รหัสโครงการ SUT3-305-49-24-08

รายงานการวิจัย

การเพิ่มปริมาณแป้งต้านทานการย่อยในผลิตภัณฑ์พาสต้าข้าวเจ้า

(Increase of resistant starch in rice pasta products)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3-305-49-24-08

รายงานการวิจัย

การเพิ่มปริมาณแป้งต้านทานการย่อยในผลิตภัณฑ์พาสต้าข้าวเจ้า

(Increase of resistant starch in rice pasta products)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร. มาโนชญ์ สุธีรวัฒนานนท์

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2549-2550

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

มีนาคม 2558

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2549-2550 ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ได้สนับสนุนทุนอุดหนุนผ่านทางมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้บริการอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือ

ท้ายนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์1 และ 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีทุกท่านที่สละเวลาให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกแก่ผู้วิจัยด้วยดีตลอดการดำเนินการวิจัย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

พาสต้าข้าวเจ้าเป็นผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นมาสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคแพ้กลูเตนในพาสต้าข้าวสาลี โดยอาหารประเภทนี้มีแป้งสูง แต่มีใยอาหารน้อย โดยมีจุดประสงค์ที่จะพัฒนาพาสต้าข้าวเจ้าให้มีเยื่อใยอาหารมากขึ้น โดยผ่านกระบวนการเอ็กทรูชั่น และกรรมวิธีการเตรียมแป้งที่ทำให้เกิดแป้งทนการย่อยสูงสุดเพื่อให้พาสต้าข้าวเจ้าที่ได้มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ด้านสุขภาพมากขึ้น แป้งทนการย่อยไม่ถูกย่อยสลายได้โดยเอนไซม์ในลำไส้เล็ก ดังนั้นแป้งทนการย่อยจึงมีคุณสมบัติคล้ายกับเยื่อใยอาหาร ซึ่งมีประโยชน์ต่อระบบขับถ่าย ช่วยลดระดับไขมันในเลือด ลดความเสี่ยงต่อการเกิดไขมันอุดตันในเส้นเลือด โรคหัวใจ โรคเบาหวาน เพิ่มความเป็นกรดที่ช่วงปลายลำไส้ใหญ่จากการย่อยสลายของจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่เป็นกรดไขมันโมเลกุลสั้น ทำให้เพิ่มปริมาณและปรับสภาพอุจจาระ จากการเพิ่มปริมาณแป้งต้านทานการย่อยโดยการผสมแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการย่อยบางส่วนด้วยเอนไซม์อะไมเลสกับแป้งข้าวเจ้าที่ใช้สำหรับผลิตพาสต้าข้าวเจ้าในระดับที่ 5-7% พบว่ามีผลทำให้มีปริมาณแป้งทนการย่อยในพาสต้าข้าวเจ้าต้มสุกแล้วเพิ่มขึ้นถึง 65% ทำให้ผลิตภัณฑ์พาสต้าข้าวเจ้าที่ได้มีปริมาณเยื่อใยอาหารรวมสูงกว่า 2% ถือว่าอยู่ในกลุ่มอาหารที่มีเส้นใยซึ่งจากเดิมมีเพียง 0.85% เท่านั้น

Abstract

Rice pasta is product that has been developed for people who are allergic to gluten in wheat pasta. Typically, the product has high starch with low dietary fiber. The objective of the research was to increase the dietary fiber content in rice pasta via a combination of extrusion process and methods that possibly increased the highest amount of resistant starch. This would make the rice pasta become more functional food. The resistant starch is normally undigested by enzymes produced in the small intestine similar to dietary fiber so it facilitates regularity, decrease serum lipids, reduces the risk of arthrosclerosis, heart diseases, and diabetes. The acidity in the last part of the large intestine is increased through the degradation of the undigested starch by bacteria in the large intestine into short-chained fatty acids resulting in increasing the fecal bulk and softness. From this study, rice flour that were pre-treated with amylase increased up to 65% resistant starch in cooked rice pasta when it was mixed with untreated rice flour at 5-7% level. By this technique, the rice pasta can be qualified as fiber food as the total dietary fiber based on resistant starch was higher than 2% compared to 0.85% in regular rice pasta.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญรูป	ง
สารบัญตาราง	จ
บทที่ 1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
ขอบเขตของการวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	26
วัสดุและสารเคมี	26
ขั้นตอนการทดลอง	26
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปราย	34
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	46
บรรณานุกรม	47
ภาคผนวก	55
ภาคผนวก ก	55
ภาคผนวก ข	62
ประวัติผู้วิจัย	72

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 1	โครงสร้างของอะไมโลส	6
รูปที่ 2	โครงสร้างของอะไมโลเพคติน	6
รูปที่ 3	โครงสร้างของแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 1 (RS1)	8
รูปที่ 4	โครงสร้างของแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 (RS2)	8
รูปที่ 5	แสดงการต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ของ double helices บริเวณโครงสร้างผลึก (C) ของแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 3 (RS3)	9
รูปที่ 6	ไดสตาร์ชฟอสเฟตเอสเทอร์	9
รูปที่ 7	โครงสร้างของ Dextrin	17

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	ปริมาณเส้นใยอาหารที่เหมาะสมกับร่างกายที่มีการแนะนำไว้สำหรับประชากรในแต่ละช่วงอายุ	14
ตารางที่ 2	การกำหนดปริมาณอาหารหนึ่งหน่วยบริโภคที่ระบุในฉลากโภชนาการของผลิตภัณฑ์อาหาร	15
ตารางที่ 3	ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยในแป้งธัญชาติ ที่มีผลจากการใช้กระบวนการต่างๆ	21
ตารางที่ 4	การจัดเรียงรูปแบบของสกรูที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ชนิดไม่พองตัว (จากทางเข้าสู่หน้าแปลน)	31
ตารางที่ 5	แสดงปริมาณอะไมโลสของตัวอย่างแป้ง	34
ตารางที่ 6	แสดงค่าจากการวิเคราะห์ความหนืดของแป้งดิบ	35
ตารางที่ 7	ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch) ก่อนและหลังกระบวนการ Autoclave และ Incubation	36
ตารางที่ 8	ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch) ก่อนและหลังกระบวนการ Freeze - Thawing	37
ตารางที่ 9	ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch) ของผงลิมิตเด็กซ์ตริน และตัวอย่างพาสต้า	41
ตารางที่ 10	ปริมาณ non-resistant starch ของผงลิมิตเด็กซ์ตริน และตัวอย่างพาสต้า	42
ตารางที่ 11	การวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร (proximate analysis) ของตัวอย่างพาสต้า	44
ตารางที่ 12	มาตรฐานปริมาณเส้นใยในอาหาร	45
ตารางที่ 13	ค่าการวิเคราะห์ RVA ของตัวอย่างแป้งดิบ	63
ตารางที่ 14	ปริมาณอะไมโลส (% dry basis) ของตัวอย่างแป้งเริ่มต้น	64
ตารางที่ 15	แป้งก่อนการเพิ่มปริมาณ Resistant starch ด้วยวิธี Autoclave และ Incubate	65
ตารางที่ 16	แป้งหลังกระบวนการเพิ่มปริมาณ Resistant starch ด้วยวิธี Autoclave และ Incubate	66
ตารางที่ 17	ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธี Freeze- Thaw ของตัวอย่างแป้งเริ่มต้น	67

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตารางที่ 18	ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธี Freeze-Thaw ของตัวอย่างในcycle ที่ 1	67
ตารางที่ 19	ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธี Freeze-Thaw ของตัวอย่างในcycle ที่ 2	68
ตารางที่ 20	ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธี Freeze-Thaw ของตัวอย่างในcycle ที่ 3	68
ตารางที่ 21	แสดงปริมาณของแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ของแป้งดิบก่อนการเพิ่มปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยวิธี Acid-methanol และ annealing	69
ตารางที่ 22	ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ที่เพิ่มตามวิธี Acid-methanol และ annealing	70
ตารางที่ 23	ปริมาณ RS ของผลิตพาสต้า	71
ตารางที่ 24	ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch) ของลิมิตเดกซ์ตรินและผลิตภัณฑ์พาสต้า	71

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1

บทนำ

พาสต้าเป็นอาหารที่นิยมกันทั่วโลกโดยเฉพาะประเทศในกลุ่มยุโรปและอเมริกา ปัญหาบางอย่างที่พบคือ พาสต้าที่ทำจากแป้งสาลีมีกลูเตน ทำให้ผู้ป่วยที่แพ้กลูเตนไม่สามารถรับประทานอาหารประเภทนี้ได้ จึงได้มีการพัฒนาพาสต้าที่ทำจากแป้งที่ไม่มีส่วนผสมของกลูเตน เช่นแป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวโพด แป้งดัดแปร และส่วนผสมอื่นที่ทำให้โครงสร้างของพาสต้ามีความยืดหยุ่นตัว มีสิทธิบัตรที่ยื่นจดไว้ในต่างประเทศแล้วหลายฉบับแล้วที่ใช้แป้งต่างๆทำพาสต้าที่ปราศจากกลูเตน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีเทคโนโลยีสุรนารีได้จดสิทธิบัตร กรรมวิธีการผลิตพาสต้าข้าวเจ้า กับกรมทรัพย์สินทางปัญญา เลขที่ 079468 เลขที่รายการจดทะเบียน 21124 ซึ่งมีความแตกต่างจากกรรมวิธีการผลิตพาสต้าข้าวเจ้าทั่วไปคือ สามารถทำจากแป้งข้าวเจ้า 100% มีคุณภาพการต้มใกล้เคียงกับพาสต้าข้าวสาลี การยืดหยุ่น และความคงตัวไม่แตกต่างจากพาสต้าข้าวสาลี เมื่อนำไปทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสกับผู้ทดสอบทั้งในประเทศไทย ประเทศอิตาลี และประเทศฟินแลนด์แล้วพบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบมากกว่าหรือเท่ากับพาสต้าจากแป้งสาลี ทางผู้วิจัยเล็งเห็นประโยชน์และแนวทางที่จะทำให้พาสต้าข้าวเจ้ามีการยอมรับมากขึ้นในหมู่ผู้บริโภคพาสต้าข้าวสาลี

ปัญหาทั่วไปของอาหารทั่วไปที่มีแป้งสูงจะทำให้เกิดแคลลอรี่ น้ำตาลในเลือดเพิ่มขึ้น ความเป็นกากใยน้อย ด้วยข้อด้อยเหล่านี้เป็นสิ่งที่พบในพาสต้าข้าวเจ้าด้วย ดังนั้นจึงมีแนวความคิดที่จะพัฒนาพาสต้าข้าวเจ้าให้มีความเป็นเยื่อใยมากขึ้นโดยผ่านกระบวนการเอ็กทรูชั่น และกรรมวิธีการเตรียมแป้งที่เหนี่ยวนำให้เกิดปริมาณ resistant starch ของแป้ง และกรรมวิธีการแปรรูปจากสิทธิบัตรที่จดไว้ในต่างประเทศ ทั้งนี้เพื่อให้พาสต้าข้าวเจ้าที่ได้มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ด้านสุขภาพมากขึ้น นอกเหนือจากเป็นอาหารสำหรับผู้ป่วยที่แพ้กลูเตนแล้ว คือควบคุมปริมาณน้ำตาลในเลือดมิให้สูงเกินไป ซึ่งจะเหมาะสมกับผู้ที่ป่วยเป็นโรคเบาหวาน ลดปริมาณแคลลอรี่สำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก ช่วยควบคุมปริมาณโคเรสเตอรอลในเลือด และทำหน้าที่ป้องกันโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้

แป้ง (Starch) เป็นอาหารหลักและแหล่งพลังงานที่สำคัญชนิดหนึ่งของมนุษย์ สามารถพบอยู่ทั่วไปตามส่วนต่างๆของพืช เช่น ผลของกล้วย เมล็ดของธัญชาติ และหัวมันสำปะหลัง เป็นต้น และยังเป็นวัตถุดิบที่มีศักยภาพในการผลิตเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ เช่น maltrodextrin เพื่อใช้เป็นสารทดแทนไขมัน (Fat substitutes) (Hassel, 1993) และแป้งที่ไม่สามารถถูกย่อยได้ด้วยเอนไซม์ในลำไส้เล็กของมนุษย์ (Enzyme-resistant starch หรือ Resistant starch) โดย resistant ตามคำนิยายของ European FLAIR-Concerted Action on Resistant starch (EURESTA) หมายถึง แป้งและผลิตภัณฑ์ของแป้งที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์และดูดซึมภายในลำไส้เล็กของมนุษย์ปกติได้ (EURESTA, 1993) ซึ่งสามารถจำแนกตามลักษณะและแหล่งที่มาได้ 3 ประเภท คือ แป้งที่มีลักษณะขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ Physically inaccessible starch; RS1) โดยเม็ดแป้งอาจถูกห่อหุ้ม

ภายในร่างแหโปรตีนหรือถูกตรึงอยู่ภายในเซลล์หุ้มเมล็ดพืช ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยาในเม็ดแป้งได้ Resistant starch ชนิดนี้จะพบในโครงสร้างของเมล็ดพืชที่ถูกทำลายไปบางส่วน เช่น ในเมล็ดพืชที่ถูกบดมาบางส่วน เป็นต้น ประเภทที่สองคือ เม็ดแป้งดิบที่ทนทานต่อการทำงานของเอนไซม์ Raw starch granules; RS2 ได้แก่เม็ดแป้งมันฝรั่งดิบ เม็ดแป้งกล้วยดิบ และแป้งจากเมล็ดถั่ว โดยความคงทนต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ขึ้นอยู่กับลักษณะโครงสร้างตามธรรมชาติของเม็ดแป้งที่ไม่มีรูหรือช่องเปิดให้เอนไซม์เข้าไปในเม็ดแป้ง ประเภทที่สามคือ แป้งคืนตัว (Retrograded starch; RS3) Resistant starch โดยส่วนใหญ่จะจัดอยู่ในประเภท Retrograded starch ซึ่งได้แก่ อาหารที่ผ่านการให้ความร้อนจนแป้งเกิดการเจลาติไนซ์ แล้วถูกทำให้เย็นตัวลงทำให้ส่วนอะไมโลส (โพลิเมอร์เชิงเส้นของกลูโคส) ในน้ำแป้งหลุดออกมาในขณะที่เม็ดแป้งพองตัวและเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ ได้เป็นผลึกแป้งที่แข็งแรงและทนทานต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ดังนั้นแป้งที่มีอัตราส่วนของอะไมโลสสูงกว่าจะสามารถเกิดรีโทรเกรเดชั่นได้มากกว่าแป้งที่มีอะไมโลเพคติน(โพลีเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคส)สูง แป้งที่มีปริมาณอะไมโลสสูงก็สามารถผลิต resistant starch ได้ในระดับสูงเช่นเดียวกัน (Asp & Bjorck, 1992; Eerlingen, Crombez, & Delcour, 1993) และประเภทสุดท้ายคือ แป้งที่มีโครงสร้างที่เกิดจากการดัดแปรโดยใช้สารเคมีในการ cross-linking ทำให้โครงสร้างแป้งภายในเกิดพันธะแบบใหม่

Resistant starch ซึ่งถูกส่งผ่านไปยังลำไส้ใหญ่ มีรายงานว่าส่งผลดีต่อสุขภาพ และช่วยป้องกันโรคต่าง ๆ ได้ดังต่อไปนี้ ช่วยลดระดับไขมันในเลือดจึงป้องกันหรือลดภาวะโรคอ้วนได้ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดไขมันอุดตันในเส้นเลือด โรคหัวใจ โรคเบาหวาน ช่วยลดระดับ pH ที่ช่วงปลายลำไส้ใหญ่ ช่วยเพิ่มปริมาณและปรับสภาพอุจจาระ สร้างกรดไขมันโมเลกุลสั้นๆ (shot chain fatty acids) ที่บริเวณลำไส้ใหญ่ ช่วยป้องกันโรคบริเวณลำไส้ใหญ่ เช่น ริดสีดวงทวาร และมะเร็ง เพิ่มความถี่ในการขับถ่ายและลดความเสี่ยงในการเกิดโรคท้องผูกและโรคผนังลำไส้อักเสบ (สายสนม ประดิษฐ์ดวง, 2541; เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ และกล้าณรงค์ ศรีรอด, 2546)

Resistant starch สามารถพบได้ทั้งในระหว่างกระบวนการผลิตและจากตัวแป้งดิบจากธรรมชาติ เช่นในถั่วแขก (lentil) มีresistant starch ถึง 44 เปอร์เซ็นต์ (Lintas & Cappelloni, 1992) การนำอาหารดิบไปผ่านกระบวนการแปรรูปอาหารจะเป็นการทำลาย RS1และ RS2 แต่เป็นการเพิ่มปริมาณ RS3 ผู้ที่ทำการวิจัยพบว่า resistant starch ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิตมีความสัมพันธ์กับการเกิดรีโทรเกรเดชั่นของ อะไมโลส (Berry, 1986; Berry, Anson, Miles, Morris, & Russe, 1988) ปัจจัยบางประการที่มีผลกระทบกับการเกิดรีโทรเกรเดชั่นของอะไมโลส คือ ความยาวของสายโพลิเมอร์กลูโคส(Clark, Gidley, Richardson, & Ross-Murphy, 1989; Eerlingen, Deceuninck, & Delcour., 1993) ปริมาณน้ำตาล(Eerlingen, Broeck, Delcour, Slade, & Levine, 1994) ปริมาณลิพิด (Szczodrak & Pomeranz, 1992) และระยะเวลาและอุณหภูมิในการบ่ม (Eerlingen,

Crombez et al., 1993) การแช่เยือกแข็งและการใช้กระบวนการนึ่งภายใต้ความดันสูง(autoclave) เป็นวิธีที่ใช้ในการสร้าง resistant starch หรือแม้แต่การปรุงอาหารอย่างง่าย ๆ เช่น การทำให้เย็นและการเก็บก็เป็นการสร้าง resistant starch ได้อีกทางหนึ่ง ปัจจัยบางประการที่มีความสัมพันธ์กับการเกิด resistant starch ในระหว่างกระบวนการผลิต คือ สถานะทางกายภาพของอาหาร ปริมาณน้ำ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อน อัตราส่วนในวัตถุดิบ จำนวนครั้งของการให้ความร้อนและเย็นตัว วิธีการแช่เยือกแข็ง (แบบช้าหรือแบบเร็ว) และการทำแห้ง (Englyst & Cummings, 1987)

จากการศึกษาของ Unlu and Faller (1998) พบว่าการเติมข้าวโพดที่มีปริมาณสูงกว่า 30 เปอร์เซ็นต์และกรดซิตริก 7.5 เปอร์เซ็นต์ ลงในแป้งข้าวโพดบดหยาบแล้วนำไปผ่านกระบวนการอัดพองจะทำให้มีปริมาณ resistant starch เพิ่มขึ้น ในขณะที่ Chung et al. (1999) ได้ทำการศึกษาผลของกระบวนการผลิตที่มีผลต่อการเกิด resistant starch โดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิตที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส และการทำให้เย็นโดยใช้พัดลมเป่าที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งทำให้ปริมาณ resistant starch สูงสุด ในขณะที่ปริมาณความชื้นไม่มีผลต่อปริมาณ resistant starch

การผลิต resistant starch ในทางการค้า เริ่มเมื่อปี 1991 โดย Iyengar ได้ทำการจดสิทธิบัตรกรรมวิธีการผลิต resistant starch โดยการนำสตาร์ทไปละลายในสารละลายที่มีส่วนผสมของบัฟเฟอร์หรือสารละลายอินทรีย์ เช่น ไดเมทธิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide; DMSO) จากนั้นนำของผสมที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 – 120 องศาเซลเซียส นาน 5 – 10 ชั่วโมง จากนั้นทำให้เย็นและบ่มที่อุณหภูมิ 4 – 20 องศาเซลเซียส นาน 12 – 96 ชั่วโมง จากนั้นทำการไฮโดรไลซ์เพื่อกำจัดโพลีแซคคาไรด์ที่เกิดการรีโทรเกรเดชั่นด้วยเอนไซม์หรือกรด แล้วจึงแยกส่วนที่ไม่ละลายน้ำหลังจากผ่านการล้างน้ำออก จากนั้นทำแห้งด้วยการอบแห้ง แช่เยือกแข็ง หรือการใช้สารละลายอินทรีย์ แต่วิธีการดังกล่าวยังมีความซับซ้อนและยุ่งยากในทางอุตสาหกรรม ต่อจากนั้นในปี 1994 (Chiu, Henley, & Altieri, 1994)ได้จดสิทธิบัตรกรรมวิธีการผลิต resistant starch เช่นกัน โดยเริ่มจากนำแป้งที่มีปริมาณอะไมโลสมากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ มาผ่านกระบวนการเจลลาติไนเซชั่น การใช้เอนไซม์กำจัดโพลิเมอร์เชิงกิ่ง จากนั้นแยกส่วนที่ต้องการด้วยการทำแห้ง การอัดพอง หรือการตกผลึกโดยการเติมเกลือ

พาสต้าและผลิตภัณฑ์เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดเส้นที่เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตที่นิยมบริโภคในแถบยุโรปและอเมริกาและความนิยมนี้ได้แพร่หลายไปยังประเทศอื่น ๆ ทั่วโลก วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตคือ แป้งสาลีและน้ำ (Abecassis, Abbou, Chaurand, & Vernoux, 1994) แต่มีผู้บริโภคส่วนหนึ่งที่เป็นโรคแพ้โปรตีนกลูเตน (gluten allergy) ซึ่งเป็นโปรตีนที่อยู่ในแป้งสาลี โดยเฉพาะผู้ที่มีเชื้อสายยุโรปซึ่งพบ 1 คนใน 150 คน ถึง 250 คน อาการของโรคพบตั้งแต่เกิดอาการท้องเสีย ผื่นคันที่ผิวหนัง หายใจขัดและปวดกระดูก เป็นต้น โดยโรคแพ้โปรตีนกลูเตนนี้เป็นโรคที่สามารถถ่ายทอด

ข้อมูลทางพันธุกรรมที่ไม่มีทางรักษาผู้ป่วย ทำได้เพียงหลีกเลี่ยงการบริโภคอาหารที่มีโปรตีนกลูเตนเป็นส่วนประกอบเท่านั้น (Scott, 1995) จากเอกสารการจดยื่นขอสิทธิบัตรการผลิตพาสต้าข้าวเจ้า (มาโนชญ์ สุธีรวัฒนานนท์ และ ปิยะมาศ มหาบุญญานนท์, 2546) พบว่าสามารถผลิตพาสต้าข้าวเจ้าโดยใช้เครื่องอัดพอง ได้พาสต้าข้าวเจ้าที่มีคุณภาพใกล้เคียงกับพาสต้าที่ผลิตจากแป้งสาลี และเป็นผลิตภัณฑ์ที่ปราศจากโปรตีนกลูเตนอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาหาวิธีการเตรียมแป้งที่ก่อให้เกิด resistant starch สูงสุด
2. เพื่อทดสอบหาสภาวะการทำเอ็กทรูชั่นที่เหมาะสมที่ก่อให้เกิดการสร้าง resistant starch สูงสุด
3. เพื่อศึกษาหาสภาวะการทำแห้งที่เหมาะสมกับพาสต้าข้าวเจ้าแบบใหม่นี้
4. เพื่อศึกษาคุณภาพทางด้านกายภาพ โครงสร้างภายใน และประสาทสัมผัสของพาสต้าข้าวเจ้าที่มี resistant starch สูง

ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยจะเริ่มจากการเปรียบเทียบกระบวนการเตรียมแป้งชนิดต่างๆที่ทำให้เกิดปริมาณ Resistant starch สูงสุด โดยอาศัยความรู้พื้นฐานจากงานวิจัยที่มีมาก่อนหน้านี้ และสิทธิบัตรที่มีมาก่อนหน้านี้ และสิทธิบัตรที่จดไว้ในต่างประเทศ หลังจากนั้นนำกระบวนการที่ดีที่สุดมาทำการผลิตแป้งสำหรับทำพาสต้าข้าวเจ้าที่มีปริมาณ resistant starch สูง การศึกษาขั้นต่อไปจะเป็นการพัฒนากรรมวิธีการผลิตพาสต้าข้าวเจ้าแบบใหม่ที่เหมาะสมด้วยเครื่อง twin-screw extruder โดยจะเน้นการหาสภาวะที่ก่อให้เกิดการเหนี่ยวนำการสร้าง resistant starch ที่มีปริมาณสูงขึ้นกว่าเดิม ร่วมด้วยการอบแห้งที่สภาวะต่างๆกัน เพื่อให้เกิดการกระตุ้นให้สร้าง resistant starch ที่สูงขึ้น แต่อยู่ในระดับที่ยอมรับได้ เมื่อได้ผลิตภัณฑ์จากสภาวะต่างๆแล้วก็นำมาทำการทดสอบคุณภาพทางด้านกายภาพ การหุงต้ม และคุณสมบัติด้านประสาทสัมผัส ร่วมกับการวิเคราะห์โครงสร้างภายใน เพื่อใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นและใช้ข้อมูลที่ได้นำมาทำนายเมื่อมีการเปลี่ยนสภาวะการทำเอ็กทรูชั่น

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้กรรมวิธีการผลิตพาสต้าข้าวเจ้าที่มีแป้งต้านทานการย่อยสูง

บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. แป้ง (Starch)

แป้งประกอบด้วย อะมิโลส และอะมิโลเพคตินในสัดส่วนที่ต่างกันไปตามชนิดของแป้ง เมื่อถูกบริโภคเข้าไปจะถูกย่อยให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็ก ซึมซับเข้าไปสลายตัวให้พลังงานตามกระบวนการทางชีวเคมี แป้งในอาหารแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ Glycemic starch คือ แป้งที่ถูกย่อยสลายเป็นน้ำตาลกลูโคสได้ด้วยน้ำย่อยในลำไส้เล็ก มีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือดโดยตรง และ Resistant starch คือแป้งที่ไม่ถูกย่อยด้วยน้ำย่อยในลำไส้เล็ก จะผ่านไปถึงลำไส้ใหญ่แล้วจึงเปลี่ยนแปลงโดยการหมักที่ลำไส้ใหญ่ โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในลำไส้ มีบทบาทต่อการป้องกันโรค เช่น ช่วยลดระดับไขมันในเลือด ช่วยลดระดับ pH ที่ช่วงปลายลำไส้ใหญ่ ช่วยป้องกันโรคที่เกิดบริเวณทวารหนัก ฯลฯ Resistant starch มีในข้าวชนิดที่มีอะมิโลสสูง เช่นข้าวขาวตาแห้ง ข้าวเสาไห้ (สายสนม ประดิษฐ์ดวง, 2541)

แป้งเป็นโพลิเมอร์ของกลูโคสที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่มีสูตรทั่วไปคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ แป้งมีหน่วยพื้นฐานเป็น anhydroglucose unit เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α-glycosidic linkage ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ของหน่วยกลูโคสกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ของหน่วยกลูโคสที่อยู่ถัดไป ด้านปลายของโมเลกุลแป้งจะมี anomeric carbon (C1) ซึ่งว่างอยู่ไม่ได้จับกับโมเลกุลอื่นๆ ดังนั้นแต่ละโมเลกุลของแป้งจะมีด้านปลายที่มีคุณสมบัติรีดิวซ์ (reducing end) นั่นคือ แป้งหนึ่งโมเลกุลจะมีตำแหน่ง reducing end 1 ตำแหน่ง โมเลกุลแป้งแบ่งออกเป็น 2 ชนิดหลัก ๆ ตามขนาดโมเลกุลและลักษณะการจัดเรียงตัว คือ อะไมโลส ซึ่งมีขนาดเล็กและมีกิ่งก้านสาขาเพียงเล็กน้อย และอะไมโลเพคตินซึ่งมีขนาดใหญ่และ มีกิ่งก้านสาขาจำนวนมาก นอกจากนี้ยังพบโมเลกุลแป้งอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งมี ขนาดใหญ่กว่าอะไมโลส แต่เล็กกว่าอะไมโลเพคติน เรียกว่า “ intermediate material ” แต่พบในปริมาณไม่มากนัก (Bule, Colonna, Planchot, & Ball, 1998)

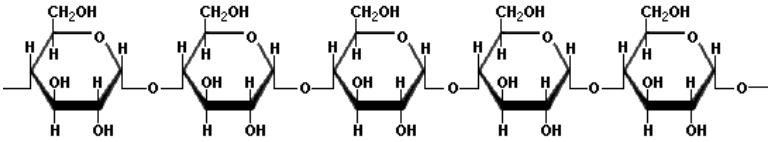
1.1 องค์ประกอบของแป้ง

แป้งประกอบด้วยพอลิเมอร์พื้นฐานที่สำคัญ 2 ชนิด คือ

1.1.1 อะไมโลส

อะไมโลสเป็นโพลิเมอร์เชิงเส้นที่ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 1,000 – 6,000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α-1, 4 –glycosidic linkage อาจพบกิ่งก้านสาขาในโมเลกุลของอะไมโลสได้บ้างในปริมาณเล็กน้อย โดยทั่วไปแป้งจากธัญพืช เช่น แป้งข้าวโพด แป้งสาลี แป้งข้าวฟ่าง มีปริมาณอะไมโลส สูงประมาณ 22-30% ส่วนแป้งจากรากและหัว เช่น แป้งมันสำปะหลัง แป้งมันฝรั่ง แป้งสาคูจะมีปริมาณอะไมโลสต่ำกว่า คืออยู่ในช่วง 18-24% น้ำหนักโมเลกุลอะไมโลสอยู่ในช่วง 105

ถึง 106 ดาลตัน โดยอะไมโลสในแป้งแต่ละชนิดจะมีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกันไป เนื่องจากแป้งแต่ละชนิดมี degree of polymerization (DP) ของอะไมโลสแตกต่างกัน แป้งมันฝรั่งและแป้งมันสำปะหลังมี DP ของอะไมโลส อยู่ในช่วง 1,000 ถึง 6,000 สูงกว่าแป้งข้าวโพดและแป้งสาลีซึ่งมี DP ของอะไมโลสในช่วง 200 ถึง 1,200 แป้งที่มีสายของอะไมโลส ยาวมากจะมีแนวโน้มในการเกิดรีโทรเกรเดชัน (retrogradation) ลดลง (Bule et al., 1998; Hizukuri, 1988)

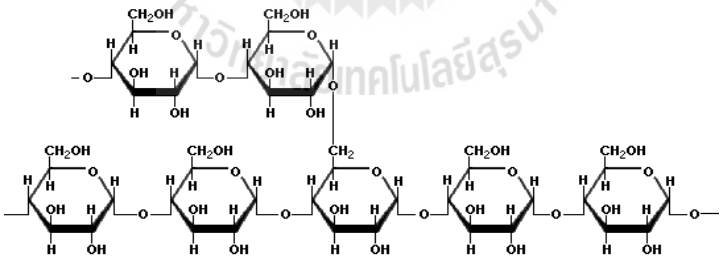


รูปที่ 1โครงสร้างของอะไมโลส

ที่มา: Food-info, 2012

1.1.2 อะไมโลเพคติน

อะไมโลเพคตินเป็นโพลิเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคส ส่วนที่เป็นเส้นตรงของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วย พันธะ α-1, 4- glycosidic linkage และส่วนที่เป็นกิ่งสาขาที่เป็นโพลิเมอร์กลูโคสสายสั้นมี DP อยู่ในช่วง 10 ถึง 60 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α-1, 6-glycosidic linkage ดังรูปที่2 (Bule et al., 1998; Hizukuri, 1988)



รูปที่ 2 โครงสร้างของอะไมโลเพคติน

ที่มา: Zamora, 2013

หน่วยกลูโคสที่มีพันธะ α-1, 6 glycosidic linkage มีอยู่ประมาณ 5 - 6% ของปริมาณหน่วยกลูโคสใน อะไมโลเพคตินทั้งหมด อะไมโลเพคตินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 1,000 เท่าของอะไมโลส คือ ประมาณ 107 ถึง 109 ดาลตัน และมีการคืนตัวต่ำ เนื่องจากอะไมโลเพคตินมีลักษณะ

โครงสร้างเป็นกิ่ง อะไมโล-เพคตินทำหน้าที่เป็นโครงสร้างหลักของเม็ดแป้ง ดังนั้นเมื่อมีอะไมโลเพคตินเพียงอย่างเดียว จึงยังสามารถรวมตัวเป็นเม็ดแป้งได้ (Bule et al., 1998; Hizukuri, 1988)

1.2 ประเภทของแป้ง แบ่งตามความสามารถในการย่อยสลายได้ (Sajilata, Singhal, & Kulkarni, 2006)

1.2.1 แป้งที่สามารถถูกย่อยสลายได้อย่างรวดเร็ว (Rapidly digestible starch; RDS) แป้งชนิดนี้สามารถพบได้ในอาหารที่มีส่วนประกอบของแป้งเมื่อผ่านการหุงใหม่ ๆ สามารถย่อยสลายไปเป็นน้ำตาลกลูโคสในลำไส้เล็กได้อย่างรวดเร็วภายใน 20 นาที

1.2.2 แป้งที่สามารถถูกย่อยสลายได้อย่างช้า ๆ (Slowly digestible starch; SDS) พบในธัญพืชสด ผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเส้นที่ทำสุกแล้ว สามารถย่อยสลายได้อย่างช้าๆ แต่ก็ยังถูกย่อยไปเป็นน้ำตาลกลูโคสได้อย่างสมบูรณ์ โดยใช้เวลาตั้งแต่ 20 ถึง 110 นาที

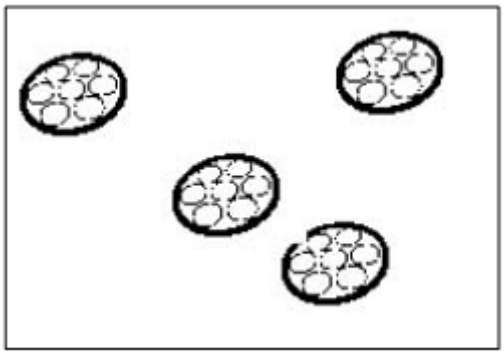
1.2.3 แป้งที่ไม่สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์ (Enzyme-resistant starch; RS) พบในเมล็ดธัญพืชที่ถูกบด หรือแป้งที่เกิดการคืนตัว ซึ่งทนทานต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ในลำไส้เล็ก

2. นิยามและประเภทของ แป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch)

Resistant starch คือ แป้งที่ไม่สามารถถูกย่อยได้ด้วยเอนไซม์ ตามคำนิยามของ European FLAIR-Concerted Action on Resistant Starch หมายถึงแป้งและผลิตภัณฑ์ของแป้งที่ไม่สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์และดูดซึมภายในลำไส้เล็กของมนุษย์ปกติได้ สามารถจำแนก resistant starch นี้ออกเป็นกลุ่มย่อยอีก 4 กลุ่ม คือ

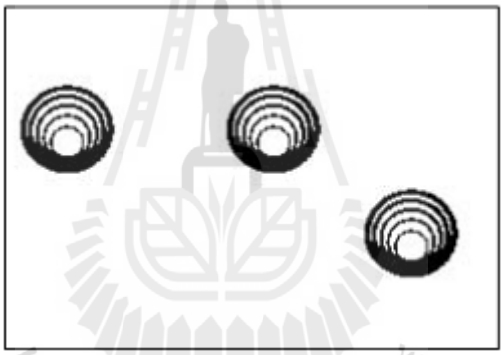
2.1 RS1: Physically inaccessible starch

แป้งที่มีลักษณะทางกายภาพขัดขวางต่อการทำงานของเอนไซม์ พบในเมล็ดพืชที่ผ่านการบดเพียงบางส่วน เช่น พืชตระกูลถั่ว เป็นต้น มีลักษณะดังรูปที่ 3



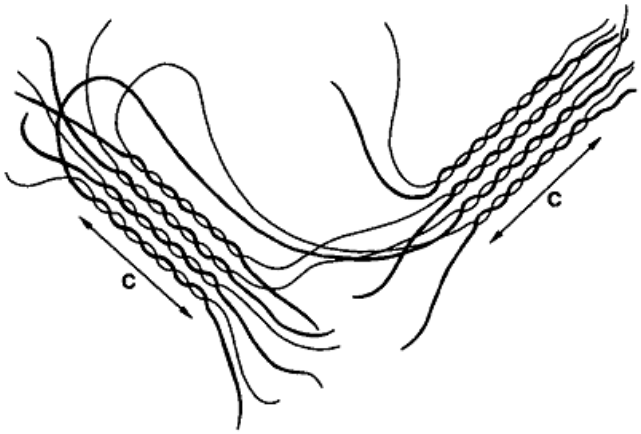
รูปที่ 3โครงสร้างของแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 1 (RS_1)
ที่มา: Sajilata et al., 2006

2.2 RS2: Raw starch granules คือ เม็ดแป้งดิบที่ทนทานต่อการทำงานของเอนไซม์ พบในแป้งที่ยังไม่ได้ผ่านกระบวนการทำให้แป้งสุก เช่น แป้งกล้วยดิบ เม็ดแป้งมันฝรั่งดิบ และแป้งอะไมโลสสูง มีลักษณะโครงสร้างดังรูปที่ 4



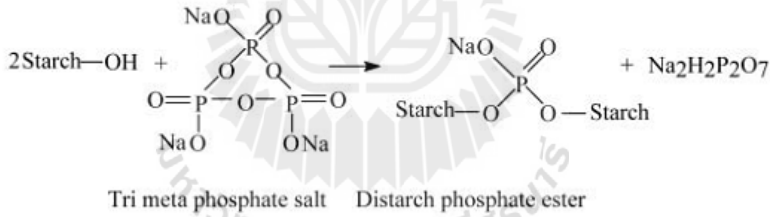
รูปที่ 4โครงสร้างของแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2 (RS_2)
ที่มา: Sajilata et al., 2006

2.3 RS3: Retrograded starch คือ เป็นประเภทแป้งคืนตัว ส่วนใหญ่แป้งชนิดนี้พบในอาหารที่ให้ความร้อนจนเกิดเจลาติไนซ์ เมื่อถูกทำให้เย็นลงจะเกิดการจัดเรียงตัวของอะไมโลสใหม่ เช่น มันฝรั่งต้มที่ทำให้เย็น เปลือกขนมปัง คอร์นเฟลคส์ และการคืนตัวของแป้งข้าวโพดอะไมโลสสูง คุณสมบัติของแป้งRS3 คือ สามารถละลายได้ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ และไดเมทิซัลฟอกไซด์ มีลักษณะโครงสร้างดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 แสดงการต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ของ double helices บริเวณโครงสร้างผลึก(C) ของแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 3 (RS_3)
ที่มา: Eerlingen & Delcour, 1995

2.4 RS4: Chemically modified starch เป็นแป้งที่มีโครงสร้างที่เกิดจากการดัดแปรโดยใช้สารเคมีในการcross-linking ทำให้โครงสร้างแป้งภายในเกิดพันธะแบบใหม่ มีลักษณะโครงสร้างดังรูปที่ 6



รูปที่ 6 ไดสตาร์ชฟอสเฟตเอสเทอร์
ที่มา: Sajilata et al., 2006

3. ประโยชน์ของ resistant starch ต่อสุขภาพ (Beneficial physiological effects of resistant starch)

เนื่องจากคุณสมบัติที่สำคัญของ resistant starch คือ ไม่สามารถถูกย่อยสลายได้โดยเอนไซม์ในลำไส้เล็ก ดังนั้น resistant starch จึงมีคุณสมบัติเทียบเท่ากับเส้นใยอาหาร ซึ่งมีประโยชน์ต่อระบบขับถ่ายและระบบหมุนเวียนเลือด โดย resistant starch ที่ไม่ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ในลำไส้เล็กจะผ่านมาถึงส่วนของลำไส้ใหญ่และถูกหมักโดยจุลินทรีย์ ภายในลำไส้ใหญ่ได้เป็นกรดไขมันสายสั้น ๆ เช่น acetate, propionate และ butyrate และมีก๊าซเกิดร่วมด้วย กรดไขมันทั้งสามชนิดที่เกิดจะมีสัดส่วนแตกต่างกันไปตามชนิดของ resistant starch และสามารถถูกดูดซึมภายในลำไส้ใหญ่และ

ขนส่งไปถึงตับได้กรดไขมันที่เกิดขึ้นจะช่วยให้สุขลักษณะของปลายลำไส้ใหญ่ดีขึ้น โดยกรดไขมันจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ที่ทำให้เกิดโรค เพิ่มปริมาณของของเหลวและปรับสภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) ภายในลำไส้ใหญ่ให้ต่ำลง butyrate ที่ สร้างขึ้นจะช่วยปรับสภาวะตอนปลายของลำไส้ใหญ่ให้สมบูรณ์ยับยั้งการเจริญของ transformed cell ในสิ่งมีชีวิต ซึ่งจะมีบทบาทในการป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ การเพิ่มปริมาณเส้นใยอาหารในอาหารที่ บริโภคเข้าไปจะทำให้ระบบขับถ่ายทำงานได้ดีขึ้น โดยช่วยเพิ่มปริมาณอุจจาระ เพิ่มความถี่ในการขับถ่ายและลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคท้องผูก โรคผนังลำไส้ใหญ่อักเสบและมะเร็งในลำไส้ใหญ่ (กล้าณรงค์ ศรีรอต และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546) ดังนั้นบทบาทของแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ส่งผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภคมีดังนี้

3.1 ป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ (Prevention of colonic cancer)

ลำไส้ใหญ่เป็นแหล่งสะสมของเสียและเป็นแหล่งรวมจุลินทรีย์ต่าง ๆ หลายชนิด ดังนั้นจึงมีโอกาสเกิดโรคต่าง ๆโดยเฉพาะโรคมะเร็งได้มากกว่าในทางเดินอาหารส่วนอื่น มีการศึกษาพบว่าแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์สามารถป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ โดยการใช้แป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นสารตั้งต้นในการหมักของจุลินทรีย์หลายชนิดในลำไส้ใหญ่ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงกระบวนการเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ให้เป็นไปในแนวทางที่จะลดการเกิดสารที่ส่งผลเสียต่อร่างกาย นอกจากนี้แป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ยังมีบทบาทในการส่งเสริมให้แบคทีเรียแลกติกผลิตสารที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่จะผลิตสารก่อมะเร็งได้ และผลผลิตที่ได้จากการหมักมีผลต่อกลไกในการป้องกันการเกิดมะเร็ง เช่น กรดไขมันสายสั้นกลุ่ม อะซิเตท โพรพิโอเนท และบิวทิเรต ซึ่งบิวทิเรตเป็นสารที่มีบทบาทในการกระตุ้นให้เกิดการตายตามธรรมชาติของเซลล์ (apoptosis)ในลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้กรดไขมันสายสั้นยังทำให้ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ภายในลำไส้ใหญ่ให้ลดลง (Brouns, Kettlitz, & Arrigoni, 2002; Scheppach, Bartram, & Richter, 1995) เมื่อเกิดสภาวะกรดขึ้นภายในบริเวณลำไส้ใหญ่จะเกิดการยับยั้งเอนไซม์จากจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถเปลี่ยนน้ำดีให้เกิดเป็นสารก่อมะเร็งในลำไส้ใหญ่ การที่จุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่สามารถย่อยสลายเส้นใยอาหารได้ จึงมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนซึ่งช่วยเพิ่มปริมาณอุจจาระ กระตุ้นให้เกิดการขับถ่าย ป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ กรดไขมันบิวทิเรตยังช่วยปรับสภาวะตอนปลายของลำไส้ใหญ่ให้สมบูรณ์ด้วย (กุหลาบ สิทธิสวนจิก, 2553)

การศึกษาผลของแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ต่อการป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ในอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีจำนวน 12 คน โดยเป็นเพศหญิง 5 คน และเพศชาย 7 คน ซึ่งมีอายุอยู่ในช่วง 23–28 ปี มีค่าดัชนีมวลกายเฉลี่ย 23.2 กิโลกรัมต่อตารางเมตร โดยให้กลุ่มควบคุมรับประทานอาหารที่มีแป้ง RS สูง และอาหารที่มีแป้ง RS ต่ำ ทำการศึกษาเป็นเวลา 2 ช่วง ช่วงละ 4 สัปดาห์

พบว่าประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มอาสาสมัครที่บริโภคอาหารที่มีแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์สูงนั้น น้ำหนักของอุจาระเพิ่มขึ้น 49%และ 56% ของน้ำหนักเปียกและน้ำหนักแห้งตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณน้ำในอุจจาระไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Hylla et al., 1998)

3.2 ลดระดับน้ำตาลในเลือด (Hypoglycemic effects)

ค่าดัชนีน้ำตาล (Glycemic Index : GI) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงปริมาณของคาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ในอาหารและมีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด ค่า GI ของอาหารประเภทแป้งจะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น สัดส่วนของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน สภาพแวดล้อมทางธรรมชาติของเม็ดแป้ง การเกิดเจลาติไนซ์ของแป้ง ปริมาณน้ำและอุณหภูมิในการอบของอาหารแปรรูปดังนั้นปัจจัยที่มีผลต่อค่า GI จะสอดคล้องกับโครงสร้างของแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์โดยเปรียบเทียบกับปริมาณน้ำตาลกลูโคสในอาหารที่ใช้อ้างอิง มีค่าอยู่ระหว่าง 1–100 มีรายงานค่า GI อยู่ในช่วงประมาณ 10 สำหรับแป้งจากพืชตระกูลถั่วและ100 ในมันฝรั่งบางชนิดหรือข้าวและผลิตภัณฑ์อาหารเช้า การรับประทานอาหารที่มีค่า GI ต่ำจะช่วยให้เซลล์ร่างกายใช้อินซูลินได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ดังนั้นเซลล์จะรับน้ำตาลในเลือดไปใช้เป็นพลังงานได้มากขึ้น ซึ่งจะทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดต่ำลง เป็นผลให้สามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ดีขึ้น (Fuentes-Zaragoza, Jiquelme-Navarrete, Sánchez-Zapata, & Pérez-Álvarez, 2010)

จากการวิจัยของ (Raben et al., 1994) พบว่าแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์จะเกิดการย่อยภายหลังการบริโภคแล้ว 5 -7 ชั่วโมง ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดและอินซูลินหลังบริโภคอาหารลดลง สำหรับแป้งที่ผ่านการให้ความร้อนจะเกิดการย่อยทันทีหลังบริโภคทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดและอินซูลินหลังบริโภคอาหารเพิ่มขึ้น โดย (Raben et al., 1994) ได้ให้อาสาสมัครเพศชายจำนวน 10 คนที่มีน้ำหนักตัวปกติบริโภคอาหารที่ไม่มีแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นส่วนประกอบและอาหารที่มีแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์สูง (RS 54%) ในปริมาณ 50 กรัมเช่นเดียวกัน พบว่าอาสาสมัครที่บริโภคอาหารที่มีแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์สูงมีระดับความเข้มข้นของน้ำตาลในเลือดและอินซูลินหลังบริโภคอาหารลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ (Reader, Johnson, Hollander, & Franz, 1997) ที่ศึกษาการใช้แป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 3 ผลิตโดยบริษัท CrystaLean® มาใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร ผลการทดลองพบว่าระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดของผู้ทดสอบภายหลังการบริโภคอาหารมีค่าต่ำกว่าการบริโภคคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่น ๆ เช่น แป้งชนิดต่าง ๆ โอลิโกแซคคาไรด์และน้ำตาล เป็นต้น

3.3 Resistant starch มีคุณสมบัติในการเป็นพรีไบโอติก (Resistant starch as a prebiotic)

พรีไบโอติกเป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยและไม่ถูกดูดซึมในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก มีประโยชน์คือ ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตอย่างจำเพาะต่อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร เช่น *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถหมักสารอาหารเหล่านั้น เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและส่งผลดีต่อสุขภาพ และบางชนิดมีตำแหน่งจำเพาะสำหรับจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (pathogenic bacteria) เช่น *Clostridium perfringens, Salmonella spp.* และ *Esherichia coli* เป็นต้น ซึ่งต่อมาจะถูกกำจัดออกจากระบบทางเดินอาหารไปพร้อมกับอุจจาระ (Bird, Brown, & Topping, 2000) พรีไบโอติกที่มนุษย์ควรได้รับจากการบริโภคคือเส้นใยอาหาร (Dietary fiber) ซึ่งเป็นกลุ่มของคาร์โบไฮเดรตที่ได้จากพืช

Resistant starch จัดเป็นสารพรีไบโอติกส์ชนิดหนึ่งที่เมื่อรับประทานแล้วไม่สามารถย่อยหรือถูกดูดซึมในทางเดินอาหารของมนุษย์ ประกอบด้วย Amylose และ Amylopectin พืชส่วนใหญ่จะมีอะไมโลสอยู่ประมาณ 20 – 25% จะถูกใช้โดยจุลินทรีย์ที่มีผลดีต่อสุขภาพ โดยสามารถที่จะเกิดการหมักในลำไส้ใหญ่โดยแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* และต้องส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในทางเดินอาหารซึ่ง resistant starch จะถูกหมักโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ให้ผลผลิตเป็นกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid; SCFA) ซึ่ง SCFA ที่เกิดขึ้นนี้จะทำให้มีสภาวะความเป็นกรด มีผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (pathogenic bacteria) นอกจากนี้ butyrate ที่เกิดขึ้นจะช่วยกระตุ้นให้เซลล์หยุดการเจริญเติบโต หยุดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ และช่วยเพิ่มการตายตามธรรมชาติของเซลล์ (apoptosis) ซึ่งคุณสมบัติทั้ง 3 นี้อาจมีฤทธิ์ในการต้านการเกิดมะเร็งได้ (Topping, Fukushima, & Bird, 2003)

3.4 ลดระดับคลอเลสเตอรอล ในเลือด (Hypocholesterolemic effects)

ในสภาวะปกติร่างกายสามารถสร้างคลอเลสเตอรอลและเผาผลาญให้อยู่ในสภาพของกรดน้ำดี (bile acid) และถูกเปลี่ยนต่อไปเป็นเกลือน้ำดี (Bile salt) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการย่อยและดูดซึมไขมันภายในลำไส้ เมื่อทำหน้าที่แล้วกรดน้ำดีจะถูกดูดซึมกลับเข้าสู่ร่างกายที่ส่วนปลายของลำไส้เล็ก (Chezem, Furumoto, & Story, 1997) การบริโภคอาหารที่มีเส้นใยสูง เส้นใยอาหารมีส่วนในการขัดขวางการดูดซึมของน้ำดี ทำให้น้ำดีซึ่งมีคลอเลสเตอรอลเป็นส่วนประกอบอยู่ถูกขับออกมาพร้อมกับใยอาหารแทนที่จะดูดซึมกลับเข้าสู่ร่างกาย เมื่อร่างกายย่อยไขมันครั้งต่อไปก็จะดึงคลอเลสเตอรอลออกเพื่อเผาผลาญเป็นกรดน้ำดี ทำให้ปริมาณคลอเลสเตอรอลในร่างกายลดลง กลไกของการเปลี่ยนแปลงในการดูดซึมคลอเลสเตอรอลในร่างกายมนุษย์นั้น น่าจะเป็นเพราะใยอาหารที่ละลายน้ำเร่งการเคลื่อนไหวของลำไส้ ทำให้อาหารถูกดูดซึมจากลำไส้เล็กส่วนต้นได้น้อยลง และยังช่วยลดการดูดซึมของคลอเลสเตอรอลจากลำไส้โดยเพิ่มการขับถ่ายน้ำดีให้ออกจากร่างกายพร้อมอุจจาระ

(Anderson, Jones, & Riddell-Mason, 1994) ปรากฏการณ์เช่นนี้เกิดขึ้นได้มากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับชนิดของใยอาหาร ปริมาณและระยะเวลาของการบริโภคเส้นใยอาหาร รวมทั้งปริมาณอุจจาระที่เกิดขึ้น

จากการศึกษาวิจัยทั้งในมนุษย์และสัตว์ทดลองเพื่อทดสอบความสำคัญของใยอาหารชนิดต่างๆ ต่อการลดระดับคลอเลสเตอรอลในเลือด ผลการศึกษาพบว่า ใยอาหารที่ละลายน้ำสามารถลดระดับคลอเลสเตอรอลในเลือดของมนุษย์ และคลอเลสเตอรอลในเลือด และตับของสัตว์ทดลอง ส่วนใหญ่สามารถลดระดับคลอเลสเตอรอลในเลือดอยู่ในช่วงร้อยละ 5-10 และลดระดับคลอเลสเตอรอลได้สูงสุดถึงร้อยละ 25 (Anderson et al., 1994; Glore, Treeck, Knehans, & Guild, 1994; Jackson, Suter, & Topping, 1994) ในทำนองเดียวกัน การศึกษาผลของใช้แป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ในรูปแบบต่างๆ มีผลต่อการลดระดับคลอเลสเตอรอลในเลือดของสัตว์ทดลองเช่นเดียวกัน (Decker, Kloots, & Amelsvoort, 1993) มีงานวิจัยในมนุษย์ที่มุ่งเน้นผลของการใช้อาหารประเภทที่มีอะไมโลสซึ่งมีแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นส่วนผสม (Behall, Scholfield, Yhaniak, & Canary, 1989; Reiser et al., 1989) จากการทดลองให้คนปกติบริโภคแป้งข้าวโพดอะไมโลสสูง น้ำตาลฟรุ๊กโทส และแป้งข้าวโพดอะไมโลสต่ำ พบว่าสามารถลดระดับคลอเลสเตอรอลในเลือดได้ ผลการศึกษาล่าสุดของ (Heijnen, Amelsvoort, Deurenberg, & Beynen, 1996) พบว่าในกลุ่มตัวอย่างผู้ใหญ่ที่มีการเสริมอาหารน้ำตาลกลูโคส raw high-amylose cornstarch (RS2) และ retrograded high-amylose cornstarch (RS3) หลังการบริโภคพบว่าระดับคลอเลสเตอรอลในเลือดไม่แตกต่างกัน

4. คำแนะนำสำหรับระดับการบริโภคแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Recommendation for resistant starch intake level)

ตามคำจำกัดความของ คณะกรรมการของอาหารและโภชนาการแห่งสหรัฐอเมริกา (The U.S. Food and Nutrition Board) แบ่งประเภทเส้นใยอาหารออกเป็น 2 ประเภท คือ dietary fiber และ functional fiber ซึ่งมีความแตกต่างกัน Dietary fibers สามารถพบได้ตามธรรมชาติในพืชผัก และถั่วต่าง ๆ เป็นส่วนประกอบของอาหารคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อย เมื่อรับประทานเข้าไป Dietary fibers จะช่วยนำพาอาหารไปตลอดระบบการย่อยอาหาร และช่วยให้เรารู้สึกอิ่มท้อง ส่วน Functional fibers เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยเช่นกัน ทำงานคล้ายกับ dietary fiber แต่จะมาจากการสังเคราะห์หรือมาจากแหล่งธรรมชาติ ซึ่งส่วนใหญ่จะถูกเติมลงไปเสริมในอาหาร ไฟเบอร์สังเคราะห์ที่เติมลงอาหารนี้ได้แก่ ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) ซึ่งมีอยู่ในอาหารทดแทน ตัวอย่างของ functional fiber ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ คือ เพคติน (pectin) ซึ่งถูกสกัดออกมาจากเปลือกส้มนำไปทำแยมและเจลลี่

ปริมาณเส้นใยอาหารที่เหมาะสมกับร่างกาย

เพื่อสุขภาพที่ดี ร่างกายคนเราจำเป็นต้องบริโภคอาหารที่มีเส้นใย และปริมาณเส้นใยอาหารที่ร่างกายควรได้รับต่อวันคือ 25 กรัม สำหรับผู้หญิง และ 30 กรัม สำหรับผู้ชาย ขณะที่เด็กวัย 1-3 ขวบ ต้องการปริมาณเส้นใยอาหารอยู่ที่ 19 กรัม สำหรับเด็กโตและวัยรุ่น ต้องการ 22-38 กรัม คณะกรรมการของอาหารและโภชนาการแห่งสหรัฐอเมริกา (The U.S. Food and Nutrition Board) ได้ให้คำแนะนำเกี่ยวกับปริมาณเส้นใยอาหารที่ร่างกายควรได้รับในแต่ละวัน ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณเส้นใยอาหารที่เหมาะสมกับร่างกายที่มีการแนะนำไว้สำหรับประชากรในแต่ละช่วงอายุ

อายุ	ปริมาณ dietary fiber ที่ร่างกายต้องการต่อวัน (กรัม)		
	เด็ก	ผู้ชาย	ผู้หญิง
1 - 3	19		
4 - 8	25		
9 - 13		31	26
14 - 18		38	26
19 - 50		38	25
> 51		30	21

ที่มา: Anderson, Perryman, Young & Prior, 2011

NLEA (The Nutrition Labeling and Education Act) ได้ให้คำจำกัดความเกี่ยวกับฉลากแสดงปริมาณใยอาหารว่า ในอาหารที่มีปริมาณใยอาหาร 2.5 กรัมต่อหนึ่งหน่วยบริโภคให้ถือว่าอาหารนั้นเป็นแหล่งอาหารเส้นใยที่ดี (good source of fiber) และอาหารที่มีปริมาณเส้นใยทั้งหมด 5 กรัมต่อหนึ่งหน่วยบริโภคถือว่าเป็นแหล่งอาหารที่มีปริมาณเส้นใยสูง (high fiber) ซึ่งหนึ่งหน่วยบริโภคนั้นจะขึ้นอยู่กับชนิดของอาหาร ปริมาณอาหารหนึ่งหน่วยบริโภคที่ระบุในฉลากโภชนาการของผลิตภัณฑ์อาหารกำหนดจากปริมาณหนึ่งหน่วยบริโภคอ้างอิง หน่วยบริโภคของอาหารโดยทั่วไปดังแสดงในตารางที่ 2 ที่สามารถเสริมเส้นใยอาหารหรือแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ ในผลิภัณฑ์กลุ่มเครื่องดื่มพร้อมดื่ม หรือการเสริมเส้นใยอาหารในผลิตภัณฑ์อาหารอื่นๆที่มีความชื้นต่ำถึง

ระดับกลาง ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ได้แก่ ขนมอบ ธัญพืช และอาหารขบเคี้ยว รวมถึง ขนมปังโรล คุกกี้ แครกเกอร์ มัฟเฟิล และเค้ก คำนิยามของเส้นใยอาหารอาจแตกต่างกัน ตัวอย่างเช่นในยุโรป อาหารที่มีการเติมเส้นใยอาการทั้งหมด (TDF) ลงไปมากกว่า 2 เปอร์เซ็นต์สามารถกล่าวได้ว่าเป็นอาหารที่มีเส้นใยอาหารในปริมาณที่เติมลงไป อาหารที่มีการเติมเส้นใยอาการทั้งหมด (TDF) มากกว่า 3 เปอร์เซ็นต์สามารถกล่าวได้ว่าอาหารนั้นเป็นอาหารที่เพิ่มเส้นใย และอาหารที่มีการเติมเส้นใยอาหารลงไปมากกว่า 6 เปอร์เซ็นต์สามารถกล่าวได้ว่าอาหารนั้นเป็นอาหารที่มีเส้นใยอาหารสูง (Yue & Waring, 1998)

ตารางที่ 2 การกำหนดปริมาณอาหารหนึ่งหน่วยบริโภคที่ระบุในฉลากโภชนาการของผลิตภัณฑ์อาหาร

Product	Serving size
Beverages	240 ml
Bread/Rolls	50 g
Cereals/Snacke	30 g
Cookies/Crackers	30 g
Brownies	40 g
Layer cake	80 g
Muffins	55 g
Pasta	55 g (dry)
Waffles	85 g

ที่มา: (Yue & Waring, 1998)

5. เทคโนโลยีการผลิตแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์

Resistant starch นอกจากจะสามารถเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติแล้ว ยังสามารถเตรียมได้จากการดัดแปรแป้งด้วยวิธีการต่างๆ ดังนี้

5.1 การเกิดรีโทรเกรเดชั่นของแป้ง

การเกิดรีโทรเกรเดชั่นของแป้งเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเมื่อน้ำแป้งสุกซึ่งร้อนมีอุณหภูมิลดต่ำลง ขณะที่อุณหภูมิลดลงโมเลกุลอิสระของอะไมโลสซึ่งอยู่ใกล้กันจะเคลื่อนที่เข้ามาใกล้กันและจับ

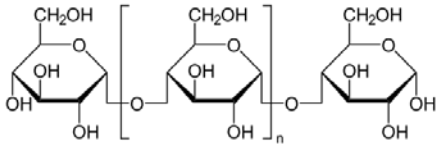
ตัวกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้เกิดสภาพการจัดเรียงตัวของโมเลกุลขึ้นใหม่โดยเปลี่ยนจากลักษณะการกระจายตัวของโมเลกุลมาเป็นส่วนที่เป็น crystallite ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยใช้ X-ray diffraction (Collison, 1968)ถ้าน้ำแป้งสุกมีความเข้มข้นต่ำ การจัดเรียงตัวของโมเลกุลเหล่านี้จะทำให้เกิดลักษณะตะกอนขุ่นขาว แต่ถ้าน้ำแป้งสุกมีความเข้มข้นสูง เช่น แป้งข้าวโพดความเข้มข้น 7% โดยน้ำหนัก จำนวนโมเลกุลที่มาจัดเรียงตัวกันใหม่มีมากและระหว่างเคลื่อนที่เข้ามาจับกันจะสามารถเก็บกักน้ำไว้ได้ ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น และในที่สุดเกิดลักษณะเจลที่อ่อนนุ่ม

การคืนตัวของน้ำแป้งโดยทั่วไปจะเกิดได้ดีเมื่อน้ำแป้งมีความเข้มข้นสูง และทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิต่ำ แป้งแต่ละชนิดมีอัตราการคืนตัวของน้ำแป้งสุกแตกต่างกันโดยทั่วไปแป้งจากราก หัว มีอัตราการคืนตัวช้ากว่าแป้งจากธัญพืช ทั้งนี้เป็นเพราะแป้งจากราก/หัว เมื่อได้รับความร้อนจะพองตัวมากและเร็ว และเม็ดแป้งแตกง่าย ทำให้โมเลกุลแป้งทั้งหมดกระจายอยู่ทั่วไปในน้ำแป้ง ยากที่โมเลกุลอะไมโลสจะมาจัดเรียงตัวกันได้ใหม่ แต่แป้งจากธัญพืช เมื่อได้รับความร้อนจะพองตัวน้อยกว่า เม็ดแป้งแตกน้อย โมเลกุลที่คลายตัวยังอยู่ใกล้ชิดกันจึงเคลื่อนที่จับกันใหม่ได้ง่าย ซึ่งอาจจับตัวกันระหว่างเม็ดแป้งที่พองตัวซึ่งอยู่ใกล้กัน หรือระหว่างชิ้นส่วนของเม็ดแป้งหรือโมเลกุล อะไมโลสอิสระที่หลุดออกมา ทำให้เกิดสภาพเป็น matrix ซึ่งยึดอยู่ด้วยกันด้วยพันธะไฮโดรเจน และสามารถเก็บกักน้ำไว้ได้ การมีอะไมโลเพคตินอยู่ด้วยทำให้อัตราการคืนตัวของน้ำแป้งสุกช้าลง เนื่องจากโมเลกุลของอะไมโลเพคตินมีกิ่งก้านสาขาทำให้เกะกะ ยากที่โมเลกุลจะเคลื่อนที่เข้ามาจับกันใหม่ได้ จึงพบว่าแป้งประเภท waxy มีอัตราการคืนตัวของน้ำแป้งสุกน้อยกว่าแป้งชนิดอื่น ขนาดโมเลกุลของอะไมโลสในแป้งแต่ละชนิดมีผลในการเกิดการคืนตัวของน้ำแป้งสุกด้วย โมเลกุลอะไมโลสที่มีขนาดพอเหมาะในการเคลื่อนที่มาจับกัน คือ ในช่วง 100-200 หน่วยกลูโคส ถ้าโมเลกุลใหญ่ เช่น แป้งมันฝรั่งมีอะไมโลสขนาดใหญ่ประมาณ 1,000-6,000 หน่วยกลูโคส จะเคลื่อนที่เข้ามาจับกันได้ยาก และถ้าโมเลกุลสั้นเกินไปจะเคลื่อนไหวอยู่ตลอดเวลา (Brownian movement) ทำให้จับกันยากเช่นกัน

5.2 การใช้ความร้อนและเอนไซม์

การใช้เอนไซม์ในการย่อยแป้ง เพื่อช่วยเพิ่มอัตราในการเกิดรีโทรเกรเดชั่น เช่น การใช้เอนไซม์ α - amylase เพื่อลดขนาดโมเลกุลของแป้ง ผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นมอลโตเด็กทรินชนิดที่มีระดับการย่อยต่ำ การใช้เอนไซม์ย่อยพันธะโซ่กิ่งเป็นการเพิ่มศักยภาพในการเตรียมแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์จากแป้งที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำ

การให้ความร้อนแก่น้ำแป้งเพื่อทำให้สุก และทำให้น้ำแป้งเย็นตัวลง โมเลกุลของแป้งที่ละลายออกมาจะเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ได้เป็นผลึกแป้งที่มีความแข็งแรงมากขึ้น ทำให้เอนไซม์ย่อยได้น้อยลง หรือทำการย่อยส่วนของโครงสร้างที่ไม่เป็นผลึกด้วยเอนไซม์ วิธีการนี้นิยมใช้กับแป้งที่มีปริมาณอะไมโลสสูง



รูปที่ 7 โครงสร้างของ Dextrin

ที่มา: Wikipedia, 2012

5.3 การใช้กระบวนการความร้อนชื้น (Heat-moisture treatment)

การใช้กระบวนการความร้อนชื้น (heat-moisture treatment; HMT) เป็นวิธีการดัดแปรแป้งทางกายภาพที่จัดอยู่ในกลุ่ม hydrothermal treatment เป็นการเตรียม Resistant starch ของเม็ดแป้งที่ยังไม่ผ่านการทำให้สุกและมีความชื้นประมาณ 30 ถึง 40% นำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 ถึง 120 องศาเซลเซียส นานประมาณ 1 ถึง 4 ชั่วโมง (Brumovsky & Thompson, 2001) มีผลทำให้เม็ดแป้งเกิดการเปลี่ยนแปลงและจัดเรียงโครงสร้างภายในที่ทนทานต่อการย่อยของเอนไซม์ได้มากขึ้น การศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติของแป้งชนิดต่าง ๆ เช่น แป้งมันฝรั่ง แป้งข้าวโพด แป้งมันสำปะหลัง แป้ง new cocoyam แป้ง true yam ที่ผ่านการดัดแปรโดยวิธีความร้อนชื้นพบว่าการดัดแปรจะทำให้แป้งมีคุณสมบัติเปลี่ยนไป เช่น ทำให้อุณหภูมิเจลาติไนซ์และการคืนตัวของแป้งเพิ่มขึ้น การพองตัว การละลายลดลง (Collado & Corke, 1999; Miyazaki & Morita, 2005; Takaya, Sano, & Nishinari, 2000) ความเป็นผลึกในเม็ดแป้ง (granular crystallinity) ลดลง (Lim, Chang, & Chung, 2001) การดัดแปรโดยความร้อนชื้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกในเม็ดแป้งโดยเฉพาะแป้งที่มีผลึกประเภท B เช่น แป้งมันฝรั่ง (Gunaratne & Hoover, 2002; Lim et al., 2001)

5.4 กระบวนการใช้ความเย็น (freeze-thawing)

การดัดแปรโดยใช้ความเย็นเป็นการดัดแปรทางกายภาพอีกวิธีหนึ่งที่สามารถเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของแป้งได้ ในการดัดแปรแป้งด้วยความเย็นปัจจัยที่มีความสำคัญและมีผลต่อคุณสมบัติของแป้งได้แก่ ความชื้นและชนิดของแป้ง การดัดแปรแป้งด้วยความเย็นส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะผิวและความเป็นผลึกของเม็ดแป้ง แต่ยังไม่พบว่าทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชนิดของโครงสร้างผลึก การเปลี่ยนแปลงลักษณะผิวของเม็ดแป้งและความเป็นผลึกนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติบางประการของแป้ง เช่น คุณสมบัติในการละลายน้ำ ความหนืด การคืนตัว ประสิทธิภาพในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ เป็นต้น จากการศึกษาการดัดแปรแป้งมันฝรั่งโดยการแช่แข็ง (deep freezing) พบว่าความชื้นของแป้งทั้งในสภาวะปกติและในสภาวะแช่แข็งมีผลต่อความเป็นผลึกในเม็ดแป้ง โดยแป้งที่มีความชื้นสูงก็จะมีความเป็นผลึกสูงกว่าแป้งที่มีความชื้นต่ำ และปัจจัยสำคัญในกระบวนการ freeze-thawing ที่มีผลต่อความเป็นผลึกของเม็ดแป้งได้แก่ ความชื้นของแป้ง

(Szymonska, Krok, & Tomasik, 2000) การศึกษา freeze-thawing ของแป้งข้าวโพดที่มีอะไมโลสสูง (70%) พบว่า crystallinity ของเม็ดแป้งลดลงเมื่อเพิ่มจำนวนครั้งในการทำ freeze-thawing (Jeong & Lim, 2003) นอกจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในของเม็ดแป้งแล้วกระบวนการ freeze-thawing ยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะของผิวภายนอกซึ่งมีผลต่อคุณสมบัติในการละลายและการอุ้มน้ำของแป้งเล็กน้อย และพบว่าคุณสมบัติดังกล่าวของแป้งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดหลังจาก freeze-thawing ครั้งแรก (Szymonska, Krok, Czepirska, & Bilas, 2003) การเปลี่ยนแปลงลักษณะพื้นผิวและโครงสร้างภายในของเม็ดแป้งนอกจากจะมีผลต่อคุณสมบัติต่างๆ ตามที่กล่าวมาแล้วยังมีผลต่อประสิทธิภาพในการถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ด้วย หลังจากการดัดแปรแป้งมันฝรั่งด้วยกระบวนการ freeze-thawing พบว่าเม็ดแป้งมีแนวโน้มที่สามารถทนต่อการย่อยโดยเอนไซม์ α- อะไมเลสได้สูงขึ้น แม้ว่าการดัดแปรดังกล่าวจะมีผลต่อพื้นผิวของเม็ดแป้งซึ่งทำให้เอนไซม์สามารถผ่านเข้าไปทำปฏิกิริยาภายในเม็ดแป้งได้มากขึ้น แต่ก็ทำให้เกิดการสูญเสียความชื้นที่มีความจำเป็นต่อการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส นอกจากนี้การที่โครงสร้างภายในของเม็ดแป้งถูกทำลายยังส่งผลต่อความสามารถในการจับกันระหว่างเอนไซม์กับสับสเตรทซึ่งอาจยับยั้งไม่ให้เอนไซม์สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาบนผิวเม็ดแป้งได้ (Szymonska & Wodnicka, 2005)

6. **ผลของกระบวนการผลิตต่อปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Effect of processing on RS levels)**

ผลของกระบวนการผลิตต่อปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ของผลิตภัณฑ์ธัญพืชบางชนิดที่แสดงในตารางที่ 3 ผลการศึกษาของ (Han & Lim, 2009) ทำการเปรียบเทียบกระบวนการผลิตแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ด้วยวิธี Pre-soaked ใน *Japonica* brown rice พบว่า ที่ความชื้น 20% มีปริมาณของแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์สูงกว่า ที่ความชื้น 30% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การทดลองในระดับห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาผลของการเจลาติไนซ์บางส่วนและรีโทเกรเดชั่นของแป้ง native waxy rice starch (5% น้ำหนักแห้ง) ในระหว่างการย่อยด้วยเอนไซม์ เมื่อให้ความร้อนในระดับต่างๆ (60 65 และ 70องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 นาที การกระจายตัวในน้ำของแป้ง (5% น้ำหนักแห้ง) มีบางส่วนเกิดการเจลาติไนซ์ ปริมาณของแป้ง RS หลังจากการย่อยด้วยเอนไซม์ 120 นาทีในแป้งที่เกิดเจลาติไนซ์บางส่วนอยู่ในช่วง 7.7 – 8.6% ซึ่งต่ำกว่าที่วัดได้จากแป้ง native (9.3%) แต่มากกว่าในแป้งรีโทเกรเดชั่น (แป้งรีโทเกรเดชั่นมีปริมาณ RS 3.0 - 3.8%) จะเห็นได้ว่าระดับการเกิดเจลาติไนซ์เพิ่มขึ้น และระดับการเกิดรีโทเกรเดชั่นเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณแป้ง RS ลดลง (Chung, Lim, & Lim, 2006)

กระบวนการให้ความร้อนชื้น (Heat - moisture treatment) เป็นวิธีการเตรียมแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ของเม็ดแป้งที่ยังไม่ผ่านการทำให้สุกและมีความชื้นประมาณ 30% ทิ้งไว้ที่

อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 หรือ 120 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง กระบวนการ annealing ดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ในแป้งข้าวโพดจาก 4.6% เพิ่มขึ้นเป็น 7.7% ส่วนในแป้ง Pea และแป้ง Lentil เพิ่มขึ้นจาก 10.0 และ 9.1% เป็น 11.2 และ 10.4% ตามลำดับ (Hyun-Jung Chung, Hoover, & Liu, 2009; Hyun -Jung Chung, Liu, & Hoover, 2009) ผลการศึกษาที่ใกล้เคียงกันการศึกษาการใช้กระบวนการ ANN และ HMT ในแป้ง corn pea และ Lentil ใช้สภาวะการทำ ANN ที่ 24 ชั่วโมง ความชื้น 70% อุณหภูมิ 10 และ 15 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ต่ำกว่าอุณหภูมิในการเกิดเจลาติไนซ์ของแป้ง และสภาวะการทำ HMT ใช้สภาวะที่ความชื้นของแป้ง 30% อุณหภูมิ 100 และ 120 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมงพบว่า กระบวนการ Annealing (ANN) และ Heat - moisture treatment (HMT) มีผลต่อระดับแป้ง RS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Hyun -Jung Chung et al., 2009)

ผลของกระบวนการเอ็กทรูชั่นต่อปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS) ในแป้งข้าวบาเล่ย์แป้งข้าวสาลี แป้งข้าวโอ๊ต แป้งข้าวโพด และแป้งข้าวที่สภาวะการต้มที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงก่อนนำไปเอ็กทรูชั่นและทำแห้งที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากเมล็ดธัญพืชเหล่านี้หลังผ่านกระบวนการเอ็กทรูชั่นพบว่าปริมาณ RS ในแป้งข้าวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Hernot, Boileau, Bauer, Swanson, & Fahey, 2008) มากกว่านั้น จากการศึกษาในหลอดทดลอง (*In vitro*) ของ Murray et al. (2001) ยังแสดงให้เห็นว่ากระบวนการเอ็กทรูชั่นมีผลทำให้ปริมาณ RS ในแป้งข้าวลดลงเช่นเดียวกัน ระดับ RS ใน Pastry wheat flour มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระดับความชื้นเริ่มต้นของโด (20 40 และ 60%) และระยะเวลาการเก็บหลังกระบวนการที่ 4 องศาเซลเซียส (0 7 และ 14 วัน) ดังแสดงในตารางที่ 3 (Kim, Tanhehco, & Ng, 2006) นอกจากนี้ กระบวนการเอ็กทรูชั่นมีผลต่อการลดลงของปริมาณ RS ใน High – amylose corn starch (Hylon VII) ซึ่งใช้สภาวะการทำเอ็กทรูชั่นที่ 100 และ 140 องศาเซลเซียส ความชื้นเริ่มต้นของโด 30% และ 50% (อะไมโลส 70% และ RS 46%) หลังผ่านกระบวนการ RS ลดลง 13.8-16.9% กระบวนการเอ็กทรูชั่นเป็นกระบวนการที่ใช้ความร้อนความดันสูง และแรงเฉือน เป็นสาเหตุที่ทำให้แป้งเกิดเจลาติไนซ์ และทำให้เม็ดแป้งถูกทำให้แตกเนื่องจากความร้อนและพลังงานทางกลในขณะการทำเอ็กทรูชั่น มีผลทำให้เอนไซม์อะไมเลสเข้าไปในสายโพลีเมอร์ของแป้งได้มากขึ้น และเมื่อแป้งถูกทำให้เย็นตัวลงจะทำให้ส่วนของอะไมโลสในน้ำแป้งหลุดออกมา ในขณะที่เม็ดแป้งพองตัวและเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ได้เป็นผลึกแป้งที่แข็งแรงเนื่องจากจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจนจึงทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (Htoon et al., 2009)

การทำ Pre-galatinize แป้งข้าวโพดด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และ post – retrogradation ของแป้ง high amylose corn starch ด้วยกรดซิตริก สามารถเพิ่มแป้ง RS ได้ (Koksel, Masatcioglu, Kahraman, Ozturk, & Basman, 2008) ดังแสดงในตารางที่ 3 แป้งข้าวสาลีและ

แป้งข้าวโพดที่ผ่านการต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 10 นาทีในระดับห้องปฏิบัติการ มีระดับของ RS เท่ากับ 9% และ 11.4% ตามลำดับ (Zhao & Lin, 2009)ในทำนองเดียวกันตามรายงานการทดลองของ (Hickman, Janaswamy, & Yao, 2009) ทำการศึกษาผลของการ autoclave และกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ เบต้า- อะไมเลสในแป้งข้าวโพด (normal corn starch) แป้งสาลี และแป้ง High – amylose corn starch (Hylon VII) ซึ่งมีปริมาณแป้ง RS อ้างอิง 11.4% 9.1% และ 35.4% ตามลำดับ ในแป้งข้าวโพดและแป้งสาลีที่ผ่านกระบวนการ autoclave นาน 15 นาที แล้วนำไปต้มอีก 10 นาที มีระดับของแป้งRS 13.3% และ 10.9% ตามลำดับ การ autoclave ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของส่วนที่เป็นผลึกแต่ไม่มีผลในการลดระดับการย่อย และถ้านำแป้งทั้งสองชนิดที่ผ่านการทำ autoclave นี้ไปผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ เบต้า- อะไมเลสที่สภาวะการย่อย 55 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.5 ใช้ระยะเวลาในการย่อย 20 ชั่วโมง หลังผ่านกระบวนการจะทำให้ปริมาณ RS เพิ่มขึ้นเป็น 29.9% และ 23.1% ในแป้งข้าวโพดและแป้งสาลี แต่หากนำแป้งที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์แล้วไปทำการ autoclave อีกจะไม่ทำให้ปริมาณ RS ในแป้งข้าวโพดเพิ่มขึ้น แต่มีผลในการเพิ่มปริมาณแป้ง RS ในแป้งสาลีจาก 23.1% เป็น 27.8% ซึ่งกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์เบต้า- อะไมเลส ถือเป็นปัจจัยสำคัญในการลดระดับการย่อยและเพิ่มระดับแป้ง RS มากกว่ากระบวนการ autoclave การเพิ่มปริมาณแป้ง RS ในแป้งข้าวโพดด้วยวิธี acid - methanol หรือ acid – methanol และ annealing ที่ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 72 ชั่วโมง สามารถเพิ่มแป้ง RS 12 และ 38 กรัมต่อ100 กรัมแป้ง ตามลำดับ (Lin, Wang, & Chang, 2009) การฉายรังสีแกรมมาสามารถเพิ่มปริมาณแป้ง RS ได้เช่นเดียวกัน การฉายรังสีแกรมมาที่ 10 หรือ 50 KGy สามารถเพิ่มแป้ง RS ในแป้งข้าวโพดจาก 19.7% เป็น 22.2% และ 25.1% ตามลำดับ (Chung & Liu, 2009b)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 3 ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยในแป้งธัญชาติ ที่มีผลจากการใช้กระบวนการต่างๆ

แหล่งของแป้ง	วิธีการ	ปริมาณ RS (%)	ที่มา
Japonica brown rice	Pre-soaked in water at 25 or 50 °C to reach 20% moisture + cooked	29.2–32.4%	Englyst et al. (1992)
	Pre-soaked in water at 25 or 50 °C to reach 30% moisture + cooked	20.7–25.9%	
Waxy rice	Native waxy rice starch	9.3%	Englyst et al. (1992)
	Gelatinized starch	3.0%	
	Partially gelatinized starch at 60 °C for 5 min	8.6%	
	Partially gelatinized starch at 70 °C for 5 min	7.7%	
Pastry wheat flour	Extruded at 20%moisture; 150/200/250 rpm; 40–120 °C; stored at 4 °C/0 days	0.48–0.52%	Megazyme ® assay
	Extruded at 20%moisture; 150/200/250 rpm; 40–120°C; stored at 4°C/7–14 days	1.21–1.35%	
	Extruded at 40%moisture; 150/200/250 rpm; 40–120 °C; stored at 4 °C/0 days	0.63–0.67%	
	Extruded at 40%moisture; 150/200/250 rpm; 40–120°C; stored at 4°C/7–14 days	1.52–1.86%	
	Extruded at 60%moisture; 150/200/250 rpm; 40–120 °C; stored at 4 °C/0 days	2.54–2.65%	
	Extruded at 60%moisture; 150/200/250 rpm; 40–120°C; stored at 4°C/7–14 days	3.55–4.25%	
Corn	Acid modified with 1.64 M HCl at 40°C for 4 h + gelatinized +autoclaved + lyophilized	5%	AOAC 991.43 (1998)
	Acid modified with 1.64 M HCl at 40 °C for 4 h + gelatinized + autoclaved + Stored at 95 °C for 48 h + lyophilized	12%	

ตารางที่ 3 ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยในแป้งธัญชาติ ที่มีผลจากการใช้กระบวนการต่างๆ (ต่อ)

แหล่งของแป้ง	**วิธีการ**	**ปริมาณ RS (%)**	**ที่มา**
Corn	Normal corn starch	19.7%	Englyst et al. (1992) modified
	Annealed with excess water for 24 h at 50°C	18.3%	as per Chung, Liu, et al. (2009)
	Heat-moisture treatment	16.9%	
	(30% moisture+24 h at ambient temperature + 120°C for 24 h)		
	Annealed with excess water for 24 h at 50°C + Heat-moisture treatment	17.3%	
	(30% moisture + 24 h ambient temperature + 120°C for 24 h)		
	Heat-moisture treatment	19.7%	
	(30% moisture+24 h ambient temperature + 120°C for 24 h)		
	+ annealed with excess water for 24 h at 50°C		
Corn	Native corn starch	1.3%	AOAC 991.43 (1985)
	Heat-moisture treatment		
	— 30% moisture + 100°C for 60 min	1.5%	
	30% moisture + 120°C for 60 min	4.2%	
Wheat	Native wheat starch	1.0%	
	Heat-moisture treatment		
	— 30% moisture + 80°C for 60 min	1.9%	
	30% moisture + 120°C for 60 min	1.6%	

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 3 ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยในแป้งธัญชาติ ที่มีผลจากการใช้กระบวนการต่างๆ (ต่อ)

แหล่งของแป้ง	**วิธีการ**	**ปริมาณ RS (%)**	**ที่มา**
Pea	Raw	10%	Englyst et al. (1992) modified
	Annealed (15°C ;70% moisture; 24 h)	10.9%	
	Heat-moisture treatment (100°C ; 30% moisture; 2 h)	13.3%	
	Heat-moisture treatment (120°C; 30% moisture; 2 h)	14.5%	
Lentil	Raw	9.1%	Englyst et al. (1992) modified
	Annealed (15°C; 70% moisture; 24 h)	11.4%	
	Heat-moisture treatment (100°C; 30% moisture; 2 h)	13.2%	
	Heat-moisture treatment (120°C; 30% moisture; 2 h)	14.7%	
High- amylose corn	Autoclaved at 120°C + Stored at 4°C for 24 h (repeated twice)	30%	Goñi et al. (1996)

ที่มา: (Perera, Meda, & Tyler, 2010)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 3 ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยในแป้งธัญชาติ ที่มีผลจากการใช้กระบวนการต่างๆ (ต่อ)

แหล่งของแป้ง	**วิธีการ**	**ปริมาณ RS (%)**	**ที่มา**
Corn (normal)	Treated with acid (HCl) and methanol at 25°C for 30 days	～12%	Englyst et al. (1992)
	Treated with acid (HCl) and methanol treatment at 25°C for 30 days	～38%	
	+annealed at 50°C for 72 h with water		
Corn (normal)	Gamma irradiation (60 Co)		Englyst et al. (1992)
	0 kGy	19.7%	
	10 kGy (2 kGy/h)	22.2%	
	10 kGy (0.67 kGy/h)	23.0%	
	10 kGy (0.40 kGy/h)	24.7%	

ที่มา: (Perera et al., 2010)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

7. การประยุกต์ใช้แป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ในอุตสาหกรรมอาหาร (Food applications of resistant starch)

ในอุตสาหกรรมอาหารใช้แป้งที่ต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นแหล่งของเส้นใยอาหาร สำหรับผลิตภัณฑ์อาหารที่มีความชื้นหลายชนิด เนื่องจากมีอนุภาคขนาดเล็ก ไม่มีรสชาติ และการอุ้มน้ำไม่มาก เช่น ขนมปัง มัฟฟินส์ และอาหารเช้าจากธัญพืช ปริมาณการใช้เป็นส่วนผสมของอาหารขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ หน้าที่ของแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น การปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสในผลิตภัณฑ์เค้ก และ บราวนี่ นอกจากนี้ยังเป็นสารให้ความกรอบในผลิตภัณฑ์วัฟเฟิล ขนมปังปิ้ง และช่วยปรับปรุงการพองตัวในขนม (Sajilata et al., 2006) ในการวิจัยของ (Ranhotra, Gelroth, & Glaser, 1996) พบว่าการใช้แป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ในอาหารไม่ทำให้เนื้อสัมผัสของอาหารมีลักษณะหยาบเหมือนกรวดทราย และไม่ทำให้รสชาติของอาหารเปลี่ยนแปลง ลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารเหมือนกับการใช้เส้นใยอาหารจากแหล่งอื่น ๆ

แป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีจำหน่ายทางการค้า แป้งที่มีการผลิตและจำหน่ายทางการค้าแล้วได้แก่

1. Novelose ผลิตโดยบริษัท National Starch and Chemical มีลักษณะคล้ายผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธัญพืชแต่มีคุณสมบัติดีกว่า คือมีสีขาวกว่า ไม่มีกลิ่นธัญพืชที่ไม่พึงประสงค์และมีปริมาณไขมันต่ำ ซึ่งมีปริมาณเส้นใยอาหารทั้งหมด (total dietary fiber) ร้อยละ 30 ใน Novelose®330 เป็นแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 3 และ ร้อยละ 40 ใน Novelose®240 ซึ่งเป็นแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดที่ 2

2. Crystalean ผลิตโดยบริษัท Opta Food Ingredients ซึ่งเป็นรีโทรเกรเดทมอลโทเด็กตริน(retrograded maltodextrin) ที่มีเส้นใยอาหารทั้งหมดร้อยละ 30 ใช้สำหรับเพิ่มระดับเส้นใยในผลิตภัณฑ์ขนมอบ หรือผลิตภัณฑ์อาหารที่แปรรูปโดยใช้เครื่องเอ็กซ์ทรูเดอร์ (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2546)

3. Hi-maize ผลิตโดยบริษัท National Starch and Chemical ซึ่งมีปริมาณเส้นใยอาหาร (Dietary fiber) มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 52

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

1. วัสดุและสารเคมี

วัตถุดิบ

แป้งข้าวโพด แป้งมันสำปะหลัง แป้งมันสำปะหลังดัดแปร แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก และแป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง (สารพันธุ์เหลืองประทิว 123) เป็นวัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษา แป้งข้าวโพด ซื้อจากบริษัท เอฟ เอ ฟู้ดส์ จำกัด แป้งมันสำปะหลังดัดแปร ซื้อจากบริษัท ฟู้ด อีคิว จำกัด แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก ซื้อจาก บริษัทสงวนวงศ์อุตสาหกรรมจำกัด แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง (ข้าวสารพันธุ์เหลืองประทิว 123) นำบดแห้งด้วยเครื่องบดเมล็ดพืช (Retsch, SK standard, 1100W, Germany) ให้มีขนาด 0.25 มิลลิเมตร

2. ขั้นตอนการทดลอง

2.1 การเตรียมแป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง

นำข้าวสารเจ้าพันธ์เหลืองประทิว123 บดเป็นแป้ง โดยใช้กรรมวิธีการบดแห้งด้วยเครื่องบดเมล็ดพืช (Retsch, SK standard, 1100W, Germany) จากนั้นผ่านตะกรองร่อนขนาด 0.25 มิลลิเมตร ก่อนเก็บแป้งข้าวเจ้าที่ผลิตได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.2 การวิเคราะห์ความหนืด

การวิเคราะห์ความหนืด โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ความหนืดอย่างรวดเร็ว (Rapid Visco Analyser, RVA) (Model RVA-4, Australia) วิเคราะห์คุณสมบัติด้านความหนืด (pasting properties) ตามวิธีการของ AACC (2000) เพื่อวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้ ความหนืดสูงสุดขณะร้อน (peak viscosity) ความหนืดต่ำสุด (trough) ความหนืดสุดท้าย (final viscosity) ค่าความหนืดลดลง (breakdown) และค่าเซตแบค (setback)

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณอะไมโลส

ทำตามวิธี Colorimetric assay ของ Julino (1971) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตรมิเตอร์ โดยใช้ potato amylase ในการสร้างกราฟมาตรฐานการหาปริมาณอะไมโลส

2.4 กระบวนการเพิ่มปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch)

2.4.1 วิธี Autoclave and incubation (Onyango, Bley, Jacob, Henle, & Rohm, 2006)

ชั่งตัวอย่างแป้ง 1 กรัมน้ำหนักแห้งลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ปิดด้วย aluminum foil นำไป autoclave ที่ 121องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

และ incubate ใน incubator ที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บแป้งที่ได้ไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ – 20 องศาเซลเซียส และทำแห้งด้วยกระบวนการ freeze drying วัดปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธีของ Goni (1996)

2.4.2 วิธี Freeze – Thawing (Wang, Yin, Wu, Sun, & Xie, 2008)

เตรียมน้ำแป้ง 10 เปอร์เซ็นต์ด้วยน้ำกลั่น ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 30 นาทีและทำให้เย็น จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่ อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 22 ชั่วโมง นำมาวางใน water bath ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 1.5ชั่วโมงเพื่อทำการละลาย ทำซ้ำ 1 2 และ 3 cycle วัดปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธีของ Goni (1996)

2.4.3 วิธี Heat-moisture treatment และ annealing

ชั่งตัวอย่างแป้ง 30 กรัมน้ำหนักแห้ง เติมน้ำเพื่อทำให้แป้งมีความชื้นเป็น 30 เปอร์เซ็นต์ ปิดผนึกและเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาเข้าตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อบแห้งต่อที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้ความชื้นประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ เติมน้ำกลั่นในอัตราส่วนของแป้งต่อน้ำเป็น 3 ต่อ 7 และปิดผนึก จากนั้นนำไปบ่มใน Shaking water bath ที่อุณหภูมิ 50องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2000 g เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปอบแห้งในตู้อบ 40 องศาเซลเซียสตรวจหาปริมาณแป้งต้านทานการย่อยในแป้งแต่ละชนิดก่อน และหลังกระบวนการตามวิธีของ Goni (1996)

2.4.4 วิธี Acid – methanol และ annealing

ชั่งตัวอย่างแป้ง 25 กรัมน้ำหนักแห้งใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายเมทานอล 100 มิลลิลิตร ที่มีกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.36 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 3 7 และ 15 วัน หลังจากครบเวลา หยุดปฏิกิริยาด้วย 1M $NaHCO_3$ 14 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 3500 g เป็นเวลา 5 นาทีที่อุณหภูมิห้อง ล้างตัวอย่างด้วยเอทานอลความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร กรองตัวอย่างด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ แล้วนำไปอบแห้งในตู้อบ 40 องศาเซลเซียส ชั่งตัวอย่างแป้งที่ผ่านกระบวนการ Acid – methanol จำนวน 2 กรัมน้ำหนักแห้ง ใส่ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 48 กรัม และเติมโทลูอีน 10 ไมโครลิตร (เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย) นำไปบ่มใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง กรองตัวอย่างด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ แล้วนำไปอบแห้งในตู้อบ 40 องศาเซลเซียส ตรวจหาปริมาณแป้งต้านทานการย่อยในแป้งแต่ละชนิดก่อน และหลังกระบวนการตามวิธีการของ AOAC (2002.02)

2.4.5 การผลิตลิมิตเด็กซ์ตริน

เตรียมน้ำแป้งเข้มข้น 30% เติม $CaCl_2$ 0.1% ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.0 เติมเอนไซม์ amylase 0.2% ของน้ำหนักแป้ง นำไปทำให้ร้อนถึง 80 องศาเซลเซียสคงไว้ที่อุณหภูมินี้ นาน 15 นาที โดยคนตลอด จากนั้นปรับอุณหภูมิให้ลดลงเหลือ 60 องศาเซลเซียส ปรับ pH ให้ได้ 4.5 เติมเอนไซม์ amyloglucosidase 0.3% ของน้ำหนักแป้ง นำไปใส่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสใช้เวลาในการย่อย 20 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาหยุดการทำงานของเอนไซม์ด้วยการให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาปั่นหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 9500 xg นาน 10 นาที ล้างกากตะกอนด้วย 50% เอทานอล และน้ำกลั่น จากนั้นนำกากตะกอนไปทำแห้งด้วยเครื่อง freeze drier ต่อไป

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์

2.5.1 การวิเคราะห์ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธีการของ Goni (1996)

โดยการชั่งตัวอย่างแป้ง 100 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร เติม KCl - HCl buffer, pH 1.5 จำนวน 10 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย pepsin 0.2 มิลลิลิตร (1g pepsin/10 ml buffer KCl-HCl) ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปใส่ใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที ด้วยอัตราเร็วในการเขย่าคงที่ จากนั้นนำตัวอย่างออกจาก Water bath และทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง และเติม 0.1 M Tris-maleate buffer, pH 6.9 จำนวน 9 มิลลิลิตร (ปรับด้วย 2M HCl หรือ 0.5M NaOH ถ้าจำเป็น) เติม 1 มิลลิลิตรของสารละลาย α-amylase (40 mg α-amylase/ml Tris-maleate buffer) ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ด้วยอัตราเร็วในการเขย่าคงที่ นำตัวอย่างปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifug, Hicen 18, Herolab, Germany) ที่ความเร็วรอบ 3000xg เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสด้านบนทิ้ง และล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น จำนวน 10 มิลลิลิตรอย่างน้อย 1 ครั้ง จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยง ทิ้งส่วนใสด้านบน และเก็บส่วนที่เป็นตะกอน เติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตรในหลอดที่มีตะกอนและเติม 4M KOH 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และเก็บที่ อุณภูมิห้อง นาน 30 นาที ด้วยอัตราเร็วในการเขย่าคงที่ เติมสารละลาย HCl ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ประมาณ 5.5 มิลลิลิตร และ โซเดียม อะซิเตต บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ pH 4.75 (ปรับ ด้วย 2M HCl หรือ 0.5M NaOH ถ้าจำเป็น) เติม amyloglucosidase 80ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปใส่ใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที ด้วยอัตราเร็วในการเขย่าคงที่ นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000g เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสด้านบนใส่ในขวดปรับปริมาตร ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นจำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วปั่นเหวี่ยงซ้ำอีกอย่างน้อย 1 ครั้ง เก็บส่วนใสรวมกัน

และปรับปริมาตรให้เป็น 25-1000 มิลลิลิตร ขึ้นกับปริมาณ RS ในตัวอย่าง เตรียมกราฟมาตรฐานจากสารละลายกลูโคส 10 – 60 ppm โดยปิเปตน้ำกลั่น สารละลายตัวอย่าง และ glucose standard solution 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติม DOD-PAP 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปใส่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที อ่านค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer, Ultrospec 6300pro, Biochrom, England) ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ใช้น้ำกลั่นในการทำ blank การอ่านค่าการดูดกลืนแสงต้องทำระหว่าง 5-45 นาทีหลังจากการบ่ม คำนวณความเข้มข้นของกลูโคสในตัวอย่างจากกราฟมาตรฐาน และความเข้มข้นของ Resistant starch ของตัวอย่างจากความเข้มข้นของกลูโคส X 0.9

2.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธีการของ AOAC method (2002.02)

วิเคราะห์ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธีการของ AOAC method (2002.02)โดยการชั่งตัวอย่างแป้ง 100 ± 5 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์ผสมระหว่าง Pancreatic α-amylase และ AMG (3U/ml) ที่เตรียมในสารละลายโซเดียม มาลีเอท บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.0 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปบ่มใน Shaking water bath ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง โดยวางหลอดในแนวขนานกับการเคลื่อนที่และทำการเขย่าตลอดเวลา จากนั้นเติมเอทานอล 99 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา (ผสมสารให้เข้ากันดีโดยใช้ Vortex mixer) และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1500g (ประมาณ 3000 rpm) (Centrifuge, Hicen 18, Herolab, Germany) เป็นเวลา 10 นาที ถ่ายของเหลวส่วนใสจากหลอดเดิมใส่อีกหลอดอย่างระมัดระวัง เติมเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในส่วนของตะกอน ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex mixer แล้วเติมเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรอีก 6 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1500g (ประมาณ 3000 rpm) เป็นเวลา 10 นาที ทำซ้ำอีกครั้ง ใส่ magnetic bar ลงในหลอดที่มีตะกอน และเติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด ผสมให้เข้ากันโดยวางในถาดน้ำตั้งบน magnetic stirrer และกวน 20 นาที เติม โซเดียมอะซิเตต บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 1.2 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด – ด่าง 3.8 ปริมาตร 8 มิลลิลิตรลงในแต่ละหลอด เติมเอนไซม์ Amyloglucosidase (3300 U/ml) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี บ่มใน Water bath ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

(สำหรับตัวอย่างที่มีปริมาณ RS มากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์) นำสารละลายที่ออกจาก water bath ถ่ายสารละลายลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร กลั้วล้างหลอดและ magnetic bar ด้วยน้ำ

กลั่น และปรับปริมาตรสารละลายให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 1500g (ประมาณ 3000 rpm) เป็นเวลา 10 นาที

(สำหรับตัวอย่างที่มีปริมาณ RS น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์) นำสารละลายที่ออกจาก water bath แล้วปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1500 g (ประมาณ 3000 rpm) เป็นเวลา 10 นาที (ไม่ต้องทำการเจือจางสารละลาย) โดยปริมาตรสุดท้ายจะเป็น 10.3 มิลลิลิตร

ดูดสารละลายที่ได้ มา 0.1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง เติม GOPOD reagent 3 มิลลิลิตร บ่มใน water bath ที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายในแต่ละหลอดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์(Spectrophotometer, Ultrospec 6300pro, Biochrom, England) ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรและคำนวณปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์จากสูตร

ปริมาณ RS (กรัม/ 100 กรัมตัวอย่าง) = $\triangle E \times F/W \times 162/180$

เมื่อ $\triangle E$ = ค่าการดูดกลืนแสง

F = ปริมาณกลูโคสที่วิเคราะห์ได้

W = น้ำหนักแห้งของตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)

162/180 = แฟกเตอร์สำหรับเปลี่ยน free D-glucose เป็น anhydro-glucose

3. กระบวนการอัดพอง (Extrusion process)

การทดลองครั้งนี้ใช้เครื่องอัดพองชนิดสกรูคู่แบบหมุนตามกัน (Co-rotating intermeshing twin screw extruder: APV MPE19:25) ในการผลิตผลิตภัณฑ์ชนิดไม่พองตัว โดยเครื่องอัดพองดังกล่าวประกอบด้วยสกรูที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 19 มิลลิเมตร อัตราส่วนระหว่างความยาวทั้งหมดของสกรูต่อเส้นผ่านศูนย์กลาง (L/D) เป็น 25:1 ในขณะที่ผนังบาร์เรลมีส่วนที่ให้ความร้อนที่สามารถควบคุมได้ ซึ่งสามารถแบ่งการควบคุมอุณหภูมิได้ 4 ช่วง ในผนังของบาร์เรลแบบแจ็คเก็ต 2 ชั้น ซึ่งมีท่อน้ำฝังอยู่ด้านในเพื่อหมุนเวียนน้ำเย็นเมื่อต้องการลดอุณหภูมิของบาร์เรลให้ได้ในระดับที่ต้องการ โดยมีการจัดเรียงรูปแบบของสกรูให้เหมาะสมกับการผลิตดังแสดงในตารางที่ 4

ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ชนิดไม่พองตัวใช้ความเร็วรอบของสกรูระหว่าง 30-50 รอบต่อนาที อุณหภูมิในช่วงที่ 1 2 3 และ 4 รักษาไว้ที่ 55, 90, 105 และ 95 ตามลำดับ นำแป้งข้าวเจ้าป้อนเข้าสู่เครื่องอัดพองทางถังป้อน (ถังพักวัตถุดิบ) ที่ใต้ถังมีเกลียวสกรูคู่เป็นตัวป้อนแบบปริมาตร (K-Tron Crop., Pitman, NY) ด้วยอัตรา 1.09-1.13 กิโลกรัมต่อชั่วโมง เข้าไปผสมกับน้ำที่เข้าสู่เครื่องด้วยอัตรา 0.27-0.40 กิโลกรัมต่อชั่วโมง เพื่อให้ความชื้นเริ่มต้นของโดเป็น 27–35 เปอร์เซ็นต์ หน้าแปลนที่ใช้ขึ้นรูปขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ตัดตัวอย่างหลังออกจากแปลนของเครื่องอัดพองให้มีความยาว 30 เซนติเมตร ก่อนทำแห้งให้ตัวอย่างมีความชื้นไม่เกิน 13 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4 การจัดเรียงรูปแบบของสกรูที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ชนิดไม่พองตัว (จากทางเข้าสู่หน้าแปลน)

Configulation type	No. of element
1.5D Feed screw	2
1.0D feed screw	2
60º Forward screw	6
1.5D Feed screw	2
1.0D feed screw	2
60 º Forward screw	5
1.5D Feed screw	1
1.0D feed screw	1
60º Forward screw	3
1.0D Single lead screw	2
60º Forward screw	5
1.0D Single lead screw	3
60º Forward screw	3
1.0D Single lead screw	1
1.0D Disch Single screw	1

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4. การทดสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์

4.1 การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ (physical property)

4.1.1 อัตราการพองตัว (expansion ratio)

วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของตัวอย่างโดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์ จากนั้นคำนวณอัตราการพองตัวจากสูตร

$$\text{อัตราการพองตัว} = \frac{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางหน้าตัดของตัวอย่าง}}{\text{เส้นผ่านศูนย์กลางรูเปิดของหน้าแปลน}}$$

4.1.2 ความหนาแน่น (bulk density)

การหาความหนาแน่นของตัวอย่างโดยใช้วิธีการแทนที่ตามวิธีของ Hwang และ Hayakawa (1980) โดยใช้ทรายละเอียดขนาด 80 เมช เป็นตัวกลางการแทนที่

4.1.3 การหาความหนาแน่นของทราย (กรัม/ซม^3) โดย

- ชั่งน้ำหนักบีกเกอร์พลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร(กรัม)(W1)
- นำทรายละเอียดขนาด 80 เมชที่เตรียมไว้แล้ว ใส่ให้เติมปาดหน้าให้เรียบแล้วชั่งน้ำหนักบีกเกอร์(กรัม)(W2)
- คำนวณความหนาแน่นของทรายจากสูตร

$$\text{ความหนาแน่นของทราย} = \frac{(W2 - W1)}{\text{ปริมาตรของบีกเกอร์}}$$

4.1.4 ความหนาแน่นของตัวอย่าง (กรัม/ซม^3)

- หักตัวอย่างให้ยาวประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร แล้วชั่งน้ำหนัก (W3)
- นำตัวอย่างที่หักแล้วใส่ในบีกเกอร์แล้วเติมทรายละเอียดขนาด 80 เมชให้เต็มบีกเกอร์ ปาดหน้าให้เรียบด้วยไม้บรรทัดพลาสติก จากนั้นชั่งน้ำหนัก (W4)
- คำนวณความหนาแน่นจากสูตร

$$\text{ความหนาแน่นของตัวอย่าง} = \frac{W3}{(W2 - W4)} \times \text{ความหนาแน่นของทราย}$$

4.2 การทดสอบคุณสมบัติลักษณะเนื้อสัมผัส (Textural properties)

การทดสอบคุณสมบัติทางลักษณะเนื้อสัมผัสในด้านความแข็ง (Hardness) ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส TA-XT2 (Texture analyzer; Texture Technology Crop., Scarsdals, NY) โดยจะทำการศึกษาแรงที่ต้องใช้ในการตัดตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน

การทดสอบความแข็งของผลิตภัณฑ์ไม่พองตัว

เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดไม่พองตัว ซึ่งโดยปกติผลิตภัณฑ์ชนิดนี้จำเป็นต้องมีกระบวนการในการแปรรูปด้วยกระบวนการใดกระบวนการหนึ่งก่อนการบริโภค ดังนั้นในการทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัสจึงมีความจำเป็นต้องใช้วิธีทดสอบที่เหมาะสมโดยดัดแปลงวิธีการทดสอบจากวิธีของ Waslh (1971)

- ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม หักให้มีความยาวประมาณ 5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดให้สุกถึงแกนกลาง ทดสอบได้จากการนำตัวอย่างไปบีบกดด้วยกระจกนาฬิกา 2 แผ่น ซึ่งถ้าตัวอย่างสุกอย่างสมบูรณ์แล้วแกนกลางแข็งสีขาวที่อยู่ภายในตัวอย่างจะหายไป

- นำตัวอย่างแช่ลงในน้ำที่อุณหภูมิห้องนาน 1 นาที จากนั้นนำขึ้นผึ่งให้สะเด็ดน้ำบนตะแกรงเพื่อรอการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป
- นำตัวอย่าง 1 เส้นวางบนแท่นตัวอย่างและตัดตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน โดยกำหนดการทำงานของเครื่องดังต่อไปนี้

Mode:	Measure Force in Compression
Option:	Return to Start
Pre-Test Speed:	0.5 mm/s
Test-Speed:	0.2 mm/s
Post-Test Speed:	10.0 mm/s
Distance:	15 mm
Trigger Type:	10 g
Data Acquisition Rate:	400 pps
Accessory:	1-mm Flat Perspex Knife Blade(A/Lkb-F)

ความแข็งหาได้จากแรง (g) ที่ต้องใช้ในการตัดตัวอย่าง 1 เส้นให้ขาดออกจากกัน

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการทดลองที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (Statistical Analysis System) และใช้แผนการแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเหนือความแตกต่างกัน โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปราย

1. ปริมาณอะไมโลสของแป้งเริ่มต้น

Resistant starch จัดเป็นสารพรีไบโอติกส์ชนิดหนึ่งที่เมื่อรับประทานแล้วไม่สามารถย่อยหรือถูกดูดซึมในทางเดินอาหารของมนุษย์ ซึ่งโดยหลักการแล้วการผลิตแป้งให้มี Resistant starch ในปริมาณสูงจะผลิตจากแป้งที่มีปริมาณอะไมโลสสูง จึงมีการศึกษาปริมาณอะไมโลสของแป้งเริ่มต้นจากแหล่งต่างๆ ซึ่งจากตารางที่ 5 พบว่า ปริมาณ อะไมโลสในแป้งข้าวโพดมีปริมาณสูงสุด คือ ร้อยละ 50.84 รองลงมาคือ แป้งมันสำปะหลังดัดแปร แป้งข้าวจ้าวโม่เปียก แป้งมันสำปะหลัง และแป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง ตามลำดับ

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณอะไมโลสของตัวอย่างแป้ง

ตัวอย่างแป้ง	ปริมาณอะไมโลส (%)
แป้งข้าวโพด	50.84±0.052
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	41.14±0.157
แป้งมันสำปะหลัง	41.36±0.315
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	44.97±0.259
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	41.69±0.125

2. การวิเคราะห์ความหนืดของแป้ง

แป้งประกอบด้วยอะไมโลส และอะไมโลเพคตินในสัดส่วนที่ต่างกันไปตามชนิดของแป้งมีรายงานว่าความแตกต่างดังกล่าวเกิดจากสภาพแวดล้อม และความแตกต่างทางสายพันธุ์ (Asoaka et al., 1992) องค์ประกอบทั้งสองของแป้งจะมีผลโดยตรงต่อค่าอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนซ์เซชั่น (Gelatinization temperature) พลังงานที่ต้องใช้ในการเกิดเจลาติไนซ์เซชั่น (ΔH) และคุณสมบัติในการเกิดความหนืด เช่น ค่าความหนืดสูงสุด (Peak viscosity) ค่าความหนืดสุดท้าย (Final viscosity) และการคืนตัว (Set back) (กล้าณรงค์ ศรีรอต, กาญจนา กู้โรจนวงศ์ และวิไล สันติโสภาศรี, 2541) มีรายงานว่า ค่าความหนืดของน้ำแป้งสุกจะเป็นผลมาจากการพองตัวของเม็ดแป้ง และการแตกหักของเม็ดแป้งร่วมกับการละลายออกมาของโมเลกุลแป้ง เมื่อลดอุณหภูมิลง โมเลกุลอิสระที่กระจัดกระจายออกมา (โดยเฉพาะส่วนของอะไมโลส) ถ้ามีขนาดโมเลกุลที่เหมาะสมคือ ไม่สั้นและยาวเกินไปก็จะ

สามารถเคลื่อนที่เข้ามาจับกัน และกักน้ำไว้ได้ทำให้ความหนืดสูงขึ้น ปัจจัยที่มีผลต่อความหนืดได้แก่ ชนิดของแป้ง ขนาดอนุภาค สัดส่วนของอะไมโลสต่ออะไมโลเพคติน อุณหภูมิ shear rate เป็นต้น แต่ปัจจัยที่มีผลมากที่สุด คือชนิดของแป้ง (ดุษฎี อุตภาพ, 2548) ซึ่งสอดคล้องกับการการวิเคราะห์ความหนืดของแป้งจากแหล่งต่างๆ ดังตารางที่ 6 ที่พบว่าแป้งจากแหล่งต่างกันมีค่าความหนืดต่างกัน โดยพบว่าค่าความหนืดสูงสุด (Peak viscosity) และค่าความหนืดต่ำสุด (Trough) ของแป้งมันสำปะหลังมีค่ามากที่สุด แต่ค่าความหนืดสุดท้าย (Final viscosity) ค่าการคืนตัว (Set back) และเวลาที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงความหนืด (Pasting temperature) น้อยกว่าแป้งข้าวเจ้าโม่แห้งซึ่งมีค่ามากที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากแป้งมันสำปะหลังเป็นแป้งที่มีความพองตัวมาก และเร็วเมื่อได้รับความร้อนทำให้แรงที่ยึดกันภายในโมเลกุลอ่อนตัวลง และเม็ดแป้งแตกออกเมื่อได้รับแรงเฉือน ทำให้โมเลกุลแป้งทั้งหมดกระจายอยู่ทั่วไปในน้ำแป้ง ยากที่โมเลกุลอะไมโลสจะมาจัดเรียงตัวกันได้ง่ายตามทิศทางของแรงเฉือน ดังนั้นความหนืดจึงมีค่าสูงขึ้นมาก แต่จะลดลงอย่างรวดเร็วเช่นกันเมื่ออยู่ในช่วง setback ในขณะที่แป้งข้าวเจ้าเป็นแป้งจากธัญพืช เมื่อได้รับความร้อนจะพองตัว และเม็ดแป้งแตกน้อยกว่า โมเลกุลที่คลายตัวยังอยู่ใกล้กันจึงเคลื่อนที่จับกันใหม่ได้ง่าย ซึ่งอาจจับตัวกันระหว่างเม็ดแป้งที่พองตัวซึ่งอยู่ใกล้กัน หรือระหว่างชิ้นส่วนของเม็ดแป้งหรือโมเลกุลอะไมโลสอิสระที่หลุดออกมา ทำให้เกิดสภาพเป็น matrix ยึดอยู่ด้วยกันโดยพันธะไฮโดรเจน สามารถเก็บกักน้ำไว้ได้ ค่าความหนืดสูงสุดจึงมีค่าน้อยกว่า แต่เกิดการสลายตัวระหว่างการต้มสุกน้อยกว่า จึงทำให้ค่าความหนืดสุดท้าย (Final viscosity) สูงกว่า (Schoch and Maywald, 1968) นอกจากนี้ค่าความหนืดของแป้งยังขึ้นอยู่กับปริมาณอะไมโลส จะเห็นได้ว่าแป้งข้าวโพดที่มีปริมาณอะไมโลสสูงมากที่สุด (ตารางที่6) แต่จะให้ความหนืดสูงสุดน้อยกว่าแป้งมันสำปะหลัง เนื่องจากแป้งที่มีปริมาณอะไมโลสสูงจะทำให้มีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลแป้งในส่วน อสัณฐานแข็งแรง และทำให้พองตัวได้ยากกว่า (สุพิศา สมโต, 2547)

ตารางที่ 6 แสดงค่าจากการวิเคราะห์ความหนืดของแป้งดิบ

sample	Peak viscosity (RVU)	Trough (RVU)	Break down (RVU)	Final Viscosity (RVU)	Set back	Pasting temp (°C)
แป้งข้าวโพด	143.81	100.97	42.83	146.69	45.72	78.92
แป้งมันสำปะหลัง	280.22	130.64	149.58	192.22	61.80	70.85
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	263.34	106.89	156.61	166.81	59.92	70.82
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	115.67	89.08	26.58	181.92	92.83	83.98
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	151.22	114.50	36.72	246.69	132.19	84.57

3. ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch) ด้วยวิธี Autoclave และ incubation

ตารางที่ 7 ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch) ก่อนและหลังกระบวนการ Autoclave และ Incubation

ตัวอย่างแป้ง	ปริมาณ Resistant starch (mg glucose/100 mg sample)*0.9	
	ก่อนกระบวนการ	หลังผ่านกระบวนการ
แป้งข้าวโพด	1.211	1.129
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	1.198	1.261
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	1.250	1.205
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	1.264	1.269
แป้งมันสำปะหลัง	1.120	1.241
แป้ง Hylon VII	1.240	1.109

จากการทดลองเพิ่มปริมาณ Resistant starch ด้วยวิธี Autoclave และ incubation พบว่า หลังจากผ่านกระบวนการแป้งมันสำปะหลังดัดแปร และแป้งมันสำปะหลังมีปริมาณ Resistant starch เพิ่มขึ้นร้อยละ 5.25 และ 10.80 เมื่อเปรียบเทียบกับแป้งก่อนผ่านกระบวนการตามลำดับ แต่แป้งชนิดอื่นมีปริมาณ Resistant starch ใกล้เคียงหรือต่ำกว่าปริมาณ Resistant starch ในตัวอย่างแป้งก่อนผ่านกระบวนการ (ตารางที่ 7) สอดคล้องกับศึกษาที่ผ่านมาซึ่งพบว่า การดัดแปรโดยความร้อนชื้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างผลึกในเม็ดแป้ง แต่จะมีผลต่อแป้งที่มีผลึกประเภท B (แป้งจากพืชหัว) มากที่สุด (Gunaratne & Hoover, 2002; Lim et al., 2001) แป้งที่ได้จากการผ่านกระบวน Autoclave และ incubation จะเป็น Resistant starch กลุ่มที่สาม คือ Retrograded starch (RS III) โดยการเกิด RS III นั้นจะเกิดขึ้นในระหว่างสองขั้นตอน คือ แป้งจะถูกไฮโดรไลซ์ในขั้นตอนการ autoclave จากนั้นจะเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของอะไมโลส (recrystallization) ในขั้นตอนการ incubation (Onyango, Bley, Jacob, Henle, & Rohm, 2006) เมื่อแป้งถูกไฮโดรไลซ์จะทำให้เกิดอะไมโลสที่มี degree of polymerization อยู่ในช่วง 100-300 หน่วยของกลูโคส ซึ่งอะไมโลสที่มี degree of polymerization สูงเหล่านี้จะมีผลต่อการเกิด RS III ที่ทนต่อการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ เนื่องจากต่อกันเป็นสายยาวแบบเกลียวคู่ (double helix) ทำให้มีความเสถียรจากพันธะไฮโดรเจน

4. การเพิ่มปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch) ด้วยวิธี Freeze - Thawing

ตารางที่ 8 ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch) ก่อนและหลังกระบวนการ Freeze - Thawing

ตัวอย่างแป้ง	ปริมาณ Resistant starch (กรัม/100กรัมตัวอย่าง)			
	แป้งเริ่มต้น	cycle 1	cycle 2	cycle 3
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	1.520	2.301	0.834	1.552
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	1.413	2.287	0.675	1.458
แป้งมันสำปะหลัง	1.499	2.191	0.821	1.504
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	1.693	2.325	0.844	1.621
แป้งข้าวโพด	2.078	2.356	1.115	1.850

การดัดแปรโดยใช้วงจรการแช่แข็งและการละลายเป็นการดัดแปรทางกายภาพที่สามารถเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของแป้งได้ โดยส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะผิว และความเป็นผลึกของเม็ดแป้ง ส่งผลต่อคุณสมบัติในการละลายน้ำ ความหนืด การคืนตัว และประสิทธิภาพในการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งจากการทดลองเพิ่มปริมาณ Resistant starch ด้วยวิธี Freeze - Thawing พบว่าแป้งทุกชนิดที่ผ่านกระบวนการ Freeze –Thawing ใน cycle ที่ 1 จะมีปริมาณ Resistant starch เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับแป้งก่อนผ่านกระบวนการ สอดคล้องกับการรายงานที่ผ่านมาที่พบว่า กระบวนการ freeze-Thawing ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะของผิวภายนอก และจะเกิดการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดหลังจาก freeze-thawing ครั้งแรก (Szymonska, Krok, Czepirska, & Bilas, 2003) นอกจากนี้จากตารางที่ 8 ยังพบว่าแป้งข้าวเจ้าโม่เปียกมีปริมาณ Resistant starch เพิ่มขึ้นสูงสุด (ร้อยละ 62) รองลงมาคือ แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง และแป้งมันสำปะหลังที่มีปริมาณ Resistant starch สูงขึ้น ร้อยละ 51.4 และ 46.2 ตามลำดับ

5. การเพิ่มปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch) ด้วยวิธี Heat-moisture treatment และ Annealing

ตัวอย่างแป้ง	ปริมาณแป้งต้านทานการย่อย (กรัม/100กรัมตัวอย่าง)	
	เริ่มต้น	HMT-ANN
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	0.383	0.1813
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	0.377	0.2406
แป้งข้าวโพด	0.466	0.2479
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	0.411	0.2153
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	0.398	0.2293

การใช้กระบวนการความร้อนชื้น (heat-moisture treatment; HMT) เป็นวิธีการดัดแปรแป้งทางกายภาพที่จัดอยู่ในกลุ่ม hydrothermal treatment ซึ่งจากการเพิ่มปริมาณ Resistant starch ด้วยวิธี HMT และ Annealing พบว่า แป้งทุกชนิดมีปริมาณ Resistant starch ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งก่อนผ่านกระบวนการ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้กระบวนการความร้อนชื้น เป็นวิธีที่ใช้ความร้อนสูง ทำให้โครงสร้างของแป้งถูกทำลายเกิดการเจลาติไนซ์ ดังนั้นวิธีการใช้กระบวนการความร้อนชื้นจึงไม่สามารถเพิ่มปริมาณ Resistant starch ได้

6. การเพิ่มปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch) ด้วยวิธี acid-methanol และ annealing

ตัวอย่างแป้งเริ่มต้น	ปริมาณ resistant starch (g/100g dry weight)				
	ระยะเวลา acid-methanol (วัน)				
	เริ่มต้น	1	3	7	15
Resistant starch control (Megazyme® kit)	52.198	-	-	-	-
Hylon VII (commercial resistant starch)	43.494	-	-	-	-
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	1.932	1.824	1.794	2.812	6.818
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	1.952	4.049	7.188	16.313	30.654
แป้งข้าวโพด	1.410	1.627	1.841	2.773	8.790
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	0.975	3.784	5.629	14.243	17.661
แป้งมันสำปะหลัง	5.793	7.063	7.669	16.122	27.464

จากการทดลองเพิ่มปริมาณ Resistant starch ด้วยวิธี acid-methanol และ annealing พบว่า ที่ระยะเวลาการทดสอบ 1 วัน แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก แป้งข้าวโพด แป้งมันสำปะหลังดัดแปร และแป้งมันสำปะหลัง มีปริมาณ Resistant starch เพิ่มขึ้น 1 0.1 2.8 และ 0.2 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งที่ไม่ผ่านกระบวนการตามลำดับ และที่ระยะเวลาการทดสอบ 3 วัน ปริมาณ Resistant starch เพิ่มขึ้น 2.7 0.3 4.8 และ 0.3 เท่าตามลำดับ แต่แป้งข้าวเจ้าโม่แห้งมีปริมาณ Resistant starch ลดลงเล็กน้อยที่ระยะเวลาการทดสอบ 1 และ 3 วัน เมื่อเพิ่มระยะเวลาทดสอบตัวอย่างแป้งทั้ง 5 ชนิด คือ แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก แป้งข้าวโพด แป้งมันสำปะหลังดัดแปร และแป้งมันสำปะหลัง มีปริมาณ Resistant starch เพิ่มขึ้นเป็น 0.5 7.4 1.0 13.6 และ 1.8 เท่าที่ระยะเวลาการทดสอบ 7 วันตามลำดับ และเพิ่มขึ้นเป็น 2.5 14.7 5.2 17.1 และ 3.7 เท่า ที่ระยะเวลาการทดสอบ 15 วัน แสดงให้เห็นว่า แป้งทุกชนิดมีปริมาณ Resistant starch เพิ่มขึ้นมากที่สุดเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการทดลองจนถึง 15 วัน โดยแป้งข้าวเจ้าโม่เปียกมีปริมาณ Resistant starch เพิ่มขึ้นมากที่สุด รองลงมาคือ แป้งมันสำปะหลัง แป้งมันสำปะหลังดัดแปร แป้งข้าวโพด และแป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง ตามลำดับ ดังนั้นการใช้ความร้อนร่วมกับกรดจึงเป็นวิธีที่สามารถเพิ่มปริมาณ Resistant starch ได้ สอดคล้องกับ Brumovsky และ Thompson ในปี 2001 ที่มีการกล่าวว่า วิธี annealing สามารถเพิ่มปริมาณ Resistant starch ได้เนื่องจากเกิดเม็ดแป้งหรือโครงสร้างโมเลกุลที่สมบูรณ์ นอกจากนี้ Lin และคณะในปี 2009 ยังมีการศึกษาผลของวิธี acid-methanol และ annealing ต่อการต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ของแป้งข้าวโพด พบว่าระยะเวลาการทดลองมีผลต่อ Resistant starch โดยที่ระยะเวลาการทดลองสั้นจะมีผลทำให้ปริมาณ Resistant starch ลดลงหรือเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากแป้งมีความไวต่อการถูกไฮโดรไลส์ด้วยเอนไซม์ทำให้เม็ดแป้งเสื่อมสภาพ และที่ระยะเวลาการทดลองที่เพิ่มขึ้น พบว่าแป้งข้าวโพดมีปริมาณ Resistant starch เพิ่มขึ้นมากกว่าแป้งที่ไม่ผ่านกระบวนการ แสดงให้เห็นว่าปริมาณ Resistant starch ที่เพิ่มขึ้นนอกจากจะขึ้นอยู่กับวิธี annealing แล้วยังขึ้นอยู่กับระยะเวลาในกระบวนการ acid-methanol ด้วยเช่นกัน ทั้งนี้เนื่องมาจาก annealing เป็นวิธีที่ทำให้เม็ดแป้งเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากความร้อนในระหว่างอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) และอุณหภูมิในการเกิดเจลาติไนเซชัน (gelatinization onset temperature, T_0) (Tester, Debon, & Sommerville, 2000) ซึ่งในระหว่างกระบวนการโครงสร้างเกิดการเคลื่อนที่ในส่วนอสัณฐานนำมาซึ่งเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ของโมเลกุล (Atichokudomchai, Varavinit, & Chinachoti, 2002; Hoover & Vasanthan, 1994; Jacobs, Eerlingen, Rouseu, Colonna, & Delcour, 1998; Seow & Vasanti-Nair, 1994; Shi, Capitani, Trzasko, & Jeffcoat, 1998; Tester et al., 2000) การเคลื่อนที่ของสายอะไมโลสจะเพิ่มขึ้นระหว่างกระบวนการ annealing ทำให้เกิดการสร้างสายเกลียวคู่จากปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างอะไมโลสกับอะไมโลส และ/หรือ อะไมโลสกับอะไมโลเพคติน (Hoover & Vasanthan, 1994; Jacobs et al., 1998) นอกจากนี้พันธะไกลโคซิดิค (glycosidic linkages) ของแป้งในส่วนอ

สัณฐานยังถูกไฮโดรไลส์ด้วยกรดในระหว่างกระบวนการ acid-methanol ด้วย (Lin, Lee, & Chang, 2003; Lin, Lii, & Chang, 2005) ทำให้น้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) และความยาวของสายโมเลกุลแป้งลดลง (Lin & Chang, 2006; Lin et al., 2003, 2005; Ma & Robyt, 1987) แต่การคืนตัวของเม็ดแป้งยังคงมีมากกว่าร้อยละ 90 (Chang, Lin, & Chang, 2006; Fox & Robyt, 1992; Lin et al., 2003, 2005; Ma & Robyt,1987) วิธี acid-methanol จึงอาจเป็นวิธีที่จะควบคุมการเสื่อมสภาพของแป้งได้ (Fox & Robyt,1992; Lin & Chang, 2006)

7. การเพิ่มปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch) ของลิมิตเดกซ์ตริน ในผลิตภัณฑ์พาสต้า

ปริมาณของลิมิตเดกซ์ตริน	ปริมาณ resistant starch (g/100g dry weight)	
	ก่อนต้ม	หลังต้ม
2%	0.650	0.520
4%	0.761	0.533
6%	1.039	0.816
8%	1.278	1.048
10%	1.975	1.522

*RS ของ ลิมิตเดกซ์ตริน = 7.348 g/100g dry weight

จากตารางการเพิ่มปริมาณ Resistant starch ของผลิตภัณฑ์พาสต้าที่ผสมลิมิตเดกซ์ตริน พบว่าผลิตภัณฑ์พาสต้าที่มีส่วนผสมของลิมิตเดกซ์ตรินในทุกอัตราส่วนหลังผ่านกระบวนการต้มสุกจะมี Resistant starch ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนผ่านกระบวนการ ถึงแม้ว่าปริมาณ Resistant starch จะลดลงเมื่อผ่านกระบวนการต้มสุก แต่เมื่อเปรียบเทียบกับสปาเก็ตตี้ข้าวเจ้า และมักกะโรนีข้าวเจ้า (ตารางข้อ 8) พบว่า มีปริมาณ Resistant starch มากกว่าทั้งในสปาเก็ตตี้ข้าวเจ้า และมักกะโรนีข้าวเจ้า แสดงว่า ผลิตภัณฑ์พาสต้าที่มีส่วนผสมของลิมิตเดกซ์ตรินร้อยละ 8 และ 10 สามารถเพิ่มปริมาณ Resistant starch ได้

8. ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch) ของผลิตภัณฑ์พาสต้า

ตัวอย่างพาสต้า	ปริมาณ resistant starch (g/100g dry weight)	
	ก่อนต้ม	หลังต้ม
Bestfood	1.431	1.260
Agneci	1.778	0.901
Gallo	1.731	0.956
สปาเก็ตตี้ข้าวเจ้า	1.824	0.851
มักกะโรนีข้าวเจ้า	1.318	1.353

จากการทดลองหาปริมาณ Resistant starch ของผลิตภัณฑ์พาสต้า ก่อนและหลังผ่านกระบวนการต้มสุก จากตารางที่ 9 พบว่า ผลิตภัณฑ์พาสต้าจากท้องตลาดรวมถึงสปาเก็ตตี้ข้าวเจ้า เมื่อผ่านกระบวนการต้มสุกจะมีปริมาณResistant starch ลดลง แต่มักกะโรนีข้าวเจ้ามีปริมาณ Resistant starch เพิ่มขึ้นเล็กน้อย (ร้อยละ 2.6) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเกิดการละลายของเนื้อแป้งจากโครงสร้างออกไปในระหว่างการต้ม ทำให้สูญเสียระหว่างกระบวนการให้ความร้อน แต่ถ้าเวลาการต้มน้อยลง เช่น สปาเก็ตตี้ข้าวเจ้ากับมักกะโรนีข้าวเจ้า ที่ใช้เวลาต้มต่างกัน ปริมาณแป้งทานการย่อยก็จะต่างกัน กล่าวคือ ถ้าใช้เวลาต้มน้อย ปริมาณแป้งต้านทานจะเหลือมากขึ้น

ตารางที่ 9 ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch) ของผงลิมิตเด็กซ์ตริน และตัวอย่างพาสต้า

sample	Resistant starch (%)				
	1	2	3	Ave.	SD
ผง limit dextrin	5.5451	8.7867	6.1585	6.83[a]	1.722
2% pasta ต้ม	0.9428	0.8086	0.9254	0.892[b]	0.073
100% pasta ต้ม	0.851	0.872	0.831	0.851[b]	0.020
best food ต้ม	0.9786	0.7346	0.9301	0.881[b]	0.129

ตารางที่ 10 ปริมาณ non-resistant starch ของผงลิมิตเด็กซ์ตริน และตัวอย่างพาสต้า

Sample	Non - Resistant starch (%)				
	1	2	3	Ave.	SD
ผง limit dextrin	49.338	47.62	49.002	48.653[a]	0.911
2% pasta ต้ม	18.144	17.8	17.804	17.916[c]	0.197
Pasta 100% ต้ม	24.54	25.98	23.599	24.706[b]	1.199
best food ต้ม	24.33	22.318	20.629	22.426[b]	1.853

จากตารางข้อ 7 จะเห็นได้ว่ามีการทดสอบโดยผสมลิมิตเด็กซ์ตรินกับแป้งในหลายอัตราส่วน แต่ในการทดลองโดยเปรียบเทียบกับปริมาณ Resistant starch ของ 100% พาสต้า และพาสต้าทางการค้าใช้ตัวอย่าง 2% ลิมิตเด็กซ์ตรินในการทดลอง เนื่องจากเมื่อนำแป้งที่ผสมลิมิตเด็กซ์ตรินในระดับต่างๆ ผ่านเครื่องอัดพองชนิดสกรูคู่แบบหมุนตามกันแล้วนำพาสต้าที่ได้มาทดสอบโดยการต้มพบว่า 2% และ 4% ลิมิตเด็กซ์ตริน มีลักษณะเส้นเหมือนกับ 100% พาสต้า ในขณะที่เมื่อเพิ่มปริมาณลิมิตเด็กซ์ตริน พบว่า ด้านนอกของเส้นพาสต้าแตก และเริ่มละลายแต่ด้านในของเส้นยังแข็ง ซึ่งจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสเบื้องต้น พบว่า 2% ลิมิตเด็กซ์ตรินมีรสชาติและเนื้อสัมผัสใกล้เคียงกับ 100% พาสต้ามากที่สุด จึงใช้ตัวอย่างดังกล่าวในการทดสอบ จากการเปรียบเทียบปริมาณ resistant starch จากตารางที่ 9 พบว่า ผงลิมิตเด็กซ์ตรินมีปริมาณ resistant starch มากที่สุด ในขณะที่ 2% 100% พาสต้า และพาสต้าทางการค้ามีปริมาณ resistant starch ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากลิมิตเด็กซ์ตรินที่นำมาผสมกับแป้งข้าวเจ้าผลิตจากแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์สองตัว คือ amylase และ amyloglucosidase และขณะเดียวกันขั้นตอนในการวิเคราะห์หาปริมาณ resistant starch ขั้นแรกจะใช้เอนไซม์ α-amylase ลดขนาดโมเลกุลของแป้งภายในสายโพลิเมอร์ แต่มิได้ตัดตรงพันธะของกิ่ง นำตัวอย่างปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ทำการ re-suspended ตะกอน (supernatant) ด้วยสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ จากนั้นจึงทำการย่อยต่อด้วยเอนไซม์ amyloglucosidase จะเห็นได้ว่า ในขั้นตอนการผลิตลิมิตเด็กซ์ตริน และการวิเคราะห์หาปริมาณ resistant starch ใช้เอนไซม์ที่เหมือนกัน แต่ในขั้นตอนการวิเคราะห์หาปริมาณ resistant starch มีการใช้สารละลายด่างช่วย re-suspended ส่วนตะกอน ทำให้เอนไซม์ amyloglucosidase ทำงานได้ดีขึ้น ลิมิตเด็กซ์ตรินบางส่วนจึงอาจถูกย่อย ทำให้ปริมาณ resistant starch ไม่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ

100% พาสต้า และพาสต้าทางการค้า ผู้ทดลองจึงทำการวิเคราะห์ในส่วนของ non-resistant starch ซึ่งจากตารางที่ 10 พบว่า ปริมาณ non-resistant starch ของตัวอย่างผงลิมิตเด็กซ์ตรินมีปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือ 100% พาสต้า และพาสต้าทางการค้า ในขณะที่ 2% พาสต้ามีปริมาณน้อยที่สุด ในการทดลองจึงมีการวิเคราะห์เพิ่มเติมในส่วนของปริมาณโปรตีน ไขมัน กากอาหาร (crude fiber) เถ้า และคาร์โบไฮเดรต โดยจากการทดลอง (ตารางที่ 11) พบว่า จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างด้วย Kjeldahl method ตัวอย่าง 100% พาสต้ามีปริมาณโปรตีนมากที่สุด ในขณะที่พาสต้าที่ได้จากการผสมแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ α-amylase และเอนไซม์ amyloglucosidase กับแป้งข้าวเจ้าพาสต้าที่ได้จากการผสมแป้งทางการค้า (Hi-maize 260) และพาสต้าที่ผสมแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ α-amylase มีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อพิจารณาในส่วนของกากใย (crude fiber) พบว่า ตัวอย่าง 100% พาสต้ามีปริมาณกากใยมากที่สุด รองลงมาคือพาสต้าที่ผสมแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ α-amylase พาสต้าที่ได้จากการผสมแป้งทางการค้า (Hi-maize 260) และพาสต้าที่ได้จากการผสมแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ α-amylase และเอนไซม์ amyloglucosidase ตามลำดับ ในส่วนของปริมาณ resistant starch พบว่า พาสต้าที่ได้จากการผสมแป้งทางการค้า (Hi-maize 260) มีปริมาณ resistant starch สูงที่สุด แต่ตัวอย่าง 100% พาสต้า พาสต้าที่ได้จากการผสมแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ α-amylase และเอนไซม์ amyloglucosidase และพาสต้าที่ได้จากการผสมแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ α-amylase มีปริมาณไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

แม้ว่ากรรมวิธีที่ใช้จะไม่สามารถเพิ่มปริมาณ resistant starchให้สูงกว่า 100 % พาสต้าได้ แต่เมื่อพิจารณาในแง่ของปริมาณเส้นใย (ปริมาณกากใยรวมกับปริมาณ resistant starch) จะพบว่าพาสต้าที่ได้จากการผสมแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ α-amylase และเอนไซม์ amyloglucosidase (ตัวอย่าง 102A) และ พาสต้าที่ได้จากการผสมแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ α-amylase (ตัวอย่าง 51A และ 101A) มีปริมาณกากใยสูงกว่าตัวอย่าง 100 % พาสต้า ถึงร้อยละ 58.55 63.26 และ 74.94 เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่าง 102A 51A และ 101A ตามลำดับ นอกจากนี้ตัวอย่างพาสต้าดังกล่าว ยังถือได้ว่าเป็นอาหารที่มีเส้นใย เพราะมีปริมาณเส้นใยในอาหารมากกว่าร้อยละ 2 ตามที่มี Food and Drug Regulations (FDR) และประชาคมยุโรป (European Community; EC) ระบุไว้ โดยประชาคมยุโรประบุว่า อาหารที่มีเส้นใยรวมทั้งหมด (TDF) มากกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถกล่าวได้ว่าเป็นอาหารที่มีเส้นใยอาหาร สำหรับอาหารที่มีเส้นใยรวมทั้งหมด (TDF) มากกว่า 3 เปอร์เซ็นต์ ถือได้ว่าอาหารนั้น

เป็นอาหารที่เพิ่มเส้นใย และอาหารที่มีเส้นใยอาหารมากกว่า 6 เปอร์เซ็นต์เป็นอาหารที่มีเส้นใยอาหารสูง (Yue & Waring, 1998) ในขณะที่ตัวอย่าง 100 % พาสต้า ไม่ถูกจัดว่าเป็นอาหารในกลุ่มอาหารที่มีเส้นใยอาหาร แต่พาสต้าที่ได้จากการผสมแป้งทางการค้า (Hi-maize 260) กับแป้งข้าวเจ้าในอัตราส่วน 10:90 ถือว่าเป็นแหล่งอาหารที่มีปริมาณเส้นใยสูง (high fiber) ตามมาตรฐานของ NLEA (The Nutrition Labeling and Education Act) ที่ได้ให้คำจำกัดความเกี่ยวกับฉลากแสดงปริมาณใยอาหารว่าในอาหารที่มีปริมาณใยอาหาร 2.5 กรัมต่อหนึ่งหน่วยบริโภคให้ถือว่าอาหารนั้นเป็นแหล่งอาหารเส้นใยที่ดี (good source of fiber) และอาหารที่มีปริมาณเส้นใยทั้งหมด 5 กรัมต่อหนึ่งหน่วยบริโภคถือว่าเป็นแหล่งอาหารที่มีปริมาณเส้นใยสูง (high fiber) นอกจากนี้ยังจัดอยู่ในกลุ่มของแหล่งที่มีเส้นใยสูงมากตามมาตรฐานของ Food and Drug Regulations (FDR) (ตารางที่ 12) ซึ่งจากการทดลองต้ม แม้ว่าเส้นจะมีขนาดเล็กกว่า 100% พาสต้า แต่จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสเบื้องต้นถือว่ารับได้

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร (proximate analysis) ของตัวอย่างพาสต้า

Sample[1]	**% Protein** (Kjeldahl method: AOAC 928.08)	**% Fat** (Soxhlet Method: AOAC 963.15)	**% Crude fiber** (AOAC 978.10)	**% Moisture** (Drying Oven Method: AOAC 925.10)	**% Ash** (Dry Ashing Method: AOAC 900.02 A)	**% Carbohydrate**	**%RS**
52 A	6.26	0.22	0.13	9.70	0.30	83.39	1.040
72 A	6.04	0.21	0.14	8.26	0.32	85.03	1.640
102 A	6.58	0.15	0.15	8.29	0.33	84.50	2.008
HI 5	6.39	0.06	0.13	9.19	0.32	83.91	1.484
HI 7	6.36	0.15	0.59	9.02	0.34	83.54	3.701
HI 10	6.04	0.15	0.59	9.34	0.42	83.46	5.738
51 A	6.33	0.12	0.86	8.39	0.33	83.97	1.362
71 A	6.74	0.11	0.47	8.11	0.33	84.24	1.408
101 A	6.07	0.08	0.66	7.58	0.41	85.20	1.721
Pasta 100%	6.78	0.08	0.51	8.44	0.45	83.74	0.851

หมายเหตุ: [1] คือตัวอย่างพาสต้า โดยสัญลักษณ์ 52A 72A และ 102A คือ พาสต้าที่ได้จาการผสมแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา อะไมเลส และ เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสกับแป้งข้าวเจ้าในอัตราส่วน 5:95 7:93 และ 10:90 ตามลำดับ HI5 HI7 และ HI10 คือ พาสต้าที่ได้จากการผสมแป้งทางการค้า (Hi-maize 260) กับแป้งข้าวเจ้าในอัตราส่วน 5:96 3:97 และ 10:90 ตามลำดับ 51A 71A และ 101A คือ พาสต้าที่ได้จาการผสมแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา อะไมเลสกับแป้งข้าวเจ้าในอัตราส่วน 5:95 7:93 และ 10:90 ตามลำดับ

ตารางที่ 12 มาตรฐานปริมาณเส้นใยในอาหาร

Standard	Nutrient content claim	Definition
The Nutrient Labeling and Education Act (NLEA)	More or added fiber	At least 2.5 grams
	Good source of fiber	2.5 grams to 4.9 grams
	High fiber	5 grams or more
European Community	Contain	> 2% TDF*
	Increase	> 3% TDF*
	High	> 6% TDF*
Food and Drug Regulations (FDR)	Source of fiber	2 grams or more
	High source of fiber	4 grams or more
	Very high source	6 grams or more

* Total dietary fiber

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

การพัฒนาพาสต้าข้าวเจ้าให้มีปริมาณแป้งต้านทานสูงนี้สามารถทำได้โดยการผสมแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการย่อยบางส่วนด้วยเอมไซม์อะไมเลส แล้วเติมลงในแป้งข้าวเจ้าสำหรับการผลิตพาสต้าในระดับที่ 5-7% ก็จะมีผลทำให้ปริมาณแป้งทนการย่อยในพาสต้าข้าวเจ้าต้มสุกแล้วสูงขึ้นถึง 65% (จากเดิมที่มีปริมาณแป้งทนการย่อยใน100% พาสต้าเท่ากับ 0.851% เพิ่มขึ้นเป็น 1.362 และ 1.408% ในการผสมแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการย่อยบางส่วนด้วยเอมไซม์อะไมเลส 5 และ 7% ตามลำดับ) และทำให้ปริมาณเส้นใยหยาบในพาสต้าเพิ่มขึ้นอีกด้วย ผลรวมของปริมาณแป้งทนการย่อยและเส้นใยหยาบที่วิเคราะห์ได้จากพาสต้าข้าวเจ้าชนิดใหม่นี้ มีผลทำให้พาสต้าข้าวเจ้าที่ได้จากกรรมวิธีที่พัฒนาขึ้นมาใหม่นี้มีคุณสมบัติตามมาตรฐานอาหารในกลุ่มเส้นใย เนื่องจากมีเส้นใยรวมสูงกว่า 2% ซึ่งพาสต้าข้าวเจ้าที่ผลิตตามกรรมวิธีดั้งเดิมมีเส้นใยอาหารรวมน้อยกว่า 1.5%

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บรรณานุกรม

Abecassis, J., Abbou, R., Chaurand, M. H., & Vernoux, P. (1994). Influence of extrusion conditions on extrusion speed, temperature, and pressure in the extruder and on pasta quality. *Cereal Chemistry,,* 71(3), 247-253.

Anderson, J., Jones, A., & Riddell-Mason, S. (1994). Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. *Journal of Nutrition,* 124, 78-83.

Asaoka, M., Blanshard, J. M.C. & Rickard, J. E. (1992). Effects of cultivar and growth season on the gelatinization properties of cassava (*Manihot esculenta*) starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 59, 53-58.

Asp, N. G., & Bjorck, I. (1992). Resistant starch. *Trend in of science and Technology,* 3, 111-114.

Atichokudomchai, N., Varavinit, S., & Chinachoti, P. (2002). A study of annealing and freeze–thaw stability of acid-modified tapioca starch by differential scanning calorimetry. *Starch*, 54(8), 343–349.

Behall, K., Scholfield, D., Yhaniak, I., & Canary, J. (1989). Diets containing high amylose vs amylopectin starch: effects on metabolic variables in human subects. *The American Journal of Clinical Nutrition,* 49, 337-344.

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

Berry, C., Anson, K., Miles, M., Morris, V., & Russe, P. (1988). Physical Chemical Characterisation of Resistant Starch from Whea. *Journal of Cereal Science,* 8 203-206.

Bird, A. R., Brown, I. L., & Topping, D. L. (2000). Starches, Resistant Starches, the Gut Microflora and Human Health. *Current Issues in Intestinal Microbiology* 1(1), 25-37.

Brouns, F., Kettlitz, B., & Arrigoni, E. (2002). Resistant starch and the butyrate revolution. *Trends in Food Science & Technology,* 13 251-261.

Brumovsky, J. O., & Thompson, D. B. (2001). Production of Boiling-Stable Granular Resistant Starch by Partial Acid Hydrolysis and Hydrothermal Treatments of High-Amylose Maize Starch *Cereal Chemistry,* 78(6), 680-689.

Bule, A., Colonna, P., Planchot, V., & Ball, S. (1998). Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*23, 85-112.

Canadian Food Inspection Agency. (2012). Nutrient content claims. [On-line]. Avialable: http://www.inspection.gc.ca/english/fssa/labeti/guide/ch7be.shtml

Chang, Y. H., Lin, J. H., & Chang, S. Y. (2006). Physicochemical properties of waxy and normal corn starches treated in different anhydrous alcohols with hydrochloric acid. *Food Hydrocolloids*, 20(2/3), 332–339.

Chezem, J., Furumoto, E., & Story, J. (1997). Effects of resistant potato starch on cholesterol and bile acid metabolism in the rat. *Nutrition Research,* 17(11-12), 1671-1682

Chiu, C. W., Henley, M., & Altieri, P. (1994). Process For Making Amylase Resistant Starch From High Amylose Starch *U.S.patent* 5281276.

Chung, H.-J., Hoover, R., & Liu, Q. (2009). The impact of single and dual hydrothermal modifications on the molecular structure and physicochemical properties of normal corn starch. *International Journal of Biological Macromolecules* 44, 203-210.

Chung, H.-J., Lim, H. S., & Lim, S.-T. (2006). Effect of partial gelatinization and retrogradation on the enzymatic digestion of waxy rice starch. *Journal of Cereal Science* 43, 353-359.

Chung, H.-J., & Liu, Q. (2009b). Effect of Gamma Irradiation on Molecular Structure and Physicochemical Properties of Corn Starch. *Journal of Food Science,* 74(5), 353-361.

Chung, H.-J., Liu, Q., & Hoover, R. (2009). Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible,slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn,pea and lentil starches. *Carbohydrate Polymers* 75, 436–447.

Clark, A. H., Gidley, M. J., Richardson, R. K., & Ross-Murphy, S. B. (1989). Rheological studies of aqueous amylose gels: the effect of chain length and concentration on gel modulus. *Macromolecules,* 22(1), 346-351.

Collado, L. S., & Corke, H. (1999). Heat-moisture treatment effects on sweetpotato starches differing in amylose content *Food Chemisty,* 65, 339-346.

Decker, E. D., Kloots, W., & Amelsvoort, J. V. (1993). Resistant starch decreases serum total choleterol and triacylglycerol concentrations in rats. *Journal of Nutrition,* 123, 2142-2151.

Eerlingen, R. C., Broeck, I. V. D., Delcour, J. A., Slade, L., & Levine, H. (1994). Enzyme-resistant starch VI. Influence of sugars on resistant starch formation. *Cereal Chemistry ,,* 71, 472-476.

Eerlingen, R. C., Crombez, M., & Delcour, J. A. (1993). Enzyme-Resistant Starch. I. Quantitative and Qualitative Influence of Incubation Time and Temperature of Autoclaved Starch on Resistant Starch Formation. *Cereal Chemistry,* 70(3), 339-344.

Eerlingen, R. C., Deceuninck, M., & Delcour., J. A. (1993). Enzyme-Resistant Starch. II. Influence of Amylose Chain Length on Resistant Starch Formation. . *Cereal Chemistry,* 70(3), 345-350

Eerlingen, R. C., & Delcour, J. A. (1995). Formation,Analysis.Struction and Properties of type III Enzyme Resistant Starch. *Journal of Cereal Science,* 22, 129-138.

Englyst, H., & Cummings, J. (1987). Dietary fiber and resistant starch. *The American Journal of Clinical Nutrition,* 46, 873-874.

EURESTA. (1993). European Flair-concerted Action on Resistant Starch. In: Newsletter IV,. In (pp. p. 2.). Human Nutrition Department, Wageningen Agriculture University, Wageningen, The Netherlands (1993).

Food-info. (2012). **Starch** [On-line]. Avialable: http://www.food-info.net/uk/carbs/starch.htm Fox, J. D., & Robyt, J. F. (1992). Modification of starch granules by hydrolysis with hydrochloric acid in various alcohols, and the formation of new kinds of limit dextrins. *Carbohydrate Research*, 227(1), 163–170.

Fuentes-Zaragoza, E., Jiquelme-Navarrete, R., Sánchez-Zapata, E., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International* 43, 931-942.

Glore, S., Treeck, D. V., Knehans, A., & Guild, M. (1994). Soluble fiber and serum lipids: a literature review. . *Journal of the American Dietetic Association,* 94, 425-436.

Gunaratne, A., & 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, J.-A., & Lim, S.-T. (2009). Effect of Presoaking on Textural, Thermal, and Digestive Properties of Cooked Brown Rice. *Cereal Chemistry,* 86(1), 100-105.

Hassel, C. A. (1993). National implication of fat substitutes. *Cereal food world,* 38(3), 142-144.

Heijnen, M., Amelsvoort, J. V., Deurenberg, P., & Beynen, A. (1996). Neither raw nor retrograded resistant starch lowers fasting serum cholesterol concentrations in healthy normolipidemic subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition,* 64, 312-318.

Hernot, D. C., Boileau, T. W., Bauer, L. L., Swanson, K. S., & Fahey, G. C. (2008). In vitro digestion characteristics of unprocessed and processed whole grains and their components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 56(22), 10721-10726.

Hickman, B. E., Janaswamy, S., & Yao, Y. (2009). Autoclave and β-Amylolysis Lead to Reduced in Vitro Digestibility of Starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 57(15), 7005-7012.

Hizukuri, S. (1988). Recent Advances in Molecular Structure of Starch. *Journal of the Japanese Society of Starch Science,* 31, 185.

Hoover, R., & Vasanthan, T. (1994). The effect of annealing on the physicochemical properties of wheat, oat, potato and lentil starches. *Journal of Food Biochemistry*, 17(5), 303–325.

Htoon, A., Shrestha, A. K., Flanagan, B. M., Lopez-Rubio, A., Bird, A. R., Gilbert, E. P., et al. (2009). Effects of processing high amylose maize starches under controlled conditions on structural organisation and amylase digestibility. *Carbohydrate Polymers,* 75, 236-245.

Hylla, S., Gostner, A., Dusel, G., Anger, H., Bartram, H.-P., Christl, S. U., et al. (1998). Effects of resistant starch on the colon in healthy volunteers:possible implications for cancer prevention1–3. *The American Journal for Clinical Nutrition,* 67, 136-142

Hunter, J. G. & Cason, K. L. (2006). **Nutrient Claims on Food Labels** [On-line]. Avialable: http://www.clemson.edu/extension/hgic/food/nutrition/nutrition/dietary_guide/hgic4061.html

Jackson, K., Suter, D., & Topping, D. (1994). Oat bran, barley and malted barley lower plasma cholesterol relative to wheat bran but differ in their effects on liver cholesterol in rats fed diets with and without cholesterol. *Journal of Nutrition,* 124, 1678-1684.

Jacobs, H., Eerlingen, R. C., Rouseu, N., Colonna, P., & Delcour, J. A. (1998). Acid hydrolysis of native and annealed wheat, potato and pea starches. DSC melting features and chain length distribution of lintnerized starches. *Carbohydrate Research*, 308(3/4), 359–371.

Jeong, H.-Y., & Lim, S.-T. (2003). Crystallinity and pasting properties of freeze-thawed high amylose maize starch. *Starch/Staerke,* 55, 511-517.

Kim, J. H., Tanhehco, E. J., & 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., & 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.

Lim, S.-T., Chang, E.-H., & Chung, H. J. (2001). Thermal transition characteristics of heat-moisture treated corn and potato starches. *Carbohydrate Polymers,* 46, 107-115.

Lin, J. H., Lee, S. Y., & Chang, Y. H. (2003). Effect of acid-alcohol treatment on the molecular structure and physicochemical properties of maize and potato starches. *Carbohydrate Polymers*, 53(4), 475–482.

Lin, J. H., Lii, C.-Y., & Chang, J. H. (2005). Chang of granular and molecular structures of waxy maize and potato starch after treated in alcohols with or without hydrochloric acid. *Carbohydrate Polymers*, 59(4), 507– 515.

Lin, J. H., Wang, S. W., & Chang, Y. H. (2008). Effect of molecular size on gelatinization thermal properties before and after annealing of rice starch with different amylose contents. *Food Hydrocolloids*, 22(1), 156–163.

Lin, J. H., Wang, S. W., & Chang, Y. H. (2009). Impacts of acid-methanol treatment and annealing on the enzymatic resistance of corn starches. *Food Hydrocolloids*, 23, 1465–1472.

Lin, J.-H., Wang, S.-W., & Chang, Y.-H. (2009). Impacts of acid-methanol treatment and annealing on the enzymatic resistance of corn starches. *Food Hydrocolloids* 23 1465-1472.

Lintas, C., & Cappelloni, M. (1992). Effect of processing on legume resistant starch. *European Journal of Clinical Nutrition,* 46, s103-104.

Ma, W. P., & Robyt, J. F. (1987). Preparation and characterization of soluble starches having different molecular sizes and composition, by acid hydrolysis in different alcohols. *Carbohydrate Research*, 166(2), 283–297.

Miyazaki, M., & Morita, N. (2005). Effect of heat-moisture treated maize starch on the properties of dough and bread. *Food Research International,* 38 369-376.

Murray, S. M., Flickinger, E. A., Patil, A. R., Merchen, N. R., Brent, J. L., & Fahey, J. G. C. (2001). In vitro fermentation characteristics of native and processed cereal grains and potato starch using ileal chyme from dogs. *Journal of Animal Science,* 79 435-444.

Onyango, C., Bley, T., Jacob, A., Henle, T., & 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.

Perera, A., Meda, V., & Tyler, R. T. (2010). Resistant starch: A review of analytical protocols for determining resistant starch and of factors affecting the resistant starch content of foods. *Food Research International* 43, 1959-1974.

Raben, A., Tagliabue, A., Christensen, N. J., Madsen, J., Hoist, J. J., & Astrup, A. (1994). Resistant starch: the effect on postprandial glycemia,hormonal response, and satiety. *American Society for Clinical Nutrition,* 60, 544-551.

Ranhotra, G. S., Gelroth, J. A., & Glaser, B. K. (1996). Energy Value of Resistant Starch. *Journal of Food Science,* 61(2), 453-455.

Reader, D., Johnson, M., Hollander, P., & Franz, M. (1997). The glycemic and insulinemic response of resistant starch in a food bar vs. two commercially available food bars in persons with type II diabetes mellitus *Diabetes* 46 (1), 254A.

Reiser, S., Powell, A., Scholfield, D., Panda, P., Ellwood, K., & Canary, J. (1989). Blood lipids, lipoproteins, apoproteins, and uric acid in men fed diets containing frctose or high-amylose cornstarch. . *The American Journal of Clinical Nutrition,* 49(832-839).

Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant Starch—A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety,* 5(1), 1-17.

Scheppach, W., Bartram, H. P., & Richter, F. (1995). Role of Short-chain Fatty Acids in the of Colorectal Cancer Prevention *European Journal of Cancer,* 31*A*, 1077-1080.

Seow, C. C., & Vasanti-Nair, C. K. (1994). Sub-Tg annealing of granular rice starch: effects on enthalpy relaxation and starch-sucrose interaction. *Carbohydrate Research,* 261(2), 307–316.

Schoch, T. J., and Maywald, E. C. (1968). Preparation and properties of legume starch. *Cereal Chemistry*. 45, 564-573.

Shi, Y. C., Capitani, T., Trzasko, P., & Jeffcoat, R. J. (1998). Molecular structure of a lowamylopectin starch and other high-amylose maize starches. *Journal of Cereal Science,* 27(3), 289–299.

Szczodrak, J., & Pomeranz, Y. (1992). Starch-Lipid Interactions and Formation of Resistant Starch in High-Amylose Barley. *Cereal Chemistry,* 69, 626-632

Szymonska, J., Krok, F., Czepirska, E. K.-., & bilas, K. R. (2003). Modification of granular potato starch by multiple deep-freezing and thawing. *Carbohydrate Polymers,* 52, 1-10.

Szymonska, J., Krok, F., & Tomasik, P. (2000). Deep-freezing of potato starch. International *Journal of Biological Macromolecules,* 27, 307-314.

Szymonska, J., & Wodnicka, K. (2005). Effect of multiple freezing and thawing on the surface and functional properties of granular potato starch *Food Hydrocolloids,* 19, 753-760.

Takaya, T., Sano, C., & Nishinari, K. (2000). Thermal studies on the gelatinisation and retrogradation of heat-moisture treated starch. *Carbohydrate Polymers,* 41, 97-100.

Tester, R. F., Debon, S. J. J., & Sommerville, M. D. (2000). Annealing of maize starch. *Carbohydrate Polymers*, 42(3), 287–299.

Topping, D. L., Fukushima, M., & Bird, A. R. (2003). Resistant starch as a prebiotic and synbiotic: state of the art. *Proceedings of the Nutrition Society,* 62(01), 171-176.

Wang, L., Yin, Z., Wu, J., Sun, Z., & Xie, B. (2008). A study on freeze-thaw characteristics and microstructure of Chinese water chestnut starch gels. *Journal of Food Engineering,* 88(2), 186-192.

Wikipedia. (2012). **Dextrin** [On-line]. Avialable: http://en.wikipedia.org/wiki/Dextrin

Yue, P., & Waring, S. (1998). Resistant Starch in Food Applications. *Cereal Foods World,* 43(9), 690-695.

Zamora, A. (2013). **Carbohydrates - Chemical Structure** [On-line]. Avialable: http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates1.html

Zhao, X.-H., & Lin, Y. (2009). Resistant starch prepared from high-amylose maize starch with citric acid hydrolysis and its simulated fermentation in vitro. *European Food Research and Technology* 228, 1015-1021.

กล้าณรงค์ ศรีรอต, กาญจนา กู้โรจนวงศ์ และวิไล สันติโสภาศรี (2541). **โครงสร้างของอะมิโลส อะมิโลเพคตินและคุณสมบัติของแป้งมันสำปะหลัง ที่สกัดได้จากเกษตรศาสตร์ 50 ในอายุการเก็บเกี่ยวต่าง ๆ กัน.** การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36 บทคัดย่อ 3-5 กุมภาพันธ์ 2541.

กล้าณรงค์ ศรีรอต และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. **เทคโนโลยีของแป้ง.** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546

มาโนชญ์ สุธีรวัฒนานนท์ และ ปิยะมาศ มหาบุญญานนท์ (2546). **กรรมวิธีการผลิตพาสต้าข้าวเจ้า.** เอกสารยื่นคำขอรับสิทธิบัตรเลขที่ 079468 (0301000148) เลขที่รายการจดทะเบียน 21124.

รศ.ดร.ดุษฎี อุตภาพ (2548). **เทคโนโลยีของคาร์โบไฮเดรท.** เอกสารประกอบการเรียนการสอนในหลักสูตรระดับบัณ-ฑิตศึกษาของสายวิชาเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพ และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี [ออนไลน์]. ได้จาก: http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/subject.html

สายสนม ประดิษฐ์ดวง.2541. อาหารป้องกันโรค: Resistant starches.อุตสาหกรรมเกษตร.9 (3): 33-35, 2004.

สุพิศา สมโต, (2547). **คุณลักษณะทางกายภาพและเคมี และความคงตัวของข้าวไทยที่มีรงควัตถุ**. วิทยานิพนธ์ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิยาลัยศิลปกร [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.thapra.lib.su.ac.th/objects/thesis/ fulltext/ snamcn/SupisaSomto/Fulltext.pdf

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก ก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้ง

การหาปริมาณความชื้น (AOAC 1997) วิธี Air oven method

<u>วัสดุ/อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. Aluminum moisture can
2. ตู้อบ (Drying oven 100-105 °C)
3. ตู้ดูดความชื้น (Desiccators)
4. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. อบ Aluminium moisture can ในตู้อบอุณหภูมิ 100-130 °C ประมาณ 20-30 นาทีแล้วนำมาใส่ในตู้ดูดความชื้น
2. เขียนสัญลักษณ์หรือหมายเลขไว้ที่ด้านข้างของ Aluminium moisture can
3. ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของ Aluminium moisture can (ทุกขั้นตอนควรมีที่จับหรือใส่ถุงมือเวลาจับ <u>ไม่ควรใช้มือจับ</u> เพราะผลที่ได้อาจจะคลาดเคลื่อนได้ เนื่องจากไขมันและความชื้นจากมือ)
4. ชั่งแป้งด้วยเครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่งประมาณ 5 g ใส่ลงใน Aluminium moisture can
5. นำ Aluminium moisture can ที่ใส่ตัวอย่างแล้ว ไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 100-105°C เป็นเวลาประมาณ 2-3 ชั่วโมง
6. นำตัวอย่างออกมาจากตู้อบและปล่อยให้เย็นในตู้ดูดความชื้น แล้วทำการชั่งหาน้ำหนัก
7. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น
8. ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักภาชนะรวมน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}) - (\text{น้ำหนักภาชนะรวมน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{(\text{น้ำหนักภาชนะรวมน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ)}} \times 100$$

วิธีวิเคราะห์ปริมาณอะไมโลส

ทำตามวิธี Colorimetric assay ของ Julino (1971) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตรมิเตอร์ โดยใช้ potato amylase ในการสร้างกราฟมาตรฐานการหาปริมาณอะไมโลส

วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ชั่งแป้ง 1.0000 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตรที่แห้งสนิท

2. เติมเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ

3. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซม์ความเข้มข้น 2 นอร์มัล ปริมาตร 9 มิลลิลิตร

4. กวนสารละลาย 10 นาที แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

5. เตรียมขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตรชุดใหม่ เติมน้ำกลั่นประมาณ 70 มิลลิลิตร เติมกลาเซียลอะซีติกแอซิดปริมาตร 2 มิลลิลิตร และเติมสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร (ไอโอดีน 0.2 กรัมและโปรแตสเซียมอโอไดด์ 2.0 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น)

6. ดูดน้ำแป้งจากข้อ 4 ด้วยปิเปต ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น และตั้งทิ้งไว้ 10 นาที

7. วัดความเข้มสีของสารละลายตามข้อ 6 ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์โดยอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 620 นาโนเมตร หลังปรับเครื่องด้วย blank ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0 (ศูนย์)

8.ทำ blank โดยเติมกลาเซียลอะซีติกแอซิด ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

9. คำนวณหาปริมาณอะไมโลสโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานที่เตรียมได้

<u>การสร้างกราฟมาตรฐาน</u>

1. ชั่งอะไมโลสบริสุทธิ์ 0.0400 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตรที่แห้งสนิทแล้วดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 3-4 ได้เป็นสารละลายมาตรฐาน
2. เตรียมขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร จำนวน 5 ขวด เติมน้ำกลั่นขวดละ 70 มิลลิลิตร เติมกลาเซียลอะซีติกแอซิดปริมาตร 0.4 มิลลิลิตรในขวดที่ 1 ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตรในขวดที่ 2 ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตรในขวดที่ 3 ปริมาตร 1.6 มิลลิลิตรในขวดที่ 4 ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตรในขวดที่ 5 แล้วเติมสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตรลงในแต่ละขวด
3. ดูดสารละลายมาตรฐานจากข้อ 1 ปริมาตร 1 2 3 4 และ 5 มิลลิลิตร ซึ่งเทียบเท่าปริมาณอะไมโลส 8% ,16%, 24%ม 35% และ 40% ตามลำดับ ใส่ในขวดที่เตรียมไว้ในข้อ 2 เติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร
4. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับปริมาณอะไมโลสในสารละลายมาตรฐานจากข้อ 3 มาเขียนเป็นเส้นกราฟมาตรฐาน

5. นำกราฟมาตรฐานที่ได้จากข้อ 4 มาใช้แปลงค่าการดูดกลืนแสงให้เป็นร้อยละ(โดยน้ำหนัก) ของอะไมโลสในตัวอย่างที่ต้องการศึกษา

การวิเคราะห์ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS) ตามวิธี I.Goni Method (1996)

1. สารเคมี

KCl - HCl buffer, pH 1.5

0.1 M This- maleate buffee, pH 6.9

0.1 M HOH

0.4 M acetate buffer, pH 4.75

2 M HCl

Pepsis (Merck No.7190, 2000 FIT-u/G)

Pancreatic a-amylase (Sigma A-3176)

Amyloglucosidase (Boeringer Mannheim No.102857)

Glucose oxidase- peroxidase kit (GOD/PAP, Boeringer Mannheim No.676543)

2.วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

1) ชั่งตัวอย่างแป้ง 100 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งใส่ลงในหลอด Centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม KCl-HCl buffer, pH 1.5 จำนวน 10 มิลลิลิตร

2) เติมสารละลาย pepsin 0.2 มิลลิลิตร (1g pepsin/10 ml buffer KCl-HCl) ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปใส่ใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 40องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที ด้วยอัตราเร็วในการเขย่าคงที่

3) นำตัวอย่างออกจาก Water bath และทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากกนั้นเติม 0.1 M Tris-maleate buffer, pH 6.9 จำนวน 9 มิลลิลิตร (ปรับ ด้วย 2M HCl หรือ 0.5M NaOH ถ้าจำเป็น)

4) เติม 1 มิลลิลิตรของสารละลาย α-amylase (40 mg α-amylase/ ml Tris-maleate buffer) ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 37องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ด้วยอัตราเร็วในการเขย่าคงที่

5) นำตัวอย่างปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000xg เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสด้านบนทิ้ง และล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่น จำนวน 10 มิลลิลิตรอย่างน้อย 1 ครั้ง จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยง ทิ้งส่วนใสด้านบน และเก็บส่วนที่เป็นตะกอน

6) เติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตรในหลอดที่มีตะกอน และเติม 4M KOH 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และเก็บที่อุณภูมิห้อง นาน 30 นาที ด้วยอัตราเร็วในการเขย่าคงที่

7) เติม 2M HCl ประมาณ 5.5 มิลลิลิตร และ 0.4M sodium acetate buffer, pH 4.75 (ปรับด้วย 2M HCl หรือ 0.5M NaOH ถ้าจำเป็น)

8) เติม amyloglucosidase 80ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปใส่ใน shaking water bath ที่อุณหภูมิ 60องศาเซลเซียสเป็นเวลา 45 นาที ด้วยอัตราเร็วในการเขย่าคงที่

9) นำตัวอย่างปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000g เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสด้านบนใส่ใน volumetric flask ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นจำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วปั่นเหวี่ยงซ้ำอีกอย่างน้อย 1 ครั้ง เก็บส่วนใสรวมกัน และปรับปริมาตรให้เป็น 25-1000 มิลลิลิตร ขึ้นกับปริมาณ RS ในตัวอย่าง

10) เตรียมกราฟมาตรฐานจากสารละลายกลูโคส 10 – 60 ppm

11) ปิเปตน้ำกลั่น สารละลายตัวอย่าง และ glucose standard solution 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติม DOD-PAP 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปใส่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 37องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที

12) อ่านค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร ใช้น้ำกลั่นในการทำ blank การอ่านค่าการดูดกลืนแสงต้องทำระหว่าง 5-45 นาทีหลังจากการบ่ม

13) คำนวณความเข้มข้นของกลูโคสในตัวอย่างจากกราฟมาตรฐาน

14) ความเข้มข้นของ Resistant starch ของตัวอย่างจากความเข้มข้นของกลูโคส X 0.9

การวิเคราะห์ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS) โดยใช้ Megazyme® kit (AOAC Method 2002.02)

1.สารเคมี

0.1 M Sodium maleate buffer, pH 6.0

1.2 M Sodium acetate buffer, pH 3.8

0.1 M Sodium acetate buffer, pH 4.5

2M KOH

50%(v/v) Ethanol

Amyloglucosidase, 3300U/ml (Megazyme® kit)

Pancreatic α -amylase,3 Cerapha Units/mg(Megazyme® kit)

GOPOD reagent (Megazyme® kit)

D-Glucose standard solution (Megazyme® kit)

Resistant starch control (Megazyme® kit)

2.วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่างแป้ง 100 ± 5 มิลลิกรัม ใส่ในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร

2. เติมเอนไซม์ผสมระหว่าง Pancreatic α-amylase และ AMG (3U/ml) 4 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอด

3. นำไปบ่มใน Shaking water bath ที่อุณหภูมิ 37องศาเซลเซียส นาน 16 ชั่วโมง (โดยวางหลอดในแนวขนานกับการเคลื่อนที่)

4. เติมเอทานอล 99 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา (ผสมสารให้เข้ากันดีโดยใช้ Vortex mixer) ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1500 g (ประมาณ 3000 rpm) เป็นเวลา 10 นาที

5. ถ่ายของเหลวส่วนใสจากหลอดเดิมใส่อีกหลอดอย่างระมัดระวัง

6. เติมเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในส่วนของตะกอน ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex mixer แล้วเติม เอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรอีก 6 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1500 g (ประมาณ 3000 rpm) เป็นเวลา 10 นาที ทำซ้ำอีกครั้ง

7. ใส่ magnetic bar ลงในหลอดที่มีตะกอน และเติมสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด ผสมให้เข้ากันโดยวางในถาดน้ำตั้งบน magnetic sterrer และกวน 20 นาที

8. เติม โซเดียมอะซิเตต บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 1.2 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด - ด่าง 3.8 ปริมาตร 8 มิลลิลิตรลงในแต่ละหลอด

9.เติมเอนไซม์ Amyloglucosidase (3300 U/ml) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี

10. บ่มใน Water bath ที่อุณหภูมิ 30องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

11.(สำหรับตัวอย่างที่มีปริมาณ RS มากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์) นำสารละลายที่ออกจาก water bath ถ่ายสารละลายลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร กลั้วล้างหลอดและ magnetic bar ด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรสารละลายให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1500 g (ประมาณ 3000 rpm) เป็นเวลา 10 นาที

12.(สำหรับตัวอย่างที่มีปริมาณ RS น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์) นำสารละลายที่ออกจาก water bath ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1500 g (ประมาณ 3000 rpm) เป็นเวลา 10 นาที (ไม่ต้องทำการเจือจางสารละลาย) โดยปริมาตรสุดท้ายจะเป็น 10.3 มิลลิลิตร

13.ดูดสารละลายที่ได้จากข้อ 11 หรือ ข้อ 12 (ตามเปอร์เซ็นต์ของ RS) มา 0.1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง เติม GOPOD reagent 3 มิลลิลิตร บ่มใน water bath ที่ 50องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

14. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายในแต่ละหลอดที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

15.คำนวณปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (RS) ตามสูตร

ปริมาณ RS (กรัม/ 100 กรัมตัวอย่าง) = $\triangle E \times F/W \times 162/180$

เมื่อ $\triangle E$ = ค่าการดูดกลืนแสง

F = ปริมาณกลูโคสที่วิเคราะห์ได้

W = น้ำหนักแห้งของตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์ (กรัม)

162/180 = แฟกเตอร์สำหรับเปลี่ยน free D-glucose เป็น anhydro-glucose

ภาคผนวก ข

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 13 ค่าการวิเคราะห์ RVA ของตัวอย่างแป้งดิบ

sample		Peak viscosity (RVU)	Trough (RVU)	Break down (RVU)	Final Viscosity (RVU)	Set back	Passing temp (องศาเซลเซียส)
แป้งข้าวโพด	1	143.17	100.33	42.83	146.08	45.75	79.15
	2	145.42	101.58	43.83	148.58	47.00	78.40
	3	142.83	101.00	41.83	145.42	44.42	79.20
	Ave.	**143.81**	**100.97**	**42.83**	**146.69**	**45.72**	**78.92**
	SD	1.41	0.63	1.00	1.67	1.29	0.45
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	1	278.83	134.25	144.58	192.25	58.66	70.30
	2	279.17	127.25	151.92	193.25	60.75	71.15
	3	282.67	130.42	152.25	191.17	66.00	71.10
	Ave.	**280.22**	**130.64**	**149.58**	**192.22**	**61.80**	**70.85**
	SD	2.13	3.51	4.34	1.04	3.78	0.48
แป้งมันสำปะหลัง	1	264.17	107.58	156.58	164.67	57.08	71.10
	2	260.17	107.00	153.67	165.42	58.42	70.25
	3	265.67	106.08	159.58	170.33	64.25	71.10
	Ave.	**263.34**	**106.89**	**156.61**	**166.81**	**59.92**	**70.82**
	SD	2.84	0.76	2.96	3.07	3.81	0.49
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	1	81.00	70.42	10.58	158.67	88.25	89.65
	2	133.92	102.67	31.25	188.25	85.58	81.55
	3	132.08	94.17	37.92	198.83	104.67	80.75
	Ave.	**115.67**	**89.08**	**26.58**	**181.92**	**92.83**	**83.98**
	SD	30.04	16.72	14.25	20.82	10.33	4.92
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	1	149.25	115.75	33.50	242.33	126.58	84.80
	2	154.17	117.50	36.67	248.33	130.83	83.25
	3	150.25	110.25	40.00	249.42	139.17	85.65
	Ave.	**151.22**	**114.50**	**36.72**	**246.69**	**132.19**	**84.57**
	SD	2.60	3.78	3.25	3.82	6.40	1.22

ตารางที่ 14 ปริมาณอะไมโลส (% dry basis) ของตัวอย่างแป้งเริ่มต้น

ตัวอย่างแป้ง		น้ำหนักแป้งในสารละลาย 100ml กรัม	ค่า Absorbance 610 nm					เปอร์เซ็นต์อะไมโลส dry basis				
			1	2	3	Ave.	SD	1	2	3	Ave.	SD
แป้งข้าวโพด	1	0.1000	0.546	0.546	0.546	0.546	0.000	50.959	50.959	50.595	50.838	0.210
	2	0.1000	0.545	0.545	0.545	0.545	0.000	50.856	50.907	50.907	50.890	0.029
	3	0.1000	0.544	0.544	0.544	0.544	0.000	50.753	50.804	50.804	50.787	0.029
เฉลี่ย											**50.838**	
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	1	0.1001	0.449	0.449	0.449	0.449	0.000	41.000	41.000	41.000	41.000	0.000
	2	0.1001	0.450	0.450	0.450	0.45	0.000	41.103	41.103	41.103	41.103	0.000
	3	0.1001	0.452	0.452	0.452	0.452	0.000	41.309	41.309	41.309	41.309	0.000
เฉลี่ย											**41.137**	
แป้งมันสำปะหลัง	1	0.0999	0.454	0.454	0.454	0.454	0.000	41.433	41.433	41.433	41.433	0.000
	2	0.0999	0.450	0.450	0.450	0.45	0.000	41.021	41.021	41.021	41.021	0.000
	3	0.0999	0.456	0.456	0.456	0.456	0.000	41.639	41.639	41.639	41.639	0.000
เฉลี่ย											**41.364**	
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	1	0.0999	0.491	0.491	0.491	0.491	0.000	45.243	45.243	45.243	45.243	0.000
	2	0.0999	0.488	0.488	0.488	0.488	0.000	44.934	44.934	44.934	44.934	0.000
	3	0.0999	0.486	0.486	0.486	0.486	0.000	44.728	44.728	44.728	44.728	0.000
เฉลี่ย											**44.968**	
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	1	0.0999	0.457	0.458	0.457	0.457	0.001	41.742	41.845	41.742	41.776	0.059
	2	0.0999	0.455	0.455	0.455	0.455	0.000	41.536	41.536	41.577	41.550	0.024
	3	0.0999	0.458	0.457	0.457	0.457	0.001	41.845	41.742	41.681	41.756	0.083
เฉลี่ย											**41.694**	

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 15 แป้งก่อนการเพิ่มปริมาณ Resistant starch ด้วยวิธี Autoclave และ Incubate

ตัวอย่างแป้ง	จำนวนซ้ำ	ค่า Absorbance (500 nm)	ปริมาณสารละลายกลูโคส		ปริมาณ Resistant starch
			mg glucose/ml ตัวอย่าง	mg/25 ml ตัวอย่าง/100 mg ตัวอย่าง(dry basis)	mg glucose/100 mg ตัวอย่าง dry basis
แป้งข้าวโพด	1	0.627	0.054	1.346	1.211
	2	0.626	0.053	1.345	1.211
	3	0.627	0.053	1.348	1.212
	เฉลี่ย	**0.627**	**0.053**	**1.346**	**1.211**
	SD	0.000	0.000	0.002	0.001
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	1	0.622	0.053	1.329	1.195
	2	0.621	0.053	1.334	1.201
	3	0.619	0.053	1.330	1.197
	เฉลี่ย	**0.621**	**0.053**	**1.331**	**1.198**
	SD	0.001	0.000	0.003	0.003
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	1	0.648	0.056	1.393	1.253
	2	0.646	0.056	1.388	1.249
	3	0.645	0.055	1.385	1.246
	เฉลี่ย	**0.646**	**0.056**	**1.389**	**1.250**
	SD	0.002	0.000	0.004	0.004
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	1	0.657	0.056	1.412	1.237
	2	0.662	0.057	1.422	1.280
	3	0.660	0.057	1.417	1.276
	เฉลี่ย	**0.659**	**0.057**	**1.417**	**1.264**
	SD	0.002	0.000	0.005	0.024
แป้งมันสำปะหลัง	1	0.582	0.050	1.249	1.124
	2	0.580	0.050	1.244	1.120
	3	0.561	0.050	1.239	1.116
	เฉลี่ย	**0.574**	**0.050**	**1.244**	**1.120**
	SD	0.012	0.000	0.005	0.004
แป้ง Hylon VII	1	0.639	0.055	1.374	1.236
	2	0.641	0.055	1.377	1.240
	3	0.643	0.055	1.384	1.244
	เฉลี่ย	**0.641**	**0.055**	**1.378**	**1.240**
	SD	0.002	0.000	0.005	0.004

ตารางที่ 16 แป้งหลังกระบวนการเพิ่มปริมาณ Resistant starch ด้วยวิธี Autoclave และ Incubate

ตัวอย่างแป้ง	จำนวนซ้ำ	ค่า Absorbance	ปริมาณสารละลายกลูโคส		ปริมาณ Resistant starch
		500 nm	mg glucose/ml ตัวอย่าง	mg/25 ml ตัวอย่าง/100 mg ตัวอย่าง(dry basis)	mg glucose/100 mg ตัวอย่าง dry basis
แป้งข้าวโพด	1	0.585	0.050	1.256	1.130
	2	0.584	0.050	1.254	1.128
	3	0.585	0.050	1.256	1.130
	เฉลี่ย	**0.585**	**0.050**	**1.255**	**1.129**
	SD	0.001	0.000	0.001	0.001
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	1	0.648	0.056	1.392	1.255
	2	0.650	0.056	1.396	1.257
	3	0.657	0.056	1.412	1.270
	เฉลี่ย	**0.652**	**0.056**	**1.400**	**1.261**
	SD	0.005	0.000	0.011	0.008
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	1	0.626	0.054	1.345	1.210
	2	0.621	0.053	1.334	1.200
	3	0.624	0.054	1.340	1.206
	เฉลี่ย	**0.624**	**0.054**	**1.340**	**1.205**
	SD	0.003	0.001	0.006	0.005
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	1	0.646	0.056	1.388	1.249
	2	0.666	0.057	1.431	1.288
	3	0.657	0.056	1.412	1.270
	เฉลี่ย	**0.656**	**0.056**	**1.410**	**1.269**
	SD	0.010	0.001	0.022	0.020
แป้งมันสำปะหลัง	1	0.650	0.056	1.396	1.257
	2	0.630	0.054	1.353	1.218
	3	0.642	0.055	1.379	1.247
	เฉลี่ย	**0.641**	**0.055**	**1.376**	**1.241**
	SD	0.010	0.001	0.020	
แป้ง Hylon VII	1	0.567	0.049	1.247	1.095
	2	0.581	0.050	1.247	1.122
	3	0.575	0.049	1.234	1.111
	เฉลี่ย	**0.574**	**0.049**	**1.243**	**1.109**
	SD	0.007	0.001	0.008	0.014

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 17 ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธี Freeze- Thaw ของตัวอย่างแป้งเริ่มต้น

ตัวอย่างแป้ง	Absorbance (nm)					ปริมาณสารละลายกลูโคส (mg/ml)					ปริมาณสารละลายกลูโคส (mg/25ml/100mg ตัวอย่าง)					ปริมาณแป้งต้านทานการย่อย (g/100 g ตัวอย่าง)				
	1	2	3	Ave.	SD	1	2	3	Ave.	SD	1	2	3	Ave.	SD	1	2	3	Ave.	SD
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	0.773	0.946	0.638	0.786	0.154	0.066	0.081	0.054	0.067	0.014	1.662	2.036	1.370	1.689	0.334	1.495	1.832	1.233	1.520	0.300
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	0.725	0.764	0.728	0.739	0.022	0.062	0.065	0.063	0.063	0.002	1.558	1.643	1.565	1.589	0.047	1.402	1.408	1.429	1.413	0.014
แป้งมันสำปะหลัง	0.771	0.772	0.781	0.775	0.006	0.066	0.066	0.067	0.066	0.001	1.658	1.660	1.679	1.666	0.012	1.492	1.494	1.511	1.499	0.010
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	0.988	0.95	0.689	0.876	0.163	0.085	0.081	0.059	0.075	0.014	2.127	2.045	1.480	1.884	0.352	1.915	1.841	1.322	1.693	0.323
แป้งข้าวโพด	1.074	1.065	1.077	1.072	0.006	0.092	0.091	0.092	0.092	0.001	2.320	2.313	2.294	2.309	0.013	2.088	2.081	2.064	2.078	0.012

ตารางที่ 18 ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธี Freeze- Thaw ของตัวอย่างในcycle ที่ 1

ตัวอย่างแป้ง	Absorbance (nm)					ปริมาณสารละลายกลูโคส mg/ml					ปริมาณสารละลายกลูโคส mg/25ml/100mg ตัวอย่าง					ปริมาณแป้งต้านทานการย่อย g/100 g ตัวอย่าง				
	1	2	3	Ave.	SD	1	2	3	Ave.	SD	1	2	3	Ave.	SD	1	2	3	Ave.	SD
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	1.241	1.133	1.185	1.186	0.054	0.107	0.097	0.102	0.102	0.005	2.675	2.441	2.554	2.557	0.117	2.407	2.197	2.298	2.301	0.105
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	1.137	1.164	1.236	1.179	0.051	0.098	0.100	0.106	0.101	0.004	2.450	2.508	2.664	2.541	0.111	2.205	2.257	2.398	2.287	0.100
แป้งมันสำปะหลัง	1.188	1.151	1.051	1.130	0.071	0.102	0.099	0.090	0.097	0.006	2.560	2.480	2.264	2.435	0.153	2.304	2.232	2.037	2.191	0.138
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	1.196	1.202	1.198	1.199	0.003	0.103	0.103	0.103	0.103	0.000	2.577	2.590	2.582	2.583	0.007	2.32	2.331	2.324	2.325	0.006
แป้งข้าวโพด	1.312	1.152	1.179	1.214	0.086	0.113	0.099	0.101	0.104	0.008	2.828	2.482	2.541	2.617	0.185	2.546	2.234	2.287	2.356	0.167

ตารางที่ 19 ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธี Freeze- Thaw ของตัวอย่างในcycle ที่ 2

ตัวอย่างแป้ง	Absorbance (nm)					ปริมาณสารละลายกลูโคส mg/ml					ปริมาณสารละลายกลูโคส mg/25ml/100mg ตัวอย่าง					ปริมาณแป้งต้านทานการย่อย g/100 g ตัวอย่าง				
	1	2	3	Ave.	SD	1	2	3	Ave.	SD	1	2	3	Ave.	SD	1	2	3	Ave.	SD
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	0.437	0.39	0.472	0.433	0.041	0.037	0.033	0.040	0.037	0.004	0.935	0.833	1.011	0.926	0.089	0.842	0.750	0.910	0.834	0.080
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	0.376	0.323	0.355	0.351	0.027	0.032	0.027	0.030	0.030	0.003	0.803	0.688	0.758	0.750	0.058	0.723	0.620	0.682	0.675	0.052
แป้งมันสำปะหลัง	0.452	0.445	0.383	0.427	0.038	0.038	0.038	0.032	0.036	0.003	0.968	0.952	0.818	0.913	0.082	0.871	0.857	0.736	0.821	0.074
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	0.435	0.43	0.45	0.438	0.010	0.037	0.036	0.038	0.037	0.001	0.931	0.920	0.963	0.938	0.022	0.838	0.828	0.867	0.844	0.020
แป้งข้าวโพด	0.905	0.407	0.421	0.578	0.284	0.036	0.077	0.034	0.049	0.024	1.948	0.870	0.900	1.239	0.614	1.753	0.783	0.810	1.115	0.552

ตารางที่ 20 ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ตามวิธี Freeze- Thaw ของตัวอย่างในcycle ที่ 3

ตัวอย่างแป้ง	Absorbance (nm)					ปริมาณสารละลายกลูโคส mg/ml					ปริมาณสารละลายกลูโคส mg/25ml/100mg ตัวอย่าง					ปริมาณแป้งต้านทานการย่อย g/100 g ตัวอย่าง				
	1	2	3	Ave.	SD	1	2	3	Ave.	SD	1	2	3	Ave.	SD	1	2	3	Ave.	SD
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	0.622	0.618	0.638	0.626	0.011	0.053	0.053	0.054	0.053	0.001	1.335	1.327	1.37	1.344	0.023	1.202	1.194	1.233	1.210	0.021
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	0.558	0.559	0.572	0.563	0.008	0.047	0.047	0.049	0.048	0.001	1.197	1.199	1.227	1.208	0.017	1.077	1.079	1.104	1.087	0.015
แป้งมันสำปะหลัง	0.636	0.598	0.522	0.585	0.058	0.054	0.051	0.044	0.050	0.005	1.366	1.283	1.119	1.256	0.126	1.229	1.155	1.007	1.130	0.113
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	0.497	0.500	0.482	0.493	0.010	0.042	0.042	0.041	0.042	0.001	1.065	1.071	1.032	1.056	0.021	0.958	0.964	0.929	0.950	0.019
แป้งข้าวโพด	0.550	0.552	0.581	0.561	0.017	0.047	0.047	0.049	0.048	0.001	1.180	1.184	1.247	1.204	0.038	1.062	1.065	1.122	1.083	0.034

ตารางที่ 21 แสดงปริมาณของแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ของแป้งดิบก่อนการเพิ่มปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยวิธี Acid-methanol และ annealing

ตัวอย่างแป้งเริ่มต้น	ปริมาณ resistant starch (g/100g dry weight)				
	1	2	3	Ave.	SD
Resistant starch control	50.291	52.584	53.72	52.198	1.747
Hylon VII	43.599	43.777	43.107	43.494	0.347
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	1.952	2.332	1.512	1.932	0.410
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	1.828	2.273	1.754	1.952	0.281
แป้งข้าวโพด	1.273	1.280	1.677	1.410	0.232
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	1.065	0.936	0.923	0.975	0.079
แป้งมันสำปะหลัง	5.467	6.227	5.684	5.793	0.391

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 22 ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ที่เพิ่มตามวิธี Acid-methanol และ annealing

ตัวอย่างแป้งเริ่มต้น	acid-methanol (day)	ปริมาณ resistant starch (g/100g dry weight)				
		1	2	3	Ave.	SD
แป้งข้าวเจ้าโม่แห้ง	เริ่มต้น	1.952	2.332	1.512	1.932	0.410
	1	1.515	2.279	1.677	1.824	0.403
	3	2.042	1.411	1.93	1.794	0.337
	7	2.844	2.625	2.967	2.812	0.173
	15	6.951	6.867	6.635	6.818	0.164
แป้งข้าวเจ้าโม่เปียก	เริ่มต้น	1.828	2.273	1.754	1.952	0.281
	1	3.794	4.207	4.147	4.049	0.223
	3	7.255	7.246	7.063	7.188	0.108
	7	16.446	16.366	16.127	16.313	0.166
	15	30.379	31.309	30.276	30.654	0.569
แป้งข้าวโพด	เริ่มต้น	1.273	1.280	1.677	1.410	0.232
	1	1.677	1.661	1.543	1.627	0.073
	3	1.676	2.104	1.742	1.841	0.23
	7	2.846	2.837	2.636	2.773	0.119
	15	8.105	9.346	8.918	8.79	0.63
แป้งมันสำปะหลังดัดแปร	เริ่มต้น	1.065	0.936	0.923	0.975	0.079
	1	3.957	3.471	3.923	3.784	0.271
	3	5.789	5.757	5.34	5.629	0.25
	7	10.927	14.182	17.619	14.243	3.346
	15	19.973	18.111	14.9	17.661	2.566
แป้งมันสำปะหลัง	เริ่มต้น	5.467	6.227	5.684	5.793	0.391
	1	5.892	7.585	7.71	7.063	1.015
	3	7.607	7.512	7.889	7.669	0.196
	7	17.882	15.469	15.014	16.122	1.542
	15	30.921	28.274	23.196	27.464	3.926

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

กระบวนอัดพอง

ตารางที่ 23 ปริมาณ RS ของผลิตพาสต้า

ตัวอย่างพาสต้า	ก่อนต้ม					หลังต้ม				
	ปริมาณ resistant starch (g/100g dry weight)					ปริมาณ resistant starch (g/100g dry weight)				
	1	2	3	Ave.	SD	1	2	3	Ave.	SD
Bestfood	1.432	1.41	1.452	1.431	0.021	1.051	1.269	1.460	1.260	0.205
Agneci	2.079	1.852	1.402	1.778	0.344	0.750	1.009	0.944	0.901	0.135
Gallo	1.972	1.726	1.495	1.731	0.239	1.127	0.694	1.046	0.956	0.230
สปาเก็ตตี้ข้าวเจ้า	1.803	1.918	1.845	1.824	0.058	0.851	0.872	0.831	0.851	0.020
มักกะโรนีข้าวเจ้า	1.57	1.065	1.472	1.318	0.268	1.513	0.755	1.792	1.353	0.536

ตารางที่ 24 ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยด้วยเอนไซม์ (Resistant starch) ของลิมิตเดกซ์ตรินและผลิตภัณฑ์พาสต้า

ตัวอย่างพาสต้า	ก่อนต้ม					หลังต้ม				
	ปริมาณ resistant starch (g/100g dry weight)					ปริมาณ resistant starch (g/100g dry weight)				
	1	2	3	Ave.	SD	1	2	3	Ave.	SD
2%	0.616	0.657	0.676	0.650	0.031	0.490	0.454	0.617	0.520	0.086
4%	0.761	0.655	0.867	0.761	0.106	0.581	0.507	0.513	0.533	0.041
6%	0.968	1.078	1.072	1.039	0.062	0.724	0.868	0.855	0.816	0.079
8%	1.678	1.064	1.092	1.278	0.347	0.784	1.388	0.973	1.048	0.309
10%	1.951	2.096	1.878	1.975	0.111	1.417	1.902	1.247	1.522	0.340

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) นายมาโนชญ์ สุธีรวัฒนานนท์

(ภาษาอังกฤษ) Mr. Manote Sutheerawattananonda

2. **ตำแหน่งปัจจุบัน** รองศาสตราจารย์

3. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000
โทรศัพท์/โทรสาร 044-224-230/044-224-150
E-mail : msutheera@yahoo.com

4. ประวัติการศึกษา

ปริญญา	สาขาวิชา	มหาวิทยาลัย	ปี	หัวข้อวิทยานิพนธ์
Post-doc	Food Science	University of Minnesota	2542	UF Cheddar cheese
Ph.D.	Food Science	University of Minnesota	2541	Physicochemical properties of process cheese: Influence on meltability
MS	Food Science	University of Minnesota	2537	Physical properties and microstructure of extruded wheat
BS	Food Technology	Oregon State University	2534	-
ปริญญาตรี	สาธารณสุขศาสตร์	ม. มหิดล	2531	

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ ระบุสาขาวิชาการ

Physicochemical properties of food, Food Microstructure, Food Processing, Foods for health and beauty, Biopolymers

6. งานวิจัย

6.1 งานวิจัยที่กำลังทำ

6.1.1 การศึกษาการผลิตไหมครบวงจรแบบไม่เบียดเบียนและวัสดุพลอยได้สำหรับอาหารเสริมและเครื่องสำอาง (Study of complete production cycle of humane silk and its byproducts for food supplement and cosmetics) (ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี) แหล่งทุน สำนักงานวิจัยการเกษตร

6.1.2 การผลิตกลูโคซามีนภายใต้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับเป็นวัตถุดิบอาหารจากผลผลิตพลอยได้จากไหมและเห็ด (Optimizing production of glucosamine as food ingredient from silk byproducts and mushrooms) แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6.1.3 การผลิตและลักษณะคุณสมบัติของอนุภาคไมโคร-นาโนไฟโบรอินจากไหมสำหรับห่อหุ้มสารอาหาร (Production and characterization of silk fibroin micro-nano particles for food encapsulation) แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

6.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

<u>หัวหน้าโครงการ</u>

6.2.1 คุณลักษณะทางกายภาพและโครงสร้างภายในของพาสต้าข้าวเจ้าที่ได้จากการอัดพอง (Physical characteristics and microstructure of extruded rice pasta) (ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี) แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6.2.2 ผลกระทบของสภาวะการทำเอ็กทรูชั่นต่อคุณสมบัติของเนื้อสัมผัสและโครงสร้างภายในของผลิตภัณฑ์ข้าวเจ้าที่พองตัวและไม่พองตัว (Influences of extrusion parameters on textural properties and microstructure of expanded and non-expanded products) (ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี) แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6.2.3 การพัฒนากรรมวิธีการเคลือบเส้นใยสังเคราะห์ด้วยซีริซิน (Surface modification of synthetic and natural fibers for protein coating) (ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี) แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6.2.4 การพัฒนาเกมแอนนิเมชั่นด้านความปลอดภัยของอาหาร (Food Safety 3-D animation game) (ระยะเวลาดำเนินการ 6 เดือน) แหล่งทุน กองทุนนวัตกรรม สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา สยามบรมราชกุมารี

6.2.5 คุณภาพและปริมาณของ CLA (conjugated linoleic acid) ในน้ำนมหลังผ่านขบวนการให้ความร้อนแบบพาสเจอไรเซชั่นและแบบ UHT (Qualities and contents of CLA (conjugated linoleic acids) in cow milk after pasteurization and UHT process) (ระยะเวลาดำเนินการ 3 ปี) แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6.2.6 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของผง fibroin และ sericin ที่ผลิตได้จากรังไหมและน้ำต้มไหม (Physicochemical properties of fibroin and sericin powders produced from silk cocoons and silk water) (ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี) แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6.2.7 การศึกษาความเป็นไปได้ในการสกัดสาร phytoestrogens จากมันมือเสือในประเทศไทยเพื่อทดแทนการใช้ premarin (Possibility of using phytoestrogens extracted from native yams in Thailand to substitute Premarin) (ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี) แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6.2.8 ปลาส้มสำเร็จรูป (Ready-to-eat Pla-Som) (ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี) แหล่งทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

6.2.9 การศึกษากรรมวิธีการสกัดและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของ Lutein จากรังไหมเหลือง *Bombyx mori* เพื่อใช้เป็นเครื่องสำอางและยา (ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี) แหล่งทุน สภาอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทย

6.2.10 ความเป็นไปได้ในการใช้สมุนไพรไทยเป็นยาแก้ไขอาการไร้สมรรถภาพในชาย (Possibility of using Thai herbal medicine to correct male incompetence) (ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี 6 เดือน) แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6.2.11 การศึกษาการทำเข้มข้นโปรตีนซิริซินด้วยวิธีการ Ultrafiltration และ Falling-film evaporation (ระยะเวลาดำเนินการ 3 เดือน) แหล่งทุน Industrial Technology Assistance Program (ITAP) สวทช

6.2.12 ความคงตัวของโปรตีนซิริซินบนผ้า polyester และ cotton ต่อการซักตามมาตรฐานของกลุ่มประเทศยุโรป (ระยะเวลาดำเนินการ 9 เดือน) แหล่งทุน Industrial Technology Assistance Program (ITAP) สวทช

6.2.13 การศึกษาวิธีการสกัดและความคงตัวของสารป้องกันอนุมูลอิสระ DNJ และคลอโรฟิลล์จากชาหม่อน (ระยะเวลาดำเนินการ 12 เดือน) แหล่งทุน Industrial Technology Assistance Program (ITAP) สวทช

6.2.14 อาหารเสริมโปรตีนไหม sericin-chromium ต่อการดูดซึม chromium ในลำไส้หนูและการลดระดับ LDL (Silk Protein, Sericin-Chromium Supplement elevates intestinal absorption of chromium and reduces LDL level in rats) (ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี) แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6.2.15 การศึกษาฤทธิ์ป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักและโรคหลอดเลือดหัวใจของซิริซินเมื่อเป็นอาหารเสริม (Study of sericin as dietary supplement for colorectal cancer and coronary artery disease (CAD) prevention) ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี แหล่งทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

6.2.16 การพัฒนากรรมวิธีการผลิตฟิล์มจากไฟโบรอินเพื่อใช้เป็นเวชภัณฑ์ทางการแพทย์ (Method development of fibroin films for medical products) (ระยะเวลาดำเนินการ 2 ปี) แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6.2.17 การสกัดและทำให้บริสุทธิ์กรดแล็กติกจากน้ำหมัก (Extraction and purification of lactic acid from fermentation broth) แหล่งทุน บริษัท ปตท (มหาชน) จำกัด

6.2.18 การพัฒนาอาหารที่เป็นยาและผลิตภัณฑ์ยาจากลูทีนที่สกัดได้จากรังไหมเหลือง และอนุพันธ์ ขนาดเล็กของโปรตีนซิริซิน (Development of nutraceutical and pharmaceutical

products from lutein extracted from *Bombyx mori* cocoons and sericin derivatives) (ระยะเวลาดำเนินการ 4 ปี) แหล่งทุนสำนักงานวิจัยการเกษตร

6.2.19 การพัฒนาระบบการผลิต CLA ต้นแบบด้วยแบคทีเรียกรดแล็กติกเพื่อใช้ในอุตสาหกรรม (development of conjugated linoleic acid (CLA) production model using lactic acid bacteria (LAB) for industrial application) (ระยะเวลาดำเนินการ 3 ปี) แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6.2.20 การเพิ่มปริมาณแป้งต้านทานการย่อยในผลิตภัณฑ์พาสต้าข้าวเจ้า (Increase of resistant starch in rice pasta products) (ระยะเวลาดำเนินการ 4 ปี) แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

6.2.21 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากโปรตีนไหมซิริซินและไฟโบรอินที่ผ่านการแปรรูปแล้ว (Development of cosmetic products from reprocessed-silk sericin and fibroin (ระยะเวลาดำเนินการ 3 ปี) แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (จัดทำรายงานฉบับสมบูรณ์)

6.3. สิทธิบัตร

6.3.1. กรรมวิธีการผลิตพาสต้าข้าวเจ้า ได้รับสิทธิบัตรเมื่อวันที่ 22 เดือนธันวาคม พ.ศ. 2549

6.3.2. กรรมวิธีการเคลือบผืนเส้นใยด้วยโปรตีนซิริซิน

6.3.3. กรรมวิธีการเคลือบโปรตีนซิริซินบนผืนเส้นใย

6.3.4. สูตรน้ำยาโปรตีนซิริซิน เคลือบผืนเส้นใย

6.3.5. กรรมวิธีการเพิ่ม CLA ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตด้วยแบคทีเรียกรดแล็คติก

6.3.6. กรรมวิธีการผลิตปลาส้มด้วยกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแล็กติก

6.3.7. Method for extracting silk extract containing lutein. **WO 2012/091683 A1** (05.07.2012)

6.3.8. Silk-based bioactive oligopeptide compositions and manufacturing process therefor. **WO 2013/032411 A1** (07.03.2013)

6.4. ผลงานตีพิมพ์

6.4.1. Pongcharoen, S., Warnnissorn, P., Lertkajornsin, O., Limpeanchob, N., and Sutheerawattananonda, M. (2013) Protective effect of silk lutein on ultraviolet B-irradiated human keratinocytes. **Biological Research** 45, 39-45. **IF 1.029**

6.4.2. Chomchalao, P., Pongcharoen, S., Sutheerawattananonda, M. and Tiyaboonchai, W. (2013) Fibroin and fibroin blended three-dimensional scaffolds for rat chondrocyte culture. **BioMedical Engineering Online** 12, 28-40. **IF 1.61**

6.4.3. Aimjongjun, S., Sutheerawattananonda, M., Limpeanchob, N**. (2013)** Silk lutein extract and its combination with vitamin E reduce UVB-mediated oxidative damage to retinal pigment epithelial cells. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology IF 2.814**

6.4.4. Kaewkorn, W., Limpeanchob, N., Tiyaboonchai, W., Pongcharoen, S., and Sutheerawattananonda, M. **(2013)** Study of dietary sericin on rats. **Science Asia IF 0.398**

6.4.5. Bunarsa, S., Promphet, P., Sutheerawattananonda, M., Kunthalert, D. **(2013)** Hematological assessments of sericin-derived oligopeptides in BALB/c mice**. Scientific Research and Essays**

6.4.6. Promphet, P., Bunarsa, S., Sutheerawattananonda, M., Kongbangkerd, A., Kunthalert, D. **(2013)** Alteration of lymphocyte subpopulations in mice fed lutein from marigold extract**. Scientific Research and Essays**

6.4.7. Onsa-Ard, A., Shimbhu, D., Tocharus, J., Sutheerawattananonda, M., Pantan, R., and Tocharus, C. **(2013)** Hypotensive and Vasorelaxant Effects of Sericin-Derived Oligopeptides in Rats. **ISRN pharmacology**

6.4.8. Kaewkorn, W., Limpeanchob, N., Tiyaboonchai, W., Pongcharoen, S., and Sutheerawattananonda, M. (2012) Effects of silk sericin on the proliferation and apotosis of colon cancer cells. **Biological Research** 45, 45-50. **IF 1.029**

6.4.9. Kaewkon, W., Aonsri, C., Tiyaboonchai, W., Pongcharoen, S., Sutheerawattananonda, M., and Limpeanchob, N **(2012)** Sericin consumption suppresses development and progression of colon tumorigenesis in 1,2-dimethylhydrazine-treated rats. **Biologia IF 0.557**

6.4.10. Tiyaboonchai, W., Chomchalao, P., Pongcharoen, S., Sutheerawattananonda, M., and Sobhon, P. (2011) Preparation and characterization of blended *Bombyx mori* silk fibroin scaffolds. **Fibers and Polymers** 12, 324-333. **IF 0.836**

6.4.11. Limpeanchob, N., Trisat, K., Duangjai, A., Tiyaboonchai, W., Pongcharean, S., and Sutheerawattananonda, M. (2010) Sericin reduces serum cholesterol in rats and cholesterol uptake into Caco-2 cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 58, 12519-12522. **IF 2.91**

6.5. รางวัลที่ได้รับจากการปฏิบัติงาน

6.4.1.พนักงานดีเด่น สาขาสิ่งประดิษฐ์ เข็มกลัดทองคำ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปี 2547

6.4.2. พนักงานดีเด่น สาขาสิ่งประดิษฐ์เข็มกลัดทองคำ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปี 2549