

การผลิตกลูโคสไซรัปจากแป้งเผือก

Production of glucose syrup taro starch



T104385



เลขหมู่.....

เลขทะเบียน.....104385

วัน,เดือน,ปี.....2 พ.ย. 2552

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Production of glucose syrup taro starch



**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE
REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN BIOTECHNOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2008**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

การผลิตกลูโคสไซรัปจากแป้งเผือก

Production of glucose syrup taro starch

ชั้นนักศึกษา

ชัยชาญ พันธุ์ฟู

บรรพชury ปิ่นวิไลรัตน์

วีระยุทธ รุ่งอรุณ

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชา

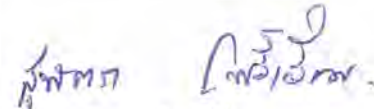
เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ

ดร. วรภัทร์ สวงนไชยไผ่วงศ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา
เทคโนโลยีชีวภาพประจำปีการศึกษา 2551

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ผศ.ดินจง สุขคำกู	ค.หวง วิชาวิทย์
กรรมการ ดร.จิตาภา ทิพย์น้อย	
กรรมการ ดร. วรภัทร์ สวงนไชยไผ่วงศ์	ว.วิท วิชาวิทย์


(ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เยี่ยม)

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การผลิตกลูโคสไซรัปจากแป้งเผือก		
ชื่อนักศึกษา	นายชัยชาญ พันธุ์พู่	48050919	
	นายบรรพจรรย์ ปิ่นวิไลรัตน์	48050923	
	นายวีระยุทธ รุ่งรอบ	48050929	
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต		
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ		
ปีการศึกษา	2551		
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ	ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์		

บทคัดย่อ

กลูโคสไซรัปเป็นผลิตภัณฑ์จากแป้งเผือก ซึ่งเกิดจากการย่อยด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด คือ แอลฟาอะไมเลส และ กลูโคอะไมเลส จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของแป้งเผือกที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 และ 0.5 พบว่าแป้งเผือกที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลักร้อยละ 83.60 โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีมากกว่าแป้งเผือกที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาปริมาณน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งเผือกที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 และ 0.5 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ในขั้นตอนลิเคอแฟชัน พบว่าแป้งเผือกที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 เมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 61 หน่วย มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด จากนั้นนำแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 30 และ 61 หน่วยไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส พบว่า แป้งเผือกที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 30 หน่วยและเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 123 หน่วย มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด คือ 18.1843 กรัมต่อลิตร เมื่อเทียบกับผลความเข้มข้นน้ำตาลจาก HPLC ตัวอย่างที่มีค่าน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและคู่รวมกันสูงที่สุดคือ แป้งเผือกที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 30 หน่วยและเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 86 หน่วย พบน้ำตาลกลูโคสและมอลโทส 15.9698 และ 0.7953 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ คิดเป็นโมลรวม 0.0910 โมล

Title	Production of glucose syrup taro starch		
Students	Mr. Chaichan	Punpoo	48050919
	Mr. Buntoon	Pinwilairat	48050923
	Mr. Weerayut	Roorob	48050929
Degree	Bachelor of Science		
Major	Applied Biology		
Academic Year	2008		
Advisor	Vorapat Sanguanchaipaiwong, Ph.D.		

ABSTRACT

Glucose syrup was a product from taro starch hydrolyzed by α - amylase and glucoamylase. From quantitative analysis of the taro starch extracted with 0.05 and 0.5% (w/v) sodium hydroxide (NaOH), it was found that there 83.60% (w/w) carbohydrate in the taro starch extracted with 0.05% NaOH which was more than extracted with 0.5% NaOH. The reducing sugar concentrations in taro starch extracted with 0.05 and 0.5% NaOH and hydrolyzed by α - amylase enzyme (30, 61, 91, 122 units) were measured. During the liquefaction step, 0.5% NaOH and 61-unit α - amylase added respectively showed the highest reducing sugar concentration. Subsequently, glucoamylase enzymes of various activities (37, 61, 86, 123 units) were added in the taro starch extracted with 0.5% NaOH and hydrolyzed by 30-unit and 61-unit α - amylase enzyme. The highest reducing sugar concentration of 18.1843 g/l was presented from 30-unit α - amylase and 123-unit glucoamylase addition. The obtained results were then compared to the sugar concentrations from HPLC. The highest amount of monosaccharide and disaccharide was found in taro starch with α - amylase hydrolysis (30unit) and glucoamylase enzyme (86unit). It was found glucose and maltose of 15.9698 and 0.7953 g/l, respectively.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 เผือก	3
2.2 แป้ง	8
2.2.1 อะไมโลส	8
2.2.2 อะไมโลเพกทิน	9
2.2.3 สารตัวกลาง	10
2.2.4 ส่วนประกอบอื่นๆภายในเม็ดแป้ง	10
2.3 ส่วนประกอบอื่นที่มีผลต่อลักษณะและคุณสมบัติของเม็ดแป้ง	11
2.3.1 ไขมัน	12
2.3.2 ไนโตรเจน (โปรตีน)	12
2.3.3 เถ้า	12
2.3.4 ฟอสฟอรัส	12
2.4 เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง	13
2.4.1 เอนไซม์ย่อยภายใน (Endoamylase)	14
2.4.2 เอนไซม์ย่อยภายนอก (Exoamylase)	15
2.4.3 เอนไซม์พันธะกิ่ง (Debranching enzyme)	17
2.5 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตเอนไซม์จากโคอะไมเลส	18
2.5.1 ปริมาณความชื้น	18
2.5.2 อุณหภูมิ	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5.3 พีเอช	19
2.5.4 ปริมาณออกซิเจน	19
2.5.5 แหล่งคาร์บอน	20
2.5.6 แหล่งไนโตรเจน	20
2.5.7 เกล็ดอินินทรีย์	21
2.6 จุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตเอนไซม์อะไมเลส	21
2.6.1 กลุ่มเชื้อรา	22
2.7 การเก็บเกี่ยวเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์	22
2.8 การเก็บรักษาเอนไซม์อะไมเลส	22
2.9 ประโยชน์ของเอนไซม์อะไมเลส	23
2.10 ประโยชน์ของเชื้อรา <i>Aspergillus sp.</i>	23
2.11 โทษของเชื้อ <i>Aspergillus sp.</i>	24
2.12 กระบวนการย่อยแป้งจะมี 3 ขั้นตอน	24
2.13 กกลูโคส	25
2.14 กกลูโคสไซรัป	26
2.15 กระบวนการผลิตกกลูโคสไซรัป	28
2.16 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์	34
บทที่ 3 วิธีการทดลอง	35
3.1 วัตถุประสงค์ เชื้อจุลินทรีย์ และเอนไซม์	35
3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงการพิเศษ	35
3.2.1 สารเคมี	35
3.2.2 อุปกรณ์	36
3.3 กระบวนการผลิตแป้ง	37
3.3.1 การเตรียมแป้ง	37
3.3.2 กระบวนการสกัดด้วยด่าง	37
3.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารเคมี	37
3.4.1 ปริมาณความชื้น	37
3.4.2 ปริมาณโปรตีน	37
3.4.3 ปริมาณไขมัน	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4.4 ปริมาณเส้นใย	39
3.4.5 ปริมาณเถ้า	39
3.4.6 คาร์โบไฮเดรต	40
3.4.7 ปริมาณกลูโคสและมอสโทส	40
3.5 การผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลส	40
3.6 การผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส	41
3.7 กระบวนการผลิตกลูโคสไซรัป	42
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	44
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งเผือก	44
4.2 กิจกรรมของเอนไซม์	47
4.3 การผลิตกลูโคสไซรัป	47
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	56
5.1 สรุปผลการทดลอง	56
5.2 ข้อเสนอแนะ	57
เอกสารอ้างอิง	58
ภาคผนวก ก	61
ภาคผนวก ข	62
ภาคผนวก ค	72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า	
2.1	องค์ประกอบทางเคมีของแป้งเผือก	7
2.2	องค์ประกอบของแป้งชนิดต่างๆ	11
2.3	กิจกรรมของอะไมโลไลติกเอนไซม์จากเชื้อยีสต์และรา	14
2.4	แสดงการเปรียบเทียบความหวานของน้ำตาลชนิดต่างๆ	25
2.5	คุณลักษณะทางเคมีของกลูโคสไซรัป	27
2.6	วัตถุเจือปนในอาหาร	27
2.7	สารปนเปื้อนที่ยอมรับให้มีในกลูโคสไซรัป	28
2.8	เปรียบเทียบผลดีและผลเสียของการย่อยแป้งด้วยกรด	30
2.9	เปรียบเทียบผลดีและผลเสียของการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์	31
4.1	องค์ประกอบทางเคมีโดยเฉลี่ยของแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลาย	45
4.2	ค่าเฉลี่ยของน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลาย ไซโตซิมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 0.05 โดยใช้แป้งร้อยละ 10	46
4.3	ค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยเฉลี่ยของแป้งเผือก 2 ชนิดที่ถูกละลาย ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส	49
4.4	ค่าเฉลี่ยของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์จากตัวอย่างแป้งเผือกที่สกัดด้วยสารละลาย ไซโตซิมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ที่มีกิจกรรม 30 และ 61 หน่วย และเอนไซม์กลูโคอะไมเลสต่างกิจกรรมกัน	52
4.5	ปริมาณของน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลมอลโตสที่ได้จากการย่อยแป้งเผือกทั้ง 2 ชนิด ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC	55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	รูปหัวเหื่อก	4
2.2	รูปของลำต้นและใบของเหื่อกในประเทศไทย	6
2.3	โครงสร้างของอะไมโลส	8
2.4	โครงสร้างอะไมโลเพกทิน	9
2.5	ลักษณะโครงสร้างอะไมโลเพกทินที่ประกอบด้วยสาย A,B,C	10
2.6	แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยแป้ง	13
2.7	การทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส	15
2.8	การทำงานของเอนไซม์เบต้าอะไมเลส	16
2.9	แสดงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เบต้าอะไมเลส	16
2.10	การทำงานของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส	17
2.11	การทำงานของเอนไซม์ฟลูทาเนส	18
2.12	ภาพแสดงโครงสร้างโมเลกุลของกลูโคส	26
2.13	แสดงการทำงานของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการทำงานของเอนไซม์ชนิดต่างๆ	29
2.14	แสดงอุตสาหกรรมการย่อยแป้งผลิตผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ	30
2.15	High performance liquid chromatography (HPLC)	34
4.1	การสกัดแป้งเหื่อกด้วยด่าง โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.05 และ 0.5	45
4.2	ลักษณะของสารละลายแป้งเหื่อกที่ผ่านการต้มแล้ว 20 นาที ลักษณะจะเป็นเจลใส	48
4.3	ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากตัวอย่างสารละลายแป้งเหื่อกที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสต่างกิจกรรม โดยเป็นสารละลายแป้งเหื่อกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ (ก) 0.05 และ (ข) 0.5	50
4.4	ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากตัวอย่างสารละลายแป้งเหื่อกสกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 แล้วจึงผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และเอนไซม์กลูโคอะไมเลสต่างกิจกรรมกัน ซึ่งเริ่มจากสารละลายแป้งเหื่อกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสกิจกรรม (ก) 30 และ (ข) 61 หน่วย	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญ/ที่มาของโครงการ

เผือกถือเป็นพืชเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งของประเทศไทย ซึ่งเผือกสามารถนำมาแปรรูปได้มากมายทั้งอาหารคาว อาหารกินเล่น และอาหารหวาน ด้านผู้ผลิตส่วนใหญ่จะนำเฉพาะส่วนของเนื้อเผือกมาทำเป็นผลิตภัณฑ์ทางอาหาร แต่ว่าเผือกยังสามารถนำไปใช้ในการผลิตแป้งเผือกได้ แป้งเผือกจะประกอบไปด้วยแป้งแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ แป้ง (flour) และแป้งสตาร์ช (starch) ซึ่งแป้งทั้ง 2 ประเภทนั้น จะมีส่วนประกอบทางเคมีแตกต่างกัน โดยแป้งนั้นในการผลิต หมายถึงคาร์โบไฮเดรตที่มีองค์ประกอบของคาร์บอน ไฮโดรเจน และ ออกซิเจน เป็นส่วนใหญ่ มีสิ่งอื่นเจือปน เช่น โปรตีน ไขมัน เกลือแร่ น้อยมาก ส่วนแป้งที่ผลิตโดยทั่วไปยังมีส่วนประกอบอื่นๆอยู่มาก จะเรียกว่า ฟลาว (flour) เช่น แป้งที่มีองค์ประกอบของโปรตีนสูง ได้แก่ แป้งข้าวโพด แป้งสาลี และ แป้งข้าวเจ้า จะจัดอยู่ในประเภทฟลาว เรียกกันว่า corn flour, wheat flour และ rice flour แต่เมื่อสิ่งเจือปนอันหมายถึง โปรตีน ไขมัน เกลือแร่อื่นๆ ถูกสกัดออกไปจนเหลือแป้งบริสุทธิ์เป็นส่วนใหญ่ จึงเรียกว่าแป้งสตาร์ช เช่น corn starch เป็นต้น แป้งจากแหล่งที่ต่างกันจะมีอัตราส่วนของอะไมโลสและอะไมโลเพกตินแตกต่างกัน ซึ่งทำให้คุณสมบัติของแป้งแต่ละชนิดแตกต่างกันด้วย

จากรายงานของกรมวิทยาศาสตร์บริการ (2537) พบว่าแป้งเผือกหรือเผือกมีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน คาก เถ้า และคาร์โบไฮเดรต ดังนั้นจึงต้องมีการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของแป้งเผือกด้วย เพื่อเป็นการประหยัดต้นทุนในการทำเจลาตินไนซ์ และทำให้กระบวนการเปลี่ยนรูปของแป้งหรือในกระบวนการหมักได้ง่ายขึ้น จึงนำเอนไซม์มาใช้ในการย่อยแป้งดิบโดยเรียกเอนไซม์เหล่านี้ว่า อะไมโลไลติกเอนไซม์ (amylolytic enzyme)

ซึ่งแป้งเผือกที่ผลิตได้จะสามารถนำไปใช้ในกระบวนการผลิตกลูโคสไซรัป (glucose syrup) ซึ่งใช้เอนไซม์ในการย่อยแป้งเผือกได้เป็นกลูโคส เอนไซม์ที่ใช้จะมีอยู่ 2 ชนิดคือ แอลฟาอะไมเลส และ กลูโคอะไมเลส ซึ่งเอนไซม์ 2 ชนิดนี้จะผลิตได้จากเชื้อ *Aspergillus niger* TISTR 3254 และเชื้อ *Aspergillus oryzae* NRRL 6270 ในการผลิตกลูโคสนั้นจะต้องผ่านกระบวนการย่อยแป้งก่อนถึงจะได้น้ำตาลกลูโคสซึ่งมีอยู่ 3 ขั้นตอน คือ เจลาติไนเซชัน (gelatinization) ลิควิเฟกชัน (liquefaction) และแซ็กคาริฟิเคชัน (saccharification)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจุบันอุตสาหกรรมอาหาร เช่น อุตสาหกรรมเครื่องดื่ม อุตสาหกรรมลูกกวาด มีการนำเอา กลูโคสไซรัปที่ผลิตได้จากแป้งมาใช้เป็นส่วนผสมของอาหาร เช่น เครื่องดื่ม ลูกกวาด และของหวานหรืออาหารอื่นๆ เพื่อเพิ่มความหวานของอาหาร

ด้วยสาเหตุนี้ จึงให้ความสนใจในการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตกลูโคสไซรัปจากแป้งเผือก โดยเลือกกระบวนการสกัดแป้งเผือกตามวิธีของ Tattiyakul และคณะ (2006) และจากองค์ประกอบทางเคมีของแป้งที่คล้ายคลึงกันกับแป้งเผือก เพื่อใช้เป็นกระบวนการสกัดแป้งออกจากเผือก จากนั้นนำเอนไซม์ที่ผลิตได้จากเชื้อราไปย่อยแป้งจนได้กลูโคสไซรัป จากนั้นนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลโดยวิธี HPLC ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

1. เพื่อศึกษากระบวนการผลิตแป้งเผือก
2. ศึกษาวิธีการผลิตกลูโคสไซรัปจากแป้งเผือกโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) และกลูโคอะไมเลส (glucoamylase) ในการย่อยแป้ง
3. ศึกษาคุณสมบัติต่างๆของแป้งเผือก และกลูโคสไซรัปที่ได้

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

ศึกษาวิธีการผลิตกลูโคสไซรัปจากแป้งเผือกโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) และกลูโคอะไมเลส (glucoamylase) ที่ได้จากการผลิตเองเพื่อใช้ในการย่อยแป้ง และนำมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ของแป้งเผือก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถนำกลูโคสไซรัปที่ผลิตได้ไปใช้ในอุตสาหกรรมผลิตขนมหวาน เช่น ลูกกวาด โยโย่ ชูกัส ฮอลดี (hard candy) และซอสปรุงรสต่างๆ และจะได้เรียนรู้วิธีการที่จะเพิ่มปริมาณกลูโคสที่ผลิตได้จากแป้งเผือกให้ได้ปริมาณมากขึ้น

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

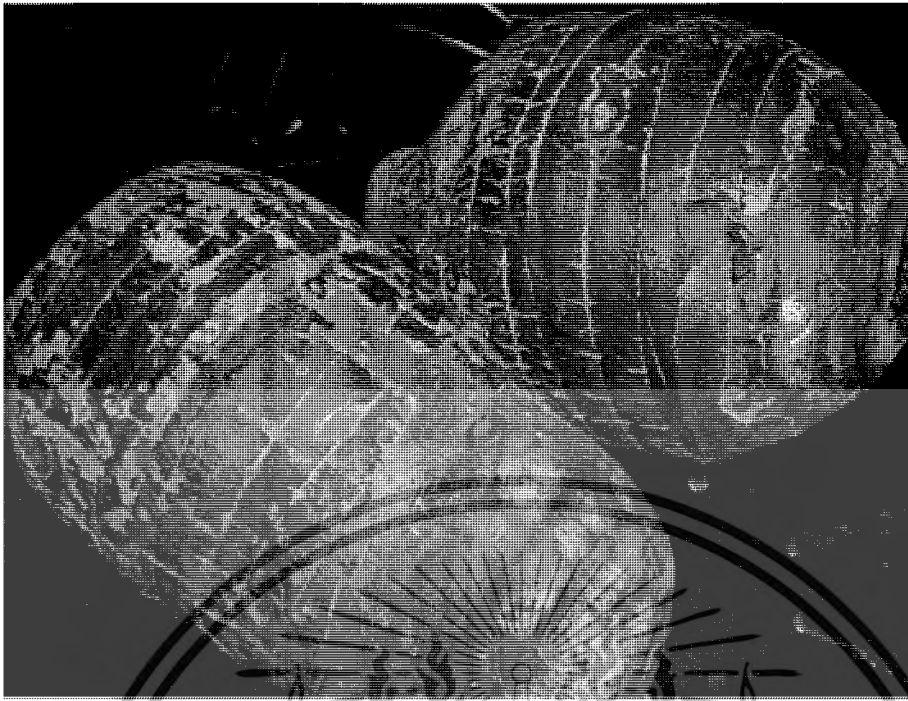
2.1 เผือก

เผือกมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Colocasia esculenta* (L) Schott อยู่ในตระกูลอะระชาเซีย (Aracea) มีรายละเอียดของอนุกรมวิธาน Wikipedia® (2008) ดังนี้

อาณาจักร: พืช	Kingdom: Plantae
ดิวิชัน: Magnoliophyta	Division: Magnoliophyta
คลาส: Liliopsida	Class: Liliopsida
ออร์เดอร์: Alismatales	Order: Alismatales
แฟมิลี: Araceae	Family: Araceae
จีนัส: <i>Colocasia</i>	Genus: <i>Colocasia</i>
สปีชีส์: <i>esculenta</i>	Species: <i>esculenta</i>

เผือกเป็นพืชมีอายุอยู่ได้หลายฤดู ลำต้นใต้ดินเจริญเติบโตกลายเป็นหัว และมีหัวเล็กๆ ล้อมรอบ หัวมีขนาดและรูปร่างต่างกันออกไป แต่โดยทั่วไปจะมีรูปร่างตามแบบรูปที่ 2.1 ปกติต้นสูง 0.4-2 เมตร ใบใหญ่เป็นรูปหัวใจ มีขนาดสีต่างๆกัน ใบเกิดจากใต้ดิน ดอกปกติประกอบด้วย 2-5 ช่อดอก อยู่ในก้านใบ ช่อดอกมีก้านยาว 15-30 เซนติเมตร ดอกบานทยอยกันเรื่อยๆ ดอกตัวเมีย มักจะไม่มี ดอก ตัวผู้หนึ่งดอกมีก้านเกสรตัวผู้ 2-3 อัน ผลมีสีเขียว เปลือกบาง ไม่ค่อยมีเมล็ด คาราวรรณ (2549)

เผือกเป็นพืชหัวที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สามารถนำมาประกอบอาหารได้หลายชนิด ทั้งคาวและหวานและการอุตสาหกรรมแปรรูป ในประเทศไทย คนไทยส่วนใหญ่จะนิยมบริโภคเผือก ในรูปขนมหวานชนิดต่าง ๆ เช่น เผือกเชื่อม เผือกกวน เผือกทอด เผือกฉาบ บัวลอยเผือก ข้าวเหนียวเผือก ขนมปังใส่เผือก ไอศกรีมเผือก โรตีสีเผือก และอาหารประเภทขบเคี้ยว ซึ่งเป็นอาหารว่าง เป็นต้น มาลินี และคณะ (2545)



รูปที่ 2.1 รูปหัวเผือก

ที่มา : กรมวิชาการเกษตร (ไม่ทราบปี พ.ศ.)

ปัจจุบันเผือกเป็นพืชหัวเศรษฐกิจที่มีศักยภาพในการส่งออก โดยส่งออกทั้งในรูปหัวเผือก ก้านใบเผือก และใบเผือก เช่น ในปี 2543 ประเทศไทยมีการส่งออกหัวเผือกประมาณ 1,039 ตัน คิดเป็นมูลค่า 14.8 ล้านบาท ตลาดต่างประเทศของเผือกที่สำคัญมีประเทศญี่ปุ่น ฮองกง ออสเตรเลีย มาเลเซีย สิงคโปร์ และเนเธอร์แลนด์ เป็นต้น ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงการใช้อย่างได้ทั้งหัว ก้านใบ และใบเผือก รวมทั้งตลาดภายในและต่างประเทศ และเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวและพืชไร่บางชนิดแล้วเผือกเป็นพืชที่น่าสนใจของเกษตรกรอีกพืชหนึ่ง

ในปี พ.ศ. 2543 พื้นที่ปลูกเผือกในประเทศไทยมีประมาณ 41,394 ไร่ ผลผลิตทั้งหมดประมาณ 102,126 ตัน ผลผลิตเฉลี่ย 2.1 ตัน/ไร่ จังหวัดที่เป็นแหล่งปลูกเผือกซึ่งเป็นการค้าที่สำคัญ ได้แก่ เชียงใหม่ นครสวรรค์ พิจิตร พิษณุโลก สุโขทัย เพชรบูรณ์ นครราชสีมา สระบุรี สิงห์บุรี นครปฐม ราชบุรี สุพรรณบุรี เพชรบุรี กาญจนบุรี นครนายก ปราจีนบุรี และชุมพร เป็นต้น

เผือกในเมืองไทยเท่าที่มีผู้จำแนกไว้มี 4 ชนิด ได้แก่

1. เผือกหอม เป็นชนิดหัวใหญ่ หนักหัวละประมาณ 2-3 กิโลกรัม มีหัวเล็กติดอยู่กับหัวใหญ่ เล็กน้อย ตั้รับประทานมีกลิ่นหอม กาบใบใหญ่สีเขียว
1. เผือกเหลือง หัวขนาดย่อม หัวสีเหลือง
2. เผือกไม้หรือเผือกไหหลำ หัวมีขนาดเล็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. **เฟือกตาแดง** ที่ตาของหัวมีสีแดงเข้มมีหัวเล็ก ๆ ติดอยู่รอบหัวใหญ่ เป็นกลุ่มจำนวนมาก กาบใบ และเส้นใบสีแดง

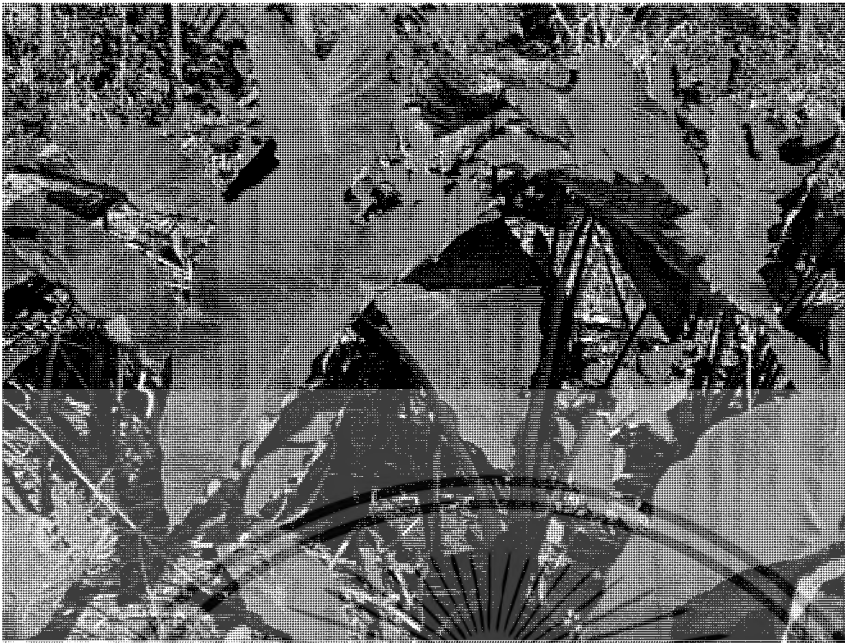
ต้นเฟือกมีลักษณะโดยทั่วไป (รูปที่ 2.2) ดังนี้

ลำต้น เฟือกเป็นพืชหัวที่มีลำต้นใต้ดินสะสมอาหารเรียกว่า หัวซึ่งเกิดจากการขยายของลำต้นใต้ดินพร้อมกับความยาวของปล้องลดลง เมื่อหัวมีขนาดใหญ่จะมีรากช่วยดึงหัวให้ลึกลงในดินที่ปลายรากเหล่านี้จะพองโตขึ้นเป็นหัวย่อยที่มีขนาดเล็ก หรือเรียกว่า ลูกเฟือก ซึ่งจะทำหน้าที่ช่วยยึดลำต้นช่วยดูดน้ำและแร่ธาตุ และสามารถใช้เป็นส่วนที่ขยายพันธุ์ได้ต่อไป

ใบ ใบเฟือกมีรูปร่างคล้ายหูช้าง หรือคล้ายหัวใจ ขนาดใบกว้างประมาณ 25-30 เซนติเมตร ยาว 35-45 เซนติเมตร ก้านใบยาว 45-150 เซนติเมตร เฟือกต้นหนึ่งจะมีก้านใบประมาณ 12-18 ก้าน สีของก้านใบ ลักษณะใบและขอบใบจะแตกต่างกันไปตามพันธุ์ เช่น ก้านใบจะมีสีเขียวอ่อน เขียวเข้ม ม่วง หรือมีจุดสีม่วง ขอบใบเรียบหรือเป็นคลื่น ปลายใบอาจแหลมหรือมน ตัวใบอาจจะหนาและเป็นมัน หรือบางและด้าน เป็นต้น

ดอก จะมีลักษณะเป็นดอกช่อ มีดอกย่อยเกาะติดกับก้านดอกเดียวกัน ดอกย่อยจะเริ่มบานจากดอกที่อยู่ต่ำสุดขึ้นไปทางปลายช่อ ไม่มีก้านดอกย่อย ดอกจะเกาะติดกับก้านดอกเดี่ยว ซึ่งลักษณะยาวและมีจานหุ้มช่อดอกไว้ ช่อดอกมีขนาดยาว 10-15 เซนติเมตร จำนวนช่อดอกประมาณ 5-15 ช่อต่อต้น ช่อดอกมีก้านยาว 15-30 เซนติเมตร ดอกเฟือกมีสีขาวครีม และสีเหลืองอ่อน แตกต่างกันไปตามพันธุ์ บางพันธุ์ออกดอกง่าย แต่บางพันธุ์ออกดอกยาก เฟือกที่ปลูกในประเทศไทยส่วนใหญ่จะไม่ออกดอก

ผล ผลของเฟือกมีขนาดเล็ก เป็นผลเล็ก ๆ เกาะกลุ่มอยู่ในก้านดอกเดียวกัน ผลมีสีเขียว เปลือกบาง เนื้อผลอวบน้ำ เมื่อแก่มีสีน้ำตาลดำภายในผลจะมีเมล็ดเล็ก ๆ อยู่เป็นจำนวนมาก



รูปที่ 2.2 รูปของลำต้นและใบของเฟือกในประเทศไทย

ที่มา : Wikipedia (2008)

เฟือก เป็นพืชหัวที่เก็บรักษาได้นานพอสมควร หลังจากการเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้ว ควรนำเฟือกไปไว้ในที่ร่มเงามีอากาศถ่ายเทได้สะดวก ไม่อับลมเป็นที่ที่มีอากาศค่อนข้างเย็น เช่น ใต้ร่มไม้ หรือใต้ถุนบ้าน เป็นต้น ต่อจากนั้นทำการแยกดินที่ติดกับหัวและแยกรากแขนง คัดแยกหัวแต่ละขนาด เช่น ใหญ่พิเศษ ใหญ่ กลาง และเล็ก แล้วบรรจุใส่ภาชนะที่เหมาะสม เช่น ถูพลาสติกขนาดใหญ่วางแบนราบไว้ หรืออาจเป็นเชิง หรือรังพลาสติก

ข้อควรปฏิบัติเพื่อเก็บรักษาหัวเฟือกไว้ได้นาน และไม่เน่าเสียง่าย ดังนี้

1. ก่อนขุดเฟือกประมาณ 15-30 วัน ไม่ควรให้น้ำเข้าแปลง หรือรดน้ำแปลงเฟือกเพราะเฟือกจะดูดซึมน้ำไว้มาก เก็บไว้ไม่ได้นาน
2. ขุดเฟือกเฉพาะเมื่อเฟือกมีอายุเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ ไม่ควรเก็บเกี่ยวเฟือกเมื่อมีอายุน้อยเกินไปจะเน่าเสียได้ง่าย
3. ในการขุดเฟือกแต่ละครั้ง ควรขุดเฟือกด้วยความระมัดระวังอย่าให้หัวเฟือกมีบาดแผลบอบช้ำเฟือกจะเน่าเสียง่าย เมื่อพบว่าเฟือกมีบาดแผล ควรแยกไว้ต่างหากไม่ปะปนกัน
4. กรณีที่จะขนส่งเฟือกไปไกลๆ หรือจะเก็บเฟือกไว้นานหลายเดือน ไม่ควรล้างดินออก ฝังให้แห้งสนิทอย่าให้เปียกชื้นก่อนที่จะนำไปเก็บในโรงเก็บหรือขนส่งไกลๆ ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การขนส่งเห็ดควรมีภาชนะใส่เห็ดที่เหมาะสม ซึ่งต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่นจะใส่กล่องกระดาษ สามารถใส่เห็ดซ้อนกันได้ โดยเห็ดไม่ทับถมกันเป็นปริมาณมาก จึงมีผลหรือเป็นส่วนหนึ่งที่จะเก็บรักษาเห็ดได้ไม่นาน
6. ไม่ควรนำเห็ดที่เก็บเกี่ยวได้ มาสุ่มกองกันเป็นปริมาณมากหรือขึ้นไปเหยียบย่ำเห็ด ควรนำเห็ดที่จะเก็บรักษาไว้นานๆ มาเก็บไว้เป็นชั้นๆ
7. ห้องที่เก็บรักษาหัวเห็ดนั้น จะต้องมีการระบายอากาศได้สะดวก อุณหภูมิประมาณ 10-15 องศาเซลเซียส

หากมีความจำเป็นต้องเก็บรักษาควรตัดใบและรากทั้งหมดออกไม่ควรล้างน้ำ การเก็บรักษาหัวเห็ด โดยการจุ่มลงไปในสารป้องกันเชื้อรา แคปแทน หรือเบนเลท ความเข้มข้น 500 ส่วนในล้านส่วน (ppm) แล้วเก็บรักษาไว้ในบ่อดิน จะทำให้หัวเห็ดเน่าเสียลดลง ได้ผลดีกว่าการเก็บรักษาในซีลื้อยแห้ง ซีลื้อยชื้น และถุงพลาสติก หัวย่อยหรือลูกเห็ดที่เก็บรักษาไว้ในบ่อดินได้สภาพพร้อมและป้องกันน้ำฝนได้จะเก็บรักษาไว้ได้นาน 6-10 เดือน อายุการเก็บรักษาขึ้นอยู่กับขนาดหัว คือเห็ดที่มีขนาดหัวเล็กจะเก็บรักษาไว้ได้นานกว่าเห็ดที่มีขนาดหัวใหญ่

นอกจากจะเก็บรักษาเห็ดในรูปหัวเห็ดสดแล้ว ยังสามารถเก็บรักษาเห็ดในรูปเห็ดแห้ง โดยปอกเปลือกแล้วผ่าเห็ดเป็นแผ่นบางๆ ตากเห็ดให้แห้งสนิท เมื่อนำมาบริโภค ก็สามารถนำไปนึ่ง ทอด หรืออบเป็นแป้งเห็ดได้

ส่วนองค์ประกอบทางเคมีของเห็ดเป็นไปดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ด

ปริมาณร้อยละ	เห็ด
คาร์โบไฮเดรต	84.6 – 91.5
โปรตีน	5.1 – 8.7
ไขมัน	0.4 – 0.9
ใยอาหาร	1.1 – 3.2
เถ้า	4.6
แคลเซียมออกซาเลต	317.0 – 435.8

ที่มา : Tattiyakul และคณะ (2006)

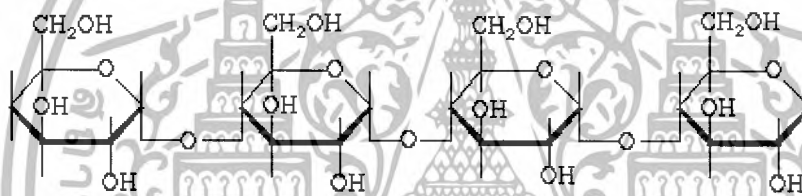
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 แป้ง (Starch)

แป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ในอัตราส่วน 6:10:5 มีสูตรเคมีโดยทั่วไปคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ แป้งเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคส ซึ่งประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลกลูโคสมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic linkage) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ทางด้านตอนปลายของสายพอลิเมอร์จะมีหน่วยกลูโคสที่มีหมู่แอลดีไฮด์ (aldehyde group) เรียกว่า ปลายรีดิวซิง (reducing end group) แป้งประกอบไปด้วยพอลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด คือ พอลิเมอร์เชิงเส้น (อะไมโลส) และพอลิเมอร์เชิงกิ่ง (อะไมโลเพกทิน)

2.2.1 อะไมโลส

อะไมโลสเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นที่ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 2,000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic linkage) ชนิดแอลฟา-1,4 (α -1,4) ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของอะไมโลส

ที่มา : Royal Society of Chemistry (2004)

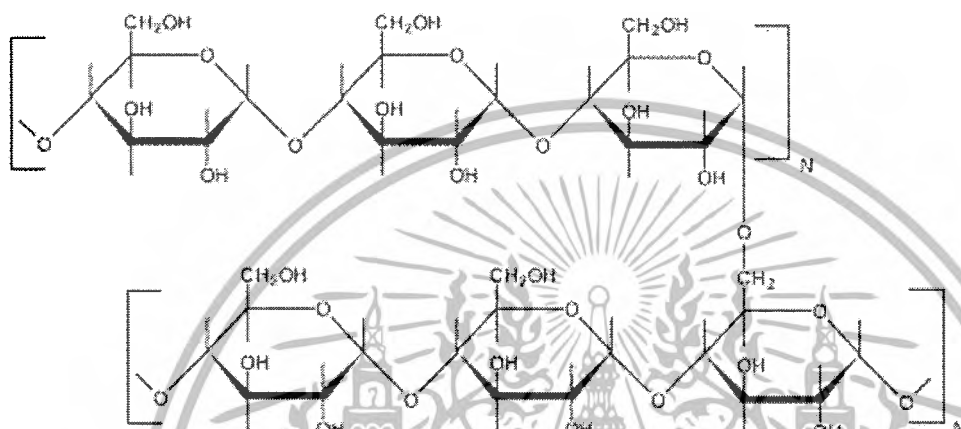
แป้งจากธัญพืช เช่น แป้งข้าวโพด แป้งสาลี แป้งข้าวฟ่าง มีปริมาณอะไมโลสสูงประมาณร้อยละ 28 ในขณะที่แป้งจากรากและหัว เช่น แป้งมันสำปะหลัง แป้งมันฝรั่ง แป้งสาธูมีปริมาณอะไมโลสต่ำประมาณร้อยละ 20 ในขณะที่ waxy starch จะไม่มีอะไมโลสเลย และแป้งข้าวโพดชนิดอะไมโลแมส (amylomaize) มีอะไมโลสสูงมากถึงร้อยละ 80

น้ำหนักโมเลกุลของอะไมโลสอยู่ในช่วง 10^5 ถึง 10^6 คาลตัน ซึ่งอะไมโลสในแป้งแต่ละชนิดจะมีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกันไป ในแป้งมันฝรั่งและแป้งมันสำปะหลังมีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าในแป้งข้าวโพดและแป้งสาลี แป้งแต่ละชนิดมีขนาดโมเลกุลหรือระดับขั้นการเกิดพอลิเมอร์ (Degree of polymerization, DP) ของอะไมโลสที่แตกต่างกัน แป้งมันฝรั่งและแป้งมันสำปะหลังมีขนาดโมเลกุลของอะไมโลสอยู่ในช่วง 1,000 ถึง 6,000 สูงกว่าแป้งข้าวโพดและแป้งสาลีซึ่งมีขนาดโมเลกุลของอะไมโลสอยู่ในช่วง 200 ถึง 1,200 แป้งที่ยังมีโมเลกุลของอะไมโลสยาวขึ้นจะมีแนวโน้มในการเกิดรีโทรเกรดชัน (retrogradation) ลดลง ในธรรมชาติอะไมโลสมักกักน้ำอยู่บ้างแต่ไม่มาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 อะไมโลเพกทิน

อะไมโลเพกทินเป็นพอลิเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคส ส่วนที่เป็นเส้นตรงของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิดแอลฟา 1, 4 ($\alpha - 1, 4$) เช่นเดียวกับอะไมโลส และส่วนที่เป็นกิ่งสาขาที่เป็นพอลิเมอร์กลูโคสสายสั้น มีขนาดโมเลกุล (DP) อยู่ในช่วง 10–60 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก ชนิดแอลฟา 1, 6 ($\alpha - 1, 6$) ดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 โครงสร้างอะไมโลเพกทิน

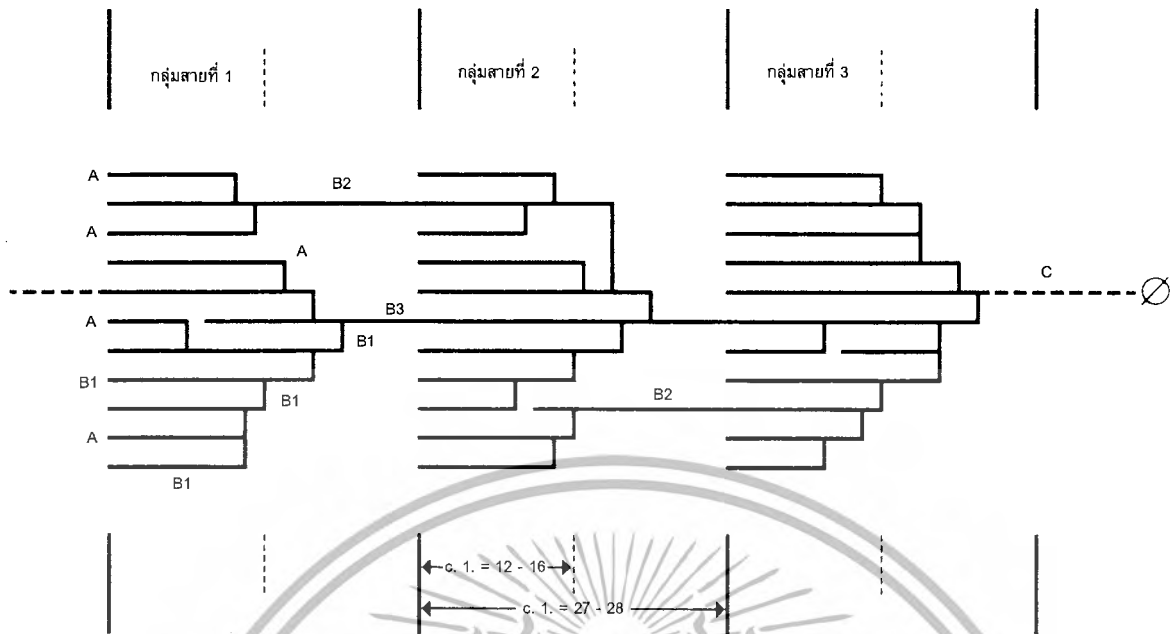
ที่มา : Royal Society of Chemistry (2004)

หน่วยกลูโคสที่มีพันธะกลูโคซิดิกชนิด $\alpha - 1, 6$ จะมีอยู่ประมาณร้อยละ 5 ของปริมาณหน่วยกลูโคสในอะไมโลเพกทินทั้งหมด ขนาดโมเลกุลของอะไมโลเพกทินในแป้งแต่ละชนิดจะมีค่า ประมาณ 2 ล้านหน่วย อะไมโลเพกทินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 1,000 เท่าของอะไมโลส คือ ประมาณ 10^7 ถึง 10^9 ดาลตัน และมีอัตราในการคืนตัวต่ำ เนื่องจากอะไมโลเพกทินมีลักษณะโครงสร้างเป็นกิ่ง

ลักษณะโครงสร้างแบบกิ่งของอะไมโลเพกทินประกอบด้วยสายโซ่ (chain) 3 ชนิด ตามรูปที่ 2.5 คือ

1. สาย A (A-chain) เชื่อมต่อกับสายอื่นที่ตำแหน่งเดียว ไม่มีกิ่งเชื่อมต่อออกจากสายชนิดนี้ (unbranched structure)
2. สาย B (B-chain) มีโครงสร้างแบบกิ่งเชื่อมต่อกับสายอื่นๆมากกว่า 2 สาย โครงสร้างอะไมโลเพกทินจะประกอบด้วยสาย A และสาย B ในอัตราส่วน 0.8 – 0.9 : 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 ลักษณะ โครงสร้างอะไมโลเพกทินที่ประกอบด้วยสาย A, B, C

ที่มา : Hizukuri (1986)

- สาย C (C-chain) เป็นสายแกนซึ่งประกอบด้วยหมู่รีดิวซิง 1 หมู่ ในอะไมโลเพกทิน แต่ละโมเลกุลประกอบด้วย สาย C หนึ่งสายเท่านั้น

2.2.3 สารตัวกลาง

สารตัวกลางเป็นเพียงส่วนน้อยในแป้งบางชนิด องค์ประกอบนี้มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่าอะไมโลเพกทิน แต่มีขนาดใหญ่กว่าอะไมโลส (Rupp และ Schwartz, 1988) แต่เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (^{13}C Nuclear Magnetic Resonance) พบว่าสารตัวกลางในแป้งสาลีจะมีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกับอะไมโลเพกทินแต่มีกิ่งที่สั้นกว่าเป็นต้น (Dais และ Perlin, 1982)

2.2.4 ส่วนประกอบอื่นๆ ภายในเม็ดแป้ง

ส่วนประกอบอื่นๆ ภายในเม็ดแป้ง สามารถแบ่งออกได้เป็นหลายส่วน ดังนี้

- ส่วนที่ไม่ใช่แป้งและแยกออกได้จากแป้ง (particulate material) ได้แก่ โปรตีนที่ไม่ละลายและผนังเซลล์ซึ่งจะมีผลกระทบต่อกระบวนการผลิตแป้ง
- ส่วนที่ติดกับพื้นผิวของเม็ดแป้ง (surface material) ซึ่งสามารถสกัดออกได้โดยไม่ต้องทำลายเม็ดแป้ง เช่น เยื่อหุ้มอะไมโลพลาสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.4.3 ส่วนที่ติดอยู่ภายในเม็ดแป้ง (internal component) สามารถแยกออกได้ โดยการทำลายเม็ดแป้ง เช่น ไขมันในแป้งจากธัญพืช หมูฟอสเฟตในแป้งมันฝรั่ง และสารประกอบไนโตรเจน

2.3 ส่วนประกอบอื่นที่มีผลต่อลักษณะและคุณสมบัติของเม็ดแป้ง

ส่วนประกอบอื่นที่มีผลต่อลักษณะและคุณสมบัติของเม็ดแป้งที่สำคัญ ได้แก่ ไขมัน โปรตีน เถ้า และฟอสฟอรัส ซึ่งมีปริมาณแตกต่างกันในแป้งแต่ละชนิด ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบของแป้งชนิดต่างๆ

ชนิดแป้ง	ร้อยละความชื้นที่ สถานะ 65% RH, 20°C	ไขมัน (%)	โปรตีน (%)	เถ้า (%)	ฟอสฟอรัส (%)
แป้งข้าวโพด	13	0.6	0.35	0.1	0.015
แป้งมันฝรั่ง	19	0.05	0.06	0.4	0.08
แป้งสาลี	14	0.8	0.4	0.15	0.06
แป้งมัน ตำปะหลัง	13	0.1	0.1	0.2	0.01
แป้งข้าวโพด เหนียว	13	0.2	0.25	0.07	0.007
แป้งข้าวฟ่าง	13	0.7	0.3	0.08	ไม่มีรายงาน
แป้งข้าวเจ้า	ไม่มีรายงาน	0.8	0.45	0.5	0.1
แป้งสาकु	ไม่มีรายงาน	0.1	0.1	0.2	0.02
แป้งข้าวโพด อะมิโลเมส	13	0.4	ไม่มีรายงาน	0.2	0.07
แป้งมันเทศ	13	ไม่มีรายงาน	ไม่มีรายงาน	0.1	ไม่มีรายงาน
แป้งเผือก	ไม่มีรายงาน	0.1-0.3	0.7-0.9	0.1-0.4	ไม่มีรายงาน

ที่มา : Swinkels (1985) และเกรียงศักดิ์ และ จูฑารีย์ (2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 ไหม้น

โดยส่วนใหญ่แป้งจะมีองค์ประกอบของไขมันอยู่ต่ำกว่าร้อยละ 1 ชนิดของไขมันที่มีอยู่ในแป้งมีผลต่อคุณสมบัติของแป้ง เช่น มีผลต่อความหนืดของแป้ง ดังนั้นในการวิเคราะห์คุณสมบัติของแป้งจะต้องกำจัดไขมันออกจากแป้ง โดยสกัดด้วยตัวทำละลายหรือย่อยสลายโดยใช้ไขมันย่อย

ไขมันที่รวมอยู่ในเมล็ดแป้งจะส่งผลกระทบต่อลักษณะและคุณสมบัติของแป้ง โดยจะลดความสามารถในการพองตัว การละลาย และการจับตัวกับน้ำของแป้ง เมื่อเกิดฟิล์มและเพสต์ (paste) ไขมันจะรวมตัวกับอะมิโลส เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนเฉื่อย (inter complex) ทำให้ฟิล์มและแป้งเปียกมีลักษณะที่บวมหรือยุบ นอกจากนี้กรดไขมันไม่อิ่มตัวซึ่งอยู่บริเวณพื้นผิวเมล็ดแป้งจะทำให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์ เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แต่สำหรับไขมันที่รวมตัวเชิงซ้อนกับอะมิโลส จะไม่ทำให้เกิดกลิ่น เนื่องจากสามารถต้านทานการเกิดออกซิเดชันได้

2.3.2 ไนโตรเจน (โปรตีน)

โดยทั่วไป ภายในแป้งมีส่วนประกอบของโปรตีนอยู่ต่ำกว่าร้อยละ 1 โดยโปรตีนจะเกาะอยู่บริเวณพื้นผิวของเมล็ดแป้ง ทำให้เกิดผลกระทบต่อลักษณะของแป้ง คือ ทำให้เกิดประจุบนพื้นผิวเมล็ดแป้ง มีผลต่อการกระจายของเมล็ดแป้ง ทำให้แป้งมีอัตราการดูดซับน้ำ อัตราการพองตัว และอัตราการเกิดเจลาตินไนซ์เปลี่ยนแปลงไป ทำให้เกิดปฏิกิริยาเมตาบอลิซึมระหว่างการทำปฏิกิริยาของกรดอะมิโนกับน้ำตาลรีดิวซิง สีและกลิ่นของน้ำตาลจะเปลี่ยนแปลงไป (โดยส่วนใหญ่จะเกิดกับแป้งจากธัญพืช เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูง)

2.3.3 เถ้า

แป้งโดยทั่วไปจะมีองค์ประกอบของสารอนินทรีย์ เช่น โซเดียม โฟสเฟต เข็ม แมกนีเซียม และแคลเซียม สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้จากส่วนที่เหลือหรือเถ้าจากการเผาไหม้โดยสมบูรณ์ โดยปริมาณแป้งในมันฝรั่งจะสัมพันธ์กับหมู่ฟอสเฟตในแป้ง สำหรับเถ้าในแป้งจากธัญพืชจะสัมพันธ์กับปริมาณฟอสฟอริฟิด Swinkels (1985)

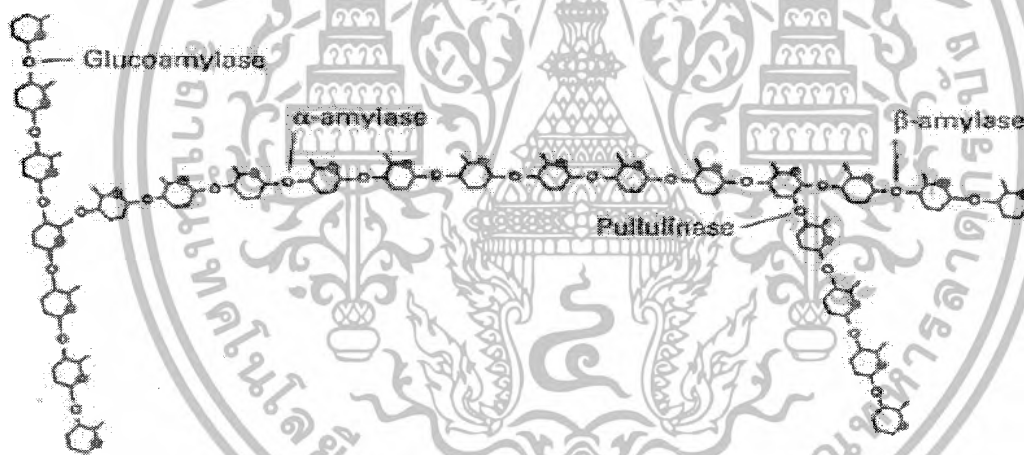
2.3.4 ฟอสฟอรัส

แป้งส่วนใหญ่มีองค์ประกอบของฟอสฟอรัสอยู่น้อยกว่าร้อยละ 0.1 โดยแป้งจากธัญพืชมีฟอสฟอรัสในรูปฟอสฟอริฟิด ประมาณร้อยละ 0.02 ถึง 0.06 และสำหรับแป้งจากพืชหัวและราก เช่น แป้งจากมันฝรั่งมีองค์ประกอบของฟอสฟอรัสประมาณร้อยละ 0.3 ถึง 0.4

ฟอสฟอรัสภายในแป้งอยู่ในรูปฟอสเฟตเชื่อมกับหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 และ 6 (C_3 และ C_6) ของหน่วยกลูโคส Lineback (1996) แป้งมันฝรั่งมีองค์ประกอบของฟอสฟอรัส จึงทำให้มีประจุพื้นผิวเป็นลบ แรงผลักระหว่างประจุลบจะทำให้แป้งมันฝรั่งมีคุณสมบัติของตัวง่าย และมีความหนืดสูงกว่าแป้งชนิดอื่นๆ (Gilliard และ Bowler, 1987)

2.4 เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง

เพื่อเป็นการประหยัดต้นทุนในการทำเจลาตินไนซ์ และทำให้กระบวนการเปลี่ยนรูปของแป้ง หรือในกระบวนการหมักได้ง่ายขึ้น จึงนำเอนไซม์มาศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งดิบ โดยเรียกเอนไซม์เหล่านี้ว่า อะไมโลไลติกเอนไซม์ (amylolytic enzyme) โดยสามารถแบ่งได้ 3 กลุ่ม คือ เอนไซม์ย่อยภายในเอนไซม์ย่อยภายนอกและ เอนไซม์ย่อยพันธะกิ่ง ดังแสดงในรูปที่ 2.6 มีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถผลิตเอนไซม์ได้ ดังแสดงในตารางที่ 2.3



รูปที่ 2.6 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยแป้ง

ที่มา : Wayman และ Parekh (1990)

ตารางที่ 2.3 กิจกรรมของอะไมโลไลติกเอนไซม์จากเชื้อยีสต์และรา

เชื้อจุลินทรีย์	กิจกรรมของเอนไซม์		
	อะไมเลส	กลูโคอะไมเลส	ย่อยพันธะกิ่ง
<i>Saccharomyces diastaticus</i>	-	+++	-
<i>Endomycopsis fibuligera</i>	++	+++	-
<i>Pichia burtonii</i>	++	++	+/-
<i>Schwanniomyces occidentalis</i>	++	+++	++
<i>Schwanniomyces castelli</i>	++	+++	-
<i>Aspergillus oryzae</i>	+++	+	-

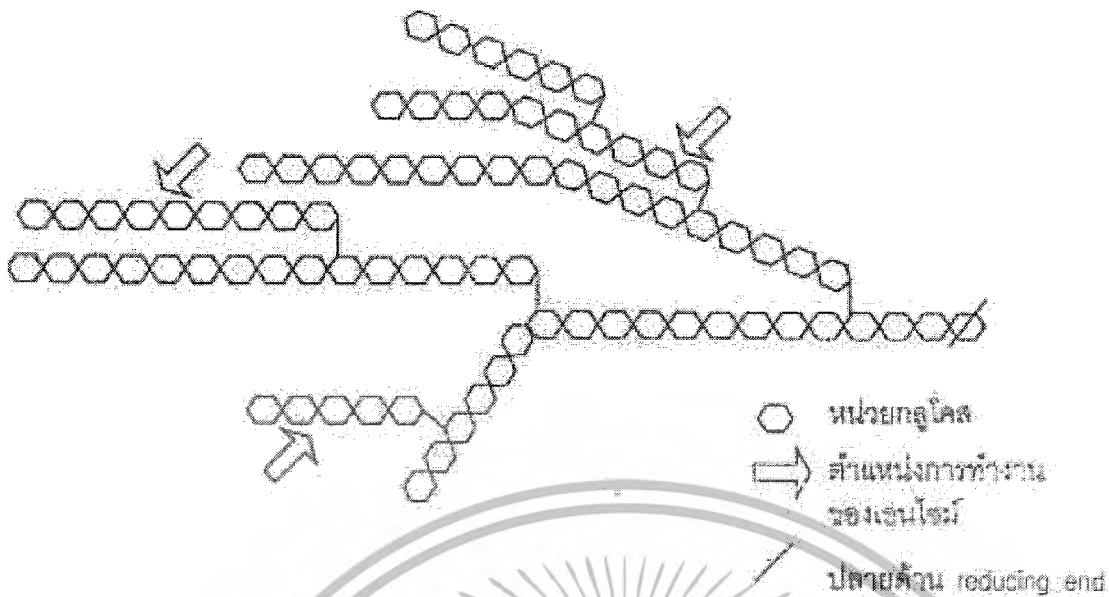
หมายเหตุ +++ = กิจกรรมสูง; ++ = กิจกรรมปานกลาง; + = กิจกรรมต่ำ; - = ไม่มีกิจกรรม

ที่มา : Wayman และ Parekh (1990)

2.4.1 เอนไซม์ย่อยภายใน (endoamylases)

เป็นเอนไซม์ที่ไม่สามารถย่อยแป้งแบบสุ่มที่ตำแหน่งพันธะแอลฟา-1,4 ไกลโคซิดิก (α -1,4 glycosidic linkage) ภายในโซ่ของอะไมโลส และอะไมโลเพกติน เอนไซม์ประเภทนี้ได้แก่

แอลฟาอะไมเลส (α -amylase ; endo-1,4- α - D- glucohydrolase; EC 3.2.1.1) เป็นเอนไซม์ที่ทำงานในโมเลกุลแป้ง โดยจะตัดพันธะแอลฟา-1,6 (α -1,6) ได้ ลักษณะการทำงานเป็นการสุ่มตัดภายใน ดังแสดงในรูปที่ 2.7 เอนไซม์นี้มีมวลโมเลกุลประมาณ 50 กิโลดาลตัน ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการย่อย ถ้าการย่อยเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จะได้ มอลโทส และ กลูโคส ถ้าไม่สมบูรณ์เนื่องจากเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสไม่สามารถย่อยพันธะแอลฟา-1,6 ไกลโคซิดิก ที่ตำแหน่งกิ่งก้านของแป้งได้ จะได้มอลโทส กลูโคส และ แอลฟา- ลิมิตเด็คซ์ทริน สายสั้นๆ ที่ละลายน้ำได้ด้วย



รูปที่ 2.7 การทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ที่มา : Bruinenberg (1996)

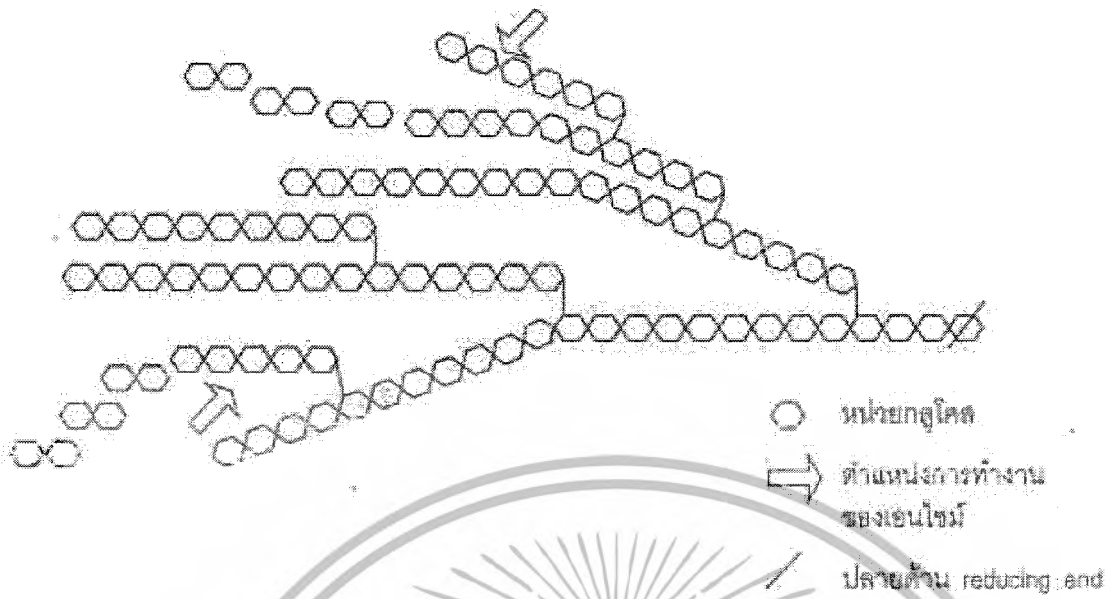
2.4.2 เอนไซม์ย่อยภายนอก (exoamylases)

เป็นเอนไซม์ที่ย่อยแป้งจาก non-reducing end เข้าไป เอนไซม์ประเภทนี้ได้แก่

2.4.2.1 เอนไซม์เบต้าอะไมเลส (β -amylase ; exo-1,4- α -D-glucan maltohydrolase ; EC 3.2.1.2) เป็นเอนไซม์ที่ทำงานภายนอกโมเลกุลของแป้ง แล้วค่อยตัดจากนอกเข้ามาใน โดยเริ่มจากปลายของอะไมโลสหรืออะไมโลเพกทิน (ปลายด้าน non-reducing end) เอนไซม์จะตัดพันธะแอลฟา-1,4 ของโมเลกุลกลูโคสเป็นคู่ๆ ผลที่ได้จะเป็นน้ำตาลมอลโทส ดังแสดงในรูปที่ 2.8 แต่เมื่อปฏิกิริยาเข้าใกล้จุดที่เป็นกิ่งก้านหรือพันธะแอลฟา-1,6 ของอะไมโลเพกทิน เอนไซม์จะหยุดกิจกรรม ทำให้เหลือแอลฟา-ลิมิตเดกซ์ทริน (α -limit dextrins) ซึ่งเป็นโมเลกุลใหญ่ๆ ใว้มาก

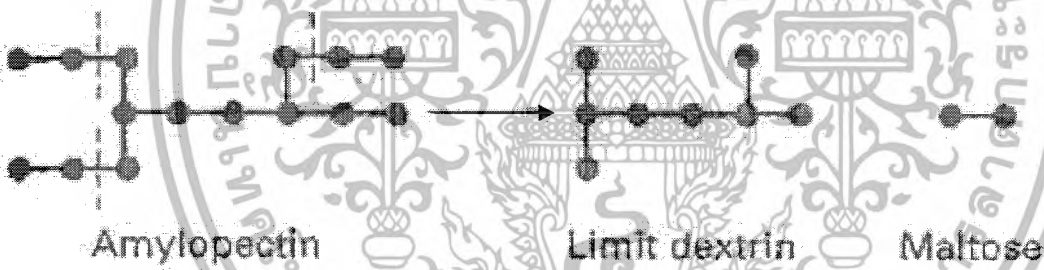
ดังแสดงในรูปที่ 2.8 เอนไซม์เบต้าอะไมเลสต้องการแคลเซียม (Ca^{2+}) ในการทำกิจกรรม เอนไซม์เบต้าอะไมเลสพบได้ในพืชชั้นสูง เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโอต ข้าวสาลี และพบได้ในถั่ว นอกจากนี้ยังพบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ได้ เช่น *Bacillus cereus* และ *Bacillus megaterium* เอนไซม์จากพืชมีน้ำหนักประมาณ 125-150 กิโลคาลตัน เอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50 กิโลคาลตัน มีความเสถียรที่พีเอช 4-9 และที่อุณหภูมิต่ำกว่า 60 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 การทำงานของเอนไซม์เบต้าอะไมเลส

ที่มา : Bruineberg (1996)



รูปที่ 2.9 แสดงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เบต้าอะไมเลส

ที่มา : Bentley และ Williams (1996)

2.4.2.2 เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase ; $\text{exo-1,4-}\alpha\text{-D-glucan}$

glucanohydrolase ; EC 3.2.1.3) เป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยแบ่งอย่างสมบูรณ์จากทางด้านที่ไม่มีหมู่รีดิวซ์ (non-reducing eng) เอนไซม์กลูโคอะไมเลสจะตัดพันธะที่จับกันของน้ำตาลกลูโคสได้ทั้งพันธะแอลฟา-1,4 และพันธะกิ่งแอลฟา-1,6 ได้ทีละหน่วยกลูโคส โดยการตัดพันธะกิ่งจะมีอัตราที่ช้ากว่าพันธะแอลฟา-1,4 แสดงการทำงานดังรูปที่ 2.10 เอนไซม์กลูโคอะไมเลสไม่ต้องการโคแฟกเตอร์ (cofactor) ในการทำกิจกรรม จากการย่อยทำให้ได้น้ำตาลกลูโคสโดยไม่มิมอลโทส และแอลฟา-ลิมิตเดกซ์ทริน ปนมาด้วย จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ชนิดนี้พวกเชื้อรา ได้แก่ *Aspergillus awamori* และ *Rhizopus oryzae* พวกแบคทีเรียได้แก่ *Bacillus stearothermophilus* , *Clostridium sp.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และพวกยีสต์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ได้ เช่น *Endomycopsis fibuligera* , *Endomycopsis capsularis* (Pandey และคณะ, 2000) เอนไซม์มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50-11- กิโลดาลตัน มีความเสถียรที่พีเอช 3.5-5.0 อุณหภูมิประมาณ 55 องศาเซลเซียส

2.4.3 เอนไซม์ย่อยพันธะกิ่ง (debranching enzymes)

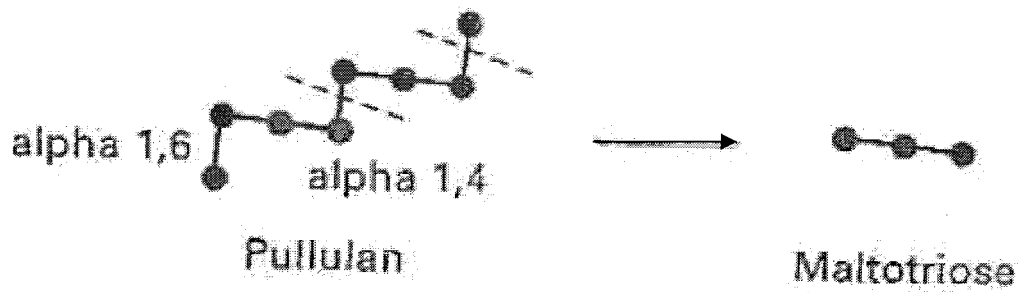
2.4.3.1 เอนไซม์ไอโซอะไมเลส (isoamylase; EC 3.2.1.68; glucan-6-glucanohydrolase) เป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยจุดกิ่งก้านของไกลโคเจนและอะไมโลเพกติน (amylopectin) ได้ดี และไม่ต้องการโคแฟกเตอร์ (cofactor) ในการทำกิจกรรม สามารถดำเนินกิจกรรมได้ดีในช่วงพีเอช 3-4 และมีความเสถียรที่อุณหภูมิ 45-55 องศาเซลเซียส เอนไซม์ชนิดนี้แยกได้จากพืช สัตว์ แบะจุลินทรีย์ เช่น *Pseudomonas amylocleramosa*

2.4.3.2 เอนไซม์พูลูลานาส (pullulanase; EC 3.2.1.4; glucanohydrolase) เป็นเอนไซม์ที่ใช้ตัดพันธะแอลฟา-1, 6 ของพุลูลแลน และอะไมโลเพกตินแต่การทำกิจกรรมไม่สมบูรณ์เท่ากับการย่อยโดยไอโซอะไมเลส และทำกิจกรรมกับ ไกลโคเจนได้กลูโคส 1 หน่วยแสดงดังรูปที่ 2.11 เอนไซม์ชนิดนี้พบได้ในพืช สัตว์ และแบคทีเรีย เอนไซม์มีความเสถียรที่พีเอช 4.5-5.5 อุณหภูมิประมาณ 55 องศาเซลเซียส



รูปที่ 2.10 การทำงานของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

ที่มา : Bruineberg (1996)



รูปที่ 2.11 การทำงานของเอนไซม์พุลลานเนส

ที่มา : Bentley และ Williams (1996)

2.5 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

2.5.1 ปริมาณความชื้น

น้ำเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารเลี้ยงเชื้อทุกชนิด น้ำช่วยละลายสารอาหารชนิดต่างๆ ทำให้จุลินทรีย์สามารถดูดซึมเข้าไปใช้ภายในเซลล์ได้สนใจ (2544) ในกระบวนการหมักแบบอาหารแข็ง เป็นกรเจริญของจุลินทรีย์บนอนุภาคอาหารแข็งที่ปราศจากน้ำอิสระ น้ำในกระบวนการหมักในอาหารแข็งจะอยู่ร่วมกันภายในอาหารแข็ง หรือดูดซับเป็นชั้นบางๆ บนพื้นผิวของอนุภาค ระดับความชื้นที่เหมาะสมจะแตกต่างกันตามชนิดของสารตั้งต้น เช่น การผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสจากเชื้อรา *Aspergillus* sp. NCIM 1248 ในสภาวะอาหารแข็งโดยใช้กากชาเป็นสารตั้งต้น พบว่ามีปริมาณความชื้นที่เหมาะสมร้อยละ 60 และการผลิตกลูโคอะไมเลสจากเชื้อรา *Aspergillus* sp. A3 ในสภาวะอาหารแข็งโดยใช้รำข้าวสาลีเป็นสารตั้งต้น มีปริมาณความชื้นที่เหมาะสมร้อยละ 80

ปริมาณน้ำเป็นปัจจัยสำคัญในการเลี้ยงเชื้อที่ใช้สารตั้งต้นเป็นของแข็ง ปริมาณน้ำที่มากเกินไปจะลดรูปทรงของสารตั้งต้น เปลี่ยนโครงสร้างของสารตั้งต้นทำให้เหนียวมากขึ้น มีผลลดการถ่ายเทออกซิเจน แต่ปริมาณน้ำที่น้อยเกินไปจะลดความสามารถในการละลายน้ำของสารอาหารในสารตั้งต้นได้

2.5.2 อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์อะไมเลส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์อะไมเลสจะต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อยีสต์และถ้าใช้อุณหภูมิสูงสุดสำหรับการเจริญของเชื้อยีสต์ในการผลิตเอนไซม์จะทำให้เอนไซม์เกิดการเสียดสภาพไป มีการศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ภายในสภาวะการหมักแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารแข็งโดยเชื้อรา *Aspergillus* sp. A3 พบว่าอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์มากที่สุด นอกจากนี้ยังมีการใช้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อยีสต์ *Saccharomycopsis fibuligera* IFO 0111 อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อยีสต์ *Endomycopsis fibuligera* YI อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อยีสต์ *Schwanniomyces alluvirus* ในการบ่มเอนไซม์เพื่อผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสต่อมา มีการพัฒนาเอนไซม์อะไมเลสให้ทนอุณหภูมิสูงได้มากขึ้นอยู่ในระหว่าง 60-70 องศาเซลเซียส จากเชื้อ *Candida Antarctica* และ *Lipomyces staekeyi* เอนไซม์อะไมเลสที่ทนอุณหภูมิสูงได้อย่างแท้จริงสามารถผลิตได้ทั่วไปในแบคทีเรีย แต่ในยีสต์ยังไม่มียางานการศึกษา ลักษณะการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์โดยความร้อนมีความสำคัญ โดยเฉพาะการเตรียมเอนไซม์อะไมเลสจากเชื้อยีสต์เพื่อจุดมุ่งหมายในการผลิตเบียร์คาร์โบไฮเดรตต่ำ ซึ่งเอนไซม์ที่เติมลงไปจะถูกยับยั้งได้ในขั้นตอนการพาสเจอร์ไรซ์ โดยส่วนใหญ่มี pH และอุณหภูมิของเอนไซม์อะไมเลสจากยีสต์ค่อนข้างใกล้เคียงกับเอนไซม์อะไมเลสจากเชื้อราทั่วไป

2.5.3 พีเอช

ค่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกลูโคอะไมเลสจากเชื้อยีสต์ พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 4-6.5 ในการผลิตสารบางอย่างจำเป็นต้องมีการควบคุมพีเอชให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม จึงจะได้ผลผลิตปริมาณสูง พีเอชของอาหารอาจเปลี่ยนแปลงตามกิจกรรมเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ เนื่องจากการปล่อยกรดอินทรีย์ออกมาทำให้พีเอชลดลง หรือการย่อยสลายกรดอินทรีย์จะทำให้พีเอชเพิ่มขึ้น ส่วนการย่อยสลายยูเรียจะมีสาเหตุทำให้พีเอชเป็นด่าง การเปลี่ยนแปลงพีเอชมีผลอย่างสูงต่อจุลินทรีย์ การควบคุมพีเอชทำได้โดยเติมสารบางอย่างลงไปเพื่อทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ ตัวอย่างเช่น การเติมเกลือแอมโมเนียมหรือยูเรีย เพื่อควบคุมการลดลงของพีเอชในระหว่างการเจริญของ *Aspergillus niger* ที่ใช้แป้งเป็นสารตั้งต้น โดยยูเรียจะสลายให้เกลือแอมโมเนียมซึ่งจะมีผลขัดขวางการเกิดกรด ในระดับอุตสาหกรรมควบคุมพีเอชในอาหารแข็งโดยการพ่นฝอยสารละลายยูเรีย กิจกรรมยูเรียเอส (urease activity) ของจุลินทรีย์จะเพิ่มพีเอชได้โดยผลิตแอมโมเนีย และในการเลี้ยงราหรือยีสต์ในอาหารแข็งสามารถป้องกันหรือลดการปนเปื้อนได้โดยการใช้สภาวะพีเอชที่เหมาะสมต่างๆ

2.5.4 ปริมาณออกซิเจน

ออกซิเจนมีความสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์โดยเฉพาะพวกที่ต้องการอากาศ ปริมาณออกซิเจนในอาหารจะเป็นตัวควบคุมอัตราการเจริญและการผลิตสารเมทาบอลิซึม การให้ออกซิเจนมีจุดมุ่งหมายที่สำคัญ 4 ประการคือ เพื่อรักษาภาวะการให้อากาศ ละลายคาร์บอนไดออกไซด์ ควบคุมอุณหภูมิของสารตั้งต้นและควบคุมระดับความชื้น อากาศที่แวดล้อม

อาจมีผลต่อระดับชีวมวลและการผลิตเอนไซม์ ในการใช้ออกซิเจนในสภาวะอาหารเหลวปัจจัยที่จำกัดการเจริญคือ การสลายของออกซิเจนในน้ำได้ต่ำ ในสภาวะอาหารแข็งออกซิเจนในอากาศสามารถเข้าไปในสารตั้งต้นได้อย่างอิสระ ดังนั้นการให้อากาศอาจทำได้ง่ายกว่าอาหารแข็ง มีพื้นที่ผิวที่สัมผัสระหว่างอากาศ สารตั้งต้นและเอนไซม์สูง การควบคุมการให้อากาศและการถ่ายเทอากาศทำได้ง่าย เนื่องจากโดยทั่วไปสภาวะอาหารแข็งไม่มีการจำกัดปริมาณออกซิเจน

2.5.5 แหล่งคาร์บอน

คาร์บอนเป็นธาตุที่มีความสำคัญในการสร้างพลังงานและเซลล์ กระบวนการหมักโดยทั่วไปนิยมใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งคาร์บอน คาร์โบไฮเดรตที่มีมากและนิยมใช้ได้แก่ แป้งจากธัญพืชชนิดต่างๆ แป้งมันฝรั่ง แป้งมันสำปะหลัง การใช้แหล่งคาร์บอนที่จุลินทรีย์สามารถเมแทบอลิซึมได้อย่างรวดเร็วที่ความเข้มข้นสูงๆ พบว่าจะทำให้จุลินทรีย์เจริญได้อย่างรวดเร็ว แต่สร้างผลผลิตที่เป็นสารเมแทบอลิซึมที่ตกค้างได้ต่ำ สมใจ (2544) แหล่งคาร์บอนที่มีผลชักนำการผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสจากยีสต์ได้ เช่น แป้ง มอลโทส (maltose) เดกทริน (dextrins) ส่วนกลูโคสพบว่าไม่มีผลชักนำการผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลส De mot (1990)

โดยทั่วไปสารตั้งต้นที่มีมวลโมเลกุลสูงซึ่งประกอบด้วยพันธะแอลฟา-1,4 จะเป็นสารตั้งต้นที่ดีสำหรับทั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส นอกจากนี้ไกลโคเจน ซึ่งมีจำนวนของกิ่งพันธะแอลฟา-1, 6 มากยังเป็นสารตั้งต้นที่ดีสำหรับเอนไซม์กลูโคอะไมเลสจากเชื้อยีสต์ De mot และ Verachtert (1987)

2.5.6 แหล่งไนโตรเจน

ยีสต์ได้รับไนโตรเจนจากรสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ เพื่อนำไปสร้างโปรตีน และยีสต์ส่วนใหญ่สามารถสร้างแอมโมเนียมไอออนได้ ความสามารถในการใช้ในเตรทและไนโตรท และความสามารถในการดึงหมู่อะมิโนออกจากกรดอะมิโน ช่วยแยกความแตกต่างของยีสต์แต่ละสายพันธุ์ นงลักษณ์ และปรีชา (2547) แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมหมัก ได้แก่ แอมโมเนียม เกลือแอมโมเนียม และไนเตรท ส่วนแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนอาจใช้ในรูปกรดอะมิโน โปรตีน หรือยูเรีย โดยทั่วไปจุลินทรีย์จะเจริญในอาหารที่มีอนินทรีย์ไนโตรเจน(สมใจ, 2544) ส่วนแหล่งไนโตรเจนที่มีราคาไม่แพง ที่สามารถส่งเสริมการผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในยีสต์ได้ เช่น น้ำแช่ข้าวโพด เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์ในยีสต์บางสายพันธุ์ เช่น *Schwanniomyces occidentalis* , *Trichosporon pullulans* ราข้าวสาลีและราข้าวเจ้า เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ในยีสต์ *Saccharomycopsis fibuligera* ส่วนเชื้อราโดยทั่วไปสามารถใช้เกลือแอมโมเนียมได้ดี De mot (1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.7 เกลื้ออินทรี

เกลื้ออินทรีอาจช่วยให้มีการสะสมของเอนไซม์อะไมเลสจากเชื้อยีสต์มากขึ้น หรืออาจช่วยให้เซลล์ปลดปล่อยเอนไซม์อะไมเลสที่เกาะอยู่กับเซลล์ออกมาในอาหารได้ง่ายขึ้น แร่ธาตุที่ยีสต์ต้องการเพื่อการเจริญ ได้แก่ โพแทสเซียม แมกนีเซียม โซเดียม และแคลเซียม สารที่ต้องการในปริมาณเล็กน้อย คือ โบรอน ทองแดง สังกะสี แมงกานีส เหล็ก ไอโอดีน และ โมลิบดีนัม เพื่อให้ยีสต์เจริญเติบโตมากที่สุด นงลักษณ์ และปรีชา (2547) แร่ธาตุโลหะที่มีความเข้มข้นต่ำเกินไปจะไม่เพียงพอต่อการเจริญของจุลินทรีย์ หรือสูงเกินไปจะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ได้ ในการผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสจะถูกยับยั้งโดยไอออนปรอท และจะถูกกระตุ้นโดยไอออนแมงกานีสและเหล็ก Pandey (2000)

2.6 จุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตเอนไซม์อะไมเลส

แหล่งของเอนไซม์อะไมเลสผลิตได้จากพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ แต่ปัจจุบันนิยมการผลิตเอนไซม์จากจุลินทรีย์ไม่ว่าจะเป็น แบคทีเรีย เชื้อรา และยีสต์ เพราะเป็นแหล่งที่มีปริมาณเอนไซม์ไม่จำกัดและใช้เวลาในการผลิตไม่มากนัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิตเอนไซม์อะไมเลสจากแบคทีเรีย ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียสามารถเลี้ยงได้ง่าย เจริญเติบโตเร็ว ต้องการอาหารไม่ซับซ้อน อีกทั้งยังสะดวกในการเก็บรักษาเชื้อได้นานหลายเดือนโดยไม่ต้องทำการถ่ายเชื้อ (subculture) บ่อย และมีการแปรผันทางพันธุกรรม (mutation) ของสายพันธุ์เชื้อที่ใช้ในการผลิตเอนไซม์น้อยกว่าเชื้อรา Uhlig (1998)

2.6.1 กลุ่มเชื้อรา

Ramachandran และคณะ (2004) รายงานว่า *Aspergillus oryzae* สามารถผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้สูงในสูตรอาหารแข็งที่ประกอบด้วยกากของเหลือจากการสกัดน้ำมันมะพร้าว เป็นวัตถุดิบหลักเพียงอย่างเดียวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งจะให้ออกฤทธิ์เอนไซม์ 1,372 หน่วยต่อกรัมของสับสเตรทแห้ง และจะให้ออกฤทธิ์ของเอนไซม์ 1.827 หน่วยต่อกรัมสับสเตรทแห้ง เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่เหมาะสมเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสโดยมีความชื้นเริ่มต้น 68 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเติมกลูโคสและแป้งลงไป อาหาร พบว่าสามารถชักนำให้ผลิตเอนไซม์สูงถึง 1,911 หน่วยต่อกรัมสับสเตรทแห้ง และเมื่อมีการเติมเปปโติน 1 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารจะให้ออกฤทธิ์ของเอนไซม์สูงที่สุดถึง 3,388 หน่วยต่อกรัมสับสเตรทแห้ง

Soni และคณะ (2003) รายงานว่า จากการคัดแยก *Bacillus* sp. AS-1 และ *Aspergillus* sp. AS-2 ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส ได้ตามลำดับในปริมาณที่มาก

โดยใช้อาหารแข็งคือเมล็ดข้าวสาลีในการหมัก เอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้สามารถ กระตุ้น คงสภาพได้ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่นับอยู่ใต้เงื่อนไขเว็บไซต์โยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในช่วงอุณหภูมิและพีเอช ที่กว้าง เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสแสดงประสิทธิภาพในการลดความหนืดของแป้งได้ร้อยละ 96 ขณะที่เอนไซม์กลูโคอะไมเลสแสดงประสิทธิภาพในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้ร้อยละ 87 ในสารละลายน้ำแป้งร้อยละ 15 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเมื่อใช้เอนไซม์ทั้งสองชนิดร่วมกันสามารถที่จะย่อยแป้งสาลีได้สูงสุดถึงร้อยละ 96

2.7 การเก็บเกี่ยวเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์

เอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์จะต้องเก็บเกี่ยวออกจากอาหารเหลวหรืออาหารแข็งที่ใช้โดยอาศัยกรรมวิธีในการเก็บเกี่ยวที่ต้องขึ้นกับวัตถุประสงค์ว่าจะให้เอนไซม์จำหน่ายอยู่ในรูปแห้งหรือรูปเหลว

ในกรณีของเอนไซม์จากการหมักในอาหารแข็งสามารถนำเอนไซม์ในอาหารแข็งที่ใช้ไปอบให้แห้งเพื่อใช้เป็นแหล่งเอนไซม์ในรูปแห้ง ในขณะที่ถ้าต้องการเอนไซม์เอนไซม์เหลว จะต้องนำเอนไซม์ในรูปแห้งนั้นไปสกัดด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม เอนไซม์ที่สกัดได้จะต้องผ่านขั้นตอนต่อไปนี้ คือ การกรอง การทำให้เข้มข้น การตกตะกอน การทำแห้ง ทั้งนี้ขึ้นกับวัตถุประสงค์ในการใช้งานสำหรับเอนไซม์จากการหมักในอาหารเหลวจะต้องผ่านขั้นตอนเก็บเกี่ยวเช่นเดียวกับเอนไซม์จากการหมักในอาหารแข็ง ยกเว้นขั้นตอนการสกัดตอนแรกเท่านั้น

2.8 การเก็บรักษาเอนไซม์อะไมเลส

การเก็บรักษาเอนไซม์อะไมเลสให้กิจกรรมคงที่หรือลดลงเพียงเล็กน้อย ต้องคำนึงถึงอุณหภูมิและพีเอช ทั้งนี้เนื่องมาจากเอนไซม์อะไมเลสที่ผลิตจากสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีพีเอชและอุณหภูมิที่คงตัวแตกต่างกัน ดังนั้นต้องเลือกพีเอชและอุณหภูมิในการเก็บรักษาให้เหมาะสมมิฉะนั้นเอนไซม์อาจเสียสภาพได้ โดยอาจเก็บเอนไซม์ไว้ที่อุณหภูมิต่ำดังนี้

1. ผู้เย็นธรรมชาติ (อุณหภูมิ 4 ถึง 10 องศาเซลเซียส) อาจมีการเติมอนุโมลสารบางอย่างลงไปเพื่อรักษากิจกรรมของเอนไซม์ เก็บได้นานประมาณ 1 ถึง 2 เดือน
2. แห้งแข็ง นิยมใช้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 ถึง 20 องศาเซลเซียส
3. ทำ freeze dry หรือ lyophilized เป็นการระเหิดน้ำออกจากสารละลายของเอนไซม์ในสภาพที่เป็นน้ำแข็ง ทำในสภาพสุญญากาศ เมื่อเสร็จแล้วสามารถเก็บเอนไซม์ไว้ที่อุณหภูมิห้องหรือที่อุณหภูมิต่ำๆ ก็ได้
4. ทำเอนไซม์ตรึงรูป (immobilized enzyme) โดยให้เอนไซม์เกาะกับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เช่น แก้วที่รูพรุนและ พอลิอะคริลาไมด์เจล เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 ประโยชน์ของเอนไซม์อะไมเลส

1. ในอาหารประเภทอบมักใช้เอนไซม์อะไมเลส จากพวกเชื้อรา เช่น *Aspergillus oryzae* เชื้อ bacteria (*Bacillus subtilis*) และ ธัญพืช (malted wheat ,malted barley)
2. อุตสาหกรรมทอผ้า ในการทอผ้าจะต้องนำวัตถุดิบมาซึ่งให้ตั้งบนเครื่องทอ ซึ่งทำให้ด้ายขาดง่าย และเพื่อให้เส้นด้ายสามารถทนต่อแรงดึง ได้ดีจะต้องนำมาชุบน้ำแป้งก่อนที่จะนำไปทอผ้า และเมื่อทอผ้าเป็นผืนเรียบร้อยแล้วจะเอาแป้งที่ตกค้างออกโดยใช้เอนไซม์อะไมเลสในการย่อย และนำไปซักด้วยน้ำร้อนเพื่อทำลายเอนไซม์ วิธีการนี้ใช้กับการทอผ้าฝ้าย ขนแกะและแพรเทียม
3. อุตสาหกรรมทำขนมปัง ในการเตรียมแป้งที่ใช้ทำขนมปังจะเติมเอนไซม์อะไมเลสลงไปเพื่อช่วยย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ซึ่งยีสต์จะใช้ น้ำตาลนี้ทำให้เกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในแป้งหมัก ทำให้ได้โด เอนไซม์ที่ใช้มีทั้งแอลฟาอะไมเลส และ กลูโคอะไมเลสจากเชื้อรา เนื่องจากว่าเอนไซม์นี้ไม่สามารถทนความร้อนได้ ดังนั้นเอนไซม์นี้จะถูกทำลายไปหลังการอบขนมปังแล้ว จึงไม่สามารถย่อยแป้งในขนมปังได้อีก ทำให้ได้ขนมปังที่ฟูดี
4. อุตสาหกรรมเครื่องคั้นน้ำผลไม้ ปกติน้ำผลไม้คั้นจะมีความขุ่น เพราะมีปริมาณแป้งสูง จึงต้องใส่เอนไซม์อะไมเลสลงไปเพื่อทำให้น้ำผลไม้ใสขึ้น โดยการบ่มน้ำผลไม้ที่มีเอนไซม์อะไมเลสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 80-90 องศาฟาเรนไฮต์ หลังจากนั้นจึงกรองเอาน้ำตาลออก น้ำตาลที่กรองได้สามารถนำไปใช้ทำเยลลี่ได้
5. อุตสาหกรรมการผลิตแอลกอฮอล์และเครื่องคั้นประเภทแอลกอฮอล์ ในการผลิตแอลกอฮอล์เพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงและเครื่องคั้นแอลกอฮอล์และเบียร์จะใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสจากเชื้อรา และเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในกระบวนการเพื่อช่วยย่อยแป้งให้เป็นกลูโคส หรือเพื่อกำจัดเดกซ์ทรินออกจากเบียร์ เนื่องจากเอนไซม์เหล่านี้ไม่ทนต่ออุณหภูมิสูงจึงต้องเติมลงไปจนถึงหมักในขณะที่ยีสต์ นอกจากนี้เอนไซม์นี้ยังใช้ในการทำไวน์และเบียร์ให้ใสด้วย
6. อุตสาหกรรมผลิตกลูโคสไซรัป เพื่อใช้เป็นสารให้ความหวานในอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ ในการผลิตไซรัปเหล่านี้จะใช้แป้งที่ได้จากเมล็ดพืชต่างๆ เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี นำมาย่อยให้เป็นน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์อะไมเลส

2.10 ประโยชน์ของเชื้อรา *Aspergillus sp.*

1. ด้านอุตสาหกรรม ได้นำไปในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่นทำเต้าเจี้ยวใช้ *Aspergillus wentii* ผลิตกรดซิตริกและกรดกลูโคนิก ใช้ *Aspergillus sp.* เหล้าสาเกจากข้าวใช้ *Aspergillus oryzae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ใช้ทดสอบธาตุโลหะ โดยเฉพาะทองแดงในดินใช้ *Aspergillus niger* ซึ่งถ้าในดินขาดทองแดง สีของราจะอ่อน ถ้ามีทองแดงสีจะคล้ำ ถ้าไม่มีทองแดงจะมีสีเหลือง

2.11 โทษของเชื้อ *Aspergillus* sp.

ทำให้อาหารเป็นพิษ เชื้อ *Aspergillus* sp. หลายชนิด โดยเฉพาะ *A. flavus* เมื่อเจริญในอาหารพวกถั่วต่างๆ จะสร้างสารพิษที่เรียกว่า อัลฟาทอกซินทำให้เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์ได้ ทำให้เกิดโรค และทำลายอาหารและผลผลิตต่างๆทางเกษตรกรรม เช่น *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp. ทำลายอาหารพวกเนื้อสัตว์และไขมัน ได้ดี Uhlig (1998)

2.12 กระบวนการย่อยแป้ง

จะมี 3 ขั้นตอนคือ

1. จีลาทีไนเซชัน (gelatinization) เป็นการแยกอนุภาคของแป้งให้เล็กลงเกิดเป็น suspension ที่หนืด โดยวิธีให้ความร้อน ทำให้แป้งสุกและเกิดการย่อยแป้งบางส่วนด้วยเอนไซม์
2. ลิกูแฟคชัน (liquefaction) เป็นกระบวนการทำให้แป้งใสและย่อยแป้งบางส่วนได้เป็น เดกซ์ทริน เพื่อเตรียมแป้งให้เหมาะที่จะย่อยด้วยเอนไซม์ด้วยกระบวนการต่อไป วิธีการคือเตรียม สารละลายแป้ง ความเข้มข้นร้อยละ 30-35 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส เม็ดแป้งจะเกิดการแตกตัวออกมาเป็นเจล น้ำแป้งจะมีลักษณะหนืดและมีการปรับสภาวะบางอย่างให้เหมาะสมก่อนการเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส นิยมใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากแบคทีเรีย ซึ่งมี 2 ลักษณะคือ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ไม่ทนต่ออุณหภูมิสูง ซึ่งมีอุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 65 องศาเซลเซียส และเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ทนต่ออุณหภูมิสูง มีอุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 90 องศาเซลเซียส และทนความร้อนสูงได้นาน เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจะมีการย่อยอะไมโลสหรืออะไมโลเพคตินแบบสุ่มที่ด้านในของเส้นสายที่พันธะแอลฟา-1,4 โกลโคซิดิก ทำให้แป้งที่ได้มีความหนืดลดลงอย่างรวดเร็ว

3. แซ็กคาริฟิเคชัน (saccharification) เป็นกระบวนการผลิตน้ำตาลชนิดต่างๆ หลังจากได้ เดกซ์ทริน เช่น

3.1 การผลิตน้ำตาลมอลโทส ในการผลิตน้ำตาลชนิดนี้จะใช้เอนไซม์ 2 ชนิด คือ บีตาอะไมเลสจากแบคทีเรีย และเอนไซม์บีตาอะไมเลสจากเชื้อรา เอนไซม์ทั้งสองชนิดจะย่อยได้น้ำตาลมอลโทสทั้งคู่แต่จะตัดในลักษณะแตกต่างออกไป โดยเอนไซม์บีตาอะไมเลสจากแบคทีเรียจะตัดพันธะแอลฟา-1,4 โกลโคซิดิกทีละ 2 หน่วย ได้เป็นน้ำตาลมอลโทสอย่างเดียว และเอนไซม์บีตาอะไมเลสจากเชื้อราจะตัดแบบสุ่มได้ทั้งน้ำตาลมอลโทสและน้ำตาลชนิดอื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การผลิตน้ำตาลกลูโคส จะใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส หรือเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสในการย่อยพันธะแอลฟา 1, 6 ไกลโคซิดิก ทีละหน่วยได้น้ำตาลกลูโคส เอนไซม์นี้สามารถย่อยพันธะแอลฟา 1, 6 ไกลโคซิดิก ทำให้เกิดการย่อยที่สมบูรณ์ได้น้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น ซึ่งน้ำตาลกลูโคสที่ได้สามารถนำไปทำกลูโคสไซรัปหรือนำไปทำแห้งได้เป็นกลูโคสผง หรือนำไปใช้ในกระบวนการอื่นตัวอย่างเช่น

3.2.1 กระบวนการไอโซเมอไรเซชัน โดยใช้เอนไซม์กลูโคสไอโซเมอเรส เพื่อผลิตน้ำตาลฟรุคโตส

3.2.2 กระบวนการคอนเวอร์ชัน (conversion) ซึ่งแบ่งเป็น 2 ลักษณะ คือการใช้สารเคมี จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นซอร์บิทอล และการหมักโดยจุลินทรีย์จะได้ผลิตภัณฑ์ เช่น โมโนโซเดียมกลูตาเมต ไลซีน และเอทานอล เป็นต้น

2.13 กลูโคส

กลูโคสจัดเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญที่สุดในทางโภชนาการเพราะเป็นส่วนประกอบของน้ำตาลโมเลกุลคู่แทบทุกชนิด ดังนั้นกลูโคสจึงมีปริมาณมากที่สุด ในธรรมชาติพบมากในผักและผลไม้ โดยเฉพาะในองุ่น จึงมีชื่อว่า น้ำตาลองุ่น (Grape sugar) ในร่างกายคนหรือสัตว์อาจได้กลูโคสจากการย่อยแป้ง หรือจากพวกน้ำตาลโมเลกุลคู่ก็ได้ กลูโคสจะมีความหวานน้อยกว่าน้ำตาลซูโครส คือ มีความหวานเพียง 3/4 ของน้ำตาลซูโครส ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 แสดงการเปรียบเทียบความหวานของน้ำตาลชนิดต่างๆ

ชนิดน้ำตาล	เปอร์เซ็นต์ความหวาน
Lactose	16.0
Galactose	32.1
Maltose	32.5
Glucose	74.3
Sucrose	100 (เป็นตัวเปรียบเทียบ)
Fructose	173.3

ที่มา : สุนีย์ สหัสโพธิ์ (2543)

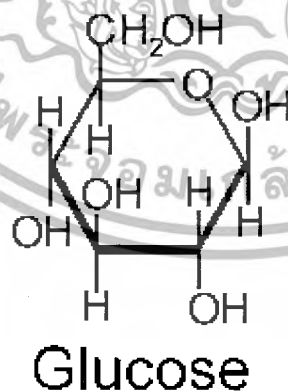
กลูโคส เป็นหน่วยที่เล็กที่สุดของสารประกอบพอลิเมอร์โบไฮเดรต มีสูตรโครงสร้าง คือ $C_6H_{12}O_6$ และมีน้ำหนักโมเลกุล 180.2 กรัม มีจุดหลอมเหลว 146 องศาเซลเซียส และผลึกกลูโคสที่ปราศจากน้ำจะเป็นรูปขนมเปียกปูน

2.14 กลูโคสไซรัป

หมายถึง สารละลาย แซคคาไรด์ (sacharide) ที่ได้จากการย่อยแป้ง ซึ่งได้ผ่านกรรมวิธีการทำให้บริสุทธิ์และทำให้เข้มข้นแล้วปัจจุบันเป็นที่นิยมผลิตกันมาก เนื่องจากสามารถนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตลูกกวาดและเครื่องคั้นหลายชนิด

ในขั้นตอนการผลิตกลูโคสไซรัปเพื่อเพิ่มมูลค่าของเปลือก จะอาศัยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเอนไซม์ 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอน Liquefaction โดยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (Termamyl® และ Tenase®) ในการย่อยแป้ง และขั้นตอน saccharification โดยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส AMG และ Spezyme®) ในการย่อย Liquefaction เพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคสในขั้นตอน saccharification น้ำตาลที่พบเป็นองค์ประกอบมากที่สุดคือ กลูโคส

ผลิตภัณฑ์กลูโคสที่ผลิตขึ้นในประเทศไทย มี 2 ชนิดคือ 1) กลูโคสไซรัป (glucose syrup) หรือกลูโคสเหลว เป็นสารละลายแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยแป้ง โดยผ่านกรรมวิธีทำให้บริสุทธิ์และเข้มข้น 2) กลูโคสผง เป็นกลูโคสไซรัปที่ทำให้แห้งเป็นผง ทั้งนี้ปริมาณการผลิตกลูโคสเหลวมีมากกว่ากลูโคสผง เนื่องจากความต้องการของตลาดมีมากกว่า โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำหวาน ทอฟฟี่หรือลูกกวาด ไอศกรีม สำหรับกลูโคสผงจะพบในอุตสาหกรรมยา



รูปที่ 2.12 ภาพแสดงโครงสร้างโมเลกุลของกลูโคส

ที่มา : <http://www.nmt.ac.th/home/chemistry/04.html>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณลักษณะทั่วไป

กลูโคสไซรัปต้องมีลักษณะเป็นของเหลวข้น มีรสหวาน ไม่มีสีหรือมีสีเหลืองอ่อน ไม่มีกลิ่นหมัก ปราศจากราที่มองเห็นได้ ไม่มีตะกอนหรือสิ่งสกปรกอื่นใด ปราศจากสารที่ทำให้ความหวานแทนน้ำตาล รวมทั้งกลี้นและรสเทียม

คุณลักษณะทางเคมี

ให้เป็นไปตามที่กำหนดในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 คุณลักษณะทางเคมีของกลูโคสไซรัป

รายการ	ปริมาณที่กำหนด
ปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid content) ค่าสุทธียุทธของน้ำหนักร	70
สมมูลเดกซ์โตรส ค่าสุทธียุทธของน้ำหนักร	20
เถ้าซัลเฟต สูงสุทธียุทธของน้ำหนักรกลูโคสไซรัปที่แห้ง	1.0
ความเป็นกรด-ด่าง	4.8-5.5

ที่มา : มาตรฐานผลิตภัณฑ์กลูโคสไซรัป (มอก. 268-2521)

วัตถุเจือปนในอาหาร

ห้ามใช้วัตถุเจือปนในอาหารอื่นใด นอกจากที่กำหนดในตาราง 2.6

ตารางที่ 2.6 วัตถุเจือปนในอาหาร

รายการ	ปริมาณสูงสุดที่ยอมให้มีได้ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
ซัลเฟอร์ไดออกไซด์	40
ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในกลูโคสไซรัปที่ใช้ในทางเภสัชกรรมโดยเฉพาะ	20
ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในกลูโคสไซรัปที่ใช้ในอุตสาหกรรมขนมหวานโดยเฉพาะ	400

ที่มา : มาตรฐานผลิตภัณฑ์กลูโคสไซรัป (มอก. 268-2521)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารปนเปื้อน

สารปนเปื้อนที่ยอมให้มีได้ ต้องมีปริมาณสูงสุดไม่เกินที่กำหนดในตาราง 2.7

ตารางที่ 2.7 สารปนเปื้อนที่ยอมให้มีได้ในกลูโคสไซรัป

รายการ	ปริมาณสูงสุดที่ยอมให้มีได้ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
อาร์เซนิก(As)	1
ทองแดง (Cu)	5
ตะกั่ว (Pb)	2

ที่มา : มาตรฐานผลิตภัณฑ์กลูโคสไซรัป (มอก. 268-2521)

ลักษณะบรรจุ

กลูโคสไซรัปต้องบรรจุในภาชนะที่สะอาดปิดสนิท ไม่เป็นสนิม ความจุไม่ต่ำกว่า 200 ลูกบาศก์เดซิเมตร ถ้าเป็นภาชนะทำด้วยเหล็ก ภายในต้องเคลือบด้วยสีหรือแล็กเกอร์ที่ปราศจากสารที่เป็นพิษและเมื่อเทกลูโคสไซรัปออกจากภาชนะนั้นแล้วต้องมีคุณลักษณะตามที่กำหนดไว้ข้างต้นที่กล่าวมา

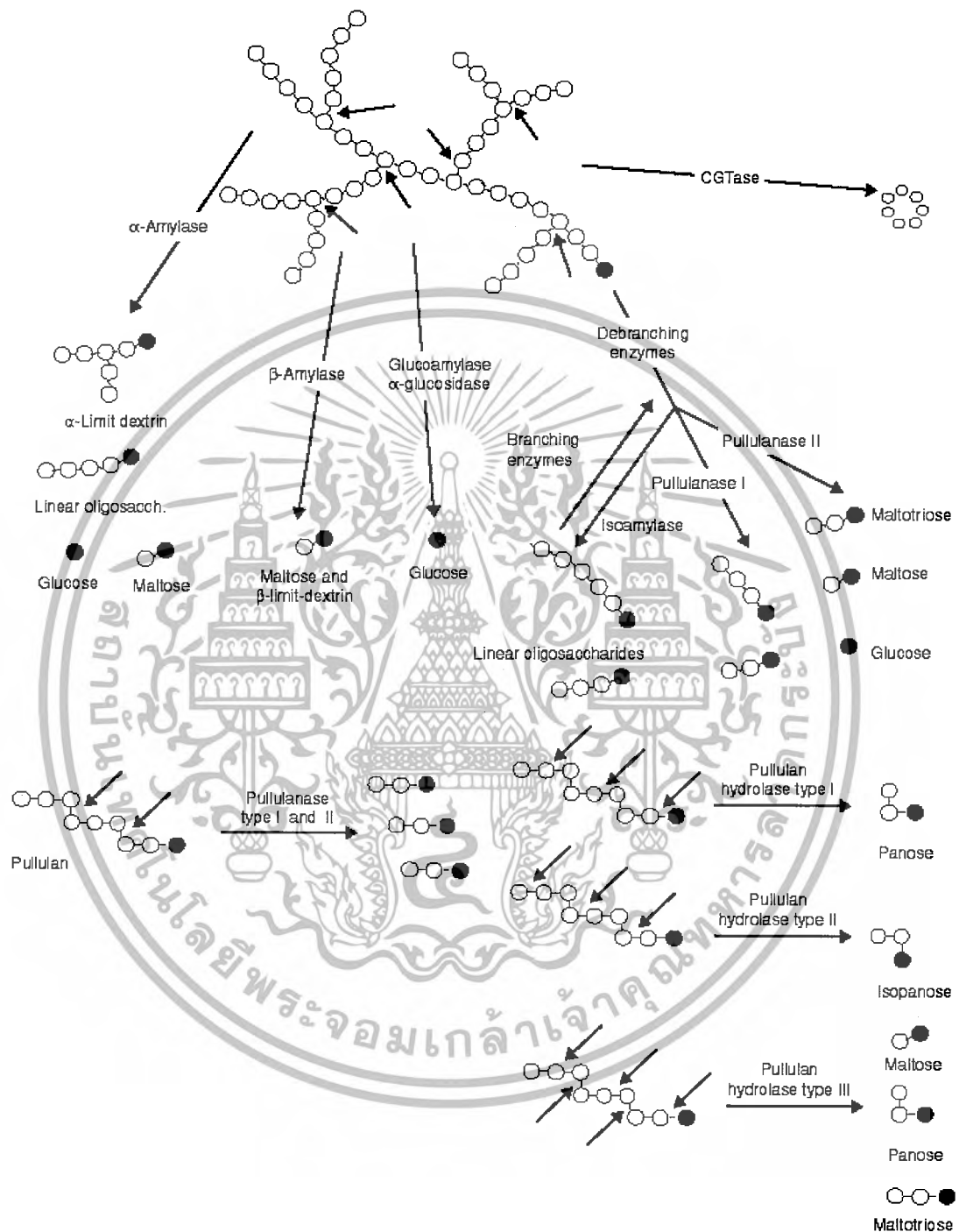
2.15 กระบวนการผลิตกลูโคสไซรัป

กระบวนการผลิตกลูโคสไซรัปสามารถแบ่งเป็นขั้นตอนได้ดังนี้

2.15.1 การเตรียมน้ำแป้ง

การเตรียมน้ำแป้งจะเป็นตัวกำหนดผลิตภัณฑ์ที่ได้และกำลังการผลิต ถ้าเตรียมน้ำแป้งที่มีความเข้มข้นของแป้งมาก จะได้ผลผลิตสูง ใช้พลังงานในการต้มระเหยน้ำน้อย การผสมแป้งกับน้ำมีข้อกำหนด เนื่องจากความยืดหยุ่นของแป้งเมื่อถูกความร้อนถึงอุณหภูมิของการสุก(gelatinization) ฉะนั้นถ้าต้องการให้มีเนื้อแป้งในน้ำแป้งมากๆต้องทำ การย่อยแป้งขณะที่แป้งกำลังจะสุก เพื่อให้ได้น้ำแป้งที่มีความหนืดต่ำ โดยทั่วไปจะเตรียมน้ำแป้งประมาณ 35 – 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ปรับความเป็นกรดต่างให้เหมาะสมต่อการย่อยขั้นตอนต่อไป

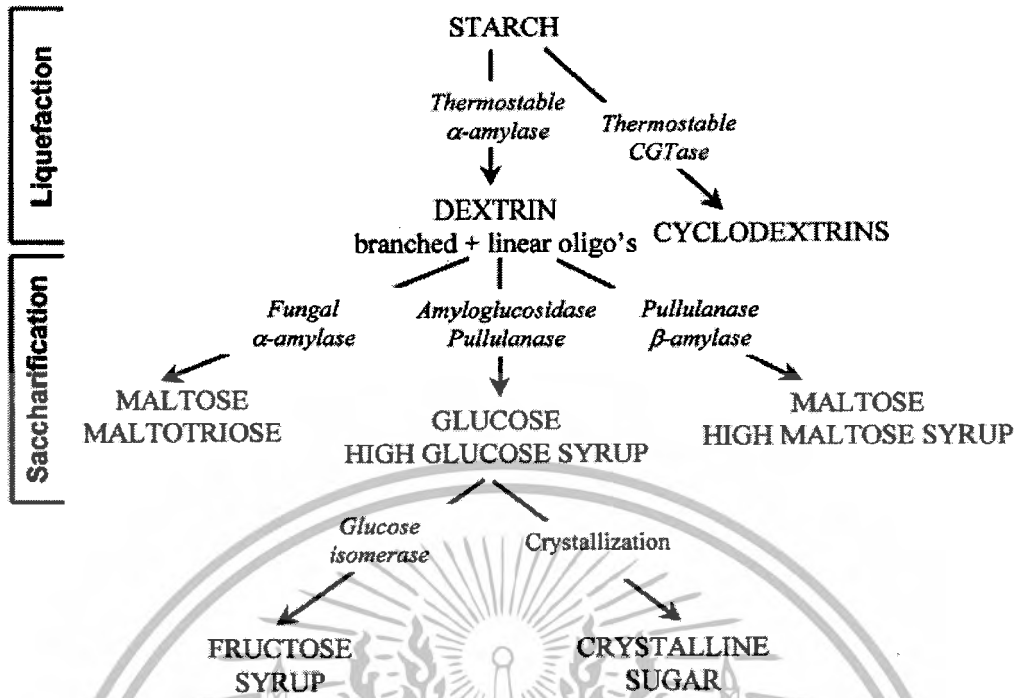
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.13 แสดงการทำงานและผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการทำงานของเอนไซม์ชนิดต่างๆ

ที่มา : Bertold และ Antranikian, 2002

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.14 แสดงอุตสาหกรรมการย่อยแป้งเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ

ที่มา : van Maarel และคณะ, 2002

ตารางที่ 2.8 เปรียบเทียบผลดีและผลเสียของการย่อยแป้งด้วยกรด

ผลดี	ผลเสีย
<ol style="list-style-type: none"> 1. คะตะลิสต์ที่ใช้ในปฏิกริยามีราคาถูกและหาได้ง่าย 2. ปฏิกริยาเกิดขึ้นได้เร็ว 3. วัตถุดิบไม่ต้องผ่านการปรับสภาพให้ง่ายต่อการย่อย 4. คะตะลิสต์มีเสถียรภาพมากสามารถเก็บไว้ใช้ได้ยาวนาน โดยไม่เสื่อมเสีย 	<ol style="list-style-type: none"> 1. ต้องใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ทนต่อการกัดกร่อนซึ่งมีราคาแพง 2. ปฏิกริยาเกิดขึ้นแบบสุ่มทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการรวมอยู่ด้วย 3. น้ำตาลที่ได้ถูกเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์อื่น เช่น เฟอร์ฟูรอล และสารเคมีอื่น เกิดกลิ่นรสที่ไม่ดี 4. ปฏิกริยาเกิดในสภาวะที่รุนแรง โดยต้องใช้ อุณหภูมิและความดันสูง 5. ภายหลังการเกิดปฏิกริยาน้ำเชื่อมที่ได้ต้องนำมาปรับค่าความเป็นกรดต่างให้เป็นกลางจึงทำให้มีเกลือเกิดขึ้นปะปนในน้ำเชื่อม

ที่มา : Bucke (1990) อ้างถึงใน จีวรธรณ อภิรัชการ (2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.9 เปรียบเทียบผลดีและผลเสียของการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์

ผลดี	ผลเสีย
<ol style="list-style-type: none"> 1. สภาพที่ใช้ในการย่อยทั้ง อุณหภูมิและความ เป็นกรดต่างไม่รุนแรง 2. ไม่ต้องใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ทนต่อการ กัดกร่อนซึ่งมีราคาแพง 3. ผลิตภัณฑ์น้ำตาลที่เกิดขึ้น ไม่ถูกเปลี่ยนเป็น ผลิตภัณฑ์อื่น เช่น เฟอร์ฟูรอล และสารเคมีอื่นๆ 4. ทำให้เกิดการตกผลึกของกลูโคสได้ดีกว่า เพราะมีสารแปลกปลอมที่มีผลต่อการตกผลึก น้อย 5. ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์มากกว่าการ ย่อยแป้งด้วยกรด เนื่องจากการย่อยอย่างจำเพาะ ของเอนไซม์ 	<ol style="list-style-type: none"> 1. มีราคาแพง 2. ปฏิกริยาเกิดขึ้นช้าต้องใช้เวลาาน 3. สิ้นเปลืองมากเนื่องจากต้องสูญเสียเอนไซม์ เนื่องจากถูกดูดซับบนวัสดุที่ไม่ถูกย่อย 4. เอนไซม์มีอายุการใช้งาน เสื่อมสภาพ หรือให้ ประสิทธิภาพในการทำ ปฏิกริยาตกลงเมื่อเก็บ ไว้เป็นเวลานาน 5. เอนไซม์อาจถูกรบกวนจากสารเคมีที่มีอยู่ได้ และการจะนำ มาใช้ต้องแน่ใจว่าไม่มีสารเคมี เหล่านั้นปะปน

ที่มา : จีวรวรรณ อภิรักษ์ภากร (2540)

2.15.2 การย่อยแป้งครั้งแรก (Liquefaction)

ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนของการลดความหนืดของแป้งเริ่มต้น เมื่อใช้กรดในการย่อยครั้งแรก เรียกว่า thinning หรือ dextrination ซึ่งการย่อยครั้งแรกเป็นการทำให้แป้งที่สุกมีความหนืดน้อยลง และ แป้งบางส่วนถูกย่อยทำให้แป้งมีโมเลกุลเล็กลง ถ้าเป็นการย่อยด้วยเอนไซม์ จะใช้เอนไซม์ แอลฟาอะไมเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์กลุ่มที่ย่อยภายใน ทำหน้าที่ตัดพันธะน้ำตาลกลูโคสที่จับกันเป็น แป้งจะได้แป้งที่มีโมเลกุลเล็กลง เป็นกลุ่มๆ ที่เท่าๆ กัน วัดค่าสมมูลเดกโทรสได้ 5-20 ในทาง ปฏิบัติควรรักษาสมมูลเดกโทรสไว้ที่ 10-15 เพื่อป้องกันการรวมตัวกันหรือจับกันใหม่ของแป้ง โมเลกุลใหญ่ และเกิดตะกอนแขวนลอยที่กรองยาก ลักษณะการเกิดตะกอนเช่นนี้เรียกว่า การเกิดรี โโทรเกรเดชัน

2.15.2.1 การย่อยแป้งครั้งแรกด้วยกรด

ปัจจุบันหลังจากมีการพัฒนาการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ การใช้กรดในการย่อยแป้งก็ลดลง ไป อย่างไรก็ตามยังมีโรงงานที่ผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสโดยใช้กรดเป็นตัวย่อยล้วนๆ (acid-processing) หรือใช้กรดย่อยแป้งครั้งแรกแล้วใช้เอนไซม์ย่อยครั้งสุดท้าย (acid-enzyme process) กรดที่นิยมใช้ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือกรดไฮโดรคลอริกมากกว่ากรดซัลฟิวริก ค่าความเป็นกรดต่างปรับไว้ประมาณ 1.8จากนั้นจะให้ความร้อนสูงประมาณ 130—140 องศาเซลเซียส ความดัน 5 bar ใช้เวลา 10 นาที จะได้ค่าสมมูลเดกโตรสประมาณ 15-20 หลังปฏิกิริยาสิ้นสุด น้ำแป้งที่ถูกย่อยปรับความเป็นกรด-ด่างเป็น 4.5 - 5.0 โดย Na_2CO_3 สำหรับการย่อยครั้งแรกด้วยกรดต้องปรับเวลาให้เหมาะสม โดยให้ค่าสมมูลเดกโตรสของน้ำแป้งหลังถูกย่อยมีค่าน้อยกว่า 18 เพื่อป้องกันการคืนตัวของแป้ง

2.15.2.2 การย่อยครั้งแรกด้วยเอนไซม์

เมื่อเตรียมน้ำแป้งได้ความเข้มข้นพอดี ปรับความเป็นกรดต่างให้ถูกต้อง กำหนดปริมาณเอนไซม์และเติมถูกต้อง อุณหภูมิประมาณ 100-105 องศาเซลเซียส ซึ่งเอนไซม์ที่ใช้ในช่วงนี้สามารถทนอุณหภูมิสูงและสามารถย่อยสลายแป้งในขณะที่อุณหภูมิสูงได้ น้ำแป้งที่ย่อยแล้วในช่วงนี้ควรมีค่าสมมูลเดกโตรสอยู่ที่ 10-15 หรือต่ำกว่า 20 เรียกผลิตภัณฑ์นี้ว่า maltodextrin ถ้าต้องการผลิต maltodextrin ก็เพียงนำ แป้งที่ย่อยระดับนี้แล้วไปผ่านการทำให้บริสุทธิ์ คือการกรองด้วยผงถ่านจนใส และนำไประเหยน้ำโดยเครื่องต้มระเหย ให้ความเข้มข้นจากเดิม 35-40เปอร์เซ็นต์ เป็นประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำมาผ่านเครื่องพ่นผง จะได้ผลิตภัณฑ์ maltodextrin

2.15.3 การย่อยน้ำแป้งครั้งสุดท้าย (Saccharification)

น้ำแป้งหลังจากการย่อยครั้งแรกแล้ว จะเป็นน้ำค่อนข้างใส ไม่มีความหนืด มีลักษณะคล้ายน้ำซึ่งในการย่อยครั้งสุดท้ายต้องระมัดระวังมาก เพราะเป็นการย่อยเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ และเป็นการย่อยที่ใช้เวลานานมากคือ 8-72 ชั่วโมง แล้วแต่ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

2.15.3.1 การผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสชนิด 38-42 DE

การผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสชนิด 38-42 DE หรือต่ำกว่า 42 DE ถือเป็นผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ขนมหวาน ลูกกวาด และยา ลักษณะของผลิตภัณฑ์ต้องเหนียวใส และมีความหวานเล็กน้อย ไม่มีการรีโทรเกรเดชัน

2.15.3.2 การผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสชนิด DE สูง

สำหรับการผลิตน้ำเชื่อมกลูโคส DE > 95 เพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำตาลฟรุคโตสหรือซอร์บิทอล หรือทำเดกโตรส ต้องใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส เท่านั้น ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้ทำงานช้า ใช้เวลาในการย่อยอย่างสมบูรณ์เป็นเวลานานประมาณ 60-72 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

2.15.4 การทำบริสุทธิ์

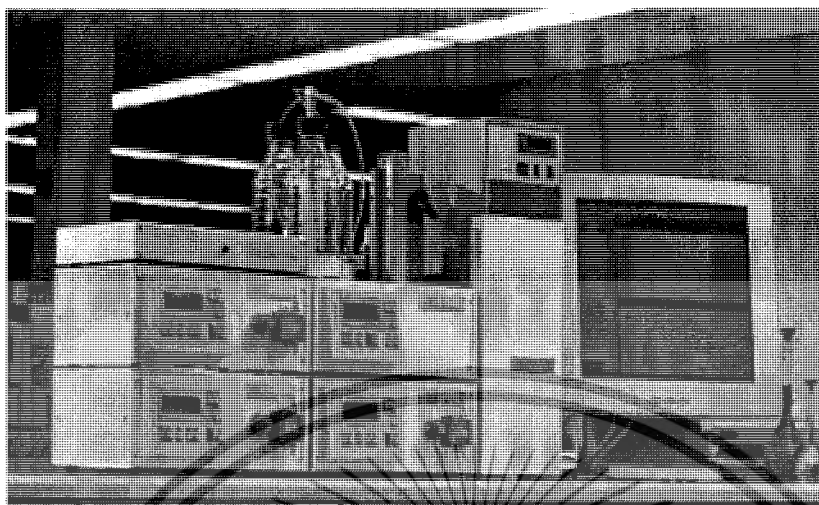
การทำบริสุทธิ์ หรือ refining นั้นสะดวกสำหรับแป้งมันสำปะหลัง เพราะมีสารประกอบ เช่น โปรตีน ไขมัน น้อยมาก สามารถกรองโดยใช้สารช่วยกรองและผงถ่านพร้อมกันได้ปกติ สามารถใช้เครื่องกรอง เช่น filter press หรือ vacuum drum filter ได้ หลังจากกรองแล้วควรจะได้ สารละลายใส ซึ่งขั้นตอนต่อไปคือการจับประจุด้วยการผ่าน ion-exchange resin

2.15.5 การต้มระเหย

กระบวนการต้มระเหยเป็นกระบวนการสุดท้ายที่ระเหยน้ำออกไป เพราะน้ำเชื่อมที่กรอง และทำให้บริสุทธิ์แล้ว จะมีความเข้มข้นของของแข็งประมาณ 40 % จำเป็นต้องระเหยน้ำออกไป จนกระทั่งได้ความเข้มข้นของของแข็งเป็น 80 % จึงจะเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ในการต้มระเหย ต้องทำในที่อุณหภูมิต่ำ โดยการต้มระเหยภายใต้สุญญากาศ เพื่อป้องกันการแตกตัวของน้ำตาล กลูโคสเนื่องจากความร้อน

เนื่องจากแป้งเป็นผลผลิตทางการเกษตรที่มีมากที่สุด โดยได้จาก ข้าวโพด ข้าวสาลี มันฝรั่ง และมันสำปะหลัง เป็นต้น (Nigam, Singh, 1995) และเรายังสามารถใช้แป้งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์หลายชนิดด้วยกัน นอกจากนี้แป้งยังเป็นแหล่งวัตถุดิบที่สำคัญในการผลิตกลูโคส (Inglett, 1974) โดยเฉพาะประเทศในแถบทวีปอเมริกาใต้และเอเชีย Abd-Aziz (2002) ได้รายงานไว้ในประเทศมาเลเซียมีการนำเอาแป้งสาธมาผลิตน้ำตาลกลูโคสโดยใช้เอนไซม์ เนื่องจากแป้งสาธมีราคาถูก ในขณะที่ประเทศไทย นิยมใช้แป้งมันสำปะหลังในการผลิตกลูโคส เนื่องจากประเทศไทยสามารถผลิตแป้งจากมันสำปะหลัง ได้มากจึงเป็นประเทศที่มีการผลิตมากที่สุดของโลก รวมทั้งเป็นผู้ส่งออกแป้งไปขายยังต่างประเทศมากที่สุด เกือบจะเป็นผู้ส่งออกรายเดียวในขณะนี้ก็ได้ โดยในปี พ.ศ. 2543 มีอัตราการผลิตมันสำปะหลังและผลิตภัณฑ์ สูงถึง 4.4 ล้านตัน คิดเป็นเงิน 14 ล้านบาท (Starch newsletters, 2544) ซึ่งจากการผลิตแป้งมันสำปะหลังทำให้เกิดกากมันถึง 10เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักหัวมันสดที่ใช้ผลิต (Grace, 1977) และพบว่าในกากมันสำปะหลังมีแป้งเป็นองค์ประกอบถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการนำไปใช้ประโยชน์เพียงเล็กน้อยโดยการนำไปผสมในอาหารสัตว์ (Nishise et al.,1988)

2.16 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์



รูปที่ 2.15 High performance liquid chromatography (HPLC)

ที่มา : www.tovatech.com/hplc_lc_adepthome.html

หลักการ

HPLC เป็นเทคนิคการแยกสารประกอบ (Substances) โดยอาศัยหลักการความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบใน Stationary Phase ของคอลัมน์ โดยมี Mobile Phase เป็นตัวพาไป เมื่อต่อเข้ากับ Detector จะสามารถตรวจวัดสารที่ออกมาจากคอลัมน์ (analytes or solutes) ได้อย่างต่อเนื่องสามารถตรวจวัดทั้งเชิงคุณภาพ (Qualitative Analysis) และเชิงปริมาณ (Quantitative Analysis) ส่วนใหญ่นิยมใช้วิเคราะห์สารประกอบที่ระเหยยาก (Low Volatile Substation) หรือน้ำหนักโมเลกุลสูง (High Molecular Weight Compounds)

ลักษณะตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

HPLC สามารถวิเคราะห์สารได้หลายชนิด เช่น สารอินทรีย์ สารประกอบทางชีวภาพ โพลีเมอร์ คูอิแนนทีโอเมอร์ สารประกอบที่เสถียรภาพได้ง่าย สารประกอบที่ระเหยยาก ไอออนขนาดเล็ก ไมโครโมเลกุล ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ต้องเป็นของแข็งหรือของเหลว ต้องละลายได้ 100% (กรองด้วย) การแยกสารจะประสบความสำเร็จได้ก็ต่อเมื่อสารมีอัตราการเคลื่อนที่ที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์ สารประกอบที่ถูกแยกนั้นจะเคลื่อนที่ไปตามความยาวทั้งหมดของคอลัมน์ โดยมี Mobile Phase เป็นตัวพาไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ เชื้อจุลินทรีย์ และเอนไซม์

หัวเชื้อ

เชื้อรา *Aspergillus niger* TISTR 3254

เชื้อรา *Aspergillus oryzae* NRRL 6270

รำข้าว

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงการพิเศษ

3.2.1 สารเคมี

โซเดียมไฮดรอกไซด์

กรดซัลฟูริกเข้มข้น

โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์

methyl red

Bromocresol green

กรดบอริก

ปิโตรเลียมอีเทอร์

ไดแอมโมเนียมซัลเฟต $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต KH_2PO_4

แมกนีเซียมซัลเฟต $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

โซเดียมคลอไรด์ NaCl

แคลเซียมคลอไรด์ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

ซิงค์ซัลเฟต $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

คอปเปอร์ซัลเฟต $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

นิกเกิลคลอไรด์ $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

แมงกานีสคลอไรด์ $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

เฟอร์ริกซัลเฟต $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 อุปกรณ์

เครื่องแก้ว

มีด

ตู้อบอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

Blender

ตะแกรงร่อนขนาด 35 mesh

ตะแกรงร่อนขนาด 100 mesh

เครื่อง Centrifuge

ตู้เย็น

ถ้วยโลหะ

เครื่องชั่ง

ตู้อบแห้ง 105 องศาเซลเซียส

เครื่องกลั่น (Distillation Units)

ถ้วยวิเคราะห์ไขมัน

กระดาษกรอง

Thimble

เครื่อง Soxhlet tube

เครื่อง FIWE

เตาเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส

หม้อต้ม

High performance liquid chromatography (HPLC)

pH meter

3.3 กระบวนการผลิตแป้ง

3.3.1 การเตรียมเปลือก

นำหัวเปลือกมาล้างแล้วปอกเปลือกจากนั้นหั่นเปลือกที่ได้เป็นชิ้นเล็กๆแล้วนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเปลือกที่ได้ผ่านการอบแล้วมาบดด้วยเครื่อง Blender จากนั้นนำมาร่อนด้วยตะแกรงขนาด 35 mesh จะได้ผงเปลือก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 กระบวนการการสกัดด้วยต่าง (Tattiyakul และคณะ, 2006)

นำผงเปลือกที่เตรียมได้ มา 1 ส่วน มาละลายต่อสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.05 และ 0.5 เป็นอัตราส่วน 1 ต่อ 5 ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วนำไปปรับความเป็นกรดค่าเท่ากับ 7.0 ด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน นำตะกอนที่ได้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เวลา 20 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดด้วยเครื่องปั่น (Blender) แล้วนำไปร่อนด้วยตะแกรงขนาด 100 mesh

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารทางเคมี

3.4.1 ปริมาณความชื้น

นำตัวอย่างประมาณ 1.5 กรัม (m_1) มาเติมใส่ถ้วยโลหะที่อบแห้งในตู้ 105 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนักแห้ง (m_2) ไว้ก่อนแล้ว จากนั้นนำถ้วยโลหะที่บรรจุตัวอย่างไปอบในตู้ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนัก (m_3) และคำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{m_1 - (m_3 - m_2)}{m_1} \times 100$$

3.4.2 ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์โปรตีนในการศึกษานี้ ใช้วิธีของเจคาล (Kjeldahl) ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยชั่งผงแห้งตัวอย่างละ 2 กรัม ใส่ลงในเจคาลฟลาสก์ และเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 98 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร นำไปประกอบเข้ากับเครื่องย่อยโปรตีน เมื่อย่อยจนได้สารละลายใส หรือเป็นสีเหลืองใส หรือสีฟ้าใส แล้วย่อยต่อไปอีกประมาณ 10 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าโปรตีนถูกย่อยหมด หลังจากนั้นนำมากลั่นเป็นเวลา 5 นาทีด้วยเครื่องกลั่น (Distillation Units) โดยกลั่นลงในฟลาสก์ที่มีกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 และหยดอินดิเคเตอร์ผสมระหว่างเมทิลเรด (methyl red) กับบรอมครีซอลกรีน (Bromocresol green) ลงไปแล้ว 2-3 หยด เมื่อกลั่นจนครบเวลาที่กำหนด นำสารละลายที่อยู่ในฟลาสก์ซึ่งมีลักษณะเป็นสารละลายสีฟ้าใสหรือสีน้ำเงินใสมาไตเตรทกับสารละลายกรดซัลฟูริกที่มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เมื่อไตเตรทจนถึงจุดยุติ จะได้สารละลายสีชมพู นำค่าปริมาตรของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไปในการไตเตรทมา คำนวณหาปริมาณไนโตรเจนหรือปริมาณโปรตีนโดยใช้สูตรต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละ)} = \frac{(A-B) \times C \times D}{E \times 100}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \text{ปริมาณไนโตรเจน (ร้อยละ)} \times 6.25$$

$$\text{หรือปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(A-B) \times C \times D}{E \times 100} \times 6.25$$

เมื่อ A = มิลลิกรัมของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง

B = มิลลิกรัมของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรทกับ blank

C = ความเข้มข้น (N) ของกรดซัลฟูริก

D = 14

E = น้ำหนักของแป้ง

3.4.3 ปริมาณไขมัน

การวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยใช้วิธี soxhlet ทำตัวอย่างละ 3 กรัม โดยชั่งตัวอย่างผงแป้งประมาณ 2 กรัมลงในกระดวยกรอง จากนั้นนำมาใส่ Thimble กระดวย ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนและนำไปใส่ในเครื่อง Soxhlet tube แล้วประกอบเข้ากับ Condenser และ ถ้วยวิเคราะห์ไขมันที่สะอาดและทราบน้ำหนักแน่นอนซึ่งเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงไปให้มากเกินพอในถ้วยแล้ว โดยที่ในกระบวนการสกัดจะต้องให้ความร้อนแก่ Soxhlet tube ด้วย โดยระดับความร้อนต้องสามารถทำให้ปิโตรเลียมอีเทอร์ระเหยเป็น ไอและควบแน่นหยดลงบนผงแป้งอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดคุดpumเพื่อคูดปิโตรเลียมอีเทอร์ออกให้หมดจนเหลือแต่ไขมันอยู่ในถ้วยวิเคราะห์ จากนั้นนำถ้วยวิเคราะห์ไขมันที่มีไขมันอยู่ในถ้วยไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์ จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักที่ได้แล้วคำนวณปริมาณไขมันเป็นร้อยละ AOAC (1995) ตามสูตรต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{w_3 - w_2}{w_1} \times 100$$

เมื่อ w_1 = น้ำหนักตัวอย่างเป็นกรัม

w_2 = น้ำหนักบีกเกอร์ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน เป็นกรัม

w_3 = น้ำหนักบีกเกอร์ที่หลังจากสกัดไขมันและทำให้เย็น เป็นกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4 ปริมาณเส้นใย

ชั่งตัวอย่างผงแป้งที่ผ่านการวิเคราะห์ไขมันแล้ว ปริมาณ 1 กรัมใส่ในถ้วยแก้วที่ผ่านการอบและทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว โดยทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำไปประกอบเข้ากับเครื่องวิเคราะห์เส้นใย (FIWE) จากนั้นนำสารละลายกรดซัลฟูริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1.25 มาเติมลงในส่วนเครื่องควบแน่นให้ถึงระดับ 150 มิลลิเมตร เปิดสวิตซ์ให้ความร้อนเพื่อต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดหมุนปุ่ม Vacuum เพื่อระบายกรดซัลฟูริกออก จากนั้นเติมน้ำกลั่นเพื่อล้างโดยหมุนปุ่ม Pressure เพื่อล้าง และหมุนปุ่ม Vacuum เพื่อระบายน้ำออก โดยล้างทั้งหมด 3 ครั้ง แล้วเติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ลงไปในส่วนเครื่องควบแน่น จากนั้นเปิดสวิตซ์ให้ความร้อนเพื่อต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดหมุนปุ่ม Vacuum เพื่อระบายสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ออก จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปเพื่อล้างโดยหมุนปุ่ม Pressure เพื่อล้างและหมุนปุ่ม Vacuum เพื่อระบายน้ำออก ล้างทั้งหมด 3 ครั้ง นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำถ้วยแก้วไปชั่งน้ำหนักและคำนวณหาปริมาณเส้นใยตามสูตร AOAC (2000) ตามสูตรต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณเส้นใย (ร้อยละ)} = \frac{a}{b} \times 100$$

เมื่อ a = น้ำหนักเส้นใยหยาบ

b = น้ำหนักผงแป้ง

3.4.5 ปริมาณเถ้า

นำตัวอย่างผงแป้งปริมาณ 2 กรัมใส่ใน crucible ที่ผ่านการอบและทราบน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นนำเข้าเตาเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงหรือจนกว่าเถ้าจะเป็นสีขาว นำไปทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักของสารที่เหลือและคำนวณปริมาณเถ้าเป็นร้อยละตามสูตรข้างล่าง AOAC (2000) โดยทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{(b - a) \times 100}{W}$$

เมื่อ a คือ น้ำหนัก crucible

b คือ น้ำหนัก crucible + น้ำหนักเถ้าที่ผ่านการเผา

W คือ น้ำหนักผงแป้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.6 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

คำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรตจากสูตรข้างล่าง

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ) = 100- (%ความชื้น + %โปรตีน + %ไขมัน + %เส้นใย + %เถ้า)

3.4.7 ปริมาณกลูโคสและมอลโทส

นำสารละลายน้ำตาลกลูโคสตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร กรองผ่านเยื่อกรอง (membrane) ขนาด 0.45 ไมครอน นำสารละลายที่กรองได้นำไปฉีดเข้าเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) และมีสภาวะที่ใช้ทดลองดังนี้

Column : Aminex -87P ขนาด 300x7.8 mm

Mobile phase : Water

Flow rate : 0.6 ml/min

Detector : Refractive Index

Injection volume : 20 ไมโครลิตร

3.5 การผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

3.5.1 อาหารเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus niger* TISTR 3254

อาหารเหลวสำหรับเลี้ยงเชื้อราเพื่อการผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลส(ดัดแปลงจาก Uguru และคณะ, 1997) มีส่วนประกอบดังนี้

Soluble starch	30	กรัม
Peptone	10	กรัม
MgSO ₄ .7H ₂ O	1	กรัม
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	0.2	กรัม
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.05	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการละลายส่วนผสมดังกล่าวในน้ำกลั่นแล้วเติมแป้งเพื่อกักด้วยสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ลงไปผสมให้เข้ากัน ปรับความเป็นกรด ต่าง เท่ากับ 6.0 แบ่งใส่พลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร พลาสติกละ 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อหนึ่ง ความดัน อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.5.2 การเตรียมสารละลายแขวนลอยของสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus niger* TISTR 3254

ทำการเตรียมสารละลายแขวนลอยของสปอร์ของเชื้อรา โดยเลี้ยงเชื้อ *A. niger* TISTR 3254 ในอาหารวุ้นเยิง PDA เป็นเวลา 5-7 วัน เพื่อให้เกิดสปอร์เต็มที จากนั้นนำมาทำสารละลายแขวนลอยของสปอร์ โดยการเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่มีทวิน 80 (Tween 80) ความเข้มข้น ร้อยละ 0.02 ทำการกำจัดเส้นใยราออก โดยการกรองสปอร์ด้วยแผ่นกรองซิลิโคนและนับจำนวนสปอร์ของเชื้อราด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ให้ได้จำนวนสปอร์เท่ากับ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

3.5.3 การสกัดเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เตรียมเรียบร้อยแล้ว มาเติมสารละลายแขวนลอยของสปอร์ของเชื้อรา *A. niger* TISTR 3254 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และนำไปวางเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างมาทำการแยกเซลล์ออกโดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ทำการเก็บส่วนสารละลายที่ได้

3.6 การผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

3.6.1 อาหารเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus oryzae* NRRL 6270

อาหารเหลวสำหรับเลี้ยงเชื้อราเพื่อการผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (ดัดแปลงจาก Uguru และคณะ, 1997) มีส่วนประกอบดังนี้

รำข้าว	30	กรัม
Peptone	10	กรัม
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1	กรัม
Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	0.2	กรัม
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.05	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำกลั่น

1000 มิลลิลิตร

ทำการละลายส่วนผสมดังกล่าวในน้ำกลั่นแล้วเติมรำข้าวลงไปผสมให้เข้ากัน ปรับความ เป็นกรด ต่าง เท่ากับ 6.0 แบ่งใส่พลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร พลาสติกละ 50 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป นึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.6.2 การเตรียมสารละลายแขวนลอยของสปอร์ของเชื้อรา *Aspergillus oryzae* NRRL 6270

ทำการเตรียมสารละลายแขวนลอยของสปอร์ของเชื้อรา *A. oryzae* NRRL 6270 โดยเลี้ยง เชื้อรา *A. oryzae* NRRL 6270 ในอาหารวุ้นเยิง PDA เป็นเวลา 5-7 วัน เพื่อให้เกิดสปอร์เต็มที จากนั้นนำมาทำสารละลายแขวนลอยของสปอร์ โดยการเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่มีทีวิน 80 (Tween 80) ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 ทำการกำจัดเส้นใยราออก โดยการกรองสปอร์ด้วยแผ่นกรอง ซิลิโคนกลาส และนับจำนวนสปอร์ของเชื้อราด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ให้ได้จำนวนสปอร์เท่ากับ 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร

3.6.3 การสกัดเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่เตรียมเรียบร้อยแล้ว มาเติม สารละลายแขวนลอยของสปอร์ของเชื้อรา *A. oryzae* NRRL 6270 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และนำไป วางเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างมาทำการแยกเซลล์ออกโดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที ที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ทำการเก็บส่วนสารละลายที่ได้

3.7 กระบวนการผลิตกุกุโคสไชรี่ป

ขั้นตอนแรกกระบวนการลิเคอแฟคชัน เป็นการเตรียมแป้งเผือก โดยนำแป้งเผือกที่เตรียม ได้จากการสกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 และ 0.5 โดยชั่งแป้งทั้งสองชนิด ประมาณ 5 กรัมใส่ลงในพลาสติก ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 50 มิลลิลิตรเพื่อทำให้ได้ สารละลายแป้งความเข้มข้นร้อยละ 10 แล้วนำไปปรับความเป็นกรด ต่างให้ได้ 7.0 จากนั้นนำไปต้ม ในน้ำเดือดจนแป้งเปลี่ยนสถานะเป็นเจลและตั้งทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่มี ค่ากิจกรรมต่างกัน มี 30 61 91 และ 122 หน่วย พร้อมกับปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร แล้ว นำไปตั้งทิ้งไว้บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็น 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาต้มในน้ำเดือดเพื่อหยุดกิจกรรมของเอนไซม์แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลง ทำการดูด สารละลายตัวอย่างมา 5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ความเร็วรอบ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นแบ่งเก็บสารละลายตัวอย่างที่ได้ใส่หลอดแอฟเฟนคอปปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปส่งวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC และนำสารละลายตัวอย่างที่เหลือหลังการปั่นเหวี่ยงมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS เพื่อหาค่ากิจกรรมที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ จากนั้นนำสารละลายที่ไม่ได้ผ่านการปั่นเหวี่ยงที่มีค่ากิจกรรมเหมาะสมที่สุดสองตัวอย่างมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์กลูโคสไมเลส

เริ่มขั้นตอนแซคคาริฟิเคชันด้วยการดูดสารละลายน้ำตาลที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสแล้วมาตัวอย่างละ 10 มิลลิลิตร แล้วนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์กลูโคสไมเลสที่มีค่ากิจกรรมต่างกัน มี 123 86 61 และ 37 พร้อมกับปรับปริมาตรให้ได้ 20 มิลลิลิตร และปรับความเป็นกรด ต่างเท่ากับ 7.0 และนำไปตั้งทิ้งไว้บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็น 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาต้มในน้ำเดือดเพื่อหยุดกิจกรรมของเอนไซม์แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลง ทำการดูดสารละลายตัวอย่างมา 5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นแบ่งเก็บสารละลายตัวอย่างที่ได้ใส่หลอดแอฟเฟนคอปปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปส่งวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เพื่อตรวจหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสและปริมาณน้ำตาลมอลโตส และนำสารละลายตัวอย่างที่เหลือหลังการปั่นเหวี่ยงมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS

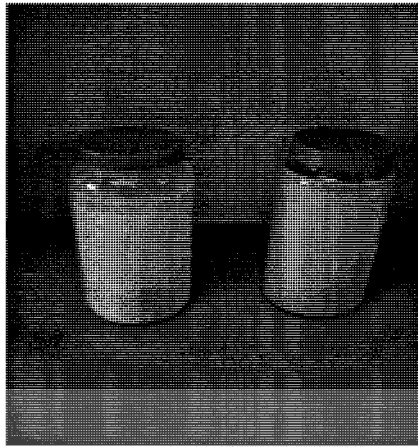
บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งเผือก

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารต่างๆ เริ่มจากการนำหัวเผือกมาล้างแล้วปอกเปลือกเผือก จากนั้นนำหัวเผือกไปล้างอีกรอบแล้วหั่นเผือกเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้น นำเข้าสู่อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเผือกมาบดให้ละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 35 mesh จะได้ผงเผือก จากนั้นนำมาทำการสกัดด้วยค่าของความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 ระดับคือ ร้อยละ 0.05 และ 0.5 โดยนำผงเผือกปริมาณ 500 กรัมใส่ในขวดโหลแล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งมีความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ปริมาตร 2500 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ปริมาตร 2500 มิลลิลิตร หรือคิดเป็นอัตราส่วน 1 : 5 ดังแสดงให้เห็นในรูปที่ 4.1 จากนั้นนำไปทิ้งให้ตกตะกอนโดยแช่ในตู้เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น นำตะกอนไปล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปทิ้งให้ตกตะกอนอีกครั้ง และปรับพีเอช ให้ได้เท่ากับ 7 แล้วจึงนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง นำไปบดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh แป้งเผือกที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 จะมีลักษณะผงละเอียดสีขาวส่วนแป้งเผือกที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 จะมีลักษณะผงละเอียดสีขาวขมพู

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งเผือกหลังสกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ทั้งสองความเข้มข้น จะได้ปริมาณร้อยละขององค์ประกอบทางเคมีดังตารางที่ 4.1 เมื่อทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีระหว่างแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 กับร้อยละ 0.5 พบว่ามีปริมาณร้อยละของไขมัน เถ้า และความชื้นไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 มีไขมัน เถ้าและความชื้นร้อยละ 0.66 5.08 และ 9.61 ตามลำดับ ในขณะที่แป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีไขมัน เถ้าและความชื้นร้อยละ 0.59 4.87 และ 10.94 ตามลำดับ



รูปที่ 4.1 การสกัดแป้งเปลือกด้วยค่า α โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 กับ 0.5

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีโดยเฉลี่ยของแป้งเปลือกที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 และ 0.5

องค์ประกอบทางเคมี	แป้งเปลือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ)	
	เข้มข้นร้อยละ 0.05	เข้มข้นร้อยละ 0.5
คาร์โบไฮเดรต	83.60 ^a	80.88 ^b
โปรตีน	0.30 ^a	2.40 ^b
ไขมัน	0.66 ^a	0.59 ^a
ใยอาหาร	0.76 ^a	0.30 ^b
เถ้า	5.08 ^a	4.87 ^a
ความชื้น	9.61 ^a	10.94 ^a

หมายเหตุ a, b แสดงถึงค่าเฉลี่ยขององค์ประกอบทางเคมีในแถวเดียวกันที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองปริมาณร้อยละของโปรตีน และใยอาหารของแป้งเผือกทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 มีโปรตีน และใยอาหารร้อยละ 0.30 และ 0.76 ตามลำดับ ในขณะที่แป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีโปรตีน และใยอาหารร้อยละ 2.40 และ 0.30 ตามลำดับ แสดงว่าความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มากกว่าสามารถสกัดใยอาหารออกไปได้มากกว่า แต่กลับมีปริมาณโปรตีนคงเหลือในแป้งเผือกมากกว่า น่าจะเป็นผลมาจากการที่สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นสูงทำให้โปรตีนในเผือกเสียสภาพ และตกตะกอนค้างอยู่ในแป้ง จึงน่าจะเป็นสาเหตุให้แป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.05 มีปริมาณร้อยละของคาร์โบไฮเดรตมากกว่าแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 โดยมากกว่าคิดเป็นร้อยละ 2.72 และพบว่าแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีปริมาณร้อยละของโปรตีนมากกว่าแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยมากกว่าคิดเป็นร้อยละ 2.10

ในการผลิตกลูโคสไมเลส ได้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นหลังจากการย่อยแป้งแล้ว โดยวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในแป้งเผือกทั้งสองชนิดก่อนการเติมเอนไซม์ โดยเตรียมสารละลายแป้งเผือกความเข้มข้นร้อยละ 10 จากนั้น นำไปต้ม 20 นาที เพื่อให้เม็ดแป้งพองตัวหมดแล้วจึงนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ได้ผลตามตารางที่ 4.2 พบว่า ในแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.05 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่าในแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 โดยมากกว่าปริมาณ 0.273 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.2 ค่าเฉลี่ยของน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 0.05 และ 0.5 โดยใช้แป้งร้อยละ 10

ชนิดของแป้งเผือก	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
แป้งเผือกสกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05	0.5443 ^a
แป้งเผือกสกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05	0.2713 ^b

หมายเหตุ a, b แสดงถึงค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ในแถวเดียวกันที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 กิจกรรมของเอนไซม์

4.2.1 เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ในการผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยการเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus oryzae* NRRL 6270 ในสภาวะอาหารเหลว กับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยรำข้าวเป็นเวลา 3 วัน จากนั้น นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาทีเพื่อแยกสารสกัดอย่างหยาบของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส แล้วจึงนำไปวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ โดยการใช้วิธี DNS ทำให้ทราบค่ากิจกรรมของเอนไซม์เริ่มต้น โดยหนึ่งหน่วยของกิจกรรมเอนไซม์มีค่าเท่ากับปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ย่อยสารละลายแป้งเผือก ความเข้มข้นร้อยละ 1 ได้น้ำตาลรีดิวซ์ 1 กรัม บ่มที่ 10 นาที และ 65 องศาเซลเซียส ซึ่งจากการวิเคราะห์พบว่า สารสกัดอย่างหยาบของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ได้จากรำข้าว ปริมาณ 500 มิลลิลิตร มีกิจกรรมเท่ากับ 2.0677 หน่วยต่อสารสกัดอย่างหยาบของเอนไซม์ 1 มิลลิลิตร จากการคำนวณตามที่แสดงในภาคผนวก ข

4.2.2 เอนไซม์กลูโคอะไมเลส

ในการผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ทำการเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus niger* TISTR 3254 ในสภาวะอาหารเหลว กับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 เป็นเวลา 3 วัน จากนั้น นำมาปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกสารสกัดอย่างหยาบของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส แล้วจึงนำไปวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ โดยการใช้วิธี DNS ทำให้ทราบค่ากิจกรรมของเอนไซม์เริ่มต้น โดยหนึ่งหน่วยของกิจกรรมเอนไซม์มีค่าเท่ากับปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ย่อยสารละลายแป้งเผือก ความเข้มข้นร้อยละ 1 ได้น้ำตาลรีดิวซ์ 1 กรัม บ่มที่ 10 นาที และ 65 องศาเซลเซียส ซึ่งจากการวิเคราะห์พบว่า สารสกัดอย่างหยาบของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ได้จากแป้งเผือกปริมาณ 500 มิลลิลิตร มีกิจกรรมเริ่มต้น 24.5160 หน่วยต่อสารสกัดอย่างหยาบของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 1 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากการคำนวณดังภาคผนวก ข

4.3 การผลิตกลูโคสไซรัป

ในการผลิตกลูโคสไซรัปจากการย่อยแป้งเผือกด้วยเอนไซม์นั้นต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญ 2 ชนิด คือ แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส และแบ่งเป็นสองขั้นตอน โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในขั้นตอนแรก ซึ่งเป็นขั้นตอนลิเคอฟแฟกชัน (liquefaction) เพื่อให้แป้งเผือกถูกย่อยเป็นโพลีแซคคาไรด์สายสั้นๆก่อน จึงใส่เอนไซม์กลูโคอะไมเลสในขั้นตอนที่สอง ซึ่งเป็นขั้นตอนแซคคาริฟิเคชัน (saccharification) เพื่อย่อยโพลีแซคคาไรด์สายสั้น ให้เป็นน้ำตาลมอลโทส และกลูโคส ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ และน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่จะย่อยได้จากแป้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามลำดับ ดังนั้น ในการวิจัยจึงศึกษาถึงปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสม คือปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งแอลฟาอะไมเลสและกลูโคสอะไมเลส เพื่อการผลิตกลูโคสให้ได้ค่าความเข้มข้นสูงที่สุด

4.3.1 เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ทำการศึกษาร้อยแป่งเปลือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 และ 0.5 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส แล้วนำมาหาค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลมอลโทสและกลูโคส โดยเริ่มจากเตรียมสารละลายแป้งเปลือกทั้งสองชนิดความเข้มข้นร้อยละ 10 จากนั้น นำไปทำให้ใส (gelatinization) โดยการต้ม 20 นาที ตามรูปที่ 4.2 ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วจึงเติมสารสกัดอย่างหยาบของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่มีค่ากิจกรรมต่างกัน มี 30 61 91 และ 122 หน่วย เติมน้ำกลั่นเพื่อปรับให้สารละลายมีปริมาตร 50 มิลลิลิตร พร้อมกับปรับให้ความเป็นกรด – ด่างเท่ากับ 7.0 นำไปต้มที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อย่อยแป้งเปลือกให้เกิดเป็น Liquefied taro pulp (LTP) ในขั้นตอนลิเคอแฟคชัน ทำการเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นด้วยวิธี DNS (ดังภาคผนวก ข) และเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากแป้งเปลือกสองชนิดในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.2 ลักษณะของสารละลายแป้งเปลือกที่ผ่านการต้มแล้ว 20 นาที ลักษณะจะเป็นเจลใส

ตารางที่ 4.3 ค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยเฉลี่ยของแป้งเผือก 2 ชนิดที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (หน่วย)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	
	แป้งเผือก (0.05 % NaOH)	แป้งเผือก (0.5 % NaOH)
30	6.6055 ^c	12.2234 ^b
61	9.4671 ^c	14.8375 ^a
91	1.9078 ^f	11.6864 ^b
122	7.8130 ^d	9.0398 ^c

หมายเหตุ a, b, c, d, e, f แสดงถึงค่าเฉลี่ยของน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

ในตารางที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 เมื่อใช้ค่ากิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ 61 หน่วยจะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 14.8375 กรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างกับค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มาจากการย่อยแป้งเผือกซึ่งสกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 และ 0.5 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสกิจกรรมต่างๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3(ก) ในการทดลองกับแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 0.05 แสดงให้เห็นว่า เมื่อใช้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเริ่มต้น 30 หน่วย จะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 6.6055 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์นี้เพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามการใช้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่มากขึ้นจนถึงในช่วงค่ากิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ 61 หน่วย จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดที่สามารถสังเกตได้จากความสูงของเส้นกราฟ คือมีค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 9.4671 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะค่อยๆลดลงเรื่อยๆ แม้ว่าใช้ค่ากิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่มากขึ้นซึ่งจะสังเกตได้จากเส้นกราฟที่ชันลงเรื่อยๆ โดยที่ปริมาณเอนไซม์ 91 หน่วย ให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ 1.9078 กรัมต่อลิตร และเมื่อใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 122 หน่วย ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 7.8130 กรัมต่อลิตร

ส่วนในการทดลองย่อยแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 ได้ผลตามรูปที่ 4.3 (ข) ซึ่งผลการทดลองนี้เหมือนกับผลการทดลองจากการย่อยแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.05 คือเมื่อใช้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เริ่มต้น 30 หน่วย จะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 12.2234 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์นี้เพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามการใช้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่มากขึ้นจนถึงในช่วงค่ากิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ 61 หน่วย จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดโดยสามารถสังเกตได้จากความสูงของเส้นกราฟ คือมีค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 14.8375 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะค่อยๆลดลงเรื่อยๆ แม้ว่าใช้ค่ากิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่มากขึ้นซึ่ง



(ข)

รูปที่ 4.3 ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากตัวอย่างสารละลายแป้งเผือกที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสต่างกิจกรรม โดยเป็นสารละลายแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ (ก) 0.05 และ (ข) 0.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะสังเกตได้จากเส้นกราฟที่ซึ่งลงเรื่อยๆ โดยที่ปริมาณเอนไซม์ 91 หน่วย ให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ 11.6864 กรัมต่อลิตร และเมื่อใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 122 หน่วย ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 9.0398 กรัมต่อลิตร

โดยจากกราฟดังรูปที่ 4.3 (ก) และ (ข) ยังสามารถเปรียบเทียบได้ว่าสารละลายแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าความเข้มข้นร้อยละ 0.05 เมื่อย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส อาจเป็นผลมาจากการใช้สารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์ที่สูงกว่ามาสกัดแป้ง ทำให้มีการตัดสายแป้งให้สั้นลงกว่าสายแป้งที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า

ดังนั้น พบว่าปริมาณของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ต่างกันจะย่อยแป้งเผือกทั้งสองชนิดได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ความเข้มข้นแตกต่างกัน แต่พบว่าการที่ให้น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดจากแป้งเผือกสองชนิดมีค่าเท่ากัน คือที่ 61 หน่วย โดยให้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ที่มาจากแป้งเผือกที่สกัดด้วยสารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.05 และ 0.5 เท่ากับ 9.4671 และ 14.8375 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เพราะฉะนั้น เราจึงเลือกสารละลายที่ผ่านการย่อยแป้งเผือกสกัดจากไซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 30 และ 61 หน่วย เพื่อนำไปเข้าสู่ขั้นตอนการเกิดแซคคาริฟิเคชัน เนื่องจากให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเป็นสองลำดับแรก

4.3.2 เอนไซม์กลูโคอะไมเลส

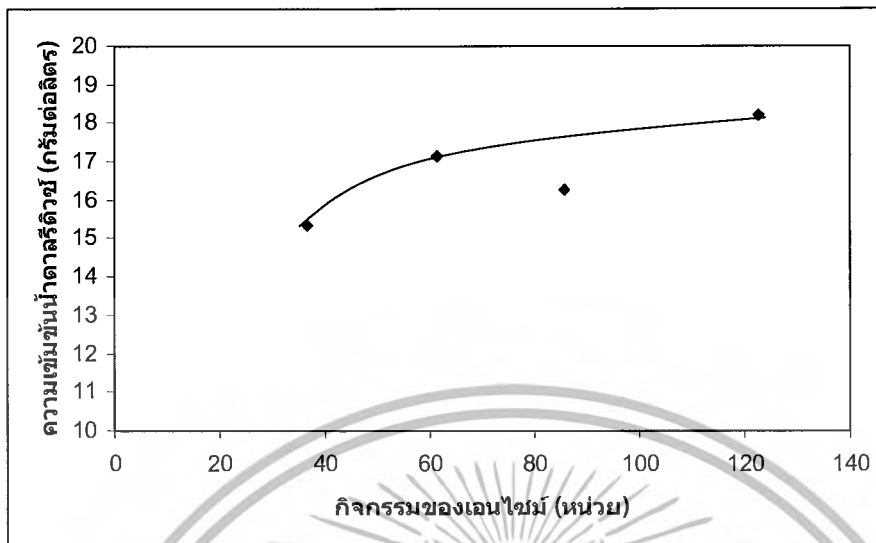
หลังจากย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ค่ากิจกรรมที่เหมาะสมแล้ว คือ 30 และ 61 หน่วย จึงนำสารละลายที่ได้มา 10 มิลลิลิตร ที่ผ่านการย่อยแป้งเผือกที่สกัดด้วยไซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ที่ความเป็นกรด ค่า 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เกิดเป็น Liquefied taro pulp ซึ่งจะผ่านเข้าสู่ขั้นตอนการเกิดแซคคาริฟิเคชันด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ในการทดลองนี้ได้ศึกษาปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ทำให้แป้งเผือกเกิดแซคคาริฟิเคชันได้อย่างสมบูรณ์ โดยแปรผันปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ใช้เป็น 123 86 62 และ 37 หน่วย จนได้ปริมาตรรวม 20 มิลลิลิตรเท่ากันทุกตัวอย่าง ปรับความเป็นกรด ค่าให้ไว้เท่ากับ 7.0 แล้ว จึงนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.4 ค่าเฉลี่ยของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วิเคราะห์จากตัวอย่างแป้งเผือกที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 และผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่มีกิจกรรม 30 และ 61 หน่วย และเอนไซม์กลูโคอะไมเลสต่างกิจกรรมกัน

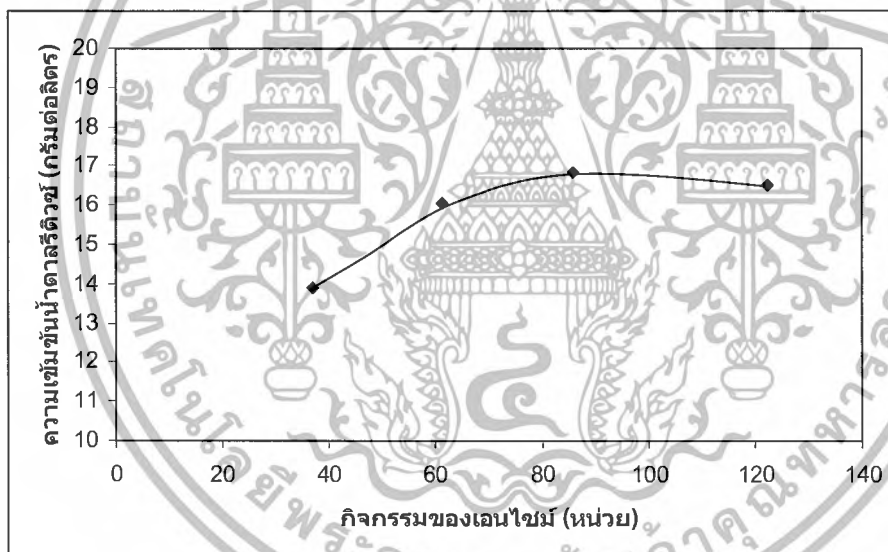
ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (หน่วย)	ปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (หน่วย)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
30	123	18.1843 ^a
	86	16.2545 ^c
	61	17.1477 ^b
	37	15.3282 ^d
61	123	16.4971 ^{bc}
	86	16.8279 ^{bc}
	61	16.0560 ^{cd}
	37	13.8946 ^e

หมายเหตุ a, b, c, d, e แสดงถึงค่าเฉลี่ยของน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

จากการทดลองพบว่าพบว่าเมื่อใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสในปริมาณที่แตกต่างกัน ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จะมีความแตกต่างกันไม่มาก ดังตารางที่ 4.4 เมื่อพิจารณาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 30 หน่วย และเอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้น 123 หน่วย ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด คือ 18.1843 กรัมต่อลิตร ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ความเข้มข้น 61 หน่วย และเอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้น 37 หน่วย พบว่าให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุด คือ 13.8946 กรัมต่อลิตร



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.4 ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากตัวอย่างสารละลายแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 แล้วจึงผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์กลูโคอะไมเลสต่างกิจกรรมกัน ซึ่งเริ่มจากสารละลายแป้งเผือกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสกิจกรรม (ก) 30 และ (ข) 61 หน่วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกราฟรูปที่ 4.4 (ก) เมื่อเริ่มจากการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 30 หน่วย แสดงให้เห็นว่าที่ค่ากิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเริ่มต้น 37 หน่วย จะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 15.3282 กรัมต่อลิตร และค่าน้ำตาลรีดิวซ์ได้เพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามค่ากิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่มากขึ้น จะมีลักษณะของเส้นกราฟชันขึ้นเรื่อยๆ จนถึงในช่วงค่ากิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ 123 หน่วย จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดโดยจะสังเกตได้จากความสูงของเส้นกราฟ โดยได้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ 18.1843 กรัมต่อลิตร และเมื่อเริ่มจากการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 61 หน่วย จากกราฟรูปที่ 4.4 (ข) พบว่าเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเริ่มต้น 37 หน่วย จะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 13.8946 กรัมต่อลิตร และค่าน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นจนถึงค่าความเข้มข้นสูงที่สุดคือ 16.8279 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส 86 หน่วย และเมื่อปริมาณเอนไซม์เพิ่มเป็น 123 หน่วย พบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 16.4971 กรัมต่อลิตร ซึ่งน้ำตาลรีดิวซ์สองค่าหลังสุดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

จะเห็นว่าเมื่อเริ่มใช้ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสไม่เท่ากัน (30 และ 61 หน่วย) มาย่อยสารละลายแป้งเผือกที่สกัดจากสารละลายไซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดที่ได้ไม่อยู่ในช่วงปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เท่ากัน โดยเมื่อใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 30 หน่วยและค่ากิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 123 หน่วย ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด (18.1843 กรัมต่อลิตร) โดยสามารถสังเกตได้จากความสูงของเส้นกราฟ แต่เมื่อเริ่มจากเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่กิจกรรม 61 หน่วย และเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 86 หน่วย จะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 16.8279 กรัมต่อลิตร

เมื่อนำตัวอย่างที่ได้จากการนำแป้งเผือกทั้งสองชนิดมาย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส ไปตรวจสอบหาปริมาณน้ำตาลโมลกุลเดี่ยวและคู่ด้วยวิธี HPLC พบว่ามีน้ำตาลสองชนิดคือ น้ำตาลกลูโคส ซึ่งเป็นน้ำตาลโมลกุลเดี่ยวและน้ำตาลมอลโตส ซึ่งเป็นน้ำตาลโมลกุลคู่ ดังที่แสดงในตารางที่ 4.5 โดยเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 30 หน่วย กับปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 86 หน่วย จะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงที่สุด คือ 15.9698 กรัมต่อลิตร และเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 61 หน่วย กับปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 61 หน่วย ได้ค่าความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสสูงที่สุด คือ 15.3605 กรัมต่อลิตร ซึ่งจากโครมาโตแกรมในภาคผนวก ก จะพบว่าน้ำตาลกลูโคสมีค่าเวลาริเทนชันเท่ากับ 6.95 นาที และ น้ำตาลมอลโตสมีค่าเวลาริเทนชันเท่ากับ 5.71 นาที

จากการทดลองทั้งสองขั้นตอน เริ่มต้นจากสารละลายแป้งเผือกเข้มข้นร้อยละ 10 ซึ่งเมื่อเติมสารสกัดอย่างหยาบของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในขั้นตอนแรก จะทำให้แป้งถูกเจือจางลงไปเป็นเข้มข้นร้อยละ 5 และเมื่อเติมสารสกัดอย่างหยาบของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ทำให้แป้งเจือจางลงไปอีก เป็นร้อยละ 2.5 คิดเป็น 25 กรัมต่อลิตร เพราะฉะนั้น เมื่อคำนวณจะได้โมลรวม 0.1543 โมล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสูตรเคมีของแป้ง $[C_6H_{10}O_5]_n$ จากตารางที่ 4.5 ปริมาณ โมลรวมสูงสุดที่ได้ คือ 0.0910 โมล จากการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 30 หน่วยและเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 86 หน่วย ซึ่งสอดคล้องกับแนวโน้มในกราฟรูปที่ 4.4 (ก) เมื่อนำค่าปริมาณ โมลรวม มาคำนวณ แป้งจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ทั้งสองไปประมาณร้อยละ 59

ตารางที่ 4.5 ปริมาณของน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลมอลโตสที่ได้จากการย่อยแป้งเฟือกทั้ง 2 ชนิด ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์กลูโคอะไมเลส โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC

ปริมาณเอนไซม์ แอลฟาอะไมเลส (หน่วย)	ปริมาณเอนไซม์ กลูโคอะไมเลส (หน่วย)	ปริมาณน้ำตาลในกลูโคสไซรัป (กรัมต่อลิตร)		ปริมาณน้ำตาล รวม (โมล)
		น้ำตาลกลูโคส	น้ำตาลมอลโตส	
30	123	12.1163	0.5237	0.0688
	86	15.9698	0.7953	0.0910
	61	13.1055	0.7153	0.0749
	37	14.5285	0.8747	0.0833
61	123	13.4875	0.9829	0.0778
	86	13.5396	0.8698	0.0778
	61	15.3605	0.7325	0.0875
	37	11.8082	1.1141	0.0689

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการสกัดแป้งจากเผือก ด้วยกระบวนการสกัดด้วยต่าง โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2 ระดับ คือ ร้อยละ 0.05 และ ร้อยละ 0.5 พบว่าแป้งเผือกที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 0.05 ที่ทำการศึกษานี้ มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากกว่าแป้งเผือกที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 0.5 และการสกัดแป้งเผือกโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 0.05 สามารถลดปริมาณโปรตีนได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยแป้งเผือกที่ผ่านการสกัดมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 83.5958 โดยน้ำหนักแห้ง

การผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสจากเชื้อรา 2 ชนิดคือ *Aspergillus oryzae* NRRL 6270 และ *Aspergillus niger* TISTR 3254 โดยใช้รำข้าวและแป้งเผือกเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ตามลำดับ พบว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเท่ากับ 2.0677 หน่วยต่อมิลลิลิตรเอนไซม์ ส่วนเอนไซม์กลูโคอะไมเลสมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ 24.5160 หน่วยต่อมิลลิลิตรเอนไซม์

การศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ที่เกิดจากการย่อยแป้งเผือกที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส พบว่าปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ 61 หน่วย มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ที่เกิดจากการสกัดแป้งเผือกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 พบว่า แป้งเผือกที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่าแป้งเผือกที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากแป้งเผือกที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 แล้วผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส แล้วนำมาย่อยต่อด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส พบว่าที่ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 30 หน่วย และปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 123 หน่วย มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด คือ 18.1843 กรัมต่อลิตร ส่วนปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ 61 หน่วย และกลูโคอะไมเลสที่ 37 หน่วย พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยที่สุด 13.8946 กรัมต่อ ลิตร

เมื่อนำสารละลายที่ได้จากการย่อยแป้งเผือกที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 และ ร้อยละ 0.5 ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสค่ากิจกรรมเอนไซม์ 30

และ 60 หน่วย แล้วย่อยต่อไปด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสต่างค่ากิจกรรมเอนไซม์ ไปตรวจสอบหา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและคู่ ด้วยวิธี HPLC พบว่ามีน้ำตาลสองชนิดคือ น้ำตาลกลูโคส ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลมอลโตส ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ จะเห็นได้ว่าเมื่อเริ่มใช้ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 30 หน่วยและค่ากิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 123 หน่วย ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด (18.1843 กรัมต่อลิตร) เมื่อนำค่ามาคำนวณแล้วพบว่าแป้งถูกย่อยด้วยเอนไซม์ทั้งสองไปประมาณร้อยละ 59

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการผลิตกลูโคสไซรัปจากแป้งเผือก พบว่ากลูโคสไซรัปที่ผลิตได้นั้นยังต้องการไปทำให้เข้มข้น เพื่อเพิ่มปริมาณกลูโคสต่อปริมาตร แล้วจึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในแง่ต่างๆ เช่น ด้านอาหาร โดยสามารถนำกลูโคสไซรัปมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตทางด้านอุตสาหกรรม เช่น ลูกกวาดและเครื่องดื่มหลายชนิด เป็นต้น ในกระบวนการทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์นั้น เริ่มจากการนำสารละลายเอนไซม์มาตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต เมธานอล เอทานอล และอะซิโตน ตกตะกอนโปรตีนแยกได้โดยการปั่นแยก นำตะกอนที่ได้มาละลายในบัฟเฟอร์และไดอะไลซิสก่อนนำไปผ่านลงในคอลัมน์ anion-exchange chromatography โดยใช้ DEAE- sephadex และ DEAE-toyopearl เป็น anion exchanger จากนั้นนำมาทำให้บริสุทธิ์โดยคอลัมน์ gel filtration chromatography

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงอุตสาหกรรม. 2516. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง. เอกสาร
มอก. ที่ 52-2516. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, กรุงเทพฯ. 23 หน้า.

กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ. 2550. เทคโนโลยีของแป้ง. พิมพ์ครั้งที่ 4 กรุงเทพฯ
สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ฐานข้อมูลพืช. ไม่ทราบปีพ.ศ. ผีอก. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
http://www.doa.go.th/pl_data/02_LOCAL/oard2/taro/main.html

ดาราวรรณ ทวีศักดิ์บรรกุล. 2549. ผีอก. กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
<http://www.doae.go.th/library/html/2549/1809/Dasheen/index.htm>

มาลินี พิทักษ์ สมศรี บุญเรือง และรังสิมันต์ สัมฤทธิ์. 2545. การปลูกผีอก. กรมส่งเสริมการเกษตร
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. <http://www.doae.go.th/library/html/detail/peak/index.htm>

นางสาวกาญจนา ทวีการ. 2548. การผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลสจากกากมันสำปะหลังโดยเชื้อ
ยีสต์ *Saccharomycopsis fibuligera* JCM 3584. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร
มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบัง.

นายปราบสยบ ภูมิพานิชย์, นายสุพีร์ สาณะเสน และนายอนุวัฒน์ วัควงศ์. 2543. การผลิต
เอนไซม์อะไมเลสจากแป้งมันสำปะหลัง โดยเชื้อ *Aspergillus oryzae* TISTR 3068.
โครงการพิเศษ วิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์, สถาบัน
เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นันทยา จงใจเทศ. 2549. เกร็ดความรู้เรื่องออกซาเลต. กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวง
สาธารณสุข. <http://nutrition.anamai.moph.go.th/temp/main/view.php?group=2&id=124>

AOAC International: Method 984.27. 1995. Calcium, copper, iron, magnesium, manganese,
phosphorus, potassium, sodium and zinc in infant formula. Inductively coupled plasma
emission spectroscopic method, in *Official Methods of Analysis*, AOAC International,
and Gaithersburg, MD.

Dais, P. and A.S. Pertin. 1982. High field ¹³C-NMR spectroscopy of β -o-glucans, amylopectin
and glycogen. *Carbohydrates Res.* 100: 103-106.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Galliard, T. and P. Bowler. 1987. Morphology and composition of starch. *In* T. Gailliard (Ed.). Starch: Properties and Potential. John Wiley and Sons., New York.
- Hizukuri, S. 1986. Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectins and its significance. *Carbohydrates Res.* 147: 342.
- Leach, H.W. 1965. Gelatinization of starch. *In* R.L. Whistler, E.F. Paschall, J.N. BeMiller, and H.J. Roberts (Eds.). Starch: Chemistry and Technology Vol. 1. Academic Press, New York. pp. 289-307.
- Leach, H.W., L.D. McCowen, and T.J. Schoch. 1959. Structure of the starch granule I. Swelling and solubility patterns of various starches. *Cereal Chem.* 36: 534-544.
- Lineback. 1996. Structure starch-degrading enzymes. *In* R.C. Hosney (Ed.). AACC short course on "Starch: Structure, Properties, and Food Uses." August 27-29, 1996. Bangkok, Thailand.
- Royal Society of Chemistry. 2004. "Carbohydrates". Chemistry for Biologists. www.chemsoc.org/networks/learnnet/cfb/carbohydrates.htm
- Rupp, P.L.C. and S.J. Schwartz. 1988. Characterization of the action of *Bacillus subtilis* alpha-amylase on sweet potato starch, amylase and amylopectin. *J. Food Biochem.* pp. 191-203.
- Rutenberg, M.W., and D. Solarek. 1984. Starch derivatives: Technology and uses. *In* R.L. Whistler, J.N. BeMiller, and E.F. Paschall (Eds.). Starch: Chemistry and Technology. 2nd Ed. Academic Press, Inc., Florida. pp. 311-388.
- Schoch, T.J. and F.C. Maywald. 1968. Preparation and properties of various legume starch. *Cereal Chem.* 45: 564-573.
- Swinkels, J.J.M. 1985. Sources of starch, its chemistry and physics. *In* G.M.A. van Beynum and J.A. Rooels (Eds.). Starch Conversion Technology. Marcel Dekker, Inc., New York. pp. 15-45.
- Tattiyakul, J., S. Asavasaksakul, and P. Pradipasena. 2006. Chemical and Physical Properties of Flour Extracted from Taro *Colocasia esculenta* (L.) Schott Grown in Different Regions of Thailand. *Science Asia.* 32: 279-284.

Wikipedia®. 2008. Taro. Wikimedia Foundation, Inc. <http://en.wikipedia.org/wiki/Taro>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yacine, H., H. Allan, I.H. Duncan, C. Suzanne, I. David, W.H. Jim, and B. mike. 2007.

Relationship Between the Pasting Behaviour and the Phosphorus Content of Different Potato Starches. *Starch/Stärke*. 59: 149-155.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารแข็ง Potato dextrose agar (PDA)

Potato infusion from	200 กรัม
Dextrose	20 กรัม
Agar	15 กรัม

หั่นมันฝรั่งเป็นชิ้นขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรหนัก 200 กรัม ต้มให้เดือดนานจนขึ้นมันนึ่ง กรองเอาเฉพาะน้ำ แล้วจึงเติมน้ำตาล Dextrose, Agar และน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร ต้มให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันจึงนำไปอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที



ภาคผนวก ข

1. การวิเคราะห์หาน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Saccharification ของ Bernfeld (Bernfeld, 1955)

สารเคมีที่ใช้

- โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 นอร์มอล
- Color reagent ได้แก่ กรดไดโนโตรซาลิไซลิก (3,5 - dinitrosalicylic acid) 1 กรัม ละลายในสารละลาย (a) 20 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำลงไป 50 มิลลิลิตร คนจนละลายแล้ว จึงเติมโปแทสเซียมโซเดียมทาร์เตต ลงไป 30 กรัม เติมน้ำให้ครบ 100 มิลลิลิตร สารละลายนี้สามารถเก็บไว้ได้หลายเดือนต้องป้องกันไม่ให้สัมผัสกับ คาร์บอนไดออกไซด์

วิธีการ นำสารละลายตัวอย่างที่ต้องการหาน้ำตาลรีดิวซ์จำนวน 1 มิลลิลิตร เติมลงในหลอดทดสอบที่สะอาด เติมสารละลาย (b) ลงไป 1 มิลลิลิตรนำไปต้มในน้ำเดือด 5 นาที ทำให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่นลงไปปริมาตรให้ได้ 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density) ด้วยเครื่อง Spectronic-20 ที่ช่วงคลื่น 540 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับ Blank ที่ใช้บัฟเฟอร์ หรือน้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่าง

2. วิธีการเตรียมกราฟมาตรฐานกลูโคส

เตรียมกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสโดยทำการเจือจางสารละลายน้ำตาลกลูโคสให้ได้ความเข้มข้นระหว่าง 0.1 - 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายน้ำตาลกลูโคสปริมาตร 1 มิลลิลิตร

ทำการหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลายกรดไนโตรซาลิไซลิก ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

นำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 5 นาที แล้วทำให้เย็นทันที

ปรับปริมาตรให้ได้ 6 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน

สร้างกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณน้ำตาลกลูโคส

คำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์กลูโคสไมเลส ในหน่วย

$$\text{กิจกรรมของเอนไซม์ (หน่วย/มิลลิลิตร)} = \frac{\text{ไมโคร โมลของน้ำตาลกลูโคส} \times \text{การเจือจางของเอนไซม์}}{\text{ระยะเวลาปฏิกิริยา} \times \text{ปริมาตรของเอนไซม์}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ glucoamylase

$$\text{กิจกรรมเอนไซม์} = \frac{\text{ไมโครโมลของน้ำตาลโมเลกุล} \times \text{อัตราการเจือจางเอนไซม์}}{\text{ระยะเวลาบ่ม} \times \text{ปริมาตรเอนไซม์}}$$

ตารางที่ ข.1 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Optimax™7525)

อัตราการเจือจาง	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
Control	0.103	0.105	0.113	0.107
60 เท่า	0.493	0.495	0.494	0.494

$$y = 1.2091x$$

$$R^2 = 0.9884$$

$$x = \frac{y}{1.2091} = \frac{0.4940}{1.2091} = 0.4086$$

$$\begin{aligned} \text{กิจกรรมของเอนไซม์} &= \frac{0.4086 \times 60}{10 \times 0.1} \\ &= 24.516 \text{ unit/ml} \end{aligned}$$

4. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase

$$\text{กิจกรรมเอนไซม์} = \frac{(A - A_0) \times V_i \times D}{K_s \times V_e \times T \times MW}$$

ตารางที่ ข.2 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (Thermamy1 120L)

อัตราการเจือจาง	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
Control	0.212	0.216	0.214	0.214
10 เท่า	0.304	0.302	0.302	0.302

$$\text{กิจกรรมเอนไซม์} = \frac{(0.302 - 0.214) \times 0.5 \times 30 \times 1000}{1.2091 \times 0.25 \times 10 \times 180}$$

$$= \frac{1125}{544.095}$$

$$= 2.0677 \text{ unit/ml}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา

การนับจำนวนสปอร์โดยใช้ Haemacytometer ตามวิธีของ Townsend และ Lindgrem (1953)

วิธีการ

- วาง cover glass ของ Haemacytometer ให้อยู่กึ่งกลางสไลด์ ปิดเปิดตัวอย่างที่เจือจางจนแล้ว และที่ขอบสไลด์และปล่อยตัวอย่างไหลเข้าไประหว่างช่องใต้ cover glass และ สไลด์ให้เต็มพอดี

- นับจำนวนสปอร์โดยใช้กำลังขยาย 400 เท่า นับสปอร์ที่อยู่ในตารางในช่องทะแยงซ้าย และขวา รวม 10 ช่องและนับทั้งสองตาราง สปอร์ที่คาบเกี่ยวเส้นตารางให้นับเฉพาะที่คาบเกี่ยว เส้นของตารางทางด้านล่างและทางด้านขวา จำนวนสปอร์ที่น้อยควรอยู่ในช่วง 10-30 สปอร์ใน 1 ช่อง นำมาค่าเฉลี่ยของจำนวนสปอร์ต่อช่อง

- การคำนวณจำนวนสปอร์ต่อมิลลิลิตรบน Hemacytometer มีระยะทางระหว่าง สไลด์ถึง cover glass เท่ากับ 1 มิลลิเมตร มีความกว้างและความยาวในแต่ละช่องเท่ากัน คือ 0.2 มิลลิเมตร ดังนั้น ในแต่ละช่องจะมีปริมาตรเท่า 4×10^{-3} ลูกบาศก์มิลลิเมตร

$$\text{จำนวนสปอร์ต่อ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร} = Y \times \frac{1}{4} \times 10^6 \times \text{ระดับความเจือจาง}$$

เมื่อ $Y =$ จำนวนสปอร์ที่นับได้เฉลี่ยใน 1 ช่อง

6. วิธีการคำนวณองค์ประกอบทางเคมีของแป้งเผือก

6.1 ปริมาณความชื้น

$$\text{สูตร ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{m_1 - (m_3 - m_2)}{m_1} \times 100$$

แป้งเผือกที่สกัดด้วยสารละลายไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05

$$\begin{aligned} \text{ครั้งที่ 1} \quad \text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} &= \frac{2.012 - (19.5173 - 17.7256)}{2.012} \times 100 \\ &= 10.95 \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ครั้งที่ 2} \quad \text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{2.015 - (19.5473 - 17.7076)}{2.015} \times 100$$

$$= 8.70$$

$$\text{ครั้งที่ 3} \quad \text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{2.012 - (18.5731 - 16.7456)}{2.012} \times 100$$

$$= 9.17$$

$$\text{ปริมาณความชื้นเฉลี่ย (ร้อยละ)} = 9.61$$

แป้งเผือกที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5

$$\text{ครั้งที่ 1} \quad \text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{2.0092 - (18.5314 - 16.7441)}{2.0092} \times 100$$

$$= 11.04$$

$$\text{ครั้งที่ 2} \quad \text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{2.0063 - (18.4324 - 16.6442)}{2.0063} \times 100$$

$$= 10.87$$

$$\text{ครั้งที่ 3} \quad \text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{2.012 - (19.5314 - 17.7386)}{2.012} \times 100$$

$$= 10.89$$

$$\text{ปริมาณความชื้นเฉลี่ย (ร้อยละ)} = 10.94$$

6.2 ปริมาณโปรตีน

$$\text{สูตร} \quad \text{ไนโตรเจน (ร้อยละ)} = \frac{(A - B) \times C \times D \times 100}{E \times 100}$$

$$\text{โปรตีน (ร้อยละ)} = \text{ไนโตรเจน (ร้อยละ)} \times 6.25$$

$$\text{หรือ} \quad \text{โปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(A - B) \times C \times D \times 100}{E \times 100} \times 6.25$$

เมื่อ A = มิลลิกรัมของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง

B = มิลลิกรัมของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรทกับ Blank

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\begin{aligned}
 C &= \text{ความเข้มข้น (N) ของกรดซัลฟูริก} \\
 D &= 14 \\
 E &= \text{น้ำหนักของแป้ง}
 \end{aligned}$$

แป้งเปลือกที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05

$$\text{ครั้งที่ 1} \quad \text{โปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(0.1 - 0.03) \times 0.05 \times 14 \times 100}{2.0135 \times 100} \times 6.25$$

$$= 0.15$$

$$\text{ครั้งที่ 2} \quad \text{โปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(0.3 - 0.03) \times 0.05 \times 14 \times 100}{2.0068 \times 100} \times 6.25$$

$$= 0.59$$

$$\text{ครั้งที่ 3} \quad \text{โปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(0.1 - 0.03) \times 0.05 \times 14 \times 100}{2.0024 \times 100} \times 6.25$$

$$= 0.15$$

$$\text{โปรตีน (ร้อยละ) เฉลี่ย} = 0.30$$

แป้งเปลือกที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5

$$\text{ครั้งที่ 1} \quad \text{โปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(1.1 - 0.02) \times 0.05 \times 14 \times 100}{2.0295 \times 100} \times 6.25$$

$$= 2.33$$

$$\text{ครั้งที่ 2} \quad \text{โปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(1.2 - 0.02) \times 0.05 \times 14 \times 100}{2.0190 \times 100} \times 6.25$$

$$= 2.56$$

$$\text{ครั้งที่ 3} \quad \text{โปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(1.1 - 0.02) \times 0.05 \times 14 \times 100}{2.0015 \times 100} \times 6.25$$

$$= 2.36$$

$$\text{โปรตีนเฉลี่ย (ร้อยละ)} = 2.40$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.3 ปริมาณไขมัน

$$\text{สูตร ปริมาณไขมัน} = \frac{W_3 - W_2}{W_1} \times 100$$

- เมื่อ W_1 = น้ำหนักตัวอย่างเป็นกรัม
 W_2 = น้ำหนักบีกเกอร์ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน เป็นกรัม
 W_3 = น้ำหนักบีกเกอร์หลังจากสกัดไขมันและทำให้เย็น เป็นกรัม

แป้งเผือกที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05

ตารางที่ ข.3 แสดงผลปริมาณไขมัน

น้ำหนัก	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
น้ำหนักตัวอย่าง (W_1)	2.0202	2.0077	2.0056
น้ำหนักบีกเกอร์ (W_2)	103.2213	101.7069	101.2296
น้ำหนักบีกเกอร์ที่หลังจากสกัดไขมัน (W_3)	103.2378	101.7196	101.2402

วิเคราะห์ปริมาณไขมัน

$$\begin{aligned} \text{ครั้งที่ 1} \quad \text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} &= \frac{103.2378 - 103.2213}{2.0202} \times 100 \\ &= 0.82 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ครั้งที่ 2} \quad \text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} &= \frac{101.7196 - 101.7069}{2.0077} \times 100 \\ &= 0.63 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ครั้งที่ 3} \quad \text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} &= \frac{101.2402 - 101.2296}{2.0056} \times 100 \\ &= 0.53 \end{aligned}$$

$$\text{ปริมาณไขมันเฉลี่ย (ร้อยละ)} = 0.66$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แป้งเผือกที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5

ตารางที่ ข.4 แสดงผลปริมาณไขมัน

น้ำหนัก	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
น้ำหนักตัวอย่าง (W_1)	2.0091	2.0170	2.0028
น้ำหนักบีกเกอร์ (W_2)	101.0665	102.4848	102.5561
น้ำหนักบีกเกอร์ที่หลังจากสกัดไขมัน (W_3)	101.0786	102.4949	102.5682

วิเคราะห์ปริมาณไขมัน

$$\text{ครั้งที่ 1} \quad \text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{101.0786 - 101.0665}{2.0091} \times 100$$

$$= 0.60$$

$$\text{ครั้งที่ 2} \quad \text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{102.4950 - 102.4836}{2.0170} \times 100$$

$$= 0.57$$

$$\text{ครั้งที่ 3} \quad \text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{102.5682 - 102.5561}{2.0028} \times 100$$

$$= 0.60$$

$$\text{ปริมาณไขมันเฉลี่ย (ร้อยละ)} = 0.59$$

6.4 ปริมาณเส้นใย

$$\text{สูตร ปริมาณเส้นใย (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักเส้นใยหยาบ} \times 100}{\text{น้ำหนักผงแป้ง}}$$

แป้งเผือกที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05

$$\text{ครั้งที่ 1} \quad \text{ปริมาณเส้นใย (ร้อยละ)} = \frac{0.0064 \times 100}{1.0541}$$

$$= 0.61$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\begin{aligned} \text{ครั้งที่ 2} \quad \text{ปริมาณเส้นใย (ร้อยละ)} &= \frac{0.0082 \times 100}{1.0265} \\ &= 0.80 \\ \text{ครั้งที่ 3} \quad \text{ปริมาณเส้นใย (ร้อยละ)} &= \frac{0.0088 \times 100}{1.0138} \\ &= 0.87 \\ \text{ปริมาณเส้นใย เฉลี่ย (ร้อยละ)} &= 0.76 \end{aligned}$$

แปงเฟือกที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5

$$\begin{aligned} \text{ครั้งที่ 1} \quad \text{ปริมาณเส้นใย (ร้อยละ)} &= \frac{0.0022 \times 100}{1.0190} \\ &= 0.22 \\ \text{ครั้งที่ 2} \quad \text{ปริมาณเส้นใย (ร้อยละ)} &= \frac{0.0040 \times 100}{1.0126} \\ &= 0.40 \\ \text{ครั้งที่ 3} \quad \text{ปริมาณเส้นใย (ร้อยละ)} &= \frac{0.0029 \times 100}{1.0162} \\ &= 0.29 \\ \text{ปริมาณเส้นใยเฉลี่ย (ร้อยละ)} &= 0.30 \end{aligned}$$

6.5 ปริมาณเถ้า

$$\text{สูตร} \quad \text{ปริมาณเถ้าในผงแป้ง (ร้อยละ)} = \frac{(b - a) \times 100}{W}$$

เมื่อ	a	คือ	น้ำหนัก crucible
	b	คือ	น้ำหนัก crucible + น้ำหนักเถ้าที่ผ่านการเผา
	W	คือ	น้ำหนักผงแป้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แป้งเปลือกที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05

$$\text{ครั้งที่ 1} \quad \text{ปริมาณได้ในผงแป้ง (ร้อยละ)} = \frac{(30.5163 - 30.4237) \times 100}{2.0268}$$

$$= 4.57$$

$$\text{ครั้งที่ 2} \quad \text{ปริมาณได้ในผงแป้ง (ร้อยละ)} = \frac{(27.3364 - 27.2133) \times 100}{2.0033}$$

$$= 6.14$$

$$\text{ครั้งที่ 3} \quad \text{ปริมาณได้ในผงแป้ง (ร้อยละ)} = \frac{(30.4126 - 30.3218) \times 100}{2.0026}$$

$$= 4.53$$

$$\text{ปริมาณได้ในผงแป้งเฉลี่ย (ร้อยละ)} = 5.08$$

แป้งเปลือกที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5

$$\text{ครั้งที่ 1} \quad \text{ปริมาณได้ในผงแป้ง (ร้อยละ)} = \frac{(29.3503 - 29.2543) \times 100}{2.0289}$$

$$= 4.73$$

$$\text{ครั้งที่ 2} \quad \text{ปริมาณได้ในผงแป้ง (ร้อยละ)} = \frac{(30.1783 - 30.0789) \times 100}{2.0217}$$

$$= 4.92$$

$$\text{ครั้งที่ 3} \quad \text{ปริมาณได้ในผงแป้ง (ร้อยละ)} = \frac{(30.5860 - 30.4859) \times 100}{2.0118}$$

$$= 4.98$$

$$\text{ปริมาณได้ในผงแป้งเฉลี่ย (ร้อยละ)} = 4.87$$

6.6 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

$$\text{สูตร} \quad \text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต} = 100 - (\% \text{ความชื้น} + \% \text{โปรตีน} + \% \text{ไขมัน} + \% \text{เส้นใย} + \% \text{เถ้า})$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แป้งเผือกที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05

$$\text{ครั้งที่ 1 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต} = 100 - (10.9493 + 0.1520 + 0.8168 + 0.6072 + 4.5688)$$

$$= 82.91$$

$$\text{ครั้งที่ 2 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต} = 100 - (8.6998 + 0.5886 + 0.6326 + 0.7988 + 6.1449)$$

$$= 83.14$$

$$\text{ครั้งที่ 3 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต} = 100 - (9.1700 + 0.1529 + 0.5285 + 0.8680 + 4.5341)$$

$$= 84.75$$

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต} = 83.60$$

แป้งเผือกที่สกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5

$$\text{ครั้งที่ 1 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต} = 100 - (11.0442 + 2.3381 + 0.6023 + 0.2159 + 4.7316)$$

$$= 81.07$$

$$\text{ครั้งที่ 2 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต} = 100 - (10.8708 + 2.5569 + 0.5652 + 0.3950 + 4.9167)$$

$$= 80.70$$

$$\text{ครั้งที่ 3 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต} = 100 - (10.8946 + 2.3607 + 0.6042 + 0.2854 + 4.9756)$$

$$= 80.88$$

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต} = 80.88$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

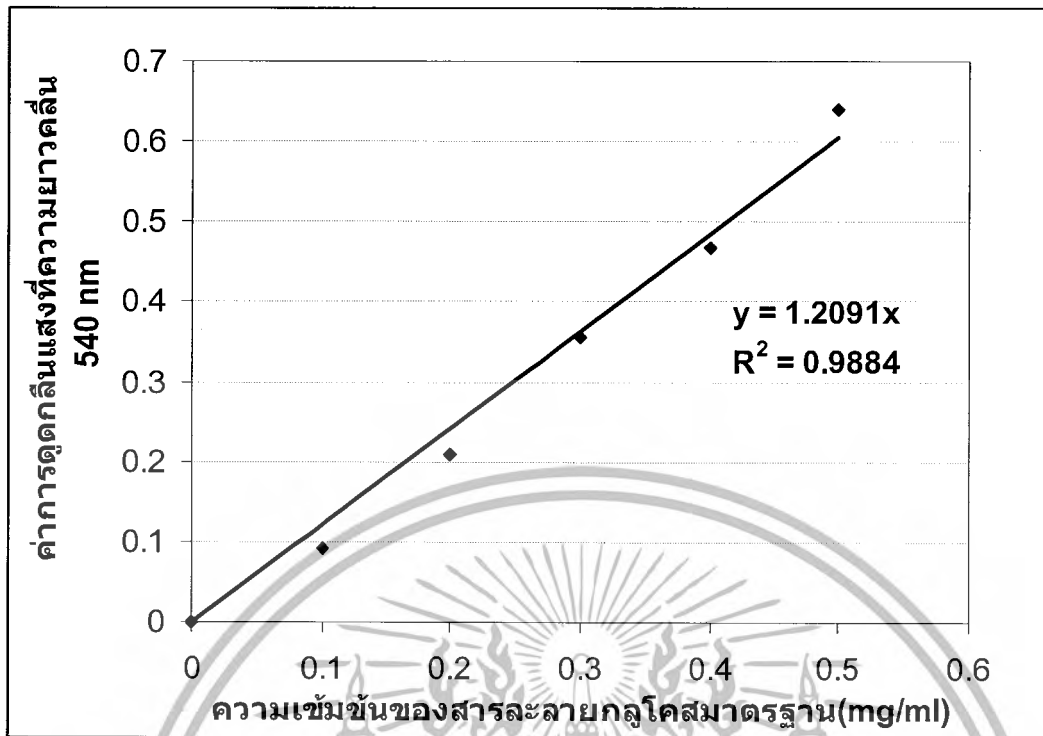
ตารางที่ ก.1 ข้อมูลการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC

หมายเลข peak	เวลาที่ peak ออก	พื้นที่ใต้ peak	ความสูงของpeak	ชื่อสาร
1	4.89039564	124497.16	10117.54883	Unknown #12
2	5.27759981	3450.301	419.6832581	Oxalic acid
3	5.71258736	159057.13	11606.84277	Unknown #16
4	6.35334969	338982.75	25022.30469	Citric acid
5	6.95101452	2951901	181990.4219	Glucose
6	7.704	101804.44	6587.097168	Fructose
7	8.96399975	4125.686	260.9794006	Mannose



รูปที่ ก.1 ตัวอย่าง โครมาโตแกรม HPLC ของแป้งเผือกที่ผ่านการย่อยด้วยสารสกัดหยาบของ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค.2 กราฟมาตรฐานเพื่อหาค่าน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้กลูโคสเป็นสารละลายมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้