บทที่ 3
อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

- น้ำนมดิบที่ใช้ผลิตเนยแข็งมอซซาเรลลาต้นแบบจากภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และน้ำนมดิบที่ใช้ผลิตเนยแข็งเกาด้าจากองค์การส่งเสริมโคนมแห่งประเทศไทย สำนักงานภาคเหนือตอนบน จังหวัดเชียงใหม่
- สมุนไพรอบแห้งผง ได้แก่ ข่า ตะไคร้ และหอมแดงผง (ห้างหุ้นส่วนจำกัด เอี่ยมกสิกิจ)
- แคลเซียมคลอไรด์ (ห้างหุ้นส่วนจำกัด โอ.วี. เคมิเคิล)
- เอนไซม์เรนเนท ตรา Chymax (Chr. Hansen, Denmark) ลักษณะเป็นผง บรรจุอยู่ในขวดขนาด 100 กรัม
- เชื้อผสมสำเร็จรูป Mesophilic Aromatic Culture, type L รหัส FD – DVS CHN 11 ประกอบด้วยเชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* และ *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* (Chr. Hansen, Denmark) ลักษณะเป็นผง บรรจุซองขนาด 15 กรัม
- เกลือ ตราปรุงทิพย์

2. อุปกรณ์

2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์

- เตาแก๊สที่ใช้ในครัวเรือน
- หม้ออะลูมิเนียม เบอร์ 26 และ 28
- อ่างน้ำอุ่น (Water Bath) ขนาด 40 และ 100 ลิตร
- บีกเกอร์สเตนเลสขนาด 1 และ 2 ลิตร
- บีกเกอร์แก้ว (Pyrex, USA)
- ปิเปตแบบ Measuring pipette (HBG, Germany)
- ส้อมเสียบเนื้อ
- ลูกกลิ้ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- ถาดอะลูมิเนียม
- แบบพิมพ์อะลูมิเนียม
- ถังนมขนาด 50 ลิตร
- ตู้เย็น 4 และ 15 องศาเซลเซียส

2.2 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- เครื่องวัดสี Minolta (Minolta Camera Ltd., 1991)
- เครื่องวัดค่าแรงกด (Stable Micro Systems Ltd., UK)

2.3 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- Kjeldahl digestion set (Tectator, USA)
- Kjeldahl distillation set (Tectator, USA)
- ขวดเคลดาห์ล (Kjeldahl Method) ขนาด 250 มิลลิลิตร (Tectator, USA)
- pH meter (Hanna Instrument, Italy)
- บิวเรตขนาด 25 และ 50 มิลลิลิตร (HBG, Germany)
- ปิเปตขนาด 1 , 5 และ10 มิลลิลิตร (HBG, Germany)
- ฟลาสก์ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
- กรวยแยก (Separatory funnel) ขนาด 250 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
- กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 10 และ 100 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
- ถ้วยกระเบื้อง (Crucible)
- กระป๋องอบความชื้น (Moisture can)
- ที่คีบกระป๋อง (Tong)
- โถดูดความชื้น (Desiccator)
- ช้อนตักสาร (Spatula)
- เครื่องชั่งสำหรับงานวิเคราะห์ (Analytical balance)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- ตู้ดูดควัน (Hood)
- ตะเกียงบุนเสน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- เตาเผาไฟฟ้าที่ปรับและควบคุมอุณหภูมิได้

2.4 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 25±1, 37±1 และ 55 ±1 องศาเซลเซียส (Incubator: Gallenkamp, England)
- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave: Gallenkamp, England)
- เตาอบลมร้อน (Hot air oven: Haereous, England)
- บีกเกอร์สเตนเลสขนาด 1 และ2 ลิตร
- บีกเกอร์แก้ว (Pyrex, USA)
- Petri dish (Pyrex, USA)
- หลอดทดลองขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร (Pyrex, USA)
- ขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 100, 250 และ 500 มิลลิลิตร (Schott Duran, Germany)
- เครื่องปั่นไฟฟ้า (Blender: National, Japan)
- Anaerobic jars (Merck, Germany)
- เครื่องนับจำนวนโคโลนี (Colony Counter)
- ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส

3. สารเคมี

- Distilled water
- Sodium hydroxide (Merck, Germany)
- Sulfuric acid (Merck, Germany)
- Copper Sulfate (Carlo Erba, Italy)
- Sodium sulfate (Merck, Germany)
- Boric acid (Merck, Germany)
- 25% Ammonium solution (Merck, Germany)
- Petroleum ether (Merck, Germany)
- Diethyl ether (Merck, Germany)
- 95 % Ethyl alcohol

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- Phenolphthalein
- Screen Methyl Red
- Potassium Chromate
- Sodium Chloride (Merck, Germany)
- Agar (ห้างหุ้นส่วนจำกัด โอ.วี. เคมิเคิล)
- Phosphate Buffer Solution
- Bactopeptone (DB, France)
- Methylene blue thiocyanate (Merck, Germany)
- MRS Agar (Merck, Germany)
- Plate Count Agar (Scharlau, Spain)
- Potato Dextrose Agar (Scharlau, Spain)
- Tryptone (Scharlau, Spain)
- D – Glucose (Carlo Erba, France)
- Bromocresol Purple (Fluka, Switzerland)
- Sulfite Iron Agar
- Brilliant Green Lactose Bile (Scharlau, Spain)
- Lauryl Sulphate Tryptose (Himedia, India)
- Eosin Methylene Blue Agar (Scharlau, Spain)
- Tartaric acid 10%

4. เครื่องประมวลผล

- เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล
- โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10.0.1 (SPSS Inc., USA)
- โปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert version 6.0.10 (Stat – Ease Inc., USA)
- โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft Office 2003 (Microsoft Corp., USA)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 การจัดทำต้นแบบเนยแข็งมอซซาเรลลาสมุนไพร

1.1 ผลิตภัณฑ์ที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์ที่มีอยู่ในท้องตลาด คือ ผลิตภัณฑ์เนยแข็ง ในขั้นตอนแรกจะมีการจัดทำผลิตภัณฑ์เนยแข็งมอซซาเรลลาต้นแบบ โดยนำผลิตภัณฑ์เนยแข็งมอซซาเรลลายี่ห้อหนึ่งที่มีในท้องตลาดมาเติมสมุนไพร ได้แก่ ข่าร้อยละ 25 ของปริมาณสมุนไพรผสมทั้งหมด หอมแดงร้อยละ 25 ของปริมาณสมุนไพรผสมทั้งหมด และตะไคร้ร้อยละ 50 ของปริมาณสมุนไพรผสมทั้งหมด รวมเป็นปริมาณร้อยละ 0.2 ของปริมาณเนยแข็ง

1.2 การสำรวจผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธี QDA (Quantitative Descriptive Analysis) (Stone and Sidel, 1993) โดยการให้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 10 คน เป็นชาย 3 คน และหญิง 7 คน ที่ผ่านการฝึกฝนการทดสอบทางประสาทสัมผัส เพื่อชิมผลิตภัณฑ์เนยแข็งมอซซาเรลลาที่เตรียมดังข้อ 1.1 แล้วให้ผู้ทดสอบชิมจำแนกลักษณะต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ตั้งแต่ลักษณะปรากฏ (Appearance) ก่อนการชิมผลิตภัณฑ์ หลังจากนั้นให้ผู้ทดสอบชิมอธิบายลักษณะต่างๆ ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนยแข็งที่ทดสอบให้ได้มากที่สุดเท่าที่ผู้ทดสอบจะบอกได้โดยอิสระ จากนั้นหาข้อสรุปถึงลักษณะสำคัญที่ควรมีในผลิตภัณฑ์เนยแข็งมอซซาเรลลา

1.3 การทำเค้าโครงผลิตภัณฑ์โดยใช้วิธี Ideal ratio profile technique (ไพโรจน์, 2536) ให้ผู้ทดสอบชิมบอกถึงจุดที่ดีที่สุด (Ideal) ของแต่ละลักษณะทางประสาทสัมผัสดังข้อ 1.2 ว่าอยู่ที่ตำแหน่งใด โดยการทำเครื่อง หมาย I ลงบนสเกลเส้นตรง และบอกถึงความเข้มของแต่ละคุณลักษณะดังกล่าวของตัวอย่างตามที่ผู้ทดสอบชิมคิดว่าควรจะเป็น โดยการทำเครื่องหมาย X ลงบนสเกลเดียวกัน จากนั้นนำผลการทดสอบที่ได้ไปวิเคราะห์หาค่า Mean ideal ratio score แล้วนำค่าที่ได้ไปรายงานผลในรูปของแผนภาพเค้าโครงผลิตภัณฑ์ (Ideal ratio profile)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1.4 นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนยแข็งมอซซาเรลลามาวิเคราะห์คุณภาพ ดังนี้

- คุณภาพทางกายภาพ ค่าแรงกด (Compression Force) โดยใช้หัววัด P/50 ความเร็วก่อนกด (ความเร็วในการเคลื่อนที่ของหัวกดจากจุดตั้งต้นก่อนถึงก้อนเนยแข็ง) 2.00 มิลลิเมตรต่อวินาที ความเร็วขณะทำการกด 1.00 มิลลิเมตรต่อวินาที และความเร็วหลังการกด 1.00 มิลลิเมตรต่อวินาที การผิดรูป 75 เปอร์เซ็นต์ วัดค่าแรงกดเป็นหน่วยนิวตัน (Newton) และวัดค่าสีโดยใช้เครื่องวัดสี Minolta (Minolta Camera Ltd., 1991) ในหน่วย Hunter (L a b)
- คุณภาพทางเคมี ปริมาณกรดทั้งหมดที่สามารถไตเตรทได้ (Total titratable acidity) (AOAC, 2000) ค่าความเป็นกรด – ด่าง โดยใช้ pH meter Hanna HI – 9321 ปริมาณไขมัน (Fat content) ตามวิธี Roese – Gottlieb (AOAC, 2000) ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Macro Kjeldahl (AOAC, 2000) ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000) และปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)
- คุณภาพทางจุลินทรีย์ ตรวจนับจำนวนแบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลางและชอบอากาศ (Mesophillic aerobic bacteria) (เรณู, 2543) ตรวจนับยีสต์และรา (Yeast and Mold) (เรณู, 2543) โดยทดสอบสูตรละ 2 ก้อน แต่ละก้อนวัด 3 ความเจือจาง ได้แก่ 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3} ความเจือจางละ 2 ซ้ำ ตรวจนับแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (Coliform bacteria) (เรณู, 2543) โดยทดสอบสูตรละ 2 ก้อน ก้อนละ 1 ซ้ำ

1.5 นำสมุนไพรที่ใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเนยแข็งรสสมุนไพรมาทำการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ ดังนี้

1.5.1 การเตรียมอาหาร Dextrose Tryptone Bromcresol Purple Agar

Peptone	10	กรัม
Glucose	5	กรัม
Bromcresol Purple	0.04	กรัม
Agar	15	กรัม
Water	1000	มิลลิลิตร

ชั่งสารละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร นำไปต้ม ระหว่างต้มต้องคนบ่อยๆ เพื่อไม่ให้วุ้นติดก้นภาชนะ พอสารละลายหมดจึงปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ^{0}ซ 15 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1.5.2 ทำเจือจางโดยชั่งตัวอย่างสมุนไพร 10 กรัม ใส่ในน้ำฆ่าเชื้อ 90 มล. จำนวน 1 ขวด ตั้งทิ้งไว้ให้เศษอาหารตกตะกอน แล้วดูดสารละลายด้านบนมาทำเจือจางที่ 10^{-2} , 10^{-4} แล้วนำมาตรวจวิเคราะห์ ดังนี้

- **Total count** ทำ pour plate ตัวอย่างอาหารเจือจางที่ 10^{-2} ,10^{-4} ใช้อาหาร PCA 50 มล. ความเจือจางละ 2 จาน บ่มที่ 30^{0}ซ นาน 2-3 วัน
- **Yeast and Mould และ Acid tolerant bacteria** ทำ pour plate ตัวอย่างอาหารเจือจางที่ 10^{-2} ,10^{-4} ความเจือจางละ 2 จาน ใช้อาหาร PDA pH 3.5 จำนวน 50 มล. บ่มที่ 30^{0}ซ นาน 2-3 วัน
- **Aerobic thermophiles** ทำ pour plate ตัวอย่างอาหารเจือจางที่ 10^{-2} ,10^{-4} ใช้ PCA 50 มล. ความเจือจางละ 2 จาน บ่มที่ 55 ^{0}ซ 48 ชม.
- **Aerobic Spore Formers** นำตัวอย่างอาหารเจือจางที่ 10^{-2} ,10^{-4} ต้มเดือด 5 นาที แล้วหยดน้ำที่ฆ่าเชื้อแล้วลงไปในหลอดจนได้ปริมาตรเท่าเดิมก่อนต้ม แล้วหาเชื้อดังต่อไปนี้

I. Mesophilic type

- ทำ pour plate ตัวอย่างอาหารเจือจางที่ 10^{-2} ,10^{-4} ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Dextrose tryptone agar ความเข้มข้นละ 2 จาน เททับด้วยอาหารวุ้น 2% บ่มที่ 30° ซ นาน 48 ชม.
- ตรวจหา Acid spore former bacteria โดยการทำ pour plate ตัวอย่างอาหารที่ความเจือจางที่ 10^{-2} และ 10^{-4} ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Dextrose Tryptone Bromocresol Purple Agar ความเข้มข้นละ 2 จาน เททับด้วยอาหารวุ้น 2% บ่มที่ 30° ซ 48 ชม.

II. Thermophilic Flat Sour Type

- ปิเปตตัวอย่างอาหารที่เจือจาง 10^{-2} จำนวน 5 มล. ใส่ในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ Dextrose Tryptone Bromocresol Purple Agar (DTBPA) จำนวน 50 มล. จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่ 5 ปอนด์ (110° ซ) นาน 10 นาที
- ทำให้เย็นลงที่ 45° ซ เทใส่จานเพาะเชื้อ 3 จาน ทิ้งไว้ให้อาหารวุ้นแข็งตัว
- บ่มที่ 55 °ซ 48 ชม. นับโคโลนีเฉพาะของ Flat Sour (โคโลนีที่มีสีเหลืองล้อมรอบ) ต่อตัวอย่างอาหาร 1 กรัม รายงานผลเป็น cfu/กรัมของตัวอย่างอาหาร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- **Anaerobic Spore Formers**
  - **Total Count** ทำ pour plate ใน PCA ที่ 10^{-2}, 10^{-4} ความเจือจาง ความเจือจางละ 2 จาน เททับด้วยอาหารวุ้น 2% บ่มภายใต้สภาวะไร้อากาศ ที่ 32^{0} ซ 3 วัน
  - **Total Count** โดยปิเปตตัวอย่างอาหารเจือจางระดับ 10^{-2} ,10^{-4} จำนวน 1 มล. ลงในหลอดอาหาร PCA อุณหภูมิ 45-50 ^{0} ซ ที่บรรจุในหลอดๆ ละ 10 มล. ทำกลุ่มละ 2 หลอด เขย่าให้เข้ากันเบาๆ เมื่อวุ้นแข็งตัวแล้ว เททับด้วย reduced methylene blue agar ลงไปในหลอดๆ ละ 2 มล. บ่มที่ 32^{0} ซ 48-72 ชม. ตรวจผลโดยการใช้เลนส์
  - **Thermophilic Type-Producing Hydrogen Sulfite** โดยปิเปตตัวอย่างอาหารเจือจางระดับ 10^{-2} จำนวน 1 มล. ใส่ในหลอด Sulfite Iron Agar (หลอดละ 10 มล. หลอมเหลวไว้แล้ว ที่ 45 ^{0} ซ กลุ่มละ 2 หลอด) เขย่าเบาๆ ให้ทั่ว ปล่อยให้แข็งตัว แล้วบ่มในอ่างน้ำอุ่นที่ 55 ^{0}ซ 10 นาที แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มที่ 55 ^{0}ซ นาน 48 ชม. นับโคโลนีที่มีสีดำ

ตอนที่ 2 ศึกษาอัตราส่วนและปริมาณของสมุนไพรที่เหมาะสม

2.1 กระบวนการผลิตเนยแข็งมอซซาเรลลาสมุนไพร (ดัดแปลงจากเรณูและคณะ, 2544)

2.1.1 นำน้ำนมดิบ 20 ลิตรที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส มาเติมกรดอะซิติคความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ลงไป 1 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณนมที่ใช้ (เติมกรดอะซิติค 20 มิลลิลิตร) กวนอย่างรวดเร็วเป็นเวลา 2 นาที

2.1.2 เติมแคลเซียมคลอไรด์ลงไป 0.02 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณนม (4 กรัม) โดยนำไปละลายด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร และใส่เอนไซม์เรนเนท 0.0025 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณนม (0.05 กรัม) ในรูปสารละลายเช่นเดียวกับแคลเซียมคลอไรด์ ที่อุณหภูมิ 30 – 32 องศาเซลเซียส

2.1.3 ทิ้งไว้ให้เกิดตะกอนนม (curd) ประมาณ 15 – 20 นาที

2.1.4 ใช้มีดตัดเคิร์ดตามแนวตั้งและแนวนอนให้เป็นรูปลูกบาศก์เล็กๆ ขนาด 4 – 6 มิลลิเมตร กวนเคิร์ด 25 นาที แล้วแยกเอาน้ำเวย์ออกจากเคิร์ด

2.1.5 นำเคิร์ดในกระชอนไปชั่ง โดยให้ได้น้ำหนักก้อนละ 1500 กรัม แล้วตักเคิร์ดด้วยกระชอน นำไปลวกด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิประมาณ 85 – 90 องศาเซลเซียสในหม้อน้ำที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตั้งอยู่บนเตาแก๊สเป็นเวลา 10 นาที โดยระหว่างการลวกควรนวดโดยการยืดเคิร์ดด้วยส้อมเสียบเนื้อ พร้อมกับเติมสมุนไพรผสมลงไปแล้ว โดยใช้ขวดใส่พริกไทย

2.1.6 นำเคิร์ดที่ผ่านการลวกออกมาวางบนถาด แล้วใช้ลูกกลิ้งรีดเคิร์ดเพื่อแยกน้ำเวย์ออกให้มากที่สุด แล้วพับเคิร์ดครั้งที่ 1 แล้วรีดอีกครั้ง จากนั้นพับเคิร์ดครั้งที่ 2 และรีดเคิร์ดครั้งสุดท้าย

2.1.7 ม้วนเคิร์ดเป็นก้อน นำไปใส่แบบพิมพ์ แล้วนำไปแช่น้ำดื่มจำนวน 3 ลิตร ให้ท่วมเนยแข็งที่ได้ ที่อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง

2.1.8 นำเนยแข็งออกจากแบบพิมพ์ไปแช่ในน้ำเกลือความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ประมาณ 3 ลิตร เป็น เวลา 2 ชั่วโมง

2.1.9 นำเนยแข็งที่ผ่านการแช่น้ำเกลือแล้วบรรจุในถุงโพลีเอธิลีน

2.1.10 นำเนยแข็งที่บรรจุถุงแล้วไปเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 – 5 องศาเซลเซียส

<u>อัตราส่วนของสมุนไพรผสมที่ใช้เติมในเนยแข็งมอซซาเรลลา</u>

ทำการเติมสมุนไพรลงไปในขั้นตอนการนวดเคิร์ดในอัตราส่วนดังนี้ ข่าและหอมแดงอย่างละ 25 เปอร์เซ็นต์ และตะไคร้ 50 เปอร์เซนต์ ของปริมาณสมุนไพรที่เติมทั้งหมด ในการทดลองจะประกอบด้วย เนยแข็งมอซซาเรลลาที่ไม่มีการเติมสมุนไพร (ชุดควบคุม) และ 3 หน่วยทดลอง (treatments) ได้แก่ เนยแข็งมอซซาเรลลาที่มีการเติมสมุนไพรร้อยละ 0.4 ของปริมาณเคิร์ด เนยแข็งมอซซาเรลลาที่มีการเติมสมุนไพรร้อยละ 0.6 ของปริมาณเคิร์ด และเนยแข็งมอซซาเรลลาที่มีการเติมสมุนไพร ร้อยละ 0.8 ของปริมาณเคิร์ด โดยน้ำนมดิบ 20 ลิตร จะได้เคิร์ดประมาณ 3 กิโลกรัม แบ่งเคิร์ดออกเป็น 2 ก้อน ทำเช่นนี้ 4 ครั้ง สำหรับการทดลอง 4 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 ก้อน

2.1.11 นำเนยแข็งมอซซาเรลลาชุดควบคุมซึ่งไม่ได้เติมสมุนไพรและชุดทดลองที่มีการเติมสมุนไพรร้อยละ 0.4 ของปริมาณเคิร์ด ชุดทดลองที่มีการเติมสมุนไพรร้อยละ 0.6 ของปริมาณเคิร์ด และชุดทดลองที่มีการเติมสมุนไพรร้อยละ 0.8 ของปริมาณเคิร์ดมาวิเคราะห์คุณภาพตามข้อ 1.3 และ 1.4

โดยการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมีและจุลินทรี มีวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) คือมีการเติมสมุนไพร 3 ระดับ ได้แก่ 0.4, 0.6 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ แต่ละระดับเตรียมเหมือนกัน 2 ก้อน (2 ซ้ำ)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

นำไปวิเคราะห์ทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ส่วนการทดสอบทางประสาทสัมผัส มีการวางแผนการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design: RCBD โดยเนยแข็งที่มีการเติมสมุนไพรทั้ง 3 ระดับ แต่ละระดับเตรียม 2 ก้อนที่เหมือนกัน แต่ละก้อนนำไปทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยมีผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส 10 คน

2.2 การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของสมุนไพรแต่ละชนิด

2.2.1 จากเค้าโครงผลิตภัณฑ์ของเนยแข็งโมซซาเรลลาที่มีการเติมสมุนไพรทั้ง 3 ระดับ เลือกชุดทดลองที่มี Ideal ratio score ของคุณลักษณะต่างๆ เข้าใกล้ 1 มากที่สุดมาทำการพัฒนาต่อไป โดยมีการวางแผนการทดลองแบบ Mixture Design วิธี D – optimal เพื่อหาอัตราส่วนผสมระหว่างสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ข่า หอมแดงและตะไคร้ โดยมีการกำหนดระดับต่ำสุดและสูงสุดของสมุนไพรแต่ละชนิด ดังนี้

	ระดับต่ำสุด (%)	ระดับสูงสุด (%)
ข่า	20	30
หอมแดง	20	30
ตะไคร้	45	55

เมื่อนำไปคำนวณหาสูตรอัตราส่วนผสมระหว่างสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด จะได้ 14 สูตร ดังตารางที่ 2.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2.1 แสดงอัตราส่วนผสมระหว่างสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ข่า หอมแดงและตะไคร้

สูตรที่	ข่า (%)	หอมแดง (%)	ตะไคร้ (%)
1	25	20	55
2	25	22.5	52.5
3	30	22.5	27.5
4	25	30	45
5	30	25	45
6	20	30	50
7	30	25	45
8	25	20	55
9	20	25	55
10	30	20	50
11	20	27.5	52.5
12	25	25	50
13	30	20	50
14	25	30	45

2.2.2 นำเนยแข็งมอซซาเรลลาทั้ง 14 สูตร มาทำการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสตามข้อ 1.3 และวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ และทางเคมี ได้แก่ ค่าแรงกด ค่าสีในระบบ Hunter (L a b) และปริมาณความชื้น เพื่อหาสูตรอัตราส่วนของสมุนไพรที่ดีที่สุดแล้วจึงนำเอาสูตรที่ได้นี้ไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เนยแข็งเกาด้าสมุนไพรต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 3 การผลิตเนยแข็งเกาด้าสมุนไพรต้นแบบจากสูตรที่ดีที่สุด

3.1 กระบวนการผลิตเนยแข็งเกาด้าสมุนไพรต้นแบบ (ดัดแปลงจาก Kosikowski, 1982)

3.1.1 นำน้ำนมดิบจำนวน 20 ลิตรที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส ไปต้มฆ่าเชื้อในหม้อที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

3.1.2 นำน้ำนมจากข้อ 3.1.1 ไปไปแช่น้ำเย็นจนอุณหภูมิลดลงใกล้ถึง 31 องศาเซลเซียส แล้วนำไปเทใส่ในอ่างน้ำอุ่นขนาด 40 ลิตร จากนั้นเติมเอนไซม์เรนเนท 0.5 กรัม แคลเซียมคลอไรด์ 4 กรัมและกล้าเชื้อตั้งต้น 0.02 กรัมลงไปตามลำดับ กวนเบาๆ แล้วปล่อยทิ้งไว้ 30 นาทีเพื่อให้เกิดการตกตะกอนนม (curd)

3.1.3 ตัดเคิร์ดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ตามแนวนอนและแนวตั้ง แล้วกวนเคิร์ด เพื่อให้น้ำเวย์แยกตัวออกมา จากนั้นปล่อยน้ำเวย์ออกประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์

3.1.4 ปรับอุณหภูมิเคิร์ดให้เป็น 38 องศาเซลเซียสโดยการเติมน้ำอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสลงไป กวนเป็นเวลา 30 นาที

3.1.5 ตักเคิร์ดออกมาวางในถาด แล้วโรยผงสมุนไพรผสมลงไป โดยใช้ขวดใส่พริกไทย คลุกเคิร์ดกับสมุนไพรให้สมุนไพรกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ

3.1.6 นำเคิร์ดที่คลุกกับสมุนไพรแล้วไปใส่ในพิมพ์แล้วอัดให้แน่นด้วยมือ เพื่อไล่น้ำเวย์ออก เมื่อผ่านไป 1 ชั่วโมง กลับด้านเนยแข็งแล้วอัดให้แน่นโดยการใช้น้ำหนักทับอีก 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำออกจากพิมพ์

3.1.7 นำเนยแข็งเกาด้าที่ผ่านการอัดแล้วไปแช่น้ำเย็นอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสให้ท่วมเคิร์ด 1 คืน แล้วนำไปแช่น้ำเกลือ 20 เปอร์เซ็นต์ อีก 8 ชั่วโมง

3.1.8 นำเนยแข็งไปบ่มในตู้เย็นอุณหภูมิ 12 - 15 องศาเซลเซียส นาน 4 สัปดาห์

3.1.9 กลับด้านเนยแข็งทุกๆ 1 สัปดาห์ และนำเนยแข็งมาราดด้วยน้ำเกลือ โดยนำเนยแข็งออกมาวางบนถาดอะลูมิเนียมแล้วเทน้ำเกลือราดลงไป แล้วนำก้อนเนยแข็งไปบ่ม ณ ที่เดิม

3.2 นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนยแข็งเกาด้าต้นแบบมาวิเคราะห์คุณภาพหลังสิ้นสุดการบ่ม ตามข้อ 1.2, 1.3, 1.4 และตรวจหาปริมาณแบคทีเรียแลคติค โดยทดสอบ 2 ก้อน แต่ละก้อนวัด 3 ความเจือจาง ได้แก่ 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3} ความเจือจางละ 2 ซ้ำ (นงคราญ, 2539)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 4 การศึกษาขั้นตอนการเติมสมุนไพรที่เหมาะสมในการผลิตเนยแข็งเกาด้าสมุนไพร

4.1 กระบวนการผลิตเนยแข็งเกาด้าสมุนไพร (Kosikowski, 1982)

4.1.1 นำน้ำนมดิบจำนวน 40 ลิตรที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียสใส่ในถังนมขนาด 50 ลิตร สำหรับเนยแข็งเกาด้าแบบเติมสมุนไพรในนม เติมสมุนไพรลงในนม จากนั้นจึงนำนมที่ใส่สมุนไพรไปต้มฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

4.1.2 นำน้ำนมจากข้อ 4.1.1 มาไปปรับอุณหภูมิให้ได้ 31 องศาเซลเซียสโดยในอ่างน้ำเย็นที่ปรับอุณหภูมิได้ และเติมเอนไซม์เรนเนท 1 กรัม แคลเซียมคลอไรด์ 4 กรัมและกล้าเชื้อตั้งต้น 0.02 กรัมลงไปตามลำดับ กวนเบาๆ แล้วปล่อยทิ้งไว้ 30 นาทีเพื่อให้เกิดการตกตะกอนนม

4.1.3 ตัดเคิร์ดด้วยมีดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ตามแนวนอนและแนวตั้ง แล้วกวนเคิร์ดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อให้น้ำเวย์แยกตัวออกมา จากนั้นปล่อยน้ำเวย์ออกประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์

4.1.4 ปรับอุณหภูมิเคิร์ดให้เป็น 38 องศาเซลเซียสโดยการเติมน้ำอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ลงไปประมาณ 5 ลิตร กวนเป็นเวลา 30 นาที แล้วปล่อยน้ำเวย์ที่เหลือออกทั้งหมด โดยเอาตะแกรงมาวางรับเคิร์ดไว้

4.1.5 ตักเคิร์ดใส่ในพิมพ์แล้วทำการอัดเคิร์ดครั้งแรกและสำหรับเนยแข็งเกาด้าแบบเติมสมุนไพรในเคิร์ด ในขั้นตอนก่อนที่จะทำการอัดเคิร์ด ได้โรยผงสมุนไพรลงไปด้วย ขวดพริกไทย แล้วคลุกเคิร์ดกับสมุนไพรให้เข้ากัน จากนั้นนำเอาถังนม 50 ลิตรใส่น้ำประมาณครึ่งถังไปวางทับบนพิมพ์ เพื่อไล่น้ำเวย์ออก เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

4.1.6 นำเคิร์ดไปอัดต่อด้วยแท่นอัดไฮดรอลิก โดยใช้ความดัน 5 บาร์ (bar) เมื่อผ่านไป 1 ชั่วโมง กลับด้านเนยแข็งแล้วอัดต่ออีก 1 ชั่วโมง ด้วยความดันเท่าเดิม

4.1.7 นำเนยแข็งเกาด้าที่ผ่านการอัดแล้วไปแช่น้ำเย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสประมาณ 5 ลิตรหรือให้ท่วมเนยแข็ง 1 คืน แล้วนำไปแช่น้ำเกลือ 20 เปอร์เซ็นต์จำนวน 5 ลิตร อีก 8 ชั่วโมง

4.1.8 นำเนยแข็งไปบ่มในตู้เย็นอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส นาน 4 สัปดาห์

4.1.9 กลับด้านเนยแข็งทุกๆ 1 สัปดาห์ และนำเนยแข็งมาราดด้วยน้ำเกลือ โดยนำเนยแข็งออกมาวางบนถาดอะลูมิเนียมแล้วเทน้ำเกลือราดลงไปในทั่วพื้นที่ผิวเนยแข็ง เพื่อลดการเจริญเติบโตของราบริเวณผิวเนยแข็ง แล้วจึงนำเนยแข็งกลับไปบ่มที่เดิม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ขั้นตอนการเติมสมุนไพรลงในเนยแข็งเกาด้า

นำสูตรอัตราส่วนของสมุนไพรที่ดีที่สุดจากการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสของเนยแข็งมอซซาเรลลามาเติมลงในเนยแข็งเกาด้า โดยมีการทดลองเติมสมุนไพรในขั้นตอนที่ต่างกัน ดังนี้

ชุดควบคุม	ไม่มีการเติมสมุนไพรลงไปในเนยแข็งเกาด้า
ชุดการทดลองที่ 1	เติมสมุนไพรลงไปในน้ำนมดิบก่อนฆ่าเชื้อ
ชุดการทดลองที่ 2	เติมสมุนไพรลงไปในเคิร์ดก่อนนำไปอัดด้วยถังนม

โดยน้ำนมดิบ 40 ลิตร จะได้เคิร์ดประมาณ 5 กิโลกรัม แบ่งเคิร์ดออกเป็น 2 ก้อน ทำเช่นนี้ 3 ครั้งสำหรับการทดลอง 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 2 ก้อน

4.2 นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์เนยแข็งเกาด้าทั้ง 3 ชุดการทดลองไปวิเคราะห์คุณภาพในสัปดาห์ที่ 0, 2 และ 4 ตามข้อ 1.2, 1.3, 1.4 และ 3.2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved