บทที่ 3

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลองจำแนกตามประเภทดังต่อไปนี้

วัตถุดิบ	ชื่อทางการค้า	บริษัทที่ผลิต	ประเทศที่ผลิต	ตัวแทนจำหน่าย
กากถั่วเหลืองใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการสกัดโปรตีนถั่วเหลือง	-	บริษัท ธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช จำกัด	ไทย	-
ไข่ขาวผง (egg albumen-poder) ใช้เป็นตัวแทนสารให้ฟองทางการค้าเพื่อเปรียบเทียบสมบัติการเกิดฟอง	-	บริษัท ไข่เปดริ้วฉะเชิงเทรา	ไทย	-
น้ำตาลซูโครส ใช้ในการเตรียมผลิตภัณฑ์เมอะแรงส์ในขั้นตอนการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค	มิตรผล	บริษัทรวมเกษตรอุตสาหกรรมจำกัด	ไทย	-
ผงโกโก้ ใช้ในการเตรียมผลิตภัณฑ์เมอะแรงส์ในขั้นตอนการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส	แม็กกาแรต	บริษัท ปีเตอร์ริชฮอลแลนด์ ประเทศฮอลแลนด์	ฮอลแลนด์	-

วัตถุดิบ	ชื่อทางการค้า	บริษัทที่ผลิต	ประเทศที่ผลิต	ตัวแทนจำหน่าย
อัลคาไลน์โปรติเอส	Protin AC 10®, 100,00 PU/g	Daiwa Kasai KK	ญี่ปุ่น	บ.สหสิทธิ์ อิมปอร์ต เอ็กซปอร์ต
อัลคาไลน์โปรติเอส	Alcalase® 2.4 AU/mg	NOVO industri A/S	เดน-มาร์ก	บ.อิสต์เอเชียติก ประเทศไทย จำกัด
นิวทรัลโปรติเอส	Papain 2.1 U/mg	Fluka	สวิส เซอร์-แลนด์	ห้างหุ้นส่วน จำกัด ชัชรีย์-
แอซิดโปรติเอส	Pesin 250 U/mg	Sigma	อเมริกา	ห้างหุ้นส่วน จำกัด ชัชรีย์

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองจำแนกตามประเภทได้ดังต่อไปนี้

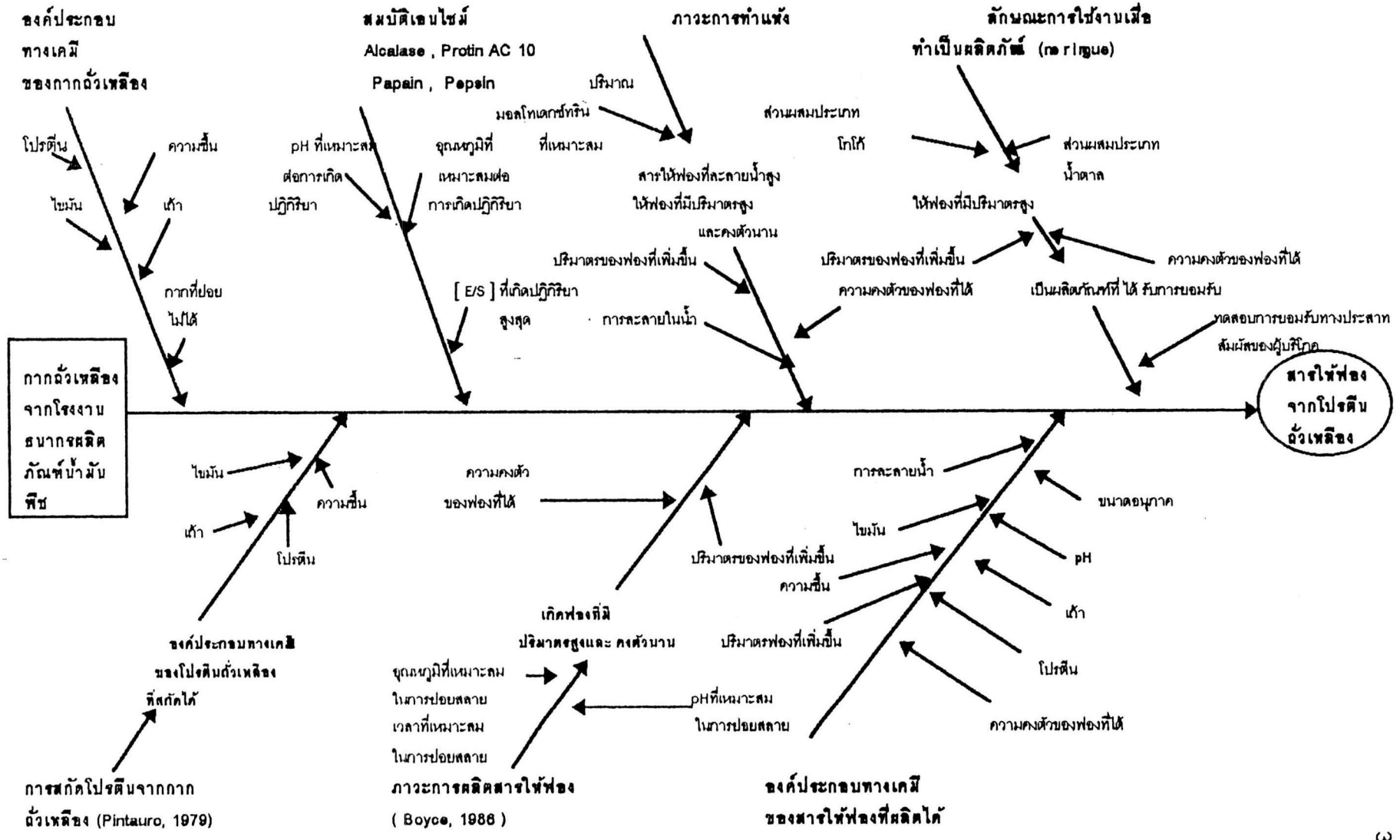
สารเคมี	การใช้งาน	เกรด	บริษัท	ประเทศ
Petroleum ether	วิเคราะห์ปริมาณไขมัน	วิเคราะห์ (AR)	Fluka	สวิ สเซอร์ แลนด์
Sodium hydroxide	-วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน-สกัดโปรตีนจากกากถั่ว เหลือง -ปรับpHในกระบวนการย่อยสลายโปรตีน	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Sulfuric acid	วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Boric acid	วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Hydrochloric acid	วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน สกัดโปรตีนจากกากถั่วเหลือง	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี

Methylred	วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Methylene blue	วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
สารเคมี	การใช้งาน	เกรด	บริษัท	ประเทศ
Potassium sulfate	วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Copper sulfate	วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Acetic acid	เตรียมอะซิเตท บัฟเฟอร์	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Sodium acetate	เตรียมอะซิเตท บัฟเฟอร์	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Monobasic sodiumphosphate	เตรียมฟอสเฟต บัฟเฟอร์	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Dibasic sodiumphosphate	เตรียมฟอสเฟต บัฟเฟอร์	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Trichloroacetic acid	วัดแอคติวิตีของเอนไซม์	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Tyrosine	วัดแอคติวิตีของเอนไซม์	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Citric acid	การปรับ pH ในกระบวนการย่อยสลายโปรตีน	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Coomassie brillant blue G 250	วัดระดับการย่อยสลายโปรตีน	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Bovine serum albumin	วัดระดับการย่อยสลายโปรตีน	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Phosphoric acid	วัดระดับการย่อยสลายโปรตีน	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Ethyl alcohol	วัดระดับการย่อยสลายโปรตีน	วิเคราะห์ (AR)	Merck	เยอรมันนี
Maltodextrin DE. 12-15	ช่วยในการทำแห้งโปรตีนที่ย่อยสลายแล้ว	อาหาร (FR)	Cerestar Co., Ltd	ฝรั่งเศส

เครื่องมือ ที่ใช้ในการทดลองจำแนกตามประเภทได้ดังต่อไปนี้

เครื่องมือ	ยี่ห้อ	รุ่น	บริษัทที่ผลิต	ประเทศที่ผลิต
เครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพที่ใช้ควบคุมกระบวนการย่อยสลายโปรตีน	Biostat-M	volume1.5 L.	B.braun	อังกฤษ
เครื่องชั่งชนิดหยาบ	Satorius	รุ่น1907 MPS	Satorius Gmblt	เยอรมันนี
เครื่องชั่งชนิดละเอียด	Satorius	รุ่น A 2005	Satorius Gmblt	เยอรมันนี
. เครื่อง centrifuge	S e r a e u s Christ	type 4500	-	-
เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง	Shimadzu	UV 240	Shimadzu	ญี่ปุ่น
pH meter	Hanna	8417	Hanna	-
Magnetic stirrer	P-Selecta	Agimatic-N	P-Selecta	-
Mixer kitchen Aid	Krups	3 MIX 4004	-	-
ตู้อบลมร้อน	LHE Binder	E 53	WTB binder	เยอรมันนี
ชุดเครื่องกลั่นหาปริมาณโปรตีน	Gerhardt Vapodest 1	Kjeldatherm Vapodest	Gerhardt	เยอรมันนี
เครื่องร่อนแยกขนาด	-	-	Retsch	เยอรมันนี

จากข้อคิดและข้อมูลบางประการดังที่ได้เสนอมาก่อนหน้านี้ได้นำมาใช้เป็นแนวทางการผลิตสารให้ฟองจากโปรตีนที่สกัดจากกากถั่วเหลือง ขอบเขตโดยรวมของงานวิจัยทั้งหมดแยกเป็นขั้นตอนการศึกษาประเด็นต่างๆ ตามลำดับแสดงได้ดังผัง ในรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 แผนผังแสดงขั้นตอนการศึกษาโดยรวมของงานวิจัยทั้งหมด

จากประเด็นหลักแต่ละข้อมีรายละเอียดขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัยดังนี้

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย

3.1. **วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากถั่วเหลืองวัตถุดิบ** (รายละเอียดอยู่ในภาคผนวก ก.)

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากถั่วเหลืองวัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัยดังนี้

3.1.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ด้วยวิธีการอบแห้งโดยใช้ตู้อบ ทดลอง2 ซ้ำ ตามวิธีการของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก.1)

3.1.2 วิเคราะห์ร้อยละของปริมาณโปรตีน ด้วยวิธีการ micro Kjeldahl ทดลอง 2 ซ้ำ ตามวิธีการของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก.2)

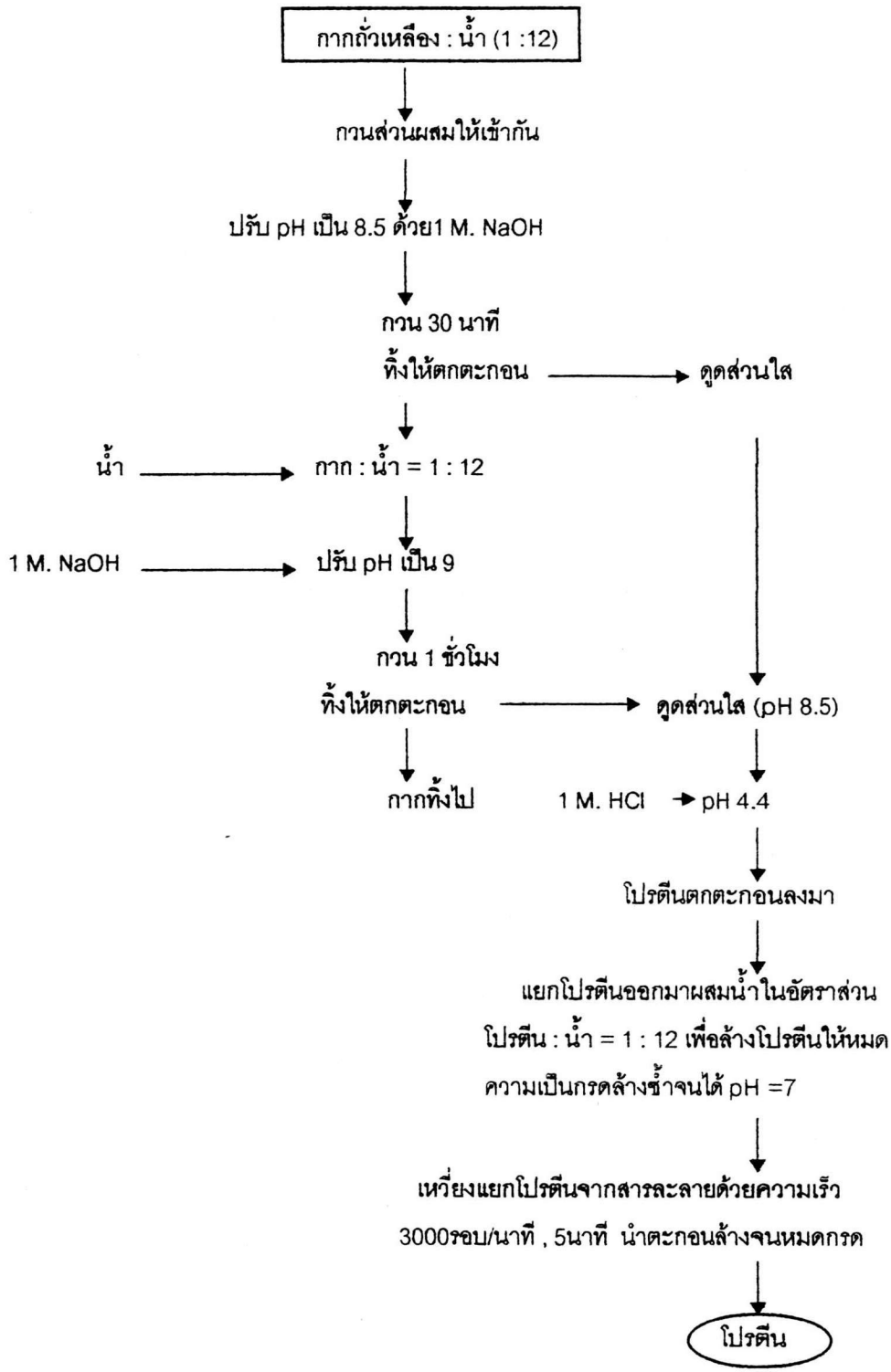
3.1.3 วิเคราะห์ร้อยละของปริมาณไขมัน ด้วยวิธีการสกัดไขมันด้วยอีเธอร์ ทดลอง 2 ซ้ำ ตามวิธีการของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก.3)

3.1.4 วิเคราะห์ร้อยละของปริมาณเถ้า ด้วยวิธีการเผาเถ้าในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 °C ทดลอง 2 ซ้ำ ตามวิธีการของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก.4)

3.1.5 วิเคราะห์ร้อยละของปริมาณกากที่ย่อยไม่ได้ ด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ทดลอง 2 ซ้ำ ตามวิธีการของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก.5)

3.2. **สกัดโปรตีนจากกากถั่วเหลือง**

สกัดโปรตีนจากกากถั่วเหลือง โดยการตกตะกอนโปรตีนลงมาเมื่อ pH อยู่ที่จุด isoelectric point ตามวิธีของ Pintauro (1979) ดังแสดงในรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 วิธีการสกัดโปรตีนจากกากถั่วเหลืองดัดแปลงมาจาก Pintauro, (1979)

3.2.1. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนที่สกัดได้จากกากถั่วเหลือง

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนที่สกัดได้จากกากถั่วเหลืองดังนี้

3.2.1.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ด้วยวิธีการอบแห้งโดยใช้ตู้อบ ทดลอง 2 ซ้ำ ตามวิธีการของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก.1)

3.2.1.2 วิเคราะห์ร้อยละของปริมาณโปรตีน ด้วยวิธีการ micro kjeldahl ทดลอง 2 ซ้ำ ตามวิธีการของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก.2)

3.2.1.3 วิเคราะห์ร้อยละของปริมาณไขมัน ด้วยวิธีการสกัดไขมันด้วยอีเธอร์ ทดลอง 2 ซ้ำ ตามวิธีการของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก.3)

3.2.1.4 วิเคราะห์ร้อยละของปริมาณเถ้า ด้วยวิธีการเผาเถ้าในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 °C ทดลอง 2 ซ้ำ ตามวิธีการของ AOAC(1990) (ภาคผนวก ก.4)

3.3. **วิเคราะห์อุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์** Pepsin, Papain, Protin AC 10® และ Alcalase® **โดยใช้โปรตีนที่สกัดได้เป็นสับสเตรท (ร้อยละ)**

3.3.1 ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ได้แก่

ระดับของ pH ที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ในช่วง pH 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 ที่อุณหภูมิ 25 ° C

ระดับของอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ในช่วงอุณหภูมิ 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 และ 90 ° C

ประเมินค่าโดยการเลือกภาวะ pH และอุณหภูมิที่ให้ความเร็วปฏิกิริยาสูงสุดเมื่อใช้ความเข้มข้นเอนไซม์ต่อสับสเตรทโปรตีนถั่วเหลืองเป็น 0.1 มล. ของเอนไซม์ต่อ 0.1 มก. ของสับสเตรท ดัดแปลงจากวิธีของ Richardson และ Te Whaiti (1978) ดังแสดงรายละเอียดในภาคผนวก ข.

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นเปรียบเทียบระดับของ tyrosine ที่เกิดขึ้นในภาวะต่างๆของเอนไซม์แต่ละตัวเพื่อเสนอค่าเป็นร้อยละแอคติวิตีสัมพัทธ์สูงสุด ดังวิธีต่อไปนี้

ค่าร้อยละของแอคติวิตีสัมพัทธ์ (% relative activity) ตามวิธีของ Richardson และ Te whaiti (1978) (ภาคผนวก ข.) ซึ่งวัดปริมาณของ tyrosine ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยา คำนวณค่า% relative activity ดังนี้

$$\% \text{ relative activity} = \frac{\text{ปริมาณ tyrosine ที่เกิดขึ้นในภาวะที่ศึกษา}}{\text{ปริมาณtyrosineที่เกิดขึ้นสูงสุดในภาวะที่ศึกษาของแต่ละเอนไซม์}} \times 100$$

3.4 **ประเมินความเข้มข้นของโปรตีนต่อความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม**

เลือกภาวะที่อุณหภูมิและ pH ที่เอนไซม์แต่ละตัวทำงานได้ดี มาใช้ในการหาความเข้มข้นของเอนไซม์ต่อสับสเตรท ดัดแปลงจากวิธีของ Richardson และ Te whaiti (1978) (ภาคผนวก ข.) เช่นกัน ประเมินค่าโดยเลือกระดับที่ให้ความเร็วปฏิกิริยาสูงสุด ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ได้แก่

3.4.1 **ระดับของเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อสับสเตรทโปรตีน** 0.1 กรัม ในช่วงความเข้มข้นเอนไซม์ 1/100, 1/500, 1/1,000, 1/5,000 และ 1/10,000

3.4.2 **ระดับของสับสเตรทโปรตีนที่เหมาะสม** ต่อความเข้มข้นเอนไซม์ที่เลือกได้จากการทดลองข้อ 3.4.1 โดยแปรระดับของสับสเตรทโปรตีนถั่วเหลืองจาก 0.1 กรัมดังข้อ 3.4.1 ในระดับต่างๆเป็น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 กรัม

วางแผนการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely Randomized Design วิเคราะห์ข้อมูลโดยโปรแกรมสำเร็จรูป Mstat เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan' s New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ทดลอง 3 ซ้ำ

เกณฑ์ในการตัดสินความเข้มข้นของสับสเตรทโปรตีนต่อความเข้มข้นเอนไซม์ที่เหมาะสมใช้ค่าความเร็วปฏิกิริยาสูงสุด คำนวณจากปริมาณ tyrosine ที่เกิดขึ้นต่อเวลา 1 นาที (ภาคผนวก ข)

3.5. **เลือกภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารให้ฟองในโปรตีนถั่วเหลือง**

กระบวนการผลิตสารให้ฟองจากโปรตีนถั่วเหลืองดัดแปลงจากวิธีของ Boyce (1986) ขั้นตอนในการผลิตสารให้ฟองมีดังรูปที่ 3.3

3.5.1 **ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ได้แก่**

3.5.1.1 เวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย 5, 10, 15, 20 และ 25 นาที

3.5.1.2 อุณหภูมิ 20 °C, 40°C และ 60 °C

3.5.1.3 pH สำหรับแอซิดโปรติเอสที่ระดับ 2, 3 และ 4

pH สำหรับอัลคาไลน์โปรติเอสและนิวทรัลโปรติเอสที่ระดับ 6, 7 และ 8

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Asymmetric Factorial Design ขนาด 5 x 3 x 3 ทดลอง 2 ซ้ำ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์สุดท้ายไปประเมินคุณภาพโดยใช้เกณฑ์ดังข้อ 3.5.2

3.5.2 เกณฑ์ในการเลือกภาวะที่เหมาะสมในขั้นตอนนี้ได้แก่

3.5.2.1 ร้อยละของปริมาตรฟองที่เพิ่มขึ้น (% foam expansion) ตามวิธีของ Bernadi (1991) (ภาคผนวก ค.)

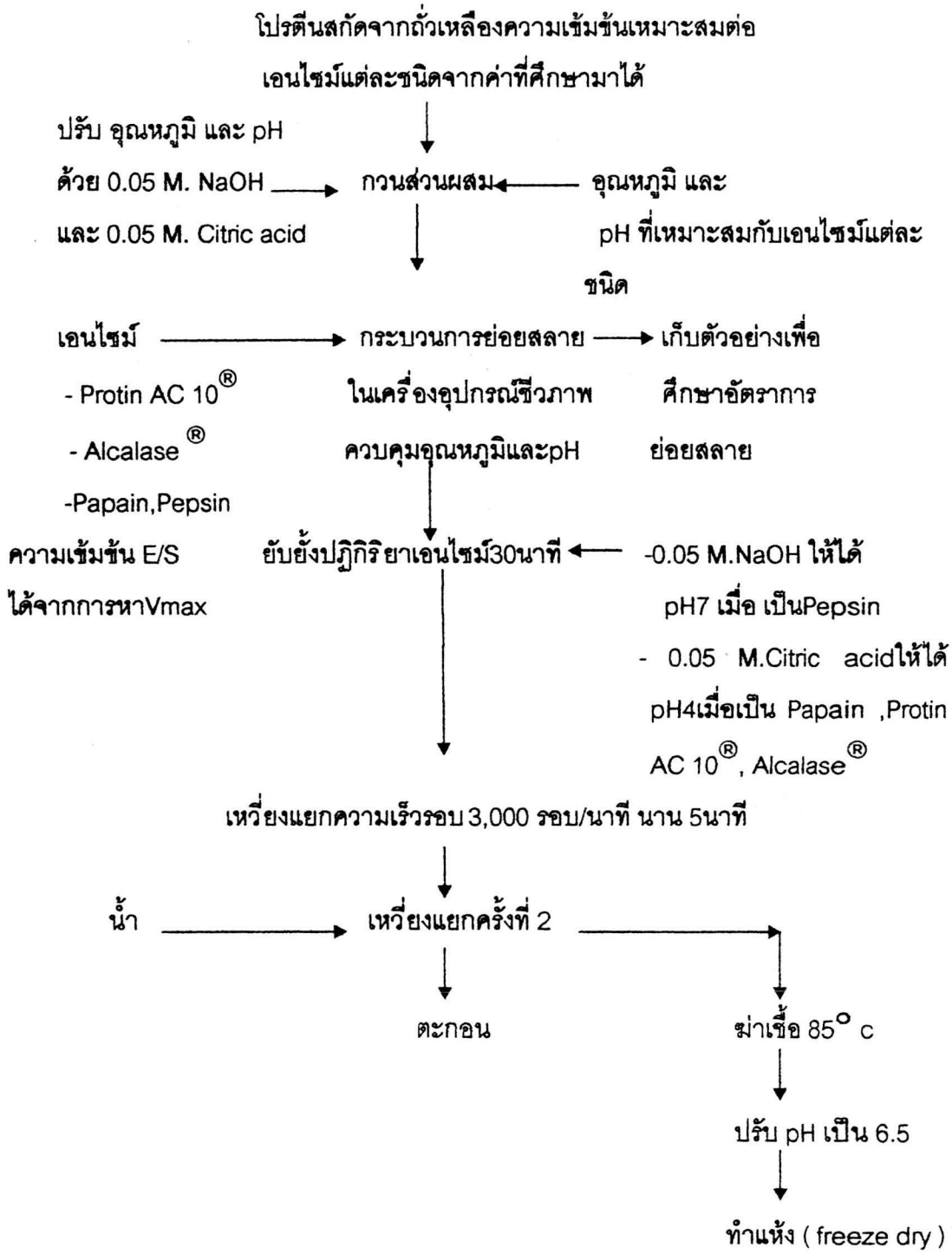
3.5.2.2. ความคงตัวของฟอง (foam stability) วัดค่าเป็นเวลา (นาที) ที่ปริมาตรสูงสุดของฟองลดลงเหลือปริมาตรครึ่งหนึ่ง ตามวิธีของ Damodaran (1996) (ภาคผนวก ง.)

นำผลจากข้อ 3.5.2.1 และ 3.5.2.2 ของโปรตีนที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์แต่ละตัว มาพิจารณาหาภาวะการทดลองที่เหมาะสมจากกราฟ 2 มิติ (Contour plot) โดยใช้โปรแกรม STATGRAPHICS Version 5.0 ของ Graphic Software System Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

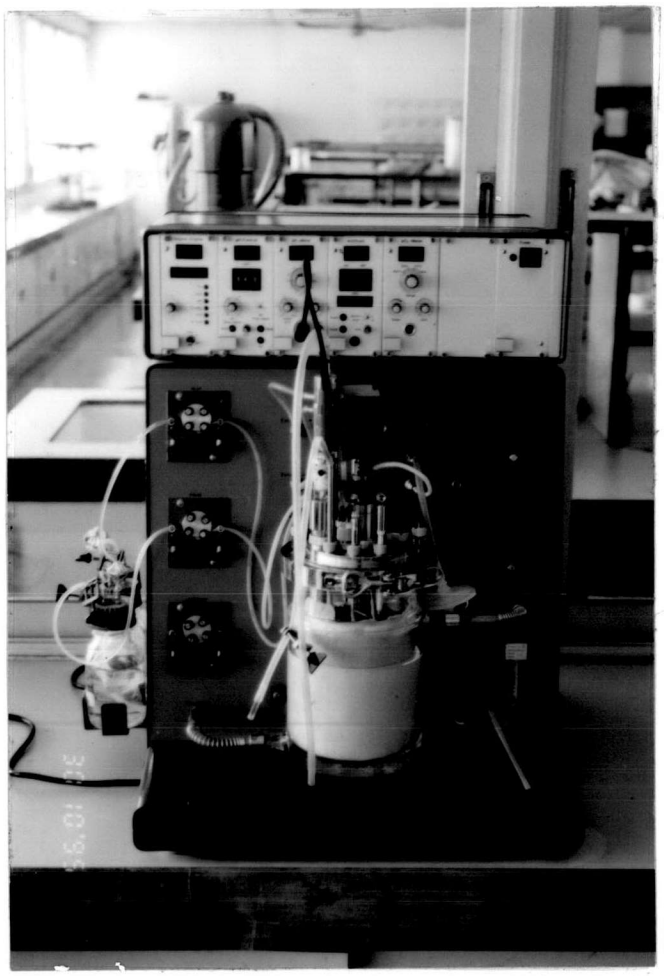
3.5.3 วัดระดับการย่อยสลายโปรตีนที่ภาวะต่างๆ ดังที่ได้กำหนดในข้อ 3.1 นำไปศึกษาระดับการย่อยสลาย (Degree of Hydrolysis ,DH) โดยวิธีของ Scopes (1987) ซึ่งใช้ปฏิกิริยา biuret (ภาคผนวก จ.) ในการวัดปริมาณพันธะเปปไทด์ คำนวณค่า DH ดังนี้

$$DH = \frac{\text{จำนวนของพันธะเปปไทด์ที่ถูกย่อยโดยเอนไซม์}}{\text{จำนวนของพันธะเปปไทด์ทั้งหมดที่อยู่ในตัวอย่าง}} \times 100$$

I20307777X



รูปที่ 3.3 กระบวนการผลิตสารให้ฟองจากโปรตีนถั่วเหลือง (ดัดแปลงจากวิธีของ Boyce, 1986)



รูปที่ 3.4 การย่อยสลายโปรตีนที่สกัดจากกากถั่วเหลืองในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ

3.6. **เปรียบเทียบค่าการขยายตัวของฟองและความคงตัวของฟองจากตัวอย่างโปรตีนถั่วเหลืองย่อยสลายด้วยเอนไซม์ กับสารให้ฟองจากไข่ขาว** (egg albumen)

นำผลของค่าการขยายตัวของฟองและความคงตัวของฟองจากตัวอย่างที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์แต่ละชนิด ที่ให้ค่าสูงสุดโดยเลือกจากข้อ 3.5.2 เปรียบเทียบกับผลที่ได้จากสารให้ฟองจากไข่ขาว เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ทดลอง 3 ซ้ำ

3.7. กำหนดปริมาณ **มอลโทเดกซ์ทริน ที่เหมาะสมในการเป็นสารช่วยการทำแห้งสารให้ฟองที่ผลิตได้**

เลือกตัวอย่างโปรตีนที่ถูกย่อยสลายในภาวะที่ให้ฟองอากาศที่มีปริมาตรสูงและคงตัวอยู่ได้นาน จากข้อ 3.5.2 มา 4 ตัวอย่างจากเอนไซม์ 4 ชนิดที่เลือกศึกษา

เตรียมสารละลายโปรตีนดังกล่าวให้มีความเข้มข้นร้อยละ 10 ผสม มอลโทเดกซ์-ทริน (DE 12-15) ลงไป ผสมจนละลายหมดจึงนำไปทำแห้ง ด้วยวิธีทำแห้งเยือกแข็ง (freeze dry) โดยศึกษาถึงปริมาณของมอลโทเดกซ์ทริน 4 ระดับ คือร้อยละ 5, 10, 15 และ 20 โดยน้ำหนักมอลโทเดกซ์ทรินต่อปริมาตรสารละลาย วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของสมบัติทางการยภาพของสารให้ฟองโดยวิธี Duncan' s New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ประเมินสมบัติสารให้ฟองโดยการวิเคราะห์ค่าต่างๆดังนี้

3.7.1 ความสามารถในการละลายน้ำ (Boyce,1986) (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ฉ.)

3.7.2 ค่าการขยายตัวของฟอง วัดค่าเป็นร้อยละของปริมาตรฟองที่เพิ่มขึ้น (% foam expansion) ตามวิธีของ Bernadi (1991) (ภาคผนวก ค.)

3.7.3 ความคงตัวของฟอง (foam stability) วัดค่าเป็นเวลา (นาที) ที่ปริมาตรสูงสุดของฟองลดลงเหลือปริมาตรครึ่งหนึ่ง ตามวิธีของ Damodaran (1996) (ภาคผนวก ง.)

3.8. **ทดสอบลักษณะผลิตภัณฑ์สุดท้ายของสารให้ฟองผงที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลือง**

ทดสอบลักษณะผลิตภัณฑ์สุดท้ายของสารให้ฟองผงที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลือง ดังนี้

3.8.1 วิเคราะห์ค่าการขยายตัวของฟอง วัดค่าเป็นร้อยละของปริมาตรฟองที่เพิ่มขึ้น (% foam expansion) ตามวิธีของ Bernadi (1991) (ภาคผนวก ค.)

3.8.2 วิเคราะห์ความคงตัวของฟอง (foam stability) วัดค่าเป็นเวลา (นาที) ที่ปริมาตรสูงสุดของฟองลดลงเหลือปริมาตรครึ่งหนึ่ง ตามวิธีของ Fennema (1996) (ภาคผนวก ง.)

3.8.3 วิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำ (Boyce,1986) (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ฉ.)

3.8.4 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ด้วยวิธีการอบแห้งโดยใช้ตู้อบ ทดลอง 2 ซ้ำ ตามวิธีการของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก.1.)

3.8.5 วิเคราะห์ร้อยละของปริมาณโปรตีน ด้วยวิธีการ micro Kjeldahl ทดลอง 2 ซ้ำ ตามวิธีการของAOAC (1990) (ภาคผนวก ก.2)

3.8.6 วิเคราะห์ร้อยละของปริมาณเถ้า ด้วยวิธีการเผาเถ้าในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 ^{o}C ทดลอง 2 ซ้ำ ตามวิธีการของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก.4)

3.8.7 วิเคราะห์ค่า pH โดยละลายสารให้ฟองความเข้มข้นร้อยละ 3 ในน้ำ กวนด้วย magnetic stirrer จนละลายหมดแล้วนำไปวัด pH ด้วยเครื่อง pH meter

3.8.8 วิเคราะห์ขนาดอนุภาคของสารให้ฟองผงที่ผลิตได้ โดยนำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาดตั้งแต่ 50-250 mesh ด้วยเครื่องร่อนแยกขนาด

3.9 ทดสอบประสิทธิภาพของสารให้ฟองเมื่อนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์

3.9.1 ผลของน้ำตาลที่มีต่อการเกิดฟองโดยสารให้ฟองจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ คือ Pepsin, Papain, Protin AC 10® และ Alcalase® ทดลองผสมน้ำตาลและน้ำกับสารให้ฟองในปริมาณและสัดส่วนคิดเป็นปริมาณน้ำตาล 28.6 % น้ำ 64.3 % และสารให้ฟอง 7.1 % (Kuehler และ Stine, 1974) และแปรระดับน้ำตาลเป็น ปริมาณน้ำตาล 10 % น้ำ 82.9 % สารให้ฟอง 7.1 % และ ปริมาณน้ำตาล 50 % น้ำ 42.9 % สารให้ฟอง 7.1 % ประเมินสมบัติสารให้ฟองโดยการวิเคราะห์ค่าต่างๆดังนี้

3.9.1.1 ค่าการขยายตัวของฟอง วัดค่าเป็นร้อยละของปริมาตรฟองที่เพิ่มขึ้น (% foam expansion) ตามวิธีของ Bernadi (1991) (ภาคผนวก ค.)

3.9.1.2 ค่าความคงตัวของฟอง (foam stability) วัดค่าเป็นเวลา(นาที)ที่ปริมาตรสูงสูดของฟองลดลงเหลือปริมาตรครึ่งหนึ่งตามวิธีของ Damodaran (1996) (ภาคผนวก ง.

สมบัติของสารให้ฟองที่ได้จากข้อ 3.9.1.1 และ 3.9.1.2 ใช้สารให้ฟองไข่ขาวเป็นตัวแทนสารให้ฟองทางการค้า และเปรียบเทียบกับค่าที่ไม่มีการเพิ่มน้ำตาลลงไป

วางแผนการทดสอบแบบ Completely randomized design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

คัดเลือกสารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลืองที่มีค่าการขยายตัวของฟองและความคงตัวของฟองสูงที่สุด เพื่อศึกษาผลจากส่วนผสมไขมันในข้อต่อไป

3.9.2 ผลของไขมันในผงโกโก้ที่มีต่อการเกิดฟอง โดยสารให้ฟองที่เลือกจากข้อ 3.9.1

นำสารให้ฟองที่เลือกได้จากข้อ 3.9.1 เพิ่มส่วนผสมที่เป็นผงโกโก้ลงไป 1 ส่วนต่อสารให้ฟอง 3 ส่วน (Pintauro, 1979)

แปรส่วนผสมผงโกโก้ในปริมาณที่สามารถเห็นผลกระทบต่อการเกิดฟอง ประเมินสมบัติสารให้ฟอง โดยการวิเคราะห์ค่าต่างๆดังนี้

3.9.2.1 ค่าการขยายตัวของฟอง วัดค่าเป็นร้อยละของปริมาตรฟองที่เพิ่มขึ้น (% foam expansion) ตามวิธีของ Bernadi (1991) (ภาคผนวก ค.)

3.9.2.2 ค่าความคงตัวของฟอง (foam stability) วัดค่าเป็นเวลา(นาที)ที่ปริมาตรสูงสุดของฟองลดลงเหลือปริมาตรครึ่งหนึ่งตามวิธีของ Damodaran (1996) (ภาคผนวก ง.)

สมบัติของสารให้ฟองที่ได้ ใช้สารให้ฟองจากไข่ขาวเป็นตัวแทนสารให้ฟองทางการค้า และเปรียบเทียบกับค่าที่ไม่มีการเติมโกโก้ลงไป

วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3.9.3 การประเมินค่าทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค ที่มีต่อเมอะแรงส์ที่ผลิตโดยสารให้ฟอง

3.9.3.1 เตรียมเมอะแรงส์ที่ไม่มีส่วนผสมของโกโก้ตามสูตร Kuehler และ Stine (1974) โดยใช้สารให้ฟองจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ คือ Pepsin, Papain, Protin AC 10® และ Alcalase® (ภาคผนวก ช.) และทดสอบค่าทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคที่มีต่อเมอะแรงส์ คัดเลือกสารให้ฟองโปรตีนถั่วเหลืองที่มีคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงที่สุด มาแปรปริมาณการใช้สารให้ฟองในระดับต่างๆ เปรียบเทียบกับสารให้ฟองจากไข่ขาว

3.9.3.2 เตรียมเมอะแรงส์ที่มีส่วนผสมของโกโก้จากข้อ 3.9.2 อบตามอุณหภูมิและเวลาที่กำหนด (ภาคผนวก ช.) และทดสอบค่าทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคที่มีต่อเมอะแรงส์

เมอะแรงส์ที่ได้จากข้อ 3.9.3.1 และ 3.9.3.2 ใช้สารให้ฟองจากไข่ขาวเป็นตัวแทนสารให้ฟองทางการค้าเพื่อเป็นตัวเปรียบเทียบ ทดสอบการประเมินค่าทางประสาท

สัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 15 คน ประเมินผลด้วยวิธีการทดสอบแบบให้คะแนน (scoring test) ขนาด 10 point scale (ภาคผนวก ช.)

วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %