บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัตถุดิบ

1. สตรอเบอรี่สายพันธุ์พระราชทาน 60 คุณภาพเกรด 3 ซื้อจากพ่อค้าคนกลาง จากแหล่งปลูกในอำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่
2. สตรอเบอรี่สายพันธุ์พระราชทาน 72 คุณภาพเกรดโรงงาน ซื้อจากร้านดอยคำ จากแหล่งปลูกบนดอยอ่างขาง อ.ฝาง จ.เชียงใหม่
3. สตรอเบอรี่สายพันธุ์ 329 คุณภาพเกรด 3 ซื้อจากพ่อค้าคนกลาง จากแหล่งปลูกในอำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่

คุณภาพของผลสตรอเบอรี่ที่ใช้ในการศึกษาเป็นผลสตรอเบอรี่ที่ออกในช่วงเดือนมกราคม-กุมภาพันธ์ 2550 โดยกำหนดสีผิวสตรอเบอรี่ให้มีความแดง 60–80% ของพื้นที่ผิวของผล

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

1. เครื่องวัดสี Minolta chroma meter รุ่น CR-300
2. เครื่องวัดความหนืด Brookfield–Programmable Viscometer รุ่น LVDV-II+
3. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง A&D รุ่น HF-3000G
4. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง Sartorius รุ่น CP224S
5. เครื่องปั่นผลไม้ (Blender) Super blender Imarflex รุ่น IF-308
6. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) Sartorius รุ่น AG PB-10
7. เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Hand refractometer) ATAGO รุ่น N-1E อ่านค่าตั้งแต่ 0-32 องศาบริกซ์ (^{o}Brix)
8. เครื่องกวนสารเคมีด้วยแท่งแม่เหล็ก และให้ความร้อน IKA รุ่น RH-KT/C
9. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ Memmert รุ่น WB 14
10. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ GFL รุ่น1032
11. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง Perkin Elmer รุ่น Lambda 35
12. เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิได้ Hettich zentrifugen rotina รุ่น D-78532
13. กระดาษกรอง Whatman No.4

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

14. เครื่องแก้ว

- Erlenmeyer flask (ขวดรูปชมพู่)
- บีกเกอร์
- Volumetric flask
- กระบอกตวง
- บิวเรต
- ปิเปต
- กรวยกรอง
- แท่งแก้วคนสาร
- ชุดกรองสุญญากาศ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- แก้วพลาสติกสำหรับใส่น้ำ
- ถ้วยพลาสติกสำหรับบรรจุตัวอย่าง
- แบบทดสอบ

สารเคมี

- เอนไซม์เพคติเนส (pectinase from mould) เกรด Food grade ของบริษัท Fluka Biochemika
- สารเคมีที่ใช้หาปริมาณกรดที่ไตเตรตได้

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH, เกรด AR ของบริษัท Merck) เตรียมความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- สารเคมีที่ใช้หาปริมาณน้ำตาล

- Carrez I เตรียมโดยชั่ง Zinc acetate dehydrate; $(CH_3COO)_2Zn.2H_2O$, เกรด AR ของบริษัท Merck มา 21.9 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วเติมกรดอะซิติก (Acetic acid; CH_3COOH, เกรด GR ของบริษัท Merck) 3 กรัม แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

- Carrez II เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมเฟอร์โรไซยาไนด์ (Potassium ferrocyanide; $K_4Fe(CN)_6.3H_2O$, เกรด AR ของบริษัท Merck) มา 10.6 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- Fehling's solution No.1 เตรียมโดยชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulphate; $CuSO_4.5H_2O$, เกรด AR ของบริษัท J.T.Baker) มา 69.278 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- Fehling's solution No.2 เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH, เกรด AR ของบริษัท Merck) มา100 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วเติมโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต (Potassium tartrate; $NaKC_4O_6.4H_20$, เกรด AR ของบริษัท Merck) 346 กรัม แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6.34 นอร์มัล เตรียมโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl, เกรด GR ของบริษัท Merck) 528.33 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- สารละลายเมทธิลีนบลู (Methylene Blue, เกรด AR ของบริษัท Merck เตรียมความเข้มข้น 1% โดยการชั่งเมทธิลีนบลู 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH, เกรด AR ของบริษัท Merck) เตรียมความเข้มข้น 5 นอร์มัล โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 200 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

- สารเคมีที่ใช้หาปริมาณแอนโทไซยานิน

- กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl, เกรด GR ของบริษัท Merck) เตรียมความเข้มข้น 1.5 นอร์มัล โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 62.107 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

- เอทาโนลิกไฮโดรคลอริก (เอทานอล : กรดไฮโดรคลอริก) โดยใช้เอทานอล (เอทานอล 95% เกรด commercial ของบริษัท Merck) และกรดไฮโดรคลอริก 1.5 นอร์มัล ในอัตราส่วน 85 : 15 แล้วเก็บไว้ในขวดสีชา

เครื่องประมวลผลข้อมูลทางสถิติ

- เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล
- โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft excel
- โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 11.0
- โปรแกรมสำเร็จรูป Design–Expert version 7.1.3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สถานที่ทำการศึกษา

ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร และโรงงานต้นแบบ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วิธีการทดลอง

การเก็บรักษาผลสตรอเบอรี่สด

นำสตรอเบอรี่ที่มีระยะสีผิวมีสีแดง 60-80% มาคัดผลที่เน่าเสีย และเป็นโรคออก เด็ดขั้ว ล้างด้วยน้ำสะอาด โดยแช่ในน้ำประปาเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำไหลผ่าน 2-3 นาที ทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำสักครู่ นำมาบรรจุใส่ถุงเย็น (โพลีเอทธิลีน ชนิด HDPE ขนาด 12 x 18 นิ้ว) ในปริมาณ 2/3 ของถุง แล้วเติมก๊าซไนโตรเจนลงไปในถุงเย็นจนถุงพอง รัดปากถุงให้แน่นแล้วบรรจุใส่ถุงเย็นอีก 2 ชั้น เก็บรักษาในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส จนสิ้นสุดการทดลอง

การเตรียมสตรอเบอรี่

นำสตรอเบอรี่ที่แช่แข็งมาละลายน้ำแข็ง โดยการแบ่งบรรจุใส่ถุงขนาดเล็ก แล้วนำไปแช่น้ำที่อุณหภูมิห้อง จนน้ำแข็งละลายหมด นำสตรอเบอรี่ที่ละลายน้ำแข็งแล้ว มาปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (blender) ด้วยอัตราเร็วสูงสุดเป็นเวลา 2 นาที จึงนำไปทำการทดลองตอนที่ 2 และ 3

แผนการทดลอง

แบ่งออกเป็น 4 ตอน คือ

ตอนที่ 1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสตรอเบอรี่สายพันธุ์พระราชทาน 60, 72 และพันธุ์ 329

วางแผนการทดลองแบบสุ่มแบบสมบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ แต่ละซ้ำทำการทดลอง 3 ครั้ง

นำสตรอเบอรี่แช่แข็งทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์พระราชทาน 60, 72 และพันธุ์ 329 ที่ละลายน้ำแข็งแล้ว ไปทำการศึกษาหา ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิ่ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด อัตราส่วนน้ำตาลต่อกรด (sugar/acid ratio) ปริมาณแอนโทไซยานินที่ผิว และปริมาณแอนโทไซยานินทั้งผล (รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ในภาคผนวก ก.)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ในการสกัดน้ำสตรอเบอรี่

ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์ในการสกัดน้ำสตรอเบอรี่มีการศึกษา 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์เพคติเนส (%โดยน้ำหนัก) และเวลาที่ใช้บ่ม (ชั่วโมง) ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีการทดลองของ Versari *et al.* (1999)

แผนการทดลองที่ใช้ในการทดลองตอนนี้ คือ 2 x 2 Factorial experiment with 2 center points แบบ Central Composite Design (CCD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ของแต่ละสายพันธุ์ โดยกำหนดให้

ปัจจัย A คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์เพคติเนส (%โดยน้ำหนัก)

- ระดับต่ำ 0.003 %
- ระดับกลาง 0.0165 %
- ระดับสูง 0.03 %

ปัจจัย B คือ เวลาที่ใช้บ่ม (ชั่วโมง)

- ระดับต่ำ 2 ชั่วโมง
- ระดับกลาง 4 ชั่วโมง
- ระดับสูง 6 ชั่วโมง

ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปได้สิ่งทดลองทั้งหมดแสดงดังตาราง 3.1

ตาราง 3.1 แผนการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์ของสตรอเบอรี่แต่ละสายพันธุ์

สิ่งทดลองที่	ความเข้มข้นของเอนไซม์เพคติเนส (% โดยน้ำหนัก)	เวลาที่ใช้บ่ม (ชั่วโมง)
1	0.003	2
2	0.03	2
3	0.003	6
4	0.03	6
5	0.0165	4
6	0.0165	4

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในการทดลองจะใช้เนื้อสตรอเบอรี่ปั่นปริมาณ 70 กรัม เติมเอนไซม์ pectinase ตามความเข้มข้นที่กำหนด และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนครบเวลาตามที่กำหนดในตาราง 3.1 ทำการยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์เพคติเนสโดยการพาสเจอไรซ์ที่ 85 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 นาที ทำให้เย็นตัวลงอย่างรวดเร็วจากนั้นนำไป centrifuge โดยใช้ความเร็ว 3,000 rpm เป็นเวลา 20 นาที เพื่อให้น้ำ และกากแยกออกจากกัน นำน้ำสตรอเบอรี่ที่ได้มาหาค่า % ของปริมาณผลผลิต (%yield) และวัดความหนืด (รายละเอียดวิธีการวัดความหนืดดูในภาคผนวก ก.) คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำสตรอเบอรี่แต่ละสายพันธุ์ โดยใช้ response surface methodology จากนั้นทำการเปรียบเทียบ % ของปริมาณผลผลิต (%yield) และความหนืดระหว่างสภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่สุดของแต่ละสายพันธุ์กับสภาวะที่ไม่เติมเอนไซม์ (control)

ตอนที่ 3 การคัดเลือกสายพันธุ์สตรอเบอรี่ที่เหมาะสมในการผลิตน้ำสตรอเบอรี่ที่สกัดโดยเอนไซม์เพคติเนส

นำน้ำสตรอเบอรี่ที่สกัดโดยเอนไซม์เพคติเนสในปริมาณ และเวลาที่เหมาะสมที่สุดของแต่ละสายพันธุ์ มาวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ และเคมี ได้แก่ ค่าสี L* a* b* C* และ Hue angle ความเป็นกรด–ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิ่ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณแอนโทไซยานิน อัตราส่วนน้ำตาลต่อกรด (sugar/acid ratio) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) สำหรับสตรอเบอรี่แต่ละสายพันธุ์ นำผลมาเปรียบเทียบโดยวิเคราะห์ทางสถิติใช้ Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ตอนที่ 4 การทดสอบการยอมรับน้ำสตรอเบอรี่สายพันธุ์ที่คัดเลือก

นำน้ำสตรอเบอรี่สายพันธุ์ที่คัดเลือกที่ผ่านการสกัดด้วยเอนไซม์เพคติเนสในสภาวะที่เหมาะสมที่สุดมาทดสอบการยอมรับในด้าน

- สี
- กลิ่น
- รสหวาน
- รสเปรี้ยว
- ลักษณะปรากฏ
- การยอมรับโดยรวม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยใช้ 9-points hedonic scale (แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสดูในภาคผนวก ก.) จำนวนผู้ทดสอบ 50 คน ทำ 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) นำผลการทดสอบการยอมรับที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved