

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุ

3.1.1 วัตถุดิบ

1. ฟักทอง พันธุ์กางคก จากตลาดศิริวัฒนา อ.เมือง จ.เชียงใหม่
2. มันเทศ พันธุ์ สีเหลือง จากตลาดศิริวัฒนา อ.เมือง จ.เชียงใหม่
3. พริกหวานสีเหลือง จากตลาดศิริวัฒนา อ.เมือง จ.เชียงใหม่
4. ผักบุ้งจีน จากตลาดศิริวัฒนา อ.เมือง จ.เชียงใหม่
5. ผักตำลึง จากตลาดศิริวัฒนา อ.เมือง จ.เชียงใหม่

3.2 สารเคมี

1. สารมาตรฐาน Beta-carotene บริษัท Fluka ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
2. Methanol AR grade บริษัท Labscan ประเทศไอร์แลนด์
3. Chloroform AR grade บริษัท Labscan ประเทศไอร์แลนด์
4. Hexane AR grade บริษัท JT barker ประเทศสหราชอาณาจักร
5. Acetone AR grade บริษัท Merck ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. Ethanol AR grade บริษัท Merck ประเทศสหรัฐอเมริกา
7. Dimethyl Sulfoxide หรือ DMSO AR grade บริษัท Labscan ประเทศไอร์แลนด์
8. Diethyl ether AR grade บริษัท Labscan ประเทศไอร์แลนด์
9. Potassium Hydroxide 85% AR grade บริษัท Merck ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.3 อุปกรณ์

3.3.1 อุปกรณ์สำหรับการให้ความร้อนกับผัก

1. หม้ออลูมิเนียม
2. กระทะ
3. มีด
4. เชียงพลาสติก
5. ตาชั่ง 1 กิโลกรัม Kitchen scale ยี่ห้อ Camry
6. ปรอท
7. เต้าแก๊ส

8. เครื่องอบไมโครเวฟ ขนาด 800 วัตต์ รุ่น MO-7528IM ยี่ห้อ Imarflex ประเทศไทย
9. ตะกริว
10. กล่องพลาสติก
11. น้ำมันถั่วเหลือง

3.3.2 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์

1. ลูกปิดแก้ว
2. หลอด centrifuge ขนาด 15 มล.
3. ขวดแก้วแบบมีฝาปิด ขนาด 175 มล.
4. กระบอกตวงขนาด 10 มล.
5. ซ้อนกาแฟ
6. เครื่องปั่น super blender รุ่น MX-T2G ยี่ห้อ National ประเทศไทยไต้หวัน
7. เครื่องชั่งทศนิยม 1 ตำแหน่ง รุ่น MK3000E ยี่ห้อ Chyo ประเทศสวีเดน
8. เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง ยี่ห้อ XT 320 M ยี่ห้อ Precisa ประเทศญี่ปุ่น
9. เครื่องแก้ว
10. กระดาษกรองน้ำตาล ยี่ห้อ Whatman
11. สำลี ทรายรพยาบาล
12. แผ่น plate
13. Cuvette, path length 1 cm.
14. เครื่อง centrifuge รุ่น Z200A ยี่ห้อ HERMLE ประเทศเยอรมัน
15. เครื่องดูดควัน
16. เครื่อง Spectrophotometer รุ่น Thermo Spectrotic Model BIOMATE 5 ประเทศอังกฤษ
17. เครื่อง Vortex- genie2 รุ่น G-560E ยี่ห้อ Scientific Industries ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.4 วิธีการทดลอง

การศึกษาผลของความร้อนต่อปริมาณเบต้าแคโรทีนในผัก แบ่งการวิจัยเป็น 3 ขั้นตอนดังนี้

3.4.1 ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการสกัด

เปรียบเทียบวิธีการสกัด 4 วิธี คือ

- 1) วิธีสกัดสารแคโรทีนอยด์ ของ Lee & Castle (2001) รายละเอียดแสดงใน ภาคผนวก ค

โดยใช้ Hexane: Acetone: Ethanol (50:25:25)

2) วิธีสกัดสารแคโรทีนอยด์ ตาม AOAC (2002) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ค โดยใช้ Hexane: Acetone (60:40) จำนวน 100 มล.

3) วิธีสกัดสารแคโรทีนอยด์ ตาม Cyanotech Corporation (2002) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ค โดยใช้ Methanol และ Dimethyl sulfoxide 2.5 มล.

4) วิธีสกัดสารแคโรทีนอยด์ อ้างจาก พรรณิภา ชุ่มศรี (2536) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ค โดยใช้ Methanol

แผนการทดลอง นำสารที่สกัดได้จากวิธีการสกัดต่างๆ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังจากนั้นทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้ วิธีที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด จะนำไปใช้ในการทดลองลำดับต่อไป

3.4.2 ศึกษาผลของความร้อนต่อปริมาณเบต้าแคโรทีนในผักตัวอย่าง

3.4.2.1 การศึกษาผลของความร้อนต่อปริมาณเบต้าแคโรทีนในผักตัวอย่าง ทำการสร้างกราฟมาตรฐานสารเบต้าแคโรทีนก่อน ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้ (สุนทรีย์ สุทธิศิลป์, 2546)

1) นำสารมาตรฐานเบต้าแคโรทีน 0.005 กรัม ละลายในสาร Chloroform 50 มิลลิลิตร ให้เป็น 100 ppm

2) เตรียมสารมาตรฐานเบต้าแคโรทีน ความเข้มข้น 0-10 ppm โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานเบต้าแคโรทีน จำนวน 0-5 มล. ปรับปริมาตรด้วย Chloroform เป็น 25 มล.

3) หาความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด โดยนำสารมาตรฐานเบต้าแคโรทีน ที่ระดับความเข้มข้น 2 และ 10 ppm มาทำการวัดค่าดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่น 400-600 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer โดยใช้สาร Chloroform เป็น blank เพื่อหาความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนสูงสุด

4) เมื่อได้ความยาวคลื่นที่มีค่าดูดกลืนแสงสูงสุดแล้ว นำสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 2 มาวัดค่าดูดกลืนแสง โดยใช้สาร Chloroform เป็น blank

5) นำค่าที่วัดได้จากเครื่อง Spectrophotometer มาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเบต้าแคโรทีน (ppm) กับ ค่าดูดกลืนแสง (Abs) เพื่อคำนวณหาสมการของสารมาตรฐานเบต้าแคโรทีน

3.4.2.2 เปรียบเทียบปริมาณสารเบต้าแคโรทีนในผักตัวอย่าง 4 ชนิดคือ ตำลึง ผักบุ้งจีน มันเทศเนื้อเหลือง และพริกหวานสีเหลือง

ขั้นตอนการเตรียมและให้ความร้อนกับผักก่อนนำไปหาปริมาณเบต้าแคโรทีน

1) นำตัวอย่างผักล้างทำความสะอาดโดยการแช่ในน้ำ ทำการปอกเปลือกมันเทศ นำมาหั่นเป็นชิ้นขนาด 1/2 - 1 นิ้วโดยประมาณ ส่วนตำลึง ผักบุ้งจีน และพริกหวาน นำไปล้าง และหั่นเป็นชิ้นขนาด 1 นิ้ว ชั่งน้ำหนักแบ่งเป็น 6 ส่วนเท่าๆกัน นำไปทำให้สุกด้วยความร้อนวิธีต่างๆ และบรรจุลงในกล่องพลาสติก เพื่อนำไปสกัดเบต้าแคโรทีนต่อไป

2) การให้ความร้อนในการศึกษานี้มี 5 วิธี ดังนี้

การต้ม นำผัก 200 กรัมใส่ในหม้อสแตนเลสที่มีน้ำ 500 มล. โดยอุณหภูมิเริ่มตั้ง 24-26^oซ เป็นการต้มแบบไม่ปิดฝา ซึ่งอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นจาก 24-26^oซ เป็น 98-100^oซ ใช้เวลาประมาณ 1-2 นาที เวลาที่ใช้ในการต้มผักตำลึง ผักบุ้งจีน พริกหวาน และมันเทศให้สุกคือ 1, 1, 5 และ 6 นาที ตามลำดับ

การนึ่ง นำผัก 200 กรัมใส่จานกระเบื้อง นำไปวางไว้ในหม้อนึ่งอุณหภูมิเริ่มที่มีน้ำ 500 มล. ที่อุณหภูมิ 24-26^oซ ซึ่งอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นจาก 24-26^oซ เป็น 100^oซ ใช้เวลาประมาณ 1-2 นาที เวลาที่ใช้ในการนึ่งผักตำลึง ผักบุ้งจีน พริกหวาน และมันเทศให้สุกคือ 2, 2, 5 และ 6 นาที ตามลำดับ

การลวก นำผัก 200 กรัมใส่ในหม้อสแตนเลสที่มีน้ำ 500 มล. ที่อุณหภูมิ 24-26^oซ ซึ่งอุณหภูมิจะเพิ่มขึ้นจาก 24-26^oซ เป็น 98-100^oซ ใช้เวลาประมาณ 1-2 นาที เวลาที่ใช้ในการลวกผักตำลึง ผักบุ้งจีน พริกหวาน และมันเทศ คือ 0.5, 0.5, 1 และ 4 นาที ตามลำดับ ขณะลวกจะรักษาอุณหภูมิให้คงที่ไว้ที่ 100^oซ

การผัด นำผัก 200 กรัมใส่ในกระทะที่น้ำมันถั่วเหลือง 50 มล. เพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นจนน้ำมันร้อนซึ่งใช้เวลาประมาณ 1 นาที ซึ่งอุณหภูมิจะสูงกว่า 200^oซ เวลาในการผัด ซึ่งผักตำลึง ผักบุ้งจีน พริกหวาน และมันเทศ ให้สุก คือ 1, 1, 3 และ 5 นาที ตามลำดับ

การต้มด้วยเครื่องไมโครเวฟ นำผัก 200 กรัมใส่ในถ้วยแก้วที่มีน้ำ 500 มล. วางไว้ในตู้อบไมโครเวฟใช้ความร้อน 800 วัตต์ เวลาในการต้มด้วยไมโครเวฟของผักตำลึง ผักบุ้งจีน พริกหวาน และมันเทศ คือ 3, 4, 5 และ 7 นาที ตามลำดับ

ขั้นตอนการสกัดในผักสดและผักที่ผ่านการให้ความร้อน จากวิธีที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดจากการทดลองตอนที่ 3.4.1

1) นำตัวอย่างผัก มาป่น ชั่งน้ำหนัก 5-10 กรัม นำไปแช่สาร Methanol โดยให้มีปริมาตรเป็น 4 ถึง 6 เท่าของน้ำหนักตัวอย่าง แช่นาน 24 ชั่วโมง ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

2) ทำการกรองแยกกากและตะกอนของผักทิ้ง โดยกรองผ่านสำลี บีบกากให้แห้งและกรองต่อด้วยกระดาษกรองอีกครั้ง นำสารสกัดที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องดูดควันจนแห้ง ละลายสารสกัดแห้งด้วย Chloroform และปรับปริมาตรให้เป็น 25 มล.

3) นำสารสกัดที่ปรับปริมาตรแล้ว ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 464 นาโนเมตร โดยใช้สาร Chloroform เป็น blank

4) นำข้อมูลที่วัดได้มาคำนวณหาปริมาณเบต้าแคโรทีนในผักตัวอย่าง โดยเทียบกับสมการของสารมาตรฐานเบต้าแคโรทีน (Beta carotene) (ภาคผนวก ง)

3.4.3 การทดสอบด้านประสาทสัมผัส

นำผักตำลึง ผักบุ้งจีน พริกหวานสีเหลือง และมันเทศเนื้อเหลืองที่สดและผ่านการให้ความร้อนด้วยการต้ม การนึ่ง การลวก การผัดในน้ำมัน และการใช้เครื่องไมโครเวฟ มาทดสอบทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธี Hedonic Scaling test มีคะแนน 5 ระดับ โดย 1 = ไม่ชอบมาก, 2 = ไม่ชอบ, 3 = เฉย, 4 = ชอบ และ 5 = ชอบมาก (ภาคผนวก ข) และใช้ผู้ทดสอบจำนวน 50 คน ตรวจสอบคุณภาพด้านสี กลิ่น ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan 's New Multiple Range test

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University ;

All rights reserved