บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ อุปกรณ์ เครื่องมือและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

หอมหัวใหญ่สายพันธุ์ซูเปอเรกซ์ (superex) จากกลุ่มเกษตรกร อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

3.1.2 อุปกรณ์

1. Beaker ขนาด 100 mL , 250 mL, และ 500 mL
2. Pipette ขนาด 1 mL และ 10 mL
3. Volumetric flask ขนาด 50 mL และ 100 mL
4. Graduate cylinder ขนาด 100 mL
5. Chopper food processor
6. Blender

3.1.3 เครื่องมือ

1. Analytical balance (OHAUS AR 2140)
2. Hot air oven (Binder)
3. Moisture balance (Precisa HA60)
4. Muffle furnace (CARBOLITE CWF 1200)
5. Spectrophotometer (Spectronic21)
6. Water activity meter (Rotronic Aw 2101)
7. Color reader (MINOLTA CR-10)
8. เครื่องสกัดไขมัน (Soxtherm, Gerhardt model S 306 AK)

3.1.4 สารเคมี

1. Phenol
2. Petroleum ether
3. Sulfuric acid
4. 3,5-Dinitrosalicylic acid
5. Sodium hydroxide
6. Sodium potassium tartrate tetrahydrate
7. Kjeldahl catalyst

PAYAP UNIVERSITY

2. การอบแห้งโดยวิธี Hot air oven
   - กระจายหอมที่หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ลงบนถาดอะลูมิเนียม.ให้สม่ำเสมอเพียงชั้นเดียว
   - นำไปอบที่อุณหภูมิ 60, 70 และ 80 °C จนได้ความชื้นน้อยกว่า 7%
   - อบจนกรอบ เก็บใส่ถุงพลาสติกและเก็บในตู้แช่แข็งหนึ่งคืน
   - บดให้เป็นผงด้วย blender ร่อนด้วยตะแกรง
   - เก็บผงหัวหอมที่ได้ในขวดแก้วปากกว้างสีชา

อบแห้งในตู้อบลมร้อน

บดให้เป็นผงด้วย blender

3.2.3 การวิเคราะห์สมบัติของหอมผง

หอมผงที่นำมาวิเคราะห์เป็นหอมผงที่เตรียมได้ใหม่ๆ

1. การหาความชื้น โดยวิธี moisture balance method
   - วาง pan ที่ผ่านการอบแห้งแล้วลงบนเครื่อง moisture balance
   - ตั้งอุณหภูมิที่ 80 °C กด tare ให้เครื่องอ่านที่ 0.000 กรัม
   - โรยหอมผงลงบน pan .ให้สม่ำเสมอจนมีมวลเท่ากับ 10 กรัม
   - ปิดฝาเครื่องเพื่อให้เริ่มการอบ รอจนอ่าน % ความชื้นคงที่
   - บันทึกผล

เครื่อง moisture balance

ตัวอย่างหลังจากหาความชื้น

PAYAP UNIVERSITY

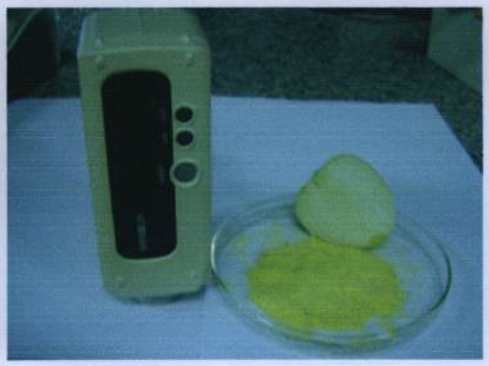
2. การวัดค่า water activity ด้วยเครื่อง water activity meter
   - เสียบปลั๊ก AwVc probe เข้ากับเครื่อง Aw 2101
   - เสียบปลั๊ก 9V DC/AC adaptor เข้ากับปลั๊กไฟในห้อง
   - กดปุ่ม on/off ด้านหลังเครื่อง
   - ใส่สารตัวอย่างลงในกล่องพลาสติกแล้วนำไปวางลงใน AwVc probe ปิดทับด้วย probe
   - กดปุ่มพัดลม (ปุ่มสีแดงบน AwVc probe)
   - กดปุ่ม enter เพื่อวัดค่า water activity
   - บันทึก

เครื่อง water activity meter

หอมผงที่จะวัดค่า water activity

3 การวัดค่าสี ด้วยเครื่อง Color reader
   - วางเครื่องวัดสีลงบนตัวอย่างแล้วกดปุ่มอ่านค่าสี
   - บันทึกค่า L^*, a^*, b^*

เครื่อง Color reader



การวัดสี

BURAPHA UNIVERSITY

4. การหาปริมาณเถ้าโดยวิธี dry ashing
   - ชั่ง crucible ที่ผ่านการอบแห้งแล้วด้วย analytical balance บันทึก
   - เติมหอมผงลงใน crucible ให้มวลเพิ่มขึ้นประมาณ 1.5 กรัม บันทึก ปิดฝา
   - นำ crucible ที่มีหอมผงไปวางในเตาเผา เปิดฝา
   - ปิดฝาเตาเผา ตั้งอุณหภูมิที่ 550 °C เผาประมาณ 5 ชั่วโมง
   - ลดอุณหภูมิของเตาเผามาที่ 100 °C
   - ปิดฝา crucible แล้วนำออกจากเตามาเก็บไว้ใน desiccator เพื่อทำให้เย็น
   - เมื่อเย็นแล้วนำไปชั่งหามวลหลังเผา บันทึก

เตาเผา

Crucible

5. การหาปริมาณ total carbohydrate โดยวิธี Phenol-sulfuric acid

   (1). การเตรียมตัวอย่าง
   - ชั่งหอมผงประมาณ 0.2 กรัมใส่ลงใน Erlenmeyer flask
   - เติมสารละลาย 1.5 M H_2SO_4 20 mL นำไปอุ่นบนอ่างน้ำร้อนประมาณ 30 นาที
   - กรองผ่านกระดาษกรองลงใน volumetric flask ปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น
   - ปิเปตสารละลายที่เจือจางแล้วมา 10 mL ใส่ลงใน volumetric flask ปรับปริมาตรเป็น 50 mL ด้วยน้ำกลั่น
   - สารละลายที่ได้เก็บไว้วัดค่า absorbance ต่อไป

   (2). การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส
   - ละลายกลูโคส 1 กรัมในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 mL ได้สารละลายมีความเข้มข้นของกลูโคส 10 mg/mL
   - สสารละลายที่ได้เป็น stock solution เพื่อใช้เตรียมสารละลายกลูโคสความ

PAYAP UNIVERSITY

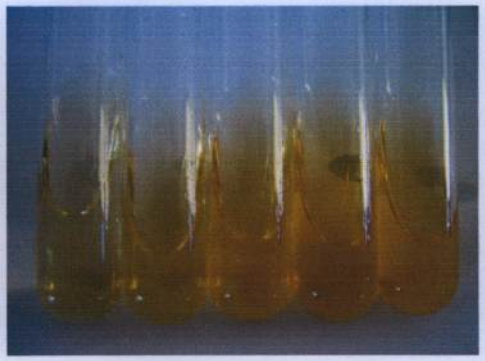
เข้มข้นต่าง ๆ โดยปิเปต stock solution ตามตารางแล้วปรับปริมาตรเป็น 50 mL

Flask	ปริมาตรของ stock solution (mL)	ความเข้มข้นของกลูโคส (mg/mL)
1	1.00	0.20
2	2.00	0.40
3	3.00	0.60
4	4.00	0.80
5	5.00	1.00

(3). การสารละลายเพื่อวัดค่า absorbance (A)

- ปิเปตสารละลายที่ต้องการจะวัดค่า absorbance มา 1 mL ใส่ลงในหลอดทดลอง
- เติมน้ำกลั่น 2 mL
- เติมสารละลายฟีนอล 5 % จำนวน 2 mL
- ผสมด้วยเครื่อง vortex mixer
- เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 mL ผสมด้วยเครื่อง vortex mixer
- นำหลอดทดลองแช่ในน้ำ จนมีอุณหภูมิ 25 °C
- วัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 490 nm
- เตรียม blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่าง

เครื่อง spectrophotometer



สารละลายมาตรฐานกลูโคส

6. การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี 3,5-Dinitrosalicylic acid method

(1). การเตรียมตัวอย่าง

- ชั่งหอมผงประมาณ 1 กรัม

PAYAP UNIVERSITY

- เติมสารละลายเอทานอล 80 % จำนวน 20 mL
- อุ่นใน water bath ประมาณ 30 นาที
- กรองลงในบีกเกอร์ ล้างตะกอนบนกระดาษกรองด้วยสารละลายเอทานอล 80 % สองครั้งๆละ 10 mL
- ระเหยเอทานอลออกจากสารสกัดให้เหลือปริมาณประมาณ 5 mL
- เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 100 mL ใน volumetric flask
- ปิเปตสารละลายที่เจือจางแล้วมา 5 mL เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 50 mL ใน volumetric flask
- สารละลายที่เตรียมได้เก็บไว้วิเคราะห์ต่อไป

Flask	ปริมาตรของ stock solution (mL)	ความเข้มข้นของกลูโคส (mg/mL)
1	1.00	0.20
2	2.00	0.40
3	3.00	0.60
4	4.00	0.80
5	5.00	1.00

(2). การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส

- ละลายกลูโคส 1 กรัมในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 mL ได้สารละลายมีความเข้มข้นของกลูโคส 10 mg/mL
- สสารละลายที่ได้เป็น stock solution เพื่อใช้เตรียมสารละลายกลูโคสความเข้มข้นต่าง ๆ โดยปิเปต stock solution ตามตารางแล้วปรับปริมาตรเป็น 50 mLต่

(3). การสารละลายเพื่อวัดค่า absorbance (A)

- ปิเปตสารละลายที่ต้องการจะวัดค่า absorbance มา 1 mL ใส่ลงในหลอดทดลอง
- เติมน้ำกลั่น 2 mL
- เติมสารละลาย 3,5-Dinitrosalicylic acid จำนวน 1 mL
- ผสมด้วยเครื่อง vortex mixer แล้วนำไปต้มในน้ำเดือด 10 นาที
- เติมน้ำกลั่น 5 mL โดยใช้ปิเปต ผสมด้วยเครื่อง vortex mixer
- นำไปวัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 540 nm
- เตรียม blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่าง

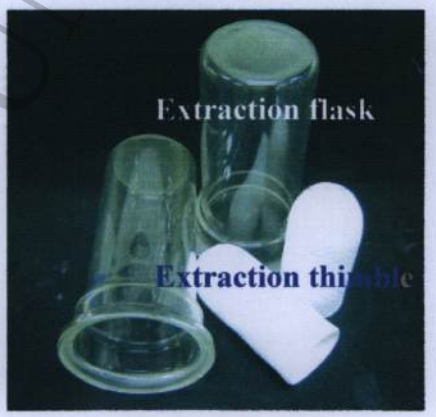
PAYAP UNIVERSITY

เครื่อง spectrophotometer

สารละลายมาตรฐานกลูโคส

7. การหาปริมาณไขมันโดยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย
   - อบ extraction flask ที่อุณหภูมิ 110 °C ประมาณ 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นใน desicator แล้วนำไปชั่ง
   - เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงใน extraction flask จำนวน100 mL
   - ใส่ตัวอย่างลงใน thimble ประมาณ 10 กรัม แล้ววางลงใน extraction flask
   - สกัดไขมันด้วยเครื่อง Soxtherm
   - บันทึกมวลของ extraction flask หลังสิ้นสุดการสกัด

เครื่องสกัดไขมัน (Soxtherm)



Extraction flask และ thimble

8. การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Kjeldahl method
   - หอมผง 2 กรัมใส่ลงใน flask
   - เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 100 mL
   - เติมตัวเร่งปฏิกิริยา 10 กรัม

PAP UNIVERSITY

- ย่อยที่อุณหภูมิ 350 °C จนสารละลายใส
- นำมากลั่นแอมโมเนียด้วยสารละลาย NaOH โดยใช้เครื่องกลั่น
- ดักจับแอมโมเนียด้วยสารละลาย H_2BO_3 ที่ผสมอินดิเคเตอร์ (methylred ผสม bromocresol green)
- ไทเทรตกับสารละลาย 0.1 M HCl
- ที่จุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีแดง บันทึกปริมาตรของสารละลาย HCl

ชุดย่อย

ชุดกลั่น

3.3 การถ่ายทอดผลการวิจัยสู่ชุมชน

คณะผู้วิจัยร่วมกับสำนักบริการวิชาการ ได้รับอนุมัติจากมหาวิทยาลัยพายัพในวันที่ 20 เมษายน 2551 ตามหนังสือที่ มพย 0304/356 ลงวันที่ 21 เมษายน 2551 (ภาคผนวก) ให้นำความรู้และประสบการณ์ที่ได้จากการวิจัยออกไปถ่ายทอดแก่กลุ่มเกษตรกรที่ปลูกหอมหัวใหญ่ในเขตพื้นที่อำเภอแม่วางและสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ ณ สำนักงานสหกรณ์หอมหัวใหญ่อำเภอสันป่าตอง

PAYAP UNIVERSITY