บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัตถุดิบและอุปกรณ์

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว

- เนื้อหมูบด
- มันแข็ง
- ข้าวเหนียว
- กระเทียม
- พริกไทย (Pepper)
- ลูกผักชี (Coriander seed)
- น้ำตาลทราย (Sucrose)
- เกลือ (Sodium chloride)
- ไส้บรรจุเทียมที่สามารถรับประทานได้ (Collagen casing, Nippi casing, Nippi Incorporated, Japan)
- โซเดียมไนเตรท (Sodium nitrate ; $NaNO_3$, Food grade, Lab P&P, Thailand)
- โซเดียมไนไตรท์ (Sodium nitrite ; $NaNO_2$, Food grade, Lab P&P, Thailand)
- โปแตสเซียมซอร์เบท (Potassium sorbate ; $C_6H_7KO_2$, Food grade, Lab P&P, Thailand)
- ถุงพลาสติกสำหรับบรรจุผลิตภัณฑ์ เป็นถุงสามชั้น ๆ ในเป็นโพลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำเชิงเส้น ชั้นกลางเป็นกาว และชั้นนอกเป็นไนลอน (Nylon/EAA/LLDPE) (บริษัท พรีแพค ประเทศไทย จำกัด)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว

- เครื่องผสม (Mixer, KitchenAid : Model 5K5SS, USA)
- เครื่องอัดไส้ (Stuffer)
- เครื่องเตรียมอาหารเอนกประสงค์ (Braun : Model CombiMax 750, Germany)
- ตู้บ่ม (Incubator, Heraeus : Model D-6450 Hanau, Germany)
- เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 1 ตำแหน่ง (Analytical balance, CHYO : Model MK-3000E, YMC CO., Ltd, Japan)
- เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Analytical balance, Precisa : Model XT320M, Switzerland)
- เครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศ (Sealer, Audionvac : Model VM 2010, USA)

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (Microprocessor pH-meter, Hanna : Model HI 9321, Portugal)
- เครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum pump, Thomas, USA)
- เครื่องปั่น (Blender, National : Model MX-T1PN, Taiwan)
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV/Visible recording Spectrophotometer, Shimadzu : Model UV-160A)
- ชุดย่อยโปรตีน (Digestion unit, Buchi : Model 430)
- ชุดกลั่นโปรตีน (Distillation apparatus, Buchi : Model 323)
- เครื่องสกัดไขมัน (Soxhlet apparatus, Soxtec Avanti 2050, Tecator, Sweden)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert : Model ULM-400, USA)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Analytical balance, Mettler-Toledo : Model BB120, Switzerland)

- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance, Sartorious AG : Model B3100P, Germany)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, GFL : Model D1004, Germany)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- เครื่องวัดสี (Colorimeter, Minolta : Model CR-310, Japan)
- เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Instron Universal Testing Machine : Model 5565)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave, Hirayama : Model HA-300MIV, Japan)
- เครื่องผสมแบบหมุนวน (Vortex geniez, Scientific Industries : Model G-560E)
- ตู้บ่มเชื้อ (Incubator, Heraeus : Model D-6450 Hanau, Germany)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, Memmert : Model WB14, Germany)
- เครื่องตีบด (Laboratory blender stomacher : Model 400, Seward Chemical, England)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- ชุดอุปกรณ์ทดสอบชิม
- แบบสอบถาม (รายละเอียดดังภาคผนวก ข)

สารเคมี

- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide ; NaOH, J.T.Baker, USA)
- ฟีนอลฟทาลีน (Phenolphthalein ; $C_{20}H_{14}O_4$, Fisher Scientific, UK)
- เอธิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 100 (Ethanol Absolute ; C_2H_5OH, J.T.Baker, USA)
- เอธิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 70 (Ethanol ; C_2H_5OH, J.T.Baker, USA)

- กรดเมตาฟอสฟอริก (Metaphosphoric acid ; $(HPO_3)_n$, Merck, Germany)
- ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether ; $(C_2H_5)_{20}$, LAB-SCAN, Irland)
- ไดเอทธิลอีเทอร์ (Diethyl ether ; $(C_2H_2)_2O$, LAB-SCAN, Irland)
- โซเดียมซัลเฟตที่ปราศจากน้ำ (Sodium sulfate anhydrous ; Na_2SO_4 : Merck, Germany)
- Lactobacilli MRS broth (Difco Laboratories, USA)
- Brain heart infusion broth (Difco Laboratories, USA)
- Potato count agar (Difco Laboratories, USA)
- Violet red bile agar (Difco Laboratories, USA)
- Trypticase soy broth (Difco Laboratories, USA)
- Baird parker agar (Difco Laboratories, USA)
- Lauryl sulphate broth (Difco Laboratories, USA)
- Brillant green lactose bile broth (Difco Laboratories, USA)
- Peptone (Difco Laboratories, USA)
- กรดทาร์ทาริก (Tartaric acid ; $C_4H_6O_6$, Merck, Germany)
- น้ำยาฆ่าเชื้อ (Dettol, Reckitt & Colman (Thailand) Ltd, Thailand)

เครื่องประมวลผลทางสถิติ

- เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล
- โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft excel
- โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS 10.0
- โปรแกรมสำเร็จรูป Mathcad 7 professional
- โปรแกรมสำเร็จรูป Statistica 5.0
- โปรแกรมสำเร็จรูป XVERT
- โปรแกรมสำเร็จรูป POM

วิธีการทดลอง

สูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว

ตาราง 3.1 สูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (ร้อยละของส่วนผสมหลัก*)
กระเทียม	8.00
พริกไทย	0.70
ลูกผักชี	0.70
อบเชย	0.10
น้ำตาล	0.70
เกลือ	1.50
โซเดียมไนเตรท	0.03
โซเดียมไนไตรท์	0.01
เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น	
Micrococcus varians	6 Log cfu/g
Pediococcus cerevisiae	6 Log cfu/g
Lactobacillus plantarum	6 Log cfu/g

หมายเหตุ *ส่วนผสมหลัก ประกอบด้วย เนื้อหมูร้อยละ 50 มันแข็งร้อยละ 25 และข้าวเหนียวร้อยละ 25

การเตรียมวัตถุดิบ

- **เนื้อหมูและมันแข็ง** ผ่านการบดละเอียดและมาจากแหล่งเดียวกันตลอดการทดลอง
- **ข้าวเหนียว** นำข้าวเหนียวสุกไปล้างด้วยน้ำสะอาดเพื่อปราศจากส่วนที่เป็นยางในอัตราส่วนน้ำ 1ลิตร ต่อ ข้าวเหนียวสุก 150 กรัม
- **กระเทียม** นำมาปอกเปลือกออก แล้วนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องเตรียมอาหารเอนกประสงค์
- **ส่วนประกอบอื่น ๆ** (พริกไทย ลูกผักชี อบเชย น้ำตาล เกลือ โซเดียมไนเตรท และโซเดียมไนไตรท์) ชั่งน้ำหนักตามสูตรการผลิต

การเตรียมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

เตรียมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นจาก *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus cerevisiae* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS บ่มเพาะเชื้อในตู้บ่ม 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ส่วน *Micrococcus varians* นั้นเตรียมเป็นเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI (Brain infusion broth) โดยบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่ม 30 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

ก่อนที่จะนำไปเติมลงในส่วนผสมการผลิต จะต้องนำเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นทั้งสามมาเจือจางในอัตราส่วนที่เหมาะสม ซึ่งจะต้องทำการเตรียมขึ้นก่อนที่จะทำการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวตามเวลาและอุณหภูมิที่กำหนดข้างต้นเสมอเพื่อให้เชื้อมีกิจกรรมที่ดี จึงนำมาเติมลงในส่วนผสมโดยมีการคำนวณดังนี้

ถ้าส่วนผสมในการผลิตต้องการเชื้อ *Lactobacillus plantarum* 6 Log cfu/g ดังนั้น 1 กิโลกรัมของส่วนผสมจะต้องการเชื้อ 9 Log cfu แต่ใน Stock culture ของ *Lactobacillus plantarum* มี 10 Log cfu/ml ดังนั้นใน 0.1 มิลลิลิตร ของ Stock culture จะมี *Lactobacillus plantarum* เท่ากับ 9 Log cfu เป็นต้น อย่างไรก็ตาม 0.1 มิลลิลิตร ของ Stock culture ยากต่อการผสมให้เข้ากันอย่างทั่วถึงในการผลิต จึงทำการเติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วลงไปอีกประมาณ 1 มิลลิลิตร ก่อนที่จะนำไปเติมลงในส่วนผสมการผลิต

กระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว

นำเนื้อหมูที่ผ่านการบดละเอียด เกลือ โซเดียมไนเตรท และโซเดียมไนไตรท์ ผสมให้ทั่วกันในหม้อผสมเป็นเวลา 1 นาที เติมกระเทียมบด พริกไทย ลูกผักชี อบเชย และน้ำตาลลงไป ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที เติมข้าวเหนียวลงไปแล้วผสมต่อเป็นเวลา 2 นาที ตามด้วยมันแข็งและผสมต่ออีกเป็นเวลา 2 นาที จึงเติมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นลงไปเพื่อผสมอีกเป็นเวลา 1 นาที

นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ในเครื่องอัดไส้ (Stuffer) และอัดลงในไส้บรรจุ มัดไส้บรรจุดังกล่าวให้มีขนาดยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร นำผลิตภัณฑ์ไปหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การทดลองแบ่งออกเป็น 5 ตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 ศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่ผลิตโดยวิธีพื้นบ้านดั้งเดิมและวิธีใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

ตอนที่ 1.1 การสร้างเค้าโครงผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว

ก่อนทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวจำเป็นต้องสร้างเค้าโครงผลิตภัณฑ์เพื่อทราบแนวทางในการพัฒนาที่ถูกต้องว่าลักษณะใดของผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคให้ความสำคัญและต้องการพัฒนาไปในทิศทางใด โดยใช้วิธี Ideal ratio profile test ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์เพื่อดูลักษณะผลิตภัณฑ์ด้วยค่าสัดส่วนและเป็นวิธีการที่ให้ผู้บริโภคแสดงความต้องการหรือความมากน้อยของลักษณะทางประสาทสัมผัส ซึ่งผู้บริโภคจะเป็นผู้กำหนดลักษณะต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ด้วยตนเอง คะแนนที่ได้จากผู้บริโภคแต่ละคนต่อลักษณะแต่ละด้านของผลิตภัณฑ์จะนำมากำหนดให้เป็นตัวตั้งแล้วหารด้วยค่าคะแนนที่ถูกกำหนดว่าดีที่สุดเหมาะสมที่สุดของผลิตภัณฑ์ในอุดมคติ (Ideal) ซึ่งจะได้สัดส่วน (Ratio) ของแต่ละคน นำค่าสัดส่วนดังกล่าวมาหาค่าเฉลี่ยจะได้ค่าสัดส่วนเฉลี่ย (Ratio mean score) ซึ่งค่าสัดส่วนเฉลี่ยที่ได้ของแต่ละลักษณะจะนำมาสร้างเป็นกราฟเค้าโครงผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นรูปวงกลมใยแมงมุม (Cyclic profile) ซึ่งสามารถเปรียบเทียบได้ง่ายกับเค้าโครงลักษณะที่ต้องการในอุดมคติซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.00 ถ้าค่าสัดส่วนเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 1.00 หมายความว่าตัวอย่างมีลักษณะนั้นตามที่ผู้บริโภคต้องการจึงไม่จำเป็นต้องพัฒนาต่อไป แต่ถ้าค่าสัดส่วนเฉลี่ยมีค่าน้อยกว่าหรือมากกว่า 1.00 หมายความว่าต้องพัฒนาให้ลักษณะนั้นมีค่ามากขึ้นหรือน้อยลงตามลำดับเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ตรงกับความต้องการของผู้บริโภคมากที่สุด และจะถือเอาเค้าโครงผลิตภัณฑ์ที่ได้ในขั้นตอนนี้เป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตลอดการทดลอง

ตอนที่ 1.2 การเปรียบเทียบคุณภาพผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่ผลิตโดยวิธีพื้นบ้านดั้งเดิมกับวิธีใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

ปัจจัยที่เป็นส่วนประกอบในสูตรผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวมีทั้งหมด 9 ปัจจัย ได้แก่ กระเทียม พริกไทย ลูกผักชี อบเชย น้ำตาล เกลือ โซเดียมไนเตรท โซเดียมไนไตรท์ และเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น แต่เนื่องจากส่วนประกอบที่เป็นปัจจัยในการศึกษาดังกล่าวมีจำนวนมากจึง

จำเป็นต้องกลั่นกรองเบื้องต้นเพื่อให้เหลือเฉพาะปัจจัยหลัก (Main effect) หรือปัจจัยที่มีผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์เท่านั้น โดยอาศัยการวางแผนการทดลองแบบ Plackett and Burman design (ไพโรจน์ , 2539) ซึ่งเป็นการออกแบบการทดลองที่สามารถกลั่นกรองคัดเลือกเอาปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ละปัจจัยจะกำหนดระดับสูง (High level; +) และระดับต่ำ (Low level; -) เมื่อต้องการกลั่นกรองปัจจัยทั้งหมด 9 ปัจจัย ตามหลักการของ Plackett and Burman design จะต้องเลือกแผนการทดลองแบบ N=12 หน่วยการทดลอง ดังแสดงในตาราง 3.2 โดยจะทำให้สามารถกลั่นกรองปัจจัยได้ 9 ปัจจัย คือ A-I ส่วนที่เหลืออีก 2 ตัวจะเป็น Dummy variables คือ J-K เพื่อใช้ในการคำนวณหาค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard error) ของการทดลอง

ตาราง 3.2 แผนการทดลองแบบ Plackett and Burman design (N=12)

สิ่งทดลอง	ปัจจัยที่ต้องการกลั่นกรอง										
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-
2	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+
3	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+
4	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
5	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+
6	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+
7	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+
8	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
9	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-
10	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-
11	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : A-I คือ ปัจจัยที่ต้องการกลั่นกรอง J-K คือ Dummy variables
- คือ ระดับต่ำ + คือ ระดับสูง

ตาราง 3.3 ระดับของปัจจัยที่ต้องการกลั่นกรองในสูตรผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว

ปัจจัยที่ต้องการกลั่นกรอง	ระดับปัจจัย (ร้อยละของส่วนผสมหลัก*)	
	ต่ำ (-)	สูง (+)
A กระเทียม	5.00	10.00
B พริกไทย	0.50	1.00
C ลูกผักชี	0.50	1.00
D อบเชย	0.00	0.20
E น้ำตาล	0.50	1.00
F เกลือ	1.00	2.00
G โซเดียมไนเตรท	0.02	0.05
H โซเดียมไนไตรท์	0.01	0.0125
I เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น	ไม่ใช้	Mv 6 Log cfu/g Pc 6 Log cfu/g Lp 6 Log cfu/g

หมายเหตุ * ส่วนผสมหลัก ประกอบด้วย เนื้อหมูร้อยละ 50 มันแข็งร้อยละ 25 และข้าวเหนียวร้อยละ 25

Mv คือ *Micrococcus varians*

Pc คือ *Pediococcus cerevisiae*

Lp คือ *Lactobacillus plantarum*

เมื่อทำการผลิตไส้กรอกเปรี้ยวด้วยสูตรการผลิตตามสิ่งทดลองที่ได้จากตาราง 3.2 แล้ว จึงนำไปหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่ได้จากการทดลองจะนำมาวิเคราะห์คุณภาพดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) (AOAC, 2000)
- ปริมาณกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติค (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสี L, a และ b (Minolta camera, Chroma Meter CR – 310, Japan.)
- ค่าแรงเฉือน (Instron Universal Testing Machine Model 5565) (Instron Corporation, 1993)

การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- ได้แก่ ลักษณะปรากฏ รสชาติ กลิ่น และเนื้อสัมผัส ตามเค้าโครงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากตอนที่ 1.1 ซึ่งใช้วิธี Ideal ratio profile test

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อกลั่นกรองหาปัจจัยที่มีความสำคัญต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว

ตอนที่ 2 ศึกษาสูตรและปริมาณเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว

ตอนที่ 2.1 ศึกษาปัจจัยด้านสูตรการผลิตที่สำคัญที่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่ใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

การทดลองตอนที่ 1.2 ทำให้ทราบถึงปัจจัยหลักหรือปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว โดยปัจจัยที่เหลือจะทำการกำหนดในระดับที่เหมาะสมโดยคำนึงในแง่วิชาการและหลักเศรษฐศาสตร์ ในการทดลองนี้จะนำปัจจัยหลักมาดำเนินการศึกษาในรายละเอียดถึงผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เพื่อหาปริมาณที่เหมาะสมของแต่ละปัจจัยต่อไป การวางแผนการทดลองเป็นแบบ 2^k Factorial experiment in central composite design เมื่อ k คือ จำนวนปัจจัยหลักที่ผ่านการกลั่นกรองจากการทดลองตอนที่ 1.2 และ 2 คือ จำนวนระดับของปัจจัยหลักที่ศึกษา ได้แก่ ระดับต่ำ (-) และระดับสูง (+) จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์คุณภาพดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) (AOAC, 2000)
- ปริมาณกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติค (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสี L, a และ b (Minolta camera, Chroma Meter CR – 310, Japan.)
- ค่าแรงเฉือน (Instron Universal Testing Machine Model 5565) (Instron Corporation, 1993)

การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- ได้แก่ ลักษณะปรากฏ รสชาติ กลิ่น และเนื้อสัมผัส ตามเค้าโครงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากตอนที่ 1.1 ซึ่งใช้วิธี Ideal ratio profile test

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวต่อไป

ตอนที่ 2.2 ศึกษาปริมาณเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว

การศึกษาปริมาณของเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว วางแผนการทดลองแบบ 2^3 Factorial experiment with 3 center points เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่ศึกษามี 3 ชนิด ได้แก่ *Micrococcus varians*, *Pediococcus cerevisiae* และ *Lactobacillus plantarum* ระดับต่ำของเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นเท่ากับ 4 Log cfu/g ระดับสูงเท่ากับ 8 Log cfu/g และระดับกึ่งกลางเท่ากับ 6 Log cfu/g มีการทดลองซ้ำที่ระดับกึ่งกลางจำนวน 3 ซ้ำ นำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) (AOAC, 2000)
- ปริมาณกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติค (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสี L, a และ b (Minolta camera, Chroma Meter CR – 310, Japan.)
- ค่าแรงเฉือน (Instron Universal Testing Machine Model 5565) (Instron Corporation, 1993)

การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- ได้แก่ ลักษณะปรากฏ รสชาติ กลิ่น และเนื้อสัมผัส ตามเค้าโครงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากตอนที่ 1.1 ซึ่งใช้วิธี Ideal ratio profile test

จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาปริมาณเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นแต่ละชนิดที่เหมาะสมต่อไป

ตอนที่ 2.3 ศึกษาอัตราส่วนของส่วนผสมหลักที่เหมาะสมต่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่ใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

การทดลองตอนนี้เป็นการหาอัตราส่วนของส่วนผสมหลัก อันได้แก่ เนื้อหมู มันแข็ง และข้าวเหนียว เพื่อให้ได้อัตราส่วนของส่วนผสมหลักที่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่ผลิตโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุด โดยวางแผนการทดลองแบบ Mixture design (ไพโรจน์, 2539) ซึ่งเป็นแผนการทดลองที่ใช้ในการหาอัตราส่วนของส่วนประกอบ โดยใช้หลักการที่ว่า เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของส่วนประกอบใด ส่วนประกอบที่เหลือในสูตรจะต้องมีการเปลี่ยนแปลงด้วย และผลรวมของส่วนประกอบทั้งหมดต้องเท่ากับ 1.00 หรือ ร้อยละ 100

ในการทดลองจะกำหนดระดับต่ำ (Low level) และระดับสูง (High level) ของส่วนประกอบต่าง ๆ ในส่วนผสมหลัก และใช้โปรแกรม XVERT ผันแปรและเลือกสิ่งทดลองที่อยู่ในพื้นที่ที่เป็นไปได้ (Feasible area) ซึ่งส่วนประกอบดังกล่าวกำหนดระดับต่ำและสูง ดังตาราง 3.4

ตาราง 3.4 ระดับต่ำและสูงของส่วนประกอบในส่วนผสมหลัก

ปัจจัย	ระดับต่ำ (ร้อยละ)	ระดับสูง (ร้อยละ)
เนื้อหมู	35	80
มันแข็ง	15	35
ข้าวเหนียว	20	40

สิ่งทดลองที่ได้จะนำไปทำการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว โดยกำหนดให้ส่วนประกอบอื่น ๆ ที่เหลือในสูตรคงที่ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะนำไปวิเคราะห์คุณภาพดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) (AOAC, 2000)
- ปริมาณกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติค (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสี L, a และ b (Minolta camera, Chroma Meter CR – 310, Japan.)
- ค่าแรงเฉือน (Instron Universal Testing Machine Model 5565) (Instron Corporation, 1993)

การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- ได้แก่ ลักษณะปรากฏ รสชาติ กลิ่น และเนื้อสัมผัส ตามเค้าโครงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากตอนที่ 1.1 ซึ่งใช้วิธี Ideal ratio profile test

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์กับส่วนประกอบในส่วนผสมหลัก ซึ่งนำไปสู่การพิจารณาหาอัตราส่วนของส่วนผสมหลักที่เหมาะสม

ตอนที่ 3 ศึกษากระบวนการผลิตที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่ใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

การทดลองตอนนี้เป็นการศึกษากระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว โดยใช้สูตรการผลิตที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองตอนที่ 2 และทำการหมักผลิตภัณฑ์ทุกสิ่งทดลองที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งจะผันแปรเวลาที่ใช้ในการหมัก คือ 24, 36 และ 48 ชั่วโมง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไส้กรอกเปรี้ยว โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) (ไพโรจน์, 2539) จำนวน 3 ซ้ำ แล้วนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์คุณภาพด้านต่าง ๆ ดังนี้

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) (AOAC, 2000)
- ปริมาณกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติค (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสี L, a และ b (Minolta camera, Chroma Meter CR – 310, Japan.)
- ค่าแรงเฉือน (Instron Universal Testing Machine Model 5565) (Instron Corporation, 1993)

การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- ได้แก่ ลักษณะปรากฏ รสชาติ กลิ่น และเนื้อสัมผัส ตามเค้าโครงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากตอนที่ 1.1 ซึ่งใช้วิธี Ideal ratio profile test

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาเวลาที่ใช้ในการหมักผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่เหมาะสมที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพดีที่สุด

ตอนที่ 4 ศึกษาการใช้สารเคมีและการบรรจุเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่ผลิตโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

ตอนที่ 4.1 ศึกษาปริมาณและวิธีการใช้สารเคมียืดอายุการเก็บรักษาที่เหมาะสมต่อผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว

สารเคมีกันเชื้อราที่ศึกษา คือ โปแตสเซียมซอร์เบท วางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment in central composite design โดยผันแปรปริมาณความเข้มข้นของสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบท 2 ระดับ คือ ระดับต่ำเป็นร้อยละ 2 และระดับสูงเป็นร้อยละ 10 ส่วนเวลาในการจุ่มผลิตภัณฑ์ลงในสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบทระดับต่ำเท่ากับ 1 นาที และระดับสูงเท่ากับ 2 นาที

นำผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่ผลิตตามสูตรที่ได้จากการทดลองตอนที่ 2 มาจุ่มลงในสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบทตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้กำหนดไว้แต่ละสิ่งทดลอง

แล้วนำไปหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาในการหมักที่ได้จากการทดลองตอนที่ 3 หลังจากครบระยะเวลาการหมักแล้วจึงนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดซอร์บิค (AOAC, 2000) นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาปริมาณความเข้มข้นของสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบทและระยะเวลาในการจุ่มผลิตภัณฑ์ลงในสารละลายที่เหมาะสมต่อไป

ตอนที่ 4.2 ศึกษาผลของการใช้สารเคมีและวิธีการบรรจุต่ออายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่ผลิตโดยใช้เทคโนโลยีเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

การทดลองตอนที่ 4.1 ทำให้ทราบปริมาณความเข้มข้นของสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบทและเวลาที่เหมาะสมในการใช้จุ่มผลิตภัณฑ์ จากนั้นจะเป็นการศึกษาผลของการใช้สารละลายโปแตสเซียมซอร์เบทและวิธีการบรรจุต่ออายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการจุ่มสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบทและผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านการจุ่มสารละลายโปแตสเซียมซอร์เบท สำหรับวิธีการบรรจุผลิตภัณฑ์ที่ศึกษามี 2 รูปแบบ คือ ปิดผนึกธรรมดาและปิดผนึกสุญญากาศ ดังนั้นจึงวางแผนการทดลองแบบ 2^2 Factorial experiment in completely randomized design จำนวน 2 ซ้ำ เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่ 30 องศาเซลเซียส และทำการวิเคราะห์คุณภาพด้านต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ทุก 2 วัน คุณภาพที่ทำการวิเคราะห์มีดังนี้

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) (AOAC, 2000)
- ปริมาณกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติค (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสี L, a และ b (Minolta camera, Chroma Meter CR – 310, Japan.)
- ค่าแรงเฉือน (Instron Universal Testing Machine Model 5565) (Instron Corporation, 1993)

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- ปริมาณยีสต์และรา (Yeast and mould) (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- ได้แก่ ลักษณะปรากฏ รสชาติ กลิ่น เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม ตามเค้าโครงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากตอนที่ 1.1 ซึ่งใช้วิธี Ideal ratio profile test

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติเปรียบเทียบผลที่เกิดจากการใช้สารเคมีและวิธีการบรรจุในแต่ละสิ่งทดลองต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เพื่อประโยชน์ต่อการนำไปพิจารณาเพื่อการผลิตและจำหน่ายต่อไปในอนาคต

ตอนที่ 5 การวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์สุดท้าย

นำผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่พัฒนาจากสูตรและกระบวนการผลิตที่เหมาะสมมาวิเคราะห์คุณภาพทางด้านต่าง ๆ และคำนวณต้นทุนการผลิตดังนี้

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- โปรตีน (AOAC, 2000)
- ไขมัน (AOAC, 2000)
- น้ำตาลรีดิวซ์ (AOAC, 2000)
- เถ้า (AOAC, 2000)
- เส้นใย (AOAC, 2000)
- ความเป็นกรดเป็นด่าง (AOAC, 2000)
- ปริมาณกรดทั้งหมดคิดเทียบกรดแลคติค (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสี L, a และ b (Minolta camera, Chroma Meter CR – 310, Japan.)
- ค่าแรงเฉือน (Instron Universal Testing Machine Model 5565) (Instron Corporation, 1993)

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- ปริมาณ แบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดแลคติคได้ (AOAC, 2000)
- ปริมาณ ยีสต์และรา (AOAC, 2000)

- ปริมาณ Enterobacteriaceae (AOAC, 2000)
- ปริมาณ *Staphylococcus aureus* (AOAC, 2000)
- ปริมาณ *Salmonella* (AOAC, 2000)
- ปริมาณ *Eschericia coli* (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- ได้แก่ ลักษณะปรากฏ รสชาติ กลิ่น เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวม ตามเค้าโครงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากตอนที่ 1.1 ซึ่งใช้วิธี Ideal ratio profile test

ต้นทุนการผลิต

ทำการคำนวณต้นทุนการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่ผลิตโดยใช้สูตรและกระบวนการผลิตที่เหมาะสม

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University