

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการศึกษา

#### 3.1 วัสดุอุปกรณ์

##### 1. วัตถุดิบ

1. ก้างปลาสต
2. ปลากระตักสต
3. แป้งมันสำปะหลัง (ตราปلامังกร)
4. แป้งสาลี (ตราว่าว)
5. พริกไทยขาว
6. เกลือ (ตราปูงพิพิร)
7. น้ำตาลทราย(มิตรผล)
8. กระเทียม
9. น้ำมันพีช (ตราแรกด)

##### 2. อุปกรณ์

1. โถดูดความชื้น (Desiccators)
2. ภาชนะอลูมิเนียมสำหรับห้าความชื้น
3. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ
4. เครื่องแก้ว เช่น บิกเกอร์ แท่งแก้วคน ๆ ละ
5. อุปกรณ์เครื่องครัว เช่น ชามผสม ลังถึง ถاد ๆ
6. ชุดวิเคราะห์โปรตีน (Gerhard รุ่น VAP 1)
7. ชุดวิเคราะห์หาไขมัน (Gerhard รุ่น 306M)
8. เครื่องซั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius CPA 2245)
9. เครื่องบดเนื้อ (Food processor รุ่น CUTTEX M11N)
10. เครื่องบดแห้ง (Blender รุ่น Panasonic MX-151-SG1)
11. ตู้อบลมร้อน (กลวยน้ำไท รุ่น T5042)
12. เครื่องหั่นข้าวเกรียบรุ่น (WASINO)
13. หม้อนึ่งความดัน รุ่น (AUTOCLOVE HA- 300MII)
14. เครื่องทดสอบอาหารไฟฟ้า (Elframo รุ่น E391-0)
15. AAS

### 3. สารเคมี

1. สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ไขมัน ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์
2. สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์โปรตีน ได้แก่ คอปเปอร์ชัลเฟต โพเทสเซียมชัลเฟต คอปเปอร์ชัลเฟต โซเดียมไอก์ดรอกไซด์ กรดไฮโดรคลอริก กรดบอริก
3. สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ความทึบ ได้แก่ กรดบาริทูริก กรดไฮโดรคลอโรอะซิติก กรดไฮโดรคลอริก
4. สารเคมีสำหรับการศึกษาการแตกตัวของแคลเซียม ได้แก่ กรดชัลฟูริก
5. เมททิลเรด
6. ไบโรมิครีซอลบลู
7. กรดไนตริก

### 4. วิธีการทดลอง การศึกษารังนี้แบ่งออกเป็น 4 ตอน คือ

- 1) การศึกษาผลของเหลวแคลเซียมที่ใช้เสริมในข้าวเกรียบต่อคุณภาพของข้าวเกรียบเสริมแคลเซียม
- 2) การศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อข้าวเกรียบเสริมแคลเซียมโดยใช้เหลวแคลเซียมต่างกัน
- 3) การศึกษาอายุการเก็บรักษาของข้าวเกรียบเสริมแคลเซียมจากเหลวต่าง ๆ
- 4) การศึกษาประสิทธิภาพการแตกตัวของแคลเซียมในข้าวเกรียบเสริมแคลเซียมจากเหลวต่างๆ รายละเอียดในการศึกษาแต่ละขั้นตอนเป็นดังนี้

#### 4.1 การศึกษาผลของเหลวแคลเซียมที่ใช้เสริมในข้าวเกรียบต่อคุณภาพของข้าวเกรียบเสริมแคลเซียม

4.1.1 ผลิตก้างปลาผงและปลากระตักผง ตามวิธีที่ตัดแปลงจาก ลักษณะ และคณะ (2546) โดย มีขั้นตอนการผลิตดังนี้

- 1) ใช้ก้างปลา太子ซึ่งเป็นเศษเหลือจากการผลิตชูริม และปลากระตักสด (*Encrasicholina sp.*) ที่ซื้อจากสะพานปลา จังหวัดปัตตานี นำมาล้างน้ำให้สะอาด ปล่อยให้สะเด็ดน้ำ
- 2) นึ่งด้วยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 45 นาที
- 3) ปล่อยให้เย็น และกรองด้วยผ้าขาวบางและเป็นน้ำออกให้มากที่สุด
- 4) นำตัวอย่างอาหารใส่ในถุง เกลี่ยให้สม่ำเสมอ แล้วนำไปอบให้แห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง
- 5) บดตัวอย่างให้ละเอียดด้วยเครื่องบดแห้ง (Blender รุ่น Panasonic MX-151-SG1)
- 6) ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 เมช

- 7) บรรจุก้างปลาfang และปลากระตักfang เก็บในถุงโพลีพรพลีนชนิดหนา ปิดผนึกด้วยเครื่องปิดผนึกสูญญากาศ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนกว่าจะนำไปใช้

#### 4.1.2 วิเคราะห์คุณภาพของก้างปลาfang และ ปลากระตักfang โดยการวิเคราะห์

- 1) ค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี (Hunter Lab)
- 2) ความชื้น โดยวิธี Hot Air Oven Method (A.O.A.C., 2000)
- 3) เต้า โดยวิธี Drying Method (A.O.A.C. 2000)
- 4) โปรตีน โดยวิธี Kjeldahl Method (A.O.A.C, 2000)
- 5) ไขมัน โดยวิธี Solvent Extraction (A.O.A.C., 2000)
- 6) แคลเซียม โดยวิธี Atomic Absorption Spectrophotometric Method (A.O.A.C.,2000)
- 7) คาร์บอไไฮเดรตโดยใช้สูตร

ปริมาณคาร์บอไไฮเดรตทั้งหมด (ร้อยละ) =  $100 - \text{ความชื้น(ร้อยละ)} - \text{ไขมัน (ร้อยละ)}$   
 $- \text{โปรตีน(ร้อยละ)} - \text{เต้า (ร้อยละ)}$

- 8) พลังงาน คำนวณโดยใช้ Atwater factor คำนวณโดยใช้ค่าสำหรับคุณจำนวนกรัมโปรตีน ไขมัน และคาร์บอไไฮเดรต เท่ากับ 4 , 9 และ 4 กิโลแคลอรีตามลำดับ

#### 4.1.3 ผลิตข้าวเกรียบ ทำการผลิตข้าวเกรียบเสริมแคลเซียม จำนวน 3 สูตร ที่ใช้แหล่งแคลเซียมต่างกัน 3 ชนิด คือ ก้างปลาfang ปลากระตัก และ ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (เป็นแคลเซียมสังเคราะห์) โดยส่วนผสมในสูตรเป็นดังนี้

ตารางที่ 2 ส่วนผสมในข้าวเกรียบเสริมแคลเซียม 3 ประเภท

ส่วนประกอบ	ปริมาณที่ใช้ในสูตร (กรัม)		
	สูตรเสริมก้างปลาผง	สูตรเสริมปลากระตักผง	สูตรเสริมแคลเซียม
	สังเคราะห์		
เนื้อปลาสด	49.3	0	49.5
แป้งมันสำปะหลัง	39.4	39.4	39.4
แป้งสาลี	4.9	4.9	4.9
ก้างปลาผง/ปลากระตักผง	17.5	17.5	1.93**
เกลือป่น	2	2	2
น้ำ ตาลทราย	0.6	0.6	0.6
พริกไทยป่น	0.2	0.2	0.2
กระเทียม	0.3	0.3	0.3
น้ำ	15-20	15-20	15-20

\*\* คำนวนปริมาณแคลเซียมสังเคราะห์ที่ทำให้ได้แคลเซียมในข้าวเกรียบคิดเป็น 30% RDI  
(RDI เป็นปริมาณสารอาหารที่แนะนำให้บริโภคประจำวันสำหรับคนไทยอายุตั้งแต่ 6 ปีขึ้นไป  
โดยแนะนำให้บริโภคแคลเซียมปริมาณ 800 มิลลิกรัมต่อวัน)

ขั้นตอนในการผลิตข้าวเกรียบ ดัดแปลงจาก อรนุช (2548) มีดังนี้

- 1) นวดแป้งมันสำปะหลังกับน้ำและส่วนผสมอื่น ๆ ให้ส่วนผสมเนียนแป้งนุ่มจนเป็นเนื้อเดียวกัน
- 2) ปั้นก้อนแป้งเป็นรูปทรงกระบอก เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 4 เซนติเมตร
- 3) นึ่งก้อนแป้งด้วยไอน้ำจนกระทั่งแป้งสุกเนื้อแป้งใสทั่วทั้งก้อน
- 4) ปล่อยให้ก้อนแป้งเย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วเก็บไว้ในตู้เย็น 1 คืน
- 5) หั่นก้อนแป้งเป็นแผ่นให้มีความหนาประมาณ 2 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องหั่นข้าวเกรียบ
- 6) นำไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิประมาณ 55-60°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
- 7) เก็บตัวอย่างข้าวเกรียบแผ่นแห้งในถุงพลาสติกโพลีไพริลีนชนิดหนา เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อทำการศึกษาคุณภาพต่อไป ภายใน 5 สัปดาห์

ไฮไตรแคลเซียมฟอสเฟต [ Ca<sub>5</sub> (PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O ] มีลักษณะละเอียดเป็นผงสีขาว ไม่มีกลิ่นรส ละลายน้ำได้น้อย สามารถแตกตัวให้แคลเซียมได้ประมาณร้อยละ 34-48 ไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่ใช้มีความบริสุทธิ์ 35-40% และการกระจายขนาดของอนุภาคมีขนาดอยู่ในช่วง L.D. เท่ากับ 25 micron max และ H.D เท่ากับ 60 micron max ผลิตโดยบริษัท Gadot Biochemical Industries

#### 4.1.4 วิเคราะห์คุณภาพของข้าวเกรียบ

ทดสอบข้าวเกรียบในน้ำมันปาล์มอุณหภูมิ 175 – 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วินาที นำตัวอย่างข้าวเกรียบไปวิเคราะห์

##### 4.1.4.1 คุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่

- 1) การพองตัว (linear expansion) โดยวิธี Yu Michell and Abdullah (1981)
- 2) ความแข็ง (hardness) ด้วยเครื่อง Texture Analyzer
- 3) ค่าสี ด้วยเครื่องวัดสี (Hunter Lab)

##### 4.1.4.2 องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่

- 1) ความชื้น โดยวิธี Hot Air Oven Method (A.O.A.C., 2000)
- 2) เต้า โดยวิธี Drying Method (A.O.A.C., 2000)
- 3) โปรตีน โดยวิธี Kjeldahl Method (A.O.A.C, 2000)
- 4) ไขมัน โดยวิธี Solvent Extraction (A.O.A.C., 2000)
- 5) แคลเซียม โดยวิธี Atomic Absorption Spectrophotometric Method (A.O.A.C., 2000)
- 6) คาร์บอไฮเดรตโดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณคาร์บอไฮเดรตทั้งหมด (ร้อยละ)} = 100 - \text{ความชื้น(ร้อยละ)} - \text{ไขมัน (ร้อยละ)} \\ - \text{โปรตีน(ร้อยละ)} - \text{เต้า (ร้อยละ)}$$

- 7) พลังงาน คำนวณโดยใช้ Atwater factor คำนวณโดยใช้ค่าสำหรับคุณจำนวนกรัม โปรตีน ไขมัน และคาร์บอไฮเดรต เท่ากับ 4, 9 และ 4 กิโลแคลอรีตามลำดับ

4.1.4.3 ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในปัจจัยด้านความกรอบ รสชาติ กลิ่นควร สี และความชอบโดยรวมโดยวิธีการประเมินแบบ Hedonic scaling 9 ระดับ ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 20 คน

4.1.5 คำนวณต้นทุนการผลิตข้าวเกรียบเสริมแคลเซียมและเปรียบเทียบกับต้นทุนการผลิต ข้าวเกรียบปลาสูตรห้องถัง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการทดลองจำนวน 3 ชุด

#### 4.2 การศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อข้าวเกรียบเสริมแคลเซียมโดยใช้แหล่งแคลเซียมต่างกัน

เตรียมตัวอย่างข้าวเกรียบเสริมแคลเซียมแต่ละประเภทที่ทดสอบแล้วในปริมาณ 30 กรัม (เท่ากับ 1 หน่วยบริโภค) ใส่ถุงพลาสติกซีลปากถุงให้สนิท สำหรับผู้ทดสอบ 1 คน ให้ผู้ทดสอบประเมินความชอบ 5 ระดับคะแนน ผู้ทดสอบ 1 คนจะทำการประเมินข้าวเกรียบทั้ง 3 ประเภท ใช้ผู้ทดสอบที่เป็นกลุ่มเด็กนักเรียนระดับประถมศึกษาจำนวน 100 คน และกลุ่มผู้ใหญ่จำนวน 100 คน ซึ่งเป็นผู้ที่อาศัยอยู่ในจังหวัดปัตตานี

#### 4.3 การศึกษาอายุการเก็บรักษาของข้าวเกรียบเสริมแคลเซียมจากแหล่งต่าง ๆ

ทำการศึกษาอายุการเก็บรักษาข้าวเกรียบเสริมแคลเซียมที่เป็นข้าวเกรียบแห้งดิบ กับข้าวเกรียบที่ผ่านการหยอดแล้ว โดยใช้บรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน

4.3.1 การเก็บข้าวเกรียบแห้ง นำข้าวเกรียบแห้งดิบบรรจุในถุงโพลีไพรพลีน เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน สุ่มตัวอย่างข้าวเกรียบแผ่นแห้งดิบในเดือนที่ 0 1 2 3 4 5 และ 6 ของการเก็บรักษา เพื่อนำไปวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

- 1) วัดค่าอวเตอร์แอคติวิตี้ ด้วยเครื่อง Aw meter
- 2) การพองตัว (ในข้าวเกรียบที่นำไปหยอด) โดยวิธี Yu Michell and Abdullah (1981)
- 3) ค่าสี (ของข้าวเกรียบที่นำไปหยอด) วัดด้วยเครื่องวัดสี (Hunter Lab)
- 4) จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี (BAM, 2000)
- 5) สเตฟิโลค็อกคัส ออเรียส โดยวิธี (BAM, 2000)
- 6) ยีสต์ และรา โดยวิธี (BAM, 2000)

4.3.2 การเก็บข้าวเกรียบทอด นำข้าวเกรียบทอดบรรจุในถุงโพลีไพรพลีน (Polypropylene) และถุงอลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminium foil) เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 สัปดาห์ สุ่มตัวอย่างข้าวเกรียบในสัปดาห์ที่ 0 1 2 3 4 และ 5 ของการเก็บรักษา เพื่อนำไปวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

- 1) หาค่า Thiobarbituric acid reactive substances (TBARs) โดยวิธี (Buege and Aust, 1978)
- 2) ความแข็ง (hardness) ด้วยเครื่อง Texture Analyzer
- 3) จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด โดยวิธี (BAM, 2000)
- 4) สเตฟิโลค็อกคัส ออเรียส โดยวิธี (BAM, 2000)
- 5) ยีสต์ และรา โดยวิธี (BAM, 2000)

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ ส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ศูนย์วิทยาศาสตร์อาหารยาลาล คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

#### 4.4 การศึกษาประสิทธิภาพการแตกตัวของแคลเซียมในข้าวเกรียบเสริมแคลเซียมจากแหล่งต่าง ๆ

การศึกษาประสิทธิภาพในการแตกตัวของแคลเซียมที่เสริมในข้าวเกรียบทั้ง 3 สูตร เปรียบเทียบกับการแตกตัวของแคลเซียมในนมผง (เป็นแหล่งแคลเซียมอ้างอิง) ใช้นมผงยีท้อต้มิลค์ 1 พลั๊ส คอมพ्लีตแคร์ รสจีด ผลิตโดยบริษัทดูเม็ก โดยใช้วิธีการของ Roig et al, (1999)