สำนักงานวิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบ

ไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์ (ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท กรุงเทพผลิตผลอุตสาหกรรมการเกษตร จำกัด (มหาชน), กรุงเทพ, ประเทศไทย) เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ลักษณะจำเพาะของไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์ที่ใช้ในการทดลองแสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ลักษณะจำเพาะของไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์รายงานโดยบริษัท กรุงเทพผลิตผลอุตสาหกรรมการเกษตร จำกัด (มหาชน)

ลักษณะ	ค่าเฉลี่ย	วิธีตรวจสอบ
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)	15.0±1.0	Refractometer
ไขมัน (%, wet basis)	ไม่พบ	AOAC
โปรตีน (%, wet basis)	10.0±1.0	AOAC
pH	8.8±0.4	pH meter
ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (TPC)	$\leq 5.0 \times 10^4$ cfu/g	AOAC
Coliform bacteria	< 10 cfu/g	AOAC
E.coli	< 10 cfu/g	AOAC
Staphylococcous aureus	< 10 cfu/g	AOAC
Salmonella spp.	ไม่พบในไข่ขาว 25 g	ISO 6579
Yeasts / Mold	≤100 cfu/g	AOAC

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพ

Acetic acid, A.R. grade (Merck, Darmstadt, Germany)

Bovine serum albumin (98%), A.R. grade (Merck, Darmstadt, Germany)

Copper sulfate pentahydrate, A.R. grade (Univar, NSW, Australia)

Folin-Ciocalteu phenol reagent, A.R. grade (Carlo Erba, Rodano, France)

Paraffin liquid, A.R. grade (Univar, NSW, Australia)

Potassium sodium tartrate, A.R. grade (Univar, NSW, Australia)

Sodium acetate, A.R. grade (Univar, NSW, Australia)

Sodium carbonate, A.R. grade (Univar, NSW, Australia)

Sodium chloride, A.R. grade (Univar, NSW, Australia)

Sodium deoxycholate, A.R. grade (Himedia, Mumbai, India)

Sodium dihydrogen orthophosphate, A.R. grade (Univar, NSW, Australia)

Sodium dodecyl sulphate, A.R. grade (Sigma, Steinheim, Germany)

Sodium hydroxide, A.R. grade (Univar, NSW, Australia)

di-Sodium hydrogen orthophosphate, A.R. grade (Univar, NSW, Australia)

Sudan III, A.R. grade (Sigma, Steinheim, Germany)

Trichloroacetic acid, A.R. grade (Merck, Darmstadt, Germany)

สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบทางจุลชีววิทยา

Peptone (Univar, NSW, Australia)

Plate count agar (Himedia, Mumbai, India)

สารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิต

น้ำตาลทรายป่น เกรดที่ใช้ในอาหาร (บริษัท ไดนาสตี้ จำกัด (มหาชน), กรุงเทพ, ประเทศไทย)

น้ำตาลกลูโคส เกรดที่ใช้ในอาหาร (Shandong Foodchem, Shandong, China)

น้ำตาลฟรุกโตส เกรดที่ใช้ในอาหาร (Shandong-Wanrong Food Co. Ltd., Shandong, China)

คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (degree of substitute 0.9) ชนิดความหนืด 1800 และ 3000 mPa.s (ที่ความเข้มข้น 1% (w/v), 25 ^{o}C) เกรดที่ใช้ในอาหาร (ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัทท็อปไฟลท์อินเตอร์ฟู้ดส์ จำกัด เป็นผลิตภัณฑ์จาก Chongqing Lihong Fine Chemicals Co. Ltd., Chongqing, China) ทั้งนี้ค่าความหนืดของ CMC จะขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุลของสายโซ่เซลลูโลส โดย CMC ที่เตรียมจากเซลลูโลสสายโซ่ยาวจะมีความหนืดสูงกว่า CMC ที่เตรียมจากเซลลูโลสสายโซ่สั้น

อุปกรณ์

เครื่อง Bohlin Rheometer (Malvern Instrument Ltd. รุ่น C-VOR, Worcestershire, UK)

เครื่อง Hand Homogenizer (Ystral Homogenizer รุ่น X10/25, Wettebrunner, Germany)

เครื่อง Hand Refractometer (Atago รุ่น 2110-w06, Tokyo, Japan)

เครื่อง Magnetic Stirrer (Scientific Co. Ltd. รุ่น KMC-130SH, Korea)

เครื่อง Mixer (Philips รุ่น HR1451, Bangkok, Thailand)

เครื่อง Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (Varian รุ่น INOVA, Palo Alto, California, USA)

เครื่อง pH-meter (Eutech รุ่น Cyber Scan pH 1000 Bench, Singapore)

เครื่อง Spectrophotometer (Thermo Spectronic® รุ่น Genesys 10UV, Waltham, Massachusetts, USA)

เครื่อง Stereomicroscope (Nikon digital camera รุ่น SMZ-1000, with Plan Apo 1x WD-70 objective lens (Nikon Instruments, Melville, NY)

เครื่อง Texture Analyser (Stable Micro System รุ่น TA-XT2i, Godalming, Surrey, UK)

เครื่อง Vortex (Labnet รุ่น VX100, Woodbridge, New Jersey,USA)

เครื่องฆ่าเชื้อ (Tomy Autoclave รุ่น SS832, Tokyo, Japan)

เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดหยาบ (Sartorius รุ่น BP 310s, Bradford, Germany)

เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด (Sartorius รุ่น ED 224s, Bradford, Germany)

เครื่องวัดสี (Minolta รุ่น CR300 series, Tokyo, Japan)

เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงแบบควบคุมอุณหภูมิ (Hettich Zentrifugen รุ่น MIKRO 22R, Gartenstraße, Germany)

ตู้บ่มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส (Memmert รุ่น 500, Schwabach, Germany)

ตู้อบฆ่าเชื้อ 200 องศาเซลเซียส (Memmert รุ่น 600, Schwabach, Germany)

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Heto Lab Equipment รุ่น DT-1, Allerod, Denmark)

ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 ศึกษาผลของชนิดและปริมาณน้ำตาลต่อสมบัติของโฟมไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์

ขั้นตอนการเตรียมโฟมไข่ขาวมีดังนี้

เติมน้ำตาลซูโครส กลูโคส หรือฟรุกโตส ลงในไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์ 25 มิลลิลิตร แปรปริมาณน้ำตาลแต่ละชนิดเป็น 4 ระดับ คือ 10, 20, 30 และ 40% (w/v) คนน้ำตาลให้ละลายโดยใช้ magnetic stirrer จากนั้นเทไข่ขาวที่ได้ใส่ในโถตี (bowl) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและความสูง 11 และ 7 เซนติเมตร ตามลำดับ ตีไข่ขาวทั้งหมดให้กลายเป็นโฟมด้วยความเร็ว 950 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที วิเคราะห์สมบัติด้านต่าง ๆ เปรียบเทียบกับไข่ขาวที่ไม่เติมน้ำตาล โดยสมบัติที่วิเคราะห์มีดังนี้

3.1.1 สมบัติด้านการเกิดโฟมของไข่ขาว

วิเคราะห์ความสามารถในการเกิดโฟมของไข่ขาวโดยวัดปริมาตรของโฟมไข่ขาวที่เกิดขึ้นด้วยวิธีการแทนที่น้ำ หลังจากตีโฟมไข่ขาวเสร็จแล้วใช้พาย (spatula) ค่อย ๆ ปาดโฟมไข่ขาวเพื่อให้โฟมไข่ขาวมีระดับเท่ากัน หลังจากนั้นเขียนเครื่องหมายแสดงระดับของโฟมไข่ขาวที่เกิดขึ้นบริเวณโถตีด้านนอก นำโฟมไข่ขาวออกจากโถตีแล้ววัดปริมาตรของน้ำที่ใช้ในการแทนที่ปริมาตรโฟมไข่ขาว คำนวณความสามารถในการเกิดโฟมตามวิธีของ Ferreira และคณะ (1995) ดังสมการ (1)

$$\text{ความสามารถในการเกิดโฟม (\%)} = \frac{\text{ปริมาตรโฟมที่เกิดขึ้น}}{\text{ปริมาตรของไข่ขาวเริ่มต้น}} \times 100 \qquad \text{.....(1)}$$

วิเคราะห์ความคงตัวของโฟมไข่ขาวโดยดัดแปลงจากวิธีของ Phillips และคณะ (1987) โดยเริ่มจากนำโฟมไข่ขาวที่ได้จากขั้นตอนข้างต้นบรรจุลงในกรวยแก้วที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร ซึ่งบริเวณก้นกรวยจะอุดด้วยสำสีเพื่อป้องกันโฟมไข่ขาวไหลออกจากกรวย จากนั้นวางกรวยไว้บนกระบอกตวงขนาด 25 มิลลิลิตร นำพลาสติกใสมาคลุมบริเวณโฟมไข่ขาวไว้เพื่อป้องกันความชื้นจากภายนอกเข้าสู่โฟมไข่ขาว ตั้งโฟมไข่ขาวทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) จากนั้นบันทึกปริมาตรของของเหลวที่ไหลลงสู่กระบอกตวงที่ระยะเวลาต่าง ๆ จนกระทั่งได้ปริมาตรของของเหลวเป็นครึ่งหนึ่งของปริมาตรไข่ขาวเริ่มต้น ค่าเวลาที่ใช้ในการตั้งโฟมไข่ขาวจนได้ปริมาตรของของเหลวเป็นครึ่งหนึ่งของปริมาตรไข่ขาวเริ่มต้นจะแสดงถึงความคงตัวของโฟมไข่ขาว

3.1.2 ลักษณะฟองอากาศภายในโฟมไข่ขาว

พิจารณาลักษณะฟองอากาศภายในโฟมไข่ขาวที่เตรียมไว้ข้างต้นโดยดัดแปลงจากวิธีของ Raikos และคณะ (2007a) เริ่มจากใช้ช้อนตักสารสุ่มตักตัวอย่างโฟมไข่ขาวจากโถตีแล้วนำไปวางบนแผ่นสไลด์ นำวงแหวนแก้วซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 2 เซนติเมตร และสูง 0.5 เซนติเมตร วางครอบลงบนโฟมไข่ขาว แล้วค่อย ๆ วาง cover slide ทับบนวงแหวนแก้วอีกที จากนั้นถ่ายภาพฟองอากาศบริเวณกึ่งกลางของวงแหวนแก้วด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (stereomicroscope) ซึ่งติดตั้งด้วยเลนส์ใกล้วัตถุ กำลังขยาย 6 เท่า ภาพถ่ายโฟมไข่ขาวที่ได้จะมีขนาด 3 × 4 มิลลิเมตร คำนวณขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ยของฟองอากาศ และพื้นที่หน้าตัดโดยเฉลี่ยของฟองอากาศ โดยใช้โปรแกรม Image tool image processing and analysis software (version 3.0, Department of Dental Diagnostic Science, University of Texas Health Science Center, San Antonio, TX) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.1

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อ 3.1.1 และ 3.1.2 ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของข้อมูล (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เพื่อคัดเลือกภาวะในการเกิดโฟมที่ดีที่สุดของน้ำตาลแต่ละชนิดโดยพิจารณาจากค่าความสามารถในการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟมไข่ขาว และนำข้อมูลมาใช้ในการศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์ต่อสมบัติของโฟมไข่ขาว และสมบัติของไข่ขาว

3.2 ศึกษาผลของชนิดและปริมาณน้ำตาลต่อสมบัติของไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์

เติมน้ำตาลซูโครส กลูโคส หรือฟรุกโตส ลงในไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์ 25 มิลลิลิตร แปรปริมาณน้ำตาลแต่ละชนิดเป็น 4 ระดับ คือ 10, 20, 30 และ 40% (w/v) คนเบา ๆ เพื่อให้น้ำตาลละลาย จากนั้นวิเคราะห์สมบัติด้านต่าง ๆ เปรียบเทียบกับไข่ขาวที่ไม่เติมน้ำตาล โดยสมบัติที่วิเคราะห์มีดังนี้ คือ

3.2.1 ค่าความหนืดของไข่ขาว

วัดค่าความหนืดของไข่ขาวที่เตรียมไว้ข้างต้นด้วยเครื่อง Bohlin rheometer โดยปิเปตตัวอย่างไข่ขาว 1.5 มิลลิลิตร ใส่ลงตรงกลางของส่วน fixed lower plate เลือกโปรแกรมการทำงานของเครื่องเป็นแบบ viscometry ใช้หัววัดแบบ cone and plate ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร ทำมุม 4 องศากับแนวระนาบ จากนั้นตั้งอัตราเฉือนและค่าอุณหภูมิที่ใช้วัดอยู่ในช่วง 1-80 s^{-1} และ 25 องศาเซลเซียส ตามลำดับ รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.2

3.2.2 ค่า Longitudinal relaxation time (T_1) ของโปรตอนของโมเลกุลน้ำ .

บรรจุไข่ขาวที่เตรียมไว้ข้างต้นลงในหลอดแก้วสำหรับใช้กับเครื่อง nuclear magnetic resonance (NMR) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและความสูง 0.5 และ 18 เซนติเมตร ตามลำดับ จนถึงระดับที่ไข่ขาวอยู่สูงจากก้นหลอดขึ้นมาประมาณ 4 เซนติเมตร แล้วนำไปวัดค่า Longitudinal relaxation time (T_1) ของโปรตอนของโมเลกุลน้ำในไข่ขาว โดยใช้เครื่อง NMR ที่มีขนาดสนามแม่เหล็กคงที่ 500 MHz จากนั้นติดตาม proton spectrum ของน้ำ รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.3 ทั้งนี้การวิเคราะห์ค่า T_1 ของโปรตอนของโมเลกุลน้ำโดยใช้เทคนิค NMR จะอาศัยหลักการที่โปรตอนของโมเลกุลน้ำมีลักษณะเป็น magnetic nuclei เมื่อได้รับพลังงานคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า โปรตอนจะเกิดการเปลี่ยนสถานะจากภาวะสมดุล (ground state) ไปเป็นภาวะที่ถูกกระตุ้น (excited state) และเมื่อนำพลังงานคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าออกไป โปรตอนของโมเลกุลน้ำจะเกิดการถ่ายเทพลังงานไปยังโมเลกุลข้างเคียงเพื่อให้โปรตอนอยู่ในภาวะสมดุลอีกครั้ง ค่าเวลาที่โปรตอนของโมเลกุลน้ำถ่ายเทพลังงานไปยังโมเลกุลข้างเคียงจะเป็นค่า T_1 หากโปรตอนของโมเลกุลน้ำแวดล้อมด้วยโมเลกุลอื่น หรือ ถูกจับอยู่กับโมเลกุลอื่นอย่างหนาแน่น โปรตอนจะส่งถ่ายพลังงานไปยังโมเลกุลข้างเคียงได้เร็ว ค่า T_1 จะมีค่าน้อย แสดงว่าโมเลกุลน้ำมีความอิสระน้อย

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อ 3.2.1 ทดลอง 3 ซ้ำ และข้อ 3.2.2 ทดลอง 2 ซ้ำ

ข้อ 3.2.2 วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของข้อมูล และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.3 ศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์ต่อสมบัติของโฟมไข่ขาว

เก็บไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 4 และ 7 วัน ในแต่ละช่วงเวลาการเก็บนำไข่ขาวมาเติมน้ำตาลซูโครส กลูโคส หรือฟรุกโตส ตามปริมาณที่คัดเลือกได้จากการทดลองข้อที่ 3.1.1 จากนั้นตีไข่ขาวให้เกิดโฟมตามขั้นตอนในข้อที่ 3.1 แล้ววิเคราะห์สมบัติด้านต่าง ๆ โดยสมบัติที่วิเคราะห์มีดังนี้ คือ

3.3.1 สมบัติด้านการเกิดโฟมของไข่ขาว

วิเคราะห์ความสามารถในการเกิดโฟม และความคงตัวของโฟมของไข่ขาวที่เตรียมไว้ข้างต้นโดยทำการทดลองตามวิธีในข้อที่ 3.1.1

3.3.2 ลักษณะฟองอากาศภายในโฟมไข่ขาว

พิจารณาลักษณะฟองอากาศภายในโฟมไข่ขาวที่เตรียมได้จากข้างต้น และคำนวณขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ยของฟองอากาศ และพื้นที่หน้าตัดโดยเฉลี่ยของฟองอากาศ โดยทำการทดลองตามวิธีในข้อที่ 3.1.2

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อ 3.3.1 และ 3.3.2 ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของข้อมูล และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.4 ศึกษาผลของระยะเวลาการเก็บไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์ต่อสมบัติของไข่ขาว

เก็บไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไว้เป็นระยะเวลา 1, 4 และ 7 วัน ในแต่ละช่วงเวลาการเก็บนำไข่ขาวมาเติมน้ำตาลซูโครส กลูโคส หรือฟรุกโตส ตามปริมาณที่คัดเลือกได้จากการทดลองข้อที่ 3.1.1 คนน้ำตาลให้ละลาย จากนั้นนำมาวิเคราะห์สมบัติดังต่อไปนี้ คือ

3.4.1 ค่าความหนืดของไข่ขาว

วัดค่าความหนืดของไข่ขาวที่เตรียมไว้ข้างต้นโดยทำการทดลองตามวิธีในข้อที่ 3.2.1

3.4.2 ปริมาณโปรตีนเอส-โอวัลบูมิน

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนเอส-โอวัลบูมินในไข่ขาวที่เตรียมไว้ข้างต้นตามวิธีของ Smith และ Nguyen (1984) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.4

3.4.3 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total plate count)

วิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดของไข่ขาวที่เตรียมไว้ข้างต้นโดยดัดแปลงจากวิธีของ Harrigan และ McCance (1976) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.5

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อ 3.4.1-3.4.3 ทดลอง 3 ซ้ำ ข้อ 3.4.2 วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของข้อมูล และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.5 ศึกษาผลของชนิดและปริมาณน้ำตาลต่อสมบัติของเจลไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์

3.5.1 ค่าอุณหภูมิในการเกิดเจล

เติมน้ำตาลซูโครส กลูโคส หรือฟรุกโตส ลงในไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์ 25 มิลลิลิตร แปรปริมาณน้ำตาลแต่ละชนิดเป็น 4 ระดับ คือ 10, 20, 30 และ 40% (w/v) คนน้ำตาลให้ละลาย จากนั้นปิเปตตัวอย่างไข่ขาว 1.5 มิลลิลิตร ใส่ลงตรงกลางของส่วน fixed lower plate ของเครื่อง

Bohlin rheometer เลือกโปรแกรมการทำงานของเครื่องเป็นแบบ oscillation ใช้หัววัดแบบ cone and plate ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร ทำมุม 4 องศากับแนวระนาบ จากนั้นตั้งค่า frequency และค่า shear stress เป็น 1 Hz และ 0.05 Pa ตามลำดับ และตั้งค่าอุณหภูมิในการให้ความร้อนแก่ไข่ขาวในช่วง 60-85 องศาเซลเซียส ที่อัตราการให้ความร้อน 0.43 °C/s (ภาคผนวก ก.2) ติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าโมดูลัสความยืดหยุ่นของไข่ขาว วิเคราะห์ค่าอุณหภูมิในการเกิดเจลของไข่ขาวตามวิธีของ Raikos และคณะ (2007b) โดยสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าอุณหภูมิในการให้ความร้อนกับค่า Log (G´) ค่าอุณหภูมิที่ไข่ขาวมีค่าโมดูลัสความยืดหยุ่นเริ่มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจะบ่งบอกถึงอุณหภูมิในการเกิดเจลของไข่ขาว ซึ่งในการทดลองหาได้จากจุดตัดของกราฟดังแสดงในภาคผนวก (ภาพที่ ค.1)

3.5.2 ค่าสีของเจลไข่ขาว

เตรียมเจลไข่ขาวโดยเติมน้ำตาลซูโครส กลูโคส หรือฟรุกโตส ลงในไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์ 200 มิลลิลิตร แปรปริมาณน้ำตาลแต่ละชนิดเป็น 4 ระดับ คือ 10, 20, 30 และ 40% (w/v) คนน้ำตาลให้ละลาย จากนั้นบรรจุไข่ขาวใส่ลงในไส้สังเคราะห์ชนิดเซลลูโลส ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร แล้วนำไปให้ความร้อนโดยแช่ไข่ขาวในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำเจลไข่ขาวที่ได้แช่ในอ่างน้ำเย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เก็บเจลไข่ขาวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ค้างคืนก่อนนำไปทดสอบ นำเจลไข่ขาวที่เตรียมไว้ข้างต้นออกจากตู้เย็นแล้วนำไปวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) เพื่อปรับอุณหภูมิของเจลไข่ขาวให้เท่ากับอุณหภูมิห้องก่อน จากนั้นลอกไส้สังเคราะห์ที่ห่อเจลไข่ขาวออกให้เหลือแต่เจลไข่ขาว ตัดเจลไข่ขาวให้มีขนาดความหนา 3 เซนติเมตร แล้วนำไปวัดค่าสีในระบบ CIELAB ด้วยเครื่อง Minolta CR-300 โดยใช้แหล่งกำเนิดแสง D65 มุมการมอง 10° รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.6 หลังจากนั้นคำนวณหาค่าการเปลี่ยนแปลงสี (ΔE^*_{ab}) ตามวิธีของ Hunt (1998) ดังสมการ (2)

$$\Delta E_{ab}^* = [\,(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2\,]^{1/2} \qquad \text{.....(2)}$$

โดยที่

ΔL^* = ค่า L^* ของเจลไข่ขาวที่เติมน้ำตาล – ค่า L^* ของไข่ขาวที่ไม่เติมน้ำตาล

Δa^* = ค่า a^* ของเจลไข่ขาวที่เติมน้ำตาล – ค่า a^* ของไข่ขาวที่ไม่เติมน้ำตาล

Δb^* = ค่า b^* ของเจลไข่ขาวที่เติมน้ำตาล – ค่า b^* ของไข่ขาวที่ไม่เติมน้ำตาล

3.5.3 เนื้อสัมผัสของเจลไข่ขาว

วิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลไข่ขาวที่เตรียมได้จากข้อ 3.5.2 โดยใช้เครื่อง texture analyser และใช้หัววัดแบบ spherical (ball) probes stainless steel ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร (P 0.25S) รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.7 โดยวัดค่าแรงสูงสุดที่ทำให้เจลแตก (maximum force) และค่างานที่ทำให้เจลแตก (work) ซึ่งค่างานที่ทำให้เจลแตกจะคำนวณจากพื้นที่ใต้กราฟระหว่างจุดเริ่มต้นที่เริ่มกดตัวอย่างจนถึงจุดที่ให้ค่าแรงสูงสุดที่ทำให้เจลแตก (ภาพที่ ก.2) โดยแต่ละภาวะการทดลองจะวัดทั้งหมด 8 ชิ้น

3.5.4 ค่า Longitudinal relaxation time (T_1) ของโปรตอนของโมเลกุลน้ำ

เติมน้ำตาลซูโครส กลูโคส หรือฟรุกโตส ลงในไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์ 25 มิลลิลิตร แปรปริมาณน้ำตาลแต่ละชนิดเป็น 4 ระดับ คือ 10, 20, 30 และ 40% (w/v) คนน้ำตาลให้ละลาย จากนั้นบรรจุไข่ขาวที่ได้ลงในหลอดแก้วสำหรับเครื่อง NMR จนถึงระดับที่ไข่ขาวอยู่สูงจากก้นหลอดขึ้นมาประมาณ 4 เซนติเมตร แล้วนำหลอดแก้วที่บรรจุไข่ขาวไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และทำให้เย็นในอ่างน้ำเย็นอุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างเจลไข่ขาวที่ได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสทิ้งไว้ค้างคืนก่อนนำไปทดสอบ จากนั้นวัดค่า Longitudinal relaxation time (T_1) ของโปรตอนของโมเลกุลน้ำด้วยเครื่อง NMR ซึ่งมีขนาดสนามแม่เหล็กคงที่ 500 MHz โดยติดตาม proton spectrum ของน้ำ (ภาคผนวก ก.3)

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อ 3.5.1-3.5.3 ทดลอง 3 ซ้ำ และข้อ 3.5.4 ทดลอง 2 ซ้ำ

ข้อ 3.5.1, 3.5.3 และ 3.5.4 วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของข้อมูล และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.6 ศึกษาผลของชนิดและปริมาณคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสต่อสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์ในระบบอิมัลชัน

ขั้นตอนการเตรียมอิมัลชันระบบน้ำมันในน้ำมีดังนี้

เติม CMC ชนิดที่มีความหนืด 1800 และ 3000 mPa.s ปริมาณ 0.1, 0.3 และ 0.5% (w/v) ลงในน้ำส้มสายชู 25 มิลลิลิตร คน CMC ให้ละลาย จากนั้นเติมไข่ขาวพาสเจอร์ไรซ์ 45 มิลลิลิตร และน้ำมันข้าวโพด 30 มิลลิลิตรลงไป ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง homogenizer ด้วยความเร็ว 22,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นวิเคราะห์สมบัติด้านต่าง ๆ เปรียบเทียบกับอิมัลชันที่ไม่เติม CMC สมบัติที่วิเคราะห์มีดังนี้ คือ

3.6.1 สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของไข่ขาว

วิเคราะห์สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของไข่ขาวจากการพิจารณาความเสถียรของอิมัลชันโดยปิเปตอิมัลชันที่เตรียมได้จากขั้นตอนข้างต้น 1 มิลลิลิตร มาเจือจาง 100 เท่า ด้วยสารละลาย SDS เข้มข้น 0.1% (w/v) นำอิมัลชันที่เจือจางไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร คำนวณค่าความขุ่นและค่า emulsion activity index (EAI) ของอิมัลชันตามวิธีของ Pearce และ Kinsella (1978) ดังแสดงในสมการ (4) และ (5) ตามลำดับ หลังจากนั้นตั้งอิมัลชันทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 นาที โดยวิเคราะห์ค่าความขุ่นและค่า EAI ของอิมัลชันที่เปลี่ยนแปลงไปทุก 5 นาที

$$\tau \text{ (ค่าความขุ่น)} = \frac{2.303 \times A_{500} \times F}{l} \quad \text{.....(3)}$$

$$\text{EAI } (m^2/g) = \frac{2\tau}{\phi C} \quad \text{.....(4)}$$

โดยที่

A_{500} = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร

F = จำนวนเท่าที่ใช้เจือจางอิมัลชันเพื่อให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้

l = light path length (เมตร)

ϕ = สัดส่วนของน้ำมันที่ใช้ในการทำให้เกิดอิมัลชัน

C = ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลูกบาศก์เมตร) โดยวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในไข่ขาวด้วยวิธี Modified Lowry (ภาคผนวก ก.8)

3.6.2 ค่าความหนืดของอิมัลชัน

วัดค่าความหนืดของอิมัลชันไข่ขาวที่เตรียมไว้ข้างต้นโดยทำการทดลองตามวิธีในข้อที่ 3.1.2 แต่จะตั้งอัตราเฉือนของเครื่อง Bohlin rheometer อยู่ในช่วง 1-30 s^{-1} (ภาคผนวก ก.2)

3.6.3 ลักษณะการกระจายตัวของหยดน้ำมันภายในอิมัลชัน

พิจารณาลักษณะหยดน้ำมันภายในอิมัลชันที่เตรียมไว้ข้างต้นโดยดัดแปลงจากวิธีของ Weaver และ Daniel (2003) ซึ่งก่อนการเตรียมอิมัลชันจะย้อมสีน้ำมันข้าวโพด โดยเติมสีย้อม Sudan III เข้มข้น 0.01% (w/v) ลงในน้ำมันข้าวโพด คนสีย้อมให้ละลาย จากนั้นเตรียมอิมัลชันตามขั้นตอนดังข้างต้น ปิเปตอิมัลชันที่ได้ 10 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่นสไลด์ แล้วค่อย ๆ วาง cover slide ทับลงบนหยดอิมัลชัน ถ่ายภาพลักษณะการกระจายตัวของหยดน้ำมันภายในอิมัลชัน

โดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอซึ่งติดตั้งด้วยเลนส์ใกล้วัตถุ กำลังขยาย 6 เท่า (ภาคผนวก ก.1) ภาพถ่ายอิมัลชันที่ได้จะมีขนาด 12 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อ 3.6.1 และ 3.6.2 ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของข้อมูล และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

I 26887460