บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

การวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในวัตถุดิบหลัก ประกอบด้วยกาแฟผงสำเร็จรูปซึ่งผ่านการบรรจุจากโรงงาน และคุณภาพของน้ำที่ใช้ในการผลิตเครื่องดื่มกาแฟบรรจุถ้วยพลาสติก เป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง เนื่องจากจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในวัตถุดิบจะต้องใช้เป็นดัชนีที่สำคัญในการกำหนดปริมาณความร้อนที่เหมาะสมสำหรับการฆ่าเชื้อระดับพาสเจอร์ไรซ์ โดยทั่วไปจะใช้อุณหภูมิในการฆ่าเชื้อไม่เกิน 100 องศาเซลเซียส (Fellow, 2000) ถ้าใช้อุณหภูมิสูงมากเกินไปจะเป็นการสิ้นเปลืองพลังงาน ในทางตรงกันข้ามหากใช้อุณหภูมิต่ำเกินไป อาจไม่เพียงพอต่อการทำลาย หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในเครื่องดื่มกาแฟบรรจุถ้วยพลาสติก ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถทนต่อความร้อน และพบมากในผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน ได้แก่ *Bacillus* sp. และ *Clostridium* sp. (Kotzekidou, 1996)

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มกาแฟ (มอก. 1169-2536) มีข้อกำหนดด้านจุลินทรีย์ ดังนี้

- จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องไม่พบในตัวอย่าง 1 กรัม
- โคลิฟอร์ม (Coliform) โดยวิธี MPN ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม
- สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus)* ต้องไม่พบในตัวอย่าง 1 กรัม
- ยีสต์และราต้องไม่พบในตัวอย่าง 1 กรัม

ส่วนน้ำบริโภคที่ใช้ในการผลิตเครื่องดื่มนั้นมีการกำหนดมาตรฐานโดยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม น้ำบริโภค (มอก. 257 เล่ม1-2521) กำหนดไว้ ดังนี้

- จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน 500 โคโลนีต่อมิลลิลิตร
- โคลิฟอร์ม (Coliform) โดยวิธี MPN ต้องน้อยกว่า 2.2 ต่อตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร
- ต้องไม่พบเชื้อ *Escherichia coli*
- ต้องไม่พบเชื้อยีสต์ และรา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University

4.1 การศึกษาเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในวัตถุดิบ

กาแฟผงสำเร็จรูป ยี่ห้อ เขาช่อง สูตรคอฟฟี่มิกส์ มอคค่า ซึ่งเป็นกาแฟผสมช็อคโกแลต ประกอบด้วยวัตถุดิบหลัก คือ กาแฟผงร้อยละ 11.60 ครีมเทียมผงร้อยละ 40.13 น้ำตาลร้อยละ 46.64 และโกโก้ผงร้อยละ 1.50 มีคาเฟอีนและแต่งกลิ่นสังเคราะห์

กาแฟผงสำเร็จรูปและน้ำที่ใช้

จากการวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ในกาแฟผงสำเร็จรูป และน้ำที่ใช้ในการผลิตเครื่องดื่มกาแฟบรรจุถ้วยพลาสติก แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 8 และ 9

ตารางที่ 8 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกาแฟผงปรุงสำเร็จและน้ำที่ใช้

วัตถุดิบ	จุลินทรีย์ที่ทำการวิเคราะห์	จำนวนจุลินทรีย์ [1] (โคโลนีต่อกรัม)
กาแฟผงชนิดปรุงสำเร็จ [1]	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	1.82×10^4
	โคลิฟอร์ม	0
	Staphylococcus aureus	0
	ยีสต์ และรา	0

[1] n = 10

ตารางที่ 9 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกาแฟผงปรุงสำเร็จและน้ำที่ใช้

วัตถุดิบ	จุลินทรีย์ที่ทำการวิเคราะห์	จำนวนจุลินทรีย์ [1] (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)
น้ำที่ใช้ผลิต [1]	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	22
	ยีสต์ และรา	0

[1] n = 4

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ว่าด้วยเรื่องผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มกาแฟ (มอก. 1169-2536) กำหนดว่าต้องไม่พบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างกาแฟ 1 กรัม จากการตรวจปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกาแฟผงสำเร็จรูปพบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 1.82×10^4 โคโลนีต่อ

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าที่มาตรฐานกำหนด โดยการตรวจพบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) ในอาหารเกินกว่ามาตรฐานนั้น บ่งชี้ว่าอาหารนั้นเก็บไว้นานแล้ว และ/หรืออุปกรณ์ที่ใช้ในการประกอบการอาหารไม่สะอาด หรือมีจุลินทรีย์ปนเปื้อน และ/หรือสุขวิทยาส่วนบุคคลของผู้ประกอบการบกพร่อง เช่น ไม่ล้างมือ และ/หรืออาหารนั้นปรุงไม่สุก

ดังนั้นในการผลิตเครื่องดื่มกาแฟพร้อมดื่มบรรจุถ้วยพลาสติกในครั้งนี้ จึงต้องลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในวัตถุดิบลง เพื่อให้กาแฟพร้อมดื่มมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และมีคุณภาพตามที่กฎหมายกำหนด จากการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในขั้นต้นทำให้ทราบว่าปริมาณจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในกาแฟผงที่โรงงานส่งมาให้นั้นมีระดับเชื้อจุลินทรีย์สูงเกินกว่ามาตรฐานมาก แสดงให้เห็นว่าอาจเกิดปัญหาต่อการควบคุมคุณภาพในเรื่องจุลินทรีย์ระหว่างขั้นตอนกระบวนการผลิตกาแฟผงสำเร็จรูป ส่วนสาเหตุที่ทำให้พบเชื้อจุลินทรีย์จำนวนมากในกาแฟผงสำเร็จรูป (three in one) นั้น จากข้อมูลเบื้องต้นที่ได้จากการสอบถามโรงงานเขาช่อง ทางโรงงานสันนิษฐานว่าน่าจะเกิดเนื่องมาจากครีมเทียมเป็นส่วนใหญ่ และได้ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ในครีมเทียมเป็นจำนวนมาก ซึ่งครีมเทียมเป็นหนึ่งในส่วนผสมของกาแฟผงสำเร็จรูป และอาจมีจุลินทรีย์ที่ทนความร้อนซึ่งอาจมีชีวิตเหลือรอดอยู่หลังจากผ่านกระบวนการผลิตหรือการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying)

ตามปกติในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย อาหารเหลวที่พ่นออกมาจะถูกทำให้แห้งด้วยลมร้อน ซึ่งจุลินทรีย์จะถูกทำลายด้วยความร้อนและความแห้ง อาศัยหลักการว่าเมื่อเซลล์ถูกทำให้แห้งมีการเปลี่ยนแปลงบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์และผนังเซลล์ ทำให้สารในไซโทพลาสซึมหลุดออกนอกเซลล์ ทำให้เซลล์ตาย หลังจากการทำแห้ง ในระยะแรกจำนวนจุลินทรีย์ที่มีอยู่จะลดลงอย่างรวดเร็ว ต่อมาจำนวนจุลินทรีย์จะลดลงอย่างช้าๆ จนในที่สุดคงเหลือแต่เฉพาะจุลินทรีย์ที่ทนความแห้งได้ดีเท่านั้น จุลินทรีย์ที่มักพบในอาหารแห้ง ได้แก่ *Escherichia* sp., *Clostridium* sp., *Pseudomonas* sp., *Streptococcus* sp., *Achromobacter* sp., *Leuconostoc* sp., *Lactobacillus* sp. และ *Microbacterium* sp. สปอร์ของแบคทีเรีย และรา เป็นต้น (Van-Arsdel และคณะ, 1973) ถ้าพบเชื้อในอาหารแห้งแสดงให้ทราบว่าอาหารก่อนการทำแห้งมีความสกปรกอย่างมาก มีเชื้อปนเปื้อนสูง ตัวอย่างอาหารแห้งที่พบเชื้อจุลินทรีย์ เช่น นมผง ตรวจพบจำนวนจุลินทรีย์อยู่ในช่วง 200-300 เซลล์จนถึง 1 ล้านเซลล์ต่อกรัม ทั้งนี้ขึ้นกับสภาพของน้ำนมก่อนที่จะนำไปทำแห้ง รวมทั้งกระบวนการทำแห้งที่ใช้ สำหรับจุลินทรีย์ที่มักพบในนมผงได้แก่ *Micrococcus, Streptococcus* และแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ หรือในไข่ผง พบเชื้อ *Micrococcus, Streptococcus*, Coliform และเชื้อที่สร้างสปอร์ได้ เป็นต้น (วราวุฒิ, 2538) ซึ่งกาแฟผงสำเร็จรูปอาจจะเป็นแหล่งอาหารที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ง่ายถ้าผ่านการฆ่าเชื้อไม่เพียงพอ

ถ้าหากพิจารณาความเป็นไปได้ของการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่มาจากแหล่งวัตถุดิบต่างๆ แล้ว จะพบว่าในกาแฟผงอาจมีจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตหลังการทำแห้ง โดยในกาแฟดิบพบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์อยู่เป็นจำนวนมาก เนื่องจากมีความสำคัญในกระบวนการหมักกาแฟดิบ ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่พบมากในกาแฟดิบ เช่น แบคทีเรียชนิดที่สร้างกรด บาซิลลัส และยีสต์ (Varnam และ Sutherland, 1994) ได้แก่ *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Serratia, Bacillus* species, *Cellulomonas*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Brochothrix*, *Dermabacter* และ *Lactobacillus* เป็นต้น (Silva, Schwan, Dias และ Wheals, 2000)

ส่วนน้ำตาลทรายหรือน้ำตาลผงนั้น ปกติจำนวนจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำตาลดิบและโมลาสมีอยู่ประมาณ $4.2\times10^{2} - 6.8\times10^{4}$ เซลล์ต่อกรัม และ $1.0\times10^{2} - 1.9\times10^{5}$ เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นพวกทนความร้อน ส่วนน้ำตาลทรายที่ขายตามท้องตลาดจะมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่เพียงประมาณ $2\times10^{2} - 5\times10^{2}$ เซลล์ต่อกรัม เนื่องจากในกระบวนการผลิตจะทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์ (vegetative cell) ทั้งหมด รวมทั้งสปอร์ของจุลินทรีย์บางชนิด (พวงพร, 2544) ดังนั้นหากภายในโรงงานผลิตน้ำตาลมีสุขาภิบาลไม่ดี หรือการผลิตน้ำตาลไม่ถูกสุขลักษณะ ประกอบกับสปอร์ของยีสต์และเชื้อราที่มีอยู่แล้วในบริเวณโรงงานปนเปื้อนเข้ามาหลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการผลิต เมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสมย่อมเป็นเหตุให้สปอร์เหล่านี้ งอก เจริญ และเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว ก่อปัญหาต่ออุตสาหกรรมอื่นๆ ที่ใช้น้ำตาลเป็นส่วนประกอบตามมา เช่น อุตสาหกรรมอาหารกระป๋อง อุตสาหกรรมเครื่องดื่ม และอุตสาหกรรมยา เป็นต้น ส่งผลให้เป็นปัญหาด้านเศรษฐกิจของประเทศชาติต่อไป ชนิดของจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในน้ำตาลแบ่งออกเป็น 6 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. เชื้อรา ตัวอย่างเช่น *Aspergillus, Penicillium, Mucor*

2. ยีสต์ ตัวอย่างเช่น *Saccharomyces cerevisiae, Candida krusei, Torulopsis stellata*

3. แบคทีเรียที่สร้างสปอร์ทั่วไป ตัวอย่างเช่น *Bacillus subtilis, B.cereus, B. mesentericus*

4. แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหาร โดยสร้างกรดแต่ไม่สร้างแก๊ส (flat sour) ซึ่งชอบเจริญที่อุณหภูมิสูง (55^{0} ซ) ได้แก่ *B. stearothermophilus*

5. แบคทีเรียจำพวกที่ชอบเจริญในสภาพที่ขาดออกซิเจน และที่อุณหภูมิสูง (thermophilic anaerobe) ซึ่งจะไม่สร้างแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ แต่สร้างแก๊สไฮโดรเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ ได้แก่ *Clostridium thermosaccharolyticum* ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้อาหารกระป๋องบวม

6. แบคทีเรียจำพวก Sulfide spoilage themophiles จะสร้างแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ ได้แก่ *C. nigricans, C. bifermentans* (โครงการเผยแพร่ความรู้ผ่านสื่อสารมวลชน, 2005)

ในส่วนของครีมเทียมซึ่งโรงงานเขาช่องพบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่ในวัตถุดิบเป็นจำนวนมาก ซึ่งประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 208) พ.ศ.2543 ว่าด้วยเรื่อง ครีม ได้ให้

ความหมายของครีมเทียมไว้ว่าหมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่มิได้ทำจากนมและมีไขมันอื่นนอกจากมันเนยเป็นส่วนประกอบที่สำคัญ หรือครีมที่มีมันเนยผสมอยู่น้อยกว่าร้อยละ 30 ของไขมันทั้งหมด ครีมเทียมที่ทำให้แห้ง (ครีมผง) จากข้อมูลที่ได้จากการสอบถามจากโรงงานเขาช่อง พบว่ามีการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ในวัตถุดิบครีมเทียมก่อนการนำไปผสมกับวัตถุดิบอื่น คือ กาแฟ และน้ำตาล ซึ่งพบว่าไม่เกินจากมาตรฐานที่กำหนดไว้ คือ ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ไม่มีสารเป็นพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ และตรวจพบแบคทีเรียไม่เกิน 100,000 โคโลนีในอาหาร 1 กรัม ซึ่งทางโรงงานตรวจเชื้อจุลินทรีย์แต่เพียงในวัตถุดิบเท่านั้น แต่ไม่มีการตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์หลังจากการปรุงเป็นกาแฟผงสำเร็จรูป เนื่องจากทางโรงงานคาดว่าถ้าจำนวนจุลินทรีย์ในวัตถุดิบไม่เกินจากมาตรฐานที่กำหนดแล้ว ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายจำนวนจุลินทรีย์จึงไม่น่าจะเกินที่กำหนดด้วย ซึ่งตามหลักการแล้วไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้ เนื่องจากมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมว่าด้วยเรื่องผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มกาแฟ (มอก. 1169-2536) ซึ่งหมายความรวมถึงกาแฟผงสำเร็จรูป ตามข้อกำหนดที่ว่าต้องไม่พบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างกาแฟ 1 กรัม ดังนั้นสิ่งนี้จึงเป็นเหตุผลที่ทำให้พบเชื้อจุลินทรีย์ในกาแฟผงสำเร็จรูปมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เกินกว่าที่มาตรฐานกำหนด

วัตถุดิบอีกชนิดหนึ่งที่ใช้เป็นส่วนผสมของกาแฟสำเร็จรูป สูตรคอฟฟี่มิกส์ มอคค่า คือ โกโก้ผง โดยทั่วไปโกโก้จะใช้เป็นส่วนผสมหลักในกระบวนการผลิตช็อคโกแลต ในโกโก้ดิบพบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมักอยู่เป็นจำนวนมาก เช่น รา ยีสต์ แบคทีเรียที่สร้างกรด อันได้แก่ *Penicillium citrinum*, *Kloeckera apis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus plantarum* และ *Acetobacter pasteurianus* นอกจากนี้เชื้อที่พบมากหลังจากกระบวนการหมักสิ้นสุดลงแล้ว ได้แก่ *Bacillus pumilus* และ *Bacillus licheniformis* ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้อาจเหลือรอดจากการให้ความร้อน หรือการทำแห้งได้ (Ardhana และ Fleet, 2003)

สิ่งที่สำคัญในการผลิตเครื่องดื่ม คือ น้ำที่ใช้ในการผลิต การตรวจคุณภาพน้ำที่ใช้ในการผลิตเครื่องดื่มกาแฟในทางจุลชีววิทยานั้นเป็นการตรวจหาจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำ จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำมีทั้งพวกที่ก่อให้เกิดโรคและพวกที่ไม่ก่อให้เกิดโรคในคน แต่อย่างไรก็ตามน้ำที่ใช้ในการบริโภคไม่ควรมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่แม้แต่น้อย หรือถ้าหากตรวจพบได้ควรมีปริมาณไม่มากเกินกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ (สมพร, 2540) จากการหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำบริโภคที่ใช้ในการผลิตเครื่องดื่มกาแฟ พบว่ามีจำนวนทั้งหมดเท่ากับ 22 โคโลนีต่อมิลลิลิตร และไม่พบเชื้อยีสต์ และรา จึงไม่เกินกำหนดที่สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมว่าด้วย

เรื่องมาตรฐานน้ำบริโภค (มอก. 257 เล่ม1-2521) กำหนดไว้ว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบได้ต้องไม่เกิน 500 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 10 คุณสมบัติทางเคมี และกายภาพของเครื่องดื่มกาแฟของโรงงานก่อนฆ่าเชื้อ

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ	ค่าที่วัดได้
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)[1]	6.24 (± 0.02)
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (^{0}Brix)[1]	28.76 (± 0.05)
ค่าความสว่าง (brightness, L*)[2]	35.96 (± 0.00)
ค่าความเป็นสีแดง (redness, a*)[2]	11.41 (± 0.20)
ค่าความเป็นสีเหลือง (yellowness, b*)[2]	26.82 (± 0.20)

[1] n = 4

[2] n = 10

จากผลการวัดค่าความเป็นกรดด่างของเครื่องดื่มกาแฟก่อนการฆ่าเชื้อ ดังแสดงในตารางที่ 10 พบว่ามีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.24 จึงจัดอยู่ในกลุ่มของอาหารประเภทที่มีความเป็นกรดต่ำ (low acid foods) (Frazier และ Westhoff, 1988) หรือค่อนข้างเป็นกลาง ดังนั้นจุลินทรีย์ที่อาจพบอยู่ในเครื่องดื่มกาแฟก่อนการฆ่าเชื้อจะเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีกรดต่ำ เช่น *Escherichia coli, Bacillus* sp. และ *Clostridium* sp. เป็นต้น นอกจากนี้จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ยังสามารถเติบโตได้ดีที่สุดที่ค่าความเป็นกรดด่างประมาณ 7.0 (6.6-7.5) และเติบโตได้บ้างที่ค่าต่ำกว่า 4.0 แบคทีเรียบางชนิดไม่เติบโตในอาหารที่มีความเป็นกรดสูงเหมือนเชื้อรา และยีสต์ (Jay, 1992) ซึ่งโดยทั่วไปแบคทีเรียส่วนใหญ่จะเจริญได้ดีในอาหารที่มีค่าความเป็นกรดด่างเป็นกลาง หรือมีความเป็นกรดต่ำกว่า หรือสูงกว่า 7 เล็กน้อย (Garbutt, 1997 และ Fellows, 2000) เช่น *Bacillus cereus* เติบโตได้ในช่วงค่าความเป็นกรดด่างประมาณ 5-9.5 (Jay, 1992) เมื่ออาหารที่จุลินทรีย์อยู่มีความเป็นกรด หรือด่างเพิ่มขึ้น จุลินทรีย์จะทนความร้อนได้น้อยลง การเปลี่ยนแปลงในทางที่เป็นกรดมากขึ้นจะฆ่าจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการเพิ่มไปในทางที่เป็นด่าง เช่น การฆ่าเชื้อในน้ำมะเขือเทศ ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 3.9 ใช้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 34 นาที ขณะที่ถ้าน้ำมะเขือเทศมีค่าความเป็นกรดด่าง 4.8 จะใช้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 110 นาที (Frazier และ Westhoff, 1988)

4.2 การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์เพื่อเป็นตัวแทนในการศึกษา

การกำหนดเชื้อจุลินทรีย์ที่จะใช้เป็นตัวแทนในการศึกษาเพื่อกำหนดระดับความร้อนในการฆ่าเชื้อนั้น ในทางปฏิบัติจะใช้เชื้อจุลินทรีย์หรือเอนไซม์ที่ทนต่อความร้อนที่สุดในอาหารมาใช้ในการคำนวณเวลาในการให้ความร้อน โดยตั้งสมมติฐานว่าการให้ความร้อนในระดับดังกล่าวจะสามารถทำลายจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่ทนต่อความร้อนได้ด้วย จึงมีการตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์จากกาแฟผงปรุงสำเร็จจากโรงงานในหลายๆ ช่วงเวลาการผลิต เพื่อให้เป็นตัวแทนของกาแฟผงที่ดีจากโรงงาน

ตารางที่ 11 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกาแฟผงสำเร็จรูปจำนวน 5 ชุดการผลิต

กาแฟผงสำเร็จรูปชุดที่	จำนวนจุลินทรีย์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)[1]
1	4.70×10^{3}
2	6.10×10^{3}
3	6.10×10^{4}
4	1.75×10^{4}
5	1.55×10^{3}
ค่าเฉลี่ย	1.82×104

[1] n = 10

เมื่อทำการตรวจเชื้อจุลินทรีย์จากกาแฟผงของโรงงานจำนวน 5 ชุดการผลิต เพื่อให้ทราบถึงชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลือรอดในกาแฟผง และปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นจากปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในกาแฟผงสำเร็จรูป โดยวิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) พบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด อยู่ในช่วง 10^{3} ถึง 10^{4} โคโลนีต่อมิลลิลิตร แสดงดังตารางที่ 11 และจากการสังเกตลักษณะโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์จากกาแฟผงจำนวน 5 ชุด พบว่าโคโลนีส่วนใหญ่มีลักษณะคล้ายกัน คือ มีรูปร่างกลม ขุ่นขาว ขอบเรียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.3 ถึง 0.6 เซนติเมตร เจริญเติบโตอยู่บริเวณผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งแสดงว่าต้องการอากาศในการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังสร้าง สปอร์ภายในเซลล์ เมื่อนำมาย้อมแกรมพบว่ามีลักษณะของเซลล์จุลินทรีย์เป็นรูปท่อน ดังแสดงในภาพที่ 6 ดังนั้นจึงสันนิษฐานว่าเชื้อที่พบมากในกาแฟผงที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้คือ เชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus* sp. ซึ่ง Garbutt (1997) ได้อธิบายว่าลักษณะดังกล่าว

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สอดคล้องกับสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ คือ เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการสร้างสปอร์อยู่ภายในเซลล์ (endospore forming rods) มีความสามารถในการทนความร้อนได้ จึงอาจหลงเหลือจากการฆ่าเชื้อในวัตถุดิบกาแฟผงจากโรงงาน ประกอบกับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้เป็นแกรมบวก แต่ถ้าเลี้ยงไว้นานจะเปลี่ยนเป็นแกรมลบได้ เนื่องจากเชื้อ *Bacillus* sp. เมื่อเซลล์ยังมีอายุน้อยจะติดสีแกรมบวก แต่ถ้าเซลล์อายุมากขึ้นจนมีสปอร์อยู่ภายในเซลล์ (endospore) จะติดสีแกรมลบ (สุพจน์, 2546) เพราะเมื่อเก็บไว้นานเซลล์ของแบคทีเรียอาจสูญเสียความสามารถในการยึดสีคริสตัน ไวโอเลต (crystal violet) จึงถูกย้อมติดสี ซาฟรานิน (safranin) แทน (สุพจน์, 2545) นอกจากนี้สามารถยังสามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาพที่มีอากาศ (aerobe) และมีอากาศเพียงเล็กน้อย (facultative anaerobe) อุณหภูมิสูงสุดที่สามารถเจริญได้ คือ 75-90 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิต่ำสุดที่สามารถเจริญได้ คือ 3 องศาเซลเซียส และพบได้ในอาหารพวกที่มีกรดต่ำๆ หรือมีกรดบ้าง (พวงพร, 2544; วราวุฒิ, 2538; สุพจน์, 2545 และสุวิมล, 2546) ซึ่งแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* sp. เช่น *Bacillus stearothermophilus* และ *Bacillus coagulans* นั้นพบว่าเป็นสาเหตุหนึ่งในการเสื่อมเสียของอาหารกระป๋องต่างๆ ที่ให้ความร้อนไม่เพียงพอ (Herson และ Hulland, 1980) โดยจะหมักน้ำตาลในอาหารให้กรดแลคติคทำให้อาหารมีรสเปรี้ยว นอกจากนี้บางสายพันธุ์ เช่น *Bacillus subtilis* มักจะมีเอนไซม์เรนนิน (rennin)สามารถย่อยไขมัน แป้ง และโปรตีน ทำให้อาหารประเภทนมหรือผลิตภัณฑ์จากนมเสีย หรือทำให้โปรตีนตกตะกอนได้ (พวงพร, 2545 และ Kotzekidou, 1996)

(ก)

ภาพที่ 6 (ก) ลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Bacillus* sp. ที่พบในวัตถุดิบ เมื่อวัดด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 100x

(ข) ลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Bacillus* sp. เมื่อเก็บเชื้อไว้นานจะเป็นแกรมลบ เมื่อวัดด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 100 x

ผลจากการนับจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น จากข้อมูลในตารางที่ 11 พบว่า มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดมากที่สุดเท่ากับ 6.1×10^{4} โคโลนีต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจึงใช้จำนวนของเชื้อจุลินทรีย์

ที่มีมากที่สุดเป็นค่าประมาณของจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นในการให้ความร้อนแก่กาแฟเพื่อให้แน่ใจว่าสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มกาแฟให้อยู่ในระดับที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัย

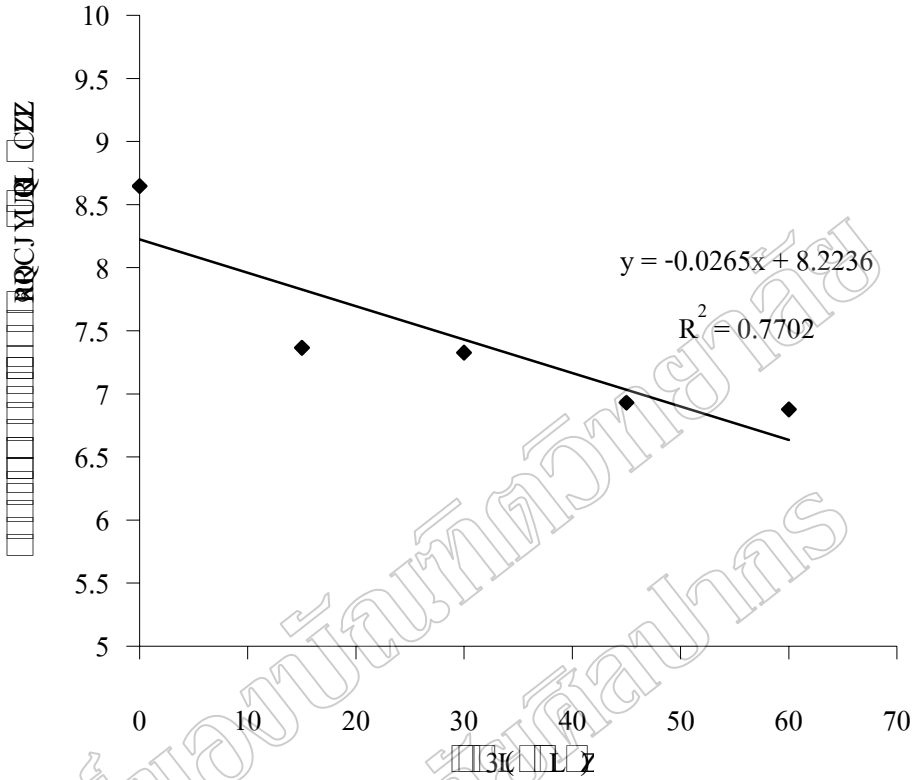
เมื่อนำกาแฟผงมาชงตามสูตรของโรงงานแล้วนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ ผลปรากฏว่าพบโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างที่ผ่านการให้ความร้อน เมื่อนำมาย้อมแกรม พบว่าเซลล์ของจุลินทรีย์มีลักษณะเป็นรูปท่อน (rod) แต่มีขนาดแตกต่างกัน โดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที พบว่าเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์นี้มีลักษณะคล้ายกับเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในกาแฟผงที่ยังไม่ผ่านการให้ความร้อน แสดงว่าเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ทนความร้อนได้สูงที่สุดในกาแฟนี้ จึงเลือกเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้เป็นตัวแทนในการศึกษาต่อ โดยนำมาเตรียมเป็นเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ แล้วคัดเลือกให้เป็นเซลล์ทั่วไปหรือเซลล์ร่างกาย (vegetative cell) ที่มีอายุการบ่ม 24 ชั่วโมง เพื่อป้องกันการเกิดสปอร์ของเชื้อจุลินทรีย์ ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อทดลองใช้สปอร์ของเชื้อจุลินทรีย์เป็นตัวกำหนดปริมาณการให้ความร้อนแล้ว จะต้องใช้ความร้อนในระดับสูงมากเพื่อทำลายสปอร์ของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งจัดเป็นการฆ่าเชื้อในระดับสเตอริไลซ์ ตามปกติอาหารที่มีความเป็นกรดด่างต่ำ เซลล์ของแบคทีเรียส่วนใหญ่จะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสขึ้นไป สปอร์ของแบคทีเรียต้องใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสขึ้นไป ส่วนเซลล์ของราใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ขณะที่ความร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สามารถทำลายเซลล์ยีสต์ได้ แต่สปอร์ของยีสต์และราจะถูกทำลายเมื่อใช้อุณหภูมิสูงกว่าที่ใช้ทำลายเซลล์ประมาณ 5 ถึง 10 องศาเซลเซียส (สุพจน์, 2545) และจากวัตถุประสงค์ในการวิจัยครั้งนี้ต้องการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ระดับพาสเจอร์ไรซ์เท่านั้น โดยการพาสเจอร์ไรซ์เป็นกระบวนการให้ความร้อนในระดับที่ไม่รุนแรง คือ ต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส เมื่อพิจารณาถึงค่าความเป็นกรดด่างของอาหาร พบว่าในอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ (ค่าความเป็นกรดด่าง > 5.3) เช่น เครื่องดื่มกาแฟในงานวิจัยครั้งนี้ จะใช้ความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรซ์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้นเป็นเวลาหลายวัน แต่ถ้าเป็นอาหารที่มีความเป็นกรดสูง (ค่าความเป็นกรดด่าง < 3.7) เช่น น้ำผลไม้บรรจุขวด ความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรซ์อาจช่วยยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้นเป็นเวลาหลายเดือน เนื่องจากยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสีย เช่น ยีสต์ และรา รวมถึงยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วย (Fellows, 2000)

4.3 การศึกษาความต้านทานความร้อนของเชื้อจุลินทรีย์

ความร้อนจะทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ โดยสามารถทำลายเอนไซม์ที่มีอยู่ในอาหาร และเอนไซม์ที่ควบคุมเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ต่างๆ เมื่ออาหารได้รับความร้อนสูงพอที่จะทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร อัตราการตายของจำนวนจุลินทรีย์ (ร้อยละ) ในช่วงระยะเวลาหนึ่งๆ จะเท่ากัน และจะเท่ากับร้อยละของอัตราการตายของจุลินทรีย์ที่มีเริ่มต้น เรียกว่า ลอการิทึมของการตาย (logarithmic order of death) อธิบายโดยกราฟอัตราการตาย (death rate curve) กับเวลาที่ใช้ทำลายจุลินทรีย์ให้ลดลงร้อยละ 90 ณ ที่อุณหภูมิหนึ่ง ตัวอย่างเช่น ณ ที่อุณหภูมิหนึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นในอาหารถูกทำลายด้วยความร้อนไปร้อยละ 90 ในเวลา 1 นาที ดังนั้น ในเวลาอีก 1 นาทีถัดไป จุลินทรีย์ก็จะถูกทำลายไปอีกร้อยละ 90 ของจำนวนที่เหลืออยู่ และเป็นเช่นนี้ไปเรื่อยๆ เป็นการลดจำนวนจุลินทรีย์ที่เรียกว่าค่า D (decimal reduction time) ซึ่งหมายถึงระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายจำนวนของจุลินทรีย์ลงร้อยละ 90 ของที่มีอยู่ที่อุณหภูมิหนึ่งๆ (Fellow, 2000 และ Garbutt, 1997)

ดังนั้น การกำหนดปริมาณความร้อน และเวลาที่ใช้ในกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ จำเป็นจะต้องทราบถึงความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ โดยจะแสดงในรูปของผลการนับจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ ซึ่งสามารถคำนวนหาค่า D ได้จากส่วนกลับของความชันกราฟในภาพที่ 7-10

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร



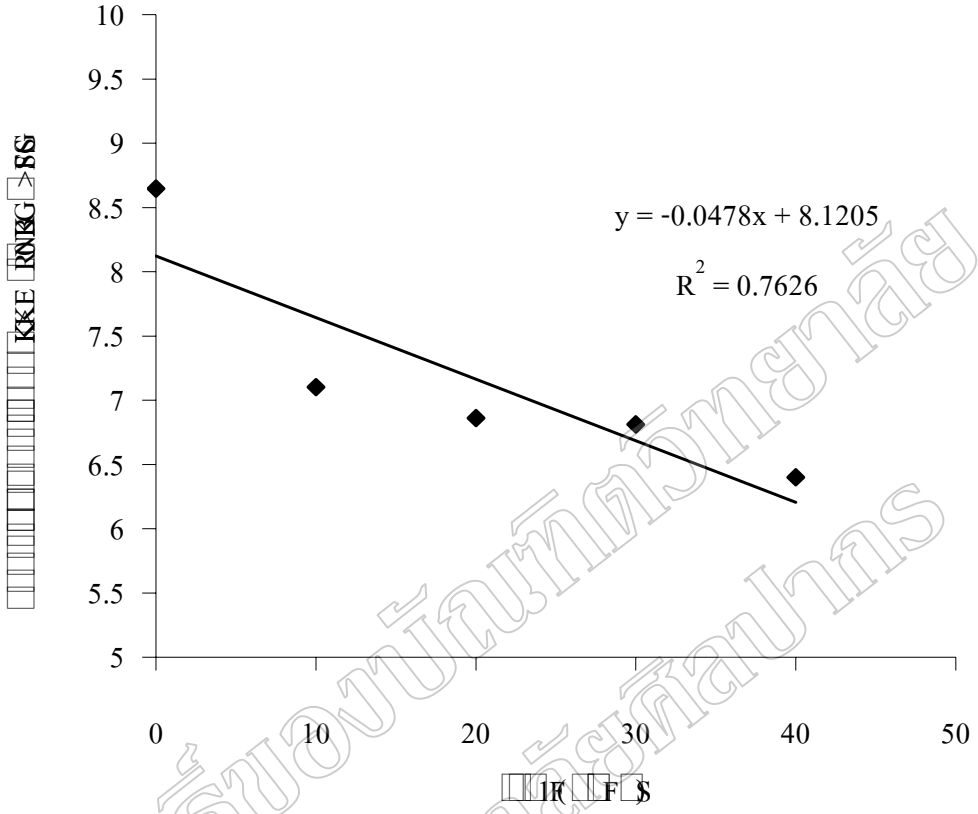
ภาพที่ 7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (วินาที) กับลอการิทึมของจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตที่ 65 องศาเซลเซียส

คำนวณหาค่า D จากส่วนกลับของความชันจากกราฟการรอดชีวิตที่ได้

ความชันของกราฟที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส = 0.0265

ดังนั้น D_{65} = 1/ 0.0265 = 44.145 วินาที

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

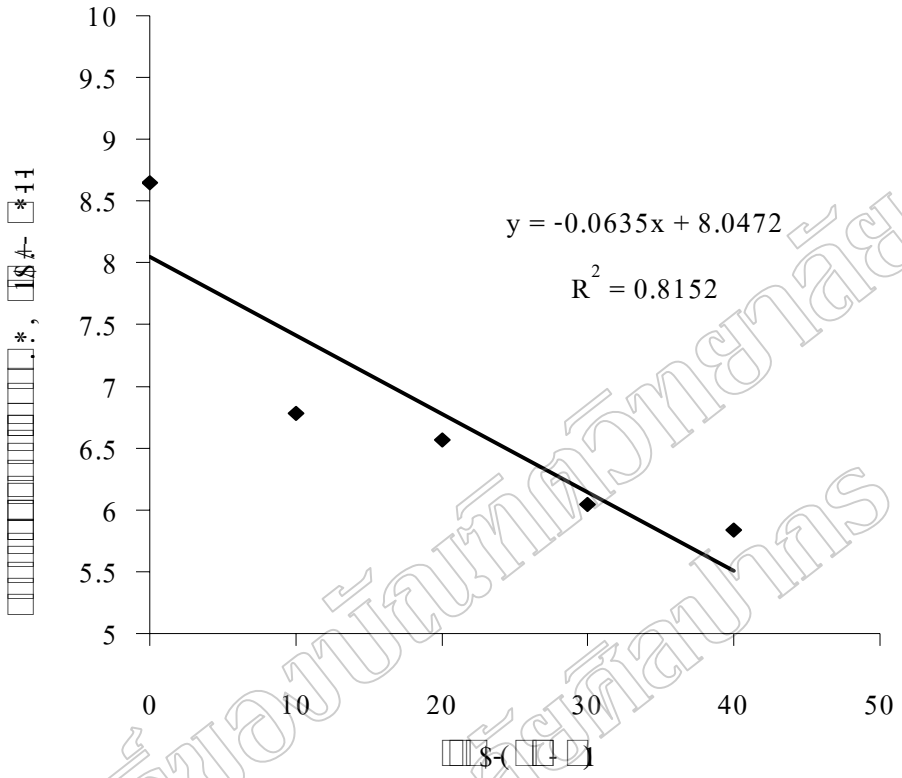


ภาพที่ 8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (วินาที) กับลอการิทึมของจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตที่ 70 องศาเซลเซียส

คำนวณหาค่า D จากส่วนกลับของความชันจากกราฟการรอดชีวิตที่ได้

ความชันของกราฟที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส = 0.0478

ดังนั้น D_{70} = 1/ 0.0478 = 20.921 วินาที



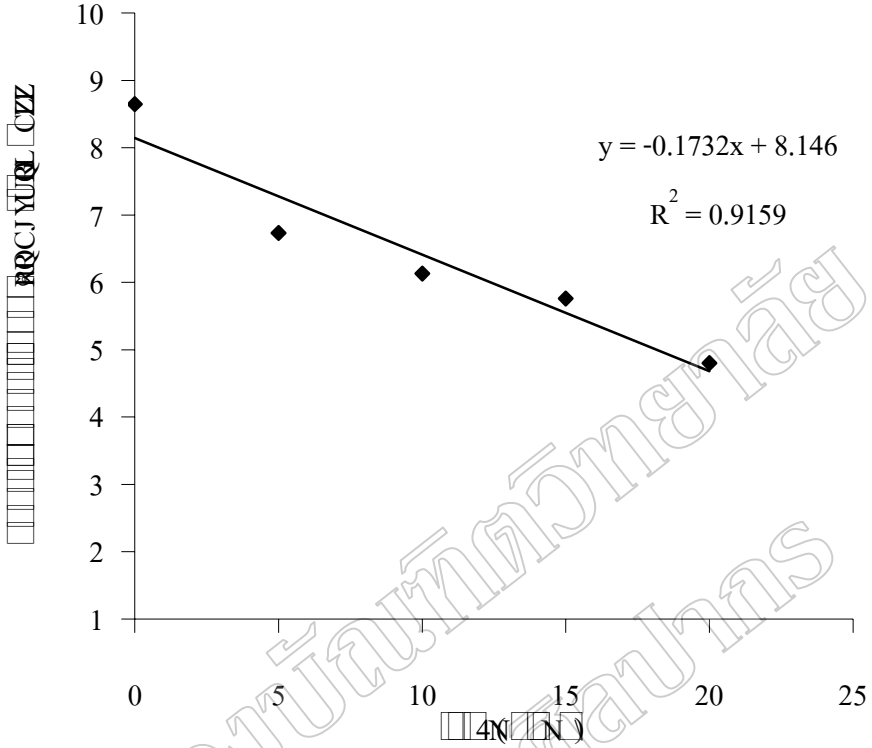
ภาพที่ 9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (วินาที) กับลอการิทึมของจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตที่ 75 องศาเซลเซียส

คำนวณหาค่า D จากส่วนกลับของความชันจากกราฟการรอดชีวิตที่ได้

ความชันของกราฟที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส = 0.0635

ดังนั้น D_{75} = 1/ 0.0635 = 15.758 วินาที

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (วินาที) กับลอการิทึมของจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตที่ 80 องศาเซลเซียส

คำนวณหาค่า D จากส่วนกลับของความชันจากกราฟการรอดชีวิตที่ได้

ความชันของกราฟที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส = 0.1732

ดังนั้น D_{80} = 1/ 0.1732 = 5.774 วินาที

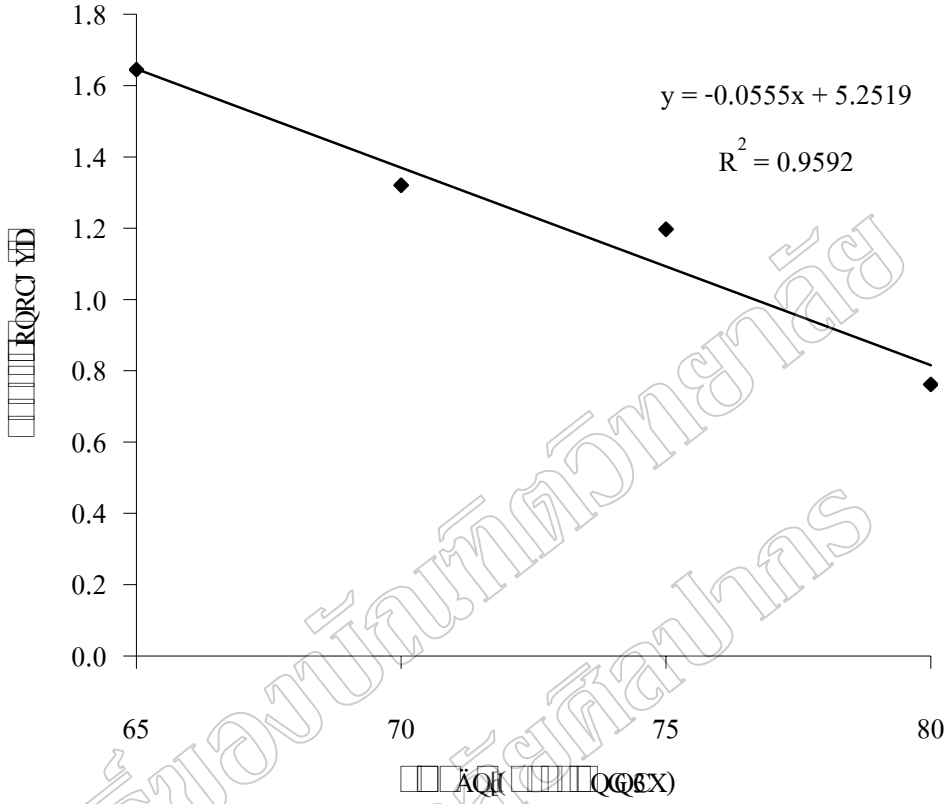
จากกราฟการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิและเวลาต่างๆ พบว่าการลดลงของเชื้อจุลินทรีย์มีแนวโน้มเป็นเส้นตรง นั่นคือ ค่า D จะเป็นปฏิภาคผกผันกับอุณหภูมิ กล่าวคือ เมื่อระดับการให้ความร้อนเพิ่มสูงขึ้น ค่า D จะน้อยลง (รุ่งนภา, 2535) แสดงว่าค่า D อาจจะใช้เป็นตัวเปรียบเทียบอัตราการทำลายของเชื้อชนิดเดียวกัน จากจำนวนจุลินทรีย์ที่เท่ากันระหว่างอุณหภูมิต่างๆ กัน แต่ค่า D ของจุลินทรีย์เดียวกันอาจต่างกันในสภาพแวดล้อมต่างกัน (Harper, 1976) นอกจากนี้จุลินทรีย์ต่างชนิดกันจะมีความต้านทานความร้อนแตกต่างกัน โดยจุลินทรีย์ที่มีค่า D สูงจะทนทานต่อความร้อนสูงกว่าจุลินทรีย์ที่มีค่า D ต่ำ เช่น

C. thermosaccharolyticum ซึ่งมีค่า D_{121} ในช่วง 3-4 นาที จะทนทานต่อความร้อนหรือถูกทำลายได้ยากกว่า *C. botulinum* (type A และ B) ซึ่งมีค่า D_{121} = 0.10-0.20 (Stumbo, 1973) หากในวัตถุดิบมีจุลินทรีย์จำนวนมาก จะต้องใช้เวลานานในการลดจำนวนลงจนถึงระดับที่ต้องการ ซึ่งในการแปรรูปอาหารระดับอุตสาหกรรมนั้น จำนวนจุลินทรีย์ในวัตถุดิบแต่ละครั้งจะไม่เท่ากัน และเป็นการยากในการคำนวณหาเวลาในการให้ความร้อนของกระบวนการ (process time) ของแต่ละรุ่นหรือชุดของการผลิต (batch) ดังนั้นในการผลิตระดับอุตสาหกรรมจึงใช้ค่าจำเพาะของอุณหภูมิและเวลา (specific temperature-time combination) สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละชนิด และขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบจะต้องลดปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นลงให้มีจำนวนเหลือใกล้เคียงกันมากที่สุด (นิธิยา, 2544)

ข้อมูลของค่า D ที่ได้จากกราฟการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ในช่วงอุณหภูมิต่างๆ แสดงให้ทราบว่าการทำลายจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญ นั่นคือเซลล์จะตายเร็วขึ้นเมื่อใช้อุณหภูมิสูงขึ้น ดังนั้นค่า D ที่อุณหภูมิต่างกันก็จะแตกต่างกันด้วย เมื่อแปลงค่า D ให้อยู่ในรูปลอการิทึมของค่า D (log D) ดังตารางที่ 12 จะสามารถนำไปสร้างกราฟเวลาที่ทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อน (thermal death time curve, TDT curve) ได้ โดยกราฟนี้แสดงถึงระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ ณ อุณหภูมิที่กำหนด ดังแสดงในภาพที่ 11 ความชันของเส้นกราฟหรือค่า Z (thermal resistance) ซึ่งหมายถึง จำนวนองศาเซลเซียสหรือองศาฟาเรนไฮต์ที่ทำให้การเปลี่ยนแปลงเวลาของค่า D ลดลง 1 รอบลอการิทึม หรือ 10 เท่า (นิธิยา, 2544 และวิไล, 2545)

ตารางที่ 12 อุณหภูมิที่ใช้ในการให้ความร้อน ค่า D และลอการิทึมของค่า D

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่า D (วินาที)	ลอการิทึมของค่า D
65	44.142	1.6448
70	20.921	1.3206
75	15.758	1.1975
80	5.774	0.7615



ภาพที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึมของค่า D กับอุณหภูมิที่ใช้ในการลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์

การหาค่า Z ของการทดลองนี้สามารถหาได้จากการคำนวณส่วนกลับของความชันของความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึมของค่า D กับอุณหภูมิที่ใช้ในทดลอง

ความชันของกราฟที่อุณหภูมิต่างๆ (องศาเซลเซียส) = 0.0555

ดังนั้น Z = 1/ 0.0555 = 18.018 องศาเซลเซียส

จากกราฟเวลาการทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อน (TDT curve) นี้สามารถหาค่า Z ได้ประมาณ 18 องศาเซลเซียส นั่นคือถ้าอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้น 18 องศาเซลเซียส เวลาในการฆ่าเชื้อสามารถลดลงมา 10 เท่า หรือลดค่า D ลงร้อยละ 90 นอกจากนี้สามารถเลือกเวลาและอุณหภูมิได้จากเส้นกราฟนี้ โดยใช้หลักการว่าเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ต้องให้ระดับการทำลายจุลินทรีย์ตามที่ต้องการได้ (วิไล, 2545)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ค่า Z บ่งบอกถึงความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ หรือเอนไซม์ (เอนไซม์บางชนิดทนทานต่อความร้อนมาก) หรือองค์ประกอบทางเคมีของอาหาร (เช่น โปรตีน ไขมัน และน้ำตาล ความเข้มข้นสูงจะทำให้จุลินทรีย์มีความทนทานต่อความร้อนมากขึ้น) (วิไล, 2545) โดยปกติ ค่า Z จะมีความแตกต่างกันในชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหาร รวมถึงชนิดของอาหารที่มีจุลินทรีย์อยู่ กล่าวคือ ในอาหารที่กำหนดให้ชนิดหนึ่ง ถ้ามีจุลินทรีย์ที่ต่างชนิดกัน ก็จะมีค่า Z ที่แตกต่างกัน หรือในกรณีที่มีจุลินทรีย์ชนิดเดียวกัน จุลินทรีย์นี้จะมีค่า Z ที่แตกต่างกัน ถ้าเจริญอยู่ในอาหารที่ต่างชนิดกัน (วราวุฒิ, 2538 และทิพาพร, 2546)

4.4 การศึกษาอัตราการตายของเชื้อจุลินทรีย์ (lethal rate)

การให้ความร้อนแก่เครื่องดื่มกาแฟเพื่อศึกษาอัตราการตายของเชื้อจุลินทรีย์ ในงานวิจัยนี้เป็นการให้ความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรซ์ โดยวิธีการต้มในหม้อ (boiling pan) โดยมีเตาไฟฟ้ากำลังความร้อน 1,200 วัตต์เป็นแหล่งให้ความร้อน วัดอุณหภูมิ ณ จุดที่ได้รับความร้อนช้าที่สุดโดยใช้เทอร์มอคัปเปิล วัสดุที่ใช้ในการนำความร้อนคือหม้อสแตนเลส แม้ว่าสแตนเลสจะนำความร้อนได้ต่ำ (21 W/mK) เมื่อเทียบกับวัสดุโลหะอื่นๆ เช่น เมทัลไลซ์หรือทองแดง แต่เมื่อเทียบกับอาหารซึ่งมีค่าการนำความร้อนต่ำกว่ามาก (อาหารส่วนใหญ่มีค่าการนำความร้อนน้อยกว่า 1 W/mK) (วิไล, 2545) จึงไม่เป็นการจำกัดอัตราการถ่ายเทความร้อน การถ่ายเทความร้อนในกระบวนการนี้เกิดได้ทั้งแบบการนำความร้อนจากการถ่ายเทผ่านภาชนะบรรจุ และการพาความร้อนจากการถ่ายเทผ่านโมเลกุลของน้ำกาแฟ ในการทำให้เย็นลงจะใช้อ่างน้ำเย็น (cooling bath) ที่มีการเติมสารทำความเย็น เพื่อลดอุณหภูมิของน้ำเย็นให้ลดลงเหลือ 3-5 องศาเซลเซียส

การใช้ความร้อนจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร โดยการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหารนั้น ตามปกติแล้วการตายของจุลินทรีย์จะเกิดขึ้นไม่พร้อมกันที่อุณหภูมิใดอุณหภูมิหนึ่ง แต่การตายจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อให้ความร้อนเพิ่มขึ้น และจะลดลงเมื่อทำให้อาหารเย็นลง ดังนั้นอัตราการตายของเชื้อจุลินทรีย์จึงมีความสำคัญมาก โดยเฉพาะเมื่อต้องการหาประสิทธิภาพในการฆ่า (lethal effect) จึงต้องพิจารณาถึงอัตราการตายของเชื้อจุลินทรีย์ในแต่ละอุณหภูมิ ในขณะที่กำลังให้ความร้อนแต่ยังไม่ถึงอุณหภูมิที่ต้องการ (come-up portion) และช่วงที่กำลังทำให้เย็นลง (cool-down portion) ด้วย (ทิพาพร, 2546; ไพโรจน์, 2546 และสายวรุฬ, 2546) จากข้อมูลของค่า D ที่ได้จากการทดลอง สามารถกำหนดค่า Z ได้เท่ากับ 18.0 องศาเซลเซียส และกำหนดค่าความร้อนที่ใช้ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อลดจำนวนเชื้อเริ่มต้นในวัตถุดิบจาก 10^4 โคโลนีต่อมิลลิลิตรให้เหลือจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เท่ากับ 10^{-2} โคโลนีต่อมิลลิลิตร นั่นคือในกระบวนการให้ความ

ร้อนแก่ผลิตภัณฑ์ครั้งนี้ จะยอมให้มีอัตราการเสื่อมเสียได้ไม่เกิน 1 เซลล์จุลินทรีย์ใน 100 หน่วยผลิตภัณฑ์ หรือเท่ากับ 6 วงจรลอการิทึม (6 log cycle reductions) หรือ F = 6D ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Dornow (2004) และ Holdswort (1997) ที่กำหนดให้ค่า F = 6D เป็นค่าที่ใช้สำหรับการฆ่าเชื้อในระดับพาสเจอร์ไรซ์

เมื่อกำหนดให้ F=6D และใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิอ้างอิง ซึ่งมีค่า D_{80}= 6 วินาที

ดังนั้นจากสมการ $F^{Z}_{T} = D_{ref} (\log N_0 - \log N)$

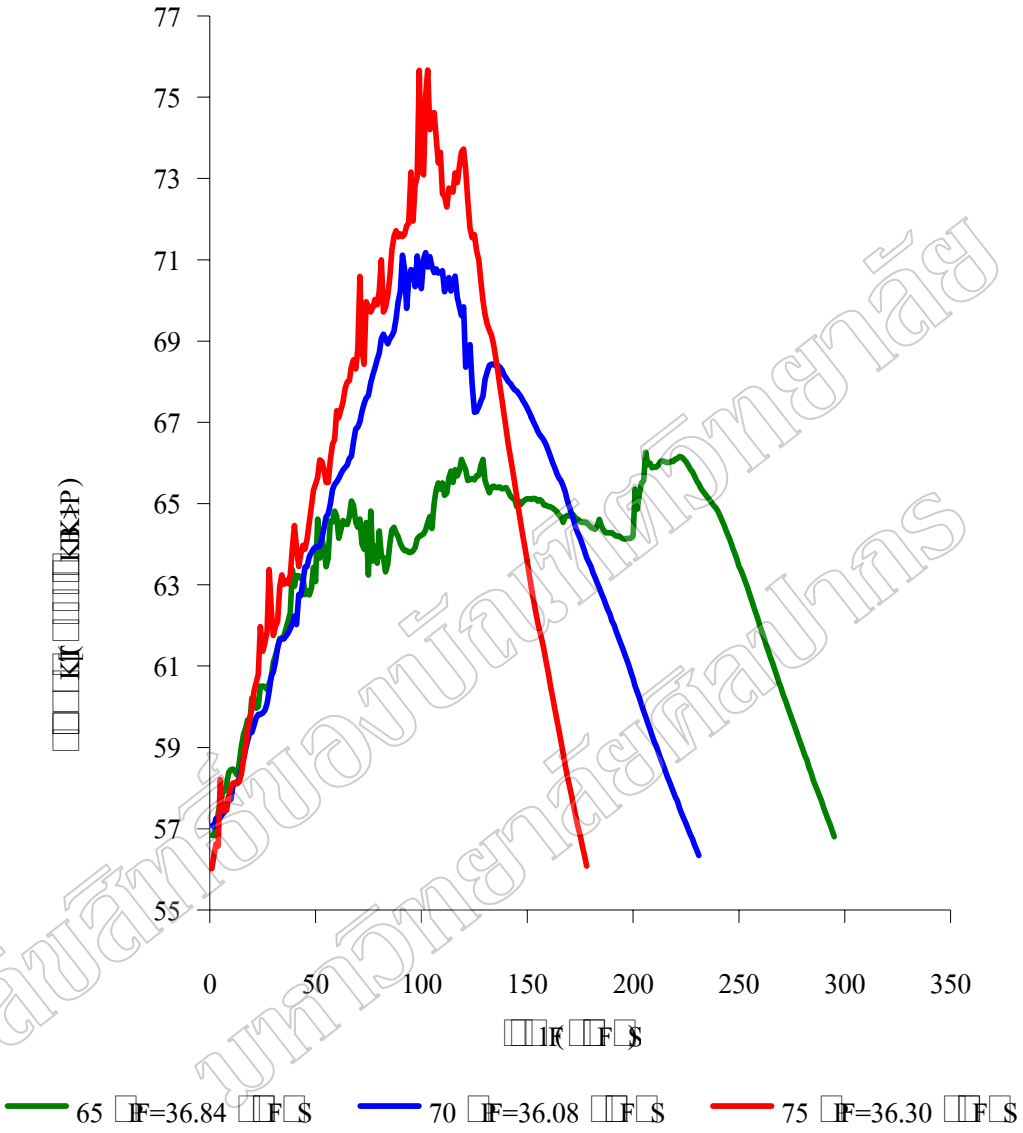
จะสามารถคำนวณค่า $F^{18}_{80} = 6 \times 6 = 36$ วินาที

นั่นคือ ในการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ จะต้องทำให้ค่า F ที่อุณหภูมิใดๆ เทียบเท่ากับค่า F ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ซึ่งเท่ากับ 36 วินาที

ค่า F เป็นค่าที่สำคัญมาก มักเรียกว่าเป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถในการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน (process lethality) หรือหมายถึง จำนวนนาทีที่อุณหภูมิหนึ่งซึ่งใช้เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ทราบจำนวนในอาหาร ภายใต้สภาวะที่กำหนด และเป็นค่าที่มีความสำคัญมากในการหาประสิทธิภาพในการทำลาย (lethal effect) ของช่วงอุณหภูมิที่กำลังให้ความร้อน โดยอุณหภูมินั้นอาจยังไม่ถึงอุณหภูมิที่ต้องการ และการหาประสิทธิภาพในการทำลายในช่วงที่ทำให้ผลิตภัณฑ์เย็นลง (วิไล, 2545) ในกรณีที่ต้องการเปรียบเทียบกระบวนการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน อาจแสดงค่า F ที่อุณหภูมิอื่น สูตรที่ใช้ในการคำนวณหาอัตราการตาย ณ อุณหภูมิใดๆ คือ

$$\text{Lethal rate} = 10^{(T - Tref)/Z}$$

ในการหาอัตราการตายของเชื้อจุลินทรีย์ ต้องกำหนดให้อัตราการแพร่ผ่านความร้อนในอาหารช่วงแรกเท่ากัน สังเกตได้จากความชันของกราฟในแต่ละอุณหภูมิในช่วงของการให้ความร้อนจะเท่ากัน ทั้งนี้เพื่อให้สามารถเปรียบเทียบระยะเวลาในการฆ่าเชื้อของแต่ละอุณหภูมิได้ โดยจะต้องมีค่า F เท่ากันในแต่ละอุณหภูมิคือ ประมาณ 36 วินาที นอกจากนี้ยังสามารถนำกราฟอัตราการตายนี้ไปใช้เป็นพื้นฐานในกระบวนการฆ่าเชื้อในระดับอุตสาหกรรมได้ เช่น การขยายส่วน (scale up) โดยใช้อุณหภูมิสูงขึ้น เพื่อลดระยะเวลาในการฆ่าเชื้อให้น้อยลง โดยมีความชันของกราฟในช่วงแรกเท่ากับการทดลองในครั้งนี้และมีค่า F เท่ากับ 36 วินาที จะให้ผลของอัตราการตายเชื้อจุลินทรีย์เท่ากับการทดลองในครั้งนี้ด้วยเช่นกัน จากการทดลองได้ผลดังแสดงในภาพที่ 12



ภาพที่ 12 กราฟอัตราการตายของเชื้อจุลินทรีย์เมื่อให้ความร้อนแก่เครื่องดื่มกาแฟ

จากการศึกษาอัตราการตายของเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มกาแฟพบว่าที่อุณหภูมิ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส สามารถควบคุมความร้อนเท่ากับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (F^{10}_{80}=36 s) โดยมีค่า F เท่ากับ 36.84 36.08 และ 36.30 วินาที ตามลำดับ ระยะเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนและทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิต่างๆ แสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ระยะเวลาในการให้ความร้อน ระยะพัก และระยะทำให้เย็นลงของเครื่องดื่มกาแฟ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลาที่ใช้ (วินาที)			
	ระยะให้ความร้อน (heating)	ระยะคงอุณหภูมิ (holding)	ระยะให้ความเย็น (cooling)	รวม
65	60	170	65	295
70	90	30	110	230
75	100	-	80	180

จากตารางที่ 14 พบว่า เมื่ออุณหภูมิในการให้ความร้อนเพิ่มสูงขึ้น ระยะเวลาที่ใช้จะลดน้อยลง โดยอุณหภูมิที่ 75 องศาเซลเซียสจะใช้เวลาในการคงอุณหภูมิสั้นมาก เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับอุณหภูมิที่ใช้ในการอ้างอิง (80 องศาเซลเซียส)

ในการกำหนดอุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อ นอกจากจะคำนึงถึงความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์อาหารจากเชื้อจุลินทรีย์แล้ว ควรพิจารณาถึงลักษณะของอาหาร เช่น สี กลิ่น รสชาติ การสูญเสียคุณค่าทางอาหาร รวมถึงเวลาที่ใช้ในการผลิต วิธีการที่ใช้และค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิตร่วมด้วย

ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้ จึงเปรียบเทียบความแตกต่างทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่มร่วมด้วยเพื่อใช้เป็นอีกปัจจัยหนึ่งในการคัดเลือกสภาวะที่ใช้ผลิตเครื่องดื่มกาแฟ จากกาแฟที่ผ่านการให้ความร้อน 3 ระดับอุณหภูมิ คือ 65 70 และ 75 องศาเซลเซียส โดยการทดสอบความแตกต่างทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดสอบแบบสามเหลี่ยม (triangle test) จากผู้ทดสอบชิมจำนวน 15 คน มีตัวอย่างที่ไม่ผ่านความร้อนเป็นตัวอย่างควบคุม แสดงดังตารางที่ 14

ตารางที่ 15 การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธีการทดสอบแบบสามเหลี่ยม (triangle test) ของกาแฟพร้อมดื่มบรรจุถ้วยพลาสติกที่ผ่านการให้ความร้อน 3 ระดับ

อุณหภูมิที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ (องศาเซลเซียส)	จำนวนที่ตอบถูกจากผู้ชิม 15 คน
65	5
70	2
75	3

จากตาราง Critical Number of Correct Responses in a Triangle Test ค่า $X_{a,n}$ *หรือ* $X_{0.05,\ 15}$= 9 หมายถึง ยอมให้มีคำตอบที่ถูกต้องมากที่สุดเท่ากับ 9 คน ใน 15 คน จึงจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Meilgarrd และคณะ, 1999) ผลปรากฏว่าการให้ความร้อนที่ต่างกันทั้ง 3 ระดับนี้ให้ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของกาแฟพร้อมดื่มบรรจุถ้วยพลาสติกที่ผ่านการให้ความร้อน 3 ระดับอุณหภูมิไม่มีความแตกต่างจากเครื่องดื่มกาแฟที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จึงเลือกสภาวะที่ใช้ระยะเวลาในการผลิตน้อยที่สุด คือ ที่ระดับอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ซึ่งใช้เวลาในการให้ความร้อนนาน 100 วินาที และทำให้เย็นลงในทันทีนาน 80 วินาที ประกอบกับที่สภาวะนี้ไม่มีระยะในการคงอุณหภูมิ (holding time) จึงควบคุมง่าย และมีโอกาสที่จะเกิดความคลาดเคลื่อนในระหว่างการคงอุณหภูมิน้อยกว่าการใช้สภาวะการผลิตอื่นๆ สภาวะที่ใช้อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียสจึงเหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มกาแฟครั้งนี้ก่อนนำไปบรรจุในขั้นตอนต่อไป

การออกแบบกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์จะคำนึงถึงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการทำลายจุลินทรีย์กับปัจจัยด้านคุณภาพ โดยทั่วไปการให้ความร้อนอาหารด้วยอุณหภูมิสูงกว่าและเวลาสั้นกว่าจะสามารถรักษาสมบัติทางโภชนาการและประสาทสัมผัสได้ดีกว่าการให้ความร้อนอาหารด้วยอุณหภูมิต่ำกว่าแต่ใช้เวลานานกว่า (วิไล, 2545) ซึ่งในด้านคุณภาพของอาหารนั้น Fellows (2000) ได้ยกตัวอย่างสภาวะของการพาสเจอร์ไรซ์ที่แตกต่างกัน คือ การใช้อุณหภูมิสูง เวลาสั้น (high temperature short time, HTST) ซึ่งสามารถรักษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสและคุณค่าทางอาหารได้ดีกว่าการใช้อุณหภูมิต่ำ เป็นเวลานาน (low temperature long time, LTLT) เช่น ในผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จะสูญเสียกลิ่นรส และวิตามินมากกว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 71.8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที สอดคล้องกับการทดลองของ Ford และคณะ (1969) ในการพาสเจอร์ไรซ์นม พบว่ากระบวนการให้ความร้อนแก่นมที่ อุณหภูมิต่ำ เวลานาน (LTLT หรือ holder process) เช่น 62.5 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จะทำให้เกิดการสูญเสียวิตามินมากกว่ากระบวนการความร้อนสูง เวลาสั้น เช่น 88 องศาเซลเซียส นาน 1 วินาที หรือ 94 องศาเซลเซียส นาน 0.1 วินาที แต่ผลของการเลือกใช้ความร้อนสูงเวลาสั้น อาจมีผลต่อคุณภาพบางอย่างของอาหาร โดยผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อนั้นอาจทำให้อาหารมีความปลอดภัยทางการค้า แต่อาจไม่เพียงพอต่อการทำลายเอนไซม์ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญต่อคุณภาพของอาหาร ทั้งนี้เนื่องจากการทำลายวิตามิน สีของอาหาร หรือการทำลายเอนไซม์ จะคล้ายกับการทำลายสปอร์ของจุลินทรีย์ เพียงแต่ค่า Z สูงกว่ามาก (รุ่งนภา, 2535)

4.5 การเปรียบเทียบชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่ใช้และศึกษาอายุการเก็บของกาแฟพร้อมดื่มบรรจุถ้วยพลาสติก

ชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่ใช้บรรจุกาแฟพร้อมดื่มประกอบด้วยถ้วยพลาสติก 2 ชนิดคือ โพลีโพรพิลีน และโพลีสไตรีน แผ่นฟิล์มที่ใช้ปิดผนึก 2 ชนิด คือ พลาสติกลามิเนต และแผ่นฟิล์มเมทัลไลซ์ ซึ่งมีคุณสมบัติต่างๆ ดังนี้

การแพร่ผ่านของความชื้น จากเอกสารบรรจุภัณฑ์กับการใช้งานที่ได้มาจากโรงงานเขาช่อง (2003) ได้ระบุคุณสมบัติของบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ไว้ว่า บรรจุภัณฑ์พลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนป้องกันความชื้นได้ดีกว่าพลาสติกชนิดโพลีสไตรีน จากตารางที่ 7 Paine และ Paine (1992) แสดงคุณสมบัติของพลาสติกที่ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์เห็นว่าพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนมีอัตราการซึมผ่านของความชื้น (water vapour transmission rate) 11 กรัมต่อ 25 ไมโครเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน (g/25 μm / m^2d) ขณะที่พลาสติกชนิดโพลีสไตรีนมีอัตราการซึมผ่านของความชื้น 120 กรัม เมื่อทำการทดสอบที่ 38 องศาเซลเซียส โดยมีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 ส่วนแผ่นฟิล์มปิดผนึกนั้นเอกสารจากโรงงานเขาช่อง (2003) ได้ระบุไว้ว่าแผ่นเมทัลไลซ์สามารถป้องกันความชื้นได้ดีกว่าแผ่นฟิล์มพลาสติก

การแพร่ผ่านของออกซิเจน บรรจุภัณฑ์พลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนสามารถป้องกันการผ่านเข้าออกของออกซิเจนใกล้เคียงกับพลาสติกชนิดสไตรีนกล่าวคือพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนมีอัตราการซึมผ่านของออกซิเจน 2400-3800 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อ 25 ไมโครเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน (cm^3/25 μm / m^2d) ขณะที่โพลีสไตรีนมีอัตราการซึมผ่านของออกซิเจน 2700 ลูกบาศก์เซนติเมตร เมื่อทำการทดสอบที่ 25 องศาเซลเซียส โดยมีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 50 ดังแสดงในตารางที่ 7 (Paine และ Paine, 1992) สอดคล้องกับในเอกสารบรรจุภัณฑ์กับการใช้งานที่ได้จากโรงงานเขาช่อง (2003)ได้ระบุว่าทั้งพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนและโพลีสไตรีนต่างกันการซึมผ่านของออกซิเจนได้ไม่ดี ในส่วนของแผ่นฟิล์มปิดผนึกนั้นได้ระบุไว้ว่าแผ่นเมทัลไลซ์สามารถป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจนได้ดีกว่าแผ่นฟิล์มพลาสติก

การป้องกันแสง Paine และ Paine (1992) ได้กล่าวถึงความสามารถในการป้องกันแสงของพลาสติกทั้ง 2 ชนิดนี้ว่า พลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนซึ่งมีสีขาวขุ่น (milky white) จึงป้องกันแสงได้ดีกว่าโพลีสไตรีนซึ่งมีลักษณะใส (crystal clear) ส่วนแผ่นเมทัลไลซ์สามารถป้องกันการผ่านของแสงได้ดีกว่าแผ่นฟิล์มพลาสติก

การทนต่อน้ำมัน จากเอกสารบรรจุภัณฑ์กับการใช้งานของโรงงานเขาช่องระบุไว้ว่า พลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนจะทนต่อน้ำมัน โดยจะไม่อ่อนตัวเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลานานเหมือนโพลีสไตรีน และแผ่นเมทัลไลซ์สามารถทนต่อน้ำมันได้ดีกว่าแผ่นฟิล์มพลาสติก

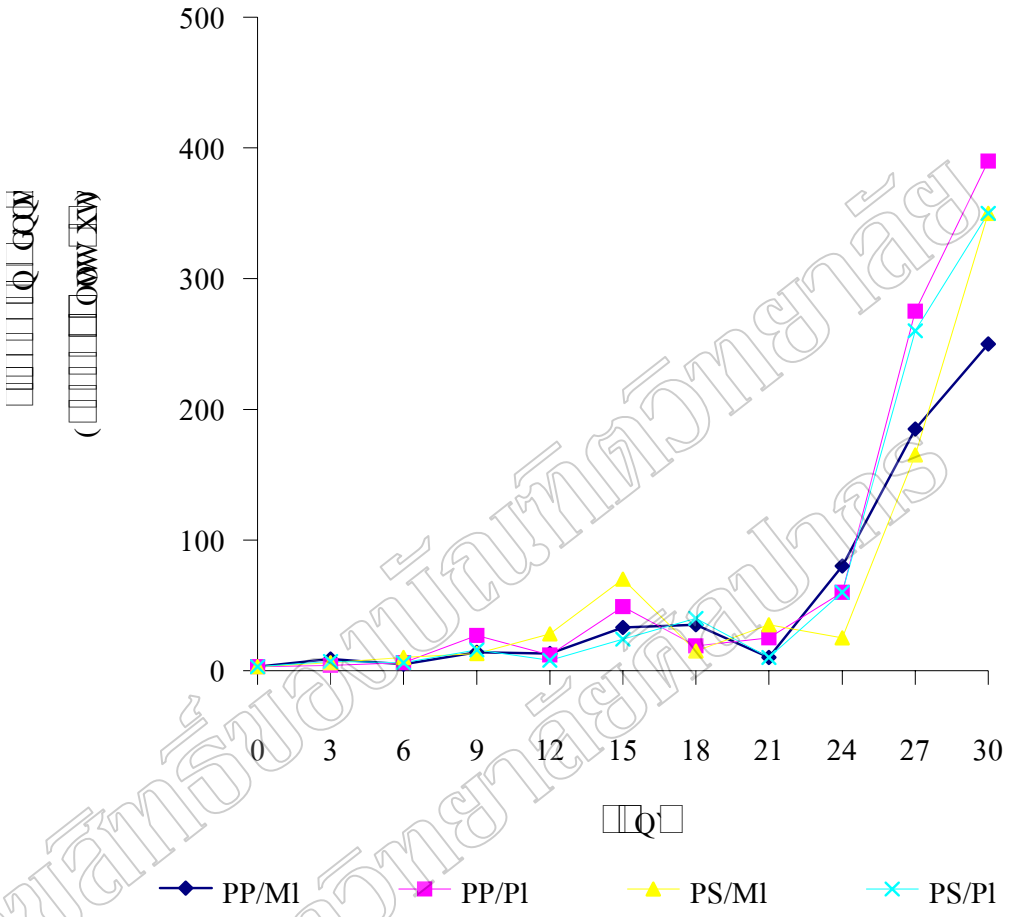
นอกจากคุณสมบัติของบรรจุภัณฑ์แล้ว อายุการเก็บรักษาของเครื่องดื่มกาแฟจะขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร ปริมาณของจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่ถูกทำลายในกระบวนการแปรรูป การควบคุมสุขอนามัยระหว่างการแปรรูปและการบรรจุใส่ภาชนะ และอุณหภูมิระหว่างการเก็บรักษาหรือวางจำหน่าย (นิธิยา, 2544) ในการผลิตกาแฟพร้อมดื่มครั้งนี้ ใช้กระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ ซึ่งเป็นการใช้ระดับความร้อนที่ไม่รุนแรงจึงมีการเปลี่ยนแปลงของสารอาหาร และคุณภาพทางประสาทสัมผัสเพียงเล็กน้อยเท่านั้น อายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์จะสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เพียง 2-3 วัน หรือ 2-3 สัปดาห์ (Fellows, 2000) เนื่องจากอาหารที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์จะยังคงมีจุลินทรีย์บางชนิดเจริญอยู่ได้ ดังนั้นต้องเก็บรักษาอาหารที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ไว้ที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อยืดช่วงเวลาการเพิ่มจำนวน (generation time) ของจุลินทรีย์ให้นานขึ้น และทำให้จุลินทรีย์เจริญได้ช้าลง (นิธิยา, 2544)

ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของกาแฟพร้อมดื่มบรรจุถ้วยพลาสติก ร่วมกับการศึกษาความสามารถในการปกป้องผลิตภัณฑ์ โดยใช้บรรจุภัณฑ์ถ้วยพลาสติกและแผ่นฟิล์มปิดผนึกชนิดต่างๆ ที่กำหนดไว้ทั้ง 4 ชนิด คือ ถ้วยโพลีโพรพิลีนกับฟิล์มเมทัลไลซ์ (PP/Ml) ถ้วยโพลีโพรพิลีนกับฟิล์มพลาสติกลามิเนต (PP/Pl) ถ้วยโพลีสไตรีนกับฟิล์มเมทัลไลซ์ (PS/Ml) และถ้วยโพลีสไตรีนกับฟิล์มพลาสติกลามิเนต (PS/Pl) และเก็บรักษาตัวอย่างกาแฟพร้อมดื่มบรรจุถ้วยพลาสติกในตู้แช่เย็นซึ่งควบคุมอุณหภูมิประมาณ 8 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิของตู้แช่เย็นในร้านสะดวกซื้อทั่วไป

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยกรุงเทพ มหาวิทยาลัยปทุมธานี

การตรวจสอบกาแฟพร้อมดื่มบรรจุถ้วยระหว่างการเก็บรักษา มีดังนี้

4.5.1 การตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา



ภาพที่ 13 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในกาแฟพร้อมดื่มบรรจุถ้วยพลาสติกในตู้แช่เย็น ซึ่งควบคุมอุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส

จากผลการตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา พบว่าไม่พบเชื้อยีสต์ และรา แต่จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีจำนวนเพิ่มขึ้น โดยในระยะ 21 วันแรก จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากเป็นระยะปรับตัว (lag phase) เพื่อเตรียมพร้อมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (สุวิมล, 2546) ประกอบกับการแช่เย็นจะทำให้ปฏิกิริยาเคมี การทำงานของเอนไซม์ และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ช้าลง จึงช่วยยืดระยะเวลาในการเก็บอาหารได้นานขึ้น (พวงพร, 2544) โดยในระยะปรับตัวนี้ประชากรของจุลินทรีย์จะคงไว้ชั่วระยะเวลาหนึ่ง ไม่ได้หมายความว่าเซลล์สงบนิ่งหรือพักตัว แต่ในระหว่างช่วงเวลานี้แต่ละเซลล์จะมีการเพิ่มขนาดมากขึ้น มีกิจกรรมทาง

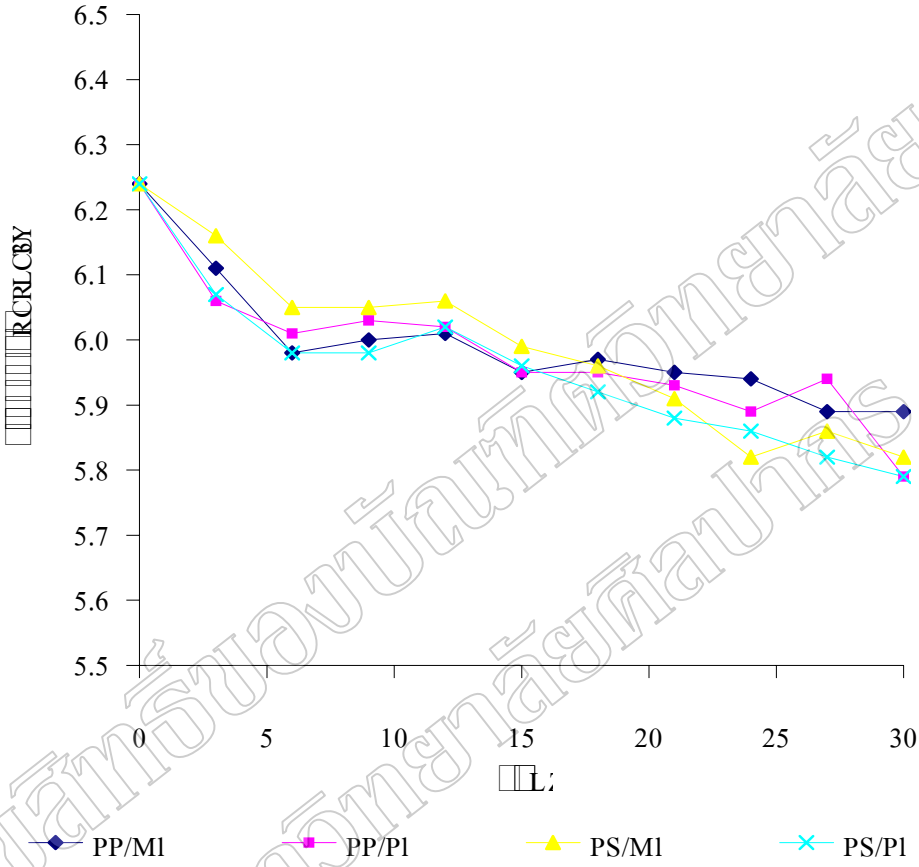
สรีรวิทยา (physiology) ที่ว่องไวและมีการสังเคราะห์โปรโตพลาสซึม (protoplasm) ใหม่ แบคทีเรียในสภาพแวดล้อมนี้อาจขาดแคลนเอนไซม์หรือโคเอนไซม์ซึ่งจะต้องสังเคราะห์มาเป็นอันดับแรก เพื่อให้ได้ปริมาณที่เพียงพอต่อการทำงานทางเคมีของเซลล์อย่างเหมาะสม เมื่อสิ้นสุดระยะนี้ จุลินทรีย์แต่ละเซลล์จะมีการแบ่งตัว อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์แต่ละเซลล์ไม่ได้สิ้นระยะปรับตัวพร้อมกัน (สุพจน์, 2545) หลังจากนั้นจะมีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นทวีคูณ (log phase or exponential phase) (สุวิมล, 2546) ในระหว่างช่วงนี้อัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จะสูงสุด ประชากรเซลล์ทั้งหลายมักมีลักษณะคล้ายคลึงกันเกือบทั้งหมดในแง่ของสารประกอบทางเคมี กิจกรรมทางเมตาบอลิซึม และสรีรวิทยาอื่นๆ (สุพจน์, 2545) โดยการเก็บรักษาเครื่องดื่มบรรจุถ้วยโดยใช้อุณหภูมิต่ำ หรือการแช่เย็นจะช่วยป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มที่ชอบความร้อน (thermophilic) และกลุ่มที่ชอบอุณหภูมิระดับปานกลาง (mesophillic) บางชนิด แต่ยังคงมีจุลินทรีย์กลุ่มที่ชอบความเย็น (phychrophilic) ที่เจริญได้ดี และทำให้อาหารเสื่อมเสียได้ (Fellows, 2000)

เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างภาชนะบรรจุทั้ง 4 ชนิด ปรากฏว่าถ้วยโพลีโพรพิลีนกับฟิล์มเมทัลไลซ์มีการเพิ่มขึ้นของเชื้อจุลินทรีย์น้อยที่สุด ขณะที่ถ้วยโพลีโพรพิลีนกับฟิล์มพลาสติกลามิเนตพบจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นมากที่สุด แต่เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าชนิดของถ้วยพลาสติก และชนิดแผ่นฟิล์มที่ใช้ในการปิดผนึกให้ผลของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

4.5.2. การตรวจสอบค่าความเป็นกรดด่าง

โดยทั่วไปกาแฟผสมแบบไทยจะมีรสเปรี้ยว ซึ่งความเป็นกรดในกาแฟส่วนหนึ่งเป็นผลมาจากกาแฟ ซึ่งกรดอินทรีย์ที่พบในกาแฟได้แก่ แอลิฟาติก, แอลิไซคลิก, คาร์บอกซิลิก และฟีนอลิก เป็นต้น (Coffee Research institute, 2001) และส่วนหนึ่งน่าจะเกิดจากน้ำตาลคาราเมล เนื่องจากปฏิกิริยาคาราเมลให้สารที่มีความเป็นกรดหลายชนิด ได้แก่ กรดซิตริก กรดแลคติก กรดฟอร์มิก กรดแอซีติก และกรดไพรูวิก (Hodge, 1967) อธิบายได้จากปฏิกิริยาการแตกสลายของน้ำตาลด้วยความร้อน เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ภายในโมเลกุล (intramolecular rearangements) มีการปล่อยไฮโดรเจนอิออน ทำให้สารละลายมีค่าพีเอชลดลง (Coca และคณะ) พิศมัย (2547) ได้อธิบายไว้ว่า คาราเมลที่นิยมใช้เติมลงในเครื่องดื่มกาแฟ จะทำให้เกิดรสเปรี้ยวมากขึ้นหลังผ่านความร้อน และระหว่างการเก็บรักษา การเปลี่ยนแปลงนี้จะเพิ่มขึ้นตามอายุการเก็บรักษา เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้นจะมีรสเปรี้ยวมากขึ้น ซึ่งความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นอาจป้องกันได้โดยการใช้ระบบบัฟเฟอร์เพื่อรักษาค่าพีเอชให้คงที่ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดในผลิตภัณฑ์ โดยเลือกใช้เกลือของกรดที่มีในผลิตภัณฑ์นั้นๆ ซึ่งเป็นสารควบคุมความเป็นกรดด่าง เช่น เกลือของกรดซิตริก คือ

โซเดียมซิเตรต เกลือของกรดแอซิติก คือ โซเดียมแอซิเตต เป็นต้น แต่ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม กาแฟ นิยมใช้โซเดียมไบคาร์บอเนต เนื่องจากมีส่วนช่วยให้เกิดกลิ่นคาราเมลอ่อนๆ อย่างไรก็ตาม การใช้สารควบคุมความเป็นกรดด่างในปริมาณมากเกินไป อาจมีผลเสียต่อรสชาติของผลิตภัณฑ์ได้



ภาพที่ 14 ค่าความเป็นกรดด่างของกาแฟพร้อมดื่มบรรจุถ้วยพลาสติกในตู้แช่เย็น ซึ่งควบคุมอุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส

ผลการตรวจสอบค่าความเป็นกรดด่าง พบว่าเมื่อเก็บรักษาเครื่องดื่มกาแฟในภาชนะบรรจุพลาสติกปิดสนิท ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 วัน ค่าความเป็นกรดด่างจะลดลง โดยมีค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น

ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นว่า การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่างเป็นผลมาจากธรรมชาติของเครื่องดื่มกาแฟเป็นส่วนใหญ่ แต่อีกปัจจัยหนึ่งที่อาจมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของกรดในกาแฟพร้อมดื่มระหว่างการเก็บรักษา คือการสร้างกรดของสารประกอบในกาแฟระหว่างการเก็บ

รักษากาแฟ เนื่องจากเอนไซม์ในกาแฟจะย่อยสลายไขมันที่มีอยู่ในเครื่องดื่มกาแฟให้เกิดเป็นกรดไขมันอิสระ (Varnam และ Sutherland, 1994) ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยาของไขมันได้แก่ ความไม่อิ่มตัวของไขมัน แสงสว่าง อุณหภูมิ ออกซิเจน และโลหะบางชนิด เป็นต้น ตัวอย่างเช่น ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของโมเลกุลไขมัน น้ำและเอนไซม์จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เอนไซม์ที่กระตุ้นปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไขมัน มีชื่อว่าไลเพส (lipase) ซึ่งมีอยู่ตามธรรมชาติในอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ และจะกระตุ้นปฏิกิริยาระหว่างที่อาหารนั้นถูกเก็บไว้
(มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, 2538)

จากภาพที่ 14 สังเกตเห็นว่าเครื่องดื่มกาแฟที่บรรจุในถ้วยพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนกับแผ่นฟิล์มเมทัลไลซ์มีการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่างน้อยที่สุด

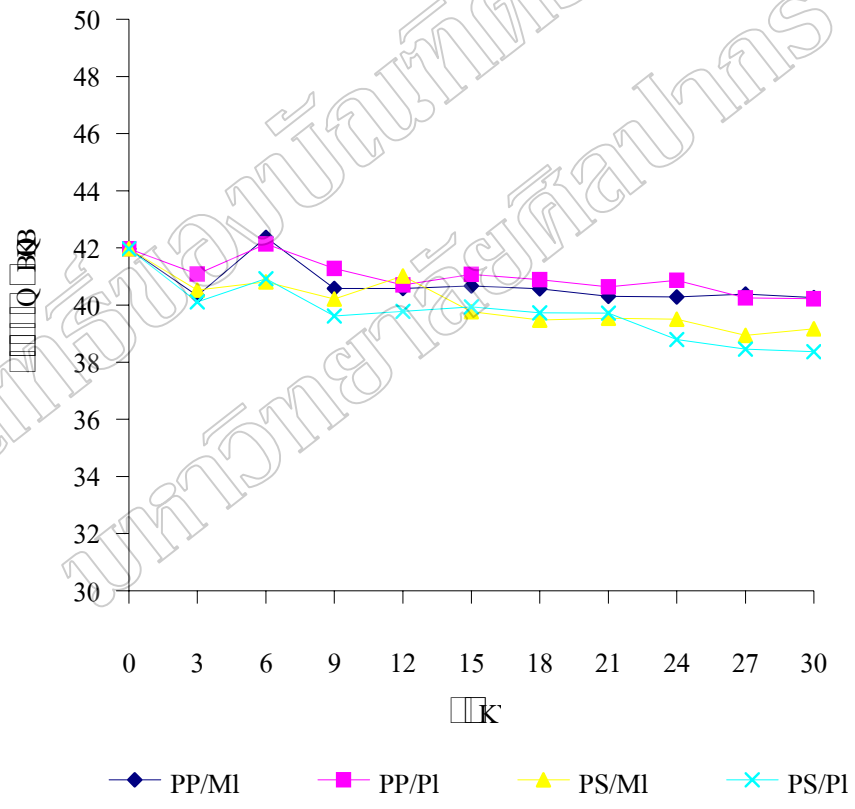
เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติเปรียบเทียบชนิดของถ้วยพลาสติกและชนิดแผ่นฟิล์มที่ใช้ในการปิดผนึก พบว่าให้ผลของค่าความเป็นกรดด่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กล่าวคือ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างถ้วยพลาสติก 2 ชนิด เครื่องดื่มกาแฟที่บรรจุในถ้วยพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนมีการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่างระหว่างการเก็บรักษาน้อยกว่าเครื่องดื่มกาแฟที่บรรจุในถ้วยพลาสติกชนิดโพลีสไตรีน ส่วนแผ่นฟิล์มที่ใช้ในการปิดผนึก พบว่าแผ่นฟิล์มเมทัลไลซ์ให้ผลการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างน้อยกว่าแผ่นฟิล์มพลาสติก เนื่องจากเมทัลไลซ์ มีคุณสมบัติต้านทานการซึมผ่านได้ดีกว่า โดยทั่วไปจะมีการเคลือบไข หรือพลาสติกชนิดอื่นๆ เพื่อช่วยเพิ่มคุณสมบัติทั้งด้านการต้านทานการซึมผ่าน หรือคุณสมบัติในการปิดผนึก แต่เนื่องจากเมทัลไลซ์มีราคาค่อนข้างแพงเพราะมีการใช้พลังงานในกระบวนการผลิตมาก ทำให้มีการใช้พลาสติกประกอบหลายชนิดทดแทน (อัญชลี และคณะ, 2546)

4.5.3 การเปลี่ยนแปลงของค่าสี

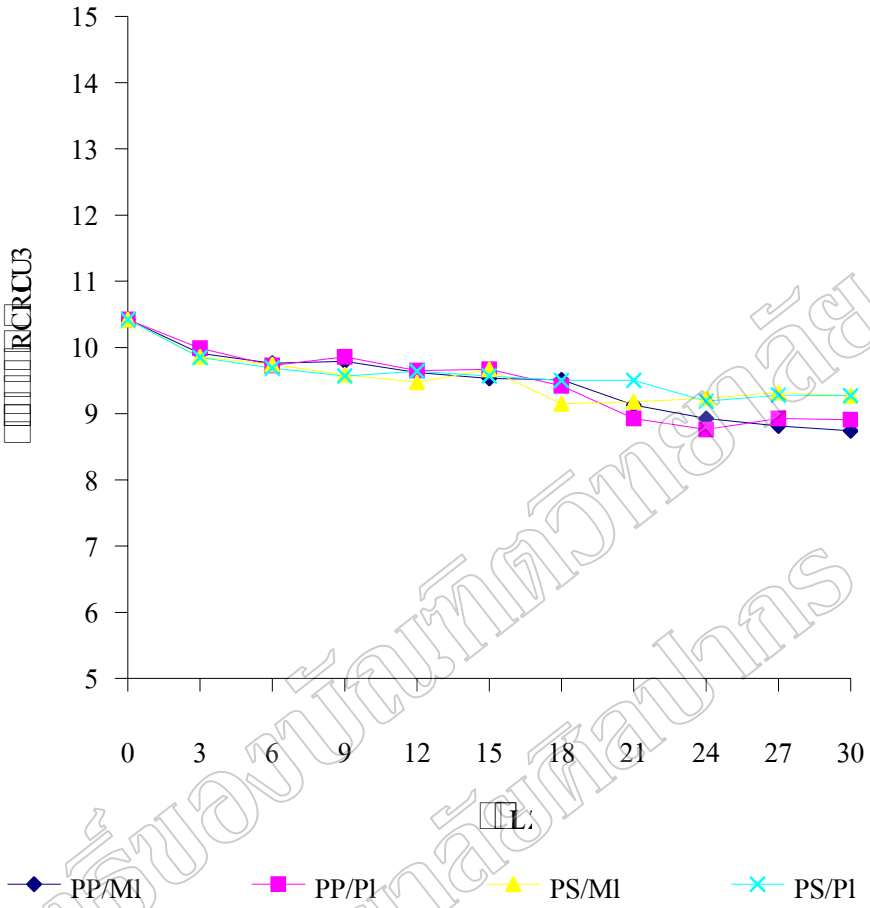
สีของกาแฟส่วนใหญ่ เกิดจากสารสี (pigment) ตามธรรมชาติที่มีอยู่ในกาแฟ คือ สีน้ำตาลไหม้ที่เกิดจากปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชั่น (caramelization reaction) เป็นปฏิกิริยาที่เกิดจากการให้ความร้อนแก่น้ำตาลในสภาวะที่ไม่มีสารประกอบไนโตรเจน เกี่ยวข้องกับการสูญเสียน้ำ การแตกสลาย และการเกิดพอลิเมอร์ ซึ่งเป็นได้เป็นสารประกอบที่ให้กลิ่นรสและให้เม็ดสีน้ำตาลเมื่อน้ำตาลถูกทำให้ร้อน หรืออาจการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) เป็นปฏิกิริยาที่น้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งมรส่วนที่เป็นอัลดีไฮด์ และคีโตน ทำปฏิกิริยากับสารประกอบไนโตรเจน เช่น เอมีน โปรตีน ทำให้เกิดสารสีน้ำตาลที่เรียกว่า เมลานอยดิน (melanoidins) (Clarke และ Macrae, 1987) อาหารส่วนใหญ่เมื่อนำไปแปรรูปสารสีบางชนิดอาจถูกทำลายด้วยความร้อน ปฏิกิริยาทางเคมี การเปลี่ยนค่าความเป็นกรดด่าง หรือเกิดออกซิเดชันระหว่างการเก็บรักษา แต่สารสีคาราเมลมีความคงตัวต่อความร้อน

แสง ออกซิเจน และความคงตัวในพีเอชสูง (นิธิยา, 2544) แต่เนื่องจากปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชั่นจะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิสูงกว่า 100 องศาเซลเซียส (มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, 2538) ขณะที่เครื่องดื่มกาแฟครั้งนี้ถูกให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของสีในระหว่างการเก็บรักษาเครื่องดื่มกาแฟที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส จึงอาจเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) มากกว่า ซึ่งปฏิกิริยานี้สามารถเกิดได้อย่างช้าๆ ที่อุณหภูมิต่ำ (นิธิยา, 2544)

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของค่าความสว่าง (brightness, L*) ค่าความเป็นสีแดง (redness, a*) และค่าความเป็นสีเหลือง (yellowness, b*) พบว่าเมื่อเก็บรักษากาแฟพร้อมดื่มบรรจุถ้วยพลาสติก ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 วัน ค่าสีต่างๆ เหล่านี้มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษายาวนานขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 15 - 17

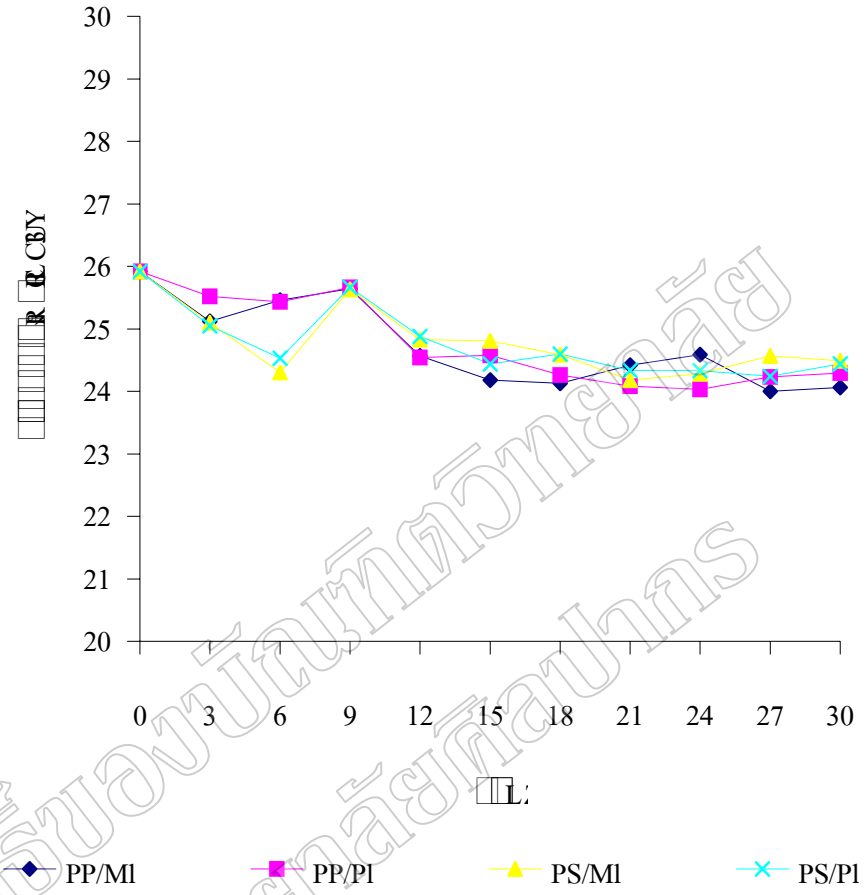


ภาพที่ 15 ค่าความสว่าง (brightness, L*) ของกาแฟพร้อมดื่มบรรจุถ้วยพลาสติกในตู้แช่เย็น ซึ่งควบคุมอุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 16 ค่าความเป็นสีแดง (redness, a*) ของกาแฟพร้อมดื่มบรรจุถ้วยพลาสติกในตู้แช่เย็น ซึ่งควบคุมอุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 17 ค่าความเป็นสีเหลือง (yellowness, b*) ของกาแฟพร้อมดื่มบรรจุถ้วยพลาสติกในตู้แช่เย็นซึ่งควบคุมอุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส

จากการสังเกตความแตกต่างระหว่างภาชนะบรรจุทั้ง 4 ชนิด คือ ถ้วยโพลีโพรพิลีนกับฟิล์มเมทัลไลซ์ ถ้วยโพลีโพรพิลีนกับฟิล์มพลาสติกลามิเนต ถ้วยโพลีสไตรีนกับฟิล์มเมทัลไลซ์ และถ้วยโพลีสไตรีนกับฟิล์มพลาสติกลามิเนต ปรากฏว่าภาชนะบรรจุทั้ง 4 ชนิด ให้ผลของค่าสีดังนี้

ค่าความสว่าง เมื่อเปรียบเทียบชนิดของถ้วยพลาสติกและแผ่นฟิล์มที่ใช้ในการปิดผนึก พบว่า แผ่นฟิล์มที่ใช้ในการปิดผนึกให้ผลของค่าความสว่างไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ชนิดของถ้วยพลาสติกให้ผลของค่าความสว่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากภาพที่ 15 สังเกตเห็นว่าถ้วยพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนให้ผลของค่าความสว่างเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าถ้วยพลาสติกชนิดโพลีสไตรีน

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร

ค่าความเป็นสีแดง เมื่อเปรียบเทียบชนิดของถ้วยพลาสติกและแผ่นฟิล์มที่ใช้ในการปิดผนึก พบว่าแผ่นฟิล์มที่ใช้ในการปิดผนึกให้ผลของค่าความเป็นสีแดงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ชนิดของถ้วยพลาสติกให้ผลของค่าความเป็นสีแดงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากภาพที่ 16 จะเห็นว่าถ้วยพลาสติกชนิดโพลีสไตรีนให้ผลของค่าความเป็นสีแดงสูงกว่าถ้วยพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีน

ค่าความเป็นสีเหลือง แต่เมื่อเปรียบเทียบชนิดของถ้วยพลาสติกและแผ่นฟิล์มที่ใช้ในการปิดผนึก พบว่าทั้งถ้วยพลาสติกและแผ่นฟิล์มที่ใช้ในการปิดผนึกให้ผลของค่าความเป็นสีเหลืองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของค่าสีทั้งหมดหรือค่าสีโดยรวม โดยใช้สูตรในการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของค่าสี ดังนี้

$$\Delta E = [\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2]^{1/2}$$

ถ้า ΔE มากกว่า 1 แสดงว่าค่าสีมีการเปลี่ยนแปลงไป จากผลการทดลอง แทนค่าต่างๆ ในสูตรได้ผลดังนี้

ΔE ของ PP/Ml = 1.14

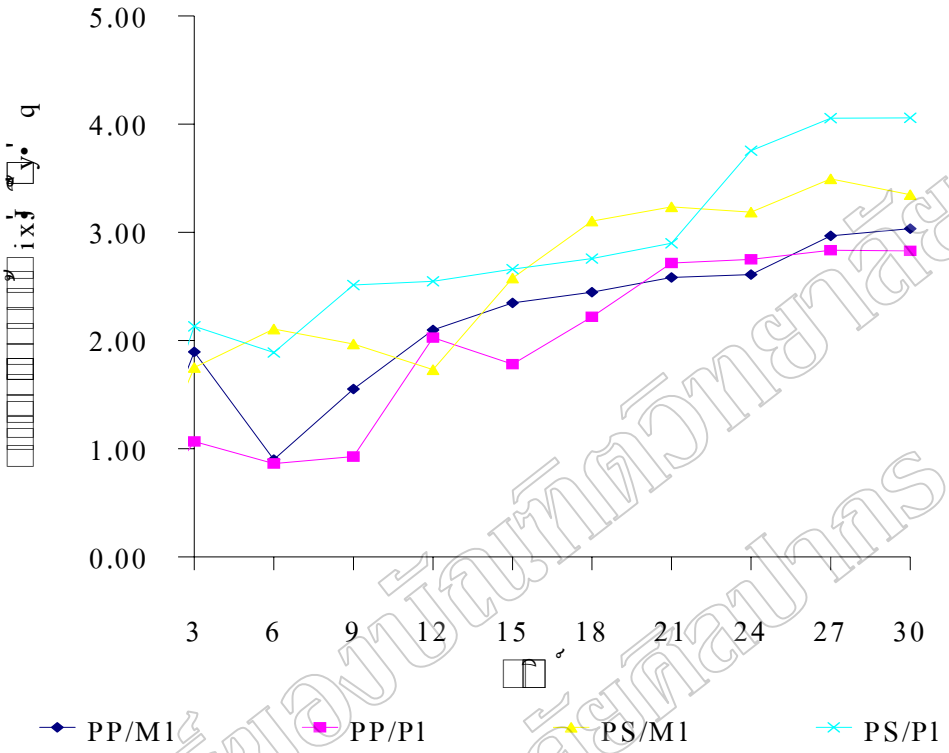
ΔE ของ PP/Pl = 1.76

ΔE ของ PS/Ml = 1.60

ΔE ของ PS/Pl = 1.93

จากผลการคำนวณ ค่า ΔE มากกว่า 1 แสดงว่าสีมีการเปลี่ยนแปลงไป ดังแสดงในภาพที่ 18

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลปากร



ภาพที่ 18 ค่าสีของเครื่องดื่มกาแฟบรรจุถ้วยพลาสติกระหว่างการเก็บรักษาในตู้แช่เย็นซึ่งควบคุมอุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส

จากภาพที่ 18 พบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าสีทั้งหมดระหว่างการเก็บรักษา ทุกบรรจุภัณฑ์ให้ผลของค่า ΔE มากกว่า 1 แสดงว่าสีมีการเปลี่ยนแปลงไปจากสีของผลิตภัณฑ์ก่อนการเก็บรักษา โดยเครื่องดื่มที่บรรจุในถ้วยพลาสติกโพลีโพรพิลีนที่ปิดผนึกด้วยแผ่นฟิล์มเมทัลไลซ์มีการเปลี่ยนแปลงของค่าสีน้อยที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดนี้มีคุณสมบัติในการป้องกันแสงสว่างได้ดี ซึ่งแสงจัดเป็นสิ่งเร้าที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ได้ หรือความแตกต่างของค่าสีที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากการกระจายตัวไม่สม่ำเสมอของอิมัลชันในเครื่องดื่มกาแฟเอง ทำให้เมื่อนำไปวัดค่าสี แสงจึงผ่านเข้าออกได้ไม่เท่ากันในขณะที่เครื่องกำลังทำการฉายแสงและวัดแสงที่สะท้อนออกมานั้น ค่าที่วัดออกมาได้จะมีความแตกต่างกัน

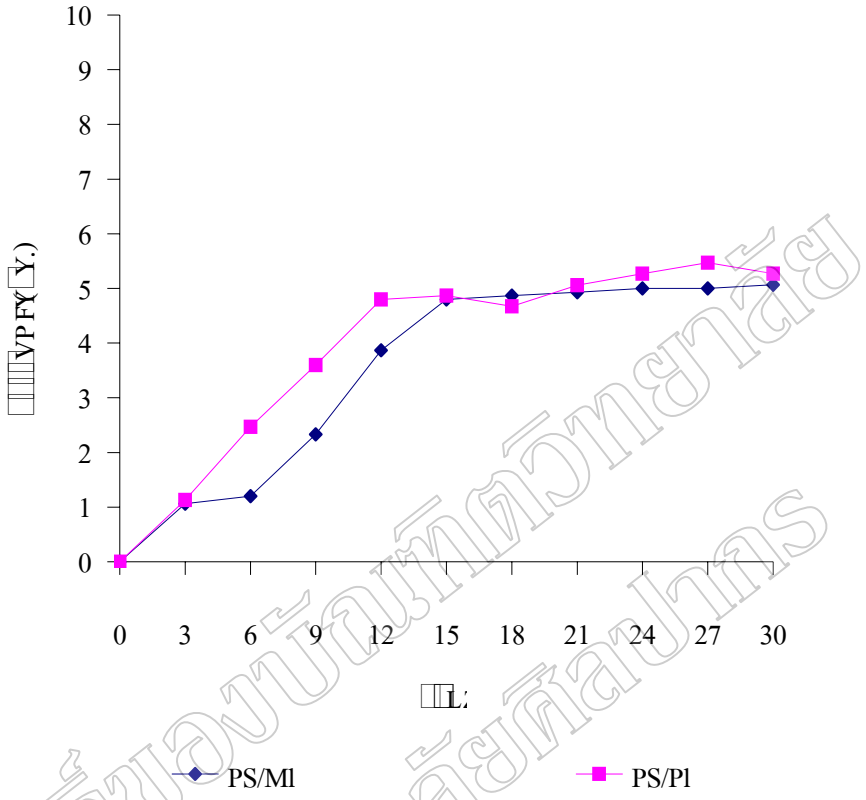
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.5.4 การเปลี่ยนแปลงความหนาของชั้นครีมและการตกตะกอน

กาแฟพร้อมดื่มเป็นอิมัลชันประเภทน้ำมันในน้ำ (oil in water emulsion) เนื่องจากมีส่วนประกอบของครีม โดยเม็ดไขมันในครีมจะแขวนลอยอยู่ในส่วนที่เป็นของเหลว แขวนลอยอยู่แบบน้ำมันในน้ำ เม็ดไขมันจะทำหน้าที่เป็นวัฏภาคที่กระจาย (dispersing phase) และของเหลวเป็นตัวกลาง (medium)

1. การเปลี่ยนแปลงความหนาของชั้นครีม

เม็ดไขมันมีสารประกอบประเภทคอลลอยด์เคลือบอยู่ด้านนอกเป็นชั้น เม็ดไขมันมีคุณสมบัติทางไฟฟ้าโดยแต่ละเม็ดจะมีสภาพเป็นประจุไฟฟ้าลบ ซึ่งผลักซึ่งกันและกัน ถ้าสามารถทำลายคอลลอยด์ที่ล้อมรอบไขมันให้หลุดออกไปได้ เม็ดไขมันขนาดเล็กๆ เหล่านั้นจะสามารถรวมตัวเป็นไขมันขนาดโต การเกิดชั้นครีมในกาแฟพร้อมดื่มนี้อาจเกิดจากความไม่คงตัวของอิมัลชัน คือเกิดการเปลี่ยนแปลงของหยดของเหลวหรือหยดน้ำมัน โดยขั้นแรกจะเกิดการรวมตัวของหยดน้ำมัน (aggregation หรือ flocculation) พร้อมกับหรือตามด้วยการแยกเป็นครีม (creaming) การเชื่อมรวมกันของหยดน้ำมันมีขนาดใหญ่ขึ้น (coalescence) และสุดท้ายเกิดการแยกตัวของน้ำและน้ำมัน (breaking) การแยกเป็นครีมเป็นการลอยขึ้นของหยดของเหลวที่กระจายตัวเนื่องจากมีความหนาแน่นต่างกันไปอยู่รวมกันในส่วนบน (ประสงค์, 2531) อัตราการลอยขึ้นสู่ผิวบนจะเป็นไปตามกฎของสโตก (Stoke's law) กระบวนการจะดำเนินการไปอย่างช้าๆ หรือชั้นครีมอาจเกิดจากการที่กรดไขมันทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจน เนื่องจากเมื่อมีการเติมไฮโดรเจนเข้าไปในโมเลกุลของไขมัน ทำให้กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวกลายเป็นไขมันชนิดอิ่มตัว และพันธะคู่สลายเป็นพันธะเดี่ยว ผลที่ตามมาก็คือ ไขมันที่ประกอบด้วยไขมันไม่อิ่มตัวซึ่งมีสถานะเป็นของเหลว เปลี่ยนสภาพเป็นกึ่งแข็งกึ่งเหลว (ครีม) (มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, 2538)



ภาพที่ 19 ความหนาของชั้นครีม

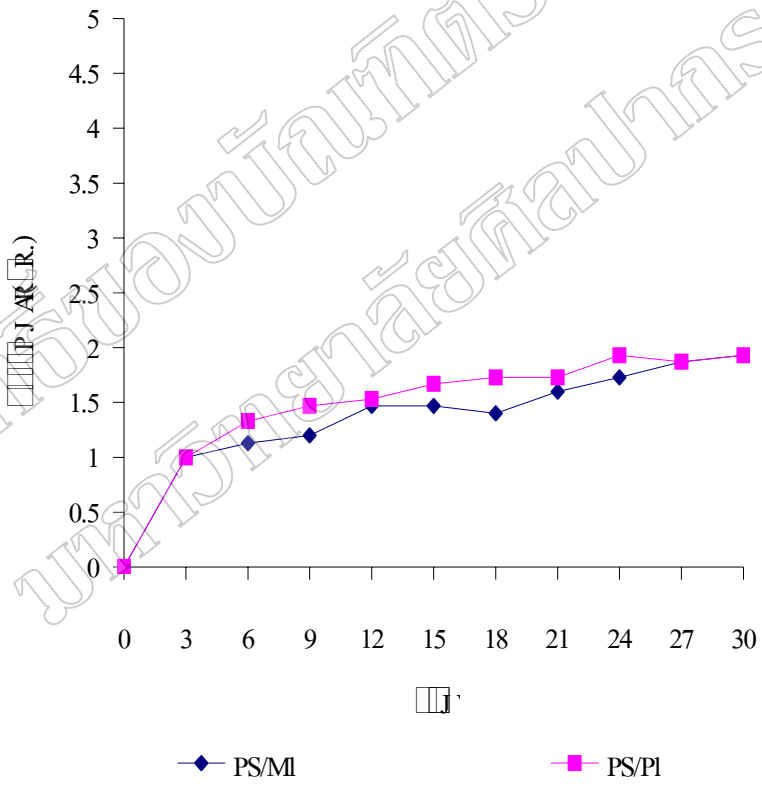
หมายเหตุ เนื่องจากถ้วยพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีน เป็นถ้วยที่มีสีขุ่นขาว ไม่สามารถวัดปริมาณความหนาของชั้นครีมได้ จึงไม่ได้ทำการวิเคราะห์ร่วมด้วย

จากผลการตรวจสอบค่าความหนาของชั้นครีม ดังแสดงในภาพที่ 19 พบว่าเมื่อเก็บรักษาเครื่องดื่มกาแฟในภาชนะบรรจุพลาสติกปิดสนิท ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 วัน ค่าความหนาของชั้นครีมจะเพิ่มสูงขึ้น โดยจะจับตัวอยู่บริเวณปากถ้วย บริเวณก้นถ้วยพลาสติก เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างฟิล์มทั้ง 2 ชนิด คือ ฟิล์มเมทัลไลซ์ และฟิล์มพลาสติกลามิเนต สังเกตเห็นว่าฟิล์มพลาสติกลามิเนตมีความหนาของชั้นครีมมากกว่าฟิล์มเมทัลไลซ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงของชั้นครีมน่าจะเกิดจากธรรมชาติของผลิตภัณฑ์ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นมากกว่าคุณสมบัติในการปกป้องของบรรจุภัณฑ์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ความหนาของตะกอน

การตกตะกอน เกิดจากโมเลกุลของสารประกอบอื่นในเครื่องดื่มกาแฟที่มีน้ำหนักโมเลกุลมาก เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิค และน้ำตาลมีน้ำหนักมากกว่าโมเลกุลของน้ำ จึงตกตะกอนลงสู่ก้นภาชนะตามแรงโน้มถ่วงของโลกตามกฎของสโตก (Stoke's law) นอกจากนี้โมเลกุลของคาราเมลซึ่งเป็นส่วนประกอบในกาแฟเองสามารถเกิดประจุได้ (electrochemical) จะให้ประจุบวกหรือลบขึ้นกับชนิดของคาราเมล และค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์อาหาร คาราเมลที่ใช้ในปัจจุบันส่วนใหญ่จะใช้คาราเมลที่มีประจุลบ แต่การใช้คาราเมลที่มีประจุลบมีข้อจำกัดโดยเฉพาะการใช้กับอาหารที่มีประจุบวกหรือมีโปรตีนเป็นส่วนประกอบ เนื่องจากจะทำให้โมเลกุลของคาราเมลเกิดการเกาะกัน (flocculation) กับโปรตีน ทำให้โปรตีนเกิดการตกตะกอนได้ (พิศมัย, 2547 อ้างจาก Sethness Products Company, 1999)



ภาพที่ 20 ความหนาของตะกอน

หมายเหตุ เนื่องจากถ้วยพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีน เป็นถ้วยที่มีสีขุ่นขาว ไม่สามารถวัดปริมาณความหนาของชั้นครีมได้ จึงไม่ได้ทำการวิเคราะห์ร่วมด้วย

จากผลการตรวจสอบความหนาของตะกอน ดังแสดงในภาพที่ 20 พบว่าเมื่อเก็บรักษาเครื่องดื่มกาแฟในภาชนะบรรจุพลาสติกปิดสนิท ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 วัน ค่าความหนาของตะกอนจะเพิ่มสูงขึ้น โดยอยู่บริเวณก้นถ้วย เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างฟิล์มทั้ง 2 ชนิด คือ ฟิล์มเมทัลไลซ์ และฟิล์มพลาสติกลามิเนต สังเกตเห็นว่าฟิล์มพลาสติกลามิเนตมีความหนาของตะกอนมากกว่าฟิล์มเมทัลไลซ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงของตะกอนที่เกิดขึ้นน่าจะเกิดจากธรรมชาติของผลิตภัณฑ์มากกว่าเกิดจากคุณสมบัติในการป้องกันของบรรจุภัณฑ์

4.5.5 การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัส

Lynn (1996) กล่าวไว้ว่ากาแฟพร้อมดื่ม (ready-to-drink coffee, RTD coffee) ประกอบด้วยส่วนประกอบหลายอย่าง เช่น สารให้กลิ่นรส โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และสารเพิ่มความคงตัว (stabilizers) ซึ่งส่วนประกอบบางอย่างสามารถเปลี่ยนแปลงไปได้ในระหว่างการเก็บรักษา เช่น กลิ่นรส (flavor) ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้จึงทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัสของกาแฟพร้อมดื่มบรรจุถ้วยพลาสติกร่วมด้วย โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน และทดสอบทุก 6 วัน ด้วยวิธีการทดสอบแบบสามเหลี่ยม (triangle test) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างโดยรวมของผลิตภัณฑ์ โดยใช้ตัวอย่างที่ผลิตใหม่ และเก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วันเป็นตัวเปรียบเทียบ (ตัวอย่างควบคุม) ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 15 คน จากการให้ผลการทดสอบดังตารางที่ 16

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ตารางที่ 16 การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธีการทดสอบแบบสามเหลี่ยม (triangle test) ของกาแฟพร้อมดื่มบรรจุถ้วยพลาสติกหลังการเก็บรักษา

วันที่ทดสอบ	ชนิดของผลิตภัณฑ์	จำนวนที่ตอบถูกจากผู้ชิม 15 คน
6	PP/Ml	4
	PP/Pl	3
	PS/Ml	6
	PS/Pl	6
12	PP/Ml	5
	PP/Pl	7
	PS/Ml	6
	PS/Pl	7
18	PP/Ml	6
	PP/Pl	8
	PS/Ml	7
	PS/Pl	7
24	PP/Ml	6
	PP/Pl	8
	PS/Ml	9
	PS/Pl	8
30	PP/Ml	8
	PP/Pl	9
	PS/Ml	10
	PS/Pl	9

จากตาราง Critical Number of Correct Responses in a Triangle Test ค่า $X_{a,n}$ *หรือ* $X_{0.05,\ 15}$= 9 หมายถึง ยอมให้มีคำตอบที่ถูกต้องมากที่สุดเท่ากับ 9 คน ใน 15 คน จึงจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (Meilgarrd และคณะ, 1999) จากผลการทดลองสรุปดังนี้ การทดสอบทางประสาทสัมผัสของกาแฟพร้อมดื่มที่บรรจุในภาชนะบรรจุทั้ง 4 ชนิด คือ ถ้วยโพลีโพรพิลีนกับฟิล์มเมทัลไลซ์ ถ้วยโพลีโพรพิลีนกับฟิล์มพลาสติกลามิเนต ถ้วยโพลีสไตรีนกับฟิล์ม

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

เมทัลไลซ์ และถ้วยโพลีสไตรีนกับฟิล์มพลาสติกลามิเนต ปรากฏว่าในระยะเวลาในการเก็บรักษา 24 วัน ผู้ทดสอบสามารถแยกความแตกต่างโดยรวมของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถ้วยโพลีสไตรีนกับฟิล์มเมทัลไลซ์ ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และในระยะเวลาการเก็บรักษา 30 วัน ผู้ทดสอบสามารถแยกความแตกต่างโดยรวมของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถ้วยโพลีโพรพิลีนกับฟิล์มพลาสติกลามิเนต ถ้วยโพลีสไตรีนกับฟิล์มเมทัลไลซ์ และถ้วยโพลีสไตรีนกับฟิล์มพลาสติกลามิเนต ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังนั้น อาจกล่าวได้ว่าถ้วยพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนที่ปิดฝาด้วยเมทัลไลซ์ จะช่วยรักษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กาแฟพร้อมดื่มได้นานที่สุด

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร