

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1. วัสดุและสารเคมี

- เมล็ดกาแฟคั่ว (Italian Roast, บริษัท Hillkoff จ.เชียงใหม่)
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH, Merck, Germanay)
- ฟีนอล์ฟธาไลน์ (C₂₀H₁₄O₄, Merck, Germanay)
- Plate Count Agar; PCA (Difco, USA)
- Potato Dextrose Agar; PDA (Difco, USA)
- Peptone (Difco, USA)

3.1.2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- เครื่องบดแบบแห้ง (Lucky Star, Model LS-5633, ประเทศไทย)
- เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Semi-accurate balance, Mettler : Model BB120, Switzerland)
- ผ้าใยแก้วจากธรรมชาติสำหรับกรองกาแฟ (บริษัทควงดีเฮ้าส์ จำกัดจ.เชียงใหม่)
- เครื่องทำผลึกน้ำแข็งทรงกระบอกปริมาตร 20 ลิตร Ice stars PS/36 : 220V (Marchcool Ltd., ประเทศไทย)
- เทอร์โมคัปเปิ้ล Type J (Digicon IS-7, ประเทศไทย)
- เครื่องแยกผลึกน้ำแข็งแบบหมุนเหวี่ยง (Marchcool Ltd., ประเทศไทย)
- ถ้วยตวงปริมาตร 1 ลิตร
- เทอร์โมมิเตอร์

3.1.3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

- กระป๋องอบความชื้น (Moisture can)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert : Model/ULM-400,USA)
- เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter : Wissenschaftlich – Technische Werkstätten, Germany)
- เครื่องวัดสี Minolta Chroma Meter CR-300 (Minolta, Japan)
- เครื่องวัดความหนืด Brookfield-Programmable DV-II⁺ viscometer (Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Germany)
- เครื่องผสมแบบหมุนวน (Vertex geniez, Scientific Industries : Model G560E)
- ตู้บ่มเชื้อ (Incubator, Hereaus : Model D-6450 Hanna, Germany)
- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave, Iwaki Glass.,Ltd : Model AVC- 3167, Japan)

3.1.4. อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางต่างประสาทสัมผัส

- ชุดอุปกรณ์ทดสอบชิม
- แบบสอบถาม (รายละเอียดในภาคผนวก ค)

3.2 วิธีการทดลอง

การทดลองนี้แบ่งออกเป็น 3 ตอน ดังนี้

3.2.1 การศึกษาสัดส่วนและเวลาที่ใช้ในการสกัดน้ำกาแฟ

นำเมล็ดกาแฟคั่ว จำนวน 30 กรัม ไปบดเป็นเวลา 25 วินาที (Ferrell *et al.*, 2002) จากนั้นนำไปสกัดด้วยน้ำร้อนและคนให้เข้ากันแล้วนำไปกรอง โดยใช้ความร้อนอุณหภูมิ 95 ± 2 องศาเซลเซียส โดยการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design : CRD) ได้ 9 สิ่งทดลอง ดังตาราง 3.1 ปัจจัยที่ศึกษาคือ สัดส่วนและเวลาที่ใช้ในการสกัดน้ำกาแฟ ซึ่งแต่ละปัจจัยมีระดับที่ต้องการศึกษาดังนี้

1. สัดส่วนที่ต้องการศึกษาคือ ปริมาณกาแฟบด (กรัม): น้ำ (มิลลิลิตร) ได้แก่ 30 : 100, 20 : 100 และ 10 : 100
2. เวลาที่ใช้สกัด ได้แก่ 1 นาที 4 นาที และ 8 นาที

ตาราง 3.1 สิ่งทดลองที่ได้จากการวางแผนการทดลองแบบสุ่มทดลอง

สิ่งทดลอง	สัดส่วนกาแฟบด : น้ำ : เวลาที่ใช้สกัด
1	10 กรัม : 100 มิลลิลิตร : 1 นาที
2	20 กรัม : 100 มิลลิลิตร : 1 นาที
3	30 กรัม : 100 มิลลิลิตร : 1 นาที
4	10 กรัม : 100 มิลลิลิตร : 4 นาที
5	20 กรัม : 100 มิลลิลิตร : 4 นาที
6	30 กรัม : 100 มิลลิลิตร : 4 นาที
7	10 กรัม : 100 มิลลิลิตร : 8 นาที
8	20 กรัม : 100 มิลลิลิตร : 8 นาที
9	30 กรัม : 100 มิลลิลิตร : 8 นาที

3.2.1.1 วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำกาแฟสกัด

โดยทำการศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ ดังนี้

- วัดความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield-Programmable DV-II⁺ viscometer
- วัดสีด้วยเครื่อง Minolta Chroma Meter CR-300
- วิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมด (AOAC, 2000)

3.2.1.2 ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อน้ำกาแฟสกัด

โดยทำการสกัดน้ำกาแฟทั้งหมด 9 สูตร ประเมินผลทางด้านประสาทสัมผัสในด้าน สี กลิ่น กาแฟ รสชาติ ความชอบโดยรวม โดยวางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่ม (Randomized completely block design: RCBD) ใช้การทดสอบการยอมรับแบบ 9 point hedonic scale ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 15 คน เสริฟตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง ปริมาตร 30 มิลลิลิตรพร้อมด้วยขนมปังจืดเพื่อล้างปากก่อนชิม ตัวอย่างต่อไป เมื่อได้ข้อมูลการทดสอบทางประสาทสัมผัสนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's key test หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient) ของสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางประสาทสัมผัส

เปรียบเทียบผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส ทางเคมี และกายภาพ เพื่อคัดเลือกสัดส่วน และเวลาที่ใช้ในการสกัดที่ได้รับความนิยมมากที่สุด ไปศึกษาเปรียบเทียบการทำให้เข้มข้นแบบแช่เยือกแข็งต่อไป

3.2.2 การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการทำให้เข้มข้นแบบแช่เยือกแข็ง

นำน้ำกาแฟสกัดที่คัดเลือกได้ปริมาณ 10 ลิตรแช่เยือกแข็งโดยวิธี progressive crystallization และ suspension crystallization ด้วยเครื่องทำผลึกน้ำแข็ง Ice Stars SP/36:220V ดังแสดงในภาคผนวก ง กระบวนการทำให้เข้มข้นโดยการแช่เยือกแข็งแบบ progressive crystallization นั้นทำได้ โดย นำน้ำกาแฟสกัดที่เตรียมไว้ 10 ลิตร ลงถังแช่เยือกแข็งโดยไมกวนใบพัดเป็นเวลารอบละ 1 ชั่วโมง ทำทั้งหมด 3 รอบ เช่นเดียวกับกระบวนการทำให้เข้มข้น โดยการแช่เยือกแข็งแบบ suspension crystallization แต่ในกระบวนการนี้มีการหมุนใบพัดเพื่อกวนน้ำกาแฟสกัด โดย กระบวนการแช่เยือกแข็งทั้งสองแบบนี้ทำการศึกษาแบบละ 3 ซ้ำ

3.2.2.1 ศึกษาอัตราการแช่เยือกแข็งและค่าการแพร่ความร้อน (Thermal diffusivity)

ติดตั้งสายเทอร์โมคัปเปิลสำหรับวัดอุณหภูมิจำนวน 4 จุด ดังแสดงในภาคผนวก ง โดยที่

จุด T_1 ข้างผนังเครื่องแช่เยือกแข็ง

จุด T_2 ห่างจากผนัง 6 เซนติเมตร

จุด T_3 ห่างจากผนัง 12 เซนติเมตร

จุด T_4 กึ่งกลางถัง ห่างจากผนัง 18 เซนติเมตร

บันทึกอุณหภูมิทุก ๆ 2 นาที ในระหว่างการแช่เยือกแข็งจนครบหนึ่งชั่วโมง โดยไม่มีการหยุดการทำงานของเครื่องแช่เยือกแข็งในระหว่างจดบันทึกอุณหภูมิ แล้วแยกผลึกน้ำแข็งออกด้วยวิธีการหมุนเหวี่ยง หลังจากนั้นนำน้ำกาแฟสกัดเข้มข้นที่ได้ มาแช่เยือกแข็งเช่นเดียวกันอีก 2 รอบ

3.2.2.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นในระหว่างการแช่เยือกแข็ง

โดยการสุ่มวัดความเข้มข้นด้วยวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมด ณ จุดกึ่งกลางถัง เนื่องจากบริเวณนี้เป็นจุดที่เกิดการแช่เยือกแข็งช้าที่สุด เป็นเวลาทุก ๆ 10 นาที โดยไม่มีการหยุดการทำงานของเครื่องแช่เยือกแข็ง แต่ในกระบวนการทำให้เข้มข้น โดยการแช่เยือกแข็งแบบ progressive crystallization ต้องคนน้ำกาแฟสกัดเพื่อให้ความเข้มข้นที่ต้องการสุ่มตรวจมีความสม่ำเสมอ เพราะน้ำกาแฟสกัดเกิดการตกตะกอน ส่วนในแบบ suspension crystallization นั้น ต้องหยุดใบพัดในขณะที่ทำการสุ่มตรวจความเข้มข้น นำข้อมูลที่ได้มาสร้างเป็นกราฟอัตราการแช่เยือกแข็ง กราฟการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้น ของแต่ละรอบและหาค่าการแพร่ความร้อนของน้ำ

กาแฟสกัต (thermal diffusivity) ของน้ำกาแฟสกัตเริ่มต้น และผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้ นำมาคำนวณได้จากสมการที่ 2.6

โดยค่าความหนาแน่นของน้ำกาแฟสกัต ค่าสัมประสิทธิ์การนำความร้อนและความร้อนจำเพาะ หาได้จากสมการ 2.2 2.3 และ 2.5 ตามลำดับ

3.2.2.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการทำให้เข้มข้นด้วยวิธีแช่เยือกแข็งแบบ Progressive crystallization และ Suspension crystallization

นำน้ำกาแฟสกัตที่เยือกแข็งแล้วในรอบที่ 3 มาปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกผลึกน้ำแข็งออกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง วัดปริมาตรน้ำกาแฟสกัตเข้มข้นที่เหลือจากการแยกผลึกน้ำแข็งออกเพื่อนำมาหาร้อยละของผลผลิตของน้ำกาแฟสกัตเข้มข้นที่ได้ ซึ่งสามารถคำนวณได้ตามสูตรดังต่อไปนี้

$$\text{ร้อยละของผลผลิต} = \frac{\text{ปริมาตรของน้ำกาแฟสกัตเข้มข้นที่เหลือ(ลิตร)} \times 100}{\text{ปริมาตรของน้ำกาแฟสกัตเริ่มต้น(ลิตร)}}$$

ทำการวัดความเข้มข้นของปริมาณของแข็งในน้ำกาแฟสกัตเข้มข้นและในน้ำแข็งเพื่อนำมาวิเคราะห์หาประสิทธิภาพการทำให้เข้มข้นซึ่งสามารถคำนวณได้ตามสูตร ดังนี้

$$\eta = \frac{C_s - C_i}{C_s} \times 100$$

เมื่อ η = ประสิทธิภาพในการทำให้เข้มข้น (ร้อยละ)

C_s = ความเข้มข้นของปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำกาแฟสกัตเข้มข้น (ร้อยละ)

C_i = ความเข้มข้นของปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำแข็ง (ร้อยละ)

เปรียบเทียบผลของการทดสอบการใช้กระบวนการแช่เยือกแข็ง ที่ให้ประสิทธิภาพในการทำให้เข้มข้นมากที่สุด เลือกกระบวนการที่ดีที่สุด มาผลิตเป็นน้ำกาแฟสกัตเข้มข้น เพื่อนำไปศึกษาอายุในการเก็บรักษาต่อไป

3.2.3 ศึกษาสมบัติทางเคมีและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำกาแฟสกัดเข้มข้น

นำน้ำกาแฟสกัดเข้มข้นที่ได้บรรจุในขวดพลาสติกที่ผ่านการลวกเพื่อฆ่าเชื้อแล้ว นำไปหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นและวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สุ่มตรวจที่ 0 3 และ 6 วัน

3.3.1 การตรวจวัดทางด้านจุลชีววิทยา

- Total plate count (BAM, 2001)
- ทำการตรวจหาฮีสต์และรา (BAM, 2001)

3.3.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านเคมีและกายภาพ

- สังเกตการเกิดฟองแก๊สบริเวณผิวหน้าของน้ำกาแฟสกัดเข้มข้น
- วัดค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ด้วยเครื่อง pH meter
- วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดด้วยวิธีการไตเตรทด้วย 0.1 M NaOH และใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็น indicator (AOAC, 2000)