บทที่ 3
การดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

1. ข้าวเปลือก 5 พันธุ์ แบ่งเป็นข้าวเจ้า 3 พันธุ์และข้าวเหนียว 2 พันธุ์ ดังนี้

พันธุ์ข้าวเจ้า คือ

- *พันธุ์ข้าว ก.วก.1* เป็นข้าวเจ้าไม่ไวต่อช่วงแสง เป็นข้าว japonica (ข้าวญี่ปุ่น) คัดเลือกมาจากพันธุ์ซาซานิชิกิ ซึ่งกรมวิชาการเกษตรได้แนะนำให้ปลูกทางภาคเหนือ (แสดงลักษณะต้นข้าวและเมล็ดข้าวในภาคผนวก ก รูปที่ ก.1)

- *พันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ105* เป็นข้าวเจ้าไวต่อช่วงแสง มีกลิ่นหอมซึ่งเป็นเอกลักษณ์เฉพาะพันธุ์ เป็นข้าวหอมที่นิยมบริโภคในประเทศไทย และเป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศ (แสดงลักษณะต้นข้าวและเมล็ดข้าวในภาคผนวก ก รูปที่ ก.2)

- *พันธุ์ข้าวชัยนาท1* เป็นข้าวเจ้าไม่ไวต่อช่วงแสง นิยมปลูกมากในปัจจุบัน เพราะให้ผลผลิตต่อไร่สูง และสามารถผลิตเป็นข้าว 100% ได้มาก รวมทั้งมีศักยภาพในการส่งออกสูง (แสดงลักษณะต้นข้าวและเมล็ดข้าวในภาคผนวก ก รูปที่ ก.3)

พันธุ์ข้าวเหนียว คือ

- *พันธุ์ข้าวเหนียวสันป่าตอง* เป็นข้าวเหนียวขาวไวต่อช่วงแสง นับเป็นพันธุ์ข้าวเหนียวที่นิยมปลูกและบริโภคกันมาก (แสดงลักษณะต้นข้าวและเมล็ดข้าวในภาคผนวก ก รูปที่ ก.4)

- *พันธุ์ข้าวก่ำดอยสะเก็ด* เป็นข้าวเหนียวดำไวต่อช่วงแสง ลักษณะพิเศษคือใบ ลำต้น มีสีม่วงดำ เมล็ดสีม่วงแก่ (แสดงลักษณะต้นข้าวและเมล็ดข้าวในภาคผนวก ก รูปที่ ก.5)

2. แป้งข้าวเจ้าโม่น้ำ ตราช้างสามเศียร จากโรงงานเส้นหมี่ชอเฮง จำกัด

นำมาวิเคราะห์ด้วย Brabender viscoamylograph เพื่อหาความเข้มข้นของน้ำแป้งที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ด้วย Brabender viscoamylograph

3. Termamyl® 120L (food grade enzyme) เป็นเอนไซม์แอลฟา-อะมัยเลสชนิดทนความร้อน (heat-stable α-amylase) จากบริษัท Novo Nordisk ผลิตจาก *Bacillus licheniformis* เจาะจงต่อการย่อยสลาย α -1,4 glucosidic bond ของสตาร์ช โดยตัดสายภายในพันธะอย่างอิสระ (endo-splitting anylase) ได้ผลผลิตเป็นเดกซ์ทริน (dextrins) และโอลิโกแซ็กคาไรด์ (oligosaccharides) มีแอคติวิตีเท่ากับ 120 KNU/g (Novo Nordisk, 1993)

โดยที่ 1 KNU = ปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลาย starch 5.26 กรัม (Merk, Amylum Solubile Erg. B. 6, Batch 9947275) ต่อชั่วโมง เมื่อใช้ภาวะมาตรฐานของ Novo Nordisk กล่าวคือ ใช้สับสเตรทเป็น starch ใช้ปริมาณแคลเซียมในสารละลาย 0.0043 โมลาร์ ใช้เวลาในการย่อย 7-20 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีค่าความเป็นกรดด่าง 5.6

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของวัตถุดิบและมอลโทเดกซ์ทรินที่ผลิตขึ้น

กรดเกลือ (HCl)	AR grade
กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)	AR grade
กรดบอริก (H_3BO_3)	AR grade
กรดอะซิติก (CH_3COOH)	AR grade
คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$)	AR grade
ซูโครส ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	AR grade
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	AR grade
โบรโมครีซอลกรีน ($C_{21}H_{14}Br_4O_5S$)	AR grade
ปิโตรเลียมอีเทอร์ จุดเดือด 40-60 องศาเซลเซียส	AR grade
โปตัสเซียมไอโอไดด์ (KI)	AR grade
โปตัสเซียมโซเดียมทาร์เทรต ($KNaC_4H_4O_6$)	AR grade
เมธิลีนบลู ($C_{16}H_{18}ClN_3S$)	AR grade
เมธิลเรด ($C_{13}H_{15}N_3O_2$)	AR grade
สตาร์ช (starch)	AR grade
สารเร่งปฏิกิริยา Kjeltabs Cu 3.5	AR grade
อะมัยโลสบริสุทธิ์จากมันฝรั่ง จาก Fluka BioChemika	AR grade
เอธิลแอลกอฮอล์ (C_2H_5OH)	AR grade
ไอโอดีน (I_2)	AR grade

สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบองค์ประกอบของน้ำตาลในมอลโทเดกซ์ทริน โดยวิธีเปเปอร์โครมาโตกราฟฟี (paper chromatography method) และการใช้ HPLC

กรดอะซิติก (CH_3COOH)	AR grade
บิวทานอล (C_4H_9OH)	AR grade
ซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$)	AR grade
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	AR grade
ไพริดีน (C_5H_5N)	AR grade
เมธานอล (CH_3OH)	AR grade
อะซิโตน (C_3H_6O)	AR grade
เอธิลอะซิเตด ($C_4H_8O_2$)	AR grade
ไอโซโพรพานอล (C_3H_7OH)	AR grade
ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์($C_5H_{11}OH$)	AR grade
น้ำกลั่น (ultra pure)	HPLC grade
อะซิโตไนไตรด์ (C_2H_3N)	HPLC grade
คาร์โบไฮเดรตมาตรฐาน (DP1-7) ได้แก่	
กลูโคส ($C_6H_{12}O_6$)	HPLC grade
มอลโทส ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	HPLC grade
มอลโทไตรโอส ($C_{18}H_{32}O_{16}$)	HPLC grade
มอลโทเตตระโอส ($C_{24}H_{42}O_{21}$)	HPLC grade
มอลโทเพนทะโอส ($C_{30}H_{52}O_{26}$)	HPLC grade
มอลโทเฮกซะโอส ($C_{36}H_{62}O_{31}$)	HPLC grade
มอลโทเฮปตะโอส ($C_{42}H_{72}O_{36}$)	HPLC grade

หมายเหตุ คาร์โบไฮเดรตมวลโมเลกุลต่ำ DP 1, DP 2 และ DP 7 มาจากบริษัท Sigma ส่วนคาร์โบไฮเดรตมวลโมเลกุลต่ำ DP 3-6 มาจากบริษัท Wako ประเทศญี่ปุ่น

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

อุปกรณ์ที่ใช้ในการแปรรูปข้าวเปลือกเป็นข้าวสาร (แสดงดังภาคผนวก ข)

เครื่องสุ่มเมล็ดข้าว (รูปที่ ข.1)

เครื่องกระเทาะเปลือกข้าวแบบ Satake (รูปที่ ข.2)

เครื่องขัดขาวข้าว McGrill No. 2 (รูปที่ ข.3)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการแปรรูปข้าวสารเป็นฟลาวร์

เครื่องบด Pin mill รุ่น FFC-23 จากบริษัท Agricultural Machinery Works

เครื่องบด Kenwood รุ่น CG-100

ชุดเครื่องร่อนและตะแกรงร่อน Retsch รุ่น VIBRO

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพของฟลาวร์และมอลโทเดกซ์ทริน

เครื่องชั่งหยาบ ทศนิยม 2 ตำแหน่ง Satorious รุ่น BP3100S

เครื่องชั่งหยาบ ทศนิยม 3 ตำแหน่ง Satorious รุ่น BP310S

เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง Satorious รุ่น A200S

เครื่องวิเคราะห์ความชื้น Satorious รุ่น MA30

ชุดวิเคราะห์โปรตีน Kjeldatherm and Vapodest1, Gerhardt รุ่น KT85

ชุดวิเคราะห์ไขมัน Soxhlet Apparatus

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง Milton Roy รุ่น Spectronic 601

เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง Schott-Gerate รุ่น CG840

เตาอบลมร้อน WTB Binder รุ่น E53

เตาอบสุญญากาศ Hotpack

เตาเผา Heatech 4850-1

หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) Tomy รุ่น SS-320

เครื่องเหวี่ยงแยก (Centrifuge) Heraeus-Christ รุ่น Verifuge K

เครื่องระเหยสุญญากาศ Buchi

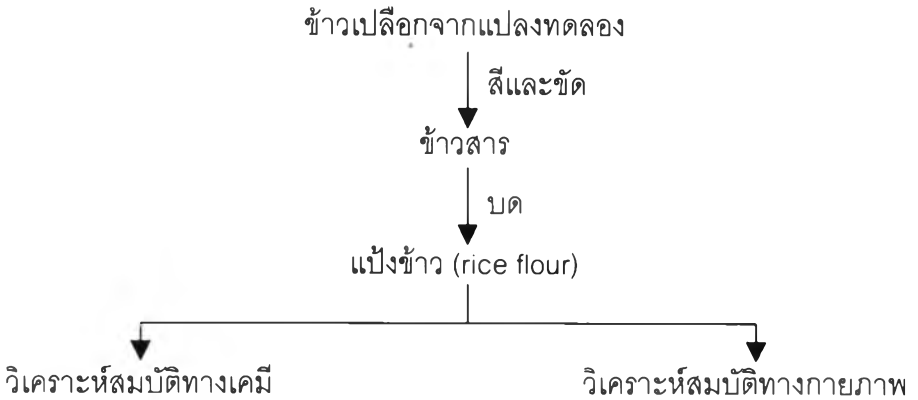
เครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) Jeol รุ่น JAM-T 220A

เครื่องวัดสี Minolta รุ่น CT310

เครื่อง Brabender Viscoamylograph รุ่น Viskograph PT100

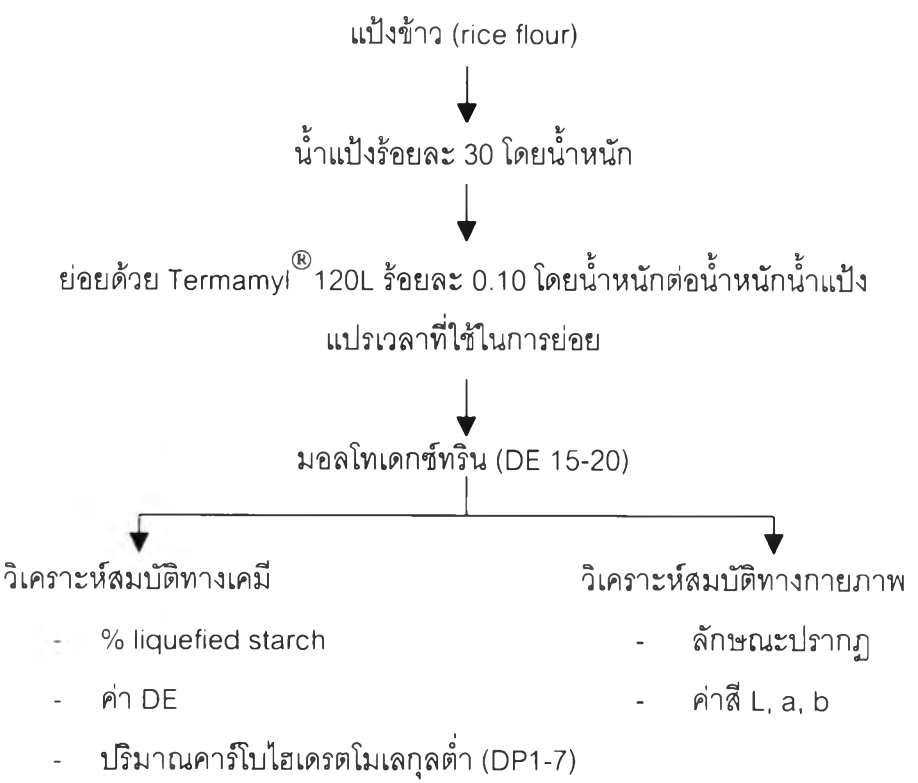
ขอบเขตงานวิจัย

ส่วนที่ 1 ผลิตแป้งข้าวและวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของแป้งข้าว



หมายเหตุ ในงานวิจัยของเราจะขอใช้คำว่าแป้งข้าวแทนคำว่าฟลาวร์ข้าว (rice flour) และถ้ามีการกล่าวถึง rice starch จะใช้คำว่าสตาร์ชแทน

ส่วนที่ 2 ผลิตมอลโทเดกซ์ทรินจากแป้งข้าวและวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของมอลโทเดกซ์ทรินที่ได้



รูปที่ 3.1 ขอบข่ายงานวิจัยโดยสังเขป

ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

1. **ปลูกข้าวที่จะใช้เป็นวัตถุดิบในงานวิจัย**

ปลูกข้าวทุกพันธุ์โดยใช้วิธีปักดำพร้อมกันในวันที่ 23 ก.ค. 2540 ณ ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ กล้าข้าวที่ใช้มีอายุ 25 วัน ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ในอัตรา 25 กก./ไร่ หลังปักดำ 7 วัน และปุ๋ยยูเรีย ในอัตรา 5 กก./ไร่ ในระยะกำเนิดช่อดอก

เนื่องจากข้าวมีการตอบสนองต่อช่วงแสงที่ต่างกัน ดังนั้นการสุกแก่ของข้าวจึงแตกต่างกันตามพันธุ์ซึ่งจะมีผลต่ออายุการเก็บเกี่ยว โดย

สำหรับข้าวเจ้า

- ข้าวพันธุ์ก.วก.1 เป็นข้าวไม่ไวต่อช่วงแสงมีอายุการเก็บเกี่ยวที่แน่นอน โดยจะเก็บเกี่ยวเมื่ออายุประมาณ 100 วัน
- ข้าวขาวดอกมะลิ105 เป็นข้าวไวต่อช่วงแสง เก็บเกี่ยวในเดือนพฤศจิกายน
- ข้าวชัยนาท1 เป็นข้าวไม่ไวต่อช่วงแสงมีอายุการเก็บเกี่ยวที่แน่นอน โดยจะเก็บเกี่ยวเมื่ออายุประมาณ 125 วัน

สำหรับข้าวเหนียว

- ข้าวก่ำดอยสะเก็ด เป็นข้าวไวต่อช่วงแสง เก็บเกี่ยวในเดือนพฤศจิกายน
- ข้าวเหนียวสันป่าตอง เป็นข้าวไวต่อช่วงแสง เก็บเกี่ยวในเดือนพฤศจิกายน

2. **นำข้าวเปลือกมาผลิตเป็นข้าวสาร**

สุ่มตัวอย่างข้าวเปลือกพันธุ์ละ 4 ซ้ำ โดยทำการคัดเมล็ดลีบออกโดยใช้เครื่องแยกขนาดเมล็ดข้าว จากนั้นนำมาเข้ากระบวนการสีข้าว โดยนำข้าวเปลือกที่สุ่มได้มาเข้าเครื่องกระเทาะเมล็ดแบบ Satake จะได้ข้าวกล้องและแกลบเป็นผลผลิต นำแกลบทิ้งไป ส่วนข้าวกล้องนำมาเข้าเครื่องขัดขาวข้าว McGrill No. 2 เพื่อขัดสีเอาส่วนที่เป็นรำออกไป ดังแสดงในรูปที่ 3.2

เก็บตัวอย่างข้าวสารซ้ำละ 1 กิโลกรัม ดังนั้นจะได้ข้าวสาร 5 พันธุ์ พันธุ์ละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 1 กิโลกรัม เพื่อมาใช้ในการทดลองในข้อต่อไป

รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการขัดสีข้าวเปลือกให้เป็นข้าวสาร

3. **นำข้าวสารมาผลิตแป้งข้าวโดยวิธีโม่แห้ง** ดังแสดงในรูปที่ 3.3 ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้คือ

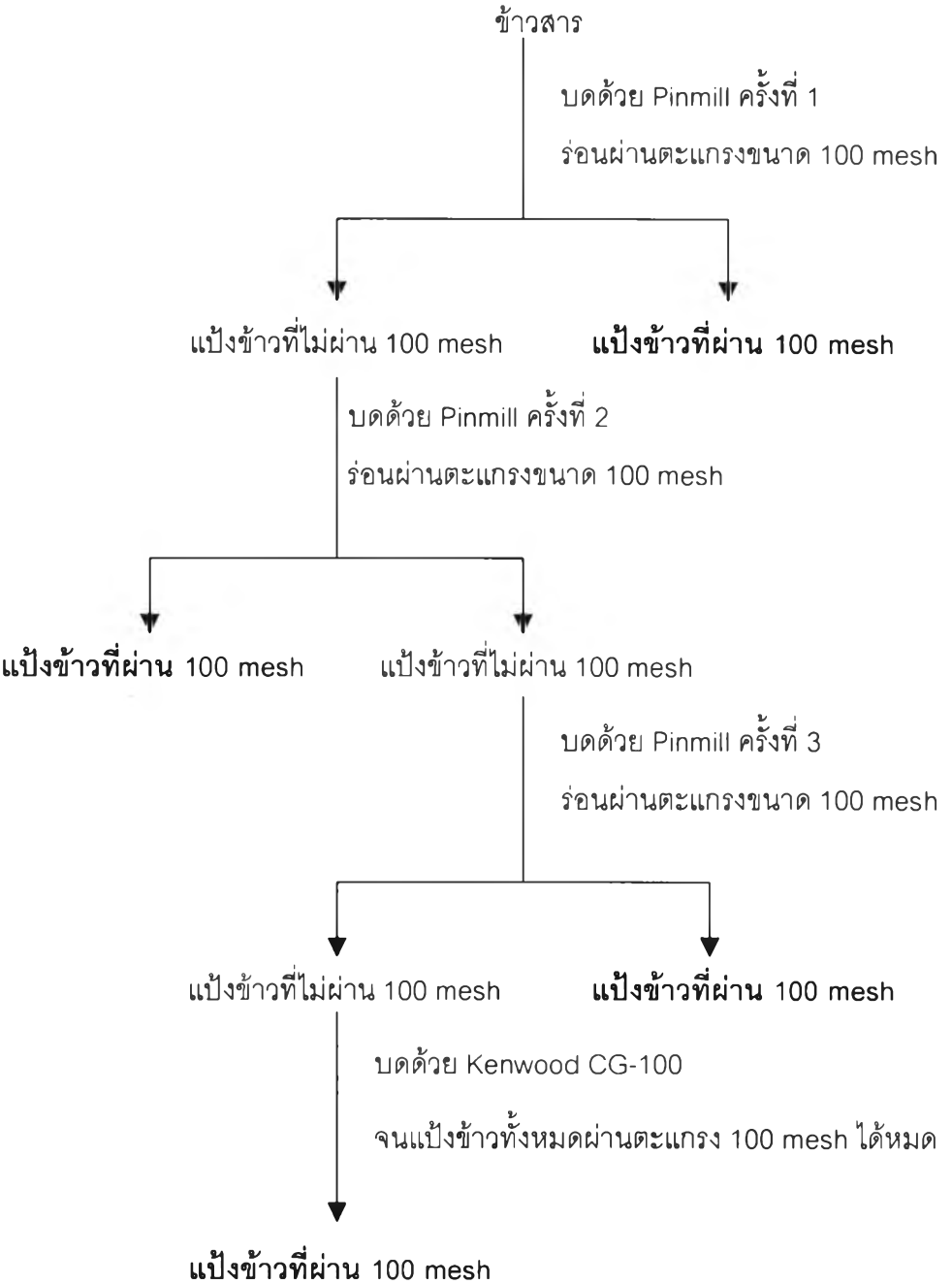
3.1 นำข้าวสารแต่ละซ้ำมาบดด้วยเครื่องบด Pin mill รุ่น FFC-23 จากบริษัท Agricultural Machinery Works

3.2 ข้าวสารที่ผ่านการบดแล้วนำมาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh โดยใช้ชุดเครื่องร่อนและตะแกรงร่อน Retsch รุ่น VIBRO แป้งส่วนที่ผ่านตะแกรง 100 mesh จะนำมาใช้ในการทดลอง ส่วนแป้งที่ตกค้างบนตะแกรง นำมาบดซ้ำด้วยเครื่องบดของแข็ง Kenwood รุ่น CG-100 จนแป้งข้าวทั้งหมดสามารถร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh ได้หมด

3.3 ชั่งน้ำหนักของแป้งข้าวที่ได้ทั้งหมดเพื่อคำนวณร้อยละผลผลิตแป้งข้าว โดยคำนวณจากสูตรดังนี้คือ

$$\text{ร้อยละผลผลิตแป้งข้าว} = \frac{\text{น้ำหนักแป้งข้าว} \times 100}{\text{น้ำหนักข้าวสาร}}$$

3.4 เก็บแป้งข้าวที่ได้ในซองอลูมิเนียมฟอยล์ป้องกันความชื้น และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง



หมายเหตุ แป้งข้าวที่ผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh จะเก็บไว้ใช้ในการทดลอง

รูปที่ 3.3 ขั้นตอนการโม่แห้งข้าวสารให้เป็นฟลาวร์ข้าว

4. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าว

4.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยวิธีอบแห้งในตู้อบลมร้อน ดัดแปลงจากวิธีของ AACC 44-15A (1995) แสดงดังภาคผนวก ค

4.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ด้วย Micro Kjeldahl method ดัดแปลงจากวิธีของ AACC 46-13 (1995) หรือ AOAC 960.52 (1995) และคำนวณปริมาณโปรตีนด้วยวิธีของ Juliano (1972) แสดงดังภาคผนวก ค

4.3 วิเคราะห์ปริมาณไขมัน โดยใช้ ether extraction ดัดแปลงจากวิธีของ AACC 30-25 (1995) แสดงดังภาคผนวก ค

4.4 วิเคราะห์ปริมาณเส้นใย (crude fiber) โดยการย่อยด้วยกรดและด่าง ตามวิธีของ AOAC 978.10 (1995) แสดงดังภาคผนวก ค

4.5 วิเคราะห์ปริมาณเถ้า ด้วยการเผาที่อุณหภูมิสูง ดัดแปลงจากวิธีของ AACC 08-01 (1995) แสดงดังภาคผนวก ค

4.6 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยการคำนวณ แสดงดังภาคผนวก ค

4.7 วิเคราะห์ปริมาณ amylose และ amylopectin โดยใช้ Colorimetric method วัดค่าการดูดกลืนแสงจากสารละลายสีน้ำเงินของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอะมัยโลสและไอโอดีน ตามวิธีของ Juliano (1971) แสดงดังภาคผนวก ค

หมายเหตุ ทุกการทดลองในข้อ 4 จะวิเคราะห์แป้งข้าว 5 พันธุ์ ทั้ง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ครั้ง

5. วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของแป้งข้าว

5.1 วิเคราะห์ค่าการพองตัวและร้อยละการละลาย (swelling power and solubility index)ใช้วิธีตกตะกอน (sedimentation method) ดัดแปลงจากวิธีของ Schoch (1964)

ติดตามการเกิดการพองตัวและการละลายของเม็ดสตาร์ช (starch granule) จากแป้งข้าวพันธุ์ต่างๆ โดยให้ความร้อนกับน้ำแป้งที่อุณหภูมิหนึ่ง แล้วคงที่ไว้ที่อุณหภูมินั้นนั้นเป็นระยะเวลาหนึ่ง จากนั้นจึงนำน้ำแป้งมาเข้าเครื่องเหวี่ยง เพื่อแยกส่วนที่เป็นตะกอนและส่วนใสออกจากกัน ชั่งน้ำหนักของตะกอนแป้งที่ได้เพื่อคำนวณหาค่าการพองตัว นำส่วนใสที่แยกได้มาอบแห้งเพื่อวิเคราะห์ปริมาณแป้งที่ละลายอยู่ในส่วนใส แล้วจึงคำนวณหาร้อยละการละลาย ดังวิธีในภาคผนวก ง

การทดลองนี้แปรอุณหภูมิ 5 อุณหภูมิ คือที่ 55, 65, 75, 85 และ 95 องศาเซลเซียส โดยคงที่ไว้ที่อุณหภูมินั้นนั้นเป็นเวลา 30 นาที วิเคราะห์แป้งข้าว 5 พันธุ์ ทั้ง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ครั้ง

5.2 ศึกษา pasting properties โดยใช้เครื่อง Brabender viscoamylograph รุ่น Viskograph PT100 ดัดแปลงจากวิธีของ Mazurs และคณะ (1957) รายละเอียดแสดงดังภาคผนวก ง

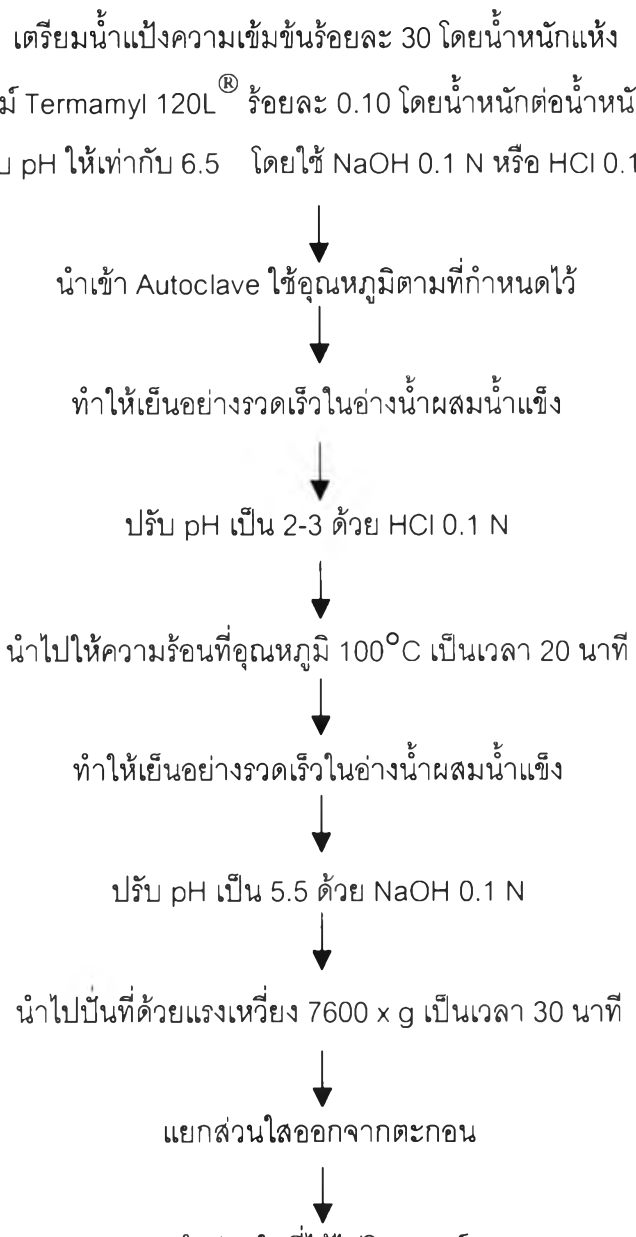
ทดลองแปรความเข้มข้นของน้ำแป้งตั้งแต่ร้อยละ 5 ถึงร้อยละ 10 โดยน้ำหนักแห้ง โดยใช้วัตถุดิบ คือ แป้งข้าวโม่น้ำตราช้างสามเศียร จากโรงงานเส้นหมี่ชอเฮง จำกัด ในการทดลองพบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการทดลองอยู่ในช่วงตั้งแต่ร้อยละ 8 ถึง 10 โดยน้ำหนักแห้ง เนื่องจากสามารถเห็นค่าความหนืดที่อุณหภูมิหรือจุดนั้นๆได้อย่างชัดเจน ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นที่ร้อยละ 10 โดยน้ำหนักแห้งมาใช้ในการทดลอง ซึ่งเมื่อทดลองกับแป้งข้าวทั้ง 5 พันธุ์ พบว่าที่ความเข้มข้นนี้ยังไม่เหมาะสม เนื่องจากมีแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ให้ค่าความหนืดสูงมาก (เกินสเกลที่จะอ่านค่าได้) ดังนั้นจึงทดลองเตรียมน้ำแป้งใหม่ โดยเลือกใช้ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งพบว่าไม่มีปัญหาด้านความหนืดสำหรับแป้งข้าวทุกพันธุ์

ดังนั้นในการศึกษา pasting properties ของแป้งข้าวทั้ง 5 พันธุ์นี้ จึงใช้น้ำแป้งที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 โดยน้ำหนักแห้ง วิเคราะห์แป้งข้าว 5 พันธุ์ ทั้ง 4 ซ้ำ ซ้ำละครั้ง

6. ทดลองผลิตมอลโทเดกซ์ทรินจากแป้งข้าวพันธุ์ต่างๆ

ผลิตมอลโทเดกซ์ทรินโดยใช้เอนไซม์ α-amylase ชนิดทนความร้อนจากบริษัท NOVO คือ Termamyl 120L® นำมาใช้ในการผลิตแบบกะ (Conventional Batch Process) ตามวิธีของ Slott และ Madsen (1975) โดยให้น้ำแป้งความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก pH เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 ปรับ pH โดยใช้ NaOH 0.1 N หรือ HCl 0.1 N ปริมาณเอนไซม์ความเข้มข้นร้อยละ 0.10 โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักน้ำแป้ง ใช้อุณหภูมิในช่วงแรก 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นลดอุณหภูมิเป็น 95 องศาเซลเซียส แปรเวลาที่ใช้ในช่วง 95 องศาเซลเซียสตั้งแต่ 10 นาทีขึ้นไป จนกว่าจะผลิตมอลโทเดกซ์ทรินที่มีค่า DE อยู่ในช่วง 15–20 หลังการย่อยและให้ความร้อนใน autoclave นำผลิตภัณฑ์ออกมายับยั้งแอคติวิตี้ของเอนไซม์โดยการปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 2-3 และให้ความร้อนในอ่างน้ำเดือด เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทำให้เย็นอย่างรวดเร็วโดยนำไปแช่ใน

อ่างน้ำผสมน้ำแข็งเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำออกมาตั้งไว้ให้ผลิตภัณฑ์มีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้อง แล้วปรับ pH ให้เป็น 5.5 จากนั้นนำไปปั่นในเครื่องเหวี่ยงแยกด้วยแรงเหวี่ยง 7600 x g เป็นเวลา 30 นาที นำมากรองผ่านบุคเนอร์เพื่อแยกส่วนใสและตะกอนออกจากกัน นำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์ค่า residual enzyme activity จากนั้นจึงนำผลิตภัณฑ์ที่เอนไซม์ถูกยับยั้งแอคติวิตี้อย่างสมบูรณ์แล้ว มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมี และกายภาพต่อไป ซึ่งขั้นตอนการผลิตอาจกล่าวโดยสรุปได้ดังรูปที่ 3.4



รูปที่ 3.4 ขั้นตอนการผลิตมอลโทเดกซ์ทรินที่ใช้ในงานวิจัยนี้ (ดัดแปลงจาก Slott and Madsen, 1975)

7. **วิเคราะห์สมบัติของมอลโทเดกซ์ทรินที่ผลิตจากแป้งข้าว** ดังนี้คือ

7.1 วิเคราะห์ % liquefied starch ที่ผลิตได้ ณ เวลาต่างๆ

วิเคราะห์ % liquefied starch ตามวิธีของ Brook และ Griffin (1987a) ค่านี้เป็นอัตราส่วนระหว่างปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่มีในมอลโทเดกซ์ทรินกับปริมาณสตาร์ชที่มีในวัตถุดิบซึ่งก็คือแป้งข้าว โดยให้แป้งข้าวมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตอยู่ร้อยละ 100 การวิเคราะห์ค่านี้ประกอบด้วย

7.1.1 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่มีในมอลโทเดกซ์ทริน โดยใช้วิธี Anthrone-H_2SO_4 method (แสดงดังภาคผนวก จ)

7.1.2 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในแป้ง ในที่นี้จะใช้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตของแป้งข้าวแต่ละพันธุ์ ซึ่งได้จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี proximate analysis ในการทดลองส่วนที่ 1 (แสดงดังภาคผนวก ค)

7.1.3 คำนวณค่า % liquefied starch (แสดงดังภาคผนวก จ)

$$\% \text{ liquefied starch} = \frac{\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในมอลโทเดกซ์ทริน} \times 100}{\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในแป้งตัวอย่าง}}$$

7.2 คำนวณค่า DE ของมอลโทเดกซ์ทรินที่ผลิตได้ ณ เวลาต่างๆ โดย

7.2.1 วิเคราะห์ปริมาณ reducing sugar โดยวิธีของ Lane & Eynon (แสดงดังภาคผนวก จ)

7.2.2 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด โดยวิธีอบแห้งโดยใช้ทราย ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC 925.45 (1995) (แสดงดังภาคผนวก จ)

7.2.3 คำนวณค่า DE โดยใช้สูตร (แสดงดังภาคผนวก จ)

$$\text{ค่าสมมูลเดกซ์โทรส} = \frac{\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เป็นร้อยละ} \times 100}{\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมดเป็นร้อยละ}}$$

7.3 ศึกษาลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ที่ได้

สังเกตลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์มอลโทเดกซ์ทรินที่ได้จากแป้งข้าวทั้ง 5 พันธุ์ พร้อมทั้งวัดค่าสี (L, a และ b) โดยใช้เครื่องวัดสี Minolta รุ่น CT310

7.4 วิเคราะห์องค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตมวลโมเลกุลต่ำ (DP 1 - 7) ในเชิงคุณภาพ (qualitative method) โดยใช้วิธีเปเปอร์โครมาโตกราฟฟี (paper chromatography) แสดงดังภาคผนวก จ

7.4.1 เลือก Solvent ที่จะใช้ในระบบ ในที่นี้ใช้ Solvent ทั้งหมด 4 ระบบ โดย

ระบบที่หนึ่ง คือ n-butanol: pyridine : H_2O ในอัตราส่วน 9: 5: 4 โดยปริมาตร (Zweig and Whitaker, 1971)

ระบบที่สอง คือ isopropanol: pyridine: H_2O ในอัตราส่วน 7: 2: 2 โดยปริมาตร (Zweig and Whitaker, 1971)

ระบบที่สาม คือ isoamyl alcohol: pyridine: H_2O ในอัตราส่วน 7: 7: 6 โดยปริมาตร (Zweig and Whitaker, 1971)

ระบบที่สี่ คือ ethyl acetate: n-butanol: acetic acid : H_2O ในอัตราส่วน 6: 8: 5: 8 โดยปริมาตร (Zweig and Whitaker, 1971)

7.4.2 เตรียม solvent ทั้ง 4 ระบบ ใส่ไว้ใน chromatographic tank โดยให้ระดับของ solvent ในโถแก้วแต่ละโถสูงประมาณ 1.5 เซนติเมตร ทิ้งให้อิ่มตัวในโถเป็นเวลา 1 คืน

7.4.3 หาสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบ โดยนำคาร์โบไฮเดรตมวลโมเลกุลต่ำ (DP 1-7) มาหาค่า R_f มาตรฐานของคาร์โบไฮเดรตมวลโมเลกุลต่ำแต่ละตัว ใน solvent ทั้ง 4 ระบบ เทียบกับค่า R_f มาตรฐานของสารละลายผสมของคาร์โบไฮเดรตมวลโมเลกุลต่ำ DP 1-7

7.4.4 เมื่อทราบสภาวะที่แน่นอนแล้ว จึงนำตัวอย่างมอลโทเดกซ์ทรินที่มีค่า DE ในช่วง 15-20 ของแป้งข้าวทุกพันธุ์ มาตรวจสอบว่าในมอลโทเดกซ์ทรินที่มีค่า DE 15-20 มีคาร์โบไฮเดรตมวลโมเลกุลต่ำ DP 1-7 หรือไม่ โดยเปรียบเทียบค่า R_f ของตัวอย่างที่ได้กับค่า R_f มาตรฐาน

7.5 วิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำตาลโมเลกุลต่ำ (DP 1-7) ในเชิงปริมาณ (quantitative method) โดยใช้เทคนิค HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

ใช้เครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) จากศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คอลัมน์ที่ใช้ คือ Zorbax-NH_2 ขนาด 4.6 mm x 25 cm

detector เป็นชนิด RI หรือ Refractive Index Detector

recorder รุ่น Shimadzu C-R1A

ปริมาณฉีดเท่ากับ 5 μl

flow rate เท่ากับ 1.8 ml/min

mobile phase ที่ใช้คือ Acetonitrile ในน้ำความเข้มข้นร้อยละ 62 โดยปริมาตร

น้ำที่ใช้ในการเตรียม solvent และที่ใช้ในการทดลองนี้ทั้งหมดต้องเป็น ultrapure water

7.5.1 เตรียมกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นสารละลายคาร์โบไฮเดรตมาตรฐาน DP 1-7 ที่ความเข้มข้นต่างๆ กับพื้นที่ใต้กราฟ (แสดงดังภาคผนวก ค.)

7.5.2 ฉีดมอลโทเดกซ์ทรินตัวอย่างของแป้งข้าวทั้ง 5 พันธุ์ที่เตรียมในเวลาต่างๆ เป็นปริมาณ 5 μl เพื่อดู profile ของคาร์โบไฮเดรตมวลโมเลกุลต่ำ

8. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ออกแบบการทดลองแบบ Randomized Blocks Designs วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ย (comparison of means) โดยใช้วิธี Fisher's least significant difference (LSD) (Fisher, 1949)

วิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต่างๆ (correlation analysis) โดยวิธีของ Pearson (Pearson, 1936; 1938)