

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แป้ง (starch)

เป็นคาร์โบไฮเดรตที่พบในพืชสีเขียวทุกชนิดสะสมอยู่ในราก หัว เมล็ด และส่วนต่าง ๆ ของพืชในลักษณะเป็นเม็ดเล็ก ๆ มีโปรตีนหุ้มอยู่เป็นชั้นบาง ๆ เรียกว่า เม็ดแป้ง (starch granule) กระจายอยู่ในไซโทพลาสซึมของเซลล์พืช โดยปกติแล้วแป้งจะไม่ละลายในน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ต่าง ๆ ไม่มีจุดหลอมเหลว เมื่อนำแป้งใส่ในน้ำ และให้ความร้อนเพิ่ม อนุภาคของแป้งก็จะดูดน้ำพุ่งออกและแตกทำให้กลายเป็นของเหลวข้นหนืด ที่อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส เมื่อเติมสารละลายไอโอดีนลงไป แป้งจะรวมตัวกันเป็น starch iodide ให้สีน้ำเงิน สารนี้จะสลายตัวเมื่อได้รับความร้อน และจะรวมตัวกันกลับคืนมาใหม่เมื่อปล่อยให้เย็นลง โครงสร้างโดยทั่วไปประกอบด้วยโพลีเมอร์เชิงเส้นที่เรียกว่า อะไมโลส และโพลีเมอร์เชิงกิ่ง ที่เรียกว่า อะไมโลเพกติน

1. อะไมโลส (amylose)

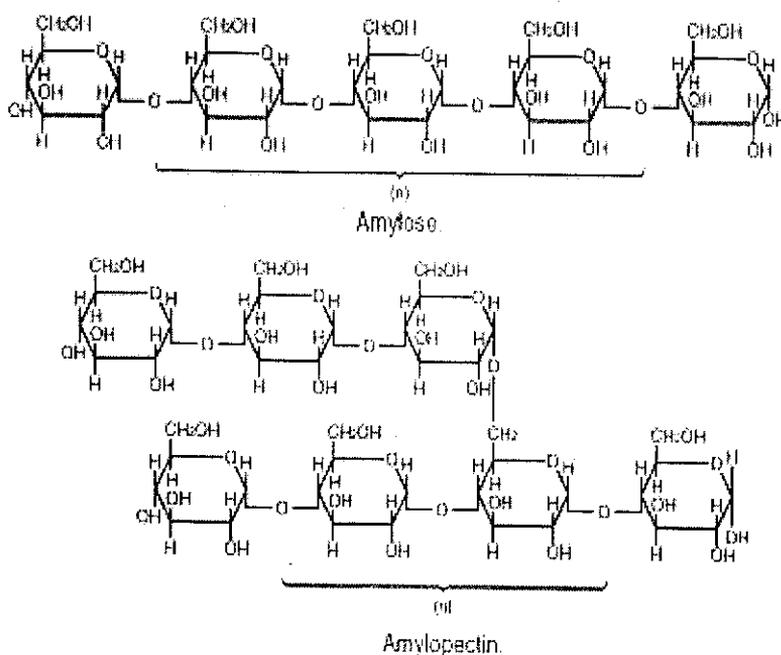
เป็นโพลีเมอร์ของกลูโคสต่อกันด้วยพันธะ α -1,4 glycosidic อะไมโลสมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 2,000-500,000 หน่วย เป็นส่วนที่ไม่ละลายน้ำ แต่สามารถอยู่ในน้ำเป็นไมเซลล์ (micelle) โมเลกุลเมื่ออยู่ในน้ำ จะบิดเป็นเกลียว เฮลิคซ์ (helix) โดยจะมีหน่วยกลูโคสประมาณ 6 หน่วย ต่อ 1 รอบเฮลิคซ์ อะไมโลสมีโครงสร้างคล้ายเซลลูโลส คือ เป็นโพลีเมอร์โซ่ตรงของกลูโคส และต่างกันที่อะไมโลสมีหน่วยกลูโคสต่อกันด้วยพันธะ α -1, 4 glycosidic ในขณะที่เซลลูโลสมีหน่วยกลูโคสต่อกันด้วยพันธะ β -1, 4 glycosidic ความแตกต่างของโครงสร้างทั้งสองแบบนี้มีความสำคัญ คือ เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับระบบย่อยสามารถนำแป้งมาใช้เป็นแหล่งให้กลูโคสได้ แต่ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยเซลลูโลสซึ่งมีโครงสร้างแบบ β ได้

2. อะไมโลเพกติน (amylopectin)

มีอยู่ประมาณร้อยละ 70-80 เป็นโพลีเมอร์โซ่กิ่ง ส่วนใหญ่ของโมเลกุลประกอบด้วยกลูโคสหลายพันหน่วยต่อกันด้วยพันธะ α -1, 4 glycosidic เช่นเดียวกับอะไมโลส ส่วนที่เป็นสาขาหรือกิ่งนั้นเกิดจากพันธะ β -1,6 glycosidic การแตกสาขาหรือกิ่งนี้จะเกิดขึ้นทุกหน่วยกลูโคสที่ 25-30 อะไมโลเพกตินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 200,000-1,000,000 เมื่ออยู่ในน้ำจะเป็นส่วนที่อุ้มน้ำไว้ และเป็นสารแขวนลอย โครงสร้างของอะไมโลสและอะไมโลเพกตินได้แสดง ดังตารางที่

ตารางที่ 2-1 ความแตกต่างของอะไมโลส และอะไมโลเพคติน (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2535)

อะไมโลส (amylose)	อะไมโลเพคติน (amylopectin)
กลูโคสต่อเป็นสายตรง	กลูโคสต่อกันมีกิ่งสาขาเหมือนกิ่งไม้
มีกลูโคส 200-1,200 หน่วย	แต่ละกิ่งมีกลูโคส 20-25 หน่วย
ละลายน้ำดีกว่า	ละลายได้น้อย
เมื่อต้มจะมีความข้นหนืดน้อย และขุ่น	หนืดมาก และใส
ให้สีน้ำเงินกับสารละลายไอโอดีน	ให้สีม่วงแดงกับสารละลายไอโอดีน
ต้มทิ้งไว้จะจับตัวเป็นวุ้นได้	ไม่จับตัวเป็นวุ้น



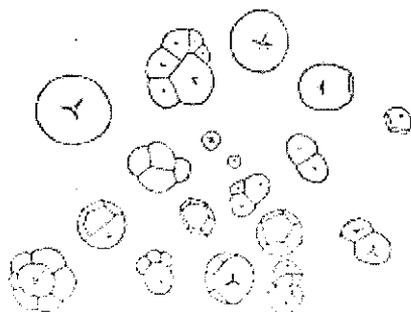
ภาพที่ 2-1 โครงสร้างของอะไมโลส และอะไมโลเพคติน (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2535)

มันสำปะหลัง (cassava)

มันสำปะหลังมีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกาใต้แถบประเทศเปรู เม็กซิโก กัวเตมาลา และฮอลแลนด์ เข้ามาในทวีปเอเชียเมื่อประมาณปี พ.ศ. 2283 ซึ่งเริ่มปลูกมันสำปะหลังในมอริเชียส โดยชาวชวา ต่อมาถูกนำเข้ามาในฟิลิปปินส์ และสิงคโปร์ ประมาณ พ.ศ. 2383 และเริ่มมีการนำมาทำเป็นแป้งมันสำปะหลังในสิงคโปร์ เมื่อปี พ.ศ. 2389 สำหรับประเทศไทยยังไม่มีหลักฐานแน่นอนว่า มีการนำเข้ามาปลูกเมื่อใด คาดว่าคงจะเข้ามาในระยะเดียวกันกับที่เข้ามาสู่ศรีลังกา ฟิลิปปินส์ ราว พ.ศ. 2329-2383 เดิมที เรียกว่า มันสำโรง มันไม้ ต่อมาได้มีการเปลี่ยนชื่อมาเรียกว่า มันสำปะหลัง และในต่างประเทศ ก็มีชื่อเรียกแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศ

มันสำปะหลัง เป็นไม้พุ่ม มีอายุอยู่ได้หลายปี ความสูงของต้นจะมีความสูงแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ และสภาพแวดล้อม บางทีอาจมีลำต้นสูงประมาณ 1-5 เมตร ตลอดลำต้นมียางสีขาว มีใบลักษณะเป็นแฉก 3-9 แฉก ใบเป็นแบบ palmate มีช่อดอกขนาดเล็ก ๆ มีทั้งดอกตัวผู้และตัวเมีย แต่จะอยู่แยกดอกกัน มีผลเป็นแบบ capsule โตเต็มที่ขนาด ประมาณ ½ นิ้ว ผลแก่เต็มที่เมื่อมีอายุ 2 ½ -3 เดือน เม็ดมีสีน้ำตาลลายตัว มีรากจำนวนมาก ทั้งรากจริง (true or wiry roots) และ รากสะสมอาหาร (modified or storage roots) โดยทั่วไปมีหัวประมาณ 5-15 หัวต่อต้น มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3-15 ซม. ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม สามารถเพาะปลูกได้ในดินแทบทุกชนิด แต่ลักษณะดินที่ชอบคือดินเหนียวปนทราย และมีความทนทานต่อความแห้งแล้งได้สูง

แป้งมันสำปะหลังที่มีการแปรรูปโดยทั่วไปจะมีสีขาว มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 4.5-6.5 มีความชื้นประมาณ 9.1 เปอร์เซ็นต์ มีไขมัน 0.5 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 38.2 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 1.1 เปอร์เซ็นต์ และกาก 2.2 เปอร์เซ็นต์ (ศิริลักษณ์ สันทวาลัย, 2525)



ภาพที่ 2-2 ลักษณะของเม็ดแป้งมันสำปะหลังดิบโดยการใช้อกล้องจุลทรรศน์ขยาย 500 เท่า
(ศิริลักษณ์ สันทวาลัย, 2525)

มันเส้น (cassava ship) เกิดจากการนำหัวมันสดไปล้างแล้วนำเข้าเครื่องสับหรือหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ จากนั้นนำไปตากแดดให้แห้ง ประมาณ 2-3 วัน โดยต้องมีการใช้คราดหรือรถแทรกเตอร์ในการกลับมันเส้นทุก 1-2 ชั่วโมง เพื่อให้ความชื้นระเหยอย่างทั่วถึงโดยมันเส้น 1 กิโลกรัมจะมีความชื้น มาตรฐานประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์ ใช้หัวมันสด 2.0-2.5 กิโลกรัม (ปริมาณแป้ง 25 เปอร์เซ็นต์) (สมาคมมันสำปะหลังแห่งประเทศไทย, 2545)

มันเส้นสะอาด หมายถึง มันสำปะหลังลักษณะเป็นชิ้นที่ได้จากการแปรรูปหัวมันสำปะหลังที่ผ่านกรรมวิธีการร่อนดินทรายหรือวัตถุคิบอื่นที่ติดมากับหัวมันสำปะหลังออกแล้ว การกำหนดคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง แสดงไว้ดังตารางที่ 2-2 เช่นกัน (ตามประกาศของกรมการค้าต่างประเทศ ณ วันที่ 20 กรกฎาคม พ.ศ. 2544)

ตารางที่ 2-2 การกำหนดคุณภาพและมาตรฐานของผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังและมันเส้นสะอาด

คุณภาพที่กำหนด	มาตรฐานที่กำหนด	
	ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง	มันเส้นสะอาด
แป้ง (เปอร์เซ็นต์)	> 65.0	> 70.0
เส้นใย (เปอร์เซ็นต์)	< 5.0	< 4.0
ความชื้น (เปอร์เซ็นต์)	< 14.0	< 13.0
ไม่มีวัตถุอื่นเจือปน	√	√
เว้นแต่ดินทราย (เปอร์เซ็นต์)	< 5.0	< 4.0
ไม่มีกลิ่นและสีผิดปกติ	√	√
ไม่มีกลิ่นบูด เน่า หรือ เชื้อรา	√	√
ไม่มีแมลงที่ยังมีชีวิต	√	√

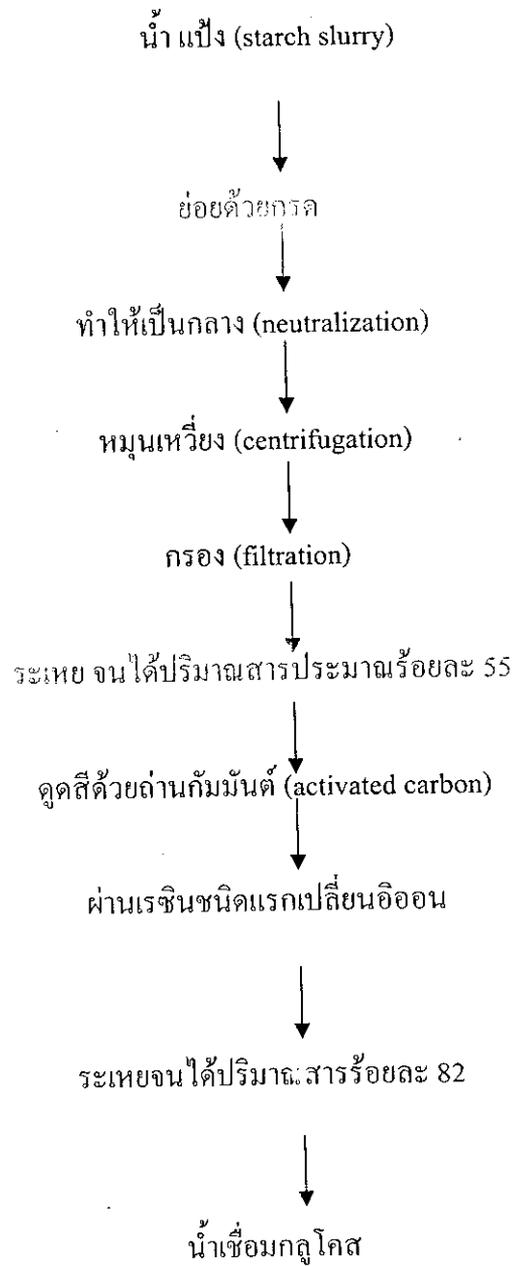
หมายเหตุ √ หมายถึง มีคุณภาพตามที่กำหนดไว้

กระบวนการสลายแป้งให้เป็นน้ำตาล

1. การสลายแป้งด้วยกรด

การสลายแป้งในช่วงแรก ๆ นั้นจะเริ่มด้วยการสลายแป้งโดยใช้กรดเป็นตัวช่วย (ภาพที่ 2-3) ซึ่งได้เป็นน้ำเชื่อมกลูโคส แต่ปัจจุบันนี้ได้มีวิวัฒนาการของเอนไซม์ได้เข้ามา สำหรับการผลิตมากขึ้น การใช้กรดก็ลดลงไป เนื่องจากการทำงานของกรดต้องระมัดระวังและใช้วัสดุอุปกรณ์ที่มีคุณสมบัติพิเศษ แต่อย่างไรก็ตามยังมีโรงงานที่ผลิตน้ำเชื่อมกลูโคส โดยใช้กรดเป็น

ตัวย่อยสั้น ๆ (acid-process) หรือ กรดย่อยครั้งแรก และใช้เอนไซม์ย่อยครั้งสุดท้าย (enzyme process) สำหรับการใส่กรดเป็นตัวย่อยนิยมใช้กรดไฮโดรคลอริก (HCl) มากกว่ากรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ทั้งนี้เนื่องจากกรณีที่น้ำมี Ca^{++} อยู่ เกลือยิปซัม (Ca_2SO_4) จะตกตะกอนและจะเป็นตะกอนไปจนถึงผลิตภัณฑ์ ความเป็นกรด-ด่าง จะปรับไว้ประมาณ 1.8 จากนั้นก็จะให้ความร้อนสูงประมาณ 130-140 องศาเซลเซียส จากการให้น้ำโดยตรง (หรือทางอ้อม) ความดันจะอยู่ประมาณ 5 บาร์เกจ (barg) ปกติจะทำในท่อปฏิกิริยา (pipe-reaction หรือ jet cooker) ซึ่งใช้เวลาประมาณ 10 นาที ค่า DE จะได้ประมาณ 15-20 หลังจากปฏิกิริยาสิ้นสุด น้ำแบ่งที่ถูกลบจะปล่อยออกที่ถังความดันบรรยากาศ (flash tank) แล้วจะปรับความเป็นกรด-ด่าง เป็น 4.5-5.0 โดยใช้สารโซเดียมไบคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เมื่อความเป็นกรด-ด่าง ถูกปรับได้ ซึ่งจะทำให้เกิดคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ขึ้นบางส่วนโดยบางส่วนทำให้โปรตีนและไขมัน ตกตะกอนลงมาด้วย จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกสิ่งเจือปนและขึ้นส่วนที่ไม่ถูกลบให้ออกไป กรองเพื่อกำจัดไขมันและโปรตีนที่ไม่ละลายออกไป ระบายให้ขึ้นที่อุณหภูมิทำงานได้ปริมาณสารประมาณร้อยละ 82 กรณีที่ต้องการกำจัดปริมาณเกลือและแร่ธาตุต่าง ๆ ทำได้โดยให้น้ำเชื่อมกลูโคสไหลผ่านเรซินชนิดแรกเปลี่ยนไอออน (ion exchange resin) ซึ่งนิยมใช้กันมากในน้ำเชื่อมกลูโคสที่มีระดับการย่อยสูง (high degree of conversion)



ภาพที่ 2-3 กระบวนการผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสด้วยกรด (Lloyd & Nelson, 1984)

2. การย่อยแป้งด้วยเอนไซม์

2.1 การทำให้แป้งสุก (gelatinisation)

การเตรียมน้ำแป้งเป็นข้อกำหนดผลิตภัณฑ์ที่ได้และกำลังการผลิต ถ้าเตรียมน้ำแป้งที่มีความเข้มข้นสูง จะได้ผลผลิตสูง ใช้พลังงานในการต้มระเหยน้ำน้อย การผสมแป้งกับน้ำมี ข้อจำกัดว่าไม่ควรผสมแป้งมากเกินไป เนื่องจากความยืดหยุ่นของแป้งเมื่อถูกความร้อนถึงอุณหภูมิของการ “สุก” ฉะนั้นถ้าต้องการให้มีเนื้อแป้งในน้ำแป้งมาก ๆ ต้องทำการย่อยแป้งขณะที่แป้งกำลังจะสุก เพื่อที่จะได้น้ำแป้งที่มีความหนืดต่ำ โดยทั่วไปจะเตรียมน้ำแป้งประมาณความเข้มข้นประมาณ 30-40 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยอาจใช้เครื่องบดไฮโดรมิเตอร์วัดความเข้มข้นของน้ำแป้ง ซึ่งจะเปรียบเทียบกับน้ำแป้งที่มีความเข้มข้นประมาณ 17-19 บมูเม่ ลักษณะของค่าบมูเม่มีส่วนสัมพันธ์กับจำนวนแป้งต่อน้ำแป้งโดยดูได้จากกราฟมาตรฐานที่กำหนดไว้ การปรับความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำแป้งให้ได้ช่วงที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์ (ในกรณีที่ใช้กรดเป็นตัวย่อยครั้งแรกต้องปรับความเป็นกรด-ด่าง) ควรใช้กรดไฮโดรคลอริก และโซเดียมไบคาร์บอเนต เป็นตัวปรับความเป็นกรด-ด่าง เพื่อช่วยในการย่อยคราวต่อไป ในกรณีที่ใช้เอนไซม์ต้องให้น้ำแป้งมีแคลเซียม เนื่องจาก Ca^{++} เป็นโคเอนไซม์ ที่ช่วยในการดำเนินกิจกรรมการย่อย ปริมาณของ Ca^{++} ขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ ปกติการใช้ Ca^{++} ประมาณ 30-300 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งในบางครั้งน้ำที่ใช้ในโรงงานมีปริมาณ Ca^{++} (ในรูปของความเป็นกรด-ด่างต่าง ๆ) มากเพียงพอ (กล้าณรงค์ ศรีรอด, 2544)

2.2 การย่อยแป้งครั้งแรก หรือการทำให้ใส (liquefaction)

การย่อยครั้งแรกของน้ำแป้งเพื่อให้แป้งมีความหนืดน้อยลง และแป้งบางส่วนถูกย่อยทำให้แป้งมีขนาดโมเลกุลเล็กลง ถ้าเป็นการย่อยด้วยเอนไซม์แล้ว เอนไซม์ต้องเป็นกลุ่มพวกตัดภายในสาย (endo - enzyme) เพื่อทำหน้าที่ตัดหรือย่อยพันธะของน้ำตาลกลูโคสที่จับตัวกันเป็นแป้งแบบภายในสายจนได้แป้งที่มีโมเลกุลเล็กลง เป็นกลุ่มที่เท่า ๆ กัน ถ้าวัดค่า DE จะได้ประมาณตั้งแต่ 5-20 ในทางปฏิบัติควรรักษาไว้ที่ 10-15 เพื่อป้องกันการเกิดการรวมตัวกันหรือจับตัวกันใหม่ของแป้งที่มีโมเลกุลใหญ่ ๆ และเกิดตะกอนแขวนลอยที่กรองยาก ลักษณะการเกิดตะกอนเช่นนี้ เรียกว่า การเกิดรีโทรเกรเดชัน (retrogradation)

2.3 การย่อยน้ำแป้งครั้งสุดท้ายหรือการทำให้หวาน (saccharification)

เป็นการย่อยแป้งที่ผ่านการย่อยเป็นบางส่วน ให้เป็นน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ตามความต้องการ โดยการลดอุณหภูมิสารละลายที่ผ่านการย่อยขั้นต้นอย่างรวดเร็วจนได้อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง 4-4.5 เดิมกลูโคสมิเลส 0.65-0.80 มิลลิกรัม/แป้ง 1 กิโลกรัม บ่มที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ถ้าต้องการเวลาให้เร็วขึ้นทำได้โดยการเพิ่ม

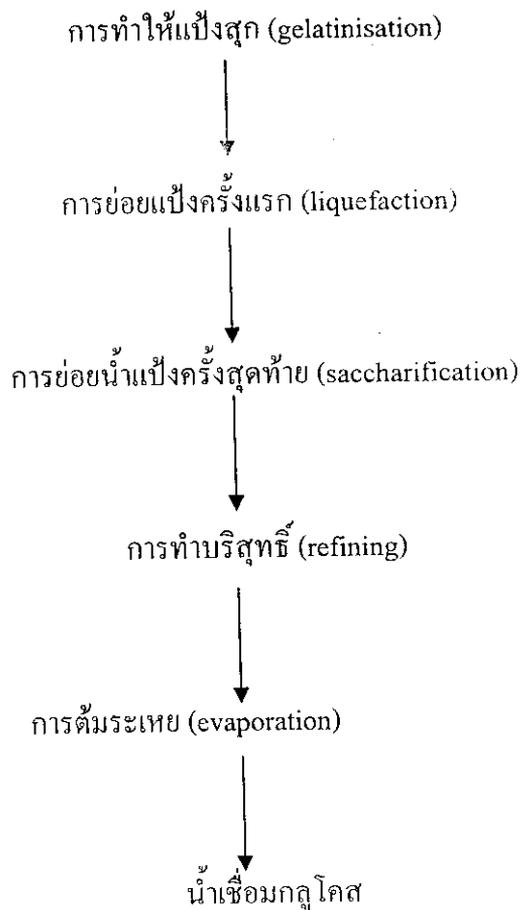
ปริมาณเอนไซม์ที่เติมลงไป หลังจากนั้นกรองเพื่อกำจัดไขมันและโปรตีน ทำให้บริสุทธิ์โดยการผ่าน ถ่านกัมมันต์และเรซินชนิดแลกเปลี่ยนไอออน แล้วทำให้น้ำตาลกลูโคสที่ได้นี้มี DE 96-98 ประกอบด้วยกลูโคส มอลโตส และไอโซมอลโตส ร้อยละ 95-97, 1-2 และ 0.5-2 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ การผลิตน้ำตาลกลูโคสที่มีปริมาณมอลโตสสูง (high maltose syrup) ทำได้โดยการลด อุณหภูมิสารละลายที่ผ่านการย่อยครั้งแรกลงอย่างรวดเร็วที่ 55 องศาเซลเซียส ปรับค่าความเป็น กรด-ด่าง 5.5 เดิม แอลฟาอะไมเลสจาก *A.oryzae* 2 หน่วยต่อกรัม บ่มไว้ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะได้น้ำตาลกลูโคสที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลกลูโคส มอลโทส มอลโทไตรโอส และ โอลิโกแซ็กคาไรด์ ร้อยละ 4, 56, 28 และ 12 ของน้ำหนักแห้งตามลำดับ

2.4 การทำบริสุทธิ์ (refining)

การทำบริสุทธิ์นั้นสะดวกสำหรับแป้งมันสำปะหลัง เพราะมีสารประกอบ เช่น โปรตีน ไขมัน ฯลฯ น้อยมาก ซึ่งสามารถกรองโดยใช้สารช่วยกรองและผงถ่านพร้อมกันได้ ปกติเครื่อง กรองที่ใช้ ได้แก่ filter press filter หรือ vacuum drum filter (หรือจะใช้ร่วมกันหลาย ๆ ชนิด) หลังจากการกรองแล้วควรจะได้สารละลายใส ขั้นตอนต่อไปคือ การจับประจุด้วยการผ่าน ion-exchange resin ภายใต้อุณหภูมิที่เหมาะสมและการตรวจ ความเป็นกรด-ด่าง ของผลิตภัณฑ์ที่ ผ่าน anion exchange resin ออกมา การทำบริสุทธิ์น้ำเชื่อมกลูโคสชนิด 38-42 DE จะยากกว่าชนิด DE สูง ๆ (> 95 DE) เพราะในช่วง 38-42 DE นั้น มีน้ำตาลส่วนที่ไม่ถูกย่อยอีกมาก การกรอง บางครั้งจึงต้องมีการแยกส่วนบน / ล่างของน้ำแป้งออกและกรองโดยเครื่องกรองต่างชนิดกัน

2.5 การต้มระเหย (evaporation)

กระบวนการสุดท้ายของการผลิต คือ การต้มระเหยน้ำออกไป ทั้งนี้เพราะน้ำเชื่อมที่ กรองและผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้ว จะมีความเข้มข้นของของแข็งประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ซึ่ง จำเป็นต้องระเหยน้ำออกไปจนกระทั่งได้ความเข้มข้นของของแข็งเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ จึงจะเป็น ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการในการต้มระเหยจะต้องทำในที่อุณหภูมิต่ำที่สุดภายใต้สุญญากาศ เพื่อป้องกันการ แฉกตัวของน้ำตาลกลูโคสเนื่องจากความร้อน ซึ่งจะทำให้ค่า DE ที่ถูกกำหนดมาจากการย่อย แล้วเพิ่มขึ้น และเพื่อป้องกันการเกิดสารมีสี (browning)



ภาพที่ 2-4 กระบวนการผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสด้วยเอนไซม์ (กล้าณรงค์ ศรีรอด, 2540)

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการย่อยแป้ง

แบ่งตามตำแหน่งที่เข้าทำการย่อย

1. กลุ่มเอนไซม์สำหรับการย่อยครั้งแรก (liquefaction)

ในการย่อยแป้งเพื่อจะผลิตผลิตภัณฑ์ซึ่งหมายถึง กลูโคสนั้น ต้องมีขั้นตอนทำให้น้ำแป้งสุกเป็นของเหลวที่มีความหนืดต่ำก่อนที่จะนำไปทำการผลิตต่อไป ดังนั้นเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับการทำให้น้ำแป้งเป็นของเหลวที่มีความหนืดน้อย ถือว่าเป็นการย่อยครั้งแรกของกระบวนการย่อยสลายแป้ง เอนไซม์ที่ใช้เป็นประเภท endo-enzyme ซึ่งจะทำงานหรือกิจกรรมภายในโมเลกุลของแป้ง เพื่อที่จะทำให้น้ำแป้งถูกย่อยออกเป็น โมเลกุลขนาดเล็กเท่า ๆ กันในเวลาสั้น (ซึ่งสั้นกว่า exo-enzyme) เป็นของเหลวที่ค่อนข้างสมบูรณ์และมีความหนืดต่ำและมีค่า DE ต่ำกว่า

20 โอกาสที่แป้งจะจับตัวกันเป็นไปได้น่า ซึ่งเอนไซม์ในกลุ่มที่ใช้ก็คือ α -amylase ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ต่อไปนี้

(ก) *Bacillus amyloliquefaciens* หรืออีกชื่อหนึ่ง *Bacillus subtilis* (*Bacillus subtilis* Var. *amyloliquefaciens*) เอนไซม์กลุ่มนี้มีความคงทนที่อุณหภูมิประมาณ 70 องศาเซลเซียส ความสามารถหรือกิจกรรมลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 90 องศาเซลเซียส ต้องการแคลเซียมเป็นตัวร่วม กิจกรรมความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม คือ 6.0-6.5 เอนไซม์กลุ่มนี้ปกติในการผลิตจะทำให้ทำงานในระดับ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลามากกว่า 1 ชม. (ขึ้นกับความเข้มข้นของเอนไซม์) เมื่อกิจกรรมการย่อยสลายเสร็จสิ้นความสามารถก็หมดพร้อม ๆ กัน ไม่ต้องใช้ความร้อนทำลายเพื่อหยุดปฏิกิริยา

(ข) *Bacillus licheniformis* เอนไซม์กลุ่มนี้ทนความร้อนได้ดี เหมาะสำหรับการทำงานที่อุณหภูมิสูง ต้องการแคลเซียมเป็นตัวร่วมกิจกรรม ในขณะที่ทำงานในอุณหภูมิ 107 องศาเซลเซียส น้ำแป้ง 30 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 6 และความเข้มข้นของแคลเซียม 230 พีพีเอ็ม นั้น เอนไซม์มีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 21 นาที (หมายความว่า ณ การทำงานในปัจจุบันข้างต้นนี้ กิจกรรมของเอนไซม์จะลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ ทุก ๆ 21 นาที) ปกติการทำงานที่อุณหภูมิสูงจะทำให้ น้ำแป้งที่ย่อยแล้วเปลี่ยนสีไปบ้าง การหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ทำได้โดยใช้ความร้อนสูง 120-140 องศาเซลเซียส

(ค) *Bacillus stearothermophilus* เป็นเอนไซม์ที่ทนความร้อนได้ดีที่สุดในสภาวะ 107 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของน้ำแป้ง 30 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 6 และความเข้มข้นของแคลเซียม 230 พีพีเอ็ม เอนไซม์ชนิดนี้จะมีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 53 นาที น้ำแป้งที่ย่อยแล้ว (ที่อุณหภูมิสูง) จะมีสีคล้ำและต้องหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยความร้อนสูงก่อนเริ่มการผลิตอื่น ๆ ต่อไป ซึ่งเอนไซม์ในกลุ่มนี้ที่มีจำหน่ายโดยทั่วไป

2 กลุ่มเอนไซม์สำหรับการย่อยครั้งที่สองหรือครั้งสุดท้าย (saccharification)

เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่ย่อยเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงขึ้น (DE สูงขึ้น) น้ำแป้งเกิดรสหวาน เป็นน้ำเชื่อม ปกติจะพบการใช้เอนไซม์อยู่ 2 กลุ่ม คือ

(ก) การย่อยเพื่อให้ได้น้ำเชื่อมชนิด 38-42 DE มีความหนืด ความหวานพอดี เหมาะสำหรับอุตสาหกรรมอาหาร โดยทั่วไปใช้ endo-enzyme เพื่อให้แป้งถูกย่อยจากภายในโมเลกุลมี น้ำหนักโมเลกุลที่เหลืออยู่ต่ำพอที่จะไม่ให้เกิดการรีโทรเกรดเดชัน และเกิดน้ำตาลชนิดต่าง ๆ (กลูโคส มอลโตส ฯลฯ) ที่สร้างความหวานขึ้นเอนไซม์ที่เหมาะสมกับการผลิตน้ำเชื่อมชนิดนี้คือ แอลฟาอะไมเลส ที่สกัดจากเชื้อรา *Aspergillus* หรือ *Rhizopus* เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส จากเชื้อราจะมีคุณสมบัติที่คล้าย ๆ กันคือ อุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส ความเข้มข้น

ของน้ำแป้งที่เหมาะสมเท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง อยู่ที่ 3-8 (ปกติใช้ที่ 4-5) และต้องใช้ความร้อนในการหยุดกิจกรรมเอนไซม์

(ข) การย่อยเพื่อให้ได้น้ำเชื่อม DE สูง ($DE > 95$) ในการผลิตน้ำตาลกลูโคสเพื่อที่จะทำให้เป็นวัตถุดิบของการผลิตผลิตภัณฑ์ต่อเนื่องต่อไป เช่น น้ำตาลฟรักโทส ซอร์บิทอล หรือทำกลูโคสผง (เดกซ์โทรส) ชนิดต่าง ๆ จำเป็นต้องใช้น้ำเชื่อมที่มีความบริสุทธิ์สูง หมายถึงมีจำนวนน้ำตาลกลูโคสต่อของแข็งทั้งหมดสูง หรือ DE สูงกว่า 95 การย่อยจำเป็นต้องใช้เอนไซม์ประเภท exo-enzyme ที่ย่อยจากปลายสายเข้ามา และสามารถย่อยพันธะได้ทั้ง α -1, 4 และ α -1, 6 ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวคือ กลูโคอะไมเลส หรืออะไมโลกลูโคซิเดส ที่ได้จากเชื้อรา *Aspergillus* หรือ *Rhizopus* ลักษณะของเอนไซม์ในกลุ่มนี้คือมีความสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิต่ำกว่า 60 องศาเซลเซียส (เหมาะสม 55 องศาเซลเซียส) ความเป็นกรด-ด่าง ประมาณ 4-6 ความเข้มข้นน้ำแป้งประมาณ 30-35 เปอร์เซ็นต์ ไม่ต้องการแคลเซียมเพื่อร่วมทำกิจกรรม จำเป็นต้องใช้ความร้อนเพื่อหยุดกิจกรรมก่อนที่จะดำเนินการกระบวนการผลิตต่อไป บางกรณีก็ใช้เอนไซม์ที่ตัดพันธะ 2, 6 เช่น พูลูลานเนสร่วมกับเอนไซม์ กลูโคอะไมเลส จะทำให้ความเร็วของกิจกรรมเพิ่มขึ้นเอนไซม์กลุ่มนี้มีจำหน่ายในตลาด

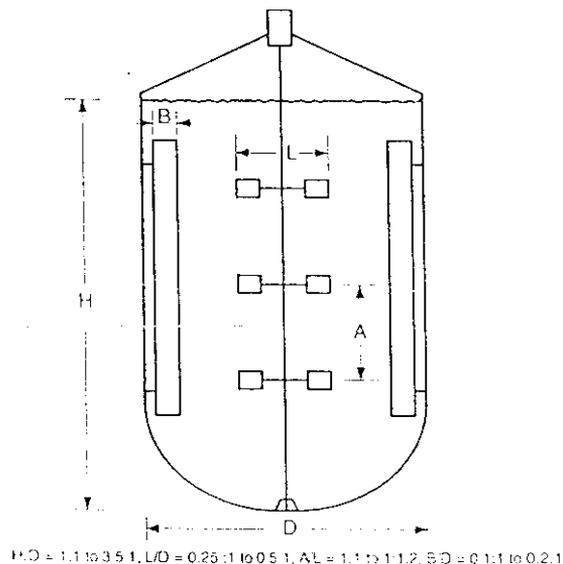
ประโยชน์ของการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล

1. ผลิตพลังงานทดแทนการใช้น้ำมันเชื้อเพลิง โดยใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลหรือพลังงานสะอาด เพื่อช่วยลดมลพิษทางสิ่งแวดล้อมที่จะเกิดขึ้นกับประชาชนและสิ่งแวดล้อม
2. ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารชนิดต่าง ๆ เช่น แปะแซ
3. เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบทดแทนในการผลิตน้ำตาลในกรณีที่ขาดแคลนปริมาณน้ำตาล
4. ใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมการผลิตสารให้ความหวานในอุตสาหกรรมยา
5. ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผงชูรส และกรดอะมิโนบางชนิด
6. ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มชนิดต่าง ๆ เช่น น้ำอัดลม น้ำผลไม้
7. เป็นการเพิ่มมูลค่าของผลผลิตทางการเกษตรให้มีมูลค่ามากขึ้น

ปฏิกรณ์ชีวภาพ (bioreactor)

ปฏิกรณ์ชีวภาพในที่นี้หมายถึงถังที่ใช้สำหรับการย่อยแป้งมันสำปะหลัง เป็นถังรูปทรงกระบอกทำด้วยโลหะพวกสแตนเลส หรือ แก้วชนิดที่ กันกลม ภายในประกอบด้วยใบพัดที่ใช้ในการทำการกวนให้ของเหลวผสมกันได้ดี และปฏิกรณ์ชีวภาพแบบกวน (stirred tank bioreactor) นิยมใช้ในระดับอุตสาหกรรมมากที่สุด เนื่องจากประหยัดค่าใช้จ่ายในการก่อสร้างและควบคุม

การทำงาน ส่วนประกอบหลักที่สำคัญได้แสดงไว้ในภาพที่ 2-5 ตัวถังปฏิกรณ์ขนาดเล็ก ทำด้วย สเตนเลส แต่สำหรับขนาดใหญ่นิยมทำด้วยเหล็กกล้าไร้สนิม สัดส่วนของส่วนสูงต่อขนาด ผ่านศูนย์กลางของถังแปรผันตั้งแต่ 2 : 1 จนกระทั่งถึง 6 : 1 ขึ้นอยู่กับปริมาณความร้อนที่ต้องระบาย ออก เครื่องกวน (stirrer) สามารถติดตั้งให้ขับเคลื่อนได้ทั้งด้านบนและด้านล่าง ภายในถังปฏิกรณ์ จะติดตั้งตัวกั้น (baffle) เพื่อป้องกันการเกิดกระแสวน (vortex) ตรงบริเวณส่วนกลางของถัง และยังสามารถช่วยปรับปรุงการผสมให้ดีขึ้นได้ ททั่วไปมักนิยมติดตั้งตัวกั้น 4 อัน สำหรับถังขนาดเส้น ผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 3 เมตร และติดตั้ง 6-8 อัน สำหรับถังที่มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยให้ส่วนกว้างของ ตัวกั้นมีขนาดตั้งแต่ 1/10 – 1/12 ของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง



ภาพที่ 2-5 ปฏิกรณ์ชีวภาพแบบกวน (stirred tank bioreactor) แสดงอัตราส่วนของความสูงต่อเส้น ผ่านศูนย์กลาง (H/D) ของถัง อัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางของใบพัดและถังหมัก (L/D) อัตราส่วน แสดงอัตราส่วนของระยะห่างระหว่างใบพัดต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของ ใบพัด (A/L) อัตราส่วนของความกว้างต่อเส้นผ่านศูนย์กลาง ของถัง (B/D) (Scragg, 1991)

รีโอดียี (rheology)

เป็นศาสตร์ที่ศึกษาถึงพฤติกรรมเชิงกลของวัสดุในการตอบสนองต่อแรงที่มากระทำ โดยการตอบสนองที่เกิดขึ้นนั้นเป็นได้ทั้งการเสียรูปทรง (deformation) และการไหล จะเกี่ยวข้องกับ กลศาสตร์และพลศาสตร์โดยอาศัยสมการทางคณิตศาสตร์และพื้นฐานทางฟิสิกส์/ ฟิสิกัลเคมี เพื่อ ใช้ในการอธิบายพฤติกรรมของการตอบสนองต่อแรงกระทำของวัสดุ ซึ่งจะเชื่อมโยงไปถึง ลักษณะ

สัมผัส เช่น ความหนืด ความยืดหยุ่น เป็นต้น ซึ่งปัจจุบันนี้รีโอโลยีมีบทบาทสำคัญทั้งด้านวัสดุศาสตร์ วิศวกรรม เกษษกรรม การแพทย์ เครื่องสำอาง และเทคโนโลยีอาหาร ซึ่งจะศึกษาการเปลี่ยนรูปทรงและการไหลของวัตถุเพื่อตอบสนองแรงกล (mechanical force) ที่มากระทำในเทอมของความเป็นยืดหยุ่น (elasticity) และความหนืด (viscosity) ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นมี 3 ลักษณะคือ

1. การไหล (irreversible flow) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงแบบถาวร การเปลี่ยนแปลงรูปทรงแบบอีลาสติก (elastic deformation) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงแบบกลับสภาพเดิมได้

2. การเปลี่ยนแปลงรูปทรงแบบวิสโคอีลาสติก (viscoelastic deformation) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่มีทั้งสองลักษณะที่กล่าวมาข้างต้น

การที่วัสดุใดวัสดุหนึ่งได้รับแรงกระทำแล้วจะแสดงการตอบสนองแบบใดนั้นขึ้นอยู่กับเวลาในการสังเกตและเวลาที่วัสดุต้องการเพื่อกลับไปสภาพเดิมซึ่ง เรียกว่า เวลารีแลกเซชัน (relaxation time) ซึ่งจะแสดงในเชิงปริมาณด้วยค่าที่เรียกว่า เลขเดีบอราห์ (Deborah Number, De) ซึ่งมีสมการดังนี้

$$De = \frac{\text{เวลารีแลกเซชัน}}{\text{เวลาในการสังเกตหรือทดสอบ}}$$

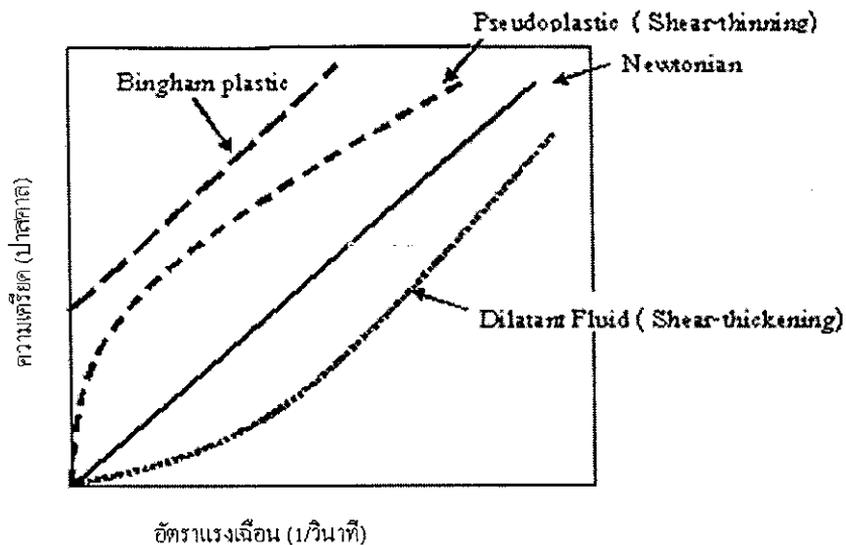
เมื่อ $De \gg 1$ หมายถึงเวลาในการสังเกตสั้นกว่าเวลารีแลกเซชันดังนั้นไม่ว่า จะสังเกตกี่ครั้งวัสดุก็ยังอยู่ในสภาพเดิมคล้ายของแข็ง

$De \ll 1$ หมายถึงเวลาในการสังเกตนานกว่าเวลารีแลกเซชันดังนั้นพอสังเกตวัสดุก็เห็นความเปลี่ยนแปลงของวัสดุคล้ายของเหลว

$De \sim 1$ เราจะสามารถสังเกตสมบัติที่ทั้งคล้ายของแข็งและของเหลว

โดยทั่วไปเราจะแบ่งสารตามสถานะ ของแข็ง ของเหลว และก๊าซ ดังแสดงใน

ภาพที่ 2-6



ภาพที่ 2-6 ลักษณะการไหลของของไหล (flow curve) (<http://www.mtec.or.th>)

คุณสมบัติการไหลของของไหลที่พบเห็นโดยทั่วไปมี 5 ประเภทดังนี้

1. Newtonian Fluid เป็นคุณสมบัติของของไหลในอุดมคติ ที่อุณหภูมิหนึ่ง ๆ ที่ของไหลมีค่าความหนืด เป็นค่าคงที่ ไม่เปลี่ยนแปลงไปตามอัตราเฉือน (shear rate) หรือความเร็วในการกววน เช่น น้ำ น้ำเชื่อม น้ำผึ้ง น้ำผลไม้ นม น้ำมัน เป็นต้น
2. Pseudoplastic เป็นคุณสมบัติของของไหล ที่เมื่อของไหลมีค่าความหนืดลดลงเมื่อเพิ่มอัตราเฉือนหรือที่เรียกว่าแสดงสมบัติเป็น shear thinning เช่น น้ำผลไม้เข้มข้น โพลีเมอร์ หลอมเหลว สารละลายโพลีเมอร์ fermentation broth เป็นต้น
3. Dilatant Fluid เป็นคุณสมบัติของของไหลที่ ที่มีค่าความหนืดเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราเฉือนหรือที่เรียกว่าแสดงสมบัติเป็น shear thickening เช่น น้ำแป้ง น้ำดินขี้้น หาดทราย เป็นต้น
4. Bingham Plastic เป็นคุณสมบัติของของไหล ที่เมื่อมีแรงกระทำสูงพอจะเกิดการไหลแบบ Newtonian Fluid เช่น นมช็อกโกแลต ยาสีฟัน น้ำสลัด ของเซรามิก เป็นต้น

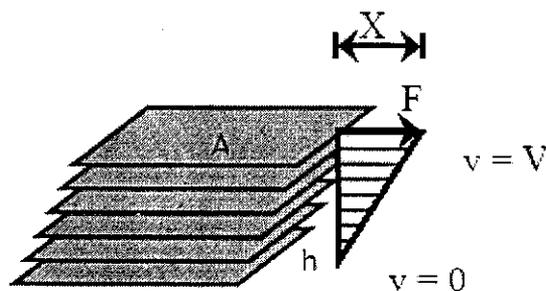
5. Plastic เป็นคุณสมบัติของของไหลที่เมื่อมีแรงกระทำสูงพอจะเกิดการไหลได้ จะไหลแบบ Pseudoplastic หรือตาม โมเดลของ Herschel-Buckley เช่น ซอสมะเขือเทศ มายองเนส สี ดินเหนียว เป็นต้น

ความหนืด (viscosity)

นิยามของความหนืด คือ ความสามารถในการต้านทานการไหลของของไหล (สสารที่สามารถไหลได้เช่น ของเหลวและก๊าซ) เมื่อมีแรงกลมากระทำ สัญลักษณ์ของความหนืดคือ η ค่าความหนืดนั้นแสดงได้ในรูปของค่าความเค้นเฉือน (shear stress, τ) ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง 1 หน่วยของอัตราเฉือน (shear rate หรือ strain rate, $\dot{\gamma}$) ดังภาพที่ 2 – 6 สามารถคำนวณได้จากสมการดังนี้

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} = \frac{F/A}{V/h} \quad (1)$$

(หน่วยเป็น นิวตัน/ตารางเมตร, N/m^2 หรือ ปาสคาล วินาที, Pa.s)



ภาพที่ 2-7 ลักษณะแรงที่กระทำต่อพื้นที่ในลักษณะด้านการไหลของสาร (<http://www.mtec.or.th>)

โดยที่ F คือ แรงกลที่กระทำต่อของไหลพื้นที่หน้าตัด (A)

ทำให้เกิด gradient ของความเร็วในการไหล (V) ตามระยะห่าง (h)

การทดสอบค่าความหนืด ส่วนใหญ่จะเป็นการไหลแบบเฉือนอย่างง่าย

(simple shear flow) การไหลดังกล่าว จะสามารถมองได้เหมือนการเลื่อนตัวของแผ่นกระดาษใน

กองกระดาษดังแสดงในภาพข้างต้น โดยที่กระดาษแต่ละแผ่นเป็นเหมือนชั้นของเหลวบาง ๆ ที่เคลื่อนที่ด้วยความเร็วเท่ากัน (ดังภาพที่ 2-7)

1. กลไกของความหนืด

ความหนืดของของไหลเป็นผลจากเหตุ 2 ประการหลัก คือ การรวมตัวกัน และการเปลี่ยนกำลังเคลื่อนไหวของวัตถุการรวมตัวกันเป็นสาเหตุเบื้องต้นของความหนืดในของเหลว

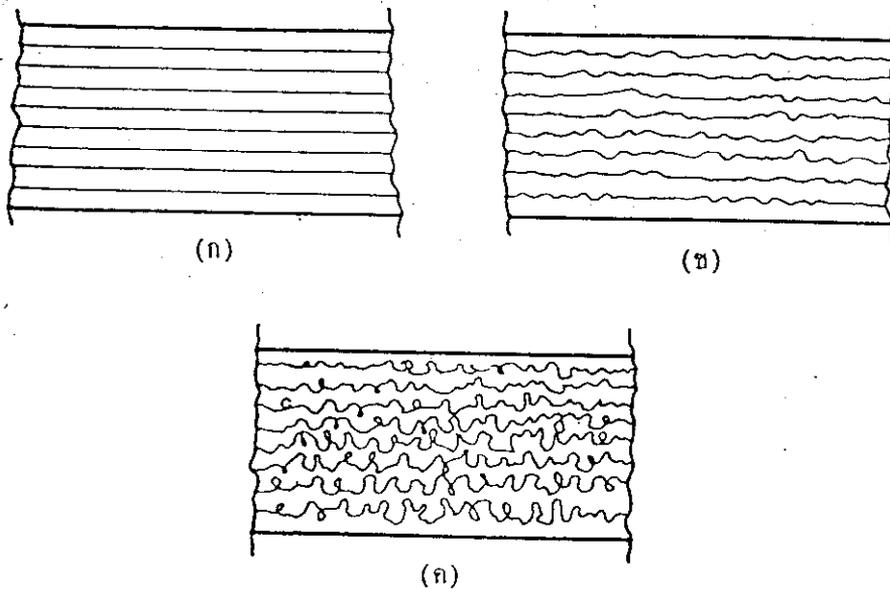
การรวมตัวกัน คือ แนวโน้มที่โมเลกุลจะเข้าไปอยู่ใกล้กันและกัน และต่อต้านการถูกทำให้เปลี่ยนรูปร่าง ขณะที่ของไหลได้รับความร้อนเข้าไป การเคลื่อนที่ของ โมเลกุลก็เพิ่มขึ้น และการรวมตัวกันก็ลดลง ดังนั้น ความหนืดอันเนื่องมาจากการรวมตัวกันก็จะลดลง เพราะอุณหภูมิ เพิ่มขึ้น และการเปลี่ยนกำลังการเคลื่อนไหวส่งผลเมื่อ โมเลกุลที่เคลื่อนที่เร็วกว่า เปลี่ยนไปอยู่ในที่โมเลกุลที่เคลื่อนที่ช้ากว่าอยู่หรือสลับกัน การเปลี่ยนกำลังการเคลื่อนไหวนี้ ทำให้เกิดแรงตาม สมการแบบนิวตัน ซึ่งทำให้เกิดความหนืด สำหรับก๊าซ โมเลกุลมีการรวมตัวกันน้อย แต่เคลื่อนที่ได้อิสระกว่าของเหลว ดังนั้นการเปลี่ยนกำลังเคลื่อนไหวเป็นสาเหตุแรกของความหนืดของในก๊าซ ถ้าก๊าซถูกทำให้ร้อน จะมีลำดับความเร็วที่สูงขึ้นระหว่างโมเลกุลที่เคลื่อนที่เร็วกับโมเลกุลที่เคลื่อนที่ช้า และ ดังนั้น ความหนืดจึงเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น

2 การไหลแบบลามินาร์และเทอร์บูเลนต์ (laminar and turbulent flow)

รูปแบบสายกระแสดังภาพที่ 2-7 แสดงภาพการไหลแบบ laminar (หรือที่เรียกว่า stream flow หรือ viscous flow) ความจริงแล้วขั้นต่าง ๆ ของการไหล ไหลมาซ้อนกันต่อ ๆ มาเหมือนกับสำหรับไฟต์ตอนเรตค้นไฟท์ที่เหลือไประหว่างไฟท์บนกับไฟต์ล่าง ชั้นต่าง ๆ ของการไหลจะไม่รวมหรือปะปนกันและคงตำแหน่งที่สัมพันธ์กันดั้งเดิม อย่างไรก็ตามในหลายคราวที่ความพยายามจะจับสายกระแสโดยใช้ควันหรือย้อมสีกระแสของไหลนั้นล้มเหลว และแทนที่จะได้รูปแบบดังภาพที่ 2-8 ผลกลับไม่ชัดเจนมีแต่ควันหรือสีที่ย้อมควัน หรือสีที่ย้อมผสมและกระจายไปทั่วกระแสไหล แสดงถึงว่าของไหลเคลื่อนที่เป็นชั้น ๆ แต่เคลื่อนที่ไปรอบ ๆ บางทีก็เป็นชั้น ๆ บางทีก็ไม่เป็นเนื้อของไหลไม่คงอยู่ในตำแหน่งที่สัมพันธ์กันดั้งเดิมแต่เปลี่ยนไปเรื่อย ๆ การไหลแบบนี้เรียกว่า การไหลแบบ turbulent

การไหลแบบ turbulent อาจเกิดตามธรรมชาติได้ เพราะกระแสของไหลเองหรือมีฉะนั้น turbulence ก็อาจจะเกิดจากการสั่นสะเทือน การคน หรือการสูบของไหล และวิธีการไหลทั้งสองแบบ อาจเกิดขึ้นในสภาพการไหล ที่ออกมาได้ การไหลปกติก็อาจเป็นแบบ laminar ก่อนและเปลี่ยนเป็น turbulent ณ จุดใดจุดหนึ่ง ตอนกลางของสายกระแส หรือมีฉะนั้น turbulence ที่เกิดขึ้นจะไปชะลอกระแสตอนกลาง แต่กรณีนี้ไม่เหมือนปกติ ในกรณีดังกล่าว ต้องมีจุดเปลี่ยนที่กระแสจะ

เปลี่ยนทั้งจาก laminar เป็น turbulent และ turbulent เป็น laminar ภาพเส้นสีข้อมที่ใส่ไปในกระแสของไหลสำหรับการไหลทั้ง 3 แบบนั้นแสดงไว้ในภาพที่ 2-8



ภาพที่ 2-8 การไหลของสารแบบต่าง ๆ (ก) การไหลแบบ laminar (ข) การไหลแบบ transition (ค) การไหลแบบ turbulent

3. กลศาสตร์ของเหลวและการกวนผสมสาร

จากสภาวะที่เหมาะสม (optimum conditions) จากงานวิจัยใน small-scale และจากการเลียนแบบ (mimicry) การผลิตในอุตสาหกรรม สามารถที่จะใช้เป็นสภาวะสำหรับการศึกษากลศาสตร์ของเหลวและการกวนผสมสาร ของการสลายแป้งให้เป็นน้ำตาลในถังกวนระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นต้นแบบของการขยายส่วนต่อไป โดยการศึกษาประสิทธิภาพของการสลายแป้งให้ได้น้ำตาลจะดูจากความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณผลผลิตกับคุณสมบัติของกลศาสตร์ของเหลวเพื่อใช้เป็นตัวอ้างอิงสำหรับการขยายส่วนปฏิกรณ์ชีวภาพ โดยพลังงานที่ใช้ในการขับใบพัดเพื่อการกวนสารคำนวณได้จาก

$$P = 2\pi N M_1 \quad (2)$$

N = ความเร็วรอบของใบพัด (รอบต่อวินาที)

M_1 = torque (Nm)

และคุณสมบัติประจำใบพัดหรือ เลขประจำใบพัด (power number)

$$P_0 = P/\rho N^3 D^5 \quad (3)$$

ρ = density ของของเหลว (กิโลกรัม/ลูกบาศก์เมตร)

D = เส้นผ่าศูนย์กลางของใบพัด (เมตร)

Power input หรือ พลังงานที่ใช้สำหรับการกวนสารต่อหน่วยน้ำหนัก
(energy dissipation rate per unit mass, \mathcal{E}_T)คำนวณได้จาก

$$\mathcal{E}_T = P/\rho V \quad (4)$$

V = ปริมาณของของเหลวในถังปฏิกรณ์ (ลูกบาศก์เมตร)

\mathcal{E}_T นี้จะเป็นปัจจัยหลักสำหรับการย่อส่วน (scale-down) และ การขยายส่วน (scale-up) ปฏิกรณ์ชีวภาพสำหรับการสลายแปง โดยการพยายามทำให้ \mathcal{E}_T ทั้ง ปฏิกรณ์ชีวภาพขนาดเล็ก (small-scale) และ ขนาดใหญ่ (large-scale) ใกล้เคียงกันมากที่สุด

ส่วนสภาวะการไหลของของเหลว (flow regime) ในปฏิกรณ์ชีวภาพ ศึกษาโดยการคำนวณค่า Reynolds number (Re) จาก

$$Re = \rho N D^2 / \mu \quad (5)$$

μ = fluid viscosity (Pa s)

เวลาที่ใช้ในการผสมสาร (mixing time, θ_m) เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญสำหรับการผสมสารใด ๆ เพื่อการเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) หรือเพื่อทำปฏิกิริยาทางเคมีก็ตาม สำหรับ Newtonian fluid ในสภาพ turbulent flow ($Re > 2 \times 10^4$) Ruszkowski (1994) และ Nienow (1998) ได้อธิบายความสัมพันธ์ระหว่าง mixing time กับ energy dissipation โดย

$$\theta_m = 5.9 T^{2/3} (\mathcal{E}_T)^{-1/3} (D/T)^{-1/3} \quad (6)$$

อย่างไรก็ตามจากการสำรวจเอกสารพบว่ายังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการศึกษา fluid dynamics ของการย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาลในถังกวน พบแต่เพียงว่าได้มีการใช้ถังกวนในการสลายแป้ง โดยมีการศึกษาปัจจัยอื่น ๆ เบื้องต้นเท่านั้น

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อรพิน ภูมิภมรและประเสริฐ อธิศวกุล (2535) การผลิตมอลโตเด็กซ์ทรินจากแป้งข้าวเจ้าและแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้เอนไซม์เทอร์มามิล ชนิดทนความร้อนที่เลือกได้จากผลการทดลองเบื้องต้น พบว่าสถานะที่ใช้ผลิตมอลโตเด็กซ์ทรินที่ได้จากการทดลองครั้งนี้คือ ใช้ความเข้มข้นเอนไซม์ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นแป้งร้อยละ 30 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 6.5 และอุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส และพบว่ามอลโตเด็กซ์ทรินที่ผลิตจากแป้งมันสำปะหลังมีค่า DE เท่ากับ 14 ใช้ระยะเวลาในการย่อยด้วยเอนไซม์นาน 50 นาที ซึ่งต่างกับการย่อยแป้งข้าวเจ้าใช้เวลา 65 นาที เมื่อนำมอลโตเด็กซ์ทรินผงที่ผลิตได้มาวิเคราะห์หา degree of polymerisation (DP) ด้วยเครื่อง HPLC วิธีการทำสารละลายมอลโตเด็กซ์ทรินให้เป็นผงแห้งพบว่าการใช้เครื่องทำแห้งแบบฉีดพ่นฝอย (spray dryer) จะให้ผลมอลโตเด็กซ์ทรินที่มีความชื้นต่ำกว่าใช้เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum dryer) และมอลโตเด็กซ์ทรินผงที่ผลิตได้จากแป้งมันสำปะหลังจะมีการละลายในน้ำเย็นได้ดีกว่าแป้งข้าวเจ้า

ศุคนธ์ชื่น ศรีงาม (2537). ทำการทดลองเปรียบเทียบการย่อยแป้งของแป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวโพดและแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสชนิดทนความร้อนที่สภาวะความเข้มข้นของแป้ง 35 เปอร์เซ็นต์ เอนไซม์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.5 และอุณหภูมิในการย่อย 75, 80, 85, 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 180 นาที พบว่าที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส แป้งมันสำปะหลังให้สตาร์ชเหลวสูงสุดและมีค่า DE 44.15 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือแป้งข้าวเจ้า 44.0 เปอร์เซ็นต์

กล้าณรงค์ ศรีรอด, เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญและมณฑิยา นิติวรรัตน์ (2540). ได้ทำการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ทางการค้าในการย่อยสลายแป้งครั้งแรกได้แก่ Tcnase, Klacitase, Amano, Termamyl, Biozyme และ Mycolase ในแป้งมันสำปะหลังสูงสุดความเข้มข้น 0.35 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเอนไซม์ที่มีกิจกรรมดีที่สุดคือ Termamyl ที่ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ คือ ความเป็นกรด-ด่าง 6.0 และอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสและการย่อยสลายแป้งครั้งสุดท้ายได้แก่ AMG และ Spezyme พบว่าเอนไซม์ที่มีกิจกรรมดีที่สุดคือ AMG สภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์ทุกชนิดคือ ความเป็นกรด-ด่าง 4.5 และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นขยายการทดลองในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 10 ลิตร อัตราการกวน 140 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์

แต่ละตัวดังกล่าวข้างต้น โดยในการย่อยครั้งแรก ใช้เวลา 4 ชั่วโมง แล้วหยุดปฏิกิริยาโดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็น 3 เป็นเวลา 10 นาที แล้วปรับเป็น 4.5 เพื่อทำการย่อยครั้งสุดท้ายต่อไปเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ได้ค่า DE เท่ากับ 96

เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์, กล้านรงค์ ศรีรอต, เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, สุวิทย์ เตีย, สุทธิพันธ์ แก้วสมพงษ์ และมณฑิธร นิติวรรตน์. (2546) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากมันเส้น พบว่า สภาพที่เหมาะสมในการย่อยสลายแป้งครั้งแรก โดยใช้มันเส้นความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของเอนไซม์เทอร์มามีล 0.1 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมคือ 5.5-6.0 อุณหภูมิ 90-95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ได้ค่า DE 18-20 สภาพที่เหมาะสมในการย่อยสลายแป้งครั้งสุดท้าย โดยใช้กลูโคอะไมเลส ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมคือ 4.0-4.5 อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง ได้ค่า DE 85

Carr et al. (1982) ทำการศึกษาการย่อยแป้งความเข้มข้น 40-70 เปอร์เซ็นต์ ในครั้งแรก โดยใช้แอลฟาอะไมเลส ความเข้มข้น 0.1-0.4 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิช่วง 70-100 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด-ด่าง 5.8-7.1 เป็นที่เวลา 6 และ 12 นาที วิเคราะห์ค่าความหนืด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และวัดปริมาณกลูโคสที่เกิดขึ้นพบว่าสภาวะที่ดีที่สุดของการย่อยแป้งครั้งแรก ที่ความเข้มข้นของแป้ง 50-60 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส และใช้ความเข้มข้นของแอลฟาอะไมเลส 0.4 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 นาที หลังจากนั้นทำย่อยครั้งสุดท้ายด้วยกลูโคอะไมเลสความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะย่อยสลายแป้งให้เป็นกลูโคสทั้งหมดเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง และเวลา 6 นาที ตามทฤษฎีจะได้กลูโคส 86 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบกับการทดลองในห้องปฏิบัติการแบบกะ (batch) ในครั้งแรก ที่ 95 องศาเซลเซียส แล้วใช้ α -amylase ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที จะได้ 90 เปอร์เซ็นต์

Kim and Hamdy (1984) ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้กรดในการย่อยแป้งในการเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล โดยมันเทศดิบ 2 ชนิด คือ Georgia Red และ TG 4 ที่มีองค์ประกอบของน้ำหนัสดิบเป็น 21.1 ± 0.66 เปอร์เซ็นต์ และ 27.5 ± 1.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่ในการหมักเอทานอลนั้น โดยการใช้กรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์มอล ใช้ย่อย sweet potato slurry (SPS) ความเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ เป็น 97 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที (ถ้าใช้อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที) จะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดคือ DE 84.4 ซึ่งจะสามารถผลิตเอทานอลได้สูงสุด คือ 3.8 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) โดยใช้ wort ปริมาตร 1,400 มิลลิลิตร ใช้หัวมันเทศสด 400 กรัม (Georgia Red) จะได้ปริมาณเอทานอลเป็น 41.6 กรัม

Nehete et al. (1992) ทำการศึกษาวิธีการผลิตน้ำตาลมอลโตสที่มีความบริสุทธิ์สูงโดยใช้แบบจำลองอย่างง่าย ๆ และรวดเร็ว ในการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้นได้ 35 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการย่อยครั้งแรกใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและอุณหภูมิ 78 ± 2 องศาเซลเซียส ได้น้ำตาลรีดิซ ปริมาตร 3-5 เปอร์เซ็นต์ และการทำการย่อยครั้งสุดท้ายนั้นจะใช้เอนไซม์เบต้าอะไมเลสและ พูลูลูตานส ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-30 ชั่วโมง ได้น้ำตาลมอลโตสประมาณ 85 ± 3 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในการเก็บเกี่ยวผลผลิตของการย่อยครั้งสุดท้ายมีการกำจัดสี (decolourization) โดยใช้ถ่านไม้ de-dextrinisation โดยการทำให้ตกตะกอน deionisation โดยวิธี Ion exchangers และกำจัดน้ำโดยการอบแห้งแบบสูญญากาศ ซึ่งจะได้น้ำตาลมอลโตสในรูปผลึกสีขาวซึ่งในทางการค้านั้นถือว่าเป็นน้ำตาลมอลโตสที่มีความบริสุทธิ์สูง วิธีนี้เก็บเกี่ยวผลผลิตของน้ำตาลมอลโตสได้อย่างต่ำ 60 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ซึ่งจะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมยาซึ่งวิธีนี้ถือว่าเป็นวิธีที่ประหยัด และง่ายต่อการสลายแป้งและสามารถกำจัด สิ่งปนเปื้อนต่าง ๆ ได้ดี และให้ปริมาณน้ำตาลมอลโตสที่สูงกว่า ซึ่งมอลโตสที่ได้จะเป็น limit maltodextrins และซึ่งถือว่าเป็นผลพลอยได้ (by product) ที่สำคัญ

Sims and Munir (1992) ได้พัฒนาการย่อยแป้งข้าวโพดในปฏิกรณ์ชีวภาพแบบเยื่อ (membrane reactor) โดยใช้เอนไซม์ ทำการศึกษาจลนศาสตร์การย่อยด้วยเอนไซม์อย่างต่อเนื่อง พบว่า สามารถย่อยแป้งข้าวโพดได้มากกว่า 200 กรัม/ลิตร ในเวลา 1 ชม. ใช้ปริมาณเอนไซม์ 1 กรัม/ลิตร ซึ่งจะมีค่า V_{max} เป็น 3.86 กรัมกลูโคส/ลิตร.นาที่ และค่า K_m เป็น 562 กรัม/ลิตร ซึ่งค่า K_m ในการย่อยสลายแบบต่อเนื่อง 2-7 ครั้งจะมีค่ามากกว่าการหมักแบบกะ ซึ่งข้อมูลทางจลศาสตร์นี้จะได้ผลเท่ากับแบบทดลองพื้นฐานของ Michaelis – Menten และสมการหมักแบบต่อเนื่อง (CSTR) การประยุกต์ใช้แบบจำลองนี้จะใช้เวลา 6 นาที หรือน้อยกว่าซึ่งถือว่าประสบความสำเร็จ

Rani et al. (1994) ทำการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตเบต้าอะไมเลส จากเชื้อ *Bacillus megaterium* เพื่อใช้ในการย่อยแป้งครั้งสุดท้ายพบว่า สภาวะที่เหมาะสม คือ ความเป็นกรด-ด่าง 6.9 และใช้อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที

Yoshiyuki et al. (1994) ทำการศึกษาเชื้อ *Bacillus licheniformis* ที่ได้จากการคัดแยกจากดิน ที่ผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ที่มีความสามารถทนทานต่อกรด และอุณหภูมิสูง ๆ ได้ พบว่า สภาวะที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้คือ ค่า ความเป็นกรด-ด่าง 4.5-5.3 ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ซึ่งถ้ามีการเติม Ca^{++} จะสามารถทนอุณหภูมิสูงเป็น 100 องศาเซลเซียส แต่ใช้ starch slurry (ความเป็นกรด-ด่าง 4.5) ผสมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จะได้ primary liquefaction ออกมา และมีเมื่อนำมาบ่มต่อไป 5-6 ชม. ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส จะเป็นการส่งเสริมการเกิด dextrinization

Pontoh and Nicholas (1995) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงแป้งปาล์ม 6 ตัวอย่าง และแป้งมันสำปะหลัง 1 ตัวอย่าง ไปเป็นน้ำเชื่อมกลูโคส โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างแป้งข้าวโพด โดยการย่อยครั้งแรกด้วยเอนไซม์แอลฟาจาก *B. stearothermophilus* และทำการย่อยครั้งสุดท้ายที่ใช้เอนไซม์ กลูโคอะไมเลส จาก *A. niger* พบว่า ในการย่อยครั้งแรกสำหรับแป้ง *Metroxylon* จะใช้เวลานานกว่าตัวอย่างแป้งชนิดอื่น ความหนืดในการย่อยครั้งแรกของแป้งปาล์มและแป้งมันสำปะหลังมีความผันแปรตามค่า DE และผลจาก HPLC พบว่าการเปลี่ยนแปลงของแป้งเป็นกลูโคสสำหรับตัวอย่างแป้งปาล์ม 5 ตัวอย่างและแป้งมันสำปะหลังจะมีค่าใกล้เคียงกับแป้งข้าวโพด ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของแป้งไปเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ ในแป้งปาล์มและแป้งมันสำปะหลัง จะสูงกว่าแป้งข้าวโพด สรุปได้ว่าแป้งปาล์มและแป้งมันสำปะหลัง ยกเว้นแป้งจาก *A. pinnata* สามารถนำมาใช้ในการผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสได้

Arbakariya et al. (1997) ศึกษาผลของการกวนผสมที่มีต่อการย่อยแป้งสาकुด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในกระบวนการย่อยครั้งแรก โดยใช้ถังกวน พบว่าเวลาการกวนจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแป้งสาकु และเมื่อเพิ่มความเร็วในการกวน เวลาที่ใช้จะลดลงทั้ง 2 ขนาดของใบพัดที่ใช้ แต่ความแตกต่างจะน้อยมากเมื่อความเร็วการกวนสูงกว่า 400 รอบ/นาที และที่อัตราเร็วของการกวนผสมเดียวกัน เวลาการกวนจะลดลงเมื่อเส้นผ่าศูนย์กลางใบพัดมีขนาดใหญ่ขึ้น ตัวอย่างเช่น ที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที เวลาการผสมของใบพัดที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 48 มิลลิเมตร และ 64 มิลลิเมตร จะเป็น 672 วินาที และ 200 วินาที ซึ่งหมายความว่าใบพัดที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 64 มิลลิเมตร จะลดเวลาการผสมได้ 3.36 เท่าเมื่อเทียบกับ ใบพัด 48 มิลลิเมตร อัตราส่วนของเส้นผ่าศูนย์กลางใบพัดต่อเส้นผ่าศูนย์กลางถัง (D/T) ที่มีค่าต่ำกว่า 0.69

Textor et al. (1998) ศึกษาการสลายแป้งสาकुโดยใช้เอนไซม์ที่มีอุณหภูมิต่ำ โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจาก 3 แหล่ง คือ จากพวกแบคทีเรีย (*Bacillus* sp.) จากรา (*Aspergillus oryzae*) และจากพืช (barley) พบว่าเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจาก barley นั้นเป็นเอนไซม์ที่มีคุณภาพมากที่สุดจากการย่อยสลายที่ความเป็นกรด-ด่าง 4.5 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยใช้แป้งที่มีปริมาณ 30 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และใช้ปริมาณเอนไซม์ 8 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งที่สภาวะนี้จะย่อยแป้งได้ 98 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 3 ชม. ซึ่งกระบวนการในตอนแรกจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว

Jeanjean et al. (2000) ศึกษาการสลายแป้งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้น 50-270 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ในปฏิบัติการชีวภาพแบบถังกวนขนาด 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยใช้เอนไซม์ Termamyl 120 L ความเข้มข้น 0.17-1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด-ด่าง 5.7 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่าเอนไซม์ชนิดนี้สามารถย่อยแป้งมันสำปะหลัง ได้ดีที่ซึ่งเหมาะสำหรับการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการย่อยแป้งเป็นอย่างยิ่ง

Chamsartra. (2004) ศึกษาเปรียบเทียบพลังงานที่ใช้ขับใบพัดแบบดั้งเดิม 2 ชนิด (Pitched-blade และแบบ Bar) กับใบพัดประสิทธิภาพสูง (Ekato Intermig) โดยการติดตั้งใบพัดทั้งสามชนิดแบบใบเดี่ยว สองใบ และสามใบ สำหรับกวนของเหลวในถังปฏิกรณ์ในสภาวะปั่นป่วน ซึ่งจะ การศึกษา ลักษณะพลังงานจาก Power number (P_o) และพลังงานที่ใส่ลงไปในระบบต่อมวลของของเหลว (Power input, E_p) พบว่า P_o ที่ $Re > 20,000$ และ E_p ที่อัตราเร็วเดียวกันของใบพัด Pitched-blade และ Bar มีค่าสูงกว่าค่า P_o และ E_p ของใบพัด Ekato Intermig ประมาณ 5 เท่า ซึ่งจากการทดลองนี้สรุปได้ว่า ใบพัด Ekato Intermig ทำงาน ได้ผลดีเมื่อเทียบกับใบพัดแบบดั้งเดิม แต่ใช้พลังงานน้อยกว่าประมาณ 5 เท่า

จากงานวิจัยที่กล่าวขึ้นตอนการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์อะไมเลส และกรด สามารถสรุป เป็น ได้ดังตารางที่ 2-3 และ 2-4

ตารางที่ 2-3 การย่อยแป้งด้วยเอนไซม์อะไมเลสที่สภาวะต่าง ๆ

ที่มา	ชนิดวัตถุดิบ	ความเข้มข้น เอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเป็น กรด-ด่าง	เวลา (นาที)
Carr et al. (1982)	แป้งข้าวโพด	0.4	95	4	6
Nehete et al. (1992)	แป้งมัน สำปะหลัง				
Sims et al. (1992)	แป้งข้าวโพด	0.1			60
Rani et al. (1994)	แป้ง	-	60	6.9	30
Yoshiyuki et al. (1994)	แป้ง	-	105	4.5	5
Textor et al. (1998)	แป้งสาลี	8	45	4.5	90
Marchal et al. (1999)	มันฝรั่ง	2	90	6	-
Jeanjean et al. (2000)	แป้งมัน สำปะหลัง	0.17-1	80	5.7	60