บทที่ 3
อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

1) เนื้อหมูส่วนสะโพก จาก บริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน)
2) ไขมันส่วนหลังของหมู จาก บริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน)
3) น้ำแข็ง จาก บริษัท เวียงพิงค์ไอซ์ จำกัด, ประเทศไทย
4) NaCl จาก ห้างหุ้นส่วนจำกัด โอ.วี.เคมิเคิล แอนด์ซัพพลาย
5) KCl จากห้างหุ้นส่วนจำกัด ซี.เอ็ม.เคมีคอล แอนด์ แล็บ ซัพพลายส์
6) อินูลิน จาก DPO (Thailand) Ltd., (Orafti®HP, DP $\geq$ 23)
7) พริกไทย จาก ห้างหุ้นส่วนจำกัด บากกอกชิลลี่
8) กระเทียม จากตลาดสดในจังหวัดเชียงใหม่
9) ริโบไทด์ จากบริษัทฟูดส์ฟิลด์อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด
10) ทรานกลูตามิเนส จากบริษัท อายิโนะโมะโต๊ะ (ประเทศไทย) จำกัด, (Activa®TG-AK, Transglutaminase activity 50 – 84 U/g)

3.1.2 อุปกรณ์

1) ตู้เย็น (Sanyo, ประเทศไทย)
2) ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven), (Memmert type INB 400, Germany)
3) เครื่องสับผสม (Meissner Gmbh. & CO. KG., RS. 20, Germany)
4) เครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermometer) (OAKTON, China)
5) เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (TA.XT2 Texture analyzer, Stable Micro System, UK)
6) เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Soxtec), (Avanti 2050, Germany)
7) เครื่องวัดระบบอะตอมมิก แอบซอพชั่น สเปคโตรมิเตอร์(Atomic Absorption Spectrometers (AAS)), (Avanta M1, U.S.A.)
8) เครื่องให้ความร้อน (Hot Plate), (IKA® C – MAG HS7, USA)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

9) เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง (pH meter), (Drion: 520 A, US)
10) ชุดวิเคราะห์อิเลคโตรโฟรีซิส (BIO – RAD, USA)
11) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer), (Thermo scientific, USA)
12) เครื่องระเหยสุญญากาศ (Evaporation), (Eppendorf concentration 5301, Germany)
13) ชุดเครื่องแก้ว ได้แก่ Erlenmeyer flask Volumetric flask beaker เป็นต้น

3.1.3 สารเคมี

1) Petroleum ether, RCI labscan, Thailand
2) Nitric acid 65%, RCI labscan, Thailand
3) Perchloric acid 71 – 73%, Rankem, India
4) Hydrochloric acid 37%, RCI labscan, Thailand
5) Sodium standard solution, Merck, Germany
6) น้ำปราศจากไอออน, RCI labscan, Thailand
7) น้ำกลั่น, โพลสตาร์, ประเทศไทย
8) อะคริลาไมด์ (Acrylamide), Promaga, USA
9) Sodium dodecyl sulfate (SDS), Fisher BioReagents, Japan
10) Ammonium persulfate, Rankem, India
11) TEMED, Fisher Scientific, UK
12) Tris, Fisher BioReagents, USA
13) Glycerol, Merck, Germany
14) Coomassie brilliant blue, Amersham life sciences, United Kingdom
15) Bromophenol blue, Amersham life sciences, Austria
16) Acetic acid, J.T. Baker, Thailand
17) Methanol, Merck, Germany
18) Bovine Serum Albumin (BSA), sigma, USA
19) Protein molecular weight marker, GE Healthcare UK Ltd., UK

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2 วิธีการทดลอง

ส่วนผสมพื้นฐานและกรรมวิธีการผลิตลูกชิ้นหมูที่ใช้ในการทดลอง ปรับปรุงมาจากสูตรลูกชิ้นที่ใช้ในปฏิบัติการกระบวนการแปรรูปอาหาร (สุทัศน์, 2552) มีส่วนผสมดังตารางที่ 3.1 และขั้นตอนการทำดังภาพที่ 3.1 และภาคผนวก ก

ตารางที่ 3.1 ส่วนผสมในการทำลูกชิ้นหมู

ส่วนผสม	ร้อยละ
เนื้อหมู	100.0
มันแข็ง	20.0*
เกลือ (NaCl)	3.7*
พริกไทย	0.3*
กระเทียม	3.3*
ฟอสเฟส (Sodium Tri Poly Phosphate: STPP)	0.1*
น้ำแข็ง	33.0*

* ร้อยละคิดเทียบจากปริมาณเนื้อหมู

เนื้อหมูบดหมักกับเกลือ และ STPP เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิไม่เกิน 4 ˚C นาน 24 h

↓

แยกส่วนของมันหมูบดเก็บในห้องเย็นเช่นกัน

↓

นำหมูเนื้อแดงบดใส่ในเครื่องผสม ใส่ส่วนผสมอื่นๆ ผสมให้เข้ากัน

↓ เติมน้ำแข็งเพื่อให้ส่วนผสมเย็น

เติมมันหมูบดผสมจนเข้ากัน

↓

บดส่วนผสมประมาณ 10 min จนได้ส่วนผสมที่ละเอียดเหนียว

↓

นำส่วนผสมที่ได้มาปั้นเป็นลูกชิ้นและต้มในน้ำอุณหภูมิ 60 ± 2 ˚C เป็นเวลา 10 min

↓

นำลูกชิ้นที่ได้มาต้มอีกครั้งในน้ำอุณหภูมิ 80 ± 2˚C เป็นเวลา 15 min

↓

ทำให้เย็นทันที ทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ บรรจุถุง เก็บไว้ในตู้เย็น (4 ˚C)

ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการทำลูกชิ้นหมู

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ขั้นตอนได้แก่

ตอนที่ 1 การศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ โพแทสเซียมคลอไรด์ มันแข็ง และอินูลินต่อคุณลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปของลูกชิ้นหมู

จากการคำนวณปริมาณไขมัน และโซเดียมของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมูในสูตรอ้างอิงเมื่อต้องการลดปริมาณไขมัน และโซเดียมลงเพื่อการกล่าวอ้างว่าเป็นผลิตภัณฑ์ลดไขมัน และโซเดียม ตามข้อกำหนดในการกล่าวอ้างการลดปริมาณไขมัน และโซเดียมในผลิตภัณฑ์ ต้องลดปริมาณไขมัน และโซเดียม ทั้งหมดลงเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์อื่นที่เป็นอาหารชนิดเดียวกันหรือคล้ายคลึงกัน โดยลดลงตั้งแต่ร้อยละ 25 ขึ้นไป

จากสูตรพื้นฐานแหล่งของไขมันที่มากที่สุดคือมันแข็ง จึงจะลดปริมาณมันแข็งที่ใช้ในสูตรลงให้มากกว่าร้อยละ 25 ของมันแข็งที่ใช้ในสูตร คือลดปริมาณมันแข็งจากร้อยละ 20 ของน้ำหนักเนื้อหมู เป็นร้อยละ 13 ของน้ำหนักเนื้อหมู เป็นระดับสูงสุด (+1) ที่จะสามารถใช้ได้ในการทดลองนี้ และที่ระดับต่ำ (-1) สุดในการทดลองนี้คือร้อยละ 7 ของน้ำหนักเนื้อหมู โดยจะใช้อินูลินเป็นสารทดแทนไขมันที่หายไปในสูตร และแหล่งของโซเดียมที่มากที่สุดในการทดลองนี้คือโซเดียมคลอไรด์ จึงจะลดปริมาณโซเดียมคลอไรด์ ที่ใช้ในสูตรลงให้มากกว่าร้อยละ 25 ของโซเดียมคลอไรด์ ที่ใช้ในสูตร คือลดปริมาณโซเดียมคลอไรด์ จากร้อยละ 3.7 ของน้ำหนักเนื้อหมู เป็นร้อยละ 2.7 ของน้ำหนักเนื้อหมู เป็นระดับสูงสุด (+1) ที่จะสามารถใช้ได้ในการทดลองนี้ และที่ระดับต่ำสุด (-1) ในการทดลองนี้คือร้อยละ 1 ของน้ำหนักเนื้อหมู โดยใช้โพแทสเซียมคลอไรด์เป็นสารทดแทน โซเดียมคลอไรด์ที่หายไปในสูตร

จากนั้นวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล 4 ปัจจัยๆ ละ 2 ระดับ และทดลองซ้ำที่จุดกึ่งกลาง 4 ซ้ำ (Factorial in Complete Randomized Design 2^4 + 4 center points) ดังตารางที่ 3.2 เพื่อศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ ที่ผันแปรต่อคุณลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปของลูกชิ้น โดยกำหนดระดับของปัจจัยที่ผันแปร คิดเป็นร้อยละของเนื้อหมูที่ใช้ในสูตร ดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.2 ปัจจัยที่ใช้ผันแปรในการศึกษา

ปัจจัย	ระดับต่ำ (-1)	จุดกึ่งกลาง (0)	ระดับสูง (+1)
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	1	1.85	2.7
โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)	1	1.85	2.7
มันแข็ง	7	10	13
อินูลิน	7	10	13

กำหนดให้ส่วนผสมอื่นๆ คงที่ตามส่วนผสมพื้นฐาน ดังตารางที่ 3.1 ที่ใช้ในการทดลอง และเมื่อใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Design-Expert version 6.0.10 (Statease Inc., Minneapolis, USA, 2000) กำหนดระดับสูง – ต่ำ ของปัจจัยตามที่กำหนด ได้สิ่งทดลองทั้งหมด 20 สิ่งทดลอง ดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 สิ่งทดลองของการศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ โพแทสเซียมคลอไรด์ มันแข็ง และอินูลิน ต่อคุณลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปลูกชิ้นหมู

สิ่งทดลอง	ปัจจัยในสิ่งทดลอง (ร้อยละของเนื้อหมู)			
	NaCl	KCl	fat	inulin
1	1 (-1)	1 (-1)	13 (1)	7 (-1)
2	1.85 (0)	1.85 (0)	10 (0)	10 (0)
3	1 (-1)	2.7 (1)	7 (-1)	13 (1)
4	1.85 (0)	1.85 (0)	10 (0)	10 (0)
5	2.7 (1)	1 (-1)	7 (-1)	13 (1)
6	1 (-1)	1 (-1)	13 (1)	13 (1)
7	1.85 (0)	1.85 (0)	10 (0)	10 (0)
8	2.7 (1)	2.7 (1)	13 (1)	7 (-1)
9	1 (-1)	2.7 (1)	13 (1)	13 (1)
10	2.7 (1)	1 (-1)	13 (1)	13 (1)
11	1.85 (0)	1.85 (0)	10 (0)	10 (0)
12	2.7 (1)	2.7 (1)	13 (1)	13 (1)
13	1 (-1)	2.7 (1)	7 (-1)	7 (-1)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3.3 (ต่อ)

สิ่งทดลอง	ปัจจัยในสิ่งทดลอง (ร้อยละของเนื้อหมู)			
	NaCl	**KCl**	**fat**	**inulin**
14	1 (-1)	1 (-1)	7 (-1)	13 (1)
15	2.7 (1)	1 (-1)	13 (1)	7 (-1)
16	2.7 (1)	2.7 (1)	7 (-1)	7 (-1)
17	2.7 (1)	1 (-1)	7 (-1)	7 (-1)
18	1 (-1)	2.7 (1)	13 (1)	7 (-1)
19	2.7 (1)	2.7 (1)	7 (-1)	13 (1)
20	1 (-1)	1 (-1)	7 (-1)	7 (-1)

จากนั้นนำตัวอย่างในแต่ละสิ่งทดลองไปทดสอบคุณภาพดังนี้

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

ทำการประเมินคุณภาพทางด้านเนื้อสัมผัสของลูกชิ้น ในแต่ละสิ่งทดลองด้วยการประเมินคุณภาพทางด้านเนื้อสัมผัสแบบ Texture Profile Analysis (TPA) ด้วยเครื่อง Texture analyzer (TA-XT Plus, UK) ทำการต้มลูกชิ้นที่จะประเมินในน้ำเดือดเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นเก็บไว้ในภาชนะปิดสนิท ใส่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวัด ทำการวัดค่าเนื้อสัมผัสด้วยหัววัดอะลูมิเนียมทรงกระบอก เส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร (Ø 50 mm aluminum cylinder probe) วิเคราะห์ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยโหลดเซลที่ใช้วัดค่า 50,000 กรัม ตั้งค่าการวัดของเครื่องมือ ใช้ความเร็วก่อนการวัดค่าตัวอย่าง 1.0 มิลลิเมตรต่อวินาที ความเร็วขณะวัดตัวอย่าง 2.0 มิลลิเมตรต่อวินาที ความเร็วหลังการวัดค่าตัวอย่าง 3 มิลลิเมตรต่อวินาที ตัวอย่างจะถูกกดลงไปเป็นระยะทางร้อยละ 75 ของความสูงตัวอย่างในแต่ละสิ่งทดลองทำการวัดค่า 10 ตัวอย่าง ดัดแปลงวิธีจากวิธีการทดลองของ Bourne (1978)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

วิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

นำตัวอย่างลูกชิ้นหมูที่ผ่านการอบจนแห้ง ประมาณ 2 กรัม (W_1) ใส่ใน thimble ที่มีกระดาษกรองหุ้มภายใน สอดเข้า condenser ในส่วนของ extraction unit ของเครื่อง soxtec จากนั้นนำถ้วย (soxtec cup) ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นในโถอบแห้ง ชั่งน้ำหนักถ้วย (W_2) โดยใช้เครื่อง soxtec (Avanti 2050, Germany) กดปุ่มปิดที่ครอบ thimble และถ้วยลงให้สนิท และเติม petroleum ether ลงไปในแต่ละถ้วย 70 มิลลิลิตร ใส่ลงในแต่ละถ้วย กดปุ่มเดินเครื่องรอให้ครบตามกระบวนการประมาณ 1 ชั่วโมง 30 นาที จากนั้นนำถ้วยไขมัน ไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นในโถอบแห้ง ชั่งน้ำหนักถ้วย (W_3) ดัดแปลงวิธีของ AOAC (2000)

วิธีการคำนวน

$$\textbf{ปริมาณไขมัน (ร้อยละน้ำหนัก)} = \frac{(W_3 - W_2) \times 100}{W_1}$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักตัวอย่าง หน่วยเป็น กรัม

W_2 = น้ำหนัก soctex cup ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน หน่วยเป็น กรัม

W_3 = น้ำหนัก soctex cup และน้ำมันจากตัวอย่าง อบจนได้น้ำหนักคงที่ หน่วยเป็น กรัม

วิเคราะห์ปริมาณโซเดียม

นำตัวอย่างลูกชิ้นหมูที่ผ่านการอบจนแห้ง ประมาณ 1 กรัม ใส่ลงใน erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมส่วนผสม HNO_3:$HClO_4$ (อัตราส่วน 6:1) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ปิดปาก flask แล้วทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงนำไปตั้งบนเตา hot plate ที่อุณหภูมิ 150 – 210 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสารตัวอย่างตกผลึกเป็นสีขาว ยกลงทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมส่วนผสม HCl: น้ำปราศจากไอออน (อัตราส่วน 1:4) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปตั้งบนเตา hot plate ที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จากนั้นนำมาปรับปริมาตรโดยใช้ volumetric flask 50 มิลลิลิตร เก็บ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารละลายใส่ไว้ในขวด นำไปวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมในผลิตภัณฑ์โดยใช้เครื่อง Atomic Absorption Spectrometers (AAS), (Avanta M1, USA) ดัดแปลงวิธีจากวิธีการทดลองของ Ohyama *et al*. (1991) (ตามวิธีการทดลองในภาคผนวก ค)

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อสิ่งทดลองโดยใช้วิธี 9 - point hedonic scale ให้คะแนนความชอบ 1 (ไม่ชอบมากที่สุด) ถึง 9 (ชอบมากที่สุด) (Peryam and Pilgrim, 1957) ทำการทดสอบในห้องประเมินทางประสาทสัมผัส สาขาวิชาเทคโนโลยีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป (SuSense, Thailand) ทดสอบกับผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 100 คน ซึ่งเป็นผู้ที่รับประทานลูกชิ้นหมูในเขตอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ สุ่มผู้ทดสอบ โดยไม่ใช้ทฤษฎีความน่าจะเป็นแบบ การสุ่มตัวอย่าง โดยใช้ความสะดวก (convenience sampling) ต้มตัวอย่างลูกชิ้นในน้ำเดือด เวลา 3 นาที บรรจุในถ้วยพลาสติกทนร้อนที่มีฝาปิดสนิท และเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส เพื่อรอการทดสอบ ตัวอย่างจะถูกนำเสนอต่อผู้ทดสอบทีละตัวอย่าง ด้วยรหัสเลขสุ่ม 3 ตัว มีการสุ่มลำดับการนำเสนอ ให้ผู้ทดสอบบ้วนปากระหว่างรอการประเมินตัวอย่างถัดไป แต่ละตัวอย่างจะถูกนำเสนอห่างกัน 3 นาที โดยแบ่งการนำเสนอตัวอย่างออกเป็น 4 รอบ นำเสนอตัวอย่างติดต่อกันรอบละ 5 ตัวอย่าง โดยในแต่ละรอบจะให้ผู้ทดสอบพักประมาณ 10 นาที ก่อนทดสอบตัวอย่างในรอบถัดไป เมื่อผู้ทดสอบทำการทดสอบเสร็จ ผู้ทดสอบจะได้รับของที่ระลึกตอบแทนในการเข้าร่วมทดสอบผลิตภัณฑ์ (ดังภาคผนวก ข)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาความแปรปรวนและความสัมพันธ์ของแต่ละปัจจัยต่อค่าคุณภาพที่ได้จากการวิเคราะห์ จากนั้นหาสูตรที่เหมาะสม โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design-Expert 6.0.2 (Stat-Ease Inc., Mineapolis, MN, USA)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 2 การศึกษาผลของการปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นหมูลดไขมันและโซเดียมด้วยทรานส์กลูตามิเนส (TGase)

เนื่องจากผลการวิเคราะห์ค่าเค้าโครงทางเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมูลดไขมันและโซเดียม จากการทดลองที่ 1 ยังคงมีค่าน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ที่ขายในท้องตลาด และTGase เป็นเอนไซม์ ที่นำมาประยุกต์ใช้กับกระบวนการแปรรูปอาหารประเภทโปรตีน เพื่อช่วยปรับปรุงคุณสมบัติทางหน้าที่ของโปรตีนไม่ว่าจะเป็นความสามารถในการเกิดเจล ความหนืด ความเสถียรต่อความร้อน และความสามารถในการอุ้มน้ำ (ประพันธ์, 2544) จึง TGase มาใช้ในการปรับคุณลักษณะทางด้านเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นหมูลดไขมัน และโซเดียม เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณลักษณะทางด้านเนื้อสัมผัสใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยนำสูตรที่ได้จากผลการทดลองจากการทดลองตอนที่ 1 มาผันแปรปริมาณ TGase ที่ใช้ในสูตร โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) เพื่อศึกษาผลของการใช้ TGase ต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นหมูลดเกลือและไขมัน โดยปริมาณ TGase ที่ผันแปรมาจากการศึกษาการใช้ TGase (Activa® TG-AK) ในการปรับปรุงคุณภาพทางเนื้อสัมผัส และการลดต้นทุนของผลิตภัณฑ์จากซูริมิที่มีช่วงเวลาสำหรับการเกิดปฏิกิริยาสั้น พบว่าการใช้ที่ระดับร้อยละ 0.2 และมีช่วงเวลาในการทำปฏิกิริยา 0 นาทีได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความแข็งแรงของเจลเท่ากับผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้ใช้ TGase ที่ช่วงเวลาในการทำปฏิกิริยา 24 ชั่วโมง จึงผลิตภัณฑ์ผันแปรปริมาณ TGase คร่อมช่วงดังกล่าว เพื่อศึกษาผลของการใช้ TGase ในลูกชิ้นหมูลดโซเดียมและไขมัน โดยผันแปรที่ระดับร้อยละ 0, 0.1, 0.2, และ 0.3 ของเนื้อหมูในสูตร ดังตารางที่ 3.4 โดยทดลองทั้งหมด 2 ซ้ำ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปทดสอบคุณภาพทางกายภาพ ทางเคมี และทางประสาทสัมผัส

ตารางที่ 3.4 การผันแปรปริมาณ TGase ในแต่ละสิ่งทดลอง

สิ่งทดลอง	ปริมาณ TGase (ร้อยละของเนื้อหมู)
1	0
2	0.1
3	0.2
4	0.3

ทำการทดลองทั้งหมด 2 ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

ทำเช่นเดียวกับการทดลองตอนที่ 1

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

วัดค่าความเป็นกรด – ด่าง โดยใช้ pH meter (Drion: 520 A, US) วัดที่ส่วนผสมลูกชิ้นหมูที่สับผสมเรียบร้อยแล้วก่อนนำไปต้ม

วิเคราะห์มวลโมเลกุลโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE โดยนำลูกชิ้นมาสกัดโปรตีนด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ และวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (Lowry, 1951) แล้วนำมาปรับปริมาตรให้มีความเข้มข้นเท่ากัน จากนั้นนำมาผสมกับ loading dye แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที เมื่อครบกำหนดปิเปตแต่ละตัวอย่างใส่ลงไปในแต่ละ well และเริ่มวิเคราะห์ตัวอย่างโดยใช้ชุดอิเลคโตรโฟรีซิส (BIO – RAD, USA) (Garfin, 1990) เมื่อตัวอย่างไหลลงมาจนเกือบจะถึงท้ายของแผ่นเจลแล้ว แกะแผ่นเจลออกจากกระจก แล้วนั้นนำแผ่นเจลมาแช่ในสารละลาย comassie blue เพื่อย้อมสีแถบโปรตีนนาน 60 นาที ที่ห้องอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลานำมาล้างด้วย Solution I นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และนำมาล้างด้วย Solution II นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Merril, 1990) เมื่อครบกำหนดนำตัวอย่างมาถ่ายรูปเจลที่ได้ (ตามวิธีการทดลองในภาคผนวก ค)

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

ทำเช่นเดียวกับการทดลองตอนที่ 1

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองไปวิเคราะห์หาความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of Variance; ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามวิธี Least significant difference (LSD) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS version 11.0 (SPSS Inc., Chicago, USA)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตอนที่ 3 การศึกษาผลของการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมูลดไขมันและโซเดียมที่พัฒนาได้

จากการวิเคราะห์หาสูตรที่เหมาะสมจากการทดลองในตอนที่ 1 และตอนที่ 2 ทำการผลิตลูกชิ้นตามสูตรที่เหมาะสมที่ได้ โดยผลิต 2 ซ้ำ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ไปทดสอบคุณภาพดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

ทำเช่นเดียวกับการทดลองตอนที่ 1

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- วัดค่า pH ของส่วนผสมลูกชิ้นหมูที่สับผสมเรียบร้อยแล้วก่อนนำไปต้ม โดยใช้ pH meter (Drion: 520 A, US)
- วิเคราะห์ปริมาณโซเดียม (AOAC, 2000)
- ปริมาณไขมันในผลิตภัณฑ์ (AOAC, 2005)
- ปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์ (AOAC, 2000)
- ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในผลิตภัณฑ์ (FAO, 2003)
- ปริมาณเถ้า (AOAC, 2005)
- ค่าความชื้น (AOAC, 2005)

การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

- Total Plate Count, (FDA, 2001)
- *Escherichia coli*, (FDA, 2002)
- *Salmonella*, (ISO 6579: 2002)
- *Staphylococcus aureus*, (FDA, 2001)
- *Clostridium perfrigens*, (FDA, 2001)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

ทำเช่นเดียวกับการทดลองตอนที่ 1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved