บทที่ 3

การทดลอง

3.1 วัตถุดิบ สารเคมี อุปกรณ์ และวิธีวิเคราะห์

3.1.1 <u>วัตถุดิบ</u>

- แครอท เป็นแครอทที่ปลูกที่ประเทศออสเตรเลีย ซื้อจากเจ้าประจำที่ตลาดสะพานควายลักษณะรากอ้วนสั้น เลือกขนาดส่วนหัวที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 4 - 4.5 ซม. นำมาล้างให้สะอาด ตัดส่วนจุกออก ปอกเปลือก หั่นเป็นลูกเต๋าขนาด 1 x 1 x 1 ซม.^{3} เลือกเฉพาะส่วน phloem

- corn starch

3.1.2 <u>สารเคมี</u>

- ในกระบวนการผลิต

sodium sulfite	A.R.

- การวิเคราะห์เปอร์ออกซิเดส แอคติวิตี้ (peroxidase activity)

guaiacol	A.R.
alcohol 95%	Commercial Grade
hydrogen peroxide	A.R.

- การวิเคราะห์ปริมาณบีตา-แคโรทีน

chloroform	A.R.
standard β - carotene ของบริษัท Fuka	A.R.
acetone	A.R.
petroleum ether	A.R.
acetonitrile	HPLC
methanol	HPLC
dichlorometane	HPLC
anhydrous sodium sulfate	A.R.

- การปรับค่า water activity ของผลิตภัณฑ์

potassium carbonate	A.R.
magnesium nitrate hexahydrate	A.R.
sodium bromide	A.R.
sodium nitrite	A.R.

- การวิเคราะห์ไขมัน

petroleum ether	A.R.

- การวิเคราะห์โปรตีน

sodium carbonate	A.R.
sulfuric acid	A.R.
sodium hydroxide	Commercial Grade
boric acid	A.R.
kjeltabs Cu 3.5	A.R.
methyl red	A.R.
methylene blue	A.R.

- การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

plate count agar ของบริษัท Merck

potato dextrose agar ของบริษัท Merck

3.1.3 <u>อุปกรณ์</u>

อุปกรณ์ที่ใช้เตรียมผลิตภัณฑ์และเก็บรักษา

- มีดหั่น
- หม้อสแตนเลส
- นาฬิกาจับเวลา
- ถาดสแตนเลส
- รังถึง
- เทอร์โมมิเตอร์แบบ digital (Fluke, 51)
- เครื่องทำแห้งแบบถาด (tray dryer) (HA-20)
- เครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศ (Multivac Type, AG 500)
- ถุงชนิด OPP 20 μ./ PE 20 μ./ Alu μ./ 7 μ./ PE 35 μ. ขนาด 4 x 6 นิ้ว^2 (บริษัท สตรองแพ็ค จำกัด (มหาชน))

- ตู้ไมโครเวฟ (Microwave oven ของ Litton Futura output 700 watts max.)
- เครื่องชั่งน้ำหนัก (Sartorius, B310S)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- เครื่องวัดความชื้น (Moisture Analyser) (Sartorius MA 30)
- เครื่องวัดเนื้อสัมผัสอาหาร (Texture Analyser) รุ่น TA. XT2
- เครื่องวัดสี (Minolta Chroma Meter, CR 300 series)
- เครื่องวัดค่า water activity (Shibaura 's Water Activity Meter) รุ่น WA-360
- ตู้อบลมร้อน ช่วงอุณหภูมิ 50-250 °C (WTB binder, E-53)
- ถ้วยอลูมิเนียม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 ซม. สูง 3 ซม.
- เครื่อง Scanning Electron Microscope ของบริษัท JSM รุ่น T 220A

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- เครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography)ของบริษัท Shimazu รุ่น LC-3A แบบ non - reverse phase column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 มม. ความยาว 25 ซม. บรรจุด้วย C_{18} - silica gel ของ Zorbax Dupont Detector ของบริษัท Shimazu รุ่น LDC - 4100
- ชุดเครื่องมือวิเคราะห์โปรตีน (Kjeldatherm and Vapodest 1, Gerhardt, KT 85)
- ชุดเครื่องมือวิเคราะห์ไขมัน (Soxhlet Apparatus)
- เครื่องชั่งน้ำหนัก (Sartorius, A200S)
- เครื่องแก้วต่างๆ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

- ตู้บ่มเชื้อ (Memmert, B30) ช่วงอุณหภูมิ 25 - 80 °C
- Autoclave (Tomy, SS-320)
- จานเพาะเชื้อ

อุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- ถ้วยพลาสติก
- แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

อุปกรณ์ที่ใช้ในการคำนวณและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- เครื่องคอมพิวเตอร์ PC
- โปรแกรมสำเร็จรูป MSTAT (Nissin, 1968)

3.1.4 วิธีวิเคราะห์ แบ่งออกเป็น 4 ด้าน คือ

วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

-เปอร์ออกซิเดส แอคติวิตี้ ตามวิธีของ National Canner Association Research Laboratories (1976) รายละเอียดในภาคผนวก ก.1

- ปริมาณบีตา-แคโรทีน ดัดแปลงจากวิธีของ Ranganna (1977) และวิเคราะห์ปริมาณด้วย HPLC รายละเอียดในภาคผนวก ก.2

- ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ Ranganna (1977) รายละเอียดในภาคผนวก ก.5

- โปรตีน ตามวิธีของ AOAC (1990) รายละเอียดในภาคผนวก ก.6

- ไขมัน ตามวิธีของ AOAC (1990) รายละเอียดในภาคผนวก ก.7

- เถ้า ตามวิธีของ Ranganna (1977) รายละเอียดในภาคผนวก ก.9

- เส้นใย ตามวิธีของ Ranganna (1977) รายละเอียดในภาคผนวก ก.8

วิธีวิเคราะห์ทางกายภาพ

- วัดความแน่นเนื้อ (firmness) ด้วย Texture Analyser วัดค่าเป็นหน่วย kg./cm.^{2} รายละเอียดในภาคผนวก ก.14

- ค่าสี (L, a, b) โดยใช้เครื่อง Minolta Chroma Meter รายละเอียดในภาคผนวก ก.13

ค่า L แทนค่าความสว่าง

ค่า a (+) แทนค่าสีแดง (-) แทนค่าสีเขียว

ค่า b (+) แทนค่าสีเหลือง (-) แทนค่าสีน้ำเงิน

- หา % yield ของแครอทหลังการลวก โดยวิธีชั่งน้ำหนัก รายละเอียดในภาคผนวก ก.12

$$\% \text{ yield ของแครอทหลังการลวก} = \frac{\text{น้ำหนักแครอทหลังลวก}}{\text{น้ำหนักแครอทก่อนลวก}} \times 100$$

- ค่า water activity โดยเครื่อง Shibaura 's Water Activity Meter รุ่น WA-360 รายละเอียดในภาคผนวก ก.16

- ศึกษา SEM (Scanning Electron Microscope) ในโครงสร้างแครอท ตามวิธีของ DeMan, deMan และ Gupta (1986) รายละเอียดในภาคผนวก ก.15

วิธีวิเคราะห์จุลินทรีย์

-ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) ตามวิธีของ ICMSF (1982) รายละเอียดในภาคผนวก ก.17

-ปริมาณยีสต์และรา (Yeast and Mold) ตามวิธีของ ICMSF (1982) รายละเอียดในภาคผนวก ก.18

การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 8 คน ซึ่งเป็นนิสิตปริญญาโท ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยการฝึกให้ผู้ทดสอบคุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์และกำหนดเกณฑ์มาตรฐานให้ตามแบบทดสอบในภาคผนวก ข. โดยใช้วิธีการให้คะแนนแบบ Scoring and Acceptability

3.2 ขั้นตอน และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.2.1 ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการลวกแครอทโดยใช้ไอน้ำ (steam blanching)

ใช้แครอทรูปลูกเต๋า ขนาด 1 X 1 X 1 ซม.^{3} ครั้งละ 200 กรัม ใส่น้ำในรังถึงรอจนน้ำเดือดจึงใส่ตัวอย่างบนรังถึงที่มีผ้าขาวบางปู ปิดฝาแล้วจับเวลาตามกำหนด แปรเวลาลวกเป็น 0, 3, 4, 5, 7 และ 9 นาที หลังการลวกทำให้เย็นโดยแช่ในน้ำอุณหภูมิ 5 °C ปริมาตร 1,000 มล. นาน 5 นาที ทิ้งให้สะเด็ดน้ำบนตะแกรงลวดนาน 5 นาที

<u>การติดตามผล</u>

1. ทดสอบเปอร์ออกซิเดส แอคติวิตี้ ตามวิธีของ National Canners Association Research Laboratories (1976)

2. เปอร์เซ็นต์ yield ของแครอทภายหลังการลวกและทำให้เย็น ตามวิธีของ Carroad, Swartz และ Bomben (1980)

3. หาปริมาณบีตา-แคโรทีน โดยดัดแปลงจากวิธีของ Ranganna (1977) และวิเคราะห์ปริมาณโดยใช้ HPLC

เลือกเวลาที่น้อยที่สุดที่ให้ผลการทดสอบเปอร์ออกซิเดส แอคติวิตี้ เป็น negative โดยพิจารณาร่วมกับปริมาณบีตา-แคโรทีน จะได้เวลาที่เหมาะสมในการลวกเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

<u>วางแผนการทดลอง</u> โดยใช้ Completely Randomized Design และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test สำหรับการหาปริมาณบีตา-แคโรทีน และหาเวลาที่น้อยที่สุดที่สามารถทำลายเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสได้ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.2 ศึกษาผลของการชะล้าง soluble solid, การแช่สารละลายโซเดียมซัลไฟต์ และการชุบเคลือบด้วยสารละลาย corn starch ที่มีต่อปริมาณบีตา-แคโรทีนในแครอท

3.2.2.1 หาความเข้มข้นของสารละลาย corn starch ที่เหมาะสมต่อการชุบเคลือบแครอท

โดยแปรความเข้มข้นของสารละลาย corn starch เป็น 5 ระดับ คือ 0.5, 1.5, 2.5, 3.5 และ 4.5 % (w/v) จากนั้นให้ความร้อนสารละลาย corn starch จนกระทั่งสารละลายมีอุณหภูมิ 80 °C แล้วลดอุณหภูมิเป็น 45 °C จึงชุบเคลือบแครอทเป็นเวลา 1 นาที ใช้แครอทครั้งละ 200 กรัม ต่อสารละลาย corn starch 1 ลิตร จากนั้นทำการอบแห้งที่ 70 °C เป็นเวลา 4 ชม.

<u>การติดตามผล</u>

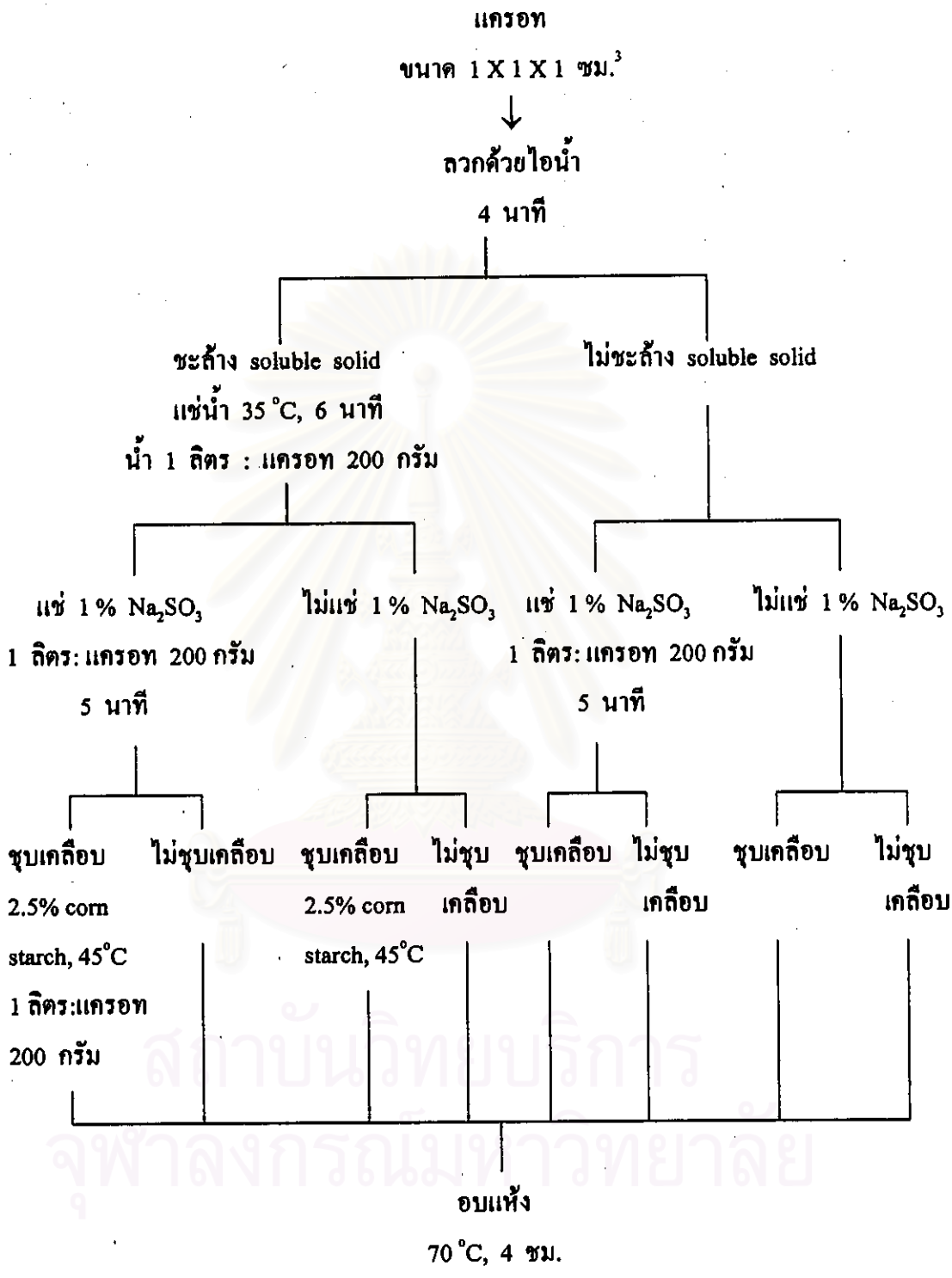
1. ปริมาณบีตา-แคโรทีน
2. พิจารณาลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์

เลือกความเข้มข้นของสารละลาย corn starch ที่ให้ปริมาณบีตา-แคโรทีนในผลิตภัณฑ์สูง โดยพิจารณาร่วมกับลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์

<u>วางแผนการทดลอง</u> โดยใช้ Completely Randomized Design และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test สำหรับการหาปริมาณบีตา-แคโรทีนในผลิตภัณฑ์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.2.2 ผลของการชะล้าง soluble solid การแช่สารละลายโซเดียมซัลไฟต์ (Na_2SO_3) และการชุบเคลือบด้วยสารละลาย corn starch ที่มีต่อปริมาณบีตา-แคโรทีนในแครอท โดยทำการทดลองตามแผนภูมิต่อไปนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การติดตามผล

1. ปริมาณ water insoluble solid (AOAC, 1970) และเปอร์เซ็นต์ leaching loss ของตัวอย่างที่ผ่านการชะล้าง soluble solid

2. ปริมาณบีตา-แคโรทีน

เลือกตัวอย่างที่ให้ปริมาณบีตา-แคโรทีนสูงสุดมา 1 ตัวอย่าง เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

วางแผนการทดลอง โดยใช้ Symmetrical Factorial Experiment ขนาด 2 X 2 X 2 และวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.3 ศึกษาเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการอบแห้งแครอท

– จากที่กล่าวมาในส่วนของวารสารปริทัศน์ว่าในการอบแห้งควรแบ่งช่วงของการอบแห้งออกเป็น 2 ช่วง ในการทดลองนี้จึงได้ทำการศึกษาเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมโดยแปรอุณหภูมิตามการทดลองของ Luh และ Woodroof (1976) ที่ได้กำหนดอุณหภูมิในช่วงแรกเป็น 70°C อบแห้งใน tunnel dryer และช่วงหลังลดอุณหภูมิลงมา 5°C เป็น 65°C ทำการอบแห้งโดยใช้ bin dryer แต่สำหรับในการทดลองนี้เครื่องมือที่ใช้เปลี่ยนเป็น tray dryer จึงแปรอุณหภูมิในการทดลองเพิ่มขึ้น ดังนี้

1. ช่วงแรกอุณหภูมิ 60 °C ช่วงหลังอุณหภูมิ 55 °C
2. ช่วงแรกอุณหภูมิ 70 °C ช่วงหลังอุณหภูมิ 65 °C
3. ช่วงแรกอุณหภูมิ 80 °C ช่วงหลังอุณหภูมิ 75 °C

3.2.3.1 หาเวลาที่เหมาะสมในการอบแห้ง

อบแห้งแครอทที่ผ่านการลวก แช่สารละลายโซเดียมซัลไฟต์ ความเข้มข้น 1 % และชุบเคลือบด้วยสารละลาย corn starch ความเข้มข้น 2.5 % ที่อุณหภูมิ 60, 70 และ 80 °C โดยใช้แครอทครั้งละ 200 กรัม ทำการอบแห้งเป็นเวลา 10 นาที นำตัวอย่างออกจากตู้อบเพื่อหาความชื้น จากนั้นนำแครอทปริมาณ 200 กรัม ที่ผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเช่นเดิมมาทำการอบแห้งเป็นเวลา 20 นาที จึงนำมาหาความชื้น ทำการทดลองเช่นเดียวกันนี้โดยใช้เวลาเพิ่มขึ้นทุก 10 นาทีในการอบแห้งแต่ละครั้ง นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นกับเวลาในการอบแห้งและกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราเร็วในการอบแห้งกับเวลา ซึ่งจะทำให้ทราบเวลาที่ใช้ในการอบแห้งของช่วงอัตราเร็วคงที่ จากนั้นหาเวลาที่ใช้ในการอบแห้งในช่วงที่สองของแต่ละอุณหภูมิโดยทำการอบแห้งเช่นเดิมตามเวลาที่ได้ในช่วงแรกแล้วลดอุณหภูมิของทุก treatment ลง 5 °C ทำการอบแห้งต่อไปเป็นเวลา 10 นาทีแล้วเก็บตัวอย่างเพื่อหาความชื้นทำการ

ทดลองเช่นเดียวกันนี้โดยใช้เวลาในการอบแห้งแต่ละครั้งเพิ่มขึ้น 10 นาที ทำการทดลองจนกระทั่งแครอทมีความชื้นประมาณ 4 % จึงสิ้นสุดกระบวนการอบแห้ง

การติดตามผล

1. Rehydration ratio และ Rehydration rate ตามวิธีของ Ranganna (1977)

2. ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยพิจารณาลักษณะสี เนื้อสัมผัส ลักษณะปรากฏและการยอมรับรวม โดยใช้วิธีการให้คะแนนแบบ Scoring and Acceptability ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 8 คน

3. ค่าสี ด้วยเครื่อง Minolta Chroma Meter

4. ค่าความแน่นเนื้อ ด้วย Texture Analyser

5. โครงสร้างเซลล์ของแครอทสดและแครอทที่ผ่านการคืนรูป ด้วยเครื่อง SEM

6. ปริมาณบีตา-แคโรทีน

เลือกอุณหภูมิในการอบแห้งที่ให้ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสและทางกายภาพดีที่สุด โดยพิจารณาร่วมกับปริมาณบีตา-แคโรทีนสำหรับใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

วางแผนการทดลอง โดยใช้ Completely Randomized Design ยกเว้นคุณภาพทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

3.2.4 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์แครอทอบแห้ง

ทำการอบแห้งแครอทโดยใช้อุณหภูมิและเวลาในการอบแห้งตามที่เลือกได้จากข้อ 3.2.3 จากนั้นนำแครอทอบแห้งที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมี

การติดตามผล

วิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ดังนี้

- ความชื้น ตามวิธีของ Ranganna (1977)
- โปรตีน ตามวิธีของ AOAC (1990)
- ไขมัน ตามวิธีของ AOAC (1990)
- คาร์โบไฮเดรต ตามวิธีของ Ranganna (1977)
- เถ้า ตามวิธีของ Ranganna (1977)
- เส้นใย ตามวิธีของ Ranganna (1977)
- ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ด้วยวิธี Modified Rankine ตามวิธีของ Barnett (1985)
- ปริมาณบีตา-แคโรทีน

3.2.5 ศึกษาผลของ Water Activity (a_w) ที่มีต่อปริมาณบีตา-แคโรทีนในแครอท

โดยนำแครอทที่ผ่านการอบแห้งมาปรับความชื้นให้มีค่า a_w เท่ากับ 0.42, 0.52, 0.58, 0.65 และ control (ไม่ปรับความชื้น) ด้วยสารละลายเกลืออิ่มตัว (K_2CO_3 (a_w = 0.42), $Mg(NO_3)_2$. $6H_2O$ (a_w = 0.52), NaBr (a_w =0.58) และ $NaNO_2$ (a_w =0.65)) ในขวดแก้วหุ้มด้วยอลูมิเนียมฟอยด์ ใช้แครอท 3 กรัมต่อสารละลายเกลือ 80 มล. ควบคุมอุณหภูมิที่ 10 °C วัดค่า a_w ทุกวันด้วยเครื่อง Shibaura 's Water Activity Meter จนกระทั่งตัวอย่างมีค่า a_w ตามกำหนด จึงเริ่มทำการเก็บรักษาในสภาพเช่นเดิมเป็นเวลา 3 เดือน ตรวจคุณภาพตัวอย่างเริ่มต้นและหลังจากนั้นทุก 1 เดือน

<u>การติดตามผล</u>

1. ค่าสี
2. ปริมาณบีตา-แคโรทีน
3. moisture sorption isotherm

<u>วางแผนการทดลอง</u> โดยใช้ Asymmetrical Factorial Experiment ขนาด 5 X 4 สำหรับการประเมินค่าสีและปริมาณบีตา-แคโรทีน วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3.2.6 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

อบแห้งแครอทโดยใช้อุณหภูมิและเวลาที่เลือกได้จากข้อ 3.2.3 จากนั้นนำแครอทอบแห้ง บรรจุถุงชนิด OPP/PE/Alu/PE ถุงละ 15 กรัม ที่สภาวะสุญญากาศ (0.8 บาร์) แล้วเก็บในสภาวะปกติ (อุณหภูมิห้อง) เป็นเวลา 5 เดือน ตรวจคุณภาพตัวอย่างเริ่มต้นและหลังจากนั้นทุก 1 เดือน

<u>การติดตามผล</u>

1. ค่าสี
2. ปริมาณบีตา-แคโรทีน
3. ตรวจหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count)
4. ตรวจหาปริมาณยีสต์และรา (Yeast and Mold)

<u>วางแผนการทดลอง</u> โดยใช้ Completely Randomized Design สำหรับการประเมินค่าสี และปริมาณบีตา-แคโรทีน วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย