วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

1. น้ำนึ่งปลาทูน่า จากบริษัท โชติวัฒน์อุตสาหกรรมการผลิต จำกัด (มหาชน) อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

2. เอนไซม์โปรตีเอส 2 ชนิด คือ เอนไซม์ Alcalase® 0.6 L และเอนไซม์ Neutrase® 0.5 L จากบริษัท Novo Industry ประเทศเดนมาร์ค ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท อีสเอเชียติกส์ (ประเทศไทย) จำกัด

3. เคมีภัณฑ์สำหรับวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและจุลินทรีย์ของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์ และเคมีภัณฑ์สำหรับการผลิตซอสปรุงรส

วิธีการทดลอง

1. **การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำนึ่งปลาทูน่า** ดังนี้

   1.1 พีเอชของน้ำนึ่งปลาทูน่า โดยใช้ pH-meter ยี่ห้อ Denver รุ่น 15

   1.2 สีของน้ำนึ่งปลาทูน่า โดยใช้ Juki Colorimeter รุ่น JP 7100P

   1.3 ความหนืดของน้ำนึ่งปลาทูน่า โดย Consistometer Bostwick

   1.4 ความชื้น (A.O.A.C., 1990)

   1.5 ของแข็งทั้งหมด (A.O.A.C., 1990)

   1.6 โปรตีน (A.O.A.C., 1990)

   1.7 ไนโตรเจนทั้งหมด (A.O.A.C., 1990)

   1.8 ไนโตรเจนที่ละลายได้ (A.O.A.C., 1990)

   1.9 ไขมัน (A.O.A.C., 1990)

   1.10 เกลือ (A.O.A.C., 1990)

   1.11 ความเป็นกรด (A.O.A.C., 1990)

   1.12 เถ้า (A.O.A.C., 1990)

   1.13 ซีโอดี (APHA, AWWA and WPCF, 1985)

2. **การแยกไขมันออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่า**

การแยกไขมันบางส่วนออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่าซึ่งผ่านการกรองด้วยผ้าขาวบางให้ความร้อนน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที กวนตลอดเวลา แล้ว

ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นำไปเก็บที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลาหนึ่งคืนแล้วตักไขมันที่ผิวหน้าทิ้งไป ผสมน้ำนึ่งปลาทูน่าทั้งหมดให้เข้ากัน บรรจุน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกไขมันลงในขวดขนาด 2.5 ลิตร เก็บไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาใช้นำมาละลายโดยตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง วิเคราะห์ไขมันในน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกไขมัน

3. การตกตะกอนโปรตีนออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่า

นำน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ผ่านการแยกไขมันแล้ว (ข้อ1) ตกตะกอนโปรตีนโดยการปรับพีเอชและหรือใช้สารเคมีคือ sodium hexametaphosphate, ไคโตแซน ช่วย แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง โดยวัดความขุ่นของน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกโปรตีน นอกจากนี้ยังมีการแยกโปรตีนโดยใช้ membrane filtration โดยระบบ hollow fiber system

4. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกไขมันและโปรตีน

นำน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกโปรตีนและไขมัน วัดค่าความขุ่นที่ 660 นาโนเมตร และวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ คือ พีเอช สี ซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของแขวนลอย น้ำมันและกรีส ปริมาณโปรตีน เกลือ และ เถ้า

5. การหาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่า

นำน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกไขมันออกแล้วใส่ในขวดแก้ว แล้วปรับสภาวะให้เหมาะสมกับการย่อยสลายของเอนไซม์ Alcalase® และ Neutrase® โดยเมื่อใช้เอนไซม์ Alcalase® ปรับให้น้ำนึ่งปลาทูน่ามีพีเอช 8.0 มีอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ส่วนเอนไซม์ Neutrase® ปรับให้มีพีเอช 7.0 มีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (อัจฉริยา เชื้อช่วยชู, 2539) ผสมกับเอนไซม์ Alcalase® และ Neutrase® ในปริมาณ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 % โดยปริมาตรต่อปริมาตรของน้ำนึ่งปลาทูน่า ผสมให้เข้ากัน แล้วย่อยสลายเป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยคนทุก 10 นาที เก็บตัวอย่างน้ำนึ่งปลาทูน่าในระหว่างการย่อยสลาย ที่เวลา 0,15, 30, 45, 60, 90, 120 และ 180 นาที นำไปต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) และปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ (soluble nitrogen) ด้วยวิธีการของลาวรี่ (Lowry,*et al.*,1951)

การหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โดยการนำน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์แล้วมาหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธีการของลาวรี่

การหาปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ โดยการปิเปตน้ำนึ่งปลาทูน่า 20 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย TCA 20 % ปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แยกส่วนของเหลวใสไปวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ ด้วยวิธีการของลาวรี่แล้วหาระดับการย่อยสลายได้จาก (Hoyle and Merritt, 1994)

$$\text{ระดับการย่อยสลาย (DH)} = \frac{\text{10 \% TCA-soluble nitrogen in sample}}{\text{Total nitrogen in sample}} \times 100$$

เลือกน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ซึ่งมีไนโตรเจนที่ละลายได้มากที่สุด มาใช้ในการผลิตซอสปรุงรส

6. **การผลิตซอสปรุงรสจากน้ำนึ่งปลาทูน่า**

นำน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกไขมันออกแล้วผสมกับเอนไซม์ Alcalase® และ Neutrase® ในปริมาณและสภาวะที่เหมาะสม จากการทดลองในข้อ 4 นำไประเหยให้มีความเข้มข้นเป็น 2 เท่าด้วยไอน้ำภายใต้สภาวะสุญญากาศ แล้วนำไปปรุงแต่งรส กลิ่น สี และ ลักษณะเนื้อสัมผัส โดยใช้ส่วนผสมที่ดัดแปลงจากรายงานของกรมวิทยาศาสตร์บริการ (2519, อ้างโดย ปราณิศา เชื้อโพธิ์หัก, 2534) ดังนี้

1. น้ำนึ่งปลาทูน่า	60.0	กรัม
2. ซีอิ๊วขาว	20.0	กรัม
3. น้ำตาลทราย	7.0	กรัม
4. น้ำตาลกลูโคส	10.0	กรัม
5. โซเดียมซักซิเนต	1.0	กรัม
6. กรดซักซินิก	0.3	กรัม
7. ผงชูรส	2.7	กรัม
8. แป้งข้าวโพด	5.0	กรัม
9. น้ำ	20.0	กรัม
10. โซเดียมเบนโซเอต	0.06	กรัม

โดยผสมส่วนผสมทุกอย่างเข้าด้วยกัน แล้วต้มให้เดือดนาน 2 นาที

7. **การประเมินผลทางประสาทสัมผัส**

ทำการประเมินผลด้านสี กลิ่น และรสของซอสปรุงรสที่เตรียมได้ เปรียบเทียบกับซอสหอยนางรมที่ขายในท้องตลาดที่คัดเลือกแล้ว (โดยซื้อตัวอย่างซอสหอยนางรมจากท้องตลาดมา 3 ยี่ห้อ ทำการทดสอบชิมเพื่อเลือกซอสหอยนางรมยี่ห้อที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดมาหนึ่งยี่ห้อ) การประเมินความชอบด้านรสของซอสปรุงรสจะนำมาปรุงเป็นอาหาร โดยให้นักศึกษาคณะอุตสาหกรรมเกษตรเป็นผู้ทดสอบชิม จำนวน 10 คน ใช้แผนการทดสอบแบบ QDA แล้ววิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ

8. **การวิเคราะห์องค์ประกอบของซอสปรุงรสที่ได้รับการยอมรับมากที่สุด**

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของซอสปรุงรสตามข้อ 1 พร้อมทั้งวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต (สุธีรา เสาวภาคย์, 2535) ค่าสี และความหนืด เพื่อเปรียบเทียบกับซอสหอยนางรมที่มีขายในท้องตลาด