

## บทที่ 2

### วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

#### วัสดุ

1. ส่วนต่างของน้ำมันปาล์ม (Palm oil)
  - 1.1 ปาล์มสเตียรีน (palm stearin) จากบริษัทชุมพรอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม จังหวัดชุมพร
  - 1.2 ปาล์มโอเลอิน (palm olein) จากบริษัทชุมพรอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม จังหวัดชุมพร
  - 1.3 น้ำมันปาล์มมิดแฟรคชัน (palm oil midfraction) จากบริษัทโอดินจำกัด จังหวัดสมุทรสาคร
2. กรดไขมันสเตียริก (stearic acid) เกรดผสมอาหาร ประเทศ มาเลเซีย
3. เอนไซม์ไลเปสตรึงรูป (Lipozyme IM) จากบริษัท Novo Nordisk ประเทศ เดนมาร์ก
4. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำมันปาล์ม ซึ่งประกอบด้วย ค่าเพอร์ออกไซด์ ค่าไอโอดีน ค่าสปอนนิฟิเคชัน และค่ากรดไขมันอิสระ
5. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ จากบริษัท Merck ประเทศ เยอรมนี
6. ส่วนผสมสำหรับผลิตช็อกโกแลต
  - 6.1 โกโก้แมส (cocoa mass) จากบริษัท ซีโน-แปซิฟิกเทรดดิ้ง (ไทยแลนด์) จำกัด
  - 6.2 เนยโกโก้ (cocoa butter) จากบริษัท สยามโกโก้โปรดักส์ จำกัด กรุงเทพฯ
  - 6.3 เลซิธิน (lecithin) จากบริษัท โซนัลแอสตันคาร์ด อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
  - 6.4 น้ำตาลไอซิ่ง จากร้านเบเกอร์รี่ เอ็นพีเบเกอร์มาร์ท อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา
7. เบ้าสำหรับขึ้นรูปช็อกโกแลต
8. ถูพลาสติกโพลีโพรพิลีน
9. อะลูมิเนียมฟอยล์

## อุปกรณ์

1. เครื่อง Texture Analyzer ยี่ห้อ Stable Micro Systems รุ่น TA-XT 2I ประเทศอังกฤษ
2. เครื่อง Differential Scanning Calorimetry ยี่ห้อ METTLER TOLEDO รุ่น FP90 Central Processor และ FP85 TA Cell ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
3. Thin-Layer Chromatography / Flame Ionization Detection (TLC/FID) ยี่ห้อ Iatron Laboratories รุ่น Iatrosan MK-5 ประเทศญี่ปุ่น
4. เครื่อง Shaker Water Bath ยี่ห้อ GFL รุ่น 1083 ประเทศไทย
5. เครื่องนวดซ็อกโกแลต (สร้างขึ้นเองสามารถควบคุมอุณหภูมิการนวดได้)
6. เครื่องไมโครเวฟยี่ห้อ Sharp รุ่น Quartz Grill ประเทศไทย
7. เครื่องวัดค่าความหนืด (Viscometer) ยี่ห้อ BROOKFIELD รุ่น DV-11+
8. เครื่อง melting point apparatus ยี่ห้อ FISHER – JOHNS ประเทศสหรัฐอเมริกา
9. เครื่องวัดค่าสี ยี่ห้อ HUNTER LAB รุ่น Color Flex ประเทศสหรัฐอเมริกา
10. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ METTLER รุ่น AB 204 ประเทศ สวิสเซอร์แลนด์
11. เครื่องชั่งหยาบทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ SARTORIUS รุ่น BP2100S ประเทศเยอรมนี
12. อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ทางเคมี
13. อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์
14. อุปกรณ์สำหรับทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส
15. ห้องควบคุมอุณหภูมิ 4 20 และ 25 องศาเซลเซียส

## วิธีการทดลอง

### 1. เตรียมไขมันเลียนแบบเนยโกโก้จากการตัดแปรน้ำมันปาล์ม

ทำการตัดแปรน้ำมันปาล์มโดยผสมปาล์มสเตียรีน (palm stearin, PS) ปาล์มโอเลอิน (palm olein, PO) และปาล์มมิดแฟรคชัน (palm midfraction, PMF) กับกรดไขมันสเตียริก (stearic acid, St) ในสัดส่วน 10:1 โดยน้ำหนัก เดิมเอนไซม์ไลเปส ร้อยละ 5 และน้ำร้อยละ 0.2 เขย่าที่ 120 รอบ/นาที โดยกำหนดให้เวลาในการทำปฏิกิริยา คือ 12 15 18 21 และ 24 ชั่วโมง และใช้อุณหภูมิในการทำปฏิกิริยา 45 55 และ 65 องศาเซลเซียส แล้วกรองเอนไซม์ออกโดยใช้กระดาษกรอง น้ำมันที่ได้จากกระบวนการนี้เรียกว่า ไขมันเลียนแบบเนยโกโก้ (cocoa butter like fat, CBL) นำไขมันที่ได้จากสถานะต่างๆ ไปทดสอบปริมาณไตรกลีเซอไรด์และกรดไขมันอิสระโดยวิธี TLC/FID และวิเคราะห์จุดหลอมเหลวด้วยเครื่อง Melting point apparatus เปรียบเทียบกับจุดหลอมเหลวของเนยโกโก้จากวิธีเดียวกัน เลือกสถานะที่ให้คุณสมบัติของน้ำมันใกล้เคียงกับเนยโกโก้ นำไปวิเคราะห์รูปแบบการหลอมเหลว และปริมาณไขมันส่วนแข็ง (Solid fat content, SFC) ด้วย Differential scanning calorimetry (DSC) (Reddy, *et al.*, 1996) คัดเลือกไขมันเลียนแบบเนยโกโก้ที่ให้คุณสมบัติใกล้เคียงกับเนยโกโก้มากที่สุด เพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาช็อกโกแลตต่อไป

### 2. คัดเลือกสูตรพื้นฐานในการผลิตภัณฑ์ช็อกโกแลตชนิดแท่งและชนิดเคลือบ

โดยในสูตรพื้นฐานจะประกอบด้วย โกโก้แมส น้ำตาล ไขมัน(เนยโกโก้) และเลซิทิน ทำการผลิตช็อกโกแลตชนิดละ 3 สูตร ดังแสดงในตารางที่ 18 และ 19 โดยใช้ไขมันเลียนแบบเนยโกโก้ในส่วนประกอบที่เป็นไขมันทั้งหมดตามกระบวนการผลิตในภาพที่ 13 นำช็อกโกแลตที่ได้วิเคราะห์ดังนี้

#### 2.1 ตรวจสอบคุณลักษณะของช็อกโกแลตชนิดแท่ง

2.1.1 วิเคราะห์ค่าความแข็งด้วยเครื่อง Texture Analyser ตามวิธีของ Ali และคณะ (2001) โดยวัดค่าแรงสูงสุดเมื่อกดลงไปเป็นระยะทางครึ่งหนึ่งของความสูงตัวอย่าง

2.1.2 วิเคราะห์รูปแบบการหลอมเหลวด้วยเครื่อง DSC ตามวิธีของ Reddy และคณะ (1996)

2.1.3 ทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้วยการให้คะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส กลิ่นรส และความชอบรวมโดยวิธี hedonic scale (9 คะแนน) ตามแบบประเมินที่แสดงในภาคผนวก ญ.ใช้ผู้ทดสอบชิมซึ่งคุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์ช็อกโกแลตจำนวน 25 คน

## 2.2 ตรวจสอบคุณลักษณะของช็อกโกแลตชนิดเคลือบ

2.2.1 วิเคราะห์ค่าความหนืด ด้วยเครื่องวัดค่าความหนืด ตามวิธี สุวรรณ สุภิมารส (2543)

2.2.2 วิเคราะห์การเคลือบติด โดยการชั่งน้ำหนักหาปริมาณช็อกโกแลตที่เกาะติดบนชิ้นขนมปัง

2.2.3 วิเคราะห์รูปแบบการหลอมเหลว เช่นเดียวกับข้อ 2.1.2

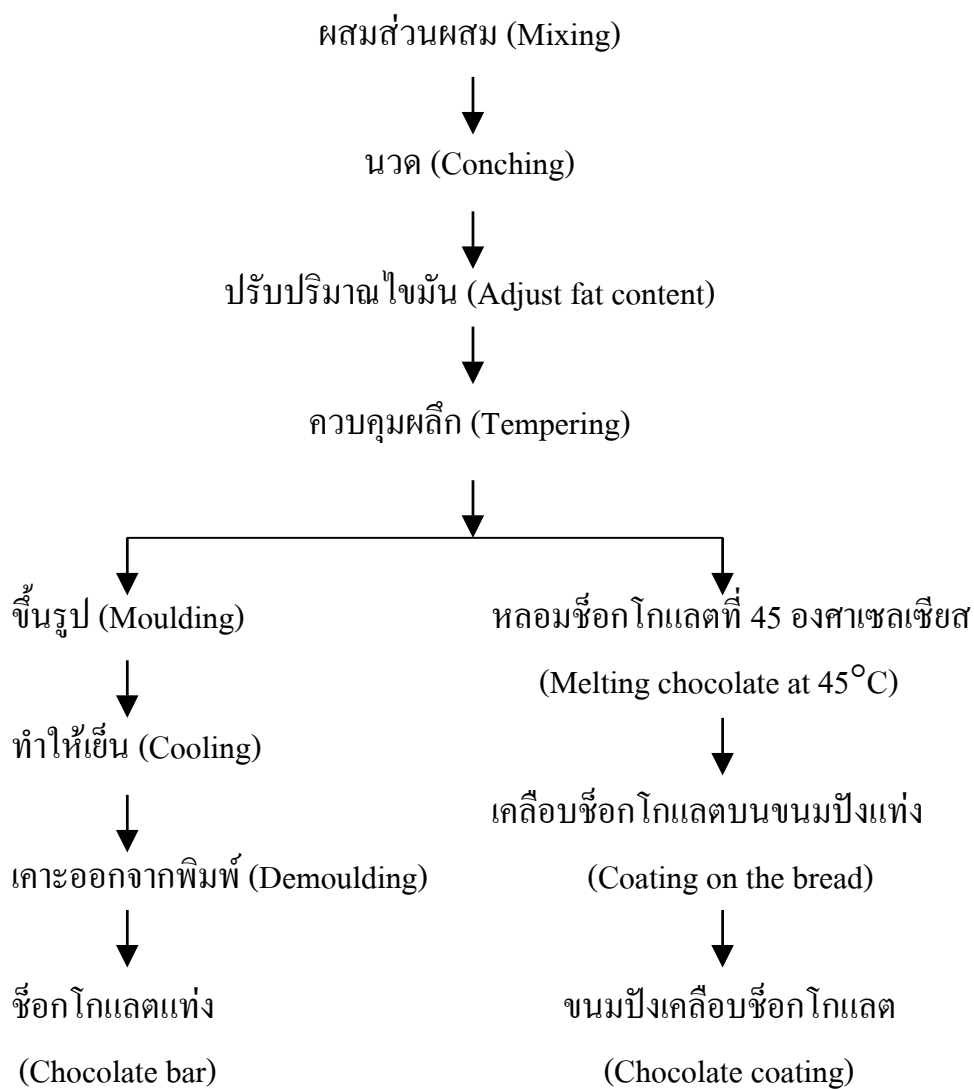
2.2.4 ทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส เช่นเดียวกับข้อ 2.1.3

คัดเลือกสูตรพื้นฐานที่ให้คุณลักษณะของช็อกโกแลตใกล้เคียงกับช็อกโกแลตที่ใช้เนยโกโก้มากที่สุดชนิดละ 1 สูตร ไปศึกษาขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 18 สูตรสำหรับผลิตช็อกโกแลตชนิดแท่งจำนวน 3 สูตร

### Formulation of chocolate bar.

Formulation.	Ingredient (%)			
	Cocoa butter	Cocoa mass	Sugar	lecithin
I. Beckett (1999)	13.04	43.16	43.40	0.40
II. Beckett (1999)	11.75	39.77	48.18	0.40
III. Beckett (1994)	8.40	42.00	49.20	0.40



ภาพที่ 13 ขั้นตอนการผลิตช็อกโกแลต

Chocolate process.

Source : Adapted from Minifie (1989)

ตารางที่ 19 สูตรสำหรับการผลิตช็อกโกแลตชนิดเคลือบจำนวน 3 สูตร

Formulation of coating chocolate.

Formulation	Ingredient (%)			
	Cocoa butter	Cocoa mass	Sugar	Lecithin
I. Beckett (1999)	10.0	40.0	49.6	0.4
II. Lees and Jackson (1973)	20.0	30.0	49.6	0.4
III. Lees and Jackson (1973)	14.0	38.0	47.6	0.4

3. นำไขมันเลี่ยนแบบเนยโกโก้ทดแทนในสูตรพื้นฐานของช็อกโกแลตทั้ง 2 ชนิดซึ่งคัดเลือกได้จากข้อที่ 2 โดยการทดแทนจะเป็นสัดส่วนของเนยโกโก้ต่อไขมันเลี่ยนแบบเนยโกโก้ คือ 60:40, 40:60, 20:80 และ 0:100 ในช็อกโกแลตชนิดแท่ง และ 40:60, 20:80 และ 0:100 ในช็อกโกแลตชนิดเคลือบ นำมาตรวจสอบคุณลักษณะของช็อกโกแลตดังต่อไปนี้

3.1 ตรวจสอบคุณลักษณะของช็อกโกแลตชนิดแท่ง

3.1.1 วิเคราะห์ความแข็งและรูปแบบการหลอมเหลว เช่นเดียวกับข้อ 2.1.1 และ 2.1.2

3.1.2 วิเคราะห์ปริมาณไขมันส่วนแข็ง ด้วยเครื่อง DSC

3.1.3 ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยวิธี difference from control test ตามแบบประเมินดังแสดงในภาคผนวก ญ4. ทั้งนี้ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน ทำการทดสอบคุณลักษณะด้านความแข็ง การละลายในปาก และความรู้สึกหลังชิม โดยใช้ช็อกโกแลตที่ผลิตจากเนยโกโก้เป็นชุดควบคุม นอกจากนี้ประเมินคุณลักษณะด้านความชอบรวม ด้วยวิธี hedonic scale (9 คะแนน) ตามแบบประเมินในภาคผนวก ญ5. โดยใช้ผู้ทดสอบซึ่งคุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์ช็อกโกแลต จำนวน 25 คน

3.2 ตรวจสอบคุณลักษณะของช็อกโกแลตชนิดเคลือบ

3.2.1 วิเคราะห์ค่าความเหนียว การเคลือบติด และรูปแบบการหลอมเหลว เช่นเดียวกับข้อ 2.2.1 ถึง 2.2.3

3.2.2 วิเคราะห์ปริมาณไขมันส่วนแข็ง เช่นเดียวกับข้อ 3.1.2

3.2.3 ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยการให้คะแนนความชอบในคุณลักษณะด้านการละลายในปาก การเคลือบติด ลักษณะปรากฏ และ ความชอบรวม ด้วยวิธี hedonic scale (9 คะแนน) ตามแบบประเมินในภาคผนวก ญ1. โดยใช้ผู้ทดสอบซึ่งคุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลต จำนวน 25 คน

คัดเลือกสัดส่วนการทดแทนสูงที่สุดที่ยังคงให้คุณลักษณะทางกายและทางประสาทสัมผัสของซ็อกโกแลตใกล้เคียงกับซ็อกโกแลตจากเนยโกโก้

4. พัฒนาสูตรซ็อกโกแลตชนิดแท่งและชนิดเคลือบที่ผลิตจากไขมันเลียนแบบเนยโกโก้ พัฒนาสูตรซ็อกโกแลตทั้งสองชนิดจากสูตรพื้นฐานและระดับการทดแทนที่คัดเลือกได้จากข้อ 2 โดยทำการพัฒนาสัดส่วนของส่วนผสม 3 ชนิด ในสูตรซ็อกโกแลต คือ ไขมัน น้ำตาลไอซิ่ง และโกโก้แมส ทำการทดลองแบบ mixture design โดยวางแผนแบบ extreme vertices design (Gacula, 1993) ซึ่งกำหนดช่วงขอบเขตส่วนผสมในซ็อกโกแลตแท่งดังนี้ ไขมันร้อยละ 5-15 โกโก้แมส ร้อยละ 40-45 น้ำตาลร้อยละ 45-50 (ภาคผนวก ฎ 1) และในซ็อกโกแลตชนิดเคลือบ ไขมันร้อยละ 10-25 โกโก้แมสร้อยละ 30-40 และน้ำตาลร้อยละ 45-50 (ภาคผนวก ฎ2) เลือกสูตรซ็อกโกแลตชนิดแท่งและ ชนิดเคลือบจากแผนการทดลองชนิดละ 9 สูตร ดังแสดงในตารางที่ 20 และ 21

#### 4.1 ตรวจสอบคุณลักษณะของซ็อกโกแลตชนิดแท่ง

4.1.1 วิเคราะห์ค่าความแข็งของซ็อกโกแลตแท่งด้วยเครื่อง Texture analyzer ตามวิธีของ Ali และคณะ (2001)

4.1.2 วัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี ตามวิธีของ Lohman และคณะ (1994)

4.1.3 ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยใช้วิธี hedonic scale (9 คะแนน) ด้านความชอบรวม ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส และ กลิ่นรส โดยใช้ผู้ทดสอบที่คุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลตจำนวน 30 คน และใช้วิธีให้คะแนนความเข้มแบบ Multiple sample difference test ในคุณลักษณะด้าน ความมันวาว การละลายในปาก และกลิ่นรส ตามแบบประเมินในภาคผนวก ญ2. โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 12 คน

ตารางที่ 20 สูตรช็อกโกแลตชนิดแท่งที่คัดเลือกมาจากแผนการทดลอง mixture design

Formulation of chocolate bar from mixture design.

Formulation	Ingredient (%)		
	Sugar	Cocoa mass	Fat
1	50.0	40.0	10.0
2	50.0	45.0	5.0
3	45.0	45.0	10.0
4	45.0	40.0	15.0
5	47.5	42.5	10.0
6	50.0	42.5	7.5
7	47.5	45.0	7.5
8	45.0	42.5	12.5
9	47.5	40.0	12.5

ตารางที่ 21 สูตรช็อกโกแลตชนิดเคลือบที่คัดเลือกจากแผนการทดลอง mixture design

Formulation of coating chocolate from mixture design.

Formulation	Ingredient (%)		
	Sugar	Cocoa mass	Fat
1	50.0	30.0	20.0
2	50.0	40.0	10.0
3	45.0	40.0	15.0
4	45.0	30.0	25.0
5	47.5	35.0	17.5
6	50.0	35.0	15.0
7	47.5	40.0	12.5
8	45.0	35.0	20.0
9	47.5	30.0	22.5



คัดเลือกสูตรซ็อกโกแลตโดยเขียนกราฟ Contour/line plot จากค่าเฉลี่ยของคะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะ นำกราฟ Contour ของคะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะมาซ้อนทับกัน เพื่อหาสูตรที่มีแนวโน้มได้รับการยอมรับมากที่สุด

#### 4.2 ตรวจสอบคุณลักษณะของซ็อกโกแลตชนิดเคลือบ

4.2.1 ทำการวิเคราะห์ค่าความหนืดของซ็อกโกแลตชนิดเคลือบ ด้วยเครื่องวัดความหนืด (Brookfield) ตามวิธีของ สุวรรณา สุภิมารส (2543)

4.2.2 วัดสี ด้วยเครื่องวัดสี (Hunter Lab) ตามวิธีทาง Lohman และคณะ (1994)

4.2.3 ทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยใช้วิธี hedonic scale (9 คะแนน) ด้านความชอบรวม ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส และกลิ่นรส โดยผู้ทดสอบที่คุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลต และใช้วิธีให้คะแนนความเข้มแบบ Multiple sample difference test ตามแบบประเมินดังแสดงในภาคผนวก ญ3. ทำการทดสอบคุณลักษณะด้านความมันวาว การเคลือบติด และการละลายในปาก โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 12 คน ทำการคัดเลือกสูตรเช่นเดียวกับข้อ 4.1

#### 5. ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ซ็อกโกแลตชนิดแท่งและชนิดเคลือบที่ผ่านการพัฒนาสูตร

นำผลิตภัณฑ์สุดท้ายของซ็อกโกแลตชนิดแท่งและชนิดเคลือบที่คัดเลือกได้จากข้อ 4 มาทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค โดยใช้ผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมายช่วงอายุ 13-25 ปี ภายในอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา จำนวน 200 คน ใช้วิธีการทดสอบแบบ Central Location Test (CLT) และใช้แบบสอบถามดังแสดงในภาคผนวก ญ6. ในการทดสอบ

#### 6. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์สุดท้ายในระหว่างการเก็บ

นำผลิตภัณฑ์สุดท้ายของซ็อกโกแลตชนิดแท่งและชนิดเคลือบที่คัดเลือกได้จากข้อที่ 4 บรรจุในภาชนะบรรจุ โดยซ็อกโกแลตชนิดแท่งจะห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย และซ็อกโกแลตชนิดเคลือบบรรจุในถุงพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนปิดผนึกด้วยความร้อน เก็บที่อุณหภูมิห้องประมาณ 29-30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 วัน โดยตรวจสอบคุณลักษณะของซ็อกโกแลตทุกๆ 6 วัน ดังนี้

## 6.1 การตรวจสอบคุณลักษณะซ็อกโกแลตชนิดแท่ง

6.1.1 วิเคราะห์ค่าความแข็งด้วยเครื่อง Texture Analyser ตามวิธีของ Ali และคณะ (2001)

6.1.2 วิเคราะห์รูปแบบการหลอมเหลวด้วยเครื่อง DSC ตามวิธีของ Reddy และคณะ (1996)

6.1.3 วัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี Hunter Lab ตามวิธีของ Lohman และคณะ (1994)

6.1.4 ตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์โดยตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Count) และปริมาณยีสต์และรา ตามวิธีของ Speck (1976)

6.1.5 ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยใช้วิธี Multiple sample difference test ในคุณลักษณะด้าน ความมันวาว การละลายในปาก กลิ่นรส และกลิ่นรสผิดปกติ โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 12 คน และทดสอบการยอมรับคุณภาพรวมของผลิตภัณฑ์โดยวิธี hedonic scale (9 คะแนน) โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน

## 6.2 ตรวจสอบคุณลักษณะของซ็อกโกแลตชนิดเคลือบ

6.2.1 วิเคราะห์ค่าความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด ตามวิธีของ สุวรรณฯ สุภิมารส (2543)

6.2.2 ทำการวิเคราะห์รูปแบบการหลอมเหลว ค่าสี และคุณภาพทางจุลินทรีย์ เช่นเดียวกับข้อ 6.1.2 ถึง 6.1.4

6.2.3 ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยใช้วิธี Multiple sample difference test ต่อคุณลักษณะด้านความมันวาว การเคลือบติด การละลายในปาก และกลิ่นรสผิดปกติ โดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 12 คน และทดสอบการยอมรับคุณภาพโดยรวมของผลิตภัณฑ์ โดยวิธี hedonic scale (9 คะแนน)

## 6. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ในแต่ละการทดลองจะทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้วิธี DMRT (Duncan's multiple range test) จากโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Window Version 10.0