

บทที่ 3

การทดลอง

วัตถุดิบ สารเคมี และ เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

วัตถุดิบ

ปลานิล (*Tilapia nilotica*) ที่ใช้ในการทดลอง ได้จากบ่อปลาแถบจังหวัดสมุทรปราการ ขนส่งมายังห้องทดลองในสภาพที่ยังมีชีวิต ปลาที่ใช้เป็นขนาดที่มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 144 กรัม และความยาวเฉลี่ย 18.5 เซนติเมตร ในการทดลองใช้ปลาประมาณ 1400 กิโลกรัม ต่อ 1 ซ้ำ ทดลองรวม 2 ซ้ำ จึงใช้ปลาทั้งสิ้นรวม 2800 กิโลกรัม สำหรับปลาหลังเขียว (*Sardinella spp.*) ได้จากการจับด้วยอวนลากจากอ่าวไทย ขนส่งจากท่าเทียบเรือจังหวัดชุมพรมายังห้องทดลองโดยรถยนต์ ขณะขนส่งบรรจุปลาใส่ถังที่หุ้มฉนวนกันความร้อนและรักษาความสดด้วยน้ำแข็งบด ปลาที่ใช้มีขนาดน้ำหนักตัวเฉลี่ย 25 กรัม ความยาวเฉลี่ย 15 เซนติเมตร ใช้ปลาประมาณ 1000 กิโลกรัม ต่อ 1 ซ้ำ ทดลองรวม 2 ซ้ำ รวมปริมาณปลาหลังเขียวที่ใช้ทั้งสิ้นประมาณ 2000 กิโลกรัม

สารเคมี

Trichloroacetic acid	(A.R.)
Sulphuric acid	(A.R.)
Magnesium carbonate	(A.R.)
Formalin solution	(A.R.)
Boric acid	(A.R.)
Bromocresol green	(A.R.)
Methyl red	(A.R.)
Ethanol	(A.R.)
Potassium hydrogen carbonate	(A.R.)

Thiobarbituric acid	(A.R.)
Perchloric acid	(A.R.)
Potassium hydroxide	(A.R.)
Ammonium hydroxide	(A.R.)
Sodium chloride	(A.R.)
Potassium chloride	(A.R.)
Potassium dihydrogen phosphate	(A.R.)
Di sodium hydrogen phosphate	(A.R.)
Potassium sulphate	(A.R.)
Copper sulphate	(A.R.)
Petroleum ether 40-60 องศาเซลเซียส	(A.R.)

สาร Reducing agents

Cysteine	(A.R.)
Mercaptoethanol	(A.R.)
Sodium metabisulphite	(A.R.)

สารปรุงแต่งกลิ่นรสและสารเจือปนอาหาร (Food additives)

น้ำตาลทราย

Sodium hexametaphosphate	(Food grade)
Sodium pyrophosphate	(Food grade)
เกลือป่น	(Pure salt)

เครื่องมือและอุปกรณ์การทดลอง

เครื่องแยกเนื้อปลา (Bibun deboning machine SDX13 Fukugama Japan)

เครื่องวัดความเหนียว (Rheometer หรือ Food checker Sun kagaka

Co., Ltd. type 302 B)

014439

เครื่องสลัดน้ำแบบเหวี่ยง (Centrifuge, Kokusan ensinki Co., Ltd.

Japan)

เครื่องแยกเศษเอ็นเกล็ดปลา (Strainer Fukugama Japan)

เครื่องนวดเนื้อปลา (Fuji denki)

ตู้แช่เยือกแข็งแบบ Air blast อุณหภูมิ -30 ถึง -40 องศาเซลเซียส ความเร็วลม

300 เมตร/นาที

ตู้แช่เยือกแข็งแบบ Plate อุณหภูมิ -30 ถึง -40 องศาเซลเซียส

ตู้เก็บที่สภาวะเยือกแข็ง อุณหภูมิ -18 ถึง -20 องศาเซลเซียส

เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius 1702 MP8)

เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius 1404 MP8)

เครื่องชั่งจานเดี่ยว (Triple beam balance "Ohaus" 750 SW)

เครื่องหมุนเหวี่ยงแยกสารละลายแบบควบคุมอุณหภูมิต่ำ (Refrigerated

Centrifuge Damon/IEC model B-20A)

เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (Radiometer PHM 83 AUTOCAL)

เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Goldfish Fat Extraction Apparatus

Labconco US Catalog No. 35001)

เครื่องวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (BÜCHI 320 N₂ Distillation Unit)

เครื่องปั่นสารละลาย (Homogenizer - Ystral Gmb HD-7801 Dottingen

Type X 1020)

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 30 - 100 องศาเซลเซียส (Waterbath Gallenkamp

model BKA 300)

เครื่อง UV-VIS Double beam Spectrophotometer (Hitachi model 100-

60)

ปั๊มของเหลว (Micro tube pump MP-S Eyela Tokyo Rikakikai Type MP3)

จานคอนเวย์ (Conway) สำหรับวิเคราะห์ค่า TVB และ TMA ทำจากแก้วเนื้อหนา

เส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 75 มิลลิเมตร ลึก 15-20 มิลลิเมตร ขอบวงในสูง 10 มิลลิเมตร มีฝา

ปิด เพื่อป้องกันการผ่านเข้าออกของอากาศ และสารระเหยที่เกิดขึ้น ทาพาราฟินรอบจานก่อน
วิเคราะห์

วัสดุภาชนะบรรจุ

ถุงพลาสติกชนิด Low density polyethylene และ polypropylene ขนาด
30x40 เซนติเมตร หนา 0.12 มิลลิเมตร และ 12x20 เซนติเมตร หนา 0.07 มิลลิเมตร
ตามลำดับ

ขั้นตอนการทดลอง

การทดลองแบ่งเป็น 4 ขั้นตอน ได้แก่

- 3.1 การเตรียมและวิเคราะห์คุณภาพวัตถุดิบ
- 3.2 การศึกษาผลของความสดของปลาต่อคุณภาพสุริมิ
- 3.3 การศึกษาผลการแช่เยือกแข็ง และการใช้สาร Reducing agent
- 3.4 การศึกษาอายุการเก็บรักษาสุริมิ

3.1 การเตรียมและวิเคราะห์คุณภาพวัตถุดิบ

ปลา 2 ชนิด ที่ใช้ในการทดลองคือ ปลานิลและปลาหลังเขียว เมื่อนำมาถึงห้องทดลอง
ได้ล้างด้วยน้ำสะอาด แยกสิ่งปนเปื้อนออก คัดขนาดแล้วลุ่มตัวอย่างมาตรวจสอบคุณภาพ โดย
วิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ดังนี้

3.1.1 ความสดของปลา

3.1.1.1 ตรวจสอบความสดของปลา จากลักษณะปรากฏทางกายภาพ โดย
ตรวจสอบสีของเหงือก ลักษณะตา กลิ่น และลักษณะเนื้อสัมผัสภายนอก (39)

3.1.1.2 วิเคราะห์ค่า Total volatile base (TVB) โดยวิธี Micro
diffusion method ค่าที่ได้คิดเป็นมิลลิกรัมไนโตรเจน ต่อ 100 กรัม น้ำหนักตัวอย่าง ดังราย
ละเอียดในภาคผนวก ก.1 (11)

3.1.1.3 วิเคราะห์ปริมาณ Trimethylamine (TMA) โดยวิธี Micro diffusion method ค่าที่ได้คิดเป็นมิลลิกรัมไนโตรเจน ต่อ 100 กรัม น้ำหนักตัวอย่าง ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก.2 (11)

3.1.1.4 วิเคราะห์ค่า K-Value ค่าที่ได้คิดเป็นร้อยละ ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก.3 (11)

3.1.2 วิเคราะห์ค่า Thiobarbituric acid (TBA) โดยวิธี Tarladgis ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก.4 (40)

3.1.3 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยใช้เครื่อง N₂ Distillation Unit ดัง รายละเอียดตามภาคผนวก ก. 5

3.1.4 วิเคราะห์ปริมาณไขมัน (A.O.A.C) ดังรายละเอียดตามภาคผนวก ก.6 (41)

3.1.5 วัดปริมาณความชื้น (A.O.A.C) ดังรายละเอียดตามภาคผนวก ก.7 (41)

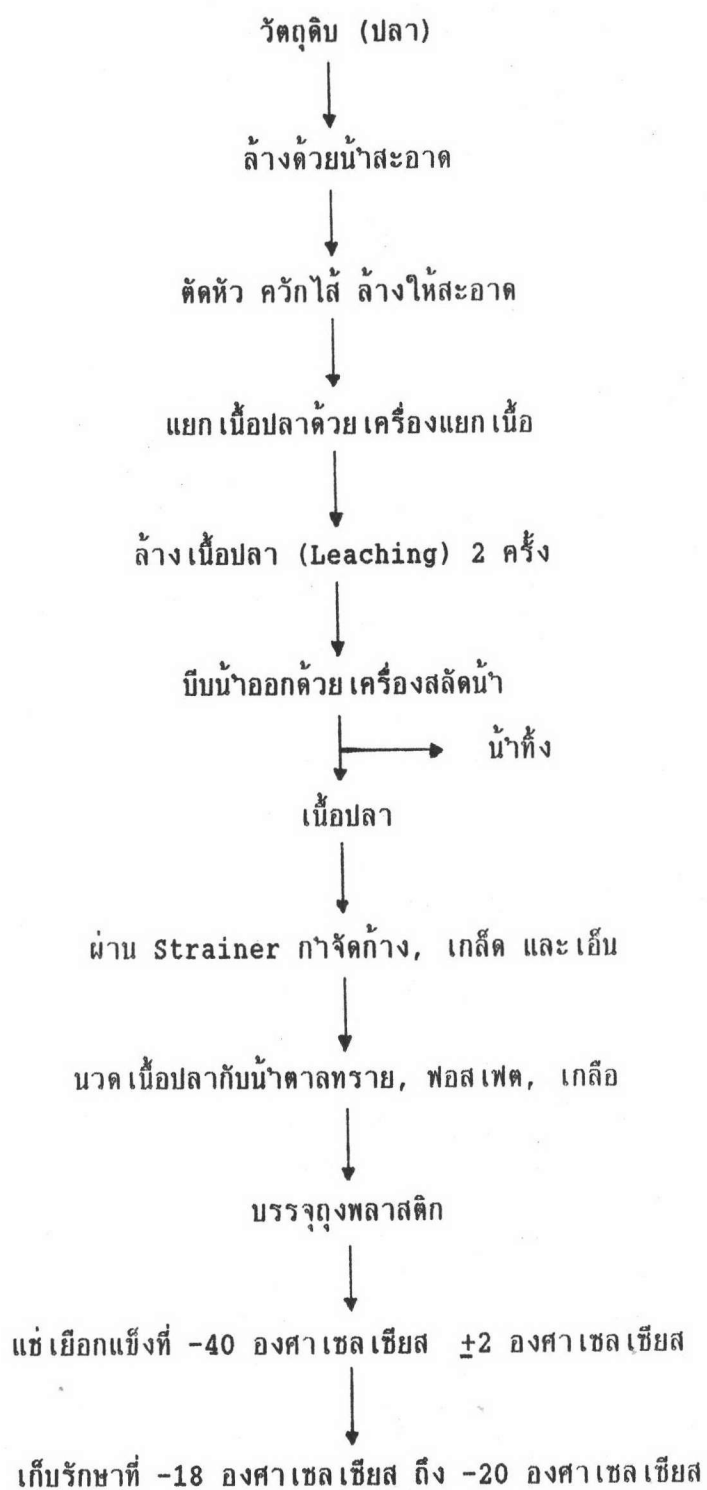
3.1.6 วัดค่าความเป็นกรดต่าง

3.1.7 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ (Salt soluble protein, SSP) ดังรายละเอียดในภาคผนวก ก.8 (42)

3.2 การศึกษาผลของความสดของปลาต่อคุณภาพสุริมิ

แยกปลาเป็น 2 ส่วน ส่วนที่หนึ่งตัดหัวควักไส้แล้วนำไปผลิตเป็นสุริมิทันที อีกส่วนหนึ่ง เก็บที่อุณหภูมิ 0 ± 2 องศาเซลเซียส โดยบรรจุพร้อมน้ำแข็งในถังพลาสติกหุ้มฉนวนกันความร้อน ใช้น้ำแข็ง : ปลา ในอัตราส่วน 1 : 1 ขณะเก็บที่อุณหภูมิดังกล่าวนี้ สุ่มตัวอย่างปลานิลมาผลิตเป็นสุริมิ ที่เวลาเก็บ 1, 4 และ 6 วัน สำหรับปลาหลังเขียว ที่เวลาเก็บ 2, 5 และ 9 วัน

กรรมวิธีผลิตสุรามีมีดังต่อไปนี้



รายละเอียดของแต่ละขั้นตอนมีดังนี้

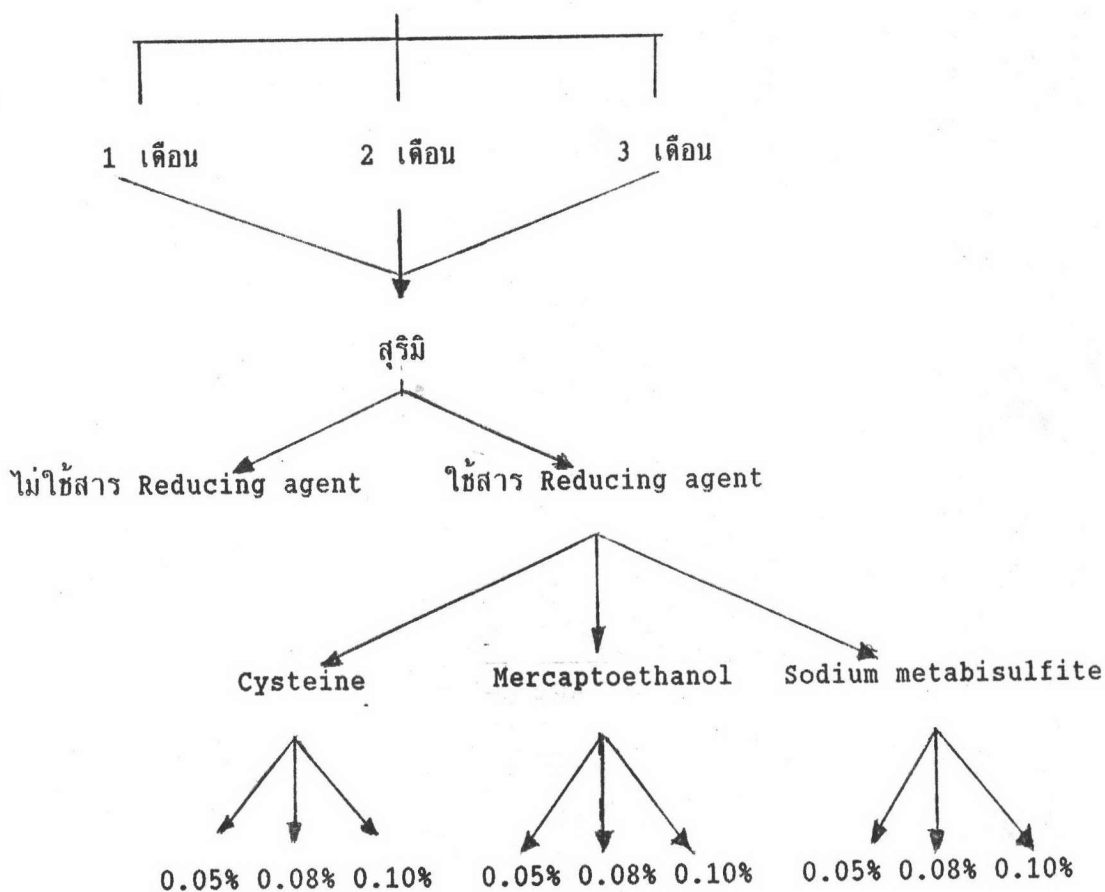
นำปลาที่ตัดหัว ควักไส้ ล้างทำความสะอาดแล้ว มาแยกเนื้อและก้างออกจากกัน โดยเครื่องแยกเนื้อปลา ใช้ Perforated drum ที่มีรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร จากนั้นล้าง 2 ครั้ง ด้วยสารละลายเกลือแกง (NaCl) 0.2% และ 0.3% ตามลำดับ ในอัตราส่วนสารละลาย : เนื้อปลา 5 : 1 โดยน้ำหนัก ใช้เวลาในการล้างแต่ละครั้ง 15 นาที และควบคุมอุณหภูมิขณะล้างให้อยู่ในช่วง 10 - 15 องศาเซลเซียส ส่วนเนื้อปลาล้างเรียบร้อยแล้ว 2 ครั้ง เช่นเดียวกับปลานิล ซึ่งในการล้างครั้งแรกใช้สารละลายของ NaCl 0.15% กับ NaHCO_3 0.2% และสารละลาย NaCl 0.3% สำหรับการล้างครั้งที่ 2 โดยใช้อัตราส่วนสารละลาย เวลา และอุณหภูมิขณะล้างเช่นเดียวกับปลานิล เนื้อปลาที่ผ่านการล้าง 2 ครั้ง แล้วจะนำไปสลัดน้ำส่วนเกินออกจนมีความชื้นประมาณ 80-82% แล้วจึงผ่านเข้าเครื่อง Strainer ซึ่งมีรูเปิดขนาด 1 มิลลิเมตร เพื่อกำจัดเกล็ด ก้างและเอ็นในเนื้อปลา แล้วจึงนำมานวดพร้อมทั้งผสมกับน้ำตาลทราย 8% เกลือ 0.5% ฟอสเฟต (Sodium hexametaphosphate : Sodium pyrophosphate, 1:1) 0.2% โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 15 นาที แล้วอัดเป็นก้อนสี่เหลี่ยมให้มี น้ำหนักก้อนละ 1.5 กิโลกรัม (ขนาด 30 x 16 x 1.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร) บรรจุถุงพลาสติก LDPE 2 ชั้น นำไปแช่เยือกแข็งด้วยเครื่องแบบ Plate (-40 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ถึง -20 องศาเซลเซียส

ผลิตภัณฑ์ที่ได้ตรวจวิเคราะห์คุณภาพโดยวัด pH (ข้อ 3.1.6) วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (ข้อ 3.1.5) และทดสอบความเหนียวโดยนำสุริมีมาทำให้น้ำแข็งละลาย (Thaw) ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนวดกับเกลือ 2.5% (โดยน้ำหนัก) เป็นเวลา 25 นาที จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ส่วนหนึ่งมาขึ้นรูปเป็นลูกชิ้น เพื่อใช้ในการทดสอบความเหนียวทางประสาทสัมผัส อีกส่วนหนึ่งนำไปบรรจุในแท่งโลหะ (Stainless steel) รูปทรงกระบอกกลวง (case) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.0 เซนติเมตร สูง 2.5 เซนติเมตร เพื่อใช้วัดค่าความเหนียว (Gel strength) ด้วยเครื่อง Rheometer และด้วยวิธี Folding test (1) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ทั้งที่เป็นลูกชิ้นและบรรจุใน case นำไปเสถียร gel (set) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ต้มที่ 90 องศาเซลเซียส อีก 20 นาที แล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และวัดค่า Gel strength พร้อมทั้งทดสอบทางประสาทสัมผัส (ข้อ 3.5)

3.3 การศึกษามลภาวะแฉ่เยือกแข็งและการใช้สาร Reducing agents

เรียงปลาที่ตัดแต่งทำความสะอาดแล้วในถาดอลูมิเนียม 20 กิโลกรัม ต่อ 1 ถาด แฉ่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส ± 20 องศาเซลเซียส ในห้องแฉ่เยือกแข็ง แบบ Air blast เป็นเวลา 8 ชั่วโมง แล้วบรรจุในถุง LDPE 20 กิโลกรัม ต่อถุง เก็บในห้องแฉ่เยือกแข็งที่ -18 องศาเซลเซียส ถึง -20 องศาเซลเซียส 3 เดือน ระหว่างเก็บสุ่มตัวอย่างมาผลิตสุริมิ ทุก 30 วัน ใช้วิธีผลิตตามข้อ 3.2 ตัวแปรที่ศึกษามีดังแผนภูมิต่อไปนี้

ปลาแฉ่เยือกแข็ง (-18 องศาเซลเซียส \rightarrow -20 องศาเซลเซียส)

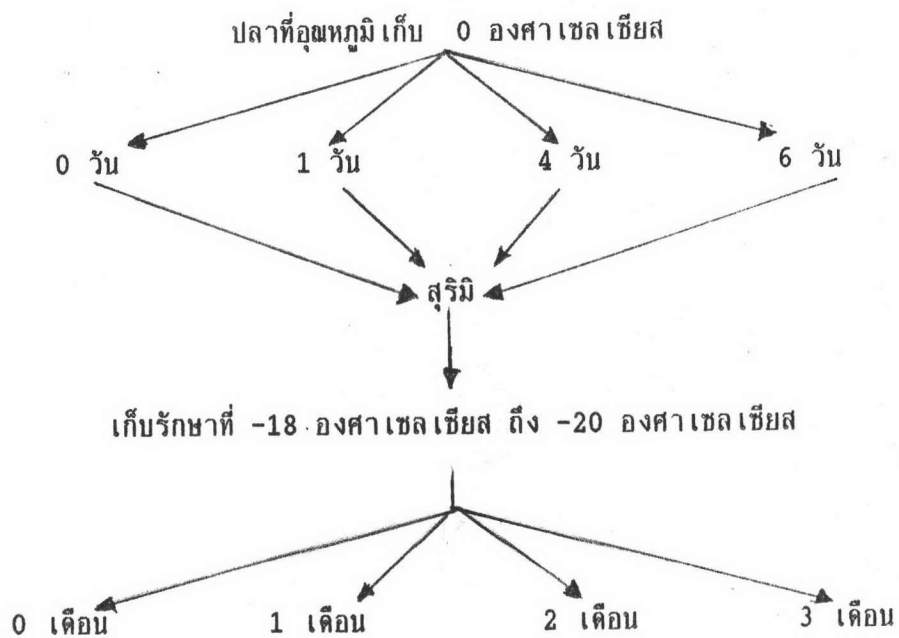


สุ่มปลาแฉ่เยือกแข็งมาผลิตสุริมิทุก 30 วัน ใช้วิธีผลิตตามข้อ 3.2 ยกเว้นขั้นตอนการนวดเป็นสุริมิได้ใส่สาร Reducing agents 3 ชนิดคือ Cysteine, Mercaptoethanol และ Sodium metabisulfite ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.05, 0.08 และ 0.10% (โดยน้ำหนัก) เกณฑ์ตัดสินคุณภาพของผลิตภัณฑ์ใช้ค่าต่าง ๆ ที่ได้จากการวิเคราะห์คุณภาพตามข้อ 3.5

3.4 การศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์

บรรจุสุริมิที่ผลิตจากพลาสติกและปลาแช่เยือกแข็งในถุง LDPE ขนาดบรรจุ 1.5 กิโลกรัม ปิดผนึกที่ความดันบรรยากาศแล้วเก็บที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ถึง -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน ระหว่างเก็บสุ่มตัวอย่างทุกเดือนมาวิเคราะห์คุณภาพตามข้อ 3.5 แผนภูมิตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้มีดังนี้

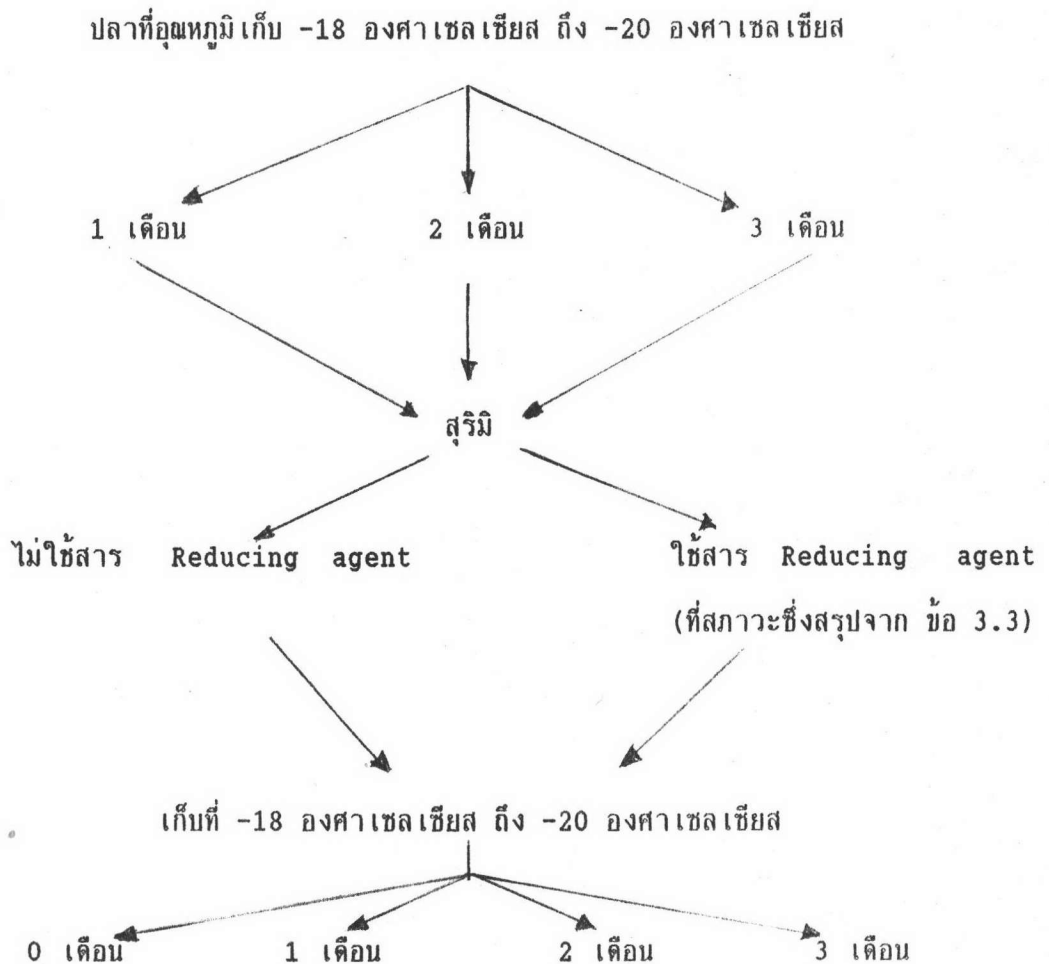
3.4.1 การศึกษาอายุการเก็บสุริมิจากปลาที่ระดับความสดต่าง ๆ



นำสุริมิจากปลานิสสดที่ระดับความสดต่าง ๆ กันมาเก็บรักษาไว้ 3 เดือน สุ่มตัวอย่างวิเคราะห์คุณภาพทุกเดือน

3.4.2 การศึกษาอายุการเก็บของสุริมิจากปลาแช่เยือกแข็ง ใช้และไม่ใช้สาร

Reducing agent



เกณฑ์ตัดสินอายุการเก็บของสุริมิใช้ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์คุณภาพตามวิธีใน ข้อ 3.5

3.5 เกณฑ์การตัดสินคุณภาพของสุริมิ

3.5.1 ค่า pH

3.5.2 ปริมาณความชื้น (ภาคผนวก ก. 7)

3.5.3 Folding test (ภาคผนวก ก. 8)

3.5.4 ค่า Gel strength (ภาคผนวก ก. 9)

3.5.5 การทดสอบทางประสาทสัมผัส ทดสอบลักษณะ เนื้อสัมผัสด้านความเหนียวของลูกชิ้น โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนมาแล้ว จำนวน 8 คน ใช้วิธีให้คะแนนแบบ Descriptive Analysis with Scoring (43) ใช้ช่วง 1-10 คะแนน โดยคะแนน 10 หมายถึงเหนียวที่สุด และคะแนน 5 จัดเป็นเกณฑ์ต่ำสุดที่ยอมรับได้

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

3.6.1 การศึกษาผลของความสดของปลาต่อคุณภาพสุริมิ

วางแผนการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิธี Completely Randomized Design (CRD) และ Duncan New Multiple Range Test (44)

3.6.2 การศึกษาผลการแช่เยือกแข็งและการใช้สาร Reducing agents

วางแผนการทดลอง และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิธี Asymetric Factorial Experiment ขนาด $3 \times 3 \times 4$ และ Duncan New Multiple Range Test (44)

3.6.3 การศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์

การศึกษาอายุการเก็บของสุริมิจากปลาที่ระดับความสดต่าง ๆ วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิธี Symetric Factorial Experiment ขนาด 2^4 กับ Duncan New Multiple Range Test (44) ส่วนการศึกษาอายุการเก็บสุริมิจากปลาแช่เยือกแข็งใช้โดยวิธี Asymetric Factorial Experiment ขนาด $3 \times 2 \times 4$ และ Duncan New Multiple Range Test (44)