

บทที่ 3

การทดลอง

3.1 วัตถุดิบ สารเคมี อุปกรณ์และวิธีวิเคราะห์

3.1.1 วัตถุดิบ

- นมสดยูเอชทีที่หมดอายุการจำหน่าย คือ นมที่ทางผู้ผลิตเก็บกลับคืนจากห้องตลาดก่อนที่จะถึงวันหมดอายุตามที่ระบุไว้บนกล่องประมาณ 2-3 เดือน โดยดูจากกลไกของตลาดว่านมที่วางขายใน lot นั้นมีการจำหน่ายออกไปได้เร็วหรือช้าเพียงใด ซึ่งนมสดยูเอชที รสจืด ขนาดกล่อง 250 มิลลิลิตร ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท อุตสาหกรรมนมไทย จำกัด และ บริษัท โฟร์โมสต์ฟรีสแลนด (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน)

- เอนไซม์เรนเนท ของบริษัท CHR-HANSEN ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงเรียนแห่ง โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา

3.1.2 สารเคมี

การทดสอบกับแอลกอฮอล์

ethyl alcohol 95 % A.R.

ในกระบวนการผลิต

acetic acid A.R.

citric acid A.R.

lactic acid A.R.

phosphoric acid A.R.

calcium chloride A.R.

sodium chloride A.R.

disodium phosphate food grade ได้รับความอนุเคราะห์
จากบริษัท จิราคร จำกัด

guar gum ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท

กริฟฟิท์ ลาบอราทอรีส์ ประเทศไทย จำกัด

การวิเคราะห์โปรตีน

sulfuric acid	A.R.
hydrochloric acid	A.R.
boric acid	A.R.
sodium hydroxide	A.R.
methyl red	A.R.
methylene blue	A.R.

การวิเคราะห์เกลือ

nitric acid	A.R.
silver nitrate	A.R.
potassium thiocyanate	A.R.
potassium permanganate	A.R.
saturated ferric ammonium sulfate	A.R.

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

plate count agar	(Merck Co., Ltd.)
potato dextrose agar	(Merck Co., Ltd.)

3.1.3 อุปกรณ์**อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ**

- เครื่องชั่งน้ำหนัก (Sartorius, BP 310 S) ทศนิยม 3 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดสี (Minolta Chroma Meter, CR 300 series) (รูป ค.3 ภาคผนวก ค)
- ตู้อบลมร้อน ช่วงอุณหภูมิ 5-300 °C (WTB Binder, ED)
- ถ้วยอลูมิเนียม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 ซม. สูง 3 ซม.
- เครื่องวัดเนื้อสัมผัสอาหาร(Texture analyser TA-XT2i) (รูป ค.5 ภาคผนวก ค)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- ชุดเครื่องมือวิเคราะห์โปรตีน (Kjeldatherm and Vapodest I, Gerhardt, KT 85)
- ชุดเครื่องมือวิเคราะห์หาปริมาณเกลือ
- ชุดเครื่องมือวิเคราะห์ไขมัน (Soxhlet Apparatus)
- เครื่องชั่งน้ำหนัก (Sartorius type 1518) ทศนิยม 3 ตำแหน่ง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต

- เครื่องชั่งน้ำหนัก (Sartorius, BP 310 S) ทศนิยม 3 ตำแหน่ง
- เครื่องชั่งน้ำหนัก (Mettler Toledo AB 240) ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- นาฬิกาจับเวลา
- เทอร์โมมิเตอร์ 0 ถึง 100 °C
- pH meter (Horiba, F-21 E)
- Water bath (Heto Lab Equipment DT1)
- เครื่องผสม (Hand Homogenizer, series x 10/20) ประกอบด้วยหัวผสม (Mixing Head, 3923 14) และแกนหัวผสม (Shaft, 20/T) (รูป ค.7 ภาคผนวก ค)
- Vacuum oven (Jupiter)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

- ตู้เขี่ยเชื้อ (ISSCO, BVT-123)
- ตู้ป่นเชื้อ
- Autoclave (SANYO, Lobo Autoclave)
- จานเพาะเชื้อ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- ถ้วยพลาสติก
- ช้อนพลาสติก
- แก้วน้ำพลาสติก
- แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

อุปกรณ์ที่ใช้ในการคำนวณและวิเคราะห์ทางสถิติ

- เครื่องคอมพิวเตอร์ PC
- โปรแกรมสำเร็จรูป MSTAT (Nissin, 1986)

3.1.4 วิธีวิเคราะห์

การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range test (Cochran and Cox, 1992)

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- alcohol test (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.1)
- ลักษณะปรากฏ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2521)

- สี ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2521)
- กลิ่น ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2521)
- การเกิดเจล ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2521)
- การแยกชั้นของไขมัน ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2521)
- วัด pH
- ลักษณะเนื้อสัมผัส โดยใช้เครื่อง Texture analyzer (รูป ค.6 ภาคผนวก ค)
 Force (g) : แสดงถึงความสามารถในการแผ่กระจายอาหาร (spreadability)
 Softness (g.s) : แสดงถึงความนุ่มของอาหาร
 Adhesiveness (g.s) : แสดงถึงการยึดเกาะติดกันของอาหาร
- ค่าสี (L, a, b) โดยใช้เครื่อง Minolta Chroma Meter
 ค่า L แทนค่าความสว่าง
 ค่า a แทนค่าสีแดง (+) แทนค่าสีแดง (-) แทนค่าสีเขียว
 ค่า b แทนค่าสีเหลือง (+) แทนค่าสีเหลือง (-) แทนค่าสีน้ำเงิน

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.2 - ก.6)

- ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ Marshall (1992)
- โปรตีน ตามวิธีของ Marshall (1992)
- เกลือ ตามวิธีของ Marshall (1992)
- ไขมัน ตามวิธีของ AOAC (1990)
- ถั่ว ตามวิธีของ Marshall (1992)

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ (รายละเอียดแสดงในภาคผนวก ก.7-ก.8)

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ตามวิธีของ Diliello (1982)
- ปริมาณยีสต์และรา ตามวิธีของ Diliello (1982)

การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านต่าง ๆ โดยวิธี quantitative descriptive analysis (QDA) with scaling (Larmond, 1982) ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน (semi-trained) จำนวน 12 คน โดยเป็นกลุ่มนิสิตปริญญาโทของภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ใช้แบบทดสอบแบบ Scaling test และทดสอบความชอบรวมโดยวิธี 9-point hedonic (Larmond, 1982) ดังแสดงในภาคผนวก ข

โดยการเตรียมตัวอย่างเพื่อนำมาทดสอบ จะใช้ชิ้นพลาสติกขนาดเล็กตัดจากขวดบรรจุใส่ในถ้วยสีขาวเคลือบพร้อมขนมปังกรอบ (cracker) 1 แผ่น ต่อ 1 ตัวอย่าง

3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 วิเคราะห์และตรวจสอบคุณภาพนมสดยูเอชทีรสจืดที่หมดอายุการจำหน่าย โดยกำหนดว่านมสดยูเอชทีที่ใช้จะไม่เกิดลิ่มนมหรือตะกอนเมื่อทำ alcohol test

3.2.1.1 ศึกษาสมบัติทางกายภาพของนมสดยูเอชทีที่มีอายุการเก็บตั้งแต่ 1-10 เดือน ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น การเกิดเจล และการแยกชั้นของไขมัน โดยการตรวจพินิจ

3.2.1.2 วิเคราะห์นมสดยูเอชที ได้แก่

- ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Kjeldahl
- วัด pH โดยใช้ pH meter
- วัดสีด้วยเครื่อง Minolta Chroma Meter
- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยใช้ Standard Plate Count Method

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.2 ศึกษาหา pH ที่เหมาะสมในการทำให้นมยูเอชทีจับตัวเป็นก้อนลิ่ม

โดยเติม calcium chloride 200 ppm. ลงในนมสดยูเอชที 200 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดแลคติกความเข้มข้น 10% ลงไปเพื่อปรับ pH ให้ได้ 4.7, 5.0, 5.3, และ 5.6 นำนมไปอุ่นใน water bath จนมีอุณหภูมิ 35 °C เติมเอนไซม์เรนเนทความเข้มข้น 10 % (เตรียมโดยใช้เอนไซม์เรนเนท 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแช่เย็น 5 มิลลิลิตร) ลงไป 0.1 มิลลิลิตร เพื่อให้ความเข้มข้นของเรนเนทในน้ำนมเป็น 50 ppm คนให้ผสมกันและตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำลิ่มนมที่ได้มาแยกเวย์ออกโดยเทลิ่มนมลงบนผ้าขาวบางที่มีกรวยรองอีกชั้น ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง (Kosikowski, 1966) นำลิ่มนมที่ได้ไปชั่งน้ำหนัก ประเมินผลโดยหา เปอร์เซ็นต์ความชื้น ปริมาณลิ่มนมและปริมาณโปรตีน

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.3 ศึกษาหาชนิดกรดที่เหมาะสมในการทำให้นมยูเอชทีจับตัวเป็นก้อนลิม

นำ pH ที่เลือกได้จากข้อ 3.2.2 มาใช้ในการปรับ pH ของนม โดยใช้กรดความเข้มข้น 10% และแปรชนิดของกรดเป็น กรดอะซิติก กรดซิตริก กรดแลคติก และกรดฟอสฟอริก โดยใช้ร่วมกับเอนไซม์เรนเนทและ calcium chloride ประเมินผลโดยหา เปอร์เซ็นต์ความชื้น ปริมาณลิมนม ปริมาณโปรตีน และลักษณะลิมนม

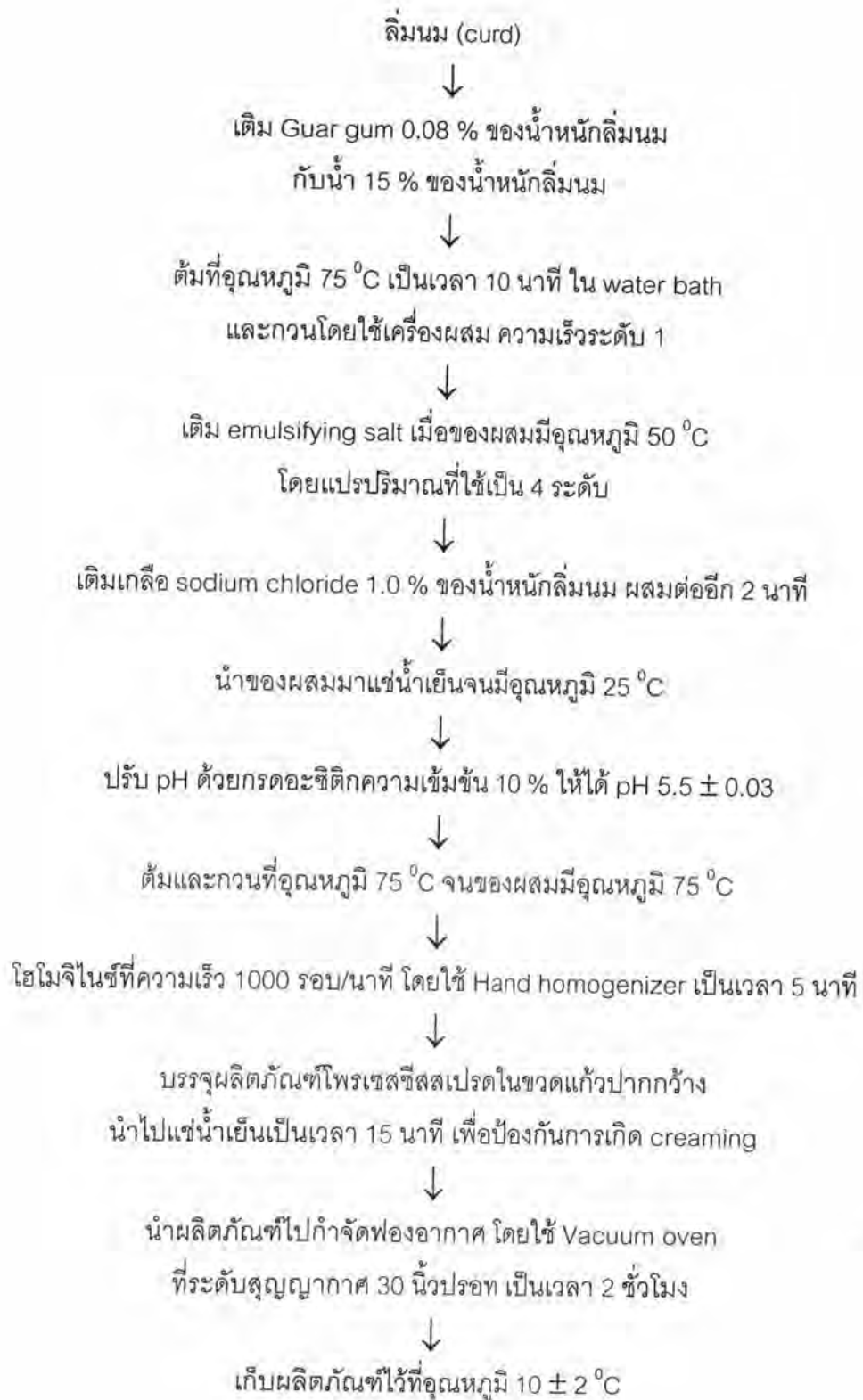
วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.4 ศึกษาหาปริมาณ calcium chloride และเรนเนทที่เหมาะสมในการ recover โปรตีนจากนมยูเอชที

นำกรดที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.2.3 มาใช้ในการ recover โปรตีนจากนม โดยเติม calcium chloride ในช่วงการเตรียมน้ำนมและเติมเรนเนทหลังจากเติมกรด โดยแปรปริมาณ calcium chloride เป็น 3 ระดับคือ 0, 100 และ 200 ppm. และแปรปริมาณเรนเนทเป็น 3 ระดับคือ 25, 50 และ 75 ppm. ประเมินผลโดยหา เปอร์เซ็นต์ความชื้น ปริมาณลิมนม ปริมาณโปรตีน และลักษณะลิมนม

วางแผนการทดลองแบบ Symmetric Factorial Experiment ขนาด 3x3 และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ทดลอง 2 ซ้ำ

3.2.5 ศึกษาหาปริมาณ emulsifying salts ที่เหมาะสมในการผลิตไพเรเซสชีสสเปรด โดยขั้นตอนการผลิตจะปรับปรุงจากวิธีของ Kosikowski (1966) ตามแผนภูมิต่อไปนี้



นำปริมาณ calcium chloride และเรนเนทที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 3.2.4 มาใช้ในการผลิตโพรเซสชีสสเปรด โดยแปร disodium phosphate ที่ใช้เป็น 4 ระดับ คือ 1, 2, 3 และ 4 % ของน้ำหนักลิมนม

- วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความชื้น และปริมาณเกลือ ค่าสี (L, a, b) และลักษณะเนื้อสัมผัสจากการวัดด้วยเครื่อง Texture analyser เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ต้นแบบ (โพรเซสครีมชีส ของ บริษัท พรี่เมียร์เดรี่ฟูดส์) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ทดลอง 3 ซ้ำ

- ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้าน ลักษณะปรากฏ สี รสชาติ เนื้อสัมผัส หรือความรู้สึกภายในปาก ความสามารถในการแผ่กระจาย (spreadability) และความชอบรวม เป็นแบบ hedonic scaling สเกลที่ใช้ 9 คะแนน (แบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข.1) โดยใช้ผู้ทดสอบแบบกึ่งฝึกฝน (semi-trained) 12 คน

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ทดลอง 2 ซ้ำ

3.2.6 ศึกษาผลของระยะเวลาในการเก็บที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ ประสาทสัมผัส จุลชีววิทยา ของผลิตภัณฑ์โพรเซสชีสสเปรด

นำตัวอย่างที่ดีที่สุดจากข้อ 3.2.5 มาเติม potassium sorbate ในปริมาณ 1000 ppm. และเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในขวดแก้วปากกว้างที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วปิดฝาขนาด 240 c.c. ที่อุณหภูมิประมาณ $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ สุ่มตรวจคุณภาพตัวอย่างทุก 1 สัปดาห์ ตลอดระยะเวลาเก็บ 2 เดือน ประเมินผลโดย

- วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความชื้นและปริมาณเกลือ ค่าสี (L, a, b) และลักษณะเนื้อสัมผัสจากการวัดด้วยเครื่อง Texture analyser วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ทดลอง 3 ซ้ำ

- ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้าน ลักษณะปรากฏ สี รสชาติ เนื้อสัมผัส หรือความรู้สึกภายในปาก ความสามารถในการแผ่กระจาย (spreadability) และความชอบรวม (แบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ข.2) โดยใช้ผู้ทดสอบแบบกึ่งฝึกฝน (semi-trained) 12 คน

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ทดลอง 2 ซ้ำ

- ทดสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ โดยตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยใช้ Standard Plate Count Method และตรวจหาปริมาณยีสต์และราโดยใช้ Yeast and Mold Plate Count Method วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.7 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ (proximate composition) ของผลิตภัณฑ์โพรเซสซีสสเปรด

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นได้มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เถ้า และคาร์โบไฮเดรต