

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบ

- เมล็ดงาดำ (*Sesamum indicum* Linn.)
- น้ำตาลทรายบดละเอียด

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการทางเคมีของวัตถุดิบ

- Sodium hydroxide (AR grade)
- Boric acid (AR grade)
- Hydrochloric acid (AR grade)
- Modified methyl red indicator
- Selenium reagent mixture (AR grade)
- Sulfuric acid (AR grade)
- Petroleum ether (AR grade)
- Thiobarbituric acid
- สารกันฟอง (Silicone antifoam)
- Boron trifluoride
- Methyl alcohol
- Heptane
- ก๊าซไนโตรเจน

สารให้ความคงตัวที่ใช้ในการป้องกันการแยกชั้นของน้ำมัน

- Lecithin (รายละเอียดดังภาคผนวก จ.1)
- GrinstedTM Triglyceride (รายละเอียดดังภาคผนวก จ.2)
- Distilled Monoglyceride (รายละเอียดดังภาคผนวก จ.3)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

- อาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar (PCA)
- อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA)

อุปกรณ์

อุปกรณ์ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

- ชุดย่อยและกลั่นโปรตีน Kjeldaltherm and Vapodest Gerhadt, KT 85)
- เตาเผาช่วงอุณหภูมิ 500-700°C (Furnace Carbolite, MEL 11-2)
- เตาอบช่วงอุณหภูมิ 0-250°C (WTB Binder, E53)
- เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, A200S)
- เครื่องปั่นความเร็วรอบสูง (Commercial blender, Waring)
- อุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน (Soxtherm Automatic, S-226)
- เครื่องปั่นของแข็ง (Philips, HR 2836)
- ชุดอุปกรณ์กลั่นสำหรับวิเคราะห์ค่า Thiobarbituric acid number (TBA)
- อุปกรณ์ Gas Chromatography
- Spectrophotometer (Milton Roy, Spectronic 601)

อุปกรณ์ในการผลิตเนยงาดำ

- เครื่องคั่วลมร้อน (Potapan: model CVO-700)
- Thermodigital (Fluke 51)
- เทอร์โมคัปเปิล type T (สายทำจากทองแดงและ constantan)
- นาฬิกาจับเวลา (Casio, HS-5M)
- ตะแกรงขนาดรูลอด 30 mesh
- เครื่องบดเนยถั่วลิสง (Olde tyme model: PN-1)
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius, BA4100S)

อุปกรณ์วิเคราะห์ทางกายภาพของเนยงาดำ

- เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture Analyzer, TA-XT2I)
- หัววัดเนื้อสัมผัส Conical Probe 30 PC และ Cylinder Probe P/6

- เครื่องวัดความหนืด (Brookfield Viscometer, DV-I)
- หัววัดความหนืดหมายเลข 7
- เครื่องวิเคราะห์ขนาดอนุภาค (Lazer particle size analyzer)
- เครื่องวิเคราะห์ water activity (Aw) (Novasina, TH-1500)

อุปกรณ์ในการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

- หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) (Tomy, SS-3201)
- ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) ช่วงอุณหภูมิ 25-30°C

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส (แสดงในภาคผนวก ง.)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีวิเคราะห์ แบ่งออกเป็น 4 วิธี คือ

1. วิธีวิเคราะห์ทางเคมี (รายละเอียดดังอธิบายในภาคผนวก ก.)

- วิเคราะห์ความชื้น โดยคำนวณน้ำหนักที่หายไปหลังผ่านการอบแห้ง (AOAC: 925.09 B, 1995) (รายละเอียดอยู่ในภาคผนวก ก.1)
- วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl (AOAC: 991.23, 1995) (รายละเอียดอยู่ในภาคผนวก ก.2)
- วิเคราะห์หาปริมาณไขมันโดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์สกัด (AOAC: 920.39, 1995) (รายละเอียดอยู่ในภาคผนวก ก.3)
- วิเคราะห์หาปริมาณเถ้า โดยคำนวณน้ำหนักที่หายไปหลังการเผา (AOAC: 923.03, 1995) (รายละเอียดอยู่ในภาคผนวก ก.4)
- วิเคราะห์หาปริมาณเส้นใย (AOAC: 972.10, 1995) (รายละเอียดอยู่ในภาคผนวก ก.5)
- วิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต (รายละเอียดอยู่ในภาคผนวก ก.6)
- วิเคราะห์หาค่า Thiobarbituric acid number (TBA) โดยวัด molonaldehyde chromogen ที่เกิดขึ้นหลังจากทำปฏิกิริยากับ Thiobarbituric acid ด้วยเครื่อง spectrophotometer (Pearson, 1976) (รายละเอียดอยู่ในภาคผนวก ก.7)
- วิเคราะห์หาองค์ประกอบของกรดไขมัน โดยวิธีทำให้กรดไขมันอยู่ในรูป methyl ester (AOAC: 963.22, 1995) (รายละเอียดอยู่ในภาคผนวก ก.8) จากนั้นจึงวิเคราะห์โดย Gas Chromatograph

2. วิธีวัดทางกายภาพ (รายละเอียดดังอธิบายในภาคผนวก ข.)

- การหาค่าร้อยละการสูญเสียน้ำหนักเนื่องจากการคั่ว(รายละเอียดอธิบายในภาคผนวก ข.1)
- วัดขนาดของอนุภาคเนยงาดำโดยเครื่อง Lazer particle size analyser นำเนยงาดำมาสกัดไขมันโดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ จากนั้นจึงนำอนุภาคของงาดำที่เหลือไปวิเคราะห์หาขนาด
- วัดความหนืดโดยใช้ Brookfield Viscometer DV-I หัวเข็มหมายเลข 7 ความเร็วรอบ 20 rpm เป็นเวลา 30 วินาที (ใช้ตัวอย่าง 100 ml) (รายละเอียดอธิบายในภาคผนวก ข.2)

- วัดแรงต้านการกด โดยใช้เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส Texture analyzer รุ่น TA-XT2I โดยใช้หัววัดรูปกรวย (conical probe 30 pc) (รายละเอียดอธิบายในภาคผนวก ข.3)
 - วัดความสามารถในการทำปายทา โดยใช้เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส Texture analyzer รุ่น TA-XT2I โดยใช้หัววัดทรงกระบอก (cylinder probe p/6) (รายละเอียดอธิบายในภาคผนวก ข.4)
 - วัดการแยกชั้นของน้ำมันของเนยงาดำ (ดัดแปลงจากวิธีของ Freeman และ Singleton, 1952) (รายละเอียดอธิบายในภาคผนวก ข.5)
3. วิธีวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ค.)
- วิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมด (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2535) (รายละเอียดอธิบายในภาคผนวก ค.1)
 - วิเคราะห์หยาบและ รา (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2535) (รายละเอียดอธิบายในภาคผนวก ค.2)
4. วิธีประเมินผลการยอมรับทางประสาทสัมผัส (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ง.)
- ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝนจำนวน 20 คน ซึ่งเป็นนิสิตปริญญาโท ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยฝึกฝนให้ผู้ทดสอบคุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์ งาดำคั่ว และเนยงาดำ ด้วยวิธี triangle test ตามแบบทดสอบในภาคผนวก ง.2 และให้ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของเมล็ดงาดำคั่วตามแบบทดสอบในภาคผนวก ง.3 และเนยงาดำโดยใช้แบบทดสอบเชิงพรรณนา(Quantitative Descriptive Analysis with Scoring) ตามแบบทดสอบในภาคผนวก ง.4-ง.6

ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 ศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดงาดำ

นำเมล็ดงาดำที่ร่อนแยกฝุ่นผงด้วยตะแกรงขนาดรูตลอด 30 mesh บดด้วยเครื่องบดของ
 แห่ง Philips รุ่น HR2836 แล้วมาวิเคราะห์ องค์ประกอบทางเคมีได้แก่ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า
 และองค์ประกอบของกรดไขมัน วิเคราะห์ 3 ซ้ำแล้วหาเฉลี่ย

3.2 ศึกษากระบวนการผลิตเนยงาดำ

3.2.1 หาภาวะการคั่วเมล็ดงาดำ

นำเมล็ดงาดำที่ผ่านการร่อนแยกฝุ่นผงโดยใช้ตะแกรง 30 mesh ปริมาณ 50 กรัม มาคั่ว
 โดยใช้เครื่องคั่วลมร้อน Potapan รุ่น CVO-700 โดยแปรอุณหภูมิของการคั่วเป็น 160 180 และ
 200 องศาเซลเซียส และเวลาในการคั่วเป็น 10 15 และ 20 นาที

การติดตามผลการคั่ว พิจารณาจากการวัดค่าต่างๆของเมล็ดงาดำคั่วคือ

1. ติดตามร้อยละของการสูญเสียน้ำหนัก
2. ค่า Thiobarbituric acid (TBA)

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ร้อยละของการสูญเสียน้ำหนัก และค่า TBA ใช้
 Symmetric Factorial Experiment ขนาด 3x3 ทำการทดลอง 3 ซ้ำวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้
 โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New
 Multiple Range Test

3. ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเมล็ดงาดำคั่วในด้านต่างๆได้แก่ กลิ่นของงาคั่ว
 กลิ่นผิดปกติ และการยอมรับโดยรวม ใช้วิธีการทดสอบเชิงพรรณนา (Quantitative Descriptive
 Analysis with Scoring) (แบบทดสอบดังแสดงในภาคผนวก ง.2) ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน 20
 คน ออกแบบการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำวิเคราะห์ข้อ

มูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

4. วิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในเมล็ดงาดำคั่ว

วิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันในเมล็ดงาดำที่ผ่านการคั่วที่ได้จากข้อ 3 โดย Gas Chromatography ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.2 หากาเวในการบดเมล็ดงาดำ

นำเมล็ดงาดำจากข้อ 3.2.1 มาบดโดยเครื่องบดเนยถั่วลิสง Olde-tyme รุ่น PN-1 โดยแปรจำนวนครั้งของการบดซ้ำเป็น 2 4 6 8 และ 10 ครั้ง เพื่อให้ได้เนยงาดำมีความละเอียดสูงขึ้น และเป็นเนื้อเดียวกัน

การติดตามผลการบด พิจารณาจากการวัดค่าต่างๆของเนยงาดำที่ได้คือ

1. หาขนาดของอนุภาคของเนยงาดำ
2. ค่าความหนืด
3. ค่าแรงต้านการกวด
4. ค่าความสามารถในการทาป้าย

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ค่าความหนืด ค่าแรงต้านการกวด และค่าความสามารถในการทาป้าย แบบ Completely Randomized Design ทำการทดลอง 5 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

4. ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของงาดำในด้านต่างๆได้แก่ ความละเอียดของลักษณะเนื้อสัมผัส ความสามารถในการทาป้าย และการยอมรับโดยรวม ใช้วิธีการทดสอบแบบเชิงพรรณนา (Descriptive Analysis with Scoring) (แบบทดสอบดังแสดงในภาคผนวก ง.4) ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน 20 คน การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.2.3 การปรับรสชาติเนยงาดำ

3.2.3.1 เลือกช่วงปริมาณน้ำตาลที่ควรเติม

การปรับรสชาติเนยงาดำจะเติมน้ำตาลในขั้นตอนของการอบ โดยแปรรูปของการเติมน้ำตาลเป็น 2 การทดลองด้วยกัน ในการทดลองครั้งที่ 1 แปรปริมาณน้ำตาลในช่วงกว้างเป็นร้อยละ 10 20 และ 30 โดยน้ำหนักน้ำตาลต่อน้ำหนักเนยงาดำ และเมื่อทราบช่วงของปริมาณน้ำตาลจากการทดลองครั้งที่ 1 ทำต่อไปในการทดลองที่ 2 โดยแปรปริมาณน้ำตาลในช่วงถี่ขึ้น

การติดตามผลการเลือกช่วงปริมาณน้ำตาลที่ควรเติม พิจารณาจากค่าต่างๆคือ

1. ค่าความหนืด
2. ค่าแรงต้านการกด
3. ค่าความสามารถในการทำปาย

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ค่าความหนืด ค่าแรงต้านการกด และค่าความสามารถในการทำปายแบบ Completely Randomized Design ทดลอง 5 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

4. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนยงาดำในด้าน รสหวาน รสขม และการยอมรับโดยรวม รวมทั้งหาความต้องการของผู้บริโภค(Ideal) ในรสชาติหวาน และขม โดยใช้วิธีการทดสอบเชิงพรรณนา (Descriptive Analysis with Scoring) (แบบทดสอบดังแสดงในภาคผนวก 5) ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน 20 คน การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.2.3.2 หาปริมาณน้ำตาลในเนยงาดำ

หลังจากได้ช่วงน้ำตาลที่เติมจากข้อ 3.3.1 นำมาทดลองต่อไปโดยแปรปริมาณน้ำตาลที่เติมในเนยงาดำให้ช่วงถี่ขึ้น เพื่อจะได้เลือกปริมาณที่ละเอียดมากขึ้น เช่นถ้าพบว่าปริมาณที่เติม

ในเนยงาดำอยู่ในช่วงร้อยละ 22 –30 โดยน้ำหนักน้ำตาลต่อน้ำหนักเนยงาดำ ก็ให้เพิ่มความถี่เป็น ร้อยละ 22 24 26 28 และ 30 โดยน้ำหนักน้ำตาลต่อน้ำหนักเนยงาดำ

การติดตามผลการหาปริมาณการเติมน้ำตาล พิจารณาจากค่าต่างๆคือ

1. ค่าความหนืด
2. ค่าแรงต้านการกด
3. ค่าความสามารถในการทำปาย

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ค่าความหนืด ค่าแรงต้านการกด และค่าความสามารถในการทำปายแบบ Completely Randomized Design ทำการทดลอง 5 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

4. ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เนยงาดำในด้านรสหวาน รสขม และการยอมรับโดยรวม รวมทั้งหาความต้องการของผู้บริโภค(Ideal) ในรสชาติหวาน และขม โดยใช้วิธีการทดสอบเชิงพรรณนา (Descriptive Analysis with Scoring) (แบบทดสอบดังแสดงในภาคผนวก ง.5) ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน 20 คน การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.3 ศึกษาชนิดและปริมาณสารให้ความคงตัว (stabilizer)

เมื่อนำเนยงาดำที่ได้จากการคัดเลือกในข้อ 3.2.3.2 มาเติมสารให้ความคงตัวที่มีจำหน่ายในเชิงพาณิชย์สำหรับป้องกันการแยกชั้นของน้ำมันในผลิตภัณฑ์เนยถั่วลิสง ได้แก่ Lecithin (LEC) Grindsted™ Triglyceride (TG) และ Distilled Monoglyceride (DMG) โดยแปรระดับความเข้มข้นของสารให้ความคงตัวเป็นร้อยละ 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 โดยน้ำหนักของสารต่อน้ำหนักของเนยงาดำ

การติดตามผลของสารให้ความคงตัว พิจารณาจากค่าต่างๆที่วัดได้จากเนยงาดำคือ

1. ค่าความหนืด
2. ค่าแรงต้านการกด
3. ค่าความสามารถในการทาป้าย

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ค่าความหนืด ค่าแรงต้านการกด และค่าความสามารถในการทาป้าย แบบ Completely Randomized Design ทดลอง 5 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

4. ติดตามการแยกชั้นของน้ำมัน

ดัดแปลงจากวิธีของ Muego-Gnanasekharan และ Resurreccion (1992) โดยนำเนยงาดำที่เติมสารให้ความคงตัวซึ่งบรรจุในขวดแก้ว 20 กรัม มาวัดน้ำหนักการแยกชั้นของน้ำมันเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 และ 55 องศาเซลเซียส ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

5. ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เนยงาดำในด้านต่างๆคือ การแยกชั้นของน้ำมัน กลิ่นผิดปกติ ความเรียบเนียน ความนุ่มความสามารถในการทาป้าย และการยอมรับโดยรวม ใช้วิธีการทดสอบเชิงพรรณนา (Descriptive Analysis with Scoring) (แบบทดสอบดังแสดงในภาคผนวก ง.6) ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน 20 คน การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test จากนั้นเลือกเนยงาดำที่มีคะแนนการยอมรับสูงที่สุดในแต่ละชนิดของสาร ให้ความคงตัวมาทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสอีกครั้งเพื่อหาชนิดและปริมาณของสารให้ความคงตัวที่เหมาะสมในการผลิตเนยงาดำ

3.4 ตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนยงาดำ

3.4.1 คุณภาพทางเคมี

นำเนยงาดำที่ได้จากข้อ 3.3 มาวิเคราะห์ องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เส้นใย และองค์ประกอบของกรดไขมัน (AOAC, 1995) วิเคราะห์ 3 ซ้ำ แล้วหาเฉลี่ย

3.4.2 คุณภาพทางจุลินทรีย์

นำเนยงาดำที่ได้จากข้อ 3.3 มาหาปริมาณเชื้อที่มีอยู่ทั้งหมด (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ค.1) และหาปริมาณยีสต์และรา (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ค.2) (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2523)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย