

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบ

1. ผลแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงสดได้จากสวนในตำบลบ้านม่วง อำเภอเนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลก

พืชสมุนไพร

2. นมขาดมันเนย พาสเจอร์ไรส์ (Skim-milk pasteurized, CP MEIJI)
3. น้ำตาลทราย (sugar, MITR PHOL)
4. ครีมจากนํ้านมวัว (Whipping cream pasteurized, Nestle)
5. หางนมผง (Skim-milk, MMD 8000)
6. กลิ่นวานิลลา (Vanilla, PHULIN & PHURICH)

สารเคมี (Analytical Reagent Grade)

1. โฟลีน-ซีโอคาลเทอ ฟีนอล ทีเอส (Folin - Ciocalteu Phenol TS, VWR)
2. กรดแกลลิก (Gallic acid, Fluka)
3. โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate, Merck)
4. DPPH (2,2 - diphenyl - 1 - picrylhydrazyl; DPPH, Fluka)
5. เมทานอล (methanol)
6. ปีโตรเลียม อีเทอร์ (Petroleum ether, Merck)
7. คตะลิสต์ผสม (Catalyst mixture, Merck)
8. กรดบอริก (Boric acid, Fisher)
9. อินดิเคเตอร์ผสม (Mixed indicator, Merck)
10. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, Merck)
11. กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid, Fisher)
12. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (potassium hydroxide, Merck)

13. เอ็น-ออกทานอล (n-octanol, Merck)
14. อะซิโตน (acetone, Merck)
15. เปปโตน (Peptone, Merck)
16. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับรา-ยีสต์ (Rose Bengal agar, Fluka)
17. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar (PCA, Merck)
18. อาหารเลี้ยงเชื้อ Monnitol Salt Agar (MSA, Merck)
19. อาหารเลี้ยงเชื้อ TSC (Tryptose sulphite cycloserine agar, Merck)
20. อาหารเลี้ยงเชื้อ Salmonella Shigella Agar (SSA, Merck)
21. อาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl sulphate tryptose broth (LST, Merck)
22. สารทดแทนไขมันประเภทคาร์โบไฮเดรต N-LITE D (National Starch & Chemical (Thailand) Ltd.)
23. สารทดแทนไขมันประเภทคาร์โบไฮเดรต ALPHA TAPIOCA STARCH (Thai Wah Alpha Starch Co.,Ltd.)
24. สารทดแทนไขมันประเภทคาร์โบไฮเดรต BENEOL GR (DPO (Thailand) Ltd.)
25. สารช่วยความคงตัว/อิมัลซิไฟเออร์ Palsgaard® 5988 (DPO (Thailand) Ltd.)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ปีเปต 10 มิลลิลิตร
2. ไมโครปีเปต
3. หลอดทดลอง
4. ไวลูเมตริกฟลาสก์ 100 และ 250 มิลลิลิตร
5. ปีกเกอร์ 100 มิลลิลิตร
6. กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman)
7. ถ้วยวิเคราะห์ความชื้น (Moisture can)
8. กระบอกตวง
9. ถ้วยกระเบื้องพร้อมฝา (Porcelain crucible)

10. แท่งแก้วคน
11. ลวดตาข่าย
12. กะละมัง
13. พายไม้หรือพายพลาสติก
14. อุปกรณ์ทดสอบชิม
15. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (Metler-Toledo, AG 204)
16. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Shimadzu, UV-1201V)
17. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Horiba Model, F-21 และ Consort, C830)
18. ตู้แช่เยือกแข็ง (SANDENINTERCOOL, SHF-320SAD)
19. เครื่องทำไอศกรีม (Taylor, 103)
20. เทอร์โมมิเตอร์
21. เครื่องวัดความชื้น
22. โฮโมจีไนเซอร์ (ACE Homogenizer, AM-10)
23. เตาเผา (Muffle furnace)
24. เตาไฟฟ้า (Hot plate)
25. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
26. เครื่องวิเคราะห์เชื้อย (VELP SCIENTIFIC, FINE 6)
27. เครื่องวัดความหนืด (Brookfield Viscometer, DV 111)
28. เครื่องผสมอาหาร (KitchenAid, K5ss)
29. โถดูดความชื้น (Duran)
30. เครื่องบดผสม (Sharp)
31. เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไขมันและน้ำมัน (Buchi, B-810)
32. เครื่องวิเคราะห์โปรตีน (Buchi, B 323)
33. เครื่องย่อยตัวอย่างอาหาร (Velp, DK6/48)
34. เครื่องวัดสี (Hunter Lab, DP9000)

35. ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator, 1535)

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

ตอนที่ 1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดง

นำผลแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงที่มีอายุ 45-50 วันหลังจากออกดอก โดยได้จากสวนในตำบลบ้านม่วง อำเภอเนินมะปราง จังหวัดพิษณุโลก จากนั้นนำมาปอกเปลือกนอกออก ตัดแต่งส่วนที่เน่าเสียหรือมีแมลงเจาะทำลายออกไป หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ก่อนบดเป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องผสมอาหาร (KitchenAid Model K5ss, Whirlpool Corp., USA) จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีดังต่อไปนี้

1. ความชื้น โดยการอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส (A.O.A.C, 1995)
2. โปรตีน โดยวิธี Micro Kjeldahl (A.O.A.C, 1995)
3. ไขมัน สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์ (A.O.A.C, 1995)
4. โยอาหาร โดยการต้มในกรดและด่าง (A.O.A.C, 1995)
5. เถ้า โดยการเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส (A.O.A.C, 1995)
6. คาร์โบไฮเดรต โดยการนำค่าในข้อ 1.1-1.5 ลบจาก 100 (A.O.A.C, 1995)
7. ปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocalteu (Wu, et al., 2006)
8. ปริมาณเบต้าไซยานิน โดยวิธี spectrophotometry (Wu, et al., 2006)
9. แอคติวิตีการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช หรือ DPPH radical scavenging activity (Wu, et al., 2006)

ตอนที่ 2 ศึกษาปริมาณเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงที่เหมาะสมในไอศกรีมสูตรพื้นฐาน

ไอศกรีมสูตรพื้นฐานดัดแปลงจาก Marshall and Arbuckle (1996) ซึ่งเป็นสูตรไอศกรีมผลไม้ โดยมีส่วนผสมประกอบด้วย ครีมจากนํ้านมวัว ร้อยละ 10.0 หางนมผง ร้อยละ 11.5 น้ำตาล ร้อยละ 10.0 และสารช่วยความคงตัว/อิมัลซิไฟเออร์ คือ พาลส์การ์ด 5988 (Palsgaard® 5988) ร้อยละ 0.5 ส่วนกลิ่นวานิลลาใช้ในปริมาณ 3 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของส่วนผสมข้างต้น

กรรมวิธีการผลิตไอศกรีมดัดแปลงจาก Goff (1997) โดยนำส่วนผสมทั้งหมดยกเว้นกลิ่นวานิลลา ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปให้ความร้อนแบบพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นนำส่วนผสมไปโฮโมจีไนซ์ที่ 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที โดยใช้เครื่องโฮโมจีไนซ์ (ACE Homogenizer Model AM-10, Nihonseiki Kaisha Co., Ltd, Japan) ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสและบ่มที่อุณหภูมิดังกล่าวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากบ่มแล้วให้เติมกลิ่นวานิลลาลงไป ผสมให้เข้ากัน ก่อนนำเข้าเครื่องทำไอศกรีม (Taylor model 103, Taylor Co. Ltd., USA) ใช้เวลาผลิต 30 นาที จากนั้นนำไอศกรีมสุตรควบคุมที่ได้บรรจุลงถ้วยพลาสติกความจุ 500 มิลลิลิตรและปิดฝา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

การศึกษาปริมาณเนื้อแกว้มังกัรพันธุ์เนื้อแดงที่เหมาะสมในไอศกรีมสุตรควบคุม โดยนำเนื้อแกว้มังกัรพันธุ์เนื้อแดงที่แยกด้วยวิธีดังข้อ 1 มาผสมดังนี้ ร้อยละ 10, 20 และ 30 ของส่วนผสมของไอศกรีมสุตรพื้นฐานข้างต้น (ไม่รวมกลิ่นวานิลลา) ก่อนนำไปผลิตเป็นไอศกรีมแกว้มังกัรพันธุ์เนื้อแดงตามกรรมวิธีที่กล่าวมาแล้ว จากนั้นติดตามผลการทดลองจากสมบัติของไอศกรีมดังต่อไปนี้

1. การทดสอบทางประสาทสัมผัส ใช้แผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block design) และทดสอบด้วยวิธีให้คะแนนความชอบ (Hedonic scale) ซึ่งมีระดับคะแนน 1-9 (1 = ไม่ชอบมากที่สุด ถึง 9 = ชอบมากที่สุด) ใช้แนวทางการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ปรับปรุงจาก Aime, et al. (2001) โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 50 คน ปัจจัยที่ทดสอบได้แก่ ความเรียบเนียน สี กลิ่นรส ความมัน ความเหนียวหนืด การละลายในปาก (Prindiville, Marshall, and Heymann, 1999) จากนั้นเลือกไอศกรีมแกว้มังกัรสุตรที่ดีที่สุดเพื่อนำไปศึกษาในลำดับต่อไป

2. ศึกษาสมบัติทางเคมี-กายภาพของไอศกรีมแกว้มังกัรเนื้อแดงสุตรพื้นฐาน ทั้ง 3 สุตร ดังนี้

- 2.1 ความเป็นกรด-ด่าง โดยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Consort Model C830, Consort, NV., Belgium)

- 2.2 ความหนืด (Chang, Marshall, and Heymann, 1995)

- 2.3 ค่าไอเวอร์รัน (AOAC, 1995)

- 2.4 อัตราการละลาย (Garcia, Marshall, and Heymann, 1995)

- 2.5 ค่าสี (Hunter Lab, DP9000)

3. ศึกษาสมบัติทางเคมีของไอศกรีมแก้วมังกรเนื้อแดงสูตรพื้นฐาน โดยนำไอศกรีมแก้วมังกรเนื้อแดงสูตรที่ผ่านการคัดเลือกด้วยวิธีประเมินผลทางประสาทสัมผัสมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีดังข้อ 1.1-1.9

ตอนที่ 3 ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของสารทดแทนไขมันประเภทคาร์โบไฮเดรตในไอศกรีมแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดง

เนื่องจากไอศกรีมแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดง จัดเป็นไอศกรีมผสมเนื้อผลไม้ชนิดดัดแปลงตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 222 (พ.ศ. 2544) ซึ่งตามข้อบังคับของกฎหมายกำหนดให้มีปริมาณไขมันไม่น้อยกว่าร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก โดยไม่นับรวมน้ำหนักของผลไม้ ดังนั้นจึงแปรผันปริมาณของสารทดแทนไขมันประเภทคาร์โบไฮเดรตเป็น 3 ระดับ คือ ร้อยละ 1, 3 และ 5 โดยน้ำหนักของส่วนผสมไอศกรีม ซึ่งจะผันแปรตามปริมาณไขมัน (ครีมจากนํ้านมวัว) ที่ลดลง และของสารทดแทนไขมันประเภทคาร์โบไฮเดรตที่ใช้มี 3 ชนิด คือ เอ็น-ไลต์ ดี (N-LITE D บริษัทเนชั่นเนลสตาร์ช แอนด์ เคมิคัล ประเทศไทย จำกัด) แอลฟา ทาพิโอกา สตาร์ช (ALPHA TAPIOCA STARCH, บริษัทไทวา แอลฟาสตาร์ช จำกัด) และเบนีโอ จีอาร์ (BENEO GR บริษัทดีพีโอประเทศไทย จำกัด)

สำหรับไอศกรีมแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงจะมีส่วนผสมประกอบด้วย ครีมจากนํ้านมวัว ร้อยละ 9.0, 7.0 และ 5.0 (ตามปริมาณของสารทดแทนไขมันประเภทคาร์โบไฮเดรตที่เพิ่มขึ้น) หางนมผงร้อยละ 11.5 น้ำตาลร้อยละ 10.0 และสารช่วยความคงตัว/อิมัลซิไฟเออร์ คือ พาลส์การ์ด 5988 (Palsgaard® 5988) ร้อยละ 0.5 ส่วนกลิ่นวานิลลาจะใช้ในปริมาณ 3 มิลลิลิตร/กิโลกรัมของส่วนผสมข้างต้น โดยในสูตรจะมีปริมาณเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงที่เหมาะสมตามที่ได้ศึกษาในตอนี่ 2 และแปรผันปริมาณการใช้สารทดแทนไขมันประเภทคาร์โบไฮเดรต 3 ชนิด ดังกล่าวข้างต้น ทั้งนี้มีไอศกรีมแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงชนิดไขมันร้อยละ 10 เป็นสูตรพื้นฐาน

จากนั้นนำไปผลิตเป็นไอศกรีมแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงตามกรรมวิธีที่กล่าวมาแล้วในข้อ 2 แล้ววิเคราะห์ผลจากการทดสอบทางประสาทสัมผัส ตามข้อ 2.1 เพื่อคัดเลือกไอศกรีมแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงที่ใช้สารทดแทนไขมันแต่ละชนิดซึ่งมีผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ดีที่สุดไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

ตอนที่ 4 เปรียบเทียบสมบัติของไอศกรีมแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงสูตรพื้นฐานกับสูตรที่ใช้สารทดแทนไขมันประเภทคาร์โบไฮเดรตทั้งสามชนิด

นำไอศกรีมสูตรพื้นฐานที่ได้จากการศึกษาในข้อ 2 และสูตรที่ใช้สารทดแทนไขมันประเภทคาร์โบไฮเดรตแต่ละชนิดที่ได้จากการศึกษาในข้อ 3 มาศึกษาเปรียบเทียบสมบัติต่อไปนี้

1. สมบัติทางประสาทสัมผัสตามข้อที่ 2.1
2. องค์ประกอบทางเคมี ตามข้อที่ 1.1-1.9
3. สมบัติทางกายภาพ ตามข้อที่ 2.3.1-2.3.6
4. สมบัติด้านจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ โดยหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณยีสต์ และรา *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella*, Coliforms และ *Escherichia coli* (AOAC, 1995)
5. ค่าพลังงาน (สำนักงานกรรมการอาหารและยา, 2541)

ตอนที่ 5 วิเคราะห์ต้นทุนการผลิต

ใช้ข้อมูลราคาของวัตถุดิบทุกชนิดที่ใช้ในการผลิตไอศกรีมแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงสูตรพื้นฐาน ไอศกรีมแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงสูตรที่ใช้สารทดแทนไขมันประเภทคาร์โบไฮเดรต คือ N-LITE D, ALPHA TAPIOCA STARCH และ BENEOL GR สูตรที่ดีที่สุด มาวิเคราะห์ต้นทุนวัตถุดิบและเปรียบเทียบต้นทุนของไอศกรีมทั้ง 4 ชนิด