บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

<u>วัตถุดิบในการผลิตไส้กรอกเวียนนา</u> (จากบริษัทไก่สดศรีไทย จำกัด)

เนื้อวัว เกรดเอ (ส่วนขาหลัง)

เนื้อหมู เกรดเอ (ส่วนขาหลัง) มันหมู (มันแข็งล้วน)

น้ำแข็งบด

เครื่องเทศรวม (ลูกจันทน์เทศ, ดอกจันทน์เทศ, พริกไทย)

แอคคอร์ด (soduim tripolyphosphate)

erythorbate

เกลือไนไตรท์ (เพรก)

เกลือแกง

น้ำตาลทราย

นมโปรตีน (sodium caseinate)

<u>สารเคมี</u>

กรดแลคติค 80 % Purac (บริษัท วิกกี้คอนโซลิเดท จำกัด)

70 % ethyl alcohol (AR.)

sodium benzoate (food grade)

potassium sorbate (food grade)

sodium hydroxide (AR.)

phenolphthalein (AR.)

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อ</u>

Plate Count Agar (PCA) (Difco)

Trypticase Soy Broth (TSB) (Difco)

Baird Parker medium (BP) (Difco)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Shahidi Ferguson Perfringens medium (SFP) (วิธีเตรียมตามภาคผนวก ง.)

Lauryl Sulphate Tryptone broth (LST) (Difco)

Brilliant Green Bile Broth (BGB) (Difco)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตไส้กรอก

- เครื่องบดเนื้อ (บริษัทไก่สดศรีไทย จำกัด)
- เครื่องสับละเอียด silent cutter (Seydelmann K93 URE/72328)
- เครื่องอัดไส้ hydraulic press (Vemag 1000)
- เครื่องฉีดพ่นกรดแลคติค (Gloria 142 T)
- ตู้รมควันขนาด 130x130x180 cm^3ควบคุมอุณหภูมิได้ในช่วง50-200^{o}C (บริษัทไก่สดศรีไทย จำกัด)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการบรรจุและเก็บผลิตภัณฑ์

- ถุงพลาสติก high density polyethylene (HDPE) ขนาด 17.8 x 25.3 ตารางเซนติเมตร หนา 0.03 มิลลิเมตร
- เครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศ (Multivac, AG 500)
- ห้องแช่เย็นอุณหภูมิ 4 - 10^{o}C
- ห้องแช่แข็งอุณหภูมิ (-18 $\pm$ 1^{o}C)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- เครื่องชั่งละเอียด (Satorius, A 200 S)
- เครื่องชั่งหยาบ (Satorius, B 3100 S)
- pH meter (Corning, M 220)
- เครื่องปั่น (Waring, 328 - L79)
- Texturometer (Mainframe Standard, T 2001) ใช้หัวใบมีดแบบ เฉือนผ่านร่อง
- Lovibond tintometer (AF 751)
- Autoclave (Tomy, SS-3201 S)
- Incubator ช่วงอุณหภูมิ 25 - 70^{o}C (Memmert, B30)

ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 ขั้นตอนการผลิตดังในผัง โดยดัดแปลงจากสูตรต้นแบบ ของกรมปศุสัตว์ สูตรอยู่ในภาค ผนวก ก.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ขั้นตอนการผลิต

เนื้อหมู (ส่วนขาหลัง)

เนื้อวัว (ส่วนขาหลัง) ——→ ทำความสะอาด ตัดแต่ง และลดขนาด

มันหมู (มันแข็ง)

↓

ลดอุณหภูมิ (แช่เย็นที่ [(-10) - (-7)°C])

↓

บดผ่าน plate ขนาดรูเปิด 4 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ [(-10) - (-7)°C])

↓

ผสมเกลือแกง, sodium nitrite และหมัก [(-10) - (-7)°C], 1 ชั่วโมง

↓

สับละเอียด (3 นาที) ด้วยเครื่องสับละเอียด Seydelmann

↓

อัดไส้และมัดเป็นท่อน

↓

รมควัน (70°C, 1 ชั่วโมง) โดยใช้ขานอ้อยเป็นแหล่งควัน

↓

ต้ม (75°C, 10 นาที)

↓

* ทำให้เย็นโดยการแช่น้ำ ที่อุณหภูมิ 22 - 25°C, 10 นาที

↓

ผึ่งให้สะเด็ดน้ำ

↓

บรรจุผลิตภัณฑ์ (ถุง HDPE สภาวะสุญญากาศ เก็บที่ 4±1°C)

(*ใช้กรดแลคติคแทน เมื่อถึงขั้นตอนการศึกษาผลโดยวิธีแช่)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ขั้นตอนการผลิต โดยละเอียดมีดังนี้

<u>การตัดแต่ง</u> เนื้อหมู เนื้อวัว ใช้เฉพาะส่วนเนื้อ นำเนื้อหมู เนื้อวัวและมันหมูมาหั่นเป็นรูปลูกบาศก์ ขนาด 2 x 2 x 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร

<u>การลดอุณหภูมิ</u> เก็บเนื้อหมู เนื้อวัว และมันหมูที่ผ่านการตัดแต่งแล้ว ในห้องแช่แข็งที่อุณหภูมิ [(-10)-(-7)^{o}C] เป็นเวลาประมาณ 30 นาที

<u>การลดขนาด</u> นำเนื้อหมู เนื้อวัว และมันหมูแยกบดผ่านตะแกรง ด้วยเครื่องบดเนื้อของ บริษัทไก่สดศรีไทย จำกัด ซึ่งมีรูเปิดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร

<u>การหมักเนื้อ</u> นำเนื้อหมูและเนื้อวัวที่บดแล้วคลุกเคล้ากับเกลือแกง และ sodium nitrite เก็บเนื้อที่ได้และมันหมูที่ผ่านการลดขนาดแล้วในห้องแช่แข็งที่อุณหภูมิ [(-10)-(-7)^{o}C] เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

<u>การสับละเอียด</u> สับเนื้อหมู เนื้อวัว และมันหมูในเครื่องสับละเอียด silent cutter (Seydelmann) เป็นเวลา 1 นาที ค่อยๆ เติมน้ำแข็งและเครื่องปรุงรสสลับกัน สับต่ออีก 2 นาที รักษาอุณหภูมิอยู่ในช่วง 12 - 14^{o}C แล้วเติม ส่วนผสมอื่นๆ จนครบ

<u>การอัดไส้และมัดเป็นท่อน</u> อัดไส้โดยใช้ hydraulic stuffer (Vemag 1000) บรรจุในไส้ cellophane (T-pack) No.20 (เส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร) แล้วมัดเป็นท่อนขนาด 10 เซนติเมตร ด้วยเชือกป่าน อนึ่งในงานวิจัยนี้ ได้ทดลองเปรียบเทียบการใช้ไส้ cellophane กับไส้ประเภท edible collagen (naturin) ด้วย

<u>การรมควัน</u> นำไส้กรอกไปแขวนในตู้รมควันที่อุณหภูมิ 70^{o}C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยใช้ขานอ้อยเป็นแหล่งควัน

<u>การต้ม</u> นำไส้กรอกไปต้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 75^{o}C เป็นเวลา 10 นาที

<u>การทำให้เย็น</u> นำไส้กรอกไปแช่น้ำเย็นที่อุณหภูมิ 22 - 25^{o}C เป็นเวลา 10 นาที นำขึ้นผึ่งให้สะเด็ดน้ำและตัดเป็นท่อน

<u>การบรรจุ</u> นำไส้กรอกที่ตัดเป็นท่อนแล้วมาบรรจุในถุง high density polyethylene (HDPE) ขนาด 17.8 x 25.3 ซม^{2} บรรจุ 500 กรัม/ถุง แบบสุญญากาศด้วยเครื่อง Multivac ใช้ความดัน

สุญญากาศ 1 บาร์ และเก็บในสภาวะแช่เย็น (4 ± 1°C)

(* ใช้กรดแลคติคแทน เมื่อถึงขั้นตอนการศึกษาผลโดยวิธีแช่)

3.2 การศึกษาผลของกรดแลคติค

3.2.1 ผลของระดับความเข้มข้นของกรดแลคติคต่ออายุการเก็บรักษาไส้กรอกเวียนนาโดยวิธีการแช่

3.2.1.1 แช่ไส้กรอกเวียนนาลงในสารละลายกรดแลคติค เป็นเวลา 10 นาที (ตามขั้นตอนการผลิต ช่วงลดอุณหภูมิโดยแช่น้ำเย็น สำหรับตัวอย่างที่เป็นตัวควบคุมจะใช้น้ำประปา) โดยใช้กรดแลคติค 4 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 1, 1.5 และ 2% ปริมาตรโดยปริมาตร โดยใช้กรดแลคติค 4ลิตรต่อไส้กรอก 1 กิโลกรัม จากนั้นนำตัวอย่างไส้กรอกทั้งหมดที่ผ่านขั้นตอนการแช่กรดมาผึ่งลมให้สะเด็ดน้ำประมาณ 30 นาที บรรจุลงในถุง HDPE แบบสุญญากาศ

3.2.1.2 ประเมินผลทางประสาทสัมผัส โดยใช้ scoring test (ดูตัวอย่างแบบประเมินผลในภาคผนวก ข.1) เพื่อตรวจสอบการรับรสเปรี้ยวที่มีต่อไส้กรอกเวียนนาของผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 12 คน และกำหนดระดับคะแนน

1 = ไม่มีรสเปรี้ยว 2 = ค่อนข้างเปรี้ยว 3 = เปรี้ยว 4 = เปรี้ยวที่สุด

วิเคราะห์ข้อมูลแบบ randomized complete block design (RCBD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Tukey's test

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2.1.3 จากระดับความเข้มข้นที่เลือกได้จากข้อ 3.2.1.2 มาทดสอบผลในการยืดอายุการเก็บรักษา โดยแปรระดับความเข้มข้นของกรดที่ยอมรับได้แล้วให้เพิ่มขึ้นและลดลงอีก 0.5 % ปริมาตรโดยปริมาตร ทดสอบที่สภาวะการเก็บที่ 4 ± 1°C เป็นเวลา 10 วัน

3.2.1.4 ประเมินผลไส้กรอกเวียนนาที่ผ่านการเก็บรักษา

3.2.1.4.1 ตรวจสอบผลทางจุลชีววิทยา โดยการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) ทุกวันเป็นเวลา 10 วัน รายงานผลเป็น log CFU/gm sample (จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 10^5 โคโลนีต่อกรัม) ตามภาคผนวก ค.1.1

3.2.1.4.2 วัดแรงตัดขาด(Cutting Force) โดยเครื่อง texturometer ก่อนวัดลอกไส้ cellophane ออก แล้ววัดแรงตัดขาดโดยวางไส้กรอกตามแนวนอน และวัด 3 ชิ้นต่อ 1 ตัวอย่าง ตามภาคผนวก ค.2.1

3.2.1.4.3 วัด pH โดยใช้ pH meter วิธีการตามภาคผนวก ค.3.1

3.2.1.4.4 วัดปริมาณกรดแลคติคโดยวิธีไตเตรทคำนวณผลเป็นร้อยละของกรดแลคติค วิธีการตามภาคผนวก ค.3.2

3.2.1.4.5 วัดสี โดยใช้ Lovibond tintometer เพื่อตรวจวัดค่าสีแดง เหลืองและน้ำเงิน โดยวัดซ้ำ 3 ครั้ง ตามภาคผนวก ค.2.2

3.2.1.4.6 ออกแบบการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิธี completely randomized design(CRD) ทดลอง 2 ซ้ำและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT)

3.2.1.4.7 ประเมินผลทางประสาทสัมผัส โดยใช้ scoring test สำหรับคุณลักษณะทางด้านสี ลักษณะปรากฏ กลิ่นรส และเนื้อสัมผัส โดยกำหนดคะแนน ตั้งแต่ 1 - 5 ตามภาคผนวก ข.2 และทำ Hedonic test ตามภาคผนวก ข.3 เพื่อพิจารณาการยอมรับผลิตภัณฑ์ โดยกำหนดคะแนนตั้งแต่ 1 - 7(ดูตัวอย่างแบบประเมินผลในภาคผนวก ข.2) และใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนแล้วจำนวน 12 คน

3.2.1.4.8 ออกแบบการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิธี randomized complete block design (RCBD) ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test

3.2.2 ผลของระดับความเข้มข้นของกรดแลคติค ต่ออายุการเก็บรักษาไส้กรอกเวียนนาโดยวิธีฉีดพ่น

3.2.2.1 ทำตามขั้นตอนที่ 3.2.1.1 แต่ใช้วิธีการฉีดพ่นสารละลายกรดแลคติคลงบนผิวตัวอย่างด้วยเครื่องฉีดพ่น Gloria 142T ที่มีความจุ 10 ลิตร หลังจากผ่านขั้นตอนการลดอุณหภูมิ

โดยแช่น้ำเย็นและผึ่งให้สะเด็ดน้ำมาแล้ว จึงบรรจุโดยวิธีเดียวกับข้อ 3.2.1.1 แปรระดับความเข้มข้นของกรดแลคติค 5 ระดับที่ 0, 1, 1.5, 2 และ 2.5% ปริมาตรโดยปริมาตร อัตราการฉีดพ่น 20 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมไส้กรอก และใช้น้ำประปาแทนในตัวอย่างที่ควบคุม

3.2.2.2 ประเมินผลเช่นเดียวกับ 3.2.1.2

3.2.2.3 จากระดับความเข้มข้นที่เลือกได้จากข้อ 3.2.2.2 นำมาศึกษาอายุการเก็บ โดยทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.3

3.2.2.4 ประเมินผลไส้กรอกเวียนนาที่ผ่านการเก็บรักษา ทำโดยการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.4

การทดลองทั้งหมดในข้อ 3.2 นี้ ตัวอย่างไส้กรอกเวียนนาบรรจุอยู่ในไส้ cellophane

3.3 <u>การศึกษาผลของวิธีการใช้กรดแลคติค</u> ในการยืดอายุการเก็บไส้กรอกเมื่อใช้ไส้บรรจุต่างชนิดกัน

3.3.1 เลือกใช้ไส้บรรจุ 2 ชนิด คือ cellophane และ edible collagen โดยใช้ระดับความเข้มข้นของกรดแลคติคและวิธีแช่ที่เลือกได้จากข้อ 3.2.1.3 และระดับความเข้มข้นของกรดแลคติค และวิธีการฉีดพ่น ซึ่งเลือกได้จากข้อ 3.2.2.3 สำหรับตัวอย่างที่เป็นตัวควบคุมจะใช้น้ำประปาแทน

3.3.2 ประเมินผลทำเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.4.1 - 3.2.1.4.5 โดยออกแบบการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธี factorial completely randomized design ขนาด 2 X 3 X 11 ทดลอง 2 ซ้ำ และประเมินผลทางประสาทสัมผัส ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.4.7 โดยออกแบบการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธีfactorial complete block design และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's new multiple range test

3.4 <u>การศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาไส้กรอกเวียนนา</u>

เลือกชนิดของไส้บรรจุและวิธีการใช้กรดที่เหมาะสมจากข้อ 3.3 แล้วนำมาศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา 2 ช่วงอุณหภูมิ คือ $10 \pm 1^{o}C$ และ $4 \pm 1^{o}C$ โดยบรรจุตัวอย่างไส้กรอก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ขนาดบรรจุถุงละ 500 กรัม ในถุง HDPE แล้วปิดผนึกภายใต้สุญญากาศ (1 bar)

3.4.1 การประเมินผลทำเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.4.2 - 3.2.1.4.5 และข้อ 3.2.1.4.7

3.4.2 ตรวจสอบผลทางจุลชีววิทยา โดยการตรวจนับ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด, โคลิฟอร์ม แบคทีเรีย Staphylococcus aureus และ Clostridium perfringens ทุก 3 วัน จนลักษณะปรากฏไม่เป็นที่ยอมรับและปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เกินกำหนดมาตรฐานของ มอก. (2533)

3.4.3 วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ เช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.4.6 และ 3.2.1.4.8

3.5 การเปรียบเทียบผลของกรดแลคติค กับการใช้วัตถุกันเสีย benzoate/sorbate ในด้านอายุการเก็บรักษาไส้กรอกเวียนนา

3.5.1 นำตัวอย่างไส้กรอกเวียนนาที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.3 กับตัวอย่างที่ใช้วัตถุกันเสียพวก benzoate/sorbate (1:1) ในปริมาณ 0.08 % น้ำหนักโดยน้ำหนัก และตัวอย่างที่ใช้ทั้งกรดแลคติคร่วมกับวัตถุกันเสีย มาบรรจุแบบสุญญากาศ แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 10 $\pm$ 1^{o}C, 4 $\pm$ 1^{o}C เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ตรวจตัวอย่างทุกสัปดาห์ และที่ -18 $\pm$ 1^{o}C เป็นเวลา 3 เดือน และตรวจตัวอย่างทุก 2 สัปดาห์

3.5.2 ประเมินผล ออกแบบการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ เช่นเดียวกับ 3.2.1.4

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY