

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบ

ผลหูกวางสุก (เปลือกสีน้ำตาล) เก็บที่โรงเรียนประชาสามัคคี โรงเรียนวัดห้วยดั่ง โรงเรียนวัดหาดใหญ่ โรงเรียนวัดโคกสมอ และโรงเรียนศึกษาคุณบุตร ตำบลพรหมพิราม อำเภอพรหมพิราม จังหวัดพิษณุโลก ช่วงเดือนช่วงเดือนกรกฎาคมถึงเดือนสิงหาคมและเดือนตุลาคมถึงเดือนพฤศจิกายน และเมล็ดถั่วเหลืองบรรจุในถุงพลาสติก ขนาด 500 กรัม ยี่ห้อไรท์พรีซ์ ซื้อจากห้างสรรพสินค้าเทสโก้ โลตัส

สารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัย

1. สารละลายเฮกเซน (Hexane) A.R. grade : Univar , Australia
2. สารละลายคลอโรฟอร์ม (Chloroform) A.R. grade : Merck , Germany
3. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) A.R. grade : Merck , Germany
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) A.R. grade : Merck , Germany
5. สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ (C_2H_5OH) A.R. grade : Merck , Germany
6. กรดอะซิติก (CH_3COOH) A.R. grade : Merck , Germany
7. สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) A.R. grade : Unilab , Australia
8. สารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$) A.R. grade : Univar, Australia
8. น้ำแป้ง (A.R. grade : Famitalia , Germany)
9. สารละลายฟีนอล์ฟธาลิน ($C_{20}H_{14}O_4$) A.R. grade : Univar , Australia
10. สารละลายไดเอธิลอีเทอร์ ($C_4H_{10}O$) A.R. grade : Labscan , Ireland
11. สารละลายไฮโดรคลอริก (HCl) A.R. grade : J.T. Baker , USA
12. ถ่านฟอกสี (Commercial grade)

เครื่องมือที่ใช้ในการทำงานวิจัย

อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดน้ำมัน

1. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven Model รุ่น 5300)
2. เครื่องบดอาหาร (รุ่น CBG5 Black และ Decker ประเทศ Canada)
3. เครื่องชั่ง 3 ตำแหน่ง (ยี่ห้อ METTIER TORLEDO รุ่น 503-S)
4. ชุดสกัด Soxhlet
5. อ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (ยี่ห้อ MEMMERT)
6. เครื่องปั่นเหวี่ยงตะกอนแบบควบคุมอุณหภูมิ (ยี่ห้อ CENTURION รุ่น K240 R)
7. เครื่องระเหยสุญญากาศ (ยี่ห้อ BUCHI รุ่น R-2)
8. กระดาษกรอง เบอร์ 1

วิธีดำเนินการวิจัย

ระเบียบวิธีวิจัย

1. ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง

ในงานวิจัยนี้ใช้ผลหูกวาง (เปลือกสีน้ำตาล) ที่เก็บรวบรวมได้จากโรงเรียนประชาสามัคคี โรงเรียนวัดห้วยดั่ง โรงเรียนวัดหาดใหญ่ โรงเรียนวัดโคกสมอ และโรงเรียนศึกษากุลบุตร ตำบลพรหมพิราม อำเภอพรหมพิราม จังหวัดพิษณุโลก โดยนำผลหูกวางมาล้างทำความสะอาดและอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นใช้มีดผ่าเปลือกแข็งออก นำเมล็ด (seed) ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนเมล็ดมีความชื้นที่ 4.5% จากนั้นนำเมล็ดมาบดในเครื่องบดกาแฟ (รุ่น CBG5 , Black และ Decker ประเทศแคนาดา) เป็นเวลา 1 นาทีเพื่อนำไปสกัดน้ำมัน ในส่วนของเมล็ดตัวเหลืองทำเช่นเดียวกับเมล็ดหูกวาง โดยนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนเมล็ดมีความชื้นที่ 4.5% จากนั้นนำเมล็ดมาบดในเครื่องบดกาแฟ (รุ่น CBG5 , Black และ Decker ประเทศแคนาดา) เป็นเวลา 1 นาทีเพื่อนำไปสกัดน้ำมัน

2. การศึกษาองค์ประกอบพื้นฐานของเมล็ดหูกวาง

นำเมล็ดหูกวาง (seed) มาวิเคราะห์องค์ประกอบพื้นฐานของเมล็ดหูกวาง ซึ่งประกอบด้วย

- 2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (AOAC. Method 40.1.04, 1995)
- 2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (AOAC. Method 40.1.05, 1995)
- 2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (AOAC. Method 40.1.06, 1995)

2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณเส้นใยอาหาร (AOAC. Method 40.1.07, 1995)

2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (AOAC. Method 40.1.03, 1995)

2.6 การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดโดยการคำนวณ

3. วิธีการสกัดน้ำมันจากเมล็ดหูกวางด้วยตัวทำละลาย

3.1 การสกัดด้วยเครื่องมือสกัดแบบซ็อกเล็ต (Soxhlet extractor) (ดัดแปลงจาก AOAC. Method 40.1.05, 1995) ซึ่งตัวอย่างเมล็ดหูกวางบดละเอียดจำนวน 50 กรัม ใส่ลงในหลอดสำหรับสกัดทำด้วยกระดาษกรอง (Paper extraction thimble) ปิดด้านบนด้วยสำลี จากนั้นนำ thimble ใส่ลงในชุดสกัดแบบซ็อกเล็ต เติมตัวทำละลายเฮกเซนลงไป 250 มิลลิลิตร สกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง และนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (ยี่ห้อ BUCHI รุ่น R-2) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที

3.2 การสกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceration extraction)

3.2.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (ดัดแปลงจาก El-Adaway and Taha, 2001) ซึ่งตัวอย่างเมล็ดหูกวางที่บดละเอียดจำนวน 50 กรัม เติมตัวทำละลายเฮกเซน 250 มิลลิลิตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และนำไปเหวี่ยงที่ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำไปกรองแยกส่วนที่เป็นตัวทำละลายและน้ำมันออกและนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (ยี่ห้อ BUCHI รุ่น R-2) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที

3.2.2 การสกัดด้วยตัวทำละลายร่วมกับปัจจัยเร่ง ได้แก่ ความร้อนและการเขย่า (ดัดแปลงจาก Yong and Salimon, 2006) ซึ่งตัวอย่างเมล็ดหูกวางบดละเอียดจำนวน 50 กรัม เติมตัวทำละลายเฮกเซน 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ 175 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และนำไปเหวี่ยงที่ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นกรองแยกส่วนที่เป็นตัวทำละลายและน้ำมันออก นำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (ยี่ห้อ BUCHI รุ่น R-2) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที

ตาราง 4 วิธีการสกัดน้ำมันจากเมล็ดหูกวางด้วยตัวทำละลาย

วิธีการ	ตัวทำละลาย	เวลา	สภาวะแรง
วิธีการสกัดด้วยเครื่อง สกัดแบบซีออกเล็ด	เฮกเซน	4 ชั่วโมง	-
วิธีการสกัดด้วยวิธีการหมัก	เฮกเซน	4 ชั่วโมง	-
วิธีการสกัดด้วยวิธีการหมักร่วมกับปัจจัยแรง	เฮกเซน	4 ชั่วโมง	เขย่าที่ 175 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

4. การปรับปรุงคุณภาพน้ำมันดิบ

นำน้ำมันที่ได้จากวิธีสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมและเข้าสู่วิธีการทำให้บริสุทธิ์โดยขั้นตอนต่างๆ ดังนี้ (ดัดแปลงจาก Nkpa, et al., 1989; Roy, 1976)

4.1 De-gumming เป็นวิธีการแยกกัม เรซิน โปรตีน และฟอสฟาไทด์ ออกจากน้ำมันดิบ ซึ่งทำได้ดังนี้

4.1.1 ปรับอุณหภูมิน้ำมันให้อยู่ในช่วง 70 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเติมน้ำลงในน้ำมันประมาณ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณน้ำมัน

4.1.2 ผสมให้เข้ากันนาน 30 นาที

4.1.3 แยกโดยการเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตะกอนแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่ 6,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที

4.2. การกำจัดกรด เป็นวิธีการกำจัดกรดไขมันอิสระออกจากน้ำมันดิบ โดยการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยให้ทำปฏิกิริยากับกรด ทำได้ดังนี้

4.2.1 ปรับอุณหภูมิน้ำมันให้ได้ 80 องศาเซลเซียส แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล โดยปริมาณสารละลายต่างที่ใช้คำนวณได้จากสูตรดังนี้ (Golam, et al., 1990)

$$Q = \frac{Q1 \times P \times A \times 1000}{100 \times M \times N}$$

โดย Q = ปริมาณสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ (ลิตร)

Q1 = ปริมาณน้ำมันที่ใช้ในกระบวนการ (ลิตร)

P = ค่าความถ่วงจำเพาะของน้ำมัน

A = ค่าความเป็นกรดของน้ำมัน (เปอร์เซ็นต์)

M = น้ำหนักโมเลกุลของกรดไขมัน (โดยส่วนใหญ่ใช้น้ำหนักโมเลกุล

ของกรดไขมันชนิด oleic acid = 282)

N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้

4.2.2 กวนอย่างรวดเร็ว จนเกิดสบู่ โดยใช้เวลา 10 นาที

4.2.3 ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนแยกชั้น

4.2.4 แยกสบู่โดยช้อนออกจากผิวหน้า

4.2.5 ล้างสบู่และด่างที่ตกค้างออกจากน้ำมันด้วยน้ำร้อนซ้ำหลายครั้ง โดยใช้

ร้อนปริมาตรร้อยละ 10 ของน้ำมัน จนน้ำมันเป็นกลาง

4.2.6 เหยียงแยกน้ำและสบู่ที่เหลือออกด้วยเครื่องเหยียงที่ 6,000 รอบต่อนาที

เป็นเวลา 5 นาที

4.3 การฟอกสี เป็นกระบวนการที่ใช้แยกเอาสารประกอบที่เป็นสารสีต่างๆ ที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำมันออก ทำได้ดังนี้

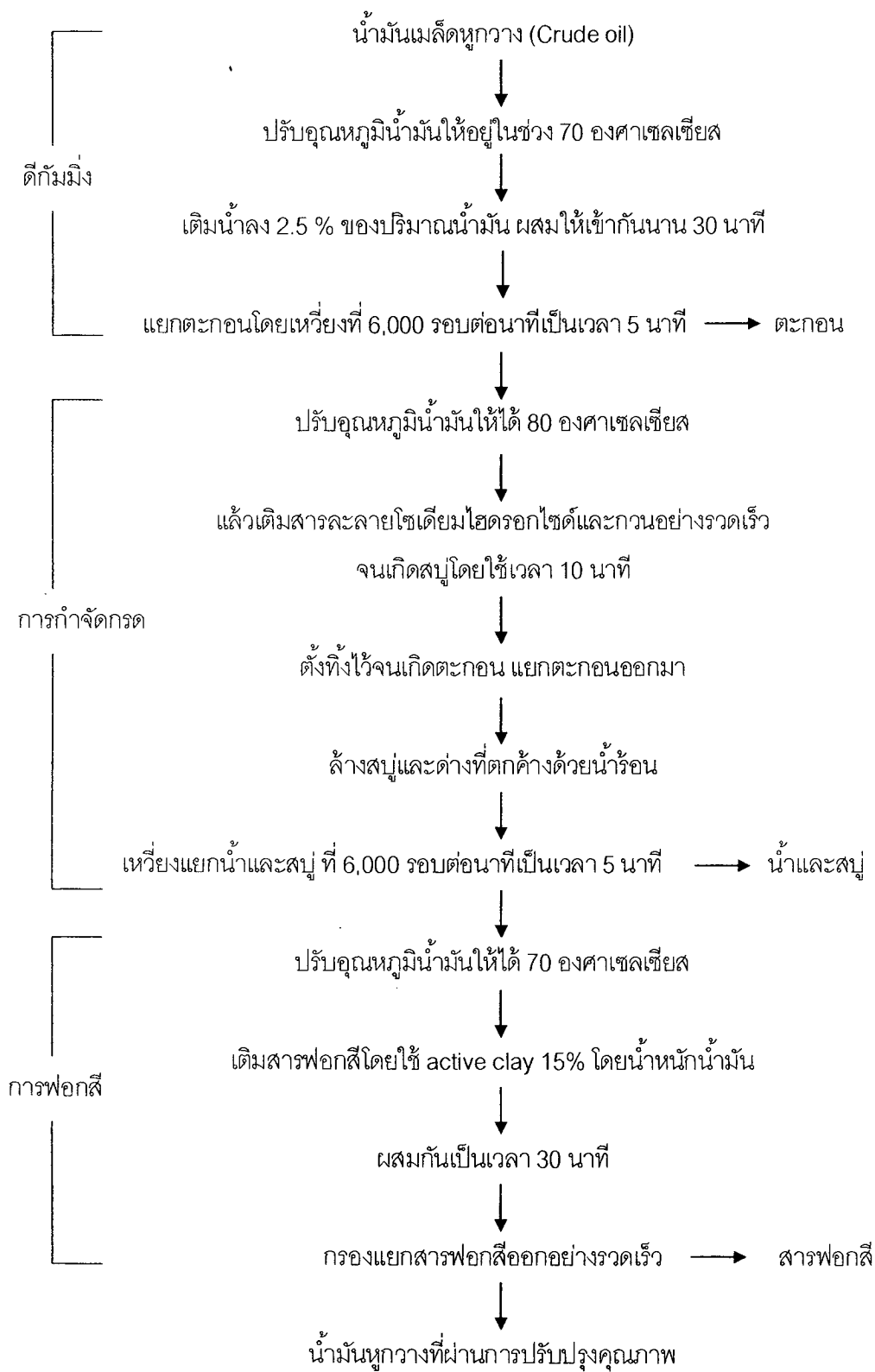
4.3.1 ปรับอุณหภูมิน้ำมันให้อยู่ในช่วง 70 องศาเซลเซียส

4.3.2 เติมดินฟอกสี (active clay) 15% โดยน้ำหนักน้ำมัน

4.3.3 ผสมกันเป็นเวลา 30 นาที โดยเพิ่มความร้อนจนอุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึงระดับ

110 องศาเซลเซียส

4.3.4 กรองแยกสารฟอกสีออกอย่างรวดเร็วโดยไม่ต้องรอให้เย็น



ภาพ 2 กระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำมัน

5. การศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันดิบและน้ำมันที่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพ

โดยศึกษาสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำมันหุงวางเปรียบเทียบกับน้ำมันถั่วเหลืองที่สกัดภายใต้สภาวะเดียวกัน

5.1 การวิเคราะห์ทางกายภาพของน้ำมัน

5.1.1 วิเคราะห์ค่าสีโดยระบบ CIE (L^* , a^* และ b^*) ด้วยเครื่อง Hunter lab รุ่น DP 9000

5.1.2 วิเคราะห์ความหนืด ด้วยเครื่อง Brookfield DV-I โดยใช้หัว S 0 ความเร็วรอบ 100 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

5.1.3 วิเคราะห์ความถ่วงจำเพาะ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (AOAC. Method 40.1.08, 1990)

5.1.4 วิเคราะห์จุดหลอมเหลว ด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimeters (DSC)

5.2 การวิเคราะห์ทางเคมีของน้ำมัน

5.2.1 ค่าสaponifiy (AOAC. Method 920.160, 1995)

5.2.2 ค่าสารที่สaponifiy ไม่ได้ (AOAC. Method 933.08, 1995)

5.2.3 ค่าความเป็นกรด (AOAC. Method 940.28, 1990)

5.2.4 ค่าเปอร์ออกไซด์ (AOAC. Method 965.33, 1990)

5.2.5 ปริมาณกรดไขมัน (AOAC. Method 969.33, 2005)

5.2.6 ปริมาณโลหะ ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometry

5.2.7 ปริมาณวิตามินอี (AOCS Ce 8-89, 1993)

5.2.8 ปริมาณสเตอรอล (Laakso, 2005)

6. การศึกษาผลการเก็บของน้ำมันที่ผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพต่อคุณภาพของน้ำมัน

การทดสอบคุณภาพของน้ำมันเมล็ดหุงวางเปรียบเทียบกับน้ำมันถั่วเหลือง โดยการเก็บภายใต้สภาวะเร่ง ได้แก่ ที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วัน โดยเก็บน้ำมัน 25 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 15x150 มิลลิเมตร ปิดด้วยฝาพลาสติก และวัดระดับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทุก 7 วัน โดยวัดค่าดังนี้

6.1 วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด (AOAC. Method 940.28, 1990)

6.2 วิเคราะห์ค่า TBARS (Buege and Aust, 1978)

6.3 วิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (AOAC. Method 965.33, 1990)

7. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD, completely randomized design) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ มีการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของทั้ง 3 วิธีการสกัดน้ำมัน โดยวิธี Duncan's Multiple Range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95