

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

1. วัสดุและอุปกรณ์

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเนยแข็ง

- นำนมดิบจากองค์กรส่งเสริมการเลี้ยงโคนมแห่งภาคเหนือ (อ.ส.ค.) จังหวัดเชียงใหม่
- เชื้อจุลินทรีย์ *Lactococcus lactis* ssp *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp *cremoris* R-707 (Chr. Hansen, Denmark)
- เอนไซม์เรนเนต (Chr. Hansen, Denmark)
- เกลือยี่ห่อ ประุงทิพย์
- ผงสมุนไพรหอมแดง ผงข่า และผงตะไคร้ (เอี่ยมกสิกิจ, เชียงใหม่)

สถานที่ในการทดลองผลิตเนยแข็งเชดดาร์

- องค์กรส่งเสริมโคนมภาคเหนือ โรงนมห้วยแก้ว หน่วยงานผลิตภัณฑ์เนื้อและนมกรมปศุสัตว์ ถนนห้วยแก้ว จังหวัดเชียงใหม่

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองได้แก่

- อ่างเสตนเลขขนาดใหญ่ความจุ 1,000 ลิตร
- ไม้พายเสตนเลขสำหรับคนเคิร์ดของเนยแข็ง
- เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Precisa, Switzerland)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, Germany)
- ห้องเย็นสำหรับเก็บตัวอย่างเนยแข็งอุณหภูมิ 4 – 10 องศาเซลเซียส (7.2 - 7.4 °C)
- บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
- เตาแก๊ส
- หม้อเสตนเลขสำหรับต้มน้ำร้อน

อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- เครื่องวัดสียี่ห้อ Minolta (CR-300, Japan)
- เครื่องวัดเนื้อสัมผัส TA.XT-plus Texture Analyser, Stable Micro System
- งานอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับใส่ตัวอย่างในการวัดค่าสี (Petridishes; Pyrex, USA)

อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- Kjeldahl digestion set (Tecator, USA)
- กรวยแยก 500 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
- ถ้วยอลูมิเนียมหาความชื้น (moisture can)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Precisa, BJ 610C, Switzerland)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, Model A Germany)
- ตู้อบไฟฟ้าควบคุมอุณหภูมิ (Mammert, Germany)
- บีกเกอร์ขนาด 100, 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
- บิวเรตขนาด 25 และ 50 มิลลิลิตร (Witag, Germany)
- ฟลasks ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
- เตาไฟฟ้าให้ความร้อนแบบแผ่น (hotplate)
- กระบอกตวง 10, 50, 100 และ 500 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
- ตู้ดูดควัน (Toplab, Thailand)
- แผงแก้วคนสาร
- อ่างน้ำร้อน (Gallankamp, England)
- กระจกนาฬิกา
- หลอดหยดสาร
- ขวดปรับปริมาตรขนาด 100, 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
- กระดาษกรองเบอร์ 4 เส้นผ่าศูนย์กลาง 110 - 125 มิลลิเมตร (Whatman, England)
- ถ้วยแพลตตินัมสำหรับเผา (Crucible)
- เตาเผาอุณหภูมิไม่เกิน 500 องศาเซลเซียส (Gallankamp, England)
- เครื่องวัดพีเอช (Sartorius, Germany)
- กระดาษลิตมัส

- เครื่องย่อยโปรตีน (Velp scientific, Italy)
- เครื่องกลั่นไนโตรเจน (Foss tecator, Sweden)

อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- Auto pipett (Gilson, France)
- Pipett-tip (Scientific plastic, USA)
- จานเพาะเชื้อ (Petri dishes; Pyrex, USA)
- หลอดทดลอง (Pyrex, USA)
- หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave; MT sterilizer 100, Thailand)
- ตู้เจียเชื้อ (Laminar air flow, Model CF43S, Australia)
- ตู้อบฆ่าเชื้อแบบลมร้อน (Mettert, Um 100-UM 800, Germany)
- เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (Consert, Model C830, Belgium)
- ขวดคูแรนขนาด 100, 250 และ 500 มิลลิลิตร (Scott Duran, Germany)
- ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Gallankamp, England)
- ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (Gallankamp, England)
- ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส (Gallankamp, England)
- อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (Gallankamp, England)
- เครื่องนับจำนวนโคโลนี (Chiltem Scientific, ZC301)
- เครื่องเขย่า (Vortex Genie 2 model G-560b, USA)

อุปกรณ์สำหรับใช้ในการทดสอบชิม

- มีดเสตนเลสสำหรับหั่นเนยแข็ง
- เขียงพลาสติกใช้สำหรับการหั่นเนยแข็ง
- ตู้สำหรับทดสอบชิม
- จานกระดาษสำหรับใส่เนยแข็งเวลาทดสอบชิม
- ขนมหีบแผ่นสำหรับชิมกับเนยแข็ง

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- แอมโมเนียไดออกไซด์ (J.T. baker, USA)
- กรดไฮโดรคลอริก (Merk, Germany)
- ไดเอทิลอีเทอร์ (Lab-scan, Thailand)
- เอซิลแอลกอฮอล์ (Merk, Germany)
- ปีโตรเลียมอีเทอร์ (Lab-scan, Thailand)
- ผงกรดบอริก (Fisher Scientific, UK)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Fisher Scientific, UK)
- กรดซัลฟูริก (Merk, Germany)
- เมธิลเรด อินดิเคเตอร์
- โซเดียมซัลเฟต (Fisher Scientific, UK)
- คอปเปอร์ซัลเฟต (J.T. baker, USA)
- โปแตสเซียมโครเมต (5 %)
- ซิลเวอร์ไนเตรท (Fisher Scientific, UK)
- ฟีนอล์ฟธาไลน์ อินดิเคเตอร์
- โปแตสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (KH_2PO_4) (BDH, England)
- โปแตสเซียมคลอไรด์ (Univar, Australia)

2.2 สารเคมีที่ใช้การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

- เปปโตน (Peptone) (Difo laboratory, USA)
- Plate count agar (Difo laboratory, USA)
- Potato dextrose agar (Difo laboratory, USA)
- ผงวุ้น (Agar) (หจก. ซี. เอ็ม. เคมีคอล แอนด์ ซัพพลายส์, เชียงใหม่)
- MRS agar (Merck, Germany)
- Lauryl Tryptose broth (Difo laboratory, USA)
- Brilliant green lactose bile broth (Difo laboratory, USA)
- Tartaric acid (Merk, Germany)

3. วิธีการทดลอง

3.1 ศึกษาคุณภาพของสมุนไพรผงที่ใช้เป็นส่วนผสมในกระบวนการผลิตเนยแข็ง ผงหอมแดง ผงข่า และผงตะไคร้ ทางด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา

คุณภาพทางกายภาพ

วัดค่าสีในระบบอินเตอร์ (L*a*b*) โดยเครื่องวัดสี ColorQuest II (HunterLab, 1997)

คุณภาพทางจุลชีววิทยา

ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี Total plate count และปริมาณเชื้อยีสต์และราแบบที่เรียที่ทนต่อกรด (acid tolerant bacteria)

จุลินทรีย์ที่เจริญได้ในสภาวะที่มีอากาศและอุณหภูมิ 45-60 องศาเซลเซียส(aerobic thermophiles)

จุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์ในสภาพที่มีอากาศ (aerobic spore former)

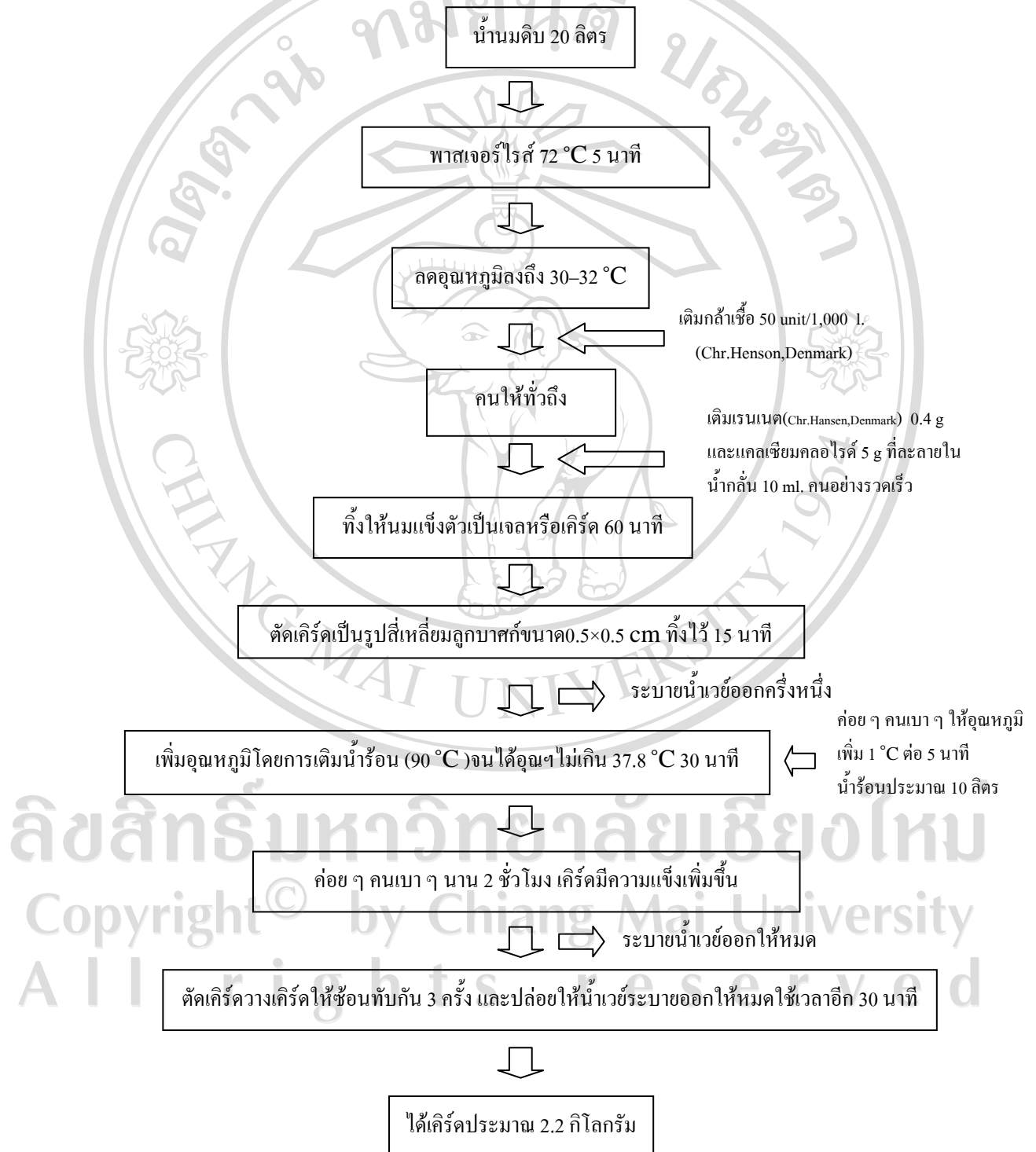
- ชนิดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20-45 องศาเซลเซียส (mesophilic type)

- ชนิดที่เจริญได้ที่อุณหภูมิ 45-65 องศาเซลเซียส และสร้างกรด (thermophilic flate sour type)

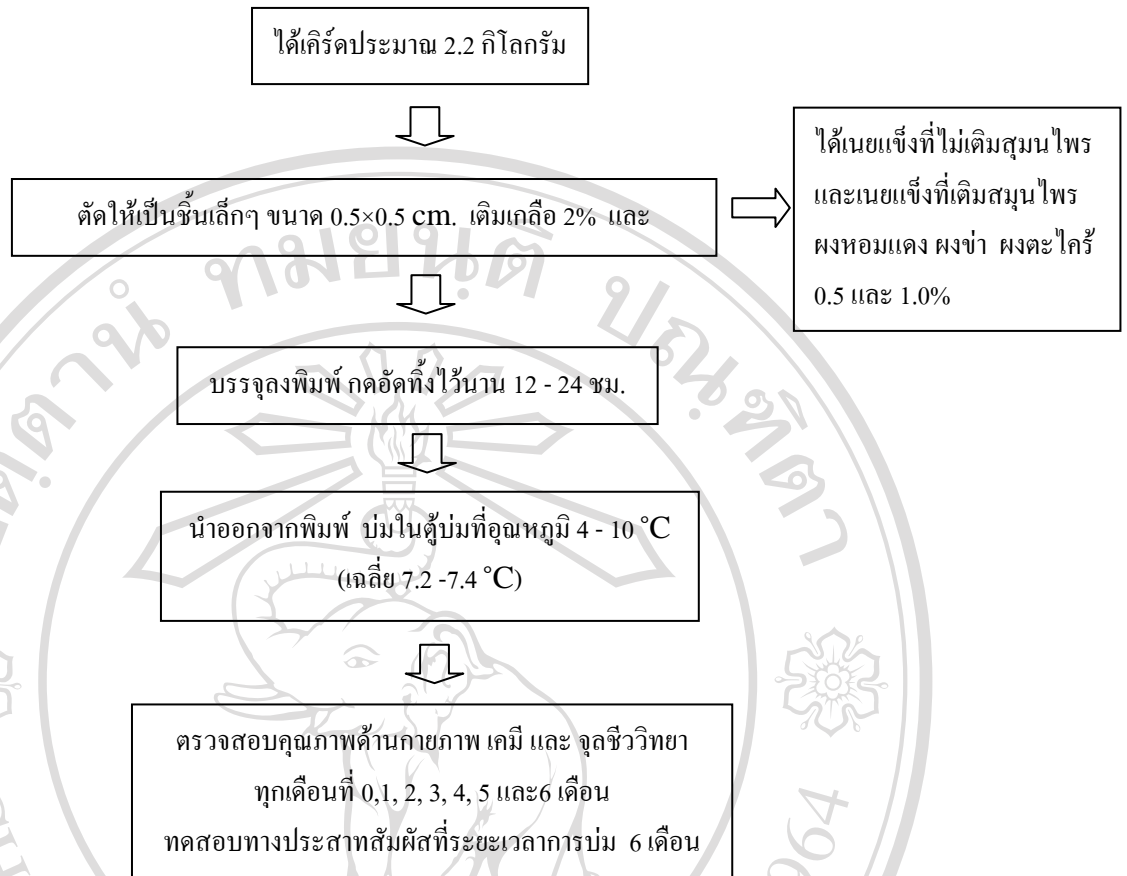
จุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์ในสภาพไร้อากาศ (Anaerobic spore formers (เรณู, 2537)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2 ศึกษาคุณภาพของเนยแข็งเชดคาร์รสหอมแดง รสขำ และรสตะไคร้ ทางด้านกายภาพ เคมี และ จุลชีววิทยา ในแต่ละรสที่ปริมาณสมุนไพรแตกต่างกัน ก่อนนำไปป้อน กระบวนการผลิตดัดแปลงมาจาก Kosikowski (1982.)



ภาพที่ 3.1 แผนภาพแสดงกระบวนการผลิตเนยแข็งเชดคาร์



ภาพที่ 3.1(ต่อ) แผนภาพแสดงกระบวนการผลิตเนยแข็งเชดดาร์

ที่มา: Kosikowski, 1982.

รายละเอียดกระบวนการผลิตเนยแข็งเชดดาร์

1. น้ํานมดิบจำนวน 20 ลิตร พาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที
2. ลดอุณหภูมิลงมาเป็น 30 - 32 องศาเซลเซียส และเติมกลูตาซีโอ (Chr. Hansen, Denmark) ในที่นี้ใช้เชื้อที่เป็นแบบผงแห้ง (Freeze-dried) แบบซองที่อัตราการเติม 50 Unit ต่อน้ํานม 1,000 ลิตร ดังนั้นในการเติมจึงคำนวณตามน้ำหนักของเชื้อที่มีในซอง น้ำหนักของเชื้อ 50 Unit หนัก ~9 กรัม ดังนั้นจึงเติมจำนวน 0.18 กรัม ต่อน้ํานม 20 ลิตร จากนั้นคนให้ทั่วถึง
3. เติมเอนไซม์เรนเนต(Chr. Hansen, Denmark) 0.4 กรัม และ แคลเซียมคลอไรด์ 5 กรัม ที่ละลายในน้ำกลั่นแยกกันทั้งสองอย่างใช้น้ำกลั่นละลายอย่างละ 10 มิลลิลิตร คนให้ทั่วถึงอย่างรวดเร็ว และทิ้งให้น้ํานมตกตะกอนเกิดเคิร์ดนาน 60 นาที
4. ตัดเคิร์ดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ขนาดประมาณ 0.5x0.5 cm. ทิ้งเคิร์ดที่ตัดแล้วไว้เวลานาน 15 นาที
5. ระบายน้ำเวย์ออกครึ่งหนึ่ง และค่อยๆ คนเบาๆระวังไม่ให้เคิร์ดแตกกระจายเป็นชิ้นเล็กมาก เพราะจะเกิดการสูญเสียเคิร์ดและไขมันของเนยแข็งที่ได้

6. เพิ่มอุณหภูมิโดยการเติมน้ำร้อน(90 องศาเซลเซียส)ปริมาณ 10 ลิตร ค่อย ๆ คนเบาให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้น 1 องศาเซลเซียสต่อ 5 นาที และให้อุณหภูมิไม่เกิน 37.8 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที ค่อย ๆ คนเบา ๆ นาน 2 ชั่วโมง เพื่อให้เคิร์ดมีความแข็งเพิ่มขึ้น ซึ่งลักษณะเคิร์ดที่ได้เมื่อจับและกำเคิร์ดไว้เมื่อปล่อยมือออกก่อนเคิร์ดจะไม่ติดกันเป็นก้อน เคิร์ดจะมีลักษณะแข็งจากนั้นระบายน้ำเวย์ออกให้หมดใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง
7. วางเคิร์ดให้เย็บติดกันและตัดเคิร์ดวางซ้อนทับกันไปมา 3 ครั้ง เพื่อให้ น้ำเวย์ระบายออกให้หมด นาน 30 นาที ปริมาณเคิร์ดที่ได้ประมาณ 2.2 กิโลกรัมต่อน้ำนม 20 ลิตร
8. ตัดเคิร์ดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 0.5x0.5 cm. และเติมเกลือ 2 เปอร์เซ็นต์และสเมทไฟรปริมาณแตกต่างกัน จากขั้นตอนนี้จะได้เนยแข็งรสสเมทไฟร ได้แก่ เนยแข็งควบคุมที่ไม่มีการเติมสเมทไฟรใด ๆ (T_1) ,เนยแข็งรสหอมแดงปริมาณ 0.5 (T_2) และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (T_3), เนยแข็งรสซ่าปริมาณ 0.5 (T_4) และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (T_5), เนยแข็งรสตะไคร้ปริมาณ 0.5 (T_6) และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (T_7)
9. บรรจุเนยแข็งในพิมพ์กดอัดทิ้งไว้เวลานาน 12 – 24 ชั่วโมง
10. นำออกจากพิมพ์ ทิ้งให้ผิวหน้าเนยแข็งแห้งในห้องเย็น 1 คืนจากนั้นห่อด้วยพลาสติกโพลีไวนิลคลอไรด์เพื่อป้องกันการปนเปื้อนระหว่างการบ่ม บ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 4 – 10 องศาเซลเซียส(อุณหภูมิเฉลี่ย 7.4-7.6 องศาเซลเซียส) นาน 6 เดือน

นำเนยแข็งที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ยค่าที่ได้เป็นค่าเริ่มต้นก่อนการบ่มเนยแข็งวิเคราะห์ค่าคุณภาพดังนี้

คุณภาพทางกายภาพ

วัดค่าสีในระบบอันดับเตอร์ ($L^*a^*b^*$) โดยเครื่องวัดสี ColorQuest II (HunterLab, 1997)

เนื้อสัมผัส วัดค่าแรงกดอัด (compression force) โดยใช้เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer; Stable Micro System Ltd., UK) มีหน่วยวัดเป็นนิวตัน

คุณภาพทางเคมี

ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC, 2000

ปริมาณไขมัน โดยวิธีของ Werner Schmid Method AOAC, 2000

ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ AOAC, 2000

ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AOAC, 2000

ปริมาณเกลือ ตามวิธีของ Mohr ตาม AOAC, 2000

ความเป็นกรดต่าง (pH - meter)

ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (titratable acidity) ตามวิธีของ AOAC, 2000

คุณภาพทางจุลชีววิทยา

ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี Total plate count และปริมาณเชื้อยีสต์และรา ปริมาณของเชื้อที่สร้างกรดแลคติก *Lactococcus lactis* ssp *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp *cremoris* และการวิเคราะห์หาปริมาณ โคลิฟอร์มและอีโคไล (Coliform และ *Escherichia coli*) โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (Most Probable Number) (เรณู, 2537)

3.3 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเนยแข็งชนิดคาร์รอสโฮมแดง รสขำ และรสตะไคร้ ทางด้านกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ในแต่ละรสที่ปริมาณสมุนไพรแตกต่างกันในแต่ละเดือน ตลอดระยะเวลาการบ่มนาน 6 เดือน

เนยแข็งที่ได้จากตอนที่ 3.2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 - 10 องศาเซลเซียส นาน 6 เดือนเพื่อให้เกิดกระบวนการบ่มให้ได้กลิ่นรสที่ต้องการของเนยแข็ง และในแต่ละเดือนสุ่มตัวอย่างเนยแข็งที่เก็บไว้ รสโฮมแดง รสขำ และรสตะไคร้ ในแต่ละปริมาณสมุนไพรมาวิเคราะห์คุณภาพด้านต่าง ๆ เหมือนตอนที่ 2 วิเคราะห์เป็นค่าการเปลี่ยนแปลงจากเริ่มต้น จนกระทั่งถึงเดือนที่ 6 ของการบ่มเนยแข็ง เปรียบเทียบปริมาณสมุนไพรที่ใช้ในแต่ละรส ทำการทดลองวิเคราะห์คุณภาพ ในแต่ละคุณลักษณะ ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ในแต่ละคุณลักษณะของคุณภาพแต่ละด้านได้วางแผนการทดลองแบบ factorial ปัจจัยในเนยแข็งสมุนไพร คือ อายุการเก็บเนยแข็ง 6 เดือน สมุนไพรแตกต่างกัน 2 ปริมาณ และชนิดสมุนไพรที่ใช้ 3 ชนิด ดังนั้นจึงวางแผนการทดลองเป็นแบบ $7 \times 2 \times 3$ factorial in CRD เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่าง ตั้งแต่เริ่มต้นเก็บที่เวลา 0 วัน จนกระทั่งตลอดระยะเวลา 6 เดือนของการบ่มเนยแข็ง

7 คือ ค่าตั้งแต่เริ่มต้น 0 เดือนจนถึงเดือนที่ 6 ของการบ่ม

2 คือ ปริมาณความแตกต่างของสมุนไพรที่ใช้ได้แก่ 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์

3 คือ สมุนไพรที่ใช้ทั้งสี่ชนิดได้แก่ โฮมแดง ขำ และตะไคร้

วิเคราะห์และแปลผลโดยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เวอร์ชัน 10.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างสิ่งทดลองโดยวิธี DMRT (Duncan multiple rang test)

3.4 ศึกษาระดับการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อเนยแข็งชนิดคาร์รอสโฮมแดง รสขำ และรสตะไคร้แบบ Hedonic scale scoring test เมื่อครบระยะเวลาการบ่มนาน 6 เดือน

ให้ผู้ทดสอบชิมทั่วไปทำการทดสอบความชอบด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และ ความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์ โดยใช้แบบทดสอบ Hedonic scale scoring test ให้แสดง ความชอบ 9 จุด แสดงดังในแบบทดสอบในภาคผนวก ค ภาพที่ ค-1 ซึ่งจะทำการแปรระดับ ความรู้สึกของผู้ทดสอบเป็นตัวเลข เช่น ชอบมากที่สุดมีคะแนนเป็น 9 และไม่ชอบมากที่สุดมี คะแนนเป็น 1 (ไพโรจน์, 2539)