



บทที่ 2

เครื่องมือ อุปกรณ์ วัสดุ สารเคมี และวิธีการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่งวิเคราะห์ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (analytical balance; Precisa 303A)
2. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (top load balance; Ohaus)
3. ตู้อบลมร้อน (hot air oven; Binder model ED 240/E2)
4. ตู้เพาะฟักควบคุมอุณหภูมิ (incubator)
5. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (water bath shaker)
6. เครื่อง UV/Vis Spectrophotometer (UV-Vis; Spectronic genesysTM 2, USA)
7. เครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM; Phillip XL 30 ESEM)
8. เครื่อง X-ray Diffractometer (XRD; Siemens D-500 X-ray diffractometer)
9. เครื่อง Differential Scanning Calorimeter (DSC-7, Perkin Elmer Corp., USA)
10. เครื่องตอกอัดเม็ดยาแบบสากเดี่ยว (Single punch tabletting machine)
11. เครื่องตอกอัดเม็ดยาสึกไฮดรอลิก (Hydraulic press)
12. เครื่องวัดความแข็งของเม็ดยา (tablet hardness tester)
13. เครื่องวัดความกร่อนของเม็ดยา (Tablet friabilator)
14. เครื่องวัดการแตกตัวของเม็ดยา (Tablet disintegration test machine)
15. เครื่องวัดการละลายของเม็ดยา (Tablet dissolution machine)
16. เครื่องเคาะผงยา (Jolting volumeter)
17. เครื่องคนสารไฟฟ้าแม่เหล็กชนิดให้ความร้อนได้ (hot plate stirrer; Labinco 532)
18. เครื่องปั่นผสมอาหาร (blender)
19. เครื่องผสม vortex mixer
20. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
21. เตาเผาอุณหภูมิสูง
22. ตู้ดูดควัน
23. เตาไฟฟ้า
24. ไมโครมิเตอร์
25. ชุดสากและเบ้าตอกสำหรับเครื่องไฮดรอลิก (punch and die for hydraulic press)



26. ชุดกลั่นตัวทำละลาย (Solvent distillation set)
27. ปั๊มสูญญากาศ, Medi-pump model 1132D
28. นาฬิกาจับเวลา
29. pH meter (pHScan WP 2, Eutech Instruments, USA)
30. เซลล์ควอทซ์สำหรับเครื่อง UV/Vis Spectrophotometer
31. ภาชนะทำแห้ง (Desiccator)
32. Suction flask ขนาด 2000 มิลลิลิตร
33. เทอร์โมมิเตอร์ขนาด 0-100°C
34. ถ้วยเผา (porcelain crucible)
35. บิวเรต
36. บีเปด
37. โกร่งและลูกโกร่ง
38. กรวยแก้วปลายตัดและปลายเนียง
39. ขาดังพร้อมที่ยึดกรวย
40. ถาดอลูมิเนียม
41. หลอดทดลองแก้ว ขนาด 15*200 มม.
42. จานตัวอย่าง DSC
43. ฟาสเตอร์บีเปดและลูกยาง
44. จานชั่ง ช้อนเขว และแท่งแก้วคน
45. แร้ง เบอร์ 50, 60
46. ปีกเกอร์ ขวดปรับปริมาตร และขวดแก้วรูปชมพู่ ขนาดต่างๆ
47. กระบอกตวงขนาดต่างๆ

วัสดุและสารเคมี

1. เมล็ดขนุน พันธุ์ทองประเสริฐ
2. สารมาตรฐานอะมิโลส
3. กรดโมโนคลอโรอะซิติก AR
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ AR
5. โซเดียมคลอไรด์ AR



6. โซเดียมซัลเฟต AR
7. โซเดียมไบซัลไฟด์
8. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น AR
9. กรดอะซิติกเข้มข้น AR
10. เมทานอล AR และ commercial grade
11. สารละลายซิลเวอร์ไนเตรท 1%
12. สารละลาย I_2/KI
13. *m*-cresol purple TS
14. phenolphthalein TS
15. กระดาษกรอง
16. แผ่นอะลูมิเนียมฟอยด์
17. ถูมียาง
18. น้ำกลั่น
19. อะซิโตน

วิธีการทดลอง

การเตรียมแป้งเมล็ดขนุน

การเตรียมเมล็ดขนุน

นำเมล็ดขนุนสดพันธุ์ทองประเสริฐที่ซื้อจากตลาดวโรรส จ.เชียงใหม่ จากร้านเดียวในคราวเดียวกัน จำนวน 20 กิโลกรัม มาล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง นำไปแช่ในสารละลาย 2%w/v โซเดียมไฮดรอกไซด์ ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จะได้เมล็ดขนุนที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีน้ำตาล (brown spermoderm) ลอกเยื่อหุ้มเมล็ดที่เป็นสีน้ำตาลออกจะได้ส่วนเนื้อเมล็ดสีขาว (cotyledon) นำไปแช่ในสารละลายโซเดียมไบซัลไฟด์ 0.5% จากนั้นนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ

การเตรียมฟลาวจากเมล็ดขนุน

ใช้วิธีการที่รายงานไว้ก่อนหน้านี้ (อรอนงค์ และคณะ, 2554) โดยมีรายละเอียดขั้นตอนดังนี้

1. นำเมล็ดขนุนที่หั่นเป็นชิ้นแล้วมาปั่นผสมกับสารละลายโซเดียมไบซัลไฟด์ 0.5% ในเครื่องปั่นผสมอาหาร โดยใช้อัตราส่วนระหว่างเมล็ดขนุนต่อสารละลายโซเดียมไบซัลไฟด์เท่ากับ 200 กรัม : 1 ลิตร นาน 10 นาที



2. กรองกากออกโดยใช้ผ้าขาวบาง นำกากที่เหลือมาทำการปั่นและกรองซ้ำอีก 1 ครั้ง เก็บ filtrate ที่ได้ และวางทิ้งไว้ค้างคืน
3. เทสารละลายส่วนบนทิ้ง และนำตะกอนด้านล่างมาทำการกรองโดยใช้เครื่อง Vacuum pump ผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 และทำการเก็บฟลาว
4. นำฟลาวที่ได้มาผสมบนถาดอะลูมิเนียม แล้วนำไปอบภายในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60°C นาน 24 ชั่วโมง เพื่อให้แห้ง
5. นำฟลาวที่แห้งแล้วมาบด และนำไปผ่านร่อนขนาด 40 และ 80 mesh ตามลำดับ เพื่อให้ได้ผงฟลาวสีขาวขนาดเล็ก แล้วเก็บไว้ในภาชนะบรรจุปิดสนิท

การสกัดแป้งดิบออกจากฟลาว

ใช้วิธีการที่รายงานไว้ก่อนหน้านี้ (อรอนงค์ และคณะ, 2554) โดยขั้นตอนประกอบด้วย

1. ชั่งฟลาวจากเมล็ดขนุนน้ำหนักประมาณ 200 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร
2. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.05 M ปริมาตร 600 มล. ผสมให้เข้ากัน ตั้งบนเครื่องคนสารด้วยแม่เหล็ก เปิดเครื่องให้คนอย่างสม่ำเสมอเป็นเวลา 5 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง
3. เมื่อครบเวลานำส่วนผสมที่ได้มากรองผ่านตะแกรงลวดที่มีขนาดรู 75 ไมครอน
4. ทำซ้ำขั้นตอน 2 และ 3 อีก 2 ครั้ง หลังจากนั้น ตั้งส่วนผสมที่ได้ทิ้งไว้ค้างคืนเพื่อให้เม็ดแป้งตกตะกอน
5. เทสารละลายส่วนบนทิ้งไป ล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำปราศจากอ็อกซิเจนครั้งละ 600 มล. จำนวน 3 ครั้ง แล้วแช่ตะกอนที่ได้ด้วยน้ำปราศจากอ็อกซิเจนปริมาตร 600 มล.
6. ปรับพีเอชให้ได้เท่ากับ 7 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 M ตั้งส่วนผสมที่ได้ให้ตกตะกอนแล้วจึงทิ้งสารละลายส่วนบนพร้อมทั้งตะกอนส่วนบนที่มีสีคล้ำทิ้ง
7. นำแป้งที่สกัดได้มาล้างด้วยน้ำปราศจากอ็อกซิเจนอีก 8 ครั้ง ครั้งละ 600 มล. แล้วตั้งส่วนผสมที่ได้ให้ตกตะกอนแล้วจึงทิ้งสารละลายส่วนบน
8. นำแป้งที่ได้ใส่ในภาชนะสะอาด นำไปอบที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำแป้งแห้งที่ได้มาบดแล้วนำมาผ่านร่อนเบอร์ 60 ก่อนเก็บในภาชนะที่มีฝาปิดสนิท
9. อบผงแป้งที่ได้ในตู้อบอุณหภูมิ 40-60°C จนกระทั่งมีความชื้นน้อยกว่า 13% แล้วจึงนำไปบดด้วยโกร่งและลูกโกร่ง แล้วนำไปผ่านร่อนขนาด 70 mesh เก็บผงแป้งที่ได้ในถุงพลาสติกปิดสนิทที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งใช้

การเตรียมแป้งต้านทานการย่อยจากแป้งดิบเมล็ดขนุน

วิธีการตัดแปรทางกายภาพ

ใช้กระบวนการ heat-moisture treatment (HMT) ในตู้อบลมร้อน โดยมีตัวแปรสภาวะการเตรียมประกอบด้วย

ความชื้น 5 ระดับ (native, 20, 25, 30, 35%w/w)

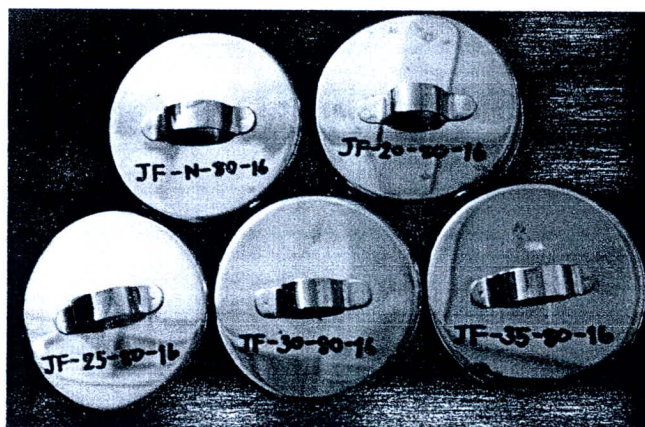
อุณหภูมิ 5 ระดับ (80, 90, 100, 110, 120°C)

ระยะเวลา 3 ระดับ (6, 12, 16 h)

รวมจำนวนตัวอย่าง 75 ตัวอย่าง

ขั้นตอนการเตรียม เป็นดังนี้

1. นำแป้งเมล็ดขนุนมาแช่ในน้ำ ตั้งทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง
2. กรองแยกแป้งออกจากน้ำด้วยชุดกรองสุญญากาศ ตั้งแป้งไว้ให้ความชื้นระเหยออก
3. สุ่มตัวอย่างแป้งมาทดสอบหาปริมาณความชื้นจนได้ค่าความชื้นตามที่กำหนด
4. นำแป้งที่มีค่าความชื้นตามที่ระบุไว้ในกระป๋องเหล็กปลอดสนิม ปิดผนึกฝาให้ไม่มีอากาศหรือความชื้นเข้าออกได้ (hermetically sealed) ตามรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 ภาชนะเตรียมตัวอย่างแป้งเมล็ดขนุนต้านทานการย่อยด้วยวิธีความชื้นร้อน

5. นำกระป๋องบรรจุแป้งไปอบให้ความร้อนในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่กำหนด
6. เมื่อครบเวลา นำแป้งออกจากกระป๋อง นำไปอบที่อุณหภูมิ 45°C จนกระทั่งมีความชื้นไม่เกิน 13%
7. นำแป้งไปลดขนาด ผ่านร่อนเบอร์ 80 เก็บรักษาในภาชนะปิดสนิท



ตารางที่ 2.1 รหัสตัวอย่าง และสภาวะความชื้น อุณหภูมิ และระยะเวลา ของการดัดแปรแป้งเมล็ด
ขนุนด้วยความร้อน-ความชื้น (HMT) จำนวน 75 สภาวะ

MC (%)	Temperature (°C)					h
	80	90	100	110	120	
N	JF-N-80-6	JF-N-90-6	JF-N-100-6	JF-N-100-6	JF-N-100-6	6
	JF-N-80-12	JF-N-90-12	JF-N-100-12	JF-N-100-12	JF-N-100-12	12
	JF-N-80-16	JF-N-90-16	JF-N-100-16	JF-N-100-16	JF-N-100-16	16
20	JF-20-80-6	JF-20-90-6	JF-20-100-6	JF-20-100-6	JF-20-100-6	6
	JF-20-80-12	JF-20-90-12	JF-20-100-12	JF-20-100-12	JF-20-100-12	12
	JF-20-80-16	JF-20-90-16	JF-20-100-16	JF-20-100-16	JF-20-100-16	16
25	JF-25-80-6	JF-25-90-6	JF-25-100-6	JF-25-100-6	JF-25-100-6	6
	JF-25-80-12	JF-25-90-12	JF-25-100-12	JF-25-100-12	JF-25-100-12	12
	JF-25-80-16	JF-25-90-16	JF-25-100-16	JF-25-100-16	JF-25-100-16	16
30	JF-30-80-6	JF-30-90-6	JF-30-100-6	JF-30-100-6	JF-30-100-6	6
	JF-30-80-12	JF-30-90-12	JF-30-100-12	JF-30-100-12	JF-30-100-12	12
	JF-30-80-16	JF-30-90-16	JF-30-100-16	JF-30-100-16	JF-30-100-16	16
35	JF-35-80-6	JF-35-90-6	JF-35-100-6	JF-35-100-6	JF-35-100-6	6
	JF-35-80-12	JF-35-90-12	JF-35-100-12	JF-35-100-12	JF-35-100-12	12
	JF-35-80-16	JF-35-90-16	JF-35-100-16	JF-35-100-16	JF-35-100-16	16



วิธีการดัดแปรทางเคมี

แป้งเมล็ดขนุนคาร์บอกซีเมทิล

เตรียมแป้งเมล็ดขนุนคาร์บอกซีเมทิล (CMJF) โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายภายใต้สภาวะที่มีการปรับเปลี่ยน 3 ตัวแปร คือ

อัตราส่วนโมลของแป้ง : ต่าง 3 ระดับ

อุณหภูมิ 2 ระดับ (50, 70°C)

ระยะเวลาของปฏิกิริยา 3 ระดับ (60, 120, 180 min)

รวมจำนวนตัวอย่าง 18 ตัวอย่าง

ตารางที่ 2.2 สภาวะการดัดแปรแป้งเมล็ดขนุนด้วยปฏิกิริยาคาร์บอกซีเมทิลเลขจำนวน 18 สภาวะ

รหัสตัวอย่าง	แป้ง (g)	NaOH (g)	Starch:NaOH	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (min)
CMJF-1	138	30	1.03	50	60
CMJF-2	138	30	1.03	50	120
CMJF-3	138	30	1.03	50	180
CMJF-4	138	30	1.03	70	60
CMJF-5	138	30	1.03	70	120
CMJF-6	138	30	1.03	70	180
CMJF-7	138	40	0.77	50	60
CMJF-8	138	40	0.77	50	120
CMJF-9	138	40	0.77	50	180
CMJF-10	138	40	0.77	70	60
CMJF-11	138	40	0.77	70	120
CMJF-12	138	40	0.77	70	180
CMJF-13	138	50	0.62	50	60
CMJF-14	138	50	0.62	50	120
CMJF-15	138	50	0.62	50	180
CMJF-16	138	50	0.62	70	60
CMJF-17	138	50	0.62	70	120
CMJF-18	138	50	0.62	70	180



ขั้นตอนการเตรียม เป็นดังนี้

1. เติมหั่วทำละลาย 254 กรัม ลงในขวดกันกลม 3 หัว ที่มีแท่งแม่เหล็กใส่อยู่ และตั้งอยู่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิบน hot-plate stirrer เปิดเครื่องให้หมุนช้าๆ
2. เติมกรดคลอโรอะซิติก 40 กรัม ลงในหั่วทำละลายรอให้เครื่องกวนหมุนจนละลายหมด
3. ค่อยๆ เติมแป้งเมล็ดยาน 138 กรัม ลงในสารละลายในข้อ 2 อย่างช้าๆ คนอย่างต่อเนื่องให้กระจายตัว
4. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 50%w/w ปริมาณ 79.5 กรัม ลงไปในส่วนผสมที่ได้จากข้อ 3 อย่างช้าๆ
5. ให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิ 70°C เริ่มจับเวลาของปฏิกิริยา และคงอุณหภูมินี้เป็นระยะเวลา 60 นาที โดยมีการคนส่วนผสมอย่างสม่ำเสมอ ภายใต้สภาวะ reflux เพื่อป้องกันการระเหยออกของหั่วทำละลาย
6. เมื่อครบเวลา ลดอุณหภูมิของส่วนผสมลงให้เหลือประมาณ 40°C หรือต่ำกว่า เทของผสมออกจากขวดลงในบีกเกอร์ขนาด 2000 มล. สะเทินด้วยการตะลิก จนกระทั่งได้ค่าพีเอช 7.0
7. กรองส่วนผสมที่ผ่านการสะเทินแล้วผ่านกระดาษกรองโดยใช้ชุดกรองสุญญากาศ
8. ล้างแป้งติดแปร โดยการกระจายตัวอย่างใน 80% เมทานอล ปริมาตร 500 มล. คนให้ทั่วประมาณ 1-2 นาที แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง ทำซ้ำหลายๆ ครั้ง จนกระทั่งการทดสอบเมทานอลที่ใช้ในการล้างแป้งด้วยการหยดสารละลายซิลเวอร์ไนเตรดแล้วไม่เกิดตะกอน
9. ล้างแป้งติดแปรครั้งสุดท้ายด้วย AR grade เมทานอล ปริมาตร 500 มล.
10. นำแป้งติดแปรที่เตรียมได้ไปอบแห้งที่อุณหภูมิประมาณ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
11. นำผงแป้งติดแปรที่แห้งแล้วมาลดขนาดผ่านร่อนเบอร์ 60 เก็บในภาชนะปิดสนิท กันแสง

แป้งเมล็ดยานเชื่อมขวาง

เตรียมแป้งเมล็ดยานเชื่อมขวาง (CL-JF) โดยใช้โซเดียมไตรเมตาฟอสเฟต (STMP) เป็นสารเชื่อมขวาง ตัวแปรของสภาวะที่ใช้มี 2 ตัวแปร คือ

ปริมาณสารเชื่อมขวาง 5 ระดับ (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5%)

ระยะเวลา 3 ระดับ (2, 5, 8 h)

รวมจำนวนตัวอย่าง 15 ตัวอย่าง



ตารางที่ 2.3 สภาวะการดัดแปรแป้งเมล็ดขนุนด้วยปฏิกิริยาเชื่อมขวางจำนวน 15 สภาวะ

รหัสตัวอย่าง	แป้ง (g)	STMP (g)	เวลา (h)
CL-JF-1	100	0.1	2
CL-JF-2	100	0.2	2
CL-JF-3	100	0.3	2
CL-JF-4	100	0.4	2
CL-JF-5	100	0.5	2
CL-JF-6	100	0.1	5
CL-JF-7	100	0.2	5
CL-JF-8	100	0.3	5
CL-JF-9	100	0.4	5
CL-JF-10	100	0.5	5
CL-JF-11	100	0.1	8
CL-JF-12	100	0.2	8
CL-JF-13	100	0.3	8
CL-JF-14	100	0.4	8
CL-JF-15	100	0.5	8

ขั้นตอนการเตรียม เป็นดังนี้

1. ผสมแป้ง 100 กรัม โซเดียมซัลเฟต 15 กรัม น้ำ 250 มล. และสารเชื่อมขวาง STMP ปริมาณต่าง ๆ ในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร ใส่ magnetic stirrer ตั้งคณบนเครื่อง
2. ค่อยๆ หยดสารละลาย NaOH 5% อย่างช้าๆ วัดค่า pH ให้ได้ 10.5
3. คумอุณหภูมิที่ 50°C ตามระยะเวลาที่กำหนด
4. เมื่อครบเวลา ล้างแป้งที่ได้ 2 รอบด้วยน้ำกลั่น (กรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1) ปรับ pH เป็น 6.7 ด้วย HCl แล้วล้างต่อด้วยน้ำกลั่นอีกประมาณ 10 รอบ
5. ล้างครั้งสุดท้ายด้วย 100% AR Methanol
6. นำแป้งไปอบที่ 50°C อย่างน้อย 24 ชั่วโมงหรือจนแห้ง ชั่งน้ำหนักผลผลิต ใส่กระป๋อง และเขียนฉลาก



การวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลสในแป้งดิบเมล็ดขนุนและแป้งเมล็ดขนุนดัดแปร

ใช้วิธีการ Colorimetry ที่ดัดแปลงจากรายงานของ Juliano (1971) โดยมีรายละเอียดการวิเคราะห์ตามขั้นตอน ดังนี้

1. การเตรียมกราฟมาตรฐานของอะมิโลส

1.1 ชั่งสารมาตรฐานอะมิโลสให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.05 กรัม ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล.

1.2 เติมตัวทำละลายผสม 1 มล.เอทานอล 95% และ 9 มล. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 N

1.3 นำขวดปรับปริมาตรไปแช่ในอ่างน้ำร้อนเป็นเวลา 10 นาที เขย่าให้อะมิโลสละลายจนหมด แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

1.4 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มล.

1.5 ปิเปตสารละลายมาตรฐานจากข้อ 1.4 ปริมาตร 1, 2, 3, 4 และ 5 มล. ตามลำดับ ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล. 5 ใบ เติมสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 นอร์มอล ปริมาตร 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มล. ลงในแต่ละขวด ตามลำดับ ตามด้วยสารละลาย KI/I_2 ปริมาตร 2 มล. ในแต่ละขวด

1.5 เขย่าผสมให้เข้ากัน และปรับปริมาตรส่วนผสมในแต่ละขวดด้วยน้ำกลั่น

1.6 นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 620 nm นำค่าการดูดกลืนแสงมาสร้างกราฟมาตรฐานกับค่าความเข้มข้นสารมาตรฐานอะมิโลส 4, 8, 12, 16 และ 20 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ

2. การวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลสในตัวอย่าง

2.1 ชั่งตัวอย่างแป้งประมาณ 0.07 g ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล.

2.2 เติมเอทานอล 95% 1 มล. และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 N จำนวน 9 มล.

2.3 นำขวดปรับปริมาตรไปแช่ในอ่างน้ำร้อนเป็นเวลา 10 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มล.

2.4 ปิเปตสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2.3 ปริมาตร 5 มล. ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล.

2.5 เติมนสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 1 N ปริมาตร 1 มล. ตามด้วยสารละลาย KI/I_2 ปริมาตร 2 มล.

2.6 เขย่าผสมให้เข้ากัน และปรับปริมาตรส่วนผสมในแต่ละขวดด้วยน้ำกลั่น

2.7 นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 620 nm นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณอะมิโลสในตัวอย่าง



รูปที่ 2.2 การวิเคราะห์ปริมาณอะมิโลสในตัวอย่างแป้ง (ข้าว) สารมาตรฐานอะมิโลส (ข้าว) ตัวอย่างแป้งเมล็ดขนุนดิบและดัดแปร

การวิเคราะห์ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยในแป้งดัดแปรที่เตรียมได้

โดยใช้ชุดทดสอบ Resistant Starch Assay Kit (Megazyme, Ireland) (AOAC 2002.02; AACC 32-40)

Resistant starch assay kit (Megazyme International)

ขวดที่ 1	Amyloglucosidase
ขวดที่ 2	Pancreatic α -amylase
ขวดที่ 3	GOPOD reagent buffer
ขวดที่ 4	GOPOD reagent enzyme
ขวดที่ 5	D-glucose standard solution
ขวดที่ 6	Resistant starch control



การเตรียม

Reagent #1 (R-1) : Sodium maleate buffer (100 mM, pH 6.0)

Reagent #2 (R-2) : Sodium acetate buffer (1.2 M, pH 3.8)

Reagent #3 (R-3) : Sodium acetate buffer (100 mM, pH 4.5)

Reagent #4 (R-4) : Potassium hydroxide solution (2 M)

Reagent #5 (R-5) : Aqueous ethanol (50% v/v)

Solution #1 (S-1) : Amyloglucosidase ใช้จากขวดที่ 1 โดยตรง

Solution #1A (S-1A) : Dilute AMG (300 unit/mL) บีบเปิดสาร 2.0 มล. จากขวดที่ 1 ด้วยปิเปตแรงดันบวก ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มล. เติม R-1 (0.1 M sodium maleate buffer) 20 มล. (หรือปรับปริมาตรรวมเป็น 22 มล.) แบ่งเก็บในขวด PP ขวดละ 5 มล. ที่ -20°C

Solution #2 (S-2) : Pancreatic α -amylase solution ต้องเตรียมก่อนการใช้ทุกครั้ง กระจายผงสารจากขวดที่ 2 ปริมาณ 1 กรัม ใน R-1 ปริมาตร 100 มล. คนผสมเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม S-1A ปริมาตร 1 มล. ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,500 g นาน 10 นาที ค่อยๆ รินส่วนสารละลายมาใช้

Solution #3 (S-3) : เจือจางสารละลายเข้มข้นในขวดที่ 3 โดยใช้ น้ำกลั่น ให้มีปริมาตร 1 ลิตร นำไปใช้เตรียม S-4 (GOPOD reagent) ทันที

Solution #4 (S-4) : GOPOD reagent แบ่ง S-3 ปริมาตร 20 มล. มาละลายสารในขวดที่ 4 แล้วถ่ายลงในภาชนะกันแสงที่มี S-3 ส่วนที่เหลือ ห่อภาชนะด้วยแผ่นอะลูมิเนียมอีกครั้ง แบ่งเก็บสารละลายนี้เป็นส่วน ส่วนละประมาณ 80 มล. เก็บในช่องแช่แข็ง ได้นาน 1 ปี และสีของสารละลายต้องอยู่ระหว่างเหลืองอ่อนถึงชมพูอ่อน หรือมีค่าการดูดกลืนแสงไม่เกิน 0.05 เมื่อเทียบกับน้ำกลั่น

Solution #5 (S-5) : D-Glucose standard solution (1.0 mg/mL) ใช้จากขวดที่ 5 โดยตรง

ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณแป้งด้านทานการย่อย

A. การไฮโดรไลซ์และการทำละลายแป้งที่ไม่ใช่แป้งด้านทานการย่อย

(Hydrolysis and solubilization of non-resistant starch)

1. ชั่งตัวอย่าง 100 ± 5 mg ให้ได้น้ำหนักที่ถูกต้อง ลงในหลอดทดลองที่มีฝาเกลียว (Corning culture tube 16x125 mm) เคาะหลอดเบาๆ เพื่อให้ผงตัวอย่างตกไปที่ก้นหลอด
2. เติม S-2 ปริมาตร 4.0 มล. ลงในแต่ละหลอด



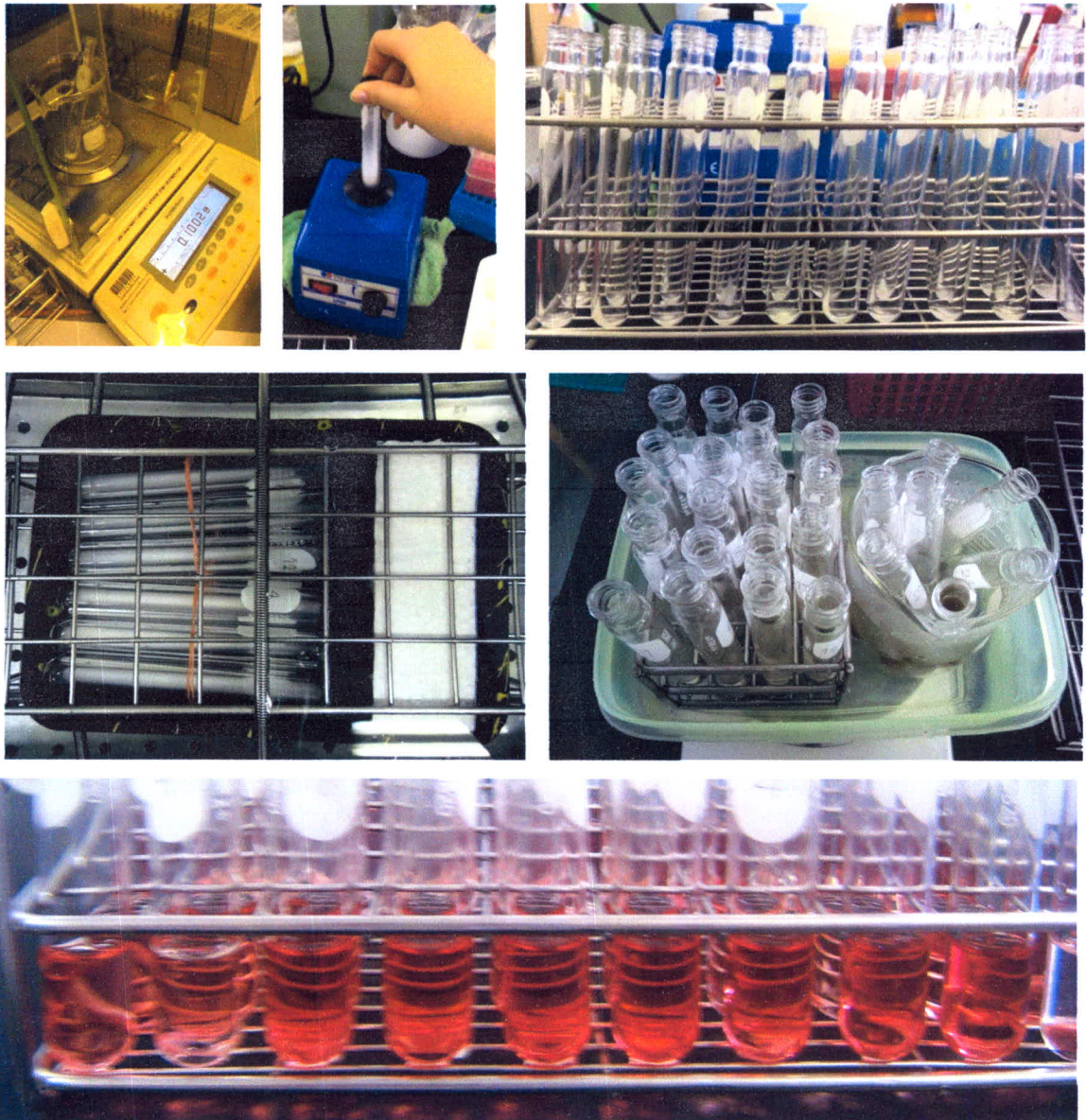
3. ปิดฝาหลอดให้แน่น ปั่นผสมบนเครื่อง vortex และจัดวางหลอดในแนวนอนบนเครื่องเขย่าในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ให้ปลายหลอดหันไปทางด้านเขย่าออก
4. ควบคุมอุณหภูมิที่ 37°C และรอบการเขย่าต่อเนื่องที่ 200 รอบต่อนาที (เทียบเท่าการตั้งค่าเครื่องที่ 100 – ไป+กลับ) เป็นเวลา 16 ชั่วโมงเต็ม
5. นำหลอดออกจากอ่างควบคุมอุณหภูมิ เช็ดภายนอกหลอดให้แห้ง ปิดฝาหลอดเกลียวออก แล้วเติมเอทานอล 99% ปริมาตร 4.0 มล. เขย่าผสมอย่างรุนแรงบนเครื่อง vortex
6. นำหลอดไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,500 g (ประมาณ 3,000 rpm) เป็นเวลา 10 นาที
7. รินสารละลายส่วนเหนือตะกอนออก จากนั้นเติม R-5 (50% EtOH) ปริมาตร 8 มล. เขย่าผสมให้เข้ากันและนำไปปั่นเหวี่ยงอีกที่ 1,500 g นาน 10 นาที
8. เทส่วนสารละลายเหนือตะกอนออก และทำซ้ำข้อ 7 อีกครั้ง

B. การวัดปริมาณแบง์ด้านทานการย่อย

1. ใส่แท่งแม่เหล็กขนาดเล็กลงในหลอดทดลอง เติม R-4 (2M KOH) ปริมาตร 2 มล. ขณะปั่นหมุน นำหลอดไปใส่ในอ่างน้ำ+น้ำแข็ง และปั่นบนเครื่องปั่นหมุนแม่เหล็กนาน 20 นาที เพื่อให้ตะกอนตัวอย่างกระจายตัว
2. เติม R-2 (1.2M sodium acetate pH 3.8) ปริมาตร 8 มล. ลงในแต่ละหลอด โดยยังมีการปั่นคนอย่างต่อเนื่อง จากนั้นเติม S-1 (AMG 1:3300 unit/mL) ปริมาตร 0.1 มล. ลงในหลอดทันที ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 50°C
3. แห่หลอดในอ่างเป็นเวลา 30 นาที โดยนำออกมาปั่นเขย่าบนเครื่อง vortex เป็นระยะ
4. สำหรับตัวอย่างที่มีปริมาณแบง์ด้านทานการย่อยน้อยกว่า 10% ปั่นเหวี่ยงหลอดตัวอย่างที่ 1,500 g เป็นเวลา 10 นาที
5. ปิเปตสารละลาย 0.1 มล. ใส่ในหลอดแก้ว (16x100 mm) เติม S-4 ปริมาตร 3.0 มล. แล้วนำไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 50°C นาน 20 นาที
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 nm โดยใช้ reagent blank (RB) เป็น blank

Reagent Blank (RB) : ผสม R-3 ปริมาตร 0.1 มล. กับ S-4 ปริมาตร 3.0 มล.

D-Glucose standard : ผสม S-5 ปริมาตร 0.1 มล. กับ S-4 ปริมาตร 3.0 มล.



รูปที่ 2.3 การวิเคราะห์ปริมาณแป้งต้านทานการย่อยตามวิธี AOAC 2002.02



การหาค่าระดับการแทนที่ของหมู่คาร์บอกซีเมทิลในแป้งเมล็ดขนุนคาร์บอกซีเมทิล

การหาค่าระดับการแทนที่ (degree of substitution, DS) จะทำตามวิธีการที่ใช้ในการหา ระดับการแทนที่ของ Crosscarmellose Sodium ซึ่งระบุไว้ใน USP XXIII โดยวิธีการนี้จะ ประกอบด้วยสองขั้นตอนหลัก คือ ขั้นตอนการไตเตรท และขั้นตอนการเผา จากขั้นตอนทั้งสองนี้จะ ได้ค่าจำนวนมิลลิอิกวาเลนต์ของด่างที่ต้องการในการสะเทินแป้งตัดแปรปริมาณ 1 กรัม (M) และ เปอร์เซนต์ของน้ำหนักเก่าที่เหลือจากการเผา (C) และนำค่าที่ได้มาคำนวณตามสูตร

$$D.S. = A + S$$

โดย A = ระดับการแทนที่ของกรดคาร์บอกซีเมทิล = $1150 M / (7120 - 412M - 80C)$

และ S = ระดับของการแทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซีคาร์บอกซีเมทิล = $(162 + 58A)C / (7120 - 80C)$

การไตเตรทและขั้นตอนการเผา ตามรายละเอียดดังนี้

ขั้นตอนการไตเตรท

1. ชั่งแป้งตัดแปรที่เตรียมได้ประมาณ 1 กรัม ให้น้ำหนักที่แน่นอน ใส่ลงใน Erlenmyer flask ขนาด 500 มล.
2. เติมน้ำละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 300 มล.
3. เติมน้ำละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 N ปริมาตร 25.0 มล.
4. ปิดจุก แล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เขย่าเป็นครั้งคราว
5. เติม m-cresol purple TS จำนวน 5 หยด และเติมน้ำละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.1 N ปริมาตร 15 มล. จากบิวเรต
6. ปิดจุกขวดและเขย่า ในกรณีที่สารละลายมีสีม่วงให้เติมน้ำละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.1 N ทีละ 1 มล. จนกระทั่งสารละลายมีสีเหลือง
7. ไตเตรดสารละลายที่ได้ ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 N จนได้จุดยุติ ที่มีสีม่วง
8. คำนวณจำนวนของมิลลิอิกวาเลนต์สุทธิ (M) ของด่างที่ต้องการสำหรับการสะเทินแป้งตัดแปร 1 กรัม

ขั้นตอนการเผา

1. เผาถ้วยเผา ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในภาชนะทำแห้ง (desiccator) และชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของ ถ้วยเผาด้วยเครื่องชั่งวิเคราะห์
2. ชั่งตัวอย่างแป้งตัดแปรน้ำหนักประมาณ 1 กรัม ให้น้ำหนักที่แน่นอน ลงในถ้วยเผา



3. ให้ความร้อน จนกระทั่งแป้งไหม้อย่างทั่วถึง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น
4. หยดสารละลายกรดซัลฟูริก ประมาณ 1 มล. ลงในแก้วที่ได้ให้พอเปียก
5. ให้ความร้อนจนกระทั่งไม่มีควันสีขาวเกิดขึ้น
6. เฝ้าที่ความร้อนประมาณ 800°C จนกระทั่งไม่มีสีดำ
7. ทิ้งไว้ให้เย็นในภาชนะทำแห้ง แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
8. คำนวณหาร้อยละของน้ำหนักแก้วที่เหลือ

และคำนวณร้อยละประสิทธิภาพของปฏิกิริยา (% reaction efficiency, %RE) ได้โดยสมการ

$$\%RE = \frac{DS}{DS_t} \times 100$$

เมื่อ DS คือ theoretical degree of substitution ซึ่งคำนวณจากจำนวนโมลของสารที่เป็นตัวทำปฏิกิริยาที่จำกัดอัตรา

สมบัติทางเคมีกายภาพ และสมบัติเชิงกล (Physicochemical and Mechanical Properties) ของแป้งเมล็ดขนุนคัดแปร

ลักษณะปรากฏทั่วไป

ตรวจสอบลักษณะปรากฏทางกายภาพภายนอก ลักษณะผง สี ความพองฟู การไหลเบื้องต้น

ปริมาณความชื้น (Moisture Content, MC)

นำตัวอย่างแป้งน้ำหนักประมาณ 5 กรัม ใส่ลงบนจานชั่งของเครื่องวัดค่าความชื้น ตั้งค่าอุณหภูมิสุดท้ายที่ 105°C แล้วกดปุ่มเริ่มต้น เครื่องจะบันทึกน้ำหนักเริ่มต้นที่แน่นอน จากนั้นจะค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิให้กับตัวอย่าง พร้อมกับบันทึกการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก เมื่อน้ำหนักของตัวอย่างคงที่หรืออุณหภูมิถึงค่าอุณหภูมิสุดท้ายที่ตั้งไว้ เครื่องจะคำนวณค่าความชื้นในตัวอย่างในรูปน้ำหนักที่สูญเสียเมื่อทำให้แห้ง (loss on drying, LOD)

การละลายและ/หรือการพองตัวในน้ำ

ชั่งตัวอย่าง 0.1 กรัม ใส่ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงที่ทราบน้ำหนัก จำนวน 5 หลอด เติมน้ำกลั่น 10 มล. ลงในแต่ละหลอดเพื่อให้ได้ความเข้มข้น 1% w/v ปั่นหรือเขย่าผสมให้เข้ากันประมาณ 1 นาที โดยใช้เครื่อง Vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที บันทึกการละลายและ/หรือการพองตัวในน้ำที่อุณหภูมิห้อง (RT) จากนั้นนำตัวอย่างทุกหลอดไปให้ความร้อนโดยการแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 5 ระดับ คือ 50, 60, 70, 80 และ 90°C ตามลำดับ โดยเขย่าผสมอย่างสม่ำเสมอ เมื่อครบ 10 นาที นำ



หลอดทดสอบออกมาแช่ในอ่างน้ำแข็ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ค่อยๆ เทหรือดูดส่วนของเหลวใสด้านบนออกใส่ในถ้วยเผาที่ชั่งน้ำหนักไว้ก่อนหน้า แล้วนำไปอบจนได้น้ำหนักคงที่ที่ 120°C น้ำหนักที่เหลืออยู่ในถ้วยเผาใช้ในการคำนวณร้อยละของการละลายน้ำ ส่วนน้ำหนักของเพสต์ปั่นเหวี่ยงที่เหลือหลังจากแยกส่วนของเหลวแล้ว ใช้ในการคำนวณค่าการพองตัวในน้ำ

ลักษณะพื้นผิวและรูปร่างแกรนูลภายใต้ scanning electron microscope (SEM)

การศึกษาลักษณะพื้นผิว ขนาด และรูปร่างของแกรนูลของเม็ดแป้ง ทำโดยใช้เครื่อง SEM รุ่น JSM-5910LV (JEOL instrument, USA) ที่มี large field detector สมภาวะการศึกษาที่ใช้คือค่า acceleration voltage ที่ 15 kV ภายใต้ low vacuum mode (0.7-0.8 torr) ภาพถ่าย SEM ของแป้งดิบและแป้งดัดแปร บันทึกที่กำลังขยาย 2000 เท่า

การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (X-ray Diffraction, XRD)

การบันทึกรูปแบบการหักเหรังสีเอกซ์ (X-ray diffraction patterns) ของแป้งดิบเมล็ดขนุนและแป้งเมล็ดขนุนดัดแปร กระทำโดยใช้เครื่อง Siemens D-500 X-ray diffractometer ใน reflection mode ภาพการหักเห (diffractogram) ถูกบันทึกที่ค่า Bragg Angle (2θ) = $5-40^{\circ}$ โดยใช้อัตราการ scan ที่ 2.5° ต่อนาที

Differential Scanning Calorimetry (DSC)

ประเมินสมบัติด้านอุณหภูมิโดยใช้เครื่อง differential scanning calorimeter (DSC-7, Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA) ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง $30-120^{\circ}\text{C}$ ที่อัตรา $10^{\circ}\text{C}/\text{นาที}$ โดยใช้ตัวอย่างผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:3 (w/w) และใช้ pan เปลาเป็นตัวอย่าง บันทึกอุณหภูมิที่แสดงการเกิด transitions ต่างๆ ได้แก่ onset (T_{onset}), peak (T_{peak}) และ end (T_{end}) และคำนวณช่วงอุณหภูมิการเกิด transition ($T_{\text{end}} - T_{\text{onset}}$, ΔT) ค่า Enthalpy (ΔH) จำนวนโดยการอินทิเกรตพื้นที่ใต้กราฟ และแสดงค่าในหน่วยจูลต่อหน่วยน้ำหนักแป้งแห้ง

การเลือกสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมแป้งเมล็ดขนุนด้านทานการย่อย

จากผลปริมาณแป้งด้านทานการย่อยในตัวอย่างแป้งดัดแปรแต่ละตัวอย่าง และสมบัติทางเคมีกายภาพพื้นฐาน พิจารณาคัดเลือกแป้งดัดแปรที่มีสมบัติดีที่สุด 1 ตัวอย่าง เพื่อนำไปใช้ในการศึกษา



ต่อ โดยการเตรียมแป้งด้านทานการย่อยตามสภาวะที่คัดเลือกในปริมาณ 1000 กรัม นำไปศึกษาสมบัติเชิงกลและสมบัติเชิงหน้าที่ทางเภสัชกรรมเพิ่มเติมต่อไป

สมบัติการไหลของแป้งเมล็ดขนุนคัดแปรที่มีปริมาณแป้งด้านทานการย่อยสูง

ประเมินความสามารถในการไหลเปรียบเทียบกับแป้งดิบ ด้วยวิธีการ 2 วิธี คือ

1. การหามุมของการไหล

- นำกรวยแก้วมาวางลงในห่อที่ยึดติดกับขวดโดยให้มีระยะห่างจากปลายกรวยถึงพื้นประมาณ 10 ซม.
- คำนวณหาพื้นที่ของกระดาษพิมพ์ดีด (กว้าง x ยาว) สมมุติว่าได้ a ตารางเซนติเมตร
- นำกระดาษแผ่นนั้นไปชั่งหาน้ำหนักโดยใช้เครื่องชั่งวิเคราะห์อย่างละเอียด สมมุติว่าได้ w กรัม ดังนั้น กระดาษนี้ 1 กรัม จะมีพื้นที่ $= a/w$ ตารางเซนติเมตร
- นำกระดาษไปวางได้กรวย
- ชั่งผงยา 50 กรัม และเทลงในกรวยโดยให้ใช้กระดาษแข็งปิดปลายท่อกรวยไว้ก่อน แล้วเลื่อนกระดาษแข็งออก และเริ่มจับเวลา จนกระทั่งผงยาหมด
- ใช้ดินสอขีดเป็นวงกลมตามแนวขอบนอกของกองผงยา
- ลดระดับของปลายกรวยลงมาให้อยู่สูงกว่ายอดสูงสุดของกองผงยา $\frac{1}{4}$ นิ้ว แล้วจึงวัดความสูงของกองผงยาโดยวัดจากพื้นถึงปลายกรวย สมมุติว่าได้ h ซม.
- เอาผงยาที่กองบนกระดาษออกไป และใช้แปรงอ่อนปัดกระดาษให้สะอาด แล้วจึงใช้กรรไกรตัดกระดาษตามรอยดินสอที่ขีดไว้
- นำกระดาษที่ตัดได้ไปชั่งโดยใช้เครื่องชั่งวิเคราะห์อย่างละเอียด สมมุติว่าได้ Y กรัม

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น วงกลมที่ตัดได้นี้จะมีพื้นที่} &= \frac{a}{w} \times Y \quad \text{ตารางเซนติเมตร} \\ &= A \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{เนื่องจากพื้นที่ของวงกลม (A)} &= \pi r^2 \\ \text{หรือ รัศมีของวงกลม (r)} &= \sqrt{\frac{A}{\pi}} \quad \text{ซม.} \end{aligned}$$

$$\text{ดังนั้น ค่า Tangent ของมุมของการไหลจะมีค่า} = \frac{h}{r}$$

- ทำซ้ำอีก 2 ครั้ง



- บันทึกผลลงตาราง และคำนวณหาค่ามุมการไหล

2. การหา Compressibility Ratio (CR) จากค่า Bulk และ Tapped density

- ชั่งผงยาปริมาณประมาณ 50 มล. ให้ได้น้ำหนักแน่นอน สมมติว่า ได้ M กรัม
- ค่อยๆ เทผงยาที่ชั่งแล้วนี้ลงในกระบอกตวงขนาด 100 มล. จากนั้นเคาะกระบอกตวงนี้ 3 ครั้ง กับพื้นไม้โดยให้ก้นของกระบอกตวงสูงจากพื้น 1 นิ้ว และการเคาะแต่ละครั้งห่างกัน 2 วินาที แล้วจึงอ่านปริมาตรของผงยาในกระบอกตวง สมมติว่าได้ Vb มล.
- เคาะกระบอกตวงต่อไปอีกประมาณ 500 ครั้ง (โดยใช้เครื่องเคาะกระบอกตวงอัตโนมัติ) หรือ จนไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาตรของผงยาในกระบอกตวงนั้นจึงหยุด และอ่านปริมาตรของผงยาอีกครั้งหนึ่ง สมมติว่าได้ Vt มล.

$$\text{ดังนั้น Bulk density} = \frac{M}{V_b} \quad \text{กรัม / มล.}$$

$$\text{Tapped density} = \frac{M}{V_t} \quad \text{กรัม / มล.}$$

- บันทึกผลลงในตาราง
- นำค่า Bulk density และ Tapped density ที่ได้มาหาค่า Compressibility Ratio ดังนี้

$$\text{Compressibility Ratio (\%)} = \frac{\text{TappedDensity} - \text{BulkDensity}}{\text{TappedDensity}} \times 100$$

สมบัติเชิงหน้าที่ทางเภสัชกรรม (Pharmaceutical Functionality) ของแป้งเมล็ดขนุนตัดแปรที่มีปริมาณแป้งด้านทานการย่อยสูง

ความจุการพองตัวอิสระ (Free Swelling Capacity, FSC)

ความจุการพองตัวอิสระของแป้งเมล็ดขนุนดิบและตัดแปร ทดสอบโดยใช้วิธีถุงชา (Teabag method) ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีการที่ได้รายงานไว้ใน Heß และคณะ (2007) โดยทำการวิเคราะห์ผลซ้ำจำนวน 3 ครั้ง มีขั้นตอนการวิเคราะห์ดังนี้

1. ชั่งน้ำหนักถุงชาแห้ง (m_b) และชั่งน้ำหนักผงแป้งตัวอย่าง (m_s) 0.2–0.4 g. อย่างถูกต้องใส่ลงในถุงชาแห้งที่ชั่งน้ำหนักแล้วปิดล็อกถุงชาป้องกันการหลุดลอดของสารตัวอย่าง



2. นำตัวอย่างที่เตรียมได้ใส่ลงไปในอ่างน้ำหรือภาชนะที่มีน้ำกลั่นมากเกินพอ ณ อุณหภูมิห้อง และ 37°C นาน 15, 30, 60, 120, 180 และ 300 นาที
3. เมื่อครบเวลาตามกำหนดนำถุงชาออกจากอ่างน้ำแล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาทีจนไม่มีน้ำส่วนเกินหยดออกมาจากถุงชาแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก (m_t)
4. นำผลทั้งหมดที่ได้จากการวิเคราะห์ไปคำนวณหาค่า FSC จากสมการ

$$FSC = \frac{m_t - m_{tb} - m_w}{m_s}$$

โดยกำหนดให้ m_t = น้ำหนักรวมของเจลกับถุงชา

m_{tb} = น้ำหนักของถุงชาแห้ง

m_w = น้ำหนักน้ำที่ถุงชาดูดซับไว้

m_s = น้ำหนักของตัวอย่างผงแป้ง

หมายเหตุ : ค่า m_{tb} , m_w และ m_s ควรบันทึกก่อนเริ่มทำการวิเคราะห์ บันทึกผลการวิเคราะห์ แล้วทำการวิเคราะห์ผลซ้ำอีก 2 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

ความสามารถในการดูดน้ำ (Water uptake)

ปริมาตรการดูดน้ำของแป้งดิบและแป้งดัดแปร ทดสอบได้โดยใช้เครื่องมือที่ดัดแปลงมาจาก Nogami's apparatus (Nogami et al., 1969) และภาชนะบรรจุตัวอย่างลักษณะเป็นหลอดทรงกระบอกปลายเปิดสองด้าน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 ซม. ปิดปลายด้านล่างด้วยกระดาษกรอง การเตรียมตัวอย่างจะชั่งตัวอย่างแป้งดัดแปรประมาณ 500 มก. ให้ได้น้ำหนักแน่นอน ใส่ในหลอดบรรจุตัวอย่าง ทำการเคาะประมาณ 20 ครั้งเพื่อให้อนุภาคตัวอย่างกระจายและเรียงตัวอย่างสม่ำเสมอ เมื่อเริ่มต้นการทดสอบจะวางหลอดตัวอย่างบนชุดทดสอบที่ทำจาก sinter glass filter เบอร์ 3 ต่อกับปิเปตวัดปริมาตรด้วยสายยางบรรจุน้ำกลั่น ที่บรรจุน้ำในระบบและปรับระดับให้สมดุลอ่านค่าที่ 0 ปิดด้านบนของ sinter-glass filter ด้วยจานแก้วหรือกระจกนาฬิกาเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำออกจากระบบ จับเวลา และบันทึกปริมาตรของน้ำที่ถูกดูดเข้าไปในผงแป้งที่เวลา 0.25, 0.5, 0.75, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50, 3.00, 3.50, 4.00, 4.50, 5.00, 10.00, 15.00, 20.00, 25.00, 30.00, 40.00, 50.00 และ 60.00 นาที ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย



รูปแบบความสัมพันธ์ระหว่างแรงดกอัดกับความแข็งของเม็ดยาตัวอย่าง (Pressure-Hardness Profile, PHP)

ซังผงตัวอย่างแบ่ง 250 มก. ใส่ลงในชุดดกอัดเม็ดยาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.4 มม. นำไปดกอัดด้วยเครื่องดกอัดไฮดรอลิกที่แรงดกอัด 0.5, 1, 2, 3 ตัน แรงละ 5 เม็ดต่อตัวอย่าง นำเม็ดแบ่งที่ดกอัดได้มาวัดความแข็ง ด้วยเครื่องวัดความแข็งของเม็ดยา บันทึกค่า หาค่าเฉลี่ยความแข็ง นำไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างแรงดกอัดและความแข็ง เพื่อวิเคราะห์ผล

การเตรียมผลิตภัณฑ์เสริมอาหารจากแป้งต้านทานการย่อยในรูปแบบยาเม็ดเพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

เตรียมยาเม็ดที่มีแป้งเมล็ดขนุนต้านทานการย่อยในปริมาณ 500 มิลลิกรัมต่อเม็ด ด้วยวิธีการทำแกรนูลเปียก โดยใช้แป้งขนุนคาร์บอกซีเมทิลเป็นสารยึดเกาะ ตามสูตรดังนี้

แป้งเมล็ดขนุนต้านทานการย่อย JF-25-100-12	250 มก.
แป้งเมล็ดขนุนคาร์บอกซีเมทิล สารละลาย 3%	qs
Purified talcum	3%
Magnesium stearate	0.5%

โดยวิธีเตรียมดังนี้

- ผสมแป้งเมล็ดขนุนต้านทานการย่อยกับสารละลายแป้งคาร์บอกซีเมทิลปริมาณพอเพียงที่ทำให้ได้ก้อนเปียก นำไปทำเป็นแกรนูลโดยการกดผ่านแรง
- นำแกรนูลเปียกที่ได้ไปอบแห้ง ที่อุณหภูมิ 60°C
- ชั่งน้ำหนักแกรนูลแห้งที่ได้ คำนวณปริมาณสารช่วยไหลและช่วยลื่น ผสม แล้วนำไปดกอัดด้วยเครื่องดกเม็ดยาแบบสากเดี่ยว

นำเม็ดยาที่เตรียมได้มาประเมินสมบัติต่างๆ ตามมาตรฐานเภสัชตำรับ ได้แก่ น้ำหนักเฉลี่ยและความแปรปรวนของน้ำหนักเม็ดยา (20 เม็ด) ขนาดของเม็ดยา (10 เม็ด) ความแข็งของเม็ดยา (10 เม็ด) ความกรอบของเม็ดยา (20 เม็ด) ระยะเวลาการแตกตัว (6 เม็ด) จากนั้นศึกษาความคงสภาพของแป้งต้านทานการย่อยรูปแบบยาเม็ด โดยเก็บไว้ที่สภาวะต่างๆ ดังนี้



- อุณหภูมิห้อง ที่ระยะเวลา 1, 3 และ 6 เดือน
- ความชื้นสัมพัทธ์ 40, 50, 75, 80, และ 90%RH อุณหภูมิ 30°C ที่ระยะเวลา 1 และ 3 และ 6 เดือน
- นำเม็ดยาที่เก็บไว้มาประเมินสมบัติของเม็ดยาดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การทดสอบทั้งหมดจะทำอย่างน้อย 3 ซ้ำ การทดสอบนัยสำคัญทางสถิติใช้เทคนิค analysis of variance (ANOVA) ที่ความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างค่าเฉลี่ยทดสอบโดยใช้ Duncan's multiple range test