

### บทที่ 3 วิธีการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาคุณภาพและการยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus*) ในจังหวัดปัตตานี โดยวัตถุดิบที่ใช้เป็นปลาที่ซื้อมาจากฟาร์มในจังหวัดปัตตานี แล้วทำการแช่ในน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาไม่เกิน 2 ชั่วโมง เพื่อขนส่งมายัง แผนกวิชาเทคโนโลยีการประมง ภาควิชาเทคโนโลยีและการอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี ซาเขียวและซาดำซื้อมาจากโรงงานใบชาจรรยา อ.แม่จัน จ. เชียงราย

#### 3.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำปลามาล้างน้ำสะอาด ขอดเกล็ด เอาหนังปลาออก และ แล่เนื้อปลาเป็นชิ้นหนาขนาด 1 เซนติเมตร บรรจุเนื้อปลาในถุงพลาสติกเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยเก็บรักษาไม่เกิน 1 ชั่วโมงเพื่อรอวิเคราะห์ต่อไป

#### 3.2 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและจุลินทรีย์ของเนื้อปลา

3.2.1 ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมี โดยทำการวิเคราะห์

- ปริมาณความชื้น (AOAC, 1999)
- ปริมาณโปรตีน (AOAC, 1999)
- ปริมาณเถ้า (AOAC, 1999)
- ปริมาณไขมัน (AOAC, 1999)

3.2.2 ตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ โดยทำการวิเคราะห์

- ปริมาณแบคทีเรีย mesophilic (FDA, 1998)
- ปริมาณแบคทีเรีย psychrotrophic (FDA, 1998)
- ปริมาณ *Escherichia coli* (FDA, 1998)
- ปริมาณ *Staphylococcus aureus* (FDA, 1998)
- ปริมาณ *Salmonella* spp. (FDA, 1998)

#### 3.3 ศึกษาผลของสารสกัดจากชาชนิดต่างๆ ต่อการยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อปลา

3.3.1 ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากชา โดยศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังนี้

นำซาดำและซาเขียวมาสกัดด้วยน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 3 5 และ 7 (w/v) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำสารสกัดชาให้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำมาแช่เนื้อปลาในสารสกัดจากชาต่างๆ ด้วยอัตราส่วนเนื้อปลาต่อสารละลายเท่ากับ 1: 2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 4

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งให้สะเด็ดน้ำนาน 10 นาที ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสี และกลิ่น โดยวิธีของ Hedonic scale (Mailgaard *et al.*, 1991) ตรวจสอบปริมาณพอลิฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดชาเขียวและชาดำที่ความเข้มข้นเหมาะสม โดยทำวิธี Singleton and Rossi (1965) คัดเลือกสารสกัดชาดำ และชาเขียวที่เหมาะสมมาศึกษาการยืดอายุการเก็บรักษาเนื้อปลา

### 3.3.2 ผลของสารสกัดจากชาชนิดต่างๆ ต่อการยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อปลา

แช่เนื้อปลาในสารสกัดจากชาดำและชาเขียวในข้อ 3.3.1 ที่เหมาะสม ด้วยอัตราส่วนเนื้อปลาคือต่อสารสกัดชาเท่ากับ 1: 2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งให้สะเด็ดน้ำนาน 10 นาที บรรจุในถุงพลาสติก แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างเนื้อปลามาวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี จุลินทรีย์ และ ประสาทสัมผัส ทุกๆ 3 วัน จนกว่าจะเน่าเสีย เปรียบเทียบกับชุดควบคุมแช่ในน้ำกลั่น

#### วิเคราะห์คุณภาพ ทางเคมี

- ปริมาณรวมค่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB) โดยวิธีของ Conway (1950)
- ปริมาณไตรเมทธิเอมีน (TMA) โดยวิธีของ Conway (1950)
- ค่า Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) โดยวิธีของ Buege and Aust (1978)
- ค่า T CA-soluble peptide โดยวิธีของ Morrissey *et al.* (1993)

#### วิเคราะห์คุณภาพ ทางกายภาพ

- ค่าความเป็น กรด-ด่าง
- การสูญเสีย น้ำ โดยวิธีของ Pastoriza *et al.* (1996)

#### วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

- ทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3.2

#### วิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และ ความชอบรวม โดยวิธีของ Hedonic scale (Mailgaard *et al.*, 1991)

## 3.4 ศึกษาผลการของการบรรจุแบบสุญญากาศและดัดแปลงบรรยากาศต่อการยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อปลา

นำเนื้อปลาที่ได้จาก 3.1 มาบรรจุในถุง pouch ขนาด 15 x 25 ซม. (PET/ NY/ CPP) ภายใต้แก๊สผสมของ 60%CO<sub>2</sub>, 10%O<sub>2</sub>, 30%N<sub>2</sub> ใช้อัตราส่วนของ เนื้อปลา: แก๊ส เป็น 1: 2 (น้ำหนัก / ปริมาตร) และ เก็บแบบสุญญากาศ โดยชุดควบคุมเก็บแบบบรรยากาศปกติ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตัวอย่างทั้งหมดจะนำมาวิเคราะห์ คุณภาพทาง เคมี กายภาพ จุลินทรีย์ และ ประสาทสัมผัสทุกๆ 3 วัน จนกว่าปลาจะเน่าเสีย นำตัวอย่างเนื้อปลามาวิเคราะห์ ทางเคมี จุลินทรีย์ และ ประสาทสัมผัส ทุกๆ 3 วัน วิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3.3

#### วิเคราะห์คุณภาพ ทางเคมี

- ปริมาณรวมด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (TVB) โดยวิธีของ Conway (1950)
- ปริมาณไตรเมทธิเอมีน (TMA) โดยวิธีของ Conway (1950)
- ค่า Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) โดยวิธีของ Buege and Aust (1978)
- ค่า T CA-soluble peptide โดยวิธีของ Morrissey *et al.* (1993)

#### วิเคราะห์คุณภาพ ทางกายภาพ

- ค่าความเป็น กรด-ด่าง
- การสูญเสีย น้ำ โดยวิธีของ Pastoriza *et al.* (1996)

#### วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

- ทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3.2

#### วิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส

- สี กลิ่น เนื้อสัมผัส และ ความชอบรวม โดยวิธีของ Hedonic scale (Mailgaard *et al.*,

1991)

### 3.5 ศึกษาผลรวมของชาและการเก็บแบบตัดแปลงบรรยากาศต่อการยืดอายุการเก็บรักษาของเนื้อปลา

แช่เนื้อปลาในสารละลายชาที่ได้จาก 3.3 ที่สภาวะเหมาะสม ด้วยอัตราส่วนเนื้อปลาต่อสารละลายเท่ากับ 1: 2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งให้สะเด็ดน้ำนาน 10 นาที บรรจุในถุง pouch ขนาด 15×25 ซม. ภายใต้การตัดแปลงบรรยากาศข้อ 3.4 ที่สภาวะเหมาะสม สำหรับชุดควบคุมนำเนื้อปลามาแช่ในน้ำกลั่นและบรรจุแบบบรรยากาศปกติ ตัวอย่างทั้งหมดจะนำมาวิเคราะห์คุณภาพทาง เคมี กายภาพ จุลินทรีย์ และ ประสาทสัมผัสทุกๆ 3 วันทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3.4

### 3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลองโดยใช้ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลโดยใช้ ANOVA และ วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้ DMRT (Steel and Torrie, 1980)