บทที่ 3

วิธีการวิจัย

วัตถุดิบและอุปกรณ์

วัตถุดิบ

1. รำข้าว 2 ชนิด

   ชนิดที่ 1 : รำข้าวสกัดน้ำมัน (oil extracted rice bran, OERB) ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท ปทุมไรซ์มิล จำกัด

   ชนิดที่ 2 : รำข้าวสกัดน้ำมันที่ผ่านกระบวนการแช่ด่าง (alkaline hydrogen peroxide treated oil extracted rice bran, AHP-OERB) ที่เตรียมขึ้นเองจากรำข้าว OERB ตามวิธีของ Gould และคณะ (1989)

2. แป้งสาลี 2 ชนิด ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท แหลมทองสหการ จำกัด

   ชนิดที่ 1 : แป้งสาลีชนิด hard wheat flour (HWF) หรือ bread flour ตรากำแพงเมืองจีน ซึ่งจะนำมาใช้ในการศึกษาเพื่อหาอัตราส่วนของปริมาณรำข้าว OERB และรำข้าว AHP-OERB ที่เหมาะสมที่สามารถใช้ทดแทนแป้งสาลีในการทำคุกกี้

   ชนิดที่ 2 : แป้งสาลีชนิด medium wheat flour (MWF) หรือ all-purpose flour ตราหัวกวาง ซึ่งจะนำมาใช้ในการทำคุกกี้ เพื่อใช้เป็นมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบกับคุกกี้ที่ทำจากแป้งสาลีชนิด HWF ผสมรำข้าวในอัตราส่วนต่าง ๆ

ในการวิจัยใช้แป้งสาลี HWF มีโปรตีนประมาณร้อยละ 14 และแป้งสาลี MWF มีโปรตีนประมาณร้อยละ 10 ซึ่งเป็นแป้งสาลีที่กำหนดให้ใช้ในการทำคุกกี้และบิสกิต (Indian Standard Institute, 1968)

3. เบคกิ้งโซดา ตราเบสฟู้ดส์ ผลิตโดยบริษัท ซีพีซี/อายิ (ประเทศไทย) จำกัด
4. เกลือป่น ตรามาสเตอร์ซอลท์ ผลิตโดยบริษัท รอยัลคิงดอม อินดัสทรี (ประเทศไทย) จำกัด
5. ไขมันปาล์มผ่านกรรมวิธี (palm shortening) ตราซิลเวอร์คลาวด์ ผลิตโดยบริษัท ลีเวอร์บราเธอร์ (ประเทศไทย) จำกัด
6. เนยสดชนิดเค็ม ตราอลาวรี ผลิตโดย บริษัท ยูไนเต็ดแดรี่ฟู้ดส์ จำกัด
7. สารทดแทนไขมัน potato maltodextrin ชื่อการค้า "PASELLI SA2" ผลิตโดย AVEBE International Marketing and Sales, Foxhol, Netherlands ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท วินเนอร์กรุ๊ป จำกัด ซึ่งเป็นผู้นำเข้าและจัดจำหน่าย (ข้อมูลสินค้าและวิธีการเตรียม PASELLI SA2 ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก)
8. น้ำตาลทรายขาว ตรามิตรผล ผลิตโดย บริษัท น้ำตาลมิตรผล จำกัด
9. ไข่ไก่สด ตราซีพี ผลิต บรรจุ และจัดจำหน่ายโดย เครือเจริญโภคภัณฑ์
10. น้ำมันหอมกลิ่นเนย (butter flavor) ตราเรเนอร์ ผลิตโดย บริษัท เสรีวัฒน์ฟู้ดส์ จำกัด
11. ชอคโกแลตชิพ ผลิตโดย บริษัท กิมจั๊วพานิช จำกัด

<u>อุปกรณ์</u>

1. Electric sieve shaker (Retsch-Laborgerate)
2. Centrifuge (Medifuge, Heraeus Christ)
3. Tray dryer (Kan Seng Lee Machinergy Ltd., Type HA-20)
4. Disk mill (Agricultural Machinery Works, Model ffc-23)
5. pH meter (Corning, Model 220)
6. เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด (Sartorius, Model A 200 S)
7. เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดหยาบ (Sartorius, Model 1907 MPS)
8. ตู้อบหาความชื้น (WTB binder, Model E 53)
9. เตาเผา (Carbolite, Model MEL 11-2)

10. เครื่องวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน (Kjeldahltherm และ Vadopest 1, Gerhardt, Model KT 85)
11. เครื่อง Brabender Farinograph (Brabender OHG Duisberg, Model 825750) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท แหลมทองสหการ จำกัด ในการให้ยืมใช้อุปกรณ์
12. เครื่อง Brabender Extensigraph (Brabender OHG Duisberg, Model 820500) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท แหลมทองสหการ จำกัด ในการให้ยืมใช้อุปกรณ์
13. เครื่องผสมไฟฟ้า Kenwood, Model A9070
14. เตาอบไฟฟ้า Bompany
15. Texturometer (Lloyd Instruments Serial No. 2081)
16. Scanning Electron Microscope, Model JEM-T20 ของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
17. ถาดอลูมิเนียมสำหรับอบขนม รูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขนาด 30 x 40 เซนติเมตร
18. ช้อนตักไอศกรีม (Scooper No.60) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 เซนติเมตร

ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

1. เตรียมรำข้าว AHP-OERB จากรำข้าว OERB ตามวิธีของ Gould และคณะ (1989) ตามผังการเตรียมแสดงดังรูปที่ 3 รำข้าว AHP-OERB ที่เตรียมได้ นำมาบรรจุใส่ถุงพลาสติก แล้วเก็บใส่ภาชนะปิดสนิทในตู้เย็นอุณหภูมิประมาณ 4°C เพื่อใช้ในขั้นตอนต่อไป

ชั่งรำข้าว OERB ส่วนที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 35 mesh หนัก 40 กรัม

↓

เทลงในสารละลาย H_2O_2 เข้มข้น 1% (W/V), ปริมาตร 1 ลิตร, อุณหภูมิ 25°C

↓

คนส่วนผสมให้เข้ากัน และปรับ pH เป็น 11.5±0.1 ด้วย 4N NaOH

↓

แช่รำข้าว OERB เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และคนส่วนผสมให้เข้ากันเป็นระยะ

↓

ปรับ pH เป็น 6-7 ด้วย 4N HCl

↓

กรองรำข้าว AHP-OERB ด้วยผ้าขาวบาง

↓

ล้างรำข้าว AHP-OERB ด้วยน้ำสะอาด 3-5 ครั้ง

↓

กรองและบีบให้สะเด็ดน้ำ

↓

อบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาด, อุณหภูมิ 50°C, เวลา 4 ชั่วโมง

↓

บดด้วยเครื่องบด Disk mill

รูปที่ 3 ผังการเตรียมรำข้าว AHP-OERB

2. ศึกษาสมบัติของรำข้าว OERB และรำข้าว AHP-OERB

2.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว OERB และรำข้าว AHP-OERB (Association of Official Analytical Chemists [AOAC], 1990)

2.1.1 ปริมาณความชื้น (AOAC ข้อ 945.15) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข.1

2.1.2 ปริมาณโปรตีน (AOAC ข้อ 920.53) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข.2

2.1.3 ปริมาณไขมัน (AOAC ข้อ 920.39B) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข.3

2.1.4 ปริมาณเถ้า (AOAC ข้อ 923.03) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข.4

2.1.5 ปริมาณเส้นใย (AOAC ข้อ 962.09) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข.5

2.1.6 ปริมาณใยอาหารรวม (AOAC ข้อ 989.29) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข.6

2.1.7 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยคำนวณจากการนำผลรวมขององค์ประกอบอื่นไปหักออกจากร้อย (Miller และ Payne, 1959) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข.7

2.2 คำนวณหาค่าพลังงาน (Energy Content) ของรำข้าว OERB และรำข้าว AHP-OERB ตามสมการ (Smith, 1972) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข.8

2.3 ศึกษาสมบัติทางกายภาพของรำข้าว OERB และรำข้าว AHP-OERB

2.3.1 ตรวจดูโครงสร้างทางกายภาพ โดยใช้กล้อง Scanning Electron Microscope ขนาดกำลังขยาย 200 เท่า

2.3.2 การกระจายของขนาดอนุภาค (Particle Size Distribution) โดยใช้เครื่อง Electric sieve shaker ที่มีตะแกรงร่อนขนาด 35, 50 และ 100 mesh (American Association of Cereal Chemists [AACC], 1983) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ค.1

2.3.3 ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water Holding Capacity) โดยใช้เครื่อง Centrifuge (Chen และคณะ, 1984; Holloway และ Greig, 1984) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ค.2

2.3.4 ค่า Bulk Density (AACC, 1983) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ค.3

3. ศึกษาสมบัติของแป้งสาลี HWF แป้งสาลี MWF และแป้งสาลี HWF ผสมรำข้าวในอัตราส่วนต่าง ๆ

3.1 ศึกษาสมบัติทางกายภาพในการเกิดโด (dough) (AACC, 1983) ดังนี้

3.1.1 หาค่าการดูดซึมน้ำ เวลาที่ใช้ในการผสม ค่าความคงตัวของโด และดัชนีความอ่อนตัวของแป้งสาลี และแป้งสาลีผสมรำข้าว ในอัตราส่วนต่าง ๆ โดยใช้เครื่อง Brabender Farinograph ตามวิธีของ AACC Method 54-21 ดังรายละเอียดในภาคผนวก ค.4

3.1.2 หาค่าความยืดและความคงทนต่อแรงยืดของโด โดยใช้เครื่อง Brabender Extensigraph ตามวิธีของ AACC Method 54-10 ดังรายละเอียดในภาคผนวก ค.5

3.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งสาลีและแป้งสาลีผสมรำข้าว ในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เป็นไปได้ตามข้อ 3.1 โดยวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณเถ้า ปริมาณเส้นใย ปริมาณใยอาหารรวม และปริมาณคาร์โบไฮเดรต เช่นเดียวกับข้อ 2.1

3.3 คำนวณหาค่าพลังงาน (Energy Content) ของแป้งสาลีและแป้งสาลีผสมรำข้าวในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เป็นไปได้ตามข้อ 3.1 ด้วยสมการ เช่นเดียวกับข้อ 2.2

3.4 ศึกษาการทดสอบทำคุกกี้ (Baking Performance Test) เพื่อประเมินคุณภาพของคุกกี้ที่ทำจากแป้งสาลีผสมรำข้าวในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เป็นไปได้ตามข้อ 3.1 เปรียบเทียบกับคุกกี้ที่ทำจากแป้งสาลี โดยใช้สูตรมาตรฐาน ตามวิธีของ AACC Method 10-50D (AACC, 1983) คุกกี้ที่อบสุกแล้วนำมาวัดความกว้าง (W) และความหนา (T) เฉลี่ยจากคุกกี้จำนวน 6 ชิ้น เพื่อคำนวณค่า spread factor (W/T) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ง.1

ประเมินผลคุณภาพของคุกกี้โดยวัดค่า spread factor ของคุกกี้ที่ทำจากแป้งสาลีผสมรำข้าวในอัตราส่วนต่าง ๆ เปรียบเทียบกับค่า spread factor ของคุกกี้ที่ทำจากแป้งสาลี วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely Randomized Design ทำการทดลอง 2 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (จรัญ จันทลักขณา, 2534)

4. ศึกษาผลของการใช้แป้งผสมรำข้าวในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่เป็นไปได้ตามข้อ 3.1 ในการผลิตคุกกี้ชนิดใยอาหารสูง (high-fiber cookies)

4.1 ทดลองผลิตคุกกี้ชอคโกแลตชิพชนิดใยอาหารสูง (high-fiber chocolate chip cookies) โดยใช้แป้งสาลี HWF ผสมรำข้าว OERB และแป้งสาลี HWF ผสมรำข้าว AHP-OERB ในอัตราส่วนต่าง ๆ เปรียบเทียบกับคุกกี้ชอคโกแลตชิพที่ทำจากแป้งสาลีเอนกประสงค์ล้วน ตามสูตรดังตารางที่ 7 และขั้นตอนการผลิตต่อไปนี้ (Krier, 1992)

ตารางที่ 7 สูตรคุกกี้ชอคโกแลตชิพ (สูตรควบคุม)

Ingredients	% (flour basis)
Flour	100.0
Bicarbonate of soda	1.5
Salt	0.5
Shortening	35.0
Butter	40.0
Granulated sugar	65.0
Whole fresh eggs	25.0
Butter flavor	1.0
Chocolate chip	15.0

ขั้นตอนการผลิตคุกกี้ชอคโกแลตชิพ

1. ร่อนแป้ง ผงโซดา และเกลือเข้าด้วยกัน 3 ครั้ง พักไว้

2. ตีเนยขาว เนยสด และน้ำตาลทรายด้วยความเร็วปานกลางของเครื่องผสม 5 นาที

3. เติมไข่ไก่ และน้ำหอมกลิ่นเนย ตีต่อด้วยความเร็วปานกลาง 2 นาที

4. เติมส่วนผสมของแป้งที่เตรียมไว้แล้ว ผสมด้วยความเร็วต่ำ 1 นาที

5. ตักส่วนผสมด้วย scooper No.60 (เพื่อควบคุมให้คุกกี้ทุกชิ้นมีขนาดและน้ำหนัก 20 กรัมเท่ากัน) เรียงในถาดที่ทาไขมันไว้แล้ว โดยเว้นระยะห่างระหว่างชิ้นประมาณ 2 นิ้ว

6. ประดับหน้าด้วยชอคโกแลตชิพ แล้วนำถาดอีกใบวางซ้อนทับ และกดลงบนชิ้นคุกกี้ (เพื่อควบคุมให้คุกกี้ก่อนอบมีความหนา 1 เซนติเมตรเท่ากัน)

7. นำไปอบที่อุณหภูมิ 350°F เป็นเวลา 15 นาที

8. แซะคุกกี้ออกจากถาดขณะที่ยังร้อนอยู่ และวางพักบนตะแกรง ทิ้งให้เย็นประมาณ 15-20 นาที

9. บรรจุใส่ถุงพลาสติก เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 วัน เพื่อประเมินผลในขั้นตอนต่อไป

4.2 คำนวณปริมาณใยอาหารรวม และค่าพลังงานของสูตรคุกกี้ในข้อ 4.1 ดังรายละเอียดในภาคผนวก ช.7 และ ช.8

4.3 ประเมินผลทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ โดยให้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 15 คน พิจารณาคุณสมบัติทางด้านสี กลิ่นรส รสชาติ และลักษณะเนื้อสัมผัสของคุกกี้ และใช้วิธีให้คะแนน (Scoring method) ดังรายละเอียดที่กำหนดไว้ในแบบสอบถามในภาคผนวก ง.2

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Randomized Completed Block Design ทำการทดลอง 2 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (จรัญ จันทลักขณา, 2534)

4.4 ประเมินความแข็ง (hardness) ของผลิตภัณฑ์ โดยวัดค่าแรงต้านการเจาะ (probe resistance) ด้วยเครื่อง Texturometer (Gaines, 1991) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ค.6

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely Randomized Design ทำการทดลอง 2 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้ โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (จรัญ จันทลักขณา, 2534)

เกณฑ์การพิจารณา : เลือกอัตราส่วนของปริมาณรำข้าว OERB และรำข้าว AHP-OERB ที่สูงที่สุดเพื่อคัดเลือกสูตรคุกกี้ชนิดใยอาหารสูง ที่ได้คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงสุด และ/หรือใกล้เคียงกับสูตรคุกกี้ที่ทำจากแป้งสาลีอเนกประสงค์ล้วน (สูตรควบคุม) เพื่อใช้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

5. ศึกษาผลของการใช้สารทดแทนไขมัน เพื่อลดค่าพลังงานในคุกกี้

5.1 ทดลองผลิตคุกกี้ช็อคโกแลตชิพชนิดใยอาหารสูง-แคลอรี่ต่ำ (high-fiber, low-calorie chocolate chip cookies) โดยใช้สารทดแทนไขมัน PASELLI SA2 gel 20% (w/w) ทดแทนส่วนผสมของไขมัน ในสูตรคุกกี้ช็อคโกแลตชิพชนิดใยอาหารสูงที่ดีที่สุดจากข้อ 4.1 โดยแปรปริมาณสารทดแทนไขมัน 3 ระดับ คือ ร้อยละ 40, 50 และ 60 (โดยน้ำหนักไขมัน) ซึ่งมีขั้นตอนการผลิตเช่นเดียวกับข้อ 4.1

5.2 คำนวณปริมาณใยอาหารรวม และค่าพลังงานของคุกกี้ในข้อ 5.1 เช่นเดียวกับข้อ 4.2

5.3 ประเมินผลทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลเช่นเดียวกับข้อ 4.3

5.4 ประเมินความแข็ง (hardness) ของผลิตภัณฑ์ วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลเช่นเดียวกับข้อ 4.4

เกณฑ์การพิจารณา : เลือกระดับของสารทดแทนไขมันสูงที่สุดในสูตรคุกกี้ที่ได้คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงสุด และ/หรือใกล้เคียงกับสูตรคุกกี้ชนิดใยอาหารสูงที่ดีที่สุดจากข้อ 4.1 ที่ไม่ได้ใช้สารทดแทนไขมัน

6. ประเมินคุณภาพของคุกกี้ช็อคโกแลตชิพชนิดใยอาหารสูง-แคลอรี่ต่ำ จากสูตรที่ดีที่สุดที่ทำจากแป้งสาลี HWF ผสมรำข้าว OERB และที่ทำจากแป้งสาลี HWF ผสมรำข้าว AHP-OERB ที่คัดเลือกแล้วจากข้อ 5 เปรียบเทียบกับคุกกี้ช็อคโกแลตชิพที่ทำจากแป้งสาลีอเนกประสงค์ล้วน ในสูตรควบคุม

โดยประเมินผลทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลเช่นเดียวกับข้อ 4.3

7. ศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์

ศึกษาอายุการเก็บของคุกกี้ช็อคโกแลตชิพชนิดใยอาหารสูง-แคลอรี่ต่ำจากที่ได้จากข้อ 6 โดยเลือกใช้บรรจุภัณฑ์พลาสติกที่นิยมทั่วไปตามท้องตลาด 2 ชนิด คือ ถุง polyethylene (บรรจุภัณฑ์สำหรับคุกกี้ที่ผลิตในระดับครัวเรือน) และถุง metallized film (บรรจุภัณฑ์สำหรับคุกกี้ที่ผลิตในระดับอุตสาหกรรม) และเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน สุ่มตัวอย่างทุก 1 เดือน เพื่อทดสอบคุณภาพดังนี้

7.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 1990) ข้อ 945.15 ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข.1 วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลเช่นเดียวกับข้อ 4.4

7.2 วิเคราะห์หาค่า Peroxide Value (POV) (AOAC, 1990) ข้อ 965.33 ดังรายละเอียดในภาคผนวก ข.9 วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลเช่นเดียวกับข้อ 4.4

7.3 ประเมินผลทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ โดยให้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 15 คน พิจารณาคุณสมบัติทางด้านกลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสของคุกกี้ช็อคโกแลตชิพ ดังรายละเอียดที่กำหนดไว้ในแบบสอบถามในภาคผนวก ง.3 วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลเช่นเดียวกับข้อ 4.3