

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

#### 3.1 วัตถุดิบ อุปกรณ์และสารเคมี

##### 3.1.1 วัตถุดิบ

- (1) ใบมะกรูด จากตลาดเมืองใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

##### 3.1.2 อุปกรณ์

- (1) ตู้อบพลังงานแสงอาทิตย์ (สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่)
- (2) ตู้อบลมร้อนแบบถาด (Memmert, Model 600, Germany)
- (3) ตู้อบไมโครเวฟสุญญากาศแบบถังหมุน (มาร์ชคูล, ประเทศไทย)
- (4) เครื่องร่อนแบบสั่น (Sieve shakers, Retsh, Germany)
- (5) Gas chromatography (SHIMADZU, Model GC-2010, Japan) , FID Detector ใช้คอลัมน์ DB-1 ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางคอลัมน์ 0.25 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร
- (6) SPME-fiber (divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane-DVB/CAR/PDMS) พร้อม SPME Holder
- (7) เครื่องปิดผนึกสุญญากาศ (Vacuum sealer, Model J-V002, Jaw Feng Machinery, Taiwan)
- (8) ขวดแก้วสีชาความจุ 2 มิลลิลิตร
- (9) ไมโครปิเปต 20-200 ไมโครลิตร (Mircopipette, Accumax, India)
- (10) ไมโครปิเปต 100-1000 ไมโครลิตร (Mircopipette, Accumax, India)
- (11) ไมโครปิเปต 1000-5000 ไมโครลิตร (Mircopipette, Accumax, India)
- (12) เครื่องบด (Blender, Philips, Model HR2068, Indonesia)
- (13) เครื่องชั่งไฟฟ้า ความละเอียด 0.1 มิลลิกรัม (AND, Model HR-202i , Japan)

- (14) เครื่องชั่งไฟฟ้า ความละเอียด 0.1 กรัม (Denver Instrument, model TP-6101, Canada)
- (15) เครื่องวัดสี (Chroma meter, Konica Minalta, model CR-400, Japan)
- (16) เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี (Water activity meter, Aqualab Lite, Decacon, USA)
- (17) เครื่องวัดความเร็วลม Thermoanemometer (Testo, model 445, Germany)
- (18) เครื่องไพราโนมิเตอร์ (HOBO micro station data logger, model H21-002) ติดตั้งพร้อมเครื่องวัดความเข้มแสง (Light intensity, Solar Radiation Sensor (Silicon Pyranometer) model S-LIB-M003, USA)
- (19) ตู้บ่มสำหรับศึกษาอายุการเก็บรักษา (Sunyo Incubator model MIR-553, Japan และ Incucell Incubator Model 404, Germany)

### 3.1.3 สารเคมี

- (1) เมธานอล (Merck, Liquid chromatography grade, Germany)
- (2) (-)-citronellal (Fluka, GC grade, Japan)
- (3) อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA, Difco, USA)
- (4) อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA, Difco, USA)

## 3.2 วิธีการทดลอง แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ตอน ได้แก่

### 3.2.1 ตอนที่ 1 ศึกษาปริมาณ citronellal โดยวิธี Headspace Solid Phase Micro Extraction Gas Chromatography

เตรียมสารละลาย citronellal ตั้งต้น โดยชั่ง citronellal 1.0000 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเมธานอล เป็น 10 มิลลิลิตร นำไปเจือจางด้วยเมธานอลเพื่อให้ได้ปริมาณ citronellal ต่าง ๆ กันในสารละลาย 200 ไมโครลิตร ดังตาราง 3.1 คูณสารละลายจำนวน 200 ไมโครลิตรลงในขวดแก้ว (vial) สีชาขนาด 2 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท ตั้งพักไว้อย่างน้อย 4 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง เพื่อให้ช่องว่างเหนือสารละลายในขวดแก้วอิ่มตัว และพักไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C ก่อนสูมตัวอย่างอย่างน้อย 2 ชั่วโมง สูมตัวอย่างด้วย SPME-fiber เป็นเวลา 5 นาทีที่อุณหภูมิ 25 °C และวิเคราะห์ปริมาณ

citronellal โดยเครื่อง Gas Chromatography, Flame Ionization Detector มีอุณหภูมิ inject port ที่ 230 °C ความดัน 117 kPa Total flow 12.4 ml/min นำพื้นที่ที่ได้ใช้เป็นมาตรฐานในการประเมิน ปริมาณ citronellal ในใบมะกรูดอบแห้งต่อไป

ตาราง 3.1 ปริมาณ citronellal ในสารละลายเมธานอลจำนวน 200 ไมโครลิตร สำหรับทำกราฟ มาตรฐาน

citronellal (mg)
0.0000
1.0092
2.0184
3.0276
4.0368
5.0460
6.0552
7.0644
8.0736
9.0828
10.0920

### 3.2.2 ตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการอบแห้งต่อคุณภาพใบมะกรูด

อบแห้งใบมะกรูด ด้วยตู้อบแห้ง 3 ชนิด ได้แก่ ได้แก่ ตู้อบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ แบบพาอากาศร้อนเข้าสู่ห้องอบโดยพัดลมไฟฟ้า มีอัตราเร็วลม 1 เมตรต่อวินาที (m/s) ตู้อบแห้งลม ร้อนแบบถาด มีอัตราเร็วลม 1 เมตรต่อวินาที อุณหภูมิที่ใช้ออบ 60 °C และตู้อบไมโครเวฟ สูญญากาศแบบถาดหมุน ที่โดยใช้พลังงาน 100 % แมกนีตรอน 800 วัตต์จำนวน 3 ชุด ความดัน สูญญากาศ -600 มิลลิเมตรปรอท อัตราเร็วในการหมุนของถาดเป็น 25 รอบต่อนาที นำมาวิเคราะห์ คุณภาพทางกายภาพของใบมะกรูดที่อบแห้งจากตู้อบทั้ง 3 ชนิด วิเคราะห์อัตราการอบแห้งจากการ อบ

## (1) การศึกษาอัตราการอบแห้ง

นำใบมะกรูดมาเค็ดเอาเฉพาะใบแก่ นำไปล้างน้ำสะอาด 2 รอบ พักไว้ให้สะเด็ดน้ำ 30 นาที สำหรับตู้อบพลังงานแสงอาทิตย์ อบแห้งถาดละ 120 กรัม อัตราเร็วลม 1 เมตรต่อวินาที ส่วนตู้อบแห้งแบบถาด อบแห้งถาดละ 120 กรัม ที่อุณหภูมิ 60 °C อัตราเร็วลม 1 เมตรต่อวินาที บันทึกน้ำหนักใบมะกรูดที่คงเหลืออยู่ทุก 20 นาที จนน้ำหนักใบมะกรูดคงที่ ส่วนตู้อบแห้งไมโครเวฟสูญญากาศแบบถังหมุน ใช้ใบมะกรูดในการอบแห้งครั้งละ 100 กรัม ใช้แมกนีตรอน 800 วัตต์จำนวน 3 ชุด ระดับพลังงานในการอบ 100 % ความดันสูญญากาศ -600 มิลลิเมตรปรอท อัตราเร็วในการหมุนของถังเป็น 25 รอบต่อนาที อบเป็นระยะเวลา 0, 3, 5, 7, 9 และ 11 นาที นำใบมะกรูดที่อบแห้งในแต่ละช่วงเวลาไปวัดความชื้น

## (2) ศึกษาคุณภาพทางเคมีและกายภาพของใบมะกรูดอบแห้ง

นำใบมะกรูดที่ได้จากอบแห้งวิธีต่างๆ ที่มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 8 ซึ่งโดยทั่วไปผลิตภัณฑ์สมุนไพรหรือชาอบแห้งกำหนดให้มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 8 (มพข.120, 2549) นำใบมะกรูดไปบดโดยเครื่องบดจนละเอียดโดยใช้เวลานาน 1 นาที ด้วยความเร็วระดับ 5 นำไปวัดค่าสี L\*, a\*, b\*, C\*, Hue angle ความชื้น (AOAC, 2000) ค่าวอเตอร์แอกติวิตี และปริมาณ citronellal

## 3.2.3 ตอนที่ 3 ศึกษาอายุการเก็บรักษาใบมะกรูดอบแห้งป่นโดยสภาวะเร่ง

นำใบมะกรูดอบแห้งในแต่ละวิธีการอบแห้ง มาป่นนำไปบดจนละเอียดด้วยเครื่องบด ใช้เวลานาน 1 นาที ด้วยความเร็วระดับ 5 บรรจุในถุง 2 ชนิดคือ ถุงโพลีโพรพีลีนขนาด 4\*6 นิ้ว และถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ ขนาด 4\*6 นิ้ว นำไปเก็บในอุณหภูมิต่าง ๆ กัน ที่ -18, 25, 35, 40, 45 และ 55 °C โดยแต่ละอุณหภูมิเก็บไว้นานในระยะเวลาต่าง ๆ กันดังตาราง 3.2 ทดลอง 2 ซ้ำ

นำตัวอย่างใบมะกรูดอบแห้งป่นที่ได้ในแต่ละสัปดาห์ นำไปวัดค่าสี L\*, a\*, b\*, C\*, Hue angle ความชื้น(AOAC, 2000) ค่าวอเตอร์แอกติวิตี และปริมาณ citronellal วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นของใบมะกรูดที่อบได้จากแต่ละวิธี ได้แก่ ยีสต์และรา จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total aerobic plate count) โคลิฟอร์ม (Coliforms) (วิลาวินย์, 2539, Andrew, 1992 และ Roberts et al, 1995.

ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างกลิ่นของใบมะกรูดอบแห้งป่น ต่อการยอมรับของผู้บริโภค โดยการผันแปรใบมะกรูดอบแห้งป่นที่อบใหม่โดยตู้อบไมโครเวฟสุญญากาศแบบถึงหมุน และใบมะกรูดอบแห้งป่นที่อบโดยตู้อบแบบถาดบรรจุในถุงโพลีโพรพิลีนที่เก็บไว้นาน 1 ปีที่อุณหภูมิห้อง โดยมีอัตราส่วนต่างดังตาราง 3.3 ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคโดยใช้วิธีให้คะแนนความชอบจาก 1 ถึง 9 (9-point hedonic scale) (Peryan and Pilgrim, 1957) ด้านสี กลิ่น ความชอบโดยรวม และสอบถามด้านการยอมรับผลิตภัณฑ์ โดยใช้ผู้บริโภคจำนวน 50 คน เป็นนักศึกษาในคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ช่วงอายุ 18-30 ปี สุ่มตัวอย่างผู้บริโภคแบบ nonprobability sampling

เตรียมตัวอย่างโดยบรรจุในขวดสีชาขนาด 50 มิลลิลิตร สำหรับการทดสอบด้านกลิ่น และถุงโพลีโพรพิลีนขนาด 4x6 นิ้ว ปิดปากถุงสนิท สำหรับทดสอบด้านสี ตัวอย่างจะกำหนดรหัสเลขสุ่มสามหลักติดที่ขวดและถุง เสิร์ฟตัวอย่างที่ละตัวอย่างแบบสุ่ม ในระหว่างการทดสอบให้ผู้บริโภคดมน้ำเปล่าคั้นระหว่างการทดสอบตัวอย่างถัดไปทุกครั้ง ทำการทดสอบที่ห้องประเมินทางประสาทสัมผัส หน่วยการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสและการทดสอบผู้บริโภค คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ หลังการทดสอบแล้วเสร็จ ผู้ทดสอบจะได้รับของตอบแทนในการทดสอบผลิตภัณฑ์

ตาราง 3.2 ระยะเวลาที่เก็บใบมะกรูดอบแห้งป่นในแต่ละอุณหภูมิ

อุณหภูมิ (°C)	ระยะเวลาในการเก็บ (สัปดาห์)																
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
25	1				1				1				1		1		1
35	1			1	1		1		1				1		1		1
40	1		1		1		1		1		1		1		1		1
45	1	1	1		1		1		1		1		1		1		1
55	1	1	1		1		1		1		1		1		1		1

\*หมายเหตุ : 1 = สุ่มเก็บตัวอย่างที่ระยะเวลานั้น ๆ

ตาราง 3.3 อัตราส่วนของใบมะกรูดอบแห้งป่นใหม่และเก่า

สิ่งทดลอง	ใบมะกรูดอบแห้งป่น (ใหม่)	ใบมะกรูดอบแห้งป่น (เก่า)
1	50	50
2	30	70
3	20	80
4	10	90
5	5	95
6	0	100

#### 3.2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการวิเคราะห์ model แบบ non-linear สำหรับอัตราส่วนความชื้นและระยะเวลาในการอบแห้ง ใช้โปรแกรม Sigmaplot 10.0

ส่วนการวิเคราะห์อายุการเก็บรักษาแบบ linear model, Chi-Square ใช้โปรแกรม Minitab 15.0 และ 16 โปรแกรม Statistix 8.2 และ Design Expert 6.0.11

สำหรับการวิเคราะห์ความแปรปรวน ใช้โปรแกรม Statistix 8.2 และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Least Significance Difference

ในการศึกษานี้ได้ทดสอบที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %