

### วิจารณ์ผลการทดลอง

วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ กากมอลท์ (spent grain) ซึ่งเป็นส่วนเหลือจากอุตสาหกรรม การผลิตเบียร์ของบริษัท บุญรอดบริวเวอรี่ จำกัด มีลักษณะเป็นกากที่ค่อนข้างหยาบ (รูปที่ 4.1) เพราะประกอบด้วยส่วนเปลือก (husk) ที่มีขนาดอนุภาคใหญ่ เส้นใยอาหารปริมาณมาก และเนื้อ สัมผัสหยาบ ส่วนของรำ (pericarp) ซึ่งมีขนาดอนุภาคเล็กมีโปรตีนปริมาณมาก เนื้อสัมผัสนุ่มและ ร่วนปน (Dreese และ Hosency, 1982) ดังนั้นจึงสนใจที่จะนำกากมอลท์มาศึกษาการใช้ประโยชน์ทั้ง ทางด้านโปรตีนและเส้นใยอาหารโดยนำส่วนโปรตีนไปผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตและใช้ในน้ำดื่มเกลือ แร่ ส่วนเส้นใยนำมาอบแห้งบดให้ขนาดเล็กและใช้ในคุกกี้

#### 1. องค์ประกอบทางเคมีของกากมอลท์

กากมอลท์ที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต (HVP) ในงานวิจัยนี้เป็นผลพลอย ได้จากอุตสาหกรรมผลิตเบียร์ จากบริษัทบุญรอดบริวเวอรี่ จำกัด เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ของกากมอลท์ (ตารางที่ 4.1) พบว่ามีโปรตีน, เส้นใย และไขมันอยู่ร้อยละ 15.53, 13.62 และ 6.02 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ จะเห็นได้ว่ามีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูงซึ่งน่าจะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบใน การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตได้ แต่วันชัย สมชิต และละมัย ชูเกียรติวัฒนา (2524) พบว่าวัตถุดิบที่ นำมาใช้ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตควรมีปริมาณโปรตีนสูงพอเหมาะคือ ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 30 โดย น้ำหนักแห้ง ส่วนไขมันควรมีอยู่ในปริมาณต่ำ เนื่องจากไขมันในวัตถุดิบมีผลในการขัดขวางการย่อย สลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ เพราะไขมันอาจเกิด cross link กับโมเลกุลของโปรตีน โครงสร้างดังกล่าว จะกีดขวางการเข้าไปย่อยโปรตีน (Roach และ Gehrike, 1970) และวัตถุดิบที่มีไขมันอยู่มากจะเกิด saponification ในขั้นการปรับ pH เป็นกลาง เนื่องจากเกิดเกลือโซเดียมของกรดไขมัน ทำให้ใช้ โซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับ pH มากและเกิดกลิ่นรสแปลกปลอมในผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ไขมัน ยังเกิดปฏิกิริยา oxidation ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นหืนได้ (วิเชียร สิวาธรรมาศ, 2534) ดังนั้นจึง จำเป็นต้องเตรียมวัตถุดิบ (กากมอลท์) ให้มีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น และมีไขมันต่ำเพื่อให้เหมาะสม สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต

## 2 การใช้โปรตีนจากกากมอลต์ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต

### 2.1 การเตรียมวัตถุดิบตัวแปรที่จะศึกษาได้แก่

2.1.1 ผลของขนาดตะแกรงต่อปริมาณโปรตีน (%Protein) เปอร์เซ็นต์ผลผลิตที่ได้ (%Yield) เปอร์เซ็นต์ผลผลิตโปรตีน (%Protein Yield)

จากขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบที่แสดงดังรูปที่ 3.1 โดยนำกากมอลต์สดมาผสมน้ำในอัตราส่วน (กากมอลต์ต่อน้ำ 2:1 โดยน้ำหนัก) แล้วนำไปปั่นให้ละเอียดก่อนนำไปร่อนผ่านตะแกรง ซึ่งการปั่นละเอียดในสภาพเปียก germ และอนุภาคอื่นๆ ที่มีโปรตีนสูงจะถูกแยกออกจากเปลือกและขณะเดียวกันก็ถูกบดให้ละเอียด ส่วนของเปลือก (เส้นใยอาหาร) จะไม่ถูกบด ดังนั้นจึงแยกโปรตีนและเปลือก (เส้นใยอาหาร) ออกจากกันได้โดยการร่อนกากมอลต์ในสภาพเปียก (Kishi และคณะ, 1992) โดยในการทดลองได้แยกโปรตีนด้วยตะแกรงขนาด 35, 50, 70, 100, 200 และ 325 Mesh วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน จำนวนเปอร์เซ็นต์ผลผลิต และเปอร์เซ็นต์ผลผลิตโปรตีนของส่วนที่ร่อนผ่านตะแกรง (ตารางที่ 4.2) พบว่า ขนาดตะแกรงที่ใช้ร่อนมีผลต่อปริมาณโปรตีน เปอร์เซ็นต์ผลผลิต เปอร์เซ็นต์ผลผลิตโปรตีนที่ได้ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อขนาดตะแกรงที่ใช้ร่อนมีความละเอียดมากขึ้น ปริมาณโปรตีนจะเพิ่มมากขึ้น ปริมาณเปอร์เซ็นต์ผลผลิตลดลง เนื่องจากอนุภาคที่มีขนาดใหญ่ (32-80 mesh) จะมีโปรตีนต่ำและส่วนประกอบส่วนใหญ่จะเป็น fiber, husk tissue ส่วนอนุภาคเล็ก (150-200 mesh) จะมีโปรตีนมากและประกอบไปด้วยส่วนของ embryo tissue (Prentice และ Appolonia, 1977) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Finley และ Hanamoto (1980) ที่ทดลองบดกากมอลต์ด้วย Pilot scale flour mill พบว่าส่วนละเอียด (flour fraction) จะมีโปรตีนสูง และส่วนหยาบ (coarse bran fraction) จะมีเส้นใยอาหารมากกว่า ดังนั้นเมื่อตะแกรงมีความละเอียดมากขึ้น ส่วนอนุภาคที่ร่อนผ่านจะเป็นอนุภาคเล็กๆ และมีโปรตีนมาก ในขณะที่ปริมาณที่ร่อนได้น้อยลงเมื่อเทียบกับวัตถุดิบเริ่มต้น แต่ในการทดลองจะคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตโปรตีนเพื่อใช้ในการเลือกขนาดของตะแกรงที่เหมาะสม และพบว่าขนาดตะแกรง 35 และ 50 mesh จะให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตโปรตีนสูงที่สุด แต่เมื่อพิจารณารวมกับปริมาณโปรตีนเปอร์เซ็นต์ผลผลิตจะเห็นว่าขนาดตะแกรง 35 mesh จะให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตมากกว่า 50 mesh ( $p \leq 0.05$ ) จึงเลือกขนาดตะแกรง 35 mesh ใช้ในการร่อนแยกอนุภาคโปรตีนสำหรับเตรียมวัตถุดิบในการศึกษาต่อไป

2.1.2 ผลของปริมาณเอทานอลและเวลาในการสกัดไขมันต่อปริมาณไขมันที่สกัดออก

เนื่องจาก ไขมันในเมล็ดธัญพืชส่วนใหญ่จะเป็นไขมันที่อยู่ในรูปไลโปโปรตีนมากกว่า ในรูปของไขมันอิสระ ซึ่งไลโปโปรตีนเป็นไขมันที่ละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น บิวทานอลที่อิมัลชันด้วยน้ำ คลอโรฟอร์มผสมกับเมทานอล และเอทานอล (ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538) ดังนั้นจึงเลือกใช้

เอทานอลในการสกัดไขมัน ซึ่งสามารถสกัดไขมันได้อีกทั้งมีความปลอดภัยในกรณีเกิดการตกค้างในวัตถุดิบที่เตรียม ดังนั้นในขั้นตอนนี้จึงได้ศึกษาปริมาณเอทานอล และเวลาในการสกัดที่เหมาะสมในกระบวนการสกัดไขมันจากส่วนอนุภาคโปรตีนที่แยกได้จากกากมอลต์ การที่เลือกศึกษาปัจจัยทั้ง 2 นี้ในกระบวนการสกัด เนื่องจากมีความสำคัญต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้ ทั้งปริมาณที่ใช้ในการสกัด และเวลาที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อปริมาณไขมันที่สกัดออก โดยในช่วงต้นจะมีอัตราการสกัดสูง และลดลงเมื่อเวลาสกัดเพิ่มมากขึ้นจนถึงจุดสมดุล และปริมาณเอทานอลที่ใช้มากหรือน้อยเกินไปจะเป็นการสิ้นเปลืองโดยไม่จำเป็น ผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันที่สกัดได้แสดงในตารางที่ 4.4-4.6

จากการวิเคราะห์ผลไขมันที่สกัดโดยแปรปริมาณอนุภาคโปรตีนต่อเอทานอล และเวลาสกัด พบว่า เวลาสกัดและอิทธิพลร่วมระหว่าง ปริมาณเอทานอลกับเวลาสกัดไม่มีอิทธิพลต่อปริมาณไขมันที่สกัดได้ ( $p > 0.05$ ) จึงเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันที่สกัดออก โดยพิจารณาเฉพาะอิทธิพลของอัตราส่วนอนุภาคโปรตีนต่อเอทานอลโดยน้ำหนัก พบว่า เมื่อเพิ่มอัตราส่วนเอทานอลมากขึ้น ปริมาณไขมันที่สกัดออกได้จะเพิ่มมากขึ้น ( $p \leq 0.05$ ) โดยอัตราส่วนอนุภาคโปรตีนต่อเอทานอล 1:40, 1:50 และ 1:60 สกัดไขมันออกได้สูงสุด คือ 4.93, 4.98 และ 4.89% โดยน้ำหนักแห้ง ( $p > 0.05$ ) จากผลการทดลองแสดงว่า การเพิ่มความเข้มข้นเอทานอล จะเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด เนื่องจากมีปริมาณตัวที่จะไปละลาย ไขมันเพิ่มมากขึ้น และเมื่อเพิ่มปริมาณเอทานอลถึงระดับอนุภาคโปรตีนต่อกากมอลต์ 1:40, 1:50 และ 1:60 พบว่าปริมาณไขมันที่สกัดได้คงที่ ดังนั้นการใช้อัตราส่วน 1:40 จะใช้ปริมาณเอทานอลน้อยกว่าจึงเลือกภาวะนี้ในการเตรียมตัวอย่างเพื่อใช้ศึกษาในขั้นต่อไป

## 2.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากมอลต์ที่ผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของส่วนโปรตีนที่ผ่านการเตรียมวัตถุดิบโดยร่อนผ่านตะแกรงขนาด 35 mesh และผ่านการกำจัดไขมันด้วยเอทานอลในอัตราส่วน 1:40 เวลา 1 ชั่วโมง (ลักษณะปรากฏของกากมอลต์ส่วนโปรตีนที่ผ่านการเตรียมวัตถุดิบแสดงดังรูปที่ 4.2)

จากตาราง 4.7 พบว่ากากมอลต์หลังจากผ่านขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบ จะมีปริมาณโปรตีนสูงสุดร้อยละ 41.22 และมีปริมาณไขมันเหลืออยู่เพียงร้อยละ 1.16 กล่าวคือมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น และมีปริมาณโปรตีนมากกว่าร้อยละ 30 ซึ่งเหมาะสมที่จะใช้เป็นวัตถุดิบในการไฮโดรไลซ์ (วันชัย สมชิต และละมัย ชูเกียรติวัฒนา, 2524) ส่วนไขมันที่เหลืออยู่อาจเป็นกลุ่มของไขมันอิสระ เนื่องจากไขมันในอาหารจะแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ไขมันอิสระ และไขมันเกาะติด (เกาะติดกับโปรตีน) ไขมันทั้งสองกลุ่มนี้จะละลายต่างกัน ไขมันอิสระละลายได้ดีในสารละลายที่ไม่มีขี้ เช่น บีโตรเลียมมีเออร์ เป็นต้น ส่วนไขมันเกาะติด จะละลายในตัวทำละลายที่มีขี้ เช่น คลอโรฟอร์มผสมกับเมทานอล

เอธานอล ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขี้ว ดังนั้นการสกัดไขมันออกจากอาหารให้หมดต้องสกัดเอาไขมันอิสระออกก่อนแล้วสกัดไขมันเกาะติดออกภายหลัง (ณรงค์ นิยมวิทย์, 2538)

### 2.3 ปริมาณเอธานอลที่เหลือในตัวอย่างทีสกัดไขมันด้วยเอธานอล

จากการวิเคราะห์โดยใช้ Gas chromatography ปริมาณเอธานอลตกค้าง ดัดแปลงตามวิธี AOAC (1996) ดังแสดงในภาคผนวก ก.9 พบว่าอุณหภูมิและเวลาที่ระเหยเอธานอลมีผลทำให้มีปริมาณเอธานอลเหลืออยู่  $6.85 \pm 0.08$  % โดยน้ำหนักในกากมอลต์ ซึ่งปริมาณเอธานอลที่เหลืออยู่ไม่น่าที่จะมีผลต่อการไฮโดรไลซ์ของเอนไซม์ เพราะจากงานวิจัยของ Mirosław และ Krzysztof (1986) ซึ่งได้ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเนื้อไก่โดยใช้เอนไซม์ปาเปน พบว่าการเติมเอธานอลลงไป 15 % โดยน้ำหนักในระหว่างการไฮโดรไลซ์ไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ นอกจากนี้ยังมีผลดีคือจะช่วยลดจำนวนแบคทีเรียพวก mesophiles ทำให้ใช้เวลาในการไฮโดรไลซ์นาน ๆ ได้โดยไม่มีปัญหาเรื่องการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

### 2.4 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซ์โปรตีนจากกากมอลต์ด้วยเอนไซม์

นำส่วนโปรตีนของกากมอลต์ที่ผ่านการเตรียมวัตถุดิบมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตด้วยเอนไซม์ ในการทดลองครั้งนี้ได้แปรอุณหภูมิเป็น 50, 55 และ 60 °C แปรเวลาเป็น 24 และ 48 ชั่วโมง และแปรปริมาณเอนไซม์โบรมิเลน เอนไซม์ปาเปน เป็น 0.1, 0.5 และ 1.0 % โดยน้ำหนักแห้งของอนุภาคโปรตีน ประเมินผลโดยการวิเคราะห์ปริมาณ amino nitrogen (ซึ่งเป็นผลต่างระหว่างฟอร์มาลดีไฮด์ไนโตรเจนกับแอมโมเนียคัลไนโตรเจน ซึ่งเมื่อมีการไฮโดรไลซ์มาก ปริมาณ amino nitrogen ก็จะมากขึ้นด้วย จึงใช้ปริมาณ amino nitrogen ที่ได้จากการไฮโดรไลซ์โปรตีนในกากมอลต์เป็นเกณฑ์ในการเลือกภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์) จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของปริมาณ amino nitrogen ในรูปที่ 4.3 และ 4.4 พบว่า อุณหภูมิ เวลา ความเข้มข้นเอนไซม์ และอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสามมีผลต่อปริมาณ amino nitrogen ของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้ ( $p \leq 0.05$ ) โดยไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์โบรมิเลนจะมี amino nitrogen สูงที่สุดที่อุณหภูมิ 55 °C เวลา 48 ชั่วโมง และใช้ความเข้มข้นเอนไซม์ 0.5 % โดยน้ำหนักแห้งของอนุภาคโปรตีน ซึ่งมีค่า amino nitrogen 0.48 g/L สำหรับการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปน พบว่ามี amino nitrogen สูงที่สุดที่อุณหภูมิ 50 °C เวลา 48 ชั่วโมง และใช้ความเข้มข้นเอนไซม์ 1.0 % โดยน้ำหนักแห้งของอนุภาคโปรตีน ซึ่งมีค่า amino nitrogen 0.42 g/L จากผลการทดลองจะพบว่า ภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยจะไม่เหมือนกันถึงแม้ว่าจะเป็นสับสเตรตตัวเดียวกันและเป็น

เอนไซม์ในกลุ่มไทออล โปรตีเอส (Thiol protease) เช่นเดียวกัน ซึ่งเอนไซม์ในกลุ่มนี้จะมี ซิสเตอีน อยู่บริเวณแฉ่ง (Whitaker, 1972) แต่จะมีความจำเพาะในการตัดพันธะเปปไทด์ระหว่างอะมิโนต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.4 อย่างเช่น เอนไซม์โบรมิเลนจะมีกลุ่มไทออล (-SH) ของซิสเตอีน (cysteine residue) และกลุ่มอิมิดาโซล (imidazole) ของฮิสติดีน (histidine residue) อยู่ที่บริเวณแฉ่งของ เอนไซม์ ทำหน้าที่จับกับสับเตรต (Husai และ Lowe, 1968) และพบว่าโบรมิเลนย่อยเคซีนได้ดีกว่า ฮีโมโกลบินที่ pH 7.2 และย่อยเจลาตินได้ดีที่ pH 5.0 (Reed, 1975) โบรมิเลนไม่สามารถย่อยพันธะ ระหว่าง อาร์จินีน-อาร์จินีน และ ไลซีน-โทโรซีน (Murachi และ Neurath, 1964) ส่วนเอนไซม์ ปาเปนไม่สามารถย่อยโอลิโกเปปไทด์ (oligopeptide) ที่มีเพนิลอะลานีนเป็นกรดอะมิโนตัวที่สองจาก C-terminal (Yamamoto, 1975) และจากผลการทดลองยังพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มมากขึ้นปริมาณ amino nitrogen มีแนวโน้มลดลง อาจเนื่องจากการย่อยโปรตีนที่อุณหภูมิสูงและเวลานานจะทำให้ กรดอะมิโนที่เกิดขึ้นเกิดการเปลี่ยนแปลงคือ กรดอะมิโนบางตัวทำปฏิกิริยากับสารประกอบที่มี hydroxyl group (-OH) เกิดเป็นสารประกอบเอสเทอร์ (ester) เช่น glutamic ทำปฏิกิริยากับ hydroxyl group ของ serine, threonine, tyrosine และน้ำตาลเป็นต้น กรดอะมิโนบางตัวอาจเกิดการสลายตัวให้กาซแอมโมเนีย (deamination) เช่น asparagine และ glutamine เป็นต้น นอกจากนี้กรดอะมิโนยังทำปฏิกิริยากับสารประกอบที่ได้จากการสลายตัวของคาร์โบไฮเดรต เกิดเป็น สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล (Maillard reaction) ซึ่งโครงสร้างยังไม่เป็นที่แน่ชัด (Hunt, 1985) ส่วนผลของเวลาพบว่า ที่อุณหภูมิเดียวกันเมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้นปริมาณ amino nitrogen ก็จะเพิ่มมากขึ้นด้วยซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Greenberg และ Burk (1927) ที่พบว่าเมื่อเวลาในการ ไฮโดรไลซิสเจลาตินมากขึ้น ปริมาณ amino nitrogen ก็จะมากขึ้นด้วย ส่วนความเข้มข้นพบว่าเมื่อ ให้ความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มมากขึ้นทุกๆ ที่ระดับอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทดลองจะมีค่า amino nitrogen เพิ่มมากขึ้นเนื่องจากการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์เป็นการเพิ่มปริมาณเอนไซม์ที่ ย่อยวัตถุดิบ จึงทำให้เกิดการไฮโดรไลซิสเพิ่มขึ้นและได้กรดอะมิโนเพิ่มมากขึ้น

ต่อมาได้ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากคะแนนกลิ่นของ โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ย่อยสลายได้ โดยใช้วิธีทดสอบแบบ scoring ช่วงคะแนนตั้งแต่ 1-9 พิจารณา จากกลิ่นปกติของธัญพืช ความแรงของกลิ่น และกลิ่นแปลกปลอม ผลจากการทดลองคะแนนเฉลี่ย ลักษณะกลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โบรมิเลนที่อุณหภูมิ 55 °C ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5 % โดยน้ำหนักแห้ง เวลา 48 ชั่วโมง และโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการ ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ปาเปนที่อุณหภูมิ 50 °C ความเข้มข้นเอนไซม์ 1.0 % โดยน้ำหนักแห้ง เวลา 48 ชั่วโมง (ตารางที่ 4.9) พบว่า ผลลัพธ์ทั้ง 2 ตัวอย่างมีคะแนนเฉลี่ยของกลิ่นต่างกัน ( $p \leq 0.05$ ) คือ

โปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โบรมิเลนมีคะแนนเฉลี่ยกลิ่นสูงสุด ซึ่งเมื่อพิจารณาจากผลของปริมาณอะมิโนไนโตรเจน พบว่าไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์โบรมิเลนจะมีปริมาณอะมิโนไนโตรเจนมากกว่าปลาแปน ( $p \leq 0.05$ ) และอะมิโนซึ่งเป็นโมเลกุลขนาดเล็กจะเป็นตัวทำปฏิกิริยากับสารประกอบอื่นๆ เช่นทำปฏิกิริยา Maillard กับคาร์โบไฮเดรต เกิดเป็นสารให้กลิ่นรสดังแสดงในรูป 2.7 (Weir, 1986) ดังนั้นไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์โบรมิเลนจึงมีคะแนนกลิ่นมากกว่าไฮโดรไลเซตจากการย่อยสลายด้วยปลาแปน จึงเลือกใช้เอนไซม์โบรมิเลนในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตเพื่อศึกษาในขั้นต่อไป

## 2.5 ลักษณะปรากฏผลิตภัณฑ์ HVP (รูปที่ 4.5)

จากลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ด้านสีพบว่า ไฮโดรไลเซตที่ได้มีสีเหลือง อาจเกิดขึ้นเนื่องจากรงควัตถุของกากมอลต์ซึ่งมีอยู่โดยธรรมชาติในเมล็ดธัญพืช โดยบางส่วนจะถูกกำจัดออกไปบ้างแล้วในขั้นตอนการกำจัดไขมันด้วยเอทานอลเนื่องจากพบว่าเอทานอล อีเทอร์ อะซิโตน สามารถสกัดสีออกจากผลิตภัณฑ์ได้ (Fellors, 1990) และอาจเกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (Maillard reaction) ซึ่งเกิดขึ้นได้โดยไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ โดยเกิดปฏิกิริยาระหว่าง amino group ของกรดอะมิโน เปปไทด์ หรือโปรตีน กับ free carbonyl group ของน้ำตาล (จากตารางที่ 4.7 วัตถุประสงค์คาร์โบไฮเดรต 51.19%โดยน้ำหนัก) เมื่อปฏิกิริยาลิ้นสุดจะเกิดสาร melanoidins ซึ่งเป็นโพลีเมอร์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบและมีสีน้ำตาล (Zapsalis และ Beck, 1985) หรืออาจเกิดจากปฏิกิริยา Strecker degradation เป็นปฏิกิริยาระหว่าง dicarbonyl compounds ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จาก Maillard reaction กับ  $\alpha$ -amino group ของกรดอะมิโนได้ Schiffbase จากนั้นเกิด decarboxylation ของกรดอะมิโนได้สารประกอบประเภท enaminals ซึ่งเกิดปฏิกิริยา self condensation ต่อไปได้เป็นโพลีเมอร์สีน้ำตาล (Wong, 1989)

จากสมบัติทางด้านประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏพบว่า ไฮโดรไลเซตที่ได้มีรสหวานและขมเล็กน้อยทั้งนี้อาจเนื่องจากการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ได้กรดอะมิโน เปปไทด์ โพลีเปปไทด์ ที่มีขนาดเล็ก ที่อาจจะมรสขมหรือหวานขึ้นอยู่กับชนิดและลำดับของกรดอะมิโนในโปรตีน (Weir, 1986) เช่นกรดอะมิโนบางชนิดให้รสหวานได้เช่น กรดอะมิโน Glycine และ Alanine ซึ่งมี side chains สั้น (Shallenberger, Aeree และ Lee, 1969) โดยเกิดการสร้างพันธะไฮโดรเจนขึ้นระหว่าง proton donors และ proton acceptors ของสารประกอบที่ให้รสหวาน กับ proton donors และ proton acceptors ของหน่วยรับความรู้สึกของรสหวาน ทำให้เป็นการกระตุ้นให้รู้สึกว่ามีรสหวาน (Nishimuri และ Kato, 1988) Ariyoshi (1976) ได้สังเคราะห์เปปไทด์จากกรดอะมิโน แล้ว

วิเคราะห์ความเข้มข้นของรสหวานเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของรสหวานกับโครงสร้างของเปปไทด์ ในโครงสร้างของโมเลกุลของไดเปปไทด์พบว่า ถ้า side chain  $R_1$  เป็น hydrophobic group ที่มีขนาดเล็กมีความยาวโซ่ 1-4 อะตอม ขณะที่ side chain  $R_2$  เป็น hydrophobic group ที่มีขนาดใหญ่มีความยาวโซ่ 4-6 อะตอม และ  $R_1$  อยู่ทางขวาของ carbon atom ไดเปปไทด์นี้จะให้รสหวานแต่ถ้า  $R_1$  อยู่ทางซ้ายจะไม่ให้ รสหวาน ส่วนกรดอะมิโนที่ให้รสขมเช่น Phenylalanine, Arginine, Valine, Tryptophan กรดอะมิโนที่ให้รสหวานและขม เช่น Lysine และ Proline (Kato, Rhue และ Nishimura, 1989) อาจสรุปได้ว่า การใช้เอนไซม์ต่างกัน จะย่อยพันธะต่างกันทำให้ไดเปปไทด์ หรือกรดอะมิโนที่ต่างกัน

จากสมบัติทางด้านประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏพบว่า ไฮโดรไลเซตที่ได้มีกลิ่นหอมหวานคล้ายกลิ่นมอลต์สด กลิ่นของไฮโดรไลเซตอาจเกิดเนื่องจาก Maillard reaction และ Strecker degradation ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เร่งด้วยพลังงานความร้อน ผลของปฏิกิริยาทำให้เกิดสารระเหยที่ให้กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์หลายชนิด (เกรียงศักดิ์ ชัยโรจน์, 2531) Maillard reaction เป็นการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง amino group ของกรดอะมิโน เปปไทด์ หรือโปรตีน กับ free carbonyl group ของน้ำตาล (จากตารางที่ 2.5 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซต พบว่ามีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบ 5 %โดยน้ำหนัก) เมื่อปฏิกิริยาลิ้นสุดเกิดสารระเหยที่ให้กลิ่น ได้แก่ hydrogen sulfide, monosulfide และ thiols (Zapsalis และ Beck, 1985 ) หรือเกิดการย่อยสลายได้ aldehydes ของกรดอะมิโนที่มีคาร์บอนลดลงจากเดิม 1 อะตอม และ amines จากนั้นเกิด condensation ของ amines ได้ pyrazines หรือเกิด cyclization ของ amines ได้ pyroles ทั้ง pyrazines และ pyroles เป็นสารระเหยให้กลิ่นหอมซึ่งพบในผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านความร้อน เช่น กาแฟ มันฝรั่งทอด เนื้อย่าง เป็นต้น (Wong, 1989)

## 2.6 ศึกษาคุณภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซต

เมื่อนำผลิตภัณฑ์โปรตีนไฮโดรไลเซตไปตรวจวิเคราะห์ชนิด และปริมาณกรดอะมิโนด้วยเครื่อง Amino acid analyzer (Beckman, High Performance Analyzer system 6300) โดยย่อยสลายด้วยกรดก่อนการวิเคราะห์ (ตารางที่ 4.11) พบว่า ชนิดของกรดอะมิโนที่มีปริมาณค่อนข้างมาก ได้แก่ glutamic acid, aspartic acid, proline, leucine และ phenylalanine ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ วารยา บุษธำรง (2538) ที่วิเคราะห์ชนิด และปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนจากกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์ กรดอะมิโนที่พบค่อนข้างมากคือ glutamic acid, aspartic acid, proline, leucine, lysine และ phenylalanine

กรดอะมิโนแต่ละชนิดจะมีรสแตกต่างกันไปดังแสดงในตารางที่ 2.6 (Kato, Rhue และ Nishimura, 1989) โดยกรดอะมิโน glutamic acid และ aspartic acid มีรสเปรี้ยว กรดอะมิโน alanine, glycine, serine และ threonine จะมีรสหวาน กรดอะมิโน lysine และ proline มีรสหวานขม กรดอะมิโน phenylalanine และ leucine มีรสขม ซึ่งสอดคล้องกับสมบัติทางด้านประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่กล่าวมาข้างต้นคือ มีรสหวานและขมเล็กน้อย ซึ่งอาจเกิดจากองค์ประกอบของกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้

## 2.7 ศึกษาการใช้ประโยชน์โปรตีนไฮโดรไลเซตในเครื่องดื่มเกลือแร่

ในขั้นตอนนี้ได้ศึกษาการนำโปรตีนไฮโดรไลเซตไปใช้ในเครื่องดื่มเกลือแร่ การที่เลือกศึกษาในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทนี้เนื่องจากเป็นเครื่องดื่มที่เป็นของเหลว นอกจากนี้ยังได้รับความนิยมบริโภคกันแพร่หลายทั้งในกลุ่มนักกีฬา และกลุ่มผู้ทำงานที่เสียเหงื่อมาก ปัจจุบันผลิตภัณฑ์ดังกล่าวในการผลิตนิยมปรุงแต่งกลิ่นรส และสีให้นำบริโภค ซึ่งโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตได้จะให้คุณสมบัติที่สามารถนำมาปรุงแต่งเครื่องดื่มเกลือแร่ได้เนื่องจากมีกลิ่นรสหอมหวานของธัญพืช มีสีเหลืองอ่อน และยังมีกรดอะมิโนที่ร่างกายสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยตรง ซึ่งเมื่อนำมาใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องดื่มเกลือแร่จะให้เครื่องดื่มเกลือแร่ที่มีลักษณะกลิ่นหอมหวานของธัญพืช มีสีเหลืองอ่อนโดยไม่ต้องใช้สีสังเคราะห์ และมีกรดอะมิโนซึ่งในเครื่องดื่มเกลือแร่ทั่วไปไม่มี

ได้ศึกษาการนำโปรตีนไฮโดรไลเซตไปใช้ในการผลิตเครื่องดื่มเกลือแร่ (สูตรเครื่องดื่มที่ใช้ในการทดลองแสดงในภาคผนวก ข.1) ซึ่งจะใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตเป็นส่วนผสม 40 % โดยน้ำหนักเนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตได้จะมีรสขมจึงเป็นข้อจำกัดในด้านปริมาณที่จะใช้ซึ่งจากการทดสอบด้วยผู้เชี่ยวชาญด้านกลิ่นรสพบว่าที่ระดับ 40 % โดยน้ำหนัก จะเป็นระดับสูงสุดที่ไม่สามารถรับรสขมของโปรตีนไฮโดรไลเซตได้ ดังนั้นจึงสามารถใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตเป็นส่วนผสมของเครื่องดื่มเกลือแร่ได้ในระดับ 40 % โดยน้ำหนัก และศึกษาคุณสมบัติด้านกลิ่นของโปรตีนไฮโดรไลเซตโดยแปรสูตร 3 สูตร คือ

- สูตรที่ 1 ไม่มีการเติมกลิ่น
- สูตรที่ 2 เติมกลิ่น pineapple
- สูตรที่ 3 เติมกลิ่น Tutti frutti

เปรียบเทียบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัส เพื่อประเมินคุณภาพด้าน สี กลิ่น รสชาติ ลักษณะปรากฏ และการยอมรับผลิตภัณฑ์ (ตารางที่ 4.12) จากผลการทดลอง ผู้ทดสอบมีความเห็นว่าการเติมกลิ่นลงไปในการผลิตจะไม่มีผลต่อ สี และลักษณะปรากฏ ( $p > 0.05$ ) แต่มีผล



ต่อ กลิ่น รสชาติ และการยอมรับรวม ของเครื่องดื่มเกลือแร่ ( $p \leq 0.05$ ) โดยพบว่าสูตรที่ 1 คะแนนทางด้านกลิ่นไม่แตกต่างจากสูตรที่ 2 และ 3 แต่สูตรที่ 2 มีคะแนนมากกว่าสูตรที่ 3 เมื่อพิจารณาพร้อมกับคะแนนทางด้าน รสชาติ และการยอมรับรวม ตัวอย่างสูตรที่ 2 ซึ่งใช้กลิ่น Pineapple มีคะแนนด้านกลิ่น รสชาติ และการยอมรับรวมสูงที่สุดอยู่ในระดับชอบปานกลางถึงชอบมาก จากการศึกษาผลิตเครื่องดื่มเกลือแร่จะแปรสูตรโดยแปรชนิดของกลิ่นซึ่งส่วนประกอบอื่นๆ จะเหมือนกัน แต่จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า กลิ่นจะมีผลต่อรสชาติ และการยอมรับรวมของผลิตภัณฑ์ด้วย เนื่องจาก กลิ่นและรสชาติจะมีความสัมพันธ์ซึ่งแสดงดังรูปที่ 2.8 (Ney, 1990)

## 2.8 ศึกษาคุณภาพของเครื่องดื่มเกลือแร่

เครื่องดื่มเกลือแร่ (รูปที่ 4.6) มีสีเหลืองอ่อน และมีกลิ่นหอมของกลิ่น pineapple จากการวิเคราะห์องค์ประกอบ (ตารางที่ 4.14) พบว่า มี กลูโคส 6.0 กรัม โซเดียม 1.09 โปแตสเซียม 0.91 และซีเตรต 2.01 มิลลิกรัมวาลนท์ (จากการคำนวณ)(แสดงในภาคผนวก ข) .

เมื่อนำผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเกลือแร่ไปตรวจวิเคราะห์ชนิด และปริมาณกรดอะมิโนด้วยเครื่อง Amino acid analyzer (Beckman, High Performance Analyzer system 6300) โดยย่อยสลายด้วยกรดก่อนการวิเคราะห์ (ตารางที่ 4.15) พบว่า มีกรดอะมิโนค่อนข้างมาก ได้แก่ glutamic acid, proline, phenylalanine leucine และ serine ซึ่งเหมือนกับชนิดของกรดอะมิโนที่มีอยู่ในโปรตีนไฮโดรไลเซตเริ่มต้น (ตารางที่ 4.11) เพียงแต่จะมีปริมาณน้อยกว่าเนื่องจากใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตเป็นส่วนประกอบในเครื่องดื่มเกลือแร่ได้สูงสุดเพียง 40 % โดยน้ำหนัก เพราะโปรตีนไฮโดรไลเซตมีรสขมจึงเป็นข้อจำกัดในปริมาณที่ใช้ได้ในเครื่องดื่มเกลือแร่ที่ผลิต ดังนั้นปริมาณกรดอะมิโนที่มีในเครื่องดื่มเกลือแร่จึงมีประมาณครึ่งหนึ่งของปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเซต ซึ่งกรดอะมิโนแต่ละชนิดจะมีรสแตกต่างกันไปดังแสดงในตารางที่ 2.6 (Kato, Rhue และ Nishimura, 1989) โดยกรดอะมิโน glutamic acid และ aspartic acid มีรสเปรี้ยว กรดอะมิโน alanine, glycine, serine และ threonine จะมีรสหวาน กรดอะมิโน lysine และ proline มีรสหวานขม กรดอะมิโน phenylalanine และ leucine มีรสขม ในผลิตภัณฑ์น้ำดื่มเกลือแร่จะมีรสขมเล็กน้อยเนื่องจากมีกรดอะมิโน glutamic acid, proline, phenylalanine และ leucine และมีรสหวานเล็กน้อยเนื่องจากมีกรดอะมิโน serine และ proline ส่วนกรดอะมิโนที่ตรวจไม่พบคือ cysteine อาจเป็นเพราะว่ามีน้อยเกินกว่าวิธีวิเคราะห์ที่ใช้จะตรวจวัดได้ และกรดอะมิโน methionine พบว่า มีปริมาณน้อยเช่นกัน ผลการทดลองจะไม่รายงานปริมาณกรดอะมิโน tryptophan เนื่องจาก การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์กรดอะมิโนใช้วิธีการย่อยสลายด้วยกรดซึ่ง tryptophan จะถูก

ทำลายโดยจะรวมกับ aldehyde ที่สลายมาจากกรดอะมิโนตัวอื่นๆ ได้เป็นสารสีดำ (humin) ที่ไม่ละลายน้ำ แต่จะสามารถวิเคราะห์ tryptophan ได้ด้วยการไฮโครไลซ์ด้วยต่างแต่วิธีนี้ก็จะทำลาย cysteine, cystine, serine และ threonine (บุญยืน สาริกะภูติ, 2522; Regenstein, 1984) เมื่อพิจารณาปริมาณกรดอะมิโนในเครื่องดื่มเกลือแร่เทียบกับปริมาณความต้องการกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายที่องค์การอาหารและองค์การอนามัยแห่งโลก (FAO/WHO) ได้กำหนดไว้ในผู้ใหญ่ (ศศิเกษม ทองยงค์ และพรณี เดชกำแหง, 2530) (แสดงในภาคผนวก จ.) พบว่าในเครื่องดื่มเกลือแร่จะมีปริมาณของกรดอะมิโนมากกว่าที่องค์การอาหารและองค์การอนามัยแห่งโลก (FAO/WHO) ได้กำหนดไว้ ยกเว้น cysteine ซึ่งตรวจไม่พบในการวิเคราะห์ ดังนั้นเครื่องดื่มเกลือแร่ที่ผลิตโดยใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตเป็นส่วนผสม นอกจากจะให้เกลือแร่แล้วยังพบว่าให้กรดอะมิโนในที่จำเป็นต่อร่างกาย และร่างกายสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยตรง

## 2.9 ศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเกลือแร่

เครื่องดื่มเกลือแร่สูตรที่นำมาศึกษาอายุการเก็บเป็นเครื่องดื่มสูตรที่ 2 คือ สูตรที่มีการเติมกลิ่น pineapple โดยบรรจุในขวดแก้ว และเก็บผลิตภัณฑ์ที่ 4-10 °C ติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพที่ 0-30 วัน สุ่มตัวอย่างมาตรวจวิเคราะห์ทุก 15 วัน นำตัวอย่างมาทดสอบทางประสาทสัมผัส วิเคราะห์จุลินทรีย์ วัดค่า pH %transmittance และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 4.16-4.22

ผลทางประสาทสัมผัส (ตารางที่ 4.16) พบว่าระยะเวลาการเก็บไม่มีผลต่อความชอบทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น รสชาติ ( $p>0.05$ ) แต่เมื่อเก็บครบ 30 วัน เริ่มมีตะกอนซึ่งอาจเกิดเนื่องจากอนุภาคที่แขวนลอยอยู่เกิดการรวมตัวกันแล้วตกตะกอนลงมาหรือเนื่องจากเกิดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งมีผลทำให้คะแนนด้านลักษณะปรากฏ และการยอมรับรวมลดลง ( $p\leq 0.05$ ) แต่คะแนนอยู่ในระดับชอบปานกลางถึงชอบมาก ทั้งนี้เพราะการเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4-10 °C จะทำให้ปฏิกิริยาเคมี และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสาเหตุของการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์เกิดช้าลง ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะปรากฏ ของผลิตภัณฑ์เพียงเล็กน้อยซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับผลิตภัณฑ์

เมื่อพิจารณาจำนวนจุลินทรีย์ (ตารางที่ 4.18) พบว่า เวลาในการเก็บ 15 วันแรก ลักษณะปรากฏสีเหลืองอ่อนใสไม่มีตะกอน และตรวจไม่พบ ยีสต์ รา และจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ แต่เมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มมากขึ้นวันที่ 30 ลักษณะปรากฏสีเหลืองอ่อนใสมีตะกอนเล็กน้อย และตรวจพบจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ แต่มีจำนวนน้อยกว่า 30 CFU ต่อมิลลิลิตร แต่ไม่พบยีสต์ และรา ทั้งนี้เนื่อง

จากที่อุณหภูมิ 4-10 °C เชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญได้ อีกทั้งผลิตภัณฑ์มีความเป็นกรดสูง (pH 3.5) ประกอบกับผลิตภัณฑ์ผ่านขั้นตอนการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 85 °C เวลา 1.5 นาที ซึ่งจะทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค และทำให้อาหารเน่าเสียที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ จึงทำให้สามารถเก็บผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้น ส่วนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบน่าจะเป็นจุลินทรีย์พวก thermotolerant เช่น *B. subtilis* *Micrococcus luteus* ที่รอดชีวิตจากขั้นตอนการพาสเจอร์ไรซ์ และสามารถเจริญได้ค่อนข้างดีในอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 10 °C (สุมาลี เหลืองเจริญ, 2527) แต่การเก็บผลิตภัณฑ์ที่ 4-10 °C เป็นภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์พวก thermotolerant ดังนั้นต้องใช้เวลานานในการเจริญเติบโต และผลิตภัณฑ์มีความเป็นกรดสูง (pH 3.5) ซึ่งใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ จึงใช้มาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้รสหวาน (2532) ที่กำหนดคุณภาพให้มีแบคทีเรียได้ไม่เกิน 500 โคโลนีต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ยีสต์ และรารวมกัน น้อยกว่า 10 โคโลนีต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร เป็นเกณฑ์ในการตัดสินปริมาณจุลินทรีย์ที่ยอมให้มีได้ในผลิตภัณฑ์นี้ ดังนั้นเมื่อพิจารณาพบว่าอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ 30 วันมีปริมาณจุลินทรีย์น้อยกว่า 30 CFU ต่อมิลลิลิตร ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนดไว้ จึงสรุปได้ว่าถ้าพิจารณาเฉพาะด้านจุลินทรีย์ ผลิตภัณฑ์น้ำดื่มเกลือแร่ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4-10 °C จะสามารถเก็บได้นาน 30 วัน

เมื่อวัดค่าสี (ตารางที่ 4.19) พบว่า เวลาการเก็บผลิตภัณฑ์เพิ่มมากขึ้น ค่าความสว่าง ค่าความเป็นสีแดง และค่าความเป็นสีเหลือง เพิ่มมากขึ้น ( $p \leq 0.05$ ) ซึ่งจากการวิเคราะห์องค์ประกอบในเครื่องดื่มเกลือแร่พบว่าประกอบด้วย กรดอะมิโน กลูโคส และแร่ธาตุ (ตารางที่ 4.14-4.15) ดังนั้นการที่มีค่าสีเพิ่มมากขึ้นอาจเนื่องจากเกิดปฏิกิริยา Maillard reaction ซึ่งเป็นการทำปฏิกิริยาระหว่าง amino group ของกรดอะมิโน กับ free carbonyl group ของน้ำตาล เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาจะได้สาร melanoidins มีสีน้ำตาล (Zapsalis และ Beck, 1985) แต่การเปลี่ยนแปลงของค่าสีนี้ไม่สามารถตรวจสอบได้ด้วยการทดสอบทางประสาทสัมผัส ซึ่งพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มมากขึ้นคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสีไม่เปลี่ยนแปลง ( $p > 0.05$ ) (ตารางที่ 4.16)

เมื่อพิจารณาค่า pH, %Transmittance และปริมาณของแข็งทั้งหมด (ตารางที่ 4.21) พบว่าระยะเวลาในการเก็บไม่มีผลต่อค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ( $p > 0.05$ ) แต่จะมีผลต่อค่า pH และ %Transmittance ( $p \leq 0.05$ ) โดยค่า pH จะเพิ่มขึ้น ค่า %Transmittance ลดลง การที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้มีค่าไม่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลซูโครส จึงไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ ในระหว่างการเก็บ ส่วนค่า pH เพิ่มขึ้นค่อนข้างน้อยมาก จากเริ่มต้นมี pH 3.55 เมื่อครบเวลาการเก็บ 30 วัน จะมี pH 3.69 ซึ่งยังเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นกรดสูง ส่วนค่า %Transmittance พบว่าจากเริ่มต้นถึง 15 วันมีค่าไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเก็บครบ 30 วันจะมีค่า

%Transmittance ลดลงซึ่งสอดคล้องกับลักษณะปรากฏของเครื่องตี๋ม (ตารางที่ 4.13) ที่พบว่าช่วงระยะเวลาการเก็บ 0-15 วันผลิตภัณฑ์มีสีเหลืองอ่อนใสไม่มีตะกอน แต่เมื่อครบ 30 วันผลิตภัณฑ์มีสีเหลืองอ่อนใสมีตะกอนเล็กน้อยจึงทำให้ค่า %transmittance ลดลง

ดังนั้นจากเกณฑ์ที่ใช้ในการพิจารณาทั้งหมดได้แก่ การทดสอบทางประสาทสัมผัส ปริมาณจุลินทรีย์ ค่าสี %transmittance และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ สามารถสรุปได้ว่า เครื่องตี๋มเกลือแร่ที่ผลิตโดยมีโปรตีนไฮโดรไลเซตจากกากมอลต์เป็นส่วนผสมบรรจุขวดแก้วใส สามารถเก็บที่ 4-10 °C ได้นาน 30 วัน โดยผลิตภัณฑ์มีคุณภาพทางเคมี จุลินทรีย์ และประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับ

### 3 ศึกษาการใช้เส้นใยอาหารจากกากมอลต์ที่ได้จากกากมอลต์โดยนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์คุกกี้

เนื่องจากเมล็ดข้าวบาร์เลย์แห้งจะประกอบไปด้วย เปลือก และ pericarp 10 %, aleurone เชื่อมกับ testa และ pigment 14 %, แป้ง (endosperm) 73% และ embryo 3 % (Briggs, 1978) การใช้ประโยชน์ของเมล็ดข้าวบาร์เลย์ พบว่า 96.7% จะถูกนำมาใช้ในการผลิตเบียร์ ซึ่งในการผลิตเบียร์จะใช้ส่วนแป้งโดยการไฮโดรไลซ์เป็นน้ำตาล ดังนั้นส่วนที่เหลือคือ กากมอลต์ ซึ่งประกอบด้วยส่วนประกอบอื่นๆ ที่มีในเมล็ดข้าวบาร์เลย์ ซึ่งพบว่าสามารถใช้เป็นแหล่งของโปรตีนและเส้นใยอาหารได้เป็นอย่างดี (Kishi และคณะ, 1992) ในงานวิจัยนี้จึงได้นำมาศึกษาการใช้ประโยชน์โดยแยกส่วนโปรตีน และผลิตเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซต ดังที่ได้ทดลองในข้างต้น และหลังจากแยกส่วนโปรตีนออกไปจากกากมอลต์แล้วยัง พบว่า มีส่วนเส้นใยอาหารเหลืออยู่จึงได้สนใจที่จะศึกษาการใช้ประโยชน์ของส่วนเส้นใยอาหารต่อไป โดยลักษณะปรากฏของส่วนเส้นใยอาหารที่แยกโปรตีนออกไปแสดงในรูปที่ 4.7

#### 3.1 วิเคราะห์ปริมาณเส้นใยอาหารจากเส้นใยที่แยกได้จากกากมอลต์

จากการวิเคราะห์พบว่า ส่วนที่เหลือของกากมอลต์ที่แยกโปรตีนออกมีปริมาณเส้นใยอาหารประมาณ 37.72%โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีปริมาณมากกว่าในข้าวบาร์เลย์ เนื่องจากส่วนเส้นใยอาหารที่นำมาศึกษาถูกแยกส่วนแป้งออกไปในขั้นตอนการผลิตเบียร์ (Vincent และ Bavisotto, 1965) และถูกแยกส่วนโปรตีนออกไปเพื่อใช้ในการศึกษาการใช้ประโยชน์ทางด้านโปรตีนของกากมอลต์ ดังนั้นส่วนที่เหลือส่วนใหญ่จึงเป็นเส้นใยอาหาร

### 3.2 ศึกษาผลของขนาดเส้นใยอาหารต่อปริมาณเส้นใยอาหาร

เนื่องจากการนำส่วนเส้นใยอาหารไปใช้ประโยชน์ จำเป็นต้องแยกส่วนเปลือกออกไป โดยการร่อนผ่านตะแกรง ดังนั้นจึงสนใจที่จะศึกษาผลของขนาดตะแกรงต่อปริมาณเส้นใยอาหาร ซึ่งจะไปสัมพันธ์กับปริมาณเส้นใยอาหารที่สามารถเติมลงไปในการผลิตคุกกี้ ที่จะศึกษาในขั้นตอนต่อไป ในขั้นตอนนี้จะศึกษาโดยแปรขนาดตะแกรงที่ใช้ในการแยกขนาดเส้นใยอาหารเป็น 3 ระดับ คือ 25, 35 และ 50 mesh วิเคราะห์หาปริมาณเส้นใยอาหาร (ตารางที่ 4.23) พบว่า ขนาดตะแกรงมีผลต่อปริมาณเส้นใยอาหาร ( $p \leq 0.05$ ) โดยขนาดตะแกรงที่มีความละเอียดเพิ่มมากขึ้น ปริมาณของเส้นใยอาหารจะลดลง เนื่องจากตะแกรงที่มีความละเอียดมากขึ้นจะมีรูที่จะให้อนุภาคผ่านมีขนาดเล็กลง ดังนั้นเส้นใยอาหารซึ่งมีหลายขนาดปะปนกัน เมื่อร่อนผ่านตะแกรงที่มีความละเอียดสูงทำให้อนุภาคของเส้นใยอาหารที่มีขนาดใหญ่ไม่สามารถร่อนผ่านออกมาได้ จึงทำให้ได้ปริมาณเส้นใยอาหารลดลง (Chaudhary, 1982)

### 3.3 ศึกษาผลของขนาดและปริมาณเส้นใยอาหารที่เหมาะสมที่จะใช้ในผลิตคุกกี้

ศึกษาผลของขนาดและปริมาณเส้นใยอาหารที่เหมาะสมที่จะใช้ในผลิตคุกกี้ โดยแปรขนาดตะแกรงที่ใช้ในการแยกขนาดเส้นใยอาหารเป็น 3 ระดับ คือ 25, 35 และ 50 mesh และใช้เส้นใยอาหารในปริมาณ 5, 10 และ 15 % ของน้ำหนักแป้ง ผลิตคุกกี้ตามสูตรมาตรฐาน วัดค่าการขยายตัวของคุกกี้ ค่าปริมาณความชื้น และคุณภาพทางประสาทสัมผัสของคุกกี้ที่ผลิตได้

เมื่อพิจารณาค่าการขยายตัว (ตารางที่ 4.25-4.27) พบว่า ขนาดเส้นใยอาหารและอิทธิพลร่วมระหว่างปริมาณกับขนาดเส้นใยอาหารไม่มีผลต่อค่าการขยายตัวของคุกกี้ ( $p > 0.05$ ) ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการขยายตัวของคุกกี้จึงพิจารณาเฉพาะอิทธิพลของปริมาณเส้นใยอาหาร (ตารางที่ 4.26) จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการขยายตัวของคุกกี้พบว่า ปริมาณเส้นใยอาหารมีผลต่อการขยายตัว ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อปริมาณเพิ่มมากขึ้นการขยายตัวของคุกกี้จะลดลง ซึ่งผลจากการทดลองนี้จะสอดคล้องกับผลการทดลองของ Vratnina และ Zabik (1978) ที่รายงานว่า การเพิ่มจำนวนเส้นใยอาหารจะมีผลทำให้การขยายตัวของคุกกี้ลดต่ำลง การควบคุมการแผ่ขยายตัวของคุกกี้ มีความสำคัญต่อผลิตภัณ์คุกกี้มากในกรณีของการทำ cream sandwich cookies ซึ่งต้องใช้คุกกี้ 2 ชั้นมาประกบกันดังนั้นควรมีขนาดเท่ากัน (Matz และ Matz, 1978) นอกจากนี้ความไม่สม่ำเสมอในการขยายตัวจะก่อให้เกิดปัญหาในการบรรจุหีบห่อ คือ ถ้ามีการแผ่ขยายตัวมากจะทำให้ไม่สามารถบรรจุในภาชนะบรรจุได้หรือถ้าแผ่ขยายน้อยเกินไปทำให้การบรรจุหีบห่อไม่เต็ม น้ำหนักเกินสำหรับการบรรจุ ซึ่งสร้างความเสียหายให้กับสายงานการบรรจุและก่อให้เกิด waste จำนวนมาก (Smith, 1972) ดังนั้นจึง

จำเป็นต้องศึกษาว่าเส้นใยอาหารและปริมาณเส้นใยอาหารที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์มีผลต่อค่าการขยายตัวของคุกกี้ได้อย่างไร ซึ่งสรุปได้ว่าเส้นใยอาหารมีผลทำให้การขยายตัวของคุกกี้ลดลง

ส่วนปริมาณความชื้นของคุกกี้ (รูปที่ 4.8) พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างขนาดกับปริมาณเส้นใยอาหารมีผลต่อปริมาณความชื้นของคุกกี้อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) กล่าวคือเมื่อขนาดเส้นใยอาหารลดลงปริมาณความชื้นในคุกกี้จะเพิ่มมากขึ้น ขณะที่ปริมาณเส้นใยอาหารเพิ่มมากขึ้น ปริมาณความชื้นในคุกกี้เพิ่มขึ้น ขนาดเส้นใยอาหารร่อนผ่านตะแกรงขนาด 50 mesh ปริมาณที่เติม 15 % โดยน้ำหนักแบ่ง มีอิทธิพลต่อปริมาณความชื้นในคุกกี้มากที่สุด คือจะให้คุกกี้ที่มีความชื้นสูงสุด

ซึ่งจากผลการทดลองทั้งค่าการขยายตัว และปริมาณความชื้นพบว่า มีความสอดคล้องกัน ดังนี้คือ เส้นใยอาหารจะทำให้ค่าการขยายตัวของคุกกี้ลดลง และขณะเดียวกันจะทำให้ปริมาณความชื้นของคุกกี้เพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับคุกกี้ที่ไม่เติมเส้นใยอาหาร ทั้งนี้เนื่องจากเส้นใยอาหารมีโครงสร้างที่มีคุณสมบัติเป็น hydrophilic ทำให้ดูดซับน้ำไว้ได้ดี จึงได้คุกกี้ที่หนาและอ่อนนุ่มมากกว่าคุกกี้ที่ไม่เติมเส้นใยอาหาร (Gorczyca และ Zabik, 1979) สำหรับการขยายตัวของคุกกี้ จะเกิดขึ้นในขั้นตอน การอบ ซึ่งในระหว่างการอบจะเกิดการเปลี่ยนแปลงดังนี้

#### 1. ระยะแรกของการอบ

เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นไขมัน น้ำตาล และสารเคมีอื่นๆ จะเริ่มละลายทำให้ผลิตภัณฑ์นิ่มและเหลว มีก๊าซเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาของสารที่ทำให้เกิดการขึ้นฟู เมื่อได้รับความร้อนก็จะขยายตัวดันโครงสร้างของผลิตภัณฑ์ให้มีปริมาตรเพิ่มขึ้น แต่การเติมเส้นใยอาหารลงไปจะไปดูดซับน้ำเพราะมีโครงสร้างที่มีคุณสมบัติเป็น hydrophilic ทำให้มีน้ำอิสระที่จะไปละลายและทำปฏิกิริยากับสารที่ทำให้เกิดการขึ้นฟูน้อยลงจึงทำให้ปริมาตรลดลง

#### 2. ระยะกลางของการอบ

ความร้อนในระยะนี้จะทำให้ผลิตภัณฑ์ร้อนใกล้ถึงจุดเดือดของน้ำ ( $100^{\circ}\text{C}$ ) ทำให้โปรตีนจับตัวกันเป็นโครงร่างรวมทั้งแปงเกิดเจลบางส่วน กลายเป็นโครงร่างที่แข็งแรงของผลิตภัณฑ์ส่วนน้ำที่เหลืออยู่จะระเหยกลายเป็นไอน้ำให้มีปริมาตรมากขึ้นแต่การเติมเส้นใยอาหารลงไปจะไปดูดน้ำไว้ทำให้น้ำระเหยได้น้อยเกิดไอน้ำที่จะไปดันขนมได้น้อยจึงทำให้ปริมาตรลดลง และขณะเดียวกันก็เหลือน้ำอยู่ในผลิตภัณฑ์มากขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เติมเส้นใยอาหาร

#### 3. ระยะสุดท้ายของการอบ

ผลิตภัณฑ์จะมีความร้อนเพิ่มขึ้น ลักษณะโครงร่างจะคงที่ เนื่องจากโปรตีนและแป้งจะเปลี่ยนสภาพโดยสมบูรณ์ แต่ยังคงมีความยืดหยุ่นจากไขมันอยู่บ้าง และน้ำตาลในองค์ประกอบยังคงมี

สภาพเหลวขณะเดียวกันจะเกิดสีน้ำตาลบริเวณผิวนอกเนื่องจากการเกิด caramelization ของน้ำตาล เมื่อได้รับความร้อน

สรุปอาจเนื่องมาจากเส้นใยอาหารมีโครงสร้างที่มีสมบัติเป็น hydrophilic ซึ่งจะทำให้ดูดน้ำไว้ได้ดี จึงมีน้ำอิสระที่จะไปทำปฏิกิริยากับสารที่ทำให้เกิดการขึ้นฟูได้น้อยลง ทำให้เกิดก๊าซในปริมาณน้อยลง การดันโครงร่างให้ขยายของผลิตภัณฑ์จึงลดลง และเมื่อผลิตภัณฑ์ได้รับความร้อนจากการอบ น้ำในผลิตภัณฑ์จะระเหยออกไปได้น้อย ทำให้การดันโครงร่างของผลิตภัณฑ์ให้มีการแผ่ขยายลดลง และขณะเดียวกันจะมีปริมาณน้ำเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์มากขึ้น (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2532; Whiteley, 1970)

ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า เมื่อปริมาณเส้นใยอาหารมากขึ้นค่าการขยายตัวของคุกกี้จะลดลง ส่วนปริมาณความชื้นจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณเส้นใยอาหารที่เติมลงไป

จากการทดลองทางประสาทสัมผัส (ตารางที่ 4.29) ผู้บริโภคให้ความเห็นว่าขนาด และปริมาณเส้นใยอาหารมีผลต่อ สี กลิ่นรส การสัมผัส และการยอมรับรวม ( $p \leq 0.05$ ) พบว่า คุกกี้ที่ได้คะแนนสูงสุดคือ คุกกี้ที่เติมเส้นใยอาหารที่ร้อนผ่านตะแกรงขนาด 50 mesh ปริมาณ 10 % ของน้ำหนักแป้ง แต่จะไม่แตกต่างกับคุกกี้เติมเส้นใยอาหารที่ร้อนผ่านตะแกรงขนาด 50 mesh ปริมาณ 5 % ของน้ำหนักแป้ง ( $p > 0.05$ ) สำหรับกลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวมที่มีคะแนนสูงสุดคือ คุกกี้ที่เติมเส้นใยอาหารที่ร้อนผ่านตะแกรงขนาด 50 mesh ปริมาณ 5 % ของน้ำหนักแป้ง เมื่อพิจารณาคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัส สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม พบว่า คุกกี้ที่เติมเส้นใยอาหารที่ร้อนผ่านตะแกรงขนาด 50 mesh ปริมาณ 5 % ของน้ำหนักแป้ง มีคะแนนสูงสุด (รูปเส้นใยอาหารร้อนผ่านตะแกรงขนาด 50 mesh แสดงในรูป 4.9) ผู้ทดสอบยอมรับคุกกี้ที่เติมเส้นใยอาหารที่ร้อนผ่านตะแกรงขนาด 50 mesh อาจเป็นเพราะมีขนาดอนุภาคเล็กและละเอียดกว่าขนาดอื่นๆ จึงให้เนื้อสัมผัสคุกกี้ที่ไม่เหนียวกระด้างและคล้ายคลึงกับตัวอย่างที่ไม่เติมเส้นใยอาหาร ส่วนปริมาณที่เติมพบว่าที่ระดับ 5 % ของน้ำหนักแป้ง ได้รับการยอมรับมากที่สุดนั้นอาจเป็นเพราะเส้นใยอาหารที่ผลิตได้นั้นจะมีกลิ่นเฉพาะ (คล้ายฟางข้าว) ซึ่งเมื่อใช้เติมลงไปปริมาณมากๆ จะไปบดบังกลิ่นปกติของผลิตภัณฑ์ ทำให้การยอมรับทางด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์ลดลง ส่วนในเรื่องของสีพบว่า การเติมเส้นใยอาหารจะทำให้สีของผลิตภัณฑ์คล้ำลง ทั้งนี้เนื่องจากเส้นใยอาหารจะมีสีเป็นสีน้ำตาลดังนั้นเมื่อเติมลงไปผลิตภัณฑ์จึงทำให้สีผลิตภัณฑ์เข้มขึ้น (รูปที่ 4.10)

สรุปจากผลการทดลองพบว่า คุกกี้ที่เติมเส้นใยอาหารที่ร้อนผ่านตะแกรงขนาด 50 mesh ปริมาณ 5 % ของน้ำหนักแป้ง ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคะแนนสี กลิ่นรส การสัมผัส และการยอมรับรวมสูงสุดจึงเลือกสำหรับใช้ศึกษาภาวะในการเติม emulsifying agent ต่อไป

### 3.4 ศึกษาคุณภาพของคุกกี้ที่เติมเส้นใยอาหารจากกากมอลต์

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของคุกกี้ที่เติมเส้นใยอาหารที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 50 mesh ในปริมาณ 5 % ของน้ำหนักแป้ง (ตารางที่ 4.31) พบว่า มีปริมาณของเส้นใยอาหารสูงถึงร้อยละ 1.65 โดยน้ำหนัก และจะมีมากกว่าคุกกี้ที่ไม่มีเติมเส้นใยอาหาร (control) ซึ่งมีเส้นใยอาหาร 0.11%โดยน้ำหนัก ดังนั้นการใช้เส้นใยอาหารเติมลงไปในผลิตภัณฑ์คุกกี้ จะได้คุกกี้ที่มีปริมาณเส้นใยอาหารเพิ่มมากขึ้น 15 เท่า

### 3.5 ศึกษาผลของ emulsifying agent ที่มีต่อคุณภาพของคุกกี้เสริมเส้นใยอาหารจากกากมอลต์

เนื่องจาก emulsifying agent เป็น surface-active agent ซึ่งทำหน้าที่ลดแรงตึงผิวระหว่างน้ำกับน้ำมัน ช่วยให้อิมัลชันคงตัว ช่วยปรับปรุงเนื้อสัมผัส และช่วยไม่ให้เกิดการตกผลึกของไขมันในผลิตภัณฑ์ (Kissell และ Prentice, 1979) ช่วยปรับปรุงความกรอบ (crispness) และ overall quality ให้ดีขึ้น (Leelavathi และ Haridas Rao, 1993) emulsifier agent ที่นิยมใช้ในคุกกี้ ได้แก่ lecithin, calcium stearoyl lactylate, sodium stearoyl lactate โดย Chaudhary (1982) พบว่าการใช้ lecithin 1-2 %โดยน้ำหนักแป้งจะช่วยในการปรับปรุงคุณภาพของคุกกี้ และจากตำราทำอาหารจากแป้งสาลี (2539) พบว่าการใช้เพกโต-3® 0.1-0.5 %โดยน้ำหนักแป้ง จะช่วยลดต้นทุนในการผลิตได้เพราะทำให้ส่วนผสมผสมกับส่วนประกอบอื่นๆได้ดีขึ้นแม้จะใช้ไขมันในปริมาณต่ำ และผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพดีด้วย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาผลของ emulsifying agent ที่มีต่อคุณภาพของคุกกี้เสริมเส้นใยอาหารจากกากมอลต์ โดยเลือกขนาดและปริมาณเส้นใยอาหารที่จะใช้ในคุกกี้ตามที่สรุปได้จากการทดลองแรกมาผลิตคุกกี้ด้วยการเติม emulsifying agent 2 ชนิด คือ เลซิทีน และ เพกโต-3® (50 %sodium stearoyl lactate + 50 %calcium stearoyl lactylate) โดยแปรปริมาณเลซิทีนเป็น 3 ระดับ คือ 1, 2 และ 3 %ของน้ำหนักแป้ง ส่วนเพกโต-3® แปรปริมาณเป็น 3 ระดับคือ 0.1, 0.5 และ 1.0 %ของน้ำหนักแป้ง emulsifying agent ทั้งสองประเภ็นผลด้วยคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้าน สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม โดยใช้ผู้ทดสอบ 15 คน ใช้แบบสอบถามชนิด Scoring test สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส 5 point และการยอมรับรวม 9 point

เมื่อใช้เลซิทีน (ตารางที่ 4.32) ผู้ทดสอบให้ความเห็นว่า ปริมาณเลซิทีนไม่มีผลต่อเนื้อสัมผัส ( $p>0.05$ ) แต่จะมีผลต่อ สี กลิ่นรส และการยอมรับรวมของคุกกี้ ( $p\leq 0.05$ ) โดยตัวอย่างที่ใช้ปริมาณเลซิทีนต่ำมีคะแนนด้านสี กลิ่นรส และการยอมรับรวมสูงกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องจากเลซิทีนมีกลิ่น



เฉพาะตัว และสีเหลืองเข้ม ดังนั้นเมื่อนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ปริมาณมากขึ้นจึงมีผลทำให้เกิดกลิ่นรสผลิตภัณฑ์ที่ไม่ดี และสีผลิตภัณฑ์คล้ำลง

เนื่องจากปริมาณเลซิตินที่ใช้ ให้ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านเนื้อสัมผัสไม่แตกต่างกัน อีกทั้งการใช้ปริมาณต่ำจะได้รับการยอมรับทางด้าน สี กลิ่นรส และการยอมรับรวมสูงกว่า ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณเลซิติน 1.0%โดยน้ำหนักแห้ง ในการศึกษาเปรียบเทียบกับอิมัลซิฟายเออร์ เพกโต-3® และตัวอย่างที่ไม่เติมอิมัลซิฟายเออร์ (control)

ผลของการใช้เพกโต-3® (ตารางที่ 4.34) ผู้ทดสอบให้ความเห็นว่า เพกโต-3® ไม่มีผลต่อสี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวมของผลิตภัณฑ์คุกกี้ ( $p>0.05$ ) ดังนั้นจึงเลือกใช้เพกโต-3® 0.1 %โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งเป็นระดับต่ำสุดของปริมาณที่ใช้ ศึกษาเปรียบเทียบกับอิมัลซิฟายเออร์ เลซิติน และตัวอย่างที่ไม่เติมอิมัลซิฟายเออร์ (control)

ผลการวิเคราะห์การใช้ emulsifying agent 2 ชนิด คือ เลซิตินที่ระดับ 1.0 %โดยน้ำหนักแห้ง และ เพกโต-3® ที่ระดับ 0.1 % โดยน้ำหนักแห้ง เทียบกับ control ในคุกกี้เติมเส้นใยอาหารจากกากมอลต์ (ตารางที่ 4.36) ผู้ทดสอบให้ความเห็นว่า emulsifying agent ไม่มีผลต่อเนื้อสัมผัส ( $p>0.05$ ) แต่มีผลต่อ สี กลิ่นรส และการยอมรับรวมของคุกกี้ ( $p\leq 0.05$ ) โดยคุกกี้ที่ใช้ เลซิตินเป็น emulsifying agent จะมีคะแนนสีสูงสุดเมื่อเทียบกับคุกกี้ที่ใช้เพกโต-3® เป็น emulsifying agent ( $p\leq 0.05$ ) แต่ไม่แตกต่างจาก control ( $p>0.05$ ) ด้านกลิ่นรส คุกกี้ที่ใช้เพกโต-3® เป็น emulsifying agent จะมีคะแนนสูงสุดเมื่อเทียบกับ คุกกี้ที่ใช้เลซิตินเป็น emulsifying agent และ control ( $p\leq 0.05$ ) เนื่องจากเลซิตินจะมีกลิ่นเฉพาะตัว ซึ่งการเติมลงไปในการผลิตที่ระดับปริมาณสูงจะทำให้เกิดกลิ่นของเลซิตินในผลิตภัณฑ์ซึ่งทำให้เกิดเป็น off flavour ในผลิตภัณฑ์ และการยอมรับรวมพบว่าคุกกี้ที่ใช้ เพกโต-3® เป็น emulsifying agent คะแนนไม่ต่างจากคุกกี้ที่ใช้ เลซิตินเป็น emulsifying agent ( $p>0.05$ ) แต่จะมีคะแนนมากกว่า control ( $p\leq 0.05$ )

เนื่องจากผู้บริโภคนำไม่สามารถบอกความแตกต่างของลักษณะเนื้อสัมผัสของคุกกี้ที่มีการเติมเส้นใยอาหารที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 50 mesh ปริมาณ 5 %ของน้ำหนักแห้ง โดยแปรปริมาณเลซิติน 1 % และ เพกโต-3® 0.1 %ของน้ำหนักแห้ง จึงได้นำคุกกี้ไปตรวจวัดลักษณะเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง TA.XT2 Texture Analyser โดยการทดสอบการแตกหัก (bending snapping test) วัดคุณสมบัติลักษณะเนื้อสัมผัสที่ความชันก่อนที่จะถึงแรงสูงสุดของการแตกหักครั้งแรกของเส้นโค้งแรงกับระยะทางที่ได้จากการทดสอบการแตกหัก ซึ่งแสดงถึงความแข็งของคุกกี้จะใช้สัญลักษณ์เป็น Grad-FT 1:2 (m/s) เป็นค่าความรู้สึกแรกที่กัดผิวสัมผัสจากข้างนอกเข้าสู่ข้างใน ถ้ามีค่าสูงแสดงว่า

ค่อนข้างแข็ง แต่ถ้ามีค่าต่ำแสดงว่าค่อนข้างนุ่ม ซึ่งจากการทดลอง (ตารางที่ 4.37) พบว่า emulsifying agent ทั้งสองมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีความแข็งเพิ่มมากขึ้น ( $p \leq 0.05$ ) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Burt และ Thacker, 1981) ที่ศึกษาการใช้ emulsifying agent ในบิสกิต และพบว่า มีผลต่อความแข็งของเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์โดยทำให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัสที่แข็งมากขึ้น ซึ่งเป็นคุณลักษณะที่ต้องการในผลิตภัณฑ์

เมื่อพิจารณาจากลักษณะเส้นโค้งของแรงกดเพื่อวัดความแข็งของคุกกี้ใน รูปที่ 4.11 (control) ตัวอย่างที่ไม่มีการเติมอิมัลซิฟายเออร์ ช่วง 1 วินาทีแรก เส้นกราฟแสดงแรงที่จำเป็นต้องใช้เมื่อหัววัด กดเข้ากับเนื้อตัวอย่างจนเต็มพื้นที่ผิวของหัววัด และตัวอย่างสัมผัสกับแท่นรองจนเต็มผิวสัมผัส เส้นกราฟแรงที่ยาวและสูงขึ้นแสดงให้เห็นว่าแรงที่ใช้กดเพิ่มขึ้นในแบบที่เกือบเป็นเส้นตรงความชัน ในช่วงนี้จะบ่งบอกถึงความแข็งของผลิตภัณฑ์ การแตกเล็ก ๆ ในครั้งต่อมาจะสังเกตเห็นได้หลังจาก 2 วินาที เส้นแรงจะค่อยๆ ลดลงเนื่องจากตัวอย่างมีการแตกอย่างทันทีทันใด ตามด้วยยอดแรงอีกหลายจุดซึ่งแสดงถึงการแตกในครั้งต่อๆ มาจนถึงวินาทีที่ 5 เริ่มเป็นเส้นขนานซึ่งหมายถึงการแตกโดยสมบูรณ์ของตัวอย่างซึ่งเป็นการแตกแบบ "แข็งร่วน" ส่วนตัวอย่างที่มีการเติม เลซิธิน 1 % ของน้ำหนัก แป้งซึ่งแสดงในรูปที่ 4.13 พบว่า จะต้องใช้แรงในการกดตัดในช่วง 1 วินาทีแรกสูงหลังจากนั้น ตัวอย่างจะแตกทันที เส้นกราฟลักษณะนี้ชี้ให้เห็นว่าเป็นการแตกแบบ "แข็งเปราะ" ความชันที่สูงมาก แสดงถึงแรงต้านของชิ้นตัวอย่างที่มีต่อการกดตัด ชิ้นตัวอย่างที่แข็งมากจะมีความชันสูงและสามารถต้านแรงกดตัดได้มากกว่าชิ้นตัวอย่างที่มีความแข็งน้อย และในตัวอย่างที่มีการเติมเพกโต-3® ปริมาณ 0.1 % ของน้ำหนักแป้ง ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.12 พบว่า ในช่วงแรกจะต้องใช้แรงในการกดตัดค่อนข้างต่ำจากนั้นจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นตัวอย่างจะค่อยๆ แตกตามแรงที่กระทำไปเรื่อยๆ จนกระทั่งแตกหมด ซึ่งเส้นกราฟลักษณะนี้ชี้ให้เห็นว่าเป็นการแตกแบบ "แข็งร่วน" ซึ่งเป็นลักษณะที่ต้องการในผลิตภัณฑ์คุกกี้ และเนื่องจากสูตรที่เลือกใช้ในการทดลองเป็นสูตรสำหรับผลิตคุกกี้แบบแข็งร่วน ดังนั้นการใช้เพกโต-3® จะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะที่พึงประสงค์คือ มีเนื้อสัมผัสที่แข็งร่วน ดีกว่าตัวอย่างที่ไม่เติม emulsifying agent

ดังนั้นจึงเลือกเพกโต-3® มาใช้เป็น emulsifying agent ในคุกกี้ที่จะใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บต่อไป

### 3.6 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของคุกกี้ในระหว่างการเก็บ

ปัจจัยที่สำคัญที่เป็นสาเหตุให้อายุการเก็บผลิตภัณฑ์ลดลง คือ ความชื้น และการเหม็นหืนของไขมัน ดังนั้น ภาชนะบรรจุที่ใช้ควรมีคุณสมบัติในการป้องกันความชื้น และกั้นการซึมผ่านของ

ออกซิเจน ซึ่งเป็นสาเหตุของการออกซิเดชันของไขมัน รวมทั้งป้องกันแสงหรือรังสี ultraviolet ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้สีของผลิตภัณฑ์ซีดลง และเกิดกลิ่นรสที่ไม่ดี โดยปกติผลิตภัณฑ์จะมีอายุการเก็บไม่เกิน 90 วัน ซึ่งในช่วงเวลานี้ผลิตภัณฑ์จะยังคงมีคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค แต่ไม่มีผู้ผลิตรายใดต้องการให้ผลิตภัณฑ์ตกค้างอยู่เกิน 60 วัน ทั้งนี้เพื่อให้ผู้บริโภคได้บริโภคผลิตภัณฑ์ที่ใหม่อยู่เสมอ

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ทดลองศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพคุกกี้ในระหว่างการเก็บรักษาโดยเลือกขนาดและปริมาณเส้นใยอาหารที่สรุปได้จากการทดลองแรกและใช้ emulsifying agent ที่สรุปได้ในการทดลองถัดมา ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของคุกกี้ในระหว่างการเก็บรักษาโดยเลือกภาชนะบรรจุทั่วไปตามท้องตลาด 3 ชนิด คือ ถุงพลาสติกชนิด Polyethylene (PE) ถุง Aluminium foil (PE/Aluminium) และถุง Metallized film (OPP/OPP/Metallized) (สมบัติของภาชนะบรรจุที่ใช้ในงานวิจัยแสดงในตารางที่ 2.9) บรรจุคุกกี้ในภาชนะทั้ง 3 ชนิด ให้มีน้ำหนักถุงละประมาณ 65 กรัม ปิดผนึกถุงบรรจุด้วยเครื่องปิดผนึกชนิดใช้ความร้อน เก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 เดือน สุ่มตัวอย่างทุก 2 อาทิตย์ วิเคราะห์ปริมาณความชื้น วิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ และทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อดูการยอมรับของผลิตภัณฑ์ในด้านเนื้อสัมผัส กลิ่นรส และการยอมรับรวม

ค่าการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นของคุกกี้เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้องในภาชนะบรรจุต่างชนิดกัน (รูปที่ 4.14) พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มมากขึ้น ปริมาณความชื้นของคุกกี้ในถุงพลาสติก PE เพิ่มมากขึ้น ( $p \leq 0.05$ ) ทุกๆ 2 สัปดาห์ ขณะที่ปริมาณความชื้นของคุกกี้ที่เก็บในถุง Metallized film และ Aluminium foil มีการเปลี่ยนแปลงความชื้นน้อยกว่า ( $p \leq 0.05$ ) ทั้งนี้เนื่องจากอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ ในถุงพลาสติก PE มีค่าสูงกว่าถุง Metallized film และถุง Aluminium foil ดังแสดงในตารางที่ 2.9

ค่าเปอร์ออกไซด์ของคุกกี้ เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้องในภาชนะบรรจุต่างชนิดกัน (รูปที่ 4.15) พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มมากขึ้น ค่าเปอร์ออกไซด์ของคุกกี้ในถุงพลาสติก PE เพิ่มขึ้น ( $p \leq 0.05$ ) ทุกๆ 2 สัปดาห์ ขณะที่ค่าเปอร์ออกไซด์ของคุกกี้ที่เก็บในถุง Metallized film และ Aluminium foil มีการเปลี่ยนแปลงของค่าเปอร์ออกไซด์น้อยมาก ( $p \leq 0.05$ ) ทั้งนี้เนื่องจากอัตราการซึมผ่านของกาซออกซิเจน ในถุงพลาสติก PE มีค่าสูงกว่า ถุง Metallized film และ ถุง Aluminium foil ดังแสดงในตารางที่ 2.9

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสทางด้านกลิ่น (รูปที่ 4.16) พบว่าเมื่อเวลาการเก็บเพิ่มมากขึ้น คะแนนเฉลี่ยในด้านกลิ่นของคุกกี้ที่บรรจุในถุงพลาสติก PE มีคะแนนเฉลี่ยลดลงโดยคะแนนเฉลี่ยในช่วงสัปดาห์เริ่มต้นจะต่างจากคะแนนเฉลี่ยในช่วงสัปดาห์ที่ 2 ( $p \leq 0.05$ ) และในช่วงสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 มีคะแนนเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) แต่ในสัปดาห์ที่ 8 ซึ่งเป็นสัปดาห์สุดท้ายของการ

ศึกษาอายุการเก็บพบว่า คะแนนเฉลี่ยลดลง ( $p \leq 0.05$ ) และมีคะแนนอยู่ในช่วงมีกลิ่นหืนเล็กน้อยมีค่าเปอร์ออกไซด์ 2.96 mg./kg. ของไขมันในตัวอย่าง ส่วนคะแนนเฉลี่ยกลิ่นของคุกกี้ที่บรรจุใน Metallized film พบว่า เมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้น คะแนนเฉลี่ยจะลดลงเล็กน้อย ( $p \leq 0.05$ ) โดยคะแนนเฉลี่ยในช่วงเริ่มต้นไม่ต่างจากคะแนนเฉลี่ยในช่วงสัปดาห์ที่ 2 ( $p > 0.05$ ) และในช่วงสัปดาห์ที่ 4, 6 และ 8 มีคะแนนเฉลี่ยต่างกันน้อยมาก สัปดาห์สุดท้ายของการศึกษาอายุการเก็บ พบว่า มีคะแนนอยู่ในช่วงมีกลิ่นหอมปกติมีค่าเปอร์ออกไซด์ 1.60 mg./kg. ของไขมันในตัวอย่าง สำหรับคุกกี้ที่บรรจุในถุง Aluminium foil พบว่า แม้เวลาการเก็บเพิ่มมากขึ้น คะแนนเฉลี่ยในด้านกลิ่นไม่มีการเปลี่ยนแปลง ( $p > 0.05$ ) โดยสัปดาห์ที่ 8 ซึ่งเป็นสัปดาห์สุดท้ายของการศึกษาอายุการเก็บพบว่า มีคะแนนอยู่ในช่วงมีกลิ่นหอมดีมากตามลักษณะของผลิตภัณฑ์มีค่าเปอร์ออกไซด์ 1.47 mg./kg. ของไขมันใน

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านเนื้อสัมผัส (รูปที่ 4.17) พบว่า เมื่อเวลาการเก็บเพิ่มมากขึ้นคะแนนเฉลี่ยในด้านเนื้อสัมผัสของคุกกี้ที่บรรจุในถุงพลาสติก PE มีคะแนนเฉลี่ยลดลงโดยในช่วงสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 มีคะแนนเฉลี่ยลดลง ( $p \leq 0.05$ ) และในช่วงสัปดาห์ที่ 6 และ 8 คะแนนเฉลี่ยไม่ต่างกัน ( $p > 0.05$ ) ส่วนคะแนนเฉลี่ยเนื้อสัมผัสของคุกกี้ที่บรรจุในถุง Metallized film และ Aluminium foil พบว่า เมื่อเวลาเพิ่มมากขึ้น เนื้อสัมผัสของคุกกี้ก็ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ( $p \leq 0.05$ )

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านการยอมรับรวม (ตารางที่ 4.44) พบว่า เริ่มมีการไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์ของคุกกี้ที่บรรจุในถุงพลาสติก PE ในสัปดาห์ที่ 2 ของการเก็บรักษา ส่วนคุกกี้ที่เก็บในถุง Metallized film และ Aluminium foil ยังคงเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เมื่อระยะเวลาการเก็บผลิตภัณฑ์คุกกี้ครบ 2 เดือน

จากการทดลองสรุปได้ว่าเมื่อทดลองเก็บคุกกี้ที่เวลาต่างๆ ในสภาวะอุณหภูมิห้องโดยใช้ภาชนะบรรจุต่างชนิดกัน พบว่า ผู้บริโภคเริ่มมีการไม่ยอมรับผลิตภัณฑ์คุกกี้ในสัปดาห์ที่ 2 ส่วนคุกกี้ที่บรรจุใน Metallized film และ Aluminium foil สามารถเก็บผลิตภัณฑ์ได้นานถึง 2 เดือนโดยที่คุณภาพของผลิตภัณฑ์ยังไม่มีเปลี่ยนแปลง ดังนั้นการเก็บผลิตภัณฑ์ในภาชนะบรรจุทั้ง 2 ชนิดนี้จึงน่าเก็บได้อย่างน้อย 2 เดือน ทั้งนี้เนื่องจากความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านอากาศของภาชนะบรรจุแตกต่างกันเพราะว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้นความชื้นในบรรยากาศสามารถซึมผ่านภาชนะบรรจุเข้าไปสัมผัสกับผลิตภัณฑ์ได้มากขึ้น และภาชนะบรรจุที่ต่างกันจะมีความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของอากาศได้ต่างกันโดย ถุง Metallized film และ ถุง Aluminium foil สามารถป้องกันการซึมผ่านของอากาศได้ดีกว่าถุงพลาสติก PE ทั้งนี้เนื่องจากถุง Metallized film

ทำจากฟิล์มพลาสติกที่ผ่านการเคลือบด้วยโลหะอะลูมิเนียม กระจก Aluminium foil ทำจากฟิล์มพลาสติก laminated กับโลหะอะลูมิเนียม กระจก PE ทำจากฟิล์มพลาสติกอย่างเดียว

ดังนั้นกระจก Metallized film และ Aluminium foil จึงสามารถป้องกันการซึมผ่านของอากาศได้ดีกว่ากระจกพลาสติก PE ซึ่งทำจากฟิล์มพลาสติกเพียงอย่างเดียว (คู่มือการใช้พลาสติกเพื่อการบรรจุหีบห่อ)