

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

#### 1. วัตถุดิบ

เมล็ดถั่วดำ ตรา ไร่ทิพย์

#### 2. สารเคมี

- 2.1 กรดบอริก (MERCK, ประเทศเยอรมนี)
- 2.2 กรดซิตริก (Ajax Finechem, ประเทศออสเตรเลีย)
- 2.3 โซเดียมฟอสเฟต (Ajax Finechem, ประเทศออสเตรเลีย)
- 2.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (MERCK, ประเทศเยอรมนี)
- 2.5 ฟีนอล์ฟทาลีน (MERCK, ประเทศเยอรมนี)
- 2.6 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์โปรตีน
- 2.7 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ไขมัน
- 2.8 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์เส้นใย

#### 3. อุปกรณ์และเครื่องมือในการผลิตผงสีจากเมล็ดถั่วดำและอบแห้งเมล็ดถั่วดำ

- 3.1 อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memert รุ่น Schutzart DIN 40050 - IP 20 (Memmert, ประเทศเยอรมนี)
- 3.2 เครื่องระเหยน้ำภายใต้สุญญากาศ (vacuum evaporator) (บริษัท SIBATA, ประเทศญี่ปุ่น)
- 3.3 เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer) ประกอบและออกแบบ โดย นายบุญชัย หฤทัยชนาสนันต์
- 3.4 เครื่องทำแห้งแบบถาด (tray dryer) ยี่ห้อ OFM รุ่น BWS
- 3.5 เครื่องชั่งละเอียด ยี่ห้อ Presica รุ่น XT 220A (Precisa Instruments AG, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)
- 3.6 หม้อสแตนเลสและเตาแก๊ส

- 3.7 เทอร์โมมิเตอร์
- 3.8 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4
- 3.9 เครื่องปิดผนึกถุงด้วยความร้อน
- 3.10 ขวดสีน้ำตาล, ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์
- 3.11 เครื่องแก้ว และอุปกรณ์พื้นฐานในห้องปฏิบัติการเคมี, จุลินทรีย์ และแปรรูป
- 3.12 นาฬิกาจับเวลา

#### **4. อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ**

- 4.1 เครื่องวัดค่าสีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ยี่ห้อ Minolta รุ่น CM – 3500 d (Minolta, ประเทศญี่ปุ่น)
- 4.2 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV-160A (Shimadzu, ประเทศญี่ปุ่น)
- 4.3 เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (water activity :  $a_w$ ) thermoconstanter ยี่ห้อ Novasina รุ่น TH 200 (Novasina, ประเทศสวีตเซอร์แลนด์)
- 4.4 เครื่องบดเนกประสงค์ (moulinex) (บริษัทเฮกเกอร์เมเยอร์ จำกัด, กรุงเทพฯ)
- 4.5 ตู้อบลมร้อน (hot air oven) ยี่ห้อ Binder รุ่น FD 115 – E2 with R3 – controller (BINDER GmbH, ประเทศเยอรมนี)
- 4.6 เครื่องกวน (Mixer)
- 4.7 เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Hand refractometer) ยี่ห้อ ATAGO รุ่น N - 1E (Brix 0 ~ 32%) (ประเทศญี่ปุ่น)
- 4.8 เวอร์เนียร์แคลิเปอร์ ยี่ห้อ Mitutoyo

#### **5. อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี**

- 5.1 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง ยี่ห้อ TOA รุ่น HM – 16S (Electronics Co. Ltd., ประเทศญี่ปุ่น)
- 5.2 เตาเผาถ้ำ ยี่ห้อ CarboliteELF รุ่น 11/14 (ประเทศอังกฤษ)
- 5.3 เครื่องย่อยหาโปรตีน ยี่ห้อ Kjeltec System รุ่น 1026 Distilling Unit (ประเทศสวีตเซอร์แลนด์)

5.4 เครื่องมือชุดวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ยี่ห้อ Avanti รุ่น 2050 Soctec Auto Extraction Unit (Tecator, ประเทศสวีเดน)

5.5 ปริมาณเยื่อใย ยี่ห้อ Foss Tecator รุ่น Fibertec System M (ประเทศสวีเดน)

## **6. อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์**

6.1 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันสูง (Autoclave)

6.2 ตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์ (Incubator)

6.3 อุปกรณ์เครื่องแก้ว

## **7. อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส**

7.1 อุปกรณ์ในการทดสอบ

7.2 แบบทดสอบ

## วิธีการ

### 1. การศึกษาความคิดเห็นของผู้ใช้และผู้ที่เกี่ยวข้องในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ผสมอาหารต่อการใช้สารสีธรรมชาติจากสารสกัดเมล็ดถั่วดำในอุตสาหกรรมอาหาร

เก็บข้อมูลด้วยวิธีการสำรวจ โดยการใช้แบบสอบถามร่วมกับการสัมภาษณ์ (ภาคผนวก ข) ใช้วิธีการคัดเลือกกลุ่มเป้าหมายที่เกี่ยวข้อง (simple random sampling) ในเขตกรุงเทพมหานคร และปริมณฑล โดยมีกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 105 คน ซึ่งคำนวณได้จาก  $n = (Z^2 pq) / E^2$  (Cooper, 1998) แบ่งได้ดังนี้

1. ผู้ที่ใช้สารสีผสมอาหารในผลิตภัณฑ์อาหาร จำนวน 50 คน แบ่งตามประเภทของผลิตภัณฑ์อาหาร
2. ผู้ที่เกี่ยวข้องในอุตสาหกรรมอาหาร จำนวน 35 แห่ง
3. โรงงานผู้ผลิตสี ผู้นำเข้าสี และผู้จัดจำหน่ายสีผสมอาหาร จำนวน 20 ร้าน

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ และประเมินผลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

### 2. การศึกษาลักษณะทั่วไปของเมล็ดถั่วดำ

#### 2.1 การสำรวจข้อมูลทั่วไปของเมล็ดถั่วดำ

ใช้แบบสอบถามสำรวจข้อมูลโดยการสัมภาษณ์เชิงเจาะลึกแต่ละบุคคล (individual depth interview) จากร้านค้าหรือบริษัทที่จำหน่ายเมล็ดถั่วดำจำนวน 12 แห่งในกรุงเทพมหานคร โดยสอบถามเกี่ยวกับ พันธุ์ แหล่งที่มา ลักษณะการขาย (ปลีก / ส่ง) ราคาขายต่อกิโลกรัม (บาท) ปริมาณที่ขายได้โดยประมาณ (ยอดขาย) ต่อวัน การนำไปใช้ประโยชน์ ยอดขายถั่วดำเปรียบเทียบกับถั่วอื่นๆ การเก็บรักษา และอายุการเก็บ รวบรวมข้อมูลสัมภาษณ์เชิงเจาะลึก

#### 2.2 การศึกษาคุณลักษณะทั่วไปของเมล็ดถั่วดำ

เปรียบเทียบคุณภาพของเมล็ดถั่วดำ 4 แห่ง ได้แก่ เมล็ดถั่วดำที่มียี่ห้อ (brandname)

คือ ตราไร้ทึบ และตราเกษตร และในตลาดไม่มียี่ห้อ (non brandname) คือ ตลาด องค์การตลาด เพื่อเกษตรกร (อตก.) ตลาดทรงวาด และ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์คุณภาพ ดังนี้

2.2.1 ศึกษาปริมาณผลผลิตของเมล็ดถั่วดำ 1 กิโลกรัม โดยคัดแยกสิ่งปลอมปน เมล็ดลีบ เมล็ดเล็ก เมล็ดแตกและมีตำหนิ ซึ่งน้ำหนัก นำเมล็ดส่วนที่ดี ซึ่งน้ำหนัก คิดเป็นร้อยละ

2.2.2 ขนาดเมล็ด นำเมล็ดถั่วดำวัดความกว้าง ความยาว โดยใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์วัด ขนาดเมล็ดถั่วดำจำนวน 100 เมล็ด หาค่าเฉลี่ย

2.2.3 น้ำหนักเมล็ดถั่วดำ ซึ่งน้ำหนักเมล็ดจำนวน 100 กรัม นับจำนวนเมล็ดคำนวณหา น้ำหนักเฉลี่ยต่อเมล็ด

2.2.4 วัดค่าสี  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $h$  ด้วยเครื่องวัดค่าสีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Hunter and Harold, 1987)

2.2.5 ค่าวอเตอร์แอกทิวิตีด้วยเครื่องเทอร์โมคอนสแตนต์เตอร์

2.2.6 ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ A.O.A.C. (2000)

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของ ค่าเฉลี่ยโดยวิธีของคันแคน (Duncan's new multiple's range test) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS คัดเลือกสิ่งทดลองที่มีปริมาณผลผลิตของเมล็ดถั่วดำสูงที่สุด นำไปศึกษาสภาวะการสกัด

### 3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารสกัดแอนโไซยานินจากเมล็ดถั่วดำ

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต คือ อัตราส่วนระหว่างปริมาณเมล็ดถั่วดำต่อปริมาณ ตัวทำละลาย ความเป็นกรดต่าง และ อุณหภูมิและเวลาในการสกัด

#### 3.1 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างปริมาณเมล็ดถั่วดำต่อปริมาณน้ำ

ศึกษาอัตราส่วนของเมล็ดถั่วดำต่อปริมาณน้ำที่เหมาะสมในการสกัดสารสี โดยวางแผนการทดลองสุ่มอย่างสมบูรณ์ คือ อัตราส่วนของเมล็ดถั่วดำต่อปริมาณน้ำ 3 ระดับ ได้แก่ 1:3, 1:4 และ 1:5 (w/v) นำเมล็ดถั่วดำมาคัดแยกสิ่งปลอมปนออกแล้วล้าง ทำความสะอาด เติрым ตัวอย่างเพื่อให้ได้อัตราส่วนตามแผนการทดลอง ให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ โดยให้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และทำให้เย็นทันทีโดยแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 5 องศา

เซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นกรองด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 4 โดยอาศัยหลักการกรองแบบสุญญากาศเก็บตัวอย่างในที่มีด 2 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดสมดุลฟอร์มต่าง ๆ ของแอนโทไซยานิน ดังภาพที่ 3 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง วิเคราะห์คุณภาพดังนี้

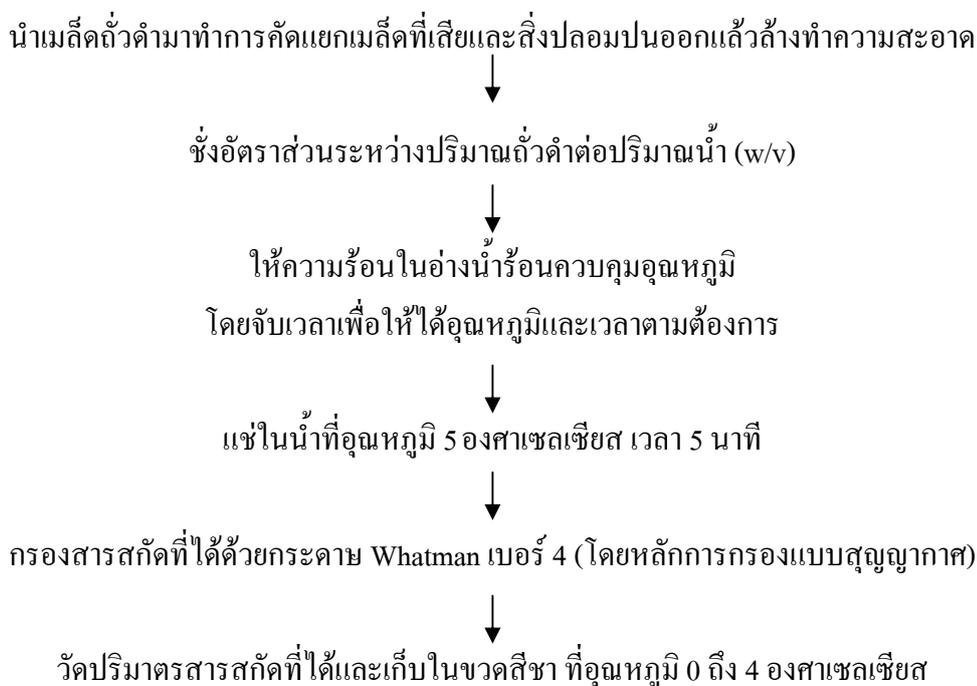
3.1.1 ปริมาณแอนโทไซยานิน โดยวิธีของ Fuleki and Francis (1968a) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร (ภาคผนวก ค)

3.1.2 วัดค่าความเป็นกรดต่าง

3.1.3 ค่าสี วัดค่าสี  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $h$  ด้วยเครื่องวัดค่าสีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

3.1.4 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยชั่งน้ำหนักสารสีที่สกัดได้ 10 กรัม นำมาระเหยน้ำจนแห้งด้วยอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ และอบต่อในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นำไปชั่งน้ำหนัก คำนวณเป็นปริมาณร้อยละของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ดัดแปลงจากวิธีของ A.O.A.C. (2000)

วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีของคันทัน ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เพื่อคัดเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดสารสี



ภาพที่ 3 กรรมวิธีการผลิตสารสีจากเมล็ดถั่วดำ

### 3.2 การศึกษาความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เหมาะสมในการสกัด

ศึกษาความเป็นกรด-ด่างในการสกัดสารสีแอนโทไซยานินจากเมล็ดถั่วดำ วางแผนการทดลองสุ่มอย่างสมบูรณ์ โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ เป็นตัวทำละลายในการสกัด (ความเป็นกรดต่าง 2.5 – 7.5) (ภาคผนวก ค) แปรความเป็นกรดต่างของสารละลายบัฟเฟอร์ 6 ระดับ ได้แก่ 2.5, 3.5, 4.5, 5.5, 6.5 และ 7.5 เปรียบเทียบกับน้ำกลั่น (ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7.18) สกัดโดยแช่เมล็ดถั่วดำในตัวทำละลายในอัตราส่วนที่ผ่านการคัดเลือกได้จากข้อ 3.1 ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) ในที่มีดเป็นเวลา 4 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 4 โดยอาศัยหลักการกรองแบบสุญญากาศ วัดปริมาตรสารละลายทั้งหมดที่กรองได้ ปิเปตสารละลายที่กรองได้และเจือจางตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด เพื่อให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.3 – 0.8 เก็บตัวอย่างที่เจือจางในที่มีด 2 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดสมดุลฟอร์มต่าง ๆ ของแอนโทไซยานิน วัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.) แล้วคำนวณค่า dilution factor ตามที่ได้เจือจาง วิเคราะห์คุณภาพดังนี้

3.2.1 ปริมาณแอนโทไซยานิน โดยวิธีของ Fuleki and Francis (1968a) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

3.2.2 ค่าสี วัดค่าสี  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $h$  ด้วยเครื่องวัดค่าสีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Hunter and Harold, 1987)

วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีของคันทันแคน ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เพื่อคัดเลือกระดับความเป็นกรด-ด่างของตัวทำละลายในการสกัดที่เหมาะสม

### 3.3 การศึกษาระดับอุณหภูมิและระยะเวลาที่มีผลต่อการสกัดสารสีจากเมล็ดถั่วดำ

ศึกษาผลของปัจจัยในการสกัดสารสีแอนโทไซยานินจากเมล็ดถั่วดำ 2 ปัจจัย คือ อุณหภูมิ และระยะเวลา โดยจัดแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiments)  $4 \times 3$  ในแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ ดังนี้

ระดับอุณหภูมิในการสกัด 4 ระดับ ได้แก่ 40, 45, 50 และ 55 องศาเซลเซียส โดยใช้อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (waterbath)

ระยะเวลาในการสกัด 3 ระดับ ได้แก่ 30, 40 และ 50 นาที

นำเมล็ดถั่วดำมาคัดแยกสิ่งปลอมปนออก ล้างทำความสะอาด ซึ่งอัตราส่วนระหว่าง ถั่วดำต่อปริมาณน้ำที่ได้ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 3.1 ให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ โดยจับเวลาเพื่อให้ได้อุณหภูมิและเวลาตามแผนการทดลอง และทำให้เย็นทันทีโดยแช่น้ำที่ อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที โดยกรองด้วยกระดาษ Whatman เบอร์ 4 โดยอาศัย หลักการกรองแบบสุญญากาศเก็บตัวอย่างในที่มีด 2 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดสมดุลฟอร์มต่าง ๆ ของ แอนโทไซยานิน ดังภาพที่ 3 ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง วิเคราะห์คุณภาพของสารสกัดตามข้อ 3.1 และ วิเคราะห์คุณภาพของเมล็ดถั่วดำ ดังนี้

ปริมาณคุณภาพเมล็ดถั่วดำ คิดเป็นร้อยละ ของลักษณะของเมล็ดถั่วดำที่ไม่แตกและ ไม่เกิดยางเมื่อผ่านกระบวนการอบแห้งโดยใช้สภาวะที่คัดเลือกจากข้อ 4

วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีของ ดันแคนด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เพื่อคัดเลือกอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสาร แอนโทไซยานินสูงสุด โดยพิจารณาถึงปริมาณคุณภาพเมล็ดถั่วดำที่ดีมากกว่าร้อยละ 55

#### 4. การศึกษาอุณหภูมิในการอบแห้งเมล็ดถั่วดำ

ศึกษาอัตราการอบแห้งของเมล็ดถั่วดำที่เหลือจากการสกัดที่อุณหภูมิ 50, 55 และ 60 องศาเซลเซียสด้วยตู้อบแห้งแบบถาด นำเมล็ดถั่วดำที่ได้ผ่านการคัดเลือกที่ผ่านการคัดเลือกสภาวะที่ เหมาะสมในการสกัดข้อ 3.3 มาหาอัตราการอบแห้งของเมล็ดถั่วดำวิธีมาตรฐาน A.O.A.C (2000) โดยวัดค่าปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ก่อนอบแห้ง และช่วงระยะเวลาต่าง ๆ ของการอบแห้ง โดยวัดค่าทุก 30 นาทีในการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50, 55 และ 60 องศาเซลเซียส จนค่าความชื้น ไม่เกิน ร้อยละ 10-15 (สมชาติ, 2540) วิเคราะห์คุณภาพเมล็ดถั่วดำที่ผ่านการอบแห้ง

4.1 ศึกษาปริมาณผลผลิตของเมล็ดถั่วดำ คัดแยกจำนวนเมล็ดที่ดี โดยพิจารณาจากเมล็ดไม่แตก และ ไม่เกิดยางเมื่อผ่านกระบวนการอบแห้ง ซึ่งน้ำหนัก คิดเป็นร้อยละ

4.2 วัดค่าสี  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $h$  ด้วยเครื่องวัดค่าสีสเปคโตรโฟมิเตอร์ (Hunter and Harold, 1987)

#### 4.3 ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ด้วยเครื่องเทอร์โมคอนสแตนต์

คัดเลือกเวลาในการทำแห้งที่ทำให้เมล็ดถั่วดำมีค่าความชื้นไม่เกิน 10-15 มาตรฐานเปียก (สมชาติ, 2540) คำนวณร้อยละผลผลิต เปรียบเทียบและคัดเลือกสภาวะการทำแห้งที่เหมาะสมที่สุดในเชิงเศรษฐศาสตร์

### 5. การทำสารสีให้เข้มข้น

ศึกษาวิธีการทำสารสีที่สกัดจากเมล็ดถั่วดำให้มีความเข้มข้น โดยวางแผนการทดลองสุ่มอย่างสมบูรณ์ ดังนี้ วิธีการระเหยน้ำ 4 สิ่งทดลอง ได้แก่ การระเหยแบบระบบปิดโดยการระเหยแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิระดับ 50, 55, 60 องศาเซลเซียส และวิธีการระเหยแบบระบบเปิดโดยการระเหยด้วยน้ำเดือดโดยใช้หม้อเสตนเลสอังในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ระดับ  $87 \pm 2$  องศาเซลเซียส ระเหยสารละลายสีจนปริมาณของแข็งที่ละลายได้สุดท้ายเท่ากับ 5 บริกซ์ ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง วิเคราะห์คุณภาพดังนี้

5.1 ปริมาณแอนโทไซยานิน โดยวิธีของ Fuleki and Francis (1968a) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร (ภาคผนวก ค)

5.2 ค่าสี วัดค่าสี  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $h$  ด้วยเครื่องวัดค่าสีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Hunter and Harold, 1987)

วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีของ ดันแคนด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เพื่อคัดเลือกอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการทำสารสีให้เข้มข้น โดยพิจารณาถึงความเหมาะสมเชิงเศรษฐศาสตร์ เช่น พลังงาน และเวลา เป็นปัจจัยสำคัญ

### 6. การศึกษากระบวนการทำแห้งสารสี

นำสารสีเข้มข้นมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้สุดท้ายเท่ากับ 5 บริกซ์ ไปเติมมอลโทเด็กซ์ทริน D.E.10 ลงในสารสีเข้มข้น ในปริมาณร้อยละ 7.5 ของสารละลาย (ซึ่งมอลโทเด็กซ์ทริน D.E. 10 ที่ใช้มีปริมาณความชื้นร้อยละ 5.2 ค่าความหนาแน่น 34 ปอนด์ต่อตารางฟุต ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.7) จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และนำไปผ่านกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย ควบคุมอุณหภูมิของสารละลายสีก่อนการทำแห้งเท่ากับ 60 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 15 นาที เพื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สารสีที่สกัดได้จากเมล็ดถั่วดำ สภาพของเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย มีดังนี้ ความดันของลมที่หัวเหวี่ยง 2 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร หรือคิดเป็นความเร็วของหัวเหวี่ยง 25,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิลมร้อนก่อนเข้าทำแห้ง (inlet air temperature) 135 – 145 องศาเซลเซียส และหลังการทำแห้ง (outlet air temperature) คือ 90 - 100 องศาเซลเซียส (Chen and Tang, 1998; กิตติมา, 2549) ใช้หัวฉีดแบบใช้ความดัน (pressure nozzles) มีอัตราเร็วของลมร้อนเท่ากับ 48.5 เมตรต่อวินาที อัตราการป้อนสารสี 5 มิลลิลิตรต่อนาที ทิศทางการเคลื่อนที่ของลมร้อนเป็นการเคลื่อนที่แบบผสม (mixed flow or complex vertical downward) โดยลมร้อนถูกพ่นเข้าด้านข้างค่อนไปทางด้านบนของห้องทำแห้ง ละอองของเหลวถูกพ่นออกจากด้านบน มีเครื่องดูดอากาศออกทางด้านบน ทำให้ลมร้อนเกิดการผสมวนเวียนกับละอองของเหลวภายในห้องทำแห้ง จากนั้นเก็บผงสีที่ได้ในถุงออลูมิเนียมฟอยด์ เพื่อนำมาวัดค่าคุณภาพ ดังนี้

- 6.1 ปริมาณแอนโทไซยานิน โดยวิธีของ Fuleki and Francis (1968a) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร (ภาคผนวก ค)
- 6.2 วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ชั่งน้ำหนักผงสี 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร วัดค่าด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง
- 6.3 ค่าสี วัดค่าสี  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $h$  ด้วยเครื่องวัดค่าสีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Hunter and Harold, 1987)
- 6.4 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยชั่งน้ำหนักผงสี 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร แบ่งสารละลายจำนวน 10 มิลลิลิตร นำมาระเหยน้ำจนแห้งด้วยอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ และอบต่อในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นำไปชั่งน้ำหนักคำนวณเป็นปริมาณร้อยละของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ดัดแปลงจากวิธีของ A.O.A.C. (2000)
- 6.5 การละลาย (solubility) ชั่งน้ำหนักผงสี 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นบรรจุอยู่ 100 มิลลิลิตร กวนสารละลายด้วยเครื่องกวนที่ระดับ 5 บันทึกลงเป็นเวลา 90 วินาที แบ่งสารละลายจำนวน 10 มิลลิลิตร นำมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 ซึ่งทราบน้ำหนักคงที่แล้ว ค่าการละลายเปรียบเทียบจากจำนวนตะกอนที่เหลืออยู่หลังจากหักน้ำหนักกระดาษกรองออกแล้วเป็นกรัม (Al-kahtani and Hasson, 1990)

## 7. การศึกษาการผลิตผงสีจากเมล็ดถั่วดำ ที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยในระดับนำร่อง (Pilot Scale)

นำผงสีจากเมล็ดถั่วดำ ที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย ในสภาวะที่เหมาะสม มาผลิตในระดับนำร่อง วิเคราะห์คุณภาพผงสี ทางเคมีและทางจุลินทรีย์ ดังนี้

### 7.1 การวิเคราะห์คุณภาพผงสี (ดัดแปลงจากวิธีของ Alkahtani and Hasson, 1990)

7.1.1 ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เส้นใย และคาร์โบไฮเดรต ตามวิธีของ A.O.A.C. (2000)

7.1.2 ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี้ด้วยเครื่องเทอร์โมคอนสแตนต์เตอร์

7.1.3 ค่าสี วัดค่าสี  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $h$  ด้วยเครื่องวัดค่าสีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Hunter and Harold, 1987)

7.1.4 ปริมาณแอนโทไซยานิน โดยวิธีของ Fuleki and Francis (1968a) คำนวณค่าปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

7.1.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยชั่งน้ำหนักผงสี 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร แบ่งสารละลายจำนวน 10 มิลลิลิตร นำมาระเหยน้ำจนแห้งด้วยอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ และอบต่อในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นำไปชั่งน้ำหนัก คำนวณเป็นปริมาณร้อยละของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ดัดแปลงจากวิธีของ A.O.A.C. (2000)

7.1.6 ความเป็นกรด-ด่าง ชั่งน้ำหนักผงสี 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร วัดค่าด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

7.1.7 ความเป็นกรด (Acidity) ชั่งน้ำหนักผงสี 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร แบ่งสารละลายที่ได้มา 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนสีจางลง และไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานของโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล (Normality) โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ จุดยุติจะได้สีชมพูอ่อน (ดัดแปลงจาก A.O.A.C., 1995) โดยคำนวณค่าความเป็นกรดจาก

$$\text{ค่าความเป็นกรด} = \frac{\text{ปริมาณของด่าง (มิลลิลิตร)} \times \text{Normality} \times 70 \times 100}{1000 \times \text{น้ำหนักผงสี (กรัม)}}$$

7.1.8 การดูดความชื้น (hygroscopicity) ชั่งน้ำหนักผงสี 10 กรัมลงในจาน (plate) บันทึกน้ำหนักเริ่มต้นแล้วตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง โดยควบคุมอุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ ที่ร้อยละ 65 บันทึกน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นทุกๆ 10 นาที และบันทึกน้ำหนักสุดท้าย เมื่อเวลาผ่านไป 360 นาที เพื่อเปรียบเทียบ

7.1.9 ค่าความหนาแน่น (bulk density) โดยชั่งน้ำหนักผงสีบรรจุลงในกระบอกตวงขนาด 50 มิลลิลิตร ยกขึ้นสูงจากเดิม 10 เซนติเมตร ภายในเวลา 1 วินาที โดยไม่ให้กระบอกตวงเหวี่ยงหรือสะบัด ลดกระบอกตวงลงมาที่ตำแหน่งเดิมภายใน 1 วินาที แล้วหมุนกระบอกตวงไปประมาณ 10 องศา ปฏิบัติเช่นเดียวกันนี้ 15 ครั้ง แล้วอ่านปริมาตรของตัวอย่าง บันทึกค่าของปริมาตรของผงสี ค่าความหนาแน่น (กรัม/มิลลิลิตร) เท่ากับ อัตราส่วนของน้ำหนักผงสี (กรัม) ต่อปริมาตรของผงสีหลังการสั่น (มิลลิลิตร) (ดัดแปลงจาก มอก. 1142-2536)

7.1.10 การละลาย (solubility) ชั่งน้ำหนักผงสี 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นบรรจุอยู่ 100 มิลลิลิตร กวนสารละลายด้วยเครื่องกวนที่ระดับ 5 บันทึกเป็นเวลา 90 วินาที แบ่งสารละลายจำนวน 10 มิลลิลิตร นำมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 ซึ่งทราบน้ำหนักคงที่แล้ว ค่าการละลายเปรียบเทียบจากจำนวนตะกอนที่เหลืออยู่หลังจากหักน้ำหนักกระดาษกรองออกแล้วเป็นกรัม (Al-kahtani and Hasson, 1990)

## 7.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ (A.O.A.C., 2000)

7.2.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

7.2.2 จำนวนยีสต์และรา

7.2.3 *Coliform*

7.2.4 *Staphylococcus aureus*

## 8. การศึกษาความคงตัวของสารสีที่สกัดจากเมล็ดถั่วดำต่อความร้อน และ ความเป็นกรดต่าง

ศึกษาผลของปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของสารสีที่สกัดจากเมล็ดถั่วดำ 2 ปัจจัย คือ อุณหภูมิ และความเป็นกรดต่าง โดยจัดแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiments)  $3 \times 5$  ในแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ ดังนี้

ปัจจัยอุณหภูมิ 3 ระดับ ได้แก่ ไม่ให้ความร้อน พาสเจอร์ไรซ์ (pasteurization) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที สเตอริไรซ์ (sterilization) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที สำหรับอาหารที่เป็นกรด (ความเป็นกรด-ด่าง 3 ถึง 4) และสเตอริไรซ์ (sterilization) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที สำหรับอาหารที่เป็นกรดต่ำ (ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5 ถึง 7) (ไพบูลย์, 2532)

ปัจจัยความเป็นกรด-ด่าง 5 ระดับ ได้แก่ 3, 4, 5, 6 และ 7

เตรียมสารละลายสีจากผงสีที่ผลิตได้จากเมล็ดถั่วดำ โดยชั่งน้ำหนักผงสี 10 กรัม ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ (ความเป็นกรด-ด่าง 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, และ 7.0) 100 มิลลิลิตร (ภาคผนวก ก) นำมาให้ความร้อน ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง วัดค่าคุณภาพ ดังนี้

8.1 ปริมาณแอนโทไซยานิน โดยวิธีของ Fuleki and Francis (1968a) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร (ภาคผนวก ก)

8.2 ค่าสี วัดค่าสี  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $h$  ด้วยเครื่องวัดค่าสีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Hunter and Harold, 1987)

8.3 การละลาย (solubility) ชั่งน้ำหนักผงสี 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นบรรจุอยู่ 100 มิลลิลิตร กวนสารละลายด้วยเครื่องกวนที่ระดับ 5 บันทึกลงเป็นเวลา 90 วินาที แบ่งสารละลายจำนวน 10 มิลลิลิตร นำมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 ซึ่งทราบน้ำหนักคงที่แล้ว ค่าการละลายเปรียบเทียบจากจำนวนตะกอนที่เหลืออยู่หลังจากหักน้ำหนักกระดาษกรองออกแล้วเป็นกรัม (Al-kahtani and Hasson, 1990)

วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองโดยวิธีของดันแคนด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เพื่อศึกษาความคงตัวของผงสีที่ผลิตได้

## 9. การใช้ประโยชน์ของผงสีจากสารสกัดเมล็ดถั่วดำ ในผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิด

ทดลองนำผงสีที่ผลิตได้มาเติมลงในผลิตภัณฑ์อาหาร ได้แก่ เต้าฮวยนมสด และไอศกรีมที่ทำขึ้นเอง ในอัตราส่วนที่เหมาะสม วัดค่าสี  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $h$  ด้วยเครื่องวัดค่าสีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ บันทึกคุณสมบัติ วิธีการนำไปใช้ของผงสี ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ และทดสอบการ

ยอมรับของผู้บริโภคต่อสีในผลิตภัณฑ์อาหารด้วยวิธีการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธีคะแนนความชอบ 1-9 คะแนน (9 – Point Hedonic Scale) โดย 1=ไม่ชอบมากที่สุด 9=ชอบมากที่สุด ใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝน จำนวน 50 คน คุณลักษณะที่ทดสอบ คือ สี กลิ่น ความเป็นเนื้อเดียวกับผลิตภัณฑ์ และความชอบ โดยรวม วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีของคันทแคน ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

## 10. การยอมรับของผู้ใช้ผงสีจากเมล็ดถั่วดำในผลิตภัณฑ์อาหาร

### 10.1 การทดสอบการยอมรับของผู้ใช้ผงสีจากเมล็ดถั่วดำในการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร

ทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์ผงสีจากเมล็ดถั่วดำ โดยวิธีใช้แบบสอบถาม (ภาคผนวก ข) กับผู้บริโภคเป้าหมายซึ่งเป็นผู้ใช้สีผสมอาหารในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ เจ้าหน้าที่ฝ่ายการผลิต โรงงานแหลมทอง เพื่อทดสอบการยอมรับด้านสีของผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากการเติมผงสีจากเมล็ดถั่วดำ และคุณภาพของผงสีจากเมล็ดถั่วดำหลังทดลองใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยให้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ผงสีจากเมล็ดถั่วดำและแบบสอบถามแก่ผู้ประกอบการ พร้อมแนะนำวิธีการใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร

### 10.2 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ไอศกรีมถั่วดำ

นำผงสีที่ผลิตได้ไปให้โรงงานแหลมทองใช้ในการผลิตไอศกรีม คือ ไอศกรีมที่เติมผงสีจากถั่วดำ เปรียบเทียบกับไอศกรีมถั่วดำสูตรของโรงงานซึ่งไม่ได้มีการเติมผงสี โดยที่ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมทั้ง 2 ชนิด ไม่ใส่เมล็ดถั่วดำ เพื่อให้ผู้บริโภคเห็นสีของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมได้ชัดเจน และ ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อสีในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่เติมผงสีจากถั่วดำ เปรียบเทียบกับไอศกรีมถั่วดำสูตรของโรงงาน ด้วยวิธีการทดสอบแบบ Central Location Test ทดสอบกับผู้บริโภคเป้าหมายที่มีอายุระหว่าง 20 - 50 ปีขึ้นไป ในเขตกรุงเทพมหานคร จำนวน 100 คน โดยการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธีคะแนนความชอบ 1-9 คะแนน (9 – Point Hedonic Scale) โดย 1=ไม่ชอบมากที่สุด, 9=ชอบมากที่สุด (Cooper, 1998) คุณลักษณะที่ทดสอบ คือ สี กลิ่น ความเป็นเนื้อเดียวกับผลิตภัณฑ์ ความชอบ โดยรวม และสอบถามการยอมรับและการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์ไอศกรีม

ช่วงระดับความชอบผลิตภัณฑ์ (1=ไม่ชอบมากที่สุด 9=ชอบมากที่สุด) มีการคำนวณช่วงความกว้างของระดับชั้น โดยสามารถคำนวณได้ดังนี้ (Cooper, 1998)

$$\begin{aligned} \text{ช่วงระดับคะแนนเฉลี่ย} &= (\text{คะแนนสูงสุด} - \text{คะแนนต่ำสุด}) / \text{จำนวนชั้น} \\ \text{แทนค่า} \quad \text{ช่วงระดับคะแนนเฉลี่ย} &= (9-1) / 9 \\ &= 0.88 \end{aligned}$$

โดยความหมายของแต่ละระดับชั้นเป็นดังนี้

คะแนนเฉลี่ยในช่วง	1.00 – 1.88	หมายถึง	ไม่ชอบมากที่สุด
	1.89 – 2.77	หมายถึง	ไม่ชอบมาก
	2.78 – 3.66	หมายถึง	ไม่ชอบปานกลาง
	3.67 – 4.55	หมายถึง	ไม่ชอบเล็กน้อย
	4.56 – 5.44	หมายถึง	เฉย ๆ
	5.45 – 6.33	หมายถึง	ชอบเล็กน้อย
	6.34 – 7.22	หมายถึง	ชอบปานกลาง
	7.23 – 8.11	หมายถึง	ชอบมาก
	8.12 – 9.00	หมายถึง	ชอบมากที่สุด

## 11. สถานที่ และระยะเวลาทำการวิจัย

ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร เริ่มตั้งแต่ เดือนมกราคม 2549 ถึง เดือนธันวาคม 2549