

บทที่ 3

การทดลอง

วัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต ได้แก่ กากมอลต์สด และ เอนไซม์

กากมอลต์สด

ใช้กากมอลต์สด (spent grain) ซึ่งเป็นส่วนของข้าวบาร์เลย์ (Barley) (*Hordeum vulgare* L. ตระกูล Gramineae.) ที่เหลือจากการผลิตเบียร์ จากบริษัท บุญรอดบริวเวอรี่ จำกัด โดยได้รับ กากมอลต์สดมาครั้งละ 30 กิโลกรัมและเก็บรักษาไว้โดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18°C

เอนไซม์

ใช้สำหรับการย่อยสลายโปรตีน ได้แก่ เอนไซม์ปาเปน และ เอนไซม์โบรมิเลน

- เอนไซม์ปาเปน (Papain from *Carica papaya*) (Merck product No. 107144.0025) ลักษณะเป็นผง ละลายน้ำ มี activity ในหน่วย USP-U เท่ากับ 30000 USP-U/mg เมื่อย่อยเคซีนที่ pH 6.0 อุณหภูมิ 40°C เวลา 60 นาที

- เอนไซม์โบรมิเลน (Bromelain from pineapples) (Merck product No.101651.0025) ลักษณะเป็นผง ละลายน้ำ มี activity ในหน่วย mAnson-E เท่ากับ 2 mAnson-E/mg เมื่อใช้ Folin-Reagent ที่ pH 6.0 อุณหภูมิ 35.5°C

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำดื่มเกลือแร่ ประกอบด้วย น้ำตาล, Glucose syrup, Citric acid, Malic acid, Na-citrate, K-citrate, Vetol plus®

- น้ำตาลทรายขาว (บริษัท น้ำตาลมิตรผล จำกัด)
- Glucose syrup (บริษัท อคินพ จำกัด)
- Citric acid anhydrous fine (food grade) (บริษัท อคินพ จำกัด)
- Malic acid (food grade) (ห้างหุ้นส่วน นิวทรีชั่นจำกัด)
- Na-citrate (food grade) (บริษัท อคินพ จำกัด)

- K-citrate (food grade) (บริษัท อติเนฟ จำกัด)
- Vetol plus® (food grade) (Pfizer)
- กลิ่น pineapple No. 57.828 G (บริษัท Firmenich จำกัด)
- กลิ่น Tutti frutti No. 591.272 C (บริษัท Firmenich จำกัด)

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตคุกกี้ ประกอบด้วย แป้งสาลี มาการีน น้ำตาล ไข่ไก่ เกลือ โซดาไบคาร์บอเนต นมผงขาดมันเนย ผงฟู (Baking powder) น้ำ และ Emulsifier

- แป้งสาลีอเนกประสงค์ (ตราว่าว) บริษัท ยูไนเต็ดฟลาวมิลล์ จำกัด (มหาชน)
- มาการีน ตราซิลเวอร์คัลวาร์ด บริษัท ลีเวอร์บราเธอร์ (ประเทศไทย) จำกัด
- น้ำตาล (ตรามิตรผล) บริษัท มิตรผล จำกัด
- ไข่ไก่ (ตรา ซี พี) บริษัท เครือเจริญโภคภัณฑ์ จำกัด
- เกลือ (ตราปรุngthิพย์) บริษัท อุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์ จำกัด
- โซดาไบคาร์บอเนต (ตราเบสท์ฟูลส์) บริษัท ซีพีซี/อายุ (ประเทศไทย) จำกัด
- นมผงขาดมันเนย (ตราออสเตอเลียบีเตอร์) บริษัท วิกกี คอนโซลิเดท จำกัด
- ผงฟู (Baking powder) สูตรดับเบิลแอ็คติ้ง (เบสท์ฟูลส์) บริษัท ซีพีซี/อายุ (ประเทศไทย) จำกัด

จำกัด

- นำประปาผ่านการกรอง
- Emulsifierในคุกกี้ ได้แก่ เลซิติน และ เพกโต-3

- เลซิติน (M-C-THIN AF- 1 หรือ TOPCITHIN 50 Lucas Meyer Co.,Ltd. จัดจำหน่ายในประเทศไทยโดย บริษัท ทรีทัน จำกัด) ชนิด Food grade มีค่าความหนืด ที่อุณหภูมิ 25 °C 10 Pa.s ความชื้นไม่เกินร้อยละ 0.8 โดยน้ำหนัก

- เพกโต-3® เป็น emulsifying agent ที่มีส่วนผสมระหว่าง Calcium Stearoyl Lactylate (CSL) กับ Sodium Stearoyl Lactylate (SSL) ในอัตราส่วน 50 : 50 จัดจำหน่ายในประเทศไทยโดย บริษัท ยูไนเต็ดฟลาวมิลล์ จำกัด (มหาชน)

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง

Ethanol 95 % (industrial grade)

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

Sulfuric acid	(A.R.)
Boric acid	(A.R.)
Potassium sulfate	(A.R.)
Copper sulfate	(A.R.)
Methyl red	(A.R.)
Methylene blue	(A.R.)
Sodium hydroxide	(A.R.)
Petroleum ether	(A.R.)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียคัลไนโตรเจน (ammoniacal nitrogen)

Magnesium oxide	(A.R.)
Boric acid	(A.R.)
Methyl red-Methylene blue	(A.R.)
Sulfuric acid	(A.R.)

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน (formaldehyde nitrogen)

Formaldehyde	(A.R.)
Sodium hydroxide	(A.R.)

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณเส้นใยอาหาร

Ethanol 78 %	(industrial grade)
Ethanol 95 %	(industrial grade)
เอนไซม์ α -amylase, heat stable (Sigma product No.A-0164)	

เอนไซม์ Amyloglucosidase (Sigma product No.A-9913)

เอนไซม์ Protease (Sigma product No P-3910)

Petroleum ether	(A.R.)
Acetone	(A.R.)
Anhydrous disodium hydrogen phosphate	(A.R.)
Anhydrous sodium dihydrogen phosphate	(A.R.)
Phosphoric acid	(A.R.)
Sodium hydroxide	(A.R.)
Anhydrous disodium hydrogen phosphate	(A.R.)
Anhydrous sodium dihydrogen phosphate	(A.R.)
Celite	(A.R.)

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value)

Diethyl ether	(A.R.)
Acetic acid	(A.R.)
Chloroform	(A.R.)
Potassium iodine	(A.R.)
Sodiun thiosulfate	(A.R.)

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

Plate count agar	(DIFCO Laboratories USA.)
Potato dextrose agar	(DIFCO Laboratories USA.)

อุปกรณ์

อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมวัตถุดิบ

ตะแกรงร่อนขนาด 25, 35, 50, 70, 100, 200, 325 mesh

Refrigerated centrifuge (Heraeus-Christ, Verifuge K)

ตุ้บ (WTE Binder, E53)

เครื่องปั่น (Blender, CM-25 Hitachi hometec, Ltd. Japan)

เครื่องบดละเอียด (pin mill)

Vacuum rotary evaporator (Eyela NE-1S)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทางเคมี

เครื่องชั่งละเอียด (Sartorius, A200S)

เครื่องชั่งหยาบ (Sartorius, 1907 MPB)

Moisture analyzer (Sartorius, Model MA30)

อุปกรณ์วิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (Soxhlet)

อุปกรณ์วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (Kjeldahltherm และVadopest 1, Gerhardt, Model KT 85)

เตาเผา (Muffle Furnace, Carbolite, Model Mel 11-2)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต

pH meter (Hanna, 8417)

Autoclave (Tomy, SS-320)

Shaking water bath (Forma Scientific, model 2563)

Refrigerated centrifuge (Heraeus-Christ, Verifuge K)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์น้ำตาลแลคโตส

Hand refractometer 0-32 °Brix (Atago No 1)

เครื่องวัดสี Minolta (CR-A 70)

Spectrophotometer (Shimadzu, UV 560)

อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

Autoclave (Tomy, SS-320)

Incubator 25-70 °C (Memmert, B30)

Micropipette ขนาด 40-200 μ L และขนาด 1000 μ L

ภาชนะบรรจุน้ำดื่มเกลือแร่

ขวดแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร พร้อมฝาพลาสติกเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร

อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตและตรวจสอบคุกกี้

เครื่องผสมไฟฟ้า Kenwood, Model A9070

ตู้อบไฟฟ้า

อุปกรณ์สำหรับรีดคุกกี้เป็นแผ่น ไม้คลึงสำหรับรีดคุกกี้ และพิมพ์กดคุกกี้ (แสดงดังรูป ก. 10-1 ในภาคผนวก)

อุปกรณ์วัดค่า Spread cookies (แสดงดังรูป ก. 10-2 ในภาคผนวก)

ถาดอบอลูมิเนียมชนิดขอบตื้นหรือไม่มีขอบ

ตะแกรงวางขนมที่สุกแล้ว

เครื่องปิดผนึกถุงผลิตภัณฑ์ชนิดใช้ความร้อน (heat seal)

Texture analyser (ภาคผนวก ง)

ภาชนะบรรจุคุกกี้ (บริษัทสตรองแพ็ค จำกัด)

ถุง Polyethylene (PE) ความหนา 0.02 มิลลิเมตร

ถุง Aluminium foil (PE/aluminium) ความหนา 0.08 มิลลิเมตร

ถุง Metallized film (OPP/ CPP/metallized)) ความหนา 0.06 มิลลิเมตร

ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

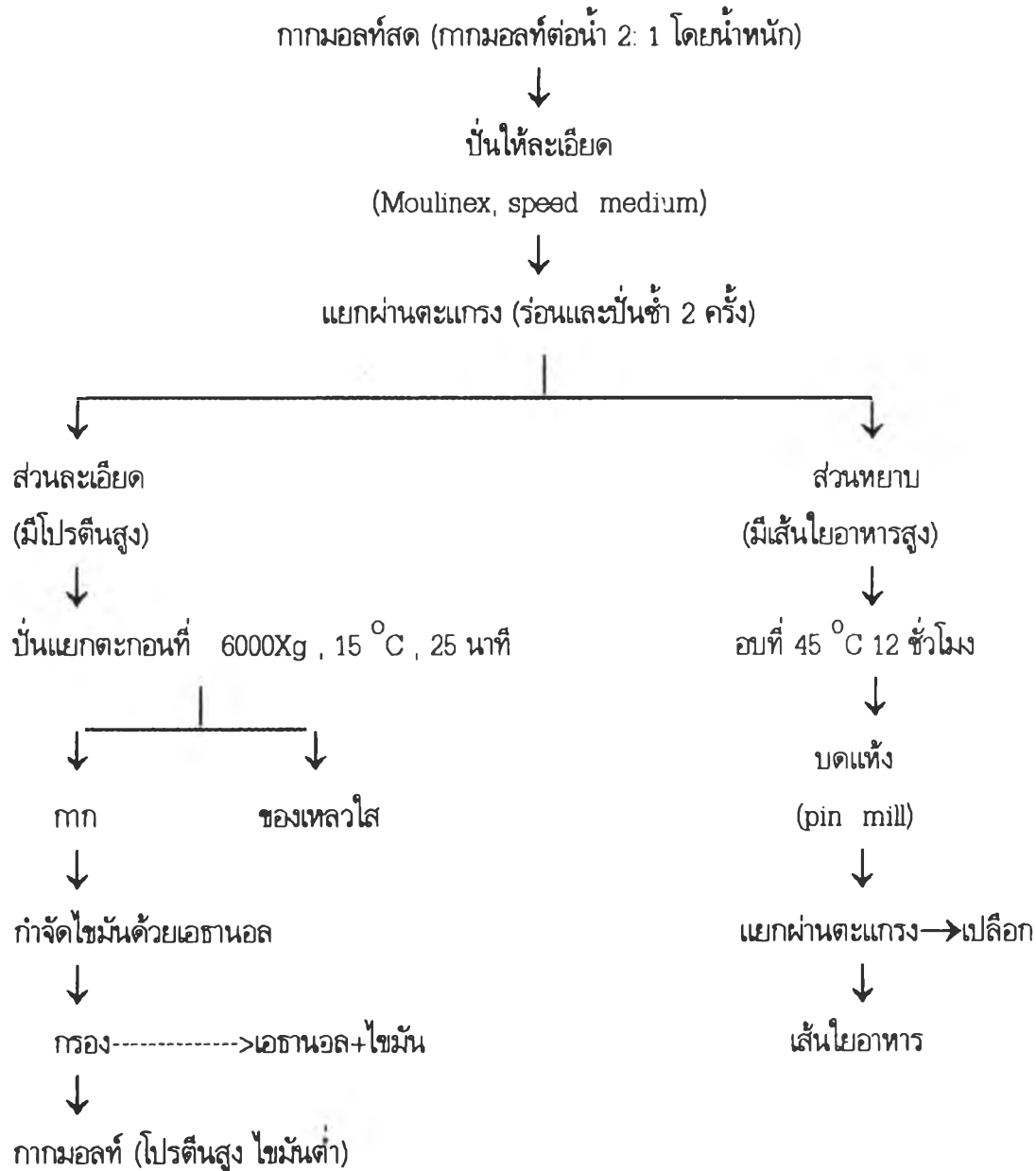
1. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ(กากมอลต์สด)ดังนี้ (ทดลอง 2 ซ้ำ)

- ความชื้น วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก. 1)
- โปรตีน วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก. 2)
- ไขมัน วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก. 3)
- เส้นใย วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก. 4)
- เถ้า วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก. 5)

- คาร์โบไฮเดรต ได้จากการคำนวณผลต่างขององค์ประกอบทางเคมีทั้งหมดกับผลรวมของปริมาณ ความชื้น, โปรตีน, ไขมัน, เถ้า และเส้นใยที่วิเคราะห์ได้

2. **การเตรียมวัตถุดิบ** (เพื่อใช้ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตและเส้นใยอาหารที่ใช้เติมในผลิตภัณฑ์คุกกี้)

ขั้นตอนโดยทั่วไปในการเตรียมวัตถุดิบ ดัดแปลงตามวิธีของ Kishi และคณะ (1992) มีดังนี้



(อบแห้งด้วย Vacuum dryer ที่ความดันสุญญากาศ 30 นิ้วปรอท อุณหภูมิ 50 °C)

รูปที่ 3.1 การเตรียมวัตถุดิบ

3. ศึกษาการใช้โปรตีนจากกากมอลต์ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต

3.1 ขั้นการเตรียมวัตถุดิบตัวแปรที่จะศึกษาได้แก่

3.1.1 ผลของขนาดตะแกรงต่อปริมาณโปรตีน (%Protein) ผลผลิต (%Yield) และผลผลิตโปรตีน (%Protein Yield)

ขนาดตะแกรงที่ใช้แยกมี 6 ระดับ คือ 35, 50, 70, 100, 200 และ 325 Mesh วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีของ AOAC (1990) (รายละเอียดตามภาคผนวก ก. 2) และชั่งน้ำหนักผลผลิตที่ได้ คำนวณเปอร์เซ็นต์ผลผลิตและเปอร์เซ็นต์ผลผลิตโปรตีน (ตัวอย่างการคำนวณแสดงในภาคผนวก จ.1)

ศึกษาผลของปริมาณโปรตีน เปอร์เซนต์ผลผลิต และเปอร์เซ็นต์ผลผลิตโปรตีนที่ร่อนผ่านตะแกรงแต่ละขนาด ทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Complete randomized design วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป MSTAT (Nissin, 1986) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Test (Cochran และ Cox, 1957) เลือกขนาดตะแกรงที่ให้ปริมาณเปอร์เซ็นต์ผลผลิตโปรตีนสูงสุดสำหรับการเตรียมตัวอย่างขั้นต่อไป

3.1.2 ผลของปริมาณแอลกอฮอล์และเวลาในการสกัดไขมันต่อปริมาณไขมันที่กำจัดออก

ตัวอย่างที่มีปริมาณเปอร์เซ็นต์ผลผลิตโปรตีนสูงสุดที่สรุปได้จากการทดลองแรก แปรปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้อัตราส่วน กากมอลต์ต่อแอลกอฮอล์ 1:20, 1:30, 1:40, 1:50 และ 1:60 โดยน้ำหนักของแข็ง และเวลาในการสกัดแปรเป็น 1, 2 ชั่วโมง สกัดไขมันตามวิธีที่กล่าวข้างต้นที่อุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส) กรองสารสกัดผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ระบายแอลกอฮอล์จากกากมอลต์ด้วยเครื่อง Vacuum oven ที่อุณหภูมิ 50 °C ความดันสุญญากาศ 30 นิ้วปรอท เวลา 6 ชั่วโมง วัดปริมาณไขมันที่สกัดโดยการชั่งน้ำหนักไขมันที่เหลือหลังจากนำส่วนที่เป็นของเหลวผสมระหว่างแอลกอฮอล์กับไขมันไประเหยแอลกอฮอล์ที่อุณหภูมิ 50 °C ความดันสุญญากาศ 30 นิ้วปรอท เวลา 3 ชั่วโมง

ศึกษาผลของปริมาณแอลกอฮอล์และเวลาในการสกัดไขมันต่อปริมาณไขมันที่สกัดออกไปได้ ทดลอง 2 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Experiment ขนาด 2 X 5 วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป MSTAT (Nissin, 1986) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1957) เลือกภาวะการสกัดไขมันที่ให้ปริมาณไขมันสูงสุดเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

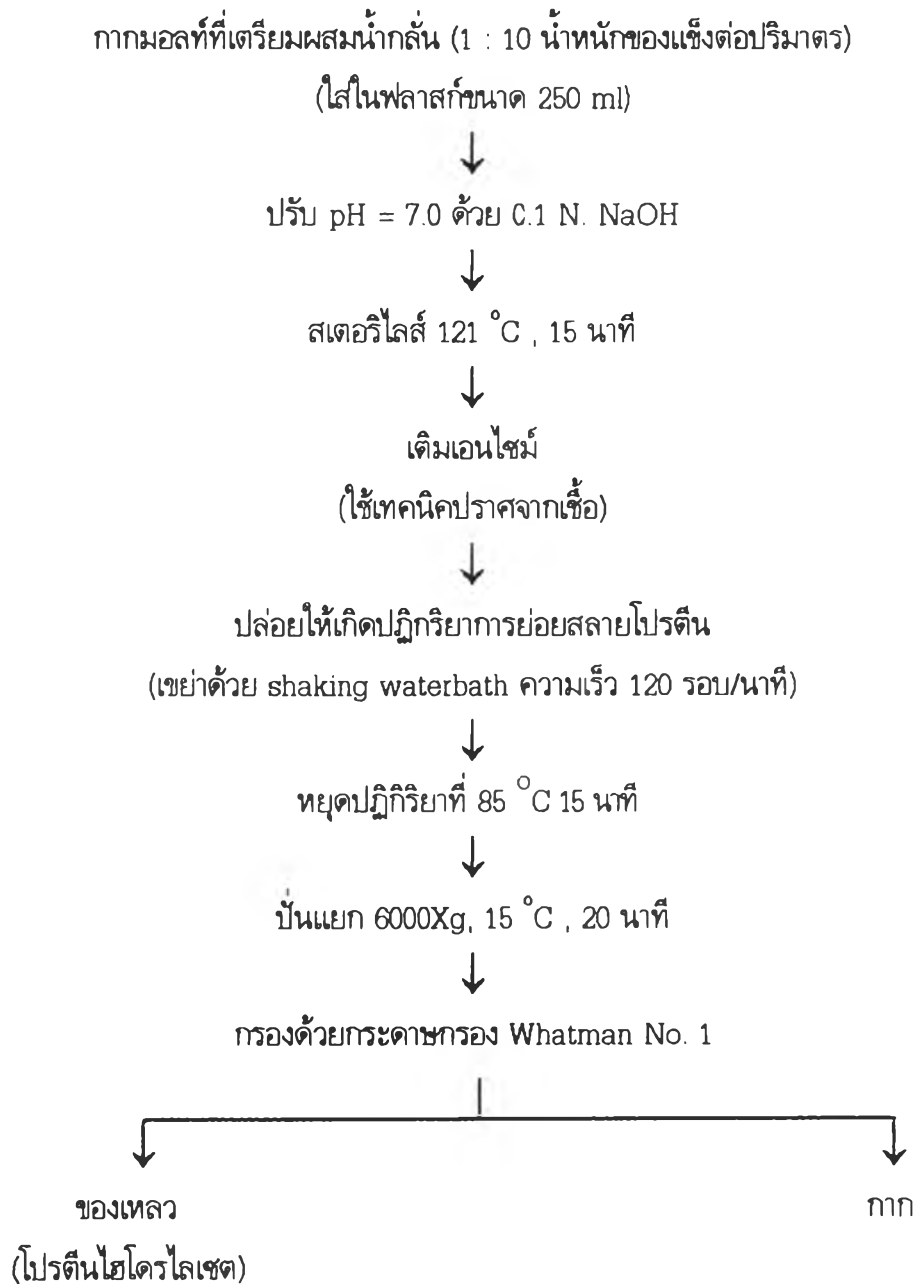
3.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของกากมอลต์ที่ผ่านการเตรียมวัตถุดิบ (ทดลอง 2 ชั้น)

- ความชื้น วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก. 1)
- โปรตีน วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก. 2)
- ไขมัน วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก. 3)
- เส้นใย วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก. 4)
- เถ้า วิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก. 5)
- คาร์โบไฮเดรต ได้จากการคำนวณผลต่างขององค์ประกอบทางเคมีทั้งหมดกับผลรวมของปริมาณ ความชื้น, โปรตีน, ไขมัน, เถ้า และเส้นใยที่วิเคราะห์ได้

3.3 วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ค้าง

โดยส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ใช้วิธีตรวจวิเคราะห์ตาม AOAC (1996) (ภาคผนวก ก. 9)

3.4 ศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซ์โปรตีนจากกากมอลต์ด้วยเอนไซม์ ซึ่งดัดแปลงตามวิธีของ Vincent และ Bavisotto (1965) โดยมีขั้นตอนดังนี้



รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์

ภาวะที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซ์ตัวแปรที่ศึกษาได้แก่ชนิดเอนไซม์คือ Papain, Bromelain โดยใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.1, 0.5 และ 1.0 % โดยน้ำหนักแห้งของกากมอลต์และอุณหภูมิในการย่อยเป็น 50, 55 และ 60 องศาเซลเซียส ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะประเมินผลโดยใช้ค่าเหล่านี้เป็นเกณฑ์

- ค่าการวิเคราะห์ปริมาณอะมิโนไนโตรเจน (แสดงในภาคผนวก ก. 6) (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, มอก.8-2513)

- คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านความแรงของกลิ่น ทดสอบโดยให้ผู้ทดสอบ (Semi-train) 20 คน ใช้แบบทดสอบชนิด Scoring 9 point โดย 9 หมายถึง กลิ่นหอมของธัญพืชมากที่สุด และ 1 หมายถึง มีกลิ่นหอมและมีกลิ่นแปลกปลอมมากที่สุด HVP (รายละเอียดแบบสอบถามแสดงในภาคผนวก จ. 1)

- ค่าการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนไนโตรเจน HVP ที่ได้รับคะแนนประสาทสัมผัสด้านกลิ่นสูงที่สุด

ศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการไฮโดรไลซ์โปรตีนจากกากมอลต์ด้วยเอนไซม์ ทำการทดลอง 2 ชั้น วางแผนการทดลองแบบ Factorial Design ขนาด 3 X 3 X 2 คุณภาพทางประสาทสัมผัสกลิ่นวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป MSTAT (Nissin, 1986) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1957) เลือกภาวะที่ให้ปริมาณอะมิโนไนโตรเจนและการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นสูงที่สุดเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3.5 ศึกษาการใช้ประโยชน์ HVP ในเครื่องต้มเกลือแร่(สูตรที่ใช้ในการผลิตแสดงในภาคผนวก ข)

นำ HVP ที่ให้คุณภาพที่ดีที่สุดที่สรุปได้จากการทดลองที่ผ่านมาไปใช้เป็นส่วนผสมในน้ำดื่มเกลือแร่ โดยแปรกลิ่นของน้ำดื่มเกลือแร่ดังนี้

สูตรที่ 1 ไม่เติมสารให้กลิ่นรส

สูตรที่ 2 เติมสารให้กลิ่นรส Tutti frutti ในปริมาณ 0.1 % (in finished drink)

สูตรที่ 3 เติมสารให้กลิ่นรส pineapple ในปริมาณ 0.12 % (in finished drink)

ประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส ทางด้านสี กลิ่นรส ลักษณะปรากฏ และการยอมรับรวม ใช้ผู้ทดสอบชนิดผู้บริโภครandomized จำนวน 20 คน ใช้แบบทดสอบชนิด Hedonic Scale (แบบทดสอบแสดงในภาคผนวก จ. 2) ช่วงระดับความชอบ 1-9 โดย 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด 1 หมายถึงไม่ชอบมากที่สุด และต่ำกว่า 5 ผู้บริโภคไม่ยอมรับ

การทดสอบทางประสาทสัมผัสทดลอง 2 ชั้น วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป MSTAT (Nissin, 1986) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1957)

3.6 ศึกษาคุณภาพของน้ำดื่มเกลือแร่

สูตรน้ำดื่มเกลือแร่ที่ได้รับคะแนนสูงสุดนำมาตรวจคุณภาพโดยวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้

- วิเคราะห์ปริมาณ อะมิโนไนโตรเจน (สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม มอก.8-2513)
- วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนด้วยเครื่อง Amino acid analyzer (Beckman, High Performance Analyzer System 6300) ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล (ภาคผนวก ฉ)
- วัดค่า Total soluble solid (ด้วย Hand refractometer 0-32 °brix)
- วัด pH (ด้วย pH meter)
- วัดค่าสี (ด้วยเครื่องวัดสี Minolta CR-A 70) (ภาคผนวก ฉ, รูปที่ ฉ.3)
- วัดความขุ่น (ด้วย Spectrophotometer, UV 560)
- ปริมาณ ยีสต์ รา และจุลินทรีย์ทั้งหมด (Harrigan and McCance, 1976) (ภาคผนวก ก. 10)
- คำนวณค่าเป็น meq. ของธาตุต่างๆ ในเครื่องดื่ม เช่น Sodium, Potassium, Citrate (ภาคผนวก ข. 2)

3.7 ศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเกลือแร่

เนื่องจากผลิตภัณฑ์ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการพาสเจอร์ไรซ์ที่ 85 °C เวลา 1.5 นาที จึงจำเป็นต้องเก็บที่อุณหภูมิต่ำเพื่อยืดอายุการเก็บให้นานขึ้น และเครื่องดื่มเกลือแร่ที่ทดลองเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพด้วย ดังนั้นจึงไม่เต็มสารกันเสียในการยืดอายุการเก็บ เตรียมเครื่องดื่มเกลือแร่จากสูตรที่ได้จากข้อ 3.5 บรรจุในขวดแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร นำมาศึกษาอายุการเก็บโดยเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4-10 °C ระหว่างการเก็บ 30 วัน จะติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพที่เวลา 0, 15 และ 30 วัน โดยวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้

วิเคราะห์คุณภาพเช่นเดียวกับข้อ 3.6 วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design ทดสอบทางประสาทสัมผัส เช่นเดียวกับข้อ 3.5 วางแผนการทดลองแบบ Randomized

Complete Block Design วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป MSTAT (Nissin, 1986) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1957)

4. ศึกษาการใช้เส้นใยอาหารจากกากมอลต์ที่แยกได้จากกากมอลต์โดยนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์คุกกี้ (สูตรที่ใช้ในการผลิตแสดงในภาคผนวก ค) โดยมีขั้นตอนในการศึกษาดังนี้

4.1 วิเคราะห์ปริมาณเส้นใยอาหารจากเส้นใยที่ได้จากกากมอลต์

นำเส้นใยอาหารมาวิเคราะห์หาค่าปริมาณเส้นใยอาหาร ตามวิธีวิเคราะห์ของ AOAC (1996) (ภาคผนวก ก. 8) (ทดลอง 2 ซ้ำ)

4.2 ศึกษาผลของขนาดเส้นใยอาหารต่อปริมาณเส้นใยอาหาร

แปรขนาดตะแกรงที่ใช้ในการแยกขนาดเส้นใยอาหารเป็น 3 ระดับ คือ 25, 35 และ 50 mesh วิเคราะห์หาปริมาณเส้นใยอาหาร ตามวิธีวิเคราะห์ของ AOAC (1996) (ภาคผนวก ก. 8)

ศึกษาผลของขนาดต่อปริมาณเส้นใยอาหาร ทดลอง 4 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป MSTAT (Nissin, 1986) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1957)

4.3 ศึกษาผลของขนาดและปริมาณเส้นใยอาหารที่เหมาะสม ที่จะใช้ในผลิตภัณฑ์คุกกี้

แปรขนาดตะแกรงที่ใช้ในการแยกขนาดเป็น 3 ระดับ คือ 25, 35 และ 50 mesh โดยใช้เส้นใยในปริมาณ 5, 10 และ 15 % ของน้ำหนักแป้ง คุกกี้ที่ได้ประเมินผลโดยใช้ค่าเหล่านี้เป็นเกณฑ์

- วิเคราะห์ผลทางกายภาพโดยวัดค่าการขยายตัวของคุกกี้ (spread cookies) AACC (1976) (ภาคผนวก ก. 10, รูปที่ ก. 10-1)

- วิเคราะห์ค่าปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์คุกกี้ ตามวิธีของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก. 1)

- คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้าน สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม โดยใช้ผู้ทดสอบชนิดผู้บริโภคร่วมไป 15 คน ใช้แบบทดสอบชนิด Scoring test (รายละเอียดแบบสอบถามแสดงในภาคผนวก จ. 3) (มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมขนมปังกรอบ, 2530)

เนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง TA.XT2 Texture Analyser ทดลอง 10 ซ้ำ (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ง, รูปแสดงในภาคผนวก ง-1)

การศึกษาผล emulsifying agent ต่อคุกกี้ ผลคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้าน สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป MSTAT (Nissin, 1986) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1957) เลือก emulsifying agent ที่ให้คะแนนทางประสาทสัมผัสสูงสุดและมีเนื้อสัมผัสที่ดีที่สุดมาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

4.6 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของคุกกี้ในระหว่างการเก็บ

เลือกขนาดและปริมาณเส้นใยที่สรุปได้จากการทดลองแรกโดยใช้ emulsifying agent ที่สรุปได้ในการทดลองถัดมา มาศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของคุกกี้ในระหว่างการเก็บรักษาโดยเลือกภาชนะบรรจุทั่วไปตามท้องตลาด 3 ชนิด คือ ถุงพลาสติกชนิด Polyethylene (PE) ถุง Aluminium foil (PE/aluminium) และถุง Metallized film (OPP/PP/metallized) บรรจุคุกกี้ในภาชนะทั้ง 3 ชนิด ให้มีน้ำหนักถุงละประมาณ 65 กรัม ปิดผนึกถุงบรรจุด้วยเครื่องปิดผนึกชนิดใช้ความร้อน เก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 เดือน สุ่มตัวอย่างทุก 2 อาทิตย์ เพื่อนำมาทดสอบ

- วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของผลิตภัณฑ์
 - วิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีของ AOAC (1990) (ภาคผนวก ก. 1)
 - วิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ตามวิธีของ AOAC (1980) (ภาคผนวก ก. 7)
- ทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อดูการยอมรับของผลิตภัณฑ์ในด้าน เนื้อสัมผัส กลิ่นรส

และการยอมรับรวม (แบบสอบถามแสดงในภาคผนวก จ. 4)

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพคุกกี้ในระหว่างการเก็บ ทดลอง 2 ซ้ำ ปริมาณความชื้นและค่าเปอร์ออกไซด์ วางแผนการทดลองแบบ Asymmetric Factorial Experiment ขนาด 3X5 คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านเนื้อสัมผัส กลิ่นรส และการยอมรับรวมของผลิตภัณฑ์ วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป MSTAT (Nissin, 1986) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (Cochran และ Cox, 1957)