

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 เวียงฟิงค์ไอซ์ จำกัด, ประเทศไทย
- 4) NaCl จาก ห้างหุ้นส่วนจำกัด โอ.วี.เคมิคัล แอนด์ซัพพลาย
- 5) KCl จากห้างหุ้นส่วนจำกัด ซี.เอ็ม.เคมิคัล แอนด์ แล็บ ซัพพลายส์
- 6) อินูลิน จาก DPO (Thailand) Ltd., (Orafti®HP, DP \geq 23)
- 7) พริกไทย จาก ห้างหุ้นส่วนจำกัด บากกอกซิลลี่
- 8) กระเทียม จากตลาดสดในจังหวัดเชียงใหม่
- 9) ริโบไทด์ จากบริษัทฟู๊ดส์ฟิลด์อินเตอร์เนชันแนล จำกัด
- 10) ทรานกลูตามิเนส จากบริษัท อายิโนะโมะไต้ะ (ประเทศไทย) จำกัด, (Activa®TG-AK, Transglutaminase activity 50 – 84 U/g)

3.1.2 อุปกรณ์

- 1) ตู้เย็น (Sanyo, ประเทศไทย)
- 2) ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven), (Mettler 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 แอปซอพชั่น สเปกโตรมิเตอร์ (Atomic Absorption Spectrometers (AAS)), (Avanta M1, U.S.A.)
- 8) เครื่องให้ความร้อน (Hot Plate), (IKA® C – MAG HS7, USA)

- 9) เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง (pH meter), (Drion: 520 A, US)
- 10) ชุดวิเคราะห์หีอิลคโคโตรโพรชีส (BIO – RAD, USA)
- 11) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer), (Thermo scientific, USA)
- 12) เครื่องระเหยสูญญากาศ (Evaporation), (Eppendorf concentration 530, 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

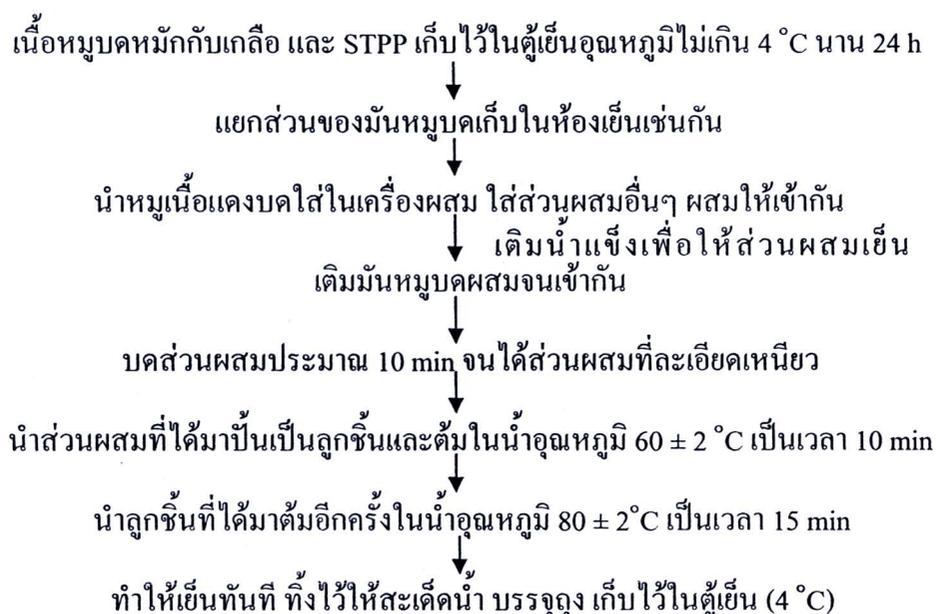
3.2 วิธีการทดลอง

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*
ฟอสเฟต (Sodium Tri Poly Phosphate: STPP)	0.1*
น้ำแข็ง	33.0*

* ร้อยละคิดเทียบจากปริมาณเนื้อหมู



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการทำลูกชิ้นหมู

แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ขั้นตอนได้แก่

ตอนที่ 1 การศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ โพแทสเซียมคลอไรด์ มันแข็ง และอินูลิน ต่อคุณลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปของลูกชิ้นหมู

จากการคำนวณปริมาณไขมัน และ โซเดียมของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมูในสูตรอ้างอิงเมื่อต้องการลดปริมาณไขมัน และ โซเดียมลงเพื่อการกล่าวอ้างว่าเป็นผลิตภัณฑ์ลดไขมัน และ โซเดียมตามข้อกำหนดในการกล่าวอ้างการลดปริมาณไขมัน และ โซเดียมในผลิตภัณฑ์ ต้องลดปริมาณไขมัน และ โซเดียม ทั้งหมดลงเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์อื่นที่เป็นอาหารชนิดเดียวกันหรือคล้ายคลึงกัน โดยลดลงตั้งแต่ร้อยละ 25 ขึ้นไป

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

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

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)

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 (\emptyset 50 mm aluminum cylinder probe) วิเคราะห์ตัวอย่างที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยโหลดเซลล์ที่ใช้วัดค่า 50,000 กรัม ตั้งค่าการวัดของเครื่องมือ ใช้ความเร็วก่อนการวัดค่าตัวอย่าง 1.0 มิลลิเมตรต่อวินาที ความเร็วขณะวัดตัวอย่าง 2.0 มิลลิเมตรต่อวินาที ความเร็วหลังการวัดค่าตัวอย่าง 3 มิลลิเมตรต่อวินาที ตัวอย่างจะถูกกดลงไปเป็นระยะทางร้อยละ 75 ของความสูงตัวอย่างในแต่ละสิ่งทดลองทำการวัดค่า 10 ตัวอย่าง คัดแปลงวิธีจากวิธีการทดลองของ Bourne (1978)

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) คัดแปลงวิธีของ AOAC (2000)

วิธีการคำนวณ

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

- เมื่อ W_1 = น้ำหนักตัวอย่าง หน่วยเป็น กรัม
 W_2 = น้ำหนัก soxtec cup ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน หน่วยเป็น กรัม
 W_3 = น้ำหนัก soxtec cup และน้ำมันจากตัวอย่าง อบจนได้น้ำหนักคงที่ หน่วยเป็น กรัม

วิเคราะห์ปริมาณโซเดียม

นำตัวอย่างลูกชิ้นหมูที่ผ่านการอบจนแห้ง ประมาณ 1 กรัม ใส่ลงใน erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมส่วนผสม $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$ (อัตราส่วน 6:1) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ปิดปาก flask แล้วทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงนำไปตั้งบนเตา hot plate ที่อุณหภูมิ 150 – 210 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสารตัวอย่างตกผลึกเป็นสีขาว ยกเลิกทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมส่วนผสม HCl : น้ำปราศจากไอออน (อัตราส่วน 1:4) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปตั้งบนเตา hot plate ที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จากนั้นนำมาปรับปริมาตรโดยใช้ volumetric flask 50 มิลลิลิตร เก็บ



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 บรรจุในถ้วยพลาสติกทึบร้อนที่มีฝาปิดสนิท 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

นำข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์หาความแปรปรวนและความสัมพันธ์ของแต่ละปัจจัยต่อค่าคุณภาพที่ได้จากการวิเคราะห์ จากนั้นหาสูตรที่เหมาะสม โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design-Expert 6.0.2 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN, USA)

ตอนที่ 2 การศึกษาผลของการปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นหมูลดไขมันและโซเดียมด้วยทรานส์กลูตามิเนส (TGase)

เนื่องจากผลการวิเคราะห์ค่าเค้าวโครงทางเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมูลดไขมันและโซเดียม จากการทดลองที่ 1 ยังคงมีค่าน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ที่ขายในท้องตลาด และ TGase เป็นเอนไซม์ ที่นำมาประยุกต์ใช้กับกระบวนการแปรรูปอาหารประเภทโปรตีน เพื่อช่วยปรับปรุงคุณสมบัติทางหน้าที่ของโปรตีนไม่ว่าจะเป็นความสามารถในการเกิดเจล ความหนืด ความเสถียรต่อความร้อน และความสามารถในการอุ้มน้ำ (ประพันธ์, 2544) จึง TGase มาใช้ในการปรับปรุงคุณลักษณะทางด้านเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นหมูลดไขมัน และโซเดียม เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณลักษณะทางด้านเนื้อสัมผัสใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์ในท้องตลาด และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยนำสูตรที่ได้จากการทดลองจากการทดลองตอนที่ 1 มาผันแปรปริมาณ TGase ที่ใช้ในสูตร โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) เพื่อศึกษาผลของการใช้ TGase ต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของลูกชิ้นหมูลดเกลือและไขมัน โดยปริมาณ TGase ที่ผันแปรมาจากการศึกษาการใช้ TGase (Activa® TG-AK) ในการปรับปรุงคุณภาพทางเนื้อสัมผัส และการลดต้นทุนของผลิตภัณฑ์จากซุริมีที่มีช่วงเวลาสำหรับการเกิดปฏิกิริยาสั้น พบว่าการใช้ที่ระดับร้อยละ 0.2 และมีช่วงเวลาในการทำปฏิกิริยา 0 นาที ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความแข็งแรงของเจลเท่ากับผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้ใช้ 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

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

ทำเช่นเดียวกับการทดลองตอนที่ 1

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

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

วิเคราะห์หมวลโมเลกุลโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE โดยนำลูกชิ้นมาสกัดโปรตีนด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ และวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (Lowry, 1951) แล้วนำมาปรับปริมาตรให้มีความเข้มข้นเท่ากัน จากนั้นนำมาผสมกับ loading dye แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที เมื่อครบกำหนดก็เปิดแต่ละตัวอย่างใส่ลงไปในแต่ละ well และเริ่มวิเคราะห์ตัวอย่างโดยใช้ชุดอิเล็กโตรโฟรีซิส (BIO – RAD, USA) (Garfin, 1990) เมื่อตัวอย่างไหลลงมาจนเกือบจะถึงท้ายของแผ่นเจลแล้ว แคะแผ่นเจลออกจากกระบอก แล้วก็นำแผ่นเจลมาแช่ในสารละลาย 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)

ตอนที่ 3 การศึกษาผลของการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมูลดไขมัน และโซเดียมที่พัฒนาได้

จากการวิเคราะห์หาสูตรที่เหมาะสมจากการทดลองในตอนที่ 1 และตอนที่ 2 ทำการผลิตลูกชิ้นตามสูตรที่เหมาะสมที่ได้ โดยผลิต 2 ซ้ำ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ไปทดสอบคุณภาพดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

ทำเช่นเดียวกับการทดลองตอนที่ 1

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- วัดค่า pH ของส่วนผสมลูกชิ้นหมูที่สับผสมเรียบร้อยแล้วก่อนนำไปต้ม โดยใช้ pH meter (Drion: 520 A, US)
- วิเคราะห์ปริมาณ โซเดียม (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 perfringens*, (FDA, 2001)

การวิเคราะห์คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

ทำเช่นเดียวกับการทดลองตอนที่ 1