

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### วัตถุประสงค์

มันเทศ (*Ipomoea batatas L.*) สายพันธุ์ พจ.65-3 หัวรูปทรงแบบยาวรี หัวมีผิวสีแดง เนื้อสีม่วง ขนาดของหัวเฉลี่ย กว้าง 3.5 เซนติเมตร ยาว 13.6 เซนติเมตร อายุเก็บเกี่ยว 90-110 และมันเทศสายพันธุ์ T101 หัวรูปทรงแบบยาวรี หัวมีผิวสีส้มแดงเนื้อสีส้มเข้ม ขนาดของหัวเฉลี่ย กว้าง 6.0 เซนติเมตร ยาว 16.7 เซนติเมตร อายุเก็บเกี่ยว 90-120 วัน เพาะปลูกจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาเขตที่ 2 อำเภอเมือง จังหวัดพิจิตร

นำมันถั่วเหลือง จากบริษัท พี.เอ.เอส. พีซผลส่งออกและไซโล จำกัด อำเภอสุวรรณคโลก จังหวัดสุโขทัย

#### สารเคมี

1. Ethanol
2. Methanol
3. Acetone
4. Petroleum ether
5. Butylated hydroxyanisole (BHA)
6. Butylated hydroxytoluene (BHT)
7. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
8. 2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation (ABTS)
9. Folin-Ciocalteu phenol reagent
10. Sodium carbonate
11. Gallic acid
12. Sodium nitrite
13. Aluminium chloride
14. Sodium hydroxide
15. Potassium chloride
16. Sodium acetate

17. Acetic acid
18. Potassium persulfate
19. Chloroform
20. Potassium iodide
21. Sodium Thiosulfate
22. 1-butanol
23. 2-Thiobabaturic acid
24. Diethyl ether
25. Phenolphalein

#### เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. ขวดรูปชมพู่
2. ขวดปรับปริมาตร
3. กระจกตวง
4. บิวเรต
5. บีกเกอร์
6. ปีเปต
7. กระจกกรอง
8. ตะแกรง
9. ขาดตั้งบิวเรต
10. ลูกยาง
11. แท่งแก้ว
12. กรวยกรอง
13. หลอดทดลอง
14. ช้อนตักสาร
15. หลอดหยด
16. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
17. โถดูดความชื้น
18. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven: SHEL LAB, 1357 FX)

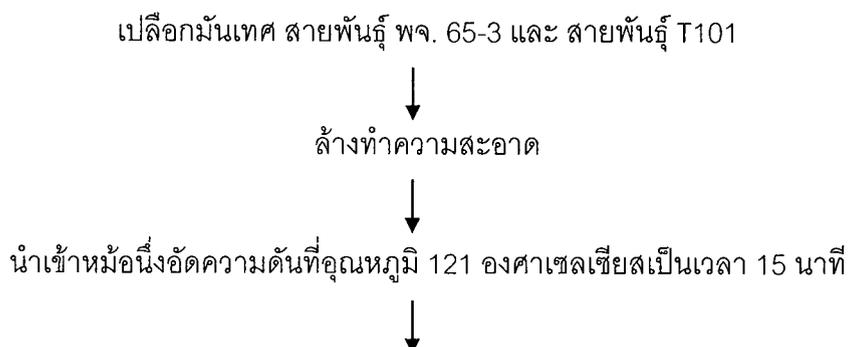
19. ชุดวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Soxhlet extractor: Buchi, B-810)
20. เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evaporator)
21. เครื่องวัดสี (Colorimeter: HUNTER LAB, DP 9000)
22. หม้อน้ำอัดความอัดไฟฟ้า ชนิดไอน้ำ (ALP, KT 30L)
23. เครื่องทำให้อาหารเข้มข้นขึ้นแบบสูญญากาศ (Evaporator: Buchi, R-114)
24. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath: Poly Science, 8205)
25. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง UV-VIS (Perkin Elmar, Lambda 20)
26. เครื่องวัดความชื้นอัตโนมัติ (Sartorius, MA 40)

### วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมตัวอย่างมันเทศ (ศิวพร ศิวเวช และณัฐฐินี ใจสะอาด, 2546)

1. ล้างทำความสะอาดมันเทศ จากนั้นปอกเปลือกมันเทศ
2. นำเปลือกมันเทศเข้าหม้อน้ำอัดความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที เพื่อเป็นการทำลายเอนไซม์และฆ่าเชื้อจุลินทรีย์
3. ทำแห้งเปลือกมันเทศด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนมีความชื้นประมาณร้อยละ 7
4. นำเปลือกมันเทศมาบดให้ละเอียด ให้มีขนาดประมาณ 0.02 เซนติเมตร โดยการร่อนผ่านตะแกรงที่มีขนาด 0.02 เซนติเมตร
5. นำเปลือกมันเทศไปสกัดไขมันออกโดยใช้วิธี Bligh and Dyer (1959)
6. ทำแห้งเปลือกมันเทศอีกครั้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนมีความชื้นประมาณร้อยละ 7 เก็บตัวอย่างเปลือกมันเทศที่สกัดไขมันแล้วนำวิเคราะห์ต่อไป

### แผนภาพแสดงการเตรียมตัวอย่าง





1.6 ทำการระเหยตัวทำละลายออกให้แห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

## 2. การวิเคราะห์สายพันธุ์ที่เหมาะสมของเปลือกมันเทศในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

2.1 ผลผลิตร้อยละ

2.2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (AOAC, 2000)

2.3 ปริมาณแอนโทไซยานิน (AOAC, 2000)

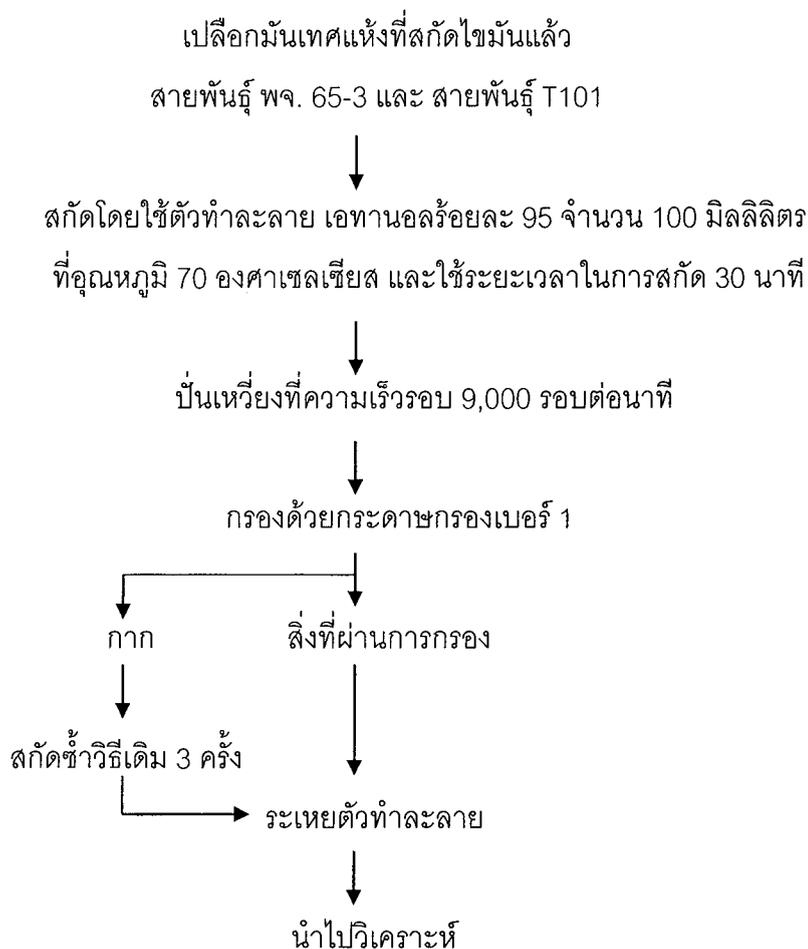
2.4 ปริมาณฟลาโวนอยด์ (AOAC, 2000)

2.5 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (Jung, et al., 2006)

2.6 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (Jung, et al., 2006)

คัดเลือกสายพันธุ์ให้เหลือสายพันธุ์เดียว โดยพิจารณาคัดเลือกจากสายพันธุ์ที่มีสารประกอบฟีนอลิก กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มากที่สุด เพื่อศึกษาต่อในขั้นตอนต่อไป

## แผนภาพแสดงการศึกษาสายพันธุ์ที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก



ภาพ 11 การศึกษาสายพันธุ์ที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก

### ตอนที่ 2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกมันเทศ

นำเปลือกมันเทศสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกจากตอนที่ 1 มาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกโดยใช้ตัวทำละลาย ได้แก่ เมทานอลร้อยละ 95 เอทานอลร้อยละ 95 และอะซีโตน โดยใช้อุณหภูมิในการสกัด 50 70 และ 90 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการสกัด 30 60 และ 90 นาที

## 1. วิธีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดหาสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกมันเทศ

1.1 ชั่งน้ำหนักเปลือกมันเทศที่ผ่านการสกัดไขมันออกแล้วจำนวน 10 กรัม

1.2 นำเปลือกมันเทศมาสกัดโดยใช้ตัวทำละลายได้แก่ เมทานอลร้อยละ 95 เอทานอลร้อยละ 95 และอะซีโตนจำนวน 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 50 70 และ 90 องศาเซลเซียส และใช้ระยะเวลาในการสกัด 30 60 และ 90 นาที โดยการนำตัวอย่างแช่ในตัวทำละลาย

1.3 ผสมตัวทำละลายกับเปลือกมันเทศให้เข้ากัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 9,000 รอบต่อนาที

1.4 นำตัวอย่างมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

1.5 ทำการสกัดตัวอย่างซ้ำด้วยวิธีเดิมจำนวน 3 ซ้ำ นำสารละลายที่สกัดได้ในแต่ละซ้ำมารวมกัน

1.6 ทำการระเหยตัวทำละลายออกให้แห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

## 2. การวิเคราะห์สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก และตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกมันเทศ

2.1 ผลผลิตร้อยละ

2.2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (AOAC, 2000)

2.3 ปริมาณแอนโทไซยานิน (AOAC, 2000)

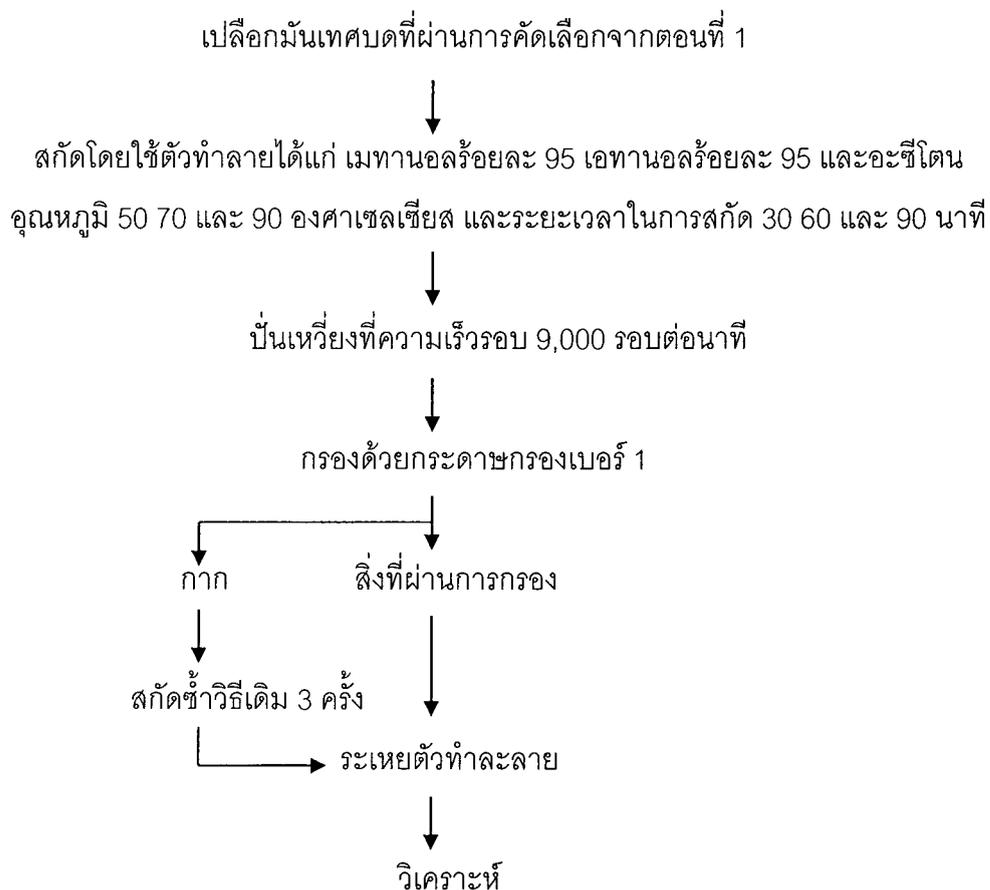
2.4 ปริมาณฟลาโวนอยด์ (AOAC, 2000)

2.5 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (Jung, et al., 2006)

2.6 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (Jung, et al., 2006)

คัดเลือกตัวทำละลาย อุณหภูมิ และระยะเวลาในการสกัดที่เหมาะสมที่สุด โดยพิจารณาจากสภาวะที่ให้ สารประกอบฟีนอลิก กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มากที่สุด เพื่อศึกษาต่อในขั้นต่อไป

## แผนภาพแสดงการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก



ภาพ 12 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก

### ตอนที่ 3 การประยุกต์ใช้สารสกัดจากเปลือกมันเทศในน้ำมันถั่วเหลือง

นำสารสกัดจากเปลือกมันเทศโดยเลือกสภาวะการสกัดที่ให้ประสิทธิภาพที่ดีที่สุด มาทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นวัตถุกันหืนโดยเปรียบเทียบกับวัตถุกันหืนสังเคราะห์ BHA BHT และก๊าชไนโตรเจน

#### 1. วิธีการประยุกต์ใช้สารสกัดจากเปลือกมันเทศในน้ำมันถั่วเหลือง

1.1 เตรียมตัวอย่างน้ำมันถั่วเหลือง 1 ลิตร

1.2 เติมสารสกัดจากเปลือกมันเทศ (ใช้สารสกัดจากเปลือกมันเทศที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด) ที่ระดับความเข้มข้น 0 400 800 1,200 1,600 ppm วัตถุกันหืนสังเคราะห์ (BHA และ BHT) ที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm และก๊าชไนโตรเจนในอัตราส่วน 1:1 ใส่ในตัวอย่างน้ำมันถั่วเหลือง 1 ลิตร

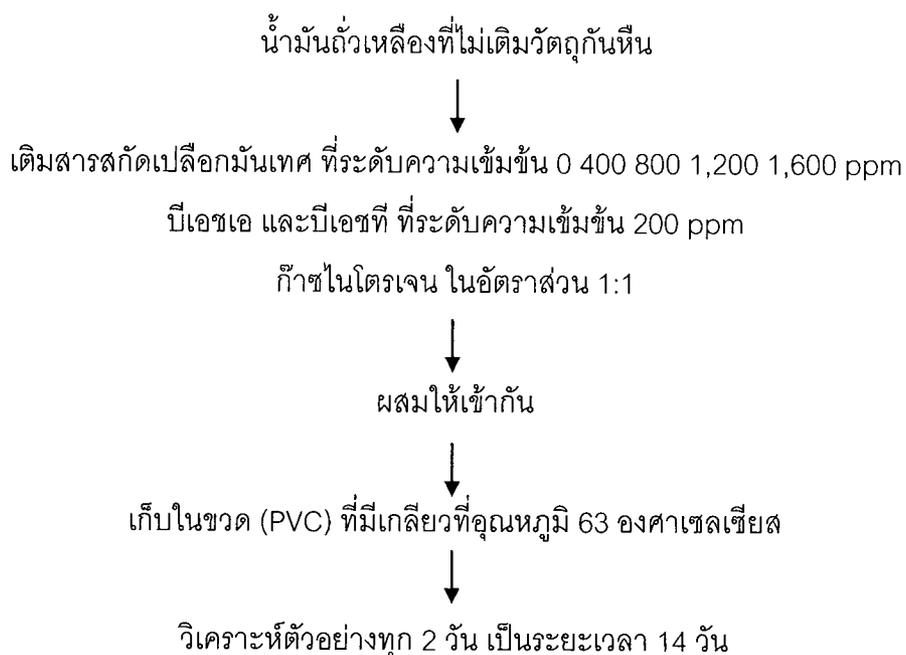
1.3 ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดที่มีฝาเกลียวปิดชนิดโพลีไวนิลคลอไรด์ (polyvinylchloride, PVC)

1.4 เก็บตัวอย่างที่สภาวะเร่ง อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน โดยนำมาทำการตรวจวัดประสิทธิภาพการเป็นวัตถุกันหื่นทุกๆ 2 วัน (ศิวาพร ศิวเวช และณัฐฐินี ใจสะอาด, 2546)

## 2. การตรวจสอบทดสอบประสิทธิภาพในการวัตถุกันหื่นในน้ำมัน

- 2.1 ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value) (AOCS, 2009)
- 2.2 ค่ากรดไทโอบาร์บิทูริก (Thiobarbituric acid value) (AOCS, 2009)
- 2.3 ค่าพาราแอนนิซิดีน (*p* - Anisidine value) (AOCS, 2009)
- 2.4 ค่ากรดไขมันอิสระ (Free fatty acid) (AOCS, 2009)
- 2.5 ค่าสี (Colorimeter: HUNTER LAB, DP 9000)

แผนภาพแสดงการศึกษาการประยุกต์ใช้สารสกัดจากเปลือกมันเทศในผลิตภัณฑ์น้ำมันถั่วเหลือง



ภาพ 13 การประยุกต์ใช้สารสกัดจากเปลือกมันเทศ

### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยการนำข้อมูลที่ได้มาประเมินผลความแตกต่างด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และทดสอบความแตกต่างระหว่างตัวอย่างด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95