บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

1. เศษเนื้อนกกระจอกเทศ : นนธนา ฟาร์มนกกระจอกเทศ สาขาหางดง จ.เชียงใหม่
2. สารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (Sodium Tripolyphosphate) ชนิด practical grade
3. โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (Soy protein isolate) : บริษัท ฟูดส์อีคิว จำกัด กรุงเทพฯ
4. กลูเตน (Gluten) : บริษัท ฟูดส์อีคิว จำกัด กรุงเทพฯ
5. เกลือบริโภค (Sodium chloride) ชนิด food grade
6. แป้งสาลี : บริษัท ยูไนเต็ดฟลาวมิลล์ จำกัด (มหาชน) จ.สมุทรปราการ
7. ซอสปรุงรส : บริษัท ไทยเทพรสผลิตภัณฑ์อาหาร จ.สมุทรปราการ
8. พริกไทยป่น : ห้างหุ้นส่วนจำกัด ศิริเรืองอำไพ จ.เชียงใหม่
9. ไส้ไฟบรัส (Fibrous) ชนิด food grade

3.1.2 สารเคมี

1. กรดซัลฟูริค (Sulfuric acid : Merck, Germany)
2. กรดบอริค (Boric acid : Merck, Germany)
3. คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate : Merck, Germany)
4. ซิลิเนียมไดออกไซด์ (Selenium dioxide : J.T.Baker, USA)
5. โซเดียมซัลเฟต (Sodium sulfate : Merck, Germany)
6. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide : J.T.Baker, USA)
7. โบรโมครีซอลกรีน (Bromocresol green : Fluka, Switzerland)
8. เมธิลีนบลู (Methylene blue : Scientific, U.K.)
9. เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol : Merck, Germany)
10. ไดเอทิล อีเทอร์ (Diethyl ether : LAB-SCAN, Ireland)
11. ไกลซีน (Glycine : Ajax Finechem, Australia)
12. โบรโมฟีนอลบลู (Bromophenol blue : Amersham LIFE SCIENCE, Austria)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

13. ทริส (Tris : Buckinghamshine, England)
14. เมอแคปโตเอทานอล (2-mercaptoethanol : Merck, Germany)
15. อะไคลาไมด์ (Acrylamide : Sigma chemical, USA)
16. โซเดียมโดดิซิลซัลเฟต (Sodium dodecylsulfate : Sigma chemical, USA)
17. โคมาซีบริลเลียนท์บลู (Coomassie brilliant blue : Sigma chemical, USA)
18. แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต (Ammonium persulfate : Pharmacia Biotech, Sweden)
19. เมธิลีนบิสอะไคลาไมด์ (N,N-methylene-bis acrylamide : Pharmacia Biotech, Sweden)
20. เทมเมด (TEMED : Pharmacia Biotech, Sweden)
21. เมธานอล (Methanol : Merck, Germany)
22. กรดไฮโดรคลอลิค (Hydrochloric acid : Pharmacia Biotech, Sweden)
23. ไกลเซอรีน (Glycerine : Sigma chemical, USA)
24. กรดอะซิติก (Acetic acid : Merck, Germany)

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตเบอร์เกอร์เศษเนื้อนกกระจอกเทศ

1. เครื่องผสม (Kitchen aid HOBART รุ่น K5SS)
2 เครื่องบดเนื้อ (Meat grinder)
3. เทอร์โมคัปเปิล (Thermocouple)
4. เครื่องอัดขึ้นรูปแบบไฮโดรลิค (ผลิตในประเทศไทย)
5. เครื่องหั่นเนื้อ (Slicer ; HW-961, Taiwan)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์ทางกายภาพ

1. เครื่องมือวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture Analyser TA-X Plus Stable Micro System, England)
2. เครื่องสำหรับวัด Differential Scanning Calorimetry (รุ่น Q100V6.16 build224, England)

3.2.3 อุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์ทางเคมี

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance ; Sartorius : Model A120S, Germany)
2. เครื่องย่อยสำหรับวิเคราะห์โปรตีน (Tecator, Sweden)
3. เครื่องกลั่นโปรตีน (2100 Kjetec Distillation Unit ; Foss Tecator, Sweden)
4. เตาเผาเถ้า (Muffle Furnace ; Gallenkamp, England)
5. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven ; Termaks : Model T111UV, Bergen-Norway)
6. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath ; Gallenkamp, England)
7. ชุดวิเคราะห์โปรตีน/ไนโตรเจนทั้งหมด ด้วยวิธีเคลดาห์ล (Kjeldahl Methodoppatos)
8. ตู้อบแบบสุญญากาศ (Vacuum oven ; WPB Binder : VD23)
9. ชุดสกัดไขมัน (Soxhlet extration apparatus)
10. ตู้ดูดควัน (Hood ; Hoefer Pharmacia Biotech, Bangkok)
11. Transferpipett (Band, Germany)
12. ชุดสำหรับทำอิเลคโทรโฟรีซีส mini vertical Hoefer apparatus (Hoefer Pharmacia Biotechnology, Sweden)
13. เครื่องแก้วต่างๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3 เครื่องมือที่ใช้ประมวลผลข้อมูลทางสถิติ

1. เครื่องคอมพิวเตอร์ส่วนบุคคล (Personal computer)
2. โปรแกรมสำเร็จรูป Microsoft excel
3. โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 10.0.1

3.4 วิธีการทดลอง

การเตรียมเบอร์เกอร์เศษเนื้อนกกระจอกเทศ

การเตรียมเนื้อ : นำเศษเนื้อนกกระจอเทศมาตัดแต่งเอาเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ไขมันและเอ็นออก แล้วหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ จากนั้นนำเนื้อไปบดด้วยเครื่องบดเตรียมผลิตในขั้นตอนต่อไป

การเตรียมไส้ไฟบรัส : ใช้ไส้บรรจุชนิดไฟบรัส (fibrous) เส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร ยาว 20 เซนติเมตร ก่อนใช้บรรจุให้นำไปแช่ในน้ำสะอาดอย่างน้อย 3 นาที เพื่อให้ไส้อ่อนตัว

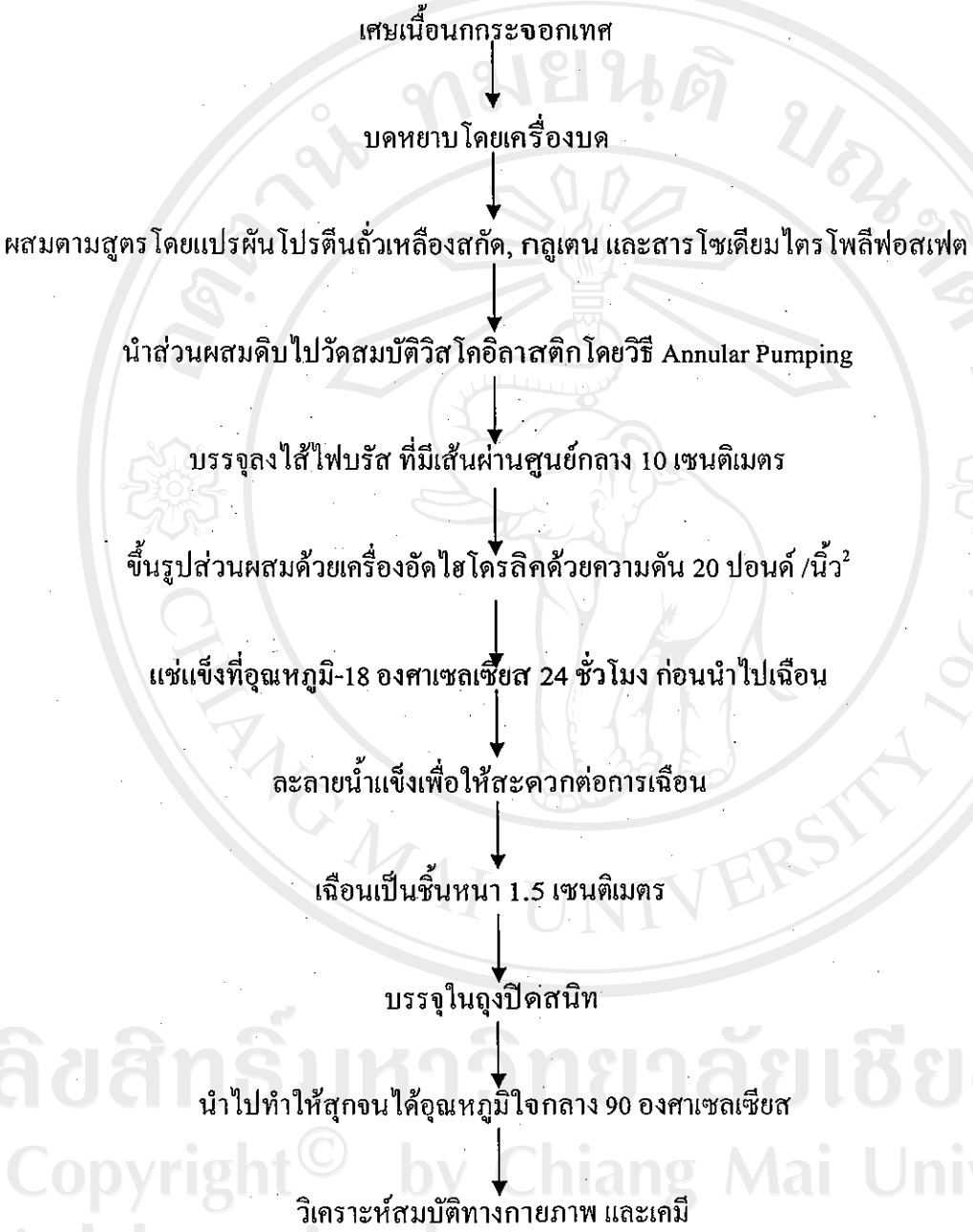
สูตรเบอร์เกอร์เศษเนื้อนกกระจอกเทศ

1. เนื้อนกกระจอกเทศบด	500	กรัม
2. ซอสปรุงรส	10	กรัม
3. เกลือบริโภค	5	กรัม
4. แป้งสาลี	5	กรัม
5. พริกไทยป่น	5	กรัม

แปรผันปริมาณโปรตีนถั่วเหลืองสกัดร้อยละ 0-5 โดยน้ำหนักเศษเนื้อนกกระจอกเทศ
แปรผันกลูเตนร้อยละ 0-5 โดยน้ำหนักเศษเนื้อนกกระจอกเทศ
แปรผันสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตร้อยละ 0-0.2 โดยน้ำหนักเศษเนื้อนกกระจอกเทศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีผลิตเบอร์เกอร์



รูปที่ 3.1 กระบวนการผลิตเบอร์เกอร์เศษเนื้อนกกระจอกเทศ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 1 ศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของเศษเนื้อนกกระจอกเทศ รวมทั้งสมบัติทางเคมีของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด และกลูเตน

1.1 ศึกษาสมบัติทางเคมี

วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเศษเนื้อนกกระจอกเทศ รวมทั้งโปรตีนถั่วเหลืองสกัด และ กลูเตน โดยวิเคราะห์ทางด้านโปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า คาร์โบไฮเดรต และค่าพลังงานความร้อนตามวิธี AOAC (2000)

1.2 ศึกษาสมบัติทางกายภาพ

1.2.1 ค่าความแข็งของเจล (gel strength)

โดยนำตัวอย่างเศษเนื้อนกกระจอกเทศขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร สูง 1.5 เซนติเมตร ทำการทดสอบความแข็งของเจล (gel strength) โดยวิธีการเจาะทะลุด้วยเครื่องมือวิเคราะห์เนื้อสัมผัส Texture Analyzer TA-XT Plus ประยุกต์ตามวิธีของ Lin and Kee (1998)

1.2.2 ศึกษาสมบัติการพักความเค้น (stress relaxation) ของเศษเนื้อนกกระจอกเทศ

นำเศษเนื้อนกกระจอกเทศขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร หนา 1.5 เซนติเมตร นำไปทำการทดสอบการพักความเค้น (stress relaxation) ด้วยเครื่องมือวิเคราะห์เนื้อสัมผัส Texture Analyzer TA-XT Plus ประยุกต์ตามวิธีของ Tang *et al*. (1998)

1.2.3 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเสียสภาพ (denature) ของเศษเนื้อนกกระจอกเทศ และเบอร์เกอร์หลังการทอดสุกจนได้อุณหภูมิใจกลาง 90 องศาเซลเซียส

ทดสอบโดยเครื่อง Differential Scanning Calorimitry (DSC) อัตราการให้ความร้อน 5 องศาเซลเซียส ต่อนาที ตั้งค่าอุณหภูมิจาก 30 ถึง 120 องศาเซลเซียส ประยุกต์ตามวิธีของ Sarach and Nazlin (2003)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 2 ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของส่วนผสมของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด กลูเตน และสารสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่เหมาะสมต่อคุณภาพของเบอร์เกอร์เศษเนื้อนกกระจอกเทศก่อน และหลังการทำให้สุก

2.1 ศึกษาสมบัติทางวิสโคอิลาสติกของส่วนผสมเบอร์เกอร์เศษเนื้อนกกระจอกเทศดิบ

นำส่วนผสมเบอร์เกอร์เศษเนื้อนกกระจอกเทศดิบมาศึกษาสมบัติทางวิสโคอิลาสติก โดยวิธี Annular Pumping จากเครื่อง Texture Analyzer TA-XT Plus (Stayble MicroSystem, UK) ประยุกต์ตามวิธีของ Apichartsrangkoon (2002)

2.2 ศึกษาสมบัติกายภาพของเบอร์เกอร์เศษเนื้อนกกระจอกเทศหลังการทำให้สุก

2.2.1 ศึกษาค่าร้อยละผลผลิตที่ได้ (cooking yield)

โดยวิธีการชั่งน้ำหนักเบอร์เกอร์ก่อนและหลังการให้ความร้อน จากนั้นคำนวณหาค่าร้อยละผลผลิตที่ได้ ประยุกต์ตามวิธีของ Chen and Trout (1991)

2.2.2 ศึกษาค่าร้อยละการหดตัว (shrinkage)

โดยวิธีการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางเบอร์เกอร์ก่อน และหลังให้ความร้อนจากนั้นคำนวณหาค่าร้อยละการหดตัว ประยุกต์ตามวิธีของ Chen and Trout (1991)

2.2.3 ศึกษาค่าความแข็งของเจล (gel strength)

นำตัวอย่างเบอร์เกอร์เนื้อนกกกระจอกเทศขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร หนา 1.5 เซนติเมตร นำไปทำการทดสอบความแข็งของเจล (gel strength) โดยวิธีการเจาะทะลุด้วยเครื่องมือวิเคราะห์เนื้อสัมผัส Texture Analyser TA-XT Plus ประยุกต์ตามวิธีของ Lin and Kee (1998)

2.2.4 ศึกษาค่าความสามารถการอุ้มน้ำ (Water Holding Capacity)

ใช้เทคนิคการกดโดยชั่งเนื้อเบอร์เกอร์ประมาณ 0.3 กรัม วางบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์.1 ที่ถูกดูดความชื้นด้วยสาร KCI (potassium chloride) อิ่มตัว จากนั้นประกบด้วยกระจก 2 แผ่น กดด้วยมวล 1 กิโลกรัม นาน 10 นาที จากนั้นหาคำนวณน้ำหนักน้ำที่แพร่ออกมา ประยุกต์ตามวิธีของ Pietrasik (1999)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.5 ศึกษาสมบัติการพักความเค้น (stress relaxation) ของเบอร์เกอร์เศษเนื้อนกกระจอกเทศ

นำเบอร์เกอร์เศษเนื้อนกกระจอกเทศขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร หนา 1.5 เซนติเมตร นำไปทำการทดสอบการพักความเค้น (stress relaxation) ด้วยเครื่องมือวิเคราะห์เนื้อสัมผัส Texture Analyser TA-XT Plus ประยุกต์ตามวิธีของ Tang *et al.* (1998) พร้อมหาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่เหมาะสมของหน่วยทดลองที่มีค่าความเค้นสมดุลย์ (Equilibium Stress, b_0) สูง และต่ำที่สุด

ตอนที่ 2 (2.1-2.2) วางแผนการทดลองเป็นแบบ Central Composite Design (CCD) โดยผันแปรสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (sodium tripolyphosphate) ในช่วงร้อยละ 0-0.2 โดยน้ำหนักของ เศษเนื้อนกกระจอกเทศผันแปรโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate) และกลูเตน (gluten) ในช่วงร้อยละ 0-5 โดยน้ำหนักของเศษเนื้อนกกระจอกเทศ มีทั้งหมด 18 หน่วยการทดลอง ดังตารางที่ 3.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.1 แปรผันการเติมโปรตีนถั่วเหลืองสกัด กลูเตน และสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต

หน่วยทดลอง	ปริมาณโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ปริมาณกลูเตน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ปริมาณสารโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
1	1.01	1.01	0.04
2	3.99	1.01	0.04
3	1.01	3.99	0.04
4	3.99	3.99	0.04
5	1.01	1.01	0.16
6	3.99	1.01	0.16
7	1.01	3.99	0.16
8	3.99	3.99	0.16
9	0	2.5	0.1
10	5	2.5	0.1
11	2.5	0	0.1
12	2.5	5	0.1
13	2.5	2.5	0
14	2.5	2.5	0.2
15	2.5	2.5	0.1
16	2.5	2.5	0.1
17	2.5	2.5	0.1
18	2.5	2.5	0.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3 ศึกษาสมบัติทางเคมีของเบอร์เกอร์เศษเนื้อนกกระจอกเทศก่อน และหลังการทำให้สุกด้วยวิธีอิเลคโตโฟลิซิส (electrophoresis)

ตรวจสอบการสร้างพันธะเคมีของเบอร์เกอร์ โดยใช้วิธี Sodium Dodecylsulfate Polyacrylamide Gel (SDS-PAGE) ประยุกต์ตามวิธีของ Apichartsrangoon and Ledward (2002)

2.4 การประเมินทางประสาทสัมผัส

นำเบอร์เกอร์หน่วยทดลองที่ดีที่สุดจากการทดลองตอนที่ 2 ข้อ 2.1 และ 2.2 ซึ่งมีทั้งหมด 4 หน่วยทดลอง รวมทั้งเบอร์เกอร์ที่ไม่เติมสารยึดเกาะ และสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (control) มาตัดแต่งให้ได้ขนาด กว้างxยาว เท่ากับ 3x3 เซนติเมตร ทำการอุ่นตัวอย่างให้ร้อนก่อนการทดสอบด้วยเตาอบไมโครเวฟเป็นเวลา 90 วินาที ประเมินทางประสาทสัมผัสโดยวิธีให้คะแนน (Hedonic scale) ซึ่งมีระดับการให้คะแนน 1 ถึง 9 (1=ไม่ชอบมากที่สุด และ9=ชอบมากที่สุด) โดย ผู้ชิมที่ผ่านการฝึกฝนมาแล้วจำนวน 10 คน เพื่อคัดเลือกสูตรที่ได้รับการยอมรับมากที่สุด ทำการประเมินทางประสาทสัมผัสทางด้าน

2.4.1 สี

2.4.2 กลิ่น

2.4.3 ลักษณะเนื้อสัมผัส

2.4.4 รสชาติ

2.4.5 การยอมรับรวม

ในการประเมินทางประสาทสัมผัสใช้แผนการทดลองสุ่มแบบบลอคสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) โดยมี 4 หน่วยทดลอง รวมทั้งเบอร์เกอร์ที่ไม่เติมสารยึดเกาะ และสารโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (control) แล้ววิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และ Least Significant Difference (LSD)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved