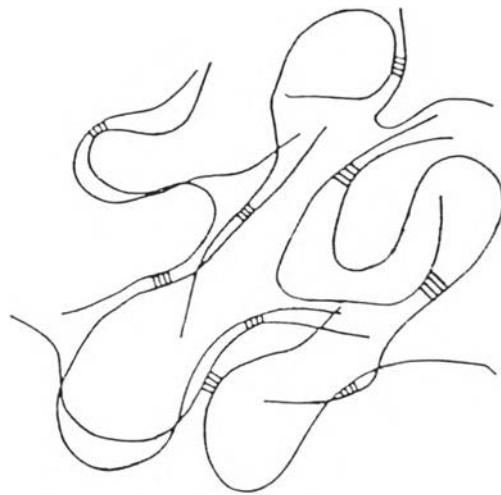




## บทที่ 2

### วารสารปริทัศน์

ลักษณะเนื้อสัมผัสเป็นปัจจัยสำคัญต่อการยอมรับของผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเจล จากการศึกษาเจลเพกตินชนิดเมทอกซีสูงพบว่า การเกิด cross-linked ของสายโพลีเมอร์ภายในโครงร่างแหของเจลโดยการจับกันเป็นบางส่วนของสายเพกตินดังรูปที่ 1 เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อสมบัติเฉพาะของเจลในด้านลักษณะเนื้อสัมผัส ดังนั้นการศึกษาถึงกลไกการเกิดเจลในระดับโมเลกุลโดยพิจารณาถึงการรวมกันระหว่างสายโพลีเมอร์จนเกิดเป็นโครงร่างแห รวมทั้งแรงที่ทำให้เกิดโครงร่างแห จะทำให้ทราบถึงสมบัติทางเคมี และฟิสิกส์ของเจลตลอดจนสามารถปรับเปลี่ยนและควบคุมภาวะที่มีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลได้อย่างเป็นระบบ

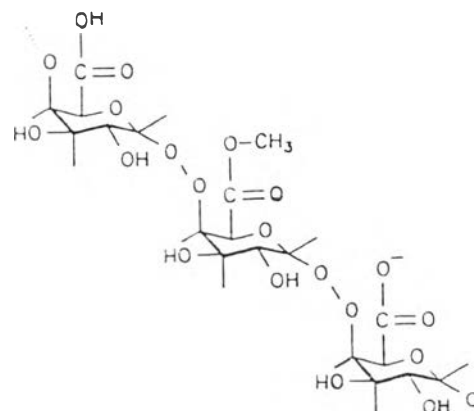


รูปที่ 1 รูปแบบของโครงร่างแหเจล เส้นขนานแทน Junction Zone

ที่มา: Oakenfull และ Scott, 1985

## ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเพกติน

เพกตินเป็นสารประกอบประเภทโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งประกอบด้วย D-galacturonic acid ต่อกันเป็นสายยาวโดยหน่วยของ (1→4)-linked  $\alpha$ -D-galactopyranosyluronic acid ดังรูปที่ 2 เพกตินที่มีอยู่ตามธรรมชาตินั้นจะมีหมู่คาร์บอกซิลบางส่วนอยู่ในสภาพเป็นกลาง โดยการแทนที่ไฮโดรเจนออกไซด์ด้วยหมู่เมทิล และจำนวนคาร์บอกซิลที่เป็นกลางนั้นจะมีจำนวนมาน้อยเพียงไรขึ้นกับภาวะที่ใช้ในการสกัดเพกติน โดยอัตราส่วนระหว่างหน่วยของ D-galacturonic acid ที่ถูกแทนที่ด้วยหมู่เมทิลต่อหน่วยของ D-galacturonic acid ทั้งหมดเรียกว่า Degree of Esterification (DE) ซึ่งมีผลต่อการละลายของเพกติน ภาวะและความสามารถในการเกิดเจล (BeMiller, 1986) เพกตินมีทั้งในรูปที่ไม่ละลายน้ำที่เรียกว่า protopectin และในรูปที่ละลายน้ำได้ประกอบด้วย pectinic acid และ pectic acid ซึ่ง pectinic acid ดังกล่าวจะมีหมู่เมทิลเป็นองค์ประกอบ ส่วน pectic acid จะถูกกำจัดหมู่เมทิลออกหมด (Crandall and Wicker, 1986)



รูปที่ 2 สูตรโครงสร้างของเพกตินชนิดเมทอกซีสูง  
ที่มา: Merck(1992)

เพกตินสามารถแบ่งตามค่า DE ได้ 2 ชนิดคือ

1. เพกตินชนิดเมทอกซ์สูง คือ เพกตินที่มีค่า DE มากกว่าร้อยละ 50 และสามารถแบ่งเพกตินชนิดนี้ได้เป็นสี่ชนิด คือ ultra rapid set, rapid set, medium set และ slow set โดยมีค่า DE เวลาและอุณหภูมิในการเกิดเจลดังแสดงในตารางที่ 2 (Crandall and Wicker, 1986) เพกตินชนิดนี้สามารถเกิดเจลได้หากอยู่ในภาวะที่มีน้ำตาลและกรดในอัตราส่วนที่เหมาะสม (Doesburg, 1965)

ตารางที่ 2 ค่า Degree of Esterification (DE) เวลาและอุณหภูมิในการเกิดเจลของเพกตินชนิดเมทอกซ์สูง

Type	Degree of Esterification (DE)	Setting Time (sec)	Setting Temperature (° C)
Rapid set	75-72	20-70	97-95
Medium set	71-68	100-150	92-87
Slow set	66-62	180-250	83-72

ที่มา : Crandall and Wicker, 1986

2. เพกตินชนิดเมทอกซ์ต่ำ คือ เพกตินที่มีค่า DE น้อยกว่าร้อยละ 50 (Crandall and Wicker, 1986) เพกตินชนิดนี้จะสามารถเกิดเจลได้หากมีปริมาณออสโมติกจำนวนประมาณ 25 มิลลิกรัมโดยน้ำหนักเจล 100 กรัม เช่น แคลเซียม โดยไม่จำเป็นต้องมีน้ำตาลและกรด เนื่องจากสายเพกตินจะจับกันเป็นบางส่วนจนเกิดเป็นโครงร่างแหเจลด้วยแรงจากพันธะไฮโดรเจนที่สำคัญ (Rouse, 1977) อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ที่ใช้เพกตินชนิดนี้เป็นส่วนประกอบยังไม่เป็นที่

นิยมแพร่หลายนัก เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องมีออกซิเจนเป็นส่วนประกอบรวมทั้งมีรสชาติไม่กลมกล่อมเหมือนผลิตภัณฑ์ที่ใช้เพกตินชนิด H-M เป็นส่วนประกอบ เพราะเป็นผลิตภัณฑ์ซึ่งมีปริมาณกรดและน้ำตาลต่ำ

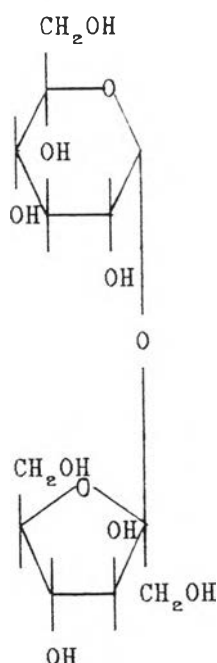
ดังนั้นงานวิจัยจึงศึกษาปัจจัยที่ผลต่อความแข็งแรงในเจลเพกตินชนิดเมทอกซ์สูง

## ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับน้ำตาล

### 1. น้ำตาลซูโครส

น้ำตาลซูโครสผลิตได้จากอ้อยหรือหัวบีต การการค้าหากกล่าวถึงน้ำตาลจะหมายถึงซูโครสซึ่งเป็นน้ำตาลที่นิยมบริโภคมากที่สุด

ซูโครสเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่  $\alpha$ -D-glucopyranosyl- $\beta$ -D-fructofuranoside ประกอบด้วยน้ำตาล  $\alpha$ -D-glucose และน้ำตาล  $\beta$ -D-fructose มีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 สูตรโครงสร้างน้ำตาลซูโครส

ที่มา : Pancoast and Junk (1980)

สมบัติทางเคมีและทางกายภาพ

น้ำตาลซูโครสไม่คงตัวในภาวะเป็นกรด โดยจะถูกไฮโดรไลซ์เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวคือ น้ำตาล levulose และ dextrose ดังสมการนี้ (Pancoast and Junk, 1980)

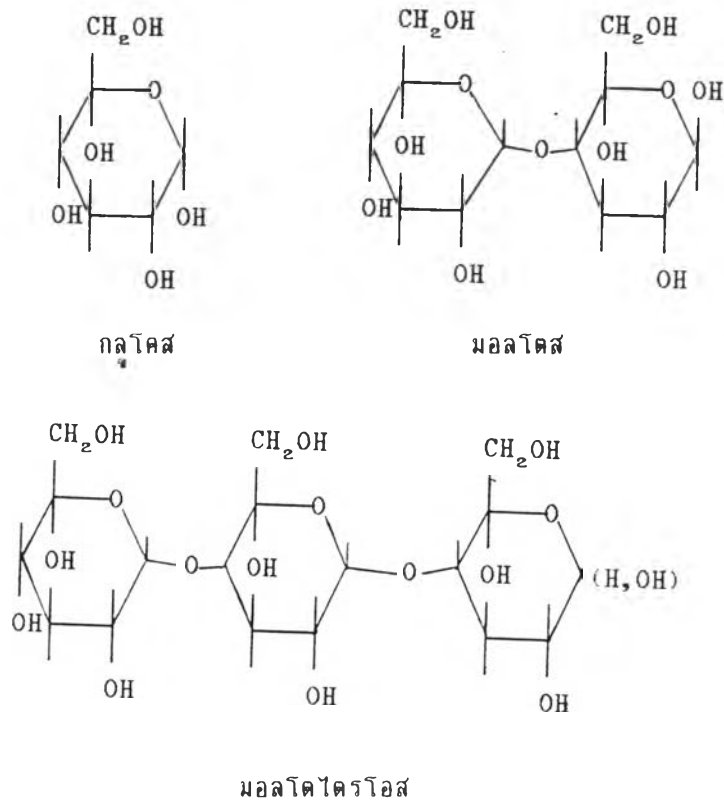


น้ำตาลซูโครสมีความสามารถในการลดความชื้นปานกลาง ละลายน้ำได้ร้อยละ 66 ที่ 25° C มีความสามารถในการตกผลึกสูง และมีความหนืดสูงกว่าน้ำตาล fructose syrup (บริษัทเจ้าคุณเกษตรพืชผล(เอ็กสาร์), 2532)

2. น้ำตาล glucose syrup

glucose syrup ผลิตจากการย่อยแป้งด้วยกรดและ/หรือเอนไซม์ มีค่า dextrose equivalent ตั้งแต่ 20 ขึ้นไป ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส มอลโตส มอลโตไตรโอส และน้ำตาลมากกว่าสามโมเลกุลขึ้นไป (Comberford, 1974 ) สูตรโครงสร้างน้ำตาลเหล่านี้

ผังรูปที่ 4



รูปที่ 4 สูตรโครงสร้างน้ำตาลกลูโคส มอลโตส มอลโตไตรออส  
ที่มา: Shallenberger and Birch, 1975

glucose syrup มีหลายประเภทจึงอาจแบ่งออกได้โดยใช้เกณฑ์ดังต่อไปนี้

1. แบ่งตามค่า dextrose equivalent

โดยปกติ glucose syrup จะมีค่า dextrose equivalent ต่างกันขึ้นกับกระบวนการผลิต ซึ่งสามารถใช้ค่า dextrose equivalent ดังกล่าวแบ่งประเภทของ glucose syrup ได้ 4 ประเภทดังนี้

- ชนิด I      20-38      dextrose equivalent
- ชนิด II     38-58      dextrose equivalent
- ชนิด III    58-73      dextrose equivalent
- ชนิด IV    มากกว่าหรือเท่ากับ 73 dextrose equivalent

## 2. แบ่งตามชนิดของสารที่ใช้ในการย่อยแป้ง

การใช้กรดและ/หรือเอนไซม์ในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาล จะได้สัดส่วนของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบใน glucose syrup ต่างกัน เช่น glucose syrup 42 dextrose equivalent ที่ได้จากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ มีน้ำตาล มอลโตสสูงถึงร้อยละ 46 เรียกว่า high-maltose syrup ในขณะที่ glucose syrup 42 dextrose equivalent ที่ได้จากการย่อยด้วยกรด ปริมาณมอลโตสมีเพียงร้อยละ 14 เดกซ์โตรสสูงถึงร้อยละ 18 ดังตารางที่ 3 (Commerford, 1974) ดังนั้นการใช้ค่า dextrose equivalent เพียงอย่างเดียวจึงไม่สามารถแบ่งชนิดของ glucose syrup ได้ชัดเจน และนั่นจึงมีการแบ่ง glucose syrup ตามชนิดของสารที่ใช้ในการย่อยแป้ง ดังนี้

- ชนิด I ใช้กรดในการย่อยแป้ง
- ชนิด II ใช้กรดร่วมกับเอนไซม์ หรือใช้เอนไซม์อย่างเดียว

ตารางที่ 3 องค์ประกอบน้ำตาลใน glucose syrup ชนิดใช้กรดอย่างเดียว และกรดร่วมกับเอนไซม์ในการผลิต

Type of Conversion	Dextrose	Maltose	Maltotriose	Higher sugar
acid (42 DE. <sup>a</sup> )	18.5	14.5	12	55
acid-enzyme(42 DE. <sup>a</sup> )	5.5	42	15	38

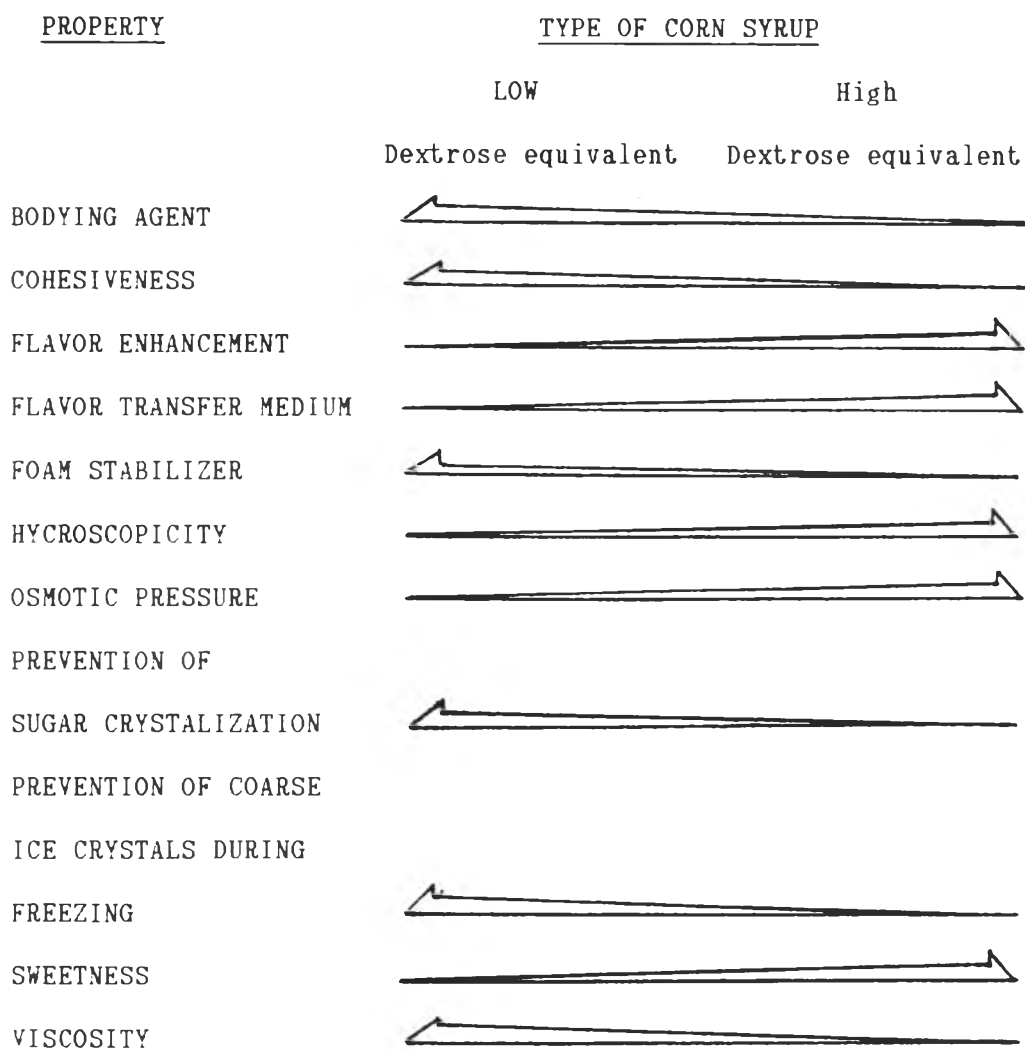
a = dextrose equivalent

ที่มา: Commerford, 1974

### สมบัติทางเคมีและทางกายภาพ

glucose syrup เป็นน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งเป็นน้ำตาล ดังนั้นสมบัติทางเคมี กายภาพจะขึ้นกับค่า dextrose equivalent เช่น ความหวาน ความดันออสโมติก flavour enhancement, ความสามารถในการเป็นตัวกลางส่งผ่านกลิ่นรส การลดลงของจุดเยือกแข็ง

สมบัติเหล่านี้จะเพิ่มขึ้นเมื่อค่า dextrose equivalent สูงขึ้นในขณะที่ค่า bodying agent, cohesiveness, foam stabilizer ความสามารถในการป้องกันการตกผลึกน้ำตาลที่มีขนาดใหญ่ระหว่างการแช่แข็ง ความหนืด ค่าเหล่านี้จะลดลงเมื่อ dextrose equivalent เพิ่มขึ้น  
 ดังรูปที่ 5 (Pancoast and Junk 1980)



รูปที่ 5 สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของ glucose syrup ที่มีค่า dextrose equivalent ต่างจนถึงค่า Dextrose equivalent สูง

ที่มา : Birch , Green และ Coulson, 1970



### 3. น้ำตาล fructose syrup

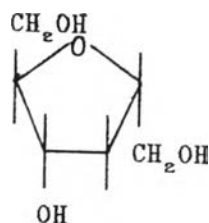
fructose syrup เป็นน้ำตาลที่ได้จากการนำ glucose syrup ชนิดที่มีปริมาณกลูโคสสูงมาผ่านกระบวนการ isomerization เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นน้ำตาลฟรุกโตส เมื่อผ่านกระบวนการนี้จะได้น้ำเชื่อมที่มีทั้งน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และ higher sugar ในอัตราส่วนต่างๆกันขึ้นกับกระบวนการ isomerization ที่ใช้ ดังนั้นจึงสามารถแบ่งชนิดของ fructose syrup โดยอาศัยสัดส่วนระหว่างน้ำตาลฟรุกโตสและกลูโคสได้เป็น 4 ชนิดคือ A, B, C และ D ซึ่งมีสัดส่วนของน้ำตาลฟรุกโตสและกลูโคสต่างกันดังตารางที่ 4 (Pancoast and Junk 1980)

ตารางที่ 4 องค์ประกอบน้ำตาลชนิดต่างๆใน Fructose syrup ชนิด A, B, C และ D

saccharides	Type (%)			
	A	B	C	D
Dextrose	50-52	41	36	7
Fructose	42-43	55	60	90
Higher saccharides	5-8	4	4	3

ที่มา : Pancoast and Junk ,1980

น้ำตาลฟรุกโตสมีสูตรโครงสร้าง ดังแสดงในรูปที่ 6



รูปที่ 6 สูตรโครงสร้างน้ำตาลฟรุกโตส

ที่มา : Shallenberger and Birch, 1975

#### สมบัติทางเคมีและทางกายภาพ

fructose syrup มีความสามารถในการดูดความชื้นสูง สามารถละลายได้ร้อยละ 75 ที่ 25°C โดยอาศัยความร้อนปริมาณ 25.2 แคลลอรี่ต่อกรัม (กลูโคส) เมื่อละลายน้ำ ความสามารถในการตกผลึกต่ำ ในขณะที่ความดันออสโมติกสูง ความหนืดต่ำกว่าน้ำตาล glucose syrup และซูโครสที่ความเข้มข้นเดียวกัน ทนต่อภาวะเป็นกรด จุลินทรีย์สามารถใช้น้ำตาลชนิดนี้ได้โดยไม่ต้องไฮโดรไลซ์ (บริษัทเจ้าคุณเกษตรพืชผล (เอ็กสาร์), 2532)

#### การเกิดเจลในเพกตินชนิดเมทอกซีสูง

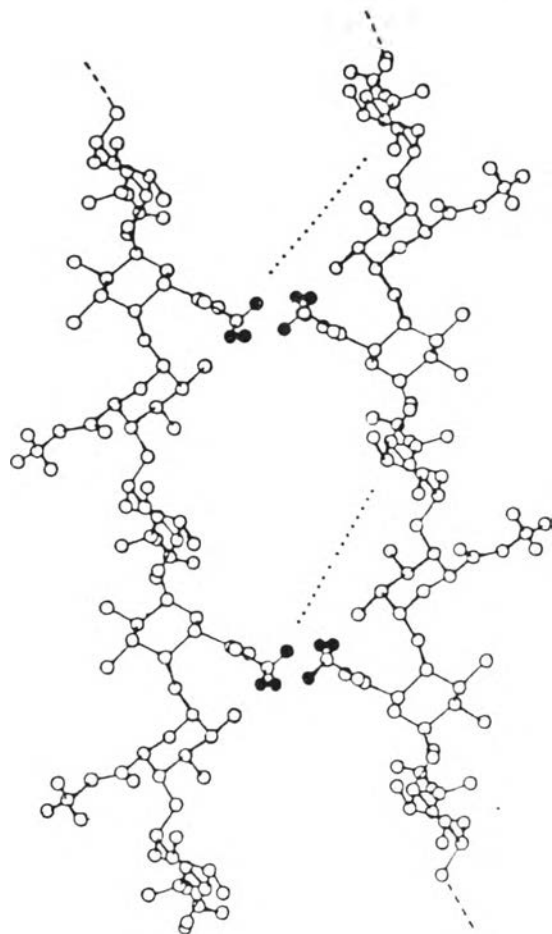
ปกติเจลจะอยู่ในรูปกิ่งของเกลวกิ่งของแข็ง ประกอบด้วยสายโพลีเมอร์ที่พันกันเกิดเป็นโครงร่างแหในตัวของเกลว ซึ่งทางด้านอาหารของเกลวนั้นจะหมายถึงน้ำ สมบัติของเจลจะเป็นผลมาจากการ interact ที่ซับซ้อนระหว่างน้ำและสายโพลีเมอร์เกิดเป็นแรงระหว่างโมเลกุลที่ทำให้โครงร่างแหของสายโพลีเมอร์คงตัวอยู่ได้อย่างสมบูรณ์ โดยน้ำจะทำหน้าที่เป็นตัวทำลายและมีอิทธิพลต่อความสามารถของแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุล ซึ่งภายในโครงร่างแหนี้จะอุ้มน้ำไว้ทำให้น้ำไม่สามารถไหลออกจากโครงร่างนี้ได้ (Oakenfull, 1987)

การเกิดเจลในเพกตินชนิดเมทอกซีสูงนั้นจะต้องมีปริมาณเพกติน กรด และน้ำตาลในอัตราส่วนที่เหมาะสม เนื่องจากเพกตินเมื่อละลายน้ำจะคงตัวอยู่ได้เนื่องจากแรงกระทำทางไฟฟ้าระหว่างไอออนลบบนสายเพกตินและไอออนบวกจากน้ำ เมื่อเติมสารพวก dehydrating agent เช่น น้ำตาล หรือสารประกอบพวกที่มีหมู่ไฮดรอกซิลหลายหมู่จะทำให้การละลายของเพกตินลดลง เนื่องจาก dehydrating action ของน้ำตาลจะรบกวนสมดุลระหว่างเพกตินและน้ำ ส่วน

ไฮโดรเจนอ็อนจากกรดจะช่วยเสริมทำให้เพกตินละลายได้น้อยลง โดยการลดจำนวนอ็อนลบบนสายเพกตินจนกระทั่งเกิดการจับตัวกันบางส่วน of สายเพกติน (Bender, 1959) ด้วยแรงระหว่างโมเลกุลซึ่งเป็นแรงอย่างอ่อน เช่น แรงจากพันธะไฮโดรเจน แรง Vander Waals และแรงจาก hydrophobic interaction (HI) เกิดเป็นกลุ่มของ cross-linked ที่เรียกว่า junction zone (Oakenfull, 1987) หรือกล่าวอีกนัยหนึ่ง junction zone เกิดจากการจับกลุ่ม (aggregate) กันเป็นบางส่วน of สายเพกตินจนเกิดเป็นโครงร่างแหเจล (Bender, 1959) จากการศึกษาเจลในเพกตินชนิดเมทอกซีสูงโดยวิธี X-ray diffraction และการพิจารณาค่าพลังงานอิสระในการเกิดเจลพบว่าแรงจากพันธะไฮโดรเจนและแรงจาก HI เป็นแรงที่สำคัญต่อการเกิดเจลเพกตินชนิดเมทอกซีสูง

#### แรงระหว่างโมเลกุลที่ทำให้เกิดโครงร่างแหของเจลเพกตินชนิดเมทอกซีสูง

Junction zone ภายในโครงร่างแหระหว่างเจลในเพกตินชนิดเมทอกซีสูงเกิดจากสายเพกตินมาจับกันเป็นบางส่วนด้วยแรงระหว่างโมเลกุล จากการศึกษาเจลในเพกตินชนิดเมทอกซีสูงด้วยวิธี x-ray diffraction และจากการพิจารณาค่าพลังงานอิสระมาตรฐานของการเกิดเจล พบว่าแรงสำคัญระหว่างโมเลกุลซึ่งทำให้เกิด junction zone ประกอบด้วยแรงจากพันธะไฮโดรเจน (เส้นจุดไข่ปลา) และแรงจาก HI (วงกลมทึบ) ดังรูปที่ 7 ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้



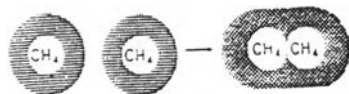
รูปที่ 7 โครงสร้างของ junction zone ในเจลเพกตินชนิดเมทัลลิกสีสูง ถ่ายศึกษา  
X-ray diffraction  
ที่มา : Oakenfull และ Scott, 1984

### 1. แรงจากพันธะไฮโดรเจน

แรงจากพันธะไฮโดรเจนถึงแม้ว่าเป็นแรงอย่างอ่อน แต่เป็นแรงที่สำคัญที่ทำให้เกิดโครงสร้างแหของเจล (Oakenfull, 1991) ปัจจัยที่สนับสนุนให้เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลคือ ไฮโดรเจนอออนและน้ำตาล โดยไฮโดรเจนอออนมีผลลดแรงผลักระหว่างสายเพกติน (Crandall and Wicker, 1986) ส่วนน้ำตาลทำหน้าที่เป็นตัวดึงชั้นของน้ำที่อยู่ล้อมรอบสายเพกตินทั้งสองปัจจัยดังกล่าวส่งผลให้สายเพกตินเข้ามาใกล้กันมากยิ่งขึ้น ส่งผลให้เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างเพกติน น้ำตาล น้ำ และพันธะไฮโดรเจนระหว่างน้ำและเพกตินรวมทั้งพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายเพกตินมากยิ่งขึ้น (Walkinshaw and Arnott, 1979)

### 2. แรงจาก hydrophobic interaction (HI)

ปกติ HI เกิดขึ้นในสารละลายที่ประกอบด้วยน้ำและโมเลกุลหรือกลุ่มของโมเลกุลไม่มีขั้ว โดยโมเลกุลของน้ำและกลุ่มของโมเลกุลไม่มีขั้วเหล่านี้จะผลักซึ่งกันและกัน ดังนั้นน้ำจะผลักกลุ่มโมเลกุลไม่มีขั้วให้รวมกัน และกลุ่มโมเลกุลไม่มีขั้วก็จะพยายามรวมตัวกันเมื่อเคลื่อนที่เข้ามาใกล้กัน น้ำบางส่วนที่อยู่ระหว่างโมเลกุลจะถูกขับออกมาดังรูปที่ 8 (Oakenfull, 1987) และในขณะเดียวกัน โมเลกุลของน้ำที่อยู่ล้อมรอบโมเลกุลไม่มีขั้วจะมีการจัดเรียงตัวใหม่ (rearrangement) กลายเป็นโครงสร้างสามมิติของพันธะไฮโดรเจนเกิด HI ขึ้น (Oakenfull, 1991) และ HI นี้จะมีค่าสูงสุดเมื่อน้ำมีการจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างสามมิติของพันธะไฮโดรเจนได้มากที่สุด จากการศึกษาเจลในเพกตินชนิดเมทอกซีสูง พบว่าน้ำตาลจะเป็นปัจจัยสนับสนุนให้เกิด HI มากยิ่งขึ้น เนื่องจากน้ำตาลเข้าไป interact กับน้ำทำให้มีการจัดเรียงโครงสร้างใหม่ (structure making) ของน้ำมากขึ้น เกิดเป็นโครงสร้างสามมิติของพันธะไฮโดรเจนเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิด HI สูงขึ้น (Back, 1979) น้ำตาลซูโครสร้อยละ 50 โดยน้ำหนักเจลจะมีผลต่อการเพิ่ม HI ระหว่างหมู่เมธิลถึงร้อยละ 67 เมื่อเทียบกับน้ำ (Oakenfull, 1987)



พื้นที่แฉกาคือน้ำ ( $H_2O$ )

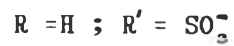
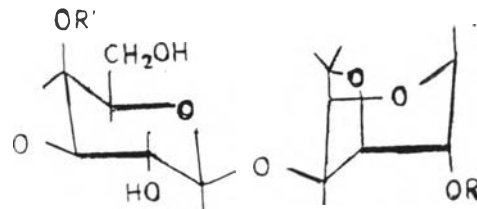
รูปที่ 8 รูปแบบของการเกิด hydrophobic interaction

ที่มา : Oakenfull, 1991

ปัจจัยบ่งชี้ถึงบทบาทสำคัญของ HI ต่อการเกิดเจลในเพกตินชนิดเมทอกซีสูง

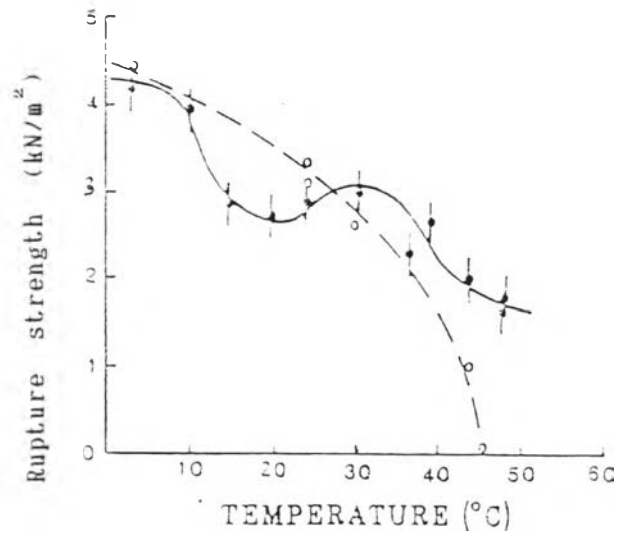
#### 1. การตอบสนองของเจลต่ออุณหภูมิ

การตอบสนองของเจลต่ออุณหภูมิ เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ทราบถึงบทบาทสำคัญของ HI ในการเกิดเจลของเพกตินชนิด H-M โดย Oakenfull และ Scott (1984) ได้ทดลองวัดค่าความแข็งแรงของเจล โดยวัดค่า rupture strength ที่อุณหภูมิต่างๆ ได้ผลดังรูปที่ 9 เส้นกราฟเจลในเพกตินชนิดเมทอกซีสูงที่ได้จะเป็นรูปเส้นโค้งเหมือนรูปตัวเอส (sigmoidal) ที่มีจุดโค้งขึ้นเล็กน้อยที่อุณหภูมิ  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  ในขณะที่กราฟของเจลที่ได้จาก carrageenan ซึ่งประกอบด้วยหน่วยย่อยของ D-galactose ซึ่งบางหน่วยจะถูกแทนที่ด้วย sulfate ester ดังรูปที่ 9 ดังนั้นสายโพลีเมอร์จึงรวมกันเป็นเจลด้วยพันธะไฮโดรเจนและพันธะไอออนิก กราฟที่ได้จะลดลงโดยไม่มีส่วนกลับเหมือนเจลเพกตินชนิดเมทอกซีสูง เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นแรงจากพันธะไฮโดรเจนจะอ่อนลง ในขณะที่แรงจาก HI จะสูงขึ้นถ้าหากอุณหภูมิเพิ่มขึ้นในช่วง  $0-50\text{ }^{\circ}\text{C}$  ดังนั้นจึงเกิดการแข่งขันระหว่างแรงทั้งสองชนิดขึ้นในเจลเพกตินชนิดเมทอกซีสูง ทำให้ได้กราฟรูปโค้งเหมือนตัวเอสดังกล่าว



รูปที่ 9 สูตรโครงสร้างของ K-carrageenan

ที่มา Oakenfull, 1991



รูปที่ 10 ผลของอุณหภูมิต่อความแข็งแรงของเจลจากเพกติน (กราฟเส้นต่อเนื่อง) ที่มีค่า

DE ร้อยละ 70 ความเข้มข้น 3.6 g/kg เตรียมจากน้ำตาลซูโครส 550 g/kg

และเจลจาก carrageenan (เส้นประ) เตรียมที่ความเข้มข้น 10 g/kg

ที่มา : Oakenfull and Scott, 1984

## 2. ค่าความแข็งแรงของเจลสูงสุดเมื่อเกิด HI สูงสุด

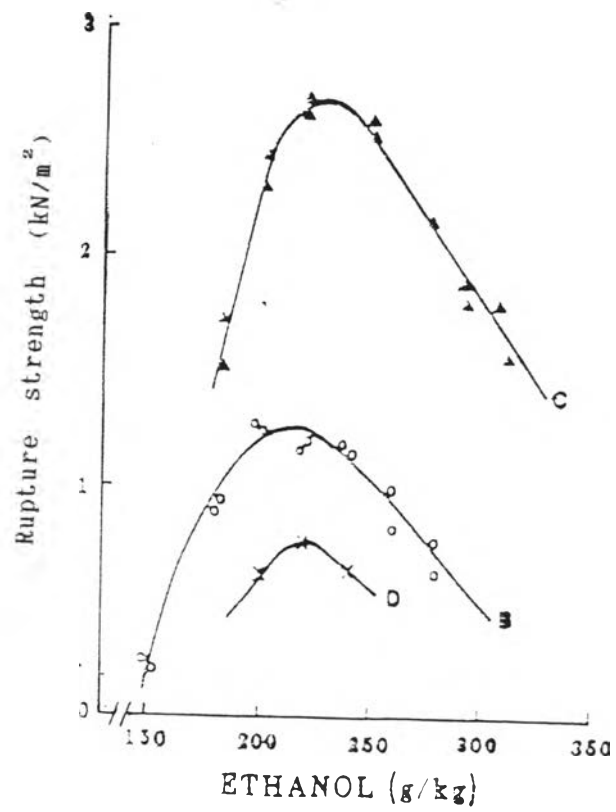
Oakenfull และ Scott (1984) ได้แสดงถึงบทบาทของ HI ต่อการเกิดเจลและความแข็งแรงของเจล โดยเตรียมเจลที่ใช้เอธานอลแทนน้ำตาลซูโครสในเพกตินชนิด B, C และ D ที่มีค่า DE ต่างกันดังตารางที่ 5 แล้ววัดค่าความแข็งแรงของเจลโดยวัดค่า rupture strength (RS) ที่ความเข้มข้นต่างๆของเอธานอล ผลการทดลองพบว่าค่าความแข็งแรงของเจลจะมีค่าสูงขึ้นเรื่อยๆเมื่อความเข้มข้นเอธานอลเพิ่มขึ้น และมีค่าสูงสุดที่ช่วงความเข้มข้นเอธานอลประมาณ 200-250 g/Kg จากนั้นค่าความแข็งแรงของเจลจะลดลงเมื่อความเข้มข้นเอธานอลเพิ่มขึ้นดังรูปที่ 11 เมื่อทดลองวัดค่าพลังงานอิสระมาตรฐานของ HI ระหว่างหมู่เมทิล ( $\Delta G^\circ_{HI}$ ) ทดลองโดยใช้ระบบจำลอง (model system) ที่ประกอบด้วย น้ำ เพกติน และเอธานอล โดยค่า  $\Delta G^\circ_{HI}$  ตีลบมากจะเกิด HI มาก ผลการทดลองพบว่าค่า  $\Delta G^\circ_{HI}$  จะตีลบมากขึ้นเรื่อยๆเมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากน้ำไปละลายเอธานอลทำให้สายเพกตินเข้ามาใกล้กันจนเกิด HI ระหว่างสาย ดังนั้นเมื่อเพิ่มปริมาณเอธานอล HI จึงมีค่าสูงขึ้น จนกระทั่งถึงช่วงความเข้มข้นประมาณ 200-250 g/Kg  $\Delta G^\circ_{HI}$  จะมีค่าตีลบสูงสุด จากนั้นจะมีค่าตีลบลดลงเมื่อความเข้มข้นเอธานอลเพิ่มขึ้นดังรูปที่ 12 อาจเนื่องมาจากที่ความเข้มข้นเอธานอลสูงระดับนี้ โมเลกุลเอธานอลจะจับกับน้ำจนกระทั่งเหลือโมเลกุลของน้ำน้อยมากที่จะผลึกให้เกิด HI ค่า HI จึงเริ่มลดลง จากรูปที่ 12 ในช่วงแรกเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอธานอล ค่าความแข็งแรงของเจลจะมากขึ้น อาจเนื่องมาจากเกิด HI มากขึ้นสังเกตจากค่า  $\Delta G^\circ_{HI}$  ตีลบมากขึ้น (รูปที่ 12) ช่วงความเข้มข้นเอธานอล 200-250 g/Kg ความแข็งแรงของเจลมีค่าสูงสุดและค่า  $\Delta G^\circ_{HI}$  ตีลบมากที่สุด แสดงให้เห็นว่าความแข็งแรงของเจลจะมีค่าสูงสุดเมื่อเกิด HI มากที่สุด และช่วงหลังเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอธานอลค่าความแข็งแรงของเจลจะลดลง (รูปที่ 11) อาจเนื่องมาจากเกิด HI น้อยลงสังเกตจากค่า  $\Delta G^\circ_{HI}$  ตีลบน้อยลง (จากรูปที่ 12)



ตารางที่ 5 ค่า degree of esterification ของเพคตินที่ใช้ในการเตรียมเจล

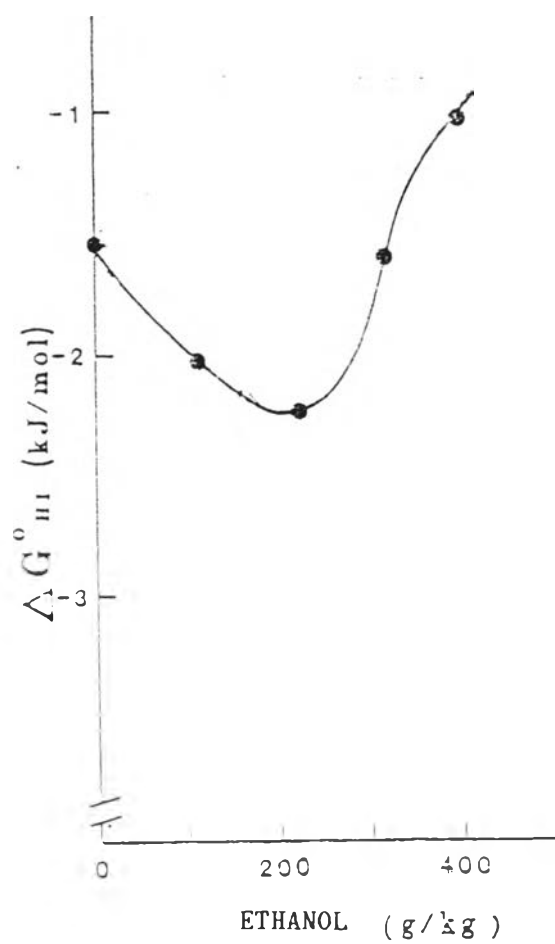
Pectin	DE(%)
A	93.0
B	72.3
C	69.7
D	64.9

ที่มา : Oakenfull และ Scott, 1984



รูปที่ 11 ค่า Rupture Strength (RS) ของเจลที่เตรียมจากเพกติน B (3.3 g/kg) เพกติน C (3.6 g/kg) และเพกติน D (3.4 g/kg) ที่ความเข้มข้นต่างๆของ เอทานอล

ที่มา : Oakenfull และ Scott, 1984



รูปที่ 12 ค่าพลังงานอิสระมาตรฐานของ hydrophobic interaction ( $\Delta G_{HI}$ ) ในสารละลายเอทานอล ที่น้ำเป็นตัวทำละลายวัดที่ 25 °c  
ที่มา: Oakenfull และ Scott, 1984

Oakenfull และ Scott (1984) ได้ทำการทดลองเพื่อหาค่าพลังงานอิสระมาตรฐานค่าสุดในการเตรียมเจล โดยเตรียมเจลจากเพกตินที่มีค่า DE เท่ากับ 69.7 % และน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 550 g/kg พบว่าค่าพลังงานอิสระมาตรฐานค่าสุดที่ทำให้เกิดเจล ( $\Delta G_{HI}^\circ$ ) ประกอบด้วยพลังงานอิสระมาตรฐานจาก HI พลังงานอิสระมาตรฐานจากพันธะไฮโดรเจน และค่าพลังงานเอนโทรปีในการเปลี่ยนรูปร่างของสายเพกติน ดังสมการนี้

$$\Delta G_{HI}^\circ = \begin{array}{l} \text{hydrophobic} \\ \text{contribution} \\ - 18.6 \end{array} + \begin{array}{l} \text{hydrogen} \\ \text{bond} \\ - 37.5 \end{array} + \begin{array}{l} \text{loss of configuration} \\ \text{entropy} \\ + 41.1 \end{array}$$

จากสมการข้างต้นถึงแม้ว่าค่าพลังงานอิสระมาตรฐานของ HI จะเป็นครึ่งหนึ่งของพลังงานจากพันธะไฮโดรเจน แต่หากมีพลังงานจากพันธะไฮโดรเจนอย่างเดียว จะไม่เพียงพอสำหรับยึดสายเพกตินซึ่งมีการเคลื่อนไหวอย่างอิสระตลอดเวลาเพื่อเกิดเป็น junction zone ได้ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเจลเพกตินชนิดเมทอกซีสูงเกิดจากแรงสำคัญ 2 แรง คือ แรงจาก HI และแรงจากพันธะไฮโดรเจน

### ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดเจลและความแข็งแรงของเจลเพกตินชนิดเมทอกซีสูง

1. น้ำตาล น้ำตาลเป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดเจล หน้าที่ของน้ำตาลต่อการเกิดเจลยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มีทฤษฎีเก่าที่กล่าวว่าน้ำตาลจะทำหน้าที่เป็น dehydration agent และเป็นปัจจัยสนับสนุนให้เกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโครงร่างแห (Crandall and Wicker, 1986) โดยน้ำตาลจะดึงชั้นของน้ำที่อยู่ล้อมรอบสายเพกติน ทำให้สายเพกตินเข้ามาใกล้กัน (Oakenfull and Scott, 1984) ต่อมาได้มีผู้ทำการศึกษา พบว่าน้ำตาลทำหน้าที่เป็นปัจจัยสนับสนุนให้เกิด HI ซึ่งส่งผลให้สายเพกตินเข้ามาใกล้กันมากขึ้น นอกจากนี้ชนิดของน้ำตาลยังมีผลต่อ HI ต่างกัน โดย Oakenfull และ Scott (1980) ได้ทดลองหาปริมาณความเข้มข้นค่าสุดของน้ำตาลชนิดต่างๆ ที่ทำให้เกิดเจล พบว่าน้ำตาลแต่ละชนิดมีความเข้มข้นค่าสุดที่ทำให้เกิดเจลต่างกันไปดังตารางที่ 6 ทั้งนี้เนื่องจากน้ำตาลต่างชนิดกันทำให้เกิด HI แตกต่างกัน กล่าวคือ น้ำตาลแต่ละชนิดจะมีตำแหน่งและระยะห่างระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลไม่เหมือนกัน ดังนั้นการเข้า

ไป interact กับน้ำจึงต่างกันส่งผลให้เกิด HI ไม่เท่ากัน และจากตารางที่ 6 จะเห็นได้ว่าความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลที่มีผลต่อการเกิดเจลของน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลซอร์บิทอล มีค่าต่ำสุด ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลซูโครสมีค่าสูงสุด นั้นหมายถึงว่าน้ำตาลซอร์บิทอลและน้ำตาลกลูโคสมีผลทำให้เกิด HI มากที่สุด ส่วนน้ำตาลซูโครสมีผลต่อ HI น้อยที่สุด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างสามมิติของน้ำตาลเมื่อเข้าไป interact กับน้ำซึ่งล้อมรอบหมู่เมทิล หากระยะห่างระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของน้ำและน้ำตาลมีค่าใกล้เคียง  $4.86 \text{ \AA}$  จะสามารถเหนี่ยวนำให้เกิด HI ได้มาก (Back, Oakenfull and Smitt, 1979)

ตารางที่ 6 ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลหรือสารประกอบที่มีหมู่ไฮดรอกซิลหลายหมู่ชนิดต่างๆที่ต้องการในการเกิดเจลเพกตินชนิดเมทอกซีสูง<sup>a</sup>

Sugar of Polyol	Concentration (g/kg)
Sorbitol	390
Glucose	400
Xylitol	400
Ribitol	450
Maltose	450
Fructose	460
Sucrose	470

a เตรียมจากเพกตินเข้มข้น 3.6 g/kg และมีค่า DE ร้อยละ 70

ที่มา : Oakenfull และ Scott, 1984

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Back และคณะ (1979) ซึ่งได้ทำการศึกษาผลของน้ำตาลและสารประกอบที่มีหมู่ไฮดรอกซิลหลายหมู่ต่อความคงตัวของโปรตีน native globular ซึ่งมีแรงจาก HI เป็นแรงสำคัญที่ทำให้โปรตีนนี้เกิดความคงตัว โดยวัดอุณหภูมิ

ที่ทำให้โปรตีนเสียสภาพในสารละลายน้ำตาล และสารประกอบที่มีหมู่ไฮดรอกซิลหลายหมู่ชนิดต่าง ๆ ซึ่งสารประกอบเหล่านี้ทำให้เกิด HI มากน้อยแตกต่างกัน โดยสารประกอบที่ทำให้เกิด HI มากจะมีผลทำให้อุณหภูมิในการเสียสภาพของโปรตีนสูงมากขึ้น โดยน้ำตาลกลูโคสทำให้ อุณหภูมิของการเสียสภาพโปรตีนเพิ่มขึ้นมากที่สุดคือ  $15.5^{\circ}\text{C}$  ส่วน glycerol มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในการเสียสภาพโปรตีนน้อยที่สุด คือ  $1.5^{\circ}\text{C}$  ดังตารางที่ 7

ความแข็งแรงของเจลจะสูงขึ้นหากมีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้น (Doesburg, 1965) แต่การที่มีปริมาณน้ำตาลมากเกินไป จะทำให้เพกตินเกิดการจับกลุ่มกัน (aggregate) ของสาย เพกตินจนกระทั่งแยกออกจากสารละลาย ดังนั้นจึงไม่เกิดเจล (Kertesz, 1951) เนื่องจาก น้ำส่วนใหญ่ที่มีอยู่จะไปละลายน้ำตาลทำให้มีน้ำไม่พอเพียงพอต่อการพองตัว (swelling) และการละลายของเพกตินซึ่งเป็นกลไกแรกที่ทำให้เกิดโครงร่างแหเจล จะทำให้ผงเพกตินส่วนใหญ่ไม่ละลายน้ำ ส่งผลให้ไม่มีสายโซ่ของเพกตินในสารละลายน้ำตาลเพียงพอต่อการเกิดโครงร่างแหเจล ปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมสำหรับการเกิดเจลโดยทั่วไปประมาณร้อยละ 50-80 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ (Pilgrim, Waller and Oakenfull, 1991)

จากผลการทดลองของ Oakenfull และ Scott (1984) รวมทั้ง Back และคณะ (1979) สนับสนุนทฤษฎีที่ว่าน้ำตาลทำหน้าที่หลักคั้นให้เกิด HI ซึ่งความเข้มข้นและชนิดน้ำตาลมีผลต่อ HI ต่างกัน ส่งผลให้เจลมีความแข็งแรงแตกต่างกันออกไป ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาถึงผลของความเข้มข้นและชนิดน้ำตาลที่มีต่อความแข็งแรงของเจล

ตารางที่ 7 อุณหภูมิของการเสีสภาพโปรตีน ที่เพิ่มขึ้น( $\Delta T_m$ )ในสารละลายน้ำตาลชนิดต่างๆ

TYPE OF SUGAR	$\Delta T_m$ ( $^{\circ}C$ )
GLUCOSE	15.5
FRUCTOSE	12.0
MANNOSE	12.5
SUCROSE	11.0
MALTOSE	10.0
GLYCEROL	1.5

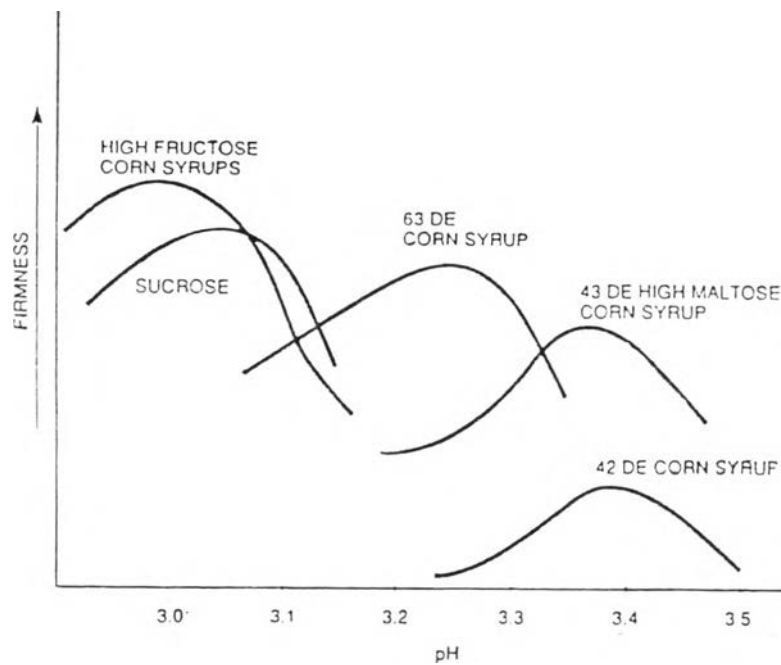
a=โปรตีน native globular

ที่มา: Back, Oakenfull และ Smith (1979)

โดยปกติน้ำตาลที่ใช้เตรียมเจลจากเพกติน คือ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส และ น้ำตาลฟรุกโตส (Oakenfull and Scott, 1984) นอกจากนี้ยังสามารถใช้น้ำตาลชนิดอื่น ๆ ในการเตรียมเจลจากเพกตินได้ เช่น น้ำตาลซอร์บิทอล highest-fructose syrup iso-fructose syrup มอลโตส และน้ำตาลแมนโนส เป็นต้น

2. ไฮโดรเจนอออน การเกิดเจลในเพกตินชนิดเมทอกซีสูงนั้น เมื่อปริมาณไฮโดรเจนอออนเพิ่มขึ้นอออนลบบนสายเพกตินจะลดลง (Kerterz, 1951) ทำให้แรงผลักระหว่างสายน้อยลง (Crandall and Wicker, 1986) ดังนั้นสายเพกตินจะเข้าใกล้กันมากขึ้น (BeMiller, 1986) ส่งผลให้เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างเพกติน น้ำ และน้ำตาล (Crandall and Wicker, 1986) เกิดเป็นโครงสร้างเจลขึ้น (Morris, 1951) แต่หากมีปริมาณไฮโดรเจนอออนมากเกินไปจะยับยั้งการเกิดเจล (Pilgrim, Waller and Oakenfull, 1991) เนื่องจากสายเพกตินจะถูกตัดให้เป็นสายสั้น ๆ (Morris, 1951) หรือมีฉะนั้นสายเพกตินจะเข้ามารวมตัวกันมากจนเกิดการแยกตัวออกจากสารละลาย (Horance, 1977)

ไฮโดรเจนไอออนมีผลต่อความแน่น ( firmness ) ของเจลเพคตินชนิดเมทอกซีสูง ที่เตรียมจากน้ำตาลชนิดต่างๆแตกต่างกัน และในน้ำตาลชนิดเดียวกันเมื่อปริมาณไฮโดรเจนไอออนเปลี่ยนไป ความแน่นของเจลจะต่างกันด้วยดังรูปที่ 13 (Oakenfull,1991) เจลสามารถเกิดได้ที่ pH ต่ำกว่า 3.5 (Oakenfull and Scott, 1984) ถึง pH 2 (Morris,1951)



รูปที่ 13 ผลของระดับไฮโดรเจนไอออนต่อความแน่นของเจลในน้ำตาลชนิดต่าง ๆ  
ที่มา : Oakenfull, 1991



3. เพกติน เพกตินทำหน้าที่เป็น gelling agent ซึ่งทำให้เกิดโครงร่างแหเจล โดยสายเพกตินจะจับกันเป็นบางส่วนด้วยแรงจาก HI และพันธะไฮโดรเจน จนเกิดเป็นโครงร่างแหเจล ซึ่งอุ้มสารละลายไว้ภายใน (Oakenfull, 1991) ความเข้มข้นของเพกตินมีผลต่อการเกิดเจล และความแข็งแรงของเจลจะเปลี่ยนแปลงไปตามปริมาณน้ำตาล ระดับไฮโดรเจนไอออน (Horance, 1977) และองค์ประกอบทางเคมีของเพกติน (Rauch, 1952) สำหรับหมู่เมซิลมีความสำคัญต่อการเกิดเจล โดยทำให้มีการจับกันระหว่างสายเพกตินจนเกิดเป็นโครงร่างแหเจลมากกว่าจะเป็นการลดประจุลบบนสายเพกตินเท่านั้น อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบรายละเอียดที่เกี่ยวกับการชักนำให้เกิดการจับกันระหว่างสายเพกตินอย่างแน่ชัด และหากเพกตินมีหมู่เมซิลมากขึ้น ความหนืดจะเพิ่มมากขึ้นด้วย อาจเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของโครงสร้างที่น้ำจะเข้าไปล้อมรอบหมู่เมซิล ซึ่งเป็นผลทำให้เกิดเจลเร็วขึ้น แต่ทั้งนี้จะต้องเพิ่มปริมาณน้ำตาลมากขึ้นด้วย ซึ่งอาจเนื่องมาจากการที่น้ำที่ล้อมรอบหมู่เมซิลซึ่งน้ำตาลจะต้องเข้าไป interact เพื่อผลักดันให้เกิด HI มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น (Walkinshaw and Arnott, 1979)

#### การวัดความแข็งแรงของเจล

ค่าความแข็งแรงของเจลเป็นสมบัติทางฟิสิกส์ ที่เป็นดัชนีบ่งชี้ลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลซึ่งสามารถวัดได้ ทั้งสิ้นกับเครื่องมือที่ใช้วัดความแข็งแรงของเจล ซึ่งโดยทั่วไปสามารถวัดได้ดังนี้ (The Copanhegan Pectin Factory Ltd., 1980)

1. Redgelimeter วัดความแข็งแรงของเจลมีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ sag โดยวัดระยะทางที่ micrometer screw เคลื่อนในเนื้อเจลภายในระยะเวลาที่กำหนด เป็นระยะเวลา 2 นาทีขึ้นไป ค่าที่ได้จะมีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ sag
2. Bloom Gelometer เป็นเครื่องมือที่วัดความแข็งแรงของเจล มีหน่วยเป็น bloom เกรด โดยวัดน้ำหนักที่ทำให้หัวกดเคลื่อนที่ในเนื้อเจลเป็นระยะทาง 4 มม.
3. Boucher Electronic Jelly Tester ดัดแปลงจากเครื่อง Bloom Gelometer ใช้ระบบอิเล็กทรอนิกส์ควบคุมการทำงานของเครื่อง
4. Penetrometer เป็นเครื่องวัดระยะทางที่หัวกดรูปกรวยเคลื่อนที่ในเนื้อเจลภายในเวลาที่กำหนด

5. Stevens LFRA Texture Analyzer เครื่องมือชนิดนี้จะแสดงค่า load/deformation curve ขณะที่หัวกดกดลงเนื้อเจลในอัตราความเร็วที่ที่กำหนด

6. Instron Universal Testing Machine วัดค่า load/deformation curve ขณะที่หัวกดกดลงเนื้อเจลในอัตราความเร็วที่กำหนด เป็นเครื่องมือที่ให้ค่าค่อนข้างแม่นยำ จึงเหมาะสำหรับงานวิจัย (The Copenhagen Pectin Factory Ltd., 1980)

ค่า modulus เป็นสมบัติหนึ่งที่นิยมใช้ในการวัดความแข็งแรงของเจล (Crandall and Wicker, 1986) ซึ่งเป็นค่าที่บอกความยืดหยุ่นของเจล โดยวัดแรงที่ต้านการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของวัสดุอันเนื่องมาจากการใส่แรงกระทำภายนอกให้วัสดุ ซึ่งสามารถเขียนได้ในรูป stress และ strain ดังนี้ (Rao, 1990)

$$\begin{aligned} \text{modulus} &= \text{stress} / \text{strain} \\ &= \frac{F/A}{\Delta l/L} \end{aligned}$$

F = แรงกระทำ

A = พื้นที่หน้าตัด

L = ความยาวเริ่มต้นของวัสดุ

$\Delta l$  = ความยาวของวัสดุที่เปลี่ยนแปลง

มีเครื่องมือหลายชนิดที่นำหลักการของ Modulus มาประยุกต์ใช้ เช่น Instron Universal Testing Machine, Penetrometer ซึ่งเป็นเครื่องมือที่วัดค่า firmness ในผักผลไม้ โดยวัดแรงที่หัวกดกระทำต่อตัวอย่างอาหารให้เปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นระยะทางคงที่ระยะหนึ่ง (Rao, 1990) เนื่องจากมีข้อจำกัดทางเครื่องมือดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสร้างเครื่องวัดความแข็งแรงของเจลโดยวัดค่า modulus และค่า firmness ซึ่งมีหลักการคล้ายเครื่อง Penetrometer โดยจะกล่าวต่อไปในหัวข้ออุปกรณ์การทดลอง

## Response-surface methodology

1. Response-surface methodology (RSM) คือ การวางแผนและวิเคราะห์ผลการทดลอง หาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษากับค่าตอบสนองที่สนใจ เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการผลิต โดยใช้ multiple regression analysis เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรและค่าตอบสนองในรูปของสมการทางคณิตศาสตร์ ซึ่งอาจเป็นสมการกำลังหนึ่ง (first order model) หรือสมการกำลังสอง (second order model) และจากสมการที่สร้างขึ้นนี้ สามารถนำมาสร้างภาพกราฟ 3 มิติ ที่เรียกว่า response surface plot ซึ่งแสดงระดับของตัวแปรในแนวระนาบและแสดงค่าตอบสนองในแนวแกนตั้ง หรือสร้างกราฟ 2 มิติ ที่เรียกว่า contour plot ซึ่งแสดงค่าตอบสนองในรูปเส้นกราฟหลายเส้น กราฟทั้งสองประเภทนี้มีประโยชน์ในการอธิบาย

- 1) ผลของตัวแปรที่ศึกษาต่อค่าตอบสนอง
- 2) ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษา
- 3) ผลรวมของตัวแปรที่ศึกษาต่อค่าตอบสนอง

นอกจากนี้ ในกรณีมีค่าตอบสนองที่ต้องการศึกษามากกว่า 1 ค่า อาจใช้เทคนิคการซ้อนภาพกราฟ contour plot ช่วยในการพิจารณาเลือกภาวะการผลิตที่เหมาะสมได้ (Henika, 1982; Mason, Gunst, and Hess, 1989)

## 2. ขั้นตอนการวางแผนการทดลองโดย RSM

2.1 กำหนดตัวแปรอิสระ (independent variable) ช่วงของตัวแปรอิสระ และผลตอบสนอง (response)

ตัวแปรอิสระที่ถูกกำหนดขึ้นควรจะมีควมสำคัญอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์หรือต่อกระบวนการผลิต ตัวแปรอิสระอาจเป็นส่วนผสม เช่น ปริมาณเกลือ ปริมาณน้ำตาล หรือภาวะที่ใช้ในการผลิต เช่น ระดับอุณหภูมิ เวลา เป็นต้น โดยต้องกำหนดช่วงของตัวแปรให้เหมาะสม หากช่วงของตัวแปรกว้างเกินไปอาจทำให้ไม่สามารถหาภาวะที่เหมาะสมได้อย่างชัดเจน จะต้องวางแผนการทดลองใหม่โดยกำหนดช่วงของตัวแปรให้แคบลง นอกจากนี้จะต้องกำหนดค่าตอบสนองที่ต้องการวัด ซึ่งมีความสัมพันธ์กับตัวแปรต่าง ๆ ที่ศึกษา เช่น ในการ

ผลิตแรมให้มีความเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยกำหนดตัวแปรอิสระ คือ ปริมาณเกลือ และ ปริมาณน้ำตาล ซึ่งเป็นส่วนผสมในการผลิตแรม ค่าตอบสนองที่ต้องการวัด คือ คะแนนความชอบในผลิตภัณฑ์แรม โดยมีวัตถุประสงค์ในการเลือกภาวะของตัวแปร คือ ปริมาณเกลือและ ปริมาณน้ำตาลที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีคะแนนความชอบรวมสูงที่สุด (Henika, 1982; Mason, Gunst, and Hess, 1989)

## 2.2 กำหนดแบบแผนการทดลองที่เหมาะสม

แบบแผนการทดลองที่เหมาะสมสำหรับวิธี RSM มีหลายแบบด้วยกัน โดยทั่วไปจะใช้ fractional factorial design แต่ในการใช้การทดลองแบบนี้มีข้อจำกัดคือ ถ้าเป็นการทดลองแบบ two-level factorial ผลการทดลองนี้จะนำมาสร้างได้เฉพาะสมการกำลังหนึ่งเท่านั้น โดยไม่มีเทอมที่เป็นผลร่วมระหว่างตัวแปรใด ๆ ดังนั้นการทดลองที่เหมาะสมกับ RSM ได้แก่ Box-Behnken design, central composite design และ rotatable design (Gacula and Singh, 1984) เป็นต้น ซึ่งเป็นแบบการทดลองที่ใช้ทำนายผลการทดลองได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีจำนวนทดลองไม่มากเกินไป เช่น การศึกษา 3 ตัวแปร แต่ละตัวแปร มี 3 ระดับ จะมีจำนวนทดลองทั้งหมด 15 การทดลองสำหรับ Box-Behnken design และ 17 การทดลองสำหรับ central composite design การเลือกแบบการทดลองแบบใดแบบหนึ่งให้เหมาะสมจะเป็นการลดเวลาและประหยัดค่าใช้จ่ายในการดำเนินการทดลองด้วย (Henika, 1982; Mason, Gunst and Hess, 1989)

## 2.3 วิเคราะห์ข้อมูลโดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

นำข้อมูลของค่าตอบสนองที่ได้จากการทดลอง ด้วยแบบแผนการทดลองที่เหมาะสมมาหาความสัมพันธ์กับตัวแปรอิสระที่ศึกษา โดยวิธี multiple regression ในรูปของสมการกำลังสอง รูปแบบของสมการที่นิยมใช้ส่วนใหญ่ คือ สมการพหุนามเมื่อยกกำลังสองซึ่งมีรูปแบบโดยทั่วไป ดังนี้

$$Y = B_0 + \sum B_1 X_1 + \sum B_{1,1+1} X_1 X_{1+1} + \sum B_{1,1} X_1^2$$

เมื่อ Y	คือ ค่าตอบสนองที่เกิดจากการแปรค่าตัวแปร $X_1$
$B_0$	คือ ค่าคงที่
$\sum B_1 X_1$	คือ เทอมที่แสดงถึงอิทธิพลของตัวแปรอิสระ $X_1$

$\Sigma B_{i_1, i_2} X_{i_1} X_{i_2}$  คือ เทอมที่แสดงถึงอิทธิพลร่วมของตัวแปรอิสระ  
 2 ตัวแปร  $X_{i_1}, X_{i_2}$   
 $\Sigma B_{i_1} X_{i_1}^2$  คือ เทอมที่แสดงถึงอิทธิพลของกำลังสองของตัว  
 แปรอิสระ

เนื่องจาก สามารถอธิบายผลของตัวแปรอิสระที่มีต่อค่าตอบสนอง (linear effect) ผลของความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระที่มีต่อค่าตอบสนอง (interaction effect) และผลร่วมของตัวแปรอิสระที่มีต่อค่าตอบสนองได้ จากสมการดังกล่าว เมื่อได้ตัวแปรที่มีผลต่อค่าตอบสนองอย่างมีนัยสำคัญแล้ว จะสามารถสร้างกราฟ contour plot โดยอาศัยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปได้ กราฟ contour plot จะมีลักษณะเป็นอนุกรมของเส้นตรงหรือเส้นโค้ง ซึ่งแสดงภาวะตัวแปรที่ให้ค่าตอบสนองคงที่ มีหลายรูปแบบขึ้นกับความสัมพันธ์ระหว่างค่าตัวแปรอิสระกับค่าตอบสนอง ดังนั้น จาก contour plot ที่ได้ ทำให้สามารถเลือกภาวะของตัวแปรที่ให้ค่าตอบสนองที่เหมาะสม (optimum point) หรือตามที่ต้องการได้ โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลองนี้ คือ STATGRAPHICS Version 5.0 ของ Graphic Software Systems, Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา