14490

การเตรียมมอลท์แห้งจากข้าวเปลือกสำหรับใช้ในการผลิตกลูโคสซีรัป

THE PREPARATION OF DRIED MALT FROM PADDY FOR THE PRODUCTION OF GLUCOSE SYRUP

T096586

นายพิเชฐ วัชรศักดิ์ไพศาล

นายมารุจน์ สิมปะวัฒนะ

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ 2537

ปพ.
พ6531ก
2537

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 96586
วัน.เดือน,ปี.....

1284

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเตรียมมอลท์แห้งจากข้าวเปลือกสำหรับใช้ในการผลิตกลูโคสซีรัป

THE PREPARATION OF DRIED MALT FROM PADDY

FOR THE PRODUCTION OF GLUCOSE SYRUP

โดย

นายพิเชฐ วัชรศักดิ์ไพศาล

นายมารุจน์ ลิมปะวัฒนะ

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

.....28/3/37..... อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(ประพันธ์ ปันศิโรตม)

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....

(.....)

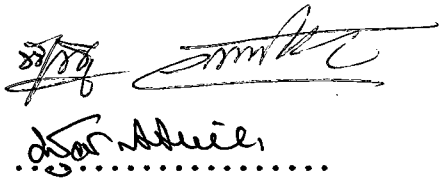
หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ ..... เดือน..... พ.ศ. .....

ฝพ.
พ 65371
2536

พิเชฐ วัชรศักดิ์ไพศาล และ มารุจน์ ลิมปะวัฒนะ. 2537. :การเตรียมมอลท์แห้งจากข้าวเปลือกสำหรับใช้ในการผลิตกลูโคสซีรัป (The Preparation of Dried Malt from Paddy for The Production of Glucose Syrup).ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษา: อ.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม, 68 หน้า.

จากการทดลองเตรียมมอลท์แห้งจากมอลท์สดของข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123 ที่มีอายุการงอก 8 วัน โดยนำมอลท์สดมาตากแดดซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 40-45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นนำไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 50,60 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิในการอบแห้งที่เหมาะสมในการเตรียมมอลท์แห้งคือ 60 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการอบแห้ง 7 ชั่วโมง ความชื้นสุดท้ายของมอลท์แห้งที่ได้เท่ากับ 6.45 % เมื่อเทียบกับแอคติวีตีจำเพาะของอะมิเลสในมอลท์สด อุณหภูมิ และ pH ที่เหมาะสมในการเร่งปฏิกิริยาของอะมิเลสจากมอลท์แห้งเท่ากับ 50 องศาเซลเซียส และ pH 6 ซึ่งไม่แตกต่างจากอะมิเลสที่ได้จากมอลท์สด เมื่อทดลองผลิตกลูโคสซีรัปจากข้าวเหนียว โดยใช้มอลท์แห้งเปรียบเทียบกับมอลท์สด ซึ่งกำหนดแอคติวิตีของอะมิเลสเท่ากัน พบว่าคุณภาพของกลูโคสซีรัปที่ได้ไม่แตกต่างจากกลูโคสซีรัปที่ได้จากมอลท์สด โดยเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานการผลิตกลูโคสซีรัปของ สมอ.



ลายมือชื่อนักศึกษา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา วัน เดือน ปี

28/3/37

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่ออาจารย์ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำปรึกษาและแนะแนวทางต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานวิจัย ตลอดจนการตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ของรายงานปัญหาพิเศษฉบับนี้ อีกทั้งข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. กิตติชัย บรรจง และอาจารย์ วริพัสต์ อารีกุล ที่ท่านได้กรุณาเสียสละเวลารับเป็นกรรมการสอบปัญหาพิเศษนี้ด้วย

ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตรที่กรุณาให้พันธุ์ข้าวเปลือกมาใช้ในการวิจัย ขอขอบพระคุณภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือต่าง ๆ รวมทั้งสนับสนุนงานวิจัยให้เป็นไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณเพื่อน ๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดเวลาในการทำวิจัยครั้งนี้

กราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และอาจารย์ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทความรู้ ให้คำแนะนำสั่งสอน ตลอดจนให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจที่ดียิ่งตลอดมา

พิเชฐ วัชรศักดิ์ไพศาล

มารุจน์ ลิมปะวัฒนะ

มีนาคม 2537

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วารสารปริทัศน์	3
2.1 กลูโคสซีรัป	3
2.2 องค์ประกอบทางเคมีของข้าว	8
2.3 เอนไซม์อะมิเลส	10
2.4 เอนไซม์อะมิเลสในเมล็ดธัญพืช	11
2.5 การผลิตกลูโคสซีรัปโดยใช้เอนไซม์จากต้นกล้าธัญพืช	13
2.6 การเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์กลูโคสซีรัป	16
2.7 ประโยชน์ของกลูโคสซีรัป	17
2.8 งานวิจัยเกี่ยวกับการผลิตกลูโคสซีรัปโดยใช้เอนไซม์	18
3. อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง	20
3.1 วัตถุดิบ	20
3.2 สารเคมี	20
3.3 อุปกรณ์	21
3.4 วิธีทดลอง	22

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
4.	ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	29
	4.1 ผลการทำกราฟมาตรฐานของการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง โดยใช้ DNS method	29
	4.2 ผลการทำกราฟมาตรฐานของการหาปริมาณโปรตีนโดย Lowry method	30
	4.3 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตมอลท์แห้งจากข้าวเปลือก	31
	4.4 ผลของ pH ต่อแอคติวิตีของเอนไซม์	32
	4.5 ผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของเอนไซม์	35
	4.6 ผลการผลิตกลูโคสซีรัปโดยใช้เอนไซม์จากมอลท์แห้งข้าวเปลือก	37
	4.7 ผลการตรวจสอบคุณภาพของกลูโคสซีรัปที่ผลิตได้	39
5.	สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	41
	5.1 สรุปผลการทดลอง	41
	5.2 ข้อเสนอแนะ	42
เอกสารอ้างอิง		43
ภาคผนวก		46
ประวัติผู้เขียน		60

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้าที่
2.1	คาร์โบไฮเดรตที่เป็นองค์ประกอบของกลูโคสซีรัป	8
2.2	คุณสมบัติของแป้งในเมล็ดข้าว(Rice)และเมล็ดข้าวฟ่าง (Grain sorghum)	9
4.1	การหาเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเตรียมมอลท์แห้ง	31
4.2	ผลของ pH ต่อแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลสจากมอลท์สดและมอลท์แห้ง	33
4.3	ผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลสจากมอลท์สดและมอลท์แห้ง	36
4.4	ผลการผลิตกลูโคสซีรัปโดยใช้เอนไซม์จากมอลท์แห้งข้าวเปลือก	38
4.5	การเปรียบเทียบคุณภาพของกลูโคสซีรัปที่ผลิตได้โดยใช้เอนไซม์จากมอลท์แห้งข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123 กับกลูโคสซีรัปตามมาตรฐาน สมอ. และกลูโคสซีรัปที่มีจำหน่ายในทางการค้า	39

สารบัญรูป

รูปที่		หน้าที่
2.1	การผลิตกลูโคสซีรัปโดยใช้กรดและเอนไซม์ร่วมกัน	4
2.2	กรรมวิธีการผลิตกลูโคสซีรัปในทางอุตสาหกรรมอาหาร	5
2.3	ส่วนประกอบต่าง ๆ ในเมล็ดข้าว	8
2.4	โครงสร้างของอะมิโลสและอะมิโลเพคติน	10
2.5	การเพิ่มขึ้นของแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลสในต้นกล้าข้าวเปลือกที่กำลังงอก	13
3.1	ขั้นตอนการผลิตกลูโคสซีรัป โดยใช้เอนไซม์จากต้นกล้าข้าวเปลือกชนิดแห้ง	28
4.1	กราฟมาตรฐานการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง โดย DNS method	29
4.2	กราฟมาตรฐานการหาปริมาณโปรตีน โดย Lowry method	30
4.3	ผลของ pH ต่อแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลสจากมอลท์สดและมอลท์แห้ง	35
4.4	ผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลสจากมอลท์สดและมอลท์แห้ง	37

บทที่ 1

บทนำ

กลูโคสซีรัป(glucose syrup) หรือโดยทั่วๆไปเรียกว่าแบะแซ เป็นที่รู้จักและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในอุตสาหกรรมและในครัวเรือน กลูโคสซีรัปใช้ประโยชน์โดยเป็นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ เช่น น้ำตาลสำหรับเด็กอ่อน น้ำหวาน ลูกกวาด ไอศกรีม น้ำผลไม้ผง เครื่องดื่มบำรุงสุขภาพชนิดต่างๆ ผลไม้กวน เป็นต้น กลูโคสซีรัปเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากการย่อยแป้ง มีลักษณะเป็นของเหลวเหนียว ข้น มีรสหวานเล็กน้อย อาจจะมีสีเหลืองอ่อนถึงสีน้ำตาล แล้วแต่ชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ การผลิตกลูโคสซีรัปอาจใช้กรดหรือเอนไซม์ หรือใช้ทั้งกรดและเอนไซม์ร่วมกันในการย่อยสลายแป้งก็ได้ (ปานจิตร,2526)

การใช้กรดในการผลิตกลูโคสซีรัป มักมีปัญหาเกิดขึ้นเนื่องจากกรดที่ใช้ส่วนใหญ่มักเป็นพวก strong oxidizing acid ตัวอย่างเช่น กรดไฮโดรคลอริค (hydrochloric acid) และกรดซัลฟูริก (sulphuric acid) จึงทำให้เกิดการกัดกร่อนของอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการผลิต ทำให้ต้องลงทุนในด้านเครื่องมือและอุปกรณ์สูงขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้เกิดสารประกอบพวกเฟอร์ฟิวรัล (ferfural) ปะปนอยู่ในกลูโคสซีรัป ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดสีและกลิ่นรสที่ไม่ต้องการ ส่วนการผลิตกลูโคสซีรัปที่ผลิตโดยใช้เอนไซม์นั้น จะไม่มีปัญหาเหมือนกับการใช้กรด อีกทั้งยังทำให้กลูโคสซีรัปที่ผลิตได้ มีค่าสมมูลเดกซ์โตรส (D.E.) สูงเพิ่มมากขึ้นได้ตามความต้องการ แต่จะต้องใช้เวลาในการผลิตเพิ่มมากขึ้น

ประเทศไทยสามารถเพาะปลูกข้าวได้เป็นจำนวนมาก แต่การนำมาใช้ประโยชน์โดยการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารอื่นๆ ยังมีค่อนข้างจำกัด การผลิตกลูโคสซีรัปจากข้าวเหนียวโดยใช้เอนไซม์จากต้นกล้าข้าวเปลือก เป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์จากข้าวที่มีศักยภาพสูง จากการทดลองของชลลดาและอมรรัตน์ (2536) พบว่าสามารถผลิตกลูโคสซีรัปจากข้าวเหนียว โดยใช้เอนไซม์อะมิเลสจากต้นกล้าข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123 ได้ดี โดยที่ผลิตภัณฑ์กลูโคสซีรัป

ที่ได้ มีคุณภาพเป็นไปตามมาตรฐานของสมอ.

อย่างไรก็ตามชลลดาและอมรรัตน์ (2536) รายงานไว้ว่า ต้นกล้าข้าวเปลือกจะต้องเพาะให้มีอายุการงอกนานถึง 8 วัน จึงจะมีแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลสสูงสุด เมื่อพิจารณาระยะเวลาที่ต้องใช้ในการเตรียมต้นกล้าข้าวเปลือกจะเห็นว่าต้องใช้เวลานาน ทำให้ไม่สะดวกต่อการนำไปใช้ในการผลิตกลูโคสซีรัปในระดับอุตสาหกรรม ดังนั้นการเตรียมต้นกล้าข้าวเปลือกชนิดแห้ง (มอลท์แห้ง) จะเป็นแนวทางในการแก้ปัญหาดังกล่าวได้ เนื่องจากเป็นการแยกขั้นตอนการเพาะต้นกล้า หรือการเตรียมข้าวมอลท์ และกระบวนการผลิตกลูโคสซีรัปออกจากกัน ทำให้มีความสะดวกและประหยัดเวลามากขึ้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ดังต่อไปนี้

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมมอลต์แห้งจากข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123
2. ศึกษาการผลิตกลูโคสซีรัปจากข้าวเหนียว โดยใช้มอลต์แห้งที่ได้
3. ศึกษาคุณภาพบางประการของกลูโคสซีรัปที่ได้

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 กลูโคสซีรัป (Glucose Syrups)

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกลูโคสซีรัป สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม ให้ความหมายของกลูโคสซีรัป (glucose syrup) หมายถึง สารละลายแซคคาไรด์ (saccharides) ที่ได้จากการย่อยแป้งและได้ผ่านกรรมวิธีการทำให้บริสุทธิ์และทำให้เข้มข้นแล้ว

Palmer (1970;1975) ให้ความหมายของกลูโคสซีรัปว่าเป็นของเหลวใส ไม่มีสีและเหนียวหนืด ประกอบด้วยส่วนผสมอย่างง่าย (simple sugars) เช่น เดกซ์โตรส มอลโตส ฟรุกโตส กับน้ำตาลโมเลกุลใหญ่และเดกซ์ตริน

การผลิตกลูโคสซีรัปสามารถทำได้ 3 วิธี คือ

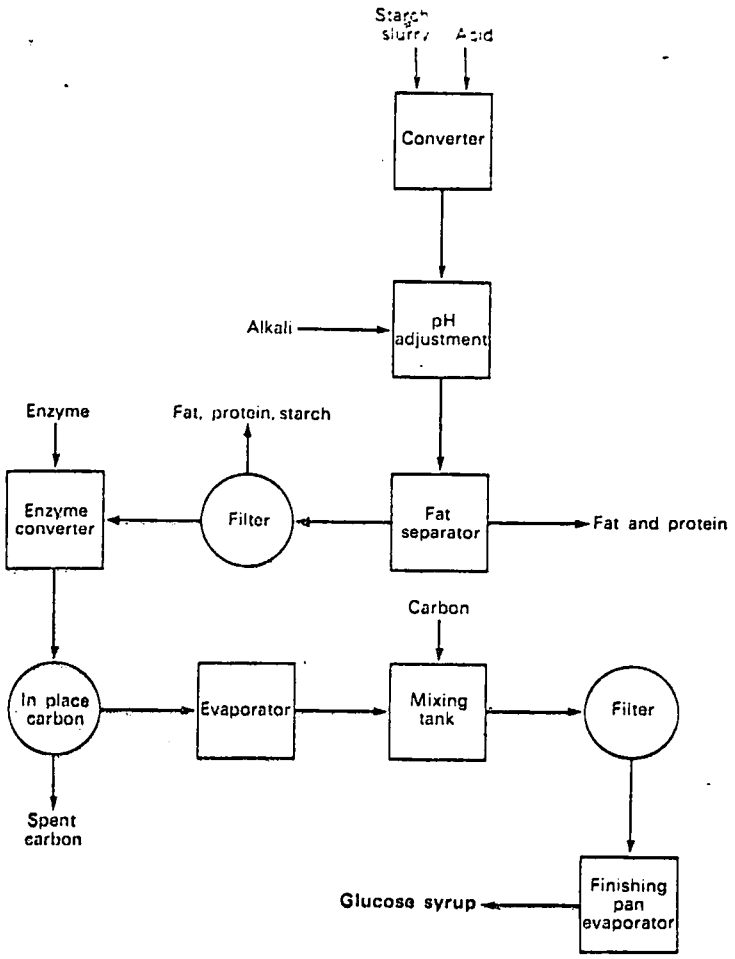
1) การผลิตกลูโคสซีรัปโดยวิธีย่อยสลายด้วยกรด (Acid process)

กระบวนการจะประกอบด้วยการให้ความร้อนกับสารละลายแป้ง(starch slurry) โดยมีการใช้กรดแก่ เช่น กรดไฮโดรคลอริก กรดซัลฟุริก หรือ กรดอินทรีย์เช่น กรดออกซาลิก ซึ่งต้องมีการควบคุมความเข้มข้นของแป้งและกรด ให้เหมาะสมรวมทั้งควบคุม อุณหภูมิ ความดัน และเวลาในการทำปฏิกริยาด้วย ข้อเสียเปรียบของการย่อยด้วยกรดมีหลายประการ กล่าวคือ ต้องใช้อุปกรณ์ที่มีความคงทนต่อกรด และความดันสูง เนื่องจากมีปัญหาในเรื่องการกัดกร่อน การย่อยสลายด้วยกรดเป็นปฏิกริยาการย่อยสลายที่ไม่จำเพาะเจาะจงเป็นเหตุให้เกิดปฏิกริยาข้างเคียงที่ไม่ต้องการ ทำให้มีผลิตผลพลอยได้ (by product) เกิดขึ้นและเสียผลผลิตของกลูโคสไป (yield) นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายนั้นจำเป็นต้องมีการปรับ pH ให้เป็นกลาง ซึ่งการเกิดผลิตผลพลอยได้ และการสะเทินด้วยเบสดังกล่าว ทำให้เกิดเถ้าในปริมาณสูง จึงเป็นการเสียค่าใช้จ่ายในขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์เพิ่มขึ้น จากข้อจำกัดของการย่อยด้วยกรดเหล่านี้ ทำให้

อุตสาหกรรมการผลิตกลูโคสซีรัปจากแป้ง หันมาใช้กระบวนการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

2) การผลิตกลูโคสซีรัปโดยวิธีใช้กรดและเอนไซม์ (Acid/Enzyme process)

เป็นกระบวนการที่มีการใช้กรดในขั้นตอนการ liquefaction และมีการใช้เอนไซม์ในขั้นตอน saccharification กระบวนการนี้จะสามารถลดผลิตผลพลอยได้และเพิ่มผลผลิตของกลูโคสซีรัป รวมทั้งปรับปรุงคุณภาพของกลูโคสซีรัปที่ได้ ดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1: การผลิตกลูโคสซีรัปโดยใช้กรดและเอนไซม์ร่วมกัน

ที่มา: Knight, 1969

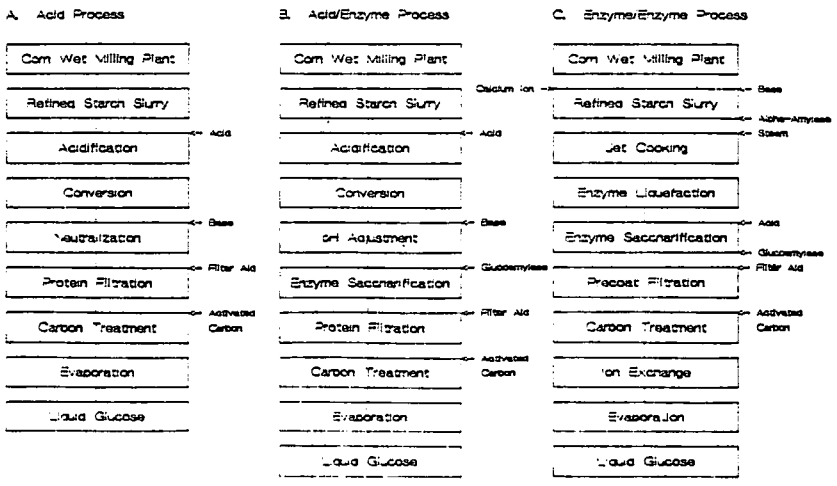
3) การผลิตกลูโคสซีรัปโดยวิธีย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (Enzyme process)

กระบวนการนี้ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน ในการย่อยสลายแป้งให้เป็นกลูโคส คือ

ขั้นตอน liquefaction และ saccharification ในขั้นตอน liquefaction เริ่มจาก สารละลายแป้ง ผ่านการเจลาติไนซ์ ด้วยความร้อน และ ไฮโดรไลซ์ ด้วย แอลฟาอะมิเลส จุดประสงค์ ของขั้นตอนนี้เพื่อให้ได้ soluble dextrin และทำให้สารละลายแป้งมีความหนืดลดลง ส่วนในขั้นตอน saccharification นั้น soluble dextrin จะถูกไฮโดรไลซ์ ต่อไปเป็นกลูโคสโดยใช้เอนไซม์กลูโคอะมิเลส ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากขั้นตอนนี้ คือ ปริมาณกลูโคส มากกว่าหรือเท่ากับ 96 % (dry starch basis, DSB) ซึ่งกลูโคสซีรัปที่ได้ยังเป็นสับสเตรทที่เหมาะกับการผลิต high fructose conversion syrup (HFCS) อีกทั้งยังสามารถใช้เป็นแหล่งน้ำตาลในกระบวนการหมักได้เป็นอย่างดี

การเปลี่ยนแป้งให้เป็นกลูโคสโดยกระบวนการทางเอนไซม์จำเป็นต้องใช้ทั้ง แอลฟาอะมิเลส และ กลูโคอะมิเลส (glucoamylase) ซึ่งต้องใช้เวลาในการทำปฏิกริยาประมาณ 24-96 ชั่วโมง ทั้งนี้ขึ้นกับระดับของกลูโคส ที่ต้องการในผลิตภัณฑ์สุดท้าย

กระบวนการผลิตกลูโคสซีรัปทั้ง 3 วิธีนี้แสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 : กรรมวิธีการผลิตกลูโคสในทางอุตสาหกรรม

ที่มา : Shetty and Allen ,1988

จากกรรมวิธีการผลิตดังกล่าวข้างต้น จะเกี่ยวข้องกับปฏิกริยาที่สำคัญ 3 ปฏิกริยา คือ

1) เจลาติไนเซชัน

การเจลาติไนเซชัน ทำได้โดยการให้ความร้อนกับสารละลายแป้ง ที่อุณหภูมิของการเจลาติไนซ์ (gelatinization temperature) ซึ่งแป้งแต่ละชนิดจะมีอุณหภูมิของการเจลาติไนซ์แตกต่างกัน แต่โดยทั่วไป จะต้องใช้อุณหภูมิประมาณ 90-95 องศาเซลเซียส แป้งที่เจลาติไนซ์แล้ว จะถูกย่อยสลายได้ด้วยกรดหรือเอนไซม์

2) Liquefaction

เป็นขั้นตอนที่ใช้เอนไซม์แอลฟา-อะมิเลสซึ่งจะย่อยสลายพันธะ α-1,4ไกลโคซิดิก ในโมเลกุลของแป้งบางส่วน ทำให้ความหนืดของแป้งที่เจลาติไนซ์แล้วลดลง ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ที่ได้ในขั้นตอนนี้เป็นพวก มอลโตเดกซ์ตริน (maltodextrin) ซึ่งมี α-1,6 linkageในโมเลกุล

3) Saccharification

เป็นกระบวนการที่ใช้เอนไซม์กลูโคอะมิเลส หรือ พิลลูลาเนส ซึ่งมีสมบัติในการย่อยสลายพันธะ α-1,6 ไกลโคซิดิก ในโมเลกุลของแป้งได้ดี ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการ liquefaction จะใช้เป็นสับสเตรทสำหรับกระบวนการแซคคาริฟิเคชัน ในการผลิตน้ำตาลกลูโคส และ ซีรัปประเภทต่างๆ

ค่าที่มีความสัมพันธ์กับองค์ประกอบและคุณภาพของกลูโคสซีรัป คือ สมมูลย์เดกซโตรส (dextrose equivalent,D.E.) หมายถึง ปริมาณร้อยละของน้ำตาลรีดิวซิงทั้งหมด คิดเป็นเดกซ์โตรสที่มีอยู่ในกลูโลซีรัปโดยน้ำหนักแห้ง กลูโคสซีรัปทางการค้าสามารถจำแนกได้โดยใช้ค่า D.E. เป็นเกณฑ์ ได้ดังนี้

dextrose equivalent (D.E.)	ชนิดของกลูโคสซีรัป
น้อยกว่า 20	มอลโตเดกซตริน
20-38	Low conversion syrup
38-42	Regular conversion syrup
ประมาณ 65	High conversion syrup
ประมาณ 40 (มอลโตส>60%)	High moltose syrup

สมบัติทางกายภาพของกลูโคสซีรัปจะแตกต่างกันไปตามค่า D.E.และ กรรมวิธีการผลิตน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของกลูโคสซีรัปที่ได้จากการย่อยสลายด้วยกรด จะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับค่า D.E. เนื่องจากกรดสามารถย่อยสลายพันธะในโมเลกุลแป้ง ส่วนการย่อยด้วยเอนไซม์นั้น ค่า D.E. จะสัมพันธ์กับชนิดของเอนไซม์ที่ใช้เพราะ เอนไซม์แต่ละชนิดจะย่อยโมเลกุลแป้งได้แตกต่างกันเนื่องจากความจำเพาะที่ต่างกัน องค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตในกลูโคสซีรัปชนิดต่างๆ แสดงดังตารางที่ 2.1

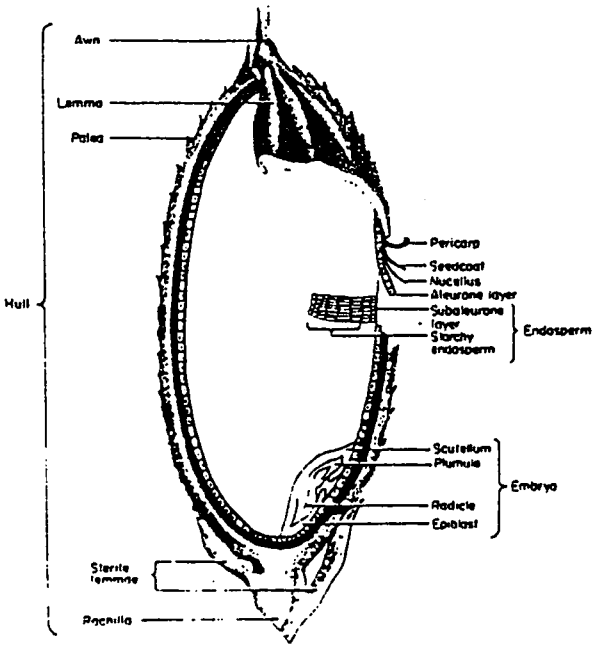
ตารางที่ 2.1 คาร์โบไฮเดรตที่เป็นองค์ประกอบของกลูโคสซีรัป

Type	D.E.	Dextrose	Maltose	Maltotriose	Maltotetraose	Higher sugars
Low acid/enzyme conversion	22	5%	6%	8%	6%	75%
Regular acid conversion	42	19%	14%	12%	10%	45%
High acid/enzyme conversion	64	37%	31%	11%	5%	16%
High maltose acid/enzyme conversion	42	6%	44%	13%	3%	34%

ที่มา : Knight, 1969

2.2 องค์ประกอบทางเคมีของข้าว

ข้าวเป็นธัญพืชที่สำคัญ และเป็นวัตถุดิบหลักของชาวเอเชีย ข้าวมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Oraza sativa* เมล็ดข้าวประกอบด้วยส่วนประกอบใหญ่ๆ 2 ส่วน คือ ส่วนที่ห่อหุ้มเมล็ด ซึ่งมีประมาณ 20% และส่วนที่เป็นข้าวกล้องมีประมาณ 80% ซึ่งรายละเอียดส่วนประกอบต่างๆของเมล็ดข้าวดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 : ส่วนประกอบต่างๆ ในเมล็ดข้าว

ที่มา : Juliano, 1992

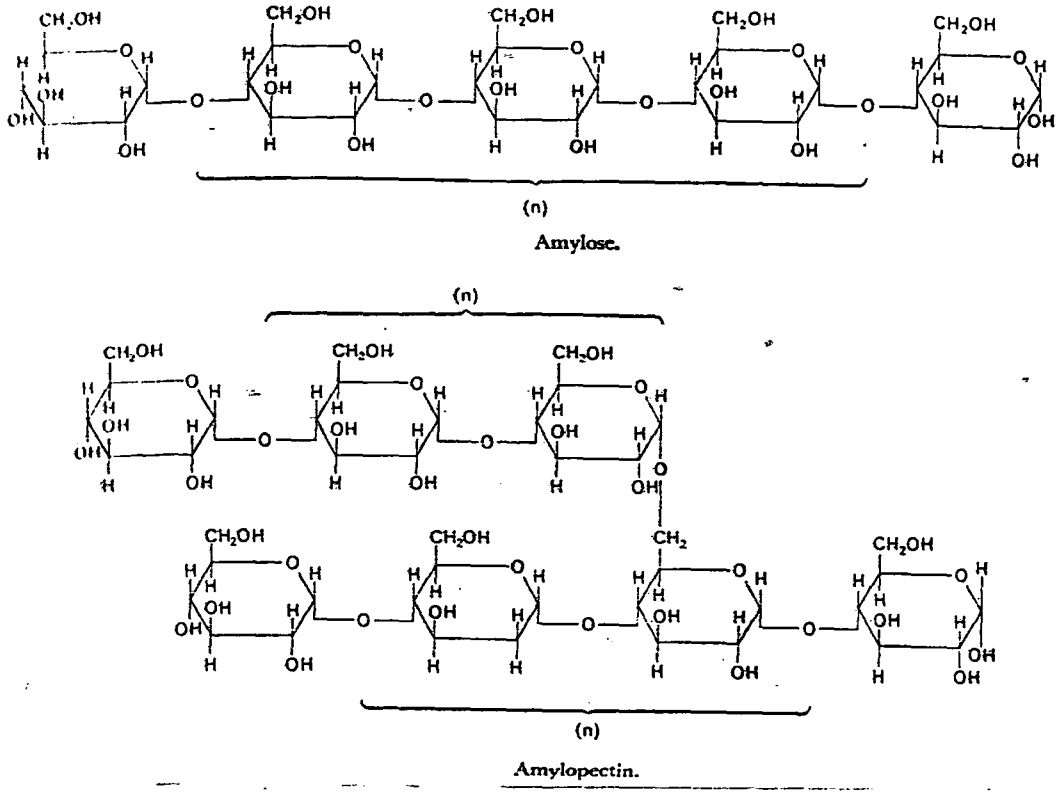
ส่วนประกอบที่เป็นแป้ง(starchy endosperm) จะอยู่ชั้นในสุดของเมล็ด ซึ่งประกอบด้วยแป้งเป็นส่วนใหญ่ และจะมีโปรตีนอยู่บ้างเล็กน้อย แป้งในเมล็ดข้าวต่างชนิดกันจะมีคุณสมบัติต่างกันดังแสดงใน ตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 : คุณสมบัติของแป้งในเมล็ดข้าว(Rice)และเมล็ดข้าวฟ่าง(Grain sorghum)

Type of starch	Rice	Grain sorghum
Granule size in microns	Variable 3–8	Average 15 Smallest 5 Largest 25
Granule shape	Polygonal, occurring in clusters	Round, polygonal (as maize)
Pattern under polarized light	Indistinct because of small size	Black cross
Approx. amylose/amylopectin content	17/83	26/74
Gelatinization temperature range °C	61/78	68/75
Total lipid content approx. %	0·4	0·4
Paste clarity	Opaque	Opaque
Paste texture	Short, heavy body	Short, heavy body
Paste strength under mechanical shear and prolonged heat	Medium	Medium
Paste viscosity	Medium/low, pronounced set-back	Medium, pronounced set-back
Taste and odour	Low	Low

ที่มา : Knight, 1969

โครงสร้างของแป้งประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วน คือ แอลฟาอะมิโลส (α-amylose) และ อะมิโลเพคติน (amylopectin) แอลฟาอะมิโลสประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 300-1000 หน่วย ต่อกันเป็นสายตรงด้วยพันธะ α-1,4 ไกลโคซิดิก ส่วนโมเลกุลของอะมิโลเพคตินนั้นจะมีส่วนแตกแขนงออกไปซึ่งประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 18-27 หน่วย ต่อกันด้วยพันธะ α-1,4 ไกลโคซิดิก และตรงจุดที่แตกแขนงนี้ จะเชื่อมด้วยพันธะ α-1,6ไกลโคซิดิก ดังแสดงในรูปที่2.4



รูปที่ 2.4 : โครงสร้างของอะมิโลสและอะมิโลเพคติน

ที่มา : Knight, 1969

ส่วนประกอบแป้งทั้ง 2 ชนิด จะมีสัดส่วนของอะมิโลเพคตินกับอะมิโลสแตกต่างกันไปตามชนิดของข้าว เช่นในข้าวเหนียวจะมีอะมิโลสอยู่ประมาณ 0-2 % ส่วนที่เหลือจะเป็นอะมิโลเพคติน ในข้าวเจ้าจะมีอะมิโลสมากกว่าประมาณ 7-33 % ของน้ำหนักข้าว

2.3 เอนไซม์อะมิเลส

เอนไซม์อะมิเลสเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายแป้งและไกลโคเจน ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ผลผลิตสุดท้ายที่ได้จากการย่อยสลายคือ มอลโตส เอนไซม์อะมิเลสพบได้ใน สัตว์ จุลินทรีย์ พืช เช่น ในเมล็ดธัญพืชที่กำลังงอก จะมีปริมาณเอนไซม์อะมิเลสเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากเมล็ดที่งอก

จำเป็นต้องใช้อาหารสำหรับการเจริญเติบโตของต้นกล้า และแหล่งอาหารที่สำคัญก็ คือแป้งที่สะสม เอนไซม์อะมิเลสมีอยู่ 2 ชนิดคือ แอลฟาอะมิเลส(α-amylase)และเบตาอะมิเลส(β-amylase)

แอลฟาอะมิเลสมีชื่อทางเคมีว่า α-1,4-glucan-4-gluconohydrolase (EC 3.2.1.1) สามารถย่อยโมเลกุลของแป้งได้ในสภาพ paste (ไม่สามารถย่อยได้ในสภาพเม็ดแป้ง) ในตำแหน่งพันธะ α-1,4- ไกลโคซิดิก แบบสุ่ม ทำให้ลดความหนืดของแป้งอย่างรวดเร็ว ได้ผลผลิตเริ่มต้นเป็นมอลโตส, มอลโตไตรโอส, และมอลโตเตตราโอส ส่วนที่เหลือจะเป็นพวกลิมิดเดกซ์ตริน (limit dextrin) แอลฟาอะมิเลสไม่สามารถย่อยพันธะ α-1,6 ไกลโคซิดิกได้ ซึ่งจะพบได้ในอะมิโลเพคติน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยของอะมิโลสอย่างสมบูรณ์ คือ มอลโตส และกลูโคส ในขณะที่อะมิโลเพคติน จะให้ผลผลิตสุดท้ายเป็น มอลโตส ,กลูโคส และ โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีพันธะ α-1,6 เหลืออยู่

เบตาอะมิเลสหรือ β-1,4-glucan maltohydrolase (EC.3.2.1.2) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยโมเลกุลแป้งตรงตำแหน่งพันธะ α-1,4ไกลโคซิดิก โดยเริ่มจากปลาย non-reducing ซึ่งจะได้น้ำตาลมอลโตสครั้งละ 1 โมเลกุล และไม่สามารถย่อยพันธะ α-1,6 ไกลโคซิดิก ผลจากการย่อยแป้งด้วยเบตาอะมิเลสจะได้ลิมิดเดกซ์ตริน และมอลโตส

กลูโคอะมิเลสหรือ α-1,4 -glucan glucohydrolase (EC.3.2.1.3) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยโมเลกุลแป้งตรงตำแหน่งพันธะ α-1,4 ไกลโคซิดิก โดยเริ่มจากปลาย non-reducing ซึ่งจะได้กลูโคสครั้งละ 1 โมเลกุล และสามารถย่อย พันธะ α-1,6 ไกลโคซิดิกได้แต่ช้ามาก

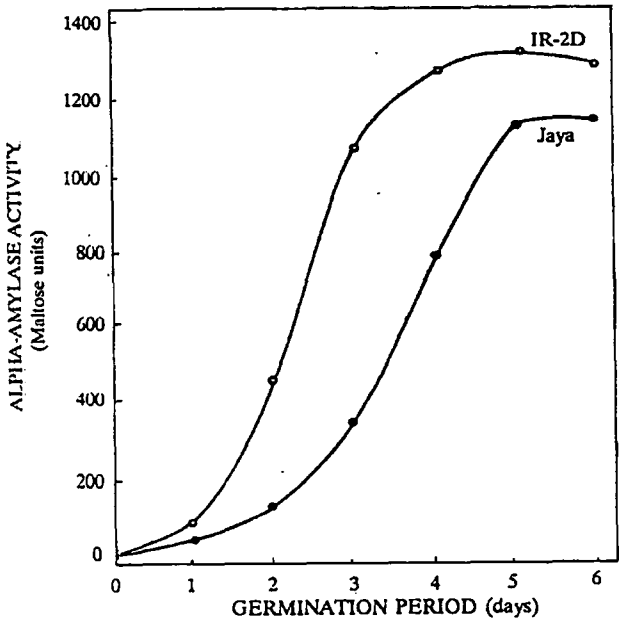
2.4 เอนไซม์อะมิเลสในธัญพืช

ในขณะที่เมล็ดธัญพืชกำลังงอกนั้น ปริมาณของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้งจะเพิ่มสูงขึ้นทั้งนี้เนื่องจากเมล็ดธัญพืชที่กำลังงอกจำเป็นต้องใช้อาหารสำหรับการเจริญเติบโตของต้นกล้า และแหล่งอาหารที่สำคัญก็คือแป้งที่สะสมอยู่ในเมล็ดนั่นเอง เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้งที่สำคัญได้แก่ แอลฟาอะมิเลส (α-amylase) และเบตาอะมิเลส (β-amylase)

ในต้นกล้าของธัญพืชแต่ละชนิดจะมีปริมาณของเอนไซม์แอลฟาอะมิเลสและเบตาอะมิเลสแตกต่างกัน ต้นกล้าข้าวบาร์เลย์จะมีเบตาอะมิเลสเป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่ต้นกล้าข้าวฟ่างจะมีเบตาอะมิเลสเป็นส่วนน้อย ส่วนใหญ่เป็นแอลฟาอะมิเลส และอัตราส่วนของแอลฟาอะมิเลสต่อเบตาอะมิเลสจะแตกต่างกันตั้งแต่ 2:1 ถึง 3:1 นอกจากนี้ต้นกล้าข้าวบาร์เลย์และต้นกล้าข้าวสาลี มีเบตาอะมิเลสสูงกว่าต้นกล้าข้าวฟ่าง (Daiber และ Novellie, 1968)

ในเปลือกของเมล็ดธัญพืชจะมีสารแทนนิน (tannin) ซึ่งเป็นสารประกอบโพลีฟีนอล (polyphenol) เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย เมล็ดธัญพืชที่มีแทนนินสูงจะมีความต้านทานต่อแมลงและจุลินทรีย์ได้ดีและเนื่องจากแทนนินสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนได้ จึงมีผลต่อไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในพืชด้วย ดังนั้นเมล็ดธัญพืชที่มีปริมาณแทนนินต่ำจะมีแอลฟาอะมิเลสและเบตาอะมิเลสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะ 2-4 วัน ของการงอก ส่วนเมล็ดธัญพืชที่มีแทนนินสูงไม่มีแอคติวิตีของแอลฟาและเบตาอะมิเลสเลยจนกระทั่งต้นกล้ามีอายุการงอก 4 วัน และแอคติวิตีของเอนไซม์จะสูงขึ้น เมื่อต้นกล้ามีอายุการงอก 8 วัน (Watson และ Novellie, 1976)

Capanzana, 1989 ศึกษาการเตรียมเพาะต้นกล้าข้าวเปลือก โดยจะนำต้นกล้าข้าวเปลือก มาแช่น้ำเป็นเวลา 26 ชั่วโมงที่อุณหภูมิประมาณ 25±3 °c เมล็ดข้าวเปลือกจะมีความชื้นประมาณ 33.3 %โดยในช่วง 4 ชั่วโมงแรกความชื้นจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจากนั้นความชื้นจะค่อยๆเพิ่มขึ้นหลังจากแช่เมล็ดข้าวเปลือกในน้ำประมาณ 24-26 ชั่วโมง แล้วนำเมล็ดข้าวเปลือกมาเพาะ พบว่า แอคติวิตี(activity)ของแอลฟาอะมิเลสในต้นกล้าข้าวเปลือกที่กำลังงอกจะเพิ่มขึ้นดังแสดงในรูปที่ 2.5 โดยที่เมล็ดข้าวเปลือกที่ไม่งอกนั้นเอนไซม์จะมีแอคติวิตีน้อยมาก



รูปที่ 2.5 : การเพิ่มขึ้นของแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลสในต้นกล้าข้าวเปลือกที่กำลังงอก

ที่มา : Capanzana, 1989

2.5 การผลิตกลูโคสซีรัปโดยใช้เอนไซม์จากต้นกล้าธัญพืช

กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ, 2519 ได้กล่าวถึง กรรมวิธีการผลิตกลูโคสซีรัป โดยใช้เอนไซม์จาก ต้นกล้าข้าวเปลือกข้าวเหนียว ข้าวเปลือกข้าวเจ้า และข้าวเปลือกข้าวสาลี โดยวิธีการผลิตแบ่งเป็นขั้นตอนดังนี้

1) **วิธีผลิตมอลท์สดหรือเพาะข้าวงอก**

ทำได้โดยนำเมล็ดข้าวดังกล่าวมาแช่น้ำเป็นเวลาประมาณ 30 ชั่วโมง โดยใช้น้ำประมาณ 3 เท่าของเมล็ดข้าว ในการปฏิบัติ ควรเริ่มงานในตอนเช้า แช่น้ำค้างคืนจนกระทั่งถึงวันรุ่งขึ้น เวลาบ่ายจึงรินน้ำทิ้ง ล้างเมล็ดข้าวด้วยน้ำสะอาดอีกครั้ง แล้วนำเมล็ดข้าวมาเพาะต่อ

ในกระบะไม้ ซึ่งมีพื้นกระบะทำด้วยไม้ระแนงตีถี่ๆ กันไม่ให้เมล็ดข้าวลอดหลุดไป แต่ให้น้ำซึมออกได้ ตีขอบทั้ง 4 ด้านด้วยไม้ระแนงเช่นเดียวกัน ในระหว่างเพาะต้องหมั่นพรมน้ำให้เมล็ดข้าวชื้นอยู่ตลอดเวลา ประมาณวันละ 2-3 ครั้ง วางกระบะเพาะไว้ในที่เพาะกลางแจ้ง โดยทำที่วางเป็นชั้นถี่ๆ หลายๆ ชั้นด้วยไม้ระแนง แต่ละชั้นห่างกันประมาณ 12-13 เซนติเมตร เพื่อไม่ให้ลมโกรกมากเกินไปเพราะ จะทำให้เมล็ดข้าวแห้งได้ง่ายการเพาะใช้เวลาประมาณ 4-5 วัน จะได้มอลต์หรือเมล็ดข้าวงอกเป็นต้นยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร มอลต์ที่ได้นี้เรียกว่ามอลต์สด นำไปใช้ผลิตแบะแซได้ทันที ก่อนจะนำไปใช้ ควรใช้น้ำสะอาดฉีดล้างลงในกระบะอีกครั้ง เพื่อล้างสิ่งสกปรกออกให้หมด

2) **วิธีผลิตมอลท์แห้ง**

ในกรณีที่ต้องการเก็บมอลท์ไว้นานวัน จำเป็นต้องทำมอลท์ให้แห้งเสียก่อน เพื่อกันการบูดเสียดังนี้

นำมอลท์สดที่ได้จาก 1) ไปตากแดดทั้งกระบะเพาะ กลับข้างล่างขึ้นข้างบนวันละ 2 ครั้ง เพื่อให้แห้งสม่ำเสมอทั่วกัน (ถ้าต้องใช้เวลาในการตากให้แห้งนานเกินไปจะทำให้มอลท์บูด และน้ำตาลที่ได้จะมีรสเปรี้ยว) เมื่อต้นข้าวงอกแห้งพอควร นำเข้าอบในตู้อบ ควบคุมอุณหภูมิที่ 55-60 องศาเซลเซียส จนเหลือความชื้นประมาณ 5 % แยกเอารากและลำต้นที่แห้งกรอบออกด้วยการขยี้ด้วยมือ แล้วผัดหรือใช้ลมเป่าเก็บมอลท์แห้งที่ได้ไว้ในภาชนะที่ผนึกสนิท เมื่อจะนำไปใช้ต้องบดให้ละเอียดเสียก่อน

3) **วิธีผลิตแบะแซ**

กรรมวิธีการผลิตแตกต่างกันตามชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ ดังนี้

3.1) วิธีผลิตแบะแซจากข้าวเปลือกข้าวเหนียวหรือเปลือกข้าวเจ้า

ใช้ข้าวเปลือกข้าวเหนียวหรือข้าวเปลือกข้าวเจ้ามาเพาะตามวิธีในข้อ 1 เมื่อได้มอลต์สดแล้วนำมาบด แล้วผสมน้ำพอควรเพื่อละลายแป้งออก กรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกส่วนที่เป็นราก ต้น และเปลือกออกให้หมด นำกากมาผสมน้ำ กรองอีกครั้งหนึ่ง รวมน้ำที่กรองได้ทั้งสองครั้งขึ้นตั้งบนไอน้ำเดือด ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 50-52 °C นานประมาณ ครึ่ง

ชั่วโมง แล้วเพิ่มอุณหภูมิถึง 70-75 °C ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมินี้อีกครึ่งชั่วโมง เพิ่มความร้อนจนถึงจุดเดือดเพื่อทำลายเอนไซม์ เคี่ยวต่อไปเพื่อระเหยน้ำออกจนเหลือน้ำประมาณร้อยละ 15-20 จะได้แบะแซซึ่งเป็นของเหลวข้นเหนียว บรรจุในภาชนะปิดสนิท

3.2) วิธีผลิตแบะแซจากข้าวเปลือกสาลีผสมกับข้าวเปลือกข้าวเหนียวหรือข้าวเปลือกข้าวเจ้า

นำข้าวเปลือกข้าวสาลี 1 ส่วน และ ข้าวเปลือกข้าวเหนียวหรือ ข้าวเปลือกข้าวเจ้า 10 ส่วน มาแยกเพาะกันตามวิธีในข้อ 1 เมื่อได้ที่แล้ว นำมอลท์ที่ได้ทั้งหมดมาผสมกัน บดให้ละเอียด เติมน้ำพอควร ตั้งบนไอน้ำเดือดควบคุมอุณหภูมิเช่นเดียวกันกับวิธีผลิตในข้อ 3.1 จนถึงจุดเดือด ใช้ผ้าข้าวบางกรองส่วนที่เป็นเปลือก ราก และต้นอ่อนออก เติมน้ำเล็กน้อยลงในกากที่เหลือ กรองออกอีกครั้ง รวมน้ำที่ได้นำไปเคี่ยวระเหยน้ำออกจนเหลือน้ำประมาณร้อยละ 15-20 จะได้แบะแซ เก็บไว้ในภาชนะที่ปิดสนิท

3.3) วิธีผลิตแบะแซจากมอลท์ข้าวสาลีกับแป้งมันสำปะหลัง

ผสมแป้งมันสำปะหลัง 1 ส่วนต่อน้ำ 3 ส่วน คนให้ละลายเข้ากัน ตั้งบนไอน้ำเดือด กวนจนกระทั่งแป้งสุกทั่วกัน ทิ้งไว้ให้เย็นลงถึงอุณหภูมิไม่เกิน 60 องศาเซลเซียส น่ามอลท์ที่ได้จากข้าวสาลี มาบดให้ละเอียด ผสมลงไปประมาณร้อยละ 20 ของ น้ำหนักแป้งมันสำปะหลังที่ใช้ คนให้เข้ากัน ตั้งบนไอน้ำเดือด ควบคุมอุณหภูมิที่ 50-52 องศาเซลเซียส ทำต่อไปเช่นเดียวกับวิธีผลิตข้อ 3.1) กรองด้วยผ้าขาวบาง ล้างกากที่กรองได้ด้วยน้ำเล็กน้อย รวมน้ำที่กรองได้ เคี่ยวระเหยน้ำจนเหลือน้ำประมาณร้อยละ 15-20 จะได้แบะแซ เก็บไว้ในที่ภาชนะปิดสนิท ตามวิธีในข้อ 3.3) นี้อาจใช้แป้งชนิดอื่นๆ เช่น แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวโพด ฯลฯ แทนแป้งมันสำปะหลังได้โดยทำวิธีเดียวกัน

ประสูติ สิทธิสรวง (2532) กล่าวถึงการผลิตกลูโคสซีรัปโดยใช้เอนไซม์จากต้นกล้าข้าวสาลี โดยใช้ปลายข้าวเหนียวเป็นสารตั้งต้น กลูโคสซีรัปที่ผลิตเป็นอุตสาหกรรมในประเทศไทยแบ่งขั้นตอนการผลิตเป็น 3 ขั้นตอนดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเพาะเมล็ดข้าวสาลี นำเมล็ดข้าวสาลีที่แช่น้ำไว้ประมาณ 4-5 ชั่วโมง นำมาเพาะในถาดไม้ขนาดประมาณ 14*14 นิ้ว พื้นของถาดไม้จะเว้นเป็นช่องพอให้สามารถระบายน้ำได้สะดวก รดน้ำวันละ 3-4 ครั้ง จากนั้นนำต้นกล้าที่เพาะได้ไปบดละเอียด

ขั้นตอนที่ 2 การผสมต้นกล้าข้าวสาลีกับปลายข้าวเหนียว นำปลายข้าวเหนียวมาล้างให้สะอาด นึ่งให้สุก นำต้นกล้าข้าวเปลือกที่บดละเอียด แล้วมาคลุกเคล้าให้เข้ากันในขณะยังร้อนในอัตราส่วนที่เหมาะสม จากนั้นนำส่วนผสมไปหมักไว้ เติมน้ำร้อนเดือดให้ปริ่มระดับข้าวหมักไว้ 1 ชั่วโมง แล้วเติมน้ำร้อนเดือดอีกครั้งให้ท่วมระดับข้าว หมักต่อไปอีก 4 ชั่วโมง โดยใช้กระสอบชื้นๆ คลุมปากถังไว้ตลอดเวลา

ขั้นตอนที่ 3 การแยกน้ำตาลและเคี่ยว เมื่อหมักส่วนผสมจนครบเวลาแล้วตักใส่ตระกร้าหวาย เพื่อแยกน้ำตาลออกจากกาก ปัจจุบันใช้เครื่องอัดไฮโดรลิกซึ่งช่วยให้แยกน้ำตาลออกจากกากได้เร็วขึ้น กากที่ได้อาจนำไปตากแห้งเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์เลยหรือนำมาอัดเป็นครั้งที่2 แล้วนำน้ำตาลที่ได้ไปเติมลงในส่วนผสมของปลายข้าวเหนียวนึ่งกับต้นกล้าข้าวสาลีที่หมักรุ่นใหม่ กากจากการอัดครั้งที่ 2 ก็นำไปตากแห้งใช้เป็นอาหารสัตว์เช่นเดียวกัน จากนั้นนำน้ำตาลที่ได้ซึ่งยังมีลักษณะเหลวอยู่ไปเคี่ยวในกระทะ ซึ่งต้องใช้ความชำนาญในการควบคุมความร้อนเพื่อไม่ให้น้ำตาลไหม้ การเคี่ยวจะใช้เวลาประมาณ 6-12 ชั่วโมง เมื่อเคี่ยวได้ที่แล้ว น้ำตาลจะข้นและหนืดอยู่ในสภาพที่เรียกว่า "แบะแซ" ซึ่งบางโรงงานอาจนำแบะแซที่ได้นี้ไปผ่านเครื่องตีเพื่อให้ผสมกับอากาศจะได้ข้นและเหนียวยิ่งขึ้น

2.6 การเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์กลูโคสซีรัป

ผลิตภัณฑ์กลูโคสซีรัปมีสีน้ำตาลเกิดขึ้นเนื่องจาก ปฏิกริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ซึ่งเป็นการทำปฏิกริยากันระหว่าง คาร์โบไฮเดรตและโปรตีน ในผลิตภัณฑ์กลูโคสซีรัป สารที่เป็นส่วนประกอบหลักในการก่อให้เกิดสีน้ำตาลคือ hydroxymethylfurfural (HMF) และ 2-(2-hydroxyacetal)-furan (HAF) ซึ่งโดยทั่วไปวิธีที่จะลดสีน้ำตาลที่เกิดจากปฏิกริยาเมลลาร์ด ในผลิตภัณฑ์กลูโคสซีรัป ทำได้โดยการใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์

ในผลิตภัณฑ์กลูโคสซีรัปที่มีค่าสมมูลย์เดกซโตรสสูงขึ้น จะมีโอกาสที่จะเกิด สีน้ำตาลได้มากเพราะ อัตราส่วนระหว่างปริมาณน้ำตาล ต่ออัลดีไฮด์อิสระเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นการลดปริมาณอัลดีไฮด์อิสระ โดยใช้ขบวนการไฮโดรจีเนชั่น จะเป็นแนวทางในการลดสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์กลูโคสซีรัปได้

เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (PPO) ก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่ก่อให้เกิด สีน้ำตาลในกลูโคสซีรัป ซึ่งโดยปกติในช่วงการงอกของเมล็ดธัญพืชจะพบ PPO เช่นเดียวกับเอนไซม์อะมิเลส ดังนั้นวิธีที่จะหลีกเลี่ยงเอนไซม์ PPO คือการเลือกใช้ต้นกล้าข้าวเปลือกในช่วงอายุที่มีปริมาณ PPO ต่ำโดยในข้าวสาลีพบว่า จะมีปริมาณ PPO มากที่สุดในช่วงอายุการงอก 4 วัน (วรรณทนาและนวลศรี,2535)

2.7 ประโยชน์ของกลูโคสซีรัป

กลูโคสซีรัปเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้กันอย่างกว้างขวางทั้งใน ด้านอุตสาหกรรมอาหารและยา เช่น เป็นส่วนประกอบสำคัญในลูกอม ทอฟฟี่ ผลไม้กวน ไอศกรีม ครีมเทียมและ เครื่องดื่มบำรุงสุขภาพต่างๆ เป็นต้น ในทางอุตสาหกรรมอาหาร มีการใช้กลูโคสซีรัป ดังนี้

2.7.1 อุตสาหกรรมถนอมอาหาร ใช้กลูโคสซีรัปที่มีค่า DE.เท่ากับ 63 ผสมร่วมกับน้ำตาลทราย จะทำให้ osmotic pressure สูงขึ้นกว่าการใช้น้ำตาลทรายเพียงอย่างเดียวช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ป้องกันการตกผลึกของน้ำตาลซูโครส และรสชาติที่ได้จะไม่หวานเกินไป

2.7.2 อุตสาหกรรมไอศกรีม การเติมกลูโคสซีรัปลงไปจะช่วยปรับปรุงให้ไอศกรีมละลายได้ช้าลง และปรับสภาพความนุ่มลื้นได้ตามต้องการ ชนิดของกลูโคสซีรัปที่ใช้ จะมีค่า DE. ตั้งแต่ 29-30 ขึ้นกับคุณสมบัติของไอศกรีมที่ต้องการ

2.7.3 อุตสาหกรรมครีมเทียมปรุงแต่งเครื่องดื่มชนิดร้อน (coffee whitener) จะนำมอลโตเดกซตรินที่มีค่า DE. 20-25 ผสมกับน้ำมันพืช เติมกลิ่นและสี แล้วฉีดออกมาเป็นผงแห้ง สัดส่วนของมอลโตเดกซตริน ในครีมเทียมประมาณ 40-60 %

96586

สำหรับการใช้กลูโคสซีรัปในประเทศไทยนั้น นิยมใช้ในอาหารหวานหลายชนิด น้ำตาลปีป น้ำตาลปึก (น้ำตาลมะพร้าว) เพื่อให้อยู่ในสภาพกึ่งแข็ง หรือแข็งเป็นก้อน โดยกลูโคสซีรัปที่มีจำหน่ายนั้นเป็นที่รู้จักกันในนาม แบะแซ ซึ่งมีค่า DE. ระหว่าง 40-50

นอกจากนี้ ยังมีผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่ได้จากการการนำกลูโคสซีรัปไปทำปฏิกริยาอื่นๆ ได้สารให้ความหวาน ชนิดต่างๆ ซึ่งนำไปใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางอีก เช่น นำกลูโคสซีรัปที่มีค่า DE. สูงถึง 98 ไปทำ isomerization ด้วยเอนไซม์ ไอโซเมอเรส ได้ฟรุกโตสซีรัปที่มีความหวานทัดเทียมกับน้ำตาลทราย นิยมใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์ (soft drink) อุตสาหกรรมขนมอบ เป็นต้น หรือ การนำกลูโคสซีรัปผ่านขบวนการ ไฮโดรจีเนชัน ได้เป็น hydrogenate glucose syrup ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น ยาสีฟัน อุตสาหกรรมกระดาษ อุตสาหกรรมยาสูบ

2.8 งานวิจัยเกี่ยวกับการผลิตกลูโคสซีรัปโดยใช้เอนไซม์

ปานจิตร (2526) ทำการวิจัยเรื่องการผลิตกลูโคสซีรัปโดยใช้เอนไซม์จากมอลท์ข้าวฟ่างพบว่า สามารถผลิตกลูโคสซีรัปโดยใช้เอนไซม์จากมอลท์ข้าวฟ่างโดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานที่ 60 องศาเซลเซียส ที่ pH 6 โดยใช้อัตราส่วนของมอลท์ข้าวฟ่างเฉพาะเมล็ดแห้งต่อแป้งข้าวฟ่างเป็น 1:2 โดยน้ำหนัก และเอนไซม์จากมอลท์ข้าวฟ่างที่ได้ให้ผลดีกว่าเอนไซม์จากมอลท์ข้าวบาร์เลย์ในการผลิตกลูโคสซีรัป

ประพันธ์ (2531) ศึกษาการทำงานของเอนไซม์อะมิเลสในต้นกล้าข้าวสาลีเพื่อใช้ในการผลิตกลูโคสซีรัป พบว่า ในส่วนของเมล็ดจะมีปริมาณเอนไซม์มากที่สุด และต้นกล้าข้าวสาลีที่มีอายุการงอก 5 วัน จะมีการทำงานของเอนไซม์สูงสุด สภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์คือ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และ pH 4 แต่พบว่ากลูโคสซีรัปที่ได้มีสีเข้มจึงต้องทำการฟอกสีกลูโคสซีรัปที่ได้ด้วยโซเดียมซัลไฟต์และผงถ่าน เพื่อให้ได้สีอ่อนลง

ปราโมทย์และนวลศรี (2535) ทำการศึกษา กรรมวิธีการผลิตมอลโตสซีรัปโดยใช้เอนไซม์จากข้าวสาลี ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส pH 4 และใช้เวลาในการบ่ม 3 ชั่วโมง

พบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างต้นอ่อนข้าวสาลีและปลายข้าวเหนียว คือ อัตราส่วน 1 : 30

ชลลดาและอมรรัตน์ (2536) ศึกษาแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลสในต้นกล้าข้าวเปลือกเพื่อใช้ในการผลิตกลูโคสซีรัป พบว่า ข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123 จะมีปริมาณเอนไซม์สูงสุดเมื่อมีอายุการงอก 8 วัน สภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์มากที่สุดคือ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส pH 6 และ อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างปริมาณต้นกล้าข้าวเปลือกกับข้าว คือ 1:15 โดยใช้เวลาในการบ่มส่วนผสม 5 ชั่วโมง พบว่ากลูโคสซีรัปที่ได้เป็นไปตามมาตรฐานของสมอ.

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

- ข้าวเปลือก พันธุ์เหลืองประทิว 123 จากศูนย์วิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร
- ข้าวเหนียว

3.2 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต
Soluble starch	May & Baker Ltd., England
D(+)-Maltose monohydrate	Fluka , Switzerland
Calcium chloride	BDH chemical Ltd., Poole, England
Citric acid anhydrous	E. Merck, Germany
Cupric sulphate	E. Merck, Germany
3,5 -dinitrosalicylic acid	Fluka, Switzerland
Disodium hydrogen phosphate	May & Baker Ltd., Dagenham, England
D-Glucose anhydrous	BHD chemical Ltd.,Poole, England

ชื่อสารเคมี	บริษัทผู้ผลิต
Kieseiguhr	E. Merck, Germany
Methylene blue	May & Baker Ltd.,Dagenham, England
Potassium sodium tartrate	E. Merck, Germany
Sodium dihydrogen orthophosphate	BHD chemical Ltd.,Poole, England
Copper(II)chloride	Fluka, Switzerland
Hydrochlolic acid	E. Merck, Germany
Tris (hydroxy methyl) aminomethane	E. Merck, Germany
Sodium bicarbonate	E. Merck, Germany
Sodium hydroxide	E. Merck, Germany
Copper(II)sulphate	Fluka, Switzerland
Folin-Ciocalteau reagent	E. Merck, Germany
Bovine Serum Albumin	E. Merck, Germany

3.3 อุปกรณ์

ชื่อเครื่องมือ	บริษัทผู้ผลิต
Refrigerate centrifuge	Juoan, France
pH meter (PHM61 Laboratory pH meter)	Radiometer, Copenhegen, Denmark
Hot air oven	WTB Binder, Germany

[illegible]

ชื่อเครื่องมือ	บริษัทผู้ผลิต
Digital ultraviolet spectrophoto meter	Cecil, Cambridge, English
Analog ultraviolet spectrophoto meter	Cecil, Cambridge, English
Water bath	GFL, Germany
Hand refractometer	GFL, Germany

3.4 วิธีทดลอง

3.4.1 การเพาะเมล็ดข้าวเปลือก

นำเมล็ดข้าวเปลือกมาล้างน้ำให้สะอาดและแช่น้ำไว้ 1 คืน หลังจากนั้นนำไปเพาะในกระบะเพาะที่รองด้วยทรายสะอาด เก็บไว้ในที่มืดและรดน้ำวันละ 2-3 ครั้ง เป็นเวลา 8 วัน

3.4.2 การสกัดเอนไซม์จากมอลท์ข้าวเปลือก

นำมอลท์ข้าวเปลือกที่มีอายุการงอก 8 วัน มาล้างให้สะอาด สะเด็ดน้ำ ชั่งน้ำหนัก 2 กรัม บดให้ละเอียดในโกร่ง ถ่ายใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ล้างโกร่งด้วย 0.05 M Tris HCl บัฟเฟอร์ pH 7.0 ถ่ายใส่ขวดรูปชมพู่เดิม โดยใช้บัฟเฟอร์ทั้งหมด 80 มิลลิลิตร เขย่า 2-3 นาที แช่ไว้ในอ่างน้ำแข็ง 30 นาที นำออกมาเขย่า 2-3 นาที ทิ้งไว้ให้ตกตะกอน รินส่วนใสไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ด้วยความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นรินส่วนใสเก็บไว้วัดแอคติวิตี

3.4.3 การวัดแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลส

การวัดแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลสที่สกัดได้จากต้นกล้าธัญพืช ทำได้โดยการวัดปริมาณของน้ำตาลรีดิวซิง (reducing sugar) ซึ่งได้จากการย่อยสลายแป้งด้วยเอนไซม์ที่สกัดได้และวัดสีที่เกิดขึ้นเนื่องจาก น้ำตาลรีดิวซิงทำปฏิกริยากับ 3,5 dinitrosalisylic acid ซึ่งให้สีน้ำตาลแดง โดยกำหนดให้ 1 หน่วยเอนไซม์ (1 unit) มีค่าเท่ากับปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยสลายสับสเตรท (substrate) แล้วให้น้ำตาลรีดิวซิง (คำนวณเทียบกับมอลโตส) 1ไมโครโมล ต่อ นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส pH 7

3.4.3.1 วิธีเตรียม สับสเตรท

ละลาย soluble starch 1 กรัม ใน 0.05 M Tris-HCl บัฟเฟอร์ pH 7 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร จากนั้นเทบัฟเฟอร์ ต้มเดือดลงไป 70 มิลลิลิตร พร้อมกับคนตลอดเวลา นำไปต้มให้เดือดอีก 2 นาที ทำให้เย็นแล้วถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยบัฟเฟอร์

3.4.3.2 วิธีเตรียมกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมอลโตสมาตรฐานเข้มข้น 5.0 ไมโครโมล ต่อมิลลิลิตร โดยละลายมอลโตสโมโนไฮเดรต 0.1802 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายมอลโตสที่ได้ 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง 6 หลอด เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรในแต่ละหลอดเท่ากับ 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย DNS-reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร แช่หลอดทดลองในน้ำเดือด 5 นาที แล้วนำมาแช่เย็นทันที เมื่อเย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่นหลอดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

3.4.3.3 วิธีวัดแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลส

ปิเปตเอนไซม์ที่สกัดได้ (เจือจางให้มีความเข้มข้นเหมาะสม) 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง นำไปบ่ม (incubate) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5 นาที ใส่สับสเตรทลงไป 0.5 มิลลิลิตร บ่มต่อไปอีก 30 นาที จากนั้นเติม DNS-reagent 1 มิลลิลิตร ทันทีพร้อมกับเขย่าหลอดทดลอง แช่หลอดทดลองในน้ำเดือด 5 นาที แล้วแช่ในน้ำเย็นทันที เติมน้ำกลั่นหลอดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยหลอดเปรียบเทียบใช้บัฟเฟอร์แทนเอนไซม์ อ่านค่าปริมาณมอลโตส จากกราฟมาตรฐาน แล้วคำนวณแอคติวิตีเป็นหน่วยของเอนไซม์

3.4.4 การหาปริมาณโปรตีนโดย Lowry method

3.4.4.1 วิธีเตรียมกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลาย Bovine Serum Albumin (BSA) ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตใส่หลอดทดลอง 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 , 0.8, 0.9 และ 1.0 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นโดยให้ปริมาตรในแต่ละหลอดเป็น 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย C หลอดละ 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เติมสารละลาย D ลงไปหลอดละ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร เขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณโปรตีนในแต่ละหลอด

3.4.4.2 วิธีวัดปริมาณโปรตีนในเอนไซม์ที่สกัดได้

เจือจางสารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ ให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมด้วย บัฟเฟอร์ ปิเปตมา 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง จากนั้นทำเหมือนกับกรณีของ BSA อ่านค่าปริมาณโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน

3.4.5 การคำนวณค่าแอคติวิตีจำเพาะ (specific activity) ของเอนไซม์

แอคติวิตีจำเพาะ (unit/mg protein) = แอคติวิตีของเอนไซม์ (unit) / ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (mg)

3.4.6 การหาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมมอลท์แห้งจากข้าวเปลือก

นำต้นกล้าข้าวเปลือกหรือมอลท์สดที่เพาะได้ไปตากแดด กลับข้างล่างขึ้นข้างบนเพื่อให้ต้นกล้าแห้งสม่ำเสมอกัน เป็นเวลาประมาณ 5 ชั่วโมง (จนมีความชื้นประมาณ 20 %) จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส โดยใช้ตู้อบแห้ง จนมีความชื้นประมาณ 5 เปอร์เซนต์ (กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ, 2519) แยกเอารากและลำต้นที่แห้งกรอบออก นำมอลท์แห้งที่ได้ไปสกัดเอนไซม์และวัดแอคติวิตีของอะมิเลส คำนวณหาแอคติวิตีจำเพาะเปรียบเทียบกัน

3.4.7 การศึกษาผลของ pH ต่อแอคติวิตีของเอนไซม์

ปิเปตสับสเตรท 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง 6 หลอด เติมบัฟเฟอร์ pH ต่าง ๆ 0.5 มิลลิลิตร ในแต่ละหลอด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมเอนไซม์อะมิเลสที่สกัดได้ หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร บ่มต่ออีก 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาให้เติม DNS-reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร ทันที เขย่าให้เข้ากัน นำไปแช่ในอ่างน้ำเดือด 5 นาที แล้วแช่ในน้ำเย็นทันที เมื่อเย็นถึงอุณหภูมิห้องแล้ว เติมน้ำกลั่นหลอดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตรเขียนกราฟระหว่างแอคติวิตีสัมพัทธ์กับ pH

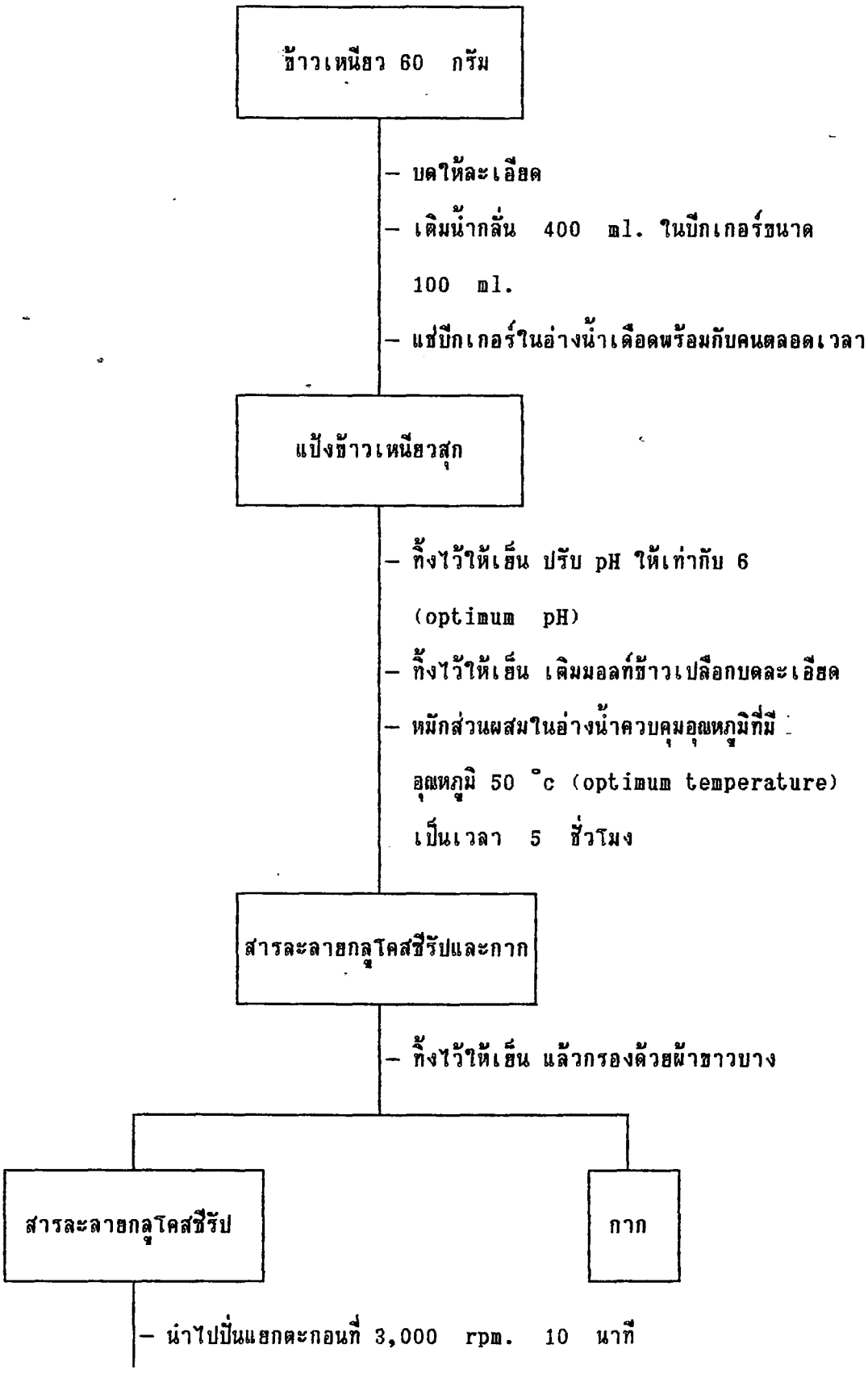
3.4.8 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของเอนไซม์

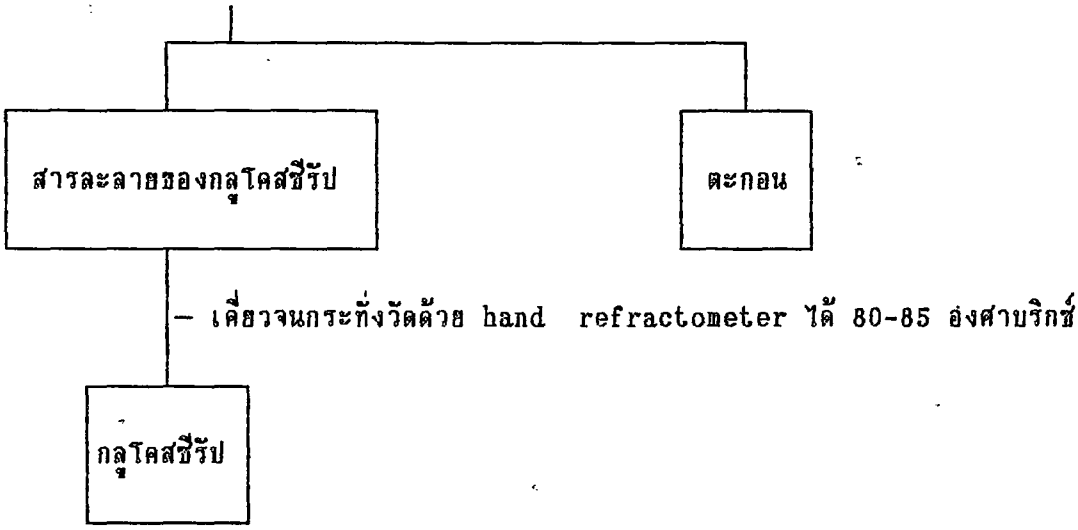
ปิเปตสับสเตรทใส่หลอดทดลอง 6 หลอดหลอดละ 0.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ อุณหภูมิห้อง, 37, 45, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ 5 นาที เติมเอนไซม์อะมิเลสที่สกัดได้จากต้นกล้าขัญพืชลงไปหลอดละ 0.5 มิลลิลิตร บ่มต่อไป 30 นาที จากนั้นเติม DNS-reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตรทันที เขย่าให้เข้ากันแล้วนำมาแช่น้ำเย็นทันที เติมน้ำกลั่นหลอดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เขียนกราฟระหว่างแอคติวิตีสัมพัทธ์ กับอุณหภูมิ

3.4.9 ขั้นตอนการผลิตกลูโคสซีรัปจากข้าวเหนียวโดยใช้เอนไซม์จากมอลท์ข้าวเปลือก

ชั่งข้าวเหนียวบดละเอียด 60 กรัม ถ่ายใส่บีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร นำบีกเกอร์ไปแช่ในอ่างน้ำเดือด กวนจนข้าวเหนียวสุก มีความใส ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำไปปรับ pH ให้ได้ optimum pH ของเอนไซม์จากมอลท์แห้งข้าวเปลือกด้วย 1 % ไฮโดรคลอริกหรือ 1% โซเดียมไฮดรอกไซด์ ปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เติมมอลท์แห้งข้าวเปลือกเฉพาะส่วนเมล็ดที่บดละเอียดแล้ว ผสมลงในแป้งสุกที่ผ่านการปรับ pH และบ่มที่ อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ เป็นเวลา 5 ชั่วโมง (ชลลดาและอมรรัตน์, 2536)

นำส่วนผสมที่ได้มากรองด้วยผ้าขาวบาง และนำของเหลวที่กรองได้ไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที รินส่วนใสไปทำการระเหยน้ำออกโดยการเคี่ยว จนกระทั่งวัดด้วย เครื่องมือรีแฟลกโตมิเตอร์ (refractometer) ได้ 80-85 องศาบริกซ์


ข้าวเหนียว 60 กรัม
– บดให้ละเอียด
– เติมน้ำกลั่น 400 ml. ในบีกเกอร์ขนาด 100 ml.
– แช่บีกเกอร์ในอ่างน้ำเดือดพร้อมกับคนตลอดเวลา
แป้งข้าวเหนียวสุก
– ทิ้งไว้ให้เย็น ปรับ pH ให้เท่ากับ 6 (optimum pH)
– ทิ้งไว้ให้เย็น เติมมอลท์ข้าวเปลือกบดละเอียด
– หมักส่วนผสมในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่มี อุณหภูมิ 50 °c (optimum temperature) เป็นเวลา 5 ชั่วโมง
สารละลายกลูโคสซีรัปและกาก
– ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง
สารละลายกลูโคสซีรัป
กาก
– นำไปปั่นแยกตะกอนที่ 3,000 rpm. 10 นาที



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตกลูโคสซีรัป โดยใช้เอนไซม์จากต้นกล้าข้าวเปลือกชนิดแห้ง

3.4.10 ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของมอลท์แห้งข้าวเปลือก ต่อ ปริมาณข้าวเหนียวแห้ง

ทดลองผลิตกลูโคสซีรัปตามวิธีในข้อ 3.4.9 โดยใช้อัตราส่วนมอลท์แห้งต่อข้าวเหนียวแห้ง กำหนดให้แอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลสเท่ากับที่ใช้มอลท์สด 4 กรัมต่อข้าวเหนียว 60 กรัม (อัตราส่วนที่เหมาะสมจากการทดลองของ ชลลดาและอมรรัตน์,2536)โดยเปรียบเทียบคุณภาพของกลูโคสซีรัปที่ได้ โดยพิจารณาสี , ค่าสมมูลย์เดกซ์โตรส (D.E.), ร้อยละผลผลิต (% yield), ปริมาณของแข็ง (%), ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง (%)

3.4.11 การตรวจสอบคุณภาพของกลูโคสซีรัปที่ผลิตได้จากการใช้มอลท์แห้งข้าวเปลือก

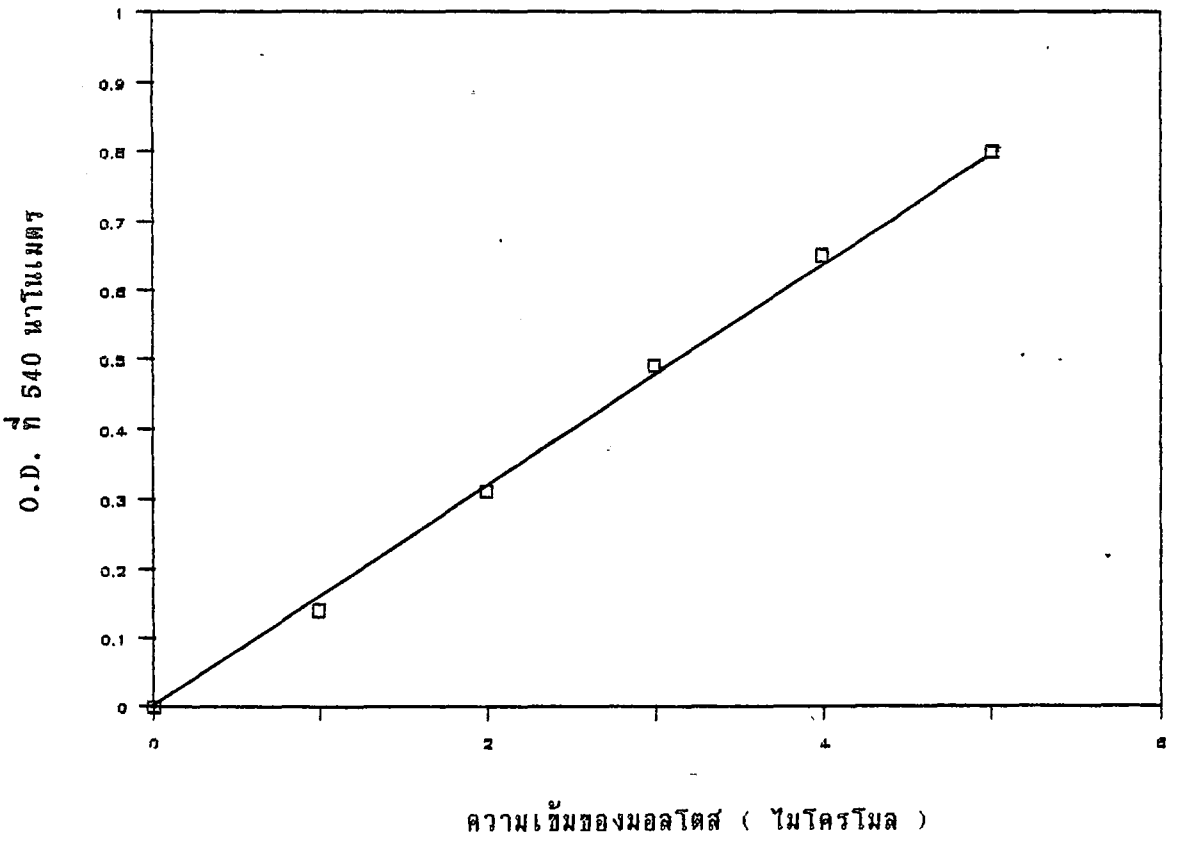
เปรียบเทียบคุณภาพของกลูโคสซีรัปที่ผลิตได้จากข้าวเหนียว โดยใช้เอนไซม์จากมอลท์แห้งข้าวเปลือก และกลูโคสซีรัปที่วางจำหน่ายตามท้องตลาด โดยพิจารณาเทียบกับกลูโคสซีรัปที่ได้ตามมาตรฐาน สมอ. ในเรื่องสี, ปริมาณของแข็งทั้งหมด, ค่าสมมูลย์เดกซ์โตรส (D.E.)

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการทำกราฟมาตรฐานของการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง โดย DNS method

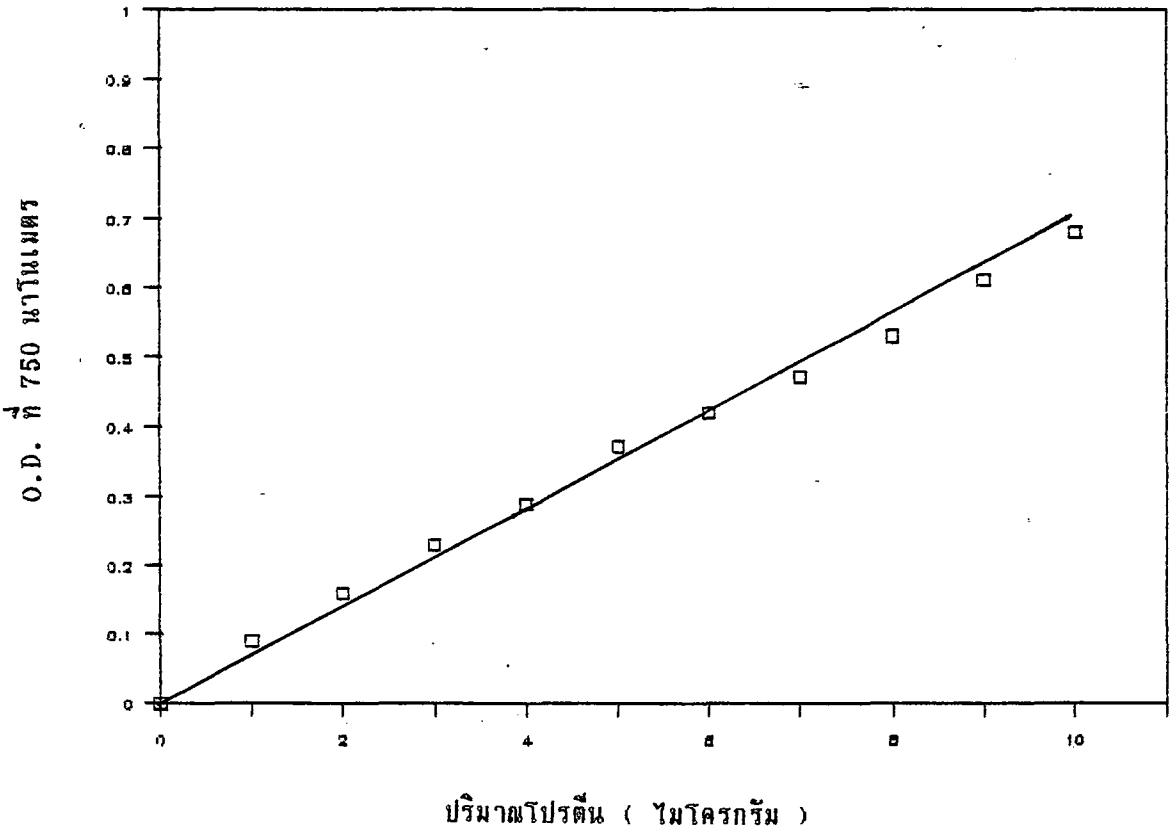
การทำกราฟมาตรฐานหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง โดยใช้สารละลายมอลโตสที่มีความเข้มข้นต่างๆกันเป็นมาตรฐาน และ DNS-reagent ในการทำปฏิกริยาให้เกิดสารละลายสีส้มแดง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เมื่อเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมอลโตส จะได้เส้นกราฟที่มีลักษณะเป็นเส้นตรง ดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 กราฟมาตรฐานการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง โดย DNS method

4.2 ผลการทำกราฟมาตรฐานของการหาปริมาณโปรตีนโดย Lowry method

การทำกราฟมาตรฐานปริมาณโปรตีน โดยใช้สารละลาย Bovine Serum Albumin (BSA) ที่มีความเข้มข้นต่างๆ เป็นมาตรฐาน ตามวิธีการทดลองข้อ 3.4.4.1 เมื่อเขียนกราฟระหว่าง ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของสารละลาย BSA จะได้เส้นกราฟที่มีลักษณะเป็นเส้นตรงดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.2 กราฟมาตรฐานการหาปริมาณโปรตีน โดย Lowry method

4.3 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตมอลท์แห้งจากข้าวเปลือก

จากการนำต้นกล้าข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123 ที่มีอายุการงอก 8 วัน แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนหนึ่งนำไปสกัดเอนไซม์จากมอลท์สดโดยเลือกเฉพาะเมล็ด ส่วนที่เหลือนำไปตากแดด 5 ชั่วโมง และนำไปอบที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เมื่อหาความชื้นเปรียบเทียบกัน และ วัดแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์ที่สกัดได้จากมอลท์แห้งดังกล่าว ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 การหาเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเตรียมมอลท์แห้ง

ตัวอย่างมอลท์ข้าวเปลือก	เวลาในการอบแห้ง (ช.ม.)	ความชื้น (%)	แอคติวิตีเอนไซม์ (unit)	ปริมาณโปรตีน (mg)	แอคติวิตีจำเพาะ (unit/mg protein)	%แอคติวิตีจำเพาะที่ลดลง
มอลท์สด	-	42.64	4.17	0.061	68.4	-
มอลท์แห้ง (หลังตากแดด 5ช.ม.)	-	19.50	7.81	0.115	67.9	0.73
50°C	7	8.16	3.74	0.063	67.8	0.88
60°C	7	6.45	4.80	0.075	64.0	6.43
70°C	6	5.17	0.90	0.059	15.3	77.63

จากผลการทดลอง ในตารางที่ 4.1 เมื่อพิจารณาความชื้นในมอลท์ข้าวเปลือก จะเห็นว่า เมื่อนำมอลท์สดไปตากแดดเป็นเวลา 5 ชั่วโมง มอลท์ข้าวเปลือกจะมีความชื้นลดลง จาก 42.64 % เป็น 19.50 % และเมื่อนำมอลท์ข้าวเปลือกที่ตากแดดแล้วไปอบแห้งที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 50, 60, และ 70 องศาเซลเซียส จะเห็นว่าที่เวลาในการอบใกล้เคียงกัน ความชื้นในมอลท์แห้งที่ได้ลดลงมากขึ้น เมื่ออุณหภูมิในการอบแห้งสูงขึ้น และเมื่อพิจารณาแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์อะมิเลส พบว่า มอลท์แห้งที่ได้จากการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สารละลายมีแอคติวิตีจำเพาะ ใกล้เคียงกันกับข้าวมอลท์ที่ผ่านการตากแดด 5 ชั่วโมงและมอลท์สด สำหรับมอลท์แห้งที่ผ่านการอบแห้งที่ 60 และ 70 องศาเซลเซียสนั้น พบว่า แอคติวิตีจำเพาะลดลงเมื่อเทียบกับมอลท์สด เท่ากับ 6.43% และ 77.63% ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาโดยรวมจะเห็นว่า สภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมมอลท์แห้ง คือ นำมอลท์สดที่มีอายุการงอก 8 วัน ตากแดด 5 ชั่วโมง และอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 7 ชั่วโมง ซึ่งจะได้มอลท์แห้งที่มีความชื้นประมาณ 6 % และมีแอคติวิตีจำเพาะใกล้เคียงกับมอลท์สด

4.4 ผลของ pH ต่อแอคติวิตีของเอนไซม์

จากการศึกษาผลของ pH ต่อแอคติวิตีของเอนไซม์จากต้นกล้าข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123 ตากแห้ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส pH ต่างๆ กันตั้งแต่ pH 3-8 ให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.3 จะเห็นได้ว่า เอนไซม์จากต้นกล้าข้าวเปลือกตากแห้ง จะทำงานได้ดีในช่วง pH 4-7 หากค่า pH สูงกว่าหรือต่ำกว่านี้จะไม่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ สำหรับสภาวะที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์มากที่สุดคือ ที่ pH 6

ตารางที่ 4.2 ผลของ pH ต่อแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลสจากมอลท์สดและมอลท์แห้ง

pH	แอคติวิตีของเอนไซม์ (unit)		ร้อยละแอคติวิตีสัมพัทธ์ (relative activity)	
	มอลท์สด	มอลท์แห้ง	มอลท์สด	มอลท์แห้ง
3	1.48	6.65	44.56	82.51
4	2.37	6.91	71.575	85.73
5	2.89	7.29	87.30	90.45
6	3.31	8.06	100.00	100.00
7	2.63	6.39	79.44	79.28
8	1.63	5.49	49.08	68.11

pH ที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์จากต้นกล้าข้าวเปลือก เนื่องจากเมื่อ pH เปลี่ยนไป จะมีผลต่อประจุของแอมโมเนียมและหมู่คาร์บอกซิลของกรดอะมิโนในเอนไซม์ ซึ่งแสดงได้ดังสมการต่อไปนี้

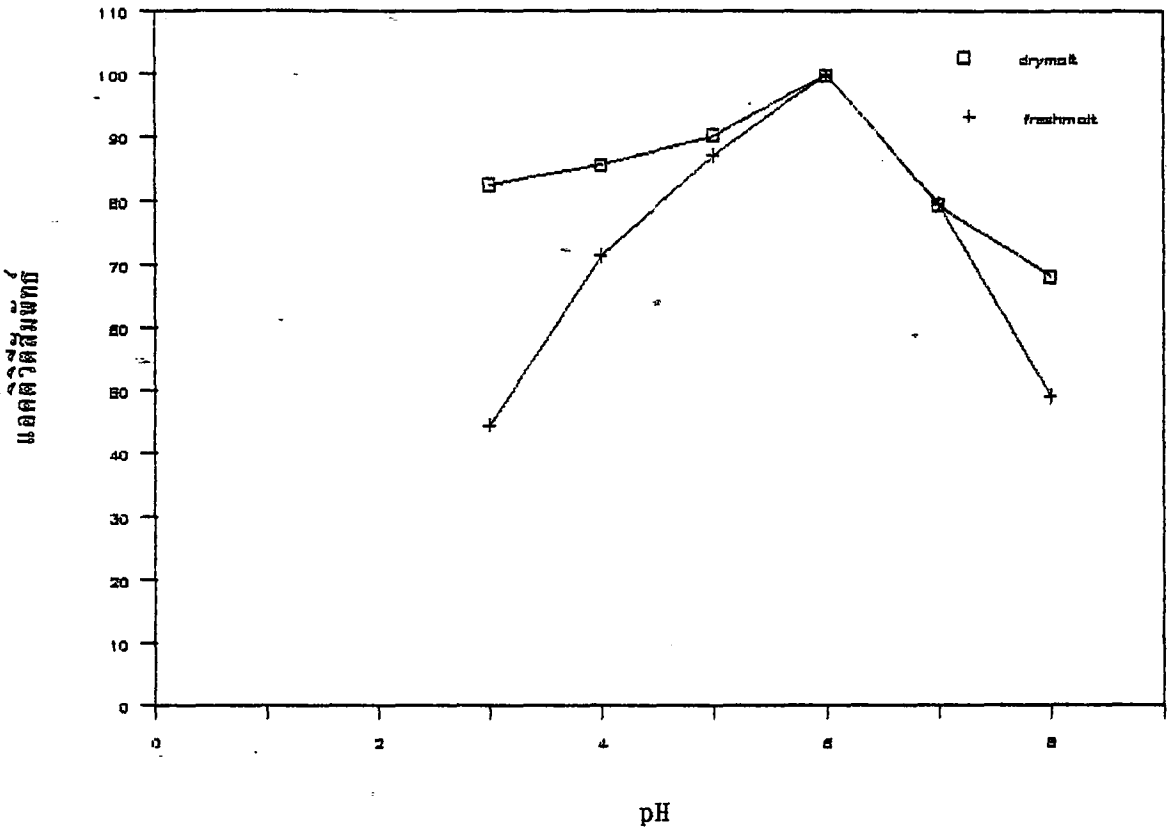
pH สูงเกินไป

$$R\text{-}NH_3^+ \text{ ----------} \rightarrow R\text{-}NH_2 + H^+$$

pH ต่ำเกินไป

$$R\text{-}COO^- \text{----------} \rightarrow R\text{-}COOH$$

เมื่อประจุของกรดอะมิโนในเอนไซม์เปลี่ยนไป จะทำให้ความสามารถในการจับกับ substrate เปลี่ยนไปด้วย จากกราฟรูปที่ 4.3 จะเห็นว่า pH ต่ำเกินไป คือ pH 5 และที่ pH สูงเกินไป คือ pH 7 เอนไซม์จากต้นกล้าข้าวเปลือกจะอยู่ในสภาพที่จับกับสับสเตรทได้ไม่ดี และที่ pH 6 ซึ่งเป็น pH ที่เหมาะสมเอนไซม์จับกับสับเสตรทได้ดีที่สุด



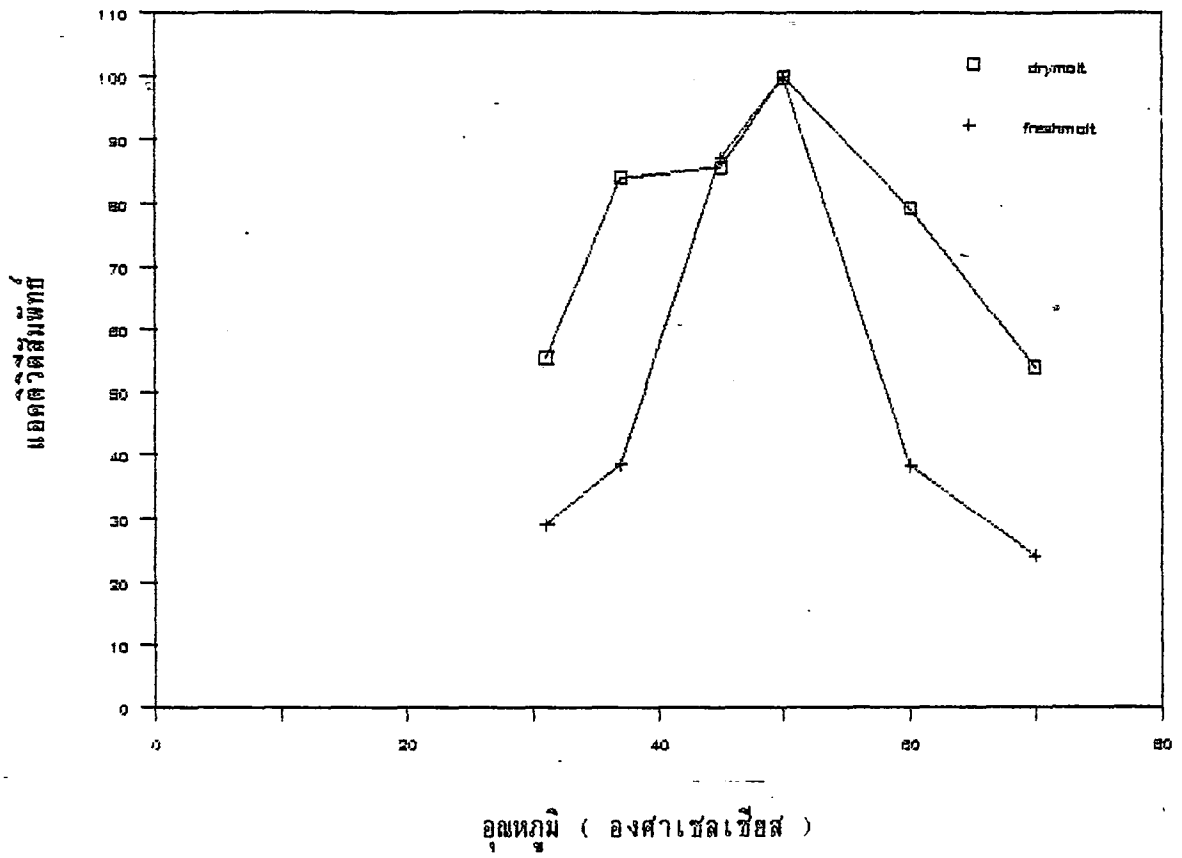
รูปที่ 4.3 ผลของ pH ต่อแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลสจากมอลท์สด และมอลท์แห้ง

4.5 ผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของเอนไซม์

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์ จากต้นกล้าข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123 ที่ pH 6 และที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน คือ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนถึง 70 องศาเซลเซียส ให้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.4จะเห็นได้ว่าเอนไซม์จากต้นกล้าข้าวเปลือกตากแห้ง อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 ชั่วโมง จะมีแอคติวิตีสูงสุดที่ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมมากที่สุดกับการทำงานของเอนไซม์อะมิเลสจากต้นกล้าข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123 คือ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.3 ผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลสจากมอลท์สด และมอลท์แห้ง

อุณหภูมิ (°C)	แอคติวิตีของเอนไซม์ (unit)		ร้อยละแอคติวิตีสัมพัทธ์ (relative activity)	
	มอลท์สด	มอลท์แห้ง	มอลท์สด	มอลท์แห้ง
30	1.07	4.47	29.16	55.46
37	1.41	6.78	38.42	84.12
45	3.20	6.91	87.19	85.73
50	3.67	8.06	100.00	100.00
60	1.41	6.39	38.42	79.28
70	0.89	4.35	24.19	53.97



รูปที่ 4.4 ผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลสจากมอลท์สดและมอลท์แห้ง

4.6 ผลการผลิตกลูโคสซีรัปโดยใช้เอนไซม์จากมอลท์แห้งข้าวเปลือก

จากการทดลองผลิตกลูโคสซีรัปโดยใช้สารตั้งต้นคือข้าวเหนียว และใช้มอลท์แห้งข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123 ที่ pH 6 ซึ่งพบว่าเท่ากับ pH ปกติของวัตถุดิบ จึงไม่ต้องมีการปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริค และควบคุมอุณหภูมิให้ได้ 50 องศาเซลเซียส บ่มไว้ 5 ชั่วโมง โดยใช้อัตราส่วนของมอลท์แห้ง ซึ่งกำหนดให้มีแอคติวิตีเท่ากับมอลท์สด 4 กรัมต่อข้าวเหนียว 60 กรัม ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ผลการผลิตกลูโคสซีรัปโดยใช้เอนไซม์จากมอลท์แห้งข้าวเปลือก

	มอลท์แห้ง	มอลท์สด
อัตราส่วนมอลท์:ข้าวเหนียวแห้ง (กรัม)	3.475:60	4:60
นน.กลูโคสซีรัปที่ได้ (กรัม)	44.0	42.7
ผลผลิต (%)	73.33	71.17
ปริมาณน้ำตาลรีดิวซิง (%)	26.59	23.31
ปริมาณของแข็งทั้งหมด	78.75	76.28
สมมูลย์เดกซ์โตรส (D.E.)	33.77	30.47
สี	น้ำตาล+++	น้ำตาล++
เทียบสี Munsell	2.5 Y 6/8	2.5 Y 7/8

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.4 จะเห็นว่ากลูโคสซีรัปที่ผลิตจากข้าวเหนียวโดยใช้มอลท์แห้ง และมอลท์สดมีคุณภาพใกล้เคียงกัน โดยกลูโคสซีรัปที่ผลิตได้จากมอลท์สด และมอลท์แห้งมีค่าสมมูลย์เดกซ์โตรสเท่ากับ 30.47 และ 33.77 ตามลำดับ

4.7 ผลการตรวจสอบคุณภาพของกลูโคสซีรัปที่ผลิตได้

เมื่อนำกลูโคสซีรัปที่ผลิตได้ โดยใช้มอลท์แห้งข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123 ในอัตราส่วนของมอลท์แห้งข้าวเปลือก ต่อ ข้าวเหนียว เท่ากับ 3.475 : 60 กรัม มาเปรียบเทียบคุณภาพกับกลูโคสซีรัปตามมาตรฐาน สมอ. และกลูโคสซีรัปที่มีจำหน่ายในทางการค้า พบว่าได้มาตรฐานตรงตามที่ สมอ. กำหนดไว้ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 การเปรียบเทียบคุณภาพของกลูโคสซีรัปที่ผลิตโดยใช้เอนไซม์จากมอลท์แห้งข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123 กับกลูโคสซีรัปตามมาตรฐาน สมอ.และกลูโคสซีรัปที่มีจำหน่ายในทางการค้า

องค์ประกอบ	กลูโคสซีรัป		
	สมอ.	มอลท์แห้ง	ทางการค้า
ความข้น	ของเหลวข้น	ของเหลวข้น	ของเหลวข้น
รส	หวาน	หวาน	หวาน
สี	ไม่มีสีหรือเหลืองอ่อน	เหลืองอ่อน	เหลืองอ่อน
กลิ่น	ไม่มีกลิ่นหมัก	ไม่มีกลิ่นหมัก	ไม่มีกลิ่นหมัก
ปริมาณของแข็ง(%)	ต่ำสุด 70	78.75	77.05
สมมูลย์เดกซ์โตรส	ต่ำสุด 20	33.77	24.18
pH	4.8 -5.5	6	6

ตารางที่ 4.5 การเปรียบเทียบคุณภาพของกลูโคสซีรัปที่ผลิตโดยใช้เอนไซม์จากมอลท์แห้งข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123 กับกลูโคสซีรัปตามมาตรฐาน สมอ.และกลูโคสซีรัปที่มีจำหน่ายในทางการค้า (ต่อ)

องค์ประกอบ	กลูโคสซีรัป		
	สมอ.	มอลท์แห้ง	ทางการค้า
% เถ้าซัลเฟตของน้ำหนักกลูโคสซีรัปแห้ง	1.0	-	-
ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ใช้ในทางเภสัชกรรม	20.0	-	-
ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร	400.0	-	-

จากตารางที่ 4.5 จะเห็นว่ากลูโคสซีรัปที่ผลิตได้จากข้าวเหนียวโดยใช้มอลท์แห้งข้าวเปลือกมีคุณภาพใกล้เคียงกับกลูโคสซีรัปที่จำหน่ายทางการค้า และได้มาตรฐานตรงตามที่สมอ. กำหนดไว้ ยกเว้น pH ในกรณีของกลูโคสซีรัปที่ผลิตได้จากมอลท์แห้งข้าวเปลือกนั้นจะมี pH เท่ากับ 6 โดยมีค่าสูงกว่ามาตรฐานเล็กน้อย ซึ่งคาดว่าไม่น่าจะมีผลต่อคุณภาพในแง่ของความปลอดภัย เนื่องจากเป็น pH ตามธรรมชาติของวัตถุดิบ

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

ในการศึกษาการเตรียมมอลท์แห้งข้าวเปลือกสำหรับใช้ในการผลิตกลูโคสซีรัป โดยใช้ข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมมอลท์แห้ง คือ นำมอลท์สดที่มีอายุการงอก 8 วันไปตากแดด เป็นเวลา 5 ชั่วโมงแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 ชั่วโมง จะได้มอลท์แห้งข้าวเปลือกที่มีความชื้น 6.45 % โดยมีแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์อะมิเลสลดลงเพียงเล็กน้อยคือ 6.43 % เมื่อเทียบกับแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์อะมิเลสจากมอลท์สด

เมื่อนำเอนไซม์ที่สกัดได้จากมอลท์แห้งข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123 มาหาอุณหภูมิและ pH ที่เหมาะสมในการทำงาน และสภาวะที่เหมาะสมในการทำงาน พบว่ามีค่าเท่ากับ 50 องศาเซลเซียส และ pH 6 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างจากมอลท์สด

และที่ pH 6 ซึ่งเป็น optimum pH ของอะมิเลสจากมอลท์แห้งนั้นเท่ากับ pH โดยปกติของข้าวเหนียวที่ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตกลูโคสซีรัปจึงเป็นผลดีต่อกระบวนการผลิต และผลิตภัณฑ์ที่ได้ เนื่องจากไม่ต้องมีการปรับ pH ให้เหมาะสมโดยใช้กรดหรือด่าง ในกระบวนการผลิตทำให้ไม่มีสารตกค้างเหลืออยู่

จากการผลิตกลูโคสซีรัปโดยใช้ข้าวเหนียวเป็นวัตถุดิบ และ ใช้มอลท์แห้งข้าวเปลือกเหลืองประทิว 123 ในอัตราส่วนมอลท์แห้งต่อข้าวเหนียว เท่ากับ 3.475 : 60 กรัม พบว่ากลูโคสซีรัปที่ได้มีคุณภาพตรงตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกลูโคสซีรัปของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม

5.2 ข้อเสนอแนะ

1) อุณหภูมิในการเพาะเมล็ดข้าวเปลือก อาจจะมีผลต่อการงอกของเมล็ดข้าวเปลือก ทำให้ปริมาณเอนไซม์ ในมอลท์ข้าวเปลือกที่ได้ ในแต่ละครั้งไม่เท่ากัน จึงควรมีการศึกษาผลของอุณหภูมิในระหว่างการเพาะต่อการงอกและปริมาณเอนไซม์ในข้าวมอลท์

2) สภาพ และ อายุการเก็บรักษามอลท์แห้ง เพื่อให้มอลท์แห้งยังคงมีแอคติวิตีของเอนไซม์ในระดับสูง เป็นสิ่งที่ควรจะพิจารณาศึกษาต่อไป

3) ปริมาณน้ำที่เติมลงในข้าวเหนียวบดจะมีผลต่อ ความเข้มข้นของสารละลายแป้งที่ได้ ซึ่งอาจจะมีผลต่อการเร่งปฏิกริยาของเอนไซม์ จึงควรมีการศึกษาความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่เหมาะสม

4) อายุการเก็บของข้าวเปลือก มีผลต่อการงอกของเมล็ด ข้าวเปลือกที่มีอายุการเก็บนานเกินไป จะมีผลทำให้ปริมาณการงอกลดลง จึงควรใช้ข้าวเปลือกที่มีอายุการเก็บไม่นานเกินไป

5) อุปกรณ์ที่ใช้ในการอบ ได้แก่ ตู้อบลมร้อน แต่ละเครื่องจะมีประสิทธิภาพในการทำแห้งต่างกัน ดังนั้นในการทดลองจึงควรใช้ตู้อบลมร้อนเครื่องเดิมในทุกชุดของการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ กรมวิทยาศาสตร์บริการ. 2519. วิธีทำแบะแซ. กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม.

ชลลดา ดีเหลือ และอมรรัตน์ จิตต์เจริญรุ่ง. 2536. การศึกษาแอคติวิตีของเอนไซม์อะมิเลสในต้นกล้าข้าวเปลือกเพื่อใช้ในการผลิตกลูโคสซีรัป. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม และนวลศรี รักอริยะธรรม. 2523. การศึกษาสมบัติบางประการของเอนไซม์อะมิเลสจากต้นอ่อนข้าวสาลี เพื่อเป็นแนวทางการประยุกต์ใช้ในการผลิตแบะแซ. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 15 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. หน้า 546-547.

ประสูตร สิทธิสรวง. 2530. แบะแซ. ข่าวสารเมล็ดพันธุ์พืช. 2(พฤษภาคม-มิถุนายน).

ปราโมทย์ ทองนาค และนวลศรี รักอริยะธรรม. 2535. การพัฒนากรรมวิธีการผลิตกลูโคสซีรัป. การปรปะชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 18. 27-29 ตุลาคม 2535. ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์. หน้า 504-504.

ปานจิตร ศิริพากย์. 2526. การผลิตกลูโคสซีรัปจากแป้งข้างฟ่างโดยใช้เอนไซม์จากแป้งข้าวฟ่าง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต(วิทยาศาสตร์การอาหาร). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2521. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกลูโคสซีรัป. กระทรวงอุตสาหกรรม.

BAKKER, B., and HALL, A. 1974. Principle of Grain Drying. Drying Cereal Grain. : 1-22.

BIRCH, G.G., BLAKEBROUGH, N., and PAKER ,K.J. 1981. New Developments in Starch Syrup Technology. Enzyme and Food Processing. : 17-49.

BROOKER, B., and FRED, W. 1992. Rice Drying. Drying and Storage of Grains and Oil Seeds. : 309-333. New York.

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 : 712-714.

CAPANZANA, M.V.,and MALLESHI, N.G. 1989. Studies on Malting of Rice. Asean Food Journal. 4 : 111-115.

DAIBER, K.H., and NOVELLIE, L. 1968. Daffircorn Malting and Brewing Studies, XIX, Gibberellic Acid and Amylase Formation in Kaffircorn. J. Food Agric.19 : 87-90.

GRIFFIN, M.V., and BROOKS, J.R. 1989. Production and Size Dustribution of Rice Maltodextrins Hydrolyzed from Milled Rice Flour Using Heat-Stable Alpha-Amylase. J. Food Sci. 54: 190-193.

JULIANO, B.O., 1992. Structure, Chemistry, and Function of Rice Grain and Its Fractions. Cereal Food World. 37 : 772-778.

KEVIN, A.S., and CHERYAN, M. 1992. Continuous Production of Glucose Syrup in an Ultrafiltration Reactor. J. Food Sci. 57 : 163-166.

KNIGHT, J.W. 1969. Starch. The Starch Industry. : 8-31 , 164-169. Lon Don. PERGAMON PRESS,LTD.

LEE, Y.C., and KIM, K.I. 1990. Gelatinization and Liquefaction of Starch with a Heat Stable - Alpha - Amylase. J. Food Sci. 55 : 1365-1366.

LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L. and RAUDELL, R.J. 1951. J.Bio chem. 193 : 265-275.

LOKOW, O.M., BEKES, F., and BUSHUK, W. 1985. Influence of Germination on Wheat Quality. Cereal Chemistry. 62 : 419-422.

MACRI, L.J., BALLANCE, G.M., and LARTER, E.N. 1986. Change in The Alpha-Amylase and Protease Activities of Four Secondary Hexaploid Triticales During Kernel Development.Cereal Chemistry.63 :267- 270.

PALMER, T.J. 1970. Glucose Syrup in Food. Proc. Biochem. 5 : 23-24.

PALMER, T.J. 1975. Glucose Syrup in Food and Drink. Proc. Biochem. 12 : 19-20.

REDDY, L.V., CHING, T.M., and METZGER, R.J. 1984. Alpha - Amylase Activity in Wheat Kernels Matured and Germinated Under Different Temperature Conditions. Cereal Chemistry. 61 : 228-231.

SHETTY, J.K., and ALLEN, W.G. 1988. An Acid - Stable, Thermostable Alpha - Amylase for Starch Liquefaction. Cereal Food World. 33 : 929-934.

TAUBER, H. 1937. CARBOHYDRASE. Enzyme Chemistry. : 137-146. New York : Jhon Wiley & Sons, Ing.

WATSON, T.G., and NOVELLEI, L. 1976. The Development of Amylase and Maltase During The Malting of *Sorghum vulagare*. Agrochemophysics. 8 : 61-64.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

1. การเตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer เข้มข้น 0.05 M. pH 7.0 ซึ่งมี $CaCl_2$ เข้มข้น $5x10^{-4}$ M.

   - Tris (hydroxymethy) aminomethane (THAM) 6.06 กรัม
   - HCl เข้มข้น 6 M.
   - $CaCl_2$ เข้มข้น 0.02 M.

ละลาย THAM ด้วยน้ำกลั่นประมาณ 800 มิลลิลิตร เติมสารละลาย $CaCl_2$ เข้มข้น 0.02 M. 25 มิลลิลิตร นำไปปรับ pH ให้เป็น 7.0 ด้วย HCl ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

2. การเตรียม Dinitrosalicylic acid reagent (DNS reagent)

ละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid 1 กรัม ใน 2N NaOH 20 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร คนให้ละลายจากนั้นเติม potassium tartrate 30 กรัม คนให้ละลาย ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3. การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ

3.1 สารละลายบัฟเฟอร์ pH 3-7 ใช้ Citric phosphate buffer ความเข้มข้น 0.05 M.

สารละลาย A : ละลาย citric acid 9.61 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร จะได้สารละลาย A ความเข้มข้น 0.05 M.

สารละลาย B : ละลาย Na_2HPO_4 12 H_2O 17.9 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร จะได้สารละลาย B ความเข้มข้น 0.05 M.

เตรียม Citric phosphate buffer ความเข้มข้น 0.05 M. โดยค่อยๆ เติมสารละลาย B ลงในสารละลาย A แล้วปรับ pH ตามต้องการ

3.2 สารละลาย pH 8 ใช้ Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.05 M. ละลาย Tris (hydroxymethyl) aminomethane (THAM) 3.02 กรัม ในน้ำกลั่นประมาณ 450 มิลลิลิตร นำไปปรับ pH ให้เป็น 8 ด้วยสารละลาย HCl ความเข้มข้น 6 M. จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

4. วิธีการหาปริมาณความชื้น

4.1 ชั่ง Albumin can พร้อมฝาที่สะอาดผ่านการอบแห้งมาก่อนแล้ว

4.2 ใส่ตัวอย่าง 2 กรัม ปิดฝาแล้วนำไปชั่งจดน้ำหนัก (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง)

4.3 นำไปอบในตู้อบโดยเปิดฝา Albumin can ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

4.4 เมื่อครบกำหนดเวลาที่อบ ปิดฝา Albumin can นำมาทำให้เย็นใน desiccator ก่อนนำมาชั่งน้ำหนัก

4.5 คำนวณเปอร์เซนต์ความชื้น

$$\text{เปอร์เซนต์ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น - น้ำหนักหลังอบ}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} * 100$$

5. วิธีหาค่า Dextrose equivalent (D.E.) (Lane and Eynon's volume method)

5.1 วิธีวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด

5.1.1 การเตรียม kieselguhr : ล้าง kieselguhr ด้วยกรดเกลือเข้มข้น 0.1% โดยปริมาตร โดยใช้กรวยบุชเนอร์ ล้างจนกระทั่งเมื่อทดสอบน้ำที่ผ่านออกมาด้วยกระดาษลิตมัสมีสมบัติเป็นกรด ใช้น้ำกลั่นล้างต่อไป จนกระทั่งวัด pH ของน้ำที่ผ่านออกมาได้มากกว่า หรือเท่ากับ 4 ทิ้งให้แห้งจากนั้น นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 1 คืน เก็บไว้ในภาชนะที่ปิดสนิท

5.1.2 วิธีวิเคราะห์

ชั่ง kieselguhr ที่ล้างและอบแห้งแล้วประมาณ 5 กรัม ใส่ถ้วยกระเบื้อง นำไปอบพร้อมกับฝาปิดที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ จดน้ำหนักของถ้วยกระเบื้องที่บรรจุ kieselguhr ให้แน่นอนถึงทศนิยม 4 ตำแหน่ง (m_1)

ชั่งตัวอย่างกลูโคสซีรัปประมาณ 2 กรัม ในบีกเกอร์ที่แห้งจดน้ำหนักถึงทศนิยม 4 ตำแหน่ง (m_0) เติมน้ำร้อนไม่เกิน 5 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากันแล้วถ่ายลงในถ้วยกระเบื้องที่บรรจุ kieselguhr ล้างบีกเกอร์ด้วยน้ำร้อนเล็กน้อยถ่ายลงในถ้วยกระเบื้องทั้งหมด คนจน keiselguhr เป็นเนื้อเดียวกัน นำถ้วยกระเบื้องบรรจุตัวอย่าง และฝาปิดไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-8 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาบด โดยใช้แท่งแก้วคนที่แห้ง แล้วอบต่อไปอีกประมาณ 8 ชั่วโมง นำออกมาใส่ desiccator ทิ้งไว้ให้เย็น 1 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักให้แน่นอนถึงทศนิยม 4 ตำแหน่ง ทำซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่ (m_2)

5.1.3 วิธีคำนวณ

ปริมาณของแข็งทั้งหมด = $(m_2-m_1)*100\% / m_0$

m_0 = น้ำหนักตัวอย่างกลูโคสซีรัป

m_1 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องที่บรรจุ kieselguhr หลังอบจนคงที่

m_2 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องที่บรรจุ kieselguhr และตัวอย่างกลูโคสซีรัป หลังจากอบจนคงที่

5.2 วิธีหาปริมาณ reducing sugar

5.2.1 การเตรียมสารเคมี

5.2.1.1 Fehling solution

สารละลาย A : ละลาย $CuSO_4\ 5H_2O$ 34.64 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร

สารละลาย B : ละลาย $KNaC_4H_4O_5\ 4H_2O$ 173 กรัม ในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร

ก่อนใช้ ผสมสารละลาย A และ B เข้าด้วยกัน ตั้งทิ้งไว้ 1 คืนที่อุณหภูมิห้อง แล้วกรอง

5.2.1.2 Methylene blue indicator

ละลาย Methylene blue 1 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

5.2.2 วิธีหาค่ามาตรฐานของ Fehling solution

อบกลูโคสบริสุทธิ์ให้แห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง ชั่งกลูโคสที่อบแล้วมา 2.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปไตเตรตแล้วจดปริมาตรของสารละลายกลูโคสที่ใช้

5.2.3 วิธีการเตรียมสารละลายตัวอย่างกลูโคสซีรัป

ชั่งตัวอย่างกลูโคสซีรัปประมาณ 5 กรัม ในบีกเกอร์ที่แห้ง ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนถึงทศนิยม 4 ตำแหน่ง (m_0) ใช้น้ำร้อนละลายกลูโคสซีรัป แล้วถ่ายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่นจนถึงขีดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน

5.2.4 วิธีการไตเตรต

5.2.4.1 วิธีไตเตรตแบบอินครีเมนตัล (Incremental Method of Titration)

ปิเปต Fehling solution 20 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ ไขสารละลายตัวอย่าง กลูโคสซีรัป (หรือสารละลายมาตรฐาน)จากบิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ประมาณ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มให้เดือด 10-15 วินาที ถ้าหาก Fehling solution ยังคงมีสีน้ำเงินอยู่ ให้ไขสารละลายตัวอย่างลงไปอีกครั้งละ 3-5 มิลลิลิตร แล้วต้มให้เดือด 2-3 นาที ทำเช่นนี้จนกระทั่งสีน้ำเงินของ Fehling solution จางลง เติม methylene blue 3-4 หยด ไตเตรทต่อไปจนสีของ methylene blue หายไปหมด และเกิดตะกอนสีน้ำตาลแดง จดปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้

5.2.4.2 วิธีไตเตรตแบบมาตรฐาน (Standard method of titration)

ไขสารละลายตัวอย่างกลูโคสซีรัป (หรือสารละลายมาตรฐาน กลูโคสซีรัป) จากบิวเร็ต ลงในขวดรูปชมพู่ซึ่งมี Fehling solution 20 มิลลิลิตร ต้มเดือดอยู่ โดยไขสารละลายตัวอย่างให้น้อยกว่าค่าที่ทราบตามวิธีไตเตรตแบบอินดิเคเตอร์ ประมาณ 1 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดอีก 2 นาที เติม methylene blue ลงไป 3-4 หยด แล้วไตเตรตต่อไป โดยใช้สารละลายตัวอย่างครั้งละ 2-3 หยด จนกระทั่งสีของ methylene blue หายไปหมด และเกิดตะกอนสีน้ำตาลแดง การไตเตรตนี้จะต้องเสร็จภายใน 1 นาที นับตั้งแต่เติม methylene blue จดปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้

5.2.5 วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณ reducing sugar} = \frac{250 * A\ \%}{V * m}$$

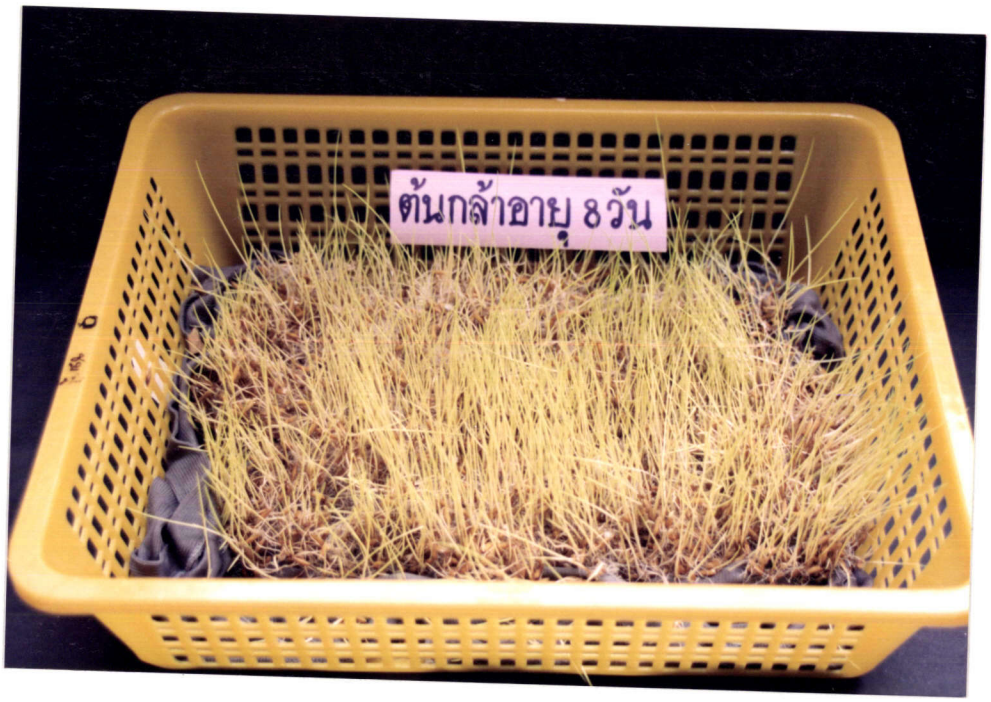
A = ปริมาตรสารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการหาค่ามาตรฐานของ Fehling solution

B = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างกลูโคสที่ใช้

C = น้ำหนักของกลูโคสซีรัปที่ใช้เตรียมสารละลายตัวอย่าง

$$\text{ค่า Dextrose equivalent(D.E.)} = \frac{\text{ปริมาณ reducing sugar เป็นร้อยละ} * 100}{\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมดเป็นร้อยละ}}$$

ภาคผนวก ข



ลักษณะของต้นกล้าข้าวเปลือกพันธุ์เหลืองประทิว 123 ที่มีอายุการงอก 8 วัน

ภาคผนวก ค

ลักษณะของมอลท์สด หลังจากตากแดดเป็นเวลา 5 ชั่วโมง

ภาคผนวก ง

เปรียบเทียบลักษณะของมอลท์สดก่อนตากแดด หลังตากแดด และหลังอบ

ภาคผนวก จ

ลักษณะของเมล็ดข้าวเปลือก

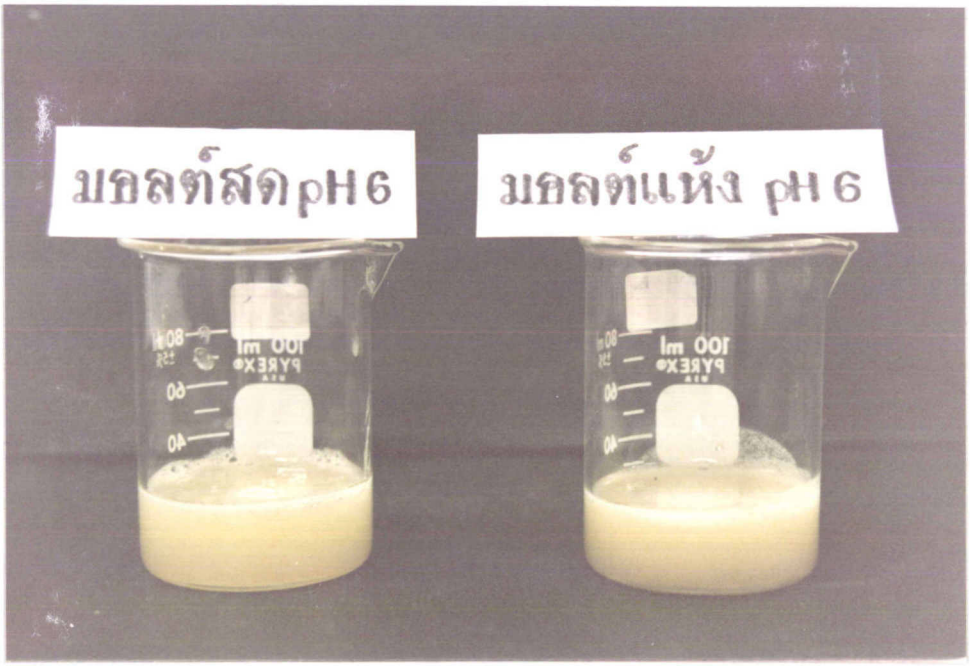
ภาคผนวก ฉ

ลักษณะของเมล็ดข้าวเปลือกหลังจากแช่น้ำไว้ 1 คืน

ภาคผนวก ช

ลักษณะของเมล็ดข้าวเปลือกหลังจากอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 ชั่วโมง

ภาคผนวก ช



เปรียบเทียบลักษณะของกลูโคสซีรัปที่ผลิตจากข้าวเหนียว โดยใช้มอลต์สดและมอลต์แห้ง

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นายพิเชฐ วัชรศักดิ์ไพศาล
ภูมิลำเนา	จังหวัดราชบุรี
วันเดือนปีเกิด	16 พฤศจิกายน 2513
ประวัติการศึกษา	สำเร็จชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียนเตรียมอุดมศึกษา เมื่อปี พ.ศ. 2533 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร) จากคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อปี พ.ศ. 2537

ชื่อ-สกุล	นายมารุจน์ ลิมปะวัฒนะ
ภูมิลำเนา	จังหวัดกรุงเทพมหานคร
วันเดือนปีเกิด	11 พฤศจิกายน 2514
ประวัติการศึกษา	สำเร็จชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียนสวนกุหลาบวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2533 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร) จากคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อปี พ.ศ. 2537