

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัดถุดิบ อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.1.1 วัดถุดิบ

1) วัดถุดิบทำผงเปลือก ได้แก่ หัวเปลือกสด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ เปลือกหอม (PH), เปลือกหอม เชียงใหม่ (PHC), เปลือกไม้ (PM) และ เปลือกตาแดง (PT) จากตลาดศรีเมืองทอง จังหวัดขอนแก่น ได้จัดซื้อเปลือกเพื่อใช้ในการทดลองนี้สามช่วง คือ สามฤดูกาลเก็บเกี่ยว 2552-2553 คือ ฤดูร้อน (เดือนเมษายนและพฤษภาคม), ฤดูฝน (เดือนกรกฎาคมและตุลาคม) และฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายนและมกราคม)

2) วัดถุดิบทำผลิตภัณฑ์ก้วยเตี่ยว

2.1) ปลาขี้ขาวจาก โรงงานก้วยเตี่ยวนิคมสวรรค์โลก

2.2) น้ำ จากห้องปฏิบัติการ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น pH 6-7

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์

- 1) บีกเกอร์ขนาด 100, 250 และ 1000 มิลลิลิตร
- 2) กระบอกตวงขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร
- 3) หลอดทดลอง
- 4) หลอดทดลองฝาเกลียว (Screw cap tube)
- 5) นาฬิกาจับเวลา
- 6) ถ้วยหาความชื้น (Moisture can)
- 7) ถ้วยหาถ่าน (Crucible)
- 8) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 9) ขวดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 10) เทอร์โมมิเตอร์
- 11) ปิเปต ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
- 12) แท่งคนแม่เหล็ก (Magnetic bar)
- 13) แท่งแก้ว
- 14) โถดูดความชื้น (Dessicator)
- 15) เครื่องบดแป้ง (pin mill)
- 16) เครื่องสไลด์

- 17) เครื่องปั่น (Blender) Hi-sonic รุ่น 3526w
- 18) ตะแกรงขนาด 100 เมชและ 200 เมช (mesh) บริษัท เอส พี ไซน์ ประเทศไทย
- 19) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น AL 204 บริษัท Mettler Toledo ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
- 20) เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) รุ่น Z200 A บริษัท Hermle ประเทศเยอรมัน
- 21) ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) รุ่น ED 115 ของบริษัท Binder ประเทศเยอรมัน
- 22) อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) รุ่น DT1 บริษัท บริษัท Heto Lab Equipment ประเทศเดนมาร์ก
- 23) อ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Shaking water bath) รุ่น SBD 50 BIO บริษัท Heto Lab Equipment ประเทศเดนมาร์ก
- 24) เตาเผาอุณหภูมิสูง (Muffle furnace) รุ่น ELF 10/14 บริษัท Cabolite ประเทศญี่ปุ่น
- 25) Kjeltec system รุ่น 1022 Distilling unit บริษัท Tecator ประเทศเนเธอร์แลนด์
- 26) Soxtec system รุ่น HT1043 extraction unit บริษัท Tecator ประเทศสวีเดน
- 27) ตู้อบลมร้อนแบบถาด (Cabinet tray drying) ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 28) Rapid Visco Analyzer (RVA) บริษัท Newport scientific Pty. Ltd. Warriewood ประเทศออสเตรเลีย
- 29) Lambda 25 UV/Vis Spectrophotometer บริษัท Perkin-Elmer instruments ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 30) Texture Analyzer Plus รุ่น TA.XT. Plus บริษัท Stable Micro System ประเทศอังกฤษ
- 31) เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ของบริษัท Mettler-Toledo ประเทศจีน

3.1.3 สารเคมี

- 1) ชุดวิเคราะห์ปริมาณสตาร์ชทนย่อย (resistant starch assay kits) บริษัท Megazyme ประเทศไอร์แลนด์
- 2) Maleic acid (AR Grade) บริษัท Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์
- 3) Sodium hydroxide (AR Grade) บริษัท Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์
- 4) Sodium azide (AR Grade) บริษัท Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์
- 5) Glacial acetic acid (AR Grade) บริษัท เอส พี ไซน์ ประเทศไทย
- 6) Potassium Hydroxide (AR Grade) บริษัท เอส พี ไซน์ ประเทศไทย

- 7) Absolute ethanol (AR Grade) บริษัท เอส พี ไชน์ ประเทศไทย
- 8) Citric acid (Food grade) บริษัท เอส พี ไชน์ ประเทศไทย
- 9) Petroleum ether (AR Grade) บริษัท VWR International ประเทศอังกฤษ
- 10) conc. Sulfuric acid (AR Grade) บริษัท เอส พี ไชน์ ประเทศไทย
- 11) Boric acid (AR Grade) บริษัท Ajax Finechem ประเทศนิวซีแลนด์
- 12) Antiform (AR Grade) ยี่ห้อ Fluka ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
- 13) Ethanol 95% (AR Grade) บริษัท เอส พี ไชน์ ประเทศไทย
- 14) Acetone (AR Grade) บริษัท เอส พี ไชน์ ประเทศไทย
- 15) ชุดวิเคราะห์ปริมาณสตาร์ชทั้งหมด (total Starch Assay kit) บริษัท Megazyme ประเทศไอร์แลนด์

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาปริมาณสตาร์ชทนย่อยในหัวเผือกสดสายพันธุ์และฤดูกาลเก็บเกี่ยวที่แตกต่างกัน

แผนการทดลองปัจจัยในการศึกษานี้มี 2 ปัจจัย ได้แก่

ปัจจัยที่ 1 หัวเผือกสด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ เผือกหอม, เผือกหอมเชียงใหม่, เผือกไม้ และเผือกตาแดง

ปัจจัยที่ 2 ฤดูกาลเก็บเกี่ยว 3 ฤดู ได้แก่ ฤดูร้อน, ฤดูฝน และฤดูหนาว

การเตรียมหัวเผือกสดเพื่อวิเคราะห์ ทำโดยล้าง ปอกเปลือกเผือกและบดให้ละเอียด แล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AACC Approved Methods 44-19(2000)) และปริมาณสตาร์ชทนย่อยในหัวเผือกสด (AACC Standard Approved Methods 32-40 (2000)) ดังแสดงในภาคผนวก ก (ข้อ 5.) วางแผนการทดลองแบบ split plot in Completely Randomize Design (CRD) โดยกำหนดให้ฤดูกาลที่ตัวอย่างถูกสุ่มออกมาเป็น main or whole plot และสายพันธุ์เผือกเป็น sub-plot ทำการทดลองฤดูละ 2 ซ้ำ กล่าวคือซ้ำวัตถุดิบฤดูละ 2 ครั้ง (เดือน) และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 17 for Windows ในการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทีไรเมนต์โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.2.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของวิธีการไม่ต่อปริมาณสตาร์ชทนย่อยในผงเผือก

3.2.2.1 ศึกษาผลของวิธีการไม่ต่อปริมาณสตาร์ชทนย่อยในผงเผือก

ปัจจัยในการศึกษานี้มี 2 ปัจจัย ได้แก่

ปัจจัยที่ 1 วิธีการโม่ 2 วิธี คือการโม่แห้ง (dry milling) และการโม่เปียก (wet milling)
ปัจจัยที่ 2 ชนิดของพันธุ์เผือก 3 ระดับ (เผือกหอม เผือกหอมเชิงใหม่และเผือกไม้ที่เก็บเกี่ยวในฤดูร้อน)

วางแผนการทดลองแบบ 2x3 Factorial in Completely Randomized Design (CRD) จำนวนการทดลองทั้งหมด 6 การทดลอง โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 17 for Windows ในการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.2.2.2 การผลิตผงเผือก

1) การโม่แห้ง เตรียมตัวอย่างโดยนำวัตถุดิบมาหั่นตามขวางเป็นแผ่นขนาด 1 มิลลิเมตร แห้ในสารละลายซดริก ร้อยละ 1 นาน 5 นาที และนำไปทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส อบจนความชื้นสุดท้ายต่ำกว่าร้อยละ 13 จากนั้นบดให้เป็นแป้งด้วยเครื่องบด (Pin mill) ร่อนด้วยตะแกรงขนาด 100 เมช (149 ไมครอน) (วรภรณ์ สกลไชยและจันทน์ อริยะพงศ์สรรค์ 2551)

2) การโม่เปียก เตรียมตัวอย่างโดยนำวัตถุดิบมาหั่นตามขวางเป็นแผ่นขนาด 1 มิลลิเมตร แห้ในสารละลายกรดซดริก ร้อยละ 1 นาน 5 นาที และบดปั่นในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 0.1 (อัตราส่วน เผือกสด:สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ = 1:5) กรองผ่านตะแกรงขนาด 200 เมช (74 ไมครอน) นำส่วนที่เป็นน้ำแป้งมาปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส $4,250 \times g$ นาน 10 นาที นำส่วนที่เป็นแป้งชั้นล่างสุดมาเติมน้ำกลั่นแล้วปรับให้ได้ pH 7 ด้วยสารละลายกรดซดริก ร้อยละ 10 นำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง นำส่วนที่เป็นแป้งชั้นล่างสุดไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนความชื้นสุดท้าย 10-11% แล้วนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

3.2.2.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของผงเผือก

-วิเคราะห์ปริมาณสตาร์ชทนย่อย โดยใช้วิธี AACC Standard Approved Methods 32-40 (2000). ดังแสดงในภาคผนวก ก (ข้อ 5.)

-วิเคราะห์ปริมาณสตาร์ชทั้งหมด (Total starch) โดยใช้วิธี AACC Standard Approved Methods 76-13 (2000). ดังแสดงในภาคผนวก ก (ข้อ 6.)

-วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผงเผือก ได้แก่ ปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน และไขมัน โดยวิธีของ AACC Approved Methods 44-19, 08-01, 46-11A และ 30-10 (2000) ตามลำดับ ดังแสดงในภาคผนวก ก (ข้อ 1, 2, 4 และ 3. ตามลำดับ)

-วัดค่าสี (color) ($L^*a^*b^*$) ผงเผือกโดยใช้เครื่อง Minolta Chromameter รุ่น CT300 และดัชนีความขาว (Whiteness (WI)) = $100 - [(100-L)^2 + a^2 + b^2]^{0.5}$ ดังแสดงในภาคผนวก ก (ข้อ 7.)

-วิเคราะห์คุณสมบัติความหนืด (pasting properties) โดยใช้เครื่อง Rapid Visco Analyzer ตามวิธี AACC Approved Methods 61-02 (2000) ดังแสดงในภาคผนวก ก (ข้อ 10.)

-วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 17 for Window ในการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทีไรท์เมนต์โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.2.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการใช้ผงเผือก ในผลิตภัณฑ์ก๋วยเตี๋ยว

3.2.3.1 การผลิตก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กสด ส่วนผสมในการทำเส้นเล็กสด ประกอบด้วย ปลายข้าวและน้ำ ซึ่งมีกระบวนการผลิตโดยสังเขปดังนี้ แช่ปลายข้าวในน้ำ (อัตราส่วนข้าว 40 กรัมต่อน้ำ 60 มิลลิลิตร) นาน 3 ชั่วโมง ทำการไม่ส่วนผสม และกรองน้ำแป้งผ่านตระแกรง 100 เมช จากนั้นตวงน้ำแป้งปริมาตร 50 มิลลิลิตรแล้วเทน้ำแป้งลงในภาชนะให้น้ำแป้งมีความหนา 0.5 มิลลิเมตร ทำการนึ่ง 2 นาที ทิ้งให้เย็น 1 นาทีแล้วลอกแผ่นก๋วยเตี๋ยวนอกจากภาชนะ จากนั้นนำแผ่นก๋วยเตี๋ยวมารีดย้อนกันนาน 4-6 ชั่วโมง แผ่นก๋วยเตี๋ยวจะมีความชื้นประมาณร้อยละ 30-40 ตัดให้เป็นเส้นเล็กมีความกว้าง 0.5 เซนติเมตร บรรจุลงในถุงโพลีเอทิลีน ปิดผนึกปากถุงให้สนิท เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อรอทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพต่อไป

3.2.3.2 ศึกษาปริมาณการทดแทนผงเผือกในผลิตภัณฑ์ก๋วยเตี๋ยว

แผนการทดลองปัจจัยในการศึกษานี้มี 2 ปัจจัย ได้แก่

ปัจจัยที่ 1 ชนิดแป้งและสตราซ์จากเผือก (แป้งและสตราซ์จากเผือกข้อ 3.2.2) 6 ชนิด

ปัจจัยที่ 2 ระดับการทดแทนแป้งข้าวเจ้า 3 ระดับ คือ ร้อยละ 10 20 และ 30

วางแผนการทดลองแบบ 6x3 Factorial in Completely Randomized Design (CRD) จำนวนการทดลองทั้งหมด 18 การทดลอง โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ นำไปวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

-วิเคราะห์ปริมาณสตราซ์ทนย่อยของก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กสด โดยใช้วิธี AACC Standard Approved Methods 32-40 (2000). ดังแสดงในภาคผนวก ก (ข้อ 5.)

-วัดค่าสีของก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กสดโดยใช้เครื่อง Minolta Chromameter รุ่น CT300 ($L^*a^*b^*$) และดัชนีความขาว (Whiteness (WI)) = $100 - [(100-L)^2 + a^2 + b^2]^{0.5}$ ดังแสดงในภาคผนวก ก (ข้อ 7.)

-วิเคราะห์เนื้อสัมผัส (ความนุ่มและความยืดหยุ่นของเส้น) โดยวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสแบบ TPA compression ร้อยละ 70 (Application study for noodle; N001/SPR, Revised: March 06)

และ Tensile strength (Application study for noodle; N002/P2, Revised: March 06) โดยใช้เครื่อง Texture Analyzer ดังแสดงในภาคผนวก ก (ข้อ 8.)

-วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 17 for Window ในการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.2.3.3 ศึกษาผลของการอบแห้งต่อคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ก๋วยเตี๋ยว

นำเส้นเล็กสดจากข้อ 3.2.3.2 โดยคัดเลือกจากคุณภาพของเนื้อสัมผัสและปริมาณแป้งทนย่อย นำไปศึกษาผลของการอบแห้ง มีปัจจัยในการศึกษานี้มี 3 ปัจจัย ได้แก่

ปัจจัยที่ 1 ก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กสด 3 ชนิด (ข้อ 3.2.3.2)

ปัจจัยที่ 2 อุณหภูมิในการอบแห้ง 2 ระดับ คือ 45 และ 55 องศาเซลเซียส

ปัจจัยที่ 3 ความเร็วลม 2 ระดับ คือ 0.4 และ 0.6 เมตรต่อวินาที

ทำการอบแห้งก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กแห้งจนมีความชื้นร้อยละ 10-11 ซึ่งระยะเวลาในการอบแห้ง ดังนี้

1. อบแห้งที่ 45 องศาเซลเซียส ความเร็วลม 0.4 เมตรต่อวินาที ระยะเวลา 1 ชั่วโมง
2. อบแห้งที่ 45 องศาเซลเซียส ความเร็วลม 0.6 เมตรต่อวินาที ระยะเวลา 55 นาที
3. อบแห้งที่ 55 องศาเซลเซียส ความเร็วลม 0.4 เมตรต่อวินาที ระยะเวลา 55 นาที
4. อบแห้งที่ 55 องศาเซลเซียส ความเร็วลม 0.6 เมตรต่อวินาที ระยะเวลา 53 นาที

วางแผนการทดลองแบบ $3 \times 2 \times 2$ Factorial in Completely Randomized Design (CRD) จำนวนการทดลองทั้งหมด 12 การทดลอง โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำและนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี

การเตรียมตัวอย่างก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กแห้งก่อนนำไปวัดคุณสมบัติต่างๆ โดยคืนรูปด้วยการแช่ก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กแห้งในน้ำ (อัตราส่วนเส้นเล็กแห้ง 150 กรัม ต่อน้ำ 300 มิลลิลิตร) นาน 3 นาที แล้วนำไปปลวกในน้ำเดือดนาน 1 นาที สะเด็ดน้ำออกให้หมด

-วิเคราะห์ปริมาณสารขมของก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กแห้งคืนรูป โดยใช้วิธี AACC Standard Approved Methods 32-40 (2000). ดังแสดงในภาคผนวก ก (ข้อ 5.)

-วิเคราะห์เนื้อสัมผัส โดยวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสแบบ TPA compression ร้อยละ 70 (Application study for noodle; N001/SPR, Revised: March 06) และ Tensile strength (Application study for noodle; N002/P2, Revised: March 06) โดยใช้เครื่อง Texture Analyzer ดังแสดงในภาคผนวก ก (ข้อ 8.)

-วิเคราะห์การสูญเสียของแข็งขณะหุงต้ม (cooking loss) ดังแสดงในภาคผนวก ก (ข้อ 9.)

- ค่าสีของถ้วยเตี๋ยวหลังลวกโดยใช้เครื่อง Minolta Chromameter รุ่น CT300 ($L^*a^*b^*$) และดัชนีความขาว (Whiteness (WI)) = $100 - [(100 - L)^2 + a^2 + b^2]^{0.5}$ ดังแสดงในภาคผนวก ก (ข้อ 7.)

- วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 17 for Window ในการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.2.3.4 ศึกษาการความชอบของผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์ถ้วยเตี๋ยวเส้นเล็กที่ใช้สตาร์ชทนย่อยจากเผือกทดแทนแป้งข้าวเจ้า

ทำการเลือกถ้วยเตี๋ยวเส้นเล็กแห้งที่ใช้แป้งเผือกทดแทนแป้งข้าวเจ้ามา 3 สูตรจากข้อ 3.2.3.3 จะทำการทดสอบชิมเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ถ้วยเตี๋ยวเส้นเล็กทางการค้า 2 ชนิดและเส้นเล็กแห้งสูตรควบคุม (ไม่มีสตาร์ชทนย่อยจากเผือก) โดยทดสอบความชอบของผู้บริโภค 100 คน โดยใช้ 9 point Hedonic Scale วัดค่าคะแนนความชอบคุณลักษณะต่างๆ ได้แก่ กลิ่น สี เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม

การเตรียมตัวอย่างเพื่อทดสอบชิมทำได้โดยนำถ้วยเตี๋ยวเส้นเล็กแห้ง ทำการแช่น้ำเป็นเวลา 3 นาทีที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำมาลวกในน้ำเดือดนาน 1 นาที จากนั้นทำการสะเด็ดน้ำ

ออกแบบการทดลองแบบ latin square วางแผนการทดสอบชิมแบบ Balance first order carry-over effects (Macfie and Bratchell 1989) แล้วจัดกลุ่มรูปแบบความชอบของผู้บริโภคโดยใช้เทคนิค Principle Component Analysis (PCA) และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 17 for Windows ในการวิเคราะห์ความแปรปรวน จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.3 สถานที่ทำการวิจัย

การศึกษานี้ส่วนใหญ่เป็นระดับการทดลองที่สเกลขนาดเล็กจึงจัดทำที่ห้องปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์และทางกายภาพและห้องปฏิบัติการทางประสาทสัมผัส ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น เมื่อได้ผลวิจัยที่สรุปได้แล้วทำการคัดเลือกเพื่อไปทดสอบในระดับสเกลที่ใหญ่ขึ้นโดยทำการทดลองที่โรงงานถ้วยเตี๋ยวชนิดยี่ห้อ สวรรคโลก จ.สุโขทัย ซึ่งเป็นโรงงานที่ได้ทำโครงการวิจัยร่วม ซึ่งได้รับการสนับสนุนด้านการเงินจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)