# บทที่ 3

# การทดลอง

## 3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

### 3.1.1 วัตถุดิบ

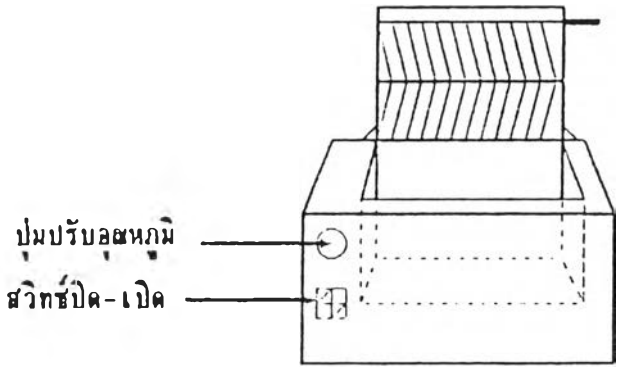
- สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย
- น้ำตาลกลูโคสเหลว (74° Brix)
- น้ำตาลกลูโคสซีรัป (87° Brix)
- น้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์

### 3.1.2 สารเคมี

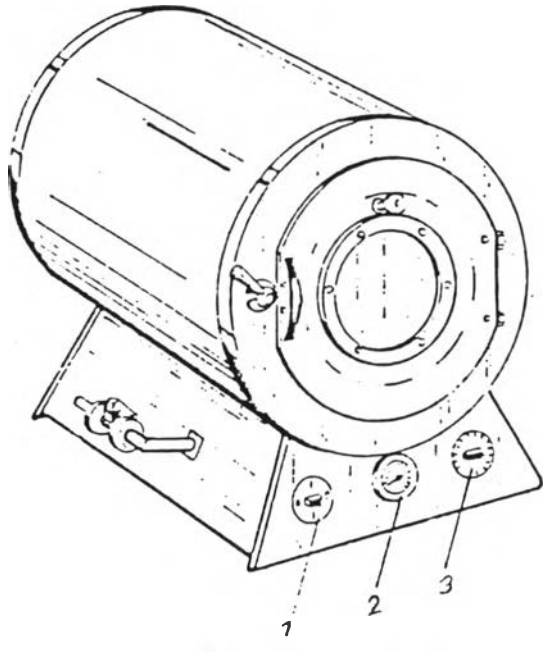
- โซเดียมเมตาไบซัลไฟท์
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล
- คอปเปอร์ซัลเฟต
- โปตัสเซียมโซเดียมทาร์เทรต
- ซูโครสบริสุทธิ์
- เฮดอะซิเดท
- โปตัสเซียมออกซาเลท
- ฟินอล์ฟธาลีน อินดิเคเตอร์
- เมธิลีนบลู อินดิเคเตอร์

## 3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

- เครื่องชั่งหยาบ Sartorius
- เครื่องชั่งละเอียด Sartorius
- Water bath ซึ่งมี thermostat ควบคุมอุณหภูมิ
- ตู้อบสุญญากาศ
- ตู้อบลมร้อน
- เครื่องวัดสี Applied Colour System (ACS)
- เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Instron model 1140)
- รีแฟรคโตมิเตอร์
- ไมโครคอมพิวเตอร์, โปรแกรม STATGRAPHICS

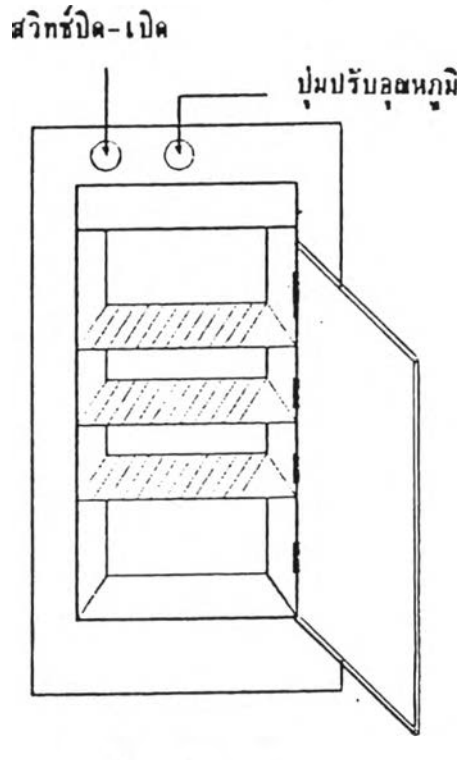



รูปที่ 5 Water bath ซึ่งมี thermostat ควบคุมอุณหภูมิ

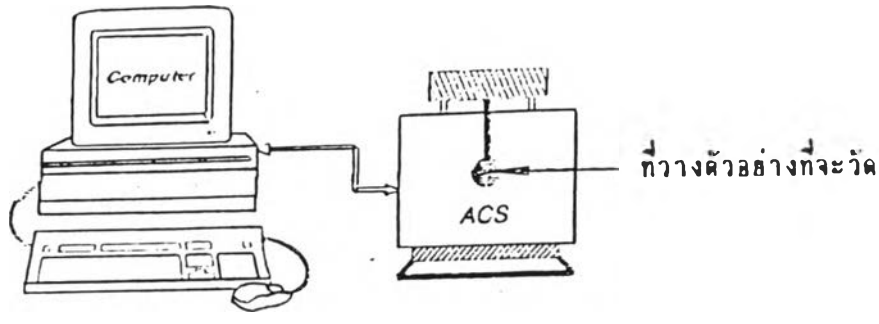



1. สวิทช์ปิด-เปิด
2. หน้าปัทม์ความดัน
3. ที่ปรับอุณหภูมิ

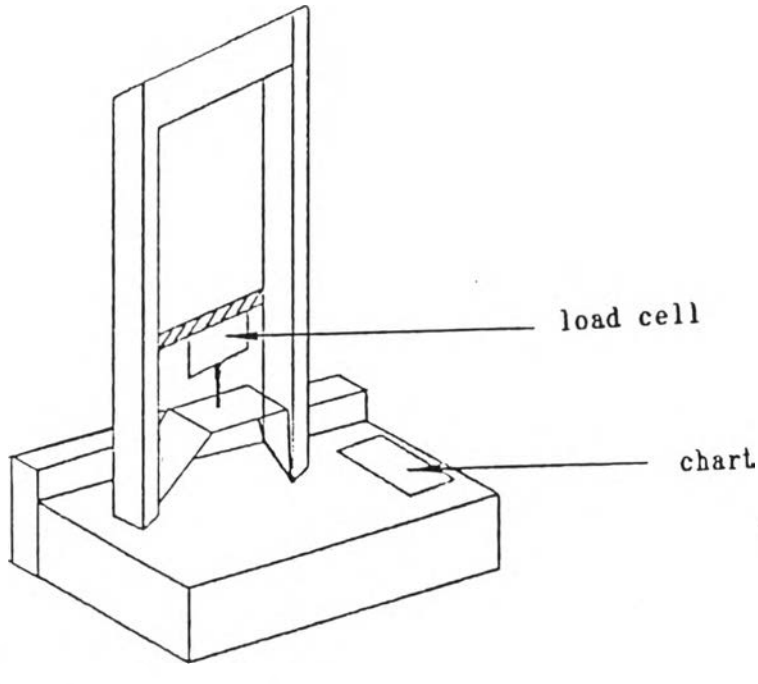
รูปที่ 6 ตู้อบสุญญากาศ




รูปที่ 7 ตู้อบลมร้อน




รูปที่ 8 เครื่องวัดสี Applied Colour System (ACS)




รูปที่ 9 เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Instron model 1140)

3.3 วิธีวิเคราะห์ (ดูรายละเอียดในภาคผนวก)

3.3.1 วิธีวิเคราะห์ทางเคมี (36)

- ปริมาณน้ำ (water content) ด้วยตู้อบสุญญากาศ
- ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) ด้วยรีแฟรคโตมิเตอร์
- ค่าความเป็นกรด โดยวิธีไตเตรท
- ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธี Lane และ Eynon

3.3.2 วิธีวิเคราะห์ทางกายภาพ

- สี ด้วยเครื่องวัดสี ACS
- ลักษณะเนื้อสัมผัส ด้วยเครื่อง Instron model 1140

3.4 ศึกษาผลของสภาวะการออสโมซิส

3.4.1 ศึกษาสมบัติของสับปะรดที่ใช้ในงานวิจัย

สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียที่แก่พอประมาณ โดยสังเกตจากสีเปลือกของสับปะรดจะมีสีเขียวปนเหลืองเล็กน้อย ล้างทำความสะอาดแล้วหั่นเป็นรูปวงแหวนขนาดหนา 1.2 เซนติเมตร วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ดังนี้

3.4.1.1 ปริมาณน้ำ ตามวิธีวิเคราะห์ของ A.O.A.C. 1990 - 934.06 ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข.2

3.4.1.2 ปริมาณน้ำตาล (°Brix) ด้วยเครื่องรีแฟรคโตมิเตอร์

3.4.1.3 ค่าความเป็นกรด ตามวิธีวิเคราะห์ของ A.O.A.C. 1990-942.15 ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข.3

3.4.2 ศึกษาผลของชนิด ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาล อุณหภูมิ และเวลาต่อการลดปริมาณน้ำและการเพิ่มปริมาณน้ำตาลของสับปะรดในขั้นตอนการออสโมซิส

ในงานวิจัยนี้ต้องการศึกษาตัวแปรที่มีผลต่อการลดปริมาณน้ำและการเพิ่มปริมาณน้ำตาลของสับปะรดในขั้นตอนการออสโมซิส ตัวแปรที่ศึกษาได้แก่ ชนิด ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาล อุณหภูมิ และเวลาในการแช่ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสภาวะของตัวแปร (combination variables) ที่ใช้ในการแช่สับปะรด ซึ่งให้ค่า water loss สูงสุด ประกอบกับค่า solid gain ต่ำ สำหรับสารละลายน้ำตาลแต่ละชนิด

ดังนั้นเพื่อให้สามารถศึกษาผลของตัวแปรหลายๆตัวที่สภาวะต่าง ๆ ได้ในเวลาเดียวกัน จึงได้นำวิธี Response Surface Methodology (RSM) มาใช้ในงานวิจัย ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

3.4.2.1 กำหนดตัวแปร (independent variables) และช่วงของตัวแปรที่ต้องการศึกษา

จากการศึกษาเอกสารงานวิจัย พบว่า ชนิดและความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลที่ใช้ในการออสโมซิส มีผลต่อการลดปริมาณน้ำ และการเพิ่มปริมาณของแข็งในชิ้นผลไม้ โดยสารละลายน้ำตาลที่มีองค์ประกอบต่างกัน จะมีผลให้การออสโมซิสเกิดได้เร็วหรือช้าต่างกัน ดังนั้นในงานวิจัยนี้ จึงเลือกศึกษาผลของสารละลายน้ำตาลที่ผลิตในประเทศ 3 ชนิด คือ สารละลายกลูโคสเหลว ซึ่งมีน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์เป็นส่วนประกอบส่วนใหญ่ ( กลูโคส 45% ฟรุกโตส 40% และ น้ำตาลอื่นๆ 15%) สารละลายซูโครสหรือน้ำตาลไดแซคคาไรด์ และสารละลายของกลูโคสซีรัป (DE 40) ที่ประกอบด้วยกลูโคส มอลโตส และน้ำตาลอื่นๆ ที่มีขนาดโมเลกุลสูงเป็นส่วนใหญ่

สำหรับความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลที่เลือกศึกษาอยู่ในช่วง 50 - 70 °Brix ซึ่งเป็นช่วงความเข้มข้นที่นิยมใช้ในการศึกษา เนื่องจากมีผลให้ค่า water loss สูง ดังได้กล่าวไว้ในหัวข้อ 2.6.1

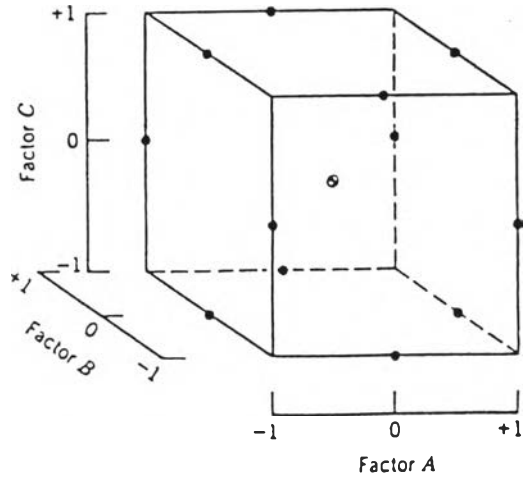
อุณหภูมิเป็นตัวแปรหนึ่งที่มีผลในขั้นตอนการออสโมซิส ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกศึกษาอุณหภูมิ ในช่วงตั้งแต่อุณหภูมิห้อง (30 °C) - 70 °C สำหรับเวลาที่ใช้ในการออสโมซิสแปรตามอุณหภูมิที่ใช้ ดังนั้นจึงเลือกศึกษาเวลาในช่วง 4-8 ชั่วโมง เพื่อให้เหมาะสมกับช่วงอุณหภูมิที่ศึกษา ดังได้กล่าวไว้ในหัวข้อ 2.6.2 ตัวแปรสำคัญที่ศึกษาในขั้นตอนการออสโมซิสและช่วงของตัวแปรแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ตัวแปรและช่วงของตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนการออสโมซิส

| ตัวแปร | ช่วงของตัวแปร |
|---|---|
| ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาล ( °Brix) | 50 - 70 |
| อุณหภูมิของสารละลายน้ำตาล ( °C) | 30 - 70 |
| เวลาที่ใช้ในการแช่ (ชั่วโมง) | 4 - 8 |

3.4.2.2 กำหนดแบบแผนการทดลองที่เหมาะสม ( appropriate experimental design)

แบบแผนการทดลองที่เหมาะสมสำหรับวิธี RSM มีหลายแบบ ในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้แบบแผน Box-Behnken สำหรับการทดลองที่มี 3 ตัวแปร (34) แบ่งช่วงของตัวแปรออกเป็น 3 ระดับ -1, 0, +1 (optimization pattern) ซึ่งประกอบด้วยจำนวนการทดลอง 15 การทดลองที่สามารถใช้เป็นตัวแทนในการทำนายผลการทดลองตลอดช่วงของตัวแปรที่ศึกษา เนื่องจากสภาวะการทดลองทั้ง 15 สภาวะอยู่ในลักษณะของ rotatable design กล่าวคือ หมุนไปรอบจุดกึ่งกลางด้วยระยะห่างที่เท่ากัน แสดงได้ดังรูปที่ 10 ซึ่งในจำนวน 15 สภาวะนี้ได้รวมสภาวะการทดลองซ้ำที่จุดกึ่งกลางจำนวน 3 ซ้ำไว้ด้วย



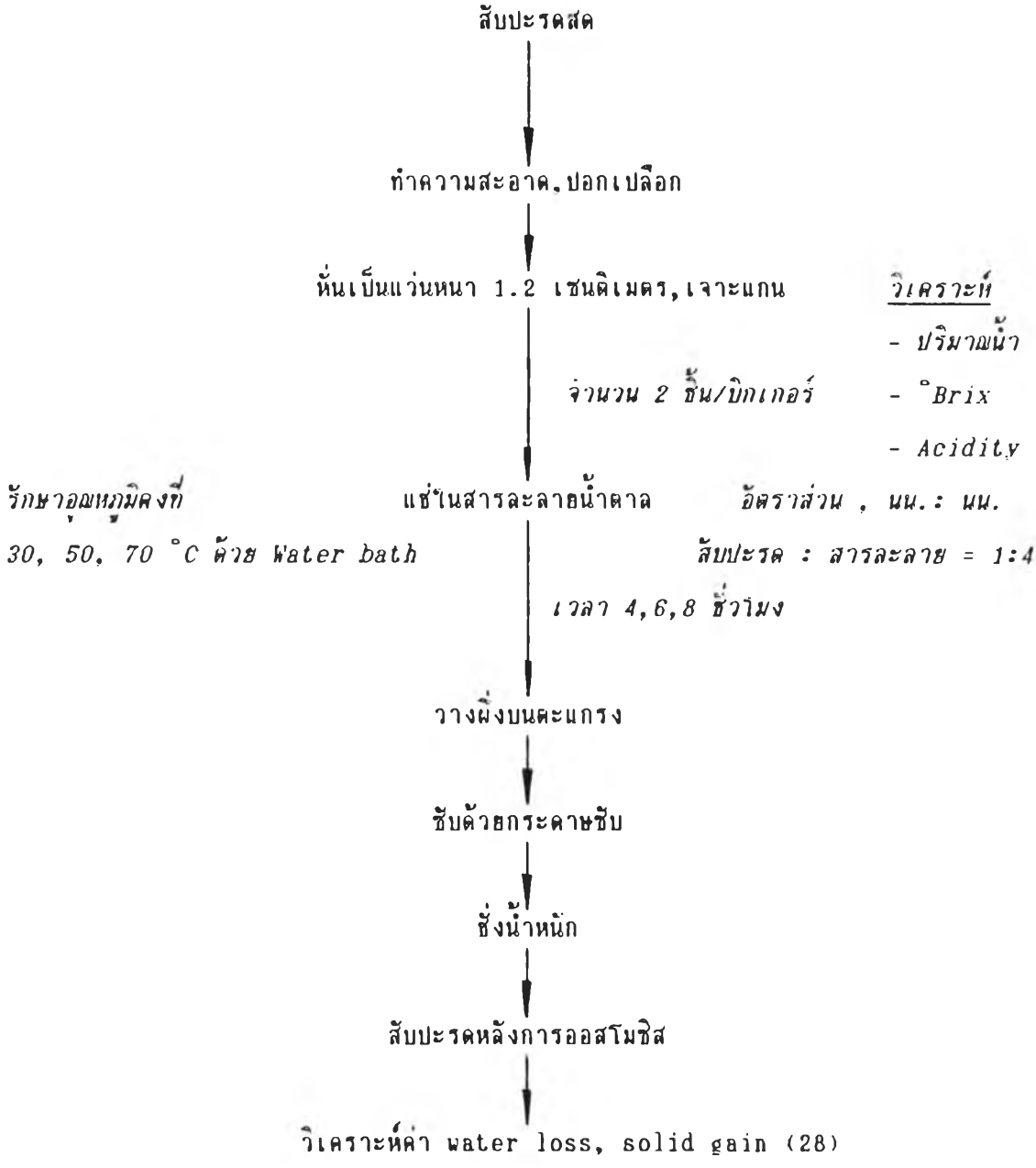

รูปที่ 10 แบบแผน Box-Behnken สำหรับการทดลองที่มี 3 ตัวแปร (กำหนดตัวแปรออกเป็น 3 ระดับ)

ดังนั้นสำหรับการศึกษาผลของตัวแปรทั้ง 3 ในขั้นตอนการออสโมซิส สามารถกระทำได้โดยการทดลองแช่สับปะรดในสารละลายแต่ละชนิด ด้วยสภาวะการทดลอง จำนวน 15 การทดลองซึ่งแสดงได้ดังนี้

| ตัวแปร | สัญลักษณ์ของตัวแปร | -1 | 0 | +1 |
|---|---|---|---|---|
| ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาล | $X_1$ | 50 | 60 | 70 |
| อุณหภูมิของสารละลายน้ำตาล | $X_2$ | 30 | 50 | 70 |
| เวลาที่ใช้ในการแช่ | $X_3$ | 4 | 6 | 8 |
| การทดลองที่ | | $X_1$ | $X_2$ | $X_3$ |
| 1 | | -1 | -1 | 0 |
| 2 | | -1 | +1 | 0 |
| 3 | | +1 | -1 | 0 |
| 4 | | +1 | +1 | 0 |
| 5 | | -1 | 0 | -1 |
| 6 | | -1 | 0 | +1 |
| 7 | | +1 | 0 | -1 |
| 8 | | +1 | 0 | +1 |
| 9 | | 0 | -1 | -1 |
| 10 | | 0 | -1 | +1 |
| 11 | | 0 | +1 | -1 |
| 12 | | 0 | +1 | +1 |
| 13 | | 0 | 0 | 0 |
| 14 | | 0 | 0 | 0 |
| 15 | | 0 | 0 | 0 |

ทำการทดลองด้วยสภาวะการทดลองซ้ำกัน วิธีการทดลองได้แสดงในแผนภาพ รูปที่ 11

## วิธีการทดลองในขั้นตอนออสโมซิส




รูปที่ 11 แผนภาพแสดงขั้นตอนการออสโมซิส

โดยนำสับปะรดที่หั่นเป็นรูปวงแหวนหนา 1.2 เซนติเมตร จำนวน 2 ชิ้น แช่ลงในภาชนะบรรจุสารละลายน้ำตาลแต่ละชนิดคือ สารละลายน้ำตาลกลูโคสเหลว สารละลายน้ำตาลซูโครสและสารละลายน้ำตาลกลูโคสซีรัป (ความเข้มข้น 50°, 60°, 70°Brix ตามสภาพการทดลองนั้นๆ) ด้วยอัตราส่วนสับปะรดต่อสารละลายน้ำตาลเท่ากับ 1:4 (โดยน้ำหนัก) รักษาอุณหภูมิตามสภาวะการทดลองให้คงที่ด้วยการแช่ภาชนะบรรจุใน Water bath ที่ควบคุมอุณหภูมิได้ ตลอดระยะเวลาการแช่ (4, 6, 8 ชั่วโมง ตามสภาวะการทดลองนั้นๆ)

ประเมินผลโดยการวิเคราะห์ผลตอบสนอง (response) ต่อตัวแปรที่ศึกษา ในรูปของปริมาณน้ำที่ลดลง (water loss, WL) และปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้น (solid gain, SG) โดยนำสับปะรดที่ผ่านการออสโมซิสด้วยสภาวะการทดลองข้างต้น วางผึ่งบนตะแกรง ซับสารละลายที่ติดมา ชั่งน้ำหนักแล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณของแข็ง (total solids weight) ด้วยการอบในตู้อบสุญญากาศ อุณหภูมิ 70 °C จนน้ำหนักคงที่ คำนวณค่า WL และ SG โดยใช้สูตรดังนี้ (28)

$$WL = \frac{(wwo) - (tw - ws)}{(wso + wwo)} \times 100$$

$$SG = \frac{(ws - wso)}{(wso + wwo)} \times 100$$

เมื่อ wwo = ปริมาณน้ำในสับปะรดสด (water content)
(จากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำ ในสับปะรดสดผลเดียวกันที่หั่นเป็นวงแหวนแล้ว)

tw = น้ำหนักสับปะรดภายหลังการแช่ (total wet weight)

wso = ปริมาณของแข็งเริ่มต้นของสับปะรดสด ( initial slice solids)

ws = ปริมาณของแข็งทั้งหมดของสับปะรดภายหลังการแช่ ( total solids weight)

3.4.2.3 วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ เพื่อคัดเลือกสภาวะของตัวแปรที่เหมาะสม

ทำการคัดเลือกสภาวะของตัวแปรที่เหมาะสม คือสภาวะที่ใช้ในการแช่สับปะรด ซึ่งให้ค่า water loss สูงที่สุด ด้วยการนำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง (ค่า water loss, solid gain) มาหาความสัมพันธ์กับตัวแปรที่ศึกษาโดยวิธี multiple regression โดยสร้างความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาล อุณหภูมิ และ เวลา กับค่า water loss และ solid gain ในรูปสมการกำลังสอง ซึ่งแสดงได้ดังนี้

$$Y = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + B_3X_3 + B_{11}X_1^2 + B_{22}X_2^2 + B_{33}X_3^2 + B_{12}X_1X_2 + B_{13}X_1X_3 + B_{23}X_2X_3$$

เมื่อ $X_1$ = ความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาล ( °Brix)

$X_2$ = อุณหภูมิที่ใช้ในการออสโมซิส ( °C)

$X_3$ = เวลาที่ใช้ในการแช่ (ชม)

$B_0$ = ค่าคงที่

$B_1 \ldots B_n$ = ค่าสัมประสิทธิ์รีเกรชชั่น

Y = WL, SG

โดยการพิจารณาค่า $R^2$ เมื่อมีค่าสูง จึงจะนำสมการมาใช้ ซึ่งจากสมการที่ได้ นำมาใช้สร้าง contour plots โดยอาศัยโปรแกรมสำเร็จรูป STATGRAPHICS (ของ Statistical Graphics Corp.) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษากับผลตอบสนอง เพื่อใช้ในการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการแช่สับปะรดในสารละลายน้ำตาลแต่ละชนิด

## 3.5 ศึกษาผลของสภาวะการอบแห้ง

### 3.5.1 เวลาที่ใช้ในการอบแห้ง

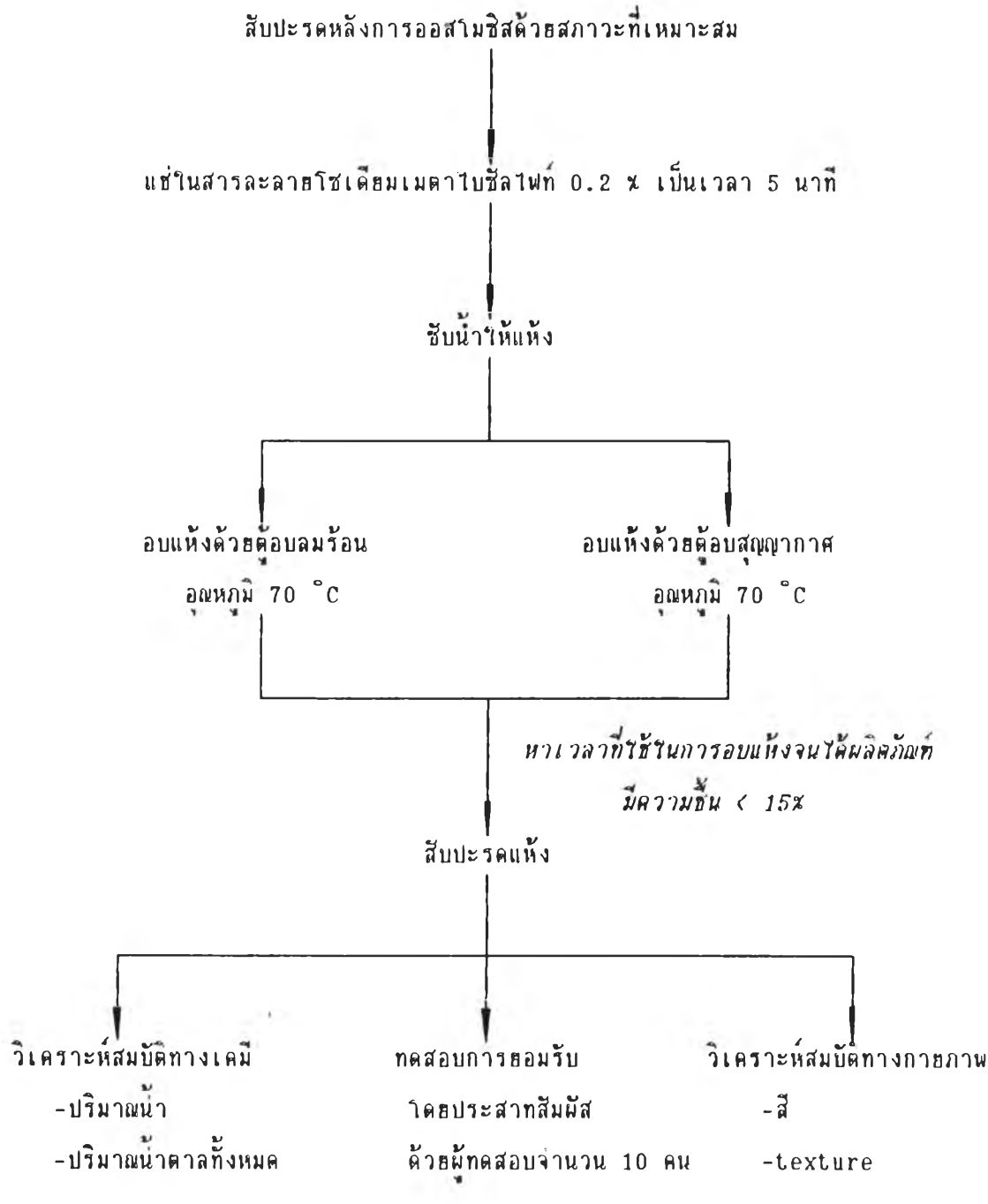
นำสับปะรดที่ผ่านการออสโมซิสด้วยสภาวะที่คัดเลือกแล้วสำหรับสารละลายน้ำตาลแต่ละชนิดไปอบแห้ง วิธีการทดลองแสดงในแผนภาพ รูปที่ 12

สภาวะที่ใช้ในการอบแห้ง 2 สภาวะคือ

- อบแห้งในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 70 °C
- อบแห้งในตู้อบสุญญากาศ อุณหภูมิ 70 °C

หาความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นที่เปลี่ยนแปลงกับเวลาโดยวิธี multilple regression ในรูปสมการกำลังสอง จากนั้นสร้างกราฟการอบแห้งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นที่เปลี่ยนแปลงกับเวลา เพื่อหาเวลาที่ใช้ในการอบแห้งจนได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นน้อยกว่า 15%

**วิธีการทดลองในขั้นตอนการอบแห้ง**




รูปที่ 12 แผนภาพแสดงการอบแห้งสับปะรด

3.5.2 วิธีประเมินผลทางประสาทสัมผัส

ทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยผู้ทดสอบจำนวน 10 คน ซึ่งเป็นนักวิจัยด้านอาหารของสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทั้งหมดเป็นผู้ได้รับการฝึกฝนมาแล้ว ใช้วิธีให้คะแนน scoring method ตามลักษณะดังต่อไปนี้

- ลักษณะทั่วไป

ลักษณะทั่วไปของสับปะรดแห้งมีคะแนนเต็ม 20 คะแนน โดยเมื่อมีลักษณะภายนอกเปียกชื้น หรือเมื่อมีลักษณะภายนอกแห้ง จะมีคะแนนอยู่ในช่วงต่ำ และจะมีคะแนนสูงขึ้นตามลำดับ เมื่อมีการยอมรับมากขึ้น

- สี

สีของสับปะรดแห้งมีคะแนนเต็ม 20 คะแนน เมื่อมีสีน้ำตาลคล้ำ หรือสีเหลืองซีด จะมีคะแนนอยู่ในช่วงต่ำ และจะมีคะแนนสูงขึ้นตามลำดับ เมื่อมีการยอมรับมากขึ้น

- กลิ่นรส

- เนื้อสัมผัส

กลิ่นรสและเนื้อสัมผัสของสับปะรดแห้งมีคะแนนเต็มอย่างละ 30 คะแนน คะแนนจะเรียงจากน้อยไปหามาก เมื่อมีการยอมรับสูงขึ้นตามลำดับ รายละเอียดแบบสอบถามในภาคผนวก ค.

และทดสอบการยอมรับในด้านความชอบด้วยวิธี Hedonic คะแนนเต็ม 9 คะแนน รายละเอียดแบบสอบถามในภาคผนวก ค.

วางแผนการทดลองแบบ factorial randomized complete block ขนาด 3x2 (37,38) เพื่อศึกษาผลของสภาวะที่ใช้ในการออสโมซิสร่วมกับผลของสภาวะที่ใช้ในการอบแห้งต่อการยอมรับของผลิตภัณฑ์

3.5.3 วิเคราะห์สมบัติทางเคมีและสมบัติทางกายภาพ

นำสับปะรดแห้งมาทำการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและสมบัติทางกายภาพ

วิเคราะห์สมบัติทางเคมี ได้แก่

- ปริมาณน้ำ
- ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข.4

วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ได้แก่

- ลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) ด้วยเครื่อง Instron Model 1140 (รายละเอียดในภาคผนวก ข.5)
- สี ด้วยเครื่องวัดสี ACS (รายละเอียดในภาคผนวก ข.6)

วางแผนการทดลองแบบ factorial randomized complete block ทดลอง 2 ซ้ำ

จากคะแนนการประเมินผลทางประสาทสัมผัส นำไปใช้ในการคัดเลือกชนิดของสารละลายน้ำตาล และสภาวะการอบแห้ง เพื่อศึกษาผลของ water loss /solid gain ratio ต่อไป เนื่องจากค่าอัตราส่วนนี้สามารถใช้เป็นค่าแสดงคุณภาพของผลิตภัณฑ์หลังการอบแห้งได้ตามที่ Raoult- Wack และคณะ (10)ได้รายงานไว้ว่า เมื่ออัตราส่วนดังกล่าวมีค่าสูง ผลิตภัณฑ์หลังการอบแห้งจะมีลักษณะของผลไม้แห้ง (dehydrated fruit) แต่ถ้าอัตราส่วนมีค่าต่ำ ผลิตภัณฑ์หลังการอบแห้งจะมีลักษณะใกล้เคียงผลไม้แช่อิ่มแห้ง (semi-candied dried fruit)

## 3.6 ศึกษาผลของ water loss / solid gain ratio ของสับปะรดที่แช่ในสารละลายซูโครสต่อการยอมรับในด้านคุณภาพ

จากการทดลองในหัวข้อ 3.4 และ 3.5 ประเมินผลการทดลองได้ว่า สับปะรดที่แช่ในสารละลายซูโครสได้รับการยอมรับมากที่สุด โดยที่สภาวะการอบแห้งไม่มีผลต่อการยอมรับในด้านคุณภาพ อย่างไรก็ตามคะแนนการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสยังอยู่ในเกณฑ์ต่ำ ดังนั้นจึงได้ศึกษาผลของค่า water loss/solid gain ratio ที่สูงขึ้น และทำการทดสอบการประเมินผลทางประสาทสัมผัส เพื่อศึกษาผลของค่าดังกล่าวต่อการยอมรับในด้านคุณภาพ โดยการนำ contour plot แสดงค่า water loss และ solid gain ของสับปะรดที่แช่ในสารละลายน้ำตาลซูโครสที่เวลา 6 ชั่วโมง ( รูปที่ 13b และ 14b ) มาซ้อนกัน ดังแสดงในรูปที่ 19

พิจารณาเส้นกราฟที่ให้ค่า water loss 40, 38, 36, 34 และ 32 กรัมน้ำ/100กรัมสับปะรดสด ทำการคัดเลือกสภาวะที่ใช้ในการแช่ 1 สภาวะบนแต่ละเส้นกราฟในแนวที่ให้ค่า water loss/solid gain ratio เพิ่มขึ้น แสดงสภาวะที่คัดเลือกได้ดังนี้

ตารางที่ 5 สภาวะที่ใช้ในการแช่สับปะรดซึ่งให้ค่า water loss/ solid gain ratio ต่างๆ

| สภาวะที่ใช้ในการแช่สับปะรด | water loss กรัมน้ำ/100 กรัมสับปะรดสด | solid gain กรัมของแข็ง/100 กรัมสับปะรดสด | WL/SG Ratio |
|---|---|---|---|
| สารละลายซูโครส 63 °B อุณหภูมิ 66 °C | 40 | 18.0 | 2.2 |
| " 60 °B " 62 °C | 38 | 15.7 | 2.4 |
| " 58 °B " 59 °C | 36 | 13.8 | 2.6 |
| " 56 °B " 56 °C | 34 | 12.7 | 2.7 |
| " 54 °B " 53 °C | 32 | 11.6 | 2.8 |

ทดลองแช่สับปะรดในสภาวะข้างต้น และนำไปอบแห้งตามขั้นตอนการอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน จนได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นต่ำกว่า 15% ประเมินผลการทดลองโดย

(1) วิเคราะห์ค่า water loss และ solid gain ของสับปะรดหลังการแช่เปรียบเทียบกับค่าทำนายจากกราฟ contour plots

(2) วิเคราะห์ปริมาณน้ำในผลิตภัณฑ์สับปะรดแห้ง

(3) ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส ด้วยผู้ทดสอบจำนวน 10 คน ใช้วิธีให้คะแนน (scoring method) และวิธี Hedonic เช่นเดียวกับหัวข้อ 3.5.2

วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block.