

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุ

1. เมล็ดทานตะวัน ได้รับความอนุเคราะห์จาก ห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟลาวเวอร์ฟูด
2. น้ำมันเมล็ดทานตะวัน ตรา เนเชอรา (น้ำมันธรรมชาติ) ผลิตเมื่อวันที่ 27 สิงหาคม 2548 ได้รับความอนุเคราะห์จาก ห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟลาวเวอร์ฟูด
3. เอนไซม์อัลคาเลส ได้รับความอนุเคราะห์จาก The East Asiatic (Thailand) Public Company Limited
4. เอนไซม์ปาเปน ได้รับความอนุเคราะห์จาก The East Asiatic (Thailand) Public Company Limited
5. เอนไซม์โบรมิเลน (Great Food (Biochem) Co., Ltd)

อุปกรณ์

อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง

1. เครื่องบดผสม (Waring blender Model 34BL99)
2. เครื่องปรับความเป็นกรดด่าง (Microcomputer pH - VISION Jenco Model 6071)
3. เครื่องกวนผสมแบบควบคุมอุณหภูมิ (Hot plate stirrer รุ่น RCT B)
4. ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump Model 0822 - U2 - 6274X)
5. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Iec Clinical Centrifuge SER 4290743)
6. เครื่องแยกครีม (Elecraem SER 122746)
7. เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (Shaking water bath BS - 11)

อุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์ตัวอย่าง

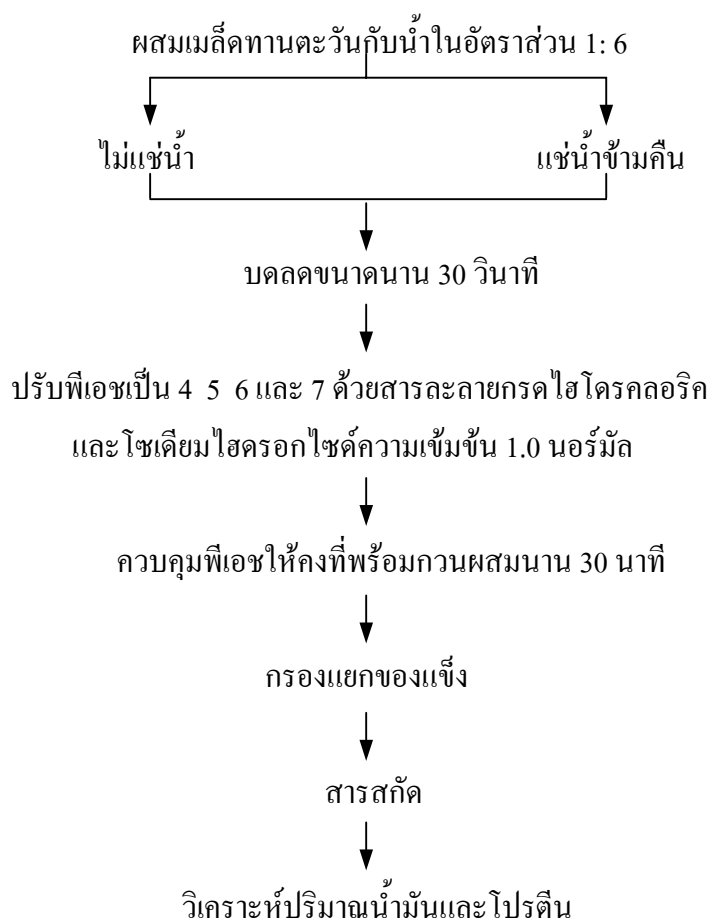
1. เครื่องวิเคราะห์น้ำมันวิธี Babcock (Gerber Centrifuge SER 3680 – 409)
2. เครื่องวิเคราะห์โปรตีนวิธี Kjeldahl
Digestion Unit ยี่ห้อ Buchi รุ่น K - 435
Distillation Unit ยี่ห้อ Buchi รุ่น B – 316
3. เครื่องวิเคราะห์น้ำมันวิธี Soxtec (Soxtec system HT 1043 extraction unit)
4. เครื่องวิเคราะห์เส้นใยหยาบ (Fibertec)
Fibertec system M 1020 Hot Extractor
Fibertec system M 1021 Cold Extractor
5. ตู้อบ (Hot air oven, Memmert 854 Schwabach)
6. เครื่อง Rancimat 679 (Metrohm, Heerisau, Switzerland)
7. กล้องจุลทรรศน์ (Light Microscope ยี่ห้อ Olympus)
8. เครื่องวัดสีน้ำมัน (Lovibond Tintometer PFX 990)

วิธีการ

1. อิทธิพลของการแช่เมล็ดทานตะวันก่อนลดขนาดและค่าพีเอชต่อความสามารถในการสกัดน้ำมันและโปรตีนจากเมล็ดทานตะวันโดยใช้น้ำ

นำเมล็ดทานตะวันที่กระเพาะเปลือกแล้ว (ห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟลาวเวอร์ฟูด) มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีดังนี้ ความชื้น เถ้า โปรตีน น้ำมัน เส้นใยหยาบ และคาร์โบไฮเดรต (AOAC, 1997) ผสมเมล็ดทานตะวันกับน้ำในอัตราส่วน 1 : 6 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) 2 ส่วน ส่วนที่หนึ่งนำมาบดผสมทันที ส่วนที่สองแช่ไว้ข้ามคืน น้ำของผสมที่ได้มาบดผสมด้วยเครื่องบดผสม นาน 30 วินาทีที่อุณหภูมิห้อง และปรับพีเอชด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1.0 นอร์มัล เป็น 4 5 6 และ 7 ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่รุนแรงเพื่อหลีกเลี่ยงการสูญเสียไขมัน จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในช่วงพีเอชที่เป็นกรดหรือด่างเข้มข้น แล้วกวนผสมโดยใช้เครื่องกวนผสม นาน 30 นาที เพื่อเพิ่มการสัมผัสระหว่างของแข็งและของเหลว โดยควบคุมพีเอชให้คงที่ หลังจากนั้นกรองสารสกัดที่ได้ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ และนำสารสกัดไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและโปรตีน (AOAC, 1997) โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำมันและโปรตีนที่มีอยู่ในสารสกัด และผลผลิตน้ำมันและโปรตีนที่สกัดได้ เทียบกับปริมาณน้ำมันและโปรตีนที่มีอยู่ในเมล็ดทานตะวันเริ่มต้น เพื่อ

หาสภาวะในการเตรียมเมล็ดทานตะวันและค่าพีเอชที่เหมาะสม ในการแยกน้ำมันออกจากเมล็ดทานตะวัน โดยมีโปรตีนเป็นผลพลอยได้ขั้นตอนดังกล่าวแสดงดังภาพที่ 4

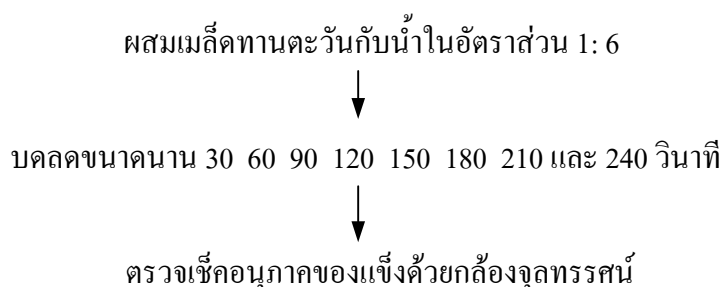


ภาพที่ 4 ขั้นตอนการศึกษาอิทธิพลของการแช่เมล็ดทานตะวันก่อนลดขนาด และค่าพีเอชต่อความสามารถในการสกัดน้ำมันและโปรตีน

2. อิทธิพลของขนาดอนุภาคต่อความสามารถในการสกัดน้ำมันและโปรตีนจากเมล็ดทานตะวันโดยใช้ น้ำ

2.1 อิทธิพลของระยะเวลาที่ใช้บดต่อขนาดอนุภาคของแข็งที่ได้

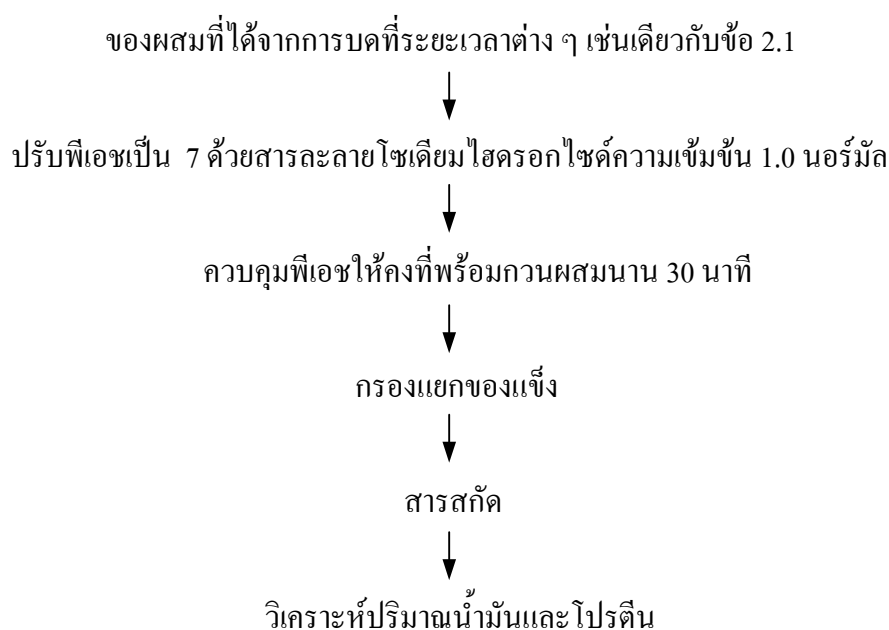
นำเมล็ดทานตะวันผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1 : 6 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มาบดลดขนาดด้วย เครื่องบดผสมที่ระยะเวลาต่าง ๆ คือ 30 60 90 120 150 180 210 และ 240 วินาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำของผสมที่ได้ไปตรวจวัดขนาดอนุภาคของแข็งที่เกิดขึ้นด้วยกล้องจุลทรรศน์ ขั้นตอนดังกล่าว แสดงดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ขั้นตอนการศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาที่ใช้บดต่อขนาดอนุภาคของแข็งที่ได้

2.2 อิทธิพลของขนาดอนุภาคของแข็งต่อปริมาณน้ำมันและโปรตีนที่สกัดได้

นำของผสมที่ได้จากการบดที่ระยะเวลาต่าง ๆ เช่นเดียวกับข้อ 2.1 ปรับพีเอชเป็น 7 ด้วย สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.0 นอร์มัล แล้วกวนผสมโดยใช้เครื่องกวนผสมนาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง โดยควบคุมพีเอชให้คงที่ หลังจากนั้นกรองสารสกัดที่ได้ด้วยเครื่องกรอง สูญญากาศ และนำสารสกัดไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและโปรตีน (AOAC, 1997) เพื่อหาขนาด อนุภาคของแข็งที่ให้ปริมาณน้ำมันในสารสกัดมากที่สุดโดยมีโปรตีนเป็นผลพลอยได้ โดยคิดเป็นผล ผลิตน้ำมันและโปรตีนที่สกัดได้ โดยเทียบกับปริมาณน้ำมันและโปรตีนที่มีอยู่ในเมล็ดทานตะวันเริ่ม ต้น ขั้นตอนดังกล่าวแสดงดังภาพที่ 6

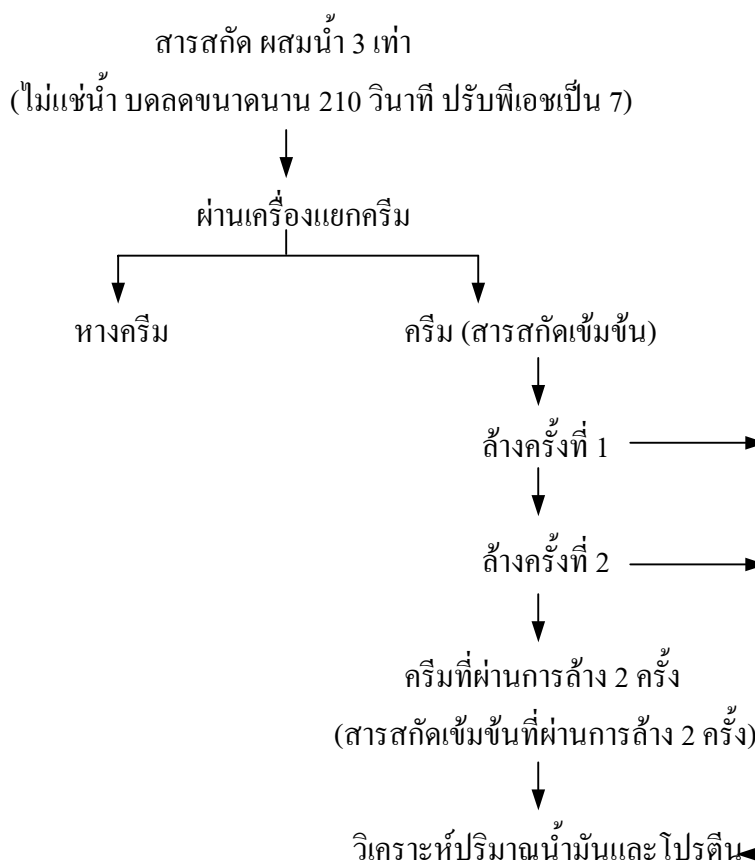


ภาพที่ 6 ขั้นตอนการศึกษาอิทธิพลของขนาดอนุภาคของแข็งต่อปริมาณน้ำมันและโปรตีนที่ได้

3. การปรับปริมาณน้ำมันและโปรตีนในสารสกัดให้เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

3.1 การปรับปริมาณน้ำมันและโปรตีนของสารสกัด

สารสกัดจากเมล็ดทานตะวันมีความเข้มข้นของน้ำมันค่อนข้างต่ำ จึงจำเป็นต้องเพิ่มความเข้มข้นโดยการหมุนเหวี่ยงก่อนเข้ากระบวนการต่อไป เพื่อให้ได้ผลผลิตน้ำมันสูงเมื่อเทียบกับปริมาณสารสกัดที่ใช้ และเป็นการลดพื้นที่และพลังงานที่ใช้ในกระบวนการอีกด้วย นำสารสกัดที่ได้จากการใช้ระยะเวลาบดที่ให้ปริมาณผลผลิตมากที่สุดจากข้อ 2.2 มาผสมน้ำ 3 เท่าเพื่อให้มีปริมาตรที่เหมาะสมต่อความจุของเครื่องเหวี่ยงแยก แล้วนำไปผ่านเครื่องแยกครีม ซึ่งเครื่องแยกครีมนี้เป็นเครื่องเซนติฟิวส์สองทาง สำหรับแยกของเหลว 2 ชนิดที่มีความหนาแน่นต่างกัน ได้เป็นส่วนสารสกัดเข้มข้นที่มีปริมาณน้ำมันอยู่สูง และมีความหนาแน่นต่ำอยู่ในรูปอิมัลชัน เรียกว่าส่วนครีม ส่วนของโปรตีนของแข็งที่ติดในเครื่อง และส่วนของเหลวที่มีโปรตีนละลายอยู่เล็กน้อย ซึ่งเป็นส่วนที่มีความหนาแน่นสูง ล้างส่วนครีมด้วยน้ำ 2 ครั้ง โดยผสมครีมกับน้ำในอัตราส่วนครีมต่อน้ำเป็น 1 : 4 แล้วผ่านเครื่องแยกครีม นำครีมที่ได้จากการแยกครั้งแรก และครีมที่ผ่านการล้างด้วยน้ำ 1 ครั้ง และ 2 ครั้ง ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันและโปรตีน (AOAC, 1997) ขั้นตอนดังกล่าวแสดงดังภาพที่ 7

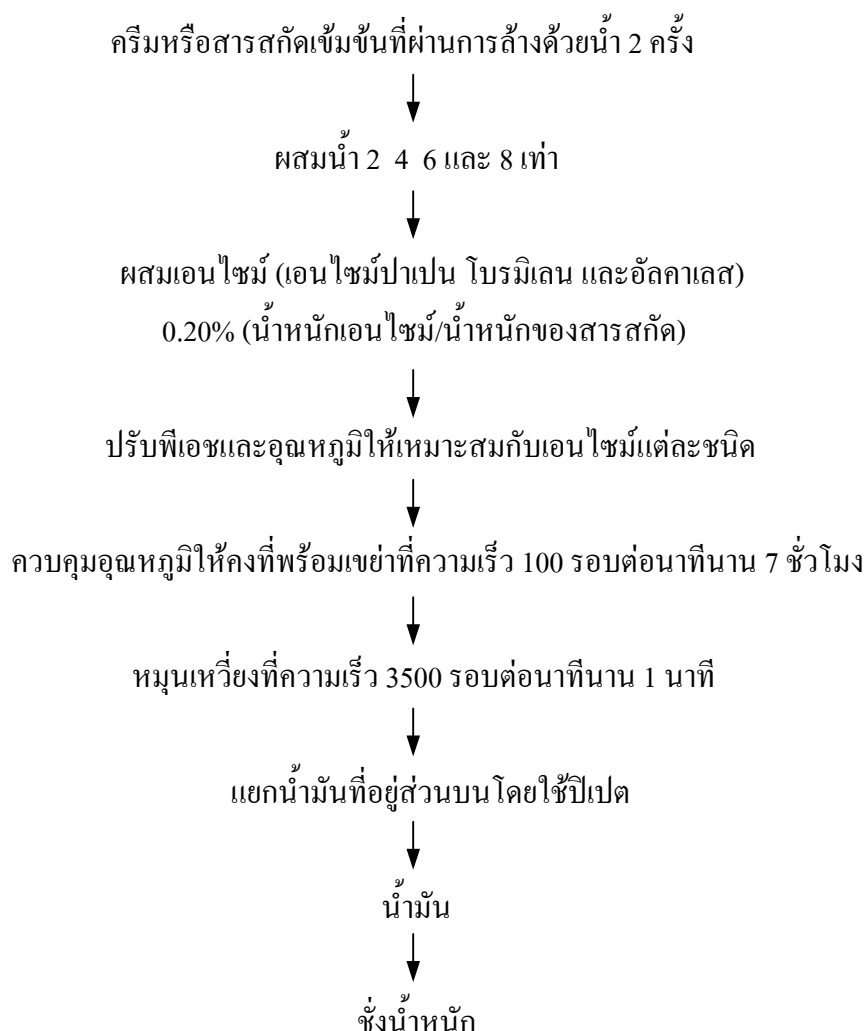


ภาพที่ 7 ขั้นตอนการปรับปริมาณน้ำมันและโปรตีนของสารสกัด

3.2 การปรับความเข้มข้นของครีมที่ผ่านการล้าง 2 ครั้ง ให้เหมาะสมต่อการทำงานของ เอนไซม์โดยการเจือจางด้วยน้ำ

ศึกษาการทำลายอิมัลชันในสารสกัดโดยใช้เอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ดังต่อไปนี้ เอนไซม์ปาเปน (papain) เอนไซม์โบรมิเลน (bromelain) และเอนไซม์อัลคาเลส (alcalase) โดยนำครีมหรือสารสกัดเข้มข้นที่ผ่านการล้าง 2 ครั้ง มาเจือจางด้วยน้ำ 2 4 6 และ 8 เท่า ได้เป็นสารสกัดที่มีความเข้มข้นของน้ำมันแตกต่างกัน ปรับสภาวะให้เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แต่ละชนิด คือ พีเอช 6.2, 25°C; พีเอช 6.5, 37°C (Dominic and Wong, 1995) และ พีเอช 8.0, 50°C (The East Asiatic Public Company Limited, 2002) ตามลำดับ ผสมเอนไซม์ลงในสารสกัดในปริมาณ 0.20% (น้ำหนักเอนไซม์/น้ำหนักของสารสกัด) และเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที นาน 7 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเหวี่ยงแยกน้ำมันที่ความเร็ว 3500 รอบต่อนาที นาน 1 นาที แยกน้ำมันที่อยู่ส่วนบนโดยใช้ปิเปตแล้วชั่งน้ำหนัก และคิดเป็นปริมาณผลผลิตน้ำมันเทียบกับปริมาณน้ำมันที่มีอยู่ในครีมก่อนการเจือจางด้วยน้ำ เปรียบเทียบผลผลิตน้ำมันที่ได้จากเอนไซม์แต่ละชนิด ที่ความ

เข้มข้นสารสกัดต่างกัน เพื่อหาความเข้มข้นของสารสกัดที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์แต่ละชนิด ขึ้น
 ตอนดังกล่าวแสดงดังภาพที่ 8

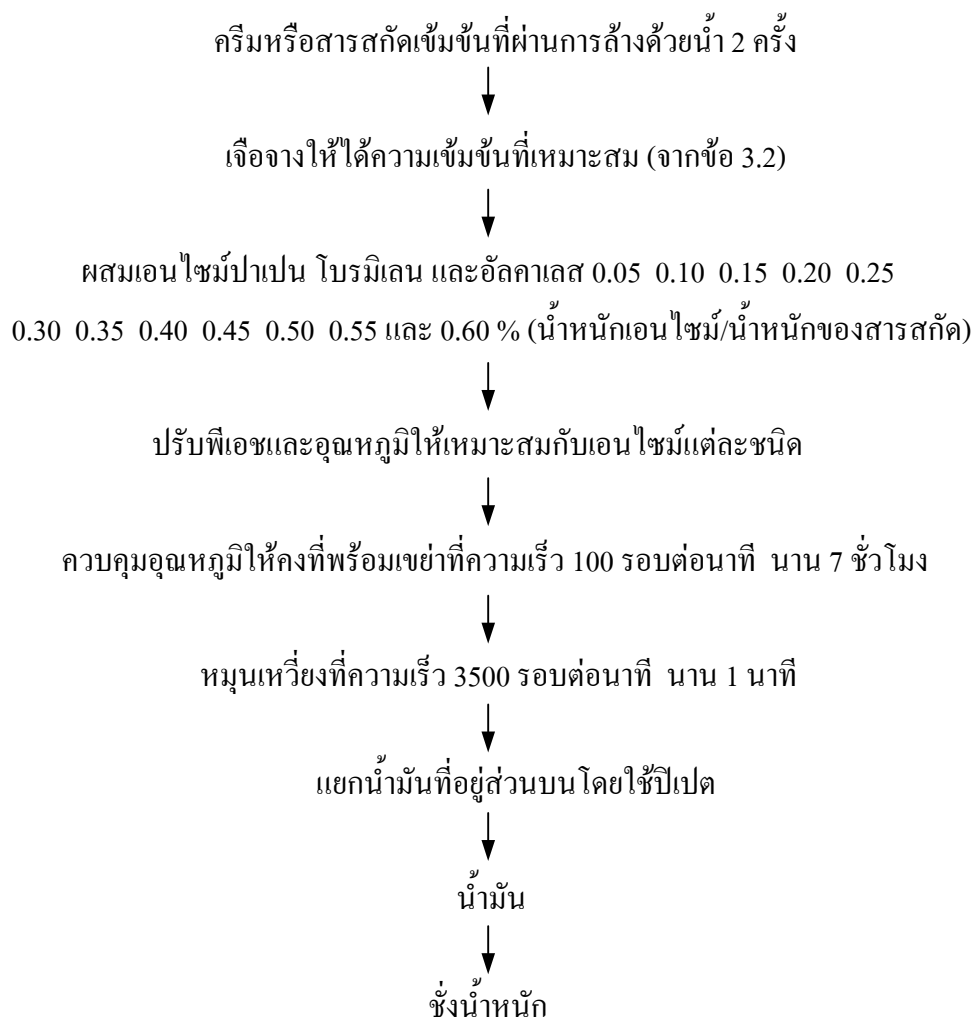


ภาพที่ 8 ขั้นตอนการหาความเข้มข้นของสารสกัดที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

4. ชนิดและปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการทำลายอิมัลชันในสารสกัด

นำครีมหรือสารสกัดเข้มข้นที่ผ่านการล้างด้วยน้ำ 2 ครั้ง มาเจือจางเป็นสารสกัดที่มีความเข้มข้นเหมาะสมจากผลการศึกษาที่ผ่านมา ผสมเอนไซม์ปาเปน เอนไซม์โบรมิเลน และเอนไซม์อัลคาเลส ในปริมาณ 0.05 0.10 0.15 0.20 0.25 0.30 0.35 0.40 0.45 0.50 0.55 และ 0.60% (น้ำหนักเอนไซม์/น้ำหนักของสารสกัด) แล้วนำมาเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที นาน 7 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์แต่ละชนิด

จากนั้นนำไปเหวี่ยงแยกน้ำมันที่ความเร็ว 3500 รอบต่อนาที นาน 1 นาที แยกน้ำมันที่อยู่ส่วนบนโดยใช้ปิเปตแล้วชั่งน้ำหนัก เปรียบเทียบผลผลิตน้ำมันที่ได้จากการใช้เอนไซม์แต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ขั้นตอนดังกล่าวแสดงดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 ขั้นตอนการศึกษาชนิดและปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมในการทำลายอิมัลชันในสารสกัด

5. เปรียบเทียบคุณภาพของน้ำมันทานตะวันที่ได้จากการใช้น้ำและเอนไซม์ และน้ำมันทานตะวันที่ได้จากการบีบอัด

5.1 การศึกษาสมบัติของน้ำมันทานตะวันที่แยกได้จากการใช้น้ำและเอนไซม์ เปรียบเทียบกับน้ำมันทานตะวันที่ได้จากการบีบอัด

นำน้ำมันทานตะวันที่ได้จากการใช้น้ำและเอนไซม์ มาตรวจวัดสมบัติต่าง ๆ เปรียบเทียบกับน้ำมันทานตะวันที่แยกได้จากการบีบอัด (บริษัทฟลาวเวอร์ฟูด) ได้แก่ สารที่ไม่สะaponนิไฟซ์ (AOCS, 1997) ค่าไอโอดีน (AOCS, 1997) ค่าสะaponนิไฟซ์ (AOCS, 1997) กรดไขมันอิสระ (AOCS, 1997) ค่าเปอร์ออกไซด์ (AOCS, 1997) น้ำและสารที่ระเหยได้ (AOCS, 1997) ค่าสีโลวิบอนด์ (ดัดแปลงจาก AOCS, 1997) ค่าสีอินเตอร์ (ดัดแปลงจาก AOCS, 1997) ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน (ศูนย์บริการประกันคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหาร สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร) วิตามินอี (ศูนย์บริการประกันคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหาร สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร) คลอโรฟิลล์ (ดัดแปลงจาก AOCS, 1997) และเบตา - แคโรทีน (ดัดแปลงจาก AOCS, 1997)

5.2 การศึกษาความคงทนต่อความหืนของน้ำมันทานตะวันที่แยกได้จากการใช้น้ำและเอนไซม์ เปรียบเทียบกับน้ำมันทานตะวันที่ได้จากการบีบอัด

นำน้ำมันทานตะวันที่แยกได้จากการใช้น้ำและเอนไซม์ และน้ำมันที่ได้จากการบีบอัด มาเปรียบเทียบการหืนของน้ำมันแบบเร่งโดยใช้เครื่อง Rancimat 679 และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำมันทั้งสองชนิด โดยเก็บรักษาน้ำมันในขวดแก้วสีปิดด้วยจุกฝาเกลียวและพันพาราฟิล์มรอบจุกฝาที่อุณหภูมิห้องโดยวางบนชั้นเพื่อให้น้ำมันได้รับสภาพแวดล้อมต่าง ๆ เช่น แสง เหมือนกับการวางจำหน่ายทั่วไป ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันอิสระ (AOCS, 1997) และค่าเปอร์ออกไซด์ (AOCS, 1997) ของน้ำมันทั้ง 2 ชนิด ทุกสัปดาห์ จนครบ 16 สัปดาห์

การวิเคราะห์สถิติ

การทดลองในหัวข้อ 1 ใช้การทดลองแฟกทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด 2×4 โดยมีปัจจัย 2 ปัจจัย คือ การแช่น้ำ และ ค่าพีเอช (factorial 2×4 in completely randomized design, FCRD) สำหรับการทดลองในหัวข้อ 2 - 5 ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of Variance, ANOVA) และความแตกต่าง

ต่างระหว่างตัวอย่างโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

สถานที่ทำการวิจัย

ห้องวิจัยปริญญโท และห้องปฏิบัติการเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพมหานคร

ระยะเวลาในการทดลอง

การทดลองเริ่มต้นเดือนมีนาคม พ.ศ. 2548 สิ้นสุดเดือนมกราคม พ.ศ. 2549