

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

##### 3.1 วัตถุประสงค์และอุปกรณ์

###### 1. วัตถุประสงค์

###### 1.1 เชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์ คือ

*Saccharomyces cerevisiae*TISTR 5194

*Saccharomyces cerevisiae*TISTR 5094

*Saccharomyces cerevisiae*TISTR 5596

*Saccharomyces cerevisiae*TISTR 5020

###### 1.2 เฆาะโรงเรียน

###### 2. อุปกรณ์งานทดลองและเครื่องมือวิทยาศาสตร์ (ภาคผนวก ค)

##### 3.2 วิธีการวิจัย

###### การวางแผนการวิจัย

การวางแผนการวิจัยแบบ CRD (Completely Randomized Design) ปัจจัยที่ศึกษา คือ จะนำปริมาณเนื้อเฆาะมาทำการหมักกับเชื้อยีสต์ 4 สายพันธุ์และเชื้อผสม ดังนั้นจะมีทั้งหมด 10 สิ่งทดลอง และทำการทดลองถึงละ 3 ซ้ำ ดังตารางที่ 2

###### ตารางที่ 2 การวางแผนการทดลองการหมักเอทานอลจากเฆาะ

สิ่งทดลอง	ปัจจัยที่ศึกษา
	ยีสต์ที่ใช้ในการหมัก
1	<i>S.cerevisiae</i> TISTR 5194
2	<i>S.cerevisiae</i> TISTR 5094
3	<i>S.cerevisiae</i> TISTR 5596
4	<i>S.cerevisiae</i> TISTR 5020
5	<i>S.cerevisiae</i> TISTR5596+TISTR 5194

## ตารางที่ 2 การวางแผนการทดลองการหมักเอทานอลจากเงาะ(ต่อ)

สิ่งทดลอง	ปัจจัยที่ศึกษา
ยีสต์ที่ใช้ในการหมัก	
6S.cerevisiae	TISTR 5094+TISTR 5020
7S.cerevisiae	TISTR 5094+TISTR 5596
8S.cerevisiae	TISTR 5094 + TISTR 5020 + TISTR 5194
9S.cerevisiae	TISTR 5020 + TISTR 5194 + TISTR 5596
10S.cerevisiae	TISTR 5596+ TISTR 5194 + TISTR 5094

### 3.3 ขั้นตอนการวิจัย

#### การทดลองแบ่งออกเป็น

##### 1. การคัดเลือกวัตถุดิบ

1.1 คัดเลือกวัตถุดิบได้แก่ เงาะ โดยการเลือกซื้อผลไม้จากแผงในจังหวัดจันทบุรี ที่อยู่ในสภาพที่ไม่สามารถรับประทานได้ เช่นแตก บางส่วนเน่าเสีย ผลไม้ได้ขนาด เป็นต้น

##### 2. การเตรียมวัตถุดิบ

วัตถุดิบในการทดลองจะแบ่งเป็น 4 รูปแบบด้วยกันคือ 1. เนื้อและน้ำ 2. น้ำอย่างเดียว 3. เนื้อเงาะและเมล็ด 4. เงาะทั้งผล แผนการทดลองละ 3 ซ้ำ โดยมีการเตรียมดังนี้

##### 2.1 เงาะส่วนเนื้อและน้ำ

นำเงาะปอกเปลือก และเอาเมล็ดออก แยกเอาส่วนเนื้อ นำไปปั่นให้ได้ของเหลว นำไปต้มให้ร้อนจนได้อุณหภูมิที่ต้องการจากนั้นผสมกับเชื้อยีสต์ เตรียมตั้งการทดลองดังนี้

1) สิ่งทดลอง 1 ใช้เชื้อ *S.cerevisiae* TISTR 5194 เติมเชื้อยีสต์ที่อยู่ในน้ำเปล่า + ในอาหารเหลว ผสมกันในบีกเกอร์ เชื้อละ 3 มิลลิลิตร

2) สิ่งทดลอง 2 ใช้เชื้อ *S.cerevisiae* TISTR 5094 นำเชื้อยีสต์ที่อยู่ในน้ำเปล่า + ในอาหารเหลว ผสมกันในบีกเกอร์ เชื้อละ 3 มิลลิลิตร

- 3) สิ่งทดลอง3ใช้เชื้อ*S.cerevisiae* TISTR 5596นำเชื้อยีสต์ที่อยู่ในน้ำเปล่า + ในอาหารเหลว ผสมกันในบีกเกอร์ เชื้อละ 3มิลลิลิตร
- 4) สิ่งทดลอง4ใช้เชื้อ*S.cerevisiae* TISTR 5020นำเชื้อยีสต์ที่อยู่ในน้ำเปล่า + ในอาหารเหลว ผสมกันในบีกเกอร์ เชื้อละ 3มิลลิลิตร
- 5) สิ่งทดลอง5ใช้เชื้อ*S.cerevisiae* TISTR 5596+TISTR 5194นำเชื้อยีสต์ที่อยู่ในน้ำเปล่า + ในอาหารเหลว ผสมกันในบีกเกอร์ เชื้อละ 1.5 มิลลิลิตร
- 6) สิ่งทดลอง6ใช้เชื้อ*S.cerevisiae* TISTR 5094+TISTR 5020นำเชื้อยีสต์ที่อยู่ในน้ำเปล่า + ในอาหารเหลว ผสมกันในบีกเกอร์ เชื้อละ 1.5 มิลลิลิตร
- 7) สิ่งทดลอง7ใช้เชื้อ*S.cerevisiae* TISTR 5094+TISTR 5596นำเชื้อยีสต์ที่อยู่ในน้ำเปล่า + ในอาหารเหลว ผสมกันในบีกเกอร์ เชื้อละ 1.5 มิลลิลิตร
- 8) สิ่งทดลอง8ใช้เชื้อ*S.cerevisiae* TISTR 5094 + TISTR 5020 +TISTR 5194นำเชื้อยีสต์ที่อยู่ในน้ำเปล่า + ในอาหารเหลว ผสมกันในบีกเกอร์ เชื้อละ 1 มิลลิลิตร
- 9) สิ่งทดลอง9ใช้เชื้อ*S.cerevisiae* TISTR 5020 + TISTR 5194 + TISTR 5596นำเชื้อยีสต์ที่อยู่ในน้ำเปล่า + ในอาหารเหลว ผสมกันในบีกเกอร์ เชื้อละ 1 มิลลิลิตร
- 10) สิ่งทดลอง10ใช้เชื้อ*S.cerevisiae* TISTR 5596+ TISTR 5194 + TISTR 5094นำเชื้อยีสต์ที่อยู่ในน้ำเปล่า + ในอาหารเหลว ผสมกันในบีกเกอร์ เชื้อละ 1 มิลลิลิตร

## 2.2 น้ำของเงาะ

นำเงาะปอกเปลือกและเอาเมล็ดเงาะออก แยกเอาส่วนเนื้อไปคั้นเอาเฉพาะน้ำเงาะนำน้ำเงาะที่คั้นนำไปต้มให้ร้อนจนได้อุณหภูมิที่ต้องการจากนั้นผสมกับเนื้อยีสต์ เตรียมหัวเชื้อเหมือนข้อ 2.1 และหมักตามแผนการทดลอง

## 2.3 เนื้อเงาะและเมล็ด

นำเงาะปอกเปลือกออก เอาเนื้อเงาะและเมล็ดรวมกัน นำไปปั่นให้ละเอียดนำเนื้อเงาะและเมล็ดเงาะที่ปั่นแล้ว นำไปต้มให้ร้อนจนได้อุณหภูมิที่ต้องการจากนั้นผสมกับเนื้อและเตรียมหัวเชื้อเหมือนข้อ 2.1 และหมักตามแผนการทดลอง

## 2.4 เงาะทั้งผล

นำเงาะทั้งผล เอาเงาะทั้งผลไปปั่นให้ละเอียดนำเงาะทั้งผลที่ปั่นแล้ว นำไปต้มให้ร้อนจนได้อุณหภูมิที่ต้องการจากนั้นผสมกับเนื้อยีสต์ เตรียมหัวเชื้อเหมือนข้อ 2.1 และหมักตามแผนการทดลอง

### 3. วิธีการทดลอง

#### 3.1 เงาะเอาเฉพาะเนื้อและน้ำ

1) นำเงาะที่เตรียมไว้ในแต่ละหน่วยทดลอง ใส่หม้อ ทำการต้มให้ร้อน 60 – 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาทีทำการลดอุณหภูมิของน้ำผลไม้ก่อนทำการหมักโดยการหล่อเย็น เพื่อปรับให้อุณหภูมิน้ำให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์

2) เตรียมหัวเชื้อยีสต์ (starter) (ภาคผนวก ข)

3) บรรจุน้ำเงาะที่เติมเชื้อยีสต์เรียบร้อยแล้วลงในภาชนะหมักที่ผ่านการลวกน้ำร้อนฆ่าเชื้อแล้ว โดยบรรจุเพียง 100 กรัม ปิดรัดด้วยถุงพลาสติก และเจาะรูด้วยเข็มหมุด

#### 3.2 น้ำของเงาะ

1) นำเงาะมาปอกเปลือกเงาะ และเอาเมล็ดเงาะออก แยกเอาส่วนเนื้อ ไปคั้นเอาเฉพาะน้ำเงาะใส่หม้อ ทำการต้มให้ร้อน 60-80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที ทำการลดอุณหภูมิของน้ำผลไม้ก่อนทำการหมักโดยการหล่อเย็น เพื่อปรับให้อุณหภูมิน้ำให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์

2) เตรียมหัวเชื้อยีสต์ (starter) (ภาคผนวก ข)

3) บรรจุน้ำเงาะที่เติมเชื้อยีสต์เรียบร้อยแล้วลงในภาชนะหมักที่ผ่านการลวกน้ำร้อนฆ่าเชื้อแล้ว โดยบรรจุเพียง 100 กรัม ปิดรัดด้วยถุงพลาสติก

#### 3.3 เนื้อเงาะและเมล็ด

1) นำเงาะปอกเปลือกออก เอาเนื้อเงาะและเมล็ดรวมกัน น้ำไปปั่นให้ละเอียดนำเนื้อเงาะและเมล็ดเงาะที่ปั่นแล้ว ใส่หม้อ ทำการต้มให้ร้อน 60-80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที ทำการลดอุณหภูมิของน้ำผลไม้ก่อนทำการหมักโดยการหล่อเย็น เพื่อปรับให้อุณหภูมิน้ำให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์

2) เตรียมหัวเชื้อยีสต์ (starter) (ภาคผนวก ข)

3) บรรจุน้ำเงาะที่เติมเชื้อยีสต์เรียบร้อยแล้วลงในภาชนะหมักที่ผ่านการลวกน้ำร้อนฆ่าเชื้อแล้ว โดยบรรจุเพียง 100 กรัม ปิดรัดด้วยถุงพลาสติก

#### 3.4 เงาะทั้งผล

1) นำเงาะทั้งผล เอาเงาะทั้งผล ไปปั่นให้ละเอียดนำเงาะทั้งผลที่ปั่นแล้ว ใส่หม้อ ทำการต้มให้ร้อน 60-80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที ทำการลดอุณหภูมิของน้ำผลไม้ก่อนทำการ

หมักโดยการหล่อเย็น เพื่อปรับให้อุณหภูมิน้ำให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์

2) เตรียมหัวเชื้อยีสต์ (starter) (ภาคผนวก ข)

3) บรรจุน้ำเงาะที่เติมเชื้อยีสต์เรียบร้อยแล้วลงในภาชนะหมักที่ผ่านการลวกน้ำร้อนฆ่าเชื้อแล้ว โดยบรรจุเพียง 100 กรัม ปิดรัดด้วยถุงพลาสติก

4. การหมัก

ปล่อยให้ทุกหน่วยทดลองเกิดการหมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน ซึ่งจะศึกษาข้อมูลทุกวัน

5. การศึกษาข้อมูล

ศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของน้ำหมักและเริ่มหมักตั้งแต่วันที่ 1-14 ดังนี้

1. วิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยใช้เครื่องเซนส์รีเฟคโตมิเตอร์ รุ่น N-1E Brix 0~32% (ภาคผนวก ก)

2. วิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ (ภาคผนวก ก)

3. วิเคราะห์หาปริมาณร้อยละของแอลกอฮอล์ โดยใช้เครื่องมืออิมบูโอมิเตอร์ รุ่น N:00192(ภาคผนวก ก)

6. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้อะมาวิเคราะห์หาค่าวาเรียนซ์ และทดสอบความแตกต่างของหน่วยทดลองโดยการทดสอบค่า F และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

### 3.4 สถานที่ทดลอง

หลักสูตรวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

### 3.5 ระยะเวลาทดลอง

ทำการทดลองเดือนสิงหาคม พ.ศ.2556 – กันยายน พ.ศ.2557