บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบ

นมผงขาดมันเนยเอ็มจี (MG) (Spray dried non fat milk powder) "MG" Brand A.M.D.I. extra grade แสดงคุณสมบัติใน ภาคผนวก จ นมผงขาดมันเนยเอ็มจีได้รับการอนุเคราะห์จาก บริษัท วิคกี้ คอนโซลิเดท จำกัด

เรซินแลกเปลี่ยนไอออน (บริษัท ยูนิเทค จำกัด)

- DOWEX MSC-1 (เรซินแลกเปลี่ยนไอออนชนิดบวก) ชนิด Macroporous มี Counter ion เป็น H^+
- DOWEX MWA-1 (เรซินแลกเปลี่ยนไอออนชนิดลบ) ชนิด Macroporous มี Counter ion เป็น OH^-

น้ำผลไม้

- น้ำสับปะรด100 เปอร์เซนต์ ตราบรูท จากบริษัท อาหารสยาม จำกัด (มหาชน)
- น้ำแอปเปิ้ล 100 เปอร์เซนต์ ตราทิปโก้ จากบริษัท น้ำผลไม้และเครื่องดื่มสยาม จำกัด
- น้ำองุ่นแดง 100 เปอร์เซนต์ ตราทิปโก้ จากบริษัท น้ำผลไม้และเครื่องดื่มสยาม จำกัด
- น้ำองุ่นขาว 100 เปอร์เซนต์ ตราทิปโก้ จากบริษัท น้ำผลไม้และเครื่องดื่มสยาม จำกัด

น้ำตาลทรายขาว (บริษัท มิตรผล จำกัด)

ฟอสเฟต (Food Grade)

- Tetra-sodium diphosphate 10-hydrate ($Na_4P_2O_7 .10H_2O$) จากบริษัท Merck
- Disodium hydrogenphosphate anhydrous (Na_2HPO_4) จากบริษัท Fluka
- Tri-sodium phosphate hydrated ($Na_3PO_4 .12H_2O$)จากบริษัท May และBaker

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- Copper sulfate, A.R. (Merck)
- Potassium sulfate, A.R. (Merck)
- Sulfuric acid, A.R. (Merck)
- Boric acid, A.R. (Merck)
- Sodium hydroxide, A.R. (Merck)
- Hydrochloric acid, A.R. (Merck)

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ (Total Plate Count)

- Nutrient broth (Difco)
- Agar powder (Difco)

อุปกรณ์

อุปกรณ์ที่ใช้ผลิตและการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

- เทอร์โมมิเตอร์ 0-100 ^{0}เซลเซียส
- ขวดแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร พร้อมฝาพลาสติกที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร
- ผ้าขาวบางชนิดตาละเอียด
- ตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 4-10 ^{0}เซลเซียส
- เครื่อง Homoginizer (H 5000 Serial 91063)
- Magnetic stirrer (FRANZ MORAT/M22/1)
- pH meter (HORIBA F-12)

อุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- เครื่อง ICPS (Inductively Coupled Plasma Spectrometer Model Perkin-Elmer PLASMA-100)
- ชุดย่อยและกลั่นโปรตีน (Kjeldatherm and Vapodest I,Gerhant,KT 85)
- เตาเผา (Muffle furnace, อุณหภูมิ 500-700 ^{0}เซลเซียส รุ่น Parbolite, EML11-2
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง ชนิด (Top loading sartorius, Model BA 4100s)
- กระดาษกรอง Whatman No.1 (Whatman)
- เครื่องแก้วสำหรับงานวิเคราะห์ทางเคมี เช่น บีกเกอร์ ปิเปต เป็นต้น

อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- Brookfield viscometer (model RVTD)
- Centrifuge (Heraeus Model Verifuge F)
- Refractometer (Atago 1 T)
- Colour and colour difference meter (Tokyo Dehshoku Model TC 8600A)
- Moisture Analyzer (Sartorius, model MA 30)

อุปกรณ์วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

- Autoclave (Hirayama Model 300 MN)
- Incubator อุณหภูมิ 25-55 ^{0}เซลเซียส (WTC binder 7200 Tuttlingon Germany)
- Autopipette ขนาด 40-200 µl และ 1,000 µl
- petri dish (Pyrex)
- หลอดแก้วทดลองขนาดกลางพร้อมฝาเกลียว (Pyrex)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย</u>

1. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีบางประการของนมผงขาดมันเนย (เอ็มจี) และน้ำผลไม้ที่ใช้ในการทดลอง

1.1 ปริมาณความชื้น ด้วยเครื่อง Moisture analyzer (Sartorius, model MA 30)

1.2 นำตัวอย่างนมที่เตรียมได้จากการละลายกับน้ำ ในอัตราส่วน 1 : 10 เพื่อให้ได้ นมขาดมันเนยตามมาตรฐาน แคลิฟอเนีย สหรัฐอเมริกา (Bruhm และ Franke, 1988) และเป็นการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ นำมาวิเคราะห์ดังต่อ ไปนี้

1.2.1 วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนของนมข้อ 1.2 (Total N) ใช้วิธี Kjeldahl method (รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ ภาคผนวก ก.2)

1.2.2 วิเคราะห์ค่าพีเอชของนมข้อ 1.2 ด้วยเครื่อง pH meter (HORIBA F-12)

1.2.3 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) ของนมข้อ 1.2 ด้วย Refractometer (Atago 1T)

1.2.4 วิเคราะห์ปริมาณ Total Calcium, Magnesium, Phosphorus ของนมข้อ 1.2 ด้วยเครื่อง ICPS (Perkin-Elmer PLASMA - 100) (รายละเอียดวิธีวิเคราะห์ ภาคผนวก ก.1) (Bruhm และ Franke, 1988)

1.3 นำน้ำผลไม้ คือ น้ำองุ่นขาว น้ำองุ่นแดง น้ำแอปเปิ้ล และน้ำสับปะรด มาวิเคราะห์ ดังต่อไปนี้

1.3.1 วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (Total N) ใช้วิธี Kjeldahl method ใช้วิธีวิเคราะห์เดียวกับภาคผนวก ก.2 แต่ (N x 6.25)

1.3.2 วิเคราะห์ค่าพีเอช ด้วยเครื่อง pH meter (HORIBA F-12)

1.3.3 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดด้วย Refractometer (Atago 1T)

1.3.4 วิเคราะห์ปริมาณ Total Calcium, Magnesium, Prosphorus ด้วยเครื่อง ICPS (Perkin - Elmer PLASMA-100) (รายละเอียดการวิเคราะห์ในภาคผนวก ก.1)

ทำการทดลองในข้อ 1 จำนวน 2 ซ้ำ

2. ศึกษาผลของการลดปริมาณ แคลเซียม, แมกนีเซียม และ ฟอสฟอรัส และอัตราส่วนแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสร่วมกับการลดของพีเอชที่มีผลต่อสมบัติทางกายภาพของนมด้วยวิธีเรซินแลกเปลี่ยนไอออน (MSC -1)

2.1 ขั้นตอนการเตรียมนมและเรซิน

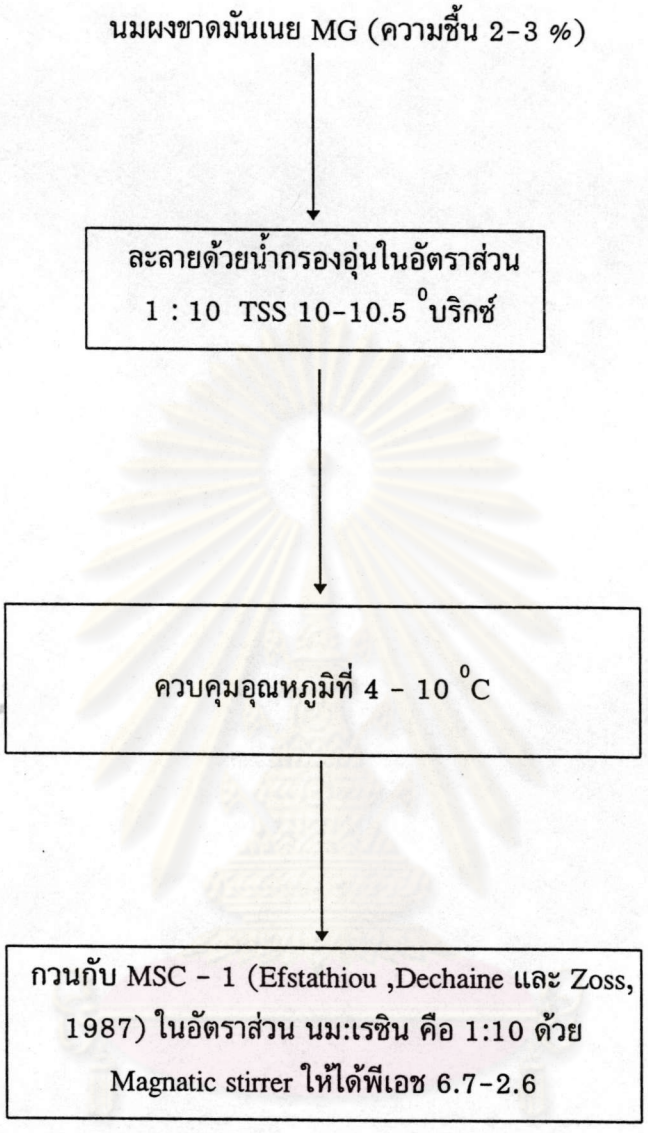
2.1.1 เตรียมน้ำนมเอ็มจี (MG) โดยละลายนมผงต่อน้ำอุณหภูมิ (30-40 ^{0}เซลเซียส) ในอัตราส่วน 1 : 10 คนให้ละลายซึ่งจะทำให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด 10 - 10.5 ^{0}บริกซ์ จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICPS พบว่าจะมีปริมาณแคลเซียมประมาณ 120-130 (x100 ppm) แมกนีเซียมประมาณ 0.9-1.0 (x 100 ppm) และฟอสฟอรัส 9-10 (x100 ppm) ทิ้งไว้ในตู้เย็นให้มีอุณหภูมิ 4-10 ^{0}เซลเซียส เพื่อให้มีการละลายของนมเต็มที่

2.1.2 เตรียมเรซินแลกเปลี่ยนไอออนชนิดบวก MSC-1 นำเรซิน MSC-1 มาล้างน้ำกลั่นและแช่ไว้ 1 คืน เพื่อให้สิ่งปนเปื้อนถูกขับออกมา นำเรซินที่ได้มาทำ Double regeneration โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก 10 % v/v แช่และกวนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ล้างให้หมดกรดจึงนำมาใช้ได้ (วิธีการตามที่แนะนำในเอกสารของบริษัท ยูนิเทค จำกัด)

2.1.3 เตรียมกรดไฮโดรคลอริก 3 โมลาร์ ซึ่งเป็นกรดที่ใช้ปรับพีเอชในนมและผลิตภัณฑ์นมทั่วไป และที่ใช้ความเข้มข้น 3 โมลาร์ เพราะโปรตีนในนมจะไม่เจือจางมากเกินไป ใช้เป็นตัวควบคุมในการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพเมื่อค่าพีเอชลดลงเทียบกับการลดลงของปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม กับพีเอชโดยวิธีเรซินแลกเปลี่ยนไอออน (MSC-1)

2.2 การลดปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียมในนม โดยวิธีเรซินแลกเปลี่ยนไอออน

นำนมที่ได้จากขั้นตอนข้อ 2.1.1 มากวนกับเรซินที่ได้จากขั้นตอนข้อ 2.1.2 ในอัตราส่วนนมต่อเรซิน คือ 1:10 เพื่อให้มีเรซินเพียงพอที่จะลดปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และพีเอชให้อยู่ในช่วง 6.7-2.6 ซึ่งเป็นช่วงที่ต้องการศึกษา (รูปที่ 2) เก็บตัวอย่างนมที่พีเอช 6.7, 5.6, 5.1, 4.4, 4.3, 3.7, 3.6, 3.5, 3.2, 3.1, 3.0, 2.9, 2.8, 2.7 และ 2.6 ไปวิเคราะห์ตามข้อ 2.3.1 และศึกษาสมบัติทางกายภาพของนมที่พีเอชต่าง ๆ ตามข้อ 2.3.2 โดยทำควบคู่ไปกับการปรับพีเอชของนมโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 โมลาร์



รูปที่ 2 ขั้นตอนการเตรียมนมที่จะนำมาลดปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม ด้วยวิธีเรซินแลกเปลี่ยนไอออนชนิดบวก MSC-1

2.3 นำนมที่ได้จากข้อ 2.2 ในช่วงพีเอชต่าง ๆ มาวิเคราะห์ ดังนี้

2.3.1 วิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และฟอสฟอรัส ด้วยเครื่อง ICPS (Gaines, West และ McAllister, 1989) ในตัวอย่างที่เก็บในข้อ 2.2 นำข้อมูลที่ได้มาศึกษาหาความสัมพันธ์การลดปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียม และอัตราส่วนแคลเซียม ต่อฟอสฟอรัสต่อการลดลงของพีเอชในช่วงต่าง ๆ เมื่อใช้วิธีเรซินแลกเปลี่ยนไอออน

2.3.2 วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของนมในข้อ 2.3.1 ที่พีเอชต่าง ๆ โดยทำควบคู่ไปกับการปรับพีเอชนมโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก 3 โมลาร์

2.3.2.1 วิเคราะห์ความหนืดโดยใช้เครื่อง (Brookfield viscometer) ที่อุณหภูมิ 21 ± 1° เซลเซียส (Venkatachalam, Memaken และ Salvello, 1993) (วิธีการวัดแสดงในภาคผนวก ก.3)

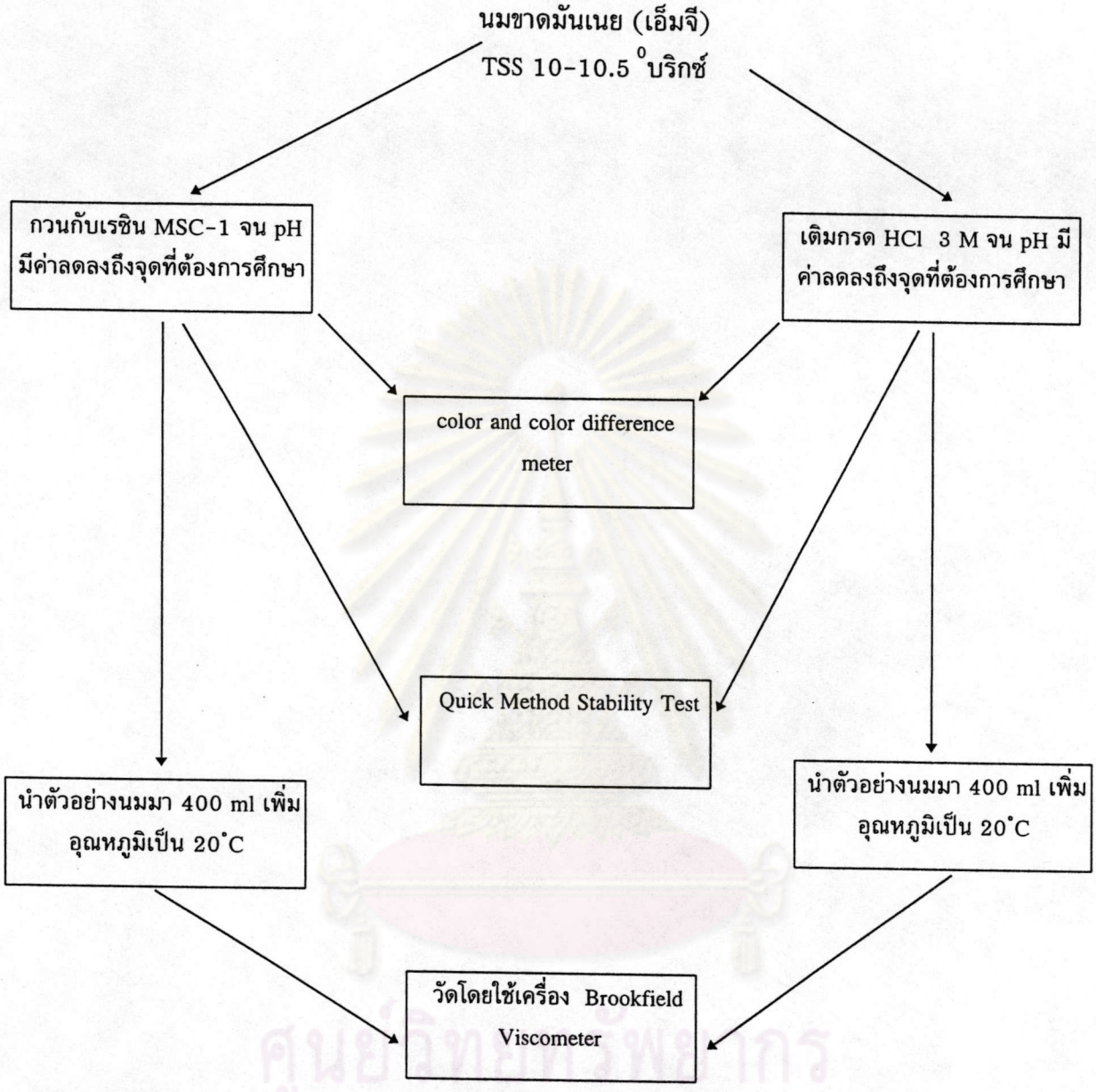
2.3.2.2 ความคงตัวของนม (Quick Method Stability Test) (วิธีการแสดงใน ภาคผนวก ก.4)

2.3.2.3 สี ใช้เครื่อง Colour and colour difference meter โดยนำตัวอย่างนมมาวัดค่าสีเทียบกับค่าสีมาตรฐาน (ของบริษัท Tokyo Denshoku)

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

รูปที่ 3 สรุปวิธีการศึกษาสมบัติทางกายภาพของนมในช่วงพีเอช 6.7-2.6

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



<u>รูปที่ 3</u> วิธีการศึกษาสมบัติทางกายภาพของนมที่ พีเอช 6.7-2.6

2.3.3 เลือกนมที่มีพีเอชต่ำกว่า Isoelectric point และมี ค่าความคงตัวใกล้เคียงกับนมปกติที่พีเอช 6.7 มากที่สุด คือ มีค่าความคงตัวเท่ากับ 100%

2.3.4 นำนมที่ได้จากข้อ 2.3.3 มาปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 4.25 - 4.30 เพื่อลดความเปรี้ยวฝาดของนมที่พีเอชต่ำ ด้วยวิธีการใช้เรซินและสารเคมี ดังนี้

2.3.4.1 กวนกับเรซินแลกเปลี่ยนไอออนชนิดลบ (MWA-1) (Efstathiou, Dechaine และ Zoss, 1987)

2.3.4.2 เติม $Na_3PO_4.12H_2O$ (บริษัท FMC แนะนำให้ใช้นมและผลิตภัณฑ์นมเป็น Alkalizer)

2.3.4.3 เติม Na_3PO_4 (บริษัท FMC แนะนำให้ใช้ในนมและผลิตภัณฑ์นมเป็น Alkalizer)

2.3.4.4 เติม $Na_4P_2O_7.12H_2O$ (บริษัท Molin 1990 แนะนำให้ใช้ในนมและเป็น Alkalizer)

2.3.5 เลือก Alkalizer ที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากคุณสมบัติของนมเมื่อปรับค่าพีเอชของนมได้ดีที่สุดแล้ว ให้รสชาติความเป็นนมมากที่สุด มีลักษณะทางด้านสีใกล้เคียงนมปกติที่พีเอช 6.7 มากที่สุด และให้ Minimized curd ที่ละเอียดที่สุด เพื่อนำไปผลิตเครื่องดื่มน้ำผลไม้ผสม นมที่มีค่าความคงตัวที่ดี รสชาติและลักษณะปรากฏที่ดีที่สุด

3. นำนมที่เลือกได้จากข้อ 2.3.5 มาทำการทดลองผลิตเครื่องดื่มน้ำผลไม้ผสมนม

3.1 นำนมที่พีเอช 4.25-4.3 ที่ได้มาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10 °เซลเซียส (Efstathiou, Dechaine และ Zoss, 1987)

3.2 นำน้ำผลไม้มาลดปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมลง ซึ่งใช้อัตราส่วนน้ำผลไม้ต่อเรซิน (MSC-1) คือ 20:1 (Efstathiou, Dechaine และ Zoss, 1987)

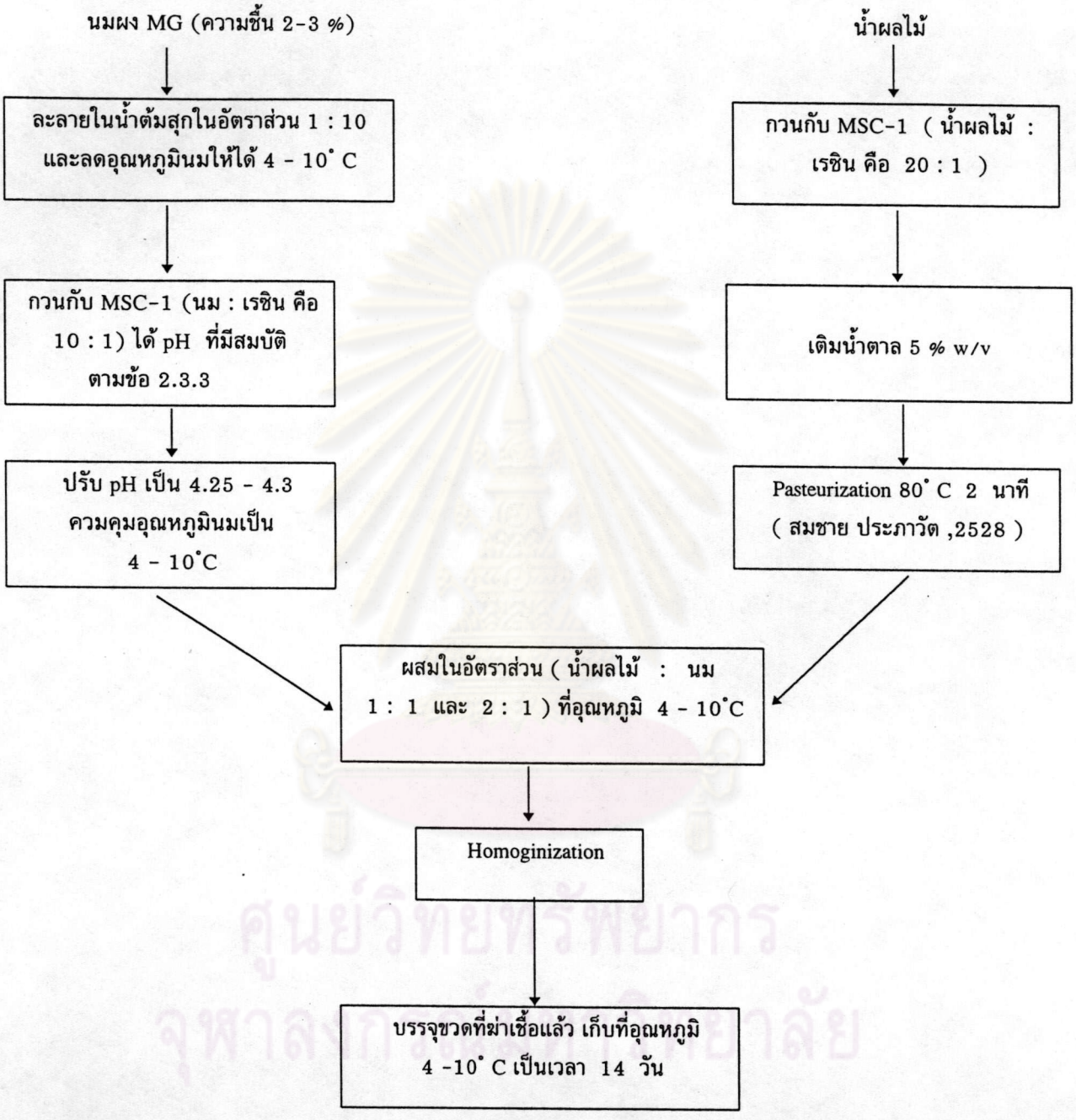
3.2.1 เลือกน้ำผลไม้ที่มีการลดลงของปริมาณแคลเซียม และแมกนีเซียมร่วมกับการลดลงของพีเอชที่ทำให้รสชาติของน้ำผลไม้เปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด และไม่เกิดการตกตะกอนกับโปรตีนนมเมื่อนำมาผลิตเครื่องดื่มน้ำผลไม้ผสมนม

3.2.2 นำน้ำผลไม้ที่ได้มา Pasteurization ที่อุณหภูมิ 80 ° เซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที (สมชาย ประภาวัต, 2524) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10 ° เซลเซียส

3.3 นำนมจากข้อ 3.1 และน้ำผลไม้ที่ได้จากขั้นตอน 3.2.2 มาผสมกันในอัตราส่วนน้ำผลไม้ต่อนม คือ 1:1 และ 2:1 ที่อุณหภูมิ 4-10 ° เซลเซียส

3.4 นำน้ำผลไม้ผสมนมที่ได้มาผ่านขั้นตอน Homoginization และบรรจุขวดแบบ Aseptic technique และเก็บในที่เย็น 4-10 ° เซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์

ขั้นตอนการผลิตเครื่องดื่มน้ำผลไม้ผสมนมแสดงดัง รูปที่ 4



<u>รูปที่ 4</u> การผลิตเครื่องดื่มน้ำผลไม้ผสมนม

3.4.1 วัดคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น สี ความหนืด เป็นต้น

3.4.2 วัดปริมาณจุลินทรีย์ (Total plate count)

3.4.3 ทดสอบผลทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ผสมนม

ศึกษาการยอมรับของผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ผสมนม โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ได้รับการฝึกฝน (Untrained panelists) ทดสอบผลิตภัณฑ์ในข้อ 3.4 จำนวน 50 คน ทดสอบการยอมรับด้านลักษณะปรากฏ โดยใช้แบบทดสอบ 9 points Hedonic Scale ตามด้วยการทดสอบความพอดีด้านสี โดยใช้แบบทดสอบ 5 points Just About Right หลังจากนั้นทดสอบการยอมรับรวม โดยใช้แบบทดสอบ 9 points Hedonic Scale ตามด้วยการทดสอบความพอดีด้านกลิ่น ความหวาน ความเปรี้ยว และความหนืด โดยใช้แบบทดสอบ 5 points Just About Right และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคะแนน โดยใช้ Dancan's New Multiple Range Test (Stone และ Sidel, 1985) เกณฑ์ในการพิจารณาดูความเป็นไปได้ของผลิตภัณฑ์ คือ ดูระดับคะแนนการยอมรับด้านลักษณะปรากฏ และการยอมรับรวม และใช้แบบทดสอบ 5 points Just About Right เป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ผสมนมต่อไป

4. <u>ศึกษาอายุการเก็บผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ผสมนม</u>

นำผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ผสมนมในข้อ 3 ทั้งหมดมาเก็บที่อุณหภูมิ 4 - 10 ^{0}เซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์ สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพได้แก่ พีเอช ^{0}บริกซ์ ความหนืด ค่าสี (L, a, b) และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ได้ 0, 1 และ 2 สัปดาห์ วางแผนและวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Asymetric Factorial Design ขนาด 4x2x3 ทำการทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้โดยใช้วิธี Dancan's New Multiple Range Test นำผลิตภัณฑ์ทั้งหมดที่เก็บในระยะเวลา 2 สัปดาห์มาทดสอบค่าความคงตัว และเลือกผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัว 95% ขึ้นไป และมีปริมาณจุลินทรีย์ไม่เกิน 10,000 CFU/ml ซึ่งเป็นมาตรฐานของนมพาสเจอร์ไรส์ (มอก. 2530) มาทดสอบการยอมรับด้านประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ได้รับการฝึกฝน 35 คน (Untrained panelists) ทดสอบการยอมรับด้านลักษณะปรากฏโดยใช้แบบทดสอบ 9 points Hedonic Scale ตามด้วยการทดสอบความพอดีด้านสี 5 points Just About Right หลังจากนั้นทดสอบการยอมรับรวม ใช้การทดสอบแบบ 9 points Hedonic Scale ตามด้วยการทดสอบความพอดีด้านกลิ่น ความหวาน ความเปรี้ยว ความหนืด โดยใช้แบบทดสอบ 5 points Just About Right และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Dancan 's New Multiple Range Test (Stone และ Sidel, 1985) ดูผลการเปลี่ยนแปลงทางด้านประสาทสัมผัสที่เกิดขึ้น หลังเก็บผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ผสมนมเป็นเวลา 2 สัปดาห์