บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

3.1 วิเคราะห์องค์ประกอบของวัตถุดิบ

3.1.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี กายภาพ ของพุทรา

นำพุทราสุกพันธุ์พื้นเมืองผ่านขั้นตอนต่าง ๆ ตามรูปที่ 3.1 ได้วัตถุดิบสำหรับใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการผลิตหัวเชื้อน้ำพุทรา คือพุทราบดทั้งผล ส่วนเนื้อติดเปลือก เนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตร และเนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี กายภาพ ของพุทรา ได้ดังนี้

3.1.1 ความชื้น ตามวิธีของ A.O.A.C (1995)
รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข.

3.1.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ตามวิธีของ A.O.A.C (1995)
รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข.

3.1.3 ความเป็นกรด - ด่างตามวิธีของ A.O.A.C (1995)
รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข.

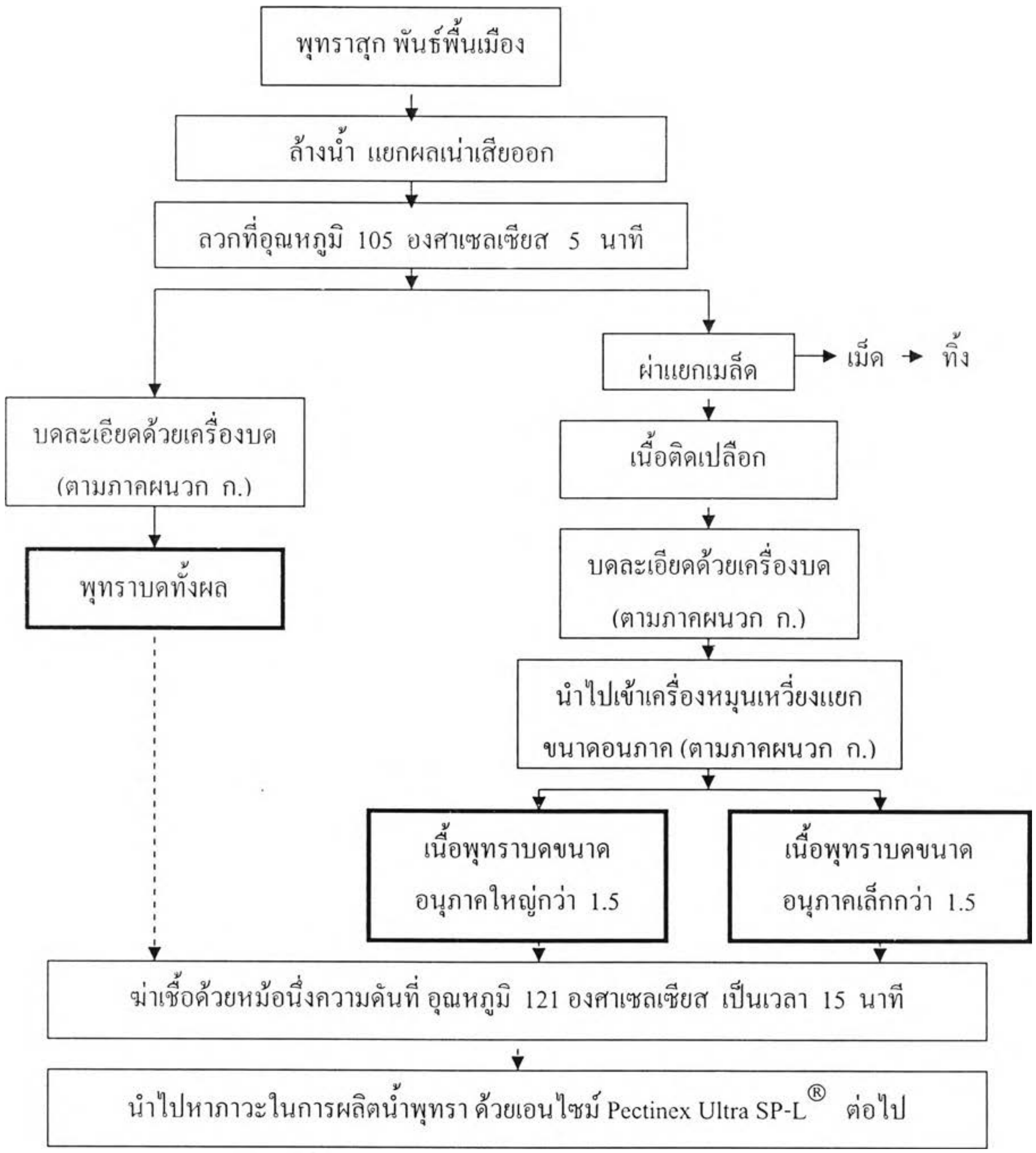
3.1.4 ค่าความเป็นกรดตามวิธีของ A.O.A.C (1995)
รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข.

3.1.5 ไขมันตามวิธีของ A.O.A.C (1995)
รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข.

3.1.6 เถ้าตามวิธีของ A.O.A.C (1995)
รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข.

3.1.7 ใยอาหารตามวิธีของ A.O.A.C (1995)
รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข.

3.1.8 ปริมาณวิตามินซีตามวิธีของ A.O.A.C (1995)
รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข.



รูปที่ 3.1 การเตรียมวัตถุดิบเพื่อใช้ในการทดลอง

3.1.2 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เพคติเนสทางการค้า (Pectinex Ultra SP-L®)

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ที่ใช้ในการผลิตหัวเชื้อน้ำพุทรา ทางบริษัทผู้ผลิต(Novo Denmark)ได้กำหนดนิยามของกิจกรรมของเอนไซม์ไว้ดังนี้

1 หน่วยต่อมิลลิลิตรเอนไซม์ เพคติเนส หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่ลดความหนืดของสารละลายเพคติน ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรลงร้อยละ 50 ภายในเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

3.2 การวิเคราะห์สภาวะการทำปฏิกิริยาการย่อยสลายเนื้อพุทราบดที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตร โดยเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® เพื่อผลิตน้ำพุทราเข้มข้นในสภาวะปลอดเชื้อ

3.2.1 การหาระดับความเป็น กรด – ด่างที่เหมาะสม

ชั่งเนื้อพุทราบดจำนวน 10 กรัม ลงในขวดแก้วที่มีฝาปิดขนาด 25 มิลลิลิตร ผสมกับอะซิเตตบัฟเฟอร์(การเตรียมอยู่ในภาคผนวก ก.)จำนวน 9 มิลลิลิตร ซึ่งแปรค่าความเป็นกรด – ด่างต่าง ๆ กัน 5 ระดับ คือ 2 , 3 , 4 , 5 และ 6 ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® (10 หน่วยต่อมิลลิลิตร) จำนวน 1 มิลลิลิตร ที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง แล้วหยุดปฏิกิริยา ในน้ำเดือดที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที จากนั้นจึงทำการกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเอนไซม์

ติดตามปฏิกิริยาโดยวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำพุทราเข้มข้นดังนี้

- วัดค่าความหนืด ใช้ เครื่อง Brookfield
- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ใช้ Hand Refractometer
- ปริมาณน้ำคั้น
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีDNS-method ของ Miller(1959)รายละเอียดตามภาคผนวก ข.

ออกแบบการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Experiment ขนาด 3 x 5 และทำการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan ' s New Multiple Range Test

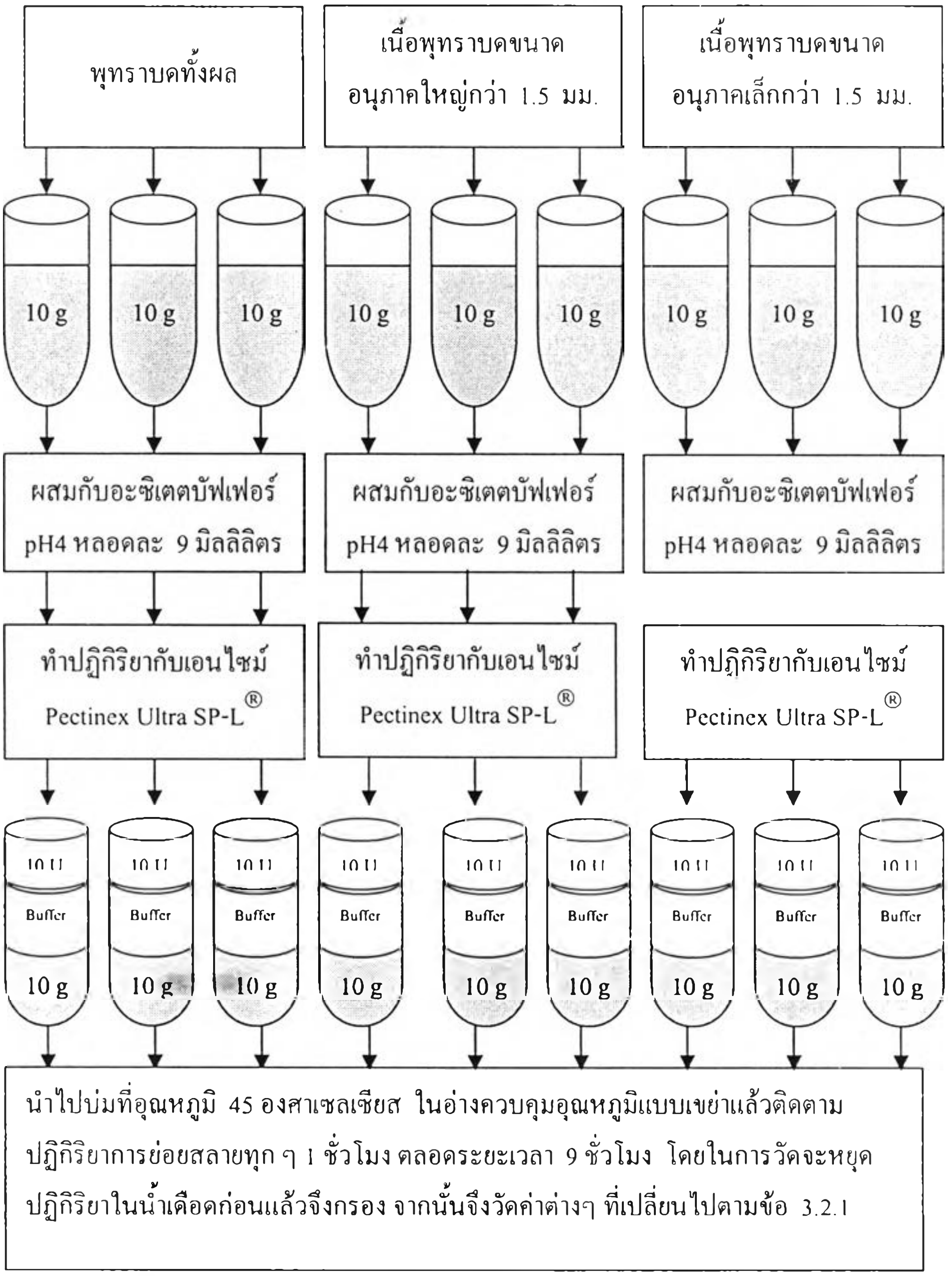
3.2.2 การหาค่าอุณหภูมิที่เหมาะสม

ชั่งเนื้อพุทราบดจำนวน 10 กรัม ลงในขวดแก้วที่มีฝาปิดขนาด 25 มิลลิลิตร ผสมกับ อะซิเตตบัฟเฟอร์จำนวน 9 มิลลิลิตร ที่ค่าความเป็นกรด – ด่าง เท่ากับ 4 ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® (10 หน่วยต่อมิลลิลิตร) จำนวน 1 มิลลิลิตร ที่ระดับอุณหภูมิต่าง ๆ กัน คือ อุณหภูมิห้อง , 30 , 40 , 50 , 60 และ 70องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง แล้วหยุดปฏิกิริยา ในน้ำเดือดที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที จากนั้นจึงทำการกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมเอนไซม์ ติดตามปฏิกิริยาโดยวิเคราะห์ลักษณะทางเคมีและกายภาพของน้ำพุทราเข้มข้นตามข้อ 3.2.1

ออกแบบการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Experiment ขนาด 3 x 7 และทำการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan ' s New Multiple Range Test

3.3 การหาสัดส่วนของปริมาณเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® ต่อปริมาณพุทรา 3 กลุ่ม คือ พุทราบดทั้งผล เนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตร และเนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร

ในการทดลองนี้แปรค่าปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณพุทรา 3 กลุ่ม คือ พุทราบดทั้งผล เนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตรและเนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร โดยใช้ เอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® (10 , 20 และ 30 หน่วยต่อมิลลิลิตร) จำนวน 1 มิลลิลิตร ต่อปริมาณพุทรา 10 กรัม ที่ค่าความเป็นกรด – ด่าง เท่ากับ 4 (เลือกมาจากข้อ 3.2.1) แช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (เลือกมาจากข้อ 3.2.2) ติดตามปฏิกิริยาการย่อยสลายตลอดระยะเวลา 9 ชั่วโมง ในสภาวะปลอดเชื้อ ตามรูปที่ 3.2

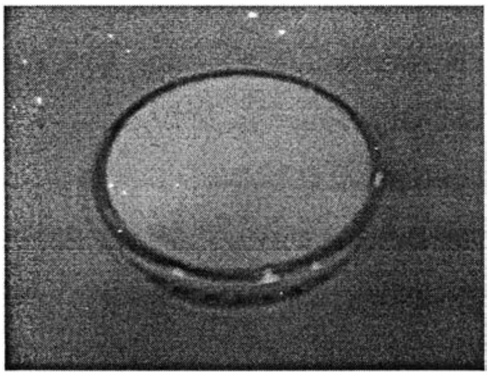


รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการผลิตน้ำพุทราเข้มข้นด้วยเอนไซม์เพคติเนสจากพุทรา 3 กลุ่ม คือ พุทราบดทั้งผล , เนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร และเนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตร

3.3.1 การหาสัดส่วนของปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณเนื้อพุทราบดที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตร

ชั่งเนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตร จำนวน 10 กรัม ลงในขวดแก้วที่มีฝาปิดขนาด 25 มิลลิลิตร ผสมกับ อะซิเตตบัฟเฟอร์จำนวน 9 มิลลิลิตร ที่ค่าความเป็นกรด – ด่าง เท่ากับ 4 ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® (10 ,20 และ 30 หน่วยต่อมิลลิลิตร) จำนวน 1 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ติดตามปฏิกิริยาการย่อยสลายทุก ๆ 1 ชั่วโมง ตลอดระยะเวลา 9 ชั่วโมง ในสภาวะปลอดเชื้อ โดยก่อนวัดจะกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ก่อน ตามรูปที่ 3.2

ออกแบบการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Experiment ขนาด 3x 9 (ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3 ระดับ และ 9 ช่วงเวลาในการทำปฏิกิริยา) แล้ววิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan ' s New Multiple Range Test ทดลอง 3 ซ้ำ

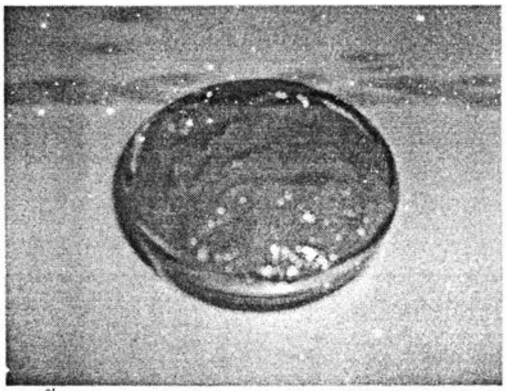


รูปที่ 3.3 เนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตร

3.3.2 การหาสัดส่วนของปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณเนื้อพุทราบดที่มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร

ชั่งเนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร จำนวน 10 กรัม ลงในขวดแก้วที่มีฝาปิดขนาด 25 มิลลิลิตร ผสมกับ อะซิเตตบัฟเฟอร์จำนวน 9 มิลลิลิตร ที่ค่าความเป็นกรด – ด่าง เท่ากับ 4 ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® (10 หน่วยต่อมิลลิลิตร) จำนวน 1 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ติดตามปฏิกิริยาการย่อยสลายทุก ๆ 1 ชั่วโมง ตลอดระยะเวลา 9 ชั่วโมง ในสภาวะปลอดเชื้อ โดยก่อนวัดจะกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ก่อน ตามรูปที่ 3.2

ออกแบบการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Experiment ขนาด 3x 9 (ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3 ระดับ และ 9 ช่วงเวลาในการทำปฏิกิริยา) แล้ววิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan ' s New Multiple Range Test ทดลอง 3 ซ้ำ

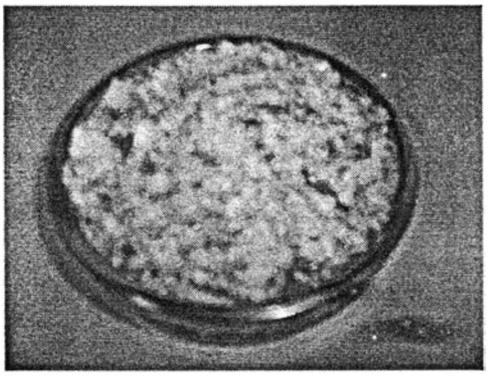


รูปที่ 3.4 เนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร

3.3.3 การหาสัดส่วนของปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณพุทราบดทั้งผล

ชั่งพุทราบดทั้งผล จำนวน 10 กรัม ลงในขวดแก้วที่มีฝาปิดขนาด 25 มิลลิลิตร ผสมกับอะซิเตตบัฟเฟอร์จำนวน 9 มิลลิลิตร ที่ค่าความเป็นกรด – ด่าง เท่ากับ 4 ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® (10 หน่วยต่อมิลลิลิตร) จำนวน 1 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ติดตามปฏิกิริยาการย่อยสลายทุก ๆ 1 ชั่วโมง ตลอดระยะเวลา 9 ชั่วโมง ในสภาวะปลอดเชื้อ โดยก่อนวัดจะกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ก่อน ตามรูปที่ 3.2

ออกแบบการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Experiment ขนาด 3x 9 (ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3 ระดับ และ 9 ช่วงเวลาในการทำปฏิกิริยา) แล้ววิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan ' s New Multiple Range Test ทดลอง 3 ซ้ำ



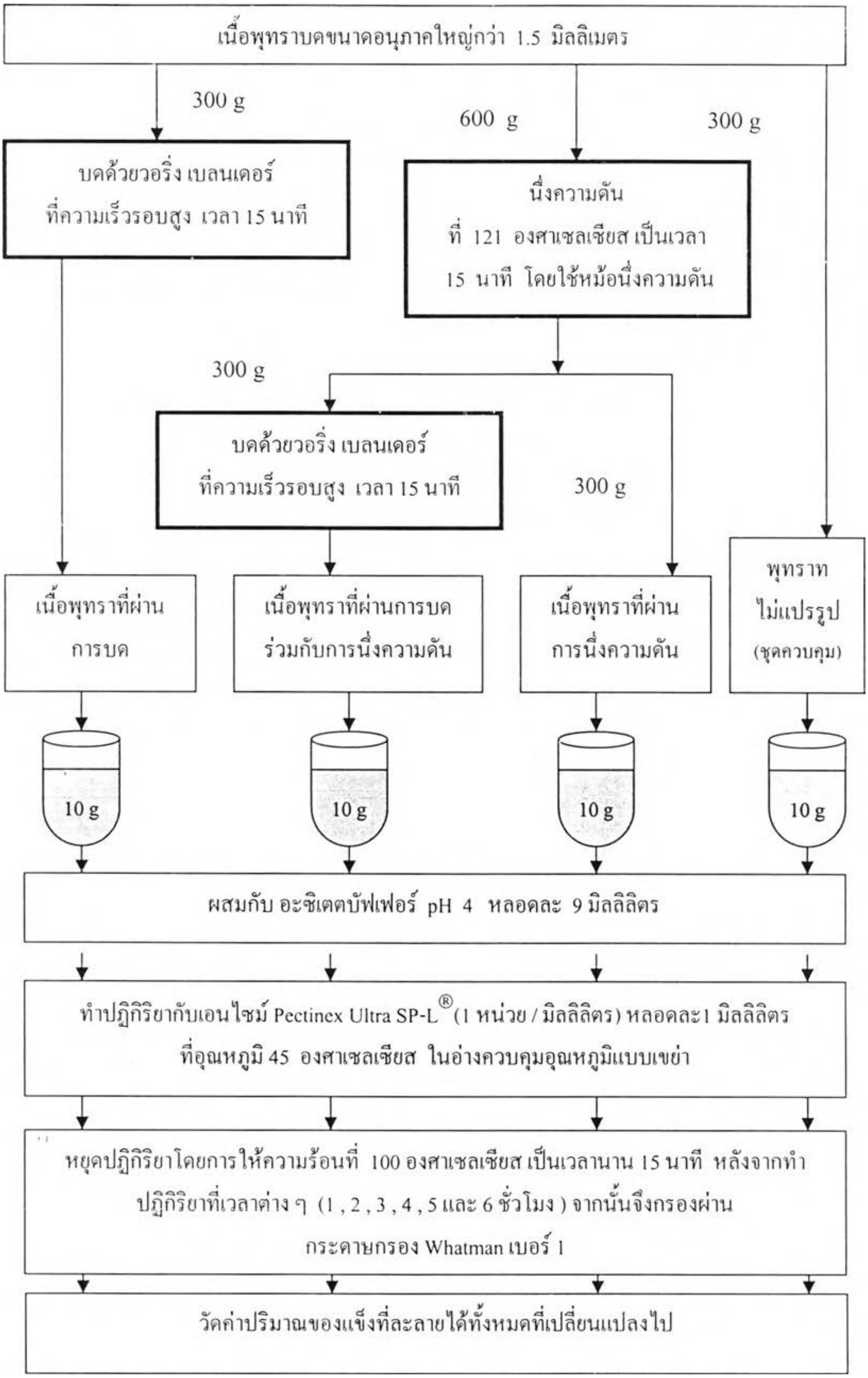
รูปที่ 3.5 พุทราบดทั้งผล

3.4 การปรับปรุงคุณภาพน้ำพุทราเข้มข้น

3.4.1 การเพิ่มปริมาณผลผลิตน้ำพุทราเข้มข้นจากพุทราบดขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร

ชั่งเนื้อเนื้อพุทราบดที่มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร (จากรูปที่ 3.1) ที่ผ่านกระบวนการแปรรูปแบบต่าง ๆ คือ การนึ่งความดัน , การบด และการบดร่วมกับการนึ่งความดัน กับเนื้อพุทราบดที่มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตรที่ไม่ผ่านการแปรรูป จำนวน 10 กรัม ผสมกับอะซิเตตบัฟเฟอร์จำนวน 9 มิลลิลิตร ซึ่งมีค่าความเป็นกรด – เท่ากับ 4 ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® (10 หน่วยต่อมิลลิลิตร) จำนวน 1 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ผลทุก ๆ 1 ชั่วโมง ตลอด 6 ชั่วโมง ในสภาวะปลอดเชื้อ ติดตามปฏิกิริยาการย่อยสลายทุก ๆ 1 ชั่วโมง ตลอดระยะเวลา 6 ชั่วโมง ในสภาวะปลอดเชื้อ ตามรูปที่ 3.6

ออกแบบการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Experiment ขนาด 4 x 6 (กระบวนการแปรรูปในแบบต่าง ๆ และระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา) แล้วจึงวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan ' s New Multiple Range Test ทดลอง 3 ซ้ำ



รูปที่ 3.6 การเพิ่มปริมาณผลผลิตน้ำพุทราเข้มข้นจากพุทราบดขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร

3.4.2 การพัฒนาสี กลิ่นรส ของน้ำพุทราเข้มข้นที่ผลิตได้จากเนื้อพุทราบดที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตร

นำน้ำพุทราเข้มข้นที่ผลิตได้จากพุทราบดทั้งผล เนื้อพุทราบดที่มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร และเนื้อพุทราบดมีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตรฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 20 นาที เพื่อพัฒนาสี กลิ่นรส

3.5 กระบวนการผลิตน้ำพุทราเข้มข้นจากเนื้อพุทราบดที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตรโดยการใช้เอนไซม์แบบต่อเนื่อง

นำเนื้อพุทราที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตร (จากรูปที่ 3.1) จำนวน 10 กรัม มาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® (10 หน่วยต่อมิลลิลิตร) จำนวน 1 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปย่อยในอ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ซึ่งแบ่งรอบการทำปฏิกิริยาออกเป็น 5 รอบ คือ

รอบที่ 1 ใช้เอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® 200 หน่วยต่อมิลลิลิตรต่อ เนื้อพุทราบด 200 กรัม

รอบที่ 2 แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ

2.1 นำพุทราที่ได้จากการสกัดรอบที่ 1 จำนวน 100 กรัม มาเติมเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® เพิ่มเข้าไป 100 หน่วยต่อมิลลิลิตร จำนวน 1 มิลลิลิตร

2.2 นำพุทราที่ได้จากการสกัดรอบที่ 1 จำนวน 100 กรัม มาเติมเนื้อพุทราใหม่ลงไปอีก 100 กรัม

รอบที่ 3 แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ

3.1 นำพุทราที่ได้จากการสกัดรอบที่ 2 จำนวน 100 กรัม มาเติมเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® เพิ่มเข้าไป 100 หน่วยต่อมิลลิลิตร จำนวน 1 มิลลิลิตร

3.2 นำพุทราที่ได้จากการสกัดรอบที่ 2 จำนวน 100 กรัม มาเติมเนื้อพุทราใหม่ลงไปอีก 100 กรัม

รอบที่ 4 แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ

4.1 นำพุทราที่ได้จากการสกัดรอบที่ 3 จำนวน 100 กรัม มาเติมเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® เพิ่มเข้าไป 100 หน่วยต่อมิลลิลิตร จำนวน 1 มิลลิลิตร

4.2 นำพุทราที่ได้จากการสกัดรอบที่ 3 จำนวน 100 กรัม มาเติมเนื้อพุทราใหม่ลงไปอีก 100 กรัม

และรอบที่ 5 แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ

5.1 นำพุทราที่ได้จากการสกัดรอบที่ 4 จำนวน 100 กรัม มาเติมเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L® เพิ่มเข้าไป 100 หน่วยต่อมิลลิลิตร จำนวน 1 มิลลิลิตร

5.2 นำพุทราที่ได้จากการสกัดรอบที่ 4 จำนวน 100 กรัม มาเติมเนื้อพุทราใหม่ลงไปอีก 100 กรัม

โดยการทดลองทั้ง 5 รอบจะติดตามปฏิกิริยาโดยอาศัยค่า ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ซึ่งใช้ Hand Refractometer ในการวัด

3.6 การวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของน้ำพุทราเข้มข้นที่ผลิตได้

โดยในการทดลองนี้แยกผลิตเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนน้ำ ผลิตจากเนื้อพุทราบดที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตร และส่วนใยอาหาร ผลิตจากเนื้อพุทราบดที่มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร

3.6.1 ใยอาหารที่สกัดได้จากพุทรา

3.6.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารที่สกัดได้จากเนื้อพุทราที่มีขนาดใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร

วิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ข.

3.6.1.2 การวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของใยอาหารที่สกัดได้จากเนื้อพุทราที่มีขนาดใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร

หลังจากนำใยอาหารที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ปริมาณตามข้อ 3.6.1.1 แล้วจึงนำใยอาหารไปวิเคราะห์ รูปร่าง ขนาดของอนุภาค และการตกตะกอน ดังนี้

ก. รูปร่างของอนุภาคใยอาหาร

ใช้ใยอาหารที่สกัดได้จากพุทรา มาทำใส่ในน้ำกลั่น แล้วจึงดูดน้ำที่มีใยอาหารนั้นมาหยดลงบนกระจกสไลด์ โดยแบ่งออกเป็น 2 ชุด คือ ชุดแรกย้อมด้วยสารละลายซาฟานิน และชุดที่สองย้อมด้วยสารละลายเมทิลไวโอเลต แล้วจึงทำการส่องกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10 เท่า , 40 เท่า และ 100 เท่า ตามลำดับและทำการถ่ายรูปที่กำลังขยายดังกล่าว

ข. การศึกษาขนาดของอนุภาคด้วยเครื่อง Particle Size Analyzer

โดยการศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง เนื้อพุทราบดที่มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร กับใยอาหารที่สกัดได้จากเนื้อพุทราบดขนาดดังกล่าว

นำเนื้อพุทราบดที่มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร(จากรูปที่ 3.1) มาบดละเอียดอีกครั้งด้วย วอริ่ง เบลนเดอร์ ที่ความเร็วรอบสูง นาน 5 นาที แล้วจึงนำเนื้อพุทราบดที่ได้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกนำไปวัดขนาดอนุภาค ด้วยเครื่อง Particle Size Analyzer สำหรับส่วนที่สองนำไปสกัดใยอาหาร แล้วจึงนำใยอาหารที่ได้ไปวัดขนาดอนุภาค ด้วยเครื่อง Particle Size Analyzer

ค. การตกตะกอนของอนุภาคใยอาหารที่สกัดได้จากพุทรา

ใยอาหารที่สกัดจากพุทราที่ใช้ เป็นใยอาหารที่ผ่านการศึกษาขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง Particle Size Analyzer แล้ว นำมาวัดการตกตะกอนโดยจะวัดออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์ซึ่งจะทำการวัดปริมาตรของส่วนใส (ส่วนที่ไม่มีอนุภาคของใยอาหารปนอยู่) เทียบกับปริมาตรทั้งหมด โดยทำการตกตะกอนอนุภาคใยอาหารที่สกัดได้จากพุทรา เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ ในตู้เย็น แล้วจึงวัดค่าการตกตะกอน

ค.1 ผลของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่อการตกตะกอนของอนุภาคใยอาหารที่สกัดจากพุทรา ที่สัดส่วนต่าง ๆ

ทำการเตรียมสารละลายที่มีปริมาณของของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่าง ๆ กัน ได้แก่ 0 °Brix , 5 °Brix , 10 °Brix , 15 °Brix , 20 °Brix และ 25 °Brix ตามลำดับ แล้วจึงนำใยอาหารที่ศึกษาขนาดอนุภาคแล้ว มาผสมกับสารละลายที่เตรียม ในสัดส่วนต่าง ๆ คือ 1:1 , 1:2 , 1:3 , 1:4 , 1:5 และ 1:6 ตามลำดับ แล้วจึงทำการตกตะกอนและวัดค่าเปอร์เซ็นต์การตกตะกอน

ออกแบบการทดลองแบบ Factorial Experiment ขนาด 6 x 6 และทำการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan ' s New Multiple Range Test ทดลอง 3 ซ้ำ

ค.2 ผลของสารช่วยแขวนลอยประเภทต่าง ๆ ต่อการตกตะกอน ของอนุภาคใยอาหารที่สกัดจากพุทรา

สารช่วยแขวนลอยที่ใช้ มี 10 ชนิด ดังต่อไปนี้ CMC , Gum Arabic , Xanthan Gum , Pectin , Modified Starch (SDC - 310) , Modified Starch (SDA - 410) , Modified Starch (SAH) , Modified Starch (RHE - 10) , Modified Starch (Kreation BU 2) และ Modified Starch(SMS)

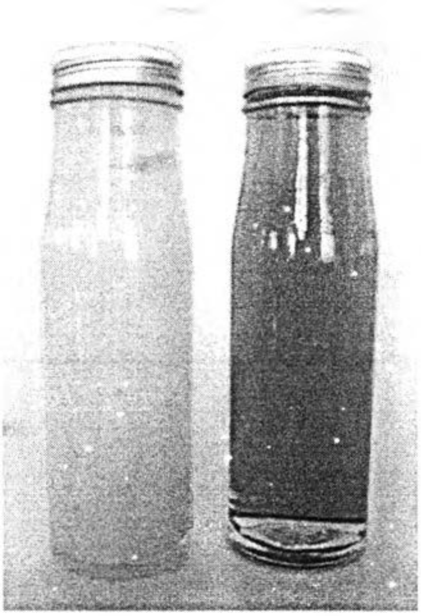
โดยจะใส่สารช่วยแขวนลอย ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0.2 % w/v , 0.4 % w/v , 0.6 % w/v , 0.8 % w/v , 1.0 % w/v , 1.2 % w/v และ 1.4 % w/v ตามลำดับ ในน้ำกลั่น ที่มีใยอาหารที่สกัดจากพุทราที่ศึกษาขนาดอนุภาคแล้วอยู่ 10 % w/v ซึ่งในส่วนของแป้งดัดแปรนั้นจะทำการเจลาติไนซ์แป้งก่อนแล้วจึงใส่ใยอาหารทีหลัง แล้วจึงทำการตกตะกอนและวัดค่าเปอร์เซ็นต์การตกตะกอน

ออกแบบการทดลองแบบ Factorial Experiment ขนาด 10 x 7 และทำการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan ' s New Multiple Range Test ทดลอง 3 ซ้ำ

ค.3 ผลของสารช่วยแขวนลอยที่เลือกแล้ว ต่อการตกตะกอนของอนุภาคใยอาหารที่สกัดจากพุทรา

โดยจะใส่แป้งดัดแปร Kreation BU 2 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0.3 % w/v , 0.6 % w/v , 0.9 % w/v , 1.2 % w/v , 1.5 % w/v , 1.8 % w/v , 2.1 % w/v , 2.4 % w/v และ 2.7 % w/v ตามลำดับในน้ำกลั่น แล้วทำการเจลาติไนซ์แป้งดัดแปร หลังจากนั้นจึงใส่ใยอาหารที่สกัดจากพุทราที่ศึกษาขนาดอนุภาคแล้วอยู่ 10 % w/v แล้วจึงทำการตกตะกอนและวัดค่าเปอร์เซ็นต์การตกตะกอน เพื่อหาค่าความเข้มข้นของแป้งดัดแปร Kreation BU 2 ที่ทำให้ใยอาหารที่สกัดจากพุทราที่ศึกษาขนาดอนุภาคไม่ตกตะกอน

3.6.2 องค์ประกอบของกลิ่นในน้ำพุทราเข้มข้น วิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC - MS



รูปที่ 3.7 น้ำพุทราสด และหัวเชื้อน้ำพุทรา

เปรียบเทียบองค์ประกอบของกลิ่นในน้ำพุทราสดกับน้ำพุทราเข้มข้น แบ่งออกเป็น

น้ำพุทราสด ทำโดย เตรียมน้ำพุทราสดจากเนื้อพุทราที่มีขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตร (รูปที่ 3.1) นำมาคั้นเอาน้ำพุทรา และกรองด้วยกระดาษวอทแมน เบอร์ 1 แล้วจึงนำไปฉีดเข้าเครื่อง GC - MS เพื่อวิเคราะห์สารที่ระเหยได้ ในน้ำพุทราสด

น้ำพุทราเข้มข้น ทำโดย เตรียมน้ำพุทราเข้มข้น (จากการสกัดด้วยเอนไซม์ ผ่านการกรองและการ Sterilization แล้ว) นำไปฉีดเข้าเครื่อง GC - MS เพื่อวิเคราะห์สารที่ระเหยได้ ในหัวเชื้อน้ำพุทรา

3.6.3 สารต้านอนุมูลอิสระในพุทราบดทั้งผล , เนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตร เนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร , น้ำพุทราเข้มข้นและ สารสกัดจากพุทราที่แยกโดยใช้ Petroleum Ether

การเตรียมวัตถุดิบสำหรับการทดลองนี้ แบ่งออกเป็น เนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตร (จากรูปที่ 3.1) , เนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร (จากรูปที่ 3.1) , พุทราบดทั้งผล (จากรูปที่ 3.1) , น้ำพุทราเข้มข้น (จากการสกัดด้วยเอนไซม์ ผ่านการกรองและการ Sterilization แล้ว) และ สารสกัดจากพุทราที่แยกโดยใช้ Petroleum Ether (การสกัดใช้ Petroleum Ether ร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง)

วิธีการวัด การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH Method รายละเอียดตามภาคผนวก ข.

แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 หัวข้อคือ

3.6.3.1 ฤทธิ์ของวิตามินต่อการต้านอนุมูลอิสระ

โดยแบ่งออกเป็น ผลของวิตามินซี และวิตามินอีต่อการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งทำการทดลองโดยเตรียมวิตามินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน คือ 20 μg / ml , 40 μg / ml , 60 μg / ml , 80 μg / ml และ 100 μg / ml แล้วนำมาหาค่า % inhibition ที่ความเข้มข้นนั้น ๆ แล้วจึงนำมาสร้างกราฟระหว่าง ความเข้มข้นของวัตถุดิบกับ % inhibition เพื่อหาค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (EC_{50})

3.6.3.2 ฤทธิ์ของพุทราต่อการต้านอนุมูลอิสระ

โดยแบ่งออกเป็น พุทราบดทั้งผล , เนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคเล็กกว่า 1.5 มิลลิเมตร เนื้อพุทราบดขนาดอนุภาคใหญ่กว่า 1.5 มิลลิเมตร , น้ำพุทราเข้มข้นและ สารสกัดจากพุทราที่แยกโดยใช้ Petroleum Ether ซึ่งทำการทดลองโดยเตรียมวิตามินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน คือ 20 μg / ml , 40 μg / ml , 60 μg / ml , 80 μg / ml และ 100 μg / ml แล้วนำมาหาค่า % inhibition ที่ความเข้มข้นนั้น ๆ แล้วจึงนำมาสร้างกราฟ ระหว่าง ความเข้มข้นของวัตถุดิบกับ % inhibition เพื่อหาค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (EC_{50})

3.6.4 การศึกษาปริมาณแคลเซียมและเหล็กในน้ำพุทราเข้มข้น ด้วยเครื่อง Atomic Adsorption

เนื่องจากในกระบวนการผลิตน้ำพุทราเข้มข้น ผ่านการกรองจึงอาจทำให้ ปริมาณแคลเซียมและเหล็กในน้ำพุทราเข้มข้นลดลง ดังนั้นจึงทดลองหาความเป็นไปได้ในการเพิ่มปริมาณแคลเซียมและเหล็กดังนี้

3.6.4.1 การเพิ่มปริมาณแคลเซียม

ศึกษาปริมาณแคลเซียมในน้ำพุทราเข้มข้น วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Atomic Adsorption ซึ่งวัดเทียบกับปริมาณแคลเซียมมาตรฐาน หลังจากนั้นจึงคำนวณหาปริมาณแคลเซียมที่จะต้องเสริมเข้าไปในผลิตภัณฑ์เพื่อให้ได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีแคลเซียมสูงแล้วจึงหาวิธีการเสริมแคลเซียมที่เหมาะสมระหว่างการเสริมเข้าไปในรูปของสารละลาย กับ การเสริม Calcium Carbonate เข้าไปในรูปแบบอื่น

3.6.4.2 การเพิ่มปริมาณเหล็ก

ศึกษาปริมาณเหล็กในน้ำพุทราเข้มข้น วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Atomic Adsorption ซึ่งวัดเทียบกับปริมาณเหล็กมาตรฐาน หลังจากนั้นจึงคำนวณหาปริมาณเหล็กที่จะต้องเสริมเข้าไปในผลิตภัณฑ์เพื่อให้ได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีเหล็กสูง แล้วจึงหาวิธีการเสริมธาตุเหล็กที่มีความเหมาะสม ในระหว่างการเสริมเข้าไปในรูปของสารละลาย กับการเสริม Ferrous Fumarate เข้าไปในรูปแบบอื่น

3.6.5 การติดตามอายุการเก็บรักษาน้ำพุทราเข้มข้นซึ่งบรรจุในขวดแก้วใส

โดยการนำน้ำพุทราเข้มข้นที่ผลิตได้จำนวน 150 มิลลิลิตร มาใส่ในขวดแก้วใสขนาดบรรจุ 200 มิลลิลิตร แล้วจึงฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 15 นาที หลังจากนั้นจึงนำมาเก็บ ที่อุณหภูมิในตู้เย็น(4 องศาเซลเซียส)และ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่เก็บในอุณหภูมิดังกล่าว โดยตรวจสอบจำนวน ยีสต์และรา ตามวิธี ICMSF (1978) รายละเอียดในภาคผนวก ค. ทุก ๆ 2 สัปดาห์

3.6.6 เปรียบเทียบองค์ประกอบของน้ำพุทราเข้มข้นที่ผลิตได้กับน้ำลูกพรุน 100 % ที่จำหน่ายทางการค้า

นำน้ำพุทราเข้มข้นที่ผลิตได้ และน้ำลูกพรุน 100 เปอร์เซ็นต์ที่จำหน่ายทางการค้า มาวิเคราะห์องค์ประกอบต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยใช้ Hand Refractometer
- ความถ่วงจำเพาะ โดยใช้ Hydrometer
- ค่าความเป็นกรด – ด่าง โดยใช้ pH meter
- ค่าความหนืดโดยใช้เครื่อง Brook Field
- ปริมาณวิตามินซีตามวิธีของ A.O.A.C (1995) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข.
- ค่าสี โดยใช้ Chroma meter

3.6.7 การทดลองเบื้องต้นเพื่อผลิตน้ำพุทราพร้อมดื่มจากน้ำพุทราเข้มข้นที่ผลิตได้

เลือกสูตรในการผลิตน้ำพุทราพร้อมดื่มจากน้ำพุทราเข้มข้น

หาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตน้ำพุทราพร้อมดื่ม 100 มิลลิลิตร จากทั้งหมด 4 สูตร คือ

สูตรที่ 1 ใช้ปริมาณหัวเชื้อน้ำพุทรา 30 เปอร์เซ็นต์ ใยอาหาร 4.065 กรัม แป้งดัดแปร 2.4 กรัม ปรับให้ได้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 20 องศาบริกซ์ แล้วปรับปรุงรสชาติด้วยกรดซิตริกเพื่อให้ได้อัตราส่วนความหวานต่อความเปรี้ยว(BAR)เท่ากับ 21

สูตรที่ 2 ใช้ปริมาณหัวเชื้อน้ำพุทรา 30 เปอร์เซ็นต์ ใยอาหาร 4.065 กรัม แป้งดัดแปร 2.4 กรัม ปรับให้ได้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 15 องศาบริกซ์ แล้วปรับปรุงรสชาติด้วยกรดซิตริกเพื่อให้ได้อัตราส่วนความหวานต่อความเปรี้ยว(BAR)เท่ากับ 24

สูตรที่ 3 ใช้ปริมาณหัวเชื้อน้ำพุทรา 30 เปอร์เซ็นต์ ใยอาหาร 4.065 กรัม แป้งดัดแปร 2.4 กรัม ปรับให้ได้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 20 องศาบริกซ์ แล้วปรับปรุง

รสชาติด้วยกรดซิตริกเพื่อให้ได้อัตราส่วนความหวานต่อความเปรี้ยว(BAR)เท่ากับ 32

สูตรที่ 4 ใช้ปริมาณหัวเชื้อน้ำพุทรา 30 เปอร์เซ็นต์ ใยอาหาร 4.065 กรัม แป้งดัดแปร 2.4 กรัม ปรับให้ได้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 25 องศาบริกซ์ แล้วปรับปรุงรสชาติด้วยกรดซิตริกเพื่อให้ได้อัตราส่วนความหวานต่อความเปรี้ยว(BAR)เท่ากับ 38

ประเมินผลทางด้านประสาทสัมผัส

เพื่อหาสูตรที่เหมาะสมจากทั้งหมด 4 สูตร โดยใช้แบบทดสอบความชอบ ชนิด Hedonic Scaling โดยดำเนินการตามภาคผนวก จ. โดยใช้ผู้ทดสอบ จำนวน 30 คน

ออกแบบการทดลองแบบ Factorial Randomized Complete Block ขนาด 4 x 4 และทำการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan ' s New Multiple Range Test