**บทที่ 3**

**วิธีดำเนินการวิจัย**

**3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์**

 3.1.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์

 1) ปลาร้าผง

 2) หอมแดง

 3) ขิง

 4) ข่า

 5) กระเทียม

 6) พริกป่น

 7) ใบมะกรูด

 8) ตะไคร้

 9) กะละมัง

 10) เขียง

 11) มีด

 12) หม้อ

 3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

 1) ตู้อบลมร้อน

 2) เครื่องวัดความชื้น

 3) เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

 4) บีกเกอร์

 5) กระดาษกรองเบอร์ 1

 6) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 ml

 7) บิวเรต (Burette) ขนาด 50 ml

 8) ปิเปต (Volumetric Pipette) ขนาด 10 ml

 9) ขาตั้ง (Stand)

 10) ที่จับบิวเรต (Burette clamp)

 3.1.3 สารเคมี

 1) Silver nitrat (AgNo3) 0.01 *M*

 2) Sodium Chloride (NaCl) 0.01 *M*

 3) Potassium chromate (K2Cro4) 1% *w/v*

 4) น้ำกลั่น

**3.2 วิธีการทดลอง**

 3.2.1 การศึกษาอัตราการอบแห้งของส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารจากปลาร้าโซเดียมต่ำ

 นำหอมแดง ตะไคร้ ใบมะกรูด และปลาร้าโซเดียมต่ำ ไปอบด้วยเครื่องอบแห้งแบบลมร้อน ที่ 90 องศาเซลเซียส อบจนความชื้นสุดท้ายไม่เกินร้อยละ 20 โดยน้ำหนักเปียก หลังผ่านการอบที่เวลาต่าง ๆ นำตัวอย่างมาวิเคราะห์ความชื้นตามวิธีของ AOAC (2000) แล้วจึงนำข้อมูลมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างประมาณความชื้นกับระยะเวลาการอบแห้ง โดยปริมาณความชื้น โดยวิธี Air Oven Method (AOAC., 2000) มีวิธีการดังนี้ ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์ น้ำหนักแน่นอน 1-3 กรัม ใส่ลงในถ้วยอลูมิเนียมที่ผ่านการอบแห้งและทราบน้ำหนักแล้ว นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105±5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง หรืออบจนน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง และนำมาคำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

ปริมาณความชื้น (ร้อยละ) = ผลต่างน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ (กรัม) X 100

 น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

 3.2.2 การศึกษาการคืนตัวของผลิตภัณฑ์อาหารจากปลาร้าโซเดียมต่ำ

 3.2.2.1 การศึกษาความสามารถในการคืนตัวของผลิตภัณฑ์อาหารจากปลาร้าโซเดียมต่ำ โดยนำหอมแดง ตะไคร้ ใบมะกรูด และปลาร้าโซเดียมต่ำผงอบแห้งที่เตรียมได้ในข้อ 1.1 มาปั่นจนละเอียด ชั่งน้ำหนักอย่างละ 2 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้อง 10 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 นาที เมื่อครบแล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ 5 นาที นำส่วนใสที่กรองได้ไปชั่งน้ำหนัก คำนวณปริมาณน้ำที่หอมแดง ตะไคร้ ใบมะกรูด และปลาร้าโซเดียมต่ำผงอบแห้งสามารถดูดซับไว้ (กรัมต่อกรัมตัวอย่าง) ดังสมการที่ 1

 (1)

 3.2.2.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิน้ำต่อความสามารถในการคืนตัวของผลิตภัณฑ์อาหารจากปลาร้าโซเดียมต่ำอบแห้ง โดยชั่งน้ำหนักหอมแดง ตะไคร้ ใบมะกรูด และปลาร้าโซเดียมต่ำผงอบแห้ง อย่างละ 2 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ เติมน้ำที่มีอุณหภูมิ 40, 60 และ 80 องศาเซลเซียส ประมาณ 10 มิลลิลิตร ควบคุมอุณหภูมิโดยวางบน Hot plate เป็นเวลา 2, 4, 6, 8 และ 10 นาที เมื่อครบเวลานำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ 5 นาที นำส่วนใสที่กรองได้ไปชั่งน้ำหนักคำนวณปริมาณน้ำที่หอมแดง กระชาย ตะไคร้ และใบมะกรูดผงอบแห้งสามารถดูดซับไว้ (กรัมต่อกรัมตัวอย่าง) ดังสมการที่ 1 เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมแล้วจะถูกนำไปใช้ในการคืนตัวผลิตภัณฑ์อาหารจากปลาร้าโซเดียมต่ำอบแห้งต่อไป

**3.3 การศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการทำผลิตภัณฑ์อาหารจากปลาร้าโซเดียมต่ำอบแห้ง**

 เตรียมส่วนผสมของปลาร้าหลน และแกงปลาร้า โดยการนำหอมแดง ตะไคร้ ใบมะกรูด และปลาร้าโซเดียมต่ำอบแห้งมาปั่นละเอียดก่อน แล้วจึงนำหอมแดง ตะไคร้ ใบมะกรูด และปลาร้าโซเดียมต่ำอบแห้งมาผสมกับส่วนผสมอื่น ๆ จากนั้นนำของแห้งจากปลาร้าหลน และแกงปลาร้ามาศึกษาการคืนตัวตามสภาวะที่ได้จากการวิเคราะห์ในข้อที่ 3.2.2 จากนั้นนำมาทดสอบ

 3.3.1 ทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยใช้แบบทดสอบชนิด 9 Point Hedonic Scale (9 คะแนน = ชอบมากที่สุด และ 1 คะแนน = ไม่ชอบมากที่สุด) กำหนดเกณฑ์ยอมรับผลิตภัณฑ์ คือต้องได้คะแนนการยอมรับไม่น้อยกว่า 6 คะแนน ใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน โดยเป็นนักศึกษาสาขาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม จำนวน 30 คน

 3.3.2 นำปลาร้าหลน และแกงปลาร้าผงอบแห้งที่ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสที่สุด มาวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมี และจุลินทรีย์ โดยทำการวิเคราะห์ดังนี้

 3.3.2.1 การวิเคราะห์ทางเคมี

 (1) องค์ประกอบทางเคมี

 ปริมาณโปรตีนรวม โดยวิธี Kjeldahl Method (AOAC, 2000)

 - ชั่งตัวอย่าง 2-5 กรัม (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ลงในหลอดย่อย เติมตัวเร่งปฏิกิริยาคอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO4) 0.1 กรัม และโซเดียมซัลเฟต (Na2SO4) 2 กรัม และกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร

 - นำไปย่อยบนเครื่องย่อย (heating mantle) โดยให้ความร้อนอ่อนๆ จนกระทั่งหมดฟอง แล้วค่อยเพิ่มความร้อนอุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสารละลายใส ทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่นลงไปในหลอดย่อยประมาณ 10-15 มิลลิลิตร

 - นำหลอดย่อยไปต่อเข้ากับเครื่องกลั่น เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 40 ลงไป จำนวน 40 มิลลิลิตร แล้วทำการกลั่นเป็นเวลานานประมาณ 4 นาที โดยใช้ขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลายกรดบอริก เข้มข้นร้อยละ 4 และอินดิเคอร์ผสม รองรับสารละลายที่กลั่นได้

 - นำสารละลายที่กลั่นได้ไปไทเทรตกับกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงอมชมพู จดปริมาตรของกรดที่ใช้

 - ทำ blank (สิ่งไร้ตัวอย่าง) ตามข้อ 2.1-2.4 โดยไม่ต้องใส่ตัวอย่าง

 - คำนวณหาปริมาณโปรตีนจากสูตร

 ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ) = [(A-B) × N × 1.4 × F ] / W

 (2) ปริมาณเกลือโซเดียม โดยวิธีของ Mohr

 - ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 10.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม K2CrO4 ประมาณ 1 มิลลิลิตร เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์

 - ไทเทรตด้วยสารละลาย 0.01 *M* AgNO3 จะได้ตะกอนสีขาวของ AgCl เมื่อถึงจุดยุติจะเห็นสารละลายมีสีน้ำตาลปนแดงเล็กน้อย

 - ทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง แล้วนำไปวิเคราะห์เพื่อแปลผล

 3.3.2.2 การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

 (1) จุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี Total plate count

 นำตัวอย่างที่ถูกเจือจางลงระดับละ 10 เท่า โดยหยดไปบนจานอาหารปริมาณ 1 มิลลิลิตร แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอุณหภูมิ 44 – 46 องศาเซลเซียส ลงไป ผสมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อให้เข้าอาหารโดยแกว่งจานอาหารไป-มาเบาๆ ทิ้งให้อาหารแข็งตัวแล้วนำไปบ่ม ภายหลังบ่มแล้วโคโลนีของจุลินทรีย์จะเจริญทั้งในและบนอาหารเลี้ยงเชื้อ นับจำนวนจุลินทรีย์ในจานอาหารที่มีจำนวนเซลล์ 25-250 เซลล์ ก็จะทำให้สามารถคำนวณหาเชื้อจุลินทรีย์ต่อมิลิลิตร หรือต่อกรัมตัวอย่างได้

**3.4. การวิเคราะห์ทางสถิติ**

 วิเคราะห์ความสามารถในการคืนตัวของผลิตภัณฑ์อาหารจากปลาร้าโซเดียมต่ำอบแห้ง วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design

 วิเคราะห์การยอมรับทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์อาหารจากปลาร้าโซเดียมต่ำอบแห้งวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design วิเคราะห์ความแปรปรวนของ ข้อมูลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) Version 11 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95