

การหาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้อัลตราโซนิกช่วยสกัดโปรตีนจากผงแป้งเมล็ดขนุน ด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง

Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Protein from Jackfruit Seed Powder using Response Surface Methodology

วรทเอก ศรีสุวรรณ* กิตติ ไชยวัฒน์ พชร แก้วรัตนขจร

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

63 หมู่ 7 ถนน รังสิต-นครนายก อ.องครักษ์, จ.นครนายก 26120

Warathaek Srisuwan* Kittti Chaiyawan Pathchara Keawrattanakajorn

Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Srinakharinwirot University,

63 Moo 7 Rangsit-Nakhonnayok Road, Ongkharak, Nakhonnayok 26120, Thailand

*Corresponding author Email: warathaek@gmail.com

(Received: May 15, 2023; Revised: November 6, 2023 ; Accepted: December 7, 2023)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้อัลตราโซนิกช่วยสกัดโปรตีนจากแป้งเมล็ดขนุน ด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง โดยศึกษาถึงผลกระทบจากปัจจัยของอัตราส่วนปริมาณเอนไซม์โปรติเอสที่ใช้ อุณหภูมิ และระยะเวลาในการสกัด โดยใช้การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken Designs ที่ 3 ปัจจัย 3 ระดับ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม จากการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือ อัตราส่วนของเอนไซม์โปรติเอสต่อแป้งเมล็ดขนุนเป็น 3.50 มิลลิลิตรต่อแป้ง 10 กรัม อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 15 นาที และได้ค่าร้อยละการกำจัดโปรตีนร้อยละ 64.42 แป้งที่ผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีนแล้วจะเหลือปริมาณโปรตีนเท่ากับร้อยละ 3.15

คำสำคัญ: อัลตราโซนิกช่วยสกัด การกำจัดโปรตีน แป้งเมล็ดขนุน วิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง

ABSTRACT

This research aims to study the optimization of ultrasonic-assisted extraction of protein from jackfruit seed powder by response surface methodology (RSM). The effect of the ratio of enzyme to jackfruit seed powder, temperature and extraction time was investigated on protein removal. Box-Behnken Designs was used to determine the optimum extraction parameters. The result showed the optimum conditions were the ratio of enzyme to jackfruit seed powder 3.5 ml/10 g, temperature of 50 °C and extraction time about 15 minutes. The protein removal percentage was 64.42% at the optimum conditions. While, the jackfruit seed powder remained protein was 3.15%.

Keyword: Ultrasonic-assisted extraction, protein removal, jackfruit seed powder, response surface methodology.

1. บทนำ

ขนุนมีชื่อสามัญว่า jackfruit เป็นพืชในวงศ์ Moraceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Artocarpus Heterophyllus Lam.* เป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย นิยมปลูกกันมากในกลุ่มประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สามารถนำผลมาประกอบอาหารรับประทานแทนผัก ส่วนเนื้อขนุนนำมาบริโภคเป็นขนุนสดหรือนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ในอุตสาหกรรม เช่น ขนุนอบแห้ง ขนุนในน้ำเชื่อมบรรจุกระป๋อง ขนุนแช่แข็ง ขนุนแช่อิ่ม และขนุนแผ่นทอด พบว่าผลผลิตขนุนรวมทั้งประเทศในปี พ.ศ. 2549 ถึง พ.ศ. 2550 สูงประมาณ 130,668 ถึง 132,874 ตันต่อปี โดยพบว่าเมล็ดขนุนซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากการแปรรูป และบริโภคมีปริมาณร้อยละ 10 ถึง 15 ของน้ำหนักผลขนุน ซึ่งเมื่อคิดจากผลผลิตทั้งประเทศอาจมีปริมาณเมล็ดขนุนสูงถึงประมาณ 19,600 ถึง 19,931 ตันต่อปี [1] แต่การใช้ประโยชน์จากเมล็ดขนุนมีน้อย ส่วนใหญ่นิยมนำมาต้มเพื่อรับประทานเป็นอาหารว่างในครัวเรือนเท่านั้น ดังนั้นควรมีการนำเมล็ดขนุนมาผลิตเป็นแป้งบริสุทธิ์สตาร์ชเมล็ดขนุนเพื่อเพิ่มมูลค่าและยังลดปัญหาการกำจัดของเสียอีกทางหนึ่งด้วยด้วย แป้งบริสุทธิ์สตาร์ชเมล็ดขนุนจะมีปริมาณ Resistance starch สูงถึงร้อยละ 50 สามารถประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพได้ เช่น ผลิตภัณฑ์วุ้นเส้นเพื่อสุขภาพ รวมถึงการใช้เป็นสารให้ความหนืดในซอสพริกเนื่องจากมีความหนืดสูงสุด 2100 RVU และมีอุณหภูมิเจลาติไนซ์ที่ 85-90°C [2] เนื่องจากเมล็ดขนุนจะมีโปรตีนอยู่ประมาณร้อยละ 10 ถึง 12 โปรตีนในแป้งส่งผลต่อคุณภาพของแป้ง 2 ด้าน คือ ด้านคุณค่าทางโภชนาการและด้านคุณภาพ พบว่าแป้งที่มีโปรตีนต่ำจะให้รสชาติความเหนียวนุ่มและการจับตัวมากกว่าแป้งที่มีโปรตีนสูง นอกจากนี้เมื่อการมีโปรตีนในแป้งจะเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด ส่งผลให้สีและกลิ่นของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลง [3] ดังนั้นจึงต้องนำเมล็ดขนุนมาผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีนเสียก่อนเพื่อให้ได้แป้งสตาร์ชเมล็ดขนุนที่บริสุทธิ์ในกระบวนการกำจัดโปรตีนในแป้งโดยทั่วไปทำได้โดยการ

ใช้ตัวทำละลาย แต่ก็พบปัญหาของการตกค้างของสารเคมี การใช้เอนไซม์ในการย่อยโปรตีนเป็นทางเลือกหนึ่งที่เป็นยอมรับเพราะไม่ต้องกังวลต่อการตกค้างของสารเคมีแต่ประสิทธิภาพในการกำจัดโปรตีนไม่ดีนักและใช้เวลาในการสกัดนาน [4] การใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยสกัด จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพและลดระยะเวลาในการสกัด อีกทั้งช่วยลดการใช้สารละลายอีกด้วย โดยคลื่นอัลตราโซนิกจะทำให้เกิดฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมากและปรากฏการณ์คาวิเทชัน ส่งผลให้โครงสร้างของโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยทำลายพันธะโควาเลนต์ทำให้ละลายได้มากขึ้น เอนไซม์จึงสามารถเข้าได้ย่อยสลายได้ดีขึ้น ดังนั้นคลื่นอัลตราโซนิกและการย่อยด้วยเอนไซม์จึงเสริมฤทธิ์กันในการย่อยสลายโปรตีน ส่วนปัจจัยที่มีผลต่อการกำจัดโปรตีนได้แก่ กำลังของคลื่น อัตราส่วนของสารละลายกับสารตัวอย่าง อัตราส่วนของเอนไซม์ที่ใช้ ความเป็นกรดต่างอุณหภูมิ ระยะเวลาในการสกัด [2] [5] [6]

งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการศึกษาการกำจัดโปรตีนจากแป้งเมล็ดขนุนโดยใช้เอนไซม์โปรตีเอสในการย่อยโปรตีน ร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยสกัด โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดโปรตีน ได้แก่ อัตราส่วนเอนไซม์โปรตีเอสต่อผงแป้งขนุน อุณหภูมิ และเวลาในการสกัด เพื่อให้ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีนในการผลิตแป้งบริสุทธิ์สตาร์ชเมล็ดขนุน นอกจากนี้ยังศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ของแป้งบริสุทธิ์สตาร์ชเมล็ดขนุน ได้แก่ ความหนืด และการเกิดเจลาติไนเซชัน เพื่อใช้เป็นสารให้ความหนืดในซอสพริกหรือซอสมะเขือเทศ

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

การวิเคราะห์ปริมาณไขมันด้วยวิธี Soxhlet extraction (AOAC, 2000) [7] ด้วยเฮกเซน

การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย (AOAC, 2000) [7] สารละลายกรดซัลฟูริก เข้มข้นร้อยละ 1.25 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 5 สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 1 เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl (AOAC 2000) [7] ด้วย โพแทสเซียมซัลเฟต คอปเปอร์ ซัลเฟต กรดซัลฟูริก สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 32 สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 สารละลายไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร เอนไซม์ โปตีเอส และน้ำจากการผลิตด้วยวิธี Reverse Osmosis

การวิเคราะห์ปริมาณแป้งทั้งหมด (Total starch content) ด้วย เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 80 Dimethyl sulphoxide เอนไซม์ Thermostable α -amylase เอนไซม์ Amyloglucosidase สารละลาย Glucose determination reagent

เอนไซม์โปตีเอสจาก บริษัท ริช ไบโอเทคโนโลยี จำกัด เป็นเอนไซม์อัลคาไลน์โปตีเอส มีสภาวะการทำงานที่เหมาะสมที่ pH 9.5-10.5 อุณหภูมิที่ 30-50 องศาเซลเซียส ปริมาณการใช้และระยะเวลาเหมาะสมตามการใช้งาน

เครื่องอัลตราโซนิก ของบริษัท Elmasonic S (Elma) ประเทศเยอรมัน รุ่น S 70 H กำลังไฟ 750 วัตต์ ความถี่ 37 กิโลเฮิร์ตซ์

2.2 การเตรียมสารตัวอย่าง

นำเมล็ดขนุนพันธุ์ทองประเสริฐ มาล้างทำความสะอาด ปั่นลอกเปลือกหุ้มเมล็ดออก ตัดเป็นชิ้นบางๆ ความหนาประมาณ 2 มิลลิเมตร นำไปอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบด แล้วคัดแยกขนาดให้ได้ขนาดเล็กกว่า 90 ไมโครเมตร ด้วยตะแกรงเบอร์ 100 เก็บรักษาในโถดูดความชื้นเพื่อรอนำไปใช้ในการทดลอง

2.3 วิธีการวิเคราะห์ (AOAC 2000) [7]

2.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันด้วยวิธี Soxhlet extraction

อบ Boiling flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก ชั่งสารตัวอย่าง 20 กรัม ใส่ใน Thimble นำ Thimble มาใส่ใน Soxhlet extraction เต็ม Hexane 350 มิลลิลิตร ลงใน Boiling flask แล้วทำ

การสกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำ Boiling flask ที่ไต่ไประเหย Hexane ออกโดยใช้ Rotary evaporator จะเหลือน้ำมันอยู่ที่ Boiling flask นำ Boiling flask ไปอบในเตาอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 15 นาที แล้วนำไปชั่งน้ำหนักและคำนวณหาปริมาณไขมันดังสมการที่ 1

$$\text{ไขมัน(ร้อยละ)} = \frac{W_2 - W_1}{S} \times 100 \quad (1)$$

เมื่อ

W_1 = น้ำหนักขวดก่อนอบ หน่วยเป็น กรัม

W_2 = น้ำหนักขวดหลังอบ หน่วยเป็น กรัม

S = น้ำหนักสารตัวอย่าง หน่วยเป็น กรัม

2.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง นำออกจากเตาเผาเก็บไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนัก บันทึกผล ทำซ้ำจนกระทั่งได้น้ำหนักที่คงที่ (ในแต่ละซ้ำต่างกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัม) หาค่าเฉลี่ย บันทึกผล (W_1) ชั่งตัวอย่างอย่างละเอียดประมาณ 5 กรัม (S) ลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบ เฝอบเตาไฟฟ้า จนหมดควัน นำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เถ้าสีเทาอ่อน หรือสีขาวสม่ำเสมอ นำออกจากเตาเผา เก็บในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนัก บันทึกผล ทำซ้ำ (ในแต่ละซ้ำต่างกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัม) หาค่าเฉลี่ย บันทึกผล (W_2) และคำนวณหาปริมาณเถ้าดังสมการที่ 2

$$\text{เถ้า(ร้อยละ)} = \frac{W_2 - W_1}{S} \times 100 \quad (2)$$

เมื่อ

W_1 = น้ำหนักถ้วยเปล่าหลังเผา หน่วยเป็น กรัม

W_2 = น้ำหนักถ้วยและตัวอย่างหลังเผา หน่วยเป็น กรัม
 S = น้ำหนักสารตัวอย่าง หน่วยเป็น กรัม

2.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย

นำตัวอย่างแบ่งที่ผ่านการสกัดไขมันออกแล้วไปบดลดขนาดด้วย Blender ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างแบ่งประมาณ 5 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนเต็ม บีกเกอร์ 1.25 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือดเบาๆ นาน 30 นาที โดยพยายามรักษาระดับของเหลวในบีกเกอร์ให้คงที่ โดยการเติมน้ำกลั่นที่ร้อน และคนเป็นระยะๆ เพื่อป้องกันตัวอย่างเกาะติดกับผนังบีกเกอร์ กรองอย่างรวดเร็วผ่านกระดาษกรองบน Buchner ล้างบีกเกอร์ และกากบนกระดาษกรองหลายๆรอบด้วยน้ำกลั่นที่ร้อน จนกระทั่งน้ำที่ผ่านกระดาษกรองลงมาเป็นกลาง เติมน้ำกลั่นละลาย NaOH เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ที่มีกากจากข้อ 5 ปรับปริมาตรของเหลวในบีกเกอร์เป็น 200 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น (จะได้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์) นำไปต้มให้เดือดเบาๆ นาน 30 นาที โดยพยายามรักษาระดับของเหลวในบีกเกอร์ให้คงที่โดยการเติมน้ำกลั่นที่ร้อน และคนเป็นระยะๆ เพื่อป้องกันตัวอย่างเกาะติดกับผนังบีกเกอร์ กรองอย่างรวดเร็วผ่านกระดาษกรองชนิดปราศจากเถ้า ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนบน Buchner ล้างบีกเกอร์ และกากบนกระดาษกรองหลายๆรอบด้วยน้ำกลั่นที่ร้อนหลายๆรอบ และล้างตะกอนด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นล้างตะกอนด้วยด้วยน้ำกลั่นที่ร้อนหลายๆรอบจนกระทั่งน้ำที่ผ่านกระดาษกรองลงมาเป็นกลาง ล้างตะกอนด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเล็กน้อย 2 รอบ นำตะกอนมาระเหยเอาเอทานอลออก และนำไปอบให้แห้งด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ นำออกจากตู้อบแล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น (Desiccator) ชั่งน้ำหนักกากที่ได้ นำกากที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า

(ash) บันทึกผล และคำนวณหาปริมาณเส้นใยในอาหารดังสมการที่ 3

$$\text{เส้นใย(ร้อยละ)} = \frac{W_2 - W_1}{S} \times 100 \quad (3)$$

เมื่อ

W_1 = น้ำหนักแห้งของกาก หน่วยเป็น กรัม

W_2 = น้ำหนักเถ้า หน่วยเป็น กรัม

S = น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น ปราศจากน้ำ หน่วยเป็น กรัม

2.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธี Kjeldahl

ชั่งน้ำหนักสารตัวอย่างที่แน่นอนใช้เทคนิค 3 ตำแหน่ง ประมาณ 1.00 กรัม แล้วนำสารตัวอย่างที่ชั่งใส่ลงในขวด Kjeldahl เติมน้ำกลั่นละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 5 กรัม คอปเปอร์ซัลเฟต 0.50 กรัม และ เติมน้ำกลั่นละลายฟอสฟอรัสเข้มข้น 20 มิลลิลิตร อย่างช้าๆ ตั้งขวด Kjeldahl บนเตาซึ่งอยู่ในตู้ควีน จากก้นนั้นย่อยสารละลายตัวอย่างโดยใช้เครื่องย่อย (Digestion Unit) จนกระทั่งใส ซึ่งใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง แล้วตั้งทิ้งไว้จนสารละลายใสเย็นลง

การกลั่น และหาปริมาณแอมโมเนีย นำขวด Kjeldahl ที่ได้เข้าเครื่องกลั่น โดยตั้งค่าปริมาตรน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 75 มิลลิลิตร หยด Mixed Indicator 2 ถึง 3 หยด ลงไปในขวดผสมฟลูอิด มีสารละลายกรดบอริกจำนวน 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปวางที่ปลายทางออกของคอนเดนเซอร์โดยที่ปลายของคอนเดนเซอร์จุ่มอยู่ในตัวผิวของสารละลายกรดบอริกตลอดเวลา ทำการกลั่นแอมโมเนียโดยใช้เครื่อง Distillation Unit 3.30 นาที จะสังเกตเห็นสีของอินดิเคเตอร์ เปลี่ยนจากสีม่วงไปเป็นสีเขียว และปริมาตรสารละลายที่ได้ประมาณ 150 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายกรดบอริกที่จับแอมโมเนียไว้มาไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.10 โมลาร์ จนกระทั่งอินดิเคเตอร์เปลี่ยนสีจากเขียวเป็นสีม่วง คำนวณหาปริมาณของไนโตรเจนดังสมการที่ 4

$$\text{ไนโตรเจน(ร้อยละ)} = \frac{(V_2 - V_1) \times N \times 14}{W} \times 100 \quad (4)$$

เมื่อ

W = น้ำหนักของสารตัวอย่าง หน่วยเป็น มิลลิกรัม

V₂ = ปริมาตรของสารละลายกรดเกลือมาตรฐานที่ใช้ไตเตรตกับสารละลายสารตัวอย่าง หน่วยเป็น มิลลิลิตร

V₁ = ปริมาตรของสารละลายกรดเกลือมาตรฐานที่ใช้ไตเตรตกับ blank หน่วยเป็น มิลลิลิตร

N = ความเข้มข้นกรดเกลือมาตรฐาน (N)

เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนสามารถคำนวณได้โดยคุณ
เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนด้วย 6.25 สำหรับธัญพืช ดัง
สมการที่ 5

$$\text{โปรตีน(ร้อยละ)} = \text{ไนโตรเจน(ร้อยละ)} \times 6.25 \quad (5)$$

2.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณแป้งทั้งหมด (Total starch content)

ซึ่งตัวอย่างประมาณ 100±5 มิลลิกรัม (น้ำหนัก
แน่นอน) ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำเอทานอล ความ
เข้มข้นร้อยละ 80 ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร และเติม
Dimethyl sulphoxide ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ทันทีก่อน
ให้เข้ากัน และนำไปไว้ในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาทีหลังจาก
นั้นเติม สารละลายเอนไซม์ Thermostable α -amylase
ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ทันทีก่อนนำไปไว้ในน้ำเดือดเป็นเวลา
6 นาที ทำการเขย่าทุกๆ 2 นาทีและนำสารละลายตัวอย่าง
มาพักไว้ในอ่างน้ำควบคุมที่ 50 องศาเซลเซียสเพื่อให้
ตัวอย่างสารละลายมีอุณหภูมิลดลงเป็น 50 องศาเซลเซียส
จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์ Amyloglucosidase
ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและนำไปบ่มในอ่าง
น้ำควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
โดยทำการเขย่าทุกๆ 5 นาที

ถ่ายสารละลายในหลอดทดลองลงในขวดปรับปริมาตร
ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 100
มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ

1500 g เป็นเวลา 10 นาทีดูสารละลายในส่วนใส
ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงหลอดทดลองและเติม
สารละลาย Glucose determination reagent (GOPOD
reagent) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และนำไป
บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็น
เวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความ
ยาวคลื่น 510 นาโนเมตร และคำนวณหาแป้งทั้งหมดดัง
สมการที่ 6

$$\text{ปริมาณแป้งทั้งหมด (ร้อยละ)} = \Delta E \times (F/W) \times 90 \quad (6)$$

เมื่อ

ΔE = ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้ที่ความยาวคลื่น 510
นาโนเมตร

F = ค่า Factor ของการเปลี่ยนแปลงหน่วยเป็นไมโครกรัม
ของกลูโคสในสารละลาย GOPOD reagent

W = น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (มิลลิกรัม) ซึ่งคำนวณได้ดัง
สมการที่ 7

$$W = \text{น้ำหนักตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์} \times [(100 - \text{ปริมาณ
ความชื้น})/100] \quad (7)$$

2.4 การออกแบบทดลองโดยใช้วิธี Box- Behnken

การศึกษาเพื่อกำจัดโปรตีนในผงแป้งเมล็ดขนุน ทำ
การออกแบบทดลองโดยใช้วิธี Box-Behnken Designs
[8] ที่ 3 ปัจจัย 3 ระดับ ทำการทดลองทั้งหมด 15 การ
ทดลอง การทดลองละ 3 ซ้ำ โดยใช้อัตราส่วนระหว่าง
เอนไซม์โปรตีเอสต่อผงแป้งเมล็ดขนุน 1.00 3.00 และ
5.00 มิลลิลิตรเอนไซม์โปรตีเอสต่อ 10 กรัมแป้ง ที่
อุณหภูมิ 30 40 และ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาใน
การสกัด 10 20 และ 30 นาที โดยเติมน้ำ RO 200
มิลลิลิตร ต่อแป้งเมล็ดขนุน 10 กรัม แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ระดับปัจจัยต่างๆ ในการออกแบบการทดลอง ที่ 3 ปัจจัย 3 ระดับ และร้อยละการกำจัดโปรตีน

ลำดับ	ปริมาณเอนไซม์		อุณหภูมิ		เวลา		ร้อยละการกำจัดโปรตีน		ความคลาดเคลื่อน (ร้อยละ)
	X ₁	mL/10g	X ₂	°C	X ₃	นาที	จากการทดลอง	จากการทำนาย	
1	-1	1	-1	30	0	20	47.99±2.40	43.59	10.10
2	1	5	-1	30	0	20	38.85±1.34	37.03	4.93
3	-1	1	1	50	0	20	52.80±1.82	54.87	3.78
4	1	5	1	50	0	20	58.38±2.88	63.03	7.38
5	-1	1	0	40	-1	10	52.42±0.88	51.73	1.35
6	1	5	0	40	-1	10	46.62±2.63	43.33	7.61
7	-1	1	0	40	1	30	35.45±2.91	39.01	9.11
8	1	5	0	40	1	30	48.08±1.07	49.01	1.89
9	0	3	-1	30	-1	10	30.31±5.42	35.73	15.16
10	0	3	1	50	-1	10	66.59±3.35	63.75	4.46
11	0	3	-1	30	1	30	40.50±1.09	41.59	2.61
12	0	3	1	50	1	30	56.01±5.65	50.85	10.15
13	0	3	0	40	0	20	52.34±1.89	54.42	3.83
14	0	3	0	40	0	20	55.67±1.27	54.42	2.30
15	0	3	0	40	0	20	54.88±0.87	54.42	0.85

2.5 การศึกษาการกำจัดโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเอสร่วมกับคลื่นอัลตราโซนิกช่วยสกัด

เติมน้ำ pH 10 ที่ปรับค่า pH ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลต่อลิตร 200 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร นำขวดรูปชมพู่แช่ในอ่างอัลตราโซนิก เปิดสวิตช์ ปรับอุณหภูมิ (อุณหภูมิในการทดลอง 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส) รอกวนกระทั่งอุณหภูมิของน้ำในอ่างคงที่ ดังแสดงในรูปที่ 1 จากนั้นเติมผงแป้งเมล็ดขนุน 20 กรัม และเอนไซม์โปรติเอส (อัตราส่วนเอนไซม์ต่อผงแป้ง 1.00 3.00 และ 5.00 มิลลิลิตร เอนไซม์ ต่อ 10 กรัมแป้ง) พร้อมกับจับเวลา (ระยะเวลาในการสกัด 10, 20 และ 30 นาที) เมื่อครบเวลาตามกำหนด นำน้ำแป้งมากรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ ฉีดน้ำกลั่นเพื่อล้างเอนไซม์ออกหลายๆ ครั้ง

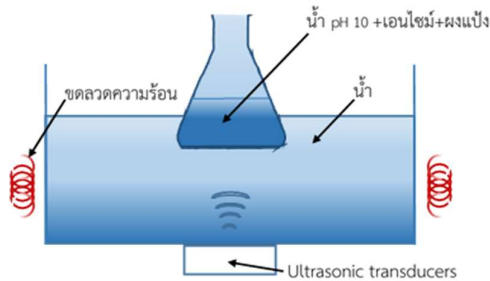
นำแป้งที่ผ่านการกรองไปอบที่ 55 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบด แล้วคัดแยกขนาดให้ได้ขนาดเล็กกว่า 90 ไมโครเมตร ด้วยตะแกรงเบอร์ 100 เก็บรักษาในโถดูดความชื้นเพื่อร่อนนำไปวิเคราะห์

3. ผลการทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลอง

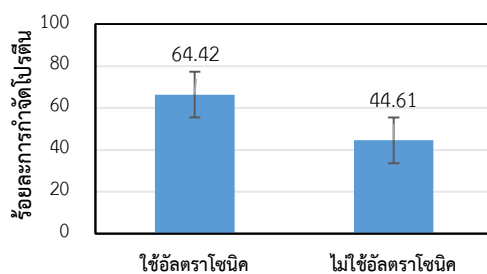
3.1 ผลของการใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยสกัดโปรตีน

จากการศึกษาเปรียบเทียบผลของการใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยสกัด ที่สภาวะอัตราส่วนของเอนไซม์โปรติเอสต่อแป้งเมล็ดขนุนเป็น 3.50 มิลลิลิตรต่อแป้ง 10 กรัม อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 15 นาที (รูปที่ 2) พบว่าการกำจัดโปรตีนในผงแป้งเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์โปรติเอสเพียงอย่างเดียว สามารถกำจัดโปรตีนได้ร้อยละ 44.61 ส่วนการกำจัดโปรตีนในผงแป้ง

เมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์โปรติเอสในการย่อยโปรตีนร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยสกัดสามารถกำจัดโปรตีนออกจากแป้งเมล็ดขนุนได้สูงร้อยละ 64.42 แสดงให้เห็นถึงการเสริมฤทธิ์กันของคลื่นอัลตราโซนิกที่ช่วยให้เอนไซม์โปรติเอสทำงานได้ดีขึ้นในการสกัดโปรตีนออกจากแป้งเมล็ดขนุน [5]



รูปที่ 1 การส่งผ่านคลื่นอัลตราโซนิกทางอ้อม
โดยอาศัยน้ำเป็นตัวกลาง



รูปที่ 2 การกำจัดโปรตีนในผงแป้งเมล็ดขนุนด้วยเอนไซม์โปรติเอสในการย่อยโปรตีนร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยสกัด และไม่ใช้เครื่องอัลตราโซนิก

3.2 ร้อยละการกำจัดโปรตีน

จากการศึกษากำจัดโปรตีนในผงแป้งเมล็ดขนุนจะอาศัยเอนไซม์โปรติเอสร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยสกัดโปรตีนออกจากแป้งเมล็ดขนุน โดยปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างเอนไซม์โปรติเอสต่อผงแป้งเมล็ดขนุน 1.00, 3.00 และ 5.00 มิลลิกรัมเอนไซม์โปรติเอสต่อ 10 กรัมแป้ง ที่อุณหภูมิ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 10, 20 และ 30 นาที ร้อยละการกำจัดโปรตีนที่ได้จากการทดลองและการทำนายอยู่ในช่วงระหว่าง 30 ถึง 67 แสดงดังตารางที่ 1

3.3 การวิเคราะห์พื้นที่ผิวตอบสนอง

จากตารางที่ 2 แสดงข้อมูลทางสถิติที่ได้จากการออกแบบการทดลอง ของค่า Coefficient (α) กับค่า P-Value ซึ่งค่า P-Value จะแสดงถึงความมีนัยสำคัญของแต่ละตัวแปรที่ศึกษาว่ามีผลอย่างไรต่อการสกัดโปรตีนจากแป้งเมล็ดขนุนโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยสกัด โดยที่หากค่า P-Value มากกว่าค่า α แสดงให้เห็นว่าตัวแปรนั้นไม่มีนัยสำคัญ แต่ถ้าค่า P-Value น้อยกว่า α แสดงให้เห็นว่าตัวแปรนั้นมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งค่า α จะมีค่าเท่ากับ 0.05 จากตาราง จะเห็นได้ว่าค่า P-Value ของอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดมีค่าเท่ากับ 0.004 ซึ่งน้อยกว่า 0.05 จึงสามารถสรุปได้ว่าตัวแปรที่มีผลต่อการสกัดมากที่สุดคืออุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดโปรตีนจากแป้งเมล็ดขนุนโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยสกัด [9]

ค่าสัมประสิทธิ์ของสมการแบบจำลองกำลังสองสามารถเขียนสมการแบบจำลองกำลังสองเพื่อใช้ในการทำนายผลการทดลองดังแสดงในสมการที่ 8

$$Y = -30.7 - 6.51X_1 + 2.35X_2 + 3.07X_3 - 0.875X_1^2 - 0.0129X_2^2 - 0.0515X_3^2 + 0.184X_1X_2 + 0.230X_1X_3 - 0.0469X_2X_3 \quad (8)$$

เมื่อ

Y คือ ร้อยละในการกำจัดโปรตีน

X_1 คือ อัตราส่วนเอนไซม์โปรติเอส

X_2 คือ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดโปรตีน

X_3 คือ เวลาที่ใช้ในการสกัดสกัดโปรตีน

ตารางที่ 2 ข้อมูลทางสถิติจากการออกแบบการทดลอง

Regression Term	Extracted Protein (%)	
	Coefficient	Probability (p-value) ^a
Constant (b_0)	-30.7	0.000
Enzyme ratio (b_1)	-6.51	0.834
Temperature (b_2)	2.35	0.004
Time (b_3)	3.07	0.391
Enzyme ratio ² (b_{11})	-0.875	0.255
Temperature ² (b_{22})	-0.0129	0.655
Time ² (b_{33})	-0.0515	0.117
Enzyme ratio/ Temperature (b_{12})	0.184	0.291
Enzyme ratio/Time (b_{13})	0.230	0.139
Temperature/Time (b_{23})	-0.0469	0.133
R ²	0.8872	-

^aThe p-value more than 0.05 is not significantly different at the 5% level.

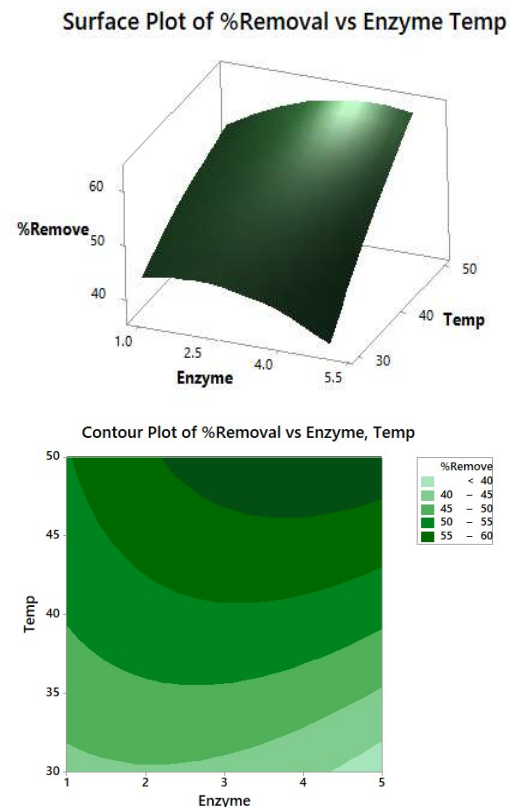
ผลที่ได้จากการทำนายร้อยละการกำจัดโปรตีนจากสมการ (8) และผลการทดลองการกำจัดโปรตีนจากแป้งเมล็ดขนุนโดยใช้อัตราส่วนช่วยสกัดแสดงในตารางที่ 1 พบว่ามีค่าความคาดเคลื่อนร้อยละ 1 ถึง 15

ส่วนค่า R² มีค่าเท่ากับ 0.8872 ดังแสดงในตารางที่ 2 ถือว่าสมการกำลังสองที่คำนวณได้นั้นเป็นสมการที่สามารถนำมาทำนายผลการทดลองได้หรือมีความน่าเชื่อถือในการใช้ทำนายผลการทดลอง

3.4 ผลของปัจจัยต่างๆ ต่อร้อยละการกำจัดโปรตีน [10] [11] [12]

กราฟพื้นที่ผิวตอบสนองของปัจจัยต่างๆ ต่อร้อยละการกำจัดโปรตีน แสดงดังรูปที่ 3, 4 และ 5 พบว่าเมื่อ

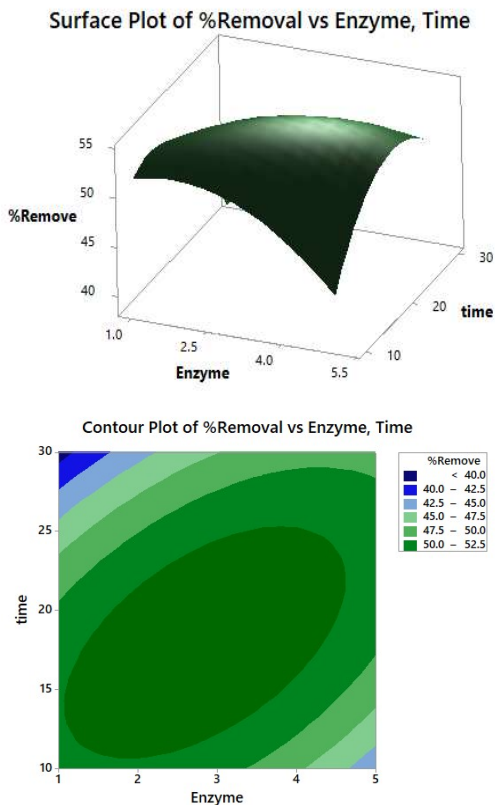
อุณหภูมิในการสกัดเพิ่มขึ้นมีผลให้ร้อยละการกำจัดโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ จากตารางที่ 2 ($p < 0.05$)



รูปที่ 3 พื้นที่ผิวตอบสนอง ระหว่างร้อยละการกำจัดโปรตีน อัตราส่วนเอนไซม์ และอุณหภูมิ

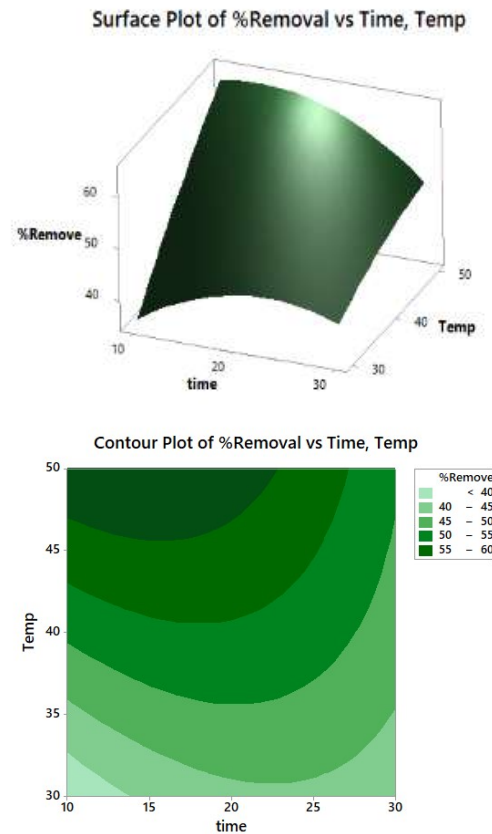
รูปที่ 3 แสดงพื้นที่ผิวตอบสนอง ระหว่างร้อยละการกำจัดโปรตีน อัตราส่วนเอนไซม์ และอุณหภูมิในการสกัดพบว่าเมื่ออุณหภูมิในการสกัดและอัตราส่วนเอนไซม์เพิ่มขึ้นมีผลให้ร้อยละการกำจัดโปรตีน จุดสูงสุดของกราฟพื้นที่ผิวตอบสนองแสดงค่าร้อยละการกำจัดที่มากที่สุด อยู่ที่อัตราส่วนเอนไซม์เท่ากับ 3.5 มิลลิกรัมต่อ 10 กรัมแป้ง และที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากกราฟการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิที่สูงกว่า 50 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มที่จะทำให้อัตราส่วนเอนไซม์เพิ่มขึ้น แต่การทดลองจำกัดอุณหภูมิสูงสุดที่ 50 องศาเซลเซียส เนื่องจากสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเอนไซม์อยู่ระหว่าง 40-

50 องศาเซลเซียส หากอุณหภูมิในการทดลองสูงกว่านี้จะทำให้เอนไซม์เสียสภาพการทำงาน



รูปที่ 4 พื้นผิวตอบสนอง ระหว่างร้อยละการกำจัดโปรตีน
อัตราส่วนเอนไซม์ และเวลา

รูปที่ 4 แสดงพื้นที่ผิวตอบสนอง ระหว่างร้อยละการกำจัดโปรตีน อัตราส่วนเอนไซม์ และระยะเวลาในการสกัด พบว่าที่อัตราส่วนการใช้เอนไซม์ต่ำที่ 1 มิลลิลิตรต่อ 10 กรัมแบ่ง ค่าร้อยละการกำจัดโปรตีนลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัด ต่างจากที่อัตราส่วนการใช้เอนไซม์สูงที่ 5 มิลลิลิตรต่อ 10 กรัมแบ่ง ค่าร้อยละการกำจัดโปรตีนเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัด โดยค่าร้อยละการกำจัดโปรตีนมากที่สุด จากกราฟพื้นผิวตอบสนองอยู่ที่อัตราส่วนเอนไซม์ 3.5 มิลลิลิตรต่อ 10 กรัมแบ่ง และเวลาในการสกัด 15 นาที



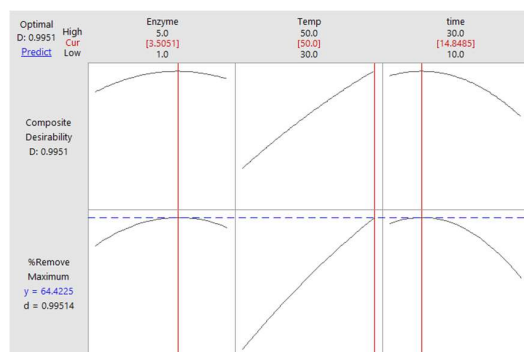
รูปที่ 5 พื้นผิวตอบสนอง ระหว่างร้อยละการกำจัดโปรตีน
เวลา และอุณหภูมิ

รูปที่ 5 แสดงกราฟพื้นผิวตอบสนอง ระหว่างร้อยละการกำจัดโปรตีน เวลา และอุณหภูมิ พบว่าที่เวลาในการสกัด 10 นาที เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจะทำให้ร้อยละการกำจัดโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างมาก ส่วนที่เวลาในการสกัด 30 นาที เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจะทำให้ร้อยละการกำจัดโปรตีนค่อยๆเพิ่มขึ้น โดยค่าร้อยละการกำจัดโปรตีนมากที่สุด จากกราฟพื้นผิวตอบสนองอยู่ที่ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเวลาในการสกัด 15 นาที

3.5 สภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีน

จากรูปที่ 6 แสดงการทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการกำจัดโปรตีนจากแบ่งเมล็ดขนุนโดยใช้อัลตราโซนิกช่วยสกัด พบว่าที่อัตราส่วนเอนไซม์ที่ 3.50 มิลลิลิตรต่อ 10 กรัมแบ่ง อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 50.0 องศา

เซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 14.85 นาที ภายใต้สภาวะนี้จากการทำนายผลจะให้ค่าร้อยละกำจัดโปรตีนสูงสุด 64.42 และเมื่อทำการทดลองซ้ำที่สภาวะที่ดังกล่าวเพื่อยืนยันผลการทดลอง พบว่าได้ค่าร้อยละการกำจัดโปรตีนใกล้เคียงกันที่ 66.40 ซึ่งสามารถคิดร้อยละความคลาดเคลื่อน 3.08



รูปที่ 6 แสดงค่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการกำจัดโปรตีนจากแป้งเมล็ดขนุน

3.6 ลักษณะทางกายภาพของเม็ดแป้งขนุนเมล็ด

จากการนำแป้งเมล็ดขนุนทั้งก่อนการกำจัดโปรตีน และหลังการกำจัดโปรตีนไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 40 เท่า พบว่าทั้งแป้งก่อนการกำจัดโปรตีน และแป้งที่ผ่านการกำจัดโปรตีนแล้ว มีลักษณะคล้ายกัน โดยมีลักษณะเป็นทรงกลม แต่เม็ดแป้งที่ผ่านการกำจัดโปรตีนแล้ว จะมีขนาดใหญ่กว่าเนื่องจากสามารถดูดซับน้ำได้ดีกว่าจึงมีการพองตัวมากกว่า แสดงดังรูปที่ 7

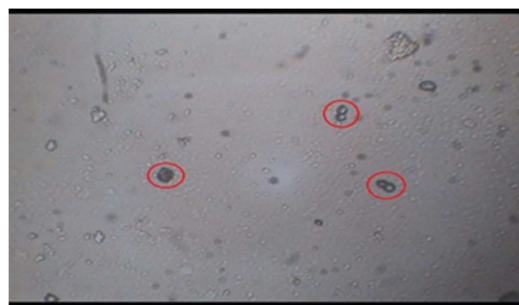
3.7 การเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งเมล็ดขนุน

จากการทดลองวัดความหนืดของแป้งบริสุทธิ์สตาร์ช เมล็ดขนุน โดยชั่งแป้งเมล็ดขนุน 1 กรัม น้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาวิเคราะห์ความหนืดด้วยเครื่อง Rapid Visco Analyzer (RVA) โดยเริ่มวิเคราะห์จากอุณหภูมิ 25-100 องศาเซลเซียส พบว่ามีอุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงความหนืดที่ 80.80 องศาเซลเซียส มีค่าความหนืดต่ำสุด 91.67 RVU อุณหภูมิที่เกิดความหนืดสูงสุดคือ 91.95 องศาเซลเซียส มีค่าความหนืดสูงสุด 98.58 RVU ค่าความหนืดสุดท้าย 133.67 RVU ผลต่าง

ระหว่างค่าความหนืดสุดท้ายกับความหนืดสูงสุด 35.09 RVU และผลต่างระหว่างค่าความหนืดสุดท้ายกับความหนืดต่ำสุด 42 RVU สอดคล้องกับงานวิจัยของ Rengsutthi และคณะ (2011) ที่พบว่าแป้งบริสุทธิ์สตาร์ช เมล็ดขนุน มีอุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงความหนืดที่ 81.58 องศาเซลเซียส มีค่าความหนืดต่ำสุด 215.92 RVU มีค่าความหนืดสูงสุด 255.58 RVU ค่าความหนืดสุดท้ายของการทดลอง 364.13 RVU ผลต่างระหว่างค่าความหนืดสุดท้ายกับความหนืดสูงสุด 148.21 RVU และผลต่างระหว่างค่าความหนืดสูงสุดกับความหนืดต่ำสุด 39.67 RVU [13]



(ก)



(ข)

รูปที่ 7 ลักษณะของเม็ดแป้งที่กำลังขยาย 40 เท่า
(ก) แป้งเมล็ดขนุนก่อนการกำจัดโปรตีน
(ข) แป้งเมล็ดขนุนหลังการกำจัดโปรตีน

การเปลี่ยนแปลงความหนืดเกิดขึ้นเมื่อแป้งได้รับความร้อนจนเกิดเจลลาติไนเซชัน เม็ดแป้งสามารถดูดซับน้ำ

และเกิดการพองตัว ซึ่งการพองตัวของเม็ดแป้งมีผลให้ความหนืดเพิ่มมากขึ้น ความหนืดสูงสุดเกิดขึ้นเมื่อให้ความร้อนจนเกิดเจลลาติไนเซชันสมบูรณ์ แป้งจะสุกทั้งหมด ค่าความหนืดสุดท้ายใช้บ่งชี้ลักษณะของผลิตภัณฑ์สุดท้ายหรือเจลที่เกิดขึ้น ซึ่งค่าความหนืดสุดท้ายมาก แสดงว่าเป็นแป้งมีปริมาณอะไมโลสสูง ส่วนผลต่างของความหนืดสุดท้ายกับความหนืดต่ำสุด แสดงถึง ความสามารถในการจัดเรียงตัวใหม่ของอะไมโลสและอะไมโลเพกทิน หรือการคืนตัวของแป้งสุก (Retrogradation) ถ้ามีค่ามาก แสดงว่าแป้งมีความสามารถในการจัดเรียงตัวได้ดี และผลต่างของความหนืดสุดท้ายกับความหนืดสูงสุดแสดงถึงความแข็งแรงของเจลผลิตภัณฑ์ ซึ่งมีค่าบวก หมายความว่าเจลที่มีความแข็งแรง [14] จากการทดลองพบว่าแป้งสตาโรซ์เมลิตซุนนุ สามารถให้ความข้นหนืดสูง เนื่องจากประกอบด้วยอะไมโลสสูง จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าองค์ประกอบของอะไมโลสในเมลิตซุนนุมีปริมาณสูงถึงร้อยละ 26.4 [15] [16]

3.8 การเกิดเจลลาติไนเซชันของแป้งเมลิตซุนนุ

การเกิดเจลลาติไนเซชัน โดยชั่งตัวอย่าง 10 มิลลิกรัมลงใน ถ้วยสแตนเลส (stainless steel pan) และเติมน้ำกลั่นลงไปในส่วนน้ำหนักแป้ง 30% จากนั้นนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติการเกิดเจลลาติไนเซชันด้วย Differential Scanning Calorimetry (DSC) โดยใช้อัตราการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิด้วยอัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาที จากอุณหภูมิ 25 ถึง 150 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นลดอุณหภูมิด้วยอัตราการลดลง 60 องศาเซลเซียสต่อนาที และให้คงที่ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3 พบว่าค่าอุณหภูมิเริ่มต้นในการเกิดเจลลาติไนเซชัน (T_o) อุณหภูมิสูงสุดในการเกิดเจลลาติไนเซชัน (T_p) และอุณหภูมิที่จุดสิ้นสุดในการเกิดเจลลาติไนเซชัน (T_c) ของแป้งทั้งสองชนิดมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยแป้งเมลิตซุนนุก่อนการกำจัดโปรตีนมีค่า T_o , T_p และ T_c เท่ากับ 81.34 84.24 และ 90.35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ส่วนแป้งเมลิตซุนนุหลังการกำจัดโปรตีนมีค่า T_o , T_p และ T_c เท่ากับ 82.17 85.95 และ 91.70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัย

ของ Kittipongpatana และคณะ (2011) พบว่าแป้งบริสุทธิ์สตาโรซ์เมลิตซุนนุ มีค่า T_o , T_p และ T_c เท่ากับ 82.92 86.01 และ 91.23 องศาเซลเซียส ตามลำดับ [16]

ตารางที่ 3 อุณหภูมิการเกิดเจลลาติไนเซชันของแป้งเมลิตซุนนุทั้งก่อนและหลังการกำจัดโปรตีน

สารตัวอย่าง	อุณหภูมิ			
	T_o (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	ΔT (°C)
แป้งเมลิตซุนนุก่อนการกำจัดโปรตีน	81.34 ± 1.66	84.24 ± 1.46	90.35 ± 1.62	9.01
แป้งเมลิตซุนนุหลังการกำจัดโปรตีน	82.17 ± 1.64	85.95 ± 1.71	91.70 ± 1.74	9.53

เมื่อ T_o คือ อุณหภูมิเริ่มต้นในการเกิดเจลลาติไนเซชัน

T_p คือ อุณหภูมิสูงสุดในการเกิดเจลลาติไนเซชัน

T_c คือ อุณหภูมิที่จุดสิ้นสุดในการเกิดเจลลาติไนเซชัน

ΔT ($T_c - T_o$) คือ ช่วงอุณหภูมิที่เกิดเจลลาติไนเซชัน

3.5 องค์ประกอบของแป้งเมลิตซุนนุ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของแป้งเมลิตซุนนุที่จะนำมาใช้ในการทดลอง พบว่ามีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 79.12 ที่เหลือมีโปรตีนร้อยละ 9.42 ไขมันร้อยละ 1.01 เถ้าร้อยละ 7.18 และเยื่อใยร้อยละ 3.27 โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนองค์ประกอบของแป้งสตาโรซ์เมลิตซุนนุหลังผ่านการกำจัดโปรตีน พบว่ามีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 86.92 โดยน้ำหนัก และส่วนที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต ซึ่งส่วนใหญ่เป็นโปรตีนร้อยละ 3.15 โดยน้ำหนัก ที่เหลือเป็นไขมันร้อยละ 0.98 โดยน้ำหนัก เถ้าร้อยละ 6.98 โดยน้ำหนัก และเยื่อใยร้อยละ 1.97 โดยน้ำหนัก ดังตารางที่ 4 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang และคณะ (2016) ที่พบว่าเมลิตซุนนุดิบมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 60-80 โปรตีนร้อยละ 8 ไขมันร้อยละ 1.5 และเถ้าร้อยละ 2.2 โดยน้ำหนัก [15]

ตารางที่ 4 องค์ประกอบของแป้งเมลิตซุนนุ

องค์ประกอบ (ร้อยละโดย น้ำหนักแห้ง)	แป้งก่อนการ กำจัดโปรตีน	แป้งหลังกำจัด โปรตีน
คาร์โบไฮเดรต	79.12±3.92	86.92±4.15
โปรตีน	9.42±0.46	3.15±0.15
ไขมัน	1.01±0.05	0.98±0.04
เถ้า	7.18±0.35	6.98±0.32
เยื่อใย	3.27±0.16	1.97±0.09

4. สรุปผล

เมล็ดขนุนเป็นส่วนที่เหลือทิ้งจากการบริโภค สามารถนำมาผลิตเป็นแป้งบริสุทธิ์สแตร์ชเมล็ดขนุนโดยการกำจัดโปรตีนจากผงแป้งเมล็ดขนุนโดยใช้เอนไซม์โปรตีเอสในการย่อยโปรตีนร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิก ทำให้มีประสิทธิภาพในการกำจัดโปรตีนเพิ่มมากขึ้น แป้งสแตร์ชเมล็ดขนุนที่ได้จะมีความบริสุทธิ์ของโพลีแซคคาไรด์สูงขึ้น จากงานวิจัยพบว่าสภาวะเหมาะสมในการกำจัดโปรตีน ที่อัตราส่วนเอนไซม์ 3.5 มิลลิกรัมต่อ 10 กรัมแป้ง อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการสกัด 15 นาที สามารถการกำจัดโปรตีนจากแป้งเมล็ดขนุน ได้ร้อยละ 64.42

องค์ประกอบทางเคมีของแป้งสแตร์ชเมล็ดขนุนที่ผ่านการกำจัดโปรตีน มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 86.92 โดยน้ำหนัก โปรตีนร้อยละ 3.15 โดยน้ำหนัก ไขมันร้อยละ 0.98 โดยน้ำหนัก เถ้าร้อยละ 6.98 โดยน้ำหนัก และเยื่อใยร้อยละ 1.97 โดยน้ำหนัก สามารถดูดซับน้ำได้ดี และให้ความชื้นหนืดสูง 133.67 RVU อุณหภูมิในการเกิดเจลลาติไนเซชันอยู่ในช่วง 81-92 องศาเซลเซียส

จากคุณสมบัติของแป้งสแตร์ชเมล็ดขนุนหลังผ่านการกำจัดโปรตีนดังกล่าวสามารถนำไปใช้เป็นสารให้ความชื้นหนืดได้ดี จากการศึกษาของ Rengsutthi และคณะ (2011) ได้นำแป้งสแตร์ชเมล็ดขนุนเป็นสารให้ความชื้นหนืดในซอสพริก พบว่าแป้งสแตร์ชเมล็ดขนุนสามารถให้ความชื้นหนืดสูง เนื่องจากเม็ดแป้งมีขนาดเล็ก และ

ประกอบด้วยอะไมโลสสูง นอกจากนั้นยังต้านทานการเปลี่ยนแปลงทางด้านความร้อนและทางกลระหว่างการปรุงอาหารได้ดี มีการแยกชั้นของของเหลวต่ำระหว่างการเก็บรักษา และเป็นที่ยอมรับทางด้านการประเมินประสาทสัมผัส [13]

5. เอกสารอ้างอิง

- [1] Department of Agriculture, *Report on agricultural production statistics by planting area (All) Jackfruit crops, calendar year 2006-2007 the entire country*, Ministry of Agriculture and Cooperatives, 2008.
- [2] A. Mukprasert, "Factors affecting the extraction of starch from jackfruit seeds," *King Mongkut's Agricultural Journal*, vol.20, no.2, pp. 1-8, May 2003.
- [3] K. Srirot and K. Piyajomkwan, *Technology of Starch*, 4th ed., Bangkok : Kasetsart University, 2007.
- [4] W. Qu, H. Ma, J. Jia, R. He, L. Luo and Z. Pan, "Enzymolysis kinetics and activities of ACE inhibitory peptides from wheat germ protein prepared with SFP ultrasound-assisted processing," *Ultrasonics Sonochemistry*, vol.19, May 2012.
- [5] S. Jain and A. K. Anal, "Optimization of extraction of functional protein hydrolysates from chicken egg shell membrane (ESM) by ultrasonic assisted extraction (UAE) and enzymatic hydrolysis," *LWT - Food Science and Technology*, vol. 69, pp. 295-302, Jan 2016.
- [6] K. Kumar, S. Srivastav and V.S. Sharanagat, "Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and

- vegetable processing by-products: A review,” *Ultrasonics - Sonochemistry*, vol. 70, pp. 1-11, Sep 2021.
- [7] AOAC. Official Methods of Analysis, 16th ed., Washington DC: The Association of Official Analytical Chemistry, 2000.
- [8] D. C., Montgomery, *Design and Analysis of Experiment*, 5th ed., USA : John Wiley & Sons, 2001.
- [9] N. Choomrit, *Engineering Statistics*, Bangkok : SE-EDUCATION Public Company Limited, 2011.
- [10] M. Vergara-Barberán, M.J. Lerma-García, J.M. Herrero-Martínez and E.F. Simó-Alfonso, “Use of an Enzyme-Assisted Method to Improve Protein Extraction from Olive Leaves,” *Food Chemistry*. Vol.169, pp. 28-33, 2015.
- [11] J. Singh, S. Karmakar and R. Banerjee, “An integrated study using ultrasonic-assisted enzymatic extraction of hydrolysates from rice based distillery byproduct and its characterization” *Process Biochemistry*, vol. 119, pp. 128-139, May 2022.
- [12] H. Xintian and W. XuLifeng, “Ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from coix seeds: Optimization, purification, and in vitro digestibility,” *Food Chemistry*, vol. 374, pp. 1-10, April 2022.
- [13] K. Rengsutthi and S. Charoenrein, “Physico-chemical properties of jackfruit seed starch (*Artocarpus heterophyllus*) and its application as a thickener and stabilizer in chilli sauce,” *LWT - Food Science and Technology*, vol. 44, pp. 1309-1313, Jan 2011.
- [14] L.S. Santos, R.C.F. Bonomo, R.C.I. Fontan, W.O. Santos and A.A.L. Silva, “Gelatinization temperature and acid resistance of jackfruit seed starch,” *Journal of Food*, vol. 7, no.1, pp. 1-5, 2009.
- [15] Y. Zhang, K. Zhu, S. He, L. Tan and X. Kong “Characterization of high purity starches isolated from five different jackfruit cultivars,” *Food Hydrocolloids*, vol. 52, pp. 785–795, Jan 2016.
- [16] O. S. Kittipongpatana and N. Kittipongpatana, “Preparation and physicochemical properties of modified jackfruit starches,” *LWT - Food Science and Technology*, vol. 44, pp. 1766-1773, March 2011.