



# วิทยานิพนธ์

สมบัติของสตาร์ชและแป้งลูกเดือยและผลของโปรตีนคอยซินต่อ  
สมบัติเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบ

**CHARACTERIZATION OF ADLAY (*COIX LACHRYMA-JOBI L.*)  
STARCH AND FLOUR AND THE EFFECT OF COIXIN  
PROTEIN ON PHYSICOCHEMICAL PROPERTY OF  
COMPOSITE ADLAY FLOUR**

นางสาวมยุรกาญจน์ เดชกุญชร

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551



ใบรับรองวิทยานิพนธ์  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)  
ปริญญา

วิทยาศาสตร์การอาหาร

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง สมบัติของสตาร์ชและแป้งลูกเดือยและผลของโปรตีนคอยซินต่อสมบัติเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบ

Characterization of Adlay (*Coix lachryma-jobi* L.) Starch and Flour and the Effect of Coixin Protein on Physicochemical Property of Composite Adlay Flour

นามผู้วิจัย นางสาวมยุรกาญจน์ เดชกุญชร

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์มาศอุบล ทองงาม, Ph.D. )

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

( รองศาสตราจารย์ปาริฉัตร หงสประภาส, Ph.D. )

หัวหน้าภาควิชา

( ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบุลย์ สัจจอนันตกุล, Ph.D. )

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

( รองศาสตราจารย์วินัย ออคงหาญ, M.A. )

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 4 เดือน เมษายน พ.ศ. 2551

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

สมบัติของสตาร์ชและแป้งลูกเดี๋ยและผลของโปรตีนคอยซินต่อสมบัติเคมีเชิงฟิสิกส์ของ  
แป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบ

Characterization of Adlay (*Coix lachryma-jobi* L.) Starch and Flour and the Effect of Coixin  
Protein on Physicochemical Property of Composite Adlay Flour

โดย

นางสาวมยุรกาญจน์ เดชกุญชร

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)  
พ.ศ. 2551

มยุรกาญจน์ เศษฏญชร 2551: สมบัติของสตาร์ชและแป้งลูกเดือยและผลของโปรตีนคอยซินต่อสมบัติเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร อาจารย์ที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์มาศอุบล ทองงาม, Ph.D. 146 หน้า

ลูกเดือยสองสายพันธุ์ (พันธุ์เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ดขาว) ถูกนำมาสกัด แป้ง สตาร์ช และโปรตีน จากนั้นนำมาวิเคราะห์สมบัติด้านกายภาพ เคมี และเคมีเชิงฟิสิกส์ พบว่าสตาร์ชจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์มีรูปร่างกลมและหลายเหลี่ยม ขณะที่โปรตีนที่สกัดได้มีลักษณะค่อนข้างกลม เมื่อวิเคราะห์สตาร์ชและแป้งลูกเดือยด้วยเครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟร็กโทมิเตอร์ พบว่ามีการจัดเรียงโครงสร้างผลึกแบบ A สำหรับองค์ประกอบทางเคมี พบว่าแป้งลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าสตาร์ช สำหรับโปรตีนคอยซินของลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE ประกอบด้วย แอลฟา บีตา และแกมมา สตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ดขาวมีปริมาณแอมิโลสเท่ากับ 29.22 และ 11.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ กำลังการพองตัวและร้อยละการละลายของลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ดขาวมีลักษณะที่คล้ายกัน โดยมีค่าสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เมื่อทำการวิเคราะห์สมบัติด้านความหนืดด้วยเครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว พบว่า แป้งและสตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำมีความหนืดสูงสุดต่ำกว่าลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว อย่างไรก็ตามช่วงอุณหภูมิและพลังงานการเกิดเจลลาติในเซชันของแป้งและสตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำมีค่าเท่ากับ 67.76–74.96–80.70 องศาเซลเซียส และ 6.08 จูลต่อกรัม และ 65.82-71.75-81.09 องศาเซลเซียส และ 14.83 จูลต่อกรัม ตามลำดับ ขณะที่ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวมีช่วงอุณหภูมิและพลังงานการเกิดเจลลาติในเซชันของแป้งและสตาร์ชเท่ากับ 68.81-76.24-82.86 องศาเซลเซียส และ 8.93 จูลต่อกรัม และ 68.85-73.37-80.38 องศาเซลเซียส และ 16.41 จูลต่อกรัม ตามลำดับ เมื่อทำการศึกษาอุณหภูมิและพลังงานที่ใช้ในการสลายพันธะที่เกิดจากกระบวนการรีโทรเกรเดชัน เมื่อทำการเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่าช่วงอุณหภูมิที่ใช้ในการสลายพันธะของลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำและลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวมีค่าเท่ากับ 42-64 และ 43-63 องศาเซลเซียส และพบว่าพลังงานที่ใช้ในการสลายพันธะของลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำมีค่าต่ำกว่าลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว นอกจากนี้ในงานวิจัยได้ศึกษาอิทธิพลของโปรตีนคอยซินต่อสมบัติเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้งเชิงประกอบ โดยเครื่องวัดความหนืดแบบรวดเร็ว พบว่าเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนคอยซินในระบบเปลี่ยนแปลงลักษณะความหนืดของแป้งเชิงประกอบ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเช่นกัน โดยพบว่าปริมาณโปรตีนที่เพิ่มขึ้นทำให้ความหนืดของแป้งเชิงประกอบลดลง และเมื่อเติมซิสเตอีนลงในระบบส่งผลให้ค่าความหนืดของลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ลดลง ขณะที่การเติมโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตทำให้ความหนืดสูงสุดและความหนืดสุดท้ายของแป้งธรรมชาติมีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่ความหนืดสูงสุดและความหนืดสุดท้ายของแป้งเชิงประกอบมีค่าลดลง

มยุรกาญจน์ เศษฏญชร  
ลายมือชื่ออิเล็กทรอนิกส์

มาศอุบล ทองงาม  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

31 / 03 / 51

Mayoongan Dechkunchon 2008: Characterization of Adlay (*Coix lachryma-jobi* L.) Starch and Flour and the Effect of Coixin Protein on Physicochemical Property of Composite Adlay Flour. Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Assistant Professor Masubon Thongngam, Ph.D. 146 pages.

Two adlay cultivars, black and white, were extracted for flour, starch and protein and characterized their physical, chemical and physicochemical properties. The shapes of adlay starches appeared polygonal and spherical; while, the shapes of extracted protein were spherical. Starches and flours from both cultivars were A-type observed by X-ray diffraction. When the chemical compositions were determined, the results showed that the protein content of both adlay flours were higher than that of starches. The extracted adlay protein (Coixin) compositions of black and white adlay were alpha, beta and gamma as shown by SDS-PAGE. The amylose contents of black and white adlay were 29.22 and 11.55 % respectively. In addition the swelling power and solubility of black and white adlay were similar, increasing with increasing temperature. From Rapid Visco Analyzer, the results showed the peak viscosities of black adlay both flour and starch were lower than those of white adlay. Moreover, the gelatinization temperature range (To-Tp-Tc) and the enthalpy of gelatinization of black adlay flour and starch were 67.76– 74.96 – 80.70 °C and 6.08 J/g, and 65.82-71.75- 81.09 °C and 14.83 J/g, respectively. Those of white adlay flour and starch were 68.81-76.24-82.86 °C and 8.93 J/g and 68.85-73.37-80.38 °C and 16.41 J/g, respectively. Then the retrogradation temperature and the enthalpy of retrogradation were observed after stored adlay gel at 4 °C for 21 days. The results showed the retrogradation temperature ranges of black and white adlay were 42 – 64 and 43 – 63 °C, respectively. Furthermore, the enthalpy of retrogradation of black adlay appeared lower than that of white adlay. In the research, the effect of adlay protein (Coixin) on physicochemical property of composite adlay flour was investigated by using RVA. The pasting profiles of composite flours were affected by the amount of Coixin presence. As the Coixin concentration increased, the pasting profiles were decreased. Moreover, in the presence of cysteine, it was responsible for the decrease of both adlay pasting profiles. On the other hand, when sodium dodecyl sulfate (SDS) were added, the peak and final viscosities of native flours were increased; while, those of composite flours were decreased.

Mayoongan Dechkunchon  
Student's signature

Masubon Thongngam 31 / 03 / 08  
Thesis Advisor's signature

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้ถูกล่วงไปด้วยดีนั้น ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์  
ดร. มาศอุบล ทองงาม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รองศาสตราจารย์  
ดร. ปาริฉัตร หงสประภาส อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษาด้วยดีตลอดการทำวิจัย  
รวมถึงตรวจแก้วิทยานิพนธ์จนสำเร็จเรียบร้อย

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. อรอนงค์ นัยวิกุล ประธานการสอบ และ  
รองศาสตราจารย์ ดร. ทนง ภัทรชพันธ์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ให้ความกรุณาตรวจแก้วิทยานิพนธ์  
และให้คำแนะนำ จนวิทยานิพนธ์สำเร็จเรียบร้อย

ขอขอบคุณอาจารย์ทุกท่านที่ประสาทวิชาความรู้ ให้แก่ข้าพเจ้าตลอดการศึกษา

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ที่ให้ความช่วยเหลือและกำลังใจตลอดมา และ  
ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ๆ และญาติพี่น้องทุกคนที่ให้การสนับสนุน ทั้งกำลังใจและกำลังใจมา  
โดยตลอด หากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีข้อบกพร่องประการใดข้าพเจ้าขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

มยุรกาญจน์ เดชกุญชร  
กุมภาพันธ์ 2551

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	35
อุปกรณ์	35
วิธีการ	41
ผลและวิจารณ์	49
ผล	49
วิจารณ์	49
สรุปและข้อเสนอแนะ	114
สรุป	114
ข้อเสนอแนะ	116
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	117
ภาคผนวก	127
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์ห้องค์ประกอบและสมบัติของแป้ง สตาร์ช และ โปรีตินจากลูกเดือย	128
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	146

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณกรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีน ในลูกเดือยสีเปลือกออกและขัดมัน	10
2	องค์ประกอบกรดแอมิโน (residues/mol) ของโปรตีนซีน (zein) รวม และโปรตีนซีนแต่ละกลุ่ม	13
3	ค่า $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ และดัชนีความขาวของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซิน จากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์	53
4	ร้อยละความเป็นผลึกของแป้งและสตาร์ชจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์	58
5	องค์ประกอบทางเคมีของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซิน จากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์	60
6	ปริมาณแอมิโลสจากสตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ดขาว	60
7	สมบัติการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดของแป้งและสตาร์ชลูกเดือย พันธุ์เมล็ดขาวและพันธุ์เมล็ดดำ	72
8	$T_o$ $T_p$ $T_c$ และ $\Delta H_{gel}$ ในการเกิดเจลที่ไนเซชันของแป้งและสตาร์ช ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ดขาว	74
9	$T_o$ $T_p$ $T_c$ และ $\Delta H_{ret}$ ในการสลายโครงสร้างผลึกที่เกิดจากกระบวนการ รีโทรเกรดชันของแป้งและสตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ด ขาว ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 15 ชั่วโมง	75
10	$T_o$ $T_p$ $T_c$ และ $\Delta H_{ret}$ ในการสลายโครงสร้างผลึกที่เกิดจากกระบวนการ รีโทรเกรดชันของแป้งและสตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ด ขาว ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 21 วัน	76
11	สมบัติการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์ เมล็ดขาว (WACF) ที่มีอัตราส่วนของโปรตีนคอยซินต่างกัน	79
12	สมบัติการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์ เมล็ดดำ (BACF) ที่มีอัตราส่วนของโปรตีนคอยซินต่างกัน	82

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
13	สมบัติการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาว เมื่อเติมสารซีเอสดีอินที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน	91
14	สมบัติการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ เมื่อเติมสารซีเอสดีอินที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน	95
15	สมบัติการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาว เมื่อเติมสารโซเดียมโคเคซิลซัลเฟต ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน	104
16	สมบัติการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ เมื่อเติมสารโซเดียมโคเคซิลซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน	107
<b>ตารางผนวกที่</b>		
ก1	สูตรสำหรับการเตรียม SDS-PAGE Separating และ Stacking Gels	139
ก2	สภาวะที่ใช้วิเคราะห์ตัวอย่าง เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและเวลา	145

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	องค์ประกอบของโปรตีนโพรลามิน	15
2	ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์แอมิโลเพกทินและแอมิโลส	17
3	โครงสร้างโมเลกุลของแอมิโลส	18
4	โครงสร้างโมเลกุลของแอมิโลเพกทิน	20
5	ลักษณะโครงสร้างของแอมิโลเพกทินที่ประกอบด้วยสาย A, B และ C	21
6	ลักษณะโครงสร้างของเม็ดสตาร์ช	21
7	แบบจำลองโครงสร้างแอมิโลสที่อยู่ร่วมกับแอมิโลเพกทินและไขมัน	22
8	รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์แบบ B-Type และ A-Type	23
9	พอลิเมอร์ชนิด A และ B (A, B-Type)	24
10	การเกิดเจลลาทีนในเซชันของเม็ดสตาร์ช	25
11	แผนภาพแสดงการเสียดสภาพโมเลกุลของโปรตีนและการจัดเรียงโครงสร้าง โมเลกุลของโปรตีน ในระหว่างกระบวนการเอกซ์ทรูชัน	30
12	การเข้าทำอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนซีนและโมเลกุลของ สารโซเดียมโคเคซิลซัลเฟต	32
13	แผนภาพแสดงโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อน ระหว่างโมเลกุลแอมิโลส และสาร โซเดียมโคเคซิลซัลเฟต	33
14	ลักษณะของลูกเดือยเมล็ดเต็มและลูกเดือยที่ผ่านการขัดสี	49
15	ลักษณะของเมล็ดลูกเดือยก่อนและหลังกระบวนการขัดสี	50
16	ลักษณะทางกายภาพของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซิน จากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์	52
17	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของแป้ง จากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์	55
18	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของสตาร์ช และโปรตีนคอยซินจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์	56

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
19	รูปแบบการสะท้อนรังสีเอกซ์ของแป้งและสตาร์ช จากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์	58
20	ชนิดของโปรตีนคอยซินและโปรตีนในสตาร์ชจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์	62
21	กำลังการพองตัวของแป้งและสตาร์ชจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์	64
22	ร้อยละการละลายของแป้งและสตาร์ชจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์	64
23	การเปลี่ยนแปลงลักษณะด้านสัณฐานวิทยาของเม็ดสตาร์ช เมื่อให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ ของสตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว	66
24	การเปลี่ยนแปลงลักษณะด้านสัณฐานวิทยาของเม็ดสตาร์ช เมื่อให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ ของสตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ	67
25	กราฟการเปลี่ยนแปลงความหนืดจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็วของแป้งและสตาร์ชลูกเดือย	70
26	การเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาว เมื่ออัตราส่วนของโปรตีนคอยซินต่างกัน	78
27	การเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ เมื่ออัตราส่วนโปรตีนคอยซินต่างกัน	81
28	ลักษณะการกระจายตัวของโปรตีนในแป้งธรรมชาติและแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ดขาว เมื่อสังเกตด้วยกล้องคอนโฟคอลเลเซอร์สแกนนิ่ง	85
29	SDS-PAGE ของโปรตีนคอยซินจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ (BAP) มีระดับความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 0.8 เปอร์เซ็นต์	88
30	SDS-PAGE ของโปรตีนจากสตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ดขาว	89
31	กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาว เมื่อเติมสารซีสเตอินที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน	90
32	กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ เมื่อเติมสารซีสเตอินที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน	94

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
33	ลักษณะโปรตีนของแป้งธรรมชาติและแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาว เมื่อมีการเติมสารซีสเทอีนลงในระบบ โดยใช้กล้องคอนโฟคอลเลเซอร์สแกนนิ่ง	99
34	ลักษณะโปรตีนของแป้งธรรมชาติและแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ เมื่อมีการเติมสารซีสเทอีนลงในระบบ โดยใช้กล้องคอนโฟคอลเลเซอร์สแกนนิ่ง	100
35	กราฟการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาว เมื่อเติมสาร โซเดียม โดเดซิลซัลเฟตที่มีความเข้มข้นต่างกัน	103
36	กราฟการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ เมื่อเติมสาร โซเดียม โดเดซิลซัลเฟตที่มีความเข้มข้นต่างกัน	106
37	ลักษณะของโปรตีนในแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาวและพันธุ์เมล็ดดำ เมื่อเติมสาร โซเดียม โดเดซิลซัลเฟตที่มีความเข้มข้นต่างกัน โดยใช้กล้องคอนโฟคอลเลเซอร์สแกนนิ่ง	111
38	การเปลี่ยนแปลงด้านสัณฐานวิทยาของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาว เมื่อเติมสาร โซเดียม โดเดซิลซัลเฟตที่มีความเข้มข้นต่างกัน ในระบบที่มีการให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ	112
39	การเปลี่ยนแปลงด้านสัณฐานวิทยาของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ เมื่อเติมสาร โซเดียม โดเดซิลซัลเฟตที่มีความเข้มข้นต่างกัน ในระบบที่มีการให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ	113
<b>ภาพผนวกที่</b>		
ก1	ปริมาณแอมิโลสและค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน	137

## สมบัติของสตาร์ชและแป้งลูกเดี๋ยและผลของโปรตีนคอยซินต่อสมบัติเคมีเชิงฟิสิกส์ ของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบ

### Characterization of Adlay (*Coix lachryma-jobi* L.) Starch and Flour and the Effect of Coixin Protein on Physicochemical Property of Composite Adlay Flour

#### คำนำ

ลูกเดี๋ยเป็นพืชไร่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของจังหวัดเลย มีพื้นที่เพาะปลูกคิดเป็น 95 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ปลูกทั่วประเทศ ผลผลิตประมาณ 85–90 เปอร์เซ็นต์ จะส่งไปขายยังต่างประเทศ โดยตลาดที่สำคัญคือ ญี่ปุ่น และได้หวัน ส่วนผลผลิตที่เหลืออีกประมาณ 10–15 เปอร์เซ็นต์ จะใช้บริโภคภายในประเทศ (กรมวิชาการเกษตร, 2548) ซึ่งส่งผลให้ราคาซื้อขายลูกเดี๋ยขึ้นลงตามภาวะราคาที่สูงออกเป็นหลัก (สำนักงานพาณิชย์จังหวัดเลย, 2548) สำหรับงานวิจัยด้านเภสัชวิทยาของลูกเดี๋ย พบว่า ในลูกเดี๋ยมีสาร โคอิกซิโนไลด์ (Coixenolide) มีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเนื้องอก และช่วยยับยั้งการเกิดมะเร็ง สาร โคอิกโซล (Coixol) มีฤทธิ์คลายอาการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ และป้องกันการชัก ลดความดันโลหิตได้ น้ำมันลูกเดี๋ย มีฤทธิ์กระตุ้นการหายใจ ลดความอ่อนเปลี้ยของร่างกายลดความดันโลหิต และขับปัสสาวะ (กรมวิชาการเกษตร, 2548 และ Kuo *et al.*, 2001) ในปี 2003 Chang *et al.* ได้ทำการสกัดสารจากลูกเดี๋ย โดยใช้สารละลายในการสกัดที่แตกต่างกัน และนำสารที่สกัดได้ไปศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งปอด จากการทดลองพบว่าสารสกัดที่ได้จากการใช้เมทานอลในการสกัดมีความสามารถในการลดปริมาณเซลล์มะเร็งบริเวณปอดได้ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Huang *et al.* (2005) ได้ทำการทดลองนำน้ำมันจากลูกเดี๋ยปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงหนูเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า น้ำมันจากลูกเดี๋ยสามารถช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลประเภทความหนาแน่นต่ำ (LDL-C) นอกจากนี้ลูกเดี๋ยยังมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูง และในลูกเดี๋ยยังมีแร่ธาตุอื่นๆ เช่น ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และแคลเซียม (กรมวิชาการเกษตร, 2548) สำหรับประเทศไทยได้มีการทดลองนำแป้งลูกเดี๋ยมาผสมกับแป้งสาลีแล้วทดลองทำคุกกี้ (สมเกียรติ, 2547) น้ำมันลูกเดี๋ย ขนนมฝักลูกเดี๋ย ขนมหั้วเราะจากแป้งลูกเดี๋ย (ทัศนีย์, 2530) อย่างไรก็ตามการแปรรูปลูกเดี๋ยในประเทศไทยมีศักยภาพค่อนข้างต่ำ ในขณะที่เดียวกันความต้องการและรสนิยมผู้บริโภคต่อลูกเดี๋ยค่อนข้างจำกัด (สมเกียรติ, 2547) จากคุณค่าทางโภชนาการ สรรพคุณด้านเภสัชวิทยา ข้อจำกัดเชิงการค้าและข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับลูกเดี๋ยยังมีอยู่น้อย ดังนั้นหากมีการเผยแพร่ข้อมูลด้านคุณประโยชน์ของ

ลูกเต๋อ และทำการศึกษาสมบัติทางด้านกายภาพ องค์ประกอบด้านเคมี และสมบัติด้านเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้ง สตาร์ชจากลูกเต๋อ และส่วนประกอบของโปรตีนคอยซิน เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซินจากลูกเต๋อ ไปประยุกต์ในระบบอาหาร นอกจากนี้ งานวิจัยนี้ยังได้ศึกษาผลของโปรตีนคอยซิน ซึ่งเป็น โปรตีนหลักในแป้งลูกเต๋อต่อสมบัติด้านเคมีเชิงฟิสิกส์ เพื่อนำไปสู่การคัดแปรองค์ประกอบภายในแป้งลูกเต๋อให้ได้สมบัติตามต้องการได้อย่างเหมาะสม จะส่งผลให้การบริโภค และการแปรรูปผลิตภัณฑ์จากลูกเต๋อเป็นที่นิยมมากขึ้น

## วัตถุประสงค์

1. ตรวจสอบลักษณะโดยทั่วไปของลูกเต๋อย ลักษณะด้านสัณฐานวิทยา และลักษณะด้านกายภาพบางประการของ แป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยชินจากลูกเต๋อย
2. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของ แป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยชินจากลูกเต๋อย
3. ตรวจสอบสมบัติด้านเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้ง และสตาร์ชลูกเต๋อย
4. ตรวจสอบผลของอัตราส่วนของโปรตีนคอยชินต่อสมบัติด้านเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้งลูกเต๋อยเชิงประกอบ
5. ตรวจสอบผลของสารรีดิวซิง และสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติด้านเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้งลูกเต๋อยเชิงประกอบ

## การตรวจเอกสาร

### ลูกเด็ย

ลูกเด็ยเป็นพืชตระกูลหญ้า (Graminees) ชื่อสามัญคือ Pearl barley, Adlay, Ma Yuen ชื่อวิทยาศาสตร์ *Coix lachryma-jobi* Linn. อยู่ใน sub-family Panicoideae ซึ่งเป็น sub-family เดียวกับข้าวโพด และข้าวฟ่าง (Tatham *et al.*, 1996) ในประเทศไทย ลูกเด็ยจัดเป็นพืชไร่ที่มีพื้นที่เพาะปลูกมากที่สุดที่จังหวัดเลย คิดเป็น 95 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่เพาะปลูกลูกเด็ยทั่วประเทศ นอกจากนี้ยังมีการเพาะปลูกอยู่ในพื้นที่จังหวัดใกล้เคียง เช่น ชัยภูมิ อุดรธานี เพชรบูรณ์ และหนองคาย โดยลูกเด็ยที่ผลิตได้ประมาณ 85–90 เปอร์เซ็นต์ จะส่งไปขายยังต่างประเทศ ตลาดที่สำคัญคือ ญี่ปุ่น เกาหลี และได้หวัน ส่วนผลผลิตที่เหลือประมาณ 10–15 เปอร์เซ็นต์ จะใช้บริโภคภายในประเทศ (กรมวิชาการเกษตร, 2548) จากปริมาณการบริโภคลูกเด็ยภายในประเทศที่น้อย และเป็นสินค้าที่อาศัยการส่งออกเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นราคาซื้อขายลูกเด็ยจึงขึ้นลงตามภาวะราคาที่ส่งออกเป็นหลัก (สำนักงานพาณิชย์จังหวัดเลย, 2548)

ลูกเด็ยในประเทศไทยหากแบ่งตามลักษณะการใช้ประโยชน์ แบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ

1. ลูกเด็ยหิน ลักษณะเปลือกหุ้มเมล็ดเป็นเงา หนา แข็ง และเหนียวมาก มีหลายสี มักใช้เป็นเครื่องประดับคล้ายลูกปัด ซึ่งเป็นที่นิยมปลูกกันในหมู่ชาวเขาทางภาคเหนือ
2. ลูกเด็ยขบ ขนาดเมล็ดค่อนข้างกลมโต เปลือกค่อนข้างหนาและแข็งปานกลาง มักใช้ต้มบริโภคภายในครอบครัว การบริโภคต้องใช้ฟันหน้าขบจึงเรียกว่า ลูกเด็ยขบ
3. ลูกเด็ยการค้า ถือว่าเป็นลูกเด็ยที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและปลูกกันมากที่สุด ซึ่งลูกเด็ยประเภทนี้แบ่งออกเป็น 2 ประเภทตามลักษณะของแป้ง
  1. ลูกเด็ยข้าวเจ้า ลักษณะเมล็ดทั้งเปลือกค่อนข้างยาว ขนาดเล็ก เปลือกสีน้ำตาลแก่ ค่อนข้างหนาและแข็ง เนื้อเมล็ดค่อนข้างแข็ง เมื่อนำลูกเด็ยประเภทนี้ไปต้ม แป้งและน้ำต้มลูกเด็ยจะไม่เหนียวลื่นหรือเป็นเมือก
  2. ลูกเด็ยข้าวเหนียว เมล็ดทั้งเปลือกกลมสั้น โดกว่าลูกเด็ยข้าวเจ้า เปลือกเมล็ดสีเทาอ่อน บางและกรอบ บีบแตกง่าย เนื้อเมล็ดค่อนข้างอ่อน เมื่อนำลูกเด็ยประเภทนี้ไปหุงต้ม จะได้ลักษณะลูกเด็ยที่นุ่มเป็นเมือกลื่น (กรมวิชาการเกษตร, 2548 และ Yang *et al.*, 2004)

## 1. สารสำคัญและผลงานวิจัยทางเภสัชวิทยาของลูกเด็ย

ในลูกเด็ยประกอบด้วยสารที่สำคัญด้านเภสัชวิทยาหลายประเภท คือ โคอิกโซล (Coixol) มีฤทธิ์คลายอาการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ ป้องกันการชัก ลดความดันโลหิตได้ชั่วคราว ลดน้ำตาลในเลือด และลดไขมัน ในงานวิจัยพบว่ารากลูกเด็ยมีสารโคอิกโซล มีฤทธิ์แก้ปวดและขับปัสสาวะ โคอิกซิโนไลด์ (Coixinolide) มีฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเนื้องอก (antineoplastic) และช่วยยับยั้งการเกิดมะเร็ง น้ำมันลูกเด็ย (Coix oil) ประกอบด้วยสารสำคัญ คือ กรดโคอิก (Coix acid) และกรดพาลมิติก (Palmitic acid) น้ำมันลูกเด็ยมีฤทธิ์กระตุ้นการหายใจ ลดการอ่อนเปลี้ยของร่างกาย ลดความดันโลหิต และขับปัสสาวะ นอกจากนี้ในเมล็ดลูกเด็ยยังมีสารโคอิกแซน (Coixan) A, B และ C ซึ่งช่วยลดน้ำตาลในเลือดหนูที่เป็นเบาหวาน (กรมวิชาการเกษตร, 2548 และ Kuo *et al.*, 2001)

ในปี 2003 Chang *et al.* ได้ทำการสกัดสารจากลูกเด็ย โดยใช้สารละลายเมทานอลในการสกัด พบว่า ได้สารสกัดที่มีความสามารถลดปริมาณเซลล์มะเร็งบริเวณปอดได้ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองควบคุม นอกจากนี้ Huang *et al.* (2005) ได้ทำการทดลองนำน้ำมันจากลูกเด็ยปริมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงหนูเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า น้ำมันจากลูกเด็ยสามารถช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลประเภทความหนาแน่นต่ำ (LDL-C) ได้

สรรพคุณในตำราจีนใช้ลูกเด็ยผสมข้าว ต้มเป็นข้าวต้มรับประทานทุกวันเพื่อบำรุงกำลัง หล่อลื่นกระเพาะอาหารและลำไส้ บำรุงไต ม้าม ปอด แก้วมม่น้ำ ปวดข้อเรื้อรัง แก้ไข้ แก้ท้องเสีย แก้เหน็บชา ชักกระตุก แก้ฝีหลายหัวในลำไส้ แก้สตรีตกขาวมากกว่าปกติ ทั้งยังเชื่อว่าการรับประทานลูกเด็ยต้มน้ำตาลทุกวันสามารถแก้ร้อนในได้ (กรมวิชาการเกษตร, 2548 และ Kuo *et al.*, 2001)

สำหรับสรรพคุณในตำราไทยเชื่อว่าการรับประทานลูกเด็ยช่วย แก้ปวดเข่า ปวดข้อ ไขข้ออักเสบ บำรุงม้ามและตับ แก้ไข้ แก้ท้องเสีย เหน็บชา ยับยั้งการเกิดมะเร็งในกระเพาะอาหาร มะเร็งมดลูก แก้ชักกระตุก ปวดอ่อนแอ ไอเป็นเลือด ตกขาว ป้องกันการเกิดฝีที่ลำไส้ ริดสีดวงในกระหายน้ำ แก้ทางเดินหายใจหรือทางเดินปัสสาวะอักเสบ ขับเสมหะ ช่วยย่อยอาหาร บำรุงเส้นผมและผิวหนัง ทำให้ผิวพรรณสวยงาม (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

## 2. การใช้ประโยชน์

ลูกเดือยเป็นธัญชาติที่นิยมบริโภคในหลายประเทศ เช่น จีน มาเลเซีย สิงคโปร์ ญี่ปุ่น เกาหลี ไต้หวัน และฮ่องกง โดยนำไปบริโภคในหลายรูปแบบ ทั้งในรูปแบบอาหารคาวและอาหารหวาน เช่น นำลูกเดือยไปหุงปนกับข้าว ต้มเป็นซूप ชงเป็นเครื่องดื่มรับประทานแทนชา กาแฟ ทำเป็นขนมหวาน นอกจากนี้ยังพบว่าลูกเดือยถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมแป้งขนมปัง และเครื่องสำอาง (สมเกียรติ, 2547) สำหรับประเทศไทยได้มีการทดลองนำแป้งลูกเดือยมาผสมกับแป้งสาลีแล้วทดลองทำคุกกี้ (สมเกียรติ, 2547) ขนมฝักลูกเดือย ขนมหัวเราะจากแป้งลูกเดือย (ทัศนีย์, 2530) นอกจากนี้ยังมีการแปรรูปเป็นเครื่องดื่มสำเร็จรูป ธัญชาติขงสำเร็จรูป อย่างไรก็ตามการแปรรูปลูกเดือยในประเทศไทยมีศักยภาพค่อนข้างต่ำ อีกทั้งความต้องการและรสนิยมผู้บริโภคลูกเดือยค่อนข้างจำกัด จึงพบว่าผลิตภัณฑ์จากลูกเดือยมีการวางจำหน่ายน้อยมาก และยังไม่มีการแปรรูปในเชิงอุตสาหกรรมจำพวกแป้ง เครื่องสำอาง และการแปรรูปด้านยารักษาโรค (สมเกียรติ, 2547)

### โครงสร้างและส่วนประกอบของเมล็ดธัญชาติ

ลูกเดือยจัดเป็นพืชตระกูลหญ้า จัดอยู่ใน sub - family Panicoideae ลูกเดือยมีลักษณะการเจริญเติบโตคล้ายกับพืชในตระกูลเดียวกัน คือ ข้าวโพด และข้าวฟ่าง (Tatham *et al.*, 1996) ดังนั้นขอยกตัวอย่างโครงสร้างของเมล็ดข้าวโพด และเมล็ดข้าวฟ่าง ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างโดยพื้นฐานคล้ายกับลูกเดือย

เมล็ดข้าวโพดเป็นเมล็ดธัญชาติที่มีขนาดใหญ่ที่สุด โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 250–300 มิลลิกรัมต่อเมล็ด ประกอบด้วยส่วนประกอบหลักๆ 4 ส่วนคือ 1. tip cap ทำหน้าที่ เชื่อมเมล็ดข้าวโพดเข้ากับช่ข้าวโพด 2. รำ (bran) เป็นชั้นส่วนนอกที่ปกคลุมเนื้อเมล็ด 3. คัพภะ (germ หรือ embryo) ทำหน้าที่ในการเจริญของเมล็ด ไปเป็นต้นใหม่ 4. เนื้อเยื่อสะสม (endosperm) ช่วยในการเก็บสะสมสารอาหารและเป็นแหล่งอาหารในขณะที่ต้นอ่อนกำลังเจริญเติบโต ซึ่งในแต่ละส่วนของเมล็ดข้าวโพดจะมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันไป โดยส่วนของเนื้อเยื่อสะสม (endosperm) เป็นส่วนที่มีสตาร์ชปริมาณมากที่สุดจึงเป็นแหล่งพลังงานในช่วงที่พืชกำลังงอก โดยเม็ดสตาร์ชจะถูกอัดตัวฝังแน่นในโครงข่ายของโปรตีน (protein matrix) และในโครงข่ายโปรตีนดังกล่าวอาจพบโปรตีนสะสม (protein body) ฝังอยู่ในโครงข่ายด้วยเช่นกัน ซึ่งโปรตีนสะสมที่เป็นโปรตีนหลักในข้าวโพดคือ โปรตีนโพรลามิน หรือในข้าวโพดเรียกซีน (Zein) (Kulp and Ponte, 2000)

ข้าวฟ่างประกอบด้วยโครงสร้างหลักๆ 3 ส่วน คือ เยื่อหุ้มผล (pericarp หรือ outer layer) ประมาณ 6 เปอร์เซ็นต์ เนื้อเมล็ด (endosperm หรือ storage tissue) 84 เปอร์เซ็นต์ และคัพภะ (germ) 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในส่วนของเยื่อหุ้มผลสามารถแบ่งได้เป็น 3 ส่วน คือ เอพิการ์พ (epicarp) เมโซคาร์พ (mesocarp) และเอนโดคาร์พหรือเนื้อเยื่อชั้นใน (endocarp) ซึ่งเอพิการ์พเป็นส่วนที่อยู่ชั้นนอกสุดของเมล็ดและเป็นส่วนที่ทำหน้าที่ปกคลุมเมล็ด ซึ่งจะมีส่วนที่เป็นชั้นของไข (waxy) บางๆ เคลือบอยู่ ส่วนเมโซคาร์พจะมีความหนาแตกต่างกันไป ในส่วนนี้อาจจะมีเม็ดสตาร์ชเกาะอยู่บ้าง เอนโดคาร์พจะประกอบด้วยเซลล์ที่มีลักษณะเป็นทรงกระบอก (cross และ tube cell) ส่วนเนื้อเมล็ด (endosperm หรือ storage tissue) ประกอบด้วย เยื่อชั้นแอลิวโรน (aleurone) เนื้อเยื่อสะสมอาหาร (major storage tissue) ส่วนของเยื่อชั้นแอลิวโรน (aleurone) อาจมีส่วนของเม็ดสี และยังประกอบไปด้วย ไขมัน เอนไซม์ โปรตีน ซึ่งอาจรวมอยู่กับไฟติก ฟอสฟอรัส และแร่ธาตุต่างๆ (Kulp and Ponte, 2000) ในส่วนของเนื้อเมล็ดข้าวฟ่างประกอบไปด้วยองค์ประกอบหลักๆ 2 ส่วน คือ สตาร์ช และโปรตีน ซึ่งองค์ประกอบดังกล่าวมีผลต่อความแข็ง และความหนาแน่นของเมล็ด ข้าวฟ่าง ส่วนของเนื้อเมล็ดจะประกอบด้วยผนังเซลล์ชั้นบางๆ โครงข่ายของโปรตีน (protein matrix) โปรตีนสะสม (protein body) และเม็ดสตาร์ช (starch granule) ซึ่งขนาดของเม็ดสตาร์ชจากเมล็ดข้าวฟ่าง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 - 25 ไมโครเมตร โดยเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเม็ดสตาร์ชประมาณ 15 ไมโครเมตร ลักษณะของเนื้อเมล็ดข้าวฟ่างจะมีลักษณะที่แข็งแรง และจะมีส่วนของเม็ดสตาร์ช โปรตีนสะสม (protein body) กระจายและถูกตรึงอยู่ในโครงข่ายโปรตีน (protein matrix) เม็ดสตาร์ชของข้าวฟ่างจะมีรูปร่างหลายเหลี่ยม (polygonal) และส่วนที่เกิดรอยเว้าคือส่วนที่โปรตีนสะสม (protein body) เกาะอยู่กับเม็ดสตาร์ช ลักษณะของเนื้อเมล็ดจะมีลักษณะโปร่งแสง เนื้อเมล็ดซึ่งมีปริมาณแป้งเป็นส่วนใหญ่ (floury endosperm) จะมีลักษณะของโครงข่ายโปรตีนที่ไม่ต่อเนื่อง ทำให้เม็ดสตาร์ชอยู่แบบหลวมๆ ดังนั้นจึงปรากฏลักษณะช่องว่างเล็กๆ ระหว่างเม็ดสตาร์ชที่มีรูปร่างค่อนข้างกลมกับโครงข่ายของโปรตีน (protein matrix) (Kulp and Ponte, 2000)

### องค์ประกอบทางเคมีของพืชใน sub - family Panicoideae

ลูกเด็ยที่ผ่านกระบวนการขัดสีและขัดมัน เมล็ดลูกเด็ยจะมีสีขาว แต่ยังคงมีส่วนของร่องตรงกลางของเมล็ดที่มีสีน้ำตาลซึ่งเป็นส่วนของรำอยู่ เมื่อทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งลูกเด็ย พบว่า แป้งลูกเด็ยประกอบไปด้วย ความชื้น 10.37 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 14.78 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 6.18 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 77.10 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 0.8 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 1.71 เปอร์เซ็นต์ (ทัศนีย์, 2530) ในขณะที่กรมวิชาการเกษตร (2548) ได้รายงานว่แป้งลูกเด็ยประกอบไปด้วย ความชื้น 11.2 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 15.4 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 6.2 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 65.3 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 0.8 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 1.9 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบของพืชที่อยู่ใน sub-family เดียวกัน เช่น ข้าวโพด ประกอบไปด้วยส่วนของสตาρχ 87.6 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 8.0 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.8 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 3.2 เปอร์เซ็นต์ และองค์ประกอบอื่นๆ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในข้าวฟ่าง ประกอบไปด้วย โปรตีน 11.6 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 3.4 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 2.7 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 2.2 เปอร์เซ็นต์ และส่วนประกอบอื่นๆ 79.5 เปอร์เซ็นต์ (Kulp and Ponte, 2000) จากข้อมูลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่า ลูกเด็ยเป็นพืชที่มีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับพืชใน sub-family เดียวกัน

นอกจากนั้นน้ำมันลูกเด็ยยังประกอบไปด้วยกรดไขมันอิ่มตัว 2 ชนิด คือ กรดพาลมิติก 14.24 เปอร์เซ็นต์ กรดสเตียริก 1.98 เปอร์เซ็นต์ และกรดไขมันไม่อิ่มตัว 2 ชนิด คือ กรดโอเลอิก 57.08 เปอร์เซ็นต์ และกรดลิโนเลอิกประมาณ 26.70 เปอร์เซ็นต์ (ทัศนีย์, 2530) นอกจากนั้น Sato and Miyata (1975) และ ทัศนีย์ (2530) ยังได้ทำการทดลองวิเคราะห์หิวตามินในแป้งลูกเด็ย พบว่าในแป้งลูกเด็ยประกอบไปด้วย วิตามินบีหนึ่ง และวิตามินบีสอง Sato and Miyata (1975) พบว่าการขัดมันเอาส่วนรำออกจากเมล็ดลูกเด็ยมีผลต่อปริมาณวิตามิน คือ ทำให้วิตามินบีหนึ่ง วิตามินบีสอง และกรดแพนโททีนลดลง นอกจากนั้นทัศนีย์ (2530) พบว่าปริมาณวิตามินบีหนึ่งและวิตามินบีสองในแป้งลูกเด็ยชนิดหยาบ และชนิดละเอียดมีปริมาณใกล้เคียงกัน ส่วนในสตาρχลูกเด็ยจะมีปริมาณวิตามินบีหนึ่งและวิตามินบีสองต่ำกว่าในแป้งลูกเด็ยทั้งสองชนิด เนื่องจากวิตามินดังกล่าวมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ จึงมีการสูญเสียในระหว่างการเตรียมสตาρχลูกเด็ย (ทัศนีย์, 2530)

สำหรับปริมาณแร่ธาตุที่พบในแป้งลูกเด็ย ยุกดี (2526) และทัศนีย์ (2530) ได้วิเคราะห์ปริมาณแร่ธาตุของลูกเด็ย พบว่า ในแป้งลูกเด็ยประกอบไปด้วยแร่ธาตุ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม ทองแดง แมกนีเซียม แมงกานีส สังกะสี และธาตุเหล็ก

ยุพดี (2526) พบว่า การสีเปลือกออกทำให้ปริมาณแร่ธาตุของลูกเดือยสีเปลือกออกไม่ชัดเจนเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่การขัดมันทำให้ลูกเดือยมีปริมาณแร่ธาตุลดลงเล็กน้อย และในปี 2530 ทศนีย์ ได้ทำการนำเถ้าของแป้งลูกเดือยชนิดหยาบ และแป้งลูกเดือยชนิดละเอียด ไปวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุบางชนิด ปรากฏว่า แป้งลูกเดือยชนิดหยาบและชนิดละเอียด มีปริมาณแร่ธาตุใกล้เคียงกัน สำหรับการวิเคราะห์แร่ธาตุในสตาร์ชลูกเดือย พบว่า สตาร์ชลูกเดือยมีปริมาณแร่ธาตุต่ำกว่าแป้งลูกเดือยทั้งสองชนิด ยกเว้นทองแดง สังกะสี และเหล็ก มีปริมาณใกล้เคียงกัน และแคลเซียม ที่มีปริมาณมากกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกรรมวิธีในการแยกสตาร์ชลูกเดือย ทำให้เกิดการแยกแร่ธาตุที่มีอยู่ในเมล็ดลูกเดือยออกไป (ทศนีย์, 2530)

จากองค์ประกอบทางเคมีของลูกเดือย และพืชใน sub-family เดียวกับลูกเดือย จะพบว่า องค์ประกอบหลักของเนื้อเมล็ด (endosperm) คือ คาร์โบไฮเดรต รองลงมา คือ โปรตีน ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาถึงคาร์โบไฮเดรต พบว่า คาร์โบไฮเดรตส่วนใหญ่ที่พบในธัญชาติ จะอยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนของพอลิแซคคาไรด์ ซึ่งพอลิแซคคาไรด์ส่วนใหญ่ คือ ส่วนของสตาร์ช โดยพบว่าในเมล็ดธัญชาติจะประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นสตาร์ชประมาณ 40-90 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก แห่ง (Kulp and Ponte, 2000) และจากการทดลองสกัดสตาร์ชลูกเดือยของทศนีย์ (2530) พบว่า แป้งลูกเดือยสามารถสกัดสตาร์ชลูกเดือยได้ประมาณ 56 เปอร์เซ็นต์ สำหรับข้าวโพด และข้าวฟ่าง พบว่า สามารถสกัดสตาร์ช ได้ประมาณ 64-78 เปอร์เซ็นต์ และ 66-77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Kulp and Ponte, 2000)

## 1. โปรตีนในลูกเดือย

จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและกรดแอมิโนในแป้งลูกเดือยของทศนีย์ (2530) พบว่า โปรตีนในแป้งลูกเดือยมีประมาณ 14.78 - 15.18 เปอร์เซ็นต์ และได้วิเคราะห์หาปริมาณกรดแอมิโน (amino acid) ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของโปรตีนในลูกเดือย ดังตารางที่ 1 Sato and Miyata (1975) พบว่า กรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนในลูกเดือยที่สีเปลือกออกและขัดมัน ประกอบด้วยกรดแอมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย (essential amino acid) คือ ลิวซีน (leucine) ไอโซลิวซีน (isoleucine) ทรีโอนีน (threonine) เบนีลอะลานีน (phenylalanine) ไลซีน (lysine) ทริปโตเฟน (tryptophane) และกรดแอมิโนที่ไม่จำเป็นต่อร่างกาย (non-essential amino acid) ชนิดอื่นๆ เช่น กรดกลูตามิก (glutamic acid) อะลานีน (alanine) แอสปาร์ติก (aspartic acid) เซอรีน (serine) ไทโรซีน (tyrosine) และไกลซีน (glycine) เป็นต้น

ตารางที่ 1 ปริมาณกรดแอมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนในลูกเดือยสีเปลือกออกและขัดมัน

ชนิดกรดแอมิโน	ปริมาณกรดแอมิโน (เปอร์เซ็นต์)	
	ลูกเดือยสีเปลือกออกและขัดมัน Sato and Miyata (1975)	แป้งลูกเดือยชนิดหยาบ ทัศนีย์ (2530)
กรดแอมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย		
ลิวซีน	11.94	14.90
วาเลีน	4.64	7.41
เมไทโอนีน	1.75	0.73
ไอโซลิวซีน	3.28	5.03
ทรีโอนีน	2.82	3.23
เฟนิลอะลานีน	4.75	5.98
ไลซีน	2.21	0.50
ทริปโตเฟน	0.60	NR
กรดแอมิโนที่ไม่จำเป็นต่อร่างกาย		
ซีสตีลีน	เล็กน้อย	เล็กน้อย
ฮิสทีดีน	2.25	เล็กน้อย
กรดกลูตามิก	23.24	25.74
โพรลีน	16.17	7.46
อะลานีน	9.95	10.03
กรดแอสปาร์ติก	7.04	เล็กน้อย
เซอรีน	4.44	เล็กน้อย
ไทโรซีน	2.30	เล็กน้อย
ไกลซีน	2.73	เล็กน้อย

หมายเหตุ NR (Not Report): ไม่รายงานผล

ที่มา: คัดแปลงมาจาก Sato and Miyata (1975) และ ทัศนีย์ (2530)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดแอมิโนในลูกเด็ดยกกับปริมาณความต้องการมาตรฐานของกรดแอมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายที่องค์การอาหารและอนามัยโลก (WHO) กำหนดไว้ พบว่า แป้งลูกเด็ยชนิดหยาบมีปริมาณกรดแอมิโนลิวซีน วาลีน ไอโซลิวซีน ทรีโอนีน เบนิลอะลานีน สูงกว่า แต่มีปริมาณเมไทโอนีนและไลซีนต่ำกว่า (เสาวนีย์, 2525) นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกรดแอมิโนของแป้งลูกเด็ยชนิดหยาบกับอาหารชนิดอื่น พบว่า แป้งลูกเด็ยชนิดหยาบมีปริมาณลิวซีน สูงกว่า ข้าวสาลี (7.0 เปอร์เซ็นต์) ข้าวเจ้า (8.2 เปอร์เซ็นต์) และถั่วเหลือง (8.0 เปอร์เซ็นต์) แต่ต่ำกว่า ข้าวโพด (15.0 เปอร์เซ็นต์) และมีปริมาณวาลีน เบนิลอะลานีน สูงกว่าข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวเจ้า ถั่วเหลือง และปริมาณทรีโอนีนใกล้เคียงกับข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวเจ้า ถั่วเหลือง (เสาวนีย์, 2525)

เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยอาศัยความสามารถในการละลายของโปรตีน ในสารละลายที่แตกต่างกัน Ottoboni *et al.* (1990) พบว่า ในส่วนของเนื้อเมล็ด (endosperm) ของลูกเด็ย ประกอบด้วยโปรตีนประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถทำการสกัดออกมาได้เป็น 2 ส่วนหลักๆ คือ ส่วนของโปรตีนอัลบูมิน (albumin) และโกลบูลิน (globulin) สามารถแยกออกมาได้โดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ต่อจากนั้นทำการสกัดโปรตีนด้วยสารละลายที่มีขั้วน้อย โดยในการทดลองนี้ใช้โพรพานอล (2-propanol) ได้โปรตีนส่วนโพรลามีน (prolamin) และพบว่าโปรตีนหลักที่อยู่ในลูกเด็ย คือ โปรตีนโพรลามีน โดยมีชื่อเรียกเฉพาะในลูกเด็ยว่า คอยซิน (Coixin) ซึ่งมีประมาณ 8.4-78.7 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนในเนื้อเมล็ดลูกเด็ย (endosperm) (Ottoboni *et al.*, 1990) และเมื่อพิจารณาโปรตีนในข้าวฟ่าง ซึ่งเป็นพืชใน sub-family เดียวกับลูกเด็ย พบว่า โปรตีนในข้าวฟ่างเมื่อทำการแยกชนิดของโปรตีน โดยอาศัยหลักการละลายที่แตกต่างกัน สามารถแบ่งชนิดของโปรตีนได้ดังนี้ อัลบูมิน (สามารถละลายได้ในน้ำ) โกลบูลิน (ละลายในสารละลายเกลือ) คาพิริน (ละลายในสารละลายแอลกอฮอล์) คาพิรินชนิดที่มีการสร้างพันธะเชื่อมข้ามกัน (ละลายในสารละลายแอลกอฮอล์ที่ประกอบด้วยสารรีดิวซิง) และกลูเตลิน (ละลายในสารละลายด่างที่มีการเติมสารรีดิวซิง) (Hamaker and Bugusu, 2003)

โปรตีนหลักของเมล็ดธัญชาติมีชื่อว่าโพรลามีน ประกอบด้วยกรดแอมิโนโพรลีนและกลูตามีนในปริมาณที่สูง ในข้าวสาลีโพรลามีนมีชื่อเรียกว่า ไกลอะดิน (gliadin) โดยชื่อดังกล่าวถูกตั้งโดยอาศัยชื่อเรียกเริ่มแรกของข้าวสาลีในปี 1819 ในขณะที่ธัญชาติชนิดอื่นถูกตั้งชื่อโดยอาศัยชื่อของธัญชาติในภาษาละติน (Latin generic names) เช่น ซีน (zein) ของข้าวโพด (*Zea mays*) ฮอร์ดีน (hordein) ของข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare*) เซคาร์รีน (secalin) ในข้าวไรย์ (*Secal cereale*) (Shewry and Tatham, 1990) รวมถึง คอยซิน (coixin) ของลูกเด็ย (*Coix lachrym-jobi*) (Ottoboni *et al.*, 1990)

### 1.1 โปรตีนคอยซิน (Coixin)

โปรตีนคอยซิน (Coixin) คือ โปรตีนโพรลามิน (prolamin) ในลูกเดือย และพบว่าเป็นโปรตีนหลักที่อยู่ในลูกเดือยมีประมาณ 8.4-78.7 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนในเนื้อเมล็ดลูกเดือย (endosperm) (Ottoboni *et al.*, 1990) และเป็นแหล่งของโปรตีนที่สำคัญต่อการบริโภคของคนและสัตว์

โดยทั่วไปโพรลามินจะถูกเก็บสะสมในรูปของโปรตีนบอดี ซึ่งโปรตีนดังกล่าวจะมีปริมาณประมาณครึ่งหนึ่งของโปรตีนที่พบในเมล็ดธัญพืช (Shewry and Tatham, 1990) ยกเว้นข้าวโอ๊ตและข้าว ซึ่งพบว่ามีปริมาณโพรลามินน้อย โดยมีประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนทั้งหมด โดยโปรตีนโพรลามินประกอบไปด้วย กลูตามีนประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ และโพรลีนประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ (Shewry and Tatham, 1990)

ได้มีการศึกษารายละเอียดของโปรตีนโพรลามินในข้าวโพด พบว่า มีความสัมพันธ์กับโปรตีนโพรลามินในข้าวฟ่าง ลูกเดือย และเพิร์ลมิลเลต (Pearlmillet) (Shewry and Tatham, 1990; Tatham *et al.*, 1995) โดยข้าวโพด ข้าวฟ่าง และลูกเดือยจัดเป็นพืชในตระกูลหญ้า และอยู่ใน sub-family เดียวกันคือ Panicoideae (Shewry and Halford, 2003; Tatham *et al.*, 1996) ซึ่งโปรตีนโพรลามินของธัญพืชดังกล่าวประกอบไปด้วยกลุ่มของกรดแอมิโนที่คล้ายกัน (Shewry and Tatham, 1990; Tatham *et al.*, 1996; Shewry and Halford, 2003) โปรตีนโพรลามินของพืชเหล่านี้มีความสามารถในการละลายในแอลกอฮอล์ แต่สมบัติของโปรตีนโพรลามินจะแตกต่างกันไป เช่น โปรตีนโพรลามิน (คาพิริน) ของข้าวฟ่างมีลักษณะโปรตีนโพรลามินที่คล้ายกับโปรตีนโพรลามิน (ซีน) ของข้าวโพด แต่จะมีสมบัติด้านการละลายแตกต่างกัน ซึ่งพบว่าโปรตีนซีนสามารถสกัดได้ในปริมาณมากด้วยสารละลาย tertiary butanol เข้มข้น 60% (v/v) หรือสารละลายที่มีขั้วน้อยกว่า propan-2-ol (Shewry and Halford, 2003) เมื่อทำการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนซีนที่สกัดด้วยสารละลายที่มีสารรีดิวซิง (reducing agent) แสดงให้เห็นแถบของโปรตีนซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 10,000 14,000 16,000 19,000 22,000 และ 28,000 ดาลตัน หรืออาจแบ่งโดยอาศัยหลักการจัดเรียงลำดับของกรดแอมิโนที่แตกต่างกันในโครงสร้างของโปรตีน สามารถแบ่งโปรตีนโพรลามินของข้าวโพด (โปรตีนซีน) ออกเป็น 4 กลุ่มหลักๆ คือ แอลฟา บีตา แกมมา และ เดลตา (Shewry and Tatham, 1990; Shewry and Halford, 2003) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 องค์ประกอบกรดแอมิโน (residues/mol) ของโปรตีนซีน (zein) รวม และโปรตีนซีนแต่ละกลุ่ม

	Total zein	$\alpha$ -zein		$\beta$ -zein	$\gamma$ -zein	$\delta$ -zein
		$M_r$ 19000 (A30)	$M_r$ 22000 (pZ22.1)	( $M_r$ 15000)	( $M_r$ 28000)	( $M_r$ 10000)
Asp	3.9	0	0	1	0	1
Asn		10	12	3	0	3
Thr	3.2	5	8	4	9	5
Ser	5.9	15	16	8	8	8
Glu	20.7	1	1	3	2	0
Gln		41	50	26	30	15
Pro	13.0	23	22	14	51	20
Gly	3.8	5	4	14	13	4
Ala	11.3	29	34	22	10	7
Cys	1.9	2	1	7	15	5
Val	4.5	5	15	4	15	5
Met	1.9	0	5	18	1	29
Ile	2.9	9	8	1	4	3
Leu	15.3	43	44	16	19	15
Tyr	3.9	8	8	14	4	1
Phe	3.8	13	9	0	2	5
His	2.1	2	3	0	16	3
Lys	0.2	0	0	0	0	0
Arg	1.7	2	2	5	5	0
Trp	Nd.	0	0	0	0	0
Amino acid residue		213	242	160	204	129
Absolute $M_r$		23329	26532	17279	21824	14431

ที่มา: Shewry and Tatham (1990)

จากตารางที่ 2 พบว่าโปรตีนโพรลามีนทุกกลุ่มมีกรดแอมิโนหลัก คือ กลูตามีน (glutamine) และโพรลีน (proline) และกรดแอมิโนที่ไม่พบ คือ ไลซีน (lysine) และ ทริปโตเฟน (tryptophan) ส่วนเมไทโอนีน (methionine) จะพบกรดแอมิโนดังกล่าวปริมาณมาก ในบีตา และ

แกลมา-ซีน ส่วนซิสทีน (cystein) และฮิสทีดีน (histidine) จะพบทั้งสองตัวปริมาณมากใน แกลมา-ซีน (Shewry and Tatham, 1990)

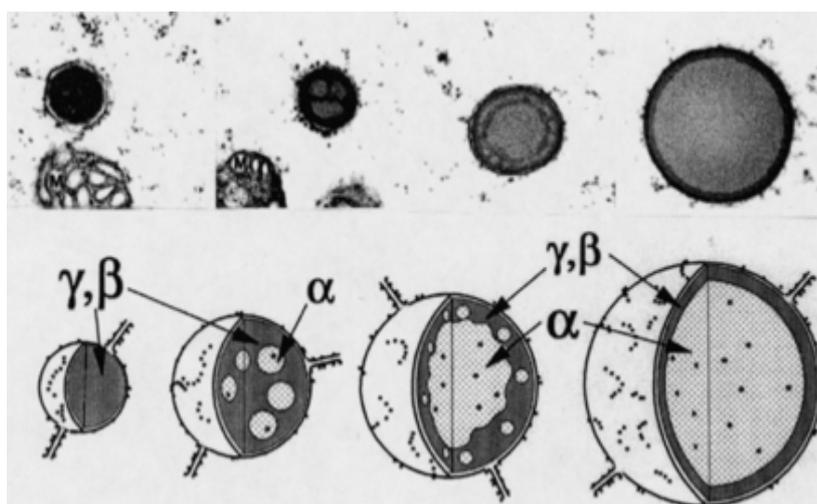
1.1.1 แอลฟา-ซีน ( $\alpha$ -Zein) คือ โปรตีนกลุ่มหลักของโปรตีนซีนโปรตีนกลุ่มนี้มีประมาณ 75 - 80 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนซีนทั้งหมด ประกอบด้วยน้ำหนักโมเลกุลหลักๆ คือ  $M_r$  19,000 และ  $M_r$  22,000 มีทั้งส่วนที่เป็นมอโนเมอร์ และ โอลิโกเมอร์ ซึ่งส่วนที่เป็น โอลิโกเมอร์ สามารถละลายได้ง่ายในสารละลายแอลกอฮอล์ (Shewry and Tatham, 1990) แอลฟา-ซีน เป็นโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการต่ำ เนื่องจากมีปริมาณของซิสเตอีน และเมไทโอนีนที่ต่ำ และไม่พบไลซีนและทริปโตเฟนในส่วนนี้ นอกจากนี้ยังพบว่าโปรตีนโพรลามีนชนิดแอลฟายังเป็นโปรตีนหลักในลูกเดือย ข้าวฟ่าง และพืชในตระกูลมิลเลต (millet) (Shewry and Halford, 2003) โดย Hamaker *et al.* (1995) ได้รายงานน้ำหนักโมเลกุลของ แอลฟา-คาฟิริน( $\alpha$ -Kafirin) ประกอบด้วยน้ำหนักโมเลกุลหลัก คือ  $M_r$  23,000 คาลตัน

1.1.2 บีตา-ซีน ( $\beta$ -Zeins) คือ โปรตีนโพรลามีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 15,000 เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีการแยกโปรตีนโดยกระแสไฟฟ้าแบบพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis; SDS-PAGE) โปรตีนในกลุ่มนี้ประกอบด้วยกรดแอมิโน 18 ชนิด มาตรฐานเป็นสายพอลิเปปไทด์ประมาณ 160 หน่วย ซึ่งพบ เมไทโอนีน 18 หน่วย และซิสเตอีน 7 หน่วย (Shewry and Halford, 2003) ดังตารางที่ 2 นอกจากนี้ Shull *et al.* (1992) ยังเสนอว่า น้ำหนักโมเลกุลในช่วง 16,000 18,000 และ 20,000 คาลตัน ในแถบของโปรตีนคาฟิริน (Hamaker *et al.*, 1995) จากข้าวฟ่าง มีช่วงน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกับ บีตา-ซีน นอกจากนี้ยังพบว่า บีตา-คอยซีน มีลำดับกรดแอมิโนที่คล้ายกับ บีตา-ซีน (Leite *et al.*, 1992)

1.1.3 แกลมา-ซีน ( $\gamma$ -ซีน) คือ โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 27,000 คาลตัน และมีมากเป็นอันดับสองในโปรตีนซีน เมื่อทำการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนโดยนำโปรตีนของข้าวฟ่างและลูกเดือยทำปฏิกิริยากับแอนตี้ซีรัม เพื่อลอกแบบดีเอ็นเอและยีนของโปรตีนทั้งสองชนิด พบว่า โปรตีนของข้าวฟ่างและลูกเดือย ให้ลักษณะโปรตีนที่คล้ายกับ แกลมา-ซีน (Shewry and Halford, 2003) โดย Hamaker *et al.* (1995) ได้รายงานน้ำหนักโมเลกุลของ แกลมา-คาฟิริน ( $\gamma$ -kafirin) มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 28,000 คาลตัน

1.1.4 เดลตา-ซีน ( $\delta$ - Zein) คือ โปรตีนโพลามินของข้าวโพดที่ประกอบด้วยน้ำหนักโมเลกุล 2 ช่วงหลักๆ คือ 10,000 และ 18,000 คาลตัน โปรตีนทั้งสองชนิดนี้ประกอบด้วยเมไทโอนีนในปริมาณที่สูง ในช่วงน้ำหนักโมเลกุล 18,000 และ 10,000 คาลตัน ประกอบด้วยเมไทโอนีน 26.9 และ 22.8 โมล ตามลำดับ (Shewry and Halford, 2003)

เมื่อพิจารณาการกระจายตัวของโปรตีนซีนแต่ละกลุ่มในโครงสร้างของโปรตีนบอดี พบว่า การกระจายตัวของโปรตีนซีนมีความสัมพันธ์กับช่วงการเจริญเติบโตของธัญชาติ โดยพบว่า ช่วงแรกของการเจริญเติบโต โปรตีนบอดีจะผลิตส่วนของแกมมา-ซีนและบีตา-ซีน และเมื่อเมล็ดเข้าสู่การเจริญอย่างเต็มที่ พบว่าการกระจายตัวของโปรตีนซีนแต่ละกลุ่มในโปรตีนบอดีจะเปลี่ยนแปลงไป โดยส่วนกลางของโปรตีนบอดี ประกอบด้วยแอลฟา-ซีน และผิวด้านนอกของโปรตีนบอดีประกอบด้วยแกมมา-ซีนและบีตา-ซีน (Shewry and Halford, 2002) ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 องค์ประกอบของโปรตีนโพลามิน

ที่มา: Shewry and Halford (2002)

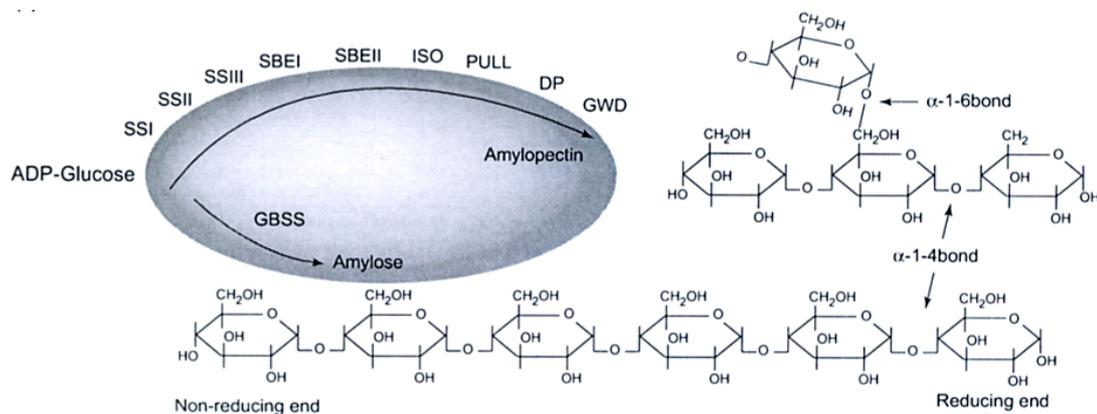
นอกจากนั้น Guo *et al.* (2005) ศึกษาลักษณะ โครงสร้างและสมบัติของโปรตีนซีน (Zein) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อะตอมมิกฟอส (Atomic Force Microscopy; AFM) พบว่าโปรตีนซีนมีรูปร่างเป็นเม็ดทรงกลม (globule) และด้วยองค์ประกอบของกรดแอมิโนภายในโปรตีนซีน ซึ่งประกอบไปด้วยกรดแอมิโนประเภทที่มีหมู่ไฮโดรโฟบิกประกอบด้วยซัลเฟอร์ จึงทำให้โปรตีนซีนสามารถรักษาโครงสร้างด้วยพันธะไดซัลไฟด์ระหว่างโมเลกุล และโปรตีนดังกล่าวอยู่รวมกันด้วยอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก (hydrophobic interaction) นอกจากนี้ยังพบว่าในกระบวนการที่มีการให้

ความร้อนกับโปรตีนซินในสารละลายแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ โปรตีนซินจะมีการจัดเรียงโครงสร้างที่หลากหลายมากขึ้น และระหว่างกระบวนการทำแห้งและระเหยแอลกอฮอล์ออก โปรตีนจะเริ่มจับกันเป็นก้อน (agglomerate) ส่งผลให้โปรตีนจัดเรียงโครงสร้างเป็นรูปทรงรี (rod) คัมเบล (dumbbell) และเป็นกิ่งก้าน (branch) และเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจน พันธะไดซัลไฟด์ และอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก ทำให้รูปร่างของโปรตีนซินเกิดการรวมตัวกันเป็นก้อน โปรตีนที่มีขนาดและรูปร่างที่แตกต่างกัน (Guo *et al.*, 2005)

### องค์ประกอบและโครงสร้างของเม็ดสตาร์ช

เม็ดสตาร์ชจะมีรูปร่างและโครงสร้างของเม็ดสตาร์ชแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และปฏิกิริยาด้านชีวเคมีของคลอโรพลาสต์หรือเอมิโลพลาสต์ โดยพบว่าขนาดของเม็ดสตาร์ชจะมีขนาดแตกต่างกันไป โดยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางจะอยู่ในช่วง 1 ถึง 110 ไมโครเมตร โดยเม็ดสตาร์ชที่มีขนาดเล็กจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วง 1 ถึง 20 ไมโครเมตร ส่วนเม็ดสตาร์ชที่มีขนาดใหญ่ จะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 20 ถึง 110 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่จะเป็นเม็ดสตาร์ชจากมันฝรั่ง (Singh *et al.*, 2003) สำหรับรูปร่างของเม็ดสตาร์ชลูกเดียว Yang *et al.* (1978) ทำการศึกษาลักษณะของเม็ดสตาร์ช (starch granule) ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสงส่องผ่าน พบว่า รูปร่างเม็ดสตาร์ชลูกเดียวมีหลายรูปแบบ คือ มีรูปร่างค่อนข้างหลายเหลี่ยมและค่อนข้างกลม เมื่อนำสตาร์ชลูกเดียวมาสังเกตลักษณะโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบโพลาไรซ์ (polarized light) จะเห็นส่วนของไบรีฟรินเจนซ์ (birefringence) ได้ชัดเจน ส่วนขนาดของเม็ดสตาร์ชลูกเดียวมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วง 6.5 - 20 ไมโครเมตร ซึ่งลักษณะรูปร่างและขนาดของเม็ดสตาร์ชใกล้เคียงกับสตาร์ชจากข้าวโพด โดยสตาร์ชข้าวโพดจะมีลักษณะรูปร่างของเม็ดสตาร์ชกลมและหลายเหลี่ยม โดยเม็ดสตาร์ชขนาดเล็กจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 ถึง 7 ไมโครเมตร สำหรับเม็ดสตาร์ชข้าวโพดที่มีขนาดใหญ่จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 15 ถึง 20 ไมโครเมตร (Singh *et al.*, 2003) เมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบภายในเม็ดสตาร์ช พบว่า เม็ดสตาร์ชประกอบด้วยพอลิเมอร์ 2 ชนิด คือ พอลิเมอร์เชิงเส้น (เอมิโลส) และพอลิเมอร์เชิงกิ่ง (เอมิโลเพกทิน) โดยกระบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์ทั้งสองชนิดต้องอาศัยเอนไซม์ในกระบวนการสังเคราะห์ที่แตกต่างกัน โดยเอนไซม์จะทำหน้าที่ในการเชื่อมต่อโมเลกุลของอะดีโนซีนไดฟอสฟอกลูโคส เข้าทางด้านปลายของสายพอลิแซคคาไรด์ที่ไม่มีหมู่อิควิน (non-reducing end) โดยเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์แบ่งเป็นเอนไซม์ 2 กลุ่มหลักๆ ได้แก่ เอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์เอมิโลส คือ เอนไซม์ GBSS (granule-bound starch synthase) โดยเอนไซม์ดังกล่าวจะปรากฏอยู่ในเม็ดสตาร์ช ในขณะที่

เอนไซม์ที่ใช้สังเคราะห์แอมิโลเพกทิน มักจะปรากฏอยู่ที่ผิวของเมล็ดสตาร์ช ซึ่งเอนไซม์ที่ใช้สังเคราะห์แอมิโลเพกทินจะมีเอนไซม์อย่างน้อย 9 อนุพันธ์ ดังภาพที่ 2 (Jobling, 2004)



ภาพที่ 2 ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์แอมิโลเพกทินและแอมิโลส  
ที่มา: Jobling (2004)

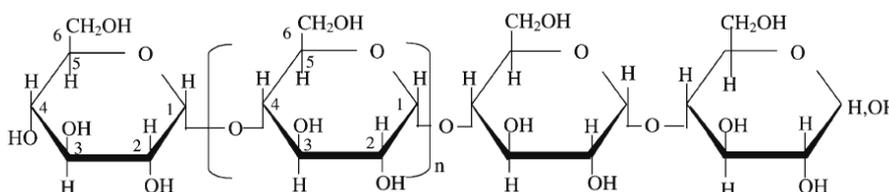
โดยเอนไซม์หรือโปรตีนที่เกาะเกี่ยวอยู่บนสตาร์ชข้าวโพด พบว่าประกอบด้วยโปรตีน 2 ชนิดหลักๆ คือ โปรตีนที่อยู่บริเวณผิวของแกรนูล ซึ่งพบว่าเป็นโปรตีนประเภทโปรตีนสะสม (zein) มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 10-27 กิโลดาลตัน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ง่ายต่อการสกัดออก และโปรตีนอีกประเภทหนึ่ง คือ โปรตีนที่อยู่ภายในเมล็ดสตาร์ช ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 32 กิโลดาลตัน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (Mu-Forster and Wasserman, 1998) และนอกจากนั้น Han and Hamaker (2002b) ได้รายงานว่ามีโปรตีนที่เกาะเกี่ยวภายในเมล็ดสตาร์ชจะมีน้ำหนักโมเลกุล 60 กิโลดาลตัน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ผลิตจาก waxy gene หรือถูกเรียกว่า waxy protein (*Wx* protein) โปรตีนดังกล่าวใช้ในการสังเคราะห์แอมิโลส (GBSS) ซึ่งจะไม่พบโปรตีนดังกล่าวในสตาร์ชประเภทแวกซี (waxy starch) (Goldner and Boyer, 1989; Han and Hamaker, 2002a)

ทั้งนี้ในการสังเคราะห์แอมิโลสและแอมิโลเพกทิน อัตราส่วนจะแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด โดยสตาร์ชประเภท waxy ประกอบด้วยแอมิโลสน้อยกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ สตาร์ชชนิดต่างๆ ประกอบด้วยแอมิโลส 20 ถึง 35 เปอร์เซ็นต์ และสตาร์ชชนิดแอมิโลสสูง โดยมีปริมาณแอมิโลสมากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ นอกจากองค์ประกอบของแอมิโลสและแอมิโลเพกทินแล้ว ในสตาร์ชอาจจะประกอบไปด้วยองค์ประกอบอื่นๆ เช่น ไขมัน โปรตีน และแร่ธาตุ (Singh *et al.*, 2003)

พอลิเมอร์ของแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน ประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลกลูโคสมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic linkage) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ทางด้านตอนปลายของสายพอลิเมอร์ที่มีหน่วยกลูโคสที่มีหมู่แอลดีไฮด์ (aldehyde group) เรียกว่า ปลายรีดิวซิง (reducing end group) (กล้าณรงค์และเกื้อกุล, 2546) ดังภาพที่ 2

## 1. แอมิโลส

แอมิโลสเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นที่ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 2,000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic linkage) ชนิดแอลฟา -1, 4 ( $\alpha$  - 1, 4) ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 โครงสร้างโมเลกุลของแอมิโลส

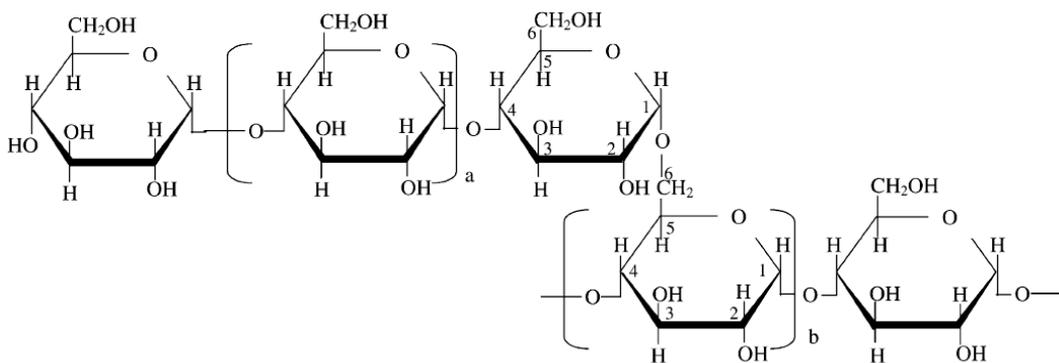
ที่มา: Tester *et al.* (2004)

โดยน้ำหนักโมเลกุลของแอมิโลสอยู่ในช่วง  $10^5$  ถึง  $10^6$  ดาลตัน ซึ่งแอมิโลสในแป้งแต่ละชนิดมีขนาดโมเลกุลหรือระดับขั้นการเกิดพอลิเมอร์ (Degree of polymerization, DP) แตกต่างกัน (กล้าณรงค์และเกื้อกุล, 2546) นอกจากนั้นแอมิโลสยังมีความสามารถในการรวมตัวกับ ไอโอดีน และสารประกอบอินทรีย์ เช่น บิวทานอล กรดไขมัน สารลดแรงตึงผิว ฟีนอล และไฮโดรคาร์บอน เป็นสารประกอบเชิงซ้อน และพบว่าการรวมตัวระหว่างแอมิโลสและกรดไขมันเป็นสารประกอบเชิงซ้อน มีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของสตาร์ช (Singh *et al.*, 2003) นอกจากนั้นโครงสร้างแอมิโลสยังสามารถเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอมิโลสและไอโอดีน โดยโมเลกุลของแอมิโลส จะเกิดการพันเกลียวโดยหันส่วนที่เป็นไฮโดรโฟบิกเข้าด้านใน และมีโมเลกุลของไอโอดีนแทรกอยู่ตรงกลาง เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน (กล้าณรงค์และเกื้อกุล, 2546) ขณะที่แอมิโลเพกทิน ซึ่งมีลักษณะสายพอลิแซ็กคาไรด์ที่สั้นกว่า เมื่อสายโซ่ดังกล่าวทำปฏิกิริยากับ ไอโอดีนจะให้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาลอมแดง (Whistler and Bemiller, 1999; Patel *et al.*, 2006)

นอกจากนั้นในการทดลองของ Patel *et al.* (2006) ยังพบว่าสารละลายไอโอดีนมีผลต่อการพองตัวและลักษณะด้านสัณฐานวิทยาของของสตาร์ชจากข้าวสาลี สตาร์ชข้าวโพด (normal corn starch) สตาร์ชข้าวโพดข้าวเหนียว โดยพบว่าการใส่สารละลายไอโอดีนลงในสารละลายสตาร์ชและนำไปผ่านการให้ความร้อน เมื่อนำมาสังเกตลักษณะด้านสัณฐานวิทยาของเม็ดสตาร์ช พบว่าสตาร์ชข้าวสาลี และสตาร์ชข้าวโพด ที่มีการเติมสารละลายไอโอดีน เกิดการพองตัวของเม็ดสตาร์ชอย่างจำกัด และนอกจากนั้นยังพบว่าการพองตัวของเม็ดสตาร์ชเกิดขึ้นได้ช้ากว่าตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารละลายไอโอดีน ในทางกลับกัน พบว่า สารละลายไอโอดีนเมื่อเติมลงในสตาร์ชประเภทข้าวเหนียว (แอมิโลเพกทิน) จะไม่มีผลต่อการพองตัวของสตาร์ช (Patel *et al.*, 2006) ซึ่งลักษณะการพองตัวของสตาร์ชข้าวสาลี และข้าวโพดเกิดการพองตัวอย่างจำกัด เนื่องจากเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอมิโลสกับโมเลกุลของไอโอดีน จากสมมติฐานดังกล่าว Patel *et al.* (2006) ได้ทำการทดลองสมบัติด้านความร้อนในการยืนยันสมมติฐาน โดยใช้เครื่องดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริมิเตอร์ (Differential Scanning Calorimeter; DSC) พบว่า ตัวอย่างสตาร์ชข้าวสาลี และข้าวโพด มีอุณหภูมิที่เริ่มเกิดการเจลาทิไนซ์ (To: onset of gelatinization temperature) ที่สูงขึ้น และนอกจากนั้นยังพบลักษณะเอนโดเทอร์ม ในตัวอย่างสตาร์ชข้าวสาลี และข้าวโพด ที่มีการเติมสารละลายไอโอดีน มีช่วงอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับเอนโดเทอร์มของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอมิโลสและไขมัน (Patel *et al.*, 2006)

## 2. แอมิโลเพกทิน

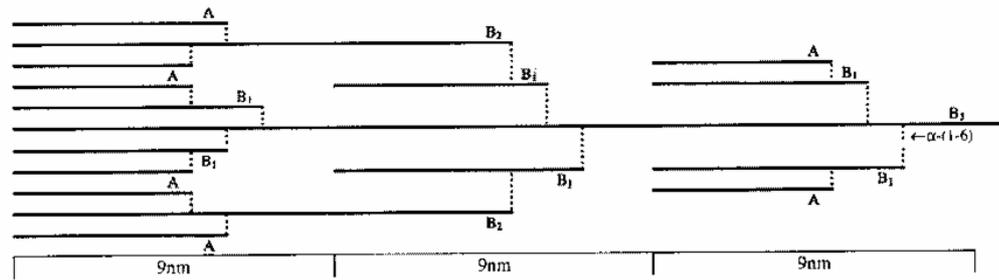
แอมิโลเพกทินเป็นพอลิเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคส ส่วนที่เป็นเส้นตรงของโมเลกุลแอมิโลเพกทินเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic linkage) ชนิด  $\alpha$ -1, 4 และส่วนที่เป็นกิ่ง เป็นพอลิเมอร์กลูโคสสายสั้นมีขนาดโมเลกุล (DP) อยู่ในช่วง 10 ถึง 60 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic linkage) ชนิด  $\alpha$ -1, 6 ดังภาพที่ 4



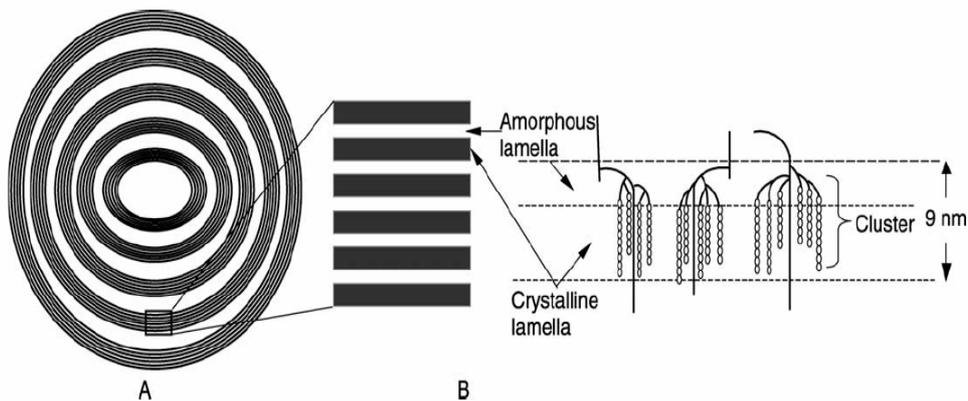
ภาพที่ 4 โครงสร้างโมเลกุลของแอมิโลเพกทิน

ที่มา: Tester *et al.* (2004)

แอมิโลเพกทินมีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่าแอมิโลส โครงสร้างของแอมิโลเพกทินมีการเชื่อมต่อของหน่วยกลูโคสมีพันธะกลูโคซิดิกชนิด  $\alpha$ -1, 4 ประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ และ  $\alpha$ -1, 6 ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณหน่วยกลูโคสในแอมิโลเพกทินทั้งหมด แอมิโลเพกทินมีขนาดประมาณ  $10^7$  ถึง  $10^9$  ดาลตัน (กล้าณรงค์และเกื้อกุล, 2546; Biliaderis, 1998; Buleon *et al.*, 1998; Morrison and Karkalas, 1990; Mua and Jackson, 1997) โครงสร้างแบบกิ่งของแอมิโลเพกทินประกอบด้วยสายโซ่ (chain) 3 ชนิด คือ สาย A (A-chain) เชื่อมต่อกับสายอื่นที่ตำแหน่งเดียว ไม่มีกิ่งเชื่อมต่อกับสายชนิดนี้ (unbranched structure) สาย B (B-chain) มีโครงสร้างแบบกิ่งเชื่อมต่อกับสายอื่นๆ 2 สาย หรือมากกว่า โครงสร้างแอมิโลเพกทินประกอบด้วยสาย A และ สาย B ในอัตราส่วน 0.8 – 0.9:1 (กล้าณรงค์และเกื้อกุล, 2546) และสาย C (C-chain) หรือสายแกนจะมีเพียงสายเดียวในแต่ละโมเลกุลของแอมิโลเพกทิน ซึ่งประกอบด้วยหมู่รีดิวซิง 1 หมู่ ดังภาพที่ 5 โดยสาย A และสาย B ที่อยู่ด้านนอกของโครงสร้างจะเกิดการจัดเรียงตัวเป็นเกลียวคู่ (double helices) ซึ่งเป็นส่วนของผลึกที่พบภายในเม็ดสตาร์ช ดังภาพที่ 6



ภาพที่ 5 ลักษณะโครงสร้างของแอมิโนโพลีเพกทินที่ประกอบด้วยสาย A, B และ C  
ที่มา: Hizukuri (1986)



ภาพที่ 6 ลักษณะโครงสร้างของเม็ดสตาร์ช

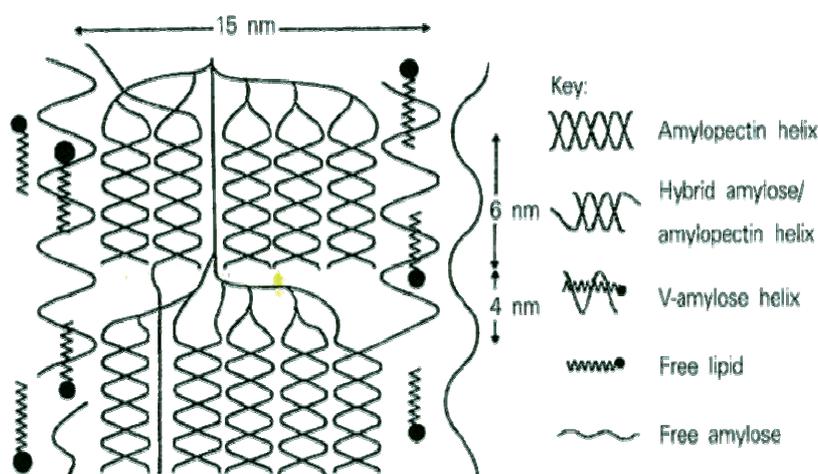
หมายเหตุ A คือ เม็ดสตาร์ช; B คือ ภาพขยายของส่วนอสัณฐาน และ โครงสร้างเกลียวคู่ของสายโซ่  
แอมิโนโพลีเพกทินในส่วนของผลึก

ที่มา: Tester *et al.* (2004)

ขนาดโมเลกุลของแอมิโนโพลีเพกทินที่มีตั้งแต่ขนาดเล็กจนถึงโมเลกุลขนาดใหญ่เหล่านี้จะอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (cluster) ส่วนที่หนึ่งเป็นโครงสร้างของผลึก (crystalline region) ส่วนที่สองมีโครงสร้างเป็นกิ่งเชื่อมแสดงถึงส่วนอสัณฐาน (amorphous region) ดังภาพที่ 6 ในการจับกันเป็นกลุ่มของแอมิโนโพลีเพกทินทำให้เกิดเป็นเกลียวคู่ (double helices) ซึ่งช่วยให้เม็ดสตาร์ชมีความคงทนต่อการทำปฏิกิริยาคัวยกรดและเอนไซม์ การเกิดเกลียวคู่ของแอมิโนโพลีเพกทิน ต้องใช้พันธะไฮโดรเจนและแรงแวนเดอร์วาลส์ในการเชื่อมต่อกัน กิ่งแอมิโนโพลีเพกทินภายในเม็ดสตาร์ชสามารถเกิดเป็นผลึกได้ ทั้งกิ่งที่อยู่ใกล้กันในกลุ่ม (cluster) เดียวกัน หรือเกิดขึ้นระหว่างกลุ่มที่ใกล้เคียงกัน ซึ่ง

ส่งผลให้ภายในเมล็ดสตาร์ชสามารถสังเกตเห็นลักษณะวงแหวน (growth ring) หนาแน่น โดยสังเกตได้จากกล้องจุลทรรศน์ชนิดอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Tester *et al.*, 2004)

แบบจำลองของเมล็ดสตาร์ชซึ่งประกอบด้วยแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน ดังภาพที่ 7 ในแบบจำลองนี้แสดงลักษณะเกลียวคู่ (double helices) ของแอมิโลเพกทินที่รวมกันเป็นผลึก และมีแอมิโลสพันเกลียวอยู่กับแอมิโลเพกทิน รวมทั้งส่วนของแอมิโลสที่อยู่อย่างอิสระและอยู่ร่วมกับไขมัน (Lineback, 1984 และ กล้าณรงค์และเกื้อกุล, 2546)



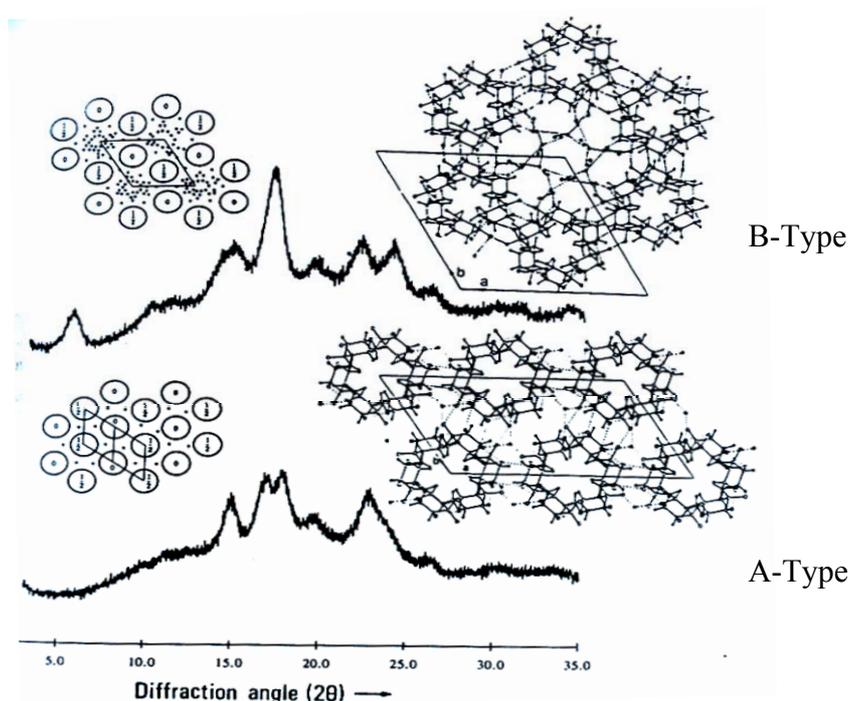
ภาพที่ 7 แบบจำลองโครงสร้างแอมิโลสที่อยู่ร่วมกับแอมิโลเพกทินและไขมัน

ที่มา: Blanshard (1987)

### 3. โครงสร้างผลึกของเมล็ดสตาร์ช

เมล็ดสตาร์ชจัดว่าเป็น semi-crystalline ประกอบด้วยสองส่วนคือ ส่วนที่มีการจัดเรียงโครงสร้างอย่างเป็นระเบียบในแนวรัศมี (crystalline region) และส่วนที่มีการจัดเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ (amorphous region) ในส่วนที่มีการจัดเรียงโครงสร้างอย่างเป็นระเบียบ จะเกิดในส่วนที่มีปริมาณแอมิโลเพกทินสูง ซึ่งเกิดจากการที่สายโซ่ด้านนอกของแอมิโลเพกทิน สายโซ่ A และ B เกิดการพันเกลียวกัน ซึ่งจะให้ลักษณะโครงสร้างเป็นสามมิติ และจะมีผลต่อการสะท้อนของลำแสงอิเล็กตรอนในช่วงคลื่นสั้น (X-ray) โดยสตาร์ชแต่ละชนิดจะให้รูปแบบการสะท้อนกับรังสีเอกซ์แตกต่างกัน สตาร์ชจากธัญชาติมักมีการจัดเรียงตัวของผลึกเป็นแบบ A-Type ส่วนพืชหัวและ

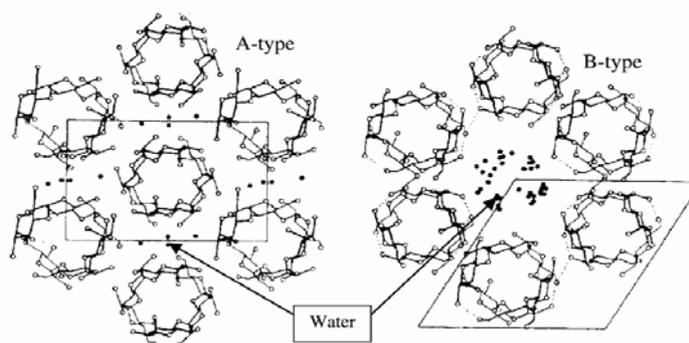
สตาร์ชจากพืชที่มีปริมาณแอมิโลสสูง (high amylose) มีการจัดเรียงตัวของผลึกแบบ B-Type ดังภาพที่ 8 สำหรับสตาร์ชจากพืชหัว ถั่วเมล็ดเรียบ และจากผลไม้บางชนิด มีการจัดเรียงตัวของผลึกแบบ C-Type ซึ่งการจัดเรียงตัวของผลึกประเภท C-Type เป็นลักษณะการจัดเรียงตัวร่วมกันของผลึกประเภท A และ B-Type (Tester *et al.*, 2004) โดยลักษณะผลึกแบบ A-Type จะปรากฏมุมของการสะท้อนที่ตำแหน่ง  $15^{\circ}$   $17^{\circ}$   $18^{\circ}$  และ  $23^{\circ}$  สำหรับผลึกประเภท B-Type จะปรากฏมุมของการสะท้อนที่เข้มมากที่สุดที่ตำแหน่ง  $17^{\circ}$  และเกิดการสะท้อนเล็กน้อยที่ตำแหน่ง  $20^{\circ}$   $22^{\circ}$  และ  $24^{\circ}$  (Cheetham and Tao, 1998; Elsenhaber and Schulz, 1992; Zobel, 1988)



ภาพที่ 8 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์แบบ B-Type และ A-Type

ที่มา: Biliaderis (1998)

การจัดเรียงตัวเป็นฮีลิกซ์ของพอลิเมอร์ชนิด A และ B-Type มีความสัมพันธ์กับโครงสร้างผลึก โดยโครงสร้างผลึกชนิด A-Type จะมีการอัดแน่นของฮีลิกซ์ ทำให้มีโมเลกุลของน้ำต่ำกว่าโครงสร้างผลึกชนิด B-Type ซึ่งลักษณะโครงสร้างที่เปิดช่องผลให้ผลึกประเภท B-Type มีโมเลกุลของน้ำบรรจุอยู่ในโครงสร้างมากกว่าผลึกประเภท A-Type (Gidley, 1987; Imberty *et al.*, 1991) ดังภาพที่ 9



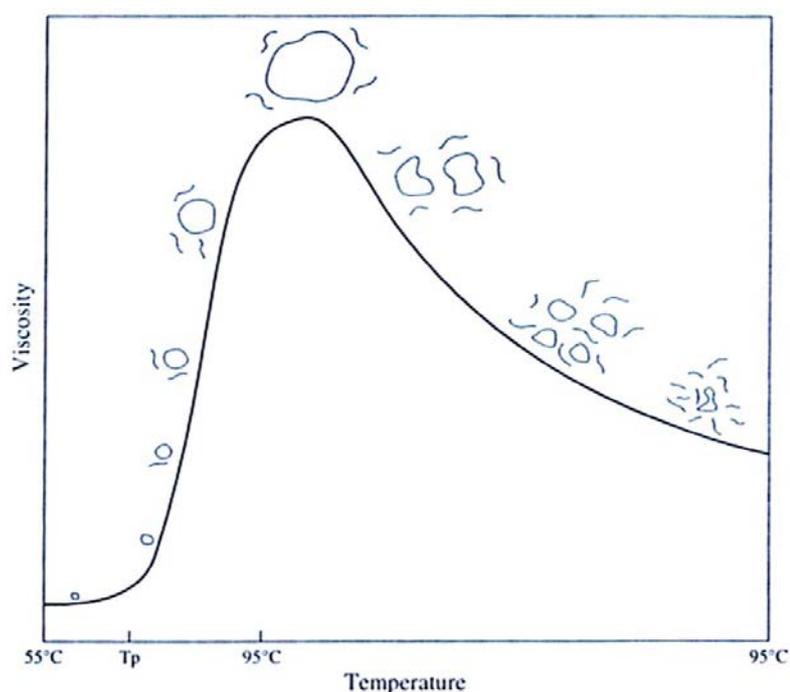
ภาพที่ 9 พอลิเมอร์ชนิด A และ B (A, B-Type)

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Wu and Sarko (1978)

### กระบวนการเกิดเจลลาทีนในเซชันและการเกิดรีโทรเกรเดชัน

โมเลกุลของสตาร์ชประกอบไปด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) จำนวนมาก ยึดเกาะกันด้วยพันธะไฮโดรเจน แต่เนื่องจากเม็ดสตาร์ชมีการจัดเรียงเป็น โครงสร้างผลึกแบบ semi-crystalline ทำให้เม็ดสตาร์ชละลายในน้ำเย็นได้ยาก ในขณะที่เม็ดสตาร์ชอยู่ในน้ำเย็นเม็ดสตาร์ชจะดูดซึมน้ำและพองตัวได้เล็กน้อย เมื่อทำแห้ง สตาร์ชดังกล่าวสามารถที่จะกลับคืนสู่ลักษณะของเม็ดสตาร์ชในรูปแบบเดิมได้ แต่เมื่อให้ความร้อนกับสารละลายสตาร์ช พบว่า โมเลกุลของพอลิแซคคาไรด์ภายในเม็ดสตาร์ชจะเกิดการสั่นสะเทือน (vibration) ทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโซ่พอลิแซคคาไรด์เกิดการคลายตัวและแตกออก โมเลกุลของน้ำในระบบจะเริ่มเข้าทำอันตรกิริยากับเม็ดสตาร์ชในส่วนที่เป็นอสัณฐาน (amorphous) ก่อน ทำให้เม็ดสตาร์ชมีความสามารถในการดูดซึมน้ำและเกิดการพองตัว โดยโมเลกุลของน้ำจะเชื่อมต่อกับพันธะไฮโดรเจนกับหมู่ไฮดรอกซิลภายในโมเลกุลของพอลิแซคคาไรด์และโมเลกุลถูกล้อมรอบไปด้วยโมเลกุลของน้ำและสามารถเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระ (Whistler and BeMiller, 1999) ทำให้โครงสร้างผลึกภายในเม็ดสตาร์ชถูกทำลาย (crystalline) ส่งผลให้เม็ดสตาร์ชดูดน้ำแล้วพองตัว ในขณะที่สตาร์ชเกิดการพองตัว โมเลกุลของแอมิโลสบางส่วนหลุดออกจากเม็ดสตาร์ช และเมื่อเพิ่มความร้อนให้กับระบบจะทำให้เม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัวและเกิดการหลุดออกของโมเลกุลแอมิโลสมากขึ้น ทำให้โมเลกุลของน้ำอิสระที่เหลืออยู่รอบๆ เม็ดสตาร์ชมีปริมาณน้อยลง เม็ดสตาร์ชเคลื่อนไหวได้ยากขึ้นทำให้เกิดความหนืดปรากฏการณ์นี้เรียกว่า การเกิดเจลลาทีนในเซชัน (gelatinization) โดยวิธีที่นิยมใช้ศึกษาการเกิดเจลลาทีนในเซชันของสตาร์ช คือ การวิเคราะห์ด้วยดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริมิเตอร์ (Differential Scanning Calorimeter; DSC) เพื่อหาช่วงของอุณหภูมิเริ่มต้น (onset temperature;  $T_o$ )

อุณหภูมิสูงสุด (peak temperature;  $T_p$ ) และอุณหภูมิต่ำสุดท้าย (conclusion temperature;  $T_c$ ) ของการเกิดเจล-ลาทีไนเซชันและค่าพลังงานเอนทัลปี (enthalpy;  $\Delta H$ , cal/g) ในการเกิดเจลลาทีไนเซชัน (กล้าณรงค์และเกื้อกุล, 2546) อุณหภูมิเริ่มเกิดการเจลลาทีไนซ์ เมื่อตรวจวัดด้วยเครื่องมือวัดความหนืด มักจะเรียกจุดนี้ว่า อุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงความหนืด (pasting temperature) เมื่อเม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัวอย่างเต็มที่ และมีการให้แรงเหมือนกับระบบเม็ดสตาร์ชจะเกิดการแตกออก ความหนืดของระบบจึงลดลงอย่างรวดเร็ว ในขณะที่เดียวกันในตัวอย่างสตาร์ชที่มีแอมิโลส โมเลกุลของแอมิโลส จะเกิดการหลุดออกจากเม็ดสตาร์ช ดังภาพที่ 10 ทั้งนี้อาจจะพบการหลุดออกมาของโมเลกุลแอมิโลเพกทินได้เช่นกัน (กล้าณรงค์และเกื้อกุล, 2546; Whistler and BeMiller, 1999)



**ภาพที่ 10** การเกิดเจลลาทีไนเซชันของเม็ดสตาร์ช

**ที่มา:** Whistler and BeMiller (1999)

โมเลกุลของแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน ที่เกิดการหลุดออกจากเม็ดสตาร์ช เมื่อปล่อยให้เย็นตัวลง โมเลกุลของแอมิโลสซึ่งเป็นโมเลกุลเชิงเส้นและมีขนาดเล็กที่อยู่ใกล้กันจะเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลเกิดเป็นร่างแหสามมิติ โดยโมเลกุลของแอมิโลสจะเกิดการจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างสามมิติ (โครงสร้างผลึก) ในอัตราที่เร็วกว่าโมเลกุลของ

แอมิโลเพกทิน ซึ่งโครงสร้างผลึกที่เกิดขึ้นใหม่นี้จะมีความสามารถในการละลายได้ลดลง และยากต่อการกระจายตัวอีกครั้งของโมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกทินเมื่อมีการให้ความร้อนกับระบบ ซึ่งลักษณะดังกล่าวทำให้สารละลายสตาร์ชสามารถอุ้มน้ำและไม่มีการคูดน้ำ ทำให้ความหนืดคงตัวมากขึ้น เกิดลักษณะเจลเหนียวคล้ายฟิล์มหรือผลึก เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า การเกิดรีโทรเกรเดชัน (retrogradation) หรือการคืนตัว (setback) เมื่อลดอุณหภูมิให้ต่ำลงไปอีกลักษณะการเรียงตัวของโครงสร้างจะแน่นมากขึ้น โมเลกุลของน้ำภายในโครงสร้างจะถูกบีบออกมาจนเจล ซึ่งเรียกว่า syneresis ปรากฏการณ์ทั้งสองนี้จะทำให้เจลมีลักษณะขุ่นและมีความหนืดเพิ่มขึ้น (กล้าณรงค์ และเกื้อกุล, 2546; Whistler and BeMiller, 1999)

Slade and Levine (1987) กล่าวว่ากระบวนการในการจัดเรียงตัวใหม่ของผลึก (recrystallization) ของสตาร์ชเป็นกระบวนการที่ไม่มีความเสถียรทางเทอร์โมไดนามิก ซึ่งกระบวนการในการเกิดผลึกใหม่อีกครั้งของสตาร์ชที่ผ่านการเจลาทิไนเซชัน จะถูกควบคุมโดย 3 กลไกหลักๆ คือ 1. นิวเคลียชัน (nucleation) 2. โพรพาเกชัน (propagation) และ 3. เมทิวเรชัน (maturation) โดยกระบวนการในช่วง nucleation และ propagation ตัวอย่างยังอยู่ในสภาพที่เป็นของเหลว ยังมีการเคลื่อนที่ของพอลิเมอร์ เพื่อการจัดเรียงตัว ซึ่งกลไกในการจัดเรียงตัวใหม่อีกครั้งของพอลิเมอร์สามารถเกิดได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง glass transition temperature และ melting temperature เมื่อตรวจวัดอุณหภูมิและพลังงานในการสลายโครงสร้างผลึกด้วยเครื่องดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริมิเตอร์ (DSC) พบว่า ค่าอุณหภูมิเริ่มต้นในการสลายโครงสร้างผลึกเนื่องจากกระบวนการรีโทรเกรเดชัน ( $T_0$ ) ของสตาร์ชข้าวสาลี มีค่าต่ำกว่า 50 องศาเซลเซียส (Zeleznaк and Hoseneу, 1987) และพบว่าสตาร์ชมักจะเป็นส่วนสำคัญในการเกิดรีโทรเกรเดชัน จากอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างสตาร์ช Silverio *et al.* (2000) พบว่า ค่าอุณหภูมิในการทำลายโครงสร้างผลึกที่เกิดจากกระบวนการรีโทรเกรดอยู่ในช่วง 30–90 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่ใช้ในการสลายโครงสร้างผลึกที่เกิดจากการจัดเรียงตัวของโมเลกุลแอมิโลเพกทิน

เมื่อศึกษาถึงระยะเวลาในการเก็บรักษาตัวอย่างที่ผ่านการเจลาทิไนเซชัน พบว่า ช่วงแรกในการเกิดกระบวนการรีโทรเกรเดชัน แอมิโลสมีบทบาทสำคัญในการสร้างโครงสร้างสามมิติหรือโครงสร้างผลึกอีกครั้ง (recrystallization) ซึ่งบทบาทของแอมิโลสจะอยู่ในช่วง 24 ชั่วโมงภายหลังการบ่มตัวอย่าง (Leloup *et al.*, 1991; Miles *et al.*, 1985) ซึ่งเกิดจากโมเลกุลของแอมิโลสที่หลุดออกจากเม็ดสตาร์ชระหว่างกระบวนการเจลาทิไนเซชัน เกิดการจัดเรียงตัวกันใหม่เป็นโครงสร้างสามมิติและมีโมเลกุลของแอมิโลสฝังอยู่ด้านในของโครงสร้างสามมิติ (Biliaderis and Juliano, 1993, Miles *et al.*, 1985) นอกจากนี้ Biliaderis and Zawistowski (1990) ได้ศึกษาผลของ

ระยะเวลาในการเก็บรักษาตัวอย่าง พบว่า แอมิโลเพกทินมีบทบาทสำคัญในการเกิดการรีโทรเกรเดชัน โดยจะเกิดกับแอมิโลเพกทินสายสั้นก่อน

## ปัจจัยที่มีผลต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้ง

### 1. โปรตีน

โปรตีนถือเป็นองค์ประกอบหลักที่มีปริมาณมาก รองจากคาร์โบไฮเดรต เมื่อพิจารณาถึงลักษณะเอนโดสเปิร์มของธัญชาติ พบว่า โปรตีนแป้งได้เป็น 2 ส่วนหลักๆ คือ โปรตีนโครงข่าย (protein matrix) และ โปรตีนสะสม (protein body) ซึ่งลักษณะทั่วไปของเอนโดสเปิร์ม เม็ดสตาร์ช และโปรตีนสะสมจะกระจายตัวอยู่ในโครงข่ายโปรตีน ซึ่งการกระจายตัวดังกล่าวจะอัดตัวแน่นหรืออยู่กันแบบหลวมๆ ขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของธัญชาติ นอกจากนี้พบว่ามีโปรตีนที่ยังมีโปรตีนหลงเหลืออยู่ ซึ่งแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ โปรตีนที่อยู่บริเวณผิวของเม็ดสตาร์ช มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 10-27 กิโลดาลตัน และโปรตีนภายในเม็ดสตาร์ชมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 60 กิโลดาลตัน ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีความสำคัญในการสังเคราะห์แอมิโลส โดยพบว่าปริมาณของโปรตีนดังกล่าวจะแปรผันตามกับปริมาณของแอมิโลส (Hamaker *et al.*, 1991) และโปรตีนภายในเม็ดสตาร์ชสามารถสกัดออกมาได้ เมื่อเติมสารไดไซโอทรีออล ลงในสารละลายที่ใช้ในการสกัดโปรตีน (Hamaker *et al.*, 1991)

Almeida – Dominguez *et al.* (1997) ได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะความหนืดของแป้งข้าวโพดโดยใช้เครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว (RVA) จากการทดลอง พบว่า ตัวอย่างแป้งข้าวโพดที่มีอนุภาคขนาดใหญ่และมีการอัดแน่นระหว่างเม็ดสตาร์ชกับโปรตีนสะสม ต้องการพลังงานและเวลาในการดูดซึมน้ำและการพองตัวของเม็ดสตาร์ชเพิ่มมากขึ้น เพื่อทำให้เกิดกระบวนการเจลลิ่ง และศึกษาผลของสายพันธุ์ข้าวโพด ต่อลักษณะความหนืดของแป้งข้าวโพด พบว่าแป้งข้าวโพดชนิด Soft maize มีค่าความหนืดสูงสุด สูงกว่าแป้งข้าวโพดชนิด Hard maize เนื่องจากการจัดเรียงตัวของสตาร์ชและโปรตีนของ Hard maize มีการอัดตัวกันแน่น ทำให้กราฟความหนืดมีอัตราการพองตัวที่ต่ำ แต่สำหรับสตาร์ชและโปรตีนที่มีการจัดเรียงตัวกันอย่างหลวมๆ ของแป้งข้าวโพดชนิด Soft maize สตาร์ชสามารถที่จะดูดซึมน้ำและเกิดการพองตัวได้อย่างรวดเร็ว (Almeida – Dominguez *et al.*, 1997)

## 2. สารรีดิวซิง

โปรตีนและกรดแอมิโนที่มีกลุ่มของซัลเฟอร์ ถือว่ามีบทบาทสำคัญ โดยมีงานวิจัยศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของพันธะไดซัลไฟด์กับสมบัติด้านการไหล (rheology) และสมบัติของแป้งสาลี เพื่อนำไปสู่การปรับปรุงประสิทธิภาพในการผลิตขนมปัง นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของโปรตีนที่ประกอบด้วยพันธะไดซัลไฟด์ต่อสมบัติด้านความเหนียวของแป้งและสตาร์ช โดยสารออกซิไดซ์ (oxidize) และสารรีดิวซิง (reducing) มักถูกนำไปใช้ศึกษากลไกการแลกเปลี่ยนระหว่าง หมู่ซัลไฟไฮดริล และพันธะไดซัลไฟด์ โดยตัวอย่างของสารรีดิวซิง ได้แก่ ซีสเทอีน กลูตาไรโอน ซัลไฟต์ (Li and Lee, 1998) และสารบิตามอร์แคปโทเอทานอล (Chandrashekar and Kirleis, 1988) นอกจากนี้ยังมีการใช้สารรีดิวซิงไดไธโอทรีออล (DTT) ในการศึกษาอิทธิพลของสารรีดิวซิง ต่อสมบัติด้านเคมีเชิงฟิสิกส์ของโปรตีนกลูเตน (Lagrain *et al.*, 2006)

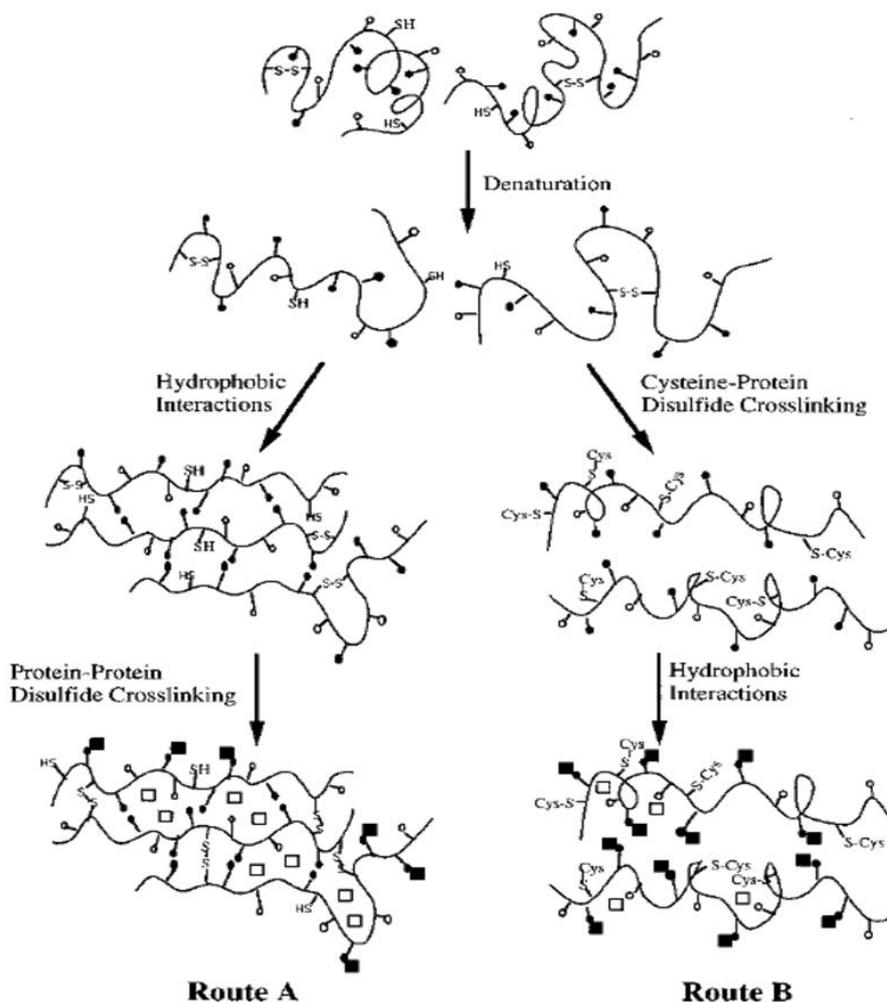
ในปี 1990 Hamaker and Griffin ได้ศึกษาสมบัติด้านความเหนียวของแป้งข้าว เมื่อเติมสารรีดิวซิง ได้แก่ ไดไธโอทรีออล ลงในระบบ พบว่า แป้งข้าวมีความเหนียวลดลง เนื่องจากสารไดไธโอทรีออล ซึ่งเป็นสารรีดิวซิงมีคุณสมบัติในการรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ ทำให้พันธะไดซัลไฟด์ในโครงสร้างของโปรตีนแตกออก ส่งผลให้ความแข็งแรงของโครงข่ายโปรตีน (protein matrix) โปรตีนสะสม และโปรตีนบนเม็ดสตาร์ชมีความแข็งแรงลดลง ทำให้เม็ดสตาร์ชมีความสามารถในการดูดซึมน้ำ พองตัว และแตกออกได้อย่างอิสระ ส่งผลให้ค่าความเหนียวสูงสุดของตัวอย่างมีค่าลดลง เมื่อทดสอบด้วยเครื่องบราเบนเดอร์แอมิโลกราฟ (Brabender Amylograph) (Hamaker and Griffin, 1990) เช่นเดียวกับการศึกษาอิทธิพลของโปรตีนบนเม็ดสตาร์ชต่อความเหนียว (stickiness) ของข้าวที่ผ่านการหุงสุกของ Hamaker *et al.* (1991) พบว่า ข้าวที่มีปริมาณแอมิโลสสูง จะมีโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 60 กิโลดาลตันสูง ซึ่งโปรตีนดังกล่าวทำให้เม็ดสตาร์ชมีความคงตัวและแข็งแรง เมื่อเทียบกับสตาร์ชที่มีปริมาณแอมิโลสต่ำ ซึ่งมีความสามารถพองตัวได้มากกว่าสตาร์ชที่มีปริมาณแอมิโลสสูง เนื่องจากโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แอมิโลส มีผลในการยับยั้งและชะลอการพองตัวของเม็ดสตาร์ช จากสมมติฐานดังกล่าว Hamaker *et al.* (1991) ได้ทดลองเติมสารไดไธโอทรีออลลงในข้าวก่อนผ่านกระบวนการหุงต้ม พบว่า ข้าวเมื่อผ่านกระบวนการหุงต้มจะมีความเหนียวเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากไดไธโอทรีออลซึ่งเป็นสารรีดิวซิง สามารถรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ในโครงสร้างโปรตีน ทำให้เม็ดสตาร์ชเกิดการเจลาทิไนซ์และพองตัวได้มากขึ้น

ในปี 1993 Hamaker and Griffin ได้ศึกษาอิทธิพลของสารรีดิวซิงต่อสมบัติด้านความเหนียวของสตาร์ชข้าว ด้วยเครื่องวัดความเหนียวที่มีแรงเฉือนต่างกัน พบว่า สตาร์ชข้าวที่ผ่านการเติมสาร

รีดิวซิงและวัดความหนืดด้วยเครื่องที่มีแรงเฉือนต่ำ ค่าความหนืดสูงสุดจะมีค่าสูงขึ้น เนื่องจากสารรีดิวซิงไปรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ ในโครงสร้างโปรตีน ทำให้เม็ดสตาร์ชประาะบางเพิ่มขึ้น สามารถดูดซึมน้ำและพองตัวได้เพิ่มขึ้น ทำให้ค่าความหนืดสูงสุดมีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่การวัดความหนืดด้วยเครื่องที่มีแรงเฉือนระดับปานกลาง พบว่า การเติมสารรีดิวซิง ทำให้สตาร์ชข้าวมีค่าความหนืดลดลง เนื่องจากเม็ดสตาร์ชมีความประาะบาง สามารถดูดซึมน้ำและพองตัวเพิ่มขึ้น เมื่อให้แรงเฉือนระดับปานกลางเม็ดสตาร์ชที่เกิดการพองตัวจะเกิดการบีบอัดกัน ทำให้เม็ดสตาร์ชเกิดการแตกออก ส่งผลให้ค่าความหนืดลดลง (Hamaker and Griffin, 1993)

Elkhalifa *et al.* (1999) ศึกษาผลของสารรีดิวซิงต่อความสามารถในการย่อยโปรตีน และสตาร์ชในแป้งข้าวฟ่าง โดยสารรีดิวซิงที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ ซีสเทอีน โซเดียมเมตาไบซัลไฟท์ และกรดแอสคอร์บิก จากการทดลองพบว่า การเติมสารรีดิวซิง มีผลให้ความสามารถในการย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้น ทำให้สตาร์ชมีความสามารถในการพองตัวได้มากขึ้น ทำให้ค่าความหนืดสูงสุดและค่าเบรกควาน์สูงขึ้น ขณะที่ค่าเซตแบคมีค่าลดลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Chandrashekar and Kirleis (1988) พบว่า การเติมสารบีตาเมอร์แคปโตเอทานอล ลงในแป้งข้าวฟ่างก่อนผ่านกระบวนการหุงต้ม มีผลให้โครงข่ายโปรตีน (protein matrix) ถูกเปิดออก โปรตีนสะสมหลุดออกจากบริเวณผิวสตาร์ช ทำให้สตาร์ชมีความสามารถในการเจลาทิไนเซชันได้มากขึ้น และนอกจากนั้นยังพบว่า การเติมสารรีดิวซิง ทำให้ผนังเซลล์ เม็ดสตาร์ช และโปรตีนสะสมถูกทำลายไปบางส่วน

Lagrain *et al.* (2006) ศึกษาผลของสารรีดิวซิงต่อสมบัติด้านความหนืดของโปรตีนกลูเตน โดยทำการเติมสารรีดิวซิง ได้แก่ ไคโธโอทริทอลและซีสเทอีน ลงในสารละลายโปรตีนกลูเตน และวัดสมบัติด้านความหนืด ด้วยเครื่องวัดความหนืดแบบรวดเร็ว (Rapid Visco Analyzer; RVA) จากการทดลองพบว่า ในกระบวนการให้ความร้อน สารรีดิวซิงทำให้ความหนืดของโปรตีนกลูเตนลดลง เนื่องจากสารรีดิวซิงไปรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ในโครงสร้างโปรตีน กลายเป็นซัลฟไฮไดรลอิสระ ทำให้โปรตีนกลูเตนมีความไวต่อความร้อน เมื่อเพิ่มความร้อนของระบบให้สูงกว่า 75 องศาเซลเซียส พบว่า พอลิเมอร์ของโปรตีนที่ประกอบไปด้วยหมู่ของซัลฟไฮไดรลอิสระเกิดการสร้างพันธะไดซัลไฟด์เชื่อมข้ามระหว่างโปรตีนไกลอาดินและกลูเตนิน ทำให้โปรตีนกลูเตนมีความหนืดสูงขึ้น (Lagrain *et al.*, 2006) นอกจากนั้นในปี 1998 Li and Lee ศึกษาผลของสารรีดิวซิงต่อสมบัติการไหลของโปรตีนกลูเตน พบว่า สารรีดิวซิงจะรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ (ภาพที่ 11) ทำให้โปรตีนกลูเตนสามารถดึงยึดได้มากขึ้น



ภาพที่ 11 แผนภาพแสดงการเสถียรภาพโมเลกุลของโปรตีนและการจัดเรียงโครงสร้างโมเลกุลของโปรตีน ในระหว่างกระบวนการเอกซ์ทรูชัน

หมายเหตุ -● คือ กรดอะมิโนที่โซ่ข้างมีความเป็นไฮโดรโฟบิก, -○ คือ กรดอะมิโนที่ไม่มีโซ่ข้างเป็นสารประเภทไฮโดรฟิลิก, □ คือ โมเลกุลของน้ำ และ ■ คือ โมเลกุลของไขมัน โดย A คือ ระบบที่ไม่มี การเติมซิสเตอีน และ B คือ ระบบที่มีการเติมซิสเตอีน

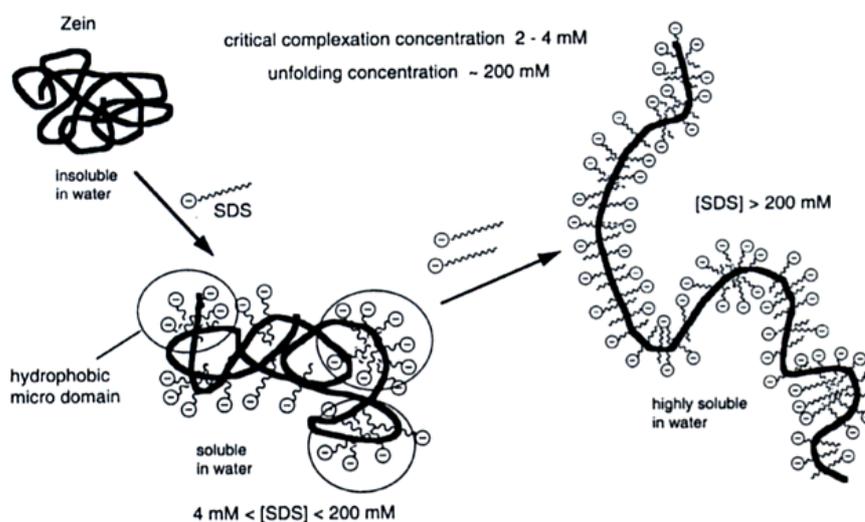
ที่มา: Li and Lee (1996)

นอกจากนั้น Li and Lee (1996) พบว่า การเติมสารซิสเตอีนลงในแป้งสาลีก่อนผ่านกระบวนการเอกซ์ทรูชัน ทำให้แป้งสาลีที่ผ่านกระบวนการเอกซ์ทรูชัน มีปริมาณซัลไฟไฮดริลอิสระและพันธะไดซัลไฟด์เพิ่มมากขึ้น ซึ่งการเพิ่มขึ้นของพันธะไดซัลไฟด์เป็นผลมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างหมู่ของซัลไฟไฮดริลอิสระ และ/หรือซัลไฟไฮดริลอิสระบนพอลิเมอร์โปรตีนกับซิสเตอีน นอกจากนี้ อาจเกิดอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกระหว่างกรดอะมิโนที่มีหมู่โซ่ข้างเป็น

ไฮโดรโฟบิก ทำให้น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนภายหลังกระบวนการเอกซ์ทรักชันมีน้ำหนักโมเลกุลเพิ่มขึ้น (Li and Lee, 1996)

### 3. สารลดแรงตึงผิว

สารลดแรงตึงผิวประเภทไอออนิก (ionic surfactant) เช่น โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium Dodecyl Sulfate; SDS) เป็นสารที่มีความสามารถในการจับกับโครงสร้างของโปรตีนชนิดโกลบูลาร์ได้เป็นอย่างดี โดยโมเลกุลของสารโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) จัดเป็นสารประเภทแอมฟิฟิลิก โดยโมเลกุลประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนหัวของโมเลกุล (head group) เป็นส่วนที่มีขั้ว (polar) ซึ่งมีประจุลบและส่วนหางของโมเลกุล (tail) หรือ (alkyl chain) เป็นส่วนที่ไม่มีขั้วและมีความเป็นไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) โดยสาร SDS จะเข้าทำปฏิกิริยากับโครงสร้างโปรตีน โดยอันตรกิริยาทางไฟฟ้า (electrostatic interaction) ระหว่างประจุลบของสาร SDS กับกรดแอมิโนที่มีประจุบวก และอาจจะเกิดอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกในส่วนสายโซ่ (alkyl chain) ของโมเลกุล SDS กับโครงสร้างบริเวณพื้นผิวหรือภายในโกลบูลาร์โปรตีน (Deo *et al.*, 2003; Sessa *et al.*, 2006) ในปี 2003 Deo *et al.* พบว่า โปรตีนจีนมีโครงสร้างเป็นโกลบูลาร์ และกรดแอมิโนส่วนใหญ่เป็นชนิดไฮโดรโฟบิก จึงทำให้โครงสร้างของโปรตีนจีนเกิดการรวมตัวกันแน่นและต้องการพลังงานในการคลายเกลียวมาก เพื่อให้สารละลายสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนจีน (protein-solvent) โดยในช่วงแรกโปรตีนจีนจะสามารถละลายได้ในสารละลาย SDS ที่มีความเข้มข้นน้อยกว่าหรือเท่ากับ 4 มิลลิโมลาร์ ซึ่งระดับความเข้มข้นดังกล่าวโมเลกุลของ SDS สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับโปรตีนจีนได้ โดยอาศัยอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก ซึ่งระดับความเข้มข้นของสาร SDS ระดับนี้โครงสร้างโกลบูลาร์ของโปรตีนจีนยังไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ดังภาพที่ 12

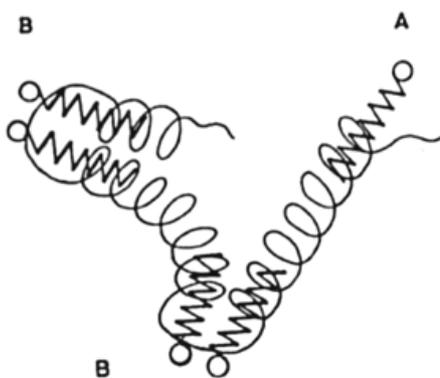


ภาพที่ 12 การเข้าทำอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนซีนและโมเลกุลของสารโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต  
ที่มา: Deo *et al.* (2003)

เมื่อสาร SDS มีความเข้มข้นระหว่าง 4 ถึง 200 มิลลิโมลาร์ พบว่า โมเลกุลของสาร SDS นอกจากส่วนสายโซ่แอลคิล (alkyl chain) จะสร้างอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกกับโครงสร้างโปรตีน โมเลกุลของ SDS ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้น จะเริ่มสร้างแรงดึงดูดทางไฟฟ้า (electrostatic attraction) ระหว่างประจุลบของโมเลกุล SDS กับประจุบวกของกรดแอมิโนในโครงสร้างโปรตีน ทำให้โปรตีนซีนมีความสามารถในการละลายได้มากขึ้น เมื่อกรดแอมิโนของโปรตีนที่มีประจุบวกถูก neutralize ด้วยประจุลบของโมเลกุล SDS และในสภาวะที่โมเลกุลของ SDS มากเกินไป ทำให้ประจุลบของ SDS ที่อยู่ใกล้กันเริ่มเกิดแรงผลักรังไฟฟ้า (electrostatic repulsion) ทำให้โครงสร้างโปรตีนเริ่มเกิดการคลายเกลียว ส่งผลให้โมเลกุลของ SDS สามารถเข้าทำอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกกับโครงสร้างโปรตีนได้มากขึ้น ทำให้โปรตีนซีนเกิดการคลายเกลียวได้อย่างสมบูรณ์ ดังภาพที่ 12 ซึ่งปรากฏการณ์ดังกล่าวทำให้ความหนืดของสารละลายโปรตีนซีนมีความหนืดเพิ่มขึ้น (Deo *et al.*, 2003) และการละลายโปรตีนซีนด้วยสารละลาย SDS โดยการคลายเกลียวโครงสร้างโปรตีนจะไม่ทำให้น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลง (Ruso *et al.*, 2004; Sessa *et al.*, 2006)

นอกจากนั้นสารลดแรงตึงผิวยังถูกนำมาใช้ในการสกัดส่วนของไขมันและโปรตีนที่หลงเหลืออยู่ในสตาร์ชเช่นกัน โดยในปี 2006 Debet and Gidley พบว่า สตาร์ชที่ผ่านการสกัดไขมันและโปรตีนด้วยสารละลาย SDS สตาร์ชจะมีค่าความหนืดสูงขึ้น เนื่องจากโปรตีนและไขมัน ซึ่งปกติทำหน้าที่ในการขัดขวางการดูดซับน้ำและการพองตัวของสตาร์ช ถูกสกัดออกไป ทำให้สตาร์ชมีค่าความหนืดสูงขึ้น (Debet and Gidley, 2006) เมื่อเปรียบเทียบลักษณะความหนืดของสตาร์ชชนิด

ที่มีอัตราส่วนของแอมิโลสที่สูง (normal starch) และชนิดที่มีอัตราส่วนของแอมิโลสต่ำ (waxy starch) พบว่า ภายหลังจากการสกัดโปรตีนและไขมันด้วยสาร SDS สตาร์ชชนิด normal starch ให้ลักษณะความหนืดสูงขึ้นและมีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปมากเมื่อเทียบกับ waxy starch แสดงว่าสาร SDS ไม่เพียงแต่สกัดโปรตีนและไขมันที่หลงเหลือในสตาร์ชเท่านั้น แต่โมเลกุลของสาร SDS ยังสามารถรวมตัวกับโมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกทินเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนขึ้น (Debet and Gidley, 2006) ดังภาพที่ 13



**ภาพที่ 13** แผนภาพแสดงโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลแอมิโลสและสารโซเดียมโคเดซิลซัลเฟต

**หมายเหตุ** A คือ การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนแบบ Langmuir และ B คือ การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนแบบ Cooperative binding

**ที่มา:** Yamamoto *et al.* (1983)

โมเลกุลของสาร SDS เป็นโมเลกุลประเภท amphiphilic ซึ่งประกอบไปด้วยส่วนที่มีขั้ว ซึ่งมีประจุลบและส่วนที่ไม่มีขั้ว (hydrophobic chain) เป็นสายโซ่ไฮโดรโฟบิก ซึ่งส่วนนี้สามารถรวมตัวกับโมเลกุลแอมิโลส และ/หรือโมเลกุลแอมิโลเพกทิน เป็นสารประกอบเชิงซ้อน โดยแทรกส่วนที่เป็นสายโซ่ไฮโดรโฟบิก เข้าไปภายในโครงสร้างฮีลิกซ์ (helix) ที่มีความเป็นไฮโดรโฟบิก (hydrophobic cavity) ของโมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน (Kurakake *et al.*, 2004) โดยสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิดทำให้การพองตัวและการหลุดออกของโมเลกุลแอมิโลส แตกต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างของความยาวสายโซ่แอลคิล (alkyl chain length) ความเป็นไฮโดรฟิลิก (hydrophilicity) บริเวณส่วนหัวของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิว (Eliasson, 1985; Mira *et al.*, 2005) ในปี 2004 Kurakake *et al.* พบว่า สารโซเดียมโคเดซิลซัลเฟต ซึ่งมีความยาวของสายโซ่แอลคิล (12

คาร์บอนอะตอม) เมื่อเติมลงในสารละลายสตาร์ชข้าวโพด ก่อนทำการวัดสมบัติด้านความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืดแบบรวดเร็ว (Rapid visco Analyzer; RVA) พบว่า สตาร์ชจากข้าวโพดมีค่าความหนืดสูงสุด เบรกควาน์ และเซตแบคสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mira *et al.* (2005) พบว่า การเติมสารลดแรงตึงผิวที่มีความยาวของสายโซ่แอลคิล (akyl chain) ต่างกัน มีผลต่ออุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงความหนืด (pasting temperature) โดยสารลดแรงตึงผิวที่มีความยาวของสายโซ่ที่สั้น (short chain) (10-12 คาร์บอนอะตอม) จะมีอุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงความหนืดที่ต่ำ เนื่องจากส่วนของสายโซ่ไฮโดรโฟบิกของสารลดแรงตึงผิว สามารถรวมตัวกับโมเลกุลแอมิโลส และสายโซ่ด้านนอกของโมเลกุลแอมิโลเพกทินเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน โดยส่วนหัวของโมเลกุล SDS ซึ่งมีประจุเป็นลบและมีค่าไฮโดรฟิลิกที่ค่อนข้างสูง ทำให้โมเลกุลของพอลิแซคคาไรด์ที่เกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโมเลกุล SDS ที่อยู่ใกล้กันเกิดแรงผลัก (electrostatic repulsion) ระหว่างประจุลบที่อยู่ใกล้กัน ทำให้โมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกทินเกิดการเคลื่อนที่อย่างรุนแรง ทำให้โครงสร้างผลึกภายในเม็ดสตาร์ชเกิดการแตกออก ส่งผลให้เม็ดสตาร์ชมีความสามารถในการดูดซับน้ำและพองตัวได้ดีขึ้น ทำให้ค่าความหนืดเพิ่มขึ้น (Mira *et al.*, 2005; Kurakake *et al.*, 2004) ในขณะที่การเติมสารลดแรงตึงผิวที่มีความยาวของสายโซ่ที่ยาว (long chain) (14-16 คาร์บอนอะตอม) จะทำให้อุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงความหนืดมีค่าสูงขึ้น เนื่องจากโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวไม่สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโครงสร้างอีลิคซ์ของโมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกทินภายในเม็ดสตาร์ชได้ ทำให้สารดังกล่าวดูดซับอยู่ที่ผิวของเม็ดสตาร์ช ทำให้เม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัวและเกิดการหลุดออกของโมเลกุลแอมิโลส (amylose leaching) เป็นไปอย่างจำกัด ทำให้อุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงความหนืดมีค่าสูงขึ้น และค่าความหนืดของระบบมีค่าลดลง (Gray and BeMiller, 2001; Egermayer *et al.*, 2003) นอกจากนี้ในปี 1989 Langton and Hermansson พบว่า ระบบที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว ทำให้ค่าความหนืดสุดท้ายมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการรวมตัวระหว่างโมเลกุลแอมิโลสเป็นโครงสร้างสามมิติ และมีโมเลกุลของแอมิโลเพกทินถูกตรึงไว้ภายในโครงสร้าง และโครงสร้างดังกล่าวจะมีความแข็งแรงมากขึ้น เมื่อลดอุณหภูมิของระบบลง ทำให้ค่าความหนืดสุดท้ายและค่าเซตแบคมีค่าสูงขึ้น ลักษณะเพสท์ที่ได้จะมีลักษณะที่แข็งและคงตัว ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Biliaderis and Tonogai (1991) และ Eliasson and Kim (1995) พบว่า การเติมสารลดแรงตึงผิว ทำให้ลักษณะเจลที่ได้มีลักษณะแข็งและมีความยืดหยุ่นเพิ่มมากขึ้น

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

#### 1. วัสดุดิบ

1.1 ลูกเคียวเมล็ดเต็มพันธุ์เมล็ดดำ และพันธุ์เมล็ดขาว ซึ่งจากร้านรับซื้อพืชไร่  
อำเภอวังสะพุง จังหวัดเลย

#### 2. สารเคมี

2.1 สารเคมีสำหรับเตรียมสแตนด์จากลูกเคียว

2.1.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH: Analytical grade, lot.  
B888598630, Merck KGaA, Germany)

2.1.2 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl: Analytical grade, lot. K28575417  
049, Merck KGaA, Germany)

2.2 สารเคมีสำหรับเตรียมโปรตีนคอยซินจากลูกเคียว

2.2.1 เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethanol;  $C_2H_5OH$ : Commercial grade, AlcoA)

2.2.2 โซเดียมเมตาไบซัลไฟท์ (Sodium metabisulphite;  $Na_2S_2O_5$ : Analytical grade,  
lot. B/NO. AF 601347, Ajax Finechem, New Zealand)

2.2.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH: Analytical grade, lot.  
B888598630, Merck KGaA, Germany)

2.2.4 เฮกเซน (Hexane; Shell, Thailand)

2.2.5 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl: Analytical grade, lot. K28575417  
049, Merck KGaA, Germany)

## 2.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีน

- 2.3.1 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid;  $H_2SO_4$ : Analytical grade, lot. E16W60, J.T. Barker, Mallinckrodt Barker, USA)
- 2.3.2 กรดบอรัริก (Boric acid;  $H_3BO_3$ : Analytical grade, lot. A577065 442 , Merck KGaA, Germany)
- 2.3.3 คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate;  $CuSO_4$ : Analytical grade, lot. 0236071A, Fisher Chemicals, Fisher Scientific UK Limited, UK)
- 2.3.4 โพแทสเซียมซัลเฟต (Potassium sulfate;  $K_2SO_4$ : Analytical grade, lot. AF505372, UNIVAR, Ajax Finechem, New Zealand)
- 2.3.5 เมทิลเรด (Methyl red;  $C_{15}H_{15}N_3O_2$ : Analytical grade, lot. 810278KP, Panreac, Panreac Quimica SK, Spain)
- 2.3.6 โบรโมครีซอลกรีน (Bromocresol green;  $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$ : Analytical grade, lot. AF404011, LABCHEM, Ajax Finechem, New Zealand)
- 2.3.7 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH: Commercial grade, Thasco Chemical Co., Thailand)

## 2.4 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ ไขมัน

- 2.4.1 ปีโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether: Analytical grade, lot. B42752, Mallinckrodt CHEMICALS, USA)

## 2.5 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์เส้นใยหยาบ

- 2.5.1 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid;  $H_2SO_4$ : Analytical grade, lot. E16W60, J.T. Barker, Mallinckrodt Barker, USA)
- 2.5.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH: Analytical grade, lot. B888598630, Merck KGaA, Germany)
- 2.5.3 เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethanol;  $C_2H_5OH$ : Analytical grade, lot. K364776983 634 ,Merck KGaA, Germany)

2.5.4 ออกทานอล (Octan-1-ol;  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{OH}$ : Laboratory grade, lot. B/NO. H1F223, Asia Pacific Specialty Chemicals Limited, Australia)

## 2.6 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแอมิโลส

2.6.1 เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethanol;  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ : Analytical grade, lot. K364776983634, Merck KGaA, Germany)

2.6.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide;  $\text{NaOH}$ : Analytical grade, lot. B888598630, Merck KGaA, Germany)

2.6.3 กรดอะซิติก (Acetic acid;  $\text{CH}_3\text{COOH}$ : Analytical grade, lot. E15W69, Merck KGaA, Germany)

2.6.4 แอมิโลสบริสุทธิ์จากมันฝรั่ง (Type III: From Potato Butanol Content 2% Essentially free of amylopectin, Analytical grade, lot. 084K3808, Sigma - Aldrich chemie, Germany)

2.6.5 ไอโอดีน (Iodine;  $\text{I}_2$ : Analytical grade, lot. B/NO. AF 505180, Asia Pacific Specialty Chemicals limited, Australia)

## 2.7 สารเคมีสำหรับแยกโปรตีนโดยกระแสไฟฟ้าแบบพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium Dodecyl Sulfate–Polyacrylamide Gel Electrophoresis; SDS – PAGE)

2.7.1 โปรตีนมาตรฐาน (Protein standard, SigmaMarker™, Low molecular weight range (6.5-66 KDa) lot. 105K6142, Sigma-Aldrich, Chemie GmbH, Belgium)

2.7.2 อะคริลาไมด์-เพจ (Acrylamide-PAGE;  $\text{CH}_2\text{CHCONH}_2$ : Ultrapure, lot. K32714603 429, PlusOne, Amersham Biosciences AB, Sweden)

2.7.3 เมทิลีนบิสอะคริลาไมด์ (Methylenebisacrylamide;  $(\text{CH}_2\text{CHCONH})_2\text{CH}_2$ : Ultrapure, lot.K36962617718, PlusOne, Amersham Biosciences AB, Sweden)

2.7.4 ทริส (ไฮดรอกซิลเมทิล) แอมิโนมีเทน (Tris (Hydroxymethyl) aminomethane;  $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$ : Ultrapure, lot.115164, USB corporation, Cleveland, USA)

2.7.5 เตตระเมทิลเอทิลีนไดเอมีน (Tetramethylethylenediamine (TEMED);  $\text{C}_6\text{H}_{16}\text{N}_2$ : Ultrapure, lot. 114219, USB corporation, Cleveland, USA)

2.7.6 บีตา-เมอร์แคปโทเอทานอล ( $\beta$ -Mercaptoethanol;  $\text{HSCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ : Ultrapure, lot. S3901589 403, PlusOne, Amersham Biosciences AB, Sweden)

2.7.7 แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต (Ammonium persulfate;  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ : Ultrapure, lot.L1610700RevF, BIO-RAD, Bio-Rad Laboratories, USA)

2.7.8 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid;  $\text{HCl}$ : Analytical grade, lot. K28575417049, Merck KGaA, Germany)

2.7.9 กลีเซอรอล (Glycerol;  $\text{CH}_2\text{OHCHOHCH}_2\text{OH}$ : Analytical grade, lot. 3M018064B, Carlo Erba Reagents, Italy)

2.7.10 บริลเลียนท์บลู อาร์ 250 (Brilliant blue R (Coomassie™ brilliant blue R-250);  $\text{C}_{45}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}_2\text{Na}$ : Ultrapure, lot. 110583, USB corporation, USA)

2.7.11 โบรโมฟีโนลบลู (Bromophenol blue sodium salt;  $\text{C}_{19}\text{H}_9\text{Br}_4\text{NaO}_5\text{S}$ : Ultrapure, lot. 110583, USB corporation, Cleveland, Australia)

2.7.12 โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate (SDS);  $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$ : Ultrapure, lot. 118270, USB corporation, USA)

2.7.13 ไกลซีน (Glycine;  $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CO}_2\text{H}$ : Ultrapure, lot. 117955, USB corporation, Cleveland, USA)

2.7.14 กรดอะซิติก (Acetic acid;  $\text{CH}_3\text{COOH}$ : Analytical grade, lot. E15W69, J.T.Barker, Thailand)

2.7.15 เมทิลแอลกอฮอล์ (Methanol;  $\text{CH}_3\text{OH}$ : Analytical grade, lot. K36801509 703, Merck KGaA, Germany)

## 2.8 สารเคมีสำหรับสังเกตลักษณะพื้นฐานวิทยาของสตาร์ช เมื่อได้รับความร้อน

2.8.1 ไอโอดีน (Iodine;  $\text{I}_2$ : Analytical grade, lot. B/NO. AF 505180, Asia Pacific Specialty Chemicals limited, Australia)

2.8.2 โพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide;  $\text{KI}$ : Analytical grade, lot. B/NO. AF506181, Ajax Finechem, Australia)

2.9 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์สมบัติด้านเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบ

2.9.1 ซีสเทอีน (L-Cysteine;  $C_3H_7NO_2S$ : Analytical grade, lot. 30090, Fluka Bio Chemika, Japan)

2.9.2 โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate (SDS);  $C_{12}H_{25}NaO_4S$ : Technical grade, lot. 1127844, Fluka Chemie GmbH, Germany)

2.10 สารเคมีสำหรับศึกษาโครงสร้างของตัวอย่างแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบ ภายหลังการตรวจสอบสมบัติด้านความหนืด โดยกล้องคอนโฟคอลเลเซอร์สแกนนิ่ง

2.10.1 โรดามีน บี (Rhodamine B;  $C_{28}H_{34}N_2O_7$ : Analytical grade, lot. R648MP, Invitrogen, USA)

### 3. เครื่องมือสำหรับเตรียมตัวอย่างแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซินจากลูกเดือย

3.1 เครื่องขัดสีเมล็ดแบบแห้ง

3.2 เครื่องโม่แห้ง (Hammer mill: SK1, Retsch, Germany)

3.3 ตะแกรงร่อนขนาด 100 เมช (100mesh: Endecotts Limited, England)

3.4 ตะแกรงร่อนขนาด 270 เมช (270mesh: Endecotts Limited, England)

3.5 เครื่องปั่นผสม (Blender: model VA-M11L, HITACHI, Japan)

3.6 เครื่องเหวี่ยงแยกแบบควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated Centrifuge: Himac CR20B2, HITACHI, Japan)

3.7 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven: model 400, Memmert GmbH&Co. KG, Germany)

3.8 เครื่องวัดความเป็นกรดเบส (pH meter: model Microcomputer pH-VISION 6071, Jenco Electronics, LTD., China)

3.9 เครื่องผสมแบบใบกวนขนาดห้องปฏิบัติการ (Overhead stirrer: model 502000 1/min, Janke and unkel GmbH&Co. KG, Germany)

3.10 เครื่องกวนแบบแท่งแม่เหล็ก (Magnetic stirrer: model SLR, SCHOTT Instruments GmbH&Co. KG, Germany)

3.11 เครื่องทำแห้งเยือกแข็ง (Freeze dryer: model HetoFD2.5, Heto Lab Equipment Manufactured, Denmark)

3.12 เครื่องเหวี่ยงแยก (Centrifuge: Biofuge primo, Kendro Laboratory Products, Germany)

#### 4. เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์คุณภาพ

4.1 เครื่องวัดสี (Minolta Spectrophotometer: model CM-3500d, Minolta CO. LTD, Japan)

4.2 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope: model JSM-5600LV, JEOL, Japan)

4.3 เครื่องเอกซเรย์คิฟแฟร็กโทมิเตอร์ (X-ray diffractometer: model JDX-3530, JEOL, Japan)

4.4 ชุดวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (BÜCHI, B-324, LabortechnikAG, Switzerland)

4.5 ชุดวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (SOXTEC SYSTEM, HT 1043, Tecator, Sweden)

4.6 ชุดวิเคราะห์เส้นใยหยาบ (FIBERTEC SYSTEM, M1020, Tecator, Sweden)

4.7 เตาเผา (Muffle Furnace, Tactical 308, GALLEN KAMP, U.K.)

4.8 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer: model genesys 10s, Thermo electron corporation, USA)

4.9 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (model SPB31, Scale Tech, Germany)

4.10 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath: model OB14, Memmert GmbH&Co. KG, Germany)

4.11 ชุดอิเล็กโตรโฟรีซิส (Electrophoresis Cell: model Mini-Protein II, Bio-Rad Laboratories, Inc., USA)

4.12 เครื่องหมุนเหวี่ยงขนาดเล็ก (Microcentrifuge: Labnet spectrafuge 16M, Labnet International, Inc., USA)

4.13 เตาให้ความร้อนไฟฟ้า (Hot Plate Stirrer: model HS-101, GEM, Harikul Group Co., Ltd., Thailand)

4.14 กล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงส่องผ่าน (Light Microscope: Axiolab, ZEISS, Germany)

4.15 แท่นสำหรับให้ความร้อนกับตัวอย่าง (Hot Stage: model HBO 100, Leistungselektronik Jena, U.K.)

- 4.17 เครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว (Rapid Visco analyzer: model RVA3D, Newport Scientific Instruments & Engineering, Australia)
- 4.18 เครื่องดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริมิเตอร์ (Differential scanning calorimeter, (DSC): model Pyris1, Perkin-Elmer, USA)
- 4.19 กล้องจุลทรรศน์คอนโฟคอลเลเซอร์สแกนนิ่ง (Confocal Laser Scanning Microscope (CLSM): LSM5 PASCAL, ZEISS, Germany)
- 4.20 กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Stereo Microscope: S8APO, LEICA, Singapore)

## วิธีการ

### 1. การเตรียมแป้ง สตาร์ช และสารสกัดโปรตีนคอยซินจากลูกเดือย

#### 1.1 การเตรียมแป้งลูกเดือย

นำลูกเดือยเมล็ดเต็มทั้งสองสายพันธุ์ คือ เมล็ดดำและเมล็ดขาว มาขัดสีโดยเครื่องขัดสีเมล็ดแบบแห้ง (Dry mill) โดยการกะเทาะเปลือกและขัดมัน และนำเมล็ดลูกเดือยที่ผ่านการขัดมันไปบดเป็นแป้งลูกเดือยด้วยเครื่องบด (Hammer mill) แล้วผ่านตะแกรงร่อนขนาด 100 เมช ได้เป็นแป้งลูกเดือย

#### 1.2 การเตรียมสตาร์ชลูกเดือย (นำมาจากวิธีของ Sira and Amaiz, 2004)

ทำการซังเมล็ดลูกเดือยที่ผ่านการขัดมันของลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 500 กรัม แช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ ขำคืน หลังจากนั้นทำการล้างเมล็ดลูกเดือยด้วยน้ำเปล่า จนน้ำมีระดับความเป็นกรด-เบสเป็นกลาง นำลูกเดือยที่ผ่านการปรับความเป็นกรด-เบส มาทำการโม่เปียกโดยการปั่นด้วยเครื่องบด (Blender) กรองลูกเดือยที่ผ่านการปั่นด้วยตะแกรงขนาด 100 และ 270 เมช ตามลำดับ นำสารละลายลูกเดือยที่ผ่านการกรองดังกล่าว มาทำการหมუნเหวี่ยงด้วยเครื่องหมუნเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่ความเร็วรอบ 460 g เป็นเวลา 20 นาที และทำการดูดชั้นของโปรตีนที่มีลักษณะเป็นเมือกสีเหลืองด้านบนทิ้ง และนำส่วนที่เหลือมาทำการกระจายตัวในน้ำและทำการหมუნเหวี่ยง และนำส่วนของสตาร์ชไปทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยอบทิ้งไว้ขำคืน

### 1.3 การสกัดโปรตีน โพรลามีน (Coixin) (นำมาจากวิธีของ Taylor *et al.*, 2005)

สกัดโปรตีนโพรลามีนตามวิธีของ Taylor *et al.* (2005) โดยนำแป้งลูกเดี๋ยยที่ได้จากวิธีการโม่แห้ง มาทำการสกัดโปรตีนในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70 ที่ประกอบด้วย โซเดียมเมตาไบซัลไฟท์ 0.5% (w/w) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.35% (w/w) โดยทำการกวนอย่างสม่ำเสมอด้วยเครื่องผสมแบบใบกวนขนาดห้องปฏิบัติการ (Overhead stirrer) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเหวี่ยงแยกส่วนใส่ออกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ระดับความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที และนำส่วนของสารละลายพักไว้ ที่อุณหภูมิห้องข้ามคืนในตู้ดูดควัน จากนั้นล้างโปรตีนด้วยน้ำกลั่นที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส และปรับความเป็นกรด-เบสของสารละลายโปรตีนให้เท่ากับ 5 (pI ของโปรตีนโพรลามีน) ทำการกรองตะกอนของโปรตีนและทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dry) โปรตีนโพรลามีนที่ได้จะนำไปสกัดเอาไขมันออกด้วยเฮกเซน (อัตราส่วนโปรตีนต่อตัวทำละลาย 1:10) ที่อุณหภูมิห้อง และนำโปรตีนที่สกัดได้ไปทำการวิเคราะห์

## 2. การวิเคราะห์สมบัติด้านกายภาพของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซิน จากลูกเดี๋ยยทั้งสองสายพันธุ์

### 2.1 สมบัติด้านสีของ แป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซิน

นำตัวอย่างแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซิน จากลูกเดี๋ยยทั้งสองสายพันธุ์ มาบรรจุในภาชนะใสทรงกระบอกสำหรับเครื่องวัดสี ตรวจวัดสีโดยเครื่องวัดสี (Minolta Spectrophotometer) แล้วทำการบันทึกค่าของสีที่วัดได้ในระบบ Hunter Lab เป็นค่า L\*, a\* และ b\* แล้วนำค่าดังกล่าวมาคำนวณหาดัชนีความขาว (Whiteness Index; WI) โดยสูตร

$$\text{Whiteness Index} = 100 - ((100-L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

### 2.2 สมบัติด้านสัมฐานวิทยาของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซินภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ทำการเตรียมตัวอย่างแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซินจากลูกเดี๋ยยทั้ง 2 สายพันธุ์ ให้มีความชื้นของตัวอย่างไม่เกิน 6 เปอร์เซ็นต์ โดยการอบไล่ความชื้นด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45

องศาเซลเซียส นำตัวอย่างมาโรยลงบนแท่นอลูมิเนียม ฉาบด้วยไอของคาร์บอน แล้วนำส่วนผิวมาเคลือบทับด้วยทอง จากนั้นนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) โดยกำหนดค่าอัตราเร่งของความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 10 กิโลโวลต์ ที่กำลังขยาย 1,000 และ 5,000 เท่า (ภาคผนวก ก9)

### 2.3 ตรวจสอบลักษณะโครงสร้างผลึก (ดังภาคผนวก ก10)

ตรวจสอบ โครงสร้างผลึกด้วยเครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรคโทมิเตอร์ วิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างผลึกของอนุภาคแป้งและสตาร์ช โดยกำหนดสภาวะการทดลอง คือ แหล่งกำเนิดรังสีเป็นทองแดง (Cu) ความต่างศักย์ไฟฟ้า 30 กิโลโวลต์ ใช้กระแสไฟฟ้า 40 มิลลิแอมแปร์ มุมหักเหช่วง 3 ถึง 40 องศา  $2\theta$  ด้วยอัตราเร็ว 0.02 องศาต่อวินาที บันทึกรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ที่ได้ และคำนวณค่าร้อยละความเป็นผลึก ซึ่งมีวิธีการคำนวณดังนี้

$$\text{ค่าร้อยละความเป็นผลึก} = \frac{\text{พื้นที่ใต้พีค}}{\text{พื้นที่ทั้งหมดของสเปกตรัม}} \times 100$$

### 3. การวิเคราะห์สมบัติด้านเคมีของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซินจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์

3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้ง สตาร์ช และโปรตีน จากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ (ดังภาคผนวก ก1 ถึง ก6)

3.1.1 ความชื้น ตามวิธีการของ A.O.A.C. (2000)

3.1.2 ปริมาณไขมัน ตามวิธีการของ A.O.A.C. (2000)

3.1.3 ปริมาณเถ้า ตามวิธีการของ A.O.A.C. (2000)

3.1.4 ปริมาณเส้นใยหยาบ ตามวิธีการของ A.O.A.C. (2000)

3.1.5 ปริมาณโปรตีน ตามวิธีการของ A.O.A.C. (2000)

3.1.6 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ตามวิธีการของ A.O.A.C. (2000)

### 3.2 การวิเคราะห์ปริมาณแอมิโลสในสตาร์ชลูกเดือย (ตามวิธีของ Juliano, 1971)

วิเคราะห์ปริมาณแอมิโลสในสตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำและเมล็ดขาว ด้วยวิธีวัดการเกิดสีกับไอโอดีน ดังแสดงในภาคผนวก ก7

### 3.3 การศึกษาคุณลักษณะของโปรตีนคอยซิน และ โปรตีนในสตาร์ช (ดัดแปลงจากวิธีการของ Ottoboni *et al.* (1990)) (ภาคผนวก ก8)

ตรวจสอบชนิดของโปรตีนคอยซินที่สกัดได้และโปรตีนในสตาร์ช ด้วยเทคนิคการแยกโปรตีนตามความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลด้วยกระแสไฟฟ้า ในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS-PAGE) โดยใช้ความเข้มข้นของ separating gel ร้อยละ 15 และใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ ที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลาในการเคลื่อนที่ของโปรตีนประมาณ 1 ชั่วโมง 45 นาที โดยเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลโดยประมาณของตัวอย่างโปรตีนคอยซินและโปรตีนในสตาร์ชกับน้ำหนักโมเลกุลโปรตีนมาตรฐานชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ซึ่งอยู่ในช่วง 6.5 ถึง 66 กิโลดาลตัน โดยตัวอย่างโปรตีนคอยซินและโปรตีนในสตาร์ชถูกปรับความเข้มข้นของโปรตีนเป็นร้อยละ 0.8 และ 0.06 (สตาร์ช 150 มิลลิกรัม) (น้ำหนักต่อปริมาตร) ด้วย sample buffer ที่มีการเติมและไม่มีการเติมบีตาเมอร์แคปโตเอทานอล

## 4. การวิเคราะห์สมบัติด้านเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์

### 4.1 กำล้างการพองตัวและร้อยละการละลายของแป้งและสตาร์ชลูกเดือย (นำมาจากวิธีของ Li and Yeh , 2001)

ชั่งตัวอย่างแป้งและสตาร์ชจากลูกเดือยปริมาณ 0.1 กรัม ใส่ลงในหลอดหยิ่งแยกขนาด 50 มิลลิลิตรและเติมน้ำปริมาณ 15 มิลลิลิตร ทำการให้ความร้อนกับสารละลายตัวอย่างในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิเป็น 55 65 75 85 และ 95 องศาเซลเซียส ขณะที่ให้ความร้อนกับตัวอย่างให้ทำการเขย่าตลอดเวลาเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นลดอุณหภูมิของตัวอย่างลงด้วยอ่างน้ำแข็ง จนกระทั่งอุณหภูมิของตัวอย่างเท่ากับอุณหภูมิห้อง นำตัวอย่างไปหมุนเหวี่ยงที่ระดับความเร็วรอบ 8,000 g เป็นเวลา 20 นาที และนำส่วนใสของสารละลายไปหาปริมาณของแข็ง (W1) และทำการชั่งส่วนของตัวอย่างที่เหลือ (Ws) และคำนวณค่าร้อยละการละลายและความสามารถในการพองตัวของตัวอย่างตามสูตร

$$\text{ร้อยละการละลาย} = \frac{\text{ปริมาณของแข็ง(กรัม) (W1)} \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง(กรัม)}}$$

$$\text{ความสามารถในการพองตัว (กรัม/กรัม)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่เหลือ (กรัม) (Ws)} \times 100}{100 - \text{ร้อยละการละลาย}}$$

#### 4.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะด้านสัณฐานวิทยาของเม็ดสตาร์ชลูกเดี๋ย

นำตัวอย่างสตาร์ชจากลูกเดี๋ยพันธุ์เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ดขาว มากระจายตัวในน้ำให้มีระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และหยดลูกเดี๋ยไอโอดีน (Lugol's iodine) เพื่อสามารถสังเกตลักษณะด้านสัณฐานวิทยาของเม็ดสตาร์ชได้ชัดเจนขึ้น และหยดสารละลายสตาร์ชลงบนกระจกสไลด์ และให้ความร้อนกับตัวอย่างด้วยแท่นให้ความร้อน โดยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิเท่ากับ 5 องศาเซลเซียสต่อนาที และสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงส่องผ่าน (Light Microscope; LM) และทำการเก็บภาพทุก 5 องศาเซลเซียส ในช่วงอุณหภูมิ 50 ถึง 95 องศาเซลเซียส ด้วยโปรแกรม Image-Pro Plus V. 6.0

#### 4.3 สมบัติด้านการเปลี่ยนแปลงความหนืด (นำมาจากวิธีของ Li and Corke, 1999)

ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงความหนืดของตัวอย่างแป้งและสตาร์ชลูกเดี๋ยทั้งสองสายพันธุ์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว (Rapid visco analyzer; RVA) ตามวิธีการของ Li and Corke (1999) (ภาคผนวก ก11) เพื่อวิเคราะห์อุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืด (pasting temperature) ความหนืดสูงสุดขณะร้อน (peak viscosity) ความหนืดต่ำสุด (trough) ความหนืดสุดท้าย (final viscosity) ค่าความหนืดลดลงหรือค่าเบรกดาวน์ (breakdown) และค่าเซตแบค (setback)

#### 4.4 สมบัติการเกิดเจลลาทีโนเซชันและการเกิดรีโทรเกรเดชัน (นำมาจากวิธีของ Zhang and Hamaker, 1998)

ใส่ตัวอย่างแป้งและสตาร์ชลูกเดี๋ยปริมาณ 6 มิลลิกรัม ลงใน stainless pan แล้วเติมน้ำจนได้อัตราส่วนของน้ำเท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์ และปิดฝาให้สนิท บ่มตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ข้ามคืน จากนั้นจึงนำตัวอย่างมาวิเคราะห์การเกิดเจลลาทีในเซชัน ด้วยเครื่องดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริมิเตอร์ (DSC) โดยใช้ stainless pan เปล่าเป็นภาชนะอ้างอิง และกำหนดอุณหภูมิในการให้ความร้อนจาก 25 ถึง 130 องศาเซลเซียส โดยให้อัตราการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 5 องศาเซลเซียสต่อ นาที จากนั้นนำ stainless pan นี้ไปทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 ชั่วโมง และ 21 วัน เพื่อทำการวิเคราะห์อุณหภูมิและพลังงานในการสลายโครงสร้างผลึกเนื่องจากกระบวนการรีโทรเกรเดชันด้วยเครื่อง DSC โดยกำหนดช่วงอุณหภูมิและอัตราเร็วในการเพิ่มความร้อนเช่นเดียวกับการวิเคราะห์การเกิดเจลลาทีในเซชัน และทำการวิเคราะห์หาอุณหภูมิเริ่มต้น ( $T_o$ ) อุณหภูมิสูงสุด ( $T_p$ ) อุณหภูมิสุดท้าย ( $T_c$ ) และพลังงานเอนทัลปี (enthalpy,  $\Delta H$ ) ในกระบวนการเจลลาทีในเซชันและกระบวนการสลายโครงสร้างผลึกที่เกิดจากกระบวนการรีโทรเกรเดชัน

## 5. การศึกษาอิทธิพลของโปรตีนคอยซินต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้งลูกเดี๋ย

### 5.1 อัตราส่วนของโปรตีนคอยซินต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบทั้ง สองสายพันธุ์

เตรียมตัวอย่างแป้งเชิงประกอบปริมาณ 2.5 กรัม (โดยน้ำหนักแห้ง) ที่มีการปรับอัตราส่วนของโปรตีนคอยซินต่อสตาร์ชเท่ากับ 0, 0.2, 0.6 และ 1.0 เมื่อคิดเป็นปริมาณร้อยละของโปรตีนคอยซินในแป้งเชิงประกอบเท่ากับ 0, 16.67, 37.5 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ของลูกเดี๋ยทั้งสองสายพันธุ์ มาศึกษาสมบัติด้านความหนืด โดยเครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็วตามวิธีการของ Li and Corke (1999) (ภาคผนวก ก11) เพื่อวิเคราะห์อุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงความหนืด (pasting temperature) อุณหภูมิในการเกิดความหนืดสูงสุด (peak temperature) เวลาในการเกิดความหนืดสูงสุด (peak time) ความหนืดสูงสุดขณะร้อน (peak viscosity) ความหนืดต่ำสุด (trough) ความหนืดสุดท้าย (final viscosity) ค่าความหนืดลดลงหรือเบรกดาวน (breakdown) และค่าเซตแบค (setback)

## 5.2 ผลของสารรีดิวซิงและสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบทั้งสองสายพันธุ์

### 5.2.1 ผลของสารรีดิวซิงต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบ

นำแป้งลูกเดี๋ยธรรมชาติ สตาร์ช และแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบทั้งสองสายพันธุ์ มาศึกษาผลของสารรีดิวซิงต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบ โดยใช้สารละลายซีสเตอีนความเข้มข้น 1 โมลาร์ เติมลงไปในการละลายตัวอย่างปริมาตร 0.7 และ 7 มิลลิลิตร ซึ่งคิดเป็นความเข้มข้นของซีสเตอีนเท่ากับ 0.025 และ 0.25 โมลาร์ ตามลำดับ ก่อนนำไปตรวจสอบสมบัติด้านความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืดแบบรวดเร็ว

### 5.2.2 ผลของสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบ

นำแป้งลูกเดี๋ยธรรมชาติ สตาร์ช และแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบทั้งสองสายพันธุ์ มาศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบ โดยใช้โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เติมลงไปในการละลายตัวอย่างปริมาตร 0.84 และ 8.4 มิลลิลิตร ซึ่งคิดเป็นความเข้มข้นของโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเท่ากับ 0.003 และ 0.03 โมลาร์ ตามลำดับ ก่อนนำไปตรวจสอบสมบัติด้านความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืดแบบรวดเร็ว

## 5.3 ผลของสารรีดิวซิงต่อคุณลักษณะของโปรตีน

ตรวจสอบชนิดของโปรตีนคอยซินและโปรตีนในสตาร์ชลูกเดี๋ย เมื่อมีการเติมสารรีดิวซิง (ซีสเตอีน) ที่ระดับความเข้มข้น 0.025 และ 0.25 โมลาร์ ต่อคุณลักษณะของโปรตีนด้วยเทคนิคการแยกโปรตีนตามความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลด้วยกระแสไฟฟ้าในพอลิอะคริลาไมด์เจลที่มีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS-PAGE) โดย separating gel มีความเข้มข้นร้อยละ 15 และใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ ที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลาในการเคลื่อนที่ของโปรตีนคอยซินประมาณ 1 ชั่วโมง 45 นาที โดยเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลโดยประมาณของตัวอย่างโปรตีนคอยซินกับน้ำหนักโมเลกุลโปรตีนมาตรฐานชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ซึ่งอยู่ในช่วง 6.5 ถึง 66 กิโลดาลตัน โดยตัวอย่างโปรตีนคอยซินถูกปรับความเข้มข้นของโปรตีนเป็นร้อยละ 0.8 (น้ำหนักต่อปริมาตร) สำหรับตัวอย่างสตาร์ชโปรตีนมีความเข้มข้นร้อยละ 0.06 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

5.4 การศึกษาโครงสร้างของตัวอย่างแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบที่ผ่านการเติมสารรีดิวซิงและสารลดแรงดึงผิว

นำตัวอย่างแป้ง สตาร์ชและแป้งเชิงประกอบ ที่ผ่านการเติมสารรีดิวซิงและสารลดแรงดึงผิว และมีการหยดสีย้อมโรดามีน บี (Rhodamine B) ที่มีคุณสมบัติในการย้อมติดโปรตีน ก่อนการตรวจสอบสมบัติด้านความหนืดด้วยเครื่อง RVA หลังจากวิเคราะห์ด้วยเครื่อง RVA จึงนำตัวอย่างแป้ง สตาร์ช และแป้งเชิงประกอบ มาตรวจสอบลักษณะโครงสร้างด้วยกล้องคอนโฟคอลเลเซอร์สแกนนิ่ง

## 6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติจากแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Random Design; CRD) โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 12

## 7. สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการและอาคารแปรรูป ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หน่วยงานกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ห้องปฏิบัติการเอกซเรย์ดิฟแฟรกชันและเอกซเรย์ฟลูออเรสเซนส์ ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

## 8. ระยะเวลาการทดลอง

ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม 2549 ถึงเดือนกรกฎาคม 2550

## ผลและวิจารณ์

### ผล

#### 1. ผลการตรวจสอบเมล็ดลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์

1.1 การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ และลักษณะสัณฐานวิทยาของลูกเดือยเมล็ดเต็มทั้งสองสายพันธุ์

จากการทดลองได้ทำการศึกษาลูกเดือยสองสายพันธุ์ คือ ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ (BA) และลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว (WA) เมื่อสังเกตลักษณะทางกายภาพโดยทั่วไปของลูกเดือยเมล็ดเต็มทั้งสองสายพันธุ์ พบว่าลูกเดือยเมล็ดเต็ม BA และ WA มีรูปร่างเมล็ดคล้ายหยดน้ำตา โดยลูกเดือยเมล็ดเต็ม WA มีรูปร่างเมล็ดค่อนข้างกลม ผิวเปลือกด้าน มีเปลือกสีน้ำตาลอ่อน บางเมล็ดเปลือกมีสีน้ำตาลเข้มมาก ดังภาพที่ 14 เมื่อทำการบิเปลือกเมล็ด พบว่าเปลือกมีลักษณะเปราะบาง บิแตกได้ง่าย ในขณะที่ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ (BA) รูปร่างเมล็ดค่อนข้างเล็กและเรียวยาวกว่าลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว โดยเปลือกลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำมีลักษณะเป็นมันวาว เปลือกมีสีน้ำตาลเข้ม จนกระทั่งเป็นสีดำ ดังภาพที่ 14 เปลือกมีลักษณะแข็งบิแตกยาก

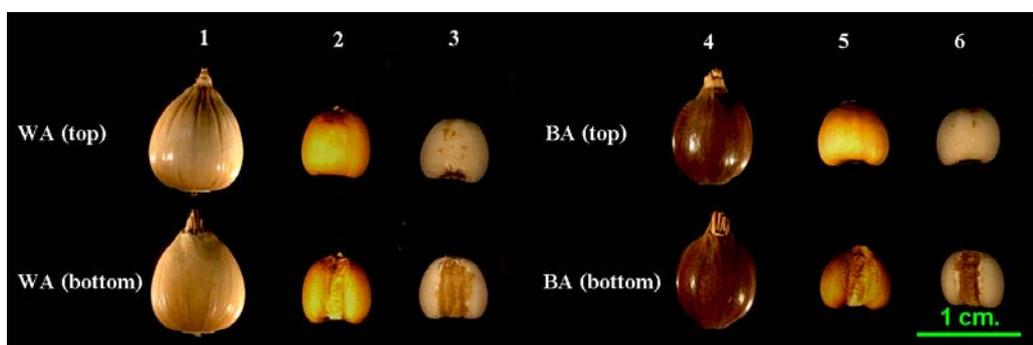


ภาพที่ 14 ลักษณะของลูกเดือยเมล็ดเต็มและลูกเดือยที่ผ่านการขัดสี

หมายเหตุ BA (Black Adlay): ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ, WA (White Adlay): ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว

P (Polished): เมล็ดลูกเดือยที่ผ่านการขัดสี

ภายหลังจากกระบวนการตัดสีเปลือกออกของลูกเด็ยทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า เมล็ดลูกเด็ยที่ผ่านกระบวนการตัดสีเปลือกออกมีรูปร่างเป็นครึ่งวงกลม โดยด้านหนึ่งของเมล็ดค่อนข้างเรียบ อีกด้านหนึ่งของเมล็ดมีลักษณะโค้งและเป็นร่องกลางเมล็ด มีผิวเมล็ดสีน้ำตาล ดังภาพที่ 15-2, 15-5 และภายหลังจากกระบวนการขัดมัน จะได้เมล็ดลูกเด็ยที่มีรูปร่างเช่นเดิม และมีสีของเมล็ดขาวขึ้น แต่ยังคงมีร่องตรงกลางเมล็ดและมีสีน้ำตาลเช่นเดิม ดังภาพที่ 15-3, 15-6 และพบว่าในกระบวนการขัดสีระดับห้องปฏิบัติการเมล็ดลูกเด็ยที่ได้จะมีลักษณะเมล็ดที่แตก ส่วนของรำจะถูกขัดออกไปบางส่วน และยังคงพบส่วนที่เป็นร่องเมล็ดอยู่ดังภาพที่ 14



ภาพที่ 15 ลักษณะของเมล็ดลูกเด็ยก่อนและหลังกระบวนการตัดสี

หมายเหตุ บน (เมล็ดด้านที่โค้ง) และล่าง (เมล็ดด้านที่เรียบ)

- 1, 4: ลูกเด็ยเมล็ดเต็ม
- 2, 5: เมล็ดลูกเด็ยที่ผ่านการสีเปลือกออก
- 3, 6: เมล็ดลูกเด็ยที่ผ่านการสีเปลือกออกและขัดมัน

จากการตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาของลูกเด็ยเมล็ดเต็มและลูกเด็ยที่ผ่านกระบวนการตัดสีเปลือกออก พบว่า ลักษณะเมล็ดลูกเด็ยที่ได้มีลักษณะที่คล้ายคลึงกับเมล็ดข้าวโพดและเมล็ดข้าวฟ่าง โดยลักษณะของสีน้ำตาลบนเมล็ด และร่องสีน้ำตาลกลางเมล็ดลูกเด็ยเปรียบเทียบได้กับส่วนของรำและคัพพะของเมล็ดข้าวโพด (Kulp and Ponte, 2000) ซึ่งจากลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดลูกเด็ย ข้าวโพด และข้าวฟ่างที่คล้ายคลึงกัน สอดคล้องกับผลการทดลองของ Tatham *et al.* (1996) ที่ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติเฉพาะของโปรตีน โพรลามินของข้าวโพด ข้าวฟ่าง และลูกเด็ย พบว่า ลักษณะน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีน โพรลามินมีลักษณะที่คล้ายกัน จึงจัดข้าวโพด ข้าวฟ่าง และลูกเด็ย อยู่ใน sub-family เดียวกัน คือ sub-family Panicoideae

เมื่อนำลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ ที่ผ่านกระบวนการขัดสีเปลือกและขัดมัน ไปทำการผลิตแป้งและสกัดสตาร์ชลูกเดือย โดยนำลูกเดือยที่ผ่านการขัดสีเปลือกออกและขัดมัน ไปผ่านกรรมวิธีการโม่แห้ง ด้วยเครื่องโม่ (Hammer mill) โดยผ่านตะแกรงร่อนที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.05 มิลลิเมตร จะได้แป้งลูกเดือยชนิดหยาบ จากนั้นจึงนำไปผ่านตะแกรงร่อนขนาด 100 เมช จะได้แป้งที่มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลอ่อนและมีจุดสีน้ำตาลกระจายทั่วเนื้อแป้ง ดังภาพที่ 16

สำหรับกระบวนการสกัดสตาร์ช จะทำการสกัดสตาร์ชโดยนำเมล็ดลูกเดือยที่ผ่านการสีเปลือกและขัดมันแล้ว มาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่มีความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการโม่เปียกและนำสารละลายน้ำแป้ง ผ่านตะแกรงร่อนขนาด 100 และ 270 เมช ตามลำดับ นำสารละลายน้ำแป้งที่ได้ไปทำการหมุนเหวี่ยงและแยกชั้นของโปรตีนที่มีลักษณะสีน้ำตาลด้านบนออกจากสตาร์ช และนำสตาร์ชที่ได้ไปทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน จะได้สตาร์ชที่มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาว ดังภาพที่ 16

สำหรับกระบวนการสกัดโปรตีนคอยซิน นำแป้งลูกเดือยชนิดหยาบ (ผ่านการบดด้วยเครื่องโม่) มาสกัดโปรตีนโดยใช้สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ มีส่วนประกอบของโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์และโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยสภาวะที่ทำการสกัด คือ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และทำการหมุนเหวี่ยง แยกเฉพาะส่วนของสารละลายสีน้ำตาลใส ไปทำการตกตะกอนโปรตีนคอยซินโดยปรับความเป็นกรด-เบส ของสารละลายให้เท่ากับ 5 แล้วนำโปรตีนที่ได้ไปทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง พบว่า โปรตีนคอยซินที่ได้มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลอ่อน ดังภาพที่ 16



**ภาพที่ 16** ลักษณะทางกายภาพของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซินจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์  
**หมายเหตุ** BA: ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ, WA: ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว

F: Flour (แป้ง), S: Starch (สตาร์ช) และ P: Coixin Protein (โปรตีนคอยซิน)

เมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซิน จากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ ดังภาพที่ 16 พบว่า แป้งและสตาร์ชลูกเดือยที่ผลิตได้ มีลักษณะการเกาะตัวกันเป็นก้อน ในขณะที่โปรตีนคอยซินที่สกัดได้มีการเกาะตัวกันของอนุภาคโปรตีนที่น้อยมาก ดังภาพที่ 16 และเมื่อพิจารณาสีของตัวอย่าง พบว่า แป้งจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ (BAF) และเมล็ดขาว (WAF) มีสีน้ำตาลอ่อน และมีสีที่เข้มกว่าโปรตีนคอยซินและสตาร์ช ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ค่าสีด้วยเครื่องวัดสี โดยทำการวิเคราะห์ห่อออกมาเป็นค่า  $L^*$  ซึ่งเป็นค่าที่บอกความสว่างของตัวอย่าง ค่า  $a^*$  คือ ค่าที่ใช้กำหนดความเป็นสีแดง (+) หรือความเป็นสีเขียว (-) และค่า  $b^*$  เป็นค่าที่ใช้กำหนดความเป็นสีเหลือง (+) หรือความเป็นสีน้ำเงิน (-) ส่วนค่าดัชนีความขาว (whiteness index) เป็นค่าที่คำนวณมาจาก ค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  โดยพบว่าแป้งจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ ให้ค่า  $L^*$  ที่ต่ำกว่าโปรตีนคอยซินและสตาร์ช ตามลำดับ ในขณะที่ค่า  $a^*$  และ ค่า  $b^*$  ของแป้งลูกเดือย มีค่าที่สูงกว่าโปรตีนคอยซินและสตาร์ช ดังตารางที่ 3 ซึ่งค่า  $a^*$  และ  $b^*$  ของแป้งที่สูง แสดงว่าแป้งมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลมากกว่าโปรตีนคอยซินและสตาร์ชจากลูกเดือย เมื่อนำค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  ที่ได้ไปคำนวณค่าดัชนีความขาว พบว่า สตาร์ช มีค่าดัชนีความขาวที่สูงกว่าโปรตีนคอยซินและแป้งลูกเดือย ตามลำดับ ดังตารางที่ 3 ซึ่งค่าสีที่วิเคราะห์ได้สอดคล้องกับลักษณะสีของตัวอย่างที่สามารถสังเกตได้ ดังภาพที่ 16

ตารางที่ 3 ค่า L\*, a\*, b\* และดัชนีความขาวของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยชิน จากลูกเดือยสอง  
ทั้งสายพันธุ์

ตัวอย่าง	L*	a*	b*	ดัชนีความขาว (Whiteness index)
BAF	77.93 <sup>c</sup> ±0.39	0.72 <sup>a</sup> ±0.05	8.98 <sup>a</sup> ±0.18	76.16 <sup>c</sup> ±0.43
WAF	82.52 <sup>d</sup> ±0.73	0.35 <sup>b</sup> ±0.02	7.63 <sup>b</sup> ±0.42	80.92 <sup>d</sup> ±0.84
BAS	91.36 <sup>a</sup> ±0.13	0.24 <sup>c</sup> ±0.06	2.48 <sup>c</sup> ±0.06	91.00 <sup>a</sup> ±0.14
WAS	91.60 <sup>a</sup> ±0.14	0.20 <sup>d</sup> ±0.04	2.58 <sup>c</sup> ±0.16	91.21 <sup>a</sup> ±0.18
BAP	87.48 <sup>c</sup> ±1.06	0.17 <sup>d</sup> ±0.10	5.57 <sup>c</sup> ±0.63	86.29 <sup>c</sup> ±1.22
WAP	88.72 <sup>b</sup> ±0.37	0.28 <sup>c</sup> ±0.03	5.02 <sup>d</sup> ±0.56	87.65 <sup>b</sup> ±0.56

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ  
( $p \leq 0.05$ )

เมื่อพิจารณาค่าความแตกต่างของสีระหว่างแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยชินจากลูก  
เดือยทั้งสองสายพันธุ์ (ตารางที่ 3) พบว่า แป้งและโปรตีนคอยชินจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ (BAF  
และ BAP) ให้ค่า L\* และค่าดัชนีความขาวที่ต่ำกว่าแป้งและโปรตีนคอยชินจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ด  
ขาว (WAF และ WAP) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ในขณะที่ค่าดัชนีความขาวของสตาร์ชจากลูก  
เดือยทั้งสองสายพันธุ์ ให้ค่าดัชนีความขาวที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

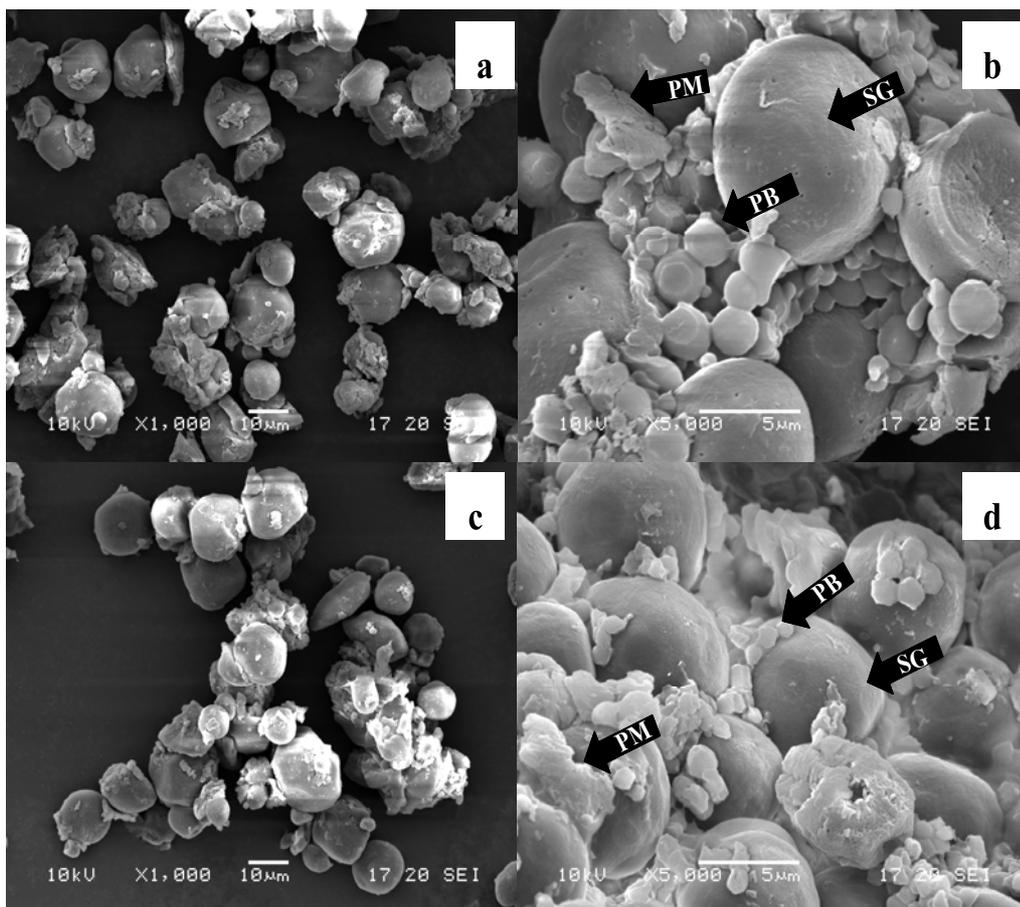
เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าดัชนีความขาวระหว่างแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยชิน จาก  
ลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า สตาร์ชและโปรตีนคอยชินจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ ให้ค่าดัชนี  
ความขาวที่มากกว่าแป้งจากลูกเดือย เนื่องจากในกระบวนการสกัดสตาร์ชและโปรตีนคอยชิน ได้มี  
การสกัดสิ่งเจือปนออกเพื่อให้ความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น จึงมีผลต่อค่าดัชนีความขาว ในขณะที่แป้ง  
ลูกเดือยที่ได้จากกระบวนการโม่แห้งเมล็ดลูกเดือยที่ผ่านการขัดสี ซึ่งยังมีส่วนของรำและส่วนของ  
ร่องกลางเมล็ดที่มีสีน้ำตาล ส่งผลต่อค่าดัชนีความขาวของแป้ง นอกจากนี้ลักษณะจุดสีน้ำตาลที่  
สังเกตเห็นตัวอย่างแป้งลูกเดือย ยังสอดคล้องกับการทดลองของทัศนีย์ (2530) ที่พบจุดสีน้ำตาลใน  
ตัวอย่างแป้งลูกเดือยเช่นกัน ซึ่งคาดว่าจุดสีน้ำตาลที่ปรากฏในตัวอย่างแป้ง คือ ส่วนของรำ

## 2. สมบัติทางกายของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซินจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์

### 2.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซินจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของแป้งลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว (WAF) และแป้งลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ (BAF) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 1,000 เท่า พบว่า แป้งลูกเดือย WAF และ BAF มีลักษณะเกาะกันเป็นกลุ่มก้อน เห็นเม็ดสตาร์ชไม่ชัดเจน และพบว่า เม็ดสตาร์ชส่วนใหญ่อยู่ในลักษณะที่เกาะเกี่ยวข้องกับองค์ประกอบอื่น เช่น โปรตีน (ภาพที่ 17-a, c) เมื่อเพิ่มกำลังขยายเป็น 5,000 เท่า จะสังเกตเห็นการเกาะเกี่ยวกันระหว่างเม็ดสตาร์ช (starch granule: SG) และเม็ดโปรตีนบอดี (protein body: PB) ภายในโปรตีนโครงข่าย (protein matrix: PM) ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ดังภาพที่ 17 – b, d

แป้งลูกเดือยพันธุ์ WAF และ BAF ที่กำลังขยาย 5,000 เท่า จะสังเกตเห็นเม็ดสตาร์ชไม่ชัดเจน ดังภาพที่ 17 – b, d เนื่องจากการเกาะเกี่ยวกันระหว่างเม็ดสตาร์ชและโปรตีนบอดี ภายในโครงข่ายโปรตีน (Kulp and Ponte, 2000)



ภาพที่ 17 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของแป้งจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์

หมายเหตุ a และ b: ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว

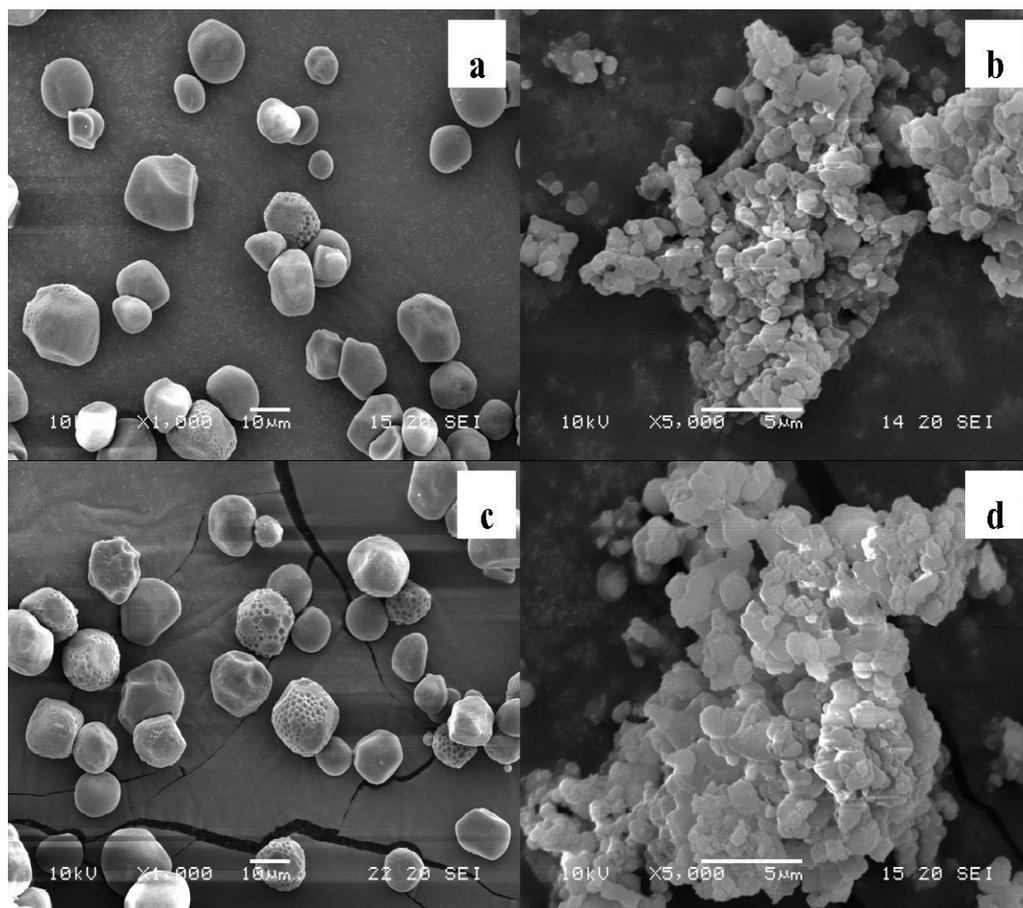
c และ d: ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ

ที่กำลังขยาย 1,000 และ 5,000 เท่า ตามลำดับ

SG: starch granule (เม็ดสตาร์ช), PM: protein matrix (โครงข่ายโปรตีน) และ

PB: protein body (โปรตีนบอดี)

เมื่อสังเกตรูปร่างของเม็ดสตาร์ชลูกเดือย พบว่า เม็ดสตาร์ชของลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ มีรูปร่างเม็ดค่อนข้างกลมและหลายเหลี่ยม (polygonal) และบริเวณพื้นผิวของเม็ดสตาร์ชจะสังเกตเห็นหลุมเล็กๆ ปรากฏอยู่ ดังภาพที่ 18-a, c คาดว่ารูปร่างของเม็ดสตาร์ชและลักษณะหลุมบริเวณพื้นผิวของเม็ดสตาร์ชเกิดจากการเกาะเกี่ยวกันระหว่าง เม็ดสตาร์ช และ โปรตีนบอดี ภายในโปรตีนโครงข่าย ทำให้เม็ดสตาร์ชที่สกัดออกมาได้มีรูปร่างหลายเหลี่ยม (polygonal) และส่วนหลุมเล็กๆ บริเวณพื้นผิวของเม็ดสตาร์ช เป็นร่องรอยเนื่องจากการหลุดออกของโปรตีนบอดี (Kulp and Ponte, 2000)



**ภาพที่ 18** ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดของสตาร์ช และ โพรตีนคอยซินจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์

หมายเหตุ a, b: สตาร์ช และ โพรตีนคอยซินจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวที่กำลังขยาย 1,000 และ 5,000 เท่าตามลำดับ

c, d: สตาร์ช และ โพรตีนคอยซินจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำที่กำลังขยาย 1,000 และ 5,000 เท่าตามลำดับ

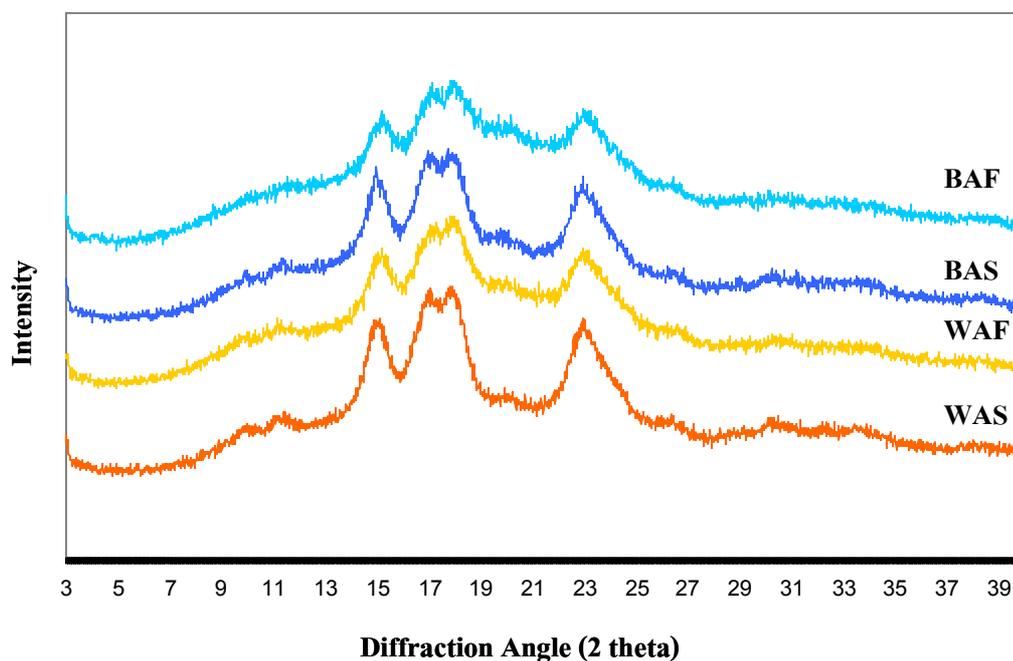
จากภาพที่ 18-a, c เมื่อสังเกตขนาดของเม็ดสตาร์ช WAS และ BAS พบว่า เม็ดสตาร์ชมีหลากหลายขนาด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 10 ไมโครเมตร และมากกว่า 10 ไมโครเมตร ซึ่งขนาดของเม็ดสตาร์ชดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yang *et al.* (1978) และ ทศนีย์ (2530) ที่พบว่า เม็ดสตาร์ชของลูกเดือยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6.5 ถึง 20 ไมโครเมตร และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 15 ไมโครเมตร

ส่วนการสกัดโปรตีนจากลูกเดี๋ยโดยใช้สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ พบว่า โปรตีนที่สกัดออกมาได้ คือ โปรตีนโพรลามีน โดยมีชื่อเรียกเฉพาะในลูกเดี๋ยว่า โปรตีนคอยซิน (coixin) โดยลักษณะสัณฐานวิทยาของโปรตีนคอยซินจากลูกเดี๋ยพันธุ์เมล็ดขาว (WAP) และลูกเดี๋ยพันธุ์เมล็ดดำ (BAP) มีลักษณะเป็นเม็ดกลม ขนาดเล็ก ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับโปรตีนบอดี และพบว่า โปรตีนคอยซินเกิดการเกาะรวมตัวกันเป็นก้อน ดังภาพที่ 18-b, d ซึ่งการเกาะรวมกันเป็นก้อนของโปรตีนคอยซิน อาจเกิดจากอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก พันธะไฮโดรเจน และพันธะไดซัลไฟด์ ระหว่างโปรตีนบอดี (Duodu *et al.*, 2003; Guo *et al.*, 2005) เมื่อพิจารณาลักษณะเม็ดโปรตีนบอดี พบว่า มีขนาดเล็กและมีรูปร่างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 1 ไมโครเมตร ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะที่พบเช่นเดียวกับโปรตีนซินในข้าวโพดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางด้านกว้างอยู่ระหว่าง 0.15 ถึง 0.55 ไมโครเมตร และมีความสูงประมาณ 0.05 ถึง 0.15 ไมโครเมตร และพบว่า การเกาะกลุ่มของโปรตีนบอดี ทำให้โปรตีนมีขนาดและรูปร่างแตกต่างกัน (Guo *et al.*, 2005)

## 2.2 ลักษณะโครงสร้างผลึก

เมื่อวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของแป้งและสตาร์ชจากลูกเดี๋ยทั้งสองสายพันธุ์ โดยเทคนิคการวัดการสะท้อนของรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction) ด้วยเครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟร็กโทมิเตอร์ พบว่า ลูกเดี๋ยทั้งสองสายพันธุ์มีพีคความเป็นผลึกที่ตำแหน่ง  $15^{\circ}$ ,  $17^{\circ}$ ,  $18^{\circ}$  และ  $23^{\circ}$  องศา ดังภาพที่ 19 ซึ่งตำแหน่งมุมการสะท้อนดังกล่าวจัดเป็นโครงสร้างผลึกแบบ A-Type (Cheetham and Tao, 1998)

เมื่อคำนวณค่าร้อยละความเป็นผลึก พบว่า WAS มีค่าความเป็นผลึกมากกว่า BAS อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) โดย WAS และ BAS มีระดับความเป็นผลึกเท่ากับ 26.76 และ 22.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ซึ่งระดับความเป็นผลึกดังกล่าวเกิดจากการจัดเรียงตัวเป็นเกลียวของสายโซ่ด้านนอกของโมเลกุลเอมิโลเพกทิน อาจเกิดขึ้นระหว่างสายโซ่เอมิโลเพกทินที่อยู่ใกล้กัน ซึ่งการจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างผลึกส่งผลต่อการสะท้อนรังสีเอกซ์ที่แตกต่างกัน (Tester *et al.*, 2004)



ภาพที่ 19 รูปแบบการสะท้อนรังสีเอกซ์ของแป้งและสตาร์ชจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์  
 หมายเหตุ BA: ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ, WA: ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว

ตารางที่ 4 ร้อยละความเป็นผลึกของแป้งและสตาร์ชจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์

ตัวอย่าง	Crystal pattern	Degree of crystallinity (%)
BAF	A	16.30 <sup>c</sup> ±1.68
WAF	A	18.15 <sup>c</sup> ±0.10
BAS	A	22.50 <sup>b</sup> ±1.31
WAS	A	26.76 <sup>a</sup> ±0.05

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

เมื่อพิจารณาระดับความเป็นผลึกระหว่างแป้งและสตาร์ช พบว่า สตาร์ช WAS (26.76 เปอร์เซ็นต์) และ BAS (22.50 เปอร์เซ็นต์) มีระดับความเป็นผลึกมากกว่าตัวอย่างแป้ง WAF (18.15

เปอร์เซ็นต์) และ BAF (16.30 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตารางที่ 4 อาจเป็นผล  
 เนื่องจากในตัวอย่างแบ่งมีองค์ประกอบอื่นๆ ได้แก่ โปรตีน ทำให้การสะท้อนรังสีเอกซ์อัน  
 เนื่องจากโครงสร้างผลึกภายในเมล็ดสตาร์ชลดลง ซึ่งลักษณะดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลอง  
 ของ Mousia *et al.* (2004) ที่พบว่าระดับความเป็นผลึกของข้าวสาลีที่ผ่านกระบวนการขัดสีจะม  
 ความชัดเจนของพีคและระดับความเป็นผลึกมากกว่าข้าวสาลีที่ไม่ผ่านกระบวนการขัดสีเปลือก  
 ซึ่งความแตกต่างดังกล่าวเป็นผลเนื่องจากตัวอย่างข้าวสาลีที่ผ่านกระบวนการขัดสี มีการปนเปื้อน  
 ของรำและคัพภะที่น้อยกว่าตัวอย่างข้าวสาลีที่ไม่ผ่านการขัดสีเปลือก (Mousia *et al.*, 2004)

### 3. สมบัติทางเคมีของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซินจากลูกเดือยสองสายพันธุ์

#### 3.1 องค์ประกอบทางเคมีของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซินจากลูกเดือยสองสายพันธุ์

เมื่อทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยซินจากลูก  
 เดือยทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า แป้ง BAF และ WAF มีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า  
 สูงกว่าสตาร์ช BAS และ WAS ดังตารางที่ 5 ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากในกระบวนการสกัดสตาร์ช ได้ม  
 การแยกองค์ประกอบอื่น เช่น โปรตีน ไขมัน เถ้า ออกจากส่วนของสตาร์ช ทำให้องค์ประกอบทาง  
 เคมีของสตาร์ชทั้งสองสายพันธุ์มีปริมาณต่ำกว่าแป้ง

เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนในแป้งและสตาร์ชลูกเดือย ระหว่างลูกเดือยทั้งสองสาย  
 พันธุ์ ดังตารางที่ 5 พบว่า BAF และ BAS มีปริมาณโปรตีนสูงกว่า WAF และ WAS โดย BAF และ  
 BAS มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 14.88 และ 0.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วน WAF และ WAS มี  
 ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 13.28 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกับปริมาณโปรตีนที่  
 วิเคราะห์ได้ในโปรตีนคอยซิน ซึ่งพบว่า BAP มีปริมาณโปรตีนสูงกว่า WAP โดย BAP และ WAP  
 มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 83.26 และ 80.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากปริมาณโปรตีนในแป้ง สตาร์ช  
 และโปรตีนคอยซินของลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำที่สูงกว่าลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว อาจเป็นผลเนื่องมาจาก  
 ส่วนเนื้อเมล็ดของลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำมีปริมาณ โปรตีนสูงกว่าลูกเดือยเมล็ดขาว

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมีของแป้ง สตาร์ช และ โปรตีนคอยซินจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์

ตัว	องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละ โดยน้ำหนักแห้ง)					
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	เส้นใยหยาบ	คาร์โบไฮเดรต
BAF	10.38 <sup>bc</sup> ±0.01	14.88 <sup>c</sup> ±0.03	3.16 <sup>a</sup> ±0.07	1.17 <sup>a</sup> ±0.02	0.61 <sup>bc</sup> ±0.03	69.80 <sup>c</sup> ±0.11
WAF	9.90 <sup>c</sup> ±0.22	13.28 <sup>c</sup> ±0.28	2.89 <sup>a</sup> ±0.10	1.12 <sup>b</sup> ±0.01	0.60 <sup>bc</sup> ±0.04	72.20 <sup>b</sup> ±0.06
BAS	11.59 <sup>a</sup> ±0.40	0.52 <sup>d</sup> ±0.14	0.16 <sup>c</sup> ±0.06	1.00 <sup>c</sup> ±0.00	0.09 <sup>c</sup> ±0.06	86.63 <sup>a</sup> ±0.54
WAS	10.84 <sup>ab</sup> ±1.27	0.25 <sup>d</sup> ±0.04	0.04 <sup>c</sup> ±0.01	1.00 <sup>c</sup> ±0.00	0.17 <sup>c</sup> ±0.14	87.71 <sup>a</sup> ±1.28
BAP	8.26 <sup>d</sup> ±0.31	83.26 <sup>a</sup> ±1.91	1.93 <sup>b</sup> ±0.82	0.99 <sup>c</sup> ±0.00	1.14 <sup>ab</sup> ±1.01	4.42 <sup>d</sup> ±0.34
WAP	7.83 <sup>d</sup> ±0.35	80.17 <sup>b</sup> ±1.98	3.18 <sup>a</sup> ±0.57	0.99 <sup>c</sup> ±0.00	2.74 <sup>a</sup> ±0.78	5.10 <sup>d</sup> ±1.05

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ  
( $p \leq 0.05$ )

### 3.2.1 ปริมาณแอมิโลสของสตาร์ชจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์

จากผลการทดลอง พบว่า BAS มีปริมาณแอมิโลสเท่ากับ 29.22 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่า WAS ที่มีปริมาณแอมิโลสเท่ากับ 11.55 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ปริมาณแอมิโลสจากสตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ดขาว

ชนิดของสตาร์ช	ปริมาณเปอร์เซ็นต์แอมิโลส (โดยน้ำหนักแห้ง)
BAS	29.22 <sup>a</sup> ± 0.69
WAS	11.55 <sup>b</sup> ± 0.80

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ  
( $p \leq 0.05$ )

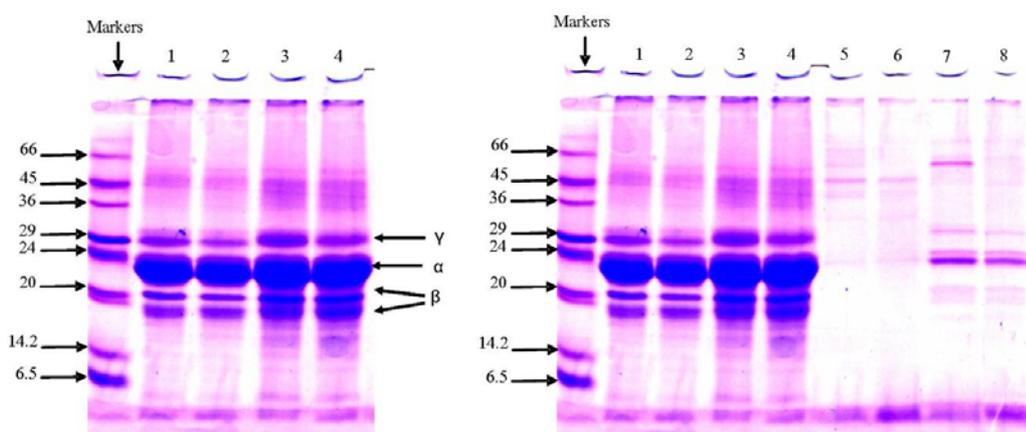
จากผลการวิเคราะห์ปริมาณแอมิโลส BAS มีปริมาณแอมิโลสเท่ากับ 29.22 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณแอมิโลสที่พบในธัญชาติชนิดต่างๆไป (normal cereal starch) ซึ่งมีปริมาณแอมิโลสเท่ากับ 20 ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ (Singh *et al.*, 2003) สำหรับสตาร์ช WAS พบว่ามีปริมาณแอมิโลสเท่ากับ 11.55 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีปริมาณแอมิโลสอยู่ในช่วงเดียวกับธัญชาติประเภทแวกซี (waxy cereal starch) ปริมาณแอมิโลสต่ำกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ (Singh *et al.*, 2003) นอกจากนั้นงานวิจัยของเขาวัดกษณ์ (2527) และทัศนีย์ (2530) พบว่า ปริมาณแอมิโลสของสตาร์ชลูกเดือยมีค่าเท่ากับ 8.03 และ 10.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ WAS แต่มีค่าต่ำกว่า BAS จากปริมาณแอมิโลสที่วิเคราะห์ได้จากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ สอดคล้องกับรายงานของกรมวิชาการเกษตร (2548) ที่กล่าวว่าลูกเดือยเชิงการค้าในประเทศไทยที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ ลูกเดือยข้าวเจ้าและลูกเดือยข้าวเหนียว

นอกจากนั้นเมื่อพิจารณาอัตราส่วนของแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน พบว่า BAS มีอัตราส่วนของแอมิโลเพกทินที่ต่ำกว่า WAS ซึ่งโดยทั่วไปแล้วโมเลกุลของแอมิโลเพกทินมีบทบาทต่อการจัดเรียงตัวของโครงสร้างผลึกภายในเมล็ดสตาร์ช (Tester *et al.*, 2004) จากสมบัติดังกล่าว สอดคล้องกับระดับความเป็นผลึกของ WAS ที่สูงกว่า BAS โดย WAS และ BAS มีร้อยละความเป็นผลึกเท่ากับ 26.75 และ 22.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

### 3.3 การตรวจสอบชนิดของโปรตีนคอยซินและโปรตีนในสตาร์ชลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์

ในการตรวจสอบชนิดของโปรตีนคอยซินและโปรตีนในสตาร์ช จากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ โดยใช้เทคนิคการตรวจสอบชนิดของโปรตีน โดยการแยกโปรตีนตามความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลด้วยกระแสไฟฟ้า (Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis; SDS-PAGE) โดยเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลโดยประมาณของโปรตีนคอยซินและโปรตีนในสตาร์ช กับน้ำหนักโมเลกุลโปรตีนมาตรฐานชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 6.5 ถึง 22 กิโลดาลตัน จากผลการตรวจสอบชนิดของโปรตีนคอยซินจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ ดังภาพที่ 20 พบว่า BAP (เลนที่ 1) และ WAP (เลนที่ 2) มีรูปแบบชนิดของโปรตีนที่คล้ายกัน โดย BAP และ WAP จะปรากฏแถบของโปรตีนในช่วงน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 22 ถึง 23 กิโลดาลตัน รองลงมา คือ โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 16 ถึง 19 กิโลดาลตัน และน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 27 ถึง 28 กิโลดาลตัน ซึ่งโปรตีนดังกล่าวจัดเป็นโปรตีนประเภท แอลฟา ( $\alpha$ ) บีตา ( $\beta$ ) และแกมมา ( $\gamma$ ) คอยซิน ตามลำดับ โดยโปรตีนชนิดแอลฟา ( $\alpha$ )-คอยซิน จัดเป็นโปรตีนหลักที่พบในโปรตีนคอยซิน และตำแหน่งของโปรตีนดังกล่าวจะอยู่ส่วนกลางของเมล็ดโปรตีนบอดี สำหรับบีตา

( $\beta$ ) และแกมมา ( $\gamma$ ) คอยซิน จะพบบริเวณส่วนนอกของเม็ดโปรตีนบอดี (Hamaker *et al.*, 1995) ดังภาพที่ 4 (Shewry and Halford, 2002) เมื่อเติมสารบิตาเมอร์แคปโตเอทานอล ( $\beta$ -mercaptoethanol; ME) ซึ่งมีคุณสมบัติในการรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ในตัวอย่าง BAP และ WAP (เลนที่ 3 และ 4) จะเห็นแถบโปรตีนที่อยู่ในช่วง 27 ถึง 28, 16 ถึง 19 กิโลดาลตันและช่วงน้ำหนักโมเลกุลที่มีขนาดเล็กมีแถบโปรตีนที่เข้มขึ้นเมื่อเทียบกับโปรตีนคอยซินที่ไม่มีการเติมสารบิตาเมอร์แคปโตเอทานอล แสดงว่าโปรตีนคอยซินมีการจัดเรียงโครงสร้างโมเลกุลด้วยพันธะไดซัลไฟด์



ภาพที่ 20 ชนิดของโปรตีนคอยซินและโปรตีนในสตาร์ชจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์

หมายเหตุ Low range marker (ตัวเลขด้านซ้าย หมายถึงน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมีหน่วยเป็น กิโลดาลตัน), 1 (BAP), 2 (WAP), 3 (BAP+ME), 4 (WAP+ME), 5 (BAS), 6 (WAS), 7 (BAS+ME) และ 8 (WAS+ME)

เมื่อตรวจสอบชนิดโปรตีนในสตาร์ชลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า แถบโปรตีนของตัวอย่าง BAS (เลนที่ 5) และ WAS (เลนที่ 6) มีแถบโปรตีนที่ค่อนข้างจาง เมื่อเติมสารบิตาเมอร์แคปโตเอทานอลลงใน BAS (เลนที่ 7) และ WAS (เลนที่ 8) จะเห็นแถบโปรตีนในช่วงน้ำหนักโมเลกุล 16 ถึง 28 กิโลดาลตัน มีสีเข้มขึ้น ซึ่งโปรตีนดังกล่าวมีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกับรูปแบบที่ปรากฏในโปรตีนคอยซิน ซึ่งเป็นโปรตีนสะสมในลูกเดือย นั้นแสดงว่าสารบิตาเมอร์แคปโตเอทานอลสามารถรีดิวซ์โปรตีนในสตาร์ชออกมาได้ ซึ่งช่วงน้ำหนักโมเลกุลดังกล่าวจัดว่าเป็นโปรตีนสะสมที่พบในลูกเดือย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Baldwin (2001) ที่ตรวจสอบชนิดของโปรตีนในสตาร์ช โดยโปรตีนอาจปรากฏอยู่บนพื้นผิวของเม็ดสตาร์ชหรือภายในโครงสร้างเม็ดสตาร์ช โดยโปรตีนที่พบบริเวณพื้นผิวของเม็ดสตาร์ชมักเป็นโปรตีนสะสมที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 15 ถึง 30 กิโลดาลตัน และโปรตีนที่พบในเม็ดสตาร์ชจะมีน้ำหนักโมเลกุลช่วง 50 ถึง 150 กิโลดาลตัน

นอกจากนั้น ในตัวอย่าง BAS ที่มีการเติมสารปีตามอร์แคปโตเอทานอล (เลขที่ 7) ยังปรากฏแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 60 กิโลดาลตัน ซึ่งน้ำหนักโมเลกุลดังกล่าวพบน้อยมากในตัวอย่าง WAS โดยน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนดังกล่าวสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Goldner and Boyer (1989) และ Hamaker *et al.* (1991) ที่พบว่าโปรตีนในสตาร์ชมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 60 กิโลดาลตัน

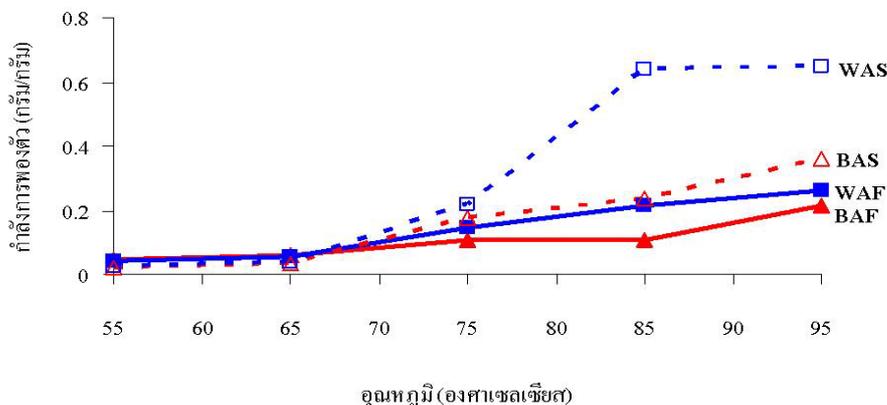
#### 4. สมบัติด้านเคมีเชิงฟิสิกส์ของแป้งและสตาร์ชจากลูกเดือยสองสายพันธุ์

##### 4.1 กำลังการพองตัวและร้อยละการละลายของแป้งและสตาร์ช

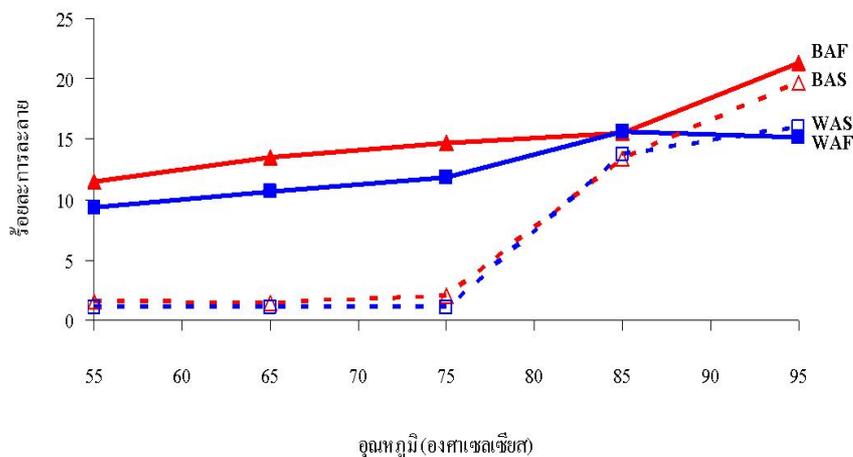
เมื่อพิจารณากำลังการพองตัวและร้อยละการละลายของแป้งและสตาร์ช ดังภาพที่ 21-22 พบว่า เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นแป้งและสตาร์ชจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์มีค่ากำลังการพองตัวที่สูงขึ้น (ภาพที่ 21) เนื่องจากโมเลกุลของพอลิแซคคาไรด์ภายในเม็ดสตาร์ชเริ่มสั่นสะเทือนและพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโซ่พอลิแซคคาไรด์เริ่มแตกออกกลายเป็นหมู่ไฮดรอกซิลอิสระและเกิดการเชื่อมต่อกับโมเลกุลของน้ำด้วยพันธะไฮโดรเจน มีผลให้โครงสร้างพอลิแซคคาไรด์สามารถเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระ ส่งผลให้เม็ดสตาร์ชเกิดการดูดน้ำและการพองตัวเพิ่มมากขึ้น โดยกลไกดังกล่าวจะเกิดขึ้นได้ง่ายในส่วนที่เป็นอสัณฐาน (amorphous) ภายในโครงสร้างโมเลกุลของแอมิโลเพกทิน (Whistler and BeMiller, 1999; Aguilera and Stanley, 1999) ทำให้ค่ากำลังการพองตัวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่เดียวกัน โมเลกุลแอมิโลสซึ่งเป็นโมเลกุลอิสระที่กระจายตัวในส่วนอสัณฐาน (amorphous) และผลึก (crystalline) เริ่มหลุดออกจากเม็ดสตาร์ช ทำให้ค่าร้อยละการละลายมีค่าที่สูงขึ้น (Oates, 1997; Aguilera and Stanley, 1999) ดังภาพที่ 22

เมื่อเปรียบเทียบกำลังการพองตัวของสตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว (WAS) และลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ (BAS) พบว่า WAS มีกำลังการพองตัวที่สูงกว่า BAS ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจาก WAS มีอัตราส่วนของแอมิโลเพกทินสูงกว่า BAS ทำให้กำลังการพองตัวของ WAS สูงกว่า BAS นอกจากนี้สตาร์ช BAS ยังมีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีนและไขมัน ในปริมาณที่สูงกว่า WAS ซึ่งองค์ประกอบดังกล่าวชะลอการดูดน้ำและการพองตัวของเม็ดสตาร์ช (Debet and Gidley, 2006) เมื่อพิจารณากำลังการพองตัวของแป้ง พบว่า แป้งมีกำลังการพองตัวที่ต่ำกว่าสตาร์ช เนื่องจากลักษณะด้านสัณฐานวิทยาของแป้งที่ประกอบไปด้วยส่วนของโปรตีนบอดีและโปรตีนโครงข่ายที่อยู่ล้อมรอบเม็ดสตาร์ช ทำให้น้ำเข้าทำอันตรกิริยากับโครงสร้างภายในเม็ดสตาร์ชได้ยากขึ้น ในขณะเดียวกันเมื่อพิจารณาค่าร้อยละการละลาย พบว่า แป้งมีค่าร้อยละการละลายสูงกว่า

สตาร์ช แม้ในช่วงอุณหภูมิของระบบที่ต่ำ อาจเป็นผลเนื่องมาจากการละลายขององค์ประกอบอื่นที่สามารถละลายน้ำได้



ภาพที่ 21 กำลังการพองตัวของแป้งและสตาร์ชจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์



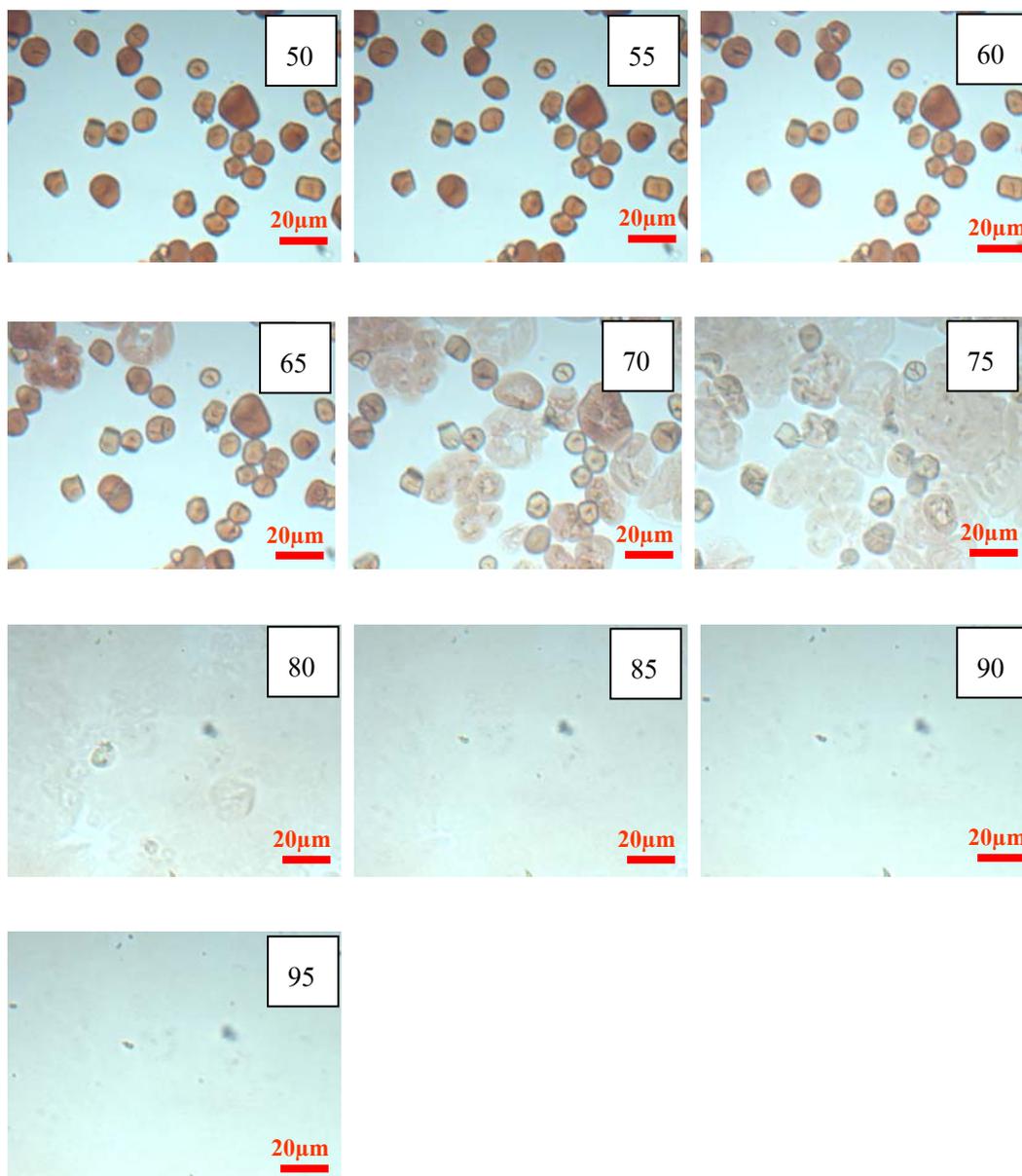
ภาพที่ 22 ร้อยละการละลายของแป้งและสตาร์ชจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์

#### 4.2 การเปลี่ยนแปลงลักษณะด้านสัณฐานวิทยาของเม็ดสตาร์ชจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ เมื่อมีการให้ความร้อน

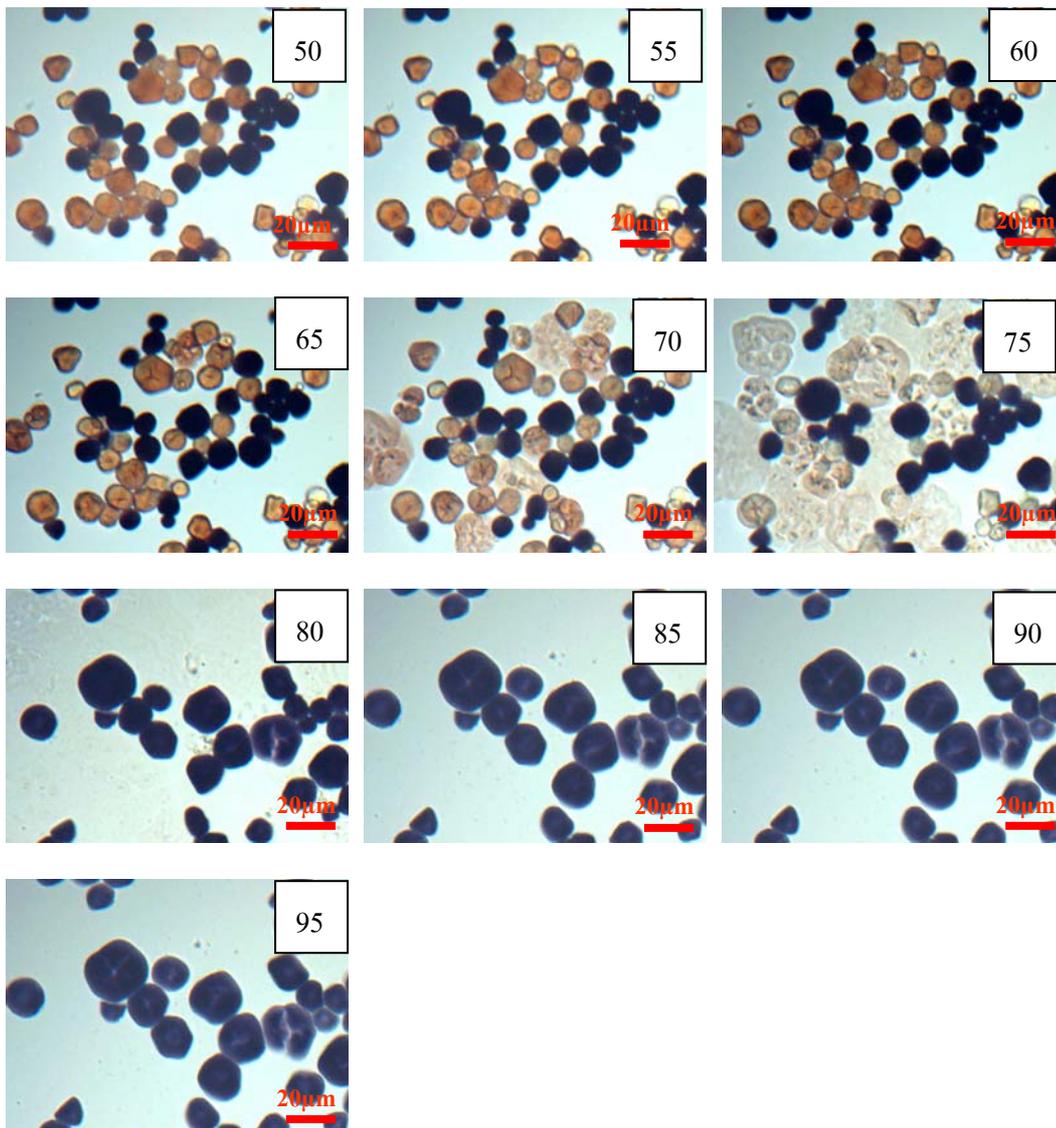
การเปลี่ยนแปลงลักษณะด้านสัณฐานวิทยาของเม็ดสตาร์ช โดยติดตามการพองตัวของสตาร์ชลูกเดือยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงส่องผ่าน เมื่อมีการให้ความร้อนด้วยแทนให้ความร้อนที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ จากภาพที่ 23-24 พบว่า สตาร์ช WAS เมื่อต้มด้วยสารละลาย

ลูกอลไอโอดีน จะติดสีน้ำตาลอมแดง ในขณะที่สตาร์ช BAS เม็ดสตาร์ชจะข้อมติดสองสี คือ สีน้ำตาลอมแดงและสีน้ำเงิน ทั้งนี้การติดสีของสตาร์ชที่ต่างกันเป็นผลมาจาก การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลของไอโอดีนกับโมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน โดยกลไกการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลแอมิโลเพกทินกับโมเลกุลของไอโอดีนจะได้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาลอมแดง ขณะที่การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลแอมิโลสกับโมเลกุลของไอโอดีนจะได้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน โดยสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลของไอโอดีนกับโมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน เกิดจากโมเลกุลของแอมิโลสจะเกิดการพันเกลียวและหันส่วนที่เป็นไฮโดรโฟบิกเข้าด้านใน โดยโมเลกุลของไอโอดีนในส่วนที่มีความเป็นไฮโดรโฟบิก จะแทรกอยู่ตรงกลางของเกลียวแอมิโลส เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอมิโลสกับไอโอดีนที่ให้สีน้ำเงิน สำหรับกลไกการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลแอมิโลเพกทินกับโมเลกุลของไอโอดีนจะเกิดขึ้นเช่นเดียวกับโมเลกุลของแอมิโลส แต่แตกต่างกันที่โมเลกุลแอมิโลเพกทินจะมีลักษณะสายพอลิแซคคาไรด์ที่สั้นกว่าโมเลกุลของแอมิโลส เมื่อทำปฏิกิริยากับไอโอดีนจะให้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีน้ำตาลอมแดง

จากลักษณะสัมฐานวิทยาของสตาร์ช WAS ที่ติดสีน้ำตาลอมแดงแสดงให้เห็นว่า WAS มีอัตราส่วนของแอมิโลเพกทินในปริมาณที่สูงซึ่งสอดคล้องกับปริมาณแอมิโลสที่วิเคราะห์ได้ คือ 11.55 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สตาร์ช BAS ข้อมติดสองสี คือ น้ำตาลอมแดงและสีน้ำเงิน แสดงให้เห็นว่าลักษณะของเม็ดสตาร์ชประกอบไปด้วยเม็ดสตาร์ชชนิดที่มีอัตราส่วนของแอมิโลเพกทินที่สูงและชนิดที่มีแอมิโลสสูง ซึ่งลักษณะดังกล่าวสอดคล้องกับปริมาณแอมิโลสของ BAS ที่วิเคราะห์ได้ คือ 29.22 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 23 การเปลี่ยนแปลงลักษณะด้านสัณฐานวิทยาของเม็ดสตาเรช เมื่อให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ ของสตาเรชจากลูกเต๋ยพันธุ์เมลิคขาว  
 หมายเหตุ ตัวเลขที่แสดงในภาพ คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 24 การเปลี่ยนแปลงลักษณะด้านสัณฐานวิทยาของเม็ดสตาร์ช เมื่อให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ ของสตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ  
 หมายเหตุ ตัวเลขที่แสดงในภาพ คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)

เมื่อมีการเพิ่มอุณหภูมิจนถึงระบบ พบว่า เม็ดสตาร์ช WAS จะเกิดการพองตัวและแตกออกอย่างสมบูรณ์ ณ อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ซึ่งลักษณะการพองตัวและแตกออกของเม็ดสตาร์ช มีลักษณะที่คล้ายกับเม็ดสตาร์ชที่ข้อมติคน้ำตาลอมแดงของ BAS แต่พบว่าสตาร์ช BAS ต้องการอุณหภูมิจนในการพองตัวที่สูงกว่า อาจเป็นผลเนื่องมาจากสตาร์ช BAS มีปริมาณไขมันและ

โปรตีนที่สูง ซึ่งองค์ประกอบดังกล่าวจะชะลอและยับยั้งการพองตัวของเม็ดสตาร์ช (Debet and Gidley, 2006) สำหรับเม็ดสตาร์ช BAS ที่ยอมติดสีน้ำเงิน พบว่า เม็ดสตาร์ชดังกล่าวจะเริ่มเกิดการพองตัวเมื่ออุณหภูมิของระบบเท่ากับ 80 องศาเซลเซียส และเกิดการพองตัวอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส โดยเม็ดสตาร์ชดังกล่าวยังคงรูปร่างของเม็ดสตาร์ชเช่นเดิม ซึ่งลักษณะดังกล่าวอาจเป็นผลเนื่องมาจากองค์ประกอบของโปรตีนและไขมันบนเม็ดสตาร์ช ร่วมกับการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอมิโลสกับไอโอดีน ส่งผลให้เม็ดสตาร์ชมีความแข็งแรงมากขึ้น (Debet and Gidley, 2006; Patel *et al.*, 2006)

#### 4.3 การเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านความหนืด

การศึกษาสมบัติด้านความหนืดด้วยเครื่องวัดการเปลี่ยนแปลงความหนืดแบบรวดเร็ว (Rapid viscosity analyzer: RVA) เป็นวิธีการที่มีความสะดวกรวดเร็ว สามารถควบคุมอุณหภูมิและอัตราเร็วในการให้แรงเฉือนกับตัวอย่าง นอกจากนั้นยังเป็นวิธีการที่ใช้ตัวอย่างน้อย เมื่อเทียบกับการวัดสมบัติด้านความหนืดด้วยวิธีอื่นๆ ซึ่งลักษณะด้านความหนืดที่วัดได้สามารถบ่งบอกถึงสมบัติด้านความหนืดของแป้งและสตาร์ชเมื่อผ่านกระบวนการแปรรูป การวิเคราะห์สมบัติด้านความหนืดด้วยเครื่อง RVA จะทำการศึกษาสมบัติด้านความหนืดของตัวอย่างในสภาวะที่มีปริมาณน้ำมากเกินไปผ่านกระบวนการให้ความร้อนและกระบวนการลดอุณหภูมิ โดยมีการกวนตัวอย่างตลอดช่วงของการทดลอง ซึ่งสามารถแบ่งการให้ความร้อนกับตัวอย่างออกเป็น 3 ช่วง คือ ช่วงให้ความร้อนกับตัวอย่างจาก 50-95 องศาเซลเซียส ช่วงคงอุณหภูมิไว้ที่ 95 องศาเซลเซียส และช่วงการลดอุณหภูมิตัวอย่างลงจาก 95-50 องศาเซลเซียส โดยการวิเคราะห์สมบัติด้านความหนืดจะถูกแสดงผลออกมาเป็นกราฟและค่าที่เกี่ยวข้องกับสมบัติด้านความหนืด ได้แก่ อุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงความหนืด (Pasting temperature: PT) ความหนืดสูงสุด (Peak viscosity: PV) ความหนืดต่ำสุด (Trough) ความแตกต่างของความหนืดต่ำสุดและความหนืดสูงสุดหรือค่าเบรกดาวน์ (Breakdown: BD) ความหนืดสุดท้าย (Final viscosity: FV) และผลต่างของความหนืดสุดท้ายกับความหนืดต่ำสุดหรือค่าเซตแบค (Setback from trough)

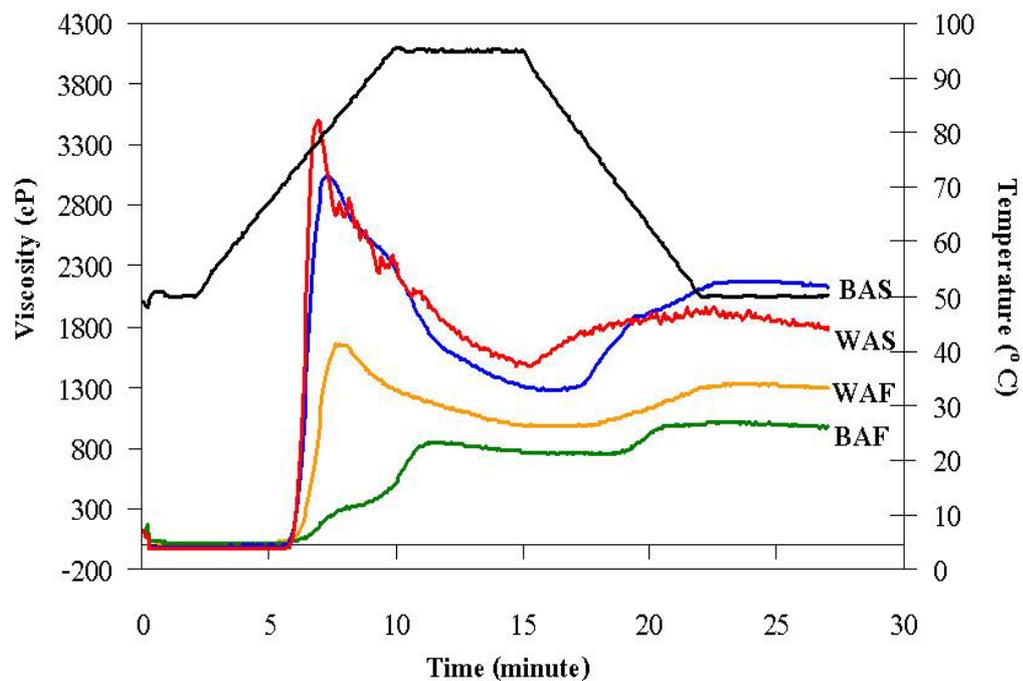
เมื่อพิจารณาสมบัติด้านความหนืดระหว่างสตาร์ชทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า สตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว (WAS) มีอุณหภูมิในการเปลี่ยนแปลงความหนืดไม่แตกต่างกับสตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ (BAS) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) โดย WAS และ BAS มีอุณหภูมิในการเปลี่ยนแปลงความหนืดเท่ากับ 71.80 และ 71.48 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (ภาพที่ 25 และตารางที่ 7) ซึ่งอุณหภูมิดังกล่าวเป็นอุณหภูมิที่ทำให้เม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัว โดยการพองตัวดังกล่าวเกิด

จากโมเลกุลภายในเม็ดสตาร์ชเริ่มเกิดการสั่นสะเทือน พันธะไฮโดรเจนระหว่างสายโซ่ที่เกิดการพันเกลียวกันเป็นโครงสร้างผลึกเริ่มแตกออก กลายเป็นหมู่ไฮดรอกซิลอิสระ ซึ่งจะเกิดการเชื่อมต่อกับโมเลกุลของน้ำด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้โครงสร้างพอลิแซคคาไรด์ถูกห่อหุ้มไปด้วยโมเลกุลของน้ำ ส่งผลให้โครงสร้างดังกล่าวเกิดการเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระ ทำให้การพองตัวของเม็ดสตาร์ชเพิ่มขึ้น โดยกลไกดังกล่าวจะเกิดขึ้นได้ง่ายในส่วนเป็นอสัณฐาน (amorphous) ภายในโครงสร้างโมเลกุลของ แอมิโลเพกทิน (Whistler and BeMiller, 1999) เมื่อพิจารณาค่าความหนืดสูงสุด พบว่า WAS (3537.50 cP) มีค่าความหนืดสูงสุดสูงกว่า BAS (3053.50 cP) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) อาจเป็นผลเนื่องมาจาก WAS มีอัตราส่วนของแอมิโลเพกทินที่สูง ทำให้เม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัวและเกิดความหนืดสูงสุดได้มากกว่า BAS นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบทางเคมีของสตาร์ชร่วมด้วย จะพบว่า สตาร์ช BAS มีปริมาณโปรตีนและไขมันที่สูง โดยส่วนของไขมันอาจจะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับแอมิโลส ซึ่งองค์ประกอบดังกล่าวจะชะลอและยับยั้งการดูดน้ำของเม็ดสตาร์ช (Debet and Gidley, 2006; Han and Hamaker, 2002a; Hamaker and Griffin, 1990, 1993) ทำให้สตาร์ช BAS เกิดการพองตัวได้อย่างจำกัด ทำให้ค่าความหนืดสูงสุดของ BAS มีค่าต่ำกว่า WAS

ในกระบวนการพองตัวของเม็ดสตาร์ชอาจเกิดการหลุดออกของโมเลกุลแอมิโลสที่อิสระ เมื่อให้ความร้อนและแรงเนียนกับเม็ดสตาร์ชที่เกิดการพองตัว จะทำให้โครงสร้างของเม็ดสตาร์ชเกิดการแตกและมีองค์ประกอบภายในเม็ดสตาร์ชหลุดออกมา เช่น โมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน ทำให้ความหนืดของระบบลดลง จากการทดลองพบว่า ค่าความหนืดต่ำสุดของ WAS จะมีค่าสูงกว่า BAS โดยค่าความหนืดต่ำสุดสัมพันธ์กับค่าความแตกต่างระหว่างความหนืดสูงสุดและความหนืดต่ำสุดหรือค่าเบรกดาวน์ (breakdown: BD) โดยพบว่า WAS จะมีค่าเบรกดาวน์เท่ากับ 2073.50 cP ซึ่งสูงกว่า BAS (1776.00 cP) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แสดงว่าสตาร์ช BAS มีความแข็งแรงและทนต่อแรงเนียนได้มากกว่า WAS โดยความแข็งแรงดังกล่าว อาจเป็นผลมาจากองค์ประกอบของไขมันและโปรตีนในสตาร์ช ซึ่งพบว่า BAS มีปริมาณโปรตีนและไขมันสูงกว่า WAS โดยที่ BAS มีปริมาณโปรตีนและไขมันเท่ากับ 0.52 และ 0.16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วน WAS มีปริมาณโปรตีนและไขมันเท่ากับ 0.25 และ 0.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5 ซึ่งโปรตีนดังกล่าวอาจจะชะลอและยับยั้งการดูดน้ำของเม็ดสตาร์ช (Han and Hamaker, 2002a; Debet and Gidley, 2006)

เมื่อลดอุณหภูมิของระบบลง ความหนืดจะมีแนวโน้มสูงขึ้น โดยพบว่าสตาร์ช BAS มีความหนืดสุดท้ายสูงกว่า WAS อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) อาจเป็นผลเนื่องมาจากปริมาณแอมิโลสใน BAS (29.22 เปอร์เซ็นต์) ที่สูงกว่า WAS (11.55 เปอร์เซ็นต์) ส่งผลให้โมเลกุลของแอมิโลสใน

BAS เกิดการจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างสามมิติ โดยมีโมเลกุลของเอมิโลเพกทินกระจายตัวอยู่ภายในโครงสร้างสามมิติ ซึ่งกระบวนการในการจัดเรียงตัวใหม่เป็นโครงสร้างสามมิติ มักเรียกว่า กระบวนการรีโทรเกรเดชัน (retrogradation) (กล้านรงค์และเกื้อกุล, 2546; Whistler and BeMiller, 1999) นอกจากนั้นค่าความหนืดสุดท้ายยังมีความสัมพันธ์กับค่าการคืนตัวของตัวอย่าง (setback) ซึ่งค่าการคืนตัวของตัวอย่างเป็นค่าบอกลถึงอัตราในการเกิดรีโทรเกรเดชันของตัวอย่างได้



ภาพที่ 25 กราฟการเปลี่ยนแปลงความหนืดจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็วของแป้งและสตาร์ชลูกเดี๋ย

หมายเหตุ WA: White Adlay (ลูกเดี๋ยพันธุ์เมล็ดขาว)

BA: Black Adlay (ลูกเดี๋ยพันธุ์เมล็ดดำ)

S: Starch (สตาร์ช)

F: Flour (แป้งธรรมชาติ)

เมื่อเปรียบเทียบสมบัติด้านความหนืดระหว่างแป้งและสตาร์ชจากลูกเดี๋ยทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า ความหนืดสูงสุด ความหนืดต่ำสุด ค่าเบรกคาวน์ ความหนืดสุดท้าย และค่าเซตแบคของแป้งมีค่าต่ำกว่าสตาร์ชอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แต่แป้งลูกเดี๋ยมีคุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงความหนืดสูงกว่าสตาร์ชลูกเดี๋ยอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตารางที่ 7 อาจเป็นผลเนื่องมาจากในตัวอย่างแป้งมีการเกาะเกี่ยวกันระหว่างสตาร์ชและโปรตีนบอดีภายในโครงข่ายโปรตีน (Kulp and

Ponte, 2000) ทำให้น้ำและความร้อนเข้าทำปฏิกิริยาเพื่อสลายโครงสร้างผลึกภายในเม็ดสตาร์ชได้ยากขึ้น ดังนั้นในตัวอย่างแป้งจึงต้องใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นในการเปลี่ยนแปลงความหนืด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Almeida – Dominguez *et al.* (1997) ที่พบว่า ตัวอย่างแป้งข้าวโพดที่มีอนุภาคขนาดใหญ่และมีการอัดแน่นระหว่างเม็ดสตาร์ชและโปรตีนบอดี จะต้องการพลังงานความร้อน เวลาในการดูดซึมน้ำและการพองตัวของเม็ดสตาร์ชสูงขึ้น เพื่อทำให้เกิดกระบวนการเจลลิตาในซ์เซชัน

จากภาพที่ 25 เมื่อพิจารณาลักษณะกราฟด้านความหนืดระหว่างแป้งลูกเด็ยพันธุ์เมล็ดขาว (WAF) และพันธุ์เมล็ดดำ (BAF) พบว่า WAF มีพีคความหนืดเกิดขึ้นหนึ่งพีค ในขณะที่ BAF มีพีคความหนืดเกิดขึ้น 2 พีค โดย WAF มีค่าความหนืดสูงกว่า BAF ตลอดช่วงการวิเคราะห์ และเมื่อพิจารณาดำแหน่งในการเกิดความหนืดสูงสุดของ WAF พบว่า พีคดังกล่าวใกล้เคียงกับพีคการเปลี่ยนแปลงความหนืดตำแหน่งที่หนึ่งของลูกเด็ยเมล็ดดำ BAF และพบว่าความหนืดสูงสุด (พีคตำแหน่งที่ 2) ของ BAF ปรากฏอีกครั้งในช่วงคงอุณหภูมิไว้ที่ 95 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 25 ซึ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดของ BAF สอดคล้องกับลักษณะการพองตัวของสตาร์ช BAS ที่เกิดการพองตัว 2 ชั้น จากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงด้านสัณฐานวิทยาของสตาร์ชภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ภาพที่ 24) โดยชั้นที่ 1 เป็นการพองตัวของเม็ดสตาร์ชที่ติดสีน้ำตาลอมแดง ซึ่งคาดว่าเป็นสตาร์ชที่มีอัตราส่วนแอมิโลเพกทินสูง โดยการพองตัวในชั้นนี้จะเกิดขึ้นในสตาร์ชทั้งสองสายพันธุ์ สำหรับการพองตัวในชั้นที่สอง จะเป็นการพองตัวของเม็ดสตาร์ชที่ติดสีน้ำตาล ซึ่งคาดว่าสตาร์ชดังกล่าวจะมีอัตราส่วนของแอมิโลสที่สูง ด้วยองค์ประกอบของสตาร์ชที่มีแอมิโลสสูง มีความเป็นไปได้ที่สตาร์ชดังกล่าวจะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอมิโลสและไขมัน นอกจากนี้อาจจะมีส่วนของโปรตีนที่หลงเหลืออยู่ในเม็ดสตาร์ช ทำให้สตาร์ชดังกล่าวมีความสามารถในการดูดน้ำและพองตัวได้อย่างจำกัด และยังมีความทนทานต่อกระบวนการให้ความร้อน (Debet and Gidley, 2006; Han and Hamaker, 2002b; Hamaker and Griffin, 1990,1993) ดังนั้นสตาร์ชที่เกิดการพองตัวในชั้นที่สองจึงเริ่มเกิดการพองตัวที่อุณหภูมิสูงขึ้น (อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส)

ตารางที่ 7 สมบัติการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดของแป้งและสตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวและพันธุ์เมล็ดดำ

Treatment	Pasting	Viscosity (cP)				
	Temperature ( <sup>o</sup> C)	Peak Viscosity	Trough	Breakdown	Final Viscosity	Setback
WAF	72.93 <sup>b</sup> ±1.03	1655.50 <sup>c</sup> ±19.09	956.00 <sup>c</sup> ±2.83	699.50 <sup>c</sup> ±21.92	1293.50 <sup>c</sup> ±16.26	337.50 <sup>b</sup> ±19.10
BAF	75.45 <sup>a</sup> ±0.28	848.50 <sup>d</sup> ±17.68	743.00 <sup>d</sup> ±18.38	105.50 <sup>d</sup> ±0.71	972.00 <sup>d</sup> ±18.38	229.00 <sup>b</sup> ±0.00
WAS	71.80 <sup>b</sup> ±0.00	3537.50 <sup>a</sup> ±50.20	1464.00 <sup>a</sup> ±87.68	2073.50 <sup>a</sup> ±37.48	1780.00 <sup>b</sup> ±8.49	316.00 <sup>b</sup> ±79.20
BAS	71.48 <sup>b</sup> ±0.04	3053.50 <sup>b</sup> ±9.19	1277.50 <sup>b</sup> ±21.92	1776.00 <sup>b</sup> ±12.73	2131.00 <sup>a</sup> ±5.66	853.50 <sup>a</sup> ±16.26

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน  
 ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

นอกจากนี้ในระบบของ BAF แม้มีการให้แรงเชื่อมกับตัวอย่าง การลดลงของความหนืด จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย แสดงว่าตัวอย่าง BAF ค่อนข้างมีความทนทานต่อแรงเชื่อม เมื่อพิจารณาค่าการคืนตัวของตัวอย่าง (ค่าเซตแบค) พบว่า แป้งลูกเดี๋ยมีค่าเซตแบคต่ำกว่าสตาร์ช ลูกเดี๋ย อาจเป็นผลเนื่องมาจากในแป้งลูกเดี๋ยประกอบด้วยองค์ประกอบอื่น เช่น โปรตีน เมื่อพิจารณาลักษณะสัณฐานวิทยาของแป้งลูกเดี๋ยภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (ภาพที่ 17) เม็ดสตาร์ชจะมีการเกาะเกี่ยวกันกับเม็ด โปรตีนบอดี ซึ่งลักษณะดังกล่าวทำให้แป้งต้องการเวลาและความร้อน ในการทำให้เม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัวและหลุดออกของโมเลกุลเอมิโลสในแป้งหลุดออก (amylose leaching) ได้ช้า ทำให้การเกิดโครงข่ายสามมิติของโมเลกุลเอมิโลสเกิดได้ช้ากว่า สตาร์ช

#### 4.4 การเกิดเจลลิตีในเซชันและการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งและสตาร์ชลูกเดี๋ยทั้งสองสายพันธุ์

##### 4.4.1 การเกิดเจลลิตีในเซชัน

เมื่อเปรียบเทียบอุณหภูมิในการเกิดเจลลิตีในเซชันของแป้งและสตาร์ชลูกเดี๋ย ทั้งสองสายพันธุ์ โดยใช้เครื่องดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริมิเตอร์ (Differential Scanning Calorimeter; DSC) ที่มีหลักการในการใช้พลังงานในการสลายพันธะภายใน โมเลกุลและวัดการเปลี่ยนแปลง โดยพิจารณาจากอุณหภูมิ ได้แก่ อุณหภูมิเริ่มต้นในการเกิดเจลลิตีในเซชัน (onset temperature;  $T_o$ ) อุณหภูมิสูงสุดในการเกิดเจลลิตีในเซชัน (peak temperature;  $T_p$ ) อุณหภูมิสุดท้ายในการเกิดเจลลิตีในเซชัน (conclusion temperature;  $T_c$ ) และค่าพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลลิตีในเซชัน (gelatinization enthalpy;  $\Delta H_{gel}$  (J/g)) โดยค่า  $T_o$ - $T_p$ - $T_c$  สามารถบอกถึงช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลลิตีในเซชันได้

จากการทดลอง พบว่า ลูกเดี๋ยพันธุ์เมล็ดขาว (แป้งและสตาร์ช) มีค่า  $T_o$  และ  $T_c$  สูงกว่าลูกเดี๋ยพันธุ์เมล็ดดำ เมื่อพิจารณาค่า  $\Delta H_{gel}$  พบว่า ลูกเดี๋ยพันธุ์เมล็ดขาว (แป้งและสตาร์ช) ให้ค่าที่สูงกว่าลูกเดี๋ยพันธุ์เมล็ดดำเช่นกัน อาจเป็นผลเนื่องมาจากในแป้งและสตาร์ชของลูกเดี๋ยพันธุ์เมล็ดขาวมีความเป็นผลึกที่สูงกว่าลูกเดี๋ยพันธุ์เมล็ดดำ (ตารางที่ 4) ดังนั้นลูกเดี๋ยพันธุ์เมล็ดขาวจึงต้องการอุณหภูมิและพลังงานในการเกิดเจลลิตีในเซชันที่สูงกว่าลูกเดี๋ยพันธุ์เมล็ดดำ สำหรับ ค่า  $T_c$  พบว่า ลูกเดี๋ยทั้งสองสายพันธุ์ให้ค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p>0.05$ ) ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 To Tp Tc และ  $\Delta H_{gel}$  ในการเกิดเจลที่ในเซชันของแป้งและสตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ดขาว

ตัวอย่าง	To (° C)	Tp (° C)	Tc (° C)	$\Delta H_{gel}$ (J/g)
BAF	67.76 <sup>b</sup> ±0.26	74.96 <sup>b</sup> ±0.01	80.70 <sup>ns</sup> ±0.39	6.08 <sup>c</sup> ±0.92
WAF	68.81 <sup>a</sup> ±0.21	76.24 <sup>a</sup> ±0.34	82.86 <sup>ns</sup> ±0.33	8.93 <sup>b</sup> ±0.25
BAS	65.82 <sup>c</sup> ±0.00	71.75 <sup>d</sup> ±0.36	81.09 <sup>ns</sup> ±3.70	14.83 <sup>a</sup> ±0.10
WAS	68.85 <sup>a</sup> ±0.19	73.37 <sup>c</sup> ±0.18	80.38 <sup>ns</sup> ±0.33	16.41 <sup>a</sup> ±1.12

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ns (non significant): ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

#### 4.4.2 การเกิดรีโทรเกรเดชัน

ภายหลังการเกิดเจลที่ในเซชัน ตัวอย่างได้ถูกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง เพื่อศึกษาการเกิดรีโทรเกรเดชัน จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลอริมิเตอร์ (DSC) โดยวิเคราะห์อุณหภูมิเริ่มต้น (To) อุณหภูมิสูงสุด (Tp) อุณหภูมิสุดท้าย (Tc) และพลังงานในการสลายโครงสร้างผลึกที่เกิดจากกระบวนการรีโทรเกรเดชัน (retrogradation enthalpy;  $\Delta H_{ret}$  (J/g)) จากการทดลอง พบฟิคเอนโดเทอร์มเมื่อวิเคราะห์คุณสมบัติด้านความร้อนเฉพาะตัวอย่าง BAF BAS และ WAS เท่านั้น จากตารางที่ 9 พบว่าช่วงอุณหภูมิในการสลายโครงสร้างผลึกที่เกิดจากกระบวนการรีโทรเกรเดชันของแป้งและสตาร์ชลูกเดือย อยู่ในช่วงอุณหภูมิ 47 ถึง 72 องศาเซลเซียส

เมื่อพิจารณาค่าพลังงานในการสลายโครงสร้างผลึกที่เกิดจากกระบวนการรีโทรเกรเดชัน ( $\Delta H_{ret}$ ) เมื่อเก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง ดังตารางที่ 9 พบว่า สตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำต้องการพลังงานในการสลายโครงสร้างผลึกจากกระบวนการรีโทรเกรเดชันที่สูงกว่าสตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวและแป้งจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ ตามลำดับ และไม่พบฟิคเมื่อวิเคราะห์คุณสมบัติด้านความร้อนของแป้งลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจาก เมื่อเก็บตัวอย่างในระยะเวลาสั้น การเกิดรีโทรเกรเดชันมักเกิดจากการจัดเรียงตัวของแอมิโลส (Biliaderis and Zawistowski, 1990) โดยช่วงเวลาดังกล่าวไม่เพียงพอที่จะ

ทำให้โมเลกุลของแอมิโลเพกตินเคลื่อนที่เข้ามาใกล้กันเพื่อสร้างโครงสร้างผลึก ทำให้ตัวอย่างแป้ง ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวที่มีอัตราส่วนของแอมิโลสที่ต่ำกว่าแป้งลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ และนอกจากนั้นในตัวอย่างแป้งยังประกอบด้วยองค์ประกอบอื่นๆ เช่น โปรตีน ซึ่งองค์ประกอบดังกล่าวอาจทำให้แป้งลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวต้องการระยะเวลาในการจัดเรียงโครงสร้างผลึก ทำให้ไม่พบพิกเพื่อวิเคราะห์สมบัติด้านความร้อนในแป้งลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว (ดังตารางที่ 9)

**ตารางที่ 9** To Tp Tc และ  $\Delta H_{ret}$  ในการสลายโครงสร้างผลึกที่เกิดจากกระบวนการรีโทรเกรดชันของแป้งและสตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ดขาว ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  15 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	To ( $^{\circ}\text{C}$ ) <sup>ns</sup>	Tp ( $^{\circ}\text{C}$ ) <sup>ns</sup>	Tc ( $^{\circ}\text{C}$ )	$\Delta H_{ret}$ (J/g)
BAF	47.88 $\pm$ 2.07	53.10 $\pm$ 3.53	55.09 <sup>b</sup> $\pm$ 3.78	0.12 <sup>b</sup> $\pm$ 0.13
BAS	45.61 $\pm$ 4.20	55.40 $\pm$ 1.42	63.45 <sup>ab</sup> $\pm$ 1.95	2.28 <sup>a</sup> $\pm$ 0.85
WAS	48.90 $\pm$ 1.03	59.79 $\pm$ 5.60	72.08 <sup>a</sup> $\pm$ 6.77	0.98 <sup>b</sup> $\pm$ 0.10

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

ns (non significant): ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ )

ในการทดลองได้มีการเก็บรักษาตัวอย่างเป็นเวลา 21 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษากระบวนการเกิดรีโทรเกรดชัน พบว่า ค่าพลังงานในการสลายโครงสร้างผลึกที่เกิดจากกระบวนการรีโทรเกรดชันของ WAS สูงกว่า BAS ในขณะที่เดียวกัน WAS ต้องการพลังงานในการสลายโครงสร้างผลึกสูงกว่า BAF ส่วนอุณหภูมิเริ่มต้น (To), อุณหภูมิสูงสุด (Tp), และอุณหภูมิสุดท้าย (Tc) ในการสลายโครงสร้างผลึกจากการเกิดรีโทรเกรดชันระหว่างตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ดังตารางที่ 10

**ตารางที่ 10** To Tp Tc และ  $\Delta H_{ret}$  ในการสลายโครงสร้างผลึกที่เกิดจากกระบวนการรีโทรเกรเดชัน ในแป้งและสตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ดขาว ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  21 วัน

ตัวอย่าง	To ( $^{\circ}\text{C}$ ) <sup>ns</sup>	Tp ( $^{\circ}\text{C}$ ) <sup>ns</sup>	Tc ( $^{\circ}\text{C}$ ) <sup>ns</sup>	$\Delta H_{ret}$ (J/g)
BAF	43.85±3.14	50.48±3.31	60.45±6.32	3.50 <sup>c</sup> ±0.72
WAF	43.26±1.08	51.95±0.41	62.57±0.23	5.22 <sup>bc</sup> ±0.10
BAS	42.40±0.65	50.74±0.82	63.11±0.72	6.18 <sup>b</sup> ±1.16
WAS	43.39±0.14	51.74±0.36	62.95±0.87	8.88 <sup>a</sup> ±0.51

**หมายเหตุ** ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ( $p \leq 0.05$ )

ns (non significant): ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ( $p > 0.05$ )

จากการทดลอง เมื่อทำการเก็บตัวอย่างเป็นระยะเวลานานขึ้น พบว่า WAS และ WAF ซึ่งเป็นตัวอย่างที่มีอัตราส่วนของแอมิโลเพกทินที่สูง ต้องการพลังงานในการสลายโครงสร้างผลึกที่เกิดจากกระบวนการรีโทรเกรเดชันสูงกว่าตัวอย่างที่มีอัตราส่วนของแอมิโลเพกทินที่ต่ำ (BAS และ BAF) เนื่องจากระยะเวลาในการเกิดรีโทรเกรเดชันนานขึ้นทำให้โมเลกุลของแอมิโลเพกทิน ซึ่งมีโครงสร้างโมเลกุลใหญ่มีระยะเวลาที่จะเกิดการจัดเรียงตัวเป็นผลึกใหม่อีกครั้ง (Vodovotz and Chinachoti, 1998)

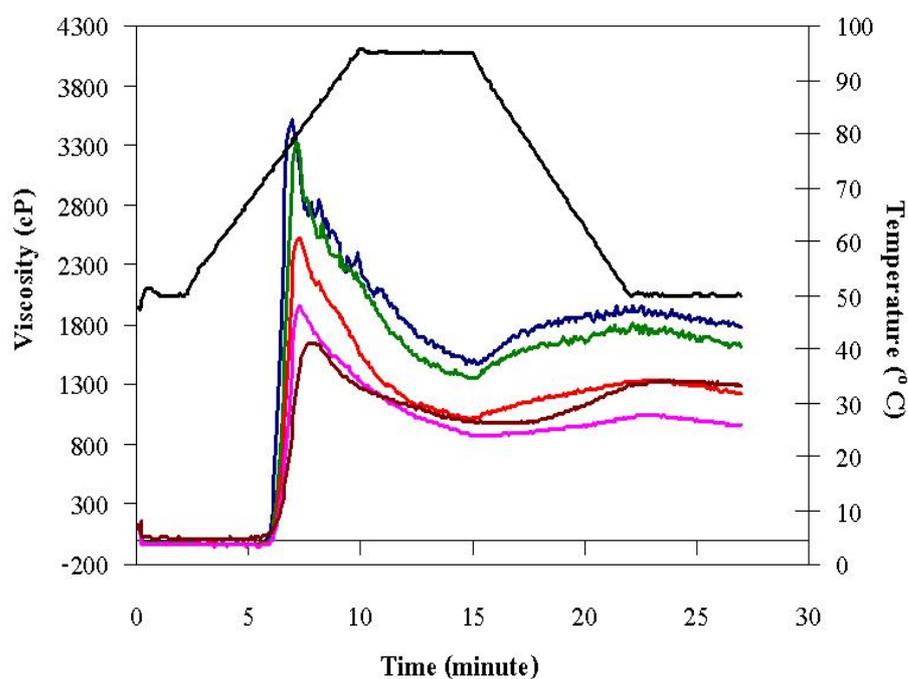
## 5. อิทธิพลของโปรตีนต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้งลูกเดือย

ในแป้งลูกเดือยมีองค์ประกอบทางเคมีหลัก คือ สตาร์ช โปรตีน และไขมัน ตามลำดับ จากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า ปริมาณ โปรตีนในแป้งมีผลต่อสมบัติทางความหนืด โดยพบว่าปริมาณโปรตีนในองค์ประกอบจะมีผลต่อการพองตัวของสตาร์ช (ดังที่เคยกล่าวมาแล้ว) ในงานวิจัยส่วนนี้ จึงได้ศึกษาอิทธิพลของโปรตีนต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้ง โดยในการทดลองได้มีการศึกษาอัตราส่วนของโปรตีนต่อสตาร์ช โดยชนิดของโปรตีนที่ได้สกัดและเลือกมาใช้ คือ โปรตีนโพรลามีนหรือโปรตีนคอยซิน (สำหรับลูกเดือย) ซึ่งจัดเป็นโปรตีนหลักในลูกเดือย

### 5.1 อัตราส่วนของโปรตีนคอยซินต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบ

ในการศึกษาผลของโปรตีนคอยซินต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบ ได้ทดลองเติมโปรตีนคอยซินกลับลงไปในสตาร์ชในอัตราส่วนโปรตีนคอยซินต่อสตาร์ชเท่ากับ 0.2, 0.6 และ 1.0 เมื่อคิดเป็นร้อยละของปริมาณโปรตีนคอยซินในแป้งเชิงประกอบเท่ากับ 0, 16.67, 37.5 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ของลูกเดี๋ยพ่นธัญเม็ลล์คขาวและพ่นธัญเม็ลล์ดำ และวิเคราะห์สมบัติด้านความหนืดของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบด้วยเครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว (Rapid Visco Analyzer; RVA)

จากการทดลอง พบว่า อัตราส่วนของโปรตีนที่เพิ่มขึ้น มีผลทำให้ความหนืดของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบพ่นธัญเม็ลล์คขาวและพ่นธัญเม็ลล์ดำลดลงตลอดช่วงการวิเคราะห์ ดังภาพที่ 26 และ 27 เมื่อวิเคราะห์สมบัติด้านความหนืดของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบพ่นธัญเม็ลล์คขาว (WACF) พบว่า เมื่ออัตราส่วนของโปรตีนคอยซินเพิ่มขึ้น มีผลให้ค่าความหนืดสูงสุดของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบลดลง โดยระดับอัตราส่วนของโปรตีน 0.2, 0.6 และ 1.0 มีค่าความหนืดสูงสุดลดลง (3377.50, 2528 และ 1954 เซนติพอยซ์ ตามลำดับ) ดังตารางที่ 13 และพบว่าปริมาณโปรตีน มีผลต่อเวลาและอุณหภูมิในการเกิดความหนืดสูงสุด โดย WACF ที่มีอัตราส่วนของโปรตีนเท่ากับ 0.2 มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 16.7 เปอร์เซ็นต์ใกล้เคียงกับแป้งลูกเดี๋ยธรรมชาติ เมื่อวิเคราะห์สมบัติด้านความหนืดของ 0.2 WACF พบว่า เวลาและอุณหภูมิในการเกิดความหนืดสูงสุดใกล้เคียงกับตัวอย่างสตาร์ช ( $p > 0.05$ ) (ดังภาพที่ 26 และตารางที่ 11) และพบว่าปริมาณโปรตีนคอยซินในอัตราส่วน 0.6 และ 1.0 ในแป้งเชิงประกอบ ทำให้เวลาและอุณหภูมิในการเกิดความหนืดสูงสุดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) สำหรับค่าเบรกดาวน์ (Breakdown; BD) เป็นค่าของผลต่างระหว่างค่าความหนืดสูงสุดและค่าความหนืดต่ำสุด และสามารถบ่งบอกถึงความอ่อนแอของเม็ดสตาร์ชได้ จากการทดลอง พบว่า เมื่อเติมโปรตีนในอัตราส่วน 0.2 จะมีค่าเบรกดาวน์ไม่ต่างจากตัวอย่างสตาร์ชอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ดังตารางที่ 11 สำหรับแป้งเชิงประกอบที่มีอัตราส่วนของโปรตีนเท่ากับ 0.6 และ 1.0 WACF ให้ค่าเบรกดาวน์ต่างจาก 0.2 WACF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) และเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของโปรตีนในแป้งเชิงประกอบ มีผลให้ค่าความหนืดสุดท้ายมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตารางที่ 11



ภาพที่ 26 การเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาว เมื่ออัตราส่วนของโปรตีนคอยซินต่างกัน

หมายเหตุ อัตราส่วนของโปรตีนคอยซินในแป้งลูกเดือยเชิงประกอบ 0 (—), 0.2(—), 0.6 (—), 1.0 (—) และแป้งลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวธรรมชาติ (—)

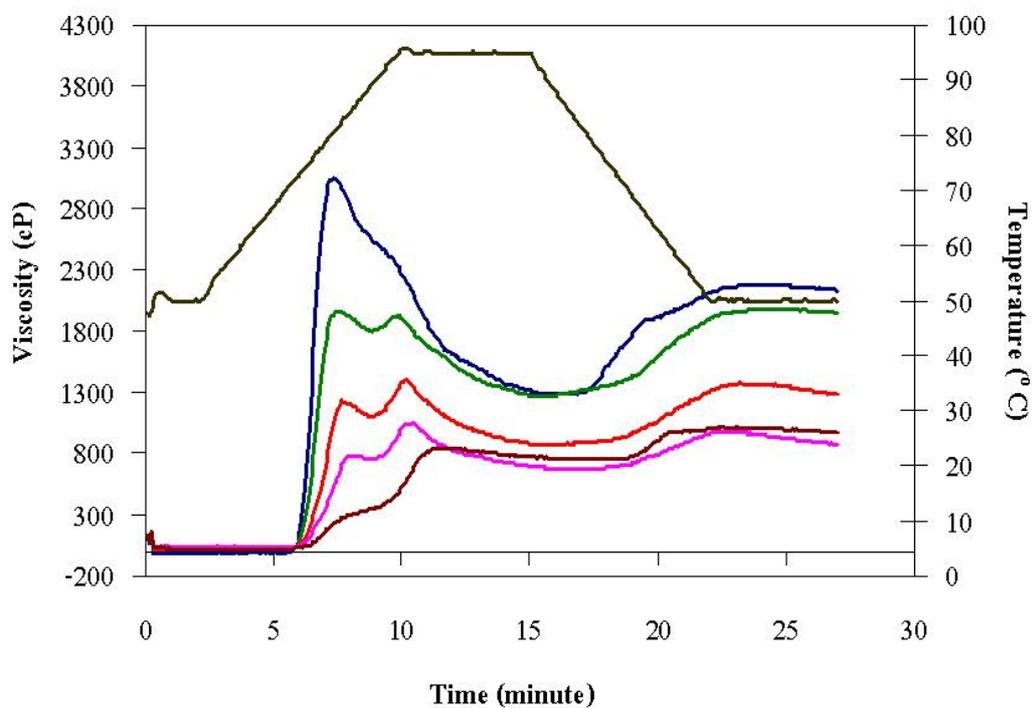
ตารางที่ 11 สมบัติการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาว (WACF) ที่มีอัตราส่วนของโปรตีนคอยซินต่างกัน

Treatment	Pasting	Peak			Viscosity (cP)			
	Temperature (° C)	Viscosity (cP)	Time (min)	Temperature (° C)	Trough	Breakdown	Final Viscosity	Setback
WAS	72.23 <sup>a</sup> ±0.04	3537.50 <sup>a</sup> ±50.20	6.93 <sup>c</sup> ±0.00	78.30 <sup>c</sup> ±0.00	1464.00 <sup>a</sup> ±87.68	2073.50 <sup>a</sup> ±37.48	1780.00 <sup>a</sup> ±8.49	316.00 <sup>ab</sup> ±79.20
0.2WACF	72.38 <sup>a</sup> ±0.25	3377.50 <sup>b</sup> ±62.93	7.03 <sup>bc</sup> ±0.14	78.88 <sup>bc</sup> ±0.81	1339.50 <sup>b</sup> ±27.58	2038.00 <sup>a</sup> ±90.51	1618.00 <sup>b</sup> ±4.24	278.50 <sup>ab</sup> ±31.82
0.6WACF	72.20 <sup>a</sup> ±0.00	2528.00 <sup>c</sup> ±9.90	7.23 <sup>b</sup> ±0.14	80.00 <sup>b</sup> ±0.78	998.50 <sup>c</sup> ±6.36	1529.50 <sup>b</sup> ±16.26	1223.00 <sup>d</sup> ±8.49	224.50 <sup>b</sup> ±2.12
1.0WACF	73.35 <sup>a</sup> ±0.21	1954.00 <sup>d</sup> ±1.41	7.27 <sup>b</sup> ±0.00	80.15 <sup>b</sup> ±0.00	872.00 <sup>d</sup> ±8.49	1082.00 <sup>c</sup> ±9.90	955.50 <sup>c</sup> ±7.78	83.50 <sup>c</sup> ±0.71
WAF	70.25 <sup>b</sup> ±0.21	1655.50 <sup>c</sup> ±19.09	7.84 <sup>a</sup> ±0.05	83.45 <sup>a</sup> ±0.21	956.00 <sup>cd</sup> ±2.83	699.50 <sup>d</sup> ±21.92	1293.50 <sup>c</sup> ±16.26	337.50 <sup>a</sup> ±19.90

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

สำหรับแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ พบว่า อัตราส่วนของโปรตีนคอยซินที่เพิ่มขึ้น ทำให้ลักษณะการเปลี่ยนแปลงความหนืดลดลงตลอดช่วงของการวิเคราะห์ ดังภาพที่ 27 และพบว่าในตัวอย่างแป้งลูกเดือยเชิงประกอบที่มีอัตราส่วน โปรตีนคอยซินเท่ากับ 0.2, 0.6 และ 1.0 BACF มีการเปลี่ยนแปลงความหนืดคล้ายกับความหนืดที่พบในแป้งลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำธรรมชาติ (BAF) นอกจากนั้นอัตราส่วนของโปรตีนที่เพิ่มขึ้น ทำให้อุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงความหนืดสูงขึ้น จากภาพที่ 27 พบว่า ค่าความหนืดสูงสุดของ BACF และ BAF มีลักษณะความหนืดที่คล้ายกัน คือ มีความหนืดสูงสุดเกิดขึ้น 2 พีก โดยที่ความหนืดสูงสุดของพีกที่ 1(PV1) และพีกที่ 2 (PV2) มีการเปลี่ยนแปลงตามอัตราส่วนของโปรตีนคอยซิน เมื่อพิจารณาอุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืด พบว่า แป้งลูกเดือยเชิงประกอบที่มีอัตราส่วน โปรตีนคอยซินเท่ากับ 0.6 และ 1.0 มีอุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงความหนืดสูงกว่า BAS และ 0.2BACF อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และพบว่าอัตราส่วนของโปรตีนคอยซินที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่าความหนืดสูงสุดมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตารางที่ 12 เมื่อพิจารณาเวลาและอุณหภูมิในการเกิดความหนืดในพีกที่ 1 พบว่า การเติมโปรตีนคอยซินในอัตราส่วน 0.2, 0.6 และ 1.0 ทำให้เวลาและอุณหภูมิในการเปลี่ยนแปลงความหนืดของพีกที่ 1 (P1) มากกว่า BAS อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) นอกจากนั้น อัตราส่วนของโปรตีนในแป้งเชิงประกอบที่เพิ่มขึ้น ทำให้ค่าความหนืดสูงสุดของพีกที่ 2 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) สำหรับอุณหภูมิและเวลาในการเปลี่ยนแปลงความหนืดของพีกที่ 2 พบว่า อัตราส่วนของโปรตีนในแป้งเชิงประกอบที่เพิ่มขึ้น ทำให้ค่าอุณหภูมิและเวลาในการเปลี่ยนแปลงความหนืดของพีกที่ 2 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ในขณะที่ค่าความหนืดต่ำสุด ค่าความหนืดสุดท้ายและค่าเซตแบคมีค่าลดลง เมื่ออัตราส่วนของโปรตีนในแป้งเชิงประกอบมีปริมาณเพิ่มขึ้น ดังตารางที่ 12



ภาพที่ 27 การเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ เมื่ออัตราส่วนโปรตีนคอยซินต่างกัน

หมายเหตุ อัตราส่วนของโปรตีนคอยซินในแป้งลูกเดือยเชิงประกอบ 0 (—), 0.2(—), 0.6 (—) 1.0 (—) และแป้งลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำธรรมชาติ (—)

ตารางที่ 12 สมบัติการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ (BACF) ที่มีอัตราส่วนของโปรตีนคอยซินต่างกัน

Treatment	Pasting		Peak 1		Pasting		Peak 2	
	Temperature 1 (°C)	Viscosity (cP)	Time (min)	Temperature (°C)	Temperature 2 (°C)	Viscosity (cP)	Time (min)	Temperature (°C)
BAS	71.48 <sup>b</sup> ±0.04	3053.50 <sup>a</sup> ±9.19	7.33 <sup>d</sup> ±0.00	80.55 <sup>e</sup> ±0.07	-	-	-	-
0.2BACF	71.65 <sup>b</sup> ±0.28	1969.50 <sup>b</sup> ±4.95	7.53 <sup>c</sup> ±0.09	81.80 <sup>d</sup> ±0.57	89.05 <sup>ns</sup> ±0.57	1924.50 <sup>a</sup> ±7.78	9.80 <sup>c</sup> ±0.00	94.70 <sup>c</sup> ±0.00
0.6BACF	72.35 <sup>a</sup> ±0.21	1226.00 <sup>c</sup> ±15.56	7.67 <sup>bc</sup> ±0.00	82.58 <sup>c</sup> ±0.04	89.45 <sup>ns</sup> ±0.07	1394.50 <sup>b</sup> ±9.19	10.17 <sup>c</sup> ±0.05	95.00 <sup>a</sup> ±0.11
1.0BACF	72.20 <sup>a</sup> ±0.00	774.00 <sup>d</sup> ±1.41	8.07 <sup>a</sup> ±0.09	85.00 <sup>a</sup> ±0.21	89.65 <sup>ns</sup> ±0.28	1048.50 <sup>c</sup> ±3.54	10.40 <sup>b</sup> ±0.00	94.90 <sup>b</sup> ±0.00
BAF	70.43 <sup>c</sup> ±0.18	283.00 <sup>e</sup> ±12.73	7.80 <sup>b</sup> ±0.00	83.28 <sup>b</sup> ±0.00	88.80 <sup>ns</sup> ±0.28	848.50 <sup>d</sup> ±17.68	11.94 <sup>a</sup> ±0.37	95.00 <sup>a</sup> ±0.00

ตารางที่ 12 (ต่อ)

Treatment	Viscosity (cP)			
	Trough	Breakdown	Final Viscosity	Setback
BAS	1277.50 <sup>a</sup> ±21.92	1776.00 <sup>a</sup> ±12.73	2131.00 <sup>a</sup> ±5.66	853.50 <sup>a</sup> ±16.26
0.2BACF	1258.00 <sup>a</sup> ±12.73	711.50 <sup>b</sup> ±7.78	1947.00 <sup>b</sup> ±4.24	689.00 <sup>b</sup> ±8.49
0.6BACF	867.00 <sup>b</sup> ±12.73	536.50 <sup>c</sup> ±9.19	1283.50 <sup>c</sup> ±7.78	416.50 <sup>c</sup> ±4.95
1.0BACF	667.50 <sup>d</sup> ±9.19	381.00 <sup>d</sup> ±12.73	873.50 <sup>c</sup> ±7.78	206.00 <sup>d</sup> ±16.97
BAF	743.00 <sup>c</sup> ±18.38	105.50 <sup>c</sup> ±0.71	972.00 <sup>d</sup> ±18.38	229.00 <sup>d</sup> ±0.00

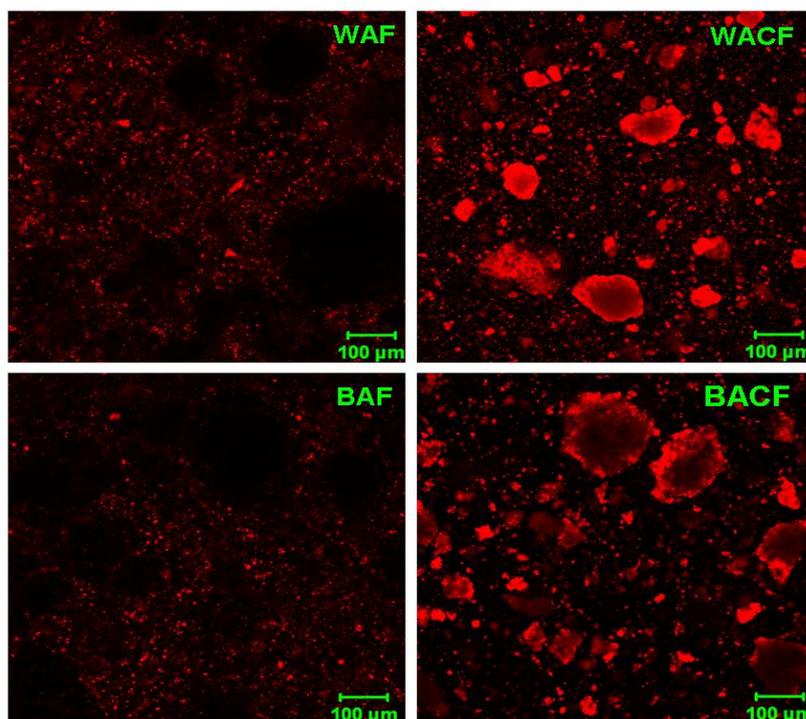
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกัน ในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

จากการทดลองพบว่าการเติมโปรตีนคอยซินในอัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้อุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืด (pasting temperature; PT) มีค่าสูงขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจาก โปรตีนคอยซินไปกีดขวางการเข้าทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำและเม็ดสตาร์ช ทำให้ต้องใช้ อุณหภูมิที่สูงขึ้นในการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบทั้งสองสายพันธุ์ เมื่อพิจารณาค่าความหนืดสูงสุด (peak viscosity; PV) ค่าความหนืดต่ำสุด (trough) ค่าความหนืดสุดท้าย (final viscosity; FV) และค่าเซตแบค พบว่า มีค่าลดลงเมื่ออัตราส่วนของโปรตีนคอยซินเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากในระบบเมื่อเพิ่มอัตราส่วน โปรตีนคอยซินจะมีผลทำให้อัตราส่วนของ สตาร์ช ลดลงจึงส่งผลต่อความหนืดทั้งระบบลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Baxter *et al.* (2004) ที่พบว่าการเติมโปรตีนโพรลามีนกลับเข้าไปในระบบทำให้ค่าความหนืดสูงสุด ค่าความหนืดสุดท้ายและค่าเซตแบคลดลง โดยค่าความหนืดที่ลดลงเป็นผลมาจากความเข้มข้นของสตาร์ช ภายในระบบลดลง (Baxter *et al.*, 2004; Marco and Rosell, 2008) เมื่อพิจารณาลักษณะความหนืดของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ (BACF) พบว่า การเติมโปรตีนคอยซินต่อสตาร์ชในอัตราส่วนเพียง 0.2 จะเริ่มมีผลต่อความหนืดสูงสุด โดยในระบบที่มีโปรตีนคอยซินค่าความหนืดสูงสุดจะแสดงค่าเป็น 2 พิก ดังภาพที่ 27 เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของโปรตีนคอยซินให้สูงขึ้น จะทำให้ค่า พิกความหนืดสูงสุดพิกแรกมีค่าต่ำกว่าพิกความหนืดสูงสุดพิกที่ 2 แสดงให้เห็นว่าโปรตีนคอยซินที่เติมลงในระบบ มีผลต่อลักษณะการพองตัวและการเปลี่ยนแปลงความหนืดสูงสุด ซึ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงความหนืดที่เกิดขึ้นกับแป้งเชิงประกอบสอดคล้องกับลักษณะสัญญาณวิทยาของสตาร์ช พันธุ์เมล็ดดำที่เกิดการพองตัวที่อุณหภูมิต่างกัน ดังภาพที่ 24

เมื่อพิจารณาลักษณะการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านความหนืดของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า อัตราส่วนของโปรตีนคอยซินต่อสตาร์ชที่ระดับ 0.6 จะให้ลักษณะความหนืดต่ำสุดและความหนืดสุดท้ายใกล้เคียงกับแป้งธรรมชาติ (native flour) และเมื่อพิจารณาค่าสมบัติด้านความหนืด พบว่า แป้งเชิงประกอบที่มีอัตราส่วนโปรตีนต่อสตาร์ชเท่ากับ 0.6 จะให้ค่าสมบัติด้านความหนืดแตกต่างกับสตาร์ชอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) จากนั้น ได้ศึกษาลักษณะโครงสร้างของแป้งเชิงประกอบ 0.6WACF และ 0.6BACF โดยใช้กล้องคอนโฟคอลเลเซอร์สแกน-นิง (Confocal Laser Scanning Microscope) เปรียบเทียบกับแป้งธรรมชาติ โดยย้อมสีด้วยโรดามีน บี (Rhodamine B) ซึ่งเป็นสีที่จำเพาะกับโปรตีนและให้สีแดง จากภาพที่ 28 พบว่า ในตัวอย่างแป้งธรรมชาติ WAF และ BAF จะมีการกระจายตัวของโปรตีนสม่ำเสมอ ในขณะที่แป้งเชิงประกอบอนุภาคของโปรตีนคอยซินเกิดการรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนขนาดใหญ่ ซึ่งลักษณะการเกาะกลุ่มของโปรตีนเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ เป็นลักษณะที่พบเช่นเดียวกับลักษณะสัญญาณวิทยาของโปรตีนคอยซิน ดังภาพที่ 18 อาจเป็นผลเนื่องจากลักษณะของโปรตีนคอยซินมีความเป็นไฮโดรโฟบิก

ค่อนข้างสูง เกาะกลุ่มกันด้วยอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกและพันธะไดซัลไฟด์ ทำให้การวัดความหนืดของแป้งเชิงประกอบในระบบที่ใช้ น้ำ โปรตีนคอยซินไม่สามารถละลายและกระจายตัวในน้ำได้ ในขณะที่สตาร์ชซึ่งมีความเป็นไฮโดรฟิลิก (Duodu *et al.*, 2003) สามารถกระจายตัวในน้ำได้ ดังภาพที่ 28 ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะที่พบเช่นเดียวกับแป้งเชิงประกอบระหว่างสตาร์ชและโปรตีนชีนจากข้าวโพด (Chanvrier *et al.*, 2005)



**ภาพที่ 28** ลักษณะการกระจายตัวของโปรตีนในแป้งธรรมชาติและแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์ เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ดขาว เมื่อสังเกตด้วยกล้องคอนโฟคอลเลเซอร์สแกนนิ่ง

**หมายเหตุ** สีแดง คือโปรตีนที่ติดสีย้อมโรดามิน บี

WAF: White Adlay Flour, WACF: White Adlay Composite Flour

BAF: Black Adlay Flour, BACF: Black Adlay Composite Flour

ด้วยลักษณะการเกาะกลุ่มของโปรตีนเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ ดังนั้นจึงตั้งสมมติฐานว่า หากมีการใช้สารเคมีในการทำให้พันธะไดซัลไฟด์แตกออกหรือเกิดการคลายเกลียวของโครงสร้างโปรตีนคอยซิน ซึ่งส่งผลให้โครงสร้างโปรตีนเกิดการกระจายตัว อาจมีผลต่อสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนต่อสตาร์ชในระบบของแป้งเชิงประกอบได้ โดยในการศึกษาขั้นต่อไปได้เลือกใช้แป้งเชิงประกอบที่มีอัตราส่วนของโปรตีนคอยซินต่อสตาร์ชเท่ากับ 0.6 ของลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ ไปใช้

ในการศึกษาอิทธิพลของสารเคมีต่อสมบัติด้านความเหนียวและลักษณะของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบต่อไป

## 5.2 ชนิดและปริมาณของสารรีดิวซิ่งและสารลดแรงตึงผิวต่อสมบัติด้านความเหนียวของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบทั้งสองสายพันธุ์

จากผลการศึกษาอัตราส่วนของโปรตีนคอยซินต่อสตาร์ช ที่ส่งผลต่อลักษณะความเหนียวของแป้งเชิงประกอบ พบว่า แป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบที่มีโปรตีนคอยซินในอัตราส่วน 0.6 จะทำให้ลักษณะด้านความเหนียวของแป้งเชิงประกอบใกล้เคียงกับแป้งธรรมชาติ (ภาพที่ 26 และ 27) เมื่อนำตัวอย่างแป้งเชิงประกอบที่ผ่านการวัดสมบัติด้านความเหนียวไปศึกษาโครงสร้างระดับจุลภาคด้วยกล้องคอนโฟคอลเลเซอร์สแกนนิ่ง พบว่า ส่วนของโปรตีนคอยซินมีการเกาะกลุ่มกันเป็นอนุภาคนาขนาดใหญ่และกระจายตัวอยู่ในส่วนของสตาร์ชที่ผ่านการเจลาทิไนซ์แล้ว (ดังภาพที่ 28) ดังนั้นในตัวอย่างแป้งเชิงประกอบหากมีการเติมสารที่สามารถช่วยให้โปรตีนเกิดการกระจายตัวได้เพิ่มขึ้น คาดว่าลักษณะความเหนียวของแป้งเชิงประกอบจะมีลักษณะใกล้เคียงกับแป้งตามธรรมชาติมากขึ้น และการเติมสารรีดิวซิ่งและสารลดแรงตึงผิว น่าจะแสดงให้เห็นลักษณะของความเหนียวที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องมาจากอิทธิพลของโปรตีนคอยซินในระบบของแป้งเชิงประกอบได้ชัดเจนมากขึ้น

ในงานวิจัยได้เลือกสารซิสเตอีนและสาร โซเดียม โดเดซิลซัลเฟตมาทำการศึกษา โดยเติมสารดังกล่าวลงในระบบของแป้งเชิงประกอบและทำการเปรียบเทียบสมบัติด้านความเหนียวกับตัวอย่างแป้งตามธรรมชาติและสตาร์ชจากลูกเดี๋ย

### 5.2.1 ผลของสารซิสเตอีนต่อสมบัติด้านความเหนียวของแป้งลูกเดี๋ยธรรมชาติ สตาร์ช และแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบทั้งสองสายพันธุ์

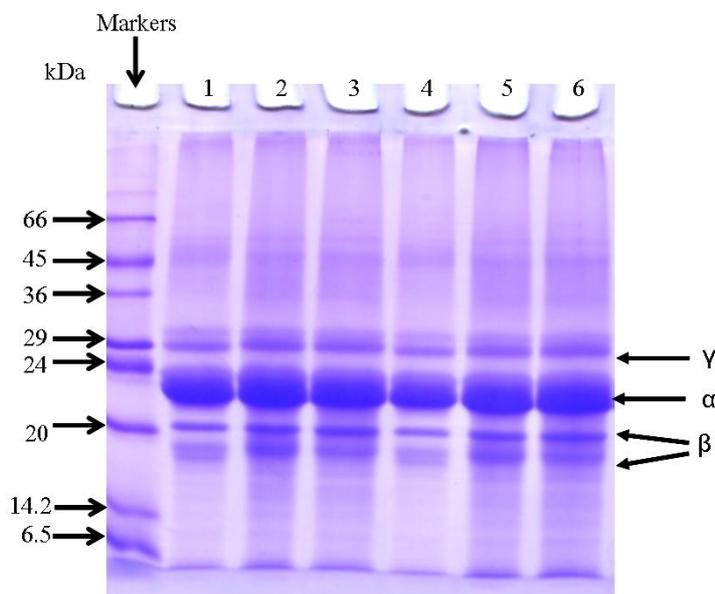
สารซิสเตอีนจัดเป็นสารรีดิวซิ่งเช่นเดียวกับกลูตาไธโอน ซัลไฟท์ บีตาเมอร์แคปโทเอทานอล และไดไธโอทรियोทอล (DTT) (Li and Lee, 1998; Chandrashekar and Kirleis, 1988; Lagrain *et al.*, 2006) ซึ่งสารเหล่านี้มักจะถูกนำไปใช้ในการศึกษาอิทธิพลของพันธะไดซัลไฟด์ต่อสมบัติด้านความเหนียวและลักษณะด้านการไหลของตัวอย่างแป้ง สตาร์ช และโปรตีน โดยกลไกในการเข้าทำปฏิกิริยาของสารเหล่านี้จะมีลักษณะคล้ายกัน คือ สารเหล่านี้จะมีความสามารถในการไป

รีดิวิชั่นส่วนของพันธะโคซัลไฟด์ในโครงสร้างโปรตีนให้แตกออก ส่งผลให้สมบัติด้านความหนืด และน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนเปลี่ยนแปลงไป

#### ก. ผลของซิสเตอินต่อน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนคอยซินและสตาร์ช

จากการตรวจสอบชนิดของโปรตีนคอยซินที่สกัดได้จากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวและลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ ดังภาพที่ 20 พบว่า ชนิดของโปรตีนจากลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์มีลักษณะคล้ายกัน จึงเลือกโปรตีนคอยซินจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำมาทำการศึกษาอิทธิพลของซิสเตอิน ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนคอยซิน

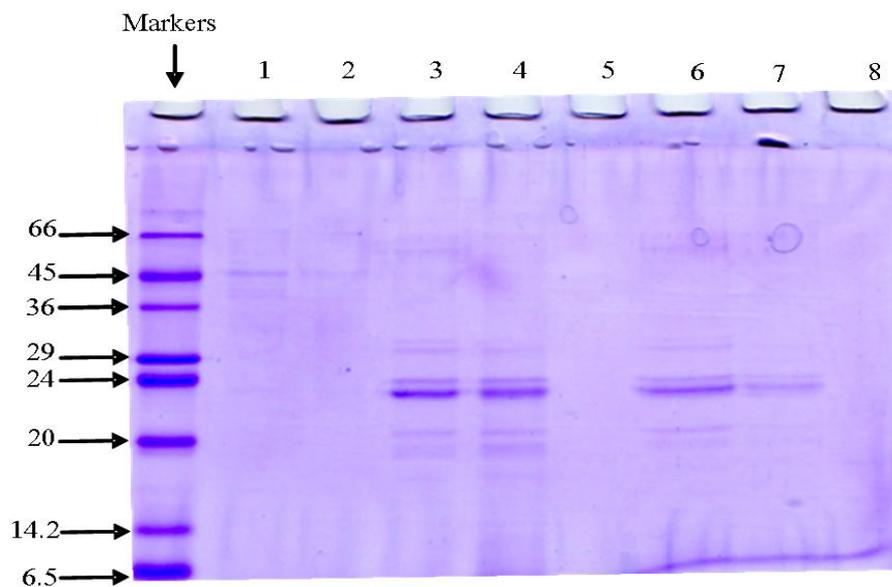
จากการทดลองพบว่าโปรตีนคอยซินที่มีการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายซิสเตอิน (0.025 และ 0.25 โมลาร์) ทำให้น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนคอยซินที่มีขนาดเล็กมีปริมาณเพิ่มขึ้นดังภาพที่ 29 เมื่อพิจารณาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนคอยซินที่ไม่มีการเติมสารซิสเตอินกับตัวอย่างที่มีการเติมสารซิสเตอิน พบว่า ตัวอย่างที่มีการเติมสารซิสเตอินที่ระดับความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ (ภาพที่ 29 เลนที่ 2) และ 0.25 โมลาร์ (ภาพที่ 29 เลนที่ 3) จะมีน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่ขนาด 27 กิโลดาลตันและขนาดเล็กกว่า 22 กิโลดาลตัน ในปริมาณเพิ่มขึ้น โดยตัวอย่างที่เติมซิสเตอิน ความเข้มข้น 0.25 โมลาร์ จะมีโปรตีนในช่วงน้ำหนักโมเลกุลดังกล่าวที่มากกว่าตัวอย่างโปรตีนที่มีการเติมซิสเตอิน 0.025 โมลาร์และไม่มีการเติมซิสเตอิน ตามลำดับ (ภาพที่ 29) จากการทดลองได้ทำการเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิต่อลักษณะน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนคอยซิน โดยทำการทดลองที่ระดับอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 29 เลนที่ 1, 2, 3) ซึ่งเป็นอุณหภูมิเริ่มต้นของกระบวนการวัดความหนืดและอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 29 เลนที่ 4, 5, 6) ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงความหนืดสูงสุด พบว่า การให้อุณหภูมิที่ต่างกับโปรตีนคอยซินในสารละลายซิสเตอิน ลักษณะการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักโมเลกุลของทั้งสองอุณหภูมิลักษณะคล้ายกันดังภาพที่



ภาพที่ 29 SDS-PAGE ของโปรตีนคอยซินจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ (BAP) มีระดับความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 0.8 เปอร์เซ็นต์

หมายเหตุ เลนที่ 1 (BAP+น้ำ), 2 (BAP+0.025M cysteine), 3 (BAP+0.25M cysteine), 4 (BAP+น้ำ), 5 (BAP+0.025M cysteine), 6 (BAP+0.25M cysteine), เลนที่ 1, 2, 3 ควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียสและ 4, 5, 6 ควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส

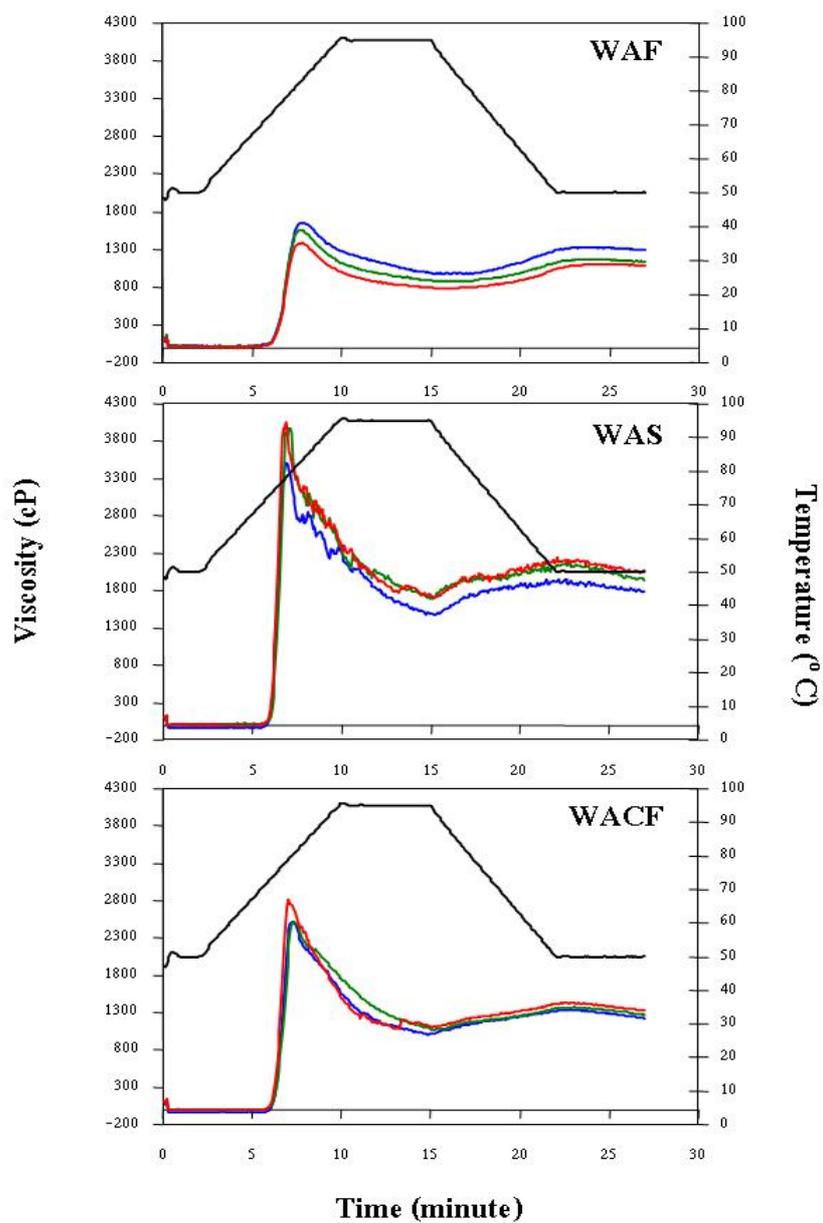
การศึกษานิคของโปรตีนและน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนในสตาร์ช ในระบบที่มีการเติมสารซิสเตอีนที่ระดับความเข้มข้น 0.025 และ 0.25 โมลาร์ พบว่า การเติมสารซิสเตอีนส่งผลต่อการสกัดโปรตีนออกจากสตาร์ชปริมาณมากขึ้น ทั้งสตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำและลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว อาจเป็นผลเนื่องมาจากซิสเตอีนมีความสามารถในการรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ในโครงสร้างของโปรตีนที่อยู่บนเม็ดสตาร์ช ทำให้โปรตีนมีขนาดโมเลกุลที่เล็กลงและถูกสกัดออกมาได้มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างสตาร์ชที่ไม่มีการเติมสารซิสเตอีน ดังภาพที่ 30 โดยพบว่าโปรตีนที่สกัดออกมาได้ จะปรากฏแถบของโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 20 ถึง 29 กิโลดาลตัน เลนที่ 3, 4, 6, 7 โดยน้ำหนักโมเลกุลในช่วงดังกล่าวมีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกับแถบโปรตีนที่ปรากฏในโปรตีนคอยซิน ซึ่งเป็นโปรตีนสะสม โดยโปรตีนดังกล่าวจะพบที่บริเวณผิวของเม็ดสตาร์ช (Goldner and Boyer, 1989)



**ภาพที่ 30** SDS-PAGE ของโปรตีนจากสตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำและพันธุ์เมล็ดขาว  
**หมายเหตุ** เลนที่ 1 (BAS), 2 (WAS), 3 (BAS+0.025M cysteine), 4 (WAS+0.025M cysteine),  
 5 (0.025M cysteine), 6 (BAS+0.25M cysteine), 7 (WAS+0.25M cysteine) และ  
 8 (0.25M cysteine)

ข. ผลของสารซีสเตอีนต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้งลูกเดือยธรรมชาติ  
 สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบทั้งสองสายพันธุ์

จากการทดลอง พบว่า การเติมสารซีสเตอีนส่งผลต่อค่าอุณหภูมิในการ  
 เปลี่ยนแปลงความหนืดของตัวอย่างแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาว ไม่  
 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ดังตารางที่ 13 เมื่อพิจารณาถึงค่าความหนืดสูงสุด (peak  
 viscosity; PV) ของลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว เมื่อมีการเติมสารซีสเตอีนเข้าไปในระดับความเข้มข้นที่  
 เพิ่มขึ้น พบว่า แป้งลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว (WAF) มีค่าความหนืดสูงสุดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ  
 ( $p \leq 0.05$ ) สำหรับสตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว พบว่า การเติมสารซีสเตอีนมีผลให้ค่า PV เพิ่มขึ้น  
 เช่นเดียวกับระบบของแป้งเชิงประกอบเมื่อมีการเติมสารซีสเตอีนที่ระดับความเข้มข้น 0.25 โมลาร์  
 ดังภาพที่ 31 และตารางที่ 13



ภาพที่ 31 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบ  
 พันธุ์เมล็ดขาว เมื่อเติมสารซีสเทอีนที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน  
 หมายถึง ความเข้มข้นของสารละลายซีสเทอีน 0 โมลาร์ (—) , 0.025 โมลาร์ (—) และ 0.25 โมลาร์ (—)

**ตารางที่ 13** สมบัติการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาว เมื่อเติมสารซีสเทอีนที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

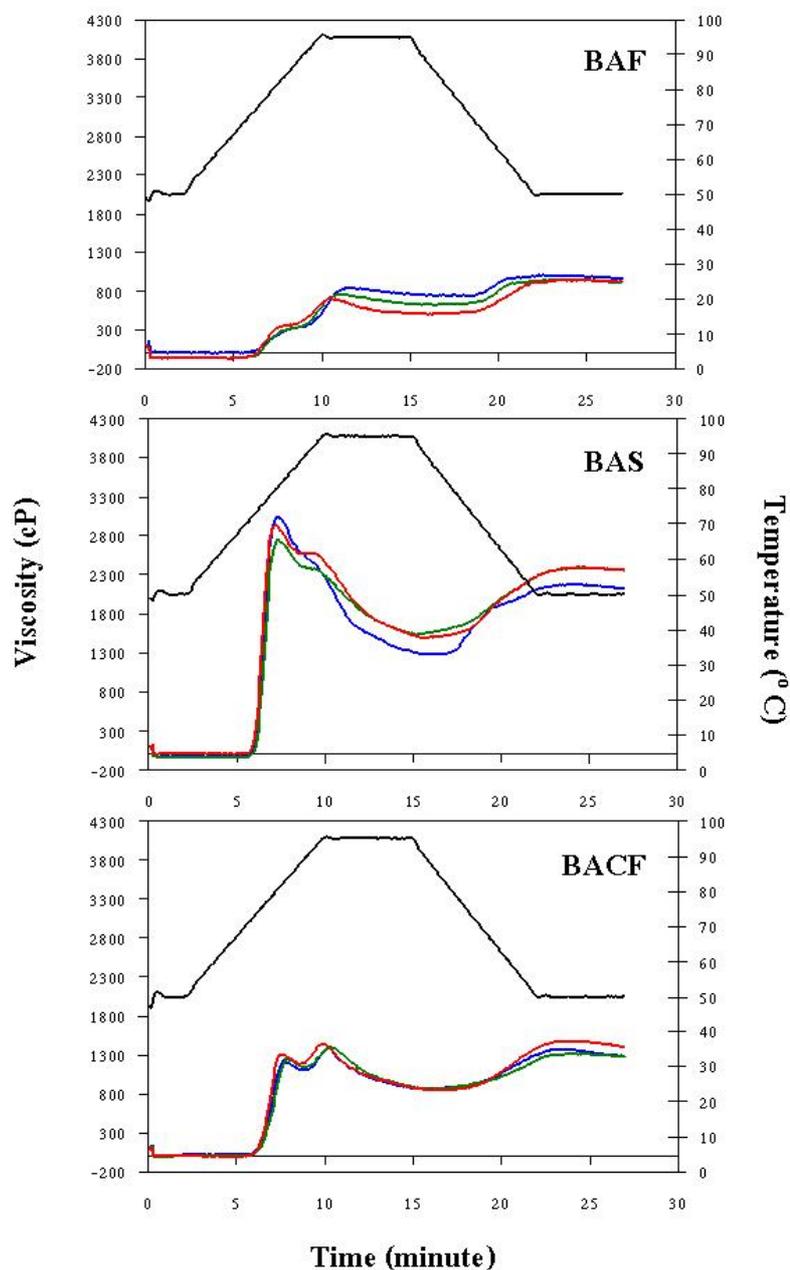
Treatment	Pasting	Peak			Viscosity (cP)			
	Temperature (° C)	Viscosity (cP)	Time (min)	Temperature (° C)	Trough	Breakdown	Final Viscosity	Setback
WAF	70.25 <sup>ns</sup> ±0.00	1655.50 <sup>a</sup> ±19.09	7.83 <sup>a</sup> ±0.05	83.45 <sup>ns</sup> ±0.21	956.00 <sup>a</sup> ±2.83	699.50 <sup>a</sup> ±21.92	1293.50 <sup>a</sup> ±16.26	337.50 <sup>a</sup> ±19.09
WAF+0.025M Cyst.	69.45 <sup>ns</sup> ±0.00	1554.50 <sup>b</sup> ±40.31	7.73 <sup>ab</sup> ±0.00	83.05 <sup>ns</sup> ±0.07	869.50 <sup>b</sup> ±31.82	685.00 <sup>a</sup> ±8.49	1128.00 <sup>b</sup> ±18.38	258.50 <sup>b</sup> ±13.44
WAF+0.25M Cyst.	69.83 <sup>ns</sup> ±0.60	1389.00 <sup>c</sup> ±28.28	7.70 <sup>b</sup> ±0.05	82.80 <sup>ns</sup> ±0.28	776.50 <sup>c</sup> ±0.71	612.50 <sup>b</sup> ±28.99	1086.00 <sup>b</sup> ±16.97	309.50 <sup>ab</sup> ±16.26
WAS	72.23 <sup>ns</sup> ±0.04	3537.50 <sup>b</sup> ±50.20	6.93 <sup>ns</sup> ±0.00	78.30 <sup>ab</sup> ±0.00	1464.00 <sup>b</sup> ±87.68	2073.50 <sup>b</sup> ±37.48	1780.00 <sup>c</sup> ±8.49	316.00 <sup>ns</sup> ±79.20
WAS+0.025M Cyst.	72.18 <sup>ns</sup> ±0.04	3984.50 <sup>a</sup> ±78.49	7.10 <sup>ns</sup> ±0.05	79.25 <sup>a</sup> ±0.28	1676.50 <sup>a</sup> ±50.20	2308.00 <sup>a</sup> ±28.28	1963.00 <sup>b</sup> ±5.66	286.50 <sup>ns</sup> ±44.55
WAS+0.25M Cyst.	71.83 <sup>ns</sup> ±0.53	4062.00 <sup>a</sup> ±72.12	6.83 <sup>ns</sup> ±0.14	77.65 <sup>b</sup> ±0.78	1698.00 <sup>a</sup> ±4.24	2364.00 <sup>a</sup> ±67.88	2052.00 <sup>a</sup> ±31.11	354.00 <sup>ns</sup> ±26.87
WACF	72.20 <sup>ns</sup> ±0.00	2528.00 <sup>b</sup> ±9.90	7.23 <sup>ns</sup> ±0.14	80.00 <sup>ns</sup> ±0.78	998.50 <sup>b</sup> ±6.36	1529.50 <sup>b</sup> ±16.26	1223.00 <sup>c</sup> ±8.49	224.50 <sup>b</sup> ±2.12
WACF+0.025M Cyst.	72.23 <sup>ns</sup> ±0.04	2518.50 <sup>b</sup> ±70.00	7.30 <sup>ns</sup> ±0.05	80.35 <sup>ns</sup> ±0.21	1071.50 <sup>a</sup> ±31.82	1447.00 <sup>b</sup> ±38.18	1273.50 <sup>b</sup> ±16.26	202.00 <sup>b</sup> ±15.56
WACF+0.25M Cyst.	72.23 <sup>ns</sup> ±0.04	2828.50 <sup>a</sup> ±19.09	7.03 <sup>ns</sup> ±0.05	78.85 <sup>ns</sup> ±0.28	1046.00 <sup>ab</sup> ±4.24	1782.50 <sup>a</sup> ±23.33	1328.50 <sup>a</sup> ±7.78	282.50 <sup>a</sup> ±12.02

**หมายเหตุ** เส้นที่คั่นระหว่างแถวภายในตารางหมายความว่ามีการวิเคราะห์ทางสถิติของตัวอย่างแยกกัน  
 ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน  
 ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

เมื่อพิจารณาพฤติกรรมของการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้ง ลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ (ภาพที่ 32 และตารางที่ 14 ) พบว่า การเติมสารซีสเทอีนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมด้านความหนืดของ BAF, BAS และ BACF ที่ระดับความเข้มข้นของซีสเทอีนเท่ากับ 0.25 โมลาร์ ความหนืดสูงสุดตำแหน่งที่ 1 (P1) ของ BAF มีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่มี การเติมและมีการเติมซีสเทอีนความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาถึงความหนืดสูงสุดตำแหน่งที่ 2 (P2 ) พบว่า เมื่อความเข้มข้นของซีสเทอีนเพิ่มขึ้นมีผลให้ค่า P2 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังตารางที่ 14 เมื่อพิจารณาถึงการเปลี่ยนแปลงความหนืดสูงสุดของสตาร์ช BAS พบว่า เมื่อเติมสารซีสเทอีนสตาร์ชได้แสดงค่าความหนืดสูงสุด 2 ตำแหน่งชัดเจนขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของซีสเทอีนมีผลทำให้ค่า P2 มีค่าสูงขึ้น ในขณะที่ค่า P1 ลดลง (ดังภาพที่ 32) และเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งเชิงประกอบ BACF พบว่า สารซีสเทอีนมีผลให้ค่าความหนืดของพิกตำแหน่งที่ 1 (P1) และพิกตำแหน่งที่ 2 (P2) มีการเปลี่ยนแปลง ดังภาพที่ 32 และตารางที่ 14 โดยการเพิ่มความเข้มข้นของซีสเทอีน ทำให้ค่า P1 เพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาอุณหภูมิและเวลาในการเกิดพิกตำแหน่งที่ 1 และตำแหน่งที่ 2 พบว่า การเติมซีสเทอีนในปริมาณที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าเวลา และอุณหภูมิที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงความหนืดของ BACF ลดลง เช่นเดียวกับแป้งธรรมชาติ (BAF) จากค่าเวลาและอุณหภูมิที่เกิดความหนืดสูงสุดลดลงของแป้งเชิงประกอบ (BACF) แสดงให้เห็นว่าลักษณะการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ (BACF) มีลักษณะที่คล้ายกับสตาร์ชและแป้งธรรมชาติ

เมื่อพิจารณาถึงค่าความหนืดต่ำสุด (trough) และเบรกควาน์ของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของซีสเทอีนทำให้ค่าความหนืดต่ำสุดของ WAF (ตารางที่ 13 ) และ BAF (ตารางที่ 14) มีแนวโน้มที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาความหนืดต่ำสุดของสตาร์ชและแป้งเชิงประกอบ พบว่า ซีสเทอีนมีผลให้ค่าความหนืดต่ำสุดของ WAS และ BAS มีค่าสูงขึ้น สำหรับแป้งเชิงประกอบ พบว่า ซีสเทอีนมีผลต่อค่าความหนืดต่ำสุดของ WACF คล้ายกับสตาร์ช WAS แต่ซีสเทอีนมีผลเพียงเล็กน้อยต่อค่าความหนืดต่ำสุดของ BACF ( $p > 0.05$ ) สำหรับค่าเบรกควาน์ในตัวอย่าง WAF พบว่า การเติมซีสเทอีนที่ระดับความเข้มข้น 0.25 โมลาร์ ทำให้ค่าเบรกควาน์ของ WAF ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และการเพิ่มความเข้มข้นของซีสเทอีนทำให้ค่าเบรกควาน์ของ WAS มีค่าสูงขึ้น และเมื่อพิจารณาค่าเบรกควาน์ของแป้งเชิงประกอบ พบว่า การเติมซีสเทอีน ทำให้เบรกควาน์มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงความหนืดที่คล้ายกับสตาร์ชและแป้งลูกเดือยดังตารางที่ 13 และ 14 เมื่อพิจารณาค่าความหนืดสุดท้าย (final viscosity; FV) และค่าเซตแบค พบว่า ค่าความหนืดสุดท้ายและเซตแบคของ WAF มีแนวโน้มที่ลดลงเมื่อมีการเติมสารซีสเทอีน สำหรับสตาร์ช WAS พบว่า การเติมสาร

ชีสเคอีนส่งผลต่อค่าความหนืดสุดท้ายเพิ่มขึ้น และพบว่า การเติมสารชีสเคอีนทำให้ค่าเซตแบคของ WAS ไม่แตกต่างกับตัวอย่างที่ไม่มีการเติมชีสเคอีนอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) และสำหรับตัวอย่าง แป้งเชิงประกอบ WACF พบว่า การเติมสารชีสเคอีนในปริมาณที่มากขึ้น ส่งผลให้ค่าเบรคคาวน์ และเซตแบคเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และเมื่อพิจารณาค่าความหนืดสุดท้าย (final viscosity; FV) และเซตแบคของแป้งลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ พบว่า การเติมสารชีสเคอีนในตัวอย่าง BAF ให้ค่าความหนืดสุดท้ายไม่แตกต่างกับตัวอย่างที่ไม่มีการเติมชีสเคอีนอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ในขณะที่ตัวอย่าง BAS และ BACF เมื่อมีการเติมสารชีสเคอีน จะให้ค่าความหนืดสุดท้าย ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาค่าเซตแบค พบว่า การเติมสารชีสเคอีนส่งผลให้ค่าเซตแบคของ ตัวอย่าง BAF และ BACF มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แต่การเติมชีสเคอีนในตัวอย่าง BAS ให้ค่าเซตแบคไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ดังภาพที่ 32 และ ดังตารางที่ 14



ภาพที่ 32 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบ  
 พันธุ์เมล็ดดำ เมื่อเติมสารซีสเทอีนที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

หมายเหตุ ความเข้มข้นของสารละลายซีสเทอีน 0 โมลาร์ (—) 0.025 โมลาร์ (—) และ 0.25 โมลาร์ (—)

**ตารางที่ 14** สมบัติการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดของแป้ง สตราซ์ และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ เมื่อเติมสารซีสเทอีนที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

Treatment	Pasting	Peak 1			Pasting	Peak 2		
	Temperature 1 (° C)	Viscosity (cP)	Time (min)	Temperature (° C)	Temperature 2 (° C)	Viscosity (cP)	Time (min)	Temperature (° C)
BAF	70.43 <sup>ns</sup> ±0.18	283.00 <sup>b</sup> ±12.73	7.80 <sup>ns</sup> ±0.00	83.28 <sup>ns</sup> ±0.04	88.80 <sup>b</sup> ±0.28	848.50 <sup>a</sup> ±17.68	11.93 <sup>a</sup> ±0.38	95.00 <sup>a</sup> ±0.04
BAF+0.025M Cyst.	70.40 <sup>ns</sup> ±0.28	302.50 <sup>b</sup> ±12.02	7.80 <sup>ns</sup> ±0.00	83.28 <sup>ns</sup> ±0.04	89.60 <sup>a</sup> ±0.00	770.00 <sup>b</sup> ±15.56	10.97 <sup>b</sup> ±0.14	95.00 <sup>a</sup> ±0.07
BAF+0.25M Cyst.	70.25 <sup>ns</sup> ±0.07	358.50 <sup>a</sup> ±10.61	7.73 <sup>ns</sup> ±0.09	82.90 <sup>ns</sup> ±0.57	87.23 <sup>c</sup> ±0.32	708.50 <sup>c</sup> ±10.61	10.50 <sup>b</sup> ±0.14	94.83 <sup>b</sup> ±0.04
BAS	71.48 <sup>ns</sup> ±0.04	3053.50 <sup>a</sup> ±9.19	7.33 <sup>ns</sup> ±0.00	80.55 <sup>ns</sup> ±0.07	-	-	-	-
BAS+0.025M Cyst.	71.40 <sup>ns</sup> ±0.14	2749.50 <sup>c</sup> ±37.48	7.33 <sup>ns</sup> ±0.09	80.60 <sup>ns</sup> ±0.50	89.33 <sup>ns</sup> ±0.32	2382.00 <sup>ns</sup> ±38.18	9.33 <sup>ns</sup> ±0.00	92.10 <sup>ns</sup> ±0.00
BAS+0.25M Cyst.	71.43 <sup>ns</sup> ±0.04	2946.00 <sup>b</sup> ±42.43	7.20 <sup>ns</sup> ±0.00	79.80 <sup>ns</sup> ±0.14	87.80 <sup>ns</sup> ±1.20	2581.50 <sup>ns</sup> ±55.86	9.26 <sup>ns</sup> ±0.19	91.72 <sup>ns</sup> ±1.17
BACF	72.35 <sup>ns</sup> ±0.21	1226.00 <sup>b</sup> ±15.56	7.67 <sup>b</sup> ±0.00	82.58 <sup>b</sup> ±0.04	89.45 <sup>a</sup> ±0.07	1394.50 <sup>ns</sup> ±9.19	10.17 <sup>a</sup> ±0.05	95.00 <sup>a</sup> ±0.11
BACF+0.025M Cyst.	72.55 <sup>ns</sup> ±0.50	1252.50 <sup>b</sup> ±0.71	7.83 <sup>a</sup> ±0.05	83.43 <sup>a</sup> ±0.18	89.53 <sup>a</sup> ±0.11	1403.00 <sup>ns</sup> ±24.04	10.27 <sup>a</sup> ±0.00	95.00 <sup>a</sup> ±0.04
BACF+0.25M Cyst.	72.20 <sup>ns</sup> ±0.00	1310.50 <sup>a</sup> ±6.36	7.47 <sup>c</sup> ±0.00	81.38 <sup>c</sup> ±0.04	88.23 <sup>b</sup> ±0.04	1440.50 <sup>ns</sup> ±0.71	9.83 <sup>b</sup> ±0.05	94.78 <sup>b</sup> ±0.25

ตารางที่ 14 (ต่อ)

Treatment	Viscosity (cP)			
	Trough	Breakdown	Final Viscosity	Setback
BAF	743.00 <sup>a</sup> ±18.38	105.50 <sup>c</sup> ±0.71	972.00 <sup>ns</sup> ±18.38	229.00 <sup>c</sup> ±0.00
BAF+0.025M Cyst.	625.00 <sup>b</sup> ±12.73	145.00 <sup>b</sup> ±2.83	924.50 <sup>ns</sup> ±14.85	299.50 <sup>b</sup> ±2.12
BAF+0.25M Cyst.	500.50 <sup>c</sup> ±13.44	208.00 <sup>a</sup> ±2.83	932.00 <sup>ns</sup> ±26.87	431.50 <sup>a</sup> ±13.44
BAS	1277.50 <sup>b</sup> ±21.92	1776.00 <sup>a</sup> ±12.73	2131.00 <sup>b</sup> ±5.66	853.50 <sup>ns</sup> ±16.26
BAS+0.025M Cyst.	1539.00 <sup>a</sup> ±59.40	1210.50 <sup>c</sup> ±21.92	2360.50 <sup>a</sup> ±38.89	821.50 <sup>ns</sup> ±20.51
BAS+0.25M Cyst.	1500 <sup>ab</sup> ±121.62	1446.00 <sup>b</sup> ±79.20	2357.50 <sup>a</sup> ±115.26	857.50 <sup>ns</sup> ±6.36
BACF	867.00 <sup>ns</sup> ±12.73	536.50 <sup>ns</sup> ±9.19	1283.50 <sup>b</sup> ±7.78	416.50 <sup>b</sup> ±4.95
BACF+0.025M Cyst.	865.50 <sup>ns</sup> ±6.36	537.50 <sup>ns</sup> ±30.41	1272.50 <sup>b</sup> ±17.68	407.00 <sup>b</sup> ±24.04
BACF+0.25M Cyst.	854.00 <sup>ns</sup> ±19.80	586.50 <sup>ns</sup> ±20.51	1406.50 <sup>a</sup> ±27.58	552.50 <sup>a</sup> ±7.78

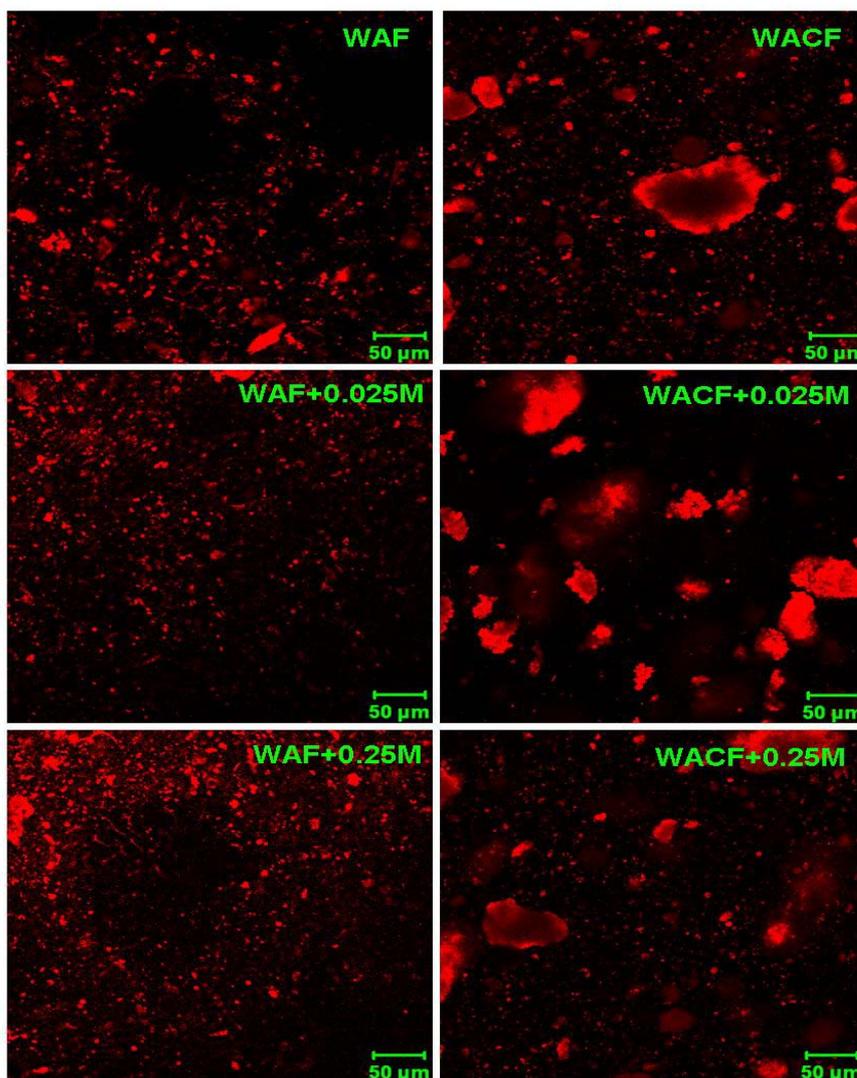
หมายเหตุ เส้นที่คั่นระหว่างแถวภายในตารางหมายความว่ามีการวิเคราะห์ทางสถิติของตัวอย่างแยกกัน  
 ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน  
 ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

เมื่อพิจารณาค่าอุณหภูมิเริ่มต้นในการเปลี่ยนแปลงความหนืด (pasting temperature; PT) ของ WAS และ BAS พบว่า การเติมสารซีส테인ส่งผลให้ PT ของสตาร์ชมีแนวโน้มลดลง และพบว่าค่าความหนืดสูงสุด (peak viscosity; PV) ของ WAS มีแนวโน้มที่สูงขึ้น ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากสารซีส테인ไปรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ของโปรตีนบนพื้นผิวของเม็ดสตาร์ช ทำให้เม็ดสตาร์ชมีความสามารถในการทำปฏิกิริยากับน้ำและเกิดการพองตัวสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Hamaker *et al.* (1991) ที่ทำการศึกษาถึงอิทธิพลของโปรตีนบนเม็ดสตาร์ช โดยพบว่าการเติมสารไดโซ โอทริโอทอล (DTT) ทำให้เม็ดสตาร์ชมีความสามารถในการพองตัวได้มากขึ้น และสำหรับตัวอย่าง BAS พบว่า การเติมสารซีส테인ส่งผลให้ความหนืดสูงสุดลดลง โดยต่ำกว่าตัวอย่างสตาร์ชที่ไม่มีการเติมซีส테인 ซึ่งคาดว่าลักษณะความหนืดที่ลดลงอาจเป็นผลมาจากการเติมซีส테인ไปรีดิวซ์ส่วนของพันธะไดซัลไฟด์ของโปรตีนบนเม็ดสตาร์ช (ดังภาพที่ 30) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Chandrashekar and Kirleis (1988) และ Hamaker and Griffin (1993) ที่พบว่าการเติมสารรีดิวซ์ทำให้เม็ดสตาร์ชมีความเปราะบาง ทำให้ในระบบที่มีน้ำ ความร้อนและแรงเฉือน เม็ดสตาร์ชสามารถดูดน้ำได้อย่างอิสระมากขึ้น และเมื่อให้แรงเฉือนกับระบบ ส่งผลให้เกิดการแตกของเม็ดสตาร์ช จึงทำให้ค่าความหนืดสูงสุดลดลง ซึ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงความหนืดเป็นลักษณะที่คล้ายกับการเปลี่ยนแปลงความหนืดสูงสุดของแป้งลูกเดี๋ยย พันธุ์เมล็ดขาวและแป้งลูกเดี๋ยยพันธุ์เมล็ดดำ ที่พบว่าการเติมสารซีส테인ส่งผลให้ความหนืดสูงสุดมีค่าลดลง ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากสารซีส테인ที่เติมลงไปในระบบสามารถรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ในส่วนของโครงข่ายโปรตีน โปรตีนสะสม และโปรตีนบนเม็ดสตาร์ช (Chandrashekar and Kirleis, 1988; Elkhalfifa *et al.*, 1999 และ Hamaker and Griffin, 1993) ทำให้เม็ดสตาร์ชมีความสามารถในการดูดน้ำและเกิดการพองตัวอย่างอิสระ ซึ่งในระบบที่มีความร้อนและแรงเฉือนทำให้สตาร์ชเกิดการแตกออกได้ง่าย จึงทำให้ค่าความหนืดสูงสุดของ WAF และ BAF มีค่าลดลง และสำหรับแป้งลูกเดี๋ยยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาวและพันธุ์เมล็ดดำ พบว่า ค่าความหนืดสูงสุดมีแนวโน้มลดลงเมื่อมีการเติมสารซีส테인 ดังภาพที่ 31 และ 32 อาจเป็นผลเนื่องมาจากสารซีส테인ไปรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ในโครงสร้างโปรตีน ทำให้อนุภาคของโปรตีนที่เกิดการรวมกลุ่มกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ และพันธะไฮโดรโพบิก ให้เกิดการกระจายตัวของอนุภาคโปรตีนเพิ่มมากขึ้น ดังจะเห็นได้จากตัวอย่างแป้งและแป้งเชิงประกอบที่ผ่านการเติมสารซีส테인 ดังภาพที่ 33 และ 34

เมื่อพิจารณาค่าความหนืดต่ำสุด (trough) และค่าเบรกดาวน์ พบว่า แป้ง WAF และ BAF มีค่าความหนืดต่ำสุดลดลงเมื่อมีการเติมสารซีส테인 ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากสารซีส테인สามารถรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์บนโครงสร้างของโปรตีน ทั้งในส่วนของโปรตีนโครงข่าย โปรตีนสะสม และโปรตีนในสตาร์ชให้แตกออก ส่งผลให้ความหนืดต่ำสุดมีค่าลดลง

และเมื่อพิจารณาถึงค่าเบรคคาวน์ ซึ่งเป็นค่าผลต่างระหว่างค่าความหนืดสูงสุดและค่าความหนืดต่ำสุด พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของซีสเทอีน ค่าเบรคคาวน์ของ WAF มีค่าลดลง สำหรับตัวอย่าง BAF พบว่า การเติมซีสเทอีนส่งผลให้ค่าความหนืดต่ำสุดมีแนวโน้มลดลง ขณะเดียวกันค่าเบรคคาวน์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น นั้นแสดงให้เห็นว่าสารซีสเทอีนสามารถไปรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ของโครงสร้างโปรตีนในส่วนของโปรตีนโครงข่าย และโปรตีนบนเม็ดสตาร์ชให้แตกออก ทำให้โครงข่ายโปรตีนและเม็ดสตาร์ชมีความแข็งแรงลดลง เม็ดสตาร์ชสามารถดูดซับน้ำและเกิดการพองตัว และแตกออกได้ง่ายขึ้น (Chandrashekar and Kirleis, 1988; Hamaker and Griffin, 1993) ทำให้ค่าเบรคคาวน์ของ BAF มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะที่พบเช่นเดียวกับตัวอย่างแป้งเชิงประกอบ BACF

เมื่อพิจารณาถึงค่าความหนืดสุดท้าย (final viscosity; FV) และค่าเซตแบค (setback) พบว่า ตัวอย่าง WAF, WAS และ WACF มีค่า FV สอดคล้องกับความหนืดสูงสุดของระบบ เช่นเดียวกับตัวอย่าง BAF, BAS และ BACF ที่ความหนืดสุดท้ายมีแนวโน้มลดลง แต่เมื่อพิจารณาค่าเซตแบค พบว่า BAS มีค่าเซตแบคที่ไม่แตกต่างกับตัวอย่าง BAS ที่ไม่มีการเติมสารซีสเทอีน ในขณะที่ ตัวอย่าง BAF และ BACF ซึ่งมีส่วนของโปรตีนเป็นองค์ประกอบ พบว่า เมื่อความเข้มข้นของซีสเทอีนเพิ่มขึ้นมีผลต่อค่าเซตแบคที่สูงขึ้น เป็นผลเนื่องในสภาวะที่ระบบมีการลดอุณหภูมิ ส่วนของซัลไฟไฮดรอลิสิส (SH) สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกลายเป็นพันธะไดซัลไฟด์ ทำให้ระบบมีความแข็งแรงของโครงสร้างเพิ่มมากขึ้น (Li and Lee, 1998; Lagrain *et al.*, 2006)

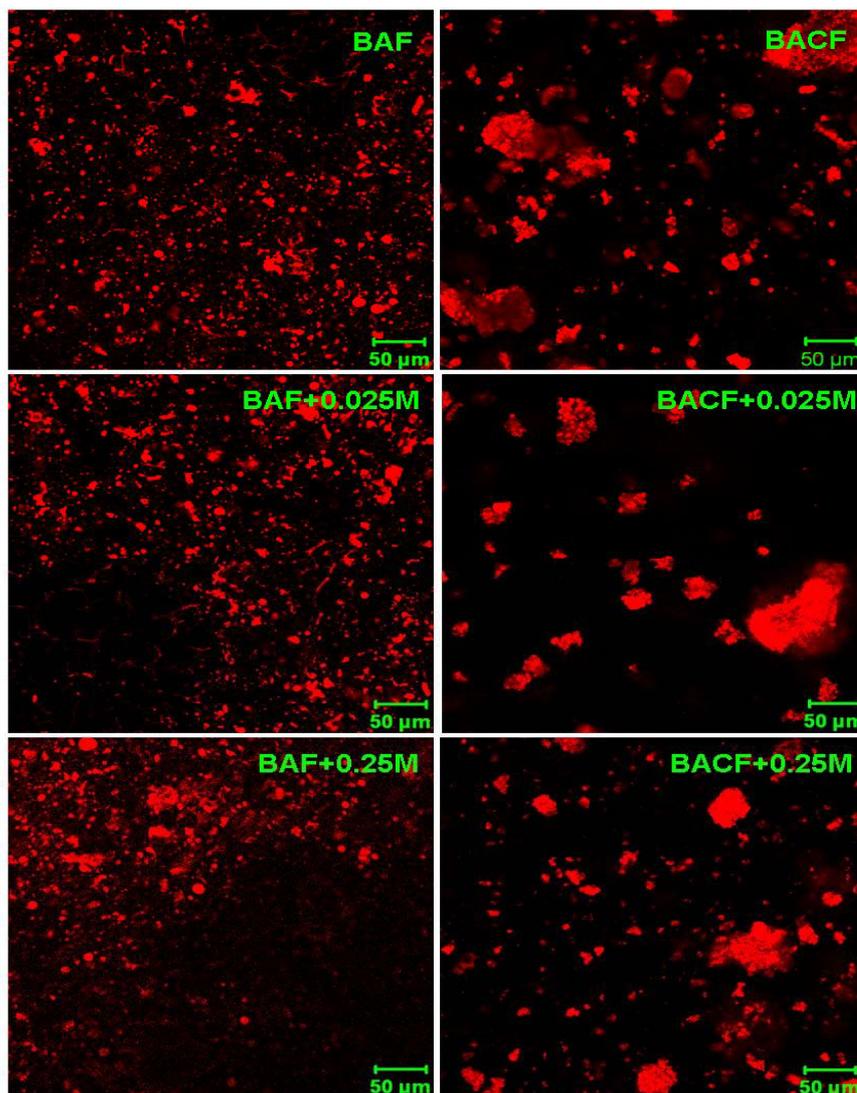


ภาพที่ 33 ลักษณะโปรตีนของแป้งธรรมชาติและแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาว เมื่อมีการเติมสารซีสเทอีนลงในระบบ โดยใช้กล้องคอนโฟคอลเลเซอร์สแกนนิ่ง  
 หมายเหตุ สีแดง คือโปรตีนที่ติดสีเขียวโรดามีน บี

WAF: White Adlay Flour

WACF: White Adlay Composite Flour

0.025M และ 0.25M คือ ความเข้มข้นของสารซีสเทอีน 0.025 และ 0.25 โมลาร์



ภาพที่ 34 ลักษณะ โปรตีนของแป้งธรรมชาติและแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ  
 เมื่อการเติมสารซีสเตอีนลงในระบบ โดยใช้กล้องคอนโฟคอลเลเซอร์สแกนนิ่ง  
 หมายเหตุ สีแดง คือ โปรตีนที่ติดสีย้อมโรดามีน บี

BAF: Black Adlay Flour

BACF: Black Adlay Composite Flour

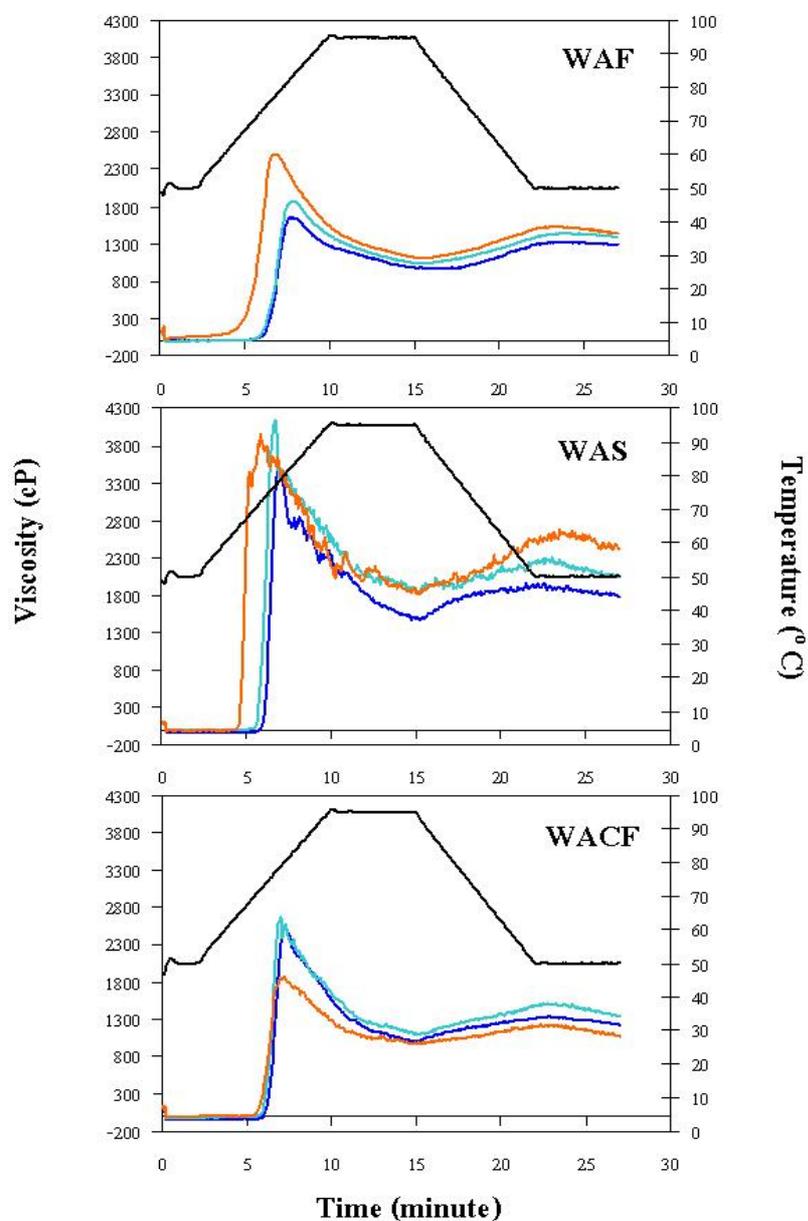
0.025M และ 0.25M คือ ความเข้มข้นของสารซีสเตอีน 0.025 และ 0.25 โมลาร์

### 5.2.2 ผลของสาร โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตปริมาณที่แตกต่างกันต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบ

เมื่อมีการเติมสาร โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวประเภทที่มีประจุลบ (anionic surfactant) โดยคาดว่าสารดังกล่าวมีความสามารถในการกระจายตัวของโปรตีนบอดีที่เกาะตัวกัน โดยลักษณะดังกล่าวอาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านความหนืดของแป้งเชิงประกอบ ในการทดลองนี้ได้คัดเลือกแป้งลูกเดือยเชิงประกอบทั้งสองสายพันธุ์ที่มีอัตราส่วน โปรตีนคอยซินต่อสตาร์ช 0.6 (0.6WACF และ 0.6BACF) เพื่อศึกษาสมบัติด้านความหนืด เมื่อโปรตีนในระบบแป้งเชิงประกอบมีความสามารถในการกระจายตัวเพิ่มมากขึ้น โดยความเข้มข้นของสาร โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) ที่ใช้ในระบบ คือ 0.003 และ 0.03 โมลาร์ และทำการเปรียบเทียบผลของการเติมสาร โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตในตัวอย่างแป้งเชิงประกอบ แป้งธรรมชาติ และสตาร์ช

จากการทดลองพบว่า การเติมสาร โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตลงในตัวอย่างแป้งธรรมชาติ และสตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว ทำให้ค่าอุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดมีค่าลดลง (pasting temperature; PT) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แต่สำหรับตัวอย่างแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาวจะมีค่า PT ลดลงเมื่อความเข้มข้นของโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเท่ากับ 0.03 โมลาร์ ดังภาพที่ 35 และตารางที่ 15 เมื่อพิจารณาค่าความหนืดสูงสุด พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตจะทำให้ค่าความหนืดสูงสุดของตัวอย่าง WAF และ WAS สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ในขณะที่ความเข้มข้นของโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ 0.03 โมลาร์ มีผลให้ค่าความหนืดสูงสุดของ WACF ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) นอกจากนี้การเติมสาร โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตยังมีผลให้เวลาและอุณหภูมิในการเกิดความหนืดสูงสุดของตัวอย่าง WAF และ WAS มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และเมื่อพิจารณาค่าความหนืดต่ำสุด (trough) พบว่า การเติมสาร โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตในตัวอย่าง WAF และ WAS ส่งผลให้ค่าความหนืดต่ำสุดของระบบมีค่าเพิ่มขึ้น แต่จะลดลงในตัวอย่าง WACF ที่มีการเติมสาร โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 0.03 โมลาร์ สำหรับค่าเบรกดาวน์ (breakdown; BD) สามารถบ่งบอกถึงความแข็งแรงของตัวอย่างและเม็ดสตาร์ช พบว่า ในตัวอย่าง WAF และ WAS เมื่อเติมสาร โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตจะทำให้ค่าเบรกดาวน์เพิ่มขึ้น แสดงว่าตัวอย่างมีความแข็งแรงลดลง แต่สำหรับ WACF พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเพิ่มถึง 0.03 โมลาร์ จะทำให้ค่าเบรกดาวน์ลดลงกว่าตัวอย่างที่เติมสาร โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 0.003 โมลาร์ และตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสาร โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต ซึ่งค่าดังกล่าว

สอดคล้องกับค่าความหนืดสุดท้ายและค่าเซตแบคของตัวอย่าง ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงแนวโน้มการเกิดรีโทรเกรเดชันได้ จากการทดลอง พบว่า การเติมสารโซเดียมโคเดซิลซัลเฟตในตัวอย่าง WAF WAS ทำให้ค่าความหนืดสุดท้ายมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แต่พบว่าการเติมสารโซเดียมโคเดซิลซัลเฟตในตัวอย่าง WACF ให้ค่าความหนืดสุดท้ายไม่มีความแตกต่างกับตัวอย่าง WACF ที่ไม่มีการเติมสารโซเดียมโคเดซิลซัลเฟตอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ดังตารางที่ 15



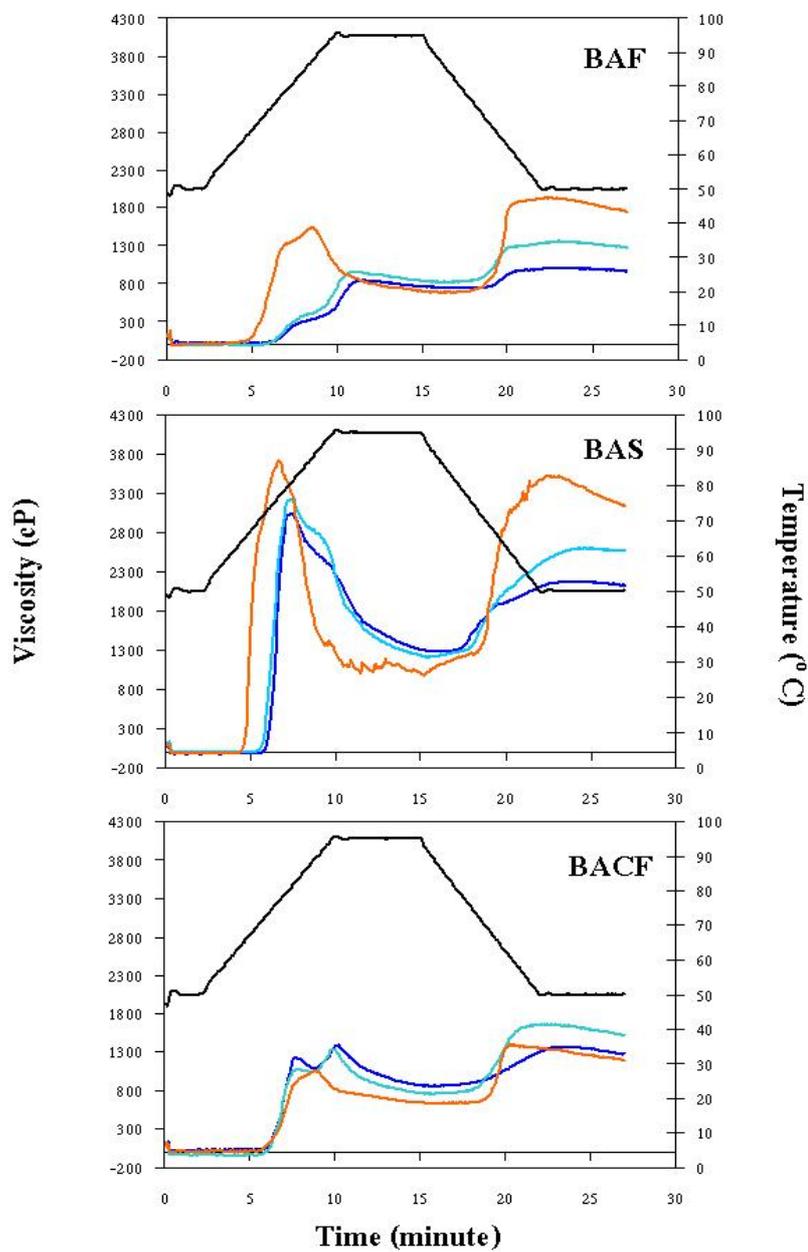
ภาพที่ 35 กราฟการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์  
 เมล็ดขาว เมื่อเติมสาร โซเดียม โดเดซิลซัลเฟตที่มีความเข้มข้นต่างกัน  
 หมายเหตุ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียม โดเดซิลซัลเฟต 0 โมลาร์ (—)   
 0.003 โมลาร์ (—) และ 0.03 โมลาร์ (—)

**ตารางที่ 15** สมบัติการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดของแป้ง สตราซ์ และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาว เมื่อเติมสาร โซเดียมโตะเดซิลซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

Treatment	Pasting	Peak			Viscosity (cP)			
	Temperature (° C)	Viscosity (cP)	Time (min)	Temperature (° C)	Trough	Breakdown	Final Viscosity	Setback
WAF	70.25 <sup>a</sup> ±0.00	1655.50 <sup>c</sup> ±19.09	7.83 <sup>a</sup> ±0.05	83.45 <sup>a</sup> ±0.21	956.00 <sup>c</sup> ±2.83	699.50 <sup>c</sup> ±21.92	1293.50 <sup>c</sup> ±16.26	337.50 <sup>ns</sup> ±19.10
WAF+0.003M SDS	66.25 <sup>b</sup> ±0.21	1879.50 <sup>b</sup> ±9.79	7.83 <sup>a</sup> ±0.05	83.38 <sup>a</sup> ±0.18	1037.50 <sup>b</sup> ±14.85	842.00 <sup>b</sup> ±5.66	1396.50 <sup>b</sup> ±6.36	359.00 <sup>ns</sup> ±8.49
WAF+0.03M SDS	60.35 <sup>c</sup> ±0.57	2515.50 <sup>a</sup> ±30.41	6.67 <sup>b</sup> ±0.09	76.78 <sup>b</sup> ±0.53	1107.00 <sup>a</sup> ±2.83	1408.50 <sup>a</sup> ±27.58	1438.00 <sup>a</sup> ±8.49	331.00 <sup>ns</sup> ±5.66
WAS	72.23 <sup>a</sup> ±0.04	3537.50 <sup>b</sup> ±50.20	6.93 <sup>a</sup> ±0.00	78.30 <sup>a</sup> ±0.00	1464.00 <sup>b</sup> ±87.68	2073.50 <sup>b</sup> ±37.48	1780.00 <sup>c</sup> ±8.49	316.00 <sup>b</sup> ±79.20
WAS+0.003M SDS	69.85 <sup>b</sup> ±0.00	4188.00 <sup>a</sup> ±60.81	6.70 <sup>b</sup> ±0.05	76.95 <sup>b</sup> ±0.35	1816.50 <sup>a</sup> ±40.31	2371.50 <sup>a</sup> ±101.12	2064.50 <sup>b</sup> ±37.48	248.00 <sup>b</sup> ±77.78
WAS+0.03M SDS	64.18 <sup>c</sup> ±0.11	4018.00 <sup>a</sup> ±59.40	5.83 <sup>c</sup> ±0.05	71.98 <sup>c</sup> ±0.25	1805.00 <sup>a</sup> ±16.97	2213.00 <sup>ab</sup> ±76.37	2419.00 <sup>a</sup> ±9.90	614.00 <sup>a</sup> ±7.07
WACF	72.20 <sup>a</sup> ±0.00	2528.00 <sup>a</sup> ±9.90	7.23 <sup>ns</sup> ±0.14	80.00 <sup>ns</sup> ±0.78	998.50 <sup>ns</sup> ±6.36	1529.50 <sup>a</sup> ±16.26	1223.00 <sup>ns</sup> ±8.49	224.50 <sup>ns</sup> ±2.12
WACF+0.003M SDS	72.15 <sup>a</sup> ±0.07	2744.00 <sup>a</sup> ±178.19	6.93 <sup>ns</sup> ±0.10	78.28 <sup>ns</sup> ±0.53	1100.50 <sup>ns</sup> ±37.48	1643.50 <sup>a</sup> ±215.67	1348.00 <sup>ns</sup> ±49.50	247.50 <sup>ns</sup> ±86.97
WACF+0.03M SDS	70.28 <sup>b</sup> ±0.04	1871.00 <sup>b</sup> ±240.42	7.07 <sup>ns</sup> ±0.19	79.03 <sup>ns</sup> ±1.17	956.50 <sup>ns</sup> ±101.12	914.50 <sup>b</sup> ±139.30	1070.00 <sup>ns</sup> ±156.98	113.50 <sup>ns</sup> ±55.86

**หมายเหตุ** เส้นที่คั่นระหว่างแถวภายในตารางหมายความว่ามีการวิเคราะห์ทางสถิติของตัวอย่างแยกกัน  
 ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน  
 ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

สำหรับตัวอย่างแป้ง (BAF) สตาร์ช (BAS) และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์ เมล็ดดำ (BACF) เมื่อเติมสาร โซเดียม โคลอไรด์ซัลเฟตลงในตัวอย่าง ทำให้ค่าอุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดมีค่าลดลง (pasting temperature; PT) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และสาร โซเดียม โคลอไรด์ซัลเฟตจะทำให้ค่าความหนืดสูงสุดของ BAF และ BAS เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังภาพที่ 36 และตารางที่ 16 เมื่อพิจารณาค่าความหนืดสูงสุด พบว่า เมื่อความเข้มข้นของ โซเดียม โคลอไรด์ซัลเฟตสูงขึ้นมีผลให้ค่าความหนืดสูงสุดตำแหน่งที่ 1 ของตัวอย่าง BAF และ BAS สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) และพบว่า การเติมสาร โซเดียม โคลอไรด์ซัลเฟต 0.003 โมลาร์ ใน ตัวอย่าง BAS ทำให้พีคความหนืดเกิดขึ้น 2 พีค ดังภาพที่ 36 แต่สำหรับแป้งเชิงประกอบ (BACF) พบว่า การเติม โซเดียม โคลอไรด์ซัลเฟตส่งผลให้ค่าความหนืดสูงสุดมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร โซเดียม โคลอไรด์ซัลเฟตเป็น 0.03 โมลาร์ พบว่า ค่าความหนืด สูงสุดของ BAF และ BAS เพิ่มขึ้นอย่างมาก ขณะที่ BACF มีค่าลดลง และพบว่าลักษณะความหนืด สูงสุดของ BAF และ BACF ที่ปรากฏพีคความหนืด 2 ตำแหน่ง เริ่มไม่ชัดเจน ดังภาพที่ 36 และ พบว่า การเติม โซเดียม โคลอไรด์ซัลเฟตมีผลให้เวลาและอุณหภูมิในการเกิดความหนืดสูงสุดตำแหน่ง ที่ 2 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เมื่อพิจารณาค่าความหนืดต่ำสุด (trough) พบว่า การเพิ่มความ เข้มข้น โซเดียม โคลอไรด์ซัลเฟตในตัวอย่าง BAF, BAS และ BACF ทำให้ค่าความหนืดต่ำสุดลดลง ดังภาพที่ 36 และตารางที่ 16 และพบว่า ค่าเบรคควาน์และค่าเซตแบคของตัวอย่าง BAF และ BAS มี ค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) แต่ในระบบของแป้งเชิงประกอบ พบว่า การเติมโซเดียม โคล- อไรด์ซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้น 0.03 โมลาร์ ทำให้ค่าเบรคควาน์และค่าเซตแบคมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างที่ ไม่มีการเติมและมีการเติมโซเดียม โคลอไรด์ซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้น 0.003 โมลาร์ ดังตารางที่ 16



ภาพที่ 36 กราฟการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์  
เมล็ดดำ เมื่อเติมสาร โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่มีความเข้มข้นต่างกัน  
หมายเหตุ ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 0 โมลาร์ (—)   
0.003 โมลาร์ (—) และ 0.03 โมลาร์ (—)

ตารางที่ 16 สมบัติการเปลี่ยนแปลงด้านความหนืดของแป้ง สตาร์ช และแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ เมื่อเติมสารโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน

Treatment	Pasting		Peak 1		Pasting		Peak 2	
	Temperature	Viscosity	Time	Temperature	Temperature	Viscosity	Time	Temperature
	1 (° C)	(cP)	(min)	(° C)	2 (° C)	(cP)	(min)	(° C)
BAF	70.43 <sup>a</sup> ±0.18	283.00 <sup>c</sup> ±12.73	7.80 <sup>a</sup> ±0.00	83.28 <sup>a</sup> ±0.04	88.80 <sup>b</sup> ±0.28	848.50 <sup>c</sup> ±17.68	11.93 <sup>a</sup> ±0.38	95.00 <sup>a</sup> ±0.04
BAF+0.003M SDS	70.45 <sup>a</sup> ±0.21	341.00 <sup>b</sup> ±8.49	7.77 <sup>a</sup> ±0.05	83.43 <sup>a</sup> ±0.53	89.95 <sup>a</sup> ±0.14	963.00 <sup>b</sup> ±2.83	11.37 <sup>a</sup> ±0.33	95.00 <sup>a</sup> ±0.00
BAF+0.03M SDS	62.28 <sup>b</sup> ±0.04	1326.50 <sup>a</sup> ±12.02	7.00 <sup>b</sup> ±0.00	78.73 <sup>b</sup> ±0.04	79.03 <sup>c</sup> ±0.04	1534.50 <sup>a</sup> ±6.36	8.53 <sup>b</sup> ±0.00	87.43 <sup>b</sup> ±0.04
BAS	71.48 <sup>a</sup> ±0.04	3053.50 <sup>b</sup> ±9.19	7.33 <sup>a</sup> ±0.00	80.55 <sup>a</sup> ±0.07	-	-	-	-
BAS+0.003M SDS	69.35 <sup>b</sup> ±0.21	3233.50 <sup>ab</sup> ±3.54	7.40 <sup>a</sup> ±0.10	81.00 <sup>a</sup> ±0.57	86.75±0.00	2762.50±31.82	9.07±0.00	90.58±0.04
BAS+0.03M SDS	63.18 <sup>c</sup> ±0.18	3761.00 <sup>a</sup> ±311.13	6.77 <sup>b</sup> ±0.05	77.33 <sup>b</sup> ±0.25	-	-	-	-
BACF	72.35 <sup>a</sup> ±0.21	1226.00 <sup>a</sup> ±15.56	7.67 <sup>ns</sup> ±0.00	82.58 <sup>ns</sup> ±0.04	89.45 <sup>a</sup> ±0.07	1394.50 <sup>a</sup> ±9.19	10.17 <sup>a</sup> ±0.05	95.00 <sup>a</sup> ±0.11
BACF+0.003M SDS	71.45 <sup>b</sup> ±0.07	1090.00 <sup>b</sup> ±26.87	7.83 <sup>ns</sup> ±0.14	87.08 <sup>ns</sup> ±4.28	88.55 <sup>b</sup> ±0.00	1346.50 <sup>a</sup> ±48.79	9.93 <sup>a</sup> ±0.09	95.00 <sup>a</sup> ±0.42
BACF+0.03M SDS	70.25 <sup>c</sup> ±0.00	945.00 <sup>c</sup> ±55.15	7.80 <sup>ns</sup> ±0.00	89.03 <sup>ns</sup> ±1.17	84.90 <sup>c</sup> ±0.21	1065.00 <sup>b</sup> ±29.70	8.80 <sup>b</sup> ±0.19	89.03 <sup>b</sup> ±1.17

ตารางที่ 16 (ต่อ)

Treatment	Viscosity (cP)			
	Trough	Breakdown	Final Viscosity	Setback
BAF	743.00 <sup>b</sup> ±18.38	105.50 <sup>b</sup> ±0.71	972.00 <sup>c</sup> ±18.38	229.00 <sup>c</sup> ±0.00
BAF+0.003M SDS	819.50 <sup>a</sup> ±19.10	143.50 <sup>b</sup> ±21.92	1278.50 <sup>b</sup> ±6.36	456.00 <sup>b</sup> ±25.46
BAF+0.03M SDS	680.00 <sup>c</sup> ±5.66	854.50 <sup>a</sup> ±12.02	1745.00 <sup>a</sup> ±1.41	1065.00 <sup>a</sup> ±7.07
BAS	1277.50 <sup>a</sup> ±21.92	1776.00 <sup>b</sup> ±12.73	2131.00 <sup>c</sup> ±5.66	853.50 <sup>c</sup> ±16.26
BAS+0.003M SDS	1206.00 <sup>a</sup> ±39.60	2027.50 <sup>b</sup> ±36.06	2564.50 <sup>b</sup> ±77.07	1358.50 <sup>b</sup> ±37.48
BAS+0.03M SDS	984.50 <sup>b</sup> ±50.20	2776.50 <sup>a</sup> ±260.92	3129.50 <sup>a</sup> ±36.06	2145.00 <sup>a</sup> ±86.27
BACF	867.00 <sup>a</sup> ±12.73	536.50 <sup>ab</sup> ±9.19	1283.50 <sup>b</sup> ±7.78	416.50 <sup>b</sup> ±4.95
BACF+0.003M SDS	760.50 <sup>a</sup> ±44.55	586.00 <sup>a</sup> ±4.24	1531.00 <sup>a</sup> ±83.44	770.50 <sup>a</sup> ±127.99
BACF+0.03M SDS	628.50 <sup>b</sup> ±41.72	436.50 <sup>b</sup> ±71.42	1196.50 <sup>b</sup> ±38.89	568.00 <sup>ab</sup> ±2.83

หมายเหตุ เส้นคั่นระหว่างแถวภายในตารางหมายความว่ามีการวิเคราะห์ทางสถิติของตัวอย่างแยกกัน

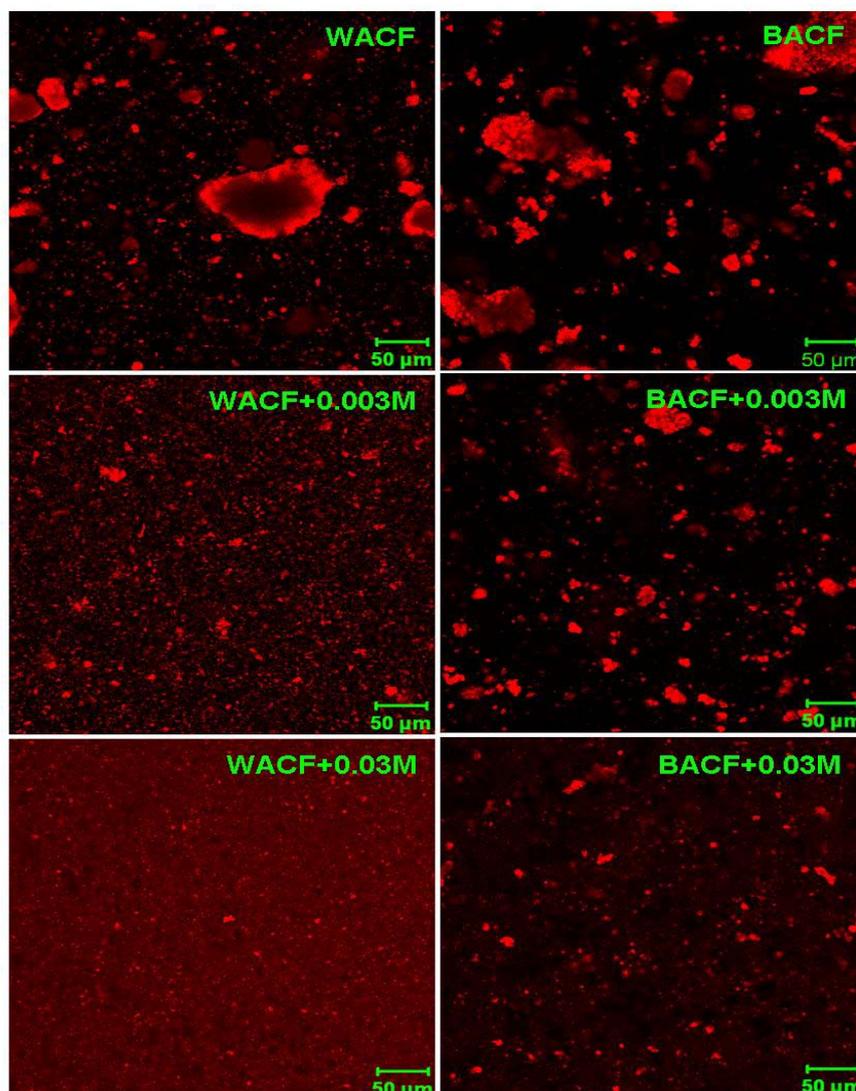
ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ )

จากการทดลอง พบว่า การเติมโซเดียมโคเดซิลซัลเฟตลงในสตาร์ชลูกเดือย ในระดับความเข้มข้นสูงขึ้น ทำให้อุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงความหนืดมีค่าลดลง เนื่องจากส่วนไฮโดรโฟบิกของโมเลกุลของโซเดียมโคเดซิลซัลเฟต สามารถรวมตัวกับโมเลกุลของเอมิโลสและส่วนปลายของโมเลกุลเอมิโลเพกทินเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ในขณะที่ส่วนหัวของโมเลกุลโซเดียมโคเดซิลซัลเฟตที่มีประจุเป็นลบจะเกิดแรงผลักกัน ทำให้โมเลกุลของเอมิโลสและเอมิโลเพกทินที่เกิดการยึดเกาะกันด้วยพันธะไฮโดรเจนเป็นโครงสร้างผลึกเกิดการแตกออก เมื่อดสตาร์ชสามารถทำปฏิกิริยากับน้ำและความร้อนได้ง่ายขึ้น ทำให้สตาร์ชเกิดการพองตัวและเปลี่ยนแปลงความหนืดได้อุณหภูมิต่ำกว่าระบบที่ไม่มีการเติมสาร โซเดียมโคเดซิลซัลเฟต (Debet and Gidley, 2006; Kurakake *et al.*, 2004; Eliasson, 1985; Mira *et al.*, 2005)

สำหรับตัวอย่างแป้งลูกเดือยและแป้งลูกเดือยเชิงประกอบ พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นโซเดียมโคเดซิลซัลเฟตทำให้อุณหภูมิในการเปลี่ยนแปลงความหนืดมีแนวโน้มลดลงเช่นกัน ซึ่งคาดว่านอกจากสาร โซเดียมโคเดซิลซัลเฟตจะสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับโมเลกุลเอมิโลสและเอมิโลเพกทินแล้ว สารดังกล่าวยังมีความสามารถในการละลายส่วนของโปรตีนและไขมัน (Deo *et al.*, 2003; Debet and Gidley, 2006) ทำให้เม็ดสตาร์ชที่ถูกอัดแน่นกับโปรตีนบอดีและถูกตรึงอยู่ในโครงข่ายโปรตีน มีความสามารถในการดูดซับน้ำและเกิดการพองตัวของเม็ดสตาร์ชเพิ่มขึ้น โดยความสามารถในการพองตัวของสตาร์ชที่เพิ่มขึ้น ทำให้ค่าความหนืดสูงสุด (peak viscosity; PV) ของแป้งและสตาร์ชมีค่าเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน แต่สำหรับตัวอย่างของแป้งเชิงประกอบที่เติมโซเดียมโคเดซิลซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.03 โมลาร์ ทำให้ค่าความหนืดสูงสุดมีค่าลดลง อาจเป็นผลเนื่องมาจากในขั้นตอนการทดลองในระบบแป้งเชิงประกอบ จะมีการช่วงเวลาที่ให้สารโซเดียมโคเดซิลซัลเฟตทำปฏิกิริยากับโปรตีนคอยซิน ก่อนการเติมสตาร์ชและทดสอบสมบัติด้านความหนืดด้วยเครื่อง RVA ซึ่งคาดว่าระดับความเข้มข้น 0.03 โมลาร์ โมเลกุลของสารโซเดียมโคเดซิลซัลเฟตสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนคอยซินด้วยอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิกและส่วนของประจุลบก็สามารถทำปฏิกิริยาทางไฟฟ้ากับประจุบวกของกรดเอมิโนในโครงสร้างโปรตีนที่มีการเกาะตัวกัน ทำให้โปรตีนในระบบเกิดการกระจายตัว และละลายได้ดีขึ้นโดยโมเลกุลของโปรตีนยังไม่เกิดการเสียสภาพ (Deo *et al.*, 2003) ดังภาพที่ 37 โดยโปรตีนเกิดการคลายเกลียวและละลายน้ำได้ ดังจะเห็นได้จากการกระจายตัวและการละลายของก้อนโปรตีนได้มากขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสาร โซเดียมโคเดซิลซัลเฟตมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ซึ่งโปรตีนดังกล่าวอาจจะทำหน้าที่คล้ายฟิล์มบางเคลือบผิวของเม็ดสตาร์ชไว้ดังภาพที่ 38 และ 39 ทำให้เม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัวได้จำกัด ก่อนการแตกออกของเม็ดสตาร์ช ทำให้ค่าความหนืดสูงสุดของแป้งเชิงประกอบมีค่าลดลง

เมื่อพิจารณาค่าความหนืดต่ำสุดและค่าเบรกคาวาน์ พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นโซเดียมโคเดซิลซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้น 0.03 โมลาร์ ในตัวอย่างแป้งและสตาร์ช ทำให้ค่าความหนืดต่ำสุดลดลง ดังภาพที่ 35 และ 36 เมื่อมีการให้แรงเฉือนกับระบบทำให้เม็ดสตาร์ชเกิดการแตกค่าเบรกคาวาน์ จึงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) และในระบบของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า การเติมโซเดียมโคเดซิลซัลเฟต ทำให้ค่าความหนืดต่ำสุดมีแนวโน้มลดลง เช่นเดียวกับสตาร์ช และในระบบของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบ พบว่า การเติมสารโซเดียมโคเดซิลซัลเฟต 0.03 โมลาร์ จะมีค่าเบรกคาวาน์ต่ำกว่าระบบที่ไม่มีการเติมและมีการเติมสารโซเดียมโคเดซิลซัลเฟตเข้มข้น 0.003 โมลาร์ และในกระบวนการลดอุณหภูมิ เมื่อพิจารณาค่าความหนืดสุดท้าย (final viscosity; FV) และค่าการคืนตัวของตัวอย่าง (setback) พบว่า การเติมสารโซเดียมโคเดซิลซัลเฟตทำให้ค่าความหนืดสุดท้ายและค่าเซตแบคเพิ่มขึ้น โดยพบว่าในลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวค่าดังกล่าวจะสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมโคเดซิลซัลเฟตเป็น 0.03 โมลาร์ ขณะที่ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำค่าความหนืดสุดท้ายและค่าเซตแบคจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) แม้มีการเติมสารโซเดียมโคเดซิลซัลเฟต 0.003 โมลาร์ ทั้งนี้ค่าความหนืดสุดท้ายและค่าเซตแบค เป็นค่าที่บ่งบอกถึงแนวโน้มการจัดเรียงตัวของโมเลกุลแอมิโลสเป็นโครงสร้างสามมิติ เมื่อพิจารณาค่าความหนืดสุดท้ายและค่าเซตแบค เมื่อมีการเติมสารโซเดียมโคเดซิลซัลเฟตระหว่างลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำซึ่งมีปริมาณแอมิโลสสูงสามารถเกิดโครงสร้างสามมิติที่เกิดจากการสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลแอมิโลสได้สูงกว่าลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว และพบว่าการเติมสารโซเดียมโคเดซิลซัลเฟตทำให้ค่าความหนืดสุดท้ายและค่าเซตแบคมีค่าสูงขึ้น แสดงว่านอกเหนือจากการจัดเรียงตัวของโมเลกุลแอมิโลสด้วยพันธะไฮโดรเจนแล้วยังมีแรงทางไฟฟ้าและอันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก ช่วยทำให้การจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างสามมิติมีแนวโน้มที่เร็วขึ้น (Biliaderis and Tonogai, 1991; Eliasson and Kim, 1995)



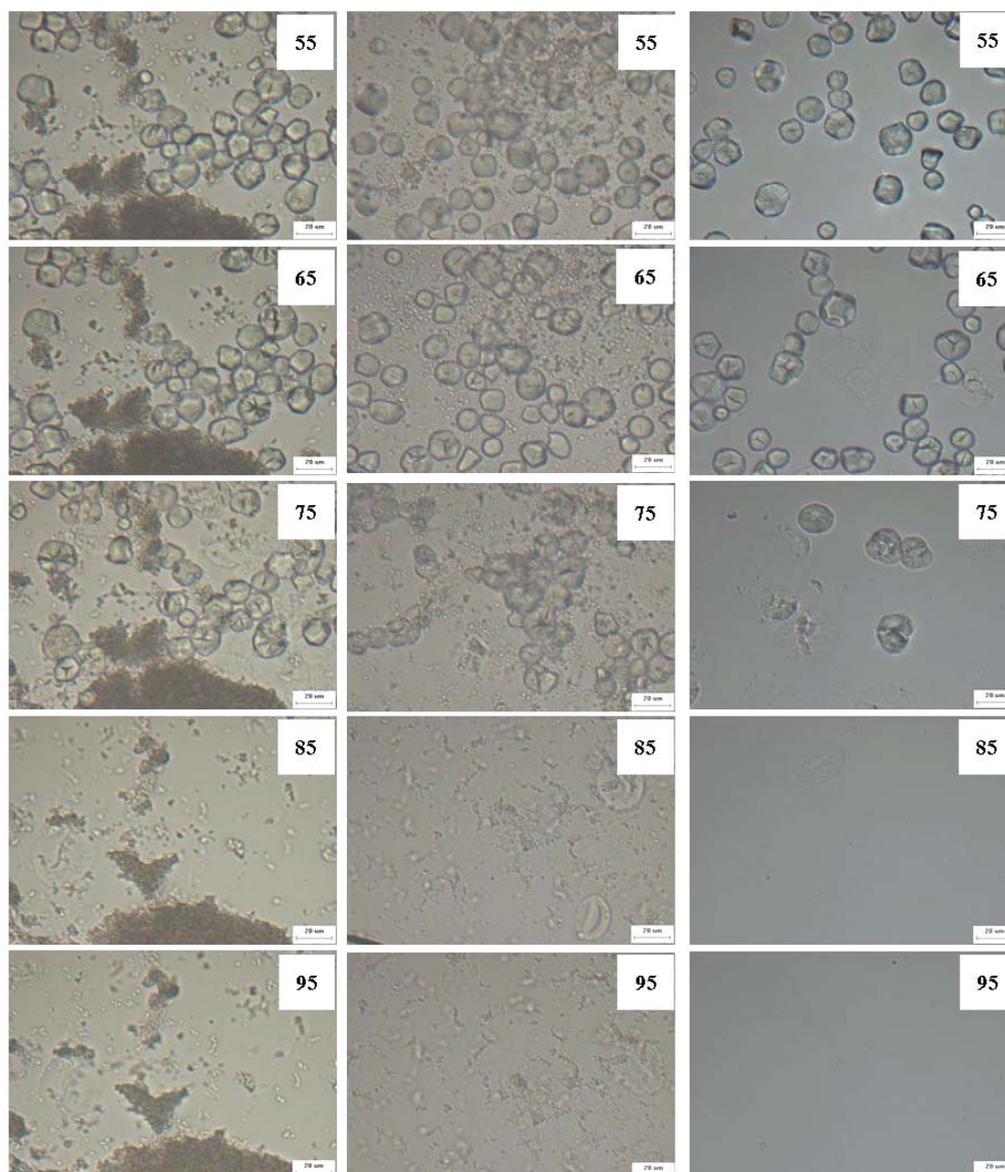
ภาพที่ 37 ลักษณะของโปรตีนในแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาวและพันธุ์เมล็ดดำ เมื่อเติมสารโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) ที่ความเข้มข้นต่างกัน โดยใช้กล้องคอนโฟคอลเลเซอร์สแกนนิ่ง

หมายเหตุ สีแดง คือโปรตีนที่ติดสีซ้อมโรดามีน บี

WACF: White Adlay Composite Flour

BACF: Black Adlay Composite Flour

0.003M และ 0.03M คือ ความเข้มข้นของสาร โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 0.003 และ 0.03 โมลาร์ ตามลำดับ



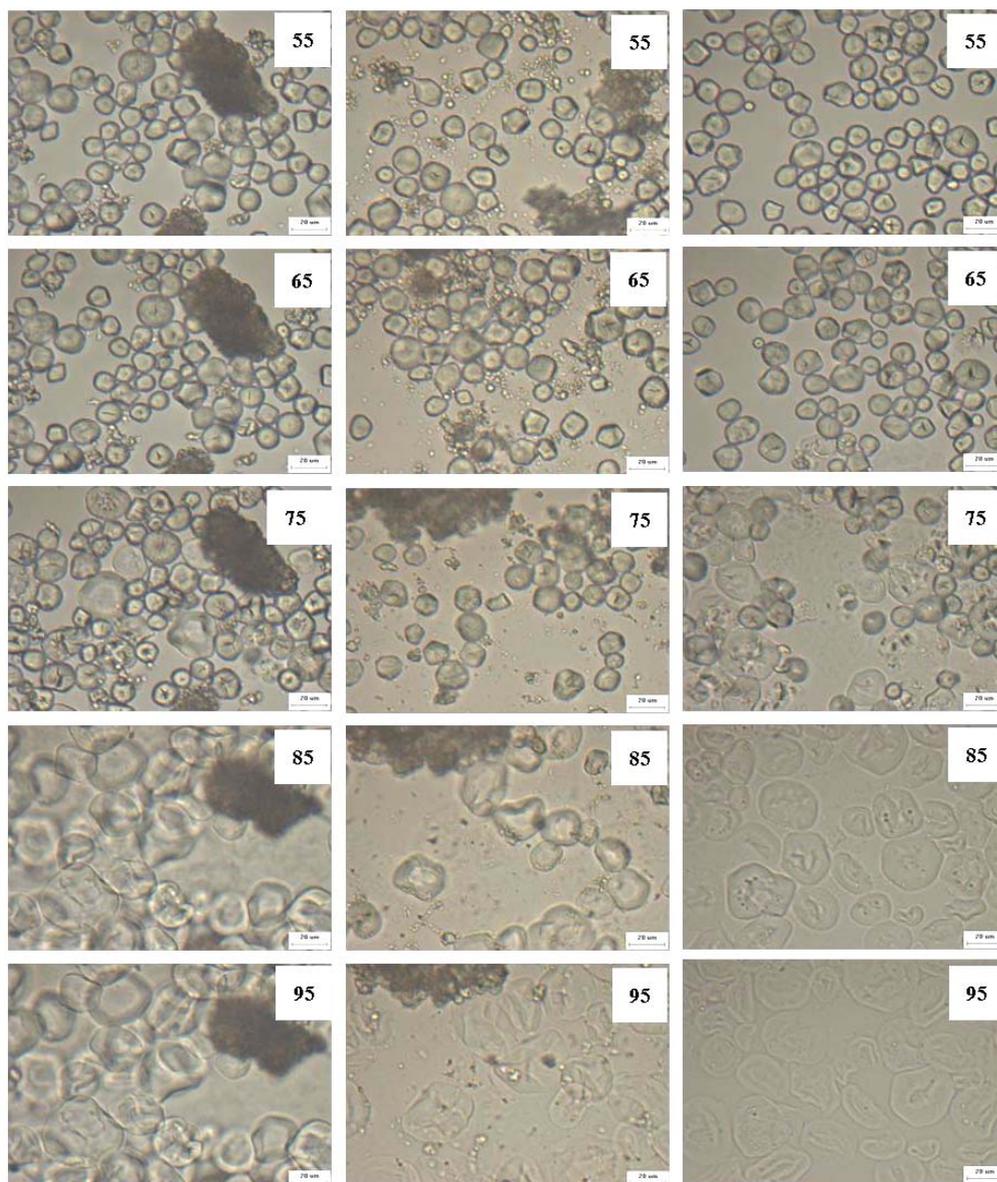
(A)

(B)

(C)

**ภาพที่ 38** การเปลี่ยนแปลงด้านสัณฐานวิทยาของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดขาว เมื่อเติมสารโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างกัน ในระบบที่มีการให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ

**หมายเหตุ** ตัวเลขในภาพ คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) สำหรับอักษรใต้ภาพ A คือ แป้งเชิงประกอบที่ไม่มีการเติมสารโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต ส่วน B และ C คือ แป้งเชิงประกอบที่มีการเติมสารโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต โดยความเข้มข้นของระบบเป็น 0.003 และ 0.03 โมลาร์ ตามลำดับ และกลุ่มก้อนสีดำที่ปรากฏในภาพ คือ กลุ่มก้อนของโปรตีนคอยซิน



(A)

(B)

(C)

**ภาพที่ 39** การเปลี่ยนแปลงด้านสัณฐานวิทยาของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบพันธุ์เมล็ดดำ เมื่อเติมสารโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างกัน ในระบบที่มีการให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ

**หมายเหตุ** ตัวเลขในภาพ คือ อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) สำหรับอักษรได้ภาพ A คือ แป้งเชิงประกอบที่ไม่มีการเติมสาร โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต ส่วน B และ C คือ แป้งเชิงประกอบที่มีการเติมสารโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต โดยความเข้มข้นของระบบเป็น 0.003 และ 0.03 โมลาร์ ตามลำดับ และกลุ่มก้อนสีดำที่ปรากฏในภาพ คือ กลุ่มก้อนของโปรตีนคอยซิน

## สรุปและข้อเสนอแนะ

### สรุป

ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวมีลักษณะเมล็ดสีน้ำตาลอ่อน เมล็ดค่อนข้างกลมโต เปลือกเมล็ดบิบบแตกง่าย ลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำเมล็ดมีสีน้ำตาลเข้มจนกระทั่งดำ เมล็ดมีขนาดเล็กและมีรูปร่างค่อนข้างรี เปลือกเมล็ดหนาบิบบแตกยาก สำหรับสตาตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวและลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำมีโครงสร้างผลึกแบบ A-Type มีร้อยละความเป็นผลึกเท่ากับ 26.76 และ 22.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับปริมาณโปรตีนในแป้งและสตาตาร์ชลูกเดือย พบว่า แป้งและสตาตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 13.28 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่แป้งและสตาตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 14.88 และ 0.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับปริมาณแอมิโลส พบว่า สตาตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำมีปริมาณแอมิโลสเท่ากับ 29.22 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสตาตาร์ชจากลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวที่มีปริมาณแอมิโลสเท่ากับ 11.55 เปอร์เซ็นต์

โปรตีนคอยซินที่สกัดได้จากลูกเดือยทั้ง 2 สายพันธุ์ มีลักษณะการเกาะตัวของเม็ดโปรตีนบอดีเป็นก้อนโปรตีน เมื่อวิเคราะห์ชนิดของโปรตีนคอยซิน พบว่า โปรตีนคอยซินของลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์ มีแถบน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่คล้ายกัน โดยประกอบไปด้วยโปรตีนชนิดแอลฟา รองลงมา คือ บีตา และแกมมา-คอยซิน

แป้งและสตาตาร์ชลูกเดือยมีกำลังการพองตัวและร้อยละการละลายมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยสตาตาร์ชลูกเดือยทั้งสองสายพันธุ์มีกำลังการพองตัวสูงกว่าแป้งลูกเดือย โดยสตาตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวมีลักษณะการพองตัวที่แตกต่างจากสตาตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ สำหรับสมบัติด้านความหนืด พบว่า สตาตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวมีค่าความหนืดสูงสุดและค่าเบรกดาวน์สูงกว่าสตาตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำ สำหรับค่าความหนืดสุดท้ายและค่าเซตแบค พบว่า สตาตาร์ชลูกเดือยพันธุ์ดำมีค่าสูงกว่าสตาตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาว และพบว่าแป้งลูกเดือยพันธุ์เมล็ดดำจะปรากฏพืดความหนืดเกิดขึ้น 2 พืด

แป้งลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวมีช่วงอุณหภูมิ (To-Tp-Tc) และพลังงานในการเกิดเจลลิตีในเซชันเท่ากับ 68.81-76.24-82.86 องศาเซลเซียส และ 8.93 จูลต่อกรัม สำหรับสตาตาร์ชลูกเดือยพันธุ์เมล็ดขาวมีค่าเท่ากับ 68.85-73.37-80.38 องศาเซลเซียส และ 16.41 จูลต่อกรัม สำหรับแป้งลูกเดือยพันธุ์

เมล็ดคามีช่วงอุณหภูมิและพลังงานในการเกิดเจลาทีนในเซชันเท่ากับ 67.76-74.96-80.70 องศาเซลเซียส และ 6.08 จูลต่อกรัม สำหรับสตาร์ชลูกเดี๋ยพันธ์เมล็ดคามีค่าเท่ากับ 65.82-71.75-81.09 องศาเซลเซียส และ 14.83 จูลต่อกรัม เมื่อวิเคราะห์อุณหภูมิและพลังงานในการสลายโครงสร้างผลึกที่เกิดจากกระบวนการรีโทรเกรเดชัน พบว่า การเก็บรักษาตัวอย่างเป็นระยะเวลา 15 ชั่วโมง จะปรากฏพิกเอนโคเทอร์ม เฉพาะตัวอย่าง BAF BAS และ WAS โดยมีช่วงอุณหภูมิ (To-Tc) เท่ากับ 45-73 องศาเซลเซียส สำหรับพลังงานในการสลายโครงสร้างผลึกของตัวอย่าง BAF BAS และ WAS มีค่าพลังงานเท่ากับ 0.12, 2.28 และ 0.98 จูลต่อกรัม ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาตัวอย่างเป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า แป้งและสตาร์ชจากลูกเดี๋ยต้องการช่วงอุณหภูมิในการสลายโครงสร้างผลึก (To-Tc) เท่ากับ 42-64 องศาเซลเซียส สำหรับพลังงานในการสลายโครงสร้างผลึก พบว่า แป้งและสตาร์ชจากลูกเดี๋ยพันธ์เมล็ดขาวต้องการพลังงานในการสลายโครงสร้างผลึกเท่ากับ 5.22 และ 8.88 จูลต่อกรัม สำหรับแป้งและสตาร์ชจากลูกเดี๋ยพันธ์เมล็ดคามีค่าพลังงานเท่ากับ 3.50 และ 6.18 จูลต่อกรัม

อัตราส่วนของโปรตีนคอยซินที่เพิ่มขึ้นทำให้ความหนืดของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบทั้งสองสายพันธุ์มีแนวโน้มลดลง โดยในแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบพันธ์เมล็ดคามีค่า พบว่า การเติมโปรตีนคอยซินกลับในอัตราส่วนเพียง 0.2 จะทำให้แป้งเชิงประกอบปรากฏพิกความหนืด 2 พิก และที่อัตราส่วนของโปรตีนคอยซินต่อสตาร์ชเท่ากับ 0.6 แป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบทั้งสองสายพันธุ์ จะให้ลักษณะความหนืดและค่าความหนืดใกล้เคียงกับแป้งลูกเดี๋ยธรรมชาติ

การเติมสารซีสเทอีนในปริมาณที่เพิ่มขึ้นทำให้พิกความหนืดของแป้งลูกเดี๋ยทั้งสองสายพันธุ์มีแนวโน้มลดลง สำหรับแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบพันธ์เมล็ดขาวเมื่อเติมสารซีสเทอีนจะมีลักษณะความหนืดคล้ายกับแป้งธรรมชาติ สำหรับแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบพันธ์เมล็ดคามีค่า พบว่า ค่าความหนืดของพิกทั้งสองขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของซีสเทอีน

การเติมสาร โซเดียม โดเดซิล ซัลเฟต ทำให้ความหนืดของแป้งลูกเดี๋ยทั้งสองสายพันธุ์มีค่าเพิ่มขึ้น แต่ในระบบของแป้งลูกเดี๋ยเชิงประกอบทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า การเติมสาร โซเดียม โดเดซิล ซัลเฟตทำให้ค่าความหนืดสูงสุดมีแนวโน้มลดลง

### ข้อเสนอแนะ

ขั้นตอนในการขัดสีเมล็ดลูกเดือยควรใช้เครื่องขัดสีที่มีลักษณะที่จำเพาะกับเมล็ดลูกเดือย เช่นเดียวกับเครื่องขัดสีเชิงการค้า ซึ่งจะทำให้ได้ลูกเดือยที่มีส่วนของรำหลงเหลืออยู่น้อยและมีการแตกหักของเมล็ดน้อย

ควรมีการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาโครงสร้างภายในเมล็ดลูกเดือยด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด ซึ่งจะทำให้ทราบถึงการจัดเรียงตัวและการเกาะเกี่ยวกันขององค์ประกอบภายในเมล็ดลูกเดือย เช่น สตาร์ช และ โปรตีน

ควรมีการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงด้านสัณฐานวิทยาของเมล็ดสตาร์ชเมื่อผ่านกระบวนการให้ความร้อน ด้วยกล้องคอนโฟคอลเลเซอร์สแกนนิ่ง เพื่อให้ทราบถึงการกระจายตัวของโปรตีนในสตาร์ช และทราบถึงการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านเคมีเชิงฟิสิกส์อันเนื่องมาจากโปรตีนในสตาร์ชมากขึ้น

ในกระบวนการตรวจสอบสมบัติด้านความหนืดของแป้งลูกเดือยเชิงประกอบ ควรมีการตรวจวัดปริมาณพันธะไดซัลไฟด์ และซัลไฟไฮดริลอิสระ ในแต่ละช่วงของกระบวนการตรวจสอบสมบัติด้านความหนืดของตัวอย่าง ได้แก่ ช่วงให้ความร้อน ช่วงคงอุณหภูมิไว้ที่ 95 °C และช่วงการลดอุณหภูมิลง ทำให้เข้าใจถึงกลไกการเกิดของพันธะไดซัลไฟด์และซัลไฟไฮดริลอิสระ ที่ส่งผลต่อสมบัติด้านความหนืดของแป้งเชิงประกอบ

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ. 2546. เทคโนโลยีของแป้ง. พิมพ์ครั้งที่ 3. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- กรมวิชาการเกษตร. 2548. ลูกเดือย. ฐานความรู้กรมวิชาการเกษตร (DOA Plant Knowledge Bass). แหล่งที่มา: [http://www.doa.go.th/pl\\_data/02\\_LOCAL/oard3/duay/body.html](http://www.doa.go.th/pl_data/02_LOCAL/oard3/duay/body.html). 19 เมษายน 2549.
- ทัศนีย์ พรกิจประสาน. 2530. ลูกเดือย: คุณสมบัติบางประการและผลิตภัณฑ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ยุพดี สิทธิบุศย์. 2526. รายงานวิเคราะห์เมล็ดเดือย. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2527. การศึกษาคุณสมบัติของแป้งบางชนิด. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 2 (1): 58-68.
- สมเกียรติ ฐิตะฐาน. 2547. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สกว สถานภาพองค์ความรู้ด้านการผลิต การตลาด และการแปรรูป “เดือย” .
- สำนักงานพาณิชย์จังหวัดเลย. 2548. ภาวะการผลิต การตลาด สินค้าเกษตรที่สำคัญ จังหวัดเลย ปีการผลิต 2547/48. แหล่งที่มา: <http://www.moc.go.th/opscenter/ly/CORP.PDF>. 22 เมษายน 2549.
- เสาวนีย์ จักรพิทักษ์. 2525. หลักโภชนาการปัจจุบัน. ไทยวัฒนาพานิชย์, กรุงเทพฯ.
- Aguilera, J.M. and D.W. Stanley. 1999. **Microstructural principles of food processing and engineering**. 2<sup>nd</sup> ed. An Aspen Publication. Maryland. USA.

- Almeida-Dominguez, H.D., E.L. Suhendro and L.W. Rooney. 1997. Factors affecting rapid visco analyser curves for the determination of maize kernel hardness. **J. Cereal Sci.** 25:93-102.
- A.O.A.C.. 2000. **Official Methods of Analysis**. 20<sup>th</sup> ed. The Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.
- Baldwin, P.M. 2001. Starch granule-associated protein proteins and polypeptides. **Starch/Starke**. 53: 475-503.
- Baxter, G., C. Blanchard and J. Zhao. 2004. Effect of prolamin on the textural and pasting properties of rice flour and starch. **J. Cereal Sci.** 40: 205-211.
- Biliaderis, C.G. 1998. Structure and phase transitions of starch polymers, pp. 57-168. *In* R. H. Walter, ed. **Polysaccharide Association Structures in Food**. Marcel Dekker Inc, New York.
- \_\_\_\_\_ and B.O. Juliano. 1993. Thermal and mechanical properties of concentrated rice starch gels of varying composite. **Food Chem.** 48: 243-250.
- \_\_\_\_\_ and J.R. Tonogai. 1991. Influence of lipids on the thermal and mechanical properties of concentrated starch gel. **J. Agric. Food Chem.** 39: 833-840.
- \_\_\_\_\_ and J. Zawistowski. 1990. Viscoelastic behavior of aging starch gels; effects of concentration, temperature, and starch hydrolysates on network properties. **Cereal Chem.** 67(7): 240-246.
- Blanshard, J.M.V. 1987. Starch granule structure and function: A physicochemical approach. *In* T. Gailiard ed. **Starch: Properties and Potential**. John Wiley and Sons., New York.

- Buleon, A., P. Colonna, V. Planchot and S. Ball. 1998. Starch granules structure and biosynthesis. **Int. J. Biol. Macromol.** 23: 85-112.
- Chandrashekar, A. and A.W. Kirleis. 1988. Influence of protein on starch gelatinization in sorghum. **Cereal Chem.** 65: 457-462.
- Chang, H.C., Y.H. Huang and W.C. Hung. 2003. Antiproliferative and chemopreventive effects of adlay seed on lung cancer in vitro and in vivo. **J. Agric. Food Chem.** 51: 3656-3660.
- Chanvrier, H., P. Colonna, G.D. Valle and D. Lourdin. 2005. Structure and mechanical behaviour of corn flour and starch-zein based materials in the glassy state. **Carbohydr. Polym.** 59: 109-119.
- Cheetham, N.W.H. and L.P. Tao. 1998. Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. **Carbohydr. polym.** 36: 277-284.
- Debet, M.R. and M.J. Gidley. 2006. Three classes of starch granule swelling: Influence of surface proteins and lipids. **Carbohydr. Polym.** 64: 452-465.
- Deo, N., S. Jockusch, N.J. Turro and P. Somasundaran. 2003. Surfactant interactions with zein protein. **Langmuir.** 19: 5083-5088.
- Duodu, K.G., J.R.N. Taylor, P.S. Belton and B.R. Hamaker. 2003. Factors affecting sorghum protein digestibility. **J. Cereal Sci.** 38: 117-131.
- Egermayer, M., J.Norrman and I. Piculell. 2003. Gel of hydrophobically modified hydroxyethyl cellulose cross-link by amylase competition by added surfactant. **Langmuir.** 19:10036-10043.

- Eliasson, A.C. 1985. Starch gelatinization in the presence of emulsifiers a morphological study of wheat starch. **Starch/Starke**. 37: 411-415.
- \_\_\_\_\_ and H.R. Kim. 1995. A dynamic rheological method to study the interaction between starch and lipids. **J. Rheol.** 39: 1519-1534.
- Elkhalifa, A.E. O., A. Chandrashekar, B.E. Mohamed and A.H.E. Tinay. 1999. Effect of reducing agents on the in vitro protein and starch digestibilities of cooked sorghum. **Food Chem.** 66: 323-326.
- Elsenhaver, F. and W. Schulz. 1992. Monte carlo simulation of the hydration shell of double-helical amylose: A left-handed antiparallel double helix fits best into liquid water structure. **Biopolymers**. 32: 1643-1664.
- Gidley, M.J. 1987. Factors affecting the crystalline type (A-C) of native starches and model compounds: a rationalization of observed effects in terms of polymorphic structures. **Carbohydr. Res.** 161: 301-304.
- Goldner, W.R. and C.D. Boyer. 1989. Starch granule-bound protein and polypeptides: the influence of waxy mutations. **Starch/Starke**. 41: 250-254.
- Gray, J.A. and J.N. BeMiller. 2001. Accessibility of starch granules to fatty acid amides. **Cereal Chem.** 78: 236-242.
- Guo, Y., Z. Liu, H. An, M. Li and J. Hu. 2005. Nano-structure and properties of maize zein studied by atomic force microscopy. **J. Cereal Sci.** 41: 277-281.
- Hamaker, B.R. and B.A. Bugusu. 2003. **Overview: Sorghum proteins and food quality.** Department of Food Science, Purdue University and the INTSORMIL CRSP West Lafayette, Indiana, USA. Available Source: <http://www.afripro.org.uk/papers/paper08Hamaker.pdf>, October 20, 2007.

\_\_\_\_\_ and V.K. Griffin. 1990. Changing the viscoelastic properties of cooked rice through protein disruption. **Cereal Chem.** 67: 261-264.

\_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. 1993. Effect of disulfide bond-containing protein on rice starch gelatinization and pasting. **Cereal Chem.** 70: 377-380.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and K.A.K. Moldenhauer. 1991. Potential influence of starch granule-associated protein on cooked rice stickiness. **J. Food Sci.** 56: 1327-1329.

\_\_\_\_\_, A.A. Mohamed, J.E. Habben, C.P. Huang and B.A. Larkins. 1995. Efficient procedure for extracting maize and sorghum kernel proteins reveals higher prolamin contents than the conventional method. **Cereal Chem.** 72: 583-588.

Han, X.Z. and B.R. Hamaker. 2002a. Location of starch granule-associated proteins revealed by confocal laser scanning microscopy. **J. Cereal Sci.** 35: 109-116.

\_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. 2002b. Association of starch granule proteins with starch ghosts and remnants revealed by confocal laser scanning microscopy. **Cereal Chem.** 79: 892-896.

Hizukuri, S. 1986. Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectin and its significance. **Carbohydr. Res.** 147: 342-347.

Huang, B.W., M.T. Chiang, H.T. Yao and W. Chiang. 2005. The effect of adlay oil on plasma lipid, insulin and leptin in rat. **Phytomedicine** . 12: 433-439.

Imberty, A., A. Buleon, V. Tran and S. Perez. 1991. Recent advances in knowledge of starch structure. **Starch/Starke.** 43: 375-384.

Jobling, S. 2004. Improving starch for food and industrial applications. **Curr. Opin. Plant Biol.** 7: 210-218.

- Juliano, B.O. 1971. A simplified assay for milled-rice amylose. **Cereal Sci. Today**. 16(10): 334-360.
- Kulp K. and G.J. Ponte. 2000. **Handbook of Cereal Science and Technology**. 2<sup>nd</sup> ed. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Kuo, C.C., M.C. Shih, Y.H. Kuo and W. Chiang. 2001. Antagonism of free-radical-induced damage of adlay seed and its antiproliferative effect in human histolytic lymphoma U937. **J. Agric. Food Chem.** 49: 1564-1570.
- Kurakake, M., H. Hagiwara and T. Komaki. 2004. Effect of various surfactants on rheological properties of maize starch granules. **Cereal Chem.** 81: 108-114.
- Lagrain, B., K. Brijs and J.A. Delcour. 2006. Impact of redox agents on the physico-chemistry of wheat gluten proteins during hydrothermal treatment. **J. Cereal Sci.** 44: 49-53.
- Langton, M. and A.M. Hermansson. 1989. Microstructural change in wheat starch dispersions during heating and cooling. **Food microstructure**. 2:29-39.
- Leite, A., J.A. Yones, S.R. Turcinelli and P.A. Cenins. 1992. Characterization of a cDNA encoding a sulfur-rich coixin. **Plant Mol. Biol.** 18: 172-174.
- Leloup, V.M., P. Colonna and A. Buleon. 1991. Influence of amylase-amylopectin ratio on properties. **J. Cereal Sci.** 13: 1-13.
- Li, J. and H. Corke. 1999. Physicochemical properties of normal and waxy Job's tears (*Coix lachryma-jobi* L.) starch. **Cereal Chem.** 76: 413-416.
- Li, J.Y. and A.I. Yeh. 2001. Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. **J. Food Eng.** 50: 141-148.

- Li, M. and T.C. Lee. 1996. Effect of cysteine on the functional properties and microstructures of wheat flour extrudates. **J. Agric. Food Chem.** 44: 1871-1880.
- \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. 1998. Effect of cysteine on the molecular weight distribution and the disulfide cross-link of wheat flour proteins in extrudates. **J. Agric. Food Chem.** 46: 846-853.
- Lineback, D.R. 1984. The starch granule: organization and properties. **Bakers Digest.** 58(2): 16-21.
- Marco, C. and C.M. Rosell. 2008. Effect of different protein isolates and transglutaminase on rice flour properties. **J. Food Eng.** 84:132.139.
- Miles, M.J., V.J. Morris, P.D. Orford and S.G. Ring. 1985. The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. **Carbohydr. Res.** 135: 271-281.
- Mira, I., A.C. Eliasson and K. Persson. 2005. Effect of surfactant structure on pasting properties of wheat flour and starch suspensions. **Cereal Chem.** 82: 44-52.
- Morrison, W.R. and J. Karkalas. 1990. Starch. pp. 323-352. *In*: P.M. Dey, ed. **Method in Plant Biochemistry.** vol. 2. Academic Press, London.
- Mousia, Z., S. Edherly, S.S. Pandiella and C. Webb. 2004. Effect of wheat pearling on flour quality. **Food Res. Int.** 37: 449-459.
- Mua, J.P. and D.S. Jackson. 1997. Fine structure of corn amylose and amylopectin fractions with various molecular weights. **J. Agric. Food Chem.** 45: 3840-3847.

- Mu-Forster, C. and B.P. Wasserman. 1998. Surface location of zein storage protein in starch granules from maize endosperm: Proteolytic removal by thermolysin and in vitro cross-linking of granule-associated polypeptides. **Plant Physiol.** 116: 1563-1571.
- Oates, C.G. 1997. Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trends Food Sci. Tech.** 8:375-382.
- Ottoboni, L.M. M., A. Leite, M.L.N. Targon, A. Crozier and P. Arruda. 1990. Characterization of the storage protein in seed of *Coix lacryma-jobi* var. adlay. **J. Agric. Food Chem.** 38: 631-635.
- Patel, B.K., D. Saibene and K. Seetharaman. 2006. Restriction of starch granule swelling by iodine during heating. **Cereal Chem.** 83: 173-178.
- Ruso, J.M., N. Deo and P. Somasundaran. 2004. Complexation between dodecyl sulfate surfactant and zein protein in solution. **Langmuir.** 20: 8988-8991.
- Sato, S. and Y. Miyata. 1975. Properties of the grain and the starch of matomugi. **J. Home Econ.** 21: 30-37.
- Sessa, D.J., G.W. Selling, J.L. Willett and D.E. Palmquist. 2006. Viscosity control of zein processing with sodium dodecyl sulfate. **Ind. Crop. Prod.** 23: 15-32.
- Shewry, P.R. and A.S. Tatham. 1990. The prolamin storage protein of cereal seeds: structure and evolution. **J. Biochem.** 267: 1-12.
- \_\_\_\_\_ and N.G. Halford. 2003. **The prolamin storage proteins of sorghum and millets.** Long Ashton Research Station, Ashton, Bristol BS41 9AF.UK. Available Source: <http://www.afripro.org.uk/papers/Paper03Shewry.pdf>, October 20, 2007.

- \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. 2002. Cereal seed storage protein: structures, properties and role in grain utilization. **J. Experimental Bot.** 53: 947-958.
- Shull, J.M., J.J. Watterson and A.W. Kirleis. 1992. Purification and immunocytochemical location of kafirins in sorghum bicolor (*L. Moench*) endosperm. **Protoplasma.** 171: 64-74.
- Singh, N., J.Singh, L. Kaur, N.S. Sodhi and B.S. Gill. 2003. Morphological, thermal and rheological properties of starch from different botanical sources. **Food Chem.** 81: 219-231.
- Silverio, J., H. Fredriksson, R. Anderson, A.C. Eliasson and P. Aman. 2000. The effect of temperature cycling on the amylopectin retrogradation of starches with different amylopectin unit-chain length distribution. **Carbohydr. Polym.** 42: 175-184.
- Sira, E.E.P. and M.L. Amaiz. 2004. A laboratory scale method for isolation of starch from pigmented sorghum. **J. Food Eng.** 64: 515-519.
- Slade, L. and H. Levine. 1987. Recent advances in starch retrogradation. pp. 387-430. *In* S.S. Stilva, V. Cresconzi and I.C.M. Dea eds, **Industrial Polysaccharides**. Gordon and Breach. New York.
- Tatham, A.S. , R.J. Fido, C.M. Moore, D.D. Kasarda, D.D. Kuzmicky, J.N. Keen and P.R. Shewry. 1996. Characterisation of major prolamins of Tef (*Eragrostis tef*) and Finger millet (*Eleusine coracana*). **J. Cereal Sci.** 24: 65-71.
- Taylor, J., J.R.N. Taylor, M.F. Dutton and S.D. Kock. 2005. Identification of kafirin film casting solvents. **J. Food Chem.** 90: 401-408.
- Tester, R.F., J. Karkalas and X. Qi. 2004. Starch-composition, fine structure and architecture. **J. Cereal Sci.** 39: 151-165.

- Tseng, Y.H., J.H. Yang, H.L. Chang and J.L. Mau. 2004. Taste quality of monascal adlay. **J. Agric. Food Chem.** 52: 2297-2300.
- Vodovotz, Y., P. Chinachoti. 1998. Glassy-rubbery transition and recrystallization during aging of wheat starch gel. **J. Agric. Food Chem.** 46: 446-453.
- Whistler, R.L. and J.N. BeMiller. 1999. **Carbohydrate Chemistry for Food Scientists**. 2<sup>nd</sup> ed. American Association of Cereal Chemists. Minnesota. USA.
- Wu, H.C.H. and A. Sarko. 1978. The double-helical molecular structure of crystalline A-amylose. **Carbohydr. Res.** 61: 27-40.
- Yamamoto, M., T. sano, S. Harada and T. Yasunaga. 1983. Coopreativity in the binding of sodium dodecyl sulfate to amylose. **Bull. Chem. Soc. Jpn.** 56: 2643-2646.
- Yang, C.C., S.M. Chang, S.C. Sang and C.Y. Lii. 1978. Studies on the starch in Taiwan 2 taro, water chestnut (trapa) and job's tears. **Food Sci.** 5(2): 73-87.
- Yang, J.H. , Y.H. Tseng, H.L. Chang, Y.L. Lee and J.L. Mau. 2004. Storage stability of monascal adlay. **Food Chem.** 90: 303-309.
- Zhang, G. and B.R. Hamaker. 1998. Low  $\alpha$ -amylose starch digestibility of cooked sorghum flours and the effect of protein. **Cereal Chem.** 75: 710-713.
- ZeleznaK, K.J. and R.C. HoseneY. 1987. Characterization of starch from bread aged at different temperatures. **Starch/Starke.** 39: 231-233.
- Zobel, H.F. 1988. Starch crystal transformations and their industrial importance. **Starch/Starke.** 40: 1-7.

**ภาคผนวก**

**ภาคผนวก ก**

วิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบและสมบัติของ  
แป้ง สตาร์ช และ โปรตีนจากลูกเดือย

## การวิเคราะห์ทางเคมี

### ก1. วิธีวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2000)

#### 1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1.1.1 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- 1.1.2 ภาชนะใส่ตัวอย่าง (moisture can)
- 1.1.3 เดซิกเคเตอร์ (desiccator)

#### 1.2 วิธีการวิเคราะห์

อบภาชนะใส่ตัวอย่าง ในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง นำมาใส่ในเดซิกเคเตอร์ ที่ไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ชั่งตัวอย่างแป้งลูกเดียวให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 3 กรัม ใส่ในภาชนะใส่ตัวอย่าง อบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง นำออกมาใส่เดซิกเคเตอร์ ที่ไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้อง นำไปชั่งน้ำหนัก

#### 1.3 วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(W_1 - W_2)}{W_1} \times 100$$

เมื่อ  $W_1$  = น้ำหนักตัวอย่างและภาชนะใส่ตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)  
 $W_2$  = น้ำหนักตัวอย่างและภาชนะใส่ตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

## ก2. วิธีวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (A.O.A.C., 2000)

### 2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1.1 เครื่องวิเคราะห์ไขมัน (Soxtec System HT2; 1045 Extraction unit)

2.1.2 เครื่องทำความเย็น

2.1.3 Extraction cup

2.1.4 ทิมเบิล (thimble)

2.1.5 เดซิกเคเตอร์ (desiccator)

### 2.2 สารเคมี

ปิโตรเลียมอีเทอร์ที่มีจุดเดือดในช่วง 40 – 60 องศาเซลเซียส

### 2.3 วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 2 กรัม บนกระดาษกรอง และห่อให้มีดซิด จากนั้นนำมาใส่ลงในทิมเบิลที่สะอาดและแห้ง เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ที่มีจุดเดือดในช่วง 40 – 60 องศาเซลเซียส ประมาณ 45 มิลลิลิตร ลงใน extraction cup นำทิมเบิลที่บรรจุตัวอย่างและ extraction cup ต่อเข้ากับเครื่องวิเคราะห์ไขมัน ทำการสกัดไขมันโดยการจุ่มทิมเบิลที่มีตัวอย่างลงในปิโตรเลียมอีเทอร์ที่มีการให้ความร้อนตลอดเวลา (boiling) เป็นเวลา 20 นาที และยกทิมเบิลที่มีตัวอย่างขึ้น โดยให้ปิโตรเลียมอีเทอร์ไหลผ่านและชะไขมันออกจากตัวอย่างตลอดเวลา (rinsing) เป็นเวลา 45 นาที หลังจากนั้นระเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ออกจากไขมันที่สกัดได้ (evaporation) เป็นเวลา 10 นาที นำ extraction cup ที่มีไขมันที่สกัดจากตัวอย่างมาอบในตู้ลมร้อน ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมาทำเย็นในเดซิกเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก

## 2.4 วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{W_3 - W_2}{W_1} \times 100$$

เมื่อ

$W_1$  = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

$W_2$  = น้ำหนัก extraction cup ก่อนสกัดไขมัน (กรัม)

$W_3$  = น้ำหนัก extraction cup หลังสกัดไขมัน (กรัม)

## ก3. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (A.O.A.C., 2000)

### 3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1.1 เครื่องย่อย Buchi

3.1.2 หลอด Kjeldahl สำหรับย่อย

3.1.3 เครื่องกลั่นอัตโนมัติ Buchi

### 3.2 สารเคมี

3.2.1 กรดซัลฟูริกเข้มข้น

3.2.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 35

3.2.3 สารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4

3.2.4 สารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน 0.1 นอร์มัล

3.2.5 คอปเปอร์ซัลเฟต

3.2.6 โปแตสเซียมซัลเฟต

3.2.7 อินดิเคเตอร์ผสมระหว่างเมธิลเรดและโบรโมครีซอลกรีน

### 3.3 วิธีการวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.5 – 1 กรัม ลงในหลอดย่อยเคลดาค้าห์ล (Kjeldahl) ใส่สารเร่งปฏิกิริยาประกอบด้วย โปแตสเซียมซัลเฟต 7 กรัมและคอปเปอร์ซัลเฟต 0.8 กรัม พร้อมด้วย glass bead 3 เม็ด เติมกรดซัลฟูริกประมาณ 15 มิลลิลิตร ต่อชุดย่อยเข้ากับชุดจับไอกรดแล้วทำการย่อยจนได้สารละลายใส ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร ต่อเข้ากับชุดกลั่นซึ่งมีการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 ลงไปประมาณ 50 มิลลิลิตร ทำการกลั่นเป็นเวลาประมาณ 3 นาที แล้วรองรับสิ่งที่กลั่นได้ด้วยขวดรูปชมพู่ที่บรรจุสารละลายกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ที่มีอินดิเคเตอร์ซึ่งประกอบด้วยเมทิลเรด 0.1 กรัม และโบรโมครีซอลกรีน 0.1 กรัม ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ 100 มิลลิลิตร ประมาณ 3 หยด แล้วนำไปไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งเปลี่ยนเป็นไม่มีสี โดยทำแบบลงค์ควบคู่ไปกับตัวอย่าง

### 3.4 วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณ โปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(T - B) \times N \times 1.401 \times 100 \times 5.83}{W}$$

- เมื่อ
- T = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
  - B = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตกับแบบลงค์ (มิลลิลิตร)
  - N = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มัล)
  - W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)
- \* ค่าแฟกเตอร์ของโปรตีนเท่ากับ 5.83 (Tseng *et al.*, 2004)

## ก4. วิธีวิเคราะห์ปริมาณถั่ว (A.O.A.C., 2000)

### 4.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 4.1.1 เตาเผา (muffle furnace)
- 4.1.2 ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (crucible)
- 4.1.3 เคชิกเคเตอร์ (desiccator)

## 4.2 วิธีการวิเคราะห์

ทำการเผาด้วยกระบือียงเคลือบพร้อมฝา ในเตาเผา muffle furnace ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง นำด้วยกระบือียงเคลือบพร้อมฝา มาใส่ในเดซิเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ชั่งตัวอย่างแป้งลูกเดียว 3 กรัม ใส่ในด้วยกระบือียงเคลือบ และนำไปเผาด้วยตะเกียงจนหมดควันจึงนำไปเข้าเตาเผา muffle furnace ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จนตัวอย่างเป็นเถ้าสีขาวหรือสีเทา นำด้วยกระบือียงเคลือบที่บรรจุตัวอย่างที่ผ่านการเผาพร้อมฝา มาใส่ในเดซิเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องและชั่งน้ำหนัก

## 4.3 วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{W_1 - W_2}{W_3} \times 100$$

เมื่อ  $W_1$  = น้ำหนักด้วยกระบือียงเคลือบพร้อมด้วยฝาและตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)  
 $W_2$  = น้ำหนักด้วยกระบือียงเคลือบพร้อมด้วยฝาและตัวอย่างหลังเผา (กรัม)  
 $W_3$  = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

## ก5. วิธีวิเคราะห์ปริมาณเส้นใยหยาบ (A.O.A.C., 2000)

### 5.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 5.1.1 ชุดวิเคราะห์เส้นใยหยาบ (Fibertec System M)
- 5.1.2 Crucible Fiber
- 5.1.3 เครื่องทำความเย็น
- 5.1.4 ตู้อบลมร้อน (hotair oven)
- 5.1.5 เตาเผา (muffle furnace)
- 5.1.6 เดซิเคเตอร์ (desiccator)

## 5.2 สารเคมี

5.2.1 สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.255 นอร์มัล

5.2.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.313 นอร์มัล

5.2.3 ออกทานอล (n-octanal)

## 5.3 วิธีการวิเคราะห์

ทำการเผา crucible fiber ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำมาทำเย็นในเดซิกเคเตอร์ ที่อุณหภูมิห้อง ชั่งตัวอย่างแป้งลูกเดียวประมาณ 0.5-3 กรัม ( $W_1$ ) ใส่ใน crucible fiber แล้วประกอบ crucible fiber เข้ากับเครื่องในส่วนของ Fibertec Hot Extraction Unit แล้วทำการเติมสารละลายสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.255 นอร์มัล ลงในคอลัมน์ คอลัมน์ละประมาณ 150 มิลลิลิตร ตามด้วยการหยดออกทานอลลงในคอลัมน์ประมาณคอลัมน์ละ 2-3 หยด ทำการสกัดนาน 30 นาที และทำการดูดสารละลายออกจากคอลัมน์ และทำการล้างกรดด้วยน้ำกลั่น หลังจากนั้นทำการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.313 นอร์มัล ลงในคอลัมน์ ประมาณคอลัมน์ละ 150 มิลลิลิตร ทำการสกัดเป็นเวลานาน 30 นาที แล้วทำการล้างด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 คอลัมน์ละ 10 มิลลิลิตร นำ crucible fiber ไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ  $130 \pm 2$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ที่อุณหภูมิห้อง ทำการชั่งน้ำหนัก ( $W_2$ ) นำ crucible fiber ไปเผาในเตาเผา muffle furnace ที่อุณหภูมิ  $550 \pm 10$  องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำ crucible fiber ที่ผ่านการเผาแล้วทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ที่อุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนัก crucible fiber ใต้น้ำหนัก ( $W_3$ )

## 5.4 วิธีการคำนวณ

$$\text{ปริมาณเส้นใยหยาบ (ร้อยละ)} = \frac{W_2 - W_3}{W_1} \times 100$$

เมื่อ  $W_1$  = น้ำหนักตัวอย่าง  
 $W_2$  = น้ำหนัก crucible + กาก  
 $W_3$  = น้ำหนัก crucible + เถ้า

## ก6. วิธีคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต

### 6.1 วิธีการคำนวณ

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) = 100 - (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้งของโปรตีน + ไขมัน + เถ้า + ความชื้น + เส้นใยหยาบ)

## ก7. วิธีวิเคราะห์ปริมาณแอมิโลส (Juliano, 1971)

### 7.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

7.1.1 ขวดกำหนดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

7.1.2 สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

7.1.3 เครื่องชั่ง

7.1.4 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

### 7.2 สารเคมี

7.2.1 เอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95

7.2.2 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์

7.2.3 กรดแอซติก ความเข้มข้น 1 โมลาร์

7.2.4 แอมิโลสบริสุทธิ์จากสตาร์ชมันฝรั่ง

7.2.5 ไอโอดีน

### 7.3 วิธีการวิเคราะห์

7.3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานแอมิโลส ชั่งแอมิโลสบริสุทธิ์ 0.040 กรัมใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ อย่าให้แอมิโลสเกาะผนังขวด เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ให้ความร้อนกับตัวอย่างในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้สตาร์ชเกิดการเจลลิ่งที่ในซ จากนั้นทิ้งให้เย็น เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายเข้ากันดี

7.3.2 การเตรียมตัวอย่างเตรียมเช่นเดียวกับการเตรียมสารละลายมาตรฐานแอมิโลส ยกเว้นแต่ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 0.1000 กรัม แทนแอมิโลสบริสุทธิ์

7.3.3 การวิเคราะห์ตัวอย่าง ปิเปตสารละลายจากข้อ 7.3.2 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นประมาณ 70 มิลลิลิตร ปิเปตกรดอะซิติก 1 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 20 นาที และสำหรับแบลนค์ (blank) ทำเช่นเดียวกันแต่ไม่ต้องใส่ตัวอย่าง

วัดความเข้มสีโดยใช้สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร โดยปรับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแบลนค์เท่ากับ 0

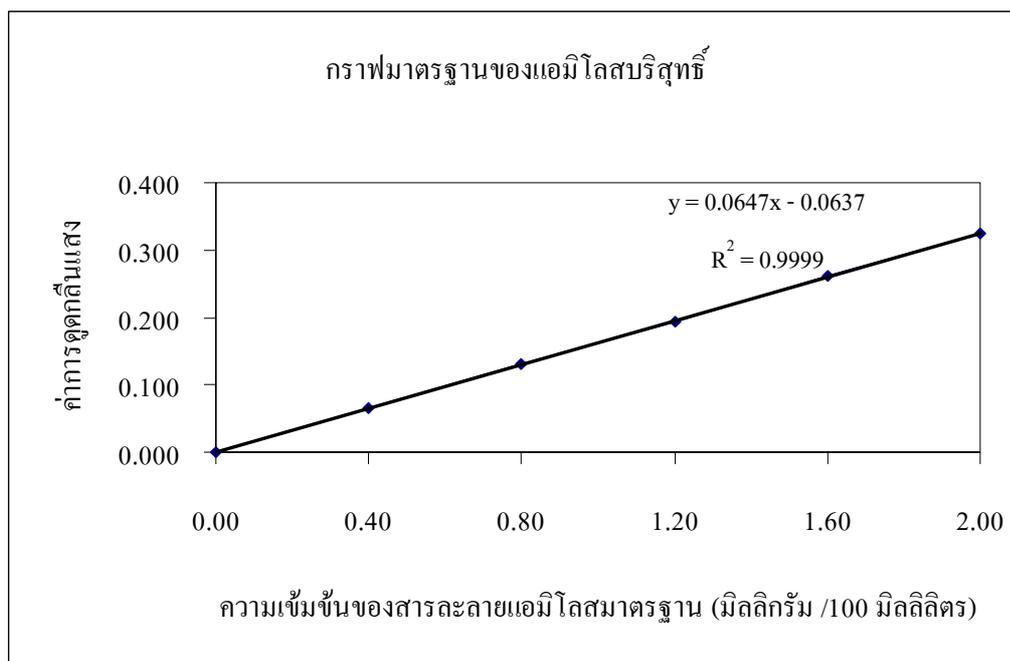
7.3.4 การเตรียมกราฟมาตรฐาน ปิเปตสารละลายมาตรฐานจากข้อ 7.3.1 ปริมาตร 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 70 มิลลิลิตร ปิเปตกรดอะซิติก 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดแก้วที่มีสารละลายมาตรฐานตามลำดับ และปิเปตสารละลายไอโอดีน 2 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ครบ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้สารละลายเข้ากัน

วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร และเขียนเป็นกราฟระหว่างแอมิโลส (กรัม/แป้ง 100 กรัม หรือคิดเป็นร้อยละ 8, 16, 24, 31 และ 40) กับค่าการดูดกลืนแสง

การเปลี่ยนค่าการดูดกลืนแสงเป็นปริมาณแอมิโลส นำค่าการดูดกลืนแสงที่มีปริมาณตัวอย่าง 0.1000 กรัมของแต่ละตัวอย่าง เทียบกับกราฟมาตรฐาน (ภาพผนวกที่ ก1) แล้วเปรียบเทียบค่าเป็นร้อยละของแอมิโลสต่อแป้ง 100 กรัม

#### 7.4 วิธีคำนวณการคำนวณ

$$\text{ร้อยละของปริมาณแอมิโลส} = \frac{\text{ความเข้มข้นที่อ่านได้จากสารละลายมาตรฐานแอมิโลส (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)} \times 100}{5 \times \text{น้ำหนักสารแห้ง}}$$



ภาพผนวกที่ ก1 ปริมาณแอมิโลสและค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน

ก8. การศึกษาคุณลักษณะของโปรตีนโพรลามินที่สกัดได้โดยวิธี SDS-PAGE  
(ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Ottoboni *et al.* (1990))

### 8.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

8.1.1 ตัวอย่างโปรตีน

8.1.2 ชุด Mini – Protein II Electrophoresis Cell และ Power Supply (BIO-RAD)

8.1.3 Hotplate Stirrer

8.1.4 เครื่อง Microcentrifuge และหลอด microcentrifuge

8.1.5 ชุด Suction flask

8.1.6 Transfer Pipette ขนาด 5 ul, 10 ul, 50 ul

8.1.7 ชุด Gel destainer

8.1.8 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

8.1.9 ขวดปริมาตร (Volumetric flask)

8.1.10 บีกเกอร์

8.1.11 แท่งแก้ว

### 8.1.12 ซ้อนตักสาร

## 8.2 สารเคมี

8.2.1 โปรตีนมาตรฐาน (Protein standard, SigmaMarker™, Low molecular weight range)

8.2.2 อะคริลาไมด์-เพจ (Acrylamide-PAGE)

8.2.3 เมทิลีนบิสอะคริลาไมด์ (Methylenebisacrylamide)

8.2.4 ทริส (ไฮดรอกซิลเมทิล) อะมิโนมีเทน (Tris (Hydroxymethyl))

8.2.5 เตตระเมทิลเอทิลีนไดเอมีน (Tetramethylethylenediamine (TEMED))

8.2.6 บีตา-เมอร์แคปโตเอทานอล ( $\beta$ -Mercaptoethanol)

8.2.7 แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต (Ammonium persulfate)

8.2.8 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)

8.2.9 กลีเซอรอล (Glycerol)

8.2.10 บริลเลียนท์บลู อาร์ 250 (Brilliant blueR (Coomassie™ brilliant blue R-250))

8.2.11 โบรโมฟีโนลบลู (Bromophenol blue)

8.2.12 โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate)

8.2.13 ไกลซีน (Glycine)

8.2.14 กรดแอสिटิก (Acetic acid)

8.2.15 เมทิลแอลกอฮอล์ (Methanol)

## 8.3 วิธีการ

### 8.3.1 การเตรียม Separating Gel

ก. ประกอบ Mini - gel apparatus (Bio-Rad, Mini Protein II) ตามวิธีประกอบ แผ่นแก้วต้องสะอาดและแห้ง สวมถุงมือในการประกอบเครื่อง

ข. ผสมสารละลายของเจล ตามตารางผนวกที่ ก1

โดยผสมสารละลายต่างๆ ตามตารางใน Sidearm flask ยกเว้น APS และ TEMED ซึ่งจะใส่หลังการ degas แล้ว 15 นาที โดยค่อยๆ ผสม APS และ TEMED ลงในสารละลายที่ผ่านการ degas เพื่อช่วยให้เกิดการพอลิเมอไรซ์เซชัน (polymerization)

ตารางผนวกที่ ก1 สูตรสำหรับการเตรียม SDS-PAGE Separating และ Stacking Gels

ส่วนประกอบ	Separating Gel (0.375 M Tris, pH 8.80)			Stacking Gel (0.125 M Tris, pH 6.8)
	15% gel	12% gel	7.5% gel	4% gel
1) Distilled water	2.35 ml	3.35 ml	4.85 ml	6.1 ml
2) 1.5 M Tris-HCL, pH 8.8	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml	-
3) 0.5 M Tris-HCL, pH 6.8	-	-	-	2.5 ml
4) 10% (w/v) SDS	100 ul	100 ul	100 ul	100 ul
5) Acrylamide/bis (30%1, 2.67%(stock) (Degas for $\geq$ 15 min at room temperature)	5 ml	4 ml	2.5 ml	1.33 ml
6) 10% ammonium persulfate (fresh daily)	50 ul	50 ul	50 ul	50 ul
7) TEMED	5 ul	5 ul	5 ul	10 ul
Total Monomer	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml

ค. ใช้ปิเปตค่อยๆ คูดเจลใส่ลงในช่องระหว่างแผ่นแก้ว (ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ) จนถึงระดับประมาณ 1.5 ถึง 2 เซนติเมตร จากขอบบนของแผ่นแก้วที่มีระดับต่ำกว่าทำโดยรวดเร็วก่อนที่เจลจะแข็ง

ง. ใช้ปิเปตอันใหม่คูดสารละลาย water-saturated isobutyl alcohol ปิดทับเจลหนาประมาณ 3 มิลลิเมตร

จ. ตั้งทิ้งไว้ 45-60 นาที ให้เจลเกิดการพอลิเมอไรซ์ได้ isobutyl alcohol จะเห็นรอยต่อระหว่างเจลและสารละลายที่คลุมผิวเจลอย่างชัดเจน

ฉ. เมื่อเจลพอลิเมอไรซ์ให้คูด water-saturated isobutyl alcohol ออกทันทีด้วย Pasteur pipette ถ้างส่วนบนของเจลด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง และซับให้แห้งด้วยกระดาษกรอง

### 8.3.2 การเตรียม Stacking Gel

ก. เตรียม 10 มิลลิลิตร ของ Stacking Gel ตามตารางผนวก ก1 โดยผสมสารทั้งหมดเข้าด้วยกันใน sidearm flask ที่ผ่านการ degas แล้ว 15 นาที จึงค่อยๆ เติม APS และ TEMED ลงไป

ข. ชั้บตอนบนของ separating gel ให้แห้งด้วยกระดาษกรองอย่าให้มีฟองอากาศค้างอยู่บนเจล

ค. คูด Stacking Gel ด้วยปิเปตที่สะอาด ค่อยใส่ลงตรงกลางร่องแผ่นแก้วลงตามมาด้านข้างของ spacer จนได้ความสูงของเจลบนแผ่นแก้วประมาณ 3 เซนติเมตร

ง. ค่อยสอด Teflon Comb ลงในชั้นของ stacking gel ที่ละช่องเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดฟองอากาศโดยเติม stacking ให้เต็ม

จ. ปล่อยให้เจลพอลิเมอร์ไรซ์ 30-40 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

### 8.3.3 การ Loading ตัวอย่าง

การ load ตัวอย่างมี 2 วิธี คือ ใส่ในหลุมเจลที่เตรียมไว้โดยใช้ well-forming comb หรือ load ตัวอย่างเคียวบน gel surface ในกรณีตัวอย่างเหลว

#### ก. Load Sample Well

เตรียมตัวอย่างจำนวน 1 มิลลิลิตร โดยละลายตัวอย่างโปรตีนใน sample buffer ที่มี 10% glycerol อย่างน้อย 1 เท่าของตัวอย่างโปรตีนใน microcentrifuge tube ปิดฝานำไปต้ม 1 นาที ที่ 100 องศาเซลเซียส (ตามคู่มือ BIORAD ให้เจือจางอย่างน้อย 1:4 เท่า ด้วย sample buffer และต้ม 95 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที)

ถ้าตัวอย่างแห้งละลายด้วย sample buffer จำนวน 50 ถึง 100 ไมโครลิตร ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วหมุนเหวี่ยงให้ตัวอย่างใส นำตัวอย่างใส่ลงในหลุมกลางของเจล

ข. เตรียม electrode buffer 300 มิลลิลิตร โดยผสม 5x electrode buffer 60 มิลลิลิตร กับน้ำ 240 มิลลิลิตร

ค. เลื่อนระดับ inner cooling core ลงใน buffer chamber อันล่างเติม buffer ประมาณ 115 มิลลิลิตรใน upper buffer chamber ซึ่งอยู่ด้านในแล้วเติมเพิ่มจนถึงระดับครึ่งหนึ่ง ระหว่าง short และ long plate อย่าให้สั้น chamber อันบน

ง. เติม buffer ที่เหลือใส่ chamber ด้านล่างจนท่วม gel ตอนล่าง 1 เซนติเมตร ถ้ามีฟองอากาศใช้ปิเปตกววนไล่ฟองอากาศ

จ. ใส่ตัวอย่าง 5 ไมโครลิตร ลงใน well ข้างใต้ electrode buffer ด้วย Hamitol syringe หรือ ไมโครปิเปต การใส่ตัวอย่างให้ปล่อยตัวอย่างลงที่ระยะ 1 – 2 มิลลิเมตร จาก well bottom โดยให้ปลาย syringe หรือ ปลายปิเปต จรดที่บริเวณมุมของหลุม

### 8.3.3 Loading Single Sample per gel

เป็นการแยกตัวอย่างบน flat gel surface ในการวิเคราะห์เตรียม stacking gel ให้ถึงระดับ 1 มิลลิเมตร จาก short plate โดยไม่ใช้ comb ปิดทับด้วย overlay solution เมื่อเจลแข็งแล้ว ริน overlay solution ออกและประกอบส่วน core บรรจุ electrode buffer ลงใน chamber บน และล่าง ค่อยๆ ใส่ตัวอย่างให้สม่ำเสมอเริ่มจากเจลด้านหนึ่งจนตลอดตามยาว โคนใส่ลงให้ใกล้ผิวเจลมากที่สุด (1-2 มิลลิเมตร)

### 8.3.5 Running the gel

ก. เปิด power supply กำหนดความต่างศักย์ไฟฟ้าเป็น 100 โวลต์ ใช้เวลาในการ run ตัวอย่างประมาณ 1 ชั่วโมง 30 นาที

ข. เปิดฝาเซลล์นำ cooling core ขึ้นในขึ้นมาจาก chamber ล่าง เท electrode buffer ใน chamber อันบนทิ้งไป

ค. ปิด power supply และเอาสายที่ต่อออก

ง. ดัน clamp ออกจาก cooling core

จ. คลายสกรู sandwich clamp assemblies ออก

ฉ. นำแผ่น sandwich ออกและใช้คีบ (forceps) ค่อยๆ ดันแผ่นแก้วออก ในขณะที่ดันแผ่นแก้วออกให้ใช้น้ำกลั่น rinse ตามตลอด

### 8.3.6 การทำ Staining

ก. เตรียม Staining solution ซึ่งประกอบไปด้วย บริลเลียนบลูอาร์ 250 (Coomassies Brilliant Blue R 250) 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในสารละลายซึ่งประกอบด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ และกรดแอซิดที่มีความเข้มข้น 40 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทำการกรอง Staining solution ด้วยกระดาษกรอง

ข. ค่อยๆ นำเจลบนแผ่นแก้วมาใส่ในภาชนะที่มี staining solution ที่ไว้ประมาณ 30 นาที

### 8.3.7 การทำ Destaining

นำเจลมาแช่ในสารละลาย ซึ่งประกอบด้วยเมทิลแอลกอฮอล์และกรดแอซิด 40 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทำการล้างแผ่นเจลด้วยสารละลาย destain หลายๆ ครั้ง จนเห็นแถบสีน้ำเงินของโปรตีนอย่างชัดเจน

## ก9. การตรวจสอบลักษณะรูปร่างของแป้ง สตาร์ช และโปรตีนคอยชินด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

### 9.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

9.1.1 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (JEOL, JSM-5600LV, England)

9.1.2 แผ่น aluminium stub ติดด้วยเทปกาวคาร์บอนสองหน้า

9.1.3 เครื่องเคลือบทอง (Iron-coater IB-2)

### 9.2 วิธีการวิเคราะห์

9.2.1 ติดเทปกาวคาร์บอนหนึ่งด้าน บน aluminium stub

9.2.2 นำตัวอย่างที่ผ่านการอบไล่ความชื้นแล้วติดบนเทปกาวคาร์บอนอีกด้านที่เหลือ

9.2.3 นำ aluminium stub ที่ผ่านการติดตัวอย่างแล้ว เข้าเครื่องเคลือบทอง เพื่อเคลือบทองลงบนผิวหน้าของตัวอย่าง สำหรับช่วยนำประจุอิเล็กตรอน

9.2.4 วางแท่น aluminium stub ที่ผ่านการเคลือบทองแล้วใส่ลงในช่องใส่ aluminium stub ภายในตัวกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

9.2.5 ตรวจสอบลักษณะรูปร่างตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยควบคุมอัตราเร่งความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 10 กิโลโวลต์ และใช้กำลังขยายที่ 1,000 ถึง 5,000 เท่า

9.2.6 คัดเลือกภาพบริเวณที่ต้องการ ปรับโฟกัสให้ชัดแล้วจึงทำการบันทึกภาพ

### 9.3 สถานที่วิเคราะห์

หน่วยงานกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ฝ่ายเครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

## ก10. การวิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างผลึกของแป้งและสตาร์ช

### 10.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องเอกซเรย์ ดิฟแฟรคโทมิเตอร์ (X-ray diffractometer, JEOL, JDX-3530, Japan)

### 10.2 วิธีการวิเคราะห์

10.1.1 บรรจุตัวอย่างแป้งและสตาร์ชลงในอุปกรณ์สำหรับบรรจุตัวอย่าง โดยเกลี่ยตัวอย่างให้แน่น และผิวหน้าเรียบเนียน

10.1.2 วิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างผลึกของอนุภาคแป้งและสตาร์ชด้วยเครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรคโทมิเตอร์ โดยกำหนดสภาวะการทดลอง คือ แหล่งกำเนิดรังสีเป็นทองแดง (Cu) ความต่างศักย์ไฟฟ้า 30 กิโลโวลต์ ใช้กระแสไฟฟ้า 40 มิลลิแอมแปร์ เริ่มสแกนที่มุมหักเหช่วง 3 ถึง 40 องศา ด้วยอัตราเร็ว 0.02 องศาต่อวินาที

10.1.3 บันทึกรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ที่ได้และคำนวณค่าร้อยละของความเป็นผลึกโดยการเปรียบเทียบ (Relative crystallinity) โดยมีวิธีการคำนวณดังนี้

$$\text{ค่าร้อยละความเป็นผลึก} = \frac{\text{พื้นที่ใต้พีค}}{\text{พื้นที่ทั้งหมดของสเปกตรัม}} \times 100$$

### 10.3 สถานที่วิเคราะห์

ห้องปฏิบัติการเอกซเรย์ดิฟแฟรคชันและเอกซเรย์ฟูออเรสเซนส์ ศูนย์เทคโนโลยีโลหะ  
และวัสดุแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

## ก11. การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงความหนืด

### 11.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว (Rapid visco analyzer, RVA3D, Newport  
Scientific Instruments & Engineering, Australia)

### 11.2 วิธีวิเคราะห์

11.2.1 ชั่งตัวอย่างจำนวน 2.5 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ใส่ลงในภาชนะใส่ตัวอย่าง

11.2.2 ชั่งน้ำหรือสารละลายเพิ่มจนน้ำหนักรวมของตัวอย่างครบ 28 กรัม ใส่ลงใน  
ถ้วยอะลูมิเนียมของเครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว

11.2.3 ใส่แป้งหรือสตาร์ชลงบนผิวหน้าของน้ำหรือสารละลาย ใช้ใบพายคนโดยยก  
ใบพายขึ้นลงและคนไปมาประมาณ 10 ครั้ง จนกระทั่งตัวอย่างกระจายในสารละลายอย่างทั่วถึง

11.2.4 ใส่ใบพายลงในถ้วยอะลูมิเนียมและสวมใบพายเข้ากับที่ยึดของเครื่องวิเคราะห์  
ความหนืดแบบรวดเร็ว โดยให้ตำแหน่งใบพายอยู่กึ่งกลางถ้วย และจึงกดมอเตอร์ของเครื่องมือลง  
สถานะของเครื่องสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่าง

ตารางผนวกที่ ก2 สภาวะที่ใช้วิเคราะห์ตัวอย่าง เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและเวลา

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลา (นาที:วินาที)
50.0 (อุณหภูมิเริ่มต้น)	0:00
50.0	2:00
95.0	9:50
95.0	14:50
50.0	22:00
สิ้นสุดการทดสอบ	27:00

หมายเหตุ สำหรับความเร็วรอบเริ่มต้นที่ใช้ คือ 960 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 วินาที แล้วจึงใช้ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที คงที่ตลอดการทดสอบ

11.2.5 บันทึกอุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืด (pasting temperature) ความหนืดสูงสุด (peak viscosity) ความหนืดต่ำสุด (trough) ความหนืดสุดท้าย (final viscosity) ค่าความหนืดลดลงหรือค่าเบรกดาวน์ (breakdown) คือ ค่าความแตกต่างระหว่างความหนืดสูงสุดและความหนืดต่ำสุด และค่าเซตแบค (setback) คือ ค่าความแตกต่างระหว่างความหนืดสุดท้ายและความหนืดต่ำสุด

## ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวมยุรกาญจน์ เดชกฤษ
วัน เดือน ปี ที่เกิด	11 พฤศจิกายน 2524
สถานที่เกิด	จังหวัดนครราชสีมา
ประวัติการศึกษา	วท. บ. (เทคโนโลยีการอาหาร) คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนพัฒนาอาจารย์และบุคลากร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร