# บทที่ 3
# วิธีการดำเนินงานวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอน ดังนี้

3.1 วัสดุ และอุปกรณ์

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.3 การเก็บรวบรวมข้อมูล

3.4 วิธีดำเนินงานวิจัยและขั้นตอนการดำเนินงาน

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

3.6 สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูล

3.7 ระยะเวลาการทำวิจัย และแผนดำเนินงานตลอดโครงการวิจัย

3.8 แผนการดำเนินงานตลอดโครงการวิจัย

## 3.1 วัสดุ และอุปกรณ์

1. แป้งข้าวโพด ตรา คนอรร์ (Knorr)

2. องุ่นสายพันธุ์ไวท์มะละกา

3. ไคโตแซน จากบริษัท ที.ซี.ยูเนี่ยนโกลบอล (มหาชน) จำกัด (molecular weight 1.93±0.02 million

dalton, degree of deacetylation 92%)

4. เครื่องทดสอบความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัว (texture analyzer) ยี่ห้อ LLOYD instruments รุ่น TA plus (ASTM D882)

5. เครื่องวัดความหนาของฟิล์ม โดยใช้ micrometer (Fisher Scienific, Pittsburgh, PA)

6. เครื่องวัดสี (colorimeter) ยี่ห้อ Minolta chroma meter CR-10, Japan

7. เครื่องcentrifuge model: PLC-05 ของ Gemmy Industrial crop, Taiwan

8. เครื่อง vortex mixture รุ่น Vortex genie-2 ของ Scientific Industries, USA.

9. เครื่อง hand refractometer รุ่น N-1E Brix 0-32% ของ ATACO

10. เครื่องวัดความชื้น (moisture analyzer)

11. เครื่องวัดความแน่นเนื้อ Texturometer ยี่ห้อ LIOYD Instruments, England(

12. อุปกรณ์อื่นๆ เช่น hot plate, ตู้อบลมร้อน )Hot air oven(, เครื่องชั่งละเอียด, desiccators

13. สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ sorbitol (Merck), acetic acid (Food grade, Union chemical 1986 CO., Ltd.)

14. เครื่องปิดผนึกด้วยความร้อน

## 3.2 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

### 3.2.1 การเตรียมฟิล์มโดยทำแห้งแบบ hot air oven

การเตรียมฟิล์มแป้งข้าวโพดผสมไคโตซาน โดยการนำแป้งข้าวโพดร้อยละ 5 โดยน้ำหนักมาละลายในน้ำแล้วต้มแป้งจนสุกบน Hot Plate ให้มีลักษณะเหนียว ข้นและหนืด ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นประมาณ 10 นาที เติมสารละลายซอร์บิทอลร้อยละ 30 เพื่อทำหน้าที่เป็นสาร Plasticizer (Laohakunjit และ Noomhorm, 2004) กวนสานให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปไล่ฟองอากาศออกด้วยเครื่อง sonicator จากนั้นผสมกับสารละลายไคโตซานเข้มข้นร้อยละ 1) w/v) ที่ละลายในกรด acetic ในอัตราส่วนแป้งต่อไคโตแซน 1:1 กวนให้เข้ากัน นำไปเทลงบน acrylic plates ที่ปรับระดับความหนาของแผ่นฟิล์ม 1 มิลลิเมตร การทำแห้งฟิล์มผ่านวิธีการทำแห้งบน hot air oven ที่อุณหภูมิ 60, 75 และ 90 □□□□□□□□C

**การพัฒนาฟิล์มย่อยสลายได้จากแป้งผสมไคโตแซนเพื่อประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหาร**

**ปัญหา**

คุณภาพฟิล์มย่อยสลายได้จากแป้งมีคุณสมบัติทางกลและทางกายภาพต่ำ และขาดคุณสมบัติการขึ้นรูปเป็นบรรจุภัณฑ์อาหาร

⇩

**วิธีการแก้ปัญหา**

การพัฒนาฟิล์มย่อยสลายได้จากแป้งผสมพอลิเมอร์ธรรมชาติเพื่อเพิ่มคุณสมบัติทางกลและทางกายภาพ และทดสอบคุณสมบัติการขึ้นรูปเป็นบรรจุภัณฑ์อาหาร

⇩

ศึกษาปริมาณแป้งข้าวโพด : ไคโตซาน : น้ำ โดยแป้ง 5 กรัม ต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร ไคโตซาน ร้อยละ 1 และ Sorbital ร้อยละ 30 ของน้ำหนักแป้ง

⇩

ขึ้นรูปฟิล์มหนา 0.1 cm (1 mm) บน Acrylic ขนาด 17 x 21.5 ตร.ซม. ใช้เทคนิคทำแห้ง (Drying Technique) ด้วยตู้อบลมร้อน (Hot air oven) RH 90 ± 10% ที่อุณหภูมิ 60 °c 75 °c และ 90 °c

⇩

แผนการทดลองแบบสุ่ม Randomized Complete Block Design (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ ศึกษาสมบัติทางกลและกายภาพฟิล์มแป้งผสมไคโตซาน ได้แก่ ความชื้น (Moisture Analyzer), ความหนา (Thickness), การต้านทานแรงดึงขาด (Tensile Strength), สี (Color), การยืดตัว (Elongation), การละลายน้ำ (solubility), ความสามารถในการปิดผนึกความร้อน (Films thermo-sealing capacity)

⇩

| |
|---|
| คัดเลือกฟิล์มที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สุดประยุกต์ใช้กับผลไม้สด คือ องุ่น พารามิเตอร์ในการศึกษา สมบัติทางเคมีในผลไม้ ได้แก่ การสูญเสียน้ำหนัก (Weight Loss), การเปลี่ยนแปลงสีผลไม้ (Color), ความแน่นเนื้อ (Firmness), ปริมาณ Total Soluble Solids (TSS) ในฟิล์มที่ห่อ ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีของฟิล์ม (Color), ความชื้น, (Moisture Analyzer), ร้อยละของการเกิดโรคบนผลไม้ที่ศึกษา |

**ภาพที่ 3.1** แสดงวิธีการขึ้นรูปฟิล์มแป้งข้าวโพดผสมไคโตแซน

### 3.2.2 การศึกษาสมบัติทางกลและทางกายภาพของฟิล์มแป้งผสมไคโตซาน

3.2.2.1 ความหนาของฟิล์ม โดยใช้ micrometer (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) นำตัวอย่างฟิล์มมาวัดความหนาด้วย micrometer โดยวัดตัวอย่างละ ตำแหน่ง 10 นำมาหาค่าเฉลี่ยความหนาของฟิล์ม(Xu และคณะ, 2005) หน่วยเป็นมิลลิเมตร

3.2.2.2 สีของฟิล์ม วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง minolta chroma meter โดยวัดฟิล์ม ตัวอย่างละ 3ซ้ำ ที่ตำแหน่งต่างๆ กัน นำมาหาค่าเฉลี่ยสีของฟิล์ม บันทึกค่าที่วัดได้เป็นหน่วย L*, a*, b* และ $\Delta$E (Fama และคณะ, 2007) คำนวณได้จากค่าความแตกต่างของสีฟิล์ม ค่า)L, a, และ b เทียบกับมาตรฐานของสีขาว $L_0 = 94.8$, $a_0 = -0.78$, $b_0 = 1.43$) (Sobral และคณะ, 2005)

$$\Delta E = [(L_1-L_0)^2 + (a_1- a_0)^2 + (b_1- b_0)^2]^{1/2} \quad (1)$$

โดย $\Delta$E คือ ความแตกต่างของสี

$L_1$ คือ ความสว่างของฟิล์ม

$a_1$ คือ สีของฟิล์มในช่วงสีเขียวถึงสีแดง

$b_1$ คือ สีของฟิล์มในช่วงสีน้ำเงินถึงสีเหลือง

3.2.2.3 การต้านทานแรงดึงขาด และการยืดตัว วิธี)standard ASTM D 882-97 method (ASTM, 1997) ใช้ฟิล์มขนาด 1.5 เซนติเมตร x 20 เซนติเมตร เก็บที่อุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ ร้อยละ 65 ± 2 นาน 12 ชั่วโมง ก่อนนำไปทดสอบโดยนำชิ้นตัวอย่างที่เตรียมไว้สอดเข้าไปในตัวหนีบทั้งด้านบนและด้านล่างแล้วหมุนตัวหนีบให้มีการจับยึดกับชิ้นตัวอย่างให้แน่น ให้มีระยะห่างระหว่างหัวหนีบเท่ากับ (โดยแผ่นฟิล์มไม่หลุดในระหว่างการวิเคราะห์)10 เซนติเมตร และมีอัตราความเร็วของ cross-head เท่ากับ 50 มิลลิเมตรต่อนาที หลังจากนั้นวิเคราะห์โดยการให้หัวหนีบด้านบนเคลื่อนที่และบันทึกแรงที่มากที่สุดที่ทำให้ชิ้นตัวอย่างขาดออกจากกัน เครื่องวัดนี้ต่อเข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์ เพื่อรายงานผลเป็นค่าการต้านทานแรงดึงขาด และค่าการยืดตัว

3.2.2.4 การละลายน้ำ ประยุกต์มาจาก) Laohakunjit และ Noomhorm, 2004 (นำฟิล์มแป้งที่ตัดเป็นชิ้นเล็กมา 1 กรัม ใส่น้ำกลั่นปริมาตร 10 ml กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก (magnetic stirrer) นาน 30 นาที นำไป centrifuge ด้วยความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที แยกเอาส่วนใสออก แล้วนำฟิล์มแป้งส่วนที่ไม่ละลายน้ำไปทำให้แห้ง โดยนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80 °C เวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนัก แล้วคำนวณตามสูตร

$$\text{water solubility (ร้อยละ)} = \frac{\text{wt. of initial dry matter} - \text{wt. of dry matter not solubilized} \times 100}{\text{wt. of initial dry matter}} \quad (3)$$

3.2.2.5 ความชื้น) วิธีของ Hulleman และคณะ ,1998) นำตัวอย่างฟิล์ม 100 มิลลิกรัม อบในตู้อบแห้งอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ แล้วคำนวณตามสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักหลังการอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \quad (4)$$

3.2.2.6 ความสามารถในการปิดผนึกความร้อน (Films thermos-sealing

capacity) ใช้เครื่องปิดผนึก (Seal machine) เพื่อทดสอบการปิดผนึกของฟิล์มบรรจุภัณฑ์อาหาร

**3.2.3 การประยุกต์ใช้ฟิล์มต่อการเก็บรักษาองุ่นพร้อมบริโภคและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีขององุ่นห่อด้วยฟิล์มที่บริโภคได้**

3.2.3.1 การเตรียมผลไม้พร้อมบริโภค

องุ่น : ใช้องุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา.ที่หาซื้อตามท้องตลาดหลังจากนั้นทำการตัดแต่งองุ่นให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมสำหรับห่อฟิล์มบริโภคได้ โดยทำการคัดเลือกฟิล์มที่ดีที่สุดมาใช้ 1 ตัวอย่าง (โดยวิเคราะห์ปัจจัยชนิดแป้ง เทคนิคการทำแห้งและอุณหภูมิ) ดังนี้

- ฟิล์มแป้งข้าวโพดผสมไคโตแซนเข้มข้นร้อยละ 1 (w/v) ที่ละลายในกรด acetic อัตราส่วน 1:1 จากเทคนิคการทำแห้ง hot air oven ที่อุณหภูมิ 60, 75 และ 90 องศาเซลเซียส
- ฟิล์มพลาสติกที่ใช้หุ้มผลไม้สดตามท้องตลาด
- ไม่ได้ห่อฟิล์ม

นำองุ่นที่ห่อฟิล์มมาบรรจุลงในถาดและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในตู้เย็น ตลอดอายุการเก็บรักษาจนสิ้นสุดการเก็บ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ภายในบลอก (randomized complete block design, RCBD) ซึ่งระหว่างอายุการเก็บรักษาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางเคมีขององุ่น

3.2.3.2 การสูญเสียน้ำหนัก

ติดตามการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักขององุ่นที่เก็บรักษาไว้ในตู้เย็น บันทึกการเปลี่ยนแปลงทุกๆ 7 วัน แล้วคำนวณตามสูตร

weight loss (ร้อยละ) $= (w_0 - w_t) / (w_0 \times 100)$ (5)

โดย $w_0$ คือ the initial weight of the sample

$w_t$ คือ the weights of the sample after *t* time

3.2.3.3 การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อองุ่น

ติดตามการเปลี่ยนแปลงค่า L*, a* และ b* ของเนื้อองุ่นที่เก็บรักษาไว้ในตู้เย็น บันทึกการเปลี่ยนแปลงทุก ๆ 1, 3,5,7,9 และ 14 วัน

3.2.3.4 ความแน่นเนื้อ (firmness)

นำตัวอย่างองุ่นมาวัดความแน่นเนื้อด้วยเครื่อง texturometer ที่มีหัววัดขนาด 3.8 มิลลิเมตร โดยวัดตัวอย่างละ 3 ตำแหน่ง แล้วหาค่าเฉลี่ยความแน่นเนื้อขององุ่น มีหน่วยเป็น kilogram. force (kgf)

3.2.3.5 ปริมาณ total soluble solids (TSS)

นำองุ่นและคั้นน้ำประมาณ 0.1 มิลลิลิตร มาวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด โดยใช้ hand refract meter และบันทึกผล

**3.2.4 การศึกษาสมบัติฟิล์มบริโภคได้หลังจากการห่อองุ่น**

3.2.4.1 การเปลี่ยนแปลงสีของฟิล์มบริโภคได้ที่ห่อองุ่น

ติดตามการเปลี่ยนแปลงค่า L*, a* และ b* ของฟิล์มที่ห่อองุ่นที่เก็บรักษาไว้ในตู้เย็น บันทึกการเปลี่ยนแปลงทุก ๆ 1, 3,5,7,9 และ 14 วัน

3.2.4.2 ความชื้น ใช้เครื่อง moisture analyzer วัดค่า วิธีของ) Hulleman และคณะ (1998) นำตัวอย่างฟิล์ม 100 มิลลิกรัม อบในตู้อบแห้งอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ แล้วคำนวณตามสูตร ดังข้อ 3.2.4.6

3.2.4.3 % การเกิดโรค (total plate count) ตรวจสอบด้วยสายตาของผู้สังเกตถึงลักษณะความสมบูรณ์ของแผ่นฟิล์ม รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์พื้นที่บนแผ่นฟิล์ม

**3.2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ**

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SAS (SAS Program, 1997)

### 3.2.6 **สถานที่ดำเนินงานวิจัย**

ห้องปฏิบัติการคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาวิชาออกแบบผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา