บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหารเช้าธัญพืชจากข้าวกล้องงอก

- ข้าวเปลือกหอมมะลิสายพันธุ์ KPSKD5 ได้รับการอนุเคราะห์จากกลุ่มแปรรูปผลิตภัณฑ์เกษตรบ้านสบจาง จังหวัดลำปาง โดยเก็บเกี่ยวในปี 2551/2552 ซึ่งมีปริมาณความชื้นร้อยละ 13 นำมากะเทาะเปลือกข้าวด้วยเครื่องกะเทาะเปลือกขนาดเล็กที่ระดับ 2 และนำไปบรรจุในถุงบรรจุแบบสุญญากาศ ขนาด 7 × 11 นิ้ว ถุงละ 1 กิโลกรัม แล้วนำมาเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการผลิตเป็นข้าวกล้องหอมมะลิแดงงอกภายในระยะเวลา 2 สัปดาห์

- เกล็ดข้าวโพด มาจากข้าวโพดพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ในพื้นที่ อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ โดยเก็บเกี่ยวในปี 2551/2552 นำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง บดละเอียดด้วยเครื่องบดแบบหยาบ (hummer mill) แล้วนำมาเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ต่อไป

- โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate: SUPRO EX45 IP, ABBRA Corporation limited, Thailand)

- น้ำตาลซูโครส (sucrose) (ยี่ห้อมิตรผล บริษัทน้ำตาลมิตรผล จำกัด ประเทศไทย)

- น้ำตาลไอโซมอลทูโลส (palatyne™) ได้รับการอนุเคราะห์จาก บริษัท น้ำตาลราชบุรี จำกัด จังหวัดราชบุรี

- เกลือ (ยี่ห้อปรุงทิพย์ บริษัทอุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์ จำกัด ประเทศไทย)

- แคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonated, Merck, England)

3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต

- เครื่องเอกซ์ทรูชันแบบสกรูเดี่ยว (model 19/20 DN, Brabender DHG, Germany)
- เครื่องผสม (Model 5K553, Kitchen aid, USA)

- ตู้อบลมร้อน (Model R3 Controller Series, BINDER, Hot air oven, Germany)
- เครื่องบดแบบค้อน (Armfield FT2, Armfield Limited, England)
- เครื่องชั่งแบบดิจิตอล (Model SK-5001WP, A&D, Korea)

3.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (TA-XT plus, Stable Macro System, UK)
- เครื่องวัดความหนืดแบบรวดเร็ว (RVA-4D, Newport Scientific Pty. Ltd., Warriewood, NSW, Australia)
- เครื่องวัดค่าพีเอช (F22, HORIBA, Japan)
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Z200A, Hermle, Germany)
- เครื่องวัดสี (CR-410, Konica-Minolta, Japan)
- เวอร์เนียร์ ขนาด 150 มิลลิเมตร

3.1.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Model UV-2101PC, Shimudzu, Japan)
- ชุดวิเคราะห์โปรตีน (Model Kjeltec System 1002, Sweden)
- เครื่องวิเคราะห์ไขมัน (Model TFE 2000, Leco, Fat extractor, USA)
- โถดูดความชื้น (Desiccator)
- เตาเผา (Model 3-1750, Vulcan, USA)
- ตู้อบลมร้อน (March Cool Co., Thailand)
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Model AB204-S, Switzerland)
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Model PB1502-S, Switzerland)
- เครื่องปั่น (Model MX-T700, GN, Taiwan)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Model UNB400, Memmert, USA)
- อุปกรณ์เครื่องแก้ว
- เครื่องโครมาโตกราฟ (Model LC - 10Avp, Shimadzu, Japan)
- เครื่องวัดอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (Model 7000, Illinois Instruments, USA.)

3.1.5 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

- หน่วยประเมินทางประสาทสัมผัสและทดสอบผู้บริโภค คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส (รายละเอียดแสดงดังภาคผนวก ค)

3.1.6 สารเคมีและเอนไซม์

- เอทานอล (Absolute Ethanol, Merck, England)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide: NaOH, LAB-SCAN, Ireland)
- ปิโตรุเลียม อีเทอร์ (Petroleum ether, LAB-SCAN A3541, Ireland)
- ไนท-ฟูออนิวเอลทิวคลอโรฟอเมท (9-flurenylmethylchloroformate: Fmoc-Cl, Sigma, St. Louis, USA.
- อะซิโตไนไตร์ (Acetonitril (HPLC grade, LAB-SCAN, Ireland)
- ไฮดรอกซิลามีน ไฮโดรคลอไรด์ (Hydroxylamine hydrochloride, Fluka, Sigma-Aldrich, China)
- 2-เมทิวไทโอ เอทานอล (2-methylthio ethanol, Aldrich, Sigma-Aldrich, Germany)
- กรดอะซิติก (acetic acid, LAB-SCAN, Ireland)
- แอโมเนียม ไดไฮโดรเจน ออโทฟอสเฟต (Ammonium dihydrogen orthophosphate, Ajax, Australia)
- เมทานอล (Methanol, HPLC grade, Fisher Scientific, UK)
- แอมโมเนียม ไฮดรอกไซด์ (Ammonium hydroxide: NH_4OH, Merck, England)
- โพแทสเซียม คลอไรด์ (Potassium chloride)
- โซเดียม ไฮโดรเจน คาร์บอเนต (Sodium hydrogen carbonate: $NaHCO_3$, Fisher Scientific, UK)
- แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride: Ca_2Cl, Merck, England)
- แมกนีเซียมคลอไรด์ (Magnesium chloride: Mg_2Cl, Merck, England)
- กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid: HCl, Merck, England)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide: NaOH, Merck, England)
- Pancreatin enzyme (P1750, Sigma-Aldrich, Inc, USA)
- Amylogiucosidase enzyme (10115-1G-F, Sigma-Aldrich, Inc, USA)
- Pepsin enzyme (P6887, Sigma-Aldrich, Inc, USA)

- α-amylase enzyme (A3176-1MU, Sigma-Aldrich, Inc, USA)
- ชุดวิเคราะห์ปริมาณสตาร์ชทั้งหมด (Total starch test kit, Magazyme, Ireland)

3.1.7 เครื่องประมวลผลทางสถิติ

- เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล
- โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for windows version 15.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การศึกษาสภาวะการแช่ที่มีผลต่อปริมาณ GABA ในข้าวกล้องงอก

จัดการทดลองแบบ 2 × 3 Factorial in CRD ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ตารางที่ 3.1 โดยมีปัจจัยที่ศึกษา 2 ปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิที่ใช้แช่ข้าวกล้อง (30 และ 40 องศาเซลเซียส) และระยะเวลาในการแช่ (1, 3 และ 6 ชั่วโมง) โดยแช่ข้าวตามดัดแปลงจากวิธีจาก Varanyanond *et al.* (2005) โดยใช้ข้าวกล้องที่ผ่านการกะเทาะเมล็ดแล้วไม่เกิน 2 สัปดาห์ต่อน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นนำข้าวกล้องที่ได้ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง บดด้วยเครื่องบดแบบค้อน (hammer mill) ผ่านตะแกรงขนาด 1.5 มิลลิเมตร แล้วนำไปร่อนผ่านเครื่องร่อนแยกขนาดให้มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 60-100 ไมครอน โดยใช้ข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการแช่เป็นตัวอย่างควบคุม (control) นำแป้งที่ได้ไปวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

3.2.1.1 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำหลังการแช่ ด้วยเครื่องวัดค่า pH (F-22, HORIBA, Japan)

3.2.1.2 การวิเคราะห์ค่าการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้ง ดัดแปลงจาก Jangchud *et al.* (2003) ด้วยเครื่องวัดการเปลี่ยนแปลงความหนืด (RVA-4D, Newport Scientific Pty. Ltd., Warriewood, NSW, Australia) ชั่งน้ำหนักแป้ง (คำนวณจากความชื้นที่วัดได้) เติมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ใส่ลงในเครื่องวัดการเปลี่ยนแปลงความหนืด ซึ่งตั้งโปรแกรมอุณหภูมิและ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

เวลาให้ความร้อน บันทึกค่าการเปลี่ยนแปลงความหนืดที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ วิเคราะห์ค่าอุณหภูมิเริ่มต้นของการเกิดความหนืด (pasting temperature) ค่าความหนืดสูงสุด (peak viscosity) ค่า breakdown และค่าการคืนตัว (setback) ดังภาคผนวก ข (ข.1.4)

3.2.2.3 การวิเคราะห์ค่ากำลังการพองตัวและร้อยละการละลาย ดัดแปลงจาก Schoch (1964) ชั่งตัวอย่างแห้ง 0.1 กรัมใส่หลอดสำหรับนำไปปั่นเหวี่ยง เติมน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที (เขย่าหลอดที่ความเร็วระดับ 3) นำหลอดไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge: model Z200A, Hermle, Germany) ที่ความเร็วรอบ 3,788 *g* นาน 15 นาที หลังจากนั้นดูดสารละลายส่วนใส 1 มิลลิลิตร ใส่ใน moisture can ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว คำนวณหาร้อยละการละลาย และกำลังการพองตัวดังภาคผนวก ข (ข.1.5)

3.2.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณ GABA ดัดแปลงจาก Sarker *et al.* (1997) โดยชั่งตัวอย่างที่ผ่านการสกัดไขมัน (defat) 100 มิลลิกรัม สกัดด้วยเอลทานอลร้อยละ 70 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องโฮโมจีไนซ์ homogenizer เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 3,130 *g* เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสกรองด้วย membrane ขนาด 0.45 ไมครอน เติมสาร 9-fluorenylmethylchloroformate (Fmoc) จำนวน 200 ไมโครลิตร ลงใน 200 ไมโครลิตร ของสารละลายส่วนใสที่ได้ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 90 วินาที ทำการปรับ pH โดยการเติม cleavage reagent 120 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3.5 นาที เติม quenching reagent จำนวน 200 ไมโครลิตร สารละลายที่ได้นำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC (Shimadzu: Class - vp5 (LC - 10Avp), Japan) โดยใช้ Mobile phase 2 ชนิด คือ 20 มิลลิโมลาร์ ammonium dihydrogen orthophosphate และ acetonitrile ร้อยละ 90 ที่สภาวะ flow rate 1 มิลลิลิตร อุณหภูมิของ column C18 เท่ากับ 37 องศาเซลเซียส ฉีดตัวอย่างเข้าเครื่องปริมาณ 5 ไมโครลิตร หาปริมาณรวมของปริมาณ GABA คำนวณปริมาณ GABA ดังภาคผนวก ข (ข.2.9)

3.2.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 1 ดัดแปลงจาก Yamada and Kawasaki (1980) โดยชั่งตัวอย่าง 2 กรัม สกัดด้วย 0.1 N HCl 20 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง กรองด้วย

กระดาษกรองเบอร์ 5 นำสารละลายที่ได้ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตรด้วย 0.1 N HCl นำไปเจือจางที่ 10 เท่า นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 248 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง Model UV-2101PC, Shimudzu, Japan) หาปริมาณรวมของปริมาณวิตามินบี 1 ดังภาคผนวก ข (ข.2.8)

3.2.2.6 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น เส้นใยหยาบ โปรตีน (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ข (ข.2.1, ข.2.1 และ ข.2.4 ตามลำดับ)

ตารางที่ 3.1 สิ่งทดลองในการศึกษาผลของอุณหภูมิ และระยะเวลาในการแช่ข้าวกล้องหอมมะลิแดง

สิ่งทดลอง	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (ชั่วโมง)
1	30	1
2	30	3
3	30	6
4	40	1
5	40	3
6	40	6

3.2.2 การพัฒนาสูตรที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์อาหารเช้าธัญพืชจากแป้งข้าวกล้องงอกโดยกระบวนการเอกซ์ทรูชัน

นำแป้งข้าวกล้องงอกที่มีคุณสมบัติเหมาะสมจากการทดลองที่ 2 มาศึกษาปริมาณแป้งข้าวกล้องงอกที่เหมาะสม จากสูตรส่วนผสมพื้นฐานอาหารเช้าธัญพืชของจุฬาลักษณ์ (2550) วางแผนการทดลองแบบ Mixture Design แบบ D-optimal มีปัจจัยที่ศึกษา 3 ปัจจัยได้แก่ ปริมาณแป้งข้าวกล้องร้อยละ 60-95 ปริมาณเกล็ดข้าวโพดร้อยละ 0-20 และปริมาณโปรตีนถั่วเหลืองร้อยละ 5-20 (ตารางที่ 3.2) โดยให้ปัจจัยที่เหลือในสูตรเป็นปัจจัยคงที่ได้แก่ น้ำตาลร้อยละ 3 เกลือร้อยละ 2 และแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 1 จากนั้นนำส่วนผสมที่ได้ไปปรับความชื้นด้วยน้ำสะอาดให้เป็นร้อยละ 13 (สุลาลักษณ์, 2549) นำตัวอย่างไปบรรจุไว้ในถุงพลาสติกชนิดพอลิพรอพิลิน (poly propylene) ที่ปิดสนิทและเก็บไว้นาน 1 ชั่วโมง เพื่อปรับความชื้นให้สม่ำเสมอ จากนั้นป้อนเข้า

เครื่องเอกซ์ทรูเดอร์แบบสกรูเดี่ยว (model 19/20 DN, Brabender DHG, Germany) ใช้หน้าแปลน (die) เป็นรูกลมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร โดยกำหนดสภาวะที่ใช้ในการผลิตดังนี้ ความเร็วของส่วนป้อนวัตถุดิบ (feeder speed) 45 รอบต่อนาที ความเร็วรอบสกรู (screw speed) 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิภายในเครื่อง (barrel temperature) โซนที่ 1 (การผสม) โซนที่ 2 (การนวด) และโซนที่ 3 (การทำให้ร้อนจนสุก) ของบาร์เรลเท่ากับ 115, 145 และ 170 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และความเร็วของใบมีดหน้าแปลน (cutter speed) 180 รอบต่อนาที นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปอบโดยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที (สิริรัตน์, 2551) นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วบรรจุลงในถุงพลาสติกชนิดปิดสนิทโพลิพรอพิลิน (poly propylene) นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

3.2.2.1 การวิเคราะห์ค่าแรงกดแตก (compression force) ตามวิธีการของ Holguin-Acuna *et al.* (2008) ด้วยเครื่องวัดแรงกดแตก (TA-XTplus Texture Analyzer, Stable Micro System Ltd., UK) วัดแรงกด (compression) ใช้หัววัดแบบ ottawa ชั่งตัวอย่าง 7 กรัมใส่ลงในกล่องบรรจุตัวอย่าง โดยกดลงไปร้อยละ 30 (% strain) (pre-test speed: 1 mm/s; test speed: 2 mm/s; post-test speed: 10 mm/s) โดยค่า hardness คือ จุดที่วัดแรงกดเป็นบวกสูงที่สุด ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้ง ดังภาคผนวก ข (ข.1.1)

3.2.2.2 การวิเคราะห์ค่าความหนาแน่น (bulk density) ดัดแปลงจาก Chevanan *et al.* (2007) โดยการนำอาหารเช้าธัญพืชเทลงในภาชนะขวดแก้วขนาดปริมาตร 200 มิลลิลิตร ในระหว่างที่เทตัวอย่างลงไปต้องเคาะภาชนะเป็นระยะเพื่อให้ตัวอย่างเรียงตัวสม่ำเสมอเท่ากัน เมื่อเทอาหารจนเต็มภาชนะแล้วปาดอาหารเช้าธัญพืชส่วนเกินออกให้เรียบเสมอขอบบนของภาชนะ ทำการเติมงาลงไปให้เต็มช่องว่างที่เหลืออยู่ในภาชนะ จากนั้นเทอาหารเช้าธัญพืชในภาชนะออกไปชั่งน้ำหนัก แล้วก็นำงาไปวัดปริมาตร คำนวณค่าความหนาแน่นดังภาคผนวก ข (ข.1.2)

3.2.2.3 การวิเคราะห์ค่าอัตราส่วนการพองตัว (expansion ratio) ดัดแปลงจาก Chevanan *et al.* (2007) โดยการนำผลิตภัณฑ์อาหารเช้าธัญพืชมาวัดทั้งด้านกว้าง และด้านยาวของภาพตัดขวาง

ของผลิตภัณฑ์โดยใช้ดิจิตอล เวอร์เนียร์ คาลิปเปอร์ ค่าที่ได้นำมาหารด้วยขนาดของรูเปิดหน้าแปลนทั้งด้านกว้าง และด้านยาวคำนวณหาอัตราส่วนการพองตัวดังภาคผนวก ข (ข.1.3)

3.2.2.4 การวิเคราะห์ค่าสี L^*, a^*และ b^* ด้วยเครื่องวัดสี (model CR-410, Konica-Minolta, Japan)

3.2.2.5 การวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (water activity, a_w) ด้วยเครื่อง AQUA LAB (model series 3 Decagon Device Inc., Pullman, USA.)

3.2.2.6 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

3.2.2.7 การวิเคราะห์ปริมาณ GABA ดัดแปลงจาก Sarker *et al.* (1997) เช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.2.1

3.2.2.8 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยใช้วิธีการให้คะแนนความชอบ 1 ถึง 9 (9-point hedonic scale) (เพ็ญขวัญ, 2550) ด้วยผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 50 คน เตรียมตัวอย่างที่ใช้ทดสอบชิมโดยชั่งตัวอย่างขนาด 3 กรัม บรรจุลงในถุงลามิเนตฟอยล์ขนาด 7×8 เซนติเมตร ปิดปากถุงให้สนิท กำหนดรหัสเลขสุ่มสามตัวติดที่ซอง เสิร์ฟตัวอย่างทีละตัวอย่างแบบสุ่มโดยเสิร์ฟที่อุณหภูมิห้อง ในขั้นแรกเมื่อผู้ทดสอบชิม ทดสอบครบ 4 ตัวอย่าง จะพักการทดสอบ 10 นาที หลังจากนั้นทดสอบอีก 4 ตัวอย่างและพัก 10 นาที แล้วทดสอบ 3 ตัวอย่างสุดท้าย ในระหว่างการทดสอบชิม ให้ผู้ทดสอบดื่มน้ำระหว่างการทดสอบตัวอย่างถัดไปทุกครั้ง เมื่อทำการทดสอบเสร็จแล้ว

ตารางที่ 3.2 สิ่งทดลองในการศึกษาผลของปริมาณแป้งข้าวกล้องงอก เกล็ดข้าวโพด และโปรตีนถั่วเหลืองสกัด ในผลิตภัณฑ์อาหารเช้าธัญพืชจากข้าวกล้องงอก

สิ่งทดลอง *	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	81.93	76.00	90.25	71.25	73.62	71.25	64.12	57.00	73.62	76.00	66.50
B	4.75	0.00	0.00	19.00	9.51	19.00	19.01	19.00	9.51	0.00	9.50
C	8.32	19.00	4.75	4.75	11.87	4.75	11.87	19.00	11.87	19.00	19.00

หมายเหตุ : A = แป้งข้าวกล้องงอก, B = เกล็ดข้าวโพด และ C = โปรตีนถั่วเหลืองสกัด

* น้ำหนักกรัมของปัจจัยคิดเป็นร้อยละ 95 ต่อน้ำหนัก 100 กรัมของสูตรพื้นฐาน

ข้อมูลที่ได้จากการวัดคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส นำมาวิเคราะห์หาช่วงของสูตรที่เหมาะสม (optimization) ใช้วิธีการพื้นผิวตอบสนอง (RSM) โดยใช้โปรแกรม Design-expert version 6.0.10 (Statease Inc., USA.) ค่าที่ใช้ในการคัดเลือกระดับของส่วนผสมที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเช้าธัญพืชจากข้าวกล้องงอก คือ คะแนนการยอมรับคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นรส และเนื้อสัมผัส

3.2.3 การศึกษากระบวนการผลิตอาหารเช้าธัญพืชจากแป้งข้าวกล้องงอกโดยกระบวนการเอกซ์ทรูชัน

หลังจากได้สูตรที่เหมาะสมแล้ว ทำการศึกษากระบวนการผลิตที่เหมาะสมวางแผนการทดลองแบบ 2^3 Factorial with 3 center points โดยมีปัจจัยที่ศึกษาคือ ความเร็วของการป้อนวัตถุดิบ (feeder speed) ที่ 30 และ 60 รอบต่อนาที ความเร็วรอบของสกรู (screw speed) ที่ 150 และ 250 รอบต่อนาที และอุณหภูมิโซนที่ 3 ของบาร์เรล (zone 3-barrel temperature) ที่ 150 และ 180 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (สิริรัตน์, 2551) ได้สิ่งทดลองดังตารางที่ 3.3 ทำการวิเคราะห์คุณภาพเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.2.2 โดยทำการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมจากผลิตภัณฑ์ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุด และมีปริมาณ GABA สูงที่สุด ด้วยวิธีการ Optimization แล้วทำการตรวจสอบความเหมาะสม (validation) โดยทดสอบกับผู้บริโภคจำนวน 50 คน ด้วยวิธี 9-point hedonic scale ร่วมกับ 5-scale just about right

ตารางที่ 3.3 สิ่งทดลองในการศึกษาผลของสภาวะการผลิต

สิ่งทดลอง	สภาวะการผลิต		
	ความเร็วของการป้อนวัตถุดิบ (รอบต่อนาที)	ความเร็วรอบของสกรู (รอบต่อนาที)	อุณหภูมิโซนที่ 3 ของบาร์เรล (องศาเซลเซียส)
1	60	250	150
2	30	250	180
3	30	150	150
4	45	200	165
5	60	250	180
6	30	250	150
7	60	150	180
8	30	150	180
9	60	150	150
10	45	200	165
11	45	200	165

3.3.4 การศึกษาอัตราส่วนการทดแทนปริมาณน้ำตาลซูโครสด้วยน้ำตาลไอโซมอลทูโลส ในผลิตภัณฑ์อาหารเช้าธัญพืชจากข้าวกล้องงอก

นำสูตรที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองที่ 3.3.2 มาทำการผันแปรปริมาณของน้ำตาล โดยผลิตผลิตภัณฑ์จากสูตรส่วนผสมพื้นฐานอาหารเช้าธัญพืชของจุฬาลักษณ์ (2550) โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomize Design (CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ มีอัตราส่วนที่ผันแปร คือ ปริมาณน้ำตาลร้อยละ 7, 10 และ 13 ตามลำดับ และทดแทนน้ำตาลซูโครส (sucrose) ด้วยน้ำตาลไอโซมอลทูโลส (palatyne™) ได้สิ่งทดลองดังตารางที่ 3.4 ทำการผลิตผลิตภัณฑ์ในสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 3.3 โดยทำการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมจากผลิตภัณฑ์ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุด และมีปริมาณ GABA สูงที่สุด ด้วยวิธีการ Optimization แล้วทำการ

ตรวจสอบความเหมาะสม (validation) โดยทดสอบกับผู้บริโภคจำนวน 50 คน ด้วยวิธี 9-point hedonic scale ร่วมกับ just about right เพื่อจะได้ทราบว่าผู้ประเมินชอบตัวอย่างแค่ไหนและมีความรู้สึกอย่างไรต่อลักษณะที่ประเมิน เช่น น้อยไป พอดี หรือมากไป (เพ็ญขวัญ, 2550) แล้วนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์คุณภาพเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.3 และวิเคราะห์ปริมาณสตาร์ชทั้งหมด และค่าดัชนีน้ำตาลเพิ่ม ดังนี้

3.3.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณสตาร์ชทั้งหมด ตามวิธีของ AACC (2000) ชั่งตัวอย่างบดละเอียด 0.1 กรัม ใส่ในหลอดทดลองขนาด 16×120 มิลลิเมตร เคาะตัวอย่างให้อยู่ก้นหลอด เติม ethanol 0.2 มิลลิลิตร เขย่าหลอด เติมเอนไซม์ α-amylase 3 มิลลิลิตรทันที ทำการแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิน้ำเดือด นาน 6 นาที โดยทำการเขย่าหลอดทุกๆ 2 นาที เมื่อครบ 6 นาที ย้ายหลอดทดลองมาไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วเติมเอนไซม์ amyloglucosidase 0.1 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้นาน 30 นาที จากนั้นนำตัวอย่างมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ทำการปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร สารละลายที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบ นาน 10 นาที ดูดตัวอย่างที่ได้ใส่หลอดทดลอง 0.1 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์ GOPOD 3 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสนาน 20 นาที นำตัวอย่างที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร โดยมีตัวอย่างควบคุม คือ glucose standard คำนวณปริมาณสตาร์ชทั้งหมดดังภาคผนวก ข (ข.2.10)

3.3.4.2 การวิเคราะห์ค่าดัชนีน้ำตาล ตามวิธีของ Mahasukhonthachat *et al.* (2010) ชั่งตัวอย่างบดละเอียด 0.5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพูขนาด 125 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์ artificial saliva 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ประมาณ 15-20 วินาที เติมเอนไซม์ pepsin ใน HCI 0.02 M (pH 2) จำนวน 5 มิลลิลิตร ทันที นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีการเขย่า 85 ครั้งต่อนาที เป็นเวลานาน 30 นาที ทำการปรับ pH ให้เป็นกลางด้วย NaOH 0.02 M จำนวน 5 มิลลิลิตร เติม acetate buffer 25 มิลลิลิตร และเอนไซม์ pancreatin/amyloglucosidase ใน acetate buffer จำนวน 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีการเขย่า 85 ครั้งต่อนาที วัดปริมาณ

น้ำตาลกลูโคสด้วย glucometer ทุกๆ 30 นาที ตั้งแต่นาทีที่ 0-180 นาทีคำนวณหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสดังภาคผนวก ข (ข.2.11)

ตารางที่ 3.4 สิ่งทดลองในการศึกษาผลของการทดแทนปริมาณซูโครสด้วยน้ำตาลไอโซมอลทูโลส

สิ่งทดลอง	ชนิดน้ำตาล	ปริมาณน้ำตาล (ร้อยละ)
1	ซูโครส	7
2	ซูโครส	10
3	ซูโครส	13
4	ไอโซมอลทูโลส	7
5	ไอโซมอลทูโลส	10
6	ไอโซมอลทูโลส	13

3.2.5 ประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารเช้าธัญพืชจากข้าวกล้องงอกที่พัฒนาได้

ทำการประเมินผลิตภัณฑ์อาหารเช้าธัญพืชจากข้าวกล้องงอกที่พัฒนาได้โดยใช้สูตรและกรรมวิธีการผลิตที่เหมาะสมมาประเมินคุณภาพดังนี้ (เช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.2.1 - 3.2.4)

3.2.5.1 การวิเคราะห์ค่าแรงกดแตก (compression force) โดยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (TA-XTplus, Stable Micro Systems, Surrey, UK) (Holguin-Acuna *et al.*, 2008)

3.2.5.2 การวิเคราะห์ค่าความหนาแน่น (bulk density) (Chevanan *et al.*, 2007)

3.2.5.3 การวิเคราะห์ค่าอัตราส่วนการพองตัว (expansion ratio) (Chevanan *et al.*, 2007)

3.2.5.4 การวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (water activity, a_w) ด้วยเครื่อง AQUA LAB (model series 3 Decagon Device Inc., Pullman, USA.)

3.2.5.5 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า ใยหยาบ และคาร์โบไฮเดรต (AOAC, 2000)

3.2.5.6 การวิเคราะห์ปริมาณ GABA ดัดแปลงจาก Sarker *et al.* (1997)

3.2.5.7 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณยีสต์ รา (AOAC, 2000)

3.2.5.8 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค ด้วยวิธี 9-point hedonic scale โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 200 คน (เช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.2.2)

3.2.6 การประเมินอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาได้

ประเมินอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีการเร่ง (accelerated shelf life testing) ด้วยการปรับระดับความชื้น (Barbosa-Canovas *et al.*, 2007) ทำนายอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์โดยใช้ sorption isotherm ในสภาวะการเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 และ 80 (Al-Muhtaseb *et al.*, 2010) มีค่าวอเตอร์แอกทิวิตีเท่ากับ 0.959, 0.858, 0.738, 0.587, 0.333, 0.266, 0.168 และ 0.095 ตามลำดับ ทดสอบผู้บริโภคจำนวน 50 คน โดยการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านสี และความกรอบ ซึ่งให้ผู้ทดสอบบีบตัวอย่าง (ห้ามคมและชิม) ในสภาวะการเก็บที่ผู้ทดสอบไม่ยอมรับตัวอย่าง และวัดค่าแรงกดแตกของผลิตภัณฑ์ ทำการบันทึกความชื้นเริ่มต้น จากนั้นชั่งน้ำหนักตัวอย่าง และพลอตกราฟระหว่างน้ำหนักของตัวอย่างและระยะเวลาการเก็บรักษาของสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้นทั้ง 8 ความเข้มข้น โดยการประเมินหา sorption isotherm ของผลิตภัณฑ์ นำตัวอย่างที่เก็บไว้ในสภาวะที่มีการใช้สารละลายกรดซัลฟูริกที่มีการดูดซับความชื้นจนอิ่มตัว นำตัวอย่างที่จุดสมดุลนี้ไปหาปริมาณความชื้นในตัวอย่างที่จุดสมดุล (equilibrium moisture content: EMC) และค่าวอเตอร์แอกติวิตี จากนั้นนำมา พลอตกราฟระหว่างปริมาณความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตี และนำมาคำนวณหาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จากสูตร (Bell and Labuza, 2000) ประเมินคุณภาพโดยการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ทำการทดสอบผู้บริโภคจำนวน 50 คน ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้าน

สี และความกรอบ ซึ่งให้ผู้ทดสอบบีบตัวอย่าง (ห้ามดมและชิม) ในสภาวะการเก็บที่ผู้ทดสอบไม่ยอมรับตัวอย่าง และวัดค่าแรงกดแตกของผลิตภัณฑ์ จุดที่สิ้นสุดอายุการเก็บ คือ ค่าเฉลี่ยของคะแนนการยอมรับของผู้ทดสอบอย่างน้อยหนึ่งคุณลักษณะ มีคะแนนน้อยกว่า 5 ขึ้นอยู่กับว่าคุณลักษณะใดเกิดขึ้นก่อน

3.2.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยการนำข้อมูลที่วิเคราะห์ได้ ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Dancan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Version 11.5) และ Design Expert (Version 6.0)