**โครงการ**

**การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์**

**ชื่อโครงการ** สมบัติทางเคมีกายภาพของปลาร้าที่หมักในช่วงเดือนที่ 5 7 และ 8

Physicochemical Properties of Fermented Freshwater Fish (Pla-ra) at Month 5, 7 and 8

**ชื่อ** นายเอกรัฐ ศศิพงศ์ไพโรจน์

**ภาควิชา** เคมี

**ปีการศึกษา** 2562

**คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# สมบัติทางเคมีกายภาพของปลาร้าที่หมักในช่วงเดือนที่ 5 7 และ 8

# Physicochemical Properties of Fermented Freshwater Fish (Pla-ra) at Month 5, 7 and 8


โดย

นายเอกรัฐ ศศิพงศ์ไพโรจน์


รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2562

โครงการ สมบัติทางเคมีกายภาพของปลาร้าที่หมักในช่วงเดือนที่ 5 7 และ 8

โดย นายเอกรัฐ ศศิพงศ์ไพโรจน์

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

| | |
|---|---|
| 1. รองศาสตราจารย์ ดร. สุรชัย พรภคกุล | ประธานกรรมการ |
| 2. รองศาสตราจารย์ ดร. เฟื่องฟ้า อุ่นอบ | กรรมการ |
| 3. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรินทร ชวศิริ | อาจารย์ที่ปรึกษา |
| 4. รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีชา ภูวไพรศิริศาล | อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม |

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

ปรีชา ภูวไพรศิริศาล (แทน)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร ชวศิริ)
อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)
หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่ 12 เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2562

ชื่อโครงการ สมบัติทางเคมีกายภาพของปลาร้าที่หมักในช่วงเดือนที่ 5 7 และ 8
ชื่อนิสิตในโครงการ นายเอกรัฐ ศศิพงศ์ไพโรจน์ เลขประจำตัว 593 31169 23
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรินทร ชวศิริ
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีชา ภูวิไพรศิริศาล
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2562

## บทคัดย่อ

ปลาร้าเป็นเครื่องปรุงที่สำคัญ ผลิตโดยการหมักปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ กับเกลือ และส่วนผสมอื่น ๆ ปลาร้านิยมมาใช้ในการเพิ่มรสชาติอาหารไทยหลายชนิด เช่น ส้มตำ การที่ปลาร้าสามารถเพิ่มรสชาติอาหารได้เนื่องจากมีสารโคคูมิ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารกลุ่มกลูตามิลเปปไทด์ โดยโครงการนี้จะทำการออกแบบและทำการหมักปลาร้า โดยมีการปรับเปลี่ยนชนิดของปลา สูตรของการหมัก และระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก พร้อมกับตรวจวัดค่าสมบัติเคมีกายภาพ 4 อย่าง ได้แก่ ค่าพีเอช ปริมาณเกลือ ค่าความชื้น และค่าน้ำอิสระ โดยจากการทดลองพบว่าช่วงระยะเวลาในการหมักเดือน 5 7 และ 8 มีผลของค่าพีเอชที่อยู่ในช่วง 4.66 – 7.47 เหมือนกับปลาร้าที่มีค่ากลูตามิลเปปไทด์ที่มีปริมาณสูง นอกจากนี้ค่าของน้ำอิสระมีแนวโน้วลดลง ในขณะที่ความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้น ดังนั้นค่าความเป็นกรดของปลาร้าสามารถใช้เป็นตัวชี้บอกถึงการเพิ่มขึ้นของสารโคคูมิ

คำสำคัญ: กระบวนการหมัก สารโคคูมิ กลูตามิลเปปไทด์

Project Title Physicochemical Properties of Fermented Freshwater Fish (Pla-ra) at Month 5, 7 and 8

Student Name Eakkarat Sasipongpiroj Student ID 593 31169 23

Advisor Name Assistance Professor Warinthorn Chavasiri, Ph.D.

Co-advisor Name Associate Professor Preecha Phuwapraisirisan, Ph.D.

Chemistry Department, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2019

## Abstract

Pla-ra is an important condiment prepared by fermentation of raw freshwater fish with salt and other ingredients. It is often used to boost the taste of many Thai dishes such as Som-tum (a spicy papaya salad). The ability of Pla-ra to boost the taste is caused by the presence of Kokumi substances, especially glutamyl peptides. In this project, fermentation of Pla-ra has been designed and achieved by varying type of fish, fermentation receipt and time of fermentation, along with monitoring four physicochemical properties namely pH, salt content, moisture content and water activity. Monitoring physicochemical properties of Pla-ra fermented at month 5, 7 and 8 suggest that pH value of 4.66 – 7.47 is in similar range of Pla-ra samples that rich in glutamyl peptides. In addition, the decrease in water activity and increase in salt level in Pla-ra were also observed. Therefore, a particular acidic range of pH could be an indicator of Pla-ra rich in kokumi substance.

Keywords: Fermentation, Kokumi Substances, Glutamyl peptides

# กิตติกรรมประกาศ

โครงการและรายงานฉบับนี้จะสำเร็จลุล่วงไม่ได้ หากไม่ได้ความกรุณาอย่างสูงขอขอบพระคุณ อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรินทร ชวศิริ และ รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีชา ภูวไพรศิริศาล ที่ให้ความกรุณา ความช่วยเหลือ ถ่ายทอดความรู้ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการทำโครงการและรายงานฉบับนี้

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สุรชัย พรภคกุล และรองศาสตราจารย์ ดร. เฟื่องฟ้า อุ่นอบ ที่กรุณาเสียสละเวลาอันมีค่าให้เกียรติเป็นประธานกรรมการ และกรรมการสอบรายงานในครั้งนี้ รวมถึงให้คำแนะนำและข้อสงสัย ตลอดจนตรวจสอบแก้ไขให้รายงานฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ นายอภินิหาร ผิวพรรณ นักวิจัยและพัฒนา จากบริษัท เบทาโกร จำกัด (มหาชน) ที่ได้ถ่ายทอดประสบการณ์ ความรู้ รวมถึงเทคนิคต่าง ๆ ในการใช้เครื่องมือในสาขาเทคโนโลยีการอาหาร ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการทำรายงานฉบับนี้ และขอขอบคุณทางบริษัท เบทาโกร จำกัด (มหาชน) ที่ให้โอกาสในการฝึกงานโครการสหกิจ ได้มีโอกาสทำงานหลาย ๆ อย่างที่ไม่เคยทำ ยกตัวอย่างเช่น การรวมงานกับนักวิจัยจากเยอรมัน และได้ทำงานร่วมกับนักเรียนแลกเปลี่ยนจากประเทศอินโดนิเซีย ที่ทำให้ได้ฝึกความรู้เรื่องของภาษา

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณเพื่อน ๆ จากภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทุกคน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง นางสาวสุชัญญา ลาภประเสริฐมีสุข และนายธีรเจต ตุลานนท์ ที่ให้กำลังใจ คอยช่วยเหลือจนโครงการนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| ปกใน | ก |
| หน้าอนุมัติ | ข |
| บทคัดย่อภาษาไทย | ค |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | ง |
| กิตติกรรมประกาศ | จ |
| สารบัญ | ฉ |
| สารบัญ (ต่อ) | ช |
| สารบัญกราฟ | ซ |
| สารบัญตาราง | ฌ |
| คำอธิบายสัญลัญลักษณ์ | ญ |
| **บทที่ 1** บทนำ | 1 |
| 1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจของโครงการ | 1 |
| 1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง | 4 |
| 1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการ | 7 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 7 |
| **บทที่ 2** วิธีการทดลอง | 8 |
| 2.1 ปลาร้าตัวอย่าง | 8 |
| 2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทดลอง | 8 |
| 2.3 สารเคมีที่ใช้ | 9 |
| 2.4 ขั้นตอนการทดลอง | 9 |
| 2.5 เทคนิคที่ใช้ในการทดลอง | 10 |
| 2.5.1 Mohr's Method | 10 |
| 2.5.2 Water activity | 11 |
| 2.5.3 Duncan Test | 11 |
| **บทที่ 3** การวิเคราะห์และอภิปรายผล | 13 |
| 3.1 ความแตกต่างต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่าพีเอช | 13 |
| 3.2 ความแตกต่างต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อความเข้มข้นของเกลือ | 17 |
| 3.3 ความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่าความชื้น | 21 |
| 3.4 ความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่าน้ำอิสระ | 24 |

## สารบัญ (ต่อ)


| | หน้า |
|---|---|
| **บทที่ 4** สรุปผลการทดลอง | 28 |
| 4.1 สรุปผลการทดลอง | 28 |
| 4.2 ข้อเสนอแนะ | 28 |
| เอกสารอ้างอิง | 29 |
| ประวัติผู้วิจัย | 31 |

# สารบัญกราฟ

**หน้า**

**กราฟที่ 1.1** ค่าพีเอชของแต่ละกระบวนการหมักของปลาส้ม 4
**กราฟที่ 1.2** จำนวนของแบคทีเรียที่มีการผลิตกรดแลคติกของแต่ละกระบวนการหมักของปลาส้ม 5
**กราฟที่ 3.1** ค่าพีเอชของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ 25
**กราฟที่ 3.2** ค่าพีเอชของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและข้าวคั่ว 25
**กราฟที่ 3.3** ค่าพีเอชของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและรำข้าว 25
**กราฟที่ 3.4** ค่าพีเอชของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว 26
**กราฟที่ 3.5** ความเข้มข้นของเกลือแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ 29
**กราฟที่ 3.6** ความเข้มข้นของเกลือแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและข้าวคั่ว 29
**กราฟที่ 3.7** ความเข้มข้นของเกลือแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและรำข้าว 29
**กราฟที่ 3.8** ความเข้มข้นของเกลือแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว 30
**กราฟที่ 3.9** ค่าความชื้นของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ 32
**กราฟที่ 3.10** ค่าความชื้นของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและข้าวคั่ว 33
**กราฟที่ 3.11** ค่าความชื้นของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและรำข้าว 33
**กราฟที่ 3.12** ค่าความชื้นของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว 33
**กราฟที่ 3.13** ค่าน้ำอิสระของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ 36
**กราฟที่ 3.14** ค่าน้ำอิสระของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและข้าวคั่ว 36
**กราฟที่ 3.15** ค่าน้ำอิสระของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและรำข้าว 36
**กราฟที่ 3.16** ค่าน้ำอิสระของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว 37

# สารบัญตาราง


**หน้า**

**ตารางที่ 1.1** สมบัติเคมีกายภาพของตัวอย่างปลาร้าจากแหล่งต่าง ๆ 2

**ตารางที่ 1.2** ปริมาณสารกลุ่ม γ-glutamyl peptides ในตัวอย่างปลาร้าจากแหล่งต่าง ๆ 3

**ตารางที่ 1.3** ค่าความเข้มข้นเกลือของปลาส้มของระยะเวลาการหมัก 0 – 8 วัน 4

**ตารางที่ 1.4** สมบัติเคมีกายภาพของน้ำปลาแต่ละยี่ห้อ หลายประเทศ 5

**ตารางที่ 1.5** ปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly ของแต่ละของแต่ละยี่ห้อ 6

**ตารางที่ 1.6** ค่าสมัติเคมีกายภาพของซอสถั่วเหลืองแต่ละยี่ห้อ 6

**ตารางที่ 1.7** ปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly ของแต่ละของแต่ละยี่ห้อ 6

**ตารางที่ 3.1** ความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่าพีเอช 16

**ตารางที 3.2** ความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อความเข้มข้นของเกลือ 20

**ตารางที่ 3.3** ความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่าความชื้น 23

**ตารางที่ 3.4** ความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่าน้ำอิสระ 27

## คำอธิบายสัญลักษณ์

| | |
|---|---|
| γ-Glu-Ala | γ-Glutamyl-Alanine |
| γ-Glu-Val | γ-Glutamyl-Valine |
| γ-Glu-Cys | γ-Glutamyl-Cysteine |
| γ-Glu-Val-Gly | γ-Glutamyl-Valyl-Glycine |

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจของโครงการ

ปลาร้า (fermented freshwater fish) อาหารหลักที่มีการบริโภคกันแพร่หลายในประเทศไทย ที่จะนำปลาน้ำจืดขนาดเล็ก เช่น ปลาสร้อยขาว หรือปลากระดี่ มาทำการหมักด้วยรำข้าว ข้าวคั่ว และเกลือ ซึ่งจะมีระยะเวลาการหมัก 3 ถึง 6 เดือน ปลาร้าถูกใช้ในการปรุงอาหารเพื่อเพิ่มรสชาติของอาหาร เช่น ส้มตำ อีกทั้งยังสามารถรับประทานเป็นเครื่องเคียงน้ำพริกได้ การที่ปลาร้าสามารถเพิ่มรสชาติของอาหารได้เป็นผลมาจากสารโคคูมิ[1]

สารโคคูมิ (kokumi substances) เป็นสารที่ไม่มีรสชาติ แต่จะไปส่งเสริม 5 รสชาติหลัก ได้แก่ รสเปรี้ยว รสหวาน รสเค็ม รสขม และรสอูมามิ ซึ่งจะเน้นไปที่รสหวาน รสเค็ม และรสอูมามิ และยังเพิ่มรสชาติที่ไม่สามารถอธิบายได้ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ความรู้สึกเต็มภายในปาก (mouthfulness) ความเข้มข้นของกลิ่นรส (thickness) และความต่อเนื่องของรสชาติ (continuity)[2] สารโคคูมิเป็นสารกลุ่ม ได หรือไตรเปปไทด์ ตัวอย่างของสารโคคูมิที่มีการศึกษาอย่างแพร่หลาย คือ สารกลุ่ม γ-glutamyl peptides เช่น γ-Glu-Ala, γ-Glu-Val, γ-Glu-Cys และ γ-Glu-Val-Gly เป็นต้น ซึ่งจากงานวิจัยพบว่าสารกลุ่ม γ-glutamyl peptides จะไปทำหน้าที่กระตุ้น calcium-sensing receptor ใน taste cells ที่อยู่ที่ลิ้นทำให้สามารถรับรสชาติได้ดียิ่งขึ้น [3] และพบว่าเมื่อนำสาร γ-Glu-Val-Gly ไปทดสอบทางประสาทสัมผัส (sensory test) จะกระตุ้นประสาทสัมผัสได้ในปริมาณสารที่น้อย คือ 66 μmol/kg เมื่อเทียบกับสารโคคูมิตัวอื่นที่ใช้สารถึง 1,000 μmol/kg[4] ขึ้นไป ดังนั้น γ-Glu-Val-Gly จึงเป็นสารโคคูมิที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มรสชาติอาหารมากที่สุดเมื่อเทียบกับสารโคคูมิอื่น ๆ และเป็นที่สนใจในการตรวจสอบ สารโคคูมิจะพบมากในอาหารและเครื่องปรุงที่ได้จากกระบวนการบ่มหรือหมักโปรตีน เช่น น้ำปลา[5] ซอสถั่วเหลือง[6] และกะปิ[7] เป็นต้น กระบวนการดังกล่าวจะย่อยโปรตีนให้เป็นเปปไทด์ที่มีสายสั้นลงรวมทั้ง γ-Glu-Val-Gly

เมื่อไม่นานมานี้ อภิหาร ผิวพรรณ และคณะ (2019) ได้ศึกษาปริมาณ γ-glutamyl peptides จากปลาร้าที่เก็บจากแหล่งผลิตต่าง ๆ ที่มีชื่อเสียงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ซึ่งมีปลาหลากหลายชนิดที่ใช้ในการหมัก เช่น ปลาสร้อย ปลากระดี่ และปลาช่อน ใช้ระยะเวลาการหมัก 3 ถึง 12 เดือน จำนวน 10 ตัวอย่าง โดยแต่ละตัวอย่างจะถูกทำสัญลักษณ์ตัวอักษรตั้งแต่ A ถึง J จากการตรวจเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า กลุ่มแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (lactic acid bacteria) เช่น *Lactobacillus*, *Weissella*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Tetragenococcus*, *Aerococcus* และ *Leuconostoc* เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่เมื่อมีปริมาณเกลือที่เหมาะสม จะมีการผลิตกรดแลคติก ทำให้มีค่าพีเอชที่ลดต่ำลง ซึ่งแบคทีเรีย *Tetragenococcus* sp. และ *Lentibacillus* sp. นี้จะสัมพันธ์กับปริมาณของ γ-Glu-Val-Gly ซึ่งมีประสิทธิภาพในการเพิ่มรสชาติของอาหารสูงสุด จากนั้นนำตัวอย่างปลาร้ามาทำการตรวจวัดทางสมบัติเคมีกายภาพ

(physicochemical properties) ได้แก่ ค่าพีเอชซึ่งอยู่ในช่วง 4.4 – 7.6 ความเข้มข้นของเกลือ NaCl มีค่าอยู่ในช่วง 15.6% – 33.7% โดยมวล และค่าน้ำอิสระอยู่ในช่วง 0.83 – 0.90[1] ดังตาราง 1.1

**ตารางที่ 1.1** สมบัติเคมีกายภาพของตัวอย่างปลาร้าจากแหล่งต่าง ๆ[1]

| Code | pH | Salt content (g/100g) | Water Activity; $a_w$ |
|---|---|---|---|
| A | 5.0 | 33.7 ± 1.4 | 0.88 |
| B | 6.5 | 27.4 ± 0.1 | 0.89 |
| C | 6.1 | 21.3 ± 0.5 | 0.86 |
| D | 4.4 | 25.3 ± 0.1 | 0.86 |
| E | 4.9 | 19.3 ± 0.1 | 0.83 |
| F | 5.0 | 19.1 ± 0.7 | 0.83 |
| G | 5.6 | 16.2 ± 0.4 | 0.88 |
| H | 7.2 | 15.6 ± 0.5 | 0.89 |
| I | 7.6 | 33.3 ± 2.0 | 0.83 |
| J | 5.3 | 29.0 ± 0.0 | 0.90 |

และจากการตรวจวัด γ-glutamyl peptides พบว่าปลาร้าตัวอย่าง B และ E มีปริมาณ γ-Glu-Val-Gly มากที่สุดคือ 2.47 ± 0.07 μmol/kg และ 2.06 ± 1.24 μmol/kg ตามลำดับ ดังตาราง 1.2 และเมื่อดูสมบัติเคมีกายภาพของปลาร้าตัวอย่างที่ B และ E จะพบว่ามีค่าพีเอช 6.5 และ 4.9 ความเข้มข้นเกลือ 27.4% และ 19.3% โดยมวล ค่าน้ำอิสระ 0.89 และ 0.83 ตามลำดับ ดังตารางที่ 1.1

จึงเป็นที่มาของโครงการ ที่จะต่อยอดโครงการของอภินิหาร ผิวพรรณ โดยการออกแบบสูตรการหมักของปลาร้าที่ปัจจัยแตกต่างกัน ได้แก่ ชนิดของปลา สูตรของการหมัก และระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก และนำปลาร้ามาตรวจสมบัติเคมีกายภาพ 4 อย่าง ได้แก่ ค่าพีเอช ความเข้มข้นของเกลือ ค่าความชื้น และค่าน้ำอิสระ ที่สามารถตรวจได้ง่าย และสามารถนำไปหาความสัมพันธ์ของปริมาณสารโคคูมิ เพื่อให้ได้สูตรของปลาร้าที่มีปริมาณสารโคคูมิสูงสุด

**ตารางที่ 1.2** ปริมาณสารกลุ่ม γ-glutamyl peptides ในตัวอย่างปลาร้าจากแหล่งต่าง ๆ[1]

| Glutamyl peptides | Amount of glutamyl peptides in the samples (μmol/kg) | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J |
| γ-Glu-Gly | 0.00±0.00 | 0.60±0.04 | 8.08±10.68 | 0.04±0.01 | 0.32±0.04 | 0.37±0.01 | 0.10±0.01 | 0.06±0.05 | 0.06±0.00 | 3.88±1.55 |
| γ-Glu-Ala | 0.00±0.00 | 0.36±0.10 | 0.00±0.00 | 0.20±0.01 | 0.78±0.11 | 0.42±0.05 | 0.09±0.00 | 0.00±0.00 | 0.07±0.01 | 0.00±0.00 |
| γ-Glu-Val | 0.00±0.00 | 0.06±0.01 | 2.16±3.03 | 0.03±0.00 | 0.05±0.01 | 0.12±0.02 | 0.01±0.00 | 0.01±0.00 | 0.04±0.00 | 0.05±0.02 |
| γ-Glu-Ile | 0.00±0.00 | 0.05±0.00 | 0.01±0.01 | 0.04±0.01 | 0.04±0.00 | 0.09±0.06 | 0.00±0.00 | 0.01±0.00 | 0.02±0.00 | 0.00±0.00 |
| γ-Glu-Gln | 0.00±0.00 | 1.63±1.54 | 0.01±0.00 | 0.89±0.40 | 0.55±0.31 | 0.34±0.02 | 0.31±0.12 | 0.10±0.00 | 0.03±0.00 | 0.40±0.05 |
| γ-Glu-Glu | 0.00±0.00 | 0.14±0.23 | 0.01±0.01 | 0.43±0.21 | 2.48±1.16 | 1.42±0.28 | 1.54±0.43 | 0.36±0.19 | 0.95±0.44 | 0.23±0.01 |
| γ-Glu-Met | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.17±0.09 | 0.01±0.00 | 0.08±0.03 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.28±0.11 |
| γ-Glu-His | 0.00±0.00 | 0.21±0.02 | 0.00±0.00 | 0.01±0.00 | 0.28±0.03 | 0.11±0.04 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.08±0.07 |
| γ-Glu-Phe | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.07±0.01 | 0.02±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 1.20±0.49 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| γ-Glu-Val-Gly | 0.00±0.00 | 2.47±0.07 | 0.03±0.01 | 0.01±0.00 | 2.06±1.24 | 0.06±0.02 | 0.13±0.09 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.01±0.00 |
| γ-Glu-Tyr | 0.00±0.00 | 0.02±0.00 | 0.03±0.01 | 0.01±0.00 | 0.03±0.00 | 0.03±0.01 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 1.08±0.43 |
| γ-Glu-Trp | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 | 0.00±0.00 |
| α-Glu-Gly | 0.01±0.01 | 0.00±0.00 | 9.32±1.30 | 0.06±0.01 | 3.61±0.81 | 0.54±0.03 | 0.19±0.01 | 0.00±0.00 | 2.29±0.94 | 0.44±0.11 |
| α-Glu-Ala | 0.00±0.00 | 0.31±0.14 | 0.24±0.16 | 1.60±0.69 | 0.53±0.06 | 1.13±0.07 | 0.09±0.02 | 0.05±0.01 | 0.18±0.06 | 0.26±0.02 |
| α-Glu-Val | 0.00±0.00 | 0.02±0.00 | 0.02±0.00 | 0.26±0.02 | 0.16±0.08 | 0.32±0.02 | 0.04±0.00 | 0.02±0.00 | 1.13±0.56 | 0.01±0.00 |
| α-Glu-Thr | 0.00±0.00 | 0.75±0.01 | 0.02±0.02 | 1.83±0.03 | 0.09±0.46 | 0.01±0.84 | 0.46±0.00 | 0.04±0.05 | 0.00±0.55 | 0.13±0.19 |
| α-Glu-Asp | 0.00±0.00 | 0.01±0.00 | 0.02±0.01 | 0.03±0.00 | 0.46±0.15 | 0.84±0.09 | 0.00±0.00 | 0.05±0.01 | 0.55±0.13 | 0.00±0.00 |
| α-Glu-Glu | 0.00±0.00 | 3.95±1.49 | 1.47±0.40 | 0.41±0.21 | 0.55±0.34 | 0.07±0.00 | 0.34±0.16 | 0.02±0.01 | 0.00±0.00 | 0.03±0.00 |

## 1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

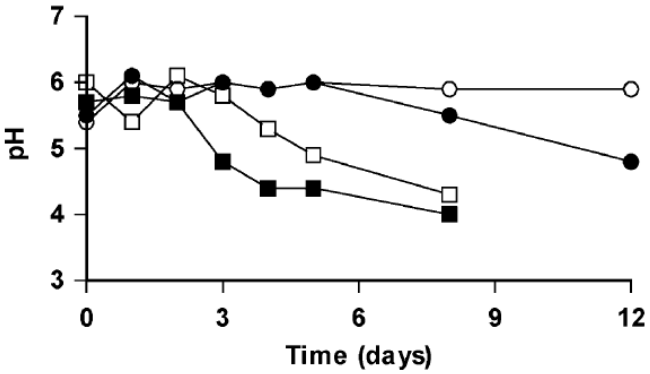
จากการศึกษาปริมาณสารกลุ่มโคคูมิ ซึ่งมักจะศึกษาสาร γ-Glu-Val-Gly เนื่องจากมีประสิทธิภาพสูงสุดในการเพิ่มรสชาติอาหาร ได้มีงานวิจัยที่ศึกษาปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly และศึกษาสมบัติเคมีกายภาพ ได้แก่ค่าพีเอช ความเข้มข้น และค่าน้ำอิสระที่ส่งผลต่อกระบวนการหมักและการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ คือ แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก ได้ผลดังนี้

Christine Paludan-Müller และคณะ (2001) ได้ศึกษาเกี่ยวกับความเข้มข้นของเกลือที่มีผลต่อการเจริญเติบต่อของจุลินทรีย์และกระบวนการหมักในปลาส้ม โดยใช้ความเข้มข้นของเกลืออยู่ในช่วง 6% - 11% โดยน้ำหนัก ทั้งใช้คาร์โบไฮเดรตและไม่ใช้คาร์โบไฮเดรตในการหมัก พบว่าเมื่อการใช้ความเข้มข้นของเกลือที่มากนั้นจะทำให้การเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติคนั้นหยุดลงซึ่งสังเกตได้จากค่าพีเอชนั้นมีค่าสูงและกลุ่มของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกที่น้อย ส่วนการมีข้าวสามารถทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีกว่า ดังตารางที่ 1.3 และ กราฟที่ 1.1 และ 1.2[8]

**ตารางที่ 1.3** ค่าความเข้มข้นเกลือของปลาส้มที่ใช้ระยะเวลาการหมัก 0 – 8 วัน[8]

| Batch of *plaa-som* | | %Salt (w/w)[a] at day | | | Average, % |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 | 5 | 8 | |
| Low-salt | with rice | 6.8 | 5.8 | 5.1 | 6 |
| | without rice | 7.5 | 7.1 | 6.2 | 7 |
| High-salt | with rice | 9.8 | 9.1 | 8.9 | 9 |
| | without rice | 11.5 | 10.5 | 10.5 | 11 |

[a] Measured in the syrup.



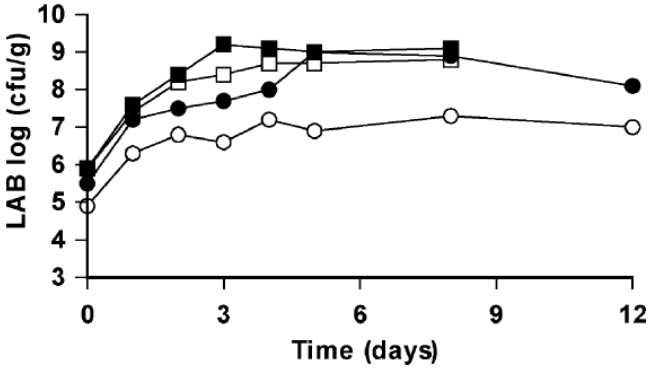

**กราฟที่ 1.1** ค่าพีเอชของแต่ละกระบวนการหมักของปลาส้ม[8]

โดย ■ หมักด้วยเกลือ 6% โดยน้ำหนัก และมีข้าว

□ หมักด้วยเกลือ 7% โดยน้ำหนัก ไม่มีข้าว

● หมักด้วยเกลือ 9% โดยน้ำหนัก และมีข้าว

○ หมักด้วยเกลือ 11% โดยน้ำหนัก ไม่มีข้าว




**กราฟที่ 1.2** จำนวนของแบคทีเรียที่มีการผลิตกรดแลคติกของแต่ละกระบวนการหมักของปลาส้ม[8]

โดย ■ หมักด้วยเกลือ 6% โดยน้ำหนัก และมีข้าว

□ หมักด้วยเกลือ 7% โดยน้ำหนัก ไม่มีข้าว

● หมักด้วยเกลือ 9% โดยน้ำหนัก และมีข้าว

○ หมักด้วยเกลือ 11% โดยน้ำหนัก ไม่มีข้าว

Motonaka Kuroda และคณะ (2013) ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณของสาร γ-Glu-Val-Gly ในน้ำปลาของแต่ละยี่ห้อในหลายประเทศ โดยค่าสมบัติเคมีกายภาพของน้ำปลาแต่ละยี่ห้อมีความเข้มข้นของเกลืออยู่ในช่วง 16.6% - 25.0% โดยน้ำหนัก และมีค่าความชื้น 59.3% - 71.9% ส่งผลให้มีค่าของ γ-Glu-Val-Gly อยู่ในช่วง 0.04 – 1.26 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ดังตาราง 1.4 และ 1.5[5]

**ตารางที่ 1.4** สมบัติเคมีกายภาพของน้ำปลาแต่ละยี่ห้อ หลายประเทศ[5]

| samples | country of origin | raw materials | contents of general components (g/100g) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | moisture | crude protein | crude fat | ash | sodium | NaCl[a] |
| *Nampra* A | Thailand | anchovy, salt | 61.2 | 10.5 | <0.1 | 22.1 | 8.22 | 20.9 |
| *Nampra* B | Thailand | anchovy, salt, sugar | 63.4 | 10.4 | <0.1 | 21.3 | 7.64 | 19.4 |
| *Nampra* C | Thailand | anchovy, salt | 62.8 | 13.5 | <0.1 | 22.9 | 8.44 | 21.5 |
| *Nampra* D | Thailand | anchovy, salt, sugar | 71.9 | 8.0 | <0.1 | 17.5 | 6.51 | 16.6 |
| *Nampra* E | Thailand | anchovy, salt, sugar | 61.7 | 10.0 | <0.1 | 22.3 | 8.11 | 20.7 |
| *Nuoc Mum* A | Vietnam | anchovy, salt | 59.7 | 18.6 | <0.1 | 21.1 | 7.73 | 19.7 |
| *Nuoc Mum* B | Vietnam | anchovy, salt | 59.6 | 18.3 | <0.1 | 21.4 | 7.89 | 20.1 |
| *Nuoc Mum* C | Vietnam | anchovy, salt | 59.4 | 18.4 | <0.1 | 21.4 | 7.98 | 20.3 |
| *Nuoc Mum* D | Vietnam | anchovy, salt | 59.3 | 18.2 | <0.1 | 21.8 | 7.92 | 20.2 |
| *Nuoc Mum* E | Vietnam | anchovy, salt | 59.7 | 17.9 | <0.1 | 21.8 | 8.02 | 20.4 |
| *Patis* | Philippines | mackerel, salt | 69.1 | 0.9 | <0.1 | 24.8 | 9.80 | 25.0 |
| *Yu-lu* A | China | fish, salt | 67.7 | 8.6 | <0.1 | 23.5 | 8.58 | 21.8 |
| *Yu-lu* B | China | fish, salt | 68.5 | 7.1 | <0.1 | 24.4 | 9.24 | 23.5 |
| *Myoruchi* extract | Korea | sardine, salt | 69.4 | 6.3 | <0.1 | 23.4 | 8.51 | 21.7 |
| *Kanari* extract | Korea | sand lance, salt | 68.8 | 7.5 | <0.1 | 23.2 | 8.54 | 21.7 |
| *Shottsuru* A | Japan | sand fish, salt | 67.5 | 9.0 | <0.1 | 22.9 | 8.56 | 21.8 |
| *Shottsuru* B | Japan | sand fish, salt | 67.6 | 8.6 | <0.1 | 23.0 | 8.61 | 21.9 |
| *Yoshiru* | Japan | sardine, salt | 66.3 | 9.2 | <0.1 | 23.1 | 8.60 | 21.9 |
| *Ikanago-shoyu* | Japan | sand lance, salt | 63.5 | 13.0 | <0.1 | 22.0 | 8.15 | 20.8 |
| *Garum* | Italy | anchovy, salt | 66.1 | 9.1 | <0.1 | 23.4 | 8.73 | 22.2 |

[a]NaCl content was calculated from the sodium content.

**ตารางที่ 1.5** ปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly ของแต่ละของแต่ละยี่ห้อ[5]

| samples | country of origin | contents of γ-Glu-Val-Gly (mg/dL) |
|---|---|---|
| *Nampra* A | Thailand | 0.27 |
| *Nampra* B | Thailand | 0.12 |
| *Nampra* C | Thailand | 0.31 |
| *Nampra* D | Thailand | 0.20 |
| *Nampra* E | Thailand | 0.23 |
| *Nuoc Mum* A | Vietnam | 1.20 |
| *Nuoc Mum* B | Vietnam | 1.26 |
| *Nuoc Mum* C | Vietnam | 1.23 |
| *Nuoc Mum* D | Vietnam | 1.06 |
| *Nuoc Mum* E | Vietnam | 1.04 |
| *Patis* | Philippines | <LOQ[a] |
| *Yu-lu* A | China | <LOQ |
| *Yu-lu* B | China | 0.11 |
| *Myoruchi* extract | Korea | <LOQ |
| *Kanari* extract | Korea | <LOQ |
| *Shottsuru* A | Japan | 0.28 |
| *Shottsuru* B | Japan | <LOQ |
| *Yoshiru* | Japan | <LOQ |
| *Ikanago-shoyu* | Japan | 0.05 |
| *Garum* | Italy | 0.04 |

[a]LOQ: limit of quantification.

อีกทั้ง Motonaka Kuroda และคณะ (2013) ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณของสาร γ-Glu-Val-Gly ในซอสถั่วเหลืองของแต่ละยี่ห้อ โดยมีค่าสมบัติเคมีกายภาพของซอสถั่วเหลืองแต่ละยี่ห้อมีความเข้มข้นของเกลืออยู่ในช่วง 13.4% - 16.3% โดยน้ำหนัก และมีค่าความชื้น 65.4% - 70.7% ส่งผลให้มีค่าของ γ-Glu-Val-Gly อยู่ในช่วง 0.15 – 0.61 มิลลิกรัม/เดซิลิตร[6] ดังตาราง 1.6 และ 1.7

**ตารางที่ 1.6** ค่าสมัติเคมีกายภาพของซอสถั่วเหลืองแต่ละยี่ห้อ[6]

| Samples | Manufacturer | Grade | Raw materials | Moisture | Protein | Crude fat | Ash | Sodium | NaCl[a] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Dark-coloured soy sauce A | P | Super | Soybean, wheat, salt | 67.9 | 8.2 | <0.1 | 15.2 | 5.36 | 14.1 |
| Dark-coloured soy sauce B | Q | Super | Soybean, wheat, salt | 67.6 | 8.1 | <0.1 | 14.6 | 5.13 | 13.5 |
| Dark-coloured soy sauce C | Q | Ordinary | Defatted soybean, wheat, salt, soybean, ethanol | 69.1 | 7.6 | <0.1 | 14.5 | 5.11 | 13.6 |
| Dark-coloured soy sauce D | R | Ordinary | Defatted soybean, wheat, salt, soybean, ethanol | 68.6 | 7.6 | <0.1 | 15.3 | 5.48 | 14.3 |
| Dark-coloured soy sauce E | Q | Ultrasuper | Defatted soybean, wheat, salt, soybean | 65.4 | 9.2 | <0.1 | 14.6 | 5.17 | 13.4 |
| Dark-coloured soy sauce F | S | Super | Soybean, wheat, salt | 69.4 | 8.1 | <0.1 | 15.0 | 5.32 | 13.9 |
| Light-coloured soy sauce A | T | Ordinary | Salt, soybean, wheat, ethanol | 68.6 | 6.1 | <0.1 | 17.2 | 6.32 | 16.3 |
| Light-coloured soy sauce B | P | Ordinary | Soybean, wheat, rice, salt, ethanol | 70.7 | 5.8 | <0.1 | 16.6 | 6.09 | 15.8 |
| White soy sauce | T | Ordinary | Wheat, soybean, salt, ethanol | 66.9 | 3.3 | <0.1 | 15.5 | 5.73 | 15.1 |

[a] NaCl content was calculated from the sodum content.

**ตารางที่ 1.7** ปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly ของแต่ละของแต่ละยี่ห้อ[6]

| Samples | Manufacturer | Grade | Contents of γ-Glu-Val-Gly (mg/dl) |
|---|---|---|---|
| Dark-coloured soy sauce A | P | Super | 0.52 |
| Dark-coloured soy sauce B | Q | Super | 0.53 |
| Dark-coloured soy sauce C | Q | Ordinary | 0.43 |
| Dark-coloured soy sauce D | R | Ordinary | 0.31 |
| Dark-coloured soy sauce E | Q | Ultrasuper | 0.61 |
| Dark-coloured soy sauce F | S | Super | 0.36 |
| Light-coloured soy sauce A | T | Ordinary | 0.37 |
| Light-coloured soy sauce B | P | Ordinary | 0.34 |
| White soy sauce | T | Ordinary | 0.15 |

จากงานวิจัยดังกล่าว สาร γ-Glu-Val-Gly เป็นที่สนใจมากในด้านเทคโนโลยีการอาหาร เพราะเป็นสารที่สามารถช่วยเพิ่มรสชาติของอาหารได้ จึงได้ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ และสมบัติเคมีกายภาพที่มีผลต่อปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly ซึ่งปัจจัยหลักจะมาจากกระบวนการหมัก ที่เกิดจากแบคทีเรียที่มีการผลิตกรดแลคติก ทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจในการตรวจวัดค่าสมบัติเคมีกายภาพของปลาร้าที่มีกระบวนการหมัก โดยนำค่าสมบัติเคมีกายภาพดังกล่าว ไปเพื่อใช้ในงานวิจัยนายอภินิหาร ผิวพรรณ และคณะ ต่อไป

**1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการ**

ทำการตรวจวัดลักษณะทางกายภาพของปลาร้า ได้แก่ การตรวจวัดค่าพีเอช ความเข้มข้นของเกลือ การหาปริมาณความชื้น และการหาปริมาณของน้ำอิสระ เพื่อหาความสัมพันธ์กับปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly

**1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

ได้ทราบถึงปัจจัยต่อไปนี้คือ ชนิดของปลา สูตรการหมัก และระยะเวลาการหมัก มีผลต่อปริมาณสารโคคูมิอย่างไร ซึ่งเป็นต้นแบบในการที่จะไปผลิตปลาร้าที่มีปริมาณสารโคคูมิสูง

# บทที่ 2
# วิธีการทดลอง

## 2.1 ปลาร้าตัวอย่าง

ปลาร้าที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ เป็นปลาร้าที่ได้จากการออกแบบการหมัก ซึ่งจะมีการหมักใส่ไห และมีการปิดไหด้วยการห่อพลาสติกเพื่อควบคุมคุณภาพ โดยมีปัจจัยที่แตกต่างกันดังนี้

1. ระยะเวลาการหมักทั้ง 9 ระยะ ได้แก่ การหมักระยะเวลา 1 3 5 7 8 9 10 11 และ 12 เดือน โดยในโครงการนี้จะเริ่มนับเดือนที่ 1 คือ มกราคม 2562 ซึ่งในโครงการสหกิจศึกษานี้จะทำการ ตรวจวัดสมบัติเคมีกายภาพของปลาที่มีระยะเวลาการหมัก 5 7 และ 8 เดือน

2. ชนิดของปลาแบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ ปลาหมอ ปลากระดี่ และทั้งปลาหมอและกระดี่ในอัตรา 1:1 ตามลำดับ โดยปลาแต่ละชนิดจะมีกระบวนการทำความสะอาด คือ การล้าง ขอดเกล็ด ควักไส้ และตัดหัว

3. สูตรการหมักแบ่งออกเป็น 4 สูตร ได้แก่

3.1 หมักด้วยเกลือ จะทำการเตรียมสารละลายเกลือ โดยใช้เกลือหนัก 150 กรัม ในน้ำปริมาตร 720 มิลลิลิตร (สารละลายเกลือเข้มข้น 20% โดยมวล/ปริมาตร) และใช้น้ำหนักปลาประมาณ 600 กรัม หรือ ปลา:เกลือ ในอัตราส่วน 4:1 โดยน้ำหนัก เพื่อใช้เป็นตัวควบคุม (control)

3.2 หมักด้วยเกลือและข้าวคั่ว จะทำการเตรียมคล้ายกับการหมักด้วยเกลือ แต่จะเติมข้าวคั่วหนักประมาณ 120 กรัม (สารละลายที่มีข้าวคั่ว 16% โดยมวล/ปริมาตร) หรือ ปลา:เกลือ:ข้าวคั่ว ในอัตราส่วน 4:1:1 โดยน้ำหนัก

3.3 หมักด้วยเกลือและรำข้าว จะทำการเตรียมคล้ายกับการหมักด้วยเกลือ แต่จะเติมรำข้าวหนักประมาณ 120 กรัม (สารละลายที่มีรำข้าว 16% โดยมวล/ปริมาตร) หรือ ปลา:เกลือ:รำข้าว ในอัตราส่วน 4:1:1 โดยน้ำหนัก

3.4 หมักด้วยเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว จะทำการเตรียมคล้ายกับการหมักด้วยเกลือ แต่จะเติมข้าวคั่วหนัก 60 กรัม และเติมรำข้าวหนัก 60 กรัม (สารละลายที่มีข้าวคั่ว 8% โดยมวล/ปริมาตร และมีรำข้าว 8% โดยมวล/ปริมาตร) หรือ ปลา:เกลือ:ข้าวคั่ว:รำข้าว ในอัตราส่วน 4:1:0.5:0.5 โดยน้ำหนัก

ซึ่งการหมักปลาร้าได้รับความอนุเคราะห์ด้านสถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์ และกำลังคนจากบริษัท สยามพรีเสิร์ฟฟู้ดส์ จำกัด ตำบลเจ็ดเสมียน อำเภอโพธาราม จังหวัดราชบุรี

## 2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทดลอง

1. บีกเกอร์ (beaker)
2. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)

3. กรวยแก้ว (glass funnel)
4. หลอดหยดสาร (dropper)
5. กระบอกตรวง (cylinder)
6. ขวดกำหนดปริมาตร (volumetric flask)
7. ขาตั้งและแคลมป์ (stand & clamp)
8. บิวเรตต์ (burette)
9. ปิเปตต์ (pipette)
10. สปาตูลา (spatula)
11. มีด (knife)
12. เขียง (cutting board)
13. ถ้วยอะลูมิเนียม (aluminum cup)
14. กระดาษกรอง (filter paper)
15. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง (analytical balance 4 digit)
16. เตาอบ (oven)
17. เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
18. เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (water activity meter)
19. เครื่องปั่น (blender)

**2.3 สารเคมีที่ใช้**

1. ซิลเวอร์ไนเตรต ($AgNO_3$)
2. โพแทสเซียมโครเมต ($K_2CrO_4$)

**2.4 ขั้นตอนการทดลอง**

1. ศึกษา สืบค้นข้อมูลสารสนเทศ งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และเตรียมปลาร้าตัวอย่าง
2. นำปลาร้าตัวอย่างมาทำการแยกส่วนของเนื้อปลา และน้ำปลาร้าออกจากกัน
3. นำส่วนของเนื้อปลา มาปั่นให้ละเอียด
4. นำส่วนของเนื้อปลาที่ปั่นมาผสมกับน้ำปลาร้าในอัตราส่วน 70:30 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ
5. นำของผสมที่ได้มาตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ
    5.1 การตรวจวัดค่าพีเอช
        5.1.1 นำของผสมที่ได้มาทำการกรองด้วยตะแกรงเพื่อแยกแต่ส่วนสารละลายออกมา
        5.1.2 นำส่วนของสารละลายที่ได้มาทำการตรวจวัดค่าพีเอชด้วยเครื่องวัดพีเอช
        5.1.3 ทำซ้ำ 3 ครั้ง และบันทึกค่าพีเอช
    5.2 การตรวจวัดความเข้มข้นของเกลือ

5.2.1 นำของผสมที่ได้มาทำการกรองด้วยตะแกรงเพื่อแยกแต่ส่วนสารละลายออกมา

5.2.2 นำสารละลายที่ได้มาเจือจาง โดยปิเปตต์สารละลายมา 5 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร

5.2.3 นำสารละลายเจือจาง 10 มิลลิลิตร ไทเทรตด้วย 0.1000M $AgNO_3$ โดยใช้ $K_2CrO_4$ เป็นอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด

5.2.4 สังเกตสีของตะกอนสีแดงอิฐของอินดิเคเตอร์ ($Ag_2CrO_4$) ทำซ้ำ 3 ครั้ง และบันทึกผลของ $AgNO_3$ ที่ใช้

5.3 การตรวจวัดค่าความชื้น

5.3.1 นำของผสม 3 กรัม ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียม ทำการชั่งน้ำหนัก และบันทึกผล

5.3.2 นำของผสมในถ้วยอะลูมิเนียมใส่ในเตาอบในอุณหภูมิ 150 $^{o}$C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หรือจนกว่าของผสมจะแห้ง

5.3.3 ทำการชั่งน้ำหนักของผสมที่แห้งแล้ว ทำซ้ำ 3 ครั้งตั้งแต่ขั้น 1 และบันทึกผล

5.4 การตรวจค่าน้ำอิสระ

5.4.1 นำของผสมที่ได้ใส่เครื่องวัดค่าน้ำอิสระ

5.4.2 ทำซ้ำ 3 ครั้ง และบันทึกค่าน้ำอิสระ

6. นำข้อมูลที่ได้ ไปคำนวณข้อมูลทางสถิติ

7. วิเคราะห์ข้อมูล และสรุปผล

## 2.5 เทคนิคที่ใช้ในการทดลอง

### 2.5.1 Mohr's method

Mohr's method เป็นวิธีการไทเทรตแบบตกตะกอน (argentometric method) ซึ่งนิยมใช้สำหรับการไทเทรตหาความเข้มข้นของ $Cl^-$ โดยจะใช้ $AgNO_3$ เป็นตัวไทแทรนต์ (titrant) จะทำให้เกิดตะกอนสีขาวของ AgCl(s) และจะใช้ $K_2CrO_4$(s) เป็นอินดิเคเตอร์ จะทำให้เกิดตะกอนสีแดงอิฐของ $Ag_2CrO_4$(s) โดยหลักการของ Mohr's method นี้จะอาศัยค่าการละลาย (solubility, s) ของ AgCl(s) และ $Ag_2CrO_4$(s) ที่แตกต่างกัน จากสมการ

$$AgCl(s) \rightleftharpoons Ag^+(aq) + Cl^-(aq) \qquad ; K_{sp} = 1.8 \times 10^{-10}$$

และ

$$Ag_2CrO_4(s) \rightleftharpoons 2Ag^+(aq) + CrO_4^{2-}(aq) \qquad ; K_{sp} = 1.1 \times 10^{-12}$$

จะได้ว่า ค่าการละลายของ AgCl(s) มีค่า

$$K_{sp} = [Ag^+][Cl^-]$$

$$1.8 \times 10^{-10} = s^2$$

$$s = 1.34 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$

และค่าการละลายของ $Ag_2CrO_4(s)$ มีค่า

$$K_{sp} = [Ag^+]^2[CrO_4^{2-}]$$

$$1.1 \times 10^{-12} = (2s)^2(s)$$

$$s = 6.50 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$

จะเห็นว่าค่าการละลายของ $Ag_2CrO_4(s)$ มีค่ามากกว่า AgCl(s) จึงทำให้เมื่อเติมสารละลาย $Ag^+$ ลงไปในสารละลายที่มี $Cl^-$ และ $CrO_4^{2-}$ อยู่ ก็จะเกิดตะกอนของ AgCl(s) ก่อนและเมื่อไทเทรตจนมี $Ag^+$ มากเกินพอ ก็จะเกิดตะกอนของ $Ag_2CrO_4$ เกิดขึ้น[9-10]

**2.5.2 Water activity**

ค่าน้ำอิสระ (water activity, $a_w$) เป็นค่าแสดงระดับพลังงานของน้ำที่แทรกอยู่ตามโมเลกุลของอาหารและไม่เกิดพันธะใด ๆ เป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมและป้องกันของอาหาร ซึ่งมีผลโดยตรง ต่ออายุของอาหาร อีกทั้งค่าน้ำอิสระยังสามารถบ่งบอกถึงปริมาณน้ำที่เชื้อจุลทรีย์สามารถเติบโตได้อีกด้วย โดยค่าอิสระสามารถคิดได้จากค่าความดันไอของน้ำในอาหาร (P) ต่อความดันของน้ำบริสุทธิ์ ($P_0$)[11-12]

**2.5.3 Duncan Test**

Duncan Test เป็นกระบวนการทางสถิติที่ใช้ช่วยในการแยกความแตกต่างที่มีหลายปัจจัยด้วยกัน ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบทางสถิติที่มีหลายขั้นตอนดังนี้

1. สถิตินี้จะอาศัยค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างแต่ละกลุ่ม มาหาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญโดยอาศัยสมมติฐานศูนย์ (Null Hypothesis) โดยอาศัยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ซึ่งในการทดลองนี้จะใช้ค่าความเชื่อมั่นที่ 95% หรือ $\alpha = 0.05$

2. แบ่งผลการทดสอบเป็น 2 ทาง

2.1 หากทดสอบดังกล่าวแล้วพบว่าค่าเฉลี่ยของกลุ่มต่าง ๆ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ การทดสอบจะสิ้นสุดลง

2.2 แต่หากว่าการทดสอบในขั้นที่ 1 พบว่าค่าเฉลี่ยของบางกลุ่มแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ สถิติจะทำการทดสอบต่อไป

3. ทำการคำนวณการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของ Duncan โดยใช้สูตร

$$W = P_{(\alpha,\, r,\, n-k)}\sqrt{\frac{MSE}{n_c}}$$

เมื่อ W คือ สถิติทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของ Duncan

$n_c$ คือ จำนวนสมาชิกในกลุ่มตัวอย่างของชุดที่ c (โดย c = 1, 2, 3, ...)

k คือ จำนวนกลุ่มตัวอย่าง

n คือ จำนวนสมาชิกของกลุ่มตัวอย่าง

r คือ ระยะห่างของค่าเฉลี่ยที่ต้องการเปรียบเทียบ (โดยจะต้องนำค่าเฉลี่ยมาเรียงลำดับจากน้อยไปมาก จึงจะระบุระยะห่างของค่าเฉลี่ยได้)

MSE คือ ค่าประมาณความแปรปรวนในการคลาดเคลื่อน (ได้จากการทำ ANOVA)

P คือ ค่าที่ได้จากการเปิดตาราง

4. นำค่าทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของ Duncan (W) มาเทียบกับผลต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มตัวตัวอย่าง ($\Delta\bar{x}_n$) โดยถ้า $\Delta\bar{x}_n > W$ จะหมายถึงค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 2 กลุ่มนี้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่ถ้า $\Delta\bar{x}_n < W$ จะหมายถึงค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 2 กลุ่มนี้มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ

5. สามารถสรุปผลโดยใช้สัญลักษณ์ตัวอักษรของค่าเฉลี่ยกลุ่มตัวอย่างที่แตกต่างกัน โดยค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจะใช้ตัวอักษรตัวเดียวกัน แต่ถ้าค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจะใช้ตัวอักษรต่างกัน

โดยในการทดลองจะอาศัยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 22 ในการคำนวณเพื่อทดสอบความแตกต่างของแต่ละปัจจัยในการทดลอง[13-14]

# บทที่ 3
# การวิเคราะห์และอภิปรายผล

## 3.1 ความแตกต่างต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่าพีเอช

พบว่าเมื่อนำค่าพีเอชของปล้าราที่มีปัจจัยที่แตกต่างกัน ได้แก่ ระยะเวลาการหมัก ชนิดปลา และสูตรการหมัก ไปคำนวณค่าทางสถิติเพื่อหาความแตกต่างกันพบว่า (ดังตารางที่ 3.1)

1. ระยะเวลการหมักของเดือน 5 7 และ 8 ที่มีผลต่อค่าพีเอช มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

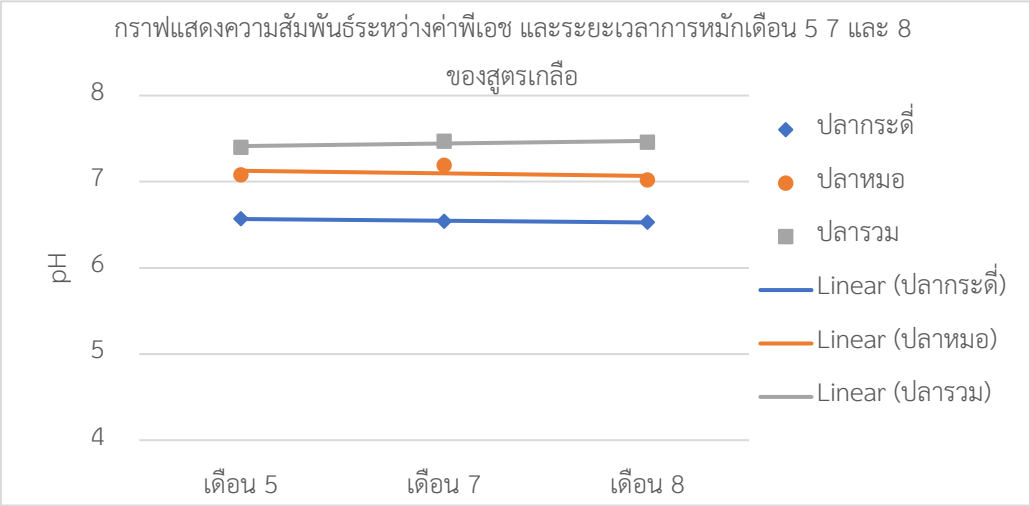
2. ชนิดของปลาทั้งชนิด ได้แก่ ปลากระดี่ ปลาหมอ และปลารวม ที่มีผลต่อค่าพีเอช มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

3. สูตรของการหมัก 4 สูตร ได้แก่ สูตรเกลือ สูตรเกลือและข้าวคั่ว สูตรเกลือและรำข้าว และสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

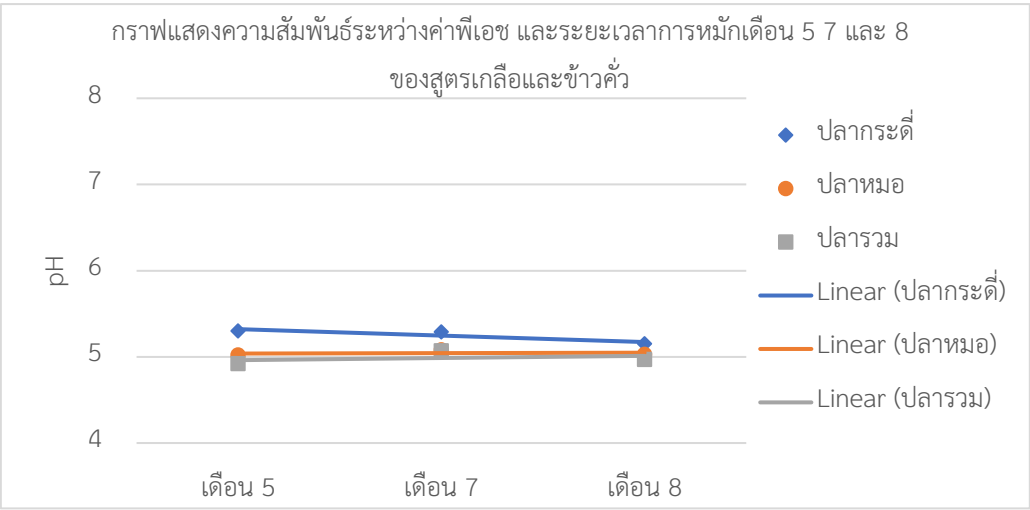
จากความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของแต่ละสูตร พบว่าค่าพีเอชสูตรของเกลือจะมีช่วงพีเอช 6.53 – 7.47 แต่สูตรอื่น ๆ จะอยู่ในช่วง 4.66 – 5.46 อาจเนื่องมาจากในสูตรของเกลือไม่มีแหล่งคาร์บอน (carbon sources) จากข้าวคั่ว หรือรำข้าว และปริมาณเกลือที่มากเกินจากผลของปริมาณเกลือ ที่จะทำให้แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกเจริญเติบโต ซึ่งจากงานวิจัยของอภินิหาร ผิวพรรณ และคณะ พบว่าปลาร้าที่มีปริมาณของ γ-Glu-Val-Gly ที่สูงจะสอดคล้องกับแบคทีเรีย *Tetragenococcus* sp. และ *Lentibacillus* sp. เป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก และมีพีเอชในช่วง 4.9 – 6.5 จึงคาดว่าการหมักสูตรเกลืออาจมีแบคทีเรียคนละชนิดที่เกิดกระบวนการหมักแทน ทำให้อาจจะมีปริมาณของ γ-Glu-Val-Gly ที่น้อยเมื่อเทียบกับสูตรอื่น ๆ

ในส่วนของปัจจัยของชนิดปลา จากการทดลองจะให้ปลากระดี่เป็นตัวแทนของปลาขนาดเล็ก ปลาหมอเป็นตัวแทนของปลาขนาดใหญ่ ซึ่งความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของปลาแต่ละชนิด อาจมีผลมาจากขนาดของปลา ความเปื่อย และความยุ่ยของเนื้อปลา ที่จะทำให้ซึ่งอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทำให้ปลาแต่ละชนิดมีผลของค่าพีเอชไม่เท่ากัน แต่ไม่สามารถบอกได้ว่าปลาชนิดไหนที่ดีกว่ากันจนกว่าจะมีการตรวจวัดปริมาณของ γ-Glu-Val-Gly

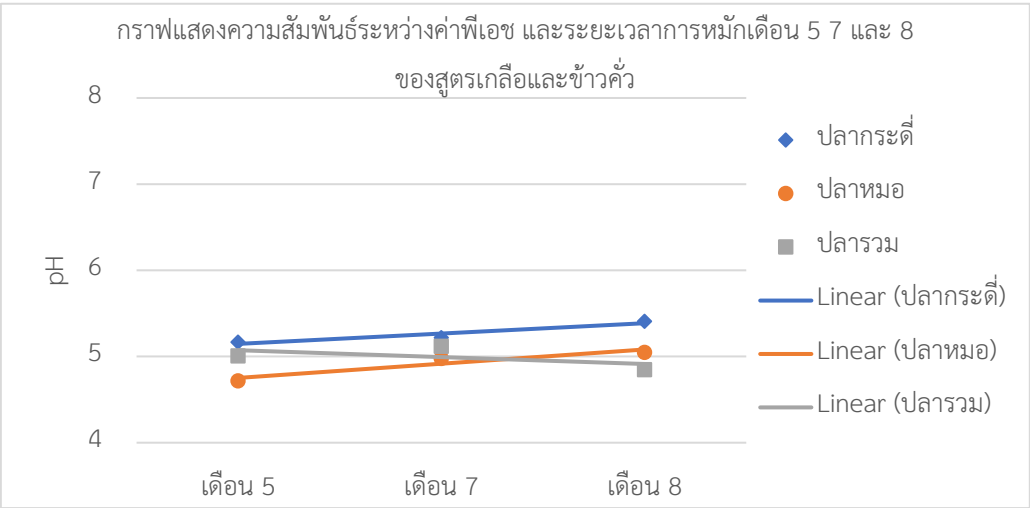
จากความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของระยะเวลาการหมักของแต่ละเดือน พบว่าค่าพีเอชในแต่ละเดือนค่อนข้างจะคงที่ ถึงแม้จากค่าทางสถิติจะบ่งบอกถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ อาจเนื่องด้วยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ต่ำ จึงคาดว่ากระบวนการหมักของปลาร้าจะเริ่มตั้งแต่ช่วงก่อนการหมักเดือนที่ 5 และจะเริ่มคงที่ หรือเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยตั้งแต่เดือน 5 เป็นต้นไป ดังกราฟที่ 3.1 3.2 3.3 และ 3.4 ซึ่งจากงานวิจัยของอภินิหาร ผิวพรรณ และคณะ จะพบว่าจะมีค่าพีเอชช่วง 4.9 – 6.5 ที่จะมีปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly ปริมาณมาก ซึ่งเมื่อเทียบกับค่าพีเอชจากการทดลองพบว่าสูตรของเกลือจะมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.53 – 7.47 และสูตรอื่น ๆ จะอยู่ในช่วง 4.66 – 5.46 จึงคาดว่าสูตรเกลือนั้นจะมีปริมาณของ γ-Glu-Val-Gly น้อยเมื่อเทียบกับสูตรอื่น และสามารถบอกได้ว่ากระบวนหมักของสูตรอื่น ๆ นั้นจะมีการผลิต γ-Glu-Val-Gly แล้ว



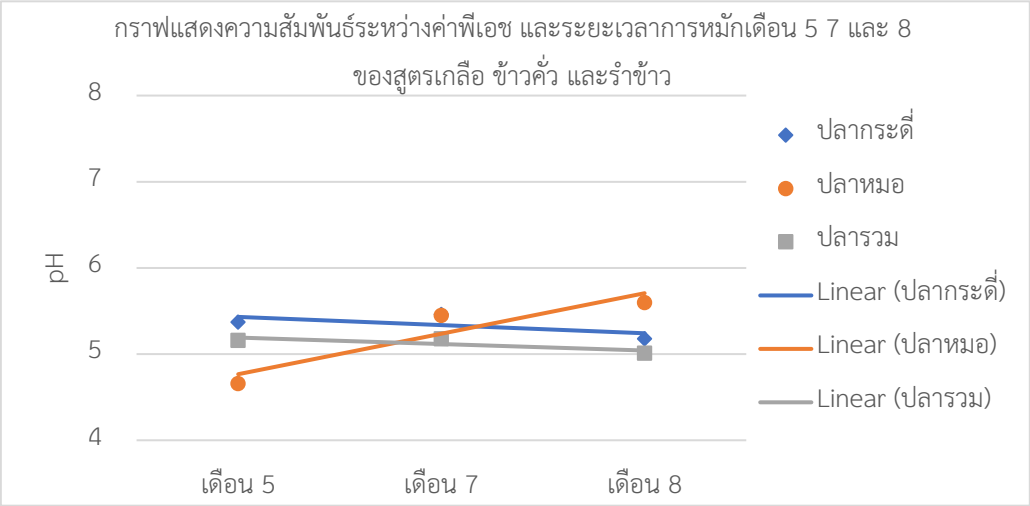

**กราฟที่ 3.1** ค่าพีเอชของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ




**กราฟที่ 3.2** ค่าพีเอชของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและข้าวคั่ว




**กราฟที่ 3.3** ค่าพีเอชของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและรำข้าว




**กราฟที่ 3.4** ค่าพีเอชของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว

**ตารางที่ 3.1** ความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่าพีเอช

| ระยะเวลาของการหมัก | ชนิดของปลา | สูตรการหมัก | pH |
|---|---|---|---|
| 5 เดือน[a] | ปลากระดี่[a] | เกลือ[a] | 6.57 ± 0.01 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 5.30 ± 0.01 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 5.17 ± 0.04 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 5.37 ± 0.03 |
| | ปลาหมอ[a] | เกลือ[a] | 7.08 ± 0.01 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 5.02 ± 0.07 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 4.72 ± 0.05 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 4.66 ± 0.10 |
| | ปลารวม[b] | เกลือ[a] | 7.40 ± 0.06 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 4.92 ± 0.01 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 5.01 ± 0.05 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 5.16 ± 0.04 |
| 7 เดือน[b] | ปลากระดี่[a] | เกลือ[a] | 6.54 ± 0.01 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 5.29 ± 0.01 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 5.22 ± 0.01 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 5.46 ± 0.02 |
| | ปลาหมอ[a] | เกลือ[a] | 7.19 ± 0.02 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 5.08 ± 0.04 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 4.98 ± 0.03 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 5.45 ± 0.02 |
| | ปลารวม[b] | เกลือ[a] | 7.47 ± 0.01 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 5.07 ± 0.01 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 5.12 ± 0.03 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 5.18 ± 0.02 |
| 8 เดือน[c] | ปลากระดี่[a] | เกลือ[a] | 6.53 ± 0.00 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 5.15 ± 0.00 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 5.41 ± 0.00 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 5.18 ± 0.01 |
| | ปลาหมอ[a] | เกลือ[a] | 7.02 ± 0.00 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 5.03 ± 0.01 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 5.05 ± 0.00 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 5.60 ± 0.01 |
| | ปลารวม[b] | เกลือ[a] | 7.46 ± 0.01 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 4.97 ± 0.00 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 4.85 ± 0.00 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 5.01 ± 0.00 |

**หมายเหตุ** ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และตัวอักษรที่เหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

**3.2 ความแตกต่างต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อความเข้มข้นของเกลือ**

เมื่อนำความเข้มข้นของเกลือในของปลาร้าที่มีปัจจัยที่แตกต่างกัน ได้แก่ ระยะเวลาการหมัก ชนิดปลา และสูตรการหมัก ไปคำนวณค่าทางสถิติเพื่อหาความแตกต่างกันพบว่า (ดังตารางที่ 3.2)

1. ระยะเวลาการหมักของเดือน 5 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเดือน 7 และ 8 แต่เดือน 7 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเดือน 8

2. ชนิดของปลาทั้งชนิด ได้แก่ ปลากระดี่ ปลาหมอ และปลารวม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

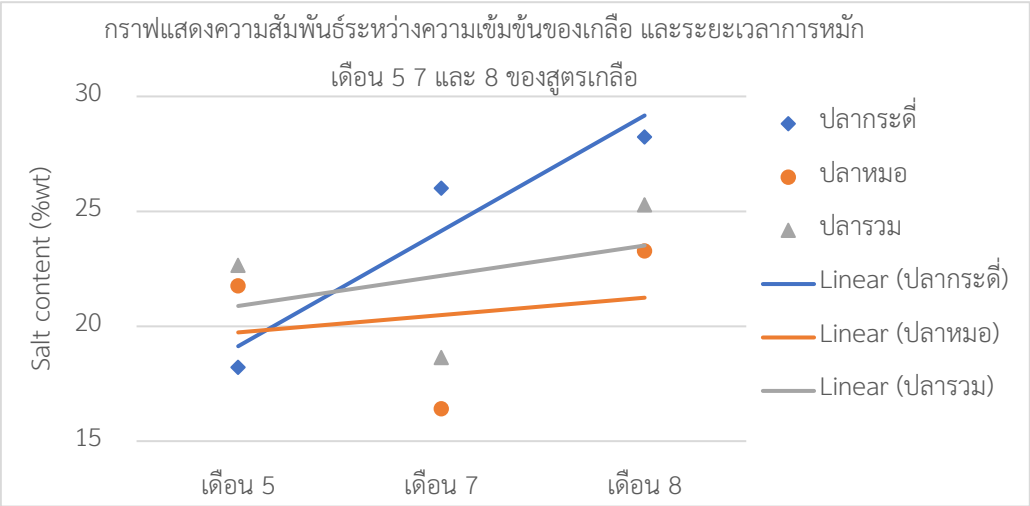
3. สูตรของการหมัก 4 สูตร ได้แก่ สูตรเกลือ สูตรเกลือและข้าวคั่ว สูตรเกลือและรำข้าว และสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

การใส่เกลือเข้าไปใช้สำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีการผลิตกรดแลคติกซึ่งจะต้องมีความเข้มข้นที่เหมาะสม และความเข้มข้นของเกลือที่สูงขึ้นจะยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีการผลิตกรดแลคติก

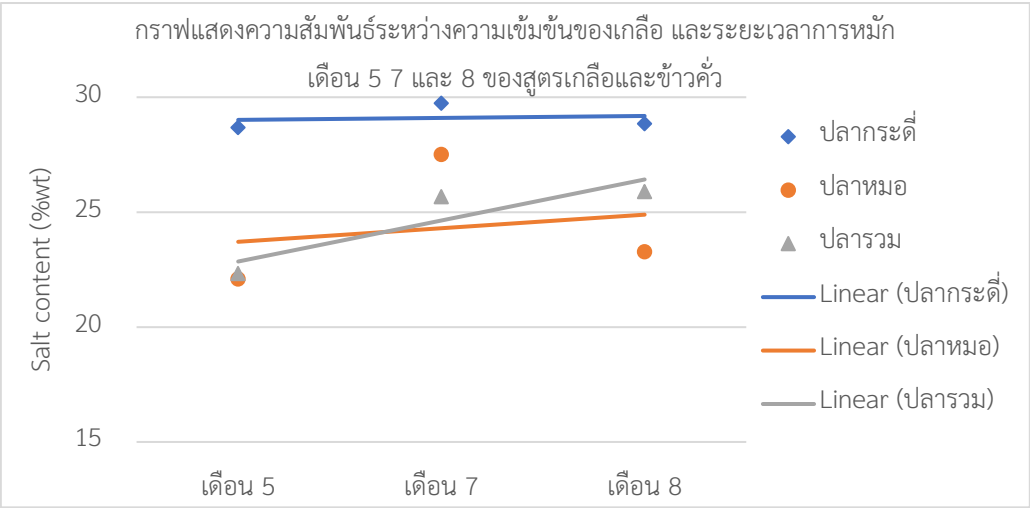
จากความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของแต่ละสูตร พบว่าความเข้มข้นของเกลือในสูตรเกลือนั้นจะมีค่าความเข้มข้นของเกลือจะมีค่าเฉลี่ยที่สูงกว่าสูตรอื่น โดยคาดว่าตัวอย่างปลาร้าสูตรอื่นที่ใช้จะมีส่วนประกอบของข้าวคั่ว หรือรำข้าว ที่อาจจะไปจับกับเกลือและทำให้เกลือไม่ซึมเข้าสู่เนื้อปลามากเกินไปจนแบคทีเรียหยุดกระบวนการหมัก จึงคาดว่าแบคทีเรียในสูตรเกลือก็อาจจะหยุดการเจริญเติบโตที่เร็วกว่าสูตรอื่น ๆ ส่งผลให้สูตรเกลือนั้นมีการผลิตกรดแลคติกที่น้อยตามลงมา และเกิดการหมักของแบคทีเรียชนิดอื่นแทน ทำให้ค่าพีเอชที่ค่อนข้างเป็นกลางจากผลของค่าพีเอชก่อนหน้า ทำให้อาจมีปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly น้อยกว่าสูตรอื่น

จากความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของปลาแต่ละชนิด ซึ่งการทดลองหาความเข้มข้นของเกลือ เราจะใช้เนื้อปลา 70 กรัม มาผสมกับน้ำปลาร้า 30 กรัม (70 : 30 โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ จากนั้นปั่นรวมกันและทำการไทเทรต พบว่าปลากระดี่จะมีความเข้มของเกลือที่มากกว่าปลาหมอ ซึ่งเป็นผลมาจากขนาดของปลา ความเปื่อย และความยุ่ยของเนื้อปลา จึงอาจทำให้เกลือซึมเข้าปลากระดี่ได้ดีกว่า และหยุดกระบวนการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในเนื้อปลาเร็วกว่าปลาหมอ แต่ไม่สามารถบอกได้ว่าปลาชนิดไหนที่ดีกว่ากันจนกว่าจะมีการตรวจวัดปริมาณของ γ-Glu-Val-Gly

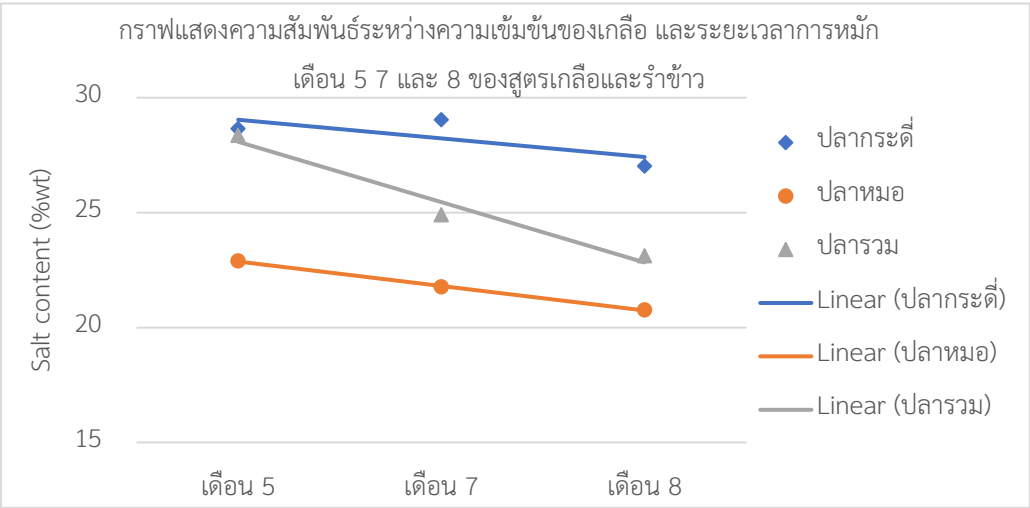
นำความเข้มข้นของเกลือ มาสร้างกราฟระหว่างระยะเวลาของการหมักและความเข้มข้นของเกลือเพื่อติดตามความเข้มข้นของเกลือในแต่ละเดือน ของสูตร และปลาที่มีความแตกต่างกัน พบว่าความเข้มข้นของเกลือมีแนวโน้มโดยรวมที่จะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น โดยเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นเกลืออาจจะมีการแทรกเข้าเนื้อปลาเพิ่มขึ้น และหยุดกระบวนการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ถึงแม้ในสูตรของเกลือและรำข้าวจะมีแนวโน้มลดลง เนื่องจาก รำข้าวที่อาจจับกับเกลือ ดังกราฟที่ 3.5 3.6 3.7 และ 3.8 จึงอาจบอกได้ว่ากระบวนการหมักเริ่มหยุดลง และปริมาณของ γ-Glu-Val-Gly จะเริ่มคงที่ เมื่อระยะเวลาผ่านไป



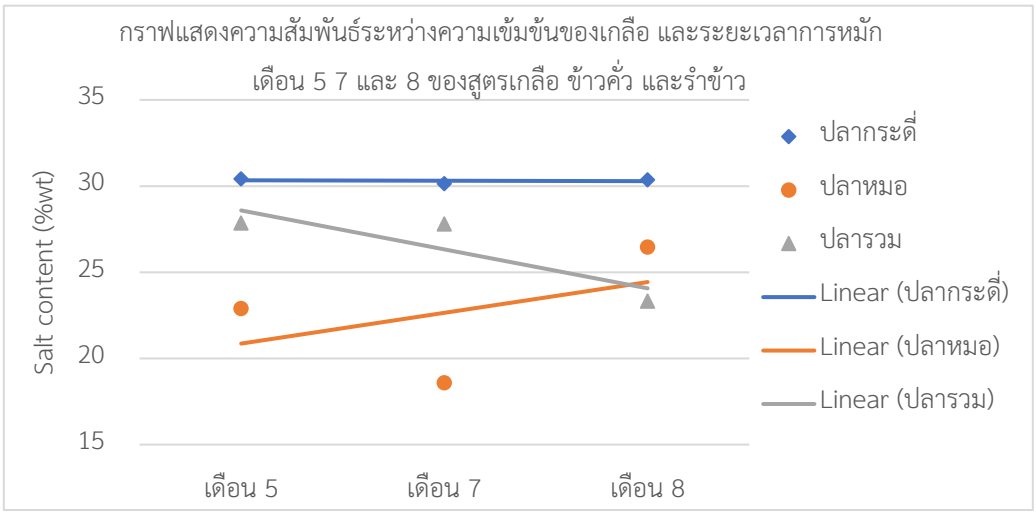

**กราฟที่ 3.5** ความเข้มข้นของเกลือแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ




**กราฟที่ 3.6** ความเข้มข้นของเกลือแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและข้าวคั่ว




**กราฟที่ 3.7** ความเข้มข้นของเกลือแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและรำข้าว




**กราฟที่ 3.8** ความเข้มข้นของเกลือแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว

**ตารางที่ 3.2** ความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อความเข้มข้นของเกลือ

| ระยะเวลาของการหมัก | ชนิดของปลา | สูตรการหมัก | เกลือ (% wt) |
|---|---|---|---|
| 5 เดือน[ab] | ปลากระดี่[a] | เกลือ[a] | 18.20 ± 0.19 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 28.69 ± 0.26 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 28.64 ± 0.17 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 30.42 ± 0.26 |
| | ปลาหมอ[b] | เกลือ[a] | 21.77 ± 0.17 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 22.10 ± 0.00 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 22.89 ± 0.19 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 22.89 ± 0.10 |
| | ปลารวม[c] | เกลือ[a] | 22.66 ± 0.19 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 22.33 ± 0.35 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 28.36 ± 0.10 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 27.85 ± 0.26 |
| 7 เดือน[a] | ปลากระดี่[a] | เกลือ[a] | 26.01 ± 0.39 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 29.75 ± 0.10 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 29.03 ± 0.10 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 30.14 ± 0.17 |
| | ปลาหมอ[b] | เกลือ[a] | 16.41 ± 0.00 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 27.52 ± 0.10 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 21.77 ± 0.34 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 18.59 ± 0.17 |
| | ปลารวม[c] | เกลือ[a] | 18.64 ± 0.19 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 25.68 ± 0.48 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 24.90 ± 0.39 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 27.80 ± 0.17 |
| 8 เดือน[b] | ปลากระดี่[a] | เกลือ[a] | 28.24 ± 0.10 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 28.86 ± 0.10 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 27.02 ± 0.10 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 30.37 ± 0.10 |
| | ปลาหมอ[b] | เกลือ[a] | 15.29 ± 0.19 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 23.28 ± 0.17 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 20.76 ± 0.34 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 26.46 ± 0.00 |
| | ปลารวม[c] | เกลือ[a] | 25.29 ± 0.17 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 25.90 ± 0.19 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 23.11 ± 0.00 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 23.33 ± 0.19 |

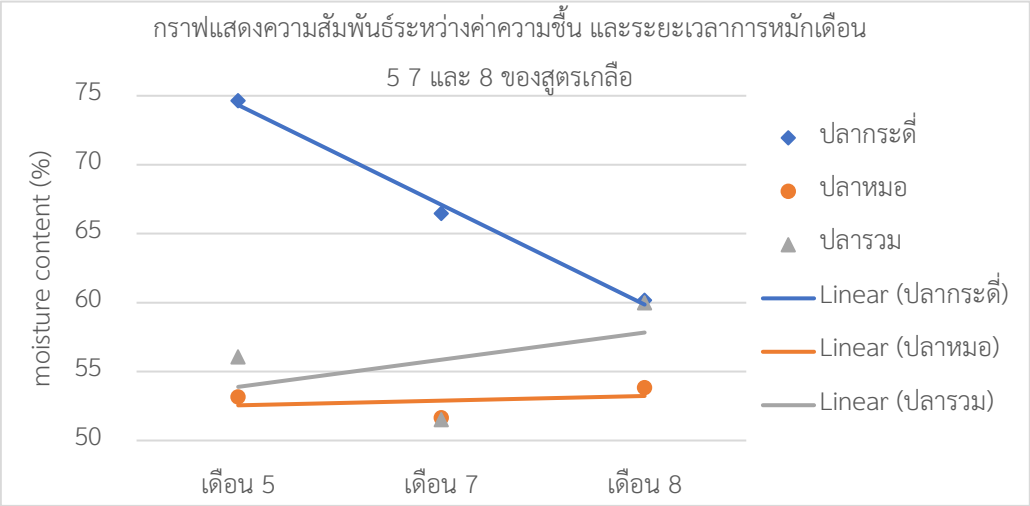
**หมายเหตุ** ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และตัวอักษรที่เหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

### 3.3 ความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่าความชื้น

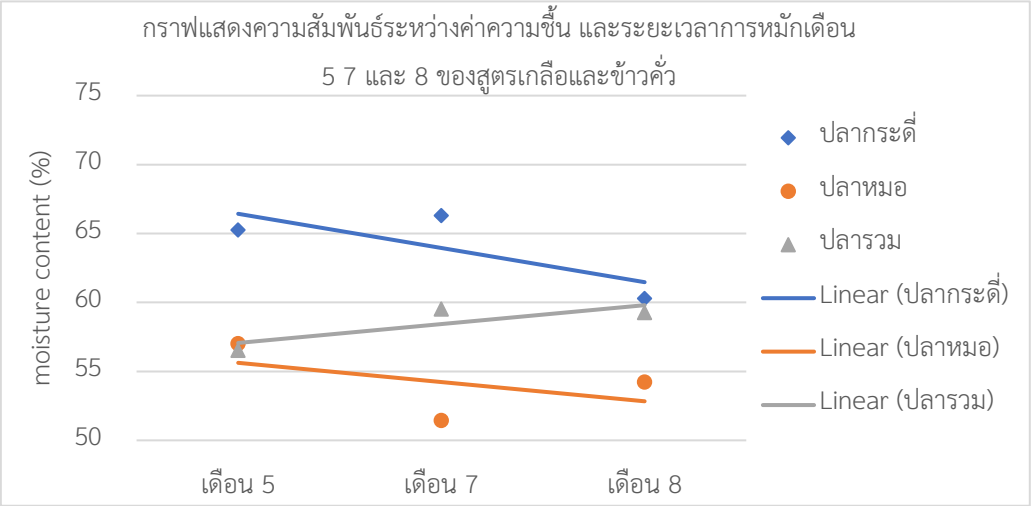
เมื่อนำค่าความชื้นในของปลาร้าที่มีปัจจัยที่แตกต่างกัน ได้แก่ ระยะเวลาการหมัก ชนิดปลา และสูตรการหมัก ไปคำนวณค่าทางสถิติเพื่อหาความแตกต่างกันพบว่า (ดังตารางที่ 3.3)

1. ระยะเวลาการหมักของเดือน 5 7 และ 8 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ
2. ชนิดของปลาทั้งชนิด ได้แก่ ปลากระดี่ ปลาหมอ และปลารวม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ
3. สูตรของการหมัก 4 สูตร ได้แก่ สูตรเกลือ สูตรเกลือและข้าวคั่ว และสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ กับสูตรเกลือและรำข้าว

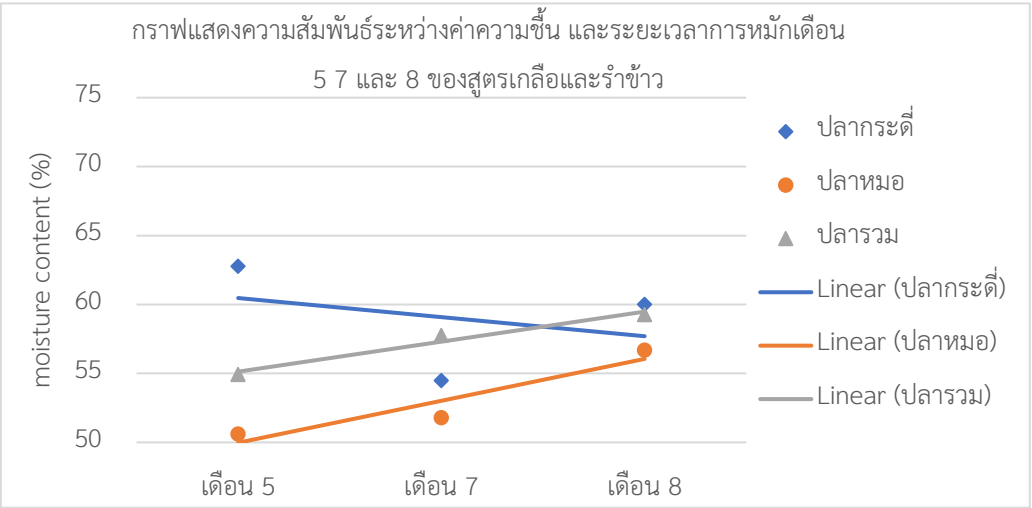
จากปัจจัยของระยะเวลาการหมัก ชนิดของปลา และสูตรการหมัก พบว่าค่าความชื้นจะอยู่ในช่วง 51.43% - 74.64% จากกราฟที่ 3.9 3.10 3.11 และ 3.12 พบว่าจากค่าความชื้นของแต่ละเดือน ในแต่ละสูตรนั้นมีค่าที่ไม่คงที่ อาจมีปัจจัยมาจากปริมาณของน้ำปลาร้าในของตัวอย่างของปลาร้าไม่เท่ากันก็จะส่งผลต่อการคำนวณหาค่าความชื้น จึงจำเป็นต้องดูค่าของน้ำอิสระเป็นหลักแทน



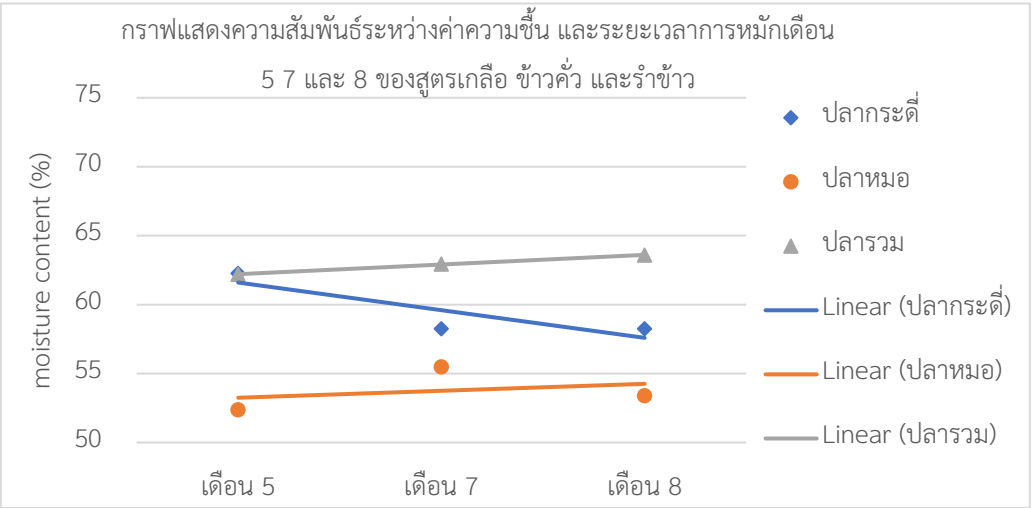

**กราฟที่ 3.9** ค่าความชื้นของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ




**กราฟที่ 3.10** ค่าความชื้นของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและข้าวคั่ว




**กราฟที่ 3.11** ค่าความชื้นของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและรำข้าว




**กราฟที่ 3.12** ค่าความชื้นของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว

**ตารางที่ 3.3** ความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่าความชื้น

| ระยะเวลาของการหมัก | ชนิดของปลา | สูตรการหมัก | ค่าความชื้น |
|---|---|---|---|
| 5 เดือน[a] | ปลากระดี่[a] | เกลือ[a] | 74.64 ± 5.04 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[a] | 65.25 ± 0.64 |
| | | เกลือ + รำข้าว[b] | 62.77 ± 1.63 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[a] | 62.27 ± 2.90 |
| | ปลาหมอ[b] | เกลือ[a] | 53.16 ± 2.68 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[a] | 57.02 ± 9.96 |
| | | เกลือ + รำข้าว[b] | 50.60 ± 2.58 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[a] | 52.38 ± 4.12 |
| | ปลารวม[c] | เกลือ[a] | 56.06 ± 2.62 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[a] | 56.52 ± 1.16 |
| | | เกลือ + รำข้าว[b] | 54.91 ± 2.73 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[a] | 62.19 ± 4.10 |
| 7 เดือน[a] | ปลากระดี่[a] | เกลือ[a] | 66.47 ± 3.21 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[a] | 66.31 ± 4.61 |
| | | เกลือ + รำข้าว[b] | 54.48 ± 2.07 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[a] | 58.26 ± 2.49 |
| | ปลาหมอ[b] | เกลือ[a] | 51.67 ± 1.45 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[a] | 51.43 ± 3.68 |
| | | เกลือ + รำข้าว[b] | 51.77 ± 5.26 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[a] | 55.48 ± 5.44 |
| | ปลารวม[c] | เกลือ[a] | 51.52 ± 1.32 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[a] | 59.52 ± 2.06 |
| | | เกลือ + รำข้าว[b] | 57.75 ± 4.67 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[a] | 62.94 ± 5.09 |
| 8 เดือน[a] | ปลากระดี่[a] | เกลือ[a] | 60.17 ± 2.75 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[a] | 60.29 ± 0.50 |
| | | เกลือ + รำข้าว[b] | 60.00 ± 0.000 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[a] | 58.26 ± 3.68 |
| | ปลาหมอ[b] | เกลือ[a] | 53.84 ± 2.86 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[a] | 54.23 ± 3.18 |
| | | เกลือ + รำข้าว[b] | 56.68 ± 1.50 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[a] | 53.39 ± 3.08 |
| | ปลารวม[c] | เกลือ[a] | 60.00 ± 0.00 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[a] | 59.26 ± 2.74 |
| | | เกลือ + รำข้าว[b] | 55.36 ± 2.59 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[a] | 63.59 ± 3.98 |

**หมายเหตุ** ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และตัวอักษรที่เหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

**3.4 ความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่าน้ำอิสระ**

เมื่อนำค่าน้ำอิสระในของปลาร้าที่มีปัจจัยที่แตกต่างกัน ได้แก่ ระยะเวลาการหมัก ชนิดปลา และสูตรการหมัก ไปคำนวณค่าทางสถิติเพื่อหาความแตกต่างกันพบว่า (ดังตารางที่ 3.4)

1. ระยะเวลการหมักของเดือน 5 7 และ 8 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

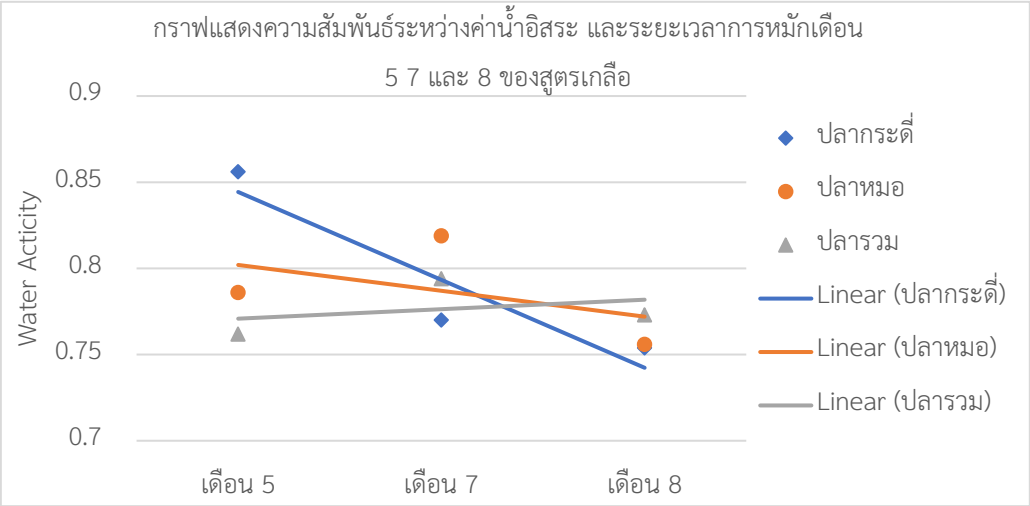
2. ชนิดของปลาทั้งชนิด ได้แก่ ปลากระดี่ ปลาหมอ และปลารวม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

3. สูตรของการหมัก 4 สูตร ได้แก่ สูตรเกลือ สูตรเกลือและข้าวคั่ว สูตรเกลือและรำข้าว และสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

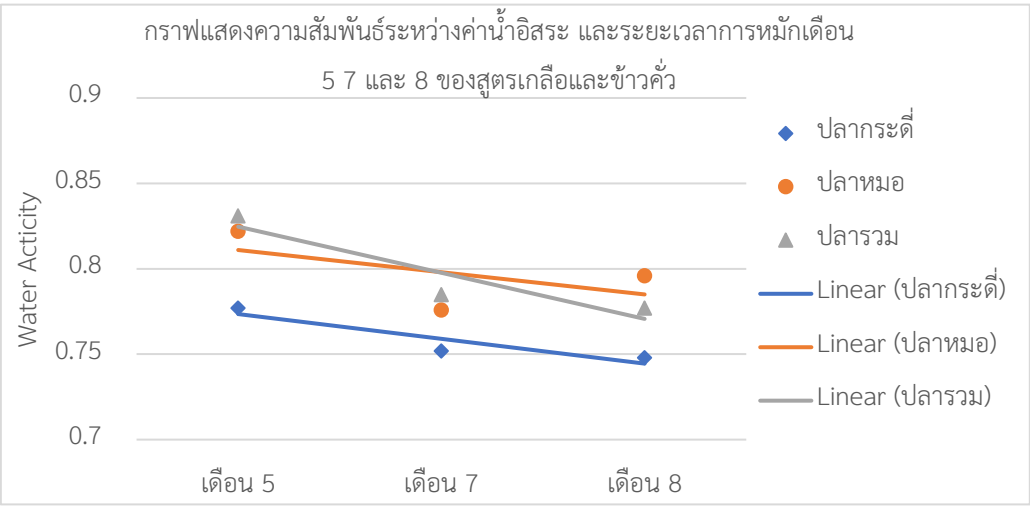
ค่าน้ำอิสระเป็น ค่าที่ใช้ในการบ่งบอกความสดของอาหาร และสามารถบ่งบอกได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์จะสามารถเจริญเติบโตได้โดยแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกส่วนใหญ่จะอยู่ในสภาวะที่มีค่าน้ำอิสระที่มากกว่า 0.75 เป็นต้นไป[11] โดยค่าน้ำอิสระ หมายถึงโมเลกุลของน้ำที่แทรกตัวอยู่ในโมเลกุลของอาหารและไม่ทำปฏิกิริยาหรือเกิดพันธะใด ๆ ซึ่งต่างจากค่าความชื้นที่เป็นน้ำที่เกิดจากการเกิดพันธะและไม่เกิดพันธะรวมกัน จึงใช้ค่าน้ำอิสระที่มีความแม่นยำมากกว่าในกว่าหาความสัมพันธ์ของปริมาณสาร γ-Glu-Val-Gly

จากค่าความแตกต่างของแต่ละสูตรพบว่าอยู่ในช่วง 0.739 – 0.856 ซึ่งมีค่าที่ใกล้เคียงกันถึงแม้จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ อาจเนื่องมาจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ต่ำ จึงคาดเดาได้ว่าในแต่ละสูตรการหมัก แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกจะสามารถเจริญเติบโตได้ เช่นเดียวกับชนิดของปลาแต่ละชนิด

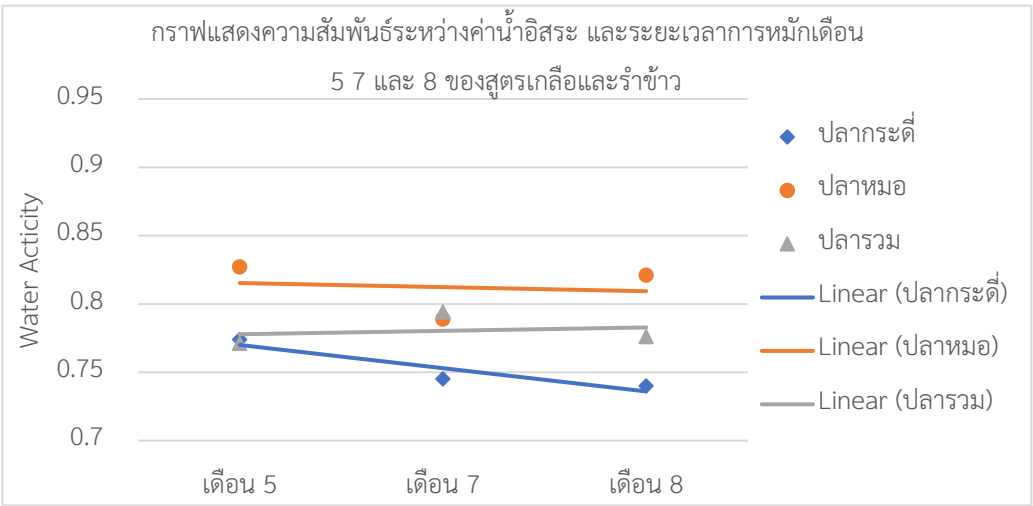
จากการนำค่าน้ำอิสระ มาสร้างกราฟระหว่างระยะเวลาของการหมักและค่าน้ำอิสระ เพื่อติดตามความเข้มข้นของเกลือในแต่ละเดือน ของสูตร และปลาที่มีความแตกต่างกัน พบว่าค่าน้ำอิสระโดยรวมมีแนวโน้มที่จะลดลง จากกราฟ 3.13 3.14 3.15 และ 3.16 ซึ่งมีผลมาจากระยะเวลาที่เพิ่มมาขึ้นทำให้น้ำอิสระในโมเลกุลอาหารนั้นออกจากโมเลกุลของอาหารและเกิดพันธะกับเกลือ จึงทำให้ค่าน้ำอิสระมีค่าน้อย ส่งผลให้แบคทีเรียนั้นอาจจะเจริญเติบโตได้แย่ลงจนกระบวนการหมักนั้นหยุดลง และคาดว่ายิ่งระยะเวลาการหมักสูงขึ้นจะส่งผลให้ มีย่อยโปรตีนกลายเป็นเปปไทด์สายสั้น ที่น้อยลงตามลงมาด้วย กล่าวคือ ก็จะมีกลุ่มสาร γ-Glu-Val-Gly ที่คงที่เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้น



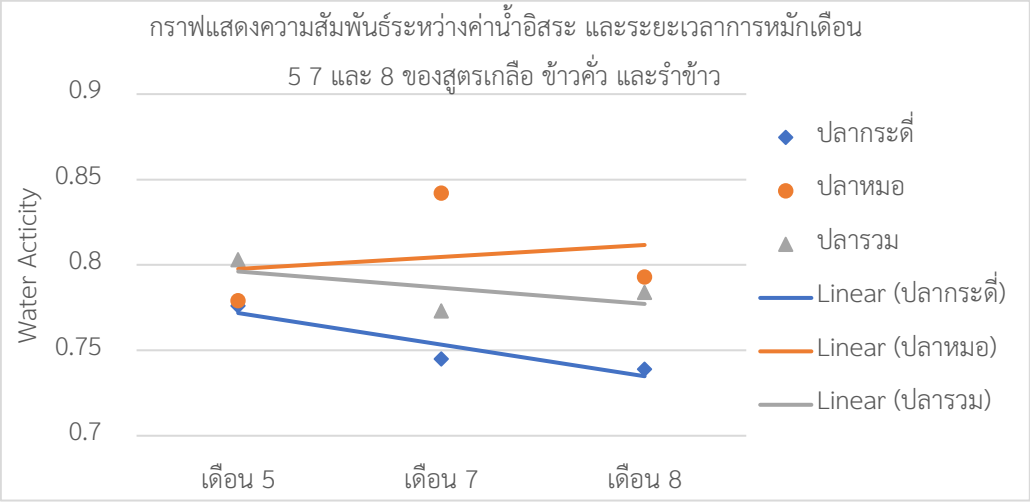

**กราฟที่ 3.13** ค่าน้ำอิสระของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ




**กราฟที่ 3.14** ค่าน้ำอิสระของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและข้าวคั่ว




**กราฟที่ 3.15** ค่าน้ำอิสระของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือและรำข้าว




**กราฟที่ 3.16** ค่าน้ำอิสระของแต่ละเดือน ในปลาแต่ละชนิด ของสูตรเกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว

**ตารางที่ 3.4** ความแตกต่างของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อค่าน้ำอิสระ

| ระยะเวลาของการหมัก | ชนิดของปลา | สูตรการหมัก | ค่าน้ำอิสระ |
|---|---|---|---|
| 5 เดือน[a] | ปลากระดี่[a] | เกลือ[a] | 0.856 ± 0.000 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 0.777 ± 0.003 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 0.774 ± 0.001 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 0.776 ± 0.001 |
| | ปลาหมอ[b] | เกลือ[a] | 0.786 ± 0.002 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 0.822 ± 0.005 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 0.827 ± 0.004 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 0.779 ± 0.002 |
| | ปลารวม[c] | เกลือ[a] | 0.762 ± 0.000 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 0.831 ± 0.002 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 0.771 ± 0.000 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 0.803 ± 0.007 |
| 7 เดือน[b] | ปลากระดี่[a] | เกลือ[a] | 0.770 ± 0.002 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 0.752 ± 0.002 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 0.745 ± 0.003 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 0.745 ± 0.003 |
| | ปลาหมอ[b] | เกลือ[a] | 0.819 ± 0.001 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 0.776 ± 0.001 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 0.789 ± 0.001 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 0.842 ± 0.001 |
| | ปลารวม[c] | เกลือ[a] | 0.794 ± 0.001 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 0.785 ± 0.002 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 0.794 ± 0.001 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 0.773 ± 0.008 |
| 8 เดือน[c] | ปลากระดี่[a] | เกลือ[a] | 0.754 ± 0.000 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 0.748 ± 0.002 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 0.740 ± 0.006 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 0.739 ± 0.001 |
| | ปลาหมอ[b] | เกลือ[a] | 0.756 ± 0.001 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 0.796 ± 0.001 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 0.821 ± 0.001 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 0.793 ± 0.002 |
| | ปลารวม[c] | เกลือ[a] | 0.773 ± 0.000 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว[b] | 0.777 ± 0.002 |
| | | เกลือ + รำข้าว[c] | 0.776 ± 0.001 |
| | | เกลือ + ข้าวคั่ว + รำข้าว[d] | 0.784 ± 0.001 |

**หมายเหตุ** ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และตัวอักษรที่เหมือนกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

# บทที่ 4
# สรุปผลการทดลอง

## 4.1 สรุปผลการทดลอง

จากการทดลอง หาค่าสมบัติเคมีกายภาพในตัวอย่างปลาร้าที่มีปัจจัยที่แตกต่างกัน ได้แก่ ระยะเวลาการหมัก ชนิดของปลา และวัตถุดิบในการหมัก พบว่าสูตรของเกลือจะมีพีเอชอยู่ในช่วง 6.53 – 7.47 แต่สูตรอื่น ๆ (เกลือและข้าวคั่ว เกลือและรำข้าว เกลือ ข้าวคั่ว และรำข้าว) จะอยู่ในช่วง 4.66 – 5.46 และเมื่อนำไปเทียบกับปลาร้าที่มีปริมาณของ γ-Glu-Val-Gly ที่สูง มีพีเอชในช่วง 4.9 – 6.5 สูตรของเกลือจึงอาจจะมีปริมาณของ γ-Glu-Val-Gly ที่น้อยหรืออาจจะไม่มีเมื่อเทียบกับสูตรอื่น ๆ และสามารถบอกได้ว่าสูตรอื่น ๆ เกิดกระบวนการหมักและผลิต γ-Glu-Val-Gly แล้ว และจากการทดลองพบความเข้มข้นของเกลือช่วง 18.2% - 30.42% โดยน้ำหนัก มีค่าความชื้นช่วง 51.43% - 74.64% และค่าน้ำอิสระช่วง 0.739 – 0.856 ซึ่งแนวโน้มความเข้มข้นเกลือของระยะเวลาการหมักเดือน 5 ถึงเดือน 8 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และแนวโน้มค่าน้ำอิสระของระยะเวลาการหมักเดือน 5 ถึงเดือน 8 มีแนวโน้มลดลง บ่งบอกถึงการหยุดกระบวนการหมักเมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้น

## 4.2 ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากโครงการของนายอภินิหาร ผิวพรรณนี้เป็นโครงการระยะยาวโดยใช้ที่จะดูผลสมบัติเคมีกายภาพของระยะเวลาการหมัก 12 เดือน แต่จากโครงการนี้ได้ใช้แค่ในช่วงระยะเวลาการหมักแค่ 3 เดือน ได้แก่ เดือน 5 7 และ 8 ทำให้ไม่เห็นแนวโน้วทั้งหมด จึงเสนอว่าควรมีมีช่วงเวลาที่มากกว่านี้ น่าจะเห็นแนวโน้มมากยิ่งขึ้น

2. ควรมีผลของปริมาณสารกลุ่มโคคูมิมาประกอบในค่าสมบัติกายภาพ

3. มีการควบคุมการปริมาณของน้ำปลาร้า และเนื้อปลาร้าที่เท่ากัน จะทำให้การหาค่าความชื้นแม่นยำยิ่งขึ้น

## เอกสารอ้างอิง

[1] Phewpan, A., Phuwapraisirisan, P., Takahashi, H., Ohshima, C., Ngamchuachit, P., Techaruvichit, P., Dirndorfer, S., Dawid, C., Hofmann, T., Keeratipibul, S., Investigation of kokumi substances and bacteria in fermented Thai freshwater fish (Pla-ra), *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Retrieved from. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06107 (access 27.11.19).

[2] Simone, T., Andreas, D., Thomas, H., A Series of Kokumi Peptides Impart the Long-Lasting Mouthfulness of Matured Gouda Cheese, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **2009**, 57(4), 1440-1448

[3] Maruyama, Y., Yasuda, R., Kuroda, M., Eto, Y., Kokumi Substances, Enhancers of Basic Tastes, Induce Responses in Calcium-Sensing Receptor Expressing Taste Cells, *PLoS ONE*. Retrieved from. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034489 (accessed 8.11.19).

[4] Meyer, S., Dunkel, A., Hofmann, T., Sensomics-assisted Elucidation of the Tastant Code of Cooked Crustaceans and Taste Reconstruction Experiments, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2016**, 64(5), 1164-1175.

[5] Kuroda, M., Kato, Y., Yamazaki, J., Kai, Y., Mizukoshi, T., Hiroshi, M., Eto, Y., Determination and Quantification of γ-Glutamyl-valyl-glycine in Commercial Fish Sauces, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **2012**, 60(29), 7291-7296.

[6] Kuroda, M., Kato, Y., Yamazaki, J., Kai, Y., Mizukoshi, T., Miyano, H., Eto, Y., Determination and Quantification of the Kokumi Peptide, γ-glutamyl-valyl-glycine, in Commercial Soy Sauces, *Food Chemistry*, **2013**, 141(2), 823-828.

[7] Miyamura, N., Kuroda, M., Kato, Y., Yamazaki, J., Mizukoshi, T., Miyano, H., Eto, Y., Determination and Quantification of a Kokumi Peptide, γ-Glutamyl-Valyl Glycine, in Fermented Shrimp Paste Condiments, *Food Science and Technology Research,* **2014**, 20(3), 699-703.

[8] Kopermsub, P., Yunchalard, S., Idenrification of Lactic Acid Bacteria with the Production of Plaa-som, a Traditional Fermented Fish Product of Thailand, *International Journal of Food Microbiology*, **2010**, 138(3), 200-204.

[9] Chansuvarn, W., Solubility Equilibria. Retrieved from. https://web.rmutp.ac.th/woravith/upload/AnalChem/solubility.pdf (access 8.11.19)

[10] นันทพร มูลรังษี, การไทเทรตแบบตกตะกอน, เอกสารประกอบการสอน รายวิชา เคมีวิเคราะห์ 1 ของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี, **2558**, 1(1), 177-195.

[11] Food Network Solution. [online] ค่าน้ำอิสระ. http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0551/water-activity-%E0%B9%81%E0%B8%AD%E0%B8%84%E0%B8%95%E0%B8%B4%E0%B8%A7%E0%B8%B4%E0%B8%95%E0%B8%B5%E0%B8%82%E0%B8%AD%E0%B8%87%E0%B8%99%E0%B9%89%E0%B8%B3 (access 12.11.19)

[12] PHTIC PERDO. [online] ค่าน้ำอิสระ. http://www.phtnet.org/2003/09/26/ (access 12.11.19)

[13] นิภาพร ขำสอาด, สถิติทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย. Retrieved from. http://thesis.swu.ac.th/swuthesis/Ed_Mea/Nipaporn_K.pdf (access 9.11.19)

[14] สุพัฒน์ สุกมลสันต์, การเปรียบเทียบก่อนและหลังการทดสอบรวมเพื่อการวิจัย, วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์, **2560**, 9(2), 52-70

## ประวัติผู้วิจัย

นายเอกรัฐ ศศิพงศ์ไพโรจน์ เกิดเมื่อวันที่ 14 เดือนมกราคม พ.ศ. 2541 ที่จังกรุงเทพมหานคร สำเร็จศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียน อัสสัมชัญ จังหวัด กรุงเทพมหานคร เมื่อปีการศึกษา 2558 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาสขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2559 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 1/14 ซอยบางแวก 83 แขวงคลองขวาง เขตภาษีเจริญ จังหวัดกรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ และอีเมล exsoduzz@gmail.com