บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. วัสดุ อุปกรณ์และเครื่องมือ

1.1 สารเคมี

กรดซิตริค (Citric acid) เกรดที่ใช้กับอาหาร ของบริษัท เอส.พี.ไซน์ ประเทศไทย

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) เกรดที่ใช้ในการวิเคราะห์ ของบริษัท Ajax Finechem Pty Ltd. ประเทศนิวซีแลนด์

ฟีนอล์ฟทาลีน อินดิเคเตอร์ (Phenolpthalene indicator) เกรดที่ใช้ในการวิเคราะห์ ของบริษัท Merck ประเทศเยอรมัน

1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (Hand Refractometer, Atago) ของประเทศญี่ปุ่น

เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) Handylab pH 11/k ประเทศเยอรมัน

เครื่องปิดผนึกถุงด้วยสุญญากาศ (Vacuum Sealer) บริษัท Super Vac® ประเทศเยอรมัน

เครื่องวัดค่ากิจกรรมของน้ำ (Aqua Lab®Series 3 TE) บริษัท Decagon Devices, Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องชั่งละเอียด (Balance) รุ่น PB 4002-S ของบริษัท Mettler Toledo ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture analyzer) รุ่น TA.XT.Plus ของประเทศอังกฤษ

เครื่องวัดสี (Hunter Lab) รุ่น Ultrascan XE ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (Datataker) รุ่น DT800 ประเทศออสเตเรีย

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ รุ่น Haake DC 30 ของบริษัท Thermo electron ประเทศเยอรมัน

ตู้แช่เยือกแข็ง (Air blast freezer) ของบริษัท RIVACOLD ประเทศไทย

ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ – 20 °ซ รุ่น SF – 4992 NG ของบริษัท SANYO Uniliversell electric จำกัด มหาชน

1.3 วัตถุดิบ

ลำไยพันธุ์ดอ จากไร่ในจังหวัดสกลนคร แก่และสุกเต็มที่ ซึ่งมีอายุการเก็บเกี่ยว 180 วัน

น้ำตาลซูโครส ของบริษัทมิตรผล ประเทศไทย

มอลโทเดกซ์ทริน มีค่า DE เท่ากับ 12:06 ของบริษัทแอบ-บร้า ประเทศไทย

ซอร์บิทอลผง ของบริษัทวิกกี้ ประเทศไทย

2. วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.1 การเตรียมตัวอย่างลำไยและการศึกษาสมบัติบางประการของลำไยสด

2.1.1 การเตรียมตัวอย่างลำไย

คัดเลือกลำไยที่แก่และสุกเต็มที่ซึ่งมีอายุการเก็บเกี่ยว 180 วัน รวมทั้งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร มาล้างในสารละลายคลอรีน 100 ppm เป็นเวลา 5 นาที และล้างด้วยน้ำเปล่าอีกครั้งเป็นเวลา 1 นาที ปอกเปลือกคว้านเมล็ดออกด้วยมือโดยใช้มีดที่คมและสะอาด (Ngamjit and Sanguansri 2009) จากนั้นนำชิ้นเนื้อลำไยไปแช่ในสารละลายกรดซิตริก (citric acid) เข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (Tregunno and Goff 1996)

2.1.2 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี คุณสมบัติทางกายภาพของลำไยสด

เนื้อลำไยสด (ที่ไม่ได้แช่ในสารละลาย citric acid) จะถูกนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและกายภาพ ดังนี้

2.1.2.1 ค่าปริมาณความชื้น (AOAC 2000) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข (1.1)

2.1.2.2 ค่าปริมาณเยื่อใย (crude fiber) (AOAC 2000) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข (1.3)

2.1.2.3 ค่าปริมาณเถ้า (AOAC 2000) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข (1.2)

2.1.2.4 ค่า Total soluble solids โดยใช้ Hand Refractometer

2.1.2.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ pH meter

2.1.2.6 ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ (AOAC 2000) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข (1.4)

2.1.2.7 ค่าสีในระบบ CIELAB โดยรายงานค่าสีในรูป L*, a* และ b*

2.1.2.8 ค่าความแน่นเนื้อ (Firmness) (Ngamjit and Sanguansri 2009) โดยนำตัวอย่างชิ้นเนื้อลำไยสดมาวัดเนื้อสัมผัสโดยการทดสอบแบบใช้แรงกด (compression test) ใช้เครื่อง Texture analyzer ใช้หัวกดแบบทรงกระบอก (Cylinder probe) และกำหนดให้ค่า strain เป็น 50% สำหรับค่าความแน่นเนื้อหาได้จากแรงสูงสุดของการกด (maximum force of compression)

2.2 การหาอุณหภูมิและเวลาในการดึงน้ำบางส่วนออกจากชิ้นเนื้อลำไยโดยการออสโมซิสในสารละลายชนิดต่างๆ

ในการทดลองขั้นนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการหาอุณหภูมิและเวลาในการออสโมซิสที่ทำให้เกิดอัตราการสูญเสียน้ำสูงที่สุด (Maximum rate of water loss) ในสารละลายออสโมซิสชนิดต่างๆ

2.2.1 การหาอุณหภูมิและเวลาในการดึงน้ำบางส่วนออกจากชิ้นเนื้อลำไยโดยการออสโมซิสในสารละลายซูโครส

โดยในการทดลองจะแช่ชิ้นเนื้อลำไยที่เตรียมได้จากข้อ 2.1.1 ลงในสารละลายซูโครส ที่ความเข้มข้นร้อยละ 55 โดยน้ำหนักในอัตราส่วน 1:3 เป็นเวลา 0-5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส (Dermesonlouglou and others 2007) โดยในระหว่างการออสโมซิสจะสุ่มตัวอย่างจากแต่ละสภาวะการทดลองมาวัดการเปลี่ยนแปลงของค่าต่างๆ ดังนี้

2.2.1.1 ค่า Water loss (WL) และ Solid gain (SG) (Dermesonlouglou and others 2007) ซึ่งสามารถหาได้จากสมการที่ (1) และ (2) ดังนี้

$$WL = \frac{(M_0 - m_0) - (M - m)}{m_0} \text{ (g of water/g initial dry matter)} \quad (1)$$

$$SG = \frac{m - m_0}{m_0} \text{ (g of total solids/g initial dry matter)} \quad (2)$$

เมื่อ M_0 = มวลเริ่มต้นของตัวอย่างเนื้อลำไยสดก่อนการออสโมซิส

M = มวลของเนื้อลำไยหลังการออสโมซิสที่เวลาใดๆ

m_0 = มวลแห้ง (dry mass) ของตัวอย่างเนื้อลำไยสด

m = มวลแห้ง (dry mass) ของตัวอย่างเนื้อลำไยหลังการออสโมซิสที่เวลาใดๆ

สำหรับ อัตราการสูญเสียน้ำ (Rate of water loss) $= \frac{\text{WL}}{\text{เวลาในการออสโมซิส}}$

2.2.1.2 ค่า a_w โดยเครื่อง Aqua Lab ที่ 25 องศาเซลเซียส

ในการทดลองขั้นนี้ได้วางแผนการทดลองแบบ 2 x 6 Factorial in Completely Randomized Design โดยตัวแปรที่ศึกษา คืออุณหภูมิในการออสโมซิสและเวลาในการออสโมซิส จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย treatment โดยวิธี Duncan New's multiple range test โดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows Version 16.0 โดยการทดลอง 2 ซ้ำ

เกณฑ์ในการคัดเลือกสภาวะการทดลอง คือ อุณหภูมิและเวลาที่ทำให้อัตราการออสโมซิสสูงสุด

2.2.2 การหาอุณหภูมิและเวลาในการดึงน้ำบางส่วนออกจากชิ้นเนื้อลำไยโดยการออสโมซิสในสารละลายซอร์บิทอล

โดยในการทดลองจะแช่ชิ้นเนื้อลำไยที่เตรียมได้จากข้อ 2.1.1 ลงในสารละลายซอร์บิทอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 55 โดยน้ำหนักในอัตราส่วน 1:3 เป็นเวลา 0-5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส (Dermesonlouglou and others 2007) โดยในระหว่างการออสโมซิสจะวัดการเปลี่ยนแปลงของค่าต่างๆ ดังนี้

2.2.1.2 ค่า Water loss (WL) และ Solid gain (SG) (Dermesonlouglou and others 2007)

2.2.1.2 ค่า a_w โดยเครื่อง Aqua Lab ที่ 25 องศาเซลเซียส

ในการทดลองนี้ได้วางแผนการทดลองแบบ 2 x 6 Factorial in Completely Randomized Design โดยตัวแปรที่ศึกษา คืออุณหภูมิในการออสโมซิสและเวลาในการออสโมซิส จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย treatment โดยวิธี Duncan New's multiple range test โดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows Version 16.0 โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ

เกณฑ์ในการคัดเลือกสภาวะการทดลอง คือ อุณหภูมิและเวลาที่ทำให้อัตราการออสโมซิสสูงสุด

2.2.3 การหาอุณหภูมิและเวลาในการดึงน้ำบางส่วนออกจากชิ้นเนื้อลำไยโดยการออสโมซิสในสารละลายมอลโทเดกซ์ทริน

โดยในการทดลองจะแช่ชิ้นเนื้อลำไยที่เตรียมได้จากข้อ 2.1.1 ลงในสารละลายมอลโทเด็กซ์ทรินที่ความเข้มข้นร้อยละ 55 โดยน้ำหนักในอัตราส่วน 1:3 เป็นเวลา 0-5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส (Dermesonlouglou and others 2007) โดยในระหว่างการออสโมซิสจะวัดการเปลี่ยนแปลงของค่าต่างๆ ดังนี้

2.2.3.1 ค่า Water loss (WL) และ Solid gain (SG) (Dermesonlouglou and others 2007)

2.2.3.2 ค่า a_w โดยเครื่อง Aqua Lab ที่ 25 องศาเซลเซียส

ในการทดลองนี้ได้วางแผนการทดลองแบบ 2 x 6 Factorial in Completely Randomized Design โดยตัวแปรที่ศึกษา คืออุณหภูมิในการออสโมซิสและเวลาในการออสโมซิส จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย treatment โดยวิธี Duncan New's multiple range test โดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows Version 16.0 โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ

เกณฑ์ในการคัดเลือกสภาวะการทดลอง คือ อุณหภูมิและเวลาที่ทำให้อัตราการออสโมซิสสูงสุด

ดังนั้นเมื่อเสร็จสิ้นการทดลองที่ 2.2.1-2.2.3 จะทำให้ทราบอุณหภูมิและเวลาในการออสโมซิสที่ทำให้เกิดอัตราการถ่ายเทมวลหรืออัตราการออสโมซิสสูงสุดในสารละลายแต่ละชนิด

2.3 การศึกษาผลของชนิดของสารละลายที่ใช้ในการออสโมซิสต่อลักษณะคุณภาพของเนื้อลำไยแช่เยือกแข็งในระหว่างการเก็บในสภาพแช่เยือกแข็ง

ในการทดลองขั้นนี้จะดึงน้ำบางส่วนออกจากเนื้อลำไยสดโดยการออสโมซิสในสารละลาย 3 ชนิด คือ สารละลายซูโครส สารละลายมอลโทเดกซ์ทริน และสารละลายซอร์บิทอล โดยใช้อุณหภูมิและเวลาในการออสโมซิสตามที่เลือกได้ในข้อ 2.2.1-2.2.3 (1 ชั่วโมง ที่ 40 องศาเซลเซียส) นอกจากนี้จะใช้ตัวอย่างเนื้อลำไยสดที่เตรียมได้ในข้อ 2.1.1 โดยไม่ผ่านการออสโมซิสเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุม

2.3.1 การเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อลำไยทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านการออสโมซิสสำหรับนำไปแช่เยือกแข็ง

นำตัวอย่างชิ้นเนื้อลำไยที่ดึงน้ำออกบางส่วนแล้วรวมทั้งตัวอย่างควบคุมไปบรรจุลงในถุง PE/nylon แบบสุญญากาศ (ถุงละ 250 กรัม โดยไม่วางชิ้นลำไยซ้อนทับกัน) แล้วนำไปแช่เยือกแข็งโดยใช้ air blast freezer ที่อุณหภูมิ -35±1 องศาเซลเซียส จนอุณหภูมิที่จุดกึ่งกลางของผลิตภัณฑ์เป็น -18 องศาเซลเซียส ในขณะแช่เยือกแข็งจะติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่จุดกึ่งกลางของชิ้นเนื้อลำไยกับเวลาด้วย Data logger เพื่อนำมาหาอัตราการแช่เยือกแข็งและเวลาในการแช่เยือกแข็ง ซึ่งอัตราในการแช่เยือกแข็ง คำนวณหาได้จากสมการที่ (3) (Daniela and others 2009) ดังต่อไปนี้

$$FR = \frac{T_2 - T_1}{t_2 - t_1} \quad (3)$$

เมื่อ T_1 = อุณหภูมิการแช่เยือกแข็งเริ่มต้น (initial freezing point) ของตัวอย่าง ซึ่งหาได้จากกราฟการแช่เยือกแข็งโดยพิจารณาจากจุดที่อุณหภูมิคงที่ในช่วงระยะเวลาสั้นๆ และเป็นช่วงที่อุณหภูมิอยู่ต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส

T_2 = อุณหภูมิสุดท้ายในการแช่เยือกแข็ง (–18 องศาเซลเซียส)

(t_2-t_1) = เวลาที่ใช้ในการแช่เยือกแข็งจนอุณหภูมิสุดท้ายเป็น –18 องศาเซลเซียส

FR = อัตราการแช่เยือกแข็ง (องศาเซลเซียส/นาที)

โดย อุณหภูมิเริ่มต้นของตัวอย่างเนื้อลำไยก่อนนำมาแช่เยือกแข็ง = 23 องศาเซลเซียส

จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการแช่เยือกแข็งแล้วออกมาเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 ถึง 4 เดือน เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในด้านต่างๆในระหว่างการเก็บในสภาพแช่เยือกแข็ง

2.3.2 การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของชิ้นเนื้อลำไยแช่เยือกแข็งในระหว่างการเก็บในสภาพแช่เยือกแข็ง

โดยทุกๆ เดือนจะสุ่มตัวอย่างชิ้นเนื้อลำไยแช่เยือกแข็งออกมาละลายน้ำแข็งที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง (Marani and others 2007) จากนั้นก็นำมาตรวจสอบคุณภาพดังนี้

2.3.2.1 ค่าร้อยละของการสูญเสียน้ำระหว่างการละลายน้ำแข็ง (% Drip loss) (Marani and others 2007) โดยวางตัวอย่างอาหารแช่เยือกแข็ง (Frozen sample) บนกระดาษซับ (ที่ทราบมวลที่แน่นอน) จากนั้นนำไปละลายน้ำแข็งที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง จากนั้นนำกระดาษซับไปชั่งมวลอีกครั้ง คำนวณหาร้อยละของการสูญเสียน้ำระหว่างการละลายน้ำแข็งได้จากสมการที่ (4) ดังต่อไปนี้

$$DL(\%) = \frac{W_t - W_o}{W_s \times TS} \times 100 \quad (4)$$

เมื่อ W_0 = มวลของกระดาษซับก่อนการละลายน้ำแข็ง

W_t = มวลของกระดาษซับหลังการละลายน้ำแข็ง

W_s = มวลของตัวอย่างอาหารแช่เยือกแข็ง

TS = ปริมาณของแข็งในตัวอย่าง

2.3.2.2 ค่า ปริมาณความชื้นหลังการละลายน้ำแข็ง (AOAC 2000) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ข (1.1)

2.3.2.3 ค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Total soluble solids) หลังการละลายน้ำแข็งโดยใช้ Hand Refractometer

2.3.2.4 ค่าความแน่นเนื้อ (Firmness) (Ngamjit and Sanguansri 2009) โดยนำตัวอย่างที่ผ่านการละลายน้ำแข็ง (thawed sample) ที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง มาวัดเนื้อสัมผัสโดยการทดสอบ

แบบใช้แรงกด (compression test) โดยใช้เครื่อง Texture analyzer โดยใช้หัวกดแบบทรงกระบอก (Cylinder probe) และกำหนดให้ค่า strain เป็น 50% สำหรับค่าความแน่นเนื้อหาได้จากแรงสูงสุดของการกด (maximum force of compression)

2.3.2.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

2.3.2.6 ค่าสีในระบบ CIELAB โดยรายงานค่าสีในรูป L*, a* และ b* สำหรับค่าความแตกต่างของสีรวม (ΔE*) สามารถคำนวณได้สมการที่ (5) ดังต่อไปนี้

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_1 - L_2)^2 + (a_1 - a_2)^2 + (b_1 - b_2)^2} \quad (5)$$

เมื่อ 1 = ตัวอย่างเนื้อลำไยสด

2 = ตัวอย่างเนื้อลำไยหลังการละลายน้ำแข็ง

2.3.2.7 การประเมินคะแนนความชอบทางด้านสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส รสชาติ และการยอมรับรวมของตัวอย่างหลังการละลายน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง โดยใช้ 9-point hedonic scale (Ngamjit and Sanguansri 2009) ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน 30 คน

ในการทดลองขั้นนี้วางแผนการทดลองแบบ split plot โดยให้ เวลาในการเก็บตัวอย่างในสภาพแช่เยือกแข็ง (0 1 2 3 และ 4 เดือน) เป็น main plot และให้ชนิดของสารละลายที่ใช้ในการออสโมซิสก่อนการแช่เยือกแข็ง (ซูโครส มอลโทเดกซ์ทริน ซอร์บิทอลและตัวอย่างควบคุม) เป็น sub plot

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทรีตเมนท์โดยวิธี Duncan New's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ SPSS for Windows Version 16.0 ในการทดลองขั้นนี้จะทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3. สถานที่ทำการวิจัย

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น