บทที่ 3

วัตถุดิบและวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 สตาร์ชมันฝรั่ง (potato starch) ผลิตโดย SUDSTARKE GMBH (Germany) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทบูรพาผลิตภัณฑ์ จำกัด

3.1.2 สตาร์ชมันสำปะหลัง (tapioca starch) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทไทวา จำกัด (มหาชน)

3.2 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

3.2.1 ปริมาณความชื้นโดยวิธี air oven (AOAC, 1990) รายละเอียดในภาคผนวก ก.1

3.2.2 ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Kjeldahl (AOAC, 1990) รายละเอียดในภาคผนวก ก.2

3.2.3 ปริมาณไขมันโดยวิธี ether extraction (AOAC, 1990) รายละเอียดในภาคผนวก ก.3

3.2.4 ปริมาณเถ้า(AOAC, 1990) รายละเอียดในภาคผนวก ก.4

3.2.5 ความเป็นกรดด่าง (pH) (AOAC, 1990) รายละเอียดในภาคผนวก ก.5

3.2.6 ปริมาณสตาร์ช โดยวิธี polarimetry (AOAC, 1990) รายละเอียดในภาคผนวก ก.6

3.2.7 ปริมาณอมัยโลสและอมัยโลเพกตินโดยวิธี spectrophotometry ตามวิธีที่ดัดแปลงมาจาก Jarvis และ Walker (1993) และ Juliano (1971) รายละเอียดในภาคผนวก ก.7

3.3 การพัฒนาเครื่องมือทางแสงสำหรับวัดอุณหภูมิเจลาติไนเซชันโดยมีพื้นฐานจากเครื่อง Kofler hot stage microscope

3.3.1 วัดอุณหภูมิเจลาติไนเซชันของสตาร์ชตัวอย่างด้วยเครื่อง Kofler hot stage microscope

ทำการทดลองเบื้องต้นวัดอุณหภูมิเจลาติไนเซชันของสตาร์ชมันฝรั่งและสตาร์ชมันสำปะหลังด้วยเครื่อง Kofler hot stage microscope ซึ่งประกอบด้วย Kofler hot stage ของ Olympus รุ่น 40 6608-H40 และกล้องจุลทรรศน์ของ Olympus รุ่น BHT ดังแสดงในภาคผนวก ค.1 เพื่อศึกษาถึงข้อเสียและนำมาใช้ในการปรับปรุงและพัฒนาเครื่องมือที่จะสร้างขึ้นโดยมี

ขั้นตอนการทดลองวัดดังภาพที่ 3.1 ซึ่งทำได้โดยการหยดสารแขวนลอยสตาร์ชลงบนสไลด์ ปิดทับด้วย cover slip ปิดผนึก cover slip ด้วยยาทาเล็บเพื่อป้องกันน้ำระเหยออกไปเมื่อได้รับความร้อน นำสไลด์มาวางบนแท่นให้ความร้อนและส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้แสงโพลาไรซ์ที่ต่อสัญญาณภาพเข้ากับจอโทรทัศน์ ซึ่งจะเห็นเม็ดสตาร์ชที่แสดงลักษณะ birefringence จึงกำหนดเม็ดสตาร์ชที่สนใจประมาณ 30 เม็ด เมื่อเริ่มให้ความร้อนกับเม็ดสตาร์ชที่อยู่บนสไลด์จนถึงอุณหภูมิหนึ่งเม็ดสตาร์ชจะเริ่มพองตัวขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ความเป็นระเบียบของโมเลกุลที่เรียงตัวอยู่ภายในเม็ดสตาร์ชลดลง กำหนดให้อุณหภูมิที่ลักษณะ birefringence ของเม็ดสตาร์ชเริ่มหายไป 2-3 เม็ด เป็นอุณหภูมิเริ่มต้นเจลาติไนเซชันโดยอ่านอุณหภูมิจากเทอร์โมมิเตอร์ที่เสียบอยู่กับแท่นโลหะที่เป็นตัวให้ความร้อนแก่แผ่นสไลด์สตาร์ช ต่อมาเมื่อจำนวนเม็ดสตาร์ชที่มี birefringence หายไปประมาณครึ่งหนึ่งของจำนวนทั้งหมดเป็นอุณหภูมิกึ่งกลางเจลาติไนเซชัน และเมื่อจำนวนเม็ดสตาร์ชที่ยังคงมี birefringence เหลือเพียง 2-3 เม็ดเป็นอุณหภูมิสิ้นสุดเจลาติไนเซชัน

หยดสารแขวนลอยสตาร์ชลงบนแผ่นสไลด์

↓

ปิดทับด้วย cover slip

↓

ปิดรอบ cover slip ด้วยน้ำยาทาเล็บ

↓

วางแผ่นสไลด์ลงบนแท่นให้ความร้อน

↓

ต่อสัญญาณภาพจากกล้องจุลทรรศน์
ที่ใช้แสงโพลาไรซ์เข้าสู่จอโทรทัศน์

↓

เลื่อนแผ่นสไลด์ให้ได้ตำแหน่งที่มีเม็ดสตาร์ชประมาณ 30 เม็ด

↓

ให้ความร้อนแก่สไลด์สารแขวนลอยสตาร์ชด้วยอัตรา 1.5 ^{o}C/นาที

↓

บันทึกอุณหภูมิเริ่มต้น กึ่งกลาง และสิ้นสุดเจลาติไนเซชัน
เมื่อเม็ดสตาร์ชมี birefringence หายไป 2-3 เม็ด หายไปประมาณครึ่งหนึ่งของทั้งหมด
และเหลืออยู่ 2-3 เม็ด ตามลำดับ

ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการวัดอุณหภูมิเจลาติไนเซชันของสตาร์ชด้วยเครื่อง Kofler hot stage microscope

3.3.2 การสร้างและทดสอบเครื่องมือวัดอุณหภูมิเจลาติไนเซชัน

จากการที่เครื่อง Kofler hot stage microscope ใช้หลักการวัดอุณหภูมิเจลาติไนเซชันของสตาร์ชโดยวิธีการนับจำนวนเม็ดสตาร์ชที่สูญเสียลักษณะ birefringence ไปพร้อมกับการอ่านค่าอุณหภูมิจากเทอร์โมมิเตอร์ ทำให้ผลการทดลองที่ได้ขึ้นกับผู้ทดลอง มีความคลาดเคลื่อนและไม่น่าเชื่อถือ (Leszczynski และ Golachowski, 1988) ดังนั้นเครื่องที่สร้างขึ้นนี้จึงได้ปรับปรุงให้ขึ้นกับผู้ทดลองน้อยลงโดยใช้หลักการวัดความเข้มแสงโพลาไรซ์ที่ส่องผ่านสไลด์ของสารแขวนลอยสตาร์ชที่ลดลงเมื่อสตาร์ชเกิดการเจลาติไนซ์เช่นเดียวกับเครื่องของ Leszczynski (1987) อย่างไรก็ตามเครื่องที่ Leszczynski ได้พัฒนาขึ้นยังจำเป็นต้องใช้แหล่งกำเนิดแสงจากกล้องจุลทรรศน์ที่มีขนาดใหญ่และราคาค่อนข้างสูง และใช้ Kofler hot stage ในการให้ความร้อนทางด้านล่างแก่แผ่นสไลด์ของสารแขวนลอยสตาร์ชเท่านั้นจึงมีการสูญเสียความร้อนออกไปได้มาก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาเครื่องมือสำหรับวัดอุณหภูมิเจลาติไนเซชันของสตาร์ชโดยอาศัยหลักการเช่นเดียวกับของ Leszczynski แต่ใช้แหล่งกำเนิดแสงจากอุปกรณ์อิเลกทรอนิกส์ที่มีขนาดเล็กและราคาต่ำกว่ากล้องจุลทรรศน์ นอกจากนี้ยังสร้างอุปกรณ์ให้ความร้อนซึ่งมีตัวให้ความร้อนล้อมรอบแผ่นสไลด์ของสารแขวนลอยสตาร์ชจึงทำให้ร้อนเร็วขึ้นเนื่องจากสูญเสียความร้อนออกไปยังบรรยากาศรอบ ๆ น้อยลง ตัวเครื่องวัดอุณหภูมิเจลาติไนเซชันของสารแขวนลอยสตาร์ชที่สร้างขึ้นแสดงในภาพที่ 3.2 ประกอบด้วยส่วนประกอบที่สำคัญดังนี้

(1) แหล่งกำเนิดแสง ทำจาก light emitting diode (LED) ซึ่งเป็นไดโอดที่เปล่งแสงได้เมื่อมีกระแสไฟฟ้าไหลผ่าน โดยเปล่งแสงออกมาในช่วงแสงสีแดงที่มีความถี่แคบ ๆ

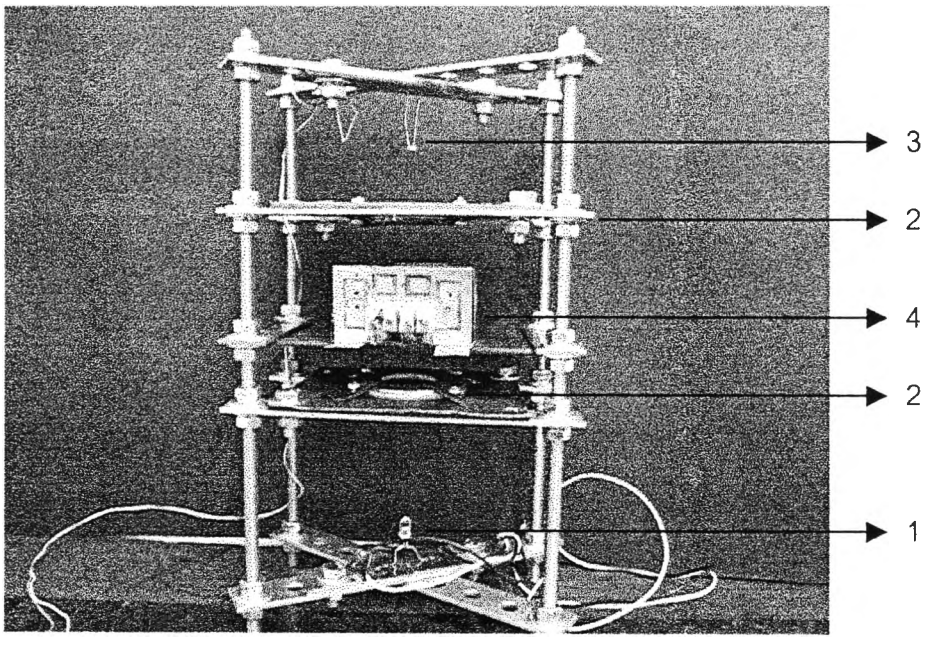
(2) แผ่นโพลารอยด์ 2 แผ่นเพื่อก่อให้เกิดแสงโพลาไรซ์ โดยวางตัวแนวระนาบที่ตั้งฉากกันเพื่อให้แสงผ่านออกมาน้อยที่สุด และเมื่อใส่แผ่นสไลด์ของสารแขวนลอยสตาร์ชเข้าไประหว่างแผ่นโพลารอยด์ทั้งสอง เม็ดสตาร์ชจะแสดงลักษณะ birefringence โดยโมเลกุลของสตาร์ชที่ไม่ได้วางตัวในแนว 0 หรือ 90 องศากับแผ่นโพลารอยด์จะหักเหแสงทำให้มีแสงบางส่วนลอดแผ่นโพลารอยด์แผ่นที่ 2 ออกมาได้ ความเข้มแสงที่ตกกระทบยังตัวรับแสงเริ่มต้นของสตาร์ชดิบจึงมีค่าสูง แต่เมื่อมีการให้ความร้อนแก่สไลด์ของสารแขวนลอยสตาร์ชจนกระทั่งเกิดเจลาติไนเซชันเม็ดสตาร์ชจะสูญเสียลักษณะ birefringence จึงไม่ทำให้เกิดการหักเหแสงอีกต่อไป ความเข้มแสงที่ตกกระทบยังตัวรับแสงจึงมีค่าลดลง

(3) ตัวรับแสงที่ทำจาก light dependent resistor (LDR) ที่ค่าความต้านทานจะแปรผกผันไปตามความเข้มแสงที่ตกกระทบ มีความไวต่อคลื่นแสงในช่วง visible แต่ไวต่อคลื่นในช่วง infrared เล็กน้อย ที่เลือกใช้เนื่องจากอุปกรณ์ให้ความร้อนแก่แผ่นสไลด์ของสารแขวนลอยสตาร์ชอาจสร้างคลื่น infrared จากความร้อนออกมารบกวนการวัดความเข้มแสงที่ตกกระทบตัวรับแสง

(4) อุปกรณ์สำหรับให้ความร้อนแก่แผ่นสไลด์ของสารแขวนลอยสตาร์ช ซึ่งทำจากตัวต้านทาน 8 ตัวต่ออนุกรมกันล้อมรอบแผ่นสไลด์ เมื่อมีกระแสไฟฟ้าไหลผ่านตัวต้านทานจะเกิดความร้อนขึ้น โดยอุปกรณ์ให้ความร้อนจะถูกเจาะรูตรงกลางเพื่อให้แสงลอดผ่านไปได้ดังภาพที่ ค.2

(5) อุปกรณ์สำหรับวัดอุณหภูมิของสารแขวนลอยสตาร์ชที่ทำจากไดโอดติดอยู่ที่ฝาของอุปกรณ์ให้ความร้อน เมื่อใส่แผ่นสไลด์ของสารแขวนลอยสตาร์ชเข้าไปในอุปกรณ์แล้วปิดฝาไดโอดที่ติดอยู่ที่ฝาก็จะสัมผัสกับแผ่นสไลด์พอดี เมื่อได้รับความร้อนความต่างศักย์ของไดโอดจะมีค่าต่ำลงซึ่งจะแปรผกผันกับอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น

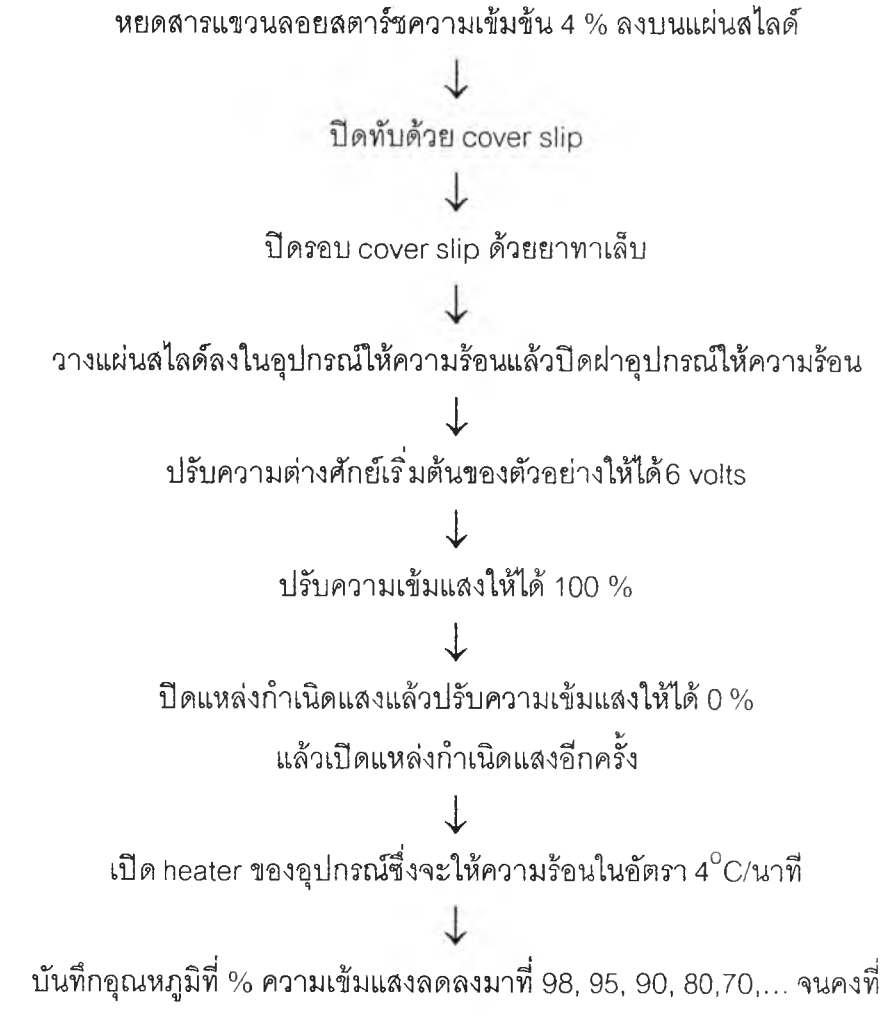
(6) วงจรอิเลกทรอนิกส์สำหรับวัดอุณหภูมิของแผ่นสไลด์ของสารแขวนลอยสตาร์ชและวัดความเข้มแสงที่ตกกระทบตัวรับแสงดังภาพที่ ค.3 โดยมีหลักการทำงานตามภาคผนวก ง



ภาพที่ 3.2 เครื่องวัดอุณหภูมิเจลาติไนเซชันของสตาร์ชที่สร้างขึ้น

หลังจากนั้นนำเครื่องวัดอุณหภูมิเจลาติไนเซชันของสตาร์ชที่สร้างขึ้นมาทดสอบวัดอุณหภูมิเจลาติไนเซชันของสตาร์ชมันฝรั่งและสตาร์ชมันสำปะหลังธรรมชาติโดยทำการทดลองวัด 10 ซ้ำสำหรับสตาร์ชแต่ละชนิดโดยมีขั้นตอนในการวัดดังแสดงในภาพที่ 3.3 ซึ่งทำได้โดยเตรียมสารแขวนลอยสตาร์ชความเข้มข้น 4% โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อให้มีจำนวนเม็ดสตาร์ชมากพอที่จะก่อให้เกิดลักษณะ birefringence และมีแสงลอดผ่านแผ่นสไลด์สารแขวนลอยสตาร์ชมันฝรั่งออกไปยังตัวรับแสงให้ได้ความต่างศักย์ที่เหมาะสมกับเครื่องวัดคือประมาณ 6 volts แต่สตาร์ชมันสำปะหลังซึ่งมีขนาดเม็ดเล็กกว่าและแสดงลักษณะ

birfringence น้อยกว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นเท่ากันจะวัดความเข้มแสงได้ประมาณ 2 volts จึงต้องขยายสัญญาณไฟฟ้าเพิ่มขึ้นเป็น 3 เท่าเพื่อให้วัดความต่างศักย์ได้ 6 volts หลังจากนั้นหยดสารแขวนลอยสตาร์ชลงบนแผ่นสไลด์ ปิดทับด้วย cover slip โดยไม่ให้เกิดฟองอากาศ ปิดรอบ cover slip ด้วยยาทาเล็บเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำขณะให้ความร้อน นำสไลด์มาวางในอุปกรณ์สำหรับให้ความร้อนโดยเลื่อนตำแหน่งแผ่นสไลด์ให้วัดความต่างศักย์ได้ 6 volts พอดี ปิดฝาลงซึ่งบริเวณฝาอุปกรณ์ให้ความร้อนจะมีไดโอดสำหรับวัดอุณหภูมิของแผ่นสไลด์ติดอยู่ ทำการปรับที่วงจรวัดความเข้มแสงให้ได้ความเข้มแสง 100% หลังจากนั้นบังแหล่งกำเนิดแสงด้วยกระดาษสีดำแล้วปรับให้ได้ความเข้มแสง 0% แล้วเปิดแหล่งกำเนิดแสงอีกครั้ง เปิด heater ของอุปกรณ์ให้ความร้อนที่มีอัตราการเพิ่มอุณหภูมิประมาณ 4 ^{o}C/นาที ความเข้มแสงที่ส่องผ่านแผ่นสไลด์ของสารแขวนลอยสตาร์ชจะเริ่มลดลงเมื่อถึงอุณหภูมิเจลาติไนเซชันของสตาร์ช บันทึกอุณหภูมิที่% ความเข้มแสงลดลงมาที่ 98, 95, 90, 80, 70 ,.... จนความเข้มแสงที่วัดได้ลดลงจนคงที่



ภาพที่ 3.3 ขั้นตอนการวัดอุณหภูมิเจลาติไนเซชันด้วยเครื่องมือที่สร้างขึ้น

3.4 ศึกษาผลของระยะเวลาในการโม่ด้วย ball mill ต่อสมบัติในด้านต่าง ๆ ของสตาร์ชมันฝรั่งและสตาร์ชมันสำปะหลัง

นำสตาร์ชมันฝรั่งและสตาร์ชมันสำปะหลังมาชั่งให้ได้น้ำหนักแน่นอน 100.00 g แล้วเทสตาร์ชใส่ลงในหม้อบดที่ทำจากเซรามิกส์ที่มีความจุ 1 kg โดยภายในหม้อบดได้บรรจุลูกบอลล์เซรามิกส์ขนาดต่างกัน 3 ขนาดคือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5, 2 และ 3 cm อย่างละ 12 ลูก ซึ่งการใช้ลูกบอลล์ขนาดที่แตกต่างกันจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการโม่ หลังจากนั้นปิดฝาหม้อให้สนิทแล้วนำไปวางบนรางสำหรับโม่สตาร์ชที่หมุนด้วยความเร็วรอบ 138 รอบ/นาที แปรระยะเวลาในการโม่เป็น 5 ระดับคือ 0, 3, 6, 9 และ 12 ชม. โดยสตาร์ชแต่ละชนิดและแต่ละระดับเวลาของการโม่ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Completely randomize design และวิเคราะห์สถิติโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS for windows version 8.0 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (Cochran และ Cox, 1985) กระบวนการโม่สตาร์ชด้วย ball mill แสดงดังภาพที่ 3.4 ส่วนภาพของหม้อบด ลูกบอลล์ และรางโม่แสดงในภาคผนวก ค.4 และ ค.5 ตามลำดับ

สตาร์ช 100.00 g

↓

ใส่ลงในหม้อบดความจุ 1 kg ที่บรรจุลูกบอลล์

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5, 2 และ 3 cm อย่างละ12 ลูก

↓

ปิดฝาหม้อบดให้สนิท

↓

นำไปวางบนรางสำหรับโม่สตาร์ชที่หมุนด้วยความเร็วรอบ

138 รอบ/นาที แปรระยะเวลาในการโม่เป็น 0, 3, 6, 9 และ 12 ชม.

↓

เก็บตัวอย่างสตาร์ชที่โม่ได้ใส่ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ที่ปิดสนิท

ภาพที่ 3.4 กระบวนการโม่สตาร์ชด้วย ball mill

นำสตาร์ชมันฝรั่งและสตาร์ชมันสำปะหลังที่โม่ได้จาก ball mill ที่ระยะเวลาต่าง ๆ มาศึกษาสมบัติต่าง ๆ ดังนี้

3.4.1 ส่องดูพื้นผิวของเม็ดสตาร์ชด้วยเครื่อง Scanning electron microscope (SEM) รายละเอียดในภาคผนวก ก.8

3.4.2 ส่องดูเม็ดสตาร์ชและลักษณะ birefringence ด้วยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงธรรมดาและแสงโพลาไรซ์ ตามวิธีของ MacMaster (1964) รายละเอียดในภาคผนวก ก.9

3.4.3 ศึกษาโครงสร้างผลึก (crystalline structure) ของสตาร์ชโดยใช้ X-ray diffractometer และวิเคราะห์ pattern ตามวิธีของ Zobel (1964) รายละเอียดในภาคผนวก ก.10

3.4.4 วัดร้อยละของเม็ดสตาร์ชที่เสียหาย (%starch damage) โดยใช้ชุด starch damage kit จาก บริษัท Megazyme ตามวิธี AACC 76-31 (1995) รายละเอียดในภาคผนวก ก.11

3.4.5 วัดค่าการดูดซับน้ำที่อุณหภูมิห้อง ดัดแปลงจากวิธีของ Bencini (1986) รายละเอียดในภาคผนวก ก.12

3.4.6 วัดค่ากำลังการพองตัว (swelling power) และร้อยละการละลาย (%solubility) ดัดแปลงจากวิธีของ Leach และคณะ (1959) รายละเอียดในภาคผนวก ก.13

3.4.7 วัดสมบัติทางด้านความหนืดด้วยเครื่อง Brabender viscograph ตามวิธีของ Thiewes และ Steeneken (1997) รายละเอียดในภาคผนวก ก.14

3.4.8 วัดสมบัติทางด้านความหนืดด้วยเครื่อง Rapid visco analyser (RVA) ตามวิธีของ Thiewes และ Steeneken (1997) รายละเอียดในภาคผนวก ก.15

3.4.9 วัดสมบัติทางความร้อนด้วยเครื่อง Differential scanning calorimeter (DSC) ดัดแปลงจากวิธีของ Kim และคณะ (1995) รายละเอียดในภาคผนวก ก.16

3.4.10 วัดอุณหภูมิเจลาติไนเซชันด้วยเครื่องมือที่สร้างขึ้นรายละเอียดดังภาพที่ 3.3

3.5 เปรียบเทียบและหาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิเจลาติไนเซชันที่วัดด้วยเครื่องต่างๆ

นำค่าอุณหภูมิเจลาติไนเซชันของสตาร์ชมันฝรั่งและสตาร์ชมันสำปะหลังที่ผ่านการโม่ด้วย ball mill ที่ระยะเวลาต่าง ๆ จากตอนที่ 3.4 ที่วัดได้จากเครื่อง Brabender viscograph, RVA, DSC และ เครื่องที่สร้างขึ้น มาเปรียบเทียบและหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ระหว่างอุณหภูมิเจลาติไนเซชันที่วัดได้จากเครื่องมือแต่ละชนิด อย่างไรก็ตามอุณหภูมิเจลาติไนเซชันของสตาร์ชมันฝรั่งและสตาร์ชมันสำปะหลังที่วัดได้จากเครื่องมือที่สร้างขึ้นยังมีข้อด้อยคือสตาร์ชทั้งสองชนิด

ใช้กำลังขยายทางไฟฟ้าไม่เท่ากันคือสตาร์ชมันฝรั่งไม่จำเป็นต้องขยายเนื่องจากมีขนาดเม็ดใหญ่ จึงแสดงลักษณะ birefringence ชัดเจนและวัดค่าความต่างศักย์จากความเข้มแสงที่ส่องผ่านสไลด์ของสารแขวนลอยสตาร์ชมันฝรั่งได้สูงประมาณ 6 volts ในขณะที่เม็ดสตาร์ชมันสำปะหลังมีขนาดเล็กกว่าและแสดงลักษณะ birefringence ไม่ชัดเจนเท่าสตาร์ชมันฝรั่ง วัดค่าความเข้มแสงที่ส่องผ่านสไลด์ของสารแขวนลอยสตาร์ชมันสำปะหลังได้ประมาณ 2 volts จึงต้องขยายสัญญาณทางไฟฟ้าขึ้น 3 เท่าเพื่อให้วัดได้ 6 volts ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมกับการใช้งานของเครื่องนี้