บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบ

วัตถุดิบมันเทศที่ใช้ในการทดลองนี้ จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ มันเทศพันธุ์ พจ.65-3 เนื้อสีม่วง และมันเทศพันธุ์ T101 เนื้อสีส้ม ส่วนผสมอื่น ๆ และวัตถุเจือปนอาหารที่ใช้ในการผลิตมันเทศบด และมันเทศบดปรุงรส ซื้อจากผลิตภัณฑ์ที่มีขายทางการค้าในประเทศไทย มันฝรั่งบดปรุงสำเร็จ (ตราแม็กกาแรต, สหรัฐอเมริกา) ใช้เป็นตัวอย่างอ้างอิงทางการค้า โดยมีส่วนผสม มันฝรั่ง 80%, เกลือ 2%, เวย์ 1.4%, เจือสีและแต่งกลิ่นธรรมชาติ (ใช้วัตถุกันเสีย)

เครื่องมือ

1. เครื่องวัดเนื้อสัมผัส ยี่ห้อ Brookfield รุ่น QTS25 (Brookfield Engineering Laboratories, Inc., ประเทศอังกฤษ)
2. เครื่องวัดสี Model CR-10 (บริษัท มินอลต้า, ประเทศญี่ปุ่น)
3. เครื่องวัดการดูดกลืนแสงยูวี ยี่ห้อ Thermo รุ่น Genesys20 (Thermo Fisher Scientific Inc, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
4. เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนแบบควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Centurion รุ่น K240 R (Centurion Scientific limited, ประเทศอังกฤษ)
5. เครื่องแช่เยือกแข็ง (บริษัท ซันโย (ไทยแลนด์) จำกัด, ประเทศไทย)
6. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler-Toledo รุ่น AL 204)
7. ชุดคอมพิวเตอร์ พร้อมเครื่องพิมพ์ และโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำหรับประมวลผล
8. เครื่อง Hot plate stirrer
9. ตู้บ่มเชื้อ (Revco รุ่น RI-50-555V)
10. เครื่องตีปั่นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ (Lab System Stomacher รุ่น AG 400)
11. เครื่อง Auto Clave (หม้ออบความดันไอน้ำ ชนิดไฟฟ้า, ยี่ห้อ ALP รุ่น KT 30L

วิธีการวิจัย

ตอนที่ 1 การศึกษาอิทธิพลของชนิด และปริมาณสารไครโอโพรเทกแทนต์ต่อคุณภาพกายภาพมันเทศบดแช่แข็ง และมันเทศบดแช่แข็งปรุงรส

1. การศึกษาอิทธิพลของชนิด และปริมาณสารไครโอโพรเทกแทนต์ต่อคุณภาพกายภาพมันเทศบดแช่แข็ง

เตรียมมันเทศบดแช่แข็ง โดยการล้าง และทำการตัดแต่งมันเทศ ชั่งน้ำหนัก นำไปต้มในน้ำเดือดต่อมันเทศ (1:1 w/v) ที่มีการเติมเกลือ 0.1% (w/v) ต้มนาน 30 นาที ล้างเกลือออกด้วยน้ำสะอาด 1 รอบ ปอกเปลือกแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ปั่นละเอียด เติมสารไครโอโพรเทกแทนต์ คือ แซนแทนกัม (0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 % w/w) หรือเมธิลเซลลูโลส (0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 % w/w) และเติมน้ำ 10% (w/w) ผสมส่วนผสมให้เข้ากัน นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำตัวอย่างประมาณ 300 กรัม บรรจุใส่ภาชนะกล่องพลาสติก (PP) ปิดสนิทขนาด 450 มิลลิลิตร นำไปแช่แข็งในเครื่องแช่เยือกแข็ง (ซันโย) ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 22 ชั่วโมง ก่อนทำให้ละลายที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำการแช่แข็งและละลายที่อุณหภูมิห้องจำนวน 5 รอบ

การทดลองนี้จัดการทดลองแบบแฟกทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Factorial in Completely Randomized Design) โดยแบ่งเป็น 2 ส่วน เพื่อต้องการคัดเลือกปริมาณแซนแทนกัม และเมธิลเซลลูโลสที่เหมาะสมสำหรับแต่ละพันธุ์มันเทศ เพื่อใช้เป็นตัวอย่างสำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสต่อไป

ส่วนที่ 1 ปัจจัยที่ศึกษาปัจจัยที่หนึ่งคือ พันธุ์มันเทศ จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ มันเทศสีม่วง และมันเทศสีส้ม ปัจจัยที่สองคือความเข้มข้นแซนแทนกัม จำนวน 5 ระดับ (0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 % w/w) จำนวนสิ่งทดลอง 2 x 5 = 10 สิ่งทดลอง

ส่วนที่ 2 ปัจจัยที่ศึกษาปัจจัยที่หนึ่งคือ พันธุ์มันเทศ จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ มันเทศสีม่วง และมันเทศสีส้ม ปัจจัยที่สองคือความเข้มข้นเมธิลเซลลูโลส จำนวน 5 ระดับ (0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 % w/w) จำนวนสิ่งทดลอง 2 x 5 = 10 สิ่งทดลอง

วัดค่าคุณภาพ ได้แก่ สี ปริมาณน้ำที่แยกออกมาได้หลังการแช่แข็งและละลาย ความหนาแน่น และลักษณะเนื้อสัมผัส ตามวิธีการข้อ 1.3 ผลการทดลองที่ได้ทดสอบความแปรปรวนด้วย ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. การศึกษาอิทธิพลของชนิดและปริมาณสารไครโอโพรเทกแทนต์ต่อคุณภาพกายภาพมันเทศบดแช่แข็งปรุงรส

เตรียมมันเทศบดแช่แข็ง โดยการล้าง และทำการตัดแต่งมันเทศชั่งน้ำหนัก นำไปต้มในน้ำเดือดต่อมันเทศ (1:1 w/v) ที่มีการเติมเกลือ 0.1% (w/v) ต้มนาน 30 นาที ล้างเกลือออกด้วยน้ำสะอาด 1 รอบ ปอกเปลือกแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ปั่นละเอียด เติมสารไครโอโพรเทกแทนต์ คือ แซนแทนกัม (0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 % w/w) หรือเมธิลเซลลูโลส (0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 % w/w) ผสมนม 20% (w/w) เนย 2% (w/w) และเกลือ 1% (w/w) นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำตัวอย่างประมาณ 300 กรัม บรรจุใส่ภาชนะกล่องพลาสติก (PP) ปิดสนิทขนาด 450 มิลลิลิตร นำไปแช่แข็งในเครื่องแช่เยือกแข็ง (ซันโย) ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 22 ชั่วโมง ก่อนทำให้ละลายที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำการแช่แข็งและละลายที่อุณหภูมิห้องจำนวน 5 รอบ

การทดลองนี้จัดการทดลองแบบแฟกทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Factorial in Completely Randomized Design) โดยแบ่งเป็น 2 ส่วน เพื่อต้องการคัดเลือกปริมาณแซนแทนกัม และเมธิลเซลลูโลสที่เหมาะสมสำหรับแต่ละพันธุ์มันเทศที่ใช้ในการผลิตมันเทศบดปรุงรส เพื่อใช้เป็นตัวอย่างสำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสต่อไป

ส่วนที่ 1 ปัจจัยที่ศึกษาปัจจัยที่หนึ่งคือ พันธุ์มันเทศ จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ มันเทศสีม่วงและมันเทศสีส้ม ปัจจัยที่สองคือความเข้มข้นแซนแทนกัม จำนวน 5 ระดับ (0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 % w/w) จำนวนสิ่งทดลอง 2 x 5 = 10 สิ่งทดลอง

ส่วนที่ 2 ปัจจัยที่ศึกษาปัจจัยที่หนึ่งคือ พันธุ์มันเทศ จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ มันเทศสีม่วงและมันเทศสีส้ม ปัจจัยที่สองคือความเข้มข้นเมธิลเซลลูโลส จำนวน 5 ระดับ (0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 % w/w) จำนวนสิ่งทดลอง 2 x 5 = 10 สิ่งทดลอง

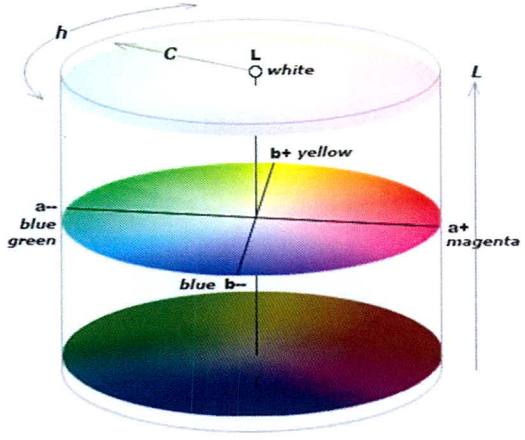
วัดค่าคุณภาพ ได้แก่ สี ปริมาณน้ำที่แยกออกมาได้หลังการแช่แข็งและละลาย ความหนาแน่น และลักษณะเนื้อสัมผัส ตามวิธีการข้อ 3. ผลการทดลองที่ได้ทดสอบความแปรปรวนด้วย ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

การวิเคราะห์ค่าสี

โดยเครื่องวัดสี (Colorimeter) Minolta color reader CR – 10 (บริษัท มินอลต้า, ประเทศญี่ปุ่น) อ่านค่าระบบ CIE L^*, a^*, b^* , C, h° รายงานผลเป็น ค่า L^* คือ ความแตกต่างของแสง (light) จะมีค่าอยู่ระหว่าง 0 (สีดำ) ถึง 100 (สว่าง) ค่า a^* คือ ค่าของสีที่อยู่ระหว่างสีเขียว

(-a^*) จนถึงสีแดง (+a^*) ค่า b^* คือ ค่าของสีที่อยู่ระหว่างสีฟ้า (-b^*) จนถึงสีเหลือง (+b^*) วิเคราะห์ค่าความเข้มสี (Chroma; C*) จาก $C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$ ค่ามุมของสี (Hue angle) $h° = \tan^{-1}(b^*/a^*)$



ภาพ 10 รูปแบบสีในระบบ CIE L^*, a^*, b^*, C*, $h°$

ที่มา: http://www.handprint.com/HP/WCL/color7.html#CIELAB

ค่า C* คือ Chroma เป็นค่าแสดงถึงความเข้มของสี

C* มีค่าเข้าใกล้ศูนย์ หมายถึง วัตถุมีความเข้มสีต่ำลงจนเป็นสีเทา

C* มีค่าเพิ่มขึ้น หมายถึง วัตถุมีความเข้มสีเพิ่มมากขึ้น

ค่า $h°$ มีค่าอยู่ระหว่าง 0-360 องศา Hue angle แต่ละช่วงองศา แสดงสีแตกต่างกันดังนี้ (McGuire, 1992, pp. 1254-1255)

0-45	องศา	แสดงสีม่วงแดงถึงสีส้มแดง
45-90	องศา	แสดงสีส้มแดงถึงสีเหลือง
90-135	องศา	แสดงสีเหลืองถึงเหลืองเขียว
135-180	องศา	แสดงสีเหลืองเขียวถึงเขียว
180-225	องศา	แสดงสีเขียวถึงสีน้ำเงิน
225-270	องศา	แสดงสีน้ำเงินเขียวถึงน้ำเงิน
270-315	องศา	แสดงสีน้ำเงินถึงม่วง
315-360	องศา	แสดงสีม่วงถึงม่วงแดง

ปริมาณน้ำที่แยกออกมาหลังผ่านการแช่แข็งและละลาย (Syneresis)

ดัดแปลงจากวิธีของ Downey (2003, pp. 857-868) วิเคราะห์โดย นำมันเทศบดแช่แข็ง และมันเทศบดแช่แข็งปรุงรส น้ำหนัก 2 กรัม ใส่ในกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 พับใส่ในหลอดทดลองขนาด 125 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนแบบควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Centurion รุ่น K240 (Centurion Scientific Limited, ประเทศอังกฤษ) ความเร็วรอบ 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส จำนวน 3 ซ้ำ หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักน้ำที่แยกออกมา แล้วคำนวณตามสูตรดังนี้

$$\% \text{ Syneresis} = \frac{\text{น้ำหนักน้ำที่แยกออกมา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

ความหนาแน่น (Density)

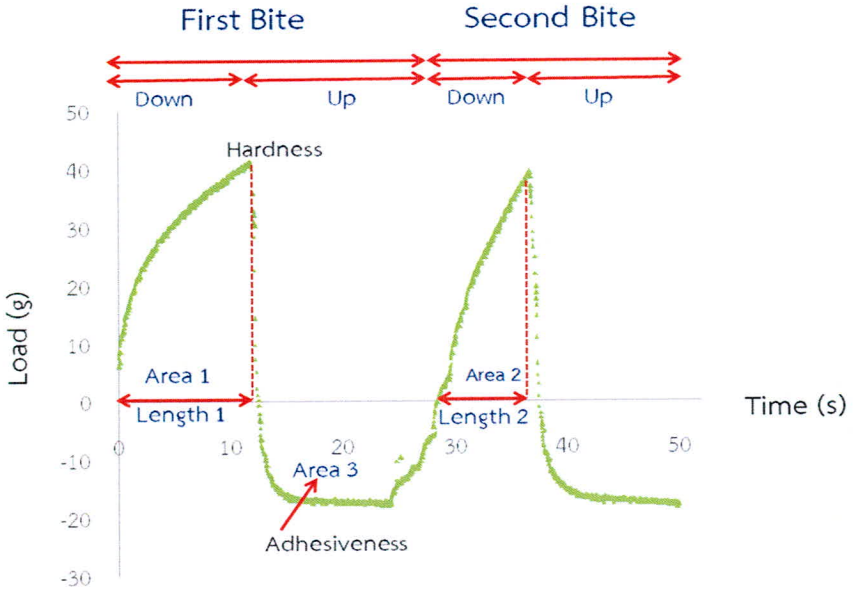
ดัดแปลงจากวิธีของ Prakongpan et al. (2002, pp. 1308-1311) วิเคราะห์โดย นำตัวอย่างมันเทศบดแช่แข็ง และมันเทศบดแช่แข็งปรุงรสที่ผ่านการแช่แข็งและละลายที่อุณหภูมิห้อง 5 รอบ ใส่ในภาชนะขนาดปริมาตร 21 มิลลิลิตร ตักตัวอย่างใส่ถ้วยให้เต็มเคาะ 2-3 ครั้งเพื่อไล่อากาศ ปาดส่วนเกินออกจากภาชนะ ชั่งน้ำหนักตัวอย่างมันเทศบด แล้วคำนวณตามสูตร มีหน่วยเป็นกรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร (g/cm^3)

$$\text{Density} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (ลูกบาศก์เซนติเมตร)}}$$

ลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Profile Analysis; TPA)

วิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยใช้เครื่องวัดเนื้อสัมผัส Texture Analyzer ยี่ห้อ Brookfield รุ่น QTS25 เตรียมตัวอย่างโดย นำตัวอย่างมันเทศบดแช่แข็ง และมันเทศบดแช่แข็งปรุงรส ใส่ถ้วยปริมาตร 30 มิลลิลิตร ความสูงถ้วยตัวอย่าง 20 มิลลิเมตร ใส่ตัวอย่างให้เต็มถ้วยปาดให้เรียบ ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ใช้หัวกด TA 10 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12.7 มิลลิเมตร การให้แรงกดลงบนตัวอย่างมับเทศบด 2 ครั้ง เป็นการจำลองการใช้ฟันบดอาหาร ทำการตั้งหัววัดให้ชิดตัวอย่างก่อนทำการทดสอบ โดยการกดครั้งแรกจะใช้ความเร็วหัวกด 50 มิลลิเมตรต่อนาที กดลงตัวอย่างมันเทศบดเป็นระยะทาง 10 มิลลิเมตร จากนั้นเคลื่อนที่หัวกดขึ้น 10 มิลลิเมตร ด้วยความเร็วหัวกด

50 มิลลิเมตรต่อนาที จากนั้นกดครั้งที่สอง จะใช้ความเร็วหัวกด 50 มิลลิเมตรต่อนาที กดลงตัวอย่างมันเทศบดเป็นระยะทาง 10 มิลลิเมตร จะได้ค่าดังนี้ (Bourne, 1978, pp. 62-66)



ภาพ 11 กราฟจากการวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสตัวอย่างมันเทศบด

Hardness คือ ค่าความแข็ง จะอยู่ในรูปแรงกดสูงสุดระหว่างการกดครั้งที่ 1 หรือเทียบได้กับการเคี้ยวครั้งแรก

Cohesiveness คือ ความเกาะติดกัน เป็นพลังงานที่เกาะติดกันภายในเนื้ออาหาร หาได้จาก อัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างแรง (g) และระยะเวลา (วินาที) คือ พื้นที่ใต้กราฟของการกดครั้งที่ 2 ต่อ ครั้งที่ 1 (Area 2/ Area 1)

Springiness คือ ความยืดหยุ่น เป็นการคืนตัวของตัวอย่างหลังการเสียรูปจากการกดครั้งแรก หาได้จาก อัตราส่วนของระยะทางของเวลาการกดครั้งที่ 2 ต่อ ระยะทางของเวลาการกดครั้งที่ 1 (Length 2/ Length 1)

Adhesiveness คือ ความเหนียวติดกัน ได้จากพื้นที่ของแรงที่เป็นลบในการกดครั้งแรก หรือพื้นที่ของแรงในเคลื่อนที่หัวกดขึ้นของการกดครั้งแรก ซึ่งแสดงถึงงานที่ต้องใช้ในการดึงของหัวกดขึ้นจากตัวอย่าง หรือความสามารถในการยึดติดของชิ้นอาหาร

Gumminess คือความเหนียวติดยึด ได้จาก Hardness × Cohesiveness เป็นพลังงานที่ทำให้อาหารกึ่งของแข็งซึ่งมีค่า Hardness น้อย แต่ Cohesiveness สูง แตกออกจนสามารถกลืนได้ หรือพลังงายในการย่อยอาหารกึ่งแข็ง

Chewiness คือพลังงานในการเคี้ยว คำนวณได้จาก Gumminess × Springiness หรือ Hardness × Cohesiveness × Springiness เป็นพลังงานที่ใช้ในการเคี้ยวอาหารแข็งจนถึงขั้นพร้อมที่จะกลืน

ตอนที่ 2 การทดสอบทางประสาทสัมผัสมันเทศบดแช่แข็ง และมันเทศบดแช่แข็งปรุงรส

จากตอนที่ 1 คัดเลือกปริมาณแซนแทนกัม และเมธิลเซลลูโลสที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับแต่ละพันธุ์มันเทศที่ใช้ในการผลิตมันเทศบดแช่แข็ง และมันเทศบดแช่แข็งปรุงรส ทำให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง จำนวน 5 รอบ เพื่อใช้เป็นตัวอย่างสำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัส

1. **การทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาแบบทั่วไป** (Generic Descriptive Analysis; GDA)

คัดเลือกผู้ทดสอบ พัฒนาคำศัพท์ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะของมันบด ฝึกฝนเพื่อปรับสเกลจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสในลักษณะต่าง ๆ ของมันบด ก่อนดำเนินการทดสอบตัวอย่าง สเกลที่ใช้เป็น Line Scale ที่มีความยาว 15 เซนติเมตรเพื่อให้คะแนนตามระดับความเข้มของคุณลักษณะตัวอย่าง โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 8 คน เตรียมตัวอย่างผ่านการแช่แข็งและทำให้ละลาย 5 รอบ จากนั้นให้ความร้อนโดยใช้ไมโครเวฟ กำลังไฟ 800 วัตต์ นาน 4 นาที ขั้นตอนในการทดสอบตามวิธีการข้อ 3.1

การทดลองนี้จัดแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) โดยมีตัวอย่างคือ มันเทศบดแช่แข็ง มันเทศบดแช่แข็งปรุงรส และตัวอย่างผสมแซนแทนกัมหรือเมธิลเซลลูโลส ที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับมันเทศทั้งสองพันธุ์ โดยตัวอย่างทั้งหมดผ่านการแช่เข็งและทำให้ละลาย 5 รอบ และตัวอย่างมันฝรั่งบดทางการค้า (ตัวอย่างอ้างอิง) ผลการทดลองที่ได้ทดสอบความแปรปรวนด้วย ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยเปรียบเทียบผลในมันเทศพันธุ์ และวิธีการเตรียมเดียวกัน (ไม่ปรุงรสและปรุงรส)

2. **การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส**

ดำเนินการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์มันเทศบดแช่แข็งปรุงรสทั้งสองพันธุ์ สำหรับตัวอย่างมันเทศบดแช่แข็งไม่ได้นำมาทำการทดสอบการยอมรับ เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในการแปรรูปอาหารต่อไป โดย ผู้ทดสอบทั่วไปที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 40 คน ในมหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก ทดสอบการยอมรับในด้านต่าง ๆ ดังนี้

1. ลักษณะปรากฏ พิจารณาจากความเป็นเนื้อเดียวกัน ความเรียบเนียน
2. สี พิจารณาความชอบต่อสีของตัวอย่าง
3. กลิ่นรส พิจารณาความชอบต่อกลิ่นรสในขณะที่อยู่ในปาก
4. ความนุ่มฟู พิจารณาจากความนุ่มในปาก มีเนื้อที่ฟู
5. ความรู้สึกในปาก พิจารณาจากความชอบโดยรวมในขณะที่เคี้ยวอยู่ในปาก
6. ความชอบโดยรวมของตัวอย่าง

โดยการให้คะแนน จาก 1 ถึง 9 โดย (1 คือ ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 คือชอบมากที่สุด) ขั้นตอนในการทดสอบตามวิธีการข้อ 3.2

การทดลองนี้จัดแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized complete block design; RCBD) โดยมีตัวอย่างคือ มันเทศบดแช่แข็งปรุงรสผสมแซนแทนกัม หรือเมธิลเซลลูโลส ที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ของมันเทศทั้งสองพันธุ์ คือ มันเทศสีม่วง และมันเทศสีส้ม เตรียมตัวอย่างทั้งหมดโดยผ่านการแช่แข็งและทำให้ละลาย 5 รอบ จากนั้นให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟใช้กำลังไฟ 800 วัตต์ นาน 4 นาที และมันฝรั่งบดทางการค้า (ตัวอย่างอ้างอิง) ผลการทดลองที่ได้ทดสอบความแปรปรวนด้วย ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยเปรียบเทียบในมันเทศพันธุ์เดียวกัน

3. การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

3.1 ขั้นตอนการทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาแบบทั่วไป (GDA) ของมันเทศบดแช่แข็ง และมันเทศบดแช่แข็งปรุงรส

วิธีการทั่วไปในการใช้การวิเคราะห์เชิงการพรรณนามีดังนี้ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2551, pp. 165-168)

3.1.1 การคัดเลือกผู้ทดสอบ

3.1.2 การพัฒนาคำศัพท์

3.1.3 การฝึกฝนผู้ทดสอบ

3.1.4 การทดสอบตัวอย่างจริง

ขั้นตอนที่ 1 การคัดเลือกผู้ทดสอบ

ผู้ทดสอบเป็นเสมือนเครื่องมือสำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสผู้ทดสอบที่ถูกคัดเลือกจะต้องควบคุมคุณภาพที่จำเป็นสำหรับประสิทธิภาพในการประเมิน นอกจากนี้ในส่วนของการให้ความร่วมมือ ความสนใจ และความสามารถของผู้ทดสอบจะต้องมีความไว หรือความแม่นยำ ดังนั้น การคัดเลือกผู้ทดสอบโดยปกติจะเริ่มจากการทดสอบการรับรู้รสชาติได้เบื้องต้น

(Taste threshold) สำหรับรสชาติพื้นฐาน 4 ชนิด คือความหวาน ความเปรี้ยว ความเค็ม และความขม และผ่านการทดสอบการแยกความแตกต่างตามลักษณะทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธีการเลือกตัวอย่างคี่จากสามตัวอย่าง (Triangle test)

ผู้ทดสอบจะต้องเป็นบุคคลที่มีสุขภาพดี ไม่มีโรคประจำตัว หรือโรคติดต่อที่อาจจะเป็นอุปสรรคต่อการใช้ประสาทสัมผัสในการทำการทดสอบเชิงพรรณนา และไม่มีอาการแพ้นม เนย หรือส่วนประกอบอื่น ๆ ในมันเทศบดแช่แข็ง และมันเทศบดแช่แข็งปรุงรส

ขั้นตอนที่ 2 การพัฒนาคำศัพท์

เมื่อทำการคัดเลือกผู้ทดสอบได้แล้ว ขั้นตอนต่อไปคือ การนำตัวอย่างมันเทศบดแช่แข็ง และมันเทศบดแช่แข็งปรุงรส มาทำการทดสอบเพื่อให้ผู้ทดสอบเกิดความคุ้นเคยกับลักษณะเฉพาะของตัวอย่าง โดยอาจจะทำการทดสอบครั้งละ 3-10 ตัวอย่าง แต่ต้องไม่ทำให้ผู้ทดสอบเกิดความเหนื่อยล้ามากเกินไป

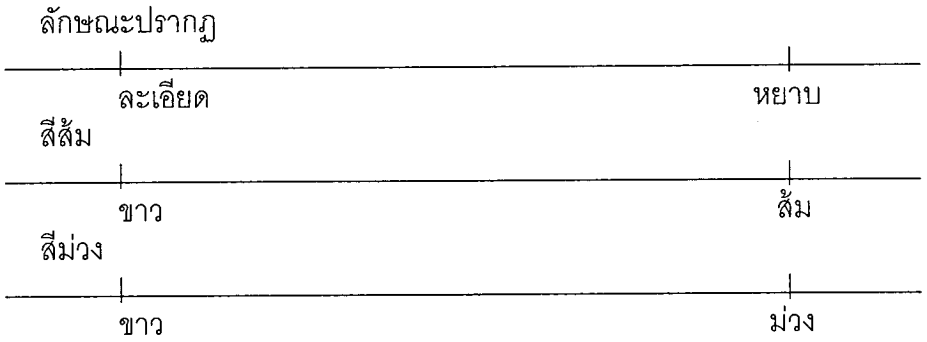
แต่งตั้งหัวหน้าผู้ทดสอบ (panel leader) โดยทำหน้าที่อำนวยความสะดวก เช่น การนำเสนอตัวอย่างแก่ผู้ทดสอบ และไกล่เกลี่ยปัญหาที่อาจเกิดขึ้นในระหว่างการประชุม แต่จะต้องไม่แสดงความคิดเห็นในการเสนอคำศัพท์ หรือไม่วิพากษ์วิจารณ์ใด ๆ

ผู้ทดสอบแต่ละคนต้องพยายามที่จะอธิบายคุณลักษณะต่าง ๆ ของตัวอย่างมันเทศบดแช่แข็ง และมันเทศบดแช่แข็งปรุงรส โดยให้เขียนลงในกระดาษ ไม่ปรึกษากัน จากนั้นหัวหน้าผู้ทดสอบจะถามผู้ทดสอบแต่ละคน และต้องพูดออกมาต่อที่ประชุมเพื่อให้ผู้ทดสอบคนอื่น ๆ ได้รับรู้ร่วมกัน และทำการถกเถียงหรือวิจารณ์ว่าคำศัพท์นั้น ๆ เหมาะสมหรือไม่อย่างไร

ทำการคัดเลือกคำศัพท์ที่เห็นว่าเหมาะสมที่สุด คำศัพท์ควรบ่งบอกความแตกต่างของลักษณะต่าง ๆ ที่ปรากฏ และเป็นลักษณะที่สำคัญของมันเทศบดแช่แข็ง และมันเทศบดแช่แข็งปรุงรสที่ควรจะทดสอบ ซึ่งเป็นคำศัพท์ที่ได้รับการตกลงกัน และเห็นชอบร่วมกันในที่ประชุม

ขั้นตอนที่ 3 การฝึกฝนผู้ทดสอบ

เมื่อได้คำศัพท์หรือคำนิยามที่เหมาะสมแล้ว ขั้นตอนต่อไป คือการฝึกฝนการตั้งค่าสเกล โดยจะใช้สเกลแบบเส้นตรง (line scale) ซึ่งจะมีความยาว 15 เซ็นติเมตร เว้นหัวท้ายด้านละ 1 เซ็นติเมตร และจะมีเพียงค่าต่ำสุด (min.) และสูงสุด (max.) อยู่ตรงหัวท้ายของสเกลเส้นตรงเท่านั้น หรืออาจให้คำที่มีลักษณะตรงข้ามกัน (bipolar) อยู่ตรงหัวท้ายของสเกล เช่น



ผู้ทดสอบจะทำการให้คะแนนคุณลักษณะต่าง ๆ ที่รับรู้ได้ โดยการทำเครื่องหมายลงบนจุดใดจุดหนึ่งของเส้นตรงที่คิดว่าเหมาะสม แล้วประชุมตกลงหาจุดเฉลี่ยที่สามารถบ่งบอกคุณลักษณะของตัวอย่างได้ดี แล้วปรับให้ทุกคนเข้าใจเหมือนกัน ทำการทดสอบแต่ละตัวอย่างจำนวน 2 - 3 ซ้ำหรือมากกว่านั้นจนผู้ทดสอบเกิดความชำนาญ และให้หัวหน้าผู้ทดสอบตรวจสอบความเที่ยงตรงของผู้ทดสอบแต่ละคนได้ โดยแบบทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาแบบทั่วไป (GDA) ดังแสดงในภาคผนวก ข

ขั้นตอนที่ 4 การทดสอบตัวอย่างจริง

ทำการทดสอบใน booth หรือผู้ทดสอบแต่ละคนแยกกัน ไม่มีการเผชิญหน้ากัน หรือปรึกษาหารือกัน มีการให้รหัสตัวอย่าง การให้แสงสว่างเพียงพอ และน้ำดื่มเพื่อล้างปาก ทำการประเมินความเข้มของแต่ละลักษณะ ในการทดสอบจากตัวอย่างหนึ่งไปอีกตัวอย่างหนึ่งนั้น ต้องมีการกลั้ว หรือล้างปากด้วยน้ำก่อนทุกครั้ง

ผลการทดสอบที่ได้จะถูกนำมาเปลี่ยนเป็นตัวเลข โดยให้วัดจากด้านหัวของสเกลจนถึงจุดที่ขีดลงบนเส้นตรงของแต่ละผู้ทดสอบหน่วยเป็นเซนติเมตร นำมาหาค่าคะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะ

3.2 ขั้นตอนการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของมันเทศบดแช่แข็งปรุงรส

การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์มันเทศบดแช่แข็งปรุงรสทั้งสองพันธุ์ ผู้ทดสอบทั่วไปที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 40 คน ทดสอบการยอมรับในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส รสชาติ ความนุ่มฟู ความรู้สึกในปาก และความชอบโดยรวม ด้วยการให้คะแนน จาก 1 ถึง 9 โดยระดับคะแนนมีดังนี้

1 = ไม่ชอบมากที่สุด	2 = ไม่ชอบมาก	3 = ไม่ชอบปานกลาง
4 =ไม่ชอบเล็กน้อย	5 = บอกไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ	6 = ชอบเล็กน้อย
7 = ชอบปานกลาง	8 = ชอบมาก	9 = ชอบมากที่สุด

ขั้นตอนการทดสอบการยอมรับ โดยวิธี 9 Point hedonic scale

1. ทำแบบสอบถามการยอมรับทางประสาทสัมผัส ดังแสดงในภาคผนวก ค
2. กำหนดรหัสเลขสุ่มตัวอย่างด้วยเลข 3 หลัก
3. จัดเรียงตัวอย่าง และเสิร์ฟตัวอย่างที่อุณหภูมิประมาณ 50±5 องศาเซลเซียส
4. ให้ผู้ทดสอบทำการทดสอบตัวอย่างตามลำดับที่แนะนำในแบบสอบถาม
5. รวบรวมผลการทดสอบ และบันทึกผล
6. วิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตอนที่ 3 การศึกษาผลของสภาวะเก็บรักษาและระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อคุณภาพ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของมันเทศบด และมันเทศบดปรุงรส

1. การศึกษาคุณภาพและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของมันเทศบดและมันเทศบดปรุงรส เก็บรักษาในสภาวะแช่เย็น

จากตอนที่ 1 คัดเลือกปริมาณแซนแทนกัม หรือเมธิลเซลลูโลสที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับแต่ละพันธุ์มันเทศที่ใช้ในการผลิตมันเทศบดแช่แข็ง และมันเทศบดแช่แข็งปรุงรส ชั่งตัวอย่างประมาณ 300 กรัม บรรจุใส่ภาชนะกล่องพลาสติก (PP) ปิดสนิทขนาด 450 มิลลิลิตร และเก็บรักษาในสภาวะแช่เย็น ที่อุณหภูมิประมาณ 4-6 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างวันที่ 0, 4, 8 และ 12 วัน นำมาวิเคราะห์ค่าคุณภาพด้านสี ค่าปริมาณน้ำที่แยกออกมาหลังผ่านการแช่แข็งและละลาย ตามวิธีในตอนที่ 1 ค่าคุณภาพทางจุลินทรีย์ ตามวิธีข้อ 3. และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ตามวิธีข้อ 4.

การทดลองนี้จัดแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) โดยมีตัวอย่างคือ มันเทศบดแช่แข็ง มันเทศบดแช่แข็งปรุงรส และตัวอย่างที่ผสมแซนแทนกัม หรือเมธิลเซลลูโลส ที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของมันเทศทั้งสองพันธุ์ และตัวอย่างมันฝรั่งบดทางการค้า (ตัวอย่างอ้างอิง) เก็บรักษาตัวอย่างในสภาวะแช่เย็น ที่อุณหภูมิประมาณ 4-6 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างทุก 4 วัน ผลการทดลองที่ได้ทดสอบความแปรปรวนด้วย ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยเปรียบเทียบผลของระยะเวลาในการเก็บรักษามันเทศที่มีพันธุ์ และวิธีการเตรียมเดียวกัน ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. การศึกษาคุณภาพและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของมันเทศบดและมันเทศบดปรุงรส เก็บรักษาในสภาวะแช่แข็ง

จากตอนที่ 1 คัดเลือกปริมาณแซนแทนกัม หรือเมธิลเซลลูโลสที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับแต่ละพันธุ์มันเทศที่ใช้ในการผลิตมันเทศบด และมันเทศบดปรุงรส ชั่งตัวอย่างประมาณ 300 กรัม บรรจุใส่ภาชนะกล่องพลาสติก (PP) ปิดสนิทขนาด 450 มิลลิลิตร และเก็บรักษาในสภาวะแช่แข็งที่อุณหภูมิประมาณ -20 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างที่ 0, 2, 4, 6 และ 12 เดือน นำมาวิเคราะห์ค่าคุณภาพด้านสี ค่าปริมาณน้ำที่แยกออกมาหลังผ่านการแช่แข็งและละลาย ตามวิธีในตอนที่ 1 ค่าคุณภาพทางจุลินทรีย์ ตามวิธีข้อ 3. และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ตามวิธีข้อ 4.

การทดลองนี้จัดแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) โดยมีตัวอย่างคือ มันเทศบดแช่แข็ง มันเทศบดแช่แข็งปรุงรส และตัวอย่างที่ผสมแซนแทนกัม หรือเมธิลเซลลูโลส ที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของมันเทศทั้งสองพันธุ์ และตัวอย่างมันฝรั่งบดทางการค้า (ตัวอย่างอ้างอิง) และเก็บรักษาในสภาวะแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างที่ 0, 2, 4, 6 และ 12 เดือน ผลการทดลองที่ได้ทดสอบความแปรปรวนด้วย ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยเปรียบเทียบผลของระยะเวลาในการเก็บรักษามันเทศที่มีพันธุ์ และวิธีการเตรียมเดียวกัน ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. การวัดค่าคุณภาพทางจุลินทรีย์

การวัดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM, 2001)

ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA) โดยใช้เทคนิค Pour plate เจือจางตัวอย่างลำดับส่วนแบบ 10 เท่า คือ $1:10^2$, $1:10^3$ และ $1:10^4$ ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างใส่ในเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อเปล่าที่ฆ่าเชื้อแล้ว เพลทละ 1 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 3 เพลทต่อ 1 dilution นำอาหารวุ้นที่อยู่ในสภาพที่หลอมเหลวในขวดอาหารจากอ่างควบคุมอุณหภูมิมาเทลงในเพลท โดยขณะที่เทใช้ฝาเพลทป้องกันส่วนผสมข้างในมิให้เชื้อจากอากาศตกลงไป หมุนเพลทไปมาให้ส่วนผสมเข้ากันดีกับอาหาร ตั้งทิ้งไว้จนวุ้นแข็งตัว แล้วจึงกลับด้านเพลทเพื่อป้องกันไม่ให้น้ำที่ติดบนฝาเพลทหยดลงบนวุ้นอาหาร นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี รายงานผลเป็น cfu/g (colony forming units per gram)

การวัดปริมาณยีสต์และรา (BAM, 2001)

ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Rose Bengal Agar ใช้เทคนิคการทำสเปรดเพลท (Spread plate method) เจือจางตัวอย่างลำดับส่วนแบบ 10 เท่าคือ $1:10^1$, $1:10^2$ และ $1:10^3$ ใช้ปิเปต

ดูดตัวอย่างแต่ละความเจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 3 เพลทต่อ 1 dilution ใส่ตัวอย่างลงบนอาหารวุ้นแข็ง Rose Bengal Agar และทำการเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารด้วย Sterile spreader รูปทรงตัว L ก่อนนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 48-72 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี รายงานผลเป็น cfu/g (colony forming units per gram)

4. การวัดคุณภาพด้านปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

เตรียมสารสกัดตัวอย่าง (Huang, et al., 2006, pp. 529-538)

ชั่งตัวอย่าง 1.85 ± 0.05 กรัม ผสมเมททานอล 80% ปริมาณ 15 มิลลิลิตร นำมาปั่นผสมด้วยเครื่อง Hotplate stirrer ที่อุณหภูมิห้อง เลือกระดับความเร็วในการปั่นระดับ 6 เป็นเวลา 10 นาที นำสารสกัดตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ 1600 g เป็นเวลา 15 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 ปรับปริมาตรสารสกัดตัวอย่างให้ได้ 25 มิลลิลิตร

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด

ตามวิธี Folin-Ciocalteu (Taga, et al., 1984, pp. 928-931) เทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก เตรียมสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ผสม (10%) Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาณ 5 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เติม sodium carbonate (75 กรัมต่อลิตร) ปริมาณ 4 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm (blank ใช้ เมททานอล 80% แทนตัวอย่าง) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ผลที่ได้แสดงในหน่วยมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ (Ali and Chang, 2008, pp. 977-985)

วิเคราะห์ค่าตามวิธีการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ โดยเตรียมสารสกัดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร เติม Sodium nitrite (5 กรัมต่อ100 มิลลิลิตร) 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน 1 นาที เติม $AlCl_3$ $6H_2O$ (10 มิลลิลิตรต่อ100 มิลลิลิตร) 600 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน 1 นาที เติม NaOH (1 โมลต่อลิตร) 2 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ 510 nm เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ คาเทชิน (Catechin) ผลที่ได้แสดงในหน่วยมิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ตามวิธี DPPH free radical scavenging method (Shimada, et al., 1992, pp. 945-948) เตรียมสารสกัดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ผสม 1 มิลลิลิตร เมททานอลที่ผสม DPPH 80 ppm เก็บในที่มืด 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm ใช้เมททานอลเป็น blank และใช้เมททานอลต่อ DPPH 80 ppm (1:1) เป็นตัวควบคุม แล้วคำนวณตามสูตรดังนี้

$$\% \text{ radical scavenging activity} = \frac{(\text{Control OD} - \text{sample OD})}{\text{Control OD}} \times 100$$

Control OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมที่ 517 nm

Sample OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ 517 nm

ค่าที่ได้นำมาเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐานโทรล็อก (trolox)

ตอนที่ 4 การศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของมันเทศบดแช่แข็ง และมันเทศบดแช่แข็งปรุงรส

จากตอนที่ 1 คัดเลือกปริมาณแซนแทนกัม หรือเมธิลเซลลูโลสที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับแต่ละพันธุ์มันเทศที่ใช้ในการผลิตมันเทศบดแช่แข็ง และมันเทศบดแช่แข็งปรุงรส นำตัวอย่างมันเทศบดทั้งสีม่วงและสีส้มประมาณ 300 กรัม บรรจุใส่ภาชนะกล่องพลาสติก (PP) ปิดสนิท ขนาด 450 มิลลิลิตร เตรียมตัวอย่าง 300 กรัม โดยละลายตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง และเตรียมตัวอย่างมันเทศบดแช่แข็งใส่ถ้วยแก้วสำหรับเข้าไมโครเวฟ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 18 เซนติเมตร ความสูง 8 เซนติเมตร ให้ความร้อนด้วยไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 800 วัตต์ เป็นเวลา 4 นาที เมื่อเข้าไมโครเวฟครบกำหนดเวลา ผสมตัวอย่างให้เข้ากันแล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ตามวิธีข้อ 4. ในตอนที่ 3

การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) โดยมีตัวอย่างคือ มันเทศบดแช่แข็ง มันเทศบดแช่แข็งปรุงรส และตัวอย่างที่ผสมแซนแทนกัม หรือเมธิลเซลลูโลส ที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของมันเทศทั้งสองพันธุ์ และตัวอย่างมันฝรั่งบดทางการค้า (ตัวอย่างอ้างอิง) ผลการทดลองที่ได้ทดสอบความแปรปรวนด้วย ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยเปรียบเทียบผลการทดลอง ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05