

บทที่ 3

การทดลอง

วัตถุประสงค์

โปรตีนถั่วเขียว จากบริษัทไทยวา ฟู้ดโปรดักส์ จำกัด ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากขั้นตอนการผลิตแป้งถั่วเขียวในอุตสาหกรรมวันเส้น โดยไม่ถั่วเขียวพร้อมน้ำด้วยโมไฟฟ้ากรองแยกเปลือกและกากออก ได้ส่วนของ แป้ง โปรตีน และน้ำรวมกัน ปั่นแยกส่วนที่หนักคือ แป้งถั่วเขียวออก ให้ความร้อนสารละลายส่วนเหลือ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เพื่อให้โปรตีนตกตะกอน กรอง ตากแดดตะกอนโปรตีนจนถึงระดับความชื้นร้อยละ 3 โดยน้ำหนัก บดเป็นผง ร้อนผ่านตะแกรงขนาด 25 เมช ได้โปรตีนถั่วเขียวที่มีโปรตีนร้อยละ 75-80 โดยน้ำหนัก

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

Sulfuric acid	A.R.
Boric acid	A.R.
Potassium hydrogenphthalate	A.R.
Methyl red	A.R.
Methylene blue	A.R.
Sodium hydroxide	A.R.
Petroleum ether	A.R.

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจน (ammoniacal nitrogen)

Magnesium oxide	A.R.
Boric acid	A.R.
Methyl red-Methylene blue	A.R.
Sulfuric acid	A.R.

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน (formaldehyde nitrogen)

Formaldehyde	A.R.
Sodium hydroxide	A.R.

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณโซเดียมคลอไรด์

Silver nitrate	A.R.
Nitric acid	A.R.
Ferric alum	A.R.
Potassium thiocyanate	A.R.

อุปกรณ์

อุปกรณ์ในการวิเคราะห์คุณภาพ

เครื่องชั่ง Analytical balance (Sartorius, A200s)

เครื่องชั่ง Top loading (Sartorius, B3100s)

ชุดย่อย-กลั่นโปรตีน (Kjeldatherm and Vapodest1, Gerhardt, KT 85)

ชุดสกัดไขมัน (Gerhardt Soxtherm Automatic, S-166)

Hot air oven (WTE Binder, E 53)

Muffle furnace (Carbolite, MEL 11-2)

Heating mantle (P Selecta, 314.500)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต HVP

pH meter (Corning, pH meter 220)

Hand refractometer 0-32° Brix (Atago, No 1)

28-62° Brix (Atago, No 99444)

Autoclave (Sanyo MLS 2400)

Shaking water bath (Heto, DT Hetotherm)

Rotary vacuum evaporater (Heidolph VV 2000)

Spray dryer (Niro atomizer, PD-2)

ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ ดังนี้

3.1.1 ความชื้น วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (45) (ภาคผนวก ก.1)

3.1.2 โปรตีน วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (45) (ภาคผนวก ก.2)

3.1.3 ไขมัน วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (45) (ภาคผนวก ก.3)

3.1.4 เถ้า วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (45) (ภาคผนวก ก.4)

3.1.5 เส้นใย วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (45) (ภาคผนวก ก.5)

3.1.6 คาร์โบไฮเดรต ได้จากการคำนวณผลต่างขององค์ประกอบทางเคมีทั้งหมดกับผลรวมของปริมาณ ความชื้น โปรตีน, ไขมัน, เถ้า และเส้นใยที่วิเคราะห์ได้

3.2 ศึกษาอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเขียวต่อสารละลายกรดไฮโดรคลอริก

ย่อยโปรตีนถั่วเขียว 10 กรัม ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลาร์ ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร แปรอัตราส่วนของโปรตีนถั่วเขียวต่อสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเป็น 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 และ 1:7 (กรัม: มิลลิลิตร) ปิดปากขวดด้วยสำลีและแผ่นอลูมิเนียม ย่อยในเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง ปรับ pH ของของผสมเป็น 5.5-6.0 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก ขณะปรับ

คนของผลमतตลอดเวลาด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า จากนั้นกรองเพื่อแยกตะกอนออก
 ประเมินผลการทดลองโดย วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน(45), อะมิโน
 ไนโตรเจน(45) (ภาคผนวก ก.6), อะมิโนไนโตรเจนต่อไนโตรเจนทั้งหมด และเกลือ
 โซเดียมคลอไรด์(45) (ภาคผนวก ก.7)

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design
 (CRD) ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple
 Range Test (46)

3.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิ ความเข้มข้นของกรด และเวลาที่ใช้ในการย่อย
 ผลมโปรตีนถั่วเขียวกับกรดไฮโดรคลอริกใน Erlenmeyer flask
 ขนาด 250 มิลลิลิตร ใช้อัตราส่วนเหมาะสมที่สรุปได้จากการทดลองข้อ 3.2 นำไป
 ย่อยในเครื่อง autoclave เมื่อครบเวลาที่กำหนดทำให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง ปรับ pH
 ของของผลมเป็น 5.5-6.0 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก
 ขณะปรับคนอย่างสม่ำเสมอด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า จากนั้นกรองเพื่อแยกตะกอน
 ออก แล้ววิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและประสาทสัมผัสของสารละลายส่วนใส

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ ได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลาย ศึกษา
 2 ระดับ คือ 120 และ 130 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก
 ศึกษา 2 ระดับ คือ 4 และ 6 โมลาร์ ระยะเวลาในการย่อยสลาย ศึกษา 3 ระดับ
 คือ 2, 4 และ 6 ชั่วโมง

ประเมินผลการทดลองโดยวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน(45), อะมิโน
 ไนโตรเจน(45) และอะมิโนไนโตรเจนต่อไนโตรเจนทั้งหมด

วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Experiment
 ขนาด 2x2x3 ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New
 Multiple Range Test (46)

ประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส ใช้ผู้
 ทดสอบจำนวน 10 คน ซึ่งผ่านการฝึกฝนโดยให้ผู้ทดสอบดมกลิ่นของสารปรุงแต่งกลิ่นรส
 อาหารทางการค้า ได้แก่ HVP, กลิ่นปลาหมึก, กลิ่นไก่, กลิ่นเนื้อ และกลิ่นปลาหมึก
 ทำ 10 ซ้ำ ใช้วิธีทดสอบแบบ Scoring Test กำหนดระดับคะแนน 0-10

โดย 10 คะแนน หมายถึง มีกลิ่นหอมของ HVP มากที่สุด 0 คะแนน หมายถึง ไม่มีกลิ่นหอมของ HVP (รายละเอียดแบบสอบถามแสดงในภาคผนวก ข.1) การทดสอบทำโดยใช้ตัวอย่าง HVP ที่เตรียมได้ ปริมาณ 10 มิลลิลิตร บรรจุในขวด ampule ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร ปริมาตร 15 มิลลิลิตร

วางแผนการทดลองแบบ Factorial Randomized Complete Block Experiment เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (46)

3.4 ศึกษาภาวะในการกำจัดกลิ่นแปลกปลอมของ HVP

เตรียม HVP โดยย่อยโปรตีนถั่วเขียวด้วยกรดไฮโดรคลอริก ใช้อัตราส่วนเหมาะสมที่สรุปได้จากการทดลองข้อ 3.2 ภายใต้ภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 3.3 นำ HVP ที่ผลิตได้ไปดูดซับด้วยแอกทีฟคาร์บอน ใน Erlenmeyer flask ปิดปากขวดด้วย parafilm ให้ความร้อนและเขย่าใน shaking water bath ซึ่งตั้งอุณหภูมิตามที่กำหนด เมื่อครบเวลา กรองแยกแอกทีฟคาร์บอนออก ด้วยกระดาษกรอง Whatman (GF/C) วิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์ทางเคมีและประสาทสัมผัส

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ ได้แก่ อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา ศึกษา 2 ระดับ คือ 50 และ 60 องศาเซลเซียส เวลาในการกำจัดกลิ่นแปลกปลอม ศึกษา 2 ระดับ คือ 30 และ 60 นาที และปริมาณแอกทีฟคาร์บอน ศึกษา 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0.1, 0.5 และ 1.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ประเมินผล โดยการวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัสตามวิธีในข้อ 3.3

วางแผนการทดลองแบบ Factorial Randomized Complete Block Experiment ทดลอง 2 ชั้น เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (46)

3.5 ศึกษาภาวะในการทำ HVP ให้เข้มข้น

เตรียม HVP โดยย่อยโปรตีนถั่วเขียวด้วยกรดไฮโดรคลอริก ตามภาวะเหมาะสมจากการทดลอง ข้อ 3.2 และ ข้อ 3.3 กำจัดกลิ่นแปลกปลอมด้วยแอกทีฟ

คาร์บอน โดยใช้ภาวะที่สรุปได้จากการทดลองข้อ 3.4 ทำให้เข้มข้น โดยวิธีระเหย ภาวะสูญญากาศด้วยเครื่อง rotary vacuum evaporater โดยแปรรูปหมัก ภาวะทำให้เข้มข้นเป็น 4 ระดับ คือ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส ควบคุม ความดันที่ภาวะสูญญากาศเป็น 26 นิ้วปรอท และความเร็วรอบเป็น 240 รอบต่อนาที ระเหยจนได้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (total soluble solids) จากการวัดด้วย hand refractometer เป็นร้อยละ 60 โดยน้ำหนัก

ประเมินผล โดยการวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัส ตามวิธีในข้อ 3.3

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (46)

ประเมินผลการทดลอง โดยเปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการระเหยน้ำ ออกจากผลิตภัณฑ์จนถึงระดับที่ต้องการ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (46)

3.6 การศึกษาคุณภาพของ HVP

3.6.1 การศึกษาคุณภาพของ HVP ในรูปของเหลวเข้มข้น

เตรียม HVP ในรูปของเหลวเข้มข้นร้อยละ 60 โดยน้ำหนัก ใช้ภาวะเหมาะสมที่ได้จากการทดลองข้อ 3.2-3.4 ทำให้เข้มข้นโดยวิธีระเหยภายใต้ ภาวะสูญญากาศด้วยเครื่อง rotary vacuum evaporator ความดันที่ภาวะสูญญากาศ 26 นิ้วปรอท ความเร็วรอบ 240 รอบต่อนาที ใช้อุณหภูมิเหมาะสมที่ได้จากการทดลอง ข้อ 3.5 ตรวจสอบคุณภาพ HVP ที่เตรียมได้ โดยวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีน, ไขมัน, เกล็ด และคาร์โบไฮเดรต ตามวิธีในข้อ 3.1 และโซเดียมคลอไรด์ตามวิธีในข้อ 3.2

3.6.2 การผลิตและศึกษาคุณภาพของ HVP ในรูปผง

เตรียม HVP โดยใช้ภาวะเหมาะสมที่ได้จากการทดลองข้อ 3.2-3.4 ทำแห้งด้วยเครื่อง spray dryer ใช้อุณหภูมิลมร้อน 180 องศาเซลเซียส ความดันลม 30 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ป้อนเข้าด้วยอัตราเร็ว 1700 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ตรวจสอบคุณภาพ HVP ผง โดยวิเคราะห์ค่าต่างๆ เช่นเดียวกับข้อ 3.6.1

3.7 ศึกษาการใช้ประโยชน์ HVP เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร

3.7.1 การใช้ HVP ในรูปของเหลวเข้มข้น

ทดสอบสมบัติในการเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารของ HVP เข้มข้น ที่เตรียมได้ โดยเติมในซูปผัก(47) ซึ่งมีส่วนผสมดังนี้

ส่วนผสมของซูปผัก

<u>ส่วนผสม</u>	<u>ปริมาณ(กรัม)</u>
น้ำ	1000.0
มันฝรั่ง	114.0
แครอท	112.0
ถั่วฝักยาว	97.0
เนยสด(ชนิดไม่เติมเกลือ)	50.0
แป้งสาลี	34.8
พริกไทย	2.2
เกลือ	2.5

การผลิตซูปผักทำโดย ต้มน้ำกระตุกไก่อจนเดือด ใส่มันฝรั่ง และแครอท ซึ่งหั่นเป็นชิ้นขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มเดือดนาน 5 นาที เติมเครื่องปรุง และถั่วฝักยาว ซึ่งหั่นเป็นชิ้นยาว 1.5 เซนติเมตร ต้มต่อจนผักทั้งหมดนุ่ม เติมแป้งสาลีละลายน้ำ คนให้ทั่ว แล้วเติม HVP ในซูปผักในปริมาณร้อยละ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 โดยน้ำหนัก

ประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส ใช้ทดสอบชนิดผู้บริโภครวมไปจำนวน 20 คน ใช้แบบทดสอบชนิด 9-point Hedonic scale โดย 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด (รายละเอียดแบบสอบถามแสดงในภาคผนวก ข.2)

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test(46)

3.7.2 การใช้ HVP ผง

ทดสอบสมบัติในการเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารของ HVP ผงที่เตรียมได้ โดยเติมในซูปฝึก เช่นเดียวกับการทดลองข้อ 3.7.1 ใช้ HVP ในปริมาณร้อยละ 0, 0.5, 0.75 และ 1.0 โดยน้ำหนัก ทดสอบผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัสตามวิธีในข้อ 3.7.1

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test(46)

3.7.3 เปรียบเทียบคุณภาพของ HVP ที่ผลิตได้กับ HVP ทางการค้า

HVP ทางการค้า (HPP:FC-01[®]) จากบริษัท ฟูด เซอร์วิส แอนด์ คอนซัลท์ จำกัด มีลักษณะเป็นผงสีเหลือง ดูดความชื้นเร็ว (hygroscopic)

3.7.3.1 ศึกษาคุณภาพของ HPP:FC-01[®]

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของ HPP:FC-01[®]

ตามวิธีในข้อ 3.6.1

3.7.3.2 ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของ HPP:FC-01[®]

ผลิตซูปฝึกตามวิธีในข้อ 3.7.1 เติม HPP:FC-01[®] ในปริมาณร้อยละ 0, 0.50, 0.75 และ 1.00 โดยน้ำหนัก ทดสอบผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัสตามวิธีในข้อ 3.7.1

วางแผนการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลแบบ
Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย
วิธี Duncan's New Multiple Range Test(46)

3.7.3.3 เปรียบเทียบคุณภาพของ HVPเข้มข้น และ HVP
ผงที่ผลิตได้ กับ HPP:FC-01[®] ทางการค้า

ผลิตซูปส์กตามวิธีในข้อ 3.7.1 เติม HVP
เข้มข้น, HVPผง และ HPP:FC-01[®] ตามปริมาณเหมาะสมที่สรุปได้จากข้อ 3.7.1,
3.7.2 และ 3.7.3.2 เปรียบเทียบความชอบด้านกลิ่นรสของซูปส์กในผลิตภัณฑ์แต่ละ
ตัวอย่าง โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสตามวิธีในข้อ 3.7.1

วางแผนการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลแบบ
Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย
วิธี Duncan's New Multiple Range Test(46)