

## บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

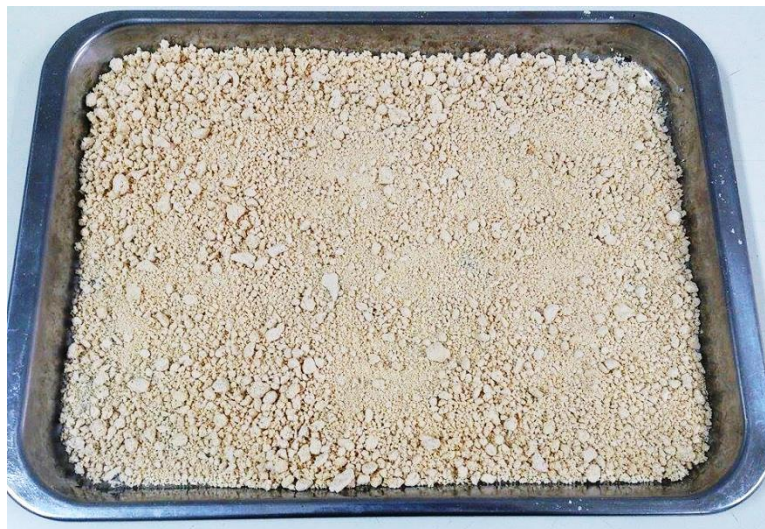
### วัตถุดิบ เครื่องมือและอุปกรณ์ในการศึกษา

1. ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา
  - 1.1 กากถั่วเหลือง
  - 1.2 เชื้อ *Rhizopus oligosporus*
2. สารเคมี
  - tween 80 (polysorbate 80)
3. อาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อ
  - Potato Dextrose Agar (PDA)
4. อุปกรณ์
  - 4.1 หลอดทดลอง (test tube)
  - 4.2 จานเพาะเชื้อ (petri dish)
  - 4.3 ฟลาสก์ (flask)
  - 4.4 ปีเปตต์ (pipette)
  - 4.5 ปีกเกอร์ (Beaker)
  - 4.6 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)
  - 4.7 เครื่องชั่งสารเคมี (balance)
  - 4.8 ตู้อบลมร้อน 60 องศาเซลเซียส
  - 4.9 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow Clean Bench)

### วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมกากถั่วเหลืองโดยการอบแห้ง
 

การเตรียมกากถั่วเหลืองโดย นำกากถั่วเหลืองไปอบโดยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบรรจุใส่ถุงพลาสติกผนึกปากถุงให้สนิทเพื่อป้องกันความชื้นและการเกิดกลิ่นหืน แล้วนำไปวัดค่า Water Activity ด้วยเครื่อง Water activity meter ยี่ห้อ Aqualab รุ่น Series 4TE



ภาพที่ 3.1 กากถั่วเหลืองอบแห้งที่อุณหภูมิตั้งที่ 60 องศาเซลเซียส

## 2. การเตรียมเชื้อทำแม่เป้

นำเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* เลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ในหลอดทดลองบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 5 วัน สังเกตการณ์เจริญของเชื้อจากการสร้างเส้นใยและสปอร์และตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นำสปอร์มาเพาะเลี้ยงต่อในหลอดอาหารเลี้ยง PDA ให้เจริญจนสร้างสปอร์สีดำ (Junlakun, 2010) การเตรียมกล้าเชื้อจะใช้เชื้อจาก slant มาทำสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) โดยใช้เชื้อรา 1 slant เติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 5 มิลลิลิตร เขย่าจะได้สารแขวนลอยสปอร์สำหรับใช้เพาะเลี้ยงเชื้อบนวัสดุหมักต่อไป (สุจินดา, 2534)

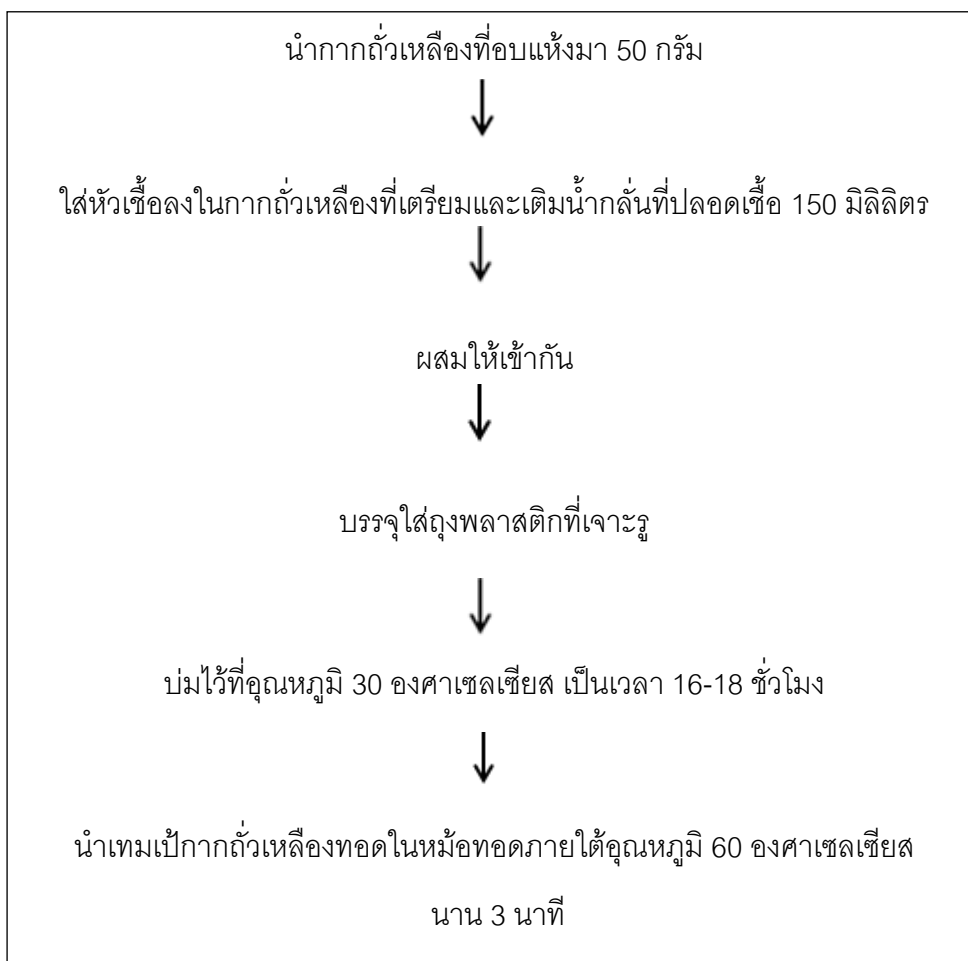
## 3. การนับสปอร์เชื้อรา

นำเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* ที่เลี้ยงในอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ในหลอดทดลองหยดด้วย tween 80 dilute สปอร์ออกจากหลอด ทำการนับจำนวนสปอร์ด้วย Heamacytometer และคำนวณจำนวนตามสูตร

$$\text{จำนวนสปอร์} = \text{ผลรวมทั้งหมด} \times 25 \times 10^4$$

## 4. การผลิตแม่เป้

นำกากถั่วเหลืองที่อบแห้งมา 50 กรัม ใส่สารแขวนลอยสปอร์เชื้อลงในกากถั่วเหลืองที่เตรียมไว้และเติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อ 150 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดีแล้วบรรจุใส่ถุงพลาสติกที่เจาะรูเพื่อให้อากาศในการเจริญของเชื้อรา บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง โดยการหมักนั้นจะทำให้เกิดกลิ่นและรสชาติที่ดีขึ้น ได้แม่เป้ที่มีเส้นใยสีขาวของเชื้อราขึ้นยึดเกาะกับกากถั่วเหลืองแน่นเป็นเนื้อเดียวกัน สามารถหั่นเป็นแผ่นบาง ๆ หรือเป็นชิ้นขนาดตามต้องการ ขั้นตอนการผลิตดังภาพที่ 3.2



ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการผลิตเทมเป้  
ที่มา: ดัดแปลงจาก วราวุฒิ (2532)

### 5. การวิเคราะห์ทางเคมีของเทมเป้กากถั่วเหลือง

นำเทมเป้กากถั่วเหลืองสด โดยนำไปวิเคราะห์ที่ บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด วิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้า ปริมาณไขมัน ปริมาณโปรตีน และปริมาณคาร์โบไฮเดรต ด้วยวิธีตาม A.O.A.C (2012)

### 6. การวิเคราะห์ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์เทมเป้จากเมล็ดถั่วเหลืองและกากถั่วเหลือง

นำเทมเป้จากเมล็ดถั่วเหลืองและเทมเป้จากกากถั่วเหลือง มาประเมินความพึงพอใจในด้านลักษณะของผลิตภัณฑ์ กลิ่นของผลิตภัณฑ์ รสชาติของผลิตภัณฑ์ เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ และความพึงพอใจโดยรวมของผลิตภัณฑ์และใช้แบบทดสอบแบบทดสอบแบบ 5-point Hedonic scale ที่ให้คะแนนความชอบมี 5 ระดับ ซึ่งระดับ คะแนน 1 หมายถึง ชอบน้อยที่สุด และ คะแนน 5 หมายถึง ชอบมากที่สุด โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน จากนั้นนำคะแนนมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยการหาค่าเฉลี่ย (Mean) และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)