บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

1. น้ำพริกหนุ่มในการทดลอง ใช้น้ำพริกหนุ่มจากร้านอาหารพื้นเมือง สามพี่น้อง จำหน่ายบริเวณตลาดต้นพะยอม ซึ่งการเตรียมน้ำพริกหนุ่ม มีขั้นตอนดังนี้
   1.1 นำพริกหนุ่มมาล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นแช่ด้วยคลอรีนความเข้มข้น 150 มก./กก. นาน 30 นาที ผึ่งให้สะเด็ดน้ำ จากนั้นเสียบไม้แล้วนำไปย่าง และแกะเปลือกออก พริกที่แกะเปลือกแล้วนำไปแช่น้ำแข็งระหว่างรอการผลิต
   1.2 นำหอมหัวใหญ่มาแกะเปลือก ล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นนำไปต้มจนสุก
   1.3 นำกระเทียมมาแกะออกเป็นกลีบ คั่วให้สุก จากนั้นนำมาแกะเปลือกออก
   1.4 จากนั้นปั่นพริกหนุ่ม หอมหัวใหญ่ต้มสุก และกระเทียมคั่วเข้าด้วยกัน ปรุงรสด้วยเกลือและผงชูรส

3.2 อุปกรณ์

1. กรดซิตริก (food grade, ซื้อจาก บริษัทยูเนี่ยนซายด์ จำกัด)
2. โซเดียมเบนโซเอต (food grade, ซื้อจาก บริษัทยูเนี่ยนซายด์ จำกัด)
3. น้ำกลั่น (บริษัทเชียงใหม่โพสตาร์, ประเทศไทย)
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 N (Merck, Germany)
5. สารละลายฟีนอฟทาลีน (อินดิเคเตอร์)
6. แอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 95 (องค์การสุรา กรมสรรพสามิต, ประเทศไทย)
7. Plate Count agar (Merck, Germany)
8. Peptone (Merck, Germany)
9. ถุงพลาสติก
10. จานเพาะเชื้อ
11. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 150 มิลลิลิตร
12. ขวดดูแรนท์ ขนาด 100 และ500 มิลลิลิตร
13. ปิเปต 10 มิลลิลิตร
14. บิวเรต 50 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

15. ขวดปรับปริมาตร 100 200 และ1,000 มิลลิตร
16. บีกเกอร์
17. กระบอกตวง 100 มิลลิลิตร
18. หลอดทดลองขนาด 16 x 100 มิลลิเมตร
19. ไมโครปิเปต (Nichiryo : Nichipet ex, Japan)
20. เครื่องวัดสี (Minolta Chroma Meter : CR-300, Japan)
21. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Precisa : BJ610C, Switzerland)
22. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Consort® : C830T, Belgium)
23. ตู้เย็น (Sharp : TH-8303, Thailand)
24. ตู้บ่ม 30±1 องศาเซลเซียส
25. ตู้บ่มเชื้อ 35±1 องศาเซลเซียส

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 ศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาน้ำพริกหนุ่ม

นำน้ำพริกหนุ่มที่จัดหามา แบ่งใส่ถุงพลาสติกถุงละ 100 กรัม ปิดปากถุงด้วยยางรัด จากนั้นเก็บตัวอย่างไว้ที่ตู้เย็น (4±1^{O}ซ) และตู้บ่ม (30±1^{O}ซ) จากนั้นสุ่มตัวอย่างน้ำพริกหนุ่มครั้งละถุงไปตรวจวิเคราะห์คุณภาพทุก 8 ชั่วโมง จนกว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมากกว่า 1x10^{6} CFU/g จึงหยุดตรวจ โดยตรวจวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

คุณภาพทางกายภาพ

- ค่าสี โดยวัดค่าความสว่าง (L) ค่าสีแดง (a*) และค่าสีเหลือง (b*) ด้วยเครื่องวัดสี

คุณภาพทางเคมี

- ค่าความเป็นกรด–ด่าง วัดสารละลายที่ได้จากการปั่นผสมน้ำพริกหนุ่มกับน้ำ (1:1) ด้วยเครื่อง pH meter
- วิเคราะห์ปริมาณกรด โดยวิธีไตเตรท (Cunniff, 1995)
  ไตเตรทหาปริมาณกรดคิดเทียบเป็นปริมาณกรดซิตริก ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 N และใช้ฟีนอฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

คุณภาพทางจุลชีววิทยา (Maturin and Peeler, 2001)

- จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count)
  โดยใช้เทคนิค dilution และ pourplate ด้วยอาหาร plate count agar และคำนวณหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเป็น CFU/g

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3.2 ศึกษาความเข้มข้นกรดซิตริกที่เหมาะสม ในการปรับความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำพริกหนุ่ม

เตรียมน้ำพริกหนุ่มชุดใหม่ จากนั้นชั่งน้ำพริกหนุ่ม 100 กรัม เติมกรดซิตริก 1 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0.3 0.4 และ 0.5 เพื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างน้ำพริกหนุ่มให้น้อยกว่า 4.5 ซึ่งเหมาะสมกับช่วงการออกฤทธิ์ของโซเดียมเบนโซเอต จากนั้นนำน้ำพริกหนุ่มที่ปรับกรดแล้วไปทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสเปรียบเทียบกับน้ำพริกหนุ่มที่ไม่ผ่านการปรับกรด ด้วยวิธี nine point hedonic scale test ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 50 คน ให้คะแนนการยอมรับด้านสี กลิ่น รสชาติ ความเปรี้ยว และความชอบโดยรวม โดยให้คะแนนระดับความชอบจากตัวเลข 1 ถึง 9 โดยระดับ 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด จนถึงระดับ 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด โดยชิมคู่กับเครื่องเคียง (แคบหมู) เนื่องจากเวลารับประทานผู้บริโภคนิยมรับประทานคู่กับเครื่องเคียงต่างๆ จากนั้นเปรียบเทียบคะแนนเฉลี่ยของน้ำพริกหนุ่มแต่ละชุดดูความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทดสอบโดยวิธี Least Significant Difference Test (LSD) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 และเลือกความเข้มข้นกรดซิตริกที่น้อยที่สุด ที่มีคะแนนการยอมรับใกล้เคียงน้ำพริกหนุ่มที่ไม่ผ่านการปรับกรดไปใช้ในการทดลองถัดไป

3.3.3 ศึกษาปริมาณโซเดียมเบนโซเอตที่เหมาะสม

น้ำพริกหนุ่มปรับกรดที่ผ่านการศึกษาจากข้อ 3.3.2 และเติมโซเดียมเบนโซเอต 3 ระดับ คือ 0 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผสมให้เข้ากัน ทำการเก็บตัวอย่างไว้ที่ตู้เย็น (4±1^{O}ซ) และตู้บ่ม (30±1^{O}ซ) โดยวางแผนการทดลองแบบ 2x3 Factorial in Completely Randomized Design ทำการทดลองระดับละ 3 ซ้ำ ระหว่างการเก็บรักษาทำการตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดทุก 8 ชั่วโมง จนกว่าจำนวนจุลินทรียทั้งหมดมากกว่า 1x10^{6} CFU/g จึงหยุดตรวจ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved