เลขที่อนุสิทธิบัตร 22132

อสป/200 - ข

อนุสิทธิบัตร

อาศัยอำนาจตามความในพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522
ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542
อธิบดีกรมทรัพย์สินทางปัญญาออกอนุสิทธิบัตรฉบับนี้ให้แก่

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

สำหรับการประดิษฐ์ตามรายละเอียดการประดิษฐ์ ข้อถือสิทธิ และรูปเขียน (ถ้ามี) ดังที่ปรากฏในอนุสิทธิบัตรนี้

22132

เลขที่คำขอ	1903000677
วันขอรับอนุสิทธิบัตร	19 มีนาคม 2562
ผู้ประดิษฐ์	**นางสาววิไลลักษณ์ ชัยสิทธิ์ และคณะ**
ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์	**กรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส**

ให้ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรนี้มีสิทธิและหน้าที่ตามกฎหมายว่าด้วยสิทธิบัตรทุกประการ

ออกให้ ณ วันที่ 21 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2566

หมดอายุ ณ วันที่ 18 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2568

(นายกิตติวัฒน์ ปัจฉิมนันท์)
รองอธิบดีกรมทรัพย์สินทางปัญญา ปฏิบัติราชการแทน
อธิบดีกรมทรัพย์สินทางปัญญา
ผู้ออกอนุสิทธิบัตร

พนักงานเจ้าหน้าที่

หมายเหตุ
1. ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรต้องชำระค่าธรรมเนียมรายปีเริ่มตั้งแต่ปีที่ 5 ของอายุอนุสิทธิบัตร มิฉะนั้น อนุสิทธิบัตรนี้จะสิ้นอายุ
2. ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรจะขอชำระค่าธรรมเนียมรายปีล่วงหน้าโดยชำระทั้งหมดในคราวเดียวได้
3. ภายใน 90 วันก่อนวันสิ้นอายุอนุสิทธิบัตร ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรมีสิทธิขอต่ออายุอนุสิทธิบัตรได้ 2 คราว มีกำหนดคราวละ 2 ปี โดยยื่นคำขอต่ออายุ ต่อพนักงานเจ้าหน้าที่
4. การอนุญาตให้ใช้สิทธิตามอนุสิทธิบัตรและการโอนอนุสิทธิบัตรต้องทำเป็นหนังสือและจดทะเบียนต่อพนักงานเจ้าหน้าที่

Ref.256601055772170

รายละเอียดการประดิษฐ์

ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

กรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส

สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

เทคโนโลยีอาหารในส่วนที่เกี่ยวข้องกับกรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส

ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

ขนมปังเป็นผลิตภัณฑ์อาหารชนิดหนึ่งที่มีความนิยมในการบริโภคสูง โดยขนมปังมีส่วนประกอบหลักเป็นแป้งสาลีซึ่งมีโปรตีนกลูเตนเป็นองค์ประกอบสำคัญที่ช่วยทำให้ขนมปังมีคุณภาพที่ดี กลูเตนประกอบด้วยโปรตีนกลูเตนนิน (glutennin) และไกลอะดิน (gliadin) ซึ่งมีส่วนสำคัญในการทำให้โดมีสมบัติหนืดและยืดหยุ่น (viscoelastic property) ซึ่งเป็นสมบัติที่สำคัญของขนมปัง ทำให้โดสามารถกักเก็บแก๊สไว้ได้ดี และทนการขยายตัวขณะอบ (Cauvain, 1998) แต่ได้มีการพบว่ากลูเตนทำให้เกิดอาการแพ้ได้ในบางคน (Murray, 1999) สำหรับผู้ที่ป่วยเป็นโรคแพ้กลูเตน (coeliac disease or gluten intolerance) ยังไม่มีวิธีที่สามารถรักษาให้หายขาดได้ วิธีที่ดีที่สุดที่สามารถป้องกันการเกิดอาการแพ้ซ้ำได้อีกคือ การเลือกรับประทานอาหารที่ปราศจากกลูเตน (gluten-free diet) ขนมปังปราศจากกลูเตนจัดเป็นอาหารชนิดหนึ่งที่คนแพ้กลูเตนมีความต้องการในการบริโภคสูง เนื่องจากเคยชินกับการบริโภคเป็นอาหารหลักก่อนเป็นโรคแพ้กลูเตน แต่ขนมปังที่ผลิตจากแป้งปราศจากกลูเตนมีคุณภาพต่ำไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ถึงแม้จะมีขนมปังปราศจากกลูเตนทางการค้าแล้วก็ตาม แต่ก็ยังมีเนื้อสัมผัสที่แตกต่างจากขนมปังทั่วไปมาก

กลูเตนมีส่วนสำคัญในการทำให้โดมีสมบัติหนืดและยืดหยุ่นซึ่งเป็นสมบัติที่สำคัญของขนมปัง ทำให้สามารถกักเก็บแก๊สไว้ได้ การปรับปรุงคุณสมบัติของขนมปังปราศจากกลูเตนจึงเป็นความท้าทาย โดยได้มีการค้นคว้าและพัฒนาขนมปังปราศจากกลูเตนให้มีคุณภาพดีขึ้น ด้วยการศึกษาหาส่วนผสมจำพวกวัตถุเจือปนอาหาร (food additives) ที่เติมลงในแป้งปราศจากกลูเตนแล้วทำให้มีสมบัติดังกล่าว โดยคาดว่าจะส่งผลให้ได้ผลิตภัณฑ์ขนมปังปราศจากกลูเตนที่มีคุณภาพดีขึ้นได้ โดยส่วนที่เคยมีการศึกษาได้แก่ ไซเลียมฮัสค์ (Psyllium husks), ผลิตภัณฑ์จากนม (เช่น โยเกิร์ต, โซเดียมเคซีเนต (sodium caseinate), โปรตีนจากนม, นมผง, นมผงขาดมันเนย), โปรตีนถั่วเหลือง, โปรตีนจากไข่ (อัลบูมิน (albumins) และ โกลบูลิน (globulins)), โปรตีนจากถั่วพี (pea) เป็นต้น แต่คุณภาพของขนมปังที่ได้ก็ยังคงดีขึ้นในวงจำกัดและต้องการการพัฒนาอีกมากเพื่อให้คล้ายกับขนมปังแบบปกติที่มีกลูเตน

การปรับปรุงคุณภาพของขนมปังปราศจากกลูเตนต่อมาได้มีการขยายการศึกษาไปสู่การใช้ไฮโดรคอลลอยด์และกัมเพื่อช่วยเพิ่มความหนืดและการกักเก็บฟองอากาศ เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethylcellulose; CMC) และแซนแทนกัมซึ่งจะช่วยจับน้ำไว้ (water binders) ทำให้แป้งปราศจากกลูเตนดูดซับน้ำได้ดีขึ้น ส่วนไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส (hydroxypropylmethylcellulose; HPMC) นอกจากจะช่วยจับน้ำแล้วยังช่วยกักเก็บฟองแก๊สได้อีกด้วย (Ngemakwe และคณะ, 2015) แต่การใช้ไฮโดรคอลลอยด์เพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอที่จะแทนที่กลูเตนได้ และโปรตีนที่มีอยู่ในแป้งปราศจากกลูเตนก็มักจะมีความสามารถไม่เพียงพอที่จะสร้างโครงร่างโปรตีน (protein network) มีการพบว่าการเติมโปรตีนในขนมปังปราศจากกลูเตนในแง่คุณค่าทางโภชนาการนอกจากจะช่วยทำให้ขนมปังมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้นแล้ว ยังช่วยปรับปรุงคุณภาพของขนมปังได้อีกด้วย

มีผลการวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าการเติมไข่ขาวผงช่วยให้สมบัติทางรีโอโลยีและปริมาตรของขนมปังปราศจากกลูเตนดีขึ้น (Crockett และคณะ, 2011) ส่วนโปรตีนอัลบูมินจากไข่ (egg albumin) สามารถปรับปรุงความสม่ำเสมอของรูพรุนในขนมปังปราศจากกลูเตนได้ (Villanueva และคณะ, 2015)

ส่วนการใช้เอนไซม์เพื่อปรับปรุงคุณภาพของขนมปังปราศจากกลูเตนนั้นมีทั้งเพื่อย่อยแป้ง เช่น การใช้อัลฟาอะไมเลส (α-amylase) ทำให้ชะลอการคืนตัวของขนมปัง (Gujral และคณะ, 2003a) หรือเพื่อผลิตไซโคลเด็กซ์ทริน (cyclodextrins) ได้แก่ การใช้ไซโคลเด็กซ์ทริเนส (cyclodextrinase) ทำให้คุณภาพของขนมปังปราศจากกลูเตนจากข้าวดีขึ้น (Gujral และคณะ, 2003b) การย่อยโปรตีนกลูเตนโดยเอนไซม์โปรติเอส (proteases) เพื่อลดเปปไทด์ (peptides) ที่ทำให้เกิดอาการแพ้ของคนที่เป็นโรคแพ้กลูเตน (Rizzello และคณะ, 2007) หรือการย่อยโปรตีน (Renzetti และ Arendt, 2009; Kawamura-Konishi และคณะ, 2013) ร่วมกับการทำให้เกิดการเชื่อมข้าม (cross-link) (เช่น การใช้ทรานสเฟอเรส (transferase)) ของโปรตีนที่มีอยู่ในแป้งข้าวในส่วนผสมของขนมปังปราศจากกลูเตนเพื่อช่วยปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เป็นต้น

โดยทั่วไปแป้งข้าวและแป้งมันสำปะหลังจัดเป็นแป้งที่นิยมนำมาเป็นส่วนผสมในการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตน เนื่องจากเป็นแป้งที่ไม่ก่อให้เกิดการแพ้ สำหรับในประเทศไทยแป้งทั้งสองชนิดนี้สามารถหาได้ง่ายและมีราคาถูก แต่การใช้เพียงแป้งสองชนิดนี้มาแทนที่แป้งสาลี ไม่สามารถผลิตขนมปังที่มีคุณภาพดีได้ เนื่องจากขาดกลูเตน ดังนั้นแป้งจึงต้องทำหน้าที่ให้โครงสร้าง จึงส่งผลให้ขนมปังมีเนื้อสัมผัสที่ไม่ดีและคืนตัวได้ง่าย นอกจากนี้ยังมีคุณค่าทางโภชนาการด้านโปรตีนค่อนข้างต่ำ จึงมีความสนใจที่จะนำแป้งจากลูกเดือยมาช่วยปรับปรุงคุณภาพของขนมปังดังกล่าว เนื่องจากลูกเดือยมีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับธัญชาติชนิดอื่นๆ นอกจากนี้โปรตีนในแป้งลูกเดือยสามารถเกิดเจลทำให้ส่วนผสมมีความหนืดเพิ่มขึ้นและช่วยให้อุ้มน้ำได้ดีขึ้น (Chaisiricharoenkul และคณะ, 2011) มีการวิจัยพบว่า การเติมโปรตีนในแป้งปราศจากกลูเตนเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยปรับปรุงคุณภาพของโดและขนมปังได้ (Marco และ Rosell, 2008) โดยโปรตีนสามารถเกิดเจลหรือโฟมได้

คุณสมบัติดังกล่าวช่วยเพิ่มเสถียรภาพของฟองแก๊สภายในโด ส่งผลให้ขนมปังมีปริมาตรสูงขึ้น และมีลักษณะของโครงสร้างรูพรุนที่ดีขึ้น นอกจากนี้การเติมโปรตีนยังสามารถช่วยเพิ่มปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (Maillard reaction) ที่เปลือกของขนมปังได้อีกด้วย และทำให้กลิ่นรสของขนมปังดีขึ้น (Moore และคณะ, 2004)

ลูกเดือยเป็นธัญพืชชนิดหนึ่งในวงศ์ (family) แกรมิเนอีหรือพัวเซอี (Gramineae/Poaceae) ตระกูล (tribe) แอนโดรโพโกเนอี (Andropogoneae) สกุล (genus) ค็อกซ์ (Coix) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่าค็อกซ์ ลาไครมาโจบิ (*Coix lachryma-jobi* L.) และชื่อสามัญว่า จอบส์เทียร์ส ค็อกซ์ แอดเลย์ ไชนิสเพอร์ลบาร์เลย์และฮาโตโมกิ (Job's tears, coix, adlay, Chinese pearl barley และ hatomogi) ซึ่งการเรียกที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับแต่ละประเทศ ลูกเดือยนิยมเพาะปลูกในประเทศแถบเอเชียรวมทั้งประเทศไทย จากข้อมูลทางพฤกษศาสตร์เรื่องวงศ์และตระกูลพบว่า ลูกเดือยมีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับข้าวโพดและข้าวฟ่าง ลูกเดือยมีหลายสายพันธุ์ ลูกเดือยทางการค้าที่มีการเพาะปลูกทั่วไปจัดอยู่ในสายพันธุ์ค็อกซ์ ลาไครมาโจบิ มาเหยิน สตาปฟ์ (*Coix lachryma-jobi* L. var. "ma-yuen" Stapf) โดยมีลักษณะเมล็ดเป็นร่องตามแนวยาว ลูกเดือยนอกจากจะมีคุณค่าทางโภชนาการในด้านโปรตีนสูงกว่าธัญชาติหลายชนิดแล้ว ลูกเดือยยังมีพฤษเคมีสำคัญหลายชนิดที่ส่งผลดีต่อร่างกาย (Nehal และคณะ, 2015) เช่น ค็อกซอล์ (coixol) ที่สามารถช่วยคลายอาการเกร็งของกล้ามเนื้อ ลดความดันโลหิต และลดระดับน้ำตาลในกระแสเลือด สารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก ที่ช่วยในการต่อต้านอนุมูลอิสระและป้องกันการเกิดเนื้องอกได้ เป็นต้น ดังนั้นลูกเดือยจึงเป็นธัญชาติที่มีความน่าสนใจทั้งในแง่ส่งเสริมสุขภาพและสมบัติเชิงหน้าที่ในด้านการเกิดเจลและโฟมที่อาจช่วยปรับปรุงคุณภาพของขนมปังปราศจากกลูเตนได้ อีกทั้งยังไม่เคยปรากฏหลักฐานการใช้แป้งลูกเดือยในการปรับปรุงคุณภาพของขนมปังปราศจากกลูเตนมาก่อน

อย่างไรก็ตามการปรับปรุงคุณภาพของขนมปังปราศจากกลูเตนโดยการเลือกใช้แป้งที่เหมาะสมเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอที่จะทดแทนสมบัติของผลิตภัณฑ์จากการขาดกลูเตนได้ ดังนั้นผู้ประดิษฐ์จึงมีความคิดที่จะนำโปรตีนที่มีประสิทธิภาพในการเสริมสร้างโครงร่างให้กับขนมปังคือไข่ขาวมาช่วย โดยโปรตีนนี้ได้ทำการดัดแปรด้วยการย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอสในระดับที่เหมาะสมมาก่อนและทำการเติมลงในขั้นตอนการผลิตที่เหมาะสม จากการสืบค้นสิทธิบัตรทั้งในและต่างประเทศ อนุสิทธิบัตรในประเทศ และสิ่งตีพิมพ์ที่อยู่ในฐานข้อมูลที่ได้รับการยอมรับในระดับมาตรฐานไม่พบการนำโปรตีนไฮโดรไลเซทจากไข่ขาวมาใช้ปรับปรุงคุณภาพในด้านเนื้อสัมผัสของขนมปังปราศจากกลูเตนมาก่อน

ดังนั้นในการประดิษฐ์นี้จึงต้องการพัฒนากรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยร่วมกับโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอสเพื่อทำให้ขนมปังปราศจากกลูเตนมีคุณภาพดีขึ้น โดยมีรายละเอียดของงานที่มีมาก่อนดังนี้

เอกสารประกาศโฆษณาสิทธิบัตรเลขที่ดับเบิลยูโอ2015169778 เอ1 (WO2015169778 A1) เป็นการใช้แป้งผสมได้แก่ แป้งข้าวโพด แป้งมันฝรั่งและแป้งมันสำปะหลังในการผลิตโดขนมปังปราศจากกลูเตนหรือโดที่มีปริมาณกลูเตนต่ำ โดยมีการใช้ไฟเบอร์ซิตรัส (citrus fiber) ร่วมกับแป้งปราศจากกลูเตน (gluten-free flour)

เอกสารประกาศโฆษณาสิทธิบัตรเลขที่ดับเบิลยูโอ2015173148 เอ1 (WO2015173148 A1) เป็นการใช้โปรตีนจากเมล็ดพืชในวงศ์บราสซิคาเซอี (*Brassicaceae*) ซึ่งได้แก่ เรพซีดหรือคาโนลา (rapeseed or canola) ผสมกับแป้งที่ได้จากข้าวโพด บัควีท ข้าวฟ่าง เมล็ดผักโขม ควินัว มันฝรั่ง มันเทศ มันสำปะหลัง ข้าว เกาลัด (chestnut) และถั่วชนิดต่างๆ ได้แก่ ถั่วลันเตา ถั่วเหลือง ถั่วลูกไก่ (chickpea) ถั่วพุ่ม (cowpea) ถั่วเลนทิล (lentil) ถั่วแบมบารา (bambara) ถั่วลูปิน (lupin) และแป้งผสมจากแป้งเหล่านี้ โดยไม่มีการใส่โปรตีนจากนมหรือไข่ในการทำขนมปังปราศจากกลูเตน

เอกสารประกาศโฆษณาสิทธิบัตรเลขที่อีพี2575480 บี1 (EP2575480 B1) เป็นการใช้เพนโทแซน (pentosans) ที่ได้จากกากเมล็ดข้าวโพด ทานตะวัน เรพซีดและแฟลคซ์ (linseed) ที่สกัดน้ำมัน หรือส่วนของพืชที่มีเพนโทแซนสูง ได้แก่ เปลือกข้าวโพด เปลือกข้าว รำข้าวโพด เมล็ดทานตะวัน เมล็ดแฟลคซ์ เมล็ดกัญชา (hemp) แป้งจากถั่วเหลือง กาแฟ แครอท เป็นต้น โดยบดให้มีขนาดเล็กกว่า 500 ไมครอนร่วมกับแป้งข้าวโพด มันฝรั่ง มันเทศ ข้าว ถั่ว มันสำปะหลัง ข้าวฟ่าง และแป้งผสมดังกล่าวในการทำขนมปังปราศจากกลูเตน

จะเห็นได้ว่าสิทธิบัตรทั้ง 3 เรื่องมีการเลือกใช้แป้งชนิดต่างๆ หลากหลายมากเพื่อนำมาใช้ทำขนมปังปราศจากกลูเตนหรือแป้งปราศจากกลูเตน แต่ไม่ปรากฏการนำแป้งจากลูกเดือยมาใช้เพื่อผลิตแป้งหรือขนมปังปราศจากกลูเตนเลย นอกจากนี้ยังมีสิทธิบัตรที่นำเอนไซม์มาใช้ในการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตน ได้แก่ เอกสารประกาศโฆษณาสิทธิบัตรเลขที่ซีเอ2864814 เอ1 (CA2864814 A1) ซีเอ2743599 เอ1 (CA2743599 A1) ยูเอส9386777 (US9386777) ยูเอส9237753 (US9237753) และยูเอส6692933 (US6692933) โดยทั้งหมดนี้มีหลักการคือ การใช้เอนไซม์โปรติเอสจากจุลินทรีย์ หรือใส่จุลินทรีย์โดยตรงเพื่อให้ได้เอนไซม์ที่ช่วยย่อยสลายกลูเตนในขนมปังหรือแป้งที่มีกลูเตน ได้แก่ แป้งจากข้าวสาลี บาร์เลย์ ไรย์และโอ๊ต ให้ถึงระดับที่มีกลูเตนต่ำกว่า 20 ส่วนในล้านส่วน หรือในระดับที่ทำให้ผู้แพ้กลูเตนบริโภคได้ โดยไม่ได้มีวัตถุประสงค์ในการย่อยโปรตีนเพื่อเปลี่ยนแปลงสมบัติเชิงหน้าที่ แล้วทำให้ได้ขนมปังที่มีคุณภาพทางกายภาพและทางประสาทสัมผัสดีขึ้น

ส่วนเอกสารประกาศโฆษณาสิทธิบัตรเลขที่อีพี2548442 เอ1 (EP2548442 A1) เป็นการใช้เอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส (transglutaminase) ในแป้งผสมระหว่างข้าวโอ๊ตและข้าวสาลีเสริมด้วยกัวกัม (guar gum) เพื่อปรับปรุงคุณภาพของขนมปังปราศจากกลูเตนโดยการทำให้เกิดการเชื่อมข้าม (cross-link) ของโมเลกุลโปรตีนที่ช่วยให้เกิดโครงร่าง แต่ไม่ได้ใช้เอนไซม์โปรติเอสเพื่อการย่อยสลายโปรตีนให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลง

ส่วนเอกสารประกาศโฆษณาสิทธิบัตรเลขที่ดับเบิลยูโอ2010006778 เอ1 (WO2010006778 A1) ถึงแม้จะเป็นการใช้เอนไซม์แต่ก็เป็นเอนไซม์ที่ติดมากับแป้งถั่วเหลืองตามธรรมชาติ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้แป้งถั่ว

เหลืองนี้ร่วมกับกัมในการปรับปรุงคุณภาพของขนมปังหรือขนมอบปราศจากกลูเตน ดังนั้นจึงไม่ได้มีการใช้โปรตีนที่ผ่านการย่อยสลายให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลง

ส่วนเอกสารประกาศโฆษณาสิทธิบัตรเลขที่ดับเบิลยูโอ2016047668 เอ1 (WO2016047668 A1) เป็นการใช้เอนไซม์โปรติเอสร่วมกับแป้งข้าวในการทำขนมปังปราศจากกลูเตน แต่ก็ยังเป็นการใช้เอนไซม์โปรติเอสย่อยโปรตีนที่มีในแป้งข้าวโดยตรงในกระบวนการผลิตขนมปังแต่ไม่ได้มีการเตรียมเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซทก่อนค่อยเติมลงในส่วนผสมของการทำขนมปัง

อย่างไรก็ตามยังมีสิทธิบัตรที่มีการเติมโปรตีนเพื่อปรับปรุงคุณภาพของขนมปังปราศจากกลูเตนแต่ทั้งนี้เป็นการใช้โดยตรงโดยไม่ผ่านการย่อยสลาย (hydrolysis) มาก่อน ได้แก่ เอกสารประกาศโฆษณาสิทธิบัตรเลขที่ดับเบิลยูโอ2010009464 เอ1 (WO2010009464 A1) ซึ่งเป็นการใช้โปรตีนจากนม ไข่และถั่วเหลืองมาผสมกับแป้ง (flour) และแป้งดัดแปร (modified starch) ปราศจากกลูเตนร่วมกับกัม ส่วนสิทธิบัตรเลขที่ ยูเอส 20100119652 (US20100119652) เป็นการเติมโปรตีนที่มาจากแหล่งที่ไม่ใช่ข้าวสาลีลงในแป้งชนิดต่างๆ โดยเลียนแบบขนาดอนุภาคของแป้งสาลีและมีการใช้ไฮโดรคอลลอยด์ร่วมด้วย

ถึงแม้ว่าเอกสารประกาศโฆษณาสิทธิบัตรเลขที่ยูเอส5254351 เอ (US5254351 A) จะปรากฏว่ามีการใช้เจลาตินและคอลลาเจนที่ผ่านการย่อยสลายก็ตาม แต่เป็นการใช้ในโดแช่เยือกแข็งของขนมปังแบบปกติ ดังนั้นจึงไม่ได้เป็นการใช้โปรตีนที่ผ่านการย่อยสลายในขนมปังปราศจากกลูเตน และอีกประการหนึ่งคือเป็นเจลาตินและคอลลาเจนที่ผ่านการย่อยสลาย ไม่ใช่โปรตีนจากไข่ขาวเพื่อการปรับปรุงคุณภาพของขนมปังปราศจากกลูเตน

ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์

การประดิษฐ์นี้เกี่ยวข้องกับกรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส โดยในขั้นตอนแรกทำการเตรียมแป้งลูกเดือยได้เป็นผงแห้งที่มีขนาดอนุภาค 10-210 ไมโครเมตร มีค่าความสว่าง (lightness; L^*) เท่ากับ 87.66-87.68 ค่าสีแดง (redness; a^*) เท่ากับ 0.81-0.85 และค่าสีเหลือง (yellowness; b^*) เท่ากับ 10.72-10.76 มีปริมาณกลูเตนจากการตรวจวัดด้วยวิธีเอนไซม์ลิงค์อิมมูโนซอร์เบนท์แอสเซย์หรืออิไลซา (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; ELISA) ต่ำกว่า 20 ส่วนในล้านส่วน (ซึ่งสามารถกล่าวอ้างได้ว่าเป็นผลิตภัณฑ์ปราศจากกลูเตน) นำแป้งที่ได้มาใช้เป็นส่วนผสมของแป้งผสมที่ใช้ในการทำขนมปังปราศจากกลูเตน ซึ่งประกอบไปด้วยแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังเป็นหลัก ขั้นถัดไปปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์โดยการเติมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เทอร์โมเอสที่ระยะเวลาและปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมที่ระดับร้อยละ 0.5 ของสูตร

การประดิษฐ์นี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาส่วนผสมและกรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนที่มีคุณภาพดีมีศักยภาพในเชิงพาณิชย์ นอกจากนั้นยังช่วยเพิ่มมูลค่าวัตถุดิบทางการเกษตรของประเทศ ได้แก่แป้งข้าวและแป้งมันสำปะหลัง รวมทั้งช่วยให้ผู้ป่วยที่เป็นโรคแพ้กลูเตนมีทางเลือกในการบริโภคอาหาร

การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

กรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอสประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

ก. กระบวนการเตรียมแป้งลูกเดือย โดยนำลูกเดือย (*Coix lachryma-jobi* L.) มาล้างด้วยน้ำ จากนั้นนำไปอบด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาด (tray dryer) ที่อุณหภูมิ 40 ถึง 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 ถึง 7 ชั่วโมง ซึ่งที่เหมาะสมที่สุดคือ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง จากนั้นนำมาโม่ด้วยพินมิล (Pin mill) แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 50 ถึง 80 เมช (Mesh) ที่เหมาะสมที่สุดคือขนาด 60 เมช (Mesh) ได้เป็นแป้งลูกเดือย จากการตรวจวัดด้วยชุดทดสอบเอนไซม์ลิงค์อิมมูโนซอร์เบนท์แอสเซย์หรืออีไลซาของบริษัทอาร์ไบโอฟาร์มเอจีจากประเทศเยอรมัน (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) tests kit (R-Biopharm AG, Germany) มีปริมาณ ไกลอะดินต่ำกว่า 5 ส่วนในล้านส่วนซึ่งสามารถกล่าวอ้าง (claim) ได้ว่าเป็นผลิตภัณฑ์ปราศจากกลูเตนเนื่องจากมีปริมาณต่ำกว่า 20 ส่วนในล้านส่วน

ข. กระบวนการเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากไข่ขาว โดยละลายไข่ขาวผงที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ถึง 6 ซึ่งที่เหมาะสมที่สุด คือ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในน้ำ ไฮโดรไลซ์โดยใช้เอนไซม์ โปรติเอส ที่มีชื่อทางการค้าว่าเทอร์โมเอส พีซี10เอฟ (Thermoase PC10F) มีค่าสเปซิฟิกแอคทิวิตี (specific activity) ตั้งแต่ 90,000 ถึง 94,000 หน่วยต่อกรัม (unit/g) ซึ่งค่าที่เหมาะสมที่สุด คือ 92,900 หน่วยต่อกรัม ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 ถึง 4 ซึ่งที่เหมาะสมที่สุด คือ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน) ที่อุณหภูมิ 55 ถึง 70 องศาเซลเซียส ซึ่งที่เหมาะสมที่สุด คือ 65 องศาเซลเซียส และเป็นเวลา 60 ถึง 85 นาที ซึ่งที่เหมาะสมที่สุดคือ 70 นาที จากนั้นนำโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้ไปเตรียมขนมปังปราศจากกลูเตนโดยเติมลงไปในขั้นตอนการผสมส่วนผสมที่เป็นของเหลวที่ระดับร้อยละ 0 ถึง 1 ซึ่งที่เหมาะสมที่สุด คือ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก)

ค. กระบวนการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยที่ได้จากข้อ ก. ร่วมกับโปรตีนไฮโดรไลเซทจากไข่ขาวที่ได้จากข้อ ข. โดยการนำแป้งลูกเดือยร้อยละ 4 ถึง 16 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) ซึ่งที่เหมาะสมที่สุดคือ ร้อยละ 8 มาผสมกับแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 10 ถึง 20 ซึ่งที่เหมาะสมที่สุดคือ ร้อยละ 16

Signed by DIP CA

นายสุวัจชัย บุญอารี

และ 15 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) ตามลำดับ จากนั้นมีการใช้กัมร่วมด้วยเพื่อช่วยในการปรับปรุงคุณภาพของแป้งปราศจากกลูเตนร้อยละ 0.1 ถึง 2 ซึ่งที่เหมาะสมที่สุดคือ แซนแทนกัมและกัวกัมที่ร้อยละ 0.3 และ 0.25 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) ตามลำดับ และมีการเติมสารที่ช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ร้อยละ 0.1 ถึง 1 ซึ่งที่เหมาะสมที่สุดคือ เกลือแกงร้อยละ 0.7 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) จากนั้นเติมส่วนผสมเหลวที่ประกอบไปด้วยน้ำโปรตีนไฮโดรไลเซทจากไข่ขาว น้ำตาลทราย และยีสต์ที่ผ่านการกระตุ้น (activate) แล้ว คนผสมให้เข้ากันด้วยความเร็วระดับต่ำเป็นเวลา 1 ถึง 5 นาที ซึ่งที่เหมาะสมที่สุดคือ 4 นาที เติมส่วนผสมที่เหลือได้แก่น้ำผึ้ง ซอสแอปเปิ้ล น้ำส้มสายชูจากแอปเปิ้ล และน้ำมันพืช ผสมให้เข้ากันจากนั้นเพิ่มความเร็วในการผสมเป็นระดับปานกลางเป็นเวลา 1 ถึง 10 นาที ซึ่งที่เหมาะสมที่สุดคือ 5 นาที แบ่งใส่พิมพ์ รอให้ขึ้นฟู ซึ่งเวลาที่เหมาะสมที่สุดคือ 30 นาที นำไปอบที่อุณหภูมิ 150 ถึง 250 องศาเซลเซียส ซึ่งที่เหมาะสมที่สุดคือ 180 องศาเซลเซียส จนสุก (ระยะเวลาการอบขึ้นอยู่กับขนาดก้อนขนมปัง) นำออกจากพิมพ์ รอให้เย็นสนิทแล้วบรรจุใส่ถุง ได้เป็นขนมปังปราศจากกลูเตนที่มีคุณภาพดีทั้งในด้านลักษณะปรากฏ สีเปลือกและลักษณะโครงสร้างของรูพรุนที่สม่ำเสมอในเนื้อขนมปัง มีเนื้อสัมผัสที่นุ่ม ไม่ร่วน รวมทั้งเมื่อเก็บไว้มีอัตราการคืนตัวต่ำ จากการตรวจวัดด้วยชุดทดสอบเอนไซม์ลิงค์อิมมูโนซอร์เบนท์แอสเซย์หรืออีไลซาของบริษัทอาร์ไบโอฟาร์มเอจีจากประเทศเยอรมัน (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) tests kit (R-Biopharm AG, Germany) มีปริมาณ ไกลอะดินต่ำกว่า 5 ส่วนในล้านส่วนซึ่งสามารถกล่าวอ้าง (claim) ได้ว่าเป็นผลิตภัณฑ์ปราศจากกลูเตนเนื่องจากมีปริมาณต่ำกว่า 20 ส่วนในล้านส่วน

ดังนั้นกรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนตามการเปิดเผยนี้มีลักษณะพิเศษเฉพาะคือ ส่วนผสมในการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตน มีการใช้แป้งลูกเดือยที่ระดับร้อยละ 8 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) ร่วมกับแป้งชนิดอื่นซึ่งประกอบไปด้วยแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลังเป็นหลักที่ระดับร้อยละ 16 และ 15 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) และมีการปรับปรุงคุณภาพด้วยการเติมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส

ตัวอย่างการศึกษา

ตัวอย่างที่ 1: การศึกษาการใช้แป้งลูกเดือยในผลิตภัณฑ์ขนมปังปราศจากกลูเตน

<u>วิธีการ</u>: จากการทดลองเบื้องต้นพบว่าขนมปังปราศจากกลูเตนที่ผลิตจากแป้งข้าวเจ้าร้อยละ 16 แป้งมันสำปะหลังร้อยละ 15 และแป้งข้าวฟ่าง (millet) ร้อยละ 8 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) มีคุณภาพพอใช้ได้ แต่แป้งข้าวฟ่างเกรดคุณภาพที่ใช้ต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ หาซื้อได้ยากและมีราคาสูง ส่วนลูกเดือยเป็นธัญชาติที่ปราศจากกลูเตนและหาซื้อได้ง่ายในประเทศไทย เมื่อนำมาผลิตเป็นแป้งลูกเดือยอาจใช้เพื่อทดแทนการใช้แป้งข้าว

Signed by DIP CA

นายสุวัจชัย บุญอารี

ฟ่างได้ จึงทำการศึกษาผลของการทดแทนแป้งผสมในสูตรขนมปังปราศจากกลูเตนด้วยแป้งลูกเดือยต่อคุณภาพของขนมปังปราศจากกลูเตน โดยการแปรระดับแป้งลูกเดือยเป็น 5 ระดับ คือร้อยละ 0, 4, 8, 12 และ 16 โดยน้ำหนักของสูตร ดังแสดงในตารางที่ 1 ทำการศึกษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่มีการเติมแป้งลูกเดือย ติดตามวัดสมบัติการไหลของแป้งผสม ปริมาตรจำเพาะ สีเนื้อและเปลือก เนื้อสัมผัสและลักษณะทางประสาทสัมผัสของขนมปัง จากนั้นเลือกสูตรที่เหมาะสมโดยใช้ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสเป็นเกณฑ์ในการตัดสิน

วิธีการประเมินทางประสาทสัมผัส: ทำประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 50 คน ประเมินในด้านลักษณะปรากฏ สีเนื้อขนมปัง กลิ่น กลิ่นรส ความนุ่ม และความชอบโดยรวม โดยใช้วิธีการให้ระดับคะแนนความชอบแบบ 9 ระดับ (9-points hedonic scale) กำหนดให้คะแนน 1 คือไม่ชอบมากที่สุด คะแนน 9 คือชอบมากที่สุด

ตารางที่ 1 ร้อยละโดยน้ำหนักของแป้งชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาผลของการทดแทนแป้งลูกเดือยต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ขนมปังปราศจากกลูเตน

สูตร	แป้งข้าวเจ้า	แป้งมันสำปะหลัง	แป้งข้าวฟ่าง	แป้งลูกเดือย
ควบคุม	16	15	8	0
ลูกเดือย 4%	16	15	4	4
ลูกเดือย 8%	16	15	0	8
ลูกเดือย 12%	14	13	0	12
ลูกเดือย 16%	12	11	0	16

<u>ผลการศึกษา</u>: จากสมบัติการไหลของแป้งผสมที่ได้จากการศึกษาสเตรนสวีฟ (strain sweep) (ร้อยละ 0.01-10) และสวีฟความถี่ (frequency sweep) (0.01-10 รอบต่อวินาที) พบว่าทุกสภาวะที่ทำการทดลอง มีค่ามอดูลัสสะสม (storage modulus; G′) สูงกว่ามอดูลัสสูญเสีย (loss modulus; G″) แสดงว่ามีสมบัติในการเป็นของแข็ง (solid-like characteristic) มากกว่าของเหลว (liquid-like characteristic) ตลอดช่วงการทดลอง ระดับการใส่แป้งลูกเดือยมีผลต่อปริมาตรจำเพาะ ลักษณะรูพรุนของขนมปังที่ได้ และค่าสี นอกจากนั้นยัง

Signed by DIP-CA

นายสุวัจชัย บุญอารี

มีผลต่อค่าเนื้อสัมผัส (ไม่ได้แสดงข้อมูล) และลักษณะทางประสาทสัมผัสของขนมปังดังแสดงในตารางที่ 2 จากนั้นเลือกสูตรที่เหมาะสมโดยใช้ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสเป็นเกณฑ์ในการตัดสิน ผลการทดลองพบว่า ระดับการเติมแป้งลูกเดือยที่สูงขึ้นทำให้ค่าปริมาตรจำเพาะและเนื้อสัมผัสในด้านความแข็ง (hardness) ความยืดหยุ่น (springiness) และความต้านทานการเคี้ยว (chewiness) ของขนมปังปราศจากกลูเตนมีค่าลดลง นอกจากนั้นยังทำให้ค่าสีแดง (redness; *a**) ของเปลือกและเนื้อขนมปังมีค่าสูงขึ้น แต่ค่าความสว่าง (lightness; *L**) และค่าสีเหลือง (yellowness; *b**) ของเปลือกมีค่าลดลง ส่วนการศึกษาการยอมรับทางประสาทสัมผัส พบว่าการเติมแป้งลูกเดือยทำให้ขนมปังปราศจากกลูเตนได้รับระดับคะแนนความชอบในด้านกลิ่นรส ความนุ่ม และความชอบโดยรวมสูงกว่าตัวอย่างควบคุม โดยตัวอย่างที่มีการทดแทนแป้งลูกเดือยที่ระดับร้อยละ 8 โดยน้ำหนักของสูตรได้รับระดับคะแนนความชอบโดยรวมไม่แตกต่างจากการทดแทนที่ระดับอื่น และเป็นระดับที่สามารถทดแทนแป้งข้าวฟ่างทั้งหมดในสูตรได้ จึงเลือกไปใช้ในการทดลองพัฒนาปรับปรุงในขั้นตอนถัดไป

ตารางที่ 2 **ผลของการทดแทนแป้งลูกเดือยต่อระดับคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของขนมปังปราศจากกลูเตน**

สูตร	คะแนนเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน					
	ลักษณะปรากฏ	สีเนื้อขนมปัง	กลิ่น^{ns}	กลิ่นรส	ความนุ่ม	ความชอบโดยรวม
ควบคุม	6.58 ± 1.42^{ab}	6.46 ± 1.46^{a}	5.56 ± 1.68	5.32 ± 1.98^{b}	6.40 ± 1.75^{b}	6.14 ± 1.83^{b}
ลูกเดือย 4%	6.84 ± 1.35^{a}	6.68 ± 1.80^{a}	5.22 ± 1.84	6.02 ± 1.60^{a}	6.86 ± 1.71^{a}	6.74 ± 1.37^{a}
ลูกเดือย 8%	6.42 ± 1.43^{b}	6.38 ± 1.46^{ab}	5.78 ± 1.84	5.96 ± 1.74^{a}	6.98 ± 2.00^{a}	6.72 ± 1.59^{a}
ลูกเดือย 12%	6.20 ± 1.50^{b}	6.06 ± 1.57^{bc}	5.56 ± 1.86	6.00 ± 1.63^{a}	6.56 ± 1.99^{ab}	6.38 ± 1.76^{ab}
ลูกเดือย 16%	6.24 ± 1.53^{b}	5.88 ± 1.57^{c}	5.64 ± 1.75	6.08 ± 1.75^{a}	6.96 ± 1.69^{a}	6.78 ± 1.75^{a}

a, b, c ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันจากแถวตั้งเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ns ตัวอักษรที่กำกับไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตัวอย่างที่ 2: การศึกษาผลของการใช้โปรตีนปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ขนมปังปราศจากกลูเตน

ถึงแม้ว่าการใช้แป้งลูกเดือยจะทำให้ขนมปังปราศจากกลูเตนมีคุณภาพดีขึ้นกว่าสูตรมาตรฐานแล้วก็ตาม แต่ก็ยังมีคุณภาพด้อยกว่าขนมปังที่มีกลูเตน เนื่องจากขาดโปรตีนที่มีสมบัติเชิงหน้าที่ที่สำคัญในผลิตภัณฑ์ไป ดังนั้น จึงได้ทำการศึกษาผลของการใช้โปรตีนเพื่อปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ขนมปังปราศจากกลูเตน

<u>วิธีการ</u>: ศึกษาการใช้โปรตีน 3 ชนิดคือ เจลาติน ไข่ขาวผง (egg white solids) และโปรตีนถั่วเหลือง (soy protein isolate) โดยมีการแปรระดับการทดลอง 3 ระดับคือร้อยละ 0, 0.5 และ 1 ของน้ำหนักในสูตร วิธีการเติมโปรตีนทำโดยการแทนที่แป้งผสมด้วยโปรตีน และลดปริมาณแป้งแต่ละชนิดลงในอัตราส่วนที่เท่ากัน ไข่ขาวผงและโปรตีนถั่วเหลืองเติมพร้อมกับส่วนผสมแห้ง ส่วนเจลาตินนำไปละลายน้ำแล้วจึงเติมน้ำตาลทรายและยีสต์ตามวิธีการปกติ ติดตามวัดสมบัติการไหลของแป้งผสม ปริมาตรจำเพาะ สีเนื้อและเปลือก เนื้อสัมผัสและลักษณะทางประสาทสัมผัสของขนมปัง จากนั้นเลือกสูตรที่เหมาะสมโดยใช้ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสเป็นเกณฑ์ในการตัดสิน

<u>ผลการศึกษา</u>: ผลการทดลองพบว่าการเติมโปรตีนยังทำให้สมบัติการไหลของแป้งผสมที่ได้จากการศึกษาสเตรนสวีฟ (strain sweep) (ร้อยละ 0.01-10) และสวีฟความถี่ (frequency sweep) (0.01-10 รอบต่อวินาที) ทุกสภาวะที่ทำการทดลอง มีค่ามอดูลัสสะสม (storage modulus; G′) สูงกว่ามอดูลัสสูญเสีย (loss modulus; G″) แสดงว่ายังคงมีสมบัติในการเป็นของแข็ง (solid-like characteristic) มากกว่าของเหลว (liquid-like characteristic) ตลอดช่วงการทดลอง ส่วนปริมาตรจำเพาะของขนมปังปราศจากกลูเตนมีค่าสูงขึ้น เนื้อสัมผัสในด้านความแข็ง (hardness) และความต้านทานการเคี้ยว (chewiness) มีค่าลดลงยกเว้นการเติมไข่ขาว ส่วนค่าสีพบว่าการเติมโปรตีนถั่วเหลืองและเจลาตินทำให้เปลือกขนมปังมีค่าความสว่าง (lightness; L^*) และค่าสีเหลือง (yellowness; b^*) ลดลง แต่ค่าสีแดง (redness; a^*) สูงขึ้น ยกเว้นการเติมไข่ขาวที่ระดับร้อยละ 0.5 ทำให้ค่าความสว่าง (lightness; L^*) สูงขึ้น การเติมโปรตีนถั่วเหลืองและเจลาตินทำให้สีเนื้อขนมปังมีค่าความสว่าง (lightness; L^*) ลดลง แต่การเติมไข่ขาวที่ทำให้ค่าความสว่าง (lightness; L^*) สูงขึ้น ส่วนค่าสีเหลือง (yellowness; b^*) และค่าสีแดง (redness; a^*) พบว่าการเติมไข่ขาวและเจลาตินทำให้มีค่าสูงขึ้น สำหรับผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส ดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่าการเติมไข่ขาวทำให้ขนมปังได้รับระดับคะแนนความชอบในด้านลักษณะปรากฏและสีเนื้อขนมปังสูงที่สุด ส่วนความชอบโดยรวมพบว่าการเติมไข่ขาว (ที่ระดับร้อยละ 0.5 และ 1) และโปรตีนถั่วเหลืองที่ระดับร้อยละ 0.5 ได้รับระดับคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุดถึงแม้ว่าจะไม่แตกต่างจากสูตรควบคุมก็ตาม แต่การเติมโปรตีนก็ได้ช่วยปรับปรุงลักษณะปรากฏ และสีเนื้อขนมปังได้

Signed by DIP CA

นายสุวัจชัย บุญอารี

ตารางที่ 3 ผลของชนิดและปริมาณการเติมโปรตีนที่ต่างกันต่อระดับคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของขนมปังปราศจากกลูเตน

สูตร	คะแนนเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน						
	ลักษณะปรากฏ	สีเนื้อขนมปัง	ความสม่ำเสมอของรูพรุน	กลิ่น^{ns}	กลิ่นรส	ความนุ่ม	ความชอบโดยรวม
ควบคุม	6.14 ± 1.44^{b}	6.40 ± 1.47^{b}	6.40 ± 1.31^{ab}	5.78 ± 1.68	6.36 ± 1.17^{a}	6.40 ± 1.36^{ab}	6.32 ± 1.38^{ab}
โปรตีนถั่วเหลือง 0.5%	6.24 ± 1.41^{b}	6.34 ± 1.17^{b}	6.02 ± 1.27^{bc}	5.70 ± 1.52	6.44 ± 1.39^{a}	6.60 ± 1.32^{ab}	6.48 ± 1.34^{a}
โปรตีนถั่วเหลือง 1%	5.54 ± 1.33^{c}	6.00 ± 1.37^{bc}	5.68 ± 1.27^{cd}	5.72 ± 1.70	6.48 ± 1.61^{a}	6.32 ± 1.32^{ab}	5.98 ± 1.10^{bc}
ไข่ขาวผง 0.5%	6.86 ± 1.60^{a}	6.94 ± 1.36^{a}	6.74 ± 1.44^{a}	5.78 ± 1.69	6.18 ± 1.59^{ab}	6.80 ± 1.31^{a}	6.66 ± 1.36^{a}
ไข่ขาวผง 1%	6.58 ± 1.70^{ab}	6.92 ± 1.35^{a}	6.32 ± 1.62^{ab}	5.50 ± 1.46	6.58 ± 1.50^{a}	6.62 ± 1.34^{a}	6.76 ± 1.32^{a}
เจลาติน 0.5%	6.08 ± 1.83^{b}	6.12 ± 1.59^{bc}	6.08 ± 1.58^{bc}	5.38 ± 1.72	5.88 ± 1.77^{b}	6.02 ± 1.50^{bc}	5.74 ± 1.58^{cd}
เจลาติน 1%	5.22 ± 1.88^{c}	5.76 ± 1.79^{c}	5.40 ± 1.60^{d}	5.60 ± 1.62	5.82 ± 1.37^{b}	5.62 ± 1.41^{c}	5.30 ± 1.45^{d}

a, b, c, d ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันจากแถวตั้งเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ns ตัวอักษรที่กำกับไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

นายสุวัจชัย บุญอารี

ตัวอย่างที่ 3: การศึกษาการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยร่วมกับโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส

__วิธีการ:__ ศึกษาการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยร่วมกับโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอสโดยใช้สูตรขนมปังปราศจากกลูเตนที่มีการทดแทนแป้งลูกเดือยที่ระดับร้อยละ 8 โดยน้ำหนักของสูตรมาศึกษาผลของการใช้ไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส โดยเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซท ด้วยการนำไข่ขาวผงละลายน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ไฮโดรไลซ์โดยใช้เอนไซม์โปรติเอส ที่มีชื่อทางการค้าว่าเทอร์โมเอส พีซี10เอฟ (Thermoase PC10F) มีค่าสเปซิฟิกแอคทิวิตี (specific activity) 92,900 หน่วยต่อกรัม ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน) ที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 70, 130 และ 190 นาที จากนั้นนำโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้ไปเตรียมขนมปังปราศจากกลูเตน โดยเติมลงไปในขั้นตอนการผสมส่วนผสมที่เป็นของเหลวที่ระดับร้อยละ 0.5 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) ติดตามวัดสมบัติการไหลของแป้งผสม ปริมาตรจำเพาะ สีเนื้อและเปลือก เนื้อสัมผัสและลักษณะทางประสาทสัมผัสของขนมปัง จากนั้นเลือกสูตรที่เหมาะสมโดยใช้ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสเป็นเกณฑ์ในการตัดสิน

__ผลการศึกษา:__ พบว่าการเติมโปรตีนที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มีส่วนช่วยทำให้ปริมาตรจำเพาะของขนมปังปราศจากกลูเตนมีค่าสูงขึ้น นอกจากนี้ยังมีผลทำให้เนื้อสัมผัสในด้านความแข็ง (hardness) และความต้านทานการเคี้ยว (chewiness) ของขนมปังปราศจากกลูเตนมีค่าลดลง ส่วนค่าสีของเปลือกขนมปังพบว่าการเติมไข่ขาวที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ทำให้ค่าความสว่าง (lightness; L^*) และค่าสีเหลือง (yellowness; b^*) มีค่าลดลง แต่ค่าสีแดง (redness; a^*) มีค่าสูงขึ้น และสีเนื้อมีค่าความสว่าง (lightness; L^*) ค่าสีแดง (redness; a^*) และค่าสีเหลือง (yellowness; b^*) ลดลง สำหรับผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าการเติมไข่ขาวที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์นาน 70 นาทีได้รับระดับคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลของการเติมไข่ขาวที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เทอร์โมเอสที่เวลาต่างกันต่อระดับคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของขนมปังปราศจากกลูเตน

สูตร	คะแนนเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน						
	ลักษณะปรากฏ	สี	ความสม่ำเสมอของรูพรุน	กลิ่น	กลิ่นรส	ความนุ่ม	ความชอบโดยรวม
ควบคุม	6.56±1.40[a]	6.60±1.16[a]	6.16±1.45[a]	5.32±1.13[b]	5.48±1.34[b]	6.58±1.42[b]	6.34±1.29[b]
ไข่ขาวผง	6.26±1.40[ab]	6.52±1.13[ab]	5.54±1.34[b]	5.46±1.15[ab]	5.78±1.31[b]	6.64±1.21[ab]	6.46±1.15[b]
ไข่ขาวย่อย 70 นาที	6.52±1.16[a]	6.60±1.07[a]	6.16±1.52[a]	5.70±1.13[a]	6.26±1.19[a]	7.00±1.16[a]	6.98±0.94[a]
ไข่ขาวย่อย 130 นาที	6.36±1.24[ab]	6.36±1.21[ab]	5.50±1.42[b]	5.74±1.43[a]	5.84±1.42[b]	6.64±1.22[ab]	6.50±0.89[b]
ไข่ขาวย่อย 190 นาที	6.20±1.37[b]	6.30±1.28[b]	5.96±1.48[a]	5.34±1.19[b]	5.78±1.27[b]	6.52±1.22[b]	6.24±1.35[b]

[a, b] ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันจากแถวตั้งเดียวกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

[ns] ตัวอักษรที่กำกับไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

การนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์

กรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยร่วมกับโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอสตามการประดิษฐ์นี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์ขนมปังปราศจากกลูเตนแบบต่างๆ และผลิตภัณฑ์ขนมอบปราศจากกลูเตนชนิดอื่นๆ ที่มีลักษณะคล้ายกัน เช่น พิซซ่า เพรทเซลและโดนัท เป็นต้น

วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด

ตามที่เปิดเผยไว้ในการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

ข้อถือสิทธิ

1. กรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอสประกอบด้วย

ก. กระบวนการเตรียมแป้งลูกเดือย โดยการนำลูกเดือย (*Coix lachryma-jobi* L.) มาล้างด้วยน้ำ จากนั้นนำไปอบด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาด (tray dryer) ที่อุณหภูมิ 40 ถึง 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 ถึง 7 ชั่วโมง จากนั้นนำมาโม่ด้วยพินมิล (pin mill) และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 50 ถึง 80 เมช (mesh) ได้เป็นแป้งลูกเดือย

ข. กระบวนการเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากไข่ขาว โดยการละลายไข่ขาวผงที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 ถึง 6 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ในน้ำ ไฮโดรไลซ์โดยใช้เอนไซม์โปรติเอส (เทอร์โมเอส พีซี10เอฟ (Thermoase PC10F)) ที่มีค่าสเปซิฟิกแอคทิวิตี (specific activity) ตั้งแต่ 90,000 ถึง 94,000 หน่วยต่อกรัม (unit/g) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 ถึง 4 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน) ที่อุณหภูมิ 55 ถึง 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 ถึง 85 นาที จากนั้นนำโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้ไปเตรียมขนมปังปราศจากกลูเตนโดยเติมลงไปในขั้นตอนการผสมส่วนผสมที่เป็นของเหลว

ค. กระบวนการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยที่ได้จากข้อ ก. ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากไข่ขาวที่ได้จากข้อ ข. โดยการนำแป้งลูกเดือยร้อยละ 4 ถึง 16 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) มาผสมกับแป้งข้าวเจ้าร้อยละ 10 ถึง 20 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) แป้งมันสำปะหลังร้อยละ 10 ถึง 20 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) และเกลือแกงร้อยละ 0.1 ถึง 1 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) โดยมีการใช้แซนแทนกัมผสมกัวกัมที่ระดับร้อยละ 0.1 ถึง 2 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) จากนั้นเติมส่วนผสมเหลวที่ประกอบไปด้วยน้ำ โปรตีนไฮโดรไลเซทจากไข่ขาว น้ำตาลทรายยีสต์ที่ผ่านการกระตุ้น (activate) แล้ว คนผสมให้เข้ากันด้วยความเร็วระดับต่ำเป็นเวลา 1 ถึง 5 นาที เติมส่วนผสมที่เหลือ ได้แก่ น้ำผึ้ง ซอสแอปเปิ้ล น้ำส้มสายชูจากแอปเปิ้ล และน้ำมันพืช ผสมให้เข้ากันจากนั้นเพิ่มความเร็วในการผสมเป็นระดับปานกลางเป็นเวลา 1 ถึง 10 นาที แบ่งใส่พิมพ์ รอให้ขึ้นฟู แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 150 ถึง 250 องศาเซลเซียสจนสุก ซึ่งระยะเวลาการอบขึ้นอยู่กับขนาดก้อนขนมปัง นำออกจากพิมพ์ และรอให้เย็นสนิทแล้วบรรจุใส่ถุง

2. กรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส ตามข้อถือสิทธิ 1 ที่ซึ่งอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุดในขั้นตอนการอบด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาด ในกระบวนการเตรียมแป้งลูกเดือย คือ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

3. กรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส ตามข้อถือสิทธิ 1 หรือ 2 ที่ซึ่งขนาดตะแกรงที่เหมาะสมที่สุดที่นำแป้งลูกเดือยที่ผ่านการโม่ด้วยพินมิล คือ 60 เมช

4. กรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส ตามข้อถือสิทธิ 1 ถึง 3 ข้อใดข้อหนึ่ง ที่ซึ่งการละลายไข่ขาวผงที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดคือร้อยละ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรในน้ำไฮโดรไลซ์โดยใช้เอนไซม์โปรติเอสที่มีค่าสเปซิฟิกแอคทิวิตี 92,900 หน่วย

22132

ต่อกรัม ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักโปรตีน) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 70 นาที

5. กรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส ตามข้อถือสิทธิ 1 ถึง 4 ข้อใดข้อหนึ่ง ที่ซึ่งสูตรผสมที่ให้ผลดีที่สุด ในกระบวนการเตรียมแป้งลูกเดือย คือ การใช้แป้งลูกเดือยร้อยละ 8 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) แป้งข้าวเจ้าร้อยละ 16 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) และแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 15 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) มีแซนแทนกัมและกัวกัมร้อยละ 0.3 และ 0.25 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) ตามลำดับ และเกลือแกงร้อยละ 0.7 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก)

6. กรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส ตามข้อถือสิทธิ 1 ถึง 5 ข้อใดข้อหนึ่ง ที่ซึ่งระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการคนผสมให้เข้ากันด้วยความเร็วระดับต่ำ หลังจากเติมส่วนผสมเหลวที่ประกอบไปด้วยน้ำ โปรตีนไฮโดรไลเซทจากไข่ขาว น้ำตาลทรายยีสต์ที่ผ่านการกระตุ้นแล้ว ในกระบวนการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส คือ 4 นาที

7. กรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส ตามข้อถือสิทธิ 1 ถึง 6 ข้อใดข้อหนึ่ง ที่ซึ่งระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการผสมให้เข้ากันด้วยความเร็วระดับปานกลาง หลังจากเติม น้ำผึ้ง ซอสแอปเปิ้ล น้ำส้มสายชูจากแอปเปิ้ล และน้ำมันพืช ในกระบวนการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส คือ 5 นาที

8. กรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส ตามข้อถือสิทธิ 1 ถึง 7 ข้อใดข้อหนึ่ง ที่ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการอบขนมปังในกระบวนการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส คือ 180 องศาเซลเซียส

9. กรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส ตามข้อถือสิทธิ 1 ถึง 8 ข้อใดข้อหนึ่ง ที่ซึ่งสูตรผสมที่ให้ผลดีที่สุดในการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากไข่ขาวผง โดยเติมลงไปในขั้นตอนการผสมส่วนผสมที่เป็นของเหลวที่ระดับร้อยละ 0.5 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก)

10. ขนมปังที่ได้จากกรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส ตามข้อถือสิทธิ 1 ถึง 9 ข้อใดข้อหนึ่ง

Signed by DIP-CA

นายสุวัจชัย บุญอารี

บทสรุปการประดิษฐ์

กรรมวิธีการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยผสมโปรตีนไข่ขาวที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรติเอส มีขั้นตอนดังนี้ คือกระบวนการเตรียมแป้งลูกเดือยให้มีสมบัติที่เหมาะสมต่อการใช้ในขนมปังปราศจากกลูเตน กระบวนการเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากไข่ขาวที่มีระดับการย่อยพอเหมาะต่อการทำหน้าที่ปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์และกระบวนการผลิตขนมปังปราศจากกลูเตนโดยใช้แป้งลูกเดือยที่เตรียมได้ผสมโปรตีนไฮโดรไลเซทจากไข่ขาวที่เตรียมได้โดยพัฒนาให้มีขั้นตอนและสภาวะการผลิตที่ทำให้ได้ขนมปังปราศจากกลูเตนคุณภาพดี

22132