทำการผลิตตามกระบวนการผลิตน้ำผลไม้พื้นฐาน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะนำไปวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี และทางประสาทสัมผัส ดังต่อไปนี้

### การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ (Physical Analysis)

- ค่าสี (Color) โดยใช้ Chroma Meter : CR-310, Instruction Manual, Minolta Camera Co., Ltd., 1991

### การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี (Chemical Analysis)

- ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ (Total titratable acidity) ตามวิธีของ International Federation of Fruit Juice Producers, 1962
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solids) ตามวิธีของ AOAC, 1995

### การทดสอบทางประสาทสัมผัส (Sensory Evaluation)

การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสจะใช้ Ideal ratio profile ซึ่งวิธีนี้จะสามารถอธิบายคุณสมบัติทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ ในแง่การเปรียบเทียบเชิงปริมาณของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาให้เป็นที่ยอมรับมากที่สุด (ไพโรจน์, 2536)

ในการทดสอบชิมจะใช้ผู้ทดสอบจำนวน 8 - 10 คน ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่จะทดสอบชิมต้องทำให้เย็นจึงเทใส่ในถ้วยแก้วใส ที่มีรหัสเป็นตัวเลข 3 ตัว ซึ่งสุ่มได้จากตารางสุ่มตัวอย่าง ลักษณะ (attributes) ที่ทำการทดสอบ ได้แก่ สีที่ปรากฏ กลิ่น ความใส รสหวาน รสเปรี้ยว และการยอมรับโดยรวม

### การวิเคราะห์และประเมินผลทางด้านสถิติ (Statistic Analysis)

ขั้นตอนนี้ใช้โปรแกรม Statistix version 4.0 และโปรแกรมเชิงเส้น POM

### ตอนที่ 3 การหาปริมาณส่วนผสม (น้ำตาลซูโครส เกลือและกรดแอสคอร์บิก) ที่เหมาะสม

เมื่อได้อัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำผักและน้ำผลไม้เพื่อใช้ในการผลิตแล้ว จะทำการศึกษาเพื่อหาปริมาณส่วนผสมที่จะใช้ในสูตรต่อไป ได้แก่ น้ำตาลซูโครส เกลือ และกรดแอสคอร์บิก การทดลองนี้มีการวางแผนการทดลองแบบ  $2^3$  Factorial experiment with 3 center points โดยกำหนดให้

ปัจจัย A คือ น้ำตาลซูโครส

$a_1$  = ร้อยละ 12.03 เป็นระดับต่ำ

cp = ร้อยละ 15 เป็นจุดกึ่งกลาง

$a_2$  = ร้อยละ 17.97 เป็นระดับสูง

ปัจจัย B คือ เกลือ

$b_1$  = ร้อยละ 0.06 เป็นระดับต่ำ

cp = ร้อยละ 0.075 เป็นจุดกึ่งกลาง

$b_2$  = ร้อยละ 0.09 เป็นระดับสูง

ปัจจัย C คือ กรดแอสคอร์บิก

$c_1$  = ร้อยละ 0.34 เป็นระดับต่ำ

cp = ร้อยละ 0.4 เป็นจุดกึ่งกลาง

$c_2$  = ร้อยละ 0.46 เป็นระดับสูง

จะได้สูตรสำหรับการผลิตทั้งหมด 11 สูตร แสดงดังตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 สูตรการผลิตสำหรับแผนการทดลอง  $2^3$  Factorial experiment with 3 center points

สูตร	น้ำตาลซูโครส (ร้อยละ)	เกลือ (ร้อยละ)	กรดแอสคอร์บิก (ร้อยละ)
1 (1)	12.03	0.06	0.34
2 (a)	17.97	0.06	0.34
3 (b)	12.03	0.09	0.34
4 (ab)	17.97	0.09	0.34
5 (c)	12.03	0.06	0.46
6 (ac)	17.97	0.06	0.46
7 (bc)	12.03	0.09	0.46
8 (abc)	17.97	0.09	0.46
9 (cp <sub>1</sub> )	15.00	0.075	0.40
10 (cp <sub>2</sub> )	15.00	0.075	0.40
11 (cp <sub>3</sub> )	15.00	0.075	0.40

โดยอัตราส่วนระหว่างน้ำพลัม น้ำมะเขือเทศ น้ำเป็ด และน้ำแครอทที่ใช้ในการทดลอง ได้จากการทดลองในขั้นที่ผ่านมา สูตรทุกสูตรจะผลิตตามกระบวนการผลิตพื้นฐาน และผลิตภัณฑ์ที่ได้จะถูกนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัส ข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์จะนำมาทำการวิเคราะห์ทางด้านสถิติต่อไปเพื่อหาปริมาณส่วนผสมที่เหมาะสม

#### การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ (Physical Analysis)

- ค่าสี (Color) โดยใช้ Chroma Meter : CR-310, Instruction Manual, Minolta Camera Co., Ltd., 1991

#### การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี (Chemical Analysis)

- ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ (Total titratable acidity) ตามวิธีของ International Federation of Fruit Juice Producers, 1962

- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solids) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณเกลือ (Sodium chloride) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนและหลังอินเวอร์ชัน (Reducing sugars) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณน้ำตาลซูโครส (Sucrose) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณวิตามินซี (Ascorbic acid) ตามวิธีของ AOAC, 1995

#### การทดสอบทางประสาทสัมผัส (Sensory Evaluation)

การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสจะใช้ Ideal ratio profile ซึ่งวิธีนี้จะสามารถอธิบายคุณสมบัติทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ ในแง่การเปรียบเทียบเชิงปริมาณของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาให้เป็นที่ยอมรับมากที่สุด (ไพโรจน์, 2536)

ในการทดสอบชิมจะใช้ผู้ทดสอบจำนวน 8 - 10 คน ตัวอย่างที่จะทดสอบจะเก็บในสภาพเย็นและบรรจุในถ้วยใสที่ใสรหัสเป็นตัวเลข 3 ตัว ที่สุ่มตัวอย่างจากตารางสุ่มตัวอย่าง ลักษณะ (attributes) ที่ทำการทดสอบ ได้แก่ สีที่ปรากฏ กลิ่น ความใส รสหวาน รสเปรี้ยว รสเค็ม และการยอมรับโดยรวม

#### การวิเคราะห์และประเมินผลทางด้านสถิติ (Statistic Analysis)

ใช้โปรแกรม Stastitix version 4.0 และโปรแกรมสำเร็จรูป Mathcad 7 professional

#### ตอนที่ 4 ศึกษาผลของการกรองด้วยเมมเบรนต่อคุณภาพของน้ำผักผสมผลไม้

เมื่อพัฒนาสูตรน้ำผักผสมผลไม้จนได้สูตรที่เหมาะสมและเป็นที่ยอมรับแก่ผู้บริโภคแล้ว การทดลองในขั้นนี้ จะทำการศึกษาผลของการกรองโดยใช้เมมเบรนต่อคุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาของน้ำผักผสมผลไม้ เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เมมเบรนในการผลิตเครื่องดื่มดังกล่าว โดยนำน้ำผักผสมผลไม้มาผ่านกระบวนการ MF และทำการเก็บข้อมูลระหว่างการ operate ได้แก่ การวัด Permeate flux ( $L/m^2/hr$ ) ที่เก็บได้ในเวลา 1 นาที โดยใช้กระบอกตวง และนาฬิกาจับเวลา ทำการวัด flux ทุก ๆ 2 นาทีตลอดการทดลอง

นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาทำการวิเคราะห์คุณภาพเปรียบเทียบกับน้ำผักผสมผลไม้ก่อนเข้า MF โดยคุณภาพที่ทำการวิเคราะห์แบ่งเป็น

#### การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ (Physical Analysis)

- ค่าสี (Color) โดยใช้ ColorQuest II Colorimeter : Hunter Associates Laboratories Inc., 1997
- ความขุ่น (Turbidity) โดยใช้ Turbidimeter : HACH Model 2100 A
- ความหนืด (Viscosity) โดยใช้ Ostwald viscometer

#### การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี (Chemical Analysis)

- ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ (Total titratable acidity) ตามวิธีของ International Federation of Fruit Juice Producers, 1962
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solids) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณเกลือ (Sodium chloride) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนและหลังอินเวอร์ชัน (Reducing sugars) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณน้ำตาลซูโครส (Sucrose) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณวิตามินซี (Ascorbic acid) ตามวิธีของ AOAC, 1995

#### การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา (Microbiological Analysis)

- เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) โดยวิธี pour plate (เรณู, 2537)
- เชื้อยีสต์และรา (Yeast and Mold) โดยวิธี pour plate (เรณู, 2537)
- Coliforms และ E. coli (เรณู, 2537)

#### การวิเคราะห์และประเมินผลทางด้านสถิติ (Statistic Analysis)

ใช้โปรแกรม Sigmaplot 2000 และ Statistix version 4.0



## ตอนที่ 5 ผลของกระบวนการผลิตต่อคุณภาพของน้ำผักผสมผลไม้

ขั้นตอนนี้จะทำการเปรียบเทียบกระบวนการผลิตทั้งสองแบบ คือ แบบใช้เมมเบรน (MF) และแบบดั้งเดิมคือการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพของน้ำผักผสมผลไม้ที่ได้จากกระบวนการผลิตที่ต่างกัน การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ผลิตรสชาติที่ได้จากทั้งสองกระบวนการจะนำการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี จุลชีววิทยา และประสาทสัมผัส เพื่อศึกษาผลของกระบวนการผลิตต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ในด้านที่กล่าวมา

### การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ (Physical Analysis)

- ค่าสี (Color) โดยใช้ ColorQuest II Colorimeter : Hunter Associates Laboratories Inc., 1997
- ความขุ่น (Turbidity) โดยใช้ Turbidimeter : HACH Model 2100 A
- ความหนืด (Viscosity) โดยใช้ Ostwald viscometer

### การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี (Chemical Analysis)

- ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ (Total titratable acidity) ตามวิธีของ International Federation of Fruit Juice Producers, 1962
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solids) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณเกลือ (Sodium chloride) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนและหลังอินเวอร์ชัน (Reducing sugars) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณน้ำตาลซูโครส (Sucrose) ตามวิธีของ AOAC, 1995
- ปริมาณวิตามินซี (Ascorbic acid) ตามวิธีของ AOAC, 1995

### การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา (Microbiological Analysis)

- เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) โดยวิธี pour plate (เรณู, 2537)
- เชื้อยีสต์และรา (Yeast and Mold) โดยวิธี pour plate (เรณู, 2537)
- Coliforms และ E. coli (เรณู, 2537)

### การทดสอบทางประสาทสัมผัส (Sensory Evaluation)

การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสจะใช้ Ideal ratio profile ซึ่งวิธีนี้จะสามารถอธิบายคุณสมบัติทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ ในแง่การเปรียบเทียบเชิงปริมาณของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาให้เป็นที่ยอมรับมากที่สุด (ไพโรจน์, 2536)

ในการทดสอบชิมจะใช้ผู้ทดสอบจำนวน 8 - 10 คน ตัวอย่างที่ทดสอบชิมจะเก็บในสภาพเย็นและบรรจุในถ้วยแก้วใส ที่ใส่รหัสเป็นตัวเลข 3 ตัว ซึ่งสุ่มตัวอย่างจากตารางสุ่มตัวอย่างลักษณะ (attributes) ที่ทำการทดสอบ ได้แก่ สีที่ปรากฏ กลิ่น ความใส รสหวาน รสเปรี้ยว รสเค็ม และการยอมรับโดยรวม

### การวิเคราะห์และประเมินผลทางด้านสถิติ (Statistic Analysis)

ใช้โปรแกรม Sigmaplot 2000, Microsoft Excel 2000 และ Statistix version 4.0