

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมตัวอย่างและสกัดแยกแ่่งจากเม็ดทุเรียน

งานวิจัยจัดซื้อเม็ดทุเรียนจากโรงงานแปรรูปในเขตจังหวัดในภาคตะวันออก หลังจากขนส่งมาที่ห้องปฏิบัติการ มาปอกเอาเม็ดออก จากนั้นนำเม็ดมาล้างทำความสะอาดภายนอกอย่างรวดเร็วด้วยน้ำกลั่น ปอกเปลือกทั้งชั้นนอกและลอกเยื่อหุ้มชั้นในออก และนำมาผ่านกระบวนการสกัดแยกแ่่ง โดยดัดแปลงมาจากวิธีการของ Bobio et al. (1978) เพื่อให้เหมาะสมกับตัวอย่างเม็ดทุเรียน โดยนำเม็ดทุเรียนที่ปอกเปลือกออกแล้วมาปั่นผสมกับสารละลาย 0.5% NaHSO_3 ในสัดส่วน 1:1 โดยน้ำหนักเป็นเวลา 2 นาที ของเหลวแขวนลอย (slurry) ที่ได้จะนำมาแยกเยื่อใยที่ไม่ละลายน้ำที่เป็นองค์ประกอบในเม็ดทุเรียนออกโดยบีบผ่านผ้าขาวบาง นำของเหลวสีขาวนมที่ได้มาวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อให้เกิดการแยกชั้นของเหลวออกจากของแข็ง กรองของแข็งออกโดยวิธีการ decantation ล้างด้วยน้ำกลั่นและ 80% เอทานอล ทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งของแข็งที่ได้มีค่าความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 13 โดยน้ำหนัก หลังจากทำให้แห้งแล้วเก็บไว้ในถุงพลาสติกที่ปิดสนิทจนกว่าจะนำมาใช้งานต่อไป

การวิเคราะห์สมบัติของแ่่งเม็ดทุเรียน

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (chemical analysis) ปริมาณความชื้น (moisture content) วิเคราะห์โดยหาน้ำหนักที่สูญเสีย (weight loss) โดยใช้แ่่งตัวอย่าง 2 กรัม นำมาอบที่อุณหภูมิ 100°C จนได้น้ำหนักคงที่ (Amin et al., 2007) ปริมาณเถ้าทั้งหมด (total ash content) วิเคราะห์ตามวิธีการของ AOAC Official Method 923.03 (AOAC, 1990) ปริมาณโปรตีน และไขมัน วิเคราะห์ตามวิธีการของ AACC method 46-13 และ 30-25 ตามลำดับ (AACC, 1983)
2. สี (color) วิเคราะห์โดยใช้ Hunter Lab colorimeter รุ่น DP 9000 และใช้ standard plate no C2-38460 ที่มีค่า Y_{CIE} 83.21 X_{CIE} 81.26 และ Z_{CIE} 98.77 สำหรับ calibration เครื่องมือ บันทึกผลด้วยค่าพารามิเตอร์สี (color parameter) เป็น L^* (degree of the lightness), a^* (greenness/redness) และ b^* (blueness/yellowness) คำนวณและรายงานผลด้วยค่า Hue angle ($H^\circ = \tan^{-1} (b^*/a^*)$) และ Chroma ($C = a^{*2} + b^{*2}^{1/2}$)

3. ปริมาณอะไมเลส (amylase content) วิเคราะห์โดยใช้ colorimetric method ตามวิธีการของ Juliano B.O. (1971) โดยใช้สารละลายมาตรฐานของอะไมเลสของมันฝรั่ง (potato amylase, type III) ในการเตรียมกราฟมาตรฐาน และอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร
4. ความหนืด (viscosity) วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA, model 3D; Newport Scientific Pty., New South Wales, Australia) โดยใช้แป้ง 3 กรัม (ความชื้น 14%) ในน้ำ 25 กรัม เป็นสารมาตรฐาน การวิเคราะห์ความหนืดจะให้ความร้อนกับสารละลายแป้งจนถึงอุณหภูมิ 95°C จากนั้นจึงทำให้เย็นอุณหภูมิ 25°C ในสถานะที่อุณหภูมิห้อง และรายงานผลในรูปของ peak time (°C), pasting temperature (°C), peak viscosity, holding strength และ viscosity after holding at 95°C และ final viscosity at the end of the test (RVU) และคำนวณหาค่า set back และ breakdown โดยใช้ RVA software version 2.1
5. มอร์ฟอโลยีของเม็ดแป้ง (starch granular morphology) วิเคราะห์โดยใช้เทคนิค scanning electron microscope (SEM) ด้วยเครื่อง LEO/1455 Vp โดยเคลือบด้วยทองที่ความหนา 50 นาโนเมตร และตรวจวัดในสถานะ acceleration voltage 10 kV
6. เจลาติไนเซชัน (Gelatinization) วิเคราะห์โดยใช้เทคนิค DSC (differential scanning calorimeter) ด้วยเครื่อง PERKIN ELMER DSC7 ตามวิธีของ Kim (1995) และรายงานผลในรูปของ T_0 = onset temperature, T_p = peak temperature, T_c = conclusion temperature, R = gelatinization range $2(T_p - T_0)$, ΔH_{gel} = enthalpy of gelatinization (dw/b, based on starch weight), PHI = peak height index $\Delta H_{gel}/(T_p - T_0)$
7. ความเสถียรและความโปร่งใส (stability and clarity) วิเคราะห์ตามวิธีของ Sanchez-Hernandez et al. (2002) โดยละลายแป้ง 5 กรัมในน้ำ 5 มล. ในหลอดทดลองที่มีฝาปิด ให้ความร้อนในอ่างน้ำเดือด 60 นาที โดยเขย่าขวดทุก 5 นาที หลังจากทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (15 นาที) นำไปวัด % Transmittance (%T) ที่ 650 นาโนเมตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ($30 \pm 2^\circ\text{C}$) และที่ 4°C และนำมาตรวจวัดค่า %T ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง
8. ประสิทธิภาพในการอุ้มน้ำ (water retention capacity) วิเคราะห์ตามวิธีการของ Bryant and Hamaker (1997) โดยเติมน้ำลงในแป้งที่ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนพร้อมหลอดเซ็นตริฟิวจ์ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่ 60, 70, 80 และ 90°C เป็นเวลา 15 นาที โดยเขย่าทุก 5 นาที จากนั้นจึงนำไปปั่นเหวี่ยงที่ $1000 \times g$ เป็นเวลา 15 นาที เทน้ำใสออกและตั้งหลอดให้ท่ามุม 45 องศาทิ้งไว้เพื่อกำจัดน้ำที่หลงเหลืออีก 10 นาที จากนั้นชั่งน้ำหนักหลอดอีกครั้ง น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นจะถูกใช้เพื่อคำนวณหาค่าประสิทธิภาพในการอุ้มน้ำ

9. การพองตัว (swelling capacity) วิเคราะห์ตามวิธีการของ Sanchez-Hernandez et al. (2002) โดยใช้สารละลายแป้งที่ความเข้มข้น 1% (w/w) ในขวดรูปชมพู่ (flask) ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60, 70 80 และ 90 °C เป็นเวลา 30 นาที โดยเขย่าทุก 5 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5000 x g เป็นเวลา 10 นาที รินน้ำใสออกและนำไปอบแห้งจนตะกอนที่ได้มีน้ำหนักคงที่ ทำให้เย็น ชั่งน้ำหนักตะกอน แล้วนำไปคำนวณหาค่าการพองตัว

การศึกษาการลดการดูดซับน้ำมันของชิ้นทุเรียนทอดโดยใช้ฟิล์มแป้งเม็ดทุเรียน

ทุเรียนที่ใช้เป็นทุเรียนพันธุ์หมอนทองโดยจัดซื้อจากซูปเปอร์มาเก็ตในเขตจังหวัดพิษณุโลก คัดเลือกเนื้อทุเรียนที่มีความแน่นเนื้อใกล้เคียงกันมาตัดออกเป็นแผ่นที่มีความหนาในช่วง 5 มม. สำหรับทุเรียนที่ยังไม่ได้นำมาใช้จะถูกจัดเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

การเตรียมฟิล์มแป้งเม็ดทุเรียนนำมาจากวิธีการของ Pimpa and Pimpa (2011) โดยผสมแป้งเม็ดทุเรียน (5% w/v) และกลีเซอรอล (30% w/w starch) ในสารละลาย 10% (w/w starch) citric acid และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 ± 5 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมงในอ่างน้ำร้อน (water bath) นำมาทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง (30 ± 2 °C, 60%RH) จากนั้นนำชิ้นทุเรียนมาจุ่มในสารละลายฟิล์มแป้งเม็ดทุเรียนที่อุณหภูมิห้อง โดยมีวิธีการจัดการก่อนนำไปทอดตามที่กำหนด หลังจากนั้นนำไปทอดโดยใช้น้ำมันปาล์มด้วยสัดส่วนของน้ำมันทุเรียน:ปริมาณน้ำมัน (1: 20) โดยใช้หม้อทอดน้ำมันไฟฟ้าปริมาณ 3 ลิตร โดยศึกษาปัจจัยดังต่อไปนี้

1. อุณหภูมิที่ใช้ในการทอด 3 ระดับคือ 150, 170 และ 190 °C
2. ระยะเวลาที่ใช้ทอดใน 5 ระดับ คือ 2, 4, 6, 8 และ 10 นาที
3. วิธีการจัดการก่อนและหลังทอดน้ำมัน

การศึกษาการเสริมแคลเซียมของชิ้นทุเรียนโดยใช้กระบวนการแช่ในสภาวะสุญญากาศ

สารละลายออสโมติก (osmotic solution) ที่ใช้เป็นสารละลายผสมระหว่างซูโครสและแคลเซียมแลกเตต (calcium lactate) ในความเข้มข้นตามที่กำหนด โดยแช่ชิ้นทุเรียนแช่ในสารละลายออสโมติกในสภาวะที่มีความดันและเวลาตามที่กำหนด ล้างน้ำกลั่นอย่างรวดเร็ว แล้วซับให้แห้งด้วยกระดาษทิชชู ชั่งน้ำหนักของชิ้นทุเรียน (ความหนาประมาณ 5 มม.) ก่อนและหลังผ่านกระบวนการแช่ โดยศึกษาปัจจัยดังต่อไปนี้

1. สภาวะที่ใช้แช่ชิ้นทุเรียนที่ความดัน 2 ระดับ คือ สุญญากาศ (50 mbar) และสภาวะปกติ (1000 mbar)
2. ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 2 ระดับ คือ 20 และ 55 % (w/v)
3. ความเข้มข้นของแคลเซียมแลกเตรต 3 ระดับ คือ 2, 4 และ 6% (w/w)

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของชิ้นทุเรียน

1. ปริมาณความชื้น วิเคราะห์โดยวิธีการอบด้วยตู้อบ (oven method) ตามวิธีการของ AOAC (1984) ใช้ตัวอย่าง 2 กรัม และรายงานผลในหน่วยร้อยละโดยน้ำหนักของตัวอย่างเปียก
2. ปริมาณน้ำมันทั้งหมด (total oil content) เป็นปริมาณน้ำมันที่เป็นผลรวมของปริมาณน้ำมันที่พื้นผิว (surface oil content) และปริมาณน้ำมันโครงสร้าง (structural oil content) โดยใช้เทคนิค Soxhlet extraction ด้วยตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ (AOAC, 1984) และรายงานผลเป็น crude fat content ในหน่วยของ % โดยน้ำหนักของตัวอย่างเปียก
3. สี วิเคราะห์โดยใช้ Hunter Lab colorimeter รุ่น DP 9000 ใช้ standard plate no C2-38460 ที่มีค่า Y_{CIE} 83.21 X_{CIE} 81.26 และ Z_{CIE} 98.77 และรายงานผลด้วยค่า L^* , a^* และ b^*
4. เนื้อสัมผัส (texture) วิเคราะห์ในรูปของความแข็ง (hardness) ด้วยเครื่อง Instron รุ่น 4411 ใช้หัวตัดน้ำหนัก 500 N load cell และความเร็ว 100 มม./นาที รายงานค่า maximum force เพื่อบ่งบอกถึงความแข็งทั้งหมด (overall hardness)
5. โครงสร้างทางจุลภาค (microstructure) วิเคราะห์โดย scanning electron microscope รุ่น LEO/1455 Vp
6. ปริมาณแคลเซียม (calcium content) วิเคราะห์ตามวิธีการของ Barrera et al. (2009) โดยใช้ตัวอย่าง 6 กรัมใส่ในพอร์ซเลนครุชีเบล (porcelain crucible) นำไปเผาที่ 250 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงก่อนจะเพิ่มอุณหภูมิเป็น 550 °C จนสารอินทรีย์ถูกกำจัดหมดให้ได้เถ้าขาว หลังทำให้เย็น เติม 65% HNO_3 0.5 มล. และปรับปริมาตรเป็น 100 มล. ด้วยน้ำที่ปราศจากไอออน (deionized water) จากนั้นเจือจางเพื่อให้สารละลายมีความเข้มข้นของแคลเซียมอยู่ในช่วง 0-50 ppm ก่อนนำไปตรวจวัดด้วยเครื่อง ion couple plasma spectrometer (ICP) ของ JOBIN-YVON รุ่น JY238

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวางแผนการวิจัยเป็นแบบ completely randomized design (CRD) โดยทุกการทดลองทำ 3 ซ้ำ และรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย (mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ของแต่ละชุดข้อมูล ทุกการทดลองใช้สารเคมีที่มีความบริสุทธิ์สูง (Analytical grade) วิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีการแปรปรวนทางเดียว (One way analysis of variance) โดยใช้โปรแกรม SPSS กรณีที่ผลทดสอบทางสถิติพบนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 จะใช้การเปรียบเทียบความแตกต่างรายคู่ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ย สำหรับข้อมูลที่มีความสำคัญจะทำการทดลองซ้ำเพื่อยืนยันผลการทดลองที่ได้

