

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุ อุปกรณ์การงอก

3.1.1 วัสดุดิบ

3.1.1.1 ถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 2 (ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท จังหวัดชัยนาท)

3.1.1.2 ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 (ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่)

3.1.2 อุปกรณ์สำหรับงอกถั่ว

3.1.2.1 สำลี

3.1.2.2 ผ้าขาวบาง

3.1.2.3 ตะกร้า ขนาด 45×45

3.1.2.3 อุปกรณ์วัดความชื้นสัมพัทธ์ (Hygro meter)

3.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

3.2.1 อุปกรณ์การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

3.2.1.1 ตู้อบลมร้อน (รุ่น BD/ED/FD with R3-Controller Binder, Germany)

3.2.1.2 เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Electronic Balance รุ่น AY 220, Japan)

3.2.1.3 กระป๋องอลูมิเนียม (Moisture can)

3.2.1.4 อุปกรณ์ชุดย่อยโปรตีนประกอบเครื่องดักจับไอกรดและเตาย่อย (Digestion รุ่น KB20S Gerhardt, Germany)

3.2.1.5 ชุดวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (Distillation apparatus รุ่น VAPODEST30 Gerhardt, Germany)

3.2.1.6 บิวเรต (burette) ขนาด 50 มิลลิลิตร และชุดไตเตรท (Titration set)

3.2.1.7 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.2.1.8 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Memmert รุ่น L 5070885, Germany)

3.2.1.9 ชุดวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (Soxhlet รุ่น SER148, Italy)

3.2.1.10 ขวดก้นกลม

3.2.1.11 ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Porcelain crucible)

3.2.1.12 หลอดหยด (Dropper)

3.2.1.13 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (รุ่น 22 RS, USA.)

- 3.2.1.14 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50, 250 และ 1000 มิลลิลิตร
- 3.1.2.15 กระบอกตวง (Graduated cylinder) ขนาด 1000 มิลลิลิตร
- 3.1.2.16 ขวดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 100, 250 และ 1000 มิลลิลิตร
- 3.1.2.17 เครื่องเขย่าแบบวน (Vortex รุ่น G560E, USA.)
- 3.1.2.18 ปิเปต (Pipettes) ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
- 3.1.2.19 โกร่งบดตัวอย่าง (Mortar and pestle)
- 3.1.2.20 โถดูดความชื้น (Desiccator)
- 3.1.2.21 เครื่องวัดสี (Minolta) รุ่น CR-10, Japan
- 3.1.2.22 เครื่องหมุนเหวี่ยง (รุ่น WP 6222050, Switzerland)
- 3.1.2.23 ช้อนตักสารเคมี (Spoon deflagrating)
- 3.1.2.24 ที่คีบ (Tong)
- 3.1.2.25 ที่วางหลอดทดลอง (Test-tube rack)
- 3.1.2.26 แท่งแก้ว (Stirring rod)
- 3.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์
 - 3.2.2.1 คอปเปอร์ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
 - 3.2.2.2 โพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)
 - 3.2.2.3 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4)
 - 3.2.2.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้นร้อยละ 40
 - 3.2.2.5 กรดไฮโดรคลอริก (HCl) 0.1 N
 - 3.2.2.6 กรดบอริก (H_3BO_3) เข้มข้นร้อยละ 4
 - 3.2.2.7 อินดิเคเตอร์ (สารผสมระหว่างเมทิลเรด เมทิลินบลู และโบรโมครีซอลกรีน)
 - 3.2.2.8 ปีโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether)
 - 3.2.2.9 เมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50
 - 3.2.2.10 สาร DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate)
 - 3.2.2.11 โซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 10
 - 3.2.2.12 กรดแกลลิก (Gallic Acid)
 - 3.2.2.13 Follin-Ciocalteu reagents
 - 3.2.2.14 น้ำกลั่น (Distilled water)
 - 3.2.2.15 ฟีนอล (6% phenol reagent)
 - 3.2.2.16 โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (7.5% NaOCl)
 - 3.2.2.17 บอเรต บัฟเฟอร์ (borate buffer pH 9.0)

3.2.2.18 อะซิเตต บัฟเฟอร์ (Acetate buffer)

3.2.2.19 สารละลาย TPTZ (2,4,6-Tris (2-pyridli)-s-triazine)

3.2.2.20 สารละลาย Iron (III) chloride hexahydrate ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)

3.3 อุปกรณ์สำหรับการให้ความร้อน

3.3.1 เตาไฟฟ้า (รุ่น C-MAG HS7 IKA, Germany)

3.3.2 ปีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 1000 มิลลิลิตร

3.3.3 ไมโครเวฟ (ยี่ห้อ SHARP รุ่น R-250, Japan)

3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการประมวลผล

3.4.1 เครื่องคอมพิวเตอร์

3.4.2 โปรแกรม Microsoft Excel 2007.

3.4.3 โปรแกรมประมวลผลทางสถิติสำเร็จรูป SPSS 11.5 for windows.

3.5 วิธีการทดลอง

วัตถุดิบ

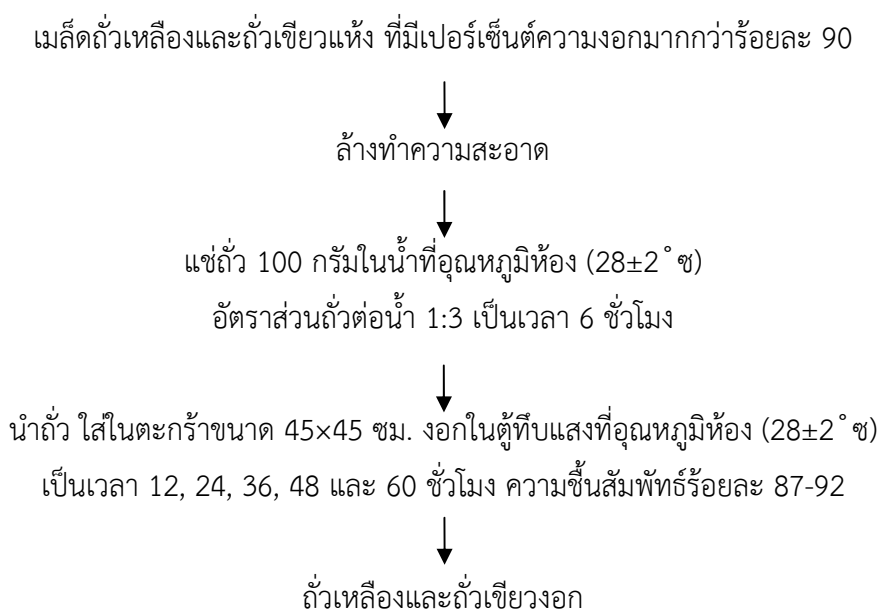
วัตถุดิบในการทดลองได้แก่ ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 จากศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ และถั่วเขียวผิวดำพันธุ์ชัยนาท 2 จากศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท จังหวัดชัยนาท เมล็ดถั่วเก็บเกี่ยวปี 2553 นำเมล็ดถั่วทั้ง 2 ชนิดคัดเลือกเมล็ดเสียและตำหนิออกนำตัวอย่างมาบดให้ละเอียด นำมาวิเคราะห์ องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และใยอาหาร ตามวิธี (AOAC, 1995) ปริมาณสารกาบา (Kitaoka และ Nakano, 1969 ; Karladee และ Suriyong, 2012) สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามวิธี (Inchuen *et al.*, 2010) และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAB ตามวิธี (Inchuen *et al.*, 2010)

ในการทดลองดำเนินการตามวัตถุประสงค์มีวิธีการดำเนินการทดลอง วางแผนการทดลองดังนี้

วัตถุประสงค์ที่ 1 ศึกษาอุณหภูมิและระยะเวลาในการแช่ถั่วเหลืองและถั่วเขียวต่อปริมาณสารกาบา (GABA) สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ อุณหภูมิในการทดลอง มี 4 ระดับ คือ 25, 30, 35 และ 40 °C และระยะเวลามี 4 ระดับคือ 3, 6, 9 และ 12 ชั่วโมง ทดลองโดยนำเมล็ดถั่วเหลืองและถั่วเขียวชนิดละ 50 กรัมแช่ในน้ำด้วยอัตราส่วน 1:3 เมื่อครบกำหนดเวลาในแต่ละช่วงของการแช่น้ำตัวอย่างเทน้ำออก วางให้สะเด็ดน้ำ 10 นาที แล้วนำตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณ ความชื้น (AOAC, 1995) หลังการแช่ นำตัวอย่างทำแห้งที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 6 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดละเอียด ร่อนผ่านตะแกรง 60 เมช นำมาวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา (Kitaoka and Nakano, 1969; Karladee and Suriyong, 2012) สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามวิธี (Inchuen *et al.*, 2010) และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAB ตามวิธี (Inchuen *et al.*, 2010) วางแผนการทดลองและจัดสิ่งทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial in CRD) 4 x 4 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี duncan's new multiples range test ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS version 11.5 คัดเลือกสถานะที่เหมาะสมในการแช่ของถั่วทั้ง 2 ชนิด โดยใช้ผลปริมาณสารกาบา เป็นดัชนีในการคัดเลือกเพื่อนำมาศึกษาในวัตถุประสงค์ต่อไป

วัตถุประสงค์ที่ 2 ศึกษาระยะเวลาในการออกถั่วเหลืองและถั่วเขียวต่อปริมาณสารกาบา (GABA) องค์ประกอบทางเคมี, สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยนำถั่วเขียวและถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่ในสถานะที่ให้สารกาบาสูงสุดในวัตถุประสงค์ที่ 1 มางอก เตรียมการงอกโดยนำเมล็ดถั่วไปล้างทำความสะอาด แช่ถั่วเหลืองและถั่วเขียว 100 กรัม ในน้ำที่อุณหภูมิห้อง (28 ± 2 °C) อัตราส่วนถั่วต่อน้ำ 1:3 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง นำถั่ว ใส่ในตะกร้าขนาด 45x45 เซนติเมตร งอกในตู้ที่บแสงที่อุณหภูมิห้อง (28 ± 2 °C) เป็นเวลา 12, 24, 36, 48 และ 60 ชั่วโมง ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 87-92

ดังแสดงในภาพที่ 3.1 เมื่อครบกำหนดเวลานำตัวอย่างวิเคราะห์ห้องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เกลือ ไออาหาร (AOAC, 1995) ปริมาณสารกาบา (GABA) ตามวิธี (Kitaoka and Nakano, 1969; Karladee and Suriyong, 2012) สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามวิธี (Inchuen *et al.*, 2010) และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAB ตามวิธี (Inchuen *et al.*, 2010) วางแผนการทดลองและจัดสิ่งทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Complete- randomized design, CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี duncan's new multiples range test ทำการ ทดลอง 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS version 11.5 คัดเลือกระยะเวลาที่ เหมาะในการงอกถั่วแต่ละชนิด โดยใช้ผลปริมาณสารกาบา (GABA) เป็นดัชนีในการคัดเลือกเพื่อนำไป ทดสอบผลของการแปรรูปต่อไป



ภาพที่ 3.1 กระบวนการเพาะถั่วเหลือง และถั่วเขียวงอก

วัตถุประสงค์ที่ 3 ศึกษาผลของการให้ความร้อนในการต้มให้ความร้อนให้ถั่วสุกพร้อมบริโภคนอกจาก การศึกษาทดลองเบื้องต้น โดยทำการทดลองต้มถั่วที่อุณหภูมิ 85 °ซ เป็นเวลา 5, 10, 15 และ 20 นาที และไมโครเวฟกำลังไฟ 800 วัตต์ จะใช้เวลา 3, 5, 7 และ 9 นาที พบว่าการให้ความร้อน จนถั่วสุกสามารถ บริโภคได้ มีลักษณะเหมือนถั่วต้ม จากการทดสอบของผู้ทดสอบชิมในด้านกลิ่น และเนื้อสัมผัสที่ไม่มี ความแตกต่างกัน โดยพบว่าสำหรับไมโครเวฟจะใช้เวลา 7 นาทีกำลังไฟ 800 วัตต์ และการต้มในน้ำจะใช้ เวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 85 °ซ โดยทั้ง 2 วิธีจะใช้อัตราส่วนถั่ว:น้ำ เท่ากับ 1:3 (w/w) จากนั้นนำตัวอย่าง วิเคราะห์ ปริมาณสารกาบา (GABA) (Kitaoka and Nakano, 1969; Karladee and Suriyong, 2012)

สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามวิธี (Inchuen *et al.*, 2010) และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAB ตามวิธี (Inchuen *et al.*, 2010) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีเปรียบเทียบคู่และ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS version 11.5