บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

ใบเตยหอม (ตลาดเมืองใหม่ อ. เมือง จังหวัดเชียงใหม่)

3.1.2 สารเคมี

- เมโธเซล™ (Methocel™, บริษัท วิกกี้ เอนเตอร์ไพรซ์ จำกัด กรุงเทพฯ)
- ไข่ขาว (Egg Albumin, Sigma, USA: BNL food Company, Belgium)
- โซเดียมแคซิเนต (Sodiumcaseinate, หจก. โอ.วีเคมิเคิล แอนด์ ซัพพลาย, เชียงใหม่)

3.1.3 บรรจุภัณฑ์

- ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ (OPP/PE/AL/PE/LLDPE)ขนาด 5x7 นิ้ว (สยามแพค,เชียงใหม่)
- ถุงลามิเนต (Nylon/LLDPE) ขนาด 5x8 นิ้ว (สยามแพค, เชียงใหม่)

3.1.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต

- อุปกรณ์เครื่องครัว
- เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยมสองตำแหน่ง (Sartorius, model BP3100S, AG Gottingen Germany)
- เครื่องผสมอาหาร (Food mixer: Kitchen Aid, Model ULM-400, USA)
- เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) (LABCONCO,USA)
- อุปกรณ์เครื่องแก้ว เช่น บีกเกอร์ กระบอกตวง กรวยกรอง
- เครื่องปั่นไฟฟ้า (Molinex)
- เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Hand refractometer, ATAGO, Model N1, Brix 0~32, Japan)
- เตาอบไมโครเวฟกำลังไฟฟ้า 800 วัตต์ (LG 800 watt)

3.1.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance, Santorius model CP224S, Germany)
- เครื่องวัดค่ากิจกรรมของน้ำ (AQUA Lab model series 3, USA)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert, Model UNE 400, Germany)
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophptpmeter, Jasco, Model V-503)
- อุปกรณ์เครื่องแก้ว เช่น บีกเกอร์ กระบอกตวง กรวยกรอง ขวดปรับปริมาตร
- โถดูดความชื้น (dessicator)
- เครื่องวัดค่าสีด้วยระบบ CIE Lab (Hunter Associates Laboratories Inc, USA)
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV/VIS Spectrophotometer: Biomate , Model V-530 ,England)
- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave: Gallenkamp model AUX-700-010, England)
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิสำหรับเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อ (Oven: Kottermann model 2711, Germany)
- ตู้บ่มเชื้อ (Incubater Gallenkamp, England)
- ชุดภาชนะโลหะสำหรับหาความชื้น (moisture can)
- ชุดอุปกรณ์ทดสอบดมกลิ่น และดูสี
- แบบสอบถามสำหรับประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

3.2 วิธีการทดลอง

การทดลองแปรรูปน้ำใบเตยผง แบ่งการทดลองออกได้เป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 สมบัติทางเคมีของใบเตยสด

ทำการทดลองหาสมบัติทางเคมีของใบเตยสดด้วยวิธี proximate analysis โดยวิเคราะห์ค่าโปรตีน ไขมัน เยื่อใย ความชื้น และเถ้า ตามมาตรฐาน AOAC 2000

ตอนที่ 2 สมบัติทางจุลินทรีย์ของน้ำใบเตยสกัดสด

เตรียมวัตถุดิบ โดยการปั่นใบเตยหอมสดกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนใบเตยหอมกับน้ำกลั่นคือ 2.5:1 โดยน้ำหนัก โดยใช้เครื่องปั่น แล้วทำการคั้นน้ำและกรองแยกกากให้ได้ความเข้มข้น 4^{o}Brix ให้ความร้อนด้วยเครื่องไมโครเวฟที่ระดับความถี่สูง(800วัตต์) ผันแปรเวลาในการให้ความร้อนเป็น 15, 30 และ 45 วินาที วิเคราะห์ผลการทดลอง ดังนี้

-จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM, 2001)

-หาปริมาณ E. *coli* โดยวิธี MPN (BAM, 2001)

พิจารณาเลือกเวลาในการให้ความร้อนที่เหมาะสมในการทำลายเชื้ออี โคไลเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 3 การศึกษาผลของโปรตีนไข่ขาว โซเดียมแคซิเนต และสารผสมของโปรตีนไข่ขาวร่วมกับโซเดียมแคซิเนต และเมทโธเซล™ ที่มีต่อสมบัติทางกายภาพของโฟมของน้ำใบเตยสด

เตรียมวัตถุดิบ โดยการปั่นใบเตยหอมสดกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนใบเตยหอมกับน้ำกลั่นคือ 2.5:1 โดยน้ำหนัก โดยใช้เครื่องปั่น แล้วทำการคั้นน้ำและกรองแยกกากให้ได้ความเข้มข้น 4°Brix ให้ความร้อนด้วยเครื่องไมโครเวฟที่ระดับความถี่สูง(800วัตต์) ตามเวลาที่ทดลองได้ในตอนที่ 2 แบ่งการทดลองเป็นสองชุด ดังนี้

ชุดแรก เติมสารก่อโฟมผันแปรชนิดและความเข้มข้นของสารก่อโฟมดังนี้ (1) ไข่ขาว ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 (2) โซเดียมแคซีเนตที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 (3) สารผสมของไข่ขาว โซเดียมเคซีเนต และเมโธเซล™ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5:10:1 คนให้เกิดการกระจายตัว เก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิแช่เย็น (4-5 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15-16 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ชุดที่ 2 เป็นชุดที่ผ่านการทำให้เกิดโฟมโดยการตีปั่นด้วยเครื่องปั่นผสม ใช้หัวตีรูปตระกร้อ เปิดเครื่องให้ตีด้วยความเร็วต่ำ เพื่อเป็นการคนให้ส่วนผสมมีความสม่ำเสมอ จากนั้นจึงเพิ่มความเร็วให้ตีเร็วขึ้นจนถึงความเร็วสูงสุด (310 rpm) ขณะที่ขึ้นโฟมสังเกตการเกิดโฟมของน้ำใบเตยสกัดสด พร้อมกับการเติมสารก่อโฟมผันแปรชนิดและความเข้มข้นของสารก่อโฟมดังนี้ (1) ไข่ขาว ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 (2) โซเดียมแคซีเนตที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 (3) สารผสมของไข่ขาว โซเดียมเคซีเนต และ เมโธเซล™ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5:10:1 เป็นเวลา 15 นาที ตัวอย่างชุดที่ทำให้เกิดโฟมจะทำการทดสอบสมบัติในการก่อโฟมดังนี้

- ความหนาแน่นของโฟม (ดัดแปลงจาก Akintoye and Oguntunde, 1991)
- ความคงตัวของโฟม (Sauter and Montoure, 1972)
- ค่า overrun ของโฟม (Karim and Wai, 1999)

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของโฟมของน้ำใบเตยสกัดสดที่ใช้สารก่อโฟมชนิด ไข่ขาว , โซเดียมแคซิเนต และ สารผสมของไข่ขาว โซเดียมเคซีเนต และเมโธเซล™ วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD)วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ของข้อมูลที่ได้ ถ้าพบความแตกต่างจะเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

จากนั้นนำตัวอย่างโฟมที่ได้ไปแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 4 การศึกษาเวลาในการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างที่ทำให้เกิดโฟมและตัวอย่างที่ไม่ผ่านการทำให้เกิดโฟม

นำตัวอย่างที่ไม่ผ่านกระบวนการก่อให้เกิดโฟม และผ่านกระบวนการก่อให้เกิดโฟมของน้ำใบเตยสกัดสดที่ได้จากการทดลองในตอนที่ 3 ไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Labcono, USA) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะสุญญากาศที่ความดันน้อยกว่า $133x10^{-3}$ mbar เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สุ่มตัวอย่างทุกๆ 3 ชั่วโมงในระหว่างการทำแห้งมาหาอัตราการทำแห้ง เพื่อสร้างเส้นกราฟของการทำแห้ง (drying curve)

ตอนที่ 5 สมบัติทางกายภาพ เคมี และการยอมรับทางประสาทสัมผัสของสารสกัดจากใบเตยชนิดผง

เก็บตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งทันทีหลังจากที่ผ่านการทำแห้งตามขั้นตอนในตอนที่ 4 และบรรจุลงในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ ปิดผนึกให้แน่นวิเคราะห์สมบัติของผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็งโฟม-แมท ดังนี้

- สมบัติทางเคมี
  - ค่ากิจกรรมของน้ำ (a_w) โดยเครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (AQUA Lab model series 3,USA)
  - ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000 Method 390.15 (4.1.06))
  - ปริมาณคลอโรฟิลล์ (Vernon method, 1960)
- สมบัติทางกายภาพ
  - วัดค่าสี (L, a*, b*,Hue angle, Chroma) ด้วยเครื่องวัดค่าสีด้วยระบบ CIE Lab
  - ความสามารถในการละลาย (ลักขณา และนิธิยา, 2531)
  - ความสามารถในการกระจายตัว (dispersibility) (ดัดแปลงมาจากวิธีของ ALKahtani and Hassan, 1990)
- สมบัติทางจุลินทรีย์
  - จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM 2001)
  - จำนวนยีสต์และรา (BAM 2001)
- สมบัติทางประสาทสัมผัสโดยใช้สเกลแบบ Nine-point hedonic scale
  - วัดค่าสี กลิ่น ลักษณะปรากฏ และความชอบโดยรวมของผงที่ได้จากสารสกัดจากใบเตย (ดัดแปลงจาก นิจศิริ, 2542) โดยใช้ผู้ทดสอบชิม 50 คน

ตอนที่ 6 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพและเคมีระหว่างการเก็บรักษาสารสกัดจากใบเตยชนิดผง

เตรียมตัวอย่างสารสกัดใบเตยชนิดผงที่ได้ จากนั้นบรรจุลงในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ เก็บที่ 2 อุณหภูมิ คือ 4±2 องศาเซลเซียส และ37±2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 เดือน สุ่มตัวอย่างทุก 1 เดือน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(ดัดแปลงจากชนันย์, 2545) ตรวจสอบสมบัติทางเคมี กายภาพและสมบัติทางจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบเตยผง ดังนี้

- สมบัติทางเคมี
  - ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000 Method 390.15 (4.1.06))
  - ค่ากิจกรรมของน้ำ (a_w) โดยเครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (AQUA Lab model series 3,USA)
  - ปริมาณคลอโรฟิลล์ (Vernon method, 1960)
- สมบัติทางกายภาพ
  - วัดค่าสี (L, a*, b*, Hue angle, Chroma) ด้วยเครื่องวัดค่าสีด้วยระบบ CIE Lab
  - ความสามารถในการละลาย (ลักขณา และนิธิยา, 2531)
  - ความสามารถในการละลาย (Solubility) (ดัดแปลงมาจากวิธีของ ALKahtani and Hassan, 1990)
- สมบัติทางจุลชีววิทยา
  - จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM 2001)
  - จำนวนยีสต์และรา (BAM 2001)
- สมบัติทางประสาทสัมผัสโดยใช้สเกลแบบ 9-point hedonic scale
  - ทดสอบสมบัติทางประสาทสัมผัสด้านค่าสี กลิ่น ลักษณะปรากฏ และความชอบโดยรวมของสารสกัดจากใบเตยชนิดผง (ดัดแปลงจาก นิจศิริ, 2542) โดยใช้ผู้ทดสอบชิม 50 คน

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น สมบัติทางเคมี สมบัติทางกายภาพของสารสกัดของใบเตยชนิดผงวางแผนการทดลองแบบ สุ่มอย่างสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD) และการทดสอบทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองที่มีแผนแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD)เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($p \leq 0.05$) โดยทำการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved