บทที่ 3
วัตถุดิบ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ และอุปกรณ์

1) ใบบัวบก (ตลาดเมืองใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่)

2) ถุงไนลอนลามิเนต และถุงโพลีเอทธิลีน (บริษัท ลีดเดอร์แพค จำกัด)

3) น้ำตาลทราย (บริษัท น้ำตาลทรายมิตรผล จำกัด)

4) เทอร์โมมิเตอร์ชนิดอินฟราเรด (Infrared Thermometer; Oakton, Italy)

5) เครื่องสับ (Champ; Model QS620A Big food Cut Up Machine, Thailand)

6) เครื่องอัดไฮโดรลิก (Hydraulic press; Sakaya : Model M310RZ, Thailand)

7) เครื่องปิดผนึกสุญญากาศ (Vacuum sealer; Audiovac : VM2010, USA)

8) เครื่องแปรรูปอาหารความดันสูงยิ่ง (High Pressure Processing; Food lab: Stansted Fluid Power, England)

9) เครื่องระเหยภายใต้สภาวะสุญญากาศ (Vacuum Evaporator; บริษัท มาร์ชคูล อินดัชทรี จำกัด, ประเทศไทย)

10) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-Vis Spectrophotometer; Rotina 46R, Germany)

11) เครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Centrifuge; Model Rotina 46R, Germany)

12) เครื่อง HPLC (High permanence liquid chromatography; RF-10AXL, USA)

13) เครื่องวัดสี (Color Quest II Colorimeter; Model CR 300 Series, Japan)

14) เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Microprocessor pH meter WTW; pH537, Germany)

15) เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Hand Refractometer; ATAGO, Japan)

16) เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Satorius A120S, Germany)

17) Auto pipette (Eppendorf; Reference Series 2000, Canada)

18) หม้อนึ่งอัดไอ (Airayama HA-300MIV, Japan)

19) ตู้บ่ม (Heraeus B6200, England)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 ศึกษาคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาของน้ำใบบัวบกสด

ทำการสกัดแยกน้ำใบบัวบกสดออกจากใบบัวบก โดยเริ่มจากการนำบัวบกสดที่ซื้อมาจากตลาดเมืองใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ ซึ่งมีแหล่งเพาะปลูกจากภาคกลาง อายุการเก็บเกี่ยว 60-90 วัน มาเด็ดใบ คัดเลือกเฉพาะใบที่มีสีเขียว โดยตัดก้านบัวบกให้มีความยาวจากก้านถึงฐานใบประมาณ 2-3 เซนติเมตร นำไปล้างด้วยน้ำสะอาดจำนวน 5 ครั้ง สะเด็ดน้ำออก แบ่งใบบัวบกสดที่ได้ออกเป็น 2 ส่วน โดยในแต่ละส่วนจะนำไปสกัดเป็นน้ำใบบัวบกสดดังนี้

วิธีที่ 1 นำใบบัวบกสดส่วนที่ 1 ไปสับให้ละเอียดด้วยเครื่องสับ แล้วนำใบบัวบกสดที่สับละเอียดมาสกัดแยกน้ำใบบัวบกสดออกจากกากใบบัวบกโดยนำไปบีบอัดด้วยเครื่องอัดไฮโดรลิก จากนั้นนำน้ำใบบัวบกสดที่สกัดได้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 น้ำใบบัวบกสดไม่เติมน้ำตาล และส่วนที่ 2 ผสมกับน้ำตาลทราย 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (Apichartsrangkoon *et al*., 2009) เพื่อใช้ในการทดลองในข้อ 3.2.2 ต่อไป

วิธีที่ 2 นำใบบัวบกสดส่วนที่ 2 ผสมกับน้ำดื่มที่ผ่านการต้มฆ่าเชื้อแล้วในอัตราส่วนของใบบัวบก ต่อ น้ำดื่ม เท่ากับ 2 ต่อ 1 ส่วน โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นนำไปสับให้ละเอียดด้วยเครื่องสับ และสกัดแยกน้ำใบบัวบกสดออกจากกากใบบัวบกโดยนำไปบีบอัดด้วยเครื่องอัดไฮโดรลิก นำน้ำใบบัวบกสดที่สกัดได้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 น้ำใบบัวบกสดไม่เติมน้ำตาล และส่วนที่ 2 ผสมกับน้ำตาลทราย 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (Apichartsrangkoon *et al*., 2009) เพื่อใช้ในการทดลองในข้อ 3.2.3 ต่อไป

นำน้ำใบบัวบกสดที่สกัดได้จากทั้ง 2 วิธี ทั้งแบบไม่เติมน้ำตาล และเติมน้ำตาล 10% ไปวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ดังนี้

3.2.1.1 วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

1) ค่าสี ด้วยเครื่องวัดสี Color Quest II Colorimeter (CR 300 Series, Japan)

3.2.1.2 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (°Brix) ตามวิธีของ AOAC (2000)

2) ปริมาณของแข็งทั้งหมด (%) ตามวิธีของ AOAC (2000)

3) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตามวิธีของ AOAC (2000)

4) ปริมาณกรดอะเซียติก ด้วยเครื่อง HPLC ตามวิธีของ Inamdar *et al.* (1996)

5) ปริมาณวิตามินซี ด้วยเครื่อง HPLC ตามวิธีของ Rodriguez *et al*. (2002)

6) ปริมาณแคโรทีนอยด์ ด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer ตามวิธีของ Sant *et al*. (1998)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

7) ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer ตามวิธีของ Mahanom *et al.* (1999)

8) ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer ตามวิธีของ Tsai *et al*. (2005)

3.2.1.3 วิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

1) จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) ตามวิธีของ BAM (2000)

2) จำนวนยีสต์และรา (Yeasts and Moulds) ตามวิธีของ BAM (2000)

3) จำนวน Coliform bacteria และ *Escherichia coli* ตามวิธีของ BAM (2000)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำข้อมูลผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธีการหาค่าเฉลี่ย และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

3.2.2 ศึกษาคุณภาพของน้ำใบบัวบกสกัดเข้มข้นแปรรูปโดยเทคนิคความดันสูงยิ่ง (ultra-high pressure)

นำน้ำใบบัวบกสกัดเข้มข้นที่ได้จากข้อ 3.2.1 วิธีที่ 1 ทั้งแบบไม่เติมน้ำตาล และเติมน้ำตาล 10% บรรจุลงในถุงโพลีเอทธิลีน แปรรูปด้วยความดันสูงยิ่ง โดยผันแปรความดันของเครื่อง 2 ระดับ คือ 400 และ 600 MPa และระยะเวลาคงความดัน 2 ระดับ คือ 20 และ 40 นาที ที่อุณหภูมิห้อง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ตามข้อ 3.2.1.1 3.2.1.2 และ 3.2.1.3 นำข้อมูลผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธีการหาค่าเฉลี่ย และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อเลือกสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตน้ำใบบัวบกสกัดเข้มข้นชนิดไม่เติมน้ำตาล และชนิดเติมน้ำตาล 10% ที่แปรรูปโดยเทคนิคความดันสูงยิ่ง เพื่อใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษาต่อไป

3.2.3 ศึกษาคุณภาพของน้ำใบบัวบกเข้มข้นแปรรูปโดยการเพิ่มความเข้มข้นภายใต้สภาวะสุญญากาศ (vacuum evaporation)

นำน้ำใบบัวบกสดที่สกัดได้จากข้อ 3.2.1 วิธีที่ 2 ทั้งแบบไม่เติมน้ำตาล และเติมน้ำตาล 10% มาทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่องระเหยภายใต้สภาวะสุญญากาศ ผันแปรอุณหภูมิของเครื่องระเหย 3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ระดับ คือ 60 70 และ 80°ซ ทำการเพิ่มความเข้มข้นจนน้ำใบบัวบกมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้น 1 เท่า ทั้งนี้เนื่องจากผลการทดลองที่ผ่านมาพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นน้ำใบบัวบกให้น้ำใบบัวบกมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้น 1 เท่า จะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำใบบัวบกเข้มข้นอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำใบบัวบก (มผช. 163/2552) ได้ จากนั้นบันทึกเวลาทั้งหมดที่ใช้ในการระเหยน้ำใบบัวบกเข้มข้น โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ตามข้อ 3.2.1.1 3.2.1.2 และ 3.2.1.3 นำข้อมูลผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธีการหาค่าเฉลี่ย และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อเลือกสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตน้ำใบบัวบกเข้มข้นชนิดไม่เติมน้ำตาล และชนิดเติมน้ำตาล 10% ที่แปรรูปโดยการเพิ่มความเข้มข้นภายใต้สภาวะสุญญากาศ เพื่อใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษาต่อไป

3.2.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำใบบัวบกเข้มข้นในระหว่างการเก็บรักษา

คัดเลือกผลิตภัณฑ์น้ำใบบัวบกเข้มข้นชนิดไม่เติมน้ำตาล และชนิดเติมน้ำตาล 10% ที่ผ่านการแปรรูปโดยเทคนิคความดันสูงยิ่ง และการเพิ่มความเข้มข้นภายใต้สภาวะสุญญากาศที่มีคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาที่ดีที่สุดจากข้อ 3.2.2 และ 3.2.3 ตามลำดับ โดยน้ำใบบัวบกสกัดเข้มข้นที่ผ่านการแปรรูปโดยเทคนิคความดันสูงยิ่งจะบรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิดโพลีเอทธิลีน ส่วนน้ำใบบัวบกเข้มข้นที่ผ่านการเพิ่มความเข้มข้นภายใต้สภาวะสุญญากาศจะบรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิดไนลอนลามินเนต จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ สุ่มตรวจตัวอย่างทุกๆ 7 วัน จนพบการเจริญของจุลินทรีย์ที่เกินเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำใบบัวบก (มผช.163/2552) ที่ระบุไว้ว่า ผลิตภัณฑ์น้ำใบบัวบกจะต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดน้อยกว่า 4 log CFU/mL ปริมาณยีสต์และราน้อยกว่า 2 log CFU/mL และ มีปริมาณเชื้อ *E. coli* น้อยกว่า 3 MPN/mL หรือเป็นระยะเวลา 28 วัน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ตามข้อ 3.2.1.1 3.2.1.2 และ 3.2.1.3 นำข้อมูลผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธีการหาค่าเฉลี่ย และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved