บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 น้ำมันปาล์มที่ใช้ในการทดลองได้รับการสนับสนุนจาก บริษัทชุมพรอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม จำกัด (มหาชน) 296 ม.2 ต.สลุย อ.ท่าแซะ จ.ชุมพร 86140

3.1.2 แป้งข้าวจ้าว ชนิดโม่น้ำดีพิเศษ ตราทานตะวัน ผลิตโดยบริษัท ไทยอินเตอร์เนชันแนลไรซ์ฟลาว

3.1.3 แป้งข้าวเหนียว ชนิดโม่น้ำดีพิเศษ ตราทานตะวัน ผลิตโดยบริษัท ไทยอินเตอร์เนชันแนลไรซ์ฟลาว

3.1.4 แป้งถั่วเขียว ตราต้นสน ผลิตโดยบริษัท บริษัท สิทธินันท์

3.1.5 แป้งมันสำปะหลัง ตราดอกไม้ไทย ผลิตโดยบริษัท บริษัท กรุงเทพสตาชอินดัสเทรี่ยว

3.2 อุปกรณ์/เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

3.2.1 เครื่องสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบ (พัชรินทร์และคณะ , สกว.)

3.2.2 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer “PerkinElmerTM”, UV WINLAB version 2.85.04)

3.2.3 เครื่องเขย่าสาร (Vortex ; Scientific Industries : G-560E, USA)

3.2.4 เครื่องฆ่าเชื้ออาหาร (Autoclave ; Gallencamp, England)

3.2.5 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven “Termaks”, England)

3.2.6 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius : CP224S, Germany)

3.2.7 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Percisa ; BJ610C, Switzerland)

3.2.8 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH meter “Sartorius”, series PB10)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2.9 เครื่องบรรจุสุญญากาศ(Supervac : GK100, Australia)

3.2.10 เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคติวิตี (a_w meter ; Aqualab : Serie 3, USA)

3.2.11 เครื่องวัดสี (Colorimeter ; Minolta Chroma meter : CR-300, Japan)

3.2.12 ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar flow ; Heal Force : HFsafe 1200/C, China)

3.2.13 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator ; Gallenkamp, England)

3.2.14 เตาอบไมโครเวฟ (Microwave oven ; Sharp, Thailand)

3.2.15 ปิเปตถ่ายสาร (Transfer Pipette ; Transferpette, Germany)

3.2.16 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath ; GFL : 1032, Germany)

3.2.17 เครื่องอบแห้งไมโครเวฟระบบสุญญากาศ (Microwave vacuum dryer ; March Cool, Thailand)

3.2.18 เครื่องอบแห้งระบบสุญญากาศ (Vacuum dryer ; Binder : VD-53, USA)

3.2.19 เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary Evaporater “Buchi”, Switzerland)

3.3 สารเคมี

3.3.1 กรดซิตริก (“Merk” Citric acid, food grade, AR Grade, Germany)

3.3.2 กรดฟอสฟอริก (“Merk” Phosphoric acid, AR Grade, Germany)

3.3.3 โพรพิลีนไกลคอล (“Baker” propylene glycol, AR Grade, U.S.A)

3.3.4 เฮกเซน (Hexane, Commercial grade, Etalmar, Thailand)

3.3.5 เอทานอล (95% Ethanol, Commercial grade, Imported denatured ethyl alcohol 95%)

3.3.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (98% Sodium hydroxide, Commercial grade, Thasco chemical, Thailand)

3.3.7 บีตาแคโรทีนมาตรฐาน (“Fluka” Standard β-carotene, U.S.A)

3.3.8 โพแทสเซียมไอโอไดด์ (“Baker” Potassium iodide, AR Grade, U.S.A)

3.3.9 โซเดียมคลอไรด์ (“Lascan” Sodium hydroxide, AR Grade, Ireland)

3.3.10 แมกนีเซียมคลอไรด์ (Magnesium chloride ; $MgCl_2$, Merck, Germany)

3.3.11 โพแทสเซียมอะซิเตรท (Potassium acetate ; CH_3COOK, Merck, Germany)

3.3.12 โพแทสเซียมคาร์บอเนต (Potassium carbonate ; K_2CO_3, Merck, Germany)

3.3.13 แมกนีเซียมไนเตรต (Magnesium nitrate ; $Mg(NO_3)_2$, Fluka, Switzerland)

3.3.14 โพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide ; KI, UNIVAR APS Finechem, Australia)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3.15 แอมโมเนียมซัลเฟต (Amonium sulfate; $(NH_3)_2SO_4$, Merck, Germany)

3.3.16 โพแทสเซียมไนเตรต (Potassium nitrate ; KNO_3, Fluka, Switzerland)

3.3.17 เปปโตน (Peptone water ,Merck, Germany)

3.3.18 Plate Count agar (PCA ; Merck, Germany)

3.3.19 Potato Dextrose agar (PDA ; Merck, Germany)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4 วิธีการศึกษา

3.4.1 การเตรียมตัวอย่างแคโรทีนอยด์

3.4.1.1 การกำจัดกัม (degumming) ในน้ำมันปาล์มดิบ

ทำการดีกัมน้ำมันปาล์มดิบตามวิธีของพัชรินทร์และคณะ (2548) โดยนำน้ำมันปาล์มดิบเทลงหม้อ ตั้งไฟ แล้วเติมกรดซิตริก 0.02% และ กรดฟอสฟอริก 0.08% จากนั้นกวนผสมสารละลาย จนสารละลายมีอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที แล้วนำมากรองระบบสุญญากาศ โดยใช้กระดาษกรองน้ำตาล

3.4.1.2 การสกัดน้ำมันปาล์มดิบ

ทำการสกัดแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบตามวิธีของพัชรินทร์และคณะ (2548) ดังนี้

ทำการปั๊ม propylene glycol เข้าถังผสม แล้วเติมเฮกเซนจำนวน 4,300 มิลลิลิตร ลงถังสกัด จากนั้นชั่งน้ำมันปาล์มดิบที่ได้จากข้อ 3.4.1 จำนวน 1,434 กรัม ทำให้ร้อน จนมีอุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิของถังสกัดเท่ากับ -10 องศาเซลเซียส ปั๊มน้ำมันปาล์มดิบที่ทำให้ร้อนแล้วเข้าสู่เครื่องสกัด โดยใช้ความเร็วของใบพัดในการกวนเท่ากับ 250 รอบ/นาที เมื่ออุณหภูมิของถังสกัดคงที่ที่ -10 องศาเซลเซียส ปล่อยไว้เป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการกรองโดยระบบสุญญากาศ เพื่อเอาไขมันเหลือทิ้งออก สารที่ได้ เรียกว่า สารผสมระหว่างน้ำมันปาล์มดิบกับเฮกเซน

3.4.1.3 การระเหยตัวทำละลายออกจากสารผสมระหว่างน้ำมันปาล์มดิบกับเฮกเซน

ทำการระเหยตัวทำละลายออกจากสารผสมระหว่างน้ำมันปาล์มดิบกับเฮกเซน โดยเทสารผสมระหว่างน้ำมันปาล์มดิบกับเฮกเซน ที่ได้จากข้อ 3.4.2 ลงอ่างสำหรับบรรจุสารสกัด จากนั้นเปิดเครื่องระเหยระบบสุญญากาศ เพื่อทำการระเหยตัวทำละลายออก ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนตัวทำละลายระเหยไปจนหมด (พัชรินทร์และคณะ, 2548) สารที่ได้ เรียกว่า สารสกัดแคโรทีนอยด์

3.4.1.4 การเตรียมตัวอย่างแคโรทีนอยด์ในรูปอิมัลชัน

นำสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่ได้จากข้อ 3.4.1.3 มาทำอิมัลซิฟิเคชัน(ประยุกต์จากวิธีของ Thanasukarn และคณะ, 2006) โดยตวงน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในโถกระบอกตวงขนาด 1000 มิลลิลิตร เติม 0.1 M Sodium acetate buffer pH 5.5 จำนวน 18 กรัม Tween 20 จำนวน 0.2 กรัม และ BHT 0.05 กรัม ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่น จากนั้นเติมแคโรทีนอยด์สกัด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

350 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยเครื่อง Sonicator แล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร ได้ 35% แคโรทีนอยด์ในรูปอิมัลชัน ต่อมาเตรียม 40 และ 45% แคโรทีนอยด์ในรูปอิมัลชัน โดยใช้ปริมาณแคโรทีนอยด์สกัดเป็น 400 และ 450 ตามลำดับ จากนั้นบรรจุแคโรทีนอยด์ในรูปอิมัลชันที่ได้ในขวดสีชาเก็บรักษาในที่มืด ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.4.2 การทำแห้งแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบในรูปละลายในน้ำมัน

วางแผนการทดลองแบบ 2x3 factorial in CRD โดยนำแคโรทีนอยด์สกัดจากน้ำมันปาล์มดิบในการทดลองที่ 3.4.1.3 ทำการดูดซับด้วยแป้ง 3 ชนิด คือ แป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวเหนียว และแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้แป้งในปริมาณเท่ากันคือ 50 กรัม ทำการดูดซับโดยใช้ปริมาณแคโรทีนอยด์ 3 ระดับ คือ 15.0 17.5 และ 20.0 มิลลิลิตร ทำการคัดเลือกชนิดแป้งดูดซับและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่เหมาะสม โดยคัดเลือกจากประสิทธิภาพในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ (ภาคผนวก 2.5) และค่า a_w (ภาคผนวก 2.1)

3.4.3 การทำแห้งแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบในรูปอิมัลชัน

3.4.3.1 ศึกษาระดับอิมัลชันที่เหมาะสมต่อการดูดซับในแป้งชนิดต่าง ๆ

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยนำแคโรทีนอยด์ในรูปอิมัลชัน 3 ระดับ คือ ร้อยละ 35 40 และ 45 โดยปริมาตร จากการทดลองที่ 3.4.1.4 มาทำการดูดซับในแป้ง 3 ชนิด คือแป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวเหนียว และแป้งถั่วเขียว ทำการคัดเลือกระดับอิมัลชันที่เหมาะสม โดยเปรียบเทียบจากประสิทธิภาพในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ตามวิธีในภาคผนวก ข.2.5 ปริมาณความชื้นตามวิธีในภาคผนวก ข.1.1, ค่า a_w ตามวิธีในภาคผนวก ข.2.1 และ ค่าสี L a* b* ตามวิธีในภาคผนวก ข.2.2

3.4.3.2 การทำแห้งแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบรูปอิมัลชันโดยใช้เครื่องไมโครเวฟแบบสุญญากาศ

วางแผนการทดลองแบบ 3x3 factorial in CRD โดยใช้แป้งดูดซับ 3 ชนิด คือ แป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวเหนียวและแป้งถั่วเขียว ทำการดูดซับโดยใช้ระดับอิมัลชันของแคโรทีนอยด์ที่คัดเลือกแล้ว ศึกษาผลของกำลังเครื่องไมโครเวฟ 3 ระดับ คือ 720, 960 และ1200 วัตต์ และเวลาในการอบแห้ง 3 ระดับ คือ 5,10 และ15 นาที โดยคงระดับความดันของระบบไว้ที่ 210 มิลลิเมตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปรอท คัดเลือกชนิดแป้งดูดซับ กำลังวัตต์ของเครื่องไมโครเวฟ และเวลาที่ใช้ในการทำแห้งที่เหมาะสม ในการผลิตแคโรทีนอยด์แห้งรูปอิมัลชัน ทำการคัดเลือกจากประสิทธิภาพในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ตามวิธี ในภาคผนวก ข.2.5 และค่า a_w ตามวิธีในภาคผนวก ข.2.1

3.4.3.3 การทำแห้งแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบรูปอิมัลชันโดยใช้เตาอบแบบสุญญากาศ

วางแผนการทดลองแบบ 3x3 factorial in CRD โดยใช้แป้งดูดซับ 3 ชนิด คือ แป้งข้าวจ้าว แป้งข้าวเหนียวและแป้งถั่วเขียว ทำการดูดซับโดยใช้ระดับอิมัลชันของแคโรทีนอยด์ที่คัดเลือกแล้ว ศึกษาอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 40, 50 และ60 องศาเซลเซียส และเวลาในการอบแห้ง 3 ระดับ คือ 30,45 และ 60 นาที โดยคงระดับความดันของระบบไว้ที่ 210 มิลลิเมตรปรอท คัดเลือกชนิดแป้ง อุณหภูมิและเวลาในการอบแห้งที่เหมาะสม การผลิตแคโรทีนอยด์แห้งรูปอิมัลชัน ทำการคัดเลือกจากประสิทธิภาพในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ตามวิธีในภาคผนวก ข.2.5 และค่า a_w ตามวิธีในภาคผนวก ข.2.1

3.4.3.4 คัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการทำแห้งแคโรทีนอยด์จากน้ำมันปาล์มดิบรูปอิมัลชัน

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยทำการเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์แคโรทีนอยด์แห้งรูปอิมัลชันที่ได้จากการทำแห้งด้วยเครื่องเตาอบแบบสุญญากาศ กับผลิตภัณฑ์จากเครื่องไมโครเวฟแบบสุญญากาศ โดยคัดเลือกจากประสิทธิภาพในการกักเก็บแคโรทีนอยด์ตามวิธีในภาคผนวก ข.2.5 และค่า a_w ตามวิธีในภาคผนวก ข.2.1

3.4.4 ศึกษาแคโรทีนอยด์แห้งรูปละลายในน้ำมันและรูปอิมัลชันระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยนำแคโรทีนอยด์แห้งรูปละลายในน้ำมันและรูปอิมัลชันจากการทดลองที่ 3.4.1.3 และ 3.4.3.4 ตามลำดับ นำมาเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์อะลูมิเนียมฟรอยด์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน สุ่มตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมตามวิธีในภาคผนวก ข.2.4 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดตามวิธีในภาคผนวก ข.3.1, ปริมาณยีสต์และราตามวิธีในภาคผนวก ข.3.2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4.5 ศึกษาผลของความชื้นสัมพัทธ์ต่อแคโรทีนอยด์แห้งรูปละลายในน้ำมันและรูปอิมัลชันระหว่างการเก็บรักษา เป็นเวลา 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยนำแคโรทีนอยด์แห้งรูปละลายในน้ำมันและรูปอิมัลชันจากการทดลองที่ 3.4.1.3 และ 3.4.3.4 ตามลำดับ ทำการควบคุมที่ความชื้นสัมพัทธ์แตกต่างกัน 8 ระดับตามภาคผนวก ก.3 เมื่อผลิตภัณฑ์เข้าสู่จุดสมดุลที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่าง ๆ ทำการสร้างกราฟ Sorption isoterm ตามวิธีในภาคผนวก ข.2.6 ก่อนนำมาผลิตภัณฑ์มาเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ อะลูมิเนียมฟรอยด์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน ทำการสุ่มตัวอย่างทุก 15 วัน เพื่อวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมตามวิธีในภาคผนวก ข.2.4 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดตามวิธีในภาคผนวก ข.3.1, ปริมาณยีสต์และราตามวิธีในภาคผนวก ข.3.2

3.4.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved