

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัตถุดิบและอุปกรณ์

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตไส้กรอกปลาหมัก

- ปลาทรายแดง (ตลาดเมืองใหม่ เชียงใหม่ ประเทศไทย)
- ปลาเยือก (ตลาดแม่เหียะ เชียงใหม่ ประเทศไทย)
- กระเทียม (ตลาดเมืองใหม่ เชียงใหม่ ประเทศไทย)
- ข้าวเหนียวหนึ่ง (ตลาดต้นพยอม เชียงใหม่ ประเทศไทย)
- เกลือ (ตราปรุ้งทิพย์ บริษัทอุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์ จำกัด นครราชสีมา ประเทศไทย)
- อังคัก (ร้านบอมเบย์ ตลาดวโรรส เชียงใหม่ ประเทศไทย)
- Collagen casing (Nippi, เบอร์ 30mm, Tokyo, Japan)
- Sodium tripolyphosphate (Food Equipment Co., LTD กรุงเทพฯ ประเทศไทย)
- คาราจีแนน (Carrageenan compound : UCB, Italy)
- แซนแทนกัม

อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตไส้กรอกปลาหมัก

- เครื่องเตรียมอาหารอเนกประสงค์ (Food processor, National: MK 5080N, Japan)
- เครื่องอัดไส้ (Stuffer, DICK: HTW-6, Germany)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Semi-accurate balance, Mettler-Toledo: Model BB120, Switzerland)
- เครื่องผสม (Mixer, KitchenAid : Model 5K5SS, USA)
- ตู้บ่มเชื้อ (Incubator, Heraeus : Model D-6450 Hanau, Germany)

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

- เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH-meter, ORION: Model 520A, USA)
- เครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum pump, Thomas, USA)
- เครื่องปั่น (Blender, National: MX-T700 GN, Taiwan)
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Semi-accurate balance, Mettler-Toledo: Model BB120, Switzerland)
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV/Visible recording Spectrophotometer, Shimadzu: Model UV-160A, Japan)
- เครื่องวัดค่าน้ำที่เป็นประโยชน์ (a_w -box, Novasina: Model AWC 200, Switzerland)
- ชุดย่อยโปรตีน (Digestion unit, VELP SCIENTIFICA: DK 6.Europe)
- ชุดกลั่นโปรตีน (Distillation unit, FOSS TECATOR: 2100 Kjeltec, Sweden)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven, Memmert: Model UNB 400, USA)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath, Memmert: Model WB14, Germany)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- เครื่องวัดสี (Chroma Meter, Minolta: Model CR400/410, Japan)
- เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Instron Universal Testing Machine: Model 5565, USA)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

- เครื่องตีปั่น (Laboratory blender stomacher, Seward Chemical : Model 400, England)
- ตู้บ่มเชื้อ (Incubator, Hereaus: Model D-6450 Hanau, Germany)
- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave, HIRAYAMA: Model HA 300 MN, Japan)
- เครื่องผสมแบบหมุนวน (Vortex geniez, Sciencetific Industries : Model G-560E, USA)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

- ชุดอุปกรณ์ทดสอบชิม
- แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส (รายละเอียดดังภาคผนวก ข)

สารเคมี

- Lactobacilli MRS Broth (Difco Laboratories, USA)
- Potato Dextrose Agar (Difco Laboratories, USA)
- Plate Count Agar (Difco Laboratories, USA)
- Lauryl Sulphate Broth (Difco Laboratories, USA)
- Brilliant Green Lactose Bile Broth (Difco Laboratories, USA)
- Eosin Methylene Blue agar (Difco Laboratories, USA)
- Peptone (Difco Laboratories, USA)
- Yeast extract Peptone Dextrose Medium (Difco Laboratory, USA)
- ฟีนอล์ฟทาเลอิน (Phenolphthalein ; $C_{20}H_{14}O_4$, Fisher Scientific, UK)
- กรดทาร์ทาริก (Tartaric acid, Merck, Germany)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, J.T.Baker,USA)
- เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 100 (Absolute Ethanol, J.T.Baker,USA)
- กรดบอริก (Boric acid ; H_3BO_3 , Merck, Germany)
- กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid ; H_2SO_4 , Merck, Germany)
- เมทิลเรด (Methyl red ; $(CH_3)_2NC_6H_4N$, May&Baker, USA)

เครื่องประมวลผลทางสถิติ

- เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล
- โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft Excel
- โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10.0.1
- โปรแกรมสำเร็จรูป Mathcad version 7.0 professional
- โปรแกรมสำเร็จรูป Statistica version 5.0

วิธีการทดลอง

สูตรพื้นฐานไส้กรอกปลาหมัก (สุขเกษม, 2532, จินดารัตน์, 2522 และ พนอจิต, 2543)

ส่วนประกอบหลัก

เนื้อปลาทูรายแดง	ร้อยละ 50
เนื้อปลาชุกเทศ	ร้อยละ 50

ส่วนเครื่องปรุง (คิดเป็นอัตราส่วนร้อยละของส่วนผสมหลัก)

เกลือ	ร้อยละ 2
อังกัก	ร้อยละ 0.5
ข้าวเหนียว	ร้อยละ 16.67
กระเทียม	ร้อยละ 8.33
โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต	ร้อยละ 0.3
คาราจีแนน	ร้อยละ 0.25
แซนแทนกัม	ร้อยละ 0.25

การเตรียมวัตถุดิบ

- เนื้อปลาชุกเทศและเนื้อปลาทูรายแดง บดให้ละเอียดด้วยเครื่องเตรียมอาหารเอนกประสงค์ ใ้เวลาบด 90 วินาที
- กระเทียมและข้าวเหนียวสุก ล้างข้าวเหนียวจนหมดยาง โดยใช้อัตราส่วนน้ำ 1 ลิตร ต่อ ข้าวเหนียว 150 กรัม (พันธิตรา, 2520) ส่วนกระเทียมนำไปปอกเปลือกแล้วล้างให้สะอาดขัง ข้าวเหนียว และกระเทียมตามสูตรแล้วบดรวมกันด้วยเครื่องเตรียมอาหารเอนกประสงค์ ใ้เวลาบด 1 นาที
- อังกัก บดให้ละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 30 mesh (พัชรี, 2545)
- ส่วนประกอบอื่นๆ (เกลือ โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต คาราจีแนน และแซนแทนกัม) ชั่งตาม น้ำหนักสูตรการผลิต

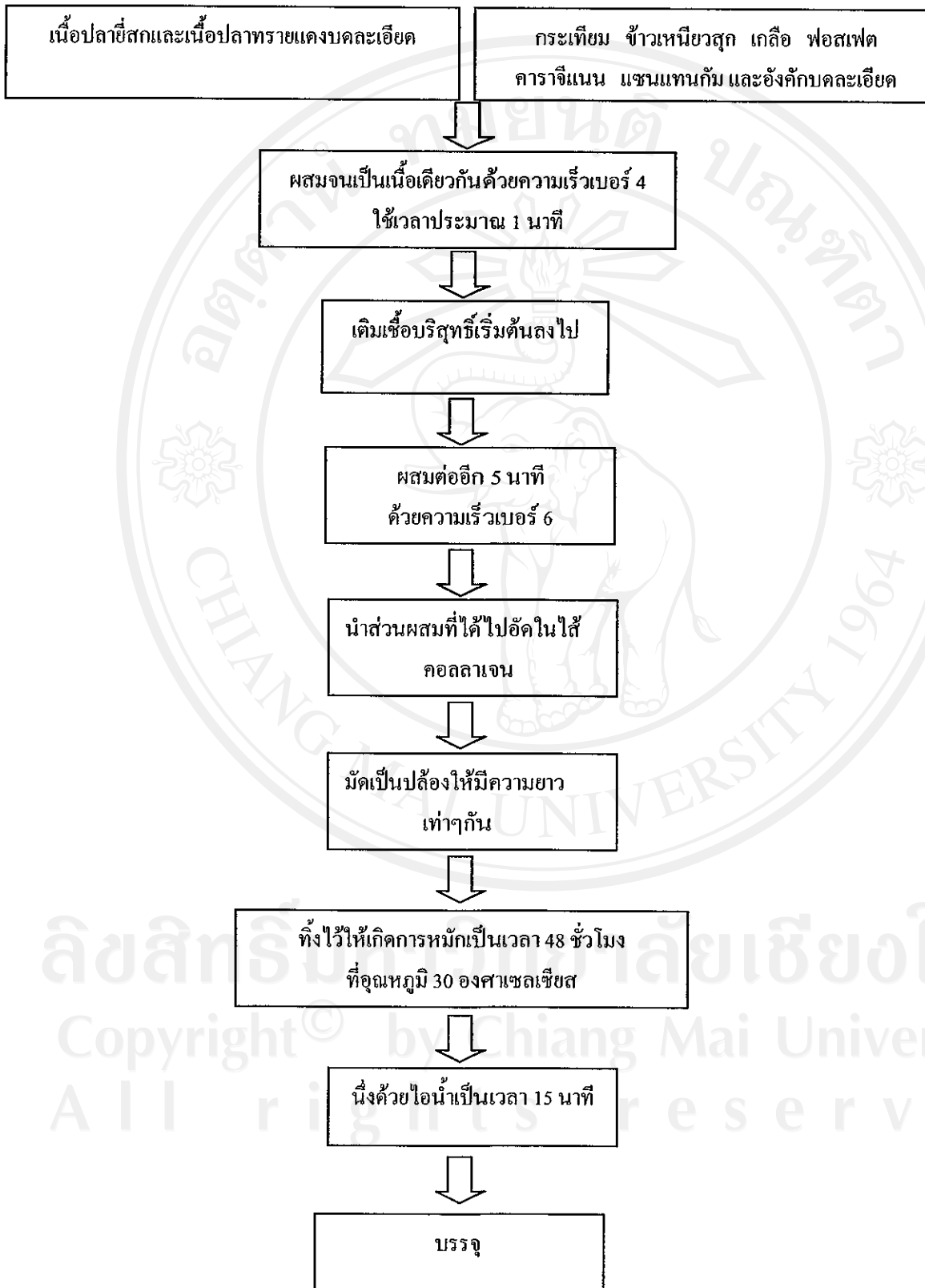
การเตรียมเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

เชื้อบริสุทธิ์ที่ใช้ได้แก่ *Lactobacillus PR13* และ *Lactobacillus PS9* โดยเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) จะเตรียมโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ส่วน *Saccharomyces cerevisiae* จะต้องเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD broth บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และ *Candida rugosa* จะบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

ก่อนนำเชื้อบริสุทธิ์ที่บ่มเพาะเชื้อแล้ว มาเติมลงในส่วนผสมการผลิตจะต้องมีการเจือจางเพื่อให้ได้อัตราส่วนที่เหมาะสมก่อนทุกครั้ง ซึ่งจะทำให้เชื้อบริสุทธิ์ที่เติมลงไปมีกิจกรรมที่ดีที่สุด

การคำนวณทำได้โดย ถ้าส่วนผสมในการผลิตต้องการเชื้อ $6 \log \text{ cfu/g}$ แสดงว่าใน 1 กิโลกรัมส่วนผสมจะต้องการเชื้อ $9 \log \text{ cfu/g}$ แต่ใน Stock culture ของเชื้อ มี $10 \log \text{ cfu/g}$ ดังนั้นใน 0.1 มิลลิลิตรของ Stock culture จะมี เชื้อเท่ากับ $9 \log \text{ cfu/g}$ เป็นต้น การเจือจางจะใช้สารละลายบัฟเฟอร์เปปโตนร้อยละ 0.1

กระบวนการผลิตไส้กรอกปลาหมัก



แผนการทดลอง

3.1 การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างปลาแป็งแดงและปลาส้ม

การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างปลาแป็งแดงและปลาส้มทำได้โดย การนำตัวอย่างปลาแป็งแดงและปลาส้มที่มีจำหน่ายในท้องตลาด มาทำการแยกเชื้อแบคทีเรียแลคติกในอาหารเลี้ยงเชื้อ Lactobacilli MRS Agar (de Man Rogosa Sharpe medium) โดยวิธี Pour plate แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อจากนั้นทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะโคโลนีต่างๆ ให้บริสุทธิ์โดยการ Streak plate ในอาหารชนิดเดิม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงทำการเขี่ยเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้เก็บไว้ในหลอดทดลองที่มีอาหารแข็ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ไปเก็บรักษาไว้ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งควรจะมีการเปลี่ยนอาหารใหม่ให้กับจุลินทรีย์ทุกๆ 30 วัน

3.2 การศึกษาลักษณะพื้นฐานและการทดสอบศักยภาพของเชื้อขั้นต้น

ทำการทดสอบศักยภาพของเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากตอนที่ 3.1 โดยใช้วิธีการย้อมสีแบบกรัมสแติน (Gram stain) แล้วส่องดูลักษณะของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100 เท่า จากนั้นศึกษาความสามารถในการสร้างกรด โดยการนำเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากตัวอย่างปลาส้มและปลาแป็งแดง ไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด MRS broth และ MRS agar ซึ่งมีการเติมอินดิเคเตอร์ คือ Bromocresol green ร้อยละ 2 (สุรชัย, 2546) ลงไปด้วยซึ่งถ้าหากว่าจุลินทรีย์ที่ทดสอบมีการสร้างกรดขึ้นมา อินดิเคเตอร์ก็จะเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลือง ต่อจากนั้นทำการศึกษาความต้องการอากาศ และความสามารถในการสร้างก๊าซของจุลินทรีย์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด MRS agar และใช้วิธีการ Stab เพื่อดูว่าเชื้อสามารถเจริญได้บริเวณใดของอาหารบ้าง และมีการสร้างก๊าซหรือไม่ โดยใช้ Needle แทงลงไป ในอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลอง แล้วสังเกตการเจริญแพร่ตามแนวการ Stab จากผิวด้านบนอาหารลงไป ในหลอดซึ่ง จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญเท่านั้น (Arobe bacteria) จะสามารถเจริญได้เฉพาะบริเวณผิวหน้าอาหาร จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศ (Anaerobe bacteria) จะสามารถเจริญได้ภายในอาหารเท่านั้น ส่วนจุลินทรีย์ที่เจริญได้ทั้งที่มีอากาศและไม่มีอากาศ

จะสามารถเจริญทั้งในและผิวหน้าอาหาร และจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างก๊าซได้จะสังเกตเห็นรอยแยกในอาหารอันเกิดจากก๊าซที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นอย่างชัดเจน

3.3 การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้

นำเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากตอนที่ 3.2 มาทำการคัดเลือกเพื่อให้ได้จุลินทรีย์ชนิดที่เหมาะสมในการที่จะนำไปใช้เป็นส่วนผสมของเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์ปลาหมัก โดยการวางแผนการทดลองแบบ Plackett and Burman design (N = 12) (ไพโรจน์, 2547) เพื่อถ่วงรอนชนิดของจุลินทรีย์ที่สำคัญจากปลาแป็งแดงและปลาส้มที่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้กรอกปลาหมัก โดยกำหนดระดับต่ำของปัจจัยคือไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์ และระดับสูงของปัจจัยคือ ใส่เชื้อจุลินทรีย์ร้อยละ 0.1 มิลลิลิตรของส่วนผสมหลัก และปัจจัยที่ศึกษาคือเชื้อจุลินทรีย์ที่สำคัญในการหมักผลิตภัณฑ์ปลาแป็งแดงและปลาส้มที่ได้มาจากการทดลองตอนที่ 3.2 ส่วนในสูตรของการผลิตได้กรอกปลาหมักจะอิงตามสูตรของการผลิตปลาส้ม (สุขเกษม, 2532) เป็นหลัก โดยมีการเพิ่มส่วนผสมอื่นๆจากปลาแป็งแดง (จินดารัตน์, 2522) และสารทดแทนไขมัน (พนอจิต, 2543) ลงไปด้วยซึ่งการทดลองนี้จะทำการคัดเลือกจุลินทรีย์ตัวที่มีผลกระทบอย่างมากต่อผลิตภัณฑ์ในด้านต่างๆไปทำการศึกษาต่อ ส่วนจุลินทรีย์ที่ไม่มีผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์หรือมีผลกระทบน้อยก็จะคัดแยกออกไป

ตาราง 3.1 แผนการทดลองแบบ Plackett and Burman Design (N=12) ในการกลั่นกรองชนิดของเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาหมัก

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

หมายเหตุ - คือ ระดับต่ำ + คือ ระดับสูง

เมื่อได้สิ่งทดลองทั้งหมด จะดำเนินการตรวจสอบคุณภาพด้านต่างๆ ดังนี้

การวิเคราะห์คุณภาพด้านประสาทสัมผัส

- ทดสอบความชอบของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ (ไพโรจน์, 2547)

การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี

- ความเป็นกรดเป็นด่าง (AOAC, 2003)
- ปริมาณความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกับกรดแลคติก (AOAC, 2003)
- ปริมาณกรดที่ระเหยได้ (AOAC, 2003)
- ปริมาณกรดที่ระเหยไม่ได้ (AOAC, 2003)

การวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ

- ค่าสี L, a และ b (Minolta, 2002)

องค์ประกอบทางด้านจุลินทรีย์

- ปริมาณ Coliform bacteria และ *E.coli* (AOAC, 2003)

การวิเคราะห์และประเมินผลทางสถิติ

- โปรแกรม SPSS 10.0.1 , Microsoft Excel

3.4 การศึกษาจนผลศาสตร์ของเชื้อจุลินทรีย์

ทำการศึกษาจนผลศาสตร์ของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกจากตอนที่ 3.3 เพื่อหาจุลินทรีย์ที่ถือว่ามีความปลอดภัยที่สุดในกลุ่ม เพื่อทราบตัวแปรในการหมักและในการสร้างสารต่างๆ โดยเลี้ยงในอาหาร MRS broth

3.5 การสร้างเค้าโครงผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาหมัก

ก่อนที่จะทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาหมักนั้น จำเป็นต้องมีการสร้างเค้าโครงผลิตภัณฑ์ เพื่อหาลักษณะที่สำคัญตามความคิดของผู้บริโภค ซึ่งวิธีการสร้างเค้าโครงผลิตภัณฑ์นี้สามารถใช้หลักการของ Ideal ratio profile ได้

Ideal ratio profile เป็นวิธีการทดสอบเค้าโครงผลิตภัณฑ์เพื่อคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ด้วยค่าสัดส่วน เป็นวิธีการที่ให้ผู้ทดสอบชิมแสดงความเข้มหรือความมากน้อยของคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสที่มีต่อผลิตภัณฑ์ โดยผู้ทดสอบชิมจะเป็นผู้กำหนดลักษณะของผลิตภัณฑ์เอง ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่กำลังพัฒนามีเค้าโครงลักษณะที่เหมือนหรือคล้ายกับที่ผู้ทดสอบชิมต้องการ โดยเค้าโครงดังกล่าวจะเป็นแนวทางในการเปรียบเทียบกับตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่กำลังพัฒนา

ค่าคะแนนที่ผู้ทดสอบชิมแต่ละคนให้กับลักษณะแต่ละอย่างของผลิตภัณฑ์จะกำหนดให้เป็นตัวตั้งและหารด้วยค่าคะแนนที่ถูกกำหนดว่าดีที่สุด หรือเป็นคะแนนที่เหมาะสมตรงกับความต้องการของผู้ทดสอบชิมซึ่งจะได้สัดส่วน (Ratio) ของแต่ละคน นำค่าดังกล่าวมาหาค่าเฉลี่ยจะได้ค่าสัดส่วนเฉลี่ย (Mean ratio score) ค่าสัดส่วนเฉลี่ยที่ได้ของแต่ละลักษณะจะนำมาพิจารณาเปรียบเทียบกับโครงลักษณะที่ต้องการ ซึ่งเป็นค่าสัดส่วนเท่ากับ 1.00 ภาพรวมจาก

ค่าสัดส่วนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะเรียกว่า Numerical product profile จากนั้นนำค่าสัดส่วนเฉลี่ยดังกล่าวมาสร้างเป็นเค้าโครงลักษณะรูปวงกลมไขว้ (Cyclic profile)

ในการทดสอบเค้าโครงของผลิตภัณฑ์เพื่อกำหนดคุณลักษณะที่สำคัญนั้นจะใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนแล้ว คุณลักษณะสำคัญจะถูกกำหนดขึ้นมาจากความเห็นของผู้ทดสอบชิมที่มีความเห็นตรงกันมากกว่าครึ่งหนึ่งของจำนวนผู้ทดสอบชิมทั้งหมด และระดับความเข้มของคุณลักษณะที่สำคัญจะถูกกำหนดไว้ (Fixed ideal) เพื่อใช้ในการหาสัดส่วนเฉลี่ย (Mean ideal ratio score) เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อให้มีค่าเข้าใกล้ Ideal ratio score ในการทดลองต่อไป

3.6 การศึกษาปริมาณเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาหมัก

ในขั้นตอนนี้จะนำเอาเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากการทดลองตอนที่ 3.4 มาทำการกลั่นกรองชนิดของจุลินทรีย์ที่มีผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาหมัก โดยวางแผนการทดลองแบบ Plackett and Burman Design (N=8) (ไพโรจน์, 2547)

ตาราง 3.2 แผนการทดลองแบบ Plackett and Burman Design (N=8) ในการศึกษาปริมาณเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่เหมาะสมในการนำไปใช้เป็นหัวเชื้อผสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาหมัก

สิ่งทดลอง	A	B	C	D	E	F	G
1	+	+	+	-	+	-	-
2	-	+	+	+	-	+	-
3	-	-	+	+	+	-	+
4	+	-	-	+	+	+	-
5	-	+	-	-	+	+	+
6	+	-	+	-	-	+	+
7	+	+	-	+	-	-	+
8	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ A - E คือ เชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการศึกษา, F และ G คือ Dummy variables
 - คือ ระดับต่ำ และ + คือ ระดับสูง

จากการทดลองนี้จะทำให้ทราบถึงปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการนำไปใช้เป็นหัวเชื้อผสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาหมึกโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น

เมื่อได้สิ่งทดลองทั้งหมด จะดำเนินการตรวจสอบคุณภาพด้านต่างๆ ดังนี้

การวิเคราะห์คุณภาพด้านประสาทสัมผัส

- ใช้ Ideal ratio profile technique (ไพโรจน์, 2547)

การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี

- ความเป็นกรดเป็นด่าง (AOAC, 2003)
- ปริมาณความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกับกรดแลคติก (AOAC, 2003)
- ปริมาณกรดที่ระเหยได้ (AOAC, 2003)
- ปริมาณกรดที่ระเหยไม่ได้ (AOAC, 2003)

การวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ

- ค่าสี L, a และ b (Minolta, 2002)
- ค่าแรงเฉือน (Instron, 1993)

การวิเคราะห์และประเมินผลทางสถิติ

- โปรแกรม SPSS 10.0.1 , Microsoft Excel

3.7 ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของส่วนผสมหลัก

ได้ทำการศึกษาหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของส่วนผสมหลักที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาหมึก โดยจะกำหนดช่วงของส่วนผสมหลักในที่นี้คือเนื้อปลาเยือก (กรัม) ซึ่งเป็นเนื้อปลาที่นิยมนำมาผลิตเป็นปลาสาม และเนื้อปลาทูรายแดง (กรัม) ที่นิยมนำมาผลิตเป็นปลาแปงแดง ในอัตราส่วนดังนี้คือ 100:0, 75:25, 50:50, 25:75 และ 0:100 และวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) (ไพโรจน์, 2547) การทดลองนี้จะทำให้ทราบถึงอัตราส่วนของส่วนผสมหลักที่เหมาะสม ที่จะนำไปใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาหมึก

เมื่อได้สิ่งทดลองทั้งหมด จะดำเนินการตรวจสอบคุณภาพด้านต่างๆ เหมือนตอนที่ 3.6

3.8 ศึกษาหาปริมาณที่เหมาะสมของส่วนผสมที่คาดว่าจะมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาหมึก

การศึกษาเพื่อกลั่นกรองหาปัจจัยที่คาดว่าจะมีผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยทำการวางแผนการทดลองแบบ Plackett and Burman Design (N=12) (ไพโรจน์, 2547) ใช้อัตราส่วนของส่วนผสมหลักที่ได้จากการทดลองตอนที่ 3.7 และใช้เชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้นที่ได้จากการทดลองตอนที่ 3.6

ตาราง 3.3 ระดับของปัจจัยที่คาดว่าจะมีผลกระทบต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาหมึก

ปัจจัย	ระดับปัจจัย (ร้อยละของส่วนผสมหลัก)	
	ระดับต่ำ(-)	ระดับสูง(+)
A กระเทียม	8.00	10.00
B เกลือ	1.00	2.00
C อังคัก	0.50	1.00
D ข้าวเหนียวสุก	16.00	20.00
E โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต	0.10	0.30
F คาราจีแนน	0.10	0.25
G แชนแทนกัม	0.10	0.25

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

ตาราง 3.4 แผนการทดลองแบบ Plackett and Burman Design (N=12) ในการกลั่นกรองปัจจัยที่สำคัญของสูตรการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาหมึก

สิ่งทดลอง	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 - F คือ ปัจจัยต่างๆในสูตรการผลิต, G - K คือ Dummy variables
- คือ ระดับต่ำ และ + คือ ระดับสูง

เมื่อได้ตัวอย่างจากสิ่งทดลองทั้งหมด จะดำเนินการตรวจสอบวิเคราะห์คุณภาพทางด้านต่างๆ เหมือนตอนที่ 3.6

3.9 การศึกษากระบวนการผลิตที่เหมาะสม

ในขั้นตอนนี้จะศึกษากระบวนการผลิตไส้กรอกปลาหมึก โดยจะใช้สูตรที่ได้มาจากการทดลองตอนที่ 3.8 มาทำการผลิตในสภาวะที่กำหนด คือ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยจะผันแปรเวลาที่ใช้ในการหมัก คือ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาหมึก โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) (ไพโรจน์, 2547)

เมื่อได้ตัวอย่างจากสิ่งทดลองทั้งหมด จะดำเนินการตรวจสอบวิเคราะห์คุณภาพทางด้านต่างๆ เหมือนตอนที่ 3.6

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการหมักผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาหมักที่จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพดีที่สุด

3.10 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ก่อนการบรรจุ

ศึกษาระยะเวลาการฆ่าเชื้อที่เหมาะสมก่อนการบรรจุผลิตภัณฑ์ไส้กรอกปลาหมัก โดยจะใช้สูตรที่ได้มาจากการทดลองตอนที่ 3.8 และระยะเวลาการหมักจากการทดลองตอนที่ 3.9 มาทำการผลิตในสภาวะที่กำหนด คือ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสโดยจะผันแปรเวลาที่ใช้ในการนี้ คือ 15, 20 และ 25 นาที โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) (ไพโรจน์, 2547)

เมื่อได้สิ่งทดลองทั้งหมด จะดำเนินการตรวจสอบคุณภาพด้านต่างๆ ดังนี้

การวิเคราะห์คุณภาพด้านประสาทสัมผัส

- ใช้ Ideal ratio profile technique (ไพโรจน์, 2547)

การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี

- ความเป็นกรดเป็นด่าง (AOAC, 2003)
- ปริมาณความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกับกรดแลคติก (AOAC, 2003)

การวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ

- ค่าสี L, a และ b (Minolta, 2002)
- ค่าแรงฉีก (Instron, 1993)

องค์ประกอบทางด้านจุลินทรีย์

- ปริมาณ Coliform bacteria และ *E.coli* (AOAC, 2003)
- ปริมาณปริมาณยีสต์และรา (AOAC, 2003)
- ปริมาณ Total Plate Count (AOAC, 2003)

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาระยะเวลาการฆ่าเชื้อที่เหมาะสมก่อนการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ใส่กรอกปลาหมัก

3.11 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์สุดท้าย

คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

- ใช้ Ideal ratio profile technique (ไพโรจน์, 2547)

องค์ประกอบทางด้านเคมีโดยประมาณ

- พลังงาน (AOAC, 2003)
- โปรตีน (AOAC, 2003)
- ไขมัน (AOAC, 2003)
- ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (AOAC, 2003)
- ปริมาณน้ำ (AOAC, 2003)
- ความเป็นกรดเป็นด่าง (AOAC, 2003)
- ปริมาณความเป็นกรดทั้งหมดคิดเทียบกับกรดแลคติก (AOAC, 2003)
- ใยอาหาร (ลักษณะและนิธิยา, 2544)
- เถ้า (AOAC, 2003)
- แคลเซียม (AOAC, 2003)
- ฟอสฟอรัส (AOAC, 2003)
- เหล็ก (AOAC, 2003)
- วิตามินเอ (AOAC, 2003)
- ไทอะมิน (AOAC, 2003)

องค์ประกอบทางด้านกายภาพ

- ค่าสี L, a และ b (Minolta, 2002)
- ค่าแรงเหวี่ยง (Instron, 1993)

องค์ประกอบทางด้านจุลินทรีย์

- ปริมาณยีสต์และรา (AOAC, 2003)
- ปริมาณ Total Plate Count (AOAC, 2003)
- ปริมาณ Coliform bacteria และ *E. coli* (AOAC, 2003)
- Anaerobe Mesophilic Bacteria (AOAC, 2003)
- Anaerobe Thermophilic Bacteria. (AOAC, 2003)

การวิเคราะห์และประเมินผลทางสถิติ

- โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10.0.1
- โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft Excel
- โปรแกรมสำเร็จรูป Mathcad version 7.0 professional
- โปรแกรมสำเร็จรูป Statistica version 5.0