

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัสดุ

1. นมดิบ (whole milk) จากคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
2. สับปะรด พันธุ์ปัตตาเวีย จากอำเภอป่าบอน จังหวัดพัทลุง ที่ระดับความสุกเบอร์ 3 (สุกตั้งแต่ร้อยละ 40 แต่ไม่เกินร้อยละ 60 โดยสังเกตสีเหลืองของผล)
3. เพกติน (High methoxyl pectin classic CM 203) จากบริษัท Herbstreith & Fox Corporate Group

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น uv-16001 ประเทศออสเตรเลีย
3. เครื่องวัดค่าพีเอช ยี่ห้อ Scientific รุ่น Denver15 ประเทศสหรัฐอเมริกา
4. อ่างควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ W350 รุ่น Memmert ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. ชุดอิเล็กโตรดรีซีต ยี่ห้อ Bio-Rad รุ่น mini-Protein II ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. เครื่อง Densitometer ยี่ห้อ Bio-Rad รุ่น GS-700 ประเทศสหรัฐอเมริกา
7. เครื่องมือวิเคราะห์ทางเคมี
8. เครื่องแก้วสำหรับวิเคราะห์ทางเคมี
9. อุปกรณ์สำหรับประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส
10. อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์
11. ห้องควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
12. ห้องควบคุมอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส
13. โซโมจิไนเซอร์ ยี่ห้อ Gaurin corporation ประเทศสหรัฐอเมริกา
14. เครื่องวัดความหนืด ยี่ห้อ Brookfield รุ่น DV-II+ ประเทศสหรัฐอเมริกา
15. เครื่องหมุนเหวี่ยง ยี่ห้อ Sorvall รุ่น RC-B plus ประเทศสหรัฐอเมริกา

วิธีการทดลอง

1. ศึกษาสมบัติทางเคมีของน้ำสับประรด

คัดเลือกตัวอย่างสับประรดพันธุ์ปัตตาเวีย จากอำเภอป่าบอน จังหวัดพัทลุง ที่ระดับความสูงเบอร์ 3 ตามการจัดชั้นคุณภาพของ กนกมณฑล ศรีศรีวิชัย (2526 อ้างโดย วิจิตร วรรณชิต, 2529) จำนวน 10 ตัวอย่าง นำผลสับประรดมาปอกเปลือก สับเป็นชิ้นเล็กๆ คั้นน้ำและกรองด้วยผ้าขาวบาง นำน้ำสับประรดที่ได้มาวิเคราะห์ดังนี้

- 1.1 พีเอช (AOAC,1999) (ภาคผนวก ก)
- 1.2 ความเป็นกรด (AOAC,1999) (ภาคผนวก ก)
- 1.3 ของแข็งที่ละลายน้ำได้(ค่าบรีกซ์) โดยใช้ Hand refractometer
- 1.4 ปริมาณโปรตีน (Bradford,1976) (ภาคผนวก ก)
- 1.5 กิจกรรมการย่อยโปรตีนจำเพาะของเอนไซม์โบรมิเลน ดัดแปลงวิธีของ Arima และคณะ(2000) (ภาคผนวก ก)

2. ศึกษาผลของปริมาณเอนไซม์จากน้ำสับประรดต่อระดับการย่อยสลายโปรตีนและรสนิยม

เตรียมน้ำสับประรดที่ได้จากข้อ 1 ปรับบรีกซ์เท่ากับ 12 ด้วยน้ำตาลซูโครส นำมาเจือจางด้วยน้ำสับประรดที่ผ่านการทำลายเอนไซม์แล้ว (ด้วยความร้อน 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที) ให้มีค่ากิจกรรมจำเพาะเท่ากับ 0.14, 0.18 และ 0.22 และ 0.26 Pu/mg.prot (Protease activity unit / mg. protein) ตามลำดับแล้วนำไปผสมกับส่วนผสมอื่นๆ ดังตารางที่ 5 ปรับพีเอชให้ได้ 4.2 ด้วยกรดซิตริกเข้มข้นร้อยละ 50 บมที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงนำไปโฮโมจีไนส์ ที่ความดัน 2500 psi และพาสเจอร์ไรส์ ที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที ด้วยการให้ความร้อนผ่านหม้อสแตนเลส ทำการบรรจุในขวดแก้วปากแคบขนาด 300 มิลลิลิตร และเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่าง PMPP ภายใน 4 ชั่วโมงเพื่อวิเคราะห์ดังนี้

- 2.1 ระดับการย่อยสลาย(degree of hydrolysis) โดยดัดแปลงวิธีของ Benjakul และ Morrissey(1997) (ภาคผนวก ก) ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ตารางที่ 5 ส่วนผสมของ PMPP

Table 5 Component of PMPP.

Component	Percentage (%)
Pineapple juice	10
Whole milk	50
Pectin solution (5%)	8
Sugar	5
Water	27

2.2 ทดสอบทางประสาทสัมผัส

2.2.1 ทดสอบความขมด้วยวิธี Quantitative descriptive analysis (QDA) โดยผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนตามวิธีของ Tamura และคณะ(1990) (ภาคผนวก ง) จำนวน 8-10 คน

2.2.2 ทดสอบการยอมรับด้วยวิธี Hedonic-5-scale (ภาคผนวก ง) โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 10 คน วางแผนการทดลองแบบ Random complete block design (RCB) คัดเลือกความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสมจากตัวอย่าง PMPP ที่ได้รับคะแนนการยอมรับตั้งแต่ 3 คะแนนขึ้นไปเพื่อทำการทดลองในข้อ 3

3. ศึกษาผลของเวลาต่อระดับการย่อยสลายโปรตีนและรสชาติ

เตรียมน้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้นของเอนไซม์โบรมิเลน ตามที่คัดเลือกจากข้อ 2 ผสมกับส่วนผสมอื่นๆเช่นเดียวกับข้อ 2 ปรับพีเอชให้ได้ 4.2 ด้วยกรดซิตริก บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ,10 ,15 และ 20 นาที แล้วจึงนำไปโฮโมจีไนซ์ ที่ความดัน 2500 psi และพาสเจอร์ไรส์ ที่ 72 องศาเซลเซียส 15 วินาที บรรจุในขวดแก้วสะอาดเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่าง PMPP ภายใน 4 ชั่วโมง เพื่อทำการวิเคราะห์ดังนี้

3.1 ระดับการย่อยสลาย (degree of hydrolysis) โดยคัดแปลงวิธีของ Benjakul และ Morrissey (1997) (ภาคผนวก ก)

3.2 ทดสอบทางประสาทสัมผัส เช่นเดียวกับข้อ 2.2

3.3 ตรวจสอบรูปแบบโปรตีน Sodium dodecyl Sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) คัดแปลงวิธีของ Laemmli(1970) (ภาคผนวก ก)

3.4 ตรวจสอบปริมาณโปรตีนที่ถูกย่อยสลายโดยใช้ผลจากข้อ 3.3 นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Densitometer

คัดเลือกเวลาที่เหมาะสมจากตัวอย่าง PMPP ที่มีระดับการย่อยสลายสูงสุด ขณะที่ได้รับคะแนนการยอมรับมากกว่า 3 คะแนน เพื่อทำการทดลองในข้อ 4

4. ศึกษาผลของปริมาณน้ำสับปะรดต่อการยอมรับผลิตภัณฑ์

เตรียมน้ำสับปะรดให้มีค่ากิจกรรมเฉพาะตามที่คัดเลือกจากข้อ 2 ผสมกับส่วนผสมอื่นๆ ในปริมาณร้อยละ 10,14,18 และ 22 เช่นเดียวกับข้อ 2 โดยลดปริมาณน้ำในสูตรลงสำหรับตัวอย่างที่มีอัตราส่วนน้ำสับปะรดเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 10 ปรับพีเอชให้ได้ 4.2 ด้วยกรดซิตริก บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาในการบ่มตามที่คัดเลือกจากข้อ 3 แล้วจึงนำไปโสมจิไนซ์ที่ 2500 psi และพาสเจอร์ไรส์ที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่าง PMPP เพื่อทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสภายในเวลา 4 ชั่วโมง ด้วยวิธี Hedonic-9-scale (ภาคผนวก ง) เพื่อหาความชอบรวม โดยผู้ทดสอบจำนวน 30 คน วางแผนการทดลองแบบ RCB คัดเลือกตัวอย่าง PMPP ที่ได้รับคะแนนความยอมรับสูงสุดเพื่อทำการทดลองในข้อ 5

5. ศึกษาผลของปริมาณเพกตินต่อความคงตัวและความยอมรับผลิตภัณฑ์

เตรียมน้ำสับปะรดที่มีค่ากิจกรรมเฉพาะตามที่คัดเลือกจากข้อ 4 ผสมกับส่วนผสมอื่นๆ ในปริมาณที่คัดเลือกจากข้อ 4 โดยให้ตัวอย่าง PMPP มีความเข้มข้นของเพกตินร้อยละ 0.3, 0.4, 0.5 และ 0.6 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตรวจสอบวัดความคงตัวของตัวอย่างนมทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน โดยคัดแปลงจาก Laurent และ Boulenguer (2003) (ภาคผนวก ข) และวัดความหนืดโดยคัดแปลงจาก Nakamura และคณะ(2003) (ภาคผนวก ข)

เตรียมน้ำสับปะรดที่มีค่ากิจกรรมเฉพาะตามที่คัดเลือกจากข้อ 4 ผสมกับส่วนผสมอื่นๆ ในปริมาณที่คัดเลือกจากข้อ 4 โดยให้ตัวอย่าง PMPP มีความเข้มข้นของเพกตินที่ทำให้ตัวอย่าง PMPP มีความคงตัวเมื่อครบ 14 วัน มาทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Hedonic 9 scale (ภาคผนวก ง)

เพื่อหาความชอบรวม โดยผู้ทดสอบจำนวน 30 คน คัดเลือกตัวอย่าง PMPP ที่ได้รับคะแนนความชอบสูงที่สุด เพื่อทำการทดลองในข้อ 6 และ 7 ตามลำดับ

6. ศึกษาอายุการเก็บรักษาและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพของผลิตภัณฑ์

ผลิตตัวอย่าง PMPP ตามกรรมวิธีและปริมาณเพกตินที่คัดเลือกจากข้อ 5 เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่าง PMPP เพื่อทำการวิเคราะห์ทุก 5 วัน เป็นเวลา 30 วันดังนี้

- 6.1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธีของ Norrel และ Messley (1997) (ภาคผนวก ค)
- 6.2 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี ได้แก่ กิจกรรมจำเพาะการย่อยโปรตีนของโปรตีเอส ระดับการย่อยโปรตีน ค่าความเป็นกรด และพีเอช (ภาคผนวก ก)
- 6.3 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ได้แก่ ความหนืด และความคงตัว (ภาคผนวก ข)

7. ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์

เตรียม PMPP ตามวิธีการและส่วนผสมที่คัดเลือกจากข้อ 5 มาทำการทดสอบการยอมรับรวมของผู้บริโภคในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา จำนวน 100 คน โดยออกแบบสอบถามเกี่ยวกับผู้ตอบแบบสอบถาม พฤติกรรมการบริโภค และความชอบผลิตภัณฑ์ โดยใช้วิธี Hedonic-5-scale (ภาคผนวก ง) วางแผนการทดลองแบบ RCB

8. วิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT) โดยใช้ SPSS for Window Version 10.0