

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์และอุปกรณ์ในการผลิตนมเป้

3.1.1 วัสดุ

1. ถั่วเหลือง
2. เชื้อรา *Rhizopus oligosporus* NRRL สายพันธุ์ 2710
3. ฟองเต้าหู้
4. เต้าหู้ยี้

3.1.2 เครื่องและอุปกรณ์

1. ถาดอคูมินิยม
2. อคูมินิยมฟอยล์
3. ผ้าขาวบาง
4. haemocytometer
5. กล้องจุลทรรศน์
6. เครื่องปั่น
7. พู่กัน
8. ถาดอคูมินิยม
9. ตู้อบลมร้อน
10. เครื่องชั่ง
11. เครื่องอบลมร้อน(Hot air oven) รุ่น UH 500 Memmert ประเทศเยอรมัน
12. เครื่อง Protein Analyzer ประกอบด้วย
 - 12.1 Buchi Digestion Unit K – 424 ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
 - 12.2 Buchi Digestion Unit K – 314 ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
13. เครื่องวิเคราะห์ไขมัน ประกอบด้วย
 - 13.1 Soxhlet system HT2 : 1045 Extract unit
 - 13.2 Soxhlet system HT2 : 1046 Extract unit
14. เตาเผา(Muffle furnace) M- 525 SII ประเทศสหรัฐอเมริกา
15. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง Memmert รุ่น AE-200 ประเทศสวิสเซอร์แลนด์

16. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง Memmert รุ่น AE-200 ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
17. ปีกเกอร์ขนาด 50, 600 และ 100ml, Herka ประเทศสหรัฐอเมริกา
18. โถดูดความชื้น (Desiccator)
19. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) Pyrex ประเทศอังกฤษ
20. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
21. ถ้วยกระเบื้อง (Crucible)
22. ถ้วยอะลูมิเนียม (Aluminium can)
23. กระบอกตวง
24. แท่งแก้ว
25. กระจกทรง
26. เทอร์โมมิเตอร์

3.1.3 สารเคมี

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar
2. สารละลาย 0.85 % NaCl
3. Copper(II) Sulfate (CuSO_4) ผลิตโดย Carlo Erba Reagent, America
4. Hydrochloric acid (HCl) ผลิตโดย Carlo Erba Reagent, America
5. Sodium chloride (NaCl) ผลิตโดย Carlo Erba Reagent, America
6. Sodium Carbonate (Na_2CO_3) ผลิตโดย Carlo Erba Reagent, America
7. Sodium hydroxide (NaOH) ผลิตโดย Carlo Erba Reagent, America
8. Sodium sulfate (Na_2SO_4) ผลิตโดย Carlo Erba Reagent, America
9. Sodium Tripoly Phosphate ผลิตโดย Carlo Erba Reagent, America
10. Sulfuric acid (conc. H_2SO_4) ผลิตโดย Fluka Chemika, witzerland
11. Selenium dioxide (SeO_2) ผลิตโดย J.T Bakre, America
12. Petroleum ether ผลิตโดย Mallinokrodt Chemical, paris

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

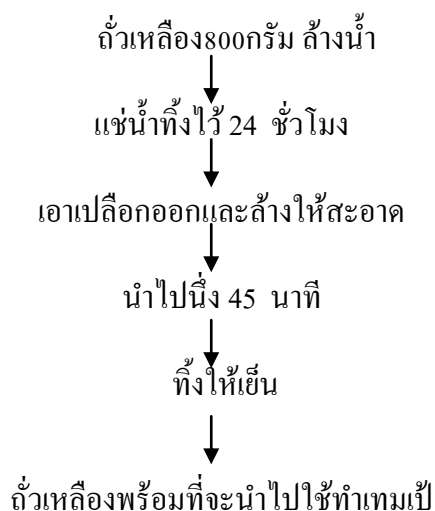
ในการวิจัยนี้ใช้เชื้อรา *Rhizopus oligosporus* NRRL สายพันธุ์ 2710 ควรเก็บรักษาในลักษณะสารละลายสปอร์ (Spore suspension) นำเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* เลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) ในหลอดทดลอง บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน หลังจากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำไปใช้ซึ่งวิธีนี้สามารถเก็บรักษาเชื้อดังกล่าวไว้ได้เป็นระยะเวลา 3-4 เดือน

3.2.2 การเตรียมสารละลายของสปอร์

เติม 0.85 % NaCl ลงในหลอดที่มีเชื้อราพอท่วมสปอร์ ใช้ห่วงถ่ายเชื้อ (loop) ที่ลนไฟแล้วชุบสปอร์ออกมา หลังจากนั้นนำมานับเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นด้วย haemocytometer จำนวนเชื้อที่นำมาใช้ควรมีประมาณ 10^6 - 10^8 spore ml⁻¹

3.2.3 การเตรียมถั่วเหลือง

นำถั่วเหลืองล้างน้ำให้สะอาดเพื่อกำจัดฝุ่นละอองหรือเศษผงต่าง ๆ จากนั้นแช่ในน้ำที่สะอาดพอท่วมเมล็ดถั่วเหลืองประมาณ 24 ชั่วโมง เทน้ำที่แช่ถั่วเหลืองทิ้งไปจากนั้นนำถั่วเหลืองที่ได้ล้างด้วยน้ำสะอาด 2-3 ครั้งแล้วนำไปนึ่งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที หลังจากนั้นทิ้งให้เย็นหรือจนอุณหภูมิลดลง โดยนำมาเกลี่ยบนถาดอลูมิเนียมที่สะอาด จะได้ถั่วเหลืองที่พร้อมจะนำไปใช้ในการทำเทมเป้ ขั้นตอนการเตรียมดังแสดงในภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบในการเตรียมถั่วเหลือง
ที่มา : วราวุฒิ ครุส่ง (2532)

3.2.4 การผลิตเทมเป้

นำถั่วเหลืองที่เตรียมได้ห่อด้วยผ้าขาวบางแล้วหนึ่งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นนำมาเกลี่ยให้กระจายทั่วบนถาดอลูมิเนียม และทิ้งไว้ให้เย็นหรือจนกระทั่งอุณหภูมิลดลง เปิดหัวเชื้อลงในอาหารที่เตรียมไว้ ผสมให้เข้ากันดีแล้วปิดทับด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟรอยด์ที่เจาะรูบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยแปรอุณหภูมิเป็น 0,15 , 21,24 ชั่วโมง ขั้นตอนการผลิตดังภาพที่ 3.2

นำถั่วเหลือง 800 กรัม ที่ได้จากการเตรียมวัตถุดิบ



ใส่หัวเชื้อลงในถั่วเหลืองที่เตรียมไว้ผสมให้เข้ากัน



ปิดทับด้วยอลูมิเนียมฟรอยด์ที่เจาะรู



บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 ชั่วโมง

ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการผลิตเทมเป้ ที่มา : วราวุฒิ (2532)

3.2.5 วิธีการทดลองการผลิตปลาเค็มเจ

นำฟองเต้าหู้มาตัดความยาว

16 นิ้ว กว้าง 1.5 นิ้ว แล้วนำมาวางบนถาดอะลูมิเนียม



นำเต้าหู้ยี้ มาชั่งน้ำหนัก 3.5, 5.5, 7.5 กรัม แล้วบดให้ละเอียด



ใช้ฟุ้งกันตะเต้าหู้ยี้ที่บดละเอียดนำมาทาบนฟองเต้าหู้ ความยาว 16 นิ้ว กว้าง 1.5 นิ้ว

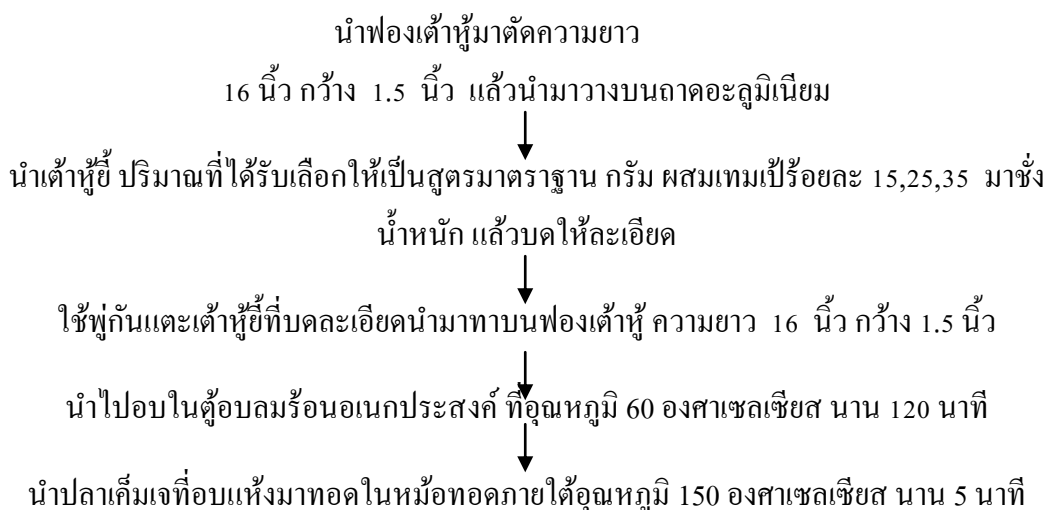


นำไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 120 นาที



นำปลาเค็มเจที่อบแห้งมาทอดในหม้อทอดกายได้ อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

3.2.6 การผลิตปลาเค็มเจสูตรทดแทนด้วยเทมเป้



3.2.7 การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสของปลาเค็มเจสูตรมาตรฐานและสูตรทดแทนด้วยเทมเป้

นำเทมเป้สูตรมาตรฐานและสูตรทดแทนด้วยเทมเป้ มาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านสีและลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม และใช้แบบทดสอบที่ให้คะแนนความชอบแบบการใช้สเกล 9 ระดับ (9-point hedonic scale) ซึ่งระดับคะแนน 1 หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด และคะแนน 9 หมายถึง ชอบมากที่สุด โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 40 คน วางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) จากนั้นนำคะแนนมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของคะแนนเฉลี่ยด้วย Duncan's New Multiple Range Test

3.2.8 การวิเคราะห์ทางเคมีของเทมเป้สด ปลาเค็มเจสูตรมาตรฐานและสูตรทดแทนด้วย เทมเป้

นำเทมเป้สด ปลาเค็มเจสูตรมาตรฐาน และสูตรทดแทนด้วยเทมเป้ที่ผ่านการประเมินทางประสาทสัมผัสมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีดังนี้

| | | |
|---------|-----------------------------|-----------------|
| 3.2.8.1 | วิเคราะห์ปริมาณความชื้น | (A.O.A.C, 2000) |
| 3.2.8.2 | วิเคราะห์ปริมาณเถ้า | (A.O.A.C, 2000) |
| 3.2.8.3 | วิเคราะห์ปริมาณไขมัน | (A.O.A.C, 2000) |
| 3.2.8.4 | วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน | (A.O.A.C, 2000) |
| 3.2.8.5 | วิเคราะห์ปริมาณเส้นใย | (A.O.A.C, 2000) |
| 3.2.8.6 | วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต | (A.O.A.C, 2000) |