บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

<u>วัตถุดิบ</u>

ข้าวโพดหวานพิเศษ พันธุ์ฮาวายเอี้ยนชูการ์ (Hawaiian sugar) (*Zea mays* L. var. saccharota Bailer) ซื้อจากตลาดมหานาค

ข้าวเม่าข้าวเจ้า (*Oryza sativa* L.) ซื้อจากตลาดมหานาค

ลูกเดือยข้าวเหนียว (*Coix lacrymajobi* L.) ซื้อจากตลาดสามย่าน

ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr.) ซื้อจากตลาดมหานาค

ถั่วเขียวซีก (*Vigna radiata* (L.) Wilzcek) ซื้อจากตลาดมหานาค

ถั่วแดงหลวง (*Phaseolus vulgaris* L.) ซื้อจากตลาดสามย่าน

ถั่วลิสง (*Arachis hypogaea* L.) ซื้อจากตลาดสดอำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี

งาขาว (*Sesamum indicum* L.) ซื้อจากตลาดมหานาค

มะพร้าว (*Cocos nucifera* L.) ซื้อจากตลาดมหานาค

เมล็ดทานตะวันอบ (*Helianthus annuus* L.) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ฟลาวเวอร์ฟูด จำกัด

สับปะรดแช่อิ่มอบแห้ง (*Ananas comosus* Merr.) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท สยามพรีเสิร์ฟฟูดส์ จำกัด

มะละกอแช่อิ่มอบแห้ง (*Carica papaya* L.) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท สยามพรีเสิร์ฟฟูดส์ จำกัด

กล้วยน้ำว้าอบแห้ง (*Musa sapientum* L.) ซื้อจากตลาดนัดวันศุกร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บรรจุภัณฑ์

ถุง OPP/PE หนา 40 ไมโครเมตร ขนาด 4x6 นิ้ว

ถุง laminated foil (OPP/PE/Al/PE/PE) หนา 72 ไมโครเมตร ขนาด 4x6 นิ้ว

(ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท สตรองแพค(ประเทศไทย) จำกัด)

สารเคมี

การวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพ

- sodium sulfate, A.R. (Merck)
- copper sulfate, A.R. (Merck)
- selenium dioxide, A.R. (Merck)
- sulfuric acid, A.R. (Merck)
- boric acid, A.R. (Merck)
- bromocresol green, A.R. (Merck)
- methyl red, A.R. (Merck)
- ethyl alcohol 95%, A.R. (Merck)
- sodium hydroxide, A.R. (Univar)
- petroleum ether, A.R. (Baker Analyzed)
- barium chloride

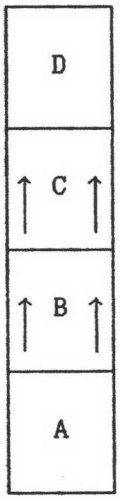
การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

- plate count agar (Difco)
- potato dextrose agar (Difco)
- tartaric acid, A.R. (Merck)

อุปกรณ์

การผลิตและเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

- เครื่องชั่งสารอย่างหยาบ ทศนิยม 2 ตำแหน่ง ชนิด top loading (Sartorius, model 1907)
- ตู้อบลมร้อนแบบถาด (tray drier, type HA-20 ของบริษัท Kan Seng Lee Machinery จำกัด)
- เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum drier, ของภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)
- เครื่อง hot-air puffing ดัดแปลงใช้ท่อลมร้อนของเครื่องทำแห้งแบบพ่นกระจาย (spray drier) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 นิ้ว สามารถตั้งอุณหภูมิลมร้อนได้ นำตัวอย่างไปอังที่ปากท่อลมร้อนให้เกิดการเคลื่อนที่แบบ fluidized bed โครงสร้างของเครื่องมือดังรูปที่ 2



A : blower
B : heater
C : hot-air
D : sample vessel

รูปที่ 2 โครงสร้างของเครื่อง hot-air puffing

- รังถึง
- หม้อนึ่งความดัน (Prestige Hi-Dome)
- หม้อไฟฟ้าควบคุมอุณหภูมิ (MEYER ® silverstone, Model PV 8100) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 18 เซนติเมตร ลึก 9 เซนติเมตร)
- เครื่องปิดผนึกถุงบรรจุภัณฑ์ด้วยความร้อน (Seamaster)
- นาฬิกาจับเวลา (Hanhart)
- เทอร์โมมิเตอร์
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Elecrem K8840)
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (WTE binder W-Germany, MB6)
- ห้องแช่เย็นอุณหภูมิ 4-10 °C

<u>การวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพ</u>

- เครื่องชั่งสารอย่างละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, model A 200S)
- เครื่องบดอาหาร (Moulinex, type 320)
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven, WTB Binder W-Germany, B53)
- ตู้อบแห้งสุญญากาศ (vacuum oven, Hotpack)
- ชุดย่อยและกลั่นโปรตีน (Kjeldahl digestion ของ Gerhardt Bonn type KI24 และ macro-Kjeldahl distillation apparatus)
- ชุดสกัดไขมันและ soxhlet
- muffle furnace (Carbolite, EML11-2)
- desiccator
- a_w-value analyzer (Lufft, model 5803)
- Buchner funnel และอุปกรณ์ suction
- crucible
- จานโลหะ
- เครื่องแก้วสำหรับงานวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

- autoclave (Sanyo, MLS-2400)
- incubator (Memmert, B30)
- plate
- flask
- pipette
- spreader
- เครื่องบดอาหาร (Moulinex, type 320)
- เครื่องชั่งสารอย่างหยาบ ทศนิยม 2 ตำแหน่ง ชนิด top loading (Sartorius, model 1907)

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย

1. คัดเลือกวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตมูสลี

เลือกวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตมูสลี โดยการคัดเลือกเชิงคุณภาพ (Qualitative screening method) คำนึงถึงปัจจัยดังต่อไปนี้

1.1 คุณค่าทางโภชนาการ โดยแบ่งเป็น 4 กลุ่มคือ
- แหล่งของคาร์โบไฮเดรตและใยอาหาร ได้แก่ ธัญชาติ
- แหล่งของโปรตีน ได้แก่ ถั่ว
- แหล่งของไขมัน ได้แก่ เมล็ดพืชน้ำมัน
- แหล่งของวิตามินและแร่ธาตุ ได้แก่ ผลไม้

1.2 ผลิตได้ภายในประเทศเป็นปริมาณมาก

1.3 ราคาของวัตถุดิบ

1.4 ความยากง่ายในการหาวัตถุดิบ และฤดูกาล

1.5 ความคุ้นเคยของคนไทยและมีการบริโภคอยู่ทั่วไป

1.6 ความเหมาะสมในการแปรรูปเพื่อใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์

2. <u>ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการแปรรูปวัตถุดิบ</u>

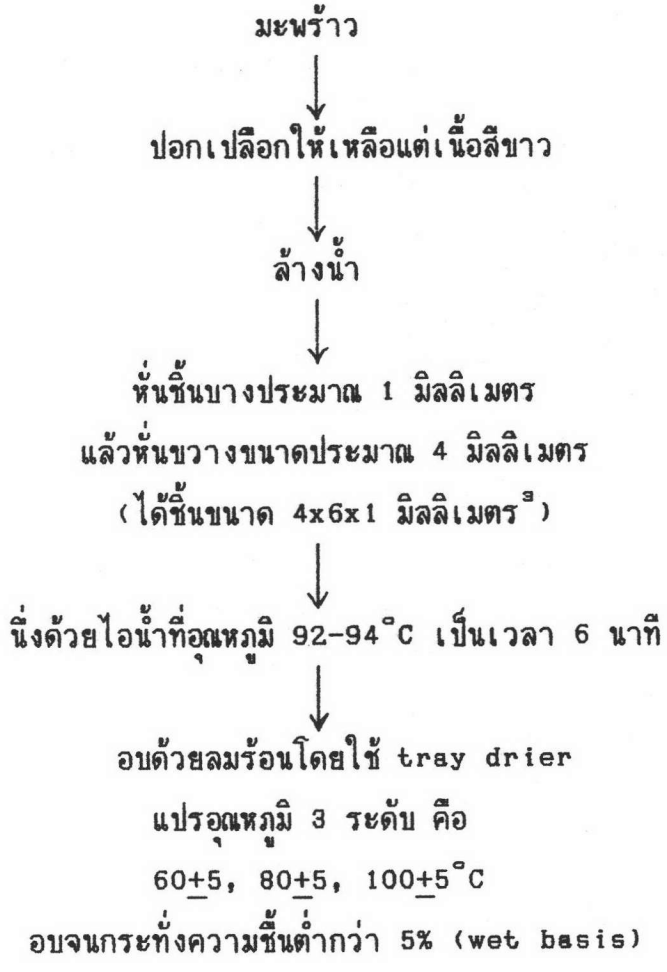
จากวัตถุดิบที่คัดเลือกได้ในข้อ 1 นำมาทดลองเบื้องต้นเพื่อหากระบวนการแปรรูปที่เหมาะสม โดยทดลองอบแห้ง คั่ว และ puff ด้วย fluidized bed drier ก่อนแล้วจึงหาภาวะที่เหมาะสมในการแปรรูปวัตถุดิบแต่ละชนิดสรุปได้ตามนี้

2.1 กระบวนการอบแห้ง

2.1.1 ข้าวโพด นำมาแปรรูปดังผังในรูปที่ 3

รูปที่ 3 ผังกระบวนการอบแห้งข้าวโพด

2.1.2 มะพร้าว ใช้มะพร้าวแก่ และมะพร้าวทึนทึก นำมาแปรรูปตามผังในรูปที่ 4



รูปที่ 4 ผังกระบวนการอบแห้งมะพร้าว

2.2 กระบวนการคั่ว

2.2.1 งาขาว นำมาแปรรูปดังผังรูปที่ 5

งาขาว

(ความชื้น 6-7 % wet basis)

↓

คัดเลือกสิ่งแปลกปลอมที่ติดมาออก

↓

ล้างน้ำเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกที่อาจติดมา

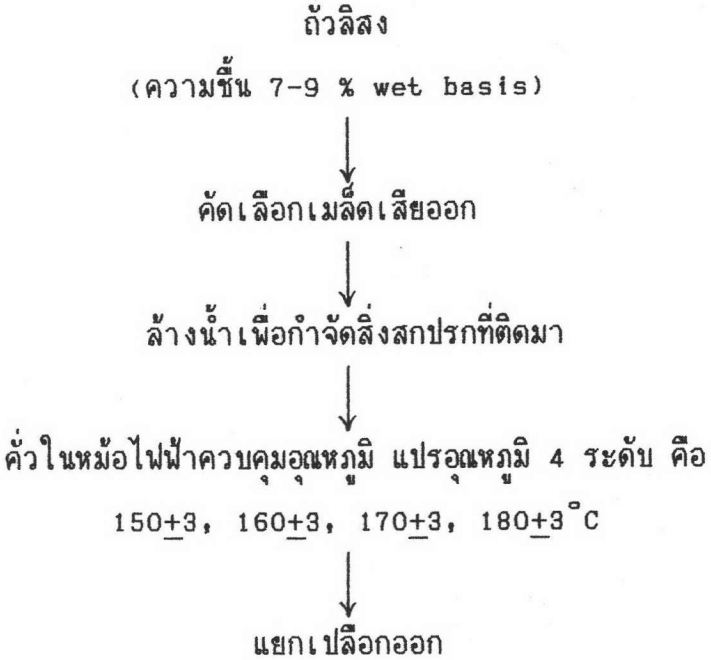
↓

คั่วในหม้อไฟฟ้าควบคุมอุณหภูมิ แปรอุณหภูมิและเวลาดังนี้

- อุณหภูมิ 135±3°C แปรเวลา 5 ระดับคือ 8,16,24,32,40 นาที
- อุณหภูมิ 150±3°C แปรเวลา 4 ระดับคือ 4,8,12,16 นาที
- อุณหภูมิ 165±3°C แปรเวลา 4 ระดับคือ 3,4,5,6 นาที

รูปที่ 5 ผังกระบวนการคั่วงาขาว

2.2.2 ถั่วลิสง เลือกใช้การแปรรูปตามผังในรูปที่ 6



รูปที่ 6 ผังกระบวนการคั่วถั่วลิสง

2.3 กระบวนการ puff

2.3.1 ข้าว เลือกใช้ข้าวเม่าข้าวเจ้า

ข้าวเม่าข้าวเจ้า

↓

แยกเปลือกข้าวออกโดยการคัดเลือก
และใช้ตะแกรงร่อนฝุ่นรำข้าวออก

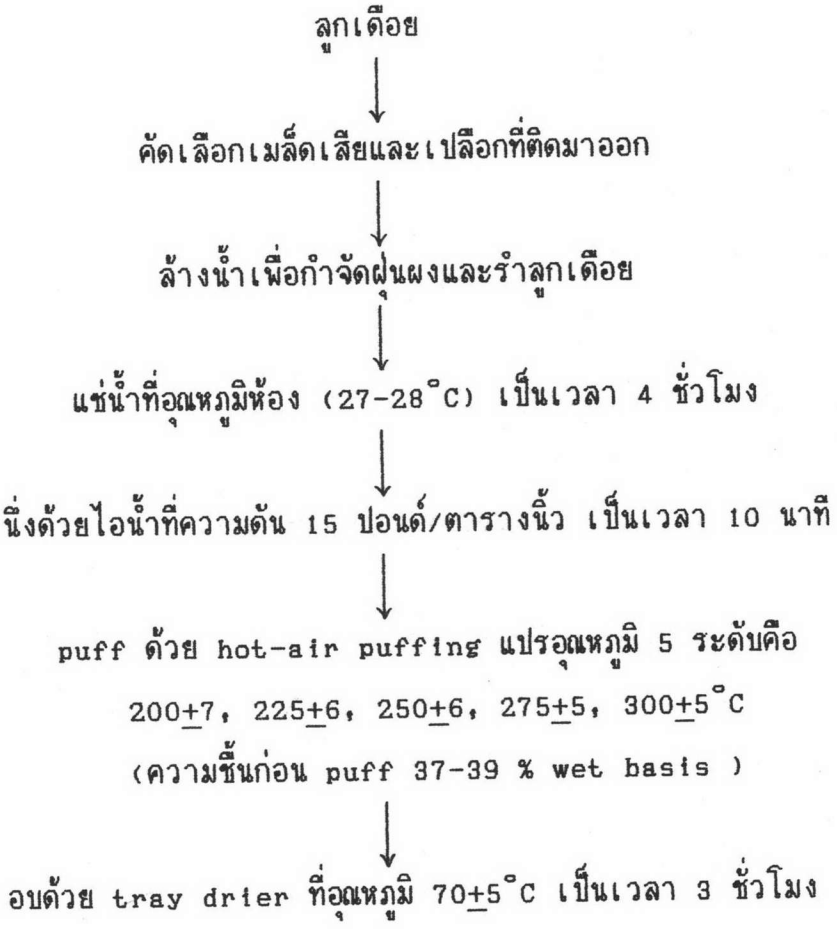
↓

puff ด้วย hot-air puffing แปรอุณหภูมิ 5 ระดับคือ
200±7, 225±6, 250±6, 275±5, 300±5°C
(ความชื้นก่อน puff 11-13 % wet basis)

รูปที่ 7 ผังกระบวนการ puff ข้าวเม่า

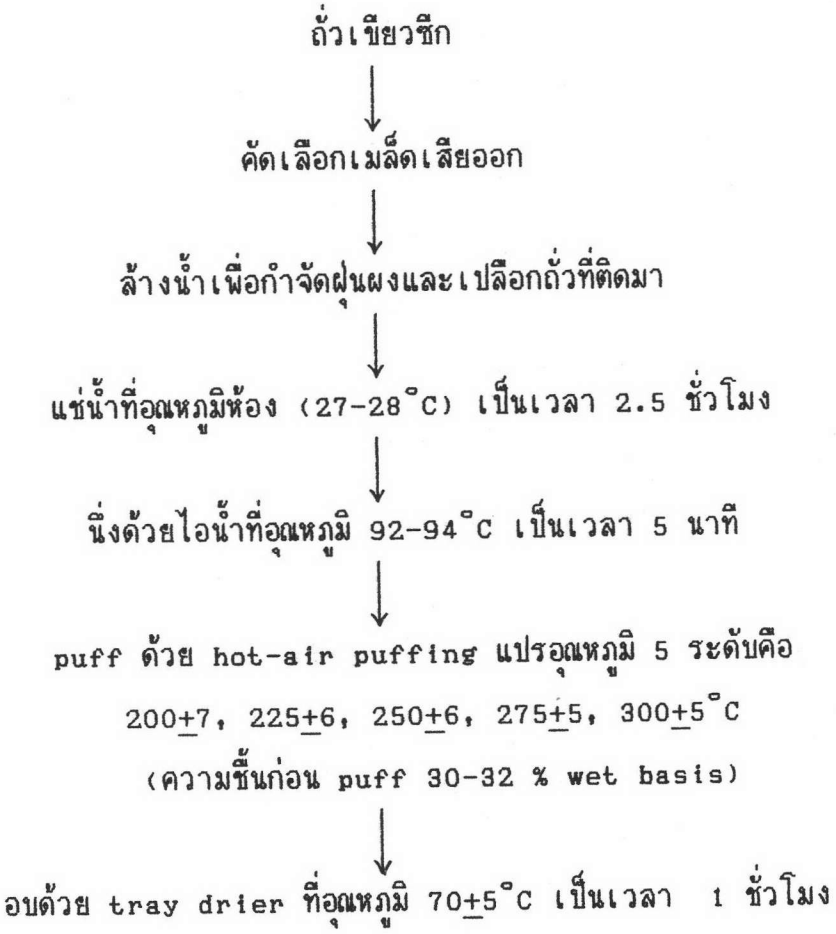
หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.3.2 ลูกเดือย นำมาแปรรูปดังนี้



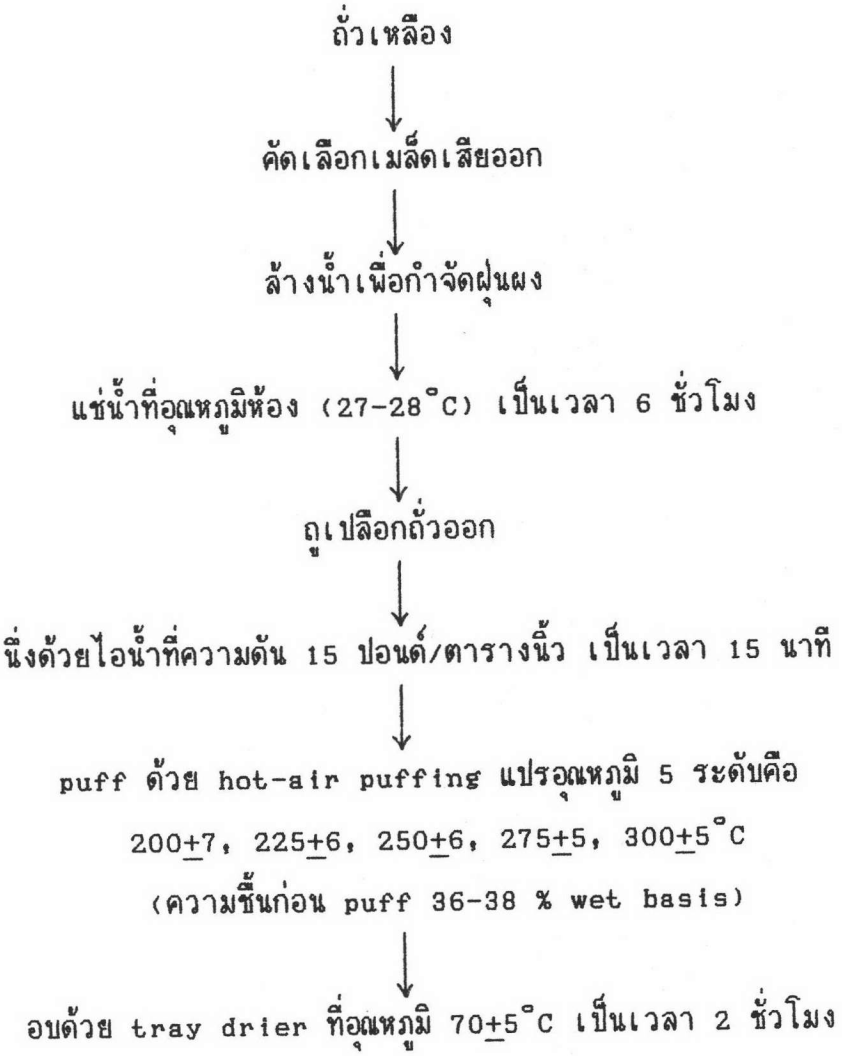
รูปที่ 8 ผังกระบวนการ puff ลูกเดือย

2.3.3 ถั่วเขียวซีก



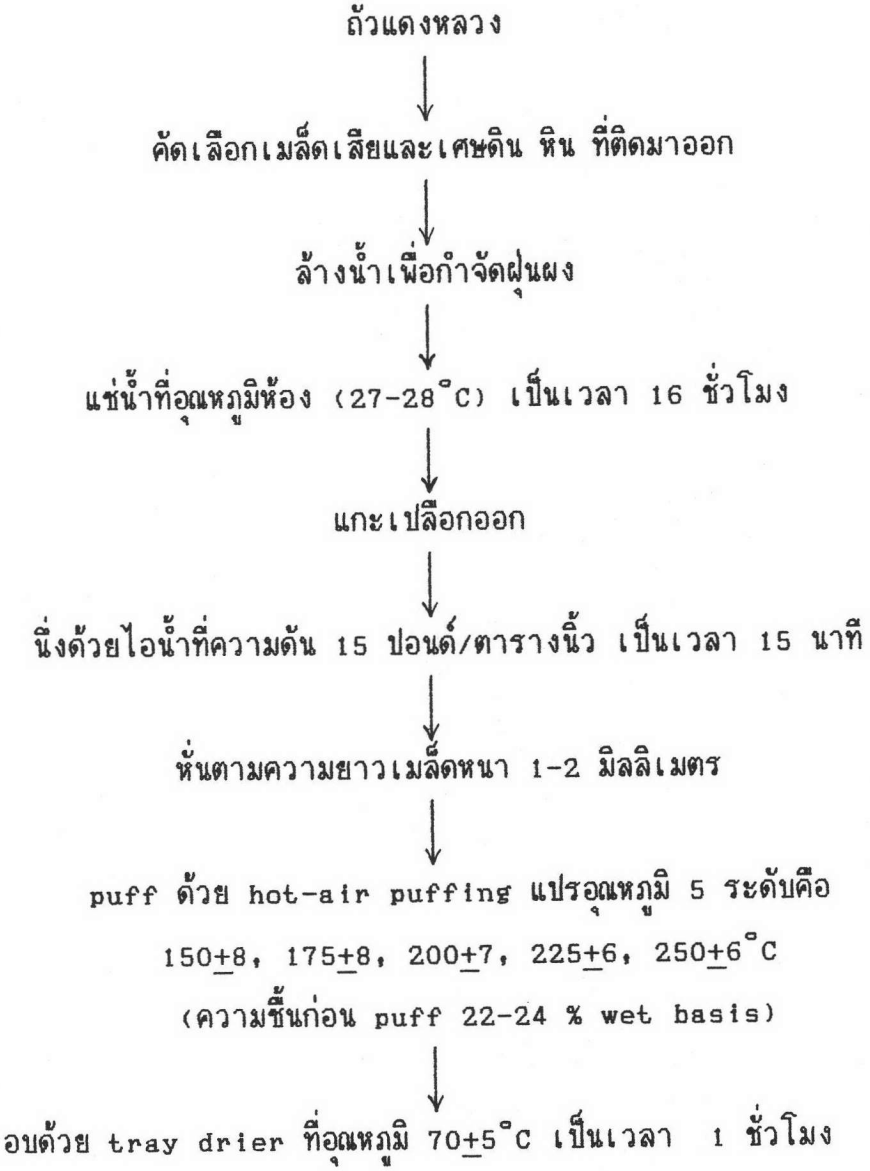
รูปที่ 9 ผังกระบวนการ puff ถั่วเขียวซีก

2.3.4 ถั่วเหลือง



รูปที่ 10 ผังกระบวนการ puff ถั่วเหลือง

2.3.5 ถั่วแดงหลวง



รูปที่ 11 ผังกระบวนการ puff ถั่วแดงหลวง

2.4 วัตถุดิบที่ไม่ได้ศึกษาภาวะการแปรรูป

เมล็ดทานตะวัน สับปะรด มะละกอ และกล้วย ไม่ศึกษาภาวะการแปรรูปเนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทผู้ผลิตและมีจำหน่ายทั่วไป

จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการแปรรูปวัตถุดิบแต่ละชนิด ประเมินผลโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ scoring test (แบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข) ใช้ผู้ทดสอบ 15 คน ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ factorial randomized complete block ขนาด 2x3 สำหรับข้อ 2.1 และ randomized complete block design สำหรับข้อ 2.2-2.3 วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี least significant difference test (LSD) เลือกภาวะที่เหมาะสมในการแปรรูป โดยพิจารณาภาวะที่ให้ระดับคะแนนการยอมรับรวมสูงที่สุด

สำหรับงาขาว เมื่อเลือกเวลาที่เหมาะสมในการคั่วที่อุณหภูมิต่างๆแล้ว ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ ranking test (แบบสอบถามแสดงในภาคผนวก ข) ใช้ผู้ทดสอบ 15 คน ทำการทดลอง 2 ซ้ำ เปลี่ยนลำดับที่ของการยอมรับเป็นระดับคะแนนตามวิธีของ Fisher และ Yates (1942) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์แบบ randomized complete block design (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2535) วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD เลือกภาวะที่เหมาะสมในการแปรรูปโดยพิจารณาภาวะที่ให้คะแนนการยอมรับรวมสูงที่สุด

จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการแปรรูปวัตถุดิบ นำวัตถุดิบที่ผ่านกระบวนการแปรรูปที่เหมาะสมแล้วมาหาค่า

- ความชื้น ตามวิธีของ AOAC(1990) ข้อ 930.15 สำหรับธัญชาติ ถั่วและพืชน้ำมัน และข้อ 934.06 สำหรับผลไม้อบแห้ง (แสดงในภาคผนวก ก)

- water activity (a_w) โดย a_w-value analyzer ของ Lufft model 5803 โดยใช้ตัวอย่างประมาณ 3 กรัม ปรับมาตรฐานเครื่องด้วยสารละลาย barium chloride ($BaCl_2$) อิ่มตัว ซึ่งมีค่า a_w = 0.90 ที่อุณหภูมิ 20°C

3. ศึกษาส่วนผสมที่เหมาะสมในการผลิตมูสลี

3.1 คำนวณราคาวัตถุดิบที่เป็นส่วนผสมของมูสลี หลังจากผ่านกระบวนการแปรรูปแล้ว

3.2 รวบรวมและประเมินคุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบที่เป็นส่วนผสมของมูสลี

3.3 สร้างส่วนผสมของมูสลีโดย

3.3.1 สร้าง และคำนวณส่วนผสม ที่มีราคาถูกแต่มีคุณค่าทางโภชนาการ โดยใช้โปรแกรมเชิงเส้น(linear programming) LP88 version7.03 (ESP, 1987) ร่วมกับข้อกำหนดสารอาหารที่ควรได้รับประจำวันและแนวทางการบริโภคสำหรับคนไทย (กรมอนามัย, 2532) (ภาคผนวก ค)

3.3.2 สร้างส่วนผสม โดยใช้ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสของวัตถุดิบที่แปรรูปในข้อ 2 โดยพิจารณาเลือกวัตถุดิบที่ได้รับการยอมรับรวมมากกว่า 8 คะแนน (เป็นระดับคะแนนที่แสดงว่าผู้ทดสอบชอบมาก) ร่วมกับอัตราส่วนของธัญชาติ ถั่ว และผลไม้ ที่ให้คุณค่าทางโภชนาการดังภาคผนวก ค

3.3.3 สร้างส่วนผสม ที่ประกอบด้วยวัตถุดิบที่แปรรูปในข้อ 2 ทุกชนิดในอัตราส่วนเท่ากัน

จากส่วนผสมของมูสลีที่ได้ ประเมินผลโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ scoring test (แบบสอบถามแสดงในภาคผนวก ข) อัตราส่วนมูสลีต่อนมเท่ากับ 1 กรัม ต่อ 4 มิลลิลิตร (โดยไม่เติมน้ำตาล เพราะผลิตภัณฑ์หวานอยู่แล้ว) ใช้ผู้ทดสอบ 15 คน วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ randomized complete block design วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD จากผลที่ได้นำมาปรับปรุงส่วนผสมของมูสลี ให้มีวัตถุดิบทุกชนิดในอัตราส่วนที่ผู้ทดสอบน่าจะยอมรับได้และมีคุณค่าทางโภชนาการดังภาคผนวก ค เพื่อใช้เป็นตัวแทนในการศึกษาขั้นต่อไป

3.4 เปรียบเทียบมูสลีที่ผลิตได้กับมูสลีทางการค้า (natural muesli ที่นำเข้าจากประเทศออสเตรเลีย) ประเมินผลโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสเช่นเดียวกับข้อ 3.3

3.5 ประเมินปริมาณที่เหมาะสมของมูสลี ในการรับประทานเป็นอาหารเช้าพร้อมกับนม ในอัตราส่วนมูสลีต่อนม เท่ากับ 1 กรัมต่อ 4 มิลลิลิตร โดยสอบถามผู้ทดสอบชิมพร้อมกับแบบสอบถามในข้อ 3.4 นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน มัธยฐาน และฐานนิยม

3.6 วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของมูสลีที่ผลิตได้ โดยนำมาวิเคราะห์

3.6.1 ปริมาณความชื้น

3.6.2 ปริมาณโปรตีน

3.6.3 ปริมาณไขมัน

3.6.4 ปริมาณเถ้า

3.6.5 ปริมาณใยอาหาร

3.6.6 ปริมาณวิตามินเอ บี1 บี2 ไนอาซิน

3.6.7 ปริมาณแร่ธาตุ เหล็ก แคลเซียม ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม และโซเดียม

ข้อ 3.6.1, 3.6.3, 3.6.4 วิเคราะห์ตามวิธี AOAC (1990) ข้อ 3.6.2 ตามวิธี macro-Kjeldahl (ลักขณา รุจนะไกรกานต์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2533) (ภาคผนวก ก) ส่วนข้อ 3.6.5-3.6.7 ส่งวิเคราะห์ที่ ศูนย์ประยุกต์และบริการวิชาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (ศาลายา)

3.6.8 คำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยวิธี difference ดังนี้

% คาร์โบไฮเดรต = 100-(% ความชื้น + % โปรตีน + % ไขมัน + % ใยอาหาร + % เถ้า)

3.6.9 คำนวณพลังงานดังนี้ (กรมอนามัย, 2532)

พลังงาน (กิโลแคลอรี) = ปริมาณโปรตีน (กรัม) x 4 + ปริมาณไขมัน (กรัม) x 9 + ปริมาณคาร์โบไฮเดรต(กรัม)x4

3.7 วิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ (ภาคผนวก ก)

3.7.1 วิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC, 1984)

3.7.2 วิเคราะห์จำนวนยีสต์และรา (Haringen and McCance, 1976)

4. ศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์

4.1 อายุการเก็บของมูสลีที่ผลิตได้

บรรจุผลิตภัณฑ์ที่ได้จากข้อ 3 ในภาชนะบรรจุ 2 ชนิด คือ ถุง laminated foil และถุง OPP/PE พื้นที่ผิว 200 ตารางเซนติเมตร ปิดผนึกภายใต้ความดันบรรยากาศ โดยบรรจุถุงละ 40 กรัม เก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 45 และ 55°C ที่อุณหภูมิ 45°C สุ่มตัวอย่างทุก 1 สัปดาห์ และที่ 55°C สุ่มตัวอย่างทุก 2 วัน นำมาวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ดังนี้

4.1.1 ทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ multiple comparisons test (แบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข) อัตราส่วนมูสลีต่อนมเท่ากับ 1 กรัมต่อ 4 มิลลิลิตร ใช้ผู้ทดสอบ 15 คน นำข้อมูลที่ได้มาเปลี่ยนเป็นระดับคะแนน 1-9 โดย คะแนน 5 = ไม่มีความแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม คะแนน 9 = ดีกว่าตัวอย่างควบคุมมากที่สุด และคะแนน 1 = ด้อยกว่าตัวอย่างควบคุมมากที่สุด (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2535) จากนั้นวิเคราะห์ข้อมูลแบบ factorial randomized complete block ขนาด 2x5 (แยกวิเคราะห์ทีละอุณหภูมิการเก็บ) วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD

4.1.2 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธี AOAC (1990) ข้อ 930.15 (ภาคผนวก ก) วิเคราะห์ข้อมูลแบบ completely randomized factorial experiment ขนาด 2x5 (แยกวิเคราะห์ทีละอุณหภูมิการเก็บ) วิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD

4.1.3 หาค่า water activity (a_w) ด้วย a_w-value analyzer ของ Lufft model 5803 โดยใช้ตัวอย่างประมาณ 3 กรัม วิเคราะห์ข้อมูลเช่นเดียวกับข้อ 4.1.2

ประมาณอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ โดยอาศัยความสัมพันธ์ของอุณหภูมิและอัตราการเกิดปฏิกิริยาเช่นเดียวกับสมการ Arrhenius (Labuza, 1985) โดยถือเกณฑ์ระดับคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสต่ำกว่า 3.0 เป็นจุดวิกฤตที่ผลิตภัณฑ์เสื่อมเสียจนผู้บริโภคไม่ยอมรับ

4.2 อายุการเก็บของส่วนผสมมูสลี

นำส่วนผสมของมูสลีทั้ง 13 ชนิด มาแยกบรรจุใส่ถุง laminated foil พื้นที่ผิว 200 ตารางเซนติเมตร ปิดผนึกภายใต้ความดันบรรยากาศ โดยบรรจุถุงละ 20 กรัม ยกเว้นข้าวพองบรรจุถุงละ 10 กรัม เก็บที่อุณหภูมิ 45 และ 55°C เป็นเวลา 35 และ 10 วันตามลำดับ นำมาวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ดังนี้

4.2.1 ทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยประเมินการยอมรับรวม (แบบสอบถามแสดงในภาคผนวก ข) ใช้ผู้ทดสอบ 15 คน เปลี่ยนจำนวนผู้ยอมรับตัวอย่างโดยเทียบเป็นร้อยละจากจำนวนผู้ทดสอบทั้งหมด

4.2.2 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ตามวิธี AOAC(1990) (ดังภาคผนวก ก)