

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

ตอนที่ 1 ศึกษากระบวนการผลิตวัตถุดิบในกลุ่มผัก

ตอนที่ 1.1 ศึกษาแหล่งของวิตามินซี เบต้า-แคโรทีน โฟเลต และแคลเซียม จากพืชในกลุ่มผักของมูลนิธิโครงการหลวง

ทำการศึกษาสารที่เป็นประโยชน์ในกลุ่มผักของมูลนิธิโครงการหลวง ได้แก่ ผักกาดขาวปลี ผักกาดหอม ผักกาดหางหงส์ ผักกาดหวาน ปวยเล้ง กะหล่ำปลี บล๊อคโคลี่ ถั่วแขก ถั่วลันเตา โดยเน้น วิตามินซี เบต้า-แคโรทีน โฟเลต และแคลเซียม แล้วนำข้อมูลที่ได้มาศึกษาอัตราส่วนของวัตถุดิบในกลุ่มผัก ด้วยโปรแกรมเชิงเส้น (Linear Programming Techniques) (ไพโรจน์, 2547) นำไปศึกษาวิธีการสกัดเพื่อให้ได้น้ำผักเข้มข้นที่มีวิตามินซี เบต้า-แคโรทีน โฟเลต และแคลเซียมสูงต่อไป

ตอนที่ 1.2 ศึกษาวิธีการสกัดน้ำผักเข้มข้น

จากตอนที่ 1.1 ศึกษาสารที่เป็นประโยชน์ในผักชนิดต่างๆ ของมูลนิธิโครงการหลวง และนำมาศึกษาอัตราส่วนของผักที่จะทำให้ได้น้ำผักที่มีวิตามินซี เบต้า-แคโรทีน โฟเลต และแคลเซียมสูง จากนั้นจึงนำวัตถุดิบในกลุ่มผักที่ได้มาทำการศึกษาวิธีการสกัดเพื่อให้ได้น้ำผักเข้มข้น โดยทำการสกัดเย็น แปรผันเวลา และอัตราส่วนน้ำต่อวัตถุดิบในกลุ่มผัก จากนั้นนำมาสกัดให้เข้มข้นด้วยระบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) วางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial Experimental with 2 center points (ไพโรจน์, 2547) นำสิ่งทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณ วิตามินซี และแคลเซียม ซึ่งแปรระดับปัจจัยที่ศึกษาดังตารางที่ 15 และ 16

ตารางที่ 15 ระดับของปัจจัยที่ใช้ในการศึกษาการสกัดน้ำผักเข้มข้น

ปัจจัยที่ศึกษา	ระดับต่ำ (-)	ระดับกลาง (0)	ระดับสูง (+)
เวลา (นาท)	3	5	7
อัตราส่วนน้ำต่อผัก	1:1	1:2	1:3

ตารางที่ 16 การวางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment with 2 center points ที่ใช้ในการศึกษาการสกัดน้ำผักขี้เหล็ก

สิ่งทดลอง	เวลา (นาท)	อัตราส่วนน้ำต่อผัก
1	3	1:1
2	3	1:3
3	7	1:1
4	7	1:3
5	5	1:2
6	5	1:2

ตอนที่ 2 ศึกษากระบวนการผลิตวัตถุดิบในกลุ่มชา

ตอนที่ 2.1 ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในชาแต่ละชนิด

ทำการศึกษาศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระในชาเขียวกลิ่นชาอู่หลง และชาเขียวของมูลนิธิโครงการหลวง โดยใช้วิธี DPPH Method ซึ่งจะทำการหาค่า The half maximal inhibitory concentration; IC_{50} โดยตัวอย่างที่มีค่า IC_{50} น้อย จะแสดงว่าตัวอย่างนั้นมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง จากนั้นทำการคัดเลือกชนิดชาที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเพื่อนำไปศึกษาวิธีการสกัดเพื่อให้ได้น้ำชาต่อไป

ตอนที่ 2.2 ศึกษาวิธีการสกัดน้ำชา

นำชาที่ผ่านการคัดเลือกจากตอนที่ 2.1 มาทำการศึกษาอุณหภูมิ เวลา และอัตราส่วนน้ำต่อใบชา ในการสกัดน้ำชาด้วยวิธีการต้ม วางแผนการทดลองแบบ 2^3 Factorial Experimental with 3 center points (ไพโรจน์, 2547) นำสิ่งทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH Method แปรผันระดับปัจจัยที่ศึกษาดังตารางที่ 17 - 18

ตารางที่ 17 ระดับของปัจจัยที่ใช้ในการศึกษาการสกัดน้ำชาเข้มข้น

ปัจจัยที่ศึกษา	ระดับต่ำ (-)	ระดับกลาง (0)	ระดับสูง (+)
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	50	60	70
เวลา (นาท)	60	90	120
อัตราส่วนใบชาต่อน้ำ	1:20	1:15	1:10

ตารางที่ 18 การวางแผนการทดลองแบบ 2^3 Factorial experiment design with 3 center points ที่ใช้ในการศึกษาการสัคน้ำชาเข้มข้น

สิ่งทดลอง	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาท)	อัตราส่วนน้ำต่อใบชา
(1)	50	60	1:20
a	70	60	1:20
b	50	120	1:20
ab	70	120	1:20
c	50	60	1:10
ac	70	60	1:10
bc	50	120	1:10
abc	70	120	1:10
Cp1	60	90	1:15
Cp2	60	90	1:15
Cp3	60	90	1:15

ตอนที่ 3 ศึกษาชนิดของถั่วต่อปริมาณสารไฟโตเอสโตรเจน โดยใช้เทคนิคการหมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์

ทำการศึกษาชนิดของถั่วต่อปริมาณไฟโตเอสโตรเจนชนิดไอโซฟลาโวน โดยชนิดของถั่วที่ทำการศึกษา ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วเหลืองเปลือกดำ ถั่วแดงหลวง และถั่วอะซูกิของมูลนิธิโครงการหลวง ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารไอโซฟลาโวน ชนิดกลูโคไซด์ ซึ่งจะวิเคราะห์ปริมาณไดอิซิน เจนิสทิน ไกลซิทิน และชนิดอะไกลโคน ที่วิเคราะห์ปริมาณไดอิซิน เจนิสทิน ไกลซิทิน จากนั้นทำการคัดเลือกชนิดถั่วที่มีปริมาณสารไอโซฟลาโวนสูง แล้วนำถั่วที่ผ่านการคัดเลือกไปทำการหมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์ (*Bacillus subtilis*) ในสภาวะการหมักแบบแห้ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง (ไพโรจน์ และคณะ, 2554) นำมาหนึ่งกระเหยเอากลิ่นแอมโมเนียออก ประมาณ 30 – 50 นาที ก่อนนำไปสกัดด้วยเอทานอลเป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 นำสารละลายที่ได้ไปทำการระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศจนเอทานอลระเหยออกหมด จะได้ น้ำถั่วหมักชีวภาพเข้มข้น

ตอนที่ 4 ศึกษาอัตราส่วนของเครื่องดื่มสารอาหารสูงพร้อมดื่ม โดยใช้น้ำเคปกูสเบอร์รี่ น้ำผักเข้มข้น น้ำชา และน้ำถั่วหมักชีวภาพ

ทำการศึกษาอัตราส่วนของเครื่องดื่มสารอาหารสูงพร้อมดื่มที่เหมาะสม โดยวางแผนการทดลองแบบ Mixture Design (ไพโรจน์, 2547) ระดับของปัจจัยที่ศึกษามีดังนี้

ตารางที่ 19 ระดับปัจจัยที่ใช้ในการศึกษาอัตราส่วนของวัตถุดิบทั้งหมดที่เหมาะสม

ปัจจัยที่ศึกษา	ปริมาณ
น้ำเคปกูสเบอร์รี่ (ร้อยละ)	42 - 50
น้ำผักเข้มข้น (ร้อยละ)	32 - 40
น้ำชา (ร้อยละ)	7 - 15
น้ำถั่วชีวภาพ (ร้อยละ)	1 - 3

แต่งรสโดยใช้ฟรุทโตสไซรัป ความเข้มข้นร้อยละ 65 ในปริมาณร้อยละ 5 ของส่วนผสมเครื่องดื่มสารอาหารสูง แต่งกลิ่นฟรุตตี้ และแต่งสีเหลืองมะนาว

เมื่อสิ่งทดลองทั้งหมดผ่านกระบวนการผลิตแล้ว นำสิ่งทดลองทั้งหมดมาวิเคราะห์คุณภาพด้านต่าง ๆ ดังนี้

คุณภาพทางด้านกายภาพ

- ค่าสี L a* b* (โดยเครื่องวัดสี Minolta camera meter CR – 400/410, Japan)

คุณภาพทางด้านเคมี

- ค่าความเป็นกรด – ด่าง (โดยเครื่อง pH Meter, Model ID 2000, Index)

- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid) (โดยเครื่อง Hand Refractometer ATAGO, Japan)

คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

- ใช้วิธีการทดสอบ 5 – Points Hedonic Scale (ไพโรจน์, 2545) ผู้ทดสอบชิมจำนวน 15 คน สุ่มตัวอย่างให้ผู้ทดสอบทำการประเมินลักษณะของผลิตภัณฑ์ทางด้าน สี กลิ่น รสชาติ และการยอมรับโดยรวม

ตอนที่ 5 ศึกษากระบวนการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์เครื่องคั้นสารอาหารสูงพร้อมดื่มที่เหมาะสม

จากการศึกษาอัตราส่วนของเครื่องคั้นสารอาหารสูงพร้อมดื่มในการทดลองตอนที่ 4 สามารถสรุปสูตรที่เหมาะสมและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ซึ่งในขั้นตอนการผลิตเครื่องคั้นสารอาหารสูงพร้อมดื่มนั้น ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ คือ กระบวนการให้ความร้อน เพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลิตภัณฑ์ และเมื่อนำมาบรรจุขวดจำเป็นต้องผ่านกระบวนการให้ความร้อนเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา ในการทดลองนี้เป็นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อ โดยปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ อุณหภูมิและเวลา (พิจารณาจาก ค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์เครื่องคั้นสารอาหารสูง) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ดังตารางที่ 20

ตารางที่ 20 การวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ของกระบวนการฆ่าเชื้อเครื่องคั้นสารอาหารสูง

สิ่งทดลอง	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)
1	70	5
2	70	10
3	70	15
4	75	5
5	75	10
6	75	15
7	80	5
8	80	10
9	80	15
10	70	5

จากนั้นนำสิ่งทดลองทั้งหมดมาวิเคราะห์คุณภาพด้านต่างๆ ดังนี้

คุณภาพทางด้านกายภาพ

- ค่าสี L a* b* (โดยเครื่องวัดสี Minolta camera meter CR – 400/410, Japan)

คุณภาพทางด้านเคมี

- ค่าความเป็นกรด – ด่าง (โดยเครื่อง pH Meter, Model ID 2000, Index)

- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid) (โดยเครื่อง Hand Refractometer ATAGO, Japan)

คุณภาพทางจุลินทรีย์

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) (AOAC, 2005)
- ปริมาณยีสต์และรา (Yeast and mold) (AOAC, 2005)
- ปริมาณ Coliforms and *E. coli* (AOAC, 2005)

คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

- ใช้วิธีการทดสอบ 5-Points Hedonic Scale (ไพโรจน์, 2545) ผู้ทดสอบชิมจำนวน 15 คน สุ่มตัวอย่างให้ผู้ทดสอบทำการประเมินลักษณะของผลิตภัณฑ์ทางด้าน สี กลิ่น รสชาติ และการยอมรับโดยรวม

ตอนที่ 6 ศึกษาสูตรการผลิตผลิตภัณฑ์สารอาหารสูงอัดเม็ด

ตอนที่ 6.1 ศึกษากระบวนการทำวัตถุดิบผง

ศึกษากระบวนการทำวัตถุดิบผงโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบโฟม-แมท วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) แปรผันระดับสารที่ช่วยให้เกิดโฟม คือ กลีเซอรอลโมโนสเตียเรต (GMS) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0 5 10 และ 15 ของเครื่องคั้นสารอาหารสูง มอลโตเดกซ์ตรินเป็นสารเพิ่มปริมาณเนื้อ ที่ร้อยละ 20 วัดความหนาแน่น ค่า overrun และค่าความคงตัวของโฟม

วิธีการทำให้เกิดโฟม ให้ความร้อนกับเครื่องคั้นสารอาหารสูงจนมีอุณหภูมิ เท่ากับ 69 องศาเซลเซียส ปิดไฟ เติมกลีเซอรอลโมโนสเตียเรต ดีให้เกิดฟอง เติมมอลโตเดกซ์ตริน คนให้เข้ากัน ปั่นผสมด้วยความเร็วระดับสูงสุด นาน 10 นาที นำมาบีบเป็นเส้นบนตาข่าย อบแห้งโดยใช้ตู้อบสุญญากาศ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เวลา 3 ชั่วโมง นำมาปั่นละเอียด จะได้วัตถุดิบผงสารอาหารสูง

ตอนที่ 6.2 ศึกษาสูตรที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์สารอาหารสูงอัดเม็ด

ทำการศึกษาสูตรการผลิตผลิตภัณฑ์สารอาหารสูงอัดเม็ดที่เหมาะสม โดยวางแผนการทดลองแบบ Mixture Design (ไพโรจน์, 2547) แปรผันวัตถุดิบผงที่ได้จากการทดลอง ตอนที่ 6.1 สารเพิ่มปริมาณเนื้อ คือ น้ำตาลแลคโตส และสารช่วยเพิ่มการยึดเกาะ คือ โพลีไวนิลไพโรริวโดน เกล 30 (PVP K 30) ระดับของปัจจัยที่ศึกษาดังตารางที่ 21 เติมทาลคัม ร้อยละ 2 และแมกนีเซียมสเตียเรต ร้อยละ 1 ของส่วนผสมทั้งหมด

ตารางที่ 21 ระดับของปัจจัยที่ใช้ในการศึกษาอัตราส่วนของวัตถุดิบทั้งหมดที่เหมาะสม

ปัจจัยที่ศึกษา	ปริมาณ
วัตถุดิบผง (ร้อยละ)	55 - 60
แอลกอฮอล์ (ร้อยละ)	20 - 40
PVP K 30 (ร้อยละ)	3 - 5

เมื่อส่งทดลองทั้งหมดผ่านกระบวนการผลิตแล้ว จากนั้นนำสิ่งทดลองทั้งหมดมาวิเคราะห์คุณภาพด้านต่าง ๆ ดังนี้

คุณภาพทางด้านกายภาพ

- ค่าสี L a* b* (Hunter Lab Minolta Camera, Chromo Meter CR-400/410, Japan)

คุณภาพทางด้านเคมี

- ค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ โดยเครื่องวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ (Aw-box, Novasina: AWC200, Switzerland)

คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ใช้การทดสอบแบบ 5-Points Hedonic Scale (ไพโรจน์, 2545) ซึ่งในการทดสอบชิมจะใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 15 คน สุ่มตัวอย่างให้ผู้ทดสอบทำการประเมินลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ทำการทดสอบ ได้แก่ สี กลิ่น รสชาติ และการยอมรับรวม

ตอนที่ 7 ศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสารอาหารสูงและผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสารอาหารสูงอัดเม็ด

โดยการนำผลิตภัณฑ์ทั้งสองที่ผ่านการพัฒนาสูตรแล้ว มาทำการศึกษาคุณภาพในด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และทางประสาทสัมผัสดังนี้

คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสี L a* b* (Hunter Lab Minolta Camera, Chromo Meter CR-400/410, Japan)

คุณภาพทางเคมี

- ค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ โดยเครื่องวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ (Aw-box, Novasina : AWC200, Switzerland)
- ร้อยละของเถ้า (AOAC, 2005)

- ปริมาณวิตามินซี (AOAC, 2005)
- ปริมาณเบต้า-แคโรทีน (Queensland Health Scientific Services, 1994)
- ปริมาณโฟเลต (USFA, 1996)
- ปริมาณแคลเซียม (ISO 6869: 2000)
- ปริมาณ Phytoestrogen (HPLC)
- ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH Method

คุณภาพทางจุลินทรีย์

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) (AOAC, 2005)
- ปริมาณยีสต์และรา (Yeast and mold) (AOAC, 2005)
- ปริมาณ Coliforms and *E. coli* (AOAC, 2005)

คุณภาพทางประสาทสัมผัส

ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน ทำการประเมินลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ทำการทดสอบ ได้แก่ สี กลิ่น รสชาติ และการยอมรับรวม ใช้วิธีการทดสอบแบบ 5 – Points Hedonic Scale (ไพโรจน์, 2545) โดยระดับคะแนน 1 หมายถึงไม่ชอบมากที่สุด และระดับคะแนน 5 หมายถึงชอบมากที่สุด วิเคราะห์ผลโดยใช้โปรแกรมคำนวณทางสถิติ หาค่าเฉลี่ยของระดับความชอบผลิตภัณฑ์ด้านต่างๆ

ตอนที่ 8 การศึกษาต้นทุนและแนวทางในการผลิตเชิงการค้า

เป็นการวิเคราะห์ด้านเทคนิค โดยจะพิจารณาคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ กระบวนการผลิต การวิเคราะห์เชิงเปรียบเทียบถึงทางเลือกอุปกรณ์ ต้นทุนของเครื่องมือ เครื่องใช้ การศึกษาความสามารถในการจัดหาวัตถุดิบ ปริมาณความต้องการ การกำหนดปริมาณ และต้นทุนของส่วนสูญเสีย และคาดคะเนต้นทุนผลิตภัณฑ์

สถานที่ทำการวิจัย

โรงงานแปรรูปและพัฒนาผลิตภัณฑ์ มูลนิธิโครงการหลวง