

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

3.1 วัสดุดิบ

ผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ โดยซื้อจากเกษตรกรในชุมชนอัมพวา จังหวัดสมุทรสงคราม

3.2 อุปกรณ์

- เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง	Sartorius, BP3100S	เยอรมัน
- เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง	Denver, SI-234	เยอรมัน
- เครื่องกวนชนิดแม่เหล็ก	IKA labortechnik, BIG SQUID	เยอรมัน
- เครื่องหมุนเหวี่ยง	Sorvall, RC-5B plus	อเมริกา
- เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง	Scientific, Denver 15	อเมริกา
- ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้า	Memmert, UM400	เยอรมัน
- เครื่องวัดการดูดกลืนแสง	Shimudzu, UV – 1601	ญี่ปุ่น
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ	Memmert	เยอรมัน
- Vortex mixer	Scientific Ind., Vortex-Genie 2	อเมริกา
- เครื่องวัดสี	Hunterlab, ColorQuest XE	อเมริกา
- Brookfield viscometer	Ametek, DV-II	อเมริกา
- Digital hand refractometer	Atago, PAL - 1	ญี่ปุ่น
- เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง	Suntex, SP-701	เยอรมัน
- เครื่องตีปั่นไฟฟ้า (Stomacher)	BagMixer, 400 interscience	ฝรั่งเศส
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (บ่มจุลินทรีย์)	Kendro, Heraeus	เยอรมัน
- หม้อนึ่งอัตโนมัติ (Autoclave)	Tomy, ES - 315	ญี่ปุ่น

3.3 สารเคมี

- Acetic acid	RCI Labscan	ไทย
- Sulfuric acid	Merck	เยอรมัน
- Hydrochloric acid	Merck	เยอรมัน
- Sodium hydroxide	Merck	เยอรมัน
- Methanol	Merck	เยอรมัน
- Phenolphthalein	Carlo Erba	อิตาลี
- Tartaric acid	Merck	เยอรมัน
- Folin – Ciocalteu reagent	Merck	เยอรมัน
- gallic acid	Merck	เยอรมัน
- Plate Count Agar (PCA)	Himedia	อินเดีย
- Potato dextrose agar (PDA)	Himedia	อินเดีย

3.4 สถานที่ดำเนินงาน

ห้องปฏิบัติการ อาคารที่ 26 และ 36 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา กรุงเทพฯ

3.5 วิธีการดำเนินงาน

3.5.1 การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่สูตรมาตรฐาน

พัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่สูตรมาตรฐานโดยมีส่วนผสมดังตาราง 3.1 โดยนำเนื้อมะม่วงหาวมะนาวโห่มาเติมน้ำสะอาด ในอัตราส่วนดังแสดงในตารางที่ 1 โดยมีสัดส่วนระหว่างปริมาณของผลดิบและผลสุกที่ระดับต่างๆกัน คือ 50:50, 70:30 และ 90:10 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก โดยกำหนดระดับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ เท่ากับ 13 องศาบริกซ์ นำไปต้มที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที กรองแยกกากออก นำตัวอย่างน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ผลิตได้มาวิเคราะห์คุณภาพ

การศึกษาคุณภาพทางกายภาพ

- วิเคราะห์ค่าสีในระบบ CIE $L^*a^*b^*C^*h^\circ$

การศึกษาคุณภาพทางเคมี

- วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

- ค่าความเป็นกรดต่าง (pH)
- ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging assay (Yamasaki *et al.*, 1994)
- ปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งหมด (Singleton *et al.*, 1999)

การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส (Sensory evaluation)

- ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้วยผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน โดยวิธี 9 – point hedonic scale

ตารางที่ 3.1 สูตรการผลิตผลิตภัณฑ์น้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่

ส่วนผสม	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)					
	มีเมล็ด			ไม่มีเมล็ด		
	สูตรที่ 1 (ดิบ 50 : สุก 50)	สูตรที่ 2 (ดิบ 70 : สุก 30)	สูตรที่ 3 (ดิบ 90 : สุก 10)	สูตรที่ 1 (ดิบ 50 : สุก 50)	สูตรที่ 2 (ดิบ 70 : สุก 30)	สูตรที่ 3 (ดิบ 90 : สุก 10)
มะม่วงหาวมะนาวโห่ (ผลดิบ)	22	31	40	22	31	40
มะม่วงหาวมะนาวโห่ (ผลสุก)	22	13	4	22	13	4
น้ำ	43.4	43.4	43.4	43.4	43.4	43.4
น้ำตาล	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5
เกลือ	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

3.5.2 การศึกษากระบวนการการทำน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่บรรจุประปอง

คัดเลือกสูตรน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่เหมาะสมจากการศึกษาในขั้นตอนที่ 3.5.1 มาทำการพัฒนาต่อ โดยศึกษาสภาวะในการให้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อในภาชนะบรรจุปิดสนิท (ประปอง) ที่เหมาะสม โดยใช้สัดส่วนของผลมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่มีผลสุกสีม่วง 10 เปอร์เซ็นต์ และผลดิบสีเขียวอมชมพู 90 เปอร์เซ็นต์ ล้างน้ำให้สะอาด แกะเมล็ดออก เติมน้ำสะอาดแล้วบดโดยใช้เครื่องบดให้ละเอียดโดยใช้เครื่องร่อนกากน้ำผลไม้ เติมน้ำตาลทรายให้ได้ 13 องศาบริกซ์ เติมเกลือ 0.1 กวนผสมให้น้ำตาลละลายจนหมด บรรจุน้ำมะม่วงหาวมะนาวโห่ในประปองเคลือบแลคเกอร์ประเภททนกรด ขนาดบรรจุ 250 มล. ปิดฝาประปอง แล้วต้มฆ่าเชื้อต่อ เป็นเวลา 15 นาทีโดยกำหนดอุณหภูมิในช่วง 70 – 120 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบการใช้ผลมะม่วงหาวมะนาวโห่แบบสดและแบบการใช้ผลมะม่วงหาวมะนาวโห่แช่แข็ง

- วิธี DPPH Scavenging Assay (Yamasaki *et al.*, 1994)

คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ ความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH (DPPH free radical scavenging activity : %) และความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ 50 % (SC₅₀)

$$\text{DPPH free radical scavenging activity (\%)} = [(A_0 - A_1 / A_0) \times 100]$$

A₀ = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

A₁ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

- วิเคราะห์ค่าสีในระบบ CIE L*a*b*C*h°
- จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (TPC) (AOAC, 2000)
- จำนวนยีสต์และรา (yeast & mold) (AOAC, 2000)
- จำนวนโคลิฟอร์มและ *E.coli* (AOAC, 2000)