

บทที่ 2

วิธีการทดลอง

2.1 วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี

สารเคมี	บริษัทผู้ผลิต
Ammonia solution 30%	BDH
Amyl alcohol (AR)	H&W
Butanol	BDH
β -carotene	Fluka
Chloroform	BDH
Dichloromethane	MERCK
Ethanol	MERCK
Folin-Ciocalteu reagent	CARLO ERBA
Gallic acid (extra pure)	MERCK
Hexamethyldisilazane(purris)	Fluka
Hexane	BDH
Hydrochloric acid 37.4%	J.T. Baker
Lead acetate	BDH
Linoleic acid	BDH
Maltodextrin (Dextrin 20 from maize starch)	Fluka
m-Phosphoric acic	MERCK
Phosphomolybdic acid	PROLABO
Pyridine (AR)	J.T. Baker
Sodium carbonate anhydrous	Fluka
Sodium sulphate anhydrous	BDH
Sodium tungstate	Riedel – De Ha
Tannic acid	APS Ajax Finechem
Tween 20	MERCK

เครื่องมือ

เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer)

เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dryer type PSDS2)

เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง

(Drum dryer Model DOFM 19/22)

100 μ m PDMS SPME Fiber

เครื่อง GC/MS HP 6890 Series

HP – 1 (GC capillary column)

เครื่องมือพื้นฐานอื่นๆ

อุปกรณ์เครื่องแก้วต่างๆ

อุปกรณ์เครื่องครัวต่างๆ

บริษัทผู้ผลิต

Flexi-Dry

APV Spray Dryer

โอเนนอร์ ฟุคส์ แมชชีนเนอรี

จำกัด

SUPELCO

HEWLETT PACKARD

Agilent Technologies

วัตถุดิบ

ต้นเจาก๊วยแห้ง (Dried Jelly Grass คราไถ่ ผลิตโดย กิม โลง ฮั่ง ฮ่องกง)

Sodium bicarbonate (food grade)

แป้งมันสำปะหลัง

น้ำตาลทรายป่น

2.2 วิธีการทดลอง

2.2.1 การทำแห้งน้ำเจาก๊วย

2.2.1.1 การเตรียมน้ำเจาก๊วยเพื่อทำแห้ง

ชั่งต้นเจาก๊วยแห้งที่บดแล้วใส่ในถุงผ้าก่อนใส่ลงในหม้อสเตนเลส เติมน้ำตาลละลาย 0.45%(น.น./ปริมาตร) โซเดียมไบคาร์บอเนต ในอัตราส่วนต้นเจาก๊วยบด 1 กิโลกรัม ต่อ น้ำตาลละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต 24 ลิตร ต้มให้เดือดด้วยไฟอ่อน 3 ชั่วโมง⁽⁴⁾ คนเป็นระยะๆ นำถุงผ้าที่บรรจุต้นเจาก๊วยออกจากหม้อ บีบน้ำเจาก๊วยออกจากถุงผ้าให้มากที่สุดโดยใช้เครื่องบีบ รวม น้ำเจาก๊วยทั้งหมดและต้มต่อจนเหลือครึ่งหนึ่งของปริมาตรเริ่มต้น แล้วจึงนำไปทำแห้ง

2.2.1.2 การทำแห้งน้ำเจาก๊วยโดยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze Dry)

นำน้ำเจาก๊วยเข้มข้นที่เตรียมไว้ 150 มล.ใส่ในขวด freeze dry ขนาด 1 ลิตรนำไปแช่แข็งให้น้ำเจาก๊วยเคลือบรอบขวด หลังจากนั้นนำเข้าเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง บันทึกผล

2.2.1.3 การทำแห้งน้ำเจาก้วยโดยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray Dry)

นำน้ำเจาก้วยเข้มข้นที่เตรียมไว้ปริมาตร 36 ลิตร มาทำแห้งโดยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย อุณหภูมิลมร้อนเข้า chamber 250°C อุณหภูมิลมร้อนและผลิตภัณฑ์ที่ออกสู่ cyclone 90°C บันทึกผล

2.2.1.4 การทำแห้งน้ำเจาก้วยโดยเครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum Dry)

นำน้ำเจาก้วยที่เตรียมไว้มาคั้นน้ำเจาก้วยต่อจนปริมาตรลดลงเหลือหนึ่งในสามของปริมาตรเริ่มต้น นำน้ำเจาก้วยเข้มข้นปริมาตร 8 ลิตร มาทำแห้งโดยเครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง อุณหภูมิลูกกลิ้ง 100 - 104°C ความเร็วของลูกกลิ้ง 31 Hz (2.5 รอบ/นาที) ระยะห่างของลูกกลิ้งทั้งสอง 5 μm บันทึกผล

2.2.2 การหาความชื้น⁽⁴²⁾

ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักแน่นอน ใส่ลงในภาชนะที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิประมาณ 100°C เป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ นำตัวอย่างออกจากตู้อบและปล่อยให้เย็นในโถสุญญากาศ ชั่งน้ำหนักตัวอย่างอีกครั้ง คำนวณหาความชื้นจากสูตร บันทึกผล

$$\text{ก. ปริมาณความชื้น (\%w/w)} = \frac{(W_1 - W_2) \times 100}{W_1}$$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

$$\text{ข. ปริมาณของแข็ง (\%w/w)} = 100 - \text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)}$$

$$= \frac{(A - B) \times 100}{W_1}$$

เมื่อ A คือ น้ำหนักภาชนะบวกน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

B คือ น้ำหนักภาชนะ (กรัม)

W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

2.2.3 การหาความสามารถในการละลาย (Water Soluble Index, WSI)⁽⁴³⁾

ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน (ประมาณ 0.5 กรัม) ใส่ในหลอด centrifuge ขนาด 50 มล. เติมน้ำกลั่นลงไป 30 มล. ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 2 ชั่วโมง ในระหว่างนี้ใช้แท่งแก้วคนเป็นระยะๆ ล้างแท่งแก้วด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย นำเข้าเครื่องเหวี่ยงความเร็ว 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ค่อยๆรินน้ำใสที่ได้ ออก นำไปประเหยจนแห้งแล้วนำเข้าตู้อบอุณหภูมิ 105°C ประมาณ 30 นาที

หรือจนมีน้ำหนักคงที่ ทั้งให้เขียนในโถดุดความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วคำนวณความสามารถในการละลาย บันทึกผล

$$\text{ความสามารถในการละลาย(\%WSI)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนละลายน้ำ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}$$

2.2.4 การหาปริมาณกัม (gum) ^(19,22)

ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน(ประมาณ 0.5 กรัม) ใส่ในหลอด centrifuge ขนาด 50 มล. เติมน้ำกลั่นลงไป 5 มล. ใช้แท่งแก้วคนจนละลาย แล้วจึงเติมเอทานอล(95%) 20 มล. นำเข้าเครื่องเหวี่ยงความเร็ว 3,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 20 นาที ค่อยๆรินน้ำใสที่ได้ทิ้ง นำตะกอนที่ได้ใส่ภาชนะที่ทราบน้ำหนักแน่นอน แล้วนำเข้าตู้อบอุณหภูมิ 100 – 105 °C ประมาณ 30 นาที หรือจนมีน้ำหนักคงที่ ทั้งให้เขียนในโถดุดความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วคำนวณปริมาณกัม บันทึกผล

$$\text{ปริมาณกัม(\%w/w)} = \frac{\text{น้ำหนักตะกอนหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

2.2.5 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ^(21,24,25,29)

การเตรียมสารละลายสำหรับหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ก. สารละลาย 50% Folin-Ciocalteu reagent

เปิดสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent 25 มล. ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

ข. สารละลาย 2%(นน./ปริมาตร) sodium carbonate

ชั่ง sodium carbonate anhydrous 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มล.

ค. สารละลายมาตรฐาน 0.1 มก./มล. gallic acid

ชั่ง gallic acid 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล. ในขวดวัดปริมาตร ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

การทำกราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

นำสารละลายมาตรฐาน gallic acid ปริมาตร 100, 200, 300, 400 และ 500 µl

ทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent และสารละลาย 2% sodium carbonate วัดการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ขั้นตอนการทำกราฟมาตรฐานเป็นดังตาราง 2.1

ตาราง 2.1 ขั้นตอนและปริมาณสารต่างๆ ที่ใช้สำหรับสร้างกราฟมาตรฐานแสดงปริมาณ
สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

สารละลาย	ปริมาตร (มล.)					
	1	2	3	4	5	6
น้ำกลั่น (มล.)	7.9	7.8	7.7	7.6	7.5	7.4
สารละลายมาตรฐาน 0.1 มก./มล. gallic acid (μl)	0	100	200	300	400	500
สารละลาย Folin-Ciocalteu reagent (มล.)	0.1					
เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที						
สารละลาย 2% sodium carbonate (มล.)	2.0					
เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที						
วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร						

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ชั่งแกวชผงให้ได้น้ำหนักแน่นอน (ประมาณ 0.01 กรัม) ละลายน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มล. ในขวดวัดปริมาตร บีบคั้นน้ำจากพืชที่ได้ 300 μ l ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่น 7.6 มล. เติมสารละลาย Folin- Ciocalteu reagent 0.1 มล. เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที แล้วเติมสารละลาย 2% sodium carbonate 2.0 มล. เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร บันทึกผล

2.2.6 การหาปริมาณแทนนิน⁽⁴⁴⁾

การเตรียมสารละลายสำหรับหาปริมาณแทนนิน

ก. สารละลาย Folin-Dennis reagent

ชั่ง sodium tungstate ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 100 กรัม และ phosphomolybdic acid 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 750 มล. และเติม phosphoric acid 50 มล. คัมรีฟลักซ์ 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

ข. สารละลายอิ่มตัวของ sodium carbonate

ชั่ง sodium carbonate anhydrous 35 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มล. ที่อุณหภูมิ 70 – 80 °C ทิ้งไว้ให้เย็นและรอให้ตกผลึก 1 คืน กรองผลึกออกด้วยสำลี

ค. สารละลายมาตรฐาน 0.1 มก./มล. tannic acid

ชั่ง tannic acid 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล. ในขวดวัดปริมาตร ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

การทำการฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณแทนนิน

นำสารละลายมาตรฐาน tannic acid ปริมาตร 100, 200, 300, 400 และ 500 μl ทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-Denis reagent และสารละลายอิ่มตัวของ sodium carbonate วัดการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ขั้นตอนการทำการฟมาตรฐานเป็นดังตาราง 2.2

ตาราง 2.2 ขั้นตอนและปริมาตรสารต่างๆที่ใช้สำหรับสร้างกราฟมาตรฐานแสดงปริมาณแทนนิน

สารละลาย	ปริมาตร (มล.)					
	1	2	3	4	5	6
น้ำกลั่น (มล.)	8.5	8.4	8.3	8.2	8.1	8.0
สารละลายมาตรฐาน 0.1 มก./มล. Tannic acid (μl)	0	100	200	300	400	500
สารละลาย Folin-Dennis reagent (มล.)	0.5					
สารละลายอิ่มตัวของ sodium carbonate (มล.)	1.0					
เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที						
วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร						

การหาปริมาณแทนนิน

ชั่งเหลาก้วยผงให้น้ำหนักแน่นอน(ประมาณ 0.01 กรัม) ละลายน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มล. ในขวดวัดปริมาตร ปิเปิดน้ำเหลาก้วยที่ได้ 300 μl ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่น 8.2 มล. เติมสารละลาย Folin-Dennis reagent 0.5 มล. และสารละลายอิ่มตัวของ sodium carbonate 1.0 มล. เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร บันทึกผล

2.2.7 การวิเคราะห์สมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ^(45,46)

การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์สมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

ก. สารละลายเบต้า-แคโรทีนในคลอโรฟอร์ม(1.0 มก./10 มล.)

ชั่งเบต้า-แคโรทีน 1 มก. ละลายด้วยคลอโรฟอร์ม และปรับปริมาตรเป็น 10 มล. ในขวดวัดปริมาตร เก็บในที่มืดและเย็น

ข. สารสกัดจากตัวอย่าง

ชั่งเหลาก้วยผง 0.01 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 10 มล. ในขวดวัดปริมาตร

การวิเคราะห์สมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

ปีเปดสารละลายเบต้า-แคโรทีนในคลอโรฟอร์ม(1.0 มก./10 มล.)ปริมาตร 1 มล. ลงในบีกเกอร์ที่มีกรคลิโนเลอิก 20 มก. และทวิน20 200 มก. นำไปประเหยคลอโรฟอร์มที่อุณหภูมิ 50°C เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการให้อากาศเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปริมาตร 50 มล. พร้อมทั้งคนอย่างแรง จากนั้นปีเปดสารละลายในบีกเกอร์ปริมาตร 5 มล. ลงในหลอดทดลองที่มีสารสกัดจากตัวอย่าง 0.2 มล. เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร โดยอ่านค่าทุกๆ 30 นาที จนครบ 150 นาที สำหรับหลอดควบคุมใช้น้ำกลั่น 0.2 มล. แทนสารสกัด ส่วนหลอดเบลงค์ใช้คลอโรฟอร์มแทนสารละลายเบต้า-แคโรทีนในคลอโรฟอร์ม และใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัดในปริมาตรที่เท่ากัน

อัตราการฟอกสีของเบต้า-แคโรทีนคำนวณจากความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ระหว่างเวลาเริ่มต้น($A_{470(0)}$) และเวลาสุดท้ายที่อ่านได้ค่าคงที่ หรือเวลาสุดท้ายที่อ่านค่า($A_{470(t)}$)หารด้วยเวลา(t) แอคตีวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระคำนวณออกมาเป็นค่าดัชนีเรียกว่า Antioxidant Index โดยคำนวณจากอัตราการฟอกสีของเบต้า-แคโรทีนของหลอดควบคุมหารด้วยอัตราการฟอกสีของเบต้า-แคโรทีนของสารสกัดจากตัวอย่างบันทึกผล

$$\text{อัตราการฟอกสีของเบต้า-แคโรทีน} = \frac{A_{470(0)} - A_{470(t)}}{t}$$

$$\text{Antioxidant Index} = \frac{\text{อัตราการฟอกสีของเบต้า-แคโรทีนของหลอดควบคุม}}{\text{อัตราการฟอกสีของเบต้า-แคโรทีนของสารสกัดจากตัวอย่าง}}$$

2.2.8 การวิเคราะห์กลิ่นจากเผก๊วย

2.2.8.1 การหาปริมาณสารหอมระเหยจากต้นเผก๊วยแห้งโดยวิธีกลั่นแบบธรรมดา

ชั่งต้นเผก๊วยแห้งบด 20 กรัม ใส่ในขวดก้นกลมขนาด 1 ลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 400 มล. แล้วนำไปกลั่นแบบธรรมดา เก็บ distillate 200 มล. นำ distillate ที่ได้มาสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน 50 มล. กำจัดน้ำออกจากสารสกัดไดคลอโรมีเทนโดยใช้โซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส หลังจากนั้นนำไปประเหยไดคลอโรมีเทนออกโดยใช้ความดันต่ำ ชั่งน้ำหนักสารหอมระเหยที่ได้ บันทึกผล

2.2.8.2 การวิเคราะห์กลิ่นในน้ำเจาก้วยโดย Head Space SPME – GC/MS

เตรียมน้ำเจาก้วยโดยชั่งเจาก้วยผง 0.20 กรัม ละลายน้ำกลั่น 10 มล. นำน้ำเจาก้วยแต่ละตัวอย่างที่ได้ 5 มล. ใส่ในขวดตัวอย่างขนาด 10 มล. และสารหอมระเหยที่กลั่นได้ (distillate จาก 2.2.9.1) 200 มล. ใส่ในขวดตัวอย่างขนาด 250 มล.

สกัดกลิ่นในน้ำเจาก้วยโดย Head Space SPME โดยใช้ SPME fiber ลงในขวดตัวอย่าง โดยให้ SPME fiber อยู่เหนือสารละลายตัวอย่าง (ภาพ 1.8) นำขวดตัวอย่างแช่ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 30 นาที นำ SPME fiber ที่ดูดซับตัวอย่างแล้วใส่ลงในช่องฉีดสารของเครื่อง GC/MS เพื่อปล่อยสารที่ดูดซับเข้าสู่เครื่อง GC/MS (ภาพ 1.9) วิเคราะห์สารตัวอย่างและบันทึกผล โดยใช้สภาวะในการฉีด GC/MS ดังนี้

Inlet mode : splitless temperature 225°C

Column : HP-1(100% dimethylpolysiloxane bonded phase, Agilent Technologies)

Length : 30 m Column diameter : 250 μ m Film thickness : 0.25 μ m

Oven : Initial temperature 45°C hold 5 min. 10°C/min. to 225°C hold 7 min

Carrier gas : Helium constant flow 1.0 mL/min.

MS Quad : 150°C MS Source : 230°C

Scan parameters : Low mass:29 High mass:320

2.2.8.3 การจับกลิ่นในน้ำเจาก้วยโดยใช้มอลโทเดกซ์ทริน

เจาก้วยผงที่ได้จากการทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้งเมื่อนำมาละลายน้ำแล้วมีกลิ่นเจาก้วยเหลืออยู่น้อยมาก จึงได้ทดลองเติมมอลโทเดกซ์ทรินลงในน้ำเจาก้วยให้มีความเข้มข้นเป็น 1%, 1.5% และ 2%(w/v) แล้วนำไปทำแห้งโดยเครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้งเปรียบเทียบปริมาณกลิ่นในเจาก้วยผงธรรมชาติ และเจาก้วยผงที่มีมอลโทเดกซ์ทรินผสมอยู่ โดยละลายเจาก้วยผงตัวอย่าง 0.50 กรัม ในน้ำกลั่น 10 มล. โดยใช้วิธีการวิเคราะห์เหมือนข้อ 2.2.8.2 บันทึกผล

2.2.9 การวิเคราะห์ Trimethylsilyl derivative ของเจาก้วยผง โดย GC/MS^(47,48)

ละลายเจาก้วยผงที่ทราบน้ำหนักแน่นอน(ประมาณ 0.50 กรัม) ด้วยน้ำกลั่น 25 มล. เติม 8%(w/v) lead acetate 25 มล. คนให้เข้ากัน แล้วเติม 30% Ammonia solution 0.75 มล. ผสมให้เข้ากัน นำเข้าเครื่องเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที (หรือจนได้สารละลายใสและตะกอนเกาะก้นดี) รินสารละลายใสที่ได้ทิ้ง ล้างตะกอนด้วย 80 % เอทานอล 30 มล. 2 ครั้ง (เขย่าให้เข้ากันทุกครั้งก่อนนำเข้าเครื่องเหวี่ยง) คว่ำหลอด centrifuge 5 นาที (drain liquid)

เติม butanol 25 มล. และ hydrochloric acid 2.5 มล. เขย่าจนสีของตะกอนออกหมด นำเข้าเครื่องเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บสารละลายใสด้านบนไว้ ล้างตะกอนที่เหลือด้วย butanol 15 มล. แล้วนำเข้าเครื่องเหวี่ยงอีกครั้ง รวมสารละลายที่ได้เข้าด้วยกันใส่ในกรวยแยก เติม hexane 100 มล. เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไป 50 มล. เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้แยกชั้น เก็บสารสกัดชั้นล่าง(ชั้นน้ำ) หลังจากนั้นสกัดสารละลายที่ได้(น้ำ)ด้วย amyl alcohol 15 มล. นำสารสกัด amyl alcohol ที่ได้มากำจัดน้ำออกโดย sodium sulphate anhydrous ระเหย amyl alcohol ออกจนแห้งด้วยเครื่อง Rotatory evaporator ละลายตะกอนที่ได้ด้วย pyridine 1.5 มล.

ทำ Trimethylsilylation derivative โดยนำสารละลาย pyridine 0.1 มล. ผสมกับ hexamethyldisilazane 0.5 มล. แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำไปฉีด GC/MS บันทึกผลการทดลอง โดยใช้สภาวะในการฉีด GC/MS ดังนี้

Inlet mode : splitless temperature 250°C injection volume 0.1 µl

Column : HP-1(100% dimethylpolysiloxane bonded phase, Agilent Technologies)

Length : 30 m Column diameter : 250 µm Film thickness : 0.25

Oven : Initial temperature 60°C hold 2 min. 5°C/min. to 250°C hold 5 min

Carrier gas : Helium constant flow 1.0 mL/min.

MS Quad : 150°C MS Source : 230°C

Scan parameters : Low mass:35 High mass:450

Solvent delay : 7.5 min

2.2.10 การทำผลิตภัณฑ์เถ้าก้วยผง

จากการทำแห้งน้ำเถ้าก้วยผงโดยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย และเครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง พบว่าเถ้าก้วยผงที่ได้จากการทำแห้งโดยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งยังคงมีกลิ่นเถ้าก้วยผงอยู่ ละลายน้ำได้เร็ว มีเปอร์เซ็นต์ผลผลิต ปริมาณกัม สารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเถ้าก้วยผงตัวอย่างอื่น แต่เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ใช้มีขนาดเล็ก ในการทำแห้งน้ำเถ้าก้วยผงแต่ละครั้งจึงต้องใช้เวลา นาน และได้เถ้าก้วยผงปริมาณน้อย ส่วนเถ้าก้วยผงที่ได้จากเครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง มีเปอร์เซ็นต์ผลผลิต ปริมาณกัม สารประกอบฟีนอลิก แทนนิน ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการละลายมากกว่าเถ้าก้วยผงที่ได้จากเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย เมื่อใช้เถ้าก้วยผงน้ำหนักเท่ากันน้ำเถ้าก้วยผงที่ได้จากการละลายเถ้าก้วยผงที่ได้จากการทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้งมีสีน้ำตาลเข้มมากกว่าน้ำเถ้าก้วยผงที่ได้จากการละลายเถ้าก้วยผงที่ได้จากการทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย และเครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้งมีอัตราการทำแห้งสูงกว่า

เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง จึงใช้เจาก๊วยผงที่ได้จากการทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบดวกกลิ้งเพียงชนิดเดียวในการทดลองทำผลิตภัณฑ์เจาก๊วยผง

2.2.10.1 การทำน้ำเจาก๊วยผงพร้อมดื่ม

- ก. การทดสอบทางประสาทสัมผัส เพื่อหาปริมาณเจาก๊วยผงและน้ำตาลที่เหมาะสมสำหรับทำน้ำเจาก๊วยพร้อมดื่ม
- ข. การแปรรูป โดยผสมเจาก๊วยผงกับน้ำตาลทรายป่น(จากข้อ ก.) ให้เข้ากัน นีค่น้ำเจาก๊วยเป็นฟอยลงบนส่วนผสมทั้งสอง โดยคนตลอดเวลาขณะที่นีนน้ำเจาก๊วย นีนน้ำเจาก๊วยจนผงที่ได้เกาะกันเป็นก้อนเล็กๆ(ไม่ฟุ้งกระจาย) แล้วอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 °C 3 ชั่วโมง

2.2.10.2 การทำเจาก๊วยผงกึ่งสำเร็จรูป

- ก. การทดสอบทางประสาทสัมผัส เพื่อหาปริมาณเจาก๊วยผงและแป้งมันสำปะหลังที่เหมาะสมในการเตรียมเจลเจาก๊วย
- ข. การแปรรูป โดยผสมเจาก๊วยผงกับแป้งมันสำปะหลัง(จากข้อ ก.) ให้เข้ากัน นีค่น้ำเจาก๊วยเป็นฟอยลงบนส่วนผสมทั้งสอง โดยคนตลอดเวลาขณะที่นีนน้ำ นีนน้ำจนกระทั่งผงที่ได้เกาะกันเป็นก้อนเล็กๆ(ไม่ฟุ้งกระจาย) แล้วอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 °C 3 ชั่วโมง