บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมเปลือกทุเรียน

การเตรียมเปลือกทุเรียน ตามวิธีของ Maran (2015) นำเปลือกทุเรียนด้านในพันธุ์หมอนทองมาบดปั่นให้มีขนาดเล็ก และอบแห้งในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือให้มีปริมาณความชื้นร้อยละ 9-10 นำเปลือกทุเรียนที่อบแห้งเก็บในถุงปิดสนิทและเก็บไว้ในที่แห้งก่อนนำมาทดลองในขั้นต่อไป

3.2 ศึกษาวิธีการสกัดเพคตินจากเปลือกทุเรียน

สกัดเพคตินโดยใช้วิธีการสกัด 3 วิธี ประกอบด้วย การสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก น้ำกลั่น และความดันไอสูง ดังนี้

3.2.1 การสกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

การสกัดด้วยสารลายกรดไฮโดรคลอริก ดัดแปลงจากขนิษฐา เลิกชัยภูมิ (2545) โดยนำเปลือกทุเรียนบดแห้งปริมาณ 100 กรัม ใส่บีกเกอร์ เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ในอัตราส่วนเปลือกบดแห้งต่อกรดไฮโดรคลอริก เท่ากับ 1:12 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) นำไปสกัดในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตั้งสารสกัดให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมากรองผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น นำส่วนใสมาตกตะกอนเพคตินโดยเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ในอัตราส่วนสารละลายต่อเอทานอล 1:2 โดยปริมาตร (v/v) คนผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง กรองแยกตะกอนเพคตินด้วยผ้าขาวบาง ล้างตะกอนเพคตินด้วยอะซิโตนความเข้มข้นร้อยละ 80 จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 50 มิลลิลิตร นำเพคตินที่สกัดได้ใส่ถาดวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 นาที เพื่อให้อะซิโตนระเหย อบตะกอนเพคตินที่ได้ให้แห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วบดให้เป็นผง เก็บไว้ในถุงฟอยล์

3.2.2 การสกัดด้วยน้ำกลั่น

การสกัดด้วยน้ำกลั่น ดัดแปลงจากขนิษฐา เลิกชัยภูมิ (2545) โดยนำเปลือกทุเรียนบดแห้งปริมาณ 100 กรัม ใส่บีกเกอร์ เติมน้ำกลั่น ในอัตราส่วนเปลือกบดแห้งต่อน้ำกลั่น เท่ากับ 1:12 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) นำไปสกัดในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตั้งสารสกัดให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมากรองผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น นำส่วนใสมาตกตะกอนเพคตินโดยเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ในอัตราส่วนสารละลายต่อเอทานอล 1:2 โดยปริมาตร (v/v) คนผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง กรองแยกตะกอนเพคตินด้วยผ้าขาวบาง ล้างตะกอนเพคตินด้วยอะซิโตนความเข้มข้นร้อยละ 80 จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 50 มิลลิลิตร นำเพคตินที่สกัดได้ใส่ถาดวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 นาที

เพื่อให้อะซิโตนระเหย อบตะกอนเพคตินที่ได้ให้แห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วบดให้เป็นผง เก็บไว้ในถุงฟอยล์

3.2.3 การสกัดด้วยความดันไอสูง

การสกัดด้วยความดันไอสูง ดัดแปลงจากสุนันท์ วิทิตสิริ (2557) โดยนำเปลือกทุเรียนบดแห้งปริมาณ 100 กรัม ใส่บีกเกอร์ เติมน้ำกลั่น ในอัตราส่วนเปลือกบดแห้งต่อน้ำกลั่น เท่ากับ 1:12 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) นำไปสกัดในหม้อนึ่งไอน้ำอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ตั้งสารสกัดให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมากรองผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น นำส่วนใสมาตกตะกอนเพคตินโดยเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ในอัตราส่วนสารละลายต่อเอทานอล 1:2 โดยปริมาตร (v/v) คนผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง กรองแยกตะกอนเพคตินด้วยผ้าขาวบาง ล้างตะกอนเพคตินด้วยอะซิโตนความเข้มข้นร้อยละ 80 จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 50 มิลลิลิตร นำเพคตินที่สกัดได้ใส่ถาดวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 นาที เพื่อให้อะซิโตนระเหย อบตะกอนเพคตินที่ได้ให้แห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วบดให้เป็นผง เก็บไว้ในถุงฟอยล์

หาปริมาณผลผลิตเพคตินที่ผลิตได้จากทั้ง 3 วิธี เป็นร้อยละ (% yield) โดยคำนวณจากจำนวนกรัมของเพคตินที่สกัดได้หลังอบแห้งต่อจำนวนกรัมของเปลือกทุเรียนบดแห้งก่อนการสกัดเพคติน

$$\text{ปริมาณร้อยละของผลผลิตเพคติน} = \frac{\text{น้ำหนักเพคติน (กรัม)}}{\text{น้ำหนักเปลือกทุเรียนบดแห้ง (กรัม)}} \times 100$$

3.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากเปลือกทุเรียน

สกัดเพคตินโดยใช้วิธีที่ดีที่สุดในข้อ 3.2 โดยแปรอุณหภูมิและเวลา เพื่อคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพคตินจากเปลือกทุเรียน โดยใช้ปริมาณผลผลิต คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีเป็นตัวพิจารณาคัดเลือก

3.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของเพคติน

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

นำเพคตินที่สกัดได้จากข้อ 3.2 และข้อ 3.3 มาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของเพคติน ดังนี้

3.4.1 การหาปริมาณความชื้น

การหาปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC 2000

3.4.2 การหาปริมาณเถ้า

การหาปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AOAC 2000

3.4.3 การหาปริมาณกรดกาแลคทูโรนิค (galacturonic acid)

การหาปริมาณกรดกาแลคทูโรนิค ดัดแปลงจากขนิษฐา เลิกชัยภูมิ (2545) โดยชั่งน้ำหนักเพคติน 0.1 กรัม ผสมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.05 โมลาร์ ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ทิ้งไว้ 30 นาที ปิเปตสารละลายเพคตินปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ปิเปตสารละลายเจือจางใส่ลงในหลอดทดลอง 3 หลอด ๆ ละ 2 มิลลิลิตร เติมสารละลายคาร์บาซอล เข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด เขย่าให้เข้ากัน เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 12 มิลลิลิตรลงในแต่ละหลอดเขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 25 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร คำนวณหากรดกาแลคทูโรนิกจากกราฟมาตรฐาน

3.4.4 การหาระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชัน (degree of esterification, DE)
และปริมาณเมทอกซิล (methoxyl)

การหาระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชันและปริมาณเมทอกซิล ดัดแปลงจากขนิษฐา เลิกชัยภูมิ (2545) โดยชั่งน้ำหนักเพคตินผง ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ขวดละ 0.5 กรัม เติมเอทานอล ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วหยดฟีนอล์ฟทาลีน 5 หยด นำไปไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ แล้วบันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นปริมาตรที่ 1 (Vol 1) เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตรเขย่าแรง ๆ ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าจนสีชมพูหายไป หยดฟีนอล์ฟทาลีน 5 หยด นำไปไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 โมลาร์ แล้วบันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นปริมาตรที่ 2 (Vol 1) คำนวณหาระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชันและคำนวณหาปริมาณเมทอกซิลโดยดูจากตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับการเกิดเอสเทอร์กับปริมาณเมทอกซิล (ตารางที่ 3.1) คำนวณหาระดับการเกิดเอสเทอร์ ดังนี้

$$\text{ระดับการเกิดเอสเทอร์} = \frac{\text{NaOH Vol 1} \times 100}{\text{NaOH Vol 1} + \text{NaOH Vol 2}}$$

ตารางที่ 3.1 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชันกับปริมาณเมทอกซิล

ระดับการเกิดเอสเทอริฟิเคชัน (ร้อยละ)	ปริมาณเมทอกซิล (ร้อยละ)
0	0.00
10	1.63
20	3.26
30	4.90

40	6.53
50	8.16
60	9.79
70	11.42
80	13.06
90	14.69
100	16.32

ที่มา : (อรพิน ภูมิภมร, 2523)

3.4.5 การวัดค่าสีโดยใช้ระบบ CIE (L*a*b*)

นำผงเพคตินที่สกัดได้มาวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (colorimeter) ระบบ CIE แสดงค่าสีเป็นค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดงและสีเขียว (a^*) และค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (b^*)

3.4.6 เปรียบเทียบคุณสมบัติของเพคตินที่สกัดได้กับเพคตินทางการค้า

เปรียบเทียบคุณสมบัติของเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกทุเรียนกับเพคตินทางการค้าตามข้อกำหนดของ The Joint/WHO Expert Committee on Food Additive (JECFA)

3.5 ศึกษาการนำเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกทุเรียนไปใช้ประโยชน์

นำเพคตินที่สกัดได้มาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหาร 2 ชนิด คือ แยมและเยลลี่ โดยเปรียบเทียบลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ได้กับผลิตภัณฑ์ที่ใช้เพคตินทางการค้า โดยมีวิธีการผลิตดังนี้

3.5.1 การทำผลิตภัณฑ์แยมสับปะรด

วัตถุดิบในการทำแยมสับปะรด ประกอบด้วย เนื้อสับปะรด 400 กรัม น้ำสับปะรด 200 กรัม น้ำตาล 700 กรัม กรดมะนาว 4 กรัม เกลือ 1 กรัม และเพคตินทางการค้าหรือเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกทุเรียน 6 กรัม โดยสูตรควบคุมไม่มีการเติมเพคติน นำเนื้อและนำสับปะรดใส่ในกระทะทองเหลือง ใช้ไฟอ่อน แบ่งน้ำตาล 50 กรัม ผสมเพคติน แล้วค่อย ๆ เทใส่กระทะ คนจนส่วนผสมละลาย ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95-100 องศาเซลเซียส กวนอย่างสม่ำเสมอ เติมกรดมะนาวและเกลือ วัดปริมาณสารที่ละลายได้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 65-68 ของน้ำหนัก (องศาบริกซ์) หรือวัดอุณหภูมิให้ได้ 103-105 องศาเซลเซียส หรือยกพายไม้ขึ้นดูการไหลและความหนืด บรรจุแยมสับปะรดลงในขวดแก้ว ปิดฝาให้สนิท

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

3.5.2 การทำผลิตภัณฑ์เยลลี่ส้ม

วัตถุดิบในการเยลลี่ส้ม ประกอบด้วย น้ำส้ม 400 กรัม น้ำตาล 45 กรัม เพคตินทางการค้าหรือเพคตินที่สกัดได้จากเปลือกทุเรียน 12 กรัม และเจลาตินผง 60 กรัม นำเจลาตินผงโรยลงในน้ำส้มปริมาณ 200 กรัม พักไว้เพื่อให้เกิดการพองตัว ส่วนน้ำส้มที่เหลือ 200 กรัม นำไปให้ความร้อนและเติมน้ำตาลที่ผสมเพคติน กวนสม่ำเสมอจนน้ำตาลละลายหมด ผสมน้ำส้มส่วนที่ใส่เจลาตินลง

ในหม้อ กวนจนเข้ากันดี ตักใส่ถาดและน้ำไปแช่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อเยลลี่เซตตัวดีแล้ว นำออกมาหั่นให้ได้ขนาดตามต้องการ

สังเกตลักษณะของผลิตภัณฑ์แยมและเยลลี่ที่ผลิตได้ ทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 20 คน ด้วยวิธี 9 – point Hedonic Scaling โดยคะแนน 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด และ คะแนน 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด

3.6 การประเมินผลทางสถิติ (Statistical analysis)

แต่ละการทดลองทำซ้ำ 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) สำหรับการสกัดเพคตินและวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัส วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้ Duncan’s multiple range test (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

RAMBHAI BARNI RAJABHAT UNIVERSITY
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี