บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุ

1. ผลพลอยได้ที่แยกออกจากการขั้นตอนการทำให้เนื้อปลาบดบริสุทธิ์ของการผลิตซูริมิปลาทรายแดงจากบริษัทแปซิฟิกแปรรูปสัตว์น้ำ จังหวัดสงขลา
2. กระป๋องเคลือบแลคเกอร์ชนิด 2 ชิ้น (Two pieces can) ขนาด 307 x 113
3. ผงบุก ชนิดความหนืด 10,000 cps จากบริษัทสหชลผลพืชจำกัด
4. ส่วนผสมห่อหมก ประกอบด้วย พริกแกงแดง ไข่ไก่ กะทิ โหระพา พริกชี้ฟ้าแดง และใบมะกรูด
5. สารเคมีในการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของปลา ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า แคลเซียม และตรวจสอบชนิดของโปรตีน และการวิเคราะห์หาองค์ประกอบใยอาหารของผงบุก
6. อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อวิเคราะห์หาจุลินทรีย์ชนิด mesophile และ thermophile ได้แก่ Plate count agar, Cook meat medium, Sulfite agar และ Dextrose tryptone bromcresol-purle broth

อุปกรณ์

อุปกรณ์สำหรับผลิตและตรวจหาค่า F_0 ของห่อหมกกระป๋อง

1. เครื่องบดผสมยี่ห้อ National รุ่น MK-K 77 ประเทศญี่ปุ่น
2. เครื่องสับผสม (Bowl Chopper) ยี่ห้อ Hermann Scharfen
3. เครื่องมือชุดผลิตอาหารบรรจุกระป๋อง
4. เครื่องมือชุดตรวจหาค่า F_0 ของการผลิตอาหารบรรจุกระป๋อง ยี่ห้อ Elab
5. อุปกรณ์ชุดตรวจวัดความสมบูรณ์ของการปิดผนึกกระป๋อง

อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณสมบัติและคุณภาพของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์

1. ชุดอิเล็กโตรโฟริซีส ยี่ห้อ Bio-Rad รุ่น Mini-Protein II ประเทศสหรัฐอเมริกา
2. เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส ยี่ห้อ Stable Micro Systems รุ่น TA-XT2 ประเทศอังกฤษ
3. เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ ยี่ห้อ Ultra turrax รุ่น RC-5B plus ประเทศมาเลเซีย
4. อ่างควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ W 350 รุ่น Memmert ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง (pH meter) ยี่ห้อScientific รุ่น Denver 1 ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. เครื่องมือวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเชิงปริมาณของ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า แคลเซียม และใยอาหารทั้งหมด
7. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น 15 ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
8. เตาเผาสาร ยี่ห้อ Ney รุ่น Vulcan 3-1750 สหรัฐอเมริกา
9. เครื่องอะตอมมิกแอบซอบชั่น สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ Perkin-Elmer รุ่น 3100 ประเทศสหรัฐอเมริกา
10. เครื่องกวนแม่เหล็กไฟฟ้า ยี่ห้อ IKA Labortechnik รุ่น RO 10 power ประเทศเยอรมัน
11. เครื่องหมุนเหวี่ยง ยี่ห้อ Sorvall รุ่น RC-5B plusประเทศสหรัฐอเมริกา
12. อุปกรณ์วิเคราะห์หาจุลินทรีย์ชนิด Mesophile และ Thermophile
13. อุปกรณ์ทดสอบทางประสาทสัมผัส
14. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ยี่ห้อ Hitachi รุ่น U-200 ประเทศญี่ปุ่น

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมวัตถุดิบ

เก็บผลพลอยได้จากขั้นตอนการทำบริสุทธิ์ ในกระบวนการผลิตซูริมิ บรรจุถุงละ 10 กิโลกรัม แช่แข็งที่โรงงานผลิตซูริมิ โดยใช้อุณหภูมิ –38 องศาเซลเซียส ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร โดยเก็บในกล่องโฟมและเก็บที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส จนถึงเวลาทำการทดลอง

2. การวิเคราะห์องค์ประกอบและคุณสมบัติของวัตถุดิบ

2.1 ผลพลอยได้ที่แยกออกจากขั้นตอนการทำบริสุทธิ์ของกระบวนการผลิตซูริมิ ทำการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

2.1.1 ความชื้น (AOAC, 1999)

2.1.2 โปรตีน (AOAC, 1999)

2.1.3 ไขมัน (AOAC, 1999)

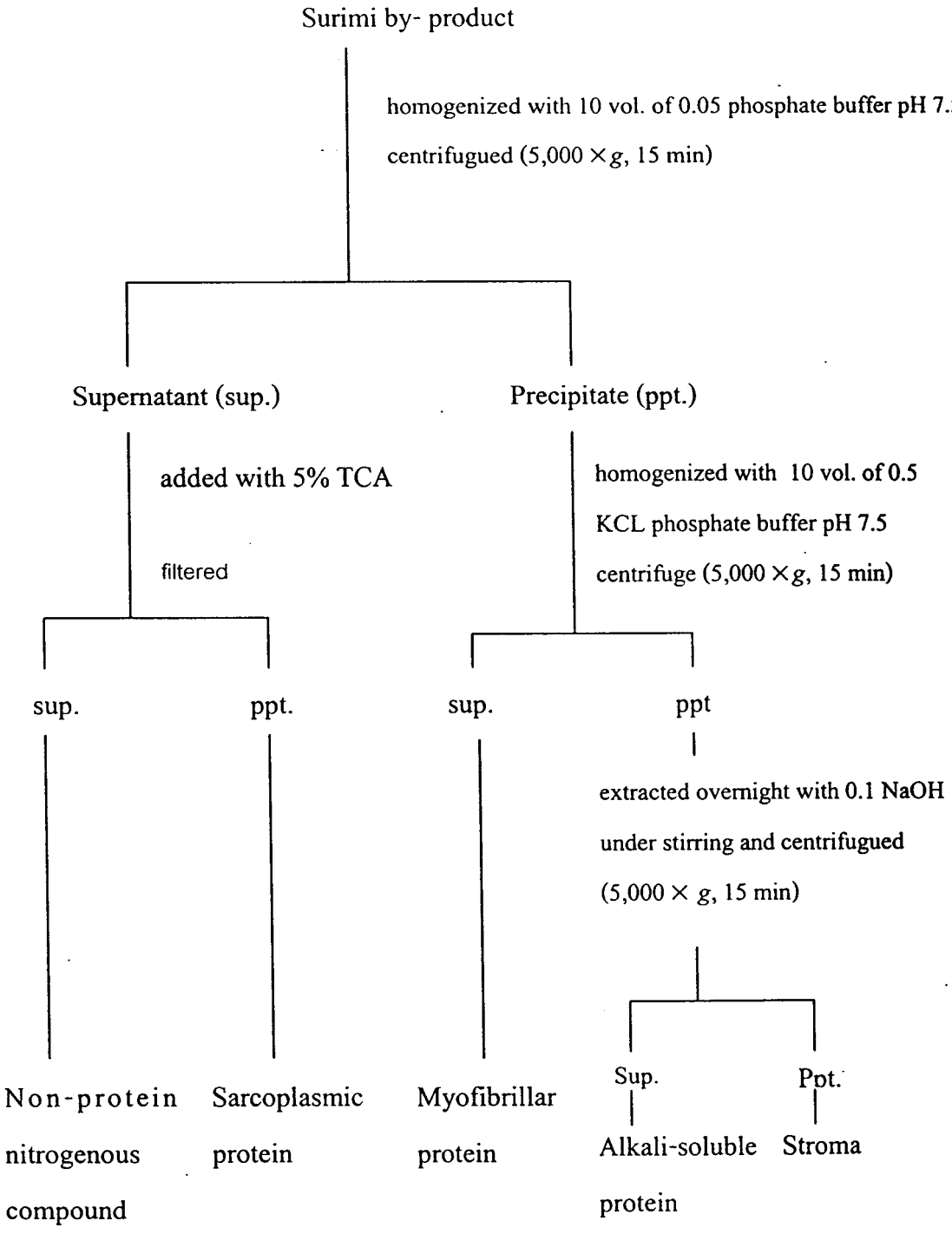
2.1.4 เถ้า (AOAC, 1999)

2.1.5 ใยอาหารทั้งหมด (Lee *et al.*, 2000)

2.1.6 แคลเซียม (Valverde *et al.*, 2000)

2.1.7 ชนิดของโปรตีน ที่เป็นองค์ประกอบของผลพลอยได้ ของการทำบริสุทธิ์จากการผลิตซูริมิ โดยแยกแฟรกชั่นของโปรตีน ตามคุณสมบัติการละลาย (Hashimoto *et al.*, 1979) ดังภาพประกอบ 8 ซึ่งประกอบด้วย สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน โปรตีนซาร์โคพลาสมิก โปรตีนไมโอไฟบริล โปรตีนที่ละลายในด่าง และโปรตีนสโตรมา และวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในแต่ละแฟรกชั่น โดยวิธี Kjeldahl method (AOAC, 1999)

2.1.8 ตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนที่แยกได้จากข้อ 2.1.7 โดยใช้ Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) (Laemmli, 1970) และวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Biuret (Copeland, 1994)



ภาพประกอบ 8 การแยกโปรตีนตามคุณสมบัติการละลาย

Fractionation of surimi by-product protein.

ที่มา : Hashimoto และคณะ (1979)

2.1.9 การเตรียมเจล เพื่อใช้สำหรับการตรวจสอบคุณสมบัติเจลของผลพลอยได้ที่แยกได้จากกระบวนการทำบริสุทธิ์ของการผลิตซูริมิ (ดัดแปลงจากวิธีของ Thammarutwasik และคณะ (1988))

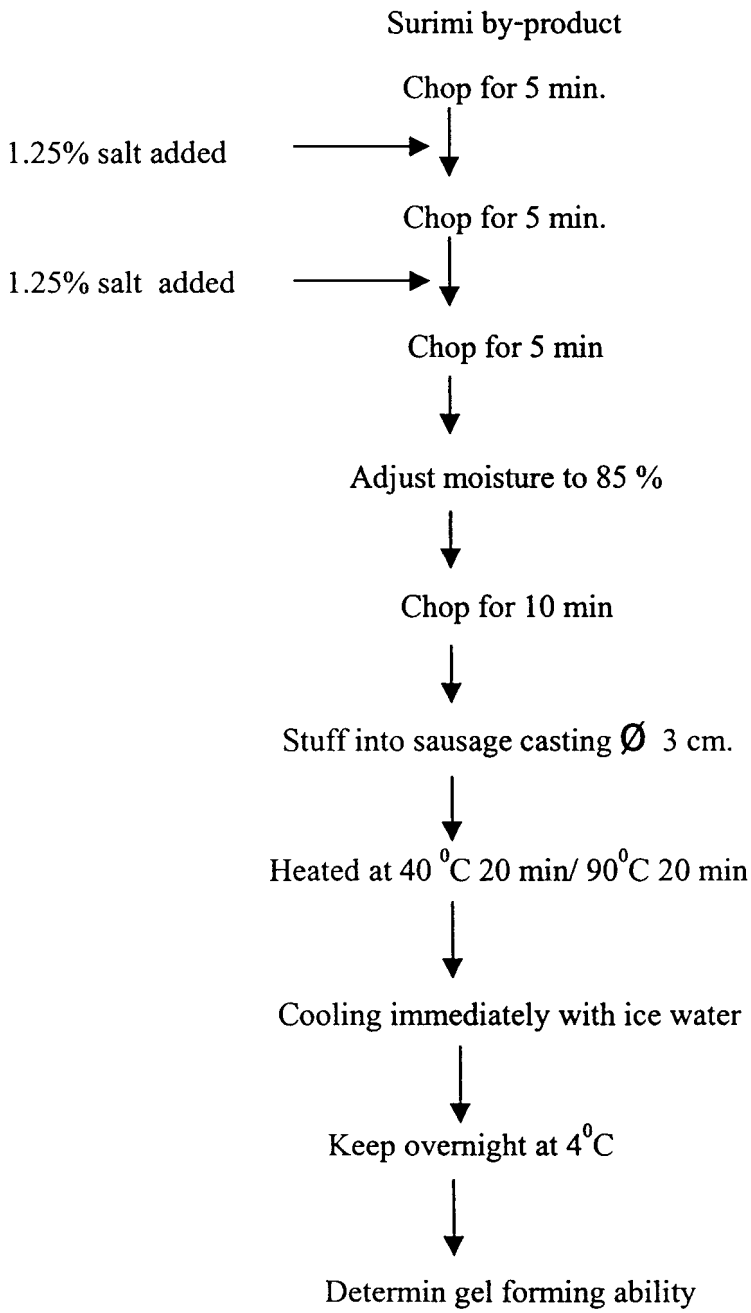
บดผสมผลพลอยได้ที่แยกได้จากกระบวนการทำบริสุทธิ์ของการผลิตซูริมิ 5 นาทีเติมเกลือร้อยละ 1.25 บดผสมอีก 5 นาที เติมเกลืออีกร้อยละ 1.25 และบดต่อไปอีก 5 นาที เติมน้ำเย็นหรือน้ำแข็งที่ละลาย เพื่อปรับความชื้นเป็นร้อยละ 85 บดต่อไปอีก 10 นาที บรรจุลงในไส้เทียมเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 ซ.ม ให้ความร้อนที่ 40 องศาเซลเซียส 20 นาทีและ 90 องศาเซลเซียส 20นาที ดังภาพประกอบ 9 นำมาวัดสมบัติเจลดังนี้

ก. วัดหาค่า breaking force และ deformation โดยนำตัวอย่างเจลรูปทรงกระบอกที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร และสูง 2.5 เซนติเมตร ทำการวัดค่าด้วยเครื่อง texture analyzer หัวชนิด cylindrical plunger ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร และใช้ความเร็วของการเคลื่อนที่เท่ากับ 10 มิลลิเมตร/นาที (Alvarez *et al.*, 1995)

ข. วัดหาค่า hardness และ cohesiveness ใช้เครื่อง texture analyzer ซึ่งใช้ flat- faced cylinder ขนาดเล็ก เส้นผ่าศูนย์กลาง 30 มิลลิเมตร และใช้ความเร็วของการเคลื่อนที่เท่ากับ 60 มิลลิเมตร/นาที กดลงบนตัวอย่างยาว 20 mm เส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร กดลงบนตัวอย่าง 2 ครั้งให้ตัวอย่างถูกกดไป 20% (Gao *et al.*, 1999)

2.1.10 หาค่า expressible moisture ใช้เจลประมาณ 0.5 เซนติเมตร วางบนกระดาษกรอง 3 แผ่น ปิดทับด้วยกระดาษอีก 2 แผ่น กดทับด้วยน้ำหนัก 5 กิโลกรัม/ซ.ม.^{2} นาน 30 วินาที (Bertex and Karahadian, 1995)

2.1.11 วัดความเป็นกรดเป็นด่างของผลพลอยได้ ที่แยกได้จากการทำบริสุทธิ์ของกระบวนการผลิตซูริมิ และเมื่อนำไปผสมกับส่วนผสมของห่อหมกก่อนการให้ความร้อน ทำการวัด pH ด้วย pH meter ตามวิธีของ Chen และคณะ (1997) โดยโฮโมจีไนซ์ตัวอย่าง 5 กรัม กับน้ำปราศจากไอออน 45 มิลลิลิตร 1 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman 45) นำส่วนที่ผ่านการกรองไปวัดค่า pH



ภาพประกอบ 9 ขั้นตอนการเตรียมเจลของผลพลอยได้ที่แยกได้จากการผลิตซูริมิ

Surimi by-product gel preparation .

ที่มา : ดัดแปลงจาก Thammarutwasik และคณะ (1988)

2.2 วิเคราะห์องค์ประกอบและคุณสมบัติของบุกดังนี้

2.1.12 ความชื้น

2.1.13 ใยอาหารทั้งหมด

2.1.14 คุณสมบัติการดูดซับน้ำ (Leach *et al.*, 1979)

3. การพัฒนาผลิตภัณฑ์

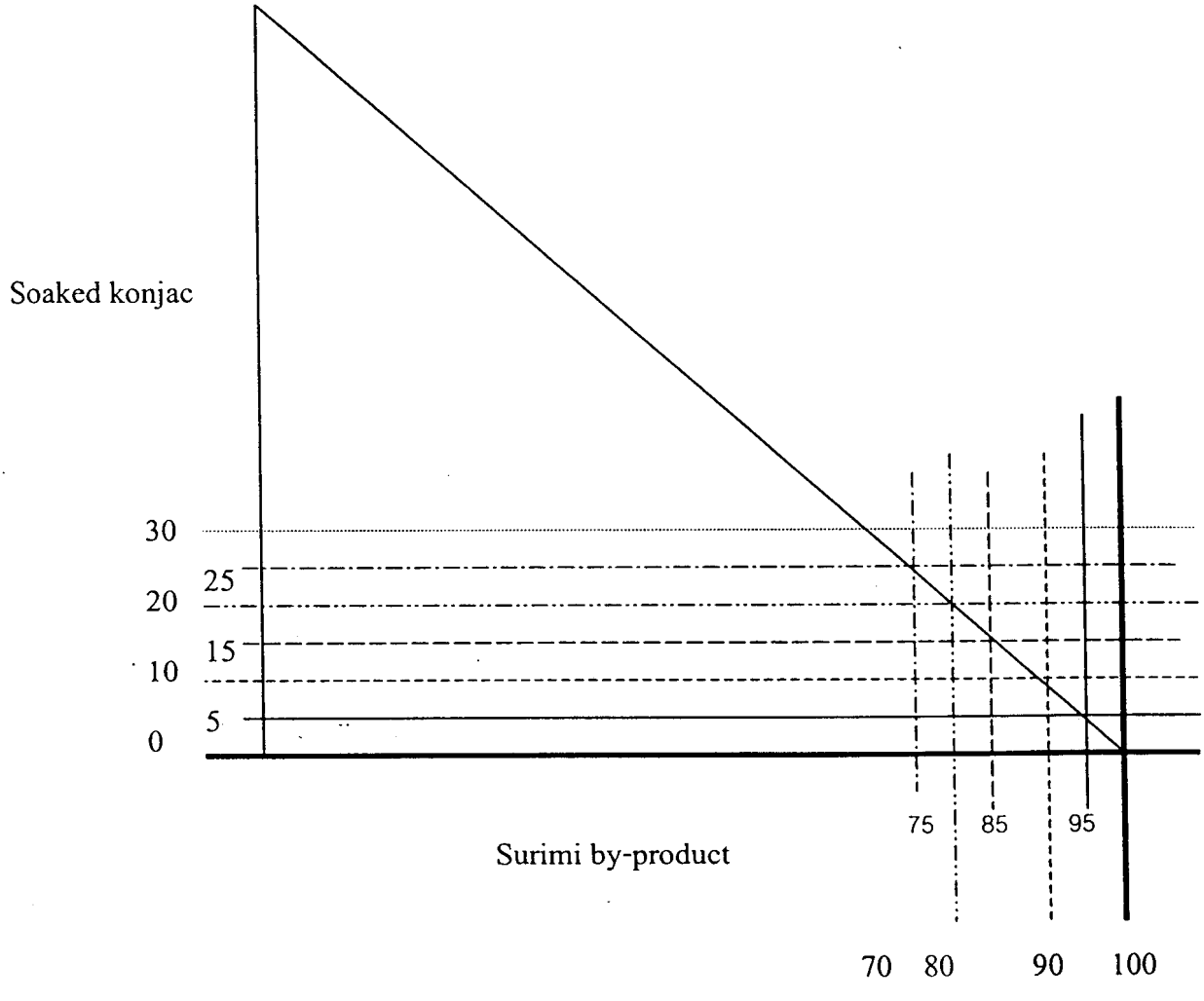
ประกอบด้วยขั้นตอนต่อไปนี้

3.1 เตรียมบุกอิ่มตัว ด้วยการนำผงบุกมากวนกับน้ำ เพื่อให้ผงบุกดูดซับน้ำจนอิ่มตัว ใช้อัตราส่วน บุก : น้ำ เท่ากับที่ได้จากการวิเคราะห์สมบัติการดูดซับน้ำของบุกตามข้อ 2.1.14

3.2 ศึกษาปริมาณบุกอิ่มตัวที่เหมาะสมในการเติมลงในผลิตภัณฑ์ โดยวางแผนการทดลองแบบ Mixture design (ไพโรจน์ วิริยะจารี, 2535) หาสัดส่วนของปริมาณบุกอิ่มตัวที่เตรียมได้จากข้อ 3.1 ต่อปริมาณผลพลอยได้รวมกันเป็น 100 ส่วน การศึกษาเริ่มต้นกำหนด ปริมาณบุกอิ่มตัวที่เติมลงในผลิตภัณฑ์ ตั้งแต่ร้อยละ 0-30โดยมีปริมาณผลพลอยได้: บุกอิ่มตัวดังนี้ 100: 0, 95: 5, 90: 10, 85: 15, 80: 20 75:25และ 70: 30 รวมเป็น 7 สูตร (ภาพประกอบ 10)

3.3 การผลิตห่อหมก ผสมบุกอิ่มตัวกับผลพลอยได้รวมกันตามสัดส่วนที่กำหนดได้ในข้อ 3.2 แล้วนำไปรวมกับเครื่องปรุงห่อหมกในอัตราส่วน บุกอิ่มตัวกับผลพลอยได้ : เครื่องปรุงห่อหมกเป็น 62.4 : 37.6 ตามสูตรมาตรฐานของ วรรณี จุ้นประสิทธิ (นพดล —— , 2543) ซึ่งบุกอิ่มตัวกับผลพลอยได้จะแทนปริมาณเนื้อปลาในสูตรมาตรฐาน สำหรับเครื่องปรุงห่อหมกในสูตรมาตรฐานมีส่วนประกอบดังนี้ กะทิร้อยละ 12.5 พริกแกงแดง (เตรียมโดยสูตรมาตรฐาน) ร้อยละ 6.3 ไข่ไก่ร้อยละ 12.4 เกลือร้อยละ 1.9 น้ำตาลร้อยละ1.2 และผัก (ใบโหระพา พริกชี้ฟ้าแดง ใบมะกรูดหั่นฝอย) ร้อย

ละ 3.3 (ตาราง 6) และผลิตเป็นห่อหมกบรรจุกระป๋องโดยบรรจุส่วนผสมของผลพลอยได้ บุกอิ่มตัว และเครื่องแกงห่อหมกนี้ ปริมาณร้อยละ 96.7 ผักโหระพาลวกประมาณร้อยละ 3 และพริกชี้ฟ้าแดงกับใบมะกรูดหั่นฝอยประมาณร้อยละ 0.3 ในกระป๋องขนาด 307X113 กระป๋องละประมาณ 180 กรัม ขั้นตอนได้แสดงไว้ในภาพประกอบ 11



ภาพประกอบ 10 แผนการทดลอง Mixture design ของสัดส่วนระหว่างผลพลอยได้จากการผลิตซูริมิและปริมาณบุกอิ่มตัว

Mixture design pattern of surimi by-product and konjac ratios.

ตาราง 6 สูตรห่อหมกมาตรฐาน

Standard formula of hor-mok .

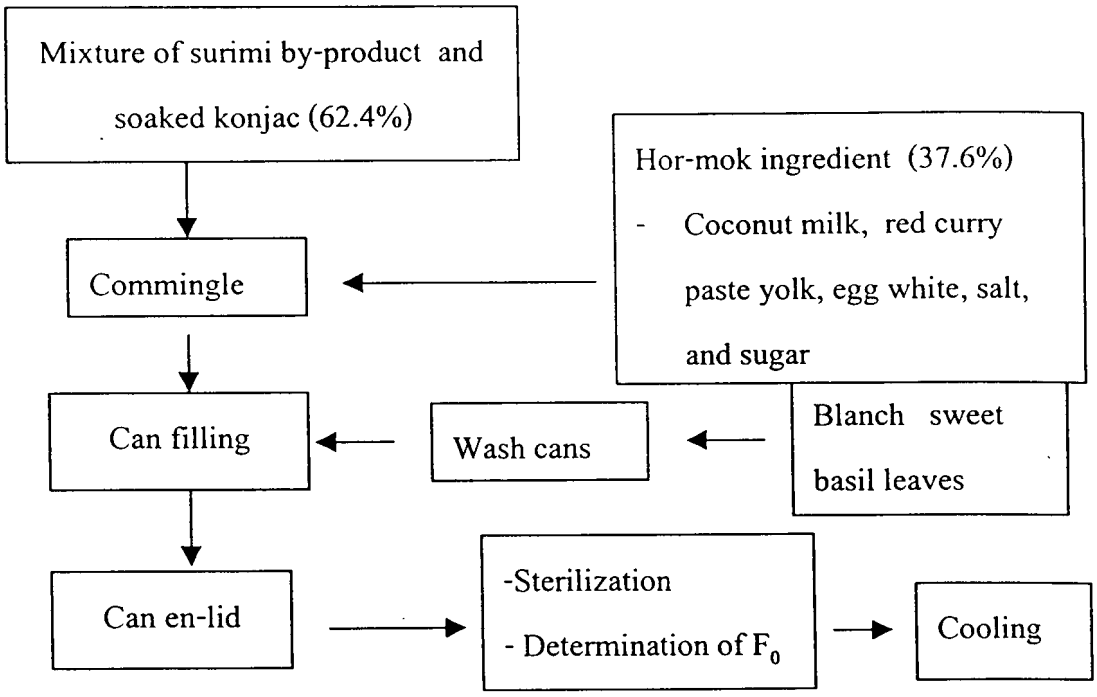
Ingredient	Content (%)
Fish	62.4
Coconut milk	12.5
Curry paste	6.3
Egg yolk	6.2
Egg white	6.2
Sugar	1.2
Salt	1.9
vegetable	3.3

ที่มา: นภดล —— (2543)

3.4 ตรวจหาอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนที่เหมาะสม โดยศูนย์พัฒนาอุตสาหกรรมเกษตรเพื่อการส่งออก ใช้เครื่องตรวจวัดหาค่า F_0 ของอาหารกระป๋อง โดยจะหาค่า F_0 ของห่อหมกสูตรที่มีการส่งผ่านความร้อนได้ช้าที่สุด

3.5 การพัฒนาสูตรที่เหมาะสม

การกำหนดปริมาณสัดส่วนบุกอิ่มตัวที่ศึกษาโดยให้ผู้ทดสอบ 20 คน ให้คะแนนความชอบรวมแก่ผลิตภัณฑ์ห่อหมกทั้ง 7 สูตรเพื่อคัดเลือกสูตรที่มีคะแนนความชอบน้อยออก ให้เหลือสูตรที่ใช้ศึกษาเพียง 5 สูตร คือผลพลอยได้:บุกอิ่มตัวเป็น 100: 0, 95:5, 90:10, 85:15 และ 80:2 (ตาราง 7) และมีสูตรการผลิตดังแสดงในตาราง 8



ภาพประกอบ 11 แสดงขั้นตอนการผลิตห่อหมกใยอาหารสูงบรรจุกระป๋อง

High dietary canned hor-mok process.

ตาราง 7 สัดส่วนของผลพลอยได้และบุกอิ่มตัวในผลิตภัณฑ์ห่อหมก

Ratios of surimi by-product and soaked konjac mixture.

Formula	Content (%)	
	Surimi by-product	Soaked konjac
1	100	0
2	95	5
3	90	10
4	85	15
5	80	20

ตาราง 8 สัดส่วนของผลพลอยได้จากการผลิตซูริมิ: บุกอิ่มตัว: เครื่องปรุงห่อหมก ตามสูตรมาตรฐาน

Ratios of surimi by-product : soaked konjac : standard hor-mok ingredient.

Surimi by-product	Soaked konjac	Standard hor-mok ingredient
62.4	0	37.6
59.3	3.1	37.6
56.2	6.2	37.6
53.0	9.4	37.6
49.9	12.5	37.6

การคัดเลือกปริมาณสัดส่วนบุกอิ่มตัวที่เหมาะสมเพื่อเติมในผลิตภัณฑ์ห่อหมก โดยประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์ห่อหมกทั้ง 5 สูตรที่ศึกษาทางประสาทสัมผัสแบบ Ideal ratio profile (ศิริลักษณ์ สินธวาลัย, 2536) โดยใช้ผู้ทดสอบซึ่งได้รับการฝึกฝน 10 คน ทดสอบและให้คะแนนเนื้อสัมผัส กลิ่น และสีของผลิตภัณฑ์ นำคะแนนที่ได้มาหาอัตราส่วนเฉลี่ย ระหว่างคะแนนตัวอย่าง (S) กับค่าอุดมคติ (I) ของเนื้อสัมผัสแต่ละลักษณะ วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่า อัตราส่วนเฉลี่ยของตัวอย่างกับค่าในอุดมคติ (S/I) และอัตราส่วนของค่าในอุดมคติ (I/I) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อก (CRB) (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2535) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดทดลองโดยใช้ DMRT (Duncan' s Multiple Range Test) (จิราพร ชมพิกุล, 2535) เพื่อคัดเลือกชุดการทดลองที่ผู้ทดสอบให้การยอมรับมากที่สุด ปรับปรุงจนกระทั่งอัตราส่วนเฉลี่ยของ S/I กับอัตราส่วนของ I/I มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ เพื่อหาสูตรผลิตภัณฑ์ห่อหมกที่ให้ผลของเนื้อสัมผัส กลิ่นและสี ที่ผู้ทดสอบพอใจสูงสุด เพื่อใช้ศึกษาในขั้นต่อไป

3.6 ตรวจสอบทางจุลินทรีย์

การตรวจสอบทางจุลินทรีย์ ของผลิตภัณฑ์ห่อหมกใยอาหารสูงบรรจุกระป๋องจากผลพลอยได้ของการผลิตซูริมิ สูตรที่ผู้ทดสอบพอใจสูงสุด เพื่อตรวจสอบความเหมาะสมของกระบวนการให้ความร้อนแก่ผลิตภัณฑ์ว่า ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้มีความปลอดภัยที่ใช้เพื่อ บริโภค และสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานที่อุณหภูมิห้อง การตรวจสอบใช้วิธี Sterility test (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2529; ศูนย์ตรวจสอบสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์, 2541) ดังแสดงในภาพประกอบ 12

การตรวจวิเคราะห์หาเชื้อจุลินทรีย์ทำดังนี้

3.6.1 การตรวจหา mesophilic aerobic bacteria

ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar และบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 96-120 ชั่วโมง ตรวจผลทุกๆ 2 วัน

ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Dextrose tryptone bromcresol purple broth และบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 96-120 ชั่วโมง ตรวจผลทุกๆ 2 วัน

3.6.2 ตรวจหา mesophilic anaerobic bacteria

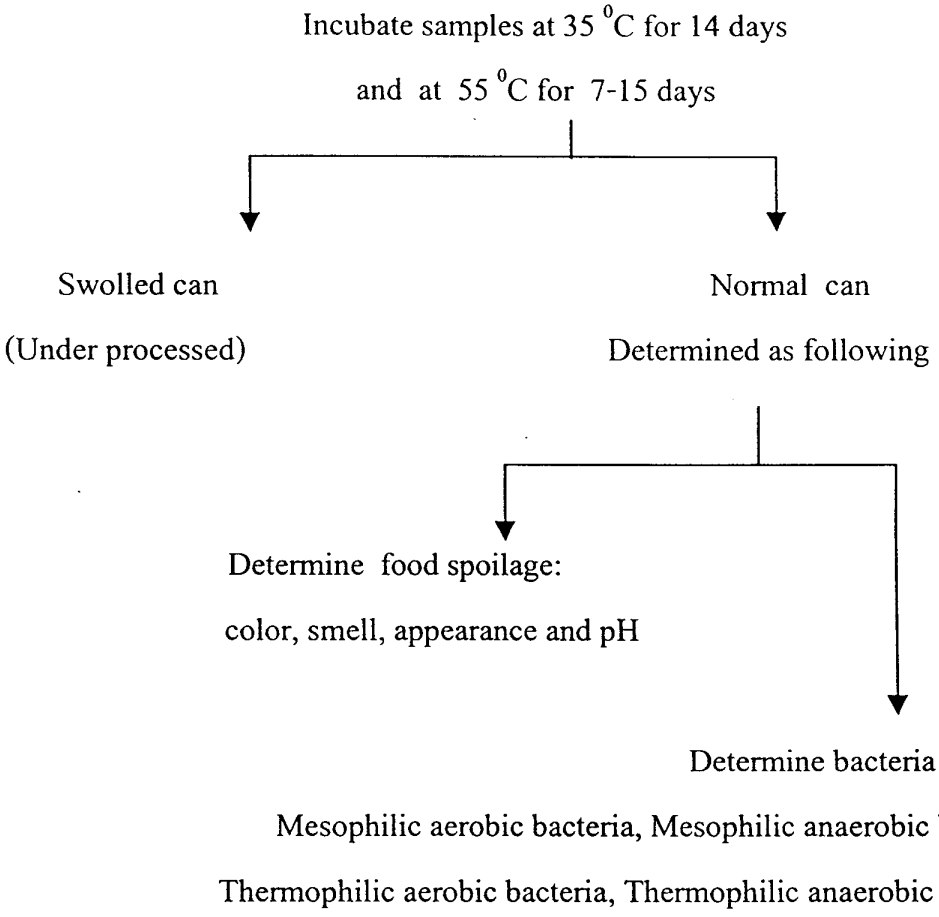
ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Cooked meat medium และบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 96-120 ชั่วโมง ตรวจผลทุกๆ 2 วัน

3.6.3 การตรวจหา thermophilic aerobic bacteria

วิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3.6.1 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

3.6.4 การตรวจหา termophilic anaerobic bacteria

วิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3.6.2 และบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส



ภาพประกอบ 12 แสดงการตรวจสอบ Sterility test ของผลิตภัณฑ์อาหารกระป๋อง
Sterility test of canned food.

ที่มา : สำนักงานมาตรฐานผลิตตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2529); ศูนย์ตรวจสอบสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์ (2541)

3.7 ตรวจสอบคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์

ตรวจสอบคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ห่อหมกใยอาหารสูงบรรจุกระป๋องดังต่อไปนี้

3.7.1 การวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการ

วิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการ ของผลิตภัณฑ์ห่อหมกใยอาหารสูงบรรจุกระป๋อง จากพลอยได้ของการผลิตซูริมิ ดังต่อไปนี้

ก. ใยอาหารทั้งหมด (Lee *et al.*, 1992)

ข. โปรตีน (AOAC, 1999)

ค. ไขมัน (AOAC, 1999)

ง. เถ้า (AOAC, 1999)

จ. แคลเซียม (Valverde *et al.*, 2000)

3.7.2 การตรวจคุณสมบัติของเนื้อสัมผัส

การวัดค่าเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ห่อหมกใยอาหารสูงบรรจุกระป๋อง จากพลอยได้ของการผลิตซูริมิ โดยวัดหาค่า breaking force และ deformation และวัดค่า hardness และ cohesiveness เช่นเดียวกับข้อ 2.1.9

4. การสำรวจการยอมรับของผลิตภัณฑ์

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส นำผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการพัฒนาแล้วมาทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคทั่วไปจำนวน 100 คน เพื่อสอบถามความชอบของผลิตภัณฑ์ โดยใช้แบบสอบถามเพื่อหาข้อมูลของผู้บริโภคที่มาทดสอบและสำรวจการยอมรับของผลิตภัณฑ์ ในลักษณะปรากฏทั่วไป สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบรวมโดยการให้คะแนนความชอบ (Hedonic scale) 9 ระดับคะแนน (คะแนน 1 = ชอบน้อยที่สุด คะแนน 9 = ชอบมากที่สุด) (Lawless and Heymann, 1999) และวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) เช่นเดียวกับข้อ 3.5

5. การประเมินต้นทุนการผลิต

คำนวณต้นทุนผันแปร โดยคำนวณจากค่าวัสดุทุกรายการที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ ค่าภาชนะบรรจุ ค่าพลังงานที่ใช้แปรรูป