บทที่ 3

วิธีการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 แป้งสาลี ตรา ยานอวกาศ (บริษัท อุตสาหกรรมแป้งข้าวสาลีไทย จำกัด)

3.1.2 ข้าวสีนิล ตรา กรีน นิช (บริษัท แอล เอช ไรซ์ อินเตอร์เนชันแนล จำกัด)

3.1.3 ยีสต์แห้ง (Instant dry yeast) ตรา Saf-instant ฉลากสีทอง
(บริษัท เอส ไอ เลอซาฟ, ฝรั่งเศส)

3.1.4 เกลือป่น ตรา ปรุงทิพย์ (บริษัท สหพัฒนพิบูล จำกัด)

3.1.5 น้ำตาลทราย ตรา มิตรผล (บริษัท น้ำตาลมิตรผล จำกัด)

3.1.6 นมผง ตรา เอส-26 โปรมิล (บริษัท ไวเอท-เอเยิร์สท์ จำกัด)

3.1.7 เนยขาว ตรา เซสท์ (บริษัท ล่ำสูง จำกัด)

3.1.8 สารเสริมคุณภาพในแป้งเชื้อยีสต์หมัก เคเอส 505 ตรา อิมพีเรียล
(ประกอบด้วยแป้งสาลี ร้อยละ 49 เด็กโตรส ร้อยละ 30
ไดอะซิติก ทาร์ทาริก แอซิด เอสเทอร์ ออฟ โมโน-ไดกลีเซอร์ไรด์ ร้อยละ 20
เอ็นไซม์อะไมเลส ร้อยละ 0.2 และเอ็นไซม์อะไมโลติก ร้อยละ 0.2)
(บริษัท ยูไนเต็ด แดรี่ฟูดส์ จำกัด)

3.1.9 Sodium stearoly-2-lactylate (บริษัท เบอร์ลี่ ยุคเกอร์สเปเชียลตี้ จำกัด)

3.1.10 Xanthan gum 80 mesh (บริษัท รามา โปรดักชัน จำกัด)

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.2.1 อุปกรณ์และเครื่องมือการผลิตแป้งข้าวสีนิล

3.2.1.1 ตะแกรงร่อนแป้ง

3.2.1.2 เครื่องโม่แบบ Pin mill ยี่ห้อ ALPINE รุ่น 160-Z

3.2.2 อุปกรณ์และเครื่องมือการผลิตขนมปัง

3.2.2.1 เครื่องครัว ได้แก่ จาน ชาม ถ้วย ถาดโลหะ

3.2.2.2 ถ้วยตวง ช้อนตวง

3.2.2.3 พายยาง

3.2.2.4 ที่ตัดแบ่งก้อนโด

3.2.2.5 แปรงทาเนยขาว

3.2.2.6 พิมพ์สำหรับทำขนมปัง

3.2.2.7 ตะแกรงสำหรับผึ่งขนมปังให้เย็น

3.2.2.8 มีดหั่นขนมปัง

3.2.2.9 ถุงพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน (Polyethylene, PE)

3.2.2.10 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น LC 12001S

3.2.2.11 เครื่องนวดผสม ยี่ห้อ Tonghor Marchine รุ่น Auto LNK 530 พร้อมชามผสมและหัวตีชนิดตะขอ

3.2.2.12 ตู้หมักโด (บริษัท เอ็ม เค ยูนิกรุป จำกัด)

3.2.2.13 เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น (Thermo-hygrometer) ยี่ห้อ Sato รุ่น PC-5000TRH

3.2.2.14 เตาอบไฟฟ้า รุ่น E100 (บริษัท ร่วมเจริญเมือง จำกัด)

3.2.3 อุปกรณ์และเครื่องมือการวิเคราะห์คุณภาพ

3.2.3.1 เครื่องปั่นอาหาร ยี่ห้อ เนชั่นแนล ซูเปอร์เบลนเดอร์ รุ่น MX-T2GN

3.2.3.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BA210S

3.2.3.3 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ยี่ห้อ WTB binder รุ่น ED

3.2.3.4 ชุดวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนแบบกึ่งอัตโนมัติ ยี่ห้อ I tecator รุ่น 1002

3.2.3.5 ชุดวิเคราะห์ปริมาณไขมันแบบอัตโนมัติ (Soxtherm 2000) ยี่ห้อ Gerhardt

3.2.3.6 เตาเผา (Muffle furnace) ยี่ห้อ Carbolite รุ่น CSF 1200

3.2.3.7 Hot plate ยี่ห้อ PMC รุ่น 502 series

3.2.3.8 ชุดวิเคราะห์หาเส้นใย ยี่ห้อ Labconco

3.2.3.9 ชุดกรองพร้อมปั๊มสุญญากาศ ยี่ห้อ Gast รุ่น 1023-101Q-G608NEX

3.2.3.10 เครื่องบอมบ์แคลอริมิเตอร์ รุ่น PARR 1351 (Parr Instrument Company, USA)

3.2.3.11 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ยี่ห้อ Heto รุ่น BWB

3.2.3.12 เครื่องเขย่าสาร (Rotary shaker) รุ่น innova 4000 (New Brunswick Scientific, USA)

3.2.3.13 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ Thermo Spectro รุ่น Genesys 20

3.2.3.14 กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา ยี่ห้อ Zeiss รุ่น Axiostar plus พร้อมกล้องถ่ายรูป ยี่ห้อ Nikon

3.2.3.15 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Shaking water bath) ยี่ห้อ Heto รุ่น Maxi-shake

3.2.3.16 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ยี่ห้อ Hettich รุ่น Universal 16 R

3.2.3.17 เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ ยี่ห้อ Aqua Lab รุ่น CX2

3.2.3.18 เครื่องวัดค่าสี ยี่ห้อ Minolta รุ่น CR-300

3.2.3.19 เครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA) รุ่น SUPER-3 (Newport Scientific, Australia)

3.2.3.20 เครื่อง Farinograph ยี่ห้อ Brabender รุ่น Farinogragh-E

3.2.3.21 เครื่อง Extensograph ยี่ห้อ Brabender รุ่น Extensogragh-E

3.2.3.22 เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture analyzer) รุ่น TA-XT2i (Stable Micro Systems, UK) พร้อมหัววัดแบบ Perspex cylindrical probe (P/25P) และหัววัดแบบ Cylindrical probe (P/36R)

3.2.3.23 กระติก และกระบอกตวงขนาด 1000 มิลลิลิตร พร้อมเมล็ดงาขาว

3.2.3.24 เครื่องตีปั่นอาหาร ยี่ห้อ AES Laboratoire รุ่น MIX 1

3.2.3.25 เครื่องผสมสาร (Vortex mixer) ยี่ห้อ Vortex genie-2

3.2.3.26 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ยี่ห้อ ALP Co.,Ltd รุ่น KT-40

3.2.3.27 ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิปานกลาง ยี่ห้อ Memmert รุ่น W 8540

3.2.3.28 ตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิสูง ยี่ห้อ WTB Binder รุ่น 78532

3.2.3.29 เครื่องนับจำนวนโคโลนี ยี่ห้อ WTW รุ่น BZG 30

3.2.3.30 อุปกรณ์สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัส ได้แก่ ถ้วยพลาสติก แก้วพลาสติก และแบบทดสอบ

3.2.3.31 สมุดเทียบสี Munsell book of color (Matte collection, Macbeth Division of Kollmorgen Instruments, USA)

3.3 โปรแกรมสำเร็จรูปสำหรับวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

3.3.1 โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เวอร์ชั่น 12.0

3.3.2 โปรแกรมสำเร็จรูป XLSTAT เวอร์ชั่น 2009 (Trial version)

3.4 วิธีการวิจัยและการวิเคราะห์ข้อมูล

3.4.1 การผลิตแป้งข้าวสีนิล

เตรียมแป้งข้าวสีนิล โดยนำข้าวสีนิลมาโม่แห้ง (Dry milling) ด้วยเครื่องโม่แบบ Pin mill จากนั้นนำแป้งข้าวสีนิลที่โม่ได้มาร่อนผ่านตะแกรงให้ได้แป้งข้าวสีนิลที่มีขนาดอนุภาคระหว่าง 100 ถึง 60 mesh (150 ถึง 250 ไมครอน) บรรจุแป้งข้าวสีนิลที่ร่อนแล้วลงในถุงพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน (Polyethylene, PE) แล้วนำไปเก็บรักษาในที่แห้งและสะอาด ณ อุณหภูมิห้องจนกว่าจะนำมาใช้งาน

3.4.2 การศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของแป้งข้าวสีนิลและแป้งสาลีชนิดทำขนมปัง

นำแป้งข้าวสีนิลและแป้งสาลีชนิดทำขนมปัง มาศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพในด้านต่างๆ เปรียบเทียบกัน ดังต่อไปนี้

3.4.2.1 สมบัติทางเคมี

3.4.2.1.1 องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และเส้นใย ตามวิธีการของ AOAC (1995) และคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรตจากสมการรายละเอียดของการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก-1 ถึง ก-6 ตามลำดับ โดยใช้น้ำหนักของตัวอย่างแห้ง (Dry basis) ในการคำนวณปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของแป้ง

3.4.2.1.2 ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ของแป้งด้วยเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ นำตัวอย่างแป้งใส่ในถ้วยตัวอย่างประมาณครึ่งหนึ่งของถ้วย นำถ้วยตัวอย่างเปิดฝาออกใส่ในช่องวัดค่า a_w แล้วบิดที่ดึงช่องใส่ถ้วยตัวอย่างไปที่ READ รอจนเครื่องมีเสียงดัง แล้วอ่านค่า a_w จากหน้าจอแสดงผลการวัดค่า

3.4.2.1.3 ปริมาณอะไมโลส ตามวิธีการของ Juliano (1971) เริ่มต้นจากการสร้างกราฟมาตรฐานของอะไมโลส โดยชั่งอะไมโลสบริสุทธิ์ (Pure amylose from potato) 40 มิลลิกรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ เติมเอทานอล 1 มิลลิลิตร และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 1 โมลาร์ 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่อุณหภูมิน้ำเดือดนาน 10 นาที ทำให้เย็นแล้วถ่ายใส่ในขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน เพื่อใช้เป็นสารละลายมาตรฐานอะไมโลส เตรียมขวดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จำนวน 5 ขวดแล้วใช้ปิเปตดูดสารละลายมาตรฐานอะไมโลสมา 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปริมาตร ใบที่ 1 ถึง 5 ตามลำดับ แล้วเติมกรดอะซิติกเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาณ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปริมาตรใบที่ 1 ถึง 5 ตามลำดับ เติมสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปริมาตรแต่ละใบ แล้วจึงเติมน้ำกลั่นให้ถึงขีดปริมาตร

เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้ 20 นาที จากนั้นนำไปอ่านค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร แล้วเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (แกน Y) กับค่าปริมาณของอะไมโลส (แกน X) โดยปริมาณอะไมโลสของสารละลายมาตรฐานของขวดปริมาตรที่ 1 ถึง 5 เท่ากับร้อยละ 8, 16, 24, 32 และ 40 ตามลำดับ จากนั้นจึงสร้างสมการเส้นตรงเพื่อแสดงความสัมพันธ์ในรูปแบบ y = ax เมื่อ a = ความชัน

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณอะไมโลสในตัวอย่างแป้ง ให้ชั่งตัวอย่างแป้ง 0.1 กรัม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ใส่ตัวอย่างแป้งในขวดรูปชมพู่ เติมเอทานอล 1 มิลลิลิตร และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 1 โมลาร์ 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิน้ำเดือดนาน 10 นาที ทำให้เย็นแล้วถ่ายใส่ในขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารละลายน้ำแป้งมา 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปริมาตร แล้วเติมกรดอะซิติกเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร และสารละลายไอโอดีน ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปริมาตร แล้วจึงเติมน้ำกลั่นให้ถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที การทำแบลงค์ (Blank) ทำเหมือนกับการเตรียมตัวอย่าง โดยเติมกรดอะซิติกเข้มข้น 1 โมลาร์ 1 มิลลิลิตร และสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วจึงเติมน้ำกลั่นให้ถึงขีดปริมาตร โดยไม่เติมสารละลายตัวอย่างน้ำแป้ง เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้ 20 นาที จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างไปอ่านค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร ปรับค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของแบลงค์ให้เป็นศูนย์ แล้วนำค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายตัวอย่างไปคำนวณหาปริมาณอะไมโลสโดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

3.4.2.1.4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (% Scavenging effect) โดยใช้วิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity test (ดัดแปลงวิธีการจาก Fan และคณะ, 2006) เริ่มจากการเตรียมขวดรูปชมพู่จำนวน 6 ขวด ชั่งตัวอย่างแป้ง 1.25, 2.5, 3.75, 5, 6.25 และ 7.5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ใบที่ 1 ถึง 6 ตามลำดับ เติมเมทานอล 20 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่แต่ละขวด นำไปเขย่าใน Rotary shaker นาน 2-3 ชั่วโมง แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 ปรับของเหลวที่กรองได้ให้มีปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยเมทานอล สารในขวดรูปชมพู่ที่เตรียมตามวิธีข้างต้นจะมีความเข้มข้นของตัวอย่างเท่ากับ 50, 100, 150, 200, 250 และ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml) ตามลำดับ จากนั้นปิเปตสารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมได้ปริมาณ 1 มิลลิลิตร และสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ที่เตรียมใหม่ๆ 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ เขย่าให้เข้ากัน (Sample) เตรียมตัวอย่าง Control ด้วยสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์

ปริมาณ 6 มิลลิลิตร โดยไม่ใส่สารตัวอย่าง และเตรียม Sample blank ของแต่ละตัวอย่าง โดยใช้สารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นปริมาณ 6 มิลลิลิตร โดยไม่เติม DPPH รีบนำสารทั้งหมดไปเก็บในตู้หรือลิ้นชักที่ปราศจากแสงนาน 50 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (Absorbance, A) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณค่าการต้านอนุมูลอิสระ (% Scavenging effect) จากความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยาจับกับอนุมูลอิสระของ DPPH (DPPH radical) ดังสมการ

$$\% \text{ Scavenging effect} = [1 - (A_{sample} - A_{sampleblank}) / A_{control}] \times 100$$

นำข้อมูลที่คำนวณได้มาเขียนกราฟระหว่างค่า % Scavenging effect ของแต่ละความเข้มข้นของตัวอย่าง (แกน Y) กับค่าความเข้มข้นของตัวอย่าง (แกน X) แล้วหาค่าความเข้มข้นของตัวอย่างที่สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ร้อยละ 50 (Efficient concentration, EC_{50}) จากกราฟ บันทึกค่า EC_{50} ที่ได้ ในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml)

3.4.2.2 สมบัติทางกายภาพ

3.4.2.2.1 รูปร่างและขนาดของเม็ดแป้ง ศึกษารูปร่างและขนาดของเม็ดแป้งข้าวสีนิลและแป้งสาลีชนิดทำขนมปัง ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา โดยหยดน้ำกลั่น 1 หยด บนแผ่นสไลด์ ใส่ตัวอย่างแป้งเพียงเล็กน้อยลงบนหยดน้ำ คนให้เม็ดแป้งกระจาย แล้วปิดหยดน้ำแป้งด้วย cover glass โดยระวังอย่าให้มีฟองก๊าซ จากนั้นจึงศึกษาลักษณะรูปร่างและขนาดของเม็ดแป้งโดยละเอียดด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถ่ายรูปและบันทึกผล

3.4.2.2.2 กำลังการพองตัวและการละลาย ศึกษาค่ากำลังการพองตัวและการละลายของแป้งข้าวสีนิลและแป้งสาลีชนิดทำขนมปัง ตามวิธีการของกล้าณรงค์ และเกื้อกูล (2543) โดยชั่งตัวอย่างแป้ง 0.5 กรัม ลงในหลอดพลาสติกสำหรับปั่นเหวี่ยงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร ที่ทราบน้ำหนักเริ่มต้นของหลอดแล้ว เติมน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วแช่ตัวอย่างในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 85 ^{O}C และเขย่าที่ความเร็วรอบ 174 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงในเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2,200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แยกส่วนใสที่ได้ลงในจานระเหยที่ทราบน้ำหนัก แล้วระเหยบนอ่างน้ำเดือดจนแห้ง นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 ^{O}C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำจานระเหยไปเก็บไว้ในเดสิกเคเตอร์ 1-2 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาชั่งน้ำหนักเป็นน้ำหนักส่วนใสที่ละลายน้ำเพื่อคำนวณหาค่าร้อยละการละลายของแป้ง สำหรับแป้งเปียกที่ก้นหลอดให้นำมาชั่งน้ำหนักเป็นแป้งที่พองตัวเพื่อใช้ในการคำนวณหากำลังการพองตัว ดังสมการ

$$\text{ร้อยละการละลาย} = \frac{\text{น้ำหนักส่วนใสที่ละลายน้ำ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}}$$

$$\text{กำลังการพองตัว} = \frac{\text{น้ำหนักแป้งที่พองตัว} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง} \times (100 - \text{ร้อยละการละลาย})}$$

3.4.2.2.3 ค่าสี วัดค่าสีของแป้งข้าวสีนิลและแป้งสาลีชนิดทำขนมปังด้วยเครื่องวัดค่าสี ในระบบ CIELAB ใช้แหล่งกำเนิดแสง D65 โดยใส่ตัวอย่างแป้งลงในถ้วยใส่ตัวอย่างให้เต็มถึงขอบถ้วย กดตัวอย่างแป้งในถ้วยตัวอย่างให้แน่น แล้วปาดผิวด้านบนให้เรียบ วางถ้วยตัวอย่างบนกระดาษสีขาว จากนั้นนำหัววัดวางแนบกับผิวด้านบนของตัวอย่างแป้ง วัดค่าสีของตัวอย่างแป้ง โดยแสดงค่าที่วัดได้เป็น L* a* และ b* บันทึกค่าสีที่วัดได้

3.4.2.2.4 สมบัติด้านความหนืด (Pasting properties) ศึกษาสมบัติด้านความหนืดของแป้งผสมระหว่างแป้งข้าวสีนิลต่อแป้งสาลีชนิดทำขนมปังที่อัตราส่วนต่างๆ ได้แก่ 0:100, 10:90, 20:80, 30:70, 40:60 และ 50:50 ด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA) ชั่งตัวอย่างแป้ง 3 กรัม และน้ำกลั่น 25 กรัม ใส่ลงในถ้วยตัวอย่าง ใช้ใบพัดคนให้เข้ากัน จากนั้นนำถ้วยใส่ตัวอย่างเข้าเครื่อง RVA แล้วทำการวิเคราะห์ โดยเริ่มต้นจากการคงอุณหภูมิที่ 50 ^{O}C นาน 1 นาที แล้วจึงเพิ่มอุณหภูมิเป็น 95 ^{O}C ด้วยอัตราเร็ว 12 ^{O}C ต่อนาที คงอุณหภูมิที่ 95 ^{O}C นาน 2.5 นาที จากนั้นจึงลดอุณหภูมิ เป็น 50 ^{O}C ด้วยอัตราเร็ว 12 ^{O}C ต่อนาที ทำการบันทึกค่าต่างๆ จากกราฟ ได้แก่ อุณหภูมิการเกิดแป้งเปียก (Pasting temperature), ความหนืดสูงสุด (Peak viscosity), ความหนืดสุดท้าย (Final viscosity), Breakdown (ความแตกต่างระหว่างความหนืดสูงสุดและต่ำสุด) และค่า Setback from peak (ความแตกต่างระหว่างความหนืดสุดท้ายและความหนืดสูงสุด)

3.4.2.3 สถิติที่ใช้ในการวางแผนการทดลองและประเมินผล

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Montgomery, 2005)

3.4.3 การศึกษาคุณภาพของโดและขนมปังที่ใช้แป้งข้าวสีนิลทดแทนแป้งสาลีบางส่วน

3.4.3.1 การศึกษาคุณภาพของโด

ศึกษาคุณภาพของโด (Dough properties) ที่ใช้แป้งข้าวสีนิลทดแทนแป้งสาลีบางส่วน โดยแปรอัตราส่วนของแป้งข้าวสีนิลต่อแป้งสาลีออกเป็น 6 ระดับ คือ 0:100, 10:90, 20:80, 30:70, 40:60 และ 50:50 แล้วศึกษาสมบัติของโดที่เตรียมจากแป้งผสมในด้านต่างๆ ดังนี้

3.4.3.1.1 ศึกษาสมบัติของโดด้วยเครื่อง Farinograph ชั่งตัวอย่างแป้ง 300 กรัม ใส่ลงในหม้อผสมของเครื่อง Farinograph ซึ่งเป็นหม้อสองชั้น และมีน้ำไหลเวียนระหว่างชั้นเพื่อควบคุมอุณหภูมิของหม้อผสม ทำให้อุณหภูมิของหม้อผสมในขณะนวดแป้งมีความสม่ำเสมอ ภายในหม้อผสมประกอบไปด้วยแกนผสมเป็นใบพัดโลหะรูปตัวแซด (Z) 2 อัน เคลื่อนที่ไปในทิศทางตรงกันข้ามกัน เริ่มทำการผสมแป้งโดยใช้ความเร็วมาตรฐาน คือ 63 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ^{O}C เติมน้ำจากบิวเรตของเครื่องที่อยู่เหนือหม้อผสมลงในตัวอย่างแป้งเพื่อนวดผสมให้เกิดโดที่มีความหนืดตามที่กำหนด คือ 500 FU (Farinograph Unit) เครื่องคอมพิวเตอร์จะทำการบันทึกค่าความหนืดของโดตั้งแต่เริ่มผสมอย่างต่อเนื่องเป็นเส้นกราฟ เรียกว่า Farinogram ค่าความหนืดของโดจะเพิ่มขึ้นจนทำให้เกิดความสูงของเส้นกราฟที่ 500 BU จากนั้นความหนืดของโดจะค่อยๆ ลดลงจนต่ำกว่า 500 BU โดยปริมาณน้ำที่เติมลงไปในแป้งเพื่อให้เกิดเป็นโดที่มีความหนืด 500 BU นั้น คือ ค่าการดูดซับน้ำของแป้งที่เหมาะสม บันทึกค่าต่างๆ ที่ได้จาก Farinogram ได้แก่ ปริมาณการดูดซับน้ำ (Water absorption), Arrival time, Peak time, Departure time, Stability time (Tolerance) และ Mixing tolerance index (MTI)

3.4.3.1.2 ศึกษาสมบัติของโดด้วยเครื่อง Extensograph เริ่มต้นจากการเตรียมน้ำเกลือ โดยเติมเกลือ 6 กรัม ลงในน้ำ ซึ่งปริมาณน้ำที่ใช้จะปรับให้เหมาะสมกับตัวอย่างโดแป้งผสมแต่ละอัตราส่วน โดยจะใช้ค่าการดูดซับน้ำที่อ่านค่าได้จากเครื่อง Farinograph ผสมให้เกลือละลายในน้ำแล้วพักไว้ จากนั้นจึงเตรียมโดด้วยเครื่อง Farinograph โดยชั่งตัวอย่างแป้ง 300 กรัม ใส่ลงในหม้อผสมของเครื่อง Farinograph แล้วเติมน้ำเกลือที่เตรียมไว้ลงในตัวอย่างแป้ง เริ่มทำการผสมแป้งโดยใช้ความเร็วมาตรฐาน คือ 63 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 ^{O}C นาน 1 นาที แล้วหยุดผสม 5 นาที เพื่อพักโดในหม้อผสม จากนั้นจึงผสมแป้งต่ออีกครั้งด้วยความเร็วในการผสมเท่าเดิม นาน 2 นาที โดที่เตรียมได้หลังจากนวดผสมเสร็จควรมีค่าความหนืดสุดท้ายที่อ่านได้จาก Farinogram เท่ากับ 500 BU นำโดที่เตรียมได้ออกมาจากหม้อผสมของเครื่อง Farinograph แล้วชั่งแบ่งเป็น 2 ชิ้น ชิ้นละ 150 กรัม นำโดแต่ละชิ้นไปคลึงเป็นก้อนกลมและปั้นเป็นรูปแท่ง

ทรงกระบอกด้วยเครื่อง Extensograph วางชิ้นโดที่ปั้นแล้วลงบนแป้นวางชิ้นโด (Extensograph dough cradle) แล้วยึดชิ้นโดด้วยตัวยึด (Holder) ที่ด้านปลายทั้งสองด้านของชิ้นโด จากนั้นนำไปหมักในช่องหมักโดของเครื่อง Extensograph ซึ่งมีลักษณะคล้ายลิ้นชัก (Extensograph fermentation chambers) โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 30 ^{O}C นาน 45 นาที หลังจากหมักนาน 45 นาที จึงนำชิ้นโดที่ถูกยึดด้วยตัวยึดบนแป้นวางมาวางบนแท่นวาง (Balance arm) และเริ่มทำการยืดโดออกด้วยตัวเกี่ยวรูปตะขอ ซึ่งจะเลื่อนลงมาด้วยความเร็วคงที่ คือ 14.5$\pm$0.5 มิลลิเมตรต่อวินาที ผ่านบริเวณกลางชิ้นโดและยืดโดออกจนขาด จากนั้นจึงนำโดชิ้นเดิมไปผ่านขั้นตอนดังที่ได้กล่าวมาแล้ว คือ คลึงเป็นก้อนกลม ปั้นเป็นรูปแท่งทรงกระบอก หมักนาน 45 นาที และนำมายืดด้วยตัวเกี่ยวรูปตะขอจนขาด ทำซ้ำเช่นนี้อีก 2 รอบ เครื่องคอมพิวเตอร์จะบันทึกค่าที่วัดได้อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชิ้นโดเริ่มยืดออกจนกระทั่งขาดแล้วแสดงผลเป็นเส้นกราฟ เรียกว่า Extensogram จะได้กราฟที่แสดงผลออกมา 3 เส้น คือ กราฟของโดที่ผ่านการหมักเป็นระยะเวลานาน 45, 90 และ 135 นาที จากนั้นจึงบันทึกค่าต่างๆ ที่ได้จาก Extensogram ได้แก่ ค่าการต้านทานต่อการยืดขยายของโด (Resistance) , ค่าความสามารถในการยืดขยายของโด (Extensibility) และค่า Ratio number ซึ่งคำนวณได้จากสัดส่วนของค่า Resistance ต่อค่า Extensibility (Pyler, 1988)

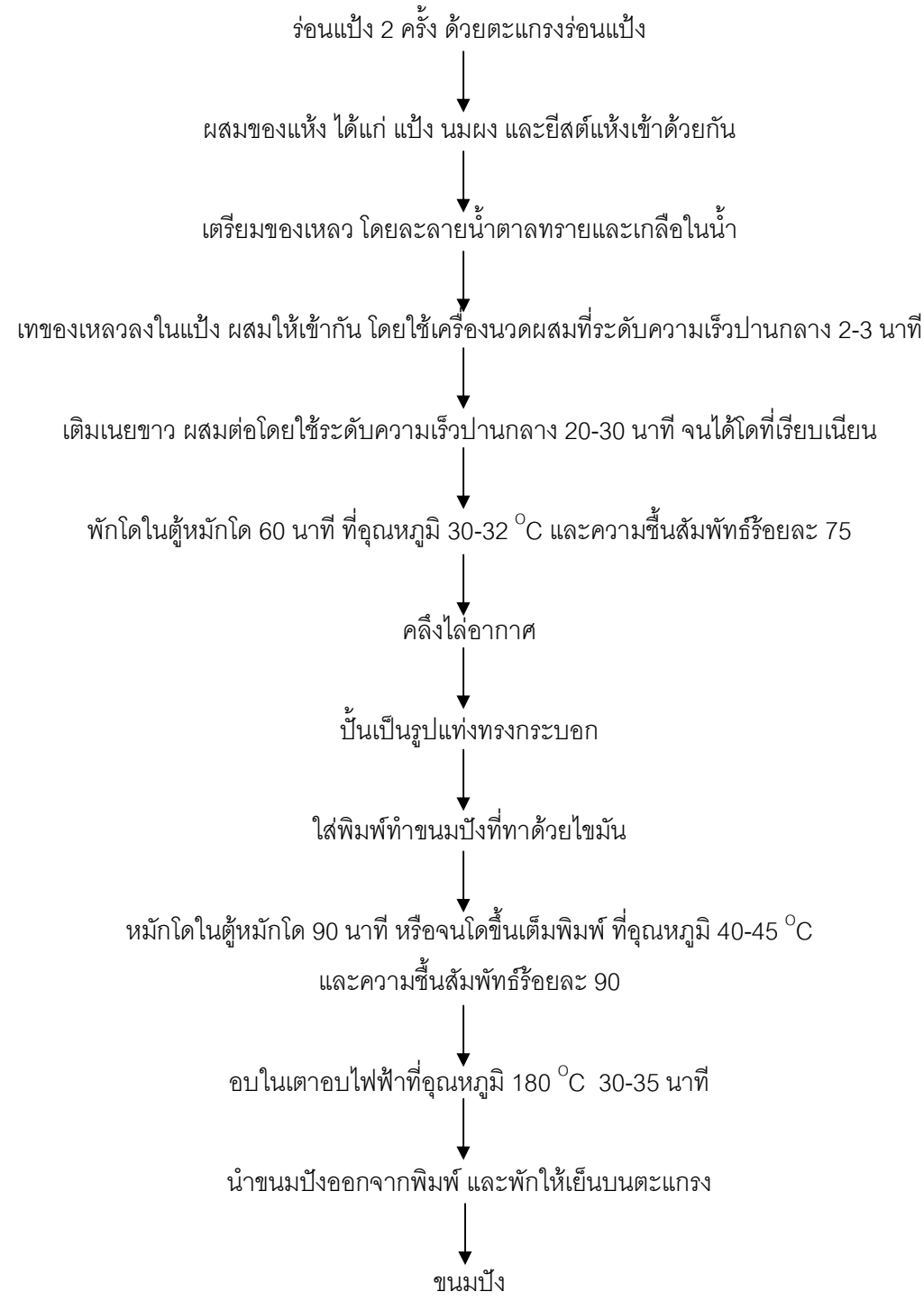
3.4.3.1.3 ค่าความเหนียวของโด วัดค่าความเหนียวของโดจากแป้งผสมด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส โดยใช้หัววัดแบบ Perspex cylindrical probe (P/25P) ตามวิธีการของ Sangnark และ Noomhorm (2004) เตรียมโดจากแป้งผสมแต่ละอัตราส่วนด้วยวิธี Straight dough method โดยส่วนผสมในการผลิตโด จะใช้สูตรเดียวกันกับการผลิตขนมปังประกอบด้วยแป้ง 300 กรัม เนยขาว 15 กรัม นมผง 12 กรัม น้ำตาล 12 กรัม เกลือ 4.5 กรัม และยีสต์แห้ง 1.8 กรัม ส่วนปริมาณน้ำที่ใช้จะปรับให้เหมาะสมกับตัวอย่างโดแป้งผสมแต่ละอัตราส่วน โดยจะใช้ค่าการดูดซับน้ำที่อ่านค่าได้จากเครื่อง Farinograph นำตัวอย่างโดที่ผ่านการผสมแล้ว 5 กรัม ใส่ใน Cell ที่ใช้วัดค่า (SMS/Chen-Hoseney Dough Stickiness Cell) ปิดฝา หมุนเกลียวให้ตัวอย่างโดขึ้นมาที่ผิวหน้า Cell ปาดโดที่ขึ้นมาครั้งแรกออก แล้วหมุนเกลียวอีกครั้งให้โดขึ้นมาเหนือผิวหน้า Cell 1 มิลลิเมตร และหมุนเกลียวย้อนกลับลงไปเล็กน้อยเพื่อลดความดัน ปล่อยให้โดคลายตัวนาน 30 วินาที จากนั้นจึงใช้หัววัดกดตัวอย่าง โดยตั้งสภาวะของเครื่องดังนี้ คือ ใช้รูปแบบการวัดเป็น Adhesive test ใช้แรงกด 40 กรัม เริ่มให้หัววัดเคลื่อนที่ลงด้วยความเร็ว 2.0 มิลลิเมตรต่อวินาที เมื่อเคลื่อนที่ถึงตัวอย่างโดหัววัดจะกดด้วยความเร็ว 2.0 มิลลิเมตรต่อวินาที เป็นระยะทาง 4 มิลลิเมตร แล้วหยุดเคลื่อนที่นาน 0.1 วินาที จากนั้นจึงเคลื่อนที่กลับขึ้นด้วยความเร็ว 10.0 มิลลิเมตรต่อวินาที บันทึกค่าความเหนียวของโดจากค่าแรงสูงสุดที่อ่านได้จาก Positive peak มีหน่วยเป็นกรัม (g) ทำการวัดค่าซ้ำละ 3 ตัวอย่าง

3.4.3.2 การศึกษาคุณภาพของขนมปัง

ทำการผลิตขนมปังโดยใช้แป้งข้าวสีนิลทดแทนแป้งสาลีบางส่วน แปรอัตราส่วนของแป้งข้าวสีนิลต่อแป้งสาลีออกเป็น 6 ระดับ คือ 0:100, 10:90, 20:80, 30:70, 40:60 และ 50:50 ใช้วิธีผสมโดแบบขั้นตอนเดียว (Straight dough method) เพื่อผลิตขนมปังหัวกะโหลก สูตรการผลิตและขั้นตอนการผลิตขนมปังแสดงดังตารางที่ 3.1 และภาพที่ 3.1 ตามลำดับ ขนมปังจากแป้งผสมแต่ละอัตราส่วนจะใช้ปริมาณน้ำในสูตรที่แตกต่างกัน โดยปรับปริมาณน้ำที่ใช้ให้มีความเหมาะสมตามค่าการดูดซับน้ำที่อ่านค่าได้จากเครื่อง Farinograph ซึ่งเท่ากับปริมาณน้ำที่ใช้ในการเตรียมโดดังข้อที่ 3.4.3.1.3 (ปริมาณน้ำสำหรับขนมปังสูตรแป้งข้าวสีนิลต่อแป้งสาลี 0:100, 10:90, 20:80, 30:70, 40:60 และ 50:50 มีค่าเท่ากับร้อยละ 62, 61.3, 61, 60.7, 60.3 และ 60 ของน้ำหนักแป้ง ตามลำดับ) ประเมินคุณภาพของขนมปังที่เตรียมจากแป้งผสมในด้านต่างๆ ดังนี้

ตารางที่ 3.1 สูตรการผลิตขนมปัง

ส่วนผสม	ร้อยละ (% Baker)	ปริมาณส่วนผสมต่อซ้ำ (กรัม)
แป้ง	100	300
น้ำ	60 - 62	180 - 186
เนยขาว	5	15
นมผง	4	12
น้ำตาลทราย	4	12
เกลือ	1.5	4.5
ยีสต์แห้ง	0.6	1.8



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตขนมปัง

3.4.3.2.1 สมบัติทางเคมี

3.4.3.2.1.1 ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) วัดค่าปริมาณน้ำอิสระของตัวอย่างขนมปังด้วยเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ ตามวิธีการในข้อ 3.4.2.1.2 เตรียมตัวอย่างขนมปังโดยนำทั้งส่วนเปลือกและเนื้อขนมปังมาปั่นให้ละเอียดผสมกันก่อนนำไปวัดค่า

3.4.3.2.1.2 ปริมาณความชื้น หาปริมาณความชื้นของตัวอย่างขนมปังตามวิธีการของ AOAC (1995) รายละเอียดของการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก-1 เตรียมตัวอย่างขนมปังโดยนำทั้งส่วนเปลือกและเนื้อขนมปังมาปั่นให้ละเอียดผสมกัน แล้วนำไปวิเคราะห์ ใช้น้ำหนักของตัวอย่างเปียก (Wet basis) ในการคำนวณปริมาณความชื้นของขนมปัง

3.4.3.2.2 สมบัติทางกายภาพ

3.4.3.2.2.1 น้ำหนัก หาน้ำหนักของตัวอย่างขนมปังหลังอบด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ชั่งขนมปังทั้งก้อน (Loaf) ที่พักจนเย็นแล้วบนเครื่องชั่ง บันทึกน้ำหนักของขนมปังในหน่วยกรัม (g)

3.4.3.2.2.2 ปริมาตร หาปริมาตรของตัวอย่างขนมปังทั้งก้อน (Loaf) โดยใช้วิธีการแทนที่ด้วยเมล็ดงาขาว (ดัดแปลงวิธีการจาก AACC, 2000) เริ่มจากการวัดปริมาตรของภาชนะที่จะใช้วัดปริมาตรขนมปัง (ภาชนะที่ใช้วัดปริมาตรเป็นกระติกพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมที่สามารถบรรจุก้อนขนมปังที่ต้องการวัดปริมาตรได้) ใส่เมล็ดงาขาวให้เต็มภาชนะและปาดผิวเมล็ดงาด้านบนให้เรียบ เทเมล็ดงาออกจากภาชนะ แล้ววัดปริมาตรเมล็ดงาด้วยกระบอกตวงขนาด 1000 มิลลิลิตร บันทึกค่าเป็นค่าปริมาตรของภาชนะ จากนั้นนำขนมปังทั้งก้อน (Loaf) ที่พักจนเย็นแล้ววางลงในภาชนะที่ทราบปริมาตร เทเมล็ดงาลงในภาชนะให้เต็มและปาดผิวเมล็ดงาด้านบนให้เรียบ เทเมล็ดงาออกจากภาชนะ แล้ววัดปริมาตรเมล็ดงาด้วยกระบอกตวงขนาด 1000 มิลลิลิตร บันทึกค่าเป็นค่าปริมาตรของอากาศในภาชนะ คำนวณปริมาตรของตัวอย่างขนมปังดังสมการ

ปริมาตรขนมปัง = ปริมาตรภาชนะ – ปริมาตรอากาศในภาชนะ

บันทึกค่าปริมาตรของขนมปัง ในหน่วยลูกบาศก์เซนติเมตร (cm^3) โดยเทียบจากปริมาตร 1 มิลลิลิตร (ml) มีค่าเท่ากับ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร (cm^3)

3.4.3.2.2.3 ปริมาตรจำเพาะ คำนวณค่าปริมาตรจำเพาะของตัวอย่างขนมปังในหน่วยลูกบาศก์เซนติเมตรต่อกรัม (cm^3/g) ดังสมการ

$$\text{ปริมาตรจำเพาะของขนมปัง} = \frac{\text{ปริมาตรขนมปัง}}{\text{น้ำหนักขนมปัง}}$$

3.4.3.2.2.4 ค่าสี วัดค่าสีของเนื้อขนมปังด้วยเครื่องวัดค่าสี ในระบบ CIELAB ใช้แหล่งกำเนิดแสง D65 เตรียมตัวอย่างโดยหั่นขนมปังด้วยมีดหั่นขนมปังให้เป็นแผ่นๆ แต่ละแผ่นหนา 25 มิลลิเมตร วางแผ่นขนมปังบนกระดาษสีขาว จากนั้นนำหัววัดวางแนบกับผิวด้านบนของเนื้อขนมปังบริเวณจุดกึ่งกลางของแผ่นขนมปัง วัดค่าสีของเนื้อขนมปัง โดยแสดงค่าที่วัดได้เป็น L* a* และ b* ทำการวัดค่าซ้ำละ 3 ตัวอย่าง บันทึกค่าสีที่วัดได้

3.4.3.2.2.5 เค้าโครงลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture profile analysis) ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส โดยใช้หัววัดแบบ Cylindrical probe (P/36R) ตามวิธีการของ Renzetti และคณะ (2008) เตรียมตัวอย่างโดยหั่นขนมปังให้เป็นแผ่นหนา 25 มิลลิเมตร (ไม่นำขนมปังแผ่นหัวและท้ายมาวัดค่า) จากนั้นจึงใช้หัววัดกดตัวอย่างเนื้อขนมปังบริเวณจุดกึ่งกลางของแผ่นขนมปัง โดยตั้งสภาวะของเครื่องดังนี้ คือ ใช้รูปแบบการวัดเป็น Texture profile analysis ใช้แรงกด 20 กรัม เริ่มให้หัววัดเคลื่อนที่ลงด้วยความเร็ว 2.0 มิลลิเมตรต่อวินาที เมื่อเคลื่อนที่ถึงเนื้อขนมปังหัววัดจะกดด้วยความเร็ว 2.0 มิลลิเมตรต่อวินาที เป็นระยะทาง 10 มิลลิเมตร จากนั้นจึงเคลื่อนที่กลับขึ้นด้วยความเร็ว 2.0 มิลลิเมตรต่อวินาที แล้วหยุดเคลื่อนที่นาน 5 วินาที จากนั้นหัววัดจะกดตัวอย่างซ้ำอีกครั้งในลักษณะเดิม โดยใช้ความเร็วและระยะทางในการกดตัวอย่างดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ทำการบันทึกค่า Firmness, Springiness, Cohesiveness, Gumminess และ Chewiness ทำการวัดค่าซ้ำละ 3 ตัวอย่าง (รายละเอียดของการอ่านค่าต่างๆ ที่วิเคราะห์ได้จาก Texture profile analysis ได้กล่าวมาแล้วในบทที่ 2 ข้อ 2.4.6 การวัดเนื้อสัมผัสของเจลแป้ง)

3.4.3.2.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

3.4.3.2.3.1 การทดสอบเชิงพรรณนา (Descriptive test) ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างขนมปังด้วยวิธีการทดสอบเชิงพรรณนา ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการคัดเลือกและฝึกฝนจำนวน 8 คน จากหน่วยวิจัยทางประสาทสัมผัสและผู้บริโภคแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (Kasetsart University Sensory and Consumer Research Unit, KU-SCR) โดยให้ผู้ทดสอบชิมเปลือกและเนื้อขนมปังแยกกัน ทำการประเมินตัวอย่างขนมปังภายในระยะเวลาไม่เกิน 1 วัน หลังจากอบเสร็จ เพื่อป้องกันการเกิด Staling เตรียมตัวอย่างโดยนำก้อนขนมปังมาหั่นด้วยมีดหั่นขนมปังให้เป็นแผ่นๆ แต่ละแผ่นหนา 2 เซนติเมตร เตรียมเปลือกขนมปังโดยลอกส่วนเนื้อขนมปังออกให้มีเนื้อติดได้หนาไม่เกิน 0.5 เซนติเมตร จะใช้เปลือกขนมปังเฉพาะส่วนบนของแผ่น (บริเวณหัวกะโหลก) โดยไม่ใช้เปลือกด้านข้างและด้านล่าง หั่นเปลือกขนมปังให้เป็นชิ้นขนาดประมาณ 2x2 เซนติเมตร ส่วนเนื้อขนมปังเตรียมโดยหั่นเปลือกทุกด้านออกและหั่นเนื้อขนมปังให้เป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ขนาดประมาณ 2x2x2 เซนติเมตร นำตัวอย่างเปลือกและเนื้อขนมปังที่หั่นแล้วใส่แยกกันลงในถ้วยพลาสติกใสขนาด 2 ออนซ์ ที่มีฝาปิดและ

ปราศจากกลิ่น ถ้วยละ 2-3 ชิ้น โดยเปลือก/เนื้อขนมปังแต่ละชิ้นจะสุ่มมาจากแต่ละซ้ำของการทดลอง กำกับรหัสตัวอย่างโดยใช้เลขสุ่ม 3 หลัก ขั้นตอนการดำเนินการทดสอบแบ่งเป็นสามช่วง คือ ช่วงแรกเป็นการพัฒนา Lexicon โดยเริ่มต้นจากการคิดคำศัพท์เพื่อใช้อธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างเปลือก/เนื้อขนมปัง โดยให้ผู้ทดสอบทุกคนร่วมกันอภิปรายกลุ่มจำนวน 4 ครั้ง ครั้งละ 2-3 ชั่วโมง ตัวอย่างเปลือก/เนื้อขนมปังที่เสิร์ฟแก่ผู้ทดสอบ เป็นเปลือก/เนื้อขนมปังที่ใช้แป้งข้าวสีนิลทดแทนแป้งสาลีในระดับร้อยละ 0, 20 และ 50 กำหนดให้เปลือก/เนื้อขนมปังทั้ง 3 ตัวอย่างข้างต้น เป็นตัวแทนของเปลือก/เนื้อขนมปังทั้ง 6 ตัวอย่างที่ทำการทดสอบ เนื่องจากเป็นตัวอย่างที่คาดว่าจะมีลักษณะทางประสาทสัมผัสครอบคลุมทุกลักษณะที่จะตรวจพบในทุกตัวอย่างที่ทำการทดสอบ โดยอาจมีระดับความเข้มของแต่ละลักษณะทางประสาทสัมผัสที่แตกต่างกันบ้าง ทำการเสิร์ฟตัวอย่างแก่ผู้ทดสอบทีละ 1 ตัวอย่าง เมื่อได้รับตัวอย่างแรกผู้ทดสอบแต่ละคนจะคิดค้นคำศัพท์ และเขียนคำศัพท์ที่ใช้อธิบายลักษณะทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างในด้านต่างๆ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ กลิ่น กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความรู้สึกตกค้าง จากนั้นจึงจัดให้มีการอภิปรายกลุ่มระหว่างผู้ทดสอบเพื่อรวบรวมและสรุปคำศัพท์ รวมทั้งตัดคำศัพท์ที่ซ้ำซ้อนออก จากนั้นจึงเสิร์ฟตัวอย่างถัดไป ทำเช่นนี้จนกระทั่งครบทั้ง 3 ตัวอย่าง เมื่อได้ชุดของคำศัพท์ทั้งหมด ผู้ทดสอบทุกคนจะทำการอภิปรายกลุ่มร่วมกันเพื่อกำหนดคำจำกัดความหรือความหมายของคำศัพท์ วิธีการประเมิน รวมทั้งกำหนดตัวอย่างอ้างอิง (Reference sample) และระดับความเข้มของตัวอย่างอ้างอิงสำหรับการประเมินแต่ละลักษณะ ใช้สเกลในการให้คะแนนเป็นสเกลแบบตัวเลข 0-15 ซึ่งแบ่งออกเป็นช่วงๆ ช่วงละ 0.5 คะแนน การทดสอบในช่วงที่สองเป็นการฝึกฝนผู้ทดสอบ โดยเสิร์ฟตัวอย่างเปลือก/เนื้อขนมปังทั้ง 3 ตัวอย่างข้างต้น ให้แก่ผู้ทดสอบอีกครั้งหนึ่ง โดยเปลี่ยนรหัสที่ใช้กำกับตัวอย่างเพื่อให้ผู้ทดสอบได้ฝึกฝนให้เกิดความคุ้นเคยและทำความเข้าใจเกี่ยวกับคำศัพท์ต่างๆ ที่พัฒนาขึ้น รวมทั้งฝึกการให้คะแนนระดับความเข้มของแต่ละลักษณะ ทำการฝึกฝนต่อไปจนกลุ่มผู้ทดสอบมีการให้คะแนนในแต่ละลักษณะใกล้เคียงกันและเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ช่วงสุดท้ายเป็นการประเมินตัวอย่างจริงโดยทำการทดสอบตัวอย่างเปลือก/เนื้อขนมปังทั้งหมด 6 ตัวอย่าง ใช้เวลาทดสอบ 2 วัน วันละประมาณ 6 ชั่วโมง ทำการทดสอบวันละ 3 ตัวอย่าง เสิร์ฟตัวอย่างเปลือก/เนื้อขนมปังแก่ผู้ทดสอบทีละ 1 ตัวอย่าง ตามลำดับแบบสุ่ม เมื่อได้รับตัวอย่าง ผู้ทดสอบแต่ละคนจะประเมินความเข้มของแต่ละลักษณะโดยใช้แบบทดสอบแสดงดังภาคผนวก ข-1 โดยเริ่มจากการประเมินลักษณะปรากฏด้วยสายตา ทดสอบกลิ่นและกลิ่นรส พร้อมกับความรู้สึกตกค้าง จากนั้นประเมินด้านเนื้อสัมผัสจนครบทุกลักษณะ จากนั้นผู้ทดสอบทุกคนจะทำการอภิปรายกลุ่มเพื่อกำหนดระดับความเข้มของแต่ละลักษณะ ซึ่งเป็นผลเอกฉันท์ของผู้ทดสอบทุกๆ คน (consensus score) ทำเช่นนี้จนกระทั่งครบทุกตัวอย่าง

ในระหว่างการทดสอบผู้ทดสอบจะต้องดื่มน้ำเปล่า (ตรา เนสท์เล่ เพียวไลฟ์, บริษัท เนสท์เล่ (ไทย) จำกัด) เพื่อล้างปากก่อนทดสอบแต่ละตัวอย่าง

3.4.3.2.3.2 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค ประเมินการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อเนื้อขนมปัง ใช้ผู้ทดสอบเป็นผู้บริโภคทั่วไปที่ชอบรับประทานผลิตภัณฑ์ขนมปัง จำนวน 60 คน ซึ่งเป็นนักศึกษาและบุคลากรภายในมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต เตรียมตัวอย่างเนื้อขนมปังโดยนำก้อนขนมปังมาหั่นด้วยมีดหั่นขนมปังให้เป็นแผ่นๆ หนา 2 เซนติเมตร นำขนมปังแต่ละแผ่นมาหั่นเปลือกทุกด้านออก แล้วหั่นเนื้อขนมปังให้เป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ ขนาดประมาณ 2x2x2 เซนติเมตร นำตัวอย่างเนื้อขนมปังที่หั่นแล้วใส่ลงในถ้วยพลาสติกใสขนาด 2 ออนซ์ ที่มีฝาปิดซึ่งกำกับด้วยตัวเลขสุ่ม 3 หลัก เสิร์ฟตัวอย่างเนื้อขนมปังแก่ผู้ทดสอบทีละ 1 ตัวอย่าง จนครบทั้ง 6 ตัวอย่าง ตามลำดับแบบสุ่ม โดยใช้แผนการเสิร์ฟแบบจัตุรัสละตินขนาด 6x6 ให้ผู้ทดสอบทำการประเมินความชอบในด้านต่างๆ คือ สีของเนื้อขนมปัง ลักษณะโพรงอากาศ กลิ่นรส รสชาติ ความนุ่ม เนื้อสัมผัสโดยรวม และความชอบโดยรวม ด้วยวิธี 9-point hedonic scale (Meilgaard และคณะ, 1991) แบบทดสอบที่ใช้แสดงดังภาคผนวก ข-2 ผู้ทดสอบจะต้องดื่มน้ำเปล่าเพื่อล้างปากก่อนทดสอบแต่ละตัวอย่าง

3.4.3.3 สถิติที่ใช้ในการวางแผนการทดลองและประเมินผล

สำหรับการศึกษาคุณภาพของโด และการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพของขนมปัง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Montgomery, 2005)

สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาของขนมปัง นำข้อมูล consensus score ที่ได้ทั้งในส่วนของเปลือกและเนื้อขนมปังมาวิเคราะห์ทางสถิติ ได้แก่ การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal Component Analysis, PCA) โดยใช้ Covariance matrix และทำการหมุนแกนองค์ประกอบหลักโดยวิธี Varimax เพื่อจัดกลุ่มลักษณะทางประสาทสัมผัสที่มีความสัมพันธ์กันเข้าด้วยกัน ร่วมกับการวิเคราะห์การจัดกลุ่มด้วยวิธี Cluster Analysis แบบ Agglomerative Hierarchical Cluster Analysis (AHC) โดยใช้วิธี Ward's method และ Euclidean distance

สำหรับการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อเนื้อขนมปัง วางแผนการทดลองแบบ Randomized Completed Block Design (RCBD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติด้วยวิธี Duncan's

New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Montgomery, 2005) รวมทั้งจัดกลุ่มผู้บริโภคที่เข้าร่วมการทดสอบโดยใช้คะแนนด้านความชอบโดยรวมด้วยเทคนิค AHC โดยใช้วิธี Ward's method และ Euclidean distance

วิเคราะห์แผนผังความชอบของผู้บริโภค (Preference mapping) แบบ Internal Preference Mapping เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลความชอบของผู้บริโภคกับลักษณะทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาของเนื้อขนมปัง ด้วยวิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) โดยใช้ Covariance matrix และทำการหมุนแกนองค์ประกอบหลักโดยวิธี Varimax

3.4.4 การศึกษาชนิดและปริมาณที่เหมาะสมของสารปรับปรุงคุณภาพขนมปังในการปรับปรุงคุณภาพของขนมปังที่ใช้แป้งข้าวสีนิลทดแทนแป้งสาลีบางส่วน

3.4.4.1 การศึกษาชนิดของสารปรับปรุงคุณภาพขนมปัง

ศึกษาชนิดของสารปรับปรุงคุณภาพขนมปังที่เหมาะสม สำหรับการผลิตขนมปังที่ใช้แป้งข้าวสีนิลทดแทนแป้งสาลีบางส่วน ทำการผลิตขนมปังโดยใช้สัดส่วนแป้งข้าวสีนิลต่อแป้งสาลีจากสูตรที่ได้รับการคัดเลือกในการทดลองที่ 3.4.3.2 แปรชนิดของสารปรับปรุงคุณภาพเป็น 4 ชนิด คือ สูตรควบคุม (ไม่เติมสารปรับปรุงคุณภาพ), Sodium stearoyl-2-lactylate (SSL) ร้อยละ 0.5, Xanthan gum ร้อยละ 1.5 และ KS 505 ร้อยละ 1.5 ของน้ำหนักแป้ง ประเมินคุณภาพของขนมปังที่ผลิตได้ในด้านต่างๆ ดังนี้

3.4.4.1.1 สมบัติทางกายภาพ

3.4.4.1.1.1 น้ำหนัก หาน้ำหนักของตัวอย่างขนมปังหลังอบด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ตามวิธีการในข้อ 3.4.3.2.2.1

3.4.4.1.1.2 ปริมาตร หาปริมาตรของตัวอย่างขนมปัง โดยใช้วิธีการแทนที่ด้วยเมล็ดงาขาว (ดัดแปลงวิธีการจาก AACC, 2000) ตามวิธีการในข้อ 3.4.3.2.2.2

3.4.4.1.1.3 ปริมาตรจำเพาะ คำนวณค่าปริมาตรจำเพาะของตัวอย่างขนมปังตามวิธีการในข้อ 3.4.3.2.2.3

3.4.4.1.1.4 เค้าโครงลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture profile analysis) ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส โดยใช้หัววัดแบบ Cylindrical probe (P/36R) (Renzetti และคณะ, 2008) ตามวิธีการในข้อ 3.4.3.2.2.5

3.4.4.1.2 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

3.4.4.1.2.1 การทดสอบเชิงพรรณนา ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างเปลือกและเนื้อขนมปังด้วยวิธีการทดสอบเชิงพรรณนา ตามวิธีการในข้อ 3.4.3.2.3.1 ใช้ Lexicon ของเปลือกและเนื้อขนมปังเช่นเดียวกับ Lexicon ที่ได้จากข้อ 3.4.3.2.3.1 ในการฝึกฝนผู้ทดสอบจะใช้ตัวอย่างเปลือก/เนื้อขนมปัง 2 ตัวอย่าง คือ เปลือก/เนื้อ

ขนมปังที่ใช้ SSL ร้อยละ 0.5 และใช้ Xanthan gum ร้อยละ 1.5 เป็นสารปรับปรุงคุณภาพ ในช่วงการประเมินตัวอย่างจริงจะทำการทดสอบตัวอย่างเปลือก/เนื้อขนมปังทั้งหมด 3 ตัวอย่าง (ตัวอย่างสูตรควบคุมที่ไม่เติมสารปรับปรุงคุณภาพได้รับการประเมินไปแล้วในการทดลองข้อ 3.4.3.2.3.1) ใช้เวลาในการทดสอบตัวอย่างทั้ง 3 ตัวอย่าง 1 วัน นานประมาณ 6 ชั่วโมง

3.4.4.2 การศึกษาปริมาณของสารปรับปรุงคุณภาพขนมปัง

ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของสารปรับปรุงคุณภาพขนมปัง โดยใช้สารปรับปรุงคุณภาพขนมปังชนิดที่ได้รับการคัดเลือกจากการทดลองที่ 3.4.4.1 (KS 505) ทำการผลิตขนมปัง โดยใช้สัดส่วนแป้งข้าวสีนิลต่อแป้งสาลีจากสูตรที่ได้รับการคัดเลือกในการทดลองที่ 3.4.3.2 โดยแปรปริมาณของสารปรับปรุงคุณภาพขนมปัง (KS 505) เป็น 3 ระดับ (ร้อยละ 1, 1.5 และ 2 ของน้ำหนักแป้ง) ประเมินคุณภาพของขนมปังที่ผลิตได้ในด้านต่างๆ ดังนี้

3.4.4.2.1 สมบัติทางกายภาพ

3.4.4.2.1.1 น้ำหนัก หาน้ำหนักของตัวอย่างขนมปังหลังอบด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง ตามวิธีการในข้อ 3.4.3.2.2.1

3.4.4.2.1.2 ปริมาตร หาปริมาตรของตัวอย่างขนมปัง โดยใช้วิธีการแทนที่ด้วยเมล็ดงาขาว (ดัดแปลงวิธีการจาก AACC, 2000) ตามวิธีการในข้อ 3.4.3.2.2.2

3.4.4.2.1.3 ปริมาตรจำเพาะ คำนวณค่าปริมาตรจำเพาะของตัวอย่างขนมปังตามวิธีการในข้อ 3.4.3.2.2.3

3.4.4.2.1.4 เค้าโครงลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture profile analysis) ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส โดยใช้หัววัดแบบ Cylindrical probe (P/36R) (Renzetti และคณะ, 2008) ตามวิธีการในข้อ 3.4.3.2.2.5

3.4.4.2.2 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

3.4.4.2.2.1 การทดสอบเชิงพรรณนา ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างเปลือกและเนื้อขนมปังด้วยวิธีการทดสอบเชิงพรรณนา ตามวิธีการในข้อ 3.4.3.2.3.1 ใช้ Lexicon ของเปลือกและเนื้อขนมปังเช่นเดียวกับ Lexicon ที่ได้จากข้อ 3.4.3.2.3.1 ในการฝึกฝนผู้ทดสอบจะใช้ตัวอย่างเปลือก/เนื้อขนมปัง 1 ตัวอย่าง คือ เปลือก/เนื้อขนมปังที่ใช้ KS 505 ร้อยละ 1.5 เป็นสารปรับปรุงคุณภาพ ในช่วงการประเมินตัวอย่างจริงจะทำการทดสอบตัวอย่างเปลือก/เนื้อขนมปังทั้งหมด 2 ตัวอย่าง (ตัวอย่างสูตรที่ใช้ KS 505 ร้อยละ 1.5 เป็นสารปรับปรุงคุณภาพได้รับการประเมินไปแล้วในการทดลองข้อ 3.4.4.1.2.1) ใช้เวลาในการทดสอบตัวอย่างทั้ง 2 ตัวอย่าง 1 วัน นานประมาณ 6 ชั่วโมง

3.4.4.2.2.2 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค ประเมินการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อเนื้อขนมปัง ใช้ผู้ทดสอบเป็นผู้บริโภคทั่วไปที่ชอบรับประทานผลิตภัณฑ์ขนมปัง จำนวน 60 คน ซึ่งเป็นนักศึกษาและบุคลากรภายในมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตามวิธีการในข้อ 3.4.3.2.3.2 เสิร์ฟตัวอย่างเนื้อขนมปังแก่ผู้ทดสอบทีละ 1 ตัวอย่าง จนครบทั้ง 3 ตัวอย่าง ตามลำดับแบบสุ่ม และใช้แบบทดสอบแสดงดังภาคผนวก ข-3 ผู้ทดสอบจะต้องดื่มน้ำเปล่าเพื่อล้างปากก่อนทดสอบแต่ละตัวอย่าง

3.4.4.3 สถิติที่ใช้ในการวางแผนการทดลองและประเมินผล

สำหรับการวิเคราะห์สมบัติกายภาพของขนมปัง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Montgomery, 2005)

สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาของขนมปัง นำข้อมูล consensus score ที่ได้ทั้งในส่วนของเปลือกและเนื้อขนมปังมาวิเคราะห์ทางสถิติ ได้แก่ การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal Component Analysis, PCA) โดยใช้ Covariance matrix และทำการหมุนแกนองค์ประกอบหลักโดยวิธี Varimax เพื่อจัดกลุ่มลักษณะทางประสาทสัมผัสที่มีความสัมพันธ์กันเข้าด้วยกัน ร่วมกับการวิเคราะห์การจัดกลุ่มด้วยวิธี Cluster Analysis แบบ Agglomerative Hierarchical Cluster Analysis (AHC) โดยใช้วิธี Ward's method และ Euclidean distance

สำหรับการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อเนื้อขนมปัง เมื่อแปรปริมาณของสารปรับปรุงคุณภาพขนมปัง วางแผนการทดลองแบบ Randomized Completed Block Design (RCBD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Montgomery, 2005) รวมทั้งจัดกลุ่มผู้บริโภคที่เข้าร่วมการทดสอบโดยใช้คะแนนด้านความชอบโดยรวมด้วยเทคนิค AHC โดยใช้วิธี Ward's method และ Euclidean distance

วิเคราะห์แผนผังความชอบของผู้บริโภค (Preference mapping) แบบ Internal Preference Mapping เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลความชอบของผู้บริโภคกับลักษณะทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาของเนื้อขนมปัง เมื่อแปรปริมาณของสารปรับปรุงคุณภาพขนมปัง ด้วยวิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (PCA) โดยใช้ Covariance matrix และทำการหมุนแกนองค์ประกอบหลักโดยวิธี Varimax

3.4.5 การศึกษาสมบัติทางเคมีและการทดสอบผลิตภัณฑ์ขนมปังที่ใช้แป้งข้าวสีนิลทดแทนแป้งสาลีบางส่วนสูตรที่ได้รับการคัดเลือกก่อนนำออกสู่ตลาด

3.4.5.1 การศึกษาสมบัติทางเคมี

นำผลิตภัณฑ์ขนมปังที่ใช้แป้งข้าวสีนิลทดแทนแป้งสาลีบางส่วน สูตรที่ได้รับการคัดเลือกจากการทดลองที่ 3.4.4.2 และขนมปังสูตรปกติ (แป้งสาลีล้วน) มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่างๆ เปรียบเทียบกัน ดังต่อไปนี้

3.4.5.1.1 องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และเส้นใย ตามวิธีการของ AOAC (1995) และคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรตจากสมการรายละเอียดของการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก-1 ถึง ก-6 ตามลำดับ เตรียมตัวอย่างขนมปังโดยนำทั้งส่วนเปลือกและเนื้อขนมปังมาปั่นให้ละเอียดผสมกันก่อนนำไปวิเคราะห์ ใช้น้ำหนักของตัวอย่างเปียก (Wet basis) ในการคำนวณปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของขนมปัง

3.4.5.1.2 ปริมาณพลังงานอาหาร หาปริมาณพลังงานอาหารด้วยเครื่อง Bomb calorimeter รายละเอียดของการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก-7 เตรียมตัวอย่างขนมปังโดยนำทั้งส่วนเปลือกและเนื้อขนมปังมาปั่นให้ละเอียดผสมกัน แล้วนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 ^{O}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปวิเคราะห์ บันทึกค่าพลังงานของขนมปังในหน่วยกิโลแคลอรีต่อกรัม (kcal/g)

3.4.5.1.3 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (% Scavenging effect) โดยใช้วิธีการทดสอบด้วย DPPH free radical scavenging activity test (ดัดแปลงวิธีการจาก Fan และคณะ, 2006) ตามวิธีการในข้อ 3.4.2.1.4 เตรียมตัวอย่างขนมปังโดยนำทั้งส่วนเปลือกและเนื้อขนมปังมาปั่นให้ละเอียดผสมกันก่อนนำไปวิเคราะห์

3.4.5.2 การทดสอบผลิตภัณฑ์ก่อนนำออกสู่ตลาด

ทดสอบตลาดของขนมปังที่ใช้แป้งข้าวสีนิลทดแทนแป้งสาลีบางส่วน ทำการผลิตขนมปังที่ใช้แป้งข้าวสีนิลทดแทนแป้งสาลีบางส่วน โดยใช้สูตรที่ได้รับการคัดเลือกจากการทดลองที่ 3.4.4.2 แล้วทำการประเมินโอกาสเบื้องต้นที่ขนมปังที่ใช้แป้งข้าวสีนิลทดแทนแป้งสาลีบางส่วนที่พัฒนาจะประสบความสำเร็จในตลาด ทำการประเมินผลต่างๆ ดังนี้

3.4.5.2.1 การทดสอบการยอมรับและการตัดสินใจซื้อของผู้บริโภค ทำการประเมินการยอมรับและการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภคที่มีต่อเนื้อขนมปังที่ใช้แป้งข้าวสีนิลทดแทนแป้งสาลีบางส่วนสูตรที่ได้รับการคัดเลือก ใช้ผู้ทดสอบเป็นผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมายที่ชอบรับประทานผลิตภัณฑ์ขนมปัง จำนวน 200 คน ซึ่งเป็นนักศึกษาและบุคลากรในมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต เตรียมตัวอย่างเนื้อขนมปังโดยนำก้อนขนมปังมาหั่นด้วยมีดหั่นขนมปังให้เป็นแผ่นๆ หนาแผ่นละ 2 เซนติเมตร นำขนมปังแต่ละแผ่นมาหั่นเปลือกทุกด้าน

ออก แล้วหั่นเนื้อขนมปังให้เป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ขนาดประมาณ 2x2x2 เซนติเมตร นำตัวอย่างเนื้อขนมปังที่หั่นแล้วใส่ลงในถ้วยพลาสติกใสขนาด 2 ออนซ์ ที่มีฝาปิดซึ่งกำกับด้วยตัวเลขสุ่ม 3 หลัก ถ้วยละ 2-3 ชิ้น เริ่มทำการทดสอบโดยเสิร์ฟตัวอย่างเนื้อขนมปังและแจกแบบทดสอบ (ภาคผนวก ข-4) ให้แก่ผู้ทดสอบ โดยที่ผู้ทดสอบไม่ทราบข้อมูลก่อนการทดสอบว่าตัวอย่างที่จะทำการทดสอบเป็นผลิตภัณฑ์ขนมปังที่ใช้แป้งข้าวสีนิลทดแทนแป้งสาลีบางส่วน เมื่อได้รับตัวอย่างและแบบทดสอบซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ส่วน จะอนุญาตให้ผู้ทดสอบได้เห็นและตอบแบบทดสอบเฉพาะในสองส่วนแรกก่อน โดยส่วนแรก คือ ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม และส่วนที่สอง คือ ข้อมูลการยอมรับและการตัดสินใจซื้อของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ขนมปัง โดยให้ผู้ทดสอบประเมินความชอบต่อขนมปังในด้านต่างๆ ได้แก่ลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ด้วยวิธี 9-point hedonic scale ประเมินการยอมรับผลิตภัณฑ์และประเมินความตั้งใจซื้อผลิตภัณฑ์ (Purchase intent) ด้วย 5-point category scale (Meilgaard และคณะ, 1991) จากนั้นจึงอนุญาตให้ผู้ทดสอบได้เห็นและตอบแบบทดสอบในส่วนที่สาม โดยผู้ทดสอบจะได้รับทราบข้อมูลว่าตัวอย่างขนมปังที่ทดสอบไปนั้น เป็น “**ขนมปังจากแป้งสาลีผสมแป้งข้าวสีนิล**” ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากมีส่วนผสมของข้าวสีนิลซึ่งประกอบไปด้วยสารรงควัตถุแอนโทไซยานิน (anthocyanin) และโปรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidin) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ และจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ พบว่า ขนมปังข้าวสีนิลที่ผู้ทดสอบได้ทดสอบไปนั้นมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีมากกว่าขนมปังแซนด์วิชที่ผลิตจากแป้งสาลีล้วนถึง 1.3 เท่า หลังจากให้ผู้ทดสอบได้ทราบข้อมูลทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์แล้ว จึงทำการนำเสนอผลิตภัณฑ์พร้อมทั้งบรรจุภัณฑ์ที่ติดฉลากแล้ว (รูปแบบฉลากแสดงดังภาคผนวก ค) ให้ผู้ทดสอบได้เห็น จากนั้นผู้ทดสอบจะตอบแบบสอบถามในส่วนที่สาม โดยประเมินการยอมรับผลิตภัณฑ์และประเมินความตั้งใจซื้อผลิตภัณฑ์ด้วย 5-point category scale หลังจากทราบข้อมูลทางโภชนาการ นอกจากนี้ผู้ทดสอบจะต้องประเมินความเหมาะสมของราคาต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ขนมปัง โดยกำหนดให้ขนมปังจากแป้งสาลีผสมแป้งข้าวสีนิล จำนวน 12 แผ่น หนัก 450 กรัม ที่บรรจุอยู่ในบรรจุภัณฑ์ที่ติดฉลาก มีราคา 35 บาท

3.4.5.3 สถิติที่ใช้ในการวางแผนการทดลองและประเมินผล

สำหรับการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของขนมปัง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Montgomery, 2005)

สำหรับการทดสอบการยอมรับและการตัดสินใจซื้อของผู้บริโภค คำนวณค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบของตัวอย่างและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$ SD) คำนวณร้อยละของผู้บริโภคที่ยอมรับและร้อยละของผู้บริโภคที่ตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์ โดยเปรียบเทียบทั้งในกรณีที่ผู้บริโภคยังไม่ทราบและหลังจากทราบคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์

3.4.6 การศึกษาอายุการเก็บรักษาของขนมปังที่ใช้แป้งข้าวสีนิลทดแทนแป้งสาลีบางส่วนสูตรที่ได้รับการคัดเลือก

นำผลิตภัณฑ์ขนมปังที่ใช้แป้งข้าวสีนิลทดแทนแป้งสาลีบางส่วน สูตรที่ได้รับการคัดเลือกจากการทดลองที่ 3.4.4.2 มาทำการประเมินอายุการเก็บรักษา โดยเก็บขนมปังสูตรที่ได้รับการยอมรับไว้ในถุงพลาสติกใส Polyethylene (PE) ชนิด Food grade ที่อุณหภูมิห้อง นำผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการเก็บรักษานาน 0, 1, 2 และ 3 วัน มาวิเคราะห์คุณภาพในด้านต่างๆ ดังนี้

3.4.6.1 สมบัติทางเคมี

3.4.6.1.1 ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) วัดค่าปริมาณน้ำอิสระของขนมปังที่ผ่านการเก็บรักษาด้วยเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ตามวิธีการในข้อ 3.4.2.1.2 เตรียมตัวอย่างขนมปังโดยนำทั้งส่วนเปลือกและเนื้อขนมปังมาปั่นให้ละเอียดผสมกันก่อนนำไปวิเคราะห์

3.4.6.1.2 ปริมาณความชื้น หาปริมาณความชื้นของขนมปังที่ผ่านการเก็บรักษาตามวิธีการของ AOAC (1995) รายละเอียดของการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก-1 เตรียมตัวอย่างขนมปังโดยนำทั้งส่วนเปลือกและเนื้อขนมปังมาปั่นให้ละเอียดผสมกัน ก่อนนำไปวิเคราะห์ ใช้น้ำหนักของตัวอย่างเปียก (Wet basis) ในการคำนวณปริมาณความชื้นของขนมปังที่ผ่านการเก็บรักษา

3.4.6.2 สมบัติทางกายภาพ

3.4.6.2.1 ค่าสี วัดค่าสีของเนื้อขนมปังที่ผ่านการเก็บรักษาด้วยเครื่องวัดค่าสีตามวิธีการในข้อ 3.4.3.2.2.4

3.4.6.2.2 เค้าโครงลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture profile analysis) ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส โดยใช้หัววัดแบบ Cylindrical probe (P/36R) (Renzetti และคณะ, 2008) ตามวิธีการในข้อ 3.4.3.2.2.5

3.4.6.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์

3.4.6.3.1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของขนมปังที่ผ่านการเก็บรักษา (Food and Drug Administration, 1995) รายละเอียดของการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก-8

3.4.6.3.2 ปริมาณยีสต์และรา (Yeast & Mold Count) หาปริมาณยีสต์และราของขนมปังที่ผ่านการเก็บรักษา (Food and Drug Administration, 1995) รายละเอียดของการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก-9

3.4.6.4 สถิติที่ใช้ในการวางแผนการทดลองและประเมินผล

สำหรับการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพของขนมปังที่ผ่านการเก็บรักษา ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Montgomery, 2005)

สำหรับการประเมินคุณภาพทางจุลินทรีย์ ใช้เกณฑ์การประเมินคุณภาพจุลินทรีย์จากมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนขนมปังปอนด์ (มผช.747/2548) ของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2548) (ภาคผนวก ง)