

บทที่ 3

วิธีดำเนินการทดลอง

วัตถุดิบและสารเคมี

- 1) สาหร่ายผักกาดทะเล รับจากศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง สถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดตราด
- 2) โอลิโกฟรุคโตส (Oligofructose) บริษัท ดีพีโอ จำกัด ประเทศไทย
- 3) เฟอร์รัสซัลเฟต (Ferrous sulphate) บริษัท Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย
- 4) เกลือไอโอดีน ตราปรุngthิพย์ บริษัทสหพัฒนาพิบูล จำกัด ประเทศไทย

อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1) ตู้อบลมร้อน (Tray dryer) บริษัท อีเค ฟู้ดเทค ประเทศไทย
- 2) ตู้อบแห้งสุญญากาศ (Vacuum dryer) บริษัท อีเค ฟู้ดเทค ประเทศไทย
- 3) ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump) Buchi รุ่น Vacuum Controller V-800 ประเทศเยอรมนี
- 4) เครื่องวัดค่า Water Activity (a_w) Novasina รุ่น AWC ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
- 5) เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง Sartorius รุ่น BA 610 ประเทศเยอรมนี
- 6) เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง Sartorius รุ่น AC 211S ประเทศเยอรมนี
- 7) เครื่องวัดสี (Colorimeter) Hunter Lab รุ่น Miniscan XP Plus ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 8) เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (Conductimeter) HM รุ่น COM 100 ประเทศญี่ปุ่น
- 9) อุปกรณ์สำหรับทดสอบทางประสาทสัมผัส
- 10) อุปกรณ์เครื่องแก้ว
- 11) อุปกรณ์งานครัว

วิธีดำเนินการทดลอง

ตอนที่ 1 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของสาหร่ายผักกาดทะเล

เพื่อทราบข้อมูลพื้นฐานทางเคมีและโภชนาการของสาหร่ายผักกาดทะเลที่ใช้ในการวิจัย ดำเนินการสุ่มตัวอย่างผักกาดทะเลที่ได้รับมา แล้ววิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ ได้แก่ โปรตีน ไขมัน โยอาหารทั้งหมด ความชื้น และแคลโรทีนอยด์ รวมถึงคุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ ไอโอดีน แคลเซียม เหล็ก และวิตามินซี (AOAC, 1990)

ตอนที่ 2 การศึกษาผลของการเตรียมขั้นต้นต่อการถ่ายเทมวลสารระหว่างการออสโมซิสสาหร่ายผักกาดทะเล

การเตรียมวัตถุดิบทำได้โดย นำสาหร่ายผักกาดทะเลมาล้างด้วยน้ำสะอาด ตัดเป็นชิ้น ขนาด 5 x 5 เซนติเมตร แล้ววางบนตะแกรงให้สะเด็ดน้ำ (ภาพที่ 3-1) และเตรียมสารละลายออสโมติกสำหรับแช่โดยเตรียมในรูปสารละลายผสมของโอลิโกฟรุกโตสความเข้มข้น 40% (w/w) เกลือไอโอดีน ความเข้มข้น 10% (w/w) และปรับ pH ด้วยกรดซิตริก ให้มีค่า pH ประมาณ 3 นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที (ดัดแปลงจาก Rodriguez et al., 2003)



ก)

ข)

ภาพที่ 3-1 ก) สาหร่ายผักกาดทะเลที่ใช้ในโครงการวิจัย และ ข) สาหร่ายผักกาดทะเลที่ตัดเป็นชิ้น

ในขั้นตอนนี้ต้องการศึกษาผลของการเตรียมขั้นต้นก่อนการนำสาหร่ายไปแช่ในสารละลายออสโมติก โดยแปรวิธีการเตรียมขั้นต้นเป็น 4 วิธีดังนี้

- 1) การลวก
- 2) การแช่ในสภาวะสุญญากาศ
- 3) การลวกและแช่ในสภาวะสุญญากาศ
- 4) ไม่มีการเตรียมขั้นต้น (ตัวควบคุม)

การลวก ดำเนินการโดยลวกสาหร่ายผักกาดทะเลในน้ำเดือดเป็นเวลา 1 นาที ซึ่งจากการทดลองเบื้องต้นพบว่า เป็นเวลาที่สามารถยับยั้งเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสได้สมบูรณ์ กำหนดอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสาหร่ายผักกาดทะเลและน้ำที่ใช้ลวกเท่ากับ 1 : 10 เมื่อครบกำหนดเวลาแช่ในน้ำเย็นทันที (ดัดแปลงจาก Saencom et al., 2011)

การแช่ในสภาวะสุญญากาศ ดำเนินการโดยแช่สาหร่ายผักกาดทะเลในสารละลายออสโมติกที่เตรียมไว้ การแช่ดำเนินการในขวดรูปชมพู่ ใช้จุกยางปิดให้อยู่ในระบบปิดแล้วเชื่อมต่อกับปั๊มสุญญากาศ กำหนดที่ความดันสุญญากาศ 200 mbar เป็นเวลา 10 นาที กำหนดอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสาหร่ายผักกาดทะเลและสารละลายออสโมติกเท่ากับ 1 : 10 (ดัดแปลงจาก Derossi et al., 2010)

นำสาหร่ายผักกาดทะเลทั้ง 4 สิ่งทดลองมาแช่ในสารละลายออสโมติกที่สภาวะบรรยากาศ โดยแช่ในโหลแก้ว ปิดฝาด้วยอลูมิเนียมฟอยด์ กำหนดอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสาหร่ายผักกาดทะเลและสารละลายออสโมติกเท่ากับ 1 : 10 แช่ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 240 นาที สุ่มตัวอย่างทุก 40 นาที เพื่อวิเคราะห์ค่าการถ่ายเทมวลสารโดยนำสาหร่ายผักกาดทะเลมาล้างน้ำเพื่อกำจัดสารละลายส่วนเกินออกและวางบนตะแกรงผึ่งให้สะเด็ดน้ำ เป็นเวลา 3 นาที แล้วชั่งด้วยกระดาษ นำไปชั่งน้ำหนักและวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 1990) และคำนวณหาค่าการถ่ายเทมวลสาร ได้แก่

- 1) ปริมาณน้ำที่สูญเสีย (Water loss; WL) คำนวณได้จาก

$$WL (\%) = \frac{W_i (X_i/100) - W_f (X_f/100)}{W_i} \times 100$$

- 2) ปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้น (Solid gain; SG) คำนวณได้จาก

$$SG (\%) = \frac{[(W_f (100 - X_f) / 100) - (W_i (100 - X_i) / 100)]}{W_i} \times 100$$

- 3) ปริมาณน้ำหนักที่ลดลง (Weight reducing; WR) คำนวณได้จาก

$$WR (\%) = \frac{W_i - W_f}{W_i} \times 100$$

เมื่อ W_i = น้ำหนักเริ่มต้นของตัวอย่าง (กรัม)

W_f = น้ำหนักของตัวอย่างที่เวลาใดๆ (กรัม)

X_i = ปริมาณความชื้นเริ่มต้นของตัวอย่าง (กรัมของน้ำ/100 กรัมของน้ำหนักเริ่มต้น)

X_f = ปริมาณความชื้นของตัวอย่างที่เวลาใดๆ (กรัมของน้ำ/100 กรัมของน้ำหนักเริ่มต้น)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple rang test วิเคราะห์ผลทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม SPSS version 13 เกณฑ์การตัดสินใจ คือ เลือกสิ่งทดลองที่ทำให้เกิดการถ่ายเทมวลสารดีที่สุด และพิจารณาเวลาในการออสโมซิสที่ทำให้ค่าการถ่ายเทมวลสารคงที่ เพื่อใช้กำหนดเวลาการออสโมซิสในขั้นตอนต่อไป

ตอนที่ 3 การศึกษาการเสริมธาตุเหล็กในสาหร่ายผักกาดทะเลโดยการออสโมซิส

ในขั้นตอนนี้ต้องการเสริมธาตุเหล็กให้กับสาหร่ายผักกาดทะเลโดยการออสโมซิส เตรียมตัวอย่างขึ้นต้นตามวิธีที่เลือกได้จากตอนที่ 2 เติมธาตุเหล็ก ในรูปเฟอร์รัสซัลเฟตโดยเติมเข้าไปในสารละลายออสโมติก โดยแปรความเข้มข้นเป็น 0 5 10 และ 15% ดำเนินการออสโมซิสตามวิธีในตอนที่ 2 เมื่อครบเวลากำหนดนำสาหร่ายหลังการออสโมซิสมาวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ค่าการถ่ายเทมวลสารและปริมาณเหล็ก และนำสารละลายออสโมติกมาหาค่าการนำไฟฟ้า เพื่อประเมินปริมาณประจุอิสระที่เหลืออยู่ในสารละลายออสโมติก (เปรียบเทียบกับสารละลายออสโมติกก่อนการแช่) โดยมีรายละเอียดในการวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

- 1) ปริมาณความชื้น (AOAC, 1990)
- 2) ค่าการถ่ายเทมวลสาร ได้แก่ ปริมาณน้ำที่สูญเสีย (water loss; WL) ปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้น (Solid gain; SG) และน้ำหนักที่ลดลง (Weight reducing; WR) ตามวิธีในตอนที่ 2
- 3) ปริมาณเหล็ก (Iron content) (ดัดแปลงจาก AOAC, 1990)

- 4) ค่าการนำไฟฟ้า (Conductivity) ของสารละลายออสโมติก โดยใช้เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test วิเคราะห์ผลทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม SPSS version 13 เกณฑ์การตัดสินใจ คือ เลือกสิ่งทดลองที่มีปริมาณเหล็กในสาหร่ายผักกาดทะเลสูงที่สุด โดยยังคงมีลักษณะปรากฏเป็นที่ยอมรับ

ตอนที่ 4 การศึกษาผลของวิธีการอบแห้งสาหร่ายผักกาดทะเล

ในขั้นตอนนี้ต้องการผลิตสาหร่ายอบแห้งโดยใช้การอบแห้งแบบสุญญากาศ และอบแห้งแบบลมร้อน ให้ได้ความชื้นไม่เกิน 7% นำสาหร่ายผักกาดทะเลที่ผ่านการออสโมซิสตามวิธีที่เลือกได้จากตอนที่ 3 โดยนำสาหร่ายที่ผ่านการออสโมซิส นำมาล้างด้วยน้ำ เพื่อกำจัดสารละลายส่วนเกินออก วางพักบนตะแกรงให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 3 นาที แล้วซับด้วยกระดาษ ออบแห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และอบแห้งในตู้สุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ในสภาวะสุญญากาศความดัน 36 cmHg กำหนดเวลาอบแห้ง 270 นาที สุ่มตัวอย่างทุก 30 นาที เพื่อนำมาหาความชื้น (AOAC, 1990) แล้วสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความชื้นกับและเวลา พิจารณาความน่าเชื่อถือของสมการความสัมพันธ์จาก ค่า R^2 แล้วทำนายเวลาในการทำแห้งเพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีความชื้น 7% พิจารณาเลือกวิธีการอบแห้งที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากเวลาที่ใช้ในการอบแห้งน้อยที่สุด แล้วนำมาใช้สำหรับอบแห้งสาหร่ายสดและสาหร่ายที่ผ่านการออสโมซิส

ดำเนินการอบแห้งสาหร่ายผักกาดทะเลที่ผ่านและไม่ผ่านการออสโมซิสตามวิธีที่เลือกได้ สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์คุณภาพเปรียบเทียบกับสาหร่ายผักกาดทะเลสด ดังนี้

- 1) ปริมาณความชื้น (AOAC, 1990)
- 2) ปริมาณเหล็ก (Iron content) (ดัดแปลงจาก AOAC, 1990)
- 3) ปริมาณไอโอดีน (Iodine content) (ดัดแปลงจาก AOAC, 1990)
- 4) ปริมาณแคลเซียม (Calcium content) (AOAC, 1990)
- 5) ปริมาณโซเดียม (Sodium content) (Mohr Method AOAC, 1985)
- 6) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) (Lane and Eynon volumetric method, 1849)

- 7) ปริมาณวิตามินซี (Ascorbic content) (AOAC, 1990) ดังภาคผนวก ก-7
- 8) ค่า a_w ด้วยเครื่องวัดค่า a_w
- 9) ค่าสี L^* a^* b^* ด้วยเครื่องวัดสี และคำนวณหาค่า ΔE
- 10) ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านความชอบโดยรวมกับผู้ทดสอบที่เป็นเด็กวัยเรียน (อายุ 6-12 ปี) จำนวน 30 คน โดยใช้วิธีการทดสอบแบบรูปหน้า (Facial Scale) โดยคะแนน 1 = ไม่ชอบมากที่สุด คะแนน 3 = เฉยๆ คะแนน 5 = ชอบมากที่สุด โดยทดสอบเปรียบเทียบเฉพาะสำหรับยอบแห้งเท่านั้น

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD สำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทุกค่ายกเว้นการประเมินทางประสาทสัมผัส วางแผนการทดลองแบบ RCBD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple rang test วิเคราะห์ผลทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม SPSS version 13

ตอนที่ 5 การปรับปรุงกลิ่นรสของสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้ง

สร้างแนวความคิดกลิ่นรสที่ต้องการโดยใช้วิธีการอภิปรายกลุ่ม (focus group discussion) โดยใช้เด็กวัยเรียน จัดการสนทนาจำนวนอย่างน้อย 3 กลุ่ม กลุ่มละ 10 คน เพื่อสอบถามความต้องการด้านปรับปรุงกลิ่นรสของสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้งต้นแบบที่ได้จากตอนที่ 4 รวบรวมรายการความต้องการในกลิ่นรสของผู้สนทนา แล้วพิจารณาดำเนินการปรับปรุงโดยมุ่งเน้นปรุงแต่งด้วยสารจากธรรมชาติ หลีกเลี่ยงการใช้สารปรุงรสที่มีประมาณโซเดียมสูง เช่น ใช้ผงปรุงรสที่ผลิตจากปลาผงอบแห้ง กุ้งแห้งผงผักหรือผลไม้อบแห้ง เป็นต้น เตรียมสาหร่ายผักกาดทะเลอบแห้งที่ปรุงรสชนิดต่างๆ มาดำเนินการทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสด้านความชอบลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม ด้วยวิธี 9- Point Hedonic Scale กำหนดระดับความชอบ ดังนี้ 1 = ไม่ชอบมากที่สุด 5 = เฉยๆ 9 = ชอบมากที่สุด ใช้ผู้ทดสอบเป็นเด็กวัยเรียน จำนวน 30 คน

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 เกณฑ์ในการคัดเลือก คือ เลือกสิ่งทดลองที่ได้คะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด