



บทที่ 3

### การทดลอง

#### 3.1 คัดเลือกแป้งมันสำปะหลังสำหรับใช้ศึกษาการตัดแปร

##### 3.1.1 ตรวจสอบความสมบูรณ์ของเม็ดแป้ง

หยดน้ำแป้งมันสำปะหลังจากแหล่งต่างๆที่มีความเข้มข้น ร้อยละ 2 (โดยน้ำหนัก) ลงบนแผ่นสไลด์และปิดด้วย cover glass ส่องดูด้วยเครื่อง Differential Interference Contrast (Nikon รุ่น UFX-II ประเทศญี่ปุ่น) กำลังขยาย 400 เท่า บันทึกภาพของเม็ดแป้งด้วยกล้องถ่ายภาพซึ่งติดอยู่กับเครื่อง ตรวจสอบปริมาณเม็ดแป้งที่ไม่มีรอยแตกปรากฏบนผิวจากภาพถ่าย คัดเลือกแป้งมันสำปะหลังซึ่งมีปริมาณเม็ดแป้งที่ไม่มีรอยแตกปรากฏบนผิวมากที่สุดเพื่อนำไปศึกษาในขั้นต่อไป โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design) จำนวน 10 ซ้ำ (58)

##### 3.1.2 ศึกษาสมบัติของแป้งมันสำปะหลังก่อนตัดแปร

นำแป้งมันสำปะหลังที่คัดเลือกไว้ในข้อ 3.1.1 มาตรวจสอบสมบัติดังต่อไปนี้

- ก. ปริมาณเฟอสฟอรัส ตามวิธีวิเคราะห์ของ JECFA (27)
- ข. กำลังการพองตัว (swelling power) ด้วยวิธีซึ่งดัดแปลงจากของ Leach และคณะ (60) โดยตรวจสอบความสามารถในการดูดน้ำของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง ที่ความเข้มข้น ร้อยละ 1 (โดยน้ำหนัก) ที่อุณหภูมิ 65°, 75°, 85° และ 95°C เป็นเวลา 30 นาที ตัวอย่างจะต้องถูกกวนผสมเบาๆตลอดเวลาเพื่อให้เกิดการกระจายอย่างสม่ำเสมอ หลังจากนั้นแยกเม็ดแป้งที่พองตัวโดยเหวี่ยงแยก (centrifuge) ด้วยความเร็วประมาณ 2,200

รอบต่อนาที นาน 15 นาที บันทึกน้ำหนักของตะกอนเปียกก่อนที่จะนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทั้งให้เย็นใน dessicator บันทึกน้ำหนักหลังการอบแห้ง กำลังการพองตัวของแป้งสามารถคำนวณได้ดังสมการที่ 3.1

$$\text{กำลังการพองตัว} = \frac{\text{น้ำหนักตะกอนเปียกของแป้ง}}{\text{น้ำหนักของแป้งหลังอบแห้ง}} \quad (3.1)$$

ค. อุณหภูมิสุกและการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งที่อุณหภูมิต่างๆ ใน heating-cooling cycle ด้วยวิธีซึ่งดัดแปลงจากของ Smith (61) โดยตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งที่ความเข้มข้น ร้อยละ 6 (โดยน้ำหนัก) จำนวน 500 กรัม pH 6.5 ด้วยเครื่อง Brabender Visco-Amylograph (Viskograph PT 100 รุ่น 8004 40 8012 40, 700 cmg cartridge ของบริษัท c Brabender<sup>®</sup> OHG Duisburg 1984 ประเทศเยอรมัน) ซึ่งตั้งโปรแกรมการทำงาน ดังนี้ ในช่วง heating ให้ความร้อนแก่น้ำแป้ง จนอุณหภูมิเพิ่มเป็น 50 °C จะเริ่มควบคุมอัตราการเพิ่มของอุณหภูมิให้เท่ากับ 1.5 °C ต่อนาที จนกระทั่งอุณหภูมิตั้ง 95 °C รักษาอุณหภูมินี้เป็นเวลา 30 นาที แล้วเข้าสู่ในช่วง cooling ซึ่งก็จะควบคุมอัตราการลดของอุณหภูมิให้เท่ากับ 1.5 °C ต่อนาที จนอุณหภูมิเท่ากับ 50 °C รักษาอุณหภูมินี้เป็นเวลา 30 นาที โดยตัวอย่างจะถูกกวนผสมตลอดเวลาด้วยความเร็ว 75 รอบต่อนาที บันทึกอุณหภูมิที่ความหนืดของแป้งเริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงหรือมีอัตราการเพิ่มของความหนืดสูง ในช่วง heating ซึ่งถือว่าเป็นอุณหภูมิสุก (pasting temperature) ของแป้ง และความหนืดของแป้งที่อุณหภูมิหรือเวลาต่างๆ โดยหน่วยของความหนืดที่วัดได้จะเรียกว่า Brabender unit ย่อว่า บี.ยู. (B.U.)



### 3.2 ศึกษาการตัดแปรแป้ง

#### 3.2.1 ตัดแปรแป้งมันสำปะหลังด้วยปฏิกิริยาแทนที่โดยใช้โพรพิลีนออกไซด์

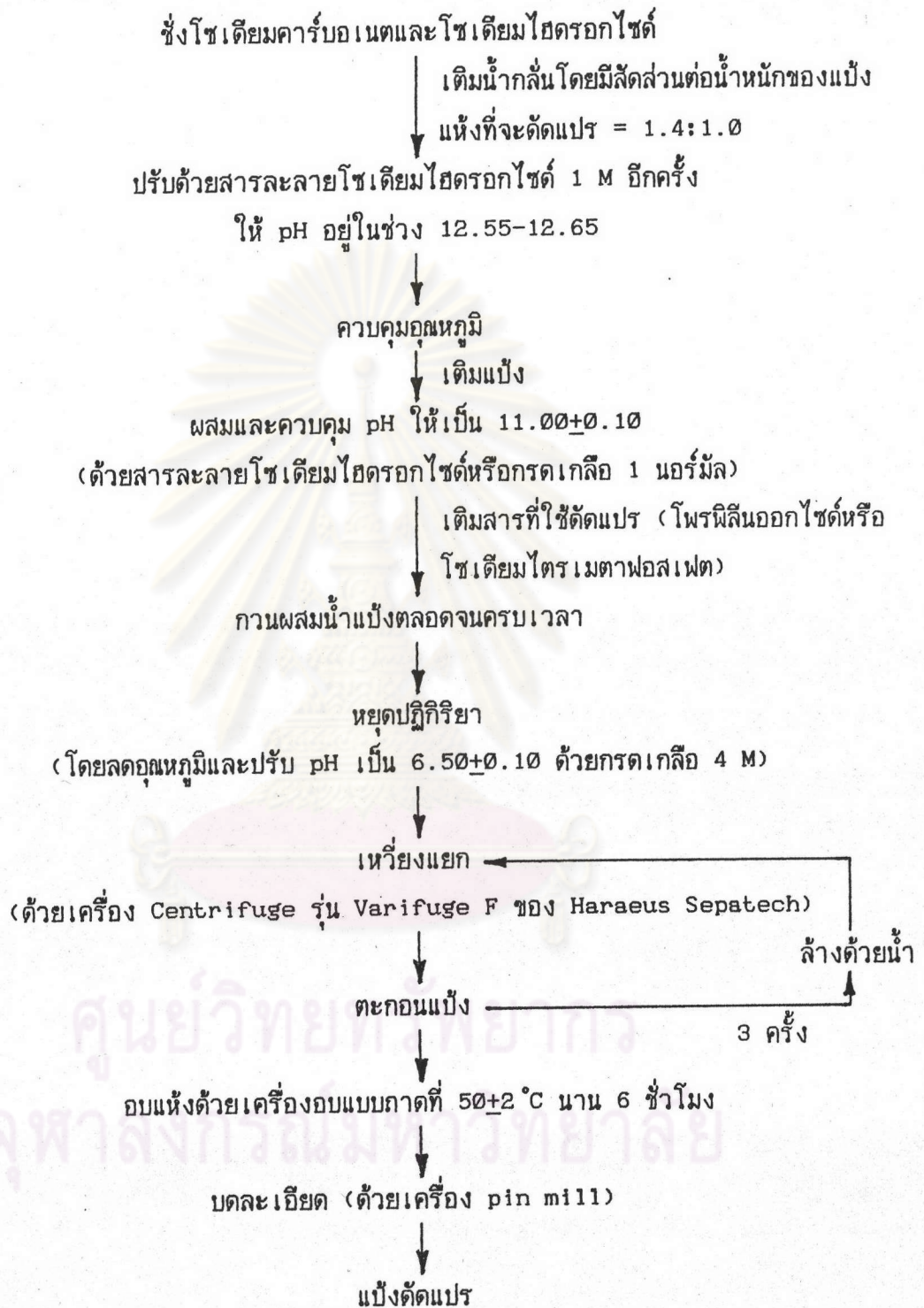
นำแป้งมันสำปะหลังที่คัดเลือกไว้ในข้อ 3.1.1 มาตัดแปรด้วยปฏิกิริยาแทนที่โดยใช้โพรพิลีนออกไซด์ ( $C_3H_6O$ , purity 98.5% A.R. grade ของ E. Merck) ตามขั้นตอนซึ่งตัดแปลงจากวิธีการตัดแปรแป้งมันฝรั่งด้วยโซเดียมไตรเมตาฟอสเฟตของวารนุช (62) (รูปที่ 3.1) โดยมีความเข้มข้น ร้อยละ 40 (โดยน้ำหนักแป้งแห้ง) pH  $11.00 \pm 0.10$

##### 3.2.1.1 ศึกษาผลของปริมาณโซเดียมคาร์บอเนตและอุณหภูมิต่อการเกิดปฏิกิริยาแทนที่

ทำการตัดแปรแป้งมันสำปะหลังด้วยโพรพิลีนออกไซด์ ร้อยละ 10 (โดยน้ำหนักแป้งแห้ง) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยแปรอุณหภูมิที่ใช้เป็น  $40^{\circ}C$  และ  $50^{\circ}C$  และแปรปริมาณโซเดียมคาร์บอเนต (A.R. grade) เป็น ร้อยละ 0.25 และ 2.70 (โดยน้ำหนักแป้งแห้ง) ตรวจสอบปริมาณหมู่ไฮดรอกซีโพรพิลในตัวอย่างแป้งตัดแปรที่ได้ตามวิธีของ JECFA (27) โดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (factorial experiment) จำนวน 2 ชั้น (58) คัดเลือกอุณหภูมิและปริมาณโซเดียมคาร์บอเนตที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาแทนที่เพื่อใช้ปรับภาวะของระบบสำหรับการศึกษาในขั้นต่อไป

##### 3.2.1.2 ศึกษาผลของปริมาณโพรพิลีนออกไซด์และเวลาต่อการเกิดปฏิกิริยาแทนที่

ทำการตัดแปรแป้งมันสำปะหลังในภาวะที่มีอุณหภูมิและปริมาณโซเดียมคาร์บอเนต (A.R. grade) ตามที่คัดเลือกไว้ในข้อ 3.2.1.1 โดยแปรปริมาณโพรพิลีนออกไซด์เป็นร้อยละ 5, 7.5 และ 10 (โดยน้ำหนักแป้งแห้ง) และแปรเวลาในการเกิด



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการตัดแปรแป้งด้วยปฏิกิริยาแทนที่โดยใช้โพรนิลีนออกไซด์หรือปฏิกิริยาเชื่อมขวางโดยใช้โซเดียมไตรเมตาฟอสเฟต



ปฏิบัติการเป็น 6, 12 และ 24 ชั่วโมง โดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล จำนวน 2 ชั่วโมง ตรวจสอบสมบัติของตัวอย่างแบ่งไฮดรอกซีโพรพิลที่ได้ดังต่อไปนี้

ก. ความชื้น

ข. ความเป็นกรด-ด่าง

ค. ระดับการตัดแปร โดยการวิเคราะห์ปริมาณหมู่ไฮดรอกซีโพรพิลในตัวอย่างแบ่งตัดแปรตามวิธีของ JECFA (27) และคำนวณระดับการแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซีโพรพิลได้ดังสมการที่ 3.2 (19)

$$\text{ระดับการแทนที่} = \frac{162 \times \text{ปริมาณหมู่ไฮดรอกซีโพรพิล (\%)}}{5800 - [57 \times \text{ปริมาณหมู่ไฮดรอกซีโพรพิล (\%)}]}$$
 (3.2)

ง. อุณหภูมิสูงและการเปลี่ยนแปลงความหนืดของตัวอย่างแบ่งที่อุณหภูมิต่างๆใน heating-cooling cycle

จ. กำลังการพองตัวที่อุณหภูมิ 65°, 75°, 85° และ 95°C

ฉ. การคืนตัวในระหว่างการเก็บ ด้วยวิธีซึ่งตัดแปลงจากของ

Freeman และ Verr (63) โดยตรวจสอบความหนืดของแบ่งเปียกที่ความเข้มข้น ร้อยละ 6 (โดยน้ำหนัก) หลังการทำให้สุกด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 95±3°C นาน 15 นาที ด้วยเครื่อง Brookfield viscometer (Brookfield Engineering Laboratories รุ่น DV-1 ประเทศสหรัฐอเมริกา) ซึ่งวัดที่อุณหภูมิ 25±2°C เปรียบเทียบกับความหนืดของแบ่งเปียกหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°-7°C เป็นระยะเวลาต่างๆดังนี้ 1, 4, 7, 14, 21 และ 28 วัน วัดที่อุณหภูมิ 25±2°C เช่นกัน

คัดเลือกแบ่งไฮดรอกซีโพรพิลที่มีระดับการแทนที่ต่างกัน 2 ระดับ เพื่อใช้ศึกษาการตัดแปรโดยปฏิบัติการเชื่อมขวางด้วยโซเดียมไตรเมตาฟอสเฟตในขั้นต่อไป

### 3.2.2 ดัดแปรแป้งไฮดรอกซีโพรพิลด้วยปฏิกิริยาเชื่อมขวางโดยใช้โซเดียมไตรเมตาฟอสเฟต

นำแป้งไฮดรอกซีโพรพิลที่คัดเลือกไว้ในข้อ 3.2.1.2 มาดัดแปรด้วยปฏิกิริยาเชื่อมขวางโดยใช้โซเดียมไตรเมตาฟอสเฟต ( $\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_{10}$ , purity 95-97%, A.R. grade ของบริษัท Sigma) ตามขั้นตอนซึ่งดัดแปลงจากวิธีการดัดแปรแป้งมันฝรั่งด้วยโซเดียมไตรเมตาฟอสเฟตของวารนุช (62) (รูปที่ 3.1) โดยมีความเข้มข้นร้อยละ 40 (โดยน้ำหนักแป้งแห้ง) pH  $11.00 \pm 0.10$  อุณหภูมิ  $50 \pm 2$  °C ปริมาณโซเดียมคาร์บอเนตและโซเดียมไตรเมตาฟอสเฟต ร้อยละ 0.25 และ 0.30 (โดยน้ำหนักแป้งแห้ง) ตามลำดับ โดยแปรระดับการแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซีโพรพิลในแป้งเป็น 2 ระดับ ตามที่คัดเลือกไว้ในข้อ 3.2.1.2 และแปรเวลาในการเกิดปฏิกิริยาเป็น 1, 1 1/2, 2, 3 และ 4 ชั่วโมง โดยวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล จำนวน 2 ซ้ำ ตรวจสอบสมบัติของตัวอย่างแป้งไฮดรอกซีโพรพิลไคสตาร์ชฟอสเฟตที่ได้ดังต่อไปนี้

- ก. ความชื้น
- ข. ความเป็นกรด-ด่าง
- ค. ระดับการดัดแปร โดยการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสในตัวอย่าง

แป้งดัดแปรแล้วคำนวณปริมาณฟอสเฟตและระดับการเชื่อมขวางของหมู่ฟอสเฟตดังสมการที่

3.3-3.6 (25,27)

$$\text{ปริมาณฟอสเฟต (\%)} = 3.065 \times \text{ปริมาณฟอสฟอรัส (\%)} \quad (3.3)$$

$$\text{ระดับการแทนที่} = \frac{162 \times \text{ปริมาณฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้น (\%)}}{3100 - [86 \times \text{ปริมาณฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้น (\%)}]} \quad (3.4)$$

$$\text{หรือ} = \frac{162 \times \text{ปริมาณฟอสเฟตที่เพิ่มขึ้น (\%)}}{9500 - [86 \times \text{ปริมาณฟอสเฟตที่เพิ่มขึ้น (\%)}]} \quad (3.5)$$



$$\text{ระดับการเชื่อมขวาง} = \frac{1}{\text{ระดับการแทนที่ของหมู่ฟอสเฟต}} \quad (3.6)$$

ง. อุณหภูมิสูงและการเปลี่ยนแปลงความหนืดของตัวอย่างแบ่งที่อุณหภูมิต่างๆ  
ใน heating-cooling cycle

จ. กำลังการพองตัว

คัดเลือกแบ่งไฮดรอกซีโพรพิลไดสตาร์ชฟอสเฟตที่คือน้ำก่อนข้างข้าง ทนต่อ  
ความร้อนและแรงกระทำ เพื่อใช้ศึกษาเป็นสารให้ความชื้นหนืดแก่ simulated canned food  
ในขั้นต่อไป

### 3.3 ศึกษาการใช้แบ่งไฮดรอกซีโพรพิลไดสตาร์ชฟอสเฟตเป็นสารให้ความชื้นหนืด

นำแบ่งไฮดรอกซีโพรพิลไดสตาร์ชฟอสเฟตที่คัดเลือกแล้วในข้อ 3.2.2 ไปใช้เป็นสาร  
ให้ความชื้นหนืดแก่ simulated canned food ซึ่งดัดแปลงสูตรส่วนผสมจาก medium ของซูป  
ผัก โดยประกอบด้วยน้ำ น้ำตาล เกลือ และแบ่ง ปริมาณ ร้อยละ 90, 3, 1 และ 6 (โดย  
น้ำหนัก) ตามลำดับ ให้ความร้อนแก่ส่วนผสมจนอุณหภูมิเป็น  $65 \pm 2^{\circ}\text{C}$  นาน 5 นาที ส่วนผสมจะ  
ถูกกวนผสมตลอดเวลาเพื่อให้เกิดการกระจายสม่ำเสมอ แล้วบรรจุในกระป๋องเคลือบแลคเกอร์  
ขนาด 307X113 โดยมีน้ำหนักบรรจุประมาณ  $187 \pm 1$  กรัม ไล่อากาศด้วยไอน้ำนาน 5 นาที ปิด  
ฝากระป๋องและแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่  $55 \pm 2^{\circ}\text{C}$  จนกระทั่งนำไปแช่เชื้อใน horizontal  
retort ที่อุณหภูมิประมาณ  $121 \pm 1^{\circ}\text{C}$  ทำการศึกษาเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ใช้แบ่งมันสำ  
ปะหลังและแบ่งข้าวโพดเป็นสารให้ความชื้นหนืด

### 3.3.1 ผลของการกระจายความร้อนภายใน simulated canned food ระหว่างการฆ่าเชื้อ

ต่อสายคู่ควมความร้อน (thermocouple) ที่ทำด้วยทองแดงและคอนสแตนตัน (constantan) ให้จุดเชื่อมอยู่ตรงแนวกึ่งกลางกระป๋องที่ใช้ศึกษา โดยอยู่ที่ตำแหน่ง 1/2 และ 2/3 ของความสูงกระป๋อง และปลายสายอีกด้านหนึ่งของคู่ควมความร้อนต่อเข้ากับเครื่องบันทึกอุณหภูมิแบบตัวเลข (Procos VII, CHINO, Japan) บันทึกการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ทุกๆ 1 นาที ตั้งแต่เริ่มให้ความร้อนจนทำให้เย็นด้วยน้ำ คำนวณหาเวลาสำหรับใช้ในกระบวนการฆ่าเชื้อเพื่อที่จะทำให้  $F_0 = 6$  โดยหาอัตราการทำลายของเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ (lethal rate) (64) จากตำแหน่งของคู่ควมความร้อนที่อุณหภูมิเปลี่ยนแปลงซ้ำ

### 3.3.2 ผลของการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับ simulated canned food ในระหว่างการเก็บรักษา

simulated canned food ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนสูงตามภาวะในข้อ 3.3.1 แล้ว นำมาเซ็ดให้แห้งและเก็บที่อุณหภูมิห้อง สุ่มแต่ละตัวอย่างมา 3 กระป๋อง หลังการผลิตเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และหลังการเก็บทุกๆ 2 เดือน เพื่อตรวจสอบความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield viscometer ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2^\circ \text{C}$