

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

##### 3.1 วัสดุและอุปกรณ์

1. ผลหม่อนสุกพันธุ์เชียงใหม่ เก็บเกี่ยวจากแปลงทดลองของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 ส่วนแยกหม่อนใหม่ อ.หางดง จ.เชียงใหม่
2. น้ำตาลซูโครส (น้ำตาลทรายจากน้ำอ้อย) ตรามิตรผล
3. น้ำผึ้ง ตราสุภาพาร์มผึ้ง
4. ฟรุกโตสไซรัป ชนิดฟรุกโตสร้อยละ 55 ของบริษัทเจ้าคุณเกษตรพืชผล จำกัด (ภาคผนวก จ.)
5. เครื่องพีเอชมิเตอร์ (ยี่ห้อ Microprocessor WTW, รุ่น pH 537)
6. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง (ยี่ห้อ Trecisa รุ่น XP320M)
7. เครื่องวัดค่า  $a_w$  (ยี่ห้อ AquaLab, รุ่น CX3 TE)
8. ชุดเครื่องกลั่นวิเคราะห์หาซัลเฟอร์ไดออกไซด์
9. เครื่องให้ความร้อนและสเตอริไรเซอร์ (Hot plate and stirrer)
10. เครื่องมือวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ รีแฟรคโตมิเตอร์ (Hand Refractometer)
11. เครื่องปั่นผสม (ยี่ห้อ NATIONAL)
12. เครื่องมือตรวจวิเคราะห์แอลกอฮอล์ อีบูลลิมิเตอร์ (Ebulliometer)
13. อุปกรณ์อื่นๆ บีกเกอร์ ขวดรูปชมพู่ กระบอกตวง กรวยแก้ว บิวเรต ปิเปต ขวดวัดปริมาตร ช้อนตักสาร แท่งแก้วคนสาร ถังน้ำ 20 ลิตร ถุงพลาสติกทนร้อน (Polypropylene) และ หนัวยยางรัด
14. อุปกรณ์การเลี้ยงเชื้อยีสต์ และรา ได้แก่ เพลทแก้ว หลอดแก้ว ปิเปต ตัวดูดสารละลาย ตู้อบลมร้อน หม้อนึ่งมาเชื้อ ตู้บ่มเพาะเชื้อ เป็นต้น

##### 3.2 สารเคมี และเชื้อยีสต์

1. Copper sulfate
2. Hydrogen peroxide
3. Orthophosphoric acid
4. Peptone water
5. Potassium iodide
6. Potatoe Dextose Agar (PDA)

7. Sodium hydroxide
8. Sodium potassium tartrate
9. Sodium thiosulfate
10. Sulfuric acid
11. ยีสต์ผง สายพันธุ์ *Saccharomyces* มีชื่อทางการค้า Fermivin

### 3.3 วิธีการวิจัย

#### 1. ศึกษาผลของสารให้ความหวาน โปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ และอุณหภูมิ ต่อการเก็บรักษาของผลหม่อนสุก

เก็บผลหม่อนสุกพันธุ์เชิงใหม่จากแปลงปลูก โดยคัดเอาเฉพาะผลสุกซึ่งมีผลสีแดงปนดำ ล้างทำความสะอาด และแช่ในสารละลายโปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) 1,000 ppm ผสมกับ กรดซิตริก 1,000 ppm เป็นเวลา 1 นาที เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น ยกขึ้นให้สะเด็ดน้ำ สุ่มตัวอย่าง วิเคราะห์หาปริมาณน้ำอิสระในอาหาร ( $a_w$ ) ของผลหม่อนสุก เปรียบเทียบกับค่า  $a_w$  ของสาร ให้ความหวาน 3 ชนิด คือ น้ำตาลซูโครส น้ำผึ้ง และฟรุกโตสไซรัป บรรจุผลหม่อนในถุงพลาสติก ทนร้อน (Polypropylene) แบ่งเป็นกลุ่มๆ เพื่อเติมสารให้ความหวานทั้ง 3 ชนิด โดยใช้สัดส่วนของ ผลหม่อนต่อสารให้ความหวาน คือ 1 : 2 โดยน้ำหนัก เปรียบเทียบกับการไม่ใส่สารให้ความหวาน จากนั้นในแต่ละกลุ่มของชนิดสารให้ความหวานเติมสาร KMS 4 ระดับ คือ 0 ppm 500 ppm 1,000 ppm และ 1,500 ppm รัดปากถุงด้วยยางรัด แบ่งเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่างกัน 3 ระดับ คือ อุณหภูมิห้อง ( $30 \pm 2^\circ\text{C}$ ) ห้องปรับอากาศ ( $25^\circ\text{C}$ ) และห้องแช่เย็น ( $4^\circ\text{C}$ ) ในแต่ละสิ่งทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ (ถุง) ในระหว่างการเก็บตรวจสอบทุก ๆ 3 วัน ทำการวิเคราะห์คุณภาพ ดังนี้

- วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยใช้ Hand Refractometer
- ปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปของกรดซิตริก) โดยการไตเตรทด้วย 0.1N NaOH (AOAC, 2000)
- ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้ pH meter
- สังเกตลักษณะทางกายภาพที่เริ่มเน่าเสีย ได้แก่ ลักษณะการบวมของถุงพลาสติก กลิ่นเหม็นเปรี้ยว มีฟองก๊าซผุดขึ้นมาด้านบน และฝ้าขาวจากยีสต์ (film yeast) ลอยอยู่ที่ผิวหน้าของสารละลายหม่อน

ในวันเริ่มต้นและวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่เริ่มมีการเน่าเสีย) ทำการตรวจคุณภาพเพิ่มเติม ดังนี้

- ตรวจหาปริมาณเชื้อยีสต์และรา โดยวิธี total plate count โดยการเลี้ยงใน Potatoe Dextrose Agar (PDA)
- วัดปริมาณ  $\text{SO}_2$  หาในรูปของ  $\text{SO}_2$  ทั้งหมด โดยวิธี Aspiration (Iland *et al.*, 2000)

- วัดปริมาณน้ำอิสระในอาหาร ( $a_w$ ) โดยเครื่องวัด  $a_w$

นำข้อมูลคุณภาพที่วิเคราะห์ได้จากวันสุดท้ายของการเก็บรักษาผลหม่อน มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ วางแผนการทดลองแบบ  $4 \times 4 \times 3$  Factorial in Completely Randomized Design (Factorial in CRD) โดยมีปัจจัย 3 ปัจจัย คือ ชนิดสารให้ความหวาน 4 ระดับ ปริมาณ KMS 4 ระดับ และอุณหภูมิในการเก็บรักษา 3 ระดับ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

## 2. เปรียบเทียบผลของการเก็บรักษาผลหม่อนต่อคุณภาพของไวน์หม่อน

ใช้ผลหม่อนสุกที่ผ่านการเก็บรักษาโดยวิธีที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ผ่านมา วิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ( $SO_2$ ) ที่คงเหลืออยู่ แล้วนำมาผลิตเป็นไวน์หม่อน เปรียบเทียบกับไวน์หม่อนที่ได้จากผลหม่อนสด และผลหม่อนแช่แข็ง

วิธีการทำไวน์ผลหม่อนมีดังนี้ คือ ใช้ผลหม่อนบดหยาบผสมกับน้ำ ในอัตราส่วน 1 : 3 โดยน้ำหนัก ปรับความหวานด้วยน้ำตาลซูโครส ให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ทั้งหมดเป็น  $20^\circ$ Brix แล้วเติม KMS ให้เป็น 150 ppm (กรณีที่มี  $SO_2$  เหลืออยู่ มีการเพิ่มเข้าไปจนครบ 150 ppm) และหมักด้วยเชื้อยีสต์ผง Fermivin ที่  $25^\circ C$  จนถึงสิ้นสุดการหมัก ซึ่งใช้เวลาประมาณ 1 เดือน คัดแยกส่วนใสออก บ่มต่ออีกประมาณ 1 เดือน สุ่มตัวอย่างตรวจสอบคุณภาพไวน์หม่อน ที่ได้จากผลหม่อนทั้ง 3 แบบ ดังนี้

1. ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ โดยใช้ Hand Refractometer
2. ปริมาณกรดทั้งหมดโดยใช้วิธีการไตเตรทด้วย 0.1N NaOH กรดในรูปชิตริก (AOAC, 2000)
3. ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้ pH meter
4. ปริมาณแอลกอฮอล์ (% v/v) โดยใช้ Ebulliometer (Iland *et al.*, 2000)
5. ปริมาณ  $SO_2$  หารูปของ  $SO_2$  ทั้งหมด โดยวิธี Aspiration (Iland *et al.*, 2000)
6. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/L) โดยวิธี Rebelein (Iland *et al.*, 2000)

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) จากนั้นทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบชิม โดยใช้แบบทดสอบชิมที่ใช้คะแนนเต็มเป็น 100 คะแนน (Yair, 1996) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวางแผนการทดลองแบบ Random Completely Block Design (RCBD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)