

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุดิบและอุปกรณ์

3.1.1 วัสดุดิบและสารเคมีที่ใช้ในการผลิตเส้นใย

- เปลือกชั้นในของผลส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่ ซึ่งจากตลาดต้นพะยอม จ.เชียงใหม่
- เอทานอล (Food grade, องค์การศุรา)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide, Merk, England)

3.1.2 สารเคมีและเอนไซม์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมี

- เอทานอล (Ethanol, Absolute, Merck, England)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, LAB-SCAN, Ireland)
- ปิโตรเลียม อีเทอร์ (Petroleum ether, LAB-SCAN A3541, Ireland)
- อะซิโตนไนด์ (Acetonitril, HPLC grade, LAB-SCAN, Ireland)
- 5-Hydroxymethly-2-furaldehyde (HPLC grade, Sigma-Aldrich, Inc, USA)
- กรดอะซิติก (Acetic acid, LAB-SCAN, Ireland)
- เมทานอล (Methanol, HPLC grade, Fisher Scientific, UK)
- แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Ammonium hydroxide, Merck, England)
- โพแทสเซียม คลอไรด์ (Potassium chloride, Merck, England)
- โซเดียม ไฮโดรเจน คาร์บอเนต (Sodium hydrogen carbonate, Fisher Scientific, UK)
- แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride, Merck, England)
- แมกนีเซียมคลอไรด์ (Magnesium chloride, Merck, England)
- กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, Merck, England)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, Merck, England)
- Pancreatin enzyme (P1750, Sigma-Aldrich, Inc, USA)

- Amyloglucosidase enzyme (10115-1G-1F, Sigma-Aldrich, Inc, USA)
- Pepsin enzyme (P6887, Sigma-Aldrich, Inc, USA)
- α -amylase enzyme (A3176-1MU, Sigma-Aldrich, Inc, USA)
- ชุดวิเคราะห์ปริมาณสตาร์ชทั้งหมด (Total starch assay kit, Megazyme, Ireland)
- น้ำกลั่น (โพลสตาร์, เชียงใหม่, ประเทศไทย)
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA , Difco, USA)
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA, Difco, USA)

3.1.3 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ลูกก๊ี้

- แป้งข้าวเจ้า ตรา นิวเกรด (บริษัท ไทยวาฟูดโปรดักส์ จำกัด (มหาชน))
- เนยสด ตรา อลาวรี (บริษัทยูไนเต็ดแคร์รี่ฟู้ดส์ จำกัด)
- น้ำตาลทราย ตราลิน (บริษัท น้ำตาลไทยรุ่งเรือง จำกัด)
- มอลติตอล ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทอูเอโนไฟน์เคมีคัลส์ อินดัสตรี (ประเทศไทย) จำกัด
- ไซลิทอล ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทรามaproducts จำกัด
- โซเดียมไบคาร์บอเนต (ผงฟู) ตรา เบสท์ฟู้ดส์ (บริษัทยูนิลีเวอร์ไทยเทรคคิง จำกัด)
- เกลือ ตราปรุ่งทิพย์ (บริษัทอุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์ จำกัด)
- นมสด ตรา นมไทย-เดนมาร์ก (องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย)
- วานิลลา ตรา Durkee (โทน บราเดอร์ส อิงค์ เมืองแอนเดนิ รัฐไอโอวา สหรัฐอเมริกา)
- เนยขาว ตรา โอลิมปีคครีม (บริษัทเกตุวานิชอุตสาหกรรม จำกัด)
- ไข่ไก่ ตรา ซีพี เบอร์ 3 (บริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน))

3.1.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตเส้นใยจากเปลือกส้มโอ

- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert, Germany)
- เครื่องร่อนกรองแบบสั่น (Sieve shakers, Retsh GmbH & Co.KG, Germany)
- ตะแกรงร่อน ขนาด 30, 50, 120, 200 mesh (Sieving mesh No.30 50 120, 200 Retsh GmbH & Co KG, Germany)

3.1.5 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ลูกกี้

- ถาดอลูมิเนียมขนาด 28 × 38 × 2.5 เซนติเมตร
- เตอบแก๊ส
- อุปกรณ์เครื่องครัว

3.1.6 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (TA-XTPlus, Stable Micro Systems, UK)
- เครื่องวัดความหนืดแบบรวดเร็ว (RVA-4D, Newport Scientific Pty. Ltd., Warriewood, NSW, Australia)
- เครื่องวัดค่าพีเอช (F22, HORIBA, Japan)
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Z200A, Hermle, Germany)
- เครื่องวัดสี (CR410, Konica-Minolta, Japan)
- เวอร์เนีย ขนาด 150 มิลลิเมตร
- เครื่องวัดอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (Model 7000, Illinois Instruments, USA.)

3.1.7 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- ชุดเครื่องแก้ว
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Model UV-2101PC, Shimadzu, Japan)
- ชุดวิเคราะห์โปรตีน (Model Kjeltac System 1002, Tecator, Sweden)
- เครื่องวิเคราะห์ไขมัน (Model TFE 2000, Leco, USA)
- ตู้ดูดควัน (Toplab Design and Technology, England)
- โถดูดความชื้น (Desiccator)
- เตาเผา (Muffle furnace, Model 3-1750, Vulcan, USA)
- อุปกรณ์ในการย่อย (เตา Digestion Block) (Model Digester 2040, FOSS, Sweden)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, March Cool Co., Thailand)
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Model AB204-S, Mettler-Toledo, Switzerland)
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Model PB1502-S, Mettler-Toledo, Switzerland)
- เครื่องปั่น (Blender, Model MX-T700 GN, National, Taiwan)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, Model UNB400, Memmert, USA)

- ชุดอุปกรณ์เครื่องแก้วและเครื่องมือวิทยาศาสตร์

3.1.8 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

- ชุดอุปกรณ์ทดสอบชิม
- แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส (รายละเอียดแสดงดังภาคผนวก ค)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมเส้นใยอาหารผงจากเปลือกชั้นในของผลส้มโอ

เตรียมเส้นใยผงจากเปลือกชั้นในของส้มโอโดยดัดแปลงจากวิธีการของอภิรักษ์ (2549) โดยนำเปลือกชั้นในของผลส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่มาหั่นให้มีขนาด $1 \times 1 \times 1$ ลูกบาศก์เซนติเมตร นำมาต้มกับน้ำเดือด โดยใช้อัตราส่วนน้ำต่อกากเท่ากับ 5 ต่อ 1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง แล้วบีบเอาน้ำออก นำกากที่ได้แช่ในเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 โดยใช้ อัตราส่วน เอทานอลต่อกากเท่ากับ 3 ต่อ 1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง กรองและนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปบดให้ละเอียด ดังภาพที่ 3.1 นำเส้นใยที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพเส้นใยอาหารที่สกัดจากเปลือกชั้นในของส้มโอดังนี้

- ค่าสีในระบบ CIE (L^* a^* และ b^*) ด้วยเครื่องวัดสี (CR-410, Konica-Minolta, Japan)
- ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ โดยการปั่นเหวี่ยง ตามวิธีของ Ang (1991) (ภาคผนวก ข-9)
- ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำมัน โดยการปั่นเหวี่ยง ตามวิธีของ Ang (1991) (ภาคผนวก ข-10)
- ปริมาณความชื้น ไขมัน โปรตีน เถ้า กากใยหยาบ และคาร์โบไฮเดรต ตามวิธีของ AOAC (2000)
- ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (water activity, a_w) ด้วยเครื่อง AQUA LAB (model series 3, Decagon Device Inc., Pullman, USA.)
- ปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมด ตามวิธีของ AOAC, No : 985.29 (2000)

นำเปลือกชั้นในของผลส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่มาหั่นขนาด $1 \times 1 \times 1$ ลูกบาศก์เซนติเมตร



ต้มกับน้ำเดือด โดยใช้อัตราส่วนน้ำต่อกากเท่ากับ 5 ต่อ 1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก

เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง



บีบน้ำออก



นำกากที่ได้แช่ในเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 โดยใช้อัตราส่วนเอทานอลต่อกากเท่ากับ 3 ต่อ 1 โดย

ปริมาตรต่อน้ำหนัก ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง



กรองเอทานอลออก



อบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง



บดให้ละเอียด

ภาพที่ 3.1 การเตรียมเส้นใยอาหารผงจากเปลือกส้มโอ

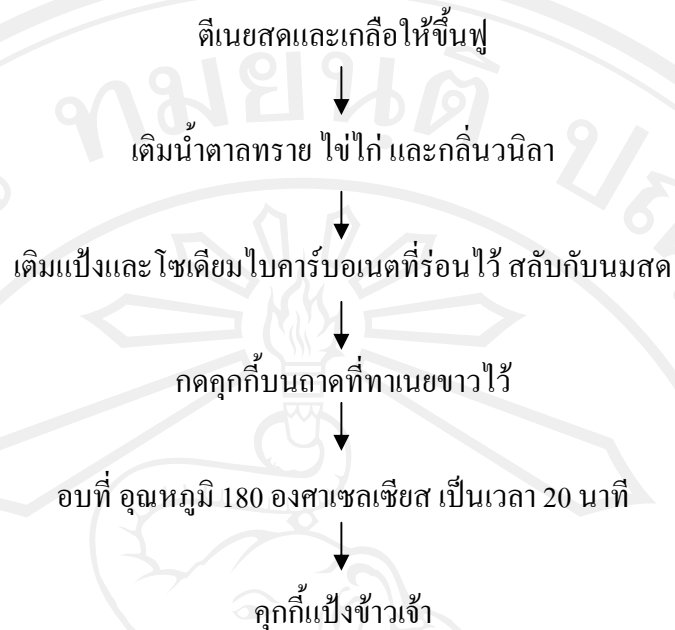
3.2.2 การศึกษาชนิดของสารทดแทนความหวานต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ลูกกี้

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยแปรผันชนิดของสารทดแทนความหวาน 3 ชนิด ได้แก่ ซูโครส 300 กรัม มอลติตอล 333 กรัม และ ซิลิทอล 300 กรัม โดยปริมาณที่ใช้คำนวณจากระดับความหวานของสารทดแทนความหวานแต่ละชนิดเทียบกับซูโครส (โรจนา, 2531) โดยใช้สูตรลูกกี้พื้นฐานดัดแปลงจากศรีสมร (2546) ซึ่งประกอบด้วย แป้งข้าวเจ้าไม่เปียก (ทรานิวเกรด) 650 กรัม เนยสด 450 กรัม น้ำตาลซูโครส 300 กรัม เกลือ 3 กรัม ไข่ไก่ 100 กรัม นมสด 110 กรัม โซเดียมไบคาร์บอเนต 6 กรัม และวานิลลา 7 กรัม เมื่อนำมาคิดให้อัตราส่วนของแป้งในสูตรเป็นร้อยละ 100 และส่วนผสมอื่นคิดเทียบจากแป้งร้อยละ 100 จะมีส่วนผสม ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนผสมเมื่อคิดเทียบจากแป้งร้อยละ 100

สูตรพื้นฐาน		สูตรเมื่อคิดเทียบจากแป้งร้อยละ 100	
วัตถุดิบ	ปริมาณ (กรัม)	วัตถุดิบ	ปริมาณ (ร้อยละ)
แป้งข้าวเจ้า	650	แป้งข้าวเจ้า	100.00
ชูโครส	300	ชูโครส	46.15
เนยสด	450	เนยสด	69.23
นมสด	110	นมสด	16.92
ผงฟู	9	ผงฟู	1.38
เกลือ	3	เกลือ	0.46
ไข่ไก่	100	ไข่ไก่	15.38
วนิลา	7	วนิลา	1.07

ทำการเตรียมคุกกี้ โดยตีเนยสดและเกลือ(ระดับความเร็ว 6 เป็นเวลา 5 นาที) ให้ขึ้นฟูค่อยๆ ใส่น้ำตาลพร้อมกับส่วนผสมที่ระดับต่ำ (ระดับความเร็ว 1) จนน้ำตาลหมด เติมน้ำไข่ไก่และกลิ่นวานิลลา ผสมต่อไปที่ระดับปานกลาง (ระดับความเร็ว 6 เป็นเวลา 5 นาที) ลดความเร็วมาที่ระดับต่ำ (ระดับความเร็ว 1) จากนั้นเติมแป้งกับโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ร้อนไว้สลับกับนมสด ผสมต่อไปที่ระดับต่ำ (ระดับความเร็ว 1 เป็นเวลา 2 นาที) แล้วเทใส่พิมพ์ที่ทำเนยขาวไว้ อบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ดังภาพที่ 3.2



ภาพที่ 3.2 กระบวนการผลิตคุกกี้จากแป้งข้าวเจ้า

นำคุกกี้ที่ผลิตได้ตามวิธีการข้างต้นมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ เเคมี และประสาทสัมผัส ดังนี้

- ค่าสีในระบบ CIE (L^* , a^* และ b^*) โดยเครื่อง Colorimeter (CR-410, Konica-Minolta, Japan)
- ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (water activity, a_w) ด้วยเครื่อง AQUA LAB (model series 3 Decagon Device Inc., Pullman, USA.)
- ปริมาณความชื้น ตามวิธีการของ AOAC (2000)
- ค่าความแข็ง (hardness) ตัดแปลงจากวิธีของ รุจิราและคณะ (2543) โดยใช้เครื่อง Texture analyzer (TA-Xtplus, Surrey, UK) วิธีทดสอบจากแรงกดตามโปรแกรม Return to start ด้วยหัววัดทรงกระบอก (cylinder probe) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ขนาดโหลดเซลล์ (load cell) 25 กิโลกรัม การทำงานของเครื่องใช้ความเร็วก่อนและความเร็วหลังทดสอบที่ 2.05 และ 10 มิลลิเมตรต่อวินาที ระยะทางที่หัววัดเคลื่อนที่ผ่านผลิตภัณฑ์ 10 มิลลิเมตร แรงกระทบเริ่มต้น 5 กรัม

โดยจะทำการวัด 10 ครั้งต่อตัวอย่าง โดยค่าความแข็ง คือ จุดที่วัดแรงกดเป็นบวก สูงที่สุด

- ปริมาณสตาร์ชทั้งหมด (total starch) ตามวิธีการของ AACC (2000) โดยชั่งตัวอย่างบดละเอียด 0.1 กรัม ใส่ในหลอดทดลองขนาด 16×120 มิลลิเมตร เคาะตัวอย่างให้ยู่กันหลอด เติม ethanol 0.2 มิลลิลิตร เขย่าหลอดด้วย vortex mixer แล้วเติมเอนไซม์ α -amylase 3 มิลลิลิตรทันที ทำการแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิน้ำเดือด นาน 6 นาที โดยทำการเขย่าหลอดทุกๆ 2 นาที เมื่อครบ 6 นาที จากนั้นนำหลอดทดลองมาไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วเติมเอนไซม์ amyloglucosidase 0.1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นนำตัวอย่างมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ทำการปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบ นาน 10 นาที คูดตัวอย่างที่ได้ใส่หลอดทดลอง 0.1 มิลลิลิตร เติม GOPOD reagent 3 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที นำตัวอย่างที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร โดยมีตัวอย่างควบคุม คือ glucose standard จากนั้นคำนวณตามภาคผนวก ข-11
- ปริมาณ hydroxymethylfurfural (HMF) ตามวิธีการของ Gökmen *et al.* (2008) โดยนำตัวอย่างที่บดแล้วเก็บรักษาไว้ในขวด polyethylene ทึบแสง ปิดฝาสนิท มา 1 กรัม ใส่เข้าไปในหลอด centrifuge ที่มีฝาปิด จากนั้นเติมสารละลาย Carrez I 250 ไมโครลิตร และ Carrez II 250 ไมโครลิตร และปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ ทำการแยกตัวอย่างโดยการหมุนเหวี่ยงที่ระดับความเร็ว 10,000 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 10 นาที โดยใช้ micro-spin centrifuge filters (0.45 ไมครอน) นำ ส่วนที่ใสของสารสกัดไปวิเคราะห์ โดยใช้เครื่อง HPLC Agilent 1100 HPLC system (Waldbronn, Germany) columns ที่ใช้คือ Atlantis dC18 สภาวะในการ ทดลองคือ ใช้สารละลายกรดอะซิติกร้อยละ 0.1 และอะซิโตนในอัตรา (90:10 ปริมาตรต่อปริมาตร) ที่ flow rate of 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส ที่ระดับความยาวคลื่น 285 nm นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณดัง ภาคผนวก ข-14

- ค่าดัชนีน้ำตาล (glycemic index) วิเคราะห์จากอัตราการย่อยแป้ง (*in vitro* starch digestibility) ตามวิธีของ Mahasukhonthachat *et al.* (2010) โดยชั่งตัวอย่างบดละเอียด 0.5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพูนขนาด 125 มิลลิลิตร เติม artificial saliva 1 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์ pepsin ใน HCl 0.02 M (pH 2) จำนวน 5 มิลลิลิตร ภายในเวลา 15-20 วินาที จากนั้นนำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่มีการเขย่า 85 รอบต่อนาที 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 รอบต่อนาที วัดปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วย glucometer ที่เวลา 0, 10, 20, 30, 45, 90, 120, 150, 180, 210, 240 นาที จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาอัตราการย่อยแป้งและประเมินค่าดัชนีน้ำตาลจากสมการ $GI=39.21+(0.803 \times H_{90})$ ตามวิธีการของ Goni *et al.* (1997) ดังภาคผนวก ข-12
- คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 50 คน ในด้านลักษณะปรากฏ (appearance) สี (color) กลิ่น (aroma) รสชาติ (taste) ความแข็ง (hardness) และความชอบโดยรวม (overall-liking)

3.2.3 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของแป้งข้าวเจ้า เนยสด และเส้นใยอาหารจากเปลือกชั้นในส้มโอในผลิตภัณฑ์คุกกี้

เตรียมคุกกี้ที่มีชนิดน้ำตาลที่พัฒนาได้จากการทดลองตอนที่ 3.2.2 วางแผนการทดลองแบบ Mixture Design แบบ D-optimal โดยแปรผันปริมาณเส้นใยอาหารจากเปลือกส้มโอ ปริมาณแป้ง และปริมาณเนยสด (ตาราง 3.2.2)

ตารางที่ 3.2 ปริมาณเส้นใยอาหารจากเปลือกในส้มโอ ปริมาณแป้ง และปริมาณเนยสด ในผลิตภัณฑ์ 9 สูตร

สูตรคุกกี้	1	2	3	4	5	6	7	8	9
แป้งข้าวเจ้า (%)	53.19	55.56	53.19	53.20	59.11	59.11	59.11	56.15	59.11
เนยสด (%)	38.85	38.43	40.89	36.80	36.80	38.84	36.80	40.89	40.89
เส้นใยอาหารจากเปลือกส้มโอ (%)	7.96	6.00	5.92	10.00	4.09	2.05	4.09	2.96	0.00

นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาประเมินคุณภาพ ดังนี้

คุณภาพทางกายภาพ

- ความกว้าง (width) ของชั้นคุกกี้ (AACC, 2000)
- ความหนา (thickness) ของชั้นคุกกี้ (AACC, 2000)
- อัตราการแผ่ออก (spread ratio) ของชั้นคุกกี้ (AACC, 2000)
- น้ำหนักของชั้นคุกกี้
- ค่าสีของคุกกี้ในระบบ CIE (L^* , a^* และ b^*) โดยเครื่อง Colorimeter (CR-410, Konica-Minolta, Japan) (วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับตอนที่ 3.2.2)
- ค่าความแข็งของชั้นคุกกี้ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (TA-XTPlus, Stable Micro Systems, UK) (วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับตอนที่ 3.2.2)
- ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (water activity, a_w) ด้วยเครื่อง AQUA LAB (model series 3 Decagon Device Inc., Pullman, USA.) (วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับตอนที่ 3.2.2)
- ปริมาณสตาร์ชทั้งหมด (AACC, 2000) (วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับตอนที่ 3.2.2)
- อัตราการย่อยสตาร์ช (*in vitro* starch digestibility) ตามวิธีการของ Mahasukhonthachat *et al.* (2010) ประเมินค่า GI จากสมการ $GI=39.21+(0.803 \times H_0)$ ซึ่งค่า HI คือ ค่า Hydrolysis index (HI) ที่ได้จากการคำนวณจากพื้นฐานของกราฟ starch hydrolysis (0-180 นาที) (Goni *et al.* 1997) (วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับตอนที่ 3.2.2)

คุณภาพทางเคมี

- ปริมาณความชื้น ไขมัน คากไฮหยาบ ตามวิธีของ AOAC (2000)

คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 50 คน ในด้านลักษณะสี (color) กลิ่น (aroma) รสชาติ (taste) ความแข็ง (hardness) และความชอบโดยรวม (overall acceptability)

3.2.4 การศึกษาคุณภาพและการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์คุกกี้ที่พัฒนาได้

นำผลิตภัณฑ์คุกกี้ที่พัฒนาได้จากการทดลองตอนที่ 3.2.4 มาประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์สุดท้ายได้ ดังนี้

คุณภาพทางกายภาพ

- ความกว้าง (width) ของชั้นคุกกี้ (AACC, 2000)
- ความหนา (thickness) ของชั้นคุกกี้ (AACC, 2000)
- อัตราการแผ่ออก (spread Ratio) ของชั้นคุกกี้ (AACC, 2000)
- น้ำหนักของชั้นคุกกี้
- ค่าสีของคุกกี้ในระบบ CIE (L^* , a^* และ b^*) โดยเครื่อง Colorimeter (CR-410, Konica-Minolta, Japan) (วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับตอนที่ 3.2.2)
- ค่าความแข็งของชั้นคุกกี้ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (TA-XTPlus, Stable Micro Systems, UK) (วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับตอนที่ 3.2.2)
- ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี (water activity, a_w) ด้วยเครื่อง AQUA LAB (model series 3 Decagon Device Inc., Pullman, USA.) (วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับตอนที่ 3.2.2)
- ปริมาณสตาร์ชทั้งหมด (AACC, 2000) (วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับตอนที่ 3.2.2)
- อัตราการย่อยสตาร์ช (*in vitro* starch digestibility) ตามวิธีการของ Mahasukhonthachat *et al.* (2010) ประเมินค่า GI จากสมการ $GI=39.21+(0.803 \times H_{90})$ ซึ่งค่า HI คือ ค่า Hydrolysis index (HI) ที่ได้จากการ

คำนวณจากพื้นฐานของกราฟ starch hydrolysis (0-180 นาที) (Goni *et al.* 1997) (วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับตอนที่ 3.2.2)

คุณภาพทางเคมี

- ปริมาณความชื้น ไขมัน โปรตีน เถ้า คากโยหยาบ และคาร์โบไฮเดรตตามวิธีการของ AOAC (2000)

คุณภาพทางจุลินทรีย์

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณยีสต์ รา (AOAC, 2000)

คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- นำผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาได้มาทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคจำนวน 200 คน ทำการประเมินคุณภาพทางด้าน ลักษณะปรากฏ (texture) สี (color) กลิ่น (aroma) รสชาติ (taste) ความแข็ง (hardness) และความชอบโดยรวม (overall acceptability) โดยใช้วิธีการให้คะแนนความชอบแบบ 9-point hedonic scale โดยแบ่งการทดสอบเป็นสองครั้ง โดยครั้งแรกทำการทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์แบบไม่ให้ข้อมูลอธิบายคุณภาพผลิตภัณฑ์ และในครั้งที่สองให้ข้อมูลอธิบายคุณภาพผลิตภัณฑ์

3.2.5 การประเมินอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาได้

ประเมินอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีการเร่ง (accelerated shelf life testing) ด้วยความชื้น (Barbosa-Canovas *et al.*, 2007) โดยการหา sorption isotherm ของผลิตภัณฑ์ โดยนำตัวอย่างเก็บไว้ในสภาวะปิดสนิทที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่างกัน โดยใช้สารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 และ 80 โดยน้ำหนัก (Al-Muhtaseb *et al.*, 2010) โดยทำให้ได้ความชื้นสัมพัทธ์เท่ากับร้อยละ 95.90, 85.80, 73.85, 58.70, 33.30, 26.65, 16.85, 9.55 ตามลำดับ วัดค่าอัตราการซึมผ่านของแก๊ส (water vapor transmission rate, WVTR) ของบรรจุภัณฑ์ชนิดฟอยล์ลามิเนต (laminated) ที่ใช้ทางการค้า เพื่อใช้ในการทำนายอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ที่เก็บในฟอยล์ลามิเนต จากนั้นนำตัวอย่างที่เก็บไว้ในสภาวะที่มีการใช้สารละลายกรดซัลฟูริกที่มีการดูดซับความชื้นจนอิ่มตัว นำตัวอย่างที่จุดสมดุลนี้ไปหาปริมาณ

ความชื้นในตัวอย่างที่จุดสมดุล (equilibrium moisture content, EMC) และและประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์โดยวัดค่าเนื้อสัมผัสและประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale จากนั้นนำมาพลอตกราฟระหว่างปริมาณความชื้นและค่าอเวอเจอร์แอกทีวิตี และนำมาคำนวณหาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์จากสมการ (2.1) (Bell and Labuza, 2000)

$$\theta_s = \frac{\ln \left[\frac{m_e - m_i}{m_e - m_c} \right]}{\frac{P}{x} \frac{A}{w_s} \frac{p_0}{b}} \quad (2.1)$$

โดยที่	m_e	=	ความชื้นสมดุล (g H ₂ O/g dry solid)
	m_i	=	ความชื้นเริ่มต้นของอาหาร (g H ₂ O/g dry solid)
	m_c	=	ความชื้นวิกฤต (g H ₂ O/g dry solid)
	P/x	=	สัมประสิทธิ์การแพร่ผ่าน (กรัมต่อตารางเมตรต่อวันต่อมิลลิเมตรปรอท)
	A	=	พื้นที่ผิวของบรรจุภัณฑ์ (ตารางเมตร)
	w_s	=	น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)
	p_0	=	ความดันไอของน้ำบริสุทธิ์ ณ อุณหภูมิการเก็บรักษา (มิลลิเมตรปรอท)
	b	=	ความชันที่ได้จากสมการเส้นตรงของ moisture sorption isotherm
	θ_s	=	อายุการเก็บรักษา (วัน)

3.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยการนำข้อมูลที่ได้ ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Version 11.5) และ Design Expert (Version 6.0.2)