

บทที่ 3

การทดลอง

3.1 วัตถุประสงค์ สารเคมีและเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 วัตถุประสงค์ ปลาเบ็ดที่ใช้ในการทดลองเลือกใช้เฉพาะปลาที่จับได้ในวันสุดท้ายของการประมงอวนลาก (อายุประมาณ 18-36 ชั่วโมง) จากเรือขนาดความยาว 20-25 เมตร ณ ท่าเทียบเรือจังหวัดสมุทรปราการโดยซื้อครั้งละประมาณ 1,500 กิโลกรัม ขนส่งมายังสถานที่วิจัยขณะขนส่งรักษาความสดด้วยน้ำแข็งบด

3.1.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

Picric acid A.R.

Trichloroacetic acid A.R.

Sulphuric acid A.R.

Magnesium carbonate A.R.

Formalin solution

Sodium chloride A.R.

Sodium bicarbonate A.R.

Ethyl alcohol A.R.

Potassium carbonate A.R.

Copper sulphate A.R.

Sodium hydroxide A.R.

Glycerine A.R.

Trimethylamine A.R.

Plate count agar

Mannital salt agar

3.1.3 สารกันเสีย

Sodium benzoate (food grade)

Sodium erythorbate (food grade)

Sodium polyphosphate (food grade)

3.1.4 เครื่องมือและอุปกรณ์การทดลอง

เครื่องแยกเนื้อปลา (Bibun deboning machine SDX 13
Fukugama Japan)

เครื่องวัดความเหนียว (Rheometer หรือ food checker
Sun Kagaka Co., Ltd. type 302 B)

เครื่องบีบน้ำโดยใช้มือหมุนแบบ screw press

เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (Satorius model 2462)

เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิต่ำ (refrigerated centrifuge
model B-20A Damon/IEC)

เครื่องชั่งหยาดชนิดทัศนียม 2 ตำแหน่ง (Sauter type SM 1600)

เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (EIL type 7020)

เครื่องปั่นสารละลาย (homogenizer-ystral model X10/20)

เครื่องนวดเนื้อปลา (Fuji denki)

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath-Gallenkamp model BKA 300)

เครื่อง Double beam spectrophotometers model 100-60

เครื่องปิดถุงพลาสติก (Henkovac type VA1)

เครื่องวิเคราะห์ความชื้น (Kett model FD-IA)

ตู้อบเลี้ยงเชื้อ (Keraeus model B-5042)

จาน conway สำหรับวิเคราะห์ค่า TVB ทำจากแก้วเนื้อหนาเส้นผ่าศูนย์กลาง

กลางภายใน 75 มิลลิเมตร ลึก 15-20 มิลลิเมตร ขอบวงในสูง

10 มิลลิเมตร มีฝาปิดเพื่อป้องกันการผ่านเข้าออกของอากาศและ

สารระเหยที่เกิดขึ้น ทาพาราฟิโนรอบขอบจานก่อนวิเคราะห์

ถุงพลาสติกชนิดโพลีเอททิลีน ขนาด 12x20 ตารางนิ้ว หนา 0.21 มิลลิเมตร



3.2 ขั้นตอนการทดลอง

การทดลองแบ่งเป็น 6 ขั้นตอนได้แก่

- 3.2.1 การเตรียมตัวอย่างปลาเปิด
- 3.2.2 การแยก เนื้อปลาจากกระดูกและล้าง
- 3.2.3 การทดลอง เก็บรักษา เนื้อปลาบดที่สภาวะต่าง ๆ
- 3.2.4 การทดลองผลิตลูกชิ้นจาก เนื้อปลาที่แยกกระดูกโดย เครื่อง
- 3.2.5 การศึกษาอายุการ เก็บผลิตภัณฑ์ที่สภาวะใช้งาน
- 3.2.6 การทดลองผลิตขนาดอุตสาหกรรมใน โรงงานผลิตลูกชิ้น

เนื่องจากปลาเปิดประกอบด้วยปลาชนิดต่าง ๆ รวมกันมากกว่า 50 ชนิด และเมื่อชาวประมงลากอวนได้มาจะไม่ล้างน้ำให้สะอาดก่อนการ เก็บรักษา จึงต้องวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

3.2.1.1 วิเคราะห์ความสดของปลาเปิดทางประสาทสัมผัส

(sensory evaluation) โดยทดสอบลักษณะทั่วไป กลิ่น ความสดของเนื้อปลาและเนื้อส่วน ท้องโดยใช้ผู้ทดสอบ จำนวน 8 คน การทดสอบใช้วิธี descriptive analysis with scoring (48) ช่วงคะแนน 1-5 โดย 5 เป็นคะแนนที่ปลา มีลักษณะความสดมากที่สุด และ คะแนน 1 เป็นคะแนนลักษณะความสดที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ ใช้แบบสอบถามชุดที่ 1 (ภาคผนวก ข)

3.2.1.2 วิเคราะห์ส่วนประกอบระหว่างปลาหน้าดินและปลาผิวน้ำ

สุ่มตัวอย่างปลาเปิดประมาณ 10 กิโลกรัมนำมาแยกชนิดและ ชั่งน้ำหนักปลาหน้าดินกับปลาผิวน้ำ

3.2.1.3 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีของปลาเปิดโดยวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีน ความชื้น ไขมัน เถ้า และ TVB.

ความชื้น ชั่งตัวอย่างประมาณ 5 กรัมอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 °C

จนน้ำหนักคงที่ทิ้งให้เย็นใน desicater ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เหลือและคำนวณปริมาณความชื้น
จากสูตร

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

โปรตีน ใช้วิธี Kjeldahl method (49) ตามภาคผนวก ค ข้อ 1

ไขมัน ใช้วิธีของ A.O.A.C. (49) รายละเอียดตามภาคผนวก ค ข้อ 2

เถ้า ชั่งตัวอย่าง 8-10 กรัมใส่ใน crucible ที่ทราบน้ำหนักอบในตู้อบ 100 °C
24 ชั่วโมง และนำไปอบต่อในเตาเผา (muffle furnace) โดยค่อย ๆ เติบโตอุณหภูมิจนได้
550 °C ± 5 °C อบ 8 ชั่วโมงจนเถ้ามีสีขาว ถ้ายังไม่ได้เถ้าสีขาวก็เติมน้ำกลั่นลงบนเถ้าและ
อบต่อจนเถ้าเป็นสีขาวและน้ำหนักคงที่

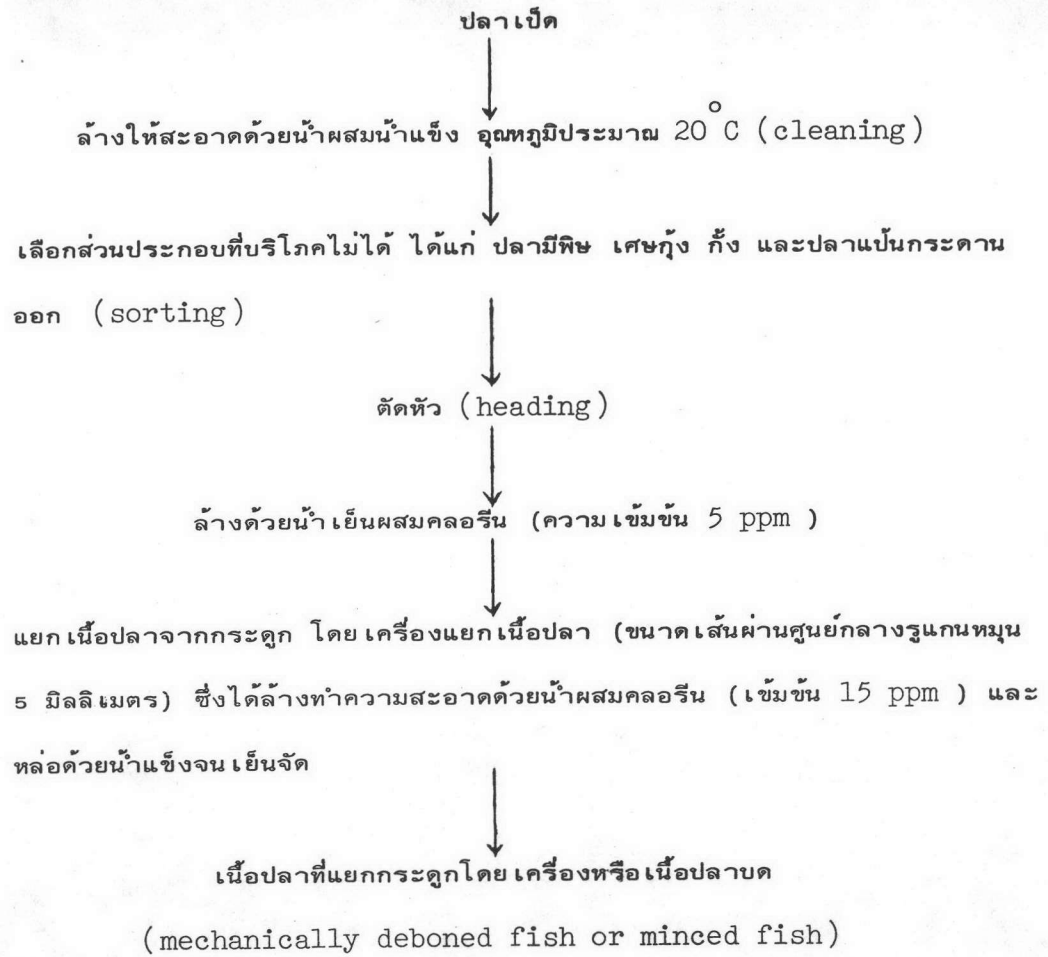
$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{[(\text{น้ำหนัก crucible} + \text{เถ้า}) - \text{น้ำหนัก crucible}] \times 100}{[(\text{น้ำหนัก crucible} + \text{ตัวอย่าง}) - \text{น้ำหนัก crucible}]}$$

TVB วิเคราะห์โดยวิธี Conway micro-diffusion (50) ภาคผนวก ค ข้อ 3
ค่าที่ได้คิดเป็นมิลลิกรัมไนโตรเจนต่อ 100 กรัม น้ำหนักตัวอย่าง

3.2.2 การแยกเนื้อปลาจากกระดูกและล้าง

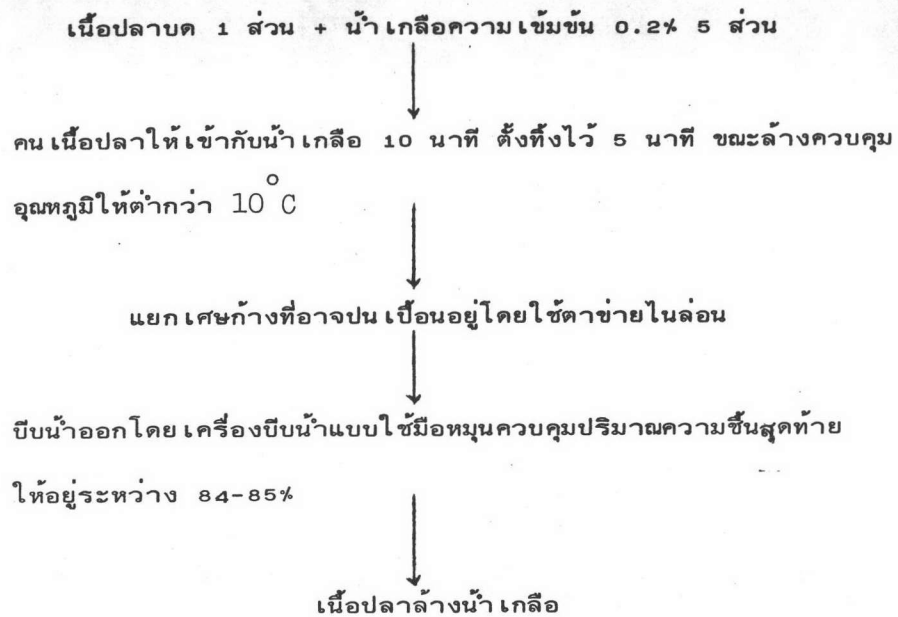
3.2.2.1 การแยกเนื้อปลาจากกระดูก

กรรมวิธีทุกขั้นตอนในการแยกกระดูกจากเนื้อปลาโดยใช้เครื่อง
แยกกระดูก ต้องสะอาดและถูกสุขลักษณะป้องกันการปนเปื้อนจากคน แมลง และจุลินทรีย์ ขั้นตอน
ในการแยกกระดูกมีดังแสดงในแผนภูมิต่อไปนี้



3.2.2.2 การล้าง

แบ่งเนื้อปลาที่ได้เป็นสองส่วน นำส่วนหนึ่งไปล้างด้วยน้ำเกลือ
อีกส่วนเก็บไว้เป็นตัวอย่างที่ไม่ล้าง วิธีล้างปฏิบัติตาม Code of Practice for Minced
Fish (51) ดังแผนภูมิ



3.2.2.3 วิเคราะห์คุณภาพโดยวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total bacterial count--TBC) (52) ของปลาทั้งตัวก่อนตัดหัว ปลาหลังตัดหัวก่อนล้างน้ำ ปลาล้างน้ำและเนื้อปลาสด วิธีวิเคราะห์ TBC มีดังรายละเอียดในภาคผนวก ค ข้อ 4

3.2.2.4 เนื้อปลาล้าง และไม่ได้ล้างนำมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้า ตามข้อ 3.2.1.3 เพื่อให้ทราบว่า การล้างด้วยน้ำเกลือมีผลอย่างไร ต่อส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อปลาและวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี completely randomized design แบบ one way classification (53) โดยทดลอง 2 ซ้ำ

3.2.3 การทดลองเก็บรักษาเนื้อปลาสดที่สภาวะต่าง ๆ

เนื้อปลาล้าง และไม่ได้ล้างแต่ละชุดนำมาแบ่งเป็น 3 ส่วน ส่วนหนึ่งเก็บเป็นตัวอย่างซึ่งไม่ได้เติมสารกันเสีย อีกส่วนหนึ่งผสมกับ sodium benzoate 1,000 ppm และ sodium polyphosphate 1,000 ppm วิธีผสมใช้เนื้อปลาครั้งละ 5 กิโลกรัม เติมสารเคมีตามส่วนผสมในเครื่องผสมเป็นเวลา 5 นาที เนื้อปลาส่วนที่ 3 นำไปผสมกับ sodium erythorbate 1,000 ppm กับ sodium polyphosphate 1,000 ppm วิธีผสมเช่นเดียวกันกับส่วนที่ 2

3.2.3.1 บรรจุตัวอย่างทั้งหมดในถุงพลาสติกโพลีเอททิลีน ขนาด 12x20 นิ้ว หนา 0.21 มิลลิเมตร หนักถุงละ 1.5 กิโลกรัมปิดปากถุงด้วยเครื่องปิดถุง เก็บที่อุณหภูมิ

$7^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (ตู้เย็น) และอุณหภูมิ $0^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (ใช้ถังพลาสติกกรุโฟมบรรจุน้ำแข็ง

ใช้น้ำแข็ง : เนื้อปลาในอัตราส่วน 1 : 1 (โดยน้ำหนัก) ดังนั้นมีตัวอย่างสำหรับทดลองใน

หัวข้อนี้รวม 12 treatment combinations ดังรายละเอียดต่อไปนี้

treatment combinations	การล้าง	สารเคมี	อุณหภูมิ เก็บ
1	เนื้อปลาล้าง	-	0°C
2	เนื้อปลาล้าง	-	7°C
3	เนื้อปลาล้าง	sodium benzoate + sodium polyphosphate	0°C
4	เนื้อปลาล้าง	sodium benzoate + sodium polyphosphate	7°C
5	เนื้อปลาล้าง	sodium erythorbate + sodium polyphosphate	0°C
6	เนื้อปลาล้าง	sodium erythorbate + sodium polyphosphate	7°C
7	เนื้อปลาไม่ล้าง	-	0°C
8	เนื้อปลาไม่ล้าง	-	7°C
9	เนื้อปลาไม่ล้าง	sodium benzoate + sodium polyphosphate	0°C
10	เนื้อปลาไม่ล้าง	sodium erythorbate + sodium polyphosphate	7°C
11	เนื้อปลาไม่ล้าง	sodium erythorbate + sodium polyphosphate	0°C
12	เนื้อปลาไม่ล้าง	sodium erythorbate + sodium polyphosphate	7°C

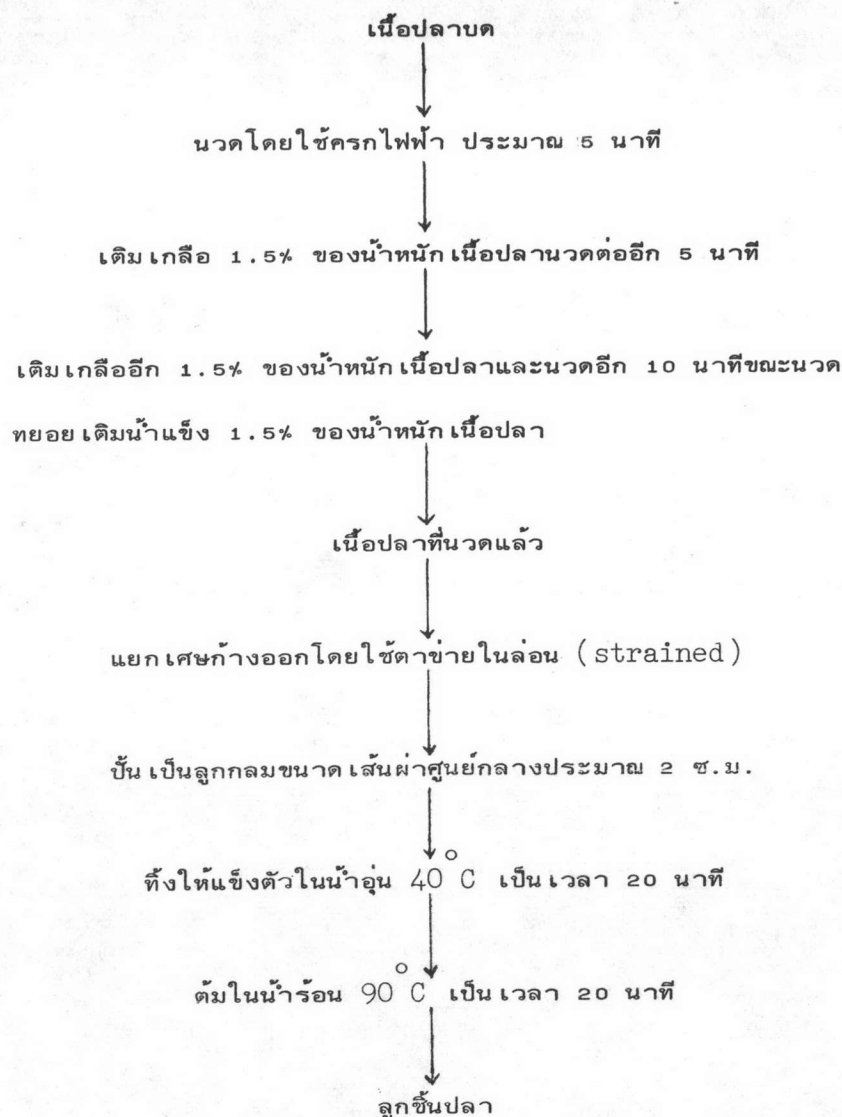
การล้าง	อุณหภูมิ เก็บ (° C)	สารเคมี	เวลาที่ใช้เก็บรักษา (วัน)									
			0	1	3	5	7	9	11	13		
ไม่ล้าง	0	ไม่ใช้ โซโซเดียม เบนโซเอท และฟอสเฟต โซโซเดียมอีริธโรเบท และฟอสเฟต										
	7	ไม่ใช้ โซโซเดียม เบนโซเอท และฟอสเฟต โซโซเดียมอีริธโรเบท และฟอสเฟต										

ทดลองรวม 2 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test (57)

3.2.4 การทดลองผลิตลูกชิ้นจากเนื้อปลาที่แยกกระดูกโดยเครื่อง

3.2.4.1 ผลิตลูกชิ้นจากเนื้อปลาทั้ง 12 ตัวอย่างโดยลุ่มตัวอย่าง

เนื้อปลาบดตามระยะเวลาที่เก็บรักษา คือ 0 1 3 5 7 9 11 และ 13 วันนำมาผลิตลูกชิ้นตามขั้นตอนต่อไปนี้คือ



3.2.4.2 ทดสอบความเหนียวของผลิตภัณฑ์ 2 วิธีคือ วิธีแรกใช้เครื่อง rheometer ตามวิธีซึ่งแสดงในภาคผนวก ค ข้อ 8 และวิธีที่สองโดยการทดสอบความสามารถในการพับ (folding test) ซึ่งมีรายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ค ข้อ 9 (39, 44)

3.2.4.3 ประเมินคุณภาพของลูกชิ้นทางประสาทสัมผัสโดยทดสอบลักษณะทั่วไป ลักษณะเนื้อสัมผัส และรสชาติ โดยใช้ผู้ทดสอบผ่านการฝึกฝนมาแล้ว จำนวน 8 คน การทดสอบใช้วิธี Descriptive Analysis with Scoring ช่วงคะแนน 1-5 โดย 5 เป็นคะแนนที่มีลักษณะซึ่งได้รับการยอมรับมากที่สุด และคะแนน 1 เป็นคะแนนที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ ยกเว้นความเหนียวให้คะแนน 10 เป็นคะแนนที่ลูกชิ้นมีความเหนียวมากที่สุด และคะแนน 1 เป็นคะแนนที่ไม่เหนียวหรือร่วน ใช้แบบสอบถามชุดที่ 2 (ภาคผนวก ข)

3.2.4.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ออกแบบการทดลองเพื่อ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี Asymmetric Factorial แบบ 4 แฟกเตอร์ซึ่งประกอบด้วย การเตรียมเนื้อปลา อุณหภูมิ สารเคมี และเวลาที่ใช้เก็บรักษา ทดลองรวม 2 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Ranges Test (57)

3.2.5 ศึกษาอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ที่สภาวะใช้งาน

ศึกษาอายุการเก็บลูกชิ้นปลาที่ผลิตจาก เนื้อปลาที่แยกกระดูกโดยเครื่องทั้ง 12 ตัวอย่างที่ 0 3 5 7 9 11 และ 13 วันตามขั้นตอนต่อไปนี้คือ

3.2.5.1 นำลูกชิ้นที่ผลิตได้ตามข้อ 3.2.4.1 มาบรรจุในถุงโพลีเอท-ทิลีน ขนาด 6×10 นิ้ว ถุงละ 150 กรัม เก็บที่อุณหภูมิ 0°C โดยใช้ถังพลาสติกกรุโฟมบรรจุ - น้ำแข็ง ใช้น้ำแข็ง : ลูกชิ้น ในอัตราส่วน 1 : 1 โดยน้ำหนัก

3.2.5.2 ประเมินคุณภาพลูกชิ้น โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสและวิเคราะห์ค่า TVB ทุก 3 วัน เป็นเวลา 12 วัน การทดสอบทางสถิติใช้วิธี Descriptive Analysis with Scoring เช่นเดียวกับข้อ 3.2.4.3

3.2.5.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ออกแบบการทดลองเพื่อวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี Completely Randomized Design แบบ one way classification โดยทดลองรวมทั้งสิ้น 2 ซ้ำ

3.2.6 การทดลองผลิตขนาดอุตสาหกรรมในโรงงานผลิตลูกชิ้น

ผลิตลูกชิ้นในขนาดอุตสาหกรรมที่โรงงาน ชวงเม้ง ซอยเจริญกรุง ถนนเจริญกรุง ยานนาวา กทม. และที่โรงงานชาญยงค์ ซอยแสงจันทร์ ยานนาวา กทม. โดยเก็บเนื้อปลาแยกกระดูกด้วยเครื่องตามอายุการเก็บที่สรุปได้จากข้อ 3.2.3 หลังเก็บนำเนื้อปลาไปผลิตลูกชิ้นและวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์ตามขั้นตอนต่อไปนี้คือ

3.2.6.1 ผลิตลูกชิ้นในโรงงานแต่ละแห่งโดยใช้เนื้อปลาแยกกระดูก

1 ส่วน ผสมกับเนื้อปลาดาทหวาน ปลาตาบเงิน และปลาลิ้นหมา อัตราส่วน 5 : 3 : 1 อีก 1 ส่วน วิธีการผลิตใช้วิธีของโรงงานแต่ละแห่งคือ นำเนื้อปลามานำเครื่องบด 2-3 ครั้งและนวด ขณะนวดเติมเกลือ แป้ง และผงชูรส นวดเป็นเวลา 10-15 นาที ขณะนวดและบด

เติมน้ำแข็ง เพื่อรักษาอุณหภูมิไม่ให้เกิน 10°C จากนั้นนำไปผ่านเครื่องบ่มลูก และทิ้งให้แข็งตัว ในน้ำที่อุณหภูมิ 40°C ครึ่งชั่วโมง จากนั้นจึงต้มในน้ำเดือดจนลูกชิ้นลอยตัว ตักขึ้นและทิ้งให้เย็น โดยใช้พัดลมเป่า

3.2.6.2 วิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์โดยทดสอบความเหนียว (3.2.4.2) และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (3.2.4.3)

3.2.6.3 ศึกษาอายุการเก็บ โดยบรรจุถุงโพลีเอทิลีนถุงละ 150 กรัม เก็บที่อุณหภูมิ 0°C โดยใช้ถังพลาสติกกรุโฟมบรรจุน้ำแข็ง ใช้น้ำแข็ง : ลูกชิ้น ในอัตราส่วน 1 : 1 โดยน้ำหนัก และตรวจคุณภาพโดยการประเมินผลทางประสาทสัมผัส ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนมาแล้ว (3.2.4.3) และตัวอย่างลูกชิ้นชุดเดียวกันนั้น นำมาวิเคราะห์ค่า TVB ทุก 3 วัน เป็นเวลาประมาณ 12 วัน

3.2.6.4 วิเคราะห์สมบัติทางจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ โดยวิเคราะห์ปริมาณสารพิษจากเชื้อ Staphylococcus aureus ที่อาจตกค้างอยู่ตามวิธีของ ICMSF (52) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ค ข้อ 10

3.2.6.5 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ออกแบบการทดลองเพื่อวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี Completely Randomized Design แบบ one way classification โดยทดลองรวมทั้งสิ้น 2 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan Multiple Range Test (57)