บทที่ 3

วัสดุ และวิธีการ

<u>วัสดุและอุปกรณ์</u>

1. ถั่วเขียวซีก ได้รับการสนับสนุนจากบริษัทไทยวาฟูดโปรดักส์ จำกัด

2. เครื่องใช้ในการวิจัย

2.1 เครื่องบด (Blender MX-311 N บริษัท National)

2.2 เครื่องบดความเร็วสูง (Ultra-turrax T25 บริษัท Janke & kunkel Ika-Labortechnik)

2.3 เครื่องกวนแบบแม่เหล็กไฟฟ้า (Magnetic stirrer) Nuova 7 Stirrer Thermolyne บริษัท Sybron Corporation พร้อมแท่งแม่เหล็ก

2.4 เครื่องวัดค่าพีเอช (pH-meter) PHM 64 Research pH Meter บริษัท Radiometer

2.5 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) Clement GS 100 ขนาดหัวเหวี่ยง 7 นิ้ว

2.6 เครื่องอบแห้งแบบพ่นกระจาย (Buchi 190 mini spray dryer)

2.7 เครื่องชั่งชนิดละเอียด (NA 264, Oertling)

2.8 ตู้อบ (Hot Air Oven)

2.9 โถทำแห้ง (Desiccater)

2.10 เครื่องย่อยโปรตีน (Buchi 430 Digestor)

2.11 เครื่องกลั่นโปรตีน (Buchi 322 Distillation Unit)

2.12 หลอด Rohrig

2.13 เครื่องอังน้ำ (Water bath)

2.14 เตาไฟฟ้า (Hot plate)

2.15 เตาเผาเถ้า (Muffle furnace) Gallen Kamp size 3

2.16 หลอดสำหรับเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge tube) ที่ปริมาตร 0-10 มิลลิลิตร มีเส้นแบ่งขีดปริมาตรละเอียดเป็น 0.1 มิลลิลิตร

2.17 เครื่องอังน้ำชนิดเขย่าได้ (Shaker bath Model 905 บริษัท Hotech Instruments)

2.18 เครื่องวัดความหนืด (Viscometer) พร้อมชุดประมวลผล Rotovisco RV 20 บริษัท Haake

3. สารเคมี

3.1 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 นอร์มัล

3.2 สารละลายกรดเกลือเข้มข้น 1 นอร์มัล

3.3 กรดซัลฟุริกเข้มข้น AR Grade ของบริษัท Merck

3.4 คะทาลิสต์ สำหรับการย่อยโปรตีน (Kjeltab C 3,5 บริษัท Tecator)

3.5 กรดบอริค (Boric acid GR บริษัท Merck)

3.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide pellets GR บริษัท Merck)

3.7 สารละลายกรดซัลฟุริกที่ทราบค่า นอร์มัลลิตี้แน่นอน (ประมาณ 0.1 นอร์มัล)

3.8 โมดิฟายเมทิลเรดอินดิเคเตอร์ (Modify Methyl Red-Indicator)

3.9 สารละลายแอมโมเนีย เข้มข้นร้อยละ 27 (บริษัท M&B)

3.10 เอทิลแอลกอฮอล์ เข้มข้นร้อยละ 95

3.11 อีเทอร์ (Ether, Baker Analyzed Reagent บริษัท J.T.Baker)

3.12 สารยับยั้งการเกิดฟอง (Silicon Antifoam บริษัท Fluka)

3.13 มอลโตเด็กซ์ตริน (Maltodextrin) Fieldose PHS 17[R] บริษัท Goodman Fielder

3.14 น้ำมันข้าวโพด (Corn Oil) Mazola[R]

3.15 ไตรกลีเซอไรด์ สายโมเลกุลยาวปานกลาง MCT Oil[R] บริษัท Mead Johnson

3.16 กัวร์กัม (Guargum)

3.17 คาร์ราจีแนน (Carrageenan) Satiagel RH8[R] บริษัท Sanofi- Bio Industries

3.18 เลซิธิน (Lecithin) Lecimulthin 100[R] บริษัท Lucas Meyer

3.19 น้ำตาลซูโครส (Sucrose GR บริษัท Merck)

3.20 กลิ่นวานิลลา (Artificial Vanilla Flavour บริษัท Rayner)

3.21 กลิ่นสตรอเบอรี่ (Strawberry Flavouring Essence บริษัท Rayner)

วิธีการ

1. วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

1.1 วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

1. ชั่งตัวอย่างผงโปรตีน 1 กรัม (หรือสารละลายโปรตีน 10 มิลลิลิตร) ห่อด้วยกระดาษกรองปราศจากเถ้า ใส่ลงหลอดสำหรับย่อย

2. เติมคาตาลิสต์ คือ Kjeltab C 3,5 2 เม็ด แล้วเติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร

3. ย่อยตัวอย่างโดยใช้เครื่องย่อย Buchi 430 จนกระทั่งได้สารละลายใส แล้วย่อยสลายต่ออีก 30 นาที ปล่อยให้เย็น

4. นำมากลั่นในเครื่องกลั่น Buchi 320 โดยเลือกปริมาณน้ำ, ด่าง และเวลาให้เหมาะสม สิ่งกลั่นที่ได้เก็บในฟลาสค์ที่บรรจุสารละลายกรดบอริค

5. นำ ฟลาสค์ที่ใส่สารละลายที่กลั่นได้มาไทเทรทด้วยกรดซัลฟุริกที่ทราบค่านอร์มัลลิตี้แน่นอนแล้วคำนวณปริมาณโปรตีนโดย

$$\%\text{โปรตีน} = \frac{0.014 \times N \times V \times \text{factor} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

N คือ ค่านอร์มัลลิตี้ ของกรดมาตรฐาน (H_2SO_4)

V คือ ปริมาตรของกรดมาตรฐานที่ใช้ในการไทเทรท เป็นมิลลิลิตร

factor ในที่นี้ใช้ 6.25 (AOAC, 1990)

1.2 วิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

วิเคราะห์ตามวิธี Roese - Gottlieb ใน AOAC (1990)

1. ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ให้ได้น้ำหนักแน่นอน ใส่ลงในหลอด Rohrig เติมน้ำปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2. เติมสารละลายแอมโมเนียเข้มข้นร้อยละ 35 1.5 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน

3. เติมเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิดจุกแล้วเขย่าให้เข้ากัน

4. เติมไดเอทิลอีเทอร์ (Diethyl ether) 25 มิลลิลิตร ปิดจุกเขย่าประมาณ 1 นาที

5. เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether) 25 มิลลิลิตร ปิดจุกเขย่าอย่างระมัดระวัง ประมาณ 1 นาที

6. ตั้งทิ้งไว้ประมาณครึ่งชั่วโมงเพื่อให้แยกชั้นอย่างชัดเจนและใส

7. ไขส่วนของอีเทอร์ลงในฟลาสค์

8. เติมเอทิลแอลกอฮอล์ 2-3 หยด ลงในหลอด Rohrig แล้วทำการสกัดครั้งที่สอง โดยใช้ส่วนผสมของไดเอทิลอีเทอร์และปิโตรเลียมอีเทอร์ อย่างละ 15 มิลลิลิตร แยกเอาส่วนของอีเทอร์ลงในฟลาสค์เดิม

9. เติมเอทิลแอลกอฮอล์ 2-3 หยด และทำการสกัดครั้งที่สามโดยใช้ส่วนผสมของไดเอทิลอีเทอร์ และปิโตรเลียมอีเทอร์ อย่างละ 25 มิลลิลิตร ไขส่วนของอีเทอร์ใส่ลงในฟลาสค์เดิม

10. นำฟลาสค์ไประเหยไล่อีเทอร์ออกด้วยเครื่องอังน้ำ (water bath) แล้วนำฟลาสค์ไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถทำแห้งแล้วชั่งน้ำหนัก

นำเข้าตู้อบต่ออีกครึ่งชั่วโมงทิ้งให้เย็นในโถทำแห้งแล้วชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักคงที่

11. ล้างไขมันที่อยู่ในพลาสค์ออกโดยใช้ปิโตเลียมอีเทอร์ที่อุ่น ครั้งละ 5 มิลลิลิตร จนไขมันออกหมด

12. นำพลาสค์ที่ล้างไขมันออกแล้ว เข้าตู้อบที่ 100-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมาชั่งและทำซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่ คำนวณหาปริมาณไขมันได้โดย

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{(\text{น้ำหนักพลาสค์รวมกับไขมัน})-(\text{น้ำหนักพลาสค์})}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

1.3 วิเคราะห์หาปริมาณความชื้น

วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1990) ดังนี้

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1-1.5 กรัม
2. นำไปอบให้แห้งในตู้อบสูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ความดันน้อยกว่า 100 มิลลิเมตรปรอท เป็นเวลา 5 ชั่วโมง
3. นำออกจากตู้อบ ทิ้งให้เย็นในโถทำแห้ง ชั่งน้ำหนักแล้วนำไปอบอีกจนได้น้ำหนักคงที่ (น้ำหนักต่างจากครั้งก่อนไม่เกิน 1 มิลลิกรัม)
4. คำนวณหาปริมาณความชื้น ดังนี้

$$\text{ปริมาณความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

1.4 วิเคราะห์หาปริมาณเถ้า

วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1990) ดังนี้

1. อบ porcelain crucible ในเตาเผาที่ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำมาทิ้งให้เย็นในรถทำแห้งเป็นเวลา 20 นาที ชั่งน้ำหนัก และทำซ้ำจนน้ำหนักแตกต่างกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม

2. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1 กรัม ลงใน Crucible

3. นำตัวอย่างมาเผาด้วยเตาไฟฟ้า จนไม่มีควัน แล้วจึงนำมาเผาต่อในเตาเผาเถ้าอุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส จนกระทั่งตัวอย่างกลายเป็นเถ้าสีขาวหรือเทาอ่อน นำตัวอย่างออกจากเตาเผา ทิ้งให้เย็นในรถทำแห้ง ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ได้

4. ทำซ้ำข้อ 3 จนกระทั่งน้ำหนักแตกต่างกันไม่เกิน 1 มิลลิกรัม แล้วคำนวณหาปริมาณเถ้าได้ดังนี้

$$\text{ปริมาณเถ้า} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

1.5 วิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตหาได้โดยการลบออกจากกัน (by difference) เนื่องจากปริมาณกากใยมีน้อยมาก

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต = 100 - [ปริมาณโปรตีน + ปริมาณไขมัน + ปริมาณความชื้น + ปริมาณเถ้าทั้งหมด]

2. การสกัดโปรตีนจากถั่วเขียวซีก

ในงานวิจัยนี้ทำการสกัดโปรตีนจากถั่วเขียวซีกกระเทาะเปลือกแล้วโดยใช้กรรมวิธีการบดแบบเปียก เพื่อรักษาคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเอาไว้โดยเลี่ยงความร้อนที่จะเกิดขึ้นได้จากการบดแบบบดแห้ง ดังนั้นจึงต้องทำการทดลอง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีน ดังนี้

2.1 การหาค่าพีเอชที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีน

ใช้วิธีการสกัดที่ดัดแปลงมาจาก วุฒิชัย (2526) และวิธีการหาค่าพีเอชที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีน ของ Thompson (1977) โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. นำถั่วเขียวซีกมาแช่น้ำในอัตราส่วนถั่วเขียวซีกต่อน้ำเป็น 1:15 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เมล็ดถั่วเขียวนิ่มพอที่จะบดได้
2. บดถั่วด้วยเครื่องบด
3. ปรับพีเอชที่ค่าพีเอช 6,7,8,9 และ 10 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มัล
4. กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กเป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
5. ทำการหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที
6. นำส่วนสารละลายมาหาปริมาณโปรตีนตามวิธีในหัวข้อ 1.1

2.2 หาอัตราส่วนที่เหมาะสมของถั่วซีกต่อตัวทำลาย (น้ำ)

เลือกสภาวะในการสกัด คือที่พีเอช 9 เวลาที่ใช้ในการสกัด 20 นาที โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. นำถั่วซีกมาแช่น้ำในอัตราส่วน 1:5,1:15, 1:25, 1:35, 1:45 และ 1:55 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง

2. บดด้วยเครื่องบด

3. ปรับพีเอชให้ได้ 9 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มัล

4. กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กเป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

5. ทำการหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

6. นำส่วนสารละลายมาหาปริมาณโปรตีน ตามวิธีในหัวข้อ 1.1

2.3 หาเวลาที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีน

เลือกสภาวะในการสกัด คือ ที่พีเอช 9 อัตราส่วนถั่วเขียวซีกต่อน้ำเป็น 1:15 โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. นำถั่วเขียวซีกมาแช่น้ำในอัตราส่วนถั่วเขียวซีกต่อน้ำเป็น 1:15 แช่นาน 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

2. บดด้วยเครื่องบด

3. ปรับพีเอชให้ได้ 9 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มัล

4. กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กเป็นเวลา 5,10,15 20 และ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง โดยควบคุมให้ค่าพีเอชคงที่ตลอดเวลา

5. ทำการหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

6. นำส่วนสารละลายหาปริมาณโปรตีน ตามวิธีใน หัวข้อ 1.1

2.4 <u>การสกัดโปรตีนแล้วทำให้แห้ง</u>

สกัดโปรตีนโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมที่สุด จากการทดลอง ข้อ 2.1 ถึง 2.3 และใช้ขั้นตอนการสกัดโปตีนที่ดัดแปลงจาก วุฒิชัย (2526) ขั้นตอนการเตรียมโปรตีนได้แสดงไว้ดังภาพที่ 3 ดังนี้คือ

1. นำถั่วเขียวซีกมาแช่น้ำในอัตราส่วนถั่วเขียวซีกต่อน้ำ ที่เหมาะสมจาก 2.2 แช่เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องให้เมล็ดถั่วเขียวนิ่ม พอที่จะบดได้

2. บดด้วยเครื่องบด และเครื่องบดความเร็วสูง

3. ปรับพีเอชที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดจาก 2.1

4. กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก โดยใช้เวลาที่เหมาะสม ที่สุดในการสกัดจาก 2.3 ที่อุณหภูมิห้อง

5. ทำการหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

6. นำส่วนสารละลาย มาปรับพีเอชเป็น 4.5 ด้วยกรด เกลือเข้มข้น 1 นอร์มัล

7. ทำการหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จะได้ตะกอนโปรตีน

8. นำตะกอนโปรตีน มากระจายตัวในน้ำให้มีปริมาณ

โปรตีนร้อยละ 4 โดยประมาณ แล้วปรับค่าพีเอชให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มัล

9. กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก จนตะกอนโปรตีนละลายหมด

10. ทำให้แห้งโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบพ่นกระจายโดยใช้อุณหภูมิลมร้อนเข้า 190 องศาเซลเซียส อุณหภูมิลมร้อนออก 90 องศาเซลเซียส และอัตราไหลของลมเข้า 800 ลิตรต่อชั่วโมง

<u>ภาพที่ 3</u> แสดงขั้นตอนการเตรียมโปรตีนจากถั่วเขียวซีก

ถั่วเขียวซีก

แช่น้ำในอัตราส่วนถั่วเขียวซีกต่อน้ำที่เหมาะสม เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

บดละเอียด

ปรับพีเอชให้เหมาะสมในการสกัดโปรตีนด้วย
โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 นอร์มัล

กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กโดยใช้ระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการสกัด

หมุนเหวี่ยงที่ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

ตะกอน | สารละลาย

(สารละลาย →)

ปรับพีเอชเป็น 4.5 ด้วยกรดเกลือเข้มข้น 1 นอร์มัล
หมุนเหวี่ยงที่ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

ตะกอนโปรตีน | สารละลาย

(ตะกอนโปรตีน →)

กระจายตัวในน้ำให้มีปริมาณโปรตีน ร้อยละ 4

ปรับพีเอชให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 นอร์มัล

กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กจนตะกอนโปรตีนละลายหมด

ทำให้แห้งโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบพ่นกระจาย

3. <u>ประเมินคุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนที่สกัดได้โดยวิธีทางเคมี</u>

ทำตามวิธีข้อ 1

4. <u>การเตรียมอาหารทางการแพทย์</u>

<u>การตั้งตำรับ</u>

จากพลังงานทั้งหมดในอาหารทางการแพทย์ที่จะเตรียมขึ้น ควรมีการกระจายพลังงานจากสารอาหาร ดังนี้

โปรตีน	ร้อยละ 15-20
ไขมัน	ร้อยละ 30-35
คาร์โบไฮเดรต	ร้อยละ 45-55

ดังนั้นสูตรอาหารหลัก ของอาหารทางการแพทย์ ซึ่งคำนวณเผื่อการสูญเสียของสารอาหารต่าง ๆ ระหว่างขั้นตอนการเตรียมแล้วมีดังนี้

<u>สูตรอาหารหลัก</u>

สารอาหาร	พลังงาน (ร้อยละ)	ปริมาณ (กรัม)	ปริมาณที่ใช้เตรียม (working formula) (กรัม)
โปรตีน	16	4	20
ไขมัน	36	4	20
คาร์โบไฮเดรต	48	12	60
รวม	100	20	100

จากปริมาณที่ใช้เตรียมจะเห็นว่าปริมาณอาหารทางการแพทย์ที่เตรียม 100 กรัม ต้องใช้โปรตีน 20 กรัม ซึ่งจากการทดลองสกัดโปรตีนและทำแห้งรวมทั้งการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน พบว่าถ้าต้องการโปรตีน ประมาณ 20 กรัม ต้องใช้ถั่วเขียวซีกในปริมาณ 100 กรัม มาทำการสกัดและเตรียมอาหาร

จากข้อมูลการศึกษาการทำแห้งนมถั่วเหลืองโดยพิมพรรณ (2526) และทำการดัดแปลงวิธีการเตรียมอาหารทางการแพทย์จาก กุลวดี (2534) จะได้วิธีการเตรียมอาหารทางการแพทย์ และการทำแห้งโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบพ่นกระจาย โดยมีขั้นตอนต่าง ๆ แสดงไว้ ดังภาพที่ 4

4.1 <u>เตรียมอาหารทางการแพทย์โดยไม่ใช้วัตถุเจือปนอาหาร</u>

สกัดโปรตีนจากถั่วเขียวซีก 100 กรัม จนกระทั่งได้ตะกอนโปรตีนตามวิธีในข้อ 2.4 แล้วนำมากระจายตัวในน้ำปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

ปรับพีเอชให้เป็นกลาง กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กจนโปรตีนละลายหมด นำมาปั่นด้วยเครื่องบดปั่นความเร็วสูง พร้อมทั้งเติมสารต่าง ๆ ตามลำดับดังนี้ เติมน้ำมันข้าวโพด 16 กรัม และน้ำมันเอ็มซีที (MCT oil) 4 กรัม เติมมอลโตเด็กซ์ตริน 60 กรัม ปั่นผสมจนเข้ากันดี แล้วนำไปทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นกระจาย (Spray dryer) โดยเลือกสภาวะในการทำแห้งที่ให้ผลผลิตที่ดี และสามารถทำแห้งได้อย่างต่อเนื่องไม่ติดขัด โดยทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมอาหารแห้งโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบพ่นกระจาย ทดลองปรับอุณหภูมิลมร้อนเข้าและอุณหภูมิลมร้อนออกตามวิธีของ สรรชัย (2530) และวิธีของ พรศักดิ์ และสมยศ (2533) เพื่อเปรียบเทียบหาสภาวะที่ให้บริมาณผลผลิตสูง ความชื้นของผลิตภัณฑ์ต่ำ และมีอัตราการไหลของสารอาหารรวดเร็ว

ภาพที่ 4 แสดงการเตรียมอาหารทางการแพทย์ชนิดผง สูตรโปรตีนสกัดจากถั่วเขียว

ถั่วเขียวซีก 100 กรัม

แช่น้ำ 1,500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

บดให้ละเอียด

ปรับพีเอชเป็น 9 แล้วกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กเป็นเวลา 20 นาที

หมุนเหวี่ยง

(3,500 รอบต่อนาที, 15 นาที)

ตะกอน — สารละลาย

สารละลาย →

ปรับพีเอชเป็น 4.5

หมุนเหวี่ยง

(3,500 รอบต่อนาที, 15 นาที)

ตะกอน — สารละลาย

ตะกอน →

กระจายตัวในน้ำ 1,000 มิลลิลิตร แล้วปรับพีเอชให้เป็นกลาง

กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กจนโปรตีนละลายหมด

เติมน้ำมันข้าวโพด 16 กรัม และ MCT oil 4 กรัม

เติมวัตถุเจือปนอาหาร

เติมมอลโตเด็กซ์ตริน 60 กรัม

ปั่นผสมตลอดเวลาที่เติมสารต่าง ๆ จนเกิดอิมัลชั่น

ทำแห้งโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบพ่นกระจาย

4.2 เตรียมอาหารทางการแพทย์โดยเติมวัตถุเจือบนอาหาร

ก. ใช้กัวร์กัม (Guargum) เป็นวัตถุเจือปนอาหาร

เตรียมตามวิธี 4.1 แต่เติม กัวร์กัมในปริมาณร้อยละ (น้ำหนัก/ปริมาตร) 0.05, 0.1 และ 0.2 โดยเตรียมสารละลายกัวร์กัมความเข้มข้นร้อยละ 1 ไว้ก่อน ซึ่งเตรียมโดยใช้ผงกัวร์กัม 1 กรัม กระจายตัวในน้ำปริมาณ 100 มิลลิลิตร กวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กตลอดเวลาจนกระทั่งนำมาใช้งาน (Whistler, 1959)

ข. ใช้คาร์ราจีแนน (Carrageenan) เป็นวัตถุเจือปนอาหาร

เตรียมตามวิธี 4.1 แต่เติมคาร์ราจีแนนในปริมาณร้อยละ (น้ำหนัก/ปริมาตร) 0.1, 0.5 และ 1.0 ทำโดยเตรียมสารละลายคาร์ราจีแนนความเข้มข้นร้อยละ 2 ไว้ก่อนโดยผสมผงคาร์ราจีแนนกับน้ำอุ่นกวนตลอดเวลาด้วยเครื่องกวนแม่เหล็กที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จึงนำมาใช้ (Whistler, 1959)

ค. ใช้เลซิธิน (Lecithin) เป็นวัตถุเจือบนอาหาร

เตรียมตามวิธี 4.1 แต่มีการเติมเลซิธินในปริมาณร้อยละ (น้ำหนัก/ปริมาตร) 0.1, 0.3 และ 0.5 โดยเติมเลซิธิน หลังจากเติมน้ำมันข้าวโพดและ MCT oil ลงในสารละลายโปรตีน แล้วหลังจากนั้นจึงเติมมอลโตเด็กซ์ตรินบดปั่นไปจนเกิดอิมัลชั่น แล้วนำไปทำแห้งโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบพ่นกระจาย

5. การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์อาหารทางการแพทย์

5.1 Bulk density (Kirk และ Sawyer, 1991 ; Peleg และ Bagley, 1983)

ชั่งตัวอย่าง 20 กรัม ใส่ลงในกระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร ปล่อยกระบอกตวงลงบนพื้นที่นุ่มที่ระดับความสูง 150 มิลลิเมตร 10 ครั้ง แล้วบันทึกปริมาตรของตัวอย่าง คำนวณค่า bulk density ได้จาก

$$\text{Bulk density} = \frac{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)}}{\text{ปริมาตรของตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$$

5.2 ความคงตัวของการแขวนตะกอน (Colloidal Stability)

คัดแปลงจากวิธีของ Nelson และคณะ (1976) โดยชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ละลายในน้ำ 50 มิลลิลิตร คนจนละลายดี แล้วเทใส่กระบอกตวง ตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตรวจวัดการแยกชั้น

5.3 ดัชนีการละลาย (Solubility Index)

เป็นความสามารถของผงตัวอย่างที่ละลายได้ในน้ำ โดยรายงานผลในรูปปริมาตรมีหน่วยเป็นมิลลิลิตรของการมีตะกอนนอนก้น ตามวิธีของ American Dry Milk Institute (1971)

โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. ชั่งตัวอย่าง 14 กรัม เติมลงในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร หยด Silicon antifoam 3 หยด

2. ผสมกันเป็นเวลานาน 90 วินาที

3. ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

4. คนด้วยแท่งแก้วเทใส่ลงในหลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร (ตั้งแต่ 0-10 มิลลิลิตร มีเส้นแบ่งขีดละเอียดเป็น 0.1 มิลลิลิตร)

5. ทำการหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วดูดของเหลวด้านบนออกอย่างระมัดระวังจนเหลือของเหลวเหนือตะกอน ประมาณ 5 มิลลิลิตร

6. เติมน้ำกลั่นลงในหลอด 20 มิลลิลิตร ใช้เส้นลวดเขี่ยกวนให้ตะกอนกระจายตัวในน้ำ ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร

7. ทำการหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที และอ่านปริมาตรของตะกอนเป็นมิลลิลิตร

ดัชนีการละลาย = ปริมาตรของตะกอนในหลอดหมุนเหวี่ยง (มิลลิลิตร)

5.4 <u>ค่าการละลาย</u> (% Solubility) (Kirk และ Sawyer, 1991)

ใช้ในการหาค่าการละลายอย่างละเอียด มีขั้นตอนดังนี้

1. ชั่งผงตัวอย่าง 4 กรัม ละลายน้ำ 32 มิลลิลิตร (50 องศาเซลเซียส) เขย่า 10 วินาทีในฟลาสก์

2. นำฟลาสก์ แช่ในเครื่องอังน้ำที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเขย่าที่ 10 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

3. ถ่ายตัวอย่างจากพลาสค์ลงหลอดหมุนเหวี่ยงแล้วทำการหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปแช่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เพื่อให้ไขมันที่มีอยู่แยกตัว และดูดไขมันซึ่งเป็นฝาที่ผิวหน้าออก

4. เขี่ยให้ตะกอนกระจายตัวดี แล้วปิดฝาเขย่าให้เข้ากัน

5. ปิเปตตัวอย่างมา 2 มิลลิลิตร ใส่ลงจานระเหยที่ทราบน้ำหนักแล้วชั่งน้ำหนัก ให้น้ำหนักของเหลวตัวอย่างเท่ากับ L_1

6. สารตัวอย่างที่เหลือในหลอดหมุนเหวี่ยง นำไปทำการหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วปิเปตตัวอย่างมา 2 มิลลิลิตร ใส่ลงจานระเหยที่ทราบน้ำหนักแล้ว ชั่งน้ำหนัก (L_2)

7. นำจานระเหยทั้งสองไประเหยน้ำออกบนเครื่องอังน้ำแล้วนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที

8. นำออกจากตู้อบ ชั่งน้ำหนักให้น้ำหนักของแข็งที่เหลือในจานระเหยเท่ากับ S_1 และ S_2 ตามลำดับ และคำนวณหาค่าการละลายได้จาก

$$\text{ค่าการละลาย (\% Solubility)} = \frac{100\ L_1 S_2}{L_2\ S_1}$$

5.5 <u>ความหนืด</u> (Viscosity) (อรวรรณ, 2527)

เตรียมสารละลายตัวอย่าง โดยชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ละลายในน้ำอุณหภูมิห้อง 50 มิลลิลิตร คนจนละลายได้ดี แล้วนำไปวัดความหนืดด้วยเครื่อง Rotovisco RV20 โดยใช้ cup, sensor และสภาวะการทำงานต่าง ๆ ตามข้อกำหนดของเครื่องที่เหมาะสมที่สุดกับตัวอย่าง และทดลองให้ไหลผ่านสายให้อาหาร (Feeding tube) ขนาดเบอร์ 5 และ 6

6. <u>ประเมินคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์โดยวิธีทางเคมี</u>

นำผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้มาวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการโดย

6.1 <u>วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน</u>

ทำตาม 1.1

6.2 <u>วิเคราะห์หาปริมาณไขมัน</u>

ทำตาม 1.2

6.3 <u>วิเคราะห์หาปริมาณความชื้น</u>

ทำตาม 1.3

6.4 <u>วิเคราะห์หาปริมาณเถ้า</u>

ทำตาม 1.4

6.5 <u>วิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต</u>

ทำตาม 1.5

7. <u>ปรับปรุงรสชาติของผลิตภัณฑ์ให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค</u> (Maynard และ คณะ (1965) ; Furia และ Bellanca, 1971 ; Tressler และ Sultan, 1975)

ภายหลังการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ และการวิเคราะห์ทางเคมีในขั้นตอนที่ 5 และ 6 แล้ว เลือกวัตถุเจือบนอาหารที่เหมาะสมที่สุด แล้วทำการเตรียมอาหารทางการแพทย์โดยใช้วัตถุเจือบนอาหารที่เหมาะสมที่สุดแล้วนำอาหารที่เตรียมได้มาปรับปรุง

7.1 <u>ปรับปรุงรสหวาน</u>

เตรียมอาหารโดยวิธีที่กล่าวไว้แล้วข้างต้น และใช้น้ำตาลซูโครสแทนที่มอลโตเด็กซ์ตรินในปริมาณร้อยละ 10, 20, และ 30 ของปริมาณ

คาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในสูตรอาหาร แล้วนำมาประเมินผลลักษณะกลิ่น รสของผลิตภัณฑ์ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดในบล็อก (Randomized Complete Block Design) ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 15 คน เป็นผู้ชิมผลิตภัณฑ์และให้คะแนนตามลักษณะที่กำหนดไว้ในใบประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ Hedonic scale ดังแสดงในภาคผนวก (ก) แล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test เพื่อประเมินว่าการแต่งรสหวานที่ต่างกันนี้ มีผลทำให้ผู้บริโภคยอมรับผลิตภัณฑ์แตกต่างกันหรือไม่และแตกต่างกันอย่างไร (เติมศรี, 2531; จรัญ, 2523)

7.2 <u>ปรับปรุงกลิ่น</u>

ทดลองแต่งกลิ่นโดยใช้ กลิ่นวานิลลา, กลิ่นสตรอเบอรี่ และไม่แต่งกลิ่นอะไรเลย ในผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครสที่ผู้บริโภคชอบที่สุดจากข้อ 7.1 แล้วทำการประเมินผลลักษณะกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์เหมือน 7.1

8. <u>การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ที่ปรับปรุงรสชาติแล้วโดยวิธีทางเคมี</u> โดย

8.1 <u>วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน</u>

ทำตาม 1.1

8.2 <u>วิเคราะห์หาปริมาณไขมัน</u>

ทำตาม 1.2

8.3 <u>วิเคราะห์หาปริมาณความชื้น</u>

ทำตาม 1.3

8.4 <u>วิเคราะห์หาปริมาณเถ้า</u>

ทำตาม 1.4

8.5 วิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต

ทำตาม 1.5

9. การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ที่แต่งกลิ่นรสแล้ว

เนื่องจากการแต่งกลิ่นรส เช่น การใช้น้ำตาลซูโครสมาแต่งรสหวานแทนที่มอลโตเด็กซ์ตรินในปริมาณต่าง ๆ อาจทำให้คุณสมบัติทางกายภาพบางประการเปลี่ยนแปลงไปได้ จึงควรทำการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์อีกครั้งโดยทำการทดสอบหา

9.1 Bulk density

ทำตาม 5.1

9.2 ความคงตัวของการแขวนตะกอน

ทำตาม 5.2

9.3 ดัชนีการละลาย

ทำตาม 5.3

9.4 ความหนืด

ทำตาม 5.5

10. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Varience) และหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละคู่ว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่