

บทที่ 4

ผลการดำเนินงาน และอภิปรายผล

4.1 การศึกษาองค์ประกอบของถั่วพุ่มและถั่วแดงหลวง

4.1.1 องค์ประกอบทางเคมี

ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของถั่วพุ่มสี ดำ ขาว ลายขาวดำ แดง เปรียบเทียบกับ ถั่วแดงหลวง ซึ่งทำการวิเคราะห์แยกทั้งในส่วนที่เป็นเนื้อเมล็ด (Endosperm และ Germ) และส่วนที่ประกอบด้วยทั้งเมล็ด (Whole Seed) ในด้านปริมาณความชื้น เถ้า ไขมัน โปรตีน ปริมาณเส้นใยอาหาร และปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (แสดงในตาราง 4.1) พบว่า ในส่วนที่เป็นเนื้อเมล็ดมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นปริมาณความชื้น โดยถั่วแดงหลวงมีปริมาณความชื้นมากที่สุดคือ 11.68% แต่ไม่แตกต่างจากถั่วพุ่ม ที่มีปริมาณความชื้นในช่วง 8.85-10.58% ปริมาณเถ้ามีค่าระหว่าง 4.22-3.32% โดยในถั่วพุ่มสีลายและแดงมีปริมาณเถ้ามากที่สุด และถั่วพุ่มดำมีน้อยที่สุด ปริมาณโปรตีนมีค่ามากที่สุดในถั่วพุ่มลายและในถั่วพุ่มดำมีปริมาณน้อยที่สุด คือ 25.95 และ 17.53% ตามลำดับ ปริมาณไขมันที่พบในถั่วพุ่มแต่ละสี และถั่วแดงหลวงมีค่าไม่แตกต่างกัน ยกเว้นยกเว้นในถั่วพุ่มสีแดงมีค่าแตกต่างและมีปริมาณน้อยที่สุด คือ 0.37% แต่ในขณะที่ถั่วพุ่มสีขาวมีปริมาณมากที่สุด คือ 1.84% ปริมาณเส้นใยอาหารที่พบในถั่วสีดำมีค่ามากที่สุดและในถั่วสีขาว มีค่าน้อยสุด คือ 2.49 และ 0.07% ตามลำดับ ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในถั่วพุ่มดำ มีค่ามากที่สุด คือ 66.41% การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด (ตาราง 4.2) พบว่า ถั่วพุ่มขาวมีปริมาณมากที่สุด คือ 7.11 mg/100g แต่ในขณะที่ถั่วสีแดง มีปริมาณน้อยที่สุด 4.82 mg/100g

องค์ประกอบทางเคมีในส่วนที่ประกอบด้วยทั้งเมล็ด พบว่า ปริมาณความชื้นมีค่าไม่แตกต่างกันทั้งในถั่วพุ่ม และถั่วแดงหลวง ซึ่งมีปริมาณระหว่าง 7.80-12.39% โดยถั่วแดงหลวงมีปริมาณความชื้นมากที่สุด คือ 12.39% และในถั่วพุ่มดำมีปริมาณน้อยที่สุด 7.80% เช่นเดียวกันถั่วพุ่มดำยังมีปริมาณเถ้ามากที่สุด ขณะที่ถั่วพุ่มแดงมีน้อยที่สุด คือ 4.25 และ 3.67% ตามลำดับ ปริมาณโปรตีนที่พบมีค่าแตกต่างกันทั้งในถั่วพุ่ม และถั่วแดงหลวง โดยถั่วพุ่มลายมีค่ามากที่สุดคือ 28.25% และในถั่วพุ่มดำมีค่าน้อยสุด คือ 19.98% ปริมาณไขมัน พบว่ามีปริมาณที่แตกต่างกัน โดยในถั่วพุ่มสีขาวมีปริมาณไขมันมากที่สุด 1.88% แต่ในถั่วพุ่มแดงน้อยสุด 0.39% ปริมาณเส้นใยอาหาร พบว่าในถั่วพุ่มดำมีปริมาณมากที่สุด 3.35% และในถั่วแดงหลวงมีน้อยที่สุด 1.41% เช่นเดียวกันในถั่วพุ่มสีแดงมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตรวมมากที่สุด และในถั่วพุ่มลายขาวดำมีค่าน้อยที่สุด คือ 63.15 และ 55.30% แต่ในขณะที่ถั่วแดงหลวงมีปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดมากที่สุด 6.00 mg/100 g และ ถั่วพุ่มสีขาวมีน้อยที่สุด 3.24 mg/100g แต่ไม่แตกต่างกับถั่วพุ่มสีแดง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย ของ Giami (1992) และ Kabas et al. (2007) ที่ได้ศึกษาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีในถั่วพุ่ม โดยรายงานปริมาณเถ้าในถั่วพุ่ม 3.1% ในขณะที่มีปริมาณโปรตีน 24.8% ไขมัน 1.9% และปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 59.9% และจากรายงานการวิจัยของ Rozan et al. (2000) ที่ได้ศึกษาปริมาณกรดอะมิโนในถั่วชนิดต่างๆ ซึ่งเป็น กรดอะมิโนอิสระ หรือ Free Amino Acid พบว่าถั่วเขียวมีปริมาณกรดอะมิโน 9.59 mg/100g และ ถั่วเลนทิล มีปริมาณ 7.50 mg/100g

เมื่อพิจารณาผลการทดลองข้างต้น พบว่าเมื่อทำการแกะส่วนเปลือกออกเพื่อใช้ในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ของถั่วพุ่ม และถั่วแดงหลวง มีผลต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่พบ โดยส่งผลต่อปริมาณ ถั่ว โปรตีน ไขมัน เส้นใยอาหาร มีผลทำให้ปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่การแกะเปลือกออก ส่งผลให้ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้ในส่วนที่เป็นเนื้อเมล็ดมีปริมาณมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการแกะเปลือกออกทำให้มีส่วนเนื้อเมล็ดมากขึ้น แต่ในขณะที่การแกะเปลือกออกส่งผลให้องค์ประกอบ เช่น ถั่ว ไขมัน ลดลง เนื่องจากส่วนเปลือกซึ่งเป็นส่วนที่มีสารจำพวกโพลีแซกคาไรด์โมเลกุลใหญ่อยู่ทำให้มีปริมาณองค์ประกอบเหล่านี้ลดลง

ตาราง 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วพุ่มและถั่วแดงหลวงที่ศึกษาในส่วนเนื้อเมล็ด และบดรวมทั้งเมล็ด (โดยน้ำหนักแห้ง)

ตัวอย่าง	ความชื้น (%)	เถ้า (%)	โปรตีน (%)	ไขมัน (%)	เส้นใยอาหาร (%)	คาร์โบไฮเดรต (%)
เนื้อเมล็ด						
ถั่วพุ่มดำ	8.80 ± 0.05	3.32 ± 0.35	17.53 ± 2.36 ^b	1.40 ± 0.44 ^a	2.49±0.07 ^a	66.46
ถั่วพุ่มขาว	8.58 ± 0.08	3.71 ± 0.25	21.10 ± 3.51 ^{a,b}	1.84 ± 0.08 ^a	0.07±0.01 ^c	64.70
ลายขาวดำ	10.58 ± 0.07	4.22 ± 0.16	25.95 ± 1.69 ^a	1.30 ± 0.02 ^a	2.21±0.18 ^a	55.74
ถั่วพุ่มสีแดง	9.60 ± 0.04	4.22 ± 0.95	20.54 ± 4.96 ^{a,b}	0.37 ± 0.04 ^b	1.42±0.41 ^b	63.85
ถั่วแดงหลวง	11.68 ± 4.35	3.64 ± 0.19	20.08 ± 0.33 ^b	1.22 ± 0.44 ^a	1.33±0.01 ^b	62.05
บดรวมทั้งเมล็ด						
ถั่วพุ่มดำ	7.80 ± 0.17	4.25 ± 0.13 ^a	19.98 ± 3.28 ^b	1.48 ± 0.33 ^b	3.35±0.09 ^a	62.96
ถั่วพุ่มขาว	8.90 ± 0.38	4.03 ± 0.11 ^b	22.34 ± 4.50 ^b	1.88 ± 0.08 ^a	1.93±0.40 ^{b,c}	60.92
ลายขาวดำ	7.81 ± 0.01	4.23 ± 0.05 ^a	28.25 ± 1.23 ^a	1.34 ± 0.17 ^b	3.04±0.27 ^a	55.33
ถั่วพุ่มสีแดง	9.94 ± 0.06	3.67 ± 0.06 ^c	20.61± 2.62 ^b	0.39 ± 0.02 ^c	2.23±0.24 ^b	63.16
ถั่วแดงหลวง	12.39 ± 4.60	3.90 ± 0.12 ^b	21.83 ± 2.80 ^b	1.30 ± 0.33 ^b	1.41±0.46 ^c	59.17

รูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่มีกลุ่มอักษร (a, b, c,...) ในแนวตั้งเดียวกันของตัวอย่างแต่ละชนิด คือส่วนเนื้อเมล็ดและบดรวมทั้งเมล็ด

กำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

*ปริมาณคาร์โบไฮเดรตได้จากการคำนวณ $100 - (\% \text{ความชื้น} + \% \text{โปรตีน} + \% \text{ไขมัน} + \% \text{เถ้า} + \% \text{เส้นใยอาหาร})$

ตาราง 4.2 กรดอะมิโนทั้งหมดในส่วนเนื้อเมล็ดและบดรวมทั้งเมล็ด (โดยน้ำหนักแห้ง)

ตัวอย่าง	กรดอะมิโนทั้งหมด (mg/100g)
เนื้อเมล็ด	
ถั่วพุ่มดำ	7.00±0.90 ^a
ถั่วพุ่มขาว	7.11±0.41 ^a
ลายขาวดำ	6.63±0.92 ^a
ถั่วพุ่มสีแดง	4.82±0.41 ^b
ถั่วแดงหลวง	5.90±1.30 ^{a,b}
บดรวมทั้งเมล็ด	
ถั่วพุ่มดำ	3.60±0.54 ^{b,c}
ถั่วพุ่มขาว	3.24±0.26 ^c
ลายขาวดำ	5.65±1.04 ^b
ถั่วพุ่มสีแดง	4.39±0.18 ^c
ถั่วแดงหลวง	6.00±0.05 ^a

รูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่มีกลุ่มอักษร (a, b, c,...) ในแนวตั้งเดียวกันของตัวอย่างแต่ละชนิด คือส่วนเนื้อเมล็ด และบดรวมทั้งเมล็ด กำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.1.2 ปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ แป้งที่สามารถย่อยด้วยเอนไซม์ได้ และแป้งทั้งหมด

ผลการศึกษาปริมาณแป้งที่ทนทานต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant Starch) ปริมาณแป้งที่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ (Solubilised Starch) และปริมาณแป้งทั้งหมด (Total Starch) ในถั่วพุ่ม และถั่วแดงหลวง แสดงในตาราง 4.3 โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ระหว่างชนิดของถั่ว การแกะส่วนเปลือกออกไม่ส่งผลต่อปริมาณองค์ประกอบดังกล่าว จากการเปรียบเทียบปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ แป้งที่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ และปริมาณแป้งทั้งหมดในถั่วพุ่มและถั่วแดงหลวงทั้งในส่วนที่เป็นเนื้อเมล็ด และส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ดพบว่ามีแตกต่างกัน โดยในส่วนที่เป็นเนื้อเมล็ดมีปริมาณแป้งที่สามารถย่อยได้มากกว่า เมื่อพิจารณาในส่วนเนื้อเมล็ด พบว่า ปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในถั่วพุ่มสีแดง และถั่วแดงหลวงมีค่าใกล้เคียงกัน ($p \leq 0.05$) โดยถั่วพุ่มสีแดงมีปริมาณมากที่สุด คือ 9.32% ในขณะที่ถั่วพุ่มสีดำ ขาว และลายขาวดำ มีปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อยได้ด้วยเอนไซม์น้อยกว่าถึง 50% แต่ในทางตรงกันข้ามปริมาณแป้งที่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ และปริมาณแป้งทั้งหมดมีค่ามากที่สุดในถั่วลายขาวดำ 62.91% และ 66.02% ตามลำดับ ส่วนถั่วแดงหลวงมีปริมาณน้อยที่สุด 24.13% และ 33.10%

ในส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ด พบว่า ถั่วพุ่มและถั่วแดงหลวงมีปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) โดยถั่วพุ่มสีแดงมีปริมาณมากที่สุด คือ 10.63% ซึ่งใกล้เคียงกับถั่ว

แดงหลวง ขณะเดียวกันในถั่วพุ่มลายขาวดำมีปริมาณแป้งที่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ และปริมาณแป้งทั้งหมดมากที่สุด คือ 48.19% และ 56.37% ตามลำดับ

ปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์มีมากขึ้นในการศึกษาถั่วที่บดรวมทั้งเมล็ด ทั้งนี้ อาจเนื่องจากในส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ดมีส่วนเปลือกอยู่ซึ่งมีส่วนประกอบของโพลีแซ็กคาไรด์จำพวก เซลลูโลสซึ่งส่วนใหญ่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช ทำให้เอนไซม์ย่อยได้น้อยลงจึงมีปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อยได้มากกว่า ในขณะที่ถั่ว การแยกเอาส่วนเปลือกของเมล็ดถั่วออกทำให้เหลือแต่ส่วนเนื้อเมล็ด ทำให้มีปริมาณแป้งที่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์จำนวนมาก แต่ขณะเดียวกันยังพบอีกว่า ปริมาณแป้งทั้งหมดของถั่วแดงหลวงที่วิเคราะห์ได้มีปริมาณที่น้อยมาก ทั้งนี้เนื่องจากในขั้นตอน กระบวนการเตรียมตัวอย่างแป้งถั่ว ในการแกะส่วนเปลือกออกอาจทำให้มีส่วนของเอนโดสเปิร์มที่ติดมา ด้วย ดังนั้นในปริมาณแป้งทั้งหมดที่วิเคราะห์จึงมีปริมาณที่น้อยกว่า และใกล้เคียงกับกับงานวิจัยของ Osorio-Díaz aza et al. (2002) ที่ได้ศึกษาปริมาณแป้งที่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ในถั่วพุ่มซึ่งพบว่า มีปริมาณ 2.78-6.44%

ตาราง 4.3 ปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ แป้งที่สามารถย่อยด้วยเอนไซม์ได้ และแป้งทั้งหมด ในถั่วพุ่มและถั่วแดงหลวง (โดยน้ำหนักแห้ง)

ตัวอย่าง	แป้งที่ทนต่อการย่อยด้วย เอนไซม์ (%)	แป้งที่สามารถย่อยได้ด้วย เอนไซม์ (%)	แป้งทั้งหมด (%)
เนื้อเมล็ด			
ถั่วพุ่มดำ	4.20 ± 0.15 ^b	51.81 ± 1.50 ^b	56.01 ± 1.58 ^b
ถั่วพุ่มขาว	4.63 ± 0.23 ^b	48.67 ± 0.53 ^b	53.32 ± 0.70 ^b
ลายขาวดำ	4.11 ± 0.07 ^b	62.91 ± 9.07 ^a	66.02 ± 8.07 ^a
ถั่วพุ่มสีแดง	9.32 ± 0.20 ^a	54.04 ± 2.83 ^b	63.37 ± 2.66 ^a
ถั่วแดงหลวง	8.97 ± 0.81 ^a	24.13 ± 0.22 ^c	33.10 ± 0.61 ^c
บดรวมทั้งเมล็ด			
ถั่วพุ่มดำ	4.59 ± 0.24 ^d	44.28 ± 0.47 ^{a,b}	48.87 ± 0.34 ^b
ถั่วพุ่มขาว	7.84 ± 0.10 ^c	41.73 ± 0.71 ^b	49.58 ± 0.80 ^b
ลายขาวดำ	8.18 ± 0.13 ^c	48.19 ± 5.67 ^a	56.37 ± 5.80 ^a
ถั่วพุ่มสีแดง	10.63 ± 0.11 ^a	29.52 ± 0.10 ^c	40.15 ± 0.13 ^c
ถั่วแดงหลวง	9.54 ± 0.62 ^b	24.54 ± 0.48 ^d	34.10 ± 1.06 ^d

รูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่มีกลุ่มอักษร (a, b, c,...) ในแนวตั้งเดียวกันของตัวอย่างแต่ละชนิด คือส่วนเนื้อเมล็ดและบดรวมทั้งเมล็ด กำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกัน

ทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

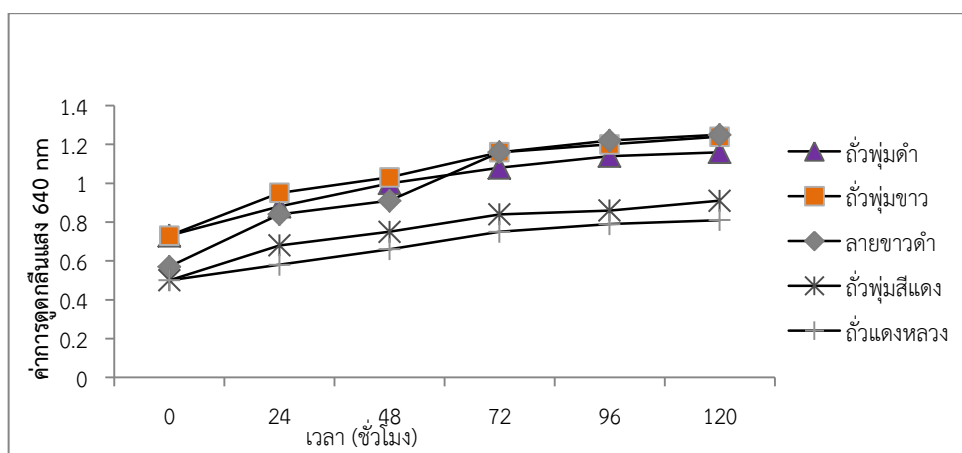
* ปริมาณแป้งทั้งหมดได้จากการคำนวณผลรวมระหว่างปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ และ แป้งที่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์

4.2 คุณสมบัติเชิงหน้าที่

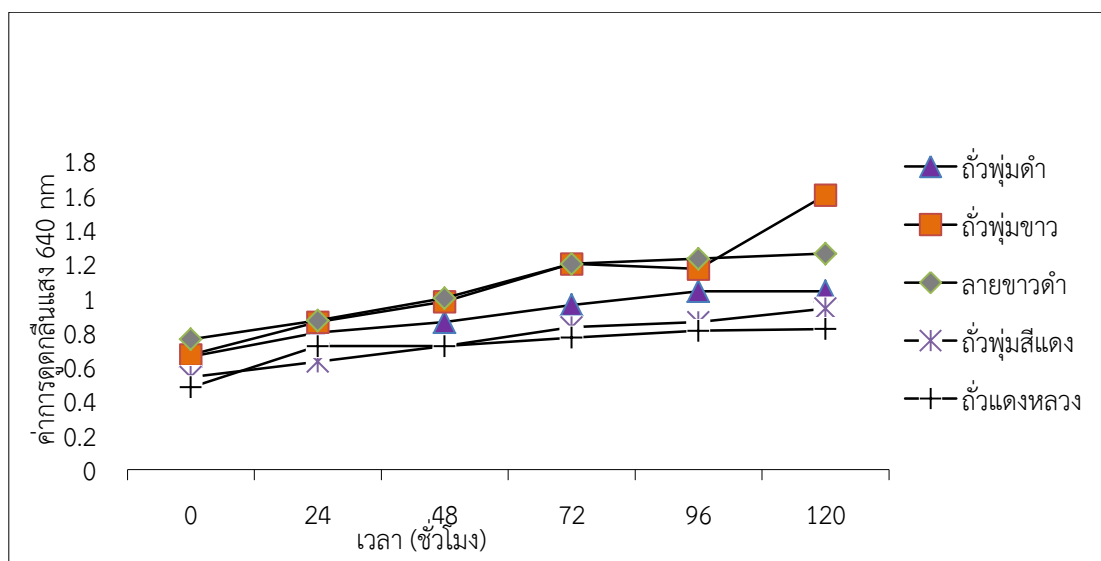
4.2.1 ความชุ่มชื้นของแป้งข

การศึกษาความชุ่มชื้นของสารละลายแป้ง เป็นการศึกษากการเกิดลักษณะการคืนตัวของแป้งสุก (Retrogradation) เป็นลักษณะที่เกิดขึ้นเมื่อน้ำแป้งสุกซึ่งร้อนมีอุณหภูมิลดต่ำลง ขณะที่อุณหภูมิลดลงนั้น โมเลกุลอิสระของอะไมโลสซึ่งอยู่ใกล้กันจะเคลื่อนที่เข้ามาใกล้กันและจับตัวกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้เกิดสภาพการจัดเรียงตัวของโมเลกุลขึ้นใหม่ โดยทำการศึกษาในสารละลายแป้ง ถั่วพุ่มและถั่วแดงหลวงที่ได้จากส่วนเนื้อเมล็ดและส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ดที่ผ่านการให้ความร้อน 90 องศาเซลเซียส และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นรินสารละลายมาทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 640 nm โดยทำการศึกษาในช่วงเวลาที่ 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ดังภาพ 4.1 และ 4.2 พบว่า แป้งถั่วพุ่มทุกสี และถั่วแดงหลวงมีค่าความชุ่มชื้นที่แตกต่างกัน และความชุ่มชื้นมีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อจำนวนชั่วโมงที่ศึกษามากขึ้น

จากผลการศึกษาข้างต้นพบว่าความชุ่มชื้นของสารละลายแป้งมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเวลาที่ 0-72 หลังจากนั้นในช่วงเวลาที่ 72 -120 ค่าความชุ่มชื้นมีค่าเพิ่มขึ้นช้ามาก และยังคงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Adebooye and Singh (2007) ที่ได้ศึกษาลักษณะความชุ่มชื้นของสารละลายแป้งถั่วพุ่มสายพันธุ์ C-152 ซึ่งเป็นเมล็ดที่มีสีขาวเมล็ดใหญ่ และพันธุ์ S-1552 ลักษณะเมล็ดสีขาวลายจุดดำ ในประเทศอินเดีย พบว่า ความชุ่มชื้นเพิ่มมากขึ้นในช่วงเวลาที่ 0 จนถึง 72 จากนั้นค่าความชุ่มชื้นเริ่มคงตัวและเริ่มลดลงในช่วงเวลาที่ 120 โดยลักษณะดังกล่าวเรียกว่า การคืนตัวของแป้งสุก (Retrogradation) เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเมื่อน้ำแป้งสุกซึ่งร้อนมีอุณหภูมิลดต่ำลง ขณะที่อุณหภูมิลดลง โมเลกุลอิสระของอะไมโลสซึ่งอยู่ใกล้กันจะเคลื่อนที่เข้ามาใกล้กันและจับตัวกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้เกิดสภาพการจัดเรียงตัวของโมเลกุลขึ้นใหม่ โดยเปลี่ยนจากลักษณะที่มีการกระจายตัวของโมเลกุลมาเป็นส่วนที่เป็น crystalline การจัดเรียงตัวของโมเลกุลเหล่านี้จะทำให้เกิดลักษณะตะกอนขุ่นขาว และจากรายงานการวิจัยของ Collison (1968) ที่ได้ศึกษาการคืนตัวของแป้งสุกวัดได้จากค่าความชุ่มชื้นของสารละลายแป้งที่ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสง เมื่อสารละลายแป้งมีความเข้มข้นสูง และทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิต่ำ



ภาพประกอบ 4.1 ค่าความชุ่มชื้นที่ความยาวคลื่น 640 nm ของสารละลายแป้งถั่วพุ่ม และถั่วแดงหลวง จากส่วนเนื้อเมล็ด



ภาพประกอบ 4.2 ค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 640 nm ของสารละลายแป้งถั่วพุ่ม และถั่วแดงหลวง จากส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ด

4.2.2 ความสามารถในการละลายน้ำ กำลังการพองตัวของแป้ง และความสามารถในการจับกับน้ำ

ผลการศึกษาความสามารถในการละลายน้ำ และค่าความแข็งของเจลกำลังการพองตัวของแป้งและความสามารถในการจับกับน้ำของแป้งถั่วพุ่มและถั่วแดงหลวงทั้งในส่วนที่เป็นเนื้อเมล็ด และส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ด แสดงในตาราง 4.4

ผลการทดลองส่วนที่เป็นเนื้อเมล็ด พบว่าความสามารถในการละลายน้ำของแป้งถั่วพุ่ม และถั่วแดงหลวงมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยพบว่า ถั่วพุ่มสีขาวมีความสามารถในการละลายน้ำมากที่สุด คือ 37.26% และส่วนแป้งถั่วพุ่มดำจะมีความสามารถในการละลายน้ำน้อยที่สุด คือ 30.60% ในขณะที่ค่ากำลังการพองตัวของแป้งมีค่าไม่แตกต่างกัน ยกเว้นในถั่วพุ่มสีแดงมีค่าแตกต่างจากถั่วชนิดอื่นๆ ($p \leq 0.05$) โดยพบว่าถั่วพุ่มสีแดงมีกำลังการพองตัวของแป้งมากที่สุดคือ 9.96 g/g ความสามารถในการจับกับน้ำของแป้ง พบว่า ในถั่วพุ่มสีดำ ขาว และลายขาวดำมีค่าใกล้เคียงกัน แต่มีความแตกต่างระหว่างถั่วพุ่มสีแดงและถั่วแดงหลวง โดยพบว่าถั่วพุ่มลายมีความสามารถในการจับกับน้ำมากที่สุด และในถั่วแดงหลวงมีน้อยที่สุด คือ 56.70 และ 43.10% ตามลำดับ และพบว่าค่าความแข็งของเจลที่ได้จากถั่วพุ่ม และถั่วแดงหลวงมีค่าแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) โดยพบว่า เจลที่ได้จากแป้งถั่วพุ่มดำมีค่าความแข็งมากที่สุด คือ 2.57 N/cm^2 ส่วนเจลที่ได้จากถั่วพุ่มสีขาวมีลักษณะอ่อนที่สุด มีค่า 0.17 N/cm^2

ตาราง 4.4 ความสามารถในการละลายน้ำ กำลังการพองตัวของแป้ง ความสามารถในการจับกับน้ำ และค่าความแข็งของเจลของแป้งถั่วพุ่มและถั่วแดงหลวงทั้งในส่วนที่เป็นเนื้อเมล็ด และส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ด (โดยน้ำหนักแห้ง)

ตัวอย่าง	ความสามารถในการละลายน้ำ (%)	กำลังการพองตัว (g/g)	ความสามารถในการจับกับน้ำ (%)	ความแข็งของเจล (N/cm ²)
เนื้อเมล็ด				
ถั่วพุ่มดำ	30.60±5.83 ^c	7.95±0.96 ^b	54.58 ± 5.65 ^a	2.57±0.38 ^a
ถั่วพุ่มขาว	37.26±0.10 ^a	7.14±0.50 ^b	55.90 ± 4.56 ^a	0.17±0.02 ^d
ลายขาวดำ	35.30±0.05 ^{a,b}	7.47±0.34 ^b	56.70 ± 3.21 ^a	0.44±0.04 ^{c,d}
ถั่วพุ่มสีแดง	34.36±0.40 ^{a,b}	9.96±0.02 ^a	47.84 ± 0.95 ^b	1.90±0.20 ^b
ถั่วแดงหลวง	32.55±0.35 ^{a,b}	7.43±0.03 ^b	43.10 ± 0.96 ^b	0.64±0.08 ^c
บดรวมทั้งเมล็ด				
ถั่วพุ่มดำ	25.94±3.77 ^b	6.30±0.45 ^c	49.05 ± 5.17	7.76±0.42 ^a
ถั่วพุ่มขาว	30.47±0.36 ^a	6.12±0.13 ^c	50.58 ± 9.48	1.60±0.22 ^{d,c}
ลายขาวดำ	29.60±0.54 ^a	6.87±0.31 ^b	50.84 ± 2.37	1.44±0.04 ^c
ถั่วพุ่มสีแดง	29.56±0.13 ^a	9.08±0.23 ^a	44.31 ± 6.57	4.41±0.82 ^b
ถั่วแดงหลวง	23.32±0.31 ^b	6.30±0.18 ^c	42.55 ± 2.73	2.67±1.33 ^c

รูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่มีกลุ่มอักษร (a, b, c,...) ในแนวตั้งเดียวกันของตัวอย่างแต่ละชนิด คือส่วนเนื้อเมล็ดและบดรวมทั้งเมล็ด กำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ความสามารถในการละลายน้ำของแป้งถั่วพุ่มและถั่วแดงหลวง เมื่อพิจารณาในส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ด พบว่า ถั่วพุ่มสีขาว ลายขาวดำ และแดงมีค่าใกล้เคียงกันและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กับถั่วพุ่มสีดำและถั่วแดงหลวงที่มีค่าใกล้เคียงกัน โดยพบว่าแป้งถั่วพุ่มขาวมีความสามารถในการละลายน้ำมากที่สุด คือ 30.47% ถั่วแดงหลวงมีความสามารถน้อยที่สุด คือ 23.32% ส่วนกำลังการพองตัวของแป้งนั้น พบว่าแป้งถั่วพุ่มแดงมีค่ามากที่สุด ในขณะที่แป้งถั่วพุ่มขาวมีค่าน้อยสุด คือ 9.08 g/g และ 6.12 g/g ตามลำดับ ความสามารถในการจับกับน้ำของแป้งถั่วพุ่ม และถั่วแดงหลวงมีค่าไม่ต่างกัน โดยพบว่าถั่วพุ่มสีแดงมีความสามารถในการจับกับน้ำมากที่สุด และในถั่วแดงหลวงมีค่าน้อยที่สุด คือ 50.84 และ 42.55% ตามลำดับ ลักษณะเจลที่ได้จากแป้งถั่วพุ่มและถั่วแดงหลวงมีค่าแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) โดยพบว่า เจลที่ได้จากถั่วพุ่มสีดำมีค่าความแข็งมากที่สุด 7.76 N/cm² ส่วนในถั่วพุ่มลายขาวดำมีค่าน้อยที่สุด คือ 1.44 N/cm²

จากผลการทดลองข้างต้นเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการละลายน้ำและกำลังการพองความสามารถในการจับกับน้ำของแป้ง และค่าความแข็งของเจลที่ได้จากส่วนที่เป็นเนื้อเมล็ดและส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ด พบว่าแป้งส่วนที่เป็นเนื้อเมล็ดมีความสามารถในการละลายน้ำมากกว่า ส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ด เนื่องจากส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ดนั้นมีทั้งส่วนของเปลือกผสมอยู่กับส่วนที่เป็นแป้ง เมื่อเติมน้ำเข้าไปส่วนของเปลือกที่มีความแข็งแรงกว่าส่วนที่เป็นเม็ดแป้ง และเป็นส่วนที่มีสารประกอบพวก โพลีแซ็กคาไรด์โมเลกุลใหญ่จำพวกเซลลูโลสอยู่ด้วย จะเป็นตัวกีดขวางโมเลกุลของเม็ดแป้ง ทำให้จับกับน้ำได้น้อย และมีผลทำให้ความสามารถในการละลายน้ำลดลง นอกจากนี้เมื่อเม็ดแป้งมีความสามารถในการจับกับน้ำได้น้อยลง จะมีผลทำให้ส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ดมีกำลังการพองตัวของเม็ดแป้งต่ำ

ทั้งนี้ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Adebooye and Singh (2007) ที่ได้ศึกษาความสามารถในการละลายน้ำ ค่ากำลังการพองตัวของแป้ง และความสามารถในการจับกับน้ำของแป้ง ถั่วพุ่มสายพันธุ์ C-152 ซึ่งเป็นเมล็ดที่มีสีขาวเมล็ดใหญ่ และพันธุ์ S-1552 ลักษณะเมล็ดสีขาวลายจุดดำในประเทศอินเดีย พบว่า สายพันธุ์ C-152 ส่วนบดรวมทั้งเมล็ดมีความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 41.2% ค่ากำลังการพองตัวของแป้ง เท่ากับ 11.0 g/g และความสามารถในการจับกับน้ำเท่ากับ 86% ส่วนเนื้อเมล็ดมีความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 46.1% ค่ากำลังการพองตัวของแป้ง เท่ากับ 8.4 g/g และความสามารถในการจับกับน้ำเท่ากับ 70% ส่วนสายพันธุ์ S-1552 ส่วนเนื้อเมล็ดมีความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 42.1% ค่ากำลังการพองตัวของแป้ง 8.0 g/g ส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ดมีความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 39.8% ค่ากำลังการพองตัวของแป้ง 11.2 g/g

นอกจากนี้ยังใกล้เคียงกับรายงานวิจัยของ Abu et al. (2004) ที่ได้ศึกษากำลังการพองตัว และค่าความแข็งของเจลที่ได้จากแป้งถั่วพุ่มสายพันธุ์ Bechuana White Variety พบว่ามีค่ากำลังการพองตัวของแป้งเท่ากับ 9.39 g/g และมีค่าความแข็งของเจลเท่ากับ 4.70 N/cm^2 และรายงานการวิจัยของ Leach et al. (1959) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างกำลังการพองตัว และความสามารถในการละลายของแป้งมันฝรั่ง แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวฟ่าง และแป้งไมโล พบว่า เมื่อมีความสามารถในการละลายมากขึ้น ส่งผลให้กำลังการพองตัวของเม็ดแป้งมากขึ้น เช่นเดียวกัน และพบว่าแป้งถั่ว (Wrinkled Pea) ค่ากำลังการพองตัวของแป้ง อยู่ที่ 6 g/g และค่าความสามารถในการละลายน้ำ 19%

4.3 การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของถั่วพุ่มและถั่วแดงหลวง

4.3.1 คุณสมบัติด้านความหนืด

การศึกษาคูณสมบัติความหนืดขณะร้อนของแป้งจากถั่วพุ่มและถั่วแดงหลวง โดยศึกษาทั้งในส่วนที่เป็นเนื้อเมล็ดและส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ด ทำได้โดยใช้เครื่อง Rapid Visco Analyzer มีการบันทึกค่าต่างๆ ดังต่อไปนี้ อุณหภูมิที่ทำให้เม็ดแป้งพองตัว (Pasting Temperature; °C) ความหนืดเมื่อเม็ดแป้งพองตัวสูงสุด (Peak Viscosity; RVU) ความหนืดเมื่อแป้งเย็นตัว (Final Viscosity; RVU) ความหนืดเมื่อแป้งยุบตัว (Breakdown; RVU) ความหนืดเมื่อแป้งคืนตัว (Setback; RVU) และความหนืดเมื่อแป้งคงตัว (Trough; RVU) ดังแสดงในตาราง 4.3 โดยภาพรวมการ αποκเปลือกของถั่วชนิดต่างๆ ออกมีผลต่อคุณสมบัติด้านความหนืดของแป้งที่ได้ ผลการศึกษาในส่วนที่เป็นเนื้อเมล็ด พบว่าค่าความหนืดเมื่อเม็ดแป้งพองตัวสูงสุดของถั่วพุ่มและถั่วแดงหลวงมีค่าแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) โดยพบว่าถั่วพุ่มลายขาวดำมีค่าความหนืดเมื่อเม็ดแป้งพองตัวสูงสุด รวมทั้งมีค่าความหนืดเมื่อเม็ดแป้งเย็นตัว และความหนืด

เมื่อแป้งคั้นตัวมากที่สุด คือ และ 74.00, 129.86 และ 57.05 RVU ตามลำดับ ขณะที่พบว่าถ้าละลายมีค่าความหนืดเมื่อแป้งคั้นตัวมากที่สุดคือ 74.10 RVU ค่าความหนืดเมื่อแป้งยุบตัวของแป้งข้าวพุ่มและข้าวแดงหลวงมีค่าไม่แตกต่างกัน โดยข้าวแดงหลวงมีค่าความหนืดเมื่อแป้งยุบตัวมากที่สุดคือ 2.50 RVU และอุณหภูมิที่ทำให้เม็ดแป้งพองตัวสูงสุดของข้าวแต่ละชนิด พบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยข้าวแดงหลวงจะมีค่าสูงสุด คือ 83.30 องศาเซลเซียส

เมื่อพิจารณาในส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ด พบว่า ค่าความหนืดเมื่อเม็ดแป้งพองตัวสูงสุดในข้าวแต่ละชนิดมีค่าไม่แตกต่างกัน ยกเว้นข้าวแดงหลวง โดยพบว่าในข้าวพุ่มขาวมีค่าความหนืดเมื่อเม็ดแป้งพองตัวสูงสุด และความหนืดเมื่อแป้งคั้นตัวมากที่สุด คือ 69.30 และ 66.90 RVU ตามลำดับ ขณะที่ข้าวดำมีค่าความหนืดเมื่อแป้งยุบตัว และอุณหภูมิที่ทำให้เม็ดแป้งพองตัวสูงสุด คือ 5.63 RVU และ 85.61 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ในขณะที่ค่าความหนืดเมื่อแป้งเย็นตัวมีค่ามากที่สุดในข้าวพุ่มสีแดง 97.16 RVU และค่าความหนืดเมื่อแป้งคั้นตัวมีค่ามากที่สุดในข้าวแดงหลวง 35.52 RVU จากผลการศึกษาที่ได้นั้นพบว่าคุณสมบัติความหนืดของแป้งข้าวพุ่มสีต่างๆ และข้าวแดงหลวงขึ้นอยู่กับลักษณะโครงสร้างของเม็ดแป้ง เม็ดแป้งเมื่อเติมน้ำและได้รับความร้อนจะดูดซึมน้ำและพองตัวขยายใหญ่ขึ้นและเมื่อให้ความร้อนจนถึงระดับหนึ่งจะพองตัวได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ค่าความหนืดเพิ่มขึ้นเร็วมากค่าอุณหภูมิที่ความหนืดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วนี้เรียกว่า Pasting Temperature ความหนืดจะเพิ่มขึ้นจนถึงความหนืดสูงสุด (Peak Viscosity) เวลาที่เกิด Peak ของความหนืด มีหน่วยเป็นนาทิจากนั้นความหนืดของแป้งทุกชนิดมีค่าลดลง (Breakdown) เมื่อลดอุณหภูมิลง โมเลกุลอิสระที่กระจายตัวออกมา (โดยเฉพาะส่วนของอะไมโลส) ถ้ามีขนาดโมเลกุลที่เหมาะสมคือ ไม่สั้นและยาวเกินไปก็จะสามารถเคลื่อนที่เข้ามาจับกัน และกักน้ำไว้ได้ทำให้ความหนืดของแป้งข้าวพุ่ม และข้าวแดงหลวงมีค่าสูงขึ้นอีก ความหนืดที่กลับสูงขึ้นนี้อีกนี้เรียกว่า Setback และปรากฏการณ์นี้ก็คือการคืนตัวของแป้ง (Retrogradation) ปัจจัยที่มีผลต่อความหนืดได้แก่ ชนิดของแป้ง ขนาดอนุภาค สัดส่วนของอะไมโลสต่ออะไมโลเพคติน อุณหภูมิ shear rate แต่ที่มีผลมากที่สุดได้แก่ ชนิดของแป้งที่นำมาศึกษา จากนั้นความหนืดของแป้งข้าวพุ่มทุกชนิดมีค่าความหนืดสุดท้ายเมื่อแป้งเย็นตัว (Final Viscosity) เพิ่มขึ้น จากรายงานผลการวิจัยของ Adebooye and Singh. (2007) ที่ได้ศึกษาคุณสมบัติทางด้านความหนืดและคุณสมบัติที่เป็น Pasting Profile ของแป้งข้าวพุ่ม ทั้งสองสายพันธุ์คือสายพันธุ์ C-152 ซึ่งเป็นเมล็ดที่มีสีขาวเมล็ดใหญ่ และพันธุ์ S-1552 ลักษณะเมล็ดสีขาวลายจุดดำ ในประเทศอินเดีย พบว่าค่าความหนืดสูงสุด Peak Viscosity ของแป้งทั้งสองสายพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยที่สตาร์ชสายพันธุ์ C-152 มีค่าความหนืดสูงสุดที่ต่ำกว่าสายพันธุ์ S-1552 ค่าความร้อนเมื่อเกิดความหนืด Hot Paste Viscosity (HPV) ของแป้งทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า flour ในสายพันธุ์ C-152 จะมีค่าสูงถึง 120 BU เมื่อเทียบกับ Flour สายพันธุ์ S-1552 และขณะที่ค่า HPV ของ Starch สายพันธุ์ S-1552 มีค่าสูงถึง 170 BU ซึ่งมากกว่าสายพันธุ์ C-152

สำหรับรายงานวิจัยของ Schoch and Maywald. (1968) พบว่า ค่า HPV นั้นเปลี่ยนแปลงไปตามรูปร่างของลักษณะเม็ดแป้งของแป้ง และขนาดของเม็ดแป้งแต่ละสายพันธุ์ หรือเกี่ยวข้องกับ Crystallinity ที่อยู่ภายในเม็ดแป้ง หรือแม้กระทั่งสิ่งเจือปนอื่นๆ เช่น โปรตีน ไขมัน ที่อยู่ในเม็ดแป้งเช่นเดียวกัน โดยค่าการแตกตัวของเม็ดแป้ง (Break Down Viscosity; BD) ของสตาร์ชทั้งสองสายพันธุ์มีความแตกต่างกันโดยอยู่ในช่วง 100–120 BU และ 260–380 BU จากรายงานการวิจัยของ Agunbiade and Longe. (1999) พบว่าค่า HPV ขึ้นอยู่กับลักษณะของเม็ดแป้ง โดยค่าความ

หนืดเมื่อคืนตัวของแป้ง (Setback Viscosity; SB) ในสตาρχทั้งสองสายพันธุ์มีค่าอยู่ในช่วง 1620 ถึง 1680 BU การคืนตัวกลับทั้งหมด (Total Set Back; SBt) ซึ่งเป็นการวัดการเกิดรีโทรเกรเดชันของโมเลกุลของเม็ดแป้ง พบว่าแป้งทั้งสองสายพันธุ์ มีค่า SBt ที่แตกต่างกัน โดยค่า SBt ของ Flour สายพันธุ์ C-152 มีค่ามากกว่า สายพันธุ์ S-1552 คุณสมบัติในการเกิดรีโทรเกรเดชัน เป็นการเกิดเจลโดยตรงของแป้ง โดยขึ้นอยู่กับโครงสร้างของเม็ดแป้ง ลักษณะการจัดเรียงตัวในชั้นของส่วนที่เป็นอสัณฐาน (Amorphous) และส่วนที่เป็นของแข็ง (Crystalline)

และจากรายงานผลการวิจัยของ Collison R. (1968) ที่ได้ศึกษาพฤติกรรมความหนืดของแป้ง พบว่า โมเลกุลอะไมโลส และอะไมโลเพคตินในส่วนที่เป็น Crystallite เมื่อเติมน้ำจะทำให้เม็ดแป้งดูดน้ำ และเมื่อให้ความร้อนมีผลทำให้การจับยึดกันระหว่างโมเลกุลของแป้งในส่วน Crystalline ลดลง และยังพบอีกว่าปริมาณโปรตีนและไขมันมีผลต่อคุณสมบัติความหนืดของแป้งแต่ละชนิดอีกด้วย

ตาราง 4.5 คุณสมบัติด้านความหนืดของแป้งข้าวพุ่มและข้าวแดงหลวง ที่ได้จากส่วนเนื้อเมล็ดและส่วนที่บดรวมทั้งเมล็ด (โดยน้ำหนักแห้ง)

ตัวอย่าง	Peak viscosity (RVU)	Trough viscosity (RVU)	Breakdown viscosity (RVU)	Final viscosity (RVU)	Setback (RVU)	Peak time (min)	Pasting temperature (°C)
เนื้อเมล็ด							
ข้าวพุ่มดำ	74.00 ± 2.66 ^a	72.75 ± 2.86 ^a	1.22 ± 0.26	129.86 ± 0.58 ^a	57.05 ± 3.01 ^a	7.00 ± 0.00	79.95 ± 1.42 ^b
ข้าวพุ่มขาว	60.78 ± 6.13 ^b	59.25 ± 5.37 ^b	1.52 ± 0.86	94.36 ± 1.63 ^d	35.11 ± 10.96 ^b	6.97 ± 0.04	79.40 ± 0.47 ^b
ลายขาวดำ	77.16 ± 6.42 ^a	74.10 ± 4.83 ^a	2.20 ± 1.56	103.92 ± 0.36 ^{b,c}	28.91 ± 1.46 ^{b,c}	6.42 ± 0.65	82.38 ± 0.05 ^a
ข้าวพุ่มสีแดง	65.24 ± 1.80 ^b	63.78 ± 1.63 ^b	1.47 ± 0.17	119.22 ± 0.91 ^{a,b}	55.44 ± 7.51 ^a	6.86 ± 0.13	77.80 ± 0.47 ^c
ข้าวแดงหลวง	48.56 ± 0.11 ^c	46.06 ± 0.13 ^c	2.50 ± 0.21	69.38 ± 0.39 ^e	23.11 ± 0.72 ^c	6.97 ± 0.03	83.30 ± 0.10 ^a
บดรวมทั้งเมล็ด							
ข้าวพุ่มดำ	61.20 ± 5.43 ^a	57.72 ± 6.13 ^{a,b}	3.47 ± 0.84 ^{a,b}	84.90 ± 0.96 ^{a,b,c}	27.16 ± 3.60 ^a	4.77 ± 0.16 ^c	80.76 ± 0.02 ^b
ข้าวพุ่มขาว	69.30 ± 3.30 ^a	66.90 ± 3.50 ^a	2.41 ± 0.30 ^{a,b}	95.50 ± 0.21 ^{a,b}	28.61 ± 1.70 ^a	6.77 ± 0.20 ^a	81.83 ± 0.93 ^b
ลายขาวดำ	59.17 ± 11.0 ^a	53.52 ± 6.93 ^b	5.63 ± 4.16 ^a	67.83 ± 0.71 ^c	14.30 ± 0.21 ^b	5.71 ± 0.77 ^b	85.61 ± 1.65 ^a
ข้าวพุ่มสีแดง	63.94 ± 9.75 ^a	62.47 ± 9.25 ^{a,b}	1.47 ± 0.53 ^b	97.16 ± 1.95 ^a	34.69 ± 10.33 ^a	6.82 ± 0.04 ^a	77.80 ± 1.24 ^c
ข้าวแดงหลวง	42.38 ± 0.19 ^b	40.88 ± 0.07 ^c	1.33 ± 2.32 ^b	76.18 ± 0.04 ^{b,c}	35.52 ± 0.32 ^a	6.89 ± 0.04 ^a	75.40 ± 0.20 ^d

รูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่มีกลุ่มอักษร (a, b, c,...) ในแนวตั้งเดียวกันของตัวอย่างแต่ละชนิด คือส่วนเนื้อเมล็ดและบดรวมทั้งเมล็ด

กำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

4.3.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนของแป้งด้วยเครื่อง DSC

จากการวิเคราะห์อุณหภูมิการเกิดเจลลาทีโนเซชันของแป้งถั่วพุ่มและถั่วแดงหลวง และค่าพลังงานเอนทาลปีที่เปลี่ยนแปลงไป (ΔH_1) มีค่าแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) จากตาราง 4.6 อุณหภูมิที่เริ่มเกิดเจลลาทีโนเซชันของแป้งถั่วพุ่ม (onset temperature) มีค่ามากที่สุดในถั่วแดงหลวง โดยเริ่มที่อุณหภูมิ 84.19 องศาเซลเซียส และพบว่าในถั่วพุ่มขาวอุณหภูมิในการเกิดต่ำที่สุด คือ 51.27 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดในการเกิดเจลลาทีโนเซชัน (Peak Temperature) พบว่าในถั่วแดงหลวงมีค่ามากที่สุด คือ 85.86 องศาเซลเซียส และเช่นเดียวกันในถั่วพุ่มสีขาว ค่าอุณหภูมิสูงสุดในการเกิดเจลลาทีโนเซชันต่ำสุด 56.60 องศาเซลเซียส

ตาราง 4.6 คุณสมบัติทางความร้อนของแป้งถั่วพุ่มและถั่วแดงหลวง (โดยน้ำหนักแห้ง)

ตัวอย่าง	อุณหภูมิที่เริ่มเปลี่ยนแปลง (°C)	อุณหภูมิของการเปลี่ยนแปลงสูงสุด (°C)	พลังงานที่เปลี่ยนแปลงไป (J/g)
ถั่วพุ่มดำ	74.38±2.90 ^b	76.10±2.65 ^a	9.64±3.96 ^c
ถั่วพุ่มขาว	51.27±0.55 ^d	56.60±5.86 ^b	40.08±2.82 ^b
ถั่วพุ่มลายขาวดำ	69.00±2.72 ^c	78.18±2.59 ^a	76.84±16.63 ^a
ถั่วพุ่มแดง	75.86±0.02 ^b	77.21±0.02 ^a	71.52±5.96 ^a
ถั่วแดงหลวง	84.19±2.29 ^a	85.86±1.68 ^a	39.27±1.02 ^b

รูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่มีกลุ่มอักษร (a, b, c,...) ในแนวตั้งเดียวกันของตัวอย่างแต่ละชนิด คือส่วนเนื้อเมล็ด กำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สำหรับค่าพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลลาทีโนเซชันของแป้งมีค่ามากที่สุดในถั่วพุ่มลาย 76.84 จูล/กรัม และในถั่วพุ่มดำมีค่าต่ำสุด 9.64 จูล/กรัม ทั้งนี้เนื่องจากลักษณะโครงสร้างของแป้งถั่วแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน และปริมาณโปรตีนในเมล็ดแป้งยังมีผลต่อค่าพลังงานที่ใช้ในการทำลายโครงสร้างผลึก โดยโปรตีนจะเกาะอยู่ที่บริเวณผิวพื้นผิวของเม็ดแป้ง ทำให้แป้งมีอัตราการเกิดเจลลาทีโนเซชันที่สูงขึ้น (Galliard et al., 1987) ในส่วนการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในถั่วพุ่มแต่ละชนิด และถั่วแดงหลวงในส่วนเนื้อเมล็ด พบว่า ถั่วพุ่มลายขาวดำมีปริมาณโปรตีนมากที่สุด คือ 25.95% ซึ่งมากกว่าถั่วพุ่มสีอื่นๆ และถั่วแดงหลวง และยังพบอีกว่าส่วนประกอบอื่นๆที่อาจมีผลต่อค่าพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลลาทีโนเซชันของแป้งดังนั้น ได้แก่ ปริมาณเถ้า โดยปริมาณเถ้าที่ได้จากแป้งถั่วพุ่มนั้น สัมพันธ์กับปริมาณฟอสฟอริต (Swinkel, 1985) โดยฟอสฟอริตที่อยู่ในเมล็ดแป้ง จะอยู่ในรูปฟอสเฟตเชื่อมกับหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 และ 6 ของหน่วยกลูโคส (Lineback, 1996) แป้งถั่วพุ่มที่มีองค์ประกอบของฟอสฟอริตจึงทำให้มีประจุพื้นผิวเป็นลบ แรงผลักระหว่างประจุลบส่งผลให้เม็ดแป้งคุณสมบัติความหนืดสูงขึ้น (Galliard et al., 1987) และทำให้ค่าพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลลาทีโนเซชันสูงขึ้น ในการวิเคราะห์ปริมาณเถ้าในถั่วพุ่มแต่ละสี และถั่วแดงหลวงในส่วนเนื้อเมล็ด พบว่า ถั่วพุ่มลายขาวดำ

มีปริมาณเถ้ามากที่สุด คือ 4.22% อาจบ่งบอกว่าโครงสร้างผลึกภายในเม็ดแป้งของถั่วพุ่มลายมีความแข็งแรงมากกว่าแป้งถั่วพุ่มสีอื่นๆ จึงจำเป็นต้องใช้ค่าพลังงานในการทำลายโครงสร้างผลึก และพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลลาติไนเซชันมากกว่าถั่วพุ่มสีอื่นๆ และถั่วแดงหลวง และยังมีรายงานการวิจัยของ Visser et al. (1997) ที่พบว่า ปริมาณอะไมโลสทำให้โครงสร้างผลึกของเม็ดแป้งแข็งแรงขึ้น ดังนั้นจึงต้องใช้พลังงานที่มากขึ้นในการทำลายโครงสร้างผลึกดังกล่าว จากรายงานผลการศึกษาคณสมบัติทางด้านความหนืด และคุณสมบัติที่เป็น Pasting profile ของแป้งถั่วพุ่มสองสายพันธุ์ของ Adebooye and Singh (2007) คือสายพันธุ์ C-152 ซึ่งเป็นเมล็ดที่มีสีขาวเมล็ดใหญ่ และพันธุ์ S-1552 ลักษณะเมล็ดสีขาวลายจุดดำ ในประเทศอินเดีย โดยศึกษาในแป้งถั่วพุ่มเป็น Flour และเป็น Starch พบว่า อุณหภูมิในการเกิดเจลลาติไนเซชันของแป้งทั้งสองสายพันธุ์อยู่ในช่วง 77-78 องศาเซลเซียส ซึ่งเกิดจากการสูญเสีย Birefringence ในชั้น Semicrystalline ของเม็ดแป้ง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Agunbiade and Longe (1999) ที่พบว่าอุณหภูมิในการเกิดเจลลาติไนซ์ เซชันขึ้นอยู่กับชนิดของแป้งสายพันธุ์ ลักษณะการปลูก เป็นต้น เช่นเดียวกับรายงานวิจัย Villanueva et al. (2006) ซึ่งศึกษาอุณหภูมิในการเกิดเจลลาติไนเซชันในถั่วพุ่มเม็กซิกันพบว่า อุณหภูมิในการเกิดอยู่ในช่วง 73.5 ถึง 86.3 องศาเซลเซียส และ peak temperature เริ่มที่ 79.3 องศาเซลเซียส และสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Sandhu et al. (2004) ที่พบว่าอุณหภูมิในการเกิดเจลลาติไนเซชันขึ้นอยู่กับโครงสร้างภายในเม็ดแป้ง ที่เกิดการแตกตัว ซึ่งเป็นสาร Polysaccharide

4.4 การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

4.4.1 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับกรดแกลลิก (Gallic Acid) และสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเทียบกับสารมาตรฐานคาเทชิน ของส่วนเปลือกถั่วพุ่มสีต่างๆและถั่วแดงหลวง แสดงในตารางที่ 4.7 พบว่า ปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมดมีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) โดยพบว่าในเปลือกถั่วแดงหลวงมีปริมาณสารดังกล่าวมากที่สุดคือ 89.28 mg Gallic Acid equivalent/ mg รองลงมาคือเปลือกถั่วพุ่มสีดำ โดยมีปริมาณสาร 43.26 mg Gallic Acid equivalent/ mg และในเปลือกถั่วพุ่มสีขาวมีปริมาณที่น้อยที่สุด คือ 5.60 mg Gallic Acid equivalent/ mg ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมในเปลือกถั่วพุ่มสีต่างๆและเปลือกถั่วแดงหลวงมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยพบว่า ในเปลือกถั่วพุ่มสีดำมีปริมาณมากที่สุด คือ 524.90 mg Catichin Equivalent/mg รองลงมาได้แก่ เปลือกถั่วสีแดง โดยมีปริมาณสาร 315.71 mg Catichin Equivalent/mg และในเปลือกถั่วพุ่มสีขาวมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์น้อยที่สุด คือ 5.60 mg Catichin Equivalent/mg ทั้งนี้เนื่องจากสารฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบกลุ่มที่ให้สีและเปลือกถั่วพุ่มสีดำมีลักษณะสีเข้มที่สุด ดังนั้นจึงมีปริมาณสารที่มากที่สุด และในเปลือกถั่วพุ่มสีขาวจึงมีปริมาณสารที่น้อยที่สุด

ตาราง 4.7 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และสารฟลาโวนอยด์ที่พบในส่วนเปลือกของเมล็ดถั่วพุ่มสีต่างๆ และถั่วแดงหลวง (โดยน้ำหนักแห้ง)

ตัวอย่าง	Total Phenolic (mg gallic acid equivalent/ mg)	Total flavonoids (mg catechin equivalent/mg)
ถั่วพุ่มดำ	43.26±1.18 ^b	524.90±1.1 ^a
ถั่วพุ่มขาว	5.60±0.97 ^d	6.50±0.1 ^b
ถั่วพุ่มลายขาวดำ	9.57±0.34 ^c	264.28±0.1 ^c
ถั่วพุ่มสีแดง	10.47±0.62 ^c	315.71±6.44 ^d
ถั่วแดงหลวง	89.28±1.84 ^a	229.70±0.72 ^e

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่มีกลุ่มอักษร (a, b, c,...) ในแนวตั้งเดียวกันของตัวอย่างแต่ละชนิด คือ ในส่วนเปลือก กำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.4.2 ชนิดและปริมาณสารแอนโทไซยานิน และปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด

การศึกษาชนิดและปริมาณสารแอนโทไซยานิน ที่พบในส่วนเปลือกของเมล็ดถั่วพุ่มสีต่างๆ และในถั่วแดงหลวงโดยวิธี HPLC เทียบกับสารมาตรฐานของแอนโทไซยานิน 4 ชนิด ได้แก่ Delphinidin Chloride, Cyanidin Chloride, Pelargonidin Chloride และ Malvidin Chloride ได้ผลการทดลองดังแสดงในตาราง 4.8 พบว่า ในเปลือกถั่วพุ่มสีดำมีสารแอนโทไซยานินชนิด Delphinidin มากที่สุด คือ 64.89 mg/100g และปริมาณสารแอนโทไซยานินชนิด Cyanidin 34.396 mg/100g แต่ไม่พบ Pelargonidin และ Malvidin เป็นส่วนประกอบ ในถั่วพุ่มลายขาวดำพบปริมาณสารแอนโทไซยานินชนิด Delphinidin 63.572 mg/100g แต่ไม่พบ Cyanidin, Pelargonidin และ Malvidin ส่วนถั่วชนิดอื่นๆ ได้แก่ ถั่วพุ่มสีแดง และถั่วแดงหลวงไม่พบ สารแอนโทไซยานินชนิด Delphinidin, Cyanidin, Pelargonidin และ Malvidin แต่จากโครมาโทแกรมของ HPLC ที่ได้ พบว่า ยังมีแอนโทไซยานินชนิดอื่นเป็นส่วนประกอบอยู่ แต่ไม่สามารถบอกได้ว่าเป็นแอนโทไซยานินชนิดใด เนื่องจากไม่มีสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ แต่สำหรับเปลือกถั่วพุ่มสีขาวนั้นไม่พบว่ามีสารแอนโทไซยานินเป็นส่วนประกอบ สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เนื่องจากสารแอนโทไซยานินเป็นสารกลุ่มที่มีสีให้สีหลายเฉดสี เช่น สีฟ้า น้ำเงิน ม่วง แดงเข้ม เป็นต้น

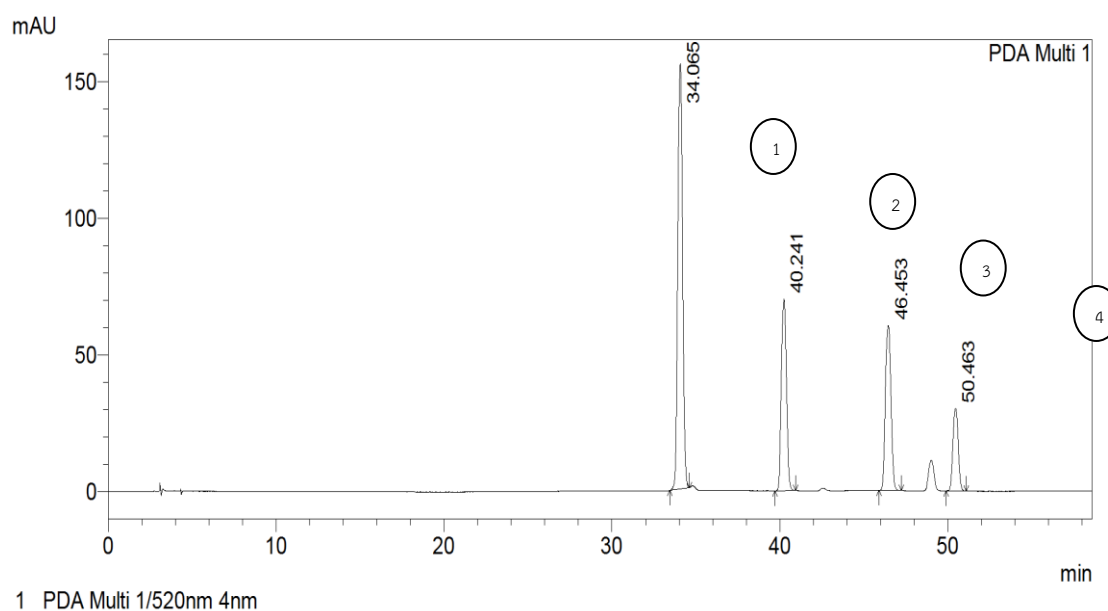
ตาราง 4.8 ชนิดและปริมาณแอนโทไซยานินในเปลือกถั่วพุ่มสีต่างๆ และถั่วแดงหลวง (โดยน้ำหนักแห้ง)

ตัวอย่างเปลือก	ปริมาณแอนโทไซยานิน (mg/100g)			
	Delphinidin	Cyanidin	Pelargonidin	Malvidin
ถั่วพุ่มดำ	64.89±2.89 ^a	34.40±1.01	ND	ND
ถั่วพุ่มขาว	ND	ND	ND	ND
ถั่วพุ่มลายขาวดำ	63.57±1.70 ^b	ND	ND	ND
ถั่วพุ่มสีแดง	ND	ND	ND	ND
ถั่วแดงหลวง	ND	ND	ND	ND

ND = ตรวจไม่พบสารดังกล่าว

รูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่มีกลุ่มอักษร (a, b, c,...) ในแนวตั้งเดียวกันของตัวอย่างแต่ละชนิด คือ ในส่วนเปลือก กำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

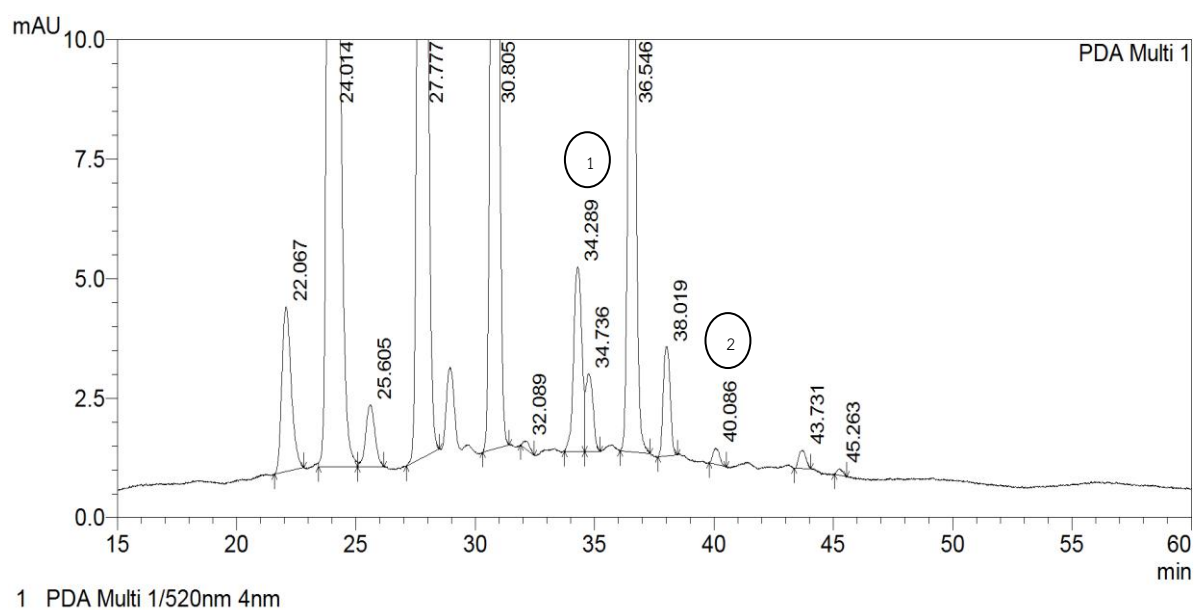
จากผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณแอนโทไซยานินที่พบในเปลือกถั่วพุ่มสีต่างๆ และถั่วแดงหลวงในการวิเคราะห์ทำให้เห็นถึงลักษณะการแยกตัวของสารแอนโทไซยานินที่เป็นส่วนประกอบ ณ ช่วงเวลาต่างๆ ดังโครมาโทแกรม ดังนี้



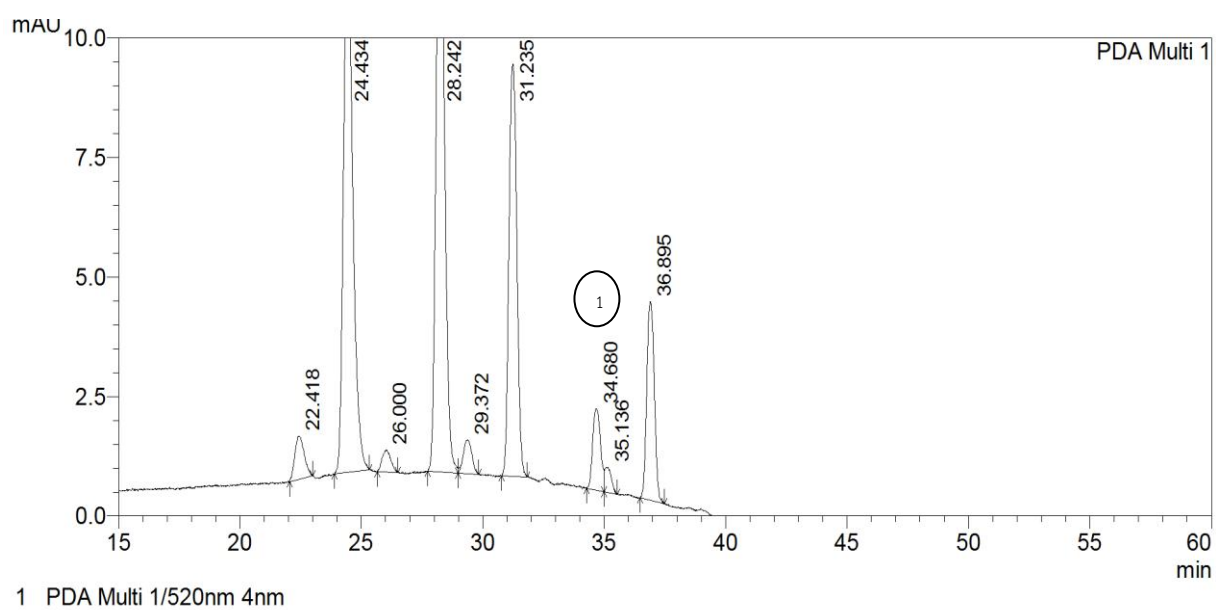
ภาพประกอบ 4.3 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแอนโทไซยานิน

หมายเหตุ* 1 = Delphinidin chloride, 2= Cyanidin chloride,
Pelargonidin chloride, 4= Malvidin chloride

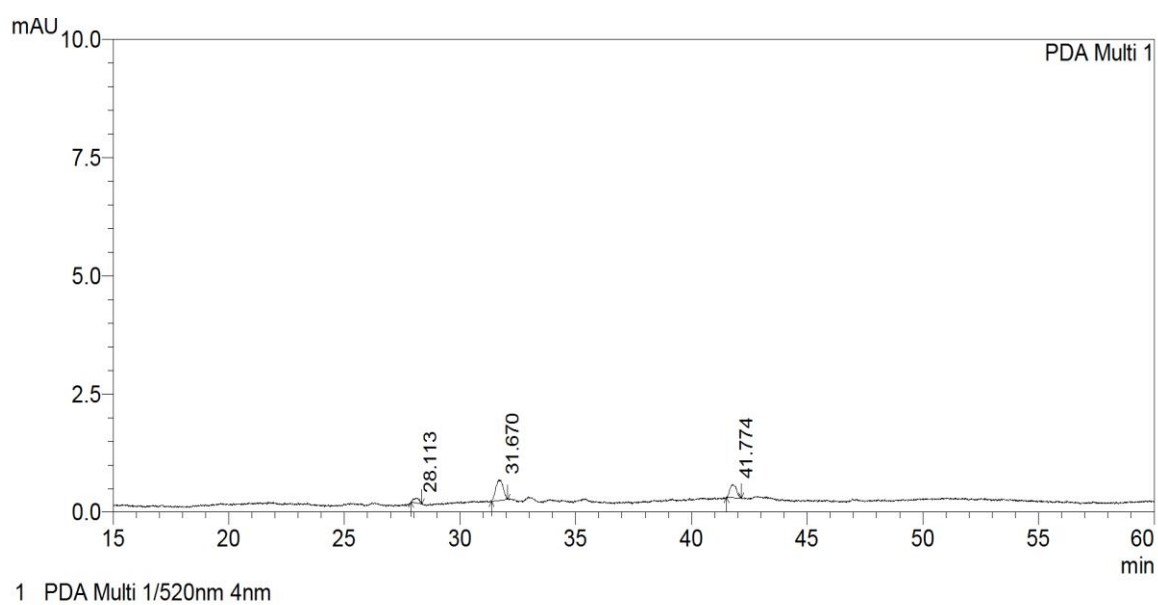
3 =



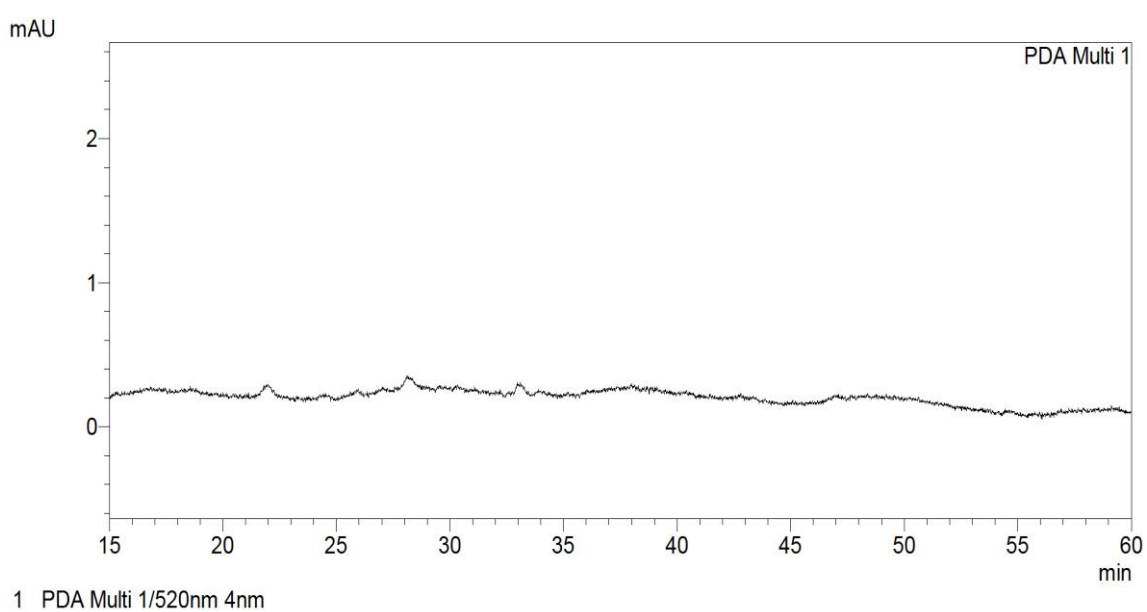
ภาพประกอบ 4.4 โครมาโทแกรมของสารแอนโทไซยานินในเปลือกถั่วพุ่มดำ



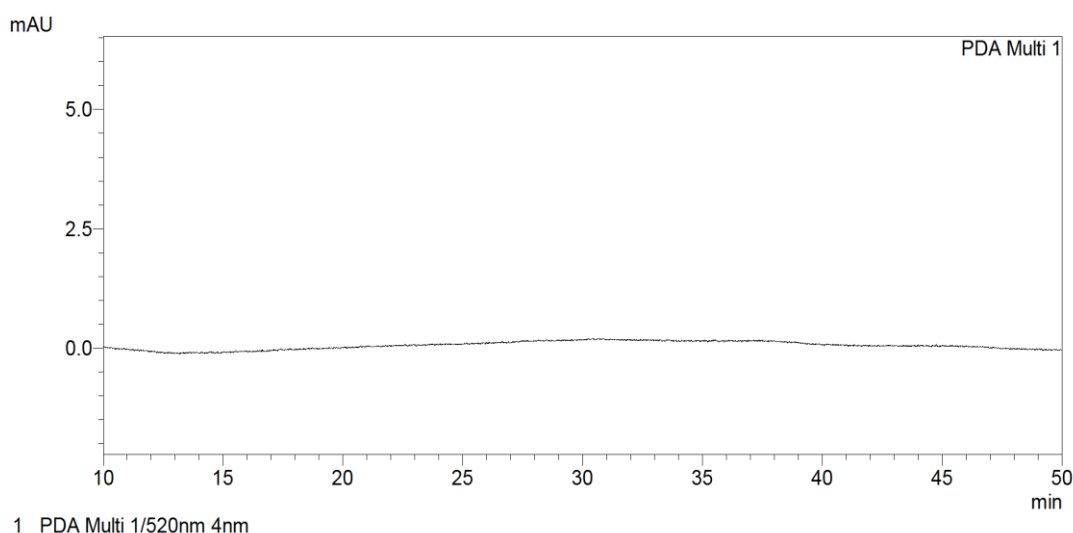
ภาพประกอบ 4.5 โครมาโทแกรมของสารแอนโทไซยานินในเปลือกถั่วพุ่มลายขาวดำ



ภาพประกอบ 4.6 โครมาโทแกรมของสารแอนโทไซยานินในเปลือกกล้วยแดงหลวง



ภาพประกอบ 4.7 โครมาโทแกรมของสารแอนโทไซยานินในเปลือกกล้วยมัสเดง



ภาพประกอบ 4.8 โครมาโทแกรมของสารแอนโทไซยานินในเปลือกกล้วยน้ำว้า

จากผลการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณแอนโทไซยานินในส่วนเปลือกกล้วยน้ำว้าแต่ละสี และกล้วยแดง หลวง โดยใช้สารมาตรฐานแอนโทไซยานิน 4 ชนิด ได้แก่ Delphinidin Chloride, Cyanidin Chloride, Pelargonidin Chloride และ Malvidin Chloride ผลการทดลอง และโครมาโทแกรมข้างต้นทำให้พบว่า ยังมีแอนโทไซยานินชนิดอื่นๆอยู่เป็นส่วนประกอบ จากงานวิจัยของ Tae Joung Ha et al. (2010) ได้ศึกษาชนิดและปริมาณ และขนาดโมเลกุลของแอนโทไซยานินในเปลือกเมล็ดกล้วยน้ำว้า พบว่าในเปลือกกล้วยน้ำว้ามีแอนโทไซยานินชนิด Delphinidin-3-O-Galactoside , Delphinidin-3-O-Glucoside , Cyanidin-3-O-Galactoside , Cyanidin-3-O-Glucoside , Petunidin-3-O-Glucoside, Peonidin-3-O-Glucoside และ Malvidin-3-O-Glucoside แต่พบว่า แอนโทไซยานินชนิด Cyanidin-3-O-glucoside มีมากที่สุด มีขนาดโมเลกุลเท่ากับ 449 [M+] (m/z) รองลงมาได้แก่ Delphinidin-3-O-glucoside มีขนาดโมเลกุล เท่ากับ 465 [M+] (m/z) และจากรายงานการวิจัยของ Mazza and Miniati (1993) ได้ศึกษาชนิดของแอนโทไซยานินที่พบในกล้วยน้ำว้าพันธุ์ต่างๆ พบว่า กล้วยน้ำว้าพันธุ์ Vigna unguiculata มีแอนโทไซยานินชนิด Cyanidin glycoside, Delphinidin glycoside และ Malvidin glycoside เป็นองค์ประกอบ และสายพันธุ์ Vigna angularis มีเพียงแอนโทไซยานินชนิด Delphinidin 3-glucoside เป็นส่วนประกอบ

ผลการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่พบในส่วนของเปลือกกล้วยน้ำว้าแต่ละสี และกล้วยแดง หลวง โดยวิธี pH Differential แสดงดังตาราง 4.9 โดยรายงานเป็นค่า Cyaniding-3-Glucoside เนื่องจากในการศึกษาโดยวิธี HPLC ทำให้ทราบว่าแอนโทไซยานินชนิดใดเป็นส่วนประกอบ แต่ยังมีแอนโทไซยานินอีกหลายชนิดที่พบในเปลือกกล้วย แต่ไม่สามารถบอกได้ว่าเป็นสารชนิดใด จึงได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ผลการศึกษาแสดงในตาราง 4.9 พบว่า ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในเปลือกกล้วยน้ำว้าแต่ละชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยพบว่าในเปลือกกล้วยน้ำว้า ที่มีลักษณะสีเข้มที่สุดมีปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุด คือ 49.20 g Cyaniding-3-Glucoside / 100g และรองลงมาพบในเปลือกกล้วยน้ำว้าลายขาวดำมีมากถึง 40.74 g Cyaniding-3-

Glucoside / 100g เปลือกถั่วแดงหลวง และเปลือกถั่วพุ่มสีแดง จะมีปริมาณ คือ 1.00 และ 0.12 g Cyaniding-3-Glucoside / 100g ตามลำดับ ในขณะที่ในเปลือกถั่วพุ่มสีขาวนั้นไม่พบสารประกอบดังกล่าว

ตาราง 4.9 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่พบในเปลือกถั่วพุ่มสีต่างๆและถั่วแดงหลวง (โดยน้ำหนักแห้ง)

ตัวอย่างเปลือกถั่วพุ่ม	Total anthocyanin (g cyaniding-3-glucoside / 100g)
ถั่วพุ่มดำ	49.20±0.90 ^a
ถั่วพุ่มขาว	ND
ถั่วพุ่มลายขาวดำ	40.74±1.36 ^b
ถั่วพุ่มสีแดง	0.12±0.02 ^c
ถั่วแดงหลวง	1.00±0.01 ^c

ND = ตรวจไม่พบสารดังกล่าว

รูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่มีกลุ่มอักษร (a, b, c,...) ในแนวตั้งเดียวกันกำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.5 การนำแบ่งถั่วพุ่มมาประยุกต์ใช้ในการเป็นส่วนผสมในคุกกี้

การนำแบ่งถั่วพุ่มมาประยุกต์ใช้ในการเป็นส่วนผสมในคุกกี้ นั้น คัดเลือกจากปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อย และความง่ายในการหาวัตถุดิบในท้องถิ่น พบว่าถั่วพุ่มสีดำเป็นถั่วพุ่มที่มีศักยภาพมากที่สุด การทดลองนี้จึงนำถั่วพุ่มดำที่บดรวมทั้งเมล็ด มาเป็นส่วนผสมทดแทนแป้งสาลีในการทำคุกกี้ โดยมีอัตราส่วนแบ่งถั่วพุ่ม ที่เติมลงไป 0, 10, 20, 30 และ 40% จากนั้นวิเคราะห์เปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมี ลักษณะทางกายภาพและลักษณะทางประสาทสัมผัสของคุกกี้แต่ละสูตรที่ได้จากแบ่งถั่วพุ่มกับคุกกี้ที่ได้จากแป้งสาลี (สูตรควบคุม) รวมมีสูตรคุกกี้ทั้งหมด 5 สูตร ดังตาราง 4.10

ตาราง 4.10 สูตรและส่วนผสมในการทำคุกกี้

ส่วนผสม	สูตรควบคุม	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4
แป้งสาลี (กรัม)	225	202.5	180	157.5	135
แป้งข้าวฟ่างดำ (กรัม)	0	22.5	45	67.5	90
มาการีน (กรัม)	64	64	64	64	64
น้ำตาล (กรัม)	130	130	130	130	130
ผงฟู (กรัม)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
เกลือ (กรัม)	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1
น้ำสะอาด (กรัม)	16	16	16	16	16

ที่มา: ดัดแปลงจาก AACC method 10-50D (AACC, 2000).

*หมายเหตุ (แป้งข้าวฟ่าง : แป้งสาลี)

สูตรควบคุม (0:100) สูตรที่ 1 (10:90) สูตรที่ 2 (20:80)

สูตรที่ 3 (30:70) สูตรที่ 4 (40:60)

4.5.1 ลักษณะคุกกี้สูตรควบคุมและสูตรที่เติมแป้งข้าวฟ่างดำทดแทน

ในการผลิตคุกกี้สูตรควบคุม และสูตรที่มีการเติมแป้งข้าวฟ่างดำทดแทนแป้งสาลี ในเบื้องต้นพบว่า การใช้แป้งข้าวฟ่างดำที่บดทั้งเมล็ดเติมลงไปคุกกี้ที่ได้มีความสุขไม่สม่ำเสมอ โดยส่วนของแป้งสาลีมีการสุกก่อน แป้งข้าวฟ่างดำ ทั้งนี้เนื่องจากแป้งข้าวฟ่างดำเป็นแป้งที่ใช้อุณหภูมิในการเกิดเจลลาที่ไนซ์ที่สูงกว่าแป้งสาลี โดยแป้งข้าวฟ่างดำ คือ 80.76 องศาเซลเซียส และแป้งสาลี (71.60 องศาเซลเซียส) ส่งผลให้คุกกี้ที่ได้มีลักษณะสุกไม่สม่ำเสมอ จึงได้ทดลองให้ความร้อนเบื้องต้น (pre heat) แก่แป้งข้าวฟ่างดำ เพื่อให้แป้งข้าวฟ่างดำสุกก่อน โดยการนำแป้งข้าวฟ่างดำมาเติมน้ำ 130 มิลลิลิตร จากนั้นให้ความร้อนโดยการต้มประมาณ 80- 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นจึงนำแป้งข้าวฟ่างดำที่ผ่านความร้อน ไว้แล้วมาเติมลงในส่วนผสมที่เหลือ เมื่อนำคุกกี้ที่ได้ไปอบ พบว่าลักษณะคุกกี้ที่ได้ มีลักษณะสุกสม่ำเสมอ แต่คุกกี้ที่ไดยังมีลักษณะแข็ง จึงได้ทำการพัฒนาสูตรโดยการเติม นม ไข่ และเพิ่มปริมาณมาการีน เพื่อให้คุกกี้มีลักษณะไม่แข็งมาก กรอบและร่วนมากขึ้น ดังแสดงในตาราง 4.11

ตาราง 4.11 ลักษณะของคุกกี้ก่อนและหลังการดัดแปลงสูตร

สูตรคุกกี้	ภาพ	ลักษณะของคุกกี้
สูตรปกติ (แป้งถั่วพุ่มดำยังไม่ผ่าน การให้ความร้อนเบื้องต้น)		เนื้อคุกกี้มีลักษณะสุกไม่สม่ำเสมอ กัน ในส่วนของแป้งถั่วยังไม่สุกแต่ แป้งสาลีสุกก่อน เนื้อคุกกี้มีความ แข็งมาก
สูตรปกติ (แป้งถั่วพุ่มดำที่ผ่าน การให้ความร้อนเบื้องต้นแล้ว)		เนื้อคุกกี้มีลักษณะสุกสม่ำเสมอ กัน แต่ยังคงมีความแข็งมาก
สูตรปกติ (แป้งถั่วพุ่มดำที่ผ่านการให้ ความร้อนเบื้องต้นและ เพิ่มนม 10 มิลลิลิตร)		เนื้อคุกกี้มีลักษณะสุกสม่ำเสมอ กัน มีเนื้อสัมผัสที่นุ่ม คุกกี้มีสีน้ำตาล อ่อน และมีกลิ่นที่หอมขึ้น
สูตรปกติ (แป้งถั่วพุ่มดำที่ผ่านการ ให้ความร้อนเบื้องต้นเพิ่มนม 10 มิลลิลิตรและไข่ 14 กรัม)		เนื้อคุกกี้มีลักษณะสุกสม่ำเสมอ กัน มีเนื้อสัมผัสที่นุ่มมากขึ้น คุกกี้มีสี น้ำตาลอ่อน มีสีเข้มบริเวณขอบ และมีกลิ่นที่หอมขึ้น
สูตรปกติ (แป้งถั่วพุ่มดำที่ผ่านการให้ความร้อน เบื้องต้นเพิ่มนม 10 มิลลิลิตร ไข่ 14 กรัม และมาการีน 32 กรัม)		เนื้อคุกกี้มีลักษณะนุ่ม ร่วนมากขึ้น มีกลิ่นหอมมากขึ้น

เมื่อได้สูตรควบคุมที่เหมาะสมในการผลิตคุกกี้ จึงทำการผลิตคุกกี้โดยใช้แป้งถั่วพุ่มดำบด
รวมทั้งเมล็ด ทดแทนแป้งสาลีตามปริมาณที่กำหนดทั้งหมด 5 ระดับ สูตรและส่วนผสมดังตาราง 4.12
และลักษณะของคุกกี้แต่ละสูตรดังตาราง 4.12

ตาราง 4.12 สูตรและส่วนผสมในการทำคุกกี้ที่ดัดแปลงแล้ว

ส่วนผสม	สูตรพื้นฐาน	สูตรที่1	สูตรที่2	สูตรที่3	สูตรที่4
แป้งข้าวฟ่างดำ (กรัม)	0	22.5	45	67.5	90
แป้งสาลี (กรัม)	225	202.5	180	157.5	135
น้ำตาลทราย (กรัม)	130	130	130	130	130
ผงฟู (กรัม)	5	5	5	5	5
เกลือ (กรัม)	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1
มาการีน (กรัม)	96	96	96	96	96
น้ำสะอาด (กรัม)	130	130	130	130	130
นม (มล.)	20	20	20	20	20
ไข่ (กรัม)	28	28	28	28	28

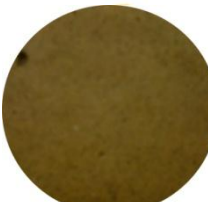
ที่มา: ดัดแปลงจาก AACC method 10-50D (AACC, 2000).

*หมายเหตุ อัตราส่วนแป้งข้าวฟ่าง : แป้งสาลี

สูตรพื้นฐาน (0:100) สูตรที่ 1 (10:90) สูตรที่ 2 (20:80)

สูตรที่ 3 (30:70) สูตรที่ 4 (40:60)

ตาราง 4.13 ลักษณะคูกี้สูตรพื้นฐาน และสูตรที่มีการเติมแป้งถั่วพุ่มทดแทนแป้งสาลี

สูตรคูกี้ (แป้งสาลี:แป้งถั่วพุ่มดำ)	ภาพ	ลักษณะ
สูตรควบคุม (100 : 0)		สีของคูกี้มีลักษณะอ่อนที่สุด และมีความกรอบ
สูตรที่ 1 (90 : 10)		สีของคูกี้มีความเข้มข้น มีกลิ่นหอมอ่อนๆ ของถั่วและมีความร่วนเพิ่มขึ้น
สูตรที่ 2 (80 : 20)		สีของคูกี้เพิ่มขึ้น มีกลิ่นของถั่วมากขึ้น มีความกรอบน้อยลงแต่มีความหยาบร่วนมากขึ้น
สูตรที่ 3 (70 : 30)		สีของคูกี้เข้มอย่างชัดเจน มีกลิ่นถั่วมากขึ้น
สูตรที่ 1 (60 : 40)		สีของคูกี้เข้มมากที่สุด และมีกลิ่นของถั่วมากที่สุด และมีความร่วนของเนื้อคูกี้มากที่สุด

4.3.2 ลักษณะทางประสาทสัมผัสของคุกกี้แต่ละสูตร

เมื่อนำคุกกี้ทั้ง 4 สูตรมาทดสอบทางประสาทสัมผัสเปรียบเทียบกับสูตรควบคุม เพื่อหาสูตรที่มีการยอมรับและดีที่สุด โดยมีการทดสอบใน 8 คุณลักษณะดังนี้ (1) ลักษณะปรากฏ (2) สี (3) กลิ่น (4) รสชาติ (5) ความกรอบ (6) ความร่วน (7) ความหยาบในปาก และ (8) การยอมรับรวม โดยแบ่งระดับความชอบคือ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 = เฉยๆ 6 = ชอบเล็กน้อย 7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากที่สุด

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคุกกี้ในแต่ละสูตร ดังแสดงในตาราง 4.14 พบว่ามีความแตกต่างกันไปตามสูตรของคุกกี้ โดยสูตรควบคุมมีคะแนนด้านลักษณะปรากฏลักษณะปรากฏด้านสี กลิ่น และ รสชาติ มากที่สุดคือ 6.86, 7.62, 7.14 และ 6.90 ตามลำดับ ในขณะที่ด้านความกรอบของคุกกี้ สูตรที่ 2 มีคะแนนการยอมรับมากที่สุด 6.85 แต่ในขณะที่สูตร 4 มีคะแนนลักษณะความชอบด้านความร่วนของคุกกี้มากที่สุด 6.42 เช่นเดียวกันในสูตรที่ 2 พบว่า มีคะแนนการยอมรับด้านลักษณะความหยาบในปากมากที่สุด คือ 6.47 และในด้านการยอมรับรวม พบว่า ในสูตรควบคุมมีคะแนนการยอมรับรวมมากที่สุด รองลงมาคือสูตรที่ 3 และ 2 คือ 7.00, 6.42 และ 6.38 ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากสูตรควบคุมเป็นสูตรปกติที่ไม่ได้มีการเติมแป้งถั่วพุ่มดำทดแทนแป้งสาลี เป็นสูตรทั่วไปที่ผู้บริโภคคุ้นเคย จึงทำให้มีคะแนนการยอมรับรวมมากที่สุด ส่วนในสูตรที่ 4 ซึ่งมีการเติมแป้งถั่วพุ่มดำมากถึง 40% จึงทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นของแป้งถั่วมากเกินไป จึงได้คะแนนความชอบโดยรวมน้อย และในสูตรที่ 1 ที่มีการเติมแป้งถั่วเพียง 10% ทำให้คุกกี้มีกลิ่นถั่วต่ำและมีความใกล้เคียงกับสูตรควบคุม ส่วนในสูตรที่ 2 และ 3 ซึ่งมีการเติมแป้งถั่วพุ่มดำ 20 และ 30% เป็นผลิตภัณฑ์คุกกี้ที่ได้คะแนนการยอมรับมากเป็นอันดับ 2 และ 3 ทั้งนี้เนื่องจากเป็นสูตรที่มีการเติมแป้งถั่วพุ่มดำ ในอัตราส่วนไม่มากหรือน้อยจนเกินไป และในขณะที่การเติมแป้งถั่วพุ่มดำลงไปทดแทนแป้งสาลีนั่น ส่งผลให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของคุกกี้มีความร่วนมากขึ้นกว่าจากสูตรควบคุม ที่ไม่มีการเติมแป้งถั่วพุ่ม ทั้งยังส่งผลต่อลักษณะสีของคุกกี้ที่ได้ พบว่าสูตรที่มีการเติมแป้งถั่วพุ่มดำในอัตราส่วนที่มากขึ้น สีของคุกกี้ก็มีสีเข้มมากขึ้นด้วย

ตาราง 4.14 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคุกกี้แต่ละสูตร

ลักษณะทางประสาทสัมผัส	สูตรคุกกี้				
	ควบคุม	1	2	3	4
	(0:100)	(10:90)	(20:80)	(30:70)	(40:60)
ลักษณะปรากฏ	6.86±1.10 ^a	6.28 ±1.14 ^a	5.14±1.76 ^c	5.62±1.65 ^{b,c}	5.85±1.65 ^{b,c}
สี	7.62±0.92 ^a	6.71±1.58 ^b	5.38±2.26 ^c	5.85±2.08 ^c	6.00±1.81 ^{b,c}
กลิ่น	7.14±1.06 ^a	6.04±1.35 ^b	5.81±1.63 ^b	6.00±1.78 ^b	4.90±2.09 ^c
รสชาติ	6.90±1.64 ^a	6.00±1.81 ^{a,b}	5.90±1.70 ^{a,b}	6.42±1.43 ^{a,b}	5.52±1.74 ^b
ความกรอบ ^{ns}	6.00±1.97	6.71±1.27	6.85±0.85	6.71±1.14	6.19±1.84
ความร่วน ^{ns}	5.85±1.76	6.20±1.24	6.38±1.43	6.67±1.27	6.42±1.53
ความหยาบในปาก ^{ns}	6.23±1.37	6.20±1.28	6.47±1.28	6.42±1.32	6.20±1.54
ความชอบโดยรวม	7.00±1.58 ^a	6.10±1.67 ^b	6.38±1.16 ^{a,b}	6.42±1.32 ^{a,b}	5.95±1.62 ^c

รูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่มีกลุ่มอักษร (a, b, c,...) ในแนวนอนเดียวกันกำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

4.3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของคุกกี้

จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคุกกี้ข้างต้น ได้เลือกคุกกี้สูตรที่มีคะแนนการยอมรับรวมมากที่สุด คือสูตรควบคุม สูตรที่ 3 และสูตรที่ 2 มาทำการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น เถ้า เส้นใยอาหาร ปริมาณโปรตีน ไขมัน ปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ ปริมาณแป้งที่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ และปริมาณแป้งทั้งหมดในคุกกี้ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.15 และ 4.16 พบว่า ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีในคุกกี้แต่ละสูตรที่พบ มีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) โดยพบว่า สูตรควบคุมมีปริมาณความชื้นมากที่สุด 2.36% และในสูตรที่ 2 มีค่าน้อยที่สุด 2.10% เช่นเดียวกันปริมาณเถ้าพบมากที่สุดในสูตรควบคุม และน้อยที่สุดในสูตรที่ 3 คือ 9.82 และ 9.80% ตามลำดับ ขณะเดียวกัน พบว่าการเติมแป้งถั่วพุ่มดำทดแทนแป้งสาลีในปริมาณที่มากขึ้น ในสูตรที่ 2 และ 3 นั้น ส่งผลต่อปริมาณโปรตีน ไขมัน และปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อย โดยมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้การผลิตสูตรที่ 3 ที่มีการเติมแป้งถั่วพุ่มดำมากที่สุด มีปริมาณเส้นใยอาหาร โปรตีน ไขมัน และปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อยมากที่สุด คือ 0.50, 3.12, 19.82 และ 0.66% ตามลำดับ ในทางตรงกันข้ามสูตรควบคุมมีปริมาณองค์ประกอบดังกล่าวที่น้อยที่สุด คือ มีปริมาณเส้นใยอาหาร โปรตีน ไขมัน และปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อย เป็น 0.17, 2.75, 19.16 และ 0.43% ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากสูตรที่ 3 มีปริมาณแป้งถั่วพุ่มดำซึ่งมีปริมาณแป้งที่ไม่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์เป็นส่วนประกอบอยู่มากที่สุด จึงส่งผลให้มีปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อยมากที่สุด

ตาราง 4.15 องค์ประกอบทางเคมีของคุกกี้แต่ละสูตร (โดยน้ำหนักแห้ง)

องค์ประกอบทางเคมี (%)	สูตร		
	ควบคุม (0:100)	2 (20:80)	3 (30:70)
ความชื้น	2.36±0.05 ^a	2.10±0.08 ^b	2.31±0.05 ^a
เถ้า	9.82±0.00 ^a	9.81±0.00 ^b	9.80±0.00 ^c
เส้นใยอาหาร	0.17±0.02 ^c	0.28±0.05 ^b	0.50±0.04 ^a
โปรตีน ^{ns}	2.75±0.30	2.90±0.22	3.12±0.13
ไขมัน	19.16±0.31 ^b	19.80±0.08 ^a	19.82±0.07 ^a

รูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่มีกลุ่มอักษร (a, b, c,...) ในแนวนอนเดียวกันกำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตาราง 4.16 ปริมาณแป้งที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ แป้งที่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ และปริมาณแป้งทั้งหมดของคุกกี้แต่ละสูตร (โดยน้ำหนักแห้ง)

องค์ประกอบทางเคมี (%)	สูตร		
	ควบคุม (0:100)	2 (20:80)	3 (30:70)
แป้งที่ทนต่อการย่อย	0.43±0.01 ^c	0.56±0.00 ^b	0.66±0.00 ^a
แป้งที่สามารถย่อยได้	87.83±0.25 ^a	74.76±1.86 ^b	71.87±0.94 ^c
ปริมาณแป้งทั้งหมด	88.26±0.25 ^a	75.33±1.86 ^b	72.54±0.95 ^c

รูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่มีกลุ่มอักษร (a, b, c,...) ในแนวนอนเดียวกันกำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.3.4 การศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในคุกกี้

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในคุกกี้ ได้แก่ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด พบว่า ปริมาณสารดังกล่าวมีปริมาณที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตาราง 4.17

ตาราง 4.17 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในคุกกี้ (โดยน้ำหนักแห้ง)

สูตร	Total Phenolic (mg gallic acid equivalent/ mg)	Total anthocyanin (g cyaniding-3-glucoside / 100g)
ควบคุม	0.010±0.00 ^c	ND
2	0.013±0.00 ^b	0.25±1.10 ^b
3	0.025±0.00 ^a	0.64±10.96 ^a

ND = ตรวจไม่พบสารดังกล่าว

รูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่มีกลุ่มอักษร (a, b, c,...) ในแนวนอนเดียวกันกำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ผลการศึกษา พบว่า ในสูตรที่ 3 ซึ่งมีการเติมแป้งถั่วพุ่มทดแทนแป้งสาลี 30% จะมีปริมาณสารฟีนอลิกมากที่สุด คือ 0.025 mg gallic acid equivalent/ mg แต่ในขณะที่สูตรพื้นฐาน ซึ่งไม่มีการเติมแป้งถั่วพุ่มทดแทน จะมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุด คือ 0.010 mg gallic acid equivalent/ mg ทั้งนี้ปริมาณสารดังกล่าวมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อมีการเติมแป้งถั่วในสูตรคุกกี้ที่เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากในแป้งถั่วพุ่มดำที่บดทั้งเมล็ด ในส่วนของเปลือกมีสารประกอบดังกล่าวอยู่ จึงทำให้ปริมาณสาร ฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นด้วย ผลการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่พบในคุกกี้ พบว่า มีปริมาณเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน โดยในสูตรที่ 3 ซึ่งเป็นสูตรที่มีปริมาณแป้งถั่วพุ่มมากที่สุด พบสารดังกล่าวมากที่สุด คือ 0.64 g cyaniding-3-glucoside / 100g และยังพบอีกว่าในสูตรพื้นฐาน ซึ่งไม่มีการเติมแป้งถั่วพุ่มลงไป จะไม่พบสารดังกล่าว ทั้งนี้เนื่องจากสารแอนโทไซยานินเป็นสารกลุ่มที่มีสีให้สีหลายเฉดสี เช่น สีฟ้า น้ำเงิน ม่วง แดงเข้ม เป็นต้น และแป้งจากถั่วพุ่มดำที่บดรวมทั้งเมล็ด ในส่วนเปลือกถั่วพุ่มดำมีลักษณะที่มีม่วงดำเข้ม จึงมีปริมาณสารดังกล่าวมากที่สุด แต่ในขณะที่สูตรพื้นฐาน ซึ่งเป็นสูตรที่ไม่มีการเติมแป้งถั่วพุ่มดำลงไปทำให้ ไม่มีรงควัตถุ (pigment) เฉดสีดังกล่าว เมื่อทำการวิเคราะห์จึงไม่พบสารแอนโทไซยานินเป็นส่วนประกอบ

4.3.4 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของคุกกี้

ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของคุกกี้แป้งถั่วพุ่มสูตร 2 และ 3 เปรียบเทียบกับสูตรควบคุม โดยการวัดขนาดความหนา ความสูง ของคุกกี้ ความแข็งของคุกกี้ (Hardness) และค่าสี (L^* , a^* และ b^*) โดยค่า L^* เป็นค่าความมืดความสว่าง ปกติมีค่าตั้งแต่ 0-100 (ค่า 0 บ่งบอกถึงความมืดและค่า 100 บ่งบอกถึงความสว่าง) ค่า a^* เป็นค่าแสงสีแดง-เขียว (ค่าสีแดงมีค่าเป็นบวก และค่าสีเขียวเมื่อค่าเป็นลบ) ส่วนค่า b^* เป็นค่าสีเหลือง-น้ำเงิน (ค่าสีเหลืองเมื่อค่าที่ได้เป็นบวก และค่าสีน้ำเงิน

เมื่อค่าเป็นลบ) แสดงในตาราง 4.18 จากผลวัดค่าสีของคุกกี้ในส่วนที่เป็นผิวหน้าของคุกกี้ พบว่า สูตรพื้นฐานมีค่าสี L^* มากที่สุด คือ 66.35 และสูตรที่ 3 มีค่าน้อยที่สุด 58.07 ส่วนในค่าสี a^* พบว่า ในสูตรที่ 3 มีค่ามากที่สุด คือ 8.32 และในสูตรควบคุมมีค่าน้อยที่สุด 7.54 ขณะที่ค่าสี b^* พบว่า คุกกี้สูตรควบคุมมีค่ามากที่สุด คือ (+22.85) และในคุกกี้สูตรที่ 3 มีค่าน้อยที่สุด 14.01 แสดงว่าคุกกี้ที่ได้มีลักษณะสีไปในทางแดง-เหลือง

ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพ ด้านความแข็ง (Hardness) ของชิ้นคุกกี้ พบว่า คุกกี้สูตรพื้นฐานมีค่า Hardness มากที่สุดคือ 5.18 kg และในขณะที่สูตรที่ 2 มีค่าน้อยที่สุด คือ 1.78 kg ในขณะที่ผลิตภัณฑ์คุกกี้แต่ละสูตรที่ได้มีน้ำหนักระหว่าง 4.04 - 4.10 กรัม และมีความสูงของชิ้นคุกกี้ระหว่าง 24.01- 24.62 มิลลิเมตร

ตาราง 4.18 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพของคุกกี้ (โดยน้ำหนักแห้ง)

สูตร	ค่าสี (color)			ความแข็ง (kg)	น้ำหนัก ^{ns} (กรัม)	ความสูง ^{ns} (มม.)
	L^*	a^*	b^*			
ควบคุม (0:100)	66.35±0.76 ^a	7.54±0.44	22.85±0.76 ^a	5.18±0.25 ^a	4.10±0.10	24.22±0.33
2 (20:80)	58.26±0.37 ^b	8.27±0.24	14.49±0.34 ^b	2.28±0.02 ^b	4.04±0.08	24.62±0.50
3 (30:70)	58.07±1.93 ^b	8.32±1.03	14.01±1.25 ^b	1.78±0.02 ^c	4.05±0.09	24.01±0.22

รูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่มีกลุ่มอักษร (a, b, c,...) ในแนวตั้งเดียวกันกำกับต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ