

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากแก่นตะวัน โดยมีขั้นตอนการดำเนินงาน ดังนี้

วัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ แก่นตะวัน ได้จากตลาดในท้องถิ่น ต. ท่าสองคอน อ. เมือง จ. มหาสารคาม

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดอุณหภูมิ (Digital thermometer, DTM 305 model, TECPEL, Taiwan)
2. เครื่องอบลมร้อนแบบถาด (Tray dryer)
3. เครื่องชั่งตวงวัด 2 ตำแหน่ง (Analytical balance : Sartorius, CP224S, German)
4. เครื่องชั่งตวงวัด 4 ตำแหน่ง (Analytical balance : Sartorius, CP224S, German)
5. Spectrophotometry (Jenway 6300 and 6320D Visible and 6305 UV/Vis)
6. เครื่องอบแห้งลมร้อน (Hot air oven)
7. เครื่องวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (Moisture content)
8. เครื่องวัดสี Hunter lab รุ่น CQXE/SAV-2 (Hunter Associates Laboratory Inc., USA)
9. อุปกรณ์งานครัว เช่น มีด เขียง ตะแกรงใหญ่ เครื่องบด เป็นต้น

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. Sodium hydrogen carbonate (Sigma-aldrich, German)
6. Aluminium chloride (AlCl₃) (Sigma-aldrich, German)
7. 2,2-dyphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-aldrich, German)
8. ไนโตรเจน (Nitrogen 99.99% : Lanna Industrial Gasses, Thailand)

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมวัตถุดิบและการอบแห้ง

1.1 การเตรียมแก่นตะวัน และการอบแห้ง

1.1.1 นำแก่นตะวัน ได้จากตลาดในท้องถิ่น ต. ท่าสองคอน อ. เมือง จ. มหาสารคาม มาทำการตัดแต่งและล้างทำความสะอาด

1.1.2 ทำการลวกด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 นาที เพื่อยับยั้งเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล

1.1.3 นำแก่นตะวัน ที่ผ่านการลวกแช่ในน้ำเย็นทันที จากนั้นทำการหั่น ขนาดประมาณ 1.0-2.0 x 3.0-4.0 x 0.1-0.3 เซนติเมตร และผึ่งลมให้หมาดๆ

1.1.4 นำแก่นตะวันไปอบด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาด (Tray dryer) ที่อุณหภูมิ 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส และทำการเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักระหว่างกระบวนการอบแห้งทุก 10 นาที จนผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีความชื้นน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ (d.b.) ดังภาพที่ 3.1

2. การศึกษาคุณภาพของแก่นตะวันอบแห้งและบรรจุแคปซูล (ภาพที่ 3.1)

2.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ (การวิเคราะห์ค่าสี)

การตรวจสอบค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี Hunter lab รุ่น CQXE/SAV-2 (Hunter Associates Laboratory Inc., USA) ตามระบบสีแบบ CIE system โดยแสดงค่าเป็น L* a* และ b*

L* แสดงค่าความสว่าง มีค่าตั้งแต่ 0 (ดำ) จนถึง 100 (ขาว)

a* แสดงค่าความเป็นสีแดงและสีเขียว

ค่า a เป็นบวกจะแสดงค่าสีแดง

ค่า a เป็นลบจะแสดงค่าสีเขียว

b* แสดงค่าความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงิน

ค่า b เป็นบวกจะแสดงค่าสีเหลือง

ค่า b เป็นลบจะแสดงค่าสีน้ำเงิน

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2002)

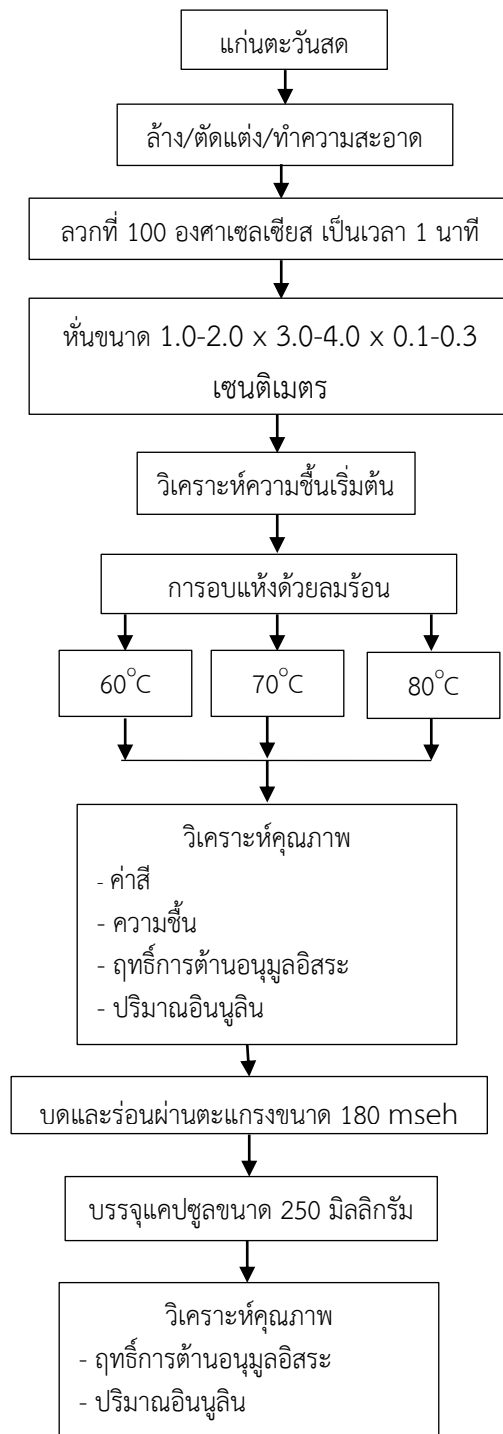
2.3 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging assay โดยดูดสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ 3 มิลลิลิตร ลงในสารสกัดแก่นตะวันที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ 150 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-visible spectrophotometer) ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (Mokbel *et al.*, 2005) การทดลองที่ได้คำนวณหา % radical scavenging จากสมการ

$$\% \text{ radical scavenging} = [1 - (A_{\text{sample}}/A_{\text{control}})] \times 100$$

เมื่อ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH



ภาพที่ 3.1 แผนภาพขั้นตอนการทดลอง

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณอินนูลิน

วิเคราะห์หาปริมาณอินนูลิน ตามวิธีมาตรฐานสากล AOAC (2005) โดยชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัมสกัดน้ำตาลในตัวอย่างด้วยน้ำร้อน แล้ววัดปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น แบ่งสารละลายที่สกัดได้มาย่อยด้วยเอนไซม์อินนูลิเนส (Inulinase) โดยใช้เอนไซม์ในปริมาณที่มากเพียงพอ ทำการเปลี่ยนรูปแบบของน้ำตาลจากที่ระเหยไม่ได้ให้อยู่ในรูปที่สามารถระเหยและตรวจวัดได้ (volatile oxime-trimethylsilyl derivatives) ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography, GC) (15) ใช้คอลัมน์ Al-clad capillary column (HT-5) ที่เคลือบด้วย 5%-phenyl-polycarboranesiloxane ฉีดสารละลายแบบ Cool-on column injection และตรวจวัดด้วย Flame Ionization Detector (FID) เปรียบเทียบค่า Retention time ในสารละลายตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐานและคำนวณหาปริมาณอินนูลิน (Joye and Hoebregs, 2000)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows ในการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากนั้นทดสอบความแตกต่างของตัวอย่างโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test