

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการ

##### 3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 เมล็ดมะขามพันธุ์ศรีชมพู ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ปิ่นเพชร จำกัด จังหวัดเพชรบูรณ์ โดยนำเมล็ดมะขามมาล้างทำความสะอาด คัดแยกเมล็ดที่มีรูพรุนและลีบแบนออก จากนั้นนำเมล็ดไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง เพื่อเป็นการปรับความชื้นของเมล็ดมะขามให้มีความชื้นประมาณร้อยละ 10 - 15 ก่อนนำไปทดลอง

3.1.2 เพกตินชนิดเมทอกซิลเพกตินสูง

##### 3.2 เครื่องมือ

3.2.1 เครื่องกะเทาะเปลือกแบบโม้หินไฟฟ้า	มอเตอร์ 2 แรงม้า
3.2.2 เครื่องบดแบบหยาบ (Hammer mill)	(Philip-Cucina, Indonesia)
3.2.3 เครื่องบดแบบเข็ม (Pin mill)	(Retsh ZM 1000, Germany)
3.2.4 ตู้อบแบบถาด (Tray dryer)	(Progress, Thailand)
3.2.5 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	(Memmert UM 400, Germany)
3.2.6 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)	(Beckman Coulter, USA)
3.2.7 เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง	(Pioneer, USA)
3.2.8 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง	(Denver, Germany)
3.2.9 เครื่อง Brabender viscograph E	
3.2.10 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)	(Memmert-WNB 7-45, Germany)
3.2.11 เตาเผา (Muffle Furnance)	(Nabertherm LT40, Germany)
3.2.12 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)	(Weilheim, Germany)
3.2.13 เครื่องกวนใบพัดติดมอเตอร์ควบคุมความเร็ว	
3.2.14 เครื่องวัดความหนืด (Brookfield Viscometer) DV- III	
3.2.15 โถสำหรับดูดความชื้น (Dessicator)	
3.2.16 เครื่อง Texture Analyzer รุ่น TA-XT plus	
3.2.17 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)	
3.2.18 อุปกรณ์เครื่องแก้ว	
3.2.19 เครื่องระเหยสูญญากาศ	(Buchi, Switzerland)

### 3.3 สารเคมี

- 3.3.1 เฮกเซน (Hexane)
- 3.3.2 กรดซิตริก (Citric acid)
- 3.3.3 แอลกอฮอล์ร้อยละ 95 (Alcohol 95)
- 3.3.4 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid)
- 3.3.5 คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulphate)
- 3.3.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)
- 3.3.7 กรดบอริก (Boric acid)
- 3.3.8 โพแทสเซียมซัลเฟต (Potassium sulphate)
- 3.3.9 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)
- 3.3.10 อินดิเคเตอร์ผสม (Mixed Indicator)
- 3.3.11 อะซิโตน (Acetone)

### 3.4 สถานที่ในการดำเนินงานวิจัย

ห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### 3.5 วิธีการดำเนินการ

#### 3.5.1 การเตรียมผงเมล็ดมะขาม

เตรียมผงเมล็ดมะขาม โดยตัดแปลงจากวิธีของ อรรถวิทย์ (2540) นำเมล็ดมะขามมาคั่วด้วยไฟอ่อนๆ นาน 15 นาที รอให้เย็นแล้วนำมาแกะเอาเปลือกออก โดยใช้เครื่องแกะเปลือก แยกเอาเฉพาะเนื้อในของเมล็ดมาแช่ในอัตราส่วนเมล็ดมะขาม 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 3 ลิตร นานประมาณ 6 ชั่วโมง ล้างให้สะอาด ทำให้สะเด็ดน้ำ นำเมล็ดมะขามมาบดให้มีขนาดเล็กลง นำเข้าตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 - 55 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง และนำเข้าเครื่องบดละเอียดโดยผ่านรูตะแกรงขนาด 0.25 มิลลิเมตร ได้ผงเมล็ดมะขาม เก็บในถุงพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน ในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ  $5 \pm 2$  องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้งาน

นำผงเมล็ดมะขามบางส่วนมากำจัดไขมันในอัตราส่วนผงเมล็ดมะขาม 1 กรัม ต่อสารละลายเฮกเซน 3 มิลลิลิตร โดยใช้กรวยแยกเขย่า 15 นาที แล้วแยกสารละลายกับผงเมล็ดมะขาม ระเหยเฮกเซนออกโดยใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 - 55 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

### 3.5.1.1 ตรวจสอบองค์ประกอบและปริมาณเส้นใยอาหาร

ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของผงเมล็ดมะขาม โดยนำผงเมล็ดมะขามที่ยังไม่ได้กำจัดไขมัน วิเคราะห์ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใยหยาบ ถ้ำ (AOAC, 1995) ปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมดตามวิธี AOAC Method 985.29 (2005) โดยใช้ชุดทดสอบ Dietary Fiber Assay Kit (Megazyme, Ireland) และ คาร์โบไฮเดรตโดยคำนวณความแตกต่าง

### 3.5.1.2 คุณสมบัติด้านความหนืดของสารละลายผงเมล็ดมะขาม (Pasting properties)

โดยดัดแปลงจากวิธีของ Adebowale และ Lawal (2002)

ตรวจสอบสมบัติด้านความหนืดของผงเมล็ดมะขามทั้งที่ยังไม่ได้กำจัดไขมันและกำจัดไขมัน โดยเตรียมสารละลายน้ำแป้งที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Brabender รุ่น Viscograph E กำหนดให้อุณหภูมิเริ่มต้นคือ 30 องศาเซลเซียส แล้วอุณหภูมิเพิ่มขึ้นในอัตรา 1.5 องศาเซลเซียสต่อนาที จนกระทั่งอุณหภูมิสูงถึง 95 องศาเซลเซียส คงอุณหภูมิไว้ 15 นาที แล้วจึงลดอุณหภูมิลงในอัตราเดียวกัน จนถึงอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมินี้ นาน 15 นาที บันทึกค่า Pasting temperature, Peak viscosity, Breakdown (Peak viscosity - Start of cooling period), Consistency (End of cooling period - Start of cooling period) และ Setback (End of final holding period - Peak viscosity)

## 3.5.2 ศึกษาสภาวะการสกัดเจลลอส

นำผงเมล็ดมะขามที่กำจัดไขมันออก มาสกัดเจลลอสโดยใช้ 2 สภาวะในการสกัด คือ การสกัดที่อุณหภูมิ  $27.5 \pm 2.5$  องศาเซลเซียส และ  $87.5 \pm 2.5$  องศาเซลเซียส ที่ pH = 3, 4 และ 5

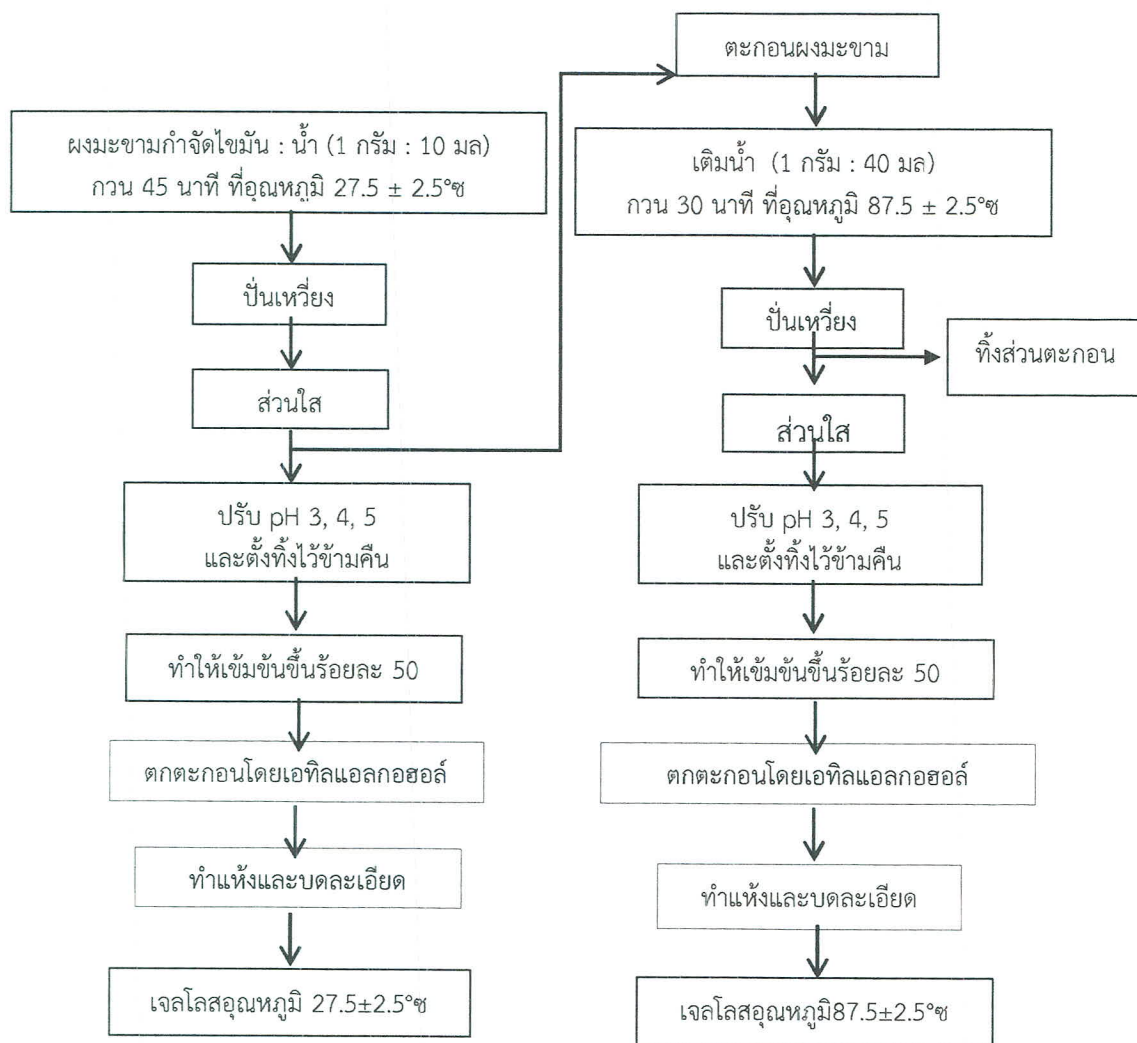
### 3.5.2.1 สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ $27.5 \pm 2.5$ องศาเซลเซียส

การสกัดใช้ในอัตราส่วนผงเมล็ดมะขาม 1 กรัมต่อน้ำ 10 มิลลิลิตร กวนโดยใช้ magnetic bar นาน 45 นาที ที่อุณหภูมิ  $27.5 \pm 2.5$  องศาเซลเซียส จากนั้นปั่นเหวี่ยงที่ 6,000 รอบ นาน 10 นาที (แยกส่วนของตะกอนผงเมล็ดมะขามออก) นำสารละลายส่วนใสมาปรับ pH = 4 ตั้งทิ้งไว้ข้ามคืน แล้วระเหยให้ปริมาตรเหลือครึ่งหนึ่ง ตกตะกอนเส้นใยเจลลอสโดยใช้เอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ในอัตราส่วนสารละลายต่อเอทิลแอลกอฮอล์ 1 ต่อ 1.5 ส่วน แล้วใช้ผ้าขาวบางกรองเส้นใยเจลลอส และทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 - 55 องศาเซลเซียส และนำเข้าเครื่องบดจะได้ผงเจลลอส ทำการทดลองปรับ pH ที่ 3, 4 และ 5 และดำเนินการทดลองเช่นเดียวกัน

### 3.5.2.2 สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ $87.5 \pm 2.5$ องศาเซลเซียส

นำส่วนของตะกอนผงเมล็ดมะขามจากการสกัดที่อุณหภูมิห้อง ในข้อ 3.5.2.1 มาเติมน้ำ 40 เท่า กวณนาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ  $87.5 \pm 2.5$  องศาเซลเซียส และสกัดเช่นเดียวกันกับข้อ 3.5.2.1

ขั้นตอนการสกัดเจลโลสจากผงเมล็ดมะขามที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิสูงแสดงรายละเอียด ดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการสกัดเจลโลสจากผงเมล็ดมะขามกำจัดไขมันที่อุณหภูมิ  $27.5 \pm 2.5$  องศาเซลเซียสและอุณหภูมิ  $87.5 \pm 2.5$  องศาเซลเซียส

### 3.5.2.3 ตรวจสอบสมบัติของสารสกัดเจลโลส

#### 3.5.2.3.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเจลโลส

นำผงเจลโลสมาวิเคราะห์ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า (AOAC, 1995)

3.5.4.3.2 ตรวจสอบสมบัติด้านการไหล (Rheological properties) (โดยดัดแปลงจากวิธีของ Pongsawatmanit *et al.*, 2006)

ใช้เจลลอสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 วัดคุณสมบัติด้านการไหลของสารละลายที่อุณหภูมิ  $30 \pm 1$  องศาเซลเซียส โดยใช้ชุด small sample บันทึกค่าความเค้นเฉือน (Shear stress ( $N/m^2$ )) และอัตราเฉือน (Shear rate (1/sec)) จาก power law model ตามสมการ  $T = ky^n$  คำนวณหาค่า  $n$  = flow behavior และ  $k$  = consistency index (Pa.s) โดยวิเคราะห์สมการถดถอยเชิงเส้นจาก  $\log T = \log k + n \log y$  โดย  $T$  = shear rate และ  $y$  = shear stress

### 3.5.3 ศึกษาผลของ pH และความเข้มข้นของเจลลอสต่อพฤติกรรมเกิดการเกิดเจล

ละลายผงเจลลอสความเข้มข้นร้อยละ 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 และ 3.5 ในสารละลายน้ำตาลร้อยละ 50 นำไปต้ม 20 - 30 นาที ให้ความเข้มข้นเป็น 50 องศาบริกซ์ ปรับ pH ด้วยกรดซิตริกเป็น pH = 3, 4, 5 และ 6 เทปรีมาตร 30 มิลลิลิตร) แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เซตตัว 24 ชั่วโมง นำเจลที่ได้มาวัดความแข็งของเจลโดยเครื่อง Texture Analyzer (ดัดแปลงจาก Marathe *et al.*, 2002)

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD เก็บรวบรวมข้อมูลที่ได้จากการทดลองในแต่ละสิ่งทดลอง จำนวน 3 ซ้ำ แล้วนำมาทำการวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ย จากนั้นทำการวิเคราะห์หาความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละสิ่งทดลองโดยใช้วิธีของ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยกำหนดปัจจัยในการทดลองคือ ความเข้มข้นของผงเจลลอสร้อยละ 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 และ 3.5 ที่ pH 3, 4, 5 และ 6

### 3.5.4 ศึกษาผลของสัดส่วนเจลลอสและเพกตินต่อพฤติกรรมเกิดการเกิดเจล

ผสมผงเจลลอสและเพกตินในสัดส่วน 100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80 และ 0:100 นำไปละลายในสารละลายน้ำตาลที่ pH ได้จากข้อ 3.5.3 ในระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 และ 3.5 ทำการทดลองเพื่อให้เกิดเจล เช่นเดียวกับข้อ 3.5.3 และนำเจลที่ได้มาวัดความแข็งเจลโดยเครื่อง Texture Analyzer (ดัดแปลงจาก Marathe *et al.*, 2002)

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD เก็บรวบรวมข้อมูลที่ได้จากการทดลองในแต่ละสิ่งทดลอง จำนวน 3 ซ้ำ แล้วนำมาทำการวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ย จากนั้นทำการวิเคราะห์หาความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละสิ่งทดลองโดยใช้วิธีของ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยกำหนดปัจจัยในการทดลองคือ ผงเจลลอสกับเพกติน ในสัดส่วน 100:0, 80:20, 60:40, 40:60, 20:80 และ 0:100 กับระดับความเข้มข้นของสารละลายร้อยละ 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 และ 3.5