

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

- 1) น้ำมะพร้าวแก่ ซื้อจากตลาดต้นลำไย จังหวัดเชียงใหม่
- 2) พริกขี้หนู ระยะเวลาผลสุกเต็มที่ มีเปลือกสีแดงมากกว่า 2/3 ของผล
- 3) น้ำมะนาว
- 4) น้ำตาลทรายขาว ตรามิตรผล
- 5) น้ำส้มสายชูกลั่น (ความเข้มข้นร้อยละ 5) ตรา อสร. บริษัท อสร.ฟู้ดส์ จำกัด
- 6) สุราขาว 35 ดีกรี ตรารวงข้าว บริษัท ธนภักดี จำกัด (จังหวัดเชียงใหม่)
- 7) เกลือ ตราปรุ้งทิพย์ บริษัท อุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์ จำกัด

3.1.2 สารเคมี

- 1) แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, AR grade) Ajax Finechem Pty Ltd.

3.1.3 เชื้อจุลินทรีย์

- 1) หัวเชื้อ *Acetobacter aceti* subsp. *xylinum* TISTR 975 ซื้อจาก ศูนย์บริการธุรกิจอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.1.4 อุปกรณ์ในการผลิต

- 1) อุปกรณ์เครื่องครัว
- 2) ขวดแก้วสำหรับหมัก ขนาด $9.5 \times 9.5 \times 12$ เซนติเมตร
- 3) ถาดพลาสติกสำหรับหมัก ขนาด $27.5 \times 42 \times 9$ เซนติเมตร
- 4) ผ้าขาวบาง
- 5) เครื่องชั่ง พิกัดกำลัง 7 กิโลกรัม และ 60 กิโลกรัม
- 6) เทอร์โมมิเตอร์

- 7) Hand Refractometer (Atago ขนาด N-1E N-2E N-3E, Japan)
- 8) เครื่องสกัดน้ำผักและผลไม้แบบแยกกาก (Tefal Model ZN650, French)
- 9) ตู้อบแห้งแบบลมร้อน (บริษัท เชียงใหม่ศรีรุ่งเรือง จำกัด, ประเทศไทย)
- 10) หม้อนึ่งความดันไอ (Hirayama Model HA-3D, Japan)

3.1.4 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์คุณภาพ

- 1) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius Model BP 3100 S, Germany)
- 2) เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-เบส (SCHOTT Model CG840, Germany)
- 3) เครื่องวัดสี (Minolta Model CR-10, Japan)
- 4) เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyser Model TA.XT2i/25, UK)
- 5) เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี (Rotronic Model Aw 2101, USA)
- 6) เวอร์เนียคาลิเปอร์ (Mitutoyo Model 530-312, Japan)
- 7) ตู้อบลมร้อน (Binder Model VD23, Germany)
- 8) ถ้วยอลูมิเนียม (moisture can)
- 9) อุปกรณ์เครื่องแก้ว
- 10) อุปกรณ์ทดสอบทางประสาทสัมผัส

3.1.5 โปรแกรมประมวลผล

- 1) โปรแกรม Microsoft Excel
- 2) โปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติสำเร็จรูป Statistix 7.0

3.2 วิธีการและแผนการทดลอง

3.2.1 การเตรียมหัวเชื้อ *Acetobacter xylinum*

สูตรอาหารเหลวสำหรับเตรียมหัวเชื้อ ประกอบด้วยน้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรองด้วยผ้าขาวบาง 1,000 มิลลิลิตร น้ำตาลทราย 5 กรัม (ร้อยละ 0.5) แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 กรัม (ร้อยละ 0.1) และน้ำส้มสายชูกลั่น 10 มิลลิลิตร (ร้อยละ 1) แบ่งใส่ฟลาสก์ 200 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาทีและทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำสุราขาว 100 มิลลิลิตร (ร้อยละ 10)

หัวเชื้อ *Acetobacter xylinum* เตรียมโดยถ่ายเชื้อร้อยละ 10 ลงในขวดแก้วซึ่งบรรจุอาหารเหลวสำหรับเตรียมหัวเชื้อปริมาตร 200 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน จนกระทั่งเห็นแผ่นวุ้นสีขาวเกิดขึ้นที่ผิวหน้าของอาหารเหลว

3.2.2 การศึกษาปริมาณน้ำตาลและปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการสร้างแผ่นวุ้นสวรรค์

ศึกษาปริมาณหัวเชื้อและปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการสร้างแผ่นวุ้น โดยวางแผนการทดลองแบบ 3x3 Factorial in Completely Randomized Design โดยปัจจัยที่ศึกษามี 2 ปัจจัย ได้แก่ ปริมาณน้ำตาล 3 ระดับ (ร้อยละ 6 8 และ 10) และปริมาณหัวเชื้อ *Acetobacter xylinum* 3 ระดับ (ร้อยละ 10 15 และ 20) ได้สิ่งทดลองจำนวน 9 สิ่งทดลอง โดยให้ส่วนผสมอื่นคงที่ การเตรียมวุ้นสวรรค์โดยนำน้ำมะพร้าวมาผ่านการกรองด้วยผ้าขาวบาง เติมน้ำตาลทราย แล้วต้มให้เดือดนาน 10 นาที จากนั้นเติมแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ร้อยละ 0.6 ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น บรรจุอาหารเหลวในขวดแก้วขนาด 9.5 x 9.5 x 12 เซนติเมตร ปริมาตรขวดละ 250 มิลลิลิตร ความสูงของอาหารเป็น 2.5 เซนติเมตร เติมน้ำส้มสายชูกลั่นร้อยละ 2 และสุราขาว ร้อยละ 10 แล้วใส่หัวเชื้อตั้งต้นของ *A. xylinum* ปิดปากภาชนะด้วยผ้าขาวบางที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน ติดตามผลการทดลองจากความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์ที่เกิดขึ้น ทำการทดลอง 2 ซ้ำ จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Square Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติสำเร็จรูป

3.2.3 การผลิตเครื่องต้มน้ำฟักข้าวผสมวันสวรรค

ศึกษาความเข้มข้นของน้ำฟักข้าวที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์เครื่องต้มน้ำฟักข้าวผสมวันสวรรค โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD) ทำการผันแปร อัตราส่วนเยื่อหุ้มฟักข้าวต่อน้ำในอัตราส่วน 3 ระดับ เท่ากับ 1:7 1:9 และ 1:11 สำหรับส่วนผสมอื่น จะกำหนดให้คงที่ น้ำฟักข้าวมีส่วนผสมและกระบวนการผลิต ดังแสดงในตารางที่ 3.1 และภาพที่ 3.1 (ดัดแปลงจากเปรมศิริ โรจน์สัจจะกุลและรณชัย ยอดดำเนิน, 2554)

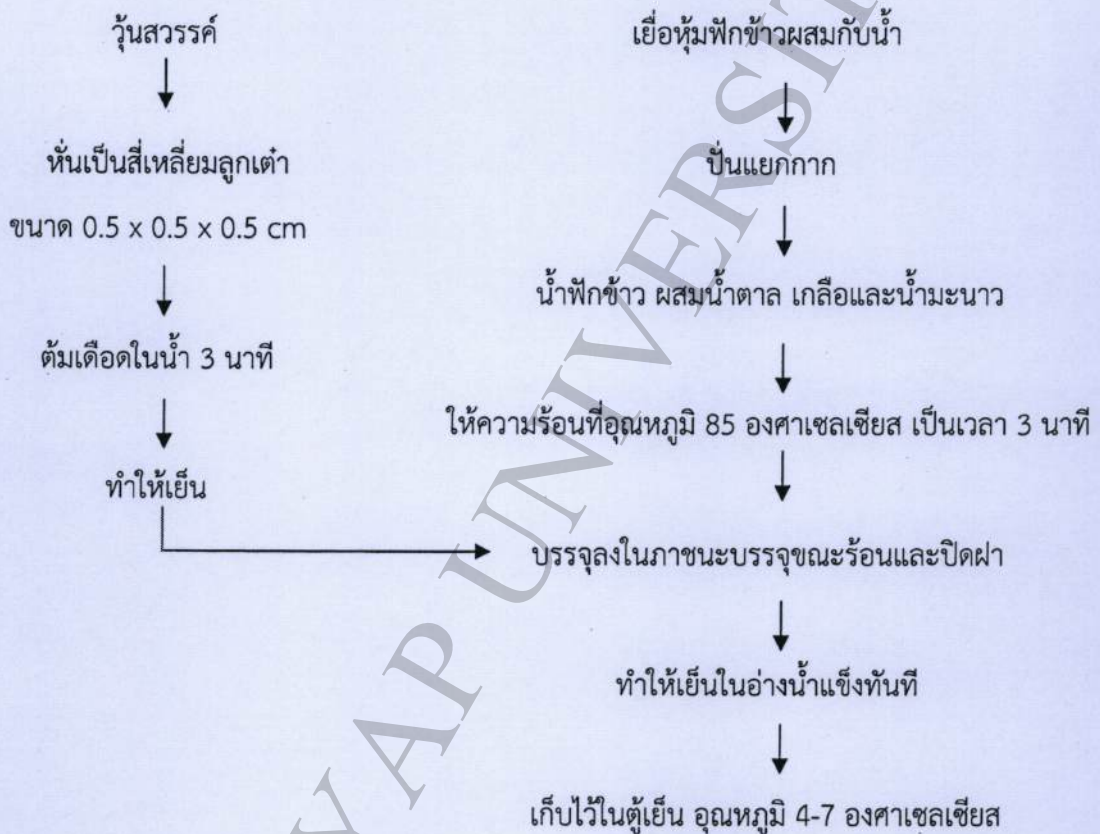
น้ำฟักข้าวเตรียมจากส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด โดยผ่าผลฟักข้าวและนำเยื่อหุ้มเมล็ดมาทำการ แยกออกจากเมล็ด โดยการใช้มือบีบเอาเมล็ดออกจากเยื่อหุ้มเมล็ด จากนั้นนำเยื่อหุ้มฟักข้าวไปปั่นให้ ละเอียดด้วยเครื่องสกัดน้ำผักและผลไม้แบบแยกกาก พร้อมกับค่อยๆ เติมน้ำลงไปตามอัตราส่วนเยื่อ หุ้มฟักข้าวต่อน้ำในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงส่วนผสมของน้ำฟักข้าวที่มีการผันแปรอัตราส่วนเยื่อหุ้มฟักข้าวต่อน้ำ

ส่วนผสม (กรัม)	อัตราส่วนเยื่อหุ้มฟักข้าวต่อน้ำ		
	1:7	1:9	1:11
เยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว	187.5	150	125
น้ำ	1313	1350	1375
น้ำตาลทราย	90	90	90
น้ำมะนาว	42	42	42
เกลือ	1.2	1.2	1.2

การเตรียมวันสวรรค โดยนำน้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรองก่อนใช้งาน เติมน้ำตาลทราย ร้อยละ 6 แล้วต้มให้เดือดนาน 10 นาที จากนั้นเติมแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ร้อยละ 0.6 ตั้งทิ้งไว้ ให้เย็น บรรจุอาหารเหลวในภาตพลาสติกขนาด 27.5 x 42 x 9 เซนติเมตร ปริมาตรภาตละ 2,500 มิลลิลิตร เติมน้ำส้มสายชูกลิ้น ร้อยละ 2 และสุราขาวร้อยละ 10 แล้วใส่หัวเชื้อตั้งต้นของ *A. xylinum* ร้อยละ 10 คนให้เข้ากัน จากนั้นปิดปากภาชนะด้วยผ้าขาวบางที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บ่ม ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน

เครื่องต้มน้ำพริกข้าวผสมวุ้นสวรรค์ มีกระบวนการผลิตดังนี้ นำแผ่นวุ้นสวรรค์ที่ผลิตได้มาหั่นเป็นสี่เหลี่ยมลูกเต๋าขนาด $0.5 \times 0.5 \times 0.5$ เซนติเมตร บรรจุในภาชนะบรรจุปริมาณร้อยละ 10 ของน้ำหนักทั้งหมด ผสมกับน้ำพริกข้าวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที บรรจุลงขวดขณะร้อนแล้วทำให้เย็นทันที เก็บรักษาเครื่องดื่มโดยแช่ในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและคุณภาพทางเคมี และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตน้ำพริกข้าวผสมวุ้นสวรรค์

นำผลิตภัณฑ์น้ำพริกข้าวผสมวันสวรรคมาวิเคราะห์คุณภาพในด้านต่างๆ ดังนี้

1) คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสีระบบ CIE (L a b) วัดด้วยเครื่องวัดสี Minolta CR-10

2) คุณภาพทางเคมี

- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Soluble Solid, TSS) (AOAC, 2005)
- ความเป็นกรด-เบส วัดด้วยเครื่อง pH meter

3) คุณภาพทางประสาทสัมผัส

นำผลิตภัณฑ์น้ำพริกข้าวผสมวันสวรรคไปทดสอบความชอบต่อผลิตภัณฑ์ในด้านสี กลิ่นรส รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยใช้การทดสอบแบบ 9-point hedonic scale (1 = ไม่ชอบอย่างยิ่ง และ 9 = ชอบอย่างยิ่ง) ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน โดยใช้แผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD)

ทำการทดลอง 2 ซ้ำ จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) แล้วหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองด้วยการทดสอบความแตกต่างโดยวิธี Least Square Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ทำการผลิตน้ำพริกข้าวผสมวันสวรรคโดยใช้อัตราส่วนเห็ดห่มพริกข้าวต่อน้ำที่เหมาะสมแล้วนำผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและคุณภาพทางจุลชีววิทยา ดังนี้

- ปริมาณเส้นใย (AOAC, 2010)
- จุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี Pour-plate method (FDA BAM online, 2001)
- ยีสต์และรา โดยวิธี Pour-plate method (FDA BAM online, 2001)
- *Escherichia coli* โดยวิธี MPN method (FDA BAM online, 2002)
- *Staphylococcus aureus* โดยวิธี Pour-plate method (FDA BAM online, 2001)

3.2.4 การผลิตวันสวรรคค์แช่อบแห้ง

ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสารละลายซูโครสที่ใช้ในกระบวนการแช่อบแบบซ้ำโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD) ปัจจัยที่ศึกษาคือความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายซูโครส 3 ระดับ (40 50 และ 60 องศาบริกซ์) โดยเตรียมแผ่นวันสวรรคค์ที่ผลิตด้วยวิธีที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.2 มาหั่นเป็นสี่เหลี่ยมลูกเต๋าด้านขนาด 1.5x1.5x1.5 เซนติเมตร นำไปแช่อบในสารละลายซูโครสที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 30 องศาบริกซ์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยอัตราส่วนการแช่อบวันสวรรคค์ต่อสารละลายซูโครสเท่ากับ 1 : 2 จากนั้นนำสารละลายซูโครสเดิมมาปรับให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นอีก 10 องศาบริกซ์ ทุก 24 ชั่วโมง จนกระทั่งได้ความเข้มข้นสุดท้ายตามที่ต้องการและแช่อบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำวันสวรรคค์แช่อบที่ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลายซูโครส 40 50 และ 60 องศาบริกซ์ ไปลวกที่อุณหภูมิน้ำเดือด เพื่อกำจัดน้ำเชื่อมบางส่วนที่เกาะอยู่บนผิววันสวรรคค์ ผึ่งให้สะเด็ดน้ำและนำวันสวรรคค์ที่ผ่านการแช่อบที่ระดับความเข้มข้นทั้ง 3 ระดับ มาอบแห้งในตู้อบแห้งแบบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง (ภาพที่ 3.2) นำวันสวรรคค์แช่อบแห้งมาผึ่งที่อุณหภูมิห้อง บรรจุในถุงพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน (PE) เก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำตัวอย่างมาวิเคราะห์คุณภาพต่อไป

นำผลิตภัณฑ์วันสวรรคค์แช่อบแห้งมาวิเคราะห์คุณภาพในด้านต่างๆ ดังนี้

1) คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสีระบบ CIE (L a b) วัดด้วยเครื่องวัดสี Minolta CR-10
- ค่าความแข็ง (Hardness) วัดด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyser, TA.XT2i)

2) คุณภาพทางเคมี

- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Soluble Solid, TSS) (AOAC, 2005)
- ปริมาณความชื้น โดยวิธี Oven Method (AOAC, 2000)

3) คุณภาพทางประสาทสัมผัส

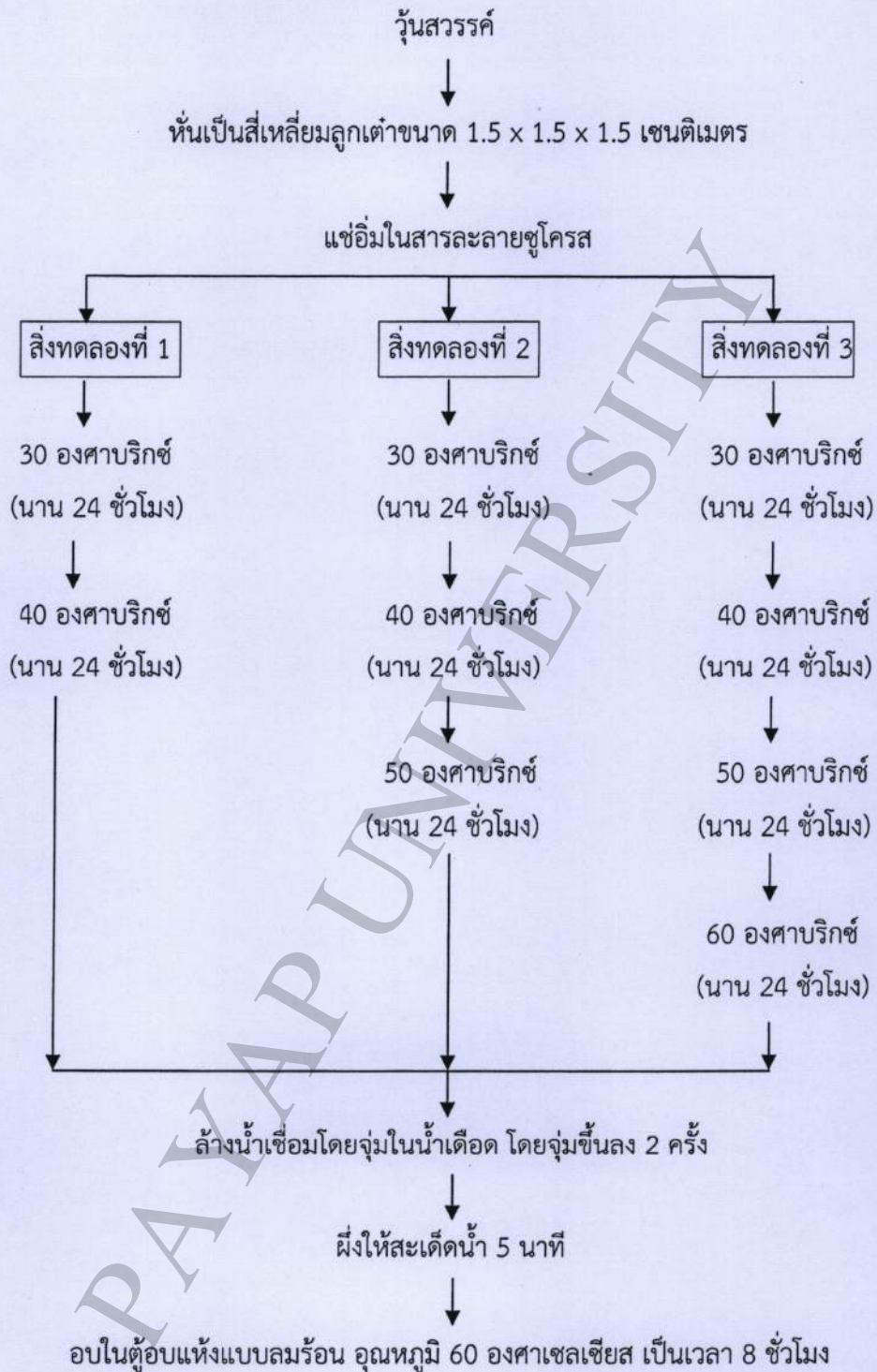
นำผลิตภัณฑ์วันสวรรคค์แช่อบแห้งไปทดสอบความชอบต่อผลิตภัณฑ์ในด้านสี ลักษณะปรากฏ ความหวาน ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยใช้การทดสอบแบบ 9-point hedonic scale (1 = ไม่ชอบอย่างยิ่ง และ 9 = ชอบอย่างยิ่ง) ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน

โดยใช้แผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) แล้วหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองด้วยการทดสอบความแตกต่างโดยวิธี Least Square Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ทำการทดลอง 2 ซ้ำ จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) แล้วหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองด้วยการทดสอบความแตกต่างโดยวิธี Least Square Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ทำการผลิตวันสวรงค์แช่อบแห้งโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายซูโครสที่เหมาะสม แล้วนำผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา ดังนี้

- จุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี Pour-plate method (FDA BAM *online*, 2001)
- ยีสต์ โดยวิธี Pour-plate method (FDA BAM *online*, 2001)
- เชื้อรา โดยวิธี Pour-plate method (FDA BAM *online*, 2001)
- *Escherichia coli* โดยวิธี MPN method (FDA BAM *online*, 2002)



ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการผลิตวันสวรรค์แช่อิ่มอบแห้ง