

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 กลุ่มตัวอย่าง

- 3.1.1 ข้าวกล้องหอมมะลิ พันธุ์ 105 ที่ลุ่มซื้อจากร้านค้า ในอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่
- 3.1.2 การทดสอบทางประสาทสัมผัส ใช้กลุ่มผู้ทดสอบจำนวน 50 คน ซึ่งเป็นนักศึกษาภายใน มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่
- 3.1.3 การสำรวจทัศนคติของผู้บริโภค ใช้กลุ่มผู้ทดสอบจำนวน 150 คน ซึ่งเป็นประชาชน บุคคลทั่วไปภายในอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

3.2 สถานที่

- 3.2.1 ห้องปฏิบัติการเคมี ศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
- 3.2.2 ห้องปฏิบัติการเคมีอาหาร อาคาร 2 ชั้น 3 ห้อง 246 ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

3.3 สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือ

3.3.1 สารเคมี

- 3.3.1.1 เอทานอล (ethanol, C_2H_5OH) AR, assay 99.9%, MW 46.07, Merck, Germany
- 3.3.1.2 กรดแกมมาเอมิโนบิวทีริก (gamma-aminobutyric acid, $C_4H_9NO_2$) AR, assay 99%, MW 103.12, Sigma, Germany
- 3.3.1.3 กรดบอริก (boric acid, H_3BO_3) AR, assay 99.7%, MW 61.83, RFCL, India
- 3.3.1.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide, NaOH) AR, assay 97%, MW 40.00, RCI Labscand, Thailand
- 3.3.1.5 ฟีนอล (phenol, C_6H_6O) AR, assay 99.5%, MW 94.11, RFCL, India
- 3.3.1.6 โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite, NaOCl), assay 6%, MW 74.5

3.3.2 วัสดุ และ อุปกรณ์

- 3.3.2.1 วัสดุและอุปกรณ์สำหรับการเพาะข้าวกล้องงอกตัวอย่าง

- 1) กล่องโฟม (foam box)
- 2) หลอดไฟ (light bulb) เพื่อควบคุมอุณหภูมิ

- 3) ผ้าขาวบาง (filter cloth)
- 4) ถาดอะลูมิเนียม (aluminium tray)
- 5) ถังพลาสติก (bucket)
- 6) หม้อนึ่งไฟฟ้า (cooker)

3.3.2.2 วัสดุและอุปกรณ์สำหรับการสกัดกานาและการวิเคราะห์กานาในข้าวกล้องเพาะงอกตัวอย่าง

- 1) ปีกเกอร์ (beaker) ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 2) หลอดปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (centrifuge tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร
- 3) ปิเปตต์ (pipette) ขนาด 1 มิลลิลิตร และ 25 มิลลิลิตร
- 4) ลูกยางแดง (rubber bulb)
- 5) เทอร์โมมิเตอร์ (thermometer)

3.3.2.3 วัสดุและอุปกรณ์สำหรับการผลิตขนมอบ

- 1) ชามผสม (mixing bowl)
- 2) ไม้พาย (spatula)
- 3) ช้อนตวง (measuring spoon)
- 4) ถ้วยตวง (measuring cup)
- 5) ตะกร้อมือ (hand whisk)
- 6) ตะแกรงร่อนแป้ง (sieve flour)
- 7) ถาดอบขนม (tray)
- 8) แม่พิมพ์อบขนมมัฟฟิน (muffin mould mold)
- 9) แม่พิมพ์อบขนมคุกกี้ (cookies mould mold)
- 10) เครื่องชั่งส่วนผสม (balance)
- 12) เครื่องกวนส่วนผสม (churner)
- 13) ตะแกรงพักขนม (bakery rack)
- 14) ถุงพลาสติกสำหรับเก็บขนม (plastic bag)
- 15) กล่องพลาสติก สำหรับเก็บขนม (plastic box)

3.3.2.4 วัสดุและอุปกรณ์สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัส และการสำรวจทัศนคติฯ

- 1) บรรจุภัณฑ์สำหรับใส่ตัวอย่าง
- 2) ถาดสำหรับใส่ตัวอย่าง
- 3) แก้วน้ำดื่ม
- 4) กระดาษทิชชู
- 5) ซ้อน, ส้อม และมีดหิน

3.3.3 เครื่องมือ

- 3.3.3.1 เครื่องชั่งน้ำหนัก ความละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง (analytical balance), AG204, Mettler Toledo, Switzerland
- 3.3.3.2 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge), Universal 32, Germany
- 3.3.3.3 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (uv-vis spectrophotometer), UV1601, Shimadzu, Japan
- 3.3.3.4 เครื่องวัด pH (pH meter), Sartorius, U.S.A
- 3.3.3.5 เครื่องปั่นไฟฟ้า (blender), BL307, Tefal, America
- 3.3.3.6 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) , D-91126, Schutzart, Germany

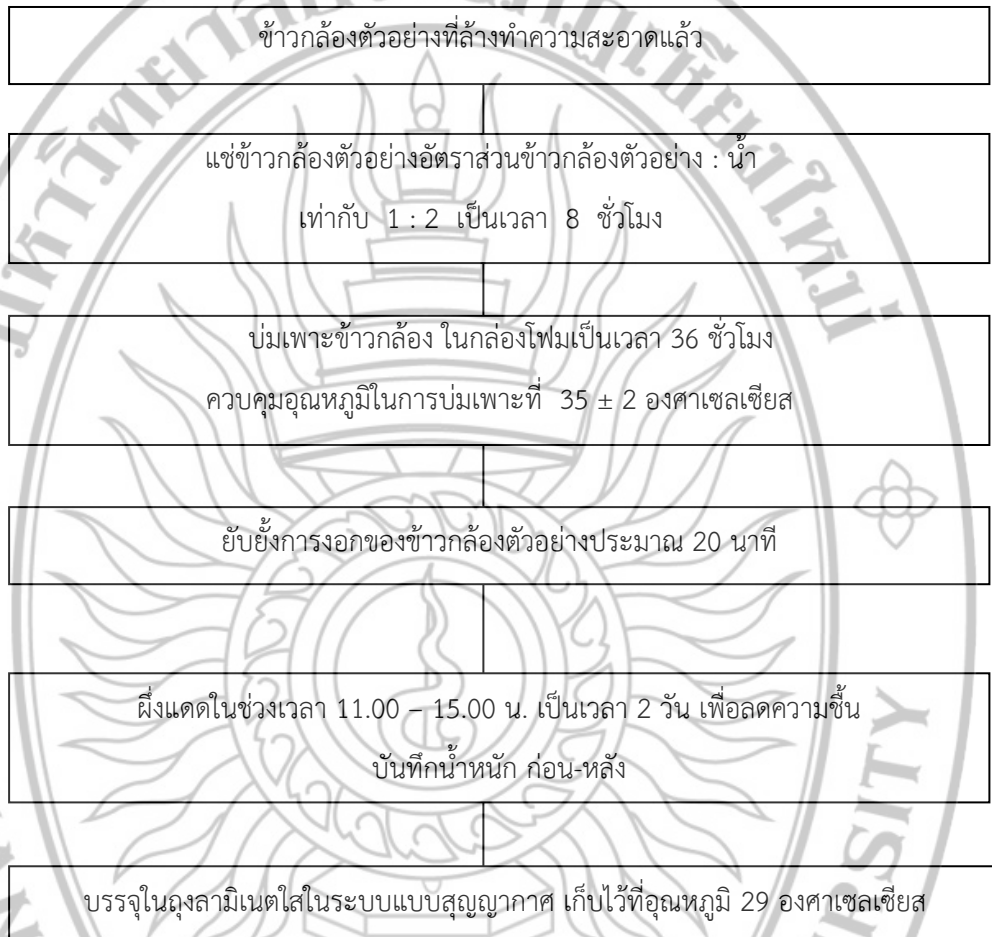
3.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน

ตอนที่1 ข้าวกลิ้งเพาะงอก

ตอนที่1-1 การเตรียมข้าวกลิ้งเพาะงอกตัวอย่าง

นำข้าวกลิ้งตัวอย่างล้างทำความสะอาด เพื่อขจัดสิ่งสกปรกออก แช่ข้าวกลิ้งตัวอย่างในน้ำ (น้ำประปา) ใช้อัตราส่วนระหว่าง น้ำหนักข้าวกลิ้งตัวอย่าง(กิโลกรัม) ต่อ น้ำ(ลิตร) เท่ากับ 1 : 2 เพาะงอกในถังพลาสติกที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 29 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เปลี่ยนน้ำที่แช่ทุกๆ 4 ชั่วโมง เพื่อป้องกันการเกิดกลิ่นหมักจากการแช่น้ำเป็นเวลานาน แล้วนำมาบ่มเพาะต่อ โดยเปลี่ยนถ่ายน้ำที่แช่ออก นำข้าวกลิ้งวางในผ้าขาวบางที่ชุ่มน้ำ บรรจุในกล่องโฟมควบคุมอุณหภูมิ ทำการบ่มเพาะในกล่องโฟมที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นนำไปนึ่งโดยการนึ่งในน้ำเดือดด้วยหม้อนึ่งไฟฟ้า เป็นเวลา 20 นาที เพื่อยับยั้งการงอก เกลี่ยเรียงเมล็ดข้าวกลิ้งเพาะงอก ความหนาประมาณ 0.5 เซนติเมตร ในถาดอะลูมิเนียม นำไปผึ่งแดดในช่วงเวลา 11.00 น. – 15.00 น. เป็นเวลา 2 วัน ให้ข้าวกลิ้งงอกตัวอย่างแห้งเพื่อลดความชื้น สังเกตได้จากเมล็ดข้าวกลิ้งเพาะงอกมีความใสและแข็ง

เก็บข้าวกล้องเพาะงอกในอุณหภูมิเนตใสที่บรรจุแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 29 ± 2 องศาเซลเซียส) เพื่อทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป กระบวนการเพาะข้าวกล้องงอกแสดงดังแผนภาพที่ 3.1



แผนภาพ 3.1 กระบวนการการเพาะข้าวกล้องงอกตัวอย่าง

ตอนที่ 1-2 การวิเคราะห์ปริมาณกาบาในข้าวกล้องเพาะงอก

ในการวิเคราะห์ปริมาณกาบาในข้าวกล้องเพาะงอกตัวอย่าง ด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี จะมี ขั้นตอนการทดลองตามลำดับ ดังหัวข้อ ต่อไปนี้

- 1-2-1 การสกัดกาบาจากข้าวกล้องเพาะงอก
- 1-2-2 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์กาบา
- 1-2-3 การหาค่าความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของกาบา
- 1-2-4 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกาบามาตรฐาน ด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสงใน

ช่วงวิสิเบิล (visible spectrophotometry)

1-2-5 การวิเคราะห์ปริมาณกาบาในข้าวกล้องเพาะงอกตัวอย่าง ด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสงในช่วงวิสิเบิล (visible spectrophotometry)

ตอนที่ 1-3 การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

ในการวิเคราะห์ปริมาณกาบาในข้าวกล้องเพาะงอกตัวอย่าง ด้วยเทคนิคสเปคโตรโฟโตเมทรี มีรายละเอียดในขั้นตอนต่างๆดังนี้

1-2-1 การสกัดกาบาจากข้าวกล้องเพาะงอก

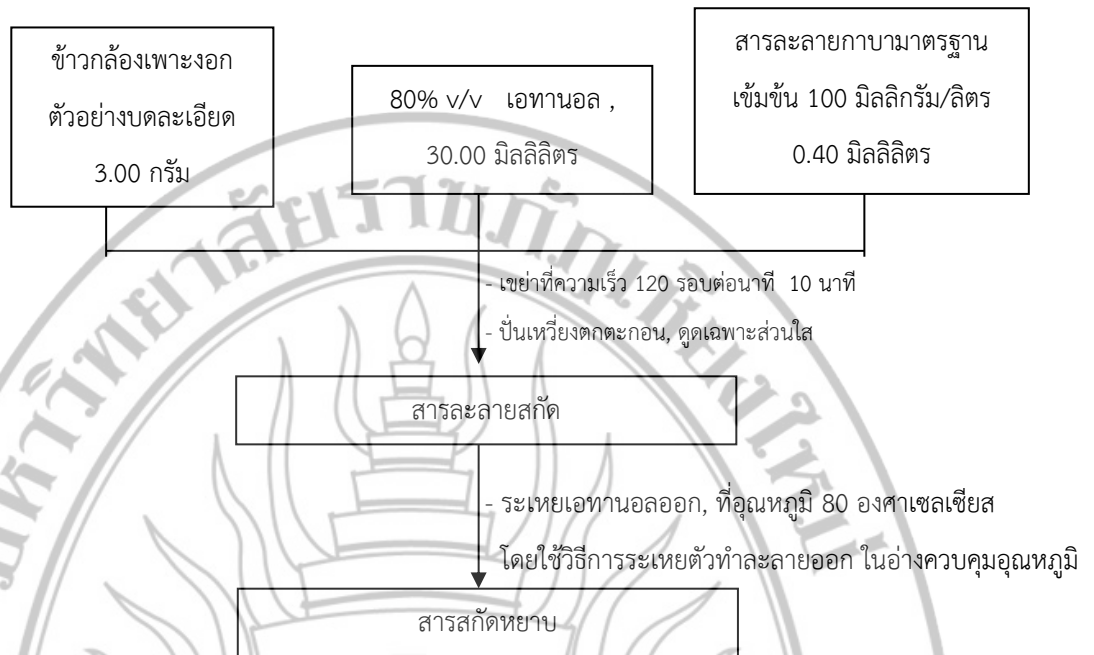
1) การเตรียมสารละลายสำหรับสกัด

- สารละลายเอทานอล เข้มข้น 80% v/v ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
ปีเปตต์เอทานอล เข้มข้น 95% ปริมาตร 84.21 มิลลิลิตร (แสดงการคำนวณในภาคผนวก ก.6) ใส่ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
- สารละลายกาบามาตรฐานเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาตร 50.00 มิลลิลิตร
ปีเปตต์สารละลายมาตรฐานเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร มา 5.00 มิลลิลิตร (แสดงการคำนวณในภาคผนวก ก.2) ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 50.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

2) การสกัดกาบาจากข้าวกล้องตัวอย่าง

นำข้าวกล้องเพาะงอกตัวอย่างมาบดให้ละเอียด ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดแล้ว 3.00 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 100.00 มิลลิลิตร ทำการสกัดกาบาโดยใช้ตัวทำละลาย 80% v/v เอทานอล ปริมาตร 30.00 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายกาบามาตรฐานเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร 0.40 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกส่วนสารละลายใสออกจากกากตะกอน ใช้ปีเปตต์ดูดเอาสารละลายส่วนที่ใส (ด้านบน) มา 25.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100.00 มิลลิลิตร ระเหยเอทานอลออก โดยระเหยในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ ที่ 80 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง จะได้สารสกัดกาบา เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกาบาต่อไป บันทึกน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่สกัดได้ คำนวณหาผลผลิตร้อยละ (%yield) การสกัดกาบาจากข้าวกล้องตัวอย่างเป็นดังแผนภาพ 3.2

$$\text{ผลผลิตร้อยละ (\%yield)} = \frac{\text{น้ำหนักสารที่สกัดได้}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้}} \times 100$$



แผนภาพ 3.2 การสกัดกามาจากข้าวกล้องตัวอย่าง

หมายเหตุ ในการสกัดกามาจากแป้งข้าวกล้องพะงอกก็ทำเช่นเดียวกันกับการสกัดกามาจากข้าวกล้องพะงอก

1-2-2 การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์กามา

1) สารละลายกามาตรฐาน

- สารละลายกามาตรฐาน (stock solution) เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ซึ่งกรดแกมมาเอมิโนบิวทริกหรือกามา 0.1010 กรัม (แสดงการคำนวณในภาคผนวก ก.1) ละลายด้วยน้ำกลั่น ใส่ขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
- สารละลายมาตรฐานเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาตร 5.00 มิลลิลิตร
ปิเปตต์สารละลายมาตรฐานเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัม/ลิตร มา 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25 มิลลิลิตร (แสดงการคำนวณในภาคผนวก ก.3) ใส่ขวดปรับปริมาตร ขนาด 5.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

2) สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ พีเอช (pH) เท่ากับ 9

- สารละลายกรดบอริก เข้มข้น 1 โมล/ลิตร ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร

ซึ่งกรดบอริก 6.20 กรัม (แสดงการคำนวณในภาคผนวก ก.4) ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 30.00 มิลลิลิตร โดยให้ความร้อนพร้อมคนตลอดเวลาจนสารละลายหมด จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 80.00 มิลลิลิตร

ด้วยน้ำกลั่นที่ร้อน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเย็น ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 โมล/ลิตร ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร

ซังโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4.12 กรัม (แสดงการคำนวณในภาคผนวก ก.5) ละลายด้วยน้ำกลั่น ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

- สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ พีเอช (pH) เท่ากับ 9

เทสารละลายกรดบอริก เข้มข้น 1 โมล/ลิตร ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ ขนาด 250.00 มิลลิลิตร แล้วใช้เครื่องวัดค่าความเป็นกรดต่าง (pH meter) วัดค่าพีเอช (pH) จากนั้นค่อยๆ เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1 โมล/ลิตร ทีละหยด จนได้สารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอช (pH) เท่ากับ 9

3) สารละลายฟีนอล เข้มข้น 6% w/v ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร

ซังฟีนอล 6.03 กรัม (แสดงการคำนวณในภาคผนวก ก.7) ละลายด้วย น้ำกลั่น ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100.00 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

4) สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ เข้มข้น 6% w/w ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร

สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ที่ใช้ได้จากผลิตภัณฑ์ฟอกผ้าขาวไฮเตอร์ ซึ่งมีสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ เท่ากับ 6% w/w

1-2-3 การหาค่าความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของกาบา

หาค่าความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของกาบา โดยการเลือกใช้สารละลายกาบา มาตรฐานที่มีความเข้มข้น 150 มิลลิกรัม/ลิตร (จากการเตรียมสารละลายในข้อ 1-2-2) โดย ปิเปตต์สารละลาย มา 0.40 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาดเล็ก เติมสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์พีเอช 9 0.40 มิลลิลิตร และ 6% w/v ฟีนอล 2.00 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำเย็นอุณหภูมิประมาณ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม 6% w/w โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.80 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำเย็นอุณหภูมิประมาณ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำสารละลายทั้งหมดไปต้มในอ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิประมาณ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 29 องศาเซลเซียส สีของสารละลายจะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน นำ

สารละลายที่ได้ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้ความยาวคลื่นในช่วง 400 – 800 นาโนเมตร เพื่อหาค่าความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max})

1-2-4 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกาบามาตรฐาน ด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสงในช่วงวิสิเบิล (visible spectrophotometry)

การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกาบามาตรฐาน ทำโดยปีเปตต์สารละลายกาบามาตรฐานเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 มิลลิกรัม/ลิตร (จากการเตรียมสารละลายในข้อ 1-2-2) อย่างละ 0.40 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง 5 หลอด ตามลำดับ ในแต่ละหลอดเติมสารละลายต่างๆ เช่นเดียวกับการหาค่าความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ของกาบา (ข้อ 1-2-3) จากนั้นนำสารละลายกาบามาตรฐานทั้ง 5 หลอด (5 ความเข้มข้น) ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด 633 นาโนเมตร (ซึ่งได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นในช่วง 400 – 800 นาโนเมตร) สร้างกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าความเข้มข้นของสารละลายกาบามาตรฐาน การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกาบามาตรฐานดังแผนภาพ 3.3

สารละลายกาบามาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร	
	1) เติมสารละลาย - บอเรตบัฟเฟอร์พีเอช (pH) 9 ปริมาตร 0.40 มิลลิลิตร - 6% w/v ฟีนอล ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร 2) แช่ในอ่างน้ำเย็น 0 องศาเซลเซียส 5 นาที 3) เติม 6% w/w โซเดียมไฮโปคลอไรท์ , 0.80 มิลลิลิตร 4) เขย่า 1 นาที 5) แช่ในอ่างน้ำเย็น 0 องศาเซลเซียส 5 นาที
สารละลายผสมที่มีการเปลี่ยนแปลงสีจากสารละลายใสเป็นสารละลายสีน้ำเงิน	
วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด 633 นาโนเมตร	
สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกาบามาตรฐาน	

แผนภาพ 3.3 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกาบามาตรฐาน

1-2-5 การวิเคราะห์หาค่าปริมาณในตัวอย่างผงด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสงในช่วงวิสิเบิล (visible spectrophotometry)

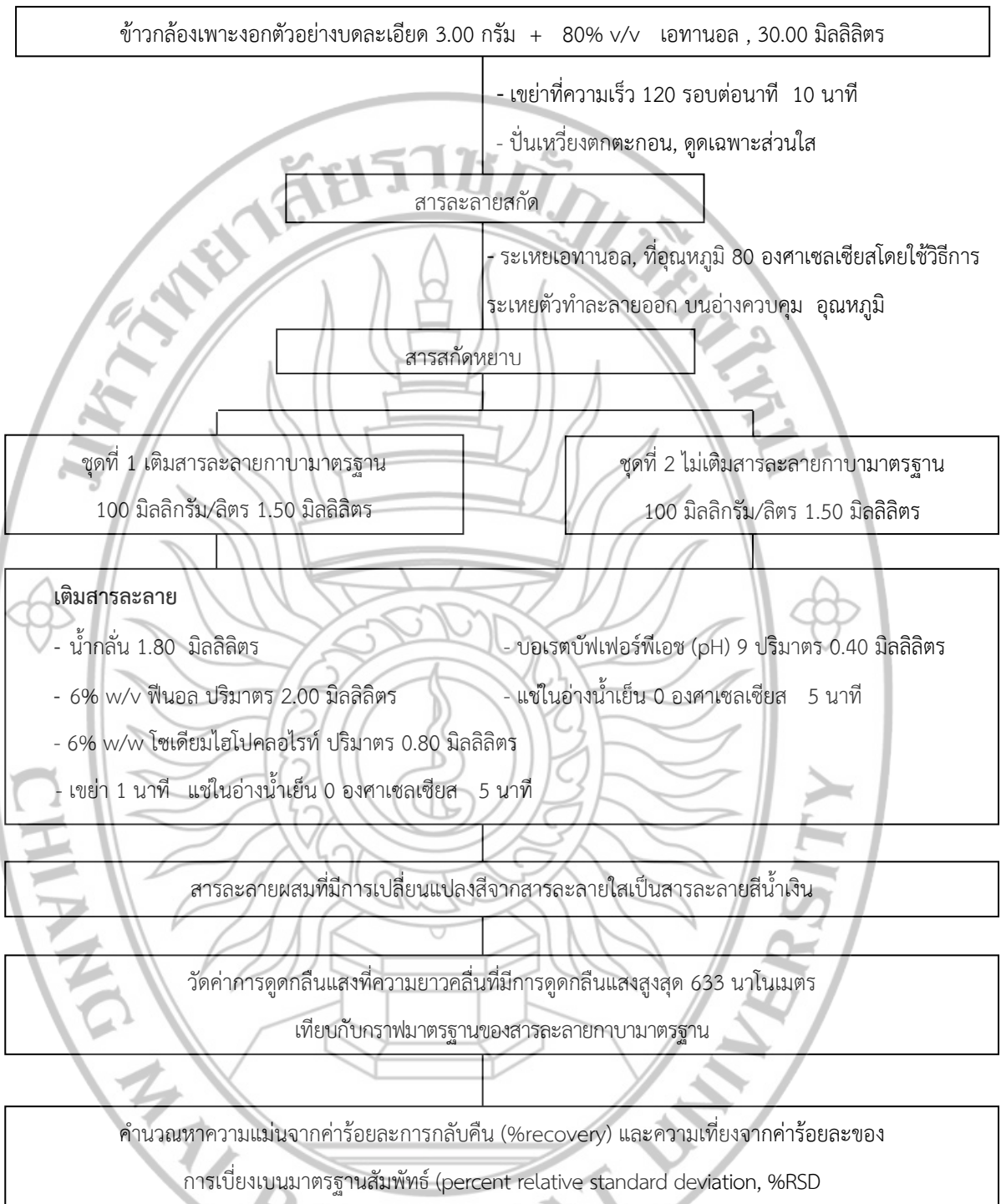
นำสารสกัดจากข้าวกล้องพะวงอกตัวอย่าง (จากการเตรียมในข้อ 1-2-1) เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 1.80 มิลลิลิตร และสารละลายกาบามาตรฐานเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาตร 0.40 มิลลิลิตร ตามด้วยสารละลายต่างๆเช่นเดียวกับการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกาบามาตรฐาน (ในหัวข้อ1-2-4) สีของสารละลายจะค่อยๆเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด633นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณกาบามาตรฐานในตัวอย่างโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกาบามาตรฐาน การวิเคราะห์หาค่าปริมาณในข้าวกล้องพะวงอก ดังแสดงในแผนภาพ 3.4



แผนภาพ 3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณกาบามาตรฐานในตัวอย่างผงด้วยเทคนิคการดูดกลืนแสงในช่วงวิสิเบิล (visible spectrophotometry)

ตอนที่ 1-3 การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์เป็นการหาความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ และความเที่ยงของข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง โดยแบ่งเข้าวาล้องเพาะงอกตัวอย่างออกเป็น 2 ชุด คือ ชุดที่ 1 เติมสารละลายกาบามาตรฐานเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาตร 1.50 มิลลิลิตร และชุดที่ 2 ไม่เติมสารละลายกาบามาตรฐานเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาตร 1.50 มิลลิลิตร นำเข้าวาล้องตัวอย่างมาบดให้ละเอียด ซึ่งตัวอย่างที่บดละเอียดแล้ว 3.00 กรัม ลงในบีกเกอร์ ขนาด 100.00 มิลลิลิตร ทำการสกัดกาบา โดยใช้ตัวทำละลาย 80% v/v เอทานอล ปริมาตร 30.00 มิลลิลิตร แล้วทำการสกัดกาบาจากเข้าวาล้องเพาะงอกตัวอย่าง (ในหัวข้อ 3.4.2) เติมสารละลายเช่นเดียวกับการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกาบามาตรฐาน (ในหัวข้อ 3.4.3) สีของสารละลายจะค่อยๆเปลี่ยนเป็นน้ำเงิน นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนแสงสูงสุด 633 นาโนเมตร คำนวณหากาบาในเข้าวาล้องตัวอย่าง โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกาบามาตรฐาน คำนวณหาความแม่นยำจากค่าร้อยละการกลับคืน (%recovery) และความเที่ยงจากค่าร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (percent relative standard deviation, %RSD) การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์เป็นดังแผนภาพ 3.5



แผนภาพ 3.5 การหาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

ตอนที่ 2 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของแป้งข้าวกล้องพะวงอกสำหรับทดแทนแป้งสาลีในการทำขนมมัฟฟิน

ตอนที่ 2-1 การเตรียมแป้งข้าวกล้องพะวงอก

นำข้าวกล้องพะวงอกที่ล้างทำความสะอาด และกำจัดสิ่งสกปรกออกหมดแล้ว มาปั่นจนเป็นผงแป้งละเอียด ด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า จากนั้นนำไปร่อนในตะแกรงร่อนแป้งขนาด 80 เมช เก็บแป้งข้าวกล้องพะวงอกที่ได้ไว้ในถุงลามิเนตใสที่บรรจุแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 29 ± 2 องศาเซลเซียส) เพื่อใช้ทดแทนแป้งสาลีในขนมมัฟฟิน

ตอนที่ 2-2 การทำขนมมัฟฟิน

ขนมมัฟฟินมีส่วนประกอบหลัก คือ แป้ง น้ำตาล เนย และผงฟู ในขั้นตอนการทำจะแบ่งเป็นส่วนผสมแห้ง และส่วนผสมเปียก ส่วนผสมทั้งสองจะถูกนำมาผสมกัน ทำให้เป็นเนื้อเดียว แล้วนำเข้าเตาอบทันที ในขั้นตอนนี้ จะใช้แป้งข้าวกล้องพะวงอกตัวอย่างในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน ทดแทนแป้งสาลี โดยใช้สูตรมัฟฟินจากการศึกษาของ ชญาภัทร์, ฌนนท์ และศศิธร (2553) วางแผนการทดลองแบบสุ่มตัวอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) 3 ระดับ คือร้อยละ 20, 40 และ 60 ของน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมดของสูตรพื้นฐาน (control) ดังตารางที่ 3.1, 3.2 และแผนภาพที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ส่วนผสมหลักในสูตรพื้นฐาน(control)

ส่วนผสม	อัตราส่วนผสม (กรัม)
แป้งเค้ก	100.00
แป้งสาลีเอนกประสงค์	100.00
ผงฟู	4.67
เบคกิ้งโซดา	4.67
กลีเซอรีน	3.33
เนยสดชนิดเค็ม	160.00
น้ำตาลทราย	150.00
ไข่	150.00
นมสด	50.00
เกลือ	1.60

ตารางที่ 3.2 สูตรขนมมัฟฟิน ที่ใช้ในการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการใช้แป้งข้าวกล้องพะวงอก
ทดแทนแป้งสาลี

สูตรขนมมัฟฟิน	แป้งเค้ก (ร้อยละ)	แป้งสาลีอเนกประสงค์ (ร้อยละ)	แป้งข้าวกล้องพะวงอก (ร้อยละ)
สูตรควบคุม	50	50	0
สูตรทดแทนร้อยละ 20	40	40	20
สูตรทดแทนร้อยละ 40	30	30	40
สูตรทดแทนร้อยละ 60	20	20	60



แผนภาพ 3.1 วิธีทำขนมมัฟฟิน

ที่มา : ดัดแปลงจาก ชญาภัทร์, ฌนนท์ และศศิธร (2553)

ตอนที่ 2-3 การศึกษาคุณภาพทางกายภาพ

นำขนมมัฟฟินทุกตัวอย่าง มาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี ค่าความชื้น ค่าวอเตอร์แอกติวิตี

ตอนที่ 2-4 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

ทดสอบความชอบของขนมมัฟฟิน เพื่อหาการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อ สีของเนื้อใน กลิ่นรสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ใช้แบบทดสอบความชอบแบบหลายตัวอย่าง (multi-sample test) สเกลความชอบแบบ 9-จุด (9-point hedonic scaling test) กับผู้ทดสอบจำนวน 50 คน โดยผู้วิจัยจะเสิร์ฟขนมมัฟฟินสูตรที่ 2, 3 และ 4 ควบคู่ กับขนมมัฟฟินสูตรควบคุม (สูตรที่ 1) ซึ่งเมื่อผู้ประเมินแต่ละคนได้รับขนมมัฟฟินทั้ง 4 สูตร แล้ว ให้คะแนน (scoring) โดยการระบุคะแนนความชอบที่ระดับต่างๆตั้งแต่ 0 ถึง 9 คะแนน โดย ระดับ 9 คะแนน หมายถึง ชอบมากที่สุด และ ระดับ 1 คะแนน หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด จากนั้นนำผลข้อมูลมาวิเคราะห์ผลการยอมรับของผู้บริโภคโดยใช้ค่าเฉลี่ย เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการใช้แป้งข้าวกล้องเพาะงอกทดแทนแป้งสาลีในขนมมัฟฟิน

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส
ผลิตภัณฑ์ “ขนมมัฟฟินจากแป้งข้าวกล้องพะวงอก”

ชุดตัวอย่างที่ เพศ..... อายุ..... วันที่ทดสอบ

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสแบ่งออกเป็น 2 ตอน

ตอนที่ 1 การเปรียบเทียบตัวอย่างคู่กับตัวอย่างอ้างอิง

คำแนะนำ : กรุณาชิมตัวอย่างที่เสนอกจากซ้ายไปขวา แล้ววงกลมล้อมรอบรหัสตัวอย่างที่เหมือนกับตัวอย่าง

R R R R

R

685

601

312

ตอนที่ 2 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

คำแนะนำ : กรุณาชิมตัวอย่างจำนวน 4 ตัวอย่างให้ตรงตามรหัส แล้วระบุความชอบด้านสี กลิ่น รส

เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม โดยเขียนหมายเลขที่ตรงกับความรู้สึกของท่าน ดังนี้

- | | |
|---------------------|------------------|
| 1 = ไม่ชอบมากที่สุด | 6 = ชอบเล็กน้อย |
| 2 = ไม่ชอบมาก | 7 = ชอบปานกลาง |
| 3 = ไม่ชอบปานกลาง | 8 = ชอบมาก |
| 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย | 9 = ชอบมากที่สุด |
| 5 = เฉยๆ | |

	รหัส	685	601	312
คุณลักษณะ	รหัส	685	601	312
สี				
กลิ่น				
รส				
เนื้อสัมผัส				
ความชอบโดยรวม				

ตอนที่ 3 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของแป้งข้าวกล้องพะวงอกสำหรับทดแทนแป้งสาลีในการทำคุกกี้

ตอนที่ 3-1 การเตรียมแป้งข้าวกล้องพะวงอก

นำข้าวกล้องพะวงอกที่ล้างทำความสะอาด และกำจัดสิ่งสกปรกออกหมดแล้ว มาปั่นจนเป็นผงแป้งละเอียด ด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า จากนั้นนำไปร่อนในตะแกรงร่อนแป้งขนาด 80 เมช เก็บแป้งข้าวกล้องพะวงอกที่ได้ไว้ในถุงลามิเนตใสที่บรรจุแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 29 ± 2 องศาเซลเซียส) เพื่อใช้ทดแทนแป้งสาลีในคุกกี้

ตอนที่ 3-2 การทำคุกกี้

ในการทดลองนี้ ใช้ส่วนผสม สูตรการทำคุกกี้ จากการศึกษาของ ชญาภัทร์, ฉนวนนท์ และศศิธร (2553) วางแผนการทดลองแบบสุ่มตัวอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) 3 ระดับ คือร้อยละ 15, 30 และ 45 ของน้ำหนักส่วนผสมทั้งหมดของสูตรพื้นฐาน (control) ดังตารางที่ 3.3, 3.4 และแผนภาพที่ 3.2

ตารางที่ 3.3 ส่วนผสมหลักในสูตรพื้นฐาน(control)

ส่วนผสม	อัตราส่วนผสม (กรัม)
แป้งสาลีเอนกประสงค์	350.00
ผงฟู	7.00
นมผง	10.00
น้ำตาลไอซิ่ง	160.00
เนยสดชนิดเค็ม	350.00
ผงวานิลลา	10.00
ไข่ไก่	25.00
เกลือ	1.60

ตารางที่ 3.4 สูตรคุกกี้ ที่ใช้ในการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการใช้แป้งข้าวกล้องพะงอกทดแทนแป้งสาลี

สูตรคุกกี้	แป้งสาลีเนกประสงค์ (ร้อยละ)	แป้งข้าวกล้องพะงอก (ร้อยละ)
สูตรควบคุม	100	0
สูตรทดแทนร้อยละ 15	85	15
สูตรทดแทนร้อยละ 30	70	30
สูตรทดแทนร้อยละ 45	55	45



แผนภาพ 3.2 วิธีทำคุกกี้

ที่มา : ดัดแปลงจาก ชญาภัทร์, ฌนนท์ และศศิธร (2553)

ตอนที่ 3-3 การศึกษาคุณภาพทางกายภาพ

นำคูกี้ ทุกตัวอย่าง มาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี ค่าความชื้น ค่าวอเตอร์แอกติวิตี

ตอนที่ 3-4 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

ทดสอบความชอบของคูกี้ เพื่อหาการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ใช้แบบทดสอบความชอบแบบหลายตัวอย่าง (multi-sample test) สเกลความชอบแบบ 9-จุด (9-point hedonic scaling test) กับผู้ทดสอบจำนวน 50 คน โดยผู้ทดสอบชิมจะได้รับคูกี้ตัวอย่าง ทั้ง 4 สูตร แล้ว ให้คะแนน (scoring) โดยการระบุคะแนนความชอบที่ระดับต่างๆตั้งแต่ 0 ถึง 9 คะแนน โดย ระดับ 9 คะแนน หมายถึง ชอบมากที่สุด และ ระดับ 1 คะแนน หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด จากนั้นนำผลข้อมูลมาวิเคราะห์ผลการยอมรับของผู้บริโภคโดยใช้ค่าเฉลี่ย ทำการประเมิน เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการใช้แป้งข้าวกล้องเพาะงอกทดแทนแป้งสาลีในคูกี้

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส
ผลิตภัณฑ์ “คุกกี้จากแป้งข้าวกล้องพะวงอก”

ชุดตัวอย่างที่ เพศ..... อายุ..... วันที่ทดสอบ

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสแบ่งออกเป็น 2 ตอน

ตอนที่ 1 การเปรียบเทียบตัวอย่างคู่กับตัวอย่างอ้างอิง

คำแนะนำ : กรุณาชิมตัวอย่างที่เสนอกจากซ้ายไปขวา แล้ววงกลมล้อมรอบรหัสตัวอย่างที่เหมือนกับตัวอย่าง

R R R R

R

206

864

971

ตอนที่ 2 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

คำแนะนำ : กรุณาชิมตัวอย่างจำนวน 4 ตัวอย่างให้ตรงตามรหัส แล้วระบุความชอบด้านสี กลิ่น รส

เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม โดยเขียนหมายเลขที่ตรงกับความรู้สึกของท่าน ดังนี้

1 = ไม่ชอบมากที่สุด

6 = ชอบเล็กน้อย

2 = ไม่ชอบมาก

7 = ชอบปานกลาง

3 = ไม่ชอบปานกลาง

8 = ชอบมาก

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย

9 = ชอบมากที่สุด

5 = เฉยๆ

รหัส	206	864	971
คุณลักษณะ			
สี			
กลิ่น			
รส			
เนื้อสัมผัส			
ความชอบโดยรวม			

ตอนที่ 4 การสำรวจทัศนคติของผู้บริโภค ที่มีต่อผลิตภัณฑ์ขนมอบจากแป้งข้าวกล้องเพาะงอก

ในการสำรวจทัศนคติของผู้บริโภค จะใช้กลุ่มผู้ทดสอบคือประชาชน บุคคลทั่วไป ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ และใช้แบบสอบถามความคิดเห็นที่ได้จัดทำขึ้นเป็นเครื่องมือวิจัย

ตอนที่ 4-1 การจัดทำแบบสอบถาม

ในการจัดทำแบบสอบถาม มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาทัศนคติด้านผลิตภัณฑ์ ความพึงพอใจ และแนวโน้มพฤติกรรมผู้บริโภคขนมอบ โดยแบ่งคำถามออกเป็น 5 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 ลักษณะประชากรศาสตร์ของผู้ตอบแบบสอบถาม

ในส่วนนี้ จะเป็นคำถามที่เกี่ยวข้องกับข้อมูลส่วนบุคคลของผู้ตอบแบบสอบถาม ได้แก่ เพศ อายุ ระดับ การศึกษา อาชีพ และรายได้ต่อเดือน

ส่วนที่ 2 ทัศนคติที่มีต่อผลิตภัณฑ์

แบบสอบถามจะเน้นเกี่ยวกับทัศนคติที่มีต่อผลิตภัณฑ์ขนมอบที่มีการใช้แป้งข้าวกล้องทดแทนแป้งสาลี ในด้านของประโยชน์หลัก รูปลักษณ์ผลิตภัณฑ์ และ ผลิตภัณฑ์ที่คาดหวัง

ส่วนที่ 3 ปัจจัยด้านแรงจูงใจในการซื้อ

ในส่วนนี้ จะเป็นคำถามที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยที่มีผลต่อแรงจูงใจในการซื้อผลิตภัณฑ์ขนมอบที่มีการใช้แป้งข้าวกล้องทดแทนแป้งสาลี โดยเน้นด้านเหตุผล และอารมณ์

ส่วนที่ 4 ความพึงพอใจต่อการบริโภค

แบบสอบถามจะเป็นคำถามด้านความพึงพอใจโดยรวม ที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยที่มีผลต่อแรงจูงใจในการบริโภคผลิตภัณฑ์ขนมอบที่มีการใช้แป้งข้าวกล้องทดแทนแป้งสาลี

ส่วนที่ 5 พฤติกรรมแนวโน้มการบริโภค

ในส่วนนี้ จะเป็นคำถามที่เกี่ยวข้องกับแนวโน้มพฤติกรรมผู้บริโภคผลิตภัณฑ์ขนมอบ ที่มีการใช้แป้งข้าวกล้องทดแทนแป้งสาลี

แบบสอบถามในส่วนที่ 2-5 จะใช้วิธีการให้คะแนน ระดับการให้คะแนน มี 5 ระดับ โดยมีเกณฑ์การให้คะแนน ดังนี้

คะแนน		ระดับความคิดเห็น
5	หมายถึง	เห็นด้วยอย่างยิ่ง
4	หมายถึง	เห็นด้วย
3	หมายถึง	ไม่แน่ใจ
2	หมายถึง	ไม่เห็นด้วย
1	หมายถึง	ไม่เห็นด้วยอย่างยิ่ง

ตอนที่ 4-2 การจัดทำข้อมูล และการวิเคราะห์ข้อมูล

แบบสอบถามที่ได้รับคืนจากผู้ประเมิน จะถูกรวบรวม และดำเนินการต่อไปนี้

1. การตรวจสอบความถูกต้องและความสมบูรณ์ของแบบสอบถาม (Editing) และลงรหัส(Code) โดยนำแบบสอบถามที่ตรวจสอบความถูกต้องแล้วมาลงรหัส เพื่อทำการป้อนข้อมูลต่างๆ ลงเครื่องคอมพิวเตอร์
2. การประมวลผลข้อมูลเพื่อวิเคราะห์เชิงพรรณนาและทดสอบสมมติฐาน ซึ่งแยกการวิเคราะห์ข้อมูลออกเป็นส่วนต่างๆ ดังนี้
 - 2.1 วิเคราะห์ลักษณะข้อมูลส่วนตัวของผู้ตอบแบบสอบถามในด้าน เพศอายุ ระดับการศึกษาสูงสุด อาชีพ จำนวนสมาชิกในครอบครัว รายได้ และสถานภาพการสมรส โดยการใช้การแจกแจงความถี่ (Frequency) และร้อยละ (Percentage)
 - 2.2 วิเคราะห์ข้อมูลด้านทัศนคติด้านผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภค ในการตัดสินใจบริโภคผลิตภัณฑ์นมอบที่มีการใช้แป้งข้าวกล็องทดแทนแป้งสาลี การหาค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation: S.D)
 - 2.3 วิเคราะห์ข้อมูลด้านแนวโน้มพฤติกรรมกรบริโภคผลิตภัณฑ์นมอบที่มีการใช้แป้งข้าวกล็องทดแทนแป้งสาลีของผู้บริโภค โดยการใช้การแจกแจงความถี่ ร้อยละ การหาค่าเฉลี่ย (x) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation: S.D)

ตอนที่ 4-3 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

4-3-1 ร้อยละ (Percentage) เป็นค่าที่ได้จากการเทียบความถี่ของข้อมูลที่ต้องการ กับความถี่ของข้อมูลทั้งหมด ที่เทียบเป็น 100 ซึ่งเขียนเป็นสูตรได้ดังนี้

$$P = \frac{f}{n} (100)$$

เมื่อ	P	แทน	ร้อยละหรือเปอร์เซ็นต์
	f	แทน	ความถี่ของข้อมูลในแต่ละกลุ่ม
	n	แทน	จำนวนความถี่ทั้งหมด หรือจำนวนกลุ่มตัวอย่าง

4-3-2 ค่าเฉลี่ย (Mean) เป็นค่ากลางหรือเป็นตัวแทนของข้อมูล ได้จากการนำผลรวมของค่าสังเกตหรือค่าของตัวอย่างที่ได้จากการสำรวจทุกค่าของข้อมูล แล้วหารด้วยจำนวนตัวอย่างของข้อมูล ซึ่งเขียนเป็นสูตรได้ดังนี้

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

เมื่อ x_i แทน ค่าสังเกตของข้อมูลลำดับที่ i
 n แทน จำนวนตัวอย่างข้อมูล

4-3-3 การหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation : S.D.) เป็นค่าวัดการกระจายของข้อมูลทางสถิติที่เป็นปกติทั่วไป ใช้สำหรับเปรียบเทียบว่าค่าต่างๆ ในกลุ่มข้อมูลกระจายตัวออกไปมากน้อยเท่าใด หากข้อมูลส่วนใหญ่อยู่ใกล้ค่าเฉลี่ยมาก ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานก็จะมีค่าน้อย ในทางกลับกัน ถ้าข้อมูลแต่ละจุดอยู่ห่างไกลจากค่าเฉลี่ยเป็นส่วนมาก ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานก็จะมีค่ามาก และเมื่อข้อมูลทุกตัวมีค่าเท่ากันหมด ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจะมีค่าเท่ากับศูนย์ นั่นคือไม่มีการกระจายตัว ซึ่งเขียนเป็นสูตรได้ดังนี้

$$S = i \sqrt{\frac{n \sum fd^2 - (\sum fd)^2}{n(n-1)}}$$

เมื่อ S แทน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
 n แทน จำนวนข้อมูลทั้งหมด หรือจำนวนกลุ่มตัวอย่าง
 i แทน อันตรภาคชั้น (ช่วงห่างของข้อมูลในแต่ละชั้น)
 f แทน ความถี่ในแต่ละอันตรภาคชั้น
 d แทน $\frac{\text{ค่ากึ่งกลางอันตรภาคชั้น} - \text{ค่าเฉลี่ยสมมติ}}{\text{อันตรภาคชั้น}}$