

วิธีการทดลอง

1. การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำปลาร้า

การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำปลาร้าโดยใช้น้ำเกลือสินเธาว์แบ่งการทดลองเป็นสามส่วน ส่วนแรกเป็นการศึกษาปริมาณน้ำตาลเคี้ยวที่เหมาะสมต่อการแต่งสีน้ำเกลือสินเธาว์ที่ใช้ผลิตน้ำปลาร้า ส่วนที่สองเป็นการศึกษาอัตราส่วนของเนื้อมปลาร้าต่อน้ำเกลือสินเธาว์แต่งสีที่เหมาะสมในการผลิตน้ำปลาร้า และส่วนที่สามเป็นการศึกษาระยะเวลาในการหมักบ่มน้ำปลาร้าที่เหมาะสม

1.1 การศึกษาปริมาณน้ำตาลเคี้ยวที่เหมาะสมต่อการแต่งสีน้ำเกลือสินเธาว์ที่ใช้ผลิตน้ำปลาร้า

1.1.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำปลาร้าและการวัดคุณภาพ

การทดลองนี้ใช้ปลาร้าที่ผ่านการหมัก 3 เดือน นำมาบดให้ละเอียด และเติมเนื้อสับปะ-รดน้ำหนักร้อยละ 20 ของน้ำหนักปลาร้า จากนั้นหมักต่ออีก 1 เดือน จึงสามารถนำมาเตรียมน้ำปลาร้าในการทดลองได้ ปลาร้าที่เตรียมได้มีโปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น เท่ากับ 12.06, 6.73, 16.84, และ 60.41 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ การทดลองนี้แปรผันอัตราส่วนของน้ำตาลเคี้ยวต่อน้ำหนักของน้ำเกลือ เพื่อให้ทราบว่าจะต้องใช้น้ำตาลเคี้ยวปริมาณเท่าไรจึงจะให้น้ำปลาร้าที่มีคุณภาพดีที่สุด อัตราส่วนของน้ำตาลเคี้ยวต่อน้ำเกลือที่แปรผันคือ 1:3, 1:4, 1:5 และ 1:6 โดยน้ำหนัก น้ำเกลือที่ผ่านการแต่งสีด้วยน้ำตาลเคี้ยวเหล่านี้จะนำมาต้มกับปลาร้า โดยน้ำหนักของน้ำเกลือต่อปลาร้าคงที่ๆ อัตราส่วน 1:4 (2:8) ตามนนทาและคณะ (2549) หลังต้มนำน้ำปลาร้ามากรองเพื่อแยกเศษกระดูกและร้าออก แล้วจึงวิเคราะห์คุณภาพ โดยทำการวิเคราะห์ค่าสี (L, 'a', และ 'b' value) โดยใช้ค่าสีที่วัดจากการสะท้อน (refraction) ซึ่งเหมาะสมสำหรับของเหลวหรือของแข็งที่ทึบแสง (Marroquin et al, 2004) , ค่า pH ใช้วิธีตาม Chiou and Huang (2004) , และค่า water activity (a_w) ใช้ AquaLab Series 4TEV water activity meter (AquaLab, Pullman, WA, USA) นอกจากนี้ยังทำการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ชิมที่บริโภคน้ำปลาร้าเป็นประจำ 7 คน ประเมินคะแนนความชอบโดยใช้ 9-point verbal hedonic scale ตาม Meilgaard et al. (2000) ประเมินลักษณะปรากฏ (appearance), สี (color), กลิ่น (odor), กลิ่นรส (flavor), และการยอมรับรวม (overall acceptability) แบ่งคะแนนเป็น 9 ระดับ ได้แก่ 1= ไม่ชอบมากที่สุด (dislike extremely), 2 = ไม่ชอบมาก (dislike very much), 3 = ไม่ชอบปานกลาง (dislike moderately), 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย (dislike slightly), 5 = เฉยๆ (neither like or dislike), 6 = ชอบเล็กน้อย (like slightly), 7 = ชอบปานกลาง (like moderately), 8 = ชอบมาก (like very much), และ 9 = ชอบมากที่สุด (like extremely) ผลการทดลองที่ได้นำมาเปรียบเทียบทางสถิติเพื่อหาอัตราส่วนของน้ำตาลเคี้ยวต่อน้ำเกลือที่ดีที่สุดและใช้ในการทดลองต่อไป

1.1.2 แผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล

แผนการทดลองเป็นแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดยแปรผันอัตราส่วนของน้ำตาลเคี้ยวต่อน้ำเกลือสินเธาว์ 4 ทรีตเมนต์ ได้แก่ 1:3, 1:4, 1:5 และ 1:6 โดยน้ำหนัก โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วนำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์คุณภาพมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SAS version 9 ที่ความน่าจะเป็น 95 เปอร์เซ็นต์การจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ยใช้วิธี least significant level (LSD) ตามคำแนะนำของ (Milliken and Johnson, 1997)

1.2 การศึกษาอัตราส่วนของเนือปลาร้าต่อน้ำเกลือสินเธาว์แต่งสีที่เหมาะสมในการผลิตน้ำปลาร้า

1.2.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำปลาร้าและการวัดคุณภาพ

เตรียมน้ำเกลือสินเธาว์แต่งสีโดยใช้อัตราส่วนของน้ำตาลเคี้ยวต่อน้ำเกลือที่ดีที่สุด ซึ่งได้จากการทดลองที่ 1.1.1 นำน้ำเกลือที่ได้นี้มาต้มเป็นน้ำปลาร้า โดยศึกษาอัตราส่วนเนือปลาร้าต่อน้ำเกลือสินเธาว์แต่งสีที่เหมาะสม โดยแปรผันปริมาณปลาร้าต่อน้ำเกลือแต่งสีที่ 2:8, 4:6, 6:4, และ 8:2 โดยน้ำหนัก หลังต้มปลาร้ากับน้ำเกลือ ทำการกรองแยกเศษรำและกระดูกปลาออกจากน้ำปลาร้า จากนั้นจึงวิเคราะห์คุณภาพ โดยใช้วิธีดังกล่าวมาแล้วในข้อ 1.1.1 เช่นวิเคราะห์ค่าสี (L, 'a', และ 'b' value), ค่า pH, และค่า water activity (a_w) นอกจากนี้ยังทำการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ชิมที่บริโภคน้ำปลาร้าเป็นประจำ 7 คน ประเมินคะแนนความชอบโดยใช้ 9-point verbal hedonic scale ประเมินลักษณะปรากฏ (appearance), สี (color), กลิ่น (odor), กลิ่นรส (flavor), และการยอมรับรวม (overall acceptability) ผลการทดลองที่ได้นำมาเปรียบเทียบทางสถิติเพื่อหาอัตราส่วนปลาร้าต่อน้ำเกลือสินเธาว์แต่งสีที่ดีที่สุดและใช้ในการทดลองต่อไป นอกจากนี้มีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำปลาร้าสูตรที่ดีที่สุดโดยวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (AOAC, 1995), เกลือแกง (AOAC, 1995), *Salmonella* spp. ใช้ bismuth sulfite agar บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน ตาม Andrew et al. (2001) ยืนยันว่า typical colony เป็น *Salmonella* spp. ใช้ชุดตรวจสอบ API 20E (bioMerieux Vitek, Inc., Hazewood, MO, USA), *E. coli* ใช้ 3M Petrifilm *E.coli*/Coliforms (3M, St. Paul, MN, USA) ตาม Kornacki and Johnson (2001), *S. aureus* ใช้ Baird-Parker base ที่เติม egg yolk tellurite emulsion บ่มที่ 35±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ตาม Lancette and Bennett (2001) ยืนยันว่า typical colony เป็น *S. aureus* โดยใช้ชุดตรวจสอบ API Staph (bioMerieux Vitek, Inc., Hazewood, MO, USA), และมียีสต์/ราตามวิธีของ (Mislivec and Stack, 1989) เพื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำปลาร้า (มผช. 1346/2549)

1.2.2 แผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล

แผนการทดลองเป็นแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดยแปรผันอัตราส่วนของเนื้อปลาร้าต่อน้ำเกลือสินเธาว์แต่งสี่ 4 ทรีตเมนต์ ได้แก่ 2:8, 4:6, 6:4, และ 8:2 โดยน้ำหนัก โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วนำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์คุณภาพมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SAS version 9 ที่ความน่าจะเป็น 95 เปอร์เซนต์การจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ยใช้วิธี least significant level (LSD) ตามคำแนะนำของ (Milliken and Johnson, 1997)

1.3 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมักบ่ม (ripening period) ของน้ำปลาร้า

1.3.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำปลาร้าและการวัดคุณภาพ

ผลิตน้ำปลาร้าโดยใช้สูตรที่ได้จากการทดลองที่ 1.1 และ 1.2 เก็บน้ำปลาร้าไว้ที่ระยะเวลา 0, 1, 2, และ 3 เดือน ในที่ร่มที่อุณหภูมิห้อง แต่ละเดือนทำการประเมินความชอบของน้ำปลาร้า โดยใช้ 9-point verbal hedonic scale วิเคราะห์ค่าสี (L, 'a', และ 'b' value), ค่า pH, และค่า water activity (a_w) ตามวิธีที่กล่าวมาในข้อ 1.1.1 นอกจากนี้ทำการวิเคราะห์หิวเคราะห์ปริมาณ ยีสต์และรา (Mislivec and Stack, 1989), ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) (Chaveesuk et al, 1993), ปริมาณ total nitrogen (AOAC, 1995) และค่า non-enzymatic browning (Dissaraphong et al., 2006) เพิ่มเติมอีกด้วย ผลการทดลองที่ได้นำมาเปรียบเทียบทางสถิติเพื่อสรุประยะเวลาในการหมักบ่มน้ำปลาร้าที่เหมาะสมที่สุด

1.3.2 แผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล

แผนการทดลองเป็นแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยแปรผันระยะเวลาในการหมักบ่มที่ 0, 1, 2, และ 3 เดือน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วนำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์คุณภาพมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SAS version 9 ที่ความน่าจะเป็น 95 เปอร์เซนต์การจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ยใช้วิธี least significant level (LSD) ตามคำแนะนำของ (Milliken and Johnson, 1997)

2. การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำปลา

2.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำปลา

การพัฒนาใช้ปลาร้าที่ผ่านการหมัก 3 เดือน บดให้ละเอียด เติมน้ำสัปปะรดบด ปริมาณร้อยละ 20 ของน้ำหนักปลาร้าลงไป และหมักต่อ 1 เดือน ต้มกับน้ำเกลือสินเธาว์โดยใช้อัตราส่วนของปลาร้าต่อน้ำเกลือเท่ากับ 1:1 จากนั้นกรองแยกเศษตะกอนกระดูกปลา แกลบ และเศษร้าวออกจากน้ำปลา ด้วยการกรองเอาตะกอนปลาร้าออกจากน้ำปลาเพื่อให้ได้น้ำปลาใส โดยใช้ “อุปกรณ์กรองตะกอนปลาร้าอย่างง่าย” ที่พัฒนาขึ้น (ภาพที่ 2) น้ำปลาหลังกรองมีสีน้ำตาล ใส มีปริมาณ total nitrogen เท่ากับ 10.05 มิลลิกรัม/1 ลูกบาศก์ ในเบื้องต้น หากพิจารณาเพียงปริมาณ total nitrogen น้ำปลาที่ผลิตจากอัตราส่วนเนื้อปลาร้าต่อน้ำเกลือสินเธาว์เท่ากับ 1:1 นี้ ผ่านชั้นคุณภาพ “น้ำปลาแท้” ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำปลาพื้นบ้าน (มผช. 673/2547) ที่กำหนดว่าน้ำปลาแท้ต้องมีปริมาณ total nitrogen

มากกว่า 9 มิลลิกรัม/1 ลูกบาศก์เดซิเมตร นอกจากนี้วัดปริมาณเกลือแอง (AOAC, 1995), และปริมาณกรดกลูตามิกต่อไนโตรเจนทั้งหมด (AOAC, 1995) เพื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน น้ำปลาพื้นบ้านอีกด้วย



ภาพที่ 2 “อุปกรณ์กรองตะกอนปลาอย่างง่าย” สำหรับกรองให้น้ำปลาใส

2.2 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมักบ่ม (ripening period) น้ำปลา

นำน้ำปลาที่ผลิตได้ไปเก็บที่ระยะเวลา 0, 1, 2, และ 3 เดือน ในที่ร่มที่อุณหภูมิห้อง แต่ละเดือนทำการประเมินความชอบของน้ำปลาร้า โดยใช้ 9-point verbal hedonic scale วิเคราะห์ค่าสี (L, 'a', และ 'b' value) โดยใช้ค่าสีที่วัดจากการส่องผ่าน (transmission) ซึ่งเหมาะสมสำหรับของเหลวที่โปร่งแสง (Dissaraphong et al., 2006), ค่า pH, ค่า water activity (a_w), ปริมาณยีสต์และรา, ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count), ปริมาณ total nitrogen และค่า non-enzymatic browning ดังที่กล่าวมาแล้วในข้อ 1.3 ผลการทดลองที่ได้นำมาเปรียบเทียบทางสถิติเพื่อสรุประยะเวลาในการหมักบ่มน้ำปลาที่เหมาะสมที่สุด

2.3 แผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล

แผนการทดลองเป็นแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยแปรผันระยะเวลาในการหมักบ่มที่ 0, 1, 2, และ 3 เดือน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วนำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์คุณภาพมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SAS version 9 ที่ความน่าจะเป็น 95 เปอร์เซนต์การจำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ยใช้วิธี least significant level (LSD) ตามคำแนะนำของ (Milliken and Johnson, 1997)