บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ผลหม่อนสุก (สีม่วงดำทั้งผล) พันธุ์เชียงใหม่ รวบรวมจากศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติ สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ เชียงใหม่ เก็บแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18°ซ เพื่อรอทำการวิจัย

3.1.2 เกสรดอกไม้จากผึ้ง ใช้เกสรดอกไม้จากผึ้งชนิดสด และชนิดอบแห้ง จากสุภาฟาร์มผึ้ง จังหวัดเชียงใหม่

3.2 สารเคมี

- Acetronitrile (Merck, Germany)
- Beta carotene (Sigma, Germany)
- Chloroform (Carlo, Italy)
- Copper sulphate (Merck, Germany)
- Ethanol (Merck, Germany)
- Folin-Ciocalteu reagent (Merck, Germany)
- Formic acid (Merck, Germany)
- Gallic acid (Carlo, Italy)
- Hydrochloric acid (Merck, Germany)
- Linoleic acid (Sigma, Germany)
- Phenolphthalein (May & Baker, England)
- Potassium hydrogen phthalate (Merck, Germany)
- Potassium iodide (Ajex, Australia)
- Sodium hydroxide (Merck, Germany)
- Sodium potassium tartrate (Merck, Germany)
- Sodium carbonate (Merck, Germany)
- Sodium thiosulphate (Ajex, Australia)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- Soluble starch (Fisher Scientific, UK)
- Sulfuric acid (Merck, Germany)
- Tween 40 (Sigma, Spain)
- 2,2- diphenyl-l-picrylhydrazyl, DPPH (Sigma, USA)
- Maltodextrin (Merck, Germany)

3.3 อุปกรณ์ และเครื่องมือ

- เครื่องอบแห้งแบบถาด (Termaks, Germany)
- เครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศที่ใช้อินฟราเรด (Infrared vacuum dryer, Germany)
- เครื่องปั่นน้ำผลไม้ (Sharp: Model EM-11, Japan)
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Perkin Elmer : Model Lambda 12, Germany)
- เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (Model TI-450/10, Thailand)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (Model Z 200 A , Germany)
- เครื่องอบแห้ง (Memmert, Germany)
- เตาให้ความร้อน (Favorit: Model 65A-68A, Malaysia)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Memmert: Model WB14, Germany)
- เครื่องชั่งดิจิตอล (Tanita: Model KD-200, China)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Ohaus: Model TS2KS, USA)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (AND: Model HR-200, Japan)
- ไมโครปิเปต (Biohit PLC, Finland)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (Model Ginie 2, USA)
- เครื่องบดแบบหินขัด (disc stone mill)
- เครื่องปั่นของแห้ง (Panasonic, Japan)
- โถดูดความชื้น (desiccators)
- กระป๋องอบความชื้น (moisture can)
- เทอร์โมมิเตอร์ (thermometer)
- เครื่องวัดการไหลของผง
- อุปกรณ์อื่นๆ ได้แก่ ช้อนตักสาร บีกเกอร์ ขวดรูปชมพู่ กระบอกตวง ปิเปต กรวยแก้ว ขวดวัดปริมาตร หลอดทดลอง แท่งแก้วคน ครกและสาก ถังพลาสติก และกะละมัง เป็นต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4 วิธีการวิจัย

3.4.1 การวิเคราะห์คุณภาพของผลหม่อนสุก และ เกสรดอกไม้จากผึ้ง

3.4.1.1 การวิเคราะห์คุณภาพของผลหม่อนสุก ใช้ผลหม่อนสุก (มีสีดำทั้งผล) สายพันธุ์เชียงใหม่ ทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพต่างๆ ดังนี้

- ปริมาณความชื้น โดยการอบแห้งแล้วชั่งน้ำหนักที่หายไป (AOAC, 2000)
- ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (Waterman and Mole, 1994)
- ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร (Ranganna, 1986)
- ดัชนีสารแอนติออกซิแดนต์ โดยวัดอัตราการฟอกสีของสารเบต้าแคโรทีน ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร (Patricia and Dan, 1978)
- ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging (Yen and Hsieh, 1997)

3.4.1.2 การศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพของเกสรดอกไม้จากผึ้ง จากเกสรดอกไม้จากผึ้งชนิดสด และชนิดแห้ง ทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพต่างๆ เช่นเดียวกับขั้นตอน 3.4.1.1 และวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระโดยใช้เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ

3.4.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตหม่อนผงเสริมเกสรดอกไม้จากผึ้ง โดยใช้เครื่องอบแห้งแบบถาด

3.4.2.1 ศึกษาปริมาณการเติมมอลโทเด็กซ์ทรินที่เหมาะสม นำผลหม่อนสุกทั้งผลไปละลายน้ำแข็ง นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ แล้วบดละเอียดด้วยเครื่องบดแบบหินขัด จากนั้นนำหม่อนบดที่ได้ไปเติม มอลโทเด็กซ์ทริน 5 ระดับคือร้อยละ 0, 5, 10, 15 และ 20 ของผลหม่อนบด นำไปอบด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาดโดยใช้พลังงานความร้อนจากไฟฟ้า ที่มีสภาวะการอบเดียวกัน คือ ที่อุณหภูมิ 70°ซ จนแห้ง ซึ่งสังเกตได้จากการเปลี่ยนเป็นผลึกแห้ง แข็ง ติดอยู่ที่ก้นภาชนะ หลังอบแห้ง ปั่นให้เป็นผงโดยใช้เครื่องปั่นของแห้ง ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) ตรวจสอบคุณภาพผงหม่อนที่ได้ดังต่อไปนี้

- ปริมาณความชื้น โดยการอบแห้งแล้วชั่งน้ำหนักที่หายไป (AOAC, 2000)
- ปริมาณน้ำอิสระ โดยใช้เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (Model TI-450/10, Thailand)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- การดูดความชื้นกลับ (Rehydration) โดยวางไว้ข้ามคืนในที่ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 ซึ่งได้จากไออิ่มตัวของโซเดียมคลอไรด์ จากนั้นชั่งน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงไป
- ความสามารถในการละลาย โดยการนำไปละลายน้ำที่อุณหภูมิ 30°ซ จากนั้นนำไปปั่น ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 1000 รอบต่อนาที แล้ววางทิ้งไว้ข้ามคืน จากนั้นดูดส่วนใสไปอบให้แห้ง จากนั้นคำนวณในรูปร้อยละโดยน้ำหนักของส่วนที่ไม่ละลาย

  (พรรณจิรา, 2545)
- ความสามารถในการไหลของผง โดยปล่อยให้ผงหม่อนตกจากกรวนปลายเปิดอย่าง อิสระ แล้ววัดมุมกอง (Pescott and Barnum, 2000)

จากข้อมูลคุณภาพที่ได้นำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากนั้นเลือกปริมาณการเติมมอลโทเด็กซ์ทรินที่น้อยที่สุดที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นผงที่สามารถยอมรับได้ เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

3.4.2.2 ศึกษาชนิด และ ปริมาณที่เหมาะสมในการเติมเกสรดอกไม้จากผึ้ง เตรียมหม่อนบดที่มีการเติม มอลโทเด็กซ์ทริน ในปริมาณที่เหมาะสมที่สุดจากข้อ 3.4.2.1 นำไปเติมเกสรดอกไม้จากผึ้ง ซึ่งเกสรดอกไม้จากผึ้ง ที่ใช้ มี 2 รูปแบบคือ เกสรชนิดสด และ เกสรชนิดแห้ง นำเกสรทั้ง 2 รูปแบบเติมลงในส่วนผสม โดยคำนวณเป็นน้ำหนักแห้งของเกสรดอกไม้จากผึ้ง แบบละ 3 ระดับคือ ร้อยละ 5 10 และ 15 ของส่วนผสม ทำการอบด้วยความร้อนโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบถาดที่ใช้พลังงานความร้อนจากไฟฟ้า ที่มีสภาวะการอบเดียวกัน คือ ที่อุณหภูมิ 70°ซ จนแห้ง จากนั้นทำให้เป็นผงโดยใช้เครื่องปั่นขนาดเล็ก ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบ 2x3 Factorial in CRD จากนั้น ตรวจสอบคุณภาพผงหม่อนที่ได้เช่นเดียวกับขั้นตอน 3.4.1.2

จากข้อมูลคุณภาพที่ได้นำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เลือกชนิด และ ระดับของเกสรดอกไม้จากผึ้ง ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และสารแอนโทไซยานินทั้งหมด รวมไปถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระร้อยละ และค่าดัชนีสารแอนติออกซิแดนต์เหลืออยู่สูงที่สุด เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

3.4.2.3 ศึกษาอุณหภูมิในการอบที่เหมาะสม เตรียมหม่อนบดที่มีการเติม เกสรดอกไม้จากผึ้ง ในปริมาณที่เหมาะสมที่สุดจากข้อ 3.4.2.2 นำไปอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาดโดยใช้พลังงานความร้อนจากไฟฟ้า 3 ระดับ คือ 60, 70 และ 80°ซ ทำการอบจนแห้ง และสามารถ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขูดเป็นผงได้ ศึกษาต้นทุนการผลิต (จิรพรรณ และคณะ, 2525) และระยะเวลาในการอบ จากนั้นนำไปบดให้เป็นผง ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ตรวจสอบคุณภาพผงหม่อนที่ได้ดังต่อไปนี้

- ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (Waterman and Mole, 1994)
- ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร (Ranganna, 1986)
- ปริมาณสารเคอร์ซิทินตามวิธีการของ Soong and Barlow (2005)
- ดัชนีสารแอนติออกซิแดนต์ โดยวัดอัตราการฟอกสีของสารเบต้าแคโรทีน ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร (Patricia and Dan, 1978)
- ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging (Yen and Hsieh, 1997)

จากข้อมูลคุณภาพที่ได้นำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เลือกระดับอุณหภูมิในการอบที่ยังคงเหลือปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และสารแอนโทไซยานินทั้งหมด ปริมาณสารเคอร์ซิทิน รวมไปถึง ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ และค่าดัชนีสารแอนติออกซิแดนต์สูงที่สุด เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

3.4.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตหม่อนผงเสริมเกสรดอกไม้จากผึ้ง โดยใช้เครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศที่ใช้อินฟราเรด

3.4.3.1 ศึกษาปริมาณการเติมมอลโทเด็กซ์ทรินที่เหมาะสม ทำการบดหม่อนเช่นเดียวกับข้อ 3.4.2.1 จากนั้นนำหม่อนบดที่ได้ไปเติมมอลโทเด็กซ์ทริน 5 ระดับคือร้อยละ 0, 5, 10, 15 และ 20 ของผลหม่อนบด นำไปอบด้วยเครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศที่ใช้อินฟราเรด ที่อุณหภูมิ 50°ซ จนแห้ง หลังอบแห้ง ปั่นให้เป็นผงโดยใช้เครื่องปั่นขนาดเล็ก ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด จากนั้น ตรวจสอบคุณภาพผงหม่อนที่ได้เช่นเดียวกับข้อ 3.4.2.1

จากข้อมูลคุณภาพที่ได้นำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เลือกปริมาณการเติม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มอลโทเด็กซ์ทรินที่น้อยที่สุดที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นผงที่สามารถยอมรับได้ เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

3.4.3.2 ศึกษาชนิด วิธีการเติม และ ปริมาณการเติมเกสรดอกไม้จากผึ้งที่เหมาะสม เตรียมหม่อนบดที่มีการเติมมอลโทเด็กซ์ทรินในปริมาณที่เหมาะสมที่สุดจากข้อ 3.4.3.1 นำเกสรดอกไม้จากผึ้ง ทั้ง 2 รูปแบบเติมลงในส่วนผสมโดยคำนวณเป็นน้ำหนักแห้งของเกสรดอกไม้จากผึ้ง แบบละ 3 ระดับคือ ร้อยละ 5, 10 และ 15 ของส่วนผสม ทำการอบด้วยความร้อนโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศที่ใช้อินฟราเรด ที่อุณหภูมิ 50°ซ จนแห้ง จากนั้นทำให้เป็นผงโดยใช้เครื่องปั่นขนาดเล็ก ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบ 2x3 Factorial in CRD จากนั้น ตรวจสอบคุณภาพผงหม่อนที่ได้เช่นเดียวกับข้อ 3.4.2.2

จากข้อมูลคุณภาพที่ได้นำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เลือกชนิด และ ระดับของเกสรดอกไม้จากผึ้ง ที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และสารแอนโทไซยานินทั้งหมด รวมไปถึง ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระร้อยละ และค่าดัชนีสารแอนติออกซิแดนต์เหลืออยู่สูงที่สุด เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

3.4.3.3 ศึกษาอุณหภูมิในการอบที่เหมาะสม เตรียมหม่อนบดที่มีการเติมเกสรดอกไม้จากผึ้งในปริมาณที่เหมาะสมที่สุดจากข้อ 3.4.3.2 นำไปอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบสุญญากาศที่ใช้อินฟราเรด ใช้ความร้อน 3 ระดับ คือ 40 50 และ 60°ซ ทำการอบจนแห้ง ศึกษาต้นทุนการผลิต (จิรพรรณ และคณะ, 2525) และ ระยะเวลาในการอบ จากนั้นนำไปบดให้เป็นผง ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด จากนั้นนำไปวัดคุณภาพเช่นเดียวกับข้อ 3.4.2.3

จากข้อมูลคุณภาพที่ได้นำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เลือกระดับอุณหภูมิในการอบที่ยังคงเหลือปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และสารแอนโทไซยานินทั้งหมด ปริมาณสารเคอร์ซิทิน รวมไปถึง ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระร้อยละ และค่าดัชนีสารแอนติออกซิแดนต์อยู่สูงที่สุด เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

3.4.4 ศึกษาเปรียบเทียบชนิดของการอบแห้ง ต่อคุณภาพของหม่อนผง จากกรรมวิธีที่เหมาะสมของการอบทั้ง 2 วิธี ที่ได้จากขั้นตอนที่ 3.4.2 และ 3.4.3 ทำการอบอีกครั้ง เปรียบเทียบและ เลือกผลิตภัณฑ์หม่อนผงเสริมเกสรดอกไม้จากผึ้ง ที่เหมาะสมที่สุดจากกระบวนการผลิตทั้ง 2 วิธี ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด จากนั้นนำไปวัดปริมาณ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารประกอบฟีนอลทั้งหมด ปริมาณสารแอนโทไซยานิน ดัชนีสารแอนติออกซิแดนต์ และความสามารถในการกำจัดอนุมูล โดยใช้วิธีเช่นเดียวกับข้อ 3.4.2.3

ศึกษาปริมาณไฟฟ้าที่ใช้อบ และศึกษาต้นทุนการผลิต โดยคำนวณจากต้นทุนของวัตถุดิบหลัก ส่วนผสมอื่น และค่าไฟฟ้า แล้ว บวกเพิ่มอีกร้อยละ 30 เพื่อเป็นค่าแรงงาน ค่าเสื่อมราคา และค่าการจัดการ (จิรพรรณ และคณะ, 2525)

จากข้อมูลคุณภาพที่ได้นำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เลือกชนิดของการอบที่ยังคงเหลือปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด และสารแอนโทไซยานินทั้งหมด รวมไปถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระร้อยละ และค่าดัชนีสารแอนติออกซิแดนต์อยู่สูงที่สุด ทำการบรรจุหม่อนผงที่ได้ลงในแคปซูล เพื่อผลิตเป็นหม่อนผงเสริมเกสรดอกไม้บรรจุแคปซูล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved