บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบ

1. ปลายข้าวหัก เป็นข้าวจ้าวพันธุ์เหลืองปะทิว มีอายุหลังการเก็บเกี่ยวประมาณ 3 เดือน ถึง 1 ปี ซื้อจากตลาดสด อำเภอบ้านไผ่ จังหวัดขอนแก่น
2. เกลือสินเธาว์ ซื้อจากตลาดสด อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม
3. น้ำกรอง

กล้าเชื้อจุลินทรีย์

ในงานวิจัยนี้ได้ใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ 3 สายพันธุ์ เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับบริการจากสถาบันวิจัยทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ได้แก่

1. *Lactobacillus fermentum* TISTR 945 เป็นแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก คัดแยกได้จากขนมจีนแป้งหมัก
2. *Lactobacillus fermentum* TISTR 950 เป็นแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก คัดแยกได้จากขนมจีนแป้งหมัก
3. *Lactobacillus plantarum* TISTR 951 เป็นแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก คัดแยกได้จากขนมจีนแป้งหมัก

สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. กรดเบนโซอิก (C_6H_5COOH)
2. กรดทาร์ทาริก ($C_4H_6O_6$)
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
4. ฟีนอล์ฟทาลีน ($C_{20}H_{14}O_4$)
5. อาหารเลี้ยงเชื้อ Lactobacillus MRS Broth (MRS Broth) (Himedia, India)
6. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) (Himedia, India)
7. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) (Difco, France)
8. ผงวุ้น (Himedia, India)
9. เปปโตน วอร์เตอร์ (Peptone Water) (Himedia, India)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ตู้อบลมร้อน (ยี่ห้อ Memmert รุ่น 14-03129; ยี่ห้อ Conthern รุ่น Thermotec 2000)

2. ตู้บ่มเชื้อ (ยี่ห้อ Binder; ยี่ห้อ n-Biotek รุ่น NB-205QF)

3. เครื่องคั้นแบบแยกกาก-น้ำ ระบบไฮโดรลิค 2 จังหวะ (ยี่ห้อ Owner Foods Machinery รุ่น Sakaya® I2) พร้อมถุงโพลิพรอพิลีนอย่างหนา

4. ตู้ปลอดเชื้อสำหรับห้องปฏิบัติการชีวภาพระดับ 2 (ยี่ห้อ MICROTECH)

5. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (ยี่ห้อ REXMED รุ่น RAU-530D)

6. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง

7. เครื่องผสมอาหาร (ยี่ห้อ KitchenAid รุ่น5K5SS)

8. เครื่องปั่นน้ำผลไม้ (ยี่ห้อ PHILIPS รุ่น Cucina HR-1799)

9. เครื่องวัดสี (ยี่ห้อ HunterLab รุ่น ColorFlex Model $45^0/0^0$)

10. เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (ยี่ห้อ Stable Micro Systems รุ่น TA.XT.plus)

11. เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน (ยี่ห้อ SIGMA รุ่น 2-16KL)

12. เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (ยี่ห้อ AquaLab รุ่น 3TE)

13. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (ยี่ห้อ Sartorius รุ่น Docu-pH+ Meter)

14. เครื่องผสมสารละลาย vortex mixer (ยี่ห้อ Scientific Industries รุ่น G560E Vortex Mixer Genie 2)

15. เครื่องดูดจ่ายสารละลาย ปิเปต ขนาด 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

16. ปิเปตทิป ขนาด 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

17. ตะเกียงแอลกอฮอล์

18. หลอดทดลอง

19. จานเพาะเชื้อแก้ว

20. แท่งแก้วงอ

21. บีกเกอร์แก้วขนาด 100, 250, 500, 1,000 มิลลิลิตร

22. ขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร

23. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร

24. บิวเรต ที่จับบิวเรต ฐานตั้งเหล็ก

25. เทอร์โมมิเตอร์

26. เฝือนบีบมือ โรยเส้นขนมจีน ขนาดตัวกระบอกเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 นิ้ว ขนาดเส้นที่ได้เส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร

27. เครื่องครัว ได้แก่ อ่างผสม กระชอน หม้ออลูมิเนียม หม้อนึ่ง ถาดอลูมิเนียมทรงสี่เหลี่ยม ไม้พายยาง ตะกร้าพลาสติก ตะกร้าใส่ขนมจีน กล่องพลาสติก ผ้าขาวบาง

การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

ในการวิจัยครั้งนี้ ได้ใช้แบคทีเรียสร้างกรดแลคติก 3 สายพันธุ์ คือ *L. fermentum* TISTR 945, และ *L. fermentum* TISTR 950 และ *L. plantarum* TISTR 951 ซึ่งเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์ที่ได้มาในรูปหลอดเชื้อแห้งแข็ง นำจุลินทรีย์ดังกล่าว มาแยกเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

MRS ปลอดเชื้อ และนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 22-24 ชั่วโมง และทำการกระตุ้นเชื้ออีกครั้งโดยเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ปลอดเชื้อ นำกล้าเชื้อที่ผ่านการกระตุ้น 2 ครั้ง มาเพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ปลอดเชื้อ 100 มิลลิลิตร ปริมาณร้อยละ 3 แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาซลเซียส เป็นเวลา 23 ชั่วโมง ซึ่งมีเชื้อเริ่มต้น $1.9x10^9$, $1.62x10^9$ และ $4.63x10^9$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สำหรับกล้าเชื้อ *L. fermentum* TISTR 945, *L. fermentum* TISTR 950, *L. plantarum* TISTR 951 ตามลำดับ นำกล้าเชื้อไปปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที ล้างเซลล์ด้วยสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 นำมาปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนในสภาวะเดิม แขวนลอยเซลล์ในสารละลาย NaCl เข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และนำไปผลิตขนมจีนแป้งหมัก (รายละเอียดการเตรียมกล้าเชื้อแสดงดังภาคผนวก ก)

การผลิตขนมจีนแป้งหมัก

ในการวิจัยครั้งนี้ได้ผลิตขนมจีนแป้งหมักจากการแยกใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก 3 สายพันธุ์ พร้อมกับเปรียบเทียบกับการผลิตขนมจีนแป้งหมักจากจุลินทรีย์ธรรมชาติ และขนมจีนแป้งหมักใส่วัตถุกันเสียกรดเบนโซอิก โดยดัดแปลงจากวิธีของ Keatkrai และ Jirapakkul (2010) มีขั้นตอนการผลิตแสดงดังภาพที่ 3.1 (ขั้นตอนการผลิตขนมจีนแป้งหมักแสดงดังภาคผนวก ข)

นำปลายข้าวหักมา 250 กรัม ล้างข้าวให้สะอาด 5 ครั้ง ด้วยน้ำกรอง ใช้น้ำ 500 มิลลิลิตรต่อครั้ง

↓

แช่ข้าวในน้ำกรอง 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

↓

นำข้าวที่ผ่านการแช่ที่สะเด็ดน้ำมาแยกเติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10^9 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เติมกล้าเชื้อที่ผ่านการปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอน จากการเตรียมกล้าเชื้อในอัตราส่วนร้อยละ 100 มิลลิลิตรต่อข้าว 250 กรัม และผสมข้าวให้เข้ากันกับกล้าเชื้อ

↓

หมักข้าวแบบแห้ง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือ 72 ชั่วโมง อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส [1] ล้างน้ำเช้า-เย็น

↓

ปั่นข้าวหมัก ผสมกับน้ำ 150 มิลลิลิตร ปั่นเป็นเวลา 4 นาที

↓

ผสมกับน้ำ 500 มิลลิลิตร ที่ 100 มิลลิลิตร มีเกลือแกงเข้มข้นร้อยละ 7
ปล่อยให้แป้งตกตะกอนเป็นเวลา 1 วัน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

↓

ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตขนมจีนแป้งหมัก

รินน้ำใสส่วนบนทิ้ง แยกแป้งส่วนที่นอนน้ำใส่ลงในถุงโพลิพรอพิลีนอย่างหนาแล้วทับด้วยเครื่องคั้นแบบแยกกาก-น้ำ ระบบไฮโดรลิค 2 จังหวะ นาน 1 นาที

↓

แบ่งแป้งเป็น 2 ส่วน นำก้อนแป้งหนึ่งส่วนไปนึ่งให้แป้งสุก เป็นเวลา 5 นาที

↓

นวดผสมแป้งสุกและแป้งดิบให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมอาหาร ระหว่างการนวด ค่อยๆ เติมน้ำร้อน นวดเป็นเวลา 30 นาที จนแป้งมีลักษณะเหนียว หนืด และเนียน กรองด้วยผ้าขาวบาง [2]

↓

โรยเส้นขนมจีนผ่านเฟือนบีบมือลงในหม้อที่มีน้ำเดือดอุณหภูมิประมาณ 75-95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที

↓

ปล่อยให้เส้นลอยขึ้นมา ใช้กระชอนตัก แล้วนำมาผ่านน้ำเย็น 3 ครั้ง

↓

จับให้เป็นเส้น ปล่อยให้สะเด็ดน้ำ [3]

↓

เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

หมายเหตุ : [1] ขั้นตอนการหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สำหรับขนมจีนแป้งหมักจากกล้าเชื้อบริสุทธิ์ และขั้นตอนการหมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส สำหรับขนมจีนแป้งหมักจากจุลินทรีย์ธรรมชาติ และขนมจีนแป้งหมักใส่กรดเบนโซอิก

[2] ขั้นตอนการใส่วัตถุกันเสีย เฉพาะขนมจีนแป้งหมักที่ใส่วัตถุกันเสีย ใส่ในปริมาณ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

[3] ขั้นตอนสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์

ภาพที่ 3.1 (ต่อ)

การวิเคราะห์คุณภาพขนมจีนแป้งหมัก

1. ตรวจสอบโดยใช้ความรู้สึก

นำขนมจีนที่ผ่านขั้นตอนการผลิตเรียบร้อยแล้ว มาบรรจุใส่ตะกร้าพลาสติกทรงสี่เหลี่ยมขนาดความกว้าง 23.5 เซนติเมตร ยาว 35 เซนติเมตร ลึก 7 เซนติเมตร ในปริมาณ 1/9 ส่วนของบรรจุภัณฑ์ และหุ้มตะกร้าด้วยฟิล์มยืดห่อหุ้มอาหาร 2 ชั้น เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง ผู้วิจัยศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงของขนมจีนแป้งหมักที่เก็บรักษาเป็นเวลา 0, 1 และ 2 วัน ศึกษาจากลักษณะทั่วไป สี กลิ่น กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัส และการปนเปื้อนของเชื้อรา

2. การวิเคราะห์ทางเคมี

2.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของขนมจีนแป้งหมักด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) โดยดัดแปลงจากวิธี AOAC (2000) ทำการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการวัดแสดงดังภาคผนวก ค)

2.2 ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้

วัดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (water activity: a_w) หรือปริมาณน้ำอิสระของขนมจีนแป้งหมัก จากการใช้เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (water activity meter) ทำการวัดการเปลี่ยนแปลงค่า a_w ในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการวัดแสดงดังภาคผนวก ค)

2.3 ปริมาณความชื้น

วิเคราะห์ร้อยละปริมาณความชื้นของขนมจีนแป้งหมักด้วยวิธีอบในตู้อบลมร้อน ตามวิธีของ AOAC (2000) ทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ค)

2.4 ปริมาณกรดจากการไตเตรท (titratable acidity: TA)

วิเคราะห์ร้อยละปริมาณกรดทั้งหมดที่มีอยู่ในขนมจีนแป้งหมักในรูปของกรดแลคติก โดยการไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ ตามวิธีของ AOAC (2000) ทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ค)

3. การวิเคราะห์ทางกายภาพ

3.1 ค่าสี

วัดค่าสีของขนมจีนแป้งหมักโดยใช้เครื่องวัดสียี่ห้อ HunterLab รุ่น ColorFlex Model $45^0/0^0$ ซึ่งเป็นการวัดค่าสีระบบ C.I.E lab (L* a* b*) โดยทำการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าสีในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการวัดแสดงดังภาคผนวก ง)

3.2 ลักษณะเนื้อสัมผัส

วัดค่าลักษณะเนื้อสัมผัสของขนมจีนแป้งหมัก ด้วยการวัดค่าแรงตัด (cutting/shearing force) ซึ่งเป็นการวัดค่าแรงที่ทำให้ตัวอย่างขาดจากกัน แต่ละส่วนที่แยกออกไปจะคงรูปเดิม เพียงแต่ขาดเป็นส่วน ๆ และมีรอยแยกเป็นระเบียบ โดยใช้เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส คู่กับหัววัดใบมีดตัด (knife and blade) รหัส HDP/BSW จากการนำเส้นขนมจีนมาจัดเรียงชิดกันให้ได้ 6 เส้น วางลงบนแท่นตัด ให้มีความยาว 10 เซนติเมตร ทำการตัดตัวอย่างด้วยอัตราเร็วก่อนการทดสอบ (pre-test speed) 2 มิลลิเมตรต่อวินาที อัตราเร็วระหว่างการทดสอบ (test speed) 2 มิลลิเมตรต่อวินาที และอัตราเร็วหลังการทดสอบ (post-test speed) 2 มิลลิเมตรต่อวินาที ด้วยระยะทาง 15 มิลลิเมตร และนำไปคำนวณหาค่าแรงตัดสูงสุด ซึ่งบ่งบอกถึงความแข็ง (hardness) งานจากการตัดทั้งหมด ซึ่งบ่งบอกถึงความเหนียว (toughness) และงานที่ต้องใช้ในการดึงหรือความสามารถในการยึดติดของชิ้นอาหาร (adhesiveness) ของขนมจีนแป้งหมัก โดยใช้โปรแกรมของเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส ทำการวัดการเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อสัมผัสในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการวัดแสดงดังภาคผนวก ง)

4. การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

การเตรียมตัวอย่างเพื่อทำการตรวจวิเคราะห์ทำโดยการใช้เทคนิคปราศจากเชื้อ (aspetic technique) ทุกขั้นตอน

4.1 ปริมาณยีสต์และรา

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราของขนมจีนแป้งหมัก ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC (2000) ด้วยเทคนิคเทเพลท (pour plate) จากการเจือจางตัวอย่างขนมจีนตามลำดับ ๆ ละ 10 เท่า (Ten-fold serial dilutions) ด้วยสารละลายสำหรับเจือจาง โดยสุ่มตักตัวอย่างขนมจีนแป้งหมักที่ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ 10 กรัม มาทำการเจือจางโดยผสมลงในสารละลายเปปโตน วอร์เตอร์เข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาณ 90 มิลลิลิตร ที่อยู่ในขวดแก้วฝาเกลียวขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสารเป็นเวลา 2 นาที จะได้ตัวอย่างเจือจาง 10^{-1} เท่า แล้วนำไปเจือจางต่อ โดยปิเปตตัวอย่างที่เจือจาง 10^{-1} เท่า มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลายเปปโตน วอร์เตอร์เข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาณ 9 มิลลิลิตร ที่อยู่ในหลอดแก้วฝาเกลียวขนาด 15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้าโดยเขย่าให้เชื้อกระจายทั่วกันทั้งหลอดภายในเวลา 7 วินาที ถ้าตั้งทิ้งไว้เกิน 3 นาที ให้เขย่าใหม่ จะได้ตัวอย่างเจือจาง 10^{-2} เท่า ทำการเจือจางด้วยวิธี Ten-fold serial dilutions เช่นนี้ต่อไปจนได้สารละลายตัวอย่างอาหารที่เจือจางตามต้องการ แล้วปิเปตแต่ละสารละลายตัวอย่างอาหาร 3 ระดับความเจือจางที่ติดกัน 1 มิลลิลิตร ปล่อยลงในจานเพาะเชื้อแก้วปลอดเชื้อ เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ปลอดเชื้อที่หลอมละลาย มีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ประมาณ 15 มิลลิลิตร ลงในแต่ละจานเพาะเชื้อ ผสมให้เข้ากับตัวอย่างในจานเพาะเชื้อ โดยปิดฝาจานเพาะเชื้อ ใช้มือจับฝาจานเพาะเชื้อ ลากตัวจานเพาะเชื้อให้ไหลตามพื้นโต๊ะ ขึ้น - ลง 5 ครั้ง วนซ้าย 5 รอบ วนขวา 5 รอบ แล้วขึ้นลงอีก 5 รอบ ระยะเวลาตั้งแต่ถ่ายตัวอย่าง จนกระทั่งเทเพลทด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไม่ควรนานเกิน 20 นาที (ที่เหมาะสมควรภายใน 10 นาที) รออาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว โดยไม่ต้องคว่ำจานเพาะเชื้อ และวางซ้อนกันไม่เกิน 3 จานเพาะเชื้อ นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72±3 ชั่วโมง (ไม่เคลื่อนย้ายจานเพาะเชื้อจนกว่าจะทำการนับจำนวนโคโลนี) นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นมาในจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อขึ้นระหว่าง 10 - 150 โคโลนีต่อจาน นำมาหาค่าเฉลี่ย และแสดงผลเป็นโคโลนีต่อกรัม โดยทำการตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณยีสต์และราในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจางแสดงดังภาคผนวก จ)

4.2 ปริมาณจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียทั้งหมด

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียทั้งหมดของขนมจีนแป้งหมัก ตามวิธีของ AOAC (2000) ด้วยเทคนิคเทเพลท โดยปิเปตแต่ละสารละลายตัวอย่างอาหาร 3 ระดับความเจือจางที่ติดกัน (ที่เตรียมจากข้อ 4.1) 1 มิลลิลิตร ปล่อยลงในจานเพาะเชื้อแก้วปลอดเชื้อ ทำการเทเพลทด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ปลอดเชื้อ ระยะเวลาตั้งแต่ถ่ายตัวอย่างจนกระทั่งเทเพลทด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ภายใน 15 นาที รออาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว จับจานเพาะเชื้อคว่ำเพื่อป้องกันไม่ให้น้ำที่ติดฝาหยดลงมาบนวุ้น นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 35±0.5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นมาในจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อขึ้นระหว่าง 25 - 250 โคโลนีต่อจาน นำมาหาค่าเฉลี่ยและแสดงผลเป็นโคโลนีต่อกรัม โดยทำการตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

ในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา(รายละเอียดการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจางแสดงดังภาคผนวก จ)

4.3 ปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติก

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกของขนมจีนแป้งหมัก ตามวิธี AOAC (1998) ด้วยเทคนิคเกลี่ยเพลท (spread plate) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ปลอดเชื้อ โดยปิเปตแต่ละสารละลายตัวอย่างอาหาร 3 ระดับความเจือจางที่ติดกัน (ที่เตรียมจากข้อ 4.1) 0.1 มิลลิลิตร ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้แท่งแก้วงอ (sterile spreader) เกลี่ยให้ทั่วจนกระทั่งผิวหน้าของวุ้นแห้ง นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นมาในจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อขึ้นระหว่าง 25 - 250 โคโลนีต่อจาน นำมาหาค่าเฉลี่ยและแสดงผลเป็นโคโลนีต่อกรัม โดยทำการตรวจวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียกรดแลกติกในวันที่ 0, 1 และ 2 ของการเก็บรักษา (รายละเอียดการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายสำหรับเจือจางแสดงดังภาคผนวก จ)

5. การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส

ทดสอบการยอมรับขนมจีนแป้งหมัก หลังจากการผลิต (วันที่ 0) ทั้ง 5 ทรีทเมนต์ ด้วยวิธีการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ไม่ปฏิเสธการบริโภคขนมจีนแป้งหมักที่ไม่ผ่านการฝึกฝน 40 คน ใช้แบบประเมินที่มีวิธีการให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (9 point hedonic scale test) (1 = ไม่ยอมรับมากที่สุด 5 = เฉย ๆ 9 = ยอมรับมากที่สุด) ประเมินการยอมรับในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม โดยเสิร์ฟพร้อมกับน้ำแกงพะแนงหมู ซึ่งการประเมินด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส และเนื้อสัมผัส จะประเมินจากขนมจีนเปล่า ส่วนการประเมินการยอมรับรวม ประเมินจากขนมจีนผสมน้ำแกงพะแนงหมู (รายละเอียดแบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแสดงดังภาคผนวก ฉ)

สถิติที่ใช้ในงานวิจัย

การวิเคราะห์ทางเคมี การวิเคราะห์ทางกายภาพ และการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ วางแผนการทดลองแบบ 5x 3 Factorial in Complete Randomized Design พิจารณา 2 ปัจจัย คือ จำนวนกล้าเชื้อ 5 ทรีทเมนต์ และเวลา 3 ระดับ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) มีจำนวน 40 ซ้ำ

การวิเคราะห์ดังกล่าวข้างต้น วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติโดย Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลองโดยใช้ค่าสถิติ Duncan’s multiple range test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ .05 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 13 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม