# บทที่ 3

## อุปกรณ์และขั้นตอนการทดลอง

### อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งสาร SATORIOUS รุ่น B 3108
2. เครื่องกวน (magnetic stirrer) FRAMO - GERATEETECHNIC รุ่น M22 / 1
3. เครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ (rotary vacuum evaporator) EYELA รุ่น E-1S
4. ตู้อบ (hot air oven) BINDER รุ่น E-53
5. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) MILTON ROY รุ่น Spectronic 601
6. เครื่องไฮเพอฟอร์แมนลิคควิดโครมาโตกราฟฟี่ (high performance liquid chromatoghaphy) SHIMAZU รุ่น UV Detector SPD -1
7. เครื่องวัดสี (Color & Color difference meter) TOKYO DENSHOKU รุ่น TC - 86004
8. เครื่องวัดอุณหภูมิ (thermocouple) ยี่ห้อ DIGICON รุ่น DP - 50 - (D - 25028)
9. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) HOBIRA รุ่น F-1
10. membrane nylon filter เส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร ขนาดรูกรอง 0.45 μm
11. เครื่องคั้นน้ำผลไม้ ยี่ห้อ Vitamix

### สารเคมี

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) MERCKS A.R. grade
2. แมกนีเซียมคาร์บอเนต (magnesium carbonate) FLUKA A.R. grade

3. โซเดียมซัลเฟต (sodium sulfate) MERCKS A.R. grade

4. อะซิโตน (acetone) CARLO ERBA A.R. grade

5. โซเดียมไดไฮโดเจนฟอสเฟส (sodiumdihydrogen phosphate) CARLO ERBA A.R. grade

6. ไดโซเดียมไฮโดเจนฟอสเฟส (disodium hydrogen phosphate) CARLO ERBA A.R. grade

7. กรดซิตริก (citric acid) food grade

8. อะซิโตไนไตร์ (acetonitrile) HPLC grade

9. ไดคลอโรมีเธน (dichloromethane) HPLC grade

10. เตตระไฮโดฟูราน (tetrahydrofuran) HPLC grade

12. เบตาแคโรทีน ($\beta$ - carotene) SIGMA type C - 4582

13. แอลฟาแคโรทีน ($\alpha$ - carotene) SIGMA type v

การเตรียมแครอท

คัดเลือกแครอทพันธุ์หงส์แดง (New Kuruda) อายุประมาณ 6 - 8 เดือน ลำต้นที่ติดกับหัวแครอทมีลักษณะเรียวเล็ก เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใหล่ประมาณ 4 - 4.5 เซนติเมตร ยาว 15 เซนติเมตรขึ้นไป (รูปที่18) นำมาตัดแต่ง และล้างทำความสะอาด ปอกเปลือก ล้างน้ำสะอาด และตัดแบ่งออกเป็นชิ้นให้มีขนาดความกว้าง 2.5 เซนติเมตร และตัดแบ่งครึ่งตามความยาวของผลแครอท (รูปที่ 19)

รูปที่ 18 ตัวอย่างแครอทสด

รูปที่ 19 ตัวอย่างชิ้นแครอท

ขั้นตอนการทดลอง

1. ศึกษาภาวะและวิธีที่เหมาะสมในการสกัดน้ำแครอท

1.1 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดซิตริกและเวลาที่เหมาะสมในการลวก (blanching) แครอท ต่อคุณภาพของน้ำแครอทที่สกัดได้

นำชิ้นแครอทประมาณ 400 กรัม ลวกในสารละลายกรดซิตริกประมาณ 4000 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 90$^{0}$C (ใช้ปริมาณแครอท 10% ของปริมาตรของสารละลายกรดซิตริก ) โดยแปรความเข้มข้นของสารละลายกรดซิตริกเป็น 3 ระดับ คือ 0.05 0.07 และ 0.10 N และแปรเวลาในการลวกเมื่ออุณหภูมิที่จุดกึ่งกลาง (core temperature) ถึงอุณหภูมิ 80$^{0}$C เป็น 3 ระดับ คือ 1 3 และ 5 นาที หลังจากนั้นนำชิ้นแครอทมาทำให้เย็น (cooling) โดยการแช่ในน้ำที่อุณหภูมิห้อง ทดสอบความสามารถในการทำลายเอนไซม์เพคตินเอสเทอเรส โดยวิธีของ Kertesz (1951) (ภาคผนวก ก.1) จากนั้นบดและสกัดน้ำแครอทโดยการปั่นแยกกากผ่านผ้ากรอง ด้วยเครื่องบดปั่นน้ำผลไม้ ยี่ห้อ VITA - MIX (ภาคผนวก ก.6) ประเมินคุณภาพของน้ำแครอทโดยพิจารณาดังนี้

1.1.1 % juice yield (กรัมต่อ 100 กรัมแครอทสด) (ภาคผนวก ก.2)

1.1.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) โดยเครื่อง Abbe refractometer

1.1.3 ค่า pH โดยเครื่อง pH meter

1.1.4 ปริมาณเส้นใยอาหารที่ละลายได้ (soluble fiber) (AOAC ; 1995) (ภาคผนวก ก.3)

1.1.5 ค่าสี ซึ่งแสดงเป็นค่า L a b โดยเครื่อง Color & Color difference meter

1.1.6 ปริมาณเบตาแคโรทีน ($\beta$ - carotene) และแอลฟาแคโรทีน ($\alpha$- carotene) ด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้วิธีของ Bureau และ Bushway (1986);Heinonen (1990),(ภาคผนวก ก.4)

1.1.7 ค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งแสดงความคงตัวของความขุ่น (Cloud stability) โดยวิธีของ Castaldo และคณะ (1991) (ภาคผนวก ก.5)

1.1.8 ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยพิจารณา สี ลักษณะความคงตัวของน้ำแครอท กลิ่นแครอท และความชอบรวม ด้วยวิธีการทดสอบเชิงพรรณนา (Structured Scaling) ใช้ผู้ทดสอบ 15 คน (ภาคผนวก ข)

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Symmetrical Factorial ขนาด 3X3 สำหรับข้อ 1.1.1-1.1.7 และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Randomized Complete Block Design สำหรับข้อ 1.1.8 เปรียบเทียบความแตกต่างของข้อเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran and Cox, 1957) เพื่อคัดเลือกระดับความเข้มข้นของสารละลายกรดซิตริกและเวลาที่เหมาะสมในการลวกแครอท โดยพิจารณา ปริมาณเบตาแคโรทีน และแอลฟาแคโรทีน ปริมาณเส้นใยอาหารที่ละลายได้ ค่าสี ค่าการดูดกลืนแสง เป็นเกณฑ์สำคัญ

1.2 ศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดน้ำแครอท

ศึกษาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดน้ำแครอท 3 วิธี (โดยใช้ภาวะที่คัดเลือกได้จากข้อ 1.1 ) ดังนี้

วิธีที่ 1 ลวกแครอทในสารละลายกรดซิตริกที่มีความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมที่คัดเลือกได้จากข้อ 1.1 วางทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ บด และสกัดน้ำแครอท

วิธีที่ 2 บดแครอท ปรับ pH ของแครอทบดด้วยสารละลายกรดซิตริกที่มีความเข้มข้นที่คัดเลือกได้จากข้อ 1.1 ให้ได้ pH เท่ากับ 4.50 (ซึ่งมี pH เท่ากับ pH ของน้ำแครอทที่สกัดได้จากแครอทที่ผ่านการลวกในสารละลายกรดซิตริก แต่ไม่ได้ผ่านการทำให้เย็น(cooling) ในน้ำจากวิธีที่ 1) ให้ความร้อนแครอทจนถึงอุณหภูมิ $80^{0}$C ตามเวลาที่เหมาะสมที่คัดเลือกได้จากข้อ 1.1 ทำให้เย็น โดยการหล่อเย็นภาชนะบรรจุด้วยน้ำ และสกัดน้ำแครอท

วิธีที่ 3 ลวกแครอทในน้ำที่อุณหภูมิ 90°C โดยให้อุณหภูมิในจุดกึ่งกลาง (core temperature) ถึงอุณหภูมิ 80°C ใช้เวลาที่เหมาะสมที่คัดเลือกได้จากข้อ1.1 ทำให้เย็นโดยการแช่ในน้ำที่อุณหภูมิห้อง บด ปรับ pH ของแครอทบดด้วยสารละลายกรดซิตริกที่มีความเข้มข้นที่คัดเลือกได้จากข้อ 1.1 ให้ได้ pH เท่ากับ pH 4.50 (ซึ่งมี pH เท่ากับ pH ของน้ำแครอทที่สกัดได้จากแครอทที่ผ่านการลวกในสารละลายกรดซิตริก แต่ไม่ได้ผ่านการทำให้เย็น (cooling) ในน้ำจากวิธีที่ 1) และสกัดน้ำแครอท

ประเมินคุณภาพเช่นเดียวกับข้อ 1.1 วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely Randomized Design ยกเว้นการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Randomized Complete Block Design เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochan and Cox ,1957) เพื่อคัดเลือกวิธีที่เหมาะสมในการสกัดน้ำแครอท โดยพิจารณาปริมาณเบตาแคโรทีน แอลฟาแคโรทีนและปริมาณเส้นใยอาหารที่ละลายได้ เป็นเกณฑ์สำคัญ ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

2. ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำแครอทเข้มข้น

ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำแครอทเข้มข้น เพื่อให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid, TSS) เป็นสี่เท่าของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำแครอทก่อนระเหย (ไพโรจน์ วิริยะจารีย์, 2535) ใช้น้ำแครอทที่เตรียมได้จากวิธีที่คัดเลือกได้จากข้อ 1.2 นำมาทำเข้มข้นด้วยวิธีการระเหยน้ำภายใต้สุญญากาศ ด้วยเครื่องระเหยน้ำแบบ rotary evaporator โดยแปรอุณหภูมิที่ใช้ในการระเหยน้ำเป็น 3 ระดับ คือ 60°C 70°C และ 80°C ประเมินคุณภาพด้านสี ซึ่งแสดงเป็นค่า L a b และการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำแครอทเข้มข้น และประเมินคุณภาพด้านปริมาณเส้นใยอาหารที่ละลายได้ ปริมาณเบตาแคโรทีนและแอลฟาแคโรทีน ค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งแสดงความคงตัวของความขุ่น ค่าสี และการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำแครอทที่เจือจางจากน้ำแครอทเข้มข้น ในอัตราส่วนน้ำแครอทเข้มข้นต่อน้ำ เท่ากับ 1 : 3 เปรียบเทียบกับน้ำแครอทก่อนระเหย วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely Randomized Design ส่วนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Randomized Complete Block Design เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochan and Cox ,1957) เพื่อคัดเลือกอุณหภูมิเหมาะสมในการเตรียมน้ำแครอทเข้มข้น ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

3. ศึกษาการแปรความเป็นกรดด่าง (pH) ของน้ำแครอทเข้มข้น

แปรความเป็นกรดด่าง (pH) ของน้ำแครอทเข้มข้น เพื่อให้น้ำแครอทเข้มข้นเป็นอาหารที่มีความเป็นกรด (acid food) ด้วยการเติมกรดซิตริก ให้น้ำแครอทเข้มข้นมี pH เป็น 4.4 4.2 4.0 และ 3.8 ประเมินคุณภาพและวางแผนการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2 ยกเว้น ค่าสี การทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำแครอทเข้มข้น ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

4. ศึกษาการพัฒนาสูตรเครื่องดื่มน้ำแครอท

การพัฒนาสูตรเครื่องดื่มน้ำแครอท นำน้ำแครอทเข้มข้นมาเจือจางด้วยน้ำกรองจนมี TSS เท่ากับน้ำแครอทก่อนระเหย ($7^{0}$Brix) โดยใช้เครื่อง refractometer แปรความเป็นกรดด่าง (pH) เป็น 2 ระดับ คือ 4.4 และ 4.2 ด้วยการเติมสารละลายกรดซิตริก 50 % และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเป็น 3 ระดับ คือ 10 , 12 และ $14^{0}$Brix ด้วยการเติมน้ำผึ้งแท้ ยี่ห้อเอราวัณ คัดเลือกสูตรเครื่องดื่มน้ำแครอทที่เหมาะสม โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสพิจารณาการยอมรับด้านสี ลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ และความชอบรวม ด้วยวิธี 9 - point Hedonic Scoring test ใช้ผู้ทดสอบ 15 คน (ภาคผนวก ค) วางแผนการทดลองแบบ Asymmetrical Factorial ขนาด 2X3 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Randomized Complete Block Design เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochan and Cox, 1957) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

5. ศึกษาอายุการเก็บรักษาน้ำแครอทเข้มข้นและเครื่องดื่มน้ำแครอท

นำน้ำแครอทเข้มข้นที่เตรียมได้จากการคัดเลือกจากข้อ 2 และข้อ 3 บรรจุในถุง laminate (PET 12 / PE 18 / Aluminium 7 / PE 20 / PE-film 40 ) ขนาด 13 X 15 เซนติเมตร บรรจุปริมาณ 200 มิลลิลิตร โดยนำน้ำแครอทเข้มข้นที่คัดเลือกจากข้อ 2 ทำการแช่เยือกแข็งด้วยวิธี air blast freezing ที่อุณหภูมิ $-38^{0}C \pm 2^{0}C$ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ $-18^{0}C \pm 2^{0}C$ และนำน้ำแครอทเข้มข้นที่คัดเลือกได้จากข้อ 3 เก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ $4^{0}C \pm 2^{0}C$

ประเมินคุณภาพเช่นเดียวกับข้อ 3 และจำนวนยีสต์และรา (AOAC, 1983) (ภาคผนวก ง.1) และจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (ภาคผนวก ง.2) หลังจากเตรียมเสร็จใหม่ๆ และทุกๆ 1 เดือน เป็นเวลา 5 เดือน วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Asymmetrical Factorial

ขนาด 5X2 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochan and Cox ,1957) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ส่วนเครื่องดื่มน้ำแครอทที่คัดเลือกได้จากข้อ 4 บรรจุในกระป๋องเคลือบแลคเกอร์ ขนาด 202 X 308 ผนึกฝาและให้ความร้อนใน retort จนได้ค่า Pasteurization value ที่อุณหภูมิ 93.3$^{0}$C (P- 93.3$^{0}$C) เท่ากับ 10 (Campden Institute of Technical manual ,1993) (การทดลองหาค่า Pasteurization value ที่อุณหภูมิ 93.3$^{0}$C (P-93.3$^{0}$C) ในภาคผนวก จ) เก็บรักษาน้ำแครอทกระป๋องไว้ที่อุณหภูมิห้อง ประเมินคุณภาพด้านปริมาณเส้นใยอาหารที่ละลายได้ ปริมาณเบตาแคโรทีนและแอลฟาแคโรทีน ค่าสี ค่าการดูดกลืนแสง จำนวนยีสต์และรา (AOAC, 1984) (ภาคผนวก ง.1) และจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (ภาคผนวก ง.2) และการทดสอบทางประสาทสัมผัสพิจารณาการยอมรับด้านสี ลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ และความชอบรวม ด้วยวิธี 9 - point Hedonic Scoring test ใช้ผู้ทดสอบ 15 คน (ภาคผนวก ค) หลังจากเตรียมเสร็จใหม่ๆ และต่อไปทุกๆ 1 เดือน เป็นเวลา 5 เดือน วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely Randomized Design ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย