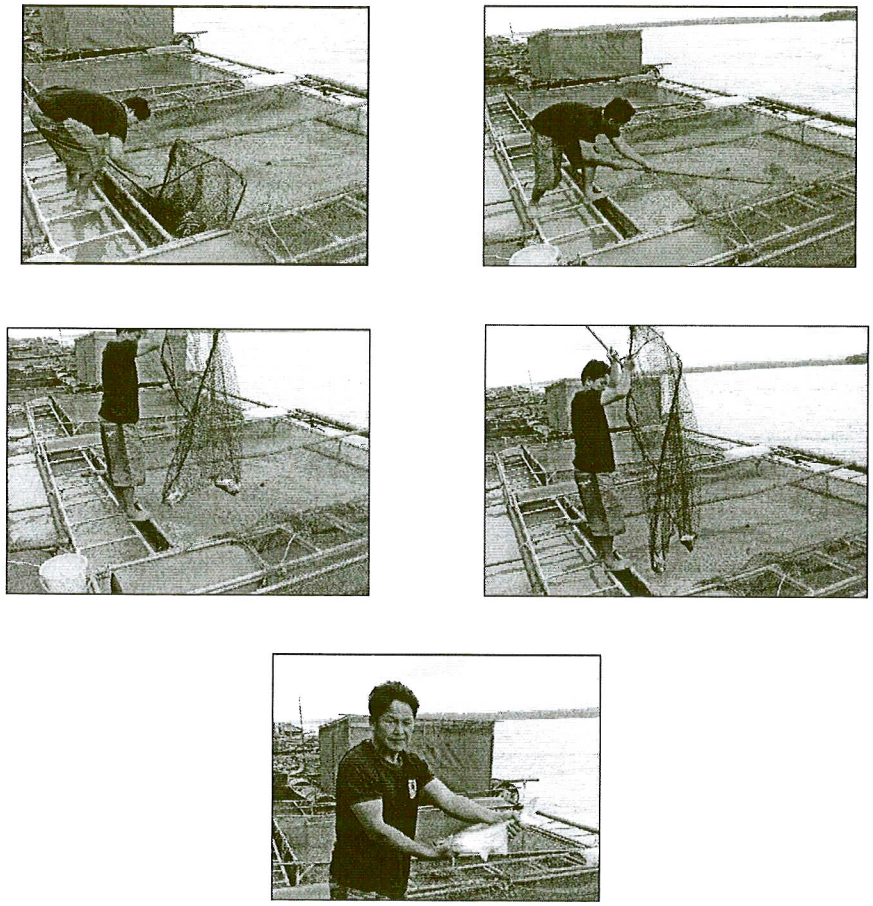
บทที่ 3
ระเบียบวิธีวิจัย

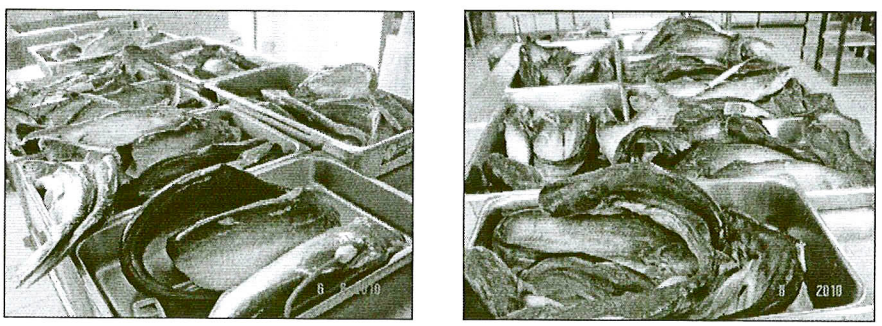
การวิจัยเรื่องนี้ ผู้วิจัยศึกษาเฉพาะเนื้อปลาสวายโมง (Thai panga) ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pangasius* sp. ผ่านการเพาะเลี้ยงในกระชังแม่น้ำโขง (ภาพที่ 3.1) ในพื้นที่ตำบลอาจสามารถ อำเภอเมืองนครพนม จังหวัดนครพนม ซึ่งเป็นโครงการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงและแปรรูปปลาสวายโมงภายใต้การสนับสนุนจากสถานีประมงน้ำจืด จังหวัดนครพนม ร่วมกับผู้ว่าราชการจังหวัดนครพนม อายุปลาประมาณ 2-3 ปี น้ำหนักอยู่ในช่วง 1.0 – 1.5 กิโลกรัม/ตัว และถือว่าเนื้อปลาสวายโมงแล่เป็นชิ้นที่ได้จากแต่ละกระชังไม่มีความแตกต่างกัน (homogeneity) ใช้การประเมินทางประสาทสัมผัสตามเกณฑ์มาตรฐานของสำนักงานมาตรฐานสินค้าอาหารและเกษตรแห่งชาติ (มกอช.) ฉบับ 7001-2547 เป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพความสดเบื้องต้น

1. ประชากร (Population)

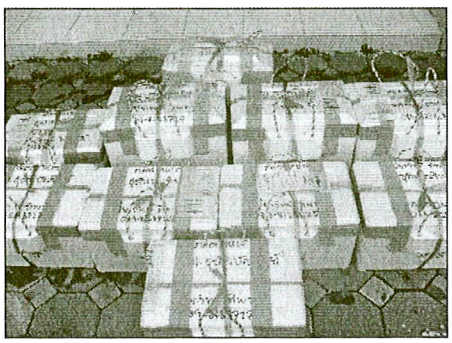
นำปลาสวายโมงที่ไม่มีชีวิตหลังจากจับได้ประมาณ 12 ชั่วโมง จำนวน 40 ตัว น้ำหนักอยู่ในช่วง 1.0–1.5 กิโลกรัม/ตัว ความยาวเฉลี่ย 40-45 เซนติเมตร (ภาพที่ 3.2) มาตัดหัว ควักไส้ ล้างเศษเลือด ตัดครีบ และตัดหางเก็บในถุงพลาสติกพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (low density polyethylene ; LDPE) แช่แข็งแบบเร็ว ที่อุณหภูมิ -40 ^{o}C เก็บรักษาต่อในสภาพแช่แข็ง อุณหภูมิ -21 ^{o}C (ภาพที่ 3.3) ทั้งก่อนและช่วงการทดลอง จากนั้น แล่เป็นชิ้นตามความยาวของลำตัว (single fillet) (ภาพที่ 3.4) เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -21 ^{o}C



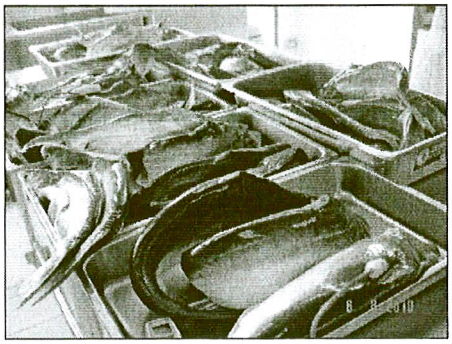
ภาพที่ 3.1 ผู้ใหญ่บ้านตำบลอาจสามารถ สาธิตการจับปลาสวายโมง ในกระชังที่เพาะเลี้ยงในแม่น้ำโขง ในเขตพื้นที่ตำบลอาจสามารถ อำเภอเมือง จังหวัดนครพนม



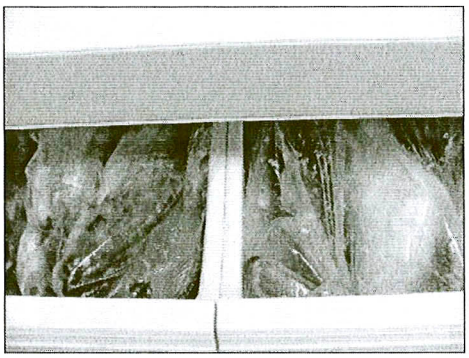
ภาพที่ 3.2 ปลาสวายโมงที่ใช้ในการวิจัย



(ก)



(ข)



(ค)

(ง)

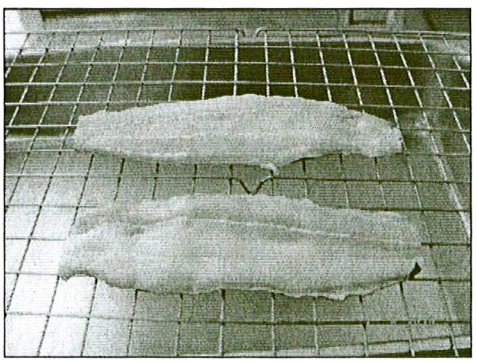
ภาพที่ 3.3 ตัวอย่างปลาสวายโมงสดที่ใช้ในการวิจัยและวิธีการแช่แข็ง

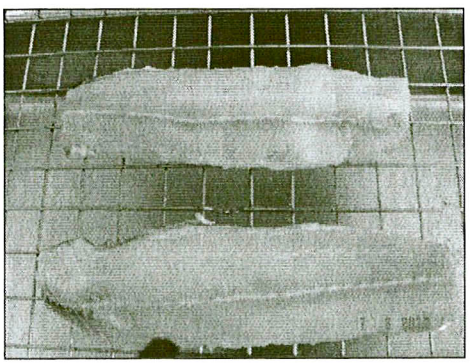
(ก) ปลาสวายโมงถูกขนส่งมาจาก จังหวัดนครพนม โดยรถประจำทาง

(ข) ปลาสวายโมงสด หลังจากนำออกจากกล่องโฟม

(ค) การแช่แข็งปลาสวายโมงแบบเร็ว ช่วงการทดลอง

(ง) ตู้แช่แข็งปลาสวายโมง ที่สามารถแช่แข็งแบบเร็ว -40 ^{o}C และเก็บรักษาชิ้นเนื้อปลาแล่ -21^{o}C ตลอดการทดลอง

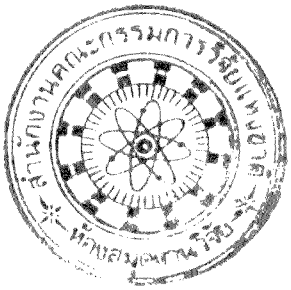




ภาพที่ 3.4 วิธีแล่ปลาสวายโมงแบบแล่แผ่น (single fillet)

2. กลุ่มตัวอย่าง (sampling unit)

เนื้อปลาสวายโมงแล่เป็นชิ้นที่ตกเป็นตัวอย่างโดยใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างแบบอย่างง่าย (simple random sampling ; SRS) (ภาพที่ 3.1) จากโครงการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงและแปรรูปปลาสวายโมง จากกระชังที่เพาะเลี้ยงในแม่น้ำโขง ตำบลอาจสามารถ อำเภอเมืองนครพนม จังหวัดนครพนม ได้รับการสนับสนุนจากสถานีประมงน้ำจืด จังหวัดนครพนม ร่วมกับผู้ว่าราชการจังหวัดนครพนม



3. วัตถุดิบ วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบ วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงานวิจัย มีดังนี้

3.1 **วัตถุดิบ**

3.1.1 ปลาสวายโมง ที่เพาะเลี้ยงในกระชังแม่น้ำโขง อำเภอเมืองนครพนม จังหวัดนครพนม น้ำหนักอยู่ในช่วง 1.0 – 1.50 กิโลกรัม/ตัว ความยาวเฉลี่ย 40 – 45 เซนติเมตร ราคากิโลกรัมละ 100 บาท

3.1.2 ใบกล้วยน้ำว้าสด ซื้อจากตลาดสดทั่วไป

3.1.3 เกลือแกง หรือ เกลือโซเดียมคลอไรด์ (เกรดอาหาร)

3.1.4 น้ำแข็งบด

3.2 **วัสดุอุปกรณ์**

วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมเนื้อปลาสวายโมง โซเดียมคลอไรด์ และเถ้าใบกล้วย

3.2.1 เครื่องผลิตก๊าซโอโซน ยี่ห้อ Metrology รุ่น Favour

3.2.2 ตู้แช่แข็ง ควบคุมอุณหภูมิ -40°C และ -21°C ยี่ห้อ SANYO รุ่น MDF-U5411 maximum temperature -40°C , refrigerant R-404(A) (ภาพภาคผนวกที่ 8.1)

3.2.3 ตู้แช่เย็นแบบลมหมุนเวียน ควบคุมอุณหภูมิ ไม่เกิน 4°C

3.2.4 ถุงพลาสติก LDPE (ถุงเย็น อากาศไม่สามารถผ่านเข้าออกได้) ตรา aro ขนาด 10 นิ้ว × 15 นิ้ว ผลิตโดยบริษัท โครโนแบลช จำกัด

3.2.5 ถุงพลาสติกชนิด PE แบบ zip lock ขนาด 7 นิ้ว × 8 นิ้ว ผลิตโดยบริษัท ไทยกรีพเทค จำกัด

3.2.6 เทอร์โมมิเตอร์แบบปลายแหลม (digital penetrate thermometer) ยี่ห้อ Ebro รุ่น TTX 100 ช่วงการวัด -50°C ถึง -350 °C ผลิตในประเทศเยอรมนี

3.2.7 ตู้อบเถ้าใบกล้วยความร้อนสูง muffle furnace ยี่ห้อ Vecstar furnaces รุ่น ECF- 3 maximum temperature 1,100 °C

3.2.8 ตู้อบแห้งแบบถาด (tray dryer) ผลิตโดย บริษัท FNB Machinery and Solution จำกัด

3.2.9 เครื่องชั่งดิจิทอล ทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius adventurer รุ่นCF224S maximum capacity 3,100 กรัม

3.2.10 เครื่องชั่งดิจิทอล ทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ AHAUS รุ่น ARC 120

3.2.11 ถ้วยกระเบื้องครูซิเบิล พร้อมฝาปิด ยี่ห้อ HCT 101/35 DIN

3.2.12 กระดาษกรอง Whatman No. 1

3.2.13 micropipette ขนาด 2 ไมโครลิตร ยี่ห้อ Biohit รุ่น praline

3.2.14 กล่องโฟมพร้อมฝาปิด ซื้อจากห้างสรรพสินค้า เทสโก โลตัส จังหวัดนครพนม

3.2.15 เตาแก๊สและอุปกรณ์เครื่องครัวอื่นๆ ที่จำเป็นต้องใช้ในการทดลอง

3.3 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง และวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง และวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี มีดังนี้

3.3.1 สารละลายเคมี สำหรับวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (พีเอช) ได้แก่ สารละลาย calibrate pH 7.0 และ pH 4.0

3.3.2 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ยี่ห้อ inoLab pH 720 รุ่น WTW

3.3.3 สารละลายมาตรฐานgeosmin ยี่ห้อ Aldrich product G5908 Lot BCBB1829 นำเข้าจากบริษัท SIGMA-ALDRICH ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

3.3.4 เข็มฉีดยา ขนาด 1 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Terumo® syringe with needle (0.33 mm ×13 mm)

3.3.5 เตาไมโครเวฟ ยี่ห้อ Samsung รุ่น CE1160 (ภาพภาคผนวกที่ 8.3)

3.3.6 เครื่องแก้วที่จำเป็นสำหรับการทดลอง

3.3.7 เครื่องครัวสแตนเลสที่จำเป็นสำหรับการทดลอง

3.4 อุปกรณ์วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ

อุปกรณ์วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ มีดังนี้

3.4.1 เครื่องวัดสี ระบบ CIE Hunter L*a*b* ยี่ห้อ Hunter Lab พร้อมโปรแกรมคอมพิวเตอร์ PC ประมวลผล รุ่น MiniScan XE plus (ภาพภาคผนวกที่ 3.1)

3.4.2 เครื่องวัดเนื้อสัมผัส ใช้โหมดผลิตภัณฑ์ปลา ยี่ห้อ LLOYD รุ่น CF2430 พร้อมคอมพิวเตอร์ PC ประมวลผลวิเคราะห์ (ภาพภาคผนวกที่ 3.1)

3.4.3 เทอร์โมมิเตอร์แบบปลายแหลม (digital penetrate thermometer) ยี่ห้อ Ebro รุ่น TTX 100 ช่วงการวัด -50°C ถึง -350 °C ผลิตในประเทศเยอรมนี

3.5 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้วิเคราะห์สารให้กลิ่นโคลน geosmin

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้วิเคราะห์สารให้กลิ่นโคลน geosmin มีดังนี้

3.5.1 เครื่อง GC/MS (gas chromatography/mass spectrometry) (agilent technologies 6890 N network GC system/agilent technologies 5973 network mass selective detector (ภาพภาคผนวก 1.1)

3.5.2 column HP-5 (30 m×0.25 mm ID.×0.25 ไมโครเมตร)

3.5.3 column SPME (solid phase micro-extraction) 57330–u

3.5.4 SPME fiber divinylbenzene/carboxenpolydimethylsiloxane (DVB/CPDMS) Supelco 57550–u

3.5.5 สารละลายมาตรฐาน geosmin (trans-1,10–dimethyl–trans–9–decalol) ของ Sigma – Aldrich (certificate of analysis ; COA อธิบายในตารางภาคผนวก 1.1)

3.6 **อุปกรณ์ที่ใช้ในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส**

อุปกรณ์ที่ใช้ในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส มีดังนี้

3.6.1 จาน ชาม กระดาษทิชชู และแก้วน้ำสีใสหรือสีขาว

3.6.2 แบบทดสอบให้คะแนนแบบ scoring test และ Hedonic scale -9- points

3.6.3 น้ำดื่ม

3.6.4 เตาอบไมโครเวฟ ยี่ห้อ Samsung รุ่น CE1160

3.6.5 เทอร์โมมิเตอร์ดิจิทอลแบบปลายแหลม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Ebro รุ่น TTX 100 ช่วงการวัด -50°C ถึง -350°C ผลิตในประเทศเยอรมนี

3.7 **อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ มีดังนี้

3.7.1 คอมพิวเตอร์ PC หรือคอมพิวเตอร์โน้ตบุคพร้อมโปรแกรมซอฟท์แวร์วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

3.7.2 เครื่องพริ้นเตอร์รายงานผล

4. วิธีการดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้ ได้แบ่งขั้นตอนทดลอง ดังนี้

4.1 **เตรียมเนื้อปลาสวายโมงสด (flesh)**

4.1.1 ปลาสวายโมง ซื้อจากเกษตรกรที่เลี้ยงในโครงการส่งเสริมการเพาะเลี้ยงและแปรรูปปลาสวายโมง ตำบลอาจสามารถ อำเภอเมืองนครพนม จังหวัดนครพนม

4.1.2 บรรจุปลาสวายโมงทั้งตัว ในถุงพลาสติก LDPE หรือ ถุงเย็น ขนาด 12″×18″ เรียงปลาสลับกับน้ำแข็ง ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 เป็นชั้นๆ พร้อมโรยเกลือแกงผสม ผนึก

กล่องโฟมให้สนิท ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการแปรรูปอาหาร (processing room laboratory) อาคาร 11 ฝั่งตรงข้ามมหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์ โดยรถประจำทาง จากสถานีขนส่ง อำเภอเมือง นครพนม–หมอชิตใหม่ กรุงเทพฯ ใช้เวลาการขนส่งประมาณ 12 ชั่วโมง (ภาพที่ 3.3 ก.)

4.1.3 เมื่อถึงห้องปฏิบัติการแปรรูปอาหาร ฉีกถุงเดิม ล้างทำความสะอาดปลาในน้ำเย็น บรรจุถุงใหม่ ทำการแช่แข็ง (flash freezing) ที่อุณหภูมิ -40 ^{o}C นาน ประมาณ 2 เดือน จากนั้น เก็บรักษาในสภาพแช่แข็ง (ภาพที่ 3.3 ค - ง) ที่อุณหภูมิ -21 ^{o}C ทั้งในช่วงก่อน และระหว่างการทดลอง

4.2 แล่ปลาสวายโมงและเตรียมเนื้อปลาแล่แช่แข็งซ้ำ

การแล่ปลาสวายโมงเป็นชิ้น ดัดแปลงวิธีการของ มอก. 616-2529 ปลาแล่เยือกแข็ง และ สุญาณีพร ตุลยพงศ์รักษ์ (2551) ดังนี้

4.2.1 นำปลาสวายโมงที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็ง (-21^{o}C) ล้างน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 10^{o}C–15^{o}C

4.2.2 แล่เนื้อปลาด้วยมีดคมจากตัวปลา โดยวิธีการแล่แบบ single fillet

4.2.3 ล้างเนื้อปลาด้วยน้ำเย็น ควบคุมอุณหภูมิของชิ้นปลาไม่เกิน 15^{o}C

4.2.4 พักชิ้นปลาบนตะแกรง นาน 5 นาที (ภาพที่ 3.4) จากนั้น บรรจุชิ้นปลาลงในถุงเย็น PE แบบ zip lock เข้าแช่แข็งรอบที่ 2 (ภาพที่ 3.5)

ภาพที่ 3.5 ตัวอย่างเนื้อปลาสวายโมงแล่บรรจุถุง PE แบบ zip lock ที่ใช้ในการทดลอง

4.3 วิเคราะห์ความสด และสมบัติทางเคมีกายภาพเบื้องต้น

ปลาสวายโมงหลังละลายน้ำแข็ง นำมาประเมินความสดและสมบัติทางเคมีกายภาพเบื้องต้น วิเคราะห์โดยห้องปฏิบัติการ บริษัท เซ้าท์อิสต์ เอเชี่ยน ลาบอราทอรี่ย์ จำกัด (ซีล) ดังนี้

4.3.1 ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation)

คุณภาพความสดโดยการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏทั่วไป ได้แก่ สี กลิ่น รสชาติ และเนื้อสัมผัส

4.3.2 วิเคราะห์สมบัติทางเคมี

จากการตรวจเอกสาร พบว่า สุญาณีพร ตุลยพงศ์รักษ์ (2551) ได้รายงานวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเนื้อปลาสวายโมงสดที่เก็บรักษาในน้ำแข็ง ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีความคิดวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นซ้ำอีกครั้ง เพื่อยืนยันผล นอกจากนี้ ยังได้วิเคราะห์ lipid profiles หรือ fatty acid compositions เพิ่มเติม โดยนำตัวอย่างปลาสวายโมงสด ส่งตรวจวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ บริษัท เซ้าท์อิสต์ เอเชี่ยน ลาบอราทอรี่ย์ จำกัด (ซีล) ดังนี้

1. ค่าพลังงาน (calories) ตามวิธีของ AOAC international (1993), chapter 6
2. ค่าพลังงานจากไขมัน (calories from fat)
   ตามวิธีของ AOAC international (1993) , chapter 6

3. ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ตามวิธีของ AOAC international (1993), chapter 1
4. ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ AOAC. (2005), 940.25
5. ปริมาณไขมัน ตามวิธีของ AOAC. (2005), 960.39
6. ปริมาณเถ้า ตามวิธีของ AOAC. (2005), 960.39
7. ปริมาณความชื้น ตามวิธีของ AOAC. (2005), 940.25
8. โอเมกา–3 ตามวิธีของ AOAC. (2005) , 996.06
9. โอเมกา–6 ตามวิธีของ AOAC. (2005), 996.06
10. โอเมกา–9 ตามวิธีของ AOAC. (2005), 996.06
11. องค์ประกอบที่เป็นกรดไขมันแต่ละชนิด (fatty acid compositions) ตามวิธีการของ AOAC. (2005) 996.06
12. ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) วัดด้วยเครื่อง pH meter
13. ปริมาณด่างที่ระเหยทั้งหมดในภาพสารประกอบไนโตรเจน (total volatile base – nitrogen ; TVB-N) ตามวิธีการของ Conway microdiffusion

4.3.3 วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ

นำตัวอย่างเนื้อปลาสวายโมงสด ที่ผ่านการละลายน้ำแข็ง วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ ดังนี้

9.3.1 ค่าสี L^*a^* b^* วัดด้วยเครื่องวัดสี (colorimeter) ระบบ CIE Hunter L*a*b* ยี่ห้อ HunterLab รุ่น Miniscan XE plus ดังภาคผนวกที่ 3

9.3.2 ค่าความขาว (whiteness ; W) ตามสูตรวิธีการคำนวณ ดังภาคผนวกที่ 3

9.3.3 ค่าเนื้อสัมผัส (texture) วัดด้วยเครื่อง texture analyser ยี่ห้อ LLOY รุ่น CF2430 โดยใช้วิธีวัดเลียนแบบการเคี้ยวของมนุษย์ (TPA) และบันทึกค่า hardness (Newton), cohesiveness, springiness (mm) และ fracture force (kgf) ดังภาคผนวกที่ 4

4.4 เตรียมสารละลายเถ้าใบกล้วยและโซเดียมคลอไรด์

การเตรียมสารละลายเถ้าใบกล้วยและโซเดียมคลอไรด์ อธิบายใน ดังภาคผนวกที่ 2

4.5 ฝึกฝนผู้ทดสอบให้รับรู้กลิ่นโคลน geosmin (threshold sensitivity)

ให้ผู้ทดสอบ จำนวน 15 คน ซึ่งเป็นครูปฏิบัติการ และนักศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ ทำการทดสอบประเมินความแม่นยำ ด้วยการทดสอบจุดเริ่มรับรู้สึกของสารให้กลิ่นโคลน geosmin ของผู้ทดสอบแต่ละคน โดยการให้คะแนนแบบ scoring test ตามวิธีการของ วรพงษ์ นลินานนท์ (2545)

4.6 เปรียบเทียบอิทธิพลของสารละลายโอโซน หรือเถ้าใบกล้วย หรือโซเดียมคลอไรด์ที่มีผลต่อการลดสารให้กลิ่นโคลน geosmin และสมบัติทางเคมีกายภาพของเนื้อปลาสวายโมงแล่แช่แข็ง

4.6.1 เตรียมสารละลายกลิ่นโคลน geosmin มาตรฐาน และฉีดสารละลาย geosmin เข้าเนื้อเยื่อปลา

ผู้วิจัยเลือกใช้ความเข้มข้นสาร geosmin มาตรฐาน ปริมาณ 200 นาโนกรัม/ลิตร สำหรับแช่และฉีดเข้าเนื้อเยื่อชิ้นปลาแล่ ทั้งนี้ Robertson และคณะ (2004) รายงานว่า ความเข้มข้นของสารละลายกลิ่นโคลน geosmin ปริมาณ 200 นาโนกรัม/ลิตร ให้ความเข้มข้นแรงที่สุด (glossly tainted) และ พบว่า สารละลาย geosmin ความเข้มข้นดังกล่าวสามารถเข้าไปสะสมในเนื้อเยื่อปลาเท่ากับ 6.25 ± 0.75 ไมโครกรัม/กิโลกรัม

(1) คำนวณความเข้มข้นของสาร geosmin ที่ต้องฉีดเข้าเนื้อเยื่อปลาสวายโมง

จากสารในขวด vial มี geosmin มาตรฐาน อยู่ 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของ methanol เก็บที่อุณหภูมิ -21^{o}C สามารถคำนวณได้ดังนี้

นั่นคือ น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ต้องใช้สาร geosmin 200 นาโนกรัม

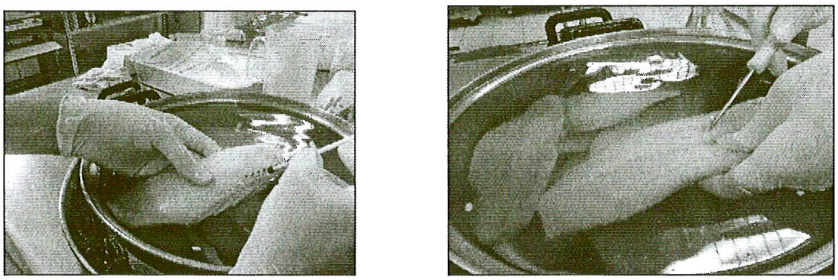
ถ้าใช้ น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ต้องใช้สาร geosmin เท่ากับ 20 นาโนกรัม (หรือ 0.02 ไมโครกรัม)

ดังนั้น ต้องการสาร geosmin 2 มิลลิกรัม ต้องดูดสารละลายมา 1 มิลลิลิตร

ถ้า ต้องการสาร geosmin ปริมาณ 0.02 ไมโครกรัม ต้องดูดสารละลายมา $\frac{200\ \text{ng} \times 100\ \text{ml}}{1000\ \text{ml}}$

เท่ากับ 0.01×10^{-3} มิลลิลิตร หรือเท่ากับ 0.01 ไมโครลิตร

เพราะฉะนั้น ต้องดูดสารละลาย geosmin มาตรฐานมา 0.01 ไมโครลิตร ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วค่อยฉีดเข้าไปในเนื้อเยื่อปลาสวายโมง พร้อมควบคุมอุณหภูมิสารละลายไม่เกิน 15 ^{o}C ตลอดเวลา (ภาพที่ 3.6) การเตรียมสารละลายกลิ่นโคลน geosmin และแช่–ฉีดสารละลาย geosmin เข้าเนื้อเยื่อปลา (เน้นตรงส่วนไขมันใต้ท้องมากเป็นพิเศษ) แช่นานประมาณ 30 นาที



(ก) (ข)

ภาพที่ 3.6 (ก) การแช่-ฉีด สารละลาย geosmin มาตรฐาน เข้าเนื้อเยื่อปลาสวายโมงแล่

(ข) ควบคุมอุณหภูมิชิ้นปลาแล่ ไม่เกิน 15^{o}C

4.6.2 **การวางแผนทดลอง**

การวางแผนการทดลองเพื่อเปรียบเทียบอิทธิพลร่วมของสารละลายโอโซน หรือเถ้าใบกล้วย หรือเกลือโซเดียมคลอไรด์ ที่มีผลต่อการลดสารให้กลิ่นโคลน geosmin และสมบัติทางเคมีกายภาพของเนื้อปลาสวายโมงแล่แช่แข็ง

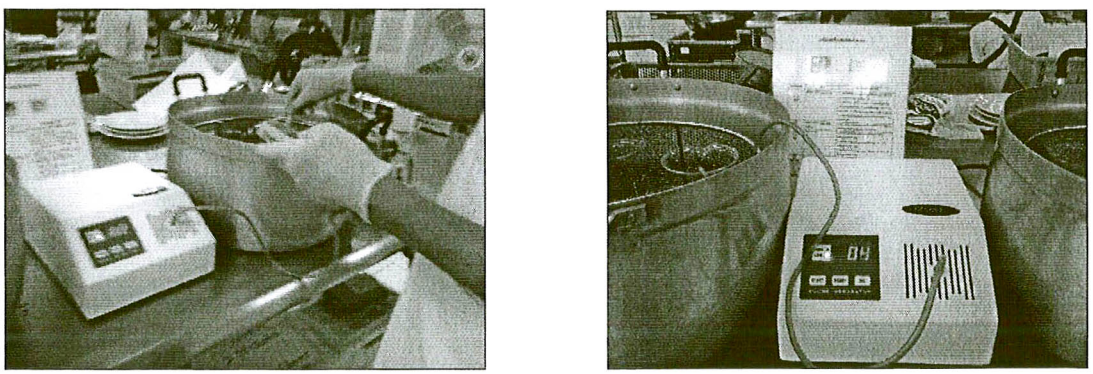
เริ่มจาก นำเนื้อปลาสวายโมงแล่ น้ำหนัก 60 กรัม สัมผัสกับสารละลายแต่ละสิ่งทดลอง (ตารางที่ 3.1) ดังนี้คือ

1. ก๊าซโอโซน 2 ระดับ คือ 200 และ 400 มิลลิกรัม
2. เถ้าใบกล้วยน้ำว้า 2 ระดับ คือ 3.0% และ 5.0% โดย น้ำหนัก/ปริมาตร
3. โซเดียมคลอไรด์ 2 ระดับ คือ 3.0% และ 5% โดยน้ำหนัก/ปริมาตร

วางแผนการทดลองแบบ 3^{3-1} Unrepeated Factorial Design ให้ตัวอย่างสัมผัสกับสารละลายแต่ละสิ่งทดลอง นานประมาณ 5 นาที (ภาพที่ 3.7) จากนั้น ล้างน้ำสะอาด และเก็บรักษาในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -21 ^{o}C เพื่อรอวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ตารางที่ 3.1 การวางแผนการทดลอง 3^{3-1} Unrepeated Factorial Design ที่ใช้ในการหา significant treatment combination effects

treatments	treatment combination effects		
	ก๊าซโอโซน (มิลลิกรัม)	เถ้าใบกล้วย (% w/v)	โซเดียมคลอไรด์ (% w/v)
1	200	-	-
2	200	3	5
3	200	5	3
4	400	5	-
5	-	3	-
6	-	5	5
7	-	-	3
8	400	3	3
9	400	3	-
10	ไม่ได้รับสิ่งทดลอง (control treatments)		



ภาพที่ 3.7 ขั้นตอนการนำเนื้อปลาสวายโมงแล่ผ่านการลดกลิ่นโคลน geosmin ด้วยสารละลาย 9 สิ่งทดลอง (ตาราง 3.1)

4.6.3 วิเคราะห์สารให้กลิ่นโคลน geosmin

การวิเคราะห์สารให้กลิ่นโคลน geosmin ด้วยวิธี solid phase micro extraction gas chromatography/mass spectrophotometry (SPME-GC/MS) ตามวิธีวิเคราะห์ของ สมชาย หวังวิบูลย์กิจ (2551) แสดงในภาคผนวก 1 (วิเคราะห์โดยศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง)

4.6.4 วิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของเนื้อปลาสวายโมงแล่ที่ผ่านการแช่ในสารละลายชนิดต่างๆ

ตัวอย่างเนื้อปลาสวายโมงแล่ที่ผ่านการแช่-ล้างในสารละลาย 9 สิ่งทดลอง วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ ดังนี้

(1) ค่าสี L^* a^* b^* วัดด้วยเครื่องวัดสี (Colorimeter) ระบบ CIE Hunter L*a*b* ยี่ห้อ HunterLab รุ่น Miniscan XE plus

(2) ค่าความขาว (whiteness) ตามสูตรวิธีการคำนวณ ดังแสดงในภาคผนวกที่ 3

(3) ค่าเนื้อสัมผัส (texture) วัดด้วยเครื่อง texture analyser ยี่ห้อ LLOY รุ่น CF2430 ใช้วิธีวัดแบบเลียนแบบการเคี้ยวของมนุษย์ (TPA) และบันทึก ค่า hardness (N), cohesiveness, springiness (mm) และ fracture force (kgf) ดังแสดงในภาคผนวกที่ 4

(4) ค่า pH วัดโดยเครื่อง pH meter ยี่ห้อ inoLab pH 720 รุ่น WTW

4.6.5 ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 15 คน โดยใช้แบบทดสอบ scoring test สำหรับการประเมินด้านกลิ่นโคลน geosmin ดัดแปลงตามวิธีของ วรพงษ์ นลินานนท์ (2545) และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยให้คะแนนความชอบแบบ hedonic scale – 9 - points ในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม

12.6 **การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

งานวิจัยวางแผนการทดลองแบบ 3^{3-1} Unrepeated Factorial Design สำหรับการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยข้อมูลทางเคมีกายภาพ (ปริมาณสารให้กลิ่นโคลน geosmin และค่า pH) ลักษณะทางกายภาพ (ค่าสี L a^* b^* ความขาว และค่าเนื้อสัมผัส) ส่วนการประเมินผลทางประสาทสัมผัส (ให้คะแนนแบบ scoring test และ hedonic scale - 9 -points) วางแผนการทดลองแบบวัดค่าซ้ำ (Repeated Measure Design)

ใช้การทดสอบระดับนัยสำคัญของสมมติฐาน 2 วิธี คือ Graphical method (normal plot) และ Lenth's method (กรณีที่มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน pseudo standard error served as a robust estimator of standard deviation)

ค่าวิกฤตของวิธี Lenth's method ได้มาจากวิธีของ Ye และ Hamada (2000)