สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานฉบับสมบูรณ์

สภาวะที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดแมนแนนจากกากมะพร้าวที่ผ่านกระบวนการแปรรูป

Optimization contion improve efficiency of mannan from processing by-product of copra meal

ดร. สุรชัย ใหญ่เย็น

รศ. ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม

T137649

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH
ส847ส
2557

12695336

สัจพมู.....
เลขทะเบียน 137649
รับเดือน/ปี 13 ก.ค. 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลือและสนับสนุนจาก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่สนับสนุนเงินทุนวิจัยในการศึกษาครั้งนี้

ขอพระขอบคุณ รศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโร ดม และดร.ธงชัย พุฒทองศิริ ที่ค่อยช่วยเหลือและให้คำแนะนำต่างๆมาโดยตลอด

ขอขอบคุณบริษัทเทพผดุงพรมะพร้าวจำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างสำหรับงานวิจัย

ขอขอบคุณ คุณนิพัทธา ชาติสุวรรณ นักศึกษาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต และ นายมหัทธน ทวีฤกษ์ขวัญ นักศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ค่อยดูแลช่วยเหลือ

รายฉบับนี้อาจมีประโยชน์สำหรับเป็นพื้นฐานในงานวิจัยที่ต้องอาศัยการทำนายในการสกัดสารต่างๆ สุดท้ายข้อผิดพลาดประการใด ข้าพเจ้าก็ขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย ซึ่งข้าพเจ้าพร้อม น้อมรับคำแนะนำ เพื่อนำมาใช้แก้ไขปรับปรุงในการพัฒนางานวิจัยต่อไปในอนาคต และข้าพเจ้าหวังว่าปัญหาพิเศษฉบับนี้อาจจะมีประโยชน์ไม่มากก็น้อยต่อผู้ที่สนใจศึกษาต่อไป

ผู้จัดทำ
สุรชัย ใหญ่เย็น
2 มิถุนายน 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) สภาวะที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดแมนแนนจากกากมะพร้าวที่ผ่านกระบวนการแปรรูป

(ภาษาอังกฤษ) Optimum condition for improved efficiency of mannan extraction from by processing by-product of copra meal

แหล่งเงิน งบประมาณเงินรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร

ประจำปีงบประมาณ 2556 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 60,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2556 ถึง กันยายน 2557

หัวหน้าโครงการวิจัย ดร. สุรชัย ใหญ่เย็น

ผู้ร่วมวิจัย รศ. ดร. ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม

บทคัดย่อ

กากมะพร้าวเป็นวัสดุเหลือทิ้งในอุตสาหกรรมอาหาร มีการนำกากมะพร้าวไปผสมในอาหารสัตว์ ในปัจจุบันพบว่าในกากมะพร้าวมีแมนแนน ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารให้ความข้นหนืดและสารพรีไบโอติกเป็นการเพิ่มคุณค่าของกากมะพร้าวให้สูงขึ้น ในงานวิจัยนี้จึงมีการอ อกแบบการทดลองเพื่อหาสภาวะในการสกัดแมนแนนจากกากมะพร้าว โดยมีตัวแปรอิสระ 3 ตัว คือ ปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ เวลาและ พีเอชในการสกัดแมนแนนจากกากมะพร้าว โดยทำการศึกษาสภาวะสกัดที่ 3 ระดับ คือ ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ 15 20 และ 25 % ที่เวลา 18 24 และ 30 ชั่วโมง และ พีเอช 4 5 และ 6 โดยใช้เทคนิค Response surface methodology (RSM) วางแผนการทดลองแบบ central composite design สามารถสรุปได้ว่าที่สภาวะความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่ากับ 15 % เวลา 18 ชั่วโมง pH 6 จะให้ค่าน้ำหนักแมนแนนที่ได้สูงที่ จากสภาวะของควา มเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ เวลา และ พีเอช พบว่าได้ degree of polymerization (DP) สูงสุด 117 DP ที่ 25% (w/v) โซเดียมดรอกไซด์ พีเอช 6.0 เวลา 18 ชั่วโมง จากการทำโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (TLC) พบว่าแมนแนนที่สกัดได้เมื่อผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสจาก *Aspergillus niger* พบว่าได้แถบของ ออลิโกแมนแนนทั้งหมด 6 แถบ และประกอบด้วยน้ำตาลออลิโกแซคคาร์ไรด์ 3 แบบ คือ แมนโนส แมนโนไบโอส และ แมนโนไตรโอส

คำสำคัญ : กากมะพร้าว ,แมนแนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Researcher Title **Optimum condition for improved efficiency of mannan extraction from by processing by-product of copra meal**

Researcher **Surachai Yaiyen, Agro-Industry, KMITL**

Prapan Pinsirodom, Agro-Industry, KMITL

Abstract

Copra meal is the residual cake from food industrial which is usually employed as an ingredient in animal feed. Copra meal composes of mannose and galactose to form galactomannan. The galactomannan is used as thickening agent and prebiotic. In this study, optimization of process parameters for extraction of galactomannan from copra meal was investigated by the use of response surface methodology (RSM). Three parameters namely sodium hydroxide concentration, time and pH were chosen as point of extraction. The experimental data of copra meal mannan concentration and degree polymerization of mannan were used for regression analysis. The optimum process conditions were determined by analyzing response surface three-dimensional surface plot and contour plot and by solving the regression model equation with Design Expert software. Central composite design was used to optimize their interactions. The results showed that an extraction condition by 15% (w/v) NaOH at 18 hour pH 6.0 were the best conditions for mannan extraction, whereas 25% (w/v) NaOH at 18 hour pH 6.0 as the best extraction condition for high level of degree polymerization of copra meal mannan. Hydrolysis with mannanase from *Aspergillus niger* found that mannan extracted from copra meal composed of mannose, manobiose and mannotriose.

Keyword : Copra meal ,Mannan

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 แมนแนน Mannan	4
2.2 กาแลคโตแมนแนน (Galactomannan)	4
2.3 โครงสร้างทางเคมี	6
2.4 คุณสมบัติทางกายภาพ	7
2.5 การนำไปประยุกต์ใช้	8
2.6 การวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology)	9
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	11
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
3.1 วัตถุดิบ	13
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	13
3.3 สารเคมี	13
3.4 สถานที่ทำการทดลอง	13
3.5 วิธีการดำเนินการทดลอง	14
3.5.1 การเตรียมตัวอย่างมะพร้าว	14
3.5.2 การสกัดโพลีแซคคาร์ไรด์	14
3.6 วิธีวิเคราะห์ง	
3.6.1 การวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ผลผลิตโดยน้ำหนักของแมนแนนที่ได้	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง (ต่อ)	
3.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์	15
3.6.3 การวิเคราะห์ขนาดของแมนแนน	15
3.6.4 การวิเคราะห์พื้นที่ผิวตอบสนอง (Response Surface Method)	15
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
4.1ผลการศึกษาน้ำหนักแมนแนนจากกากมะพร้าวอบแห้งที่ผ่านการสกัดไขมัน	17
บทที่ 5 สรุปวิจารณ์ผลการทดลอง	
สรุปวิจารณ์ผลการทดลอง	36
บทที่ 6 ผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย	
ผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย	38
ภาคผนวก	39
ประวัติผู้เขียน	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

เรื่อง	หน้า
รูปที่ 2.1 โครงสร้างของกาแลคโตแมนแนนในโลคัสบีนกัม (ก) และกัวร์กัม (ข)	6
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของกาแลคโตแมนแนน	7
รูปที่ 2.3 โครงสร้างของกาแลคโตแมนแนน	8
รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะกากมะพร้าอบแห้งหลังการสกัดไขมันออก	19
รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะแมนแนนจากกากมะพร้าวหลังการอบแห้งและลดขนาด	19
รูปที่ 4.3 ปริมาณของแมนแนนจากกากมะพร้าวที่สกัดด้วย 15% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18 24 และ 30 ชั่วโมง	20
รูปที่ 4.4 ปริมาณของแมนแนนจากกากมะพร้าวที่สกัดด้วย 20% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18 24 และ 30 ชั่วโมง	21
รูปที่ 4.5 ปริมาณของแมนแนนจากกากมะพร้าวที่สกัดด้วย 25% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18 24 และ 30 ชั่วโมง	22
รูปที่ 4.6 กราฟแสดงพื้นผิวตอบสนองของน้ำหนักแมนแนนจากกากมะพร้าวระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์กับเวลาที่ใช้ในการสกัดแมนแนน	23
รูปที่ 4.7 กราฟแสดงพื้นผิวตอบสนองของน้ำหนักแมนแนนจากกากมะพร้าวระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์กับพีเอชที่ใช้ในการสกัดแมนแนน	24
รูปที่ 4.8 กราฟแสดงพื้นผิวตอบสนองของน้ำหนักแมนแนนจากกากมะพร้าวระหว่างความเวลาที่ใช้สกัดกับพีเอชที่ใช้ในการสกัดแมนแนน	25
รูปที่ 4.9 ขนาดของ Degree polymerization (DP) ของแมนแนนจากกากมะพร้าวที่สกัดด้วย 15% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18, 24 และ 30 ชั่วโมง	28
รูปที่ 4.10 ขนาดของ Degree polymerization (DP) ของแมนแนนจากกากมะพร้าวที่สกัดด้วย 20% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18 24 และ 30 ชั่วโมง	29
รูปที่ 4.11 ขนาดของ Degree polymerization (DP) ของแมนแนนจากกากมะพร้าวที่สกัดด้วย 25% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18, 24 และ 30 ชั่วโมง	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
รูปที่ 4.12 กราฟแสดงพื้นผิวตอบสนองของ degree polymerization ของ แมนแนนจากกากมะพร้าวระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์กับเวลาที่ใช้ในการสกัดแมนแนน	31
รูปที่ 4.13 กราฟแสดงพื้นผิวตอบสนองของ degree polymerization ของแมนแนนจากกากมะพร้าวระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์กับพีเอชที่ใช้ในการสกัดแมนแนน	32
รูปที่ 4.14 กราฟแสดงพื้นผิวตอบสนองของ degree polymerization ของแมนแนจากกากมะพร้าวระหว่างเวลาที่ใช้กับพีเอชที่ใช้ในการสกัดแมนแนน	33
รูปที่ 4.15 แสดงโครมาโตแกรมของแมนแนนจากกากมะพร้าวบนโคโมโตกราฟฟีแบบแผ่นบาง	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

เรื่อง	หน้า
ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของกากมะพร้าว	3
ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของกาแลคโตแมนแนนทางการค้าที่ได้จากเมล็ดพืชตระกูลถั่ว	5
ตารางที่ 3 ลักษณะความหนืดของสารละลายกาแลคโตแมนแนนทางการค้าที่สภาวะต่างๆ	9
ตารางที่ 4 ตัวแปรอิสระที่ศึกษามีผลกระทบต่อปริมาณและขนาดของแมนแนน (dependent variable)	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กากมะพร้าว (Copra meal) เป็นวัสดุเศษเหลือจากอุตสาหกรรมอาหาร เช่น โรงงานผลิตกะทิ และกระบวนผลิตน้ำมันมะพร้าว ซึ่งมีปริมาณของแมนแนนสูง ถึงประมาณ 61 เปอเซ็นต์ (Saittagaroon และคณะ ,1983) ซึ่งแมนแนนนั้นสามารถที่ใช้เตรียมเป็นน้ำตาลออลิโกแซคคาไรด์ คือ แมนโนออลิโกแซคคาไรด์ หรือออลิโกแมนแนน โดยน้ำตาลชนิดนี้มีสมบัติ ความเป็นพรีไบติก คือสามารถกระตุ้นหรือเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ และเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน เพิ่มความต้านทานเชื้อก่อโรค และลดความเสี่ยงการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ เป็นต้น ดังนั้น จึงมีการนำแมนโนออลิโกแซคคาไรด์ มาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพทั้งมนุษย์และสัตว์

ในประเทศกลุ่มอาเซียนมีการใช้ประโยชน์จากมะพร้าวมะพร้าวในปริมาณที่มาก ทั้งด้านบริโภค ทั้งในรูปแบบ มะพร้าวผล น้ำมันมะพร้าว มะพร้าวแห้ง และผลิตภัณฑ์กะทิที่หลายคนเริ่มสนใจมากขึ้น และในปัจจุบันมีการนำกะทิไปใช้แทนนมเป็นอาหารเช้า หรือใช้เป็นส่วนผสมในการทำเครื่องดื่มและผลิตภัณฑ์ต่างๆ มากขึ้น นอกจากการทำเครื่องแกงหรือปรุงอาหารทั่วไป จึงทำให้มีการใช้มะพร้าวในอุตสาหกรรมกะทิสำเร็จรูปปริมาณมากถึง 800,000 ลูก/วัน ทำให้มีจำนวนกากมะพร้าวเหลือจากกระบวนการคั้นกะทิปริมาณมาก และได้มีการเพิ่มมู ลค่าของกากมะพร้าวที่ผ่านการคั้นกะทิแล้วโดยการนำกากมะพร้าวที่ได้จากการคั้นกะทิแล้วนั้นมาสกัดน้ำมันมะพร้าวออกและกากที่เหลือใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ต่อไป ซึ่งในส่วนของกากมะพร้าว (Copra meal) นั้นพบว่ามีปริมาณน้ำตาลแมนแนนสูงประมาณ 61% (Saittagaroon และคณะ ,1983)

ในการสกัดให้ได้ปริมาณน้ำตาลแมนแนนให้ได้ในปริมาณมากนั้นจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำละลาย, ระยะเวลา, อุณหภูมิ ตลอดจนวิธีการสกัด ซึ่งจะใช้เทคนิคพื้นผิวการตอบสนอง (Response surface method) มาประยุกต์ใช้ในการออกแบบสภาวะใน การสกัดและการกำหนดปริมาณความเข้มข้นของตัวทำละลาย และระยะเวลาในการสกัดให้เหมาะสมเพื่อช่วยลดต้นทุนและระยะเวลาในการผลิต และสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการขยายกำลังการผลิตต่อไปในระดับอุตสาหกรรม

ดังนั้นในการวิจัยนี้เป็นการนำกากมะพร้าวที่ผ่านการคั้นกะทิแล้ว ซึ่ง เป็นวัสดุเหลือใช้ทางอุตสาหกรรมเพื่อนำมาเพิ่มมูลค่า ด้วยการศึกษาสภาวะในการสกัดน้ำตาลแมนแนนที่เหมาะสมและได้ปริมาณสูงสุด และประยุกต์ใช้เพื่อเป็นการเสริมผลิตภัณฑ์อาหารและเกิดประโยชน์อย่างคุ้มค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาสมในการสกัดแมนแนนจากกากมะพร้าวที่ผ่านการคั้นกะทิและผ่านกระบวนการสกัดน้ำมันออกแล้ว

1.2.2 ศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของแมนแนนที่ได้จากกากมะพร้าว

1.3 ขอบเขตการวิจัย

โครงการนี้มุ่งเน้นการวิจัยเพื่อหาวิธีการและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแมนแนนจากกากมะพร้าวที่ผ่านกระบวนการแปรรูปแล้ว โดยมีปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ความเข้มข้นของตัวทำละลาย ระยะเวลาในการสกัดระหว่าง 15-45 นาที และ อุณหภูมิในการสกัด โดยการเป็นการวางแผนการทดลองแบบ Box-Behnken design (3 ระดับ) แล้วนำแมนแนนที่ได้มาศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และสมบัติทางเคมี กายภาพบางประการ จากนั้นหาแบบจำลองสำหรับอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษา และค่าการตอบสนองเพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแมนแนนจากกากมะพร้าว

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดแมนแนนจากกากมะพร้าวที่ผ่านการคั้นกะทิแ ละผ่านกระบวนการสกัดน้ำมันออก และทราบถึงคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี ของแมนแนนที่สามารถสกัดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปัจจุบันการใช้ผลผลิตของต้นมะพร้าวได้รับการแพร่หลายมากกว่าพืชชนิดอื่นซึ่งต้นมะพร้าวนั้นจะเริ่มให้ผลผลิตเป็นลูกมะพร้าวเมื่อปลูกเป็นระยะเวลานาน 5-6 ปี และจะให้ผลผลิตดีขึ้นเมื่อปลูกนานกว่า 7-9 ปี และจะให้ผลผลิตสูงที่สุดในช่วงการปลูก 12-13 ปี ผลมะพร้าวที่ครบอายุ 8-10 เดือนนับจากการก่อตัวของดอกเพศเมียเมื่อผนังเซลล์ถูกทำลายลงในรูปแบบของเหลว จนมีการประกอบกันของผนังเซลล์เกิดเป็ นกะทิ ซึ่งเมื่อผลของมะพร้าวมีอายุ 12 เดือน ผลของมะพร้าวจะมีความแข็งเพิ่มขึ้นเมื่อถูกเยื่อหุ้มเซลล์ที่ติดกับเมล็ดเคลือบ ในขณะที่ของเหลวภายในสูญเสียไปแสดงว่าผลของมะพร้าวสุกเต็มที่เหมาะสมสำหรับการเก็บเกี่ยวเพื่อทำกากมะพร้าวหรือมะพร้าวแห้ง ในบางพื้นที่ผลของมะพ ร้าวที่อยู่ในธรรมชาติจะมีความหนาของกากมะพร้าวสีขาวเท่ากับ 10-15 มิลลิเมตร

กากมะพร้าวสามารถเก็บรักษาได้โดยการตากแดด อบแห้งหรือการผสมกันของการตากแดดและอบแห้งโดยการตากแดดต้องใช้เวลา 6-8 วันติดต่อกันในวันที่แสงแดดดี ซึ่งการตากแดดจะทำให้ปริมาณความชื้นของกากมะพร้าวเปียกลดลงจาก 50-55% เป็น 5-6 % หลังจากนั้นกากมะพร้าวแห้งถูกเก็บรักษาไว้ในที่แห้งอากาศถ่ายเทได้สะดวกซึ่งลักษณะที่ดีของกากมะพร้าวแห้งจะต้องมีสีขาว (Khampheng Phothichitto ,2006)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของกากมะพร้าว

องค์ประกอบทางเคมี	เปอร์เซนต์
คาร์โบไฮเดรต	32.8-45.3
โปรตีน	14.3-19.8
ไขมัน	6.0-41.6
ไฟเบอร์	8.9-12.2
ความชื้น	10.0-13.3
เถ้า	1.0-5.7

ที่มา : KHAMPHENG PHOTHICHITTO ,2006

โดยกากมะพร้าวทั่วไปประกอบด้วยกาแลคโตแมนแนน 40-50 % ซึ่งเป็นแหล่งที่มาของแมนแนนในธรรมชาติที่มีความเข้มข้นและความบริสุทธ์สูง และในการเตรียมโอลิโกแมนโนแซคคาร์ไรด์ให้ง่ายและประหยัดมากขึ้นจะใช้เอนไซม์แมนนาเนสเพื่อช่วยในการเตรียมโอลิโกแมนโนสแซกคาร์ไรด์ (Park, GWI-GUN ,1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แมนแนน Mannan

แมนแนนเป็นสารประกอบจำพวกเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ซึ่งพบในส่วนของผนังเซลล์พืช เช่น พืชไม้เนื้ออ่อน (softwoods) โดยพบอยู่ระหว่างชั้นของเซลลูโลส (cellulose) และลิกนิน (lignin) แบ่งแมนแนนจากพืชตามโครงสร้างได้เป็น 2 กลุ่ม (สุภา สกุลศิริรัตน ,2551)

1.1 Heterogeneous backbone

เป็นกลุ่มของแมนแนนที่มีโครงสร้างหลักประกอบด้วยน้ำตาล 2 ชนิด คือ กลูโคส และแมนโนส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า 1,4 เรียกว่า กลูโคแมนแนน (glucomannan) โดยน้ำตาลกลูโคสในโครงสร้างหลักของกลูโคแมนแนน มีการจัดเรียงตัวอย่างกระจัดกระจาย อัตราส่วนโมเลกุลของน้ำตาลแมนโนส:กลูโคสในโครงสร้างหลักอยู่ในช่วง 4:1 ไปจนถึง 1:1 ตัวอย่างของกลูโคแมนแนนที่รู้จักกันเป็นอย่างดี คือ แมนแนนในหัวบุก (konjac glucomannan) ซึ่งแยกได้จากส่วนหัวที่อยู่ใต้ดินของบุก (*Amorphophallus konjac*) โดยแมนแนนในหัวบุกมีอัตราส่วนโมเลกุลของน้ำตาลแมนโนส:กลูโคส เป็น 16:1 และมีอันดับของการเกิดโพลีเมอร์ (Degree of polymerization:DP) มากกว่า 6000

1.2 Homogeneous backbone

เป็นกลุ่มของแมนแนนที่โครงสร้างหลักประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนสชนิดเดียวเชื่อมต่อด้วยพันธะเบต้า 1,4 และส่วนของกิ่งแขนง (branch) เชื่อมน้ำตาลกาแลคโตสกับน้ำตาลแมนโนสด้วยพันธะแอลฟา 1,6 เรียกแมนแนน กลุ่มนี้ว่า กาแลคโตแมนแนน (galactomannan) ซึ่งพบมากในเมล็ดของพืชตระกูลถั่ว กากเมล็ดกาแฟ เนื้อของเมล็ดปาล์ม และกากมะพร้าว เป็นต้น

ในเมล็ดพืชการเชื่อมโยงในระดับต่ำด้วยพันธะแอลฟา 1,6 ด้วยกาแลคโตสบนสายแมนแนนที่มี DP ประมาณ 15 DP จะเรียกว่า แมนแนน I และ DP ประมาณ 80 ขึ้นไป จะเรียกว่า แมนแนน II ซึ่งจะมีลักษณะคล้ายเซลลูโลสทำหน้าที่เป็นเอนโดสเปิร์มเพื่อเพิ่มความแข็งแรงและป้องกันเมล็ด อีกทั้งยังเป็นแหล่งของโพลีแซคคาร์ไรด์ที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ (Willem H. van Zyla ,2010)

กาแลคโตแมนแนน (Galactomannan)

กาแลคโตแมนแนน (Galactomannan) เป็นสารไฮโดร-คอลลอยด์ที่ได้จากธรรมชาติ (Natural Hydrocolloid) มีคุณสมบัติการกระจายตัวได้ในน้ำเย็นทำให้สารละลายที่ได้มีความเข้มข้นและหนืด นอกจากนี้สารดังกล่าวยังไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย หรือก่อมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมมีราคาถูก และสามารถใช้ทดแทนสารโพลีเมอร์ สังเคราะห์ได้เป็นอย่างดี ดังนั้นสารไฮโดรคอลลอยด์ชนิดนี้ จึงเป็นที่นิยมนำมาประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลาย โดยทำหน้าที่เป็นสารเพิ่มความหนืด (Thickener) สารเพิ่มความคงตัว (Stabilizer)สารยึดติด (Binder) ให้กับผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมสี สิ่งทอ ยา และอาหาร เป็นต้น กาแลคโตแมนแนนทางการค้าที่ได้รับความนิยมมากที่สุด คือ กัวร์กัม (Guar Gum) ที่มีปริมาณการบริโภคประมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

70,000 – 80,000 ตันต่อปี ตามมาด้วยโลคัสต์บีนกัม (Locust Bean Gum) ที่ถูกนำมาใช้ประมาณ 12,000 – 14,000 ตันต่อปี

กาแลคโตแมนแนน เป็นสารประเภทโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide) ที่พบได้ในส่วนของเอนโดสเปิรม์ในเมล็ดพืชโดยเฉพาะพืชตระกูลถั่ว (Leguminous Plant) เช่น กัวร์กัมผลิตได้จากเมล็ดพืชของต้นกัวร์ (*Cyamopsis tetragonolobus*) ฟีนูกรีกกัมผลิตได้จากเมล็ดพืชของต้นฟีนูกรีก (*Trigonella foenumgraccum* L.) ทาร่ากัม (Tara Gum) สกัดได้จากเมล็ดพืชของต้นทาร่า (*Caesalpinia spinosa*) และโลคัสต์บีนกัมผลิตได้จากเมล็ดพืชของต้นคารอบ (*Ceretonia siliqua* L.) (ตารางที่ 1) กาแลคโตแมนแนนเหล่านี้เป็นสารไฮโดรคอลลอยด์ทางการค้าที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน

โดยสารกาแลคโตแมนแนนที่สกัดได้จากเมล็ดพื ช (Crude Galactomannan) มักมีโปรตีน ไขมัน เส้นใย (Fiber) และเพนโตซาน (Pentosan) ปะปนอยู่ด้วย ในสัดส่วนที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ถ้าพบปริมาณสารเหล่านี้มาก อาจต้องนำสารกาแลคโตแมนแนนมาผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ หรือขจัดสารดังกล่าวบางส่วนออกไป เพื่อให้ได้สารกาแลคโตแมนแนนที่มีสัดส่วนของสารโพลีแซคคาไรด์ที่สูงขึ้น (Purified Galactomannan) เนื่องจากสารไม่บริสุทธิ์ดังกล่าว ส่งผลให้สมบัติทางกายภาพของสารกาแลคโตแมนแนนด้อยลง (วารสารวิชาการ)

ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของกาแลคโตแมนแนนทางการค้าที่ได้จากเมล็ดพืชตระกูลถั่ว

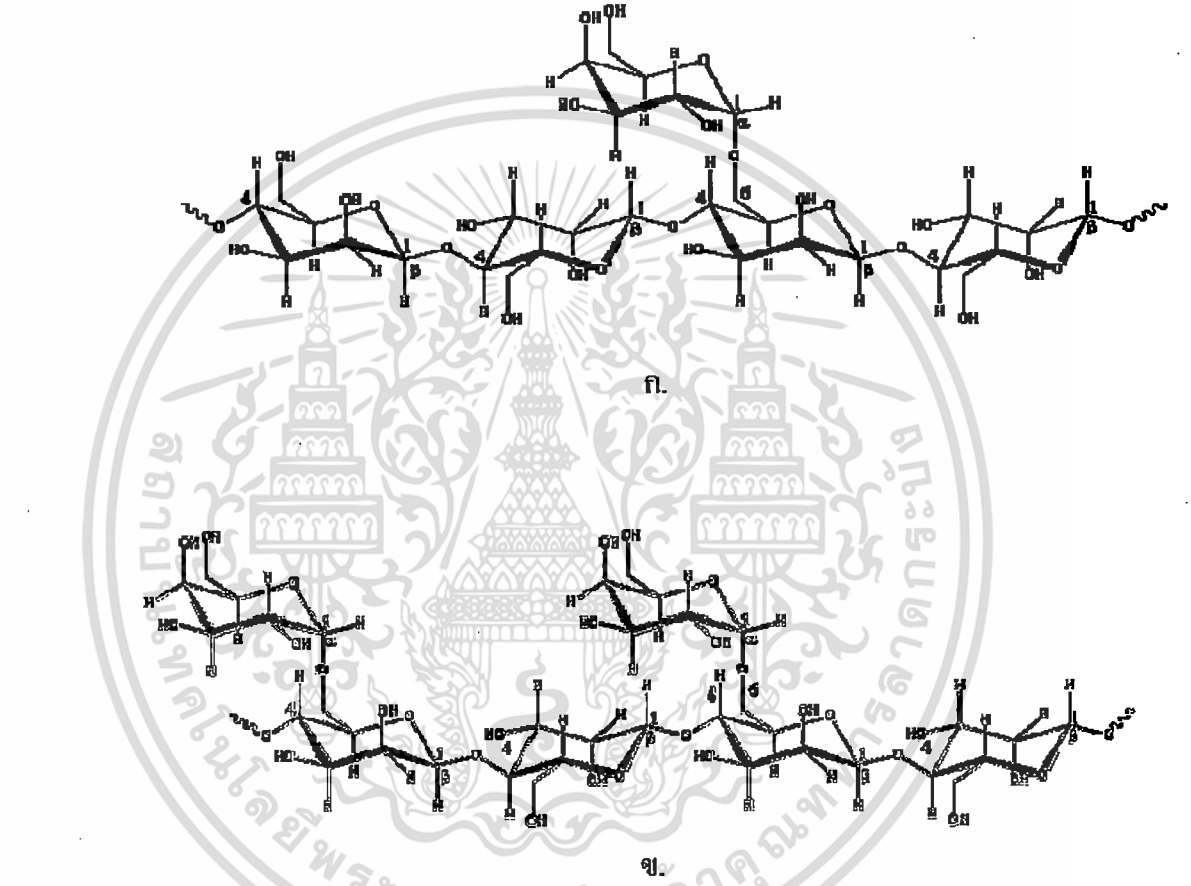
กาแลคโตแมนแนนทางการค้า	**แมนโนสต่อกาแลคโตส**	**ความหนืด (เดซิลิตรต่อกรัม)**	**มวลโมเลกุล** ($M_v^* \times 10^{-6}$)
กัวร์กัม (Guar Gum)	1.70	15.80	2.91
ฟีนูกรีกกัม (Fenugreek Gum)	1.20	15.10	3.23
ทาร่ากัม (Tara Gum)	3.00, 2.95	14.55, 14.96	2.23, 2.31
โลคัสต์บีนกัม (Locust Bean Gum)	3.70, 3.63	14.20, 11.0	2.08, 1.61

* มวลโมเลกุลเฉลี่ยที่คานวณจากค่าความหนืด (Viscosity average molecular mass)

กาแลคโตแมนแนนสามารถพบในโลคัสบีนกัมและกัวร์กัมซึ่งแยกได้จากเมล็ดของ *Ceratonia siliqua* และ *Cyanaposis tetragonolobus* ตามลำดับ กาแลคโตแมนแนนใน โลคัสบีนกัมและกัวร์กัมมีความแตกต่างกันตรงบริเวณที่มีการเชื่อมน้ำตาลกาแลคโตสกับน้ำตาลแมนโนสด้วยพันธะแอลฟา 1,6 โดยกาแลคโตแมนแนนในโลคัสบีนกัมมีอัตราส่วนโมเลกุลของน้ำตาล แมนโนส:กาแลคโตส ประมาณ 5:1 มีน้ำหนักโมเลกุล 310,000 ดาลตัน และจะเกิดพันธะแอลฟา 1,6 ระหว่างน้ำตาลแมนโนส ประมาณ 3-4 โมเลกุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขณะที่กาแลคโตแมนแนนในกัวร์กัมมีอัตราส่วนโมเลกุลของน้ำตาลแมนโนส:กาแลคโตส ประมาณ 2:1 มีน้ำหนักโมเลกุล 220000 ดาลตัน และจะเกิดพันธะ แอลฟา-1,6 ระหว่างน้ำตาลแมนโนส ประมาณ 1-2 โมเลกุล (สุภา สกุลศิริรัตน ,2551)



ก.

ข.

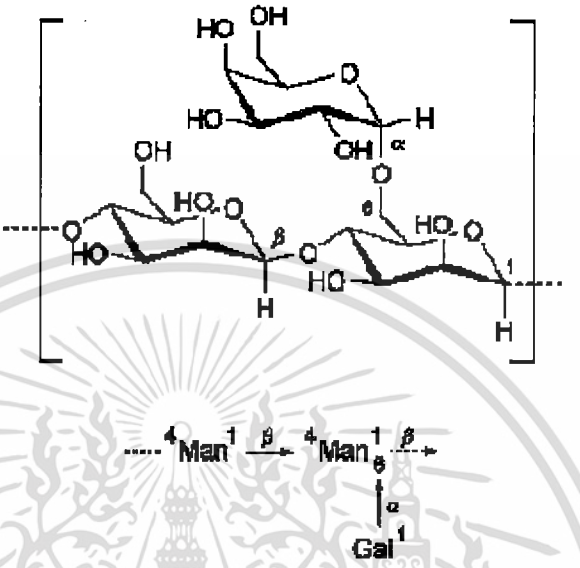
ภาพที่ 1 : โครงสร้างของกาแลคโตแมนแนนในโลคัสบีนกัม (ก) และกัวร์กัม (ข)
ที่มา : สุภา สกุลศิริรัตน (2551)

โครงสร้างทางเคมี

กาแลคโตแมแนน เป็นสารเฮทเทอร์โรโพลีแซค- คาไรด์ (Heteropolysaccharide) ที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวสองชนิด คือ น้ำตาลแมนโนส (Mannose) และน้ำตาลกาแลคโตส (Galactose) โดยโครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยสายหลักของน้ำ ตาลแมนโนสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะชนิดเบต้าที่คาร์บอ นตัวที่ 1 ของน้ำตาลแมนโนสตัวแรกกับคาร์บอนตัวที่ 4 ของน้ำตาลแมนโนสตัวถัดมาในขณะที่น้ำตาลกาแลคโตส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อกับสายหลักของน้ำตาลแมนโนสด้วยพันธะชนิดแอลฟาที่คาร์บอนตัวที่ 1 ของน้ำตาลกาแลคโตสกับคาร์บอนตัวที่ 6 ของน้ำ ตาลแมนโนส [5],[6] ดังแสดงในรูปที่ 1



ภาพที่ 2 : โครงสร้างของกาแลคโตแมนแนน

จากตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่ากาแลคโตแมนแนนที่ได้จากเมล็ดพืชต่างชนิดกัน มีค่าสัดส่วนน้ำตาลแมนโนสต่อน้ำตาลกาแลคโตส (M/G Ratio) ที่แตกต่างกัน เช่น กัวร์กัมมีสัดส่วนน้ำตาลแมนโนสต่อน้ำตาลกาแลคโตส ประมาณ 2:1 ในขณะที่ทาร่ากัมมีสัดส่วนน้ำต าลแมนโนสต่อน้ำตาลกาแลคโตสประมาณ 3:1 (ภาพที่ 2) เป็นต้น

นอกจากนี้ยังพบว่า กาแลคโตแมนแนนที่ได้ จากพืชชนิดเดียวกัน อาจมีสัดส่วนของน้ำตาลแมนโนสต่อน้ำตาลกาแลคโตสที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับแหล่งที่ปลูก สภาพแวดล้อม และวิธีการสกัดสารกาแลคโตแมนแนน

คุณสมบัติทางกายภาพ

การกระจายตัวในน้ำ และความหนืด

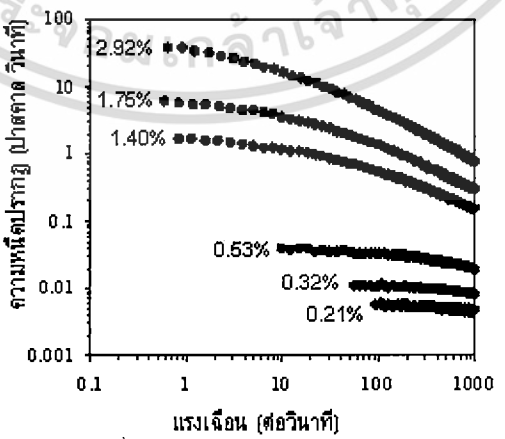
ความสามารถในการกระจายตัวในน้ำของสารกาแลคโตแมนแนนแต่ละชนิดแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสัดส่วนของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งมีความสำคัญอย่างมากในการกำหนดคุณสมบัติทางกายภาพโดยเฉพาะความหนืดของสารละลายกาแลคโตแมนแนนเนื่องจากน้ำตาลโมเลกุล เดี่ยวประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl Group, OH) (ดังแสดงในรูปที่ 2) ที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำหรือเรียกว่าการดูดน้ำ (Hydration) นอกจากนี้ออกซิเจนที่อยู่ในวงแหวนของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและในพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic Bond) ก็สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกั บน้ำได้ดีเช่นกัน เนื่องจากกิ่งของน้ำตาลกาแลคโตสมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนของหมู่ไฮโดรอกซิลมากกว่าที่พบในสายหลักของน้ำตาลแมนโนส ดังนั้นจำนวนของหมู่น้ำตาลกาแลคโตสในสารกาแลคโตแมนแนนจึงส่งผลโดยตรงต่อความสามารถในการละลายน้ำของสารกาแลคโตแมนแนน พบว่าถ้าโครงสร้างทางเคมีของสารกาแลคโตแมนแนน
มีสัดส่วนของกิ่งของน้ำตาลกาแลคโตสมาก ทำให้กาแลค-โตแมนแนนชนิดนั้นสามารถละลายน้ำได้ดี เช่น ฟีนูกรีกกัมมีสัดส่วนน้ำตาลแมนโนสต่อน้ำตาลกาแลคโตสประมาณ 1 (มีสัดส่วนของกิ่งน้ำตาลกาแลคโตสเป็นร้อยละ 100 ของน้ำตาลแมนโนสสายหลัก) เมื่อเทียบกับทาร่ากัมที่มีสัดส่วนน้ำตาลแมนโนสต่อน้ำตาลกาแลคโตสประมาณ 3 (มีสัดส่วนของกิ่งน้ำตาลกาแลคโตสเป็นร้อยละ 33 ของน้ำตาลแมนโนสสายหลัก) ทำให้ฟีนูกรีกกัมละลายน้ำได้ดีกว่าทาร่ากัม และสารละลายฟีนูกรีกกัมที่ได้มีความหนืดมากกว่าสารละลายทาร่ากัม และจากความแตกต่างของสัดส่วนน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวของกาแลคโตแมนแนนนี้ทำให้สามารถนำมาใช้เป็นหลักในการเลือกชนิดของ กาแลคโตแมนแนนไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์ได้อย่างเหมาะสม

การนำไปประยุกต์ใช้

สารละลายกาแลคโตแมนแนน มีความสำคัญอย่างมากเนื่องจากสามารถบ่งบอกพฤติกรรมการไหลของสารละลายกาแลคโตแมนแนน เพื่อใช้ประกอบการเลือก และประยุกต์ใช้สารกาแลคโตแมนแนนแต่ละชนิดได้ โดยทั่วไปพบว่าพฤติกรรมการไหลของสารละลายกาแลคโตแมน -แนนนั้นมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้น และค่าความหนืดของสารละลาย กล่าวคือเมื่อความเข้มข้นของกาแลค -โตแมนแนนต่ำคุณสมบัติการไหลของสารละลายสารกาแลคโตแมน แนนเป็นแบบนิวโตเนียน (Newtonian)คือความหนืดของสารละลายไม่ขึ้นกับแรงเฉือน และเมื่อความเข้มข้นของกาแลคโตแมนแนนเพิ่มขึ้น คุณสมบัติการไหลของสารละลายกาแลคโตแมนแนน เป็นแบบนอนนิวโตเนียน (Non-Newtonian) คือมีพฤติกรรมแบบ Shear Thinning โดยพฤติกรรมดังกล่าวสามารถสังเกตได้เด่นชัดมากขึ้น และเมื่อความเข้มข้นของสารกาแลคโต- แมนแนนเพิ่มขึ้น พบว่าความหนืดของสารละลายกาแลคโตแมนแนนจะมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 : โครงสร้างของกาแลคโตแมนแนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งนี้เนื่องจากเกิดการเกี่ยวพันกันของสายโพลิเมอร์ที่เพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดการต้านทานการไหลของสารละลายขึ้นดังนั้นในการเลือกใช้สารกาแลคโตแมนแนนแต่ละชนิดให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ จำเป็นต้องทราบถึงช่วงความหนืดที่ต้องการ ทำให้สามารถเลือกใช้ช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมได้ ซึ่งจำเป็นต้องใช้ข้อมูลทางกระแสวิทยาของสารละลายกาแลคโตแมนแนนแต่ละชนิ ดนอกจากความเข้มข้นแล้ว อุณหภูมิยังเป็นอีกตัวแปรหนึ่งที่สามารถใช้ควบคุมความหนืดของสารละลายกาแลคโตแมนแนน เช่น กัวร์กัมจะให้ความหนืดได้ดีทั้งในน้ำร้อนและน้ำเย็น ในขณะที่โลคัสต์บีนกัมจะมีความหนืดเพิ่มมากขึ้นเมื่อละลายในน้ำร้อน เป็นต้น ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ลักษณะความหนืดของสารละลายกาแลคโตแมนแนนทางการค้าที่สภาวะต่างๆ

สภาวะ	โลคัสต์บีนกัม	ทาร่ากัม	กัวร์กัม
ในน้ำร้อน	ปานกลาง	สูง	สูง
ในน้ำเย็น	ต่ำมาก	ปานกลาง	สูง
ในน้ำเชื่อม	สูง	สูงมาก	ต่ำ

สำหรับผลิตภัณฑ์บางประเภทที่ต้องการสารละลายที่มีความหนืดสูงๆ อาจมีการผสมสารชนิดอื่นเพิ่มเพื่อช่วยให้สารละลายที่ได้มีความหนืดเพิ่มมากขึ้นเช่น คาราจีแนน (Carrageenan) แซนแทน (Xanthan) หรือแม้แต่การเติมเกลือ เช่น NaCl และ KCl หรือเติมน้ำตาล เป็นต้น นอกจากนี้การควบคุมความหนืดของสารละลายกาแลคโตแมนแนนยังสามารถทำได้โดยการควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายจึงทำให้กาแลคโตแมนแนนเป็นที่นิยมใช้กับผลิตภัณฑ์ที่หลากหลาย โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ขนมหวาน ไอศกรีม และเครื่องดื่มเป็นต้น โดยทำหน้าที่เป็นสารเพิ่มความหนืดและสารเพิ่มความคงตัว

การวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology)

ปัจจุบันได้มีการเอาวิธีการทางสถิติเข้ามาประยุกต์ใช้ทั้งในงานวิจัยและในทางอุตสาหกรรมโดยในทางอุตสาหกรรมจะมีการใช้สถิติในการวิเคราะห์ข้อมูล และตีความหมายเพื่อบ่งบอกถึงระดับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ (ศิริวัลภา เกษศิลป์, 2547) ส่วนในงานวิจัยสามารถนำสถิติมาใช้ได้ทั้งในการวางแผนการทดลอง (Experimental design) และการวิเคราะห์ข้อมูล (Gacula *et al.*, 1984) สำหรับในงานวิจัยที่ต้องการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาเงื่อนไขของปัจจัยต่าง ๆ ในกระบวนการผลิตนั้นจะต้องใช้วิธีการทางสถิติขั้นสูง คือการหาพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology)

Response surface methodology (RSM) คือ การวางแผนและวิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธีการทางสถิติที่อาศัยข้อมูลทางด้านปริมาณ (quantitative data) ที่ได้มาจากการออกแบบการทดลองที่เหมาะสมเพื่อสร้าง regression analysis ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรและค่าตอบสนองในรูปของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมการทางคณิตศาสตร์ ซึ่งอาจเป็นสมการกำลังหนึ่ง (first order model) หรือสมการกำลังสอง (second order model) จากสมการที่สร้างขึ้นนี้ สามารถนำมาสร้างภาพกราฟสามมิติที่เรียกว่า response surface plot ซึ่งแสดงระดับของตัวแปรในแนวระนาบและแสดงค่าตอบสนองในแนวแกนตั้ง หรือสร้างกราฟสองมิติที่เรียกว่า contour plot ซึ่งแสดงค่าตอบสนองในแนวรูปเส้นกราฟหลายเส้น กราฟทั้งสองประเภทนี้มีประโยชน์ในการอธิบายผลของตัวแปรที่ศึกษาต่อค่าตอบสนอง ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษา รวมถึงผลร่วมของตัวแปรที่ศึกษาต่อค่าตอบสนอง และพร้อมกันนั้นจะสามารถแก้ปัญหาสมการชนิดหลายตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กันของ dependent variable กับคุณลักษณะทางด้านปริมาณของผลิตภัณฑ์กระบวนการและ/หรือพารามิเตอร์ที่ออกแบบ (Olkku *et al.*, 1983) การศึกษาพื้นผิวตอบสนอง มีวัตถุประสงค์ 2 ประการ คือ การสร้างฟังก์ชันพื้นผิวตอบสนองเพื่อแสดงให้เห็นแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของผลตอบสนองเมื่อระดับของปัจจัยเชิงปริมาณเปลี่ยนแปลง และเพื่อใช้ในการหาระดับของปัจจัยเชิงปริมาณที่เหมาะสมที่จะทำให้ได้ผลตอบสนองที่ดีที่สุด

Response surface methodology เป็นเทคนิคที่นำมาใช้ก่อน ระหว่าง และภายหลังการทำ regression analysis โดยข้อมูลที่รวบรวมได้จากการทดลองก่อนที่จะทำการวิเคราะห์ จะถูกนำมาออกแบบการทดลองเพื่อจะอธิบายค่าตัวแปร (ในเทอม independent variable) ซึ่งต้องทำการคัดเลือกและนำค่าที่ได้มาใช้ระหว่างการทดลองจริง ภายหลังจากการทำ regression analysis จะมั่นใจได้ว่ามีการใช้เทคนิคที่เหมาะสม ดังนั้น RSM จึงเป็นการรวมประโยชน์ของ regression และเทคนิคอื่นเพื่อให้สามารถเข้าใจลักษณะของระบบในการทดลองให้ดีขึ้น

โดยทั่วไปรูปแบบของพื้นผิวตอบสนองนั้นมักจะพิจารณาในรูปแบบของ first หรือ second order polynomial ส่วนการกะประมาณค่าพารามิเตอร์หรือสัมประสิทธิ์รีเกชชันในรูปแบบดังกล่าวจะใช้วิธีกำลังสองน้อยที่สุด รูปแบบการใช้โพลิโนเมียลลำดับที่หนึ่งโดยทั่วไปมีการนำมาใช้เฉพาะบางแผนการทดลองซึ่ง Khuri and Cornell (1987) ได้กล่าวไว้คือ 2k แฟกตอเรียล (factorial design), 2k แฟรกชันนอลแฟกตอเรียล (fractional factorial) สำหรับโพลิโนเมียลลำดับที่สองมีการนำมาใช้กันมากในเชิงอาหาร และมีแผนการทดลองที่รู้จักกันดีกว่าแผนการทดลองแบบอื่น ๆ คือ 2k เซ็นทรัลคอมโพสิต (Central composite design) หรือ 2k แฟกตอเรียล (factorial design) โดย พิจารณารูปแบบโพลิโนเมียลลำดับที่สองที่มีตัวแปรอิสระ 3 ตัว ซึ่งสามารถจะแสดงได้ดังสมการ

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X1 + \beta_2 X2 + \beta_3 X3 + \beta_{12} X1X2 + \beta_{13} X1X3 + \beta_{23} X2X3 + \beta_{123} X1X2X3 + \varepsilon$$

ซึ่ง **Y** คือ ตัวแปรตอบสนอง (dependent variable)

Xi คือ ตัวแปรอิสระตัวที่ I

βi คือ พารามิเตอร์

n คือ จำนวนข้อมูลหรือขนาดตัวอย่าง

ε คือ ความคลาดเคลื่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการคัดเลือกชนิดของโมเดลที่จะทำให้มี dependent variable ที่เป็นค่าตอบสนองและต้องมีการเปลี่ยนแปลง independent variable เพื่อที่จะหาค่าตอบสนองที่ดีที่สุด บางครั้งต้องทำการทดลองเบื้องต้นเพื่อที่ช่วยในการกำหนดตัวแปรเริ่มต้นและช่วงที่เหมาะสมสำหรับแบบการทดลองในที่สุด ช่วงของแต่ละตัวแปรเริ่มต้นที่ในการออกแบบจะต้องทำการคัดเลือกอย่างระมัดระวัง และช่วงเหล่านี้ควรกว้างเพียงพอที่จะกำหนดผลการทดลองจริง ๆ ของแต่ละตัวแปรเริ่มต้นที่เหมาะสม

การคัดเลือก dependent variable ต้องมีลักษณะของค่าตอบสนองที่เปลี่ยนแปลงโดยมีสาเหตุจาก independent variable จากนั้นขั้นต่อไปของการทำงานจึงเป็นการวางแผนการทดลองให้ครอบคลุมช่วงของระดับปัจจัย ส่วนใหญ่การวางแผนการทดลองที่นำมาใช้กันจะวางตัวอย่างที่สำคัญให้ใกล้กับจุดกึ่งกลางของช่วง เพื่อที่ลดจำนวนของตัวอย่างที่จะต้องทดสอบ การวางแผนการทดลองจะขึ้นกับลักษณะของสมการที่ใช้ในการ fit ข้อมูลของการทดลองอีกด้วย ถ้าหากว่าเป็นการวางแผนเพียง first-degree factorial ก็เพียงพอ ค่าของตัวแปรเริ่มต้นจะเกิดขึ้นเพียง 2 ระดับ ถ้าหากว่าพิจารณาเป็น quadratic effect การวางแผนการทดลองจะขยายไปรวมเอาจุดที่เรียกว่า α-point ($\pm\alpha$)และจุดกึ่งกลางของตัวอย่างและจำนวนของระดับของปัจจัยต่อตัวแปรที่เพิ่มขึ้นจนถึง 5 (Box *et al.*,1978)

Central composite design

ชนิดของการออกแบบที่นิยมนำมาใช้สำหรับการประมาณสัมประสิทธิ์ใน second degree model จัดอยู่ในประเภทของ composite design ซึ่ง central composite ก็เป็น composite design แบบหนึ่ง

Central composite design จะเป็นการหมุนโดยทำการเลือก α โดยค่าซึ่งเป็น dependent บนจำนวนของจุดในส่วนของแฟคทอเรียล (Montgomery, 1991) การออกแบบหมุนได้จะมีความแปรปรวนเป็นแบบเดียวที่รัศมีที่ได้จากกึ่งกลางของการออกแบบ (Thomson, 1982) จุดมุ่งหมายของ RSM คือความเหมาะสมและจุดที่เหมาะสมซึ่งยังไม่เป็นที่ทราบกันมาก่อนทำการทดลอง จึงเป็น เหตุผลที่จะนำมาใช้ในการออกแบบเพื่อให้เกิดความถูกต้องในการประมาณโดยทางตรงทั้งหมด (Montgomery, 1991) (ศิริวัลภา เกษศิลป์, 2547)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การผลิตกาแลคโต-แมนโน-โอลิโกแซกคาไรด์จากกัวร์กัมและโลคัสบีนกัม โดยใช้เอนไซม์ เบต้า -แมนนาเนส จากเชื้อ *Penicillium oxalicum* SO ทำการย่อย ที่ค่า pH 5 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นต้มในน้ำเดือนเป็นเวลา 5 นาทีเพื่อทำการหยุดปฏิกิริยา นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 rpm เป็นเวลา 10 นาทีและทำการตรวจวิเคราะห์ด้วย HPLC และ เจลฟิเตชั่นในขนาดโมลเลกุล 35,000 ดาลตันและ SDS-PAGE ขนาดโมเลกุล 29,000 ดาลตัน จะพบโอลิโกแซกคาไรด์กับองศาขอ งพอลิเมอ (DP) จาก 2-7 และ 2-6 ถูกปล่อยออกมาจาก กัวร์กัมและโลคัสบีนกัมตามลำดับซึ่งประมาณ 92 % ของที่ปล่อยออกมาน้ำตาลเป็นโอลิโกแซกคาไรด์และในการวิเคราะห์การกระจายตัวของน้ำตาลเมื่อวัดโดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

MALDI-TOF MS ผลิตภัณฑ์หลัก จาก DP 6-7 และ DP ที่ 5-6 ได้รับการยืนยันในการไฮโดรไลเซของกัวร์กัมและโลคัสบีนกัม ตามลำดับซึ่งโอลิโกแซกคาไรด์หลักที่ย่อยออกมาจาก กัวร์กัม จะมี DP 7 สูงที่สุด (มีค่ากาแลคโตสต่อแมนโนส = 0.76) สอดคล้องกับกาแลคโตส blockwise-substituted Mannan ประเภทในกาแลคโตแมนแนน (Masahiro Kurakake, 2006)

การผลิตแมนโน-โอลิโกแซกคาไรด์จากโลคัสบีนกัมโดยการใช้เอนไซม์ แมนแนนเนสที่ถูกตรึงบนไคตินที่มี Glutaraldehyde โดยการเชื่อมโยงข้าม-ปฏิกิริยา ซึ่งการตรึงเอนไซม์จะทำให้อัตราผลตอบแทนจากการฟื้นตัวและกิจกรรมเอนไซม์แมนแนนเนส เป็น 94.81 % และ 72.17 % ตามลำดับ โดยกิจกรรมของเอนไซม์แมนแนนเนสสามารถเพิ่มความเป็นกรดมากขึ้น (pH 4) หลังจากที่มีการตรึงเอนไซม์ แต่ยังคงมีสภาวะอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 70 องศาเซลเซียส ไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งเอนไซม์ที่ตรึงสามารถแสดงเสถียรภาพการทนความร้อนและค่า pH ได้มากกว่าค่าหนึ่ง นอกจากนี้ยังสามารถเก็บรักษากิจกรรมข องเอนไซม์แมนแนนเนสได้ 70% เป็นเวลา 120 วัน หลังจากเริ่มต้อนกิจกรรมการย่อย ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ให้ได้จากผลการย่อยของโลคัสบีนกัมเป็น mannotriose และ mannotriose ซึ่งเป็น แมนโน- โอลิโกแซคคาไรด์ (Monia Blibech, 2011)

การผลิต แมนโนส ในเชิงอุตสาหกรรม จะมีการนำเมล็ดปา ล์มบดละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 60 เมช จากนั้นจำนำมาเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซ์ด้วยกรดซัลฟูริกที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที ลดอุณหภูมิให้เท่ากับอุณหภูมิห้องและปรับสภาพใหเป็นกลางด้วย แบเรียมไฮดรอกไซด์ จากนั้นทำการเติมเอนไซม์ Endo-β-mannanase เพื่อทำการย่อยที่อุณภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และนำไปวิเคราะห์โดยคอลัมน์ซิลิกาเจล การแยกโดยเรซินแลกเปลี่ยนไอออนและการตกผลึกในการผลิตเอทานอลบริสุทธิ์ แมนโนส ในผลผลิตรวมเป็น 48.4% (ตามน้ำหนักของเมล็ดในปาล์ม)เอ็นไซม์ที่แตกต่างกันตรวจสอบและผลการทดลองพบว่า Endo-β-mannanase คือเอนไซม์ที่ดีที่สุดในการส่งเสริมย่อยสลายโอลิโกแซกคาไรด์ที่แยกได้จากเมล็ดในปาล์ม (Tao Zhang, 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

กากมะพร้าวที่ผ่านการคั้นกะทิไม่ได้สกัดไขมัน (ได้รับความอนุเคราะห์โดยบริษัทเทพผดุงพรมะพร้าว)

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง	Beckman Coulter R12-X
3.3.2 ตู้อบลมร้อน	Type 6000, Heraeus, Germany
3.3.3 หม้อนึ่งความดันไอ	ES-315, Tomy, Japan
3.3.4 เครื่องวัดการ*ดูดกลืนแสง*	shimadzu uv mini-1240, Japan
3.3.5 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง	Mettler Toledo, China
3.3.6 เครื่องชั่งละเอียด	Sartorius, BP 31005, Germany
3.3.7 เครื่องปั่น	Vortex genie-2, Scientific industries, USA
3.3.8 แผ่น TLC DC-Alufolien Kieselgel	Merck, Germany

3.3 สารเคมี

ปิโตรเลียมอีเทอร์	RCI Labscan, Thailand
อะซิโตน (Commercial Grade)	RCI Labscan, Thailand
โพแทสเซียม โซเดียม ทาร์ทาเลต	Merck, Germany
*โซเดียม*ไฮดรอกไซด์	Merck, Germany
กรดซัลฟิวริก	RCI Labscan, Thailand
ฟีนอล	Merck, Germany
3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS)	Fluka, Germany
กรดอะซิติกเข้มข้น	RCI Labscan, Thailand
บิวทานอล	Merck, Germany
เอทานอล 95 % (Commercial Grade)	องค์การสุราไทย, ประเทศไทย

3.4 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.5.1 การเตรียมตัวอย่างมะพร้าว

นำกากมะพร้าวที่ได้จากโรงงานมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง นำกากมะพร้าวที่อบแห้งเสร็จแล้วมาร่อนผ่านตะแกรงเพื่อแยกเศษกะลา เศษหินออก นำมะพร้าวที่ผ่านการร่อนสกัดเอาไขมันออกด้วย อีเทอร์-เอทานอล ในอัตราส่วน (1:1) โดยนำชั่งมะพร้าวและตวงสารละลายในปริมาณอัตราส่วน 1:5 น้ำหนักต่อปริมาณ โดยใช้เวลาสกัดนาน 24 ชั่วโมง กรองแยกกากมะพร้าวออกจากสารละลายและทำการสกัดซ้ำอีกรั้ง จากนั้นกรองแยกกากมะพร้าวแล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสนาน 12 ชั่วโมง และนำบรรจุใส่ถุงพลาสติกเก็บในโถดูดความชื้นเพื่อกันการเหม็นหืน จากนั้นนำไปสกัดด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:20 น้ำหนักต่อปริมาณและนำไปให้ความร้อนด้วยหม้อนึ่งความดัน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที กรองแยกกากมะพร้าวออก ล้างกากมะพร้าวที่ได้ด้วยน้ำกลั่นและ อะซิโตน นำกากมะพร้าวที่ได้ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และชั่งน้ำหนักของกากมะพร้าวที่ได้ ส่วนน้ำสกัดนำไปตกตะกอนเพื่อเตรียมสกัดโพลีแซคคาร์ไรด์

3.5.2 การสกัดโพลีแซคคาร์ไรด์

นำสารละลายที่ได้ทำการตกตะกอนด้วย เอทานอล 95 % ในอัตราส่วน 1:1 ปริมาตรต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4500 rpm เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อแยกตะกอน นำตะกอนที่ได้ ทำการล้างด้วยเอทานอล 95% และ อะซิโตน นำตะกอนที่ได้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง และเก็บในโถดูดความชื้น นำตะกอนที่อบแห้งแล้วมาสกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างกันคือ 15 20 และ 25% โดยใช้อัตราส่วนตะกอนต่อสารละลายโ ซเดียมไฮดรอกไซด์ในอัตราส่วน 1:20 น้ำหนักต่อปริมาณ และเขย่าเป็นเวลานาน 18 24 และ 30 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องปรับความเป็นกรด -ด่างที่ 4 5 และ6 ด้วย กรดอะซิติกเข้มข้น ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9000 rpm เป็นเวลานาน 15 นาที ตะกอนที่ได้ล้างด้วย 50% เอทานอล และอะซิโตนนำตะกอนที่ได้จากข้างต้น มาอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง

3.6 การวิเคราะห์

3.6.1 เปอร์เซ็นต์ผลผลิตโดยน้ำหนักของแมนแนนที่ได้

ชั่งน้ำหนักเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของกากมะพร้าวเริ่มต้น และปริมาณ แมนแนนที่ได้เพื่อใช้คำนวณหาเปอร์เซ็นต์แมนแนนต่อน้ำหนักแห้งของกากมะพร้าวที่ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.2 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ด้วยวิธีสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

3.6.2.1 การวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก

การหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีนี้สามารถตรวจวัดปริมาณน้ำตาลได้ในช่วง 1 – 100 ไมโครกรัมกลูโคส และเป็นวิธีการที่รวดเร็วที่จะใช้วิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่จำเพาะเจาะจง เพราะไม่ว่าน้ำตาลนั้นจะอยู่ในรูปน้ำตาลรีดิวซ์ หรือน้ำตาลในธรรมชาติที่พบอยู่ในรูป mono-, di-, tri-, oligo- และ polysaccharide

เตรียมสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย 5% ฟีนอลร้อยละลงไป 1 มิลลิลิตรเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร ลงไปอย่างรวดเร็ว ตั้งหลอดทดลองของสารผสมนี้ไว้เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นเขย่าแล้วนำมาบ่มเป็นเวลา 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน โดยใช้กลูโคสเป็นสารละลายมาตรฐาน

3.6.2.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS)

เตรียมสารตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณน้ำตาลจำนวน 1.0 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลองสำหรับเติม DNS solution ลงไปในแต่ละหลอดๆ ละ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน โดยใช้น้ำตาลแมนโนส เป็นสารละลายมาตรฐาน

3.6.3 การวิเคราะห์ขนาดของแมนแนน (Degree polymerization)

Degree polymerization (DP) ที่พบได้ในแมนแนน หมายถึง จำนวนของน้ำตาลแมนโนสที่มาต่อกันจนกระทั่งได้สายพอลิเมอร์ของแมนแนน โดยจำนวนของน้ำตาลแมนโนสจะเป็นตัวกำหนดขนาดของแมนแนน การคำนวนหา degree polymerization

$$\text{Degree of polymerization (DP)} = \frac{\text{ปริมาณของน้ำตาลทั้งหมด (มิลลิกรัม)}}{\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในรูปของน้ำตาลแมนโนส (มิลลิกรัม)}}$$

3.6.4 การวิเคราะห์พื้นที่ผิวตอบสนอง (Response Surface Method)

Response surface methodology (RSM) คือ การวางแผนและวิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธีการทางสถิติที่อาศัยข้อมูลทางด้านปริมาณ (quantitative data) ที่ได้มาจากการออกแบบการทดลองที่เหมาะสมเพื่อสร้าง regression analysis ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรและค่าตอบสนองในรูปของสมการทางคณิตศาสตร์ จากสมการที่สร้างขึ้นนี้ สามารถนำมาสร้างภาพกราฟสามมิติที่เรียกว่า response surface plot ซึ่งแสดงระดับของตัวแปรในแนวระนาบและแสดงค่าตอบสนองใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แนวแกนตั้ง หรือสร้างกราฟสองมิติที่เรียกว่า contour plot ซึ่งแสดงค่าตอบสนองในแนวรูปเส้นกราฟหลายเส้น กราฟทั้งสองประเภทนี้มีประโยชน์ในการอธิบายผลของตัวแปรที่ศึกษาต่อค่าตอบสนอง ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษา รวมถึงผลร่วมของตัวแปรที่ศึกษาต่อค่าตอบสนอง และพร้อมกันนั้นจะสามารถแก้ปัญหาสมการชนิดหลายตัวแป รที่มีความสัมพันธ์กันของ dependent variable กับคุณลักษณะทางด้านปริมาณของผลิตภัณฑ์กระบวนการและ /หรือพารามิเตอร์ที่ออกแบบตัวแปรอิสระที่มีผลกระทบต่อปริมาณและขนาดของแมนแนน (dependent variable)

ตัวแปร	ช่วงที่ใช้ในการทดลอง
ความเข้มข้นของโซดียมไฮดรอกไซด์ (เปอร์เซ็นน้ำหนักต่อปริมาตร)	15 20 และ 25%
เวลาที่ใช้สกัดแมนแนน (ชั่วโมง)	18 24 และ 30
พีเอชที่ใช้สกัดแมนแนน	4.0 5.0 และ 6.0

การออกแบบการทดลองแบบ เซ็นทรัลคอมโพสิต (Central composite design) เมื่อนำไปเข้าโปรแกรมการวิเคราะห์ Expert Design 7.0 (Trial version) เพื่อให้ได้ค่าตอบสนองในรูปของสมการทางคณิตศาสตร์

$$Y = \beta 0+\beta 1X1+\beta 2X2 +\beta 3X3 +\beta 12X1X2 + \beta 13X1X3 + \beta 23X2X3 + \beta 123X1X2X3 + \varepsilon$$

โดย Y คือ ตัวแปรตอบสนอง (dependent variable)

Xi คือ ตัวแปรอิสระตัวที่ I

βi คือ พารามิเตอร์

n คือ จำนวนข้อมูลหรือขนาดตัวอย่าง

ε คือ ความคลาดเคลื่อน

3.6.5 ชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบ ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง

นำตัวอย่างที่ต้องการทดสอบมาหยอดลงบนแผ่น TLC ขนาด 20x10 cm และทิ้งจนแห้ง สนิทนำมาวางในโถที่มีสารละลาย โดยใช้สารละลาย บิวทานอล:กรดอะซิติก:น้ำ ในอัตราส่วน 2:1:1 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อปริมาตร เป็นสารละลายเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้จนแห้งสนิท และนำมาวางในโถที่มีสารละลายเฟสเคลื่อนที่ซ้ำอีก 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้จนแห้งสนิท และ พ่นด้วยสารละลาย 10 % กรดซัลฟิวริกในเอทานอล ทิ้งไว้จนแห้งสนิท นำไปให้ความร้อนที่ 110 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จะพบแถบของโมเลกุลน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาน้ำหนักแมนแนนจากกากมะพร้าวอบแห้งที่ผ่านการสกัดไขมันแล้ว

ผลการใช้ตัวทำละลาย อีเทอร์-เอทานอล ในอัตราส่วน (1:1) เป็นการสกัดน้ำมันมะพร้าวออกจากกากมะพร้าวเพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นทำให้เกิดการเหม็นหืน นำจากนั้นกากมะพร้าวที่ผ่านการสกัดน้ำมันออกแล้ว มาสกัดเป็นแมนแนนโดยการออก แบบการทดลองแบบ CRD โดยมีตัวแปร 3 ตัว คือ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ เวลาการสกัด และ พีเอช ในสภาวะต่างๆของความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 15, 20 และ 25% และเวลาที่ใช้คือ 18, 24 และ 30 ชั่วโมง ที่พีเอช 4.0, 5.0 และ 6.0 เมื่อสกัดด้วย 15% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18, 24 และ 30 ชั่วโมง ที่เวลาสกัด 30 ชั่วโมง และพีเอช 4.0 โดยได้ปริมาณแมนแนน 44.16 กรัม (รูปที่ 4.3) ได้ปริมาณแมนแนนที่มากที่สุด เมื่อสกัดด้วย 20% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18, 24 และ 30 ชั่วโมง ที่เวลาสกัด 18 ชั่วโมง และพีเอช 6.0 โดยได้ปริมาณแมนแนน 58.61 กรัม (รูปที่ 4.4) ปรากฏว่าได้ปริมาณแมนแนนที่มากที่สุดคือและที่สภาวะสกัดด้วย 25% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18, 24 และ 30 ชั่วโมง ที่เวลาสกัด 18 ชั่วโมง และพีเอช 6.0 โดยได้ปริมาณแมนแนน 45.29 กรัม ได้ปริมาณแมนแนนที่มากที่สุด (รูปที่ 4.5)

เมื่อค่าการสกัดที่สภาวะต่างๆ มาคำนวณทางสถิติด้วยโปรแกรม Design-Expert เวอร์ชั่น 7.0 ที่สภาวะความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ 20.68 ระยะเวลา 18 ชั่วโมง พีเอช 6.0 ให้น้ำหนักแมนแนนสูงที่สุด คือ 55.65 และสามารถสร้างสมการจำลองในการสกัดแมนแนนจากกากมะพร้าว ได้ว่า

$$\text{น้ำหนักแมนแนน (กรัม)} = 50.75 - 2.38 * A - 0.87 * B + 2.67 * C - 5.02 * A * B + 1.56 * A * C - 1.18 * B * C - 15.39 * A^2 + 0.47 * B^2 - 0.57 * C^2$$

มีค่า R-Squared เท่ากับ 0.9113 และค่า Adj R-Squared เท่ากับ 0.8643

โดยกำหนดค่า A = ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์

B = ระยะเวลาในการสกัด

C = ค่าพีเอช

เมื่อนำไปสร้างกราฟเพื่อการหาพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology) เพื่อคาดเดาการสกัดแมนแนนจากกากมะพร้าว พบว่าปัจจัยระหว่าง ความเข้นข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์กับเวลาที่ใช้ในการสกัดแมนแนน (รูปที่ 4.6) มีผลกระทบต่อการสกัดแมนแนน และพบว่าที่ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 22.5% (w/v) ที่เวลา 27 ชั่วโมง จะได้ปริมาณแมนแนนที่สูง และปัจจัยระหว่างความเข้นข้นของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

137649

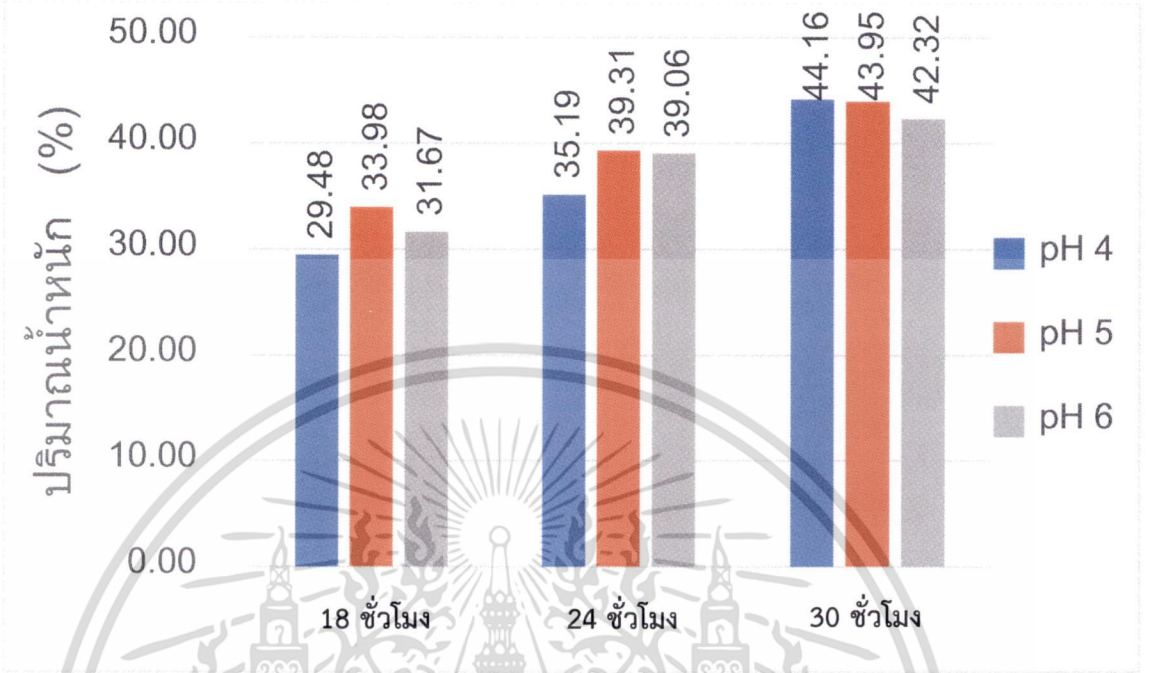
โซเดียมไฮดรอกไซด์กับพีเอชที่ใช้ในการสกัดแมนแนน (รูปที่ 4.7) พบว่าที่ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 22.5% (w/v) ที่พีเอช 6.0 จะได้ปริมาณแมนแนนที่สูง ในทางกลับกัน ปัจจัยระหว่างเวลาที่ใช้ในการสกัดแมนแนนกับพีเอชที่ใช้แทบจะไม่มีผลกระทบต่อการสกัดแมนแนนเลย (รูปที่ 4.8) จึงสรุปได้ว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อปริมาณของแมนแนนจากกากมะพร้าวคือ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ 22.5% (w/v) ที่พีเอช 6.0 เวลา 27 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะกากมะพร้าวอบแห้งหลังการสกัดไขมันออก

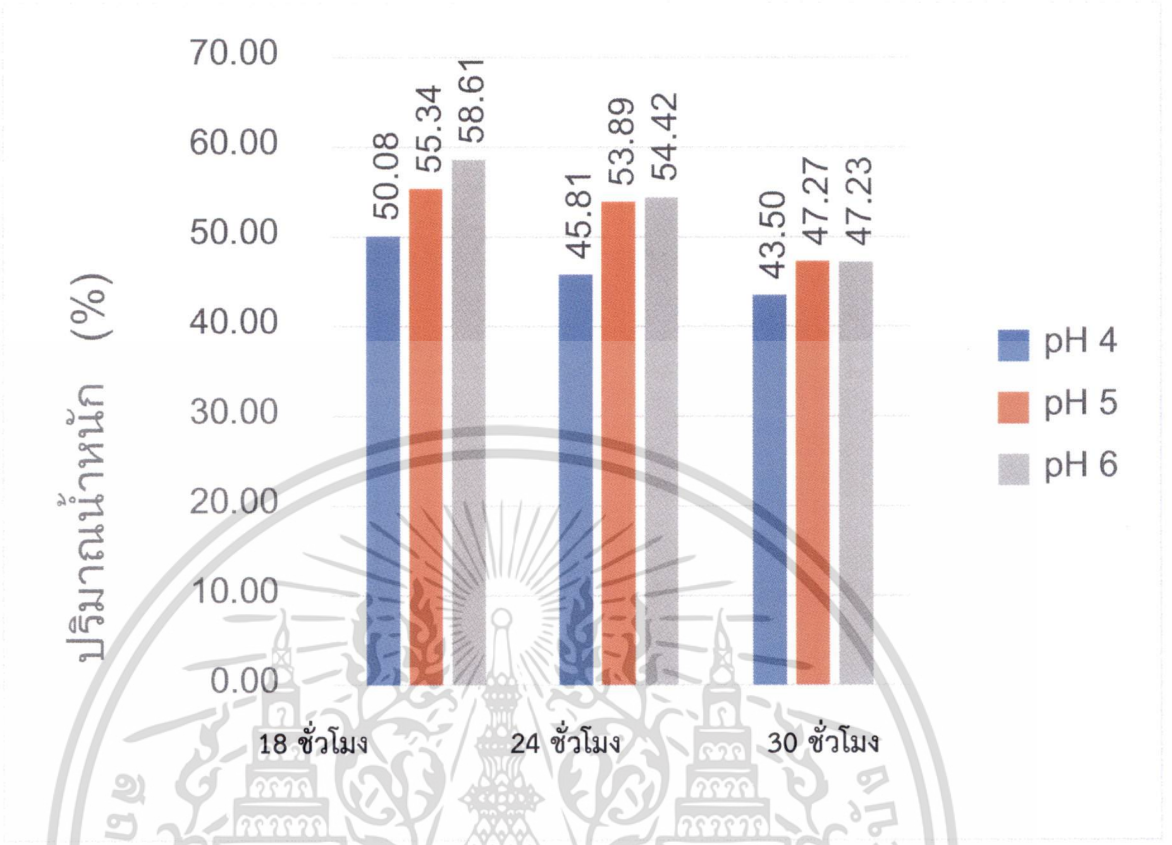
ภาพที่ 4.2 แสดงลักษณะแมนแนนจากกากมะพร้าวหลังการอบแห้งและลดขนาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



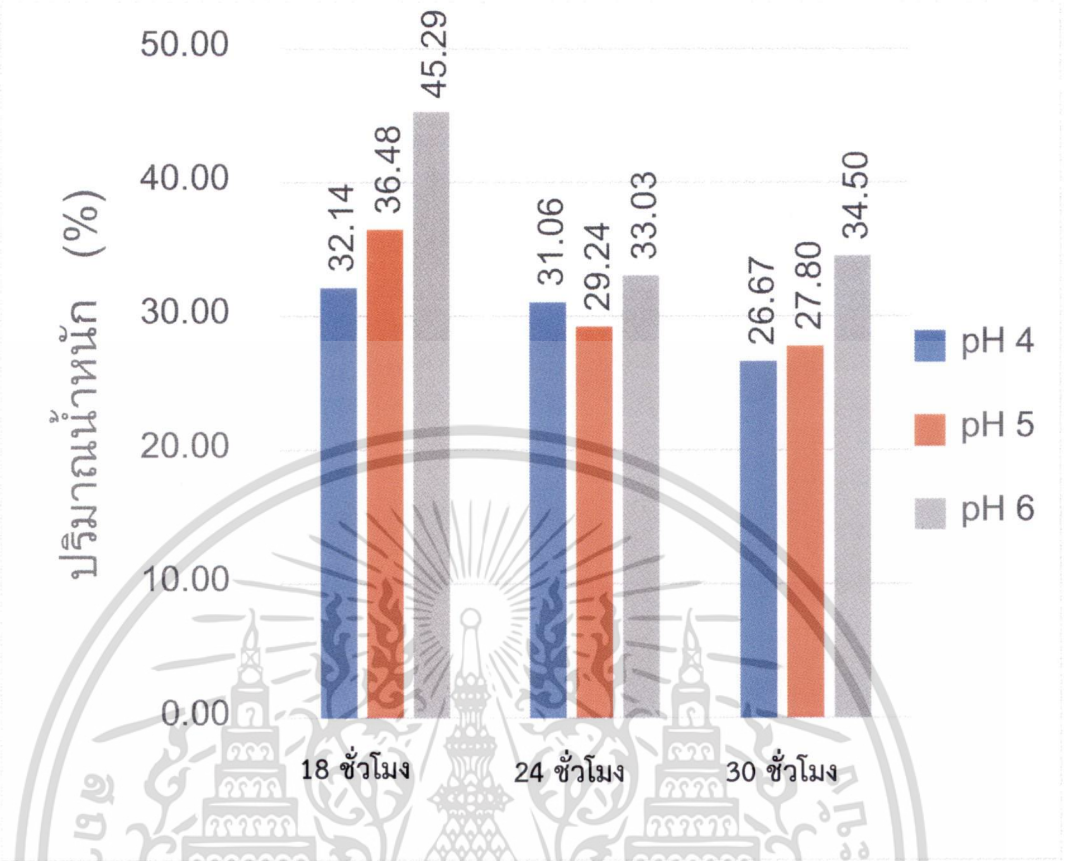
ภาพที่ 4.3 ปริมาณของแมนแนนจากกากมะพร้าวที่สกัดด้วย 15% (w/v) โซเดียมไฮดรอไซด์ที่เวลา 18 24 และ 30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



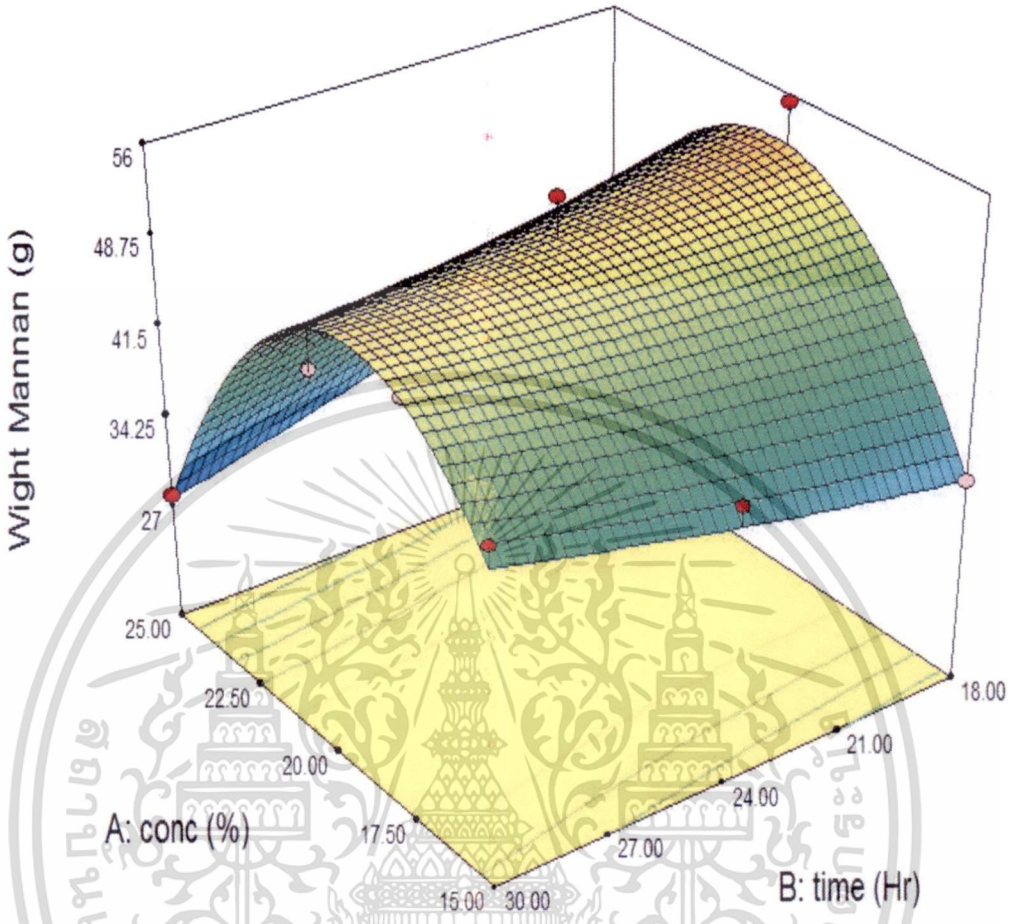
ภาพที่ 4.4 ปริมาณของแมนแนนจากกากมะพร้าวที่สกัดด้วย 20% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18 24 และ 30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



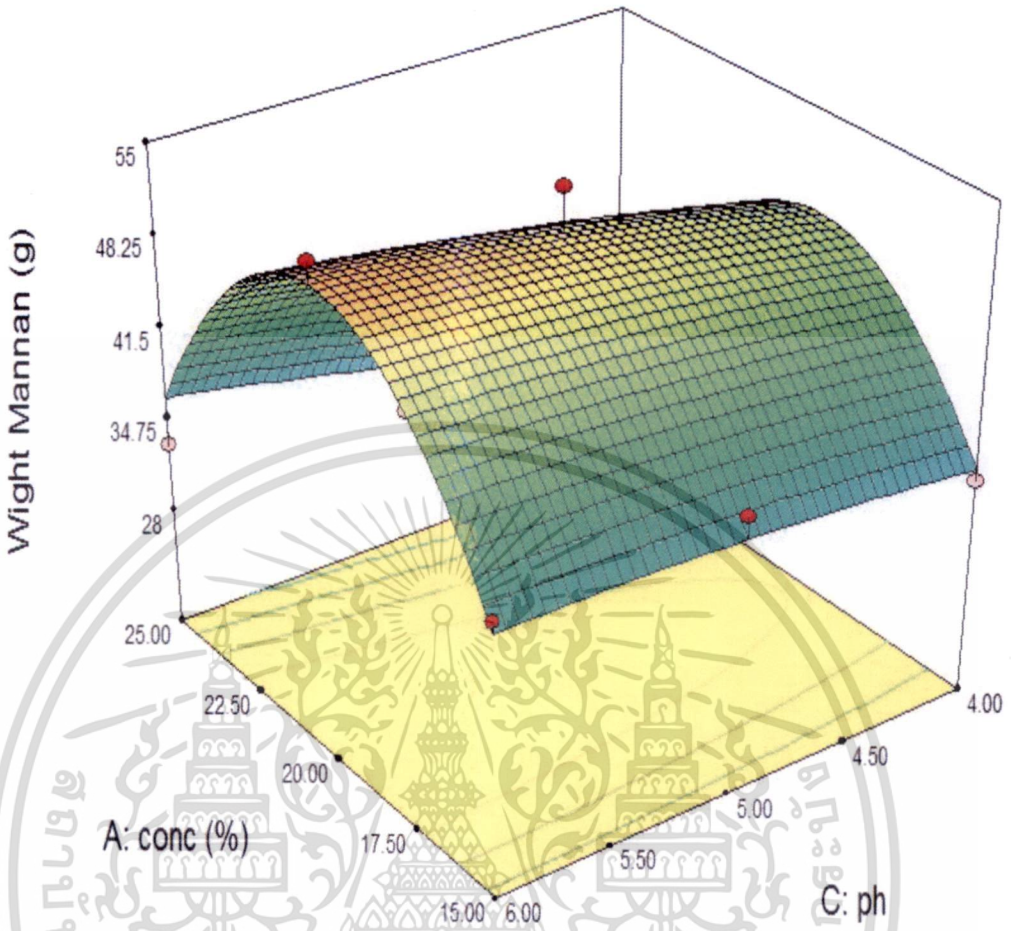
ภาพที่ 4.5 ปริมาณของแมนแนนจากกากมะพร้าวที่สกัดด้วย 25% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18 24 และ 30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



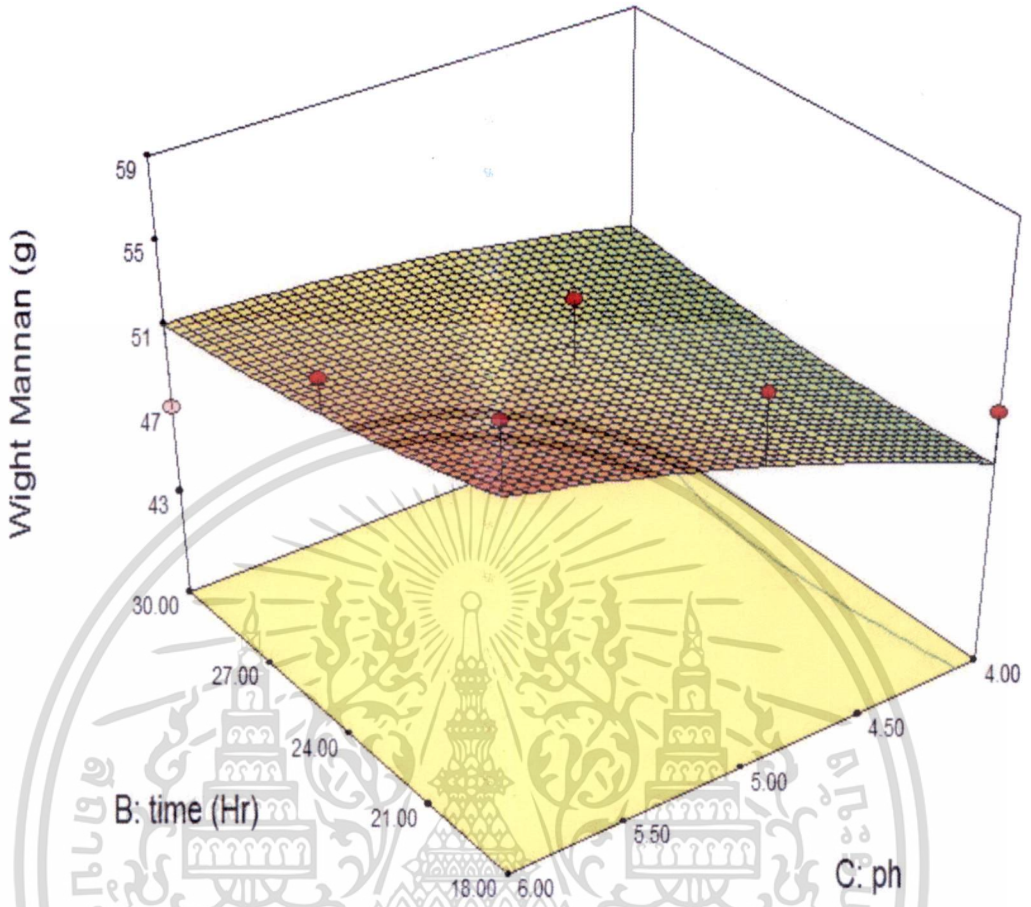
ภาพที่ 4.6 กราฟแสดงพื้นผิวตอบสนองของน้ำหนักแมนแนนจากกากมะพร้าวระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์กับเวลาที่ใช้ในการสกัดแมนแนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.7 กราฟแสดงพื้นผิวตอบสนองของน้ำหนักแมนแนนจากกากมะพร้าวระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์กับพีเอชที่ใช้ในการสกัดแมนแนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.8 กราฟแสดงพื้นผิวตอบสนองของน้ำหนักแมนแนนจากกากมะพร้าวระหว่างความเวลาที่ใช้สกัดกับพีเอชที่ใช้ในการสกัดแมนแนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการสกัดแมนแนนจากมะพร้าว จะคำนึงถึงปริมาณของ degree polymerization ในแมนแนน โดย ค่า degree polymerization จะบอกถึงมวลโมเลกุลของแมนแนนที่สกัดได้ ถ้าค่า degree polymerization มีขนาดที่ใหญ่จะแสดงถึงความเป็นแมนแนนพอลิเมอร์ที่ยาวมากซึ่งส่งผลกระทบต่อการละลายและความเป็นพรีไบโอติก มีความเป็นพอลิเมอร์จะสูงการละลายน้ำจะต่ำ ความข้นหนืดของสารจะสูง จึงเหมาะไปเป็นสารที่ให้ความข้นหนืดมากกว่า แต่ถ้ามีค่า degree polymerization ที่ไม่สูงมากจะมีอัตราการละลายน้ำที่ดีกว่า แต่ความข้นหนืดจะต่ำ ซึ่งจากสมบัติทางกายภาพนี้ทำให้แมนแนนที่มี degree polymerization ที่ไม่มาก น่าจะเหมาะที่จะเ ป็นสารพรีไบโอติกมากกว่าเนื่องจากสามารถละลายน้ำได้ดีจึงทำปฏิกิริยากับจุลลินทรีย์ได้ดี จากการทดลองพบว่า ที่สภาวะต่างๆคือ ที่ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ 15 20 และ 25% เวลาที่ใช้สกัดแมนแนนคือ 18 24 และ 30 ชั่วโมง พีเอชที่ใช้คือ 4.0 5.0 และ 6.0 ที่สภาวะสกัดด้วย 15% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18 24 และ 30 ชั่วโมง (รูปที่ 4.9) ปรากฏว่าได้ปริมาณ degree polymerization ที่สูงที่สุดคือ ที่เวลาสกัด 24 ชั่วโมง และพีเอช 4.0 โดยได้ปริมาณ degree polymerization ของแมนแนน เท่ากับ 96 ในขณะที่ เวลาสกัด 30 ชั่วโมง และพีเอช 6.0 ได้ degree polymerization ของแมนแนนที่ต่ำที่สุดคือ 75 แต่ถ้าสกัดด้วย 15% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์จะได้ degree polymerization ของแมนแนน เฉลี่ย 85 DP ในขณะที่ สกัดด้วย 20% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18 24 และ 30 ชั่วโมง (รูปที่ 4.10) ปรากฏว่าได้ปริมาณ degree polymerization ที่สูงที่สุดคือ ที่เวลาสกัด 30 ชั่วโมง และพีเอช 6.0 โดยได้ปริมาณ degree polymerization ของแมนแนน เท่ากับ 90 ในขณะที่ เวลาสกัด 18 ชั่วโมง และพีเอช 5.0 ได้ degree polymerization ของแมนแนนที่ต่ำที่สุดคือ 64 ซึ่งถ้าสกัดด้วย 20% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ จะได้ degree polymerization ของแมนแนน เฉลี่ย 72 DP แต่ถ้าสกัดด้วย 25% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18 24 และ 30 ชั่วโมง (รูปที่ 4.11) ปรากฏว่าได้ปริมาณ degree polymerization ที่สูงที่สุดคือ ที่เวลาสกัด 30 ชั่วโมง และพีเอช 5.0 โดยได้ปริมาณ degree polymerization ของแมนแนน เท่ากับ 117 ในขณะที่ เวลาสกัด 18 ชั่วโมง และพีเอช 5.0 ได้ degree polymerization ของแมนแนนที่ต่ำที่สุดคือ 80 ซึ่งถ้าสกัดด้วย 25% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์จะได้ degree polymerization ของแมนแนน เฉลี่ย 100 DP

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำคำนวณทางสถิติโดยโปรแกรม Design-Expert เวอร์ชั่น 7.0 จะพบว่า

$$\text{Degree polymerization ของแมนแนน} = 79.29 + 9.06 * A + 1.95 * B - 2.78 * C + 4.40 *A * B + 1.69 * A * C-0.70 * B * C + 14.86 * A^2 - 0.27 * B^2 + 2.35 * C^2$$

มีค่า R-Squared เท่ากับ 0.7636 และค่า Adj R-Squared เท่ากับ 0.6385

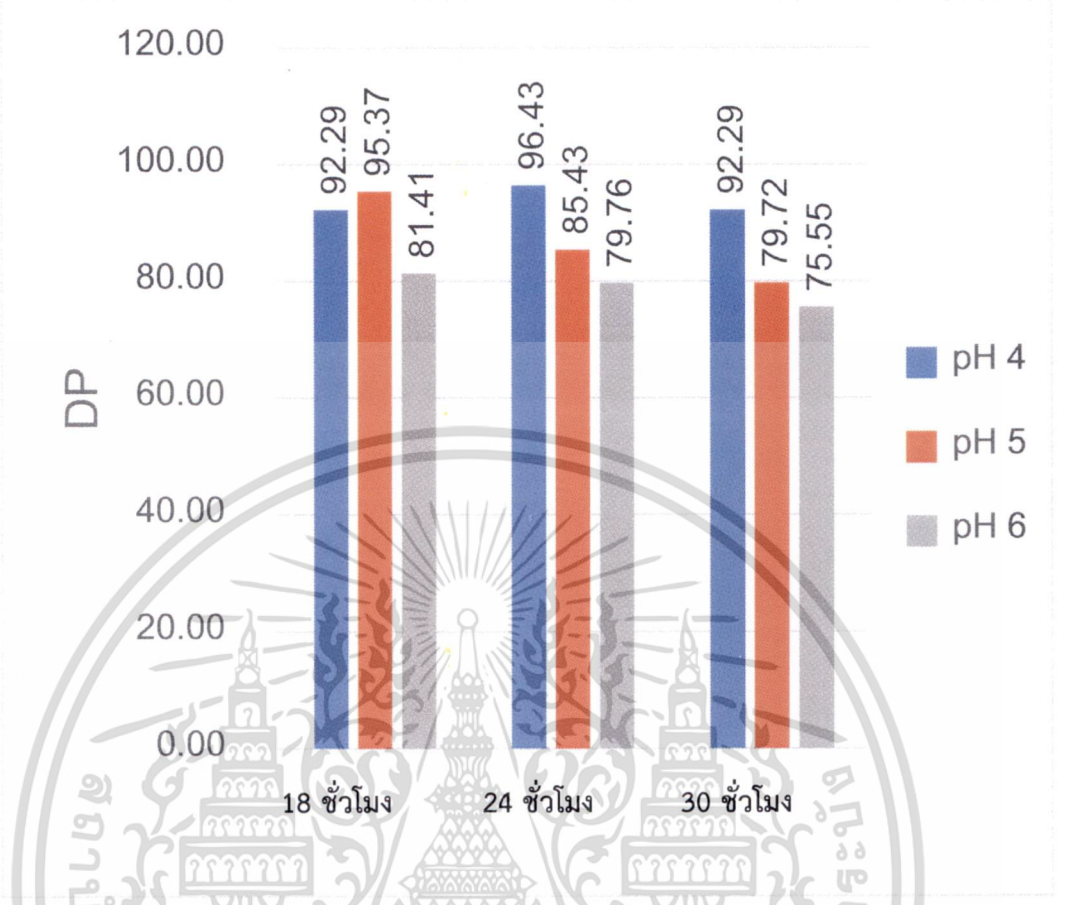
โดยกำหนดค่า A = ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์

B = ระยะเวลาในการสกัด

C = ค่าพีเอช

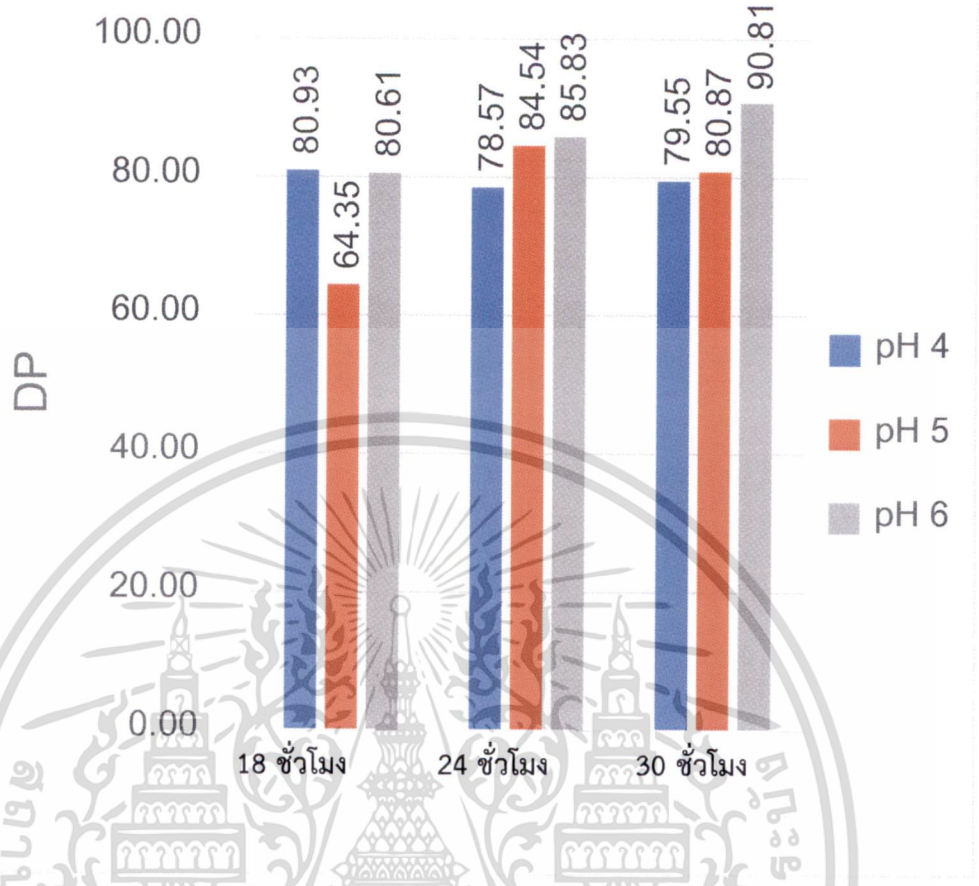
เมื่อนำไปสร้างกราฟเพื่อการหาพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology) เพื่อคาดเดาการสกัดแมนแนนโดยอาศัย degree polymerization พบว่าปัจจัยระหว่าง ความเข้มข้นขอโซเดียมไฮดรอกไซด์กับเวลาที่ใช้ในการสกัดแมนแนน (รูปที่ 4.12) มีผลกระทบต่อ degree of polymerization หรือ ขนาดของแมนแนน โดยพบว่า ที่ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 22.5% (w/v) ที่เวลา 21 ชั่วโมง จะได้แมนแนนที่มีขนาดเล็กประมาณ 64 DP ในขณะที่ ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 25% (w/v) ที่เวลา 30 ชั่วโมง จะได้แมนแนนที่มีขนาดใหญ่ประมาณ 117 DP และปัจจัยระหว่างควา มเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์กับพีเอชที่ใช้ในการสกัดแมนแนน (รูปที่ 4.13) พบว่าที่ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 25% (w/v) ที่พีเอช 4.0 จะได้แมนแนนที่มีขนาดใหญ่ประมาณ 107 DP แต่ถ้าใช้ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 17.5% (w/v) ที่พีเอช 5.0 จะได้แมนแนนที่มีขนาดเล็กประมาณ 64 DP ส่วนปัจจัยระหว่างเวลาที่ใช้ในการสกัดแมนแนนกับพีเอชที่ใช้มีผลกระทบต่อขนาดของแมนแนนเพียงเล็กน้อย (รูปที่ 4.14) โดยพบว่า ถ้าใช้ ที่เวลาสกัด 24 ชั่วโมง พีเอช 5.0 จะได้แมนแนนที่มีขนาดใหญ่ประมาณ 84 DP แต่ถ้าใช้ ที่เวลาสกัด 21 ชั่วโมง พีเอช 5.5 จะได้แมนแนนที่มีขนาดใหญ่ประมาณ 77 DP ซึ่งมีขนาดต่างกันเพียงเล็กน้อย จึงสรุปได้ว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อขนาดของแมนแนนจากกากมะพร้าวคือ ถ้าต้องการให้ได้ขนาดของ degree polymerization ในแมนแนนที่มาก ต้องความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ 25% (w/v) ที่พีเอช 4.0 เวลาสกัด 30 ชั่วโมง ในทางกลับกัน ถ้าต้องการให้ได้ขนาดของ degree polymerization ในแมนแนนที่ไม่มาก ต้องความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ 22.5% (w/v) ที่พีเอช 5.0 เวลา 21 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



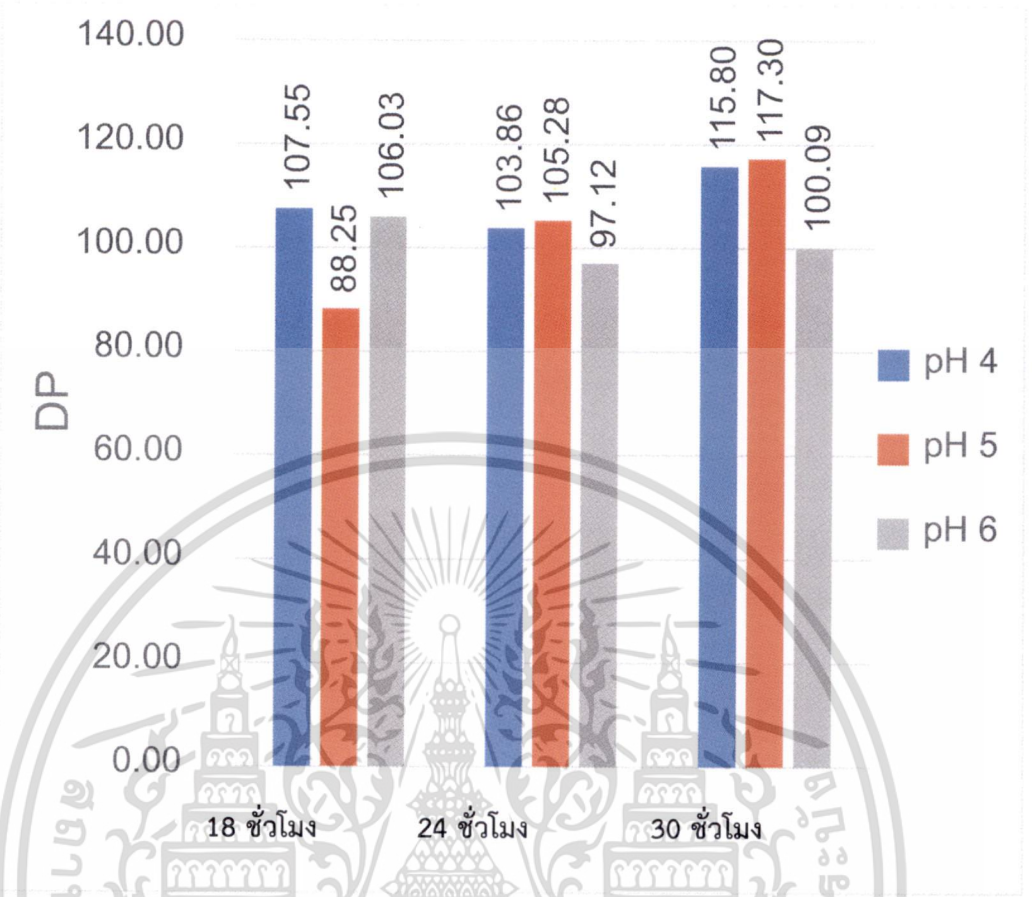
ภาพที่ 4.9 ขนาดของ Degree polymerization (DP) ของแมนแนนจากกากมะพร้าวที่สกัดด้วย 15% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



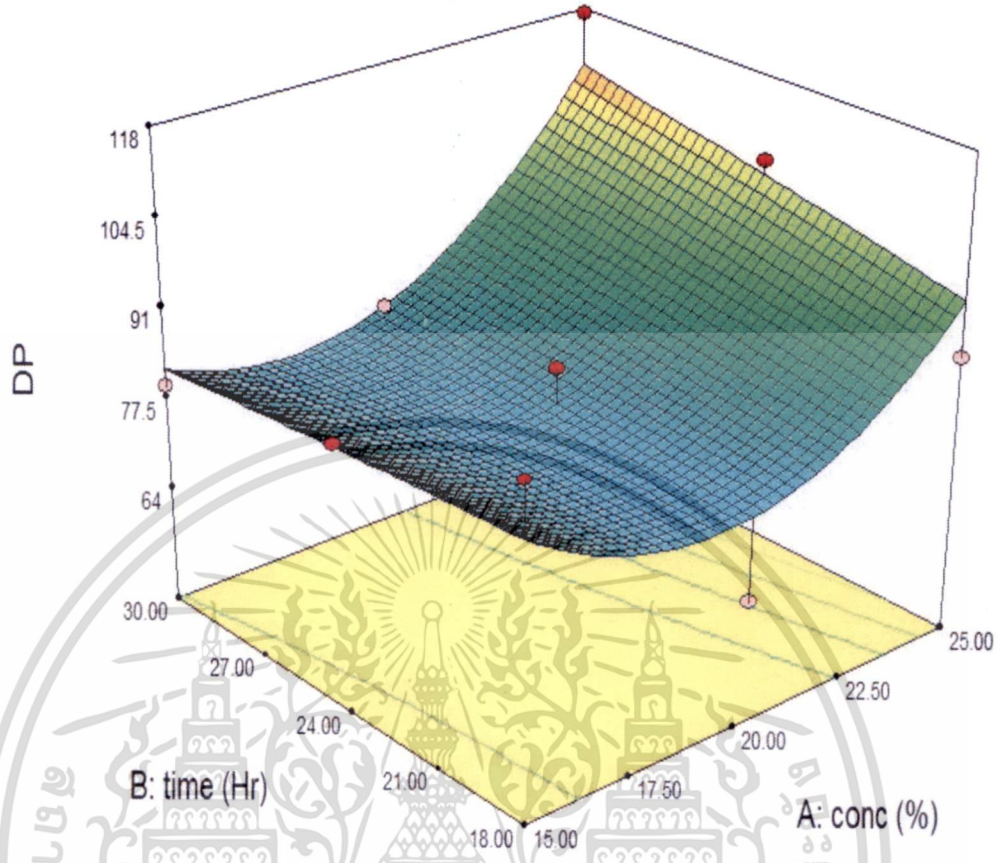
ภาพที่ 4.10 ขนาดของ Degree polymerization (DP) ของแมนแนนจากกากมะพร้าวที่สกัดด้วย 20% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18 24 และ 30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



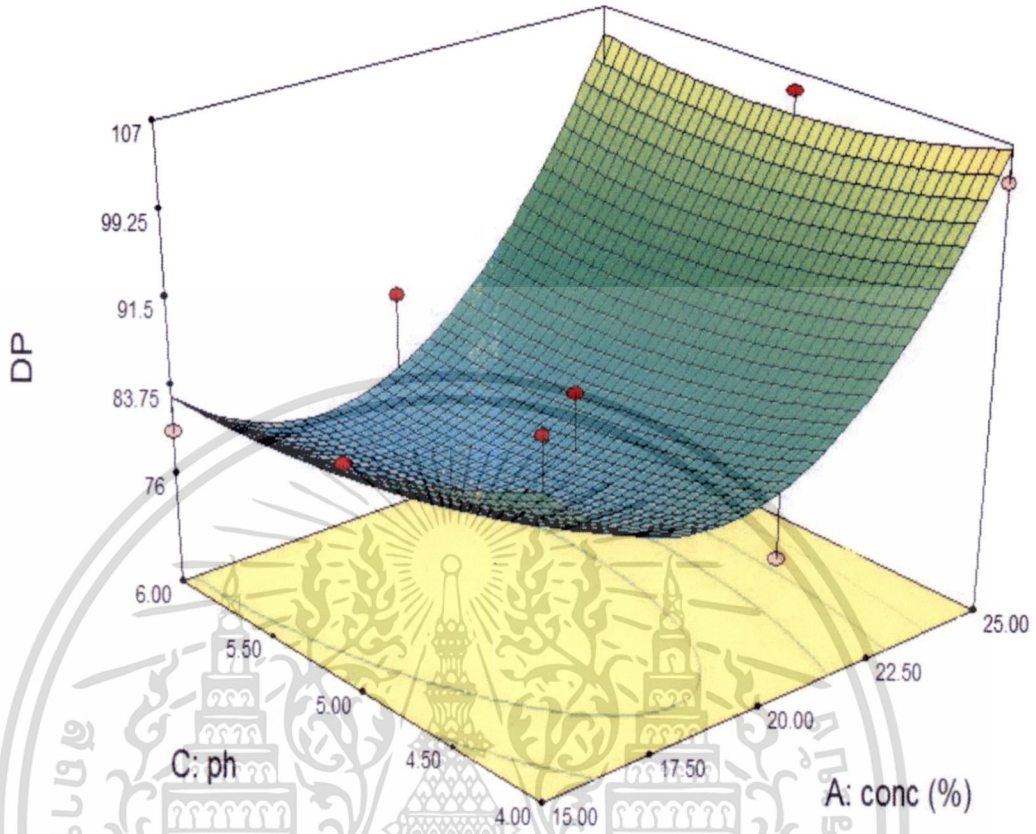
ภาพที่ 4.11 ขนาดของ Degree polymerization (DP) ของแมนแนนจากกากมะพร้าวที่สกัดด้วย 25% (w/v) โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เวลา 18, 24 และ 30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



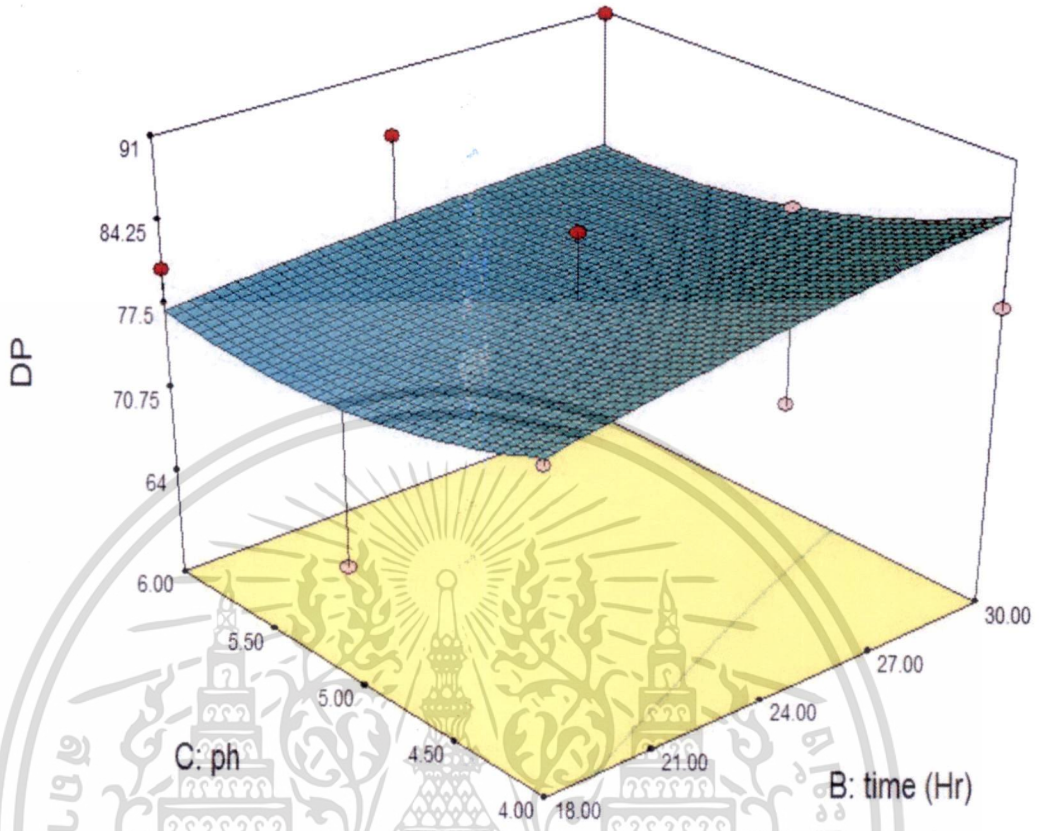
ภาพที่ 4.12 กราฟแสดงพื้นผิวตอบสนองของ degree polymerization ของแมนแนนจากกากมะพร้าวระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์กับเวลาที่ใช้ในการสกัดแมนแนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.13 กราฟแสดงพื้นผิวตอบสนองของ degree polymerization ของ แมนแนนจาก กากมะพร้าวระหว่างความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์กับพีเอชที่ใช้ในการสกัดแมนแนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



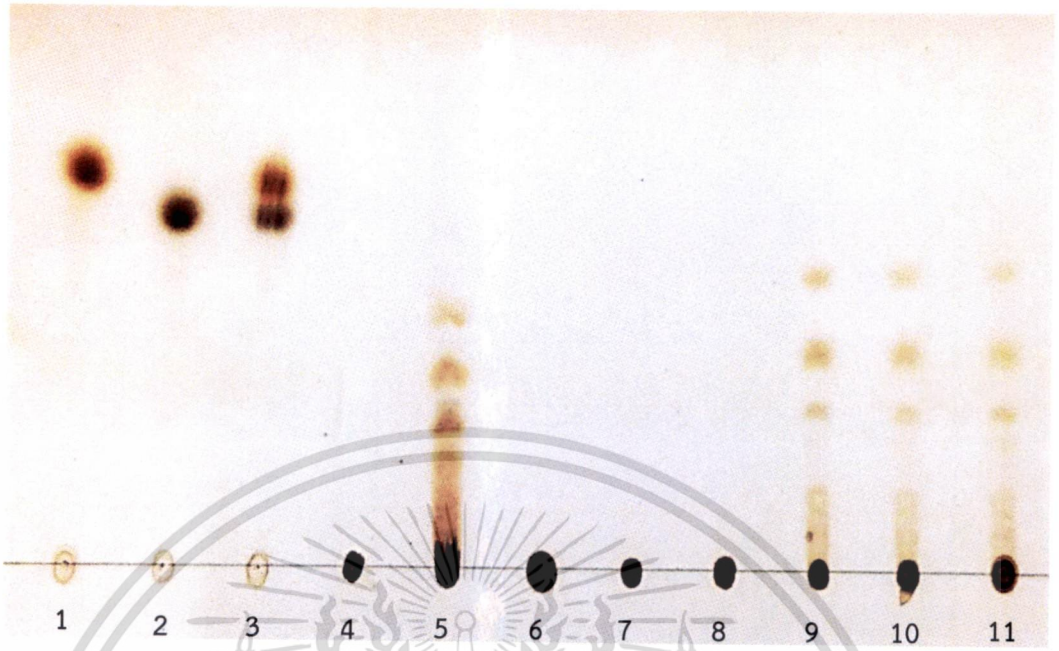
ภาพที่ 4.14 กราฟแสดงพื้นผิวตอบสนองของ degree polymerization ของแมนแนนจากกากมะพร้าวระหว่างเวลาที่ใช้กับพีเอชที่ใช้ในการ สกัดแมนแนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.15 นำสารสกัดที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ด้วยโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง เพื่อพิสูจน์ว่าเป็นแมนแนนที่ได้จากกากมะพร้าว จากผลการทดลองการทำโคโมโตกราฟฟีแบบแผ่นบางจะให้ค่า R_f ของสารมาตรฐานแมนโนสความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 0.65 เซนติเมตร กาแลคโตส ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 0.58 สารมาตรฐานผสมระหว่าง แมนโนสกับกาแลคโตส ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 0.58 และ 0.64 เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งสารมาตรฐานแมนแนนจากโลคัสบีนกัมที่ความเข้นข้น 0.8% ไม่มีการเคลื่อนที่ และสารละลายตัวอย่างแมนแนนความเข้มข้น 1 % ที่สกัดได้จากสภาวะ 15 % (w/v) ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ พีเอช 4.0, 5.0 และ 6.0 ที่เวลา 18 ชั่วโมง ไม่มีการเคลื่อนที่

เมื่อนำสารละลายแมนแนนจากโลคัสบีนกัม 0.8% (w/v) และสารละลายตัวอย่างแมนแนนความเข้มข้น 1 % ที่สภาวะ 15 % (w/v) ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ พีเอช 4.0, 5.0 และ 6.0 ที่เวลา 18 ชั่วโมงมาทำการย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสจากเชื้อ *Aspergillus niger* ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.9 U พีเอช 4.6 เป็นเวลา 15 นาที พบว่า แมนแนนจากโลคัสบีนกัมมีค่า R_f เท่ากับ 0.1, 0.17, 0.23, 0.31 และ 0.42 สารละลายตัวอย่างที่สภาวะ พีเอช 4.0 มีค่า R_f เท่ากับ 0.05, 0.08, 0.13, 0.27, 0.36 และ 0.49 สารละลายตัวอย่างที่สภาวะ พีเอช 5.0 มีค่า R_f เท่ากับ 0.05, 0.09, 0.12, 0.26, 0.36 และ 0.50 สารละลายตัวอย่างที่สภาวะ พีเอช 6.0 มีค่า R_f เท่ากับ 0.06, 0.10, 0.13, 0.27, 0.37 และ 0.51 ซึ่งแมนแนนที่ถูกย่อยนั้นจะแบ่งเป็น 6 แถบและมีค่าใกล้เคียงกันกับแมนแนนจากโลคัสบีนกัม จึงสันนิฐานว่าองค์ประกอบของแมนแนนจากกากมะพร้าวมีโครงสร้างคล้ายกับแมนแนนจากโลคัสบีนกัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.15 โครมาโตแกรมของแมนแนนจากกากมะพร้าวบนโคโมโตกราฟฟีแบบแผ่นบาง

1. น้ำตาลแมนโนส
2. น้ำตาลกาแลกโตส
3. น้ำตาลแมนโนส + น้ำตาลกาแลกโตส
4. แมนแนนจากโลคัสบีนกัม
5. แมนแนนจากกากมะพร้าว ที่สกัดด้วย 15% โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 18 ชั่วโมง pH 4.0
6. แมนแนนจากกากมะพร้าว ที่สกัดด้วย 15% โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 18 ชั่วโมง pH 5.0
7. แมนแนนจากกากมะพร้าว ที่สกัดด้วย 15% โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 18 ชั่วโมง pH 6.0
8. แมนแนนจากโลคัสบีนกัม บ่มกับเอนไซม์แมนนาเนสจาก *Aspergillus niger*
9. แมนแนนจากกากมะพร้าว ที่สกัดด้วย 15% โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 18 ชั่วโมง pH 4.0 บ่มกับเอนไซม์แมนนาเนสจาก *Aspergillus niger*
10. แมนแนนจากกากมะพร้าว ที่สกัดด้วย 15% โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 18 ชั่วโมง pH 5.0 บ่ม กับเอนไซม์แมนนาเนสจาก *Aspergillus niger*
11. แมนแนนจากกากมะพร้าว ที่สกัดด้วย 15% โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ 18 ชั่วโมง pH 6.0 บ่ม กับเอนไซม์แมนนาเนสจาก *Aspergillus niger*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

ในการสกัดแมนแนน สามารถสรุปได้ว่าจากปริมาณกากมะพร้าวที่ผ่านการคั้นกะทิและอบแห้ง จะมีไขมันปนอยู่จึงต้องสกัดไขมันออกก่อน และจึงนำมาสกัดแมนแนน จะทำให้ได้ปริมาณแมนแนนที่สูง และเมื่อศึกษาสภาวะการสกัด ที่ความเข้มข้นโซเดียมไฮดรอกไซด์ 20 % พีเอช 6 นานเป็นเวลา 18 ชั่วโมง จะให้น้ำหนักแมนแนนสูงที่สุด ประมาณ 58.61 กรัม และจากกราฟพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology) นั้น สามารถสร้างสมการเพื่อใช้ในเป็นสภาวะสกัดแมนแนนจากกากมะพร้าวที่เหมาะสม คือ

$$\text{น้ำหนักแมนแนน (กรัม)} = 50.75 - 2.38 *A - 0.87 * B + 2.67 * C - 5.02 * A * B + 1.56 * A * C - 1.18 * B * C - 15.39 * A^2 + 0.47 * B^2 - 0.57 * C^2$$

มีค่า R-Squared เท่ากับ 0.9113 และค่า Adj R-Squared เท่ากับ 0.8643

โดยกำหนดค่า A = ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์

B = ระยะเวลาในการสกัด

C = ค่าพีเอช

สามารถกำหนดขนาดของแมนแนนจาก degree polymerization (DP) ของแมนแนนที่สกัดได้โดยอาศัย สมการจำลองเพื่อกำหนดขนาดของแมนแนน คือ

$$\text{Degree polymerization ของแมนแนน} = 79.29 + 9.06 * A + 1.95 * B - 2.78 * C + 4.40 *A * B + 1.69 * A * C - 0.70 * B * C + 14.86 * A^2 - 0.27 * B^2 + 2.35 * C^2$$

มีค่า R-Squared เท่ากับ 0.7636 และค่า Adj R-Squared เท่ากับ 0.6385

โดยกำหนดค่า A = ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์

B = ระยะเวลาในการสกัด

C = ค่าพีเอช

โดยขนาดของแมนแนนที่สกัดได้ขึ้นกับวัตถุประสงค์ที่นำไปใช้โดย แมนแนนจากกากมะพร้าวมีขนาด 117 – 64 DP โดย degree polymerization มากความเป็นพอลิเมอร์จะสูงการละลายน้ำจะต่ำ ความข้นหนืดของสารจะสูง จึงเหมาะไปเป็นสารที่ให้ความข้นหนืด แต่ถ้า มี degree polymerization ที่ไม่สูงมากจะมีอัตราการละลายน้ำที่ดีกว่าเหมาะที่จะเป็นสารพรีไบโอติกมากกว่าเนื่องจากสามารถละลายน้ำได้ดีจึงทำปฏิกิริยากับเซลล์ หรือ โปรไบโอติกได้ดี เมื่อพิสูจน์แมนแนนที่สกัดได้โดยการทำโครโมโตกราฟฟีแบบแผ่นบางนั้นโดยทำการย่อยแมนแนนที่สกัดได้ด้วยเอนไซม์แมนแนนเนสพบว่าสามารถย่อยแมนแนนที่สกัดได้ และแมนแน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นจากกากมะพร้าวเมื่อเปรียบเทียบกับแมนแนนจากโลคันบีนกัม โดยการย่อยของแมนแนนโดยเอนไซม์แมนนาเนส พบว่ามีลักษระการเคลื่อนที่ที่ใกล้เคียงกันและได้ออลิโกแซคคาร์ไรด์เท่ากับ 6 แถบเท่ากันแสดงว่ามีองค์ประกอบคล้ายกันคือเป็นลักษณะของกาแลกโตแมนแนน ซึ่ง เป็นกลุ่มของแมนแนนที่โครงสร้างหลักประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนสชนิดเดียวเชื่อมต่อด้วยพันธะเบต้า 1,4 และส่วนของกิ่งแขนง (branch) เชื่อมน้ำตาลกาแลคโตสกับน้ำตาลแมนโนสด้วยพันธะแอลฟา 1,6 เรียกแมนแนน ถ้าจะทำการพิสูจน์โครงสร้างจะต้องนำแมนแนนจากกากมะพร้าวไปใช้เครื่องมือ Nuclear Magnetic Resonance และ Mass spectrophotometer หาค่า Degree polymerization ด้วยเครื่อง High Performance Anion Exchange Chromatography หาค่าคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ เช่น การละลาย ความหนืดเป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
ผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย

1. สามารถนำวัสดุเหลือทิ้งทางอุตสาหกรรมอาหารคือ กากมะพร้าวมาเพื่อนำมาเพิ่มมูลค่าได้
2. สามารถสร้างแบบจำลองสภาวะที่เหมาะสมกับการสกัดแมนแนนจากกากมะพร้าวที่เหมาะสมและได้ปริมาณสูงสุด และประยุกต์ใช้เพื่อเป็นการเสริมผลิตภัณฑ์อาหารและเกิดประโยชน์อย่างคุ้มค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

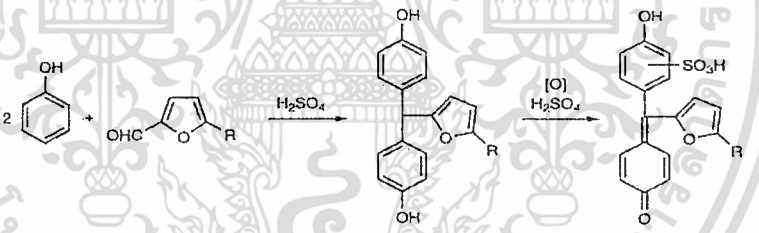
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก 1
การวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธี Phenol-sulfuric

การหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีนี้สามารถตรวจวัดปริมาณน้ำตาลได้ในช่วง 1 – 100 ไมโครกรัม กลูโคส และเป็นวิธีการที่รวดเร็วที่จะใช้วิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่จำเพาะเจาะจง เพราะไม่ว่าน้ำตาลนั้นจะอยู่ในรูปน้ำตาลรีดิวซ์ หรือน้ำตาลในธรรมชาติที่พบอยู่ในรูป mono-, di-, tri-, oligo- และ polysaccharide ก็สามารถวิเคราะห์หาปริมาณด้วยวิธีนี้ได้

1.1 หลักการทางปฏิกิริยา (Scherz and Bonn, 1998)

น้ำตาล mono-, di-, tri-, oligo- และ polysaccharides ทำปฏิกิริยากับฟีนอลและกรดซัลฟิวริคเข้มข้นที่อุณหภูมิสูง ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสารที่มีสี สามารถดูดซับแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นแสง 480 – 490 นาโนเมตร สำหรับกลไกการเกิดปฏิกิริยาเชื่อว่าในกรณี น้ำตาล oligo- และน้ำตาล polysaccharide ถูกตัดพันธะอีเธอร์ระหว่างโมเลกุลให้ออกจากกันด้วยกรด พร้อมกันนั้นก็เกิดปฏิกิริยาขจัดน้ำออก และมีการแทนที่ด้วยอนุพันธุ์ของเฟอร์ฟูรอล (furfural derivatives) ซึ่งจะเกิดการรวมตัวกับฟีนอลกลายไปเป็นสีไตรเอริลมีเทน เป็นสารประกอบสีส้ม (triarylmethane dyes)



ภาพที่ ผ. 1 ปฏิกิริยาระหว่างฟีนอลและคาร์โบไฮเดรต (ฟรุคโตส) ในกรดซัลฟิวริคเข้มข้นได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบที่มีสีส้มของสาร triarylmethane dyes (Scherz and Bonn, 1998)

1.2 สารเคมี

- สารละลายฟีนอล 5 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) เตรียมได้โดยละลายผลึกของฟีนอล 5.0 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
- กรดซัลฟิวริคเข้มข้น

1.3 วิธีการวิเคราะห์

1) ใส่สารตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง (ใช้น้ำกลั่นเป็น blank)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) เติมสารละลายฟีนอล 1 มิลลิลิตร ลงในสารตัวอย่างและผสมให้เข้ากัน
3) เติมกรดซัลฟิวริคเข้มข้น 5 มิลลิลิตร ลงในสารผสมในข้อ 2 ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเขย่าแรงๆ ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer) (ระวังกรดผสมน้ำจะร้อนเดือด) ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที
4) นำสารตัวอย่างในแต่ละหลอดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร เทียบความเข้มข้นกับกราฟสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน(standard curve)

1.4 ปัญหาที่เกิดขึ้นและแนวทางแก้ไข

1) ค่าที่ได้ไม่แน่นอน แก้ไขโดยการพยายามควบคุมการทดลองให้หมือนๆ กันทุกครั้ง ซึ่งต้องไปปรับวิธีการตามความเหมาะสม และเพื่อให้ได้ค่าที่แม่นยำควรทำการทดลองซ้ำและควรมีการทำชุดสารละลายน้ำตาลมาตรฐานควบคู่ไปด้วยทุกครั้ง
2) กรดเข้มข้นละลายน้ำแล้วคายความร้อน จะมีอุณหภูมิสูง และมีฤทธิ์กัดกร่อนควรทำ การทดลองด้วยความระมัดระวัง

1.5 การคำนวณปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดสามารถคำนวณได้จากสมการต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)} = \text{ค่าการดูดกลืนแสง } (OD_{490}) \times \frac{1}{\text{ความชัน}} \times \frac{1}{\text{การเจือจาง}}$$

โดยที่ความชัน = ค่าความชัน (slope) ของกราฟมาตรฐาน

และการเจือจาง = ค่าการเจือจางตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก 2

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS)

วิธีการนี้สามารถใช้ตรวจหาปริมาณน้ำตาล Reducing sugar ที่มีปริมาณอยู่ในช่วงระหว่าง 5 – 500 ไมโครกรัมของน้ำตาลกลูโคส

2.1 หลักการทางปฏิกิริยา (Scherz and Bonn, 1998)

การต้มน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายด่างที่มีกรดไดไนโตรซาลิไซลิค ซึ่งสารตัวนี้จะ เปลี่ยนรูปไปเป็นสารที่มีสีเข้มขึ้น ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นแสงช่วง 500 – 550 นาโนเมตร ปฏิกิริยานี้จะไม่หยุดจนกว่าจะเกิดผลิตภัณฑ์หมด เชื่อว่าสีของผลิตภัณฑ์นั้นเป็นสีของ 3- amino-5-nitrosalicylic acid

ภาพที่ ผ. 2 ปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์และสาร 3,5-dinitrosalicylic acid ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีเข้มของ 3-amino-5-nitrosalicylic acid (Scherz and Bonn, 1998).

2.2 สารเคมี

- 2 N NaOH 50 มิลลิลิตร (เตรียมโดยละลาย NaOH ปริมาณ 4 กรัม ในน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร)
- DNS solution เตรียมโดยละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) 2.5 กรัม ใน 50 มิลลิลิตร ของ 2 N NaOH เติม Sodium potassium tartrate (Rochelle salt) ลงไป 75 กรัม และคนจนกระทั่งสารละลายหมด จึงเติมน้ำให้ได้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 250 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีน้ำตาลที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งสามารถเก็บไว้ใช้ได้นานหลายสัปดาห์
-

2.3 วิธีวิเคราะห์

1) ดูดตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณน้ำตาลจำนวน 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองสำหรับหลอดที่ไม่มีสารตัวอย่าง (blank) ใช้น้ำกลั่น
2) เติม DNS solution ลงไปในแต่ละหลอด ๆ ละ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
3) ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 20 นาที
4) ทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว โดยการนำหลอดไปแช่ในอ่างน้ำแข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) เติมน้ำให้ครบ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

6) นำไปตรวจวัดค่าการ ดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาล ที่ทราบค่าความเข้มข้นที่แน่นอน

2.4 ปัญหาที่อาจเกิดขึ้นในการวิเคราะห์และแนวทางแก้ไข

1) ได้ค่าการดูดกลืนแสงไม่แน่นอนในการวัดแต่ละครั้ง อาจเกิด จากความร้อนที่ให้ไม่สม่ำเสมอ แก้ไขโดยการให้เวลามากเกินพอจุดสมดุล และเพื่อให้ได้ค่าที่แม่นยำมากขึ้น ควรทำชุดน้ำตาลความเข้มข้นมาตราฐานทุกครั้งที่ทำการทดลอง

2) ไอออนของโลหะบางชนิด เช่นMn, Co และ Ca จะเพิ่มปฏิกิริยาในการวิเคราะห์นี้ได้

3) วิธีการนี้ไม่เหมาะกับสารตัวอย่างที่มีความเป็นกรดมาก ภาคผนวก 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

1. **ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย)** นายสุรชัย ใหญ่เย็น
   ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Surachai Yaiyen

2. **เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน** 3-1017-00169-09-6

3. **ตำแหน่งปัจจุบัน** อาจารย์ เงินเดือน 34,100 บาท
   เวลาที่ใช้ทำวิจัย 10 ชั่วโมง : สัปดาห์

4. **หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก**
   คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
   โทรศัพท์ 02-329-8526 ต่อ 7273 โทรสาร 02-329-8527
   E-mail kisurach@kmitl.ac.th

5. **ประวัติการศึกษา**

ปี พ.ศ.	สถาบัน	วุฒิ
2552	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	วท.ด. (เทคโนโลยีชีวภาพ)
2546	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	วท.ม. (ชีวเคมี)
2542	มหาวิทยาลัยรามคำแหง	วท.บ. (เทคโนโลยีชีวภาพ)

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ
   - กระบวนการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต
   - เอนไซม์เทคโนโลยี

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย
   7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย : การตรวจสอบการปลอมปนในผลิตภัณฑ์จากน้ำนมกระบือ
   (ทุนเงินรายได้ ปี 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.2 ผู้ร่วมวิจัย

7.2.1 พลังงานทดแทน: การผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือใช้ (ฝักจามจุรี)
(งบประมาณแผ่นดิน 2555)

7.2.2 การใช้เอนไซม์กลุ่มเมแทบอไลซ์แป้งในการดัดแปรแป้งมันสำปะหลัง
(ทุนวิจัยเร่งด่วน 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้ร่วมโครงการ

1. ชื่อ – สกุล (ภาษาไทย) **นายประพันธ์ ปิ่นศิโรดม**

(ภาษาอังกฤษ) Mr.Praphan Pinsirodom

2. เลขหมายบัตรประจำตัวบัตรประชาชน 3100903840565

3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ / รองคณบดี

4. หน่วยงาน คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพ ฯ 10520 โทร 0 2329 8526
โทรสาร 0 2329 8526 E-mail : kpprapha@kmitl.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

- วท.บ. (เคมี) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พ.ศ. 2531
- วท.ม. (เทคโนโลยีการอาหาร) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พ.ศ. 2534
- Ph.D. (Food Science) University of Wisconsin-Madison, USA พ.ศ. 2543

6. สาขาวิชาที่ชำนาญ

- Food chemistry and biochemistry
- Food enzymology
- Functional foods and nutraceuticals

7. งานวิจัย

2.1 หัวหน้าโครงการวิจัย

7.1.1 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดส้มสายพันธุ์ต่างๆ (ทุนเงินรายได้ ปี 2545)

7.1.2 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจเปลือกและ เมล็ดส้มเขียวหวาน (ทุนงบประมาณปี 2547)

7.1.3 ใยอาหารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากผลไม้และวัสดุเหลือทิ้งจากผลไม้ (ทุนงบประมาณปี 2548)

7.1.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของกล้วย น้ำว้าและผลิตภัณฑ์ (ทุนงบประมาณปี 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.1.5 ปริมาณกรดฟีนอลิก สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงพันธุ์ต่าง ๆ ที่ระดับความสุกต่างกัน(ทุนงบประมาณปี 2550)

7.1.6 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงและผลของน้ำตาลชนิดต่างๆ ต่อประสิทธิภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงในผลิตภัณฑ์กุนเชียงและหมูแผ่น (ทุนงบประมาณปี 2551)

7.1.7การใช้พืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆในการเพิ่มมูลค่าเชิงพาณิชย์และคุณค่าเชิงสุขภาพของน้ำส้มสายชูกลั่น (ทุน สกว.-สสว. ปีงบประมาณ 2551)

7.1.8 การตรวจหาอะคริลาไมด์ในตัวอย่างอาหารไทยที่ใช้วัตถุดิบที่มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเด รทสูงและผ่านกระบวนการแปรรูปโดยวิธีการทอด (ทุนงบประมาณปี 2552)

7.1.9 ผลของการเตรียมขั้นต้นและการทอดภายใต้สภาวะสุญญากาศต่อคุณภาพหลัก ทางเคมีกายภาพและโภชนาการของกล้วยทอดกรอบแผ่นบาง (ทุนงบประมาณปี 2553)

7.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

7.2.1 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดส้มสายพันธุ์ต่างๆ (ทุนเงินรายได้ ปี 2545)

7.2.2 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวาน (ทุนงบประมาณปี 2547)

7.2.3 ใยอาหารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากผลไม้และวัสดุเหลือทิ้งจากผลไม้ (ทุนงบประมาณปี 2548)

7.2.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของกล้วยน้ำว้าและผลิตภัณฑ์ (ทุนงบประมาณปี 2549)

7.2.5 ปริมาณกรดฟีนอลิก สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของเปลือก เนื้อ และเมล็ดในของมะม่วงพันธุ์ต่าง ๆ ที่ระดับความสุกต่างกัน(ทุนงบประมาณปี 2550)

7.2.6 สมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงและผลของน้ำตาลชนิดต่างๆต่อประสิทธิภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงในผลิตภัณฑ์กุนเชียงและหมูแผ่น (ทุนงบประมาณปี 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.2.7 การใช้พืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆในการเพิ่มมูลค่าเชิงพานิชย์และคุณค่าเชิงสุขภาพของน้ำส้มสายชูกลั่น (ทุน สกว.-สสว. ปีงบประมาณ 2551)

7.2.8 การตรวจหาอะคริลาไมด์ในตัวอย่างอาหารไทยที่ใช้วัตถุดิบที่มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรทสูงและผ่านกระบวนการแปรรูปโดยวิธีการทอด (ทุนงบประมาณ ปี 2552)

7.2.9 ผลของการเตรียมขั้นต้นและการทอดภายใต้สภาวะสุญญากาศต่อคุณภาพหลักทางเคมีกายภาพและโภชนาการของกล้วยทอดกรอบแผ่นบาง (ทุนงบประมาณ ปี 2553)

7.2.10 การเสริมกรดโฟลิกในผลิตภัณฑ์ขนมจีน (ทุนงบประมาณปี 2554)

7.3 งานวิจัยที่กำลังทำ

7.3.1 การประเมินสมบัติการต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ทางชีวภาพที่สัมพันธ์กับการใช้ประโยชน์ในอาหารเพื่อสุขภาพและเครื่องสำอางของสารสกัดจากเมล็ดในมะม่วง (ทุนเงินรายได้ ปี 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบรายงานการใช้จ่ายเงินโครงการวิจัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

รายงานความก้าวหน้า ครั้งที่ 1 รอบ 12 เดือน ประจำปีงบประมาณ 2557

☐แหล่งงบประมาณแผ่นดิน ☑ แหล่งเงินรายได้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) **สภาวะที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดแมนแนนจากกาก มะพร้าวที่ผ่านกระบวนการแปรรูป**

(ภาษาอังกฤษ) Optimization contion improve efficiency of mannan from processing by-product of copra meal

ชื่อ-สกุลหัวหน้าโครงการวิจัย ดร. สุรชัย ใหญ่เย็น

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2556 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2557

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2556 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2557

ข้อมูลการรายงานค่าใช้จ่ายงบประมาณโครงการวิจัย

1. การเบิกจ่ายงบประมาณ
   งวดที่ 1 60,000 บาท 100% วันที่ได้รับอนุมัติให้เบิกจ่ายเงิน 1 ตุลาคม 2556

2. สรุปงบประมาณค่าใช้จ่ายที่ใช้นับตั้งแต่เริ่มทำการวิจัยถึงปัจจุบัน

หมวดค่าใช้จ่าย	งบประมาณรวมทั้งโครงการ	ค่าใช้จ่าย	คงเหลือ
งบบุคลากร :ค่าจ้างชั่วคราว	-	-	-
งบดำเนินงาน	-	-	-
ค่าใช้สอย	10,000.00	10,000.00	-
ค่าวัสดุ	50,000.00	48,600.00	1,400.00
งบลงทุน: ครุภัณฑ์	-	-	-
รวม	60,000.00	58,600.00	1,400.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้