บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุ

1. เมล็ดถั่วเหลือง [*Glycine max(L) merril*] พันธุ์เชียงใหม่ 1 จากศูนย์วิจัยพืชไร่ จังหวัดสงขลา
2. ถุงไนลอนจากบริษัท เอเชียอุตสาหกรรมโฟม จำกัด อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
3. เต้าหู้อ่อนทางการค้า โดยควบคุมยี่ห้อและแหล่งที่ซื้อเดียวกันตลอดการทดลอง
4. สารเคมีที่ใช้สำหรับการตกตะกอนโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลือง ได้แก่ กลูโคโนเดลต้าแลคโตน (Glucono delta lactone, GDL) แคลเซียมซัลเฟต (Calcium sulfate, $CaSO_4.2H_2O$) จากบริษัท Fluka และแมกนีเซียมคลอไรด์ (Magnesium chloride, $MgCl_2$) จากบริษัท Carlo Erba โดยใช้เกรดสำหรับวิเคราะห์
5. สารเคมีสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมีโดยใช้เกรดสำหรับวิเคราะห์

อุปกรณ์

<u>อุปกรณ์สำหรับผลิตเต้าหู้อ่อน</u>

1. เครื่องปั่นละเอียด (blender) ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2G ประเทศไต้หวัน
2. เครื่องหมุนเหวี่ยง ยี่ห้อ Sorvall รุ่น RC-5B plus ประเทศสหรัฐอเมริกา
3. เครื่องปิดผนึก ยี่ห้อ FJ รุ่น SFM300 ประเทศมาเลเซีย
4. เครื่องกำเนิดความดันสูง (High pressure) ยี่ห้อ SFP รุ่น S-FL-850-9-W ประเทศอังกฤษ
5. อ่างควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert รุ่น W350 ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. เครื่องผสม ยี่ห้อ IKA LABTECHNIK รุ่น RW20 DZMn ประเทศมาเลเซีย

<u>อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพ</u>

1. เครื่องเขย่ายี่ห้อ Vortex-Genie2 รุ่น G-560E ประเทศสหรัฐอเมริกา
2. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ METTLER TOLEDO รุ่น AB204 ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
3. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ SARTORIUS รุ่น BP2100S ประเทศเยอรมันนี
4. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น UV-16001 ประเทศออสเตรเลีย
5. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง ยี่ห้อ Scientific รุ่น Denver15 ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. เครื่อง Texture Analyser ยี่ห้อ TA-XT2i รุ่น Stable Micro System ประเทศอังกฤษ

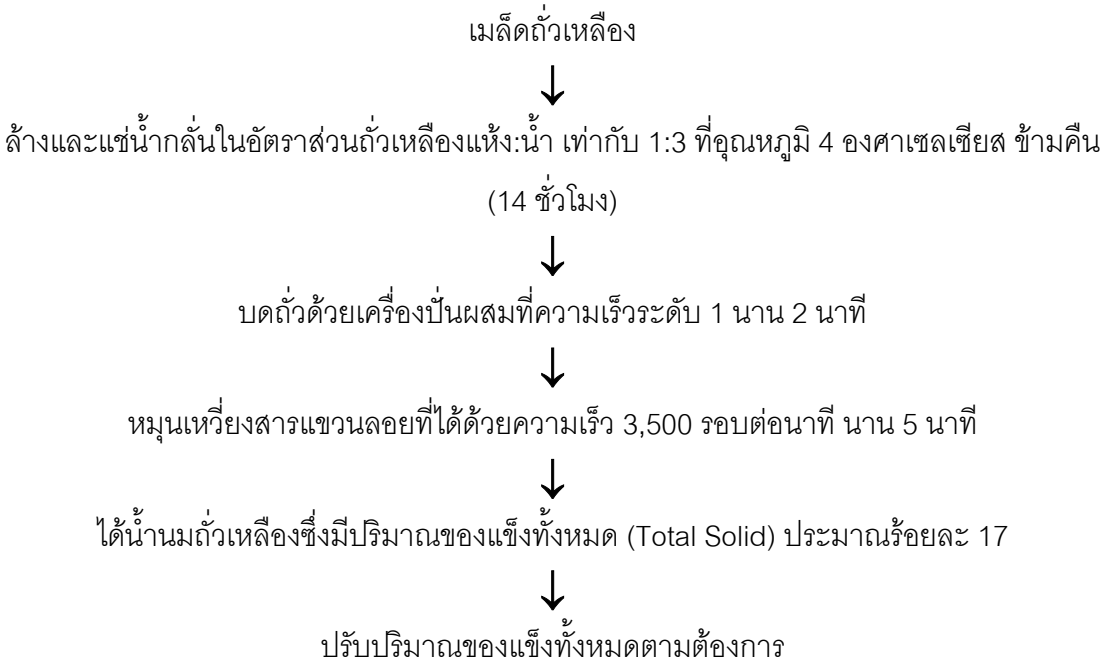
7. เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ ยี่ห้อ NISSEI รุ่น AM-8 ประเทศมาเลเซีย
8. อ่างควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert รุ่น W350 ประเทศสหรัฐอเมริกา
9. เครื่องวิเคราะห์โครงสร้างทางจุลภาค ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM5800LV ประเทศญี่ปุ่น
10. เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า ยี่ห้อ IKA-WERKE รุ่น RO15 ประเทศเยอรมันนี
11. อุปกรณ์ทดสอบทางประสาทสัมผัส
12. อุปกรณ์ทดสอบทางจุลินทรีย์

วิธีการทดลอง

1. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ของเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 1 ดังนี้คือ

- ปริมาณความชื้น (AOAC, 1999)
- ปริมาณไขมัน (AOAC, 1999)
- ปริมาณโปรตีน (AOAC, 1999)
- ปริมาณเถ้า (AOAC, 1999)
- ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (AOAC, 1999)

2. เตรียมวัตถุดิบน้ำนมถั่วเหลืองตามวิธีของ Kajiyama และคณะ (1995) ดังภาพที่ 5 ศึกษาองค์ประกอบของน้ำนมถั่วเหลืองเช่นเดียวกับข้อ 1 รวมทั้งตรวจสอบปริมาณของแข็งทั้งหมด (AOAC, 1999) และค่าความเป็นกรดด่างโดยเครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง



ภาพที่ 5 การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเพื่อผลิตเป็นเต้าหู้อ่อน
ที่มา : ดัดแปลงจาก Kajiyama และคณะ (1995)

3. ศึกษาผลของความดันหรือความร้อนร่วมกับความดันต่อคุณสมบัติด้านเนื้อสัมผัสและกลิ่นรสของน้ำนมถั่วเหลือง

นำน้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 3 ระดับ คือร้อยละ 10 12 และ 14 แบ่งออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วทำเย็น อีกส่วนไม่ผ่านการให้ความร้อน จากนั้นนำน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 2 ส่วน ไปให้ความดันที่ระดับต่างๆ คือ 0.1 200 400 600 และ 800 เมกกะปาสคาล นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำน้ำนมถั่วเหลืองหรือเคิร์ดที่ได้ไปตรวจสอบดังนี้

3.1 กิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซิจิเนส ตามวิธีของ Ben-Aziz และคณะ (1970 อ้างโดย Tangwongchai *et al*., 2000)

3.2 Texture Profile Analysis (TPA) ด้วยเครื่อง Texture Analyser ตามวิธีของ Bourne (1978)

3.3 การละลายของโปรตีนด้วยสารละลายต่างๆ ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Roussel และ Cheftel (1990) เปรียบเทียบกับเต้าหู้อ่อนทางการค้า

3.4 คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสโดยวิธี Multisample difference test ด้านกลิ่นรสถั่วเหลือง(เหม็นเขียว) รสขม ความฝาด และความหยาบ โดยผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB)

3.5 ค่าสีด้วยเครื่อง Color analyser (CIE Lab)

4 ศึกษาผลของความดันหรือความร้อนร่วมกับการใช้สารตกตะกอนโปรตีนต่อคุณสมบัติของเต้าหู้อ่อน

4.1 ศึกษาผลของการให้ความดันหรือความร้อนร่วมกับชนิดสารตกตะกอนโปรตีนต่อคุณสมบัติของเต้าหู้อ่อน

นำน้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็ง 3 ระดับ คือ ร้อยละ 10 12 และ14 มาเติมสารตกตะกอนโปรตีน 4 ชนิด คือ กลูโคโนเดลต้าแลคโตน (GDL), แคลเซียมซัลเฟต ($CaSO_4$), แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) และ กลูโคโนเดลต้าแลคโตนผสมกับแคลเซียมซัลเฟตในอัตราส่วน 7: 3 ปริมาณร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนักน้ำนมถั่วเหลือง แล้วกวนให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนแบบใบพัดความเร็ว 250 รอบต่อนาที นาน 25 วินาที แบ่งตัวอย่างทุกชุดการทดลองออกเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งนำไปให้ความดันระดับ 400 เมกกะปาสคาล นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง อีกส่วนนำไปให้ความความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ตรวจสอบคุณลักษณะของเต้าหู้อ่อนทั้งสองส่วนโดยเปรียบเทียบกับเต้าหู้อ่อนทางการค้า ดังนี้

- Texture Profile Analysis (TPA) ด้วยเครื่อง Texture Analyser ตามวิธีของ Bourne (1978)

- การละลายของโปรตีนด้วยสารละลายต่างๆ ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Roussel และ Cheftel (1990) เปรียบเทียบกับเต้าหู้อ่อนทางการค้า

- ค่าสีด้วยเครื่อง Color analyser (CIE Lab)

- คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสโดยวิธี Multisample difference test โดยผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน ด้านกลิ่นรสถั่วเหลือง(เหม็นเขียว) รสขม ความฝาด และความหยาบ โดยวางแผนการทดลองแบบบล็อคไม่สมบูรณ์สมดุลย์ (Balanced Incomplete Block Design, BIB) (สุรพล อุปดิสสกุล, 2536)

คัดเลือกชนิดของสารตกตะกอนโปรตีนและปริมาณของแข็งทั้งหมดในการผลิตเต้าหู้อ่อนที่มีคุณลักษณะทางเนื้อสัมผัสใกล้เคียงกับเต้าหู้อ่อนทางการค้าและมีคุณลักษณะด้านกลิ่นรสถั่ว ความขมและความฝาดต่ำเพื่อใช้ทดสอบในข้อ 4.2 ต่อไป

4.2 ศึกษาผลของความเข้มข้นสารตกตะกอนโปรตีนร่วมกับความดันระดับต่างกันต่อคุณสมบัติของเต้าหู้อ่อน โดยแบ่งน้ำนมถั่วเหลืองออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ

4.2.1 เติมสารตกตะกอนโปรตีนที่คัดเลือกจากข้อ 4.1 ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ ร้อยละ 0.1 0.2 และ 0.3 โดยน้ำหนักน้ำนมถั่วเหลือง แล้วให้ความดันที่ระดับต่างๆกัน 3 ระดับ คือ 200 400 และ 600 เมกกะปาสคาล อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที

4.2.2 ให้ความดัน 200 เมกกะปาสคาล อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที ก่อนการเติมสารตกตะกอนโปรตีนชนิดเดียวกันกับข้อ 4.2.1

จากนั้นแบ่งน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 2 ชุดการทดลอง ออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที อีกส่วนไม่ผ่านการให้ความร้อน ตรวจสอบคุณสมบัติของเต้าหู้อ่อนเช่นเดียวกับข้อ 4.1 เปรียบเทียบกับเต้าหู้อ่อนทางการค้า

5. ศึกษาโครงสร้างทางจุลภาคของเต้าหู้อ่อนโดย Scanning Electron Microscope (SEM)

คัดเลือกเต้าหู้อ่อนชุดการทดลองที่เหมาะสมจากข้อ 3 4.2 เต้าหู้อ่อนทางการค้าและเต้าหู้อ่อนที่ผลิตเลียนแบบเต้าหู้อ่อนทางการค้าตามวิธีผลิตที่ดัดแปลงจาก Shen และคณะ (1991) โดยมีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14 ตกตะกอนโปรตีนด้วยสารกลูโคโนเดลต้าแลคโตน ปริมาณร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนักน้ำนมถั่วเหลือง (ภาพที่ 6) มาตรวจสอบโครงสร้างทางจุลภาคโดย Scanning Electron Microscope (SEM) เพื่อศึกษาถึงผลของความดัน ความร้อน และสารตกตะกอนโปรตีนต่อโครงสร้างของเต้าหู้อ่อน โดยมีวิธีการเตรียมตัวอย่างตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Verheul และ Poefs (1998)

6. ศึกษาอายุการเก็บของเต้าหู้อ่อน

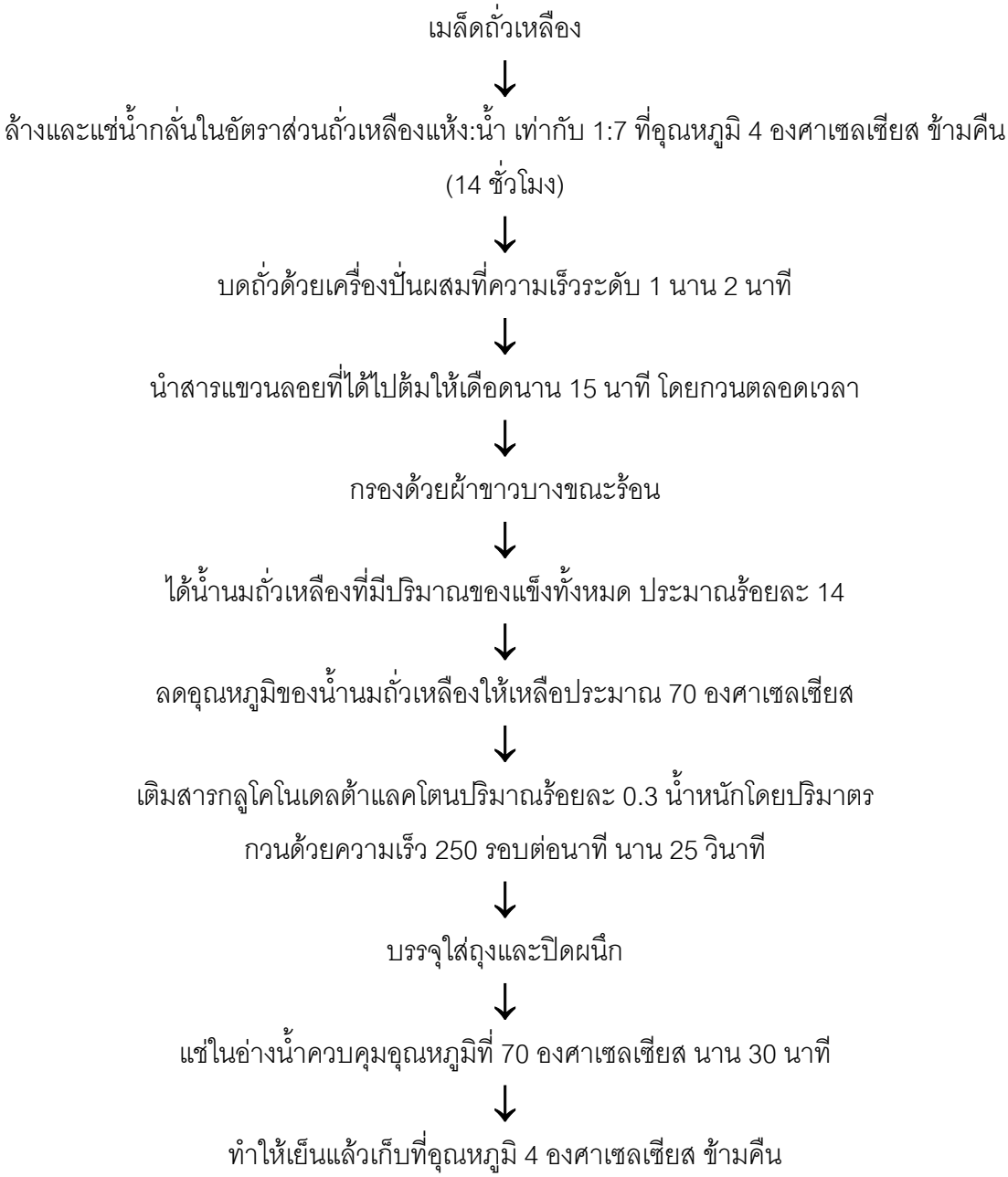
นำเต้าหู้ชุดการทดลองที่คัดเลือกจากข้อ 3 และ 4.2 มาเก็บที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน แล้วเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจสอบคุณภาพทุก 3 วัน ดังนี้

1.1 ตรวจสอบคุณภาพด้านจุลินทรีย์โดยวิธี total plate count สำหรับ psychrophile ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Hansen และคณะ (1995) เปรียบเทียบกับเต้าหู้อ่อนที่ผลิตเลียนแบบทางการค้า

6.2 ตรวจสอบคุณภาพด้านประสาทสัมผัสโดยทำการเปรียบเทียบแบบ Multisample difference test ด้านกลิ่นรสผิดปกติและเนื้อสัมผัส รวมทั้งทดสอบการยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ด้วยวิธี hedonic scale (9 คะแนน) เปรียบเทียบกับเต้าหู้อ่อนเลียนแบบการค้า

7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan' new multiple range test (DMRT) โดยใช้ SPSS for Window Version 10.0



ภาพที่ 6 การผลิตเต้าหู้อ่อนเลียนแบบเต้าหู้อ่อนทางการค้า

ที่มา : ดัดแปลงจาก Shen และคณะ (1991)