

การศึกษาสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง
โดยเอนไซม์ไซลันเนสและแอลฟา-อะไมเลส

STUDY ON SUGAR SOLUTION FROM THE PRODUCTION OF
HIGH PROTEIN RICE BRAN BY USING ENZYME
XYLANASE AND α -AMYLASE

ไพลิน ตั้งไพโรจน์

PAILIN TANGPAIROJ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของงานการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2545

ISBN 974-648-730-2

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง
โดยเอนไซม์ไซลันเนสและแอลฟา-อะไมเลส

STUDY ON SUGAR SOLUTION FROM THE PRODUCTION OF
HIGH PROTEIN RICE BRAN BY USING ENZYME
XYLANASE AND α -AMYLASE



ไพลิน ตั้งไพโรจน์
PAILIN TANGPAIROJ

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 43717
วัน, เดือน, ปี 30 ก.ย. 2545

b.....
i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2545
ISBN 974-648-730-2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**STUDY ON SUGAR SOLUTION FROM THE PRODUCTION
OF HIGH PROTEIN RICE BRAN BY USING ENZYME
XYLANASE AND α -AMYLASE**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2002
ISBN 974-648-730-2**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2002

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงโดยใช้
เอนไซม์ไซลันเนสและแอลฟา-อะไมเลส

STUDY ON SUGAR SOLUTION FROM THE PRODUCTION OF
HIGH PROTEIN RICE BRAN BY USING ENZYME XYLANASE
AND α - AMYLASE

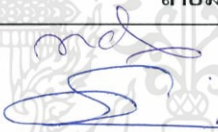
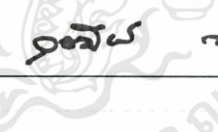
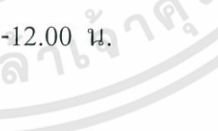
ชื่อนักศึกษา นางสาวไพลิน ตั้งไพโรจน์

รหัสประจำตัว 42066005

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การอาหาร

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ดร.พอใจ ถามากร

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ดร.พอใจ ถามากร	
ผศ.ดร.ระติพร หาเรือนกิจ	
รศ.ดร.วุฒิชัย นาครักษา	

วัน / เดือน / ปี ที่สอบ 18 เมษายน 2545 เวลา 10.00-12.00 น.

สถานที่สอบ ณ ห้อง D213 อาคารเจ้าคุณทหาร



วันที่... 16 ...เดือน... พฤษภาคม พ.ศ. ๒๕๔๕

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์ไซลาลเนสและแอลฟา-อะไมเลส
นักศึกษา	นางสาวไพลิน ตั้งไพโรจน์
รหัสประจำตัว	42066005
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหาร
พ.ศ.	2545
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ดร. พอใจ ถามากร

บทคัดย่อ

การศึกษาสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงโดยใช้เอนไซม์ไซลาลเนส (Porzyme 9300) และแอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120 L type LS) ในขั้นแรกทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลาลเนสและแอลฟา-อะไมเลส พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พีเอช 6 และอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส พีเอช 6 ตามลำดับ จากนั้นศึกษาถึงผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาลเนสและเวลาในการย่อยต่อสารละลายน้ำตาลได้แก่ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลไซโลส และโปรตีน พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาลเนสและเวลาในการย่อยมีผลต่อค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลไซโลส เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลไซโลสมีแนวโน้มสูงขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 5% (น้ำหนักต่อน้ำหนักของรำข้าวสกัดไขมันแล้ว) เวลาในการย่อย 2 และ 3 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุด โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) นอกจากนี้ในส่วนของแข็ง (รำข้าวโปรตีนสูง) พบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 5% เวลาในการย่อย 2 ชั่วโมง มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ 21.24% (น้ำหนักแห้ง)

และเมื่อศึกษาถึงผลของความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่อสารละลายน้ำตาลได้แก่ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลทั้งหมด ค่า Dextrose Equivalent (DE) และโปรตีนในส่วนของเหลว พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยมีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลทั้งหมด และค่า DE แต่ไม่มีผลต่อโปรตีนในส่วนของเหลว โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อย ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลทั้งหมด และค่า DE มีแนวโน้มสูงขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3% และ 5% เวลาในการย่อย 90 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมดสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณน้ำ

ตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลทั้งหมดมีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณสตาร์ช โดยสตาร์ชถูกย่อยหมดที่
ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส 1% เวลาในการย่อย 90 นาที สารละลายน้ำตาลที่
ได้มีค่า DE อยู่ในช่วง 35.77-59.95%



Thesis Title	Study on Sugar Solution from the Production of High Protein Rice Bran by Using Enzyme Xylanase and α -amylase
Student	Miss Pailin Tangpairoj
Student ID.	42066005
Degree	Master of Science
Programme	Food Science
Year	2002
Thesis Advisor	Dr. Porjai Thamakorn

ABSTRACT

Sugar solution from the production of high protein rice bran by using enzyme xylanase (Porzyme 9300) and α -amylase (Termamyl 120L typeLS) was studied. In first step, optimum conditions of enzyme xylanase and α -amylase were investigated, it was found that optimum conditions were 50 degree Celsius pH 6, and 75 degree Celsius pH 6, respectively. Secondly, effects of concentration of enzyme xylanase and incubation time to sugar solution ; reducing sugar, total sugar, xylose, and protein content were studied. The results showed that concentration of enzyme xylanase and time affected on amount of reducing sugar, total sugar, and xylose. When enzyme concentration and time were increased, reducing sugar, total sugar and xylose tended to increase. At 5% concentration of xylanase (w/w of defatted rice bran), 2 and 3 hours incubation time obtained the highest reducing sugar and xylose content without significant difference. Whereas, protein content in solid part (high protein rice bran) was not affected by enzyme concentration and time, at 5% xylanase 2 hours, there was 21.24% protein (dry basis).

It was found that concentration of enzyme α -amylase and incubation time affected on reducing sugar, total sugar and dextrose equivalent (DE) but didn't affect on protein in liquid part. When enzyme concentration and time were increased, reducing sugar, total sugar and DE increased. At 3% and 5% concentration of α -amylase, 90 mins had the highest reducing sugar and total sugar. A correlation analysis showed that reducing sugar, total sugar had highly negative correlation with starch. Starch was hydrolysed completely at 1% α -amylase, 90 mins. Dextrose equivalent of sugar solution was in between 35.77 and 59.45%.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก ดร.พอใจ ถามากร ที่ได้ให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา แนะนำแนวทาง ให้คำปรึกษาและข้อคิดเห็นต่าง ๆ ซึ่งเป็นประโยชน์แก่ข้าพเจ้าตลอดมา ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ. ดร. ระติพร หาเรือนกิจ และ รศ. ดร. วุฒิชัย นาครักษา ที่ช่วยเหลือแก้ไขและกรุณาให้คำแนะนำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณฉวี คุณวันทนี และเจ้าหน้าที่ นักวิทยาศาสตร์ของภาควิชาอุตสาหกรรม เกษตรทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยครั้งนี้ และคุณนุจรีย์ อินอุดม ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ตลอดมา

ขอขอบคุณ คุณจารุดา วิเศษสรโรจก ผู้ร่วมแสดงความคิดเห็นในงานวิจัย เข้าใจทุกรายละเอียดและให้กำลังใจกันเสมอมา คุณบุญยกฤต รัตนพันธุ์ ผู้ช่วยเหลือด้านการวิเคราะห์ทางสถิติ และคำแนะนำที่ดี คุณอัญญา ศรีสวรรค์ คุณจิตติมา อารักย์วิชานันท์ คุณจุฑารัตน์ เกียนกัฏวา คุณเขวภา ศิริวัฒนานุกูล และคุณทิพรดี คงสุวรรณ ผู้ให้กำลังใจเสมอ ตลอดจนที่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ นักศึกษาปริญญาโททุกท่านและบุคคลที่ผู้วิจัยไม่ได้กล่าวไว้ในที่นี้ ที่ให้การสนับสนุนและความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ

สุดท้ายนี้ขอรำลึกถึงพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุนและกำลังใจมาโดยตลอด คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอบแต่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

ไพลิน ตั้งไพโรจน์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	IV
สารบัญ.....	V
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญภาพ.....	X
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	1
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 รำข้าว.....	3
2.1.1 องค์ประกอบของรำข้าว.....	4
2.1.2 การใช้ประโยชน์ของรำข้าว.....	10
2.2 เอนไซม์ที่ใช้ในการผลิตสารละลายน้ำตาล โดยมีรำข้าวเป็นวัตถุดิบ.....	11
2.2.1 เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการย่อยสลายสตาร์ช.....	11
2.2.2 เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส.....	12
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	29
3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์.....	29
3.2 สถานที่ดำเนินงาน.....	30
3.3 ระยะเวลาดำเนินงาน.....	30
3.4 วิธีดำเนินงาน.....	30

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	34
4.1 การศึกษาสมบัติของรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว.....	34
4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว.....	34
4.1.2 การกระจายตัวของอนุภาคของรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว.....	35
4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์.....	37
4.2.1 ศึกษาหาอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของ เอนไซม์ไซลาเนส (Porzyme 9300)	37
4.2.2 ศึกษาหาอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของ เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120L type LS)	39
4.3 การศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยต่อ สารละลายน้ำตาลในกระบวนการผลิต.....	42
4.3.1 ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาเนส (Porzyme 9300) และเวลาในการย่อยต่อสารละลายน้ำตาล.....	42
4.3.2 ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120L type LS) และเวลาในการย่อยต่อสารละลายน้ำตาล.....	52
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	61
ข้อเสนอแนะ.....	63
บรรณานุกรม.....	64
ภาคผนวก.....	71
ประวัติผู้เขียน.....	109

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 องค์ประกอบของรำข้าวที่มีไขมันเต็มและสกัดไขมันออกแล้ว.....	4
2.2 ปริมาณกรดไขมัน (%) ที่พบในรำข้าว.....	5
2.3 ชนิดและปริมาณของวิตามินในรำข้าว.....	6
2.4 ความแตกต่างระหว่างเยื่อใย (crude fiber) และใยอาหาร (dietary fiber).....	10
2.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (%) จากการย่อยสลายสตาร์ช 4 ชนิด โดย เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....	14
2.6 บริษัทผู้ผลิตและรายชื่อเอนไซม์สำหรับกระบวนการทำให้หวาน (saccharification) ชนิดกลูโคสอะไมเลส.....	19
2.7 พีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ไซลเลนจากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ.....	25
2.8 ปริมาณน้ำตาลที่ได้จากการใช้เอนไซม์ไซลเลนส่อยเฮมิเซลลูโลส ที่แยกได้จากเนื้อไม้ด้วยวิธีต่าง ๆ.....	27
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวสกัดไขมันแล้ว.....	35
4.2 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคของตัวอย่างรำข้าวสกัดไขมันแล้ว.....	36
4.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มก./มล.) จากการย่อยรำข้าวสกัดไขมันแล้ว ด้วยเอนไซม์ไซลเลนสที่อุณหภูมิและพีเอชต่าง ๆ.....	38
4.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มก./มล.) จากการย่อยรำข้าวสกัดไขมันแล้ว ด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่อุณหภูมิและพีเอชต่าง ๆ.....	40
4.5 ผลการย่อยรำข้าวสกัดไขมันแล้วที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลเลนส และเวลาต่าง ๆ.....	43
4.6 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ ในการย่อยสลายรำข้าวสกัดไขมันแล้วด้วยเอนไซม์ไซลเลนส.....	44
4.7 ผลการย่อยรำข้าวสกัดไขมันแล้วที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลสและเวลาต่าง ๆ.....	53
4.8 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ ในการย่อยสลายรำข้าวสกัดไขมันแล้วด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....	54
4.9 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิต โดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส วิเคราะห์โดยวิธี HPLC.....	60

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ข 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกลูโคส ในการวิเคราะห์ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด.....	78
ข 2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกลูโคส ในการวิเคราะห์ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์.....	80
ข 3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไซโลส ในการวิเคราะห์ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด.....	81
ข 4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไซโลส ในการวิเคราะห์ ปริมาณน้ำตาลไซโลส.....	83
ค 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไซโลส ในการวิเคราะห์ กิจกรรมเอนไซม์ไซลานเนส.....	88
ค 2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแป้ง ในการวิเคราะห์ กิจกรรมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....	91
ค 3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแป้งที่เหลือ ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....	93
ง 1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Bovine serum albumin ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Lowry.....	95
จ 1 ค่า retention time และความชันของกราฟมาตรฐานของน้ำตาล DP 1-7.....	98
ฉ 1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยสลาย รำข้าวสกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์ไซลานเนส.....	100
ฉ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากการย่อยสลาย รำข้าวสกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์ไซลานเนส.....	101
ฉ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณน้ำตาลไซโลสจากการย่อยสลาย รำข้าวสกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์ไซลานเนส.....	101
ฉ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณโปรตีนในส่วนของเหลว จากการย่อยสลายรำข้าวสกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์ไซลานเนส.....	102
ฉ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณโปรตีนในส่วนของแข็ง จากการย่อยสลายรำข้าวสกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์ไซลานเนส.....	102

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ฉ6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณเชื้อไขจากการย่อยสลาย รำข้าวสกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์ไซลานเนส.....	103
ฉ7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยสลาย รำข้าวสกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....	103
ฉ8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากการย่อยสลาย รำข้าวสกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....	104
ฉ9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า DE จากการย่อยสลายรำข้าวสกัดไขมันแล้ว โดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....	104
ฉ10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณโปรตีนในส่วนของเหลว จากการย่อยสลายรำข้าวสกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....	105
ฉ11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณโปรตีนในส่วนของแข็ง จากการย่อยสลายรำข้าวสกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....	105
ฉ12 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยสลายรำข้าว สกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์ไซลานเนส ด้วยวิธี Multiple regression analysis.....	106
ฉ13 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากการย่อยสลายรำข้าว สกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์ไซลานเนส ด้วยวิธี Multiple regression analysis.....	106
ฉ14 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณน้ำตาลไซโลสจากการย่อยสลายรำข้าว สกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์ไซลานเนส ด้วยวิธี Multiple regression analysis.....	106
ฉ15 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณเชื้อไขจากการย่อยสลายรำข้าว สกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์ไซลานเนส ด้วยวิธี Multiple regression analysis.....	107
ฉ16 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยสลายรำข้าว สกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ด้วยวิธี Multiple regression analysis.....	107
ฉ17 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากการย่อยสลายรำข้าว สกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ด้วยวิธี Multiple regression analysis.....	107
ฉ18 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า DE จากการย่อยสลายรำข้าวสกัดไขมันแล้ว โดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ด้วยวิธี Multiple regression analysis.....	108
ฉ19 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณสคาร์ชจากการย่อยสลายรำข้าวสกัดไขมันแล้ว โดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ด้วยวิธี Multiple regression analysis.....	108

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าวและรำข้าว.....	3
2.2 สูตรโครงสร้างของไซแลน.....	8
2.3 โครงสร้างของอะไมโลส.....	8
2.4 โครงสร้างของอะไมโลเพกติน.....	9
2.5 การทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase)	12
2.6 การทำงานของเอนไซม์เบต้า-อะไมเลส (β -amylase)	17
2.7 การทำงานของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase)	18
2.8 การทำงานของเอนไซม์ไอโซอะไมเลส (isoamylase)	20
2.9 แผนภูมิการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์กลุ่มเซลลูเลสทั้ง 4 กลุ่ม.....	22
2.10 การย่อยสลายไซแลนด้วยเอนไซม์ไซแลเนส.....	23
4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มก./มล.) จากการย่อยรำข้าวสกัดไขมันแล้ว ด้วยเอนไซม์ไซแลเนสที่อุณหภูมิและพีเอชต่าง ๆ.....	39
4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มก./มล.) จากการย่อยรำข้าวสกัดไขมันแล้ว ด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่อุณหภูมิและพีเอชต่าง ๆ.....	41
4.3 โครงสร้างของรำข้าวสกัดไขมันแล้วเปรียบเทียบกับรำข้าวสกัดไขมันแล้ว หลังการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไซแลเนส (ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบสแกน Scanning Electron Microscope ; SEM).....	47
4.4 ความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ไซแลเนส และเวลาในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์.....	49
4.5 ความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ไซแลเนส และเวลาในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด.....	50
4.6 ความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ไซแลเนส และเวลาในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลไซโลส.....	51
4.7 โครงสร้างของรำข้าวสกัดไขมันแล้วเปรียบเทียบกับรำข้าวสกัดไขมันแล้ว หลังการย่อยสลายด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (ถ่ายด้วยกล้อง จุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน Scanning Electron Microscope ; SEM).....	56
4.8 ความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์.....	57

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.9 ความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด.....	57
4.10 ความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่อค่า DE.....	58
4.11 ความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่อปริมาณสตาร์ช.....	59
ข 1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด.....	78
ข 2 กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์.....	80
ข 3 กราฟมาตรฐานของสารละลายไซโลสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์.....	81
ข 4 กราฟมาตรฐานของสารละลายไซโลสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลส.....	83
ค 1 กราฟมาตรฐานของสารละลายไซโลสในการวิเคราะห์ กิจกรรมของเอนไซม์ไซตานเนส.....	88
ค 2 กราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำแป้งในการวิเคราะห์ กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส.....	92
ง 1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Bovine serum albumin ในการวิเคราะห์ ปริมาณ โปรตีน โดยวิธี Lowry.....	95
จ 1 กราฟมาตรฐานของน้ำตาล DP 1-7 วิเคราะห์โดยวิธี HPLC.....	97
จ 2 กราฟองค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส 1% เวลาในการย่อย 90 นาที วิเคราะห์โดยวิธี HPLC.....	98
จ 3 กราฟองค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส 3% เวลาในการย่อย 90 นาที วิเคราะห์โดยวิธี HPLC.....	99

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้าว มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza sativa* L. เป็นพืชเศรษฐกิจที่ปลูกมากในประเทศไทย มีผลผลิตประมาณ 22 ล้านตันต่อปี ทั้งเพื่อบริโภคและการส่งออกจำหน่ายต่างประเทศ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2541) ข้าวที่ได้จากการเก็บเกี่ยวจะอยู่ในรูปข้าวเปลือก เมื่อผ่านกระบวนการกะเทาะเปลือกและการขัดสีจึงจะได้ข้าวสารซึ่งเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค ระหว่างการกะเทาะเปลือกและการขัดสีนั้นทำให้ได้รำข้าวประมาณ 5–9% (Prakash, 1996) โดยทั่วไปมีการนำรำข้าวไปใช้ประโยชน์เพื่อเป็นอาหารสัตว์และเป็นวัตถุดิบในการสกัดน้ำมันรำข้าว นอกจากนี้รำข้าวสกัดไขมันแล้วก็มีมีการนำไปใช้เพื่อเป็นอาหารสัตว์เช่นเดียวกัน

รำข้าวสกัดไขมันแล้ว ประกอบด้วยโปรตีน 18.2% เยื่อใย 10.5% คาร์โบไฮเดรต 54.3% (Prakash, 1996) ในส่วนของโปรตีนเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพ ร่างกายสามารถย่อยได้ในปริมาณสูง (digestibility) และไม่ก่อเกิดอาการแพ้ (hypoallergenic) (Shih and Daigle, 1997) จึงมีการนำรำข้าวสกัดไขมันแล้วมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง โดยเอนไซม์ไซลานเนสและเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส โดยมีหลักการเพื่อย่อยสลายส่วนของคาร์โบไฮเดรตซึ่งประกอบด้วย สตาร์ช เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสออกจากรำข้าวสกัดไขมันแล้ว จากการย่อยสลายดังกล่าวทำให้เกิดผลผลิตอีกชนิดหนึ่งคือ สารละลายน้ำตาล

ดังนั้น การศึกษาสมบัติของสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง โดยเอนไซม์ไซลานเนสและเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบคือ รำข้าวสกัดไขมันแล้วให้เกิดมูลค่าเพิ่มมากขึ้น อีกทั้งรำข้าวอาจเป็นแหล่งของน้ำตาลอีกแหล่งหนึ่งที่น่าสนใจในอนาคต

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลานเนส และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส โดยมีรำข้าวสกัดไขมันแล้วเป็นสับสเตรท

1.2.2 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอนไซม์ และระยะเวลาในการย่อยสลายต่อสมบัติของสารละลายน้ำตาลในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง โดยเอนไซม์ไซลานเนส และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

1.2.3 เพื่อศึกษาสมบัติของน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายรำข้าวสาคัดไขมันแล้วด้วยเอนไซม์ ไซลาลเนสและแอลฟา-อะไมเลส

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาสมบัติของสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าว โปรตีนสูงโดยเอนไซม์ไซลาลเนส และเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส กล่าวคือ ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โดยมีรำข้าวสาคัดไขมันแล้วเป็นสับสเตรท ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยสลายที่ระดับต่าง ๆ ต่อสมบัติของสารละลายน้ำตาล ด้วยวิธีวัด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณโปรตีน ตลอดจนศึกษาองค์ประกอบของน้ำตาลในสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ที่คัดเลือกแล้วด้วยวิธี HPLC

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ และเวลาในการย่อยต่อสมบัติของ สารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าว โปรตีนสูง

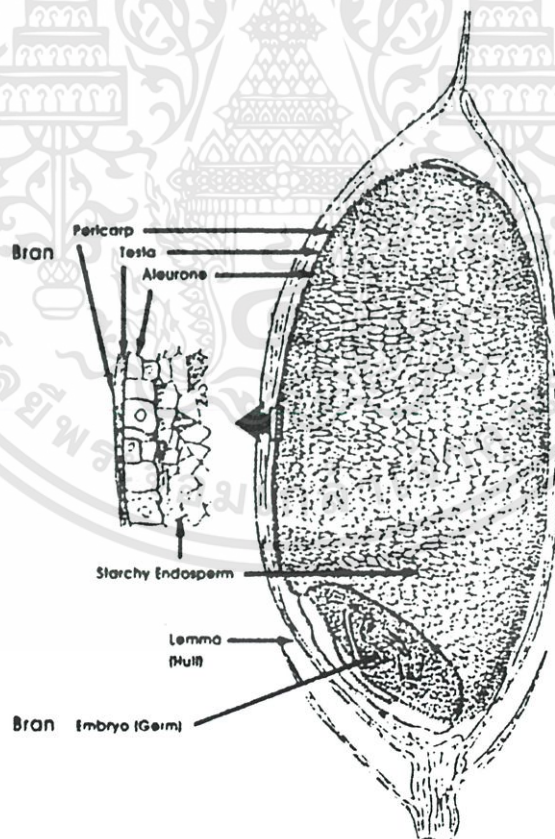
1.4.2 คุณสมบัติของน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายรำข้าวสาคัด ไขมันแล้วด้วยเอนไซม์เพื่อ เป็นแนวทางในการผลิตน้ำตาลจากรำข้าวต่อไป

บทที่ 2

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 รำข้าว

รำข้าว เป็นส่วนสีน้ำตาลอ่อนที่อยู่ถัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดข้าว เมื่อข้าวเปลือกผ่านกระบวนการกะเทาะเปลือกและการขัดสี เปลือกของเมล็ดข้าวส่วนแรกจะถูกแยกออกไป (20-25%) เมล็ดข้าวที่ได้จะมีสีน้ำตาล และเมื่อนำเมล็ดข้าวนี้ไปขัดสีจะได้ข้าวที่มีความขาวมากขึ้น (61-72%) ปลายข้าว (2-3%) และรำข้าว (5-9%) (Prakash, 1996) โดยทั่วไปรำข้าวเป็นส่วนของชั้นเชื้อหุ้มผล (pericarp) และแอรูโรน (aleurone) (ดังภาพที่ 2.1) อาจมีบางส่วนของเอนโดสเปิร์ม (endosperm) และเอมบริโอ (embryo) หรือจมูกข้าว (germ) ปะปนอยู่ประมาณ 20-25% เกิดเนื่องจากการแตกหักระหว่างกระบวนการขัดสี ซึ่งส่วนที่เกิดจากการแตกหักนี้องค์ประกอบหลักคือ สตาร์ช



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าวและรำข้าว

ที่มา : Samuel (1991).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 องค์ประกอบของรำข้าว

ในการสีข้าวเพื่อการค้าจะได้รำ 2 ชนิดคือ รำหยาบ (coarse bran) ซึ่งเป็นส่วนผสมของ แกลบละเอียดกับเนื้อเยื่อชั้นนอก ๆ ของข้าวกล้อง ส่วนรำละเอียด (fine bran) ได้จากการขัดข้าว กล้องเป็นข้าวสารหรือจากเครื่องขัดขาว มีคุณค่ามากกว่ารำหยาบ ส่วนใหญ่มีสีฟางหรือสีน้ำตาลอ่อน โดยมีองค์ประกอบดังนี้ (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของรำข้าวที่มีไขมันเต็มและสกัดไขมันออกแล้ว (% น้ำหนักแห้ง)

รำข้าว	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เยื่อใย	คาร์โบไฮเดรต
ไขมันเต็ม ^a	12.0	13.7	12.1	14.4	25.4
ไขมันเต็ม ^b	14.1	20.9	12.8	8.4	43.5
สกัดไขมันออก ^a	18.3	5.4	11.2	8.6	31.6
สกัดไขมันออก ^b	18.2	1.6	15.3	10.5	54.3
สกัดไขมันออก ^c	12.8	7.0	8.9	8.2	58.2

ที่มา : a : Connor *et al.* (1976).

b : Prakash (1996).

c : Youssef *et al.* (1974).

1. โปรตีน (protein)

โปรตีนจากรำข้าวประกอบด้วยอัลบูมิน กลอบูลิน โปรลามิน และกลูเตลิน ในอัตราส่วน 37 : 36 : 5 : 22 (Prakash, 1996)

- อัลบูมิน (albumin) เป็นโปรตีนที่ละลายได้ดีในน้ำ และมีกรดอะมิโนชนิดไลซีน (lysine) อยู่สูง

- กลอบูลิน (globulin) เป็นโปรตีนที่ละลายได้ดีในตัวทำละลายที่เป็นสารละลายเกลือแอมโมเนียซัลเฟต มีปริมาณกรดอะมิโนไลซีน ร่วมกับกรดอะมิโนในโปรตีนส่วนที่เป็นอัลบูมินประมาณ 10-15% ของโปรตีนทั้งหมด

- โปรลามิน (prolamin) เป็นโปรตีนที่ละลายได้ดีในตัวทำละลายแอลกอฮอล์ มีปริมาณไลซีนต่ำกว่า 5%

- กลูเตลิน (glutelin) เป็นโปรตีนที่ละลายได้ดีในตัวทำละลายกรดเจือจาง สารละลายด่าง หรือในตัวทำละลายอินทรีย์

โปรตีนจากรำข้าวมีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยเมื่อเปรียบเทียบกับเคซีน โดยพบว่ารำข้าวมีค่า protein efficiency ratio (PER) 1.6-1.9 และหากเป็น โปรตีนเข้มข้นที่สกัดจากรำข้าวจะ

มีค่า PER 2.0-2.5 ซึ่งใกล้เคียงกับเคซีน (เคซีนมีค่า PER 2.5) นอกจากนี้โปรตีนรำข้าวยังสามารถย่อยสลาย (digestibility) ได้ถึง 73 % และเมื่ออยู่ในรูปโปรตีนเข้มข้นสามารถย่อยสลายได้มากกว่า 90 % (Saunders, 1990)

2. น้ำมัน (oil)

รำข้าวมีน้ำมันเป็นองค์ประกอบ 16-22 % โดยมีกรดไขมันที่สำคัญ 3 ชนิดคือ พลาสมิติก (plamitic) โอลีอิก (oleic) และลิโนเลอิก (linoleic) มากกว่า 90% ของกรดไขมันทั้งหมด (ดังตารางที่ 2.2)

ตารางที่ 2.2 ปริมาณกรดไขมัน (%) ที่พบในรำข้าว

กรดไขมัน	รำข้าว
Lauric	Trace
Myristic	0.2-0.5
Palmetic	16.9-20.5
Palmetoleic	0.1-0.4
Stearic	1.1-1.8
Oleic	37.1-45.0
Linoleic	33.5-40.7
Linolenic	0.5-1.4
Arachidic	0.1-0.7

ที่มา : วุฒิชัย (2535).

3. วิตามิน (vitamin)

ปริมาณและชนิดของวิตามิน (ตารางที่ 2.3) ขึ้นกับสายพันธุ์ข้าว ระดับการขัดสี และการปะปนของแกลบ รำข้าวเป็นแหล่งที่สำคัญของวิตามินบี 1 (thiamin) ไนอาซิน (niacin) และวิตามินอี ซึ่งเป็นส่วนสำคัญต่อร่างกายในการควบคุมเมตาบอลิซึมต่าง ๆ และเสริมสร้างซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ

4. เกลือแร่ (mineral)

ในรำข้าวแร่ธาตุที่พบมากที่สุด ได้แก่ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม ซิลิกอน และแคลเซียม

ตารางที่ 2.3 ชนิดและปริมาณของวิตามินในรำข้าว

	ปริมาณ (ppm)
Vitamin A	4
Thiamin	10-28
Riboflavin	2-3
Niacin	126-590
Pyridoxine	10-32
Pantothenic acid	28-71
Biotin	0.2-0.6
Myoinositol	4,600-9,300
Choline	1,300-1,700
p-Aminobenzoic acid	0.7
Folic acid	0.5-1.5
Vitamin B-12	0.005
Vitamin E	150

ที่มา : Saunders (1990).

5. คาร์โบไฮเดรต คาร์โบไฮเดรตที่สำคัญในรำข้าว คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และสตาร์ช

5.1 เซลลูโลส ในรำข้าวประกอบด้วยเซลลูโลสประมาณ 9.6-12.8 % (Saunders, 1990) เซลลูโลสเป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีมากในผนังเซลล์ของพืช โครงสร้างโมเลกุลเป็นแบบไม่มีกิ่งก้านสาขา ประกอบด้วยกลูโคสหลาย ๆ หน่วยมาต่อกันเป็นเส้นยาวด้วยพันธะแบบเบต้า-กลูโคซิดิก มีโครงสร้างทางเคมีคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ (Goodwin and Mercer, 1972) โมเลกุลของเซลลูโลสจะเรียงกันอยู่เป็นมัด ๆ (fibril) และเมื่อนำแต่ละมัดมาขยายพบว่า ประกอบด้วยส่วนที่อยู่รวมกันเป็นกระจุก เรียกว่า crystalloid และส่วนที่อยู่รวมกันแบบหลวม ๆ เรียกว่า amorphous region (Goksory and Eriksen, 1980) เซลลูโลสไม่ละลายน้ำ ตัวทำละลายอินทรีย์หรือสารละลายต่าง แต่ละลายในกรด เมื่อสลายตัวโดยสมบูรณ์ด้วยกรดหรือเอนไซม์จะได้น้ำตาลกลูโคสอย่างเดี๋ยวนั้น แต่ถ้าการสลายตัวไม่สมบูรณ์จะได้เซลโลไบโอสซึ่งเป็น ไคแซ็กคาไรด์และ โอลิโกแซ็กคาไรด์อื่น ๆ

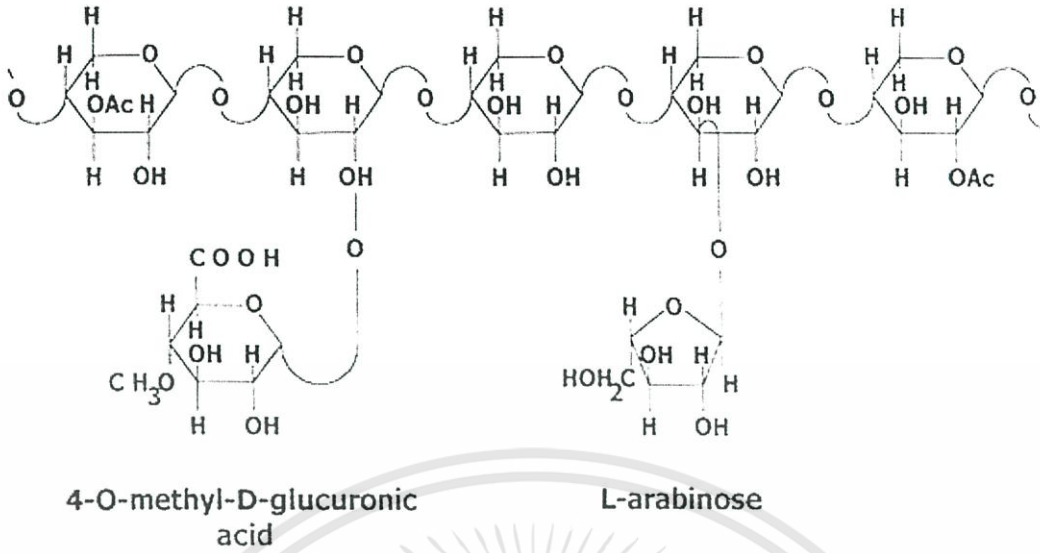
5.2 เฮมิเซลลูโลส ในลำข้าวประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลสประมาณ 8.7-11.4 % (Saunders, 1990) เฮมิเซลลูโลสเป็นสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลัก คือ ดี-ไซโลส ดี-แมนโนส ดี-กาแลกโทส และแอล-อะราบินโนส โดยมีสายโซ่ (side chain) คือ 4-O-methyl-D-glucuronic acid เชื่อมกันด้วยพันธะเบต้า-กลูโคซิดิก การแบ่งชนิดของเฮมิเซลลูโลสจึงแบ่งตามชนิดของน้ำตาลได้แก่ ไซแลน แมนแนน กาแลกแทน และอะราบินแนน เป็นต้น

ไซแลน (xylan)

ไซแลนเป็นองค์ประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลสในเซลล์พืช โดยพบประมาณ 7-30% ของผนังเซลล์พืช ยึดเกาะกับโพลีแซ็กคาไรด์ชนิดอื่นด้วยพันธะนอน-โควาเลนต์ (non-covalent) และยึดเกาะด้วยพันธะไฮโดรเจนกับส่วนของเซลลูโลส พบตามธรรมชาติทั้งในไม้เนื้ออ่อน ไม้เนื้อแข็ง พืชล้มลุก ในผนังเซลล์ชั้นแรกของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว รวมทั้งในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเช่น กากเมล็ดฝ้าย ลำข้าว ฟางข้าว ช้างข้าวโพด เปลือกเมล็ดทานตะวัน (Magee and Kosaric, 1985) และในเปลือกเมล็ดธัญพืชต่าง ๆ เป็นต้น (Ericksson *et al.*, 1990)

คุณสมบัติทั่วไปของไซแลนคือ ไม่ละลายน้ำ ละลายในสารละลายด่างได้ดีกว่าสารละลายกรด และไม่เกิดปฏิกิริยารีดักชันกับสารละลายเฟห์ลิง (Fehling's solution) (Whistler and Smart, 1953)

ไซแลนเป็นโพลีเมอร์ของน้ำตาลไซโลส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า-1,4-ไซโลซิดิก (β -1,4-xylosidic) อาจเป็นสายโซ่ตรงที่มีเฉพาะไซโลสหลาย ๆ โมเลกุล หรือมีสาขาที่เป็นโพลีแซ็กคาไรด์ชนิดอื่น ๆ อยู่ด้วย เช่น แอล-อะราบินโนฟูราโนส (L-arabinofuranose) จะเชื่อมต่อกับดี-ไซโลส (D-xylose) ที่ตำแหน่ง O-3 และดี-กลูโคโรนิก แอซิด (D-glucuronic acid) หรือ 4-O-เมทิล-กลูโคโรนิก แอซิด ซึ่งเชื่อมกับไซโลสที่ตำแหน่ง O-2 (ดังภาพที่ 2.2) พบว่าไซแลนของพืชต่างชนิดกันมีโครงสร้างหลักเหมือนกัน จะแตกต่างกันก็เฉพาะชนิด จำนวน และตำแหน่งของหน่วยข้างเคียง เช่น ไซแลนจากไม้เนื้อแข็งและเปลือกเมล็ดฝ้ายประกอบด้วยไซโลสเพียงอย่างเดียวเท่านั้น (Kusakabe *et al.*, 1977) สูตรทางเคมีของไซโลส คือ $C_5H_{10}O_5$ (Biely, 1985) มวลโมเลกุลเท่ากับ 150.13 มีจุดหลอมเหลว 144-145 องศาเซลเซียส (Emodi, 1978) น้ำตาลนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายประการ เช่น ผลิตเอธานอล บิวทานอล หรือใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิตอล ซึ่งเป็นน้ำตาลความหวานต่ำ แต่ไม่ทำให้ฟันผุ (Saddler *et al.*, 1983 ; Wong and Saddler, 1991) และมีการนำน้ำตาลไซลิตอลไปใช้ในอุตสาหกรรมทำหมากฝรั่ง ยาสีฟัน และน้ำยาล้างปาก เป็นต้น (Leathers and Gupta, 1997)

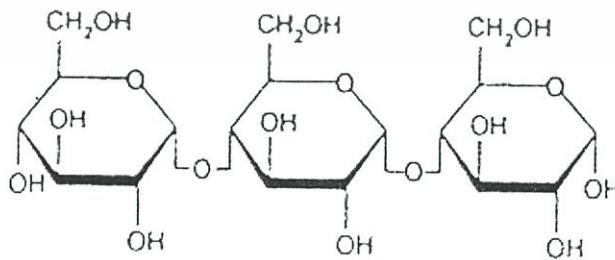


ภาพที่ 2.2 สูตรโครงสร้างของไซเลน

ที่มา : Biely (1985).

5.3 สตาร์ช โดยปกติแล้วชั้นเยื่อหุ้มผล (pericarp) จะไม่มีสตาร์ชอยู่ แต่จากการขัดสีอย่างรุนแรงทำให้มีส่วนของเอนโดสเปิร์ม (endosperm) ปะปนอยู่ในรำข้าว (Wayne and James, 1994) เม็ดสตาร์ชหรือเม็ดแป้งเป็นโพลีเมอร์ของกลูโคส ซึ่งประกอบด้วยแอนไฮโดรกลูโคส (anhydroglucose unit) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ทางด้านตอนปลายของสายโพลีเมอร์มีหน่วยกลูโคสที่มีหมู่ไฮดรอกซิลเรียกว่า หมู่รีดิวซิงค์ (reducing end group) สตาร์ชประกอบด้วยโพลีเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิดคือ โพลีเมอร์เชิงเส้น (อะไมโลส) และโพลีเมอร์เชิงกิ่ง (อะไมโลเพกทิน)

5.3.1 อะไมโลส (amylose) เป็นโพลีเมอร์เชิงเส้นที่ประกอบด้วยดี-กลูโคสประมาณ 2000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา-1,4-กลูโคซิดิก เป็นสายโซ่ยาว (linear) (ดังภาพที่ 2.3)

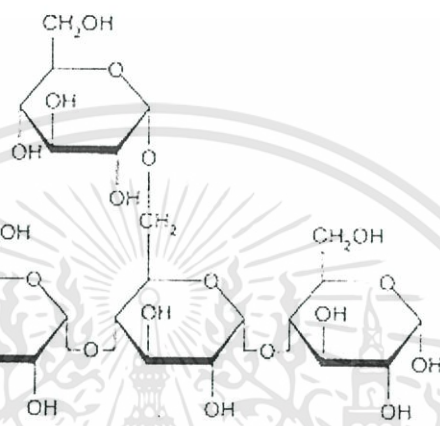


ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของอะไมโลส

ที่มา : Oates (1997).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3.2 อะไมโลเพกติน (amylopectin) เป็นโพลีเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคส ส่วนที่เป็นเส้นตรงของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา-1,4-กลูโคซิดิก และส่วนที่เป็นกิ่ง ก้านสาขาเป็นโพลีเมอร์สายสั้นมีระดับของโพลีเมอร์ไรเซชันอยู่ในช่วง 10-60 หน่วย เชื่อมต่อกัน ด้วยพันธะแอลฟา-1,6-กลูโคซิดิก (แสดงดังภาพที่ 2.4) หน่วยกลูโคสที่มีพันธะแอลฟา-1,6-กลูโคซิดิก มีอยู่ประมาณ 5% ของปริมาณหน่วยกลูโคสในอะไมโลเพกตินทั้งหมด



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของอะไมโลเพกติน
ที่มา : Oates (1997).

6. โยอาหาร (dietary fiber)

โยอาหาร (dietary fiber) หมายถึง กลุ่มของโพลีแซ็กคาไรด์ในผนังเซลล์พืชและสาหร่ายบางชนิด ได้แก่ เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ลิกนิน (lignin) กัม (gums) มิวซิเลจ (mucilages) และ pectic substance โยอาหารไม่ถูกย่อยสลายด้วยน้ำย่อยจากระบบทางเดินอาหารของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่ถูกย่อยได้บางส่วนโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ (Southgate, 1969 ; Trowell, 1972)

สำหรับเยื่อใย (crude fiber) หมายถึง ส่วนที่เหลือจากการย่อยด้วยกรดซัลฟูริกร้อนค้าง และอัลคอกซอล ซึ่งได้แก่ เซลลูโลส และลิกนิน (Douglas and Glenn, 1982) (ตารางที่ 2.4)

รำข้าวประกอบด้วยโยอาหาร (dietary fiber) ประมาณ 45% ส่วนเยื่อใย (crude fiber) มีประมาณ 6-8% (Douglas and Glenn, 1982)

ตารางที่ 2.4 ความแตกต่างระหว่างเยื่อใย (crude fiber) และใยอาหาร (dietary fiber)

Total carbohydrate	}	Sugars	}	Available carbohydrate	
		Dextrins			
		Starches			
	}	Crude fiber	Pectin	}	Unavailable carbohydrate or Dietary fiber
			Hemicelluloses		
			Cellulose		
		Lignin			

ที่มา : Asp (1987).

2.1.2 การใช้ประโยชน์จากรำข้าว

2.1.2.1 เป็นวัตถุดิบในการสกัดน้ำมันรำข้าว ซึ่งใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น ใช้ในการบริโภคเพราะมีไขมันไม่อิ่มตัวสูง ใช้ในอุตสาหกรรมทำเนยเทียม สบู่และกลีเซอริน หรือใช้แยกเอ็กซ์คิง เป็นต้น

2.1.2.2 นำไปใช้ในการผลิตวิตามินบีโดยผลิตจากรำสด และกากรำที่เหลือจากการสกัดน้ำมัน นอกจากนี้กากที่เหลือจากการสกัดวิตามิน ยังคงมีแร่ธาตุและสารอาหารเหลืออยู่ สามารถนำไปผลิตเป็นอาหารสัตว์ได้อีก (ปราณี, 2534)

2.1.2.3 ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตอาหารสัตว์เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหาร และเกลือแร่สูงกว่าข้าวสาร

2.1.2.4 ใช้เป็นอาหาร เช่น ใช้เป็นส่วนผสมของขนมอบเช่น โดนัท แพนเค้ก คุกกี้ อาหารเข้าธัญพืช ซึ่งช่วยปรับปรุงสี เพิ่มปริมาณกรดอะมิโนและแร่ธาตุต่าง ๆ ในขนมอบให้มากขึ้น นอกจากนี้ยังมีการใช้รำข้าวสกัดไขมันแล้วในอาหารหลายชนิดเพื่อเป็นการเสริมโปรตีน เป็นตัวเกาะติดกับส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เนื้อและไส้กรอก และเป็นวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนเข้มข้น เป็นต้น (Prakash, 1996)

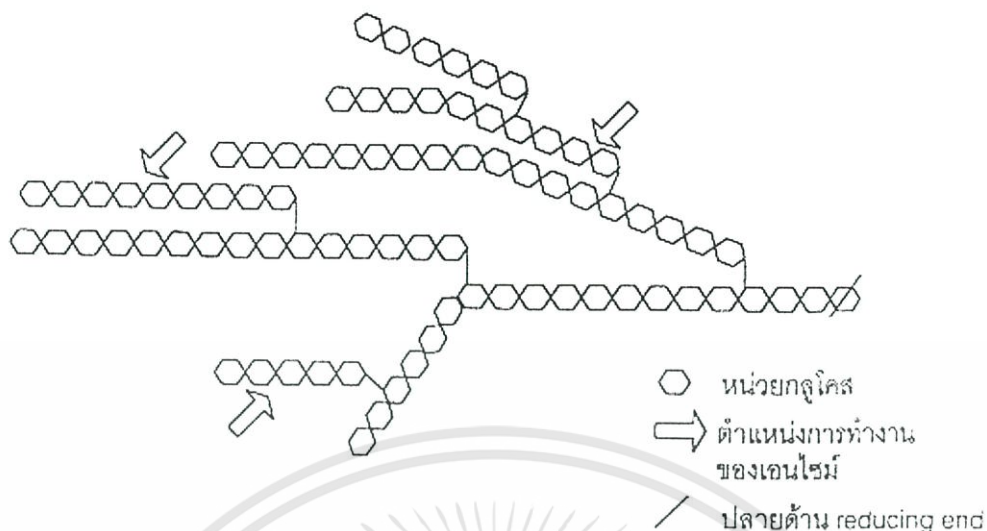
2.2 เอนไซม์ที่ใช้ในการผลิตสารละลายน้ำตาลโดยมีรำข้าวแล้วเป็นวัตถุดิบ

2.2.1 เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการย่อยสลายสตาร์ช

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการย่อยสลายสตาร์ช เรียกว่า อะไมโลติกเอนไซม์ (amylolytic enzyme) โดยมีการค้นพบเอนไซม์อะไมเลส (amylase) จากข้าวสาลีเป็นครั้งแรก และเอนไซม์ที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมสตาร์ชคัดแปร ได้แก่ แอลฟา-อะไมเลสจากแบคทีเรีย (bacterial α -amylase) แอลฟา-อะไมเลสจากรา (fungal α -amylase) กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) ไอโซอะไมเลส (isoamylase) พุลลูลานเนส (pullulanase) เบต้า-อะไมเลส (β -amylase) (Reilly, 1985)

2.2.1.1 แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) มีชื่อเรียกตามระบบว่า α -1,4-glucanohydrolase EC 3.2.1.1 มีชื่อสามัญว่า ไดเอสเทส (diastase) เอนไซม์นี้มีมวลโมเลกุลประมาณ 50 กิโลดาลตัน พบทั่วไปในธัญพืช เช่น ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี และข้าวเจ้า เป็นต้น โดยพบระหว่างการงอกของเมล็ด ในคนพบในส่วนของน้ำลาย ตับอ่อน (Eliasson, 1996) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายแป้ง เป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์และไดแซ็กคาไรด์ และจะถูกย่อยต่อในลำไส้เล็กก่อนที่จะซึมผ่านผนังลำไส้ การทำงานของเอนไซม์ต้องการแคลเซียมไอออน (Ca^{++}) ร่วมทำกิจกรรม พีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำกิจกรรมขึ้นกับแหล่งของเอนไซม์ เช่น เอนไซม์จาก *Bacillus subtilis* พีเอชที่เหมาะสมคือ 5.85-6.0 อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 70-72 องศาเซลเซียส เอนไซม์จาก *Bacillus licheniformis* พีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5.5-7.0 อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 90 องศาเซลเซียส (Wong, 1995)

ลักษณะที่สำคัญของเอนไซม์ในการย่อยสลายคือ เเจาะจงต่อการย่อยสลายพันธะไกลโคซิดของสตาร์ชที่ α -1,4 ในลักษณะตัดภายในสายโพลีเมอร์แบบสุ่ม (endo-spilting) (ดังภาพที่ 2.5) ได้ผลผลิตเป็นกลูแคน (glucan) และลิมิตเดกซ์ทริน (limit dextrin) ที่มีหน่วยกลูโคสประมาณ 2-6 หน่วย และยังคงมีโครงรูปเดิม (α -configuration)



ภาพที่ 2.5 การทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase)

ที่มา : กล้าณรงค์ และเกื้อกุล (2543).

ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

1) ชนิดของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสสามารถผลิตได้จากหลายแหล่ง ในการผลิตมอลโทเดกซ์ทรินนิยมใช้เอนไซม์ที่ผลิตจากแบคทีเรีย เนื่องจากมีประสิทธิภาพการย่อยสูงกว่าแอลฟา-อะไมเลสจากแหล่งอื่น ๆ นอกจากนี้ยังพบว่าแอลฟา-อะไมเลสจากแบคทีเรียต่างชนิดกันเมื่อใช้ในการย่อยสตาร์ช จะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีองค์ประกอบแตกต่างกันด้วย เช่น แอลฟา-อะไมเลสจาก *Streptomyces griseus* ย่อยสตาร์ชได้มอลโทไตรโอส (G3) เป็นส่วนใหญ่ จาก *Pseudomonas stutzeri* ย่อยสตาร์ชได้มอลโทเทตระโอส (G4) เป็นส่วนใหญ่ จาก *Bacillus licheniformis* ย่อยสตาร์ชได้มอลโทเพนทาโอส (G5) เป็นส่วนใหญ่ และจาก *Aerobacter aerogenes* จะย่อยได้มอลโทเฮกซาโอส (G6) มาก เป็นต้น (รุ่งนภา, 2539)

2) ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

ปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ต้องมีความพอดีกับความเข้มข้นของน้ำแป้ง ถ้าความเข้มข้นของเอนไซม์ต่ำในขณะที่ความเข้มข้นของน้ำแป้งสูง จะทำให้อัตราการย่อยต่ำ ใช้เวลาในการย่อยสลายนาน และการย่อยแป้งอาจไม่สมบูรณ์และไม่ทั่วถึง แต่ถ้าความเข้มข้นของเอนไซม์สูงเกินไป จะเป็นการสิ้นเปลือง และอาจมีกลิ่นของเอนไซม์ตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ ในสภาวะการผลิตทั่วไป เมื่อความเข้มข้นของน้ำแป้งอยู่ในช่วง 20-40 % มักใช้เอนไซม์เข้มข้น 0.03-0.1 % (Yankov *et al.*, 1986) มีรายงานเกี่ยวกับการใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 0.03 % โดย Griffin และ Brooks (1989) ศึกษาการผลิตมอลโทเดกซ์ทรินด้วยวิธีเดิมเอนไซม์ครั้งเดียว โดยใช้แป้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 30 % เอนไซม์ความเข้มข้น 0.01 % พบว่าที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ย่อยนาน 70 นาที ให้ผลิตภัณฑ์มีค่า DE สูงสุด 11.04

3) ชนิดของสตาร์ช

สตาร์ชที่ใช้ผลิตมอลโทเดกซ์ทรินได้แก่ สตาร์ชจากข้าวโพด ข้าวโพดเหนียว ข้าวเจ้า มันสำปะหลัง มันฝรั่ง และข้าวโอ๊ต เป็นต้น ซึ่งสตาร์ชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันทั้งขนาด รูปร่าง องค์ประกอบทางเคมี อุณหภูมิในการเจลาติไนซ์และค่าการพองตัว (swelling power) จึงทำให้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสเข้าทำงานได้แตกต่างกัน ส่งผลถึงมอลโทเดกซ์ทรินที่ผลิตได้จากสตาร์ชแต่ละชนิดจะมีองค์ประกอบและสมบัติแตกต่างกันด้วย

Orapin and Prasert (1992) ศึกษาการผลิตมอลโทเดกซ์ทริน DE 6 10 และ 14 จากแป้งมันสำปะหลังและแป้งข้าวเจ้าด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสชนิด BAN 240L (จาก *Bacillus subtilis*) พบว่าการย่อยสตาร์ชในแป้งข้าวเจ้าต้องใช้เวลาในการย่อยสตาร์ชในแป้งมันสำปะหลังเพื่อให้ได้ค่า DE ระดับเดียวกัน และการย่อยสตาร์ชในแป้งข้าวเจ้าจะเหลือส่วนตกค้างที่เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสไม่ได้ย่อยปริมาณสูงกว่าการย่อยสตาร์ชในแป้งมันสำปะหลัง ทั้งนี้เพราะเม็ดสตาร์ชมันสำปะหลังมีค่าการพองตัว (swelling power) 71 ซึ่งสูงกว่าเม็ดสตาร์ชข้าวเจ้าที่มีค่าการพองตัวเพียง 19 โดยเม็ดสตาร์ชที่มีค่าการพองตัวสูงจะเปิดโอกาสให้เอนไซม์เข้าไปย่อยโมเลกุลสตาร์ชได้สะดวกกว่า นอกจากนี้เมื่อนำมอลโทเดกซ์ทรินมาทำเป็นผงแห้ง มอลโทเดกซ์ทรินที่ผลิตจากแป้งมันสำปะหลังละลายในน้ำเย็นได้ดีกว่า และมีความหนืดสูงกว่ามอลโทเดกซ์ทรินที่ผลิตจากแป้งข้าวเจ้าเล็กน้อย

ต่อมา Sukoncheun (1994) ทดลองเปรียบเทียบการย่อยสตาร์ชของแป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวโพด และแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสชนิดทนความร้อน ที่สภาวะความเข้มข้นของสตาร์ช 35% ความเข้มข้นของเอนไซม์ 1% และอุณหภูมิในการย่อย 75 80 85 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 60 90 และ 120 นาที พบว่าทุกสภาวะของการย่อย สตาร์ชในแป้งมันสำปะหลังจะให้ปริมาณสตาร์ชเหลือมากที่สุด (88.43-98.08 %) รองลงมาเป็นแป้งข้าวโพด แป้งข้าวเหนียวและแป้งข้าวตามลำดับ ยกเว้นที่ 75 องศาเซลเซียส การย่อยสตาร์ชในแป้งข้าวเหนียวจะได้ปริมาณสตาร์ชเหลือสูงกว่าแป้งข้าวโพด เมื่อพิจารณาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสตาร์ชในแป้งทั้ง 4 ชนิดที่สภาวะต่าง ๆ พบว่า ที่ 75 องศาเซลเซียส การย่อยสตาร์ชในแป้งข้าวเหนียวได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด (19.41-37.78 %) รองลงมาเป็นแป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพดและแป้งข้าวเจ้า ตามลำดับ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 80 องศาเซลเซียส น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสตาร์ชในแป้งข้าวเหนียวกับแป้งมันสำปะหลัง และแป้งข้าวโพดแป้งข้าวเจ้ามีปริมาณใกล้เคียงกัน ส่วนที่ 85 องศาเซลเซียส และ 90 องศาเซลเซียส เวลาที่ย่อยนาน 120 นาที การย่อยสตาร์ชในแป้งมันสำปะหลังได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด (45.15 %) ในขณะที่การย่อยสตาร์ชชนิดอื่น ๆ จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ในช่วงใกล้เคียงกัน (ตา

รางที่ 2.5) ทั้งนี้สาเหตุที่ทำให้เกิดความแตกต่างจากการย่อยสลายจากแป้งทั้ง 4 ชนิด เนื่องจากจากสสารแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันในด้านองค์ประกอบทางเคมี และโครงสร้างซึ่งมีผลต่อความแข็งแรง ค่าการพองตัว และอุณหภูมิการเกิดเจลลิตินในเซชันของเม็ดสสาร

ตารางที่ 2.5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (%) จากการย่อยสลายสสาร 4 ชนิด โดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (%)			
		ข้าวเจ้า	ข้าวเหนียว	ข้าวโพด	มันสำปะหลัง
75	30	15.14	19.41	16.09	16.83
	60	24.28	29.59	25.57	27.52
	90	28.65	35.60	31.68	34.19
	120	30.60	37.78	34.51	37.50
80	30	17.64	19.61	17.79	19.14
	60	27.82	29.75	28.86	29.40
	90	34.63	37.78	34.76	37.18
	120	37.36	39.39	37.80	39.76
85	30	18.10	21.37	19.25	19.64
	60	26.99	30.43	27.64	30.70
	90	33.11	37.92	33.55	38.06
	120	37.80	41.66	39.26	44.15
90	30	18.57	21.48	19.93	20.09
	60	27.74	30.38	28.32	31.00
	90	35.99	38.15	36.15	39.80
	120	39.74	40.77	40.51	44.15

ที่มา : Sukoncheun (1994).

4) ความเข้มข้นของน้ำแป้ง

ความเข้มข้นของน้ำแป้ง พบว่าการใช้น้ำแป้งที่มีความเข้มข้นสูงเกินไปจะทำให้เกิดความหนืดสูงจนเกิดปัญหาในการผสมและการไหลของน้ำแป้ง นอกจากนี้ยังทำให้การทำงานของเอนไซม์ลดต่ำลงด้วย ทั้งนี้เนื่องจากโมเลกุลของแป้งจัดเรียงตัวจนเกิดเป็นโครงสร้างทำให้เอนไซม์สัมผัสกับแป้งไม่ทั่วถึง อัตราการย่อยสลายแป้งโดยเอนไซม์จึงต่ำลง (Komolprasert and Ofoli, 1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) อุณหภูมิและระยะเวลาในการย่อย

อุณหภูมิและระยะเวลาในการย่อย มีผลต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์ได้แก่ ค่า DE ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณสตาร์ชเหลือ เป็นต้น โดย Griffin และ Brooks (1989) ทดลองย่อยสตาร์ชในแป้งข้าวเจ้าด้วยแอลฟา-อะไมเลส (ชื่อทางการค้า Termamyl) ที่อุณหภูมิ 70 80 90 95 และ 97 องศาเซลเซียส นาน 15 45 และ 75 นาที ตามลำดับ พบว่าปริมาณสตาร์ชเหลือและน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อย การย่อยสตาร์ชที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสได้ปริมาณสตาร์ชเหลือต่ำกว่าการย่อยที่อุณหภูมิต่าง ๆ แต่จะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดโดยมีค่าสูงกว่าการย่อยที่อุณหภูมิต่าง ๆ ในทุกช่วงเวลา ยกเว้นที่ 80 องศาเซลเซียส จะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ใกล้เคียงกัน เมื่อพิจารณาถึงชนิดและปริมาณของแซ็กคาไรด์ขนาดเล็ก (DP 1-10) เกิดขึ้นมากกว่าการย่อยที่อุณหภูมิต่าง ๆ ดังนั้นจึงสรุปว่า การย่อยสตาร์ชข้าวเจ้าที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส มีความเหมาะสมมากที่สุดเพราะได้ปริมาณสตาร์ชเหลือ น้ำตาลรีดิวซ์ และแซ็กคาไรด์ขนาดเล็กสูง

6) ความเป็นกรด-ด่าง (พีเอช)

ค่าพีเอช มีผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส เนื่องจากเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสจัดเป็น โปรตีนประเภทหนึ่ง ซึ่งถูกยับยั้งการทำงานได้ถ้ามีสภาวะความเป็นกรดสูง สำหรับค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสอยู่ในช่วงพีเอช 5.0-8.0 (Fogarty, 1983)

Brooks และ Griffin (1987) ทดลองย่อยสตาร์ชในแป้งข้าวเจ้าชนิดเมล็ดข้าวและชนิดเมล็ดสั้นด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (ชื่อทางการค้า Termamyl) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส โดยมีค่าพีเอชต่าง ๆ คือ 5.5 6.5 และ 7.5 พบว่า เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสจะมีประสิทธิภาพในการย่อยสตาร์ชจากแป้งทั้งสองชนิดได้ดีที่สุดที่พีเอช 6.5 เพราะจะได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และสตาร์ชเหลือสูงกว่าการย่อยที่พีเอชอื่น ๆ

7) ปริมาณแคลเซียมไอออน

เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสจัดเป็น calcium metallo-enzyme คือ ถ้ามีแคลเซียมไอออนในระบบแม้ในปริมาณต่ำมากเพียง 1 ส่วนในล้านส่วน เอนไซม์จะมีเสถียรภาพและมีประสิทธิภาพในการทำงานดีขึ้นมาก (Kennedy, 1987 ; Fogarty, 1983)

การใช้ประโยชน์จากเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

1) ใช้ในการผลิตมอลโทเดกซ์ทริน (maltodextrin)

มอลโทเดกซ์ทริน คือ ผลิตภัณฑ์แป้งคัดแปรชนิดหนึ่ง มีสมบัติก้ำกึ่งระหว่างสตาร์ชและน้ำเชื่อม ได้จากปฏิกิริยาย่อยสลายสตาร์ชด้วยกรดและ/หรือเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส มีค่าสมมูลเดกซ์โทรส (dextrose equivalent , DE) น้อยกว่า 20 (Verwaerde and Sicard, 1984 ; Schenck, 1996) ประกอบด้วยโมเลกุลที่ได้จากการย่อยอะไมโลส และอะไมโลเพกทิน มีขนาดโมเลกุลในช่วงโอลิโกเมอร์ (oligomer) จนถึงแมโครโมเลกุล (macromolecule) ของน้ำตาล

ดี-กลูโคส มอลโทเดกซ์ทรินมีทั้งชนิดเหลว ลักษณะคล้ายน้ำเชื่อม และชนิดผง ลักษณะเป็นผงสีขาวคล้ายแป้ง ละลายน้ำได้ และไม่มีรสหวาน

ผลิตภัณฑ์มอลโทเดกซ์ทรินมีค่า DE แตกต่างกันไปขึ้นกับระดับการย่อย นิยมใช้ค่า DE ในการจำแนกชนิดของมอลโทเดกซ์ทริน มีการพยายามแบ่งชนิดของมอลโทเดกซ์ทรินออกเป็นกลุ่มต่าง ๆ โดย Van Beynum และ Roels (1985) ได้แบ่งชนิดของมอลโทเดกซ์ทรินออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแรกมีค่า DE 10-14 นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเหลว เพื่อให้เนื้อสัมผัสแก่ผลิตภัณฑ์ กลุ่มหลังมีค่า DE 15-19 ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารแห้ง โดยใช้เป็นสารเพิ่มปริมาณในผลิตภัณฑ์ที่ต้องมีการทำแห้งแบบพ่น (spray dry) นอกจากนี้ยังใช้เคลือบผิวลูกกวาดเพื่อป้องกันและการดูดความชื้น Kennedy และคณะ (1985) แบ่งชนิดของมอลโทเดกซ์ทรินออกเป็น 4 ชนิดตามประเภทที่มีจำหน่ายทางการค้า โดยชนิดที่ 1 คือ DE 5-8 ชนิดที่ 2 มี DE ในช่วง 11-14 ชนิดที่ 3 มี DE ในช่วง 15-18 และชนิดที่ 4 มี DE ในช่วง 18-20

ในปัจจุบันมีการใช้มอลโทเดกซ์ทรินในอาหารไขมันต่ำ เช่น การผลิตไอศกรีมและน้ำสลัดไขมันต่ำ มีการเติมมอลโทเดกซ์ทรินเป็นสารทดแทนไขมัน (fat replacer) ในผลิตภัณฑ์ ซึ่งทำให้มีความหนืดและความรู้สึกในปากที่ดี (mouth feel) (Dorp, 1994 ; Rapaille, 1991 ; Roland *et al.*, 1999) การผลิตขนมขบเคี้ยวเคลือบน้ำตาล โดยใช้มอลโทเดกซ์ทรินทดแทนมาการีน

2) ใช้ในกระบวนการผลิตซีร์ปชนิดต่าง ๆ

เช่น กลูโคสซีร์ป ฟรุกโทสซีร์ป มอลโทสซีร์ป เป็นต้น โดยนำเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสมาใช้ในขั้นตอนการทำให้ใส (liquefaction) (Shi and Liu, 1996 ; Shaw and Sheu, 1992 ; Michell *et al.*, 1988 ; Chen and Chang, 1984) ซึ่งเกิดภายหลังจากน้ำแป้งถูกเจลาติไนซ์แล้ว โดยแปรสภาพให้น้ำแป้งสุกมีความหนืดลดลงซึ่งเรียกว่า สตาร์ชเหลว (liquefied starch) แล้วจึงผ่านขั้นตอนการทำให้หวาน (saccharification) ด้วยเอนไซม์เบต้า-อะไมเลส กลูโคอะไมเลส หรือไอโซอะไมเลสต่อไป

2.2.1.2 เบต้า-อะไมเลส (β -amylase) มีชื่อเรียกตามระบบว่า α -1,4-glucan

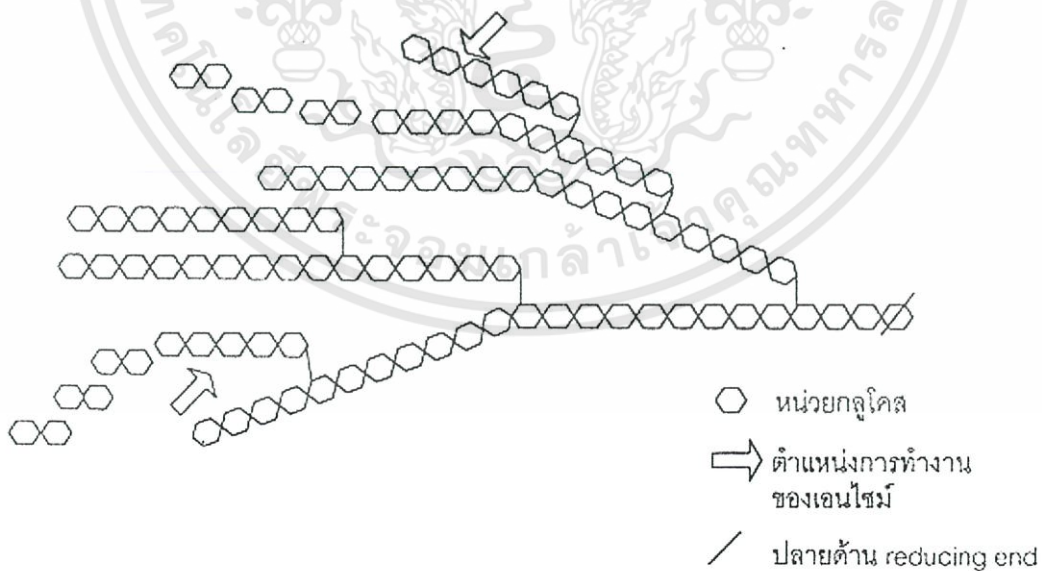
maltohydrolase EC 3.2.1.2 มีมวลโมเลกุลประมาณ 50 กิโลดาลตัน พบทั่วไปในพืชชั้นสูง เช่น ข้าวสาลี ข้าวไรย์ ถั่วเหลือง และมันเทศ มักพบร่วมกับเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส พีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5.0-6.0 นอกจากนี้ยังสามารถผลิตเอนไซม์เบต้า-อะไมเลสได้จากจุลินทรีย์ เช่น *Bacillus polymyxa* *Bacillus cereus* และ *Bacillus megaterium* (Wong, 1995)

ลักษณะที่สำคัญของเอนไซม์ ปฏิริยาการย่อยสลายของเบต้า-อะไมเลสเจาะจงต่อพันธะไกลโคซิดของสตาร์ชที่ α -1,4 ในลักษณะการตัดสายโพลีเมอร์อย่างเป็นระเบียบจากปลายสาย ด้านไม่มีหมู่รีดิวซ์เข้าสู่ภายในสายไปครั้งละ 1 หน่วยของมอลโทส หรือครั้งละ 2 หน่วยของ

กลูโคส (ดังภาพที่ 2.6) และจะหยุดปฏิกิริยาที่พันธะไกลโคซิดที่ α -1,6 ดังนั้นผลผลิตที่ได้คือ กลูแคน (glucan) ลิมิตเดกซ์ทริน (limit dextrin) และส่วนใหญ่เป็นมอลโทสที่มีโครงสร้างต่างไปจากเดิม คือ ได้ β -configuration หรือเบต้า-มอลโทส

โดยทั่วไปมีการใช้ประโยชน์จากเอนไซม์เบต้า-อะไมเลส (β -amylase) ในการผลิตซีรัปที่มีมอลโทสสูง (high maltose syrup) สามารถนำแป้งข้าวเจ้าหรือแป้งข้าวกึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิต โดยขั้นแรกนำแป้งข้าวเจ้าทำให้เป็นสารละลายขุ่นหนืด (slurry) จากนั้นผ่านขั้นตอนการทำให้ใส (liquefaction) ด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) ทำการตกตะกอน นำส่วนของเหลวมาผ่านขั้นตอนการทำให้หวาน (saccharification) ด้วยเอนไซม์เบต้า-อะไมเลส (β -amylase) ร่วมกับเอนไซม์ไอโซอะไมเลส (isoamylase) หรือพูลูลานาส (pullanase) จะได้ซีรัปที่มีมอลโทสสูง (Shaw and Sheu, 1992 ; Shaw, 1994 ; Xu-yue, 1997) นอกจากนี้ในขั้นตอนการทำให้หวาน อาจใช้เอนไซม์เบต้า-อะไมเลส (β -amylase) และ/หรือ เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) ได้เช่นกัน โดยเวลาทั้งหมดในขั้นตอนการทำให้ใสและขั้นตอนการทำให้หวานไม่ควรนานเกิน 4 ชั่วโมง เพื่อป้องกันการเกิดกลิ่นที่ไม่ต้องการ (off-flavors) ซีรัปที่ผลิตได้สามารถทำแห้งเพื่อผลิตเป็นสารให้ความหวานจากข้าว (dried rice sweeteners) (Mitchell *et al.*, 1988)

นอกจากนี้เอนไซม์เบต้า-อะไมเลส (β -amylase) ยังสามารถใช้ในขั้นตอนการทำให้ใส (liquefaction) ได้เช่นกัน โดยพบว่าซีรัปที่ได้จะมีน้ำตาลมอลโทสเป็นองค์ประกอบหลักสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาได้ (กล้าณรงค์, 2543)

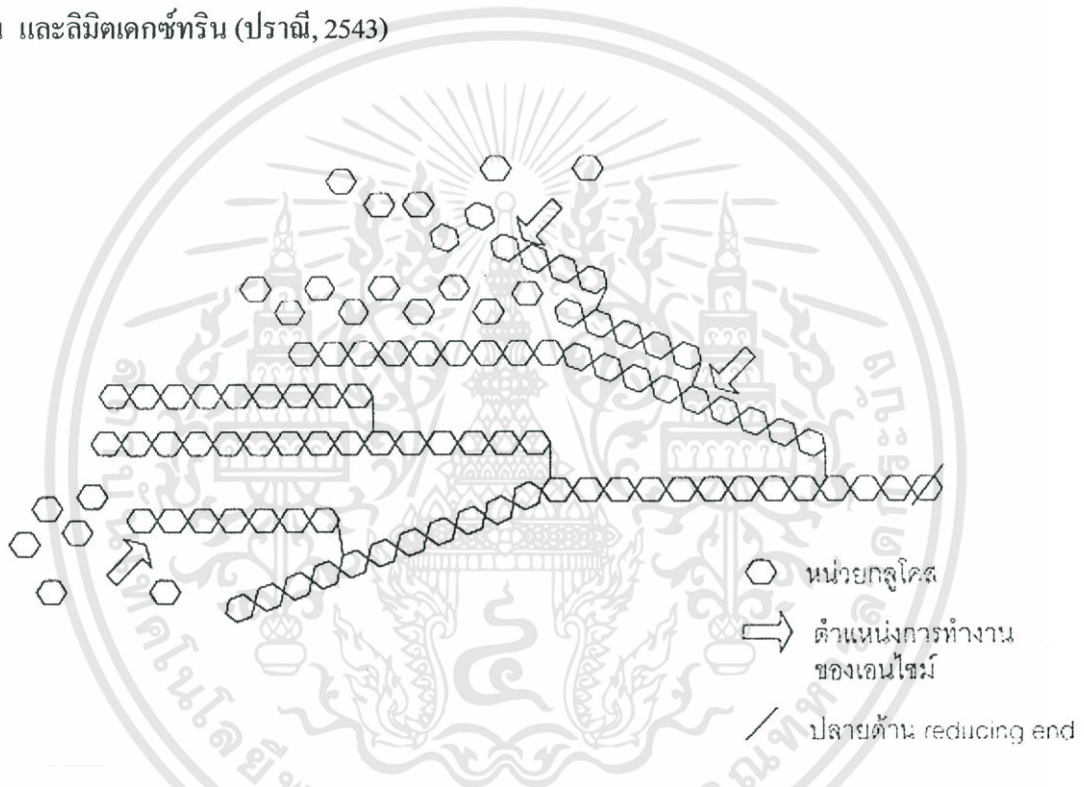


ภาพที่ 2.6 การทำงานของเอนไซม์เบต้า-อะไมเลส (β -amylase)

ที่มา : กล้าณรงค์ และเกื้อกุล (2543).

2.2.1.3 กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) มีชื่อเรียกตามระบบว่า α -1,4-glucan glucohydrolase EC 3.2.1.3 พบทั่วไปทั้งในแบคทีเรีย และรา (*Rhizopus delemar* และ *Rhizopus niveus*) (Eliasson, 1996) พีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วงพีเอช 4.0-4.4 อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 48-55 องศาเซลเซียส (Wong, 1995)

ลักษณะที่สำคัญของปฏิกิริยาการย่อยสลายสตาร์ช คือ สามารถย่อยสลายได้หลายพันธะทั้ง α -1,4 α -1,6 และ α -1,3 แต่จะช้ากว่า α -1,4 การตัดสายโพลีเมอร์จะเหมือนกับเบต้าอะไมเลส แต่ตัดปลายสายเข้าไปครั้งละ 1 หน่วยของกลูโคส (ดังภาพที่ 2.7) ดังนั้นผลผลิตที่ได้ส่วนใหญ่จะเป็นกลูโคสที่มีโครงร่างต่างไปจากเดิม คือ β -configuration หรือ เบต้า-ดี-กลูโคส กลูแคน และลิมิตเดกซ์ทริน (ปราณี, 2543)



ภาพที่ 2.7 การทำงานของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase)

ที่มา : กล้าณรงค์ และเกื้อกุล (2543).

การใช้ประโยชน์ของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส พบว่ากลูโคอะไมเลสอยู่ในกลุ่มของเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการทำให้หวาน (saccharification) ใช้ในการผลิตกลูโคสซีรัปเพื่อทำเป็นวัตถุดิบของการผลิตผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ต่อไป เช่น น้ำตาลฟรุคโทส ซอร์บิทอล หรือทำกลูโคสผง ซึ่งซีรัปที่ใช้ต้องมีความบริสุทธิ์สูงโดยมีค่าสมมูลเดกซ์โทรส (DE) สูงกว่า 95 เอนไซม์ในกลุ่มนี้มีจำหน่ายในตลาด แสดงดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 บริษัทผู้ผลิตและรายชื่อเอนไซม์สำหรับการกระบวนการทำให้หวาน
(saccharification) ชนิดกลูโคอะไมเลส

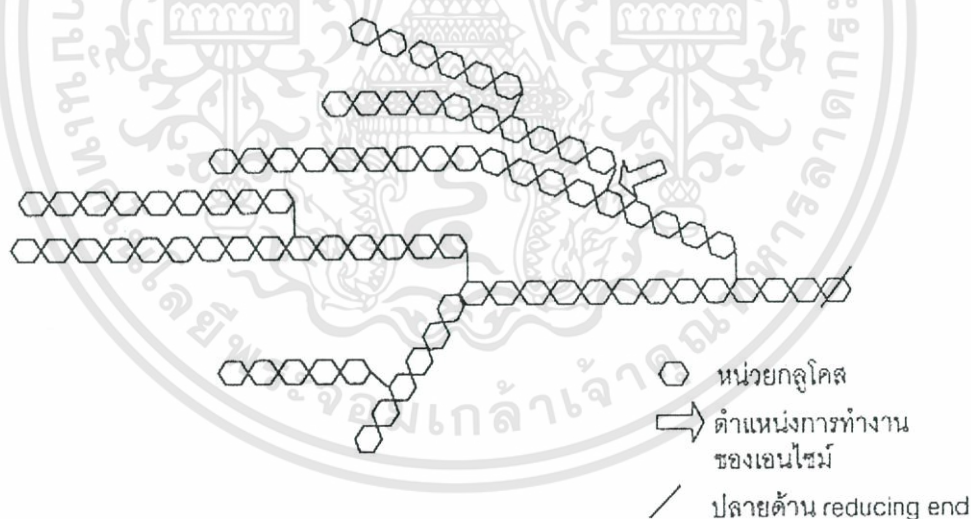
เชื้อที่ผลิต	ชื่อเอนไซม์	บริษัทผู้ผลิต
<i>Aspergillus niger</i>	GNL	Amano International Enzyme
	AMYLO 300L	Biocon/Quest
	G-ZYME G990	Enzyme Bio-Systems Ltd.
	ENZEECO GLUCOAMYLASE	Enzyme Development
	SPEZYME GA	Genencor (Finnsugar)
	AMIGASE	IBIS (Gist-Brocades)
	AMIGASE HD2	IBIS (Gist-Brocades)
	XL-4	Nagase
	AMG	Novo Nordisk
	AMBAZYME	Rhone-Poulenc (ABM)
	ROHALASE HT	Rohm
	DIAZYME	Solvay (Miles)
	<i>Rhizopus niveus</i>	GLUTASE
<i>Rhizopus oryzae</i>	ENZECO GLUCOAMYLASE (powder)	Enzyme Development
<i>Rhizopus sp.</i>	GLUCZYME 12	Amano International Enzyme
	GLUCOZYME	Nagase
	SUMIZYME	Shis Nihon Chemical

ที่มา : กล้าณรงค์ และเกื้อกุล (2543).

กระบวนการทำให้หวาน (saccharification) โดยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ต้องใช้สตาร์ชเหลว (liquefied starch) ที่มีค่าสมมูลเดกซ์โทรส (DE) อยู่ในช่วง 8-20 เป็นวัตถุดิบสภาวะในการผลิตคือ อุณหภูมิ 58-62 องศาเซลเซียส พีเอช 4.2-5.0 ระยะเวลาในการผลิตอยู่ระหว่าง 30-96 ชั่วโมง ขึ้นกับลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ (Fred and Ronald, 1992) ในปัจจุบันนอกจากมีการผลิตกลูโคสซีรัปจากแป้งชนิดต่าง ๆ แล้ว ยังมีการศึกษาถึงวัตถุดิบอีกชนิดหนึ่งคือรำข้าว Hernandez และคณะ (2000) ศึกษาการใช้เอนไซม์เพื่อปรับปรุงกระบวนการผลิตน้ำมันจากรำข้าว โดยผ่านกระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ก่อนการนำรำข้าวไปสกัดน้ำมัน ในขั้นแรกนำรำข้าวผ่านความร้อนที่ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสและยังเป็นการเจลาติไนซ์สตาร์ชก่อนเกิดปฏิกิริยาย่อยสลายด้วยเอนไซม์ จากนั้นผ่านขั้นตอน

การทำให้ใส (liquefaction) ด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120L) 1% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ควบคุมอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส พีเอช 6 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำการปั่นเหวี่ยงแยกส่วนของเหลวและส่วนของแข็ง นำส่วนของเหลวผ่านขั้นตอนการทำให้หวาน (saccharification) ด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Diazyme) 1% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พีเอช 4.2 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ได้ผลผลิตคือ กลูโคส 28 กรัม/ 100 กรัมรำข้าว ขณะที่ส่วนของแข็ง (66.7% ของรำข้าวเริ่มต้น) สามารถนำไปสกัดโปรตีนอีกครั้งก่อนสกัดน้ำมันหรือนำไปสกัดน้ำมันโดยใช้เฮกเซน จะได้ผลผลิตน้ำมันสูงขึ้น 5% เมื่อเปรียบเทียบกับรำข้าวที่ไม่ผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

2.2.1.4 ไอโซอะไมเลส (isoamylase) มีชื่อเรียกตามระบบว่า glucogen-6-glucanohydrolase EC 3.2.1.68 เริ่มแรกพบเอนไซม์ชนิดนี้ในยีสต์ ภายหลังสามารถแยกเอนไซม์นี้ได้จากทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ เช่น *Escherichia coli* k12 และ *Flavobacterium* (Eliasson, 1996) ไอโซอะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยจุดที่เป็นกิ่งก้านของไกลโคเจน และอะไมโลเพกตินได้ดี โดยย่อยสลายพันธะ α -1,6-กลูโคซิดิก (ดังภาพที่ 2.8) พีเอชที่เหมาะสมอยู่ในช่วงพีเอช 3-4 และมีความเสถียรที่อุณหภูมิ 45-55 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 2.8 การทำงานของเอนไซม์ไอโซอะไมเลส (isoamylase)

ที่มา : กล้าณรงค์ และเกื้อกุล (2543).

การใช้ประโยชน์ของเอนไซม์ไอโซอะไมเลส จากลักษณะสำคัญในการย่อยสลายแป้ง จึงมีการใช้เอนไซม์ไอโซอะไมเลสในขั้นตอนการทำให้หวาน (saccharification) โดยใช้ร่วมกับเอนไซม์กลูโคอะไมเลส หรือเอนไซม์เบต้า-อะไมเลส ซึ่งช่วยทำให้การย่อยสลายเกิดรวดเร็ว

มากขึ้น โดยตัดที่พันธะแอลฟา 1-6 เช่น การผลิตซีรัปที่มีมอลโทสสูง (high maltose syrup) ในขั้นตอนการทำให้หวานมีการใช้เอนไซม์เบต้า-อะไมเลสร่วมกับไอโซอะไมเลส (Shaw and Sheu, 1992)

2.2.2 เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส

2.2.2.1 เซลลูเลส (cellulase)

ลักษณะของเซลลูเลส คือ เซลลูเลส ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีมากที่สุด ในธรรมชาติชนิดหนึ่งสังเคราะห์ได้จาก UDP- หรือ GDP- glucose (= donor) และ (O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4))_n (=accepter) ได้โพลิเมอร์ของกลูโคสในลักษณะ β -configuration คือ β -1,4 เป็นโพลิเมอร์ที่ละลายน้ำได้น้อยมาก ดังนั้นปฏิกิริยาจึงช้าต่อพวกไฮโดรเลส หรือ hydrolytic enzyme เอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูเลสและอนุพันธ์ของเซลลูเลสคือ เซลลูเลส ซึ่งโดยทั่วไปเป็นเอนไซม์ผสมประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดทำงานร่วมกัน (Enari, 1983) คือ

1. เอนไซม์ C₁ หรือเรียก hydrogen bondase ทำหน้าที่กระตุ้นหรือแตกสายเซลลูเลสให้มีสภาพที่เหมาะสม คือ ทำให้พันธะไฮโดรเจนอ่อนลง (weakening) สำหรับเป็นลักษณะของเซลลูเลสลำดับต่อไปคือ เอนไซม์ C_x หรือ กลูคาเนส ทั้งนี้พบว่าไม่มีหลักฐานการย่อยสลายพันธะกลูโคซิดิก

2. เอนไซม์ C_x หรือ β -1,4 glucanases เป็นเซลลูเลสที่ย่อยสลายพันธะในเซลลูเลส หรืออนุพันธ์ของเซลลูเลสที่ละลายน้ำได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายลำดับที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ กล่าวคือ สามารถย่อยสลายพันธะ β -1,4 ของลำดับที่สังเคราะห์ เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส (CMC) หรือไฮดรอกซีเอทิลเซลลูเลส แบ่งเอนไซม์ในกลุ่มนี้เป็น 2 ชนิด คือ

2.1 เอนโด-เบต้า-1,4-กลูคาเนส (endo- β -1,4 glucanase) ย่อยสลายสายโพลิเมอร์ภายในสายอย่างอิสระ ได้ผลผลิตเป็น โอลิโกเมอร์และกลูโคส

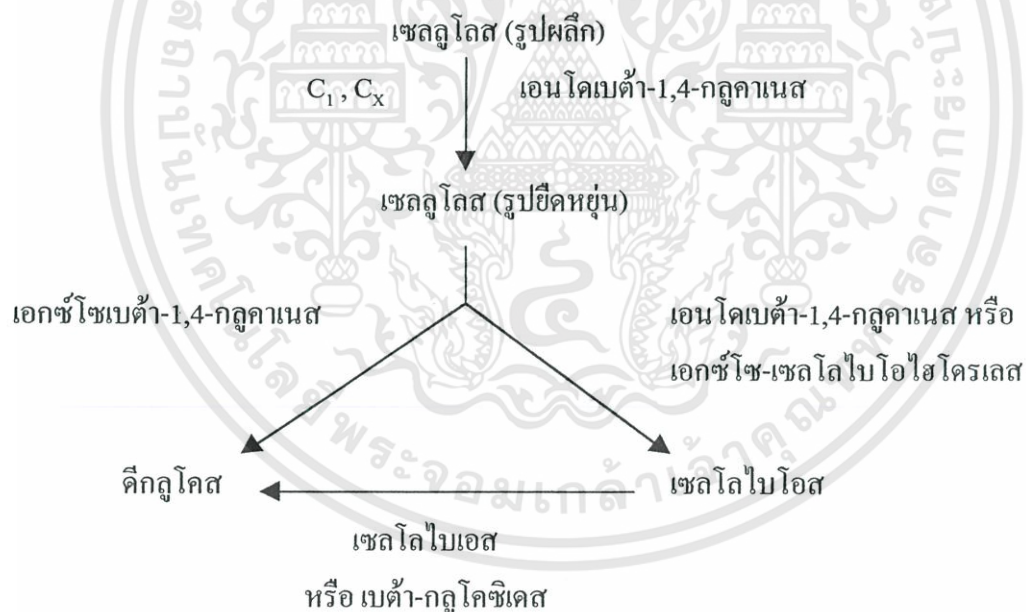
2.2 เอกซ์โซ-เบต้า-1,4-กลูคาเนส (exo- β -1,4 glucanases) ย่อยสลายสายโพลิเมอร์จากปลายสายด้านไม่มีหมู่รีดิวซ์ไปอย่างมีระเบียบ และมีการเปลี่ยนโครงรูปของผลผลิต คือ เปลี่ยน β - เป็น α -configuration ได้ผลผลิตเป็นเซลโลไบโอสและกลูโคส

3. เบต้า-กลูโคซิเดส (β -glucosidase) คล้าย exo- β -1,4 glucanase คือมี common substrate เป็นเซลโลไบโอสถึงเซลโลเฮกซ์โซส (กลูโคส จาก 2-6 หน่วย) แต่อัตราการย่อยสลายแตกต่างกัน คือ อัตราเร็วจะลดลงเมื่อความยาวสายโพลิเมอร์เพิ่มขึ้น และผลผลิตที่ได้คือ กลูโคสซึ่งมีโครงรูปเปลี่ยนจากเดิม

สมบัติทั่วไปของเซลลูเลส

1. มีมวลโมเลกุลโดยเฉลี่ย 63,000 (homogeneous *Myrothecium verrucaria* cellulases)
2. พีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ คือ 5.5-6.0
3. เสถียรที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 5 นาที ที่พีเอช 7.0
4. ถูกยับยั้งด้วยอิออนของโลหะหนัก สารพวกซัลไฟดริล สารทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน และถูกยับยั้งด้วยผลผลิตคือ กลูโคส
5. วัคซีนตัวดีจากการวัดหมู่รีดิวซ์ที่เกิด นิยมใช้สับสเตรตที่ละลายน้ำได้ดี คือ สับสเตรตสังเคราะห์ เช่น คาร์บอกซีเมธิลเซลลูโลส (Whitaker, 1972)

การใช้ประโยชน์จากเอนไซม์เซลลูเลส ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตกลูโคสจากเซลลูโลส แต่พบว่าศักยภาพการใช้เซลลูโลสเป็นแหล่งของการผลิตกลูโคสนั้นยังไม่เท่าเทียมเป้่ง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเรื่องของปัญหาทางเทคนิค และการใช้เอนไซม์หลายชนิดร่วมกัน ดังแสดงในภาพที่ 2.9 เพื่อให้เกิดเป็นกลูโคสบริสุทธิ์



ภาพที่ 2.9 แผนภูมิการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์กลุ่มเซลลูเลสทั้ง 4 กลุ่ม
ที่มา : ปราณี (2543).

2.2.2.2 เฮมิเซลลูเลส (hemicellulase)

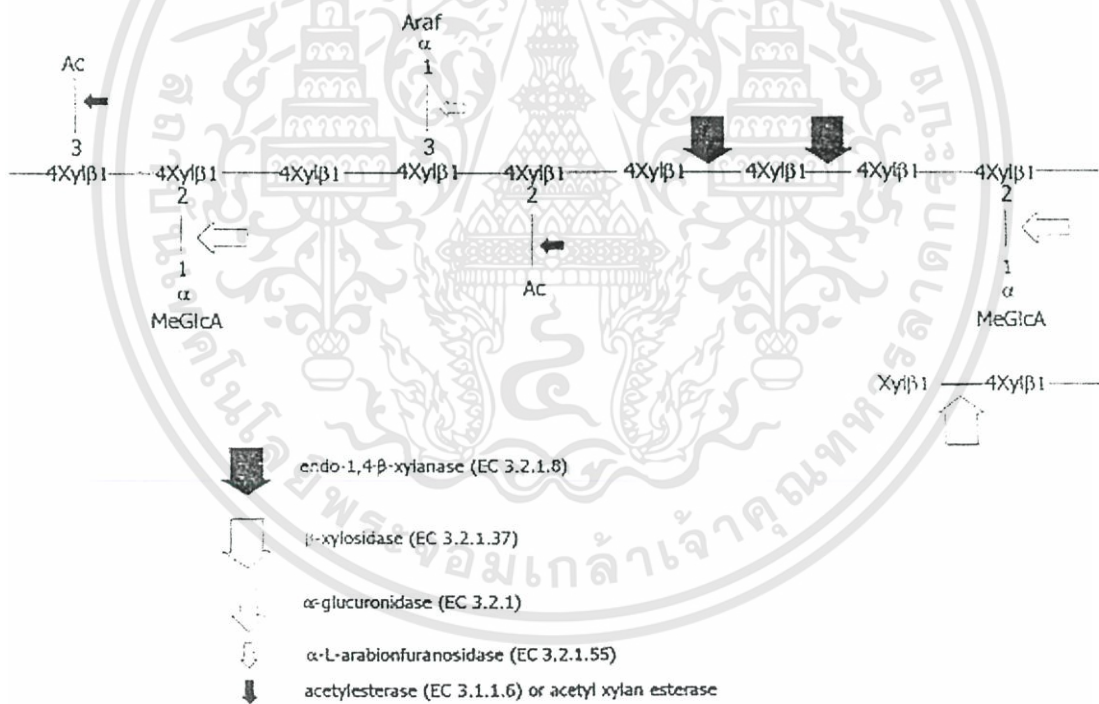
เป็นเอนไซม์ย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส เนื่องจากโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลสเป็นกิ่งก้านสาขา และประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิด ดังนั้นเอนไซม์ที่ใช้ย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสที่ส่วนใหญ่เป็นพวกดี-ไซแลน จะนั้นเอนไซม์หลักที่มีผลต่อการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสคือ เอนไซม์ไซแลนเอสซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ (Regalski *et al.*, 1985) คือ

1. endo-1,4-beta-D-xylanase (1,4-beta-D-xylanohydrolase EC 3.2.1.8)

ทำการย่อยสลายพันธะ 1,4 glucosidic ของ beta-D-xylopyranoside ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของไซแลน (ดังภาพที่ 10) และให้ผลิตภัณฑ์ออกมาในรูปไซโล-โอลิโกแซ็กคาไรด์และไซโลไบโอส วิเคราะห์เอนไซม์นี้ด้วยไซแลน

2. exo-1,4-beta-D-xylosidase (1,4-beta-D-xylan xylohydrolase EC 3.2.1.37)

ย่อยสลายไซโล-โอลิโกแซ็กคาไรด์และไซโลไบโอส ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไซโลส การทดสอบเอนไซม์นี้ใช้พี-ไนโตรฟินิล-เบต้า-ดี-กลูโคไซด์เป็นสับสเตรท



ภาพที่ 2.10 การย่อยสลายไซแลนด้วยเอนไซม์ไซแลนเอส

Ac	แทน หมู่อะเซทิล
Araf	แทน แอล-อะราบีโนพิวราโนส
MeGlcA	แทน 4-O-เมทิล-ดี-กลูโคโรนิกแอซิด
Xyl	แทน ดี-ไซโลส

ที่มา : Biely (1985).

นอกจากนี้ยังพบว่า มีเอนไซม์อื่น ๆ สามารถย่อยสลายไซแลนได้เช่น เอนไซม์แอลฟา-อะราบิโนซิเดส (α -arabinoxidase) แอลฟา-กลูคูโรนิเดส (α -glucuronidase) เอสเทอเรส (esterase) (Puls and Poutanen, 1989) โดยแสดงตำแหน่งในการย่อยสลายดังภาพที่ 10

การผลิตเอนไซม์ไซแลนของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

จากการศึกษาพบว่า จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ผลิตเอนไซม์ไซแลนสออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) (Gascoigne, 1960 ; Strobel, 1963 ; Kusakabe *et al.*, 1966 ; Paice *et al.*, 1978) แต่ก็มีจุลินทรีย์บางชนิดผลิตเอนไซม์ภายในเซลล์ (intracellular enzyme) อาทิเช่น *Aspergillus niger* (Iwamoto *et al.*, 1973) *Aspergillus foetidus* (Whister and Masak, 1955) และ *Butyrivibrio fibrisolvens* (Clarke *et al.*, 1969 ; Gaillard *et al.*, 1975)

การผลิตเอนไซม์ไซแลนจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะเริ่มผลิตในระยะหลังการเจริญ (stationary growth phase) ตัวอย่างเช่น *Pseudomonas stuaeri* (Toh Suan, 1978) *Streptomyces* sp. (Nakanishi, 1976) *Aspergillus niger* (John *et al.*, 1979) ยกเว้น *Penicillium variable* ซึ่ง Marinez และคณะ (1974) รายงานว่า การผลิตเอนไซม์ไซแลนสเกิดขึ้นพร้อม ๆ กับการเจริญ

คุณสมบัติของเอนไซม์ไซแลนส

โดยทั่วไปเอนไซม์ไซแลนสจากจุลินทรีย์มีอุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 50 องศาเซลเซียส แต่สำหรับพีเอชที่เหมาะสม พบว่า เอนไซม์ไซแลนสจากแบคทีเรียและแอคติโนมัยซิสมิพีเอชที่เหมาะสมค่อนข้างเป็นกลาง แต่ของเชื้อราค่อนข้างจะเป็นกรด ส่วนความเสถียรต่อพีเอชและอุณหภูมิของเอนไซม์จะแตกต่างกันตามชนิดของจุลินทรีย์ ดังที่รวบรวมไว้ในตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 ฟีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมของเอนไซม์ไซลาลเนสจากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

จุลินทรีย์	ฟีเอชที่เหมาะสม	อุณหภูมิที่เหมาะสม (องศาเซลเซียส)
<u>วั</u>		
<i>Aspergillus niger</i> (Dekker and Richards, 1976)	5.5-6.0	65-80
<i>Aspergillus niger van Tieghem</i> (Deschamps and Huet, 1985)	3.8	50
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> (Jose et al., 1993)	5.0	50
<i>Trichoderma reesei</i> QM9414 (Dekker, 1983)	5.0	55-60
<u>แบคทีเรีย</u>		
<i>Bacillus</i> spp. (Wataru et al., 1984)	6.0-7.0	65-70
<i>Cellulomonas uda</i> (Rapp and Wagner, 1986)	5.8	-
<u>แอกติโนมัยซีต</u>		
<i>Saccharomonospora viridis</i> (McCarthy et al., 1985)	5.0-8.0	60-75
<i>Thermomonospora fusca</i> (McCarthy et al., 1985)	5.0-8.0	60-75
<u>ยีสต์</u>		
<i>Aureobasidium pullulans</i> NRRL Y 23311-1 (Jacobus et al., 1991)	4.0	45-50
<i>Streptomyces lividans</i> (Kieupful et al., 1986)	6.0-7.0	55
<i>Streptomyces</i> sp. KT-23 (Nakajima et al., 1984)	5.5	55

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่ได้รายงานไว้

การประยุกต์ใช้เอนไซม์ไซลานเนส

1. กระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ (Bioconversion)

กระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ เป็นกระบวนการที่เปลี่ยนวัสดุพวกกลีโคเซลลูโลสให้เป็นผลิตภัณฑ์น้ำตาล ซึ่งอาจใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักต่อไป

Walch และคณะ (1992) ใช้เอนไซม์ไซลานเนสจากเชื้อที่แยกมาจากดิน คือ เอนไซม์ B5 และเอนไซม์ไซลานเนสทางการค้าได้แก่ Roth 5246 และ Rohm EL 182-87 (แอกทิวิตี 1 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ย่อยสลายสารละลายไซแลนที่มีความเข้มข้น 1% และไฮโดรไลสจากชานอ้อย โดยบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเมื่อใช้เอนไซม์ Roth 5246 Rohm EL 182-87 และเอนไซม์ B5 ย่อยของเหลวที่ได้จากการแปรสภาพชานอ้อยด้วยกระบวนการที่ใช้ความร้อนแบบ direct flow-through เพียงครั้งเดียว (200 องศาเซลเซียส) จะให้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลไซโลส 3.0 2.6 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การที่เอนไซม์แต่ละชนิดย่อยสลายแตกต่างกัน ปริมาณน้ำตาลต่างกัน เนื่องจากน้ำตาลไซโลสที่ได้จะมีผลยับยั้งไซลานเนสแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน นอกจากนี้อุณหภูมิที่ใช้และระยะเวลาเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการย่อยสลาย ซึ่งการใช้เอนไซม์ผสมของ *A. fumigatus* Fresenius รหัส 4-45-1F กับ *Humicola lanuginosa* ย่อยฟางข้าว พบว่าการย่อยสลายสับสเตรทเกิดขึ้นสูงสุดที่อุณหภูมิระหว่าง 55-60 และ 50-55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เมื่อระยะเวลาการย่อยสลาย 12 ชั่วโมง และเมื่อเพิ่มปฏิกิริยาเป็น 24 ชั่วโมง น้ำตาลกลูโคสและไซโลสจะเกิดขึ้นสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ในช่วงแรกของการย่อยสลายน้ำตาลกลูโคสและไซโลสมีปริมาณสูงขึ้นตามอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากปฏิกิริยาของเอนไซม์จะเกิดรวดเร็วในช่วงอุณหภูมิสูง อย่างไรก็ตามปริมาณน้ำตาลกลับลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อยสลาย เนื่องจากเอนไซม์จะสูญเสียคุณสมบัติเนื่องจากความร้อน

Yamanobe และคณะ (1990) ศึกษาวิธีสำหรับขั้นตอนการ saccharification ของวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร ได้แก่ ชานอ้อย แกลบ ฟางข้าว ฟางข้าวสาลี ซึ่งประกอบด้วยเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ซึ่งมีไซแลนเป็นองค์ประกอบอยู่จำนวนมาก การย่อยสลายเซลลูโลสจะมีประสิทธิภาพสูงขึ้นเมื่อใช้เอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับเอนไซม์ไซลานเนส ซึ่งทำการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสทำให้สามารถเปลี่ยนวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารสัตว์เพื่อปรับปรุงความสามารถในการย่อย (digestibility)

Saddler และคณะ (1983) ใช้เฮมิเซลลูโลสจากเนื้อไม้ aspen ที่สกัดด้วยน้ำหรือตัวทำละลายเป็นสับสเตรท และย่อยด้วยเอนไซม์ไซลานเนสจาก *Trichoderma* sp. E58 ดังตารางที่ 2.8 พบว่าได้น้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งเป็นโมโนแซ็กคาไรด์ที่มีน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบหลักมากกว่า 50 % โดยเฮมิเซลลูโลสที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล-เบนซีน (SEA ในตารางที่ 2.8) ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ใกล้เคียงกับไซแลนทางการค้า และมากกว่าการใช้เฮมิเซลลูโลส

ที่ได้จากการสกัดด้วยกรดก่อนการใช้ไอน้ำ และการย่อยเฮมิเซลลูโลสที่ได้จากการสกัดด้วยกรดก่อนการใช้ไอน้ำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่าการสกัดที่ไม่ใช้กรดก่อนการใช้ไอน้ำ

ตารางที่ 2.8 ปริมาณน้ำตาลที่ได้จากการใช้เอนไซม์ไซลาเนสย่อยเฮมิเซลลูโลสที่แยกได้จากเนื้อไม้ด้วยวิธีต่าง ๆ

Substrate (100 mg/ml)	Reducing sugars (mg/ml)	Monosaccharide (mg/ml)					Total
		Xylose	Galactose	Glucose	Mannose	Arabinose	
Xylan (sigma)	58.6	22.4	0.5	4.2	1.6	4.8	33.0
SEA	56.9	26.3	5.0	0.1	2.6	0.1	34.0
SEW-ws2	33.2	23.6	2.7	0.1	0.1	0.1	26.0
SEW-ws2-0.1%a	34.9	28.5	1.6	0.1	1.5	0.1	31.0
SEW-ws2-0.2%a	42.9	23.2	7.9	5.7	0.1	0.1	36.0

ที่มา : Sessler *et al.* (1983)

หมายเหตุ

SEA : เฮมิเซลลูโลสที่ได้จากการสกัดเนื้อไม้ aspen ด้วย ethanol-benzene

SEA-ws2 : เฮมิเซลลูโลสที่ได้จากเนื้อไม้ aspen โดยอบด้วยไอน้ำอุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที และสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

SEA-ws2-0.1%a : เฮมิเซลลูโลสที่ได้จากส่วนที่ละลายน้ำได้ของเนื้อไม้ aspen ที่แช่ด้วยกรดซัลฟริกความเข้มข้น 0.1% ก่อนการสกัด ทำการสกัดเช่นเดียวกับ SEA-ws2

SEA-ws2-0.2%a : เฮมิเซลลูโลสที่ได้จากส่วนที่ละลายน้ำได้ของเนื้อไม้ aspen ที่แช่ด้วยกรดซัลฟริกความเข้มข้น 0.2% ก่อนการสกัด ทำการสกัดเช่นเดียวกับ SEA-ws2

2. Biopulping

ในอดีตกระบวนการทำกระดาษจะใช้เชื้อราในการ treat เนื้อไม้ เพราะสามารถช่วยลดต้นทุนด้านพลังงานในกระบวนการฟอก (refining) โดยลดการใช้สารเคมี ปัจจุบันได้มีการใช้เอนไซม์ไซลาเนส เพื่อช่วยลดระยะเวลาในการ treat เนื้อไม้ และได้เนื้อไม้ที่มีคุณสมบัติตามต้องการ เนื่องจากสารละลายของเนื้อไม้ประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลส ซึ่งระหว่างการทำให้ความร้อนหรือในสถานะที่เป็นด่างไซลาเนสบางส่วนละลายออกมาในลักษณะสายสั้น ๆ ตก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตะกอนอยู่บนผิว microfibril ของเซลลูโลส (Ratto *et al.*, 1994) เอนไซม์ไซลานเนสทำหน้าที่ย่อยไซแลนที่ติดตะกอนเหล่านั้น (Candace and Paul, 1991) และช่วยในการย้ายลิกนิน (lignin) ออกจากเนื้อเยื่อ ซึ่งทำให้การฟอกขาวง่ายขึ้น จึงมีการประยุกต์ใช้เอนไซม์ไซลานเนสในการฟอกเนื้อเยื่อไม้สำหรับทำเยื่อกระดาษ เพื่อลดการใช้สารเคมี เช่น คลอรีน

Christov และ Prior (1993) ศึกษาการใช้เอนไซม์ไซลานเนสที่ได้จากเชื้อ *Aureobasidium pullulan* NRRL Y-2311-1 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ 1500 ยูนิต/กรัม โดยเตรียมสารละลายเอนไซม์ในซิเตรตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ พีเอช 4.5 ทำการย่อยสลายเยื่อไม้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่บ่มและกิจกรรมของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น โดยย่อยได้น้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 10 มิลลิกรัม/กรัมเยื่อไม้ น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ในช่วงเวลาต่าง ๆ มีน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบหลัก

3. กระบวนการอื่น ๆ

- เอนไซม์ไซลานเนสใช้ในกระบวนการทำให้น้ำผลไม้ใส
- ช่วยในการย่อยอาหารสัตว์ ซึ่งเป็นการเพิ่มคุณค่าของอาหารสัตว์
- ใช้ในการเตรียมวัตถุดิบในการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ โดยใช้ในการศึกษาคุณสมบัติของโพลีแซ็กคาไรด์และหนังเซลล์ของพืช (Wong *et al.*, 1988)
- ใช้ในการสกัดน้ำมันปาล์ม เช่นเดียวกับการใช้เอนไซม์เซลลูเลสและเพคตินเนส โดยใช้ในอัตรา 200-1000 กรัมต่อตัน ที่อุณหภูมิ 25-40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-4 ชั่วโมง เพื่อแปรสภาพเนื้อเยื่อพืชก่อนนำไปสกัดด้วยกระบวนการที่ใช้ปริมาณน้อย และแยกน้ำมันด้วยการหมุนเหวี่ยงในกระบวนการขั้นต่อไป นอกจากนี้ยังช่วยปรับปรุงคุณภาพของน้ำมันและน้ำทิ้งโดยลดปริมาณเนื้อเยื่อของพืชที่มีโมเลกุลสูง ซึ่งทำให้เกิดความหนืดหรือขุ่น เช่น กลูแคน (glucans) เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และเพคติน ทำให้การแยกน้ำมันในขั้นตอนการทำให้ใส (clarification) ดีขึ้น (Godfrey, 1983)
- ใช้ในการสกัดโปรตีนจากรำข้าว โดยเอนไซม์ไซลานเนสทำการย่อยสลายพันธะ 1,4 กลูโคซิดิกของเบต้า-D-ไซโลไพราโนไซด์ (β -D-xylopyranoside) ได้เป็นไซโล-โอลิโกแซ็กคาไรด์ (xylo-oligosaccharide) สายสั้น ๆ ซึ่งทำให้โปรตีนถูกปลดปล่อยออกจาก polysaccharide matrix ได้ และเมื่อใช้ร่วมกับเอนไซม์ไฟเทส (phytase) จะทำให้ได้โปรตีนสกัดที่ประกอบด้วยโปรตีนสูงถึง 92% (Wang *et al.*, 1999)

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ และอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 น้ำมันรำข้าวสกัดไขมันแล้วจากโรงงานกมลกิจ (น้ำมันรำข้าวชิม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส

3.1.1.2 เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120L type LS) บริษัท Novo Nordisk มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ (unit activity) 120 KNU เก็บรักษาที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส

3.1.1.3 เอนไซม์ไซลานเนส (Porzyme 9300) บริษัท Finnfeed มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ 4000 ยูนิต / กรัมของแห้ง เก็บรักษาที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส

3.1.2 อุปกรณ์

3.1.2.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง

- 1) เครื่องชั่งชนิดหยาบ
- 2) เครื่องอ่านอุณหภูมิระบบดิจิทัล
- 3) เทอร์โมคัปเปิล
- 4) หม้อ steam jacket kettle
- 5) ตู้อบลมร้อน (tray dryer)

3.1.2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- | | | |
|------------------------------------------------------|----------------------|----------------|
| 1) เครื่องวัดพีเอช | Mettler Toledo MP220 | สวิสเซอร์แลนด์ |
| 2) ชุดวิเคราะห์โปรตีน | Buchi B-316 | เยอรมัน |
| 3) ชุดวิเคราะห์ไขมัน | Buchi 810 | เยอรมัน |
| 4) ชุดวิเคราะห์เส้นใย | | |
| 5) ตู้อบลมร้อน | Memmert | เยอรมัน |
| 6) อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ | Memmert | เยอรมัน |
| 7) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
(spectrophotometer) | Shimadzu-UV 1601 | ญี่ปุ่น |
| 8) เครื่องชั่งชนิดละเอียด | Mettler AE 3000 | สวิสเซอร์แลนด์ |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 9) ไมโครปีเปต ขนาด 100 –1000 ไมโครลิตร
- 10) โถดูดความชื้น (desiccator)
- 11) เครื่องบด (restch miller)
- 12) เครื่องแก้วต่าง ๆ

3.2 สถานที่ดำเนินงาน

3.2.1 ห้องปฏิบัติการภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2.2 อาคารปฏิบัติการแปรรูปอาหาร 2 ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.3 ระยะเวลาดำเนินงาน

เดือนกันยายน 2543 – ตุลาคม 2544

3.4 วิธีการดำเนินงาน

3.4.1 ศึกษาสมบัติของรำข้าวสกัดไขมันแล้ว

3.4.1.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี

นำรำข้าวสกัดไขมันแล้วทำการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น โปรตีน ใย ไขมัน เยื่อใย คาร์โบไฮเดรต และปริมาณสตาร์ช (AOAC, 1995)

3.4.1.2 ศึกษาการกระจายตัวของขนาดอนุภาค

ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 100 กรัม นำไปร่อนผ่านตะแกรงขนาดต่าง ๆ เพื่อศึกษาการกระจายตัวของขนาดอนุภาค (ภาคผนวก ก)

3.4.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

3.4.2.1 ศึกษาหาอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลานเนส (Porzyme 9300)

นำรำข้าวสกัดไขมันแล้ว 3 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร (อัตราส่วนรำข้าว : น้ำ = 1:10) ใส่ลงในขวดชมพูขนาด 125 มิลลิลิตร ปรับพีเอชที่ระดับต่างๆ 6 ระดับ คือ ที่ระดับ 3 4 5 6 7 และ 8 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1.0 นอร์มัล เติมสารละลายเอนไซม์ไซลานเนสความเข้มข้น 5 % (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวสกัดไขมันแล้ว)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งมีการเตรียมสารละลายเอนไซม์ โดยการกวนผสมด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 30 นาที ณ อุณหภูมิห้อง จากนั้นผสมให้เข้ากัน นำไปย่อยที่อุณหภูมิต่างๆกัน 3 ระดับ คือ 30 40 และ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำไปต้มให้เดือดเป็นเวลานาน 5 นาที เพื่อเป็นการหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ จากนั้นนำไปกรองแล้วจึงนำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี DNS (dinitrosalicylic acid method) (Chaplin and Kennedy, 1986) โดยเทียบกับน้ำตาลไซโลส (xylose) เป็นน้ำตาลมาตรฐาน

วางแผนการทดลองแบบ factorial in completely randomized design ขนาด 6 X 3 และเปรียบเทียบความแตกต่างทางค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยเลือกสภาวะที่เหมาะสมที่สุดเพื่อนำไปศึกษาขั้นต่อไป

3.4.2.2 ศึกษาหาอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา - อะไมเลส (Termamyl 120 L Type LS)

นำรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว 3 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร (อัตราส่วนรำข้าว : น้ำ = 1:10) ใส่ลงในขวดชมพูขนาด 125 มิลลิลิตร ปรับพีเอชที่ระดับต่างๆ 7 ระดับ คือ ที่ระดับ 4 5 6 7 8 9 และ 10 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) และ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1.0 นอร์มัล เติมเอนไซม์แอลฟา - อะไมเลสความเข้มข้น 5% (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว) และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂) 632 ppm ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปย่อยที่อุณหภูมิต่างๆกัน 3 ระดับ คือ 75 85 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำไปต้มให้เดือดเป็นเวลานาน 5 นาที เพื่อเป็นการหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ จากนั้นนำไปกรองแล้วจึงนำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี DNS (Chaplin and Kennedy, 1986) โดยเทียบกับน้ำตาลกลูโคสเป็นน้ำตาลมาตรฐาน

วางแผนการทดลองแบบ factorial in completely randomized design ขนาด 7 X 3 และเปรียบเทียบความแตกต่างทางค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยเลือกสภาวะที่เหมาะสมที่สุดเพื่อนำไปศึกษาขั้นต่อไป

3.4.3 การศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ และเวลาในการย่อยต่อสารละลายน้ำตาล

3.4.3.1 ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาลเนส และเวลาในการย่อยต่อสารละลายน้ำตาล

นำรำข้าวสาคัดไขมันออกแล้วผสมกับน้ำในอัตราส่วนรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว ต่อ น้ำ = 1:10 ในหม้อ steam jacket kettle ที่มีการกวนผสมตลอดเวลา ที่ความเร็วรอบ 20 รอบต่อนาที ทำการควบคุมอุณหภูมิ และพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ตามที่ได้ศึกษามาในขั้นตอนที่ 3.4.2.1 เติมสารละลายเอนไซม์ไซลาลเนสที่ 4 ระดับ คือ 0.5% 1% 3% และ 5% (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว) ใช้เวลาในการย่อยที่ 4 ระดับ คือ 0.5 1 2 และ 3 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองจะได้ 2 ส่วนคือ ส่วนของเหลวและส่วนของแข็ง

ส่วนของเหลวทำการวิเคราะห์ดังนี้

1) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี DNS (Chaplin and Kennedy, 1986) โดยเทียบกับน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลมาตรฐาน

2) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Chaplin and Kennedy, 1986)

3) ปริมาณน้ำตาลไซโลส (Chaplin and Kennedy, 1986)

4) ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Lowry (สิริภักดิ์, 2540)

ส่วนของแข็ง นำไปอบด้วยเครื่องตู้อบลมร้อนชนิด tray dryer ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 ชั่วโมง และทำการวิเคราะห์ดังนี้

1) ปริมาณความชื้น (AOAC, 1995)

2) ปริมาณเยื่อใย (AOAC, 1995)

3) ปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลดาคาห์ล (Kjeldahl) (AOAC, 1995)

วางแผนการทดลองแบบ factorial in completely randomized design ขนาด 4 X 4 ทำการทดลอง 2 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป statistical package for the social science (SPSS) version 7.5 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และวิเคราะห์การถดถอยแบบพหุ (multiple regression analysis) ด้วย Statgraphic plus version 3.0

3.4.3.2 ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่อสารละลายน้ำตาล

นำรำข้าวสาคัดไขมันออกแล้วผสมกับน้ำในอัตราส่วนรำข้าวต่อ น้ำ = 1:10 ในหม้อ steam jacket kettle ที่มีการกวนผสมตลอดเวลาที่ความเร็วรอบ 20 รอบต่อนาที ทำการควบคุมอุณหภูมิ และพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ตามที่ได้ศึกษามาในขั้นตอนที่ 3.4.2.2 เติมสารละลายเอนไซม์ที่ 4 ระดับ คือ 0.1% 1 % 3% และ 5% (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว)

มันแล้ว) ใช้เวลาในการย่อยที่ 3 ระดับ คือ 30 60 และ 90 นาที จากนั้นทำการกรองจะได้ 2 ส่วน คือ ส่วนของเหลวและส่วนของแข็ง

ส่วนของเหลวทำการวิเคราะห์ดังนี้

- 1) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี DNS (Chaplin and Kennedy, 1986) โดยเทียบกับน้ำตาลกลูโคสเป็นน้ำตาลมาตรฐาน
- 2) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Chaplin and Kennedy, 1986)
- 3) ค่า dextrose equivalent (DE) (สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม, 2524)
- 4) ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Lowry (สิริภักดิ์, 2540)
- 5) ศึกษาองค์ประกอบของน้ำตาลในสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงที่คัดเลือกแล้วโดยวิธี HPLC โดยหา degree of polymerization (DP) 1-7 โดยหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีแปรรูปมันสำปะหลังและแป้ง สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ส่วนของแข็ง นำไปอบด้วยเครื่องตู้อบลมร้อนชนิด tray dryer ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 ชั่วโมง และทำการวิเคราะห์ดังนี้

- 1) ปริมาณความชื้น (AOAC, 1995)
- 2) ปริมาณสตาร์ช (AOAC, 1995)
- 3) ปริมาณโปรตีน (AOAC, 1995)

วางแผนการทดลองแบบ factorial in completely randomized design ขนาด 4 X 3 ทำการทดลอง 2 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป statistical package for the social science (SPSS) version 7.5 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และวิเคราะห์การถดถอยแบบพหุ (multiple regression analysis) ด้วย Statgraphic plus version 3.0

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การศึกษาสมบัติของรำข้าวสกัดไขมันแล้ว

สมบัติของรำข้าวขึ้นกับ แหล่งเพาะปลูกข้าว พันธุ์ข้าว และกระบวนการสีข้าว โดยรำข้าวจากการสีข้าวด้วยแรงคน (hand-pounded rice) จะมีการปะปนของฟางข้าว และแกลบในปริมาณสูง ซึ่งไม่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารได้ หากมีการใช้กระบวนการสีข้าวแบบ 2 ขั้นตอน หรือแบบหลายขั้นตอน กระบวนการนี้จะมีขั้นตอนการแยกฟาง แกลบ ระหว่างกระบวนการทำให้รำข้าวที่ได้ไม่มีสิ่งปลอมปน นอกจากนี้ระดับการขัดสีข้าว ยังมีผลโดยตรงต่อปริมาณสารขี้ในรำข้าว และการกระจายของขนาดอนุภาค ดังนั้นรำข้าวสกัดไขมันแล้วจากแหล่งต่าง ๆ อาจมีลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกัน จึงทำการศึกษาดังองค์ประกอบทางเคมีและการกระจายตัวของอนุภาค เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการผลิตต่อไป

4.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวสกัดไขมันแล้ว

รำข้าว คือส่วนประกอบของเนื้อเยื่อชั้นนอกของเมล็ดข้าวกล็องที่ถูกขัดออกระหว่างการสี ซึ่งได้แก่ เยื่อหุ้มผล (pericarp) เยื่อแอรูโรน (aleurone) รวมทั้งเอ็มบริโอ (embryo) และแบ่งส่วนนอกของเอนโดสเปิร์มถ้ามีการขัดหนัก (ปราณี, 2534)

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวสกัดไขมันแล้ว พบว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่คือ คาร์โบไฮเดรต มีปริมาณสูงถึง 54.89% (น้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือ โปรตีน มีปริมาณ 16.57% (น้ำหนักแห้ง) (ตารางที่ 4.1) ปริมาณที่วิเคราะห์ได้มีค่าใกล้เคียงกับ Prakash (1996) ได้รายงานไว้ว่า รำข้าวสกัดไขมันแล้วประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน 54.3% และ 18.2% (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ โดยโปรตีนที่พบในรำข้าวเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพสูง มีค่า protein efficiency ratio (PER) ใกล้เคียงกับเคซีน (Saunders, 1990) นอกจากนี้รำข้าวสกัดไขมันแล้วยังประกอบด้วยเยื่อใย (crude fiber) ซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกายในการช่วยระบบขับถ่าย และลดระดับคอเลสเตอรอล (Peterson and Johnson, 1978) ถึง 14.68% (น้ำหนักแห้ง)

และจากผลการวิเคราะห์พบว่า รำข้าวสกัดไขมันแล้วประกอบด้วยสารขี้ 13.46% (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งปกติชั้นเยื่อหุ้มผล (pericarp) และเยื่อแอรูโรน (aleurone) ไม่มีสารขี้เป็นองค์ประกอบ สารขี้ที่พบเกิดเนื่องจากกระบวนการขัดสีที่รุนแรงทำให้เกิดการแตกหัก และเกิดการขัดสีแบ่งส่วนนอกของเอนโดสเปิร์มหลุดปะปนออกมา ทำให้รำข้าวประกอบด้วยสารขี้ประมาณ 10-20% โดยขึ้นกับระดับการขัดสี (Saunders, 1990)

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว

องค์ประกอบทางเคมี	% (น้ำหนักสด)	% (น้ำหนักแห้ง)
ความชื้น	6.69 ± 0.10	7.17 ± 0.11
โปรตีน	15.46 ± 0.37	16.57 ± 0.40
ไขมัน	2.72 ± 0.04	2.91 ± 0.05
เยื่อใย	13.70 ± 0.19	14.68 ± 0.21
เถ้า	10.36 ± 0.23	11.07 ± 0.21
คาร์โบไฮเดรต	51.22 ± 0.24*	54.89 ± 0.25
- สตาร์ช	12.56 ± 1.63	13.46 ± 1.74

หมายเหตุ 1) ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ

2) * คาร์โบไฮเดรต = $100 - (\% \text{ความชื้น} + \% \text{โปรตีน} + \% \text{ไขมัน} + \% \text{เยื่อใย} + \% \text{เถ้า})$
(% น้ำหนักสด)

ดังนั้น จากองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวสาคัดไขมันแล้วพบว่า ส่วนใหญ่คือ คาร์โบไฮเดรต ซึ่งประกอบด้วยสตาร์ช 13.46% และส่วนที่ไม่ใช่สตาร์ชประมาณ 41% ซึ่งเป็นองค์ประกอบในส่วนเยื่อหุ้มผล (pericarp) และเยื่อแอรูโรน (aleurone) โดยมีเฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ จึงเป็นแนวทางในการเลือกใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และไซทานเนสในการย่อยสลายองค์ประกอบเหล่านี้ เพื่อเพิ่มคุณค่าของรำข้าวสาคัดไขมันแล้วทางด้านโภชนาการในด้านปริมาณโปรตีน และเพิ่มมูลค่าโดยได้น้ำตาลเป็นผลผลิตอีกชนิดหนึ่ง

4.1.2 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคของรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว

การศึกษาการกระจายตัวของขนาดอนุภาคของรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว พบการกระจายตัวของขนาดอนุภาคมากที่สุดอยู่ในช่วง 40-100 mesh โดยมีปริมาณ 46.67% ของตัวอย่างทั้งหมด (ตารางที่ 4.2) รองลงมาพบการกระจายตัวของอนุภาคอยู่ระหว่าง 100-200 mesh มีปริมาณ 22.07% ของตัวอย่างทั้งหมด และพบการกระจายตัวของอนุภาคเล็กกว่า 200 mesh เพียง 2.31% การศึกษาการกระจายตัวของขนาดอนุภาคของตัวอย่างรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับลักษณะของรำข้าวสาคัดไขมันแล้วที่จะใช้เป็นตัวเติมในการผลิต และเนื่องจากมีรายงานพบว่าขนาดอนุภาคที่แตกต่างกันมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมี อาทิเช่น Prakash (1996) พบว่ารำข้าวสาคัดไขมันแล้วมีปริมาณโปรตีนประมาณ 18% แต่เมื่อนำรำข้าวสาคัดไขมันแล้วจากแหล่งเดียวกันทำการบดและร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 80 mesh รำข้าวที่ร่อนผ่านตะแกรงมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้นเป็น 19.2%

ตารางที่ 4.2 การกระจายตัวของขนาดอนุภาคของตัวอย่างรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว

ขนาดของตะแกรง (mesh size)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (mm)	% การกระจายตัว (% distribution)
< 20	> 0.45	8.19
20-30	0.45 - 0.40	6.62
30-40	0.40 - 0.25	12.40
40-100	0.25 - 0.112	46.67
100-200	0.112 - 0.05	22.07
> 200	< 0.05	2.31

หมายเหตุ 1) ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ



4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

การทำงานของเอนไซม์ขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความเข้มข้นของเอนไซม์ ชนิดและความเข้มข้นของตัวสเตรท สารกระตุ้น (catalyst) สารยับยั้ง (inhibitor) ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยา และสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ และพีเอช

4.2.1 ศึกษาหาอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลานเนส (Porzyme 9300)

จากการศึกษาหาอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลานเนส โดยปรับพีเอชที่ระดับต่าง ๆ 6 ระดับ คือ ที่ระดับ 3 4 5 6 7 และ 8 และบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน 3 ระดับ คือ 30 40 และ 50 องศาเซลเซียส เมื่อกรองและนำส่วนของเหลวทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้น้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลมาตรฐาน ได้ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 4.3

จากตารางที่ 4.3 พบว่าสภาวะที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พีเอช 6 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด (5.52 มก./มล.) ซึ่งสอดคล้องกับสมมติ (2539) รายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลานเนส อยู่ในช่วง 50-60 องศาเซลเซียส แต่สำหรับพีเอชที่เหมาะสมของเอนไซม์นั้น ขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ที่ผลิต โดยพบว่า เอนไซม์ไซลานเนสจากแบคทีเรียมีพีเอชที่เหมาะสมค่อนข้างเป็นกลาง เอนไซม์จากเชื้อรา มีพีเอชที่เหมาะสมค่อนข้างเป็นกรด

เมื่อพิจารณาจากกราฟ (ภาพที่ 4.1) พบว่า ที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานอยู่ในช่วงพีเอช 4-5 ส่วนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานคือ พีเอช 6 โดยเมื่อสภาวะเป็นกรดสูง (พีเอช 3) และเป็นด่างสูง (พีเอช 8) ทำให้การทำงานของเอนไซม์ลดลง ซึ่งเกิดจากพีเอชมีผลต่อการแตกตัวของอออนของกลุ่มที่อยู่ในบริเวณเร่ง (active size) ของเอนไซม์ มีผลให้เกิดการเปลี่ยนโครงสร้าง 3 มิติ มีผลไปสู่การเบี่ยงเบนในด้านการจับกับตัวสเตรท หรือการเร่งปฏิกิริยา ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมพีเอชให้เหมาะสม และพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นจาก 30 40 องศาเซลเซียส เป็น 50 องศาเซลเซียส ทำให้การทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้น เนื่องจากอุณหภูมิเพิ่มขึ้น จะเกิดการเพิ่มอัตราเร็วการชนกันระหว่างเอนไซม์และตัวสเตรท ทำให้ความเร็วของปฏิกิริยาสูงขึ้น แต่หากอุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้เกิดการเสียสภาพธรรมชาติ (denature) ของเอนไซม์ได้ด้วย (ปราณี, 2543)

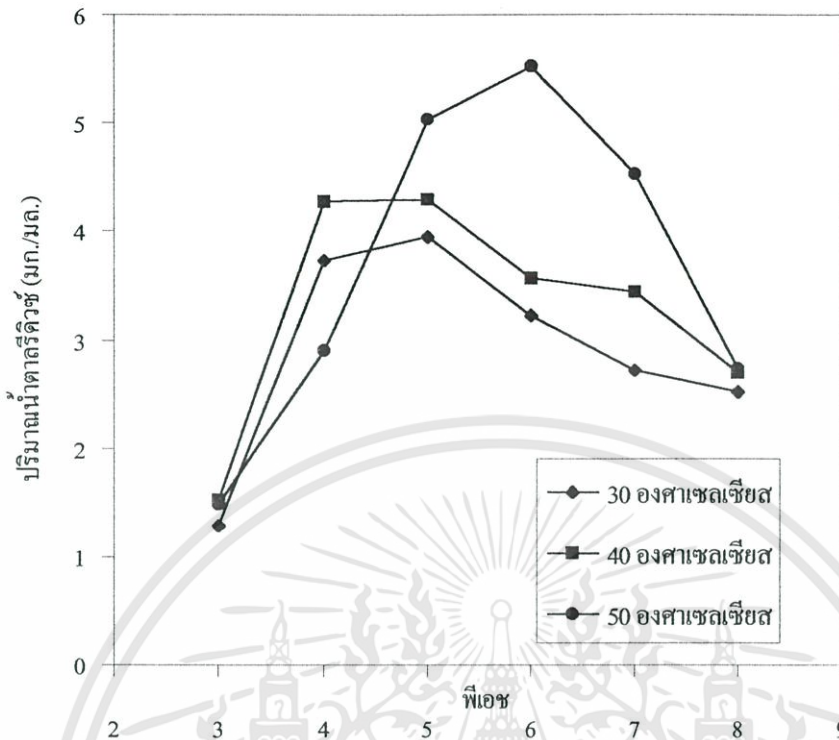
ดังนั้น อุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซลานเนสคือ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พีเอช 6

ตารางที่ 4.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มก./มล.) จากการย่อยรำข้าวสาคัดไขมันแล้วด้วยเอนไซม์ไโซลาเนสที่อุณหภูมิ และพีเอชต่างๆ

อุณหภูมิ	พีเอช	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มก./มล.)
30 องศาเซลเซียส	3.0	1.28 ± 0.0849 ^a
	4.0	3.74 ± 0.1414 ^{fg}
	5.0	3.95 ± 0.0566 ^g
	6.0	3.23 ± 0.2192 ^d
	7.0	2.84 ± 0.1485 ^c
	8.0	2.52 ± 0.0141 ^b
40 องศาเซลเซียส	3.0	1.53 ± 0.0071 ^a
	4.0	4.27 ± 0.0919 ^h
	5.0	4.30 ± 0.2121 ^{hi}
	6.0	3.57 ± 0.0000 ^{ef}
	7.0	3.45 ± 0.0636 ^{de}
	8.0	2.70 ± 0.0424 ^{bc}
50 องศาเซลเซียส	3.0	1.49 ± 0.0212 ^a
	4.0	2.90 ± 0.0071 ^c
	5.0	5.04 ± 0.3394 ^j
	6.0	5.52 ± 0.0990 ^k
	7.0	4.54 ± 0.0283 ⁱ
	8.0	2.74 ± 0.0070 ^{bc}

หมายเหตุ 1) ค่าที่ได้จากตารางเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ

2) ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาเลรีคิวซ์ (มก./มล.) จากการย่อยรำข้าวสาคัดไขมันแล้วด้วยเอนไซม์ไซลาเนส ที่อุณหภูมิ และพีเอชต่าง ๆ

4.2.2 ศึกษาหาอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120 L Type LS)

การศึกษาหาอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส โดยปรับพีเอชที่ระดับต่าง ๆ 7 ระดับ คือ ที่ระดับ 4 5 6 7 8 9 และ 10 และบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน 3 ระดับ คือ 75 85 และ 90 องศาเซลเซียส เมื่อกรองและนำส่วนของเหลวทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาเลรีคิวซ์โดยใช้น้ำตาเลรีคิวซ์เป็นน้ำตาเลรีคิวซ์มาตรฐาน ได้ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 4.4

จากตารางที่ 4.4 พบว่า สภาวะที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส พีเอช 6 ให้ปริมาณน้ำตาเลรีคิวซ์สูงสุด 13.66 มก./มล. และพบว่าที่ระดับพีเอช 7 อุณหภูมิ 75 85 และ 90 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำตาเลรีคิวซ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีปริมาณน้ำตาเลรีคิวซ์อยู่ในช่วง 12.80-13.18 มก./มล. ทั้งนี้เนื่องจากสตาร์ชของข้าวเจ้ามีอุณหภูมิเจลาติไนซ์อยู่ในช่วง 67.8-77.8 องศาเซลเซียส (Samuel, 1991) สตาร์ชจึงสามารถพองตัวเกิดเจลาติไนซ์ ทำให้เอนไซม์สามารถเข้าย่อยได้สะดวกตั้งแต่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส จึงเลือกอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เพื่อเป็นการประหยัดพลังงาน นอกจากนี้ยังพบว่า ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส พีเอช 6 และ 7

ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ซึ่งจากการทดลองพีเอช 6 เป็นพีเอชที่วัดได้เมื่อนำรำข้าวสกักไขมันแล้วผสมกับน้ำกลั่น โดยไม่ต้องมีการปรับพีเอชเลย จึงเลือกระดับพีเอช 6 เพื่อเป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายในการปรับพีเอช ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิต คือ อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส พีเอช 6

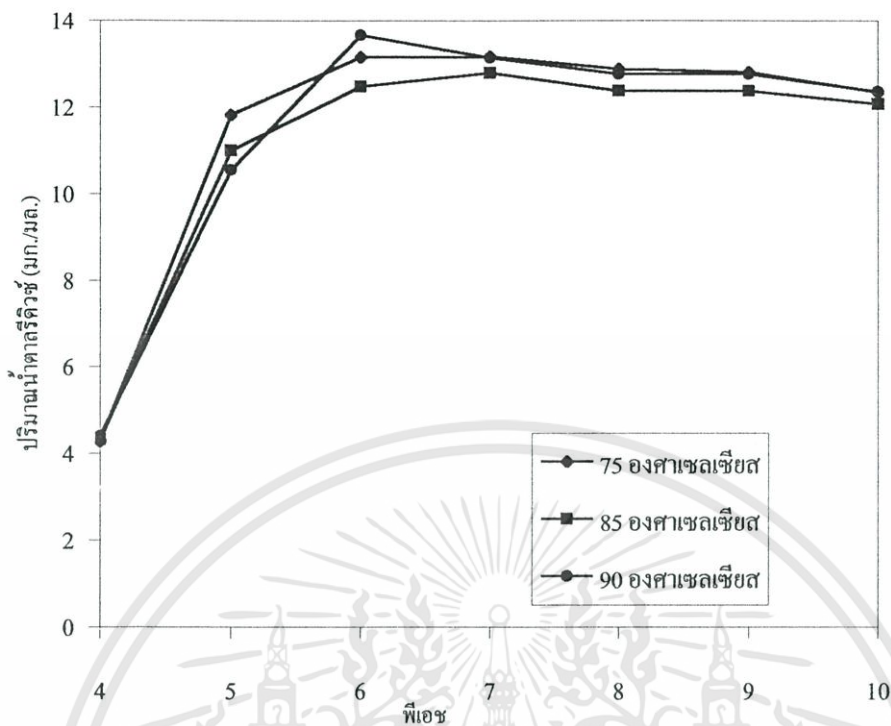
ตารางที่ 4.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มก./มล.) จากการย่อยรำข้าวสกักไขมันแล้วด้วยเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลสที่อุณหภูมิ และพีเอชต่าง ๆ

อุณหภูมิ	พีเอช	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มก./มล.)
75 องศาเซลเซียส	4.0	4.28 ± 0.0283 ^a
	5.0	11.83 ± 0.0566 ^d
	6.0	13.16 ± 0.2051 ⁱ
	7.0	13.18 ± 0.1131 ⁱ
	8.0	12.89 ± 0.0141 ^{hi}
	9.0	12.81 ± 0.0354 ^{hi}
	10.0	12.35 ± 0.1697 ^{cf}
85 องศาเซลเซียส	4.0	4.33 ± 0.0990 ^a
	5.0	10.00 ± 0.2899 ^b
	6.0	12.47 ± 0.1061 ^{efgh}
	7.0	12.80 ± 0.1626 ^{ghi}
	8.0	12.37 ± 0.4384 ^{efg}
	9.0	12.38 ± 0.0354 ^{efg}
	10.0	12.07 ± 0.0566 ^{dc}
90 องศาเซลเซียส	4.0	4.39 ± 0.2475 ^a
	5.0	10.54 ± 0.4243 ^c
	6.0	13.66 ± 0.0141 ^j
	7.0	13.14 ± 0.0071 ⁱ
	8.0	12.76 ± 0.0707 ^{fghi}
	9.0	12.76 ± 0.0919 ^{fghi}
	10.0	12.36 ± 0.2051 ^{ef}

หมายเหตุ 1) ค่าที่ได้จากตารางเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ

2) ตัวอักษรที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มก./มล.) จากการย่อยรำข้าวสาคัดไขมันแล้วด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่อุณหภูมิ และพีเอชต่างๆ

จากภาพที่ 4.2 พบว่า การทำงานของเอนไซม์ที่อุณหภูมิทั้ง 3 ระดับมีแนวโน้มใกล้เคียงกัน โดยเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นจากพีเอช 4 ถึง 6 เอนไซม์ทำงานได้ดีขึ้น จากนั้นความสามารถในการทำงานจะคงที่ หรือลดลงเล็กน้อยเมื่อถึงพีเอช 10 ซึ่งสอดคล้องกับ Fogarty (1983) กล่าวไว้ว่าเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสจัดเป็นโปรตีนประเภทหนึ่ง ถูกยับยั้งการทำงานได้ถ้ามีสภาวะความเป็นกรดสูง สำหรับค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส อยู่ในช่วงพีเอช 5.0-8.0 และที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่เติมลงไป เข้าไปทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ให้กับเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส จึงทำให้เอนไซม์มีความคงตัวต่อพีเอชที่กว้างขึ้น และยังช่วยให้การทำงานของเอนไซม์ดีขึ้น (ปราณี, 2543)

4.3 การศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยต่อสารละลายน้ำตาลในกระบวนการผลิต

4.3.1 ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาเนส (Porzyme 9300) และเวลาในการย่อยต่อสารละลายน้ำตาล

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาเนส ที่ 4 ระดับคือ 0.5 1 3 และ 5% (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวสาคัดไซมันแล้ว) และเวลาในการย่อย 4 ระดับคือ 0.5 1 2 และ 3 ชั่วโมง ในส่วนของเหลวพบว่า ส่งผลให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้โดยใช้น้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลมาตรฐานมีค่าอยู่ในช่วง 1.79-6.83 มก./มล. โดยสภาวะที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดคือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ 5% เวลาในการย่อย 2 และ 3 ชั่วโมง โดยได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 6.51 และ 6.83 มก./มล. ตามลำดับโดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาเนส จะทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มสูงขึ้น ดังเช่นที่เวลาในการย่อย 0.5 ชั่วโมง เมื่อแปรค่าความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ระดับ 0.5 1 3 และ 5% ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 1.79 2.01 3.02 และ 3.80 มก./มล. ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาถึงเวลาการย่อยพบว่า เวลาในการย่อยนานขึ้น จะทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีแนวโน้มสูงขึ้นเช่นกัน ดังตัวอย่างที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 1% เมื่อแปรค่าเวลาในการย่อยที่ระดับ 0.5 1 2 และ 3 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 2.01 2.84 3.29 และ 3.54 มก./มล. ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5) ทั้งนี้เนื่องจากน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น เกิดจากเอนไซม์ไซลาเนสทำการย่อยสลายพันธะเบต้า-1,4-ไซโลซิดิก (β -1,4-xylosidic) ระหว่างโมเลกุลของไซแลน (Puls and Poutanen, 1989) การเพิ่มเวลาและความเข้มข้นของเอนไซม์จึงทำให้เกิดการย่อยสลายพันธะได้มากขึ้น ดังนั้นค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จึงเป็นค่าที่บ่งบอกระดับการย่อย และเมื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient ; r) พบว่า ทั้งความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยมีอิทธิพลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยความเข้มข้นของเอนไซม์มีอิทธิพลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 66.4% ซึ่งสูงกว่าเวลาในการย่อยเล็กน้อย ซึ่งเวลามีอิทธิพลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 54.8% (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.5 ผลการย่อยรำข้าวสาคัดไขมันแล้วที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาเนสและเวลาต่าง ๆ

ความเข้มข้น เอนไซม์ (%)	เวลาใน การย่อย (ชั่วโมง)	ส่วนของเหลว				ส่วนของแข็ง	
		น้ำตาลรีดิวิซ์ (มก./มล.)	น้ำตาลทั้งหมด (มก./มล.)	น้ำตาลไซโลส (มก./มล.)	โปรตีน (มก./มล.)	เยื่อใย (%น้ำหนักแห้ง)	โปรตีน (%น้ำหนักแห้ง)
0.5	0.5	1.79 ± 0.01 ^a	5.44 ± 0.42 ^a	1.10 ± 0.06 ^a	1.09 ± 0.03 ^a	14.43 ± 0.12 ^a	19.85 ± 0.82 ^a
0.5	1	2.28 ± 0.01 ^{ab}	7.13 ± 0.01 ^{bc}	1.32 ± 0.06 ^{ab}	1.18 ± 0.02 ^{ab}	14.47 ± 0.29 ^{ab}	21.41 ± 0.23 ^{bc}
0.5	2	3.37 ± 0.08 ^{def}	7.68 ± 0.35 ^c	1.90 ± 0.17 ^{cde}	1.20 ± 0.03 ^{abc}	14.84 ± 0.16 ^{abc}	21.13 ± 0.21 ^b
0.5	3	3.77 ± 0.17 ^{fg}	8.04 ± 0.22 ^c	2.15 ± 0.16 ^{de}	1.18 ± 0.00 ^{ab}	15.10 ± 0.26 ^{abcd}	21.43 ± 0.03 ^{bc}
1	0.5	2.01 ± 0.02 ^a	6.04 ± 0.21 ^a	1.19 ± 0.06 ^a	1.11 ± 0.03 ^a	15.47 ± 0.06 ^{cd}	21.38 ± 0.11 ^{bc}
1	1	2.84 ± 0.34 ^{cd}	6.22 ± 0.65 ^{ab}	1.44 ± 0.25 ^{abc}	1.13 ± 0.01 ^{ab}	15.52 ± 0.26 ^{cd}	21.22 ± 0.26 ^{bc}
1	2	3.29 ± 0.41 ^{cdef}	7.54 ± 0.57 ^c	1.82 ± 0.18 ^{bcd}	1.14 ± 0.08 ^{ab}	15.23 ± 0.46 ^{abcd}	21.45 ± 0.08 ^{bc}
1	3	3.54 ± 0.07 ^{efg}	10.33 ± 0.53 ^c	2.78 ± 0.23 ^{fg}	1.35 ± 0.03 ^{cd}	15.31 ± 0.45 ^{abcd}	21.50 ± 0.01 ^{bc}
3	0.5	3.02 ± 0.17 ^{cde}	8.10 ± 0.20 ^c	1.98 ± 0.13 ^{cde}	1.13 ± 0.01 ^{ab}	15.37 ± 0.18 ^{bcd}	21.88 ± 0.01 ^c
3	1	2.76 ± 0.42 ^{bc}	9.20 ± 0.10 ^d	2.18 ± 0.13 ^{de}	1.26 ± 0.05 ^{abcd}	15.71 ± 0.27 ^{cd}	21.18 ± 0.02 ^{bc}
3	2	3.21 ± 0.40 ^{cde}	9.95 ± 0.01 ^{de}	2.92 ± 0.39 ^{fg}	1.17 ± 0.11 ^{ab}	15.63 ± 0.27 ^{cd}	21.48 ± 0.11 ^{bc}
3	3	4.01 ± 0.22 ^{gh}	13.01 ± 0.36 ^f	3.18 ± 0.69 ^g	1.40 ± 0.13 ^d	15.98 ± 0.53 ^d	21.49 ± 0.64 ^{bc}

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ความเข้มข้น เอนไซม์ (%)	เวลาใน การย่อย (ชั่วโมง)	ส่วนของเหลว				ส่วนของแข็ง	
		น้ำตาลรีดิวิซ์ (มก./มล.)	น้ำตาลทั้งหมด (มก./มล.)	น้ำตาลไซโลส (มก./มล.)	โปรตีน (มก./มล.)	เชื้อใย (% น้ำหนักแห้ง)	โปรตีน (% น้ำหนักแห้ง)
5	0.5	3.80 ± 0.02 ^{fg}	9.29 ± 0.11 ^d	2.09 ± 0.06 ^{dc}	1.20 ± 0.01 ^{abc}	15.41 ± 0.18 ^{cd}	21.12 ± 0.18 ^b
5	1	4.42 ± 0.06 ^h	10.01 ± 0.22 ^{dc}	2.48 ± 0.25 ^{ef}	1.16 ± 0.08 ^{ab}	15.30 ± 0.57 ^{abcd}	21.34 ± 0.26 ^{bc}
5	2	6.51 ± 0.25 ⁱ	13.12 ± 0.75 ^f	4.43 ± 0.16 ^h	1.10 ± 0.16 ^a	15.86 ± 0.89 ^d	21.24 ± 0.06 ^{bc}
5	3	6.83 ± 0.21 ⁱ	13.67 ± 0.97 ^f	4.84 ± 0.08 ^h	1.29 ± 0.03 ^{bcd}	15.91 ± 0.16 ^d	21.49 ± 0.03 ^{bc}

หมายเหตุ 1) ค่าที่ได้จากตารางเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ

2) ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.6 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient ; r) ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ ในการย่อยรำข้าวสาคัดไขมันแล้วด้วยเอนไซม์ไซลานเนส

	ความเข้มข้น	เวลาในการย่อย	น้ำตาลรีดิวซ์	น้ำตาลทั้งหมด	น้ำตาลไซโลส	โปรตีนในส่วน ของเหลว	เชื้อใย	โปรตีนในส่วน ของแข็ง
ความเข้มข้น	1.000							
เวลาในการย่อย	0.000	1.000						
น้ำตาลรีดิวซ์	0.664**	0.548**	1.000					
น้ำตาลทั้งหมด	0.716**	0.611**	0.856**	1.000				
น้ำตาลไซโลส	0.666**	0.621**	0.928**	0.939**	1.000			
โปรตีนในส่วน ของเหลว	0.145	0.545**	0.250	0.535**	0.400*	1.000		
เชื้อใย	0.647**	0.290	0.489**	0.588**	0.578**	0.125	1.000	
โปรตีนในส่วน ของแข็ง	0.303	0.277	0.229	0.355*	0.302	0.403*	0.373*	1.000

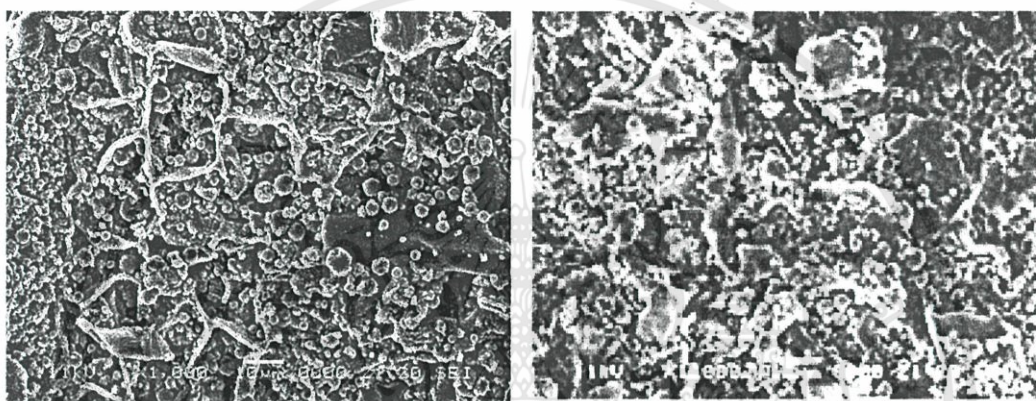
หมายเหตุ ** ปัจจัยมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$)

* ปัจจัยมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) พบว่า น้ำตาลทั้งหมดมีค่าอยู่ในช่วง 5.44-13.67 มก./มล. โดยสถานะที่ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดสูงสุดคือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3% เวลาในการย่อย 3 ชั่วโมง ความเข้มข้นของเอนไซม์ 5% เวลาในการย่อย 2 และ 3 ชั่วโมง โดยให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 13.01 13.12 และ 13.67 มก./มล. ตามลำดับโดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ และเวลาในการย่อยพบว่า ให้ผลเช่นเดียวกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมีแนวโน้มสูงขึ้น ดังเช่นที่เวลาในการย่อย 0.5 ชั่วโมง เมื่อแปรค่าความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ระดับ 0.5 1 3 และ 5% ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 5.44 6.04 8.10 และ 9.29 มก./มล. ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มเวลาในการย่อยที่ระดับ 0.5 1 2 และ 3 ชั่วโมง ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 6.04 6.22 7.54 และ 10.33 มก./มล. ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมีค่าสูงกว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อย เนื่องจากสารละลายจากกระบวนการผลิตอาจประกอบด้วยน้ำตาลไซโลส และน้ำตาลโอลิโกเมอร์สายสั้น ๆ ซึ่งโมเลกุลน้ำตาลในสายโอลิโกเมอร์ไม่สามารถถูกรีดิวซ์ได้ แต่เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด กรดซัลฟูริกเข้มข้นจะทำการย่อยน้ำตาลโอลิโกเมอร์สายสั้น ๆ ให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ค่าที่ได้จึงมีค่าสูงกว่าน้ำตาลรีดิวซ์ (Chaplin and Kennedy, 1986) และเมื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของเอนไซม์ และเวลาในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยพิจารณาจากค่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ พบว่า ทั้งความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยมีผลต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยความเข้มข้นของเอนไซม์มีอิทธิพลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 71.6% ซึ่งสูงกว่าเวลาในการย่อย ซึ่งมีอิทธิพลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 61.1% (ตารางที่ 4.6)

ในส่วนของน้ำตาลไซโลส จากผลการวิเคราะห์พบว่า เมื่อทำการแปรค่าความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5 1 3 และ 5% และเวลาในการย่อย 0.5 1 2 และ 3 ชั่วโมง สารละลายน้ำตาลประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสมีค่าอยู่ในช่วง 1.10-4.84 มก./มล. โดยสถานะที่ให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุดคือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ 5% เวลาในการย่อย 2 และ 3 ชั่วโมง โดยให้ปริมาณน้ำตาลไซโลส 4.43 และ 4.84 มก./มล. ตามลำดับโดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยจะทำให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสเพิ่มสูงขึ้น เช่นเดียวกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ทั้งนี้เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ไซลาเนส เข้าไปทำหน้าที่ย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสในส่วนของผนังเซลล์ของรำข้าว ซึ่งมีไซแลน (D-xylan หรือ D-xylopyranose) ที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นโพลีเมอร์ของน้ำตาลไซโลสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า-1,4 เป็นองค์ประกอบ ดังแสดงในภาพที่ 4.3 (4.3-1 และ 4.3-2) เป็นภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน จะเห็นได้ว่าโครงสร้างของส่วนที่เป็นผนังเซลล์ถูกย่อยสลายไป (ภาพที่ 4.3-2) เปรียบเทียบกับภาพโครงสร้างรำข้าวก่อนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไซลาเนส (ภาพที่ 4.3-1) ซึ่งจะยังคงเห็นโครงสร้างส่วนที่เป็นผนังเซลล์อยู่ โดยเอนไซม์

เข้าไปทำการย่อยสลายพันธะเบต้า-1,4-ไซโลซิดิก ได้เป็นไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ (xylo-oligosaccharide) สายสั้น ๆ และน้ำตาลไซโลส อีกทั้งยังเป็นการทำให้โปรตีนถูกปลดปล่อยออกจาก polysaccharide matrix (Wang *et al.*, 1999) จึงทำให้พบโปรตีนละลายอยู่ในสารละลายน้ำตาลที่ผลิตได้ มีค่าอยู่ในช่วง 1.09-1.40 มก./มล. (ตารางที่ 4.5) โปรตีนที่พบอาจเป็นผลเสียต่อสารละลายน้ำตาล หากมีการผ่านกระบวนการทำให้เข้มข้นโดยการระเหย (evaporation) จะทำให้ซีรัปที่ได้มีสีน้ำตาล ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) โดยทั่วไปการลดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ซีรัปที่เกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด ทำได้โดยใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (Dziedzic and Kearsley, 1984)



(4.3-1)

(4.3-2)

ภาพที่ 4.3 โครงสร้างของรำข้าวสาคัดไขมันแล้วเปรียบเทียบกับรำข้าวสาคัดไขมันแล้วหลังการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไซลานเนส (ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน Scanning Electron Microscope ; SEM)

(4.3-1) รำข้าวสาคัดไขมันแล้วเริ่มต้น (x 1000 เท่า)

(4.3-2) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3% เวลาในการย่อย 2 ชั่วโมง (x 1000 เท่า)

ส่วนของแข็งของรำข้าวสาคัดไขมันแล้วที่ผ่านการย่อยสลายโดยเอนไซม์ไซลานเนส มีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 19.85-21.88% (น้ำหนักแห้ง) โดยพบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5% เวลาในการย่อย 0.5 ชั่วโมง ให้ปริมาณโปรตีนต่ำที่สุด หากเพิ่มเวลาในการย่อยและ/หรือความเข้มข้นของเอนไซม์ ดังเช่นที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5% เวลาในการย่อย 1 2 และ 3 ชั่วโมง หรือที่เวลาในการย่อย 1 ชั่วโมง ความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.5 1 3 และ 5% ให้ปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.5) ทั้งนี้เมื่อพิจารณาถึงโปรตีนในส่วนของเหลวจะพบว่า ปริมาณโปรตีนในส่วนของเหลวเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้น โดยโปรตีนที่ละลายอยู่ในส่วนของเหลวนี้นับเป็น 6.58-

8.48% ของโปรตีนทั้งหมดในรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว จึงทำให้โปรตีนในส่วนของแข็งไม่เพิ่มขึ้น และจากการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของเอนไซม์และระยะเวลาในการย่อยต่อ ปริมาณโปรตีน โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์มีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีน 64.7% และเวลาในการย่อยไม่มีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีน

ส่วนปริมาณเชื้อใย พบอยู่ในช่วง 14.43-15.98% (น้ำหนักแห้ง) สภาวะที่ให้ปริมาณเชื้อใยสูงสุดคือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3% เวลาในการย่อย 3 ชั่วโมง และความเข้มข้นของเอนไซม์ 5% เวลาในการย่อย 2 และ 3 ชั่วโมง โดยให้ค่าปริมาณเชื้อใย 15.98 15.86 และ 15.91% ตามลำดับโดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์จะทำให้ปริมาณเชื้อใยมีแนวโน้มสูงขึ้นเล็กน้อย ดังเช่นที่เวลาในการย่อย 2 ชั่วโมง เมื่อแปรค่าความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ระดับ 0.5 1 2 และ 3% ให้ปริมาณเชื้อใยเท่ากับ 14.84 15.23 15.63 และ 15.86% ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5) ทั้งนี้เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ไซลาลเนส เป็นการย่อยสลายไซลาลซึ่งเป็นองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลส ทำให้ได้ผลผลิตคือ น้ำตาล จึงทำให้ปริมาณเชื้อใยซึ่งเป็นส่วนของเซลลูโลสและลิกนินที่ไม่ถูกย่อยสลายมีสัดส่วนสูงขึ้นในรำข้าวที่ผ่านการย่อยสลาย และเมื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อย โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์มีอิทธิพลต่อปริมาณเชื้อใย 64.6% ส่วนเวลาในการย่อยไม่มีอิทธิพล (ตารางที่ 4.6)

จากผลการวิเคราะห์ดังกล่าว เมื่อพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลไซโลสพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตคือ ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 5% เวลาในการย่อย 2 ชั่วโมง นอกจากนี้จากการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้เช่น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลไซโลส ปริมาณโปรตีนในส่วนของเหลว ปริมาณโปรตีนในส่วนของแข็ง และปริมาณเชื้อใย โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ พบว่าน้ำตาลรีดิวซ์มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลไซโลส สูงถึง 85.6% และ 92.8% ตามลำดับ และน้ำตาลทั้งหมดมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับน้ำตาลไซโลส 93.9%

การวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุ (multiple regression analysis) และกราฟความสัมพันธ์แบบ 3 มิติ (3D surface plot)

เมื่อวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุเพื่อหาสมการพยากรณ์ของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาลเนส และเวลาในการย่อยต่างๆ สามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

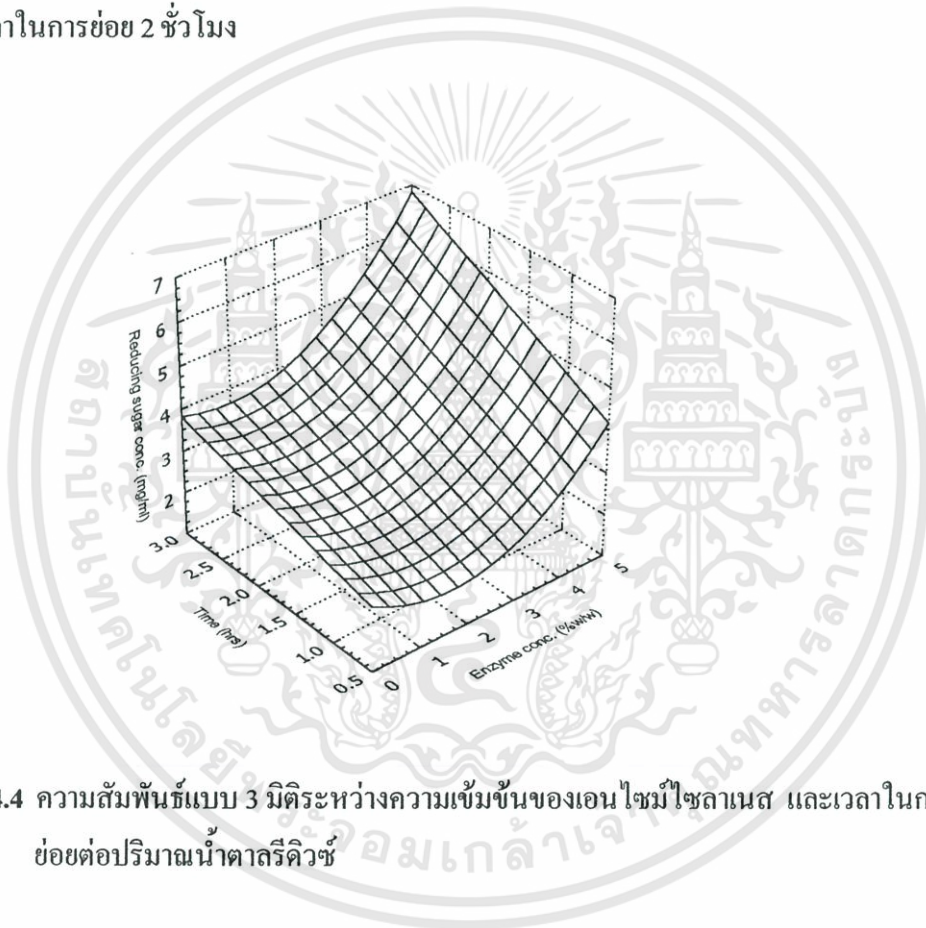
$$z = 2.263 - 0.693x + 0.519y + 0.109xy + 0.194x^2 ; r^2 = 0.8954$$

เมื่อ x = ความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาลเนส

y = เวลาในการย่อย

z = ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

จากสมการทำนายสามารถนำเสนอผลในรูปของกราฟความสัมพันธ์แบบ 3 มิติ ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาเนส และเวลาในการย่อยต่อค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เมื่อทำการย่อยที่ค่าพีเอช 6 ควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 50 องศาเซลเซียส และอัตราส่วนระหว่างรำข้าวสาคัดไขมันแล้วต่อน้ำเท่ากับ 1: 10 (ดังภาพที่ 4.4) และเมื่อพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรพบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์ยกกำลังหนึ่งเป็นตัวแปรที่มีความสำคัญมากที่สุด สมการดังกล่าวมีค่า r^2 สูงถึง 0.895 จึงสามารถใช้ในการทำนายผลได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสามารถทำนายผลเมื่อกำหนดค่าตัวแปร 2 ตัวได้ ทำให้สะดวกในการผลิตหากต้องการเปลี่ยนสภาวะ เช่น ความเข้มข้นของเอนไซม์ และ/หรือเวลาในการย่อย จากสภาวะที่ทำการทดลองคือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ 5% เวลาในการย่อย 2 ชั่วโมง



ภาพที่ 4.4 ความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาเนส และเวลาในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

เมื่อวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุเพื่อหาสมการพยากรณ์ของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาเนส และเวลาในการย่อยต่างๆ สามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$z = 4.254 + 1.301x + 1.204y + 0.163xy - 0.100x^2 ; r^2 = 0.929$$

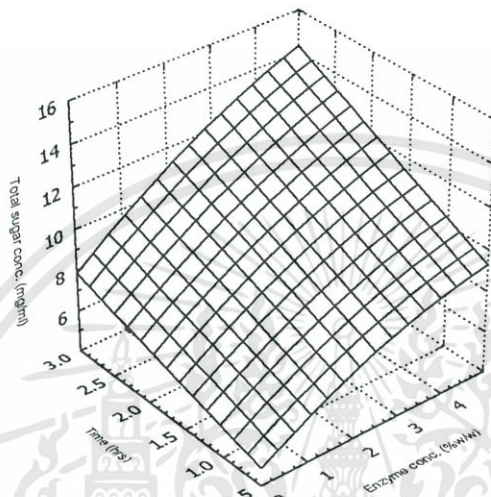
เมื่อ x = ความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาเนส

y = เวลาในการย่อย

z = ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการทำนายสามารถนำเสนอผลในรูปของกราฟความสัมพันธ์แบบ 3 มิติ ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาลเนส และเวลาในการย่อยต่อค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ดังภาพที่ 4.5) และเมื่อพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรพบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์ยกกำลังหนึ่งเป็นตัวแปรที่มีความสำคัญมากที่สุด สมการดังกล่าวมีค่า r^2 สูงถึง 0.929



ภาพที่ 4.5 ความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาลเนส และเวลาในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

เมื่อวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุเพื่อหาสมการพยากรณ์ของปริมาณน้ำตาลไซโลส ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาลเนส และเวลาในการย่อยต่างๆ สามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

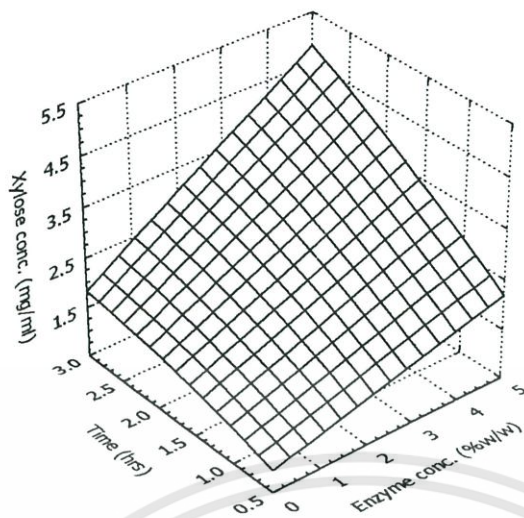
$$z = 0.640 + 0.177x + 0.651y + 0.142xy - 0.085y^2 \quad ; \quad r^2 = 0.931$$

เมื่อ x = ความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาลเนส

y = เวลาในการย่อย

z = ปริมาณน้ำตาลไซโลส

จากสมการทำนายสามารถนำเสนอผลในรูปของกราฟความสัมพันธ์แบบ 3 มิติ ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาลเนส และเวลาในการย่อยต่อค่าปริมาณน้ำตาลไซโลส เมื่อทำการย่อยที่ค่าพีเอช 6 ควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 50 องศาเซลเซียส และอัตราส่วนระหว่างรำข้าวสาคัดไขมันแล้วต่อน้ำเท่ากับ 1: 10 (ดังภาพที่ 4.6) และเมื่อพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรพบว่า เวลาในการย่อยยกกำลังหนึ่งเป็นตัวแปรที่มีความสำคัญมากที่สุด สมการดังกล่าวมีค่า r^2 สูงถึง 0.931 จึงสามารถใช้ในการทำนายผลได้อย่างมีประสิทธิภาพ



ภาพที่ 4.6 ความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์ไซลาเนส และเวลาในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลไซโลส



4.3.2 ศึกษาผลความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120 L type LS) และเวลาในการย่อยต่อสารละลายน้ำตาล

จากการศึกษาผลความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่ 4 ระดับ คือ 0.1 1 3 และ 5% (น้ำหนักต่อน้ำหนักรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว) และเวลาในการย่อย 3 ระดับคือ 30 60 และ 90 นาที แสดงผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 4.7 ในส่วนของเหลวพบว่า ส่งผลให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดโดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นน้ำตาลมาตรฐานมีค่าอยู่ในช่วง 7.33-13.86 มก./มล. ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมีค่าอยู่ในช่วง 14.21-24.97 มก./มล. โดยสภาวะที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดสูงสุด คือ ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3% เวลาในการย่อย 90 นาที และที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 5% เวลาในการย่อย 90 นาที และ ณ สภาวะดังกล่าวสารละลายน้ำตาลมีค่า DE 52.09 และ 59.95% ตามลำดับ ส่วนปริมาณโปรตีนในส่วนของเหลวพบว่า ที่ทุกระดับความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยต่าง ๆ ปริมาณโปรตีนที่พบไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และเมื่อศึกษาความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยต่อปริมาณโปรตีนในของเหลว โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ พบว่าตัวแปรทั้ง 2 ไม่มีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีน (ตารางที่ 4.8)

ในส่วนของแข็ง ปริมาณโปรตีนมีค่าอยู่ในช่วง 20.58-23.80% (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกับผลงานวิจัยของ Shih และคณะ (1999) ได้รายงานว่ารำข้าวภายหลังการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120L) มีปริมาณโปรตีน 24.8% โดยเอนไซม์จะเข้าไปย่อยส่วนที่เป็นสตาร์ช ทำให้รำข้าวมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น มีคุณค่าทางโภชนาการสามารถเป็นแหล่งของโปรตีนและใยได้ นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสในการย่อยสลายรำข้าวสาคัดไขมันแล้วโดยย่อยสลายสตาร์ช ทำให้ได้น้ำตาลในส่วนของเหลวและปริมาณโปรตีนในส่วนของแข็งสูงกว่าการใช้เอนไซม์ไซลาลินสซึ่งย่อยสลายไซลาลิน สอดคล้องกับแนวความคิดในการย่อยสลายองค์ประกอบของรำข้าวโดยเฉพาะคาร์โบไฮเดรตให้ลดลงหรือหมดไป เพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาล และหากสามารถย่อยสลายได้มาก จะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลสูง และทำให้โปรตีนในรำข้าวที่ผ่านการย่อยสลายมีส่วนสูงขึ้น

ตารางที่ 4.7 ผลการย่อยรำข้าวสาคัดไขมันแล้วที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและเวลาต่าง ๆ

ความเข้มข้น เอนไซม์ (%)	เวลาใน การย่อย (นาที)	ส่วนของเหลว			ส่วนของแข็ง		
		น้ำตาลรีดิวิซ์ (มก./มล.)	น้ำตาลทั้งหมด (มก./มล.)	ค่า DE (%)	โปรตีน (มก./มล.)	สตาร์ช (% น้ำหนักแห้ง)	โปรตีน (% น้ำหนักแห้ง)
0.1	30	7.33 ± 0.71 ^a	14.21 ± 0.60 ^a	35.77 ± 1.48 ^a	1.37 ± 0.07 ^a	3.65 ± 0.01	22.25 ± 0.89 ^{ab}
0.1	60	8.90 ± 0.12 ^{bc}	17.92 ± 1.21 ^{bc}	46.44 ± 1.14 ^b	1.47 ± 0.22 ^a	2.45 ± 0.01	21.64 ± 0.23 ^{ab}
0.1	90	9.79 ± 0.03 ^c	18.79 ± 0.26 ^{cd}	48.04 ± 0.51 ^{bc}	1.62 ± 0.14 ^a	1.22 ± 0.01	23.26 ± 0.56 ^b
1	30	7.95 ± 0.04 ^{ab}	16.18 ± 0.30 ^b	47.04 ± 0.98 ^b	1.46 ± 0.05 ^a	3.06 ± 0.87	23.26 ± 0.78 ^b
1	60	9.66 ± 0.52 ^c	18.87 ± 0.23 ^{cd}	50.20 ± 1.36 ^{bcd}	1.49 ± 0.04 ^a	1.21 ± 0.00	23.38 ± 0.47 ^b
1	90	11.45 ± 0.38 ^d	20.71 ± 0.68 ^{ef}	53.33 ± 0.33 ^d	1.41 ± 0.15 ^a	0.00 ± 0.00	23.80 ± 0.07 ^b
3	30	9.62 ± 0.68 ^c	17.44 ± 0.37 ^{bc}	46.16 ± 1.78 ^b	1.51 ± 0.07 ^a	0.00 ± 0.00	22.10 ± 2.23 ^{ab}
3	60	12.17 ± 0.40 ^{de}	20.14 ± 0.66 ^{de}	52.17 ± 0.34 ^{cd}	1.68 ± 0.16 ^a	0.00 ± 0.00	20.58 ± 0.11 ^a
3	90	13.40 ± 0.26 ^{fg}	24.66 ± 1.91 ^g	52.09 ± 4.07 ^{cd}	1.71 ± 0.40 ^a	0.00 ± 0.00	22.34 ± 1.14 ^{ab}
5	30	12.34 ± 0.46 ^{de}	21.36 ± 0.59 ^{ef}	48.24 ± 2.21 ^{bc}	1.54 ± 0.03 ^a	0.00 ± 0.00	21.94 ± 1.65 ^{ab}
5	60	12.82 ± 0.30 ^{ef}	22.09 ± 0.11 ^f	48.84 ± 4.55 ^{bcd}	1.59 ± 0.14 ^a	0.00 ± 0.00	22.15 ± 1.12 ^{ab}
5	90	13.86 ± 0.75 ^g	24.97 ± 0.28 ^g	59.95 ± 0.61 ^c	1.69 ± 0.04 ^a	0.00 ± 0.00	22.14 ± 0.50 ^{ab}

หมายเหตุ 1) ค่าที่ได้จากตารางเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ

2) ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.8 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient ; r) ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ ในการย่อยรำข้าวสาคัดไขมันแล้วด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

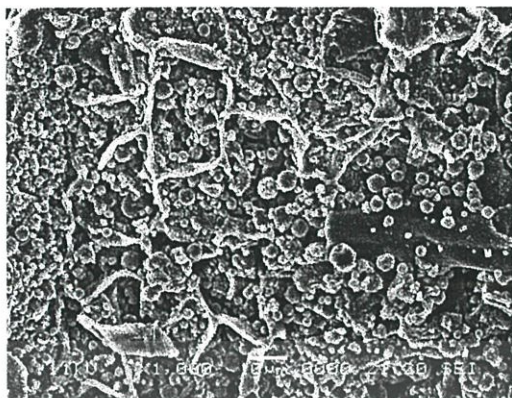
	ความเข้มข้น	เวลาในการย่อย	น้ำตาลรีดิวซ์	น้ำตาลทั้งหมด	ค่าDE	โปรตีนในส่วน ของเหลว	สตาร์ช	โปรตีนในส่วน ของแข็ง
ความเข้มข้น	1.000							
เวลาในการย่อย	0.000	1.000						
น้ำตาลรีดิวซ์	0.796**	0.544**	1.000					
น้ำตาลทั้งหมด	0.701**	0.649**	0.942**	1.000				
ค่า DE	0.531**	0.656**	0.762**	0.807**	1.000			
โปรตีนในส่วน ของเหลว	0.391	0.356	0.553**	0.585**	0.515*	1.000		
สตาร์ช	-0.742**	-0.426*	-0.849**	-0.773**	-0.675**	-0.439*	1.000	
โปรตีนในส่วน ของแข็ง	-0.272	0.181	-0.193	-0.039	-0.007	-0.075	0.118	1.000

หมายเหตุ ** ปัจจัยมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$)

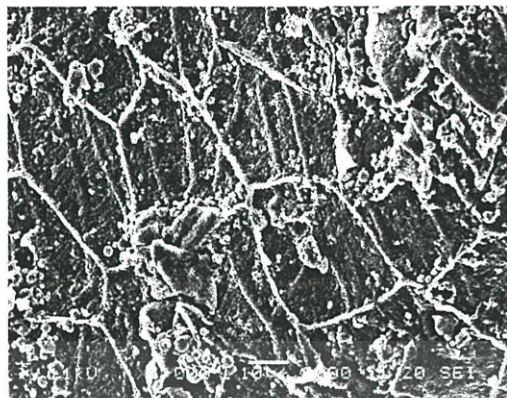
* ปัจจัยมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาถึงเวลาในการย่อยพบว่า เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการย่อย ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ น้ำตาลทั้งหมด และค่า DE มีแนวโน้มสูงขึ้น ส่วนปริมาณสตาร์ชมีแนวโน้มลดลง ดังเช่นที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ 0.1% แปรค่าเวลาในการย่อยที่ระดับ 30 60 และ 90 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซสูงขึ้น คือ 7.33 8.90 และ 9.79 มก./มล. ตามลำดับ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดสูงขึ้นคือ 14.21 17.92 และ 18.79 มก./มล. ตามลำดับ และเมื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเวลาในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ น้ำตาลทั้งหมด และค่า DE โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ พบว่าเวลาในการย่อยมีอิทธิพลในเชิงบวกต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ 54.4% มีอิทธิพลต่อน้ำตาลทั้งหมด 64.9% และมีอิทธิพลต่อค่า DE 65.6% นอกจากนี้พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซมีความสัมพันธ์กับปริมาณสตาร์ชในเชิงลบถึง 84.9% และมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่า DE 76.2% (ตารางที่ 4.8)

จากผลการวิเคราะห์พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และค่า DE มีแนวโน้มสูงขึ้น แต่ปริมาณสตาร์ชมีแนวโน้มลดลง ดังเช่นที่ เวลาในการย่อย 30 นาที เมื่อแปรค่าความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ระดับ 0.1 1 3 และ 5% ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซสูงขึ้นคือ 7.33 7.95 9.62 และ 12.34 มก./มล. ตามลำดับ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดมีแนวโน้มสูงขึ้นคือ 14.21 16.18 17.44 และ 21.36 มก./มล. ตามลำดับ และค่า DE มีแนวโน้มสูงขึ้นเช่นกันคือ 35.77 47.04 46.16 และ 48.24% ตามลำดับ ส่วนปริมาณสตาร์ชลดลงคือ 3.65 3.06 0.00 และ 0.00% ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสทำหน้าที่ในการย่อยสลายพันธะ α -1,4-ไกลโคซิดิก (α -1,4-glycosidic) ของสตาร์ช ในลักษณะตัดภายในสายโพลีเมอร์ (ปราณี, 2543) ทำให้สตาร์ชซึ่งเป็นองค์ประกอบของรำข้าวถูกย่อยสลายโดยแสดงออกมาในรูปของปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เพิ่มจาก 0.1 ถึง 3% ทำให้เกิดการย่อยสลายมากขึ้น แต่พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์สูงกว่า 3% ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจะเริ่มคงที่ ทั้งนี้เนื่องจากผลการวิเคราะห์พบว่า ปริมาณสตาร์ชเริ่มมีค่าเท่ากับ 0 ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 1% เวลาในการย่อย 90 นาที (ดังภาพที่ 4.7-2) ซึ่งจะเห็นว่า สตาร์ชถูกย่อยสลายไปเกือบหมด เมื่อเปรียบเทียบกับภาพโครงสร้างรำข้าวก่อนการย่อยสลาย (ภาพที่ 4.7-1) ที่มีปริมาณเม็ดสตาร์ชจำนวนมากในโครงสร้าง ดังนั้นความเข้มข้นของเอนไซม์ที่สูงเกินไป จะเป็นการสิ้นเปลือง และอาจทำให้มีกลิ่นของเอนไซม์ตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ จากผลการวิเคราะห์จึงเลือกใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3% เวลาในการย่อย 90 นาที ในกระบวนการผลิตเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลสูงสุด



(4.7-1)



(4.7-2)

ภาพที่ 4.7 โครงสร้างของรำข้าวสาคัดไขมันแล้วเปรียบเทียบกับรำข้าวสาคัดไขมันแล้วหลังการย่อยสลายด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (ถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน Scanning Electron Microscope ; SEM)

(4.7-1) รำข้าวสาคัดไขมันแล้วเริ่มต้น (x 1000 เท่า)

(4.7-2) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 1% เวลาในการย่อย 90 นาที (x 1000 เท่า)

การวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุ (multiple regression analysis) และกราฟความสัมพันธ์แบบ 3 มิติ (3D surface plot)

เมื่อวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุเพื่อหาสมการพยากรณ์ของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่าง ๆ สามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

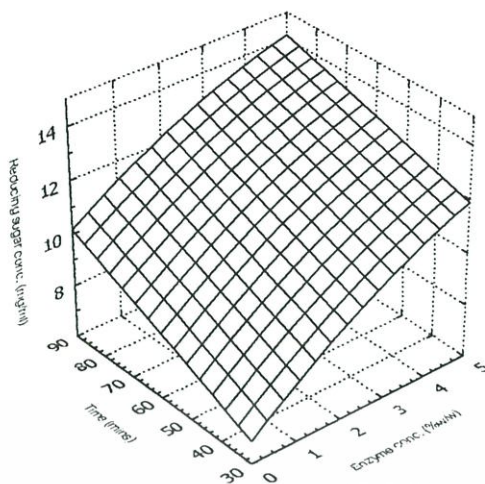
$$z = 5.228 + 1.507x + 0.055y - 0.003xy - 0.08x^2 ; r^2 = 0.948$$

เมื่อ x = ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

y = เวลาในการย่อย

z = ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

จากสมการทำนายสามารถนำเสนอผลในรูปของกราฟความสัมพันธ์แบบ 3 มิติ ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่อค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เมื่อทำการย่อยที่ค่าพีเอช 6 · ควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 75 องศาเซลเซียส และอัตราส่วนระหว่างรำข้าวสาคัดไขมันแล้วต่อน้ำเท่ากับ 1: 10 (ดังภาพที่ 4.8)

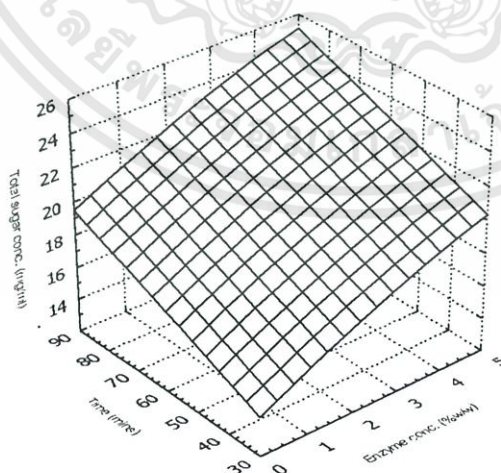


ภาพที่ 4.8 ความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้นของแอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

เมื่อวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุเพื่อหาสมการพยากรณ์ของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่าง ๆ สามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$z = 11.840 + 1.577x + 0.085y - 0.001xy - 0.073x^2 ; r^2 = 0.909$$

เมื่อ x = ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส
 y = เวลาในการย่อย
 z = ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด



ภาพที่ 4.9 ความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้นของแอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการทำนายสามารถนำเสนอผลในรูปของกราฟความสัมพันธ์แบบ 3 มิติ ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่อค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมด เมื่อทำการย่อยที่ค่าพีเอช 6 ควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 75 องศาเซลเซียส และอัตราส่วนระหว่างรำข้าวสาคัดไขมันแล้วต่อน้ำเท่ากับ 1: 10 (ดังภาพที่ 4.9)

และเมื่อวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุเพื่อหาสมการพยากรณ์ของค่า DE ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่างๆ สามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

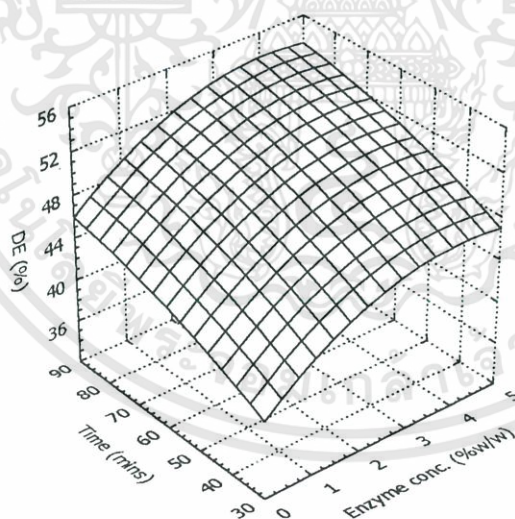
$$z = 33.411 + 3.791x + 0.229y - 0.459x^2 - 0.001y^2 ; r^2 = 0.620$$

เมื่อ x = ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

y = เวลาในการย่อย

z = ค่า DE

จากสมการทำนายสามารถนำเสนอผลในรูปของกราฟความสัมพันธ์แบบ 3 มิติ ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่อค่า DE เมื่อทำการย่อยที่ค่าพีเอช 6 ควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 75 องศาเซลเซียส และอัตราส่วนระหว่างรำข้าวสาคัดไขมันแล้วต่อน้ำเท่ากับ 1: 10 (ดังภาพที่ 4.10)



ภาพที่ 4.10 ความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้นของแอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่อค่า DE

เมื่อวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุเพื่อหาสมการพยากรณ์ของปริมาณสตาร์ช ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่าง ๆ สามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

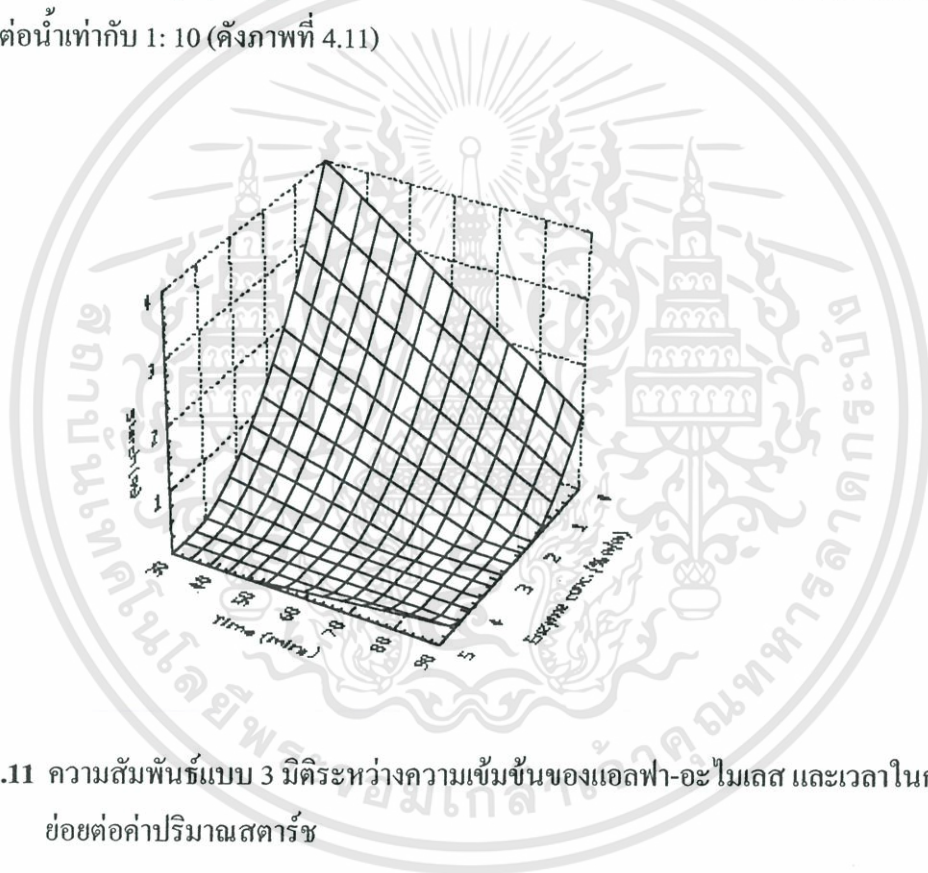
$$z = 5.417 - 2.004x - 0.047y + 0.011xy + 0.169x^2 \quad ; \quad r^2 = 0.924$$

เมื่อ x = ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

y = เวลาในการย่อย

z = ปริมาณสตาร์ช

จากสมการทำนายสามารถนำเสนอผลในรูปของกราฟความสัมพันธ์แบบ 3 มิติ ระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่อค่าปริมาณสตาร์ช เมื่อทำการย่อยที่ค่าพีเอช 6 ควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 75 องศาเซลเซียส และอัตราส่วนระหว่างรำข้าวสาคัดใจมันแล้วต่อน้ำเท่ากับ 1: 10 (ดังภาพที่ 4.11)



ภาพที่ 4.11 ความสัมพันธ์แบบ 3 มิติระหว่างความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยต่อค่าปริมาณสตาร์ช

จากผลการศึกษารวบรวมองค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ 1% เวลาในการย่อย 90 นาที ซึ่งเป็นสภาวะที่สับสเตรทคือ สตาร์ชเริ่มมีค่าเท่ากับ 0 เปรียบเทียบกับสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโดยพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลเป็นหลักคือ ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ 3% เวลาในการย่อย 90 นาที แสดงผลดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส วิเคราะห์โดยวิธี HPLC

	%Total sugar							High molecular weight
	DP1	DP2	DP3	DP4	DP5	DP6	DP7	
1% 90 นาที	8.3	10.8	13.1	6.6	19.0	0.3	0.2	41.8
3% 90 นาที	12.8	21.3	14.8	6.1	16.5	0.2	0.2	27.9

หมายเหตุ DP = Degree of polymerization

จากตารางที่ 4.9 พบว่าที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3% เวลาในการย่อย 90 นาที สารละลายน้ำตาลที่ได้ประกอบด้วยน้ำตาล DP 1 และ 2 ปริมาณสูงกว่าที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 1% เวลาในการย่อย 90 นาที ส่วนปริมาณน้ำตาล DP 3 4 5 6 และ 7 ของทั้งสองสภาวะมีค่าใกล้เคียงกัน และจากผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลสูง (high molecular weight) พบว่าที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3% เวลาในการย่อย 90 นาที สารละลายน้ำตาลที่ได้ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลสูงปริมาณน้อยกว่าที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 1% เวลาในการย่อย 90 นาที เนื่องจากที่สภาวะความเข้มข้นของสับสเตรทจำกัด เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสเพิ่มสูงขึ้น ทำให้มีการย่อยสลายพันธะ α 1-4 ภายในสายโพลีเมอร์มากขึ้น เกิดเป็นน้ำตาลโมเลกุลต่ำ (DP 1-7) ได้มาก

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์ไซแลนสและแอลฟา-อะไมเลส โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โดยมีรำข้าวสกัดไขมันแล้วเป็นสับสเตรท ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยที่ระดับต่าง ๆ ต่อสมบัติของสารละลายน้ำตาล ด้วยวิธีวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณโปรตีน ตลอดจนศึกษาองค์ประกอบของน้ำตาลในสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูงโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสที่คัดเลือกแล้ว ด้วยวิธี HPLC พบว่า

1. สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ไซแลนส โดยมีรำข้าวสกัดไขมันแล้วเป็นสับสเตรท คือ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พีเอช 6 และสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส คือ อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส พีเอช 6

2. ความเข้มข้นของเอนไซม์ไซแลนส และเวลาในการย่อยที่ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดสูงสุด คือ ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3% เวลาในการย่อย 3 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 5% เวลาในการย่อย 2 และ 3 ชั่วโมง โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ส่วนสภาวะที่ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลไซโลสสูงสุด คือ ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 5% เวลาในการย่อย 2 และ 3 ชั่วโมง โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ดังนั้น ความเข้มข้นของเอนไซม์ไซแลนส และเวลาที่เหมาะสมในกระบวนการผลิต คือ ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 5% เวลาในการย่อย 2 ชั่วโมง สารละลายน้ำตาลที่ได้มีค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลไซโลสสูงสุด คือ 13.12 6.51 และ 4.43 มก./มล. ตามลำดับ นอกจากนี้ที่สภาวะดังกล่าว ในส่วนของแข็ง (รำข้าวโปรตีนสูง) ประกอบด้วยโปรตีน 21.24% (น้ำหนักแห้ง) เยื่อใย 15.86% (น้ำหนักแห้ง)

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยมีอิทธิพลต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลไซโลส นอกจากนี้ทั้งปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลไซโลสมีความสัมพันธ์กันอย่างสูงเมื่อพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

3. ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเวลาในการย่อยที่ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด คือ ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3% และ 5% เวลาในการย่อย 90 นาที โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิต คือ ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 3% เวลาในการย่อย 90 นาที โดยที่สภาวะดังกล่าวสารละลายน้ำตาลที่ได้มีค่า DE 52.09% และเมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำตาลด้วยวิธี

HPLC พบว่า ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลต่ำ DP1 และ 2 สูงถึง 12.8 และ 21.3% ของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ตามลำดับ และน้ำตาลโมเลกุลสูง (high molecular weight) 27.9% ของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด นอกจากนี้ในส่วนของแฉ่ง (รำข้าวโปรตีนสูง) ยังประกอบด้วยโปรตีน 22.34% (น้ำหนักแห้ง)

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ โดยพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์และเวลาในการย่อยมีอิทธิพลต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ เช่นเดียวกับการใช้เอนไซม์ไซลเนส นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์มีความสัมพันธ์ในเชิงลบกับปริมาณสตาร์ชถึง 84.9% และ 77.3% ตามลำดับ



ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาสารละลายน้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตรำข้าวโปรตีนสูง ในกรณีที่ใช้ เอนไซม์ไซลาลเนสในการย่อยสลายรำข้าวสกัดไขมันแล้ว ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (crude fiber) เพื่อเป็นการแสดงผลการย่อยสลายที่ชัดเจน แต่พบว่าปริมาณเยื่อใยมิได้ลดลง ทั้งนี้เนื่องจาก เอนไซม์ไซลาลเนสทำหน้าที่ในการย่อยสลายไซลาลินซึ่งเป็นองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลส โดยจัดเป็นส่วนหนึ่งของเส้นใยอาหาร (dietary fiber) ดังนั้นหากต้องการศึกษาถึงผลการทำงานของ เอนไซม์ไซลาลเนสอย่างชัดเจนควรวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยอาหาร นอกจากนี้ค่าปริมาณเส้นใยยังสามารถเป็นอีกค่าหนึ่งที่แสดงผลในส่วนของแข็ง โดยบอกถึงคุณค่าทางโภชนาการนอกจากปริมาณ โปรตีน หรืออาจทำวิเคราะห์ปริมาณไซลาลินซึ่งเป็นสับสเตรทของเอนไซม์ไซลาลเนสโดยตรง



บรรณานุกรม

- กล้าณรงค์ ศรีรอด. 2543. การใช้ประโยชน์จากปลายข้าวหอมมะลิเพื่อผลิตกลูโคสซีรัปและแป้งโปรตีนสูง. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกูด ปิยะจอมขวัญ. 2543. เทคโนโลยีของแป้ง. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ปราณี วราสวัสดิ์. 2534. เทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ธัญพืช. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- ปราณี อานปรืออง. 2543. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- รุ่งนภา ประดิษฐ์พงษ์. 2539. การผลิตมอดโทเคซท์รินจากแป้งข้าวโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส เพื่อใช้รักษากลิ่นหอมของข้าวสาร. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วุฒิชัย นาครักษา. 2535. เทคโนโลยีธัญพืช. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สิริภักดิ์ สระตันดี. 2540. ปฏิบัติการชีวเคมีเบื้องต้น. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม. 2524. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกลูโคสซีรัป. กรุงเทพฯ : กระทรวงอุตสาหกรรม
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2541. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปีการเพาะปลูก 2541/2542. กรุงเทพฯ : กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- Association of Official Analytical Chemists(AOAC). 1995. **Office Method of Analysis**. 16th ed. Virginia : The Association of official agricultural chemists.
- Asp, N.G. 1987. **Definition and Analysis of Dietary Fiber**. Norwegian University Press.
- Biely, P. 1985. Microbial xylanolytic system. **Trend Biotechnol.** 11(3) : 286-290.
- Brooks, J.R. and Griffin, V.K. 1987. Liquefaction of rice starch from milled rice flour using heat-stable alpha-amylase. **J. Food Sci.** 52(3) : 712-714.
- Candace, H.H. and Paul, J.W. 1991. **Biosynthesis and Biodegradation of Cellulose**. New York : Marcel Dekker.
- Chaplin, M.F. and Kennedy, J.F. 1986. **Carbohydrate Analysis a Practical Approach**. Washington DC : IRL Press.

- Chen, W.P. and Chang, Y.C. 1984. Production of high-fructose rice syrup and high-protein rice flour from broken rice. **J. Sci. Food Agric.** 35 : 1128-1135.
- Christov, L.P. and Prior, B.A. 1993. Xylan removal from dissolving pulp using enzymes of *Aureobasidium pullulans*. **Biotechnol. Lett.** 7 : 463-466.
- Clarke, R.T.J., Bailey, R.W. and Gaillard, B.D.E. 1969. Growth of rumen bacteria on plant cell wall polysaccharide. **J. Gen. Microbiol.** 56 : 79-86.
- Connor, M.A., Saunders, R.M. and Kohler, G.O. 1976. Rice bran protein concentrates obtained by wet alkaline extraction. **Cereal Chem.** 53 : 488.
- Dekker, R.F.H. 1983. Bioconversion of hemicellulose : Aspects of hemicellulose production by *Trichoderma ressi* QM 9414 and enzymic saccharification of hemicellulose. **Biotech. Bioeng.** 25 : 1127-1146.
- Deschamps, F. and Huet, M.C. 1985. Xylan production in solid-state fermentation : A study of its properties. **Appl. Microbial. Biotechnol.** 22 : 177-180.
- Dorp, M.V. 1994. Carbohydrates as fat replacers in ice-cream. **Confect. Prod.** 60(2) : 122, 124, 159.
- Douglas, M.C. and Glenn, D.C. 1982. **Foods and Food Production Encyclopedia.** Van Nostrand Reinhold : Berkshire.
- Dziedzic, S.Z. and Kearsley, M.W. 1984. **Glucose Syrup : Science and Technology.** New York : Elsevier Science.
- Eliasson, A.C. 1996. **Carbohydrates in Food.** New York : Marcel Dekker.
- Emodi, A. 1978. Xylitol : Its properties and food application. **Food Technol.** 32 : 28-31.
- Enari, T.M. 1983. **Microbial Cellulases.** New York : Applied Science.
- Ericksson, K.E.L., Blanchette, R.A. and Ander, P. 1990. **Microbial and Enzymatic Degradation of Wood and Wood Components.** Ozach GmbH : Berlin.
- Fogarty, W.M. 1983. **Microbial Enzymes and Biotechnology.** London : Applied science publishers.
- Fred, W.S. and Rononald, E.H. 1992. **Starch Hydrolysis Products : Worldwide Technology , Production and Application.** New York : VCH Publisher.
- Gaillard, B.D.F., Bailey, R.W. and Clarke, R.T.J. 1975. The action of rumen bacterial hemicellulase on pasture plant hemicellulose fraction. **J. Agric. Sci.** 64 : 449-454.
- Gascoigne, J.A. 1960. The xylanase of *Fusarium roseum*. **J. Gen. Microbiol.** 22 : 242-248.

- Godfrey, T. 1983. **Edible Oils in Industrial Enzymology : The Application of Enzyme in Industry.** New York : The Nature Press.
- Goksory, J. and Eriksen, J. 1980. **Cellulase : Microbial Enzyme and Bioconversions.** New York : academic Press.
- Goodwin, T.W. and Mercer, E.I. 1972. **Introduction of Plant Biochemistry.** 1st ed. New York : Pergamon.
- Griffin, V.K. and Brooks, J.R. 1989. Production and size distribution of rice maltodextrins hydrolyzed from milled rice flour using heat-stable alpha-amylase. **J. Food Sci.** 54(1) : 190-193.
- Hernandez, N., Rodriguez-Alegria, M.E., Gonzalez, F. and Lopez-Munguia, A. 2000. Enzymatic Treatment of Rice Bran to Improve Processing. **J. Amer Oil Chem. Soc.** 77 (2) : 177-180.
- Iwamoto, T., Sasaki, T. and Inaoka, M. 1973. Hemicellulose : Their occurrence purification properties and mode of action. **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.** 32 : 277-352.
- Jacobus, M., Bernard, A.P. and Stephanus, G.K. 1991. The temperatures and pH properties of the extracellular hemicellulose-degrading enzyme of *Aureobasidium pullulans* NRRL Y 2311-1. **Process Biochem.** 26 : 343-348.
- John, M., Schmidt, B. and Schmidt, J. 1979. Purification and some properties of five endo-1,4-beta-D-xylanase and a beta-D-xylosidase produced by a strain of *Aspergillus niger*. **J. Biochem.** 57 : 125-134.
- Jose, L.C., Kim, Y.G. and Paul, B. 1993. Production and initial characterization of the xylan-degrading system of *Phanerochate chrysosporium*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 40 : 69-76.
- Kennedy, J.F. 1987. **Biotechnology Vol 7a.** Germany : VHC Publishers.
- Kennedy, J.F., Noy, R.J., Stead, J. and White, C.A. 1985. Oligosaccharide component composition and storage properties of commercial low DE maltodextrins and their further modification by enzymatic treatment. **Starch/staerke.** 37 : 343.
- Kluepfel, D., Shareck, F., Mondou, F. and Morosoli, R. 1986. Characterization of cellulose and xylanase activities of *Streptomyces lividens*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 40 : 69-76.
- Komolprasert, V. and Ofoli, R.Y. 1991. Starch hydrolysis kinetics of *Bacillus licheniformis* α -amylase. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** 51 : 209-223.

- Kusakabe, L., Yasui, T., and Kobayashi, T. 1966. Some properties of extracellular xylanase from *Streptomyces*. **Agr. Biol. Chem.** 29 : 520-524.
- Kusakabe, L., Yasui, T., and Kobayashi, T. 1977. The action of the *Streptomyces* xylanase on various xylans and xylooligosaccharides (Studies on xylanase system of *Streptomyces* Part VIII). **J. Agric. Chem. Soc. Japan.** 51(7) : 439-448.
- Leather, T.D. and Gupta, S.C. 1997. Xylitol and riboflavin accumulation in xylose grown culture of *Pichia guilliermondii*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 47 : 58-61.
- Magee, R.J. and Kosaric, N. 1985. Bioconversion of hemicellulosic. **Adv. Biochem. Bioeng.** 32 : 64-93.
- Marinez, D.V.G., Ogawa, T., Shinmyo, A. and Enatsu, T. 1974. Hydrolytic degradation of bagasses by enzyme produce by *Penicillin variable*. **J. Ferment. Technol.(Japan).** 52 : 378-387.
- McCarthy, A.J., Peace, E. and Broda, P. 1985. Studies on the extracellular xylanase activity of some thermophilic actinomycetes. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 21 : 238-244.
- Michell, R.C., Michell, P.R. and Michell, W.A. **Rice syrup sweetener production.** US. Patent no. 4756912 , 1988.
- Nakajima, T., Tsukamoto, K., Watanabe, T., Kainuma, K. and Matsuda, K. 1984. Purification and some properties of an endo-1,4- β -D-xylanase from *Streptomyces* sp. **J. Ferment. Technol.** 62(3) : 269-276.
- Nakanishi, K., Yasui, T. and Kobayashi, T. 1976. A preliminary experiment on the xylanase production by *Streptomyces* sp. **J. Ferment. Technol.** 54 : 801-807.
- Oates, C.G. 1997. Towards and understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trend Food Sci. Technol.** 8 : 375-382.
- Orapin, B. and Prasert, A. 1992. Production of Rice and Cassava Maltodextrins by Using α -amylase. **Kasetsart J., Natural Sci.** 26(2) : 164-172.
- Paice, M.G., Jurask, L., Carpenter, M.R. and Smillie, L.H. 1978. Production , characterization and partial amino acid sequence of xylanase from *Schizophyllum commune*. **Appl. Environ. Microbiol.** 36 : 802-808.
- Peterson, M.J. and Johnson, A.H. 1978. **Encyclopedia of Food Science.** The Avi Publishing company : Westport.

- Prakash, J. 1996. Rice bran proteins : properties and food uses. **CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** 36(6) : 537-552.
- Puls, J. and Pouranen, K. 1989. **Mechanism of Enzyme Activities Involved.** New York : Wiley & Sons Inc.
- Rapaille, A. 1991. Maltodextrin as partial fat replacement in food products. **Food Ing. Asia : conference proceeding.** 68-71.
- Rapp, P. and Wagner, F. 1986. Production and properties of xylan-degrading enzymes from *cellulomonas uda*. **Appl. Environ. Microbiol.** 51(4) : 746-752.
- Ratto, M., Mathrani, I.M., Ahring, B. and Viikari, L. 1994. Application of thermostable xylanase of *Dictyoglomus* sp. in enzymatic treatment of kraft pulps. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 41 : 130-133.
- Regalski, J., Szezodark, J., Dawidowicz, A., Ikezuk, Z. and Leonowise, A. 1985. **Enzyme Microb. Teghnol.** 7 : 395-400.
- Reilly, P.J. 1985. **Starch Conversion Technology.** New York : Marcel dekker.
- Roland, A.M., Phillips, L.G. and Boor, K.J. 1999. Effects of fat replacers on the sensory properties , color , melting and hardness of ice-cream. **J. Dairy Sci.** 82(10) : 2094-2100.
- Saddle, J.N., Yu, E.K.C., Mes-Hartree, M., Levitin, N. and Brown, H.H. 1983. Utilization of enzymatically hydrolyzed wood hemicelluloses by microorganisms for product of liquid fuels. **Appl. Environ. Microbiol.** 45(1) : 153-160.
- Samuel, A.M. 1991. **The Chemical and Technology of Cereals as Food and Feed.** 2nd ed. New York : Van Nostrand Reinhold.
- Saunders, R.M. 1990. The properties of rice bran as a foodstuff. **Cereal Foods World.** 35(7) : 632-636.
- Schenck, F.W. 1996. Solid starch hydrolysates. **Cereal Foods World.** 45(5) : 388-390.
- Shaw, J.F. 1994. **Production of high-maltose syrup and high-protein byproduct from materials that contain starch and protein by enzymatic process.** U.S patent no. 5312739, May 1994.
- Shaw, J.F. and Sheu, J.R. 1992. Production of high-maltose syrup and high-protein flour from rice by an enzymatic method. **Biosci. Biotech. & Biochem.** 56(7) : 1071-1073.
- Shi, J.T. and Liu, H.W. 1996. Techniques for producing concentrated maltose syrup using fungamyl. **Food Sci Technol.** 6 : 19-20.

- Shih, F.F. and Daigle, K. 1997. Use of enzymes for the separation of protein from rice flour. **Cereal Chem.** 74(4) : 437-441.
- Shih, F.F., Champagne, E.T., Daigle, K. and Zarins, Z. 1999. Use of enzymes in the processing of protein products from rice bran and rice flour. **Nahrung.** 43(1) : 14-18.
- Southgate, D.A.T. 1981. What is 'dietary fiber' ? **Food Technol. Aust.** 33 : 24-25.
- Strobel, G.A. 1963. A xylanase system produced by *Diplodia viticola*. **Phytopathol.** 53 : 592-596.
- Sukoncheun, S. 1994. Comparison of enzymatic hydrolyses of 4 kinds of starch. **Kasetsart J., Natural Sci.** 28(2) : 264-272.
- Toh Suan, E.E. 1978. **Xylanase Production by Xylan Utilizing Microorganisms.** International Post-Graduate University Course in Microbiology. Osaka University.
- Trowell, H. 1976. Definition of dietary fiber and hypotheses that it is a protective factor in certain diseases. **Ameri. J. Clin. Nutr.** 29 : 417-427.
- Van Beynum, G.M.A. and Roels, J.A. 1985. **Starch Conversion Technology.** New York : Marcel Dekker.
- Verwaerde, F. and Sicard, P.J. 1984. **Glucose Syrup : Science and Technology.** London : Elsevier Applied Science.
- Walch, E., Zemmann, A., Schinner, F., Bonn, G. and Bobleter, O. 1992. Enzymatic saccharification of hemicellulose obtained from hydrothermally pretreated sugar cane bagasse and beech bark. **Biotechnol.** 39 : 173-177.
- Wang, M., Hettiarachchy, N.S., Burks, M.Qi.W., and Siebenmorgen, T. 1999. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate **J. Agric. Food Chem.** 47 : 411-416.
- Wataru, O., Teruhiko, A., Koki, H., and Ryoich, A. 1984. Production and properties of two types of xylanases from alkalophilic thermophilic *Bacillus* sp. **Appl. Microbiol. Biotech.** 19 : 335-340.
- Wayne, E.M., and James, I.W. 1994. **Rice Science and Technology.** New York : Marcel Dekker.
- Whister, R.L and Masak, E. 1955. Enzymatic hydrolysis of xylan. **J. Anim. Chem. Soc.** 77 : 1241-1243.
- Whister, R.L. and Smart, C.L. 1953. **Polysaccharide Chemistry.** New York : Academic Press.

- Whitaker, J.R. 1972. **Principles of Enzymology for The Food Sciences**. New York : Marcel Dekker.
- Wong, K.K.Y. and Saddler, J.N. 1991. **Trichoderma Xylanases, Their Properties and Application**. Netherland : Elsevier Science.
- Wong, K.K.Y., Tan, L.U.L., and Saddler, J.N. 1988. Multiplicity of beta-1,4-xylanase in microorganisms : functions and applications. **Microbiol. Rev.** 52(3) : 305-317.
- Wong, W.S.D. 1995. **Food Enzymes Structure and Mechanism**. New York : Chapman & Hall.
- Xu-Yue. 1997. Studies on the production of high maltose syrup. **Asian Food J.** 12(1) : 15-20.
- Yamanobe, T., Mitsuishi, Y. and Takasaki, Y. **Method for production of cellulolytic enzymes and method for saccharification of cellulosic materials therewith**. US. Patent no 4956291, 1990
- Yankov, D., Dobreva, E., Beschkov, V., and Emanuilova, E. 1986. Study of optimum conditions and kinetics of starch hydrolysis by means of thermostable α -amylase. **Enzyme Microb. Technol.** 8(11) : 665-667.
- Youssef, A.M., El-Fouly, M.M. and El-Baz, F.K. 1974. Isolation and chemical composition of protein concentrates from soyabean, rice bran, and protelan. **Plant Food Hum. Nutr.** 27,71.

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ห้องค์ประกอบทางเคมี และการกระจายตัวของอนุภาค

1. การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (Moisture content) (AOAC, 1995)

1.1 อุปกรณ์

- 1.1.1 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- 1.1.2 ถ้วยอลูมิเนียม (aluminium can)
- 1.1.3 โถดูดความชื้น (desiccator)
- 1.1.4 เครื่องชั่งอย่างละเอียด (analytical balance)

1.2 วิธีวิเคราะห์

- 1.2.1 อบถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาที่อุณหภูมิ 130 ± 3 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง
- 1.2.2 นำใส่โถดูดความชื้นทิ้งให้เย็น 30 นาที
- 1.2.3 ชั่งน้ำหนักถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาที่ผ่านการอบแห้งมาก่อน เพื่อให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน
- 1.2.4 ชั่งตัวอย่างใส่ถ้วยอลูมิเนียมประมาณ 2 กรัม ปิดฝาแล้วนำไปชั่งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน
- 1.2.5 นำไปอบในตู้อบโดยเปิดฝาด้วยอลูมิเนียมที่อุณหภูมิ 130 ± 3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- 1.2.6 เมื่อครบกำหนดเวลาที่อบ ปิดฝาด้วยอลูมิเนียมนำมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้นก่อนนำมาชั่งน้ำหนัก
- 1.2.7 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างแน่นอนที่ผ่านการอบแล้วพร้อมทั้งถ้วยอลูมิเนียมและฝา
- 1.2.8 นำไปอบและชั่งน้ำหนักซ้ำอีก 2 ครั้งเพื่อให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างและภาชนะหลังอบ} - \text{น้ำหนักภาชนะบรรจุ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

2. การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (Ash content) (AOAC, 1995)

2.1 อุปกรณ์

- 2.1.1 ครุชิวเบิล (crucible)
- 2.1.2 เตาเผา (muffle furnace)
- 2.1.3 โถดูดความชื้น (desiccator)
- 2.1.4 เครื่องชั่งอย่างละเอียด (analytical balance)

2.2 วิธีวิเคราะห์

- 2.2.1 อบครุชิวเบิลที่อุณหภูมิ 130 ± 3 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง นำใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น 30 นาที ชั่งน้ำหนักเพื่อให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน
- 2.2.2 ชั่งตัวอย่างใส่ในครุชิวเบิลประมาณ 3 – 5 กรัม นำไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
- 2.2.3 นำไปใส่เผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนกว่าจะได้เถ้าสีเทาอ่อน หรือจนได้น้ำหนักแน่นอน ชั่งน้ำหนักหลังเผา

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

3. การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (Fat content) (AOAC, 1995)

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

- 3.1.1 เครื่องสกัดไขมัน (Soxhlet automatic extraction unit)
- 3.1.2 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- 3.1.3 โถดูดความชื้น (desiccator)
- 3.1.4 เครื่องชั่งอย่างละเอียด (analytical balance)
- 3.1.5 ทิมเบิล (thimble)
- 3.1.6 ปีกเกอร์ไขมัน
- 3.1.7 ปีโตรเลียมอีเธอร์

3.2 วิธีวิเคราะห์

- 3.2.1 เตรียมเครื่องสกัดไขมัน โดยตั้งอุณหภูมิของ Bath liquids ให้อยู่ในช่วง 150 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิถึง 150 องศาเซลเซียส เปิดปั๊มที่ใช้ในการดูดส่ง Bath liquids และเปิดน้ำหล่อเย็น (cooling) ให้ไหลผ่านเข้าเครื่องสกัดไขมัน

3.2.2 นำตัวอย่าง 3-4 กรัม อบที่อุณหภูมิ 103 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่

3.2.3 ชั่งตัวอย่างจากข้อ 3.2.2 ประมาณ 3-4 กรัม (น้ำหนักที่แน่นอน) (W_1) ห่อด้วยกระดาษกรอง ใส่ลงในทิมเบล (thimble) ปิดทิมเบลด้วยสำลี

3.2.3 นำทิมเบลเข้าเครื่องสกัดไขมัน (Soxhlet apparatus) เต็มปิโตรเลียมอีเทอร์ 25 มิลลิลิตร ลงในปีกเกอร์ไขมันที่อบแห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอน (W_2) นำปีกเกอร์ไขมันและชุดสกัดต่อเข้ากับคอนเดนเซอร์ ทำการสกัดโดยใช้เวลาประมาณ 5 ชั่วโมง

3.2.4 นำปีกเกอร์ไขมันไประเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ปล่อยให้เย็นในโถสุญญากาศ จากนั้นชั่งน้ำหนัก (W_3)

$$\text{ปริมาณไขมัน(\%)} = \frac{(W_3 - W_2)}{W_1} \times 100$$

หมายเหตุ

W_1 = น้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอน (กรัม)

W_2 = น้ำหนักปีกเกอร์ไขมันที่แน่นอน (กรัม)

W_3 = น้ำหนักปีกเกอร์ไขมันและไขมันที่สกัดได้ (กรัม)

4. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนแบบ Buchi - Kjeldahl system (AOAC, 1995)

4.1 อุปกรณ์และสารเคมี

4.1.1 หลอดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask)

4.1.2 เครื่องมือวิเคราะห์โปรตีน (Buchi-Kjeldahl system รุ่น B-316)

4.1.3 บิวเรต (buret)

4.1.4 กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Conc. sulfuric ; H_2SO_4)

4.1.5 กรดบอริก (2% Boric acid)

4.1.6 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (32% Sodium hydroxide ; NaOH)

4.1.7 กรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มัล

4.1.8 คตะลิสต์ (catalyst) เตรียมโดยผสมคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) และ

โพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) อัตราส่วน 8 : 1

4.1.9 อินดิเคเตอร์ผสม (Mixed indicator)

ก. เตรียม Bromocresol green ความเข้มข้น 0.1% ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95% และเตรียม Methyl red ความเข้มข้น 0.1% ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95%

ข. ผสม Bromocresol green 10 มิลลิลิตร กับ Methyl red 2 มิลลิลิตร

4.2 วิธีวิเคราะห์

4.2.1 วิธีการสำหรับการย่อยโปรตีน

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างโดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่มีไนโตรเจนมากกว่า 5% ใช้ 0.5 กรัม ส่วนตัวอย่างที่มีค่าไนโตรเจนน้อยกว่า 5 กรัม ใช้ 1.0 กรัม ใส่ลงไปในหลอดย่อย เติม Mixed catalyst 7 กรัม ใส่เม็ด glass beads ลงไป 2 – 3 เม็ด และเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (Conc. sulfuric acid ; H₂SO₄) 15 มิลลิลิตรลงไปในหลอดย่อย ทำการย่อยตัวอย่างเป็นเวลา 45 - 60 นาที หรือจนกระทั่งได้สารละลายสีเขียวใส ปล่อยให้สารละลายเย็น และหมักควันของไอกรด

4.2.2 วิธีการสำหรับกลั่นโปรตีน

นำหลอดตัวอย่างที่ผ่านการย่อยแล้วเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ไปวางที่ด้านซ้ายของเครื่องโดยมี Tube holder เป็นที่จับหลอดย่อย กดปุ่ม Power และกดปุ่ม NaOH เพื่อเติม 32% โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide ; NaOH) จำนวน 60 มิลลิลิตร ตั้งเวลาในการกลั่นประมาณ 3 – 5 นาที นำฟลาค์สที่มีกรดบอริกความเข้มข้น 2% จำนวน 60 มิลลิลิตร แล้วเติม Mixed indicator ลงไปจำนวน 2 – 3 หยด ไปวางบนแท่นที่มีท่อด้านขวามือ โดยกรดบอริกจะทำหน้าที่เป็นตัวจับก๊าซแอมโมเนีย (receiver) กดปุ่ม Start เริ่มการทำงาน จากนั้นนำไปไทเทรต (titration) กับ 0.1 N ไฮโดรคลอริก (Hydrochloric ; HCl)

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (\%)} = \frac{(\text{Normality ของ HCl})(\text{Titer ของตัวอย่าง} - \text{Titer ของ Blank})(14)(100)}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (มิลลิกรัม)}}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\%)} = 5.95 (\% \text{ ในไนโตรเจน})$$

5. การวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใย (Crude fiber content) (AOAC, 1995)

5.1 อุปกรณ์และสารเคมี

- 5.1.1 ชุดย่อยเยื่อใย (digestion apparatus)
- 5.1.2 เตาเผา (muffle furnace)
- 5.1.3 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- 5.1.4 โถดูดความชื้น (desiccator)
- 5.1.5 ครุชชีเบิด (crucible)
- 5.1.6 1.25% กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid ; H₂SO₄)
- 5.1.7 1.25 % โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide ; NaOH)
- 5.1.8 95 % แอลกอฮอล์ (Alcohol)

5.2 วิธีวิเคราะห์

5.2.1 ชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 2 กรัม (W_s) ลงในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร เติม 1.25 % กรดซัลฟูริก 200 มิลลิลิตร เติม glass beads ลงไป 2 – 3 เม็ด วางบีกเกอร์ลงบน digestion apparatus แล้ววาง condenser ทรงกลมบนบีกเกอร์ เปิดน้ำหล่อเย็นให้ไหลผ่าน ต้มสารละลายเดือดนาน 30 นาที กวนสารละลายในบีกเกอร์ เพื่อไม่ให้ตัวอย่างเกาะติดข้างบีกเกอร์

5.2.2 กรองกากด้วยผ้ากรองบน Buchner funnel ล้างกากด้วยน้ำต้มเดือดประมาณ 50 – 75 มิลลิเมตร ล้างซ้ำอีกครั้งด้วยน้ำต้มเดือดจำนวน 50 มิลลิเมตร

5.2.3 เทกากกลับไปในบีกเกอร์เติม เติม 1.25% โซเดียมไฮดรอกไซด์ จำนวน 200 มิลลิลิตร ต้มสารละลายนาน 30 นาที

5.2.4 กรองกากบนกระดาษกรอง (ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนหลังจากอบที่อุณหภูมิ 130 ± 2 องศาเซลเซียส (W_o) และล้างกากด้วย 1.25% กรดซัลฟูริกต้มเดือด 25 มิลลิลิตร ล้างซ้ำอีกครั้งด้วยน้ำต้มเดือด 50 มิลลิลิตร แล้วล้างกากด้วยแอลกอฮอล์จำนวน 25 มิลลิลิตร

5.2.5 นำกากที่ได้ใส่ลงไปในครุชชีเบิด (ทราบน้ำหนักแน่นอนหลังจากอบที่อุณหภูมิ 130 ± 2 องศาเซลเซียส (W_o)) นำไปอบที่อุณหภูมิ 130 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก (W_u)

5.2.6 นำเอาไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 ± 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หรือจนกระทั่งกากเป็นสีเทา ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก (W_d)

$$\text{ปริมาณเยื่อใย} = \frac{(W_c - W_o) - (W_d - W_u)}{W_s} \times 100$$

หมายเหตุ

- W_s = น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)
 W_a = น้ำหนักของครุชิลที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (กรัม)
 W_b = น้ำหนักของกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักแน่นอน (กรัม)
 W_c = น้ำหนักกาก กระดาษกรอง และครุชิลหลังจากอบที่อุณหภูมิ 130 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทำให้เย็นใน Desiccator (กรัม)
 W_d = น้ำหนักกากที่เหลืออยู่ในครุชิลหลังจากเผาที่อุณหภูมิ 600 ± 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หรือจนกระทั่งได้สีเทา และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น (กรัม)

6. การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต (Total carbohydrate)

$$\text{คาร์โบไฮเดรต} = 100 - (\text{ปริมาณความชื้น} + \text{ปริมาณเถ้า} + \text{ปริมาณไขมัน} + \text{ปริมาณโปรตีน} + \text{ปริมาณเยื่อ})$$

7. การกระจายตัวของอนุภาค (Size distribution)

7.1 อุปกรณ์

7.1.1 เครื่องร่อนขนาด (sieving apparatus)

7.1.2 เครื่องชั่งอย่างละเอียด (analytical balance)

7.2 วิธีวิเคราะห์

7.2.1 ชั่งน้ำหนักตะแกรงทุกขนาด จดบันทึกน้ำหนักไว้

7.2.2 ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 100 กรัม ใส่ลงในเครื่องร่อนตะแกรงชั้นบนสุด ปิดฝา และล็อกเครื่องให้แน่นพร้อมทำงาน เปิดสวิตช์เดินเครื่อง ตั้งเวลา 5 นาที และตั้งความแรงในการเขย่า 10 แอมพิจูด

7.2.3 เมื่อร่อนจนครบ 5 นาที นำตะแกรงแต่ละชั้นไปชั่งน้ำหนัก เพื่อหาน้ำหนักของตัวอย่างที่ค้างอยู่บนตะแกรง บันทึกน้ำหนักที่ได้

$$\text{การกระจายตัวของอนุภาค (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ค้างบนตะแกรง}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวิซ์ น้ำตาลไซโลส และค่าสมมูลเดกซ์โตรส

1. วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Orcinol - Sulfuric acid assay) (Chaplin and Kennedy, 1986)

1.1 อุปกรณ์และสารเคมี

- 1.1.1 หลอดทดลอง ขนาด 16 x 150 มม.
- 1.1.2 คิวเวต
- 1.1.3 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
- 1.1.4 เครื่องเขย่าหลอดทดลอง (vortex)
- 1.1.5 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
- 1.1.6 ออซินอล (Orcinol)
- 1.1.7 กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Conc. sulfuric acid)

1.2 การเตรียมสารละลาย ก.

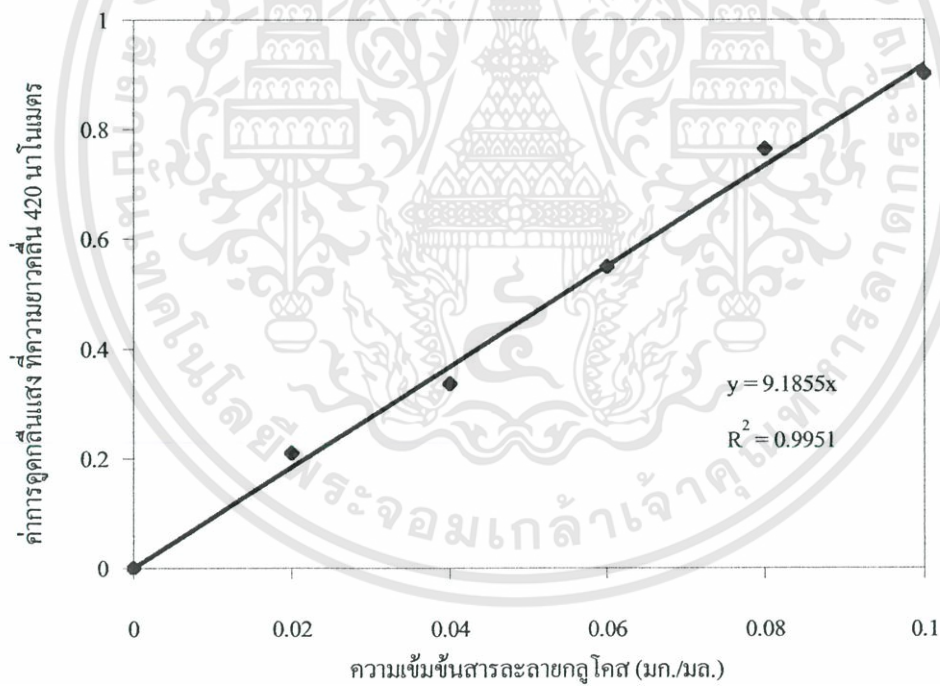
ละลายออซินอลด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 2 กรัม/ลิตร โดยเตรียมใหม่ทุกวัน หรือเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสได้ 7 วัน

1.3 วิธีวิเคราะห์

- 1.3.1 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง หรือสารละลายมาตรฐาน 0.5 มิลลิลิตร ทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
- 1.3.2 จากนั้นเติมสารละลาย ก. 0.5 มิลลิลิตร ด้วยความระมัดระวัง ผสมให้เข้ากัน
- 1.3.3 บ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วจนถึงอุณหภูมิห้อง
- 1.3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร

ตารางที่ ข1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกลูโคส ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

ความเข้มข้น (มก./มล.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0	0.0000	0.0000	0.0000
0.02	0.2073	0.2131	0.2102
0.04	0.3042	0.3682	0.3362
0.06	0.5684	0.5323	0.5504
0.08	0.7362	0.7941	0.7652
0.10	0.8574	0.9464	0.9019



ภาพที่ ข1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (Chaplin and Kennedy, 1986)

2.1 อุปกรณ์และสารเคมี

- 2.1.1 หลอดทดลอง ขนาด 16 x 150 มม.
- 2.1.2 คิวเวต
- 2.1.3 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
- 2.1.4 3,5 ไดไนโตรซาลิไซลิก (3,5 Dinitrosalicylic acid)
- 2.1.5 โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เตรต (Sodium potassium tartate)
- 2.1.6 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)

2.2 การเตรียมสารละลาย DNS

ละลาย 3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิก 0.25 กรัม และโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เตรต 75 กรัม ใน 2 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

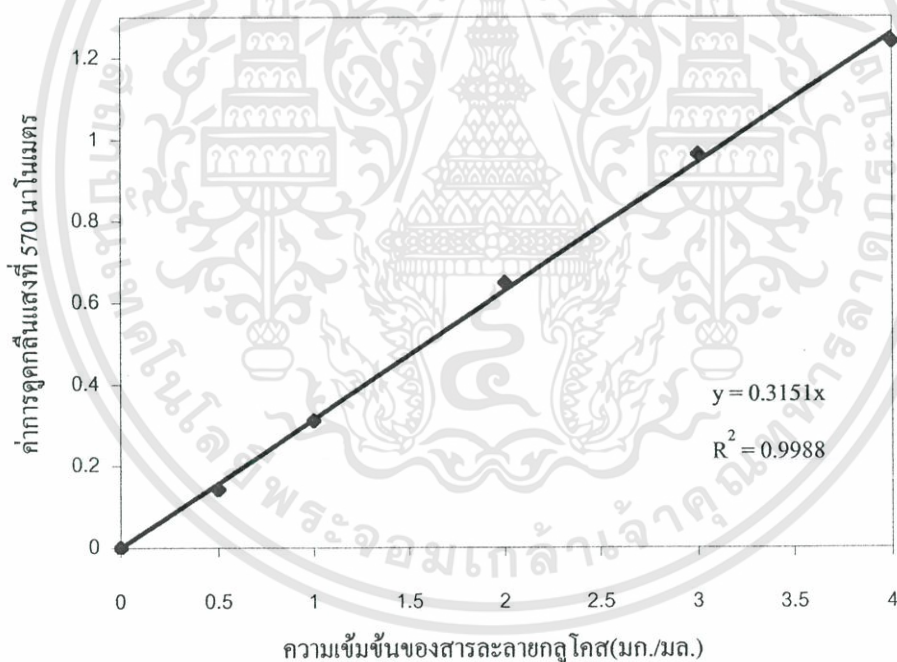
2.3 วิธีวิเคราะห์

2.3.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสหรือไซโลสความเข้มข้น 0.5-5 มก./มล. จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐาน 0.5 มล. แล้วเติมสารละลาย DNS 2 มล. ลงในหลอดทดลอง ทำการเขย่าและต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร ส่วน Blank ใช้น้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร แทนสารละลายมาตรฐานกลูโคส

2.3.2 เตรียมสารละลายตัวอย่างให้มีความเข้มข้นประมาณ 0.5 –5 มก./มล. จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่าง 0.5 มล. แล้วเติมสารละลาย DNS 2 มล. ลงในหลอดทดลอง ทำการเขย่าและต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยเทียบกราฟสารละลายมาตรฐานกลูโคสหรือน้ำตาลไซโลส

ตารางที่ ข2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกลูโคส ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์

ความเข้มข้น (มก./มล.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.5	0.1465	0.1445	0.1396	0.1435
1.0	0.3214	0.3165	0.2987	0.3122
2.0	0.6555	0.6476	0.6454	0.6495
3.0	0.9559	0.9740	0.9625	0.9641
4.0	1.2203	1.2410	1.2560	1.2391

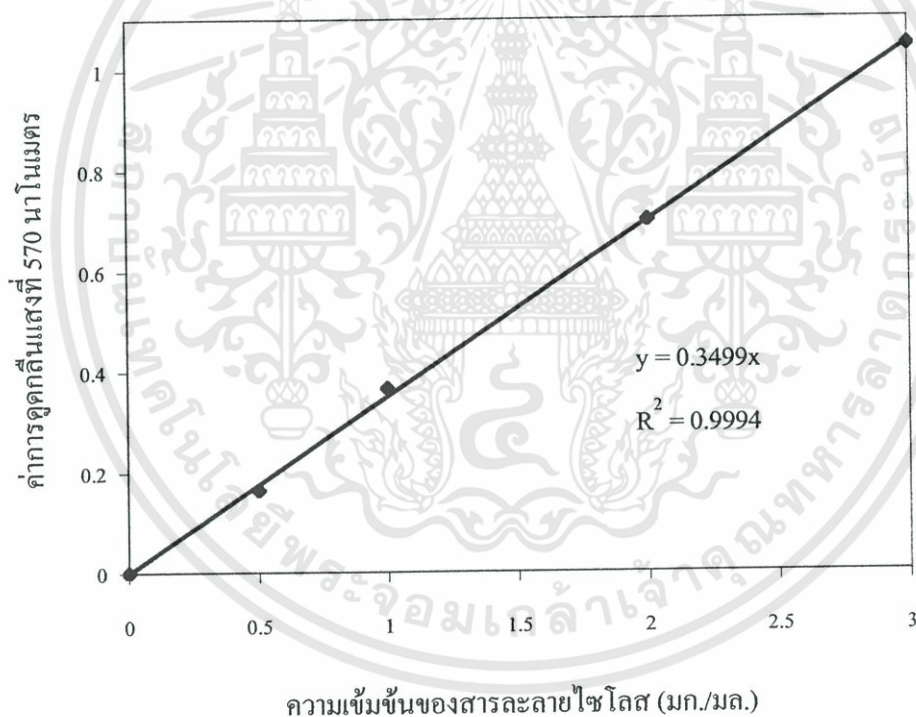


ภาพที่ ข2 กราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไซโลส ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีควิวซ์

ความเข้มข้น (มก./มล.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.5	0.1573	0.1716	0.1635	0.1641
1.0	0.3628	0.3617	0.3734	0.3660
2.0	0.6969	0.7106	0.6930	0.7002
3.0	1.1112	1.0150	1.0128	1.0460



ภาพที่ ข3 กราฟมาตรฐานของสารละลายไซโลสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีควิวซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลส (Ferric-Orcinol assay) (Chaplin and Kennedy, 1986)

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

- 3.1.1 หลอดทดลอง ขนาด 16 x 150 มม.
- 3.1.2 คิวเวต
- 3.1.3 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
- 3.1.4 เครื่องเขย่าหลอดทดลอง (vortex)
- 3.1.5 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
- 3.1.6 Trichloroacetic acid
- 3.1.7 Ferric ammonium sulfate
- 3.1.8 Orcinol
- 3.1.9 Hydrochloric acid

3.2 การเตรียมสารละลาย

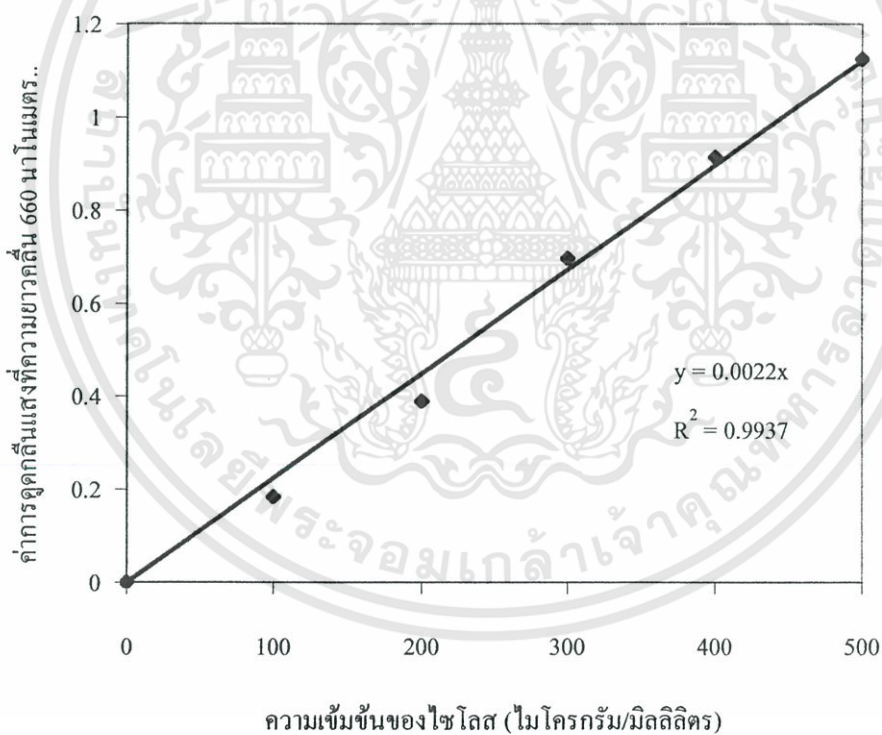
- 3.2.1 สารละลาย ก. ละลาย Trichloroacetic acid ในน้ำกลั่น (10% น้ำหนัก/ปริมาตร)
- 3.2.2 สารละลาย ข. ผสมสารละลาย Ferric ammonium sulfate (1.15% น้ำหนัก/ปริมาตร) และ Orcinol (0.2% น้ำหนัก/ปริมาตร) ใน 9.6 โมลาร์ Hydrochloric acid

3.2 วิธีวิเคราะห์

- 3.3.1 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง หรือสารละลายมาตรฐาน 0.2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง และเติมสารละลาย ก. 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
- 3.3.2 บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้องอย่างรวดเร็ว
- 3.3.3 เติมสารละลาย ข. 1.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้องอย่างรวดเร็ว
- 3.3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร

ตารางที่ ข4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไซโลส ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลส

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
100	0.1954	0.1863	0.1715	0.1844
200	0.3833	0.4175	0.3679	0.3896
300	0.6621	0.7162	0.7104	0.6962
400	0.9155	0.9137	0.9158	0.9150
500	1.0627	1.1527	1.1603	1.1252



ภาพที่ ข4 กราฟมาตรฐานของสารละลายไซโลสในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. คำสมมูลเดกซ์โตรสตามวิธีของเลนและอีย์นอน (สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม, 2524)

4.1 อุปกรณ์

- 4.1.1 ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มล.
- 4.1.2 บิวเรต
- 4.1.3 ถ้วยอลูมิเนียม (aluminium can)
- 4.1.4 โถดูดความชื้น (desiccator)
- 4.1.5 แท่งแก้วคนยาวประมาณ 5 ซม.
- 4.1.6 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- 4.1.7 เครื่องชั่งอย่างละเอียด (analytical balance)
- 4.1.8 กีเซลแก้ว (Kieselguhr)

4.2 การเตรียมสารละลาย

4.2.1 สารละลายเฟห์ลิง (Fehling's solution)

สารละลาย ก. ละลายคอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 34.64 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร

สารละลาย ข. ละลายโพแทสเซียมโซเดียมคาร์เตรทเตตระไฮเดรต ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 173 กรัม และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 50 กรัมในน้ำกลั่น แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร

ผสมสารละลาย ก. และ ข. เข้าด้วยกัน ตั้งทิ้งไว้ 1 วัน ที่อุณหภูมิห้องแล้วกรอง

4.2.2 เมทิลีนบลูอินดิเคเตอร์ (Methylene blue indicator) ละลายเมทิลีนบลู 1 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

4.3 วิธีวิเคราะห์

4.3.1 การหาค่ามาตรฐานของสารละลายเฟห์ลิง (standardization of Fehling's solution) เมื่อเตรียมสารละลายเฟห์ลิงแล้ว ให้นำมาหาค่ามาตรฐานโดยการไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานน้ำตาลเดกซ์โตรส ดังนี้

อบเดกซ์โตรสบริสุทธิ์จำนวนหนึ่งให้แห้งในตู้อบสูญญากาศ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ชั่งเดกซ์โตรสนี้มา 5.00 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วถ่ายใส่ขวดวงมาตรฐานขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน ใช้ปิเปตดูดสารละลายเฟห์ลิง 25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ คัมให้เดือดแล้วไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานน้ำตาลเดกซ์โตรส จดปริมาตรสารละลายมาตรฐานน้ำตาลเดกซ์โตรสที่ใช้ (A)

4.3.2 การเตรียมตัวอย่าง ให้ใช้ตัวอย่างในปริมาณที่เมื่อนำมาละลายน้ำแล้วจะได้สารละลายที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ประมาณ 1% ซึ่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักอย่างแน่นอน (m_0) ถ่ายใส่ขวดควมมาตรฐานขนาด 500 มิลลิลิตรโดยใช้น้ำร้อนเป็นตัวทำละลาย ทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน

4.3.3 นำสารละลายตัวอย่างใดตรงกับสารละลายเฟห์ลิง 25 มิลลิลิตร โดยตอนแรกสารละลายตัวอย่างที่ไหลลงไปในขวดรูปชมพู่จะต้องให้มีปริมาณน้อยกว่าจำนวนที่ประมาณไว้ 0.5-1.0 มิลลิลิตร และหลังจากต้มเดือด 2 นาทีแล้วจึงเติมสารละลายเมทิลินบลูลงไป 3 ถึง 4 หยด ไตเตรทต่อไปโดยใช้สารละลายตัวอย่างครั้งละ 2 – 3 หยด จนกระทั่งสีน้ำเงินของเมทิลินบลูหายไป การไตเตรทนี้ต้องเสร็จภายใน 1 นาที นับตั้งแต่เติมสารละลายเมทิลินบลู ในระหว่างไตเตรทต้องให้สารในขวดรูปชมพู่เดือดและควรเขย่าให้เข้ากันตลอดเวลา จดปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้ (V)

วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (\%)} = \frac{500 \times A}{V + m_0}$$

(คิดเป็นเดกซ์โตรส)

เมื่อ A คือ ปริมาตรสารละลายมาตรฐานน้ำตาลเดกซ์โตรสที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร) ในข้อ

4.3.1

V คือ ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร) ในข้อ 4.3.3

m_0 คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

4.3.4 ปริมาณของแข็งทั้งหมด วิเคราะห์ ซึ่งกิลเซลทัว 5 กรัม ใส่ในถ้วยอลูมิเนียม นำไปอบพร้อมฝาและแท่งแก้วคนที่อุณหภูมิ 100 ± 1 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักแน่นอน (m_1) จากนั้นชั่งตัวอย่างหนัก 2 กรัม ให้ทราบน้ำหนักแน่นอนโดยละเอียด แล้วถ่ายตัวอย่างทั้งหมดลงในถ้วยที่บรรจุกิลเซลทัวโดยใช้น้ำกลั่นที่อุ่นล้าง คนจนกระทั่งตัวอย่างและกิลเซลทัวเป็นเนื้อเดียวกัน นำถ้วยอลูมิเนียมบรรจุตัวอย่าง ฝาปิด และแท่งแก้วคนที่อุณหภูมิ 100 ± 1 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักแน่นอน (m_2)

วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด (\%)} = (m_2 - m_1) \times 100 / m_0$$

เมื่อ m_0 คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

m_1 คือ น้ำหนักถ้วยอลูมิเนียม ฝาปิด แท่งแก้วสำหรับคนและกิลเซลทัว (กรัม)

m_2 คือ น้ำหนักถ้วยอลูมิเนียม ฝาปิด แท่งแก้วสำหรับคน กิลเซลทัว และตัวอย่าง หลังจากทำให้แห้งแล้ว (กรัม)

$$4.3.5 \text{ สมมูลเดกซ์โตรส} = \frac{\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (\%)} \times 100}{\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด (\%)}}$$

ภาคผนวก ก

กิจกรรมเอนไซม์ไซลานเอส (Porzyme 9300) และแอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120L type LS)

1. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไซลานเอส (Porzyme 9300) โดยวิธีของ Finnfeeds คำจำกัดความ

1 ยูนิต คือ ปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้เกิดน้ำตาลไซโลส 1 ไมโครโมลจากสับสเตรทภายใต้สภาวะที่กำหนด

1.1 อุปกรณ์

1.1.1 หลอดทดลอง ขนาด 16 x 150 มม.

1.1.2 คิวเวต

1.1.3 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

1.1.4 เครื่องเขย่าหลอดทดลอง (vortex)

1.1.5 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

1.2 การเตรียมสารเคมี

1.2.1 ไซแลนสับสเตรท (xylan substrate) 1% (น้ำหนัก/ปริมาตร)

ชั่งไซแลน (xylan) 1 กรัม เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ 10 มิลลิลิตร กวนผสมนาน 30 นาที จากนั้นเติมโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.3 40 มิลลิลิตร ปรับพีเอชเป็น 5.3 ด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.3

1.2.2 กรดอะซิติกความเข้มข้น 1 โมลาร์

ปิเปตกรดอะซิติกเข้มข้น 5.7 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

1.2.3 โซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.3

ก. ละลายโซเดียมอะซิเตท 41 กรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

ข. ละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 5 กรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1000

มิลลิลิตร

ปรับพีเอชของสารละลาย ก. เป็นพีเอช 5.3 ด้วยสารละลาย ข.

1.2.4 สารละลาย DNS

ละลาย 3,5- Dinitrosalicylic acid 20 กรัม ในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร เติมสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 300 มิลลิลิตร (โซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 กรัม ในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร) คนจนสารละลายใส จากนั้นเติมโพแทสเซียมโซเดียมทาร์เตรต 600 กรัม คนจนละลาย ปรับปริมาตรเป็น 2000 มิลลิลิตร

1.3 วิธีวิเคราะห์

1.3.1 สารละลายเอนไซม์ (enzyme solution)

ชั่งเอนไซม์ 10 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร กวนผสมเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง

1.3.2 ตัวอย่างเอนไซม์ (enzyme sample)

นำเอนไซม์เจือจาง (ในโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.3) บ่มที่ 50 องศาเซลเซียส เติมไซแลนสับสเตรท 1 มิลลิลิตร เขย่าแล้วบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมสารละลาย DNS 3 มิลลิลิตร เขย่าแล้วต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

1.3.3 เอนไซม์เบลนค์ (enzyme blank)

บ่มไซแลนสับสเตรท 1 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมสารละลาย DNS 3 มิลลิลิตร และเขย่าให้เข้ากัน เติมเอนไซม์เจือจาง 1 มิลลิลิตร (ในโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.3) เขย่าให้เข้ากัน แล้วต้มในน้ำเดือด 5 นาที ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

ค่าการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกันระหว่าง ตัวอย่างเอนไซม์ และเอนไซม์เบลนค์ควรอยู่ใน ช่วง 0.3 – 0.5

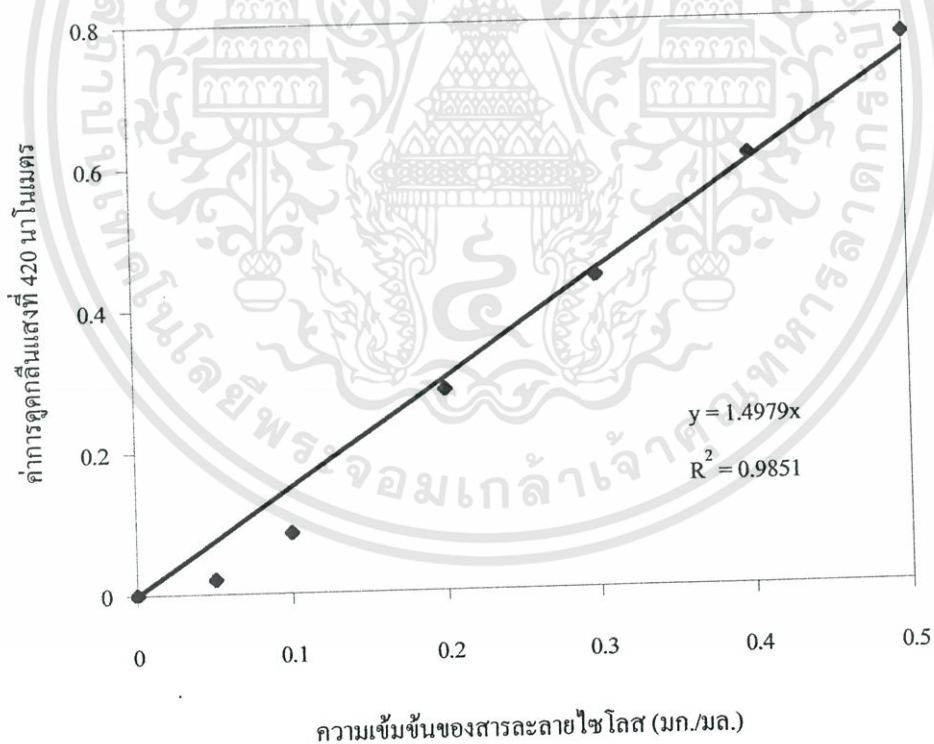
1.3.4 กราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานจากไซโลส (anhydrous xylose) ในโซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.3 ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.05 – 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นปิเปต สารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่าง ๆ 1 มิลลิลิตร ไซแลนสับสเตรท 1 มิลลิลิตร และสารละลาย DNS 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ทำการเขย่าให้เข้ากันแล้วต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

ส่วนเบลนค์ของกราฟมาตรฐานใช้โซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.3 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายมาตรฐานไซโลส

ตารางที่ ๑1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไซโลส ในการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์
ไซลานเนส (Porzyme 9300)

ความเข้มข้น (มก./มล.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
0.00	0.0000	0.0000	0.0000
0.05	0.0219	0.0184	0.0202
0.10	0.0776	0.0922	0.0849
0.20	0.2848	0.2830	0.2839
0.30	0.4353	0.4447	0.4400
0.40	0.6019	0.6122	0.6071
0.50	0.7538	0.7922	0.7730



ภาพที่ ๑2 กราฟมาตรฐานของสารละลายไซโลสในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไซลานเนส
(Porzyme 9300)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.5 การคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์ไซลาเนส (Porzyme 9300)

จากกราฟมาตรฐานไซโลสในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไซลาเนส

$$\begin{aligned} \text{สมการเส้นตรง คือ} & y = 1.4979 X \\ \text{ความเข้มข้นของไซโลส (มก./มล.)} & = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง}}{1.4979} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น เมื่อเจือจางตัวอย่างเอนไซม์ 10000 เท่า ได้ค่าการดูดกลืนแสง 0.2121} \\ \text{ความเข้มข้นของไซโลส} & = \frac{0.2121}{1.4979} = 0.1416 \text{ มก./มล.} \end{aligned}$$

สูตรในการคำนวณ

$$\text{ยูนิต / มิลลิลิตร} = \frac{\text{(จำนวน โมลไซโลสที่ได้) (จำนวนเท่า)}}{30}$$

$$\begin{aligned} \text{เมื่อเจือจางตัวอย่างเอนไซม์ 10000 เท่า} & = \frac{0.1416 \times 1000 \times 1000}{150.13 \times 30} \\ & = 314.39 \text{ ยูนิต/มิลลิลิตร เอนไซม์} \end{aligned}$$

สูตรในการคำนวณ

$$\begin{aligned} \text{ยูนิต / กรัมของแข็ง} & = \frac{\text{ยูนิต / มิลลิลิตร เอนไซม์}}{\text{กรัมของแข็ง / มิลลิลิตร เอนไซม์}} \\ & = 314.39 / 0.1 \\ & = 3143.9 \end{aligned}$$

ดังนั้น เอนไซม์ไซลาเนส มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ 3143.9 ยูนิต / กรัมของแข็ง

2. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120L type LS)

โดยวิธีของบริษัท Novo Nordisk

คำจำกัดความ

1 Novo-alpha-amylase unit (NU) คือ ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถทำลายพันธะของแป้ง (starch) 5.26 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่กำหนด

สภาวะที่กำหนด

อุณหภูมิ	37 ± 0.5 องศาเซลเซียส
ปริมาณแคลเซียม	ประมาณ 0.0043 โมลาร์
พีเอช	ประมาณ 5.6

2.1 อุปกรณ์

- 2.1.1 หลอดทดลอง ขนาด 16 x 150 มม.
- 2.1.2 คิวเวต
- 2.1.3 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
- 2.1.4 เครื่องเขย่าหลอดทดลอง (vortex)
- 2.1.5 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

2.2 การเตรียมสารละลาย

- 2.2.1 แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ความเข้มข้น 0.43 โมลาร์
ละลายแคลเซียมคลอไรด์ ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 63.22 กรัม และทริส (Tris) 1.10 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร ปรับพีเอชเป็น 7 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 4 โมลาร์ ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร
- 2.2.2 สารละลายไอโอดีน A (stock solution)
ละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) 22.0 กรัม ในน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร และละลายไอโอดีน (I_2) 11.0 กรัม ในสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร
- 2.2.3 สารละลายไอโอดีน B
เตรียมจากสารละลายไอโอดีน A 4 มิลลิลิตร และโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) 40.0 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 มิลลิลิตร
- 2.2.4 Salt stock solution พีเอช 5.2
ละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 9.366 กรัม โพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 69.0 กรัม และ โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 4.8 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร
- 2.2.5 สารละลายสตาร์ช (Starch solution) พีเอช 5.6
ละลายสตาร์ช 6.25 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เเทลงในปีกเกอร์ที่มีน้ำร้อน 200 มิลลิลิตร (กวนผสมตลอดเวลา) ต้มต่ออีก 30 วินาที ทิ้งให้เย็นในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Salt stock solution 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 มิลลิลิตร
- 2.2.6 สารละลายเอนไซม์ (enzyme solution)
ปิเปตสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 1 % ของปริมาตรทั้งหมด ซึ่งเอนไซม์และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น (สารละลายเอนไซม์ควรมีเอนไซม์ 0.07 K Novo units /ml)

2.3 วิธีวิเคราะห์

2.3.1 ปิเปตสารละลายสตาร์ช 20 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 8 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

2.3.2 ปิเปตสารละลายไอโอดีน B 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง บ่มที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

2.3.3 ปิเปตสารละลายสตาร์ชที่เติมสารละลายเอนไซม์แล้ว 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มีสารละลายไอโอดีน B ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่าง ๆ กัน (0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 และ 20 นาที)

2.3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร
สูตรการคำนวณกิจกรรมเอนไซม์

$$\text{กิจกรรมเอนไซม์} = \frac{1585 \times V}{t \times a \times v} = \text{Novo-alpha-amylase-units (NU/g)}$$

เมื่อ V = ปริมาตรของเอนไซม์ที่เจือจาง (มิลลิลิตร)

t = เวลาที่วัดค่าการดูดกลืนแสงได้เท่ากับ 0 (นาที)

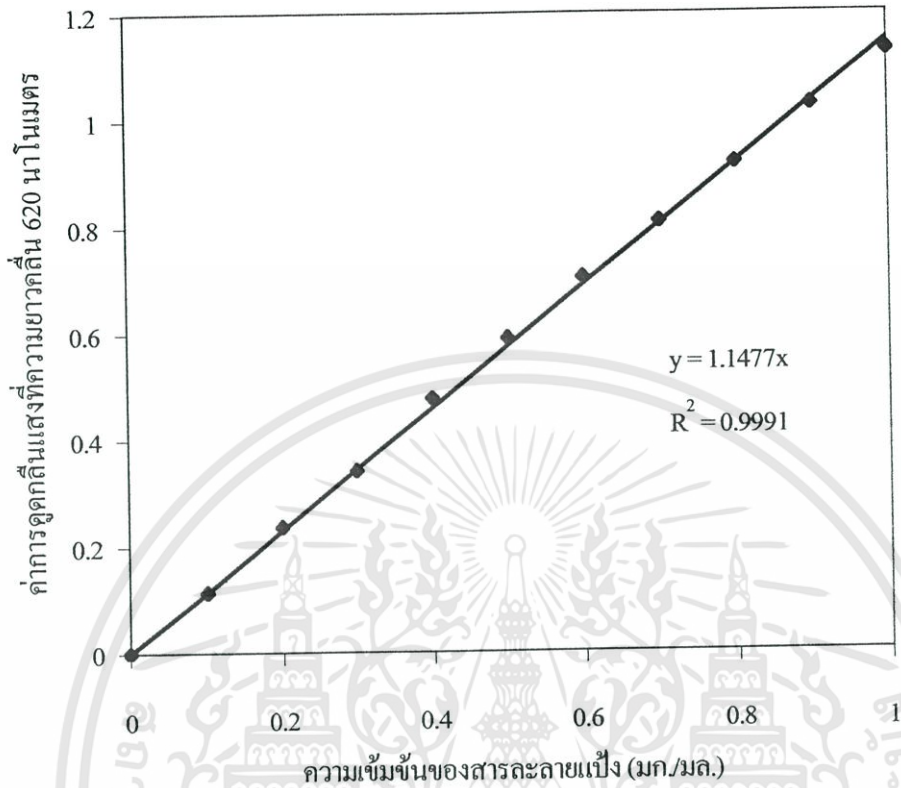
a = น้ำหนักเอนไซม์ที่ชั่งมา (กรัม)

v = ปริมาตรของเอนไซม์ที่เติมในสารละลาย (มิลลิลิตร)

ตารางที่ ๑๒ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแป้ง ในการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120 L type LS)

ความเข้มข้น (มก./มล.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
0.0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
0.1	0.1140	0.1150	0.1122	0.1137
0.2	0.2308	0.2398	0.2389	0.2365
0.3	0.3329	0.3453	0.3483	0.3422
0.4	0.4747	0.4778	0.4788	0.4771
0.5	0.5845	0.5873	0.5944	0.5887
0.6	0.7068	0.6998	0.7015	0.7027
0.7	0.8019	0.8104	0.8107	0.8077
0.8	0.9186	0.9164	0.9172	0.9174
0.9	1.0667	0.9940	1.0172	1.0260
1.0	1.1029	1.1475	1.1329	1.1278

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค2 กราฟมาตรฐานของสารละลายแป้ง ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120 L type LS)

ตารางที่ ค3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแป้งที่เหลือ ณ เวลาต่าง ๆ ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตรในการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120Ltype LS)

เวลา (นาทีก)	ค่าการดูดกลืนแสง (620 นาโนเมตร)			ปริมาณแป้งที่เหลือ (มก./มล.)	ปริมาณแป้งที่ใช้ไป (มก./มล.)
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย		
0	2.8341	2.8341	2.8341	2.4693	4.4807
1	2.7372	2.7688	2.7520	2.3978	4.5524
2	2.5710	2.5914	2.5812	2.2490	4.7010
3	2.3118	2.3341	2.3230	2.0240	4.9260
4	1.9591	1.9545	1.9568	1.7050	5.2450
5	1.5867	1.5745	1.5806	1.3772	5.5728
6	1.2041	1.2266	1.2154	1.0590	5.8910
7	0.9281	0.9354	0.9318	0.8119	6.1381
8	0.6919	0.6572	0.6746	0.5878	6.3622
9	0.4751	0.4941	0.4846	0.4222	6.5278
10	0.3319	0.3413	0.3366	0.2933	6.6567
11	0.2385	0.2279	0.2332	0.2032	6.7468
12	0.1731	0.1469	0.1600	0.1394	6.8106
13	0.1234	0.1056	0.1145	0.0998	6.8502
14	0.0670	0.0887	0.0792	0.0690	6.8810
15	0.0468	0.0652	0.0560	0.0488	6.9012
16	0.0503	0.0353	0.0428	0.0373	6.9127
17	0.0398	0.0228	0.0313	0.0273	6.9227
18	0.0202	0.0194	0.0198	0.0173	6.9327
19	0.0164	0.0187	0.0176	0.0153	6.9347
20	0.0160	0.0160	0.0160	0.0139	6.9361

จากสูตร

$$\begin{aligned}
 \text{กิจกรรมเอนไซม์} &= \frac{1585 \times V}{t \times a \times v} &= \text{Novo-alpha-amylase-units (NU/g)} \\
 &= \frac{1585 \times 1000}{14 \times 0.0490 \times 2} &= 115.52 \text{ K NU/g}
 \end{aligned}$$

ดังนั้นเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (Termamyl 120L type LS) มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ 115.52 K NU/g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธี Lowry

1. การวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธี Lowry (ลิริภัก, 2540)

1.1 อุปกรณ์

- 1.1.1 หลอดทดลอง ขนาด 16 x 150 มม.
- 1.1.2 คิวเวต
- 1.1.3 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
- 1.1.4 เครื่องเขย่าหลอดทดลอง (vortex)
- 1.1.5 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

1.2 การเตรียมสารเคมี

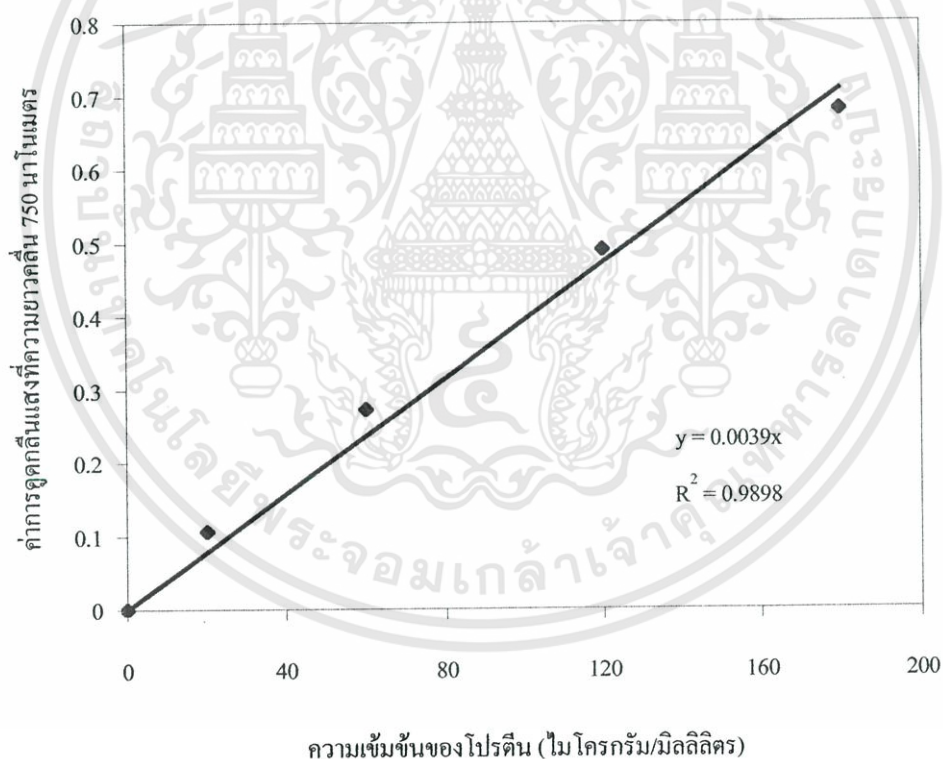
- 1.2.1 สารละลาย ก. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 20 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ 1 ลิตร
- 1.2.2 สารละลาย ข. สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 0.5 กรัม ในสารละลายโซเดียมซัลเฟต 1% 100 มิลลิลิตร
- 1.2.3 สารละลาย ค. สารละลาย ก. 50 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย ข. 1 มิลลิลิตร
- 1.2.4 สารละลาย ง. สารละลายโฟลีนฟีนอล (Folin phenol reagent) 1 นอร์มัล
- 1.2.5 สารละลาย Bovine serum albumin (BSA) มาตรฐาน 0.1%

1.3 วิธีวิเคราะห์

- 1.3.1 เตรียมสารละลาย Bovine serum albumin (BSA) ความเข้มข้น 0.0125 0.025 0.0375 0.05 0.075 และ 0.1%
- 1.3.2 นำตัวอย่าง หรือสารละลาย Bovine serum albumin (BSA) 0.2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลาย ค. 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
- 1.3.3 เติมสารละลาย ง. 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที
- 1.3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

ตารางที่ ง1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Bovine serum albumin ในการวิเคราะห์ ปริมาณ โปรตีน โดยวิธี Lowry

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มล.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
20	0.1147	0.1122	0.0917	0.1062
60	0.2682	0.2727	0.2756	0.2722
120	0.4935	0.4771	0.4996	0.4901
180	0.6713	0.6909	0.6794	0.6805



ภาพที่ ง1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Bovine serum albumin ในการวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีน โดยวิธี Lowry

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ห้องค์ประกอบน้ำตาลโดยวิธี HPLC

1. การวิเคราะห์ห้องค์ประกอบน้ำตาลโดยวิธี HPLC โดยสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร

1.1 อุปกรณ์

1.1.1 เครื่อง High Performance Anion Exchange

1.1.2 คีเทกเตอร์ชนิด Pulse Amperometric Detector (BioLC, Diomex, CA)

1.1.3 คอลัมน์ชนิด CarboPac PA 100 ขนาด 2 x 250 นาโนเมตร

1.2 สารเคมี

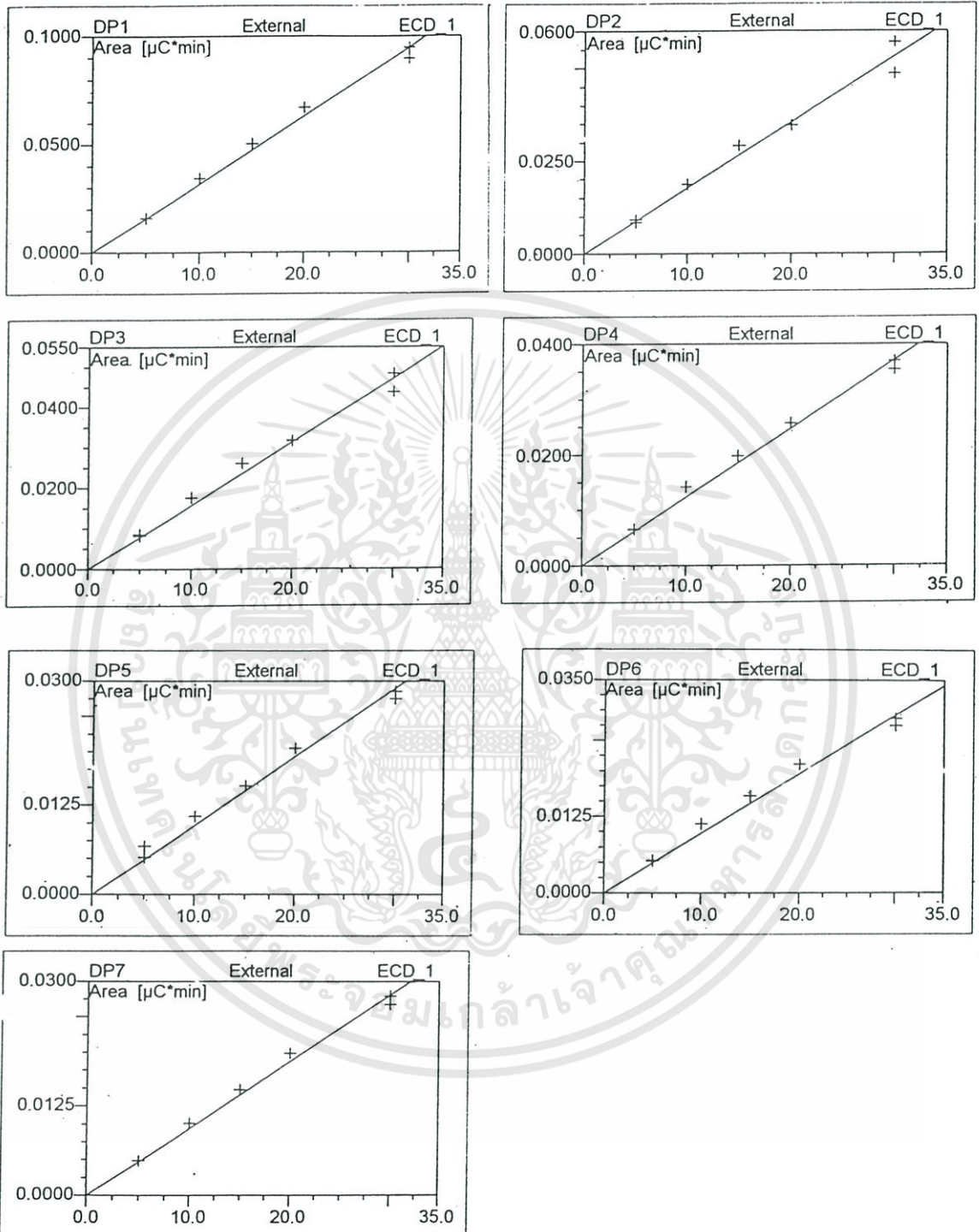
1.2.1 Mobile phase แบบ Gradient ใช้สารละลายโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 0.5 และ 5 มิลลิโมลาร์ ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ 100 มิลลิโมลาร์ โดยใช้อัตราการไหล (flow rate) 0.25 มิลลิลิตร/นาที

1.3 วิธีวิเคราะห์

1.3.1 เตรียมกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน DP 1-7 กับพื้นที่ใต้กราฟ โดยฉีดสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่าง ๆ 5 ระดับ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร อ่านค่าพื้นที่ใต้กราฟ แล้วจึงเขียนกราฟมาตรฐาน (ภาพที่ 1จ) ซึ่งจะทราบเวลาที่ใช้ในการแยก (retention time) สารละลายมาตรฐาน DP 1-7 แต่ละชนิดออกมา (ตารางที่ 1จ)

1.3.2 เตรียมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม กรองด้วยกระดาษกรอง millipore ขนาด 0.2 ไมโครเมตร ฉีดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผลแสดงดังภาพที่ 2จ และ 3จ

1.3.3 นำพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายตัวอย่างที่ได้ ณ เวลาที่ตรงกับเวลาที่ใช้ในการแยกสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิด มาคำนวณปริมาณน้ำตาลแต่ละชนิดโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาล DP 1-7

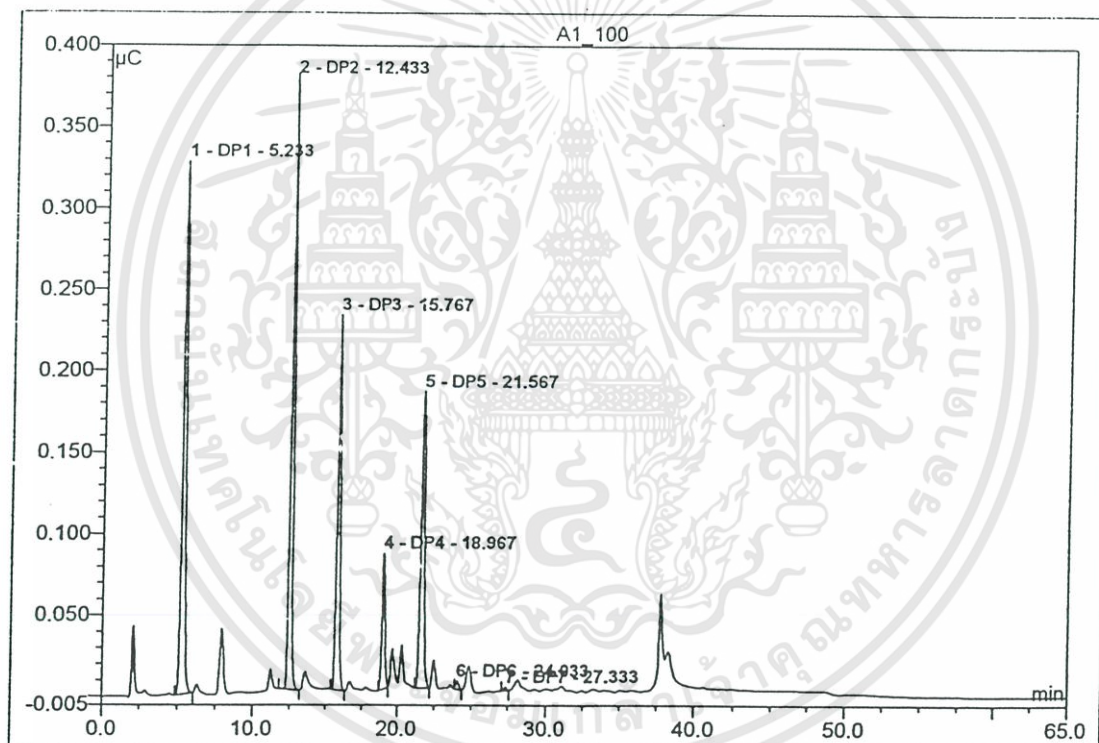


ภาพที่ ๑1 กราฟมาตรฐานของน้ำตาล DP 1-7 วิเคราะห์โดย HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑1 ค่า retention time และความชันของกราฟมาตรฐานของน้ำตาล DP 1-7

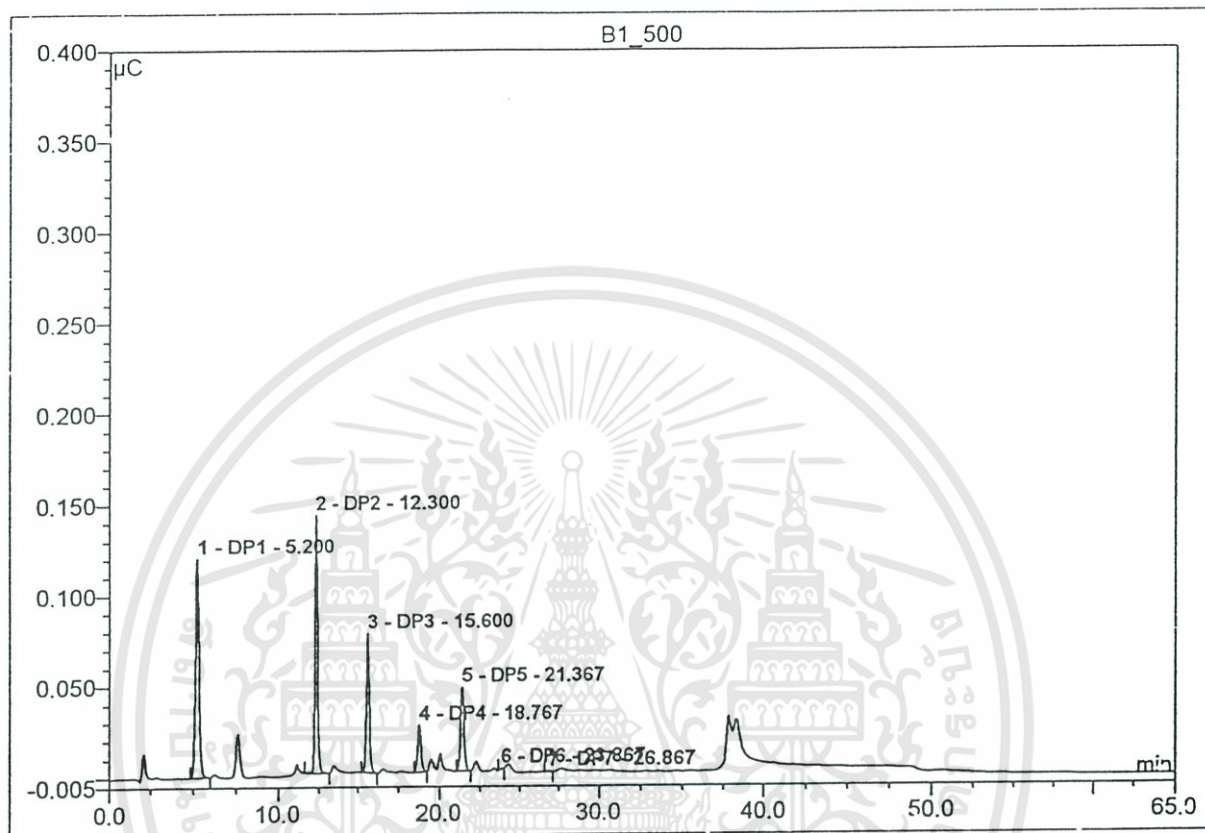
No	Ret. Time (min)	Peak Name	Points	Corr. Coeff. (%)	Offset	Slope
1	5.40	DP1	7	99.6424	0.0000	0.0032
2	12.73	DP2	7	98.9558	0.0000	0.0018
3	16.20	DP3	7	99.4364	0.0000	0.0016
4	19.47	DP4	7	99.9321	0.0000	0.0012
5	22.13	DP5	7	99.7008	0.0000	0.0010
6	24.17	DP6	7	99.4855	0.0000	0.0010
7	27.73	DP7	7	99.7176	0.0000	0.0009



No.	Ret. Time min	Peak Name	Height μC	Area μC*min	Rel. Area %	Amount	Type
1	5.23	DP1	0.328	0.082	28.02	2580.302	BMB*
2	12.43	DP2	0.379	0.079	27.12	4459.076	BMB*
3	15.77	DP3	0.231	0.056	19.26	3562.171	BMB
4	18.97	DP4	0.084	0.020	7.00	1647.603	BMB*
5	21.57	DP5	0.182	0.052	17.94	5411.073	BMB*
6	24.03	DP6	0.005	0.001	0.44	131.057	BMB*
7	27.33	DP7	0.002	0.001	0.21	66.947	BMB*
Total:			1.212	0.291	100.00	17858.231	

ภาพที่ ๑2 กราฟองค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส 1% เวลาในการย่อย 90 นาที วิเคราะห์โดยวิธี HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



No.	Ret. Time min	Peak Name	Height µC	Area µC*min	Rel.Area %	Amount	Type
1	5.20	DP1	0.121	0.029	31.90	4607.957	BMB
2	12.30	DP2	0.142	0.027	30.04	7745.382	BMB*
3	15.60	DP3	0.077	0.017	18.53	5374.936	BMB^
4	18.77	DP4	0.026	0.006	6.64	2449.787	BMB**
5	21.37	DP5	0.046	0.011	12.51	5915.936	BMB**
6	23.87	DP6	0.001	0.000	0.21	97.813	BMB*
7	26.87	DP7	0.001	0.000	0.17	81.518	BMB**
Total:			0.413	0.091	100.00	26273.329	

ภาพที่ ๑๓ กราฟองค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส 3% เวลาในการย่อย 90 นาที วิเคราะห์โดยวิธี HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ฉ1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณน้ำตาสดรีดิวซ์จากการย่อยสลายรำข้าว
สกัดไขมันแล้ว โดยเอนไซม์ไซลันเนส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	58.540 ^b	15	3.903	73.505	.000	1102.579	1.000
Intercept	412.132	1	412.132	7762.346	.000	7762.346	1.000
X	35.325	3	11.775	221.779	.000	665.338	1.000
Y	18.375	3	6.125	115.364	.000	346.092	1.000
XY	4.839	9	.538	10.128	.000	91.149	1.000
Error	.850	16	5.309E-02				
Total	471.522	32					
Corrected Total	59.390	31					

a : $\alpha = 0.05$,

b : $r^2 = 0.986$ (Adjusted $r^2 = .972$)

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)

ตารางที่ ๓2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณน้ำคาลทั้งหมดจากการย่อยสลายรำข้าว สกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์ไซลานอส

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	193.622 ^b	15	12.908	65.364	.000	980.459	1.000
Intercept	2618.708	1	2618.708	1326.542	.000	13260.542	1.000
X	106.755	3	35.585	180.195	.000	540.584	1.000
Y	74.746	3	24.915	126.165	.000	378.496	1.000
XY	12.121	9	1.347	6.820	.000	61.378	.997
Error	3.160	16	.197				
Total	2815.490	32					
Corrected Total	196.782	31					

a : $\alpha = 0.05$, b : $r^2 = 0.984$ (Adjusted $r^2 = 0.969$)

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)

ตารางที่ ๓3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณน้ำคาลไซโลสจากการย่อยสลายรำข้าว สกัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์ไซลานอส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	34.586 ^b	15	2.306	38.129	.000	571.941	1.000
Intercept	178.274	1	178.274	2948.055	.000	2948.055	1.000
X	16.854	3	5.618	92.901	.000	278.702	1.000
Y	14.289	3	4.763	78.965	.000	236.295	1.000
XY	3.444	9	.383	6.327	.001	56.944	.995
Error	.968	16	6.047E-02				
Total	213.828	32					
Corrected Total	35.554	31					

a : $\alpha = 0.05$, b : $r^2 = 0.973$ (Adjusted $r^2 = 0.947$)

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)

ตารางที่ ๑๔ ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณโปรตีนในส่วนของเหลวจากการย่อย
สลายรำข้าวสาคัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์ไซลานเนส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	.238 ^b	15	1.586E-02	3.269	.012	45.035	.931
Intercept	45.434	1	45.434	9361.860	.000	9361.860	1.000
X	2.421E-02	3	8.070E-03	1.663	.215	4.988	.353
Y	.143	3	4.783E-02	9.855	.001	29.565	.988
XY	7.028E-02	9	7.809E-03	1.609	.195	14.481	.520
Error	7.765E-02	16	4.853E-03				
Total	45.750	32					
Corrected Total	.316	31					

a : $\alpha = 0.05$, b : $r^2 = 0.754$ (Adjusted $r^2 = 0.523$)

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)

ตารางที่ ๑๕ ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณโปรตีนในส่วนของแข็งจากการย่อย
สลายรำข้าวสาคัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์ไซลานเนส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	5.750 ^b	15	.383	4.441	.003	66.612	.985
Intercept	14542.372	1	14542.372	168479.02	.000	168479.023	1.000
X	1.932	3	.644	7.461	.002	22.382	.953
Y	.836	3	.279	3.229	.050	9.687	.629
XY	2.982	9	.331	3.838	.009	34.543	.924
Error	1.381	16	8.632E-02				
Total	14549.503	32					
Corrected Total	7.131	31					

a : $\alpha = 0.05$, b : $r^2 = 0.806$ (Adjusted $r^2 = 0.625$)

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)

ตารางที่ ๑๖ ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณเชื้อไขจากการย่อยสลายรำข้าวสาคัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์ไซลานเนส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	6.401 ^b	15	.427	2.885	.022	43.273	.890
Intercept	7533.781	1	7533.781	50934.040	.000	50934.04	1.000
X	4.718	3	1.573	10.633	.000	31.899	.993
Y	.761	3	.254	1.715	.204	5.145	.363
XY	.921	9	.102	.692	.707	6.229	.226
Error	2.367	16	.148				
Total	7542.548	32					
Corrected Total	8.767	31					

a : $\alpha = 0.05$, b : $r^2 = 0.730$ (Adjusted $r^2 = 0.477$)

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)

ตารางที่ ๑๗ ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณน้ำคาลรีดิวิจจากการย่อยสลายรำข้าวสาคัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	104.779 ^b	11	9.525	45.873	.000	504.602	1.000
Intercept	2784.476	1	2784.476	13409.736	.000	13409.736	1.000
X	69.008	3	23.003	110.778	.000	332.333	1.000
Y	31.905	2	15.953	76.826	.000	153.652	1.000
XY	3.866	6	.644	3.103	.045	18.617	.716
Error	2.492	12	.208				
Total	2891.746	24					
Corrected Total	107.270	23					

a : $\alpha = 0.05$, b : $r^2 = 0.977$ (Adjusted $r^2 = 0.955$)

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (นาที)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑๘ ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณน้ำคาลทั้งหมดจากการย่อยสลายรำข้าว สกัคไขมันแล้วโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	228.552 ^b	11	20.777	34.973	.000	384.705	1.000
Intercept	9385.611	1	9385.611	15798.142	.000	15798.142	1.000
X	116.314	3	38.771	65.261	.000	195.784	1.000
Y	99.408	2	49.704	83.663	.000	167.326	1.000
XY	12.830	6	2.138	3.599	.028	21.595	.787
Error	7.129	12	.594				
Total	9621.292	24					
Corrected Total	235.681	23					

a : $\alpha = 0.05$, b : $r^2 = 0.970$ (Adjusted $r^2 = 0.942$)

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (นาที)

ตารางที่ ๑๙ ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า DE จากการย่อยสลายรำข้าวสกัคไขมันแล้ว โดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	709.758 ^b	11	64.523	14.746	.000	162.208	1.000
Intercept	57673.991	1	57673.991	13180.781	.000	13180.781	1.000
X	270.592	3	90.197	20.614	.000	61.841	1.000
Y	329.616	2	164.808	37.665	.000	75.330	1.000
XY	109.550	6	18.258	4.173	.017	25.036	.851
Error	52.507	12	4.376				
Total	58436.256	24					
Corrected Total	762.265	23					

a : $\alpha = 0.05$, b : $r^2 = 0.931$ (Adjusted $r^2 = 0.868$)

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (นาที)

ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนในส่วนของเหลวจากการย่อย
สลายรำข้าวสาคัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	.289 ^b	11	2.627E-02	1.023	.482	11.252	.308
Intercept	57.125	1	57.125	2224.676	.000	2224.676	1.000
X	.150	3	4.991E-02	1.944	.176	5.831	.379
Y	7.697E-02	2	3.848E-02	1.499	.262	2.997	.258
XY	6.223E-02	6	1.037E-02	.404	.863	2.424	.122
Error	.308	12	2.568E-02				
Total	57.722	24					
Corrected Total	.597	23					

a : $\alpha = 0.05$, b : $r^2 = 0.484$ (Adjusted $r^2 = 0.011$)

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (นาที)

ตารางที่ 11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณโปรตีนในส่วนของแข็งจากการย่อย
สลายรำข้าวสาคัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Noncent. Parameter	Observed Power ^a
Corrected Model	17.537 ^b	11	1.594	1.532	.237	16.852	.462
Intercept	12043.584	1	12043.584	11573.275	.000	11573.275	1.000
X	10.840	3	3.613	3.472	.051	10.417	.625
Y	3.594	2	1.797	1.727	.219	3.453	.292
XY	3.103	6	.517	.497	.799	2.982	.141
Error	12.488	12	1.041				
Total	12073.608	24					
Corrected Total	30.024	23					

a : $\alpha = 0.05$, b : $r^2 = 0.584$ (Adjusted $r^2 = 0.203$)

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (นาที)

**ตารางที่ ๑12 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยสลายรำข้าวสกักไขมัน
แล้วโดยเอนไซม์ไซลเลนส ด้วยวิธี Multiple regression analysis**

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-value
Constant	2.26286	.436229	5.18733	.0003
X	-.693135	.326817	-2.12087	.0575
Y	.519149	.196115	2.64717	.0227
XY	.108976	.0660633	1.64956	.1273
X ²	.193803	.0552231	3.50945	.0049

$r^2 = 0.923$ (Adjusted $r^2 = 0.895$) SEE = .452 MAE = .308 และ DurbWat = 1.627

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)

**ตารางที่ ๑13 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากการย่อยสลายรำข้าวสกักไขมัน
แล้วโดยเอนไซม์ไซลเลนส ด้วยวิธี Multiple regression analysis**

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-value
Constant	4.25367	.652396	6.52007	.0000
X	1.30117	.488766	2.66216	.0221
Y	1.20431	.293296	4.10611	.0017
XY	.162612	.0988	1.64587	.1280
X ²	-.100117	.082588	-1.21225	.2508

$r^2 = 0.948$ (Adjusted $r^2 = 0.929$) SEE = .676 MAE = .466 และ DurbWat = 2.469

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)

**ตารางที่ ๑14 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณน้ำตาลไซโลสจากการย่อยสลายรำข้าวสกักไขมัน
แล้วโดยเอนไซม์ไซลเลนส ด้วยวิธี Multiple regression analysis**

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-value
Constant	.640028	.329603	1.94181	.0782
X	.176836	.0780514	2.26563	.0446
Y	.6507	.4022	1.61785	.1340
XY	.141818	.0413526	3.42949	.0056
Y ²	-.0848367	.108904	-.779008	.4524

$r^2 = 0.949$ (Adjusted $r^2 = 0.931$) SEE = .283 MAE = .163 และ DurbWat = 2.062

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑๕ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณเชื้อโอยจากการย่อยสลายรำข้าวสกักไขมันแล้วโดย
เอนไซม์ไซลาลเนส ด้วยวิธี Multiple regression analysis

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-value
Constant	14.399	.257164	55.9915	.0000
X	.653119	.192664	3.38994	.0060
Y	.0898606	.115613	.777254	.4534
XY	.0297286	.0389455	.763341	.4613
X ²	-.0983678	.032555	-3.02159	.0116

$r^2 = 0.756$ (Adjusted $r^2 = 0.668$) SEE = .266 MAE = .166 และ DurbWat = 1.029

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)

ตารางที่ ๑๖ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยสลายรำข้าวสกักไขมัน
แล้วโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ด้วยวิธี Multiple regression analysis

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-value
Constant	5.22754	.615773	8.4894	.0001
X	1.50732	.357748	4.21335	.0040
Y	.0547437	.00913959	5.98974	.0005
XY	-.00342216	.0030893	-1.10774	.3046
X ²	-.0803136	.057828	-1.38884	.2075

$r^2 = 0.967$ (Adjusted $r^2 = 0.948$) SEE = .496 MAE = .338 และ DurbWat = 2.002

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (นาที)

ตารางที่ ๑๗ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากการย่อยสลายรำข้าวสกักไขมัน
แล้วโดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ด้วยวิธี Multiple regression analysis

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-value
Constant	11.8403	1.20667	9.8124	.0000
X	1.57688	.701044	2.24934	.0593
Y	.0848086	.0179099	4.73528	.0021
XY	-.000758344	.0060538	-.125267	.9038
X ²	-.0728149	.11332	-.642561	.5410

$r^2 = 0.942$ (Adjusted $r^2 = 0.909$) SEE = .972 MAE = .660 และ DurbWat = 2.111

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (นาที)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑๘ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า DE จากการย่อยสลายรำข้าวสาคัดไขมันแล้วโดยเอนไซม์
แอลฟา-อะไมเลส ด้วยวิธี Multiple regression analysis

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-value
Constant	33.4114	7.81946	4.27286	.0037
X	3.79085	2.16135	1.75393	.1229
Y	.228875	.288893	.7992248	.4542
X ²	-.458939	.408474	-1.12354	.2983
Y ²	-.00065	.00238275	-.272794	.7929

$r^2 = 0.758$ (Adjusted $r^2 = 0.620$) SEE = 3.502 MAE = 2.250 และ DurWat = 2.146

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (นาที)

ตารางที่ ๑๙ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าปริมาณสารตั้งจากการย่อยสลายรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว
โดยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ด้วยวิธี Multiple regression analysis

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-value
Constant	5.41703	.465882	11.6275	.0000
X	-2.00412	.270665	-7.40441	.0001
Y	-.0471833	.00691483	-6.82349	.0002
XY	.0106941	.00233731	4.57541	.0026
X ²	.168837	.0437515	3.859	.0062

$r^2 = 0.952$ (Adjusted $r^2 = 0.924$) SEE = .375 MAE = .225 และ DurWat = 1.402

X = ความเข้มข้นของเอนไซม์ (%) และ Y = เวลาในการย่อย (นาที)

ประวัติผู้เขียน

นางสาวไพลิน ตั้งไพโรจน์ เกิดวันที่ 1 สิงหาคม 2518 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ปีการศึกษา 2539 ศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ณ จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ในสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร ในปี พ.ศ. 2542 และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2545



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้