

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์

3.1 วัตถุดิบ

1. น้ำผึ้งทานตะวันตกลูกจากสุภาพาร์มผึ้ง อ.แมริม จ. เชียงใหม่
2. บีทรูท (ตลาดเมืองใหม่, จ. เชียงใหม่)

3.2 สารเคมี

1. น้ำกลั่น
2. เมทานอล (Methanol: MeOH) (JT Baker, USA)
3. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH·) (Fluka , USA)
4. มอลโตเดกซ์ตริน (Maltodextrin) DE 11
5. ลิเทียมคลอไรด์ (Lithium Chloride: LiCl) (Laboratory, Ajax Finechem, Australia)
6. โพแทสเซียมอะซิเตต (Potassium Acetate: CH_3COOK) (Laboratory, Ajax Finechem, Australia)
7. แมกนีเซียมคลอไรด์ (Magnesium Chloride: $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (Laboratory, Ajax Finechem, Australia)
8. โพแทสเซียมคาร์บอเนต (Potassium Carbonate: K_2CO_3) (Laboratory, Ajax Finechem, Australia)
9. แมกนีเซียมไนเตรต (Magnesium Nitrate: $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$) (Laboratory, Ajax Finechem, Australia)
10. โพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium Iodide: KI) (Laboratory, Ajax Finechem, Australia)
11. โซเดียมคลอไรด์ (Sodium Chloride: NaCl) (Laboratory, Ajax Finechem, Australia)
12. กลูโคส (Glucose) (Laboratory, Ajax Finechem, Australia)
13. วิตามินซี (Ascorbic acid) (Asia Pacific Specialty Chemicals, Australia)

3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องหมุนเหวี่ยง (บริษัท มาร์ช คูล อินดัสทรี จำกัด, ประเทศไทย)
2. เครื่องวิเคราะห์ค่าสี ใช้ Color Quest II Colorimeter (Chroma Meter CR 300 Series, Minolta, Japan)
3. เครื่องวัดความหนืด ใช้ Brookfield Viscometer (รุ่น LVDV-II+, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Germany)
4. เครื่องวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้เครื่อง UV visible Spectrophotometer (UV WINLAB, PerkinElmer, Thailand)
5. กล้องจุลทรรศน์ Light microscope (Olympus CX31, Japan)
6. เครื่องวัดปริมาณของแข็งทั้งหมด Hand Refractometer (N-10E, Atago Co., Ltd., Japan)
7. ตู้อบลมร้อน (Mettler, USA)
8. เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ใช้เครื่อง Water Activity Meter (Aqua Lab รุ่น TE3, Decagon Devices, Inc Pullman, USA)
9. เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง pH Meter (Cosort C380, Belgium)
10. เครื่องวิเคราะห์จุดหลอมเหลว Differential Scanning Calorimeter (DSC) (Diamond DSC, Perkin Elmer, USA)
11. ตู้อบสุญญากาศ (Binder VD23, USA)
12. เครื่องทำให้เข้มข้นแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze concentration) (บริษัท มาร์ช คูล อินดัสทรี จำกัด, ประเทศไทย)
13. เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) (LABCONCO, USA)
14. เครื่องคั้นน้ำผลไม้แยกกาก (Santos, Thailand)
15. ตู้บ่ม 35 องศาเซลเซียส (Gallenkamb, England)
16. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) (Hermle, Germany)
17. ตู้เย็น 10 องศาเซลเซียส (Sanyo, Thailand)
18. โถดูดความชื้น (desicator)

3.4 วิธีการศึกษา

ตอนที่ 1 การสกัดสารสีธรรมชาติจากพืชและการทำให้เข้มข้น

นำบีทรูทมาสกัดโดยการบดและคั้นน้ำ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำให้เข้มข้นโดยวิธีทำให้เข้มข้นแบบแช่เยือกแข็ง เก็บรักษาสารสกัดเข้มข้นที่ได้ในที่เย็นและทึบแสง เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงของสีและการสลายตัวของสารต้านอนุมูลอิสระ นำสารสกัดเข้มข้นที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีดังต่อไปนี้

1.1 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

- วิเคราะห์ค่าสีโดยใช้ Color Quest II Colorimeter (Minolta, Japan)
- วิเคราะห์ค่าความหนืดโดยใช้ Brookfield Viscometer (LV DV-II+, Germany)

1.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี

- วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด (AOAC, 2000)
- วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้โดยใช้ Hand Refractometer (Antago, Japan)
- วิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่างโดยใช้ pH Meter (Cosort C380, Belgium)
- วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging activity (Turkmen *et al.*, 2006)

ตอนที่ 2 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเอนแคปซูลชันผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งโดยการอบแห้งโดยใช้ตู้อบสุญญากาศ

นำสารสีสกัดจากธรรมชาติมาผสมกับมอลโตเดกซ์ตริน โดยทำการแปรระดับความเข้มข้นของมอลโตเดกซ์ตริน 3 ระดับ คือร้อยละ 5 10 และ 15 จากนั้นนำผลิตภัณฑ์มาผสมกับสารสีสกัดจากธรรมชาติที่เตรียมไว้ในอัตราส่วน 20 กรัมของผลิตภัณฑ์ต่อ

1 มิลลิลิตรของสารสกัด นำผลิตภัณฑ์มาอบแห้งในตู้อบสุญญากาศเพื่อศึกษาหาระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการอบแห้ง โดยทำการแปรระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้ง 3 ระดับ คือ 35 40 และ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการอบแห้งเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำแคปซูลสารสกัดสีในผลิตภัณฑ์น้ำผึ้งมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี ประเมินผลการทดลองเพื่อคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการเอนแคปซูลชันโดยการวิเคราะห์ทางสถิติโดยวางแผนการทดลองแบบ 3x3 Factorial in Complete Randomized Design

2.1 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

- วิเคราะห์ค่าสีโดยใช้เครื่องวิเคราะห์สีโดยใช้ Color Quest II Colorimeter (Minolta, Japan)
- วิเคราะห์ความสามารถในการละลาย (solubility) (Shittu and Lawal, 2007)
- วิเคราะห์ความสามารถในการไหล (flow ability) (Bhandari, 1998)

2.2 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

- วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)
- วิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) โดยใช้ Water Activity Meter (Aqua Lab TE3, USA)
- วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging activity (Turkmen *et al.*, 2006)

2.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- การวิเคราะห์ ANOVA โดยใช้โปรแกรมสถิติ SPSS
- วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (ไพโรจน์, 2535)

ตอนที่ 3 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเอนแคปซูเลชันผลึกน้ำผึ้งโดยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

นำสารสกัดจากธรรมชาติมาผสมกับมอลโตเดกซ์ตริน โดยทำการแปรระดับความเข้มข้นของมอลโตเดกซ์ตริน 3 ระดับ คือร้อยละ 5 10 และ 15 จากนั้นนำผลึกน้ำผึ้งมาผสมกับสารสกัดจากธรรมชาติที่เตรียมไว้ในอัตราส่วน 20 กรัมผลึกน้ำผึ้งต่อ 1 มิลลิตรของสารสกัด นำผลึกน้ำผึ้งที่ได้ไปทำเอนแคปซูเลชัน โดยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำแคปซูลสารสกัดสีในผลึกน้ำผึ้งที่ได้มาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมีเหมือนดังการทดลองตอนที่ 2 ประเมินผลการทดลองโดยการวิเคราะห์ทางสถิติโดยวางแผนการทดลองแบบ CRD (Complete Randomized Design)

ตอนที่ 4 ศึกษาคุณภาพของแคปซูลสารสกัดสีในผลึกน้ำผึ้งที่ผ่านการอบแห้งโดยผู้อบ
 สูญญากาศเปรียบเทียบกับการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งในสภาวะการผลิตที่เหมาะสมที่สุด

คัดเลือกตัวอย่างแคปซูลสารสกัดสีในผลึกน้ำผึ้งจากสภาวะการผลิตที่เหมาะสม
 ที่สุดจากการทดลองตอนที่ 2 และ 3 จากนั้นนำแคปซูลสารสกัดสีในผลึกน้ำผึ้งมาวิเคราะห์
 สมบัติทางกายภาพและทางประสาทสัมผัสดังต่อไปนี้

4.1 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

- วิเคราะห์ขนาดและรูปร่างของแคปซูลสารสกัดสีในผลึกน้ำผึ้ง (Escobedo *et al.*, 2006)
- วิเคราะห์อุณหภูมิการหลอมเหลวของแคปซูลสารสกัดสีในผลึกน้ำผึ้งด้วย
 เครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) (Diamond DSC, Perkin
 Elmer, USA) โดยใช้วิธีของ Boonyai *et al.*, (2007)

4.2 การทดสอบสมบัติทางประสาทสัมผัส

นำตัวอย่างแคปซูลสารสกัดสีในผลึกน้ำผึ้งมาทดสอบสมบัติทางประสาท
 สัมผัสของผู้บริโภค โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Randomized
 Complete Block Design ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน ด้วยวิธี Hedonic scoring
 test 9 points (ไพโรจน์, 2535) เพื่อประเมินความชอบในลักษณะสำคัญต่างๆ ของ
 แคปซูลสารสกัดสีในผลึกน้ำผึ้ง

4.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- การวิเคราะห์ ANOVA โดยใช้โปรแกรมสถิติ SPSS
- วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test
 (ไพโรจน์, 2535)

ตอนที่ 5 การศึกษาชอร์ปชั้นไอโซเทอร์มของแคปซูลสารสกัดสีในผลึกน้ำผึ้งและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

5.1 การศึกษาชอร์ปชั้นไอโซเทอร์มของแคปซูลสารสกัดสีในผลึกน้ำผึ้ง

คัดเลือกตัวอย่างแคปซูลสารสกัดสีในผลึกน้ำผึ้งจากสภาวะการผลิตที่เหมาะสมที่สุดจากการทดลองตอนที่ 2 และ 3 เพื่อศึกษาชอร์ปชั้นไอโซเทอร์มด้วยวิธี gravimetric method เพื่อทำนายอายุการเก็บรักษาโดยจะเก็บรักษาตัวอย่างแคปซูลสารสกัดสีในผลึกน้ำผึ้งที่ระดับ a_w แยกต่างกัน 5 ระดับ (0.3-0.7) ที่ระดับอุณหภูมิ 10 25 และ 35 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างเข้าสู่สภาวะสมดุล (Bell and Labuza, 2000) จากนั้นนำตัวอย่างแคปซูลมาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีดังต่อไปนี้

5.1.1 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

- วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

5.2 การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของแคปซูลสารสกัดสีในผลึกน้ำผึ้ง

คัดเลือกตัวอย่างแคปซูลสารสกัดสีในผลึกน้ำผึ้งจากสภาวะการผลิตที่เหมาะสมที่สุดจากการทดลองตอนที่ 2 และ 3 เพื่อศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยจะเก็บรักษาตัวอย่างแคปซูลสารสกัดสีในผลึกน้ำผึ้งที่ระดับ a_w แยกต่างกัน 7 ระดับ (0.1-0.7) ที่ระดับอุณหภูมิ 10 25 และ 35 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างเข้าสู่สภาวะสมดุล (Bell and Labuza, 2000) จากนั้นนำตัวอย่างแคปซูลมาวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH scavenging activity (Turkmen *et al.*, 2006)