

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุประสงค์และอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุประสงค์และอุปกรณ์

- 1) ปลาไร้ผง
- 2) หอมแดง
- 3) ชিং
- 4) ข่า
- 5) กระเทียม
- 6) พริกป่น
- 7) ไบมะกรูด
- 8) ตะไคร้
- 9) กะละมัง
- 10) เขียง
- 11) มีด
- 12) หม้อ

3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- 1) ตู้บลมร้อน
- 2) เครื่องวัดความชื้น
- 3) เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- 4) ปีกเกอร์
- 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 (AgNO_3) 0.01 M
- 2) Sodium Chloride (NaCl) 0.01 M
- 3) Potassium chromate (K_2CrO_4) 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

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{ผลต่างน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

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

$$\text{ปริมาณน้ำที่ถูกดูดซับ (ก./ก. ของตัวอย่าง)} = \frac{\text{น้ำหนักน้ำเริ่มต้น (ก.)} - \text{น้ำหนักน้ำที่กรองผ่านกระดาษกรอง (ก.)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (ก.)}} \longrightarrow (1)$$

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 เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมแล้วจะถูกนำไปใช้ในการคืนตัวของผลิตภัณฑ์อาหารจากปลาร้าโซเดียมต่ำอบแห้งต่อไป

3.3 การศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการทำผลิตภัณฑ์อาหารจากปลาร้าโชเดียมต่ำอบแห้ง

เตรียมส่วนผสมของปลาร้าหลน และแกงปลาร้า โดยการนำหอมแดง ตะไคร้ ใบมะกรูด และปลาร้าโชเดียมต่ำอบแห้งมาปั่นละเอียดก่อน แล้วจึงนำหอมแดง ตะไคร้ ใบมะกรูด และปลาร้าโชเดียมต่ำอบแห้งมาผสมกับส่วนผสมอื่น 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 และแกงปลาร้าผอบแห้งที่ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสที่สุด มาวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมี และจุลินทรีย์ โดยทำการวิเคราะห์ดังนี้

3.3.2.1 การวิเคราะห์ทางเคมี

(1) องค์กรประกอบทางเคมี

ปริมาณโปรตีนรวม โดยวิธี Kjeldahl Method (AOAC, 2000)

- ชั่งตัวอย่าง 2-5 กรัม (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) ใส่ลงในหลอดย่อย เติมตัวเร่งปฏิกิริยาคอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_4) 0.1 กรัม และโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) 2 กรัม และกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร

- นำไปย่อยบนเครื่องย่อย (heating mantle) โดยให้ความร้อนอ่อนๆ จนกระทั่งหมดฟองแล้วค่อยเพิ่มความร้อนอุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสารละลายใส ทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่นลงไป ในหลอดย่อยประมาณ 10-15 มิลลิลิตร

- นำหลอดย่อยไปต่อเข้ากับเครื่องกลั่น เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 40 ลงไปจำนวน 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

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = [(A-B) \times N \times 1.4 \times F] / W$$

(2) ปริมาณเกลือโซเดียม โดยวิธีของ Mohr

- เปิดสารละลายตัวอย่าง 10.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำ K_2CrO_4 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 ก็จะทำได้สามารถคำนวณหาเชื้อจุลินทรีย์ต่อมิลลิลิตร 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