

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

3.1 สารเคมีและเครื่องมือ

3.1.1 วัตถุดิบ

1. ส้มสายน้ำผึ้ง จาก บริษัท ธนาธรฟาร์ม อ. ผ่าง จ. เชียงใหม่ และ สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย จาก บริษัท จินตนาผลไม้ เขตดุสิต กทม.

2. น้ำส้มสายน้ำผึ้งบรรจุกล่อง และน้ำสับปะรดบรรจุกล่อง จาก บริษัท ทีบีเคี เอฟ แอนด์บี จำกัด อ. เมือง จ. ประจวบคีรีขันธ์

3. ข้าวเจ้า 11 สายพันธุ์ ได้แก่ สุพรรณบุรี 1, สุพรรณบุรี 3 , สุพรรณบุรี 60, สุพรรณบุรี 90, กข 15 , กข 31 , ชัยนาท 2, ชัยนาท 3, ปทุมธานี 1, พิษณุโลก 2, ข้าวหอมมะลิ 105 จากศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี

3.1.2 สารเคมี

1. 0.35 % NaOH และ 3 M NaOH
2. 0.1 M HCl และ 3 M HCl
3. 40 % Ethanol 60% Ethanol และ 95% Ethanol
4. 20% Metaphosphoric acid
5. Phenolphthalein
6. Indophenol dye

3.1.3 อุปกรณ์เครื่องแก้ว

1. กรวยกรอง (Glass flask)
2. ขวดปริมาตร (Volumetric flask)
3. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
4. ช้อนตักสาร (Spatula)
5. แท่งแก้วคน (Stirring rod)
6. ปีกเกอร์ (Beaker)
7. หลอดหยด (Dropper)
8. บิวเรต (Burette)
9. กระบอกตวง (Cylinder)
10. ขาตั้ง (Stand)
11. กระดาษกรองเบอร์ 1 (Filter paper No.1)
12. เตาอบสาร (Crucible)
13. เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)
14. ผ้าขาวบาง (Cheese cloth)

3.1.4 เครื่องมือวิทยาศาสตร์

1. เครื่องวัดความหนืด รุ่น RVT (Brookfield viscometer)
2. เครื่องวัดความหวาน (Hand refractometer)
3. เครื่องวัดความเป็นกรด – เบส (pH meter)
4. หนังสือวัดแถบสี (The Munsell book of color)
5. เครื่องชั่งอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง (Analytical balance)
6. เตาเผา (Muffle furnace)
7. ตู้อบชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Oven)
8. เครื่องปั่นผลไม้ (Blender)
9. เครื่องบด (Hammer mill)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมวัตถุดิบ

3.2.1.1 การผลิตแป้งข้าวเจ้า (rice starch)

1. นำข้าวมาแยกสิ่งสกปรกออก
2. ล้างน้ำประปาวาน้ำจืดล้างข้าวใส แช่ข้าวทิ้งไว้ 1 คืน ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง
3. นำข้าวที่แช่มาไม่เปียกด้วยเครื่องโม่หิน
4. กรองผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh
5. นำตัวอย่างที่ผ่านการกรองไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) 3000 rpm , 3 นาที
6. เอาตะกอนที่ได้มาแช่ 0.35% NaOH (ปริมาตร 4 เท่าของน้ำหนักแป้ง) 1 คืนที่อุณหภูมิห้อง
7. หลังจากทิ้งไว้ 1 คืน นำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) 3000 rpm , 3 นาที
8. เก็บตะกอน นำตะกอนมาล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง นำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) 3000 rpm , 3 นาที
9. นำตะกอนมาเติมด้วยน้ำกลั่น (ปริมาตร 4 เท่าของน้ำหนักแป้ง) ปรับ pH ให้ได้ 6.5 ด้วย 0.1 M HCl
10. เก็บตะกอน นำตะกอนมาล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง นำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) 3000 rpm , 3 นาที
11. นำตะกอนมาล้างด้วย 95% Ethanol (ปริมาตร 2 เท่าของน้ำหนักแป้ง) แช่ทิ้งไว้ 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) 3000 rpm , 3 นาที
12. นำตะกอนมาผึ่งให้แห้ง ในตู้Oven อุณหภูมิ 50 °C ซ้ำมคืน
13. บดแป้งด้วยให้ละเอียด นำไปผ่าน 100 mesh เก็บใส่ถุงปิดให้สนิท

3.2.1.2 การผลิตแป้งละลายน้ำเย็น (Cold water swelling starch)

1. แป้ง 20 g ผสมกับ 40% Ethanol 100 ml กวนบน Magnetic Stirrer
2. เติม 3M NaOH 80 ml ลงในข้อ 1. โดยค่อยๆเติม 4 ml / min เติมจนหมดแล้วทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง
3. หลังจากนั้น เติม 40% Ethanol (โดยเติม 2 เท่าของปริมาณน้ำที่ผสมในแป้ง)
4. รอให้แป้งตกตะกอน แล้วดูดส่วนใสทิ้ง
5. เติม 40% Ethanol (โดยเติม 2 เท่าของปริมาณแป้ง)
6. รอให้แป้งตกตะกอน แล้วดูดส่วนใสทิ้ง
7. เติม 60% Ethanol (โดยเติม 2 เท่าของปริมาณแป้ง)
8. ปรับ pH ด้วย 3M HCl ให้ได้ pH 7
9. รอให้แป้งตกตะกอน แล้วดูดส่วนใสทิ้ง
10. เติม 95% Ethanol (โดยเติม 2 เท่าของปริมาณแป้ง)
11. รอให้แป้งตกตะกอน แล้วดูดส่วนใสทิ้ง
12. เก็บตะกอน นำไปอบใน Oven ที่อุณหภูมิ 50 °C ซ้ำมคืน
13. นำแป้งแห้งแล้วบดให้ละเอียด
14. ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh
15. เก็บในถุงพลาสติกปิดให้สนิท

3.2.2 วิธีหาค่าล้างการฟองตัวของแป้งและความสามารถในการละลาย

1. ชั่งตัวอย่างแป้ง 0.15 g ผสมกับน้ำกลั่น 15 ml ในหลอดเซ้นทริฟิวส์
2. ต้มตัวอย่างใน water bath อุณหภูมิ 50 ° C , 60 ° C , 70 ° C และ 90 ° C เป็นเวลา 30 นาที
3. จุ่มหลอดเซ้นทริฟิวส์ในน้ำเย็นทันทีเพื่อลดอุณหภูมิหลังการต้ม
4. Centrifuge 3000 rpm เป็นเวลา 5 นาที
5. ดูดส่วนใสใส่ปิเปตเตอร์ ออบแห้งที่อุณหภูมิ 105 ° C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
6. นำหลอดเซ้นทริฟิวส์ที่มีตะกอนแป้งมาชั่งน้ำหนัก
7. นำปิเปตเตอร์ที่อบส่วนใสมาชั่งน้ำหนักแล้ว จดบันทึกและคำนวณตามสูตร

$$\text{ร้อยละการละลาย} = \frac{\text{น้ำหนักที่ละลายน้ำ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}}$$

$$\text{ค่าล้างการฟองตัว} = \frac{\text{น้ำหนักแป้งที่ฟองตัวแล้ว} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง} \times (100 - \text{ร้อยละการละลาย})}$$

3.2.3 การหาค่าการละลายน้ำเย็น(CWS)

1. ชั่งแป้ง 0.25 g เติมน้ำ 25 ml ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 ml กวนบน Magnetic Stirrer เป็นเวลา 60 นาที
2. หลังจากนั้นดูดน้ำแป้ง 20 ml ใส่ในหลอดเซ้นติฟิวส์
3. Centrifuge ด้วยความเร็วรอบ 1,200 g เป็นเวลา 5 นาที
4. ดูดส่วนใสแยกจากหลอดเซ้นทริฟิวส์ด้วยหลอดหยดแล้วเปิดส่วนใส 15 ml ใส่ในบีกเกอร์ที่ทราบน้ำหนักแล้ว
5. อบใน Oven ที่ 105^o C นาน 4 ชั่วโมง
6. บันทึกผลจากการชั่งบีกเกอร์หลังอบ คำนวณตามสูตร ดังนี้

$$\text{CWS (\%)} = \frac{\text{grams of solids in supernatant} \times 4}{\text{grams of sample}} \times 100\%$$

3.2.4 การหาปริมาณความชื้น

1. นำ crucible ออบแห้งที่ 105° C เป็นเวลา 1 ชม.
2. นำ crucible วางทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 15 นาที
3. ชั่งน้ำหนัก crucible เปล่าแล้วบันทึกผล
4. ใส่ตัวอย่างแป้ง 0.25 g ใน crucible นำไปอบที่ 105° C เป็นเวลา 3 ชม.
5. นำ crucible วางทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 15 นาที
6. ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์อีกครั้งแล้วบันทึกผล คำนวณหาปริมาณความชื้นตามสูตร

การคำนวณหาค่าความชื้น

$$\left[\frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \right] \times 100$$

3.3 การเตรียมน้ำผลไม้

1. การเตรียมน้ำส้ม

นำส้มสายน้ำผึ้งมาล้างให้สะอาดแล้วคั้นน้ำส้มโดยใช้ที่คั้นน้ำส้มแบบคั้นมือ จากนั้นกรองน้ำส้มที่ได้ด้วยผ้าขาวบาง

2. การเตรียมน้ำสับปะรด

นำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียมาปอกเปลือก หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วปั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ (Blender) จากนั้นกรองน้ำสับปะรดที่ได้ด้วยผ้าขาวบาง

3. การเตรียมน้ำผลไม้บรรจุกล่อง

นำน้ำส้มสายน้ำผึ้งบรรจุกล่อง และน้ำสับปะรดบรรจุกล่องมากรองด้วยผ้าขาวบาง

3.3.1 การหาความหนืดในน้ำผลไม้

นำน้ำผลไม้ปริมาตร 400 ml เทใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 ml แล้วเติมแป้งข้าวเจ้าต้มสุกที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 10 นาที โดยเติมแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 2 % ผสมแป้งข้าวเจ้าและน้ำผลไม้ให้เข้ากัน ปรับอุณหภูมิน้ำผลไม้เพิ่มความข้นหนืดที่ 25°C และนำไปวัดค่าด้วยเครื่องวัดความหนืด รุ่น RVT (Viscometer Brookfield) Spindle 1, 50 RPM

3.3.2 การหาความหวาน

นำน้ำผลไม้ที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรองหมายเลข 1 ไปวัดความหวานโดยใช้เครื่อง Hand Refractometer (Atago, Co, Ltd) 0-32% Brix ที่อุณหภูมิ 20°C

3.3.3 การหาแถบสี

นำน้ำผลไม้ที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรองหมายเลข 1 ไปเปรียบเทียบกับ

หนังสือวัดแถบสี (The Munsell book of color) โดยใช้วิธีการประเมินด้วยสายตา

3.3.4 การหาวิตามินซี

นำน้ำผลไม้ที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ปริมาณ 2.5 มล. ใส่ในขวดรูปชมพู่
เติม 20% Metaphosphoric acid 1.25 มล. แล้วเติมน้ำกลั่น 1.25 มล. จากนั้นนำไปไทเทรตด้วย
Indophenol dye บันทึกปริมาณ Indophenol dye ที่ใช้ นำไปคำนวณหาปริมาณวิตามินซีโดย
เปรียบเทียบกับปริมาณ Indophenol dye ที่ใช้ในการไทเทรตวิตามินซีมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น

3.3.5 การหาปริมาณกรดซิตริก

นำน้ำผลไม้ที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ปริมาณ 10 มล. ใส่ในขวดรูป
ชมพู่ เติมน้ำ 80 มล. แล้วเติม Phenolphthalein 0.3 มล. จากนั้นนำไปไทเทรตด้วย 0.1M Sodium
hydroxide บันทึกผล คำนวณหาปริมาณ Citric acid

$$\% \text{ Citric acid} = \frac{T \times 192}{3 \times 1000}$$

T คือ ปริมาณ โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรต

3.3.6 การหาความเป็นกรด-ด่าง

นำน้ำผลไม้ที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ปริมาณ 25 มล. ใส่ในปิ๊กเกอร์ แล้วนำไปวัดความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด – เบส (pH meter)

3.3.7 การหาปริมาณเถ้า

ซึ่งตัวอย่างน้ำผลไม้ 25 กรัม ใน crucible ที่ทราบน้ำหนักแล้วนำไปเผาไล่ควันโดยใช้ ตะเกียงเบนเซน จากนั้นนำตัวอย่างเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อหาน้ำหนักแห้งของตัวอย่างก่อนเผา แล้วนำตัวอย่างเข้าเตาเผา เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คำนวณหาปริมาณเถ้าในน้ำผลไม้

$$\text{ปริมาณเถ้า} = \frac{\text{น้ำหนัก crucible พร้อมตัวอย่างหลังเผา} - \text{น้ำหนัก crucible} \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่างก่อนเผา}}$$

3.3.8 การทดสอบชิม

นำผู้สูงอายุจำนวน 15 คน มาทดสอบชิมน้ำผลไม้โดยกำหนดให้ผู้ชิมตอบแบบสอบถามว่าชอบน้ำผลไม้ตัวอย่างหรือไม่ แบ่งเป็นการชอบโดยรวม คือ ชอบเนื่องจากรสชาติ กลิ่น และเนื้อสัมผัส และ ชอบเนื่องจากเนื้อสัมผัสหรือความหนืดเพียงอย่างเดียว โดยกำหนดรหัสของตัวอย่างเป็นตัวเลข 3 หลักแบบสุ่ม การให้คะแนนกำหนดคะแนนความชอบตั้งแต่ 1-9 และให้ผู้ชิมเรียงลำดับความหนืดของตัวอย่างจำนวนชุดละ 4 ตัวอย่างจากความหนืดน้อยที่สุดไปความหนืดมากที่สุด โดยให้ทำการชิมตัวอย่างในห้องมืด มีเพียงหลอดไฟแสงสีแดงเพื่อให้ผู้ชิมมองเห็นแบบฟอร์มให้คะแนนและตัวอย่าง เพื่อป้องกันการประเมินความหนืดจากสายตาของผู้ชิม