บทที่ 3

การทดลอง

วัตถุดิบ สารเคมีและอุปกรณ์การทดลอง

วัตถุดิบ

ถั่วเหลืองพันธุ์ ส.จ.5 จากสถานีทดลองปลูกพืชไร่จังหวัดพะเยามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 90-200 มิลลิเมตร น้ำหนักเฉลี่ยต่อเมล็ด 0.14-0.18 กรัม ได้จากฤดูเพาะปลูกช่วงเมษายน-พฤษภาคม กับ กรกฎาคม-สิงหาคม

สารเคมี

sodium hydroxide	(A.R.)
sulphuric acid	(A.R.)
boric acid	(A.R.)
potassium hydrogenphthalate	(A.R.)
methyl red	(A.R.)
methylene blue	(A.R.)
petroleum ether	(A.R.)
95% ethyl alcohol	(บริษัทแอคทีฟ กรุ๊บ จำกัด)
sodium tripolyphosphate	(Food grade, บริษัทแสงสวัสดิ์เซลแอนเซอร์วิสจำกัด)
dry ice, -78 °C	(บริษัทผลิตภัณฑ์อากาศจำกัด)
kjeltab-K_2SO_4:Se, 100:1	(บริษัทไซแอนติฟิค โปรโมชั่น จำกัด)

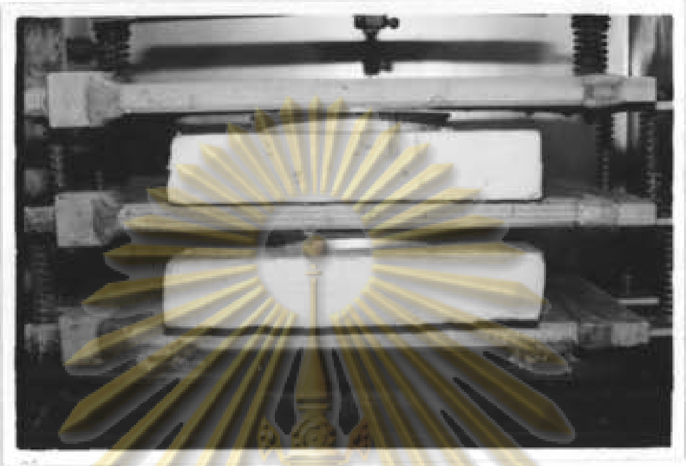
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารแต่งกลิ่นรส

เนยขาว	(ซิลเวอร์คลาว บริษัทเบอร์ลี่ยุคเกอร์จำกัด)
สารแต่งกลิ่นรส ได้แก่ รสไก่(RF-C) รสหมู(RF-P)และรสเนื้อ(RF-B)	(บริษัท ดีทแฮล์มจำกัด)
เกลือบริโภค	(โรงงาน ส.ร.ว จำกัด)
น้ำตาลทรายขาว	(บริษัทน้ำตาลมิตรผลจำกัด)

วัสดุและอุปกรณ์

- ถาดอะลูมิเนียมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 นิ้ว สูง 2.5 นิ้ว หุ้มรอบนอกด้วย polystyrene foam หนา 2 นิ้ว สำหรับแช่แข็งในตู้แช่แข็งแบบ plate (ดังแสดงในภาพถัดไป)



- กล่อง polystyrene foam 4 ช่องสำหรับแช่แข็งแบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์แข็ง(ดังแสดงในภาพถัดไป)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- เครื่องบดแบบ pin mill (Shangtung Chimo agricultural machinery work,FFG-23)
- pH meter (Hanna, HI 8417)
- ตู้แช่แข็งแบบ plate (plate freezer) (Augusta supply Co., Ltd.)
- autoclave (Tomy, SS-320)
- เครื่องชั่งละเอียด (Sartorius, A200S)
- เครื่องชั่งหยาบ (Sartorius, 1907 MP8)

- เครื่องบดแบบ colloid (ไม่มีรุ่นและแหล่งผลิตปรากฏ) (ดังแสดงในภาพถัดไป)

- ตู้อบแห้งแบบถาด (tray dryer) ช่วงอุณหภูมิ 0-200 °C มีลมร้อนหมุนเวียนตลอดเวลา (Kan Sang Lee machinery, HA-20)
- ถุง poly propylene (PP) ขนาด 8x12 นิ้ว
- digital recorder (procos-VIT, Chino, DR015)
- ชุดย่อย,กลั่นโปรตีน(Kjeldatherm และ Vapodest I, Gerhardt,KT85)
- ชุดสกัดไขมัน(Gerhardt soxtherm automatic, S-166)
- ชุดวิเคราะห์เส้นใย ซึ่งประกอบด้วย hot plate(Gerhardt,RF16/6)พร้อม round condensor
- เครื่องผสม(Kenwood, A907D)
- ตู้รมควันที่ปรับอุณหภูมิได้ในช่วง 0-200 °C และมีส่วนควบคุมอุณหภูมิในช่วง0-80 °C
- muffle furnace (Carbolite,MEL 11-2)
- ตู้อบแห้งแบบสุญญากาศ(บริษัท ณรงค์ชัยกลการ จำกัด)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- freeze dryer (Virtis gardiner N.Y.,12525)(ดังแสดงในภาพถัดไป)

- texturometer (Mainframe standard T2001) ใช้เซลแบบใบมีดตัด (ดังแสดงในภาพถัดไป)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- scanning electron microscope (JEOL, JSM-35CM) (ดังแสดงในภาพถัดไป)

- อุปกรณ์หาความชื้น(Sartorius thermo control,VTC 10L)(ดังแสดงในภาพถัดไป)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีทดลอง

3.1 ศึกษาองค์ประกอบของวัตถุดิบ

เตรียมแป้งถั่วเหลืองโดยนำถั่วเหลืองทั้งเมล็ดจาก 2 ฤดูเพาะปลูกมาบดแบบแห้งด้วยเครื่องบดชนิด pin mill แล้วตรวจสอบสมบัติดังต่อไปนี้

3.1.1 ปริมาณความชื้น ดัดแปลงจากวิธีวิเคราะห์ของ AOAC -14.004 (32) รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก. 1

3.1.2 ปริมาณโปรตีน ดัดแปลงจากวิธีวิเคราะห์ของ AOAC -2.057 (32) รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก. 2

3.1.3 ปริมาณไขมัน ตามวิธีวิเคราะห์ของ AOAC -14.0089 (32) รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก. 3

3.1.4 ปริมาณเถ้า ตามวิธีวิเคราะห์ของ AOAC -7.009 (32) รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก. 4

3.1.5 ปริมาณเส้นใย ดัดแปลงจากวิธีวิเคราะห์ของ AOAC -7.006 (32) รายละเอียดการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก. 5

3.1.6 ปริมาณคาร์โบไฮเดรท โดยคำนวณจากการนำผลรวมขององค์ประกอบอื่นไปหักออกจาก 100

วิเคราะห์ความแปรปรวนขององค์ประกอบถั่วเหลือง 2 ฤดูเพาะปลูก ด้วยวิธี Completely Randomized design (33) (แสดงในภาคผนวก ข. 1) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan`s New Multiple Range test (33) (แสดงในภาคผนวก ข.5) ทดลองสองซ้ำ

3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากวัตถุดิบ

ขั้นตอนการทดลอง มีดังต่อไปนี้

ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ. 5

|

ล้างสิ่งปนเปื้อน เช่น เศษหญ้า ดิน

|

แช่ถั่วเหลือง 1.5 กิโลกรัม ในน้ำ 15 ลิตร ที่อุณหภูมิห้อง 5-6 ชั่วโมง
(เปลี่ยนน้ำใหม่ทุก 2 ชั่วโมง)

|

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เทน้ำทิ้ง และผึ่งถั่วเหลืองให้สะเด็ดน้ำ

|

บดด้วย colloid mill ซึ่งมีระบบหมุนเวียน (recycle) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการบด

|

กรองแยกกากด้วยผ้าด้ายดิบขนาด 24x24 นิ้ว หนา 2 ชั้น

|

สารละลายโปรตีนถั่วเหลือง

รายละเอียดของการทดลอง

นำถั่วเหลืองพันธุ์ ส.จ.5 มาล้างทำความสะอาดเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนที่ติดมา แช่ถั่วเหลือง 1.5 กิโลกรัมในน้ำ 15 ลิตร (สำหรับแต่ละสภาวะที่ศึกษา) ที่อุณหภูมิห้อง 5-6 ชั่วโมง เปลี่ยนน้ำทุก 2 ชั่วโมง เพื่อให้สีของถั่วเหลืองดีขึ้น จากนั้นเทน้ำทิ้งโดยผ่านตะแกรงพลาสติก ซึ่งมีรูขนาดเล็กกว่าเมล็ดถั่วเหลือง ผึ่งให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 1 ชั่วโมง บดถั่วด้วย colloid mill ซึ่งมีระบบหมุนเวียนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบด แปร pH ของสารสกัดจาก 7-12 โดยเพิ่มครั้งละ 1 หน่วย pH (ปรับ pH ด้วยกรด hydrochloric 2M) ใช้อัตราส่วนถั่วต่อสารสกัด 1:8 (น้ำหนักแห้ง:ปริมาตร) สกัดนาน 8 นาที กรองแยกกากด้วยผ้าด้ายดิบขนาด 24x24 นิ้ว หนา 2 ชั้น นำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์โปรตีน เพื่อเลือก pH ดีที่สุดของสารสกัด

ต่อไปศึกษาเวลาสกัดที่เหมาะสมโดยใช้ pH ของสารสกัดจากข้อมูลที่สรุปได้ แปรเวลาสกัด 8, 10, 15 และ 20 นาที ใช้อัตราส่วนถั่วต่อสารสกัด 1:8 สกัดเช่นเดียวกับการศึกษาขั้นแรก สารละลายโปรตีนที่สกัดได้นำไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนเพื่อเลือกเวลาสกัดที่เหมาะสม ขั้นสุดท้ายแปรอัตราส่วนของถั่วเหลืองต่อสารสกัดเป็น 1:8, 1:10, 1:12 และ 1:14 ใช้ pH ตามผลสรุปจากขั้นแรกและเวลาสกัดตามผลสรุปจากขั้นที่ 2 ใช้วิธีสกัดเหมือน 2 ขั้นแรก วิเคราะห์โปรตีนในสารละลายส่วนใสเพื่อเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสม

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Completely Randomized design (33) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range test (33) ทดลองสองซ้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 <u>ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแปลงเนื้อสัมผัสโปรตีนถั่วเหลืองโดยวิธีแช่แข็ง</u>

ขั้นตอนการทดลอง มีดังต่อไปนี้

สารละลายโปรตีนถั่วเหลือง

ต้มจนเดือดเป็นเวลา 15 นาที

ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

ตกตะกอนที่ pH 4.7 ด้วยสารละลายกรด hydrochloric 2 M

centrifuge ที่ความเร็ว 5000 รอบ/นาที เป็นเวลา 7.5 นาที

ตะกอนโปรตีนถั่วเหลืองมีปริมาณของแข็งทั้งหมด ร้อยละ 24±1

เตรียมโปรตีน slurry ที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดตามต้องการโดยผสมกับน้ำด้วยเครื่องผสมที่ความเร็วต่ำเป็นเวลา 10 นาที

ปรับ pH เป็น 7 ด้วยสารละลาย sodium hydroxide 2 M

บรรจุในถาดอะลูมิเนียม ถาดละ 400 กรัม

แช่แข็งโดยวิธีแช่แข็งแบบ plate (plate freezing) หรือวิธีใช้คาร์บอนไดออกไซด์แข็ง ที่ -80 °C เป็นตัวทำความเย็น

กำจัดผลึกน้ำแข็งโดยแทนที่ด้วย 95% ethyl alcohol หรือ โดยวิธี freeze drying

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายละเอียดของแต่ละขั้นตอนมีดังต่อไปนี้

เตรียมสารละลายถั่วเหลืองจากถั่วเหลือง 6 กิโลกรัมตามข้อมูลที่สรุปได้จากข้อ3.2 นำสารละลายที่ได้มาต้มจนเดือดเป็นเวลา 15 นาทีทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วตกตะกอนโปรตีน โดยเติมกรด hydrochloric 2M จนสารละลายโปรตีนมี pH 4.7 (จุด isoelectric) แยกตะกอนโดย centrifuge ที่ความเร็ว 5000 รอบ/นาที เป็นเวลา 7.5 นาที ตะกอนที่ได้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 24± 1 เตรียม slurry จากตะกอนโปรตีนถั่วเหลืองโดยผสมกับน้ำด้วยเครื่องผสมความเร็วต่ำเพื่อให้เกิดฟองอากาศน้อยที่สุดเป็นเวลา 10 นาที ปรับ pH ของ slurry เป็น 7

ด้วยสารละลาย sodium hydroxide 2M จากนั้นบรรจุในถาดอะลูมิเนียมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 นิ้วสูง 2.5 นิ้วถาดละ 400กรัม วางถาดใน polystyrene foam ที่เตรียมไว้เพื่อแช่แข็งต่อไป

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ได้แก่

3.3.1 ปริมาณของแข็งทั้งหมดในโปรตีน slurry แปรเป็น 3 ระดับคือ ร้อยละ 10± 1, 15± 1 และ 20± 1 (วิธีคำนวณปริมาณน้ำที่ต้องเติมเพื่อให้โปรตีน slurry มีปริมาณของแข็งทั้งหมดตามต้องการ แสดงในภาคผนวก ค. 2)

3.3.2 วิธีแช่แข็ง 2 วิธี คือ แบบ plate ปรับอุณหภูมิภายในตู้แช่แข็งแบบ plate ให้ได้ -40 °C (อุณหภูมิต่ำสุดของเครื่อง) บรรจุโปรตีน slurry ในถาดอะลูมิเนียมซึ่งหุ้มรอบนอกด้วย polystyrene foam หนา 2 นิ้ว (อุณหภูมิเริ่มต้น 25± 1 °C) แช่แข็งทั้งถาดขณะแช่แข็งวัดและบันทึกอุณหภูมิของโปรตีน slurry โดยจุ่ม thermocouple ลงที่ความลึกจากผิว 1 เซนติเมตร จับเวลาที่ใช้ตั้งแต่อุณหภูมิเริ่มต้นจนอุณหภูมิสุดท้ายที่ความลึก 1 เซนติเมตร เป็น -37 °C

สำหรับวิธีแช่แข็งแบบใช้คาร์บอนไดออกไซด์แข็งที่อุณหภูมิ -80 °C เป็นตัวทำความเย็น โดยวางถาดอะลูมิเนียมซึ่งบรรจุโปรตีน slurry ลงในกล่อง polystyrene foam 4 หลุมซึ่งแต่ละหลุมมีคาร์บอนไดออกไซด์แข็ง 1 กิโลกรัมเป็นตัวทำความเย็น วัดและบันทึกอุณหภูมิของโปรตีน slurryเช่นเดียวกับวิธีแช่แข็งแบบ plate แช่แข็งจนอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ที่ความลึกจากผิว 1 เซนติเมตรลดลงถึง -37 °C

3.3.3 วิธีกำจัดผลึกน้ำแข็ง เปรียบเทียบ 2 วิธีคือ วิธีแรกแทนที่ผลึกน้ำแข็งด้วย 95% ethyl alcohol โดยจุ่มผลิตภัณฑ์แช่แข็งพร้อมภาชนะใน alcohol ใช้อัตราส่วนผลิตภัณฑ์ต่อ alcohol 1:3 (น้ำหนัก:ปริมาตร) ทิ้งไว้ที่ 4± 1 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เพื่อให้ผลิตภัณฑ์แยกจากภาชนะ จากนั้นแยกภาชนะออกแล้วกำจัดผลึกออกไปอีก 5 ชั่วโมง นำผลิตภัณฑ์มาวางบนตะแกรงเพื่อให้ alcohol หยดออกจนหมด แล้วอบในตู้อบแห้งแบบถาดที่ 60 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมงเพื่อกำจัด alcohol ที่ตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ วิธีที่ 2 คือ วิธี freeze drying โดยนำผลิตภัณฑ์แช่แข็งพร้อมภาชนะเข้าเครื่อง freeze dryer ซึ่งอุณหภูมิของแผ่นทำความร้อนตั้งต้นเป็น -40 °C ความดันเฉลี่ย 100 ไมครอน เพิ่มพลังงานเพื่อให้อุณหภูมิของผลิตภัณฑ์เพิ่มจาก -40 °C เป็น 30 °C ในเวลา30ชั่วโมง

3.3.4 เกณฑ์ตัดสินคุณภาพ

นำโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสที่ได้มาปรับความชื้นให้ได้ร้อยละ 60± 3 โดยการดูดน้ำคืน (rehydration) ที่อุณหภูมิห้อง (การคำนวณปริมาณน้ำที่ใช้เพื่อปรับสภาพความชื้นแสดงในภาคผนวก ค.1) จากนั้นนำไปประเมินคุณภาพโดยใช้เกณฑ์ต่อไปนี้

3.3.4.1 โครงสร้างเส้นใยโปรตีนที่เกิดขึ้น บันทึกด้วยเครื่อง scanning electron microscope โดยตัดผลิตภัณฑ์เป็นรูปลูกบาศก์ขนาด 1x1x1 เซนติเมตร แล้วกำจัดน้ำ (dehydration) ด้วยเครื่อง critical point dryer (CPD) โดยแทนที่ด้วย ethyl alcohol

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เข้มข้นร้อยละ 30,70,95 และ ethyl alcohol บริสุทธิ์ (absolute) ความเข้มข้นละ 30 นาที กำจัด ethyl alcohol บริสุทธิ์โดยแทนที่ด้วยคาร์บอนไดออกไซด์เหลวซึ่งระเหยที่อุณหภูมิ 40 °C ความดัน 85 bar (ภายในเครื่องCPD) จากนั้นฉาบทองหนา 5 นาโนเมตร ใช้เวลา 3 นาที ด้วยเครื่อง ion sputter แล้วศึกษาพร้อมทั้งบันทึกโครงสร้างของผลิตภัณฑ์ด้วยเครื่อง scanning electron microscope กำลังขยาย 200 เท่า

3.3.4.2 ค่า shear strength โดยนำตัวอย่างขนาด 3x1.5 นิ้ว หนา 0.7 นิ้วมาวัดค่า shear strength ด้วยเครื่อง texturometer ใช้เซลแบบใบมีดตัด ตั้งใบมีดให้มีระยะห่างจากตัวอย่าง 1 เซนติเมตร ความเร็วในการเคลื่อนที่ของใบมีด 200 มิลลิเมตรต่อนาที ให้ใบมีดตัดตัวอย่างจนขาดจากกัน อ่านค่า shear strength (N.) จากจุดสูงสุดของกราฟซึ่งบันทึกด้วยเครื่อง recorder

3.3.4.3 คุณภาพเนื้อสัมผัส โดยให้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝน 11 คน เคี้ยวตัวอย่างส่วนหนึ่งใช้จังหวะการเคี้ยว 3-5 ครั้ง และตัวอย่างอีกส่วนหนึ่งใช้มือฉีกให้เป็นเส้นเพื่อดูว่าสภาวะใดให้เส้นใยที่ยึดเกี่ยวกันคล้ายเนื้อสัตว์มากที่สุด ใช้แบบสอบถามชนิด hedonic scale 9 ระดับ (แสดงในภาคผนวก ง. 1)

วางแผนและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Asymetric Factorial experiment (33) (แสดงในภาคผนวก ข. 3) และแบบ Asymetric Factorial with Complete Block design (33) (แสดงในภาคผนวก ข. 4) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range test (33) ทดลองสองซ้ำ

3.4 <u>ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำให้โครงสร้างเส้นใยโปรตีนอยู่ตัวด้วยความร้อน</u>

ผลิตโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสด้วยสภาวะดีที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.3 บรรจุทั้งชิ้นในถุง pp ปิดผนึกด้วยความร้อนแล้วบรรจุถุงพร้อมผลิตภัณฑ์ในถุง pp อีก 2 ชั้นปิดผนึก ให้ความร้อนใน autoclave เพื่อให้เกิดโครงสร้างที่อยู่ตัว สภาวะที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ได้แก่

3.4.1 อุณหภูมิภายใน autoclave แปรเป็น 3 ระดับคือ 105, 110 และ 115 °C

3.4.2 เวลาในการให้ความร้อน แปรเป็น 3 ระดับคือ 5, 7.5 และ 10 นาที

3.4.3 เกณฑ์ตัดสินคุณภาพ หลังการให้ความร้อนทิ้งผลิตภัณฑ์ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วปรับความชื้นให้ได้ร้อยละ 60$\pm$ 3 โดยการดูดน้ำคืนที่อุณหภูมิห้อง (การคำนวณปริมาณน้ำที่ใช้เพื่อให้ได้ความชื้นตามต้องการ แสดงในภาคผนวก ค.1) เมื่อได้ความชื้นที่ต้องการแล้ว ประเมินคุณภาพต่อไปนี้

3.4.3.1 บันทึกโครงสร้างเส้นใยโปรตีนโดยเครื่อง scanning electron microscope ใช้สภาวะเหมือนข้อ 3.3.4.1

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4.3.2 ค่า shear strength วัดด้วยเครื่อง texturometer ใช้สภาวะเหมือนข้อ 3.3.4.2

3.4.3.3 คุณภาพเนื้อสัมผัส โดยวิธีทางประสาทสัมผัส (ข้อ 3.3.4.3)

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Asymetric Factorial experiment และ Asymetric Factorial with Complete Block design (33) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range test (33) ทดลองสองซ้ำ

3.5 ศึกษาองค์ประกอบและโครงสร้างของโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสโดยวิธีแช่แข็งเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์จากกระบวนการ extrusion และเนื้อสัตว์

วิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสโดยวิธีแช่แข็งที่ทำให้โครงสร้างอยู่ตัวด้วยความร้อนแล้วเปรียบเทียบกับโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสที่ผลิตด้วยเครื่อง cooker extruder (โปรตีนเกษตร) โดยสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยบดผลิตภัณฑ์ทั้งสองด้วยเครื่อง Moulinette เป็นเวลา 5 นาที จนเป็นผงละเอียดและวิเคราะห์ปริมาณสารต่าง ๆ ต่อไปนี้

3.5.1 ปริมาณโปรตีน ตามวิธีข้อ 3.1.2

3.5.2 ปริมาณไขมัน ตามวิธีข้อ 3.1.3

3.5.3 ปริมาณเถ้า ตามวิธีข้อ 3.1.4

3.5.4 ปริมาณเส้นใย ตามวิธีข้อ 3.1.5

ศึกษาโครงสร้างของโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสโดยวิธีแช่แข็งเปรียบเทียบกับโปรตีนเกษตรและโปรตีนจากเนื้อสุกร โค และไก่ โดยบันทึกด้วยเครื่อง scanning electron microscope ตามวิธีข้อ 3.3.4.1

3.6 การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัส

นำโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัส (เนื้อเทียม) ที่ได้ไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไปนี้

3.6.1 เนื้อเทียมปรุงแต่ง

นำโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสที่ผลิตได้โดยใช้สภาวะดีที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.4 ซึ่งมีรูปร่างเป็นแผ่นกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12-13 เซนติเมตร หนา1.5-2 เซนติเมตร มาบรรจุในถุง PP 3 ชั้น ปิดผนึกด้วยความร้อนแล้วนึ่งด้วยไอน้ำให้สุกเป็นเวลา 10 นาที วิเคราะห์ปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ จากนั้นแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกเติมเนยขาวขณะหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 80-85 °C เข้าไปให้ทั่วทั้งก้อนโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสโดยใช้เข็มฉีดยาสะอาดขนาด 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วทิ้งไว้จนเนยขาวแข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง ส่วนที่สองไม่เติมเนยขาว เติมน้ำสุกในสารแต่งกลิ่นรสคือ plant protein hydrolysate ในปริมาณที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความชื้นร้อยละ60$\pm$ 3 (ปริมาณน้ำที่เติมแสดงใน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค. 1) จากนั้นเติมเข้าไปในโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสทั้ง 2 ส่วนด้วยวิธีเดียวกับการเติมเนยขาว

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ได้แก่

3.6.1.1 ชนิดของสารแต่งกลิ่นรส แปรเป็น 3 ชนิดคือ รสไก่ รสหมู และรสเนื้อ

3.6.1.2 ปริมาณสารแต่งกลิ่นรส แปรเป็น 2 ระดับคือ ร้อยละ 5 และ 7.5 โดยน้ำหนักแห้งของโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัส (วิธีคำนวณแสดงในภาคผนวก ค. 3)

3.6.1.3 ปริมาณเนยขาว แปรเป็น 2 ระดับคือ ร้อยละ 0 และ10 โดยน้ำหนักแห้งของโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัส

เกณฑ์ตัดสินคุณภาพได้แก่

3.6.1.4 คุณภาพจากการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ทดสอบทั่วไป 20 คน ใช้แบบสอบถามชนิด hedonic scale 9 ระดับ (แสดงในภาคผนวก ง. 2)

3.6.1.5 ร้อยละของไขมันในผลิตภัณฑ์ตามวิธีข้อ 3.1.3

3.6.1.6 ร้อยละของโปรตีนในผลิตภัณฑ์ตามวิธีข้อ 3.1.2

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Asymetric Factorial experiment และ Asymetric Factorial with Complete Block design (33) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range test (33) ทดลองสองซ้ำ

3.6.2 <u>การปรับปรุงคุณภาพด้านกลิ่นและรสชาติของโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสโดยวิธีแช่แข็ง</u>

เมื่อนำโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสที่ทำให้โครงสร้างอยู่ตัวด้วยความร้อนไปผลิตเป็นเนื้อเทียมปรุงแต่ง แล้วทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าคะแนนด้าน กลิ่น รสชาติและการยอมรับรวมของผลิตภัณฑ์ยังอยู่ในเกณฑ์ต่ำ เนื่องจากผู้ทดสอบตรวจพบกลิ่นและรสขมของ ethyl alcohol ที่เหลือตกค้างอยู่ จึงศึกษาวิธีปรับปรุง กลิ่น และรสชาติของโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสที่ได้จากข้อ 3.3 โดยวางโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสบนถาดอะลูมิเนียมที่มีผ้าขาวบางรอง เพื่อไม่ให้ผลิตภัณฑ์ติดกับถาด จากนั้นนำเข้าอบในตู้อบแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 60 °C และ 65 °C ความดัน 27 นิ้วปรอท เป็นเวลา 5-8 ชั่วโมง

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นตอนนี้ได้แก่

3.6.2.1 อุณหภูมิในตู้อบแห้ง แปรเป็น 2 ระดับคือ 60 °C และ 65 °C

3.6.2.2 เวลาในการให้ความร้อน แปรเป็น 4 ระดับคือ 5,6,7 และ8 ชั่วโมง

เกณฑ์ตัดสินคุณภาพ หลังการอบแห้งบรรจุผลิตภัณฑ์ในถุง PP 3 ชั้นปิดผนึกด้วยความร้อน ให้ความร้อนใน autoclave ที่ 115 °C เป็นเวลา 7.5 นาทีเพื่อให้เกิดโครงสร้างที่อยู่ตัวแล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาปรับความชื้นให้ได้ร้อยละ 60± 3 โดยการดูดน้ำคืน (ปริมาณน้ำที่ใช้แสดงในภาคผนวก ค.1) แล้วประเมินผลโดยทดสอบทางประสาทสัมผัสด้าน กลิ่น รสชาติ สี และ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เนื้อสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบทั่วไป 20 คน ใช้แบบสอบถามแบบ hedonic scale 9 ระดับ (แสดงในภาคผนวก ง.3)

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Asymetric Factorial with Complete Block design (33) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan' s New Multiple Range test (33) ทดลองสองซ้ำ

3.6.3 <u>ผลิตเนื้อเทียมปรุงแต่งจากโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสที่ปรับปรุงคุณภาพด้านกลิ่นและรสชาติ</u>

นำโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสที่ยังไม่ปรับปรุงคุณภาพด้านกลิ่นรสและที่ปรับปรุงคุณภาพแล้วตามสภาวะดีที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.6.2 มาผลิตเนื้อเทียมปรุงแต่งตามวิธีในข้อ 3.6.1 โดยใช้สารแต่งกลิ่นรส (รสหมู) ร้อยละ7.5 และเติมไขมันร้อยละ 10 โดยน้ำหนักแห้งของโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัส เตรียมโปรตีนเกษตรปรุงแต่งโดยผสมชิ้นโปรตีน 250 กรัม กับเนยขาวหลอมเหลว(อุณหภูมิ 80 °C) ร้อยละ10 โดยน้ำหนักด้วยเครื่อง kenwood ที่ความเร็วต่ำ ทิ้งให้แข็งตัว จากนั้นนำไปดูดน้ำคืนในสารละลายที่มีสารแต่งกลิ่นรส(รสหมู)ร้อยละ7.5 (โดยน้ำหนักแห้งของโปรตีนเกษตร) จนผลิตภัณฑ์มีความชื้นร้อยละ 60± 3 ประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์โดยทดสอบทางประสาทสัมผัสเปรียบเทียบระหว่างเนื้อเทียมปรุงแต่งที่ผลิตจากโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสโดยวิธีแช่แข็งทั้งที่ปรับปรุงและยังไม่ปรับปรุงคุณภาพกับโปรตีนเกษตรตามวิธีข้อ 3.6.1.4

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Randomized Complete Block design(33) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan' s New Multiple Range test(33) ทดลองสอง ซ้ำ

3.6.4 <u>แฮมจากเนื้อเทียม</u>

ผลิตโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัสใช้สภาวะดีที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.3.3.4 และปรับปรุงคุณภาพด้านกลิ่นรสตามสภาวะดีที่สุดที่สรุปได้จากข้อ 3.6.2 ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นแผ่นกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12-13 เซนติเมตร หนา1.5-2.0 เซนติเมตร เคียวร์(cure)ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวในสารละลายซึ่งประกอบด้วยสารแต่งกลิ่นรส(รสหมู)ร้อยละ 7.5 เกลือบริโภคร้อยละ 2 หรือ 3 น้ำตาลร้อยละ3 และ sodium tripolyphosphate ร้อยละ 0.5 ใช้สารเคียวร์ต่อโปรตีน 1:3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แช่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำขึ้นมาวางบนตะแกรงให้สะเด็ดน้ำ แล้วนำเข้าตู้รมควันซึ่งปรับอุณหภูมิภายในเป็น 60 °C ใช้ชานอ้อยเป็นเชื้อเพลิงผลิตควัน โดยเติมชานอ้อย 3 กรัม ทุก 8 นาที ผลิตภัณฑ์ที่ได้นำไปนึ่งให้สุกเป็นเวลา 10 นาที แล้วประเมินคุณภาพตามข้อ 3.6.4.3

ตัวแปรที่ศึกษาในขั้นนี้ได้แก่

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.6.4.1 ปริมาณเกลือในการเคียวร์ แปรเป็น 2 ระดับคือ ร้อยละ 2 และ 3 โดยน้ำหนักแห้งของโปรตีนแปลงเนื้อสัมผัส

3.6.4.2 เวลารมควัน แปรเป็น 3 ระดับคือ 30, 60 และ 90 นาที

เกณฑ์ตัดสินคุณภาพ ได้แก่คะแนนจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสตามวิธีข้อ 3.6.1.4

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Asymetric Factorial with Complete Blockdesign (33) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan' s New Multiple Range test (33) ทดลองสองซ้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย