

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมีและวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุดิบ

1. นมผงสด จากบริษัท ดีท็อกซ์ (ประเทศไทย) จำกัด อ.เมือง จ.เชียงใหม่ และห้างหุ้นส่วน ฟาร์มผงพัฒนกิจ จำกัด อ.สารภี จ.เชียงใหม่
2. น้ำผึ้งดอกทานตะวัน จาก บริษัทสุภาพาร์มผึ้ง จำกัด อ.แม่ริม จ. เชียงใหม่
3. ผงวานิลลา (Vanilla powder H2170) (Ketth Harris, Singapore)

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง : Freeze dry vacuum (Flexi-Dry™, USA)
2. เครื่องวัดสี : Color meter (Minolta : CR-300, Japan)
3. เครื่องวัดค่า water activity (a_w) : Water activity meter (Aqua Lab : Series 3, USA)
4. ตู้อบลมร้อน : Hot air oven (Mettler : UE 400, Germany)
5. ตู้อบแบบสุญญากาศ : Vacuum oven (Binder VD23, USA)
6. เครื่องวิเคราะห์อุณหภูมิกลศาสตร์ดิฟเฟอเรนเชียล และจุดหลอมเหลว : Differential Scanning Calorimeter (Perkin Elmer : Daimond DSC, USA)
7. เครื่องหมุนเหวี่ยง : Centrifuge (Hermle : Z 200 A, Germany)
8. เครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจน : Nitrogen/Protein Determinator (Leco Corporation : FP-528, USA)
9. เตาเผา : Muffle Furnace (Qallenkamp, British)
10. เครื่องชั่งน้ำหนัก : Electronic balance (Mettler-Toledo : AB204-S, Switzerland)
11. โถดูดความชื้น : Desiccator
12. ตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์ : Incubator (Heraeus : B 6000 series, Germany)
13. เครื่อง High performance liquid chromatography : HPLC (Agilent Technologies : 1200, Singapore)
14. เครื่อง Gas Chromatography - Mass Spectrometry : GC-MS (Agilent Technologies : 5975, USA)

15. เครื่องบดแบบหัวค้อน : Hammer Mill (Crompton, model 2000 Series, England)
16. ตู้แช่แข็ง : Freezer (HAIER, HCF368H-2, China และ SANZO, MDF-792, USA)
17. เครื่องปั่นน้ำผลไม้ : Blender (Philips, HR 2001, China)
18. อุปกรณ์เครื่องแก้วสำหรับวิเคราะห์ และถ้วยกระเบื้องเคลือบ (crucible)
19. ชุดเครื่องมือ และอุปกรณ์วิเคราะห์จุลินทรีย์
20. ถุงบรรจุ เช่น ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ (aluminium foil) ถุงซิปล็อค (zipper bag)
21. อุปกรณ์สำหรับใช้ทดสอบชิม

3.3 สารเคมี

1. Ammonium Hydroxide (NH_3OH) (Laboratory : Merck, Germany)
2. Ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) (Laboratory : Merck, Germany)
3. Ether (Laboratory : Merck, Germany)
4. Petroleum Ether (Laboratory : Merck, Germany)
5. Acetone Nitrile (CH_3CN) (HPLC Grade : Merck, Germany)
6. Maltodextrin DE 10 (Biochemika grade : Fluka, Germany)
7. Plate Count Agar : PCA (Difco, USA)
8. Potato Dextrose Agar : PDA (Difco, USA)
9. Maximum Recovery Diluents : MRD (Merck, Germany)
10. Green lactose bile brilliant : BGLB (Merck, Germany)
11. Lauryl Tryptose Broth :LST (Difco, USA)
12. Calcium Chloride (CaCl) (Laboratory : Ajax Finechem, Australia)
13. Lithium Chloride (LiCl) (Laboratory : Ajax Finechem, Australia)
14. Magnesium Chloride ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (Laboratory : Ajax Finechem, Australia)
15. Magnesium Nitrate ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (Laboratory : Ajax Finechem, Australia)
16. Potassium Acetate (CH_3COOK) (Laboratory : Ajax Finechem, Australia)
17. Potassium Carbonate (K_2CO_3) (Laboratory : Ajax Finechem, Australia)
18. Potassium Chloride (KCl) (Laboratory : Ajax Finechem, Australia)
19. Potassium Iodide (KI) (Laboratory : Ajax Finechem, Australia)
20. Potassium Nitrate (KNO_3) (Laboratory : Ajax Finechem, Australia)
21. Sodium Chloride (NaCl) (Laboratory : Ajax Finechem, Australia)

3.4 วิธีการวิจัย

ตอนที่ 1 ศึกษาสมบัติของนมผง และอัตราส่วนของสารปรุงแต่งกลิ่นรสที่เหมาะสมที่ผสมกับนมผงสด

1.1 วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาของนมผงสด

นำนมผงสดที่ได้รับจากแหล่งขาย ซึ่งอยู่ในรูปนมผงสดแช่แข็ง ที่บรรจุถุงละ 1 kg มาแช่น้ำ เพื่อละลายน้ำแข็งให้อยู่ในรูปของเหลวข้น คนให้เป็นเนื้อเดียวกัน และทำการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ดังนี้

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

- ค่าสี โดยใช้ Colorimeter ด้วยระบบ Hunter L* a* b* (ภาคผนวก ก-1)
- ค่าการเปลี่ยนแปลงเชิงความร้อน ด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC)

(ภาคผนวก ก-3)

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

- ค่า water activirt (a_w) โดยใช้ Water Activity Meter (ภาคผนวก ก-6)
- ปริมาณความชื้น ดัดแปลงวิธีการของ AOAC (2000) (ภาคผนวก ก-7)
- ปริมาณโปรตีน โดยใช้เครื่อง Nitrogen/Protein Determinator (AOAC, 2000)

(ภาคผนวก ก-8)

- ปริมาณไขมัน โดยวิธีโรส-กอตต์เสียบ (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ก-9)
- ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ก-10)
- ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ก-11)
- ปริมาณน้ำตาล โดยใช้เครื่อง HPLC (AOAC, 2005) (ภาคผนวก ก-12)
- วิเคราะห์สารให้กลิ่น โดยใช้การแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเป็คโตเมตรี (Gas

Chromatography Mass Spectrophotometry; GC-MS) ด้วยเทคนิค HS-SPME (head space-solid phase microextraction) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Nazzi *et al.* (2009) (ภาคผนวก ก-13)

การวิเคราะห์สมบัติทางจุลชีววิทยา

- จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM, 2001) (ภาคผนวก ก-14)
- จำนวนยีสต์ และรา (BAM, 2001) (ภาคผนวก ก-15)
- จำนวนแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (BAM, 2002) (ภาคผนวก ก-16)

1.2 ศึกษาอัตราส่วนของสารปรุงแต่งกลิ่นรสที่เหมาะสม

การเตรียมตัวอย่างนมผงปรุงแต่งกลิ่นรส

นำตัวอย่างสารที่ให้กลิ่นรส โดยเลือกใช้ กลิ่นของวานิลลา ซึ่งอยู่ในลักษณะผงเป็นสารที่ให้กลิ่นและใช้ผลึกน้ำผึ้งเป็นสารที่ให้รสชาติ โดยแปรระดับปริมาณผงวานิลลา และปริมาณผลึกน้ำผึ้งอย่างละ 5 ระดับ คือ ปริมาณผงวานิลลาที่ 1 2 3 4 และ 5% ของปริมาณนมผงสด และปริมาณผลึกน้ำผึ้งที่ 10 20 30 40 และ 50% ของปริมาณนมผงสด ได้ทั้งหมด 25 สูตร จากนั้นนำผงวานิลลา และผลึกน้ำผึ้งมาผสมรวมกับนมผงสดในอัตราส่วนต่างๆ กัน โดยใช้เครื่องปั่นน้ำผลไม้ปั่น ด้วยความเร็วปานกลาง ผสมให้ส่วนผสมเข้ากัน

ศึกษาสมบัติทางประสาทสัมผัส

นำตัวอย่างนมผงปรุงแต่งกลิ่นรสที่มีอัตราส่วนของส่วนผสมต่างๆ กันที่ได้ขึ้นไปทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน ด้วยวิธี 9-point hedonic scale test (ไพโรจน์, 2535) ทำการทดสอบชิมครั้งละ 5 สูตร โดยเว้นระยะเวลาในการทดสอบแต่ละครั้งเป็นเวลา 5-10 นาที จนครบทุกสูตร และครบทุกคน ซึ่งให้ผู้ทดสอบชิมประเมินความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นวานิลลา รสหวาน รสเปรี้ยว และความชอบรวม วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ไพโรจน์, 2535) เพื่อคัดเลือกสูตรที่ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุดในการผลิตนมผงปรุงแต่งกลิ่นรสในขั้นตอนต่อไป

1.3 การวิเคราะห์สมบัติ ทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ของนมผงสูตรที่ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุด

นำตัวอย่างนมผงที่ได้คัดเลือกว่าเป็นสูตรอัตราส่วนที่เหมาะสม ที่ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุดไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา เช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1.1

ตอนที่ 2 การหาสถานะที่เหมาะสมในการผลิตนมผงปรุงแต่งกลิ่นรส โดยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

2.1 การผลิตนมผง และนมผงปรุงแต่งกลิ่นรสสูตรที่เหมาะสมที่ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุด ด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

การเตรียมตัวอย่างนมผง

โดยนำนมผงสดในรูปของเหลวข้นมาเทใส่ถาดพลาสติกขนาด $10 \times 10 \times 5$ cm ชั่งน้ำหนักตัวอย่างถาดละประมาณ 100 g แล้วนำไปแช่ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นตัดนมผงสดแช่แข็งให้เป็นแท่งมีขนาดกว้างประมาณ $2 \times 10 \times 1$ cm โดยประมาณ จากนั้นบรรจุแท่งนมผงสดแช่แข็งลงในโถบรรจุตัวอย่าง โถละ 15 แท่ง (ประมาณ 250 g) นำไปทำแห้งโดยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 72 ชั่วโมง (ภาคผนวก ค-7) นำนมผงสดที่ผ่านการแห้งไปบดให้เป็นผงผ่านตะแกรงขนาด 1.0 mm ด้วยเครื่องบดแบบหัวค้อน บรรจุลงในถุง อะลูมิเนียมฟอล์ย (aluminium foil) ผลิตจากฟิล์มประกบ (laminated plastic film, OPP 20 μm / LDPE 25 μm / Al 7 μm / LDPE 20 μm / LLDPE 30 μm (OPP=oriented polypropylene, LDPE=low density polyethylene, LLDPE=linear low density polyethylene) และปิดผนึกแบบสุญญากาศ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ในขั้นต่อไป

การผลิตตัวอย่างนมผงสูตรที่เหมาะสมที่ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุด ด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

นำตัวอย่างนมผงปรุงแต่งกลิ่นรสที่ได้คัดเลือกว่าเป็นสูตรที่เหมาะสม ที่ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุดแล้ว ผสมกับมอลโตเดกซ์ทริน (DE 10) ด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ ความเร็วปานกลางเป็นเวลา 5 นาที โดยทำการแปรระดับปริมาณมอลโตเดกซ์ทริน 3 ระดับ คือ 10 20 และ 30% ของปริมาณนมผงปรุงแต่งกลิ่นรส และวัดค่าสีก่อนการแห้ง ด้วยระบบ Hunter L* a* b* ชั่งน้ำหนักตัวอย่างใส่ในโถใส่ตัวอย่างประมาณ 50-65 g/โถ (ถ้าใส่ตัวอย่างมากเกินไป เมื่อเกิดการระเหิดของน้ำในตัวอย่าง จะทำให้ตัวอย่างเกิดการฟูขึ้น จนถูกดูดเข้าไปอยู่ในส่วนด้านในของเครื่อง ดังเช่น ภาคผนวก ค-12) ใช้อะลูมิเนียมฟอล์ยปิดปากโถใส่ตัวอย่างเพื่อป้องกันการปนเปื้อน แล้วนำไปแช่ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทำแห้งโดยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ระดับความดัน $<133 \times 10^{-3}$ mbar และใช้เวลาในการทำแห้ง 3 ระดับ คือ 36 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อครบระยะเวลาในการทำแห้ง นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาบดให้ละเอียด บรรจุลงในถุงซิปล็อคและใส่ในถุงอะลูมิเนียมฟอล์ยอีกชั้นหนึ่ง วางแผนการทดลองแบบ 3×3 Factorial in CRD

2.2 การคัดเลือกสภาวะการทำแห้งที่เหมาะสมของนมผงปรุงแต่งกลิ่นรส

นำตัวอย่างนมผงปรุงแต่งกลิ่นรสที่ได้ มาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ และเคมี ดังนี้

- ค่าสี โดยใช้ Colorimeter ด้วยระบบ Hunter L*a*b* และทำการคำนวณหาการเปลี่ยนแปลงของสี (Hue angle) (ภาคผนวก ก-1 และ ก-2 ตามลำดับ)
- ค่า water activity โดยใช้ Water Activity Meter (ภาคผนวก ก-6)
- ปริมาณความชื้น คัดแปลงวิธีการของ AOAC (2000) (ภาคผนวก ก-7)
- ความสามารถในการละลาย (Shittu and Lawal, 2007) (ภาคผนวก ก-4)
- ความสามารถในการไหลโดยใช้วิธีวัดมุมกอง (angle of repose) (ภาคผนวก ก-5)

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ไพโรจน์, 2535) เพื่อคัดเลือกระยะเวลา และระดับของมอลโตเด็คซ์ทรินที่เหมาะสมในการทำแห้ง

ตอนที่ 3 การเปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี ทางจุลชีววิทยา และประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมผงปรุงแต่งกลิ่นรสกับนมผง

นำนมผงและนมผงปรุงแต่งกลิ่นรสที่ผลิตในสภาวะการทำแห้งที่เหมาะสมที่สุดในตอนที่ 2 ไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และทางจุลชีววิทยา (เช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1.1) และเปรียบเทียบสมบัติทางประสาทสัมผัส ของนมผงและนมผงปรุงแต่งกลิ่นรส โดยการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน ด้วยวิธี 9-point hedonic scale test (ไพโรจน์, 2535) เปรียบเทียบประเมินความชอบในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และความชอบรวมของนมผงและนมผงปรุงแต่งกลิ่นรส วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD)

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างสิ่งทดลองด้วยวิธี Pair Sample t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ไพโรจน์, 2535)

ตอนที่ 4 การหาสัดส่วนในการชงละลายที่เหมาะสมของนมผงปรุงแต่งกลิ่นรส

ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค เพื่อหาสัดส่วนการชงละลายที่เหมาะสม โดยการแปรสัดส่วนของนมผงปรุงแต่งกลิ่นรสต่อน้ำ เท่ากับ 3:100 6:100 9:100 และ 12:100 ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน ด้วยวิธี 9-point hedonic scale test (ไพโรจน์, 2535) โดยเสิร์ฟตัวอย่างในลักษณะผง ให้ผู้ทดสอบชิมประเมินความชอบด้านการละลายน้ำ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น วานิลลา รสชาติ ความชอบรวม โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ไพโรจน์, 2535)

ตอนที่ 5 ศึกษาชอปชันไอโซเทอร์ม และการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี จุลชีววิทยา และประสาทสัมผัสของนมผงปรุงแต่งกลั่นรส

5.1 การหาลักษณะชอปชันไอโซเทอร์ม

นำนมผงปรุงแต่งกลั่นรสที่ได้จากสภาวะการผลิตที่เหมาะสมที่สุด ไปวิเคราะห์ลักษณะชอปชันไอโซเทอร์มด้วยวิธี gravimetric method (Bell and Labuza, 2000) โดยนำตัวอย่างนมผงปรุงแต่งกลั่นรสใส่ในภาควลาสติกใสขนาด 7×7 cm ซึ่งน้ำหนักตัวอย่างกล่องละประมาณ 20 g ซึ่งมีความหนาประมาณ 1.5 cm โดยเก็บตัวอย่างนมผงปรุงแต่งกลั่นรสในโถดูดความชื้นที่มีการควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ (Relative humidity; RH) ภายในโถดูดความชื้นด้วยสารละลายเกลืออิ่มตัว ที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์แตกต่างกัน 8 ระดับ คือ 0.11 0.22 0.32 0.43 0.52 0.68 และ 0.75 โดยใช้สารละลายเกลืออิ่มตัว คือ P_2O_5 , LiCl, CH_3COOK , $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, K_2CO_3 , $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, $NaNO_2$ และ NaCl ตามลำดับ (ภาคผนวก ตาราง ก-2) ที่อุณหภูมิ $28 \pm 5^\circ C$ จนตัวอย่างเข้าสู่สภาวะสมดุล นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณความชื้น และสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความชื้น และค่า a_w เท่ากับ $RH/100$ ที่สภาวะสมดุล ซึ่งจะได้ลักษณะ ชอปชันไอโซเทอร์มของผลิตภัณฑ์นมผงปรุงแต่งกลั่นรส

5.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี จุลชีววิทยา และประสาทสัมผัสของนมผงปรุงแต่งกลั่นรสระหว่างการเก็บรักษา

นำนมผงปรุงแต่งกลั่นรสมาบรรจุลงในถุงซีปล็อค และใส่ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ อีกหนึ่งชั้น เก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ $28 \pm 5^\circ C$ เป็นระยะเวลา 4 เดือน และสุ่มตัวอย่างทุกๆ เดือน นำไปวิเคราะห์สมบัติทางด้านต่างๆ ดังนี้

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

- ค่าสี โดยใช้ Colorimeter ด้วยระบบ Hunter $L^* a^* b^*$ (ภาคผนวก ก-1)
- ความสามารถในการละลาย (Shittu and Lawal, 2007) (ภาคผนวก ก-4)
- ความสามารถในการไหลโดยใช้วิธีวัดมุมกอง (angle of repose) (ภาคผนวก ก-5)

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

- ค่า water activity โดยใช้ Water Activity Meter (ภาคผนวก ก-6)
- ปริมาณความชื้น ดัดแปลงวิธีการของ AOAC (2000) (ภาคผนวก ก-7)

การวิเคราะห์สมบัติทางจุลชีววิทยา

- จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (BAM, 2001) (ภาคผนวก ก-14)
- จำนวนยีสต์ และรา (BAM, 2001) (ภาคผนวก ก-15)

ศึกษาสมบัติทางประสาทสัมผัส

ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคจำนวน 50 คน ด้วยวิธี 9-point hedonic scale test (ไพโรจน์, 2535) ประเมินความชอบในลักษณะปรากฏ สี กลิ่นวานิลลา รสหวาน และความชอบรวม โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ไพโรจน์, 2535)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved