

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องชั่งหยาบ (Sartorius รุ่น BP3100S)
2. เครื่องชั่งละเอียด (AND รุ่น HR-200)
3. เครื่องวัดสี (Minolta รุ่น CR-300)
4. เครื่องวัดความเข้มแสง (HIOKI รุ่น 1988)
5. Hot air oven (WTB binder)
6. Desiccator (Glaswerk รุ่น GL 32)
7. Blender (Philips รุ่น HR 1841)
8. Hot plate
9. Water bath
10. Centrifuge (Kubota รุ่น 5200)
11. pH meter (Schott รุ่น CG 825)
12. Rotary evaporator (Buchi รุ่น B-485)
13. Penetrometer (TAGO)
14. Spectrophotometer (Jasco รุ่น V-530)
15. HPLC (high pressure liquid chromatography : Waters USA รุ่น W2690)
16. HPLC column (Nova-Pak[®] C-18 ; 60A° 4 um ; ID 3.9 x 150 mm.)
17. Photodiode array UV-Visible detector (Waters USA)
18. Brookfield viscometer (รุ่น DV I)

วัตถุดิบ

ตัวอย่างมะม่วงพันธุ์สามปี ได้จากสถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง จังหวัดลำปาง ทำการเก็บเกี่ยวตัวอย่างในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงมิถุนายน ปี 2543 และ 2544 โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างตามวัตถุประสงค์การตรวจสอบต่างๆ และสำหรับเนื้อมะม่วงที่บดละเอียด (puree) ที่ใช้สำหรับผลิตน้ำมะม่วง จะเก็บรักษาเพื่อรอการนำไปใช้ต่อไปโดยการแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18°C

ขั้นตอนการทดลอง

3.1 ศึกษาความแก่ที่เหมาะสมของมะม่วงพันธุ์สามปีที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

3.1.1 ศึกษาระดับค่าความถ่วงจำเพาะที่ใช้เป็นเกณฑ์ในการเก็บเกี่ยวมะม่วงผลแก่(mature) ที่เหมาะสมสำหรับนำไปบ่มต่อไป

เกณฑ์การเก็บเกี่ยว : วัดค่าความถ่วงจำเพาะ (specific gravity) : ถพ.

โดยวิธี จมลอยในน้ำเกลือ (Ranganna, 1978)

ค่าความถ่วงจำเพาะของน้ำเกลือที่ระดับความเข้มข้นต่างๆที่ใช้ มีดังนี้

- 1) น้ำเกลือ 0% มีค่าความถ่วงจำเพาะ 1.000
- 2) น้ำเกลือ 2% มีค่าความถ่วงจำเพาะ 1.015
- 3) น้ำเกลือ 4% มีค่าความถ่วงจำเพาะ 1.028
- 4) น้ำเกลือ 6% มีค่าความถ่วงจำเพาะ 1.042

วิธีการ

มะม่วงสามปีเก็บเกี่ยวจากต้น

ล้างทำความสะอาด



แบ่งมะม่วงเป็นกลุ่มตามความถ่วงจำเพาะ

โดยวิธีการจมลอยในน้ำเกลือ (Ranganna, 1978)

แบ่ง 4 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่1 ค่า ถพ. น้อยกว่า 1.000(ผลลอยน้ำ)

กลุ่มที่ 2 ค่า ถพ. 1.000-1.015 (ผลจมน้ำแต่ลอยในน้ำเกลือ 2%)

กลุ่มที่ 3 ค่า ถพ. 1.015-1.028 (ผลจมน้ำเกลือ 2% แต่ลอยในน้ำเกลือ 4%)

กลุ่มที่ 4 ค่า ถพ. 1.028 -1.042 (ผลจมน้ำเกลือ 4% แต่ลอยในน้ำเกลือ 6%)



วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของมะม่วงแต่ละกลุ่ม

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่

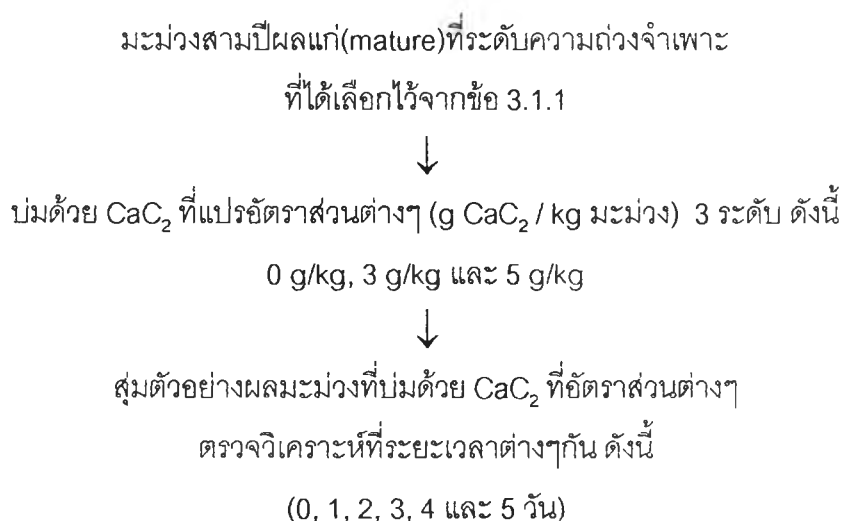
- 1) TSS (total soluble solid : °brix) โดย Hand refractometer 0-32°brix
- 2) pH โดย pH meter Schott รุ่น CG 825
- 3) %TA (% titration acidity) (AOAC, 1995)
- 4) %AIS (% alcohol insoluble solid) (Ranganna, 1978)

เกณฑ์มะม่วงผลแก่ที่เหมาะสมสำหรับเก็บเกี่ยว คือ มีแป้งสะสมมากที่สุด TSS ~ 7.0-8.0°brix pH ~ 3.0-4.0 และ %TA~ 2.6-2.8 (ณรงค์ นิยมวิทย์, 2529)

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1957)

3.1.2 ศึกษาการบ่มมะม่วงสามปีด้วย CaC_2 ที่อัตราส่วนต่างและระยะเวลาต่างๆเพื่อให้ได้มะม่วงสามปีที่เหมาะสมสำหรับนำไปผลิตน้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่มต่อไป

วิธีการ



วิเคราะห์ลักษณะสีและองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่

- 1) color (L,a,b) โดยเครื่องวัดสี Minolta รุ่น CR-300
- 2) TSS (total soluble solid : °brix) โดย Hand refractometer 0-32°brix
- 3) pH โดย pH meter Schott รุ่น CG 825
- 4) %TA (% titration acidity) (AOAC, 1995)
- 5) %AIS (% alcohol insoluble solid) (Ranganna, 1978)
- 6) total carotenoids ตามภาคผนวกที่ ก.8 (ดัดแปลงจาก Ranganna, 1978)

เกณฑ์ผลมะม่วงสุก (ripe) ที่เหมาะสมสำหรับนำไปทำน้ำมะม่วงพร้อมดื่ม คือ มะม่วงมี TSS~16.0-18.0°brix pH~ 4.0-5.0 และ %TA~0.3-0.6 (มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด, 2541)

วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Design (3*6) 2 ซ้ำ และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1957)

จากนั้นนำมะม่วงสามปีที่บ่มด้วย CaC_2 ; มะม่วง อัตราส่วนที่คัดเลือกไว้ (3 g/kg) บ่มเป็นระยะเวลา 2, 3, 4 และ 5 วัน นำมาผลิตเป็นน้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่ม เพื่อศึกษาหาระดับความสุกแก่ของมะม่วงที่เหมาะสมสำหรับผลิตน้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่ม

วิธีการ

นำผลมะม่วงสามปีที่บ่มด้วย CaC_2 ในอัตราส่วนเหมาะสมที่เลือกได้จากข้อ 3.1.2 ที่บ่มเป็นระยะเวลาต่างๆ 4 ระดับ ดังนี้

2, 3, 4 และ 5 วัน



ผลิตเป็นน้ำมะม่วงพร้อมดื่ม

(น้ำมะม่วงพร้อมดื่ม : เนื้อมะม่วง 25% TSS 15°brix และ %TA 0.4)

วิธีการเตรียมน้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่มบรรจุขวด มีดังนี้

นำมะม่วงที่บ่มด้วย CaC_2 ล้างด้วยน้ำสะอาด ปอกเปลือกและแยกเอาเฉพาะส่วนเนื้อมะม่วง

นำเนื้อมะม่วงที่ได้ บดให้ละเอียดด้วยเครื่อง Blender (Philips รุ่น HR 1841)

จากนั้นเตรียมน้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่ม โดยน้ำมะม่วงพร้อมดื่มประกอบด้วย

เนื้อมะม่วงที่บดละเอียด 25 % โดยน้ำหนัก เติมน้ำตาลทรายเพื่อปรับให้ TSS เท่ากับ 15°brix

ปรับให้ %TA เท่ากับ 0.4 ด้วยกรดซิตริก(ผง) และเติมน้ำในส่วนผสมที่เหลือ

ผสมส่วนต่างๆ โดยให้ความร้อน 40-50°C เพื่อช่วยให้ละลายเข้ากันได้

จากนั้นให้ความร้อนน้ำมะม่วงที่ 80-85°C นาน 5 นาที ระหว่างการให้ความร้อน

มีการคนตลอดเวลา เพื่อให้ความร้อนกระจายทั่วกันและป้องกันไม่ให้เกิดฟองอากาศใหม่

จากนั้นบรรจุแบบ hot fill ลงขวดแก้วขนาด 250 ml ปิดฝาด้วยฝาจับทันที

นำน้ำมะม่วงพร้อมดื่มที่บรรจุขวดแล้วให้ความร้อนอีกครั้งโดยการต้ม(boiled)

ที่อุณหภูมิน้ำเดือดนาน 15 นาที หลังจากนั้นปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง



น้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่มบรรจุขวด



วิเคราะห์สีและองค์ประกอบเคมี : color(L,a,b) และ total carotenoids ด้วยวิธีวิเคราะห์

เช่นเดียวกับข้างต้น และวัดค่า viscosity(cPs) โดย Brookfield viscometer

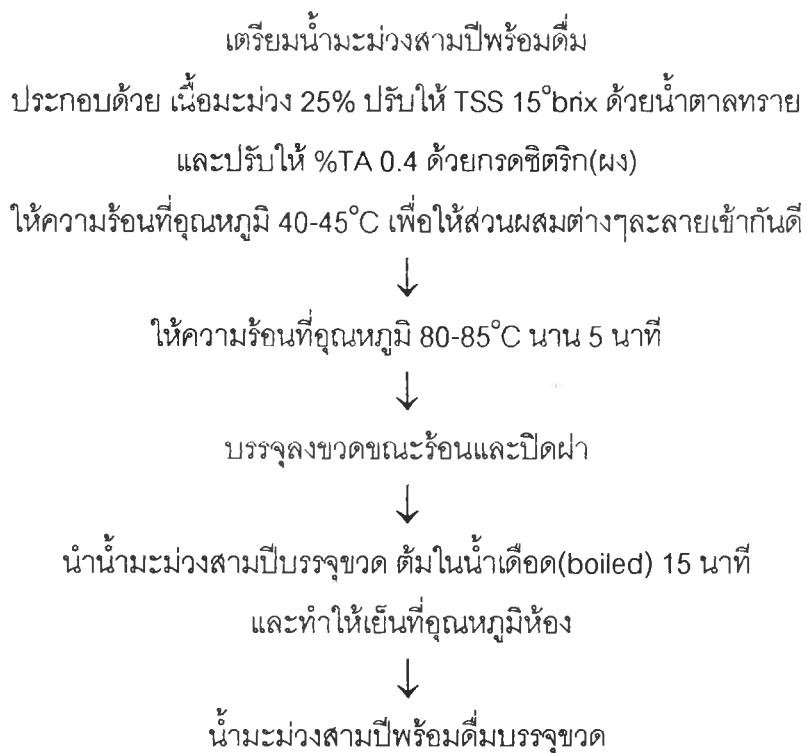
วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1957)

3.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสี และองค์ประกอบทางเคมีในระหว่างกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่มบรรจุขวด

วัตถุดิบ เนื้อมะม่วง(puree) ที่ใช้สำหรับทำน้ำมะม่วงสามปี เป็นเนื้อมะม่วงสุกที่บ่มด้วย CaCl_2 ที่ได้จากการคัดเลือกข้อ 3.1.3 ผ่านการบดละเอียดด้วย blender จากนั้นเก็บรักษาเพื่อรอการนำไปใช้ต่อไปโดยการแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18°C

3.2.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสี และองค์ประกอบทางเคมีในระหว่างกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่มบรรจุขวด

วิธีการ



ทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำมะม่วงช่วงต่างๆ ดังนี้

- (1) น้ำมะม่วงที่เตรียมเสร็จใหม่ๆ ก่อนให้ความร้อน
- (2) น้ำมะม่วงที่ผ่านความร้อน $80-85^\circ\text{C}$ นาน 5 นาที
- (3) น้ำมะม่วงบรรจุขวดที่ผ่านการต้มนาน 15 นาที

วิเคราะห์ลักษณะสีและองค์ประกอบทางเคมีดังนี้

- 1) color(L,a,b) โดยเครื่องวัดสี Minolta รุ่น CR-300
- 2) vitamin C (AOAC, 1995)
- 3) non enzymatic browning (ดัดแปลงจาก Ranganna, 1978)
- 4) total carotenoids ตามภาคผนวกที่ ก.8 (ดัดแปลงจาก Ranganna, 1978)

5) beta carotene ตามภาคผนวกที่ ก.8 (ดัดแปลงจาก Ranganna, 1978)

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1957)

3.2.2 ศึกษาผลของการเติม vitamin C (ascorbic acid) ในระหว่างกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่มบรรจุขวด

วิธีการ

เตรียมน้ำมะม่วงพร้อมดื่มเช่นเดียวกับ 3.2.1

(เนื้อมะม่วง 25% TSS 15°brix และ %TA 0.4)

และเติมวิตามินซี (ascorbic acid) แปรปริมาณดังนี้

0.00%, 0.02% และ 0.05%

ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40-45°C เพื่อให้ส่วนผสมต่างๆละลายเข้ากันดี



ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80-85°C นาน 5 นาที



บรรจุลงขวดขณะร้อนและปิดฝา



นำน้ำมะม่วงสามปีบรรจุขวด ต้มในน้ำเดือด(boiled) 15 นาที

และทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง



น้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่มบรรจุขวด

ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำมะม่วงจากช่วงต่างๆ(3 ช่วง) ของกระบวนการผลิตเช่นเดียวกับ 3.2.1

ตรวจวิเคราะห์ color(L,a,b) , vitamin C, non enzymatic browning, total carotenoids และ beta carotene ด้วยวิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับ 3.2.1

แต่ละช่วงวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1957)

3.3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีและองค์ประกอบทางเคมี ในระหว่างการเก็บรักษาน้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่มบรรจุขวด

วัตถุดิบ เนื้อมะม่วง(puree) ที่เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 3.2

3.3.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากแสงในระหว่างการเก็บรักษาน้ำมะม่วงสามปีพร้อม
ดื่มนับรวม

วิธีการ

น้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่มนับรวม
ซึ่งผลิตด้วยกระบวนการเช่นเดียวกับ 3.2.1
(เนื้อมะม่วง 25% TSS 15°brix %TA 0.4)
ขวดที่ใช้บรรจุเป็นขวดแก้วใส ฝาจับ ขนาด 250 ml.



เก็บในสภาวะต่างๆ ดังนี้

- 1) สภาวะที่ไม่มีแสง เก็บในที่มืด อุณหภูมิห้องตลอดเวลา
(ตรวจวิเคราะห์ 0, 4, 8, 12,16, 20 และ 24 สัปดาห์)
- 2) สภาวะที่มีแสง ความเข้มแสงที่ตัวอย่างได้รับ ~ 500-600 lux
(แสงจากหลอดไฟนีออน ; fluorescence lamp 18 watt
ตัวอย่างวางห่างจากหลอดไฟ 30-40 cm.)
ที่อุณหภูมิห้องตลอดเวลา (~27°C)
(ตรวจวิเคราะห์ 0, 4, 8, 12,16, 20 และ 24 สัปดาห์)

ตรวจวิเคราะห์ color(L,a,b) , vitamin C, non enzymatic browning, total carotenoids
และ beta carotene ด้วยวิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับ 3.2.1

วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Design (2*7) 2 ซ้ำ และเปรียบเทียบ
ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ
Cox, 1957)

3.3.2 ศึกษาผลของการเติม vitamin C ในน้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่มนับรวมระหว่างการ
เก็บรักษาที่สภาวะมีแสง

วิธีการ

น้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่มนับรวม
ซึ่งผลิตด้วยกระบวนการเช่นเดียวกับ 3.2.1
(เนื้อมะม่วง 25% TSS 15°brix %TA 0.4)

เติมวิตามินซี แปรปริมาณ 3 ระดับดังนี้

0.00%, 0.02% และ 0.05%

ขวดที่ใช้บรรจุเป็นขวดแก้วใส ฝาจีบ ขนาด 250 ml.



เก็บรักษาน้ำมะม่วงพร้อมดีมีในสภาวะที่มีแสง

ความเข้มแสงที่ตัวอย่างได้รับ ~ 500-600 lux

(แสงจากหลอดไฟนีออน 18 watt วางตัวอย่างห่างจาก
หลอดไฟ 30-40 cm.) ที่อุณหภูมิห้องตลอดเวลา

เช่นเดียวกับ 3.3.1



ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำมะม่วง

(0, 4, 8, 12, 16, 20 และ 24 สัปดาห์)

ตรวจวิเคราะห์ color(L,a,b) , vitamin C, non enzymatic browning, total carotenoids และ beta carotene ด้วยวิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับ 3.2.1

วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Design (3*7) 2 ขั้ว และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1957)

3.3.3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากอุณหภูมิ ในระหว่างการเก็บรักษาน้ำมะม่วงสามปีพร้อมดีมีบรรจุขวด

วิธีการ

น้ำมะม่วงสามปีพร้อมดีมีบรรจุขวด

ซึ่งผลิตด้วยกระบวนการเช่นเดียวกับ 3.2.1

(เนื้อมะม่วง 25% TSS 15^{brix} %TA 0.4)

ขวดที่ใช้บรรจุเป็นขวดแก้วใส ฝาจีบ ขนาด 250 ml.



เก็บในสภาวะอุณหภูมิต่างๆ ดังนี้

- 1) อุณหภูมิ 4-10°C (ตู้เย็น)
- 2) อุณหภูมิ 25-30°C (อุณหภูมิห้อง)

บรรจุในกล่องกระดาษ

- 3) อุณหภูมิ 45°C (ตู้ต้ม)



ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำมะม่วง
(0, 4, 8,12,16, 20 และ 24 สัปดาห์)

ตรวจวิเคราะห์ color(L,a,b), vitamin C, non enzymatic browning, total carotenoids และ beta carotene ด้วยวิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับ 3.2.1

วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Design (3*7) 2 ชั้น และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1957)

3.3.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เมื่อมีการเติมวิตามินซีในน้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่มบรรจุขวด

วิธีการ

น้ำมะม่วงสามปีพร้อมดื่มบรรจุขวด
ซึ่งผลิตด้วยกระบวนการเช่นเดียวกับ 3.2.1
(เนื้อมะม่วง 25% TSS 15°brix %TA 0.4)
เติมวิตามินซี แปรปริมาณ 3 ระดับดังนี้
0.00%, 0.02% และ 0.05%
ขวดที่ใช้บรรจุเป็นขวดแก้วใส ฝาจีบ ขนาด 250 ml.



เก็บที่ 4-10°C (ตู้เย็น)
ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำมะม่วง
(0, 4, 8,12,16, 20 และ 24 สัปดาห์)

ตรวจวิเคราะห์ color(L,a,b), vitamin C, non enzymatic browning, total carotenoids และ beta carotene ด้วยวิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับ 3.2.1

วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Design (3*7) 2 ชั้น และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1957)