บทที่ 3

การทดลอง

วัตถุดิบและสารเคมี

1. วัตถุดิบ

- แป้งมันสำปะหลังตรา Rose (บริษัท ไทยวา จำกัด(มหาชน))
- เอนไซม์แอลฟา-อะมิเลสชนิดทนความร้อน Termamyl 120L® (บริษัท อิสต์เอเชียติ๊ก (ประเทศไทย) จำกัด)

2. สารเคมี

2.1 สารเคมีที่ใช้ในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง

- Hydrochloric acid	A.R.grade
- Sodium hydroxide	A.R.grade

2.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ Residual enzyme activity

- Acetic acid	A.R.grade
- Calcium chloride	A.R.grade
- Potassium iodide	A.R.grade
- Sodium acetate	A.R.grade

2.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณลิเคอไฟสตาร์ช

- Anthrone	A.R.grade
- Sulfuric acid	A.R.grade

2.4 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

- Anhydroglucose	A.R.grade
- Ammonium molybdate	A.R.grade
- Copper sulfate	A.R.grade

- Disodium hydrogen arsenate A.R.grade
- Potassium sodium tartrate tetrahydrate (Rochelle salt) A.R.grade
- Sodium carbonate A.R.grade
- Sodium hydrogen carbonate A.R.grade
- Sodium sulfate (anhydrous) A.R.grade
- Sulfuric acid A.R.grade

2.5 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์สัดส่วนของคาร์โบไฮเดรตชนิดต่างๆ

- Acetonitrile(CH_3CN) HPLC grade
- Glucose HPLC grade
- Maltose HPLC grade
- Maltotriose HPLC grade
- Maltotetraose HPLC grade
- Maltopentaose HPLC grade
- Maltohexaose HPLC grade

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดหยาบ SARTORIUS รุ่น 1907 MPS
2. เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด SARTORIUS รุ่น A200S
3. เครื่องปั่นแยก (Centrifuge) HERAEUS CHRIST รุ่น Labofuge 15000
4. เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ HETO รุ่น DT Hetotherm
5. เครื่องระเหยชนิดสุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) EYELA รุ่น NE-1S
6. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง(Spectrophotometer) SHIMADZU รุ่น UV-240
7. เครื่องอบแห้ง MEMMERT รุ่น U30
8. เครื่องวัดความหนืด Brookfield Viscometer RVT Model DV-I
9. เครื่องวัดลักษณะการไหล HAAKE รุ่น RV20 Rotovisco ของศูนย์เครื่องมือวิจัยทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
10. เครื่องร่อนคัดแยกขนาด RETSCH รุ่น ASTM

11. เครื่องบด (Pin Mill) รุ่น FFC-23

12. เครื่องบด MOULINEX

13. เครื่องเอกซ์ทรูเดอร์แบบสกรูคู่ (Twin-Screw Extruder) BERSTORFF ZE-25 ของประเทศเยอรมนี

14. เครื่องหาความชื้นแบบอัตโนมัติ (Moisture Analyzer) SARTORIUS รุ่น MA 30

15. High Performance Liquid Chromatography แบบ LC-3A ของศูนย์เครื่องมือวิจัยทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

1. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งมันสำปะหลัง

1.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้นของแป้งมันสำปะหลัง ตามวิธี AOAC.925.10 (1990) (ภาคผนวก ก)

1.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของแป้งมันสำปะหลัง ตามวิธี Macro-Kjeldahl Method (ภาคผนวก ก)

1.3 วิเคราะห์ปริมาณไขมันของแป้งมันสำปะหลัง ตามวิธี AOAC.920.39 (1990) (ภาคผนวก ก)

1.4 วิเคราะห์ปริมาณเส้นใยของแป้งมันสำปะหลัง ตามวิธี AOAC.962.09 (1990) (ภาคผนวก ก)

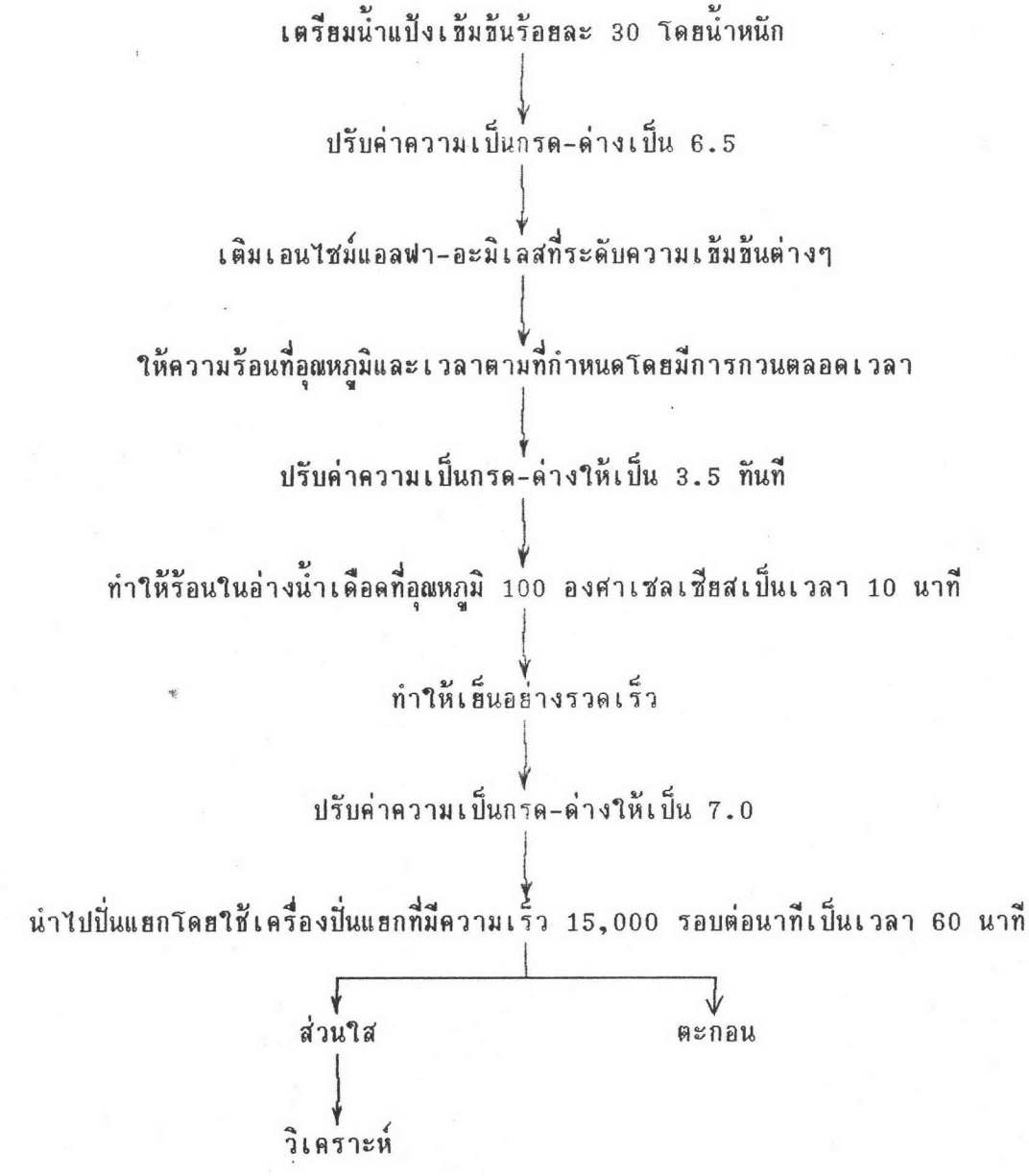
1.5 วิเคราะห์ปริมาณเถ้าของแป้งมันสำปะหลัง ตามวิธี AOAC.923.03 (1990) (ภาคผนวก ก)

1.6 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของแป้งมันสำปะหลัง โดยคำนวณตามสูตรดังนี้

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต = ปริมาณแป้งทั้งหมด - (ปริมาณความชื้น + ปริมาณโปรตีน + ปริมาณไขมัน + ปริมาณเถ้า + ปริมาณเส้นใย)

2. ศึกษาการผลิตมอลโตเดกซ์ทรินโดยการเติมเอนไซม์ครั้งเดียวในการผลิตแบบกะ (Conventional Batch Process)

การผลิตมอลโตเดกซ์ทรินจากแป้งมันสำปะหลัง โดยการเติมเอนไซม์แอลฟา-อะมิเลสที่ทนความร้อนสูงครั้งเดียวในการผลิตแบบกะ มีขั้นตอนการผลิตดังแสดงในรูปที่ 2 โดยกำหนดให้ความเข้มข้นของสารละลายน้ำแป้งเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก และค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.5



ภาพที่ 2 : กระบวนการผลิตมอลโตเดกซ์ทรินโดยการเติมเอนไซม์ครั้งเดียวในการผลิตแบบกะ

2.1 ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิที่ใช้ในการผลิต และเวลาที่ใช้ในการผลิต ต่อปริมาณลิเคอไฟสตาร์ชและค่า D.E. ของผลิตภัณฑ์ โดยมีสภาวะดังนี้

- ความเข้มข้นของเอนไซม์ มี 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0.01, 0.05 และ 0.10
- อุณหภูมิที่ใช้ในการผลิต มี 3 ระดับคือ 80, 85 และ 90 องศาเซลเซียส
- เวลาที่ใช้ในการผลิต มี 3 ระดับ คือ 40, 80 และ 120 นาที

ออกแบบการทดลองโดยใช้ Symmetric Factorial Design ขนาด 3*3*3 จำนวนการทดลองทั้งหมดเท่ากับ 27 การทดลอง ดังต่อไปนี้ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

ตัวแปร	สัญลักษณ์	+1	0	-1
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (ร้อยละ)	X_1	0.10	0.05	0.01
อุณหภูมิที่ใช้ในการผลิต (องศาเซลเซียส)	X_2	90	85	80
เวลาที่ใช้ในการผลิต (นาที)	X_3	120	80	40
การทดลองที่		X_1	X_2	X_3
1		-1	-1	-1
2		-1	-1	0
3		-1	-1	+1
4		-1	0	-1
5		-1	0	0
6		-1	0	+1
7		-1	+1	-1
8		-1	+1	0
9		-1	+1	+1
10		0	-1	-1
11		0	-1	0
12		0	-1	+1
13		0	0	-1
14		0	0	0
15		0	0	+1
16		0	+1	-1
17		0	+1	0
18		0	+1	+1
19		+1	-1	-1
20		+1	-1	0
21		+1	-1	+1
22		+1	0	-1
23		+1	0	0
24		+1	0	+1
25		+1	+1	-1
26		+1	+1	0
27		+1	+1	+1

I1761943

ประเมินผลโดยการหาสัดส่วนของลิเคอไฟสตาร์ชตามวิธีของ Brooks, Griffin และ Kattan(1986) และวัดค่า D.E. ตามวิธีของ Nelson (1944)(ภาคผนวก ข)

วิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน(Analysis of Variance) เพื่อหาความมีนัยสำคัญทางสถิติของแต่ละปัจจัย และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test

2.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตมอลโตเดกซ์ทรินโดยศึกษา 3 ปัจจัย เช่นเดียวกับหัวข้อที่ 2.1

ออกแบบการทดลองโดย Box-Behnken Design มีจำนวนการทดลองทั้งหมดเท่ากับ 15 การทดลอง ดังต่อไปนี้ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

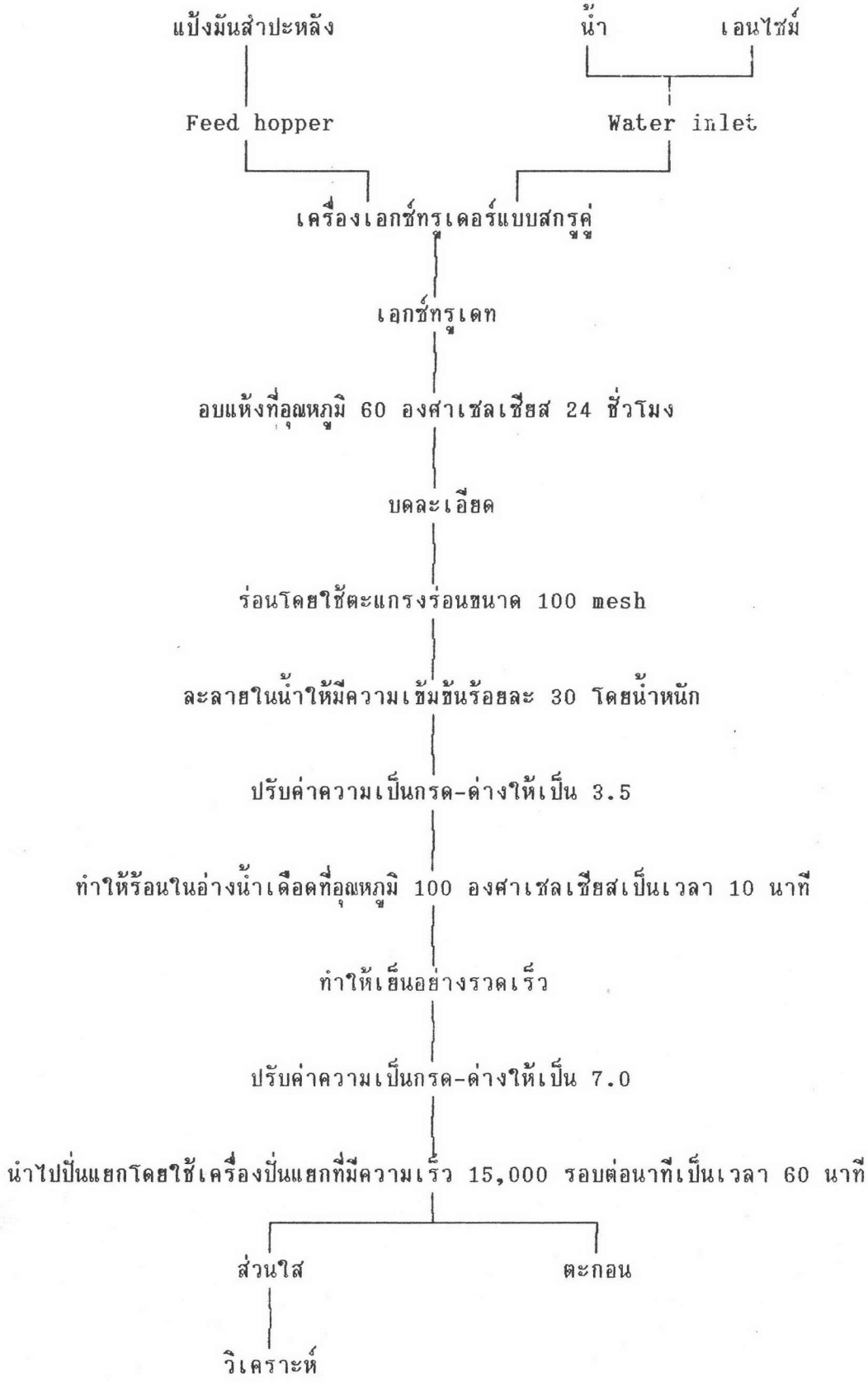
ตัวแปร	สัญลักษณ์	+1	0	-1
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (ร้อยละ)	X_1	0.10	0.05	0.01
อุณหภูมิที่ใช้ในการผลิต (องศาเซลเซียส)	X_2	90	85	80
เวลาที่ใช้ในการผลิต (นาที)	X_3	120	80	40
การทดลองที่		X_1	X_2	X_3
1		-1	-1	0
2		-1	+1	0
3		+1	-1	0
4		+1	+1	0
5		-1	0	-1
6		-1	0	+1
7		+1	0	-1
8		+1	0	+1
9		0	-1	-1
10		0	-1	+1
11		0	+1	-1
12		0	+1	+1
13		0	0	0
14		0	0	0
15		0	0	0

ประเมินผลโดยการหาสัดส่วนของลิเคอไฟสตาร์ชตามวิธีของ Brooks, Griffin และ Kattan (1986) และวัด D.E. ตามวิธีของ Nelson (1944) (ภาคผนวก ข)

วิเคราะห์ข้อมูลโดย Multiple Regression Analysis และเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโดยใช้ Response Surface Methodology (Mason et al., 1989)

3. ศึกษาการผลิตมอลโตเดกซ์ทรินโดยการเติมเอนไซม์ครั้งเดียว ในกระบวนการเอกซ์ทรูชันแบบสกรูคู่ (Twin-Screw Extrusion Cooking Process)

การผลิตมอลโตเดกซ์ทรินจากแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้เอนไซม์แอลฟา-อะมิเลสที่ทนความร้อนสูงในกระบวนการเอกซ์ทรูชันแบบสกรูคู่ มีขั้นตอนในการผลิตดังแสดงในรูปที่ 3 โดยกำหนดให้ความเร็วรอบในการหมุนของสกรูเท่ากับ 150 รอบต่อนาที และอัตราการป้อนวัตถุดิบเท่ากับ 4.8 กิโลกรัมต่อชั่วโมง



รูปที่ 3 : กระบวนการผลิตมอลโตเดกซ์ทรินโดยการเติมเอนไซม์ครั้งเดียว
ในกระบวนการเอกซ์ทรูชันแบบสกรูคู่

3.1 ศึกษาผลของความชื้นของวัตถุดิบ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และอุณหภูมิของโด ต่อปริมาณลิเคอไฟสตาร์ชและค่า D.E. ของผลิตภัณฑ์ โดยมีสภาวะดังนี้

- ความชื้นของส่วนผสมวัตถุดิบ มี 3 ระดับ คือ ร้อยละ 30, 35 และ 40
- ความเข้มข้นของเอนไซม์ มี 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0.01, 0.05 และ 0.10
- อุณหภูมิของโด มี 3 ระดับ คือ 120, 125 และ 130 องศาเซลเซียส

ออกแบบการทดลองโดยใช้ Symmetric Factorial Design ขนาด 3*3*3 จำนวนการทดลองทั้งหมดเท่ากับ 27 การทดลอง ดังต่อไปนี้ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

ตัวแปร	สัญลักษณ์	+1	0	-1
ความชื้นของส่วนผสมวัตถุดิบ (ร้อยละ)	X_1	40	35	30
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (ร้อยละ)	X_2	0.10	0.05	0.01
อุณหภูมิของโด (องศาเซลเซียส)	X_3	130	125	120

การทดลองที่	X_1	X_2	X_3
1	-1	-1	+1
2	-1	-1	0
3	-1	-1	-1
4	-1	0	+1
5	-1	0	0
6	-1	0	-1
7	-1	+1	+1
8	-1	+1	0
9	-1	+1	-1
10	0	-1	+1
11	0	-1	0
12	0	-1	-1
13	0	0	+1
14	0	0	0
15	0	0	-1
16	0	+1	+1
17	0	+1	0
18	0	+1	-1
19	+1	-1	+1
20	+1	-1	0
21	+1	-1	-1
22	+1	0	+1
23	+1	0	0
24	+1	0	-1
25	+1	+1	+1
26	+1	+1	0
27	+1	+1	-1

ประเมินผลโดยการหาสัดส่วนของลิเคอไฟสตาร์ชตามวิธีของ Brooks, Griffin และ Kattan (1986) และวัดค่า D.E.ตามวิธีของ Nelson(1944)(ภาคผนวก ข)

วิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน(Analysis of Variance) เพื่อหาความมีนัยสำคัญทางสถิติของแต่ละปัจจัย และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test

3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตมอลโตเดกซ์ทริน โดยศึกษา 3 ปัจจัย เช่นเดียวกับหัวข้อที่ 3.1

ออกแบบการทดลองโดย Box-Behnken Design มีจำนวนการทดลองทั้งหมดเท่ากับ 15 การทดลอง ดังต่อไปนี้ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

ตัวแปร	สัญลักษณ์	+1	0	-1
ความชื้นของส่วนผสมวัตถุดิบ (ร้อยละ)	X_1	40	35	30
ความเข้มข้นของเอนไซม์ (ร้อยละ)	X_2	0.10	0.05	0.01
อุณหภูมิของโด (องศาเซลเซียส)	X_3	130	125	120
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

ประเมินผลโดยการหาสัดส่วนของลิเคอไฟสตาร์ชตามวิธีของ Brooks, Griffin และ Kattan(1986) และวัด D.E. ตามวิธีของ Nelson(1944) (ภาคผนวก ข.)

วิเคราะห์ข้อมูลโดย Multiple Regression Analysis และเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโดยใช้ Response Surface Methodology(Mason et al., 1989)

4. ศึกษาสมบัติทางเคมี และทางกายภาพของมอลโตเดกซ์ทรินที่ผลิตได้จากสภาวะการผลิตที่เลือกได้จากหัวข้อการทดลองที่ 2.2 และ 3.2

4.1 ศึกษาสมบัติทางเคมีของมอลโตเดกซ์ทริน

- วิเคราะห์ Residual enzyme activity ตามวิธีของ Novo, #AF9/5.gB (Novo Industries,Inc., Wilton, CT.)(ภาคผนวก ข)

- วิเคราะห์ค่า D.E.ตามวิธีของ Nelson(1944)(ภาคผนวก ข)

- วิเคราะห์ปริมาณลิเคอไฟสตาร์ชตามวิธีของ Brooks, Griffin และ Kattan(1986)(ภาคผนวก ข)

- วิเคราะห์สัดส่วนของคาร์โบไฮเดรตที่มีค่า D.P.ตั้งแต่ 1 ถึง 6 โดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (ภาคผนวก ข)

4.2 ศึกษาสมบัติทางกายภาพของมอลโตเดกซ์ทริน

เตรียมมอลโตเดกซ์ทริน ให้มีความหนืดใกล้เคียงกับน้ำมันพืชที่ใช้ในน้ำสลัดชนิดข้น โดยใช้วิธีดังนี้

- ถ้าเป็นมอลโตเดกซ์ทรินชนิดเหลวที่ผลิตได้จากกระบวนการแบบกะ ให้นำไปทำให้เข้มข้นโดยใช้ Rotary Vacuum Evaporator ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนกระทั่งมอลโตเดกซ์ทรินมีความหนืดใกล้เคียงกับน้ำมันพืช คือ มีความหนืดวัดได้ในช่วง 80-90 mPas.(centipoise)

- ถ้าเป็นมอลโตเดกซ์ทรินชนิดผงที่ผลิตได้จากกระบวนการเอกซ์ทรูชันแบบสกรูคู่ ให้นำมาละลายน้ำ และปรับความเข้มข้นจนมีความหนืดใกล้เคียงกับน้ำมันพืช

จากนั้น นำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ดังนี้

4.2.1 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดโดยใช้เครื่องหาความชื้นแบบอัตโนมัติ ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 130 องศาเซลเซียส

4.2.2 วิเคราะห์ความหนืดโดยใช้ Brookfield viscometer (ภาคผนวก ค)

4.2.3 วิเคราะห์สมบัติทางการไหลโดยใช้เครื่อง HAAKE (ภาคผนวก ค)

5. ศึกษาการนำมอลโตเดกซ์ทรินที่ผลิตได้ไปใช้ทดแทนน้ำมันในการผลิตน้ำสลัดชนิดข้น

5.1 เตรียมสูตรมาตรฐานของน้ำสลัดชนิดข้น (ภาคผนวก ง)

5.2 ผลิตน้ำสลัดตามสูตรและวิธีในภาคผนวก ง โดยมีการทดแทนน้ำมันพืชด้วยมอลโตเดกซ์ทรินตามรายละเอียดในตารางที่ 6

ตารางที่ 6: สัดส่วนของน้ำมันพืชและมอลโตเดกซ์ทรินที่ใช้ในการผลิตน้ำสลัดชนิดข้นสูตรต่างๆ

		สูตรมาตรฐาน	สูตร1	สูตร2	สูตร3	สูตร4	สูตร5	สูตร6	สูตร7	สูตร8
น้ำมันพืช		100	75	50	75	50	75	50	75	50
มอลโตเดกซ์ทริน	DE 10	-	25	50	-	-	-	-	-	-
จากการผลิตแบบกะ	DE 14	-	-	-	25	50	-	-	-	-
มอลโตเดกซ์ทริน										
จากการผลิตแบบ	DE 10	-	-	-	-	-	25	50	-	-
เอกซ์ทรูชัน	DE 14	-	-	-	-	-	-	-	25	50

หมายเหตุ: ตัวเลขในตารางมีค่าเป็นร้อยละ

5.3 นำผลิตภัณฑ์น้ำสลัดชนิดข้นทั้งหมดมาทำการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสโดยใช้วิธี Multiple Comparison Test และผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนแล้วจำนวน 15 คน ตัวอย่างของแบบสอบถามแสดงในภาคผนวก จ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคะแนนทางประสาทสัมผัสโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test

5.4 คำนวณและเปรียบเทียบค่าพลังงานของน้ำสลัดชนิดข้นทั้ง 8 สูตร เทียบกับค่าพลังงานในน้ำสลัดชนิดข้นสูตรมาตรฐาน (ภาคผนวก ฉ)