

๓.1 สารเคมีและเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

๓.1.1 วัตถุประสงค์และสารเคมี

วัตถุประสงค์ เคຍที่ใช้ในการทดลองอยู่ในสกุล Acetes ได้มาจาก จ.สมุทรสาคร คนท้องถิ่นเรียกว่าเคยฝูง มีความยาวขนาด 1-1.5 ซม. เมื่อได้เคยมาเลือกสิ่งสกปรกออก เช่น เศษถุงพลาสติก เศษปลา เศษใบ ฯลฯ แล้วนำมาทดลองทันที (รวมเวลาหลังจับ 2-3 ชม.)

เกลือ ใช้เกลือเม็ดชนิดขาวอย่างดี จากจังหวัดสมุทรสงคราม (มีปริมาณ NaCl ประมาณ 80%)

สารเคมี

nitric acid 63%	(A.R.)
silver nitrate	(A.R.)
ferric ammonium sulfate	(A.R.)
ammonium thiocyanate	(A.R.)
potassium sulfate	(A.R.)
copper sulfate	(A.R.)
sulfuric acid 98%	(A.R.)
sodium hydroxide	(A.R.)
boric acid	(A.R.)
trichloroacetic acid	(L.R.)
potassium carbonate	(A.R.)
absolute ethyl alcohol	(A.R.)

phenolphthalein	(A.R.)
bromcresol green	(A.R.)
methyl red	(A.R.)
phosphotungstic acid	(A.R.)
magnesium oxide, light	(L.R.)
formaldehyde	(A.R.)

3.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (Sauter type 414/00)

เครื่องชั่งหยาบ (Mettler Model P.L. 1200)

เครื่องวัด pH (Crison รุ่น Digit 501 2 ตำแหน่ง)

เครื่องปั่นสารละลาย homogenizer (Polytron รุ่น PT-20S)

เครื่องบดไฟฟ้า (Waring commercial blender)

เครื่องบดเนื้อ (Kenwood Major A907 D, หัวบด A920)

ตู้อบ อุณหภูมิ 105°C (Heraeus รุ่น T 5060)

เครื่องวิเคราะห์โปรตีน (Tecator ประกอบด้วย ชุดย่อย รุ่น

DS 20, ชุดกลั่น รุ่น KJELTEC Sys II)

จาน Conway สำหรับวิเคราะห์ค่า total volatile base

(TVB) ทำจากแก้วเนื้อหนา เส้นผ่าศูนย์กลางภายในของจาน

75 มม. ลึก 15-20 มม. ขอบวงในมีความสูง 10 มม. มีฝา

ปิดป้องกันการเข้าออกของอากาศ และสารระเหยที่เกิดขึ้น

หาอาหารปนรอบขอบจานก่อนการวิเคราะห์



3.2 ขั้นตอนการทดลอง

การทดลองแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนได้แก่

3.2.1 การวิเคราะห์คุณภาพของตัวอย่างกะปิที่ผู้บริโภคมารับ

3.2.2 การทดลองหมักกะปิโดยใช้เคยที่ระดับความสดต่าง ๆ กัน

3.2.3 การทดลองแปรปริมาณเกลือและระดับความชื้นในการหมักกะปิ เมื่อใช้เคยที่ระดับความสดต่าง ๆ

3.2.1 การวิเคราะห์คุณภาพของตัวอย่างกะปิที่ผู้บริโภคมารับ

เนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีข้อกำหนดมาตรฐานคุณภาพ (quality standard) สำหรับกะปิไว้เลย จึงต้องมีการศึกษาเพื่อหาช่วงค่าในส่วนที่เกี่ยวข้องกับสมบัติทางกายภาพและเคมีบางประการ เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจและเปรียบเทียบผลของ treatment combination ต่าง ๆ ที่ออกแบบขึ้นสำหรับงานทดลองนี้

วิธีทดลองได้สุ่มตัวอย่างกะปิคุณภาพดี ทำจากเคยผู้่งแท้ (*Acetes sp.*) ที่มีช่วงเวลาหมักประมาณ 3-4 เดือน จากผู้ผลิตในบริเวณเดียวกันกับสถานที่ที่เก็บตัวอย่างเคยมารทดลองในจังหวัดสมุทรสาครและบริเวณใกล้เคียงแล้วนำมาตรวจสอบคุณภาพดังนี้

3.2.1.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส (Sensory Evaluation)

ทดสอบสมบัติด้านความชอบและการยอมรับของผู้บริโภคต่อตัวอย่างกะปิในด้าน สี กลิ่น รสชาติ และลักษณะเนื้อ โดยใช้ผู้ทดสอบชนิดผู้บริโภคทั่วไป จำนวน 20 คน การทดสอบใช้ scoring test (47) แบบ Hedonic scale ช่วงคะแนน 1-9 โดย 9 เป็นคะแนนที่ชอบมากที่สุด และ 1 เป็นคะแนนที่ไม่ชอบมากที่สุด และกำหนดให้คะแนนน้อยกว่า 5 เป็นคะแนนที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ ใช้แบบสอบถามชุดที่ 1 (ดังแสดงในภาคผนวก ข.) วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี two way classification (47, 52).

3.2.1.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีของกะปิที่เหมาะสม เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคว่าอยู่ในช่วงระดับใด สมบัติที่วิเคราะห์ได้แก่ ปริมาณความชื้น ปริมาณโปรตีน ปริมาณเกลือโซเดียม-

คลอไรด์ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และส่วนประกอบของกลิ่นและรสชาติในกะปิ ได้แก่ค่า total volatile base (TVB) (ค่า total volatile acid (TVA) ปริมาณ amoniacal-nitrogen และปริมาณ amino acid nitrogen การวิเคราะห์ วิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 ครั้ง

การวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ซึ่งตัวอย่าง 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มล. วัดค่า pH โดยใช้เครื่อง pH-meter ซึ่งประกอบด้วย electrode ที่ใช้ได้กับผลิตภัณฑ์ทั้งแข็งกึ่งเหลว วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ครั้ง

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ซึ่งตัวอย่างประมาณ 5 กรัม อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 °C จนน้ำหนักคงที่ ทิ้งให้เย็นใน desicater และชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เหลือ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

การวิเคราะห์ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ วิเคราะห์โดยใช้วิธีของ Volhari (48) ตามภาคผนวก ค. ข้อ 1.

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl method (48) ตามภาคผนวก ค. ข้อ 2

การวิเคราะห์หาปริมาณ total volatile base (TVB) ปริมาณต่างที่ระเหยได้เป็นสารพวก volatile amine ทั้งหมดโดยเฉพาะพวกแอมโมเนียและ trimethylamine การวิเคราะห์ใช้วิธี Conway micro-diffusion (49) วิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ค. ข้อ 3 ค่าที่ออกมาคิดเป็นมิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัม น้ำหนักตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณ total volatile acid (TVA) การวิเคราะห์หาปริมาณกรดที่ระเหยได้ทั้งหมดในกะปิ เป็น steam volatile acid พวก formic acetic propionic และ butyric acid ตามวิธีของ A.O.A.C. ในภาคผนวก ค. ข้อ 4 ค่าที่ออกมาคิดเป็นมิลลิลิตรสมมูลของกรดต่อ 100 กรัมตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณ ammoniacal nitrogen (AM-N) แอมโมเนียจะถูกปล่อยออกมาเมื่อกลิ้งตัวอย่างกับแมกนีเซียมออกไซด์ วิเคราะห์ตามวิธีของ A.O.A.C.

ในภาคผนวก ค. ข้อ 5 ค่าที่ออกมาคิดเป็นกรัมต่อกิโลกรัมตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณ amino acid nitrogen (AA-N) เป็นค่าผล
ต่างระหว่าง formaldehyde nitrogen กับ ammoniacal nitrogen คิดเป็นกรัมต่อกิโลกรัม
ตัวอย่าง (48,50) วิธีวิเคราะห์ตามภาคผนวก ค. ข้อ 6 และข้อ 7

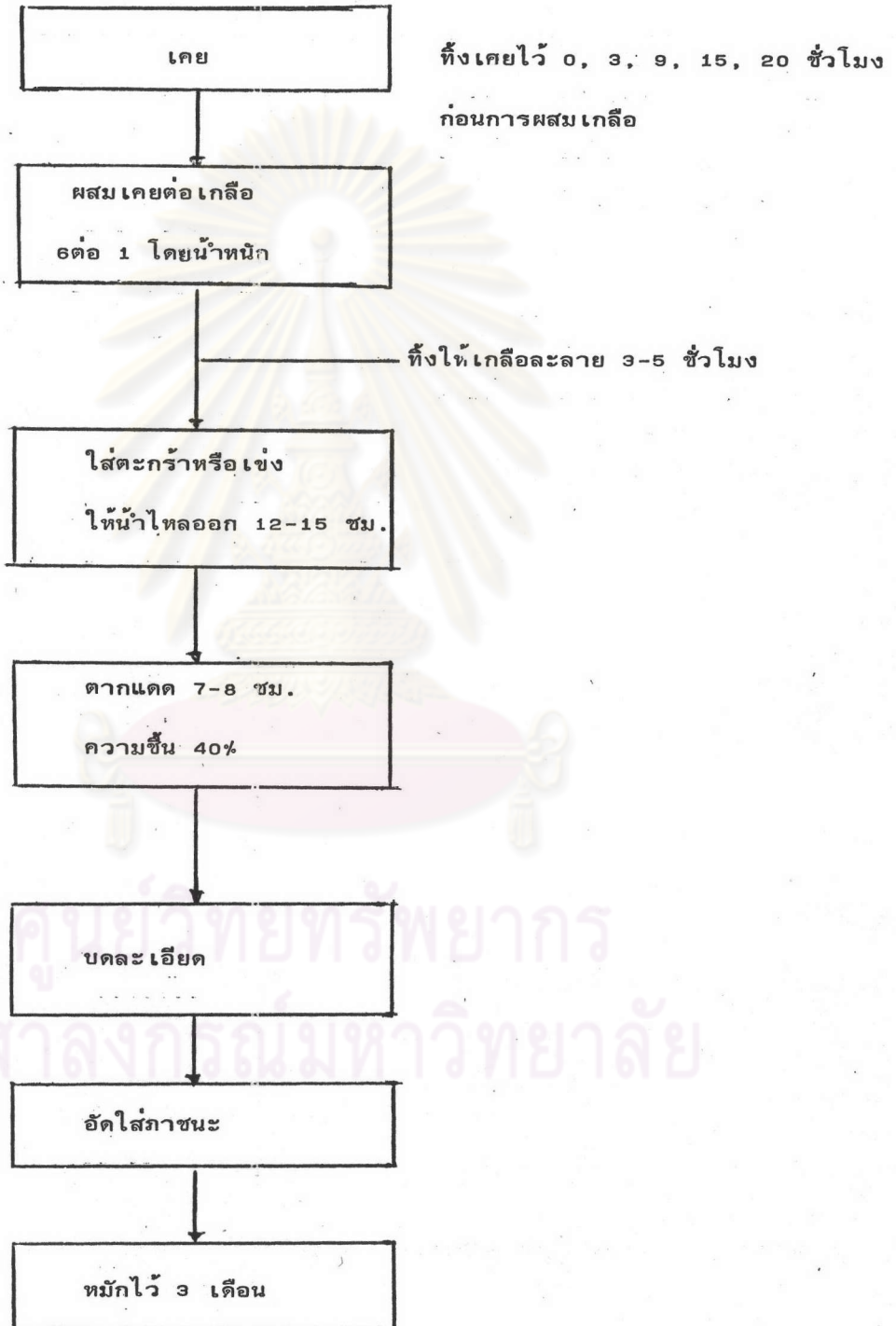
การวิเคราะห์ค่า TVB, TVA, AM-N และ AA-N ในตัวอย่างกะปิ
สำหรับ งานวิจัยนี้ จะคิดเทียบต่อน้ำหนักตัวอย่างที่หักเอาความชื้นและเกลือออกแล้ว (free salt-
dry basis)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.2 การทดลองหมักกะปิโดยใช้เคยในระดับความสดต่าง ๆ กัน

เพื่อศึกษาผลของความสดของเคยต่อคุณภาพของกะปิ และหาช่วงระดับความสดของเคยที่นำมาทำกะปิแล้วผู้บริโภคยังยอมรับ ขั้นตอนการหมักกะปิในการทดลองนี้ มีดังแสดงในแผนภูมิ



วิธีการทดลอง

3.2.2.1 นำเคยที่ไคมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ($27 \pm 2^{\circ}\text{C}$) เป็นเวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15 และ 20 ชั่วโมง จะได้เคยที่มีระดับความสดต่าง ๆ กัน ประเมินค่าความสดของเคย โดยวิเคราะห์

ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ค่า TVB

total bacterial count (TBC) ตามรายละเอียดในภาค

ผนวก ค. ข้อ 8

3.2.2.2 นำเคยแต่ละตัวอย่างมาผสมเกลือในอัตราส่วน 6 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก ทดลอง 2 ชั่วโมง (ใช้เคย 3 กิโลกรัม เกลือ 0.5 กิโลกรัม ในแต่ละชั่วโมง) ทิ้งให้เกลือละลาย 3-5 ชั่วโมง ใส่ตะกร้าให้น้ำไหลออก 1 คืน (12-15 ชั่วโมง) รุ่งขึ้นนำออกตากแดด 1 วัน (7-8 ชั่วโมง) จนได้ความชื้นประมาณ 40% (วิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามข้อ 3.2.1.2) บด 2 ครั้งด้วยเครื่องบด Kenwood A907D หัวบด A920 ความเร็ว เบอร์ 5 อัดใส่ขวดโพลีเอทิลีน ขนาด 1 กิโลกรัมมีฝาปิด หมักไว้ที่อุณหภูมิ $27 \pm 3^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 3 เดือน

3.2.2.3 ติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีของกะปิระหว่างการหมัก ช่วง 0, 0.5, 1, 2, 3 เดือน โดยการวิเคราะห์

ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ค่า TVB

ค่า TVA

ammoniacal nitrogen

amino acid nitrogen

3.2.2.4 ทดสอบผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัส ในด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส ในระหว่างการหมักช่วง 0, 0.5, 1, 2, 3 เดือน วิเคราะห์โดย scoring test ใช้ Hedonic scale ช่วงคะแนน 1-9 9 เป็นคะแนนชอบมากที่สุด 1 เป็นคะแนนไม่ชอบมากที่สุด

ใช้ผู้ทดสอบที่มีความชำนาญในการทดสอบกะปิ จำนวน 10 คน ทำการทดสอบ 2 ซ้ำ แบบทดสอบชุดที่ 2 ดังแสดงในภาคผนวก ข

3.2.2.5 ศึกษาคุณภาพของกะปิที่ผลิตขึ้นเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 6 เดือน โดยวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี และทดสอบความชอบในด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส เช่นเดียวกับในหัวข้อ 3.2.2.3 และ 3.2.2.4 รวมทั้งศึกษาสภาพความปลอดภัย โดยการวิเคราะห์ทางจุลชีว (51)

total bacterial count ตามรายละเอียดภาคผนวก ค ข้อ 8

total yeast and mould ตามรายละเอียดภาคผนวก ค ข้อ 9

coliform bacteria ตามรายละเอียดภาคผนวก ค ข้อ 10

Staphylococcus aureus (ที่ให้ coagulate positive)

ตามรายละเอียดภาคผนวก ค ข้อ 11

Salmonella sp.

ตามรายละเอียดภาคผนวก ค ข้อ 12

3.2.2.6 วางแผนการทดลองเพื่อวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี Factorial design (52, 53) แบบ 2 แฟคเตอร์ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ แฟคเตอร์ที่ศึกษาคือ

ความสดของเคย 5 ระดับ ที่ช่วงเวลาก่อนผสมเกลือ 0, 3, 9, 15, 20 ชั่วโมง

ระยะเวลาหมัก 6 ระดับ คือ 0, 0.5, 1, 2, 3, 6 เดือน

และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคุณภาพทางประสาทสัมผัสและทางเคมีแต่ละสภาพการทดลอง ด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test (53)

ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.2 การทดลองแปรปริมาณเกลือ และระดับความชื้นในการหมักกะปิเมื่อใช้เคยที่ระดับ

ความสดต่าง ๆ

เพื่อหาสภาวะร่วมที่เหมาะสมที่จะรักษาคุณภาพของกะปิให้ได้ ไม่ว่าเคยจะมี ความสดที่ระดับใดก็ตาม ขั้นตอนการหมักกะปิในการทดลองนี้ ดังแสดงในแผนภูมิ



วิธีการทดลอง

3.2.3.1 หมักกะปิจากเคยที่ดั่งตั้งไว้ 0, 6, 15 ชั่วโมง (delay time)

ใช้อัตราส่วนเคยต่อเกลือ 4 : 1 และ 8 : 1 โดยนำหมัก ทดลอง 2 ซ้ำ ทิ้งให้เกลือละลาย ใส่ตะกร้าให้น้ำไหลออก 1 คิน นำออกตากแดด โดยแปรปริมาณความชื้นในขั้นตอนการตากแดดให้ได้ ความชื้นสุดท้ายเป็น 2 ระดับ คือ $35 \pm 5\%$ และ $45 \pm 5\%$ (วิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามข้อ

3.2.1.2) บดด้วยเครื่อง 2 ครั้ง อัดใส่ขวดให้แน่น การทดลองนี้ จะแบ่งเป็น 12 treatment combination ดังนี้

treatment combination เคยที่ช่วงเวลา(ชม.) เคย:เกลือโดยน้ำหนัก ความชื้นหลังตาก(%)

1	0	4:1	35±5
2	0	4:1	45±5
3	0	8:1	35±5
4	0	8:1	45±5
5	6	4:1	35±5
6	6	4:1	45±5
7	6	8:1	35±5
8	6	8:1	45±5
9	15	4:1	35±5
10	15	4:1	45±5
11	15	8:1	35±5
12	15	8:1	45±5

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2.3.2 ติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีของกะปิระหว่างการหมักช่วง 0, 0.5, 1, 2, 3 เดือน โดยการวิเคราะห์

ความเป็นกรด-ด่าง pH

ค่า TVB

ค่า TVA

ปริมาณ ammoniacal nitrogen

ปริมาณ amino acid nitrogen

3.2.3.3 ทดสอบผลิตภัณฑ์ทางประสาทสัมผัสในด้าน สี กลิ่น รสชาติ และลักษณะ เนื้อสัมผัส ในระหว่างการหมักช่วง 0, 0.5, 1, 2, 3 เดือน วิเคราะห์โดย scoring test ใช้ Hedonic scale ช่วงคะแนน 1-9 9 เป็นคะแนนชอบมากที่สุด 1 เป็นคะแนนไม่ชอบมากที่สุด ใช้ผู้ทดสอบที่มีความชำนาญ จำนวน 10 คน แบบทดสอบชุดที่ 2 (ภาคผนวก ข)

3.2.3.4 ศึกษาคุณภาพของกะปิที่ผลิตขึ้นเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 6 เดือน โดยวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและทดสอบความชอบในด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส เช่นเดียวกับในหัวข้อ 3.2.2.3 และ 3.2.2.4

3.2.3.5 วางแผนการทดลองเพื่อวิเคราะห์ข้อมูล โดยวิธี Factorial - design แบบ 4 แฟคเตอร์ แฟคเตอร์ที่ศึกษาคือ

ความสดของเคย 3 ระดับ คือ delay time 0, 6, 15 ชั่วโมง

อัตราส่วนเคยต่อเกลือ 2 ระดับ คือ 4:1, 8:1

ความชื้นหลังการตาก 2 ระดับ คือ $35 \pm 5\%$, $45 \pm 5\%$

ระยะเวลาหมัก 6 ระดับ 0, 0.5, 1, 2, 3, 6 เดือน

ทำการทดลอง 2 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคุณภาพทางประสาทสัมผัสและทางเคมี ด้วยวิธี

Duncan Multiple Range Test (53)