

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบและสารเคมี

วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัยมีดังนี้

- ปลายข้าวหอมมะลิ ตรา Phoenix ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท

BANGSUE CHIA MENG

สารเคมีที่ใช้ประกอบด้วย

- Na_2CO_3 (anhydrous) A.R. grade
- $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\text{NaK}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Rochelle salt) A.R. grade
- NaHCO_3 A.R. grade
- Na_2SO_4 (anhydrous) A.R. grade
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ A.R. grade
- H_2SO_4 A.R. grade
- $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Ammonium molybdate) A.R. grade
- $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ A.R. grade
- NaOH 0.1 N A.R. grade
- HCl 0.1 N A.R. grade
- CaCl_2 A.R. grade
- Termamyl 120L (Thermostable α -amylase) A.R. grade
- $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Glucose) A.R. grade
- Starch A.R. grade
- CH_3COONa A.R. grade
- CH_3COOH A.R. grade
- KI A.R. grade
- $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}$ (Anthrone) A.R. grade

อุปกรณ์

อุปกรณ์ที่ใช้ประกอบด้วย

- เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดหยาบ Sartorius Model 1907 MPS
- เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด Sartorius Model A200S
- เครื่องปั้น Heraeus Christ Type 4500
- เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ Heto Type CB60-VS-01
- เครื่องระเหยความชื้นชนิดสูญญากาศ EYELA Model NE-1S
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง Shimadzu UV-240
- เครื่องอบแห้ง Memmert Type U30
- เครื่องวัดความหนืด Brookfield viscometer Model RVT
- เครื่องวัดความหนืด Haake Model RV20 Rotovisco
- เครื่องร่อน Retsch Type VIBRO
- เครื่องบด (Pin mill) Model FFC-23 ผลิตโดย บริษัท Agriculture Machinery Works
- เครื่องบด Moulinex
- เครื่องหาพลังงาน IKA-Calorimeter system Model c-400A adiabatic

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

1. การเตรียมแป้งข้าวเจ้า

- 1.1 นำปลายข้าวห้กมาบดด้วยเครื่องบด (Pin mill) ทำซ้ำ 3 ครั้ง
- 1.2 นำปลายข้าวที่ผ่านการบดแล้วมาคัดเศษสิ่งปลอมปนออก
- 1.3 นำปลายข้าวห้กที่บดแล้วในข้อ 1.2 มาบดซ้ำด้วยเครื่องบด

(Moulinex)

- 1.4 นำปลายข้าวห้กที่บดละเอียดแล้วมาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 200 mesh
- 1.5 นำแป้งข้าวเจ้าส่วนที่ผ่านตะแกรงขนาด 200 mesh มาใช้ในการทดลอง แป้งที่ตกค้างบนตะแกรงนำมาบดซ้ำใหม่ด้วยเครื่อง Moulinex จนแป้งข้าวเจ้าทั้งหมดสามารถร่อนผ่านตะแกรงขนาด 200 mesh

2. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวเจ้า

- 2.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (แสดงดังภาคผนวก ก)
- 2.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (แสดงดังภาคผนวก ก)
- 2.3 วิเคราะห์ปริมาณไขมัน (แสดงดังภาคผนวก ก)
- 2.4 วิเคราะห์ปริมาณเส้นใย (แสดงดังภาคผนวก ก)
- 2.5 วิเคราะห์ปริมาณเถ้า (แสดงดังภาคผนวก ก)
- 2.6 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (แสดงดังภาคผนวก ก)

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตมอลโทเดกซ์ทริน

การผลิตมอลโทเดกซ์ทรินชนิดเหลวของแป้งข้าวเจ้าซึ่งทำจากเมล็ดข้าวห้กให้มีค่า DE 10-20 โดยวิธีการเติมเอนไซม์แอลฟา-อะมิเลสที่ทนความร้อนสูงเพียงครั้งเดียว มีลำดับขั้นตอนในการผลิตซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Brooks และ Griffin (1987a) แสดงดังรูปที่ 4 โดยกำหนดให้

- ความเข้มข้นของสารละลายแป้งเริ่มต้นเป็นร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก
- ระดับความเป็นกรด-ด่างในสภาวะการผลิตเท่ากับ 6.5

นำแป้งข้าวเจ้ามาละลายใน deionized water (ซึ่งมี CaCl_2 200 ppm.)

ให้ความเข้มข้นของแป้งเริ่มต้นเท่ากับ 30 % โดยน้ำหนัก

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เท่ากับ 6.5 ด้วยสารละลาย NaOH 0.1N

เติมเอนไซม์แอลฟา-อะมิเลสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาตามที่กำหนด โดยมีการกวนตลอดเวลา

ทำให้เย็นอย่างรวดเร็วในอ่างน้ำผสมน้ำแข็ง

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 3.7-4.0 ด้วยสารละลาย HCl 0.1N

นำไปทำให้ร้อนในอ่างน้ำเดือดอุณหภูมิ 100 °C. เป็นเวลา 20 นาที

ทำให้เย็นอย่างรวดเร็วในอ่างน้ำผสมน้ำแข็ง

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้ได้ 6.5 ด้วยสารละลาย NaOH 0.1N

นำไปปั่นที่ 10,000 rpm เป็นเวลา 60 นาที

ส่วนใส

ตะกอน

(มอลโทเดกซ์ทริน)

ปรับปริมาตรส่วนใส

แป้งข้าวเจ้าโปรตีนสูง

วิเคราะห์

รูปที่ 4 กระบวนการผลิตมอลโทเดกซ์ทรินชนิดเหลวด้วยวิธีการเติมเอนไซม์เพียงครั้งเดียว

ปัจจัยที่ต้องการศึกษามีดังนี้

1. ความเข้มข้นของเอนไซม์ มี 3 ระดับ อยู่ในช่วงร้อยละ 0.01-1.0 ปริมาตรต่อน้ำหนักของสารละลายแป้ง
2. อุณหภูมิที่ใช้ในการผลิต มี 3 ระดับ อยู่ในช่วง 80-100 °ซ.
3. เวลาที่ใช้ในการผลิต มี 3 ระดับ อยู่ในช่วง 45-105 นาที
4. การวิเคราะห์และประเมินสมบัติทางเคมีของมอลโทเดกซ์ทริน
 - 4.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพื่อทำกราฟมาตรฐาน
 - 4.1.1 การหาค่าความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ค่า DE (แสดงดังภาคผนวก ข.)
 - 4.1.2 การเตรียมสารละลายน้ำตาลมาตรฐานในการคำนวณค่า DE (แสดงดังภาคผนวก ข.)
 - 4.1.3 การหาความยาวคลื่นที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (แสดงดังภาคผนวก ข.)
 - 4.1.4 การเตรียมสารละลายน้ำตาลมาตรฐานในการคำนวณหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (แสดงดังภาคผนวก ข.)
 - 4.2 การหาค่า DE ของมอลโทเดกซ์ทรินโดยวิธี Somogyi method (แสดงดังภาคผนวก ข.)
 - 4.3 การหาค่า Residual enzyme activity ตามวิธีของ Novo, # AF9/5-๘B (NovoIndustries, Inc., Wilton, CT.) (แสดงดังภาคผนวก ข.)
 - 4.4 การหาปริมาณแป้งที่ละลายทั้งหมดในผลิตภัณฑ์มอลโทเดกซ์ทรินโดยวิธี Anthrone-H₂SO₄ (แสดงดังภาคผนวก ข.)

5. การวิเคราะห์และประเมินผลสมบัติทางฟิสิกส์ของมอลโทเดกซ์ทริน

5.1 การหาค่าความหนืดโดยใช้ Brookfield viscometer

(แสดงตั้งภาคผนวก ค.)

5.2 การหาค่าความหนืดด้วยเครื่อง Haake (แสดงตั้งภาคผนวก ค.)

5.3 การหาค่า flow-behavior index (แสดงตั้งภาคผนวก ค.)

5.4 การหาค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด โดยวิธี Air oven

(แสดงตั้งภาคผนวก ค.)

5.5 การหาค่าพลังงานด้วยเครื่อง Bomb calorimeter (แสดงตั้ง

ภาคผนวก ค)

6. การวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่จะให้ผลการตอบสนองที่ต้องการด้วยวิธี Response surface methodology (RSM)

ซึ่งการทดลองนี้จะใช้โปรแกรมสำเร็จรูป STATGRAPHICS Version 5 (Statistical Graphics Corporation Portions Copyright 1991 STSC, Inc.) ในการวิเคราะห์ โดยกระบวนการของวิธี RSM มีดังนี้

6.1 กำหนดตัวแปรอิสระ ช่วงของตัวแปรและผลการตอบสนอง

ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตมอลโทเดกซ์ทรินชนิดเหลวจากแป้งข้าวเจ้า ซึ่งตัวแปรอิสระที่รายงานว่ามีอิทธิพลต่อการผลิต (Chen and Chang, 1984) โดยในงานวิจัยต้องการศึกษามีดังนี้

ความเข้มข้นของเอนไซม์ มี 3 ระดับ อยู่ในช่วงร้อยละ 0.01-1.0 ปริมาตรต่อน้ำหนักของสารละลายแป้ง

อุณหภูมิที่ใช้ในการผลิต มี 3 ระดับ อยู่ในช่วง 80-100 °ซ.

เวลาที่ใช้ในการผลิต มี 3 ระดับ อยู่ในช่วง 45-105 นาที

ค่าการตอบสนอง คือ Dextrose equivalent

6.2 การออกแบบการทดลองที่เหมาะสม

การออกแบบการทดลองเพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมโดย RSM นั้น จะต้องมึลักษณะเป็น rotatable design โดยเดิม Central composite design เป็นการทดลองที่ใช้กันมากกับการ fitting second-order model สำหรับ RSM แต่ต่อมา Box and Behnken (Henika, 1982) ได้เสนอการออกแบบการทดลองที่ง่ายขึ้นในการกำหนดช่วงของตัวแปรเป็น three level design ซึ่งมีลักษณะของ rotatability และใช้ได้กับ RSM ที่ใช้ในการวิจัยนี้ดังนี้

ตัวแปร	สัญลักษณ์ของตัวแปร	-1	0	1
ความเข้มข้นเอนไซม์ (ร้อยละ)	X_1	0.02	0.05	0.08
อุณหภูมิในการผลิต (°ซ.)	X_2	80	85	90
เวลาในการผลิต (นาที)	X_3	75	90	105
การทดลองที่		X_1	X_2	X_3
1		-1	-1	0
2		-1	+1	0
3		+1	-1	0
4		+1	+1	0
5		-1	0	-1
6		-1	0	+1
7		+1	0	-1
8		+1	0	+1
9		0	-1	-1
10		0	-1	+1
11		0	+1	-1
12		0	+1	+1
13		0	0	0
14		0	0	0
15		0	0	0

6.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลสามารถทำได้โดยนำค่าความสัมพันธ์เชิงปริมาณของตัวแปรที่ศึกษามาวิเคราะห์ด้วย multiple regression ในรูปสมการกำลังสอง แล้วสร้างเป็นสมการคณิตศาสตร์ Taylor second-order equation คือ

$$Y = B_0 + \begin{matrix} \text{Center point} \\ B_1 X_1 + B_2 X_2 + B_3 X_3 + \\ \text{Linear effect} \\ B_{11} X_1^2 + B_{22} X_2^2 + B_{33} X_3^2 + \\ \text{2nd order effect} \\ B_{12} X_1 X_2 + B_{13} X_1 X_3 + B_{23} X_2 X_3 \end{matrix} \begin{matrix} \\ \\ \\ \text{Interaction} \end{matrix}$$

เมื่อ Y คือ ค่าการตอบสนองหรือสมบัติบางประการที่เกิดจากตัวแปร

X_1 , X_2 และ X_3

นำค่าความสัมพันธ์ในรูปสมการคณิตศาสตร์ที่ได้มาสร้างกราฟ surface plot หรือ contour plot โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป STATGRAPHIC

7. การผลิตน้ำสลัดชนิดข้นจากผลิตภัณฑ์มอลโทเดกซ์ทรินที่ได้

7.1 เตรียมสูตรน้ำสลัด ตามวิธีซึ่งแสดงดังภาคผนวก จ.

7.2 คัดเลือกผลิตภัณฑ์มอลโทเดกซ์ทรินที่มีค่า DE ต่างๆ เพื่อนำมาใช้ทดแทนน้ำมันในการผลิตน้ำสลัดชนิดข้น

7.3 ผลิตน้ำสลัดตามกระบวนการข้อ 7.1 แต่ละปริมาณน้ำมันพืชลงร้อยละ 50 โดยทดแทนด้วยมอลโทเดกซ์ทรินที่ผ่านการทำให้เข้มข้นจนมีค่าความหนืดใกล้เคียงกับน้ำมัน

7.4 นำผลิตภัณฑ์น้ำสลัดที่ผลิตได้ทั้งหมดมาทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Scoring test โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 15 คน ซึ่งแบบทดสอบแสดงดังภาคผนวก ฉ.

7.5 นำผลิตภัณฑ์น้ำสลัดที่ผลิตได้มาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างค่า shear rate ค่าความหนืด แล้วคำนวณค่า flow-behavior index (n) และค่า consistency index (K) ซึ่งแสดงดังข้อ 5.2 และ 5.3 ตามลำดับ