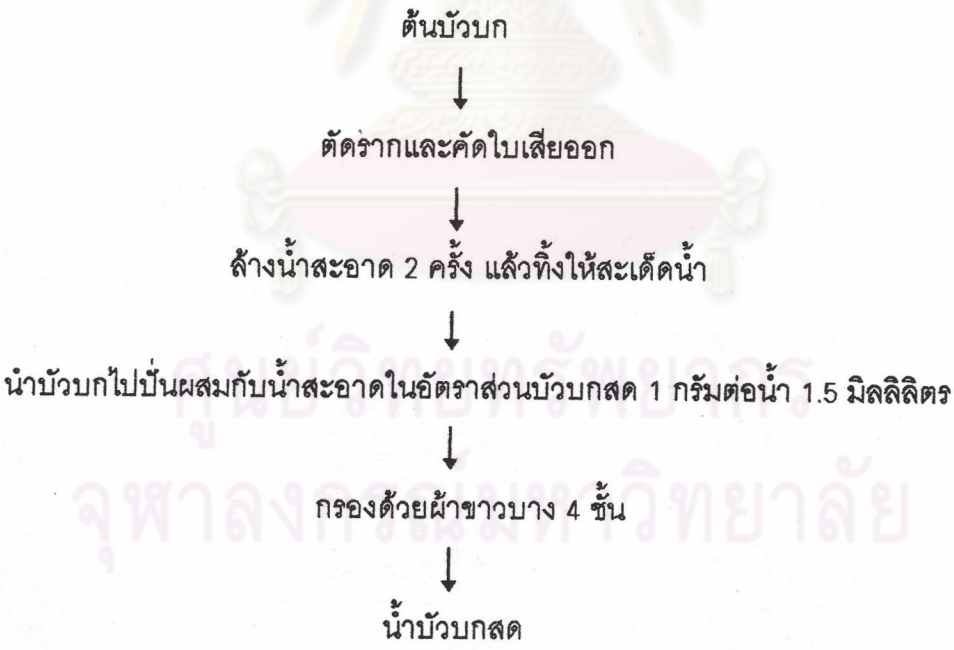
# บทที่ 3

## ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

### 1. การเตรียมน้ำบัวบกสด

นำต้นบัวบก (Centella asiatica (Linn.) Urban) ที่ปลูกในสวนเขตอำเภอบางใหญ่ จังหวัดนนทบุรี มาหาค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด โดยดัดแปลงจากวิธีของ Ranganna (1977) (ภาคผนวก ก.) และนำมาผลิตเป็นน้ำบัวบกสด โดยดัดแปลงจากวิธีของ Chaiwanichsiri, Monsikarn และ Suebsuk (1991) ดังรูปที่ 4




รูปที่ 4 การเตรียมน้ำบัวบกสด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิเคราะห์สมบัติของน้ำบัวบกสดที่เตรียมได้ โดย

1.1 วัดค่าสี L, a และ b ด้วยเครื่อง Chromameter ของ Minolta รุ่น CR-200b โดยใช้แผ่นสีเขียวมาตรฐาน (Y=29.0, x=0.272, y=0.366) รายงานผลเป็นค่า L และค่าสีหลัก (hue) ซึ่งเท่ากับ $\tan^{-1}$ (a/b) (Clydesdale and Francis, 1968; Francis and Clydesdale, 1975)

1.2 วัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter ของ Nettler รุ่น Delta 340

**2. ศึกษาผลของ pH ต่อสีและปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดในน้ำบัวบกผง**

นำน้ำบัวบกจากข้อ 1 มาแบ่งเป็น 3 ส่วน โดยส่วนที่ 1 ปรับค่า pH เป็น 5.0 ด้วย 2.50 M $ZnSO_4.7H_2O$ (aq) (pH = 3.87) ส่วนที่ 2 ปรับค่า pH เป็น 7.0 ด้วย 0.005 M $Ca(OH)_2$ (aq) (pH = 12.01) และส่วนที่ 3 ใช้เป็นตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการปรับค่า pH วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design จำนวน 3 ซ้ำ (สุรพล อุปดิสสกุล, 2523)

นำน้ำบัวบกแต่ละส่วนเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นกระจายของ บริษัท Niro รุ่น Mobile minor โดยควบคุมภาวะการผลิต คือ อุณหภูมิลมเข้า 155 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของน้ำบัวบกเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นกระจาย 21.50 มิลลิลิตรต่อนาที และปริมาณสารช่วยทำแห้งและกักเก็บกลิ่นรส ได้แก่ ไซโคลเดกซ์ทริน จากบริษัทรามา ฟู้ด โปรดักซ์ ชนิดบีต้า-ไซโคลเดกซ์-ทริน (Ringdex-B$^{TM}$) 0.66 กรัมต่อน้ำบัวบกสด 100 มิลลิลิตร ควบคุมความดันของเครื่องอัดอากาศ (compressor air pressure) ที่ 2.4 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร และจำนวนรอบของหัวเหวี่ยงต่อนาทีเท่ากับ 13,000 รอบต่อนาที

วิเคราะห์น้ำบัวบกผง ดังนี้

2.1 วัดค่าสี โดยนำน้ำบัวบกผงมาละลายน้ำอุ่น 50 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนน้ำบัวบกผงต่อน้ำอุ่นเท่ากับ 1:150 กรัมต่อมิลลิลิตร โดยอัตราส่วนนี้จะให้ปริมาณของแข็งที่ไม่ละลายน้ำ (water insoluble solid) ของน้ำบัวบกเท่ากับปริมาณของแข็งที่ไม่ละลายน้ำของน้ำบัวบกสด คนให้ละลายด้วยเครื่อง Magnetic stirrer ของ P-Selecta รุ่น AGIMATIC-N ที่ความเร็ว 700 rpm นาน 5 นาที และวัดค่าสีด้วยเครื่อง Chromameter เช่นเดียวกับข้อ 1.1

2.2 วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดในน้ำบัวบกผง โดยวิธีที่ดัดแปลงจากวิธีของ Ranganna (1977) (ภาคผนวก ก.)

วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป MSTAT (Michigan State University) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's new multiple-range test เลือกวิธีการปฏิบัติก่อนนำน้ำบัวบกเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นกระจาย ที่ให้น้ำบัวบกซึ่งมีค่าสีดีที่สุดและค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมากที่สุด

**3. ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำบัวบกผง**

นำน้ำบัวบกสดที่ใช้วิธีการปฏิบัติก่อนนำน้ำบัวบกเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นกระจายที่เลือกได้จากข้อ 2 เข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นกระจายเช่นเดียวกับข้อ 2 โดยแปรภาวะการผลิตตามแผนการทดลอง Box-Behnken design (Henika, 1972) ดังตารางที่ 3

วิเคราะห์ผล ดังนี้

3.1 วัดปริมาณความชื้นของน้ำบัวบกผง ด้วยเครื่อง Moisture analyzer ของ Sartorius รุ่น A-200S

3.2 วัดค่าสีตามข้อ 2.1

3.3 วัดค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดตามข้อ 2.2

3.4 ประเมินผลทางประสาทสัมผัสด้านสีและกลิ่นรสโดยนำน้ำบัวบกผงมาละลายน้ำอุ่นเช่นเดียวกับข้อ 2.1 ประเมินผลทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดสอบแบบให้คะแนน (scoring test) ขนาด 6 point-scale (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2535) (รายละเอียดของแบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ค.) วางแผนการทดสอบแบบ balanced incomplete block design (BIB) ซึ่งเป็นแผนการทดสอบทางประสาทสัมผัสในระดับห้องปฏิบัติ ขนาด 15 สิ่งทดลอง ใช้ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ semi-trained (รายละเอียดการฝึกฝนผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงในภาคผนวก ข.) จำนวน 35 คน โดยผู้ทดสอบแต่ละคนจะทดสอบ 3 ตัวอย่าง (สุรพล อุปดิสสกุล, 2526) (รายละเอียดของแบบแผนการทดสอบแสดงในภาคผนวก ข.)

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ stepwise regression analysis และ response surface methodology โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป STATGRAPHICS version 5.0 เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำบัวบกผง

**4. ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำตาลซูโครสต่อน้ำบัวบกผงและอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำบัวบกจากน้ำบัวบกผงสำเร็จรูป**

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางที่ 3 แผนการทดลองแบบ Box-Behnken design ขนาด 15 สิ่งทดลอง

| ตัวแปร | สัญลักษณ์ | -1 | 0 | +1 |
|---|---|---|---|---|
| อุณหภูมิลมเข้า (°C) | $x_1$ | 135.00 | 155.00 | 175.00 |
| ปริมาณสารไซโคลเดกซ์ทรินต่อน้ำบัวบกสด(g/100ml) | $x_2$ | 0.33 | 0.66 | 0.99 |
| อัตราการไหลของน้ำบัวบกเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นกระจาย(ml/min) | $x_3$ | 9.67 | 21.50 | 33.33 |

| สิ่งทดลองที่ | $x_1$ | $x_2$ | $x_3$ |
|---|---|---|---|
| 1 | 0 | -1 | -1 |
| 2 | 0 | +1 | -1 |
| 3 | 0 | -1 | +1 |
| 4 | 0 | +1 | +1 |
| 5 | -1 | -1 | 0 |
| 6 | -1 | +1 | 0 |
| 7 | +1 | -1 | 0 |
| 8 | +1 | +1 | 0 |
| 9 | -1 | 0 | -1 |
| 10 | -1 | 0 | -1 |
| 11 | +1 | 0 | -1 |
| 12 | +1 | 0 | +1 |
| 13 | 0 | 0 | 0 |
| 14 | 0 | 0 | 0 |
| 15 | 0 | 0 | 0 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นำน้ำบัวบกผงที่ได้จากการใช้ภาวะการผลิตที่เลือกได้จากข้อ 3 มาบดผสมกับน้ำตาลซูโครสบดละเอียดในเครื่องบดผสมอาหาร Moulinex รุ่น mixer blender 2 โดยแปรปริมาณส่วนผสมระหว่างน้ำตาลซูโครสกับน้ำบัวบกผงและอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำบัวบกจากน้ำบัวบกผงสำเร็จรูป ตามแผนการทดลองแบบ orthogonal rotatable design (Gacula and Singh, 1984) ดังรูปที่ 5

วิเคราะห์ผล โดยการประเมินผลทางด้านประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่นรส รสชาติ และการยอมรับรวม โดยนำน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปมาละลายน้ำอุ่นเช่นเดียวกับข้อ 2.1 ใช้วิธีการทดสอบแบบให้คะแนน (scoring test) ขนาด 9 point-scale (เพ็ญขวัญ ชมปรีดา, 2537) (รายละเอียดของแบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ค.) วางแผนการทดสอบแบบ balanced lattice design ซึ่งเป็นแผนการทดสอบทางประสาทสัมผัสในระดับห้องปฏิบัติการ ขนาด $3^2$ สิ่งทดลอง ใช้ผู้ทดสอบแบบ semi-trained (รายละเอียดของการฝึกฝนผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงในภาคผนวก ช.) จำนวน 12 คน โดยผู้ทดสอบแต่ละคนจะทดสอบ 3 ตัวอย่าง (สุรพล อุปดิสสกุล, 2526) (รายละเอียดของแบบแผนการทดสอบแสดงในภาคผนวก ข.)

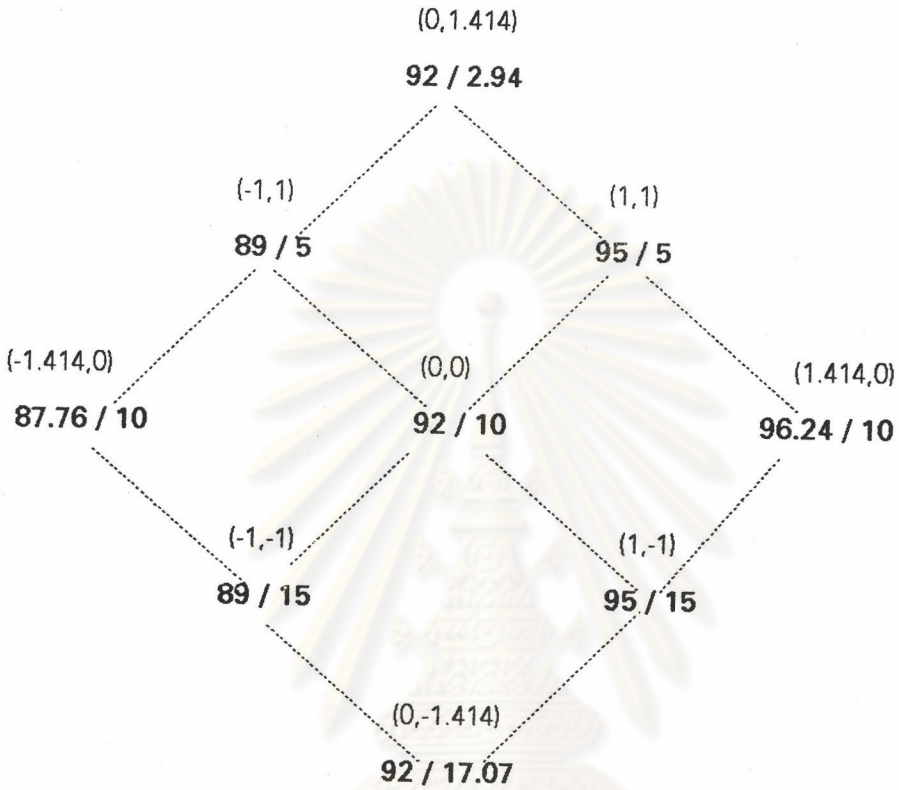
วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ stepwise regression analysis และ response surface methodology โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป STATGRAPHICS version 5.0 เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำตาลซูโครสต่อน้ำบัวบกผงและอัตราส่วนที่เหมาะสมในการละลายของน้ำบัวบกผงสำเร็จรูป

**5. ศึกษากระบวนการเพิ่มความสามารถในการละลายเพื่อผลิตน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปชนิดละลายทันที**

นำน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปที่คัดเลือกได้จากข้อ 4 มาผ่านตะแกรงร่อนของ Retsch เบอร์ 35 พ่นละอองน้ำบัวบกสดจากข้อ 1 โดยแปรอัตราส่วนน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปต่อน้ำบัวบกสดเท่ากับ 15:1 20:1 และ 25:1 กรัมต่อมิลลิลิตร คลุกให้น้ำบัวบกผงสำเร็จรูปรวมกลุ่มกันเป็นก้อน นำไปเกลี่ยบนตะแกรงร่อนของ Retsch เบอร์ 8 อบในตู้อบที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที (นันทนา แก้วอุบล, สัมภาษณ์, 25 ตุลาคม 2537) วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design จำนวน 2 ซ้ำ (สุรพล อุปดิสสกุล, 2523)

วิเคราะห์ผล ดังนี้

5.1 วัดปริมาณความชื้น ตามข้อ 3.1




รูปที่ 5 แผนการทดลองแบบ orthogonal rotatable design

หมายเหตุ : ตัวเลขด้านซ้ายมือ คือ ค่าร้อยละของน้ำตาลซูโครสต่อน้ำบัวบกผง ($X_1$) ในการผลิตน้ำบัวบกผงสำเร็จรูป

ตัวเลขด้านขวามือ คือ อัตราส่วนในการเตรียมน้ำบัวบกจากน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปเป็นกรัมต่อน้ำอุ่น 100 มิลลิลิตร ($X_2$)

ตัวเลขในวงเล็บ คือ สัญลักษณ์ที่แทนค่าร้อยละของน้ำตาลซูโครสต่อน้ำบัวบกผงในการผลิตน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปและอัตราส่วนในการเตรียมน้ำบัวบกจากน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปเป็นกรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร

5.2 วัดค่า $A_w$ด้วยเครื่อง $A_w$value analyzer ของ Novasina รุ่น MIK 3000 ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

5.3 สมบัติในการละลาย โดยวัดค่าร้อยละของของแข็งที่ไม่ละลายน้ำ ดัดแปลงจากวิธีของ Malundo, Resurreccion และ Koehler (1992) (ภาคผนวก ก.)

5.4 สมบัติในการแพร่กระจาย โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยดัดแปลงจากวิธีของ Abdel Kareen และ Brennan (1975); Al-Tinary และ Ismail (1985) อ้างใน Al-Kahtani และ Hassan (1990) (ภาคผนวก ก.)

5.5 วัดขนาดอนุภาคของน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปชนิดละลายทันทีด้วยกล้องจุลทรรศน์ของ Olympus รุ่น EC-Bi กำลังขยาย 4 เท่า

5.6 วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ตามข้อ 2.2

วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป MSTAT เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's new multiple-range test เลือกวิธีการผลิตน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปชนิดละลายทันทีที่ให้ปริมาณความชื้นน้อยที่สุด ค่าการละลายและค่าการแพร่กระจายที่ดีที่สุด

**6. ศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์น้ำบัวบกผงสำเร็จรูปชนิดละลายทันที**

นำน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปชนิดละลายทันทีที่คัดเลือกได้จากข้อ 5 บรรจุถุงลามิเนต (PET/ metallized PET/ PE/ EAA) ขนาด 7x9 ตารางเซนติเมตร หนา 80 ไมโครเมตร ถุงละ 12.5 กรัม ที่ภาวะบรรยากาศ ศึกษาอายุการเก็บโดยวิธีการเร่งอุณหภูมิในการเก็บที่ 35 และ 45 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design จำนวน 2 ซ้ำ

วิเคราะห์ผลโดยวัดค่า ปริมาณไขมัน และปริมาณโปรตีน (A.O.A.C., 1984) และวิเคราะห์ตัวอย่างทุก 1 สัปดาห์ตามข้อ 6.1- 6.4 และทุก 2 สัปดาห์ตามข้อ 6.5 ดังนี้

6.1 วัดค่าสี โดยนำน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปชนิดละลายทันทีมาละลายน้ำอุ่น เช่นเดียวกับข้อ 2.1 อัตราส่วนของน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปชนิดละลายทันทีต่อน้ำอุ่นได้จากข้อ 4 วัดค่าสีด้วยเครื่อง Chromameter ตามข้อ 2.1

6.2 วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด ตามข้อ 2.2

6.3 วัดปริมาณความชื้น ตามข้อ 3.1

6.4 ประเมินผลทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น และการยอมรับรวม โดยนำน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปมาละลายน้ำอุ่นเช่นเดียวกับข้อ 6.1 ประเมินผลทางประสาทสัมผัสในระดับห้อง

ปฏิบัติการด้วยวิธีการ multiple comparison test (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2535) (รายละเอียดของแบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ค.) โดยใช้ตัวอย่างที่เก็บไว้ที่ 0 องศาเซลเซียสเป็นตัวอย่างเปรียบเทียบ ใช้ผู้ทดสอบแบบ semi-trained (รายละเอียดของการฝึกฝนผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงในภาคผนวก ช.) จำนวน 10 คน (อนุวัตร แจ้งชัด, 2533) การทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อหาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์จะสิ้นสุดเมื่อคะแนนเฉลี่ยของค่าปัจจัยที่ทำการประเมินค่าใดค่าหนึ่งมีค่าด้อยกว่าตัวอย่างเปรียบเทียบในปริมาณความแตกต่างมาก (สเกลต่ำกว่าหรือเท่ากับ 2)

6.5 วัดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count : TPC) (A.O.A.C, 1984) โดยสุ่มตัวอย่างน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปชนิดละลายทันทีจำนวน 2 ถุง แต่ละถุงนำมาเตรียมระดับความเข้มข้นของน้ำบัวบก 3 ระดับ จำนวน 2 ซ้ำ แล้วนำไปวัดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป MSTAT และคำนวณอายุการเก็บตามสมการที่ 1 และ 2

**7. คำนวณต้นทุนราคาของน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปชนิดละลายทันที**

การคำนวณต้นทุนราคาของน้ำบัวบกผงสำเร็จรูปชนิดละลายทันทีใช้การคำนวณตามการคำนวณต้นทุนในการดำเนินงานในอุตสาหกรรมเกษตรของ จีรพรรณ กุลดิลก และคณะ (2525)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย