

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

1. เนื้ออกไก่ (ไก่สดอนามัย ตรา ซีพี, ห้างสรรพสินค้าแม็คโคร, เชียงใหม่, ประเทศไทย)
2. น้ำปลา (น้ำปลาแท้ 100% ตราหอยนางรม, ห้างสรรพสินค้าแม็คโคร, เชียงใหม่, ประเทศไทย)
3. น้ำ (บริษัท เชียงใหม่โพลสตาร์ (1992) จำกัด, เชียงใหม่, ประเทศไทย)

3.1.2 สารเคมี

1. Sodium benzoate (food grade) (บ. ยูเนียน ซาชน์ จำกัด, เชียงใหม่, ประเทศไทย)
2. Butylated hydroxyl anisole (food grade) (บ. ทีทีเค ซายแอนซ์ จำกัด, กรุงเทพฯ, ประเทศไทย)
3. Butylated hydroxyl toluene (food grade) (หจก. เวชวิทย์, เชียงใหม่, ประเทศไทย)
4. Plate Count Agar (PCA) (Difco™ 247940, France)
5. Potato Dextrose Agar (PDA) (Difco™ 213400, France)
6. Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) (Difco™ 218661, France)
7. deMan Rogosa Sharpe (MRS) Agar (Scharlau 01-135, Spain)
8. 10% Tartaric acid (Merck, Germany)

3.1.3 อุปกรณ์การทดลอง

1. เตาสำหรับหุงต้ม
2. มีดและเขียง
3. หม้อและตะหลิว
4. ถังพลาสติก
5. Vacuum packages
6. ถังมือพลาสติก

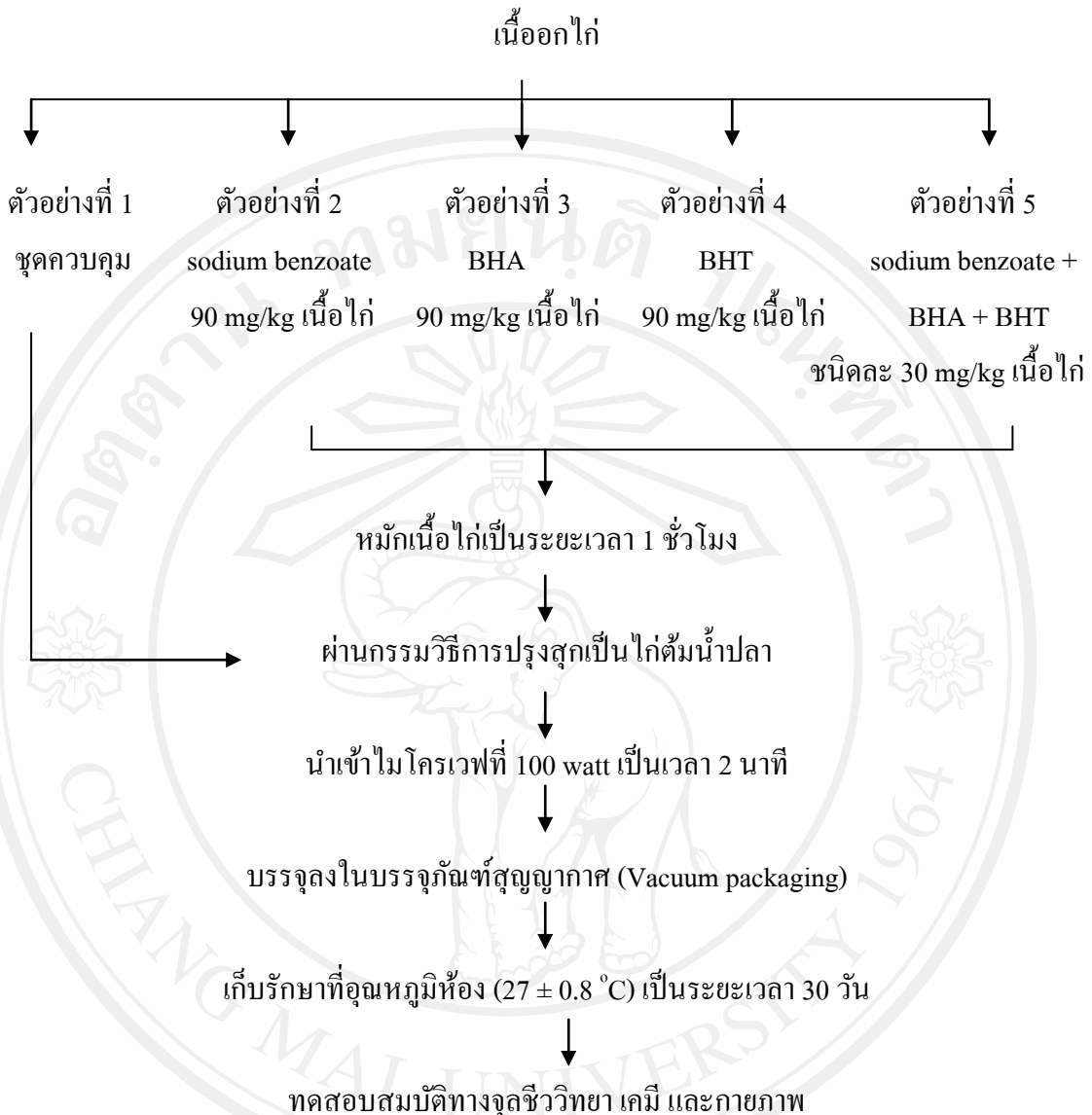
7. Blender (Moulinex รุ่น MNX-Y46, France)
8. เครื่องชั่ง (Precisa รุ่น BJ610C, Switzerland)
9. เตาไมโครเวฟ (Samsung Microwave oven รุ่น CE1000T, Thailand)
10. เครื่องบรรจุสุญญากาศ (Audionvac รุ่น VM203, Netherlands)
11. เครื่องวัด Water activity (Aqua lab รุ่น CX3TE, USA)
12. pH meter (SCHOTT รุ่น CG842, Germany)
13. Texture Analyzer (TA.XT *plus*, Stable Micro System, UK)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การศึกษาผลของวัตถุเจือปนอาหารที่มีต่อสมบัติทางจุลชีววิทยา เคมี และกายภาพของผลิตภัณฑ์ไก่ต้มน้ำปลาพร้อมบริโภค ที่แปรรูปโดยเทคโนโลยีเฮอร์เดิลและเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$) เป็นระยะเวลา 30 วัน

3.2.1.1 การเตรียมตัวอย่างไก่ต้มน้ำปลาพร้อมบริโภค

การเตรียมตัวอย่างไก่ต้มน้ำปลาพร้อมบริโภค ดังแสดงในภาพที่ 3.1 เนื้ออกไก่ที่ผ่านการตัดแต่งและเก็บไว้ไม่เกิน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิการแช่เย็น นำมาผ่านและไม่ผ่านการหมักด้วยวัตถุเจือปนอาหารที่แตกต่างกัน 3 ชนิด แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มตัวอย่างคือ 1). ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการหมักวัตถุเจือปนอาหาร 2). ตัวอย่างที่หมักด้วย sodium benzoate ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่ 3). ตัวอย่างที่หมักด้วย BHA ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่ 4). ตัวอย่างที่หมักด้วย BHT ปริมาณ 90 mg/kg ของเนื้อไก่ และ 5). ตัวอย่างที่หมักด้วยสารผสมของ sodium benzoate + BHA + BHT ปริมาณชนิดละ 30 mg/kg ของเนื้อไก่ โดยแต่ละกลุ่มตัวอย่างจะทำซ้ำ 2 ซ้ำ จากนั้นนำมาผ่านกรรมวิธีการปรุงสุกเป็นไก่ต้มน้ำปลา โดยการนำเนื้อไก่ใส่ลงในน้ำปลาผสมน้ำ (อัตราส่วนระหว่างน้ำปลาและน้ำ คือ 1 : 1 โดยปริมาตร) ที่ผ่านการต้มจนเดือดและระดับของน้ำจะต้องท่วมเนื้อไก่ทั้งหมด ที่อุณหภูมิประมาณ $100 \text{ }^{\circ}\text{C}$ นาน 4 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างเข้าเครื่องไมโครเวฟทำการอบโดยตั้งกำลังงานที่ 100 watt นาน 2 นาที บรรจุลงในบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ (polyethylene/polyamide) ปริมาณ 250 g/pack โดยใช้ระดับสุญญากาศเท่ากับ 90% เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 0.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$) เป็นระยะเวลา 30 วัน ทำการทดสอบสมบัติทางจุลชีววิทยา เคมี และกายภาพ ในวันที่ 0 , 7 , 14 , 21 และ 30 ของการเก็บรักษา



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างไก่ต้มน้ำปลาพร้อมบริโภคน้ำดื่มที่มีการเติมวัตถุเจือปนอาหาร

3.2.1.2 การทดสอบสมบัติทางจุลชีววิทยา

ตัวอย่างเนื้อไก่ (25 กรัม) ใน 0.1% Peptone water 225 มิลลิลิตร ผ่านการ homogenized ด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง การนับเชื้อจุลินทรีย์สามารถกระทำได้โดยใช้ 1 มิลลิลิตรจาก 1 : 10 serial dilutions (0.1% Peptone water) ของเนื้อไก่ที่เป็นเนื้อเดียวกัน นำมา pour plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่แห้ง โดยการวิเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดจะใช้ Plate Count Agar (PCA) (Difco™ 247940) ภายหลังจากการบ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 °C (AOAC, 2000) เชื้อยีสต์และรา สามารถวิเคราะห์โดยใช้ Potato Dextrose Agar (PDA) (Difco™ 213400) ที่ผ่านการปรับ pH เป็น 3.5 ด้วย 1.8 มิลลิลิตรของ 10% Tartaric acid (Merck, Germany) ต่อ 100

มิลลิลิตรของ PDA ภายหลังจากการบ่มเป็นเวลา 4-5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °C ในที่มืด (AOAC, 2000) เชื้อในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* สามารถวิเคราะห์โดยใช้ Violet Red Bile Glucose Agar (VRBGA) (Difco™ 218661) โดยทำการ over lay ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหลวปริมาณ 10 มิลลิลิตร ภายหลังจากการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C นับโคโลนีที่มีขนาดใหญ่รัศมีสีม่วง (Mossel et al., 1979) และเชื้อในกลุ่ม Lactic acid bacteria สามารถวิเคราะห์โดยใช้ deMan Rogosa Sharpe (MRS) Agar (Scharlau 01-135) ตามวิธีการของ Ntzimani et al. (2010) ภายหลังจากการบ่มเป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 37 °C นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี นำไปคำนวณหาจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในตัวอย่างเป็น colony-forming units ต่อกรัม (CFU/g)

3.2.1.3 การทดสอบสมบัติทางเคมี

ระดับของ Thiobarbituric acid (TBA) สามารถวิเคราะห์ตามวิธีการของ Pearson ปี ค.ศ. 1991 (Chouliara et al., 2007) ซึ่งจะแสดงค่าเป็น มิลลิกรัมของ malondialdehyde (MDA) ต่อ กิโลกรัมของเนื้อไก่ ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่ระเหยได้ทั้งหมด (Total Volatile Basic Nitrogen, TVB-N) สามารถวิเคราะห์โดยวิธีการกลั่น (Malle and Poumeyrol, 1989) ซึ่งจะแสดงค่าเป็น มิลลิกรัมของ TVB-N ต่อ 100 กรัมของเนื้อไก่

ปริมาณเกลือ สามารถวัดโดยวิธี Mohr titration ซึ่งจะแสดงค่าเป็น กรัมของโซเดียม-คลอไรด์ต่อ 100 กรัมของเนื้อไก่ (AOAC, 2000)

ค่า Water activity (a_w) สามารถวัดโดยเครื่องวัด Water activity (Aqua lab รุ่น CX3TE, USA) จากตัวอย่างเนื้อไก่ 5 กรัมที่ผ่านการบดละเอียด และค่า pH สามารถวัดโดย pH meter (SCHOTT รุ่น CG842, Germany) ที่ผ่านการ calibrated ด้วย 2 standard solutions buffered ที่ pH 4.00 และ 7.00 จากตัวอย่างเนื้อไก่ 5 กรัมในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรที่เป็นเนื้อเดียวกัน

3.2.1.4 การทดสอบสมบัติทางกายภาพ

การวิเคราะห์คุณภาพของเนื้อสัมผัสไก่ต้มน้ำปลา ใช้วิธี Texture profile analysis (TPA) ด้วยเครื่อง Texture Analyzer (TA.XT plus, Stable Micro System, UK) ทำการตัดชิ้นเนื้อไก่ ให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3.3 เซนติเมตร และความสูงประมาณ 2 เซนติเมตร นำมาให้แรงกด (compression) 2 ครั้ง ที่ 40% จากความสูงเดิม ด้วยหัววัดขนาด P/50 ค่า load cell เท่ากับ 5 kN และค่า cross head speed เท่ากับ 50 mm/min. วัดแรงต้านการกดนี้ หลังจากถอนแรงกดครั้งแรก เพื่อให้อาหารคลายตัว จากนั้นกดอีกครั้ง อ่านผลดังนี้ : ความแข็ง (hardness) เป็นค่าแรงสูงสุดของ

การกัดครั้งแรก เมื่ออาหารเริ่มแตกค่านี้อาจลดลง ความเปราะ (fracturability) เป็นจุดแรกของแรงที่ลดลงในการกัดครั้งแรก แอติซีฟิว (adhesiveness) เป็นพื้นที่ใต้กราฟมีค่าติดลบหลังจากที่ถอนแรงกัดครั้งแรก เป็นแรงที่หน่วงหัววัดก่อนถอนขึ้นไปยังตำแหน่งเดิม ความยืดหยุ่น (springiness) เป็นการวัดว่าโครงสร้างของอาหารแตกไปเท่าไรในการกัดครั้งแรก หรือวัดความเหนียวของอาหาร คำนวณโดยใช้ผลต่างของเวลาในการกัดครั้งแรกถึงเวลาก่อนเริ่มการกัดครั้งที่สอง โดยใช้ผลต่างระหว่างวัสดุที่ไม่มีความยืดหยุ่นเช่นดินกับวัสดุที่มีความยืดหยุ่นเช่นอาหารที่ทดสอบ โคฮีซีฟิว (cohesiveness) เป็นแรงที่ใช้กัดครั้งที่สองหารด้วยแรงที่ใช้กัดครั้งแรก ชิวิเนส (chewiness) เป็นพลังงานที่ใช้ในการเคี้ยวอาหารแข็งจนใกล้จะกลืน เท่ากับ $\text{hardness} \times \text{cohesiveness} \times \text{springiness}$ และกัมมีเนส (gumminess) เป็นพลังงานที่ใช้บดเคี้ยวอาหารถึงแข็งจนกระทั่งพร้อมที่กลืนเท่ากับ $\text{hardness} \times \text{cohesiveness}$ (Bourne, 1978)

3.2.1.5 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

ใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 16.0 for Windows, SPSS Inc., USA) ซึ่งเป็นโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) ข้อมูลที่ได้จะนำมาทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.2.2 การศึกษาอายุการเก็บรักษาไก่ต้มน้ำปลาพร้อมบริโภคน้ำปลาที่แปรรูปโดยเทคโนโลยีฮีโร่เดิล และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $5 \pm 2^\circ\text{C}$ เป็นระยะเวลา 30 วัน

3.2.2.1 การเตรียมตัวอย่างไก่ต้มน้ำปลาพร้อมบริโภคน้ำปลา

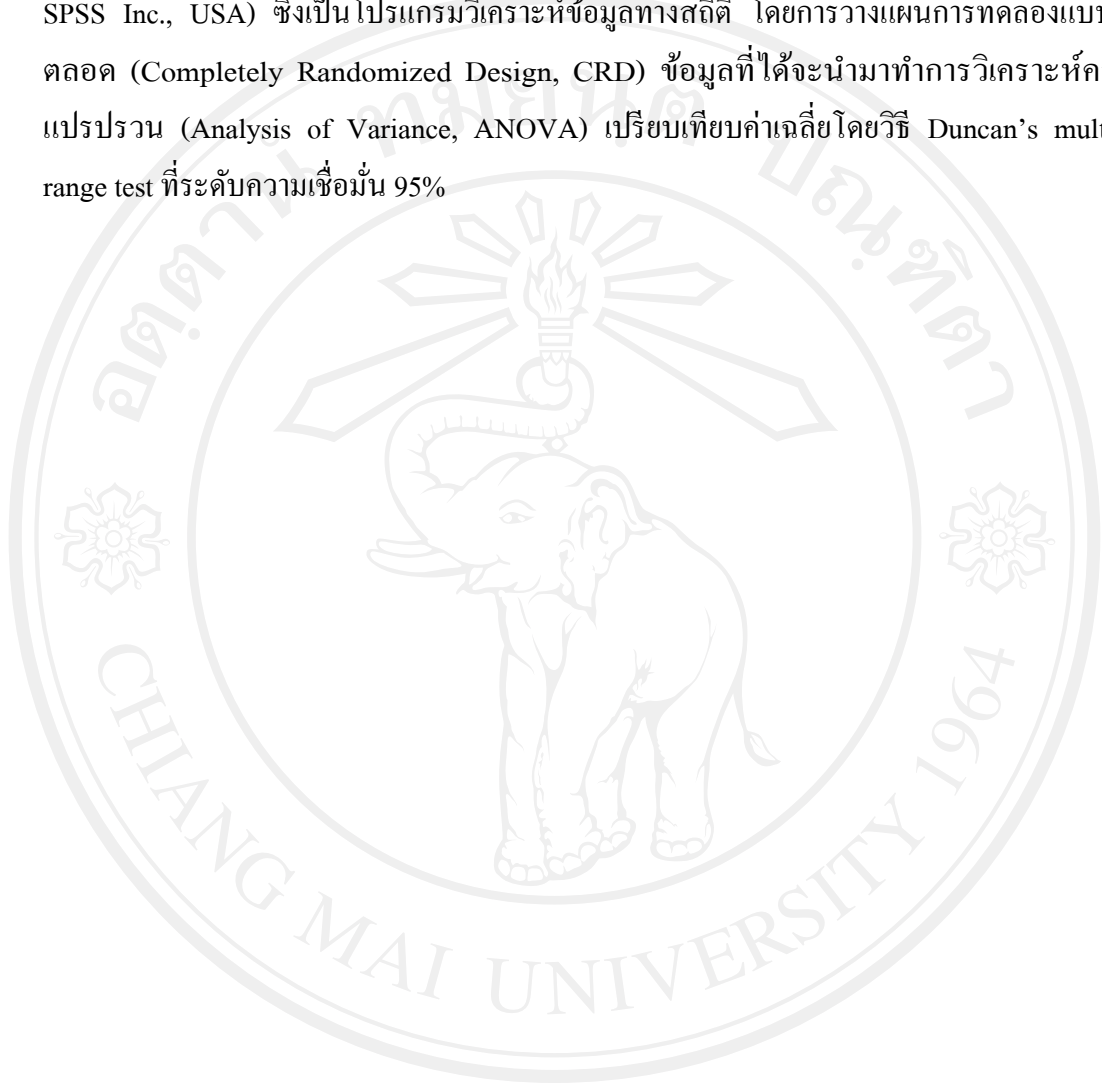
เลือกตัวอย่างไก่ต้มน้ำปลา 1 สภาวะ จากการทดลองตอนที่ 1 ที่มีการเปลี่ยนแปลงทางจุลชีววิทยา เคมี และกายภาพน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดสอบในวันที่ 0 เพื่อทำการศึกษาต่อในตอนต่อไป โดยขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างกระทำได้เช่นเดียวกับตอนที่ 1 (ยกเว้นขั้นตอนการเคี้ยวจะใช้เวลา 3 ชั่วโมง) ตัวอย่างจะถูกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $5 \pm 2^\circ\text{C}$ เป็นระยะเวลา 30 วัน ทำการทดสอบสมบัติทาง จุลชีววิทยา เคมี และกายภาพ ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 30 ของการเก็บรักษา

3.2.2.2 การทดสอบสมบัติด้านต่างๆ ของไก่ต้มน้ำปลา (ดำเนินการเช่นเดียวกับตอนที่ 1

ข้อ 3.3.1.2-3.3.1.4)

3.2.2.3 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

ใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 16.0 for Windows, SPSS Inc., USA) ซึ่งเป็นโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยการวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) ข้อมูลที่ได้จะนำมาทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved