

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมีและวิธีการทดลอง

วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์

3.1 วัตถุดิบ

นมผงสด (เก็บในช่วงเดือนสิงหาคม-พฤศจิกายน 2551) จากห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟาร์มผึ้ง
พัฒนกิจ อ.สารภี จ.เชียงใหม่

3.2 สารเคมี

1. Lithium Chloride: LiCl (Laboratory, Ajax Finechem, Australia)
2. Potassium Acetate: CH_3COOK (Laboratory, Ajax Finechem, Australia)
3. Magnesium Chloride: $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Laboratory, Ajax Finechem, Australia)
4. Potassium Carbonate: K_2CO_3 (Laboratory, Ajax Finechem, Australia)
5. Magnesium Nitrate: $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (Laboratory, Ajax Finechem, Australia)
6. Potassium Iodide: KI (Laboratory, Ajax Finechem, Australia)
7. Sodium Chloride: NaCl (Laboratory, Ajax Finechem, Australia)
8. Phosphorus Penta Oxide : P_2O_5
9. Plate Count Agar (PCA) (Merck, Germany)
10. Maximum Recovery Diluents (MRD) (Merck, Germany)
11. Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck, Germany)
12. Ethanol 95% (หจก. โอ.วี. เคมีเคิล แอนด์ ซัพพลาย, เชียงใหม่)
13. กรดทาทาริก (Cario Erba Reagebti, Germany)
14. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (บริษัท ยูเนี่ยน ซาชน์ จำกัด, เชียงใหม่)

3.3 บรรจุภัณฑ์

ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ ขนาด 7.3x10.5 เซนติเมตร (สยามแพค, เชียงใหม่) ผลิตจากฟิล์ม
พลาสติกประกอบ OPP 20 μm / LDPE 25 μm / Al 7 μm / LDPE 20 μm / LLDPE 30 μm

3.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวิเคราะห์ค่าสี ใช้ Color Quest II Colorimeter (Chroma Meter CR 300 Series, Minolta, Japan)
2. เครื่องวัดค่า water activity (a_w) ใช้เครื่อง Water Activity Meter (AquaLab รุ่น TE3, Decagon Devices, Inc Pullman, USA)
3. เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง pH Meter (Cosort C380, Belgium)
4. เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) (LABCONCO, USA)
5. เครื่องวิเคราะห์จุดหลอมเหลว Differential Scanning Calorimeter (DSC) (Diamon DSC, Perkin Elmer, USA)
6. เครื่องวิเคราะห์ขนาดอนุภาค (Particle size analyzer) (Laser diffraction, Mastersizer S, Malvern)
7. เครื่องลดขนาด (Hammer mill)
8. เครื่องวัดความแข็ง
9. เครื่องตอกอัดเม็ดด้วยมือแบบ Hydraulic press (Carver Laboratory Press)
10. เครื่องตอกอัดเม็ดแบบสากเดี่ยว (Single punch tableting machine)
11. เครื่องวัดความกร่อน (Pharma PTFE TEST Type PTF20E, Germany)
12. เครื่องวัดการแตกตัว (Pharma TEST Type PTZ, Germany)
13. เครื่องเคาะผง Jolting volumeter (STAV 2003, Germany)
14. เวอร์เนียร์
15. เครื่องชั่งวิเคราะห์ (Sartorius, model BP3100S, AG Gottingen Germany)
16. กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope (Olympus, Japan)
17. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven : Memmert, USA)
18. ตู้อบสุญญากาศ (Vacuum oven : Binder VD23, USA)
19. ตู้แช่แข็ง -22 องศาเซลเซียส
20. โถดูดความชื้น (dessicator)
21. ชุดอุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์
22. DSC pans (Perkin Elmer, USA)
23. ตู้บ่มเชื้อ (Incubater Gallenkamp, England)
24. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave : Gallenkamp model AUX-700-010, England)

3.5 วิธีการศึกษา

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 6 ขั้นตอนหลัก ดังนี้

ตอนที่ 1 การศึกษาคุณภาพของนมผงสด

เมื่อได้รับนมผงสดแช่แข็งจากฟาร์มผงที่ถูกบรรจุถุงละ 1 กิโลกรัม นำนมผงสดแช่แข็งมาละลายให้อยู่ในรูปของเหลวชั้น นำแต่ละถุงมาผสมและคนให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำนมผงสดที่ได้ไปวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- (1). วัดค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี Colorimeter ด้วยระบบ Hunter L* a* b* (ภาคผนวก ก-1)
โดยค่า L* คือ ความสว่างของสี (Lightness) โดยมีค่าจาก 0 คือสีดำ ถึง 100 คือสีขาว
a* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและสีแดงที่อยู่ในตัวอย่าง (Redness/Green)
โดยค่า a*(+) แสดงถึงความเป็นสีแดงและค่า a*(-) แสดงความเป็นสีเขียว
b* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงินที่อยู่ในตัวอย่าง (Yellowness/Blueness)
โดยค่า b*(+) แสดงถึงความเป็นสีเหลืองและค่า b*(-) แสดงความเป็นสีน้ำเงิน
(Emami and Tabil, 2008)

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- (1). วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ดัดแปลงวิธีการของ AOAC (2000)
อบกระป๋องหาความชื้นพร้อมฝาที่ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนักและจดบันทึก จากนั้นชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ใส่กระป๋องหาความชื้นแล้ว นำไปอบที่ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้าโดยเปิดฝาทิ้งที่อุณหภูมิ 100±2 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง นำกระป๋องหาความชื้นออกจากตู้อบลมร้อนโดยปิดฝาทันที และทำให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนนำไปอบต่ออีก 1 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ จึงคำนวณหาปริมาณความชื้น (ภาคผนวก ก-4)

- (2). วัดค่า water activity โดยใช้เครื่อง Water activity meter
นำนมผงสดมาวัดค่า a_w โดยใช้ใส่ในตลับบรรจุตัวอย่างให้มีปริมาณ 3/4 ของตลับ โดยไม่ให้ตัวอย่างเปียกขอบด้านบนของตลับ จากนั้นนำตลับที่มีตัวอย่างเข้าไปใส่เข้าเครื่อง Water activity meter อ่านค่า a_w ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Chirife *et al.*, 2006)

(3). วัดค่า pH โดยใช้เครื่อง pH Meter

นำนมผงสดไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้เครื่องวัดค่าความเป็น กรด-ด่าง (pH Meter) ซึ่งได้ปรับค่ามาตรฐานด้วยสารละลายมาตรฐานที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.00 และ 7.00 ตามลำดับ (ภาคผนวก ก-5)

(4). วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด โดยการไตเตรต ดัดแปลงวิธีของ AOAC (2000)

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างนมผง 20 กรัม ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ปิดเตา สารละลายมา 10 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร หยดฟีนอล์ฟทาลีนประมาณ 3 หยด เพื่อใช้เป็นอินดิเคเตอร์ นำมาไตเตรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จนถึงจุดยุติเมื่อสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู จากนั้นคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดโดยเทียบ จากค่ามาตรฐาน (ภาคผนวก ก-6)

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

(1). วิเคราะห์จำนวน จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) (BAM, 2001) (ภาคผนวก ก-8)

(2). วิเคราะห์จำนวนยีสต์และรา (BAM, 2001) (ภาคผนวก ก-9)

ตอนที่ 2 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของนมผงผงที่ได้จากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

การทำให้แห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งของนมผง ทำโดยนำนมผงสดในรูปของเหลวข้นจากตอนที่ 1 มาเทใส่ถาดพลาสติกขนาดกว้าง 10 เซนติเมตร และยาว 10 เซนติเมตร ชั่งน้ำหนักตัวอย่างถาดละประมาณ 100 กรัม (หรือให้มีความหนาประมาณ 1 เซนติเมตร) แล้วนำไปเก็บในตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Miao and Roos, 2006) หลังจากนั้นตัดนมผงสดแช่แข็งให้มีขนาดกว้าง 2 เซนติเมตร ยาว 10 เซนติเมตร และหนา 1 เซนติเมตร (โดยประมาณ) เพื่อช่วยเพิ่มพื้นที่ในการระเหยของน้ำ บรรจุถาดนมผงสดแช่แข็งลงในโถบรรจุตัวอย่าง โถละ 10 แห่ง (ประมาณ 200 กรัม) ทำแห้ง แบบแช่เยือกแข็งด้วยเครื่อง freeze dryer ภายใต้สภาวะสุญญากาศที่ความดัน 133×10^{-3} mbar อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส ใช้เวลาทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งนมผงสด 72 ชั่วโมง จากนั้นนำนมผงอบแห้งไปบดให้มีอนุภาคเล็กกลงด้วยเครื่อง Hammer mill โดยบดผ่านตะแกรง (รูเปิด) 2 ขนาด คือ 3.0 และ 1.2 มิลลิเมตร วิเคราะห์การกระจายขนาดอนุภาคของนมผงด้วยเครื่องวิเคราะห์ขนาดอนุภาค (Laser diffraction, Mastersizer S, Malvern) ด้วยวิธีการหักเหของเลเซอร์ โดยใช้สารละลายเอทานอล 95% ในการวิเคราะห์ (Landillon *et al.*, 2008)

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

(1). วัดค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี Colorimeter ด้วยระบบ Hunter L* a* b* (ภาคผนวก ก-1)

โดยค่า L* คือ ความสว่างของสี (Lightness) โดยมีค่าจาก 0 คือสีดำ ถึง 100 คือสีขาว

a* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและสีแดงที่อยู่ในตัวอย่าง (Redness/Green)

โดยค่า a*(+) แสดงถึงความเป็นสีแดงและค่า a*(-) แสดงความเป็นสีเขียว

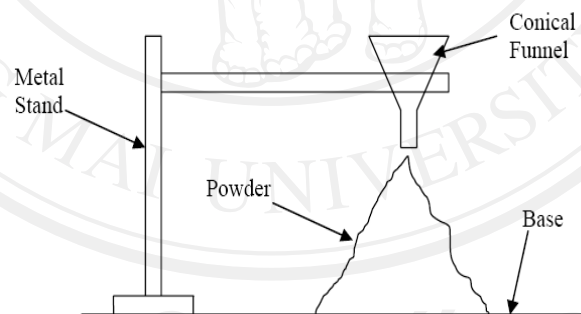
b* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงินที่อยู่ในตัวอย่าง (Yellowness/Blueness)

โดยค่า b*(+) แสดงถึงความเป็นสีเหลืองและค่า b*(-) แสดงความเป็นสีน้ำเงิน

(Emami and Tabil, 2008)

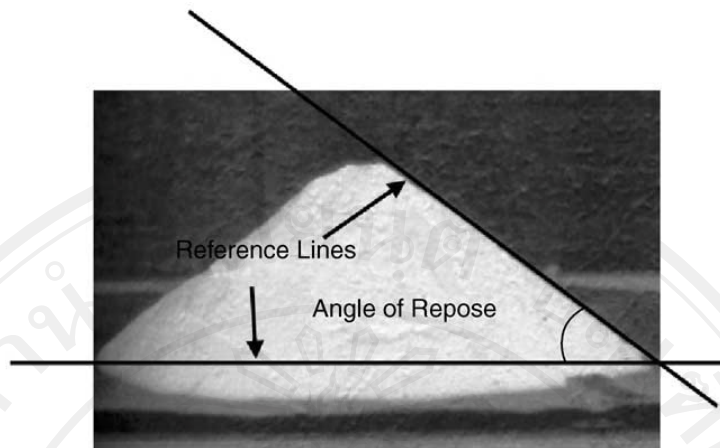
(2). ทดสอบสมบัติการไหล (flow ability) โดยใช้วิธีการหามุมกองแบบสถิตย์ (Static angle of repose)

นำนมผงมาวิเคราะห์ค่าความสามารถในการไหลด้วยวิธีวัดมุมกอง angle of repose โดยชั่งตัวอย่างนมผงมาประมาณ 50 กรัม จากนั้นเทตัวอย่างผ่านกรวยกรองที่ยึดติดกับขาตั้งดังรูป 3.1 โดยให้มีระยะห่างจากพื้นถึงปากกรวยพลาสติกเท่ากับ 10 เซนติเมตร จากนั้นทำการวัดมุมของกองผงนมผงดังรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.1 : วิธีการหามุมกองแบบสถิตย์ (Static angle of repose)

ที่มา : Bodhimage (2006)



รูปที่ 3.2 : วิธีการวัดมุมกองแบบสถิตย์ (Static angle of repose)

ที่มา : Chi-Ying Wong (2002)

(3). วัดค่า bulk density

ชั่งนมผึ้งปริมาณประมาณ 50 มิลลิลิตร ให้ได้น้ำหนักแน่นอน (M กรัม) ค่อยๆ เทนมผึ้งลงที่ชั่งแล้วลงในกระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นเคาะกระบอกตวงนี้ 3 ครั้งกับพื้นโต๊ะ โดยก้นของกระบอกตวงสูงจากพื้น 1 นิ้ว และการเคาะแต่ละครั้งให้ห่างกัน 2 วินาที (จักรพันธ์, 2551) แล้วจึงอ่านปริมาตรของนมผึ้งในกระบอกตวง (V_b) คำนวณหา bulk density จากสมการ (3.1)

$$\text{Bulk density} = M / V_b \text{ กรัม/มิลลิลิตร} \quad (3.1)$$

(4). วัดค่า tapped density โดยใช้เครื่องเคาะผง Jolting volumeter

นำกระบอกตวงที่มีนมผึ้งและหาค่า bulk density แล้วจากข้อ 3 ไปเคาะด้วยเครื่องเคาะผง Jolting volumeter ประมาณ 500 ครั้ง (Bernhart and Fasina, 2009) หรือจนไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาตรผงในกระบอกตวงนั้นจึงหยุดและอ่านปริมาตรของนมผึ้งอีกครั้งหนึ่ง (V_t)

คำนวณหา tapped density จากสมการ (3.2)

$$\text{Tapped density} = M / V_t \text{ กรัม/มิลลิลิตร} \quad (3.2)$$

- (5). คำนวณค่า compressibility ratio (จักรพันธ์, 2551; Maghsoodi *et al.*, 2008)
นำค่า bulk density และ tapped density ที่ได้มาคำนวณหาค่า compressibility ratio ดังนี้

$$\text{compressibility ratio (\%)} = \frac{(\text{Tapped density} - \text{Bulk density}) * 100}{\text{Tapped density}} \quad (3.3)$$

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

- (1). วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ดัดแปลงวิธีการของ AOAC (2000)

นำนมผงมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยดัดแปลงวิธีวิเคราะห์จากวิธีของ AOAC (2000) คือ ใช้นมผงปริมาณประมาณ 2 g ใส่ใน aluminium can ที่อบและชั่งน้ำหนักก่อนอบ นำนมผงอบในตู้อบความร้อนแบบสุญญากาศ (vacuum oven) ที่อุณหภูมิ 70 ± 2 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ (เวลาประมาณ 90 ชั่วโมง) นำออกมาทำให้เย็นใน desiccators ชั่งน้ำหนักหลังอบ คำนวณหาปริมาณความชื้นฐานเปียก (ภาคผนวก ก-4)

- (2). วัดค่า water activity โดยใช้เครื่อง Water activity meter

นำนมผงมาวัดค่า a_w โดยใช้ใส่ในตลับบรรจุตัวอย่างให้มีปริมาณ 3/4 ของตลับ โดยไม่ให้ตัวอย่างเปียกขอบด้านบนของตลับ จากนั้นนำตลับที่มีตัวอย่างเข้าใส่เข้าเครื่อง Water activity meter อ่านค่า a_w ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Chirife *et al.*, 2006)

การวิเคราะห์สมบัติทางจุลชีววิทยา

- (1). วิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) (BAM, 2001) (ภาคผนวก ก-8)
(2). วิเคราะห์จำนวนยีสต์และรา (BAM, 2001) (ภาคผนวก ก-9)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- โปรแกรม SPSS v.10

- วิเคราะห์ข้อมูลโดยการวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ตอนที่ 3 การศึกษาหาอิทธิพลของความชื้นและแรงอัดที่มีต่อคุณภาพของเม็ดนมผง

3.1 ผลของความชื้นสัมพัทธ์ที่มีต่อสมบัติของนมผงที่ได้จากการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

นำนมผงที่ได้มาปรับความชื้น โดยเก็บรักษาไว้ที่สภาวะความชื้นสัมพัทธ์แตกต่างกัน 5 ระดับ (0-43%) ที่อุณหภูมิห้อง (28 ± 3 องศาเซลเซียส) ด้วยวิธี gravimetric method (Labuza, 2000; Boonyai, 2005) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ซึ่งความชื้นสัมพัทธ์ที่ระดับต่างๆ นั้น ถูกควบคุมโดยการใส่สารละลายเกลืออิ่มตัวชนิดต่างๆ ดังตารางที่ 3.1 ทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 3.1 สารละลายเกลือที่ใช้ปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 5 ระดับ สำหรับนมผง

สารละลายเกลืออิ่มตัว	a_w	ความชื้นสัมพัทธ์ในระบบปิด (%)
ฟอสฟอรัสเพนตะออกไซด์ (P_2O_5)	0	0
ลิเทียมคลอไรด์ (LiCl)	0.11	11
โปแตสเซียมอะซิเตต (CH_3COOK)	0.22	22
แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$)	0.32	32
โปแตสเซียมคาร์บอเนต (K_2CO_3)	0.43	43

ขั้นตอนการทดลองมีดังนี้

(1) เตรียมสารละลายเกลืออิ่มตัว บรรจุใน โถดูดความชื้น (dessicator) และปิดสนิททิ้งไว้ 12 ชั่วโมงเพื่อให้เกิดสภาวะอิ่มตัวและมีผลึกของเกลือหลงเหลืออยู่ในสารละลาย ให้ปริมาณของเหลวเหนือชั้นของผลึกเกลือหนาประมาณ 2 มิลลิเมตร

(2) นำตัวอย่างนมผงมาเก็บใน โถดูดความชื้น เพื่อให้เกิดการปรับสภาพสมดุลระหว่างตัวอย่างและสารละลายเกลือ เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง (28 ± 3 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ณ จุดสมดุล ค่า water activity จะมีค่าเท่ากับ ความชื้นสัมพัทธ์/100

(3) วิเคราะห์สมบัติของนมผงดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

(1) วัดค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี Colorimeter ด้วยระบบ Hunter $L^* a^* b^*$ (ภาคผนวก ก-1) โดยค่า L^* คือ ความสว่างของสี (Lightness) โดยมีค่าจาก 0 คือสีดำ ถึง 100 คือสีขาว

a^* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและสีแดงที่อยู่ในตัวอย่าง (Redness/Greeness)

โดยค่า $a^*(+)$ แสดงถึงความเป็นสีแดงและค่า $a^*(-)$ แสดงความเป็นสีเขียว

b^* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงินที่อยู่ในตัวอย่าง (Yellowness/Blueness) โดยค่า $b^*(+)$ แสดงถึงความเป็นสีเหลืองและค่า $b^*(-)$ แสดงความเป็นสีน้ำเงิน (Emami and Tabil, 2008)

(2). ทดสอบสมบัติการไหล (flow ability) โดยใช้วิธีการหามุมกองแบบสถิตย์ (Static angle of repose)

นำนมผงมาวิเคราะห์ค่าความสามารถในการไหลด้วยวิธีวัดมุมกอง angle of repose โดยชั่งตัวอย่างนมผงมาประมาณ 50 กรัม จากนั้นเทตัวอย่างผ่านกรวยกรองที่ยึดติดกับขาตั้งดังรูป 3.1 โดยให้มีระยะห่างจากพื้นถึงปากกรวยพลาสติกเท่ากับ 10 เซนติเมตร จากนั้นทำการวัดมุมของกองผงนมผงดังรูปที่ 3.2 (เหมือนตอนที่ 2)

(3). วัดค่า bulk density

ชั่งนมผงปริมาตรประมาณ 50 มิลลิลิตร ให้ได้น้ำหนักแน่นอน (M กรัม) ค่อยๆ เทนมผงที่ชั่งแล้วลงในกระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร จากนั้นเคาะกระบอกตวงนี้ 3 ครั้งกับพื้นโต๊ะ โดยก้นของกระบอกตวงสูงจากพื้น 1 นิ้ว และการเคาะแต่ละครั้งให้ห่างกัน 2 วินาที (จักรพันธ์, 2551) แล้วจึงอ่านปริมาตรของนมผง (Vb) คำนวณหา bulk density (เหมือนตอนที่ 2)

(4). วัดค่า tapped density โดยใช้เครื่องเคาะผง Jolting volumeter

นำกระบอกตวงที่มีนมผงและหาค่า bulk density แล้วจากข้อ 3 ไปเคาะด้วยเครื่องเคาะผง Jolting volumeter ประมาณ 500 ครั้ง (Bernhart and Fasina, 2009) หรือจนไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาตรผงในกระบอกตวงนั้นจึงหยุดและอ่านปริมาตรของนมผงอีกครั้งหนึ่ง (Vt) คำนวณหา tapped density (เหมือนตอนที่ 2)

(5). คำนวณค่า compressibility ratio (จักรพันธ์, 2551; Maghsoodi *et al.*, 2008)

นำค่า bulk density และ tapped density ที่ได้มาคำนวณหาค่า compressibility ratio (เหมือนตอนที่ 2)

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

(1). วิเคราะห์ปริมาณความชื้น คัดแปลงวิธีการของ AOAC (2000)

นำนมผงมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยคัดแปลงวิธีวิเคราะห์จากวิธีของ AOAC (2000) คือ ใช้นมผงปริมาณประมาณ 2 g ใส่ใน aluminium can ที่อบและชั่งน้ำหนักก่อนอบ นำนมผงอบในตู้อบความร้อนแบบสุญญากาศ (vacuum oven) ที่อุณหภูมิ 70 ± 2 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ (เวลาประมาณ 90 ชั่วโมง) นำออกมาทำให้เย็นใน desiccators ชั่งน้ำหนักหลังอบ คำนวณหาปริมาณความชื้นฐานเปียก (ภาคผนวก ก-4)

(2). วัดค่า water activity โดยใช้เครื่อง Water activity meter

นำนมผงมาวัดค่า a_w โดยใช้ใส่ในตลับบรรจุตัวอย่างให้มีปริมาณ 3/4 ของตลับ โดยไม่ให้ตัวอย่างเปียกขอบด้านบนของตลับ จากนั้นนำตลับที่มีตัวอย่างเข้าใส่เข้าเครื่อง Water activity meter อ่านค่า a_w ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Chirife *et al.*, 2006)

(3). วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงเชิงความร้อนด้วย Differential scanning calorimeter (DSC)

ใช้นมผงปริมาณ 2-3 mg ใส่ใน aluminium pan นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง DSC (Perkin-Elmer) ทำการ calibrate เครื่องด้วย pure indium ($\Delta H = 28.4$ J/g และ $T_m = 156.68^\circ\text{C}$) (Raschip *et al.*, 2008) โดยกำหนดอุณหภูมิในการวิเคราะห์ 2 ช่วง ช่วงแรกลดอุณหภูมิจาก 25 องศาเซลเซียส ลงไปจนถึง -20 องศาเซลเซียส ช่วงที่สองให้ความร้อนจากอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ขึ้นไปจนถึง 250 องศาเซลเซียส ในอัตรา 10 องศาเซลเซียส/นาที วิเคราะห์ค่าการเปลี่ยนแปลงเชิงความร้อนจาก thermogram โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปของ DSC (ภาคผนวก ก-7)

การวิเคราะห์สมบัติทางจุลชีววิทยา

(1). วิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) (BAM, 2001) (ภาคผนวก ก-8)

(2). วิเคราะห์จำนวนยีสต์และรา (BAM, 2001) (ภาคผนวก ก-9)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- โปรแกรม SPSS v.10

- วิเคราะห์ข้อมูลโดยการวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD)

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

3.2 อิทธิพลของความชื้นและแรงอัดที่มีต่อคุณภาพของเม็คนมผง

นำตัวอย่างนมผงที่ผลิตได้ขึ้นตอนที่ 2 ไปอัดเม็ดด้วยเครื่องอัดแบบ hydraulic press ชนิดสากเดี่ยว (Adebayo *et al.*, 2008) โดยวิธีการตอกอัดโดยตรง ผันแปรค่าแรงอัดที่แตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 ตัน (ทรงวุฒิ, 2550; Adeboya *et al.*, 2008) และความชื้นของผง 4 ระดับ คือ 3.07, 4.91, 5.18 และ 6.51 % (wet basis) ออกแบบการทดลองแบบ factorial 4x5 in complete randomized design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้ปริมาณนมผง 250 มิลลิกรัมต่อเม็ด ควบคุมสภาวะภายในห้องทดลองให้มีอุณหภูมิต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ไม่เกิน 45% (Masaaki *et al.*, 2002) จากนั้นวิเคราะห์ห้สมบัติทางกายภาพของนมผงอัดเม็ดดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของนมผงอัดเม็ด

- (1). วัดค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี Colorimeter ด้วยระบบ Hunter L* a* b* (ภาคผนวก ก-1) โดยค่า L* คือ ความสว่างของสี (Lightness) โดยมีค่าจาก 0 คือสีดำ ถึง 100 คือสีขาว
 a* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและสีแดงที่อยู่ในตัวอย่าง (Redness/Green) โดยค่า a*(+) แสดงถึงความเป็นสีแดงและค่า a*(-) แสดงความเป็นสีเขียว
 b* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงินที่อยู่ในตัวอย่าง (Yellowness/Blueness) โดยค่า b*(+) แสดงถึงความเป็นสีเหลืองและค่า b*(-) แสดงความเป็นสีน้ำเงิน (Emami and Tabil, 2008)
- (2). ดูลักษณะผิวของนมผงอัดเม็ด โดยใช้เครื่อง stereo microscope นำนมผงอัดเม็ดที่ได้จากเครื่องอัดเม็ดแบบไฮดรอลิกไปส่องดูลักษณะผิวด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope ที่กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อดูความแตกต่างของผิวนมผงอัดเม็ด
- (3). วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและความหนา โดยใช้เวอร์เนียร์ วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและความหนาของนมผงอัดเม็ด โดยทำการสุ่มตัวอย่างจำนวน 20 เม็ดในแต่ละตัวอย่างของการทดลอง (treatment)
- (4). วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของนมผงอัดเม็ด (weight variation) โดยการชั่งน้ำหนัก (USP XX, 1980)

กลุ่มนมผงอัดเม็ดมาจำนวน 20 เม็ด ซึ่งน้ำหนักของแต่ละเม็ด คำนวณหาค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก คำนวณหาค่าสูงสุดและต่ำสุดของน้ำหนักเม็ด โดยคิดจากน้ำหนักเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์นมผงเม็ดที่หา ได้กับเปอร์เซ็นต์ความแปรปรวนของน้ำหนักที่กำหนดไว้ ซึ่งขึ้นอยู่กับน้ำหนักของนมผงเม็ดที่ นำมาทดสอบ เปรียบเทียบค่าน้ำหนักของเม็ดนมผงแต่ละเม็ด กับช่วงมาตรฐานที่คำนวณได้ จากนั้น ประเมินผลค่าความแปรปรวนของนมผงอัดเม็ด (ภาคผนวก ก-2)

(5). วิเคราะห์ค่าความแข็ง (hardness) โดยใช้เครื่องวัดความแข็ง

กลุ่มนมผงอัดเม็ดมาจำนวน 10 เม็ด นำไปวิเคราะห์ค่าความแข็งด้วยเครื่องวัดความแข็ง วาง ตัวอย่างบนเครื่องวัดในแนวราบ หมุนสกรูให้เครื่องดันเม็ดนมผงจนแตก อ่านค่าความแข็งที่ได้จาก เครื่องวัดความแข็ง

(6). วิเคราะห์ค่าความกรอบ (friability) โดยใช้เครื่องวัดความกรอบ, Pharma PTFE TESI

กลุ่มนมผงอัดเม็ดจำนวน 20 เม็ด ซึ่งน้ำหนักนมผงเม็ดทั้ง 20 เม็ด โดยปิดฝุ่นผงที่ติดเม็ดออก ให้หมด นำไปใส่เครื่องวัดความกรอบแล้วปิดฝา เปิดเครื่องให้หมุน 100 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 นาที เอนนมผงเม็ดออกจากเครื่อง ปิดฝุ่นผงที่ติดเม็ดออกให้หมด แล้วนำไปชั่งน้ำหนักอีกครั้ง คำนวณหา เปอร์เซ็นต์ความกรอบ (ภาคผนวก ก-3) (จักรพันธ์, 2551)

(7). วิเคราะห์หาระยะเวลาในการแตกตัว (disintegration time) โดยใช้เครื่องทดสอบการ

แตกตัว, Pharma Test Type : PTZ1

กลุ่มนมผงอัดเม็ดจำนวน 6 เม็ดใส่ลงใน basket rack ช่องละ 1 เม็ด ใส่ disk ทับลงบนเม็ดยา ทุกเม็ด สารละลายที่ใช้คือ น้ำกลั่น และควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ 37 ± 5 องศาเซลเซียส บันทึกเวลาที่ นมผงเม็ดแตกตัวครบหมดทั้ง 6 เม็ด (Adebayo *et al.*, 2008)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

- โปรแกรมวิเคราะห์ค่าทางสถิติ SPSS v.10

- วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน เปรียบเทียบความแตกต่าง ค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

- สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง 2 ปัจจัยที่ศึกษาด้วยโปรแกรม Statistica v.7

ตอนที่ 4 การศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์นมผงบริสุทธ์อัดเม็ดที่ได้จากการผลิตด้วยเครื่องอัดเม็ดแบบสากลเดี่ยว (Single punch tableting machine)

เมื่อทราบถึงปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตนมผงบริสุทธ์อัดเม็ดจากตอนที่ 3 แล้ว นำมาศึกษาการเพิ่มขนาดการผลิตด้วยเครื่องตอกอัดเม็ดแบบสากลเดี่ยว (Single punch tableting machine) โดยควบคุมอุณหภูมิห้องทดลองให้ต่ำกว่า 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ไม่เกิน 45% จากนั้นวิเคราะห์คุณภาพของนมผงบริสุทธ์อัดเม็ด ใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 3

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของนมผงอัดเม็ด

- (1). วัดค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี Colorimeter ด้วยระบบ Hunter L* a* b*
- (2). วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและความหนา โดยใช้เวอร์เนีย
- (3). วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของนมผงอัดเม็ด (weight variation) (USP XX, 1980)
- (4). วิเคราะห์ค่าความแข็ง (hardness) โดยใช้เครื่องวัดความแข็ง
- (5). วิเคราะห์ค่าความกร่อน (friability) โดยใช้เครื่องวัดความกร่อน (จักรพันธ์, 2551)
- (6). วิเคราะห์หาระยะเวลาในการแตกตัว (disintegration time) โดยใช้เครื่องทดสอบการแตกตัว, Pharma Test Type : PTZ1 (Adebayo et al., 2008)

ตอนที่ 5 การศึกษา sorption isotherm ของนมผงอัดเม็ด

นำนมผงบริสุทธ์อัดเม็ดที่ผลิตได้จากตอนที่ 4 มาศึกษาลักษณะ sorption isotherm เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและความแข็งของเม็ดนมผงระหว่างการเก็บรักษา โดยเก็บตัวอย่างนมผงอัดเม็ดที่สภาวะความชื้นสัมพัทธ์ (Relative humidity; RH) แตกต่างกัน 8 ระดับ (0-75%) ที่อุณหภูมิห้อง (28±3 องศาเซลเซียส) ด้วยวิธี gravimetric method (Labuza, 2000; Boonyai, 2005) จนตัวอย่างเข้าสู่สภาวะสมดุลเป็นเวลาไม่เกิน 3 สัปดาห์ ซึ่งความชื้นสัมพัทธ์ที่ระดับต่างๆ นั้น ถูกควบคุมโดยการใช้สารละลายเกลืออิ่มตัวชนิดต่างๆ ดังตารางที่ 3.2 วิธีการเตรียมสารละลายเกลืออิ่มตัวเช่นเดียวกับตอนที่ 2 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 3.2 สารละลายเกลือที่ใช้ปรับสภาพความชื้นสัมพัทธ์ 8 ระดับ สำหรับนมผงอัดเม็ด

สารละลายเกลืออิมตัว	a_w	ความชื้นสัมพัทธ์ในระบบปิด (%)
ฟอสฟอรัสเพนตะออกไซด์ (P_2O_5)	0	0
ลิเทียมคลอไรด์ (LiCl)	0.11	11
โปแตสเซียมอะซิเตต (CH_3COOK)	0.22	22
แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$)	0.32	32
โปแตสเซียมคาร์บอเนต (K_2CO_3)	0.43	43
แมกนีเซียมไนเตรต ($Mg(NO_3)_2$)	0.52	52
โปแตสเซียมไอโอไดด์ (KI)	0.68	68
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	0.75	75

จากนั้นนำตัวอย่างนมผงอัดเม็ดมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นของนมผงอัดเม็ดและค่า a_w ซึ่งเท่ากับ RH/100 ที่สภาวะสมดุล ซึ่งจะได้ลักษณะ sorption isotherm ของผลิตภัณฑ์นมผงบริสุทธ์อัดเม็ด

ตอนที่ 6 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของนมผงอัดเม็ดในระหว่างการเก็บรักษา

นำนมผง บริสุทธ์อัดเม็ดที่ผลิตได้จากตอนที่ 4 มาบรรจุลงในถุงอะลูมิเนียมพอยด์ มีขนาด 7.3x10.5 ตารางเซนติเมตร ผลิตจากฟิล์มประกบ (laminated plastic film) OPP 20 μ m/LDPE 25 μ m/Al 7 μ m/LDPE 20 μ m/LLDPE 30 μ m (OPP=oriented polypropylene, LDPE=low density polyethylene, LLDPE=linear low density polyethylene) เก็บไว้ที่สภาวะจริงที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 28 \pm 3 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ในช่วง 60-70%) เป็นเวลา 6 เดือน หรือ 24 สัปดาห์ (มยุรฉัตร, 2550) สุ่มตัวอย่างทุก 2 สัปดาห์ เพื่อวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ดังนี้

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของนมผงอัดเม็ด

- วัดค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี Colorimeter ด้วยระบบ Hunter L* a* b* (ภาคผนวก ก-1) โดยค่า L* คือ ความสว่างของสี (Lightness) โดยมีค่าจาก 0 คือสีดำ ถึง 100 คือสีขาว
a* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและสีแดงที่อยู่ในตัวอย่าง (Redness/Green)
โดยค่า a*(+) แสดงถึงความเป็นสีแดงและค่า a*(-) แสดงถึงความเป็นสีเขียว
b* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงินที่อยู่ในตัวอย่าง (Yellowness/Blueness)
โดยค่า b*(+) แสดงถึงความเป็นสีเหลืองและค่า b*(-) แสดงถึงความเป็นสีน้ำเงิน

(2). วิเคราะห์ปริมาณความชื้น ดัดแปลงวิธีการของ AOAC (2000)

นำนมผงอัดเม็ดมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยดัดแปลงวิธีวิเคราะห์จากวิธีของ AOAC (2000) คือ ใช้นมผงปริมาณประมาณ 2 g ใส่ใน aluminium can ที่อบและชั่งน้ำหนักก่อนอบ นำนมผงอบในตู้อบความร้อนแบบสุญญากาศ (vacuum oven) ที่อุณหภูมิ 70 ± 2 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ (เวลาประมาณ 90 ชั่วโมง) นำออกมาทำให้เย็นใน desiccators ชั่งน้ำหนักหลังอบ คำนวณหาปริมาณความชื้นฐานเปียก (ภาคผนวก ก-4)

(3). วัดค่า water activity โดยใช้เครื่อง Water activity meter

นำนมผงมาวัดค่า a_w โดยใช้ใส่ในตลับบรรจุตัวอย่างให้มีปริมาณ 3/4 ของตลับ โดยไม่ให้ตัวอย่างเปียกขอบด้านบนของตลับ จากนั้นนำตลับที่มีตัวอย่างเข้าใส่เข้าเครื่อง Water activity meter อ่านค่า a_w ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (Chirife *et al.*, 2006)

การวิเคราะห์สมบัติทางจุลชีววิทยา

(1). วิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) (BAM, 2001) (ภาคผนวก ก-8)

(2). วิเคราะห์จำนวนยีสต์และรา (BAM, 2001) (ภาคผนวก ก-9)