**บทที่ 3**

**วิธีดำเนินการวิจัย**

การศึกษานี้เป็นการศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์ขนุนทอดกรอบ โดยมีขั้นตอนการดำเนินงานดังนี้

**วัตถุดิบ**

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ ขนุนแก่จัดที่มีอายุเก็บเกี่ยวทางการค้า ได้จากเกษตรกรในท้องถิ่น อ. เมือง จ. มหาสารคาม

**เครื่องมือและอุปกรณ์**

1. เครื่องระเหย (Rotary evaporator : R-200 model, BUCHI, Switzweland)

2. เครื่องปั่นแบบมือจับ (MR 430 HC model, 300 Watt, Spain)

3. เครื่องกวนสารที่ควบคุมอุณหภูมิ (Stirrer, ARE model, VELP Scientifica, Italy)

4. เครื่องวัดอุณหภูมิ (Digital thermometer, DTM 305 model, TECPEL, Taiwan)

5. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath : WB14 model, German)

6. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance : Sartorius, CP224S, German)

7. เครื่องอบลมร้อนแบบถาด (Tray dryer)

8. เครื่องวัดปริมาณความชื้น

9. Spectrophotometer (Jenway 6300 and 6320D Visible and 6305 UV/Vis)

**สารเคมี**

 1. เฮกเซน (Hexane : Commercial grade, Etalmar, Thailand)

 2. เฮกเซน (Hexane : HPLC grade 99.5%, LAB-SCAN, Ireland)

 3. เอทานอล (Ethanol : AR grade >95%, Merck, German)

 4. เมทานอล (Methanol : AR grade >99.9%, Merck, German)

 5. คลอโรฟอร์ม (Chloroform : AR grade 99.8%, LAB-SCAN, Ireland)

 6. ไดเอทิลอีเทอร์ (Diethyl Ether : AR grade 99.5%, LAB-SCAN, Ireland)

 7. โซเดียมซัลเฟต (Sodium sulfate : AR grade >99.0%, Merck, German)

 8. ปิโตเลียมอีเทอร์ (Petroleum Ether : AR grade, LAB-SCAN, Ireland)

 9. โทลูอีน (Toluene : AR grade >99.5%, LAB-SCAN, Ireland)

 10. ยูเรีย (Urea : AR grade, Ajax Finechem)

 11. บีเอชที (2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol, AR grade, Sigma-aldrich, German)

 12. ไนโตรเจน (Nitrogen 99.99% : Lanna Industrial Gasses, Thailand)

**วิธีการดำเนินการวิจัย**

1. การเตรียมวัตถุดิบ

นำขนุนแก่จัดที่มีอายุเก็บเกี่ยวทางการค้ามาทำการปลอกเปลือก ทำการแกะยวงออก และทำการแกะเมล็ดออก นำมาหั่นสไลด์ขนาดกว้างประมาณ 1.0-2.0 x 2.0-3.0 เซนติเมตร และดำเนินการดังภาพที่ 3.1

ขนุน

เหวี่ยงน้ำมันที่ความเร็ว 250 rpm

ทำการทอดด้วยกระทะธรรมดาและทอดภายใต้ระบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 210oC

ประเมินลักษณะทางทางประสาทสัมผัส

จากผู้ทดสอบชิมจำนวน 100 คน

ปอกเปลือก การแกะยวงออก และทำการแกะเมล็ดออก นำมาหั่นสไลด์ขนาดกว้างประมาณ 1.0-2.0 x 2.0-3.0 เซนติเมตร

เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน

การประเมินอายุการเก็บรักษาทุก 15 วัน ดังนี้

 - การประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสจากผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน

 - วิเคราะห์ปริมาณความชื้น

 - วิเคราะห์การเกิดออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์ในรูปของ peroxide และ malonaldehyde (TBA)

ประเมินอายุการเก็บรักษา

อบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 นาที

บรรจุในบรรจุภัณฑ์

ภาพที่ 3.1 แผนภาพการทดลองการพัฒนาผลิตภัณฑ์ขนุนทอดกรอบ

2. การศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคโดยใช้วิธี “9-point hedonic scale” การศึกษาคุณภาพด้านประสามสัมผัส โดยศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ขนุนทอดกรอบใช้ผู้บริโภคทั่วไป จำนวน 30 คน โดยใช้ 9-point Hedonic Scale วัดค่าคะแนนความชอบคุณลักษณะต่างๆ ได้แก่ กลิ่น รสชาติ ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส ความกรอบและความชอบโดยรวม ค่าคะแนนความชอบ 9 ระดับ (9-point hedonic scale) ดังนี้

9 หมายถึง ชอบมากที่สุด

8 หมายถึง ชอบมาก

7 หมายถึง ชอบปานกลาง

6 หมายถึง ชอบเล็กน้อย

5 หมายถึง เฉยๆ

4 หมายถึง ไม่ชอบเล็กน้อย

3 หมายถึง ไม่ชอบปานกลาง

2 หมายถึง ไม่ชอบมาก

 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด

3. ปริมาณความชื้น คือ สารที่สูญเสียไปจากอาหารเมื่อเพิ่มความร้อนให้แก่อาหารนั้น ความร้อนที่ให้ต้องมีอุณหภูมิไม่สูงกว่าจุดเดือดของน้ำ หรือปล่อยให้อาหารตั้งทิ้งไว้ในสารดูดความชื้น (dehydrating agent) หรือให้ความร้อนในสภาพสุญญากาศ น้ำหนักที่หายไปจากอาหาร ซึ่งเดิมเข้าใจว่าเป็นน้ำนั้น ความจริงคือสารที่ระเหยได้ทั้งหมดหรือ total volatile matter ที่หายไป ณ อุณหภูมินั้น ส่วนกากหรือของแข็งแห้งที่เหลืออยู่หลังจากน้ำระเหยออกไปหมดแล้วเรียกว่า “ของแข็งทั้งหมด” (Total solids)

 อุปกรณ์

1) เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง

2) ภาชนะอลูมิเนียม (Moisture can) พร้อมฝาปิด

3) ตู้อบไฟฟ้าที่ควบคุมอุณหภูมิได้

4) โถดูดความชื้นที่มีสารดูดความชื้น

วิธีการ

1) ชั่งตัวอย่างประมาณ 2.0000±0.05 กรัมที่เหมาะสมให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน

2) ใส่ในภาชนะอลูมิเนียมโดยเปิดฝาเล็กน้อย ซึ่งผ่านการอบ 30 นาทีและทราบน้ำหนักที่แน่นอน

3) อบให้แห้งในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง

4) จากนั้นนำภาชนะออกจากตู้อบไฟฟ้าพร้อมปิดฝาอลูมิเนียม

5) ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

6) ชั่งน้ำหนัก นำไปอบซ้ำอีกครั้ง ครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งได้น้ำหนักที่คงที่

7) นำผลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณความชื้นดังนี้

วิธีคำนวณ

เปอร์เซ็นต์ความชื้น = $\frac{(w\_{2}-w\_{1})}{w\_{1}-w}$ $×100$

เมื่อ w = น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด (กรัม)

 w1 = น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด และตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

 w2 = น้ำหนักของจานอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด และตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

 4. การวิเคราะห์การเกิดออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์ในรูปของ peroxide (AOAC, 2002) ค่าเพอร์ออกไซด์ (peroxide value ; P.V.) เป็นค่าที่ใช้การวัดอัตราการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดกลิ่นหืน (rancidity) เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงการเสื่อมเสียของน้ำมันและไขมันรวมทั้งอาหารที่มีไขมันสูง เช่น อาหารทอด

 อุปกรณ์และสารเคมี

1) เครื่องแก้ว

2) สารละลายผสมอะซิติก : คลอโรฟอร์ม (3 : 2)

3) สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัว

4) สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล

5) สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.01 นอร์มอล

6) สารละลายน้ำแป้งความเข้มข้น 1%

วิธีการ

1) ชังตัวอย่าง 5±0.05 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flaskขนาด 250 มิลลิลิตร

2) เติมสารละลายผสมอะซิติก : คลอโรฟอร์ม (3 : 2) 30 มิลลิลิตร

3) เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัว 0.5 มิลลิลิตร

4) เขยาสารละลายเป็นเวลา 1 นาที ในที่มืด และเติมน้ำกลั่นทันที 30 มิลลิลิตร

5) ไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.01 นอร์มอล จนสารละลายเป็นสีเหลืองอ่อนและเติมสารละลายน้ำแป้งความเข้มข้น 1% 2 มิลลิลิตร และไทเทรตต่อจนสีน้ำเงินจางหาย

6) บันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรต

7) ทำ blank ตามวิธีเดียวกบที่กล่าวมาข้างต้น แต่ไม่ใส่ตัวอย่าง

8) คำนวณค่าเพอร์ออกไซด์

P.V. (milliequivalent peroxide/1000 g) = $\frac{\left(S-B\right)xNx1000}{Mass of sample (g)}$

เมื่อ S = ปริมาตรสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

 B = ปริมาตรสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ในการไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

 N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต (นอร์มอล)

 5. การวิเคราะห์การเกิดออกซิเดชันของผลิตภัณฑ์ในรูปของ malonaldehyde (TBA) (AOAC, 2002) ค่า TBA เป็นการวัดผลิตภัณฑ์อันดับสองที่เกิดขึ้น จากการเกิดออกซิเดชันของไขมันที่บ่งชี้ถึงผลิตภัณฑ์กลุ่มที่สามารถระเหยได้ (volatile decomposition product) สารกลุ่มนี้จะทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีกลิ่นหืน การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในขั้นตอนนี้ ทำได้โดยใช้หลักการของวิธีการวัดความเข้มของสารสีชมพูแดงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างไธโอบาร์บิทิวริก (thiobabituric) กับ oxidized lipids ได้สารประกอบที่มีสีชมพูแดง ซึ่งสารประกอบดังกล่าวเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาระหว่างมาลลอนอัลดีไฮด์ (malonaldehyde, MDA) จำนวน 1 โมล กับ 2-Thiobabituric acid (TBA) จำนวน 2 โมล การรายงานผลวิเคราะห์จะรายงานผลเป็นมิลลิกรัมของมาลอนดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง (Milligrams of malonadehyde equivalents/kg of sample)

 อุปกรณ์และสารเคมี

1) หลอดทดลอง

2) เครื่องหมุนเหวี่ยง

3) อ่างควบคุมอุณหภูมิ

4) กรดไตรคลอโรอะซีติก

5) กรดไทโอบาร์บิทิวริก

6) กรดไฮโดรคลอริก

 วิธีการ

 1) ชังตัวอย่างที่บดละเอียดอย่างสม่ำเสมอ จำนวน 1 กรัม ใส่หลอดทดลองแล้วเติมสารละลายผสมระหว่างกรดไตรคลอโรอะซีติก (Trichloroacetic หรือ TCA) เข้มข้นร้อยละ 15 โดย

น้ำหนักต่อปริมาตร และกรดไทโอบาร์บิทิวริก (Thiobabituric acid หรือ TBA) เข้มข้นร้อยละ 0.375

โดยน้ำหนักต่อปริมาตรในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้น 0.2 N

2) จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดอุณหภูมิ 100องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 10 นาทีแล้วทำให้เย็นทันที ก่อนที่จะนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

3) ปิเปตสารละลายส่วนใสใส่หลอดทดลองอีกหลอด นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

4) จากนั้นนำส่วนสมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร

5) จดบันทึกค่าการดูดกลืนแสงและคำนวณค่า TBA

TBA number (mg MDA/kg sample)= sample A532 x 2.77

6. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomize design) ทำการทดลอง 3 ซ้ำและวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) จากนั้นทดสอบความแตกต่างของตัวอย่างโดยใช้วิธี Duncan’s New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows