

ผลของสภาวะการบ่มและวิธีการแยกน้ำต่อการเกิดแป้งทนต่อการย่อย
ของแป้งข้าว

นางสาวสุรีย์พร บุญนา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2552

**EFFECT OF AGING CONDITIONS AND
DEHYDRATION METHODS ON RESISTANT STARCH
FORMATION OF RICE STARCH**

Sureeporn Boonna

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the

Degree of Master of Science in Food Technology

Suranaree University of Technology

Academic Year 2009

ผลของสภาวะการบ่มและวิธีการแยกน้ำต่อการเกิดแป้งทนต่อการย่อยของแป้งข้าว

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ผศ. ดร.ปิยะวรรณ กาสลัก)

ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร.สุนันทา ทองทา)

กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(ดร. เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ)

กรรมการ

(ผศ. ดร.ยุพาพร รักสกุลพิวัฒน์)

กรรมการ

(ศ. ดร.ชูกิจ ลิมปิจำนงค์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

(ผศ. ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)

คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ศุรีย์พร บุญนา : ผลของสภาวะการบ่มและวิธีการแยกน้ำต่อการเกิดแป้งทนต่อการย่อยของแป้งข้าว (EFFECT OF AGING CONDITIONS AND DEHYDRATION METHODS ON RESISTANT STARCH FORMATION OF RICE STARCH) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุนันทา ทองทา, 101 หน้า.

การศึกษาผลของสภาวะการบ่มต่อการเกิดแป้งทนต่อการย่อยต่อเอนไซม์ (resistant starch, RS) โดยใช้แป้งสสารข้าวตัดกึ่งซึ่งมีปริมาณ RS 15.90% พบว่าการเพิ่มปริมาณของแข็งของแป้งสสารข้าวตัดกึ่งจาก 15 เป็น 30% ไม่มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS ทั้งที่อุณหภูมิการบ่ม 4 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีปริมาณ RS เกิดขึ้น 27-29% การเพิ่มระยะเวลาการบ่มจาก 24 เป็น 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิการบ่ม 25 องศาเซลเซียส มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS จาก 27-28% เป็น 29-30% แต่ไม่มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS สำหรับการบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สำหรับผลของการบ่มแบบอุณหภูมิเดียวที่ 4, 25, 50, 80 และ 100 องศาเซลเซียส ต่อการเกิด RS ได้ใช้แป้งสสารข้าวตัดกึ่ง 15% ของแข็ง และระยะเวลาการบ่ม 24 ชั่วโมงในการศึกษา ซึ่งพบว่าอุณหภูมิการบ่มมีผลต่อปริมาณ RS โดยการบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงสุด 33% แต่การบ่มที่อุณหภูมิ 4, 25, 80 และ 100 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS เกิดขึ้นไม่แตกต่างกันในช่วง 27-28% และเมื่อตรวจสอบลักษณะโครงสร้างผลึกโดยวิธีเอกซ์-เรย์ดิฟแฟรกชัน พบว่าตัวอย่างหลังบ่มที่อุณหภูมิ 4, 25, 50 และ 80 องศาเซลเซียส มีลักษณะผลึกไม่เปลี่ยนแปลงจากแป้งสสารข้าวตัดกึ่ง คือ ชนิด B+V ซึ่งการบ่มที่อุณหภูมิ 25, 50 และ 80 องศาเซลเซียส มีปริมาณผลึก 19-21% แต่สำหรับการบ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส พบลักษณะผลึกชนิด C+V และมีปริมาณผลึกเพียง 17% การเพิ่มอุณหภูมิการบ่มจาก 4 เป็น 100 องศาเซลเซียส ส่งผลให้เกิดผลึกที่มีความสมบูรณ์มากขึ้น โดยมีช่วงอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสสูงขึ้นจาก 86-107 องศาเซลเซียส เป็น 110-125 องศาเซลเซียส

การศึกษากการบ่มแป้งสสารข้าวตัดกึ่งในสภาวะอุณหภูมิการบ่มแบบวนรอบเพื่อเพิ่มปริมาณ RS ใช้เวลาทั้งหมด 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิการเกิดนิวเคลียส 30 หรือ 60 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิการเติบโตผลึก 80 องศาเซลเซียส พบว่าการบ่มโดยใช้จำนวนรอบ 3 รอบ และใช้ระยะเวลาการเติบโตผลึกนานกว่าระยะเวลาการเกิดนิวเคลียสมีปริมาณ RS เกิดขึ้น 32% และมีปริมาณผลึก 26% ขณะที่การบ่มแบบวนรอบ 3.5 รอบและใช้ระยะเวลาการเติบโตผลึกสั้นกว่ามีปริมาณ RS เกิดขึ้น 37% แต่มีปริมาณผลึกไม่แตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามลักษณะโครงสร้างผลึกที่ตรวจพบจากการบ่มทั้ง 2 แบบเป็นผลึกชนิด B+V เหมือนกัน การบ่มแบบวนรอบโดยใช้อุณหภูมิการเกิดนิวเคลียส 30 หรือ 60 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิการเติบโตผลึกเดียวกัน ให้ปริมาณ RS ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิการเติบโตผลึกจาก 80 เป็น 120 องศาเซลเซียส ในการบ่ม 3.5 รอบ มีผลต่อการลดการ

สร้าง RS นอกจากนี้ยังมีผลในการเปลี่ยนแปลงลักษณะ โครงสร้างผลึกชนิด B+V เป็น A+V ซึ่งให้ ช่วงอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสสูงขึ้นด้วย

การศึกษาสภาวะต่าง ๆ ของวิธีการดัดน้ำออกต่อปริมาณแป้งย่อยเร็ว (rapidly digestible starch, RDS) แป้งย่อยช้า (slowly digestible starch, SDS) และ RS ได้แก่ การทำแห้งแบบลูกกลิ้ง ซึ่งใช้ปริมาณของแข็ง 10 และ 24% และอุณหภูมิลูกกลิ้ง 120 และ 140 องศาเซลเซียส การทำแห้งโดยวิธี เอกซ์ทรูชัน ซึ่งใช้ปริมาณของแข็ง 10 และ 24% ความเร็วรอบสกรู 150 และ 300 รอบต่อนาที และ อุณหภูมิบาร์โชนสุดท้าย 120 และ 150 องศาเซลเซียส การทำแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งใช้อุณหภูมิกษาเข้า 150 และ 170 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิขาออก 90 และ 110 องศาเซลเซียส และการทำแห้งโดยใช้ ตู้อบลมร้อน ซึ่งใช้อุณหภูมิ 50 และ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 8 และ 10 ชั่วโมง พบว่าการดัดน้ำ ออกทุกสภาวะการทดลองมีผลให้ตัวอย่างมีปริมาณ RS ลดลงและมีปริมาณ RDS และ SDS เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านกระบวนการ สำหรับผลของวิธีการดัดน้ำออกต่อปริมาณแป้ง สตาร์ชประเภทต่าง ๆ พบว่า การดัดน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยให้ปริมาณ RS สูงสุดที่ ระดับ 43% ขณะที่การดัดน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบแฟลช การใช้ตู้อบลมร้อน การทำแห้งแบบ ลูกกลิ้ง และวิธีเอกซ์ทรูชัน มีปริมาณ RS เท่ากับ 40%, 38%, 36% และ 35% ตามลำดับ มีปริมาณ SDS ในช่วง 18-21% ลักษณะโครงสร้างผลึกของตัวอย่างหลังการดัดน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง เป็นชนิด A+V และมีปริมาณผลึกต่ำสุดที่ 19% แต่มีช่วงอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสสูงสุดภายใต้ช่วง 116-123 องศาเซลเซียส ขณะที่การดัดน้ำออกโดยวิธีการอื่น ๆ แสดงลักษณะ โครงสร้างผลึกชนิด B+V ตัวอย่างที่ผ่านการดัดน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยและตู้อบลมร้อนมีช่วงอุณหภูมิการเปลี่ยน เฟสภายใต้ช่วง 82-110 องศาเซลเซียส และ 83-107 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

ปีการศึกษา 2552

ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

SUREEPORN BOONNA : EFFECT OF AGING CONDITIONS AND
DEHYDRATION METHODS ON RESISTANT STARCH FORMATION OF
RICE STARCH. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. SUNANTA TONGTA,
Ph.D., 101 PP.

RESISTANT STARCH/ RICE STARCH/AGING/ TIME-TEMPERATURE
CYCLING/ DEHYDRATION

The effects of aging conditions on resistant starch (RS) formation were investigated. Debranched rice starch (DBRS) with 15.90% RS was used as a starting material. An increase in the solid content of DBRS from 15 to 30% did not affect the RS content when aged at 4 and 25°C for 24 h. The RS content was obtained in the range of 27-29%. An increase in aging time from 24 to 72 h at 25°C elevated the RS content from 27-28 % to 29-30% but it did not with the aging at 4°C.

For the isothermal aging at 4, 25, 50, 80 and 100°C for 24 h, the DBRS with 15% solid content was used in the study. The aging temperature had an influence on the RS formation. Aging at 50°C showed the highest RS content of 33%, while aging at the other temperatures exhibited a similar RS content in the range of 27-28%. The crystalline structural property of retrograded, debranched rice starch (RDBRS) was monitored using an X-ray diffraction method. The RDBRS aged at 4, 25, 50 and 80°C did not change the crystalline pattern of DBRS which was a B+V type. Aging at 25, 50 and 80°C showed a relative crystallinity of 19-21%. The C+V type and 17% relative crystallinity were observed when aging at 100°C. Increasing aging temperature from 4 to 100°C resulted in the perfect crystalline formation as the shift of melting temperature from 86-107°C to 110-125°C was illustrated.

The aging of DBRS with time-temperature cycling (TTC) for the total time of 48 h was studied in order to improve the RS content. At the nucleation temperature of 30 or 60°C and the propagating temperature of 80°C, TTC aging of 3 cycles with a longer propagation time than nucleation time produced the 32% RS and the 26% relative crystallinity, while that of 3.5 cycles with a shorter propagation time induced the RS content of 37% but the relative crystallinity was not different. However, the crystalline pattern of RS from both TTC aging patterns showed a B+V type. Aging with the nucleation temperature of 30 or 60°C at the same propagation temperature did not show any difference on the RS content. Increasing the propagation temperature from 80 to 120°C showed a reduction of RS content. In addition, the crystalline pattern was transformed from the B+V type to the A+V type which also demonstrated the higher melting temperature.

The effects of dehydration conditions, which were a 10 and 24% solid and a drum temperature of 120 and 140°C for drum drying, the 10 and 24% solid, a screw speed of 150 and 300 rpm and a barrel temperature of 120 and 150°C for extrusion, an inlet temperature of 150 and 170°C and an outlet temperature of 90 and 110°C for spray drying, and a 50°C for 10 h and a 80°C for 8 h for hot air oven, on rapidly digestible starch (RDS), slowly digestible starch (SDS) and RS of RDBRS were investigated. The lower RS content and the higher RDS and SDS content were observed in all dehydration conditions as compared to the control without dehydration. The dehydration methods affected the starch fractions. The spray drying method showed the highest RS of 43% and the melting temperature of 82-110°C while the dehydration using flash drying, hot air oven, drum drying and extrusion exhibited the RS content of 40%, 38%, 36% and 35%, respectively, and the SDS content of 8-21%.

The drum drying method demonstrated an A+V crystalline pattern with the minimum of 16% relative crystallinity and the maximum melting temperature of 116-123°C, while that of the other dehydration methods illustrated a B+V type. The RDBRS with spray drying and hot air oven showed the melting temperature range of 82-110°C and 83-107°C respectively.

School of Food Technology

Academic Year 2009

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้เงินทุนสนับสนุนในการศึกษาและเครื่องมืออุปกรณ์ในการวิจัย ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. สุนันทา ทองทา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้โอกาสทางการศึกษา ให้ความรู้ ความเอาใจใส่ ให้คำปรึกษาและคำแนะนำในด้านการศึกษาวิจัยและด้านอื่น ๆ ด้วยดียิ่งตลอดมา ตลอดจนเสียสละเวลาในการตรวจแก้ไขงานและให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน รวมถึงให้คำแนะนำในการเขียนและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณ ดร. เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ ที่กรุณาเสียสละเวลาให้ความรู้และคำแนะนำต่าง ๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ และขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวชื่อมา ณ ที่นี้ ที่ให้ความรู้ในด้านวิชาการตลอดระยะเวลาที่ศึกษา

ขอขอบพระคุณ คุณวันชัย จอกกระโทก และเจ้าหน้าที่อาคารศูนย์เครื่องมือ 1, 2 และ 3 ทุกท่าน ที่ช่วยอำนวยความสะดวกด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ในงานวิจัย ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ฝ่ายธุรการ สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ที่คอยอำนวยความสะดวกในด้านเอกสารการเรียนต่าง ๆ ขอขอบคุณ พี่ และน้อง ๆ บัณฑิตศึกษาทุกคน ที่คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้กันด้วยดี ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา

ท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และทุกคนในครอบครัวที่ให้การเลี้ยงดู อบรม สั่งสอนด้วยความรัก ความเอาใจใส่ และส่งเสริมการศึกษาเป็นอย่างดี จนทำให้ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในชีวิตตลอดมา

สุรียพร บุญนา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ).....	ค
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฏ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	4
1.3 สมมุติฐานของการวิจัย.....	4
1.4 ขอบเขตของการวิจัย.....	4
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
1.6 รายการอ้างอิง.....	5
2 ปรัชญาวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	8
2.1 โครงสร้างและองค์ประกอบภายในของเม็ดสตาร์ช.....	8
2.2 ประเภทของแป้งสตาร์ช.....	12
2.2.1 แป้งย่อยเร็ว (Rapidly digestible starch; RDS).....	12
2.2.2 แป้งย่อยช้า (Slowly digestible starch; SDS).....	13
2.2.3 แป้งทนย่อยต่อเอนไซม์ (Resistant starch; RS).....	14
2.3 ประโยชน์ของ resistant starch.....	15
2.4 การเกิด resistant starch type III (RS ₃).....	16
2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิด RS ₃	18

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6	การดึงน้ำออก.....	22
2.6.1	ชนิดของการทำแห้ง.....	22
2.7	รายการอ้างอิง.....	25
3	ผลของสภาวะการบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งต่อการสร้างแป้งสตาร์ชข้าวทนย่อย	
	ต่อเอนไซม์.....	30
3.1	บทคัดย่อ.....	30
3.2	บทนำ.....	31
3.3	อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	34
3.3.1	การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์พุลลูแลนสทางการค้า (Promozyme D2).....	34
3.3.2	การเตรียมแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง (debranched rice starch, DBRS).....	35
3.3.3	การศึกษาผลของปริมาณของแป้งและระยะเวลาในการบ่มต่อการสร้าง RS โดยใช้วิธีการกรองและวิธีการทำแห้งแบบสุญญากาศในการปรับปริมาณของแป้ง.....	35
3.3.4	การศึกษาผลของปริมาณของแป้งและระยะเวลาในการบ่มต่อการสร้าง RS โดยใช้วิธีการระเหิดแห้งในการปรับปริมาณของแป้ง.....	36
3.3.5	การศึกษาผลของการบ่มแบบอุณหภูมิเดียว (isothermal aging) ต่อการสร้าง RS.....	37
3.3.6	การศึกษาผลของการบ่มแบบวนรอบ (time-temperature cycling) ต่อการสร้าง RS.....	37
3.3.7	การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ.....	39
3.3.8	การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	41
3.4	ผลการทดลองและวิจารณ์.....	42
3.4.1	คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง.....	42
3.4.2	ผลของปริมาณของแป้งและระยะเวลาการบ่มต่อการสร้าง RS.....	44
3.4.3	ผลของการบ่มแบบอุณหภูมิเดียว (isothermal aging) ต่อการสร้าง RS.....	46

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.4	ผลของการบ่มแบบวนรอบ (time-temperature cycling) ต่อการสร้าง RS.....	51
3.5	สรุปผลการทดลอง.....	63
3.6	รายการอ้างอิง.....	64
4	ผลของวิธีการดึ่งน้ำออกต่อปริมาณแป้งย่อยช้าและแป้งทนย่อยต่อเอนไซม์.....	68
4.1	บทคัดย่อ.....	68
4.2	บทนำ.....	69
4.3	อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	72
4.3.1	การเตรียมแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการบ่มแบบอุณหภูมิวนรอบ.....	72
4.3.2	การดึ่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum drying).....	72
4.3.3	การดึ่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying).....	73
4.3.4	การดึ่งน้ำออกโดยวิธีการเอกซ์ทรูชัน (extrusion).....	74
4.3.5	การดึ่งน้ำออกโดยใช้ตู้อบลมร้อน (hot air oven).....	74
4.3.6	การดึ่งน้ำออกโดยวิธีการแบบแฟลช (flash drying).....	75
4.3.7	การตรวจสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ของ RDBRS หลังผ่านการดึ่งน้ำออก โดยวิธีการต่าง ๆ.....	75
4.3.8	การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	77
4.4	ผลการทดลองและวิจารณ์.....	77
4.4.1	ผลของสภาวะการดึ่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ ต่อปริมาณ starch fraction.....	77
4.4.2	การเปรียบเทียบผลของวิธีการดึ่งน้ำออกต่อปริมาณ starch fraction และคุณสมบัติต่าง ๆ.....	84
4.5	สรุปผลการทดลอง.....	90
4.6	รายการอ้างอิง.....	91
5	บทสรุป.....	94
	ภาคผนวก.....	96
	ประวัติผู้เขียน.....	101

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1	แผนการทดลองสำหรับการศึกษาผลของปริมาณของแข็งและระยะเวลาในการบ่มต่อการสร้าง RS เมื่อใช้วิธีการกรองและวิธีการทำแห้งแบบสุญญากาศในการปรับปริมาณของแข็ง.....36
3.2	แผนการทดลองศึกษาผลของอุณหภูมิการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2 ต่อการสร้าง RS.....39
3.3	ปริมาณ RS และสมบัติการหลอม (endothermic transition) ของแป้งสตาร์ชข้าวธรรมชาติ (native rice starch; NRS)และแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง (debranched rice starch; DBRS).....42
3.4	ผลของปริมาณของแข็งและระยะเวลาการบ่มต่อปริมาณ RS ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง เมื่อใช้วิธีการกรองและวิธีการทำแห้งแบบสุญญากาศในการปรับปริมาณของแข็ง.....45
3.5	ผลของปริมาณของแข็งและระยะเวลาการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ต่อปริมาณ RS ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง เมื่อใช้วิธีการระเหิดแห้งในการปรับปริมาณของแข็ง.....46
3.6	ปริมาณความเป็นผลึก (relative crystallinity) ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง 15% ของแข็ง เมื่อทำการบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....50
3.7	สมบัติการหลอม (endothermic transition) ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง 15% ของแข็ง เมื่อทำการบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....51
3.8	ปริมาณผลึก (relative crystallinity) ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง เมื่อผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 ที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....54
3.9	ปริมาณ RS ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง เมื่อผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2 ที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....56
3.10	สมบัติการหลอม (endothermic transition) ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง เมื่อผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2 ที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยใช้ระยะเวลา propagation 1.5 ชั่วโมง.....59

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
3.11	ปริมาณความเป็นผลึก (relative crystallinity) และรูปแบบผลึกของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง เมื่อผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2 ที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยใช้ระยะเวลา propagation 1.5 ชั่วโมง.....	61
3.12	ปริมาณ RS ปริมาณความเป็นผลึก (relative crystallinity) และลักษณะผลึกของ แป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งที่ผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 และ 2 ที่สภาวะ 30/80 และสภาวะ 60/80 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....	63
4.1	แผนการทดลองสภาวะการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง.....	73
4.2	แผนการทดลองสภาวะการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย.....	73
4.3	แผนการทดลองสภาวะการคั่งน้ำออกโดยวิธีเอกซ์ทูรชัน.....	74
4.4	แผนการทดลองศึกษาสภาวะการคั่งน้ำออกโดยใช้ตู้อบลมร้อน.....	75
4.5	ปริมาณความชื้นและ starch fraction จากการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง.....	79
4.6	ปริมาณความชื้นและ starch fraction จากการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย.....	80
4.7	อุณหภูมิของผลิตภัณฑ์และปริมาณ starch fraction จากการคั่งน้ำออกโดยวิธีเอกซ์ทูรชัน.....	82
4.8	ปริมาณ starch fraction จากการคั่งน้ำออกโดยใช้ตู้อบลมร้อน.....	84
4.9	ปริมาณ yield, และ starch fraction จากการคั่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ.....	85
4.10	ปริมาณ starch fraction จากการคั่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ เทียบกับตัวอย่าง control.....	86
4.11	ปริมาณ relative crystallinity และ crystal pattern จากการคั่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ.....	89
4.12	คุณสมบัติการหลอม (thermodynamic transition) จากการคั่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ เปรียบเทียบกับแป้งสตาร์ช RS ทางการค้า (Novelose 330).....	90

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1	โครงสร้างของอะมิโลสและอะมิโลเพกทิน.....8
2.2	ลักษณะโครงสร้างแบบกิ่งของอะมิโลเพกทิน.....9
2.3	ลักษณะโครงสร้างแบบกึ่งผลึก (semi-crystalline structure) ของเม็ดสตาร์ช.....10
2.4	ลักษณะโครงสร้างผลึกชนิด A และ B.....11
2.5	รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์เรย์ของแป้งสตาร์ชที่มีลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ A, B และ V_n12
2.6	ลักษณะโครงสร้างของ RS_1 (a); RS_2 (b); และ RS_3 (c).....15
2.7	การเกิดรีโทรเกรเดชันของอะมิโลส.....17
2.8	ลักษณะโครงสร้างของ RS_3 ในสารละลายอะมิโลส (a) แบบจำลอง Micelle: สายเกลียวคู่ถูกจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบในส่วนโครงสร้างที่เป็นผลึก(C) นอกเหนือจากบริเวณที่เป็นอสัณฐาน (b) แบบจำลอง Lamella: โครงสร้าง Lamella ถูกสร้างขึ้นจากการพับของสายโซ่ โดยพื้นที่ส่วนที่พับตัวเป็นส่วนอสัณฐาน (A) ขณะที่ส่วนกลางของ lamella คือ ส่วนที่เป็นผลึก (C).....17
2.9	อัตราการเกิด nucleation, propagation และอัตราการเกิดผลึกโดยรวม (overall crystallization rates) ซึ่งขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ในระบบที่มีความเป็นผลึกบางส่วน (semi-crystalline system).....18
3.1	XRD pattern ของแป้งสตาร์ชข้าวธรรมชาติ (native rice starch; NRS) และแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง (debranched rice starch; DBRS).....43
3.2	ปริมาณ RS ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง 15% ของแข็ง เมื่อทำการบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....47
3.3	XRD pattern ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง 15% ของแข็ง เมื่อทำการบ่มที่อุณหภูมิ 4, 25, 50, 80 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....49
3.4	ปริมาณ RS ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง เมื่อผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 ที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....53

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
3.5	XRD pattern ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง เมื่อผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 ที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....	54
3.6	ผลของอุณหภูมิ nucleation ต่อปริมาณ RS ที่ได้จากการบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง แบบวนรอบแบบที่ 2.....	57
3.7	ผลของอุณหภูมิ propagation ต่อปริมาณ RS ที่ได้จากการบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง แบบวนรอบแบบที่ 2 โดยใช้ระยะเวลา propagation 1.5 และ 3 ชั่วโมง.....	58
3.8	ผลของระยะเวลา propagation ต่อปริมาณ RS ที่ได้จากการบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง แบบวนรอบแบบที่ 2.....	58
3.9	XRD pattern ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง เมื่อบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2 ที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 8 ชั่วโมง โดยใช้ระยะเวลา propagation 1.5 ชั่วโมง.....	60
3.10	XRD pattern ของตัวอย่างแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 และแบบที่ 2 ที่สภาวะ 30/80 (A) และ ที่สภาวะ 60/80 (B) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....	62
4.1	ผลของสภาวะต่าง ๆ ของการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง คือ ปริมาณของแข็ง 10% และ 24%, อุณหภูมิลูกกลิ้ง 120 และ 140 องศาเซลเซียส ต่อปริมาณ RS เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (RDBRS ที่ไม่ผ่านกระบวนการ).....	78
4.2	ผลของสภาวะต่าง ๆ ของการทำแห้งแบบพ่นฝอย คือ อุณหภูมิขาเข้า 150 และ 170 องศาเซลเซียส (RDBRS ที่ไม่ผ่านกระบวนการ).....	80
4.3	ผลของสภาวะต่าง ๆ ของการเอกซ์ทรูชัน คือ ปริมาณของแข็ง 10% และ 24%, ความเร็วรอบสกรู 150 และ 300 รอบต่อนาที และอุณหภูมิใบเรล 120 และ 150 องศาเซลเซียส.....	82
4.4	ผลของสภาวะต่าง ๆ ของการใช้ตู้อบลมร้อน คือ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 10 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 8 ชั่วโมงเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (RDBRS ที่ไม่ผ่านกระบวนการ).....	83
4.5	XRD pattern ของแป้ง RDBRS หลังผ่านการดึ่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ เปรียบเทียบกับแป้งสตาร์ช RS ทางการค้า (Novelose 330).....	87

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

Å	=	Angstrom
AGU	=	Amyloglucosidase unit
ANOVA	=	Analysis of variance
°C	=	Degree celsius
CRD	=	Completely randomized design
Cu	=	Copper
db.	=	Dry basis
DBRS	=	Debranched rice starch
DMRT	=	Duncan's multiple range test
DP	=	Degree of polymerization
DSC	=	Differential scanning calorimetry
g	=	Gram
×g	=	Gravitational acceleration
GI	=	Glycemic index
hr	=	Hour
HACS	=	High amylase corn starch
HMT	=	Heat moisture treatment
ΔH	=	Enthalpy
Hz	=	Hertz
J	=	Joule
LPC	=	Lysophosphatidyl choline
n.d.	=	Not determined
NRS	=	Native rice starch
OHL	=	Hydroxylated lecithin
PUN	=	Pullulanase Unit Novo
RDBRS	=	Retrograded debranched rice starch
RDS	=	Rapidly digestible starch

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (ต่อ)

rpm	=	Revolution per minute
RS	=	Resistant starch
RS ₁	=	Resistant starch type I
RS ₂	=	Resistant starch type II
RS ₃	=	Resistant starch type III
RS ₄	=	Resistant starch type IV
SAS	=	Statistical analysis system
SCFA	=	Short chain free fatty acid
SDC	=	Slowly digestible carbohydrate
SDS	=	Slowly digestible starch
SSL	=	Sodium stearyl lactylate
2θ	=	Bragg's angle
T_c	=	Conclusion temperature
T_g	=	Glass transition temperature
T_m	=	Melting temperature
T_o	=	Onset temperature
T_p	=	Peak temperature
TTC	=	Time-temperature cycling
TG	=	Total glucose
w/v	=	Weight: volume
w/w	=	Weight: weight
XRD	=	X-ray diffraction

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้าวจัดได้ว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยและเป็นคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญชนิดหนึ่งของโลก จัดอยู่ในพืชตระกูลหญ้า (*Gramineae*) และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza sativa L.* ข้าวที่ปลูกในทวีปเอเชียแบ่งออกได้เป็นสามกลุ่ม คือ ข้าว *Indica* ซึ่งนิยมปลูกในเขตร้อน เช่น ไทย อินเดีย ฟิลิปปินส์ มีเมล็ดยาวเรียวยาว ข้าว *Japonica* โดยทั่วไปปลูกในเขตกึ่งร้อนหรืออบอุ่น เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี จีน เมล็ดข้าวมีลักษณะป้อมสั้น และข้าว *Javanica* นิยมปลูกในอินโดนีเซีย เมล็ดข้าวค่อนข้างอ้วนป้อม มีลักษณะผสมระหว่างพันธุ์ *Indica* และ *Japonica* ประเทศไทยได้ชื่อว่าเป็นแหล่งผลิตข้าวที่สำคัญของโลกมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันและใน 9 เดือนแรกของปี พ.ศ. 2552 ประเทศไทยมีการส่งออกข้าวมูลค่าสูงถึง 6.5 ล้านตัน (กรมส่งเสริมการส่งออก กระทรวงพาณิชย์, 2552) แต่เนื่องจากในปัจจุบันได้มีประเทศผู้ส่งออกข้าวรายใหม่เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ โดยเฉพาะเวียดนาม ประกอบกับบางประเทศที่นำเข้าข้าวจากไทย เช่น สหรัฐอเมริกา ได้มีการคิดค้นข้าวสายพันธุ์ใหม่ขึ้น เพื่อลดการนำเข้าข้าวจากไทย (กรมส่งเสริมการส่งออก กระทรวงพาณิชย์, 2552) ดังนั้นการเพิ่มปริมาณความต้องการใช้ข้าวในประเทศให้มากขึ้นตลอดจนการแปรรูปข้าวให้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่มีมูลค่าสูงขึ้น หรือการใช้ผลผลิตที่เป็นผลพลอยได้จากการสีข้าวหรือขัดข้าวให้เกิดประโยชน์สูงสุดจึงมีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งของประเทศไทยผลิตภัณฑ์จากข้าวที่เป็นที่รู้จักกันโดยทั่วไปมาแต่ดั้งเดิม คือ แป้งข้าว ที่มักทำมาจากข้าวเจ้าประเภท่วนแข็งหรือข้าวเหนียวที่มีลักษณะเป็นข้าวหักหรือปลายข้าว ซึ่งโดยส่วนใหญ่การผลิตแป้งข้าวในประเทศไทยจะใช้การโม่เปียก แต่ยังคงมีโปรตีนและสิ่งแปลกปลอมติดอยู่กับแป้ง จึงเรียกว่า แป้งประเภทฟลาวร์ (rice flour) แป้งฟลาวร์ข้าวถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมในอาหารและขนมประเภทขบเคี้ยวต่าง ๆ เช่น เส้นก๋วยเตี๋ยวประเภทต่าง ๆ ขนมจีนและขนมบกรอบ ขณะที่บางส่วนนำไปใช้ในอุตสาหกรรมเยื่อกระดาษและกระดาษ เพื่อเพิ่มความมันวาวและความเหนียวร่วมกับแป้งมันสำปะหลัง เป็นต้น (www.oie.go.th/Industrystatus2/rice.3.doc) นอกจากนี้ยังสามารถพัฒนาคุณสมบัติของแป้งข้าวให้เปลี่ยนไปได้อีกตามความเหมาะสมของการนำไปใช้ประโยชน์เพื่อให้เกิดความหลากหลายมากขึ้น โดยทำการดัดแปรแป้ง (modified starch) ซึ่งการดัดแปรแป้งจะต้องผลิตจากแป้งบริสุทธิ์ (starch) ซึ่งเป็นแป้งที่ผ่านการแยกเอาส่วนของโปรตีนและสิ่งแปลกปลอมออกจนมีความบริสุทธิ์ของแป้งสูงมาก ซึ่งในปัจจุบันประเทศไทยได้มีการผลิตแป้งสตา์รซ์ (chemical modification) การดัดแปรทางกายภาพ (physical

modification) และการตัดแปรทางเทคโนโลยีชีวภาพ (biotechnological modification) (BeMiller, 1997) ซึ่งในปัจจุบันการตัดแปรทั้ง 3 ประเภทกับแป้งข้าวนั้นได้มีการศึกษาวิจัยกันบ้างแล้วและได้มีการเผยแพร่ข้อมูลบางส่วนที่ได้ออกสู่อุตสาหกรรมเพื่อทำการผลิตและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากข้าวให้มีคุณภาพและความหลากหลายมากขึ้น ซึ่งจากการพัฒนาคุณสมบัติของแป้งข้าว ทำให้สามารถขยายขอบเขตการนำไปใช้ประโยชน์ให้มากยิ่งขึ้น โดยสามารถนำไปใช้ในทางเภสัชกรรม การผลิตยา นำไปใช้เพื่อเคลือบผิวผ้าให้เรียบจากเนื้อในของอุตสาหกรรมสิ่งทอ หรือแม้กระทั่งนำไปทำเป็นเครื่องสำอาง ประเภทแป้งผัดหน้าหรือแป้งฝุ่นทาตัว เป็นต้น (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2546)

แป้งสตาร์ชสามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ตามอัตราและระยะเวลาในการย่อย ได้แก่ แป้งสตาร์ชที่สามารถถูกย่อยได้อย่างรวดเร็ว (rapidly digestible starch, RDS) แป้งสตาร์ชที่สามารถถูกย่อยได้อย่างช้า ๆ (slowly digestible starch, SDS) และแป้งสตาร์ชที่ทนย่อยต่อเอนไซม์ (resistant starch, RS) (Englyst and Hudson, 1992) ซึ่งโครงสร้างหลักของ RDS เป็นส่วนอสัณฐาน (amorphous) ดังนั้นจึงถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้ง่าย การบริโภคอาหารประเภทแป้งที่มีสัดส่วนของ RDS ในปริมาณมากจึงส่งผลให้มีระดับน้ำตาลกลูโคสและระดับฮอร์โมนอินซูลินในกระแสเลือดสูง (Englyst, Englyst, Hudson, Cole, and Cummings, 1999) ขณะที่การบริโภคอาหารที่มีสัดส่วนของ SDS สูงจะส่งผลให้มีระดับน้ำตาลกลูโคสและระดับฮอร์โมนอินซูลินในกระแสเลือดปานกลาง (Zhang, Sofyan, and Harmaker, 2008) ซึ่งจะลดโอกาสเสี่ยงที่จะเป็นโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ เป็นต้น ส่วนแป้งสตาร์ชประเภท RS เป็นที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากสามารถทนต่อการย่อยของเอนไซม์ในลำไส้เล็ก จึงสามารถผ่านเข้าสู่ลำไส้ใหญ่และเกิดกระบวนการหมัก ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมันสายสั้นที่เป็นประโยชน์ทางสรีรวิทยา เช่น ปรับสภาวะตอนปลายของลำไส้ใหญ่ ซึ่งสามารถป้องกันการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ เป็นต้น (Shamai, Bianco-Peled, and Shimoni, 2003) นอกจากนี้ยังมีบทบาทในการลดคอเลสเตอรอลในเส้นเลือด เนื่องจากมีปริมาณแคลอรีต่ำ (Ranhotra, Gelroth, and Leinen, 1997) รวมถึงมีผลในการลดค่าดัชนีน้ำตาล (glycemic index) ของอาหารด้วย (Hoebler, Karinthe, Chiron, Champ, and Barry, 1999) ซึ่งจะช่วยป้องกันหรือลดภาวะโรคอ้วนได้ และเหมาะสมสำหรับผู้บริโภคที่เป็นโรคเบาหวาน แป้งสตาร์ช RS สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในอาหารได้หลากหลาย เช่น ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารแทนการใช้เส้นใยอาหารจากแหล่งอื่น ๆ และใช้เพิ่มปริมาณเส้นใยอาหาร (fiber fortified) ในผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นต่ำ ซึ่งจะใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารที่ปรุงสุกและผ่านการอบ เช่น เบเกอรี่ ผลิตภัณฑ์ธัญชาติสำเร็จรูป (RTE cereal) ขนมขบเคี้ยว อาหารเส้น (pasta/noodle) และอาหารทอด เป็นต้น นอกจากนี้ยังให้คุณสมบัติด้านเคมีกายภาพที่ต้องการ (Fausto, Kacchi, and Mehta, 1997) เพราะมีคุณสมบัติในการอุ้มน้ำ (water-holding capacity) ต่ำ ไม่ทำให้เนื้อสัมผัสของอาหารมีลักษณะหยาบเหมือนกรวดทรายและไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง

ด้านรสชาติและเนื้อสัมผัส

ปัจจุบันยังไม่มีการผลิต SDS ทางการค้า แต่มีการศึกษาพบว่า การตัดกิ่งและการบ่มที่สภาวะที่เหมาะสมสามารถสร้างผลิตภัณฑ์ที่มี SDS สูงได้ (Guraya, James, and Champagne, 2001; Shi, Cui, Birkett, and Anne, 2003; Shin et al., 2004; Hamaker and Han, 2004) สำหรับ RS มีการผลิตในเชิงการค้าแล้ว ได้แก่ Novelose (ของบริษัท National Starch & Chemical Co.) ซึ่งมีปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมด (total dietary fiber) 30% และ CrystaLean (ของบริษัท Opta Food Ingredients) ซึ่งเป็น retrograded maltodextrin ที่มีปริมาณ total dietary fiber 30% (กล้านรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2550) โดย RS ทางการค้าที่ผลิตได้นี้เป็น RS ชนิด 3 (RS_3) ซึ่งจะเกิดจากการรีโทรเกรดของโมเลกุลอะมิโลส (Eerlingen and Delcour, 1995; Brouns, Kettlitz, and Arrigoni, 2002) RS_3 มีความเสถียรต่อความร้อน (thermal stability) สูง จึงสามารถรักษาคุณค่าทางโภชนาการไว้ได้ในระหว่างกระบวนการหุงต้มปกติ (Shamai et al., 2003) โดยทั่วไปขั้นตอนการผลิต RS จะประกอบด้วย การทำให้แป้งสตาร์ชเกิดการเจลาติไนเซชันตามด้วยการปล่อยให้เกิดรีโทรเกรดชัน และทำการแยกแป้งสตาร์ชที่ได้โดยวิธีการทำแห้งแบบต่าง ๆ (Chiu, Henley, and Altieri, 1994; Shi, Cui, Birkett, and Thatcher, 2006) ซึ่งสภาวะการผลิตที่มีผลต่อการเกิดเจลาติไนเซชันและการเกิดรีโทรเกรดชันล้วนแต่มีอิทธิพลต่อการเกิด RS ในช่วงปี ค.ศ. 1994-2009 มีรายงานการเตรียมแป้งสตาร์ช RS จากการตัดแปรแป้งโดยการตัดกิ่งด้วยเอนไซม์พุลูลานเนส ซึ่งพบว่า การตัดกิ่งทำให้มีปริมาณ RS เพิ่มขึ้น (Chiu et al., 1994; Guraya et al., 2001; Lehmann, Jacobasch, and Schmiedl, 2002; Gonzalez-Soto, Agama-Acevedo, Solorza-Feria, Rendon-Villalobos, and Bello-Perez, 2004; Shin et al., 2004; Hamaker and Han, 2004; González-Soto, Mora-Escobedo, Hernández-Sánchez, Sánchez-Rivera, and Bello-Pérez (2006); Ozturk, Koksel, Kahraman, and Ng, 2009) เนื่องจากการตัดกิ่งแป้งสตาร์ชส่งผลให้เกิดโมเลกุลสายโซ่ที่เป็นเส้นตรงที่สนับสนุนให้เกิด RS ในปริมาณสูง (Berry, 1986) นอกจากนี้สภาวะการบ่ม ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิและระยะเวลาการบ่มก็มีผลต่อการเกิด RS เนื่องจากมีผลต่อการเกิดรีโทรเกรดชันของอะมิโลส ซึ่งมีรายงานการวิจัยกล่าวว่าปริมาณของแป้ง อุณหภูมิ และระยะเวลาการบ่มมีผลต่อการเกิด RS (Lehmann, Jacobasch, and Schmiedl, 2002; Schmiedel, König, and Jacobasch, 2003; Gonzalez-Soto et al., 2006; Miao, Jiang, and Zhang, 2009) สภาวะการบ่มแบบวนรอบ (time-temperature cycling) ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีการศึกษาเพื่อใช้ในการเพิ่มปริมาณ RS (Eerlingen, Jacobs, and Delcour, 1994; Silverio, Fredriksson, Anderson, Eliasson, and Aman, 2000; Leeman, Karlsson, Eliasson, and Bjorck, 2006; Onyango, Jacob, Henle, and Rohm, 2006) เนื่องจากเป็นสภาวะที่เร่งให้เกิดรีโทรเกรดชันรวมถึงมีการสร้างผลึกที่มีความแข็งแรงและมีความเสถียรมากขึ้น ซึ่งการเกิดผลึกนั้นจะเกิดขึ้นได้ที่อุณหภูมิระหว่าง glass transition temperature (T_g) และ melting temperature (T_m)

ของแป้งสตาร์ช (Eerlingen, Crombez, and Delcour, 1993) สำหรับวิธีการที่ใช้ในการแยกแป้งสตาร์ช RS ที่ได้หลังการผลิตก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีการศึกษากันบ้างแล้ว ซึ่งวิธีการที่ใช้ในการแยกน้ำ/การคั่งน้ำออก (dehydration) หรือการทำแห้ง (drying) ส่วนใหญ่ที่ศึกษาจะประกอบด้วย วิธีการทำแห้งแบบระเหิดแห้ง (freeze drying), วิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying), วิธีการทำแห้งแบบแฟลช (flash drying), วิธีการใช้อากาศแห้ง (air drying) และ วิธีการเอ็กซ์ทรูชัน (extrusion) เป็นต้น (Chiu et al., 1994; Shi et al., 2006; Koksel, Masatcioglu, Kahraman, Ozturk, and Basman 2008; Ozturk et al., 2009) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลเผยแพร่มากนักเกี่ยวกับผลของการคั่งน้ำออกต่อการเกิดแป้งสตาร์ชประเภทต่าง ๆ รวมถึงคุณสมบัติทางโครงสร้างและคุณสมบัติทางความร้อนของผลิตภัณฑ์แป้งสตาร์ชที่ได้ ซึ่งการศึกษาเพื่อทำความเข้าใจถึงผลของปัจจัยต่าง ๆ ของสภาวะการบ่มต่อการสร้าง RS ของแป้งสตาร์ชข้าว ตลอดจนวิธีการที่ใช้ในการคั่งน้ำออกที่มีผลต่อปริมาณแป้งสตาร์ชประเภทต่าง ๆ จึงเป็นประโยชน์อย่างมากในการที่จะนำไปประยุกต์ใช้สำหรับพัฒนาอุตสาหกรรมอาหารที่เป็นผลิตภัณฑ์จากแป้งข้าวได้ มากขึ้น อีกทั้งยังสามารถสร้างผลิตภัณฑ์จากแป้งสตาร์ชข้าวที่สามารถใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพได้ ซึ่งจะช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับข้าวได้มากขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของสภาวะในการบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งต่อการสร้าง RS

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของสภาวะและวิธีการคั่งน้ำออกที่มีต่อปริมาณแป้งสตาร์ชข้าวประเภท SDS และ RS

1.2.3 เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางโครงสร้างผลึกและคุณสมบัติทางความร้อนของแป้งสตาร์ชข้าวหลังผ่านการบ่มและการคั่งน้ำออกที่สภาวะต่าง ๆ

1.3 สมมุติฐานของการวิจัย

สภาวะในการบ่มมีผลต่อการสร้าง RS คุณสมบัติทางโครงสร้างผลึกและทางความร้อนของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งแตกต่างกัน, สภาวะและวิธีการในการคั่งน้ำออกที่แตกต่างกันมีผลต่อปริมาณ SDS และ RS ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง ตลอดจนมีผลต่อคุณสมบัติทางโครงสร้างผลึกและทางความร้อน

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้เน้นการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อการสร้าง RS ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง ซึ่งประกอบด้วย สภาวะในการบ่มแบบต่าง ๆ โดยตัวแปรที่ศึกษาประกอบด้วย ปริมาณของแป้ง

อุณหภูมิการบ่ม ระยะเวลาการบ่ม และรูปแบบของการบ่มต่อการเกิด RS ตลอดจนถึงศึกษาคุณสมบัติทางโครงสร้างผลึกและทางความร้อนของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ได้จากการบ่มสภาวะต่าง ๆ จากนั้นจึงคัดเลือกสภาวะการบ่มที่เกิด RS ปริมาณสูงสุดและนำมาใช้ในการศึกษาผลของสภาวะและวิธีการในการดึงน้ำออกที่แตกต่างกัน คือ วิธีการ drum drying, spray drying, hot air oven drying, flash drying และ extrusion ต่อการเกิด SDS และ RS รวมถึงศึกษาคุณสมบัติทางโครงสร้างผลึกและทางความร้อนของแป้งสตาร์ชข้าวที่ได้จากการดึงน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมในการบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งให้มีปริมาณ RS สูง

1.5.2 ทราบถึงวิธีการที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการดึงน้ำออกจากแป้งสตาร์ชข้าวให้มีปริมาณ RS สูง

1.5.3 ทราบถึงคุณภาพของแป้งสตาร์ชข้าว RS ที่ผลิตได้ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพได้

1.5.4 สามารถนำความรู้เกี่ยวกับสภาวะการบ่มและวิธีการดึงน้ำออกที่เหมาะสมไปใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการผลิตแป้งสตาร์ชข้าวที่มีปริมาณ RS สูงในเชิงการค้าได้

1.6 รายการอ้างอิง

กระทรวงอุตสาหกรรม. (2546). **ผลิตภัณฑ์แปรรูปจากข้าวไทย**. วารสารกรมส่งเสริมอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม.

กรมส่งเสริมการค้าส่งออก กระทรวงพาณิชย์. (2552). **สถานการณ์การค้าส่งออกข้าวปี 2552**. [ออนไลน์].
ได้จาก: <http://www.depthai.go.th/dep/doc/52/52003166.doc>.

กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ. (2550). **เทคโนโลยีของแป้ง**. พิมพ์ครั้งที่ 4. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

กองนโยบายอุตสาหกรรมรายสาขา 2. **อุตสาหกรรมแปรรูปข้าว 2544**. [ออนไลน์]. ได้จาก:
[http://www.oie.go.th/ Industrystatys 2/rice.3.doc](http://www.oie.go.th/Industrystatys 2/rice.3.doc).

BeMiller, J.N., and Lafayette, W. (1997). Starch modification: challenges and prospects. **Starch/ Stärke** 49: 127-131.

Berry, C.S. (1986). Resistant starch: formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fiber. **Journal of Cereal Science** 4: 301-314.

- Chiu, C.W., Henley, M., and Altieri, P. (1994). Process for making amylase resistant starch from high amylose starch. **US patent# 5, 281, 276.**
- Eerlingen, R.C., Crombez, M., and Delcour, J.A. (1993). Enzyme-resistant starch. I. Quantitative and qualitative influence of incubation time and temperature of autoclave starch on resistant starch formation. **Cereal Chemistry** 70 (3): 339-344.
- Eerlingen, R.C., and Delcour, J.A. (1995). Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. **Journal of Cereal Science** 22: 129-138.
- Eerlingen, R.C., Jacobs, H., and Delcour, J.A. (1994). Enzyme-resistant starch V. effect of retrogradation of waxy maize starch on enzyme susceptibility. **Cereal Chemistry** 71 (4): 351-355.
- Englyst, H.N., and Hudson, G.J. (1992). The classification and measurement of dietary Carbohydrates. **Food Chemistry** 57: 15-21.
- Englyst, K.N., Englyst, H.N., Hudson, G.J., Cole, T.J., and Cummings. (1999). Rapidly available glucose in foods: an in vitro measurement that reflects the glyceemic response. **American Journal of Clinical Nutrition** 69: 448-454.
- Fausto, F.D., Kacchi, A.I., and Mehta, D. (1997). Starch products in confectionery. **Beverage Food World** 24(4):4-16.
- González-Soto, R.A., Mora-Escobedo, R., Hernández-Sánchez, H., Sánchez-Rivera, M., and Bello-Pérez, L.A. (2006). The influence of time and storage temperature on resistant starch formation from autoclaved debranched banana starch. **Food Research International** 40(2), 304-310.
- Guraya, H.M., James, C., and Champagne, E.T. (2001). Effect of enzyme concentration and storage temperature on the formation of slowly digestible starch from cooked debranched rice starch. **Starch/Stärke** 53:131-139.
- Hamaker, B., and Han, X.-Z. (2004). Slowly digestible starch. Purdue Research Foundation. **Patent WO # 2004/066955 A2.**
- Hoebler, C., Karinthi, A., Chiron, H., Champ, M., and Barry, J.L. (1999). Bioavailability of starch in bread rich in amylose: metabolic response in healthy subjects and starch structure. **European Journal of Clinical Nutrition** 53: 360-366.

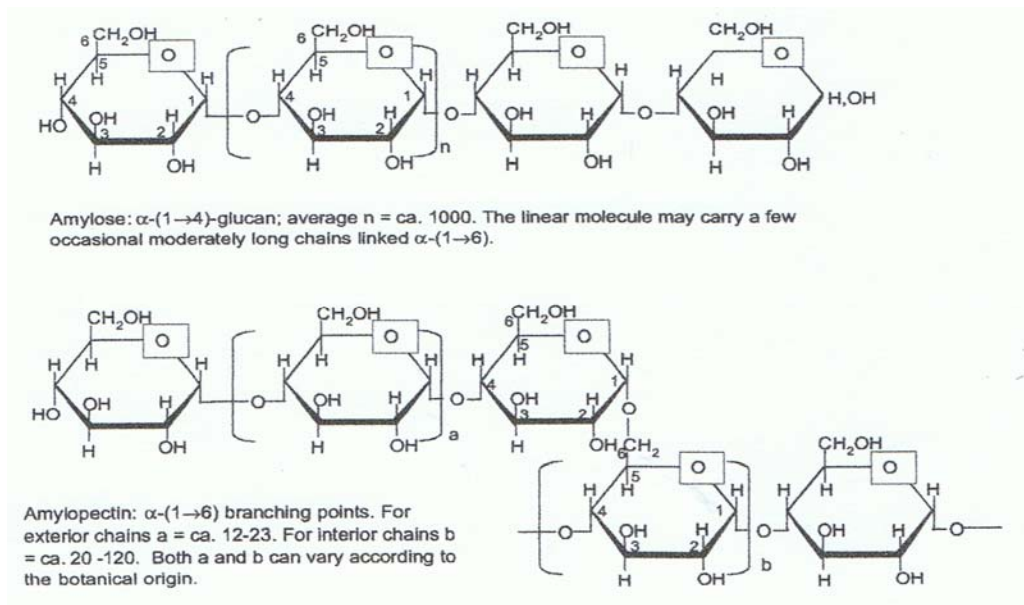
- Koksel, H., Masatcioglu, T., Kahraman, K., Ozturk, S., and Basman, A. (2008). Improving effect of lyophilization on functional properties of resistant starch preparations formed by acid hydrolysis and heat treatment. **Journal of Cereal Science** 47: 275-282.
- Leeman, A.M., Karlsson, M.E, Eliasson, A.C., and Bjorck, I.M.E. (2006). Resistant starch formation in temperature treated potato starches varying in amylose/amylopectin ratio. **Carbohydrate Polymers** 65: 306-313.
- Lehmann, U., Jacobasch, G., and Schmidiedl, D. (2002). Characterization of resistant starch type III from banana (*Musa acuminata*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 50: 5236-5240.
- Miao, M., Jiang, B., and Zhang, T. (2009). Effect of pullulanase debranching and recrystallization on structure and digestibility of waxy maize starch. **Carbohydrate Polymers** 76: 214-221.
- Onyango, C., Bley, T., Jacob, A., Henle, T., and Rohm, H. (2006). Influence of incubation temperature and time on resistant starch type III formation from autoclaved and acid-hydrolysed cassava starch. **Carbohydrate Polymers** 66(4): 494-499.
- Ozturk, S., Koksel, H., Kahraman, K., and Ng, P. K. (2009). Effect of debranching and heat treatments on formation and function properties of resistant starch from high-amylose corn starches. **European Food Research and Technology** 229: 115-125.
- Ranhotra, G.S., Gelroth, J.A., and Leinen, S.D. (1997). Hypolipidemic effect of resistant starch in hamsters is not dose dependent. **Nutrition Research** 17 (2): 317-323.
- Shamai, K., Bianco-Peled, H., and Shimoni, E. (2003). Polymorphism of resistant starch type III. **Carbohydrate Polymers** 54: 363-369.
- Shi, Y.C., Cui, X., Birkett, A.M., and Thatcher, M.G. (2006). Resistant starch prepared by isoamylase debranching of low amylose starch. **US patent # 7,081,261**.
- Shin, S.I., et al. (2004). Slowly digestible starch from debranched waxy sorghum starch : preparation and properties. **Cereal Chemistry** 81(3): 404-408.
- Silverio, J., Fredriksson, H., Anderson, R., Eliasson, A.C., and Aman, P. (2000). The effect of temperature cycling on the amylopectin retrogradation of starches with different amylopectin unit-chain length distribution. **Carbohydrate Polymers** 42: 175-184.
- Zhang, G., Sofyan, M., and Hamaker, B. (2008). Slowly digestible state of starch: mechanism of slowly digestion property of gelatinized maize starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 58: 4695-4702.

บทที่ 2

ปรีทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โครงสร้างและองค์ประกอบภายในของแป้งสาลี

โครงสร้างทางเคมีของแป้งสาลีจะประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic linkage) โดยส่วนใหญ่แป้งสาลีจะประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคส 2 ชนิด คือ อะมิโลส (amylose) และอะมิโลเพกทิน (amylopectin) แสดงดังภาพที่ 2.1



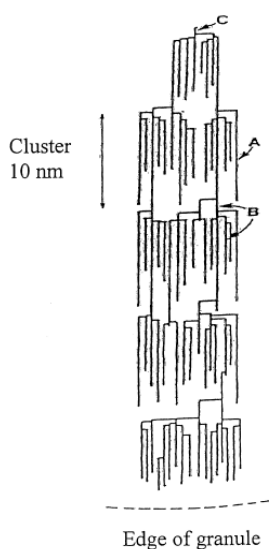
ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของอะมิโลสและอะมิโลเพกทิน

ที่มา : Tester, Karkalas, and Qi (2004)

อะมิโลสเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นที่ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 1,000-6,000 หน่วยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,4-glycosidic linkage และอาจพบกิ่งก้านสาขาในโมเลกุลของอะมิโลสได้บ้างในปริมาณเล็กน้อย (Hizukuri, 1985) อะมิโลสในแป้งสาลีแต่ละชนิดจะมีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกัน และมีค่าระดับขั้นของพอลิเมอร์ไรเซชัน (degree of polymerization, DP) แตกต่างกันด้วยตำแหน่งของอะมิโลสภายในเม็ดสาลีขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแป้งสาลี อะมิโลสบางส่วนอยู่ในกลุ่มของอะมิโลเพกทิน บางส่วนกระจายอยู่ทั้งในส่วนอสัณฐาน (amorphous region) และส่วนผลึก

(crystalline region) โครงสร้างของอะมิโลสมีทั้งแบบสายเดี่ยวและสายคู่ เมื่ออยู่ในสารละลายจะมีหลายรูปแบบ คือ ลักษณะเป็นเกลียวม้วน (helix) เกลียวที่คลายตัวหรือม้วนบางช่วง (interrupted helix) หรือม้วนอย่างไม่เจาะจง (random coil) นอกจากนี้โครงสร้างของอะมิโลสยังขึ้นอยู่กับขนาดโมเลกุลด้วย ซึ่งถ้ามีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 6,500-160,000 จะอยู่ในลักษณะเกลียวคู่ที่แข็งแรง (double helix) ส่วนอะมิโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 6,500 หรือมากกว่า 160,000 จะมีโมเลกุลเป็นลักษณะม้วนอย่างไม่เจาะจงและอาจมีบางส่วนละลายได้ (Whistler and Daniel, 1984)

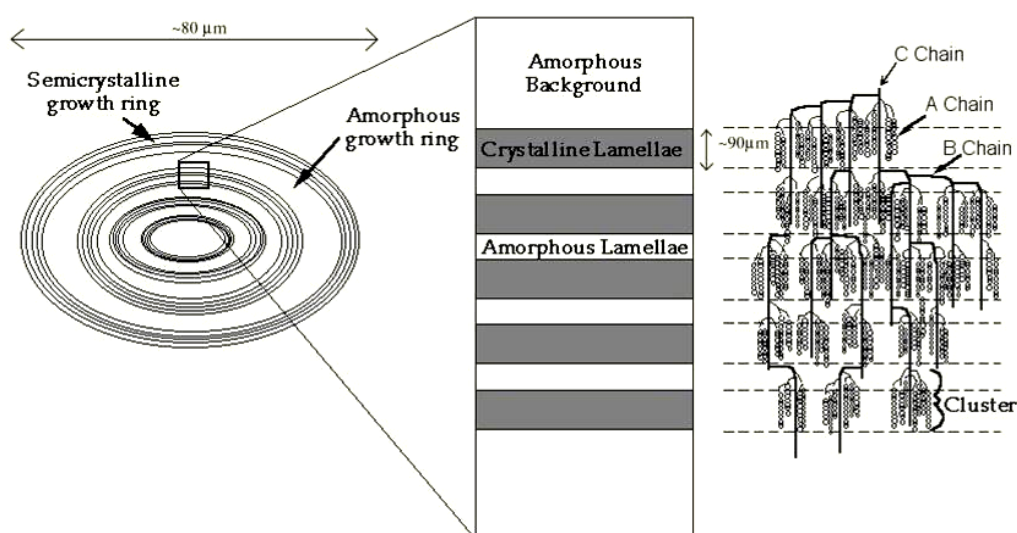
อะมิโลเพกทินเป็นพอลิเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคส โครงสร้างจะประกอบด้วยส่วนที่เป็นเส้นตรงของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,4-glycosidic linkage และส่วนที่เป็นกิ่งก้านสาขาซึ่งเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคสสายสั้นที่มีขนาดโมเลกุลอยู่ในช่วง 10-60 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,6-glycosidic linkage (กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2550) โครงสร้างแบบกิ่งของอะมิโลเพกทินจะประกอบด้วยสายโซ่ 3 ชนิด คือ สาย A (A chain) เชื่อมต่อกับสายอื่นที่ตำแหน่งเดียว ไม่มีกิ่งเชื่อมต่อออกจากสายชนิดนี้ (unbranched structure) สาย B (B chain) มีโครงสร้างแบบกิ่งเชื่อมต่อกับสายอื่น ๆ 2 สายหรือมากกว่า และสาย C (C chain) ซึ่งเป็นสายแกนที่ประกอบด้วยหมู่รีดิวซิง 1 หมู่ แสดงดังภาพที่ 2.2 ในอะมิโลเพกทินแต่ละโมเลกุลจะประกอบด้วยสาย C หนึ่งสายเท่านั้น สำหรับอะมิโลเพกทินของแป้งสาลีข้าว สายส่วนใหญ่ประมาณ 80-90% จะประกอบด้วยกลุ่มเดี่ยว ๆ และสายที่เหลืออีก 10-20% จะเป็นส่วนเชื่อมต่อของแต่ละกลุ่ม (กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2550)



ภาพที่ 2.2 ลักษณะโครงสร้างแบบกิ่งของอะมิโลเพกทิน

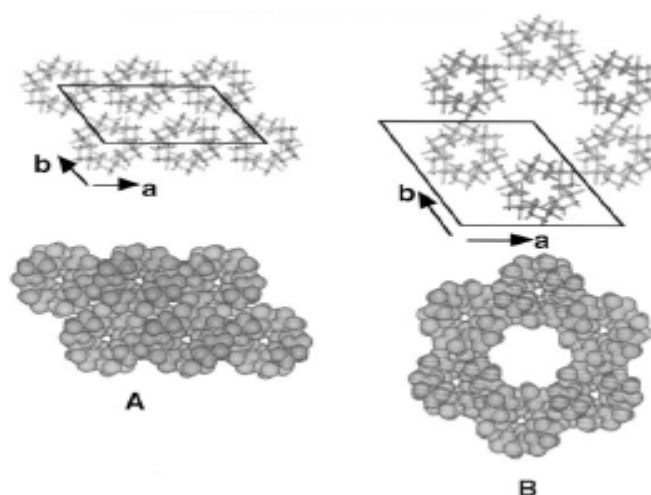
ที่มา : Martin and Smith (1995)

แป้งสารถ์ที่พบในธรรมชาติจะอยู่ในรูปของเม็ดสารถ์ขนาดเล็ก มีขนาด รูปร่างและลักษณะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของแป้งสารถ์นั้น ๆ โดยแป้งสารถ์ข้าว (rice starch) เป็นแป้งที่มีขนาดของเม็ดสารถ์ (starch granule) เล็กที่สุดในกลุ่มเมล็ดพืชจากธัญพืช ซึ่งจะมีขนาดของเม็ดสารถ์อยู่ในช่วง 3-10 ไมโครอน (Juliano, 1984) รูปร่างลักษณะเป็นเหลี่ยมหลายเหลี่ยม มักเกาะกันเป็นกลุ่มก้อนขนาดประมาณ 150 ไมครอน (Hayakawa, Seo, and Igaue, 1980) ซึ่งแป้งสารถ์ข้าวจะประกอบด้วยสัดส่วนของอะมิโลสและอะมิโลเพกทินในปริมาณที่แตกต่างกัน (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2547) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของข้าว เม็ดสารถ์มีโครงสร้างการจัดเรียงตัวเป็นแบบกึ่งผลึก (semi-crystalline) โดยโมเลกุลของอะมิโลสและอะมิโลเพกทินจะจัดเรียงตัวในเม็ดสารถ์เป็นโครงสร้างทั้งส่วนอสัณฐาน (amorphous region) และส่วนที่เป็นผลึก (crystalline region) โดยส่วนอสัณฐานของเม็ดสารถ์จะประกอบด้วยโมเลกุลของอะมิโลสและสายโซ่ยาวของ อะมิโลเพกทิน (Jacobs and Delcour, 1998) ขณะที่ส่วนที่เป็นผลึกเป็นผลมาจากการจัดเรียงตัวของสายโซ่ในโมเลกุลของอะมิโลเพกทินในแนวรัศมีเป็นชั้น ๆ ต่อกันของคลัสเตอร์อะมิโลเพกทิน (series of stacked amylopectin clusters) ซึ่งในแต่ละคลัสเตอร์จะประกอบด้วยบริเวณที่เป็นส่วนรวมของจุดที่แตกกิ่งที่มีลักษณะการจัดเรียงตัวไม่เป็นระเบียบเรียกว่า amorphous lamellae และบริเวณที่มีสายโซ่กิ่งของอะมิโลเพกทินที่จัดเรียงตัวแบบเกลียวม้วนคู่ (double helices) อย่างเป็นระเบียบ เรียกว่บริเวณส่วนนี้ว่า crystalline lamellae แสดงดังภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 ลักษณะโครงสร้างแบบกึ่งผลึก (semi-crystalline structure) ของเม็ดสารถ์
ที่มา : Jacobs and Delcour (1998)

เมล็ดสตาร์ชมีลักษณะโครงสร้างผลึกทั้งหมด 4 แบบขึ้นอยู่กับความหนาแน่นในการจัดเรียงตัวของสายเกลียวคู่ ถ้ามีการจัดเรียงตัวหนาแน่นมากและมีปริมาณน้ำต่ำจะเกิดเป็นผลึกแบบ A (แป่งจากธัญพืชต่าง ๆ เช่น แป้งข้าวเจ้า, แป้งข้าวโพด เป็นต้น) ถ้ามีการจัดเรียงตัวกันหลวม ๆ และมีปริมาณน้ำสูงจะเกิดผลึกแบบ B (แป่งจากพืชหัว เช่น แป้งมันฝรั่ง) แสดงดังภาพที่ 2.4 แต่ถ้าเกิดการเรียงตัวทั้งแบบ A และ B รวมกันจัดเป็นผลึกแบบ C (แป่งจากพืชตระกูลถั่ว) นอกจากนี้ยังมีโครงสร้างผลึกแบบ V อีก 1 ชนิด ซึ่งจะเป็นลักษณะผลึกที่เกิดจากสารประกอบเชิงซ้อนของอะมิโลสกับโมเลกุลของสารอินทรีย์ที่มีขั้ว แต่โดยทั่วไปเป็นแป้งสตาร์ชที่เกิดเจลาตินไนซ์แล้วจับตัวกับไขมัน (Zobel, 1998)

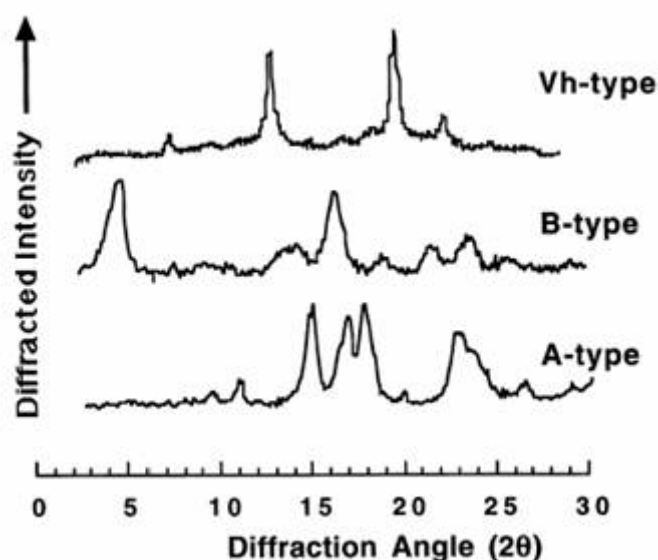


ภาพที่ 2.4 ลักษณะโครงสร้างผลึกชนิด A และ B

ที่มา : Buleon, Colonna, Planchot, and Ball (1998)

โครงสร้างผลึกที่ต่างกันของแป้งสตาร์ชจะส่งผลให้มีลักษณะการกระจายตัวของแสงต่างกัน ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยใช้เทคนิคเอกซ์-เรย์ดิฟแฟรกชัน (X-ray diffraction, XRD) ซึ่งแป้งสตาร์ชที่มีโครงสร้างผลึกแบบ A จะให้พีกคู่ (doublet peak) ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ $17-18^\circ$ และพีกเดี่ยว (singlet peak) ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 23° แต่ไม่มีพีกที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 5.6° ซึ่งจะพบในสตาร์ชที่มาจากธัญพืชเป็นส่วนใหญ่ ขณะที่แป้งสตาร์ชที่มีโครงสร้างผลึกแบบ B จะให้ singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 5.6 และ 17° แต่ไม่มีพีกที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 18° และมี doublet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 22 และ 24° ซึ่งจะพบในแป้งสตาร์ชที่มาจากพืชหัว ส่วนแป้งสตาร์ชที่มีโครงสร้างผลึกแบบ C ให้ลักษณะร่วมกันระหว่างผลึกแบบ A และ B กล่าวคือ มี singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 5.6 และ 17.9° ตัวอย่างเช่น แป้งสตาร์ชจากพืชตระกูลถั่ว ราก ลำต้น และแป้งสตาร์ชจากผลไม้บางชนิด (Buleon et al., 1998)

นอกจากนี้ลักษณะผลึกแบบ V ซึ่งเป็นรูปแบบที่เกิดจากการรวมตัวกันของอะมิโลสกับไขมันเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของอะมิโลสกับไขมัน (amylose-lipid complex) จะให้ singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 13 และ 20° (Derycke et al., 2005)



ภาพที่ 2.5 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์เรย์ของแป้งสตาร์ชที่มีลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ A, B และ V_h
ที่มา : Buleon et al. (1998)

2.2 ประเภทของแป้งสตาร์ช

ในเชิงคุณค่าทางอาหารของแป้งสตาร์ช (nutritional starch, dietary starch) โดยทั่วไปแบ่งแป้งสตาร์ชออกเป็น 3 ประเภท ตามอัตราและระยะเวลาในการย่อย (Englyst and Hudson, 1992) ได้แก่ แป้งสตาร์ชที่สามารถถูกย่อยได้อย่างรวดเร็ว (rapidly digestible starch, RDS) แป้งสตาร์ชที่สามารถถูกย่อยได้อย่างช้า ๆ (slowly digestible starch, SDS) และแป้งสตาร์ชทนย่อยต่อเอนไซม์ (resistant starch, RS)

2.2.1 แป้งสตาร์ชที่สามารถถูกย่อยได้อย่างรวดเร็ว (rapidly digestible starch, RDS)

โครงสร้างหลักของ RDS โดยทั่วไปจะเป็นส่วนอสัณฐาน (amorphous) และ dispersed starch (Sajirata, Singhal, and Kulkarni, 2006) ซึ่งจะถูกละลายโดยเอนไซม์ได้อย่างรวดเร็วไปเป็นน้ำตาลกลูโคสภายใน 20 นาที และพบได้ทั่วไปในอาหารที่มีส่วนประกอบของแป้งที่ผ่านการหุงสุกใหม่ๆ

2.2.2 แป้งสตาร์ชที่สามารถถูกย่อยได้อย่างช้า ๆ (slowly digestible starch, SDS)

SDS จะมีลักษณะคล้ายกับ RDS แต่จะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ได้ช้ากว่า และคาดว่าจะถูกย่อยสลายได้สมบูรณ์ในลำไส้เล็ก โดยสามารถตรวจวัดปริมาณได้โดยใช้วิธีทางเคมี ซึ่งจะเป็นส่วนที่ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ไปเป็นน้ำตาลกลูโคสหลังจากการย่อย 100 นาที พบได้ในแป้งสตาร์ชธรรมชาติดิบ (raw native starch) ที่มีลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ A และ C เช่น แป้งสตาร์ชจากพืชธัญชาติ และผลิตภัณฑ์เส้นที่ทำสุกแล้ว เป็นต้น (Sajirata et al., 2006) และเนื่องจาก SDS ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์อย่างช้า ๆ ดังนั้นจึงส่งผลให้มีระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ซึ่งเป็นผลดีสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารที่มีปริมาณ SDS สูงจะมีค่าดัชนีน้ำตาล (glycemic index, GI) ปานกลาง (Lehmann and Robin, 2007) ซึ่งมีข้อมูลทางการแพทย์ที่แสดงว่าอาหารที่มีค่า GI ต่ำ จะลดโอกาสเสี่ยงต่อการเป็นโรคเบาหวานและโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ (Jenkins et al., 2002) ในปัจจุบันยังไม่มีการผลิต SDS ทางการค้า แต่มีคาร์โบไฮเดรตทางการค้าชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ช้า (slowly digestible carbohydrate, SDC) ที่มีชื่อทางการค้าว่า “Isomaltulose/Paiatinose[®]” ซึ่งอ้างว่าจะให้ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดอย่างช้า ๆ หลังจากบริโภค (Lehmann and Robin, 2007)

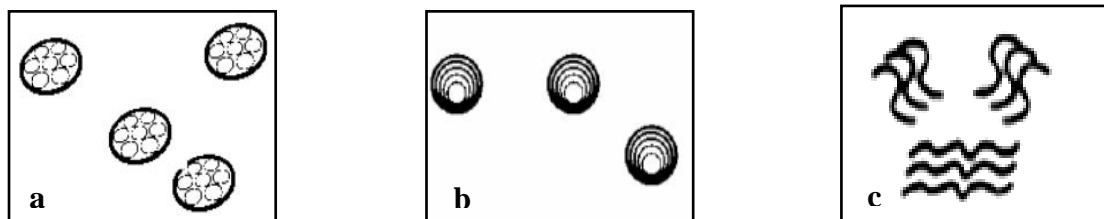
Guraya, James, and Champagne (2001) ศึกษาผลของความเข้มข้นเอนไซม์และอุณหภูมิการบ่มต่อการเกิด SDS จากแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งสุก (cooked debranched rice starch) ซึ่งพบว่าเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์พูลูลานเนส (pullulanase) ความเข้มข้นสูงและระยะเวลาการตัดกิ่งสั้นส่งผลให้มีปริมาณ SDS เกิดขึ้นสูงสุด ขณะที่เมื่อเพิ่มระยะเวลาการตัดกิ่งส่งผลให้มีปริมาณ RS เพิ่มขึ้น การบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีปริมาณของ SDS เกิดขึ้นสูงสุด ส่วนการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีปริมาณ SDS เกิดขึ้นต่ำสุด ในปี ค.ศ. 2003 Shi, Cui, Birkett, and Anne ได้จดสิทธิบัตรการผลิตผลิตภัณฑ์ SDS โดยใช้กระบวนการตัดกิ่งแป้งสตาร์ชมันสำปะหลัง (tapioca starch) และแป้งสาธู (sago starch) จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เกิดการสร้างผลึก และนำไปทำแห้งโดยวิธีพ่นฝอย (spray drying) ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้มี SDS เกิดขึ้นประมาณ 30% และจากการศึกษาของ Shin et al. (2004) พบว่าการตัดกิ่งแป้งสตาร์ชข้าวฟ่าง (sorghum starch) ด้วยเอนไซม์ไอโซอะมิเลส (isoamylase) โดยใช้ระยะเวลาสั้น (8 ชั่วโมง) มีปริมาณ SDS เกิดขึ้นสูงสุด แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลาการตัดกิ่งมีผลในการเพิ่มปริมาณ RS นอกจากนี้ยังพบว่า การบ่มแป้งสตาร์ชข้าวฟ่างตัดกิ่งที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน มีปริมาณ SDS เกิดขึ้นสูงสุด แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลาการบ่มจนถึง 6 วัน ไม่มีผลในการเพิ่มปริมาณ SDS แต่มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS นอกจากนี้ Hamaker and Han (2004) ได้ใช้วิธีการย่อยแป้งสตาร์ชที่ผ่านการเจลาติไนซ์ด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะมิเลส (α -amylase) ตามด้วยการปล่อยให้เกิดการสร้างผลึกบางส่วนในการผลิต SDS ซึ่งได้รับการจดสิทธิบัตรต่อมา การทำ annealing และ heat-moisture treated (HMT) เป็น

วิธีการ hydrothermal treatment ที่มีผลต่อการเกิด SDS เช่นกัน (Lehmann and Robin, 2007) เนื่องจากทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับโมเลกุลของแป้งสตาร์ช ซึ่งจะมีผลต่อการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ โดย Anderson, Guraya, James, and Salvaggio (2002) พบว่าแป้งสตาร์ชข้าวที่ผ่านการทำ HMT ที่อุณหภูมิหลอมเหลว มีรูปแบบการถูกย่อยช้ากว่าแป้งสตาร์ชข้าวที่ไม่ผ่านการทำ HMT นอกจากนี้ Shin, Kim, Ha, Lee, and Moon (2005) พบว่าอุณหภูมิและปริมาณน้ำที่ใช้ในการทำ hydrothermal treatment กับแป้งสตาร์ชมันฝรั่ง (sweet potato starch) มีผลในการเพิ่มปริมาณ SDS เป็น 2 เท่าจากแป้งสตาร์ชมันฝรั่งดิบ เนื่องจากวิธีการ HMT มีผลไปทำลายโครงสร้างผลึกแบบ B หรือ C ให้กลายเป็นผลึกแบบ A บางส่วน ดังนั้นจึงทำให้โครงสร้างถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้ง่ายขึ้น (Hoover and Vasanthan, 1994) ซึ่งสายเกลียวคู่ที่มีขนาดสั้น (shorter double helices) ที่อยู่ภายในส่วนผลึกแบบ A จะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้ง่าย ดังนั้นจึงมีปริมาณ RDS และ SDS สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งสตาร์ชที่มีโครงสร้างผลึกแบบ B ซึ่งจะมีปริมาณ RS สูง (Jane, Wong, and McPherson, 1997) ซึ่ง Guraya et al. (2001) กล่าวว่า SDS อาจเกิดจากการเกิดผลึกแบบ B ที่ไม่มี ความสมบูรณ์และมีความหนาแน่นต่ำซึ่งง่ายที่จะถูกย่อยด้วยเอนไซม์

2.2.3 แป้งสตาร์ชทนย่อยต่อเอนไซม์ (resistant starch, RS)

RS เป็นส่วนเล็กๆ ของแป้งสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ α -amylase และ pullulanase ได้ 120 นาที (Englyst and Hudson, 1992) ดังนั้น RS จึงเป็น dietary starch ที่ทนต่อการถูกย่อยในลำไส้เล็ก ซึ่งจะผ่านไปถึงลำไส้ใหญ่และถูกหมักโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ European FLAIR-Concerted Action on Resistant Starch ได้ให้คำนิยามของ RS ว่าเป็นแป้งและผลิตภัณฑ์ของแป้งที่ไม่สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์และดูดซึมภายในลำไส้เล็กของมนุษย์สุขภาพดี (Euresta, 1992) RS สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ชนิด (Sajilata et al., 2006; Thompson, 2000) ได้แก่ RS type I (RS₁) เป็นแป้งสตาร์ชที่ไม่สามารถถูกย่อยได้ด้วยเอนไซม์ เนื่องจากเม็ดแป้งจะถูกห่อหุ้มอยู่ในร่างแหของโปรตีนหรือถูกตรึงอยู่ในเซลล์หุ้มเมล็ดพืช ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาได้ ซึ่ง RS ประเภทนี้สามารถเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติแต่เป็นส่วนน้อย ส่วนใหญ่พบในเมล็ดส่วนผลของพืช (grain), เมล็ดของผล (seed) และถั่ว (legume) มีโครงสร้างแสดงดังภาพที่ 2.6a RS type II (RS₂) เป็น RS ที่อยู่ในรูปของเม็ดแป้งดิบ (native granule starch) พบได้ในแป้งสตาร์ชมันฝรั่ง (potato starch) และกล้วยดิบ (green banana) (Champ, 2004) ซึ่งมีลักษณะทางโครงสร้างของเม็ดแป้งที่ไม่มีรูหรือช่องเปิดที่จะให้เอนไซม์เข้าไปทำงานได้ มีโครงสร้างแสดงดังภาพที่ 2.6b RS type III (RS₃) เป็นแป้งสตาร์ชที่เกิดจากการรีโทรเกรดชันของอะมิโลส (Eerlinger and Delcour, 1995; Brouns, Kettlitz, and Arrigoni, 2002) มีโครงสร้างแสดงดังภาพที่ 2.6c และ RS type IV (RS₄) เกิดจากการดัดแปรแป้งโดยใช้สารเคมี (chemically modified starch) เช่น แป้ง acetylated,

แป้ง hydroxypropylated และแป้ง cross - linked เป็นต้น



ภาพที่ 2.6 ลักษณะโครงสร้างของ RS₁ (a); RS₂ (b); และ RS₃ (c)

ที่มา : Sajilata et al. (2006)

2.3 ประโยชน์ของ resistant starch

เนื่องจาก RS เป็นแป้งสตาร์ชที่ทนต่อการย่อยของเอนไซม์ ดังนั้น RS จึงมีคุณสมบัติเทียบเท่าเส้นใยอาหาร (dietary fiber) (Yue and Waring, 1998) เนื่องจากมีผลต่อจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ ทำให้เกิดการหมักที่สมบูรณ์ และเกิดก๊าซในระหว่างการหมักน้อย โดยผลิตภัณฑ์หลัก ๆ ที่ได้จากการหมัก คือ กรดไขมันสายสั้น (short-chain fatty acid, SCFA) ที่ประกอบด้วยอะซิเตท (acetate), โพรพิโอเนท (propionate) และบิวไทเรท (butyrate) นอกจากนี้การบริโภค RS ยังมีผลในการลดระดับ pH ในลำไส้ใหญ่ และยังมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก (prebiotic) ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (pathogenic microorganisms) ในระบบทางเดินอาหาร อีกทั้งบิวไทเรทที่เกิดขึ้นยังช่วยปรับสภาวะตอนปลายของลำไส้ใหญ่ให้สมบูรณ์และยับยั้งการเจริญของเซลล์ที่ผิดปกติ (transformed cell) ในสิ่งมีชีวิตและช่วยเพิ่มการตายตามธรรมชาติของเซลล์ (apoptosis) ซึ่งจะมีบทบาทในการป้องกันโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับเส้นใยอาหาร (dietary fiber) พบว่า RS จะสามารถผลิตบิวไทเรทได้ในสัดส่วนที่มากกว่า นอกจากนี้ยังมีบทบาทในการลดคอเลสเตอรอลในเส้นเลือดเนื่องจากมีปริมาณแคลอรีต่ำประมาณ 1.6-2.8 กิโลแคลอรีต่อกรัม (Ranhotra, Gelroth, and Glaser, 1996) จึงสามารถลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ และโรคเบาหวานได้ รวมถึงมีผลในการลดค่าดัชนีน้ำตาล (glycemic index) ของอาหารด้วย (Hoebler, Karinithi, Chiron, Champ, and Barry, 1999) ซึ่งจะช่วยป้องกันหรือลดภาวะโรคอ้วนได้ และเหมาะสมสำหรับผู้บริโภคที่เป็นโรคเบาหวาน (Halalampu, 2000) นอกจากนี้การบริโภค RS หรือเส้นใยอาหารยังช่วยเพิ่มปริมาณอุจจาระ เพิ่มความถี่ในการขับถ่ายและลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคท้องผูก โรคผนังลำไส้ใหญ่อักเสบ ทั้งนี้ RS₃ เป็น RS ที่ได้รับความสนใจมากกว่า RS ชนิดอื่น ๆ เนื่องจากมีความเสถียรต่อความร้อน (thermal stability) จึงสามารถรักษาคุณค่าทางโภชนาการไว้ได้ในระหว่างกระบวนการหุงต้มปกติ (Shamai, Bianco-

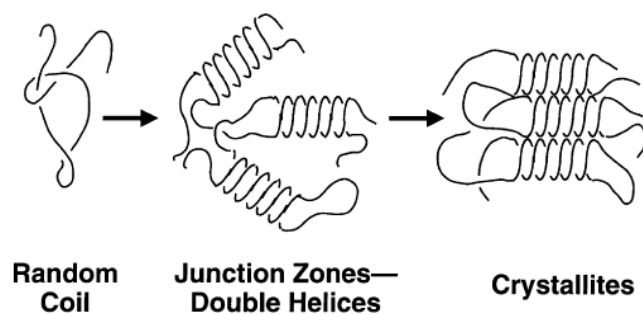
Peled, and Shimoni, 2003) และเนื่องจากโครงสร้างส่วนผลึกของ RS₃ แสดงการเปลี่ยนเฟส (endothermic transition) ที่อุณหภูมิ 120-165 องศาเซลเซียส (Han et al., 2006) ดังนั้นจึงเหมาะสำหรับใช้เป็นสารเติมแต่งที่เป็นพรีไบโอติกที่ทนความร้อน (heat-stable pre-biotic food additive) ในอาหารได้ ซึ่งจะใช้ในอาหารพวกที่ต้องผ่านการให้ความร้อนหรือผลิตภัณฑ์พวกขนมอบ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า RS สามารถถูกหมักและผลิตบิวโทเรทได้มากกว่า RS₂ และ oligosaccharide อีกด้วย (Brouns et al., 2002)

2.4 การเกิด resistant starch type III (RS₃)

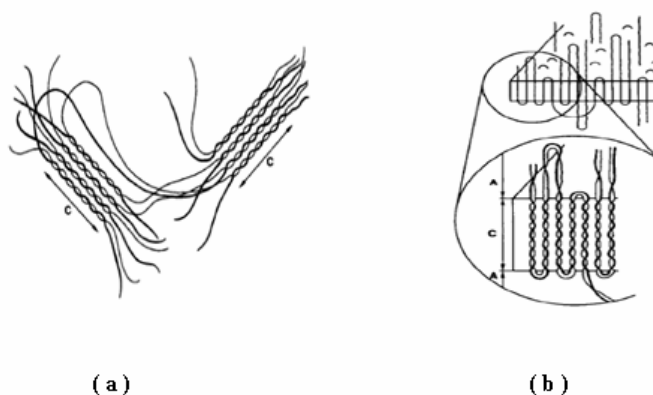
เป็นที่ทราบกันดีว่า RS₃ เกิดจากการเกิดรีโทรเกรเดชัน (retrogradation) ของโมเลกุลอะมิโลส (Eerlingen, Crombez, and Delcour, 1993) โดยรีโทรเกรเดชันจะเกิดขึ้นเมื่อแป้งหรือสตาร์ชได้รับความร้อนจนถึงอุณหภูมิที่เกิดเจลาติไนเซชันแล้วให้ความร้อนต่อไปจะทำให้เม็ดแป้งพองตัวเพิ่มขึ้นจนถึงจุดที่พองตัวเต็มที่และแตกออก โมเลกุลของอะมิโลสขนาดเล็กจะกระจัดกระจายออกมาทำให้ความหนืดลดลง และเมื่อปล่อยให้เย็นตัวโมเลกุลรูปร่างเกลียวคู่ของอะมิโลส (random coil) จะเคลื่อนที่เข้ามาใกล้กันและจับตัวกันด้วยพันธะไฮโดรเจนเกิดเป็นสายเกลียวคู่ (double helices) ซึ่งจะสามารถอุ้มน้ำและไม่มีการควบแน่นเข้ามาอีก ส่งผลให้มีความหนืดคงตัวมากขึ้นเกิดลักษณะเจลาตินีคล้ายฟิล์มหรือผลึก และเมื่อปล่อยให้รีโทรเกรเดชันต่อไป สายเกลียวคู่ที่เกิดขึ้นจะมารวมตัวกันและมีลักษณะการจัดเรียงตัวของโครงสร้างที่แน่นและมีความเป็นผลึกที่แข็งแรงมากขึ้น (Haralampu, 2000) แสดงดังภาพที่ 2.7 ความยาวเฉลี่ยของสายโซ่ RS₃ มีค่าอยู่ในช่วง 22-65 หน่วยกลูโคส (Berry, I'Anson, Miles, Morris, and Russell, 1988; Siljestrom, Eliasson, and Bjorck, 1989) และด้วยความคล้ายคลึงด้านความยาวของสายโซ่ RS₃ Eerlingen and Delcour (1995) ได้เสนอกลไกการเกิด RS₃ ในสารละลายอะมิโลสไว้ 2 กลไก คือ การเกิด micelle ซึ่งจะเกิดจากการรวมตัวกันของโมเลกุลอะมิโลสอิสระต่าง ๆ ที่อยู่นอกเหนือจากบริเวณออสชันฐาน และการเกิดโครงสร้าง lamellar ซึ่งเกิดจากการม้วนพับของสายโซ่ แสดงดังภาพที่ 2.8a และ 2.8b ดังนั้นโครงสร้างของ RS₃ จึงประกอบด้วยโมเลกุลส่วนที่เป็นเส้นตรงสายสั้นๆ จัดเรียงตัวอยู่ในโครงสร้างส่วนผลึก

โดยทั่วไปการเกิดรีโทรเกรเดชันหรือ recrystallization ของแป้งเกี่ยวข้องกับ 3 ขั้นตอน คือ การเกิดนิวเคลียสผลึก (nucleation), การเติบโตของผลึก (propagation) และการเกิดผลึกที่สมบูรณ์หรือการเติบโตของผลึกอย่างช้าๆ (maturation) ซึ่งอัตราของการเกิดผลึกนั้นขึ้นอยู่กับอุณหภูมิเป็นสำคัญ จากภาพที่ 2.9 จะเห็นว่าอัตราการเกิด nucleation เป็นศูนย์ที่อุณหภูมิ melting temperature (T_m) ของผลึกและมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อลดอุณหภูมิลง โดยที่อุณหภูมิต่ำกว่า glass temperature (T_g) อัตราการเกิด nucleation จะมีค่าเล็กน้อย เนื่องจากอยู่ในสถานะของแข็ง และมีอัตราการเกิด propagation เป็นศูนย์ เนื่องจากไม่สามารถเคลื่อนที่แพร่ไปได้ ขณะที่เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า T_g อัตราการเกิด

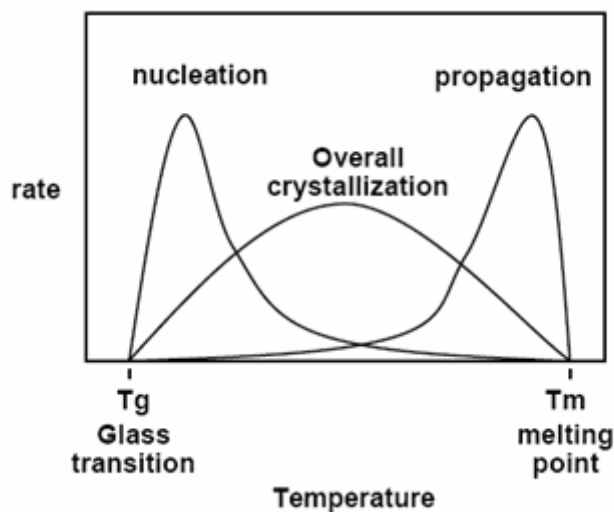
propagation ก็มีค่าเล็กน้อยเช่นกัน ส่วนอัตราการเกิด maturation ก็มีทิศทางเดียวกับการเกิด propagation (Wunderlich, 1976) อัตราการเกิดผลึกทั้งหมด (overall crystallization) จะขึ้นอยู่กับอัตราการเกิด nucleation และ propagation เท่านั้น สำหรับระบบที่เป็น semi-crystalline การเกิดผลึกนั้นจะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิระหว่าง T_g และ T_m (Eerlingen et al., 1993)



ภาพที่ 2.7 การเกิดรีโทรเกรเดชันของอะมิโลส
ที่มา : Haralampu (2000)



ภาพที่ 2.8 ลักษณะโครงสร้างของ RS_3 ในสารละลายอะมิโลส (a) แบบจำลอง Micelle : สายเกลียวคู่ถูกจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบในส่วนโครงสร้างที่เป็นผลึก (C) นอกเหนือจากบริเวณที่เป็นอสัณฐาน (b) แบบจำลอง Lamella : โครงสร้าง Lamellar ถูกสร้างขึ้นจากการพับของสายโซ่ โดยพื้นที่ส่วนที่พับตัวเป็นส่วนอสัณฐาน (A) ขณะที่ส่วนกลางของ lamellar คือ ส่วนที่เป็นผลึก (C)
ที่มา : Eerlingen and Delcour (1995)



ภาพที่ 2.9 อัตราการเกิด nucleation, propagation และอัตราการเกิดผลึกโดยรวม (overall crystallization rates) ในระบบที่มีความเป็นผลึกบางส่วน (semi-crystalline system) ซึ่งขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ
ที่มา : Eerlingen et al. (1993)

2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิด RS₃

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิด RS₃ มีอยู่ด้วยกันหลายชนิด ประกอบด้วย คุณสมบัติโดยธรรมชาติของแป้งสตาร์ช (inherent properties of starch) ชนิดของแป้งสตาร์ช องค์ประกอบทางเคมีของเม็ดสตาร์ช อัตราส่วนระหว่างอะมิโลสและอะมิโลเพกทิน เป็นต้น (Sajirata et al., 2007) ซึ่ง Escarpa, Gonzalez, Morales, and Saura-Calixto (1997) กล่าวว่า การเกิดปฏิกิริยากันระหว่างสตาร์ชกับโปรตีนนั้นมีผลในการลดปริมาณ RS₃ ในแป้งสตาร์ชมันฝรั่งที่เติมอัลบูมินหลังการออโตไคลบ (autoclave) และปมที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นอกจากนี้การเกิด amylose-lipid complexes ก็มีผลในการลดการเกิด RS₃ ด้วยเช่นกัน ทั้งนี้เพราะการเกิด recrystallization ของโมเลกุลอะมิโลสจะถูกแข่งขันโดยการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไขมัน ซึ่งจากการศึกษาของ Czuchajowska, Sievert, and Pomeranz (1991) พบว่า การเติม lysophosphatidyl choline (LPC), sodium stearoyl lactylate (SSL) และ hydroxylated lecithin (OHL) ลงใน amylo maize VII starch ที่ผ่านการ autoclave และทิ้งไว้ให้เย็นจนมีอุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS₃ ต่ำกว่าตัวอย่างที่ผ่านการ autoclave และทิ้งไว้ให้เย็นเพียงอย่างเดียว และเมื่อตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนด้วยเครื่อง DSC พบพิกเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 95-110 องศาเซลเซียส แสดงว่าเกิด amylose-lipid complexes และพบอีกพิกที่อุณหภูมิประมาณ 155 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นพิกของ RS₃

นอกจากนี้ปัจจัยต่าง ๆ ในระหว่างการผลิตที่อาจมีผลต่อการเกิดเจลาตินในเซชันและการเกิดรีโทรเกรเดชันก็ส่งผลต่อการเกิด RS₃ เช่น ปริมาณแป้งน้ำ อุณหภูมิและระยะเวลาการเจลาตินในเซชัน อุณหภูมิและระยะเวลาการเกิดรีโทรเกรเดชัน เป็นต้น (Eerlingen and Delcour, 1995) ซึ่ง Siljestrom and Asp (1985) รายงานว่าการ autoclave แป้งสตาร์ชสาลีส่งผลให้มีปริมาณ RS เพิ่มขึ้นเป็น 9% จากแป้งสตาร์ชสาลีที่ไม่ผ่านการ autoclave ที่มีปริมาณ RS น้อยกว่า 1% นอกจากนี้ Ring Gee, Whittam, Orford, and Johnson (1988) รายงานว่า แป้งสตาร์ชถั่ว (pea) แป้งสตาร์ชสาลี และแป้งสตาร์ชมันฝรั่งที่เกิดการรีโทรเกรเดชันของอะมิโลสสามารถทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ได้สูง โดยอัตราและระยะเวลาในการเกิดรีโทรเกรเดชันหลังจากเกิดเจลาตินในเซชันนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณอะมิโลส และเป็นที่ยอมรับกันว่าแป้งสตาร์ชที่มีปริมาณอะมิโลสสูงเป็นแหล่งที่สำคัญของ RS₂ ซึ่งหลังจากนำไปให้ความร้อนและทำให้เย็น จะให้ RS₃ ในปริมาณที่สูง นอกจากนี้ Sievert and Pomeranz (1989) ยังพบว่าการทำ heat-moisture treatment ซ้ำ ๆ กันหลายรอบ จะมีผลในการลดการย่อยของเอนไซม์ pancreatic α -amylase และเพิ่มปริมาณ RS โดยปริมาณของ RS ที่มากที่สุดได้จากอัตราส่วนของแป้งสตาร์ชต่อน้ำเท่ากับ 1 : 3.5 (w/w)

โดยทั่วไปการผลิต RS₃ นอกจากปัจจัยด้านกระบวนการเจลาตินในเซชันและรีโทรเกรเดชันแล้ว การคั่งน้ำออก (dehydration) ด้วยวิธีการต่าง ๆ เช่น ทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying), การทำแห้งแบบแฟลช (flash drying), การทำแห้งโดยใช้ลมร้อน (hot air oven drying), การทำแห้งแบบระเหิดแห้ง (freeze drying), การทำแห้งวิธีเอกซ์ทรูชัน (extrusion) และการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum drying) เป็นต้น (Shi et al., 2003) ซึ่งมักจะถูกใช้ในการทำแห้งแป้งสตาร์ช RS (Sivak and Preiss, 1998) ก็มีผลต่อปริมาณของ RS ด้วยเช่นกัน โดย Chiu, Henley, and Altieri (1994) ได้พัฒนาวิธีการผลิต RS ขึ้น โดยใช้เอนไซม์ตัดพันธะกิ่ง (debranching enzyme) เช่น pullulanase, isoamylase เป็นต้น ในการลดขนาดโมเลกุลของแป้งสตาร์ช Hylon VII และทำการแยกแป้งที่ได้โดยการทำแห้งด้วยวิธีการต่าง ๆ และกระบวนการเอกซ์ทรูชัน ซึ่งพบว่า การตัดพันธะกิ่งของแป้งสตาร์ชด้วยเอนไซม์ตัดพันธะกิ่งมีผลในการเพิ่มปริมาณ RS และการแยกแป้ง RS ด้วยกระบวนการเอกซ์ทรูชันให้ปริมาณ RS สูงกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอย ในขณะที่การแยกแป้ง RS ด้วยวิธีการทำแห้งแบบแฟลชให้ปริมาณ RS สูงกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอย ดังนั้นการตัดพันธะกิ่งของแป้งสตาร์ชด้วยเอนไซม์ตัดพันธะกิ่งและวิธีการแยกแป้งจึงมีผลต่อปริมาณ RS ที่ได้ นอกจากนี้ Shi et al. (2003) ได้ทำการผลิต RS จากแป้งสตาร์ชข้าวโพดและแป้งสตาร์ชมันฝรั่งที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำ (waxy maize starch และ waxy potato starch) โดยการใช้เอนไซม์ isoamylase ในการตัดกิ่งของอะมิโลเพกทิน จากนั้นทำการรีโทรเกรดที่อุณหภูมิห้องเพื่อทำการสร้างผลึกให้กับแป้งสตาร์ชตัดกิ่ง (debranched starch) และตามด้วยการแยกแป้ง RS ที่ได้โดยใช้วิธีการกรอง (filtration) ตามด้วยการทำแห้งโดยอากาศ (air-dried) ซึ่งแป้งสตาร์ชข้าวโพดและแป้งสตาร์ชมันฝรั่งที่ได้หลังผ่านกระบวนการมีปริมาณ RS มากกว่า

80% และจากการศึกษาของ Koksel, Masatcioglu, Kahraman, Ozturk, and Basman (2008) รายงานว่าการเจลาตินในเซชันที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส และการ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส กับสารละลายแป้งสตาร์ชข้าวโพดความเข้มข้น 5% และตามด้วยการทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน (hot air oven) มีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงกว่าการทำแห้งโดยวิธีแช่เยือกแข็ง (lyophilization) และจากรายงานของ González-Soto, Agama-Acevedo, Solorza-Feria, Rendon-Villalobos, and Bello-Perez (2004) ซึ่งได้ทำการผลิต RS จากแป้งสตาร์ชกล้วย (*Musa paradisiaca*) โดยใช้วิธีการ autoclave ร่วมกับการใช้เอนไซม์ตัดพันธะกิ่ง (pullulanase) ที่เวลาการตัดกิ่งต่าง ๆ พบว่าปริมาณ RS ที่ได้จากการตัดกิ่งอะมิโลเพกทินที่เวลาต่าง ๆ มีค่ามากกว่าปริมาณ RS ในแป้งสตาร์ช กล้วยที่ไม่ผ่านการตัดกิ่ง แสดงว่าการตัดกิ่งอะมิโลเพกทินของแป้งสตาร์ชกล้วยส่งผลให้แป้งสตาร์ชกล้วยมีปริมาณ RS เพิ่มขึ้นประมาณ 2 เท่า (จาก 9% เป็น 18%) โดย Eerlingen and Delcour (1995) รายงานว่า degree of polymerization (DP) ของโมเลกุลสายโซ่ที่เป็นเส้นตรงมีผลกระทบต่อปรากฏการณ์รีโทรเกรเดชันของแป้ง ขณะที่ Schmidl, Baurelein, Bengs, and Jacobasch (2000) รายงานว่า DP ประมาณ 20 หน่วยกลูโคสเหมาะสมต่อการสร้าง RS ในปริมาณสูง ดังนั้นการตัดกิ่งอะมิโลเพกทินจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะทำให้สามารถผลิตแป้งสตาร์ชที่มีปริมาณ RS สูงขึ้นได้จากแป้งสตาร์ชที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำ ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการสร้าง RS ในระหว่างกระบวนการตัดกิ่งประกอบด้วยปริมาณสตาร์ช ปริมาณเอนไซม์ และระยะเวลาในการตัดกิ่ง Guraya et al. (2001) รายงานว่าเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์สูงร่วมกับระยะเวลาในการตัดกิ่งที่นานขึ้นมีผลในการเพิ่มปริมาณ RS ในแป้งสตาร์ชข้าว แต่อย่างไรก็ตาม Leong et al. (2007) ซึ่งศึกษาผลของสภาวะการตัดกิ่งแป้งสตาร์ชสาถุ (sago starch) ต่อการเกิด RS ที่ปริมาณเอนไซม์ความเข้มข้น 24, 30, 40 และ 50 PUN/g dry starch และระยะเวลาการตัดกิ่ง 0-48 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่า การตัดกิ่งแป้งสตาร์ชสาถุที่ระยะเวลา 8 ชั่วโมงร่วมกับปริมาณเอนไซม์ 40 PUN/g dry starch มีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงสุด

การเพิ่มผลผลิตของ RS นอกจากการใช้เอนไซม์ตัดพันธะกิ่งแล้ว ยังพบว่ามียธิพลเนื่องมาจากสภาวะการบ่ม (aging condition) ซึ่งโดยทั่วไปจะเกี่ยวข้องกับระยะเวลาและอุณหภูมิในการบ่ม ทั้งนี้เพราะ RS เป็น retrograded starch ในปี ค.ศ. 2002 Lehmann et al. ได้ศึกษาคูณสมบัติของ RS จากแป้งสตาร์ชกล้วย (*Musa acuminata* var. *Nandigobe*) โดยทำการ autoclave สารละลายแป้งสตาร์ชกล้วยความเข้มข้น 20% (w/v) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที จากนั้นใช้เอนไซม์ pullulanase ในการตัดกิ่งของอะมิโลเพกทิน โดยใช้อัตราส่วนของแป้งสตาร์ชต่อเอนไซม์เท่ากับ 20 : 1 และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้ได้สายโพลิเมอร์ที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลงจำนวนมาก ซึ่งมี DP ระหว่าง 10-35 หน่วยกลูโคส และเมื่อนำเจลาแป้งสตาร์ชกล้วยตัดกิ่งที่มีความเข้มข้น 10% (w/w) และ 20% (w/w) มาทำการรีโทรเกรดที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าสามารถสร้าง RS ได้ปริมาณสูงถึง 50% ซึ่งเมื่อ

เปรียบเทียบกับแป้งสตาร์ชกล้วยแบบธรรมชาติ (native banana starch) จะได้ปริมาณ RS เพียง 6% โดยการรีโทรเกรดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS ในขณะที่การรีโทรเกรดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS ขณะที่ Schmiedel, König, and Jacobasch (2003) รายงานว่า การเพิ่มปริมาณของแข็งของเจลแป้งสตาร์ชมันฝรั่งที่มีปริมาณอะมิโลสน้อยกว่า 10% (waxy potato starch) ที่ผ่านการตัดกิ่งอะมิโลเพกทินจาก 10% เป็น 30% (w/w) และผ่านการรีโทรเกรดที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS ส่วน González-Soto, Mora-Escobedo, Hernández-Sánchez, Sánchez-Rivera, Bello-Pérez, and (2006) พบว่าระยะเวลาการบ่มไม่มีผลต่อปริมาณ RS ขณะที่อุณหภูมิในการบ่มมีผลต่อปริมาณ RS ของแป้งสตาร์ชกล้วยตัดกิ่ง (debranched banana starch) อย่างมีนัยสำคัญ โดยการบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS เกิดขึ้นน้อยกว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 4 และ 32 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Eerlingen et al. (1993) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการบ่มต่อการสร้าง RS ของเจลแป้งสตาร์ชสาลีที่ความเข้มข้น 10% ซึ่งพบว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 วันมีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงกว่าการบ่มแบบ 2 อุณหภูมิในระยะเวลาสั้น (0 องศาเซลเซียส ตามด้วย 60 องศาเซลเซียส และ 0 องศาเซลเซียส ตามด้วย 100 องศาเซลเซียส) ส่วน Onyango, Karim, and Norziah (2006) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาต่อการเกิด RS ของแป้งสตาร์ชมันสำปะหลังที่ผ่านการ autoclave โดยเตรียมเจลที่ความเข้มข้น 10% แล้วนำไปเข้าเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 1 ชั่วโมง และนำเจลที่ได้มาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 ถึง 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6-48 ชั่วโมง ซึ่งพบว่าการเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการบ่มมีผลในการเพิ่มผลผลิตของ RS

การบ่มแบบวนรอบ (time-temperature cycling) เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS เนื่องจากเป็นสถานะที่เร่งให้เกิดรีโทรเกรดจนรวมถึงมีการสร้างผลึกที่มีความแข็งแรงและมีความเสถียรมากขึ้น โดย Eerlingen, Jacobs, and Delcour (1994) ได้ศึกษาผลของการเกิดรีโทรเกรดชันของ waxy maize starch ต่อการเกิด RS โดยนำเจล waxy maize starch ที่ผ่านการ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที มาบ่มที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ และพบว่าสถานะการบ่มที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง ตามด้วย 40 องศาเซลเซียส เวลา 29 วัน มีอัตราการเกิดรีโทรเกรดชันสูงที่สุด และสามารถทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์แพนكريเอติกแอลฟาอะมิเลส (pancreatic α -amylase) และเอนไซม์อะมิโลกลูโคซิเดส (amylglucosidase) ที่ 34 องศาเซลเซียส ได้มากที่สุด จึงทำให้สามารถสร้าง RS ได้สูงถึง 42% นอกจากนี้ Fredriksson et al. (2000) รายงานว่า การใช้ temperature cycle ในการรีโทรเกรดเจล waxy maize starch และ high-amylopectin potato starch มีผลทำให้การย่อยอะมิโลเพกทินด้วยเอนไซม์ α -amylase เกิดขึ้นช้าลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Haynes et al. (2002) ที่รายงานว่า การบ่มแป้งสตาร์ช Hylon VII ที่อุณหภูมิ nucleation

80 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ propagation 120 องศาเซลเซียส มีผลในการสร้าง RS ได้ปริมาณสูงสุด

2.6 การดึงน้ำออก

การดึงน้ำออก (dehydration) หรือการทำแห้ง (drying) หมายถึง การใช้ความร้อนภายใต้สภาวะควบคุมเพื่อกำจัดน้ำส่วนใหญ่ที่อยู่ในอาหาร โดยมีกลไกการทำแห้ง คือ เมื่ออากาศหรือลมร้อนพัดผ่านผิวหน้าอาหารที่เปียก ความร้อนจะถูกถ่ายเทไปยังผิวของอาหาร และน้ำในอาหารจะระเหยออกมาด้วยความร้อนแฝงของการเกิดไอ ไอน้ำจะแพร่ผ่านฟิล์มอากาศและถูกพัดพาไปโดยลมร้อนที่เคลื่อนที่ ซึ่งสภาวะดังกล่าวจะทำให้ความดันไอที่ผิวหน้าของอาหารต่ำกว่าความดันไอด้านในของอาหารเป็นผลให้เกิดความแตกต่างของความดันไอน้ำขึ้น อาหารชั้นด้านในจะมีความดันไอสองและค่อย ๆ ลดต่ำลงเมื่อชั้นอาหารเข้าใกล้อากาศแห้ง ความแตกต่างนี้ทำให้เกิดแรงดันเพื่อไล่น้ำออกจากอาหาร ซึ่งน้ำจะเคลื่อนที่ไปยังผิวหน้าด้วยกลไกดังต่อไปนี้ คือ การเคลื่อนที่ของของเหลวโดยแรงแคปิลารี การแพร่ของของเหลวซึ่งเกิดจากความแตกต่างของความเข้มข้นของตัวทำละลายในอาหารส่วนใหญ่ การแพร่ของของเหลวซึ่งถูกดูดซับโดยผิวหน้าของแข็งในอาหาร และการแพร่ของไอน้ำในช่องอากาศของอาหาร ซึ่งเกิดจากความแตกต่างของความดันไอ (วิลโลว์ รังสาตทอง, 2543)

เมื่อนำอาหารมาใส่เครื่องทำแห้ง ช่วงเวลาสั้น ๆ ตอนเริ่มต้นของการทำแห้ง จะเป็นเวลาที่ใช้ในการทำให้ผิวหน้าของอาหารมีอุณหภูมิสูงขึ้นถึงอุณหภูมิระเปาะเปียก แล้วจึงเริ่มการทำแห้ง โดยน้ำจะเคลื่อนที่จากด้านในของอาหารออกมาด้วยอัตราเร็วเท่ากับน้ำที่ระเหยออกจากผิวหน้า ผิวหน้าอาหารจึงยังเปียกอยู่ ซึ่งจะเรียกช่วงนี้ว่า ช่วงอัตราเร็วคงที่ และช่วงต่อเนื่องไปจนถึงความชื้นวิกฤต (critical moisture content) ซึ่งจะมีค่าไม่เท่ากันในอาหารแต่ละชนิด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณของอาหารในเครื่องทำแห้งและอัตราการทำให้แห้ง เมื่อความชื้นของอาหารลดต่ำกว่าความชื้นวิกฤต อัตราการทำแห้งก็จะลดลงจนเข้าใกล้ศูนย์ที่ความชื้นสมดุล (ความชื้นในอาหารสมดุลกับความชื้นในอากาศแห้ง) หรือเรียกว่า ช่วงอัตราลดลง (falling-rate period) ซึ่งในช่วงนี้จะมีอัตราการเคลื่อนที่ของน้ำจากภายในอาหารมายังผิวหน้าจะต่ำกว่าอัตราการระเหยของน้ำไปยังอากาศโดยรอบ จึงส่งผลให้ผิวหน้าแห้ง ปัจจัยที่ควบคุมอัตราการทำให้แห้งจะเปลี่ยนไปในช่วงอัตราลดลง ปัจจัยที่สำคัญในช่วงแรกจะคล้ายคลึงกับช่วงอัตราเร็วคงที่ แต่อัตราการถ่ายเทมวลจะค่อย ๆ กลายเป็นปัจจัยควบคุมการทำแห้งที่สำคัญขึ้น (วิลโลว์ รังสาตทอง, 2543)

2.6.1 ชนิดของการทำแห้ง

2.6.1.1 การทำแห้งแบบฉีดพ่นฝอย (spray drying) (วิลโลว์ รังสาตทอง, 2543)

อาหารที่ผ่านการทำให้ชื้นมาแล้วจะถูกทำให้กระจายโดยเครื่องอะตอมไมเซอร์ (atomizer) และกลายเป็นอนุภาคหรือหยดน้ำเล็ก ๆ ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-200 ไมโครเมตร และถูกพ่นเข้าไปยังกระแสลมร้อนที่อุณหภูมิ 150-300 องศาเซลเซียส ในถังอบขนาดใหญ่ ซึ่งมีการควบคุมอัตราการส่งวัตถุดิบเพื่อให้อุณหภูมิของอากาศที่จุดทางออกเท่ากับ 90-100 องศาเซลเซียส โดยเครื่อง atomizer นั้นมีอยู่ด้วยกันหลายแบบ ดังนี้ เช่น ตรีฟิวกัลป์ อะตอมไมเซอร์ (centrifugal atomizer) เพรสเชอร์ นอสเชล อะตอมไมเซอร์ (pressure nozzle atomizer) และทวูฟลูอิด นอสเชล อะตอมไมเซอร์ (two-fluid nozzle atomizer)

ข้อดีที่สำคัญของเครื่องอบแห้งนี้ คือ ใช้เวลานสั้น สามารถผลิตอาหารแบบต่อเนื่องในปริมาณมากได้ ใช้แรงงานต่ำ การใช้และดูแลรักษาง่าย แต่ข้อจำกัดอยู่ที่ใช้เงินลงทุนสูง และอาหารที่จะส่งเข้ามาต้องมีความชื้นสูงเพื่อให้มั่นใจว่าสามารถที่จะป้อนเข้ามาในเครื่องอะตอมไมเซอร์ได้ ทำให้ต้องใช้พลังงานเพื่อกำจัดความชื้นและเกิดการสูญเสียสารหอมระเหยสูง

2.6.1.2 การทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum drying)

การทำแห้งแบบลูกกลิ้งนี้จะใช้เครื่องอบแห้งที่อาจประกอบด้วยลูกกลิ้งที่ทำจากโลหะ เหล็กทรงกระบอกกลมวง 1 หรือ 2 ลูกก็ได้ โดยอาศัยหลักการนำความร้อนจากแหล่งกำเนิดผ่านบนผิวลูกกลิ้ง (พรศักดิ์ มนต์ศิริเพ็ญ, 2534) ซึ่งจะมีการให้ความร้อนกับลูกกลิ้งซึ่งจะหมุนอย่างช้า ๆ โดยใช้ไอน้ำความดันสูงที่อุณหภูมิ 120-170 องศาเซลเซียส อาหารจะแผ่เป็นชั้นบาง ๆ อย่างสม่ำเสมอบนผิวของลูกกลิ้งโดยการจุ่ม การฉีดพ่น หรือการแผ่บาง ๆ อาหารแห้งนี้จะถูกขูดออกโดยใบมีดซึ่งจะสัมผัสกับผิวของลูกกลิ้งอย่างสม่ำเสมอก่อนที่จะลูกกลิ้งจะหมุนครบ 1 รอบ (ภายใน 20-30 วินาที) เครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้งให้อัตราการอบแห้งและประสิทธิภาพการใช้พลังงานสูง เหมาะกับอาหารเหลวที่มีขนาดของอนุภาคใหญ่เกินกว่าจะใช้เครื่องอบแห้งแบบฉีดพ่นฝอย แต่อย่างไรก็ตามต้องใช้เงินลงทุนสูงและอาหารที่ไวต่อความร้อนอาจเกิดความเสียหายได้ (วิไล รัตสาทอง, 2543)

2.6.1.3 การทำแห้งแบบแฟลช (flash drying) (วิไล รัตสาทอง, 2543)

การทำแห้งแบบ flash drying หรือรู้จักกันในชื่อของ pneumatic drying เป็นการทำให้ที่อาศัยอากาศร้อนในการพาความชื้นออกจากตัวอย่างอาหาร โดยอาหารที่เป็นชิ้นหรือผงจะถูกอบแห้งอย่างต่อเนื่องอยู่ในเครื่องอบแห้งนี้ ชิ้นอาหารที่มีความชื้นมากกว่า 40% จะแขวนลอยอยู่ในอากาศร้อน ซึ่งจะมีการปรับความเร็วลมเพื่อให้ชิ้นอาหารอยู่แยกกัน ซึ่งอาหารที่เบาหรือเล็กกว่าจะแห้งเร็วกว่า การทำแห้งชนิดนี้ให้อัตราการทำแห้งและประสิทธิภาพของความร้อนสูง ควบคุมสภาวะการอบแห้งได้ดี นิยมใช้วิธีนี้หลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย เพื่อผลิตอาหารที่มีความชื้นต่ำกว่า

ปกติ เช่น นมแบบพิเศษ ไข่ผง เป็นต้น

2.6.1.4 การทำแห้งแบบระเหิด (freeze drying) (วิไล รัตนาทอง, 2543)

ขั้นตอนแรกของการทำแห้งโดยวิธีนี้ คือ การแช่เยือกแข็งอาหาร โดยชนิดของเครื่องแช่เยือกแข็งขึ้นอยู่กับลักษณะของอาหาร อาหารชิ้นเล็ก ๆ จะถูกแช่เยือกแข็งแบบรวดเร็ว เพื่อให้เกิดผลึกน้ำแข็งขนาดเล็กและเพื่อลดความเสียหายที่จะเกิดกับเซลล์ของอาหาร เมื่อความดันไอของอาหารต่ำกว่า 4.58 ทอร์ และน้ำเกิดการเยือกแข็ง เมื่อได้รับความร้อน น้ำแข็งจะระเหิดไปเป็นไอทันทีโดยไม่ผ่านการละลาย ไอน้ำจะถูกกำจัดออกจากอาหารแบบต่อเนื่องด้วยการรักษาความดันในตู้ให้ต่ำกว่าความดันไอน้ำที่ผิวของน้ำแข็ง ไอน้ำจะถูกกำจัดออกไปด้วยปั๊มสุญญากาศและกลั่นตัวบนหลอดทำความเย็น เมื่อกระบวนการทำแห้งดำเนินต่อไป ผิวหน้าของการระเหิดจะเคลื่อนที่เข้าไปในอาหาร ความร้อนแฝงของการระเหิดจะเคลื่อนที่ผ่านอาหารไปยังผิวหน้าของการระเหิด ไอน้ำจะเคลื่อนที่และถูกกำจัดออกไปจากอาหารโดยผ่านช่องน้ำแข็งที่ระเหิดไป การทำแห้งอาหารจะเกิดขึ้นใน 2 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกโดยการระเหิดจนเหลือความชื้นประมาณ 15% และขั้นตอนที่ 2 คือ การทำแห้งโดยการกำจัดน้ำที่ยังเป็นของเหลวจนมีความชื้นประมาณ 2% การกำจัดน้ำเกิดขึ้นโดยการเพิ่มอุณหภูมิในเครื่องทำแห้งจนมีอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้อง โดยยังรักษาความดันต่ำอยู่

2.6.1.5 การเอกซ์ทรูชัน (extrusion)

การเอกซ์ทรูชันหรือการดันผ่านเกลียวอัดเป็นกระบวนการตัดแปรแปรงทางกายภาพ ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งในการปรับปรุงคุณสมบัติของแป้งธรรมชาติ (native starch) โดยปราศจากการใช้สารเคมี ซึ่งจะมีผลให้แป้งสตาร์ชเกิดการเจลดิจในเซชันบางส่วน (partial gelatinization) หรือเกิดการทำลายโครงสร้างส่วนที่เป็นผลึกและการแตกหักของโมเลกุลของสตาร์ช รวมถึงการสูญเสียสภาพของโปรตีนและการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างสตาร์ชและไขมัน และระหว่างโปรตีนและไขมัน Hagenimana, Ding, and Fang (2006) และ Haralampu (2000) กล่าวว่า การเพิ่มปริมาณ RS ในอาหารประเภทแป้งหลังผ่านกระบวนการเอกซ์ทรูชันสามารถทำได้โดยการทำใหเย็น (cooling) เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดผลึก

เอกซ์ทรูชันเป็นกระบวนการที่ทำให้เกิดรูปร่างโดยการบังคับสารที่อ่อนตัวหรือหลอมเหลวผ่านรูหรือได (die) ด้วยความดัน ซึ่งจะรวมหลาย ๆ กรรมวิธีเข้าด้วยกัน เช่น การผสม การต้ม การนวด การเลื่อน การขึ้นรูป เป็นต้น เรื่องเอกซ์ทรูเดอร์จึงเป็นเครื่องมือสำหรับการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและรูปร่างของอาหาร ปัจจัยหลักที่มีผลต่อลักษณะผลิตภัณฑ์มากที่สุด คือ สภาพการเดินเครื่องและคุณสมบัติทางรีโอโลยีของอาหาร พารามิเตอร์ที่สำคัญที่สุดของการเดินเครื่อง คือ อุณหภูมิบารเรล ความดัน รูปแบบของได และอัตราการเฉือน (shear rate) โดยแรง

เนื้อจะขึ้นอยู่กับ การออกแบบภายในของสกรู ความเร็วและรูปร่างของสกรู ส่วนคุณสมบัติของ ส่วนผสมที่ป้อนเข้าเครื่องที่มีผลต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ออกมา ได้แก่ ความชื้น ขนาดของสาร และองค์ประกอบทางเคมี โดยเฉพาะปริมาณและชนิดของแป้ง โปรตีน ไขมันและน้ำตาล (รุ่งนภา พงษ์สวัสดิ์มานิต, 2544)

การทำงานของเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์จะเริ่มจากเติมวัตถุดิบถูกลงไปที่ส่วนรับวัตถุดิบ (feed hopper) จากนั้นส่งผ่านไปที่ตัวเอกซ์ทรูเดอร์ วัตถุดิบที่ได้รับการผสม เกิดการหลอมเหลวอยู่ในรูปคล้ายพลาสติก เนื่องจากความดันสูง อุณหภูมิสูง และแรงเฉือน (shear force) ที่เกิดขึ้นในบารเรล จากนั้นวัตถุดิบถูกปรับเปลี่ยนสภาพให้อยู่ในรูปของโดและเคลื่อนที่ไปตามทิศทางการหมุนของสกรู ช่วงระยะที่ผ่านตัวเอกซ์ทรูเดอร์นี้ โดถูกทำให้สุกและทำให้เกิดรูปร่างโดยผ่านหน้าแปลน ซึ่งมีรูเปิดหรือช่องอยู่ส่วนปลายของเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์ ได้ผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า เอกซ์ทรูเดต และมีรูปร่างตามรูเปิดที่หัวโด (กมลวรรณ แจ่มชัด, 2541) ในระหว่างกระบวนการแปรรูปนั้น วัตถุดิบเกิดการเปลี่ยนแปลงหลายรูปแบบทั้งทางด้านโครงสร้างและด้านเคมี อาทิเช่น การเกิดเจลลาติไนซ์ของสตาร์ช (gelatinization) การสูญเสียสภาพทางธรรมชาติของโปรตีน (denaturation) การเกิดสารประกอบของอะมิโลสและไขมัน (amylose-lipid complexes) การเกิดผลิตภัณฑ์ของมิลลาร์ด (millard products) รวมทั้งการเสียหายของเม็ดสี (pigments) และวิตามิน (vitamins) เป็นต้น (Harper, 1981)

2.7 รายการอ้างอิง

- กมลวรรณ แจ่มชัด. (2541). การแปรรูปอาหารโดยวิธีเอ็กซ์ทรูชัน. *อุตสาหกรรมเกษตร* 9(2): 4-8.
- กถำณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ. (2550). *เทคโนโลยีของแป้ง*. พิมพ์ครั้งที่ 4 สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- พรศักดิ์ มนต์ศิริเพ็ญ. (2534). การทำแห้งแบบลูกกลิ้งทรงกระบอก. *วารสารอาหาร* 3: 178-181.
- รุ่งนภา พงษ์สวัสดิ์มานิต. (2544). *วิศวกรรมอาหาร : หน่วยปฏิบัติการในอุตสาหกรรม*. พิมพ์ครั้งที่ 2 สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วิไล รังสาดทอง. (2543). *เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร*. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, พิมพ์ครั้งที่ 1 เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชัน, กรุงเทพฯ.
- อรอนงค์ นัยวิกุล. (2547). *ข้าว : วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Anderson, A.K., Guraya, H.S., James, C., and Salvaggio, L. (2002). Digestibility and pasting properties of rice starch heat-moisture treated at the melting temperature (T_m). *Starch/Stärke* 54: 401-409.

- Berry, C.S., I'Anson, I., Miles, M.J., Morris, V.J., and Russell, P.L. (1988). Physical-chemical characterization of resistant starch from wheat. **Journal of Cereal Science** 8: 203-206.
- Brouns, F., Kettlitz, B., and Arrigoni, E. (2002). Resistant starch and the butyrate revolution. **Trends in Food Science and Technology** 13:251-261.
- Buleon, A., Colonna, P., Planchot, V., and Ball, S. (1998). Starch granules : structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules** 23: 85-112.
- Chiu, C.W., Henley, M., and Altieri, P. (1994). Process for making amylase resistant starch from high amylose starch. **US patent# 5, 281, 276.**
- Czuchajowska. Z., Sievert, D., and Pomeranz, Y. (1991). Enzyme-resistant starch. IV. Effects of complexing lipids. **Cereal Chemistry** 68(5):537-42.
- Derycke, V. et al. (2005). Starch gelatinization and amylose-lipid interactions during rice parboiling investigated by temperature resolved wide angle X-ray scattering and differential scanning calorimetry. **Journal of Cereal Science** 42(3): 334-343.
- Eerlingen, R.C., Crombez, M., and Delcour, J.A. (1993). Enzyme-resistant starch. I. Quantitative and qualitative influence of incubation time and temperature of autoclave starch on resistant starch formation. **Cereal Chemistry** 70 (3): 339-344.
- Eerlingen, R.C., and Delcour, J.A. (1995). Formation, Analysis, Structure and Properties of TypeIII Enzyme Resistant Starch. **Journal of Cereal Science** 22: 129-138.
- Eerlingen, R.C., Jacobs, H., and Delcour, J.A. (1994). Enzyme-resistant starch V. Effect of retrogradation of waxy maize starch on enzyme susceptibility. **Cereal Chemistry** 71(4): 351-355.
- Eerlingen, R.C., Crombez, M., and Delcour, J.A. (1993). Enzyme-resistant starch. I. Quantitative and qualitative influence of incubation time and temperature of autoclave starch on resistant starch formation. **Cereal Chemistry** 70 (3): 339-344.
- Englyst, H.N., and Hudson, G.J. (1992). The classification and measurement of dietary carbohydrates. **Food Chemistry** 57: 15-21
- Escarpa, A., Gonzalez, M.C., Morales, M.D., and Saura-Calixto, F. (1997). An approach to the influence of nutrients and other food constituents on resistant starch formation. **Food Chemistry** 60(4):527-32.
- Euresta (European Flair Concerted Action on resistant starch). Department of Human Nutrition, Wageningen Agricultural Univerisity, The Netherlands, (1992). **Newsletter III** 7.

- Gonzalez-Soto, R.A., Agama-Acevedo, E., Solorza-Feria, J., Rendon-Villalobos, R., and Bello-Perez, L.A. (2004). Resistant starch made from banana starch by autoclave and debranching. **Starch/Stärke** 56: 495-499.
- Guraya, H.M., Jame, C., and Champagne, E.T. (2001). Effect of enzyme concentration and storage temperature on the formation of slowly digestible starch from cooked debranched rice starch. **Starch/Stärke** 53:131-139.
- Hagenimana, A., Ding, X., and Fang, T. (2006). Evaluation of rice flour modified by extrusion cooking. **Journal of Cereal Science** 43: 38-46.
- Hamaker, B., and Han, X.-Z. (2004). Slowly digestible starch. Purdue Research Foundation. **Patent WO # 2004/066955 A2**.
- Han, X. Z., et al. (2006). Development of a Low Glycemic Maize Starch: Preparation and Characterization. **Biomacromolecules** 7:1162-1168.
- Harper, J.M. (1981). **Extrusion of food**. Vol. I. CRC Press, Florida.
- Haralampu, S.G. (2000). Resistant starch-a review of the physical properties and biological impact of RSIII. **Carbohydrate Polymers** 41: 285-292.
- Haynes, L., et al. (2002). Enzyme-resistant starch for reduced calorie flour replacer. **US Patent #6,352,733 B1**.
- Hizukuri, S. (1985). Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin and crystalline structure of starch granule. **Carbohydrate Research** 141: 295-306.
- Hoover, H., and Vasanthan, T. (1994). Effect of heat-moisture treatment on the structure and physiochemical properties of cereal, legume, and tuber starches. **Carbohydrate Research** 252: 33-53.
- Hoebler, C., Karinthi, A., Chiron, H., Champ, M., and Barry, J.L. (1999). Bioavailability of starch in bread rich in amylose: metabolic response in healthy subjects and starch structure. **European Journal of Clinical Nutrition** 53: 360-366.
- Jacobs, H., and Delcour, J.A. (1998). Hydrothermal Modification of Granular Starch, with Retention of the Granular Structure: A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 46: 2895-2905.
- Jane, J.-L., Wong, K.-S., and McPherson, A.E. (1997). Branch-structure difference in starches of A- and B-type X-ray patterns revealed by their naegeli dextrans. **Carbohydrate Research** 300:219-227.

- Jenkins et al. (2002). Glycemic index: overview of implications in health and disease. **American Journal of Clinical.**
- Juliano, B.O. (1984). Rice starch: production, properties and uses. In R.L. Whistler, J.N. Bemiller, and E.F. Paschall (Eds.). **Starch: chemistry and technology** (pp. 507-529). 2nd Ed. Academic Press, Florida.
- Koksel, H., Masatcioglu, T., Kahraman, K., Ozturk, S., and Basman, A. (2008). Improving effect of lyophilization on functional properties of resistant starch preparations formed by acid hydrolysis and heat treatment. **Journal of Cereal Science** 47: 275-282.
- Lehmann, U., and Robin, F. (2007). Slowly digestible starch-its structure and health implications : a review. **Trends in Food Science and Technology** 1-10.
- Leong, Y.H., Karim, A.A., and Norziah, M.H. (2007). Effect of Pullulanase Debranching of Sago (*Metroxylon sago*) Starch at Subgelatinization Temperature on the Yield of Resistant Starch. **Starch/Stärke** 59: 21-32.
- Martin, C., and Smith, A. M. (1995). Starch biosynthesis. **Plant Cell** 7: 971-985.
- Novo industri A/S Enzyme Division. (1983). **Method for the determination of pullulanase activity**. Denmark: Novo Industri A/S.
- Ranhotra, G.S., Gelroth, J.A., and Glaser, B.K. (1996). Energy value of resistant starch. **Journal of Food Science** 61(2):453-5.
- Ring, S.G., Gee, J.M., Whittam, M., Orford, P., and Johnson, I. (1988). Resistant starch. its chemicalform in foodstuffs and effect on digestibility in vitro. **Food Chemistry** 28:97-109.
- Sajilata, M.G., Singhal, R.S., and Kulkarni, P.R. (2006). Resistant Starch-A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** 5:1-17.
- Schmidl, D., Baurelein, M., Bengs, H., and Jacobasch, G. (2000). Production of heatstable, butyrogenic resistant starch. **Carbohydrate Polymers** 43: 183-193.
- Schmiedel, D., Konig, B. J., Jacobasch, G. (2003). Processing for preparing resistant starch. **US patent# 6, 623, 943.**
- Shamai, K., Bianco-Peled, H., and Shimoni, E. (2003). Polymorphism of resistant starch type III. **Carbohydrate Polymers** 54: 363-369.
- Shi, Y.C., Cui, X., Birkett, A., and Thatcher, M.G. (2003). Slowly digestible starch product. National Starch and Chemical Investment Holding Corporation. **Patent EP # 1362919 A1.**

- Shin, S.I., Kim, H.J., Ha, H.J., Lee, H.S., and Moon, T.W. (2005). Effect of hydrothermal treatment on formation and structural characteristics of slowly digestible non-pasted granular sweet potato starch. **Starch/Stärke** 57: 421-430.
- Shin, S.I., et al. (2004). Slowly digestible starch from debranched waxy sorghum starch: preparation and properties. **Cereal Chemistry** 81: 404-408.
- Siljestrom, M., Eliasson, A.-C., and Bjorck, I. (1989). Characterization of resistant starch from autoclaved wheat starch. **Starch/Stärke** 41: 147-151.
- Tester, R.F., Karkalas, J., and Qi, X. (2004). Starch structure and digestibility enzyme substrate relationship. **World's Poultry Science Journal** 60:185-195.
- Thompson, D.B. (2000). Strategies for the manufacture of resistant starch. **Trends in Food Science and Technology** 11: 245-253.
- Whister, R.L., and Deniel, J.R. (1984). Molecular structure of starch. In R.L. Whistler, J. N. BeMiller, and E. F. Paschall (Eds.). **Starch : chemistry and technology** (pp.153-178). 2nd Ed. Academic Press, Inc., Florida.
- Yue P., and Waring, S. (1998). Functionality of resistant starch in food applications. **Food Australia** 50(12):615–21.
- Zobel, H.F. (1988). Molecules to granules: A comprehensive starch review. **Starch/Stärke** 40(2): 44-50.

บทที่ 3

ผลของสภาวะการบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งต่อการสร้างแป้งสตาร์ชข้าว ทนย่อยต่อเอนไซม์

Effect of aging conditions on resistant starch formation of debranched rice starch

3.1 บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะการบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งต่อการสร้างแป้งสตาร์ชข้าวทนย่อยต่อเอนไซม์ (resistant starch, RS) โดยเตรียมแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งที่ความเข้มข้น 14.5% ร่วมกับปริมาณเอนไซม์พอลูกลูตาเนส 60 พอลูกลูตาเนสยูนิตต่อกรัมแป้ง และระยะเวลาการตัดกิ่ง 24 ชั่วโมง ซึ่งมีปริมาณ RS เกิดขึ้น 15.90% จากนั้นทำการปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดโดยวิธีการกรองแบบสุญญากาศและการทำแห้งแบบสุญญากาศเป็นเวลา 8 ชั่วโมง เพื่อนำมาศึกษาผลของสภาวะการบ่มโดยปัจจัยที่ศึกษาประกอบด้วย ปริมาณของแข็ง ระยะเวลาการบ่ม การบ่มแบบอุณหภูมิเดียว และการบ่มแบบอุณหภูมิวนรอบ ซึ่งพบว่า การเพิ่มปริมาณของแข็ง 15-30% ไม่มีผลต่อการสร้าง RS ($p > 0.05$) ทั้งการบ่มที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีปริมาณ RS เกิดขึ้นในช่วง 27-29% สำหรับการบ่มที่ 4 องศาเซลเซียส และ 27-28% สำหรับการบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส การเพิ่มระยะเวลาการบ่มจาก 24 เป็น 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS จาก 27-28% เป็น 29-30% แต่ไม่มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS สำหรับการบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งแบบอุณหภูมิเดียวที่ 4, 25, 50, 80 และ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมงมีผลต่อการสร้าง RS ($p < 0.05$) โดยการบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงสุด 33.22% แสดงรูปแบบผลึกชนิด B+V ซึ่งเหมือนกับการบ่มที่อุณหภูมิ 4, 25 และ 80 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณความเป็นผลึกในช่วง 16-21% สำหรับการบ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส แสดงรูปแบบผลึกชนิด C+V ส่วนอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสของตัวอย่างหลังบ่ม ซึ่งตรวจวัดด้วย DSC นั้นสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิการบ่มเพิ่มขึ้น

การบ่มในสภาวะอุณหภูมิวนรอบที่อุณหภูมิการเกิดนิวเคลียส 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิการเติบโตผลึก 80 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาการบ่ม 48 ชั่วโมง พบว่าการบ่มแบบวนรอบโดยใช้จำนวนรอบ 3 รอบ และใช้ระยะเวลาการเติบโตผลึกนานกว่าการเกิดนิวเคลียสมีปริมาณ RS

เกิดขึ้น 32% แสดงลักษณะผลึกชนิด B+V ขณะที่การบ่มแบบวนรอบ 3.5 รอบ ซึ่งใช้ระยะเวลาการเติบโตผลึกสั้นกว่ามีปริมาณ RS เกิดขึ้น 37% โครงสร้างผลึกที่ได้เป็นชนิด B+V เหมือนกัน และมีปริมาณผลึกไม่แตกต่างกันในช่วง 26-28% สำหรับการบ่มแบบวนรอบ 3.5 รอบ โดยใช้อุณหภูมิการเกิดนิวเคลียส 30 และ 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณ RS ไม่แตกต่างกัน ขณะที่การเพิ่มอุณหภูมิการเติบโตผลึกจาก 80 เป็น 120 องศาเซลเซียส มีผลในการลดการสร้าง RS นอกจากนี้ยังทำให้ช่วงอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสสูงขึ้นจาก 88-110 องศาเซลเซียส เป็น 108-125 องศาเซลเซียส และมีลักษณะโครงสร้างผลึกเปลี่ยนแปลงจากชนิด B+V เป็นชนิด A+V

3.2 บทนำ

ในปัจจุบันผู้บริโภคมีความสนใจในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพมากขึ้น การบริโภคอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีแป้งทนย่อยต่อเอนไซม์ (resistant starch, RS) เป็นส่วนผสมมีประโยชน์ต่อร่างกายในด้านต่าง ๆ มากมาย เนื่องจาก RS มีคุณสมบัติเทียบเท่ากับเส้นใยอาหาร (dietary fiber) (Yue and Waring, 1998) ซึ่งไม่สามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์ในลำไส้เล็กได้ ดังนั้นจึงผ่านเข้าสู่ลำไส้ใหญ่และถูกหมักโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่เกิดเป็นกรดไขมันสายสั้น ที่จะมีบทบาทสำคัญในการป้องกันโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ (Sajilata, Singha, and Kulkarni, 2006) และยังมีบทบาทในการลดคอเลสเตอรอลในเส้นเลือด จึงลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ และ โรคเบาหวานได้ (Ranhotra, Gelroth, and Glaser, 1996) จากผลทางบวกของ RS ต่อสุขภาพ นักวิจัยและนักเทคโนโลยีอาหารจึงพยายามที่จะใช้เทคโนโลยีต่าง ๆ ในด้านการผลิตเข้ามาช่วยในการเพิ่มปริมาณ RS

RS แบ่งออกได้เป็น 4 ชนิดตามลักษณะและแหล่งที่มา แต่ RS ชนิด 3 (RS₃) ได้รับความสนใจมากกว่าชนิดอื่นๆ เนื่องจากสามารถรักษาคุณค่าทางโภชนาการของอาหารในระหว่างกระบวนการหุงต้มได้ โดยโครงสร้างส่วนผลึกของ RS₃ แสดงการเปลี่ยนเฟส (endothermic transition) ที่อุณหภูมิ 120-165 องศาเซลเซียส (Han, Ao, Janaswamy, Jane, Chandrasekaran, and Hamaker, 2006) ดังนั้นจึงสามารถใช้ RS₃ เป็นส่วนประกอบในอาหาร (food ingredient) ได้ ซึ่งการเกิด RS₃ เกี่ยวข้องกับ 2 กระบวนการหลัก ๆ ด้วยกัน คือ กระบวนการเจลาติไนเซชัน และกระบวนการรีโทรเกรเดชัน โดยกระบวนการเจลาติไนเซชันนั้นจะทำให้โครงสร้างของเม็ดสตาร์ช (granule) ถูกทำลายโดยการให้ความร้อนกับน้ำแป้งในปริมาณน้ำที่มากเกินไป (Farhat, Protzmann, Valles-Pamies, Neale, and Hill, 2001) และกระบวนการรีโทรเกรเดชัน ซึ่งจะทำให้โมเลกุลของแป้งสตาร์ชเกิดการ recrystallization อย่างช้า ๆ ภายใต้การลดอุณหภูมิและตามด้วยการดึงน้ำออก (dehydration) (Sivak and Preiss, 1998)

Shi, Cui, Birkett, and Thatcher (2003) ได้ทำการผลิต RS จากแป้งสตาร์ชข้าวโพดที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำ (waxy maize starch) และแป้งสตาร์ชมันฝรั่ง (waxy potato starch) โดยการใช้

เอนไซม์ isoamylase ในการตัดกิ่งของอะมิโลเพกทิน จากนั้นทำการรีโทรเกรดที่อุณหภูมิห้องเพื่อทำการสร้างผลึกให้กับแป้งสตาร์ชที่ถูกตัดกิ่ง (debranched starch) และตามด้วยการแยกแป้ง RS ที่ได้โดยใช้วิธีการกรอง (filtration) ตามด้วยการทำแห้งโดยอากาศ (air-dried) ซึ่งสามารถสร้าง RS ได้มากกว่า 80% และมี melting temperature (T_m) สูงกว่า 110 องศาเซลเซียส และ 120 องศาเซลเซียส สำหรับแป้งสตาร์ชมันฝรั่งและแป้งสตาร์ชข้าวโพดตามลำดับ และจากการศึกษาของ Gonzalez-Soto, Agama-Acevedo, Solorza-Feria, Rendon-Villalobos, and Bello-Perez (2004) ซึ่งได้ทำการผลิต RS จากแป้งสตาร์ชกล้วย (banana starch) โดยใช้วิธีการ autoclave ร่วมกับการใช้เอนไซม์ตัดพันธะกิ่ง (pullulanase) ที่เวลาต่าง ๆ ซึ่งพบว่าปริมาณ RS ที่ได้จากการตัดกิ่งอะมิโลเพกทินที่เวลาต่าง ๆ มีค่ามากกว่าปริมาณ RS ในแป้งสตาร์ชกล้วยที่ไม่ผ่านการตัดกิ่ง แสดงว่าการตัดกิ่งอะมิโลเพกทินของแป้งสตาร์ชกล้วยส่งผลให้แป้งสตาร์ชกล้วยมีปริมาณ RS เพิ่มขึ้นประมาณ 2 เท่า (จาก 9 % เป็น 18 %) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Berry (1986) ที่ว่าการตัดพันธะกิ่งของแป้งสตาร์ชส่งผลให้เกิดโมเลกุลสายโซ่ที่เป็นเส้นตรงที่สนับสนุนให้เกิด RS ในปริมาณสูง โดย Eerlingen and Delcour (1995) รายงานว่า degree of polymerization (DP) ของโมเลกุลสายโซ่ที่เป็นเส้นตรงมีผลกระทบต่อปรากฏการณ์รีโทรเกรเดชันของแป้ง ขณะที่ Schmieidl, Baurelein, Bengs, and Jacobasch (2000) รายงานว่า DP ประมาณ 20 หน่วยกลูโคสเหมาะสมต่อการสร้าง RS ในปริมาณสูง ดังนั้นการตัดกิ่งอะมิโลเพกทินจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะทำให้สามารถผลิตแป้งสตาร์ชที่มีปริมาณ RS สูงขึ้นได้จากแป้งสตาร์ชที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำ

การเพิ่มผลผลิตของ RS_3 นอกจากการใช้เอนไซม์ตัดพันธะกิ่งแล้ว ยังพบว่าเมื่อที่อุณหภูมิเนื่องมาจากสภาวะการบ่ม (aging conditions) ซึ่งโดยทั่วไปจะเกี่ยวข้องกับระยะเวลาและอุณหภูมิในการบ่ม ทั้งนี้เพราะ RS_3 เป็น retrograded starch โดยปริมาณ RS จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบ่ม โดยเฉพาะการบ่มที่อุณหภูมิต่ำ (Sajilata, Singhal, and Kulkarni, 2006) ซึ่ง Agama-Acevedo, Rendon-Villalobos, Tovar, Parades-Lopez, Islas-Hernandez, and Bello-Perez (2004) รายงานว่า maize flour tortillas ที่บ่มที่อุณหภูมิต่ำ 48 ชั่วโมง มีปริมาณ available starch ลดลง ในขณะที่มีปริมาณ RS เพิ่มขึ้น ซึ่งเกิดเนื่องจากปรากฏการณ์รีโทรเกรเดชันเป็นหลัก เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Islas-Hernandez et al. (2006) ที่พบว่า corn tortillas ที่บ่มที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิต่ำเย็น (refrigeration) มีปริมาณ RS เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบ่ม และ corn tortillas ที่บ่มที่อุณหภูมิต่ำเย็นมีปริมาณ RS สูงกว่าการบ่มที่อุณหภูมิห้อง นอกจากนี้จากการศึกษาของ Kettlitz, Coppin, Roper, and Bomet (2000) พบว่าการรีโทรเกรเดชันที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ของมอลโต-เดคซ์ทรินแป้งสตาร์ชมันฝรั่งที่ผ่านการตัดกิ่งโดยใช้เอนไซม์ไอโซอะมิเลส มีปริมาณ RS สูงกว่าการรีโทรเกรเดชันที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เล็กน้อย และการเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของมอลโตเดคซ์ทรินแป้งสตาร์ชมันฝรั่งตัดกิ่งจาก 10% เป็น 30% พบว่า มีปริมาณ RS ลดลง

เล็กน้อย ขณะที่การศึกษาของ Lehmann, Jacobasch, and Schmiedl (2002) พบว่าการเพิ่มปริมาณของแข็งของเจลแป้งสตาร์ชกล้วยตัดกิ่ง (debranched banana starch) จาก 10% เป็น 20% (w/w) และผ่านการรีโทรเกรดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS ขณะที่การรีโทรเกรดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS และจากการศึกษาของ Schmiedel, König, and Jacobasch (2003) รายงานว่า การเพิ่มปริมาณของแข็งของเจลแป้งสตาร์ชมันฝรั่งที่มีปริมาณอะมิโลสน้อยกว่า 10% (waxy potato starch) ที่ผ่านการตัดกิ่งจาก 10% เป็น 30% (w/w) และผ่านการรีโทรเกรดที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS ขณะที่จากการศึกษาของ González-Soto, Mora-Escobedo, Hernández-Sánchez, Sánchez-Rivera, and Bello-Pérez (2006) พบว่าระยะเวลาการบ่มไม่มีผลต่อปริมาณ RS ขณะที่อุณหภูมิในการบ่มมีผลต่อปริมาณ RS ของแป้งสตาร์ชกล้วยตัดกิ่ง (debranched banana starch) อย่างมีนัยสำคัญ โดยการบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS เกิดขึ้นน้อยกว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 4 และ 32 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Miao, Jiang, and Zhang (2009) รายงานว่าการตัดกิ่งแป้งสตาร์ชข้าวโพด (waxy maize starch) ด้วยเอนไซม์ pullulanase และตามด้วยการบ่มที่อุณหภูมิ -20, 4 และ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน มีปริมาณสัดส่วนของชนิดสตาร์ชที่แตกต่างกัน โดยการบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS สูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณ RS เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การบ่มแบบอุณหภูมิวนรอบเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS₃ เนื่องจากเป็นสถานะที่เร่งให้เกิดรีโทรเกรดชันรวมถึงมีการสร้างผลึกที่มีความแข็งแรงและมีความเสถียรมากขึ้น โดยทั่วไปกระบวนการเกิดผลึก (crystallization) ของแป้งสตาร์ชประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ การเกิดนิวเคลียสผลึก (nucleation), การเติบโตของผลึก (propagation) และการเกิดผลึกที่สมบูรณ์ (maturation) โดยอัตราการเกิด nucleation และ propagation จะเป็นตัววัดอัตราการเกิด recrystallization ทั้งหมด ในขณะที่อัตราการเกิด maturation จะเกิดได้ดีที่อุณหภูมิสูงเช่นเดียวกับ propagation (Onyango, Jacob, Henle, and Rohm, 2006) ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว nucleation มีอัตราการเกิดสูงที่อุณหภูมิใกล้ ๆ glass transition temperature (T_g) ของแป้งสตาร์ช ขณะที่ propagation จะมีอัตราการเกิดสูงที่อุณหภูมิใกล้ ๆ melting temperature (T_m) ของแป้งสตาร์ช (Eerlingen, Crombez, and Delcour, 1993) ดังนั้นสถานะต่าง ๆ ที่ใช้ในการบ่มแบบอุณหภูมิวนรอบนี้จะเกี่ยวข้องกับการใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเกิด nucleation รวมถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเกิด propagation โดย Eerlingen, Jacobs, and Delcour, (1994) ได้ศึกษาผลของการเกิดรีโทรเกรดชันของแป้งสตาร์ชข้าวโพด (waxy maize starch) ต่อการเกิด RS โดยนำเจล waxy maize starch ที่ผ่านการ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที มาบ่มที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ และพบว่าสถานะการบ่มที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง ตามด้วย 40 องศาเซลเซียส เวลา 29 วัน มีอัตราการเกิด

รีโทรเกรเดชันสูงสุด ซึ่งสามารถสร้าง RS ได้สูงถึง 42% นอกจากนี้จากการศึกษาของ Silverio, Fredriksson, Anderson, Eliasson, and Aman (2000) พบว่าการเกิดรีโทรเกรเดชันของโมเลกุลอะมิโลเพกตินในแป้งสตาร์ชหลายชนิด ได้รับผลกระทบมาจากการบ่มแบบวนรอบที่อุณหภูมิ nucleation 6 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน ตามด้วยการ propagation ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หรือ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน โดยผลึกที่เกิดขึ้นจะถูกหลอมได้ที่อุณหภูมิสูงขึ้น และจากการศึกษาของ Leeman, Karlsson, Eliasson, and Bjorck (2006) รายงานว่าการบ่มแบบวนรอบเจลแป้งสตาร์ชมันฝรั่งที่มีการตัดแปรทางพันธุกรรมให้มีปริมาณอะมิโลส 64% ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตามด้วย 31 องศาเซลเซียส และ 4 องศาเซลเซียส ตามด้วย 100 องศาเซลเซียส มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS เมื่อเปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพียงอย่างเดียว ซึ่งจากการศึกษาของ Park, Baik, and Lim (2009) ก็ให้ผลคล้ายคลึงกัน โดยพบว่าการบ่มแบบวนรอบเจลแป้งสตาร์ชข้าวโพด (waxy maize starch) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตามด้วย 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาทั้งหมด 16 วัน ให้ลักษณะผลึกที่สามารถถูกหลอมได้ที่อุณหภูมิสูงขึ้นและมีค่าเอนทัลปีลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิเดียว นอกจากนี้ยังพบว่าการบ่มแบบอุณหภูมิวนรอบมีผลในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้าง RS ที่มีปริมาณมากกว่าการบ่มแบบอุณหภูมิเดียว

จากงานวิจัยที่ได้รวบรวมมาข้างต้น จะเห็นว่าปัจจัยในด้านสภาวะการบ่มเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเกิด RS ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสภาวะการบ่มต่าง ๆ ต่อการเกิด RS ของแป้งสตาร์ชข้าวคั่วคั่ง ซึ่งประกอบด้วย ปริมาณของแข็ง อุณหภูมิและเวลาในการบ่ม การบ่มแบบอุณหภูมิเดียว การบ่มแบบอุณหภูมิวนรอบ ตลอดจนศึกษาคุณสมบัติทางโครงสร้างผลึกและคุณสมบัติทางความร้อนของแป้งสตาร์ชข้าวคั่วคั่งที่ได้หลังผ่านการบ่มที่สภาวะต่าง ๆ

3.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.3.1 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์พุลูลานเนสทางการค้า (Promozyme D2)

กิจกรรมของเอนไซม์พุลูลานเนสวิเคราะห์ตามวิธีการของ Novo industri A/S (1983) โดยเอนไซม์ pullulanase 1 Pullulanase Unit (PUN) หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยพุลูลานเป็นคาร์โบไฮเดรตรีดิิวซ์ที่มีกำลังรีดิิวซ์สมมูลกับกลูโคส 1 ไมโครโมลต่ออนาที ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ทำการวิเคราะห์โดยเตรียมสารละลายพุลูลานในน้ำปราศจากไอออนความเข้มข้น 0.4% (w/w) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปวางในอ่างน้ำอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์ pullulanase ที่ทำการเจือจาง 10,000 เท่า ในสารละลายอะซิเตรทบัฟเฟอร์พีเอช 5.0 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 นาที หยุดปฏิกิริยาโดยเติม Somogyi's copper reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิิวซ์เทียบกับสารละลายกลูโคสมาตรฐานตามวิธีการของ Somogyi's method

(Somogyi, 1952) สำหรับแบลนด์ ทำการเติม Somogyi's copper reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลายผสมพอลูลานเนสและเอนไซม์ก่อนการบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จำนวนกิจกรรมของเอนไซม์ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกย่อยออกมาได้ต่อนาที โดยเอนไซม์ pullulanase ทางการค้าที่ใช้มีกิจกรรมเท่ากับ 458 PUN/มิลลิลิตร

3.3.2 การเตรียมแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง (debranched rice starch, DBRS)

เตรียมตัวอย่างแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งจากแป้งสตาร์ชข้าวทางการค้า (จากบริษัท โรงเส้นหมีขอเฮง จำกัด, จังหวัดนครปฐม) โดยการเตรียมเจลแป้งสตาร์ชข้าวในสารละลายอะซิเตรทบัฟเฟอร์พีเอช 5.0 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ที่ระดับความเข้มข้น 14.5% (w/w) โดยให้ความร้อนกับสารละลายแป้งสตาร์ชข้าวที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 85 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 นาที ตามด้วยการให้ความร้อนในน้ำเดือดนาน 15 นาที จากนั้นทำให้เย็นถึงอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เติมเอนไซม์ pullulanase ที่ระดับ 60 PUN/ g of starch บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งที่เตรียมได้นี้มีระดับการย่อย (degree of hydrolysis) เท่ากับ 7.17%

3.3.3 การศึกษาผลของปริมาณของแข็งและระยะเวลาในการบ่มต่อการสร้าง RS โดยใช้วิธีการกรองและวิธีการทำแห้งแบบสุญญากาศในการปรับปริมาณของแข็ง

เตรียมตัวอย่างแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งตามวิธีการข้อ 3.3.2 จากนั้นนำมากรองแบบสุญญากาศด้วยกระดาษกรอง No. 595 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 125 มิลลิเมตร (Whatman, Schleicher & Schuell, Germany) ตามด้วยการทำแห้งแบบสุญญากาศ (vacuum drying) ด้วยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ (WYB binder, Tuttlingen, Germany) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ซึ่งจะได้แป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งที่มีปริมาณของแข็งประมาณ 33% จากนั้นปรับปริมาณของแข็งให้ได้ 15%, 22.5% และ 30% (w/w) โดยใช้ น้ำกลั่นที่มีปริมาณโซเดียมเอไซด์ (sodium azide) 0.01% (w/v) และนำแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งที่เตรียมได้ปริมาณ 100 กรัมไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 และ 72 ชั่วโมง ดังแผนการทดลองตารางที่ 3.1 เมื่อครบเวลาการบ่ม นำตัวอย่างไปทำแห้งโดยวิธีระเหิดแห้ง (freeze drying) (Heto FD 8, Heto-Holten A/S, Denmark) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการใช้ในโครเจนเหลวในการแช่แข็ง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) และนำไปร่อนแยกขนาดด้วยเครื่องร่อน (Vibration Sieve Shaker, Fritsch) ให้มีขนาดอนุภาค 75-105 ไมครอน วิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีการของ AOAC (1997) และปริมาณ RS ตามวิธีการของ AOAC method (2002)

ตารางที่ 3.1 แผนการทดลองสำหรับการศึกษาผลของปริมาณของแข็งและระยะเวลาในการบ่มต่อการสร้าง RS เมื่อใช้วิธีการกรองและวิธีการทำแห้งแบบสุญญากาศในการปรับปริมาณของแข็ง

Experiment no.	X ₁ : Solid content (%, w/w)	X ₂ : Aging time (h)	X ₃ : Aging temperature (°C)
1	15	24	4
2	22.5	24	25
3	30	24	4
4	15	24	25
5	22.5	24	4
6	30	24	25
7	15	72	4
8	22.5	72	25
9	30	72	4
10	15	72	25
11	22.5	72	4
12	30	72	25

3.3.4 การศึกษาผลของปริมาณของแข็งและระยะเวลาในการบ่มต่อการสร้าง RS โดยใช้วิธีการระเหิดแห้งในการปรับปริมาณของแข็ง

เตรียมตัวอย่างแป้งสตาร์ชข้าวตดกึ่งตามวิธีการข้อ 3.3.2 จากนั้นนำตัวอย่างไปทำแห้งโดยวิธีระเหิดแห้ง (Freeze drying) (Heto FD 8, Heto-Holten A/S, Denmark) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการใช้ในโตรเจนเหลวในการแช่แข็ง ทำการบดและร่อนผ่านตะแกรงให้มีขนาดอนุภาค 75-105 ไมครอน จากนั้นนำแป้งสตาร์ชข้าวตดกึ่งที่ได้มาเตรียมเจลในสารละลายอะซิเตรทบัฟเฟอร์ พีเอช 5.0 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ที่ระดับความเข้มข้น 30% (w/w) โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปเข้าเครื่อง autoclave (Sanyo Labo autoclave MLS 3020, Sanyo Electric Co., Ltd., Japan) ที่อุณหภูมิเป็น 121 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 นาที ทำให้เย็นและปรับปริมาณของแข็งเป็น 15 และ 22.5% โดยใช้สารละลายอะซิเตรทบัฟเฟอร์ พีเอช 5.0 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จากนั้นนำเจลแป้งสตาร์ชข้าวตดกึ่งความเข้มข้น 15, 22.5 และ 30% ปริมาณ 100 กรัม ไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 และ 72 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาการบ่ม

นำตัวอย่างไปทำแห้งโดยวิธีระเหิดแห้ง (freeze drying) (Heto FD 8, Heto-Holten A/S, Denmark) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการใช้ไนโตรเจนเหลวในการแช่แข็ง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) และนำไปร่อนแยกขนาดด้วยเครื่องร่อน (Vibration Sieve Shaker, Fritsch) ให้มีขนาดอนุภาค 75-105 ไมครอน วิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีการของ AOAC (1997) และปริมาณ RS ตามวิธีการของ AOAC method (2002)

3.3.5 การศึกษาผลของการบ่มแบบอุณหภูมิเดียว (isothermal aging) ต่อการสร้าง RS

เตรียมตัวอย่างแป้งสาลีข้าวตัดกึ่งให้มีปริมาณของแข็ง 15% โดยใช้วิธีการตามข้อ 3.3.3 และนำแป้งสาลีข้าวตัดกึ่งที่เตรียมได้ปริมาณ 100 กรัม มาบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ ดังนี้ 4, 25, 50, 80 และ 100 องศาเซลเซียส โดยทำการบ่มที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาการบ่ม นำตัวอย่างไปทำแห้งโดยวิธีระเหิดแห้ง (freeze drying) (Heto FD 8, Heto-Holten A/S, Denmark) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการใช้ไนโตรเจนเหลวในการแช่แข็ง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) และนำไปร่อนแยกขนาดด้วยเครื่องร่อน (Vibration Sieve Shaker, Fritsch) ให้มีขนาดอนุภาค 75-105 ไมครอน วิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีการของ AOAC (1997) และปริมาณ RS ตามวิธีการของ AOAC method (2002) รวมถึงวิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างทางผลึกและคุณสมบัติทางความร้อน

3.3.6 การศึกษาผลของการบ่มแบบวนรอบ (time-temperature cycling) ต่อการสร้าง RS

ปัจจัยที่ทำการศึกษาผลของการบ่มแบบวนรอบมีทั้งหมด 4 ปัจจัย ประกอบด้วย อุณหภูมิ nucleation, อุณหภูมิ propagation, ระยะเวลาการ propagation และจำนวนรอบของการบ่ม โดยในการทดลองแรกจะศึกษาผลของอุณหภูมิ nucleation และ propagation โดยใช้ระยะเวลา propagation นานกว่า nucleation เนื่องจากมีสมมุติฐาน 3 ข้อ คือ 1.ระยะเวลาในการ propagation ที่นานอาจมีผลในการเพิ่มการสร้าง RS โดยจะเรียกว่าการบ่มแบบวนรอบแบบนี้ว่าการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 ขณะที่สมมุติฐานที่ 2 คือ การหลอมผลึกโดยใช้อุณหภูมิสูงที่ระยะสั้น ๆ ระยะเวลาหนึ่ง (propagation ที่ระยะเวลาสั้นกว่าหรือเท่ากับ nucleation) และปล่อยให้โครงสร้างมีการจัดเรียงตัวใหม่อาจมีผลในการเพิ่มการสร้าง RS และสมมุติฐานที่ 3 คือ การเพิ่มจำนวนการวนรอบอีกครั้งรอบให้จบที่การ nucleation มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS โดยจะเรียกว่าการบ่มแบบวนรอบแบบนี้ว่าการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2

3.3.6.1 การบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1

การบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 ทำการศึกษาอุณหภูมิ nucleation 2 อุณหภูมิ คือ 30 และ

60 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ propagation 2 อุณหภูมิ คือ 60 และ 80 องศาเซลเซียส โดยนำตัวอย่าง แป้งสาลีข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการกรองโดยถุงผ้ากรอง (ซึ่งมีปริมาณของแข็งประมาณ 24%) มาทำการบ่มแบบวนรอบจำนวน 3 รอบที่สภาวะต่างๆ ดังนี้

รอบที่ 1 บ่มที่อุณหภูมิ 30 หรือ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ตามด้วยการบ่มที่อุณหภูมิ 60 หรือ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

รอบที่ 2 บ่มที่อุณหภูมิ 30 หรือ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ตามด้วยการบ่มที่อุณหภูมิ 60 หรือ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

รอบที่ 3 บ่มที่อุณหภูมิ 30 หรือ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ตามด้วยการบ่มที่อุณหภูมิ 60 หรือ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

เมื่อครบเวลาการบ่มแบบวนรอบทั้งหมด 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้มาทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 8 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) และนำไปร่อนแยกขนาดด้วยเครื่องร่อน (Vibration Sieve Shaker, Fritsch) ให้มีขนาดอนุภาค 75-105 ไมครอน วิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีการของ AOAC (1997) และปริมาณ RS ตามวิธีการของ AOAC method (2002)

3.3.6.2 การบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2

ศึกษาผลของอุณหภูมิ nucleation 2 อุณหภูมิ คือ 30 และ 60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ propagation 2 อุณหภูมิ คือ 80 และ 120 องศาเซลเซียส และระยะเวลา propagation 2 ระยะเวลา คือ 1.5 และ 3 ชั่วโมง โดยนำตัวอย่างแป้งสาลีข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการกรองโดยถุงผ้ากรอง (ซึ่งจะมีปริมาณของแข็งประมาณร้อยละ 24) มาทำการบ่มแบบวนรอบจำนวน 3 รอบครั้งที่สภาวะต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 3.2 โดยใช้การบ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นตัวควบคุม (control) เมื่อครบระยะเวลาการบ่มทั้งหมด 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้มาทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 8 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) และนำไปร่อนแยกขนาดด้วยเครื่องร่อน (Vibration Sieve Shaker, Fritsch) ให้มีขนาดอนุภาค 75-105 ไมครอน วิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีการของ AOAC (1995) และปริมาณ RS ตามวิธีการของ AOAC method (2002) รวมถึงวิเคราะห์คุณสมบัติทางโครงสร้างผลึกและคุณสมบัติทางความร้อน

ตารางที่ 3.2 แผนการทดลองศึกษาผลของอุณหภูมิการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2 ต่อการสร้าง RS

Conditions	Temperature (°C)	Cycle 1 (h)	Cycle 2 (h)	Cycle 3 (h)	Cycle 3.5 (h)	Total time (h)
A	30/80	3/1.5	18.5/1.5	18.5/1.5	3.5	48
B		3/3	16.5/3	16.5/3	3	48
C	30/120	3/1.5	18.5/1.5	18.5/1.5	3.5	48
D		3/3	16.5/3	16.5/3	3	48
E	60/80	3/1.5	18.5/1.5	18.5/1.5	3.5	48
F		3/3	16.5/3	16.5/3	3	48
G	60/120	3/1.5	18.5/1.5	18.5/1.5	3.5	48
H		3/3	16.5/3	16.5/3	3	48
I	80/80	-	-	-	-	48

3.3.7 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

นำตัวอย่างแป้งสตาร์ชข้าว แป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งและแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งที่ผ่านการบ่มที่สภาวะต่าง ๆ มาตรวจสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

3.3.7.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ (Proximate analysis)

องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของแป้งสตาร์ชข้าว ได้แก่ ปริมาณความชื้น, ปริมาณโปรตีน และปริมาณไขมัน วิเคราะห์ตามวิธีการของ AOAC (1997) ซึ่งพบว่ามีปริมาณ 9.47, 0.91 และ 0.36% โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

3.3.7.2 การวิเคราะห์ปริมาณสตาร์ชทั้งหมด

ปริมาณสตาร์ชทั้งหมดของแป้งสตาร์ชข้าววิเคราะห์โดยใช้วิธีการย่อยด้วยเอนไซม์อะมิโลกลูโคซิเดส โดยดัดแปลงจากวิธีการของ AACC (1990) Method 76-11 ซึ่งพบว่ามีปริมาณ 95.32% โดยน้ำหนักแห้ง

3.3.7.3 การวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลส

ปริมาณอะมิโลสของแป้งสตาร์ชข้าว วิเคราะห์ด้วยวิธีการเกิดสีกับไอโอดีนตามวิธีการของ Juliano (1971) ซึ่งพบว่ามีปริมาณ 30.10% โดยน้ำหนักแห้ง

3.3.7.4 การวิเคราะห์ปริมาณ RS

ปริมาณ RS วิเคราะห์ตามวิธีการของ AOAC method (2002) โดยทำการชั่งตัวอย่างหนัก 100 มิลลิกรัม ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียม มาลีเอท บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ พีเอช 6.0 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ที่ประกอบด้วยเอนไซม์แพนครีเอติกแอลฟาอะมิเลส (pancreatic α -amylase) 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเอนไซม์อะมิโลกลูโคซิเดส (amylglucosidase) 3 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปปั่นใน shaking water bath (Ratex, SWB 20 shaking water bath, Ratek Instruments Pty., Ltd., Australia) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง โดยเขย่าตลอดเวลา จากนั้นเติมสารละลายเอทานอลเข้มข้นปริมาตร 4 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1,500xg (Eppendorf centrifuge 5810 R, Eppendorf AG, Hamburg, Germany) เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งส่วนใส และเติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 50% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและเติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 50% อีก 6 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1,500xg เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งส่วนใส และเติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 50% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและเติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 50% อีก 6 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1,500xg เป็นเวลา 10 นาที ค่อย ๆ เทส่วนใสทิ้งและรอให้ตะกอนแห้ง จากนั้นเติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และนำไปเขย่าในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมสารละลายอะซิเตรทบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 1.2 โมลาร์ พีเอช 3.8 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร และเอนไซม์อะมิโลกลูโคซิเดส ความเข้มข้น 3,300 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที วิเคราะห์ปริมาณกลูโคสที่ถูกปลดปล่อยออกมาโดยชุดทดสอบ PGO เอนไซม์ (Sigma, P7119) และคำนวณปริมาณ RS จากสูตร

$$\text{ปริมาณ RS (กรัม/ 100 กรัมสตาร์ช)} = \text{F/W} \times 162/180 \times 100$$

เมื่อ F = ปริมาณกลูโคสที่วิเคราะห์ได้

W = น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

162/180 = แฟกเตอร์สำหรับเปลี่ยน free glucose เป็น anhydro-glucose

3.3.7.5 การตรวจสอบคุณสมบัติทางโครงสร้างผลึก

ลักษณะโครงสร้างทางผลึกของแป้งสตาร์ชขาววิเคราะห์ด้วยเทคนิค X-ray diffraction (XRD) โดยนำตัวอย่างแป้งสตาร์ชมาอัดใน sample cell และตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Powder X-ray diffractometer รุ่น D5005 (Bruker GmbH, Germany) โดยใช้ 1.54 \AA Cu K_{α} ในการกำเนิดรังสีเอกซ์ ทำการตรวจวัด diffraction pattern ในช่วงมุม (2 θ) 4-30° โดยกำหนดสภาพการตรวจวัดดังต่อไปนี้ กระแสไฟฟ้า 40 มิลลิแอมแปร์ ศักย์ไฟฟ้า 40 กิโลโวลต์ ความกว้าง divergence slit 1° ความกว้าง

antiscattering slit 1° ความเร็วในการตรวจวัด 0.480 องศาต่อนาที (step size 0.02° และ time per step 2.5 วินาที) และถาดรองตัวอย่างหมุนด้วยความเร็วรอบ 30 รอบต่อนาที คำนวณหาปริมาณผลึก (relative crystallinity) ตามแบบวิธีของ Herman and Weidinger (1961) โดยปรับ baseline และความเรียบของ Diffraction pattern แล้ววัดพื้นที่ใต้ peak ของ Diffraction pattern ของตัวอย่างด้วยโปรแกรม EVA Diffract Plus#1 (Bruker GmbH, Germany) และคำนวณปริมาณผลึกจากสัดส่วนพื้นที่ส่วนผลึกต่อพื้นที่ทั้งหมด

3.3.7.6 การตรวจวัดคุณสมบัติทางความร้อน (thermal properties)

คุณสมบัติทางความร้อนตรวจวัดด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) โดยชั่งตัวอย่างแป้งสตาร์ช 7.5 มิลลิกรัม และน้ำปราศจากไอออน 22.5 มิลลิกรัม ลงใน stainless steel DSC pan ที่มีปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องข้ามคืน จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยเครื่อง Pyris Diamond DSC (Perkin Elmer, Connecticut, USA) โดยตั้งโปรแกรมในการวิเคราะห์ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 25-200 องศาเซลเซียส ที่อัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาที โดยใช้ระบบ Intracooler (Intracooler 1P, Perkin Elmer, Connecticut, USA) ในการให้ความเย็น ใช้ stainless steel DSC pan เปลาเป็นตัวอย่างอ้างอิง (reference) และใช้ Indium เป็นสารมาตรฐาน (standard) ในการสอบเทียบอุณหภูมิ โดยค่าคุณสมบัติทางความร้อนที่ทำการวิเคราะห์มีดังนี้ คือ อุณหภูมิเริ่มต้นของการเปลี่ยนเฟส (onset temperature, T_o), อุณหภูมิสูงสุดของการเปลี่ยนเฟส (peak temperature, T_p), อุณหภูมิสุดท้ายของการเปลี่ยนเฟส (conclusion temperature, T_c), ช่วงอุณหภูมิของการเปลี่ยนเฟส ($T_c - T_o$) และค่าพลังงานของการเปลี่ยนเฟส (ΔH) โดยใช้โปรแกรม Pyris manager (Perkin-Elmer, Norwalk, USA)

3.3.8 การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การศึกษาผลของปริมาณของแข็งและระยะเวลาในการบ่มต่อการสร้าง RS วางแผนการทดลองแบบ Factorial Experiment in a randomized completely design (CRD) โดยศึกษาปริมาณของแข็ง 3 ระดับ คือ 15%, 22.5% และ 30% (w/w) และระยะเวลาในการบ่ม 2 ระดับ คือ 24 และ 72 ชั่วโมง โดยทำการบ่มที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส สำหรับการศึกษาผลของการบ่มแบบอุณหภูมิเดียวต่อการสร้าง RS วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยศึกษาอุณหภูมิการบ่มทั้งหมด 5 อุณหภูมิ คือ 4, 25, 50, 80 และ 100 องศาเซลเซียส การศึกษาผลของการบ่มแบบวนรอบ (time-temperature cycling) ต่อการสร้าง RS วางแผนการทดลองแบบ CRD จัดการทดลองแบบ full factorial experiment โดยศึกษาปัจจัยด้านอุณหภูมิ nucleation 2 อุณหภูมิ คือ 30 และ 60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ propagation 2 อุณหภูมิ คือ 80 และ 120 องศาเซลเซียส

และระยะเวลา propagation 2 ระยะเวลา คือ 1.5 และ 3 ชั่วโมง วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล Analysis Of Variance (ANOVA) ด้วยโปรแกรม Statistical Analysis System (SAS) version 6.12 (SAS Institute Inc, Carry, NC., USA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple's Range Test (DMRT)

3.4 ผลการทดลองและวิจารณ์

3.4.1 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง

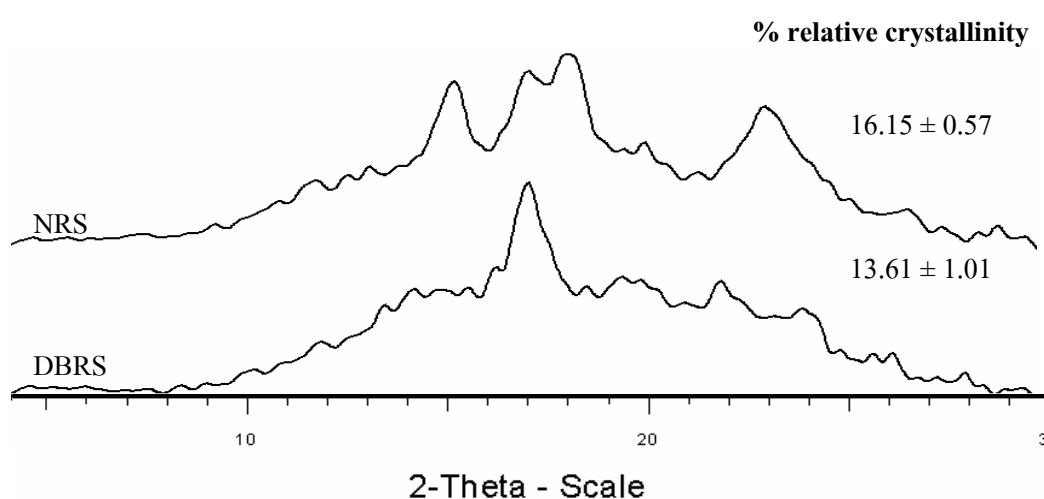
จากการวิเคราะห์ปริมาณ RS ในตัวอย่างแป้งสตาร์ชข้าวธรรมชาติ (native rice starch) ที่ใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการเตรียมแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง และตัวอย่างแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง (debranched rice starch) ที่เตรียมได้ (ซึ่งทำแห้งโดยวิธีการระเหิดแห้งหลังจากการใช้ไนโตรเจนเหลว) พบว่ามีปริมาณเท่ากับ 1.60% และ 15.90% ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 3.3 ผลการทดลองที่ได้บ่งชี้ว่าการตัดกิ่งแป้งสตาร์ชมีผลในการสนับสนุนการสร้าง RS เนื่องจากมีโมเลกุลเส้นตรงสายสั้น ๆ ที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลงเกิดขึ้นจำนวนมาก (Barry, 1986; Gonzalez-Soto et al., 2004; Leong, Karim, and Norziah, 2007) ซึ่งความยาวของโมเลกุลเส้นตรงเหล่านี้มีอิทธิพลต่อการเกิดรีโทรเกรเดชัน (Erlingen and Delcour, 1995) โดยโมเลกุลเส้นตรงสายสั้น ๆ ที่เกิดขึ้นนี้จะมารวมตัวกันเกิดเป็นโครงสร้างที่มีความเป็นระเบียบมากขึ้น

คุณสมบัติทางความร้อนของแป้งสตาร์ชข้าวธรรมชาติและแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง ซึ่งตรวจสอบด้วยเครื่อง DSC แสดงดังตารางที่ 3.3 ผลที่ได้พบว่าแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งแสดงอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสในช่วง 107.6-114.3 องศาเซลเซียส และมีค่าเอนทัลปี (ΔH) เท่ากับ 2.7 จูลต่อกรัม ขณะที่แป้งสตาร์ชข้าวธรรมชาติแสดงอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสในช่วง 72.7-82.0 องศาเซลเซียส และมีค่า ΔH เท่ากับ 14.7 จูลต่อกรัม จากผลที่ได้นี้แสดงให้เห็นว่าการตัดกิ่งแป้งสตาร์ชข้าวส่งผลให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของสายโซ่กลูแคน (reassociation) เกิดเป็นโครงสร้างผลึกที่มีความแข็งแรงมากขึ้น จึงสามารถเกิดการเปลี่ยนเฟสได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า

ตารางที่ 3.3 ปริมาณ RS และสมบัติการหลอม (endothermic transition) ของแป้งสตาร์ชข้าวธรรมชาติ (native rice starch) และแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง (debranched rice starch)

Sample	RS content (g/ 100 g starch)	T_o ($^{\circ}C$)	T_p ($^{\circ}C$)	T_c ($^{\circ}C$)	ΔH (J/g)
NRS	1.60 \pm 0.14	72.7 \pm 0.6	77.7 \pm 0.1	82.0 \pm 0.1	14.7 \pm 1.8
DBRS	15.90 \pm 0.32	107.6 \pm 1.3	110.7 \pm 0.9	114.3 \pm 0.7	2.7 \pm 1.1

เมื่อพิจารณารูปแบบผลึกของแป้งสารถั่วธรรมชาติและแป้งสารถั่วตัดกิ่งจากการตรวจสอบลักษณะโครงสร้างด้วยเทคนิค XRD ดังภาพที่ 3.1 พบว่าแป้งสารถั่วธรรมชาติมีปริมาณความเป็นผลึก (relative crystallinity) 16.15% ปรากฏพีกคู่ (doublet peak) ที่ 2θ ที่ 17° และ 18° และพีกเดี่ยว (singlet peak) ที่ 2θ ที่ 15° และ 23° ซึ่งแสดงถึงโครงสร้างผลึกชนิด A และเป็นลักษณะผลึกที่พบได้ทั่วไปในแป้งจากธัญชาติ (Cheetham and Tao, 1998) ขณะที่แป้งสารถั่วตัดกิ่งซึ่งมีปริมาณความเป็นผลึก 13.61% ปรากฏ singlet peak ที่ 2θ ที่ 17° และ doublet peak ที่ 2θ ที่ 22° และ 24° ซึ่งแสดงถึงโครงสร้างผลึกแบบ B (Buleno, Colonna, Planchot, and Ball, 1998) นอกจากนี้ยังเห็นแนวโน้มการเกิด singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 19.7° แสดงถึงลักษณะโครงสร้างผลึกชนิด V ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอะมิโลสกับไขมัน (amylose-lipid complex) (Derycke et al., 2005) และเนื่องจากแป้งสารถั่วที่ใช้เป็นวัตถุดิบมีองค์ประกอบของไขมันอยู่ถึง 0.36% ดังนั้นจึงสามารถรวมตัวกับอะมิโลสเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนดังกล่าวได้ในระหว่างการให้ความร้อนเพื่อให้เกิดการเจลาติไนเซชันที่สมบูรณ์ในระหว่างขั้นตอนการเตรียมแป้งสารถั่วตัดกิ่ง ผลที่ได้นี้แสดงให้เห็นว่าการตัดกิ่งแป้งสารถั่วมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างผลึกจาก A เป็น B+V ซึ่งจากการศึกษาของ Leong et al. (2007) พบว่าการตัดกิ่งแป้งสารถั่วสาอุ (sago starch) ด้วยเอนไซม์ pullulanase ที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิเจลาติไนเซชัน ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะผลึกจาก A เป็น B เช่นเดียวกับการศึกษาของ Miao et al. (2009) ที่กล่าวว่าแป้งสารถั่วโพด (waxy maize starch) ที่ผ่านการตัดกิ่งด้วยเอนไซม์ pullulanase แสดงลักษณะผลึกชนิด B



ภาพที่ 3.1 XRD pattern ของแป้งสารถั่วธรรมชาติ (native rice starch; NRS) และแป้งสารถั่วตัดกิ่ง (debranched rice starch; DBRS)

3.4.2 ผลของปริมาณของแข็งและระยะเวลาการบ่มต่อการสร้าง RS

การศึกษาผลร่วมระหว่างปริมาณของแข็งและระยะเวลาการบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตดกึ่งต่อการสร้าง RS ได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 3.4 โดยจากผลการทดลองพบว่าปริมาณ RS ที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่างทั้งหมดซึ่งทำแห้งโดยวิธีการระเหิดแห้งจากการใช้ในโตรเจนเหลว มีค่าอยู่ในช่วง 26-31% สำหรับผลของปริมาณของแข็งต่อการสร้าง RS นั้น พบว่าการเพิ่มปริมาณของแข็งจาก 15-30% ไม่มีผลต่อการสร้าง RS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ทั้งการบ่มที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส โดยเมื่อบ่มเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS อยู่ในช่วง 27-28% ขณะที่ระยะเวลาการบ่ม 72 ชั่วโมง มีปริมาณ RS เกิดขึ้นในช่วง 28-29% สำหรับการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง มีปริมาณ RS เกิดขึ้น 27-28% และ 29-30% ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Kettlitz et al. (2000) ที่พบว่าการรีโทรเกรเดชันที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงของมอลโตเดคซ์ตรินแป้งสตาร์ช มันฝรั่งที่ผ่านการตัดกึ่งโดยใช้เอนไซม์ไอโซมามิเลส มีปริมาณ RS เกิดขึ้น 29-32% ขณะที่การรีโทรเกรเดชันที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS เกิดขึ้น 26-27% และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของมอลโตเดคซ์ตรินแป้งสตาร์ช มันฝรั่งตัดกึ่งจาก 10% เป็น 30% พบว่ามีปริมาณ RS ลดลงเล็กน้อยจาก 27-32% เป็น 26-29% ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Lehmann et al. (2002) พบว่าการเพิ่มปริมาณของแข็งจาก 10 เป็น 20% ของแป้งสตาร์ชกล้วยตัดกึ่ง (debranched banana starch) ที่บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS จาก 45.7% เป็น 50.6% ขณะที่การบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส การเพิ่มปริมาณของแข็งไม่มีผลต่อปริมาณ RS โดยการบ่มที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS เกิดขึ้นใกล้เคียงกัน ขณะที่การศึกษาของ Schmiedel et al. (2003) พบว่าการเพิ่มปริมาณของแข็งจาก 10 เป็น 30% ของแป้งสตาร์ชมันฝรั่งตัดกึ่งที่มีปริมาณอะมิโลสน้อยกว่า 10% และมีปริมาณฟอสเฟตต่ำ (debranched low-phosphate waxy potato starch) เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS จาก 59 เป็น 80% ขณะที่สภาวะการบ่มเดียวกัน แต่แป้งสตาร์ชมันฝรั่งตัดกึ่งที่มี bound phosphate กลับให้ผลที่แตกต่าง โดยมีปริมาณ RS ลดลงจาก 79 เป็น 62% แสดงว่าการสร้างแป้งสตาร์ชที่ทนย่อยต่อเอนไซม์ขึ้นอยู่กับชนิดของแป้งสตาร์ชด้วย นอกเหนือจากปริมาณของแข็งและสภาวะการบ่มในด้านของระยะเวลาการบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตดกึ่งต่อการสร้าง RS พบว่าระยะเวลาการบ่มทั้ง 2 ช่วงเวลา (24 และ 72 ชั่วโมง) ไม่มีผลต่อการสร้าง RS ที่อุณหภูมิจากการบ่ม 4 องศาเซลเซียส แต่การเพิ่มระยะเวลาการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีผลต่อการสร้าง RS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาที่ปริมาณของแข็งเท่ากัน พบว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการบ่ม 24 และ 72 ชั่วโมง มีปริมาณ RS ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยแป้งสตาร์ชข้าวตดกึ่งที่มีปริมาณของแข็ง 15, 22.5 และ 30% มีปริมาณ RS เกิดขึ้น 27-28%, 28-29% และ 27-29% ตามลำดับ

แสดงดังตารางที่ 3.4 แต่เมื่อทำการบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส กลับพบว่า การบ่มที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง มีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงกว่าการบ่มที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยที่ ระยะเวลาการบ่ม 24 ชั่วโมง มีปริมาณ RS เกิดขึ้นในช่วง 27-28 % ขณะที่ระยะเวลาการบ่ม 72 ชั่วโมงมีปริมาณ RS เกิดขึ้นในช่วง 29-30% แต่จากการศึกษาของ González-Soto et al.(2006) รายงานว่าการเพิ่มระยะเวลาการบ่มจาก 24 ชั่วโมง เป็น 48 ชั่วโมงไม่มีผลต่อปริมาณ RS ของแป้ง สตาร์ชกล้วยตัดกึ่ง ในขณะที่อุณหภูมิในการบ่มมีผลต่อปริมาณ RS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการ บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS ต่ำกว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 4 และ 32 องศาเซลเซียส นอกจากนี้จากการศึกษาของ Leong et al. (2007) พบว่าการบ่มแป้งสตาร์ชสาकुตัดกึ่ง (debranched sago starch) ที่อุณหภูมิ 4, 25, 50 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 วัน และ 7 วัน มีปริมาณ RS เกิดขึ้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 3.4 ผลของปริมาณของแข็งและระยะเวลาการบ่มต่อปริมาณ RS ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง เมื่อใช้วิธีการกรองและวิธีการทำแห้งแบบสุญญากาศในการปรับปริมาณของแข็ง

Solid content (%w/w)	Aging temperature (°C)	Aging time (h)	
		24	72
15	4	27.02 ± 1.26 ^a	27.74 ± 0.85 ^a
22.5		28.17 ± 0.47 ^a	28.13 ± 2.50 ^a
30		26.59 ± 0.38 ^a	28.55 ± 0.21 ^a
15	25	27.58 ± 0.92 ^b	29.38 ± 0.41 ^a
22.5		26.66 ± 0.42 ^b	28.98 ± 2.25 ^a
30		27.57 ± 0.63 ^b	30.11 ± 2.78 ^a

ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เพื่อให้เกิดความมั่นใจในผลการศึกษารื่องผลของปริมาณของแข็งต่อการสร้าง RS ว่าไม่ได้มีผลเนื่องมาจากการเกิดรีโทรเกรเดชันในระหว่างการเตรียมตัวอย่างด้วยวิธีการกรองและการทำแห้งแบบสุญญากาศ (vacuum drying) ที่ทำให้ปริมาณ RS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเพิ่มปริมาณของแข็ง ดังนั้นจึงทำการทดลองเพื่อยืนยันผล โดยนำแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ได้จากการทำแห้งด้วยวิธีการระเหิดแห้งมาเตรียมเป็นเจลแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ความเข้มข้น 15, 22.5 และ 30% และนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 และ 72 ชั่วโมง จากผลการทดลองตารางที่ 3.5

พบว่า การเพิ่มปริมาณของแข็งจาก 15 เป็น 30% ไม่มีผลต่อการสร้าง RS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีปริมาณ RS เกิดขึ้น 18-19% และเมื่อเพิ่มระยะเวลาการบ่มเป็น 72 ชั่วโมงก็ไม่มีผลในการเพิ่มปริมาณ RS เช่นกัน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งมีอัตราการผลิตรีโทรเกรเดชันสูง โดยสามารถเกิดการจัดเรียงตัวของโครงสร้างเกิดเป็นส่วนที่เป็นผลึกซึ่งทนต่อการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้เร็วกว่า 24 ชั่วโมง ดังนั้นถ้าทำการลดระยะเวลาการบ่มให้สั้นกว่า 24 ชั่วโมง ก็อาจจะเห็นผลในด้านปริมาณของแข็งต่อการสร้าง RS ได้ และเป็นที่ทราบกันดีว่า RS เกิดจากการรีโทรเกรเดชันของโมเลกุลอะมิโลส (Sievert, and Pomeranz 1989; Eerlingen et al., 1993) โดยการเกิดรีโทรเกรเดชันของโมเลกุลอะมิโลสนี้ อาจมีอัตราสูงในช่วงแรกของการบ่ม ซึ่งเมื่อเพิ่มปริมาณของแข็งอาจจะส่งผลให้อัตราการเกิดรีโทรเกรเดชันเกิดได้เร็วขึ้นจนถึงจุดคงที่ (plateau) และแม้ว่าจะเพิ่มระยะเวลาการบ่มให้นานขึ้นก็ไม่อาจส่งผลในการเพิ่มปริมาณ RS ได้ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ RS ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่เกิดขึ้นที่สภาวะการบ่มเดียวกัน พบว่าการปรับปริมาณของแข็งโดยวิธีการระเหิดแห้งมีปริมาณ RS เกิดขึ้นต่ำกว่าการปรับปริมาณของแข็งโดยใช้วิธีการกรองและการ vacuum drying ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากในขั้นตอนของการ autoclave อุณหภูมิที่ใช้มีผลให้เกิดการทำลายโครงสร้างส่วนที่เป็นผลึกของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง เนื่องจากแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งมีอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสในช่วง 107.6-114.3 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 3.3) ดังนั้นจึงอาจทำให้มีปริมาณ RS เริ่มต้นน้อยกว่าแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่เตรียมโดยใช้วิธีการกรองและการ vacuum drying ซึ่งมีปริมาณ RS เกิดขึ้นในช่วง 27-30% (ตารางที่ 3.4)

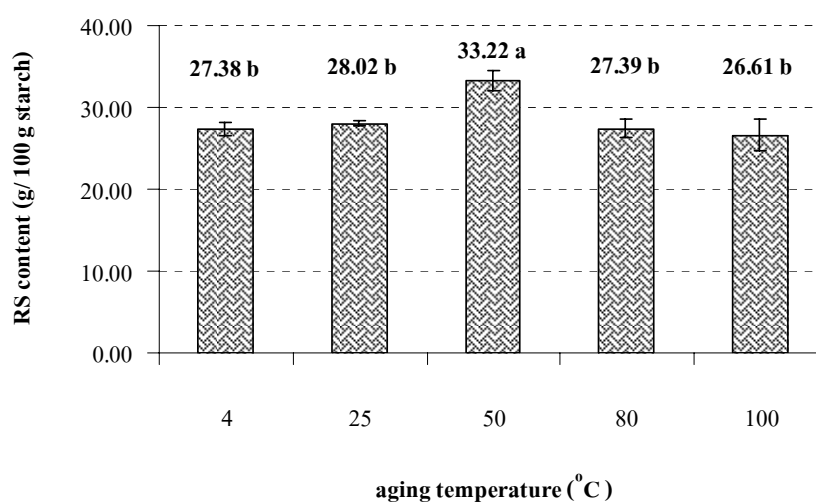
ตารางที่ 3.5 ผลของปริมาณของแข็งและระยะเวลาการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ต่อปริมาณ RS ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง เมื่อใช้วิธีการระเหิดแห้งในการปรับปริมาณของแข็ง

Solid content (%w/w)	Aging temperature (°C)	Aging time (h)	
		24	72
15	25	18.83 ± 0.06	18.88 ± 0.42
22.5		17.88 ± 0.17	18.04 ± 0.63
30		18.00 ± 0.85	18.49 ± 0.78

3.4.3 ผลของการบ่มแบบอุณหภูมิเดียว (isothermal aging) ต่อการสร้าง RS

จากผลการทดลองข้างต้น พบว่าปริมาณของแข็งไม่มีผลต่อการสร้าง RS ดังนั้นในการศึกษาผลของอุณหภูมิการบ่มแบบอุณหภูมิเดียวต่อการสร้าง RS จึงเลือกศึกษาที่ปริมาณของแข็ง 15% และ

ระยะเวลาการบ่ม 24 ชั่วโมง โดยได้ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 3.2 ซึ่งพบว่าอุณหภูมิการบ่มมีผลต่อการเกิด RS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งเมื่อผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS เกิดขึ้นใกล้เคียงกันที่ระดับ 27.38 และ 28.02% ตามลำดับ ขณะที่ปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงสุด 33.22% ในแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มอุณหภูมิการบ่มเป็น 80 และ 100 องศาเซลเซียส แป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งกลับมีปริมาณ RS ลดลงเหลือ 27.39 และ 26.61% ตามลำดับ และมีปริมาณใกล้เคียงกับการบ่มที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับทฤษฎีการเกิดผลึกที่ว่า ในระบบที่มีโครงสร้างเป็นผลึกบางส่วน (semi-crystalline system) การเกิดผลึก (crystallization) หรือปริมาณของ RS สามารถเกิดขึ้นได้ดีในช่วงอุณหภูมิระหว่าง T_g และ T_m ของแป้งสตาร์ช (Eerlingen et al., 1993) โดยการเกิด RS จะเริ่มต้นจากการที่โมเลกุลของอะมิโลสที่อยู่ใกล้เคียงกันมารวมตัวกัน (aggregation) เกิดเป็นสายเกลียวคู่ (double helix) จากนั้นสายเกลียวคู่ที่อยู่ใกล้กันจะมารวมตัวกัน (double helix-double helix aggregation) หรือเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ (rearrangement) เกิดเป็นโครงสร้างที่มีความเป็นผลึก (crystalline structure) ที่ทนต่อการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งการบ่มที่อุณหภูมิต่ำ (4 และ 25 องศาเซลเซียส) จะมีอัตราการเกิด nucleation สูง เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่ใกล้กับ T_g ของแป้งสตาร์ช ดังนั้นจึงเกิด RS เริ่มต้นในปริมาณที่สูง แต่เมื่อเวลาผ่านไปปริมาณ RS อาจจะไม่เปลี่ยนแปลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะอุณหภูมิในการบ่มเหนี่ยวนำให้สารละลายในระบบมีความหนืดมาก โมเลกุลจึงมีการเคลื่อนที่ได้น้อย (low molecular mobility) ส่งผลให้การจัดเรียงตัวใหม่ของโครงสร้างที่เป็นระเบียบเกิดขึ้นได้ยาก (Onyango et al., 2006)

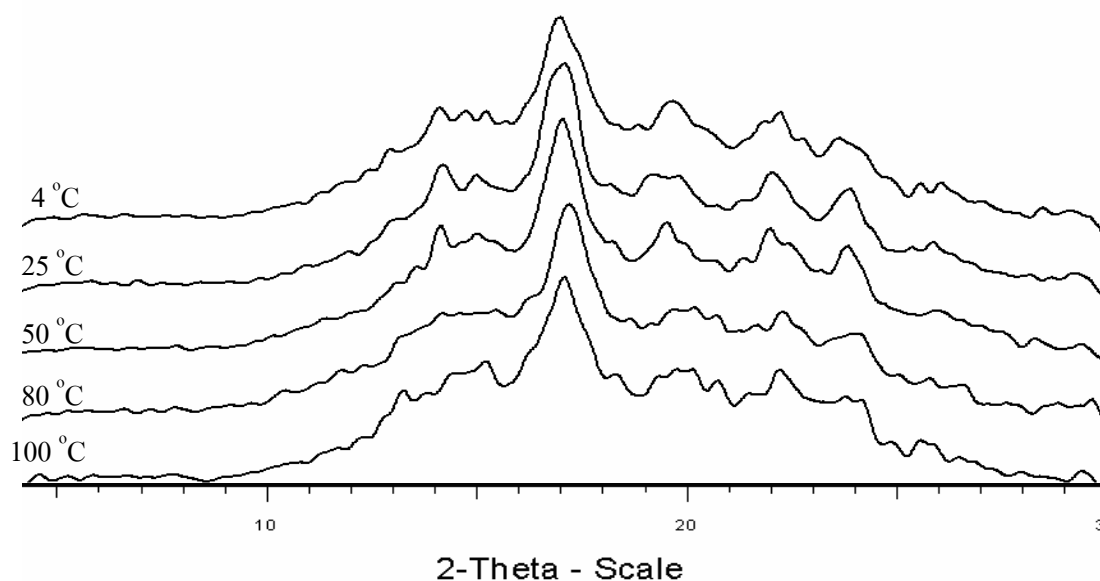


ภาพที่ 3.2 ปริมาณ RS ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง 15% ของแข็ง เมื่อทำการบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง; ตัวอักษรที่ต่างกันบนกราฟ หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ส่วนการบ่มที่อุณหภูมิสูง (80 และ 100 องศาเซลเซียส) ในช่วงแรกของการบ่มอาจมีปริมาณ RS เกิดขึ้นต่ำ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการเกิด nucleation ถูกจำกัดอันเนื่องมาจากอุณหภูมิในการบ่มที่ห่างจาก T_g ของแป้งสตาร์ชมาก จึงอาจมีผลในการลดอัตราการเกิดการรวมตัวกันของโครงสร้างส่วนอะมิโลส เกิดเป็น double helix (Lu, Jane, and Keeling, 1997) แต่หลังจากระยะเวลาการบ่มเพิ่มขึ้น การบ่มที่อุณหภูมิสูงอาจเห็นยวนำให้ propagation เกิดมากขึ้น เนื่องจากการเติบโตของผลึกจะเกิดขึ้นได้ดีที่อุณหภูมิเข้าใกล้ T_m ของผลึกอะมิโลส (ประมาณ 150 องศาเซลเซียส) ดังนั้นจึงมีปริมาณ RS เกิดขึ้นใกล้เคียงกับการบ่มที่อุณหภูมิต่ำ (4 และ 25 องศาเซลเซียส) และเนื่องจากที่อุณหภูมิการบ่ม 50 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิตรงกลางระหว่าง T_g และ T_m ของแป้งสตาร์ชข้าว ดังนั้นจึงแสดงอัตราการเกิดผลึกทั้งหมด (overall rate of crystallization) สูงกว่า และมีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงสุด สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Eerlingen et al. (1993) ที่พบว่าการบ่มเจลแป้งสตาร์ชสาลีที่อุณหภูมิ 68 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงกว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส แต่กลับมีปริมาณลดลงเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Haynes et al. (2000) รายงานว่า เจลแป้งสตาร์ช Hylon VII ความเข้มข้น 33% มีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงสุดหลังจากการบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แต่การบ่มที่อุณหภูมิ 4, 40, 80 และ 100 องศาเซลเซียส ที่เวลาการบ่มเดียวกันกลับมีปริมาณ RS เกิดขึ้นต่ำกว่า เช่นเดียวกับการศึกษาของ Onyango et al. (2006) ที่รายงานว่า การบ่ม เจลแป้งสตาร์ชมันสำปะหลังความเข้มข้น 10% ที่อุณหภูมิ 30 หรือ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงกว่าการบ่มที่ 4 หรือ 100 องศาเซลเซียส แต่อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของ Leong et al. (2007) ซึ่งได้ทำการตัดกึ่งแป้งสตาร์ชสาธู (sago starch) ในรูปของเม็ดสตาร์ช (native granular starch) โดยใช้อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิเจลาติไนเซชันในการตัดกึ่ง และใช้เวลาในการตัดกึ่ง 0-24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาตัดกึ่งต่าง ๆ ทำการ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดการเจลาติไนเซชันที่สมบูรณ์ จากนั้นนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 4, 25, 50 และ 80 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิการบ่มจาก 4 เป็น 50 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ตัวอย่างที่ตัดกึ่ง 16 ชั่วโมง มีปริมาณ RS เพิ่มขึ้น ขณะที่ตัวอย่างที่ตัดกึ่ง 8 และ 24 ชั่วโมง มีปริมาณ RS เพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิการบ่มจาก 50 เป็น 80 องศาเซลเซียส

คุณสมบัติทางโครงสร้างผลึกของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งเมื่อผ่านการบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ ซึ่งวิเคราะห์โดยเทคนิค XRD แสดงดังภาพที่ 3.3 และตารางที่ 3.6 โดยพบโครงสร้างผลึกทั้งหมด 2 ชนิดด้วยกัน การบ่มที่อุณหภูมิ 4, 25, 50 และ 80 องศาเซลเซียส เกิด singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 17° เกิด doublet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 22.2° และ 24.2° ซึ่งเป็นลักษณะของผลึกชนิด B นอกจากนี้ยังพบอีก 1 singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 19.7° ซึ่งแสดงถึงลักษณะโครงสร้างผลึกชนิด V ที่เป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอะมิโลสกับไขมัน (amylose-lipid complex) (Derycke et al., 2005) แต่อย่างไรก็ตามการบ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จะเห็นว่า XRD pattern ที่ตำแหน่ง 19.7° มีความ

ชัดเจนน้อยกว่าการบ่มที่อุณหภูมิอื่น ๆ สำหรับการบ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส พบลักษณะผลึกชนิด C + V เนื่องจากเกิด singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 17° และมีไหล่พิคเกิดขึ้นที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 18° ซึ่งเป็นลักษณะของผลึกชนิด A นอกจากนี้ยังพบ doublet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 22° และ 24° ซึ่งเป็นลักษณะของผลึกชนิด B ที่ลดความชัดเจนลงและพบ singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 19.7° ซึ่งแสดงถึงลักษณะโครงสร้างผลึกชนิด V ผลที่ได้นี้แสดงว่าการบ่มแป้งสตาρχข้าวตัดกึ่งที่อุณหภูมิ 4, 25, 50 และ 80 องศาเซลเซียส ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึก ขณะที่การบ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส มีผลให้เกิดผลึกชนิด A เกิดขึ้น ทั้งนี้อาจเกิดจากผลของการเตรียมตัวอย่างซึ่งใช้วิธี vacuum drying ในการปรับปริมาณของแข็ง ซึ่งอาจจะมีผลให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของโมเลกุลเกิดเป็นโครงสร้างที่แข็งแรงขึ้น และเมื่อนำมาบ่มที่อุณหภูมิต่ำ โครงสร้างจึงเกิดการคลายตัวได้ยากกว่า ดังนั้นจึงไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกขณะที่การบ่มที่อุณหภูมิสูงอาจส่งผลให้โครงสร้างคลายตัวได้ง่ายกว่าและเกิดการการจัดเรียงตัวใหม่ จึงส่งผลให้โครงสร้างผลึกเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Eerlingen et al. (1993) ที่รายงานว่า การบ่มที่อุณหภูมิต่ำ จะเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างผลึกชนิด B ซึ่งมีความเสถียรน้อยกว่า ขณะที่การบ่มที่อุณหภูมิสูงจะเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างผลึกชนิด A และจากการศึกษาของ Shamai, Bianco-Peled, and Shimoni (2003) รายงานว่า แป้งสตาρχข้าวโพดที่มีอะมิโลสสูง (High Amylose Corn Starch: HACS) เมื่อผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แสดงลักษณะโครงสร้างผลึกชนิด A+V นอกจากนี้ Pongjanta, Utaipattanaceep, Naivikul, and Piyachomkwan (2009) พบว่า แป้งสตาρχข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการรีโทรเกรดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมงและ



ภาพที่ 3.3 XRD pattern ของแป้งสตาρχข้าวตัดกึ่ง 15% ของแข็ง เมื่อทำการบ่มที่อุณหภูมิ 4, 25, 50, 80 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ตามด้วยการทำ freeze-thaw ที่อุณหภูมิ -10/30 องศาเซลเซียส มีลักษณะผลึกชนิด V

เมื่อทำการคำนวณปริมาณความเป็นผลึก (relative crystallinity) พบว่าแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ มีปริมาณความเป็นผลึกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยการบ่มที่อุณหภูมิ 25 และ 50 องศาเซลเซียส มีปริมาณความเป็นผลึกสูงสุดประมาณ 20% ขณะที่การบ่มที่อุณหภูมิ 80 และ 100 องศาเซลเซียส มีปริมาณความเป็นผลึกใกล้เคียงกันในช่วง 17-19% ส่วนการบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณความเป็นผลึกต่ำสุดที่ระดับ 16% แสดงดังตารางที่ 3.6 โดยความแตกต่างในด้านปริมาณปริมาณความเป็นผลึกนี้ Song and Jane (2000) กล่าวว่าอาจเกิดจากปัจจัยในด้านขนาดของผลึก ปริมาณของส่วนที่เป็นผลึก (ซึ่งมีอิทธิพลมาจากปริมาณอะมิโลเพกทินและความยาวของสายโซ่ของอะมิโลเพกทิน) ตำแหน่งของสายเกลียวคู่ภายในส่วนผลึก และขอบเขตในการเกิดปฏิสัมพันธ์กันระหว่างสายเกลียวคู่ต่าง ๆ

ตารางที่ 3.6 ปริมาณความเป็นผลึก (relative crystallinity) ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง 15% ของแข็งเมื่อทำการบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

Aging temperature (°C)	Relative crystallinity (%)	Crystal pattern
4	16.19 ± 1.53 ^c	B+V
25	20.70 ± 0.92 ^a	B+V
50	20.06 ± 0.18 ^a	B+V
80	19.08 ± 0.52 ^{ab}	B+V
100	17.24 ± 0.33 ^{bc}	B+V

ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อนโดยเทคนิค DSC ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งหลังผ่านการบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 3.7 พบว่าอุณหภูมิการบ่มส่งผลต่อคุณภาพของผลึกที่เกิดขึ้น โดยจะส่งผลให้เกิดผลึกที่มีความคงตัวที่อุณหภูมิต่างกัน จากการทดลองพบว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส แสดงอุณหภูมิในการเปลี่ยนเฟสของโครงสร้างผลึกอยู่ในช่วง 110-125 องศาเซลเซียส ซึ่งมีค่าสูงกว่าการบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ ผลที่ได้นี้มีความสัมพันธ์กับชนิดของผลึกที่ตรวจพบ โดยการบ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จะเกิดผลึกชนิด C (A+B) (ตารางที่ 3.6) ที่มีความเสถียรมากกว่า ขณะที่การบ่มที่อุณหภูมิต่ำกว่า จะเกิดผลึกชนิด B+V ที่มีความเสถียรน้อยกว่าที่เป็นเช่นนี้แสดงให้เห็นว่าเมื่ออุณหภูมิการบ่มสูงขึ้นจะมีผลในการเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวกัน

ของโมเลกุลอะมิโลส (Mizuno et al, 1998) หรือโมเลกุลของสายโซ่กลูแคนซึ่งเกิดขึ้นภายหลังการตัดกิ่ง เกิดเป็นโครงสร้างผลึกที่มีความเสถียรต่อความร้อนได้สูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งเมื่อผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 25 และ 50 องศาเซลเซียส มีค่า $T_c - T_0$ มากกว่าการบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ ซึ่งอาจเกิดจากอุณหภูมิการบ่มดังกล่าวเหนี่ยวนำให้เกิดผลึกที่มีลักษณะแตกต่างกัน (heterogeneous crystalline) มากกว่า (Gunaratne and Hoover, 2002) เมื่อพิจารณาถึงค่า ΔH ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงจำนวนของสายเกลียวคู่ (double helix) ที่เกิดการคลายตัวหรือหลอมละลายในระหว่างให้ความร้อน พบว่าแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส มีค่า ΔH เท่ากับ 6.2 จูลต่อกรัม ซึ่งมีค่าน้อยกว่าแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิต่ำกว่า ทั้งนี้อาจเกิดจากจำนวนพันธะของสายเกลียวคู่ของสายโซ่กลูแคนที่เกิดขึ้นภายในโครงสร้างผลึกมีการถูกทำลายไปบางส่วนในระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิสูง แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งที่ไม่ผ่านการบ่ม (ตารางที่ 3.3) และที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่าแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งที่ผ่านการบ่มทุกอุณหภูมิมียค่า ΔH สูงกว่าแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งที่ไม่ผ่านการบ่ม ซึ่งอาจเกิดจากการบ่มมีการเหนี่ยวนำให้มีการรวมตัวกันของสายโซ่กลูแคนเกิดเป็นเกลียวคู่มากขึ้น

ตารางที่ 3.7 สมบัติการหลอม (endothermic transition) ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง 15% ของแข็ง เมื่อทำการบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

Aging temp. (°C)	T_0 (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	$T_c - T_0$ (°C)	ΔH (J/g)
4	85.8 ± 2.7 ^c	102.5 ± 1.5 ^b	107.2 ± 0.6 ^c	21.4 ± 2.1 ^b	13.3 ± 0.9 ^{ab}
25	84.7 ± 0.8 ^c	102.9 ± 1.9 ^b	111.5 ± 1.5 ^b	26.8 ± 2.3 ^a	17.3 ± 2.9 ^a
50	86.9 ± 2.6 ^c	102.8 ± 3.0 ^b	111.3 ± 0.4 ^c	24.4 ± 2.2 ^a	11.7 ± 2.2 ^b
80	97.5 ± 4.4 ^b	106.0 ± 3.7 ^b	110.6 ± 0.8 ^b	13.1 ± 3.5 ^c	12.0 ± 2.0 ^b
100	110.2 ± 0.1 ^a	119.7 ± 0.8 ^a	125.1 ± 0.8 ^a	14.8 ± 1.0 ^c	6.2 ± 1.3 ^c

ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3.4.4 ผลของอุณหภูมิการบ่มแบบวนรอบ (time-temperature cycling) ต่อการสร้าง RS

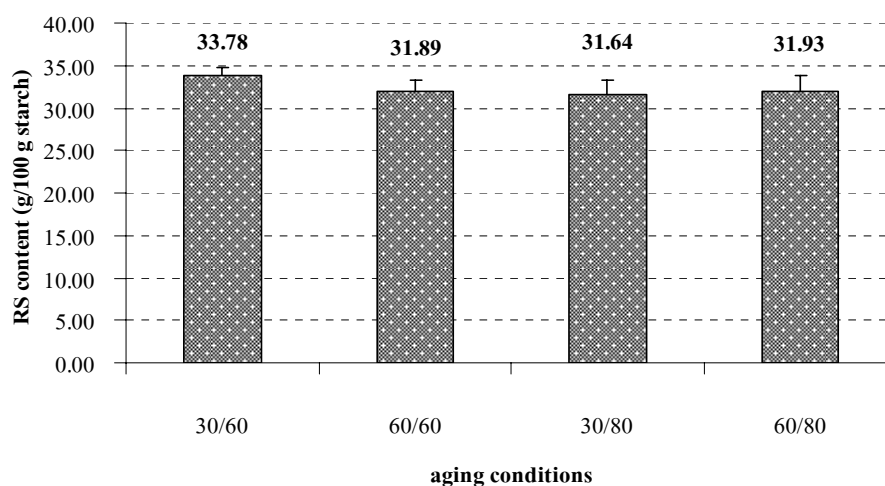
โดยทั่วไปการบ่มแป้งสตาร์ชโดยใช้อุณหภูมิแบบวนรอบหลังจากการเจลาติไนเซชันและการตัดกิ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการเพิ่มปริมาณ RS ให้สูงขึ้น โดยจะส่งเสริมให้มีปริมาณผลึกเกิดมากขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นผลึกที่มีความสมบูรณ์มากขึ้น หรืออาจจะเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความ

เสถียรของผลึก (Haynes et al., 2000; Leong et al., 2007) ซึ่งการเกิดผลึก (crystallization) ของระบบที่มีความเป็นผลึกบางส่วนนั้นจะเกี่ยวข้องกับ 3 ขั้นตอน (Eerlingen et al., 1993; Roos, 1995; Silverio et al., 2000) คือ การเกิดนิวเคลียสผลึก (nucleation), การเติบโตของผลึก (propagation) และการเติบโตของผลึกอย่างช้า ๆ เกิดเป็นผลึกที่สมบูรณ์ขึ้น (maturation) ซึ่งขั้นตอนทั้งหมดดังที่กล่าวมาล้วนขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ โดยอัตราการเกิด nucleation และ propagation จะเป็นตัววัดอัตราการเกิดผลึกทั้งหมด (overall crystallization) (Eerlingen et al., 1993; Onyango et al., 2006) และอัตราการเกิดผลึกสูงสุดโดยรวมจะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิระหว่าง T_g และ T_m โดยทั่วไป nucleation มีอัตราการเกิดสูงที่อุณหภูมิใกล้ ๆ T_g (glass transition temperature) ของแป้งสตาร์ช ซึ่งมีค่าประมาณ -5 องศาเซลเซียส (Gray and BeMiller, 2003) ดังนั้นในการศึกษานี้จึงเลือกใช้อุณหภูมิ nucleation ที่ 30 และ 60 องศาเซลเซียส ขณะที่ propagation จะมีอัตราการเกิดสูงที่อุณหภูมิใกล้ ๆ T_m (melting temperature) ของแป้งสตาร์ช โดยจากผลการทดลองที่ได้ดังตารางที่ 3.3 พบว่าสตาร์ชข้าวตัดกิ่งมีค่า T_g ที่ประมาณ 107 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงเลือกใช้อุณหภูมิ propagation ที่ 60 และ 80 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังคาดว่ารูปแบบของการบ่มโดยใช้อุณหภูมิแบบวนรอบน่าจะส่งผลต่อการสร้าง RS ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง เช่น จำนวนรอบของการ nucleation และ propagation (Haynes et al., 2000; Fredriksson et al., 2000; Leeman et al., 2006; Leong et al., 2007) เป็นต้น ดังนั้นจึงทำการศึกษารูปแบบของการบ่มแบบวนรอบด้วย

3.4.4.1 ผลของการบ่มแบบวนรอบ (time-temperature cycling) แบบที่ 1 ต่อการสร้าง RS

การศึกษาผลของอุณหภูมิการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 ได้ศึกษาอุณหภูมิ nucleation 2 อุณหภูมิ คือ 30 และ 60 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ propagation 2 อุณหภูมิ คือ 60 และ 80 องศาเซลเซียส ซึ่งการบ่มแบบวนรอบที่สภาวะต่าง ๆ จะแทนด้วยสัญลักษณ์ 30/60, 30/80, 60/60, และ 60/80 ตามลำดับ โดยใช้ระยะเวลา propagation นานกว่า nucleation เนื่องจากมีสมมติฐานว่าระยะเวลาในการ propagation ที่นานอาจมีผลในการเพิ่มการสร้าง RS โดยการบ่มรอบที่ 1 จะใช้เวลาในการ nucleation 3 ชั่วโมงและใช้เวลาในการ propagation 6 ชั่วโมง ขณะที่การบ่มรอบที่ 2 จะใช้เวลาในการ nucleation 12 ชั่วโมงและใช้เวลาในการ propagation 18 ชั่วโมง และการบ่มรอบที่ 3 จะใช้เวลาในการ nucleation 3 ชั่วโมงและใช้เวลาในการ propagation 6 ชั่วโมง รวมระยะเวลาการบ่มทั้งหมด 48 ชั่วโมง จากผลการทดลองพบว่าทั้งอุณหภูมิ nucleation และ propagation ที่ศึกษา ไม่มีผลทางสถิติต่อการสร้าง RS ($p > 0.05$) โดยปริมาณ RS ที่วิเคราะห์ได้มีค่าอยู่ในช่วง 31-34% แสดงดังภาพที่ 3.4

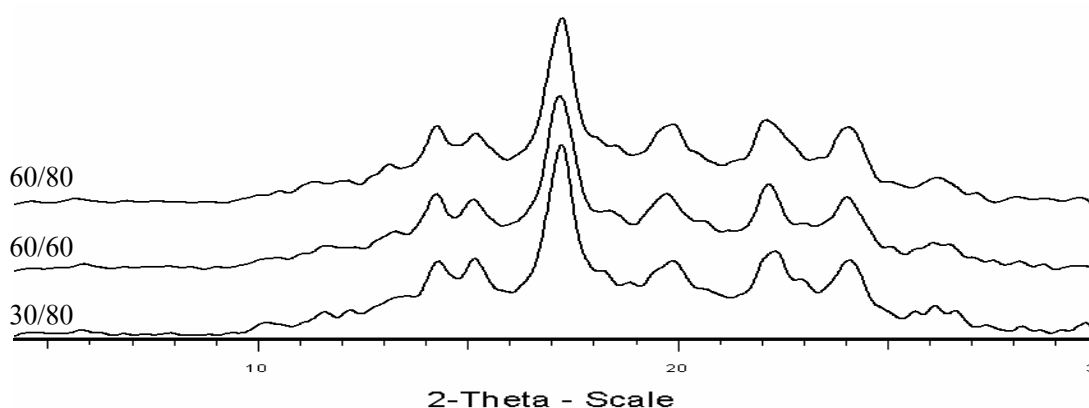
การศึกษาผลของอุณหภูมิ nucleation (30 และ 60 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิ propagation ที่ใช้ (60 และ 80 องศาเซลเซียส) พบว่าไม่มีผลต่อการสร้าง RS ($p > 0.05$) ทั้งนี้อาจเกิดจากอุณหภูมิดังกล่าวมีผลให้เกิด nucleation และ propagation ในอัตราที่ใกล้เคียงกัน ประกอบกับระยะเวลาที่ใช้ในการ nucleation อาจสั้นเกินไป จึงส่งผลให้มีปริมาณนิวเคลียสผลึกเริ่มต้นเกิดขึ้นน้อย ถึงแม้ว่าจะเพิ่มระยะเวลาการ propagation ให้นานขึ้น ก็ไม่สามารถที่จะเพิ่มปริมาณ RS ได้ แสดงว่าการบ่มวนรอบรูปแบบนี้ไม่สามารถที่จะเพิ่มปริมาณ RS ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับการบ่มแบบ isothermal ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 48 ชั่วโมง (สภาวะ 60/60) ซึ่งมีปริมาณ RS เกิดขึ้น 31.89% และจากการศึกษาของ Haynes et al. (2000) พบว่าเจลแป้งสตาร์ชข้าวโพด Hylon VII ความเข้มข้น 33% ที่ผ่านการบ่มแบบวนรอบที่อุณหภูมิ nucleation 60, 80 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จำนวน 2 รอบ ตามด้วยการ propagation ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จำนวน 1 รอบ มีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงกว่าการบ่มที่อุณหภูมิ nucleation 4, 20 และ 40 องศาเซลเซียส โดยสามารถเพิ่มปริมาณ RS ได้ในช่วง 3-10% เมื่อเปรียบเทียบกับการบ่มที่อุณหภูมิ nucleation 20 องศาเซลเซียส ดังนั้นจากผลการทดลองที่ได้ครั้งนี้จึงกล่าวได้ว่าการใช้อุณหภูมิ nucleation 30 หรือ 60 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ propagation 60 หรือ 80 องศาเซลเซียส สำหรับการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 ให้ปริมาณ RS ไม่แตกต่างกันในช่วง 32-34%



ภาพที่ 3.4 ปริมาณ RS ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง เมื่อผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 ที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

การตรวจสอบชนิดและปริมาณผลึกด้วยเทคนิค XRD พบว่าแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งที่ผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 ที่อุณหภูมิ nucleation และ propagation ต่าง ๆ (30/80, 60/60 และ 60/80) มี XRD pattern เหมือนกันแสดงดังภาพที่ 3.5 โดยเกิด singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 5.6 และ

17° และเกิด doublet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 22.2 และ 24.2° ซึ่งเป็นลักษณะของผลึกชนิด B และยังพบอีก 1 singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 19.8° แสดงถึงลักษณะผลึกชนิด V (Derycke et al., 2005) ดังนั้นผลึกของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 เป็นชนิด B+V สำหรับปริมาณความเป็นผลึกของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 ที่อุณหภูมิ nucleation และ propagation ต่าง ๆ (30/80, 60/60 และ 60/80) มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) คือ 26.15, 26.52 และ 26.38% ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 3.8 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะผลึกของการบ่มแบบ isothermal ที่อุณหภูมิ 25 และ 80 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 3.3) จะเห็นว่า XRD pattern แสดงความชัดเจนของพีคที่ตำแหน่งต่าง ๆ ซึ่งบ่งบอกว่าเป็นผลึกชนิด B มากกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณความเป็นผลึกทั้งหมดสูงกว่าด้วย ผลที่ได้นี้แสดงว่าอุณหภูมิ nucleation 30 หรือ 60 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ propagation 60 หรือ 80 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อชนิดของผลึกและปริมาณความเป็นผลึกที่ตรวจสอบได้



ภาพที่ 3.5 XRD pattern ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง เมื่อผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 ที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.8 ปริมาณผลึก (relative crystallinity) ของ RS เมื่อผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

Nucleation /Propagation temperature(°C)	Relative crystallinity (%)	Crystal pattern
30/60	n. d.	n. d.
30/80	26.15 ± 0.40	B + V
60/60	26.52 ± 1.81	B + V
60/80	26.38 ± 1.75	B + V

n.d. หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์

3.4.4.2 ผลของการบ่มแบบวนรอบ (time-temperature cycling) แบบที่ 2 ต่อการ สร้าง RS

จากผลการทดลองข้างต้นพบว่าอุณหภูมิ nucleation และ propagation ที่ใช้ในการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 ไม่ส่งผลต่อการสร้าง RS ดังนั้นการศึกษาผลของการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2 จึงศึกษาที่อุณหภูมิ nucleation เดิม แต่ศึกษาอุณหภูมิ propagation ที่สูงขึ้นเนื่องจากมีสมมุติฐานเพื่อหลอมผลึกบางส่วนโดยใช้อุณหภูมิสูงกว่า T_m ของแป้งสาลีที่ระยะเวลาหนึ่ง และใช้ระยะเวลา propagation สั้นกว่าหรือเท่ากับระยะเวลา nucleation นอกจากนี้ยังใช้จำนวน nucleation มากกว่า propagation 1 ครั้ง เพราะคาดว่า การใช้จำนวน nucleation มากกว่า propagation สามารถหลีกเลี่ยงการเกิดและเติบโตของผลึกที่ไม่ต้องการ เช่น ผลึกของ amylos-lipid complex (Haynes et al., 2000) เป็นต้น ซึ่งอุณหภูมิ propagation ที่ศึกษา คือ 80 และ 120 องศาเซลเซียส และระยะเวลา propagation ที่ศึกษา คือ 1.5 และ 3 ชั่วโมง โดยใช้การบ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นตัวควบคุม (control) การบ่มรอบที่ 1 จะใช้เวลาในการ nucleation 3 ชั่วโมงและใช้เวลาในการ propagation 1.5 หรือ 3 ชั่วโมง ตามลำดับ ตามด้วยการบ่มรอบที่ 2 ซึ่งจะใช้เวลาในการ nucleation 18.5 หรือ 16.5 ชั่วโมง ตามลำดับ และใช้เวลาในการ propagation 1.5 หรือ 3 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนการบ่มรอบที่ 3 จะใช้เวลาในการ nucleation 18.5 หรือ 16.5 ชั่วโมง ตามลำดับ และใช้เวลาในการ propagation 1.5 หรือ 3 ชั่วโมง ตามลำดับและการบ่มรอบสุดท้าย จะใช้เวลาในการ nucleation 3.5 หรือ 3 ชั่วโมง ตามลำดับ รวมระยะเวลาการบ่มทั้งหมด 48 ชั่วโมง เท่ากันในทุก ๆ สถานะการบ่ม ซึ่งที่สถานะการบ่มต่าง ๆ จะแทนด้วยสัญลักษณ์ A ถึง I ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 3.9 จากการทดลองพบว่าตัวอย่าง control ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีปริมาณ RS เกิดขึ้น 31.53% โดยมีค่าสูงกว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งมีปริมาณ RS เกิดขึ้น 27.39% (ภาพที่ 3.2) จึงอาจกล่าวได้ว่าการเพิ่มระยะเวลาการบ่มที่อุณหภูมิดังกล่าวมีผลในการเพิ่มปริมาณ RS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เนื่องจากการใช้ระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้นจะเหนี่ยวนำให้ double helix มารวมกัน (aggregation) เกิดเป็นโครงสร้างผลึกที่มีความคงตัวมากกว่า (Leong et al., 2007) แต่อย่างไรก็เมื่อเปรียบเทียบกับ การบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 48 ชั่วโมง (มีปริมาณ RS 31.89%) และ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง (มีปริมาณ RS 33.22%) กลับพบว่า มีปริมาณ RS ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ปริมาณ RS ที่ได้จากทุกสถานะการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2 มีค่าอยู่ในช่วง 30-37% แสดงดังตารางที่ 3.9 โดยที่สถานะการบ่มแบบวนรอบ A, B, E และ F เป็นสถานะที่สร้าง RS ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 35-37% ขณะที่การบ่มที่สถานะ C, D, G และ H เป็นสถานะที่สร้าง RS ได้ในปริมาณ 29-32%

ตารางที่ 3.9 ปริมาณ RS ของแป้งสาลีข้าวตัดกึ่ง เมื่ออบแบบวนรอบแบบที่ 2 ที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

Aging conditions	Nucleation /Propagation temp. (°C)	Propagation time (h)	RS content (g/100 g starch)
A	30/80	1.5	37.31 ± 0.21 ^a
B		3	37.16 ± 0.31 ^a
C	30/120	1.5	29.93 ± 3.38 ^b
D		3	31.61 ± 2.30 ^b
E	60/80	1.5	36.01 ± 1.83 ^a
F		3	34.64 ± 0.17 ^a
G	60/120	1.5	29.48 ± 0.29 ^b
H		3	31.86 ± 1.53 ^b
I	80/80 (control)	-	31.53 ± 1.23 ^b

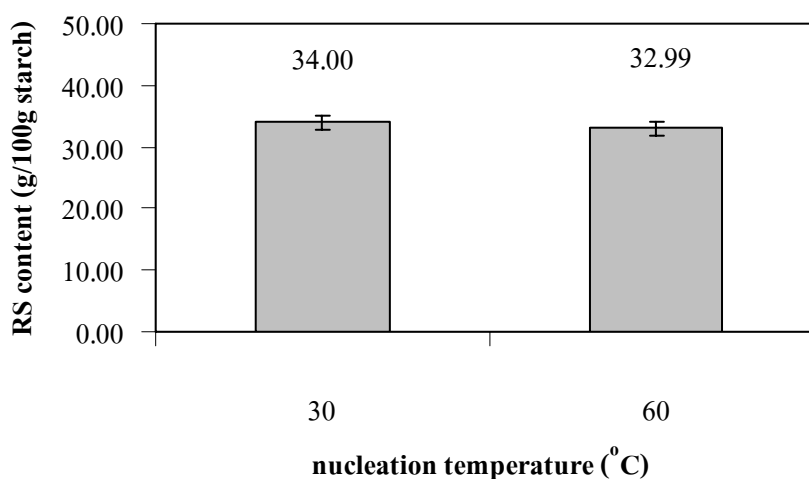
ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

สำหรับผลของอุณหภูมิ nucleation ต่อการสร้าง RS โดยใช้สภาวะการอบแบบวนรอบแบบที่ 2 ได้ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 3.6 ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้ในการสร้างผลึกทั้ง 2 อุณหภูมิคือ 30 และ 60 องศาเซลเซียส ไม่แสดงความแตกต่างทางสถิติในด้านของปริมาณ RS ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 34% สำหรับการอบที่ 30 องศาเซลเซียส และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 32.99% สำหรับการอบที่ 60 องศาเซลเซียส โดยผลที่ได้สอดคล้องกับผลของการอบแบบวนรอบแบบที่ 1

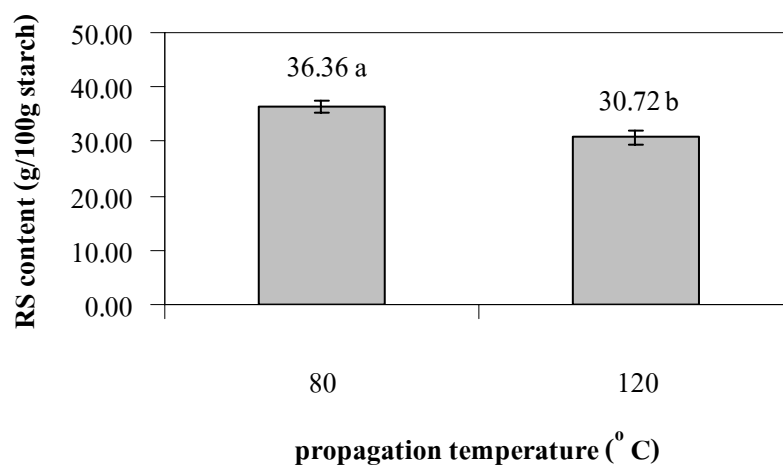
การศึกษาผลของอุณหภูมิ propagation พบว่าอุณหภูมิ propagation ที่ใช้ศึกษา คือ 80 และ 120 องศาเซลเซียส มีผลต่อปริมาณ RS โดยการเพิ่มอุณหภูมิจาก 80 เป็น 120 องศาเซลเซียส มีผลในการลดการสร้าง RS อย่างมีนัยสำคัญเชิงสถิติ ($p < 0.01$) จาก 36.36 เป็น 30.72% แสดงภาพที่ 3.7 ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากอุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่สูงกว่า T_m ของแป้งสาลีข้าวตัดกึ่ง ดังนั้นการเกิด nucleation จึงถูกจำกัด ขณะเดียวกันก็อาจทำให้เกิดการหลอมโครงสร้างส่วนที่เป็นผลึกบางส่วนหรือทั้งหมด ซึ่งอัตราการเติบโตของผลึกจะมีค่าน้อยมากหรือเป็นศูนย์เมื่ออุณหภูมิการ propagation สูงกว่า T_m ($T > T_m$) (Eerlingen et al., 1993) ส่วนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่ต่ำกว่าหรือเข้าใกล้ T_m จึงส่งผลให้มีการเติบโตของผลึกสูง (Eerlingen et al., 1993) โดยจะ

ทำให้ระบบมีความหนืดมากกว่า โมเลกุลของอะมิโลสและโมเลกุลสายสั้นๆ (สาย A) หรือสายยาว (สาย B) ของอะมิโลเพกทินที่เกิดขึ้นหลังจากการตัดกิ่งสามารถเคลื่อนที่เข้าหากันได้ดีขึ้น ซึ่งโมเลกุลเหล่านี้จะเคลื่อนที่มาจากผิวของนิวเคลียสผลึก (Roos, 1995) เกิดเป็นผลึกที่มีขนาดใหญ่มากขึ้น ดังนั้นปริมาณ RS จึงมีค่าสูงกว่า ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการทำ autoclaving-cooling cycles ของเจลแป้งสตาร์ช amylo maize VII ที่อุณหภูมิ 121, 134 และ 148 องศาเซลเซียส โดยเมื่อเพิ่มอุณหภูมิส่งผลให้ได้ปริมาณ RS ลดลง โดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 148 องศาเซลเซียส (Sievert and Pomeranz, 1989) อย่างไรก็ตาม Haynes et al. (2000) รายงานว่าการทำ autoclaving-cooling cycles ของเจลแป้งสตาร์ช Hylon VII ความเข้มข้น 40% ที่ผ่านการ autoclave ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงกว่าการ autoclaving ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส

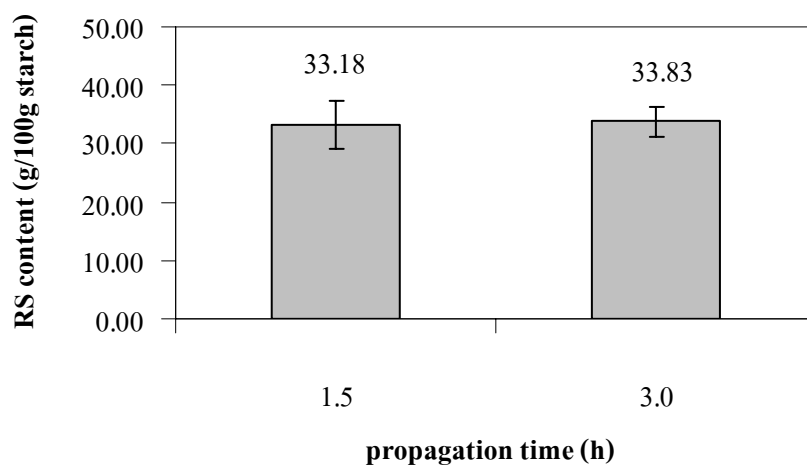
เมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาในการ propagation ซึ่งคาดว่าอาจจะมีผลต่อการเติบโตของผลึกและความสมบูรณ์ของผลึก จากผลการทดลองพบว่าระยะเวลาการ propagation ที่ 1.5 หรือ 3 ชั่วโมงไม่มีผลต่อการสร้าง RS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการเพิ่มระยะเวลา propagation จาก 1.5 ชั่วโมงเป็น 3 ชั่วโมง แสดงปริมาณ RS ใกล้เคียงกันที่ระดับ 33.18-33.83% แสดงดังภาพที่ 3.8 เพราะฉะนั้นจึงสามารถเลือกใช้ระยะเวลาการ propagation ได้ทั้ง 2 ระยะเวลา



ภาพที่ 3.6 ผลของอุณหภูมิ nucleation ต่อปริมาณ RS ที่ได้จากการบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งแบบวนรอบแบบที่ 2



ภาพที่ 3.7 ผลของอุณหภูมิ propagation ต่อปริมาณ RS ที่ได้จากการบ่มแป้งสาร์ชข้าวตัดกิ่งแบบวนรอบแบบที่ 2 โดยใช้ระยะเวลา propagation 1.5 และ 3 ชั่วโมง; ตัวอักษรที่ต่างกันบนกราฟ หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 3.8 ผลของระยะเวลา propagation ต่อปริมาณ RS ที่ได้จากการบ่มแป้งสาร์ชข้าวตัดกิ่งแบบวนรอบแบบที่ 2

คุณสมบัติทางความร้อนของแป้งสาร์ชข้าวตัดกิ่งเมื่อผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2 ซึ่งตรวจด้วยเครื่อง DSC แสดงดังตารางที่ 3.10 จากผลการทดลองพบว่า การเพิ่มอุณหภูมิ nucleation สูงขึ้นจาก 30 เป็น 60 องศาเซลเซียส ไม่มีผลทางสถิติต่อค่า T_o , T_p , T_c และ ΔH แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิ propagation สูงขึ้นจาก 80 เป็น 120 องศาเซลเซียส พบว่ามีผลทางสถิติต่อการเพิ่มของ T_m โดยแสดงผล

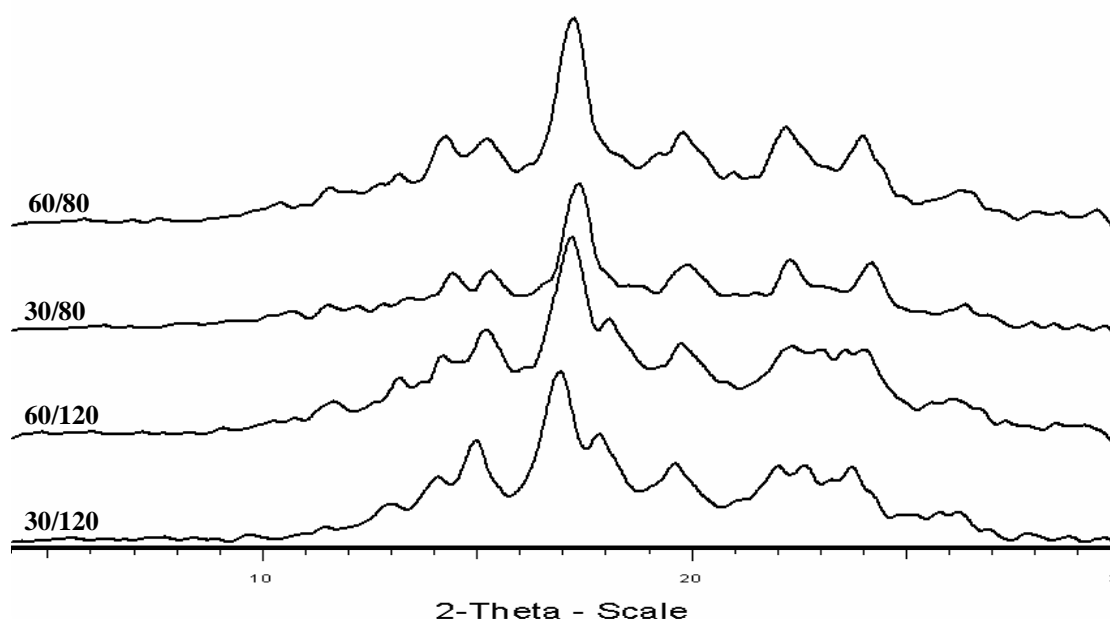
ทั้งค่า T_0 , T_p และ T_c ซึ่งมีค่าในช่วง 88-110 องศาเซลเซียส สำหรับการบ่มที่อุณหภูมิ propagation 80 องศาเซลเซียส และในช่วง 109-125 องศาเซลเซียส สำหรับการบ่มที่อุณหภูมิ propagation 120 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจเกิดจากการหลอมโครงสร้างส่วนที่เป็นผลึกที่ไม่สมบูรณ์บางส่วนในระหว่างการบ่มที่อุณหภูมิ 120°C ขณะเดียวกันก็เกิดการเติบโตของผลึกเกิดเป็นผลึกที่มีความสมบูรณ์มากขึ้น แสดงให้เห็นว่าการบ่มที่อุณหภูมิสูงมีผลให้เกิดผลึกที่มีความสมบูรณ์มากกว่า (Mizuno, Mitsuiki, and Motoki., 1998)

ตารางที่ 3.10 สมบัติการหลอม (endothermic transition) ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งเมื่อบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2 ที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยใช้ระยะเวลา propagation 1.5 ชั่วโมง

Aging conditions	T_0 (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	$T_c - T_0$ (°C)	ΔH (J/g)
30/80)	87.5 ± 0.6 ^b	99.1 ± 0.1 ^b	108.4 ± 1.2 ^b	21.1 ± 1.8 ^a	11.14 ± 1.3 ^a
30/120	108.8 ± 0.2 ^a	115.7 ± 0.1 ^a	123.1 ± 0.3 ^a	14.3 ± 0.5 ^a	6.8 ± 0.3 ^a
60/80	90.9 ± 2.4 ^b	101.1 ± 1.1 ^b	109.5 ± 0.5 ^b	18.6 ± 1.9 ^a	13.4 ± 4.6 ^a
60/12	108.6 ± 0.3 ^a	116.2 ± 1.3 ^a	124.8 ± 0.5 ^a	16.2 ± 0.8 ^a	9.0 ± 1.8 ^a

ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลึกของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ได้จากการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2 มี XRD pattern แสดงดังภาพที่ 3.9 เมื่อพิจารณาจาก XRD pattern พบว่า ผลึกที่ได้จากการบ่มที่อุณหภูมิ propagation ต่างกันมี 2 ชนิด โดยการบ่มที่อุณหภูมิ propagation 80 องศาเซลเซียส (ทั้งการ nucleation ที่ 30 และ 60 องศาเซลเซียส) มี XRD pattern เหมือนกัน โดยเกิด singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 17° เกิด doublet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 22° และ 24° ตามลำดับ ซึ่งเป็นลักษณะของผลึกชนิด B นอกจากนี้ยังเกิด singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 19.7° ซึ่งเป็นลักษณะของผลึกชนิด V ดังนั้นผลึกที่ได้นี้จึงมีลักษณะผลึกชนิด B+V แต่การบ่มที่อุณหภูมิ 120°C เกิด board peak ที่ ตำแหน่ง 2θ ที่ 23° และเห็นแนวโน้มการเกิด doublet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 17° และ 18° นอกจากนี้ยังเห็นลักษณะของ singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 15° ซึ่งเป็นลักษณะของผลึกชนิด A และยังพบ singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 19.7° ซึ่งเป็นลักษณะของผลึกชนิด V ดังนั้นผลึกที่ได้นี้จึงเป็นชนิด A+V แสดงว่าการ propagation ที่อุณหภูมิสูงมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะผลึกจาก B เป็น A ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ



ภาพที่ 3.9 XRD pattern ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่งเมื่อบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2 ที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 8 ชั่วโมง โดยใช้ระยะเวลา propagation 1.5 ชั่วโมง

Gidly (1987) ที่กล่าวว่าอุณหภูมิต่ำจะสนับสนุนให้เกิดการจัดเรียงตัวของสายเกลียวคู่ของโมเลกุลอะมิโลสเกิดเป็นโครงสร้างผลึกชนิด B แต่ที่อุณหภูมิสูงจะสนับสนุนให้เกิดการจัดเรียงตัวเกิดเป็นโครงสร้างผลึกชนิด A ซึ่งมีความคงตัวมากกว่า สำหรับการศึกษาคั้งนี้พบว่าการ propagation ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ไม่มีผลในการเปลี่ยนแปลงลักษณะผลึกของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกิ่ง ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะการตัดกิ่งแป้งสตาร์ชข้าวที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีผลให้เกิดโครงสร้างที่มีความเสถียร (stability) ต่อความร้อนสูง ซึ่งมีค่า T_p ประมาณ 110 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 3.3) ดังนั้นเมื่อนำมาบ่มแบบวนรอบโดยใช้อุณหภูมิ propagation 80 องศาเซลเซียส อาจไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างผลึก ขณะที่การบ่มโดยใช้อุณหภูมิ propagation 120 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างผลึก โดยอาจทำให้เกิดการคลายตัวของโครงสร้างและเกิดการจัดเรียงตัวใหม่เกิดเป็นโครงสร้างที่แข็งแรงและมีความเสถียรต่อความร้อนได้มากขึ้น นอกจากนี้ยังอาจเกิดการหลอมของผลึกบางส่วน ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเพิ่ม อุณหภูมิ propagation จาก 80 เป็น 120 องศาเซลเซียส มีผลในการลดการสร้าง RS (ภาพที่ 3.9)

และเนื่องจากผลึกชนิด V มีค่า T_m อยู่ในช่วงเดียวกับผลึกที่ตรวจพบจากตัวอย่าง ซึ่ง Siswoyo and Morita (2001) รายงานว่าผลึกของ type II amylose-lipid complex ที่เกิดในช่วงอุณหภูมิมากกว่าหรือเท่ากับ 90°C ถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 112-119 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Derycke et al. (2005) ก็พบว่าผลึกของ type II amylose-lipid complex จากแป้งสตาร์ชข้าวโพดสามารถ

ถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิในช่วง 110-115 องศาเซลเซียส เช่นกัน ดังนั้นจึงเห็นเป็นฟีกเดียวเมื่อตรวจสอบสมบัติการหลอมด้วยเครื่อง DSC ซึ่งเมื่อพิจารณาพร้อมกับผลการวิเคราะห์สมบัติการหลอม (ตารางที่ 3.10) อาจกล่าวได้ว่าช่วงอุณหภูมิที่เกิดการทำลายโครงสร้างผลึกของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการวนรอบแบบที่ 2 โดยใช้อุณหภูมิ propagation สูง ที่สภาวะ 30/120 และ 60/120 สามารถทำลายผลึกชนิด V ได้

ปริมาณความเป็นผลึกของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการบ่มแบบอุณหภูมิวนรอบแบบที่ 2 ที่สภาวะต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 3.11 โดยมีค่ามากขึ้นเมื่ออุณหภูมิ propagation สูงขึ้น การบ่มที่อุณหภูมิ propagation ต่ำที่สภาวะ 30/80 และ 60/80 มีปริมาณความเป็นผลึก 27.95 และ 28.24% ตามลำดับ ขณะที่การบ่มที่อุณหภูมิ propagation สูงที่สภาวะ 30/120 และ 60/120 มีปริมาณความเป็นผลึก 31.48 และ 34.17% ตามลำดับ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าผลึกที่เกิดขึ้นจากการ propagation ที่อุณหภูมิสูงมีขนาดใหญ่และมีความสมบูรณ์ของผลึกอยู่มาก ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่า T_m (ตารางที่ 3.10)

ตารางที่ 3.11 ปริมาณความเป็นผลึก (relative crystallinity) และรูปแบบผลึกของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งเมื่อบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2 ที่สภาวะต่าง ๆ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยใช้ระยะเวลา propagation 1.5 ชั่วโมง

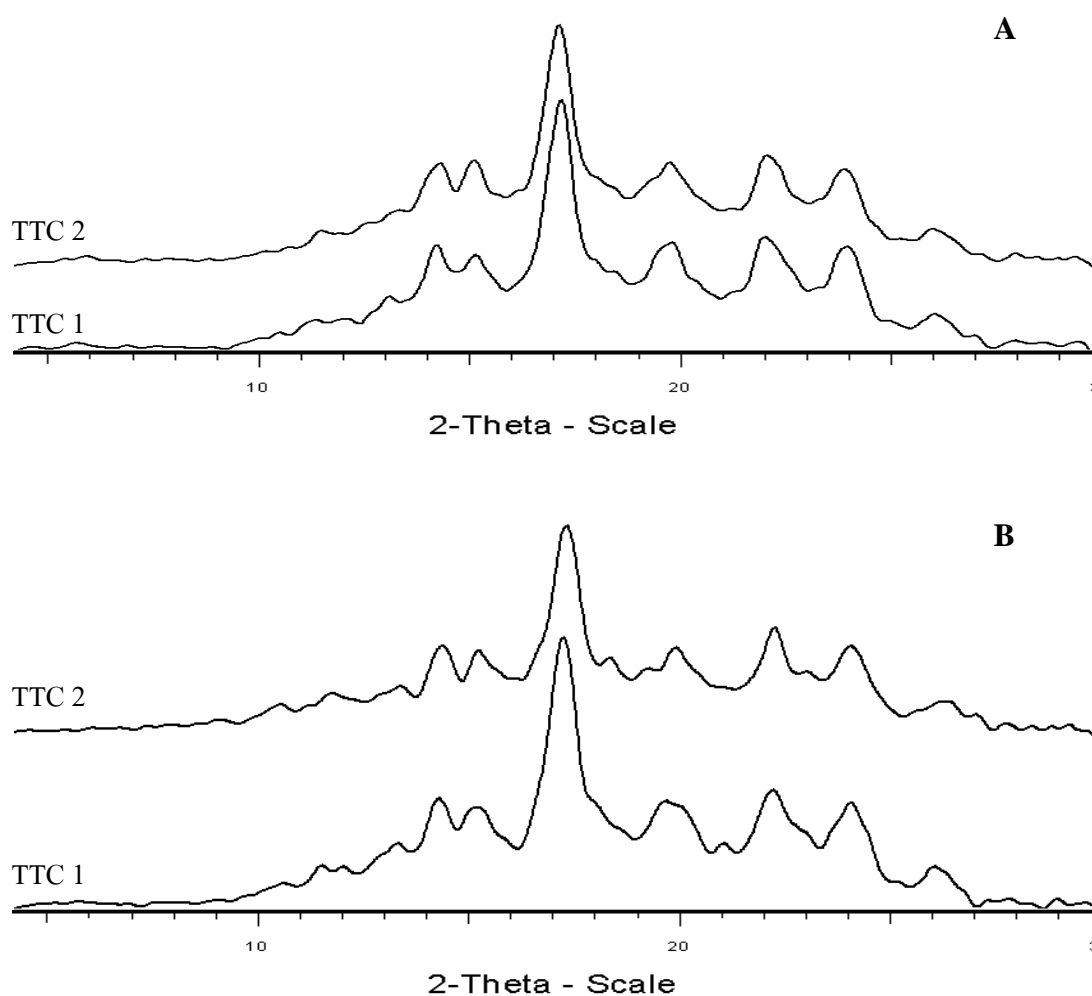
Aging conditions	Relative crystallinity (%)	Crystal pattern
30/80	27.95 ± 0.54 ^a	B + V
30/120	31.48 ± 0.21 ^b	A + V
60/80	28.24 ± 0.44 ^a	B + V
60/120	34.17 ± 0.57 ^b	A + V

ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3.4.4.3 การเปรียบเทียบผลของการบ่มแบบวนรอบ 2 แบบต่อปริมาณ RS และลักษณะทางโครงสร้างผลึก

จากผลการทดลองตารางที่ 3.12 ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบรูปแบบการบ่มแบบวนรอบ 2 แบบ โดยใช้อุณหภูมิ nucleation 30 หรือ 60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ propagation 80 องศาเซลเซียส และใช้เวลาการบ่มทั้งหมด 48 ชั่วโมง พบว่า การบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 (TTC 1) ซึ่งใช้จำนวนรอบ 3 รอบ และใช้ระยะเวลา propagation นานกว่า nucleation (TTC แบบที่ 1) มีปริมาณ RS

เกิดขึ้น 32% ขณะที่การบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2 (TTC 2) ซึ่งใช้จำนวนรอบ 3.5 รอบ และใช้ระยะเวลา propagation สั้นกว่ามีปริมาณ RS เกิดขึ้น 37% ทั้งนี้อาจเกิดจากการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 2 มีจำนวนรอบของการบ่มมากกว่าประกอบกับการใช้ระยะเวลา nucleation ที่นานขึ้น ดังนั้นจึงมีโอกาสเหนี่ยวนำให้เกิดนิวเคลียสผลึกเริ่มต้นเป็นจำนวนมาก ซึ่งสามารถเติบโตเป็นผลึกที่มีขนาดใหญ่และมีความแข็งแรง ซึ่งสามารถทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ได้มากขึ้นด้วย แต่อย่างไรก็ตาม ลักษณะผลึกที่ได้เป็นชนิด B+V เหมือนกัน ซึ่งมี XRD pattern แสดงดังภาพที่ 3.10 ผลที่ได้นี้แสดงให้เห็นว่ารูปแบบของการบ่มแบบวนรอบ ซึ่งใช้จำนวนรอบของการ nucleation และระยะเวลาในการ propagation แตกต่างกันไม่มีผลต่อลักษณะโครงสร้างของผลึกที่ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าไม่ทำให้ปริมาณความเป็นผลึกทั้งหมดแตกต่างกันด้วย โดยมีค่าในช่วง 26-28%



ภาพที่ 3.10 XRD pattern ของตัวอย่างแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 และ 2 ที่สภาวะ 30/80 (A) และ ที่สภาวะ 60/80 (B) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.12 ปริมาณ RS ปริมาณความเป็นผลึก (relative crystallinity) และลักษณะผลึกของ แป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบที่ 1 และ 2 ที่สภาวะ 30/80 และสภาวะ 60/80 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

Type of TTC	Nucleation /Propagation temperature (°C)	RS content (g/ 100 g starch)	Relative crystallinity (%)	Crystal pattern
1	30/80	31.78 ± 0.92 ^b	26.15 ± 0.40 ^a	B + V
2		37.31 ± 0.21 ^a	27.95 ± 0.54 ^a	B + V
1	60/80	31.74 ± 1.86 ^b	26.38 ± 1.75 ^a	B + V
2		36.01 ± 1.83 ^b	28.24 ± 0.44 ^a	B + V

ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3.5 สรุปผลการทดลอง

สภาวะการบ่มเป็นขั้นตอนสำคัญที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณ RS ของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่ง การเพิ่มปริมาณของแข็งจาก 15-30% และการเพิ่มระยะเวลาการบ่มจาก 24 เป็น 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิการบ่ม 4 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อปริมาณการสร้าง RS ขณะที่การบ่มแบบอุณหภูมิเดียวที่ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิ 4, 25, 80 และ 100 องศาเซลเซียส แต่ไม่มีความสัมพันธ์ทางบวกกับปริมาณผลึกที่ตรวจพบ นอกจากนี้ผลึกที่ได้มีลักษณะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม โดยการบ่มที่อุณหภูมิ 4, 25, 50 และ 80 องศาเซลเซียส จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะผลึกของแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งซึ่งยังคงเป็นผลึกชนิด B+V ขณะที่การบ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส มีผลให้ลักษณะผลึกเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นชนิด C+V นอกจากนี้การเพิ่มอุณหภูมิการบ่มยังมีผลในการเพิ่มอุณหภูมิการเปลี่ยนแปลงของผลึกด้วย ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับลักษณะผลึกที่พบ คือ การบ่มที่อุณหภูมิสูงจะเกิดผลึกที่มีความสมบูรณ์มากกว่าจึงมีการเปลี่ยนเฟสที่อุณหภูมิสูงกว่า การบ่มแบบวนรอบโดยใช้ระยะเวลา propagation สั้นกว่าหรือเท่ากับ nucleation และเพิ่มจำนวนการบ่มอีกครั้งรอบทำให้มีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงกว่าการบ่มแบบวนรอบแบบที่ใช้ระยะเวลา propagation นานกว่า nucleation เมื่อใช้อุณหภูมิ nucleation ที่ 30 หรือ 60 องศาเซลเซียส และใช้อุณหภูมิ propagation 80 องศาเซลเซียส การเพิ่มอุณหภูมิ nucleation จาก 30 เป็น 60 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ propagation จาก 60 เป็น 80 องศาเซลเซียส ไม่แสดงความแตกต่างในด้านปริมาณ RS และปริมาณความเป็นผลึก ในขณะที่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิ propagation จาก 80 เป็น 120 องศาเซลเซียส มีผลในการลดปริมาณ RS และ

เพิ่มปริมาณความเป็นผลึก รวมถึงมีผลในการเพิ่มอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสของผลึกอีกด้วย นอกจากนี้ยังแสดงลักษณะผลึกที่ต่างกัน โดยการ propagation ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส แสดงลักษณะผลึกชนิด B+V ซึ่งเหมือนกับการบ่มแบบ isothermal ที่อุณหภูมิ 4, 25, 50 และ 80 องศาเซลเซียส ขณะที่การ propagation ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส แสดงลักษณะผลึกชนิด A+V สำหรับการศึกษาในครั้งนี้พบว่า การบ่มแบบวนรอบที่สภาวะ 30/80 มีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงสุดที่ 37.31% และมีอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสสูงกว่าการบ่มแบบ isothermal ที่มีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงสุดเพียง 33.22% ดังนั้นในการผลิตแป้งสตาร์ชข้าวที่มีปริมาณ RS สูงควรคำนึงถึงสภาวะที่ใช้ในการบ่มเป็นสำคัญ

3.6 รายการอ้างอิง

- Agama-Acevedo, E., Rendon-Villalobos, R., Tovar, J., Parades-Lopez, O., Islas-Hernandez, J.J., and Bello-Perez, L. (2004). In vitro starch digestibility changes during storage of maize flour tortillas. **Nahrung/Food** 48(1): 38-42.
- American Association of Cereal Chemists (AACC). (1990). **Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists**. Vol. 2. 8th ed., The Approved Methods Committee, St. Paul, Minn. 698 p.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1997). **Official Methods of Analysis**. Vol. 2. 15th ed., The Association of Official Agricultural Chemists, Virginia. 613 p.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2002). **Official Methods of Analysis**. Method 2002.2 (18th ed.). Arlington VA.
- Berry C.S. (1986). Resistant starch: formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fiber. **Journal of Cereal Science** 4: 30-314.
- Buleon, A., Colonna, P., Planchot, V., and Ball, S. (1998). Starch granules : structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules** 23: 85-112.
- Cheetham, N.W.H., and Tao, L. (1998) Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. **Carbohydrate Polymers** 36: 277-284.
- Derycke, V. et al. (2005). Starch gelatinization and amylose–lipid interactions during rice parboiling investigated by temperature resolved wide angle X-ray scattering and differential scanning calorimetry. **Journal of Cereal Science** 42(3): 334-343.

- Eerlingen, R.C., Crombez, M., and Delcour, J.A. (1993). Enzyme-resistant starch. I. Quantitative and qualitative influence of incubation time and temperature of autoclave starch on resistant starch formation. **Cereal Chemistry** 70 (3): 339-344.
- Eerlingen, R.C., and Delcour, J.A. (1995). Formation, Analysis, Structure and Properties of TypeIII Enzyme Resistant Starch. **Journal of Cereal Science** 22: 129-138.
- Eerlingen, R.C., Jacobs, H., and Delcour, J.A. (1994). Enzyme-resistant starch V. Effect of retrogradation of waxy maize starch on enzyme susceptibility. **Cereal Chemistry** 71(4): 351-355.
- Englyst, H.N., and Hudson, G.J. (1992). The classification and measurement of dietary carbohydrates. **Food Chemistry** 57: 15-21.
- Farhat, I.A., Protzmann, J., Valles-Pamies, B., Neale, R., and Hill, S.E. (2001). Effect of the extent of conversion and retrogradation on the digestibility of potato starch. **Starch/Stärke** 53(9): 431-436.
- Gidley, M.J. (1987). Factors affecting crystalline type of native starch and model materials. **Carbohydrate Research** 161: 301-304.
- Gonzalez-Soto, R.A., Agama-Acevedo, E., Solorza-Feria, J., Rendon-Villalobos, R., and Bello-Perez, L.A. (2004). Resistant starch made from banana starch by autoclave and debranching **Starch/Stärke** 56: 495-499.
- González-Soto, R.A., Mora-Escobedo, R., Hernández-Sánchez, H., Sánchez-Rivera, M., and Bello-Pérez, L.A.(2006). The influence of time and storage temperature on resistant starch formation from autoclaved debranched banana starch. **Food Research International** 40(2): 304-310.
- Gunaratne, A., and Hoover, R. (2002). Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. **Carbohydrate Polymers** 49: 425-437..
- Han, X. Z., Ao, Z., Janaswamy, S., Jane, J.L., Chandrasekaran, R., and Hamaker, B.R. (2006). Development of a Low Glycemic Maize Starch: Preparation and Characterization. **Biomacromolecules** 7:1162-1168.
- Haynes, L., et al. (2002). Enzyme-resistant starch for reduced calorie flour replacer. **US Patent #6,352,733 B1**.
- Hermans, P.H., and Weidinger, A. (1961). On the determination of the crystalline fraction of polyethylenes from X-ray diffraction. **Macromolecular Chemistry** 24: 24-36.

- Islas-Hernandez, J.J., et al. (2006). In vitro digestion rate and resistant starch content of tortillas stored at two different temperatures. **Lebensm.-Wiss.u.-Technol** 39: 947-951
- Juliano, B.O. (1971). A simplified assay for milled rice amylose. **Cereal Science Today** 16(10): 334-338.
- Kettlitz, B.W., Coppin, J.V.J-M, Roper H.W.W., and Bornet, F. (2000). Highly fermentable resistant starch. **US patent# 6,043,229**.
- Leeman, A.M., Karlsson, M.E, Eliasson, A.C., and Bjorck, I.M.E. (2006). Resistant starch formation in temperature treated potato starches varying in amylose/amylopectin ratio. **Carbohydrate Polymers** 65: 306-313.
- Lehmann, U., Jacobasch, G., and Schmiedl, D. (2002). Characterization of resistant starch type III from banana (*Musa acuminata*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 50: 5236-5240.
- Leong, Y.H., Karim, A.A., and Norziah, M.H. (2007). Effect of Pullulanase Debranching of Sago (*Metroxylon sagu*) Starch at Subgelatinization Temperature on the Yield of Resistant Starch. **Starch/Stärke** 59: 21-32.
- Lu, T.-J., Jane, J.-I., and Keeling, P.L. (1997). Temperature effect on retrogradation rate and crystalline structure of amylose. **Carbohydrate Polymers** 33(1): 19-26.
- Miao, M., Jiang, B., and Zhang, T. (2009). Effect of pullulanase debranching and recrystallization on structure and digestibility of waxy maize starch. **Carbohydrate Polymers** 76: 214-221.
- Mizuno, A., Mitsuiki, M., and Motoki, M. (1998) Effect of crystallinity on the glass transition temperature of starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 46: 98-103.
- Onyango, C., Bley, T., Jacob, A., Henle., T., and Rohm, H. (2006). Influence of incubation temperature and time on resistant starch type III formation from autoclaved and acid-hydrolysed cassava starch. **Carbohydrate Polymers** 66(4): 494-499.
- Park, E.Y., Baik, B.-K., and Lim, S.-T. (2009). Influences of temperature-cycled storage on retrogradation and in vitro digestibility of waxy maize starch gel. **Journal of Cereal Science**: 1-6
- Pongjanta, J., Utaipattanaceep, A., Naivikul O., and Piyachomkwan, K. (2009). Debranching enzyme concentration effected on physicochemical properties and α -amylase hydrolysis rate of resistant starch type III from amylose rice starch. **Carbohydrate Polymers**, **Inpress**.

- Ranhotra, G.S., Gelroth, J.A., and Glaser, B.K. (1996). Energy value of resistant starch. **Journal of Food Science** 61(2):453-5.
- Roos Y.H. (1995). Characterization of food polymers using state diagrams. **Journal of Food Engineering** 24: 339-360.
- Sajilata, M.G., Singhal, R.S., and Kulkarni, P.R.(2006). Resistant Starch-A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** 5:1-17.
- Schmidl, D., Baurelein, M., Bengs, H., and Jacobasch, G. (2000). Production of heatstable, butyrogenic resistant starch. **Carbohydrate Polymers** 43: 183-193.
- Schmiedel, D., Konig, B. J., and Jacobasch, G. (2003). Processing for preparing resistant starch. **US patent #6, 623, 943.**
- Shamai, K., Bianco-Peled, H., and Shimoni, E. (2003). Polymorphism of resistant starch type III. **Carbohydrate Polymers** 54: 363-369.
- Shi, Y. C., Cui, X., Birkett, A. M., and Thatcher, M. G. (2003). Resistant starch prepared by isoamylase debranching of low amylose starch. **US patent #7,081,261.**
- Sievert, D., and Pomeranz, Y. (1989). Enzyme-resistant starch II. Characterization and evaluation by enzymatic, thermoanalytical and microscopic methods. **Cereal Chemistry** 66(4): 342-347.
- Silverio, J., Fredriksson, H., Anderson, R., Eliasson, A.C., and Aman, P. (2000). The effect of temperature cycling on the amylopectin retrogradation of starches with different amylopectin unit-chain length distribution. **Carbohydrate Polymers** 42: 175-184.
- Siswoyo, T. A., and Morita, N. (2001). Thermal dissociation of amylose-lipid complex influenced by acyl chain lengths in Monoacyl-*sn*-glycerophosphatidylcholine. **Analytical Sciences** 17: i1053-i1055.
- Sivak, M. N., and Preiss, J. (1998). Starch:Basicscience to biotechnology. **Advances in Food & Nutrition Research.** 13-32.
- Somogyi, M. (1952). Notes on sugar determination. **Journal of Biological Chemistry** 195:19-23.
- Song, Y., and Jane, J. (2000). Characterization of barley starches of waxy, normal, and high amylose varieties. **Carbohydrate Polymer** 41: 365-377.
- Yue P., and Waring, S. (1998). Functionality of resistant starch in food applications. **Food Australia** 50(12): 615-21.

บทที่ 4

ผลของวิธีการดึ่งน้ำออกต่อปริมาณแป้งย่อยช้าและแป้งทนย่อยต่อเอนไซม์

Effect of dehydration methods on slowly digestible starch and resistant starch content

4.1 บทคัดย่อ

แป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งถูกนำมาใช้ในการศึกษาผลของสภาวะและวิธีการดึ่งน้ำออกต่อปริมาณแป้งย่อยเร็ว (rapidly digestible starch, RDS) แป้งย่อยช้า (slowly digestible starch, SDS) และแป้งทนย่อยต่อเอนไซม์ (resistant starch, RS) โดยสภาวะต่าง ๆ ของการดึ่งน้ำออกด้วยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง ประกอบด้วย ปริมาณของแข็งที่ 10% และ 24% อุณหภูมิลูกกลิ้ง 120 และ 140 องศาเซลเซียส วิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย ประกอบด้วย อุณหภูมิขาเข้าที่ระดับ 150 และ 170 องศาเซลเซียส อุณหภูมิขาออกที่ระดับ 90 และ 110 องศาเซลเซียส และการอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 ชั่วโมงและ 8 ชั่วโมงไม่มีผลต่อปริมาณ RDS, SDS และ RS ($p>0.05$) ส่วนวิธีเอกซ์ทรูชัน ซึ่งประกอบด้วย ปริมาณของแข็ง คือ 10% และ 24% ความเร็วรอบสกรูที่ 150 และ 300 รอบต่อนาที ไม่มีผลต่อการเกิด RDS และ RS ($p>0.05$) ขณะที่อุณหภูมิใบเรลโซนสุดท้าย 120 และ 150 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเกิด RDS และ RS ($p<0.05$) การดึ่งน้ำออกมีผลทำให้ปริมาณ RS ลดลงจากแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการบ่มแบบวนรอบแบบสด (control) และมีผลในการเพิ่มปริมาณ RDS และ SDS สำหรับวิธีการดึ่งน้ำออกซึ่งประกอบด้วยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง การทำแห้งแบบพ่นฝอย การทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน การทำแห้งแบบแฟลช และวิธีเอกซ์ทรูชัน มีผลต่อปริมาณ RDS และ RS ($p<0.01$) การดึ่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยให้ปริมาณ RS สูงสุดที่ระดับ 43.20% ขณะที่การดึ่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบแฟลช การใช้ตู้อบลมร้อน การทำแห้งแบบลูกกลิ้ง และวิธีเอกซ์ทรูชัน มีปริมาณ RS เท่ากับ 40.11%, 38.53%, 36.26% และ 35.32% ตามลำดับ แป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ได้จากการดึ่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งแสดงลักษณะผลิตภัณฑ์ A+V และมีอุณหภูมิที่ใช้ในการเปลี่ยนเฟส (T_m) ในช่วง 116-123 องศาเซลเซียส ขณะที่การดึ่งน้ำออกโดยวิธีอื่น ๆ แสดงลักษณะผลิตภัณฑ์ B+V แป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการดึ่งน้ำออกโดยวิธีเอกซ์ทรูชันมีค่า T_m ในช่วง 107-120 องศาเซลเซียส ส่วนแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการดึ่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยและตู้อบลมร้อน มีค่า T_m ในช่วง 82-110 องศาเซลเซียส และ 83-107 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

4.2 บทนำ

แป้งสตาARCHเป็นหนึ่งในคาร์โบไฮเดรตหลักที่พบได้ทั่วไปในอาหาร โดยถูกแบ่งออกเป็น 3 ประเภทตามอัตราและระยะเวลาในการย่อย ได้แก่ แป้งสตาARCHที่สามารถถูกย่อยได้อย่างรวดเร็ว (rapidly digestible starch, RDS) แป้งสตาARCHที่สามารถถูกย่อยได้อย่างช้า ๆ (slowly digestible starch, SDS) และแป้งสตาARCHที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (resistant starch, RS) (Englyst and Hudson, 1992) เมื่ออาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตจำพวกแป้งถูกบริโภคเข้าสู่ร่างกาย จะมีเอนไซม์ทำหน้าที่ย่อยแป้งสตาARCHให้เป็นน้ำตาล และน้ำตาลดังกล่าวจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดเพื่อนำไปใช้เป็นพลังงานให้แก่ร่างกาย ซึ่งเมื่อมีการบริโภคอาหารประเภทแป้งที่มีสัดส่วนของ RDS ในปริมาณมาก ก็จะส่งผลให้มีระดับน้ำตาลกลูโคสและระดับฮอร์โมนอินซูลินในกระแสเลือดสูง (Englyst, Hudson, Cole, and Cummings, 1999) ขณะที่การบริโภคอาหารที่มีสัดส่วนของ SDS จะส่งผลให้มีระดับน้ำตาลกลูโคสและระดับฮอร์โมนอินซูลินในกระแสเลือดปานกลาง (Zhang, Sofyan, and Harmaker, 2008) เนื่องจากจะถูกย่อยเป็นน้ำตาลกลูโคสอย่างช้า ๆ แต่สมบูรณ์ในลำไส้เล็ก ซึ่งจะลดโอกาสเสี่ยงที่จะเป็นโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ เป็นต้น นอกจากนี้การบริโภคอาหารที่มีสัดส่วนของ RS สูง ก็มีประโยชน์ต่อร่างกายมากมาย เนื่องจาก RS ไม่สามารถถูกย่อยด้วยเอนไซม์ในลำไส้เล็ก ดังนั้นจึงผ่านเข้าสู่ลำไส้ใหญ่และถูกหมักโดยจุลินทรีย์เป็นกรดไขมันสายสั้น ๆ (short-chain fatty acid, SCFA) ซึ่งจะมีผลดีกับลำไส้ใหญ่ การศึกษาหาวิธีเพิ่มปริมาณ SDS และ RS ในอาหารจึงเป็นที่น่าสนใจในอุตสาหกรรมอาหารและนักวิจัยต่าง ๆ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคในอนาคต ซึ่งการเข้าใจถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเกิด SDS และ RS ถือเป็นพื้นฐานสำคัญในการเพิ่มปริมาณ SDS และ RS ในอาหาร

การจัดเรียงตัวของผลึกของแป้งสตาARCHเกิดเป็นผลึกชนิด A และ B จะมีผลต่อการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่ง Jane, Wong, and McPherson (1997) กล่าวว่าสายเกลียวคู่ (double helix) ที่สั้นกว่าและลักษณะโครงสร้างส่วนที่เป็นผลึกชนิด A พร้อมทั้งจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้ง่ายกว่า ดังนั้นจึงมีปริมาณของ RDS และ SDS สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งสตาARCHที่มีผลึกชนิด B ซึ่งจะมีปริมาณ RS สูงกว่า นอกจากนี้ปัจจัยในด้านลักษณะภายในของโครงสร้างเม็ดสตาARCHแล้ว ปัจจัยในด้านกระบวนการผลิตและการบ่มก็ส่งผลต่อปริมาณ SDS โดยจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสภาวะที่ใช้ในการตัดกิ่ง (debranching) มีผลต่อปริมาณ RDS, SDS และ RS (Guraya, James, and Champagne, 2001; Shin, Chung, Hamaker, Park, and Moon, 2004) นอกจากนี้ Niba (2003) ได้ศึกษาผลของการใช้ความร้อน อุณหภูมิและระยะเวลาการบ่ม ต่อการย่อยของแป้งฟลาวัวร์ข้าวโพด ข้าว มันสำปะหลัง มันเทศ plantain และ cocoyam ซึ่งพบว่าการบ่มที่อุณหภูมิห้องมีผลในการลดปริมาณ SDS ของแป้งฟลาวัวร์ทุกชนิด ยกเว้น plantain และมันเทศ ขณะที่การบ่มที่อุณหภูมิแช่แข็งมีผลในการลดปริมาณ SDS ของแป้งฟลาวัวร์ cocoyam และจากการศึกษาของ Zhang, Ao, and Hamaker (2006)

รายงานว่าการย่อยแป้งสตาarchซึ่งอยู่ในส่วนของอสัณฐาน (amorphous region) และส่วนของผลึก (crystalline region) เกิดจากกลไก inside-out และ side-by-side และตั้งสมมุติฐานว่า ส่วนของ amorphous จะถูกย่อยได้ง่ายโดยเอนไซม์และสามารถมา pack ตัวกันและจัดเรียงตัวอย่างหนาแน่น ซึ่งสามารถขัดขวางการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้

แป้งทนย่อยต่อเอนไซม์ชนิด 3 (RS) เป็นแป้งที่เกิดจากการรีโทรเกรเดชันของโมเลกุล อะมิโลส ซึ่งโดยทั่วไปกระบวนการผลิตจะประกอบด้วยการเจลาติไนเซชัน การรีโทรเกรเดชัน และการแยกแป้ง RS ที่ได้ ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดแป้งทนย่อยประเภทนี้มีอยู่ด้วยกันหลายชนิด โดยสภาวะการผลิตที่มีผลต่อการเกิดเจลาติไนเซชันและการเกิดรีโทรเกรเดชันล้วนแต่มีอิทธิพลต่อการเกิด RS ดังเช่นการศึกษาของ Chiu, Henley, and Altieri, (1994) ซึ่งได้พัฒนาวิธีการผลิต RS จากแป้งสตาarch Hylon VII และพบว่า การตัดพื้นระกึ่งของแป้งสตาarchด้วยเอนไซม์ตัดพื้นระกึ่งมีผลในการเพิ่มปริมาณ RS นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการแยกแป้งมีผลต่อปริมาณ RS ที่ได้ โดยการแยกแป้งด้วยกระบวนการเอกซ์ทรูชัน (extrusion) ที่อุณหภูมิบารเรล 150 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณ RS 30% ซึ่งสูงกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) ที่อุณหภูมิขาเข้า 210-215 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิขาออก 90-100 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณ RS เกิดขึ้น 21.5% ขณะที่การแยกแป้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแฟลช (flash drying) โดยใช้อุณหภูมิขาเข้า 250 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิขาออก 175 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณ RS 30.6% ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าการทำแห้งโดยใช้อากาศที่อุณหภูมิห้องและการทำแห้งแบบพ่นฝอย และจากการศึกษาของ Shi, Cui, Birkett, and Thatcher (2006) ที่ทำการผลิตแป้งสตาarch RS จากแป้งสตาarchข้าวโพดและแป้งสตาarchมันฝรั่งที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำ ซึ่งกระบวนการที่ใช้ประกอบด้วยการใช้เอนไซม์ไอโซอะมิเลสในการตัดกึ่งแบบสมบูรณ์ จากนั้นทำการบ่มแป้งสตาarchตัดกึ่งดังกล่าวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 16 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดการสร้างผลึก และสุดท้ายทำการดึงน้ำออกจากแป้งสตาarchโดยใช้อากาศ (air-dried) ซึ่งแป้งสตาarchที่ได้หลังผ่านกระบวนการมีปริมาณ RS มากกว่า 80% และมี T_m ในช่วง 120-134 องศาเซลเซียส สำหรับแป้งสตาarchข้าวโพด และ 96-127 องศาเซลเซียส สำหรับแป้งสตาarchมันฝรั่ง นอกจากนี้ Koksel, Masatcioglu, Kahraman, Ozturk, and Basman (2008) รายงานว่าการเจลาติไนเซชันที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส และการ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส กับสารละลายแป้งสตาarchข้าวโพดความเข้มข้น 5% ตามด้วยการทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS เกิดขึ้น 8.1% ซึ่งสูงกว่าการทำแห้งโดยวิธีแช่เยือกแข็ง (lyophilization) ที่มีปริมาณ RS เกิดขึ้นเพียง 2.9% ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ozturk, Koksel, Kahraman, and Ng (2009) ที่พบว่าแป้งสตาarch Hylon V และ Hylon VII หลังผ่านการตัดแปรโดยการให้ความร้อนเพื่อให้เกิดเจลาติไนเซชัน การ autoclave การตัดกึ่ง และการทำ autoclaving-storing cycles ที่สภาวะต่าง ๆ ตามด้วยการทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS เกิดขึ้น 38-40% และ 44-48% สำหรับ

แป้งสตาร์ช Hylon V และ Hylon VII ตามลำดับ ส่วนการทำแห้งโดยวิธีแช่เยือกแข็ง (freeze drying) แป้งสตาร์ช Hylon V มีปริมาณ RS เกิดขึ้นในช่วง 28-34% ขณะที่แป้งสตาร์ช Hylon VII มีปริมาณ RS เกิดขึ้น 35-42% นอกจากนี้การเอกซ์ทรูชันตัวอย่างที่มีแป้งเป็นส่วนประกอบแล้วตามด้วยการทำให้เย็น (cooling) เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดผลึกนั้นสามารถเพิ่มปริมาณ RS ได้ (Haralampu, 2000) ดังเช่นการศึกษาของ Kim, Tanhehco, and Ng (2006) ที่ศึกษาการผลิต RS จากแป้งฟลาวร์สาลีสำหรับทำเพสตรี (pastry wheat flour) ด้วยกระบวนการเอกซ์ทรูชัน ซึ่งพบว่าความเร็วรอบสกรู ในช่วง 150-250 รอบต่อนาที ไม่มีผลต่อปริมาณ RS ในขณะที่ความชื้นมีผลต่อปริมาณ RS โดยที่ความชื้น 60% มีปริมาณ RS เกิดขึ้น 2.5-2.7% ขณะที่ความชื้น 20 และ 40 % ไม่มีผลต่อปริมาณ RS ซึ่งมีปริมาณ RS เกิดขึ้น 0.5% และ 0.7% ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากที่ความชื้น 60% เป็นช่วงที่เหมาะสมสำหรับการเกิดรีโทรเกรเดชันและเมื่อนำแป้งเพสตรีมาเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาต่าง ๆ สามารถเพิ่มปริมาณ RS ได้ ดังนั้นความชื้นและเวลาในการเก็บเป็นปัจจัยสำคัญต่อการสร้าง RS ส่วนการศึกษาของ Faraj, Vasanthan, and Hoover (2004) พบว่ากระบวนการเอกซ์ทรูชันแป้งฟลาวร์บาร์เลย์ (barley flour) พันธุ์ข้าวเหนียว (waxy) และพันธุ์ข้าวเจ้า (regular) ภายใต้อุณหภูมิบารเรล 90-160 องศาเซลเซียส ความชื้น 20-40% และความเร็วรอบสกรู 60-100 รอบต่อนาที โดยทั่วไปไม่มีผลทำให้ปริมาณ RS ในแป้งฟลาวร์ลดลง แต่เมื่อนำมาเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนการอบแห้งจะช่วยเพิ่มปริมาณ RS ขณะที่การศึกษาการผลิต RS จากแป้งสตาร์ชแหล่งใหม่ ๆ (non-conventional starch) ที่ประกอบด้วยแป้งสตาร์ชกล้วย แป้งสตาร์ชมะม่วง และแป้งสตาร์ชข้าวโพดทางการค้าด้วยกระบวนการเอกซ์ทรูชัน ของ González-Soto, Mora-Escobedo, Hernández Sánchez, Sánchez-Rivera, and Bello-Pérez (2006) ซึ่งทำการเพิ่มความเร็วรอบสกรูในช่วง 30-65 รอบต่อนาที ในขณะที่คงที่ความชื้นและอุณหภูมิบารเรลไว้ที่ 35% และ 130°C ตามลำดับ พบว่าการเพิ่มความเร็วรอบสกรูมีผลในการลดปริมาณ RS ของแป้งสตาร์ชมะม่วงจาก 0.56 เป็น 0.31% และแป้งสตาร์ชข้าวโพดทางการค้าจาก 1.30 เป็น 0.73% ยกเว้นแป้งสตาร์ชกล้วยที่ให้ปริมาณ RS ใกล้เคียงกันที่ความเร็วรอบสกรู การศึกษาของ Hagenimana, Ding, and Fang, (2006) ซึ่งทำการดัดแปรแป้งฟลาวร์ข้าวด้วยกระบวนการเอกซ์ทรูชันภายใต้ความเร็วรอบสกรู 200-300 รอบต่อนาที อุณหภูมิบารเรล 100-160 องศาเซลเซียส และความชื้น 16-22% พบว่าสภาวะต่าง ๆ ของการเอกซ์ทรูชันมีผลต่ออัตราการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ โดยการเกิด RDS มีความสัมพันธ์ในเชิงลบกับ SDS และ RS ขณะที่การเกิด SDS มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับ RS

จากงานวิจัยที่ได้รวบรวมมา จะเห็นได้ว่าปัจจัยที่มีผลต่อการเกิด SDS และ RS ที่ศึกษากันส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับขั้นตอนการตัดกิ่งและผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการบ่ม สำหรับกระบวนการผลิตแป้งสตาร์ชนั้น ขั้นตอนการดึงน้ำออกหรือการทำแห้งถือเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญและคาดว่าจะมีผลต่อปริมาณ SDS และ RS ซึ่งข้อมูลในส่วนนี้ยังมีอยู่จำกัด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมี

วัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลของสภาวะต่าง ๆ ของการคั่งน้ำโดยวิธีการต่าง ๆ ได้แก่ การทำแห้งแบบลูกกลิ้ง การทำแห้งแบบพ่นฝอย การทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน และวิธีเอกซ์ทรูชัน ตลอดจนทำการเปรียบเทียบผลของการคั่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ ทั้ง 4 วิธีดังกล่าวกับวิธีทำแห้งแบบแฟลช (flash drying) ต่อปริมาณการเกิด SDS และ RS ในตัวอย่างแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการบ่มแบบอุณหภูมิมวนรอบ (retrograded, debranched rice starch, RDBRS) เพื่อให้เข้าใจแนวโน้มของการเกิดแป้งสตาร์ชทั้ง 2 ส่วนและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตแป้งสตาร์ชข้าวที่มีปริมาณ SDS และ RS สูงต่อไป

4.3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

4.3.1 การเตรียมแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่ผ่านการบ่มแบบอุณหภูมิมวนรอบ

นำแป้งสตาร์ชข้าวตัดกึ่งที่เตรียมโดยใช้วิธีการตามข้อ 3.3.2 มากรองโดยใช้ถุงผ้ากรอง (ซึ่งจะมีปริมาณของแข็ง 24%) จากนั้นทำการบ่มแบบอุณหภูมิมวนรอบแบบที่ 2 ตามสภาวะที่เลือกมาจากการศึกษาในบทที่ผ่านมาจำนวน 3 รอบครึ่ง ดังนี้

รอบที่ 1 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ตามด้วยการบ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง

รอบที่ 2 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18.5 ชั่วโมง ตามด้วยการบ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง

รอบที่ 3 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18.5 ชั่วโมง ตามด้วยการบ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง

รอบที่ 3.5 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3.5 ชั่วโมง

ซึ่งตัวอย่างที่ได้หลังครบเวลาการบ่มแบบอุณหภูมิมวนรอบนี้จะเรียกว่า RDBRS จากนั้นเมื่อครบเวลาการบ่มทั้งหมด 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้มาคั่งน้ำออก (dehydration) โดยวิธีการต่าง ๆ 5 วิธี คือ การทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum drying), การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying), การทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน (hot air oven drying), การทำแห้งแบบแฟลช (flash drying) และวิธีการเอกซ์ทรูชัน (extrusion)

4.3.2 การคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum drying)

นำตัวอย่าง RDBRS ที่มีปริมาณของแข็ง 24% บางส่วนมาปรับปริมาณของแข็งเป็น 10% โดยใช้น้ำปราศไออนและเครื่องปั่น super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) จากนั้นนำตัวอย่าง RDBRS ที่มีปริมาณของแข็ง 10% และ 24% มาผ่านเข้าเครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้งคู่ (double drum dryer 6x8, New Way Manufacturing Co, Ltd. Thailand) โดยกำหนดระยะห่าง

ระหว่างลูกกลิ้ง 2 มิลลิเมตร ความเร็วรอบของลูกกลิ้ง 0.5 รอบต่อนาที (47.20 Hz.) โดยตั้งค่าอุณหภูมิของลูกกลิ้งที่ 120 และ 140 องศาเซลเซียส ดังแผนการทดลองตารางที่ 4.1 จากนั้นนำตัวอย่างแบ่งที่ได้มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) และนำไปร่อนแยกขนาดด้วยเครื่องร่อน (Vibration Sieve Shaker, Fritsch) ให้มีขนาดน้อยกว่า 75 ไมครอน วิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีการของ AOAC (1997) วิเคราะห์ปริมาณ SDS และ RS ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Englyst, Kingman, and Hudson (1992) และ Englyst, Englyst, Hudson, Cole, and Cummings (1999)

ตารางที่ 4.1 แผนการทดลองสภาวะการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง

Conditions	Drum temperature (°C)	Solid content (%)
1	120	10
2	120	24
3	140	10
4	140	24

4.3.3 การคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying)

นำตัวอย่าง RDBRS ที่มีปริมาณของแข็ง 24% มาปรับปริมาณของแข็งเป็น 10% โดยใช้น้ำปราศไออนและเครื่องปั่น super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) จากนั้นนำตัวอย่าง RDBRS มาคั่งน้ำออกด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (ยี่ห้อ GEA Niro, รุ่น A/S Gladsaxevej 305 DK 2860, Soeborg, Denmark) โดยใช้หัว nozzle ที่มีความดันเท่ากับ 1 บาร์ และตั้งค่าอุณหภูมิขาเข้าและอุณหภูมิขาออกดังตารางที่ 4.2 จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีการของ AOAC (1997) วิเคราะห์ปริมาณ SDS และ RS ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Englyst et al. (1992; 1999)

ตารางที่ 4.2 แผนการทดลองสภาวะการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย

Conditions	Inlet temperature (°C)	Outlet temperature (°C)	Solid content (%)
1	150	90	10
2	150	110	
3	170	90	
4	170	110	

4.3.4 การดึงน้ำออกโดยวิธีการเอกซ์ทรูชัน (extrusion)

นำตัวอย่าง RDBRS ที่มีปริมาณของแข็ง 24% มาปรับปริมาณของแข็งเป็น 10% โดยใช้น้ำปราศไออนและเครื่องปั่น super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) จากนั้นนำตัวอย่าง RDBRS ที่มีปริมาณของแข็ง 10% และ 24% มาผ่านเข้าเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์สกรูคู่แบบหมุนตามกัน (APV Baker MPF 19:25, APV Baker, Peterborough, UK) และใช้หัวโค (die) แบบสี่เหลี่ยมแบน (slit) ขนาด 0.2 x 1.4 มิลลิเมตร โดยตั้งค่าอุณหภูมิใบเรลตามตารางที่ 4.3 และใช้ความเร็วรอบสกรู 2 ระดับ คือ 150 และ 300 รอบต่อนาที จากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านออกจากหัวโคไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ประมาณ 24 ชั่วโมง และนำตัวอย่างแบ่งที่ได้มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) และนำไปร่อนแยกขนาดด้วยเครื่องร่อน (Vibration Sieve Shaker, Fritsch) ให้มีขนาดน้อยกว่า 75 ไมครอน วิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีการของ AOAC (1997) วิเคราะห์ปริมาณ SDS และ RS ซึ่งคัดแปลงจากวิธีการของ Englyst et al. (1992; 1999)

ตารางที่ 4.3 แผนการทดลองสภาวะการดึงน้ำออกโดยวิธีเอกซ์ทรูชัน

Barrel Temperature (°C)				Screw speed (rpm)
Zone 1	Zone 2	Zone 3	Zone 4	
60	80	100	120	150
				300
60	90	120	150	150
				300

4.3.5 การดึงน้ำออกโดยใช้ตู้อบลมร้อน (hot air oven drying)

นำตัวอย่าง RDBRS ที่มีปริมาณของแข็ง 24% ปริมาณ 200 กรัม มาอบให้แห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 50 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 ชั่วโมงและ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.4 จากนั้นนำตัวอย่างแบ่งที่ได้มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) และนำไปร่อนแยกขนาดด้วยเครื่องร่อน (Vibration Sieve Shaker, Fritsch) ให้มีขนาดน้อยกว่า 75 ไมครอน วิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีการของ AOAC (1997) วิเคราะห์ปริมาณ SDS และ RS ซึ่งคัดแปลงจากวิธีการของ Englyst et al. (1992; 1999)

ตารางที่ 4.4 แผนการทดลองศึกษาภาวะการดึงน้ำออกโดยใช้ตู้อบลมร้อน

Conditions	Temperature (°C)	Solid content (%)	Time (h)
1	50	24	10
2	80	24	8

4.3.6 การดึงน้ำออกโดยวิธีทำแห้งแบบแฟลช (flash drying)

นำตัวอย่าง RDBRS ที่มีปริมาณของแข็ง 24% ปริมาณ 200 กรัม มาดึงน้ำออกโดยวิธี flash drying ด้วยเครื่อง Agglomerator (Aeromatic-Fileder AG, รุ่น STREA-1, GEA PharmaSystems Ltd., UK) และตั้งค่าอุณหภูมิไว้ที่ 110 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างแบ่งที่ได้มาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด super blender (ยี่ห้อ National รุ่น MX-T2GN, ใต้หวัน) และนำไปร่อนแยกขนาดด้วยเครื่องร่อน (Vibration Sieve Shaker, Fritsch) ให้มีขนาดน้อยกว่า 75 ไมครอน วิเคราะห์ปริมาณความชื้นตามวิธีการของ AOAC (1997) วิเคราะห์ปริมาณ SDS และ RS ซึ่งคัดแปลงจากวิธีการของ Englyst et al. (1992; 1999)

4.3.7 การตรวจสอบคุณสมบัติต่าง ๆ ของ RDBRS หลังผ่านการดึงน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ

4.3.7.1 การวิเคราะห์ปริมาณ RDS, SDS และ RS คัดแปลงจากวิธีการของ Englyst et al. (1992; 1999)

ชั่งตัวอย่างแป้งหนัก 400 มิลลิกรัม และกัวกัม (guar gum) 50 มิลลิกรัม ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงก้นกลมขนาด 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายอะซิเตรทบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5.2 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และใส่ลูกแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร จำนวน 5 ลูก นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที จากนั้นเติมสารละลายผสมเอนไซม์ 1.6 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์อะมิโลกลูโคซิเดส (amylglucosidase) (Sigma, A-3042) และแพนครีเอติน (pancreatin) (Sigma, P1750) จาก porcine pancreas ที่ประกอบด้วยเอนไซม์โปรตีเอส (protease) ไลเปส (lipase) และแอลฟา-อะมิเลส (α -amylase) บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (shaking water bath) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที โดยปรับความเร็วรอบที่ 200 stokes ต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่าง 0.4 มิลลิลิตร เมื่อบ่มครบเวลา 20 และ 120 นาที นำมาผสมกับ เอทานอลเข้มข้นปริมาตร 8 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิห้องที่ความเร็วรอบ 1,500x g เป็นเวลา 3 นาที และนำไปวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสโดยชุดทดสอบ PGO เอนไซม์ (Sigma, P7119) ที่ประกอบด้วยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) และ เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) ซึ่งจะเรียกว่า G_{20} และ G_{120} ตามลำดับ ส่วน

ตัวอย่างที่เหลือหลังจากบ่มครบ 120 นาที นำมาวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสทั้งหมด (total glucose, TG) โดยการต้มในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 30 นาที และทำให้เย็นในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลา 15-20 นาที จากนั้นเติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 7 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และนำไปบ่มใน shaking water bath อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที จากนั้นปีเปิดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมสารละลายเอนไซม์อะมิโลกลูโคซิเดส ที่มีกิจกรรม 50 ยูนิตต่อ มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลา ย้ายหลอดตัวอย่างไปไว้ในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที เจือจางด้วยน้ำปริมาตร 40 มิลลิลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิห้องที่ความเร็วรอบ 1,500x g เป็นเวลา 5 นาที เพื่อแยกตะกอน จากนั้นวัด ปริมาณ TG โดยชุดทดสอบ PGO เอนไซม์และคำนวณหาปริมาณ RDS, SDS และ RS จากสูตร

$$\text{RDS} = G_{20} \times 0.9$$

$$\text{SDS} = (G_{120} - G_{20}) \times 0.9$$

$$\text{RS} = (TG - G_{120}) \times 0.9$$

โดยที่ G_{20} = ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้หลังจากการย่อย 20 นาที

G_{120} = ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้หลังจากการย่อย 120 นาที

TG = ปริมาณน้ำตาลกลูโคสทั้งหมดที่มีในตัวอย่าง

0.9 = แฟกเตอร์สำหรับเปลี่ยน free glucose เป็น anhydro-glucose

โดยปริมาณ RDS, SDS และ RS รายงานผลเป็น % โดยน้ำหนักตัวอย่างแห้ง

4.3.7.2 การตรวจสอบคุณสมบัติทางโครงสร้างผลึก

นำตัวอย่างผงแป้ง RDBRS ที่ผ่านการดึ่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ มาอัดใน sample cell และตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Powder X-ray diffractometer รุ่น D5005 (Bruker GmbH, Germany) โดยใช้ 1.54\AA Cu K_{α} ในการกำเนิดรังสีเอกซ์ ทำการตรวจวัด diffraction pattern ในช่วงมุม (2θ) $4-30^{\circ}$ โดยกำหนดสภาพการตรวจวัดดังต่อไปนี้ กระแสไฟฟ้า 40 มิลลิแอมแปร์ ศักย์ไฟฟ้า 40 กิโลโวลต์ ความกว้าง divergence slit 1° ความกว้าง antiscattering slit 1° ความเร็วในการตรวจวัด 0.480 องศาต่อนาที (step size 0.02° และ time per step 2.5 วินาที) และถาดรองตัวอย่างหมุนด้วยความเร็วรอบ 30 รอบต่อนาที คำนวณหาปริมาณผลึก (relative crystallinity) ตามแบบวิธีของ Herman and Weidinger (1961) โดยปรับ baseline และความเรียบของ Diffraction pattern แล้ววัดพื้นที่ใต้ peak ของ Diffraction pattern ของตัวอย่างด้วยโปรแกรม EVA Diffract Plus#1 (Bruker GmbH, Germany) และคำนวณปริมาณผลึกจากสัดส่วนพื้นที่ส่วนผลึกต่อพื้นที่ทั้งหมด

4.3.7.3 การตรวจวัดคุณสมบัติทางความร้อน (thermal properties)

คุณสมบัติทางความร้อนของแป้ง RDBRS ที่ผ่านการดึ่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ ที่มีปริมาณ RS สูงสุดตรวจวัดด้วยเครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC) โดยชั่งตัวอย่างแป้งสตาร์ช 7.5 มิลลิกรัม และน้ำปราศจากไอออน 22.5 มิลลิกรัม ลงใน stainless steel DSC pan ปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องข้ามคืน จากนั้นนำไปให้ความร้อนด้วยเครื่อง Pyris Diamond DSC (Perkin Elmer, Connecticut, USA) โดยตั้งโปรแกรมในการวิเคราะห์ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 25-200 องศาเซลเซียส ที่อัตรา 10 องศาเซลเซียส ต่อนาที โดยใช้ระบบ Intracooler (Intracooler 1P, Perkin Elmer, Connecticut, USA) ในการให้ความเย็น ใช้ stainless steel DSC pan เปล่าเป็นตัวอ้างอิง (reference) และใช้ Indium เป็นสารมาตรฐาน (standard) ในการสอบเทียบอุณหภูมิ โดยค่าคุณสมบัติทางความร้อนที่ทำการวิเคราะห์มีดังนี้ คือ อุณหภูมิเริ่มต้นของการเปลี่ยนเฟส (onset temperature, T_o), อุณหภูมิสูงสุดของการเปลี่ยนเฟส (peak temperature, T_p), อุณหภูมิสุดท้ายของการเปลี่ยนเฟส (conclusion temperature, T_c), ช่วงอุณหภูมิของการเปลี่ยนเฟส ($T_c - T_o$) และค่าพลังงานของการเปลี่ยนเฟส (ΔH) โดยใช้โปรแกรม Pyris manager (Perkin-Elmer, Norwalk, USA)

4.3.8 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของตัวแปรอิสระที่ได้จากการทดสอบด้วย Analysis of variance (ANOVA) และวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Dunman's Multiple range comparison test (DMRT) โดยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS software version 6.12 (SAS Institute Inc., Cary, NC)

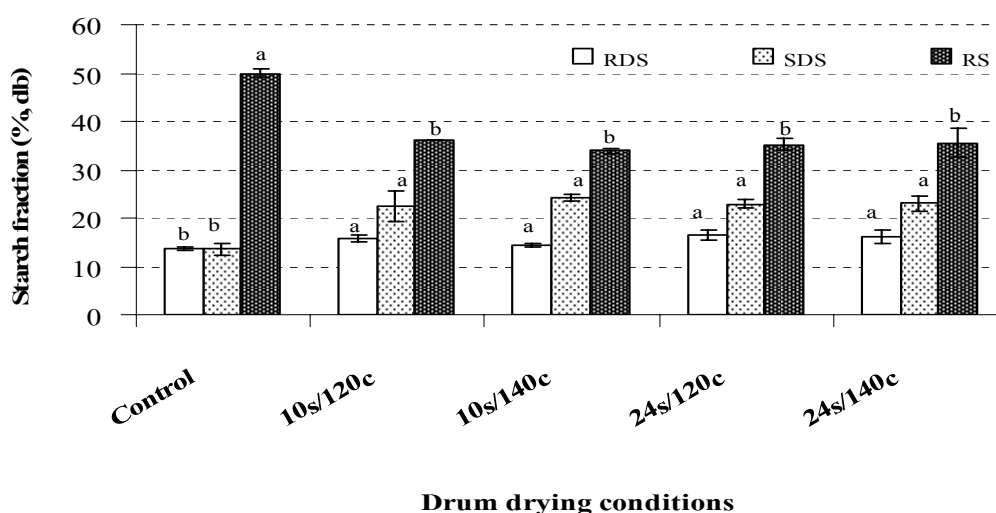
4.4 ผลการทดลองและวิจารณ์

4.4.1 ผลของสถานะการดึ่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ ต่อปริมาณ starch fraction

4.4.1.1 ผลของสถานะการดึ่งน้ำโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งต่อปริมาณ starch fraction

การดึ่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งอาศัยหลักการนำความร้อนจากไอน้ำภายในลูกกลิ้งผิวของลูกกลิ้ง จากการทดลองพบว่าปัจจัยด้านสถานะต่าง ๆ ของการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง ซึ่งประกอบด้วย ปริมาณของแข็ง 10% และ 24% อุณหภูมิลูกกลิ้ง 120 และ 140 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อปริมาณ RDS, SDS และ RS ($p > 0.05$) โดยแป้งสตาร์ช RDBRS ที่ได้หลังผ่านกระบวนการมีปริมาณ RDS, SDS และ RS อยู่ในช่วง 11-17%, 21-24% และ 35-36% ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 4.1 ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงปริมาณ RS เห็นได้ชัดเจนว่ามีค่าลดลงจาก RDBRS แบบสดที่ไม่ผ่านการดึ่งน้ำออก (control) ขณะที่ปริมาณของ RDS และ SDS มีค่าเพิ่มขึ้น โดยเมื่อเปรียบเทียบ

กับตัวอย่าง control พบว่าปริมาณ RDS และ SDS ของตัวอย่างหลังผ่านการทำแห้งแบบลูกกลิ้งที่ทุกสภาวะ มีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วง 40-46% และ 55-78% ตามลำดับ ขณะที่ปริมาณ RS มีค่าลดลงในช่วง 27-32% แสดงดังตารางที่ 4.5 ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเกิดจากความร้อนที่ตัวอย่างได้รับจากผิวของลูกกลิ้งโดยตรงแบบนำความร้อน ดังนั้นจึงมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะการจัดเรียงตัวของโครงสร้างประกอบด้วยมีแรงอัดจากลูกกลิ้งโลหะทั้ง 2 ลูก จึงเป็นผลให้โครงสร้างส่วน crystalline ซึ่งสามารถทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ถูกทำลายไปบางส่วน เกิดเป็นโครงสร้างส่วน amorphous ซึ่งจะถูกละลายได้ง่ายด้วยเอนไซม์ แต่อย่างไรก็ตามโครงสร้างส่วน amorphous บางส่วนสามารถที่จะ pack ตัวกันและจัดเรียงตัวอย่างหนาแน่น ซึ่งสามารถขัดขวางการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้เช่นกัน (Zhang et al., 2006) และอาจเป็นลักษณะโครงสร้างของแป้งสตาร์ชส่วนที่เป็น SDS อย่างไรก็ตามเนื่องจากอุณหภูมิของลูกกลิ้งโลหะที่ใช้ในการดึงน้ำออกมีค่าสูงกว่า T_m ของแป้ง RDBRS (ตารางที่ 3.3) ดังนั้นจึงอาจหลอมโครงสร้างส่วนที่เป็นระเบียบซึ่งทนต่อการย่อยของเอนไซม์ได้ไม่แตกต่างกัน ทำให้ปริมาณ RDS, SDS และ RS มีค่าไม่แตกต่างกัน และแม้ว่าจะมีการเพิ่มปริมาณของแข็งจาก 10 เป็น 24% ก็ยังไม่แสดงความแตกต่างในด้านปริมาณ RDS, SDS และ RS แต่เมื่อพิจารณาถึงความชื้นของตัวอย่างดังตารางที่ 4.5 พบว่าตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งแบบลูกกลิ้งที่สภาวะ 10s/120c และ 10s/140c มีความชื้นต่ำกว่าตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งแบบลูกกลิ้งที่สภาวะ 24s/120c และ 24s/140c ทั้งนี้เป็นเพราะปริมาณของแข็งเริ่มต้นของตัวอย่างที่ต่างกัน จึงอาจมีผลต่ออัตราการระเหยน้ำออกจากตัวอย่าง ซึ่งเมื่อใช้อุณหภูมิของลูกกลิ้งเท่ากัน ตัวอย่างที่มีความชื้นต่ำกว่าจะมีการระเหยน้ำ



ภาพที่ 4.1 ผลของสภาวะต่างๆ ของการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง คือ ปริมาณของแข็ง 10% และ 24%, อุณหภูมิลูกกลิ้ง 120 และ 140 องศาเซลเซียส ต่อปริมาณ RS เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (RDBRS ที่ไม่ผ่านกระบวนการ); ตัวอักษรที่ต่างกันบนกราฟ หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.5 ปริมาณความชื้นและ starch fraction จากการดึงน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง

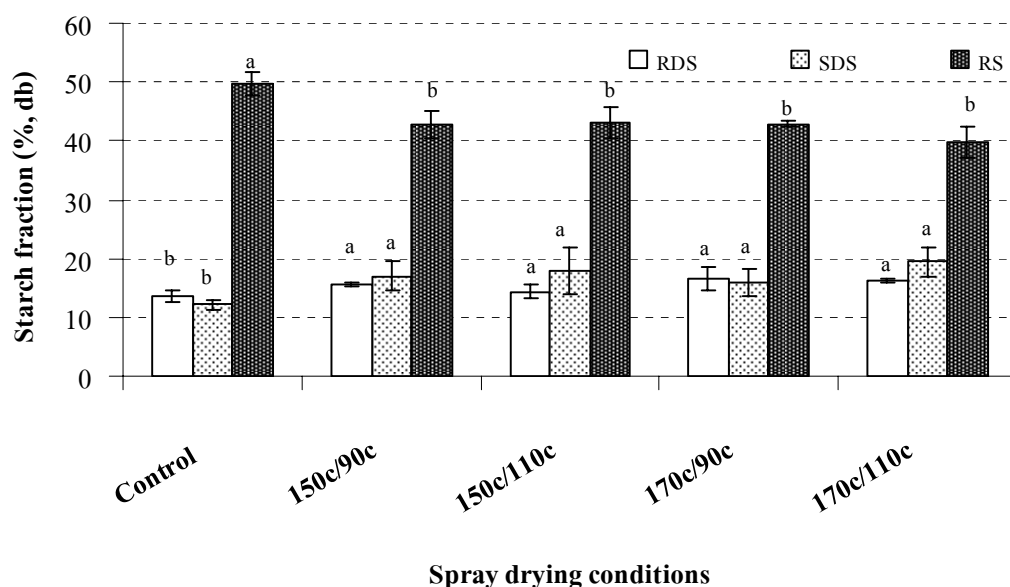
Drum drying conditions	Moisture content (%)	RDS* (%)	SDS (%)	RS (%)
10s/120c	1.02	39.53	55.20	-27.42
10s/140c	2.93	45.81	77.71	-32.02
24s/120c	2.8	45.35	68.93	-29.53
24s/140c	6.72	41.38	70.03	-28.88

*RDS, SDS และ RS ได้จากคำนวณเทียบกับตัวอย่างควบคุม (RDBRS ที่ไม่ผ่านกระบวนการ) ซึ่งมีปริมาณ RDS, SDS และ RS เท่ากับ 11.96%, 13.53% และ 49.96% ตามลำดับ

ได้น้อยกว่า แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิของลูกกลิ้งจาก 120 เป็น 140 องศาเซลเซียส จะเห็นว่าตัวอย่างที่ได้หลังผ่านกระบวนการมีค่าความชื้นลดลง เนื่องจากตัวอย่างได้รับความร้อนในปริมาณต่างกัน ประกอบกับระยะเวลาที่ตัวอย่างสัมผัสกับผิวลูกกลิ้งสั้น (ประมาณ 3 นาที) ดังนั้นจึงส่งผลให้มีอัตราการระเหยน้ำช้า ตัวอย่างที่ได้จึงมีความชื้นสูงกว่า

4.4.1.2 ผลของสภาวะการดึงน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยต่อปริมาณ starch fraction

ผลการทดลองภาพที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าสภาวะต่าง ๆ ที่ใช้ในการดึงน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งประกอบด้วยอุณหภูมิขาเข้าที่ระดับ 150 และ 170 องศาเซลเซียส อุณหภูมิขาออกที่ระดับ 90 และ 110 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อปริมาณ RDS, SDS และ RS ($p>0.05$) โดยมีปริมาณ RDS เกิดขึ้นในช่วง 14-17% มีปริมาณ SDS เกิดขึ้นในช่วง 21-26% และมีปริมาณ RS เกิดขึ้นในช่วงในช่วง 40-43% จากผลการทดลองจะเห็นว่าปริมาณ RDS และ SDS ในตัวอย่างที่ผ่านการพ่นฝอยมีค่าเพิ่มขึ้น ขณะที่ปริมาณ RS มีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง RDBRS แบบสดที่ไม่ผ่านการดึงน้ำออก (control) โดยแนวโน้มที่เกิดขึ้นนี้เหมือนกับการดึงน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง ปริมาณ RDS และ SDS ของตัวอย่างหลังผ่านกระบวนการทุกสภาวะเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง control มีค่าเพิ่มขึ้นในช่วง 6-22% และ 31-60% ตามลำดับ ขณะที่ปริมาณของ RS ลดลงในช่วง 13-20% ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าโครงสร้างส่วนที่เป็น crystalline ถูกทำลายไปบางส่วนโดยความร้อนที่ใช้ในกระบวนการซึ่งมีค่าสูง จึงเกิดเป็นโครงสร้างที่เป็น amorphous ซึ่งเป็นลักษณะโครงสร้างของ RDS แต่อย่างไรก็ตามอาจเป็นไปได้ว่าโครงสร้างส่วน amorphous ที่เกิดขึ้นนี้ บางส่วน



ภาพที่ 4.2 ผลของสภาวะต่าง ๆ ของการทำแห้งแบบพ่นฝอย คือ อุณหภูมิขาเข้า 150 และ 170 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิขาออก 90 และ 110 องศาเซลเซียส ต่อปริมาณ RS เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (RDBRS ที่ไม่ผ่านกระบวนการ); ตัวอักษรที่ต่างกันบนกราฟ หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.6 ปริมาณความชื้นและ starch fraction จากการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย

Spray drying conditions	Moisture content (%)	RDS* (%)	SDS (%)	RS (%)
150c/90c	2.77	15.35	39.78	-13.97
150c/110c	1.96	5.86	46.45	-13.00
170c/90c	2.61	21.70	31.12	-13.58
170c/110c	2.55	18.99	60.06	-19.94

*RDS, SDS และ RS ได้จากคำนวณเทียบกับตัวอย่างควบคุม (RDBRS ที่ไม่ผ่านกระบวนการ) ซึ่งมีปริมาณ RDS, SDS และ RS เท่ากับ 13.61%, 12.18% และ 49.66% ตามลำดับ

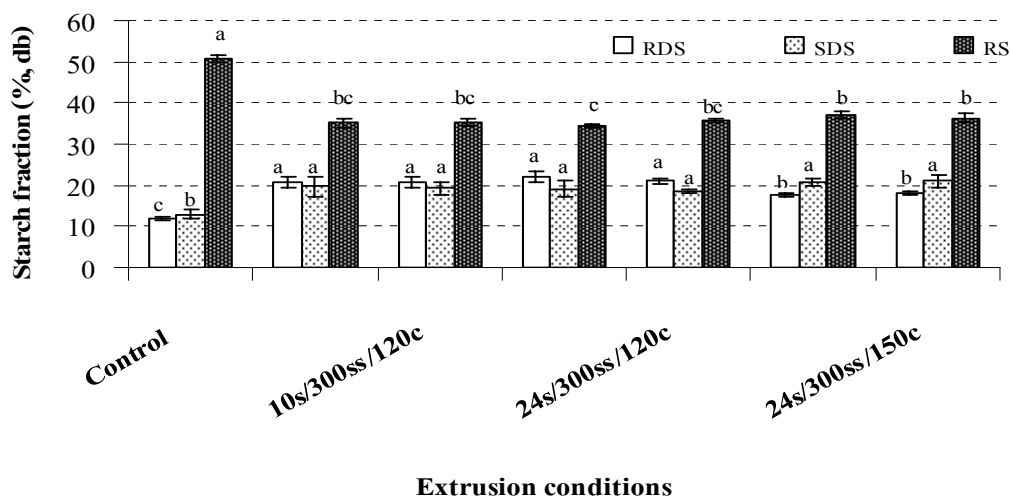
มา pack ตัวกันและจัดเรียงตัวกันหนาแน่นขึ้น ซึ่งสามารถขัดขวางการย่อยของเอนไซม์ได้เช่นกัน จึงอาจเป็นโครงสร้างของ SDS และเนื่องจากอุณหภูมิขาเข้าทั้ง 2 อุณหภูมิที่ให้อยู่ในช่วงที่สูงกว่า T_m ของ

RDBRS เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 3.3) ดังนั้นจึงไม่เห็นความแตกต่างในด้านปริมาณ RDS, SDS และ RS แต่อุณหภูมิขาออกมีผลต่อค่าความชื้นของตัวอย่าง ซึ่งเมื่อเพิ่มอุณหภูมิขาออกจาก 90 เป็น 110 องศาเซลเซียส อาจมีผลต่ออัตราการระเหยน้ำออกจากตัวอย่าง โดยอุณหภูมิที่สูงกว่าจะมีการระเหยน้ำได้ดีกว่าดังนั้นตัวอย่างที่ผ่านการคึ่งน้ำออกที่อุณหภูมิขาออก 110 องศาเซลเซียส จึงมีความชื้นต่ำกว่าเมื่อใช้อุณหภูมิขาเข้าเดียวกัน จากตารางที่ 4.6 ที่สภาวะ 150c/90c มีความชื้น 2.77% ขณะที่ที่สภาวะ 150c/110c มีความชื้น 1.96%

4.4.1.3 ผลของสภาวะการคึ่งน้ำออกโดยวิธีการเอกซ์ทรูชันต่อปริมาณ starch fraction

การศึกษาผลของการคึ่งน้ำออกโดยวิธีการเอกซ์ทรูชัน พบว่าสภาวะต่าง ๆ ที่ใช้ ซึ่งประกอบด้วย ปริมาณของแข็ง คือ 10 และ 24% ความเร็วรอบสกรูที่ 150 และ 300 รอบต่อนาที ไม่มีผลต่อการเกิด RDS, SDS และ RS ($p > 0.05$) ขณะที่อุณหภูมิบารเรลโซนสุดท้าย 120 และ 150 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเกิด RDS และ RS ($p < 0.05$) โดยเมื่อเพิ่มอุณหภูมิบารเรลโซนสุดท้ายมีผลในการลดปริมาณ RDS และเพิ่มปริมาณ RS ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Kim et al. (2006) ที่รายงานว่า ความเร็วรอบสกรูไม่มีผลต่อปริมาณ RS เมื่อความชื้นของแป้งฟลาวร์สาลีมีค่าเท่ากัน โดยทุกสภาวะที่ใช้ในการคึ่งน้ำออกโดยวิธีเอกซ์ทรูชันมีแนวโน้มของการเกิด RS ปริมาณสูงสุดในช่วง 34-37% ขณะที่ปริมาณ SDS เกิดขึ้นในช่วง 18-21% และมีปริมาณ RDS เกิดขึ้นในช่วง 18-20% แสดงดังภาพที่ 4.3 ซึ่งแนวโน้มของการเกิด RDS, SDS และ RS คล้ายคลึงกับการคึ่งน้ำออกโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งและการพ่นฝอย โดยมีปริมาณของ RDS และ SDS เพิ่มขึ้นในช่วง 49-86% และ 45-62% ตามลำดับ ขณะที่ปริมาณ RS ลดลงในช่วง 27-33% เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง RDBRS แบบสดที่ไม่ผ่านการคึ่งน้ำออก (control) ดังตารางที่ 4.7 แต่อย่างไรก็ตาม Hagenimana et al. (2006) พบว่าที่สภาวะต่าง ๆ ของกระบวนการเอกซ์ทรูชันแป้งฟลาวร์ข้าวมีผลต่ออัตราการถูกย่อยด้วย เอนไซม์ โดยการเกิด SDS มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับ RS ขณะที่การเกิด RDS มีความสัมพันธ์เชิงลบกับทั้ง SDS และ RS การเพิ่มอุณหภูมิบารเรลโซนสุดท้ายจาก 120 เป็น 150 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบสกรูเดียวกันส่งผลให้อุณหภูมิของตัวอย่างที่หัวไคมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจาก 106 เป็น 108 องศาเซลเซียส (ที่ 24% ของแข็ง) ซึ่งมีผลในการลดปริมาณ RDS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณของ RDS เพิ่มขึ้นต่ำสุดประมาณ 49% เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง control นอกจากนี้การเพิ่มอุณหภูมิบารเรลโซนสุดท้ายยังมีผลในการเพิ่มปริมาณ RS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อใช้ความเร็วรอบสกรูที่ 150 รอบต่อนาที ดังภาพที่ 4.3 ซึ่งมีปริมาณของ RS ลดลงต่ำสุดประมาณ 27% เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง control ทั้งนี้เพราะกระบวนการเอกซ์ทรูชันเป็นกระบวนการที่ใช้ อุณหภูมิสูงและระยะเวลาสั้น ซึ่งนอกเหนือจากความร้อนที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการแล้ว

ยังมีแรงเหมือนจากสกรูกับผนังบารเรล รวมถึงความดันที่เกิดขึ้นจากหัวไค ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นนี้อาจจะมีผลให้เกิดการทำลายโครงสร้างของสตาร์ชส่วนที่เป็น crystalline บางส่วน (starch degradation) ทำให้เกิดการคลายตัวของโครงสร้าง (Parchure and Kulkarni, 1997) แต่เนื่องจากมี



ภาพที่ 4.3 ผลของสภาวะต่าง ๆ ของการเอกซ์ทรูชัน คือ ปริมาณของแข็ง 10% และ 24%, ความเร็วรอบสกรู 150 และ 300 รอบต่อนาที และอุณหภูมิบารเรล 120 และ 150 องศาเซลเซียส ต่อปริมาณ RS เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (RDBRS ที่ไม่ผ่านกระบวนการ); ตัวอักษรที่ต่างกันบนกราฟ หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.7 อุณหภูมิของผลิตภัณฑ์และปริมาณ starch fraction จากการดึงน้ำออกโดยวิธีเอกซ์ทรูชัน

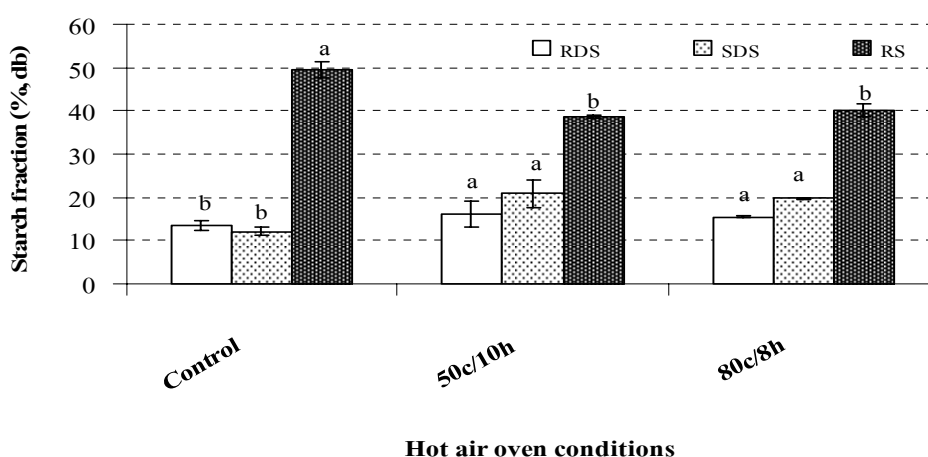
Extrusion conditions	Product temperature (°C)	RDS* (%)	SDS (%)	RS (%)
10s/150ss/120c	101	74.38	52.55	-30.62
10s/300ss/120c	103	76.20	50.14	-30.44
24s/150ss/120c	104	86.40	48.80	-32.47
24s/300ss/120c	106	78.68	44.67	-29.63
24s/150ss/150c	106	48.67	61.95	-27.03
24s/300ss/150c	108	53.74	62.88	-28.44

*RDS, SDS และ RS ได้จากคำนวณเทียบกับตัวอย่างควบคุม (RDBRS ที่ไม่ผ่านกระบวนการ) ซึ่งมีปริมาณ RDS, SDS และ RS เท่ากับ 11.81%, 12.87% และ 50.77% ตามลำดับ

การนำไปอบให้ความร้อนต่อที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จึงอาจเป็นผลให้เกิดการรีโทรเกรเดชันขึ้น และส่งผลให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของโครงสร้างเกิดเป็นส่วนผลึกที่ทำให้เอนไซม์สามารถย่อยโครงสร้างของสตาร์ชได้ยากขึ้น เนื่องจากมีปริมาณของ RS เกิดสูงขึ้น โดยความชื้นของตัวอย่างหลังผ่านกระบวนการเอกซ์ทรูชันและการอบที่ทุกสภาวะมีค่าประมาณ 8%

4.4.1.4 ผลของสภาวะการคั่งน้ำออกโดยใช้ตู้อบลมร้อนต่อปริมาณ starch fraction

การคั่งน้ำออกโดยใช้ตู้อบลมร้อน พบว่า การอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 และ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ ไม่มีผลต่อความแตกต่างในด้านปริมาณ RDS, SDS และ RS แสดงดังภาพที่ 4.4 ทั้งนี้อาจเกิดจากระยะเวลาที่ใช้ในการอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นานกว่าการอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ดังนั้นอาจมีผลทำให้แป้งสตาร์ช RDBRS มีอัตราการเกิด recrystallization โดยรวมใกล้เคียงกัน (overall crystallization) จึงเป็นผลให้เอนไซม์เข้าไปย่อยโครงสร้างได้ไม่แตกต่างกัน โดยการคั่งน้ำออกที่ 2 สภาวะดังกล่าว แสดงปริมาณ RDS, SDS และ RS ในช่วง 15-16%, 20-21% และ 39-40% ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณ RDS และ SDS เพิ่มขึ้นในช่วง 14-18% และ 62-71% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีปริมาณ RS ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง RDBRS แบบสดที่ไม่ผ่านการคั่งน้ำออก (control) ในช่วง 19-22% ดังในตารางที่ 4.8



ภาพที่ 4.4 ผลของสภาวะต่าง ๆ ของการใช้ตู้อบลมร้อน คือ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส 10 ชั่วโมงและอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 8 ชั่วโมง ต่อปริมาณ RS เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (RDBRS ที่ไม่ผ่านกระบวนการ); ตัวอักษรที่ต่างกันบนกราฟ หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.8 ปริมาณ starch fraction จากการคึ่งน้ำออกโดยใช้ตู้อบลมร้อน

Hot air oven conditions	RDS* (%)	SDS (%)	RS (%)
50c/10h	18.11	71.11	-22.41
80c/8h	14.28	61.88	-19.09

*RDS, SDS และ RS ได้จากคำนวณเทียบกับตัวอย่างควบคุม (RDBRS ที่ไม่ผ่านกระบวนการ) ซึ่งมีปริมาณ RDS, SDS และ RS เท่ากับ 13.61%, 12.18% และ 49.66% ตามลำดับ

4.4.2 การเปรียบเทียบผลของวิธีการคึ่งน้ำต่อปริมาณ starch fraction และคุณสมบัติต่าง ๆ

การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการต่าง ๆ ที่ใช้ในการคึ่งน้ำออก ซึ่งประกอบด้วย การทำแห้งแบบลูกกลิ้งที่สภาวะ 10% ของแข็ง และอุณหภูมิลูกกลิ้ง 120 องศาเซลเซียส การทำแห้งแบบพ่นฝอยที่สภาวะ 10% ของแข็ง, อุณหภูมิขาเข้า 150 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิขาออก 110 องศาเซลเซียส การคึ่งน้ำออกโดยวิธีเอกซ์ทรูชันที่สภาวะ 10% ของแข็ง, ความเร็วรอบสกรู 300 รอบต่อนาทีและอุณหภูมิใบเรลโซนสุดท้าย 120 องศาเซลเซียส การทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนที่สภาวะ 24% ของแข็ง, อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 10 ชั่วโมงและการทำแห้งแบบแฟลชที่สภาวะ 24% ของแข็ง, อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส แสดงผลการทดลองดังตารางที่ 4.9 ปริมาณผลผลิตแป้งสตาร์ช (yield) ที่ได้จากการคึ่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยการคึ่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบแฟลชมีปริมาณ yield สูงที่สุด 95.16% ขณะที่การคึ่งน้ำออกโดยใช้ตู้อบลมร้อนมีปริมาณ yield รองลงมา 92.63% ส่วนการคึ่งน้ำออกด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอยมีปริมาณ yield 84.01% สำหรับการคึ่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งและวิธีเอกซ์ทรูชันมีปริมาณ yield ใกล้เคียงกันที่ 75.31% และ 74.53% ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาถึงประเภทของสตาร์ชหลังผ่านการคึ่งน้ำออกพบว่ามีปริมาณ RDS และ RS แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับวิธีการคึ่งน้ำออกที่ใช้ ($p < 0.01$) ขณะที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติในด้านของปริมาณ SDS ($p > 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.9 โดยแนวโน้มของประเภทสตาร์ชที่พบในปริมาณส่วนใหญ่จะคล้ายคลึงกันในทุก ๆ วิธีการคึ่งน้ำออก คือ เป็นกลุ่มของ RS ที่มีปริมาณ 35-43% รองลงมาเป็น SDS มีปริมาณ 17-21% และพบ RDS ปริมาณน้อยที่สุดในช่วง 14-21% โดยจากการทดลองพบว่าวิธีการคึ่งน้ำออกด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยให้ปริมาณ RS สูงสุดที่ระดับ 43.20% ซึ่งมีปริมาณของ RS ลดลงต่ำสุดที่ 13% เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง RDBRS แบบสดที่ไม่ผ่านการคึ่งน้ำออก (control) รองลงมาเป็นการคึ่งน้ำออกด้วยวิธีการทำแห้งแบบแฟลช มีปริมาณ RS 40.11% ซึ่งมี

ปริมาณลดลง 19% ตามด้วยการคั่งน้ำออกโดยใช้ตู้อบลมร้อนที่มีปริมาณ RS 38.66% ซึ่งมีปริมาณลดลง 22% ส่วนการคั่งน้ำออกโดยการทำแห้งแบบลูกกลิ้งและวิธีเอกซ์ทรูชันแสดงปริมาณ RS ใกล้เคียงกันที่ระดับ 36.21% และ 35.32% ตามลำดับ และมีปริมาณของ RS ลดลง 27% และ 30% ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.10 ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Mangala, Mahadevamma, and Tharanathan (1999) ที่พบว่าแป้งฟลาวร์ข้าวและแป้งฟลาวร์ ragi หลังผ่านการทำแห้งแบบลูกกลิ้งและวิธีเอกซ์ทรูชันมีปริมาณ RS เกิดขึ้นใกล้เคียงกัน แต่อย่างไรก็ตาม Chiu et al. (1994) รายงานว่าการแยกแป้ง RS โดยกระบวนการเอกซ์ทรูชันให้ปริมาณ RS สูงกว่าวิธีการพ่นฝอยประมาณ 8% ในขณะที่การแยกแป้ง RS โดยวิธีการทำแห้งแบบแฟลชให้ปริมาณ RS 30.60% ซึ่งสูงกว่าการแยกแป้งโดยใช้อากาศที่อุณหภูมิห้องและการทำแห้งแบบพ่นฝอย นอกจากนี้ Shi et al. (2006) ยังพบว่าการแยกแป้ง RS โดยใช้วิธีการกรอง (filtration) และตามด้วย air-dried สามารถสร้าง RS ได้มากกว่า 70%

ตารางที่ 4.9 ปริมาณ yield, และ starch fraction จากการคั่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ

Dehydration Methods	Yield (%)	Starch fraction (% db)		
		RDS	SDS	RS
Drum drying*	75.31 ± 1.05 ^d	16.68 ± 0.75 ^b	21.01 ± 3.21 ^a	36.26 ± 0.01 ^c
Spray drying	84.01 ± 0.62 ^c	14.41 ± 1.22 ^b	17.84 ± 3.90 ^a	43.20 ± 2.68 ^a
Extrusion	74.53 ± 0.91 ^d	20.81 ± 1.39 ^a	19.32 ± 1.62 ^a	35.32 ± 0.71 ^c
Hot air oven	92.63 ± 0.25 ^b	16.08 ± 2.97 ^b	20.84 ± 3.16 ^a	38.53 ± 0.45 ^{bc}
Flash drying	95.16 ± 0.86 ^a	16.65 ± 1.38 ^b	18.69 ± 1.19 ^a	40.11 ± 0.19 ^{ab}
Novelose 330	-	10.08 ± 0.10 ^c	16.16 ± 0.53 ^a	39.73 ± 0.42 ^{ab}

*Drum drying ทำการทดลองที่สภาวะ 10% ของแห้ง, อุณหภูมิลูกกลิ้ง 120 องศาเซลเซียส; Spray drying ทำการทดลองที่สภาวะ 10% ของแห้ง, อุณหภูมิเข้า 150 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิขาออก 110 องศาเซลเซียส; Extrusion ทำการทดลองที่สภาวะ 10% ของแห้ง, ความเร็วรอบสกรู 300 รอบต่อนาที และอุณหภูมิบาร์เรล 120 องศาเซลเซียส; Hot air oven ทำการทดลองที่สภาวะ 24% ของแห้ง, อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 10 ชั่วโมง และ Flash drying ทำการทดลองที่สภาวะ 24% ของแห้ง, อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

ตารางที่ 4.10 ปริมาณ starch fraction จากการดึงน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ

Dehydration methods	RDS** (%)	SDS (%)	RS (%)
Drum drying*	39.53	55.20	-27.42
Spray drying	5.86	46.45	-13.00
Extrusion	76.20	50.14	-30.44
Hot air oven	18.11	71.11	-22.41
Flash drying	22.29	53.47	-19.23

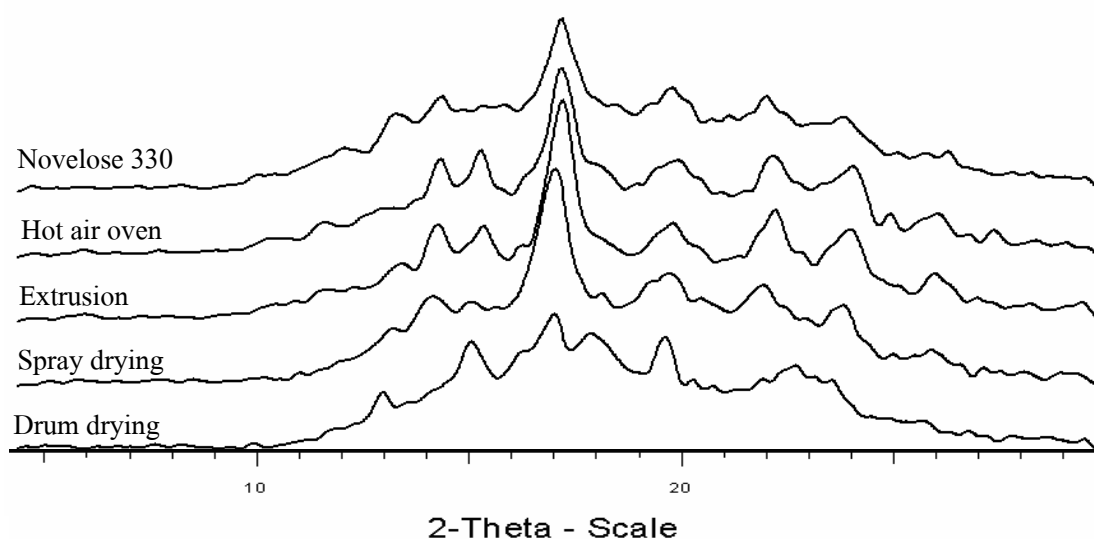
*Drum drying ทำการทดลองที่สภาวะ 10% ของแข็ง, อุณหภูมิลูกกลิ้ง 120 องศาเซลเซียส; Spray drying ทำการทดลองที่สภาวะ 10% ของแข็ง, อุณหภูมิเข้า 150 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิขาออก 110 องศาเซลเซียส; Extrusion ทำการทดลองที่สภาวะ 10% ของแข็ง, ความเร็วรอบสกรู 300 รอบต่อนาที และอุณหภูมิบาร์เรล 120 องศาเซลเซียส; Hot air oven ทำการทดลองที่สภาวะ 24% ของแข็ง, อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 10 ชั่วโมง และ Flash drying ทำการทดลองที่สภาวะ 24% ของแข็ง, อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส

**RDS, SDS และ RS ได้จากคำนวณเทียบกับตัวอย่างควบคุม (RDBRS ที่ไม่ผ่านกระบวนการ)

และมี T_m สูงกว่า 110 องศาเซลเซียส ในการศึกษาครั้งนี้ปริมาณ RDS พบได้สูงสุด คือ 20.01% เมื่อใช้การดึงน้ำออกโดยวิธีเอกซ์ทรูชัน ส่วนการดึงน้ำออกวิธีอื่น ๆ พบปริมาณ RDS ไม่แตกต่างกันในช่วง 14-17% โดยความแตกต่างในด้านของปริมาณ RDS และ RS นี้ อาจเกิดเนื่องจากการเอกซ์ทรูชัน ตัวอย่างจะได้รับความร้อนจากบาร์เรล รวมถึงได้รับแรงเฉือนจากทั้งสกรูและผนังบาร์เรลขณะทำการขับเคลื่อนตัวอย่างผ่านบาร์เรลแต่ละโซนจนถึงโซนสุดท้าย นอกจากนี้ยังได้รับความดันที่เกิดขึ้นจากหัวใด จึงอาจมีผลในการทำลายโครงสร้างส่วนที่เป็น crystalline ของโมเลกุลสตาร์ชซึ่งทนต่อการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ ดังนั้นจึงส่งผลให้มีปริมาณโครงสร้างส่วนที่เป็นระเบียบหรือส่วนที่เป็น crystalline ลดลงกลายเป็นส่วนของ amorphous ซึ่งจะถูกละลายด้วยเอนไซม์ได้ง่าย ขณะเดียวกันก็เกิดโครงสร้างใหม่ที่เกิดจากการจัดเรียงตัวกันของโครงสร้างส่วน amorphous โดย pack กันอย่างหนาแน่นระหว่างชั้นของผลึก ซึ่งจะเป็นส่วนที่ขัดขวางการย่อยของเอนไซม์ได้ (Zhang et al., 2006) และคาดว่าน่าจะเป็นส่วนของ SDS ขณะที่วิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง ตัวอย่างจะได้รับความร้อนโดยตรงจากการสัมผัสกับผิวของลูกกลิ้งตลอดเวลาและอาจได้รับแรงอัดจากลูกกลิ้งโลหะเพียงเล็กน้อย ดังนั้นจึงเป็นผลให้เกิดการทำลายโครงสร้างส่วนที่เป็นผลึกและเปลี่ยนโครงสร้างเป็นส่วนของ RDS ได้น้อยกว่า ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ที่พบว่ามีปริมาณ RDS เกิดขึ้นสูงสุดในตัวอย่างที่ถูกดึง

น้ำออกโดยวิธีเอกซ์ทรูชัน แต่อย่างไรก็ตามหลังจากดิ่งน้ำออกโดยวิธีเอกซ์ทรูชัน ผลิตภัณฑ์ยังมีความชื้นหลงเหลืออยู่มากประมาณ 75% ดังนั้นจึงมีการทำแห้งต่อโดยใช้การอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง ซึ่งในขั้นตอนนี้อาจทำให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของโครงสร้างเกิดเป็นส่วนผลึกซึ่งมีความเป็นระเบียบมากขึ้น ส่วนการดิ่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย วิธีการทำแห้งแบบแฟลช และการใช้ตู้อบลมร้อน ไม่มีแรงเฉือนเข้ามาเกี่ยวข้อง มีแต่เพียงความร้อน ดังนั้นจึงอาจมีผลในการทำลายโครงสร้างส่วนที่เป็นระเบียบได้บางส่วน ปริมาณ RS ที่ได้จึงสูงกว่าการดิ่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งและวิธีเอกซ์ทรูชัน ประกอบกับวิธีการพ่นฝอยเป็นการใช้ความร้อนสูงระยะเวลาสั้น ดังนั้นปริมาณ RS ที่ได้ในตัวอย่างที่ผ่านการดิ่งน้ำออกโดยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอยจึงมีปริมาณ RS สูงกว่าการดิ่งน้ำออกโดยวิธีการอื่น ๆ นอกจากนี้ยังมีปริมาณของ RDS, SDS และ RS สูงกว่าแป้งสตาร์ช RS ทางการค้า (Novelose 330) ซึ่งมีปริมาณ RDS, SDS และ RS เท่ากับ 10.08%, 16.16% และ 39.73% ตามลำดับ

สำหรับลักษณะของผลึกที่ตรวจสอบได้มี XRD pattern แสดงดังภาพที่ 4.5 จากผลการทดลองพบว่าลักษณะของผลึกที่พบในตัวอย่าง RDBRS หลังผ่านการดิ่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ มีด้วยกัน 2 ชนิด โดยการดิ่งน้ำออกด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย วิธีเอกซ์ทรูชัน และการใช้ตู้อบลมร้อน มีลักษณะ XRD pattern เหมือนกัน ซึ่งเหมือนกับแป้งสตาร์ช RS ทางการค้า (Novelose 330) โดยเกิด singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ตำแหน่ง 17° และเกิด doublet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 22° และ 24° ตามลำดับ ซึ่งเป็นลักษณะของผลึกชนิด B นอกจากนี้ยังเห็นแนวโน้มของการเกิด singlet peak ที่ตำแหน่ง 19.7° ซึ่งเป็นลักษณะของผลึกชนิด V ดังนั้นผลึกที่ได้นี้มีลักษณะผลึกชนิด B+V ซึ่งเป็นผลึกชนิดเดียวกับที่ตรวจสอบได้จากตัวอย่าง RDBRS (control) (ภาพที่ 3.9; 30/80) และเป็นผลึกชนิดเดียวกับ



ภาพที่ 4.5 XRD pattern ของแป้งสตาร์ช RDBRS หลังผ่านการดิ่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ เปรียบเทียบกับแป้งสตาร์ช RS ทางการค้า (Novelose 330)

ที่พบในแป้งสตาร์ช RS ทางการค้า (Novelose 330) ผลการทดลองที่ได้บ่งชี้ว่าวิธีการคั่งน้ำออกทั้ง 3 วิธีดังกล่าวไม่มีผลในการเปลี่ยนแปลงลักษณะผลึก ส่วนการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบ ลูกกลิ้งเกิด singlet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 15° และ 23° เกิด doublet peak ที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 17° และ 18° ซึ่งเป็นลักษณะของลักษณะของผลึกชนิด V ดังนั้นผลึกที่ได้นี้จึงมีลักษณะผลึกเป็นชนิด A+V แสดงว่าการคั่งน้ำออกโดยวิธีนี้มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะผลึกจาก B เป็น A ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความร้อนสูงที่ได้รับจากลูกกลิ้งโลหะจึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว ขณะที่การคั่งน้ำออกโดยวิธีเอกซ์ทรูชันเกิดแรงเฉือนและความร้อน จากการเสียดสีระหว่างสกรูและผนังบารเรล เช่นกัน จึงอาจเป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงผลึกเกิดเป็นผลึกชนิด A นอกจากนี้ยังพบ singlet peak เพิ่มที่ตำแหน่ง 2θ ที่ 19.7° ซึ่งเป็นลักษณะผลึกชนิด V แต่เนื่องจากผลึกที่ได้นี้ยังคงมีความชื้นอยู่มาก ดังนั้นจึงต้องมีการอบแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนต่อ ซึ่งในระหว่างการอบนี้อาจส่งผลให้เกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของโครงสร้างเกิดเป็นผลึกชนิด B ส่วนการคั่งน้ำออกโดยวิธีการพ่นฝอยใช้แต่ความร้อนเพียงอย่างเดียว ดังนั้นจึงอาจไม่มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชนิดของผลึกเช่นเดียวกับการคั่งน้ำออกโดยใช้ตู้อบลมร้อน ซึ่งจากการศึกษาของ Ao et al. (2007) ก็ให้ผลสอดคล้องกัน โดยพบว่าแป้งสตาร์ชข้าวโพดที่มีคุณสมบัติด้านการถูกย่อยอย่างช้า ๆ ซึ่งเตรียมโดยใช้เอนไซม์ในการตัดกิ่งและผ่านการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีลักษณะผลึกผสมระหว่างผลึกชนิด B และ V

การตรวจวัดปริมาณผลึก (relative crystallinity) ของแป้งสตาร์ช RDBRS หลังผ่านการคั่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ โดยใช้เทคนิค XRD พบว่าแป้งสตาร์ช RDBRS มีปริมาณความเป็นผลึกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) แสดงดังตารางที่ 4.11 การคั่งน้ำออกโดยใช้ตู้อบลมร้อนทำให้เกิดผลึกปริมาณสูงสุดที่ 27.66% รองลงมา คือ การคั่งน้ำออกโดยวิธีเอกซ์ทรูชัน 23.25% การทำแห้งแบบพ่นฝอย 21.46% ซึ่งใกล้เคียงกับปริมาณผลึกของแป้งสตาร์ช RS ทางการค้า (Novelose 330) ที่มีค่า 21.31% และการทำแห้งแบบลูกกลิ้งมีปริมาณผลึกต่ำสุดที่ 18.99% ซึ่งเมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณผลึกกับปริมาณ RS ที่ได้พบว่าคุณสมบัติทั้งสองชนิดนี้ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสถิติ ($p > 0.05$)

ผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางความร้อนในตัวอย่างหลังผ่านการคั่งน้ำออกด้วยวิธีต่าง ๆ ซึ่งตรวจวัดโดยเครื่อง DSC แสดงดังตารางที่ 4.11 จากผลการทดลองพบว่าตัวอย่างที่ผ่านการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง มีช่วงอุณหภูมิที่ใช้ในการหลอมโครงสร้าง (T_m) สูงสุด คือ 115.8-122.7 องศาเซลเซียส รองลงมา คือ ตัวอย่างที่ผ่านการคั่งน้ำออกโดยวิธีเอกซ์ทรูชัน ซึ่งมีค่า T_m อยู่ภายใต้ช่วง 106.6-119.7 องศาเซลเซียส ขณะที่ตัวอย่างที่ผ่านการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยและตู้อบลมร้อนมีค่า T_m ใกล้เคียงกันอยู่ภายใต้ช่วง 81.5-109.7 องศาเซลเซียส และ 83.3-106.9 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามแป้งสตาร์ช RS ทางการค้า (Novelose 330) มีค่า T_m อยู่

ภายใต้ช่วง 109.6-127.4 องศาเซลเซียส ซึ่งผลของคุณสมบัติทางความร้อนที่ตรวจสอบได้นี้มีความสอดคล้องกับชนิดของผลึกที่ตรวจพบโดยเทคนิค XRD และจากผลการตรวจสอบชนิดของผลึกของแป้งสตาร์ช RDBRS หลังผ่านการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง พบลักษณะผลึกชนิด A+V ซึ่งจะมีความคงตัวต่อความร้อนมากกว่าผลึกชนิด B (Gidly, 1987) แสดงว่าสถานะที่ใช้ในการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งอาจส่งเสริมให้เกิดการจัดเรียงตัวของโครงสร้างเกิดเป็นส่วนที่เป็นระเบียบซึ่งมีความสมบูรณ์ของผลึกมากกว่าการคั่งน้ำออกโดยวิธีการอื่น ๆ แต่อย่างไรก็ตามการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งจะมีปริมาณผลึกน้อยกว่าการคั่งน้ำออกโดยวิธีการอื่น ๆ ส่วนแป้งสตาร์ช RDBRS ที่ผ่านการคั่งน้ำออกโดยวิธีการเอกซ์ทรูชันจะสังเกตว่ามีช่วงอุณหภูมิในการเปลี่ยนเฟสสูงกว่า 100 องศาเซลเซียส ซึ่งยังคงสูงกว่าแป้งสตาร์ช RDBRS ที่ผ่านการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยและตู้อบลมร้อน นอกจากนี้ยังมีค่า ΔH ต่ำที่สุด ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณ RS ทั้งที่อาจเป็นไปได้ว่าสถานะที่ใช้ในการคั่งน้ำออกโดยวิธีการนี้ ซึ่งจะมีแรงเฉือน ความร้อน

ตารางที่ 4.11 ปริมาณ relative crystallinity และ crystal pattern ของแป้งสตาร์ช RDBRS หลังผ่านการคั่งน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ เปรียบเทียบกับแป้งสตาร์ช RS ทางการค้า (Novelose 330)

Dehydration methods	Relative crystallinity (%)	Crystal pattern
Drum drying*	18.99 ± 0.08 ^c	A + V
Spray drying	21.46 ± 0.52 ^{bc}	B + V
Extrusion	23.25 ± 1.56 ^b	B + V
Hot air oven	27.66 ± 0.45 ^a	B + V
Flash drying	n.d.	n.d.
Novelose 330	21.37 ± 0.07 ^{bc}	B + V

n.d. หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์; *Drum drying ทำการทดลองที่สภาวะ 10% ของแข็ง, อุณหภูมิ ลูกกลิ้ง 120 องศาเซลเซียส; Spray drying ทำการทดลองที่สภาวะ 10% ของแข็ง, อุณหภูมิขาเข้า 150 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิขาออก 110 องศาเซลเซียส; Extrusion ทำการทดลองที่สภาวะ 10% ของแข็ง, ความเร็วรอบสกรู 300 รอบต่อนาที และอุณหภูมิบารเรล 120 องศาเซลเซียส; Hot air oven ทำการทดลองที่สภาวะ 24% ของแข็ง, อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 10 ชั่วโมง และ Flash drying ทำการทดลองที่สภาวะ 24% ของแข็ง, อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

ตารางที่ 4.12 คุณสมบัติการหลอม (thermodynamic transition) ของการดึงน้ำออกโดยวิธีการต่าง ๆ เปรียบเทียบกับแป้งสตาร์ช RS ทางการค้า (Novelose 330)

Dehydration Method	T_0 (°C)	T_p (°C)	T_c (°C)	$T_c - T_0$ (°C)	ΔH (J/g)
Drum drying*	115.8 ± 0.3 ^a	117.0 ± 0.1 ^a	122.7 ± 0.3 ^a	6.9 ± 0.0 ^d	2.6 ± 0.0 ^{bc}
Spray drying*	81.5 ± 0.2 ^c	99.4 ± 0.1 ^c	109.7 ± 2.4 ^b	27.7 ± 2.2 ^a	12.3 ± 2.7 ^a
Extrusion*	106.6 ± 1.9 ^b	113.4 ± 0.7 ^b	119.7 ± 1.2 ^a	13.1 ± 0.7 ^c	1.6 ± 0.1 ^c
Hot air oven*	83.3 ± 0.5 ^c	99.5 ± 1.3 ^c	106.9 ± 0.1 ^b	23.6 ± 0.5 ^b	6.2 ± 0.5 ^b
Flash drying*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Novelose 330	109.6 ± 0.7 ^b	118.8 ± 0.2 ^a	127.4 ± 0.4 ^a	17.8 ± 1.5 ^a	13.4 ± 1.6 ^a

n.d. หมายถึง ไม่ได้ทำการวิเคราะห์; *Drum drying ทำการทดลองที่สภาวะ 10% ของแข็ง, อุณหภูมิ ลูกกลิ้ง 120 องศาเซลเซียส; Spray drying ทำการทดลองที่สภาวะ 10% ของแข็ง, อุณหภูมิขาเข้า 150 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิขาออก 110 องศาเซลเซียส; Extrusion ทำการทดลองที่สภาวะ 10% ของแข็ง, ความเร็วรอบสกรู 300 รอบต่อนาที และอุณหภูมิบาร์เรล 120 องศาเซลเซียส; Hot air oven ทำการทดลองที่สภาวะ 24% ของแข็ง, อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 10 ชั่วโมง และ Flash drying ทำการทดลองที่สภาวะ 24% ของแข็ง, อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส; ตัวอักษรที่ต่างกันตามแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

และความดัน เข้ามาเกี่ยวข้อง อาจจะเหนี่ยวนำให้เกิดผลึกที่มีความสมบูรณ์มากกว่าการดึงน้ำออก อีก 2 วิธี ซึ่งการดึงน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยและตู้อบลมร้อน จะมีเพียงความร้อนเข้ามาเกี่ยวข้อง และถึงแม้ว่าวิธีการพ่นฝอยจะใช้ความร้อนสูงกว่าการใช้ตู้อบลมร้อนในการดึงน้ำออก แต่เนื่องจากใช้ระยะเวลาสั้นกว่าดังนั้นจึงอาจไม่มีผลในการทำลายโครงสร้างส่วนที่เป็นระเบียบ เพียงแต่อาจจะเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวกันของโมเลกุลสายโซ่กลูแคนโดยพันธะไฮโดรเจนมากขึ้น ดังนั้นค่า ΔH จึงสูงกว่า ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณ RS ที่ได้

4.5 สรุปผลการทดลอง

สภาวะต่าง ๆ ของแต่ละวิธีการดึงน้ำออก ซึ่งประกอบด้วย ปริมาณของแข็ง อุณหภูมิ ลูกกลิ้ง และความเร็วรอบลูกกลิ้งของวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง อุณหภูมิขาเข้าและอุณหภูมิขาออก ของการทำแห้งแบบพ่นฝอย ตลอดจนอุณหภูมิของการทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน ล้วนแล้วแต่ไม่

มีผลต่อปริมาณ RDS, SDS และ RS มีเพียงแต่อุณหภูมิบาริลโซนสุดท้ายและความเร็วรอบสกรูของการคั่งน้ำออกโดยวิธีเอกซ์ทรูชันเท่านั้นที่มีผลต่อปริมาณ RDS และ RS โดยประเภทของแป้งสตาร์ชที่พบหลังผ่านการคั่งน้ำออกมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือ มีปริมาณของ RS สูงที่สุดขณะที่มีปริมาณ RDS และ SDS ใกล้เคียงกัน ซึ่งสภาวะต่าง ๆ ของแต่ละวิธีการคั่งน้ำออกที่ใช้ทั้งหมดมีผลให้แป้งสตาร์ช RDBRS มีปริมาณ RS ลดลงจากแป้งสตาร์ช RDBRS แบบสดที่ไม่ผ่านการคั่งน้ำออก (control) แต่ไปเพิ่มปริมาณสตาร์ชประเภท RDS และ SDS เนื่องจากมีการทำลายโครงสร้างส่วนที่เป็นผลึกซึ่งสามารถทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในระหว่างการคั่งน้ำออก สำหรับวิธีการต่าง ๆ ที่ใช้ในการคั่งน้ำออกพบว่า มีผลต่อปริมาณ RDS และ RS แตกต่างกัน การคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยให้ปริมาณ RS สูงสุดที่ 43.20% โดยมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่า ΔH ซึ่งมีค่าสูงสุด คือ 12.3 จูลต่อกรัม ขณะที่การคั่งน้ำออกโดยวิธีการเอกซ์ทรูชันมีปริมาณ RS และค่า ΔH ต่ำสุด คือ 35.32% และ 1.6 จูลต่อกรัม ตามลำดับ การคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกของแป้งสตาร์ช RDBRS (control) จาก B+V เป็น A+V จึงทำให้มีช่วงอุณหภูมิในการเปลี่ยนเฟสสูง แต่มีปริมาณผลึกต่ำสุด ขณะที่แป้งสตาร์ช RDBRS ที่ผ่านการคั่งน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยและตู้อบลมร้อน มีช่วงอุณหภูมิในการเปลี่ยนเฟสใกล้เคียงกัน จากผลการทดลองที่ได้บ่งชี้ว่าการคั่งน้ำโดยใช้วิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่สภาวะ 10% ของแข็ง, อุณหภูมิขาเข้า 150 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิขาออก 110 องศาเซลเซียส เป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์แป้งสตาร์ชข้าวที่มีปริมาณ RS สูง

4.6 รายการอ้างอิง

- Ao, Z. et al. (2007). Starch with a slow digestion property produced by altering its chain length, branch density, and crystalline structure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 55: 4540-4547.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (1997). **Official Methods of Analysis**. Vol. 2. 15th ed., The Association of Official Agricultural Chemists, Virginia. 613 p.
- Chiu, C.W., Henley, M., and Altieri, P. (1994). Process for Making Amylase Resistant Starch from High Amylose Starch. **US patent #5, 281, 276**.
- Englyst, H.N., Kingman, S.M., and Hudson, J.H. (1992). Classification and measurement of nutritionally starch fractions. **European Journal of Clinical Nutrition** 46: S33-S50.
- Englyst, K.N., Englyst, H.N., Hudson, G. J., Cole, T.J., and Cummings. (1999). Rapidly available glucose in foods: an in vitro measurement that reflects the glycemic response. **American Journal of Clinical Nutrition** 69: 448-454.

- Faraj, A., Vasanthan, T., and Hoover, R. (2004). The effect of extrusion cooking on resistant starch formation in waxy and regular barley flours. **Food Research International** 37: 517-525.
- González-Soto, R.A., Mora-Escobedo, R., Hernández-Sánchez, H., Sánchez-Rivera, M., and Bello-Pérez, L.A.(2006). The influence of time and storage temperature on resistant starch formation from autoclaved debranched banana starch. **Food Research International** 40(2): 304-310.
- Gray, J.A., and Bemiller, J.N. (2003). Bread staling : molecular basis and control. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2:1-19.
- Guraya, H., M., James, C., and Champagne, E. T. (2001). Effect of enzyme concentration and storage temperature on the formation of slowly digestible starch from cooked debranched rice starch. **Starch/Stärke** 53:131-139.
- Hagenimana, A., Ding, X., and Fang, T. (2006). Evaluation of rice flour modified by extrusion cooking. **Journal of Cereal Science** 43: 38-46.
- Haralampu, S.G. (2000). Resistant starch-a review of the physical properties and biological impact of RS. **Carbohydrate Polymers** 41: 285-292.
- Jane, J.-L., Wong, K.-S., and McPherson, A.E. (1997). Branch-structure difference in starches of A- and B-type X-ray patterns revealed by their naegeli dextrans. **Carbohydrate Research** 300: 219-227.
- Kim, J.H., Tanhehco, E.J., and Ng, P.K.W. (2006). Effect of extrusion conditions on resistant starch formation from pastry wheat flour. **Food Chemistry** 99: 718-723.
- Koksel, H., Masatcioglu, T., Kahraman, K., Ozturk, S., and Basman, A. (2008). Improving effect of lyophilization on functional properties of resistant starch preparations formed by acid hydrolysis and heat treatment. **Journal of Cereal Science** 47: 275-282.
- Mangala, S.L., Mahadevamma, N.G.M., and Tharanathan, R.N. (1999). Resistant starch from differently processed rice and ragi (finger millet). **European Food Research and Technology** 209:32-37.
- Niba, L.L. (2003). Effect of storage period and temperature on resistant starch and beta-glucan content in cornbread. **Food Chemistry** 83(4): 493-8.
- Ozturk, S., Koksel, H., Kahraman, K., and Ng, P.K. (2009). Effect of debranching and heat treatments on formation and function properties of resistant starch from high-amylose corn starches. **European Food Research and Technology**.

- Parchure, A.A., and Kulkarni, P.R. (1997). Effect of food processing treatments on generation of resistant starch. **International Journal of Food Sciences and Nutrition** 48: 257-260.
- Shi, Y.C., Cui, X., Birkett, A.M., and Thatcher, M.G. (2006). Resistant starch prepared by isoamylase debranching of low amylose starch. **US patent # 7,081,261**.
- Shin, S.I., et al. (2004). Slowly digestible starch from debranched waxy sorghum starch : preparation and properties. **Cereal Chemistry** 81: 404-408.
- Zhang, G., Ao, Z., and Hamaker, B. (2006). Slow digestion property of native cereal starches. **Biomacromolecules** 7: 3252-3258.
- Zhang, G., Sofyan, M., and Hamaker, B. (2008). Slowly digestible state of starch : mechanism of slowly digestion property of gelatinized maize starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 58: 4695-4702.

บทที่ 5

บทสรุป

การศึกษาผลของสภาวะต่าง ๆ ของการบ่ม ได้แก่ ปริมาณของแข็ง อุณหภูมิและระยะเวลา การบ่ม และรูปแบบของการบ่มต่อการเกิด RS พบว่าตัวแปรสำคัญที่มีผลต่อปริมาณการสร้าง RS ในแป้งสตาร์ชข้าวตดกึ่ง คือ อุณหภูมิการบ่ม ระยะเวลาการบ่ม และรูปแบบของการบ่ม โดยเมื่อเพิ่ม ระยะเวลาการบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ส่งผลให้มีปริมาณ RS เกิดมากขึ้น เนื่องจากเป็น สภาวะที่ส่งเสริมการเกิดรีโทรเกรเดชันของโมเลกุลอะมิโลสหรือโมเลกุลเส้นตรงของกลูแคนที่ เกิดขึ้นภายหลังการตัดกึ่ง ซึ่งจะทำให้เกิดการรวมตัวกันเป็นสายเกลียวคู่และมีการจัดเรียงตัวใหม่ ของโครงสร้างเกิดเป็นส่วนที่มีความเป็นระเบียบมากขึ้น ซึ่งสามารถทนต่อการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ ได้

การบ่มแบบอุณหภูมิเดียวเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีปริมาณ RS เกิดขึ้นสูงกว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 4, 25, 80 และ 100 องศาเซลเซียส การเพิ่มอุณหภูมิการบ่มมีผล ต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ โดยจะเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลเกิดเป็น ผลิตภัณฑ์ที่มีความสมบูรณ์มากขึ้นและเสถียรต่อความร้อนได้สูงขึ้นดังสังเกตได้จากช่วงอุณหภูมิในการ เปลี่ยนเฟสที่สูงขึ้น โดยแป้งสตาร์ชข้าวตดกึ่งที่บ่มที่อุณหภูมิ 100°C มีช่วงอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสสูงถึง 110-125 องศาเซลเซียส

การบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตดกึ่งโดยใช้อุณหภูมิแบบวนรอบส่งเสริมให้มีปริมาณผลิตภัณฑ์เกิดขึ้น มากกว่าการบ่มแบบอุณหภูมิเดียว ซึ่งการบ่มแบบวนรอบโดยใช้รูปแบบของการบ่มต่างกันจะให้ ปริมาณ RS ที่แตกต่างกันด้วย แต่ลักษณะโครงสร้างผลิตภัณฑ์และปริมาณผลิตภัณฑ์ได้จะไม่แตกต่างกัน การบ่มแบบวนรอบแบบใช้ระยะเวลาการเติบโตผลิตภัณฑ์สั้นกว่าระยะเวลาการเกิดนิวเคลียสและมี จำนวนรอบของการบ่มมากกว่า โดยจบรอบของการบ่มที่อุณหภูมิการเกิดนิวเคลียสจะมีการสร้าง RS ได้มากกว่า แต่การเพิ่มระยะเวลาการเติบโตผลิตภัณฑ์ให้นานขึ้นไม่มีผลต่อปริมาณ RS และเมื่อเพิ่ม อุณหภูมิการเติบโตผลิตภัณฑ์ให้สูงกว่าอุณหภูมิการหลอมเหลวของผลิตภัณฑ์จะสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการ คลายตัวของโมเลกุลทำให้เกิดจัดเรียงตัวใหม่ของโครงสร้างเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความสมบูรณ์มากกว่า ซึ่งจะมีช่วงอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสที่สูงกว่า สำหรับสภาวะการบ่มแบบวนรอบที่เหมาะสมสำหรับใช้ กับการบ่มแป้งสตาร์ชข้าวตดกึ่ง คือ อุณหภูมิการเกิดนิวเคลียสผลิตภัณฑ์ที่ 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ การเติบโตผลิตภัณฑ์ที่ 80 องศาเซลเซียส และใช้จำนวนรอบการบ่ม 3.5 รอบ ซึ่งมีปริมาณ RS เกิดขึ้น สูงสุดที่ 37% และมีอุณหภูมิการเปลี่ยนเฟสภายใต้ช่วง 87-108 องศาเซลเซียส

ตัวแปรต่าง ๆ ของการดึงน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง การทำแห้งแบบพ่นฝอย และการใช้ตู้อบลมร้อน ซึ่งประกอบด้วย ปริมาณของแข็ง ระยะเวลา และอุณหภูมิที่ใช้ในการศึกษา ไม่มีผลต่อปริมาณแป้งสตาร์ชประเภทต่าง ๆ แต่สำหรับการดึงน้ำออกโดยวิธีการเอกซ์ทรูชันพบว่า ตัวแปรของอุณหภูมิขาเรลโซนสุดท้ายมีผลต่อการเกิด RDS และ RS ซึ่งแนวโน้มของการเกิดแป้งสตาร์ชประเภทต่าง ๆ หลังการดึงน้ำออกของแต่ละสภาวะจะมีความเหมือนกัน โดยมีปริมาณของ RS ลดลง แต่มีปริมาณของ RDS และ SDS เพิ่มขึ้น เนื่องจากสภาวะต่าง ๆ ที่ใช้มีผลในการทำลายโครงสร้างส่วนที่เป็นระเบียบซึ่งสามารถทนต่อการย่อยของเอนไซม์เกิดเป็นโครงสร้างที่เป็นส่วนอสัณฐานซึ่งมีความไม่เป็นระเบียบ จึงถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้ง่าย และเมื่อเปรียบเทียบผลของวิธีการดึงน้ำออกต่อปริมาณแป้งสตาร์ชประเภทต่าง ๆ พบว่าวิธีการดึงน้ำมีผลต่อปริมาณแป้งสตาร์ชประเภท RDS และ RS โดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่สภาวะ 10% ของแข็ง, อุณหภูมิขาเข้า 150 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิขาออก 110 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณ RS สูงสุดที่ 43% มีปริมาณ SDS 18% และมีปริมาณ RDS 14% ขณะที่การดึงน้ำออกโดยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง วิธีการเอกซ์ทรูชัน และวิธีการใช้ตู้อบลมร้อนมีปริมาณของแป้งสตาร์ชประเภทต่าง ๆ ไม่แตกต่างกัน แต่มีความต่างกันในรูปแบบของผลึก โดยการดึงน้ำออกด้วยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างผลึกเกิดเป็นผลึกชนิดที่มีความเสถียรต่อความร้อนสูงกว่าการดึงน้ำออกด้วยวิธีการอื่น ๆ

ภาคผนวก

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

1. ปริมาณความชื้น (AOAC, 1997)

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถคู่ความชื้น รองนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงถึงอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งและบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 1-3 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว
3. อบตัวอย่างในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง
4. เมื่อครบกำหนดเวลา นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถคู่ความชื้น รองนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงถึงอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก
5. คำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 1997)

วิธีการ

1. อบถ้วยแก้วสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไขมันในตู้อบลมร้อน ทิ้งให้เย็นในโถคู่ความชื้น แล้วชั่งและบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก 3-5 กรัม ห่อให้มีดชิดและใส่ลงใน cellulose thimble คลุมด้วยใยแก้วหรือสำลีให้สารทำละลายมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ
3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในชอคเลต
4. เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ในขวดหาปริมาณไขมันประมาณ 150 มิลลิลิตร
5. ประกอบอุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่น และเปิดสวิทช์ให้ความร้อน โดยใช้เวลาในการสกัดไขมัน 3-4 ชั่วโมง
6. ทิ้งให้เย็นในโถคู่ความชื้น แล้วชั่งและบันทึกน้ำหนักถ้วยแก้ว
7. คำนวณปริมาณไขมันจากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

3. ปริมาณโปรตีน (AOAC, 1997)

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างบนกระดาษกรองให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 0.5-1.0 กรัม ห่อให้มีมิดชิดใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน
2. ใส่สารผสมคอปเปอร์ซัลเฟตและโพแทสเซียมซัลเฟต 5 กรัม (อัตราส่วนระหว่างคอปเปอร์ซัลเฟตและโพแทสเซียมซัลเฟต 1 : 10) เพื่อเร่งปฏิกิริยา
3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 15-20 มิลลิลิตร และสารป้องกันการเกิดโฟม (anti-foaming agent) 4-5 หยด
4. ย่อยตัวอย่างบนเตาเครื่องย่อยโปรตีนที่อุณหภูมิ 380 องศาเซลเซียส จนได้สารละลายใสปล่อยให้เย็น
5. จัดอุปกรณ์การกลั่น แล้วเปิดสวิตซ์ไฟ และเปิดน้ำหล่อเย็นเครื่องควบแน่น
6. ใช้ขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุกรดบอริก (ความเข้มข้น 4%) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร และน้ำซึ่งเติมอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด เรียบร้อยแล้ว ไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้ โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดนี้
7. กำหนดให้เครื่องเติมน้ำกลั่นและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 32% โดยน้ำหนัก และทำการกลั่นที่ประมาณ 10 นาที ล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ
8. ไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้กับกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนสีของสารละลายเปลี่ยนแปลงจากสีเขียวเป็นสีม่วง
9. ทำแบลนด์และปฏิบัติตามข้อ 1-8 โดยไม่เติมตัวอย่าง
10. คำนวณปริมาณโปรตีนจากสูตร

$$\text{ปริมาณโปรตีน (\%)} = \frac{(A-B)N \times 1.4 \times F}{W}$$

W

- เมื่อ A = ปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
 B = ปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรตกับ blank (มิลลิลิตร)
 N = ความเข้มข้นของกรด (นอร์มัล)
 F = ค่าคงที่สำหรับแป้งข้าวเจ้าคือ 6.25
 W = น้ำหนักตัวอย่างที่เริ่มต้น (กรัม)

4. ปริมาณสตาร์ชทั้งหมด (Total Starch, TS) ดัดแปลงจากวิธีการของ AACC (1990) Method

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 100 มิลลิกรัม ลงในหลอดทดลอง
2. เติมสารละลาย 80% เอทานอล 0.2 มิลลิลิตร เพื่อช่วยในการกระจายตัว เย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมไดเมทิลซัลโฟลค์ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ทันทีก่อน เย่าให้เข้ากัน นำไปวางในอ่างน้ำเดือด นาน 5 นาที
3. เติมสารละลายเอนไซม์ thermostable α -amylase (ซึ่งมีกิจกรรม 300 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เย่าให้เข้ากัน และนำไปวางในอ่างน้ำเดือนนาน 6 นาที โดยนำออกมาแช่ หลังจากการบ่ม 2 นาที และ 4 นาที ตามลำดับ
4. เมื่อครบเวลาการบ่ม นำออกมาวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ประมาณ 20 นาที
5. เติมสารละลายโซเดียมอะซิเตรท บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ พีเอช 4.5 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ตามด้วยเอนไซม์อะมิโลกลูโคซิเดส (ซึ่งมีกิจกรรม 20 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เย่าให้เข้ากัน และนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
6. เมื่อครบเวลาการบ่ม ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำส่วนใสมาวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส โดยชุดทดสอบ PGO เอนไซม์ (Sigma, P7119) และคำนวณปริมาณ TS จากสูตร

$$\text{ปริมาณ TS (กรัม/ 100 กรัมสตาร์ช)} = \text{F/W} \times 162/180 \times 100$$

$$\text{เมื่อ F} = \text{ปริมาณกลูโคสที่วิเคราะห์ได้}$$

$$\text{W} = \text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)}$$

$$162/180 = \text{แฟคเตอร์สำหรับเปลี่ยน free glucose เป็น anhydro-glucose}$$

5. การวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลส

ทำตามวิธี Colorimetric ของ Juliano (1971) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์และใช้อะมิโลสบริสุทธิ์ในการสร้างกราฟมาตรฐาน

วิธีการ

1. ชั่งแป้งหนัก 0.1000 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตรที่แห้งสนิท
2. เติมเอทานอลความเข้มข้น 95% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ เพื่อให้แป้งกระจายตัว
3. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มัล ปริมาตร 9 มิลลิลิตร

4. นำไปต้มให้ความร้อนในน้ำเดือดนาน 10 นาที ทิ้งให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

5. คูดสารละลายน้ำแป้งที่เตรียมได้มา 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร กรดอะซิติกความเข้มข้น 1 นอร์มัล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายไอโอดีน ปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที

6. นำไปวัดค่าความเข้มข้นของสารละลายด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นแสง 620 นาโนเมตร แล้วปรับเครื่องด้วยเบลงค์ให้ได้ค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0

7. นำอะมิโลสบริสุทธิ์ 0.0400 กรัม เตรียมเป็นสารละลายแป้งเช่นเดียวกับตัวอย่าง ทิ้งไว้ค้างคืน เขย่าให้เข้ากัน แล้วคูดสารละลายอะมิโลสมาตรฐานมา 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตรที่มีน้ำกลั่นปริมาณ 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดอะซิติกความเข้มข้น 1 นอร์มัล ปริมาตร 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มิลลิลิตร ตามลำดับ เติมสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร ลงในแต่ละขวด แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร เขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของอะมิโลสกับค่าการดูดกลืนแสง

8. คำนวณปริมาณอะมิโลสจากการเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐาน แล้วแสดงค่าเป็น % โดยน้ำหนัก

ประวัติผู้เขียน

นางสาวสุรีย์พร บุญนา เกิดเมื่อวันที่ 12 พฤศจิกายน พ.ศ. 2524 ที่อำเภอมะขาม จังหวัด จันทบุรี จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้นจากโรงเรียนลาซาลจันทบุรี (มารดาพิทักษ์) และเข้า ศึกษาต่อระดับมัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนศรียานุสรณ์ในปี พ.ศ. 2540 จากนั้นเข้ารับการศึกษ ในระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2546 ภายหลังสำเร็จการศึกษาได้เข้าทำงานในตำแหน่งผู้ช่วยนักวิจัย สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีจนถึงปี พ.ศ. 2549 ได้เข้าศึกษาต่อใน ระดับปริญญาโทหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัย เทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานทางวิชาการ

- สุรีย์พร บุญนา และ สุนันทา ทองทา. ผลของปริมาณสตาร์ชและอุณหภูมิการป่มต่อการเกิด แป้งย่อยช้าและแป้งทนย่อยต่อเอนไซม์. การนำเสนอแบบบรรยาย. การประชุมวิชาการ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วทท) ครั้งที่ 34. 31 ตุลาคม-2 พฤศจิกายน 2551 ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์. กรุงเทพฯ.