ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์การอาหาร | วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

สาขา | **ภาควิชา**

เรื่อง การยืดอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาวโดยการให้ความร้อน

Shelf Life Extension of Lime Juice by Heat Treatments

นามผู้วิจัย นางสาวสโรชา จันทร์เพ็ญ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(อาจารย์ศศิธร ตรงจิตภักดี, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(อาจารย์จิตศิริ ราชตนะพันธ์, ปร.ด.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณี จิรภาคย์กุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การยืดอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาวโดยการให้ความร้อน

Shelf Life Extension of Lime Juice by Heat Treatments

โดย

นางสาวสโรชา จันทร์เพ็ญ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)
พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สโรชา จันทร์เพ็ญ 2555: การยืดอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาวโดยการให้ความร้อน ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์ศศิธร ตรงจิตภักดี, Ph.D. 128 หน้า

น้ำมะนาวที่แปรรูปโดยใช้ความร้อนสูงจะเกิดรสขมซึ่งไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค งานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาวโดยการให้ความร้อนต่ำ จากการศึกษาความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ที่ทำให้น้ำมะนาวเสื่อมเสีย (*S. cerevisiae* TISTR 5110 และ *P. kudriavzevii* TISTR 5147) และจุลินทรีย์ก่อโรคในน้ำมะนาว (*Salmonella* spp.) พบว่า *S. cerevisiae* TISTR 5110 (z-value = 14.27°C) สามารถทนความร้อนได้มากกว่า *P. kudriavzevii* TISTR 5147 (z-value = 10.40°C) ในขณะที่ *Salmonella* spp. ไม่สามารถเจริญได้ในน้ำมะนาว ดังนั้นจึงเลือกใช้เวลาฆ่าเชื้อเท่ากับ 5D ของ *S. cerevisiae* TISTR 5110 เป็นเกณฑ์ในการพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาว จากการทดลองพบว่าการพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาวที่อุณหภูมิต่ำที่ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที (5D ของ *S. cerevisiae* TISTR 5110) ทำให้ได้น้ำมะนาวที่มีคุณภาพทางเคมีและกายภาพ รวมทั้งปริมาณลิโมนิน ไม่แตกต่างจากน้ำมะนาวสด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60, 70 และ 80 °C เป็นเวลา 8.51, 1.42 นาที และ 20 วินาที ตามลำดับ (5D ของ *S. cerevisiae* TISTR 5110) พบว่าการพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาวที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที ทำให้ได้น้ำมะนาวที่มีปริมาณวิตามินซี และคุณภาพทางประสาทสัมผัส (ความขม กลิ่นต้ม และความชอบโดยรวม) ใกล้เคียงกับน้ำมะนาวสดมากที่สุด จากการศึกษาจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยา เพื่อประเมินอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C เป็นเวลา 30 วัน และใช้การลดลงของปริมาณวิตามินซี ร้อยละ 50 เป็นเกณฑ์กำหนดอายุการเก็บรักษา พบว่าการลดลงของปริมาณวิตามินซีเป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับ 1 โดยมีค่าพลังงานกระตุ้น (E_a) เท่ากับ 13.8 kJ/mol เมื่อใช้สมการทำนายอายุการเก็บรักษา พบว่าน้ำมะนาวผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C มีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน เมื่อทดลองเก็บรักษาน้ำมะนาวผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าปริมาณวิตามินซีลดลงร้อยละ 50 ในสัปดาห์ที่ 6 (42 วัน) และไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ในน้ำมะนาว

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Sarocha Chanpen 2012: Shelf Life Extension of Lime Juice by Heat Treatments. Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Mrs. Sasitorn Tongchitpakdee, Ph.D. 128 pages.

Thermally processed lime juice usually has unacceptable bitter taste for consumer. The objective of this research was to study shelf life extension of lime juice by heat treatments. Thermal resistance of spoilage yeasts (*S. cerevisiae* TISTR 5110 and *P. kudriavzevii* TISTR 5147) and microbial pathogen (*Salmonella* spp.) in lime juice were also investigated. The results showed that *S. cerevisiae* TISTR 5110 (z-values = 14.27 ^{o}C) was more heat resistant than *P. kudriavzevii* TISTR 5147 (z-values = 10.40 ^{o}C), while *Samonella* spp. could not survive in lime juice. Therefore, heating time at 5D of *S. cerevisiae* TISTR 5110 was selected as pasteurization criteria of lime juice. The results showed that lime juice heated using mild heat treatment at 50 °C for 37.59 minutes (5D of *S. cerevisiae* TISTR 5110) had similar physical and chemical characteristics as well as limonin content when compared to fresh lime juice. In addition, when compared to lime juice pasteurized at 60, 70 and 80 °C for 8.51 and 1.42 minutes and 20 second, respectively (5D of *S. cerevisiae* TISTR 5110), lime juice pasteurized at 50 °C for 37.59 minutes had vitamin C content and sensory qualities (bitterness, cook odor, overall preference) most similar to fresh lime juice. Kinetic reaction study was conduct to evaluate shelf-life of lime juice pasteurized at 50 °C for 37.59 minutes by storage at 35, 45 and 55 °C for 30 days. Degradation of vitamin C (50 %) was used as a limit of shelf-life of the product. The results showed that degradation of vitamin C in lime juice followed first-order reaction, with a activation energy (E_a) of 13.8 kJ / mol. Shelf-life of lime juice pasteurized at 50 °C for 37.59 minutes stored at 4 °C predicted using equation was 1 days. In storage study, vitamin C of lime juice pasteurized at 50 °C for 37.59 minutes stored at 4 °C decreased by 50 % after storage for 6 weeks (42 days), while was no microbial growth in the sample.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ดร. ศศิธร ตรงจิตภักดี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และ ดร. จิตศิริ ราชตนะพันธุ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษาในการเรียน การค้นคว้าวิจัย รวมทั้งการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วราภรณ์ บุญทรัพย์ทิพย์ ประธานการสอบสัมภาษณ์ขั้นสุดท้าย และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วาริช ศรีละออง ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกที่ตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ เพื่อน พี่ และน้อง ปริญญาโท และพี่ปริญญาเอก ทั้งในภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารและบุคคลภายนอกทุกคน ที่ให้ความร่วมมือ คำปรึกษา ช่วยเหลือ และกำลังใจดี ๆ ตลอดระยะเวลาการทำการวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในการทำการวิจัยให้ผ่านไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้กราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และทุก ๆ คนในครอบครัว ผู้ให้การสนับสนุนในการเรียนและเป็นกำลังใจที่ดีตลอดมา

สโรชา จันทร์เพ็ญ

ตุลาคม 2555

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	25
อุปกรณ์	25
วิธีการ	28
ผลและวิจารณ์	39
สรุปผลและข้อเสนอแนะ	88
สรุปผล	88
ข้อเสนอแนะ	90
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	91
ภาคผนวก	110
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ปริมาณลิโมนินและวิตามินซี	111
ภาคผนวก ข การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส	115
ภาคผนวก ค การประเมินอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาว	118
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	128

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมะนาว (Lime/Lemon)	8
2	การทดสอบการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในน้ำมะนาว	40
3	ข้อมูลจากกราฟการรอดชีวิตของ *P. kudriavzevii* TISTR 5147 และ *S. cerevisiae* TISTR 5110 ในน้ำมะนาวให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 45, 48 และ 50 °C	43
4	ข้อมูลจากกราฟความต้านทานความร้อน (TR) ของ *P. kudriavzevii* TISTR 5147 และ *S. cerevisiae* TISTR 5110 ในน้ำมะนาวให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 45, 48 และ 50 °C	45
5	ลักษณะทางเคมีและกายภาพของน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 °C เปรียบเทียบกับน้ำมะนาวสด	47
6	คะแนนความแตกต่างด้านรสขม สี และกลิ่นรสของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 °C เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (น้ำมะนาวสด)	52
7	ลักษณะทางเคมีและกายภาพของน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 °C เปรียบเทียบกับน้ำมะนาวสด	54
8	คะแนนการเรียงลำดับความชอบ (Ranking) ด้านรสขม กลิ่นต้ม และความชอบโดยรวมของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 °C เปรียบเทียบกับตัวอย่างน้ำมะนาวสด (ตัวอย่างควบคุม)	59
9	ค่าความชัน (k) และ R^2 ของการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C (วันที่ 0-30)	74
10	ค่าความชัน (k) และ R^2 ของการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C (วันที่ 0-12)	75
11	ค่าความชัน (k) และ R^2 ของการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C (วันที่ 15-30)	76

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่ **หน้า**

ค1 ลักษณะทางเคมีและกายภาพ ปริมาณลิโมนิน กรดแอสคอร์บิก กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก และวิตามินซีทั้งหมด ของน้ำมะนาวสดเปรียบเทียบกับน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35 °C 120

ค2 ลักษณะทางเคมีและกายภาพ ปริมาณลิโมนิน กรดแอสคอร์บิก กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก และวิตามินซีทั้งหมด ของน้ำมะนาวสดเปรียบเทียบกับน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 45 °C 122

ค3 ลักษณะทางเคมีและกายภาพ ปริมาณลิโมนิน กรดแอสคอร์บิก กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก และวิตามินซีทั้งหมด ของน้ำมะนาวสดเปรียบเทียบกับน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 55 °C 124

ค4 ลักษณะทางเคมีและกายภาพ ปริมาณลิโมนิน กรดแอสคอร์บิก กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก และวิตามินซีทั้งหมด ของน้ำมะนาวสดเปรียบเทียบกับน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C 126

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของผลมะนาว (ก) Lemon และ (ข) Lime	3
2	โครงสร้างของวิตามินซี	6
3	การเปลี่ยนรูปของกรดแอสคอร์บิก	6
4	การเปลี่ยนแปลงของลิโมนินเป็นสารให้รสขม	11
5	กราฟการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ (survival cruve)	22
6	กราฟความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ (Thermal resistance curve)	23
7	กราฟการรอดชีวิต (survival cruve) ของ *P. kudriavzevii* TISTR 5147 ที่ 40, 45, 48 และ 50 °C	41
8	กราฟการรอดชีวิต (survival cruve) ของ *S. cerevisiae* TISTR 5110 ที่ 40, 45, 48 และ 50 °C	42
9	กราฟความต้านทานความร้อน (TR) ของ *P. kudriavzevii* TISTR 5147	44
10	กราฟความต้านทานความร้อน (TR) ของ *S. cerevisiae* TISTR 5110	44
11	ปริมาณลิโมนินในน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 °C	48
12	ปริมาณกรดแอสคอร์บิก (ก) กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (ข) วิตามินซีทั้งหมด (ค) ในน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 °C	50
13	ปริมาณลิโมนินในน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 °C	55
14	ปริมาณกรดแอสคอร์บิก (ก) กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (ข) วิตามินซีทั้งหมด (ค) ในน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 °C	57
15	ความเป็นกรด-เบสของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C	61

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
16	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C	62
17	ปริมาณกรดซิตริกของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C	63
18	ดัชนีการเกิดสีน้ำตาลของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C	64
19	ค่าสี L* ของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C	65
20	ค่าสี a* ของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C	66
21	ค่าสี b* ของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C	66
22	ตะกอนของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C	67
23	ปริมาณลิโมนินของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C	68
24	ปริมาณกรดแอสคอร์บิกของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C	69
25	ปริมาณกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C	70
26	ปริมาณวิตามินซีทั้งหมดของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C	70
27	ค่า log วิตามินซีทั้งหมดของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C การเก็บรักษาในวันที่ 0-15	71

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
28	การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C ปฏิกิริยาอันดับ 0 (ก) อันดับ 1 (ข) และอันดับ 2 (ค)	73
29	การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C ช่วงระหว่างวันที่ 0-12	76
30	กราฟอาร์เรเนียสของการสูญเสียวิตามินซีในน้ำนะนาวพาสเจอร์ไรส์ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C ช่วงระหว่างวันที่ 0-12	77
31	ความเป็นกรด-เบสและปริมาณกรดซิตริกของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C	79
32	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C	80
33	ดัชนีการเกิดสีน้ำตาลของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C	81
34	ค่าสี L*, a*, b* และตะกอนของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C	82
35	ปริมาณลิโมนินของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C	83
36	ปริมาณกรดแอสคอร์บิก, กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก และวิตามินซีทั้งหมดของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C	85

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่		หน้า
ก1	กราฟมาตรฐานของลิโมนิน	112
ก2	ตัวอย่างโครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์ลิโมนินในน้ำมะนาว โดยเทคนิค HPLC ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร	112
ก3	กราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิก (ก), กราฟมาตรฐานของกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (ข) และกราฟมาตรฐานของกรดไอโซแอสคอร์บิก (ค)	113
ก4	ตัวอย่างโครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิกในน้ำมะนาว และกรดไอโซแอสคอร์บิก เป็น internal standard โดยเทคนิค HPLC ที่ความยาวคลื่น 261 นาโนเมตร	114
ก5	ตัวอย่างโครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกในน้ำมะนาว โดยเทคนิค HPLC ที่ความยาวคลื่น 348 นาโนเมตร	114
ค1	การเปลี่ยนแปลงของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 13 สัปดาห์ (3 เดือน)	119

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การยืดอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาวโดยการให้ความร้อน

Shelf Life Extension of Lime Juice by Heat Treatments

คำนำ

มะนาวเป็นพืชที่มีความสำคัญต่อชีวิตประจำวันของคนไทย มีการนำมาใช้ในการปรุงอาหารหรือใช้เป็นส่วนประกอบของเครื่องดื่ม จึงมีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นที่ต้องการของตลาดสูงตลอดทั้งปี นอกจากนี้ในปัจจุบันภาคอุตสาหกรรมที่มีการใช้น้ำมะนาวได้มีการขยายตัวเพิ่มขึ้น เช่น ใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางค์ ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด เป็นต้น ในช่วงหน้าแล้งโดยเฉพาะช่วงเดือนมีนาคมถึงเมษายนของทุกปี มะนาวมีราคาแพงมาก ทำให้ต้นทุนของภาคอุตสาหกรรมสูงขึ้น ขณะที่ในช่วงฤดูฝนของปีระหว่างเดือนมิถุนายนถึงพฤศจิกายน มะนาวจะมีผลผลิตออกมามากจนล้นตลาด ราคาตกต่ำลงอย่างมาก ทำให้เกษตรกรผู้ปลูกมะนาวมีรายได้น้อยไม่คุ้มค่าใช้จ่าย ด้วยปัญหาดังกล่าว จึงมีการศึกษากระบวนการแปรรูปน้ำมะนาวเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาวให้มีระยะเวลานานขึ้นและทำให้มีน้ำมะนาวใช้ได้ตลอดทั้งปี ตามความต้องการของตลาดและผู้บริโภค

การแปรรูปน้ำมะนาวสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้ความร้อน (High Thermal Process) การใช้อุณหภูมิต่ำ (Low Thermal Process) การฉายรังสี (Irradiation) และการใช้สารเคมี (Chemical Treatment) (พวงพร, 2545) การแปรรูปเพื่อเก็บรักษาน้ำมะนาวส่วนใหญ่นิยมใช้การพาสเจอร์ไรส์โดยการให้ความร้อนสูงกับน้ำมะนาว แต่ความร้อนสูงมีผลทำให้ปริมาณวิตามินซีในน้ำมะนาวลดลงและทำให้น้ำมะนาวเกิดรสขมขึ้น ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค

ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาวิธีการแปรรูปน้ำมะนาวโดยการใช้ความร้อนต่ำ เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้น้ำมะนาวเสื่อมเสีย และสามารถรักษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำมะนาวไว้ได้ อีกทั้งยังได้น้ำมะนาวที่ไม่ขม และทำให้น้ำมะนาวมีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิแช่เย็น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ที่ทำให้น้ำมะนาวเสื่อมเสีย

2. เพื่อศึกษากรรมวิธีการแปรรูปน้ำมะนาวโดยการใช้ความร้อนต่ำ

3. เพื่อประเมินอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์โดยการใช้ความร้อนต่ำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

1. มะนาว

1.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของมะนาว

มะนาวเป็นไม้ผลที่จัดอยู่ในจำพวกส้ม (citrus fruit) ชนิดหนึ่ง มีถิ่นกำเนิดในหมู่เกาะอินดิสตะวันออก หรือทางภาคเหนือของอินเดีย ต่อมาได้กระจายพันธุ์เข้ามาสู่แผ่นดินใหญ่ของทวีปเอเชีย (สมศักดิ์, 2541) มะนาวมีอยู่สองชนิด คือ lemon และ lime ซึ่งเป็นชื่อสามัญโดยที่ lemon มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า (*Citrus limon* L. Burm. f.) ผิวมีสีเหลืองอ่อนผลใหญ่ คนไทยไม่นิยมบริโภค ส่วน lime มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swing.) ผิวจะมีสีเขียว และลูกเล็กกว่า lemon เป็นมะนาวที่คนส่วนใหญ่ในประเทศไทยนิยมบริโภค (ภาพที่ 1) ซึ่งมะนาวทั้งสองชนิดจะมีองค์ประกอบทางเคมีคล้ายคลึงกัน (Kimball, 1991)

(ก) (ข)

ภาพที่ 1 ลักษณะของผลมะนาว (ก) Lemon และ (ข) Lime

1.2 ถิ่นกำเนิดและการกระจายพันธุ์ของมะนาว (Lime)

มะนาวเป็นพืชเขตร้อนและอบอุ่นซึ่งแต่เดิมเป็นพืชพื้นเมืองของอินเดีย มีถิ่นกำเนิดอยู่ในหมู่เกาะอินดิสตะวันออกหรือทางภาคเหนือของอินเดีย ก่อนที่จะมีการกระจายพันธุ์เข้ามาสู่แผ่นดินใหญ่ของทวีปเอเชียในภายหลัง นอกจากนี้ได้มีการสันนิษฐานว่า ชาวอาหรับนำพันธุ์มะนาวจากอินเดีย ไปปลูกแพร่พันธุ์ในปาเลสไตน์ เปอร์เซีย อียิปต์ และทวีปยุโรป (ปรัชญา, 2548) หลังจากนั้นมะนาวได้มีการแพร่กระจายไปยังหมู่เกาะอินเดียตะวันตกและอเมริกา ตั้งแต่

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คริสต์ศตวรรษที่ 16 โดยนักสำรวจชาวสเปนและโปรตุเกสนำไปปลูก สำหรับประเทศไทย เชื่อว่าการปลูกมะนาวมีมาก่อนสมัยรัตนโกสินทร์ และได้มีการปลูกติดต่อกันมาเรื่อย ๆ จนถึงปัจจุบัน (วิเศษ, 2542) สำหรับแหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ จังหวัดเพชรบุรี นครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี นครสรรค์ กาญจนบุรี สมุทรสาคร นครปฐม และเชียงใหม่

1.3 พันธุ์มะนาว (Lime)

สำหรับพันธุ์มะนาวที่นิยมปลูกในประเทศไทยและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ คือ มะนาวหนัง มะนาวไข่ มะนาวแป้น (ศุภกิจ, 2540)

1.3.1 มะนาวหนัง เป็นพันธุ์ที่ปลูกอยู่ทั่วไป ลักษณะผลใหญ่ เมื่อผลโตเต็มที่จะมีลักษณะกลมค่อนข้างยาว มีกลมมนบ้างเล็กน้อย ผิวเรียบ เปลือกค่อนข้างหนา จึงทำให้เก็บรักษาผลไว้ได้นาน เป็นพันธุ์ที่มีรสเปรี้ยวจัดเนื่องจากมีร้อยละของกรดค่อนข้างสูง

1.3.2 มะนาวไข่ เป็นพันธุ์ที่มีขนาดและลักษณะคล้ายมะนาวหนัง ผลมีลักษณะกลมมนเป็นส่วนใหญ่ ผิวเรียบเปลือกบางใส มีสีเขียวเข้ม เมื่อแก่จัดมีสีเหลืองอมเขียว ผลมีขนาดโตกว่ามะนาวหนัง ออกผลดก ผลมีน้ำมาก มีรสเปรี้ยวและมีกลิ่นหอม มีเมล็ดค่อนข้างน้อย

1.3.3 มะนาวแป้น เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันมากที่สุด เพราะเป็นมะนาวที่ให้ผลดกและออกผลได้ตลอดทั้งปี ผลมีขนาดปานกลาง ลักษณะผลกลมแป้นสวย ผลอ่อนมีสีเขียว ผลแก่จัดมีสีอมเหลือง ผิวผลไม่เรียบ เปลือกบางใส มีน้ำมาก น้ำมีกลิ่นหอม ไม่ค่อยมีเมล็ด มะนาวแป้นมีหลายพันธุ์ด้วยกัน คือ พันธุ์แป้นรำไพ พันธุ์แป้นทะวาย และพันธุ์แป้นแม่ไก่ไข่ดก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.4 ประโยชน์ของมะนาว (Lime)

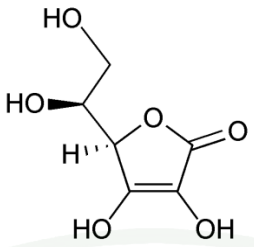
มะนาวมีความสำคัญต่อชีวิตประจำวันของคนไทย โดยมีการนำมาประกอบอาหาร ใช้เป็นเครื่องดื่มเป็นส่วนผสมในยารักษาโรคต่าง ๆ ยังเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมเพื่อเป็นวัตถุดิบ ประโยชน์ของมะนาวมีดังนี้

1.4.1 ด้านคุณค่าทางอาหารและโภชนาการ

มะนาวเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ที่ผิวมะนาวมีน้ำมันหอมระเหย ซึ่งประกอบด้วย สารดี-ไลโมนีน (D-limonene) ไลนาลูออล (linalool) เทอร์พินีออล (terpineol) กรดซิตริก (citric acid) กรดมาลิก (malic acid) นอกจากนี้มะนาวยังประกอบ เส้นใย โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก วิตามินเอ (vitamin A) ที่ผิวเปลือก วิตามินบี 1 (thiamine) วิตามินบี 2 (riboflavin) ไนอาซีน (niacin) และวิตามินซี (ascorbic acid) (ปรัชญา, 2548) ซึ่งในน้ำมะนาวมีปริมาณที่สูงและมีความสำคัญต่อร่างกายเป็นอย่างมาก

วิตามินซี หรือกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) สูตรทางเคมี $C_6H_8O_6$ มีโครงสร้างดังภาพที่ 2 สามารถละลายน้ำได้ มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ พบได้ในผักและผลไม้ทั่วไป วิตามินซีเป็นสารอาหารที่สลายตัวได้ง่าย มีความคงตัวต่ำ ไม่เสถียร ไม่ทนต่อความร้อน แสง และถูกออกซิไดส์ได้ง่ายในสภาวะที่มีอากาศหรือออกซิเจน ดังนั้นอาจเกิดการสูญเสียวิตามินซีในระหว่างกระบวนการแปรรูป และการเก็บรักษาในสภาวะที่ไม่เหมาะสม ทำให้วิตามินซีเสียสภาพได้ง่าย (Marks, 1993) นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งการสลายตัวของกรดแอสคอร์บิกได้ เช่น แอสคอร์เบตออกซิเดส (ascorbate oxidase) และแอสคอร์เบตเปอร์ออกซิเดส (ascorbate peroxidase) โลหะบางชนิด เช่น ทองแดง และเหล็ก เป็นต้น โดยทั่วไปมักพบวิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิกในผักผลไม้ ด้วยกัน 3 รูป ได้แก่ รูปรีดิวซ์ L-ascorbic acid หรือ (AA) รูป dehydroascorbic acid (DHA) และรูป 2,3-diketogulonic acid ซึ่งไม่มีคุณสมบัติของวิตามินซี ดังภาพที่ 3 (Valpuesta and Botella, 2004)

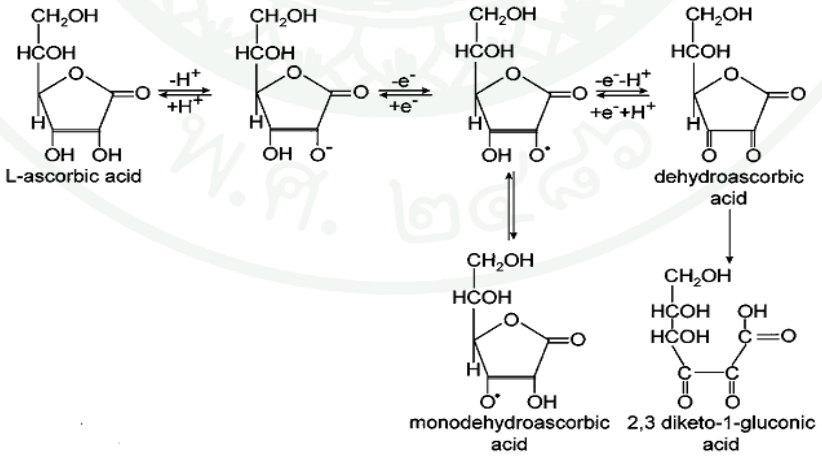
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 2 โครงสร้างของวิตามินซี

ที่มา: Vicente *et al*. (2009)

วิตามินซี มีคุณค่าทางโภชนาการและมีประโยชน์ที่สำคัญต่อร่างกาย มีการรายงานว่าการบริโภควิตามินซีเป็นจำนวนมากสามารถลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่าง ๆ และความผิดปกติของร่างกายได้ (Carr and Frei, 1999; Hancock and Viola, 2005) วิตามินซีเป็นสารอาหารที่พบได้ในผักผลไม้ รวมถึงในน้ำผลไม้ด้วย เช่น ฝรั่ง พุทรา ลูกพลัม สตอเบอร์รี่ กีวี ผลไม้ตระกูลส้ม ผักโขม บรอคโคลี และกะหล่ำ ปริมาณของวิตามินซีที่พบอยู่ในช่วงตั้งแต่ 1-150 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด (Lee and Kader, 2000) ซึ่งปริมาณวิตามินซีที่พบจะขึ้นอยู่กับพันธุ์และชนิดของผลไม้ Lee and Coates (1999) กล่าวว่าปริมาณวิตามินซีที่พบในผลิตภัณฑ์จากผลไม้ตระกูลส้มสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดหรือบ่งบอกคุณภาพของผลิตภัณฑ์นั้น ๆ ในระหว่างการเก็บรักษาได้



ภาพที่ 3 การเปลี่ยนรูปของกรดแอสคอร์บิก

ที่มา: Noctor and Foyer (1998)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.4.2 ด้านสุขภาพ

มีการนำมะนาวไปใช้ในการรักษาโรคในแง่สมุนไพรอย่างกว้างขวางทางการแพทย์ พบว่ามะนาวมีสารเฮสเพอริดิน (hesperidin) และนาริงจิน (naringin) ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้มีฤทธิ์แก้อักเสบ ทางการแพทย์แผนโบราณนำเอาส่วนต่าง ๆ ของมะนาว มาใช้รักษาโรค เช่น น้ำในผล แก้โรคลักปิดลักเปิด แก้วิงเวียน ใบ ใช้ฟอกโลหิต แก้ไข้ แก้ความดัน เมล็ด คั่วให้เหลืองผสมในยาขับเสมหะ ราก ใช้เป็นยาถอนพิษ แก้พุพองได้ (นิรนาม, 2530)

1.4.3 ด้านอุตสาหกรรม

มะนาวสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรมได้หลายประเภท เช่น ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตกรดซิตริก ใช้น้ำมะนาวในการปรุงแต่งรสและกลิ่นในเครื่องดื่ม รวมไปถึงการนำไปใช้ผลิตเครื่องสำอางค์ สบู่ ผงซักฟอก และน้ำมันใส่ผม เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถนำมะนาวมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ เช่น มะนาวดอง มะนาวแช่อิ่ม น้ำมะนาวเข้มข้น น้ำมะนาวหวาน มาร์มาเลดมะนาว มะนาวผง เปลือกมะนาวแช่อิ่ม แยมมะนาวดอง มะนาวกวน ปรุงรส เปลือกมะนาวสามรส เพคตินจากเยื่อมะนาว แยมเปลือกมะนาว เยลลี่มะนาว กิมจ้อมะนาว และกลิ่นมะนาวผง เป็นต้น (นันทนา, 2531)

1.5 องค์ประกอบทางเคมีของมะนาว

น้ำมะนาวมีองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิด และที่มีปริมาณมากที่สุดคือกรด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดซิตริก (citric acid) มีอยู่ประมาณร้อยละ 91.8 กรดมาลิก (malic acid) ร้อยละ 4.9 กรดควินิก (quinic acid) และกรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) ร้อยละ 0.5 องค์ประกอบของน้ำมะนาวสดและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมะนาว ดังแสดงในตารางที่ 1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมะนาว (Lime/Lemon)

องค์ประกอบ	Lime (ปริมาณต่อ 100 กรัม)	Lemon (ปริมาณต่อ 100 กรัม)
pH	1.7- 3.2	2.11- 2.48
Soluble solids, total (^{0}Brix)	8.3-14.1	7.1- 11.9
Protein (total N x 6.25) (g)	0.3- 0.7	0.26- 0.77
Fat (ether extract) (g)	0.0- 0.11	None- 0.6
Acid, total, as anhyd. Citric (g)	4.94- 8.32	4.20- 8.33
Malic acid (g)	-	0.15- 0.41
Sugar, total, as invert (g)	0.0- 1.74	0.77- 4.08
Reducing sugar (g)	-	0.78- 2.63
Sucrose (g)	-	0.03- 0.63
Minerals, total ash (g)	0.25- 0.4	0.15-0.35
Calcium (mg)	4.5- 10.4	5.6- 27.9
Phosphorus (mg)	9.3- 11.2	5.3- 16.6
Iron (mg)	0.19- 0.92	0.14- 0.69
Magnesium (mg)	-	5.8- 11.3
Potassium (mg)	-	99- 128
Vitamin A (as carotene) (mg)	0.003- 0.005	None or trace
Thiamine (B1) (mg)	0.011- 0.028	0.004- 0.125
Riboflavin (B2) (mg)	0.011-0.018	0.005- 0.073
Niacin (mg)	0.090- 0.275	0.056- 0.196
Ascorbic acid (vitamin c) (mg)	23.6- 32.7	31- 61

ที่มา: ดัดแปลงจาก ปรัชญา (2548)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การเสื่อมคุณภาพของน้ำมะนาว

การเสื่อมคุณภาพของน้ำมะนาวมีสาเหตุสำคัญ 2 ประการแรก คือ ประการแรกเกิดจากจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ และรา ประการที่สอง เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ ดังนี้

2.1 การเสื่อมคุณภาพของน้ำมะนาวเนื่องจากจุลินทรีย์

น้ำมะนาวและน้ำผลไม้ตระกูลส้มมะนาว ซึ่งเป็นน้ำผลไม้ที่มีปริมาณกรดอินทรีย์สูงและค่าความเป็นกรด-เบสต่ำมาก (อรุณี, 2516) อาจเกิดการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์โดยทำให้น้ำมะนาวมีลักษณะขุ่น เกิดเมือกเหนียว สีของน้ำมะนาวเปลี่ยนแปลงและมีการสร้างแอลกอฮอล์ขึ้นมา (จารุณี, 2528) ซึ่งจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเสื่อมเสียดังกล่าว ได้แก่ ยีสต์และรา โดยมักมีการปนเปื้อนจากสภาพแวดล้อม กระบวนการผลิต ภาชนะบรรจุ (Kimball, 1991)

แบคทีเรีย แบคทีเรียที่พบในน้ำผลไม้ตระกูลส้มได้แก่ *Lactobacillus, Leuconostoc* และ *Bacillus* เป็นต้น การเจริญเติบโตของ *Lactobacillus* จะมีการสร้างสารพวก diacetyl, acetone, formate, succinic acid และแอลกอฮอล์ โดยสารเหล่านี้ทำให้ค่าความป็นกรด-เบส ของน้ำผลไม้เพิ่มขึ้น lactobacillus สามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิ 5-53 °C (บัญญัติ, 2534) *Leuconostoc* เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรค สามารถเจริญเติบโตได้ทั้ง ในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ สายพันธุ์ที่พบในน้ำมะนาวคือ *L. mesenteroid* และ *L. dextanicum* (บัญญัติ, 2534) ส่วน *Bacillus* สายพันธุ์ที่พบในน้ำมะนาวคือ *B. subtilis* และ *B. pumilus* โดยจะเจริญเติบโตบริเวณผิวหน้าของน้ำผลไม้ *Bacillus* ที่พบมักจะมีสาเหตุมาจากสปอร์ของ *Bacillus* ที่ปนเปื้อนมาเนื่องจากสปอร์ของ *Bacillus* สามารถทนความร้อนได้สูง การใช้อุณหภูมิสูงฆ่าเชื้อในระดับพาสเจอร์ไรส์สามารถทำลายสปอร์ของ *Bacillus* ได้ (Kimball, 1991)

ยีสต์ ยีสต์มีความสำคัญต่อการเสื่อมเสียของน้ำมะนาว เนื่องจากสามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่มีความเป็นกรดสูง และในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ ยีสต์สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่าแบคทีเรีย และมีความต้านทานต่อวัตถุกันเสีย อีกทั้งสามารถเจริญได้ในน้ำผลไม้เข้มข้น 58-60 องศาบริกซ์ (°Brix) และค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ที่ต่ำกว่า 1.5 ด้วย (Kimball, 1991)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการศึกษาของจารุณี (2528) รายงานว่ายีสต์ที่พบในน้ำมะนาวมี 5 สายพันธุ์ คือ *Candida, Kloeckara, Torulosis, Saccharomyces* และ *Pichia* ส่วนการทดลองแยกเชื้อยีสต์จากน้ำผลไม้ตระกูลส้มมีการศึกษาโดย Kimball (1991) พบ *S. cerevisiae, Rhodotorula, Zygosaccharomyces* และพบว่าเชื้อยีสต์สามารถถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 66 °C ในเวลา 2-3 นาที (Lal *et al*., 1960) Recca and Mrak (1952) แยกยีสต์จากน้ำมะนาวเข้มข้นพบ *Candida krusei, Kloeckera lindneri (Kloeckera apiculata), Candida paralopsilsis, Saccharomyces carlsbergensis, Candida gulliermondii, Candida pelliculosa, Candida melibiosi, Rhodotorula mulcilaginosa, Torulopsis* sp., *Saccharomyces cerevisiae* และ *Zygosaccharomyces mellis-aceti*

การศึกษาของจารุณี (2528) ได้มีการแยกเชื้อยีสต์จากน้ำมะนาวสด จำนวน 12 ตัวอย่าง ที่เวลาเริ่มต้น 1 และ 2 สัปดาห์ มีค่าประมาณ 10^0-10^2, 10^4-10^5 และ 10^6-10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อจำแนกชนิดของยีสต์ ยีสต์ที่พบมากที่สุดคือ *Pichia terricola* และ *Kloeckera apiculate* รองลงมา คือ *Kloeckera javanica, Pichia kudriavzevii, Torulopsis* sp. A, *Torulopsis* sp. B และ *Torulopsis* sp. C และที่พบบ้าง คือ *Schizosaccharomyces* sp. และ *Schwanniomyces sp.* เชื้อที่ทำให้น้ำมะนาวเน่าเสีย คือ *Pichia terricola* และ *Pichia kudriavzevii* เนื่องจากทนกรด-เบสต่ำมากที่สุด สามารถเจริญได้ที่ค่าความเป็นกรด-เบส 2.5-3.0 เจริญได้อย่างรวดเร็ว และทำให้กรดลดลงมากที่สุด การศึกษาการทนความร้อนของยีสต์ พบว่า *Schizosaccharomyces* sp. สามารถทนความร้อนได้สูงที่สุด คือ 80 °C นาน 1 นาที ซึ่งไม่มีผลต่อปริมาณกรดและค่าความเป็นกรด-เบส วิตามินซี สี กลิ่น และ รส ระหว่างการเก็บรักษาและยับยั้งการเกิดตะกอนในน้ำมะนาว

รา พบว่าเจริญอยู่ที่ผิวหน้าของน้ำมะนาว เนื่องจากสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีปริมาณความชื้นสูงกว่าร้อยละ 70 และในสภาวะที่มีอากาศ นอกจากนี้ยังสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-เบสต่ำกว่ายีสต์และแบคทีเรีย เชื้อราที่มักพบในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม คือ *Aureobasidium, Aspergillus, Botrytis, Mucor, Cladosporium* และ *Penicilium* ส่วนในน้ำส้มและน้ำมะนาวที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ มักพบ *Fusarium, Geotrichum* และ *Penicilium* เชื้อราสามารถถูกทำลายได้ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 82 °C เป็นเวลา 5-10 นาที แต่การให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงและใช้เวลานานจะมีผลต่อคุณภาพของน้ำผลไม้ตระกูลส้มมะนาวเป็นอย่างมาก นอกจากนี้การปรับสภาวะบรรยากาศโดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ สามารถช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อราในน้ำผลไม้ตระกูลส้มมะนาวได้เช่นเดียวกัน (Lal *et al*., 1960)

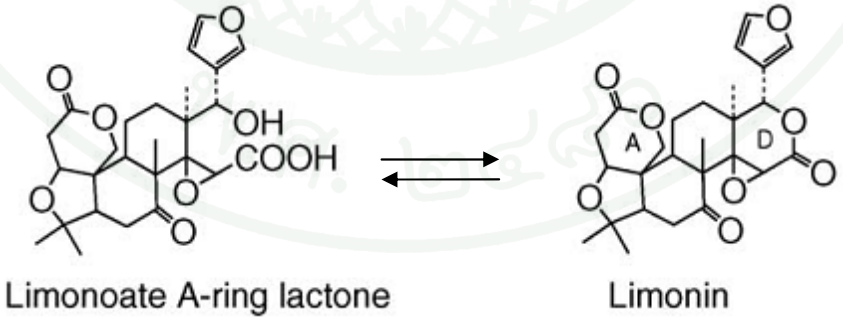
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 การเสื่อมคุณภาพของน้ำมะนาวเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพ

ในกระบวนการผลิตน้ำมะนาวและน้ำผลไม้ตระกูลส้ม มีปัจจัยที่เป็นสาเหตุที่ทำให้น้ำมะนาวเกิดการเปลี่ยนแปลง ตัวอย่าง เช่น วิธีการสกัด การพาสเจอร์ไรส์ การลดอุณหภูมิ สภาวะในการบรรจุ ภาชนะบรรจุ และสภาวะในการเก็บรักษา ความขมของน้ำมะนาว ซึ่งเกิดขึ้นได้ในระหว่างกระบวนการผลิต เช่น การสกัดน้ำผลไม้ การพาสเจอร์ไรส์ เป็นต้น สารให้ความขมที่พบปนเปื้อนในกระบวนการผลิต คือ ลิโมนิน (limonin) นาริงจิน (naringin) เฮสเพอริดิน (hesperidin) และน้ำมันหอมระเหย (essential oil) (Kimball, 1991)

2.2.1 การปนเปื้อนระหว่างกระบวนการผลิต เป็นสาเหตุให้สี กลิ่น-รสและสมบัติทางกายภาพของน้ำผลไม้เปลี่ยนแปลงไป สารที่พบปนเปื้อนในกระบวนการผลิต (Kimball, 1991) ได้แก่

ลิโมนิน (limonin) เป็นสาระสำคัญที่เป็นสาเหตุให้เกิดรสขมในน้ำมะนาวและน้ำผลไม้ตระกูลส้ม พบมากในเมล็ดและผิวของผล ในระยะแรกลิโมนินจะอยู่ในรูปของ ลิโมโนเอท เอริงแลคโตน (limonoate A-ring lactone) ซึ่งไม่มีรสขม แต่เมื่อได้รับการกระตุ้นจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของลิโมนินที่มีรสขม โดยการเกิดรสขมจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นและค่าความเป็นกรด-เบสที่ลดลง ซึ่งจะทำให้อัตราเร็วในการเกิดความขมเพิ่มขึ้น กลไกการเปลี่ยนแปลงแสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของลิโมนินเป็นสารให้รสขม

ที่มา: Breksa *et al*. (2005)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นาริงจิน (naringin) เป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบที่ให้รสขมในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม สามารถพบได้ในบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์และเปลือกชั้นกลาง (albedo) ของพืชตระกูลส้ม

เฮสเพอริดิน (hesperidin) เป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แต่เฮสเพอริดินเป็นสารที่ไม่ให้กลิ่น-รส ในน้ำผลไม้ตระกูลส้มสามารถพบเฮสเพอริดินได้บริเวณเปลือกและเยื่อหุ้มเซลล์ของพืชตระกูลส้ม สมบัติของเฮสเพอริดิน คือ สามารถละลายได้เล็กน้อยในสารละลายที่เป็นกรด โดยเฮสเพอริดินที่มีการปนเปื้อนในระหว่างการสกัดน้ำผลไม้ จะพบเป็นฝ้าขาว หรือแผ่นขาว ๆ ในน้ำผลไม้ ซึ่งลักษณะเช่นนี้เกิดจากการเรียงตัวของเฮสเพอริดินเป็นผลึกรูปเข็มขนาดยาวจะมีผลให้น้ำผลไม้ขุ่น พบว่าการเกิดลักษณะขุ่นของน้ำผลไม้ตระกูลส้มมะนาวเกิดจากเฮสเพอริดินร้อยละ 10-20 (Kimball, 1991)

น้ำมันหอมระเหย (essential oil) ในพืชตระกูลส้มมะนาวจะมีน้ำมันหอมระเหย (essential oil) ที่ผิวเปลือกซึ่งเป็นสารระเหยของเทอร์พีน (terpenes) เซสควิเทอร์พีน (sesquiterpenes) แอลกอฮอล์ (alcohol) แอลดีไฮด์ (aldehydes) คีโตน (ketone) แวคซ์(waxes) เอสเทอร์ (esters) และกรด (acid) เมื่อมีน้ำมันหอมระเหยปนลงไปในน้ำมะนาว สารประกอบเหล่านี้จะสลายตัวในสารละลายที่เป็นกรดโดยเกิดกระบวนการโพลีเมอร์ไรเซชั่น (polymerization) ทำให้กลิ่นรสของมะนาวเปลี่ยนไปเป็นกลิ่นรสที่ไม่ดี โดยจะทำให้น้ำมะนาวมีรสขม (อรุณี, 2516) สามารถลดน้ำมันหอมระเหยให้น้อยลงได้โดยนำผลมะนาวมาผ่านไอน้ำหรือลวกในน้ำร้อน เป็นการช่วยให้เซลล์น้ำมันที่ผิวเปลือกแตก ทำให้สารประกอบเหล่านี้ระเหยออกไปได้ (ประสิทธิ์, 2523; วรรณี, 2545) องค์ประกอบหลักของน้ำมันที่ผิวของผลไม้ตระกูลส้มเป็นสารไฮโดรคาร์บอน คือ ดี-ลิโมนิน พบมากกว่าร้อยละ 90 ส่วนในมะนาวจะมีแอลฟา-ไปนีน อยู่ร้อยละ 5 ดี-ลิโมนิน ทำหน้าที่เป็นตัวพาของสารให้กลิ่น ถ้ามีในระดับสูงจะเรียกว่า oilburn ซึ่งจะระคายเคืองต่อผิวหนังและตา สารไฮโดรคาร์บอนเหล่านี้จะเป็นตัวรับออกซิเจน (Kimball, 1991)

2.2.2 การตกตะกอนแยกชั้น

ลักษณะขุ่นในน้ำมะนาวเกิดจากตะกอนที่อยู่ในสภาพคอลลอยด์ (colloid) แต่ในระหว่างกระบวนการแปรรูป การให้ความร้อนในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์และค่าความเป็นกรด-เบสที่ต่ำมากของน้ำมะนาว จะทำลายสภาพคอลลอยด์ของน้ำมะนาวให้เสียไป สารประกอบเพคติน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จะถูกทำลาย ทำให้สายโมเลกุลของเพคตินสั้นลง ทำให้ความคงตัวของคอลลอยด์ลดลง จึงเกิดการตกตะกอนแยกชั้นและเอนไซม์เพคติเนส (pectinase) ที่มีอยู่ในน้ำมะนาวจะไปย่อยเพคตินทำให้น้ำมะนาวเกิดการตกตะกอนแยกชั้น นอกจากนี้แล้วยังมีอนุมูลโลหะที่ปนเปื้อน เช่น อนุมูลของแคลเซียม (Ca^{2+}) หรืออนุมูลของแมกนีเซียม (Mg^{2+}) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้น้ำผลไม้เกิดลักษณะเจลกับสารประกอบเพคติน จึงทำให้สภาพคอลลอยด์สูญเสียไป (Kimball, 1991)

2.2.3 การเกิดตะกอนสีดำในน้ำมะนาว

ตะกอนสีดำในน้ำมะนาว มักมีสาเหตุมาจากความร้อนในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์หรือการทำให้เข้มข้น แล้วทำให้สารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตเกิดการไหม้ (Kimball, 1991)

2.2.4 การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล (Browning reactions)

ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในอาหารสามารถเกิดขึ้นได้จากระหว่างกระบวนการผลิตและระหว่างการเก็บรักษา (Eskin, 1990) การเกิดสีน้ำตาลในอาหาร เกิดจากปฏิกิริยาเคมี 4 ชนิด คือ ปฏิกิริยาสีน้ำตาลจากเอนไซม์ (enzymatic browning reactions) ปฏิกิริยาคาลาเมลไรเซชั่น (caramelization) ปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิก (oxidation) และปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reactions) (Clegg, 1964) ในอาหารส่วนใหญ่การเกิดสีน้ำตาล เกิดจากปฏิกิริยาที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (non-enzymatic browning) ซึ่งจะมีผลกระทบต่อลักษณะของอาหาร เช่น รสชาติ กลิ่น และสี (Gazzani *et al*., 1987) ทำให้อาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาซึ่งเป็นข้อจำกัดของอายุการเก็บรักษาของอาหาร (Buera *et al*., 1987) ดังตัวอย่างเช่น การเกิดสีน้ำตาลของน้ำผลไม้เข้มข้น (Toribio and Lozano, 1984) ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้น้ำผลไม้เสียคุณค่าทางโภชนาการ มีสาเหตุมาจากความร้อนทำให้น้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในน้ำผลไม้เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด เป็นสารเฟอฟูรอล (furfural) และ 5-ไฮดรอกซิลเมธิลเฟอฟูรอล (5-hydroxymethylfurfural, 5-HMF) (Buedo *et al*., 2001) ในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม การเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ เกิดเนื่องจากปฏิกิริยาของ น้ำตาล กรดอะมิโนและกรดแอสคอร์บิก (Johnson *et al*., 1995)

มีการศึกษาของ Solomon *et al*. (1995) รายงานว่าการลดปริมาณลงของกรดแอสคอร์บิก ระหว่างการเก็บรักษาน้ำส้ม ทำให้น้ำส้มเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Lee and Nagy (1988) รายงานว่าความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการสูญเสียกรดแอสคอร์บิกและการเพิ่มขึ้นของสีน้ำตาลในน้ำองุ่นมีความสัมพันธ์กันสูงมาก Robertson and Samaniego (1986) ศึกษาความเข้มข้นของไฮดรอกซิลเมธิลเฟอฟูรอลกับระดับการเกิดสีน้ำตาลในน้ำมะนาวพบว่ามีความสัมพันธ์กันในระดับที่สูงมาก

การศึกษาของ Sawamura *et al*. (1991) พบว่ากรดแอสคอร์บิกจะเกิดการออกซิเดชันได้ง่ายระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา ทำให้สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการและเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติ โดยเกิดเป็นสีน้ำตาลในน้ำมะนาว ซึ่งน้ำมะนาว เป็นน้ำผลไม้ที่มีความเป็นกรดสูง มีสาเหตุมาจากปฏิกิริยาที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ เช่น การย่อยสลายของวิตามินซีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในน้ำมะนาว

Katherine *et al*. (2003) ศึกษาผลของภาชนะบรรจุที่มีต่อการรักษาปริมาณกรดแอสคอร์บิกในน้ำส้ม พบว่าน้ำส้มบรรจุในภาชนะที่ออกซิเจนสามารถซึมผ่านได้ จะมีอัตราการลดลงของกรดแอสคอร์บิกสูงกว่าในภาชนะที่สามารถป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจน การซึมผ่านของออกซิเจนจะมีผลทำให้กลไกการย่อยสลายของกรดแอสคอร์บิกในสภาวะที่มีออกซิเจนเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง อัตราการลดลงของกรดแอสคอร์บิกจะมีความสัมพันธ์กับจำนวนออกซิเจนเริ่มต้นละลายอยู่ในน้ำส้มและบริเวณช่องว่างเหนืออาหารภายในภาชนะบรรจุ และมีความสัมพันธ์กับระดับการเกิดสีน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น

3. การป้องกันการเสื่อมคุณภาพของน้ำมะนาว

3.1 การให้ความร้อน

การพาสเจอร์ไรส์ เป็นการฆ่าเชื้อโดยใช้ความร้อน การฆ่าเชื้อวิธีนี้สามารถทำลายเอนไซม์ต่าง ๆ รวมทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคทั้งนี้อุณหภูมิที่ใช้ในการฆ่าเชื้อต้องไม่เกิน 100 °C ขั้นตอนการให้ความร้อนฆ่าเชื้อจุลินทรีย์และการให้ความเย็นทันที สำหรับขั้นตอนในการให้ความร้อนนี้เป็นการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีจุดประสงค์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในภาชนะปิดสนิท ทำได้ 2 ลักษณะ คือ การให้ความร้อนก่อนบรรจุในภาชนะปิดสนิทและการให้ความร้อนหลังการบรรจุในภาชนะบรรจุปิดสนิท

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การให้ความร้อนก่อนบรรจุในภาชนะปิดสนิท สำหรับน้ำผลไม้ที่มีค่าความเป็นกรด-เบสไม่ต่ำกว่า 3.5 สามารถฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 70-72 °C เป็นเวลา 15 นาที เรียกว่า ระบบพาสเจอร์ไรส์แบบเร็ว-อุณหภูมิสูง (HTST-pasteurization) หรือที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 30 นาที เรียกว่า ระบบพาสเจอร์ไรส์แบบช้า-อุณหภูมิต่ำ (LTLT- pasteurization) จากนั้นจึงนำมาบรรจุในภาชนะบรรจุที่สะอาด ในขณะที่น้ำผลไม้ยังร้อน จะช่วยให้จุลินทรีย์ไม่เกิดการปนเปื้อนซ้ำ จัดว่าเป็นการไล่อากาศออกไปในขณะบรรจุด้วย และให้ความเย็นทันที (อุณหภูมิน้ำเย็นไม่เกิน 12 °C) เพื่อหยุดการเกิดปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ที่หลงเหลือจากกระบวนการให้ความร้อน ส่วนการให้ความร้อนหลังการบรรจุในภาชนะบรรจุปิดสนิท การให้ความร้อนฆ่าเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธีนี้นิยมใช้กับน้ำผลไม้ที่บรรจุในภาชนะแบบกระป๋องเคลือบแลคเกอร์ ซึ่งทนความร้อนได้ จะใช้วิธีการฆ่าเชื้อนี้ภายหลังการบรรจุน้ำผลไม้ในกระป๋องแล้ว ขั้นตอนคือ การบรรจุน้ำผลไม้ที่เตรียมไว้แล้ว (ค่าความเป็นกรด-เบสไม่เกิน 3.5) ในกระป๋องโดยเว้นช่องว่างเหนือกระป๋องตามสัดส่วนขนาดของกระป๋อง เพื่อรองรับการขยายตัว จากนั้นเข้าสู่ขั้นตอนการไล่อากาศ แล้วปิดฝากระป๋อง ตามด้วยการให้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิประมาณ 100 °C เป็นเวลานาน 10 นาที สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้หมดสำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นกรดสูงและทำให้เย็นโดยเร็ว

นอกจากนั้นกระบวนการพาสเจอร์ไรส์จะคงคุณภาพด้านความข้นของน้ำผลไม้ตระกูลส้มมะนาวได้ จากการศึกษาโดย Stevens (1940) และในเวลาต่อมา Stevens *et al*. (1950) ได้อธิบายถึงเทคนิคและการนำกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ไปใช้กับน้ำผลไม้ตระกูลส้มมะนาว และนำน้ำผลไม้ตระกูลส้มมะนาวที่ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ ไปเก็บรักษาในอุณหภูมิปกติและอุณหภูมิเยือกแข็ง จะสามารถยับยั้งเอนไซม์เพคติน เพคตินเอสเทอร์เรส ในน้ำมะนาวได้ จากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิที่เย็นจัด จะสามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ได้ร้อยละ 75-95 อุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ ที่สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ได้อยู่ในช่วงระหว่าง 69-74 °C และในทางการค้าอุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาว มีอุณหภูมิสูงถึง 77 °C เป็นเวลา 30 วินาที โดยที่หลังจากผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ ต้องมีการลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็ว เพื่อป้องกันการลดลงของคุณภาพของน้ำมะนาว

กระบวนการให้ความร้อน เป็นวิธีที่ใช้ในการถนอมอาหาร การให้ความร้อนเป็นการทำลายจุลินทรีย์ แต่อุณหภูมิที่สูงจะทำให้คุณค่าทางโภชนาการลดลง สี รสชาติ และเนื้อสัมผัสเปลี่ยนแปลง (Alwazeer *et al*., 2002; Bezman *et al*., 2001; Chen *et al*., 1993; Lee and Coates, 2003; Lessin *et al*., 1997; Manso *et al*., 2001; Parish, 1998; Polydera *et al*., 2004; Rodrigo *et al*.,

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1997) การศึกษาปริมาณวิตามินที่คงเหลืออยู่ จากผลของกระบวนการแปรรูปอาหารต่อคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร มีความสำคัญกับเทคโนโลยีการอาหารและผู้บริโภค

การยืดอายุการเก็บน้ำส้มโดยการพาสเจอร์ไรส์ด้วยการใช้ความร้อน สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และลดกิจกรรมของเอนไซม์เพคตินเมทิลเอสเทอร์เรส (pectinmethyl esterase) (Kimball, 1999) การเก็บรักษาน้ำส้มที่อุณหภูมิห้องนิยมใช้การพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 95-98 °C เป็นเวลา 10-30 วินาที (Ringblom, 2004) ซึ่งสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เพคตินเมทิลเอสเทอร์เรสได้ น้ำส้มยังคงมีความขุ่นอยู่ และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Mazzotta, 2001)

3.2 การเก็บที่อุณหภูมิต่ำ

การเก็บรักษาน้ำผลไม้ที่อุณหภูมิต่ำเพื่อลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมีให้กับน้ำผลไม้ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาน้ำผลไม้ โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสน้อยที่สุด การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำมี 2 แบบคือ การเก็บรักษาโดยการแช่เย็นที่อุณหภูมิระหว่าง -1°C ถึง -8 °C และการเก็บรักษาโดยการแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง ซึ่งการเก็บโดยการแช่เย็นมักใช้ร่วมกับการแปรรูปวิธีอื่น ๆ เช่น การทำให้เข้มข้น การฉายรังสี หรือการพาสเจอร์ไรส์ (Tressler and Joslyn, 1961)

3.3 การทำให้เข้มข้น

เป็นการกำจัดน้ำบางส่วนออกจากอาหารเหลว โดยอาศัยความแตกต่างระหว่างความสามารถในการระเหยของน้ำและตัวละลาย การทำให้เข้มข้นสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การทำให้เข้มข้นโดยการใช้เมมเบรน (membrane filtration) การทำให้เข้มข้นโดยการแช่เยือกแข็ง (freezing) และการทำให้เข้มข้นโดยการระเหยภายใต้สุญญากาศ (vacuum evaporation) เมื่อความเข้มข้นของน้ำผลไม้เพิ่มสูงขึ้นจุลินทรีย์จะเจริญเติบโตได้น้อยลง เนื่องจากน้ำผลไม้เข้มข้นจะมีค่าความเป็นกรดสูงขึ้นและมีความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มขึ้น การเน่าเสียของน้ำผลไม้เข้มข้นจะขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-เบสของน้ำผลไม้ (Ingram and Luthi, 1961) น้ำผลไม้เข้มข้นนิยมเก็บในที่เย็น เพราะนอกจากจะยืดเวลาการเน่าเสียจากจุลินทรีย์แล้วยังช่วยยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ (Vas, 1975)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.4 การใช้วัตถุเจือปนอาหาร

วัตถุเจือปนอาหาร (food additive) คือ วัตถุที่ตามปกติไม่ได้ใช้เป็นอาหารแต่นำมาใช้เจือปนในอาหารตามความจำเป็นแก่กรรมวิธีการผลิต การเก็บรักษา รวมถึงสภาวะ การบรรจุ (ศิวาพร, 2535) สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงก่อนการใช้สารเคมีที่เป็นสารกันเสีย คือ ความปลอดภัยและปริมาณสารเคมีที่ใช้ต้องไม่เกินกว่าที่กฎหมายกำหนดหรืออนุญาตให้ใช้ได้ โดยที่วัตถุเจือปนอาหารแต่ละชนิดจะมีผลต่อชนิดของจุลินทรีย์ที่ต่างกัน ส่วนประกอบของอาหารที่สามารถใช้เป็นสารกันเสียได้ เช่น แอลกอฮอล์ น้ำตาล เกลือ และน้ำส้มสายชู จะปลอดภัยสำหรับการบริโภคแต่มีผลต่อสุขภาพถ้าบริโภคในปริมาณมากเกินความต้องการ สารกันเสียบางชนิดนอกจากจะไปรบกวนการทำงานของเซลล์เมมเบรน กิจกรรมของเอนไซม์และกลไกทางพันธุกรรมของจุลินทรีย์แล้วยังทำหน้าที่เป็นสารกันหืนหรือสารที่ทำให้เกิดความคงตัวอีกด้วย (Frazier and Westhoff, 1978) เช่น สารจับโลหะ (สารประกอบฟอสเฟต และสารอนุพันธุ์) สารกันเสีย (กรดเบนโซอิก ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และซัลไฟด์) เป็นต้น

ศิวาพร และคณะ (2519) ศึกษาการใช้สารกันบูดในการถนอมน้ำมะนาวสดที่ได้จากผลมะนาวลวก โดยเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟด์ 200, 300, 500 ส่วนในล้านส่วนร่วมกับโซเดียมเบนโซเอท ร้อยละ 0.1 หรือ โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟด์ 200, 300, 500 ส่วนในล้านส่วน ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก 70 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของน้ำมะนาว เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 18-20 °C เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าน้ำมะนาวสดที่ได้จากมะนาวลวกและโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟด์ 200 ส่วนในล้านส่วนร่วมกับกรดแอสคอร์บิก 70 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของน้ำมะนาว ให้ผลดีที่สุดในด้านสี กลิ่น รส และปริมาณกรดแอสคอร์บิกที่คงเหลือ

El *et al*. (1974) ศึกษาการถนอมน้ำมะนาวโดยใส่สารกันบูด คือ กรดซอร์บิค 100 ส่วนในล้านส่วน โซเดียมเบนโซเอท 1,000 ส่วนในล้านส่วน และโซเดียมเบนโซเอท 500 ส่วนในล้านส่วน ร่วมกับโซเดียมเมตาไบซัลไฟด์ 250 ส่วนในล้านส่วน เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -12 °C เป็นเวลา 12 เดือน พบว่าทุกการทดลองเกิดการแยกชั้นและตกตะกอนภายในเวลา 6 เดือน ยกเว้นตัวอย่างน้ำมะนาวที่ใส่โซเดียมเบนโซเอทร่วมกับโซเดียมเมตาไบซัลไฟด์ และได้ทดลองถนอมรักษาน้ำมะนาวโดยศึกษาการบรรจุและปัจจัยในการเก็บรักษา โดยทำการพาสเจอร์ไรส์ร่วมกับการใส่ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 200, 300 ส่วนในล้านส่วน และโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 10 บรรจุในถุงโพลีเอททิลีนและขวดแก้ว พบว่าปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ลดลงร้อยละ 8 ภายในเวลา 1 เดือนและ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลดลง ร้อยละ 5 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ไม่มีผลทำให้โซเดียมคลอไรด์ลดลง และปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในขวดแก้วมีมากกว่าในถุงโพลีเอททิลีน ส่วนกรดแอสคอร์บิกลดลงจาก 30 เหลือ 26.7 มิลลิกรัม

จารุณี (2528) ศึกษาการถนอมน้ำมะนาว โดยการใช้ความร้อนร่วมกับสารกันบูด พบว่าในน้ำมะนาวสด 12 ตัวอย่าง แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ยีสต์ 132 ไอโซเลท, รา 1 ไอโซเลท โดยไม่พบแบคทีเรีย เนื่องจากน้ำมะนาวมีความเป็นกรดสูง ยีสต์มีบทบาทสำคัญที่สุดที่ทำให้น้ำมะนาวเสื่อมเสีย ผลของการถนอมน้ำมะนาวที่ดีที่สุดจากการทดลอง คือ ผ่านความร้อน 80 °C เป็นเวลาเวลา 1 นาที ใส่โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 200 ส่วนในล้านส่วน และกรดแอสคอร์บิก 70 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 °C สามารถทำลายยีสต์ทุกชนิดและรักษากรดแอสคอร์บิกได้นาน 9 สัปดาห์ สามารถรักษาสีและรสได้นาน 10 สัปดาห์และไม่ตกตะกอนตลอดระยะเวลาการเก็บ

3.5 การกำจัดออกซิเจน

การกำจัดออกซิเจนเป็นการปรับสภาพบรรยากาศภายในภาชนะบรรจุของผลิตภัณฑ์เพื่อลดหรือกำจัดปริมาณออกซิเจนออกไป มี 2 วิธี คือ การพ่นก๊าซแทนที่อากาศ (gas purging หรือ gas-flushing system) และการบรรจุให้อยู่ภายใต้สภาวะที่เป็นสุญญากาศ (vacuum packaging)

การพ่นก๊าซแทนที่อากาศ เป็นการบรรจุภายใต้บรรยากาศของก๊าซชนิดใดชนิดหนึ่ง เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไนโตรเจน โดยการพ่นก๊าซ เข้าไปในแทนที่อากาศภายในภาชนะ เพื่อไล่ก๊าซออกซิเจนภายในบรรยากาศที่ล้อมรอบอาหารที่ไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น อาหารที่มีไขมันมาก น้ำผลไม้ แล้วจึงปิดผนึกภาชนะ ซึ่งวิธีนี้จะพบก๊าซออกซิเจนหลงเหลือภายในภาชนะค่อนข้างสูงประมาณร้อยละ 2-3 บางกรณีอาจสูงถึงร้อยละ 5 (งามทิพย์, 2541) ส่วนการบรรจุให้อยู่ภายใต้สภาวะที่เป็นสุญญากาศ เป็นการบรรจุผลิตภัณฑ์ โดยดึงเอาอากาศภายในภาชนะหรือภายในผลิตภัณฑ์ออกไป และไม่มีการพ่นก๊าซเข้าไปแทนที่ จะทำให้มีความแตกต่างระหว่างความดันภายในและความดันภายนอกภาชนะบรรจุ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Meydav *et al*. (1977) กล่าวว่าออกซิเจนจะมีผลต่อการย่อยสลายของกรดแอสคอร์บิก และระดับการเกิดสีน้ำตาลในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม แล้วยังมีผลต่อการเพิ่มการเจริญเติบโตของราและแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนด้วย

Robertson and Samaniego (1986) ศึกษาถึงระดับของออกซิเจนเริ่มต้นที่มีผลต่อการย่อยสลายของกรดแอสคอร์บิกและการเกิดสีน้ำตาลในน้ำมะนาว โดยมีสภาวะทดสอบ ดังนี้ (1) ตัวอย่างน้ำมะนาวพ่นด้วยก๊าซไนโตรเจน 15 นาที (2) กำจัดอากาศโดยผ่านโถสุญญากาศ (3) เติมอากาศ 20 นาทีเก็บตัวอย่างในที่มืดอุณหภูมิ 36 ºC พบว่าทั้ง 3 สภาวะมีระดับออกซิเจนเริ่มต้น 0.41, 1.44 และ 3.74 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีปริมาณของกรดแอสคอร์บิก หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 42 วัน คือ 50.5, 50.3 และ 47.1 มิลลิกรัมต่อน้ำผลไม้ 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติในสภาวะมีออกซิเจนการย่อยสลายของกรดแอสคอร์บิกจะเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง แต่ในการทดลองนี้มีปริมาณออกซิเจนอยู่จำนวนจำกัด พบว่าปฏิกิริยาจะเป็นอันดับสอง ทั้งนี้อัตราการย่อยสลายจะขึ้นอยู่กับปริมาณออกซิเจนและความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก

Heikal *et al*. (1972) ได้ศึกษากระบวนการทำน้ำมะนาวเข้มข้น 42 องศาบริกซ์ ภายใต้สุญญากาศ แล้วบรรจุขวดโดยเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ ร้อยละ 0.3 ร่วมกับแคลเซียมคาร์บอเนต ร้อยละ 0.15 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ -10 °C เป็นเวลา 30 สัปดาห์ พบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 °C สีและกลิ่นจะไม่เปลี่ยนแปลง และสามารถรักษาปริมาณกรดแอสคอร์บิกไว้ได้

4. การศึกษาอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาว

อายุการเก็บรักษา หมายถึง ช่วงระยะเวลาของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ตั้งแต่เมื่อเริ่มผลิตผลิตภัณฑ์นั้นขึ้นมา ระหว่างช่วงเวลาดังกล่าว ผลิตภัณฑ์ยังคงมีคุณภาพทางด้านคุณค่าทางอาหาร รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และลักษณะปรากฏเป็นที่พึงพอใจของผู้บริโภค จนกระทั่งผลิตภัณฑ์นั้นอยู่ในสภาพที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ (Singh, 1994) ความสำคัญของการศึกษาอายุการเก็บสามารถทำให้ผู้ผลิตกำหนดวันหมดอายุของผลิตภัณฑ์ เพื่อให้ผู้บริโภคทราบและประกันว่าผลิตภัณฑ์ในช่วงนี้มีคุณภาพตรงกับที่ระบุไว้บนฉลาก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การประเมินอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์อาหารสามารถทำได้หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้ คือ การศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่ส่งผลต่อคุณภาพใดคุณภาพหนึ่ง เพื่อเป็นดัชนีชี้วัดการเสื่อมเสียที่เกิดขึ้นในอาหาร ในช่วงหนึ่ง ๆ ของปฏิกิริยานั้น ๆ เช่น การสูญเสียวิตามินซีของอาหารระหว่างการเก็บรักษา การเปลี่ยนแปลงสีของผลไม้แช่อิ่มอบแห้ง เป็นต้น และที่สำคัญปฏิกิริยาที่เลือกต้องเป็นคุณภาพที่สามารถวัดได้ เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาและควบคุมจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยา (reaction kinetic) โดยคุณภาพที่เกิดการเปลี่ยนแปลง จะสามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับเวลาที่ใช้ในการเก็บรักษา มักจะเป็นการเปลี่ยนแปลงในรูปอันดับของปฏิกิริยา เป็นปฏิกิริยาอันดับ 0, 1 หรือ 2 แสดงดังสมการที่ 1, 2 และ 3 การประเมินอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์โดยคำนวณจากปฏิกิริยาจลนพลศาสตร์ (kinetic reaction) เพื่อใช้ในการคำนวณอายุการเก็บรักษา และทำนายอายุการเก็บรักษา

เมื่อ n = 0; $C_A - C_{A0} = -kt$ (1)

เมื่อ n = 1; $\ln(C_A / C_{A0}) = -kt$ (2)

เมื่อ n = 2; $1/C_A - 1/C_{A0} = -kt$ (3)

เมื่อ k คือ ค่าคงที่อัตรา (หน่วยต่อวัน)

C_{A0} คือ ปริมาณวิตามินซี ที่มี ณ จุดเริ่มต้น

C_A คือ ปริมาณวิตามินซี ที่มี ณ เวลาใด ๆ

t คือ อายุการเก็บ (วัน)

การประเมินอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์บางชนิดที่มีอายุการเก็บเป็นเวลานาน จึงได้มีการศึกษาอายุการเก็บในเวลาที่สั้นขึ้น โดยใช้สภาวะเร่ง (Accelerated Shelf Life Testing: ASLT) วิธีนี้คล้ายกับการเก็บในสภาวะจริงแต่จะเร่งเวลาการเสียของผลิตภัณฑ์ให้เร็วขึ้น โดยอาศัยหลักการทางจลนพลศาสตร์ในการประมาณผลของปัจจัยภายนอก เช่น อุณหภูมิ ความชื้น บรรยากาศของก๊าซ และการสัมผัสกับแสงที่มีต่ออัตราของปฏิกิริยาการเสื่อมเสีย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Hande *et al*. (2006) ศึกษาจลนพลศาสตร์การลดลงของปริมาณวิตามินซีในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม (ส้ม มะนาว องุ่น และส้มเขียวหวาน) ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 28, 37 และ 45 °C พบว่าการลดลงของปริมาณวิตามินซี เป็นปฏิกิริยาอันดับ 1 และเมื่อวิตามินซีลดลงเป็นผลทำให้เกิดสีน้ำตาลขึ้น จึงวัดอัตราการเกิดสีน้ำตาลได้เป็นปฏิกิริยาอันดับ 0

จลนพลศาสตร์การย่อยสลายกรดแอสคอร์บิก สามารถเกิดได้ทั้งปฏิกิริยาอันดับ 0, 1 และ 2 (Koca *et al*., 2003; Liao and Seib, 1988; Robertson and Saminego-Esguerra, 1986, 1990; Rojas and Gerschenson, 1997; Singh *et al*., 1976)

Al-Zubaidy and Khalil (2007) ได้ศึกษาจลนพลศาสตร์การย่อยสลายของกรดแอสคอร์บิกในน้ำมะนาวเข้มข้น 9 และ 50 องศาบริกซ์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 45 °C เป็นเวลา 4 เดือน พบว่าความเข้มข้น และอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นทำให้กรดแอสคอร์บิกมีปริมาณลดลง ประเมินอายุการเก็บรักษาจากการลดลงของปริมาณกรดแอสคอร์บิก จากปฏิกิริยาจลนพลศาสตร์ ปฏิกิริยาจะเป็นอันดับ 1

Polydera *et al*. (2003) กล่าวว่าการย่อยสลายของกรดแอสคอร์บิกในน้ำส้มระหว่างการเก็บรักษาจะขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิต อุณหภูมิในการเก็บและสภาวะบรรจุ ซึ่งกรดแอสคอร์บิกเป็นตัวบ่งชี้สำคัญของคุณภาพของผลิตภัณฑ์ จากการทดลองเก็บน้ำส้มในถุงลามิเนตและในขวดพลาสติกโพลีโพรพิลีน พบว่าในระยะแรกของการเก็บในถุงลามิเนต กรดแอสคอร์บิกจะมีการลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากอัตราการย่อยสลายจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกและจำนวนออกซิเจน แต่เมื่อเวลาผ่านไปอัตราการย่อยสลายของกรดแอสคอร์บิกลดลงเนื่องจากปริมาณออกซิเจนเริ่มต้นในภาชนะบรรจุลดลง ดังนั้นอัตราการย่อยสลายจึงถูกควบคุมโดยปริมาณของออกซิเจนที่สามารถซึมผ่านอย่างช้า ๆ เข้าไปในภาชนะบรรจุ และกลไกของปฏิกิริยาแบบไม่มีออกซิเจนซึ่งจะเกิดได้ช้ากว่าในสภาวะที่มีออกซิเจน 2-3 เท่า (Gregory, 1996) ส่วนการเก็บในขวดพลาสติกโพลีโพรพิลีน ออกซิเจนไม่สามารถซึมผ่านเข้าได้ อัตราการย่อยสลายจะถูกควบคุมโดยความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก ปฏิกิริยาเป็นอันดับ 1

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

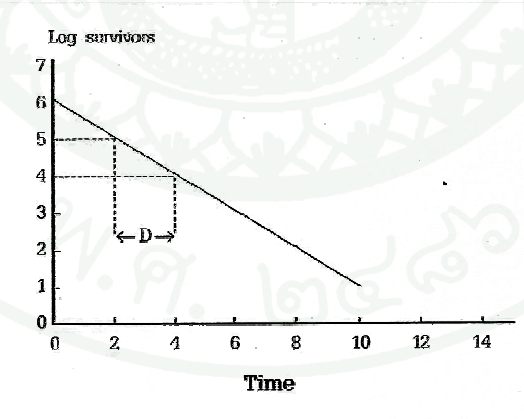
5. การศึกษาความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์

ในการถนอมอาหารหลายชนิดให้มีความปลอดภัย จำเป็นต้องใช้ความร้อนในการทำลายจุลินทรีย์ การใช้ความร้อนในการทำลายจุลินทรีย์ เป็นการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอันตรายถึงแก่ชีวิต ซึ่งเซลล์ของจุลินทรีย์จะได้รับความร้อนที่อุณหภูมิเฉพาะค่าหนึ่ง เซลล์จะตายในอัตราคงที่

ค่า Decimal reduction time (D-value) คือ เวลาเป็นนาที ที่ใช้ที่อุณหภูมิระดับหนึ่ง ซึ่งจะทำลายจุลินทรีย์ให้ลดลง ร้อยละ 90 หรือ 1 log cycle ของจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นทั้งหมด โดยแสดงในรูป $D_T = t$ นาที เมื่อ T คือ อุณหภูมิที่ใช้ในการให้ความร้อน (ºC หรือ ºF) และ t คือ เวลา (นาที) ที่ใช้ในการทำให้จำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ลดลง 1 log cycle ดังนั้นจึงเป็นการวัดความไวต่อความร้อน (heat sensitive) หรือความต้านทานความร้อน (heat resistance) ของจุลินทรีย์ แสดงในภาพที่ 5 สามารถหาค่า D-value ได้จากสมการที่ 4

$$D = (t_2 - t_1) / (\log N_1 - \log N_2) \quad (4)$$

โดยที่: N_1 และ N_2 คือ จำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตที่เวลา t_1 และ t_2 ตามลำดับ



ภาพที่ 5 กราฟการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ (survival cruve)

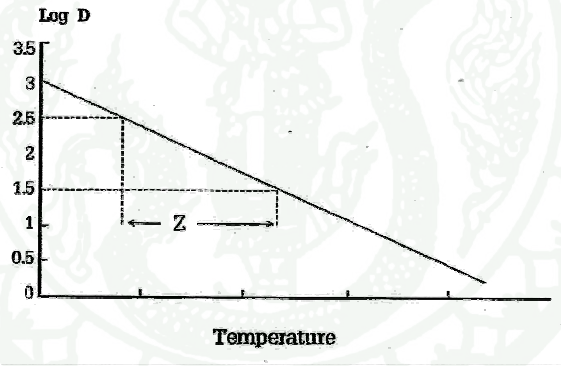
ที่มา: สุมณฑา (2549)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ค่า z-value คือ อุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงค่า D หรือช่วงอุณหภูมิที่ใช้ในการทำลายจุลินทรีย์ไป ร้อยละ 90 หรือ 1 log cycle ค่า z-value ของจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะแตกต่างกัน เนื่องมาจากอาหารแต่ละชนิดมักจะฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิไม่เท่ากัน ค่า z-value หาได้จากการทดลองแล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log D กับอุณหภูมิที่ใช้ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมาย แสดงในภาพที่ 6 ค่า z-value ที่อ่านได้จากกราฟ เป็นค่าอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมายที่เพิ่มขึ้นหรือลดลง 1 log cycle หรืออาจคำนวณได้จากสมการที่ 5

$$z = (T_2 - T_1) / (\log D_1 - \log D_2) \quad (5)$$

โดยที่: D_1 และ D_2 คือ ค่า log จุลินทรีย์ที่รอดชีวิตเมื่อฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ T_1 และ T_2 ตามลำดับ



ภาพที่ 6 กราฟความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ (Thermal resistance curve)

ที่มา: สุมณฑา (2549)

McKnight *et al*. (2010) ได้ศึกษาการพาสเจอร์ไรส์น้ำเสาวรสและน้ำสับปะรด วัตถุดิบได้จากโรงงาน และแยกเชื้อ *Alicyclobacillus* spp. ได้จากน้ำเสาวรส ซึ่งในน้ำสับปะรดไม่พบเชื้อจุลินทรีย์นี้ ค่าความต้านทานความร้อนของ *Alicyclobacillus acidoterrestris* DSM 2498 มีค่า D-values ที่อุณหภูมิ 95 °C เท่ากับ 1.7 นาที และ มีค่า z-value เท่ากับ 7.6 °C ส่วน *A. acidoterrestris* DSM 2498 มีค่า D-values ที่อุณหภูมิ 95 °C เท่ากับ 1.5 นาที และ มีค่า z-value เท่ากับ 7.1 °C จากการทดลองสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมการเลือกผลไม้ ขั้นตอนการล้าง ควบคุมเวลา

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หรืออุณหภูมิสำหรับการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน เพื่อลดอุบัติการณ์และลดโอกาสปนเปื้อนของเชื้อ *A. acidoterrestris* ในน้ำผลไม้

Garza *et al*. (1994) ศึกษาความต้านทานความร้อนของ *Saccharomyces cerevisiae* จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ 173 แยกเชื้อมาจากเนื้อลูกพีชเน่าเสีย ในบัฟเฟอร์ McIlvaine (ค่าความเป็นกรด-เบส 4), สายพันธุ์ 180 แยกเชื้อมาจากเนื้อลูกพีชเน่าเสีย ในบัฟเฟอร์ McIlvaine (ค่าความเป็นกรด-เบส 7) และสายพันธุ์ 325 แยกเชื้อมาจากเนื้อลูกพีช (ค่าความเป็นกรด-เบส 3.9) ค่า D-values ที่อุณหภูมิ 60 °C ของเชื้อที่แยกมาจากเนื้อลูกพีชเน่าเสีย ในบัฟเฟอร์ที่ค่าความเป็นกรด-เบส 7 มีค่า 0.75, 1.32 และ 0.14 นาที สำหรับสายพันธุ์ที่ 173, 180 และ 325 ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าค่าความเป็นกรด-เบส ไม่มีอิทธิพลต่อความต้านทานความร้อนของ *Saccharomyces cerevisiae* ส่วนค่า D-values ที่อุณหภูมิ 60 °C ของเชื้อที่แยกมาจากเนื้อลูกพีช มีค่า 0.53, 0.20 และ 0.10 นาที ตามลำดับ เมื่อคำนวณค่า z-values ของ สายพันธุ์ 173 ที่ ค่าความเป็นกรด-เบส 4 มีค่า เท่ากับ 3 °C และสายพันธุ์ 325 แยกจากเนื้อลูกพีช มีค่า เท่ากับ 4 °C

McAuley *et al*. (2012) รายงานว่า แบคทีเรีย enterococci มีความสารถในการรอดชีวิตอยู่ได้ในนมพาสเจอร์ไรส์ ได้มีการแยกเชื้อ enterococci จากนมพาสเจอร์ไรส์ (63°C เป็นเวลา 30 นาที) พบว่ามีปริมาณ 10 log reduction คำนวณ ค่า D-values จากกราฟการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ จำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตหลังจากการให้ความร้อนที่ 63, 69, 72, 75 และ 78 °C และลดอุณหภูมิลงทันที สำหรับอุณหภูมิ 72 °C เป็นอุณหภูมิที่ใช้ในการพาสเจอร์ไรส์นมแบบ อุณหภูมิสูงเวลาสั้น (72 °C เป็นเวลา 15 วินาที) ค่า D-values ที่คำนวณได้อยู่ในช่วง 0.3 นาที ถึง 5.1 นาที ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรีย จากข้อมูล ค่า D-values ของแบคทีเรีย สามารถคำนวณค่า z-values ได้ อยู่ในช่วง 5.0 ถึง 9.8 °C

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

มะนาวพันธุ์แป้น ซื้อจากตลาดสี่มุมเมือง ขนาดของผล เบอร์ 400 เลือกผลที่มีสีเขียวโดยมีอายุการเก็บเกี่ยว 4 เดือน หลังจากดอกบานเต็มที่ ในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ถึง มีนาคม และกรกฎาคม ถึง สิงหาคม ปี พ.ศ. 2554

2. จุลินทรีย์และอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

2.1 เชื้อจุลินทรีย์

2.1.1 *Pichia kudriavzevii* TISTR 5147 ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมข้อมูลจุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

2.1.2 *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5110 ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมข้อมูลจุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

2.1.3 *Salmonella aberdeen* DMST 19198, *Salmonella bergen* DMST 19206, *Salmonella poona* DMST 19199, *Salmonella alachua* DMST 19203, *Salmonella enteric* salamae ser, 17:gt:- DMST 19207, *Salmonella minnesota* DMST 19201, *Salmonella chicago* DMST 19202, *Salmonella wandsworth* DMST 19204, *Salmonella fresno* DMST 19197, *Salmonella waycross* DMST 19205, *Salmonella cerro* DMST 19200, *Salmonella enteritidis* (Group D) DMST 15676, *Salmonella virchow* DMST 17239, *Salmonella paratyphi* A DMST 15673 และ *Salmonella bangkok* DMST 7121 ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.2.1 กลูโคส (D (+)-Glucose-Monohydrate: for microbiology, Merck, Germany)

2.2.2 ยีสต์ (Yeat extract: for microbiology, Merck, Germany)

2.2.3 มอลต์ (Malt extract: for microbiology, Merck, Germany)

2.2.4 เปปโตน (Peptone) (Merck, Germany)

2.2.5 Agar Granulated (Difgo, U.S.A.)

2.2.6 อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Trypticase soy agar (TSA) (Merck, Germany)

2.2.7 อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Trypticase soy borth (TSB) (Merck, Germany)

2.2.8 อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Plate count agar (PCA) (Himedia Laboratory, India)

2.2.9 อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Potato dextrose agar (PDA) (Himedia Laboratory, India)

2.2.10 กรดแลกติก (Lactic acid; $C_3H_6O_3$: Analytical grade, Merck, Germany)

3. สารเคมี

3.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH: Analytical grade, Merck, Germany)

3.2 กรดซิตริก 0.1 M (Citric acid; $HOC(COOH)(CH_2COOH)_2.H_2O$: Analytical grade, Ajax Finechem, Australia)

3.3 เมทานอล (Methanol; CH_3OH: Analytical grade, Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NJ, U.S.A.)

3.4 กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid; $C_6H_8O_6$: food grade, ห้างหุ้นส่วนจำกัดแซทเทอร์น เคมิคอล, ประเทศไทย)

3.5 อะซีโตรไนไตรล์ (Acetronitrile; CH_3CN: HPLC grade, Mallinckrodt Baker Inc., Phillipsburg, NJ, U.S.A.)

3.6 โอ-ฟีนิลลีนไดเอมีน (O-phenylenediamine; $C_6H_4(NH_2)_2$: Sigma-Aldrich, St. Louise, U.S.A.)

3.7 เฮกซะเดซิลไตรเมทิล-แอมโมเนียมโบรไมด์ (Hexadecyltrimethyl-ammonium bromide; $C_{19}H_{42}N.Br$: Sigma-Aldrich, St. Louise, U.S.A.)

3.8 กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (Dehydro-L-ascorbic acid; $C_6H_6O_6$: HPLC grade, Sigma-Aldrich, St. Louise, U.S.A.)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.9 กรดไอโซแอสคอร์บิก (D-isoascorbic acid; $C_6H_8O_6$: HPLC grade, Sigma-Aldrich, St. Louise, U.S.A.)

3.10 กรดแอสคอร์บิก (L-ascorbic acid; $C_6H_8O_6$: HPLC grade, Sigma-Aldrich, St. Louise, U.S.A.)

3.11 ลิโมนิน (Limonin: HPLC grade, Sigma-Aldrich, St. Louise, U.S.A.)

4. อุปกรณ์และเครื่องมือ

4.1 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

4.2 ตู้บ่ม อุณหภูมิ 30, 35, 45 และ 55 ºC (Incubator, Memmert, English)

4.3 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Memmert, Model WB 7/14/22/29/45, Schwach, Germany)

4.4 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH meter, Orion, U.S.A.)

4.5 เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้า ความละเอียดทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง

4.6 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)

4.7 มีด เขียง กรวยกรอง

4.8 ที่คั้นน้ำมะนาวแบบคันโยก

4.9 ถังก๊าซไนโตรเจน

4.10 นาฬิกาจับเวลา (Digital timer, Model TMR-71, Casio, China)

4.11 เครื่องรีแฟรคโตมิเตอร์ (Refractometer) Model ATAGO N-α (0-32 ºBrix)

4.12 เครื่องวัดสี (Colorimeter:, HunterLab, Model Ultrascan XE, USA)

4.13 เครื่องปั่นเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenizer, T10 basic, Australia)

4.14 เครื่องเหวี่ยงแยก (Sorvall RC 5C Plus Superspeed Centrifuge, Minnesota, U.S.A.)

4.15 เครื่องทำความสะอาดด้วยระบบคลื่นเสียง (Bandelin Sonorex, Model RK 52, Berlin, Germany)

4.16 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer, genie II, U.S.A.)

4.17 ชุดกรอง mobile phase HPLC

4.18 อุปกรณ์เครื่องแก้ววิทยาศาสตร์

4.19 เครื่อง High Performance Liquid Chromatograph (Waters, Mailford, MA, U.S.A.)

4.20 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert, English)

4.21 ตู้แช่เยือกแข็ง (Freezer) (SF-C995 (GYN), Sanyo, Thailand)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง

คัดเลือกผลมะนาวที่ไม่มีตำหนิ นำผลมะนาวไปล้างในน้ำสะอาดเพื่อกำจัดสิ่งสกปรก ลวกผลมะนาวในน้ำเดือด เป็นเวลา 1 นาที เพื่อกำจัดน้ำมันหอมระเหยที่ผิวมะนาวและช่วยในการลดความขม ตามวิธีการของประสิทธิ์ (2523); วรรณี (2545) ทำให้เย็นโดยแช่ผลมะนาวในน้ำเย็นจัดทันที จากนั้นผ่าครึ่งผลมะนาวและคั้นน้ำมะนาวด้วยเครื่องคั้นพร้อมแยกกาก กรองด้วยตะแกรงหยาบขนาด 0.3 มิลลิเมตร ก่อนนำไปใช้ในงานวิจัย

2. การทดสอบการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในน้ำมะนาว

2.1 การเตรียมเซลล์

การเตรียมเซลล์ ดัดแปลงจากวิธีของสืบเนื่อง และคณะ (2550) นำเซลล์แบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA มา 1 ลูป ใส่ในอาหารเหลว TSB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 2 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSB อีก 1 ครั้ง จากนั้นเขี่ยเชื้อ 1 ลูป ใส่ในอาหารเหลว TSB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 2 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ทำการตรวจนับจำนวนเชื้อที่ยังมีชีวิต (visible count) โดยการเพาะเลี้ยงบนจานอาหาร PCA เมื่อตรวจนับเชื้อเริ่มต้นแล้ว ทำการเจือจางด้วยสารละลายร้อยละ 0.1 peptone water จนได้สารละลายเชื้อเริ่มต้น 5 log CFU/ml ใช้ปิเปตดูดเชื้อใส่ในหลอดแก้วที่บรรจุน้ำมะนาว ปริมาตร 9 มิลลิลิตร หลอดละ 1 มิลลิลิตร จากนั้นปิดหลอดแก้วให้สนิท บ่มที่อุณหภูมิ 37 ± 2 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.2 การตรวจหาจุลินทรีย์

การตรวจหาจุลินทรีย์ ดัดแปลงจากวิธีของสืบเนื่อง และคณะ (2550) ตรวจนับปริมาณเซลล์ด้วยเทคนิค spread plate บนอาหาร PCA ที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ ด้วยร้อยละ 0.1 peptone water บ่มที่ นำไปบ่มอุณหภูมิ 37 ± 2 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนเซลล์ในจานที่มีจำนวน 25-250 โคโลนี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การศึกษาความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียในน้ำมะนาว

3.1 การเตรียมเซลล์

การเตรียมเซลล์ ดัดแปลงจากวิธีของวราภา และ มนฑกานติ์ (2545) นำเซลล์ยีสต์ *Pichia kudriavzevii* TISTR 5147 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5110 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract-Malt Extract Agar (YM Agar) 1 ลูป ใส่ในอาหารเหลว Yeast Malt Broth (YM Broth) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM Broth ข้างต้นอีก 1 ครั้ง จากนั้นเขี่ยเชื้อ 1 ลูป ใส่ในอาหารเหลว YM Broth ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ทำการตรวจนับจำนวนเชื้อที่ยังมีชีวิต (viable count) โดยการเพาะ เลี้ยงบนจานอาหาร YM Agar เมื่อตรวจนับเชื้อเริ่มต้นแล้ว เจือจางจนได้สารละลายเชื้อเริ่มต้น 10^5 CFU/ml ในหลอดที่บรรจุน้ำมะนาว

3.2 การศึกษาค่า D-value และ z-value

การศึกษาความต้านทานความร้อน (thermal resistance) ดัดแปลงจากวิธีของ Esty and Meyer (1922) บรรจุน้ำมะนาวลงในหลอดแก้ว ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปิดฝา Inoculate เซลล์ยีสต์ *Pichia kudriavzevii* TISTR 5147 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5110 ลงไป 10^5 CFU/ml จากนั้นพ่นก๊าซไนโตรเจนลงไปในหลอดแก้วที่บรรจุน้ำมะนาว เพื่อไล่ก๊าซออกซิเจน นาน 1 นาทีต่อหลอด เพื่อป้องกันการเจริญของรา ลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิก และลดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (Pruthi and Lal, 1951; Gregory, 1996) ปิดหลอดแก้วให้สนิท นำมาวางในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่ 40, 45, 48 และ 50 °C จับเวลาเมื่ออุณหภูมิภายในหลอดแก้วที่บรรจุน้ำมะนาว เท่ากับอุณหภูมิในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (มีเทอร์โมมิเตอร์เสียบอยู่ในหลอดควบคุม) แล้วนำหลอดแก้วที่บรรจุน้ำมะนาว ออกมาทุก 1 นาที เป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นทันทีโดยแช่ในอ่างน้ำเย็นผสมน้ำแข็ง ตรวจนับจำนวนเซลล์ที่ยังคงเหลืออยู่ จนกระทั่งตรวจไม่พบการเจริญของยีสต์บนอาหารเลี้ยงเชื้อจึงหยุดการทดลอง ทำการทดลอง 2 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย จากนั้นคำนวณค่า D-value จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตหลังจากให้ความร้อน (log CFU ต่อมิลลิลิตร) กับเวลา หาสมการเส้นตรงเพื่อนำมาคำนวณหาค่า D-value (D) โดยค่า D = -1/slope ของแต่ละอุณหภูมิที่ให้ความร้อน และค่า z-value

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ค่า D-value กับอุณหภูมิที่ใช้ในการให้ความร้อน หาสมการเส้นตรงเพื่อนำมาคำนวณหาค่า z (z-value) โดยค่า z = -1/slope (Esty and Meyer, 1922)

3.3 การตรวจสอบจำนวนยีสต์

การตรวจสอบจำนวนยีสต์ ดัดแปลงจากวิธีของสืบเนื่อง และคณะ (2550) หลังจากการให้ความร้อน ตรวจนับปริมาณเซลล์ด้วยเทคนิค spread plate บนอาหาร YM Agar ที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} ถึง 10^{-4} ด้วยร้อยละ 0.1 peptone water นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนี ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวน 25-250 โคโลนี

4. การศึกษาผลของการพาสเจอร์ไรส์โดยการใช้ความร้อนต่ำต่อคุณภาพของน้ำมะนาว

บรรจุน้ำมะนาวลงในขวดแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อ พ่นก๊าซไนโตรเจนลงไปในขวดแก้วที่บรรจุน้ำมะนาว ปิดฝา นำมาผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ โดยวางขวดแก้วที่บรรจุน้ำมะนาวในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 °C เป็นเวลา 178.57, 142.86 และ 37.59 นาที ตามลำดับ (ทดลอง 3 ซ้ำ) นำขวดน้ำมะนาวออก หลังจากนั้นนำขวดน้ำมะนาวไปลดอุณหภูมิในอ่างน้ำเย็นผสมน้ำแข็งทันที จนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเหลือ 3-7 °C วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-เบส ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (citric acid) ปริมาณลิโมนิน ปริมาณวิตามินซี วัดค่าสี L* a* b* ตะกอน (Haze) ดัชนีการเกิดสีน้ำตาลและวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีทดสอบความแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม (Difference from control)

4.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของน้ำมะนาว

4.1.1 วัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH) โดยใช้เครื่อง pH meter ตามวิธีการของ A.O.A.C. (2000)

4.1.2 วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยใช้ refractometer ตามวิธีการของ A.O.A.C. (2000)

4.1.3 วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดซึ่งคำนวณในรูปกรดซิตริก ตามวิธีการของ A.O.A.C. (2000)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นำน้ำมะนาวปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ โดยใช้ฟีนอลฟทาลีนเข้มข้นร้อยละ 1 เป็นอินดิเคเตอร์ ไทเทรตด้วยสารละลายด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 จนเกิดสีชมพู ซึ่งเป็นจุดยุติ นาน 30 วินาที นำค่าปริมาณสารละลายด่างที่ใช้ไทเทรตมาคำนวณหาร้อยละกรดซิตริก

$$\text{ร้อยละของกรดซิตริก} = \frac{\text{N base} \times \text{nmL base} \times \text{meq.wt. Citric acid} \times 100}{\text{ปริมาณของน้ำมะนาว (mL)}}$$

โดย N base คือ Normality ของสารละลายด่าง

mL base คือ ปริมาณของสารละลาย NaOH ที่ใช้ในการไตเตรต

meq.wt. citric acid คือ น้ำหนักโมเลกุลของกรดซิตริกมีค่าเป็น 0.06404

4.1.4 วิเคราะห์ปริมาณลิโมนิน โดยใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography ดัดแปลงจากวิธีการของ Shaw and Wilson (1984)

การเตรียมตัวอย่างน้ำมะนาว นำตัวอย่างผ่านตัวกรอง 0.45 ไมโครเมตร (VertiClean NYLON Syringe Filters) ใส่ในขวดใส่สารสีชาเพื่อเตรียมฉีดเข้าเครื่อง High Performance Liquid Chromatography ระบบของเครื่อง High Performance Liquid Chromatograph ประกอบด้วย Waters 600 pumps Waters 996 UV diode-array detector และ Waters 717 plus autosampler โดยใช้คอลัมน์ชนิด C-18 (Symmetry, 4.6 mm × 250 mm) โดยมีวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นอะซีโตรไนไตรล์ /น้ำปราศจากไอออน (acetonitrile/DI water) (32:68) ด้วยอัตราการไหล (flow rate) 1.0 มิลลิลิตร/นาที โดยการฉีดสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และใช้ UV diode-array detector ตรวจวัด ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ของลิโมนิน (ภาพผนวกที่ ก1)

4.1.5 วิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิก กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก และกรดทั้งหมด โดยใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography ดัดแปลงจากวิธีการของ Zapata and Dupour (1992)

การเตรียมตัวอย่างน้ำมะนาว นำตัวอย่างน้ำมะนาวมาเติมเมทานอลร้อยละ 5 ที่มีกรดซิตริก 0.1 M และ EDTA ร้อยละ 0.05 เป็นส่วนผสม ปั่นผสมด้วยเครื่อง Homogenizer

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ที่ความเร็วเบอร์ 4 นาน 2 นาที เติม internal standard กรดไอโซแอสคอร์บิก 20 มิลลิกรัม นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 10000x g ที่อุณหภูมิ 2 °C นาน 10 นาที แยกส่วนใสมาผ่าน VertiPak C_{18} Tubes เก็บ 3 มิลลิลิตร มาเติม o-phenylenediamine ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำตัวอย่างผ่านตัวกรอง 0.45 ไมโครเมตร (VertiClean NYLON Syringe Filters) และใส่ในขวดใส่สารสีชา วางในตู้เย็น เป็นเวลา 15 ชั่วโมง เพื่อเตรียมฉีดเข้าเครื่อง High Performance Liquid Chromatograph

การวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิก กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก และกรดทั้งหมดด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatograph ระบบประกอบด้วย Waters 600 pumps Waters 996 UV diode-array detector และ Waters 717 plus autosampler โดยการฉีดสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ปริมาตร 20 ไมโครลิตร โดยฉีดตัวอย่างละ 2 ครั้ง เข้าสู่คอลัมน์ชนิด C-18 (Symmetry, 4.6 mm × 250 mm) โดยมีวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นเมทานอล/น้ำปราศจากไอออน (methanol/DI water) (5:95) ที่มี Hexadecyltrimethyl-ammonium bromide (CTAB) 5 mM และโพแทสเซียม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 50 mM เป็นส่วนผสม และมีค่าความเป็นกรด-เบส 4.59 ด้วยอัตราการไหล (flow rate) 0.6 มิลลิลิตร/นาที และใช้ UV diode-array detector ตรวจวัดกรดแอสคอร์บิกและกรดไอโซแอสคอร์บิก ที่ความยาวคลื่น 261 นาโนเมตร และกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก ที่ 348 นาโนเมตรเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิก กรดไอโซแอสคอร์บิก และกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (ภาพผนวกที่ ก3) โดยมีกรดไอโซแอสคอร์บิกเป็น internal standard ใช้ในการคำนวณเปอร์เซ็น recovery

4.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของน้ำมะนาว

4.2.1 วัดค่าสี L* a* b*

ตรวจวัดค่าสีของน้ำมะนาว ด้วยเครื่อง Ultrascan XE วัดค่าการส่องผ่านของแสง (Transmittance) ใช้ cuvette ปริมาตร 10 มิลลิลิตร วัด 2 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ค่าสีในระบบ CIE LAB ค่าที่วัด ได้แก่ ค่าสี L* (ค่าความสว่างมีค่า 0 ถึง 100 โดยที่ 0 หมายถึง วัตถุมีความสว่างสีดำ 100 หมายถึง วัตถุมีความสว่างสีขาว) a* (+ หมายถึง วัตถุมีสีแดง - หมายถึง วัตถุมีสีเขียว) และ b* (+ หมายถึง วัตถุมีสีเหลือง - หมายถึง วัตถุมีสีน้ำเงิน)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.2.2 ตะกอนแขวนลอย

ตรวจวัดตะกอนแขวนลอย (Haze) ด้วยเครื่อง Ultrascan XE วัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbane) ใช้ cuvette ปริมาตร 10 มิลลิลิตร วัด 2 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ด้วยระบบ Haze measurements (Hunter Associates Laboratory, 1996)

4.2.3 วัดค่าดรรชนีการเกิดสีน้ำตาล

ตรวจวัดค่าสีของน้ำมะนาว ด้วยเครื่อง Ultrascan XE วัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbane) ใช้ cuvette ปริมาตร 10 มิลลิลิตร วัด 2 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ค่าสีระบบ Hunter Lab ค่าที่วัด ได้แก่ ค่าสี L a b นำค่ามาคำนวณหาปริมาณการเกิดสีน้ำตาลตามสมการของ (Palou *et al*., 1999)

$$BI = [100(X-0.31)] / 0.172$$

เมื่อ $X = (a + 1.75L) / (5.645L + a - 3.012b)$

4.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

4.3.1 การทดสอบความแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม (Difference from control)

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีทดสอบความแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ดัดแปลงจากวิธีของธงชัย (2553) ใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน เป็นจำนวน 30 คน โดยมีการนำเสนอตัวอย่างน้ำมะนาวให้เป็นตัวอย่างควบคุมกับผู้ทดสอบก่อน เพื่อใช้เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ต้องการทดสอบอีก 3 ตัวอย่าง โดยผู้ทดสอบอธิบายความแตกต่างของตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมออกมาเป็นระดับค่าคะแนนความแตกต่างเทียบกับตัวอย่างควบคุมตามแบบสอบถามในภาคผนวก ข วิเคราะห์ข้อมูลโดยวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (RCBD) แล้ววิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยเทคนิค ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan’s Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. การศึกษาผลของการพาสเจอร์ไรส์ต่อคุณภาพของน้ำมะนาว

บรรจุน้ำมะนาวลงในขวดพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีน (Polypropylene) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อพ่นก๊าซไนโตรเจนลงไปในขวดที่บรรจุน้ำมะนาว นำมาผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ โดยวางขวดพลาสติกที่บรรจุน้ำมะนาวในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 °C เป็นเวลา 37.59, 8.51, 1.42 นาที และ 20 วินาที ตามลำดับ (ทดลอง 3 ซ้ำ) โดยเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อน คำนวณได้จากสมการเส้นตรง จากกราฟความต้านทานความร้อน (thermal resistance curve; TR) ดึงขวดน้ำมะนาวออก นำไปลดอุณหภูมิในอ่างน้ำเย็นผสมน้ำแข็งทันที จนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเหลือ 3-7 °C จากนั้นนำตัวอย่างน้ำมะนาวไปวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี และกายภาพ และวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีทดสอบลำดับความชอบ (Ranking for preference)

5.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของน้ำมะนาว

5.1.1 วัดค่าความเป็นกรด-เบส ตามวิธีการข้อ 4.1.1

5.1.2 วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ตามวิธีการข้อ 4.1.2

5.1.3 วิเคราะห์ปริมาณกรดซิตริก ตามวิธีการข้อ 4.1.3

5.1.4 วิเคราะห์ปริมาณลิโมนิน ตามวิธีการข้อ 4.1.4

5.1.5 วิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิก กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก และกรดทั้งหมด ตามวิธีการข้อ 4.1.5

5.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของน้ำมะนาว

5.2.1 วัดค่าสี L* a* b* และตะกอน ของน้ำมะนาว ตามวิธีการข้อ 4.2.1

5.2.2 วัดค่าการเกิดสีน้ำตาล ตามวิธีการข้อ 4.2.2

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

5.3.1 การทดสอบลำดับความชอบ (Ranking for preference)

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีทดสอบลำดับความชอบ (Ranking for preference) ในด้านความขม กลิ่นต้ม และความชอบโดยรวม ดัดแปลงจากวิธีของอังคนาวรรณ และคณะ (2553) โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 25 คน โดยมีการนำเสนอตัวอย่างน้ำมะนาวให้กับผู้ทดสอบและทดสอบชิมผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง และให้ระดับความชอบต่อผลิตภัณฑ์ดังกล่าวโดยใช้วิธีเรียงลำดับ ตามแบบสอบถามในภาคผนวก ข วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (RCBD) และวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Friedman test for Ranking test

5.3.2 การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี Friedman test for Ranking test (T)

$$T = [12/bt\,(t+1) \times (R_1^2 + R_2^2 + R_3^2 + \ldots + R_n^2)] - 3b\,(t+1)$$

เมื่อ b คือ จำนวนผู้ตัดสินทั้งหมด

t คือ จำนวนสิ่งทดลอง

R_i คือ ผลรวมของคะแนนเรียงลำดับของแต่ละสิ่งทดลอง

เมื่อคำนวณได้ค่า T ออกมาแล้ว (เรียกค่านี้ว่า T คำนวณ) นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับค่าจากการเปิดตาราง chi-square ที่ df = t-1 (จำนวนสิ่งทดลอง-1) ณ = 0.05)

จากนั้นนำค่า T คำนวณ มาเปรียบเทียบค่า T ตาราง

ถ้า T คำนวณ < T ตาราง แสดงว่าทุกตัวอย่างไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ถ้า T คำนวณ $\geq$ T ตาราง แสดงว่าตัวอย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อพบว่ามีความแตกต่าง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสิ่งทดลอง

$$LSD_{rank} = 1.96\sqrt{\frac{bt(t+1)}{6}}$$

หมายเหตุ สูตรนี่ใช้ได้เฉพาะที่นัยสำคัญ = 0.05

วิธีการเปรียบเทียบ

1. เรียงลำดับผลรวมค่าคะแนนแต่ละตัวอย่างจากน้อยไปมาก
2. นำผลรวมค่าคะแนนเรียงลำดับตัวอย่างคู่ที่ต้องการเปรียบเทียบมาหักลบกัน
3. ผลต่างที่มีค่ามากกว่าค่า LSD แสดงว่าตัวอย่างคู่นั้นมีความแตกต่างกันที่ 0.05

สรุป (จัดตัวอย่างที่ไม่ต่างกันอยู่กลุ่มเดียวกัน และตัวอย่างที่ต่างให้แยกกลุ่มไป)

6. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษา

บรรจุน้ำมะนาวลงในขวดพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีน (PP) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ พ่นก๊าซไนโตรเจนลงไปในขวดที่บรรจุน้ำมะนาว จากนั้นพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาว โดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 ºC เป็นเวลา 37.59 นาที หลังจากนั้นนำขวดน้ำมะนาวไปลดอุณหภูมิ ในอ่างน้ำเย็นผสมน้ำแข็งทันที จนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเหลือ 3-7 °C เก็บรักษาตัวอย่างทั้งหมดที่สภาวะเร่งที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C วิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพ ทุก 3 วัน เป็นระยะเวลา 1 เดือน และ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ ทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 3 เดือน (ทดลอง 2 ซ้ำ)

6.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของน้ำมะนาว

6.1.1 วัดค่าความเป็นกรด-เบส ตามวิธีการข้อ 4.1.1

6.1.2 วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ตามวิธีการข้อ 4.1.2

6.1.3 วิเคราะห์ปริมาณปริมาณกรดซิตริก ตามวิธีการข้อ 4.1.3

6.1.4 วิเคราะห์ปริมาณลิโมนิน ตามวิธีการข้อ 4.1.4

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6.1.5 วิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิก กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก และกรดทั้งหมด ตามวิธีการข้อ 4.1.5

6.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของน้ำมะนาว

6.2.1 วัดค่าสี L* a* b* และตะกอน ของน้ำมะนาว ตามวิธีการข้อ 4.2.1

6.2.2 วัดค่าการเกิดสีน้ำตาล ตามวิธีการข้อ 4.2.2

6.3 การทำนายอายุการเก็บรักษา

นำข้อมูลจากการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C มาเขียนกราฟเพื่อหาอันดับปฏิกิริยาและอายุการเก็บ สร้างกราฟอาร์เรเนียสหรือกราฟอายุการเก็บ จากนั้นทำนายอายุการเก็บของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C (รุ่งนภา, 2549)

6.4 การศึกษาคุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำมะนาว

6.4.1 การตรวจวัดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

การตรวจวัดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก A.O.A.C. (2000) ใช้เทคนิค pour plate โดยเจือจางตัวอย่างด้วยสารละลายเปปโตน ในระดับเจือจาง 10^{0}, 10^{-1}และ10^{-2} ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อ เทอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) (อุณหภูมิ 40-45 °C) ลงในจานเลี้ยงเชื้อ เขย่า จานเลี้ยงเชื้อ ให้เข้ากัน ปฏิบัติเช่นเดียวกับที่กล่าวข้างต้นจนครบทุกระดับเจือจาง เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง คว่ำจานเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6.4.2 การตรวจวัดปริมาณยีสต์และรา

การตรวจวัดปริมาณยีสต์และรา ใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก A.O.A.C (1995) ใช้เทคนิค spread plate โดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextose agar (PDA) ที่ได้ปรับค่าความเป็นกรด-เบส ด้วยสารละลายกรดแลกติกความเข้มข้นร้อยละ 10 จนอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 3.5 ลงในจานเลี้ยงเชื้อ รอให้อาหารแข็งตัวก่อนแล้วจึงนำมาใช้ เจือจางตัวอย่างด้วยสารละลายเปปโตนที่ระดับเจือจางต่าง ๆ ปิเปตตัวอย่าง มา 1 มิลลิลิตร ปิเปตใส่ จานเลี้ยงเชื้อ 3 จาน ในปริมาตรเท่า ๆ กัน ใช้เทคนิค spread plate จะได้ตัวอย่างอาหารที่ 10^{0} สำหรับตัวอย่างที่ระดับเจือจาง 10^{-1} ให้ปิเปตตัวอย่างที่ระดับเจือจาง 10^{0} มา 0.1 มิลลิลิตร ใส่จานเลี้ยงเชื้อ spread จนทั่ว สำหรับตัวอย่างที่ระดับเจือจาง 10^{-2} ปิเปตตัวอย่างที่ระดับเจือจาง 10^{-1} มา 0.1 มิลลิลิตร ใส่จานเลี้ยงเชื้อ spread จนทั่ว นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยหงายจานเลี้ยงเชื้อขึ้น

7. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) แล้ววิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยเทคนิค ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Dunnett's test

สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

1. จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและก่อให้เกิดการเน่าเสียในน้ำมะนาว

โดยทั่วไปจุลินทรีย์ในอาหารแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย การพาสเจอร์ไรส์เป็นการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่แต่ไม่ใช่ทั้งหมดในอาหาร การพาสเจอร์ไรส์อาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ (pH > 4.5) คือการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ส่วนการพาสเจอร์ไรส์อาหารที่มีความเป็นกรดสูง คือการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย (วิไล, 2547) เนื่องจาก *Salmonella* และ ยีสต์ เป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและก่อให้เกิดการเน่าเสียในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม จึงเลือกนำมาศึกษา

1.1 ผลการทดสอบการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในน้ำมะนาว

จากการทดลองเบื้องต้น โดยใช้ *Salmonella* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม มี *Salmonella* 15 สายพันธุ์ ได้แก่ *Salmonella aberdeen* DMST 19198, *Salmonella bergen* DMST 19206, *Salmonella poona* DMST 19199, *Salmonella alachua* DMST 19203, *Salmonella enteric* salamae ser, 17:gt:-DMST 19207, *Salmonella minnesota* DMST 19201, *Salmonella chicago* DMST 19202, *Salmonella wandsworth* DMST 19204, *Salmonella fresno* DMST 19197, *Salmonella waycross* DMST 19205, *Salmonella cerro* DMST 19200, *Salmonella enteritidis* (Group D) DMST 15676, *Salmonella virchow* DMST 17239, *Salmonella paratyphi* A DMST 15673 และ *Salmonella bangkok* DMST 7121 พบว่า *Salmonella* ทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่เป็นกรดต่ำของน้ำมะนาว (ตารางที่ 2) เนื่องจาก *Salmonella* สามารถเจริญได้ที่สภาวะความเป็นกรด-เบส ประมาณ 4.0 (บุษกร, 2553) ซึ่งน้ำมะนาวมีค่าความเป็นกรด-เบส อยู่ในช่วง 1.7-3.2 (Tressler and Joslyn, 1961) จึงทำให้ *Salmonella* ไม่สามารถมีชีวิตรอดอยู่ในน้ำมะนาวได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 การทดสอบการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในน้ำมะนาว

สายพันธุ์ *Salmonella*	**ผลการตรวจ**
Salmonella aberdeen DMST 19198	ND
Salmonella bergen DMST 19206	ND
Salmonella poona DMST 19199	ND
Salmonella alachua DMST 19203	ND
Salmonella enteric salamae ser, 17:gt:-DMST 19207	ND
Salmonella minnesota DMST 19201	ND
Salmonella chicago DMST 19202	ND
Salmonella wandsworth DMST 19204	ND
Salmonella fresno DMST 19197	ND
Salmonella waycross DMST 19205	ND
Salmonella cerro DMST 19200	ND
Salmonella enteritidis (Group D) DMST 15676	ND
Salmonella virchow DMST 17239	ND
Salmonella paratyphi A DMST 15673	ND
Salmonella bangkok DMST 7121	ND

หมายเหตุ ND คือ ตรวจไม่พบ

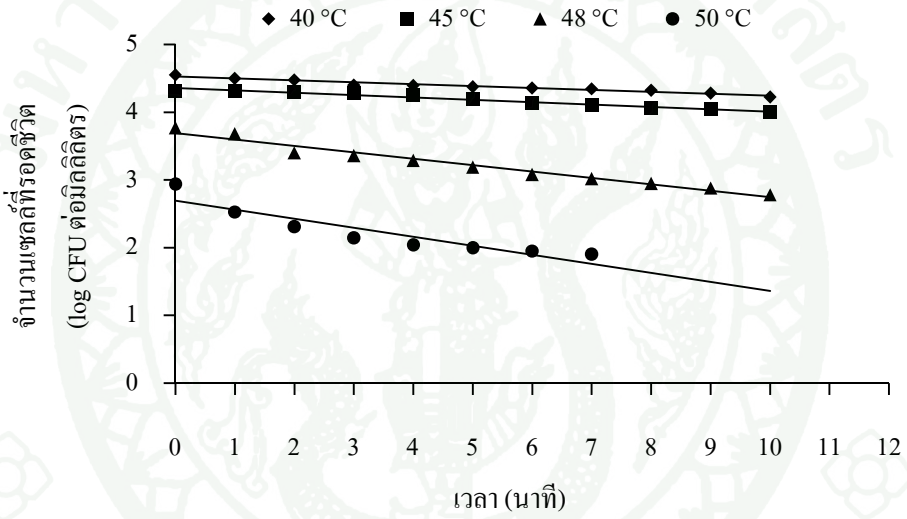
1.2 ผลการศึกษาความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียในน้ำมะนาว

เมื่อให้ความร้อนกับน้ำมะนาวที่สร้างการปนเปื้อนด้วย *P. kudriavzevii* TISTR 5147 และ *S. cerevisiae* TISTR 5110 ลงไป โดยมีเชื้อเริ่มต้น 10^5 CFU/ml ที่อุณหภูมิ 40, 45, 48 และ 50 °C พบว่าอุณหภูมิและเวลามีผลต่อการรอดชีวิตของยีสต์ทั้งสองชนิด โดยจำนวนยีสต์ ลดลงเมื่อให้ความร้อนเป็นเวลานานขึ้น โดยที่จำนวนยีสต์ (log N) ลดลงแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล โดย log N กับเวลามีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง โดยจำนวนการรอดชีวิตของ *P. kudriavzevii* TISTR 5147 และ *S. cerevisiae* TISTR 5110 ที่อุณหภูมิ 40 และ 45 °C ลดลงอย่างช้า ๆ ใกล้เคียงกัน ในขณะที่อุณหภูมิ 48 และ 50 °C จำนวนยีสต์ลดลงอย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 7 และ 8) ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้มีผลต่อจำนวนการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

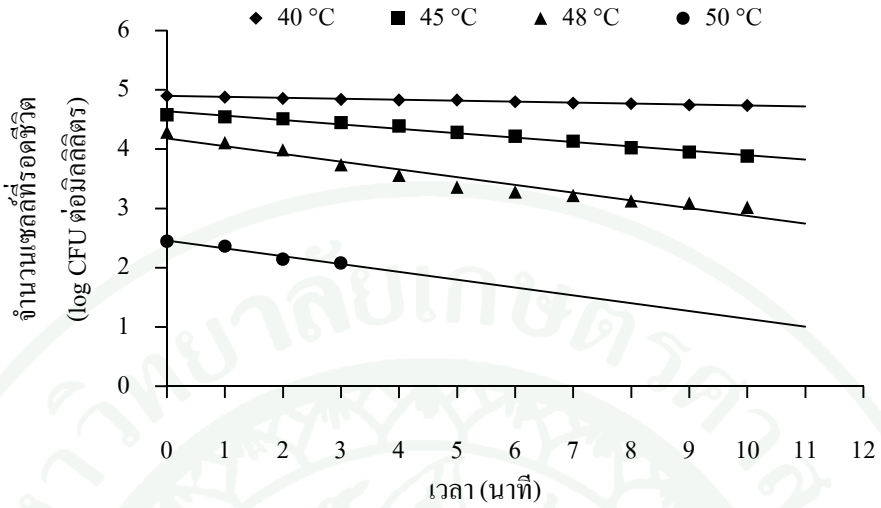
รอดชีวิตของยีสต์ทั้ง *P. kudriavzevii* TISTR 5147 และ *S. cerevisiae* TISTR 5110 โดยที่อุณหภูมิ 40 และ 45 °C จะใช้เวลาในการลดจำนวนจุลินทรีย์มากกว่าที่อุณหภูมิ 48 และ50 °C ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นที่เวลา 0 นาที ที่อุณหภูมิ 50 °C จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นจะน้อยกว่า ที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 48 °C (ภาพที่ 7 และ 8) ทั้งนี้เนื่องจากเริ่มจับเวลาที่ 0 นาที ขณะที่อุณหภูมิในหลอดแก้วขึ้นไปจนถึงอุณหภูมิที่กำหนด (40, 45, 48 และ 50 °C) ต้องใช้เวลานาน เพราะฉะนั้นที่เวลา 0 นาที จำนวนยีสต์จึงไม่เท่ากับ10^5 CFU/ml



ภาพที่ 7 กราฟการรอดชีวิต (survival cruve) ของ *P. kudriavzevii* TISTR 5147 ที่ 40, 45, 48 และ 50 °C

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 8 กราฟการรอดชีวิต (survival cruve) ของ *S. cerevisiae* TISTR 5110 ที่ 40, 45, 48 และ 50 °C

เมื่อคำนวณค่าความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ (D-value) โดยที่ค่า D-value คือ ระยะเวลา ที่ใช้ทำลายจุลินทรีย์จำนวนหนึ่ง ให้ลดลงร้อยละ 90 หรือ 1 log cycle ที่อุณหภูมิใดอุณหภูมิหนึ่ง คำนวณได้จากความชันของสมการเส้นตรง จากกราฟการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ระหว่างค่า log ของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตหลังจากให้ความร้อน (log CFU/ml) กับเวลา โดยค่า D = -1/slope จากการคำนวณค่า D-value ของ *P. kudriavzevii* TISTR 5147 ในน้ำมะนาวที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 45, 48 และ 50 °C มีค่า 62.50, 13.51, 7.69 และ 7.58 นาที ตามลำดับ ในขณะที่ *S. cerevisiae* TISTR 5110 ในน้ำมะนาวที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 45, 48 และ 50 °C มีค่า 35.71, 28.57, 10.64 และ 7.52 นาที ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ที่อุณหภูมิ 40 °C ค่า D-value ของ *P. kudriavzevii* TISTR 5147 มีค่าสูงกว่า *S. cerevisiae* TISTR 5110 และที่อุณหภูมิ 45, 48 และ 50 °C ค่า D-value ของ *S. cerevisiae* TISTR 5110 มีค่าสูงกว่า *P. kudriavzevii* TISTR 5147 แสดงว่าที่อุณหภูมิ 40 °C *P. kudriavzevii* TISTR 5147 ทนความร้อนมากกว่า และที่อุณหภูมิ 45, 48 และ 50 °C *S. cerevisiae* TISTR 5110 ทนความร้อนมากกว่า ทั้งนี้เนื่องมาจากอุณหภูมิสูงที่สุดที่ *P. kudriavzevii* TISTR 5147 สามารถเจริญได้คือ 40-44 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ต่ำกว่า ส่วนอุณหภูมิสูงที่สุดที่ *S. cerevisiae* TISTR 5110 สามารถเจริญได้คืออุณหภูมิ 40-50 °C (จารุณี, 2528; Lal *et al*., 1960) อยู่ในช่วงที่สูงกว่าอุณหภูมิที่ *P. kudriavzevi* สามารถเจริญได้ จึงทำให้ที่อุณหภูมิ 40 °C

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

P. kudriavzevii TISTR 5147 มีความสามารถในการทนความร้อนได้ดีกว่า และที่อุณหภูมิ 45, 48 และ 50 °C *S. cerevisiae* TISTR 5110 มีความสามารถในการทนความร้อนได้ดีกว่า

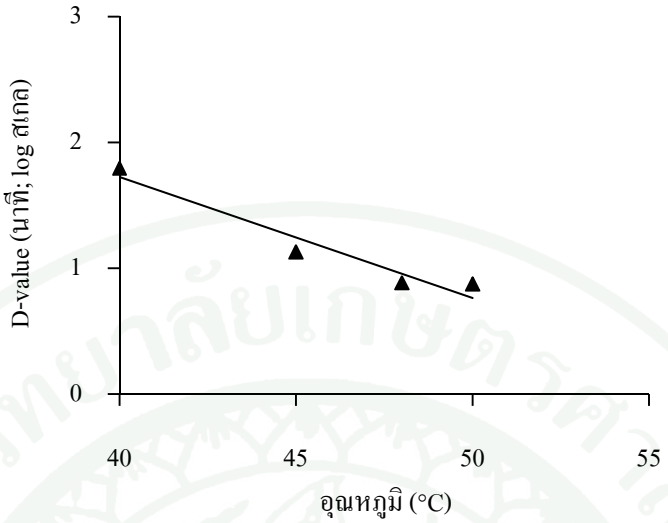
ตารางที่ 3 ข้อมูลจากกราฟการรอดชีวิต ของ *P. kudriavzevii* TISTR 5147 และ *S. cerevisiae* TISTR 5110 ในน้ำมะนาว ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 45, 48 และ 50 °C

สายพันธุ์ยีสต์	อุณหภูมิ (°C)	y = mx+b	R^2	ความชัน (slope)	D-value (นาที)	5D (นาที)
P. kudriavzevii	40 °C	y = -0.028x + 4.525	0.955	-0.028	62.50	312.50
TISTR 5147	45 °C	y = -0.035x + 4.357	0.96	-0.035	13.51	67.57
	48 °C	y = -0.094x + 3.690	0.968	-0.094	7.69	38.46
	50 °C	y = -0.133x + 2.694	0.846	-0.133	7.58	37.88
S. cerevisiae	40 °C	y = -0.016x + 4.895	0.986	-0.016	35.71	178.58
TISTR 5110	45 °C	y = -0.074x + 4.639	0.984	-0.074	28.57	142.86
	48 °C	y = -0.130x + 4.177	0.946	-0.130	10.64	53.19
	50 °C	y = -0.132x + 2.456	0.956	-0.132	7.52	37.59

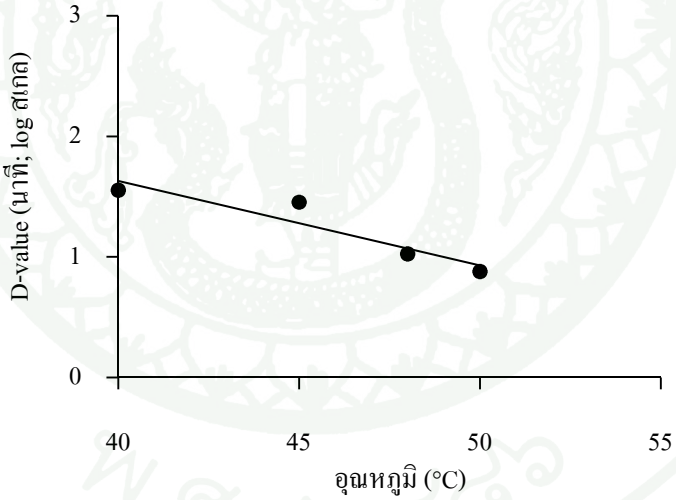
* y = เวลา (นาที), x = อุณหภูมิ (°C)

เมื่อคำนวณ ค่า z-value ของ *P. kudriavzevii* TISTR 5147 และ *S. cerevisiae* TISTR 5110 จากกราฟความต้านทานความร้อน (ภาพที่ 9 และ 10) พบว่า มีค่า z-value เท่ากับ 10.40 °C และ 14.27 °C ตามลำดับ (ตารางที่ 4) โดยทั่วไปค่า z-value บอกถึงความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิที่ใช้ทำลายจุลินทรีย์ที่ระดับต่างกัน ซึ่ง *S. cerevisiae* TISTR 5110 จะสามารถทนความร้อนได้มากกว่า *P. kudriavzevii* TISTR 5147 เนื่องจาก *S. cerevisiae* TISTR 5110 มีค่าความต้านทานความร้อนมากกว่า *P. kudriavzevii* TISTR 5147

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 9 กราฟความต้านทานความร้อน (TR) ของ *P. kudriavzevii* TISTR 5147



ภาพที่ 10 กราฟความต้านทานความร้อน (TR) ของ *S. cerevisiae* TISTR 5110

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 ข้อมูลจากกราฟความต้านทานความร้อน (TR) ของ *P. kudriavzevii* TISTR 5147 และ *S. cerevisiae* TISTR 5110 ในน้ำมะนาว ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 45, 48 และ 50 °C

สายพันธุ์ยีสต์	อุณหภูมิ (°C)	y = mx+b	R^2	ความชัน (slope)	z-value (°C)
P. kudriavzevii TISTR 5147	40 °C 45 °C 48 °C 50 °C	y = -0.096x + 5.574	0.936	-0.096	10.40
S. cerevisiae TISTR 5110	40 °C 45 °C 48 °C 50 °C	y = -0.070x + 4.436	0.870	-0.070	14.27

* y = D-value, x = อุณหภูมิ (°C)

การพาสเจอร์ไรส์ คือ การใช้ความร้อนในระดับที่ไม่สูงมาก แต่สูงเพียงพอในการทำลายจุลินทรีย์ก่อโรคที่ไม่สร้างสปอร์ และเพียงพอที่จะทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้น้ำผลไม้เน่าเสียจำนวนมาก จนทำให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บนานขึ้น การพาสเจอร์ไรส์ที่ไม่เพียงพอ ทำให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ (Vaughn and Murdock, 1956) ข้อจำกัดของยีสต์ รา และแบคทีเรียทนกรด คือ สามารถเจริญได้ที่ค่าความเป็นกรด-เบสในช่วง 3.3-4.0 ของน้ำส้ม (Bracket, 1997) จึงมีการยืดอายุการเก็บโดยการใช้ความร้อนต่ำในช่วงอุณหภูมิ 60-65 °C ซึ่งจะสามารถลดจำนวนยีสต์ สปอร์ของ เชื้อรา ในขณะที่ความร้อนสูงที่อุณหภูมิ 89-95 °C จะสามารถยับยั้งแบคทีเรียทนกรดได้ (Hocking and Jensen, 2001) อย่างไรก็ตาม ในด้านการก่อโรคของจุลินทรีย์ พบว่าน้ำผลไม้ที่ไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ มีการปนเปื้อนของ *Salmonella* spp. และ *Escherichia coli* 0157:H7 (Australian Department of Health and Ageing, 1999; Cook *et al*., 1998; Centers for Disease Control and Prevention, 1996) ดังนั้นการพาสเจอร์ไรส์น้ำผลไม้จึงจำเป็นต้องลดจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคลง 5 log cycle (Bull *et al*., 2004)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการศึกษาความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ที่ทำให้น้ำมะนาวเสื่อมเสีย และศึกษาถึงแบคทีเรียที่ก่อโรคในน้ำมะนาว คือ *Salmonella* พบว่า *S. cerevisiae* TISTR 5110 สามารถทนความร้อนได้มากกว่า *P. kudriavzevii* TISTR 5147 เนื่องจาก *S. cerevisiae* มีค่า z-value มากกว่า *P. kudriavzevii* จึงเลือกใช้เวลาฆ่าเชื้อเท่ากับ 5D (ตารางที่ 3) ของ *S. cerevisiae* TISTR 5110 เป็นเกณฑ์ในการพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาว และเนื่องจากน้ำมะนาวมีความเป็นกรดต่ำมากทำให้ *Salmonella* ไม่สามารถเจริญได้ในน้ำมะนาว แต่อย่างไรก็ตาม เนื่องจากน้ำมะนาวเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีรสขมเมื่อได้รับความร้อน จึงจำเป็นที่ต้องศึกษาระดับความขมที่เกิดขึ้นในน้ำมะนาวที่ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 °C เพื่อให้สามารถเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาวและได้ผลิตภัณฑ์ตรงตามความต้องการของผู้บริโภค

2. ผลของการพาสเจอร์ไรส์โดยการใช้ความร้อนต่ำต่อคุณภาพของน้ำมะนาว

จากการทดลองที่ 1 เพื่อหาค่า D-value ของ *P. kudriavzevii* TISTR 5147 และ *S. cerevisiae* TISTR 5110 ในน้ำมะนาวที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 45, 48 และ 50 °C จากการศึกษาความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ที่ทำให้น้ำมะนาวเสื่อมเสีย พบว่า *S. cerevisiae* TISTR 5110 สามารถทนความร้อนได้มากกว่า *P. kudriavzevii* TISTR 5147 จึงเลือกใช้เวลาฆ่าเชื้อเท่ากับ 5D ของ *S. cerevisiae* TISTR 5110 เป็นเกณฑ์ในการพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาว เนื่องจากค่า D-value สามารถทำลายจุลินทรีย์ให้ลดลงเพียงร้อยละ 90 หรือ 1 log cycle ส่วนค่า 5D จะสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้มากกว่า อาหารจึงมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากกว่า

2.1 ผลของลักษณะทางเคมีและกายภาพของน้ำมะนาว

จากการทดลองโดยการให้ความร้อนกับน้ำมะนาวที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 °C โดยมีระยะเวลาจากค่า 5D ของ *S. cerevisiae* TISTR 5110 ดังนี้ 178.57, 142.86 และ 37.59 นาที ตามลำดับ พบว่าค่าความเป็นกรด-เบส ปริมาณกรดซิตริก ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล ค่าสี L* a* b* และตะกอนในน้ำมะนาว (ตารางที่ 5) มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมะนาวสด เนื่องจากความร้อนที่ให้กับน้ำมะนาวเป็นความร้อนที่อยู่ในระดับที่ต่ำใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้องปกติ จึงไม่มีผลต่อลักษณะทางเคมีและกายภาพของน้ำมะนาว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการวิเคราะห์น้ำมะนาวสด พบว่าลักษณะทางเคมีและกายภาพของน้ำมะนาวสดเป็นดังตารางที่ 6 โดยเป็นลักษณะตามธรรมชาติของน้ำมะนาว ซึ่งผลการวิเคราะห์สอดคล้องกับการทดลองของสาวิตรี และ อรุณรัศมี (2547) และจากการศึกษาของ Simmonds (1984); Swisher (1980) น้ำมะนาวประกอบด้วย ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (ร้อยละ 10) ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ 5.1-7.7) ปริมาณกรดแอสคอร์บิก (39-62 มก./100 มล.) และค่าความเป็นกรด-เบส (1.7-3.2)

ตารางที่ 5 ลักษณะทางเคมีและกายภาพของน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 °C เปรียบเทียบกับน้ำมะนาวสด

คุณลักษณะ	น้ำมะนาวสด*	พาสเจอร์ไรส์		
		40 °C, 178.57 นาที	45 °C, 142.86 นาที	50 °C, 37.59 นาที
ค่าความเป็นกรด-เบส	2.3±0.04 ns	2.3±0.02	2.3±0.02	2.3±0.01
ปริมาณกรดซิตริก	7.2±0.22 ns	7.3±0.12	7.3±0.08	7.2±0.24
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้	8.1±0.12 ns	8.1±0.10	8.1±0.10	8.0±0.35
ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล	33.9±0.83 ns	33.7±0.31	34.3±1.31	34.8±1.30
ค่าสี L*	69.9±1.89 ns	69.6±1.03	68.2±0.33	68.8±2.43
ค่าสี a*	-0.8±0.15 ns	-0.7±0.06	-0.7±0.01	-0.6±0.11
ค่าสี b*	26.7±0.64 ns	26.6±0.23	27.4±0.37	26.4±1.26
ตะกอน	99.4±0.30 ns	99.3±0.21	99.7±0.37	99.3±0.04

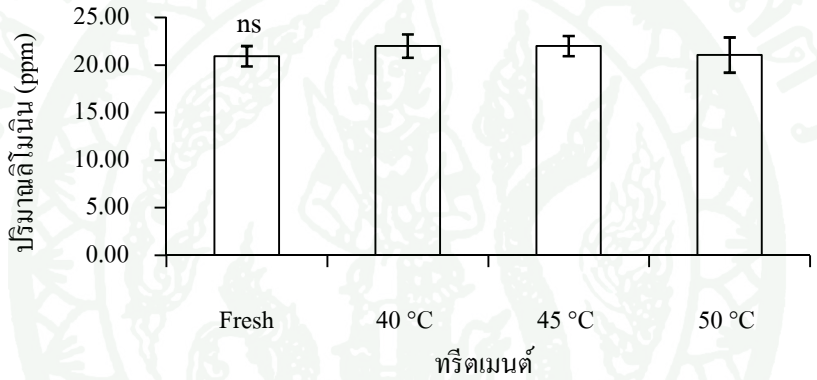
หมายเหตุ ตัวอักษร ns ในแนวนอน หมายถึง สิ่งทดลองในแนวนอนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Dunnett's test

* หมายถึง ตัวอย่างควบคุม

จากการศึกษาปริมาณลิโมนินในน้ำมะนาว ดังภาพที่ 11 พบว่าในน้ำมะนาวสดมีปริมาณลิโมนิน 20.9±1.07 ppm น้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อน 40, 45 และ50 °C มีปริมาณลิโมนิน 22.0±1.22, 22.0±1.06 และ 21.1±1.85 ppm ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบน้ำมะนาวสดกับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

น้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อน ปริมาณลิโมนินมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เนื่องจากน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนเป็นความร้อนที่ต่ำ ปริมาณลิโมนินจากการวิเคราะห์จึงมีค่าใกล้เคียงกับน้ำมะนาวสด สอดคล้องกับการทดลองของ Maier *et al*. (1977); Ohta and Hasegawa (1995) น้ำผลไม้ตระกูลส้มมะนาวจะมีปริมาณลิโมนินอยู่ในช่วงระหว่าง 1-35 ppm ในตอนแรกลิโมนินจะอยู่ในรูป limonoate-A-ring-lactone ซึ่งไม่ขม และจะเปลี่ยนไปเป็นลิโมนินในรูปที่ขมระหว่างการคั้นน้ำ โดย limonoate-A-ring-lactone จะทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ limonin D-ring lactone hydrolase ที่อยู่ในเนื้อเยื่อของผลมะนาว และความเป็นกรดในน้ำมะนาว (Puri *et al*., 1996; Sandhu and Minhas, 2006)



ภาพที่ 11 ปริมาณลิโมนินในน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 °C

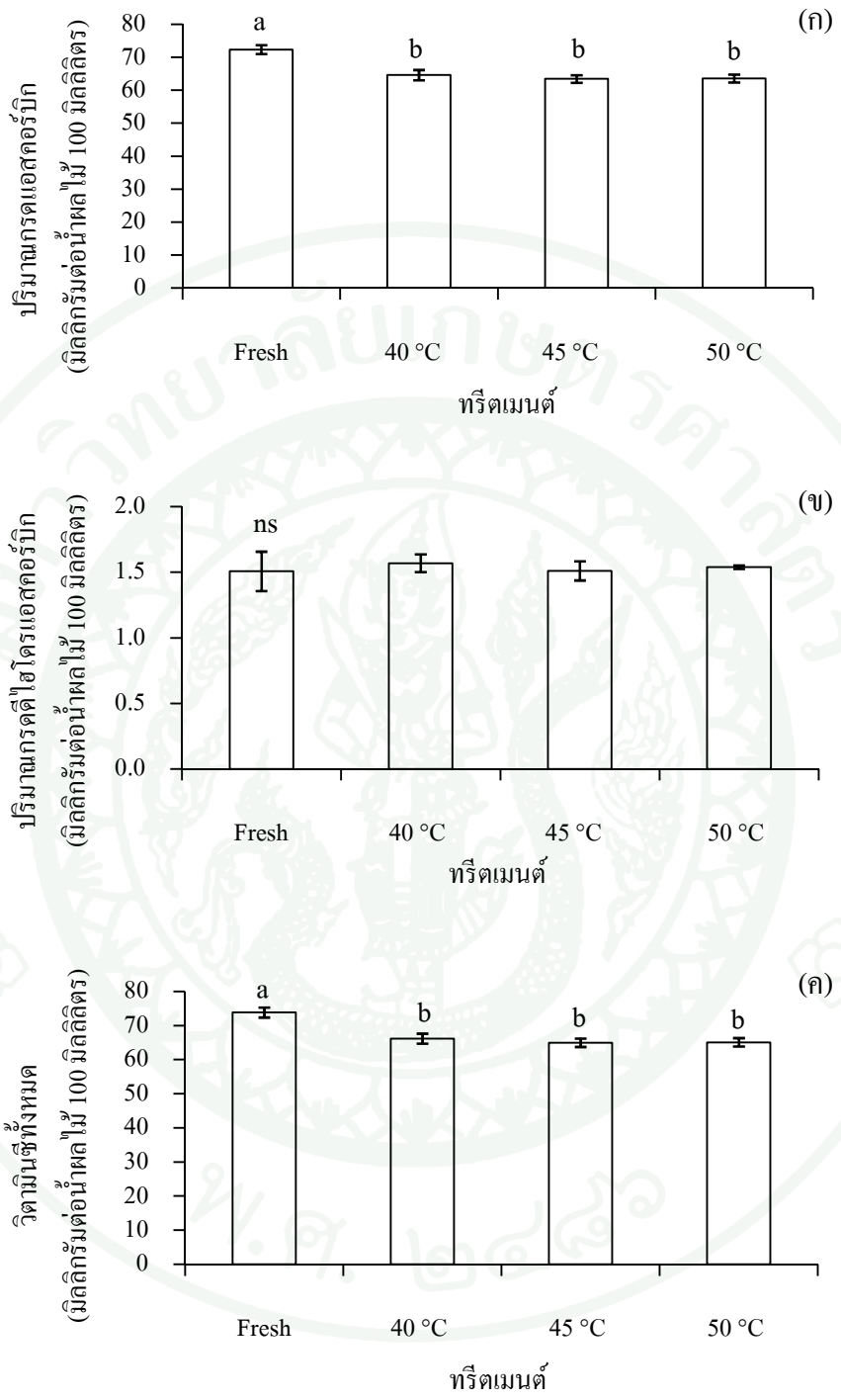
หมายเหตุ สิ่งทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

จากการศึกษาปริมาณวิตามินซีของน้ำมะนาวสดเปรียบเทียบกับน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 °C (ภาพที่ 12) พบว่าปริมาณกรดแอสคอร์บิกของน้ำมะนาวสดมีค่า 72.3±1.36 มิลลิกรัมต่อน้ำผลไม้ 100 มิลลิลิตร จะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) กับน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์โดยมีปริมาณกรดแอสคอร์บิก 64.6±1.54, 63.5±1.16 และ 63.6±1.23 มก.ต่อน้ำผลไม้ 100 มล.ตามลำดับ ส่วนปริมาณกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกของน้ำมะนาวมีค่า 1.5±0.15, 1.6±0.07, 1.5±0.07 และ 1.5±0.01 มก.ต่อน้ำผลไม้ 100 มล.ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ปริมาณวิตามินซีทั้งหมดจะสอดคล้องกับปริมาณกรดแอสคอร์บิก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คือในน้ำมะนาวสดมีปริมาณสูงที่สุด 73.8±1.47 มก.ต่อน้ำผลไม้ 100 มล.โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กับน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ มีปริมาณวิตามินซีทั้งหมด 66.2±1.48, 65.0±1.23 และ 65.1±1.24 มก.ต่อน้ำผลไม้ 100 มล. ตามลำดับ จากการทดลองอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาว มีความสำคัญต่อปริมาณที่ลดลงของวิตามินซีในน้ำมะนาว (Pareek *et al*., 2010) โดยที่การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 °C ใช้เวลาในการให้ความร้อนเป็นเวลานานมาก แต่เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่ต่ำมากใกล้เคียงกับอุณหภูมิในสภาวะปกติ จึงทำให้ปริมาณวิตามินซีคงเหลืออยู่ในน้ำมะนาวมากที่สุด รองลงมาคือการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 °Cใช้เวลาในการให้ความร้อนสั้นลง ดังนั้นปริมาณวิตามินซีจึงยังคงเหลืออยู่เป็นลำดับถัดมา ส่วนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 45 °C ใช้เวลานานและอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น จึงทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลงมากที่สุด เนื่องจากกรดแอสคอร์บิกมีความคงตัวต่ำ สลายตัวได้ง่ายเมื่อสัมผัสแสง อากาศและความร้อน เมื่อถูกออกซิไดส์จะเปลี่ยนเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (Bull *et al*., 2004; Kennedy *et al*., 1992; Nienaber and Shellhammer, 2001a; Polydera *et al*., 2003; Yeom *et al*., 2000a) จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก พบว่ามีปริมาณน้อยมากในตัวอย่างน้ำมะนาว เนื่องจากกรดดี-ไฮโดรแอสคอร์บิก จะถูกออกซิไดส์ ต่อไปเป็น กรดไดคีโต-แอล-กลูลินิค (diketo-L-gulinic acid) ซึ่งไม่มีคุณค่าทางชีวภาพ และจะเกิดการเปลี่ยนแปลงต่อไปจนเกิดเป็นสารสีน้ำตาลขึ้น (Bull *et al*., 2004; Kennedy *et al*., 1992; Nienaber and Shellhammer, 2001a; Polydera *et al*., 2003; Yeom *et al*., 2000a)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 12 ปริมาณกรดแอสคอร์บิก (ก) กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (ข) วิตามินซีทั้งหมด (ค) ในน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 °C

หมายเหตุ ตัวอักษร a-b หมายถึง สิ่งทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 ผลการทดสอบความแตกต่างทางประสาทสัมผัส

จากการทดสอบความแตกต่างทางประสาทสัมผัส (Different from control) โดยเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 °C กับน้ำมะนาวสด พบว่ารสขมและสีของน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) จากน้ำมะนาวสด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณลิโมนินและค่าสีจากการวิเคราะห์น้ำมะนาว ที่มีค่าไม่แตกต่างกับน้ำมะนาวสดเมื่อผ่านการให้ความร้อนเช่นกัน ส่วนกลิ่นรสของน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) กับน้ำมะนาวสด โดยที่น้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40 °C จะแตกต่างจากน้ำมะนาวสดเพียงเล็กน้อยที่สุด รองลงมาคือน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 45 และ 50 °C ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ผลของความร้อนที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นเกิดจากเทอร์ปีนไฮโดรคาร์บอน (terpene hydrocarbons) เปลี่ยนไปเป็นเทอร์ปีนแอลกอฮอล์ (terpene alcohols) โดยมีกรดเป็นตัวคะตะลิตส์ (Clark and Chamblee, 1992) และเกิดจากซิตรอล (citral) ซึ่งเป็นกลิ่นของมะนาว เกิดการเสื่อมลงเนื่องจากปฏิกิริยาไซคลิกเซชัน (cyclization) และออกซิเดชัน (oxidation) (Kimura *et al*., 1983) ทำให้น้ำมะนาวมีกลิ่นรสที่เปรี้ยวคล้ายมะนาวดอง (เสาวภาคย์, 2545) และคล้ายกับกลิ่นมะนาวต้ม เมื่อทดสอบเปรียบเทียบกับตัวอย่างสดซึ่งเป็นตัวอย่างควบคุม จึงทำให้เกิดความแตกต่าง ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 คะแนนความแตกต่างด้านรสขม สี และกลิ่นรสของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 °C เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (น้ำมะนาวสด)

	คุณลักษณะ		
อุณหภูมิ	รสขม ^{ns}	สี ^{ns}	กลิ่นรส
ตัวอย่างควบคุม	2.52±0.05	1.50±0.27	2.17±0.03^{a}
40 °C	2.54±0.09	1.52±0.18	2.19±0.02^{a}
45 °C	2.57±0.05	1.55± 0.30	2.79±0.02^{c}
50 °C	2.61±0.21	1.59± 0.25	2.60±0.00^{b}

หมายเหตุ ตัวอักษร ns ในแนวตั้ง หมายถึง สิ่งทดลองในแนวตั้งไม่แตกต่างกับตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)
ตัวอักษร a-c ในแนวตั้ง หมายถึง สิ่งทดลองในแนวตั้งแตกต่างกับตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan test

3. ผลของการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิสูงต่อคุณภาพของน้ำมะนาว

จากการทดลองที่ 2 เพื่อศึกษาผลของการพาสเจอร์ไรส์โดยการใช้ความร้อนต่ำต่อคุณภาพของน้ำมะนาวโดยเลือกใช้อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เนื่องจากเป็นการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิต่ำและน้ำมะนาวยังคงมีคุณภาพที่ดี จึงนำมาใช้ในการทดลองนี้เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพของน้ำมะนาวกับการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิสูงขึ้น

การพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 15 วินาที เป็นการพาสเจอร์ไรส์ทางการค้าของน้ำผลไม้ และนม เพื่อกำจัดจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียซึ่งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับการฆ่าเชื้อด้วยการหาค่า D-value ของเชื้อยีสต์จากการทดลองที่ 1 พบว่าเวลาที่ใช้ในการพาสเจอร์ไรส์จะใกล้เคียงกัน โดยถ้าพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 72 °C จะใช้เวลา 1 นาที ซึ่งเป็นเวลา 5D ของการพาสเจอร์ไรส์ สามารถทำลาย *S. cerevisiae* ที่เป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.1 ผลของลักษณะทางเคมีและกายภาพของน้ำมะนาว

จากการทดลองโดยการให้ความร้อนกับน้ำมะนาวที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 °C เป็นเวลา 37.59, 8.51, 1.42 นาที และ 20 วินาที ตามลำดับ โดยเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อนคำนวณได้จากสมการเส้นตรง จากตารางที่ 4 ข้อมูลจากกราฟความต้านทานความร้อน (TR) ของเชื้อ *S. cerevisiae* และคำนวณเป็นเวลา 5D ของการพาสเจอร์ไรส์ โดยแทนค่า x เป็นอุณหภูมิ (°C) พบว่าค่าความเป็นกรด-เบส และปริมาณกรดซิตริก มีค่าไม่แตกต่างกัน ในน้ำมะนาวที่ให้ความร้อนแต่ละอุณหภูมิ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ตัวอย่างสดมีค่าแตกต่างกับตัวอย่างน้ำมะนาวที่ให้ความร้อนทุกอุณหภูมิ ดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำมะนาว พบว่าน้ำมะนาวสดมีค่าไม่แตกต่างกับน้ำมะนาวที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 °C แต่จะมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กับน้ำมะนาวที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C ซึ่งความร้อนสูงมีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลในน้ำมะนาว (วิลาวัลย์, 2547) โดยความร้อนสูงมีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (สุดารัตน์ และคณะ, 2551; Beveridge *et al*., 1986; Cornwell and Wrols-tad, 1981) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลโดยไม่ใช้เอนไซม์ที่มีสารตั้งต้น คือ กรดอะมิโน เพปไทด์ หรือโปรตีน ทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลของน้ำตาล และทำให้น้ำมะนาวเกิดเป็นสีน้ำตาลขึ้น จากการศึกษาของ Manso *et al*. (2001); Yeom *et al*. (2000) การพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 1 นาที เป็นการใช้ความร้อนที่สูงมาก สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เพคตินเมทิลเอสเทอร์เรสได้ แต่คุณภาพด้านความสดของน้ำผลไม้จะลดลงหรือหายไป จะเห็นว่าการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ขึ้นกับองค์ประกอบของอาหารเป็นสำคัญ และยังเกิดจากการสลายตัวของกรดแอสคอร์บิกอีกด้วย (Ibarz *et al*., 1999)

ส่วนค่าสีของน้ำมะนาว (ตารางที่ 7) จากการวิเคราะห์ค่าสีของน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อน พบว่าค่าความสว่าง L* และ a* ของน้ำมะนาวจะไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ส่วนค่าสี b* ของน้ำมะนาวที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C จะมีสีเหลืองเข้มกว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิอื่น ๆ เล็กน้อย ทำให้ค่าสี b* แตกต่างกับน้ำมะนาวสด ($p \leq 0.05$) ซึ่งผลการทดลองไม่สอดคล้องกับการเกิดสีน้ำตาลของน้ำมะนาว เนื่องจากที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นอุณหภูมิที่ต่ำ ส่วนค่าการเกิดสีน้ำตาลในน้ำมะนาวที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C ที่แตกต่างกับน้ำมะนาวสด ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สูง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 ลักษณะทางเคมีและกายภาพของน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 °C เปรียบเทียบกับน้ำมะนาวสด

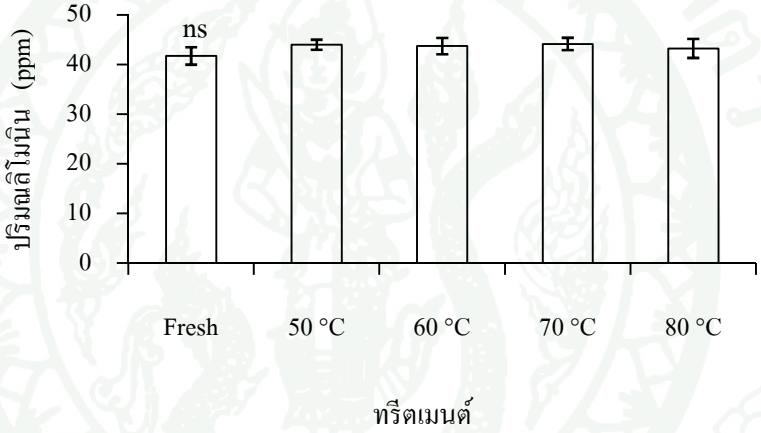
คุณลักษณะ	น้ำมะนาวสด*	พาสเจอร์ไรส์			
		50 °C, 37.59 นาที	60 °C, 8.51 นาที	70 °C, 1.42 นาที	80 °C, 20 วินาที
ค่าความเป็นกรด-เบส	2.2±0.00 ^{ns}	2.3±0.00	2.3±0.01	2.3±0.05	2.3±0.01
ปริมาณกรดซิตริก	7.1±0.02 ^{ns}	7.0±0.01	7.1±0.01	7.1±0.01	7.1±0.05
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้	7.4±0.14 ^{a}	7.6±0.21^{b}	7.6±0.21^{b}	7.6±0.21^{b}	7.6±0.21^{b}
ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล	26.2±1.13 ^{a}	26.2±0.08 ^{a}	27.4±1.28 ^{a}	28.0±1.18 ^{a}	28.4±2.24 ^{b}
ค่าสี L*	69.6±0.11 ^{ns}	64.3±1.06	65.8±1.02	67.0±2.11	65.9±2.00
ค่าสี a*	-0.4±0.03 ^{ns}	-0.5±0.05	-0.4±0.10	-0.3±0.02	-0.3±0.07
ค่าสี b*	26.9±0.03 ^{a}	30.9±0.51^{b}	29.8±1.25^{a}	29.3±1.32^{a}	30.5±0.96^{a}
ตะกอน	99.2±0.14 ^{ns}	99.2±0.10	98.7±0.01	99.3±0.22	99.2±0.11

หมายเหตุ ตัวอักษร ns ในแนวนอน หมายถึง สิ่งทดลองในแนวนอนไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$)
ตัวอักษร a-b ในแนวนอน หมายถึง สิ่งทดลองในแนวนอนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Dunnett's test
* หมายถึง ตัวอย่างควบคุม

จากการศึกษาปริมาณลิโมนินในน้ำมะนาว พบว่าปริมาณลิโมนินมีค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ดังภาพที่ 13 โดยที่น้ำมะนาวสดมีปริมาณลิโมนิน 41.7±1.75 ppm น้ำมะนาวที่ให้ความร้อน 50 °C มีปริมาณลิโมนิน 43.2±1.02 ppm เป็นปริมาณที่ใกล้เคียงกับน้ำมะนาวสดมากที่สุด เนื่องจากเป็นการให้ความร้อนกับน้ำมะนาวที่อุณหภูมิต่ำที่สุดในการทดลองนี้ และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นปริมาณลิโมนินจะสูงขึ้นด้วย แต่ค่าจะแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย น้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อน 60, 80 และ 70 °C มีปริมาณลิโมนิน 43.7±1.64, 44.0±1.91 และ 44.12±1.23 ppm ตามลำดับ โดยปริมาณลิโมนินมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างน้ำมะนาวสด อุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อน มีผลต่อปริมาณลิโมนิน (Pareek *et al*., 2010) จะเห็นว่าปริมาณลิโมนินจากน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อน มีปริมาณที่สูงกว่าในการทดลองที่แล้ว อาจเนื่องมาจากฤดูการในการเก็บผลมะนาว ระยะเวลาที่ใช้ในการคั้นน้ำมะนาวล้วนมีผลต่อปริมาณลิโมนินที่เพิ่มขึ้นทั้งสิ้น โดยในตอนแรกลิโมนินจะอยู่ในรูป limonoate-

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

A-ring-lactone ซึ่งจะไม่ขม มีอยู่ในเนื้อเยื่อของผลมะนาว และเปลี่ยนไปเป็นลิโมนินในรูปที่ขม หลังจากผ่านการคั้น โดยที่ limonoate-A-ring-lactone จะทำปฏิกิริยากับตัวคะตะลิสต์คือ เอนไซม์ limonin D-ring lactone hydrolase ที่ pH 6.5 หรือต่ำกว่านั้น (Maier *et al*., 1969) และเปลี่ยนไปเป็นลิโมนินในรูปที่ขม (Puri *et al*., 1996; Sandhu and Minhas, 2006) ความขมของน้ำมะนาวที่ผ่านความร้อนค่าไม่แตกต่างกับน้ำมะนาวสด อาจเกิดจากการที่ความร้อนไปทำลายเอนไซม์ limonin D-ring lactone hydrolase ในน้ำมะนาว จึงทำให้น้ำมะนาวเมื่อผ่านความร้อนแล้วไม่มีเอนไซม์ที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดรสขม จึงไม่สามารถทำปฏิกิริยากับ limonoate-A-ring-lactone ได้ ปริมาณลิโมนินในน้ำมะนาวจึงไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างสด



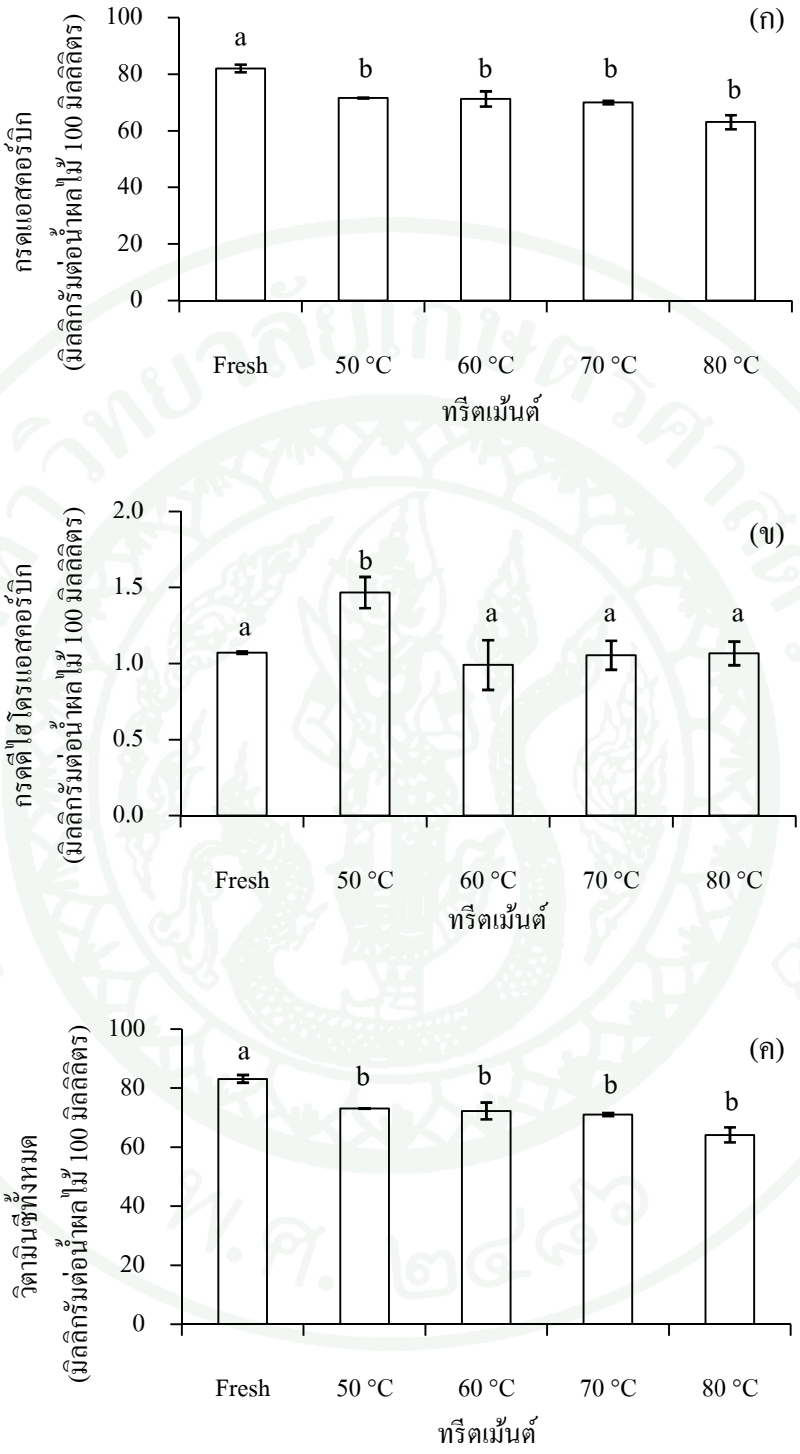
ภาพที่ 13 ปริมาณลิโมนินในน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 °C

หมายเหตุ สิ่งทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการศึกษาปริมาณวิตามินซีของน้ำมะนาวสด เปรียบเทียบกับน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 °C พบว่าปริมาณกรดแอสคอร์บิกของน้ำมะนาวสดจะมีปริมาณมากกว่าน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อน โดยปริมาณกรดแอสคอร์บิกจะลดลง เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้นมีค่า 82.1±1.32, 71.7±0.13, 71.3±2.68, 70.0±0.61 และ 63.1±2.49 มก.ต่อน้ำผลไม้ 100 มล. ตามลำดับ ส่วนปริมาณกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกมีค่า 1.1±0.01, 1.5±0.10, 1.0±0.16, 1.1±0.10 และ 1.1±0.08 มก.ต่อน้ำผลไม้ 100 มล. ตามลำดับ ปริมาณกรดดีไฮโดร-แอสคอร์บิกของน้ำมะนาวที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กับน้ำมะนาวสด ส่วนที่อุณหภูมิ 60, 70 และ 80 °C ค่าไม่แตกต่างจากน้ำมะนาวสดอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ปริมาณวิตามินซีทั้งหมดในน้ำมะนาวมีค่า 83.1±1.31, 73.1±0.02, 72.3±2.84, 71.1±0.51 และ 64.1±2.57 มก.ต่อน้ำผลไม้ 100 มล. ตามลำดับ ซึ่งจะสอดคล้องกับปริมาณกรดแอสคอร์บิกในน้ำมะนาว โดยในน้ำมะนาวสดมีปริมาณสูงที่สุด ซึ่งค่าแตกต่างจากน้ำมะนาวที่ผ่านความร้อน ($p \leq 0.05$) โดยที่เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นปริมาณวิตามินซีจะลดลงมากขึ้น ตามลำดับ (ภาพที่ 14) เนื่องจากกรดแอสคอร์บิกมีความคงตัวต่ำ สลายตัวได้ง่ายเมื่อสัมผัสแสง อากาศและความร้อน เมื่อถูกออกซิ-ไดส์จะเปลี่ยนเป็น กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (Bull *et al*., 2004; Kennedy *et al*., 1992; Nienaber and Shellhammer, 2001a; Polydera *et al*., 2003; Yeom *et al*., 2000a) การพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิสูงจะทำให้ปริมาณวิตามินซีซึ่งเป็นสารสำคัญในน้ำมะนาว มีปริมาณลดลงไปเป็นจำนวนมาก อุณหภูมิที่สูงขึ้นปริมาณวิตามินซีจะลดลงมากขึ้น ทำให้ทราบว่าวิตามินซีเป็นสารที่ไม่ทนต่อความร้อนที่สูง ดังนั้นระดับของอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อนแก่น้ำมะนาว มีผลต่อปริมาณวิตามินซีในน้ำมะนาว (Pareek *et al*., 2010)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 14 ปริมาณกรดแอสคอร์บิก (ก) กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (ข) วิตามินซีทั้งหมด (ค) ในน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 °C

หมายเหตุ ตัวอักษร a-b หมายถึง สิ่งทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยการเรียงลำดับความชอบ

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยการเรียงลำดับความชอบด้านความขม กลิ่นต้ม และความชอบโดยรวม พบว่าตัวอย่างน้ำมะนาวที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที (ตารางที่ 8) มีคะแนนลำดับความขม กลิ่นต้ม และความชอบโดยรวม สามารถอยู่กลุ่มเดียวกับตัวอย่างน้ำมะนาวสดได้ โดยไม่แตกต่างจากน้ำมะนาวสดอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ซึ่งความร้อนสูงมีผลทำให้ความขมและกลิ่นรสของตัวอย่างน้ำมะนาวแตกต่างจากน้ำมะนาวคั้นสด แต่จากการวิเคราะห์ปริมาณลิโมนิน ซึ่งเป็นสารให้รสขมในน้ำมะนาว พบว่าอุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์ไม่มีผลต่อปริมาณลิโมนินในน้ำมะนาว อาจเนื่องมาจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสใช้ผู้ทดสอบชิมที่มีความสามารถที่ไวต่อการรับรสขม จึงสามารถรับรู้ได้ถึงรสขมที่แตกต่างกันของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ และการเกิดกลิ่นรสที่คล้ายกับน้ำมะนาวต้ม (cook flavor) หรือกลิ่นคล้ายมะนาวดอง ทำให้รสชาติของน้ำมะนาวเมื่อผ่านความร้อนสูงเกิดการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากการเกิดออกซิเดชันของสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตและกรดแอสคอร์บิกในน้ำมะนาว ซึ่งการเกิดออกซิเดชันนี้จะมีผลทำให้ สี กลิ่น-รส และคุณสมบัติของน้ำผลไม้เปลี่ยนแปลงไป (เสาวภาคย์, 2545)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 คะแนนการเรียงลำดับความชอบ (Ranking) ด้านรสขม กลิ่นต้ม และ ความชอบโดยรวม ของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 °C เปรียบเทียบกับตัวอย่างน้ำมะนาวสด (ตัวอย่างควบคุม)

ทรีตเมนต์	คุณลักษณะ		
	รสขม	กลิ่นต้ม	ความชอบโดยรวม
น้ำมะนาวสด	55[a]	40[a]	48[a]
50 °C	70[ab]	60[ab]	65[ab]
60 °C	83[b]	85[c]	80[b]
70 °C	79[b]	81b[c]	75[b]
80 °C	90[b]	109[d]	107[c]

หมายเหตุ ตัวอักษร a-d ในแนวตั้ง หมายถึง สิ่งทดลองในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษร ab ในแนวตั้ง หมายถึง สิ่งทดลองในแนวตั้งสามารถอยู่ในกลุ่มเดียวกับตัวอย่างควบคุมได้โดยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Friedman test for Ranking test

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษา

น้ำผลไม้ตระกูลส้มมะนาวเป็นแหล่งของวิตามินซี ในระหว่างการเก็บรักษาน้ำผลไม้จะมีคุณภาพลดลง เช่น กรดแอสคอร์บิกลดลง ความขุ่นลดลง การเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ การเกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ การเปลี่ยนแปลงสี และลักษณะเนื้อสัมผัส (Ayhan *et al*., 2001; Bezman *et al*., 2001; Ewaidah, 1992; Goyle and Ojha, 1998; Roig *et al*., 1999) ดังนั้นน้ำผลไม้ในทางการค้าจึงต้องผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์และแช่เย็น เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์และยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ แต่การพาสเจอร์ไรส์โดยทั่วไปนิยมใช้อุณหภูมิสูง ทำให้คุณภาพของน้ำผลไม้ลดลง (Arena *et al*., 2001; Manso *et al*., 2001; Yeom *et al*., 2000) จึงมีการศึกษาการใช้อุณหภูมิต่ำในการพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาว เพื่อรักษาคุณภาพของน้ำมะนาวไว้ แต่ปัญหาที่สำคัญของน้ำผลไม้คือ การลดลงของกรดแอสคอร์บิกระหว่างการให้ความร้อน (Lima *et al*., 1999; Manso *et al*., 2001; Rojas and Gerschenson, 1997) หรือการเก็บรักษา (Lee and Chen, 1998; Lee and Coates, 1999) ระหว่างการเก็บรักษาน้ำผลไม้ กรดแอสคอร์บิกหรือวิตามินซี ซึ่งเป็นวิตามินที่ไม่ทนต่อความร้อนจะลดลง การสูญเสียกรดแอสคอร์บิก เป็นข้อบ่งชี้และเป็นเกณฑ์สำหรับคุณค่าทางโภชนาการของผักและผลไม้ที่สูญเสียไป (Alwazeer *et al*., 2003; Blasco *et al*., 2004; Esteve *et al*., 1995; Murata *et al*., 2002; Polydera *et al*., 2003; Zerdin *et al*., 2003) ความเข้มข้นของวิตามินซีที่ลดลงระหว่างการเก็บรักษาเกิดจากปฏิกิริยาการสลายตัวโดยใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจนขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิที่เก็บรักษา ภาชนะบรรจุ และกระบวนการระหว่างการแปรรูปผลิตภัณฑ์ (Gregory, 1996; Kenawi *et al*.,1994; Kennedy *et al*., 1992; Sadler *et al*., 1997; Tawfik and Huyghebaert, 1998)

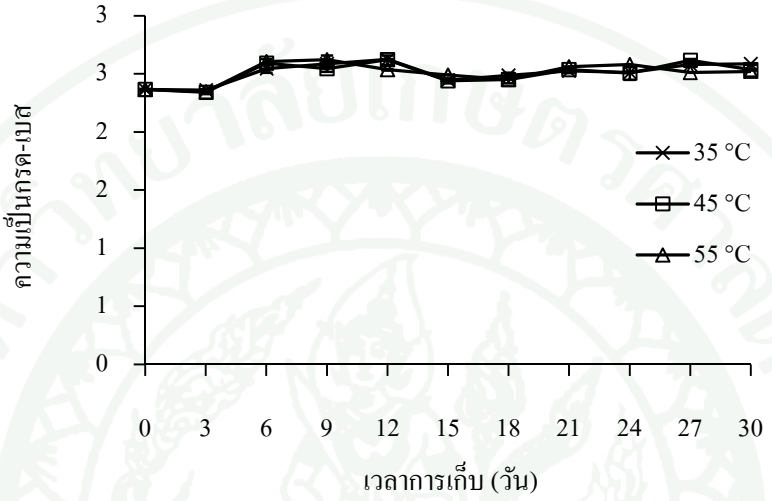
4.1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C

4.1.1 ค่าความเป็นกรด-เบส

น้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C (ภาพที่ 15) จากการวิเคราะห์พบว่าค่าความเป็นกรด-เบสของน้ำมะนาวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 °C ค่าความเป็นกรด-เบสอยู่ในช่วง 2.4-2.6 ที่อุณหภูมิ 45 °C ค่าอยู่ในช่วง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.3-2.6 ที่อุณหภูมิ 55 °C ค่าอยู่ในช่วง 2.4-2.6 ซึ่งค่าความเป็นกรด-เบสมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยอายุการเก็บรักษามีผลต่อปริมาณความเป็นกรด-เบสที่มากขึ้นของน้ำมะนาว

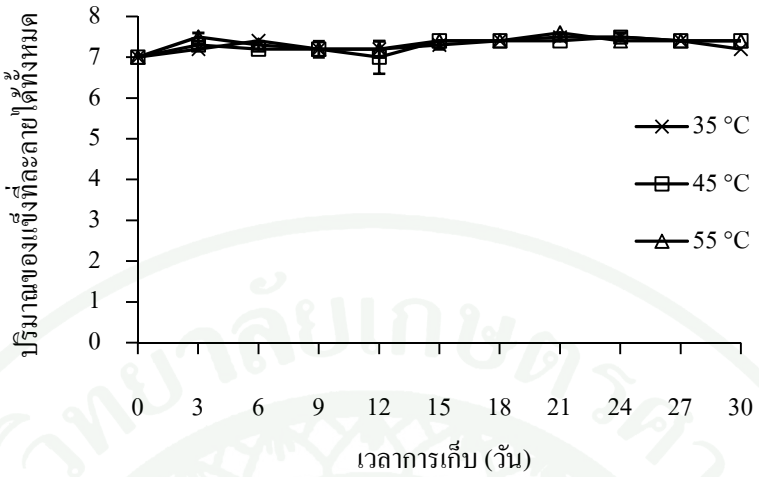


ภาพที่ 15 ความเป็นกรด-เบสของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C

4.1.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

น้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C (ภาพที่ 16) พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของน้ำมะนาวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยที่อุณหภูมิ 35 และ 45 °C ตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยไม่แตกต่างอย่างมีในสำคัญ ($p>0.05$) ส่วนที่อุณหภูมิ 55 °C ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของน้ำมะนาว ค่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและลดลงเล็กน้อย โดยค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ziena (2000); Pareek *et al*. (2010) เมื่อเก็บน้ำมะนาวไว้เป็นเวลานานขึ้นปริมาณของแข็งที่ละลายได้เพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากการสลายตัวของสารในกลุ่มโพลีแซ็คคาไรด์ (แป้ง) เปลี่ยนไปเป็นสารโมโนแซ็คคาไรด์ (น้ำตาล) (Dar *et al*., 1992) ทำให้น้ำมะนาวมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำมะนาวจึงมีปริมาณเพิ่มขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

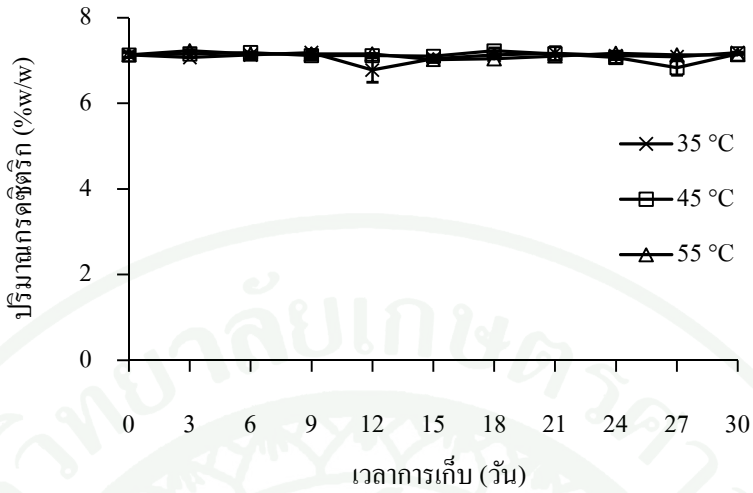


ภาพที่ 16 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C

4.1.3 ปริมาณกรดซิตริก

น้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C (ภาพที่ 17) พบว่าปริมาณกรดซิตริกมีค่าแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ที่อุณหภูมิ 35 และ 45 °C ซึ่งค่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิ 55 °C ค่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-เบสของน้ำมะนาว เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นค่าความเป็นกรด-เบสจะเพิ่มขึ้น (เสาวภาคย์, 2545; Ziena, 2000) เนื่องจากอุณหภูมิสูงที่ใช้ในการเก็บรักษาอาจมีผลทำให้ปริมาณกรดซิตริกในน้ำมะนาวมีค่าเพิ่มขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

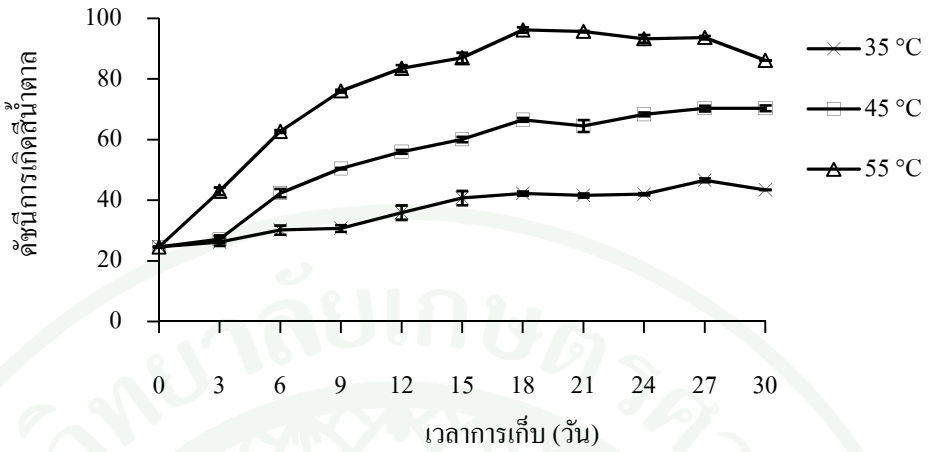


ภาพที่ 17 ปริมาณกรดซิตริกของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C

4.1.4 ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล

น้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C (ภาพที่ 18) พบว่าดัชนีการเกิดสีน้ำตาลของน้ำมะนาวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 55 °C ดัชนีการเกิดสีน้ำตาลของน้ำมะนาวมีค่าสูงที่สุด ค่าจะแตกต่างกับน้ำมะนาวสดเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลาเพียง 7 วัน ซึ่งค่าจะเพิ่มขึ้นจนสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา เช่นเดียวกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 °C เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 7 วัน ค่าจะแตกต่างกับน้ำมะนาวสดโดยค่าเพิ่มขึ้น แต่ต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 55 °C ส่วนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 °C ดัชนีการเกิดสีน้ำตาลมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบทั้ง 3 อุณหภูมิการเก็บรักษา ค่าจะแตกต่างกับน้ำมะนาวสดเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน โดยค่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษามีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลในน้ำมะนาวอย่างชัดเจน อุณหภูมิในการเก็บรักษาที่สูงจะทำให้น้ำมะนาวเกิดสีน้ำตาลได้อย่างรวดเร็วมากขึ้น ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 18 ดัชนีการเกิดสีน้ำตาลของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C

4.1.5 ค่าสี L*, a*, b* และตะกอน

น้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C (ภาพที่ 19) พบว่าค่าความสว่าง L* มีแนวโน้มลดลง ที่อุณหภูมิการเก็บ 35 , 45 และ 55 °C ค่าสี L* ลดลงจนถึงวันสิ้นสุดการเก็บรักษา โดยที่อุณหภูมิ 55 °C ค่าสี L* ลดลงมากที่สุด เนื่องจากเป็นอุณหภูมิการเก็บที่สูง ทั้งอุณหภูมิการเก็บที่ 35, 45 และ 55 °C พบว่าค่ามีแตกต่างกับน้ำมะนาวสดเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ($p \leq 0.05$) ซึ่งอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลทำให้น้ำมะนาวเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจึงทำให้ค่าความสว่างของน้ำมะนาวลดลง

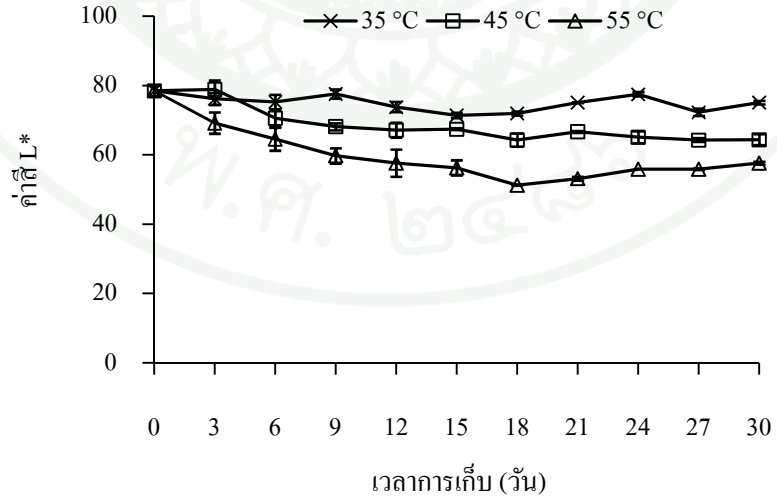
จากการวิเคราะห์ค่าสี a* พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุก ๆ อุณหภูมิการเก็บรักษา โดยที่ ค่าสี a* เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น ตามลำดับ (ภาพที่ 20) ค่าแตกต่างกับน้ำมะนาวสดเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ค่าสอดคล้องกับการเกิดสีน้ำตาลของน้ำมะนาวที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) อายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีของน้ำมะนาว และทำให้คุณภาพของน้ำมะนาวลดลง

จากการวิเคราะห์ค่าสี b* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุก ๆ อุณหภูมิการเก็บรักษา โดยที่ ค่าสี b* จะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น ตามลำดับ (ภาพที่ 21) การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 °C ค่าสี b* มีความแตกต่างจากน้ำมะนาวสดเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

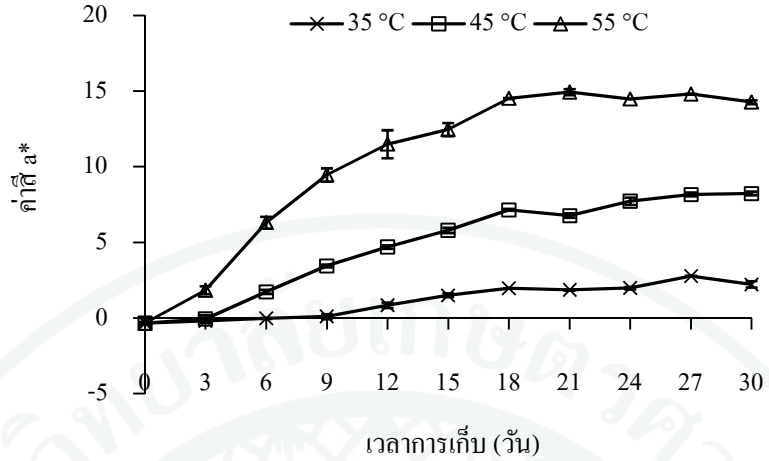
45 และ 55 °C โดยค่าสี b* เป็นบวกและมีค่าเพิ่มขึ้น แสดงว่าน้ำมะนาวที่ในตอนแรกเป็นสีเหลืองอ่อน ๆ เมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น จะทำให้น้ำมะนาวมีสีเหลืองที่เข้มขึ้น ซึ่งมีค่าแตกต่างจากน้ำมะนาวสดเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ($p \leq 0.05$) ซึ่งค่าจะสอดคล้องกับ ค่าสี a* และค่าการเกิดสีน้ำตาลของน้ำมะนาว อุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำมะนาว

จากการวิเคราะห์พบว่าตะกอนจะมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยของทุกอุณหภูมิการเก็บรักษา (ภาพที่ 22) ค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ตะกอนในน้ำมะนาวเป็นลักษณะตามธรรมชาติของน้ำมะนาว มีลักษณะขุ่นอยู่ในสภาพคอลลอยด์ อาจเกิดจากความร้อนและค่าความเป็นกรด-เบสที่ต่ำมากของน้ำมะนาว ไปทำลายสภาพคอลลอยด์ของน้ำมะนาวให้เสียไป สารประกอบเพคตินจึงถูกทำลาย ทำให้สายโมเลกุลของเพคตินสั้นลง ความคงตัวของคอลลอยด์ลดลง จึงทำให้เกิดการตกตะกอนแยกชั้น และการพาสเจอร์ไรส์ในการทดลองนี้ใช้อุณหภูมิที่ต่ำทำให้ไม่สามารถทำลายเอนไซม์เพคตินเนสได้หมด จึงทำให้เกิดการสลายของสาย เพคตินขึ้น ทำให้น้ำมะนาวมีปริมาณตะกอนที่สูง จากการศึกษาของ Manso *et al*. (2001); Yeom *et al*. (2000) การพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 1 นาที เป็นการใช้ความร้อนที่สูงมาก ซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เพคตินเมทิลเอสเทอร์เรสได้ แต่คุณภาพด้านความสดของน้ำผลไม้จะลดลงหรือหายไป

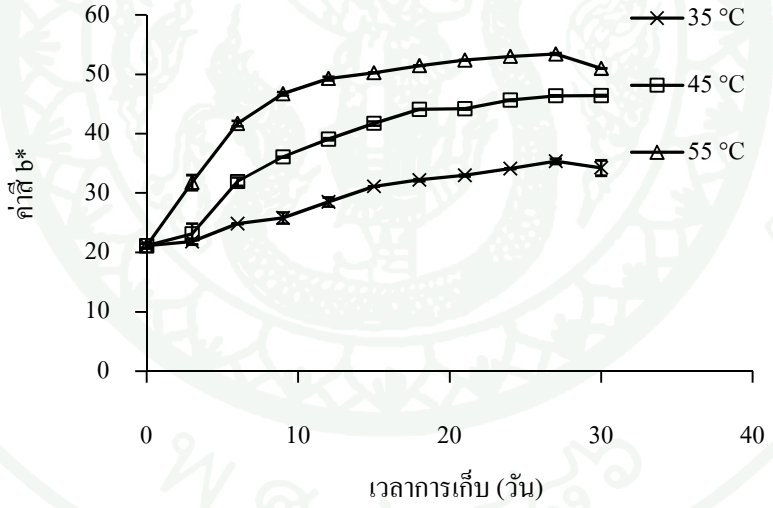


ภาพที่ 19 ค่าสี L* ของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วันที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

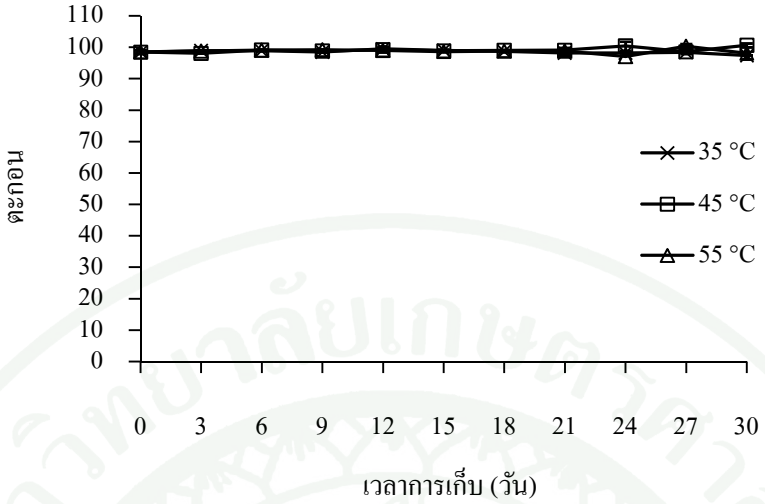


ภาพที่ 20 ค่าสี a* ของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วันที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C



ภาพที่ 21 ค่าสี b* ของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วันที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

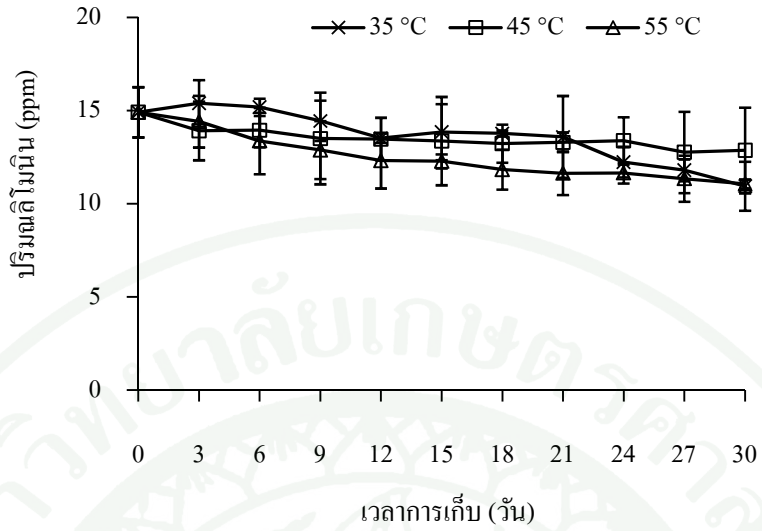


ภาพที่ 22 ตะกอนของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C

4.1.6 ปริมาณลิโมนิน

น้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C (ภาพที่ 23) พบว่าที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C ปริมาณลิโมนินจะเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกของการเก็บรักษา และเมื่อเวลาผ่านไปปริมาณลิโมนินจะลดลง ($p \leq 0.05$) ในช่วงแรกที่ปริมาณลิโมนินมีค่าสูงขึ้น จากการวิเคราะห์ในวันที่ 3 เกิดขึ้นเนื่องจากความร้อนของตู้บ่มที่ใช้ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C มีผลทำให้ปริมาณ ลิโมนินมีค่าสูงขึ้นและเมื่อเก็บรักษาน้ำมะนาวเป็นเวลานานขึ้น พบว่าปริมาณลิโมนินลดลง เนื่องจากสารให้รสขม คือ ลิโมนินเปลี่ยนไปเป็นสารสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลโดยไม่ใช้เอนไซม์ (เสาวภาคย์, 2545; Kimball, 1991)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 23 ปริมาณลิโมนินของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C

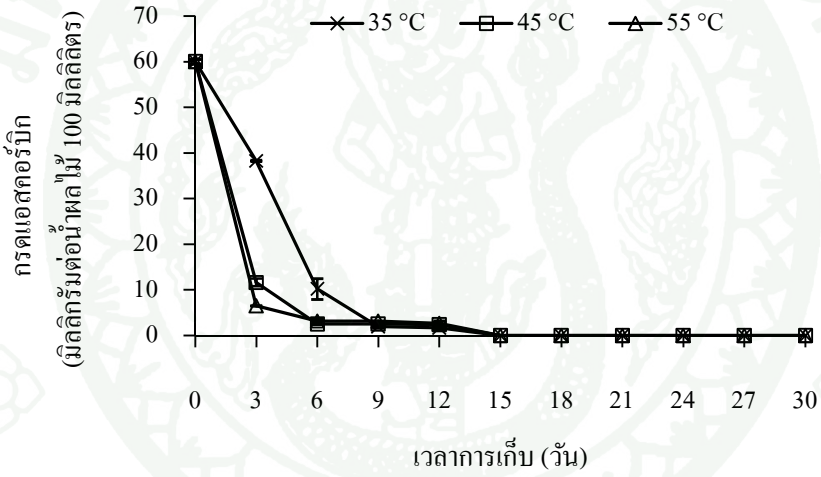
4.1.7 ปริมาณวิตามินซี

น้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C (ภาพที่ 24) จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิกพบว่าลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงวันที่ 15 ของการเก็บรักษา ปริมาณกรดแอสคอร์บิกลดลงจนไม่พบในน้ำมะนาวทุกอุณหภูมิการเก็บรักษา ซึ่งอุณหภูมิในการเก็บน้ำมะนาวที่สูงขึ้น มีผลต่อปริมาณกรดแอสคอร์บิกในน้ำมะนาว โดยปริมาณกรดแอสคอร์บิกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) การลดลงของกรดแอสคอร์บิกมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาน้ำผลไม้ซึ่งเป็นข้อจำกัดอย่างหนึ่งของอายุการเก็บรักษา (Rojas and Gerschenson, 1997) การเสื่อมสภาพของกรดแอสคอร์บิกเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างการเก็บรักษาน้ำผลไม้ตระกูลส้ม (Lee and Nagy, 1988; Manso *et al*., 2001; Rassis and Saguy, 1995; Robertson and Saminego-Esguerra, 1986, 1990; Ziena, 2000)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

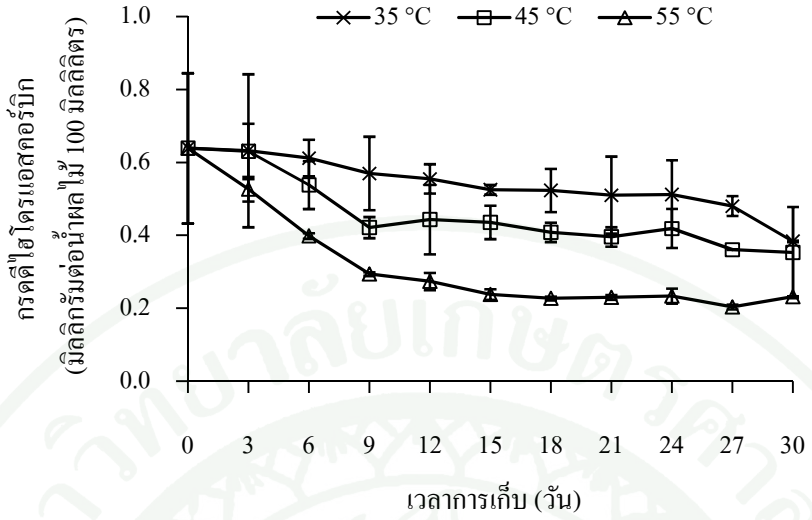
จากการวิเคราะห์พบว่าปริมาณกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (ภาพที่ 25) โดยที่อุณหภูมิ 55 °C ปริมาณกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกลดลงมากที่สุด โดยค่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) รองลงมา ที่อุณหภูมิ 45 และ 35 °C ตามลำดับ โดยค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ปริมาณวิตามินซีทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็ว จนถึงวันที่ 15 ของการเก็บรักษาปริมาณวิตามินซีทั้งหมด (ภาพที่ 26) มีปริมาณลดลงจนกระทั่งคงที่ มีปริมาณเปลี่ยนแปลงโดยลดลงเพียงเล็กน้อยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาซึ่งค่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดแอสคอร์บิก

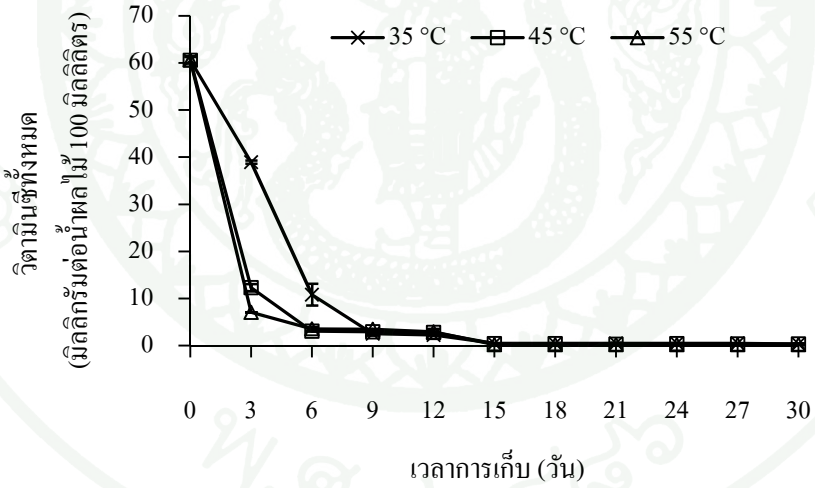


ภาพที่ 24 ปริมาณกรดแอสคอร์บิกของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



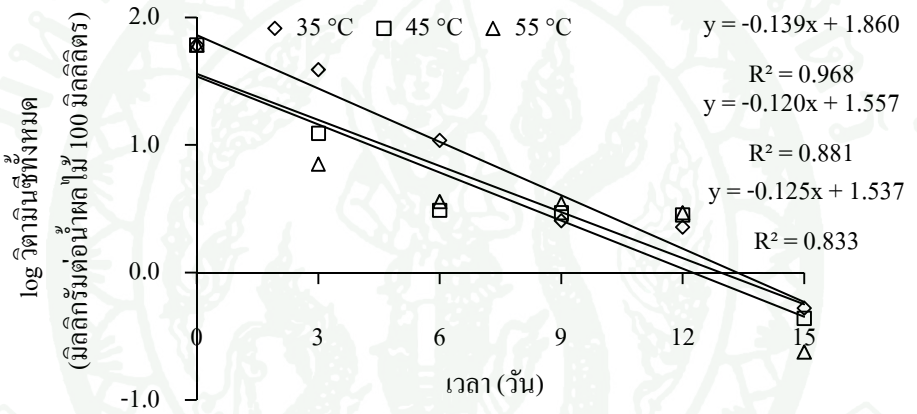
ภาพที่ 25 ปริมาณกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C



ภาพที่ 26 ปริมาณวิตามินซีทั้งหมดของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เมื่อสร้างกราฟการลดลงของปริมาณวิตามินซี ด้วยค่า log วิตามินซี เทียบกับเวลา (ภาพที่ 27) พบว่าการลดลงของปริมาณวิตามินซีเป็นแบบเอ็กซ์โพเนนเชียล โดยค่า log วิตามินซี มีความสัมพันธ์กับเวลาการเก็บรักษา เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นอัตราการลดลงของวิตามินซีจะลดลงทุกอุณหภูมิการเก็บรักษา แต่การลดลงของวิตามินซีแบ่งเป็น 2 ช่วง ช่วงแรกวันที่ 0-15 และในช่วงหลังวันที่ 15-30 เนื่องจากในช่วงแรกปริมาณวิตามินซีจะลดลงอย่างรวดเร็ว แต่ในช่วงหลัง พบว่าอัตราการลดลงของปริมาณวิตามินซี ลดลงอย่างช้า ๆ จากการคำนวณค่า D-วิตามินซี ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 35, 45 และ 55 °C ช่วงแรกวันที่ 0-15 มีค่า D-วิตามินซี เท่ากับ 7.19, 8.33 และ 8.00 นาที ตามลำดับ



ภาพที่ 27 ค่า log วิตามินซีทั้งหมดของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C การเก็บรักษาในวันที่ 0-15

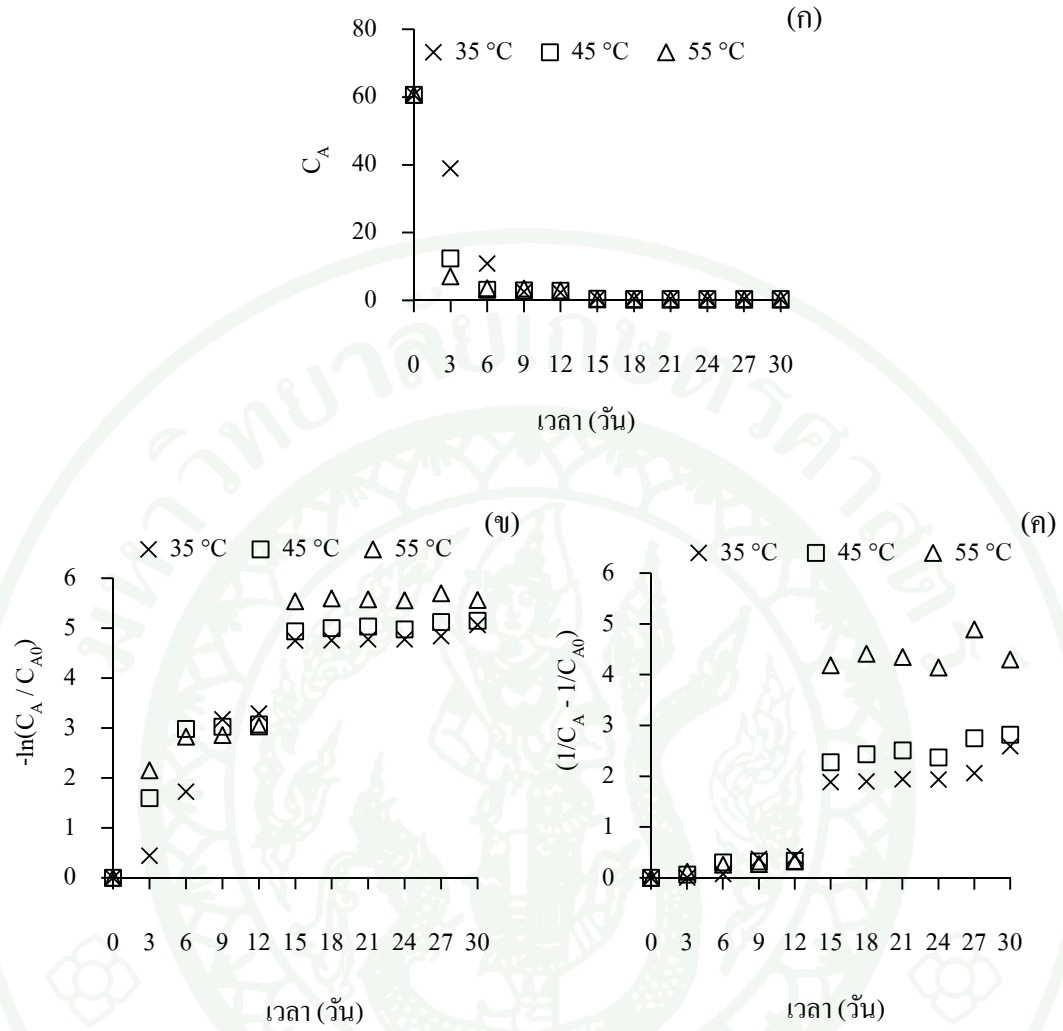
เมื่อนำข้อมูลปริมาณวิตามินซีทั้งหมดมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของปริมาณวิตามินซีที่ลดลง C_A, $\ln(C_A/C_{A0})$ และ $1/C_A$-$1/C_{A0}$ (เมื่อ C_Aคือปริมาณวิตามินซีที่มี ณ เวลาใด ๆ และ C_{A0} คือปริมาณวิตามินซี ที่มี ณ จุดเริ่มต้น) เทียบกับเวลา เป็นปฏิกิริยาอันดับ 0, 1 และ 2 ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 28 (ก), (ข) และ (ค) เพื่อทำนายอายุการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C จากกราฟอัตราการลดลงของปริมาณวิตามินซีในน้ำมะนาวเป็นปฏิกิริยาอันดับ 2 เนื่องจากค่า R^2 มีค่าเข้าใกล้ 1 มากที่สุด (ตารางที่ 9) แต่จากกราฟภาพที่ 28 (ค) พบว่าอัตราการลดลงของปริมาณวิตามินซี แบ่งเป็น 2 ช่วง เนื่องจากในช่วงแรก วันที่ 0-12 ของอายุการเก็บ ปริมาณวิตามินซีลดลงอย่างรวดเร็ว แต่หลังจากวันที่ 12 ไปจนถึงวันที่ 30 ของการเก็บรักษา พบว่าอัตราการลดลงของปริมาณวิตามินซี ลดลงอย่างช้า ๆ จนเกือบเป็นอัตราคงที่ เมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ ระหว่างความเข้มข้นของปริมาณวิตามินซีที่ลดลง $\ln(C_A/C_{A0})$ เทียบกับเวลา จากกราฟได้ค่าความชัน (k)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และ R^2 ของการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีระหว่างการเก็บรักษาน้ำมะนาวที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C (วันที่ 0-12) แสดงในตารางที่ 10 และ จากตารางที่ 11 (วันที่ 15-30) ค่าความชันที่อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 35 และ 45 °C มีค่าต่ำมาก ส่วนที่อุณหภูมิ 55 °C ค่าความชัน และ R^2 มีค่าต่ำมากกว่า ที่อุณหภูมิ 35 และ 45 °C โดยความชันของกราฟมีค่าเข้าใกล้ศูนย์มากกว่า จึงทำให้ค่า R^2 มีค่าต่ำตามไปด้วย เนื่องจากมีปริมาณวิตามินซีที่เหลืออยู่ในน้ำมะนาวน้อยมาก เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 55 °C ดังนั้นจึงสร้างกราฟการลดลงของปริมาณวิตามินซีในช่วงวันที่ 0-12 ดังภาพที่ 29 เนื่องจากค่า R^2 มีค่าสูงที่สุด จากกราฟอัตราการลดลงของปริมาณวิตามินซีเป็นปฏิกิริยาอันดับ 1 สอดคล้องกับการทดลองของ Abbasi and Niakousari (2008); Sitti and Bundjali (2009) การลดลงของปริมาณวิตามินซีในน้ำมะนาวเป็นปฏิกิริยาอันดับ 1 อัตราการลดลงของปริมาณวิตามินซีสามารถใช้ model ชนิดอื่น ในการทำนายได้นอกเหนือจาก Arrhenuis model เช่น Weibull model (Seber and Wild, 1989) แต่เนื่องจากปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการลดลงของปริมาณวิตามินซี มีความสัมพันธ์กับการลดลงของปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมะนาว ซึ่งออกซิเจนจะทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับวิตามินซีในน้ำมะนาว ทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลง โดยออกซิเจนเป็นปัจจัยสำคัญที่เป็นข้อจำกัดของอันดับการเกิดปฏิกิริยาการลดลงของปริมาณวิตามินซี (Kennedy *et al*., 1992) จึงต้องมีการวัดอัตราการลดลงของออกซิเจนร่วมด้วย

จากการศึกษาของ Hande *et al*. (2006) พบว่าการลดลงของปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม น้ำมะนาว น้ำองุ่นและน้ำส้มเขียวหวาน ที่เก็บรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 28, 37 และ 45 °C เป็นปฏิกิริยาอันดับ 1 การลดลงของวิตามินซีเกิดจากหลายปัจจัย เช่น อุณหภูมิในการเก็บรักษา แสง ออกซิเจน เป็นต้น โดยปริมาณวิตามินซีจะลดลงเป็นปฏิกิริยา อันดับ 0, 1 และ 2 ด้วยอัตราคงที่ (Koca *et al*., 2003; Liao and Seib, 1988; Robertson and Saminego-Esguerra, 1986, 1990; Rojas and Gerschenson, 1997; Singh *et al*., 1976)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 28 การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C ปฏิกิริยาอันดับ 0 (ก) อันดับ 1 (ข) และอันดับ 2 (ค)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 ค่าความชัน (k) และ R^2 ของการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C (วันที่ 0-30)

สมการอันดับที่	สมการอัตรา	อุณหภูมิ	y = mx+b	ความชัน (k)	R^2
n = 0	$C_A - C_{A0} = -kt$	35 °C	y = -1.490x + 33.09	-1.490	0.542
		45 °C	y = -1.105x + 24.23	-1.105	0.376
		55 °C	y = -1.056x + 23.03	1.056	0.346
n = 1	$\ln(C_A / C_{A0}) = -kt$	35 °C	y = 0.171x + 0.837	0.171	0.825
		45 °C	y = 0.156x + 1.362	0.156	0.806
		55 °C	y = 0.176x + 1.389	0.176	0.806
n = 2	$1/C_A - 1/C_{A0} = -kt$	35 °C	y = 0.095x - 0.225	0.095	0.882
		45 °C	y = 0.113x - 0.231	0.113	0.850
		55 °C	y = 0.195x - 0.450	0.195	0.783

* $y = C_A$, $x = t\ (\Theta_s)$

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 10 ค่าความชัน (k) และ R^2 ของการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C (วันที่ 0-12)

สมการอันดับที่	สมการอัตรา	อุณหภูมิ	y = mx+b	ความชัน (k)	R^2
n = 0	$C_A - C_{A0} = -kt$	35 °C	y = -5.104x +53.66	-5.104	0.879
		45 °C	y = -4.166x + 41.35	-4.166	0.621
		55 °C	y = -3.966x + 39.33	-3.966	0.554
n = 1	$\ln(C_A / C_{A0}) = -kt$	35 °C	y = 0.310x - 0.135	0.31	0.945
		45 °C	y = 0.252x + 0.619	0.252	0.792
		55 °C	y = 0.225x + 0.819	0.225	0.72
n = 2	$1/C_A - 1/C_{A0} = -kt$	35 °C	y = 0.040x - 0.066	0.04	0.865
		45 °C	y = 0.031x + 0.019	0.031	0.84
		55 °C	y = 0.026x + 0.037	0.026	0.904

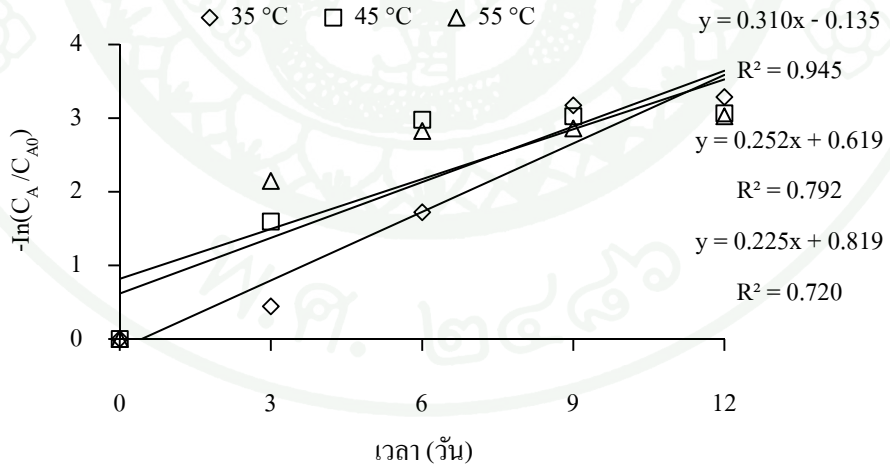
* $y = C_A$, $x = t$ (Θ_s)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 11 ค่าความชัน (k) และ R^2 ของการเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C (วันที่ 15-30)

สมการอันดับที่	สมการอัตรา	อุณหภูมิ	y = mx+b	ความชัน (k)	R^2
n = 0	$C_A - C_{A0} = -kt$	35 °C	y = -0.007x + 0.668	-0.007	0.679
		45 °C	y = -0.005x + 0.509	-0.005	0.758
		55 °C	y = -0.000x + 0.246	0.000	0.165
n = 1	$\ln(C_A / C_{A0}) = -kt$	35 °C	y = 0.017x + 4.434	0.017	0.653
		45 °C	y = 0.013x + 4.743	0.013	0.761
		55 °C	y = 0.004x + 5.498	0.004	0.163
n = 2	$1/C_A - 1/C_{A0} = -kt$	35 °C	y = 0.038x + 1.191	0.038	0.628
		45 °C	y = 0.033x + 1.775	0.033	0.760
		55 °C	y = 0.016x + 3.996	0.016	0.123

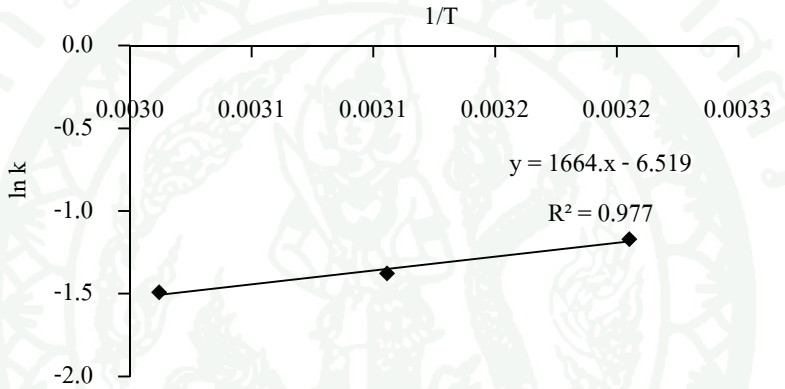
* $y = C_A$, $x = t$ (Θ_s)



ภาพที่ 29 การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซีในน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C ช่วงระหว่างวันที่ 0-12

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากนั้นนำค่ามาสร้างกราฟซึ่งเป็นความสัมพันธ์ของค่า Ink กับระยะเวลาการเก็บรักษา (1/T) ดังภาพที่ 30 มีความสัมพันธ์เป็นกราฟเส้นตรง พบว่าการลดลงของปริมาณวิตามินซีในช่วงแรก (วันที่ 0-12) มีค่าพลังงานกระตุ้น (E_a) เท่ากับ 13.8 kJ/mol ค่าพลังงานกระตุ้น คือ พลังงานที่ต่ำสุดที่ใช้เพื่อกระตุ้นปฏิกิริยา ปฏิกิริยาที่มีพลังงานกระตุ้นต่ำจะเกิดได้รวดเร็ว ซึ่งในช่วงแรกของการเก็บรักษา พลังงานกระตุ้นมีค่าต่ำทำให้อัตราการสูญเสียวิตามินซีเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษามีผลต่ออัตราการลดลงของปริมาณวิตามินซี



ภาพที่ 30 กราฟอาร์เรเนียสของการสูญเสียวิตามินซีในน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C ช่วงระหว่างวันที่ 0-12

จากนั้นทำนายอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาวที่อุณหภูมิ 4 °C จากสมการที่ 6 พบว่าในช่วงแรกของการเก็บรักษา (วันที่ 0-12) ที่อุณหภูมิ 4 °C น้ำมะนาวจะมีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน เนื่องจากในช่วงแรกของการเก็บรักษา อัตราการสูญเสียวิตามินซีจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว จึงใช้ช่วงแรกของการเก็บรักษาเป็นเกณฑ์ในการทำนายอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาวที่สภาวะเร่ง โดยปริมาณวิตามินซีในน้ำมะนาวลดลงไปร้อยละ 50 ซึ่งเป็นข้อกำหนดการเสื่อมเสียของน้ำมะนาวและทำให้น้ำมะนาวไม่เป็นที่ยอมรับ (Torregrosa *et al*., 2006; Polydera *et al*., 2005; Polydera *et al*., 2003)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

$$t = \ln (C_A/C_{A0})/ -k \quad (6)$$

เมื่อ k คือ ค่าคงที่อัตรา (หน่วยต่อวัน)

C_{A0} คือ ปริมาณวิตามินซี ที่มี ณ จุดเริ่มต้น

C_A คือ ปริมาณวิตามินซี ที่มี ณ เวลาใด ๆ

t คือ อายุการเก็บ (วัน)

Polydera *et al*. (2005) กล่าวว่า ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกที่ลดลงไปร้อยละ 50 ระหว่างการเก็บรักษา เป็นระดับที่กฎหมายไม่ยอมรับหรือเป็นไปตามข้อกำหนดทางอุตสาหกรรมของการสูญเสียกรดแอสคอร์บิกในน้ำผลไม้ระหว่างการเก็บรักษา

4.2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C

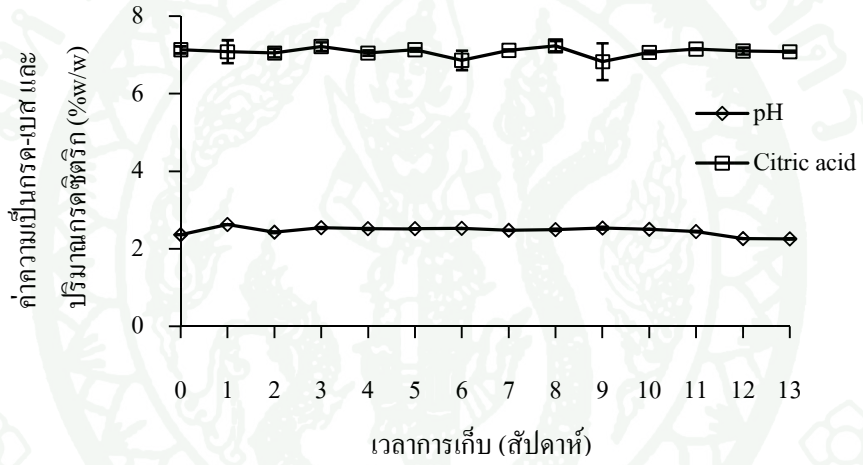
4.2.1 ค่าความเป็นกรด-เบส

จากการศึกษาค่าความเป็นกรด-เบสของน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 13 สัปดาห์ (ภาพที่ 31) พบว่าค่าความเป็นกรด-เบสของน้ำมะนาว มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนถึงสัปดาห์ที่ 11 ของการเก็บรักษา หลังจากนั้นค่าความเป็นกรด-เบสจะลดลงเล็กน้อย จนถึงสัปดาห์ที่ 13 ซึ่งเป็นวันสิ้นสุดการเก็บรักษา โดยค่าความเป็นกรด-เบสมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของเสาวภาคย์ (2545) เมื่อระยะเวลาการเก็บน้ำมะนาวนานขึ้น ค่าความเป็นกรด-เบสของน้ำมะนาวจะเพิ่มขึ้น และค่าความเป็นกรด-เบสจะลดลงในช่วงท้ายของการเก็บรักษา อาจเป็นผลเนื่องมาจากระยะเวลาในการเก็บรักษาที่นาน จะมีผลทำให้กรดซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำมะนาวเกิดการสลายตัว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.2.2 ปริมาณกรดซิตริก

จากการศึกษาปริมาณกรดซิตริกของน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 13 สัปดาห์ (ภาพที่ 31) พบว่าปริมาณกรดซิตริกของน้ำมะนาวจะมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย โดยปริมาณกรดซิตริกไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ดังนั้นอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาไม่มีผลต่อปริมาณกรดซิตริกในน้ำมะนาว อีกทั้งยังสามารถรักษาปริมาณกรดซิตริกในน้ำมะนาวไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลง จึงทำให้น้ำมะนาวยังคงมีรสเปรี้ยวอยู่ เมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์

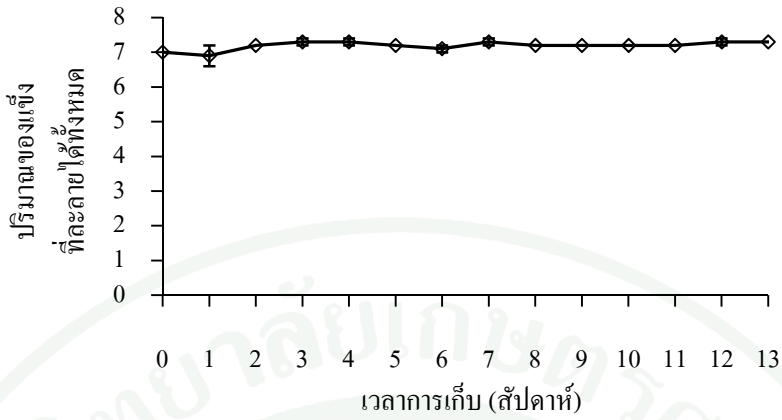


ภาพที่ 31 ความเป็นกรด-เบสและปริมาณกรดซิตริกของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C

4.2.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

จากการศึกษาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 13 สัปดาห์ (ภาพที่ 32) พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะนาวจะมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

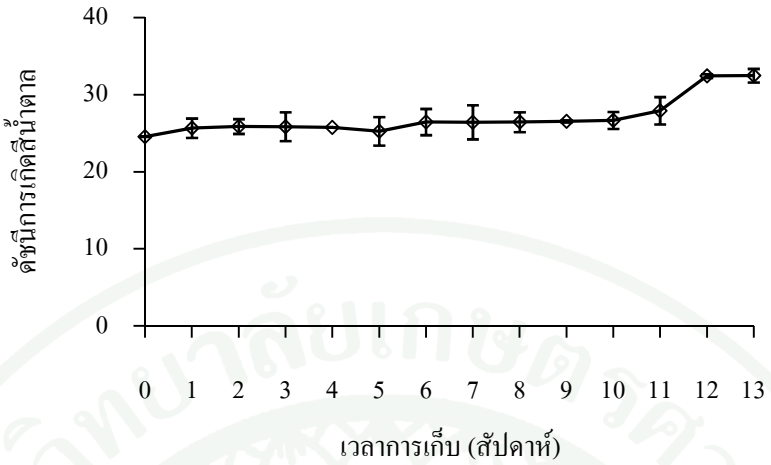


ภาพที่ 32 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C

4.2.4 ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล

จากการศึกษาดัชนีการเกิดสีน้ำตาล ของน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 13 สัปดาห์ (ภาพที่ 33) พบว่าการเกิดสีน้ำตาลของน้ำมะนาวจะมีการเปลี่ยนแปลง ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับการทดลองของ Ziena (2000) ซึ่งค่าดัชนีการเกิดสีน้ำตาลมากขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น โดยค่าดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำมะนาวแตกต่างกับน้ำมะนาวสดเมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ ซึ่งน้ำมะนาวเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมากขึ้น (ภาพผนวกที่ ค6) เป็นผลทำให้ลักษณะที่ดีของน้ำมะนาวสูญเสียไป ผู้บริโภคอาจจะไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์ การเปลี่ยนแปลงของน้ำมะนาวเป็นสีน้ำตาลเกิดจากการสลายตัวของกรดแอสคอร์บิกในน้ำมะนาว และจากการที่ลิโมนินในน้ำมะนาวเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดขึ้น และเปลี่ยนไปเป็นสารสีน้ำตาล (เสาวภาคย์, 2545; Kimball, 1991) จึงมีผลทำให้น้ำมะนาวเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมากขึ้น เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานาน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 33 ดัชนีการเกิดสีน้ำตาลของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C

4.2.5 ค่าสี L* a* b* และ ปริมาณตะกอน

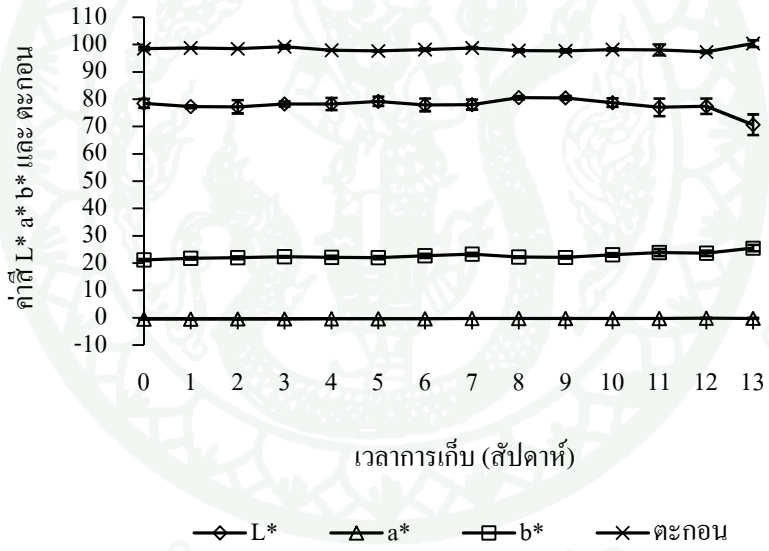
จากการศึกษาค่าความสว่าง L* ของน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 13 สัปดาห์ (ภาพที่ 34) พบว่า ค่า L* ลดลงในช่วงแรกและเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 8 ของการเก็บรักษา สอดคล้องกับการทดลองของ Gonzalez-Molina *et al*. (2009) พบว่าเมื่อเก็บรักษาน้ำมะนาวเป็นเวลานานขึ้นค่าความสว่างของน้ำมะนาวจะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง แต่หลังจากนั้นค่าลดลงในสัปดาห์ที่ 10 ของการเก็บรักษา โดยลดลงจนถึงวันสิ้นสุดการเก็บรักษา และค่าแตกต่างกับน้ำมะนาวสด ($p \leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ ซึ่งสอดคล้องกับการเกิดสีน้ำตาลในน้ำมะนาว โดยสีน้ำตาลของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์แตกต่างกับน้ำมะนาวสดเมื่อผ่านเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

จากการศึกษาค่าสี a* พบว่า ค่าสี a* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ตลอดอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 34) โดยแตกต่างกับน้ำมะนาวสด ($p \leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 11 สัปดาห์ ซึ่งค่าสี a* ที่เพิ่มขึ้นจะทำให้น้ำมะนาวมีความเป็นสีแดงเพิ่มขึ้น และสีเขียวลดลง ค่าสีแดงเมื่อมากขึ้นส่งผลให้น้ำมะนาวเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล โดยค่าสอดคล้องกับผลของดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำมะนาว เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ซึ่งค่าการเกิดสีน้ำตาลจะแตกต่างกับน้ำมะนาวสด เนื่องจากอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของน้ำมะนาว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จากการศึกษาค่าสี b* พบว่า ค่าสี b* เปลี่ยนแปลงไปในทางเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ตลอดอายุการเก็บรักษา (ภาพที่ 34) โดยมีค่าแตกต่างจากน้ำมะนาวสด ($p \leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 10 สัปดาห์ แสดงว่าน้ำมะนาวที่ในตอนแรกมีสีเหลืองอ่อน ๆ เมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น จะทำให้น้ำมะนาวมีสีเหลืองเข้มมากขึ้น

จากการศึกษาตะกอนของน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวที่เก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ (ภาพที่ 34) พบว่าตะกอนจะมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ตลอดอายุการเก็บรักษา ตะกอนมีลักษณะขุ่นอยู่ในสภาพคอลลอยด์ การตกตะกอนแยกชั้นเกิดจากความร้อนและค่าความเป็นกรด-เบสที่ต่ำของน้ำมะนาวไปทำลายสารประกอบเพคติน ทำให้สายโมเลกุลของเพคตินสั้นลง ความคงตัวของคอลลอยด์จึงลดลง

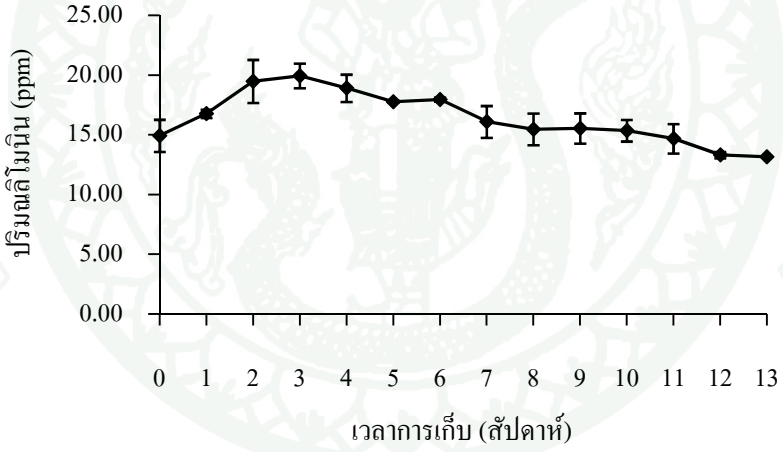


ภาพที่ 34 ค่าสี L* a* b* และตะกอนของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.2.6 ปริมาณลิโมนิน

จากการศึกษาปริมาณลิโมนิน ของน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 13 สัปดาห์ (ภาพที่ 35) พบว่าปริมาณลิโมนินในน้ำมะนาวสดมีปริมาณสูงที่สุดและลดลง จากนั้นเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงสัปดาห์ที่ 3 ของการเก็บรักษา และเมื่อเวลาผ่านไปปริมาณลิโมนินลดลง เนื่องจากลิโมนินเปลี่ยนไปเป็นสารสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (เสาวภาคย์, 2545; Kimball, 1991) โดยปริมาณลิโมนินมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในตอนแรกลิโมนินจะอยู่ในรูป limonoate-A-ring-lactone ซึ่งจะไม่ขม จากนั้นจะทำปฏิกิริยากับตัวคะตะลิสต์คือเอนไซม์ limonin D-ring lactone hydrolase และกรดในน้ำมะนาว (Maier *et al*., 1969) และจะเปลี่ยนไปเป็นลิโมนินในรูปที่ขม (Puri *et al*., 1996; Sandhu and Minhas, 2006)



ภาพที่ 35 ปริมาณลิโมนินของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.2.7 ปริมาณวิตามินซี

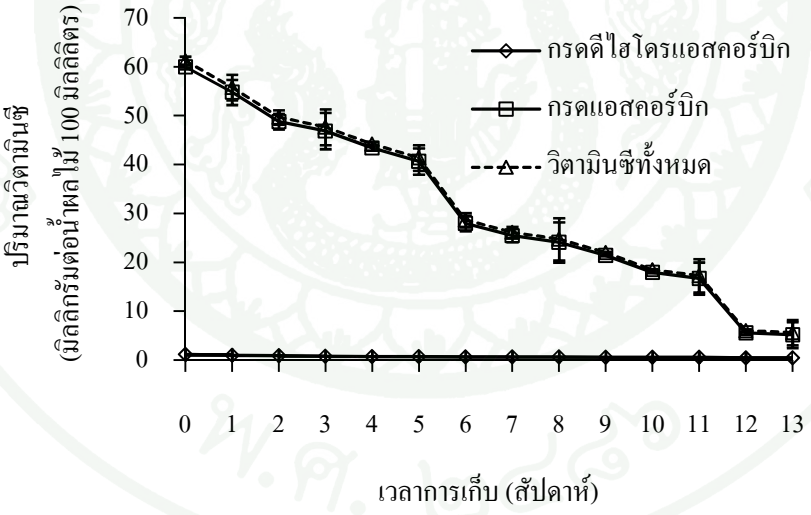
จากการศึกษาปริมาณกรดแอสคอร์บิกของน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 13 สัปดาห์ (ภาพที่ 36) พบว่าปริมาณกรดแอสคอร์บิกมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาและปริมาณกรดแอสคอร์บิกมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อวันที่ 0 ของการเก็บรักษาน้ำมะนาว แต่ปริมาณกรดแอสคอร์บิกของน้ำมะนาวมีข้อกำหนดวันหมดอายุ คือ เมื่อปริมาณกรดแอสคอร์บิกลดลงไปร้อยละ 50 ทำให้น้ำมะนาวเสื่อมเสียและไม่เป็นที่ยอมรับ โดยเป็นข้อกำหนดทางการค้าของน้ำผลไม้ (Torregrosa *et al*., 2006; Polydera *et al*., 2005; Polydera *et al*., 2003) ทำให้อายุการเก็บของวิตามินซี มีระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยที่ในการวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิก พบว่าในสัปดาห์ที่ 6 ของการเก็บรักษา ปริมาณกรดแอสคอร์บิกลดลงร้อยละ 50 จึงทำให้น้ำมะนาวเกิดการเสื่อมเสียตามข้อกำหนดทางการค้าของน้ำผลไม้

จากการศึกษาปริมาณกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกของน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 13 สัปดาห์ (ภาพที่ 36) พบว่าปริมาณกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกลดลง โดยปริมาณกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับจากการศึกษาของ Bull *et al*. (2004); Cortes *et al*. (2008b); Elez-Martinez and Martin-Belloso (2007); Elez-Martinez *et al*. (2006); Fernandez García *et al*. (2001); Min *et al*. (2003); Plaza *et al*. (2006); Sadler *et al*. (1992); Yeom *et al*. (2000a) ในระหว่างการเก็บรักษาน้ำส้มในอุณหภูมิตู้เย็นและอยู่ในที่มืด พบว่าปริมาณกรดแอสคอร์บิกลดลง และปริมาณกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกเพิ่มขึ้น

จากการศึกษาปริมาณวิตามินซีทั้งหมดของน้ำมะนาวสดและน้ำมะนาวที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ (ภาพที่ 36) พบว่ามีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p \leq 0.05$) ซึ่งปริมาณวิตามินซีทั้งหมดของน้ำมะนาวจะมีค่าสอดคล้องกับปริมาณกรดแอสคอร์บิกของน้ำมะนาว โดยแตกต่างกับน้ำมะนาวสด ตั้งแต่วันที่ 0 หรือวันที่เริ่มต้นการเก็บรักษา แต่ตามข้อกำหนดการเสื่อมเสียของน้ำผลไม้ ทำให้น้ำมะนาวมีอายุการเก็บเป็นเวลา 6 สัปดาห์ เช่นเดียวกับปริมาณกรดแอสคอร์บิกในน้ำมะนาว การสูญเสียวิตามินซีปริมาณมาก ที่เกิดขึ้นในช่วง 2 สัปดาห์แรกของการเก็บรักษา อาจเกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์ไซโตโครมออกซิเดส (cytochrome oxidase) กรดแอสคอร์บิกออกซิเดส (ascorbic acid oxidase) และเปอร์ออกซิเดส (peroxidase) (Nagy, 1980)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรดแอสคอร์บิกมีความคงตัวต่ำ สลายตัวได้ง่ายเมื่อสัมผัสแสง อากาศและความร้อน เมื่อถูกออกซิไดส์จะเปลี่ยนเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก ระหว่างการเก็บรักษากรดแอสคอร์บิกมีปริมาณลดลง และกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกมีปริมาณเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงความสัมพันธ์เป็นกราฟเส้นตรงและในรูปของลอกการิทึมระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษากับปริมาณที่ลดลงหรือเพิ่มขึ้น แต่ปฏิกิริยานี้สามารถเปลี่ยนกลับไปมาได้ โดยกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกจะถูกออกซิไดส์ต่อไปเป็นกรดไดคีโต-แอล-กลูลินิค (diketo-L-gulinic acid) ซึ่งไม่มีคุณค่าทางชีวภาพ และเสียสภาพไป (Bull *et al*., 2004; Kennedy *et al*., 1992; Nienaber and Shellhammer, 2001a; Polydera *et al*., 2003; Yeom *et al*., 2000a) วิตามินซีเป็นสารสำคัญที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ช่วยในด้านภูมิคุ้มกันและมีประโยชน์ต่อร่างกาย มีความสำคัญที่สัมพันธ์กับคุณภาพที่ลดลงของน้ำผลไม้ตระกูลส้มระหว่างกระบวนการแปรรูปหรือการเก็บรักษา จากการใช้ความร้อนสูงและความไม่คงตัวของวิตามินซีระหว่างการเก็บรักษา (Cortes *et al*., 2008b; Lee *et al*., 1976; Polydera *et al*., 2003; Zulueta *et al*., 2010)



ภาพที่ 36 ปริมาณกรดแอสคอร์บิก กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก และวิตามินซีทั้งหมดของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.2.8 การวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์

จากการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 13 สัปดาห์ วิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา ในน้ำมะนาว ใช้เทคนิค pour plate โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ในการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดและใช้เทคนิค spread plate โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในการวิเคราะห์จำนวนยีสต์และรา โดยจำนวนจุลินทรีย์ที่พบมีปริมาณต่ำกว่า 1×10^2 ดังนั้นจึงสรุปว่าไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ในตัวอย่างน้ำมะนาว

เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C และจากการทำนายอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C จากสภาวะเร่ง (ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C) ทำให้ทราบว่า เมื่อเก็บรักษาน้ำมะนาวที่อุณหภูมิ 4 °C จากการทดลอง สามารถเก็บรักษาน้ำมะนาวได้นานกว่า เมื่อทำนายอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เนื่องมาจากอุณหภูมิในการเก็บมีผลต่อคุณภาพของน้ำมะนาว ในสภาวะเร่งมีอุณหภูมิการเก็บรักษาที่สูง ดังนั้นเมื่อทำนายอายุการเก็บรักษาจึงทำให้มีระยะเวลาการเก็บที่สั้นลงจากสภาวะจริงที่มีอุณหภูมิ 4 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ต่ำ จึงสามารถรักษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำมะนาวไว้ได้ดีกว่า

จากการศึกษาของ Girones-Vilaplana *et al*. (2012) ถึงระยะเวลาระหว่างการเก็บรักษาน้ำมะนาวที่ทำให้เข้มข้นและมีการเติมโซเดียมเบนโซเอต (sodium benzoate) เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 25 °C พบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C ปริมาณวิตามินซีลดลงร้อยละ 35 ในขณะที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C ปริมาณวิตามินซีลดลงร้อยละ 68 ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษา จากปริมาณเริ่มต้นหรือวันที่ 0 ของการทดลอง มีปริมาณวิตามินซีประมาณ 22 มก.ต่อน้ำผลไม้ 100 มล.

การพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิสูงเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C จากการทดลองของ Choi *et al*. (2002) พบว่าเมื่อพาสเจอร์ไรส์น้ำส้มที่ 90 °C เป็นเวลา 90 วินาที เก็บรักษา ที่ 4 °C มีการสูญเสียกรดแอสคอร์บิกไปร้อยละ 50 หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 3 สัปดาห์ หรือประมาณ 21 วัน และหมดไปหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 5 สัปดาห์ หรือประมาณ 35 วัน และ Yeom *et al*. (2000b) ศึกษาผลของการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 94.6 °C เป็นเวลา 30 วินาที ต่อความเข้มข้นของปริมาณกรดแอสคอร์บิกในน้ำส้ม ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 22 °C พบว่าการพาสเจอร์ไรส์ด้วย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความร้อนสูงมีการสูญเสียกรดแอสคอร์บิกไปร้อยละ 50 หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 31 วัน ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C และเมื่อเก็บรักษาอุณหภูมิ 25 °C ทำให้มีการสูญเสียกรดแอสคอร์บิกไปร้อยละ 50 หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

สรุปผล

1. จากการศึกษาความต้านทานความร้อนของจุลินทรีย์ที่ทำให้น้ำมะนาวเสื่อมเสียได้แก่ *S. cerevisiae* TISTR 5110 และ *P. kudriavzevii* TISTR 5147 และศึกษาถึงจุลินทรีย์ก่อโรคในน้ำมะนาว คือ *Salmonella* พบว่า *S. cerevisiae* TISTR 5110 (z-value = 14.3 °C) สามารถทนความร้อนได้มากกว่า *P. kudriavzevii* TISTR 5147 (z-value = 10.4 °C) เนื่องจาก *S. cerevisiae* มีค่า z-value มากกว่า *P. kudriavzevii* จึงเลือกใช้เวลาฆ่าเชื้อเท่ากับ 5D ของ *S. cerevisiae* TISTR 5110 เป็นเกณฑ์ในการพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาว และเนื่องจากน้ำมะนาวมีความเป็นกรดต่ำมาก จึงทำให้ *Salmonella* ไม่สามารถเจริญได้ในน้ำมะนาว

2. จากการพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาวโดยการใช้ความร้อนต่ำที่อุณหภูมิ 40, 45 และ 50 °C เป็นเวลา 178.57, 142.86 และ 37.59 นาที ตามลำดับ ศึกษาถึงลักษณะทางเคมีและกายภาพ ปริมาณลิโมนินและวิตามินซี ในน้ำมะนาวสดเปรียบเทียบกับน้ำมะนาวที่ผ่านการให้ความร้อนและทดสอบความแตกต่างทางประสาทสัมผัส พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาว คือ อุณหภูมิ 40 °C ลักษณะทางเคมีและกายภาพของน้ำมะนาวปริมาณลิโมนินไม่แตกต่างกับน้ำมะนาวสด ปริมาณวิตามินซีแตกต่างกับน้ำมะนาวสดน้อยที่สุด และกลิ่นรสจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสไม่แตกต่างกับน้ำมะนาวสดมากที่สุด แต่เนื่องจากที่อุณหภูมิ 40 °C ใช้เวลาในการให้ความร้อนนานถึง 178.57 นาที ซึ่งเป็นระยะเวลาที่นาน ดังนั้นจึงศึกษาถึงผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาว โดยใช้อุณหภูมิสูงขึ้นและยังคงใช้อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที ร่วมด้วย เนื่องจากลักษณะทางเคมีและกายภาพของน้ำมะนาวไม่แตกต่างกับน้ำมะนาวสดเช่นกัน

3. จากการศึกษาการพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาวโดยการใช้ความร้อนในระดับที่สูงขึ้นที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 และ 80 °C เป็นเวลา 37.59, 8.51, 1.42 นาที และ 20 วินาที ตามลำดับ ศึกษาถึงลักษณะทางเคมีและกายภาพ ปริมาณลิโมนินและวิตามินซี เปรียบเทียบกับน้ำมะนาวสด และทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยการเรียงลำดับความชอบด้านความขม กลิ่นต้ม และความชอบโดยรวมของน้ำมะนาว พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาวคือ อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที โดยที่ลักษณะทางเคมีและกายภาพ ปริมาณลิโมนินของน้ำมะนาว ไม่แตกต่าง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กับน้ำมะนาวสด ปริมาณวิตามินซีแตกต่างกับน้ำมะนาวสดน้อยที่สุดและจากการทดสอบการเรียงลำดับความชอบ พบว่าน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่ 50 °C เป็นเวลา 37.57 นาที มีลักษณะด้านความขม กลิ่นต้ม และความชอบโดยรวมใกล้เคียงกับน้ำมะนาวสดมากที่สุด

4. จากการศึกษาอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C น้ำมะนาวจะมีคุณภาพลดลง ลักษณะทางเคมีและกายภาพและปริมาณลิโมนิน มีค่าแตกต่างจากน้ำมะนาวสดเพียงเล็กน้อย เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ค่าสี L* a* b* จะสอดคล้องกับค่าดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำมะนาว ที่อุณหภูมิ 35 °C ค่าจะแตกต่างกับน้ำมะนาวสดเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน และเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 และ 55 °C ค่าจะแตกต่างกับน้ำมะนาวสดเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ส่วนวิตามินซีซึ่งเป็นสารที่มีความสำคัญในน้ำมะนาว จึงใช้เป็นเกณฑ์ในการทำนายอายุการเก็บรักษา ด้วยปริมาณวิตามินซีที่เปลี่ยนแปลงไป จากการศึกษาจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยา (kinetic reaction) เพื่อประเมินอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาว พบว่าการลดลงของปริมาณวิตามินซีเป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับ 1 เมื่อทำนายอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C จะมีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน

5. จากการศึกษาอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 13 สัปดาห์ พบว่าลักษณะทางเคมีและกายภาพและปริมาณลิโมนิน มีค่าแตกต่างจากน้ำมะนาวสดเล็กน้อย เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ส่วนค่าดัชนีการเกิดสีน้ำตาลในน้ำมะนาวจะแตกต่างกับน้ำมะนาวสดเมื่อผ่านการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ หรือ 84 วัน ซึ่งน้ำมะนาวจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมาก ปริมาณวิตามินซีจะลดลงไปร้อยละ 50 ซึ่งไม่เป็นที่ยอมรับในสัปดาห์ที่ 6 หรือ 42 วัน และไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ในตัวอย่างน้ำมะนาวตลอดอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C และจากการทำนายอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C จากสภาวะเร่ง (ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 °C) ทำให้ทราบว่าเมื่อเก็บรักษาน้ำมะนาวที่อุณหภูมิ 4 °C จากการทดลองสามารถเก็บรักษาน้ำมะนาวได้ 42 วัน ซึ่งนานกว่าเมื่อทำนายอายุการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4 °C สามารถเก็บรักษาได้ 1 วัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการพาสเจอร์ไรส์น้ำมะนาวพบว่าอุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 37.59 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ลักษณะทางเคมีและกายภาพ ปริมาณลิโมนิน ไม่แตกต่างกับน้ำมะนาวสดและวิตามินซีแตกต่างกับน้ำมะนาวสดน้อยที่สุด แต่เป็นพาสเจอร์ไรส์ด้วยอุณหภูมิที่ต่ำและใช้ระยะเวลานาน ซึ่งในด้านอุตสาหกรรมอาจทำให้สิ้นเปลืองพลังงาน ซึ่งอาจไม่เหมาะสมกับการนำวิธีนี้ไปใช้ ดังนั้นจึงควรที่จะมีการคิดค้นวิธีการอื่น ๆ ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสิ่งสำคัญของการเสื่อมเสียของน้ำผลไม้และน้ำมะนาว เช่น การใช้เมมเบรนในการกรองจุลินทรีย์ ใช้แสงอัลตราไวโอเลตทำลายเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น

2. จากการศึกษาอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ พบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C น้ำมะนาวจะมีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 42 วัน แต่ถ้าหากเปลี่ยนภาชนะบรรจุจากเดิม บรรจุในขวดโพลีโพรพิลีนไปบรรจุในถุงเพาช์แทน อาจทำให้น้ำมะนาวมีอายุการเก็บนานขึ้น เนื่องจากถุงเพาช์สามารถลดการซึมผ่านของออกซิเจนระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งออกซิเจนเป็นสาเหตุให้เกิดการออกซิไดซ์ของวิตามินซีในน้ำมะนาว และทำให้เกิดสีน้ำตาลระหว่างการเก็บรักษาได้

3. จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำมะนาว ควรทดสอบด้วยวิธีที่สามารถระบุถึงระดับของกลิ่น และความขม ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญที่ทำให้รสชาติในน้ำมะนาวเปลี่ยนแปลงไป เช่นการทดสอบด้วยวิธี Qualitative Data Analysis (QDA) จะสามารถระบุได้ถึงระดับความขมของน้ำมะนาว ทำให้สามารถใช้เป็นตัวชี้วัดคุณภาพของน้ำมะนาวได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

งามทิพย์ ภู่วโรดม. 2541. **ก๊าซกับการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จารุณี พาแก้ว. 2528. **การเน่าเสียของน้ำมะนาวโดยเชื้อจุลินทรีย์และการถนอมน้ำมะนาว**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธงชัย สุวรรณสิชณน์. 2553. **การทดสอบความแตกต่าง**. เอกสารประกอบการสอน. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธีรบูล หอสัจจากุล. 2522. **การเก็บรักษาน้ำมะนาวสดโดยใช้สารเคมีบางชนิด**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นันทนา แก้วอุบล. 2531. การทดลองเก็บมะนาวสด, น. 1-8. *ใน* **การประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่องเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวส้มเพื่อการส่งออก**. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

นิรนาม. 2530. **อุทยานสมุนไพร พุทธมณฑล**. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2534. **จุลชีววิทยาทั่วไป**. โอเอสพริ้นติ้งเฮาส์, กรงเทพฯ.

บุษกร อุตรภิชาติ. 2553. **จุลชีววิทยาทางอาหาร**. สำนักพิมพ์บริษัท นำศิลป์โฆษณา, สงขลาฯ.

ประสิทธิ์ เปรื่องเสรี. 2523. **การศึกษาเบื้องต้นในการทำน้ำมะนาวเข้มข้นปรุงรส**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปรัชญา รัศมีธรรมวงศ์. 2548. **มะนาว**. สำนักพิมพ์นาคาอินเตอร์, กรุงเทพฯ.

พวงพร โชติไกร. 2545. **จุลชีววิทยาของอาหารและนม**. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง. กรุงเทพฯ.

รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2549. อายุการเก็บของผลิตภัณฑ์, น. 106-128. *ใน* **การพัฒนาผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมเกษตร**. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

วรรณี มาวิมล. 2545. **การพัฒนากรรมวิธีการผลิตมะนาวผงและการประเมินอายุการเก็บรักษา**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วราภา มหากาญจนกุล และ มนฑกานติ์ บุญยการ. 2545. การป้องกันการปนเปื้อนข้ามของ *Salmonella typhimurium* ระหว่างการเตรียมสลัดผักโดยสารฆ่าเชื้อประเภทคลอรีน, น. 286-293. *ใน* **การประชุมทางวิชาการของมหาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40 (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร)**. มหาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิลาวัลย์ บุณย์ศุภา. 2547. **การพัฒนากรรมวิธีการผลิตมะนาวผงในระดับอุตสาหกรรม.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิไล รังสาดทอง. 2547. กรรมวิธีการแปรรูปด้วยความร้อน, น. 129-198. *ใน* **เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร**. พิมพ์ครั้งที่ 2. บริษัทเท็กซ์ แอนด์เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด. กรุงเทพฯ.

วิเศษ อัครวิทยากุล. 2542. **การปลูกมะนาว**. สำนักพิมพ์เกษตรบุ๊ค. กรุงเทพฯ.

ศิวาพร ศิวเวชช. 2519. การศึกษาการใช้สารกันบูดในการเก็บถนอมรักษาน้ำมะนาวสด. **ข่าวสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ**. 17 (174): 4-5.

ศิวาพร ศิวเวช. 2535. **วัตถุเจือปนอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร**. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ศุภกิจ แก้วถนอม. 2540. **การปลูกมะนาว**. สำนักพิมพ์อักษรสยามการพิมพ์, กรุงเทพฯ.

สมศักดิ์ วรรณศร. 2541. **สวนมะนาว**. พิมพ์ครั้งที่ 6. สำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม, กรงเทพ ฯ.

สราวุธ พัฒนาพานิชกุล และ ชุตินันท์ สิริยานนท์. 2531. **รายงานเรื่องมะนาว**. ฝ่ายวิเคราะห์การตลาด 2 กองเศรษฐกิจการตลาด กรมการค้าภายใน, กรุงเทพฯ.

สาวิตรี จันทรานุรักษ์ และ อรุณรัศมี แสงศิลา. 2547. การพัฒนากรรมวิธีการผลิตและการประเมินอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาวเข้มข้น, น. 527-534. *ใน* **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42 (สาขาประมง สาขาอุตสาหกรรมเกษตร)**. มหาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สืบเนื่อง ชัยชนะ, ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์, ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ์ และ อรุณ บ่างตระกูลนนท์. 2550. การลดการปนเปื้อนเชื้อ *Salmonella spp.* บนซากสุกรด้วยสารละลายโอโซนอิ่มตัว, น. 173-180. *ใน* **การประชุมทางวิชาการของมหาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45 (สาขาวิทยาศาสตร์)**. มหาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุดารัตน์ พุทธฤกษ์มงคล, สุจิตรตรา เหมคช, จันทิมา ภูงามเงิน และ เกตินันท์ กิตติพงศ์พิทยา. 2551. ผลของปริมาณไขมันและความร้อนระดับสเตอริไลส์ต่อคุณภาพสีของน้ำกะทิ. **วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ** 18 (1): 80-88.

สุมณฑา วัฒนสินธิ์. 2549. **จุลชีววิทยาทางอาหาร.** โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ.

เสาวภาคย์ วัฒนพาหุ. 2545. **การยืดอายุการเก็บน้ำมะนาวด้วยวิธีการทางเคมีและกายภาพ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรุณี อภิชาติสรางกูร. 2516. **การใช้สารกันเสียในการเก็บถนอมอาหารรักษาน้ำมะนาว**. สัมมนาปริญญาตรี, ภาควิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อังคนาวรรณ สืบประดิษฐ์, จิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร และ ปัทมา ระตะนะอาพร. 2553. ความเหมาะสมของชนิดสาหร่ายและชนิดรสชาติในการผลิตซอสส่าหร่าย, น. 176-183. *ใน* **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 (สาขาประมง)**. มหาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

A.O.A.C. 1995. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 13th ed., The Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.

A.O.A.C. 2000. **Official Methods of Analysis**. 17th ed., Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, Maryland.

Abbasi, A. and M. Niakousari. 2008. Kinetics of ascorbic acid degradation in un-pasteurized Iranian lemon juice during regular storage conditions. **Pakistan Journal of Biological Science**. 11(10): 1365-1369.

Alwazeer, D., R. Cachon and C. Divies. 2002. Behavior of Lactobacillus plantarum and *Saccharomyces cerevisiae* in fresh and thermally processed orange juice. **Journal of Food Protection**. 65: 1586-1589.

Al-Zubaidy, M.M.I. and R.A. Khalil. 2007. Kinetic and prediction studies of ascorbic acid degradation in normal and concentrate local lemon juice during storage. **Food Chemistry**. 101: 254-259**.**

Arena, E., B. Fallico and E. Maccarone. 2001. Thermal damage in blood orange juice: kinetics of 5-hydroxymethyl-2-furancarboxal-dehyde formation. **International Journal of Food Science and Technology**. 36(2): 145-151.

Australian Department of Health and Ageing. 1999. Salmonallosis outbreak, South Australia. **Communicable Diseases Intellligence**. 23(3): 73.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Ayhan, Z., H.W. Yeom, Q.H. Zhang and D.B. Min. 2001. Flavor, color, and vitamin C retention of pulsed electric field processed orange juice in different packaging materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 49(2): 669-674.

Baker, R.C., P.W. Hahn and K.R. Robbins. 1988. Develments in Food Sciences 16, Foundamentals of New Food Product Development. **Elservier Science Publishing Comp, Inc.**, New York, p. 287.

Beveridge, T., K.Y. Franz and J.E. Harrison. 1986. Clarified natural apple juice: production and storage stability of juice and concentrate. **Journal of Food Science**. 51: 411-414.

Bezman, Y., R.L. Rouseff and M. Naim. 2001. 2-methyl-3-furanthiol and methional are possible off-flavors in stored orange juice: aroma-similarity, NIF/SNIF GC-O, and GC analyses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 49(11): 5425-5432.

Bezman, Y., R.L. Rousseff and M. Naim. 2001. 2-Methyl-3-furanthiol and methional are possible off-flavors in stored orange juice: Aroma similarity, NIF/SNIF GC-O, and GC analyses. **Journal of Food Science**. 62(1): 85-88.

Blasco, R., M.J. Esteve, A. Frigola and M. Rodrigo. 2004. Ascorbic acid degradation kinetics in mushrooms in a high-temperature short-time process controlled by a thermoresistometer. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**. 37: 171-175.

Bracket, R.E. 1997. Fruits, vegetables and grains. *In* M.P. Doyle, L.R. Beuchat, T.J. Montville, **Food Microbiology Fundamentals and Frontiers**, pp. 121. Washington, DC: ASM Press.

Breksa, A.P., A.A. Zukas and G.D. Manners. 2005. Determination of limonoate and nomilinoate A-ring lactones in citrus juices by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of Chromatography**. 1064: 187-191.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Buedo, A.P., M.P. Elustondo and M.J. Urbicain. 2001. Non-enzymatic browning of peach juice concentrate during storage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. 1: 255-260.

Buera, M.P., J. Chirife, S.L. Resnik and R.D. Lozano. 1987. Nonenzymatic browning in liquid model systems of high water activity: Kinetics of color changes due to caramelization of various single sugars. **Journal of Food Science**. 52: 1059-1062.

Bull,. M.K., K. Zerdin, E. Howe, D. Goicoechea, P. Paramanandhan, R. Stockman, J. Sellahewa, E.A. Szabo, R.L. Johnson, and C.M. Stewart. 2004. The effect of high pressure processing on the microbial, physical and chemical properties of Valencia and Navel orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. 5: 135-149.

Carr, A.C. and B. Frei. 1999. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**. 69: 1086-1107.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 1996. Outbreak of *Escherichai coli* O157:H7 infections associated with drinking unpasteurized commercial apple juice-British Columbia, California, Colorado, and Washington. **Morbidity and Mortality Weekly Report**. 45: 975.

Chen, C.S., P.E. Shaw and M.E. Paris. 1993. Orange and tangerine juices. *In* S. Nagy, C.S. Chen, and P.E. Shaw (Eds.), **Fruit juice processing technology**, pp. 110-165. Auburndale, Florida: Agscience.

Choi, M.H., G.H. Kim and H.S. Lee. 2002. Effect of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage. **Food Research Internatinal**. 35: 753-759.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Clark, J., B.C. and T.S. Chamblee. 1992. Acid-catalyzed reactions of citrus oils and other terpene-containing flavors. *In* Off-flavors in Foods and Beverages; Charalambous, G., Ed. **Elsevier Science Publishers**: Amsterdam. 229-285.

Clegg, K.M. 1964. Nonenzymic browning of lemon juice. **Journal of the Science of Food and Agricuture**. 15: 878-885.

Cook, K.A., T.E. Dobbs, W.G. Hlady, T.J. Barrett, N.D. Puhr, G.A. Lancette, D.W. Bodager, B.L. Toth, C.A. Genese, A.K. Highsmith, K.E. Pilot, L. Finelli and D.L. Swerdlow. 1998. Outbreak of *Salmonella* serotype Hartford infections associated with unpasteurized orange juice. **Journal of American Medical Association**. 280 (17): 1504-1509.

Cornwell, C.J. and R.E. Wrolstad. 1981. Causes of browning in pear juice concentrate during storage. **Journal of Food Science**. 46: 515-518.

Cortes, C., M.J. Esteve and A. Frigola. 2008b. Effect of refrigerated storage on ascorbic acid content of orange juice treated by pulsed electric fields and thermal pasteurization. **European Food Research and Technology**. 227: 629-635.

Dar, G.H., Y. Zargar and G.H. Shah. 1992. Effect of processing operations and heat treatment on physico-chemical characteristics and microbiological load of apple juice concentrate. **Indian Food Pack**. 46: 45-50.

El Ashwah, F.A., H.K. El Manatawy, H.N. Habashy, and M.A. El Shiaty. 1974. Effect of storage on fruit juices: Frozen lime juice. **Agricultural Research Review**. 52 (9): 79-85.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Elez-Martinez, P. and O. Martin-Belloso. 2007. Effects of high intensity pulsed electric field processing conditions on vitamin C and antioxidant capacity of orange juice and gazpacho, a cold vegetable soup. **Food Chemistry**. 102: 201-209.

Elez-Martinez, P., R.C. Soliva-Fortuny and O. Martin-Belloso. 2006. Comparative study on shelf life of orange juice processed by high intensity pulsed electric fields or heat treatment. **European Food Research and Technology**. 222: 321-329.

Eskin, N.A.M. 1990. Biochemistry of food processing: Browning reactions in foods, pp. 240-295. *In* **Biochemistry of Foods**. 2nd ed. Academic Press, London.

Esteve,M.J., R.Farre and A. Frigola. 1995. Changes in ascorbic acid content of green asparagus during the harvesting period and storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 43: 2058-2061.

Esty, J.R. and K.F. Meyer. 1922. The Heat Resistance of Spore of Clostridium botulinum and Allied Anaerobes. *In* Frazier, W. C. and D. C. Westhoff. **Food Microbiology**. Avi. Publ. Co. Connecticut.

Ewaidah, E.H. 1992. Studies on commercially canned juices produced locally in Saudi-Arabia. 3. Physicochemical, organoleptic and microbiological assessment. **Food Chemistry**. 44 (2): 103-111.

Fernandez, G.A., P. Franz, A. Bognar and B. Tauscher. 2001. Antioxidative capacity, nutrient content and sensory quality of orange juice and an orange-lemon-carrot juice product after high pressure treatment and storage in different packaging. **European Food Research and Technology**. 213: 290-296.

Frazier, W.C. and D.C. Westhoff. 1978. **Food Microbiology**. 3rd ed., Tata McGraw-Hill, New Delhi.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Garza, S., J.A. Teixido, V. Sanchis, I. Vinas and S. Condon. 1994. Heat resistance of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from spoiled peach puree. **International Journal of Food Microbiology**. 23: 209-213.

Gazzani, G., P. Vagnarelli, M.T. Cuzzoni and P.G. Mazza. 1987. Mutagenic activity of the maillard reaction products of ribose with different amino acids. **Journal of Food Science**. 52: 757-760.

Girones-Vilaplana, A., P. Mena, C. Garcia-Viguera, and D.A. Moreno. 2012. A novel beverage rich in antioxidant phenolics: Maqui berry (Aristotelia chilensis) and lemon juice. **LWT-Food Science and Technology**. 1-8.

Gonzalez-Molina, E., D.A. Moreno and C. Garcia-Viguera. 2009. A new drink rich in healthy bioactives combining lemon and pomegranate juices. **Food Chemistry**. 115: 1364-1372.

Goyle, A. and P. Ojha. 1998. Effect of storage on vitamin C, microbial load and sensory attributes of orange juice. **Journal of Food Science and Technology**. 35 (4): 346-348.

Gregory, J.F. 1996. Vitamins, pp. 532-610. *In* O.R. Fennema, eds. **Food Chemistry**. 3rd ed., Marcel Denkker Publ. Co. Inc., New York.

Hancock, R.D. and R. Viola. 2005. Improving the nutritional value of crops through enhancement of L-ascorbic acid (vitamin C) content: rationale and biotechnological opportunities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 53: 5248-5257.

Hande, S.B., N. Koca and F. Karadeniz. 2006. Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. **Journal of Food Engineering**. 74: 211-216.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Heikal, H.A., H.E. Manawaty, G. Shaker and L. Gamali. 1972. Concentration of citrus juices. I. Factors and affecting the quality and stability of concentrated lime juices by the vacuum method. **Agricultural Research Review**. 50 (4): 139-147.

Hocking, A.D. and N. Jensen. 2001. Soft drinks, cordials, juice, bottled water and related products, pp. 93-94. *In* **Spoilage of Processed Food: Causes and Diagnosis**. Waterloo NSW: AIFAT Inc. (NSW Btanch) Food Microbiology Group.

Ibarz, A., J. Pagan and S. Garza. 1999. Kinetic models for color changes in pear puree during heating at relatively high temperatures. **Journal of Food Engineering**. 39: 415-422.

Ingram, M. and H. Luthi. 1961. Microbiology of fruit juices, pp. 117-163. *In* D.K. Tressler and M.A. Joslyn, eds. **Fruit and Vegetable Juice Processing Technology**. AVI Publ. Co.Inc., Westport Connecticut.

Johnson, J.R., R.J. Braddock and C.S. Chen. 1995. Kinetics of ascorbic acid loss and nonenzymatic browning in orange juice serum: experimental rate constants. **Journal of Food Science**. 60: 502-505.

Katherine, Z., L.R. Michael and V. Joost. 2003. The vitamin C content of orange juice packed in an oxygen scavenger material. **Food Chemistry**. 82: 387-395.

Kenawi, M.A., L.A. Shekib and N.M. Elshimi. 1994. The storage effects of calcium-fortified orange juice concentrate in different packaging materials. **Plant Foods for Human Nutrition**. 45 (3): 265-275.

Kennedy, J.F., Z.S. Rivera, L.L. Lloyd, F.P. Warner and K. Jumel. 1992. L-ascorbic-acid stability in aseptically processed orange juice in tetrabrik cartons and the effect of oxygen. **Food Chemistry**. 45: 327-331.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Kimball, D.A. 1999. **Citrus Processing a Complete Guide**. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, Inc.

Kimball, D.A. 1991. **Citrus Processing Quality Control and Technology**. AVLPubl. Co.Inc., New York.

Koca, N., H.S. Burdurlu, and F.Karadeniz. 2003. Kinetics of nonenzymatic browning reaction in citrus juice concentrate during storage. **Turkish Journal of Agricultural Forestry**. 27: 353-360.

Lal, G., G.L. Tandon and G.S. Sidpa. 1960. **Preservation of Fruit and Vegetables**. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi.

Lee, C.Y., D.L. Downing, H.D. Iredale and J.A. Chapman. 1976. The variations of ascorbic acid content in vegetable processing. **Food Chemistry**. 1: 15-22.

Lee, H.S. and C.S. Chen. 1998. Rates of vitamin C loss and discoloration in clear orange juice concentrate during storage at temperatures of 4-24 ºC. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 46 (11): 4723-4727.

Lee, H.S. and G.A. Coates. 1999. Vitamin C content in frozen, fresh squeezed, unpasteurized polyethylene-bottle orange juice: a storage study. **Food Chemistry**. 65: 165-168.

Lee, H.S. and G.A. Coates. 2003. Effect of thermal pasteurization on Valencia orange juice color and pigments. **Lebensmittel-Wissens-chaft-Technologie**. 36: 153-156.

Lee, H. and S. Nagy. 1988. Quality change and nonenzymatic browning intermediate in grapefruit juice during storage. **Journal of Food Science**. 53: 268-172.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Lee, S.K. and A.A. Kader. 2000. Preharvest and postharvest factors in influencing vitamin C content of horticultural crops. **Postharvest Biology and Technology**. 20: 207-220.

Lessin, W.J., G.L. Catigani and S.J. Schwartz. 1997. Quantification of cis-trans isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables**. Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 45: 3728-3732.

Liao, M.L., and P.A. Seib. 1988. Chemistry of L-ascorbic acid related to food. **Food Chemistry**. 30: 289-312.

Lima, M., B.F. Heskitt, L.L. Burianek, S.E. Nokes and S.K. Sastry. 1999. Ascorbic acid degradation kinetics during conventional and ohmic heating. **Journal of Food Processing and Preservation**. 23 (5): 421-434.

Maier, V.P., S. Hasegawa and E. Hera. 1969. Limonin D-ring lactone hydrolase, a new limonin derivative in citrus. **Phytochemistry**. 8: 243-248.

Maier, V.P., R.D. Bennett and S. Hasegawa. 1977. Limonin and other limonoids in citrus, science and technology. Vol.1. Publishing. **Westport Connecticut**. 335-396.

Manso, C., F. Oliveria, J. Oliveria and J. Frias. 2001. Modeling of ascorbic acid thermal degradation and browning in orange juice under aerobic conditions. **International Journal of Food Science and Technology**. 36: 303-312.

Manso, M.C., F.A. R. Oliveira, J.C. Oliveira and J.M. Frias. 2001. Modelling ascorbic acid thermal degradation and browning in orange juice: Kinetics of pectinmethylesterase inactivation. **Journal of Food Science**. 66 (2): 328-331.

Marks, J. 1993. Biological functions of vitamin, pp. 1-18. *In* **The Technology of Vitamins in Food**. Chapman and Hall, London.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Mazzotta, A.S. 2001. Thermal inactivation of stationary-phase and acid-adapted *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* in fruit juices. **Journal of Food Protection**. 64: 315-320.

McAuley C.M., K.S. Gobius, M.L. Britz and H.M. Craven. 2012. Heat resistance of thermoduric enterococci isolated from milk. **International Journal of Food Microbiology.** 154: 162-168.

McKnight, I.C., M.N.U. Eiroa, A.S. Sant'Ana and P.R. Massaguer. 2010. *Alicyclobacillus acidoterrestris* in pasteurized exotic Brazilian fruit juices: Isolation, genotypic characterization and heat resistance. **Food Microbiology**. 27: 1016-1022.

Meydev, S., I. Saguy and I. Kopelman. 1977. Browning determination in citrus products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 25 (3): 602-604.

Min, S., Z.T. Jin, S.K. Min, H. Yeom and Q.H. Zhang. 2003. Commercial-scale pulsed electric field processing of orange juice. **Journal of Food Science**. 68: 1265-1271.

Murata, M., Y. Shinoda and S. Homma. 2002. Browning of model orange juice solution and changes in the components. **International Congress Series**. 1245: 459-460.

Nienaber, U., and T.H. Shellhammer. 2001a. High-pressure processing of orange juice: Combination treatments and a shelf life study. **Journal of Food Science**. 66: 332-336.

Noctor, G. and C. H. Foyer. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. 49: 249-279.

Ohta, H. and S. Hasegawa. 1995. Limonoids in pummelo [Citrus grandis (L.) Osbeck]. **Journal of Food Science**. 60: 1284-1285.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Palou, E., A. Lopez-Malo, G.V. Barbosa-Canovas, J. Welti-Chanes and B.G. Swanson. 1999. Polyphenoloxidase Activity and Color of Blanched and High Hydrostatic Pressure Treated Banana Puree. **Journal of Food Science**. 64: 42-45.

Pareek, S., R. Paliwal and S. Mukherjee. 2010. Effect of juice extraction methods and processing temperature-time on juice quality of Nagpur mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) during storage. **Journal of Food Science and Technology**. 7.

Parish, M.E. 1998. Orange juice quality after treatment by thermal pasteurization or isostatic high pressure. **Journal of Food Science and Technology**. 31: 439-442.

Plaza, L., C. Sanchez-Moreno, P. Elez-Martinez, B. De Ancos, O. Martin-Belloso, and M.P. Cano. 2006. Effect of refrigerated storage on vitamin C and antioxidant activity of orange juice processed by high-pressure or pulsed electric fields with regard to low pasteurization. **European Food Research and Technology**. 223: 487-493.

Polydera, A.C., E. Galanou, N.G. Stoforos and P.S. Taoukis. 2004. Inactivation kinetics of pectin methylesterase of Greek Navel orange juice as a function of high hydrostatic pressure and temperature process conditions. **Journal of Food Engineering**. 62: 291-298.

Polydera, A.C., N.G. Stoforos and P.S. Taoukis. 2003. Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurised and high pressure processed reconstituted orange juice. **Journal of Food Engineering**. 60: 21-29.

Polydera, A.C., N.G. Stoforos and P.S. Taoukis. 2005. Quality degradation kinetics of pasteurised and high pressure processed fresh Navel orange juice: Nutritional parameters and shelf life. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. 6: 1-9.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Pruthi, J.S. and G. Lal. 1951. Preservation of citrus fruit juices. **Journal of Scientific and Industrial Research**. 10: 36-41.

Puri, M., S.S. Marwaha, R.M. Kothari and J.F. Kennedy. 1996. Biochemicial basis of bitterness in citrus fruit juice and biotech approaches for debittering. **Critical Reviews in Biotechnology**. 16: 145-155.

Rassis, D. and I. Saguy. 1995. Oxygen effect nonenzymatic browning and vitamin C in commercial citrus juice and concentrate. **Labensmittel-Wissenschaft u-Technology**. 28: 285-290.

Recca, J. and E.M. Mrak. 1952. Yeasts occurring in citrus products. **Food Technology**. 6: 450-454.

Ringblom, U. 2004. **The orange book**. Lund, Sweden: Tetra Pak Processing Systems.

Robertson, G.L. and C.M. Saminego-Esguerra. 1986. Effect of initial dissolved oxygen levels on the degradation of ascorbic acid and browning of lemon juice during storage. **Journal of Food Science**. 51: 184-187.

Robertson, G.L., and C.M. Saminego-Esguerra. 1990. Effect of soluble solids and temperature on ascorbic acid degradation in lemon juice stored in glass bottles. **Journal of Food Quality**. 13: 361-164.

Rodrigo, C., M. Rodrigo and S.M. Fiszman. 1997. The impact of high temperature, short time thermal treatment on texture and weight loss of green asparagus. **Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A**. 205 (1): 53-58.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Roig, M.G., J.F. Bello, Z.S. Rivera and J.F. Kennedy. 1999. Studies on the occurrence of non-enzymatic browning during storage of citrus juice. **Food Research International**. 32: 609-619.

Rojas, A. and L. Gerschenson. 1997. Ascorbic acid destruction in sweet aqueous model systems. **Labensmittel-Wissenschaft u-Technology**. 30: 567-572.

Rojas, A.M. and L.N. Gerschenson. 1997. Influence of system composition on ascorbic acid destruction at processing temperatures. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 74 (3): 369-378.

Sadler, G.D., M.E. Parish and L. Wicker. 1992. Microbial, enzymatic, and chemical-changes during storage of fresh and processed orange juice. **Journal of Food Science**. 57: 1187-1197.

Sadler, G., M. Parish, D. Van Clief and J. Davis. 1997. The effect of volatile absorption by packaging polymers on flavor, microorganisms and ascorbic acid in reconstituted orange juice. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie-Food Science and Technology**. 30: 686-690.

Sandhu, K.S. and K.S. Minhas. 2006. Oranges and citrus juice, pp. 309-358. *In* Y.H. Hui, M.P. Cano, T. Gusek, J.S. Sidhu and N. K. Sinha, eds. **Handbook of fruit and fruit processing: science and technology**. Ames. USA: Blackwell Publishing.

Sawamura, M., K. Takemoto and Z.F. Li. 1991. ^{14}C studies on browning of dehydroascorbic acid in an aqueous solution. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 39: 1735-1737.

Seber, G.A.F. and C.J. Wild. 1989. **Nonlinear Regression**, pp. 328-339. *In* New York: John Wiley and Sons.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Shaw, P.E. and C.W. Wilson. 1984. A rapid method for determination of limonin in citrus juices by high performance liquid chromatography. **Journal of Food Science**. 49: 1216-1218.

Simmonds, D.C. 1984. Fruit juices and soft drinks, p. 228. *In* **Food industries manual**. 21st ed. M. D. Ranken. Blackie and Sons Ltd.

Singh, R.P. 1994. Scientific principles of shelf life evaluation, pp. 3-26. *In* C. M. D. Man and A. A. Jones, eds. **Shelf life Evaluation of Foods**. Blackie Academic and Professional, London.

Singh, R.P., D.R. Heldman and J.R. Kirk. 1976. Rapid potentiometric determination of ascorbic acid. **Analytical Chemistry**. 34: 1342-1345.

Sitti, R. and B. Bundjali. 2009. Kinetics of the oxidation of vitamin C. **Prosiding Seminar Kimia Bersama UKM-ITB VIII**.

Solomon, O., H. Svanberg and A. Sahlstrm. 1995. Effect of oxygen and fluorescent light on the quality of orange juice during storage at 8 ºC. **Food Chemistry**. 53: 363-368.

Stevens, J.W. 1940. **Method of conserving fruit juice**. U.S. Pat. 2: 217-261. Oct. 8.

Stevens, J.W., D.E. Pritchett, and W.E. Baier. 1950. Control of enzymatic flocculation of cloud in citrus juice. **Food Technology**. 4: 469-473.

Swisher, H.E., and L.H. Swisher. 1980. Lemon and lime Juices, p. 125. *In* D. K. Tressler and M. A. Joslyn, eds. **Fruit and Vegetable Juice processing Technology** 3rd. West-Port. CT: AVI Pub. Co.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Tawfik, M.S. and A. Huyghebaert. 1998. Effect of storage temperature, time, dissolved oxygen and packaging materials on the quality of aseptically filled orange juice. **Acta Alimentaria**. 27 (3): 231-244.

Toribio, J.L. and J.E. Lozano. 1984. Nonenzymatic browning in apple juice concentrate during storage. **Journal of Food Science**. 49: 889-892.

Torregrosa, F., M.J. Esteve, A. Frigola and C. Cortes. 2006. Ascorbic acid stability during refrigerated storage of orange-carrot juice treated by high pulsed electric field and comparison with pasteurized juice. **Journal of Food Engineering**. 73: 339-345.

Tressler, D.K. and M.A. Joslyn. 1961. **Fruit and Vegetable Juice Processing Technology**. 1st ed. AVI Publ. Co. Inc., Westport, Connecticut.

Valpuesta, V and M.A. Botella. 2004. Biosynthesis of L-ascorbic acid in plants, new pathways for an old antioxidant. **Trends in Plant Sci**ence. 9: 573-577.

Vas, K. 1975. How to improve the keeping qualities of fruit and vegetable concentrates. **Food Manufacture**. 32: 71-76.

Vaughn, R.H. and D.I. Murdock. 1956. Sanitary significance of microorganism in frozen citrus juice. **American Journal of Public Health**. 46: 886-894.

Vicente, A.R., G.A. Manganaris, G.O. Sozzi and C.H. Crisosto. 2009. Nutritional quality of fruit and vegetables, pp. 57-106. *In* W.J. Florkowski, R.L. Shewfelt, B.Brueckner and S.E. Purssia, eds. **Posthaevest Handling: A Systems Approach**. 2nd ed. Academic Press, Elsevier. Oxford.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Yeom, H.W., C.B. Streaker, Q.H. Zhang and D.B. Min. 2000a. Effects of pulsed electric fields on the activities of microorganisms and pectin methyl esterase in orange juice. **Journal of Food Science**. 65: 1359-1363.

Yeom, H.W., C.B. Streaker, Q.H. Zhang and D.B. Min. 2000b. Effects of plused eletric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 48: 4597-4605.

Zapata, S. and J.P. Dufour. 1992. Ascorbic, dehydroascorbic and isoascorbic acid simultaneous determinations by reverse phase ion interaction HPLC. **Journal of Food Science**. 57 (1): 506-511.

Zerdin, K., M.L. Rooney and J. Vermue. 2003. The vitamin C content of orange juice packed in an oxygen scavenger material. **Food Chemistry**. 82: 387-395.

Ziegler, M., H. Brandauer., E Ziegler. and G. Ziegler. 1991. A different aging model for orange oil: deterioration products. **Journal of Essential Oil Research**. 3: 209-220.

Ziena, H. 2000. Quality attributes of bears seedless lime juice during storage. **Food Chemistry**. 71: 167-172.

Zulueta, A., M.J. Esteve and A. Frigola. 2010. Ascorbic acid in orange juice-milk beverage treated by high intensity pulsed electric fields and its stability during storage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. 11: 84-90.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

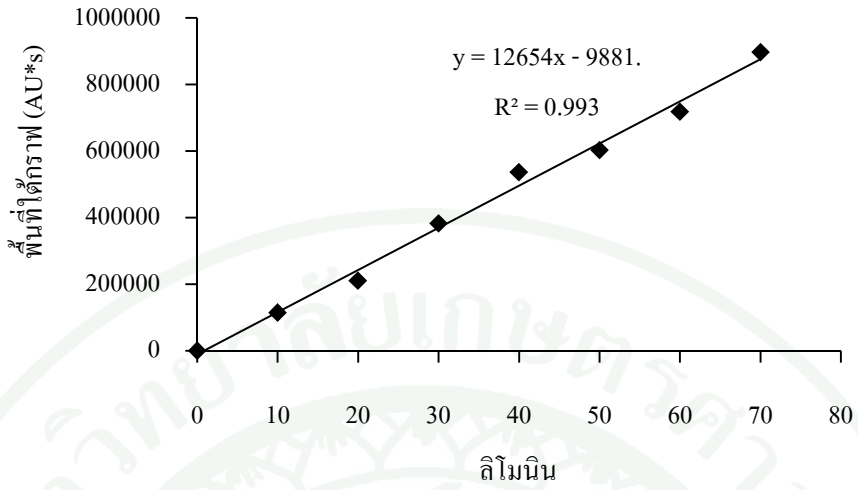
ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

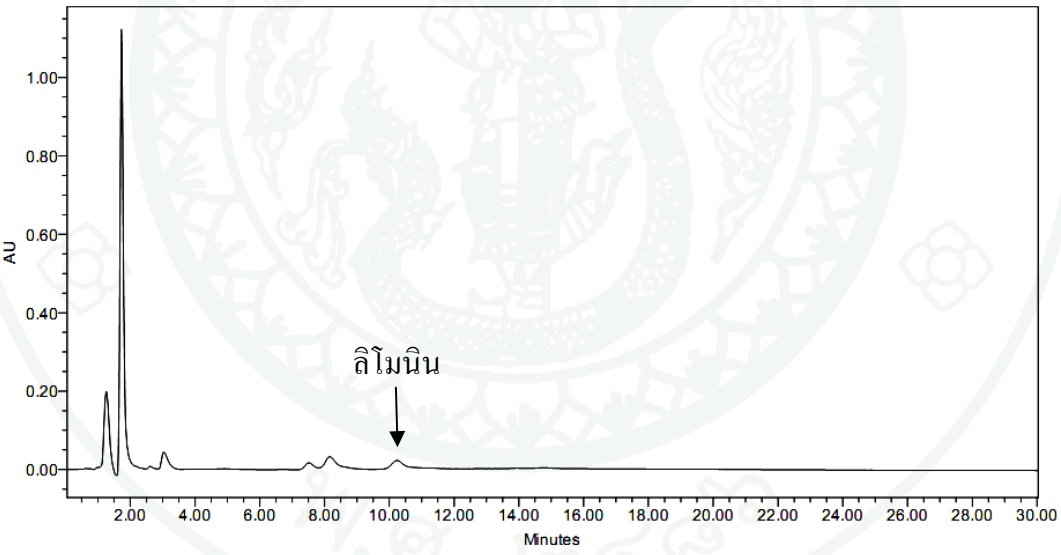
ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ปริมาณลิโมนินและวิตามินซี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

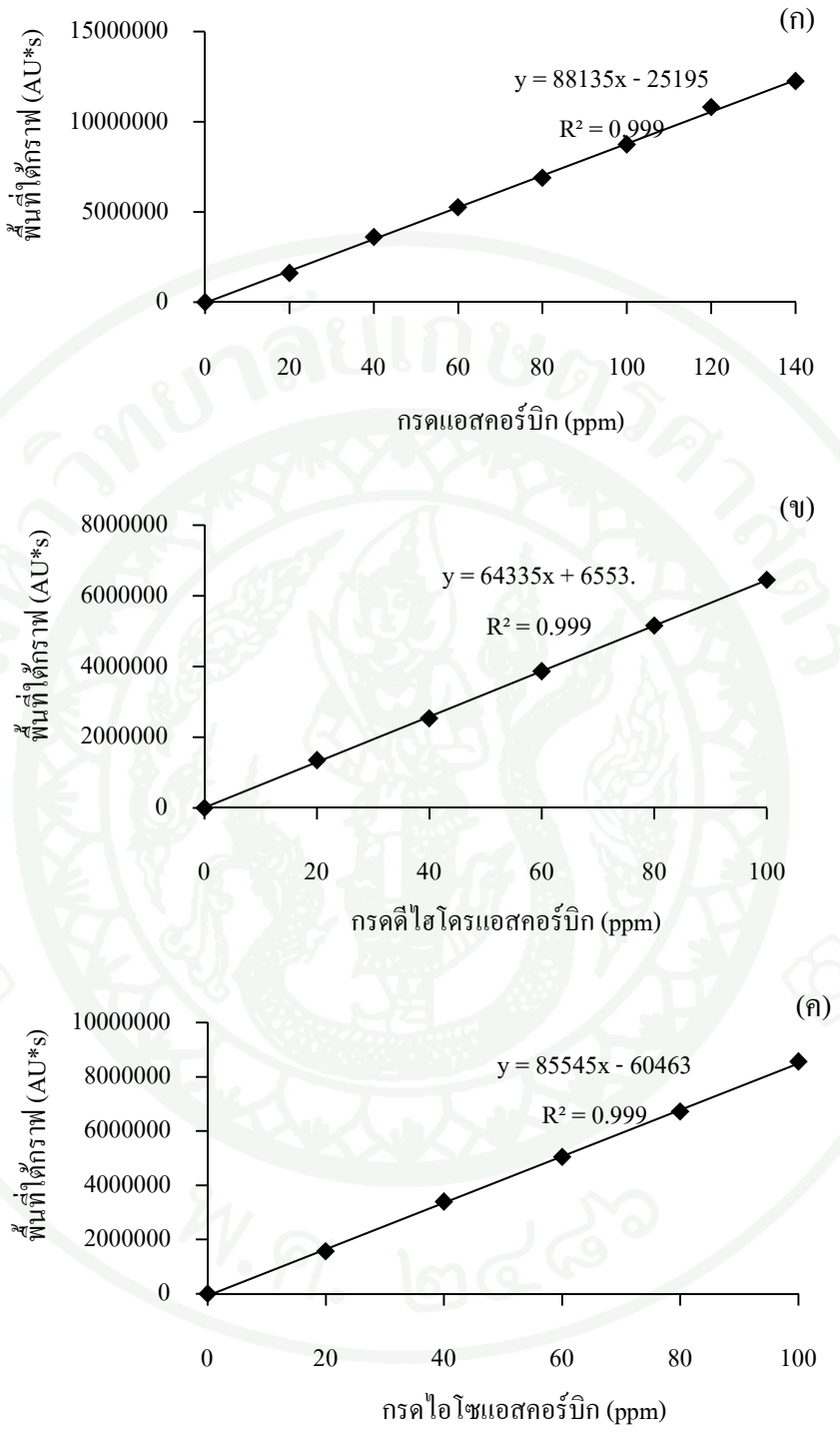


ภาพผนวกที่ ก1 กราฟมาตรฐานของลิโมนิน



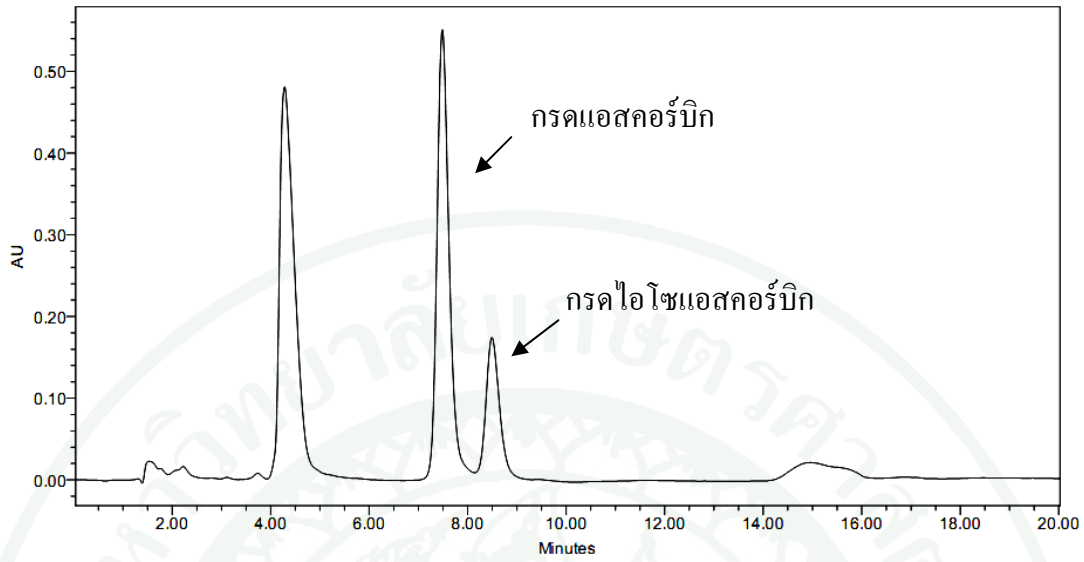
ภาพผนวกที่ ก2 ตัวอย่างโครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์ลิโมนินในน้ำมะนาว โดยเทคนิค HPLC ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

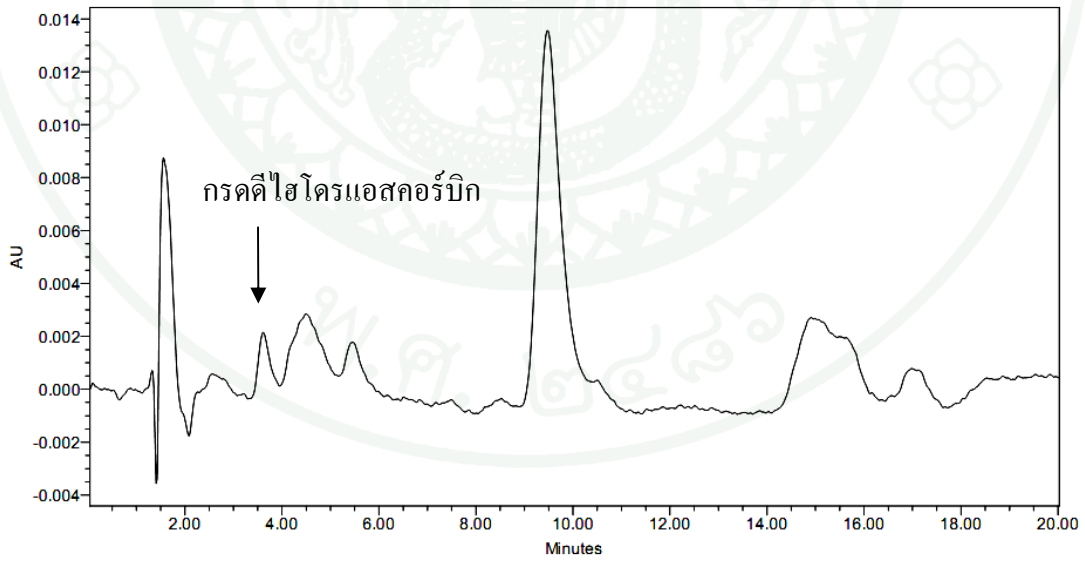


ภาพผนวกที่ ก3 กราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิก (ก) กราฟมาตรฐานของกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (ข) และกราฟมาตรฐานของกรดไอโซแอสคอร์บิก (ค)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ ก4 ตัวอย่างโครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์กรดแอสคอร์บิกในน้ำมะนาว และกรดไอโซแอสคอร์บิกเป็น internal standard โดยเทคนิค HPLC ที่ความยาวคลื่น 261 นาโนเมตร



ภาพผนวกที่ ก5 ตัวอย่างโครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกในน้ำมะนาว โดยเทคนิค HPLC ที่ความยาวคลื่น 348 นาโนเมตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ข

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ใบรายงานผลการทดสอบ : วิธี Difference from control (attribute)

ตัวอย่าง น้ำมะนาว ผู้ทดสอบ_____ วันที่_____

คำแนะนำ : 1. จะได้รับตัวอย่าง 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างหนึ่งเป็นตัวอย่างควบคุม (C) และตัวอย่างที่ทดสอบจะ เป็นตัวอย่างที่มีเลขรหัส 3 ตัว

2. ให้ประเมินตัวอย่างควบคุมก่อน แล้วจึงประเมินตัวอย่างรหัสตามลำดับจากซ้ายไปขวา ระบุถึงขนาดความแตกต่างเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม ใช้แครกเกอร์คั่นระหว่างตัวอย่าง

3. ทำเครื่องหมาย (X) บนช่อง เพื่อชี้ให้เห็นความแตกต่างพร้อมระบุ รหัสตัวอย่าง

0 หมายถึง ไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม

1 หมายถึง แตกต่างโดยมากกว่าตัวอย่างควบคุมน้อยที่สุด

2 หมายถึง แตกต่างโดยมากกว่าตัวอย่างควบคุมเล็กน้อย

3 หมายถึง แตกต่างโดยมากกว่าตัวอย่างควบคุมปานกลาง

4 หมายถึง แตกต่างโดยมากกว่าตัวอย่างควบคุมมาก

5 หมายถึง แตกต่างโดยมากกว่าตัวอย่างควบคุมมากที่สุด

รสขม

รหัสตัวอย่าง	0	1	2	3	4	5
ตัวอย่างควบคุม						

กลิ่นต้ม

รหัสตัวอย่าง	0	1	2	3	4	5
ตัวอย่างควบคุม						

สี

รหัสตัวอย่าง	0	1	2	3	4	5
ตัวอย่างควบคุม						

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แบบสอบถามทางด้านประสาทสัมผัส

Ranking test

ชื่อผู้ทดสอบชิม……..……วันที่……..……

คำชี้แจง โปรดทำการทดสอบชิมผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง แล้วเรียงลำดับความขมและกลิ่นต้มของตัวอย่าง โดยเขียน

“1” ให้ตรงกับตัวอย่างที่มีความขมและกลิ่นต้มน้อยที่สุด

“5” ให้ตรงกับตัวอย่างที่มีความขมและกลิ่นต้มมากที่สุด

โดยเรียงลำดับ 1, 2, 3, 4, 5

กรุณาบ้วนปากก่อนชิมตัวอย่างทุกครั้ง กรุณาทดสอบตัวอย่างทีละตัวอย่าง

โดยเรียงลำดับตามรหัสจากซ้ายไปขวา

ลำดับ	รหัส_____	รหัส_____	รหัส_____	รหัส_____	รหัส_____
ความขม					

ลำดับ	รหัส_____	รหัส_____	รหัส_____	รหัส_____	รหัส_____
กลิ่นต้ม					

คำชี้แจง โปรดทำการทดสอบชิมผลิตภัณฑ์ตัวอย่างต่อไปนี้ และให้ระดับความชอบต่อผลิตภัณฑ์ดังกล่าว โดยตัวอย่างที่ท่านชอบมากที่สุดเป็นลำดับที่ 1

ตัวอย่างที่ท่านชอบน้อยที่สุดเป็นลำดับที่ 5

โดยเรียงลำดับ 1, 2, 3, 4, 5

กรุณาบ้วนปากก่อนชิมตัวอย่างทุกครั้ง กรุณาทดสอบตัวอย่างทีละตัวอย่าง

โดยเรียงลำดับตามรหัสจากซ้ายไปขวา

ลำดับ	รหัส____	รหัส____	รหัส____	รหัส____	รหัส_____
ความชอบโดยรวม					

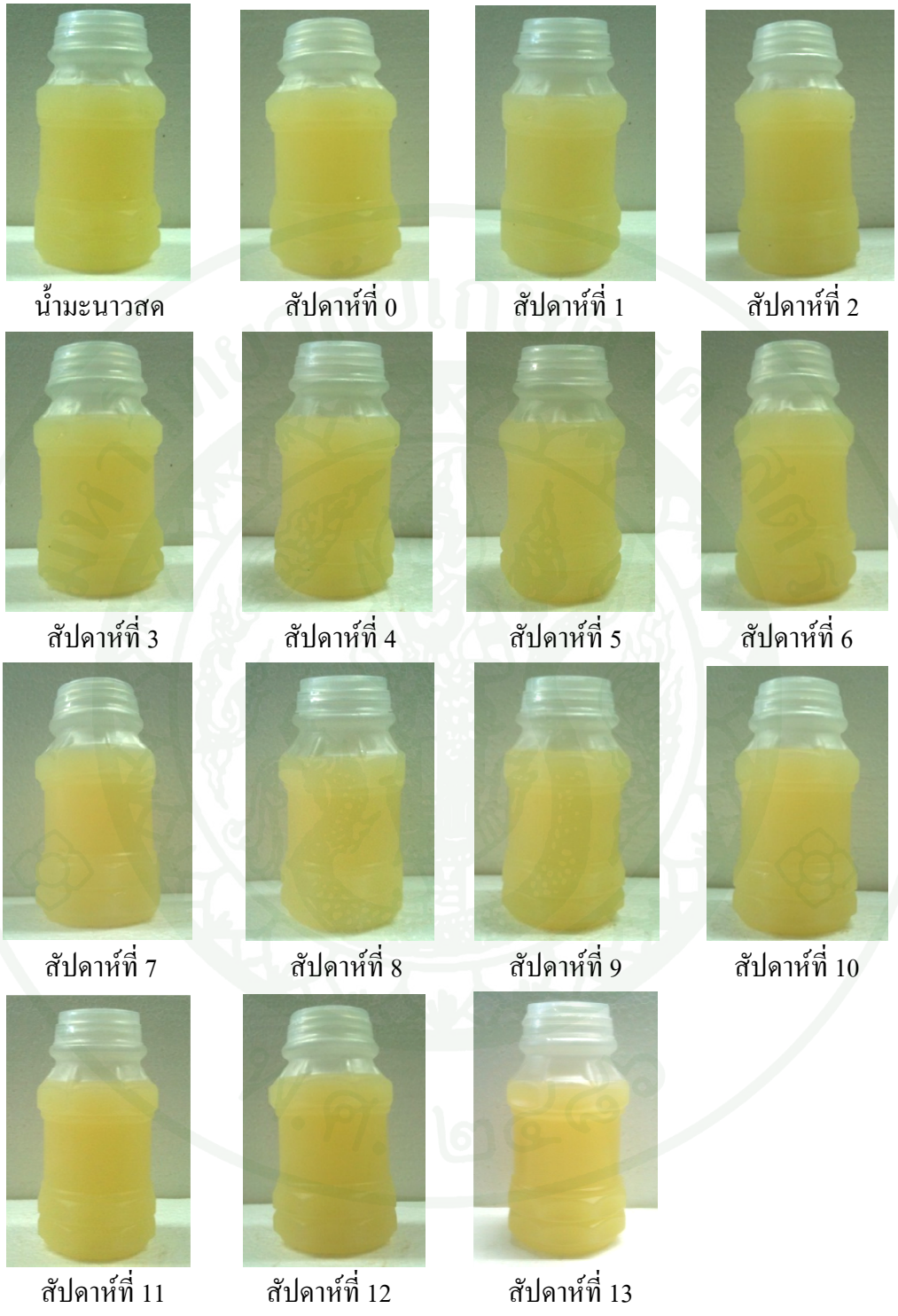
ข้อเสนอแนะ……..

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก ค

การประเมินอายุการเก็บรักษาน้ำมะนาว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ ค1 การเปลี่ยนแปลงของน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 13 สัปดาห์ (3 เดือน)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ ค1 ลักษณะทางเคมีและกายภาพ ปริมาณลิโมนิน กรดแอสคอร์บิก กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก และวิตามินซีทั้งหมดของน้ำมะนาวสด เปรียบเทียบกับน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 35 °C

เวลาการเก็บ (สัปดาห์)	ค่ากรด-เบส	TSS (ºBrix)	กรดซิตริก	ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล	L*	a*	b*	ตะกอน
น้ำมะนาวสด	2.37±0.01^{a}	7.10±0.10^{ns}	6.98±0.05^{ns}	21.72±0.03^{a}	82.73±0.02^{a}	-0.71±0.01^{a}	19.79±0.01^{a}	97.83±0.00^{ns}
0	2.37±0.01^{a}	7.00±0.00	7.14±0.06	24.55±1.26^{a}	78.50±1.61^{a}	-0.34±0.07^{a}	21.11±0.36^{a}	98.55±0.54
3	2.36±0.01^{a}	7.20±0.00	7.07±0.00	26.17±1.50^{a}	76.16±1.74^{b}	-0.19±0.01^{b}	21.83±0.48^{a}	98.89±0.26
6	2.55±0.04^{b}	7.40±0.00	7.14±0.06	30.15±1.11^{b}	75.25±2.07^{b}	-0.03±0.03^{b}	24.83±0.08^{b}	98.92±0.16
9	2.59±0.02^{b}	7.20±0.00	7.18±0.05	30.69±2.37^{b}	77.53±1.30^{b}	0.09±0.16^{b}	25.81±0.95^{b}	98.48±0.08
12	2.63±0.00^{b}	7.20±0.20	6.78±0.29	35.91±2.34^{b}	73.81±1.49^{b}	0.84±0.18^{b}	28.50±0.76^{b}	99.56±0.68
15	2.45±0.01^{b}	7.30±0.10	7.04±0.06	40.69±0.67^{b}	71.36±0.73^{b}	1.50±0.13^{b}	31.11±0.01^{b}	99.03±0.05
18	2.49±0.02^{b}	7.40±0.00	7.14±0.03	42.22±0.70^{b}	71.89±0.57^{b}	1.96±0.01^{b}	32.19±0.19^{b}	98.76±0.23
21	2.53±0.00^{b}	7.50±0.10	7.17±0.16	41.58±0.33^{b}	75.05±0.15^{b}	1.85±0.01^{b}	32.96±0.15^{b}	98.17±0.94
24	2.51±0.00^{b}	7.50±0.10	7.12±0.08	41.96±0.62^{b}	77.48±0.62^{b}	1.98±0.08^{b}	34.11±0.08^{b}	98.22±0.20
27	2.58±0.01^{b}	7.40±0.00	7.09±0.05	46.56±0.01^{b}	72.32±1.07^{b}	2.77±0.02^{b}	35.35±0.43^{b}	98.37±0.48
30	2.59±0.00^{b}	7.20±0.00	7.18±0.02	43.40±2.08^{b}	75.06±0.49^{b}	2.23±0.22^{b}	34.23±1.29^{b}	97.38±0.03

ตารางผนวกที่ ค1 (ต่อ)

เวลาการเก็บ(สัปดาห์)	ลิโมนิน	กรดแอสคอร์บิก	กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก	วิตามินซีทั้งหมด
น้ำมะนาวสด	20.35±0.62[a]	65.60±0.55[a]	0.57±0.07[ns]	65.60±0.55[a]
0	14.92±1.35[b]	59.99±0.49[b]	0.64±0.21	60.63±0.70[b]
3	13.53±0.26[b]	38.30±0.14[b]	0.63±0.21	38.94±0.35[b]
6	13.85±2.63[b]	10.22±2.28[b]	0.61±0.05	10.84±2.33[b]
9	15.40±1.25[b]	1.97±0.35[b]	0.57±0.10	2.54±0.25[b]
12	15.19±0.46[b]	1.71±0.07[b]	0.56±0.04	2.27±0.03[b]
15	14.46±1.08[b]	0.00±0.00[b]	0.53±0.01	0.53±0.01[b]
18	13.79±0.15[b]	0.00±0.00[b]	0.52±0.06	0.52±0.06[b]
21	13.60±2.20[b]	0.00±0.00[b]	0.51±0.11	0.51±0.11[b]
24	12.24±0.82[b]	0.00±0.00[b]	0.51±0.09	0.51±0.09[b]
27	11.8±0.59[b]	0.00±0.00[b]	0.48±0.03	0.48±0.03[b]
30	10.95±1.32[b]	0.00±0.00[b]	0.38±0.00	0.38±0.00[b]

หมายเหตุ ตัวอักษร [a-b] ในแนวตั้ง หมายถึง สิ่งทดลองในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตัวอักษร [ns] ในแนวตั้ง หมายถึง สิ่งทดลองในแนวตั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ค2 ลักษณะทางเคมีและกายภาพ ปริมาณลิโมนิน กรดแอสคอร์บิก กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก และวิตามินซีทั้งหมดของน้ำมะนาวสด เปรียบเทียบกับน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 45 °C

เวลาการเก็บ (สัปดาห์)	ค่ากรด-เบส	TSS (ºBrix)	กรดซิตริก	ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล	L*	a*	b*	ตะกอน
น้ำมะนาวสด	2.37±0.01^{a}	7.10±0.10^{ns}	6.98±0.05^{ns}	21.72±0.03^{a}	82.73±0.02^{a}	-0.71±0.01^{a}	19.79±0.01^{a}	97.83±0.00^{ns}
0	2.37±0.01^{a}	7.00±0.00	7.14±0.06	24.55±1.26^{a}	78.50±1.61^{a}	-0.34±0.07^{a}	21.11±0.36^{a}	98.55±0.54
3	2.34±0.01^{a}	7.30±0.10	7.15±0.08	27.09±1.39^{b}	78.85±2.57^{a}	-0.07±0.25^{b}	23.11±1.77^{b}	98.15±0.02
6	2.59±0.00^{b}	7.20±0.00	7.18±0.02	42.35±0.23^{b}	70.50±2.50^{b}	1.73±0.14^{b}	31.92±0.71^{b}	99.12±0.11
9	2.55±0.02^{b}	7.20±0.20	7.12±0.05	50.40±0.62^{b}	68.10±1.02^{b}	3.45±0.09^{b}	36.08±0.03^{b}	98.80±0.44
12	2.62±0.04^{b}	7.00±0.40	7.12±0.05	55.94±2.33^{b}	67.11±2.13^{b}	4.69±0.11^{b}	39.06±0.18^{b}	99.19±0.57
15	2.44±0.02^{a}	7.40±0.00	7.10±0.03	60.04±0.60^{b}	67.44±0.26^{b}	5.79±0.17^{b}	41.73±0.35^{b}	98.96±0.36
18	2.45±0.03^{a}	7.40±0.00	7.23±0.06	66.53±1.96^{b}	64.26±1.88^{b}	7.16±0.06^{b}	44.08±0.05^{b}	99.00±0.13
21	2.54±0.01^{b}	7.40±0.00	7.15±0.02	64.48±0.65^{b}	66.62±0.29^{b}	6.78±0.13^{b}	44.17±0.09^{b}	99.15±0.16
24	2.51±0.06^{b}	7.50±0.10	7.07±0.13	68.32±2.35^{b}	65.12±1.72^{b}	7.72±0.24^{b}	45.63±0.10^{b}	100.42±1.43
27	2.62±0.01^{b}	7.40±0.00	6.83±0.18	70.27±0.96^{b}	64.29±0.56^{b}	8.17±0.12^{b}	46.37±0.09^{b}	98.64±0.30
30	2.54±0.01^{b}	7.40±0.00	7.15±0.02	70.31±1.69^{b}	64.40±1.56^{b}	8.23±0.11^{b}	46.4±0.12^{b}	100.61±0.64

ตารางผนวกที่ ค2 (ต่อ)

เวลาการเก็บ(สัปดาห์)	ลิโมนิน	กรดแอสคอร์บิก	กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก	วิตามินซีทั้งหมด
น้ำมะนาวสด	20.35±0.62[a]	65.60±0.55[a]	0.57±0.07[ns]	65.60±0.55[a]
0	14.92±1.35[b]	59.99±0.49[b]	60.63±0.21	60.63±0.70[b]
3	13.92±1.58[b]	11.69±0.84[b]	12.32±0.08	12.32±0.76[b]
6	13.96±3.16[b]	2.55±0.01[b]	3.09±0.07	3.09±0.08[b]
9	13.52±2.47[b]	2.52±0.45[b]	2.94±0.03	2.94±0.48[b]
12	13.48±1.15[b]	2.38±0.05[b]	2.82±0.10	2.82±0.04[b]
15	13.37±2.37[b]	0.00±0.00[b]	0.44±0.05	0.44±0.05[b]
18	13.23±1.02[b]	0.00±0.00[b]	0.41±0.03	0.41±0.03[b]
21	13.31±0.52[b]	0.00±0.00[b]	0.40±0.03	0.40±0.03[b]
24	13.38±1.27[b]	0.00±0.00[b]	0.42±0.05	0.42±0.05[b]
27	12.76±2.18[b]	0.00±0.00[b]	0.36±0.00	0.36±0.00[b]
30	12.87±2.30[b]	0.00±0.00[b]	0.35±0.13	0.35±0.13[b]

หมายเหตุ ตัวอักษร [a-b] ในแนวตั้ง หมายถึง สิ่งทดลองในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตัวอักษร [ns] ในแนวตั้ง หมายถึง สิ่งทดลองในแนวตั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ค3 ลักษณะทางเคมีและกายภาพ ปริมาณลิโมนิน กรดแอสคอร์บิก กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก และวิตามินซีทั้งหมดของน้ำมะนาวสด เปรียบเทียบกับน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิ 55 °C

เวลาการเก็บ (สัปดาห์)	ค่ากรด-เบส	TSS (ºBrix)	กรดซิตริก	ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล	L*	a*	b*	ตะกอน
น้ำมะนาวสด	2.37±0.01^{a}	7.10±0.10^{a}	6.98±0.05^{a}	21.72±0.03^{a}	82.73±0.02^{a}	-0.71±0.01^{a}	19.79±0.01^{a}	97.83±0.00^{ns}
0	2.37±0.01^{a}	7.00±0.00^{a}	7.14±0.06^{a}	24.55±1.26^{a}	78.50±1.61^{a}	-0.34±0.07^{a}	21.11±0.36^{a}	98.55±0.54
3	2.35±0.01^{a}	7.50±0.10^{b}	7.23±0.03^{b}	42.95±0.44^{b}	69.17±3.07^{b}	1.84±0.27^{b}	31.77±1.28^{b}	98.83±0.17
6	2.61±0.02^{b}	7.30±0.10^{a}	7.15±0.05^{a}	62.70±0.44^{b}	64.53±3.32^{b}	6.30±0.39^{b}	41.73±0.46^{b}	99.08±0.18
9	2.62±0.04^{b}	7.20±0.00^{a}	7.15±0.11^{a}	76.02±1.15^{b}	59.70±2.24^{b}	9.46±0.44^{b}	46.72±0.30^{b}	99.25±0.02
12	2.54±0.01^{b}	7.20±0.20^{a}	7.15±0.02^{a}	83.46±1.71^{b}	57.62±3.90^{b}	11.49±0.93^{b}	49.30±0.34^{b}	98.98±0.63
15	2.49±0.00^{b}	7.40±0.00^{a}	7.02±0.05^{a}	86.94±0.93^{b}	56.24±2.20^{b}	12.46±0.43^{b}	50.26±0.04^{b}	98.64±0.17
18	2.45±0.00^{b}	7.40±0.00^{a}	7.04±0.00^{a}	96.15±0.25^{b}	51.26±0.13^{b}	14.52±0.03^{b}	51.46±0.02^{b}	98.81±0.34
21	2.56±0.00^{b}	7.60±0.00^{b}	7.10±0.00^{a}	95.67±1.27^{b}	53.12±0.56^{b}	14.94±0.20^{b}	52.41±0.02^{b}	98.77±1.09
24	2.58±0.00^{b}	7.40±0.00^{a}	7.17±0.00^{b}	93.24±0.56^{b}	55.83±0.00^{b}	14.48±0.00^{b}	53.02±0.00^{b}	97.08±0.00
27	2.51±0.00^{b}	7.40±0.00^{a}	7.14±0.00^{a}	93.67±0.05^{b}	55.86±0.18^{b}	14.80±0.01^{b}	53.44±0.14^{b}	100.34±0.74
30	2.52±0.00^{b}	7.40±0.00^{a}	7.14±0.00^{a}	86.13±0.79^{b}	57.63±0.44^{b}	14.27±0.12^{b}	51.02±0.01^{b}	98.15±1.96

ตารางผนวกที่ ค3 (ต่อ)

เวลาการเก็บ(สัปดาห์)	ลิโมนิน	กรดแอสคอร์บิก	กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก	วิตามินซีทั้งหมด
น้ำมะนาวสด	20.35±0.62[a]	65.60±0.55[a]	0.57±0.07[a]	65.60±0.55[a]
0	14.92±1.35[b]	59.99±0.49[b]	0.64±0.21[a]	60.63±0.70[b]
3	16.39±0.29[b]	6.54±0.02[b]	0.53±0.03[a]	7.06±0.05[b]
6	13.38±2.90[b]	3.20±0.40[b]	0.40±0.01[a]	3.60±0.39[b]
9	12.89±1.56[b]	3.18±0.02[b]	0.29±0.01[b]	3.47±0.01[b]
12	12.31±1.49[b]	2.66±0.63[b]	0.27±0.02[b]	2.94±0.61[b]
15	12.28±0.38[b]	0.00±0.00[b]	0.24±0.01[b]	0.24±0.01[b]
18	11.84±1.08[b]	0.00±0.00[b]	0.23±0.00[b]	0.23±0.00[b]
21	11.64±1.17[b]	0.00±0.00[b]	0.23±0.01[b]	0.23±0.01[b]
24	11.66±0.56[b]	0.00±0.00[b]	0.23±0.02[b]	0.23±0.02[b]
27	11.35±1.24[b]	0.00±0.00[b]	0.20±0.01[b]	0.20±0.01[b]
30	11.07±0.24[b]	0.00±0.00[b]	0.23±0.00[b]	0.23±0.00[b]

หมายเหตุ ตัวอักษร [a-b] ในแนวตั้ง หมายถึง สิ่งทดลองในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตัวอักษร [ns] ในแนวตั้ง หมายถึง สิ่งทดลองในแนวตั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตารางผนวกที่ ค4 ลักษณะทางเคมีและกายภาพ ปริมาณลิโมนิน กรดแอสคอร์บิก กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก และวิตามินซีทั้งหมดของน้ำมะนาวสด เปรียบเทียบกับน้ำมะนาวพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 50 °C, 37.59 นาที เก็บรักษาเป็นเวลา 13 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C

เวลาการเก็บ (สัปดาห์)	ค่ากรด-เบส	TSS (°Brix)	กรดซิตริก	ดัชนีการเกิดสีน้ำตาล	L*	a*	b*	ตะกอน
น้ำมะนาวสด	2.37±0.01^{a}	7.10±0.10^{ns}	6.98±0.05^{ns}	21.72±0.03^{a}	82.73±0.02^{a}	-0.71±0.01^{a}	19.79±0.01^{a}	97.83±0.00^{ns}
0	2.37±0.01^{a}	7.00±0.00	7.14±0.09	24.55±1.26^{a}	78.50±1.61^{a}	-0.55±0.08^{a}	21.11±0.36^{a}	98.55±0.54
1	2.63±0.00^{b}	6.90±0.30	7.09±0.29	25.65±0.96^{a}	77.31±0.51^{a}	-0.52±0.09^{a}	21.77±0.45^{a}	98.77±0.19
2	2.43±0.02^{a}	7.20±0.00	7.06±0.11	25.87±1.87^{a}	77.25±2.42^{a}	-0.49±0.08^{a}	21.94±0.51^{a}	98.56±0.16
3	2.54±0.02^{b}	7.30±0.10	7.22±0.11	25.85±0.02^{a}	78.27±0.91^{a}	-0.48±0.11^{a}	22.31±0.28^{a}	99.18±0.61
4	2.52±0.02^{b}	7.30±0.10	7.06±0.07	25.74±1.85^{a}	78.24±2.23^{a}	-0.43±0.08^{a}	22.11±0.54^{a}	97.91±0.16
5	2.52±0.01^{b}	7.20±0.00	7.14±0.05	25.25±1.70^{a}	79.23±1.68^{a}	-0.40±0.06^{a}	21.98±0.57^{a}	97.74±0.25
6	2.53±0.00^{b}	7.10±0.10	6.86±0.25	26.45±2.21^{a}	77.95±2.33^{a}	-0.40±0.09^{a}	22.67±0.72^{a}	98.17±0.44
7	2.48±0.01^{b}	7.30±0.10	7.12±0.02	26.42±1.29^{a}	78.05±1.83^{a}	-0.35±0.06^{a}	23.23±0.57^{b}	98.74±0.32
8	2.50±0.02^{b}	7.20±0.00	7.23±0.14	26.44±0.14^{a}	80.59±0.61^{a}	-0.34±0.07^{a}	22.21±0.30^{a}	97.79±0.53
9	2.54±0.03^{b}	7.20±0.00	6.83±0.48	26.53±1.10^{a}	80.51±0.66^{a}	-0.34±0.13^{a}	22.13±0.47^{a}	97.72±0.60
10	2.51±0.00^{b}	7.20±0.00	7.07±0.05	26.67±1.78^{a}	78.76±1.58^{a}	-0.31±0.02^{a}	23.00±0.61^{b}	98.16±0.43
11	2.45±0.01^{b}	7.20±0.00	7.15±0.02	27.91±0.25^{a}	77.05±3.21^{a}	-0.29±0.02^{b}	23.86±1.25^{b}	98.10±1.97
12	2.27±0.01^{b}	7.30±0.10	7.10±0.09	32.42±0.88^{b}	77.44±2.81^{a}	-0.23±0.19^{b}	23.62±1.01^{b}	97.39±0.47
13	2.26±0.01^{b}	7.30±0.00	7.09±0.02	32.47±1.02^{b}	70.68±3.78^{b}	-0.24±0.16^{b}	25.53±1.15^{b}	100.38±1.23

ตารางผนวกที่ ค4 (ต่อ)

เวลาการเก็บ(สัปดาห์)	ลิโมนิน	กรดแอสคอร์บิก	กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก	วิตามินซีทั้งหมด
น้ำมะนาวสด	20.35±0.62[a]	65.03±0.62[a]	0.57±0.07[a]	65.60±0.55[a]
0	14.92±1.35[b]	59.99±0.49[a]	1.21±1.21[b]	61.20±0.90[a]
1	16.76±0.35[b]	54.80±2.57[b]	0.99±0.99[a]	55.78±2.63[b]
2	19.48±2.92[a]	48.79±1.59[b]	0.89±0.89[a]	49.68±1.47[b]
3	19.93±1.03[a]	46.90±3.37[b]	0.77±0.77[a]	47.67±3.68[b]
4	18.90±3.38[a]	43.43±0.55[b]	0.74±0.74[a]	44.17±0.45[b]
5	17.77±0.08[a]	40.66±2.67[b]	0.72±0.72[a]	41.38±2.63[b]
6	17.96±0.17[a]	27.97±1.59[b]	0.69±0.69[a]	28.65±1.46[b]
7	16.09±2.44[b]	25.51±1.33[b]	0.65±0.65[a]	26.15±1.17[b]
8	15.47±2.45[b]	24.10±4.14[b]	0.64±0.64[a]	24.73±4.35[b]
9	15.53±1.27[b]	21.40±0.11[b]	0.59±0.59[a]	21.99±0.17[b]
10	15.35±0.91[b]	17.91±0.12[b]	0.59±0.59[a]	18.50±0.18[b]
11	14.67±2.36[b]	16.70±3.30[b]	0.57±0.57[a]	17.26±3.41[b]
12	13.31±0.26[b]	5.54±0.31[b]	0.49±0.49[a]	6.03±0.31[b]
13	13.41±0.00[b]	5.15±2.63[b]	0.49±0.49[a]	5.64±2.57[b]

หมายเหตุ ตัวอักษร [a-b] ในแนวตั้ง หมายถึง สิ่งทดลองในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ตัวอักษร [ns] ในแนวตั้ง หมายถึง สิ่งทดลองในแนวตั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ – นามสกุล	นางสาวสโรชา จันทร์เพ็ญ
วัน เดือน ปี ที่เกิด	26 ตุลาคม 2528
สถานที่เกิด	อำเภอบางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ) ภาควิชาศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2550)
ผลงานวิจัย	เรื่องการศึกษาความต้านทานความร้อนของ *Pichia kudriavzevii* TISTR 5147 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5110 ในน้ำมะนาว ในการประชุมทางวิชาการของมหาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49 (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร) 2554 หน้า 556-563

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์