

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 กะปิ

เก็บตัวอย่างกะปิคุณภาพดีที่ผลิตได้จากผู้ผลิตตำบลคลองโคน อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสงคราม ที่มีอายุการหมัก 1 เดือน และทำการบรรจุใหม่ในกล่องพลาสติกชนิดโพลีโพรไพลีนมีฝาปิดสนิทขนาด 250 กรัม (ภาพที่ 3.1) แล้วนำตัวอย่างมาเก็บไว้ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และผู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 3.2) ที่ระยะเวลา 0, 1, 3 และ 6 เดือน และทำการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ของตัวอย่างกะปิที่เริ่มเก็บ และทำการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและประสาทสัมผัส ของตัวอย่างกะปิ ที่เวลา 0, 1, 3 และ 6 เดือน ตัวอย่างที่รอการวิเคราะห์ให้เก็บไว้ที่ - 20 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 3.1 การเก็บตัวอย่างกะปิ

ที่มา : โรงงานผลิตกะปิเจ็จิม ตำบลคลองโคน จังหวัดสมุทรสงคราม



ภาพที่ 3.2 การเก็บรักษาตัวอย่างกะปิไว้ที่ อุณหภูมิ 4 C (ภาพซ้าย) และ 35 C (ภาพขวา)

3.1.2 สารเคมี

- 3.2.1.1 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น
- 3.2.1.2 คอปเปอร์ซัลเฟต
- 3.2.1.3 กรดบอริก
- 3.2.1.4 กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น
- 3.2.1.5 โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น
- 3.2.1.6 ปีโตรเลียมอีเทอร์
- 3.2.1.7 ferric indicator
- 3.2.1.8 ซิลเวอร์ไนเตรต
- 3.2.1.9 กรดไนตริกเข้มข้น
- 3.2.1.10 โปตัสเซียมไทโอไซยาไนด์
- 3.2.1.11 เมทิลเรด

3.1.3 อุปกรณ์

- 3.1.3.1 เครื่องวัด water activity ยี่ห้อ Aqua Lab

- 3.1.3.2 เครื่อง pH meter ยี่ห้อ Metrohm
- 3.1.3.3 เครื่องวัดสี Spectrophotometer ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น Color Quest XE
- 3.1.3.4 เครื่อง สกัดไขมัน ยี่ห้อ LABCONCO
- 3.1.3.5 ตู้บอญหภูมิ ยี่ห้อ WTB รุ่น FE 115
- 3.1.3.6 ชุดเครื่องกลั่น
- 3.1.3.7 ถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาสำหรับหาความชื้น
- 3.1.3.8 ถ้วยสำหรับหาเถ้า
- 3.1.3.9 เตาเผา (muffin furnace)
- 3.1.3.10 ตู้ปั๊มควบคุมอุณหภูมิต่ำ ยี่ห้อซันโย
- 3.1.3.11 เครื่องบดยี่ห้อTefal
- 3.1.3.12 อุปกรณ์เครื่องแก้ว

3.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

สำหรับตัวอย่างกะปิที่เริ่มต้นให้ทำการวิเคราะห์เพื่อหาค่าประกอบทางเคมีได้แก่ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เถ้า ความชื้น ปริมาณเกลือ และ ความเป็นกรดต่าง (AOAC,1999) ดังนี้

3.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

ใช้วิธีเจดดาห์ (Kjeldahl Method) ทำโดยชั่งตัวอย่างกะปิ 0.5-1 กรัม ใส่ลงไปในคนโทก้นกลม เติมคอปเปอร์(II) ซัลเฟตซึ่งเป็นคะตะลิสต์ร้อยละ 0.5 ของน้ำหนักตัวอย่าง และกรดกำมะถันเข้มข้นประมาณ 10 มิลลิลิตร ลงในคนโทก้นกลม แล้วค่อยๆ ต้มให้เดือด โดยวางคนโทก้นกลมให้เอียงเล็กน้อย ต้มจนกระทั่งไม่มีฟอง เพิ่มความร้อนให้สูงขึ้น เขย่าเป็นครั้งคราว และย่อยจนส่วนผสมใส (ประมาณ 2-4 ชั่วโมง) ปล่อยให้เย็น ละลายส่วนผสมด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย เทลงในคนโทก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น แล้วเติมลูกแก้ว 2-3 เม็ดลงไป ต่อคนโทก้นกลมเข้ากับคอนเดนเซอร์ โดยให้ปลายของคอนเดนเซอร์จุ่มอยู่ต่ำกว่าระดับของสารละลาย เติมกรดบอริกปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมเมททิลเรดลงไป 2-3 หยด เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในกรวยที่อยู่เหนือคนโทก้นกลม โดยค่อยๆ เติมลงไปในคนโทก้นกลม แอมโมเนียที่เกิดขึ้นจะถูกจับไว้ด้วยสารละลายกรดบอริก กลั่นจนได้ของเหลวอย่างน้อย 50

มิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นล้างคอนเดนเซอร์ และส่วนปลายของคอนเดนเซอร์ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ นำสารละลายทั้งหมดไปไทเทรตกับสารละลายกรดเกลือ 0.1 นอร์มัล

3.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

ใช้เครื่องสกัดไขมันแบบ Soxhlet ทำโดยนำตัวอย่างกะปิมา 5 กรัม ไปอบที่อุณหภูมิ 103 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง หรือจนได้น้ำหนักคงที่ นำของแข็งที่ได้จากการอบใส่ใน Thimble ปิดด้วยสำลีที่สกัดเอาไขมันออกแล้ว (Defatted – cotton wool) นำ Thimble ใส่ในชุดแยกสกัด (Extraction unit) ของเครื่องสกัด เติมนิโตรเลียมอีเทอร์ลงในพลาสติกให้มีปริมาตรเพียงพอที่จะเกิดการสกัดอย่างสมบูรณ์ และต่อชุดแยกสกัดเข้ากับคอนเดนเซอร์ ทำการสกัดโดยใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง แยก Soxlet flask และ Condensor ออกจากชุดสกัด ใช้คีมคีบสำลีและ Thimble ที่ใส่ตัวอย่างกะปิออกมา เทเอาของแข็งออกจากทิมเบล แล้วนำออกมาสกัดด้วยนิโตรเลียมอีเทอร์อีกครั้งหนึ่ง เพื่อสกัดไขมันในของแข็งออกให้มากที่สุด เทของแข็งที่บดแล้วกลับเข้าไปในทิมเบลอีกครั้งหนึ่ง แล้วเริ่มสกัดเช่นเดิมโดยเติมนิโตรเลียมอีเทอร์ลงไปอีก ใช้สำลีที่สกัดไขมันออกแล้วปิดด้านบนของทิมเบลไว้สกัดต่ออีกครั้งประมาณ 1-2 ชั่วโมง นำ Soxlet flask ไประเหยอีเทอร์ออกแล้วอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นานประมาณ 45 นาที ปล่อยให้เย็นในโถดูดความร้อน ชั่งน้ำหนักและคำนวณปริมาณไขมันออกมาเป็นร้อยละ

3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

ใช้วิธี dry ashing ทำโดยชั่งกะปิ 2-5 กรัม ใส่ลงในจานสำหรับหาเถ้า นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500-550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีขาว จากนั้นนำไปทำให้เย็นในโถดูดความร้อน แล้วชั่งหาน้ำหนักเถ้า

3.2.4 การวิเคราะห์ความชื้น

ใช้ตู้อบลมร้อน (Oven) ทำโดยชั่งกะปิ 5 กรัม ใส่ในจานโลหะพร้อมฝาที่ผ่านการอบแห้ง และทรานน้ำหนักแน่นอน นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100-150 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง โดยเปิดฝาจานโลหะขณะอบ นำจานโลหะออกจากตู้อบและปล่อยให้เย็นในโถดูดความร้อน ชั่งน้ำหนัก แล้วนำไปอบซ้ำหลายๆ ครั้งจนน้ำหนักคงที่

3.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตคำนวณโดยนำค่าร้อยละของความชื้น โปรตีน ไขมัน และ ไขมันรวมกันแล้วลบจากค่า 100 แสดงค่าเป็นร้อยละของคาร์โบไฮเดรต

3.2.6 การวิเคราะห์ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์

ชั่งตัวอย่างกะปิ 1 กรัม เติม 0.1 N AgNO_3 ลงไปให้มีปริมาณมากเกินพอ เพื่อให้อนุมูลคลอไรด์ตกตะกอนเป็น AgCl แล้วเขย่า เติม 50 % HNO_3 20 มิลลิลิตร อุณหภูมิบน hot plate จนตะกอนอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ AgCl ละลายหมด ใช้เวลาประมาณ 15 นาที ทิ้งให้เย็น เติมน้ำ 50 มิลลิลิตรและใช้ ferric indicator 5 มิลลิลิตร เป็นดัชนี นำไปไตเตรทกับ 0.1 N KSCN ซึ่งจะ去做ปฏิกิริยากับ AgNO_3 ส่วนที่เหลืออยู่ ปฏิกิริยาจะถึง end point เมื่อปรากฏสีแดงอิฐ หักปริมาตรของ KSCN ที่ใช้ออกจากปริมาตรของ AgNO_3 ที่เติมลงไป จะได้ปริมาตรของ AgNO_3 ที่ทำ ให้เกิดตะกอน นำ ค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณโซเดียมคลอไรด์ตามสูตร

$$\text{โซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)} = 0.0058443 (A-B) \times 100/\text{ปริมาณตัวอย่างที่ใช้(กรัม)}$$

A = จำนวนมิลลิลิตรของ 0.1 N AgNO_3 ที่ใช้

B = จำนวนมิลลิลิตรของ 0.1 N KSCN ที่ใช้

3.2.7 การวิเคราะห์ความเป็นกรดต่าง

ทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดต่างของตัวอย่างกะปิที่เก็บแต่ละอุณหภูมิที่ระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 6 เดือน โดยชั่งตัวอย่างกะปิประมาณ 10 กรัม ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ที่มีขีดปริมาตรเติมน้ำกลั่น คนให้กระจาย ปรับปริมาตรเป็น 20 มิลลิลิตร แล้ววัดด้วยเครื่องวัดค่า pH โดยให้อิเล็กโตรดอยู่ในตัวอย่างกะปิเป็นเวลา 2 นาทีก่อนบันทึกผล

3.3 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

นำตัวอย่างกะปิที่เก็บแต่ละอุณหภูมิที่ระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 6 เดือนมาทำการวัดค่าสีและปริมาณน้ำอิสระ

3.3.1 การวัดค่าสี

วัดค่าสี L^* ความสว่าง a^* (ความเป็นสีแดง/ความเป็นสีเขียว) b^* (ความเป็นสีเหลือง/ความเป็นสีน้ำเงิน) ในระบบ CIELAB ของตัวอย่างกะปิ ด้วยเครื่องวัดสี Spectrophotometer ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น Color Quest ที่ D65 และ visual angle 10°

3.3.2 การวัดค่าปริมาณน้ำอิสระ

วัดค่าปริมาณน้ำอิสระ (A_w) ของตัวอย่างกะปิ ด้วยเครื่องวัดยี่ห้อ Aqualab ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 กล่องๆ ละ 3 ซ้ำ

3.4 การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

3.4.1 ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างกะปิ

นำตัวอย่างกะปิที่เก็บแต่ละอุณหภูมิที่ระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 6 เดือน มาห่อด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด กว้าง*ยาว*หนา เป็น $2*2*1$ เซนติเมตร ให้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 18 คน และใช้แบบทดสอบชนิด Hedonic scale แบ่งคะแนนเป็น 9 ระดับ ซึ่งคะแนน 1 เป็นระดับความชอบน้อยที่สุด และคะแนน 9 เป็นระดับ ความชอบมากที่สุด (Meilgaard et al., 2007) คุณลักษณะที่ประเมินได้แก่ ลักษณะเนื้อสัมผัส สี กลิ่น รสชาติและความชอบรวม

3.4.2 ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคทางประสาทสัมผัสของน้ำพริกกะปิ

นำตัวอย่างกะปิที่เก็บแต่ละอุณหภูมิที่ระยะเวลา 0, 1, 2, 3 และ 6 เดือน ไปปรุงเป็นน้ำพริกกะปิ ตามสูตรตำรับน้ำพริกกะปิตั้งตารางที่ 3.1 และใช้ผู้บริโภคจำนวน 18 คน และใช้แบบทดสอบ ชนิด Hedonic scale แบ่งคะแนนเป็น 9 ระดับ ซึ่งคะแนน 1 เป็นระดับความชอบน้อยที่สุด และคะแนน 9 เป็นระดับ ความชอบมากที่สุด คุณลักษณะที่ประเมินได้แก่ ได้แก่ ลักษณะเนื้อสัมผัส สี กลิ่น รสชาติและความชอบรวม

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของของน้ำพริกกะปิ

วัตถุดิบ	น้ำหนัก (กรัม)
กะปิ	60
กระเทียม	50
น้ำมะนาว	80
น้ำตาลปีบ	80
น้ำปลา	14
พริกชี้หนู	16

ที่มา: ทองเยาว์ โทณานนท์ และศรีสมร คงพันธ์ (2536)

3.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การประเมินคุณภาพทางกายภาพ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองแบบบล็อกไม่สมบูรณ์แบบสมดุล (Balanced Incomplete Block design: BIB) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ด้วย โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%