

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

อุปกรณ์	รูปแบบ (model)	บริษัทหรือหน่วยงานผู้ผลิต หรือประเทศผู้ผลิต
เครื่องชั่งไฟฟ้า	1518 MP8	Sartorius, Germany
เครื่องชั่งน้ำหนักแบบละเอียด	2462	Sartorius, Germany
เครื่องวัดความหนืด (Brookfield digital viscometer)	DV-I	Brookfield Engineering Laboratories, USA
ปั๊มสุญญากาศ	0522-v103-G21DX	MFG, USA
เครื่องวัด pH	HI 8417	Hanna, West Germany
อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Shaking water bath)	2563	Forma Scientific, USA
ตู้อบ (hot air oven)	E 53	WTB binder
เครื่องวัดสี Lovibond	flexible optic tintometer AF 751	The Tintometer Limited, England

3.2 วัสดุและสารเคมี

3.2.1 วัสดุและสารเคมีสำหรับการสกัดหัวน้ำเชื้อทุเรียน

3.2.1.1 เอนไซม์ทางการค้า

กลุ่มเพคตินเอส

Pectinex Ultra SP-L (Novo Industri A/S Copenhagen, Denmark)

Rohapect D5L (Rohm GmbH, Darmstadt, Germany)

Rohapect TF (Rohm GmbH, Darmstadt, Germany)

กลุ่มเซลลูเลส

Celluclast 1.5 L (Novo Industri A/S, Copenhagen, Denmark)

กลุ่มอะมีเลส

AMG (Novo Industri A/S, Copenhagen, Denmark)

BAN 240 L (Novo Industri A/S, Copenhagen, Denmark)

Rohalase M3 (Rohm GmbH Darmstadt, Germany)

VERON AP (Rohm GmbH Darmstadt, Germany)

ได้คัดเลือกเอนไซม์ทางการค้า สำหรับใช้ในการสกัดน้ำผลไม้ที่มีในประเศจำนวน
7ชนิด ในกลุ่มเพคตินเอส และอะมีเลส ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก.3

3.2.1.2 ทุเรียน

ทุเรียนที่นำมาสกัดหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้นจะใช้ทุเรียนพันธุ์ชะนี ดังรายละเอียดใน
ภาคผนวก ก.1 การคัดเลือกและควบคุมวัตถุดิบได้แสดงไว้ในภาคผนวก ก.2

3.2.1.3 การเก็บรักษาเนื้อทุเรียน (สมทรง ปวีณการณ และหิรัญ หิรัญประดิษฐ์, 2532)

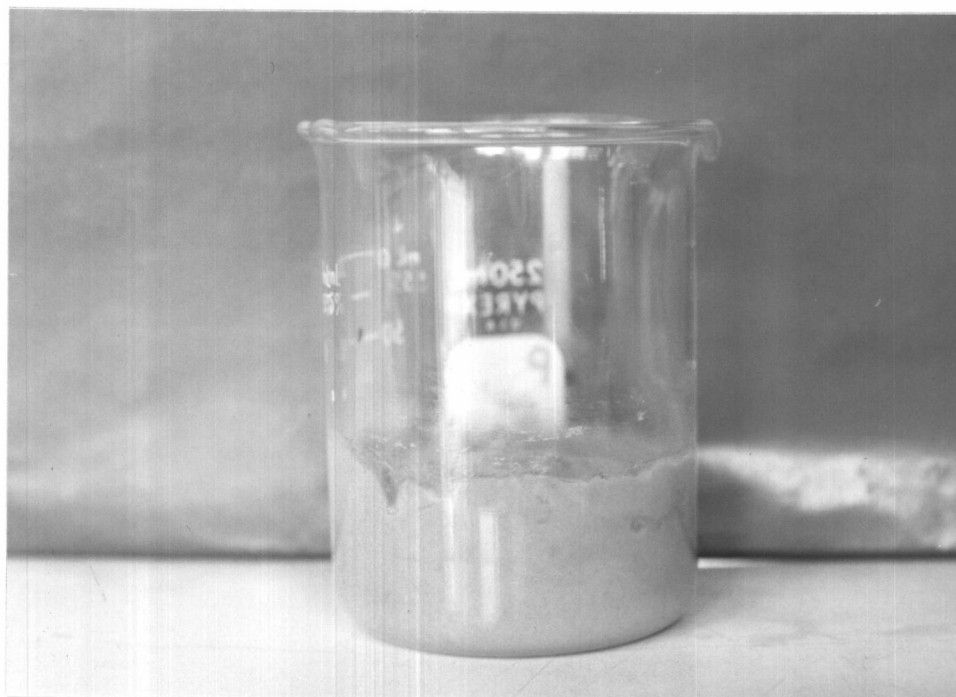
ใช้ทุเรียนพันธุ์ชงนี้ที่สุกมาก ไม่และเป็นปลาร้า ซึ่งจะมีกลิ่นและรสผิดปกติ นำมาแกะพุดและคว้านเมล็ดออก นำเนื้อทุเรียนไปแช่แข็งโดยวิธี Cryogenic freezing (ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท ลิววิตคาร์บอนิค ประเทศไทย จำกัด) ที่อุณหภูมิ -40 ถึง -50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 45 นาที นำมาบรรจุลงกล่องพลาสติก ปิดฝาแล้วหุ้มด้วยกระดาษอะลูมิเนียมฟอยล์ให้สนิทแล้วบรรจุกล่องกระดาษ ริดสายกล่องให้แน่นหนา แล้วนำไปเก็บแช่ในห้องเย็นอุณหภูมิ -20 ถึง -25 องศาเซลเซียส (ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท ห้องเย็นเจริญรักษ์) จนกว่าจะนำมาทดลอง

3.2.1.4 การเตรียมเนื้อทุเรียนบด

นำเนื้อทุเรียนที่เก็บรักษาไว้ในห้องเย็นมาหั่นให้มีขนาดชิ้นเล็กลง แล้วนำไปบดปั่นให้ละเอียด (ซึ่งจะมีความหนืดประมาณ 7600-8800 mPa.s)



รูปที่ 3.1 ลักษณะของทุเรียนสุกพันธุ์ชะนี



รูปที่ 3.2 เนื้อทุเรียนบดก่อนนำไปสกัดโดยใช้เอนไซม์



รูปที่ 3.3 เครื่อง cryogenic freezer

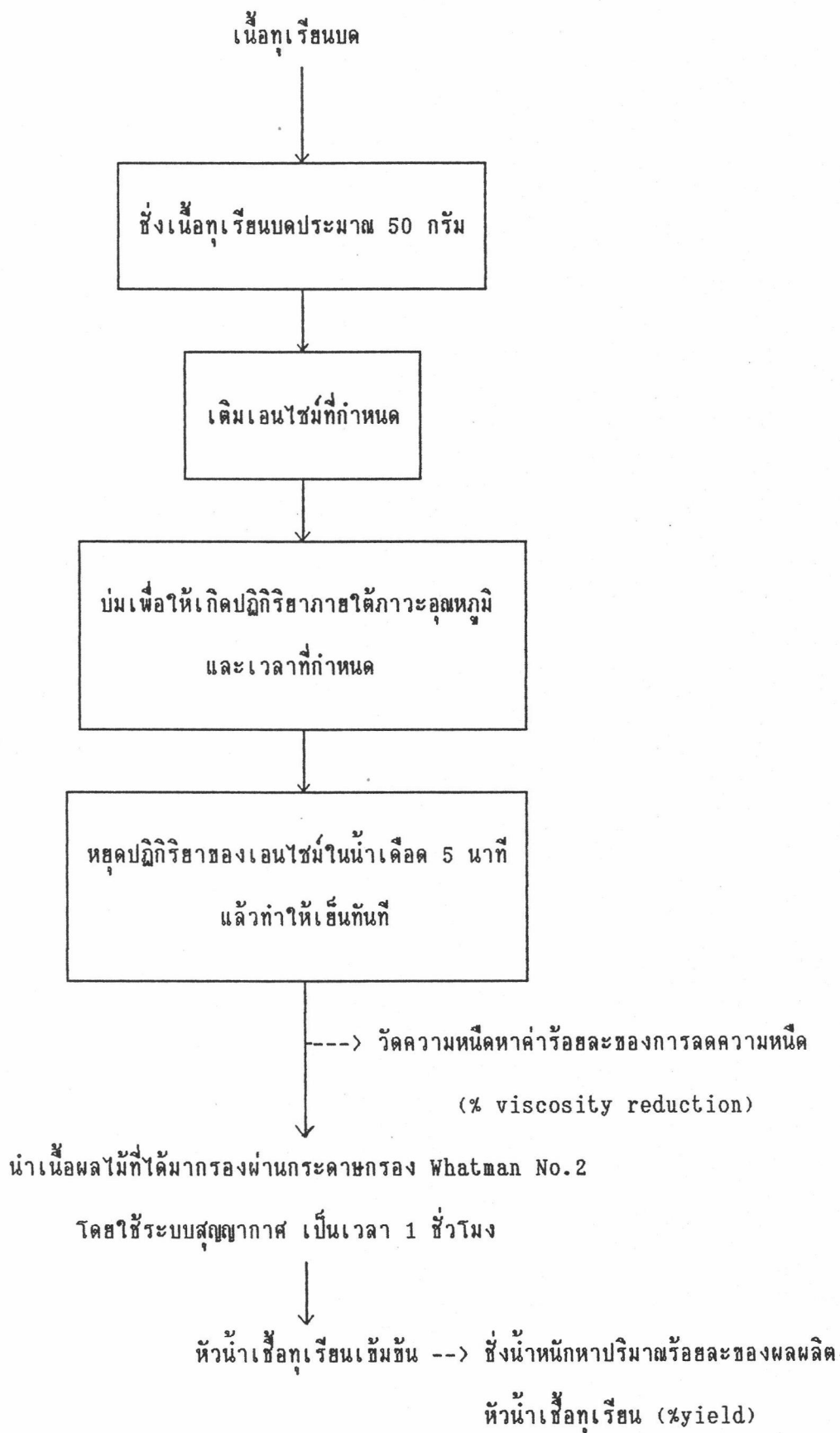


รูปที่ 3.4 เนื้อทุเรียนที่ผ่านการแช่แข็งแบบ cryogenic freezing

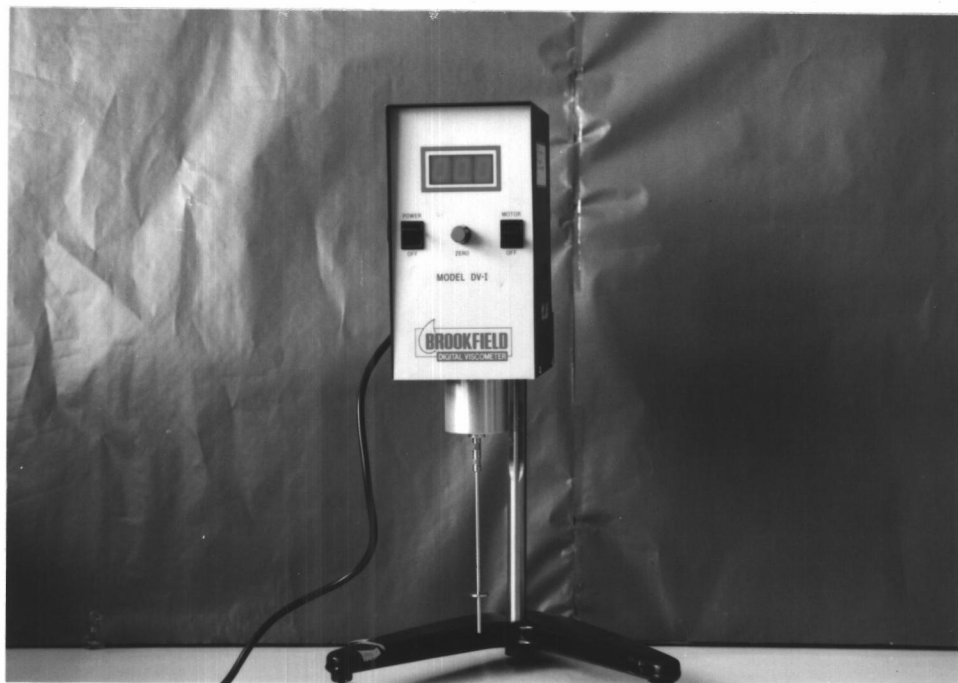
3.2.2 การเตรียมการสกัดหัวน้ำเชื้อเทียน

ซึ่งเนื้อเทียนที่มีความหนืดประมาณ 7600-8800 mPa.s ที่เตรียมได้จากข้อ

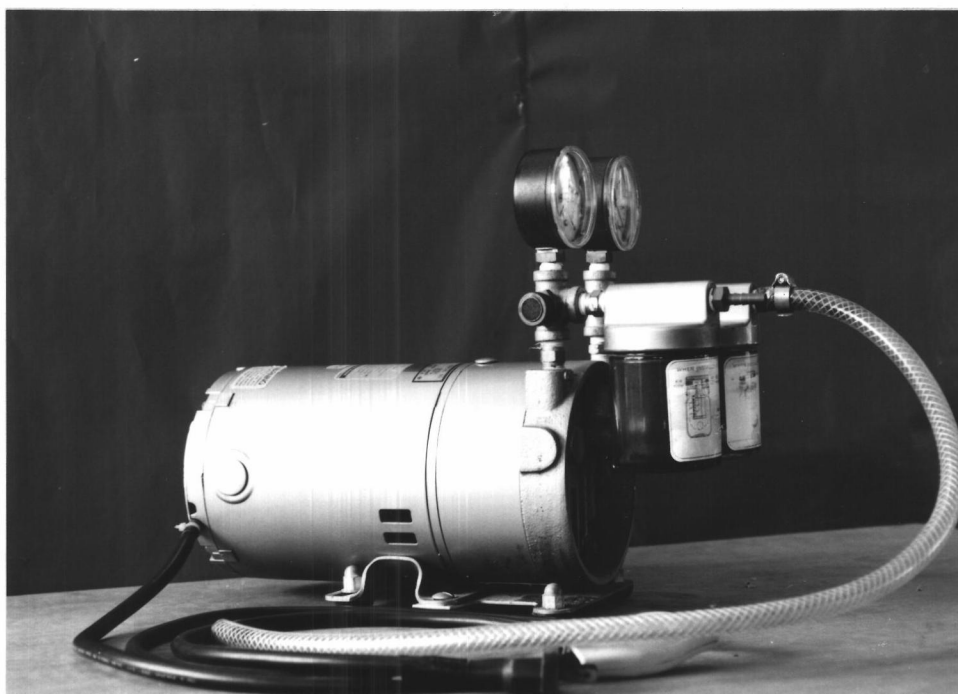
3.2.1.4 ประมาณ 50 กรัม นำมาเติมเอนไซม์และบ่มโดสใช้ปริมาณเอนไซม์และภาวะต่างๆ ตามที่ระบุไว้ในแต่ละการทดลอง จากนั้นจึงหยุดปฏิกิริยาเอนไซม์ในน้ำเดือด 5 นาที ทำให้เย็นทันทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำมาวัดความหนืดของเนื้อเทียนบ่มโดสใช้ Brookfield viscometer ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ขนาดของเข็มที่ใช้คือเบอร์ 6-7 และใช้ความเร็วรอบการหมุนของเข็ม 100 รอบ/นาที ที่เวลา 5 นาที คำนวณหาค่าร้อยละของการลดความหนืดของเนื้อเทียนบ่ม เปรียบเทียบกับค่าความหนืดของตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการสกัดด้วยเอนไซม์ และหาปริมาณของผลผลิตหัวน้ำเชื้อเทียน โดสน้ำเนื้อเทียนบ่มที่ได้ข้างต้น ซึ่งน้ำหนักอีกครั้งก่อนนำมากรอง หลังจากนั้นกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.2 โดยให้ระบบสุญญากาศ (vacuum suction) ที่ความดัน 27 นิ้วปรอท เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งปริมาณของน้ำผลไม้ที่ได้ ซึ่งขั้นตอนทั้งหมดดังกล่าวแสดงดังแผนภูมิรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 ขั้นตอนในการสกัดหว่านน้ำเซลลูโลส



รูปที่ 3.6 เครื่องวัดความหนืด Brookfield Viscometer



รูปที่ 3.7 ปัมป์สุญญากาศ (Vacuum Suction)

3.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.3.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของเนื้อทุเรียนบด

นำเนื้อทุเรียนที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.1.4 มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ ดังนี้

3.3.1.1 ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ A.O.A.C. ข้อที่ 22.013 (1984)

3.3.1.2 ปริมาณแป้ง ตามวิธีของ A.O.A.C. ข้อที่ 8.019, 31.038 (1984)

3.3.1.3 ปริมาณเส้นใย ตามวิธีของ A.O.A.C. ข้อที่ 7.073 (1984)

3.3.1.4 ปริมาณเพคติน ตามวิธีของ Ranganna (1977)

3.3.2 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดหัวน้ำเชื่อมทุเรียนเข้มข้น

3.3.2.1 ศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดหัวน้ำเชื่อมทุเรียน

3.3.2.1.1 หาอุณหภูมิที่เหมาะสมของเพคตินเนส เซลลูเลส และ อะมัยเลส แต่ละชนิด

เตรียมการทดลองตามวิธีในข้อ 3.2.2 โดยแปรอุณหภูมิในการบ่ม 6 ระดับ คือ 30, 40, 45, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์แต่ละชนิดร้อยละ 2 โดยปริมาตร/น้ำหนักทุเรียนบด เวลาที่ใช้ในการบ่ม 3 ชั่วโมง

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely randomized design เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ติดตามการลดลงของความหนืดของเนื้อทุเรียนบด (เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการสกัดด้วยเอนไซม์) นำข้อมูลมาแสดงด้วยกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา กับค่าร้อยละของการลดความหนืดของเนื้อทุเรียนบด

3.3.2.1.2 หาอุณหภูมิที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ร่วมกันของ เพคตินเนส เซลลูเลส และอะมีเลส ภายใต้วภาวะปฏิกิริยาแบบต่อเนื่อง

เตรียมการทดลองตามวิธีในข้อ 3.2.2 โดยแบ่งอุณหภูมิในการบ่ม 6 ระดับ คือ 30, 40, 45, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์แต่ละชนิดร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร/น้ำหนักทุเรียนบด เวลาที่ใช้ในการบ่ม 3 ชั่วโมง

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely randomized design เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ติดตามการลดลงของความหนืดของเนื้อทุเรียนบด (เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการสกัดด้วยเอนไซม์) และร้อยละของผลผลิตหัวน้ำเชื้อทุเรียนที่ได้ นำข้อมูลมาแสดงด้วยกราฟความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา กับค่าร้อยละของการลดความหนืดของเนื้อทุเรียนบดและร้อยละผลผลิตของหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้นที่ได้

3.3.2.2 ศึกษาหาความเข้มข้นของการใช้เอนไซม์ร่วมกันของเพคตินเนส เซลลูเลส และอะมีเลส ที่เหมาะสม ภายใต้วภาวะปฏิกิริยาแบบต่อเนื่อง

เตรียมการทดลองตามวิธีในข้อ 3.2.2 โดยแบ่งความเข้มข้นของเพคตินเนส เซลลูเลส และอะมีเลส อย่างละ 3 ระดับคือ ร้อยละ 0.5, 1.0 และ 1.5 โดยปริมาตร/น้ำหนักทุเรียนบด บ่มโดยใช้ข้อมูลที่เหมาะสมจากการทดลองในข้อ 3.3.2.1.2 ระยะเวลา 3 ชั่วโมง

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Factorial completely randomized design ขนาด 3x3x3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ทดลอง 3 ซ้ำ ติดตามการลดลงของความหนืดของเนื้อทุเรียนบด (เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการสกัดด้วยเอนไซม์) และร้อยละผลผลิตหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้นที่ได้

3.3.2.3 หาระยะเวลาในการทำปฏิริยาย่อยสลายเนื้อทุเรียนบดที่เหมาะสม

3.3.2.3.1 หาระยะเวลาในการทำปฏิริยาย่อยสลายเนื้อทุเรียนบดที่เหมาะสมโดยการใช้เอนไซม์ร่วมกันสามชนิด ภายใต้อาภาวะปฏิริยาแบบต่อเนื่อง

เตรียมการทดลองตามวิธีในข้อ 3.2.2 โดยใช้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของ เพคตินเนส เซลลูเลส และอะมีเลส ที่ได้จากจากข้อ 3.3.2.2 และระดับอุณหภูมิที่เหมาะสม จากการทดลองในข้อ 3.3.2.1.2 แปรระยะเวลาการบ่มเนื้อทุเรียนบดด้วยเอนไซม์ทั้งสามชนิด ต่างๆกัน คือ 1, 2, 3, 4, 5, 6, และ 7 ชั่วโมง

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely randomized design เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ทดลอง 3 ซ้ำ ติดตามการลดลงของความหนืดของเนื้อทุเรียนบด (เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการสกัดด้วยเอนไซม์) และร้อยละผลผลิตหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้นที่ได้

3.3.2.3.2 หาระยะเวลาในการทำปฏิริยาย่อยสลายเนื้อทุเรียนบดที่เหมาะสมโดยการใช้เอนไซม์ร่วมกันสามชนิด ภายใต้อาภาวะปฏิริยาตามลำดับ

เตรียมการทดลองตามวิธีในข้อ 3.2.2 โดยใช้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของ

เพคตินเนส เซลลูเลส และอะมีเลส ที่ได้จากข้อ 3.3.2.2 และระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมของ เอนไซม์แต่ละชนิดจากการทดลองในข้อ 3.3.2.1.1 แปรระยะเวลาการบ่มเนื้อทุเรียนบดด้วย เอนไซม์แต่ละชนิดต่าง ๆ กันคือ 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง โดยเริ่มต้นการทดลองเริ่มจาก เติมเพคตินเนสที่อุณหภูมิที่เหมาะสมของเพคตินเนสแล้วบ่มที่ช่วงเวลาต่าง ๆ กัน หาค่าร้อยละของการ ลดความหนืดของเนื้อทุเรียนบด จากนั้นเติมเซลลูเลส (หลังจากที่เติมเพคตินเนสแล้วบ่มที่เวลาที่มี ค่าร้อยละของการลดความหนืดคงที่) บ่มที่อุณหภูมิเหมาะสมของเซลลูเลสเป็นระยะเวลาต่าง ๆ กัน หาค่าร้อยละของการลดความหนืดและร้อยละของผลผลิตหัวน้ำเชื้อทุเรียน แล้วเติมอะมีเลส (หลังจากที่เติมเพคตินเนสที่บ่มที่เวลาที่มีค่าร้อยละของการลดความหนืดคงที่ และเติมเซลลูเลส แล้วบ่มที่เวลาที่มีค่าร้อยละของการลดลงของความหนืด และร้อยละของผลผลิตหัวน้ำเชื้อทุเรียน เข้มข้นคงที่) บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมของอะมีเลสเป็นระยะเวลาต่าง ๆ กัน หาค่าร้อยละของ การลดลงของความหนืดของเนื้อทุเรียนบดและร้อยละของผลผลิตหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้น

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely randomized design เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ทดลอง 3 ซ้ำ ติด ตามการลดลงของความหนืดของเนื้อทุเรียนบด (เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้ผ่านการ สกัดด้วยเอนไซม์) และค่าร้อยละของผลผลิตหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้นที่ได้ นำข้อมูลมาแสดงด้วยกราฟ ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการบ่ม กับค่าร้อยละของการลดความหนืดของเนื้อทุเรียนบด และร้อยละของผลผลิตหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้น

3.3.3. ศึกษาสมบัติทางกายภาพและเคมีของหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้นที่สกัดโดยใช้เอนไซม์

3.3.3.1 ตรวจวัดหาค่าความเป็นกรดต่าง (pH)

3.3.3.2 ตรวจวัดหาปริมาณร้อยละความเป็นกรด (% acidity) คำนวณใน รูปของกรดซิตริก

3.3.3.3 ตรวจหาค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble

solid) โดยใช้ hand refractometer

3.3.3.4 ตรวจวัดค่าสี Lovibond

3.3.4 ศึกษาหาอายุการเก็บของหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มชั้น

ตรวจหาอายุการเก็บของหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มชั้นที่สกัดโดยการใช้น้ำมันร่วมกัน 3 ชนิด ภายใต้ภาวะปฏิบัติการแบบต่อเนื่องและแบบตามลำดับ ที่ได้จากข้อ 3.3.2.3.1 และข้อ 3.3.2.3.2 เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องเย็น (ประมาณ 4-10 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างทุก 1 เดือน เป็นระยะเวลา 4 เดือน นำมาตรวจวิเคราะห์ตามข้อ 3.3.3 และตรวจสอบจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) และจำนวนเชื้อราและยีสต์ ตามภาคผนวก ก.7

3.3.5 เปรียบเทียบสมบัติทางประสาทสัมผัส ระหว่างหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มชั้นที่สกัดได้ โดยการใช้น้ำมัน กับหัวน้ำเชื้อทุเรียนสังเคราะห์

ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสระหว่างหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มชั้นที่สกัดโดยการใช้น้ำมันร่วมกัน 3 ชนิด ภายใต้ภาวะปฏิบัติการแบบต่อเนื่องและแบบตามลำดับ ที่ได้จากข้อ 3.3.2.3.1 และข้อ 3.3.2.3.2 เปรียบเทียบกับหัวน้ำเชื้อทุเรียนสังเคราะห์ นำหัวน้ำเชื้อมาเตรียมผลิตภัณฑ์ไอศกรีมกลิ่นทุเรียน นมกลิ่นทุเรียน และโดนัทราดไอซิ่งกลิ่นทุเรียน ซึ่งสูตรอาหารอยู่ในภาคผนวก ก.8 เปรียบเทียบสมบัติของผลิตภัณฑ์ต่างๆในแง่กลิ่น รสชาติ และการยอมรับโดยรวม โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 20 คน ตารางการทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงไว้ในภาคผนวก ก.9

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Randomized completely block design เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test

3.3.6 ศึกษาหาชนิดและระดับของกลิ่นทางประสาทสัมผัส (flavor profile) ของ
หัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้นชนิดต่างๆ

นำหัวน้ำเชื้อทุเรียนเข้มข้นที่ผ่านการสกัดโดยการใช้ออนไซม์ร่วมกัน 3 ชนิด ภายใต้อุณหภูมิที่ศึกษาแบบต่อเนื่องและแบบตามลำดับ ที่ได้จากข้อ 3.3.2.3.1 และ 3.3.2.3.2 และหัวน้ำเชื้อทุเรียนสังเคราะห์ นำมาทดสอบโดยการดมกลิ่น (direct smell) โดยใช้ผู้ทดสอบที่ชำนาญการทางด้านกลิ่น นำข้อมูลมาแสดงด้วยกราฟความสัมพันธ์ระหว่างชนิดและระดับความเข้มข้นของกลิ่นทางประสาทสัมผัส แบบทดสอบเพื่อแจกแจงชนิดและระดับความเข้มข้นของกลิ่นทางประสาทสัมผัสแสดงไว้ในภาคผนวก ก.10