



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

ปริญญา

วิทยาศาสตรการอาหาร

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การปรับปรุงคุณภาพเส้นก๋วยเตี๋ยวโดยใช้เอนไซม์โปรตีเอส

Rice Noodle Quality Improvement by Protease

نامผู้วิจัย นางสาวสุชัญญา ดอกละมุด

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ปริศนา สุวรรณภรณ์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์มาศอุบล ทองงาม, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรัณนี จิรภาคย์กุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

สืบศิริ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การปรับปรุงคุณภาพเส้นก๋วยเตี๋ยวโดยใช้เอนไซม์โปรตีเอส

Rice Noodle Quality Improvement by Protease

โดย

นางสาวสุชัญญา ดอกละมุด

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร)

พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุชัยญา ดอกละมุด 2554: การปรับปรุงคุณภาพเส้นก๋วยเตี๋ยวโดยใช้เอนไซม์โปรตีเอส
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรการอาหาร) สาขาวิทยาศาสตรการอาหาร
ภาควิชาวิทยาศาสตรและเทคโนโลยีการอาหาร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:
รองศาสตราจารย์ปริศนา สุวรรณารักษ์, Ph.D. 102 หน้า

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้เอนไซม์โปรตีเอส (Protease-RF) ต่อ
คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของแป้งข้าว เปรียบเทียบกับการแช่ในสารละลายด่าง (Alkali-RF) ซึ่ง
เป็นวิธีการดั้งเดิมที่ใช้สกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าว ขั้นตอนการแช่ด่างทำให้เกิดด่างและเกลือ
ตกค้างในปริมาณมาก ก่อให้เกิดปัญหาการจัดการน้ำเสีย เอนไซม์นิวทรัลโปรตีเอส (Protin NY100
และ Collupulin) และอัลคาไลน์โปรตีเอส (GA และ Subtilisin A) ถูกนำมาใช้ในการสกัดโปรตีน
โดยใช้ความเข้มข้นเอนไซม์ 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0.0025, 0.005 และ 0.01 ทำการย่อยที่อุณหภูมิ 25
และ 50°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่า Protease-RF มีปริมาณโปรตีนคงเหลือ (ร้อยละ
2.21-4.05) มากกว่า Alkali-RF (ร้อยละ 0.48) โดย Protease-RF มีค่าความหนืดสูงสุดและค่า
เซตแบคสูงกว่า Alkali-RF แต่มีค่าความหนืดลดลงต่ำกว่า เนื่องจากการลดลงของโปรตีนทำให้
ความแข็งแรงของเม็ดสตาร์ชต่อแรงเฉือนลดลง ดังนั้น Alkali-RF จึงทนต่อแรงเฉือนได้น้อยกว่า
Protease-RF การวิเคราะห์คุณสมบัติทางวิทยากระแสดงด้วยวิธี temperature sweep พบว่า Protease-
RF และ Alkali-RF มีรูปแบบที่คล้ายกัน คือ เม็ดสตาร์ชยังไม่เกิดการเสียหาย หลังจากทำให้เย็นที่
อุณหภูมิ 25°C พบว่าค่า storage modulus (G') ของ Alkali-RF (5897.5 Pa) สูงกว่า Protease-RF
(3270.0-4095.0 Pa) เนื่องจากปริมาณโปรตีนที่ไปขัดขวางการจัดเรียงตัวใหม่ของโครงสร้างผลึก
น้อยลง การตรวจคุณลักษณะโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่าพอลิเปปไทด์ใน Protease-RF มี
น้ำหนักโมเลกุล 10-17 kDa, 17-26 kDa, 34-43 kDa และ 55-72 kDa ตามลำดับ ส่วนใน Alkali-RF
พบพอลิเปปไทด์น้ำหนักโมเลกุล 55-72 kDa เท่านั้น การใช้เอนไซม์โปรตีเอสสามารถสกัดโปรตีน
ในข้าวออกไปได้บางส่วน และมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านเนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวจาก
Protease-RF ซึ่งการใช้โปรตีเอสมีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ลักษณะ
ทางกายภาพของเจลแป้งข้าวขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนคงเหลือ ความเสียหายของเม็ดสตาร์ช และ
แรงเฉือนที่ใช้ระหว่างการวัดค่า

Suchanya Dorglamud 2011: Rice Noodle Quality Improvement by Protease. Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Associate Professor Prisana Suwannaporn, Ph.D.
102 pages.

This research aimed to study the effect of protease (Protease-RF) on the physicochemical properties of rice flour comparing to the conventional alkali steeping method (Alkali-RF). Alkali steeping process usually causes large amount of alkali and salt residues leading to a costly wastewater treatment. Neutral proteases (Protin NY100, Collupulin) and alkali proteases (GA and Subtilisin A) were used to remove rice protein by varying concentration (0.0025, 0.005 and 0.001 percents) and digestion temperature (25 and 50°C) for 1 h. Results showed that Protease-RF had higher protein content (2.2-4.1 %) than Alkali-RF (0.5 %). Final viscosity and setback of Protease-RF were higher than Alkali-RF with lower breakdown. Rheological pattern of Protease-RF and Alkali-RF using temperature sweep profile were similar which indicated that the intact starch granule were still remained. The storage modulus (G') after cooling of both treatments increased to a greater extent but Alkali-RF (5897.5 Pa) were higher than Protease-RF (3270.0-4095.0 Pa) since less protein was left to obstruct starch recrystallization. Protein characterization by SDS-PAGE found that Protease-RF had polypeptide bands MW 10-17, 17-26, 34-43 and 55-72 kDa. But Alkali-RF had only 55-72 kDa. The remaining of high MW polypeptides (>77kDa) had more effect on textural qualities of rice gels. Protease partly hydrolysed rice protein and could improve the textural qualities of rice gel. Use of protease was more applicable in the food industry. Physical properties of rice flour gel were according to protein content, granule disruption and shear force applied during measurement.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ปริศนา สุวรรณารักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักที่กรุณาให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทางและช่วยแก้ปัญหาในการดำเนินงานวิจัย ตลอดจนตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วง ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.มาศอุบล ทองงาม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่กรุณาให้คำปรึกษา ตรวจสอบแก้ไขและแนะนำข้อคิดเห็นวิทยานิพนธ์ในการทำวิทยานิพนธ์ และขอขอบพระคุณ Professor Tzou-Chi Huang (NPUST: National Pingtung University of Science and Technology) ที่ให้การสนับสนุนในโครงการแลกเปลี่ยนระหว่างมหาวิทยาลัย

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัย ขอขอบคุณบริษัท เมทโรห์ม สยาม จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องรีโอมิเตอร์ และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการฟิสิกส์พอลิเมอร์ ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติที่ให้คำแนะนำและฝึกอบรมการใช้เครื่องรีโอมิเตอร์เบื้องต้น ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารทุกท่านที่ช่วยแนะนำและช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณสมาชิกห้องแป้งทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และคอยเป็นกำลังใจตลอดการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณเพื่อนๆ ป.โท สำหรับความช่วยเหลือ มิตรภาพดีๆ และกำลังใจทั้งหมด ขอขอบคุณสมาชิกห้อง FS-103, 105 ที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือให้การทำงานวิจัยที่ NPUST สำเร็จไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ทั้งหลายที่คอยห่วงใยและให้กำลังใจตลอดมา และท้ายที่สุดขอขอบพระคุณแม่ที่ให้การสนับสนุนและคอยเป็นกำลังใจที่สำคัญเสมอมา

สุชัญญา ดอกละมุด

ธันวาคม 2554

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	40
อุปกรณ์	40
วิธีการ	43
ผลและวิจารณ์	48
สรุปและข้อเสนอแนะ	77
สรุป	77
ข้อเสนอแนะ	78
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	79
ภาคผนวก	89
ภาคผนวก ก วิธีการวิเคราะห์	90
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์โปรตีนเอส	96
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	102

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 พันธุ์ข้าวแยกตามปริมาณแอมิโลส	3
2 สมบัติที่สำคัญของแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน	6
3 ความหมายของคุณลักษณะเนื้อสัมผัสต่างๆในเชิงคุณภาพทางกายภาพ จากการทำ Texture Profile Analysis และในเชิงคุณภาพทางประสาทสัมผัส	33
4 ร้อยละของปริมาณโปรตีนในแป้งข้าว	49
5 ค่าความหนืดของแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Protin NY100	53
6 ค่าความหนืดของแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Collupulin	54
7 ค่าความหนืดของแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ GA	55
8 ค่าความหนืดของแป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Subtilisin A	56
9 คุณสมบัติด้านวิทยากระแสนของแป้งข้าว (native), Alkali-RF และ Protease-RF	65
10 ค่าเนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Protin NY100	67
11 ค่าเนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Collupulin	68
12 ค่าเนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ GA	69
13 ค่าเนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Subtilisin A	70
14 ค่าเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์เส้นก๋วยเตี๋ยวจากแป้งข้าวที่ผ่านการสกัดโปรตีน	75
ตารางผนวกที่	
ข1 อัตราส่วนของสารละลาย L-tyrosine เข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรผสม กับน้ำกลั่น	98
ข2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเอนไซม์โปรตีเอส	100
ข3 ค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรตีเอสแต่ละชนิด	101

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 โครงสร้างของแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน	5
2 ลักษณะโครงสร้างของอะมิโลเพกทินที่ประกอบด้วยส่วนผลึกและส่วนอสัณฐาน	7
3 รูปแบบ cluster model ของแอมิโลเพกทิน	7
4 ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์แอมิโลเพกทินและแอมิโลส	8
5 การจัดเรียงโมเลกุลของสตาร์ชแบบเกลียวคู่ของโครงสร้างแบบ A และโครงสร้างแบบ B บนแนวระนาบ a และ b	11
6 โครงสร้างของแอมิโลเพกทิน	12
7 ภาพจำลองบริเวณของเมล็ดข้าวที่นำไปศึกษาโครงสร้าง	14
8 โครงสร้างของเมล็ดข้าวจากการส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (TEM)	14
9 การเกิดเจลลาตินในเซชันของเมล็ดสตาร์ช	19
10 ความเค้นและความเครียดที่เกิดจากแรงกดมากระทำต่อตัวอย่าง	21
11 โมดูลัสที่เกิดจากแรงกดอัด (bulk modulus)	22
12 ลักษณะวัสดุที่มีสมบัติยืดหยุ่น (elastic) และวัสดุที่มีสมบัติแบบ viscoelastic	24
13 ลักษณะวัสดุที่มีสมบัติของของไหล (viscous) และวัสดุที่มีสมบัติแบบ viscoelastic	24
14 ช่วง Linear Viscoelastic Range	25
15 แบบจำลองพฤติกรรมของวัสดุพวก Viscoelastic materials	26
16 แบบจำลองของ Maxwell และ Kelvin models	27
17 Oscillatory Strain between parallel plates	27
18 Stress and strain in dynamic tests of elastic viscoelastic and viscous bodies	29
19 กราฟที่ได้จากการทำ Texture Profile Analysis	32
20 ค่าความหนืดของแป้งข้าว (native), Alkali-RF และ Protease-RF ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.01 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	57
21 กราฟแสดงกำลังการพองตัวของแป้งข้าว แป้งข้าวที่ผ่านการแช่ต่าง (Alkali-RF) และแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (Protease-RF) ที่อุณหภูมิ 55, 65, 75, 85 และ 95 องศาเซลเซียส	59

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
22	กราฟแสดงร้อยละการละลายของแป้งข้าว แป้งข้าวที่ผ่านการแช่ด่าง (Alkali-RF) และแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (Protease-RF) ที่อุณหภูมิ 55, 65, 75, 85 และ 95 องศาเซลเซียส	61
23	ค่า storage modulus (G') และ ค่า loss modulus (G'') ของแป้งข้าว Alkali-RF และ Protease-RF ขณะให้ความร้อนและทำให้เย็น	64
24	ลักษณะรูปร่างของเจลแป้งข้าวสำหรับการวัดค่าเนื้อสัมผัส	66
25	โปรตีนที่พบในแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1	73
26	สตาร์ชของแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 แป้งข้าวปกติ (1) แป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วย เอนไซม์โปรตีเอส (2-5) แป้งข้าวที่ผ่านการแช่สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (6) จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่มีกำลังขยาย 12,000 เท่า	74
ภาพผนวกที่		
ข1	กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์กิจกรรมโปรตีเอส	100

การปรับปรุงคุณภาพเส้นก๋วยเตี๋ยวโดยใช้เอนไซม์โปรตีเอส

Rice Noodle Quality Improvement by Protease

คำนำ

เมล็ดข้าวประกอบด้วยสตาร์ช โปรตีน และไขมัน สัดส่วนขององค์ประกอบเหล่านี้จะผันแปรตามชนิดของข้าวและพื้นที่เพาะปลูก การที่องค์ประกอบของข้าวต่างกันส่งผลให้คุณสมบัติของแป้งข้าวแตกต่างกันออกไป โปรตีนในข้าวพบมากบริเวณชั้นของแอลลิวโรนและจะลดลงเมื่อเมล็ดข้าวผ่านการขัดสี โดยในข้าวที่ขัดสีแล้วมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 7-8 และสามารถจำแนกตามความสามารถในการละลายได้ 4 ชนิด คือ อัลบูมิน (albumin), โกลบูลิน (globulin), โปรลามิน (prolamin) และ กลูเตลิน (glutelin) (Landers and Hamaker, 1994) อัลบูมินและโกลบูลินมีสัดส่วนประมาณ 7-18% โปรลามิน 5-12% และส่วนที่เหลือคือกลูเตลิน (Zhou *et al.*, 2002) การสกัดโปรตีนออกจะทำให้คุณสมบัติด้านความเหนียวของแป้งข้าวเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งโปรตีนเหล่านี้มีบทบาทในการขัดขวางการพองตัวของเม็ดสตาร์ช (Baldwin, 2001; Debet and Gidley, 2006) การทำลายพันธะไดซัลไฟด์ที่โปรตีนเชื่อมต่อกันนั้นทำให้เม็ดสตาร์ชสามารถพองตัวและเกิดการเจลาติไนซ์ได้ง่ายขึ้น (Hamaker and Griffin, 1993) กลูเตลินเป็นโปรตีนในแป้งข้าวที่สามารถละลายในสารละลายด่างและมีสัดส่วนมากกว่าโปรตีนชนิดอื่นๆ ทำให้ในระดับอุตสาหกรรมมีการใช้สารละลายด่างสกัดสตาร์ชเพื่อให้ได้สตาร์ชที่มีความบริสุทธิ์สูง (Lumbubwong and Seib, 2000) แต่วิธีการนี้ก่อให้เกิดปัญหาน้ำเสียปริมาณมากและความไม่ปลอดภัยในการบริโภค มีการศึกษาพบว่าการใช้เอนไซม์โปรตีเอสมีประสิทธิภาพในการสกัดสตาร์ช โดยสตาร์ชที่ได้มีคุณภาพใกล้เคียงกับการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Wang and Wang, 2001) ดังนั้นการใช้เอนไซม์โปรตีเอสในการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวจึงเป็นทางเลือกสำหรับการสกัดสตาร์ชข้าว

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโปรตีนจากแป้งข้าวด้วยเอนไซม์โปรตีเอสและศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของแป้งข้าวเปรียบเทียบกับวิธีการแช่ในสารละลายต่าง
2. เพื่อพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์เส้นก๋วยเตี๋ยวจาก Protease-RF ให้มีคุณภาพใกล้เคียงกับ Alkali-RF
3. เพื่อลดการใช้สารเคมีและลดปริมาณน้ำเสียจากการล้างสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในอุตสาหกรรมการผลิตสาร์ช

การตรวจเอกสาร

ข้าว (rice) เป็นพืชล้มลุกตระกูลหญ้า (Gramineae) จัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปเอเชีย ปัจจุบันข้าวที่ปลูกเพื่อการบริโภคมีอยู่ 2 ประเภท คือ *Oryza sativa* และ *Oryza glaberrima* ข้าว *Oryza sativa* ส่วนใหญ่ปลูกในทวีปเอเชีย แบ่งย่อยได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่หนึ่ง จาปอนิกา (Japonica) ปลูกอยู่ในประเทศเขตอบอุ่น ได้แก่ ญี่ปุ่น เกาหลี กลุ่มที่สองอินดิกา (Indica) ปลูกอยู่ในเขตร้อน ได้แก่ อินเดีย ลาว พม่า ไทย และกลุ่มที่สามจาวานิกา (Javanica) ปลูกอยู่ในประเทศอินโดนีเซีย ข้าวทั้ง 3 กลุ่มนี้มีความแตกต่างกันในเรื่อง รูปร่าง อุณหภูมิ และความยาวของวันที่ต้องการสำหรับการปลูก ส่วนข้าว *Oryza glaberrima* ส่วนใหญ่ปลูกในทวีปแอฟริกา (ณรงค์, 2538)

ตารางที่ 1 พันธุ์ข้าวแยกตามปริมาณแอมิโลส

พันธุ์	ปริมาณแอมิโลส (ร้อยละ)
1. ข้าวที่มีแอมิโลสดำ	
ขาวดอกมะลิ 105	12-17
กข 15	14-17
กข 21	17-20
2. ข้าวที่มีแอมิโลสปานกลาง	
ขาวปากหม้อ	24-26
ขาวตาแห้ง	26-28
กข 7	24-28
กข 23	26-30
3. ข้าวที่มีแอมิโลสสูง	
เหลือง 11	28-32
เหลืองประทิว 123	28-32
ปทุมธานี 60	27-32
ชัยนาท 1	27-30
สุพรรณบุรี 90	27-30

ที่มา: งามชื่น (2541)

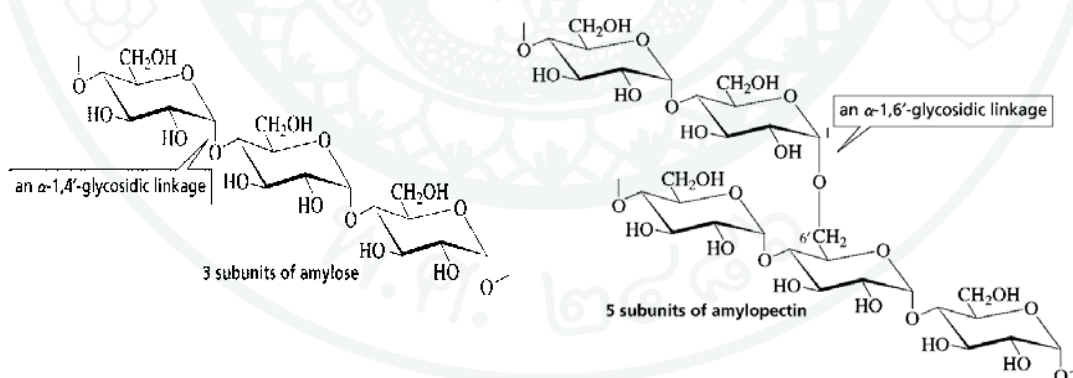
1. องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าว

1.1 แป้ง เป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิเมอร์แบบโฮโมพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสที่พบมากที่สุดได้นั่นคือแป้งข้าว คือประมาณร้อยละ 90 ของน้ำหนักเมล็ดข้าว สะสมอยู่ในรูปของเม็ดสตาร์ช (starch granule) โมเลกุลประกอบด้วยพอลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด คือ พอลิเมอร์เชิงเส้น (แอมิโลส) และพอลิเมอร์เชิงกิ่ง (แอมิโลเพกทิน) (Sander, 1996) แป้งจากข้าวแต่ละพันธุ์มีอัตราส่วนของแอมิโลสและแอมิโลเพกทินแตกต่างกัน ทำให้ข้าวแต่ละพันธุ์มีคุณสมบัติแตกต่างกัน ซึ่งมีผลต่อการนำไปใช้ประโยชน์

โดยทั่วไปนิยมแบ่งประเภทข้าวโดยใช้ปริมาณแอมิโลสเป็นหลัก ทั้งนี้เนื่องจากแอมิโลสเป็นปัจจัยสำคัญในการอธิบายคุณภาพของแป้ง จึงสามารถแบ่งข้าวออกเป็น 3 ประเภทตามปริมาณแอมิโลส (ตารางที่ 1) คือ พันธุ์ข้าวที่มีปริมาณแอมิโลสต่ำ (ร้อยละ 10-19) พันธุ์ข้าวที่มีปริมาณแอมิโลสปานกลาง (ร้อยละ 20-25) และพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณแอมิโลสสูง (ร้อยละ 26-32) ปริมาณแอมิโลสที่แตกต่างกันนี้ส่งผลต่อสมบัติต่าง ๆ ของแป้ง และเป็นปัจจัยสำคัญที่ผู้ใช้แป้งเป็นวัตถุดิบจะต้องเลือกใช้ให้เหมาะสม เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีตามต้องการ ในอุตสาหกรรมอาหารเส้นและแผ่นแป้งนิยมผลิตจากข้าวที่มีปริมาณแอมิโลสโดยน้ำหนักแห้งไม่น้อยกว่าร้อยละ 27-28 (งามชื่น, 2541) นอกจากนี้ Juliano (1992) ได้จำแนกปริมาณแอมิโลสในข้าวออกเป็น 5 ระดับ คือ ข้าวเหนียว มีปริมาณแอมิโลสร้อยละ 0-2, ข้าวแอมิโลสดำมาก มีปริมาณแอมิโลสร้อยละ 5-12, ข้าวแอมิโลสดำ มีปริมาณแอมิโลสร้อยละ 12-20, ข้าวแอมิโลสปานกลาง มีปริมาณแอมิโลสร้อยละ 20-25 และข้าวแอมิโลสสูง มีปริมาณแอมิโลสร้อยละ 25-33

1.1.1 แอมิโลส (amylose) ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสประมาณ 250-2,000 หน่วย จัดเรียงตัวเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้น (linear chains) ด้วยพันธะแอลฟา 1,4 กลูโคสิดิก (α -1,4-glucosidic linkages) ปัจจุบันพบว่าแอมิโลสบางโมเลกุลมีสายกิ่งก้านที่ต่อด้วยพันธะแอลฟา-1,6-กลูโคสิดิกด้วย (Curá *et al.*, 1995) จึงจัดว่าโมเลกุลของแอมิโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสสายยาวที่มีขนาดใหญ่ มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 106 คาลตัน โครงสร้างโมเลกุลของแอมิโลสมีหลายรูปแบบ เช่น สายตรง สายพันเป็นเกลียว (helix) เดี่ยวหรือคู่ มีลักษณะเกลียวม้วนหรือเกลียวที่คลายตัวหรือม้วนอย่างไม่เจาะจง (Whistler and Daniel, 1984) แอมิโลสไม่ละลายน้ำ นอกจากนี้โครงสร้างของแอมิโลสยังขึ้นอยู่กับขนาดโมเลกุลด้วย แอมิโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 6,500-160,000 หน่วย จะอยู่ในลักษณะเกลียวคู่ (double helix) ส่วนแอมิโลสที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 6,500 หรือมากกว่า 160,000 ลักษณะโมเลกุลเป็นแบบม้วนอย่างไม่เจาะจง (random coil)

และอาจมีบางส่วนละลายได้ ตำแหน่งของแอมิโลสภายในเม็ดแป้งจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแป้ง แอมิโลสบางส่วนจะอยู่ในกลุ่มของแอมิโลเพกติน บางส่วนกระจายอยู่ทั้งในส่วนอสัณฐาน (amorphous) และส่วนผลึก (crystalline) จากงานวิจัยของ Takeda *et al.* (1993) พบว่าโซ่ข้างของแอมิโลสในสตาร์ชข้าวประกอบด้วย โซ่ข้างขนาดยาวมาก (DP>200) โซ่ข้างขนาดยาวปานกลาง (DP 30-200) และโซ่ข้างขนาดสั้น (DP 10-30) ในอัตราส่วนประมาณ 4:3:20 แสดงว่าโซ่ข้างส่วนใหญ่ของแอมิโลสเป็นสายสั้น และจากการที่สายแอมิโลสมีอยู่ในรูปเกลียว (helix) ซึ่งหมู่ไฮดรอกซิลของกลูโคสส่วนที่เหลือจะอยู่บนผิวด้านนอกของฮีลิกซ์ ทำให้ช่องกลางภายในเกลียวมีลักษณะเป็นพื้นที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) แอมิโลสจึงสามารถยึดเกาะกับสารพวกที่ไม่ชอบน้ำภายในเกลียวของแอมิโลสด้วยแรงแวนเดอร์วาลส์ได้ (Godet *et al.*, 1993) เช่น เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอมิโลสกับลิปิด (amylose-lipid complex) หรือจับกับไอโอดีนเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน โดยพันเป็นเกลียว (helical structure) รอบ ๆ ไอโอดีน (ภาพที่ 1) ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะที่บ่งบอกถึงแป้งที่มีองค์ประกอบของแอมิโลส สีที่เกิดขึ้นจะผันแปรตามความยาวของสายแอมิโลสและจำนวนเกลียวของสายแอมิโลส นอกจากนี้แอมิโลสยังสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับสารประกอบอื่นๆ เช่น บิวทานอล กรดไขมัน สารลดแรงตึงผิว ฟีนอล และไฮโดรคาร์บอน สารประกอบเชิงซ้อนเหล่านี้จะไม่ละลายน้ำ โดยแอมิโลสจะเป็นเกลียวล้อมรอบสารประกอบอินทรีย์



ภาพที่ 1 โครงสร้างของแอมิโลสและแอมิโลเพกติน

ที่มา: Bruice (2004)

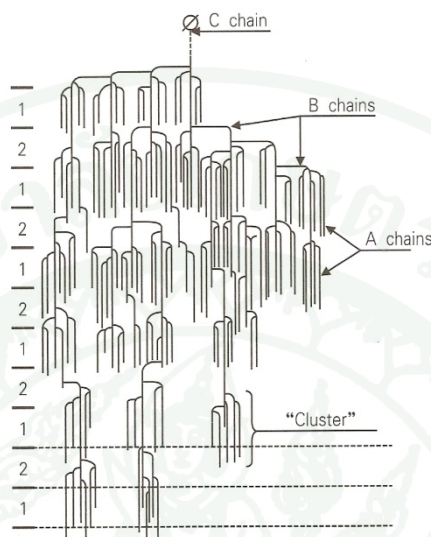
ตารางที่ 2 สมบัติที่สำคัญของแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน

คุณสมบัติ	แอมิโลส	แอมิโลเพกทิน
ลักษณะโครงสร้าง	สารประกอบของน้ำตาลกลูโคส เกาะกันเป็นเส้นตรง	สารประกอบของน้ำตาล กลูโคสเกาะกันเป็นกิ่งก้าน
พันธะที่จับ	α -(1,4)	α -(1,6)
ขนาดโมเลกุล	200-2,000 หน่วยกลูโคส	มากกว่า 10,000 หน่วยกลูโคส
การละลาย	ละลายน้ำได้น้อย	ละลายน้ำได้น้อย
การทำปฏิกิริยากับไอโอดีน	สีน้ำเงิน	สีแดงม่วง
การจับตัว	เมื่อให้ความร้อนแล้วทิ้งไว้จะจับ ตัวเป็นเจล	ไม่จับตัวเป็นเจล

ที่มา: กล้าณรงค์ และ เกื้อกุล (2546)

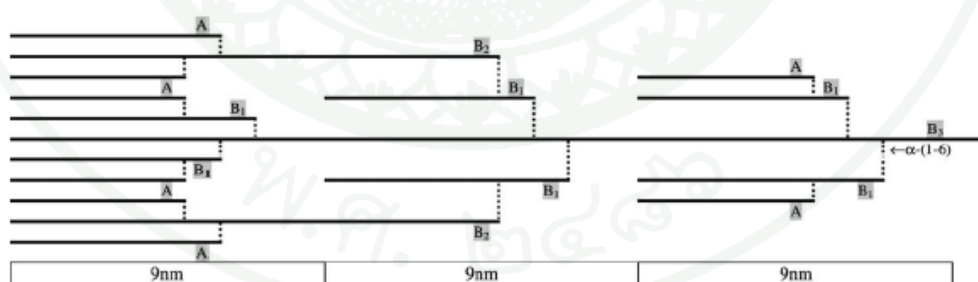
1.1.2 แอมิโลเพกทิน (amylopectin) เป็นโฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในเมล็ดสตาร์ช ประมาณร้อยละ 70-100 มีโครงสร้างของโมเลกุลเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสที่จัดเรียงตัวเป็นพอลิเมอร์ที่มีโซ่กิ่งเป็นแขนงมาก ประมาณร้อยละ 96 ต่อกันด้วยพันธะแอลฟา 1,4 ไกลโคซิดิก (α -1,4-glucosidic linkages) และประมาณร้อยละ 4 ต่อด้วยพันธะแอลฟา 1,6 ไกลโคซิดิก (α -1,6-glucosidic linkages) แต่ละแขนงจะมีน้ำตาลกลูโคสประมาณ 20-35 หน่วย (Oates, 1996) ปกติแอมิโลเพกทินมีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่าแอมิโลสมาก มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 10^6 - 10^8 ดาลตันและทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีนได้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีแดง ลักษณะโครงสร้างแบบกิ่งของแอมิโลเพกทินประกอบด้วยสายโซ่ 3 ชนิด คือ **A-chain** เป็นสายโซ่ที่เชื่อมต่อกับสายอื่นที่ตำแหน่งเดียวไม่มีกิ่งเชื่อมต่อออกจากสายนี้ **B-chain** มีโครงสร้างแบบกิ่ง เชื่อมต่อกับสายอื่นๆ 2 สายหรือมากกว่า **C-chain** เป็นสายแกนที่ประกอบด้วยหมู่รีดิวซ์ 1 หมู่ที่เป็นอิสระและถูกแทนที่เพียงจุดคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 (primary hydroxyl group) ซึ่งในแอมิโลเพกทินแต่ละโมเลกุลจะประกอบด้วยสาย C หนึ่งสายเท่านั้น เนื่องจากการเชื่อมต่อ A-chain, B-chain และ C-chain ภายในโมเลกุลของแอมิโลเพกทินด้วยพันธะ α -(1,6) glucosidic linkage ซึ่งมี C-chain เพียงหนึ่งสายต่อหนึ่งโมเลกุล ขนาดโมเลกุลของแอมิโลเพกทินที่มีตั้งแต่ขนาดเล็กจนถึงโมเลกุลขนาดใหญ่ จะอยู่รวมตัวกันเป็นก้อนหรือที่เรียกว่าคลัสเตอร์ (cluster) บริเวณที่มีการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบเรียกว่า ส่วนผลึก (crystalline region) และบริเวณที่มีการจัดเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ เรียกว่า ส่วนอสัณฐาน (amorphous region) อัตราส่วนของ B chain จะต้องประกอบด้วยสาย A chain

มากกว่าหนึ่งสายเสมอ (Buléon *et al.*, 1998) โดยมีอัตราส่วนระหว่าง A chain : B chain ระหว่าง 1:1 ถึง 2:1 (Molar basis) หรือ 0.5:1 ถึง 1:1 (weight basis) (Tester *et al.*, 2004) โครงสร้างโมเลกุลของแอมิโลเพกทิน และคลัสเตอร์ของสายแอมิโลเพกทิน แสดงดังภาพที่ 2 และ 3



ภาพที่ 2 ลักษณะโครงสร้างของแอมิโลเพกทินที่ประกอบด้วยส่วนผลึกและส่วนอสัณฐาน
1 = ส่วนผลึก, 2 = ส่วนอสัณฐาน

ที่มา: Robin *et al.* (1974)

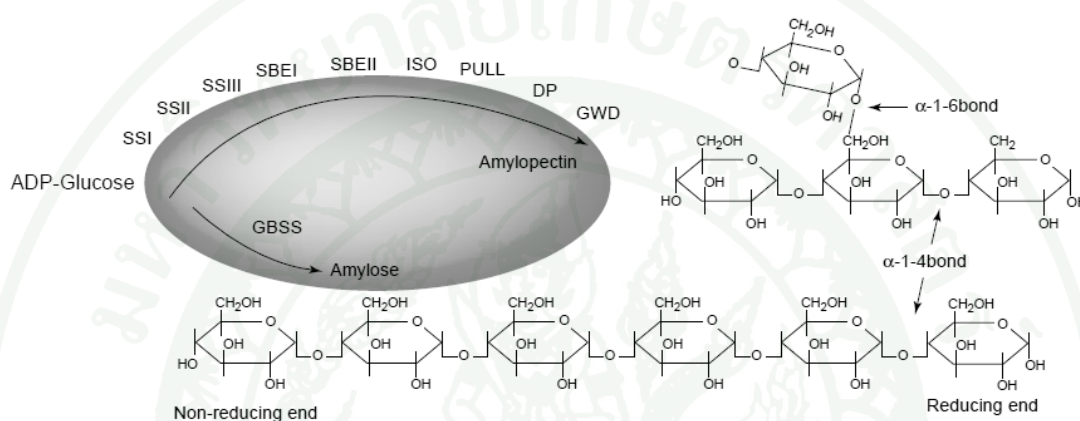


ภาพที่ 3 รูปแบบ cluster model ของแอมิโลเพกทิน

ที่มา: Tester *et al.* (2004)

โดยกระบวนการสังเคราะห์พอลิเมอร์ทั้งสองชนิดต้องอาศัยเอนไซม์ในกระบวนการสังเคราะห์ที่แตกต่างกัน โดยเอนไซม์จะทำหน้าที่ในการเชื่อมต่อโมเลกุลของอะดีโนซีนไดฟอสเฟอ

กลูโคส เข้าทางด้านปลายของสายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่มีหมู่รีดิวซิง (non-reducing end) โดยเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์แบ่งเป็นเอนไซม์ 2 กลุ่มหลักๆ ได้แก่ เอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์แอมิโลส คือ เอนไซม์ GBSS (granule-bound starch synthase) โดยเอนไซม์ดังกล่าวจะปรากฏอยู่ในเม็ดสตาร์ช ในขณะที่เอนไซม์ที่ใช้สังเคราะห์แอมิโลเพกทิน มักจะปรากฏอยู่ที่ผิวของเม็ดสตาร์ช ซึ่งเอนไซม์ที่ใช้สังเคราะห์แอมิโลเพกทินจะมีเอนไซม์อย่างน้อย 9 อนุพันธ์ ดังภาพที่ 4 (Jobling, 2004)



ภาพที่ 4 ชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์แอมิโลเพกทินและแอมิโลส

ที่มา: Jobling (2004)

1.2 โปรตีน โปรตีนที่พบในข้าวมีปริมาณแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว โดยจะพบอยู่ในส่วนของเอมบริโอและเนื้อเยื่อนอกหรือ aleurone layer (สูงถึง 20-25%) มากกว่าส่วนของเอนโดสเปิร์ม แต่โปรตีนบริเวณเนื้อเยื่อนอกนี้จะลดลงเมื่อเมล็ดข้าวผ่านการขัดสีมากขึ้น (Zhou *et al.*, 2002) และปริมาณโปรตีนในสตาร์ชข้าวยังขึ้นอยู่กับวิธีการที่ใช้ในการแยกโปรตีนด้วย (Singh *et al.*, 2000) โปรตีนที่พบมากในเอนโดสเปิร์มของข้าว ได้แก่ อัลบูมิน, โกลบูลิน, โปรลามิน และกลูเตลิน ส่วนมากจัดเรียงตัวในลักษณะทรงกลม ขนาดประมาณ 0.5-4 ไมโครเมตร พบมากในโปรลามิน และบางชนิดมีการจัดเรียงตัวลักษณะคล้ายผลึก พบมากในกลูเตลินซึ่งโปรตีนที่กระจายอยู่ในเนื้อเมล็ดจะเป็นโปรตีนรูปร่างกลมขนาดเล็ก ส่วนโปรตีนรูปร่างกลมขนาดใหญ่มีปริมาณน้อยกว่าและจะพบมากในส่วนใจกลางเมล็ดเท่านั้น สำหรับร่างแหโปรตีน (protein matrix) จะพบน้อยมากหรือไม่พบเลยในเนื้อเมล็ดของข้าวซึ่งต่างจากธัญชาติชนิดอื่น ถ้าพบก็จะมีลักษณะเชื่อมโยงเป็นเส้นใยโปรตีน (protein fibrils) ระหว่างโปรตีนที่มีรูปร่าง เนื่องจากโปรตีนที่มีอยู่ในเมล็ดข้าวจะแทรกอยู่ระหว่างเม็ดสตาร์ชและโปรตีนบางส่วนที่เชื่อมโยงกับเม็ดสตาร์ช จึงมีผลต่อ

การเจลาตินในซอสของเม็ดสตาร์ช คือ ขัดขวางการพองตัวของเม็ดสตาร์ชทำให้ไม่เสียรูปร่างได้ง่ายและทำให้โมเลกุลแอมิโลสไม่ซึมผ่านออกไป มีผลต่อลักษณะความอ่อนหรือแข็งของเจลเมื่อเย็นลง ซึ่งเกี่ยวข้องกับเนื้อสัมผัสของข้าวหุงสุกที่มีลักษณะนุ่ม เหนียว หรือ ร่วน โปรตีนเหล่านี้เชื่อมกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) ทำให้เม็ดสตาร์ชเสียหายหรือถูกทำลายได้ยาก และเมื่อพันธะไดซัลไฟด์ถูกทำลายเม็ดสตาร์ชจะพองตัวใหญ่ขึ้นอย่างชัดเจน ด้วยเหตุนี้จึงทำให้โปรตีนในข้าวมีผลต่อการเกิดเจลาตินและ ความแข็งแรงของเม็ดสตาร์ช (Hamaker and Griffin, 1993)

1.3 ไขมัน อยู่ในส่วนด้านนอกของเมล็ดมากกว่าในใจกลางเมล็ด เป็นไขมันที่เกาะเกี่ยว (bond lipids) กับสารอื่น มีความสัมพันธ์กับเม็ดสตาร์ช 3 ลักษณะ คือลักษณะแรกไขมันอยู่ชิดกันกับโปรตีนอยู่ที่ผิวของเม็ดสตาร์ชภายนอกหรืออยู่ร่วมกับโครงสร้างของแอมิโลเพกทินสายนอก ลักษณะที่สองไขมันอยู่ภายในเม็ดสตาร์ชเกาะเกี่ยวกับสตาร์ช และลักษณะที่สามอยู่ภายในเม็ดสตาร์ชแต่ไม่เกาะเกี่ยวกับสตาร์ช (Morrison, 1988) ประเภทของไขมันในข้าวส่วนใหญ่ คือ ไตรกลีเซอไรด์ ประกอบด้วยกรดไขมัน ได้แก่ กรดพาลมิติก (palmitic acid) กรดโอเลอิก (oleic acid) และ กรดลิโนเลอิก (linoleic acid) (Fugino, 1978) รองลงมาคือ ฟอสโฟลิพิด (phospholipids) ไกลโคลิพิด (glycolipids) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) เป็นไขมันประเภทสารประกอบโมโนกลีเซอไรด์ (monoglyceride) ซึ่งกลุ่มโมโนกลีเซอไรด์เป็นกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Henry and Kettlewell, 1996)

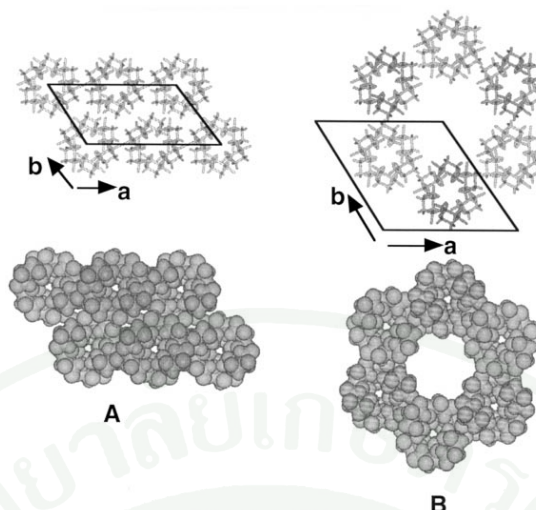
1.4 เถ้า แร่ธาตุ และวิตามิน โดยทั่วไปข้าวมีปริมาณเถ้าอยู่ระหว่างร้อยละ 0.26-1.95 โดยน้ำหนัก ชนิดของแร่ธาตุหลัก (major minerals หรือ macro minerals) ในเถ้าที่พบ ได้แก่ ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม ซิลิกอน แมกนีเซียม แคลเซียม โซเดียม และเหล็ก สำหรับวิตามินพบมากในข้าวกล้อง มีมากกว่าข้าวสาร ไทอามีนและไนอาซินเป็นวิตามินที่สำคัญที่สุดในข้าว

2. รูปร่างและโครงสร้างของเม็ดสตาร์ช

เม็ดสตาร์ชข้าวมีขนาดประมาณ 3-5 ไมครอน มีลักษณะรูปร่างเป็นเหลี่ยมหลายเหลี่ยม (Champagne, 1996) ลักษณะเฉพาะของแกรนูลข้าวประการหนึ่งคือเป็น compound granules โดยแกรนูลข้าวประมาณ 20 – 60 แกรนูล เกาะกันเป็นกลุ่มแน่นอยู่ภายในแอมิโลพลาสต์ (amyloplast) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 150 ไมครอน (Sodhi and Singh, 2003) โดย Qi *et al.* (2003) พบว่า สตาร์ชข้าวเจ้าและข้าวเหนียวมีขนาดแกรนูลต่างกันเล็กน้อย โดยขนาดของสตาร์ชแกรนูลข้าวเจ้า และข้าวเหนียวที่ปลูกในอินเดียจะอยู่ในช่วง 2.4 – 5.4 ไมครอน และ 4.9– 5.7 ไมครอน ตามลำดับ

โครงสร้างแบบกิ่งผลึกของสตาร์ชประกอบไปด้วยส่วนอสัณฐาน (amorphous region) และส่วนของโครงร่างผลึก (crystalline region) ทั้งสองส่วนจะนี้มีการจัดเรียงตัวซ้อนกันเป็นชั้นในแนวรัศมีของเม็ดสตาร์ช จากจุดศูนย์กลางของเม็ดสตาร์ชหรือที่เรียกว่าไฮลัม (hilum) (Whistler and BeMiller, 1999) การเรียงสลับชั้นระหว่างส่วนอสัณฐานและส่วนที่เป็นโครงร่างผลึกนี้จะทำให้เกิดลักษณะเป็นวงแหวนหรือเรียกว่า growth ring ส่วนอสัณฐานเป็นส่วนที่มีการจัดเรียงโมเลกุลไม่หนาแน่น และไม่เป็นระเบียบ (Phillips and Williams, 2000) ประกอบไปด้วยบริเวณที่เป็นจุดเชื่อมกิ่ง (branch point) ของโมเลกุลแอมิโลเพกทิน และ โมเลกุลแอมิโลส (Singh *et al.*, 2003) ในสตาร์ชที่มีปริมาณแอมิโลสปานกลางและแอมิโลสต่ำ จะมีโครงร่างผลึกที่เสถียร เนื่องจากสายกิ่งแขนงของแอมิโลเพกทินเกิดการพันกันเป็นเกลียวคู่ด้วยพันธะไฮโดรเจน และส่วนของความเป็นผลึกของเม็ดสตาร์ชจะเพิ่มสูงขึ้น เมื่อมีการรวมตัว หรือจับตัวกันของโครงร่างผลึกมากขึ้น (Tester, 1997) นอกจากนี้ความเป็นผลึกของเม็ดสตาร์ชเพิ่มขึ้นเมื่อแอมิโลเพกทินเพิ่มขึ้น (Yuan *et al.*, 1993; Singh *et al.*, 2003) และความเป็นผลึกของสตาร์ชมีค่าแตกต่างกันในสตาร์ชต่างชนิดกัน หรือต่างพันธุ์กัน แต่โมเลกุลของแอมิโลสสามารถเกิดอันตรกิริยา (interaction) กันจนเกิดเป็นโครงร่างผลึกได้เช่นกัน แต่จะให้ความเป็นผลึกน้อยกว่าแอมิโลเพกทิน (Vandeputte *et al.*, 2003b) ซึ่ง Tester (1997) พบว่า ในสตาร์ชที่มีปริมาณแอมิโลสปานกลาง โมเลกุลแอมิโลสจะอยู่ในส่วนอสัณฐาน และสตาร์ชที่มีปริมาณแอมิโลสสูง โมเลกุลอาจสามารถพันกันจนเกิดเป็นโครงร่างผลึกได้

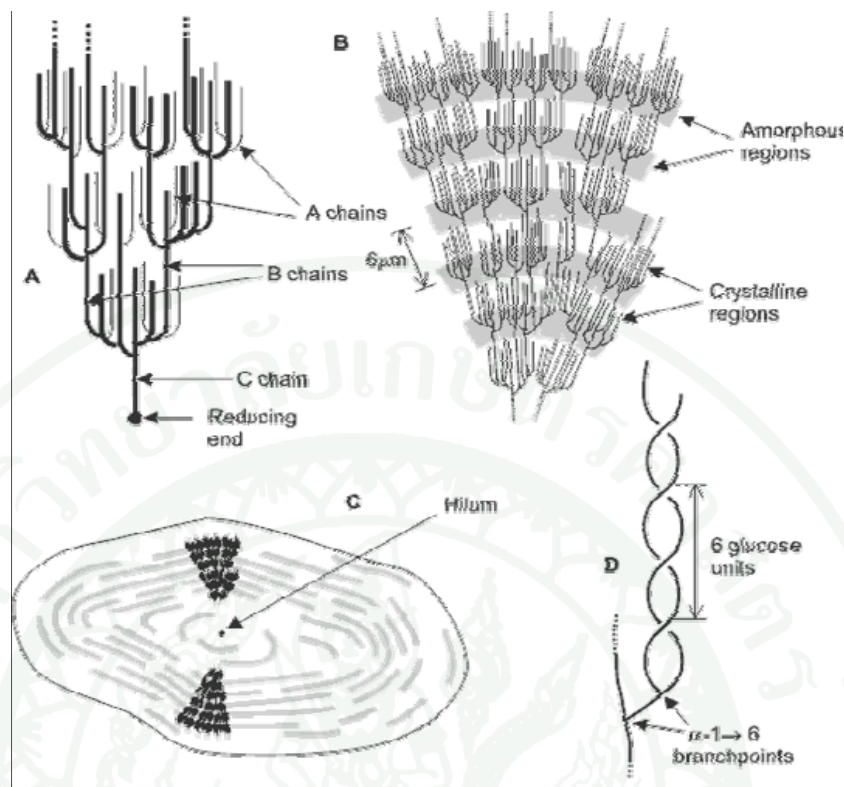
โมเลกุลของสตาร์ชสามารถจัดเรียงตัวเป็นเกลียวคู่ได้ โดยจะเกิดใน 2 ลักษณะ คือ โครงสร้างแบบ A และ โครงสร้างแบบ B ขึ้นอยู่กับการจัดเรียงตัว (parallel หรือ antiparallel) ในหน่วยเซลล์ (unit cell) และการพันของเกลียวคู่ โดยพิจารณาจากทิศทางของเกลียวคู่ที่พัน (left-handed หรือ right-handed) เกลียวคู่แบบ A มีการอัดตัว และจัดเรียงตัวของโมเลกุลในหน่วยเซลล์เป็นแบบ monoclinic และมีโมเลกุลของน้ำแทรกอยู่ระหว่างสายของเกลียวคู่นั้นจำนวน 8 โมเลกุล ต่อหนึ่งหน่วยเซลล์ ส่วนโครงสร้างแบบ B เป็นเกลียวคู่ที่มีการอัดตัว และจัดเรียงตัวของโมเลกุลในหน่วยเซลล์เป็นแบบ hexagonal ช่องว่างกลางของโมเลกุลที่ล้อมรอบไปด้วยเกลียวคู่ 6 สายในโครงสร้างแบบ B จะมีโมเลกุลน้ำจำนวน 36 โมเลกุล (Sajilata *et al.*, 2006; Buléon *et al.*, 1998) รูปแบบโครงสร้างเกลียวคู่ของโมเลกุลสตาร์ชแบบ A และ B แสดงดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 การจัดเรียงโมเลกุลของสตาร์ชแบบเกลียวคู่ของโครงสร้างแบบ A และโครงสร้างแบบ B บนแนวระนาบ a และ b

ที่มา: Buleon *et al.* (1998)

เม็ดสตาร์ชจะมีคุณสมบัติในการทำให้เกิดการบิดระนาบแสงโพลาไรซ์ (polarized light) เมื่อนำมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ภายใต้แสงโพลาไรซ์ (polarized light) จะเห็นการตัดกันของแขนที่เรียกว่ากากบาท (maltese cross) หรือไบรีฟรินเจนซ์ (birefringence) โดยมีจุดตัดอยู่ที่ตำแหน่งของไฮลัม (hilum) ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของเม็ดสตาร์ชมีลักษณะเป็นแบบกึ่งผลึก (semi-crystalline) (ภาพที่ 6) ประกอบด้วยส่วนที่เป็นผลึก (crystalline regions) และอสัณฐาน (amorphous regions) (ภาพที่ 6B) ซึ่งเกิดจากแอมิโลสและแอมิโลเพกทินจัดเรียงตัวเป็นเม็ดสตาร์ช (ภาพที่ 6C) สายโซ่สั้นของแอมิโลเพกทินจะมีการจัดเรียงตัวในลักษณะเกลียวม้วนคู่ ซึ่งบางส่วนจะเกิดเป็นโครงสร้างผลึก ส่วนอสัณฐานของเม็ดแป้งจะประกอบด้วยโมเลกุลของแอมิโลสและสายโซ่ยาวของแอมิโลเพกทิน (กล้านรงค์ และ เกื้อกูล, 2546) สำหรับโครงสร้างหลักของแอมิโลเพกทินในส่วนผลึก (ภาพที่ 6A) คือ A-chain และ B-chain ภายนอกของแอมิโลเพกทินเป็นเกลียวคู่ (double helices) ที่มีการจัดเรียงตัวทั้งแบบขนานและไม่ขนาน ส่วนที่เป็นกิ่งก้านที่อยู่ใกล้เกลียวคู่อาจช่วยให้เกิดเป็นเกลียวคู่ (ภาพที่ 6D) โดยส่วนที่เป็นโซ่ข้างสามารถพับกลับไปยังสายโซ่หลักกลายเป็นเกลียวคู่ ซึ่งการเกิดเป็นผลึกยังอาจเกิดร่วมกับสายโซ่ของแอมิโลส โดยการเกิดผลึกของแอมิโลสมีโครงสร้างเป็นเกลียวเดี่ยว (single helices) ดังนั้นปัจจัยที่มีผลต่อโครงสร้างที่เป็นผลึกของเม็ดสตาร์ช ได้แก่ อัตราส่วนของแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน น้ำหนักโมเลกุล ระดับกิ่งก้าน และความยาวของสายโซ่ภายนอกของแอมิโลเพกทิน (Oates, 1997)



ภาพที่ 6 โครงสร้างของแอมิโลเพกทิน

(A) การแบ่งสายโซ่ของแอมิโลเพกทิน (B) ลักษณะการเรียงผลึกแบบ semi-crystalline
(C) การจัดเรียงตัวของโมเลกุลแอมิโลเพกทิน (D) เกลียวคู่ (double helix) ของแอมิโลส
และแอมิโลเพกทิน

ที่มา: Chaplin (2006)

3. โปรตีนในข้าว

โปรตีนในข้าวสะสมอยู่บริเวณต่างๆของเมล็ดข้าว ได้แก่ เปลือกหุ้ม (caryopsis), เอ็มบริโอ (embryo) และเอนโดสเปิร์ม (starchy endosperm) โดยพบว่าโปรตีนจะอยู่ในส่วนของเอ็มบริโอและชั้นของแอลิวโรน (aleurone) มากกว่าส่วนของเอนโดสเปิร์มเช่นเดียวกับธัญพืชชนิดอื่นๆ โปรตีนข้าวนี้ประกอบด้วยโปรตีน 4 ชนิด ซึ่งจำแนกตามความสามารถในการละลายที่แตกต่างกัน (Juliano, 1994)

3.1 โปรตีนในข้าวจำแนกตามความสามารถในการละลาย

3.1.1 อัลบูมิน (albumin) มีสัดส่วนประมาณ 5% สามารถละลายในน้ำหรือละลายในน้ำที่มีกรดอยู่เพียงเล็กน้อยและจะตกตะกอนทันทีเมื่อได้รับความร้อน โปรตีนชนิดนี้เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเอนไซม์โปรตีน

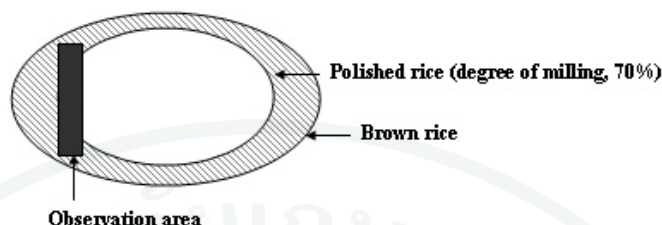
3.1.2 โกลบูลิน (globulin) มีสัดส่วนประมาณ 12% สามารถละลายได้ในน้ำเกลือ (เข้มข้น 0.4 โมลาร์) โปรตีนชนิดนี้เมื่อได้รับความร้อนจะตกตะกอนได้ยาก

3.1.3 กลูเตลิน (glutelin) มีสัดส่วนประมาณ 80% โปรตีนชนิดนี้สามารถละลายในสารละลายที่มีกรดหรือด่าง (กรดไฮโดรคลอริกหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์)

3.1.4 โปรลามิน (prolamin) มีสัดส่วนประมาณ 3% โปรตีนชนิดนี้จะไม่ละลายในน้ำแต่จะละลายในเอทานอลเข้มข้น 70-80 เปอร์เซ็นต์

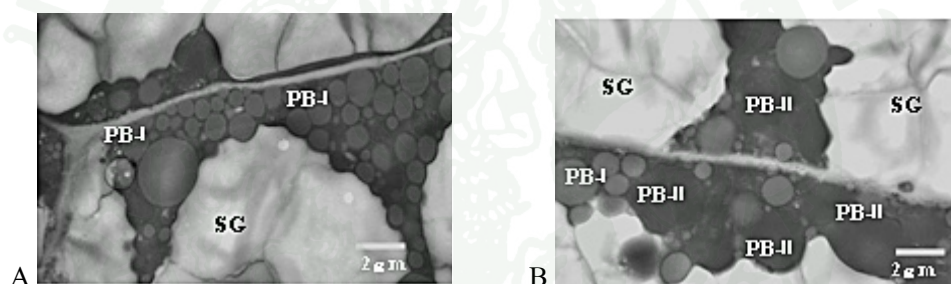
เมล็ดข้าวที่ผ่านการขัดสีแล้วส่วนที่เหลืออยู่คือเอนโดสเปิร์มซึ่งมีสตาρχเป็นองค์ประกอบหลักที่สำคัญ (Zhou *et al.*, 2002) บริเวณผิวของเมล็ดสตาρχเหล่านี้จะมีอนุภาคของโปรตีนอยู่กันอย่างหนาแน่นในรูปทรงกลม เรียกว่า โปรตีนบอดี (protein bodies) ซึ่งมี 2 ชนิด คือ Protein bodies I และ II ได้แก่ โปรลามิน (prolamin) และกลูเตลิน (glutelin) ตามลำดับ โดยโปรตีนบอดี I มีลักษณะเป็นอนุภาคทรงกลม โครงสร้างเป็นชั้นบางๆ ขนาดเล็กประมาณ 1-2 ไมครอน ส่วนโปรตีนบอดี II มีขนาดประมาณ 2-3 ไมครอน บางส่วนมีการจัดเรียงตัวลักษณะคล้ายผลึก (Furukawa *et al.*, 2007) โปรตีนเหล่านี้เชื่อมกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) ทำให้เมล็ดแบ่งเสียหายได้ยาก และเมื่อพันธะไดซัลไฟด์ถูกทำลายเมล็ดแบ่งจะพองตัวใหญ่ขึ้นอย่างชัดเจน (Hamaker and Griffin, 1993) Furukawa *et al.* (2007) ศึกษาโครงสร้างของข้าวที่มีปริมาณกลูเตลินต่ำเปรียบเทียบกับข้าวทั่วไปโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (transmission electron microscope; TEM) ข้าวที่ใช้ในการวิจัยจึงแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีโปรตีนกลูเตลินต่ำ (Tashu-kei 1001 และ LGC1) และอีกกลุ่มเป็นข้าวทั่วไป (Hyogokitanishiki และ Yamadanishiki) ส่วนของเมล็ดข้าวที่นำมาศึกษาคือบริเวณผิวด้านนอกของเมล็ดข้าวที่ผ่านการขัดสีแล้ว (ภาพที่ 7) จากการศึกษาพบว่าข้าวที่มีกลูเตลินหรือโปรตีนบอดี II ต่ำจะมีส่วนประกอบและการกระจายตัวของโปรตีนแตกต่างจากข้าวทั่วไป โดยโครงสร้างของเอนโดสเปิร์มประกอบด้วยโปรลามินหรือโปรตีนบอดี I เป็นส่วน

ใหญ่ดังแสดงในภาพที่ 8A ในขณะที่ข้าวทั่วไปพบว่าภายในเอนโดสเปิร์มจะมีโปรตีนบอดี II อยู่อย่างหนาแน่นบริเวณผิวของสตาร์ชเกรนูล ดังแสดงในภาพที่ 8B



ภาพที่ 7 ภาพจำลองบริเวณของเมล็ดข้าวที่นำไปศึกษาโครงสร้าง

ที่มา: Furukawa *et al.* (2007)



ภาพที่ 8 โครงสร้างของเมล็ดข้าวจากการส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (TEM)
(A) ข้าวที่มีโปรตีนกลูเทลินต่ำ และ (B) ข้าวทั่วไป

ที่มา: Furukawa *et al.* (2007)

โปรตีนที่เกาะเกี่ยวอยู่บนเม็ดสตาร์ช (granule-associated proteins) สามารถแยกเป็น 2 ชนิดหลักๆ คือ โปรตีนบริเวณพื้นผิวและโปรตีนที่อยู่ภายในเม็ดสตาร์ช จากการแยกโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่าในข้าวสาลีโปรตีนที่อยู่บริเวณพื้นผิวมีขนาดระหว่าง 5-30 กิโลดาลตัน ส่วนโปรตีนภายในเม็ดสตาร์ชมีขนาดอยู่ระหว่าง 59-149 กิโลดาลตัน (Schofield and Greenwell, 1987) ในทำนองเดียวกันโปรตีนที่พบในข้าวโพดก็สามารถแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ โปรตีนที่ผิวมีขนาด 10-27 กิโลดาลตัน ซึ่งสามารถสกัดออกไปได้ง่ายโดยใช้เอนไซม์โปรตีเอส ส่วนโปรตีนภายในเม็ดสตาร์ชมีขนาดมากกว่า 32 กิโลดาลตัน ขึ้นไปซึ่งทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอส โปรตีนภายในเม็ดสตาร์ชที่สำคัญ คือ waxy gene หรือถูกเรียกว่า waxy (W_x) protein ได้แก่ Granule-bound starch

synthase (GBSS) น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 60 กิโลดาลตัน เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทในการสังเคราะห์แอมิโลสจึงไม่พบโปรตีนชนิดนี้ในสตาร์ชกลุ่มแวกซี่ (waxy starch) (Han and Hamaker, 2002)

3.2 ผลของโปรตีนต่อคุณสมบัติของแป้งข้าว

คุณสมบัติการเกิดเจลลิตในเซชันของเม็ดสตาร์ชเป็นตัวกำหนดลักษณะเนื้อสัมผัสของเมล็ดข้าวสุก ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดเจลลิตในเซชัน ได้แก่ ขนาดและรูปร่างของเม็ดสตาร์ช ปริมาณแอมิโลส ระดับความเป็นผลึกในแอมิโลเพกติน และอาจเป็นผลจากการจัดเรียงตัวและปริมาณไขมันและโปรตีนที่รวมตัวกับเม็ดสตาร์ช (Hamaker and Griffin, 1990) ปัจจัยเหล่านี้แตกต่างกันขึ้นกับพันธุ์ข้าวที่ต่างกัน การเกิดเจลลิตในเซชันมีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติด้านความหนืดและการเกิดเจลซึ่งเป็นผลมาจากความสามารถในการพองตัวของเม็ดสตาร์ช การพองตัวของเม็ดสตาร์ชแตกต่างกันขึ้นกับความแข็งแรงเม็ดสตาร์ช และระดับความเป็นผลึกของแอมิโลเพกติน ส่วนโปรตีนนั้นมีผลต่อคุณสมบัติการเกิดเจลลิตในเซชันของเม็ดสตาร์ช พบว่าการเชื่อมกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ของโปรตีนทำให้เม็ดสตาร์ชมีความแข็งแรง มีบทบาทในการยับยั้งการพองตัวของเม็ดสตาร์ชระหว่างการเกิดเจลลิตในเซชัน และทำให้เม็ดสตาร์ชที่พองตัวแตกออกยากเมื่อได้รับแรงเฉือน การทำลายพันธะไดซัลไฟด์ด้วยสารเคมี (reducing agent) จึงทำให้การเกิดเจลลิตในเซชันของแป้งข้าวเปลี่ยนไป เมื่อเติม reducing agent ลงในแป้งข้าวแล้ววัดค่าความหนืด พบว่าภายใต้สภาวะที่มีแรงเฉือนต่ำเมื่อพันธะไดซัลไฟด์ถูกทำลายแล้วเม็ดสตาร์ชสามารถพองตัวมีขนาดให้ขึ้นกว่าเดิมจึงทำให้ค่าความหนืดของแป้งข้าวเพิ่มขึ้น แต่เมื่อให้แรงเฉือนปานกลางกลับพบว่าความหนืดของแป้งข้าวจะลดลง (Hamaker and Griffin, 1993)

โปรตีนเป็นองค์ประกอบหลักของข้าวซึ่งมีผลต่อคุณภาพในการทำอาหารและการบริโภค ปริมาณโปรตีนในข้าวแตกต่างกันมีความสัมพันธ์กับลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวสุก คือ ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนสูงมีความนุ่มต่ำกว่าข้าวที่มีโปรตีนต่ำ ในเม็ดสตาร์ชมีโปรตีนที่เรียกว่า starch granule associated protein โปรตีนขนาด 60 กิโลดาลตัน หรือ waxy gene protein เป็นส่วนที่ฝังตัวอยู่ในเม็ดสตาร์ช โดยเฉพาะ granule-bound starch synthase (GBSS) (Han and Hamaker, 2002) พบมากในข้าวที่มีแอมิโลสสูงมากกว่าข้าวที่มีแอมิโลสต่ำจึงสอดคล้องกับผลของปริมาณแอมิโลสต่อคุณภาพในการทำอาหารและการบริโภคคือข้าวแอมิโลสต่ำจะเหนียวมากกว่าข้าวแอมิโลสสูง

4. การสกัดสตาร์ช

การสกัดสตาร์ชสามารถแยกโปรตีนในข้าวออกเพื่อให้สตาร์ชมีความบริสุทธิ์และเหมาะสมสำหรับการใช้ในอุตสาหกรรมอาหารประเภทต่างๆ การสกัดสตาร์ชทำได้หลายวิธี วิธีการแช่ในสารละลายต่างเป็นวิธีทั่วไปที่ใช้ในอุตสาหกรรม ผลที่ได้คือ starch recovery สูงและปริมาณโปรตีนตกค้างน้อย แต่วิธีนี้ก่อให้เกิดค้างและเกล็ดตกค้างเป็นจำนวนมากทำให้ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำเสียเพิ่มขึ้น การใช้สารลดแรงตึงผิว (surfactant) เช่น dodecylbenzene sulfonate (DoBS) และ sodium lauryl sulfate (SLS) เป็นอีกวิธีหนึ่ง โดยสารละลายทั้งสองชนิดนี้จะไปทำลายโครงสร้างของโปรตีนและทำให้อยู่ในสภาพที่ละลายได้ แต่การใช้สารละลายต่างและสารลดแรงตึงผิวอาจจะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเม็ดสตาร์ช ซึ่งจะมีผลกระทบต่อคุณสมบัติทางกายภาพของเม็ดสตาร์ช จึงมีการศึกษาวิธีสกัดสตาร์ชด้วยวิธีอื่น ได้แก่ การใช้เอนไซม์โปรตีเอสซึ่งไม่ทำลายเม็ดสตาร์ช แต่เอนไซม์มีราคาแพงและสตาร์ชที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์ต่ำ นอกจากนี้ยังมีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับการใช้เอนไซม์โปรตีเอสในการสกัดสตาร์ช ซึ่งพบว่าสตาร์ชที่ได้มีคุณสมบัติทางเคมีเชิงกายภาพเทียบเท่ากับการสกัดด้วยวิธีแช่ในสารละลายต่างแต่ใช้เวลาในการสกัดสั้นกว่า และไม่มีสารเคมีตกค้าง (Wang and Wang, 2004)

Lim *et al.* (1999) ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารละลายที่ใช้ในการสกัดโปรตีนออกจากสตาร์ชข้าว ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ 0.1 และ 0.2) และสารละลายโซเดียมลอริลซัลเฟต (SLS, ร้อยละ 1.2) สารละลายโดเดซิลเบนซีนซัลโฟเนต (DoBS, ร้อยละ 1.2) ใช้ร่วมกับการเติมโซเดียมซัลไฟต์ (ร้อยละ 0.12) พบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในช่วงโมเมนต์ของการสกัดสามารถสกัดโปรตีนได้มากกว่าร้อยละ 80 และเมื่อทำการสกัดซ้ำโดยเปลี่ยนสารละลายใหม่ประสิทธิภาพการสกัดโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ การใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.2 ในการสกัดซ้ำ 4 ครั้ง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใช้เวลาครั้งละ 1 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณโปรตีนคงเหลืออยู่ในเม็ดสตาร์ชร้อยละ 0.9 นั่นคือสกัดโปรตีนในข้าวได้ร้อยละ 86 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารละลายที่ใช้ในการสกัดโปรตีนพบว่า DoBS มีประสิทธิภาพในการสกัดโปรตีนในข้าวได้มากที่สุด ในขณะที่ SLS สกัดได้ต่ำที่สุด นอกจากนี้การศึกษาผลของปริมาณโปรตีนต่อคุณสมบัติของเพสต์ (pasting properties) พบว่าปริมาณโปรตีนมีบทบาทสำคัญในการกำหนดคุณสมบัติของเพสต์โดยมีความสัมพันธ์ในทิศทางลบต่อค่าความหนืดสูงสุด (peak viscosity) ($r=0.96$) คือเมื่อปริมาณโปรตีนลดลงค่า peak viscosity จะเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณโปรตีนมีความสัมพันธ์ในทิศทางบวกกับค่า pasting temperature จากการทดลองชี้ให้เห็นว่าการดูดซับน้ำ

ของเม็ดสตาร์ชถูกยับยั้งโดยการมีโปรตีน เนื่องจากการที่พันธะไดซัลไฟด์ของโปรตีนไม่ถูกทำลาย สตาร์ชเกรนจะพองตัวได้ต่ำ (Hamaker and Griffin, 19993)

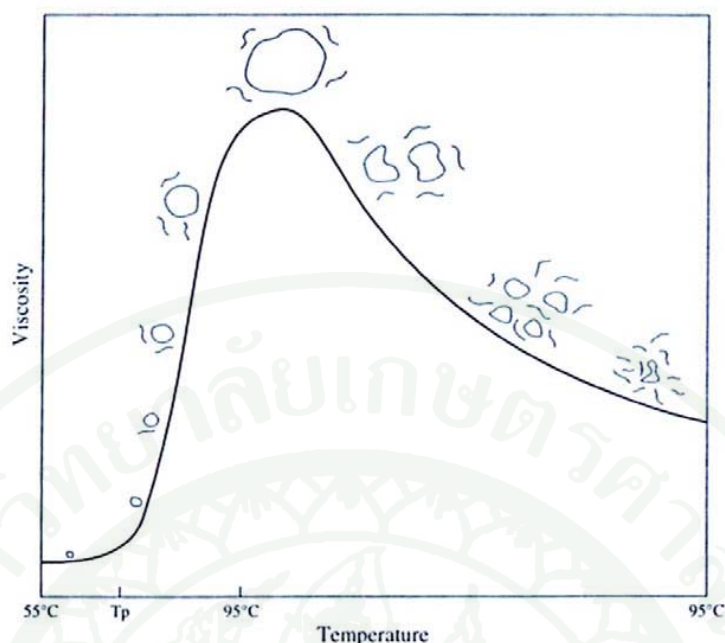
Wang and Wang (2003) ศึกษาการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับสารลดแรงตึงผิว ได้แก่ sodium dodecyl sulphate (SDS), sodium stearyl lactylate (SSL) และ Tween 80 ในการสกัด สตาร์ช เพื่อทดแทนการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) โดยใช้น้ำแป้ง (ร้อยละ 33) ผ่านเครื่อง ผลิตคลื่นเสียงความถี่สูง (sonicator) เป็นเวลา 15, 30 และ 60 นาที แอมพลิจูด (ร้อยละ) 25, 50 และ 75 ที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้ sodium dodecyl sulphate (SDS) ร้อยละ 0.5 ร่วมกับคลื่นเสียงความถี่สูง ช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตของสตาร์ช (ร้อยละ 84.9) และมีปริมาณโปรตีน คงเหลือต่ำ โดยที่การใช้คลื่นเสียงความถี่สูงนั้นไม่มีผลต่อคุณสมบัติของสตาร์ชและพื้นผิวเม็ด สตาร์ชไม่ถูกทำลาย การใช้คลื่นเสียงความถี่สูงเพียงอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับสารลดแรงตึงผิวนั้นมี ประสิทธิภาพในการสกัดสตาร์ชโดยใช้ระยะเวลาสั้น ลดการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งก่อให้เกิด ปัญหาน้ำเสีย

5. กระบวนการเกิดเจลตาในเซชันและการเกิดรีโทรเกรเดชัน

การที่โครงสร้างโมเลกุลของเม็ดสตาร์ชมีการจัดเรียงตัวเป็นแบบกึ่งผลึก (semi-crystalline) เนื่องจากการยึดจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลในสายโพลิเมอร์ จึงทำให้เม็ด สตาร์ชไม่สามารถละลายในน้ำเย็นได้ เม็ดสตาร์ชจะดูดซึมน้ำและพองตัวได้เล็กน้อยในน้ำเย็น เมื่อ นำมาทำแห้งเม็ดสตาร์ชสามารถกลับคืนสู่สภาพเดิมได้ การเปลี่ยนแปลงในระบายนี้นี้จึงเป็นการ เปลี่ยนแปลงแบบผันกลับได้ แต่เมื่อให้ความร้อนแก่สารละลายสตาร์ช ความร้อนทำให้พันธะ ไฮโดรเจนคลายตัว โมเลกุลของสตาร์ชจะเกิดการเคลื่อนที่ทำให้โมเลกุลของน้ำในระบบเข้าไปจับ กับโมเลกุลของสตาร์ชด้วยพันธะไฮโดรเจน โดยจะเริ่มจากส่วนอสัณฐาน (amorphous) ก่อน ส่งผล ให้โมเลกุลของสตาร์ชมีความสามารถในการดูดซึมน้ำและพองตัวมากขึ้น ทั้งนี้ความสามารถในการ พองตัวของสตาร์ชนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของสตาร์ช ปริมาณน้ำในสารละลายสตาร์ช (กลั๊วรงค์ และ เกื้อกุล, 2546) ปริมาณแอมิโลสและแอมิโลเพกทิน องค์ประกอบทางเคมีอื่น ๆ เช่น ไขมัน โดย ไขมันจะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโมเลกุลของแอมิโลสจัดเรียงตัวอยู่ในชั้นของส่วน ออสัณฐาน (amorphous region) ส่งผลทำให้น้ำไม่สามารถเข้าไปในส่วนอสัณฐานและมีผลไปถึง ส่วนผลึกทำให้ไม่สามารถรวมกับน้ำได้เช่นเดียวกัน (Tester and Morrison, 1990a)

เมื่อเพิ่มความร้อนให้กับระบบต่อไปจะทำให้เม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัวและทำให้โมเลกุลของแอมิโลสบางส่วนหลุดออกจากเม็ดสตาร์ช โมเลกุลของน้ำอิสระที่เหลืออยู่รอบๆเม็ดสตาร์ชมีปริมาณน้อยลง เม็ดสตาร์ชเคลื่อนไหวได้ยากขึ้นทำให้เกิดความหนืด สารละลายจะมีความใสและความหนืดเพิ่มขึ้น (กล้านรงค์ และเกื้อกูล, 2546) ปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า การเกิดเจลลิตไนเซชัน (gelatinization) การเปลี่ยนแปลงเนื่องจากความร้อนดังกล่าวนี้ทำให้เกิดการสูญเสียโครงสร้างผลึก ไบรีฟรินเจนซ์ (birefringence) จะหายไป ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่ไม่สามารถฟื้นกลับได้ (Whistler and BeMiller, 1999)

ระดับอุณหภูมิในการเกิดเจลลิตไนเซชันจะแตกต่างกันไปตามชนิดและองค์ประกอบของสตาร์ช การเกิดเจลลิตไนเซชันไม่ได้เกิดเฉพาะที่อุณหภูมิใดอุณหภูมิหนึ่ง แต่เกิดเป็นช่วงอุณหภูมิประมาณ 8-12 องศาเซลเซียส การตรวจสอบกระบวนการเกิดเจลลิตไนเซชันสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเม็ดสตาร์ชหรือการสูญเสียไบรีฟรินเจนซ์ (birefringence) ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์ เช่น Kofler hotstage microscope with polarized light นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบด้วยเครื่องมือวัดและบันทึกปริมาณความร้อนที่เปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการเกิดเจลลิตไนเซชัน ได้แก่ เครื่อง Differential scanning calorimeter (DSC) เพื่อหาช่วงของอุณหภูมิเริ่มต้น (onset temperature; T_o) อุณหภูมิสูงสุด (peak temperature; T_p) และอุณหภูมิสุดท้าย (conclusion temperature; T_c) ของการเกิดเจลลิตไนเซชันและค่าพลังงานเอนทัลปี (enthalpy; ΔH , J/g) ในการเกิดเจลลิตไนเซชัน (กล้านรงค์และเกื้อกูล, 2546) โดยทั่วไปพอลิเมอร์ต่างๆในรูปผลึกและอสัณฐานจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างเมื่อได้รับความร้อน โดยในสภาพที่มีน้ำน้อยจะมีอุณหภูมิที่หลอมละลาย (T_m) ที่สูงมาก คืออยู่ในช่วง 160-200 องศาเซลเซียส แต่เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำมากขึ้นอุณหภูมิของการหลอมละลายก็จะลดลง สำหรับการวัดการเกิดเจลลิตไนเซชันของสตาร์ชด้วยเครื่อง DSC ทำได้โดยให้ความร้อนแก่สารผสมของแป้งกับน้ำในอัตราส่วน 30 : 70 จนถึงอุณหภูมิที่คาดว่าเลขช่วงเจลลิตไนเซชันจะได้ thermogram เป็นกราฟระหว่าง heat flow และอุณหภูมิ ซึ่งพลังงานที่ใช้ในการเกิดเจลลิตไนเซชัน (ΔH) ได้จากพื้นที่ใต้กราฟหารด้วยน้ำหนักสตาร์ช (Swinkels, 1985)



ภาพที่ 9 การเกิดเจลในเซชันของเม็ดสตาร์ช

ที่มา: Whistler and BeMiller (1999)

เมื่อเม็ดสตาร์ชได้รับความร้อนจนถึงอุณหภูมิที่เกิดเจลในเซชันแล้วจะพองตัวมีขนาดเพิ่มขึ้นกว่าเดิมหลายเท่าตัว (Singh *et al.*, 2003) การที่เม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัวอย่างเต็มที่และมีการให้แรงเชื่อมกับระบบ เม็ดสตาร์ชจะแตกออก ความหนืดของระบบจึงลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งการลดลงของความหนืด มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความแข็งแรงหรือประเภทของแกรนูลที่เกิดการพองตัว (Han and Hamaker, 2001) ในขณะเดียวกัน โมเลกุลของแอมิโลสจะเกิดการหลุดออกจากเม็ดสตาร์ช (ภาพที่ 9) ทั้งนี้อาจจะพบการหลุดออกมาของโมเลกุลแอมิโลสได้เช่นกัน จากนั้นเมื่อลดอุณหภูมิให้เย็นลง โมเลกุลของสตาร์ชที่อยู่ใกล้กันเกิดการจัดเรียงตัวกันใหม่ด้วยพันธะไฮโดรเจน เกิดเป็นโครงร่างตาข่ายสามมิติ โดยโมเลกุลของแอมิโลสซึ่งมีขนาดเล็กจะเกิดการจัดเรียงตัวได้ในอัตราเร็วกว่าแอมิโลเพกติน โครงร่างสามมิติที่เกิดขึ้นนี้สามารถอุ้มน้ำไว้ภายในและไม่มีการคูดน้ำเข้ามาอีก ทำให้ความหนืดคงตัวมากขึ้น เกิดลักษณะเจลเหนียวคล้ายฟิล์ม เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า การเกิดรีโทรเกรเดชัน (retrogradation) หรือการคืนตัว (setback) (Smith, 1979) การลดอุณหภูมิให้ต่ำลงไปอีก โมเลกุลสตาร์ชจะมีการเรียงตัวของโครงสร้างจะแน่นมากขึ้น โมเลกุลอิสระของน้ำที่อยู่ภายในจะถูกบีบออกมาจนเจล เรียกว่า syneresis ซึ่งปรากฏการณ์ทั้งสองนี้จะทำให้เจลมีลักษณะขรุขระและความหนืดเพิ่มขึ้น (กล้าณรงค์และเกื้อกูล, 2546; Whistler and

BeMiller, 1999) โดยปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเกิดและระดับการเกิดรีโทรเกรเดชันของเจลสตาร์ช คือ อัตราส่วนโมเลกุลของแอมิโลสต่อแอมิโลเพกติน ลักษณะโครงสร้างของโมเลกุลแอมิโลสและแอมิโลเพกตินในสตาร์ชแต่ละชนิด อุณหภูมิในการเก็บรักษาเจล ปริมาณน้ำหรือความเข้มข้นของสตาร์ชและ การมีองค์ประกอบอื่นๆ เช่น ลิปิด สารลดแรงตึงผิว และเกลือ (Whistler and Bemiller, 1999)

6. สมบัติทางวิทยากระแส (Rheology)

สมบัติวิทยากระแสเป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (deformation) หรือสมบัติการไหล (flow) ของวัสดุ เมื่อวัสดุได้รับแรงกระทำภายนอกที่เรียกว่า ความเค้น (Stress : σ) เป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอนุภาคที่เคลื่อนที่ไปขณะที่ถูกแรงมากระทำ ซึ่งเรียกว่า ความเครียด (Strain : ϵ) โดยการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นพฤติกรรมของวัสดุที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นของแข็ง ที่แสดงออกมาในรูปของความยืดหยุ่น (elastic) หรือการกลับคืนรูปร่างของโครงสร้างหลังจากให้แรง ในขณะที่การไหลเป็นพฤติกรรมของวัสดุที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นของเหลว ที่แสดงออกมาในรูปของความหนืด (viscous) หรือแรงต้านต่อการไหล ความหนืดที่สูงขึ้นก็จะมีผลต้านทานต่อการไหลมากขึ้นด้วย (Steffe, 1996)

ค่าพื้นฐานทางรีโอโลยีที่เกี่ยวข้องมีดังต่อไปนี้

- ความเค้น (Normal stress: σ_{normal}) คือค่าแรง (Force: F) หน่วยเป็นนิวตัน (N) ต่อพื้นที่ที่แรงนั้นมากระทำบนระนาบ (Area: A) หน่วยเป็นตารางเมตร (m^2) ซึ่งคำนวณได้จากสมการ

$$\sigma_{\text{normal}} = F/A \quad (1)$$

หน่วยของความเค้นเป็นนิวตันต่อตารางเมตร (N/m^2) หรือปาสคาล (Pa)

- ความเครียด (Strain: ϵ) คืออัตราส่วนของความยาวที่เปลี่ยนไป (ΔL) ต่อความยาวเริ่มต้น (L_0) บางครั้งอาจคิดเป็นร้อยละของการเปลี่ยนแปลง (%deformation) คำนวณได้จากสมการ

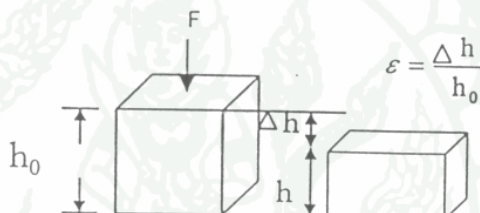
$$\epsilon = \Delta L / L_0 \quad (2)$$

ความเครียดไม่มีหน่วยเนื่องจากมีหน่วยเป็นเมตรต่อเมตร

- โมดูลัส (Modulus) คือ ค่าคงที่ของวัสดุที่มีความสัมพันธ์ระหว่างความเค้นและความเครียดจากกฎของฮุค (Hooke's law) ค่าโมดูลัสเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความยืดหยุ่นของวัสดุ (elasticity) โดยทฤษฎีของฮุคจะเป็นจริงหรือตั้งอยู่บนสมมติฐานที่ว่าวัสดุนั้นต้องเป็นวัสดุสารเนื้อเดียวกัน (homogenous) และสมการที่แสดงความสัมพันธ์ มีสมการคือ

$$\sigma = E \epsilon \quad (3)$$

โดย E คือ Young's modulus of elasticity มีหน่วยเป็นปาสคาล (Pa)



ภาพที่ 10 ความเค้นและความเครียดที่เกิดจากแรงกดมากระทำต่อตัวอย่าง

ที่มา: ชงชัย (2544)

แต่ถ้าความเค้นนั้นเกิดจากแรงเฉือนจะได้ค่าโมดูลัสเป็น shear modulus (G) โดยค่าโมดูลัสจะเป็นความสัมพันธ์ระหว่างความเค้นเฉือน (shear stress: σ) และความเครียดเฉือน (shear strain: γ) และได้ความสัมพันธ์ดังสมการ

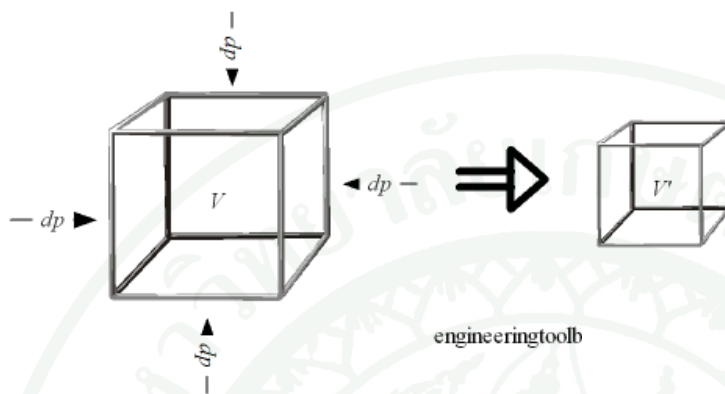
$$G = \frac{\sigma}{\gamma} \quad (4)$$

shear modulus มีหน่วยเป็นปาสคาล (Pa)

ถ้าความเค้นเกิดจากแรงกดอัด โมดูลัสที่คำนวณได้จะเป็น bulk modulus (K) ดังรูปที่ 11

$$K = \frac{-dp}{dV/V} \quad (5)$$

Bulk modulus มีหน่วยเป็นปาสคาล (Pa)



ภาพที่ 11 โมดูลัสที่เกิดจากแรงกดอัด (bulk modulus)

ที่มา: http://www.engineeringtoolbox.com/bulk-modulus-elasticity-d_585.html

ดังนั้น โมดูลัสจะมีหลายรูปแบบขึ้นอยู่กับลักษณะของแรงที่มากระทำต่อตัวอย่างว่าเป็นแรงชนิดไหน เช่น แรงกด (compression) แรงดึง (tension) แรงเฉือน (shear) และแรงกดอัด (bulk compression) (Rao and Steffe, 1992)

สำหรับสมบัติของของไหล สามารถอธิบายได้ตามกฎของนิวตัน (Newton's law) บางครั้งเรียกว่าของไหลแบบนิวตัน ซึ่งการวัดค่าเนื้อสัมผัสจะวัดเป็นค่าความหนืด (viscosity: μ) เมื่อมีความเค้นเฉือน (shear stress: σ) กระทำต่อตัวอย่างโดยมีอัตราเร็วในการเฉือน (shear rate: $\dot{\gamma}$) ต่างๆกัน โดยอัตราเฉือนจะวัดในหนึ่งหน่วยเวลา เนื่องจากความเครียดเฉือนที่ทุกตำแหน่งมีค่าเท่ากันหมด ฉะนั้นความหนืดจึงเป็นฟังก์ชันของเวลา (t) มีความสัมพันธ์ดังสมการ (Steffe, 1996)

$$\sigma = \mu \dot{\gamma} = \mu (d\gamma / dt) \quad (6)$$

เมื่อ μ คือ ความหนืด (viscosity) มีหน่วยเป็นปาสคาล.วินาที (Pa.s)

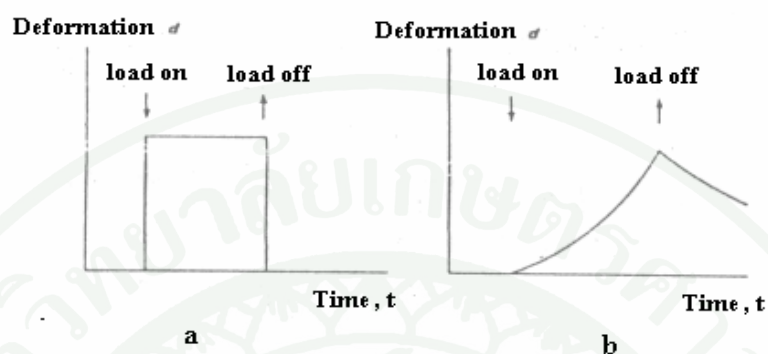
คุณสมบัติทางวิทยากระแสะจะอธิบายถึงสมบัติของวัสดุที่ยากที่จะกำหนดแน่นอน เช่น สารแขวนลอยหรืออิมัลชัน (suspension or emulsion) วัสดุพอลิเมอร์ (polymer material) และ วัสดุวิสโคอีลาสติก (viscoelastic material)

โดยปกติวัสดุในธรรมชาติ เช่น ผัก ผลไม้ เนื้อสัตว์ รวมทั้งยาง จะแสดงพฤติกรรมพื้นฐานที่บ่งบอกถึงลักษณะร่วมระหว่างความยืดหยุ่นและความหนืด ส่วนที่มีความยืดหยุ่นสมบูรณ์ในอุดมคติจะใช้กับวัสดุที่เป็นของแข็ง และส่วนที่เป็นของไหลในอุดมคติใช้กับวัสดุที่เป็นของเหลว ซึ่งในความเป็นจริงคุณสมบัติของวัสดุส่วนใหญ่รวมถึงอาหาร จะไม่สามารถอธิบายคุณสมบัติของวัสดุนั้นได้ด้วยพฤติกรรมอย่างใดอย่างหนึ่ง แต่สามารถอธิบายได้ดีเมื่อนำพฤติกรรมทั้งสองส่วนมารวมกัน เรียกคุณสมบัติแบบนี้ว่าคุณสมบัติวิสโคอีลาสติก (viscoelastic properties) และเรียกวัสดุที่มีคุณสมบัตินี้ว่าวัสดุวิสโคอีลาสติก โดยมีลักษณะที่สำคัญอย่างหนึ่งคือเป็นคุณสมบัติของวัสดุที่ขึ้นกับเวลา (Rao and Steffe, 1992)

พฤติกรรมที่มีความยืดหยุ่นแบบอุดมคติของของแข็ง คือ เมื่อมีแรงจากภายนอกมากระทำต่อวัสดุ รูปร่างของวัสดุจะเปลี่ยนไป แต่เมื่อถอนแรงออกจากวัสดุนั้นจะกลับสู่สภาพเดิมเหมือนกับสภาพที่ไม่มีแรงภายนอกมากระทำ ทั้งนี้เนื่องจากของแข็งมีความสามารถในการเก็บสะสมพลังงานได้และใช้พลังงานนั้นในการกลับคืนสู่รูปเดิม ในทางกลับกันของเหลวจะแสดงพฤติกรรมที่ไม่มีรูปร่างแน่นอนทั้งก่อนและหลังที่มีแรงภายนอกมากระทำ และเมื่อมีแรงภายนอกมากระทำจะเกิดการไหลไปโดยไม่มีการไหลกลับมา การไหลของของไหลไม่สามารถคืนรูปเดิมได้ เนื่องจากการไหลไม่มีความสามารถในการเก็บสะสมพลังงานทำให้พลังงานสูญหายไป ดังลักษณะพฤติกรรมของวัสดุวิสโคอีลาสติก คือ เมื่อให้ความเค้นเฉือน (shear stress) กับวัสดุที่มีความเครียด (shear strain) และถอนความเค้นออกทันทีทันใด วัสดุวิสโคอีลาสติกจะมีความยืดหยุ่นโดยมีการคืนรูปตามเวลาเหมือนสมบัติของของแข็งแต่ไม่กลับสู่สภาพเริ่มต้น เนื่องจากจะมีลักษณะของของเหลวที่เกิดการไหลไปข้างหน้าโดยไม่มีการย้อนกลับสู่สภาพเดิมได้

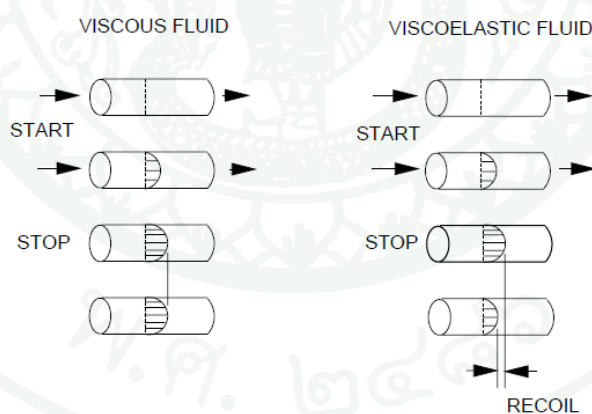
ผลิตภัณฑ์จากแป้ง เช่น แป้งเปียก หรือ เจล เป็นวัสดุอีกชนิดหนึ่งที่แสดงพฤติกรรมแบบวิสโคอีลาสติก เพราะโครงสร้างภายในประกอบด้วยส่วนที่เป็นโครงสร้างสามมิติของแอมิโลสล้อมรอบด้วยเม็ดแป้งที่พองตัว ซึ่งมีโมเลกุลแอมิโลสเรียงตัวกันอย่างมีระเบียบคล้ายลักษณะโครงสร้างภายในของของแข็ง และส่วนที่เป็นเม็ดแป้งที่พองตัว ซึ่งจะมีการเคลื่อนที่เมื่อได้รับแรงคล้ายลักษณะของของเหลว การตอบสนองทางวิทยากระแสะของผลิตภัณฑ์จากแป้งจึงมีทั้งพฤติกรรมแบบของแข็งยืดหยุ่นและของเหลวหนืด (Hsu *et al.*, 2003)

Elastic and Viscoelastic Materials



ภาพที่ 12 ลักษณะวัสดุที่มีสมบัติยืดหยุ่น (elastic) และวัสดุที่มีสมบัติแบบวิสโคอีลาสติก (viscoelastic)

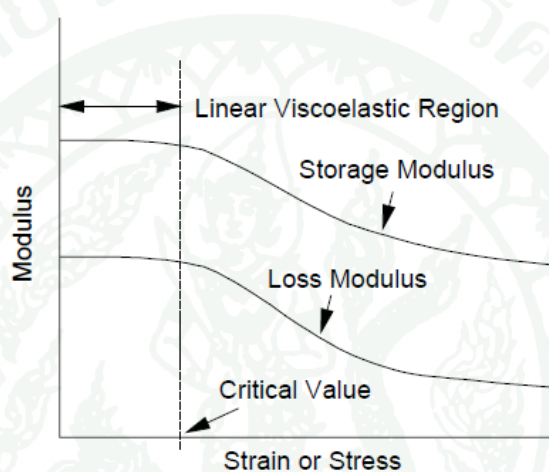
ที่มา: Noosuk (2003)



ภาพที่ 13 ลักษณะวัสดุที่มีสมบัติของของไหล (viscous) และวัสดุที่มีสมบัติแบบวิสโคอีลาสติก (viscoelastic)

ที่มา: Steffe (1996)

การแสดงผลพฤติกรรมของวัสดุพอลิเมอร์วิสโคอีลาสติก (Viscoelastic) จะขึ้นอยู่กับสมบัติยืดหยุ่น (elastic) และสมบัติที่เป็นลักษณะของของไหล (viscous) ที่มีอยู่ในวัสดุ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับฟังก์ชันของเวลาที่ใช้ในการทำให้วัสดุเสียรูป การวิเคราะห์ลักษณะของวัสดุพอลิเมอร์วิสโคอีลาสติก จะทดสอบในช่วงที่เป็น Linear Viscoelastic Range ดังภาพที่ 14 Linear Viscoelastic Range คือช่วงที่วัสดุแสดงลักษณะยืดหยุ่นหรือวัสดุมีความสามารถในการคืนตัวกลับสู่สภาพเดิม หลังจากที่มีการถอนแรงที่ให้แก่วัสดุ ซึ่งเจลที่มีความแข็งแรง (strong gel) จะมีช่วง Linear Viscoelastic Range กว้างกว่าเจลอ่อน (weak gel) (Steffe, 1996)



ภาพที่ 14 ช่วง Linear Viscoelastic Range

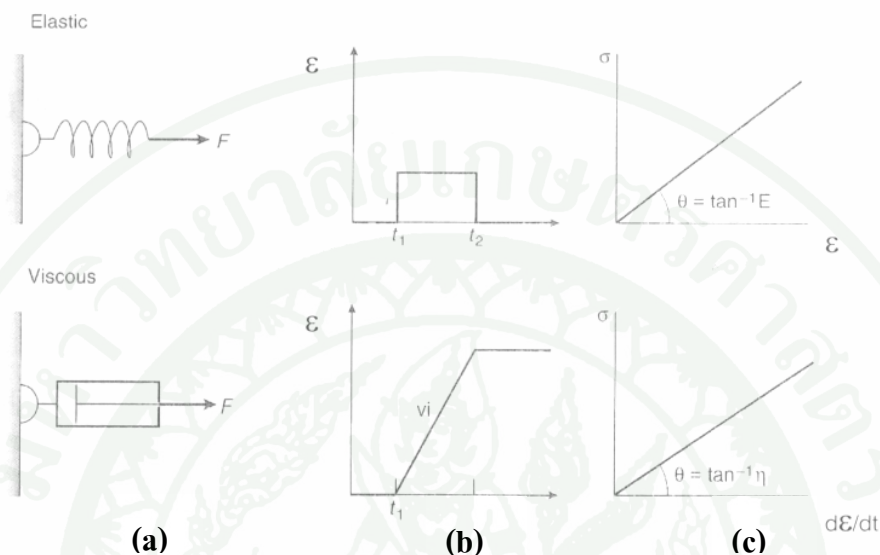
ที่มา: Steffe (1996)

สำหรับวิธีการศึกษาพฤติกรรมของ Linear Viscoelastic materials แบ่งได้เป็น 2 วิธีใหญ่ ๆ คือ

6.1 Static methods เป็นวิธีที่ใช้ศึกษาพฤติกรรมของ Linear Viscoelastic materials โดยจะใช้วิธีการทาง mechanical analogues อธิบายปรากฏการณ์ต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นขณะที่ตัวอย่างมีความเค้นหรือความเครียดมากระทำในช่วงเวลาหนึ่ง เช่น การคืบ (Creep), การพักความเค้น (Stress Relaxation), การคืนรูป (Recovery) เป็นต้น ในการอธิบายปรากฏการณ์ต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในแบบจำลองพฤติกรรมวัสดุแสดงดังภาพที่ 15 โดย

- สปริง (spring) แทนลักษณะของ ideal solid element ซึ่งเป็นไปตามกฎของ Hook 's Law
- ลูกสูบ (dashpot) แทนลักษณะของ ideal viscous element ซึ่งเป็นไปตามกฎของ

Newtonian 's Law

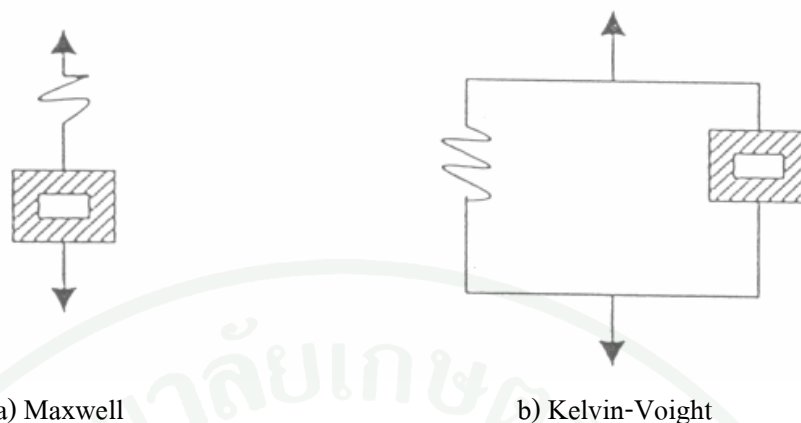


ภาพที่ 15 แบบจำลองพฤติกรรมของวัสดุพวก Viscoelastic materials โดย

- สัญลักษณ์ที่ใช้แทนวัสดุพวกที่มีสมบัติยืดหยุ่น (elastic) และพวกที่มีลักษณะของของไหล (viscous)
- กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเครียด (strain) กับฟังก์ชันของเวลา (time) ของวัสดุ
- กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเค้น (stress) กับความเครียด (strain) ของวัสดุ

ที่มา: Steffe (1996)

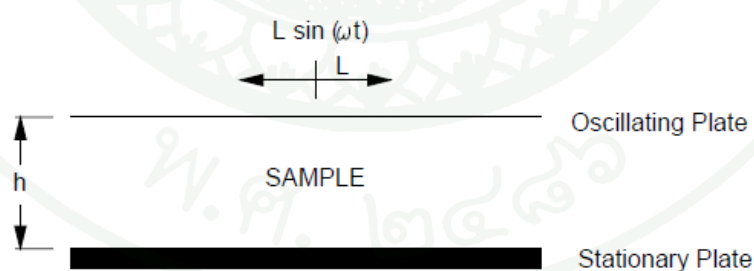
แบบจำลองเบื้องต้นทางกลศาสตร์ที่ใช้อธิบายพฤติกรรมของวัสดุพวกวิสโคอีลาสติก ประกอบด้วยแบบจำลองเบื้องต้น 2 แบบ คือ Maxwell และ Kelvin models ซึ่งมีทั้งสปริง (spring) และลูกสูบ (dashpot) อยู่ด้วยกันในแบบจำลอง ดังภาพที่ 16



ภาพที่ 16 แบบจำลองของ Maxwell และ Kelvin models

ที่มา: Steffe (1996)

6.2 Dynamic methods เป็นวิธีการที่ใช้ศึกษาคุณสมบัติทางด้าน Oscillatory shear stress ของพวก Linear Viscoelastic materials ได้แก่ การศึกษาด้านความแข็งแรงของเจล (gel strength), การเกิดเจลาติไนเซชันของแป้ง (starch gelatinization) และการเปลี่ยนสถานะของสาร (phase transition) เป็นต้น ซึ่งในการศึกษาตัวอย่างจะถูกกระทำให้ผิดรูป (deformation) โดยการแปรผันการสั่นสะเทือนแบบ harmonically with time ดังภาพที่ 17



ภาพที่ 17 Oscillatory Strain between parallel plates

ที่มา: Steffe (1996)

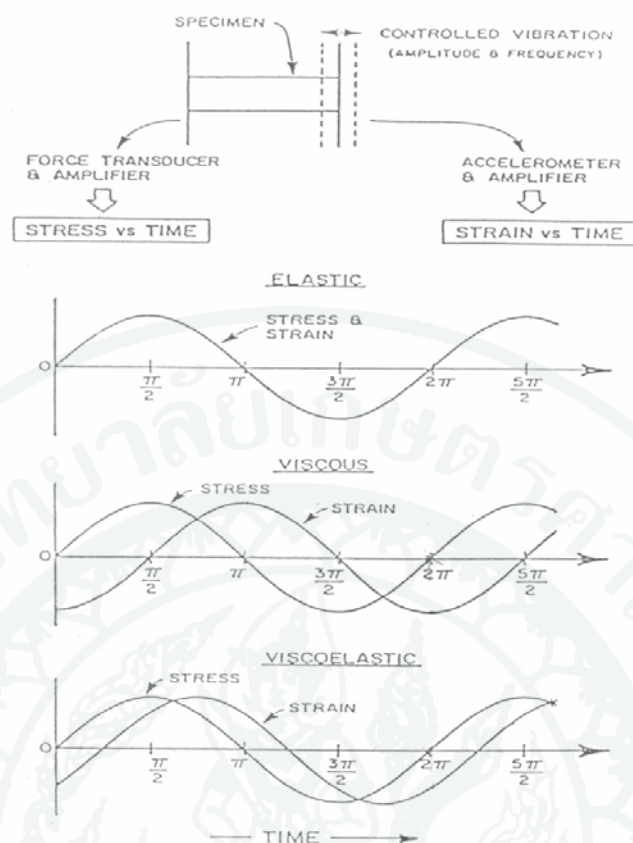
ความสัมพันธ์ระหว่างความเค้นและความเครียดในการทดลองแบบ dynamic test ของวัสดุ viscous , elastic, viscoelastic พบว่า ถ้าเป็น viscous material กราฟของ stress และ strain จะห่างออกจากกันโดยที่มีค่ามุมที่เคลื่อนที่ห่างออกจากกันเท่ากับ (δ) 90° ขณะที่ elastic material กราฟของ stress และ strain จะซ้อนกันทำให้ δ มีค่าเท่ากับ 0° ดังนั้น พวกร viscoelastic material กราฟของ stress และ strain จะห่างกันโดยที่ δ จะมีค่าอยู่ระหว่าง 0° ถึง 90° ดังภาพที่ 18 ซึ่งจะได้สมการดังนี้

$$\tau(t) = \gamma_0 [G' \sin \omega t + G'' \cos \omega t]$$

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'}$$

โดยที่	τ	คือ ค่าความเค้น
	ω	คือ
	γ_0	คือ ค่า Amplitude หรือค่าความเครียดสูงสุดที่มีค่าเท่ากับ L/h
	G'	คือ ค่า Storage Modulus ซึ่ง บอกถึงความยืดหยุ่น (Elasticity)
	G''	คือ ค่า Loss Modulus ซึ่งบอกถึงลักษณะที่เป็นของไหล (Viscous)

โดยพบว่าค่า Storage Modulus (G') เป็นพลังงานที่ถูกเก็บไว้ในวัตถุหรือในการคืนตัวของวัตถุที่มีการเสียรูป ส่วนค่า Loss Modulus (G'') เป็นการวัดพลังงานที่สูญเสียในขณะที่มีการเสียรูป ถ้าวัตถุเป็นของแข็งพลังงานทั้งหมดจะถูกเก็บไว้ ค่า G'' จึงมีค่าเป็นศูนย์ ในขณะที่ถ้าวัตถุเป็นของเหลวคือไม่มีความยืดหยุ่น พลังงานทั้งหมดจะถูกใช้หมดไปในระหว่างการให้ความร้อน ดังนั้นค่า G' จึงมีค่าเป็นศูนย์ ค่าของ G' และ G'' จะขึ้นกับความถี่ อุณหภูมิและความเครียด ซึ่งพบว่าถ้าค่า G' มากกว่า G'' วัตถุจะมีสมบัติคล้ายเป็นของแข็ง (solid-like) ซึ่งถ้ามีการเสียรูปจะมีลักษณะของความยืดหยุ่นและสามารถคืนรูปได้ อย่างไรก็ตามถ้าค่า G'' มากกว่า G' พลังงานจะถูกใช้ไปในการทำวัตถุเสียรูปซึ่งวัตถุจะมีสมบัติคล้ายเป็นของเหลว (liquid-like) ดังภาพที่ 19 ทั้งนี้ค่าโมดูลัสของวัตถุพวกร viscoelastic จะขึ้นอยู่กับโครงสร้างของวัตถุ ส่วน $\tan \delta$ เป็นอัตราส่วนของค่า Storage Modulus (G') กับค่า Loss Modulus (G'') ซึ่งสามารถบ่งบอกลักษณะของวัตถุได้ โดย $\tan \delta$ มีค่ามาก วัตถุจะมีสมบัติคล้ายเป็นของเหลว (liquid-like) ถ้ามีค่าน้อย วัตถุจะมีสมบัติคล้ายเป็นของแข็ง (solid-like)



ภาพที่ 18 Stress and strain in dynamic tests of elastic viscoelastic and viscous bodies

ที่มา: ธงชัย (2544)

6.2.1 Oscillatory test เป็นการทดสอบแบบ small deformation โดยให้แรงสั่นในรูปของคลื่นไซน์ (sine) ซึ่งวิธีการทดสอบแบบนี้จะไวมากต่อโครงสร้างและพฤติกรรมของวัสดุ และสามารถปรับสภาวะของการทดลองได้หลายสภาวะ เช่น อุณหภูมิ ปริมาณแรง ความถี่ของแรง เป็นต้น (Steffe, 1996) ดังนั้นวิธี Oscillatory test จึงสามารถอธิบายพฤติกรรมของวัสดุต่างๆรวมทั้งแบ่งได้ นอกจากนี้ยังสามารถอธิบายกลไกการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติต่างๆของแบ่งได้ เนื่องจากคุณสมบัติด้านต่างๆของแบ่ง ได้แก่ การพองตัว การละลาย หรือการเกิดเจลในเซชัน เป็นต้น เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแบ่ง ซึ่งโครงสร้างของแบ่งที่แตกต่างกันจะแสดงพฤติกรรมที่แตกต่างกันด้วย การทดสอบแบบ Oscillatory test สามารถแบ่งออกเป็น 3 วิธี คือ

1) Amplitude sweep test เป็นการทดสอบซึ่งให้ความถี่เชิงมุมของความเค้น (ω) คงที่ แต่แปรค่าแอมพลิจูดของความเค้น (γ_0) ซึ่งเป็นการทดสอบเพื่อหาช่วงของความเค้น

ที่วัสดุแสดงพฤติกรรมแบบ linear viscoelastic range ซึ่งเป็นช่วงที่คุณสมบัติทางวิทยากระแสของวัสดุ หรือค่า storage modulus (G') และ loss modulus (G'') ของวัสดุจะไม่ขึ้นกับค่าความเค้นหรือความเครียด นั่นคือ วัสดุจะแสดงพฤติกรรมตามธรรมชาติอย่างคงที่ โดยที่ไม่เกิดความเสียหายภายในโครงสร้าง ซึ่งการวิเคราะห์หาช่วง linear viscoelastic ของวัสดุมีประโยชน์ในการแยกความแตกต่างระหว่างวัสดุที่มีความแข็งและวัสดุที่มีความอ่อน เช่น เจลแข็ง โดยวัสดุที่มีความแข็งจะมีช่วง linear viscoelastic ขาวกว่าวัสดุที่มีความอ่อน (Steffe, 1996)

2) Temperature sweep test เป็นการทดสอบซึ่งให้ค่าแอมพลิจูดของความเค้น (γ_0) และความถี่เชิงมุมของความเค้น (ω) คงที่ แต่แปรอุณหภูมิในการทดสอบ ซึ่งใช้ในการทดสอบคุณสมบัติของวัสดุที่เปลี่ยนแปลงไประหว่างการให้ความร้อนหรือเมื่อผ่านกระบวนการทำให้เย็น เช่น ในการเกิดเจลของโปรตีน กัม วุ้น หรือการเกิดเจลลาติโนเซชัน รีโทรเกรเดชันของแป้ง จากการศึกษาพบว่า การทดสอบด้วยวิธี temperature sweep ช่วยให้เข้าใจกลไกในการเกิดเจลลาติโนเซชันของแป้งข้าวเจ้าได้ โดยค่า storage modulus (G') และ loss modulus (G'') จะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อถึงอุณหภูมิในการเกิดเจลลาติโนเซชัน เนื่องจากเกิดการพองตัวของเม็ดสตาร์ช ความยืดหยุ่นและความหนืดจึงเพิ่มขึ้น จนเมื่อได้รับความร้อนต่อไปการพองตัวจะไม่เพิ่มขึ้น แต่จะเกิดการเคลื่อนที่ของเม็ดแป้งที่พองตัวและ โมเลกุลของแอมิโลสที่ละลายออกมา ทำให้เกิดเอนโทรปี (entropy) อิสระมากขึ้น พันธะไฮโดรเจนในโครงสร้างเกิดการแตกหักความแข็งแรงของโครงสร้างจึงลดลง ทำให้ค่า storage modulus (G') และ loss modulus (G'') ลดลงด้วย ซึ่งเมื่อทำให้เพสต์ (paste) เย็นลง ค่า storage modulus (G') และ loss modulus (G'') ก็จะเพิ่มขึ้น เนื่องจากแอมิโลสที่ละลายออกมาจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างสามมิติล้อมรอบเม็ดแป้งที่พองตัวไว้จนเกิดเป็นเจล

3) Frequency sweep test เป็นวิธีการทดสอบความยืดหยุ่นและความหนืดของวัสดุ โดยในการทดสอบจะให้ค่าแอมพลิจูดของความเค้น (γ_0) คงที่ แต่จะทำการแปรความถี่เชิงมุมของความเค้น (ω) ซึ่งวิธีการนี้สามารถอธิบายโครงสร้างและพฤติกรรมของวัสดุได้เป็นอย่างดี โดยพิจารณาจากค่า storage modulus (G') และ loss modulus (G'') เช่นเดียวกัน

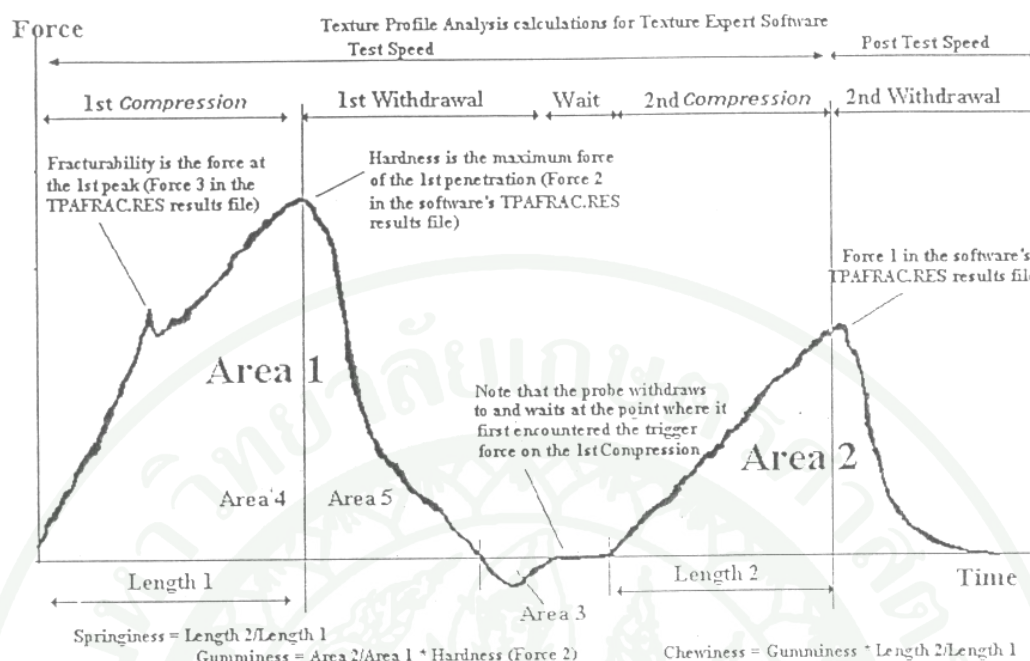
7. สมบัติด้านเนื้อสัมผัส

Bourne (1982) กล่าวว่า การประเมินลักษณะเนื้อสัมผัสโดยการใช้เครื่องมือ สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 วิธี ดังนี้

7.1 วิธีการวัดค่าพื้นฐานทางวัสดุศาสตร์ (Fundamental measurement) เป็นวิธีการซึ่งพัฒนามาจากนักวิทยาศาสตร์และวิศวกร ซึ่งบ่อยครั้งพบว่าข้อมูลไม่สามารถนำมาใช้ในการประเมินความรู้สึกของมนุษย์ในด้านเนื้อสัมผัสขณะเคี้ยวได้ ข้อดีของวิธีการนี้คือสามารถอธิบายค่าที่วัดได้ในเชิงวัสดุศาสตร์ และข้อเสียคือค่าที่ได้ไม่ค่อยมีความสัมพันธ์กับการวัดค่าทางประสาทสัมผัส เครื่องมือมีราคาแพงและใช้เวลาในการวัดค่านาน วิธีการวัดค่าพื้นฐานทางวัสดุศาสตร์จะเกี่ยวข้องกับค่าที่กระทำต่อตัวอย่าง ทั้งนี้แรงที่กระทำต่อตัวอย่างมีหลายรูปแบบ เช่น แรงกดและแรงกดอัด (Compression-Extrusion) แรงดึง (Tensile) แรงตัดและแรงเฉือน (Cutting and Shearing) ซึ่งแรงดังกล่าวจะนำมาใช้ในการทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัสของวัตถุได้ เช่น Creep test, Stress Relaxation test, Direct stress strain dynamic test เป็นต้น

7.2 วิธีการวัดค่าแบบประยุกต์ (Empirical measurement) เป็นวิธีการวัดค่าเนื้อสัมผัสที่ถูกออกแบบมาโดยนักประดิษฐ์ เพื่อให้มีความเหมาะสมกับงานที่นำมาใช้ โดยเฉพาะงานควบคุมคุณภาพและแบ่งระดับชั้นคุณภาพผลิตภัณฑ์ในโรงงานอุตสาหกรรม ข้อดีของวิธีการนี้คือ เครื่องมือใช้งานง่าย มีความรวดเร็วในการวัดและค่าที่ได้มีความสัมพันธ์กับการวัดค่าทางประสาทสัมผัสแต่มีข้อเสียคือไม่สามารถอธิบายหลักการวัดค่าที่ได้บนพื้นฐานทางการวัดค่าวัสดุศาสตร์ วัดค่าได้เพียงคุณลักษณะใดคุณลักษณะหนึ่ง วิธีการวัดค่าขึ้นอยู่กับผู้วัดไม่มีการวัดที่ได้มาตรฐานแน่นอนและโดยทั่วไปจะวัดที่จุดใดจุดหนึ่งจึงไม่สามารถให้ข้อมูลที่ต่อเนื่องได้ ตัวอย่างเครื่องมือวัดค่าแบบประยุกต์ได้แก่ Fruit pressure tester, Bloom gelometer, Penetrometer เป็นต้น

7.3 วิธีการเลียนแบบการเคี้ยวของมนุษย์ (Imitative measurement) วิธีการนี้จะออกแบบเครื่องมือให้มีหลักการงานคล้ายกับการเคี้ยวของมนุษย์ โดยเครื่องมือแบบเดียวกันกับวิธีการวัดค่าพื้นฐานทางวัสดุศาสตร์ที่สามารถหาค่าแรงกับระยะทาง หรือความเค้นกับความเครียดได้ โดยในการวัดที่เลียนแบบการเคี้ยวของมนุษย์จะเรียกว่า Texture Profile Analysis (TPA) ซึ่งมีการออกแบบเครื่องมือเลียนแบบการทำงานของแรงที่ใช้ภายในปากในระหว่างการเคี้ยวที่มีการกดและถอน โดยทั่วไปการวิเคราะห์ TPA จะมีการเลียนแบบการเคี้ยวโดยการกดและถอน 2 ครั้ง ลักษณะกราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ Texture Profile Analysis ที่ได้จากเครื่องมือแสดงดังภาพที่ 20



ภาพที่ 19 กราฟที่ได้จากการทำ Texture Profile Analysis

ที่มา: Bourne (1982)

การเปรียบเทียบความหมายของคุณลักษณะเนื้อสัมผัสต่าง ๆ ในเชิงคุณภาพทางกายภาพจากการทำ Texture Profile Analysis และในเชิงคุณภาพทางประสาทสัมผัส แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ความหมายของคุณลักษณะเนื้อสัมผัสต่างๆในเชิงคุณภาพทางกายภาพจากการทำ
Texture Profile Analysis และในเชิงคุณภาพทางประสาทสัมผัส

คุณลักษณะ	คุณภาพทางกายภาพ	คุณภาพทางประสาทสัมผัส
Hardness (ความแข็งแรง)	แรงที่ใช้ในการทำให้ตัวอย่างเสียรูป	แรงที่ใช้ในการกดตัวอย่างระหว่าง ฟันกรามเพื่อเปลี่ยนรูปร่างตัวอย่าง
Cohesiveness (ความสามารถเกาะรวมตัวกัน)	ขอบเขตของวัสดุที่สามารถเสียรูป ก่อนที่จะเกิดการแตกหัก	ความแข็งแรงของพันธะภายในที่ เกิดขึ้นในชิ้นตัวอย่างแล้วทำให้ ตัวอย่างทนต่อแรงที่มากกระทำ ก่อนที่จะตัวอย่างจะขาดหรือแยกออก จากกัน
Springiness (ความยืดหยุ่น)	อัตราของการคืนรูปของวัสดุ หลังจากการถูกกด	ระดับความสามารถในการคืนตัว กลับมาเหมือนเดิมเมื่อมีการถอน แรงกดออกไปจากตัวอย่าง
Adhesiveness (ความสามารถในการเกาะติด ผิววัสดุ)	งานที่ใช้ในการเอาชนะแรงระหว่าง พื้นผิวของตัวอย่างกับพื้นผิวของ วัสดุอื่นที่ตัวอย่างสัมผัสอยู่	แรงที่ใช้ในการเคลื่อนย้ายตัวอย่าง ที่ติดอยู่ในปาก(โดยปกติคือเพดาน ปาก) ในระหว่างกระบวนการเคี้ยว
Fracturability (การแตกหัก)	แรงที่ทำให้ตัวอย่างแตกหัก โดย เป็นตัวอย่างที่มี Hardness สูงและมี Cohesiveness ต่ำ	แรงกดทันทีทันใดในแนวตั้งที่ทำ ให้ตัวอย่างเกิดการแตกหักออกเป็น ชิ้นๆและกระจายออกในแนวราบ
Chewiness (การทนต่อการเคี้ยว)	แรงที่ใช้ในการเคี้ยว บดตัวอย่าง จนกระทั่งสามารถกลืนได้ โดยเป็น ตัวอย่างที่มีลักษณะผสมของ Hardness Cohesiveness และ Springiness	ระยะเวลาที่ใช้ในการเคี้ยวบด ตัวอย่างที่เป็นของแข็งในอัตราการใช้ เคี้ยวที่คงที่จนกระทั่งสามารถที่จะ กลืนได้
Gumminess (ความเหนียวเป็นยาง)	แรงที่ต้องใช้ในการแยกตัวอย่างที่ เป็นกึ่งของแข็งจนกระทั่งสามารถที่ จะกลืนได้โดยเป็นตัวอย่างที่มี Hardness ต่ำและมี Cohesiveness สูง	พลังงานที่ใช้ในการเคี้ยวตัวอย่างที่ เป็นกึ่งของแข็งในอัตราการใช้ เคี้ยวที่คงที่จนกระทั่งสามารถกลืนได้

ที่มา: ปิติพร (2546)

ในการพิจารณาลักษณะเนื้อสัมผัสของสตาร์ช มักให้ความสนใจในเรื่องของความหนืด การเกิดเป็นเจล และความสามารถในการเกาะตัวรวมกันของสตาร์ชที่ผ่านการหุงต้มแล้ว ซึ่งลักษณะเนื้อสัมผัสดังกล่าวเป็นผลมาจากส่วนแกรนูลของสตาร์ช กล่าวคือ อาหารที่มีสตาร์ชเป็นองค์ประกอบ มักมีลักษณะการลดลงของความหนืดอย่างมากในระหว่างการให้ความร้อน และลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลที่เกาะตัวรวมกันเป็นเส้นยาว ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่ต้องการ อันเป็นผลมาจากความไม่แข็งแรงของแกรนูลที่เกิดการพองตัว (Kruger and Murray, 1976) สำหรับความแน่นเนื้อของเจลจะเพิ่มขึ้น เมื่อการละลายของแอมิโลสออกจากแกรนูลมากขึ้น และความสามารถในการพองตัวของแกรนูลลดลง (Collado and Corke, 1999)

การวัดเนื้อสัมผัสด้วยเครื่อง Instron หรือ texture analyzer เป็นวิธีการที่ดีในการประเมินค่าเนื้อสัมผัส ซึ่งการวิเคราะห์ด้วยการหาค่าโครงสร้างคุณลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหาร (texture profile analysis) โดยใช้แรงในการกดหรือเจาะตัวอย่างอาหาร จะทำให้ได้ข้อมูลจากกราฟของแรงและเวลา ซึ่งสามารถนำมาคำนวณค่าต่างๆได้ คือ ความแข็ง (hardness) ความสามารถในการเกาะตัวรวมกัน (cohesiveness) ความเหนียวเป็นกาวหรือยาง (gumminess) การคืนตัวกลับ (springiness) ความทนทานต่อการบดเคี้ยว (chewiness) และความเกาะติดพื้นผิว (adhesiveness) ซึ่งการวัดด้วยเครื่อง Instron ผลที่ได้มีความสัมพันธ์กับค่าที่ประเมินทางประสาทสัมผัสจากผู้ชิม และการวัดค่าเนื้อสัมผัสเป็นวิธีที่นำมาใช้ในการเลือกชนิดและความเข้มข้นของสตาร์ชให้เหมาะสมกับสูตรอาหาร ซึ่งจะส่งผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้ (Rapaille and Vanhemelrijck, 1997)

Vandeputte *et al.* (2003c) ได้นำวิธีการวัดสมบัติด้านเนื้อสัมผัสมาศึกษาการเกิดรีโทรเกรเดชันของเจลสตาร์ชข้าว และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของสตาร์ชกับลักษณะเนื้อสัมผัสของเจล พบว่าปริมาณแอมิโลสทั้ง absolute amylose และ free amylose มีผลทำให้ความแน่นเนื้อ (firmness) และค่าแรงหลังจาก relaxation ของเจลสูงขึ้น แต่ค่าความยืดหยุ่น (elasticity) ของเจลมีค่าลดลง ส่วนผลของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอมิโลสกับลิปิดและลักษณะการกระจายตัวของความยาวสายกิ่งในแอมิโลเพกติน พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับสมบัติทางด้านเนื้อสัมผัส และจากงานวิจัยของ Wang and Wang (2002) พบว่าความแข็งแรงของเจลจากสตาร์ชข้าวเหนียวเพิ่มขึ้น เมื่อโครงสร้างแอมิโลเพกตินมีปริมาณสายโซ่ A และ B1 สูงขึ้น

8. เอนไซม์โปรตีเอส

เอนไซม์โปรตีเอสทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ (peptide bond) ในโมเลกุลของโปรตีน ทำให้โมเลกุลของโปรตีนมีขนาดเล็กลงและและมีหมู่ที่แตกตัวได้ (ionizing group) (NH_4^+ และ COO^-) เพิ่มขึ้น สามารถเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลของน้ำได้มากขึ้น การละลายจึงมีค่าเพิ่มขึ้น (Howell, 1996; Mahmoud, 1994) เมื่อโปรตีนผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์โปรตีเอสจะได้เป็นเปปไทด์สายสั้นๆหรือกรดอะมิโนอิสระในสภาวะที่มีน้ำอยู่ในสารละลาย โปรตีเอสมีชื่อสามัญหลายชื่อ ได้แก่ เปปติเดส โปรตีเอส โปรตีนเอส และเปปไทด์ไฮโดรเลส โดยสามารถทำงานได้ในสภาวะที่เป็นกรด เบส หรือกลาง

ในปัจจุบันสามารถแบ่งเอนไซม์ได้เป็น 6 ประเภทตาม International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB) ตามลักษณะการเข้าทำปฏิกิริยากับสับสเตรท (substrate) ดังนี้ ออกซิโดรีดักเตส (Oxidoreductases) ทรานเฟอร์เอส (Transferases) ไฮโดรเลส (Hydrolases) ไลเอส (Lyases) ไอโซเมอเรส (Isomerases) และไลเกส (Ligases) ซึ่งเอนไซม์โปรตีเอสถูกจัดอยู่ในประเภทไฮโดรไลติกเอนไซม์ และถูกจัดอยู่ในหมวดหมู่ย่อย (subclass) ตามลักษณะเฉพาะของการทำงานบนพันธะเปปไทด์ได้เป็น 3.4 การแบ่งเอนไซม์ตามระบบ Enzyme Classification (EC) สามารถแบ่งโปรตีเอสออกเป็นหมวดหมู่ย่อย (sub-subclass) ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ Exopeptidase และ Endopeptidase มีรายละเอียดดังนี้

8.1 exopeptidases (EC 3.4.11 ถึง 19)

เอนไซม์โปรตีเอสในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ย่อยสลายหรือทำงานต่อพันธะเปปไทด์จากปลายสายของเปปไทด์หรือโปรตีนเข้ามา ซึ่งอาจเป็นทางด้านปลาย N- หรือ C-terminus ก็ได้ขึ้นอยู่กับชนิดเอนไซม์

8.2 endopeptidases (EC 3.4.21 ถึง 24 และ 99)

เอนไซม์โปรตีเอสกลุ่มนี้ทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะภายในของสายพอลิเปปไทด์ของโปรตีน ตามการแบ่งของ IUBMB จะถูกแบ่งตามกลไกในการเกิดปฏิกิริยา (catalytic mechanism) ได้เป็นหมวดหมู่ย่อย 5 กลุ่ม ดังนี้

8.2.1 serine endopeptidases (EC 3.4.21) เป็นเอนไซม์ที่มีกรดอะมิโนฮิสติดีน (histidine) และเซรีน (serine) เป็นจุดศูนย์กลางในการทำงาน (active center) เป็นอัลคาไลน์ โปรติเอสที่มีพีเอชเหมาะสมต่อการเกิดกิจกรรมอยู่ในช่วง 7 ถึง 11 เอนไซม์ในกลุ่มนี้ถูกยับยั้งโดย diisopropylfluorophosphate (DFP) และ phenylmethysulphonyl fluoride (PMSF) ตัวอย่างเอนไซม์ในกลุ่มนี้ เช่น chymotrypsin, trypsin และ subtilisin เป็นต้น

8.2.2 cysteine endopeptidases (EC 3.4.22) เป็นเอนไซม์ที่มีซิสทีอีน (cysteine) เป็นจุดศูนย์กลางในการทำงาน เป็นเอนไซม์ที่สามารถเกิดกิจกรรมได้ดีในสภาวะพีเอชเป็นกลาง ในช่วง 6 ถึง 7.5 ถูกยับยั้งโดย sulfhydryl reagents หรือ sulfhydryl group (-SH) ทำให้เกิดการสูญเสียหรือไม่มีกิจกรรมของเอนไซม์ เอนไซม์ในกลุ่มนี้สามารถสกัดได้จากพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ เช่น ปาเปน (papain) ได้จากมะละกอ ฟิซิน (ficin) ได้จากมะเดื่อ และ โบรมีเลน (bromelain) ได้จากสับปะรด เป็นต้น

8.2.3 aspartic proteases (EC 3.4.23) เป็นเอนไซม์ที่มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานหรือเกิดกิจกรรมในช่วงกรด คือ มีพีเอชน้อยกว่า 5 ตัวอย่างเอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ gastric protease (pepsin, gastricsin, chymosin), renin และ pepsin เป็นต้น

8.2.4 metalloprotease (EC 3.4.24) เป็นเอนไซม์ที่มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานหรือเกิดกิจกรรมที่พีเอชเป็นกลางช่วง 6.5 ถึง 7.5 เป็นเอนไซม์ที่ใช้ไอออนของโลหะในการเกิด catalytic mechanism กล่าวคืออยู่ในลักษณะของโคแฟกเตอร์และถูกยับยั้งได้โดยสารจับไอออนโลหะ (metal-chelating agents) เช่น 1,10-phenanthroline และ ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) ตัวอย่างเอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ carboxypeptidases A, carboxypeptidases B, glycylglycine-dipeptidases carnosinase prolidase และ iminopeptidases เป็นต้น

8.2.5 proteases บางชนิดที่ยังไม่ทราบถึง catalytic mechanism (EC 3.4.99)

การใช้เอนไซม์มีข้อได้เปรียบเหนือกว่าการใช้สารเคมีตรงที่มีความเฉพาะเจาะจงในการทำปฏิกิริยามากกว่า สภาวะการทำงานไม่รุนแรงจึงไม่ทำให้สูญเสียคุณค่าทางอาหารและที่สำคัญมีความปลอดภัยในการใช้สูง (Klont, 2000) ในการใช้เอนไซม์นอกจากต้องคำนึงถึงชนิดของเอนไซม์ที่จะนำมาใช้แล้ว ยังต้องเลือกสภาวะในการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ให้เหมาะสม โดยต้อง

ควบคุมสิ่งต่าง ๆ เหล่านี้ คือ พีเอช อุณหภูมิ ระยะเวลา ความเข้มข้นของสารตั้งต้นและเอนไซม์ให้เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์แต่ละชนิด

9. เส้นก๋วยเตี๋ยว

ก๋วยเตี๋ยวเป็นผลิตภัณฑ์จากแป้งข้าวเจ้าที่คนไทยนิยมบริโภคครองลงมาจกข้าว และยังเป็นผลิตภัณฑ์ส่งออกที่สร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ข้าว (สุนทรีย์, 2544) โดยในแต่ละปีประเทศไทยจะส่งออกก๋วยเตี๋ยวไปยังประเทศต่าง ๆ อาทิเช่น สหรัฐอเมริกา มาเลเซีย ญี่ปุ่น แคนาดา และฮ่องกงเป็นมูลค่าหลายล้านบาท โดยในปี 2546 ประเทศไทยมีการส่งออกเส้นหมี่และเส้นก๋วยเตี๋ยวรวม 40.58 ล้านกิโลกรัม คิดเป็นมูลค่าการส่งออกรวม 1,366.50 ล้านบาท (ศูนย์สารสนเทศสถาบันอาหาร, 2547)

9.1 ความหมายของก๋วยเตี๋ยว

ก๋วยเตี๋ยวตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 959-2533) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากข้าวเจ้าที่นำมาไม่หรือแป้งข้าวเจ้า ซึ่งอาจมีแป้งชนิดอื่นผสมอยู่ด้วยก็ได้ ทำให้เป็นแผ่นบางนึ่งให้สุก ตัดเป็นเส้น มีความหนาสม่ำเสมอไม่เกิน 0.7 มม. มีสีขาวนวล ไม่มีกลิ่นหืน นุ่มและเหนียวไม่เกาะติดกัน

9.2 ชนิดของก๋วยเตี๋ยว ฌรงค์ (2538) ได้แบ่งก๋วยเตี๋ยวออกเป็น 4 ชนิด คือ

9.2.1 ก๋วยเตี๋ยวสด เป็นก๋วยเตี๋ยวที่ได้จากการนำแผ่นก๋วยเตี๋ยวม้วนหั่นเป็นเส้นโดยไม่ผ่านขั้นตอนการทำแห้ง และอาจจะเป็นก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กหรือใหญ่ก็ได้ โดยก๋วยเตี๋ยวเส้นใหญ่จะมีขนาด 1.5-2.5 ซม. ส่วนก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กจะมีขนาด 0.4-0.5 ซม. ซึ่งก๋วยเตี๋ยวสดมีความชื้นสูงประมาณร้อยละ 62-64 ทำให้เก็บได้ไม่นาน ต้องรับประทานภายใน 1-2 วัน

9.2.2 ก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กกึ่งแห้ง เป็นก๋วยเตี๋ยวที่ผ่านการผึ่งลมหรืออบในตู้อบลมร้อนมาบ้างแล้ว เพื่อลดความชื้นก่อนนำมาตัดเป็นเส้น ซึ่งก๋วยเตี๋ยวชนิดนี้มีความชื้นประมาณร้อยละ 35-37 (วิภา, 2541) โดยปกติจะเก็บได้นาน 1-2 วัน

9.2.3 ก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กแห้ง เป็นก๋วยเตี๋ยวที่ผ่านการผึ่งลมหรืออบในตู้อบลมร้อนนำมาตัดเป็นเส้น และทำให้แห้งที่อุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้น

ประมาณร้อยละ 11-13 สามารถเก็บรักษาได้นานเป็นปี (วิภา, 2541) ซึ่งก้วยเตี๋ยวเส้นจันทน์ได้จัดอยู่ในก้วยเตี๋ยวประเภทนี้ ก้วยเตี๋ยวเส้นจันทน์เป็นก้วยเตี๋ยวเส้นเล็กที่มีชื่อของจังหวัดจันทบุรี มีสมบัติเด่นคือ มีความเหนียวนุ่มไม่เปื่อยยุ่ย (มูลนิธิสารานุกรมวัฒนธรรมไทย ธนาคารไทยพาณิชย์, 2542)

9.2.4 แผ่นก้วยจับ เป็นก้วยเตี๋ยวที่ได้จากการนึ่งแผ่นก้วยเตี๋ยวให้สุกเพียงครึ่งเดียวของความหนา นำมาผึ่งลมหรืออบในตู้อบลมร้อนเพื่อลดปริมาณความชื้นให้เหลือประมาณร้อยละ 12 (วิภา, 2541) โดยทั่วไปจะตัดให้มีขนาด 3.0-3.5 ซม. อาจเป็นรูปสามเหลี่ยมก็ได้ ใช้ในการทำก้วยจับโดยเฉพาะ

9.3 กระบวนการผลิตก้วยเตี๋ยวและการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในแต่ละขั้น (ณรงค์, 2538; วิภา, 2541)

9.3.1 การเตรียมข้าวเป็นการล้างทำความสะอาดข้าว ควรใช้อัตราส่วนของข้าว:น้ำให้เหมาะสม โดยให้น้ำท่วมข้าวเพียงเล็กน้อยหรือประมาณ 1:2.5 ส่วน คนหรือกลับข้าวบ้างเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการล้าง ไม่ควรคนข้าวตลอดเวลาเพราะจะทำให้เมล็ดข้าวแตกและละลายหรือแฉวนลอยออกมากับน้ำล้างมาก เมื่อล้างข้าวเสร็จควรแช่ข้าวไว้อย่างน้อย 3 ชั่วโมง เพื่อให้ข้าวดูดน้ำเข้าไปในเมล็ดเป็นการเพิ่มความชื้นทำให้เมล็ดข้าวนุ่ม ง่ายขึ้น นอกจากนี้ยังมีผลทำให้เมล็ดสตาร์ชแตกมากขึ้นในขณะโม่

9.3.2 การโม่ข้าวเป็นการทำให้เมล็ดสตาร์ชและองค์ประกอบอื่นๆหลุดและแตกออก รวมทั้งทำให้เยื่อหุ้มเมล็ดสตาร์ชแตกด้วย ซึ่งการโม่จะใช้โม่หินและโม่แบบเปือก โดยการโม่แบบนี้ทำให้เมล็ดสตาร์ชถูกบดละเอียดและแตกตัวได้มาก และการเติมน้ำลงไปจะช่วยทำให้อุณหภูมิในขณะโม่ไม่สูงเกินไป ซึ่งแป้งที่ได้มีคุณภาพดีไม่บูดง่าย และจากการศึกษาของพัชร (2538) พบว่าการโม่ข้าวแบบโม่เปือกด้วยโม่หิน 2 ครั้ง ได้เส้นก้วยเตี๋ยวที่เหนียวและยืดหยุ่นสูงกว่าการโม่เพียงครั้งเดียว ซึ่งการโม่ข้าวโดยทั่วไปใช้อัตราส่วนของข้าวต่อน้ำประมาณ 2 ต่อ 1 จากนั้นตั้งน้ำแป้งทิ้งไว้ 30-60 นาที เพื่อให้เมล็ดสตาร์ชดูดน้ำ ทำให้เมล็ดสตาร์ชพองตัวและแตกง่ายเมื่อนำไปนึ่ง ซึ่งน้ำแป้งที่ได้ในขั้นตอนนี้มีความข้นหนืดมากขึ้น

9.3.3 การปรับความเข้มข้นของน้ำแป้ง ส่วนผสมของน้ำแป้งที่โม่ได้มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความเหนียวของเส้นก้วยเตี๋ยวปริมาณน้ำที่ใช้ต้องพิจารณาจากชนิดและลักษณะของข้าว โดยข้าวยิ่งเก่ามากและมีเอมิโลสสูงต้องใช้น้ำในการหุงสุกมากกว่าข้าวใหม่และมี

แอมิโลสต่ำกว่า ซึ่งปริมาณน้ำจะเป็นตัวควบคุมความแข็งของก๊วยเตี้ยว คือถ้าน้ำที่ใช้้น้อยเกินไป ก๊วยเตี้ยวที่ได้ก็จะมีเนื้อแข็ง ในทางตรงกันข้ามถ้าใช้น้ำมากเกินไปเส้นก๊วยเตี้ยวจะนิ่มและขาดง่าย โดยทั่วไปแล้วความเข้มข้นของน้ำแป้งในการผลิตก๊วยเตี้ยวสด ควรมีปริมาณของแข็งร้อยละ 38-40 โดยน้ำหนัก หรือประมาณ 16 โบเม (วัดที่ 28 องศาเซลเซียส) สำหรับการผลิตก๊วยเตี้ยวเส้นแห้งความเข้มข้นน้ำแป้งสูงกว่า และมีค่าประมาณ 20 โบเม (วัดที่ 28 องศาเซลเซียส) ซึ่งสามารถปรับความเข้มข้นโดยการคำนวณน้ำหนักของน้ำแป้งดังนี้

$$\text{น้ำหนักของน้ำแป้ง(กก)} = \frac{\text{น้ำหนักของข้าว(กิโลกรัม)} \times [100 - \text{ความชื้นของข้าว(ร้อยละ)}]}{[100 - \text{ความชื้นของน้ำแป้งที่ต้องการทำก๊วยเตี้ยว(ร้อยละ)}]}$$

9.3.4 การนึ่งเป็นการทำให้น้ำแป้งสุกด้วยไอน้ำ โดยความร้อนจากไอน้ำทำให้น้ำแป้งสุก เรียกว่าการเกิดเจลาติไนเซชัน (gelatinization) ซึ่งใช้เวลาประมาณ 1-2 นาที

9.3.5 การผึ่งลมและตัดเส้น การผึ่งลมเป็นการทำให้น้ำแป้งสุกเย็นตัวลงเกิดเป็นเจลที่มีความแข็งแรงและเหนียวมากขึ้น เกาะยัดเป็นแผ่นได้ดี ซึ่งเป็นผลมาจากการรีโทรเกรเดชันของแอมิโลส จากนั้นจึงนำมาตัดเป็นเส้น ซึ่งได้ก๊วยเตี้ยวสดมีความชื้นประมาณร้อยละ 62-64 แต่ถ้าน้ำต้องการเส้นเล็กกึ่งแห้งต้องนำแผ่นก๊วยเตี้ยวสดไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 145 องศาเซลเซียส 15 นาที เมื่อออกจากตู้อบใช้พัดลมเป่าให้เย็น แผ่นก๊วยเตี้ยวที่ออกมามีความชื้นประมาณร้อยละ 30-40 จากนั้นนำมาวางเรียงซ้อนกันและบ่มไว้ประมาณ 6 ชั่วโมง เพื่อให้ความชื้นกระจายเท่ากันทั้งแผ่นก่อนนำมาตัดเป็นเส้นผลิตภัณฑ์เส้นเล็กกึ่งแห้งที่ได้มีความชื้นประมาณร้อยละ 35-37 ส่วนเส้นเล็กแห้งนั้นนำเส้นเล็กกึ่งแห้งมาอบแห้งด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 45-48 องศาเซลเซียส จนมีความชื้นประมาณร้อยละ 11-13

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

1.1 ข้าวเจ้าพันธุ์ชัยนาท 1 จากสถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร มีอายุการเก็บ 6 เดือน

1.2 เอนไซม์โปรตีเอส แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

1.2.1 เอนไซม์โปรตีเอสชนิดนิวทรัล (neutral protease)

- Protin NY100 (Amano ประเทศญี่ปุ่น)
- Collupulin (Genecor ประเทศสหรัฐอเมริกา)

1.2.2 เอนไซม์โปรตีเอสชนิดอัลคาไลน์ (alkaline protease)

- GA (Genecor ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- Subtilisin A (Sigma-Aldrich ประเทศเดนมาร์ก)

2. เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1 เครื่องมือสำหรับเตรียมแป้งข้าวและสกัดโปรตีนจากแป้งข้าว

2.1.1 เครื่องโม่หิน (Double-disk stone miller: Locally made, Thailand)

2.1.2 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Shaking water bath: D-77960, JulaboEM, Germany)

2.1.3 เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter: model 6071N, JENCO Electronics Ltd., China)

2.1.4 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge: Himac CR 20B2, Hitachi, Germany)

2.1.5 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven: Reliance Tech-Service Co., Ltd., Thailand)

2.1.6 เครื่องบดตัวอย่าง (Hammer miller: Ultra-centrifugal mill type ZM1, Retsch, Germany)

2.1.7 ตะแกรงร่อนขนาด 100 และ 200 เมช (Seive: Endecotts Ltd., England)

2.1.8 โซนิเคเตอร์ (Sonicator: URI, Retsch GmbH & CO., Germany)

2.1.9 เครื่องรีดแป้งและตัดเส้น (marcato, ATLAS150)

2.1.10 อุปกรณ์ทำถ้วยเตี๋ยว

2.1.11 อุปกรณ์เครื่องแก้ว ถาดสแตนเลส ช้อนและทัพพีสแตนเลส

2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพ

2.2.1 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Balance: AP210S, Ohaus Corp., USA)

2.2.2 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven: ULE500, Memmert, Germany)

2.2.3 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath: WB29, Memmert, Germany)

2.2.4 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge: Himac CR 20B2, Hitachi, Germany)

2.2.5 เครื่องมือวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน (Kjeldahl apparatus: BUCHI, Tecator AB, Sweden)

2.2.6 เครื่องวิเคราะห์ความหนืดอย่างรวดเร็ว (Rapid visco analyzer; RVA: Newport Scientific Pty, Ltd., Australia)

2.2.7 เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analyser: TA-XT2, Stable Micro System, England)

2.2.8 เครื่องทดสอบคุณสมบัติทางกลแบบเอนกประสงค์ (Instron Universal Testing Machine: Lloyd, USA)

2.2.9 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM: JEOL, JSM-5600 LV, Japan)

2.2.10 เครื่องรีโอมิเตอร์ (Dynamic rheometer: Physica MCR 300 series, Anton Paar, Austria)

2.2.11 ชุดอิเล็กโตรโฟรีซิส (Electrophoresis power supply: EPS 301, Amersham Pharmacia Biotech AB, Sweden)

2.2.12 สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer: Spectronic 23, LabMed Inc., USA)

2.2.13 เครื่องเขย่า (Vortex : model G-560E, Scientific Industries, Inc., USA)

2.2.14 หลอดพลาสติกมีฝาเกลียวปิดใช้กับเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge tube)

2.2.15 กระป๋องอะลูมิเนียมสำหรับวิเคราะห์ความชื้น (moisture can)

3. สารเคมี

3.1 สารเคมีสำหรับสกัดโปรตีนจากแป้งข้าว

- 3.1.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH: Ajax Finechem, Australia)
- 3.1.2 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl: Merck KGaA, Germany)

3.2 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์โปรตีน

- 3.2.1 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid; H_2SO_4 : Mallinckrodt Chemicals, USA)
- 3.2.2 คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate; $CuSO_4$: Fisher Scientific UK Limited, UK)
- 3.2.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH: Ajax Finechem, Australia)
- 3.2.4 กรดบอริก (Boric acid; H_3BO_3 : Merck KGaA, Germany)
- 3.2.5 โพแทสเซียมซัลเฟต (Potassium sulfate; K_2SO_4 : Ajax Finechem, New Zealand)
- 3.2.6 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl: Merck KGaA, Germany)
- 3.2.7 เมทิลเรด (Methyl red; $C_{15}H_{15}N_3O_2$: Panreac, Panreac Quimica SK, Spain)
- 3.2.8 โบรโมคริสซอลกรีน (Bromocresol green; $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$, Ajax Finechem, New Zealand)
- 3.2.9 เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol; C_2H_5OH : Merck KGaA, Germany)

3.3 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ SDS-PAGE

- 3.3.1 โปรตีนมาตรฐาน (Protein standard; PageRuler™ Prestained Protein Ladder: Fermentas, EU)
- 3.3.2 อะคริลาไมด์-เพจ (Acrylamide-PAGE; $CH_2CHCONH_2$)
- 3.3.3 เมทิลีนบิสอะคริลาไมด์ (Methylenebisacrylamide; $(CH_2CHCONH_2)_2CH_2$)
- 3.3.4 ทริส (ไฮดรอกซิลเมทิล) แอมิโนมีเทน (Tris (Hydroxymethyl) aminomethane; $(NH_2C(CH_2OH)_3)$)
- 3.3.5 เตตระเมทิลเอทิลีนไดเอมีน (Tetramethylethylenediamine (TEMED); $C_6H_{16}N_2$)
- 3.3.6 2-เมอร์แคปโตเอทานอล (2-Mercaptoethanol; $HSCH_2CH_2OH$)

- 3.3.7 แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต (Ammonium Persulfate; $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$)
- 3.3.8 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl)
- 3.3.9 กลีเซอรอล (Glycerol; $\text{CH}_2\text{OHCHOHCH}_2\text{OH}$)
- 3.3.10 บริลเลียนท์บลู อาร์ 250 (Coomassie brilliant blue R-250; $\text{C}_{45}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}_2\text{Na}$)
- 3.3.11 โบรโมเฟโนลบลู โซเดียมซอลต์ (Bromophenol Blue Sodium Salt; $\text{C}_{19}\text{H}_9\text{Br}_4\text{NaO}_5\text{S}$)
- 3.3.12 โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate (SDS); $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{OSO}_3\text{Na}$)
- 3.3.13 ไกลซีน (Glycine; $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$)
- 3.3.14 กรดแอซิติก (Acetic acid; CH_3COOH)
- 3.3.15 เมทานอล (Methanol; CH_3OH)

วิธีการ

1. การเตรียมวัตถุดิบ

1.1 การผลิตแป้งข้าว

นำข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มาล้างทำความสะอาด แล้วแช่ข้าวในน้ำโดยใช้อัตราส่วนข้าวต่อน้ำเท่ากับ 1:2 นาน 4 ชั่วโมง จากนั้นนำไปโม่ให้ละเอียดด้วยเครื่องโม่หิน ลดขนาดก้อนแป้งให้เล็กลงแล้วนำไปใส่ถาดเข้าอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง นำแป้งข้าวที่แห้งแล้วไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด hammer mill ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช เก็บแป้งข้าวที่ได้ในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ดัดแปลงจาก Suksomboon, 2007)

1.2 การสกัดโปรตีนในแป้งข้าวเจ้าโดยใช้เอนไซม์โปรตีเอส

นำแป้งข้าวเจ้า 50 กรัมเติมน้ำกลั่น 200 กรัม ผสมให้เข้ากันปรับความเป็นกรด-เบสให้ได้สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ด้วย NaOH (1.0 โมลาร์) นำไปใส่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (shaking water bath) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เติมเอนไซม์ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0.0025, 0.005, 0.01 ใช้ระยะเวลาในการย่อยนาน 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นจึงนำไปผ่านเครื่องเหวี่ยงเพื่อแยกน้ำที่ความเร็วรอบ 3000g นาน 15 นาที เติมน้ำกลั่นและปรับให้เป็นกลาง (pH 6.5) เหวี่ยงแยกน้ำออกแล้วชุดผิวด้านบนที่มีสีเหลืองหรือน้ำตาล

ออก ล้างแป้งข้าวโดยเติมน้ำกลั่นจนให้เข้ากันแล้วเหวี่ยงแยกน้ำออก 3 รอบ นำแป้งข้าวมาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง บดแป้งให้ละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช จะได้แป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอส หรือ Protease-RF (ดัดแปลงจาก Wang and Wang, 2001)

1.3 การสกัดโปรตีนในแป้งข้าวเจ้าโดยใช้สารละลายต่าง

นำแป้งข้าวเจ้า 50 กรัม มาเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1% นาน 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำไปเหวี่ยงแยกน้ำออก ที่ความเร็วรอบ 3000g นาน 15 นาที เติมน้ำและปรับความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 6.5 เหวี่ยงแยกน้ำออก ชูดผิวด้านบนที่มีสีเหลืองหรือน้ำตาลออก จากนั้นล้างแป้งด้วยน้ำกลั่น 3 รอบโดยเติมน้ำกลั่นจนให้เข้ากันแล้วเหวี่ยงแยกน้ำออก นำแป้งข้าวเจ้าที่ได้มาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง บดแป้งให้ละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช จะได้แป้งข้าวเจ้าที่ผ่านการแช่สารละลายต่าง หรือ Alkali-RF (ดัดแปลงจาก Lumdubwong and Seib, 2000)

2. ศึกษาคุณสมบัติของแป้งข้าวเจ้า

2.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวเจ้า ทำการวิเคราะห์ดังนี้

2.1.1 วิเคราะห์ความชื้น ตามวิธีของ AACC 44-15A (AACC, 2000)

2.1.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ AACC 46-11A (AACC, 2000)

2.2 วิเคราะห์สมบัติด้านความหนืด (pasting properties)

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติด้านความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืดอย่างรวดเร็ว (RVA) ตามวิธีการของ AACC 61-02 (AACC, 2000) เพื่อวัดค่าความหนืดต่างๆดังนี้ อุณหภูมิที่เริ่มเกิดความหนืด (pasting temperature) ความหนืดสูงสุดขณะร้อน (peak viscosity) ความหนืดต่ำสุด (trough) ความหนืดสุดท้าย (final viscosity) ค่าความหนืดลดลง (breakdown) และค่าเซตแบค (setback)

2.3 วิเคราะห์สมบัติด้านเนื้อสัมผัส

ศึกษาลักษณะเนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวแบบวิเคราะห์เค้าโครงเนื้อสัมผัส (Texture Profile Analysis: TPA) ด้วยเครื่อง Instron Universal Testing Machine โดยเตรียมเจลแป้งข้าวให้มีรูปทรงกระบอก (ความเข้มข้นของน้ำแป้งร้อยละ 15, w/w) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร ความสูง 2 เซนติเมตร แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง วัดค่าเนื้อสัมผัส ดังนี้ ความแข็ง (hardness), ความยืดหยุ่น (springiness), ความเหนียวเป็นยาง (gumminess), การเกาะติดผิว (adhesiveness), และ การต่อการเคี้ยว (chewiness) โดยใช้หัววัดทรงกระบอก ขนาด 6 มิลลิเมตร ความเร็ว 50 มิลลิเมตรต่อวินาที ระยะทาง 10 มิลลิเมตร ดัดแปลงจาก Vandeputte *et al.* (2003c)

2.4 วิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านวิทยากระแส (Rheology)

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านรีโอโลยีของแป้งข้าวด้วยเครื่องรีโอมิเตอร์ ทำการทดสอบแบบ Oscillatory test ด้วยวิธี Temperature sweep เตรียมน้ำแป้งความเข้มข้นร้อยละ 20 ใช้หัววัดชนิด Parallel plate เส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร กำหนดระยะ gap (Gap size) เท่ากับ 1000 ไมโครเมตร ค่าความเค้นและความถี่ เท่ากับ ร้อยละ 0.5 และ 1 เฮิรตซ์ ตามลำดับ กำหนดสถานะให้อุณหภูมิเพิ่มจาก 25 ไป 95 องศาเซลเซียสและลดลงจนถึง 25 องศาเซลเซียส ด้วยอัตรา 2 องศาเซลเซียสต่อนาที วัดค่า storage modulus (G'), loss modulus (G'') และ loss factor ($\tan \delta$) ตามวิธีของ Cham and Suwannaporn (2010)

2.5 กำล้างการฟองตัวและการละลาย

ทำการวิเคราะห์สมบัติด้านการฟองตัวของเม็ดยาแป้ง (ดัดแปลงจากวิธีการของ Vandeputte *et al.*, 2003b) ชั่งแป้งจำนวน 1.0000 กรัม ลงในหลอดหมุนเหวี่ยงที่ทราบน้ำหนักแล้ว เติมน้ำกลั่น 30 กรัม เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า นำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 30 นาที โดยกำหนดอุณหภูมิเป็น 55, 65, 75, 85 หรือ 95 องศาเซลเซียส นำออกมาเขย่าทุก 5 นาที นำหลอดไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 g นาน 15 นาที แล้วดูดส่วนใสด้านบนมาใส่อะลูมิเนียมแคนที่แห้งและทราบน้ำหนัก นำไปอบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หลังจากทิ้งให้เย็น แล้วจึงชั่งน้ำหนัก คำนวณหาการละลายและการฟองตัว จากสมการ

$$\text{ร้อยละการละลาย} = \left(\frac{\text{น้ำหนักของตัวอย่างที่ละลายน้ำ (กรัม) x 100}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}} \right)$$

$$\text{กำลังการฟองตัว (กรัม/กรัม)} = \left(\frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างเปียก (กรัม) x 100}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง x (100-ร้อยละการละลาย)}} \right)$$

2.6 ลักษณะรูปร่างเม็ดสตาร์ช

ศึกษาลักษณะรูปร่างของเม็ดสตาร์ชด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM: JEOL, JSM-5800LV, Japan) โดยกำหนดค่าอัตราเร่งของความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 15 กิโลโวลต์ และใช้กำลังขยายที่ 12000 เท่า (ภาคผนวก ก3)

2.7 การแยกชนิดของโปรตีนในแป้งข้าว

ทำการแยกชนิดของโปรตีนในแป้งข้าวด้วยวิธี Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) ตามวิธีของ Laemmli (1970) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างโปรตีนในแป้งข้าว โดยใช้ความเข้มข้น 4% stacking gel และ 15% running gel ภายใต้แรงดัน ไฟฟ้า 120 โวลต์ 2 ชั่วโมง พร้อมทั้งใช้โปรตีนมาตรฐาน (protein standard) เพื่อทราบน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนในแป้งข้าวโดยประมาณ

3. การผลิตและตรวจสอบคุณภาพเส้นก๋วยเตี๋ยว

3.1 การผลิตก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กอบแห้ง

เตรียมน้ำแป้งความเข้มข้นร้อยละ 40 แขน้ำแป้งเป็นเวลา 3 ชั่วโมง (กวนทุก 30 นาที) เมื่อครบเวลาให้กวนน้ำแป้งให้เข้ากันดี แล้วเทน้ำแป้งใส่ถาดเหล็กกล้าปลอดสนิมขนาด 20x30 เซนติเมตร ถาดละ 55 กรัม จากนั้นนำไปนึ่งด้วยเครื่องนึ่งอาหารไฟฟ้า 5 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วลอกแผ่นแป้งออกจากถาด ซ้อนแผ่นแป้งทับกันโดยมีพลาสติกคั่นระหว่างแผ่น นำใส่ถุงพลาสติกปิดผนึกให้เรียบร้อยแล้วเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง ตัดแผ่นแป้งด้วยเครื่องตัดเส้นแล้วนำเส้นเล็กสดที่ได้มาเรียงใส่ถาด อบแห้งที่อุณหภูมิ 45±5 องศาเซลเซียส ประมาณ 2-3 ชั่วโมง บรรจุก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กอบแห้งในถุงพอลิเอทิลีนปิดผนึกให้เรียบร้อย

3.2 วิเคราะห์เนื้อสัมผัสของเส้นก๋วยเตี๋ยว

วัดค่าเนื้อสัมผัสของเส้นก๋วยเตี๋ยวด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analyser รุ่น TA-XT2) ดัดแปลงวิธีจาก AACC (2000) ทำการวัด 2 แบบ คือ วัดแรงตัดด้วยหัววัด A/LKB วิเคราะห์ผลค่าแรงสูงสุดที่ใช้ตัด (cutting force) และพื้นที่ได้กราฟเป็นงานที่ใช้ในการตัด (cutting area) และวัดแรงต้านการดึง (tensile strength) ด้วยหัววัด A/SPR ตามวิธีในภาคผนวก ก

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างตัวอย่าง (Analysis of Variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

5. สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการและอาคารแปรรูปภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. ระยะเวลาการทดลอง

ตั้งแต่เดือนมีนาคม 2551 ถึงเดือน มกราคม 2554

ผลและวิจารณ์

งานวิจัยนี้ศึกษาการใช้เอนไซม์โปรตีเอสในการสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าว แล้ววิเคราะห์คุณสมบัติของแป้งข้าวที่เปลี่ยนแปลงไปเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดโปรตีนโดยการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) โดยมีปัจจัยที่ต้องการศึกษา 3 ปัจจัย ได้แก่ ชนิดของเอนไซม์โปรตีเอส ความเข้มข้นเอนไซม์ และอุณหภูมิในการย่อย ซึ่งในงานวิจัยนี้ใช้เอนไซม์โปรตีเอสทางการค้า 3 ชนิด คือ Protin NY100, Collupulin, GA และเอนไซม์ทางการวิเคราะห์ Subtilisin A ความเข้มข้นเอนไซม์ 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0.0025, 0.005 และ 0.01 ทำการย่อยที่อุณหภูมิ 25 และ 50 องศาเซลเซียส

1. องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าว

จากการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในแป้งข้าว พบว่าแป้งข้าวที่ผ่านการแช่ในสารละลายด่าง (Alkali-RF) และแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอส (Protease-RF) มีปริมาณความชื้นอยู่ระหว่าง 10-13 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนพบว่า Protease-RF มีปริมาณโปรตีนเหลืออยู่ร้อยละ 2.21-4.05 ในขณะที่ Alkali-RF มีปริมาณโปรตีนเหลืออยู่ร้อยละ 0.48 ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Lumdubwong and Seib (2000) ที่ศึกษาการสกัดสตาrch จากแป้งข้าวด้วยด่างได้ปริมาณโปรตีนร้อยละ 0.42 เมื่อเปรียบเทียบกับแป้งข้าว (native) ซึ่งมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 5.99 (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ร้อยละของปริมาณโปรตีนในแป้งข้าวเจ้า

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น	อุณหภูมิ (°ซ)	ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)				
	(ร้อยละ)		Protin NY 100	Collupulin	GA	Subtilisin A	
Rice flour	-		5.99 ± 0.01	5.99 ± 0.01	5.99 ± 0.01	5.99 ± 0.01	
Alkali-RF	-		0.48 ± 0.00	0.48 ± 0.00	0.48 ± 0.00	0.48 ± 0.00	
Protease-RF	0.0025	25	3.73 ^b ± 0.01	3.35 ^a ± 0.01	3.24 ^b ± 0.04	2.74 ^b ± 0.15	
		50	2.36 ^d ± 0.03	2.33 ^c ± 0.01	2.85 ^c ± 0.09	2.21 ^d ± 0.04	
	0.0050	25	4.05 ^a ± 0.02	3.10 ^b ± 0.02	2.94 ^c ± 0.12	2.31 ^d ± 0.03	
		50	3.48 ^c ± 0.01	2.26 ^f ± 0.01	2.79 ^c ± 0.02	2.43 ^c ± 0.03	
	0.0100	25	2.30 ^d ± 0.06	2.67 ^d ± 0.01	3.84 ^a ± 0.09	3.52 ^a ± 0.04	
		50	3.45 ^c ± 0.00	2.89 ^c ± 0.04	2.81 ^c ± 0.09	2.44 ^c ± 0.03	
	ปัจจัย			F-ANOVA			
	ความเข้มข้นเอนไซม์	(A)		938.01 [*]	64.50 [*]	13.16 [*]	91.29 [*]
อุณหภูมิในการย่อย	(B)		213.47 [*]	2151.68 [*]	50.06 [*]	157.24 [*]	
Interaction	(AxB)		1751.24 [*]	1064.78 [*]	12.73 [*]	77.15 [*]	

หมายเหตุ 1) ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

2) * ค่าสถิติ F มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่าง Protease-RF และ Alkali-RF พบว่าการใช้เอนไซม์โปรตีเอสทั้ง 4 ชนิด คือ Protin NY100, Collupulin, GA และ Subtilisin A มีผลให้ปริมาณโปรตีนคงเหลือในแป้งข้าวสูงกว่าการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากโปรตีนหลักที่พบในส่วนเอนโดสเปิร์มของข้าว หรือกลูเตลินละลายได้ในสารละลายด่าง การใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์จึงมีประสิทธิภาพในสกัดโปรตีนออกไปได้มากกว่า

เมื่อพิจารณาจากค่า F ในตารางที่ 4 พบว่าเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิด ความเข้มข้นและอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยมีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีนคงเหลือ และพบอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นเอนไซม์และอุณหภูมิในการย่อยด้วยเอนไซม์ Collupulin GA และ Subtilisin A ($p \leq 0.05$) พบว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยมีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีนคงเหลือมากที่สุด ในขณะที่การใช้เอนไซม์ Protin NY100 อิทธิพลร่วมจะมีอิทธิพลมากที่สุด อุณหภูมิในการย่อยที่แตกต่างกันมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนคงเหลือแตกต่างกัน ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิ 2 ระดับ คือ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส ส่วนการทำงานที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่สะดวกต่อการใช้ในสภาวะการผลิตจริงในโรงงานอุตสาหกรรม พบว่าปริมาณโปรตีนคงเหลือในการย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสมีแนวโน้มต่ำกว่าการย่อยที่ 25 องศาเซลเซียส เนื่องจากที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอสทั้ง 4 ชนิด จึงมีกิจกรรมเอนไซม์สูงสามารถย่อยโปรตีนได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นเอนไซม์ที่ต่างกันทำให้ Protease-RF ที่ได้มีปริมาณโปรตีนคงเหลือแตกต่างกัน โดยในเอนไซม์ Protin NY100 ความเข้มข้นเอนไซม์มีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีนสูงที่สุด การเพิ่มความเข้มข้นเอนไซม์มีผลทำให้ปริมาณโปรตีนลดลง นอกจากนี้พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์ Collupulin GA และ Subtilisin A มีผลต่อปริมาณโปรตีนในทิศทางเดียวกันคือ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้น ปริมาณโปรตีนคงเหลือมีแนวโน้มลดลง

2. คุณสมบัติด้านความหนืด (Pasting properties)

ความหนืดเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของแป้ง เป็นการเปลี่ยนแปลงของเม็ดสตาร์ชในสภาวะที่มีน้ำและการให้ความร้อน ซึ่งทำให้ทราบการเปลี่ยนแปลงของแป้งที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิตและลักษณะของผลิตภัณฑ์ได้ ผลการวัดค่าความหนืดของแป้งข้าวด้วยเครื่องวัดความหนืดแบบรวดเร็ว (Rapid Visco Analyzer: RVA) ได้ผลดังตารางที่ 5-8 ซึ่งแสดงค่าความหนืดของแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Protin NY100, Collupulin, GA และ Subtilisin A ตามลำดับ

การเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดของแป้งข้าวหลังจากที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอส พบว่า Protease-RF มีค่าความหนืดทุกค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งข้าว (native) โดยที่อุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดมีค่าใกล้เคียงกัน คือช่วงอุณหภูมิ 83-91 องศาเซลเซียส และเมื่อเปรียบเทียบกับ Alkali-RF พบว่าแป้งข้าวทั้งสองชนิดมีลักษณะการเปลี่ยนแปลงความหนืดแตกต่างกันอย่างชัดเจน คือ Alkali-RF มีอุณหภูมิเริ่มเกิดความหนืดและค่าความหนืดต่ำสุด (trough) ต่ำกว่า Protease-RF แต่มีค่าความหนืดลดลง (breakdown) มากกว่า ซึ่งเป็นผลจากปริมาณโปรตีน เนื่องจากโปรตีนที่อยู่ในบริเวณผิวของเม็ดสตาร์ชจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์มีบทบาทในการขัดขวางการพองตัว และช่วยเพิ่มแข็งแรงทำให้เม็ดสตาร์ชทนต่อแรงเฉือน (Hamaker and Griffin, 1993) การที่ Alkali-RF มีปริมาณโปรตีนคงเหลือต่ำกว่าทำให้เม็ดสตาร์ชพองตัวได้ดี ทนต่อแรงเฉือนได้น้อย การให้แรงกวนจากใบพัดของเครื่อง RVA ส่งผลให้เม็ดสตาร์ชที่เกิดการเจลาติไนซ์แตกออกได้มากกว่า Alkali-RF จึงมีค่าความหนืดลดลงมากกว่า Protease-RF

เอนไซม์ Protin NY100: พบว่าอุณหภูมิในการย่อยและอิทธิพลร่วมมีผลต่อค่าความหนืดมากกว่าความเข้มข้นเอนไซม์ (ตารางที่ 5) เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิที่ใช้การย่อยพบว่าที่ทุกระดับความเข้มข้น Protease-RF ที่ถูกย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ค่าความหนืดมีแนวโน้มสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส

เอนไซม์ Collupulin: อุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยมีอิทธิพลต่อค่าความหนืดสูงกว่าความเข้มข้นเอนไซม์ (ตารางที่ 6) การเพิ่มความเข้มข้นทำให้ค่าความหนืดของ Protease-RF ลดลง ส่วนผลของอุณหภูมิในการย่อย พบว่าที่ระดับความเข้มข้นเท่ากันการย่อยแป้งข้าวที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส Protease-RF จะมีค่าความหนืดสูงสุด ความหนืดต่ำสุด ความหนืดลดลง และความหนืดสุดท้าย สูงกว่าการย่อยที่ 25 องศาเซลเซียส ยกเว้นค่าเซตแบค

เอนไซม์ GA: พบว่าทั้งความเข้มข้นเอนไซม์และอุณหภูมิมีอิทธิพลต่อค่าความหนืด (ตารางที่ 7) ความเข้มข้นเอนไซม์มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดสูงสุดและค่าความหนืดต่ำสุด โดยที่อุณหภูมิเท่ากัน การเพิ่มความเข้มข้นทำให้ค่าความหนืดสูงสุดและค่าความหนืดต่ำสุดลดลง เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน การย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ทำให้ค่าความหนืดลดลง ความหนืดต่ำสุด และค่าเซตแบคสูงกว่าการย่อยที่ 25 องศาเซลเซียส

เอนไซม์ Subtilisin A: พบว่าความเข้มข้นเอนไซม์และอุณหภูมิในการย่อยมีอิทธิพลต่อค่าความหนืด เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นพบว่า การย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส การเพิ่ม

ความเข้มข้นเอนไซม์มีผลทำให้ค่าความหนืดสูงสุด ความหนืดลดลงและความหนืดสุดท้าย ลดลง เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิ พบว่าการย่อยแป้งข้าวที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จะให้ค่าความหนืดสูงกว่าที่ 25 องศาเซลเซียส

ในภาพรวมพบว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงความหนืดของ Protease-RF มากที่สุด โดยการย่อยแป้งข้าวที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ค่าความหนืดของ Protease-RF มีแนวโน้มสูงกว่าการย่อยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้นเอนไซม์เท่ากัน ซึ่งเป็นผลจากปริมาณโปรตีนคงเหลือในแป้งข้าว เนื่องจากการเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ของโปรตีนในข้าวทำให้เมล็ดสตาร์ชมีความแข็งแรงและขัดขวางการดูดซึมน้ำ เม็ดสตาร์ชจึงพองตัวได้ยาก ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว คือ การย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส Protease-RF มีปริมาณโปรตีนต่ำกว่าที่ 25 องศาเซลเซียส ทำให้เมล็ดสตาร์ชมีความสามารถในการพองตัวได้ดีมีค่าความหนืดสูงสุดมากกว่า และเมื่อมีแรงเฉือนจากการกวนรวมทั้งการให้ความร้อนอย่างต่อเนื่อง โครงสร้างของเมล็ดสตาร์ชที่มีโปรตีนต่ำมีความแข็งแรงน้อยจึงเกิดการแตกออกได้ง่ายกว่าเมล็ดสตาร์ชที่มีโปรตีนสูง ทำให้ค่าความหนืดลดต่ำลงมากกว่า Hamaker and Griffin (1993) ได้ศึกษาอิทธิพลของโปรตีนด้วยการเติมสารไคโรโอทริออล (DTT) ซึ่งไปทำลายพันธะไดซัลไฟด์ ทำให้กำลังการพองตัวของเมล็ดสตาร์ชเพิ่มขึ้น การวัดความหนืดของเมล็ดสตาร์ชในสถานะที่มีแรงเฉือนต่ำพบว่าค่าความหนืดเพิ่มขึ้น แต่ในสถานะที่มีแรงเฉือนมากค่าความหนืดจะลดลง เนื่องจากโครงสร้างเมล็ดสตาร์ชไม่แข็งแรงจึงถูกทำลายได้ง่ายด้วยแรงเฉือน จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างค่าความหนืดของ Protease-RF และ Alkali-RF พบว่าแป้งทั้งสองชนิดมีค่าความหนืดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในทุกชนิดเอนไซม์ ยกเว้นเอนไซม์ Collupulin ที่มีค่าความหนืดสูงสุดไม่แตกต่างจาก Alkali-RF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 5 ค่าความหนืดของแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Protin NY100

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น	อุณหภูมิ (°C)	อุณหภูมิเริ่ม	ค่าความหนืด (cP)				
	(ร้อยละ)		เกิดความหนืด	ความหนืดสูงสุด	ความหนืดต่ำสุด	ความหนืดลดลง	ความหนืดสุดท้าย	เซตแบบ
Rice flour			88.60 ±1.27	3221.50 ±45.96	2848.50 ±24.75	373.00 ±21.21	4156.00 ±86.27	934.50 ±40.30
Alkali-RF			62.95 ^d ±0.41	3130.50 ^a ±6.36	963.50 ^d ±2.12	2167.00 ^a ± 4.24	3341.50 ^a ±4.95	211.00 ^b ± 1.41
Protin NY100	0.0025	25	88.95 ^{ab} ±0.77	2741.25 ^b ±112.88	2463.75 ^a ±93.32	277.50 ^d ±20.74	3081.75 ^a ±140.70	340.50 ^{ab} ±186.94
		50	87.90 ^b ±3.92	2978.75 ^a ±33.42	2413.00 ^a ±24.18	555.75 ^b ±23.64	2782.25 ^b ±45.33	420.25 ^a ±104.66
	0.005	25	89.50 ^{ab} ±0.76	2282.75 ^c ±111.14	1969.50 ^b ±94.69	313.25 ^{cd} ±22.76	2727.75 ^b ±130.68	445.00 ^a ±40.06
		50	89.75 ^{ab} ±1.85	2596.50 ^b ±179.59	2204.00 ^{ab} ±91.94	392.50 ^c ±24.28	2826.75 ^b ±296.45	230.25 ^b ±119.50
	0.01	25	84.85 ^c ±0.44	2005.75 ^d ±79.53	1418.75 ^c ±75.34	587.00 ^b ±98.68	2218.50 ^c ±72.91	212.75 ^b ±23.94
		50	91.33 ^a ±0.40	2647.50 ^b ±226.53	2304.00a ±312.03	343.50 ^{cd} ±86.62	3152.50 ^a ±165.75	505.00 ^a ±72.67
ปัจจัย			F-ANOVA					
ความเข้มข้นเอนไซม์ (A)			1.54	32.66*	25.67*	7.88*	4.67*	0.32
อุณหภูมิในการย่อย (B)			6.14*	49.04*	28.91*	2.69	13.48*	1.46
Interaction (AxB)			9.52*	4.77*	17.46*	43.02*	29.79*	11.50*

หมายเหตุ: 1) ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

2) * ค่าสถิติ F มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 6 ค่าความหนืดของแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Collupulin

ชนิดเอนไซม์	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	อุณหภูมิ (°C)	อุณหภูมิเริ่ม เกิดความหนืด	ค่าความหนืด(cP)				
				ความหนืดสูงสุด	ความหนืดต่ำสุด	ความหนืดลดลง	ความหนืดสุดท้าย	เซตแบบ
Rice flour			88.60 ± 1.27	3221.50 ±45.96	2848.50 ± 24.75	373.00 ± 21.21	4156.00 ± 86.27	934.50 ± 40.30
Alkali-RF			62.95 ^c ± 0.41	3130.50 ^a ±6.36	963.50 ^c ± 2.12	2167.00 ^a ± 4.24	3341.50 ^c ± 4.95	211.00 ^b ± 1.41
Collupulin	0.0025	25	85.98 ^{ab} ± 3.21	2814.75 ^b ±117.33	2494.00 ^{ab} ±102.59	320.75 ^c ± 15.65	3533.75 ^b ± 65.88	719.00 ^a ± 64.18
		50	85.78 ^{ab} ± 1.05	3054.50 ^a ±133.65	2650.25 ^a ±144.56	404.25 ^b ± 13.98	3684.50 ^a ± 56.56	630.00 ^a ± 137.65
	0.005	25	85.78 ^{ab} ± 1.07	2794.50 ^b ±96.09	2406.25 ^b ±108.10	388.25 ^b ± 14.38	3505.25 ^b ± 74.25	710.75 ^a ± 134.23
		50	83.20 ^b ± 0.40	3058.75 ^a ±149.06	2659.50 ^a ±163.14	399.25 ^b ± 15.41	3684.00 ^a ± 51.03	625.25 ^a ± 115.47
	0.01	25	84.43 ^{ab} ± 1.71	2742.50 ^b ±26.61	2347.25 ^b ±53.92	395.25 ^b ± 58.04	3495.50 ^b ± 128.70	753.00 ^a ± 145.44
		50	86.40 ^a ± 0.98	3014.75 ^a ±114.78	2627.50 ^a ±90.24	387.25 ^b ± 32.93	3567.50 ^{ab} ± 101.50	552.75 ^a ± 178.98
ปัจจัย				F-ANOVA				
ความเข้มข้นเอนไซม์ (A)			1.44	0.57	1.07	2.71	1.92	0.06
อุณหภูมิในการย่อย (B)			0.15	31.37 [*]	23.56 [*]	5.60 [*]	15.16 [*]	5.22 [*]
Interaction (AxB)			3.74 [*]	0.04	0.63	5.24 [*]	0.86	0.48

หมายเหตุ 1) ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

2) * ค่าสถิติ F มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 7 ค่าความหนืดของแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ GA

ชนิดเอนไซม์	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	อุณหภูมิ (°ซ)	อุณหภูมิเริ่ม เกิดความหนืด	ค่าความหนืด (cP)				
				ความหนืดสูงสุด	ความหนืดต่ำสุด	ความหนืดลดลง	ความหนืดสุดท้าย	เซตแบบ
Rice flour			88.60 ±1.27	3221.50 ±45.96	2848.50 ±24.75	373.00 ±21.21	4156.00 ±86.27	934.50 ±40.30
Alkali-RF			62.95 ^b ±0.41	3130.50 ^a ±6.36	963.50 ^c ±2.12	2167.00 ^a ±4.24	3341.50 ^c ±4.95	211.00 ^d ±1.41
GA	0.0025	25	83.03 ^a ±0.05	3038.75 ^{ab} ±33.37	2674.50 ^a ±39.69	364.25 ^c ±6.99	3506.50 ^{bc} ±118.34	467.75 ^c ±143.18
		50	83.05 ^a ±0.93	2994.50 ^{ab} ±29.49	2504.75 ^b ±87.62	489.75 ^b ±62.30	3843.50 ^a ±87.68	849.00 ^a ±112.56
	0.005	25	83.30 ^a ±0.96	2812.25 ^c ±143.81	2404.00 ^b ±192.42	408.25 ^{bc} ±48.85	3595.00 ^{abc} ±129.44	782.75 ^{ab} ±22.87
		50	83.68 ^a ±1.61	2893.00 ^{bc} ±23.34	2407.75 ^b ±26.39	485.25 ^b ±11.15	3747.25 ^{ab} ±37.98	854.25 ^a ±42.32
	0.01	25	83.65 ^a ±1.19	2832.00 ^c ±130.49	2495.75 ^b ±44.39	336.25 ^c ±102.66	3482.00 ^{bc} ±317.74	650.00 ^b ±194.83
		50	84.38 ^a ± 1.78	2928.50 ^{bc} ± 77.56	2454.75 ^b ± 31.75	473.75 ^b ±59.45	3745.75 ^{ab} ±104.65	817.25 ^{ab} ±56.29
ปัจจัย				F-ANOVA				
ความเข้มข้นเอนไซม์ (A)			1.27	8.00 [*]	8.27 [*]	1.02	0.37	4.02 [*]
อุณหภูมิในการย่อย (B)			0.56	1.53	3.43	22.54 [*]	14.94 [*]	20.07 [*]
Interaction (AxB)			0.16	1.54	1.95	0.60	0.68	3.94 [*]

หมายเหตุ 1) ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

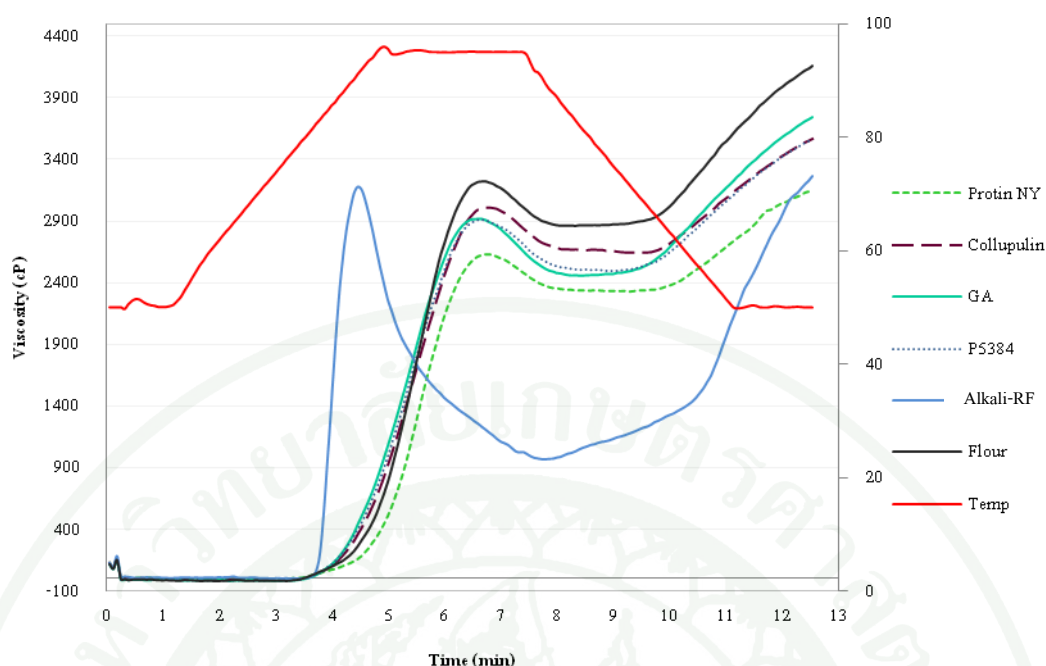
2) * ค่าสถิติ F มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 8 ค่าความหนืดของแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Subtilisin A

ชนิดเอนไซม์	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	อุณหภูมิ (°ซ)	อุณหภูมิเริ่ม เกิดความหนืด	ค่าความหนืด (cP)				
				ความหนืดสูงสุด	ความหนืดต่ำสุด	ความหนืดลดลง	ความหนืดสุดท้าย	เซตแบบ
Rice flour			88.60 ±1.27	3221.50 ±45.96	2848.50 ±24.75	373.00 ± 21.21	4156.00 ± 86.27	934.50 ± 40.30
Alkali-RF			62.95 ^b ±0.41	3130.50 ^{ab} ±6.36	963.50 ^c ±2.12	2167.00 ^a ± 4.24	3341.50 ^d ± 4.95	211.00 ^d ± 1.41
Subtilisin A	0.0025	25	84.43 ^a ±0.81	2868.00 ^c ±16.14	2468.00 ^b ±62.01	400.00 ^{bc} ± 70.78	3739.25 ^{ab} ± 79.67	871.25 ^a ± 74.98
		50	83.48 ^a ±0.43	3324.00 ^a ±65.14	2855.75 ^a ±30.29	468.25 ^b ± 39.91	3759.00 ^{ab} ± 107.04	435.00 ^c ± 47.24
	0.005	25	83.03 ^a ±0.66	2964.25 ^{bc} ±45.49	2519.75 ^b ±112.64	444.50 ^b ± 73.73	3802.75 ^a ± 50.64	838.50 ^{ab} ± 83.15
		50	83.63 ^a ±0.42	2961.75 ^{bc} ±242.37	2506.00 ^b ±298.46	455.75 ^b ± 56.95	3625.25 ^{bc} ± 26.99	663.50 ^{ab} ± 219.47
	0.01	25	84.40 ^a ±0.47	2723.50 ^c ±130.41	2405.25 ^b ±168.01	318.25 ^c ± 39.09	3357.75 ^d ± 59.62	634.25 ^{bc} ± 176.32
		50	84.83 ^a ±2.66	2925.50 ^{bc} ±244.27	2492.25 ^b ±239.64	433.25 ^b ± 31.08	3568.25 ^c ± 200.80	642.75 ^{bc} ± 94.52
ปัจจัย				F-ANOVA				
ความเข้มข้นเอนไซม์ (A)			2.27	6.23 [*]	2.98	4.14 [*]	17.99 [*]	1.74
อุณหภูมิในการย่อย (B)			0.00	12.10 [*]	4.42 [*]	8.51 [*]	0.17	14.11 [*]
Interaction (AxB)			0.99	4.46 [*]	2.72	1.82	6.95 [*]	5.82 [*]

หมายเหตุ 1) ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

2) * ค่าสถิติ F มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 20 ค่าความหนืดของแป้งข้าว (native), Alkali-RF และ Protease-RF ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.01 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

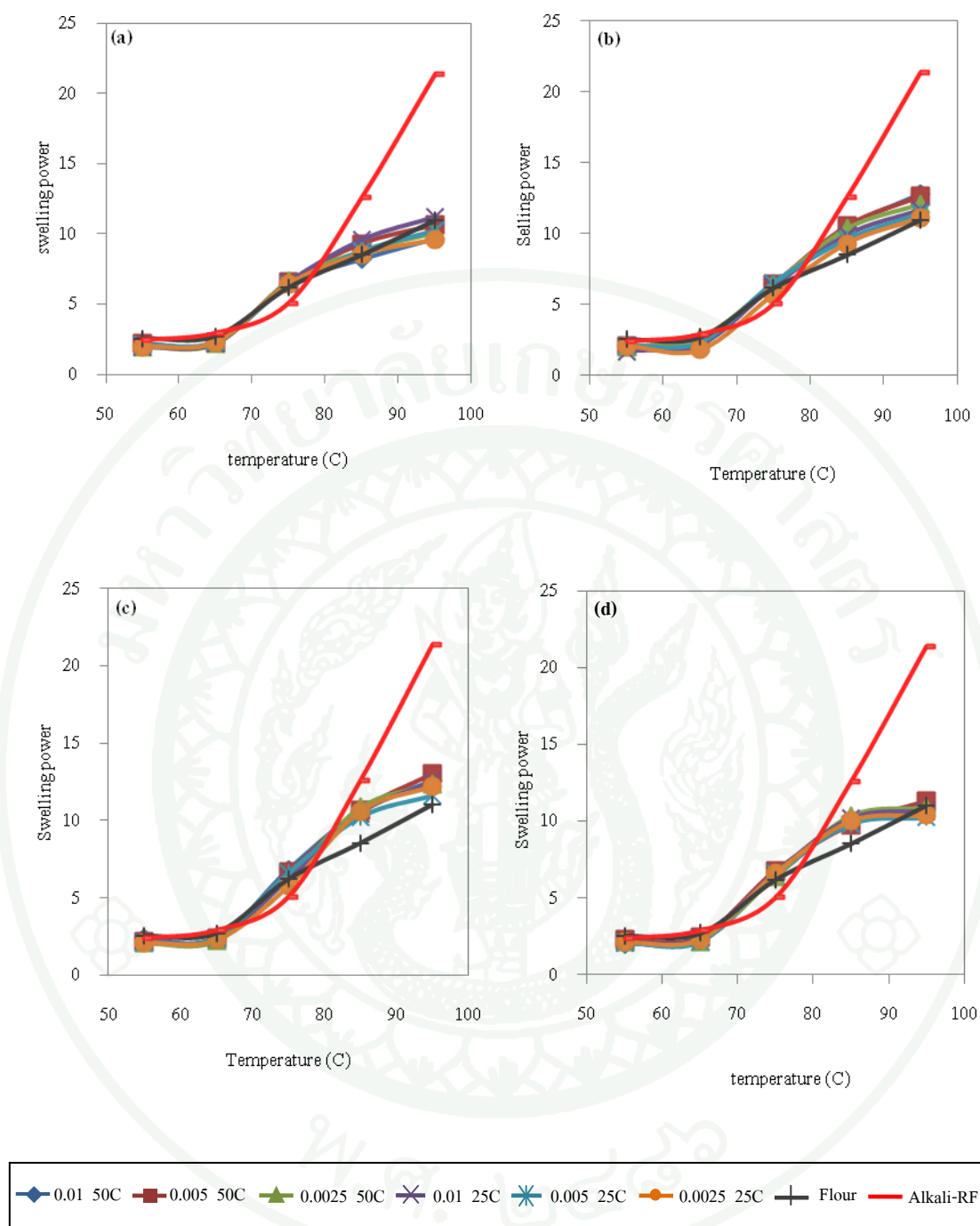
3. กำลังการพองตัวและการละลาย

3.1 กำลังการพองตัว

กำลังการพองตัวเป็นความสามารถในการดูดซับน้ำของเม็ดสตาร์ชที่อุณหภูมิต่างๆ โดยสตาร์ชต่างชนิดกันจะมีกำลังการพองตัวแตกต่างกัน จากการวิเคราะห์กำลังการพองตัวของแป้งข้าวทั้ง 3 ชนิด คือ native, Protease-RF และ Alkali-RF ที่อุณหภูมิ 55, 65, 75, 85 และ 95 องศาเซลเซียส พบว่ามีลักษณะการพองตัวดังแสดงในภาพที่ 21 ในช่วงแรกอุณหภูมิ 55-65 องศาเซลเซียส เม็ดสตาร์ชมีลักษณะการพองตัวแบบจำกัด เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่ต่ำกว่าอุณหภูมิในการเกิดเจลลิตไนเซชันของแป้งข้าว ตัวอย่างแป้งข้าวทั้ง 3 ชนิดจึงมีกำลังการพองตัวต่ำ ความร้อนที่อุณหภูมิดังกล่าวไม่สามารถทำลายโครงสร้างผลึก แต่ที่อุณหภูมิ 65-95 องศาเซลเซียส กำลังการพองตัวของเม็ดสตาร์ชเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากความร้อนทำให้พันธะไฮโดรเจนภายในเม็ดสตาร์ชคลายตัว น้ำสามารถซึมผ่านเข้าไปในเม็ดสตาร์ชได้มากขึ้นทำให้ค่ากำลังการพองตัวและค่าการละลายสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น (Wurzburg, 1986)

จากการทดลองพบว่า ค่ากำลังการพองตัวของ Protease-RF ในแต่ละอุณหภูมิมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาเทียบกับแป้งข้าว พบว่าช่วงอุณหภูมิ 55-65 องศาเซลเซียส กำลังการพองตัวของ Protease-RF มีกำลังการพองตัวต่ำกว่าแป้งข้าว เมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นค่ากำลังการพองตัวจะเพิ่มขึ้น จนถึงช่วง 85-95 องศาเซลเซียสค่ากำลังการพองตัวจะมีค่าสูงกว่าแป้งข้าว แต่ต่ำกว่า Alkali-RF พบว่าแป้งที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอสมีกำลังการพองตัวต่ำกว่าที่ทุกอุณหภูมิ เนื่องจากโปรตีนในแป้งข้าวมีบทบาทในการขัดขวางการพองตัวของเม็ดสตาร์ช (Debet and Gidley, 2006) เมื่อโปรตีนในแป้งข้าวถูกกำจัดออกไปบางส่วนจึงทำให้เม็ดสตาร์ชมีกำลังการพองตัวดีขึ้น Protease-RF มีกำลังการพองตัวมากกว่าแป้งข้าวที่อุณหภูมิ 85-95 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนคงเหลือต่ำกว่าทำให้เม็ดสตาร์ชพองตัวได้ดีจึงมีค่ากำลังการพองตัวมากกว่าด้วย รวมถึง Alkali-RF ซึ่งมีปริมาณโปรตีนคงเหลือน้อยที่สุด (ร้อยละ 0.48) ทำให้พองตัวได้ดี มีค่ากำลังการพองตัวสูงกว่า Protease-RF และ แป้งข้าว (native) ตามลำดับ

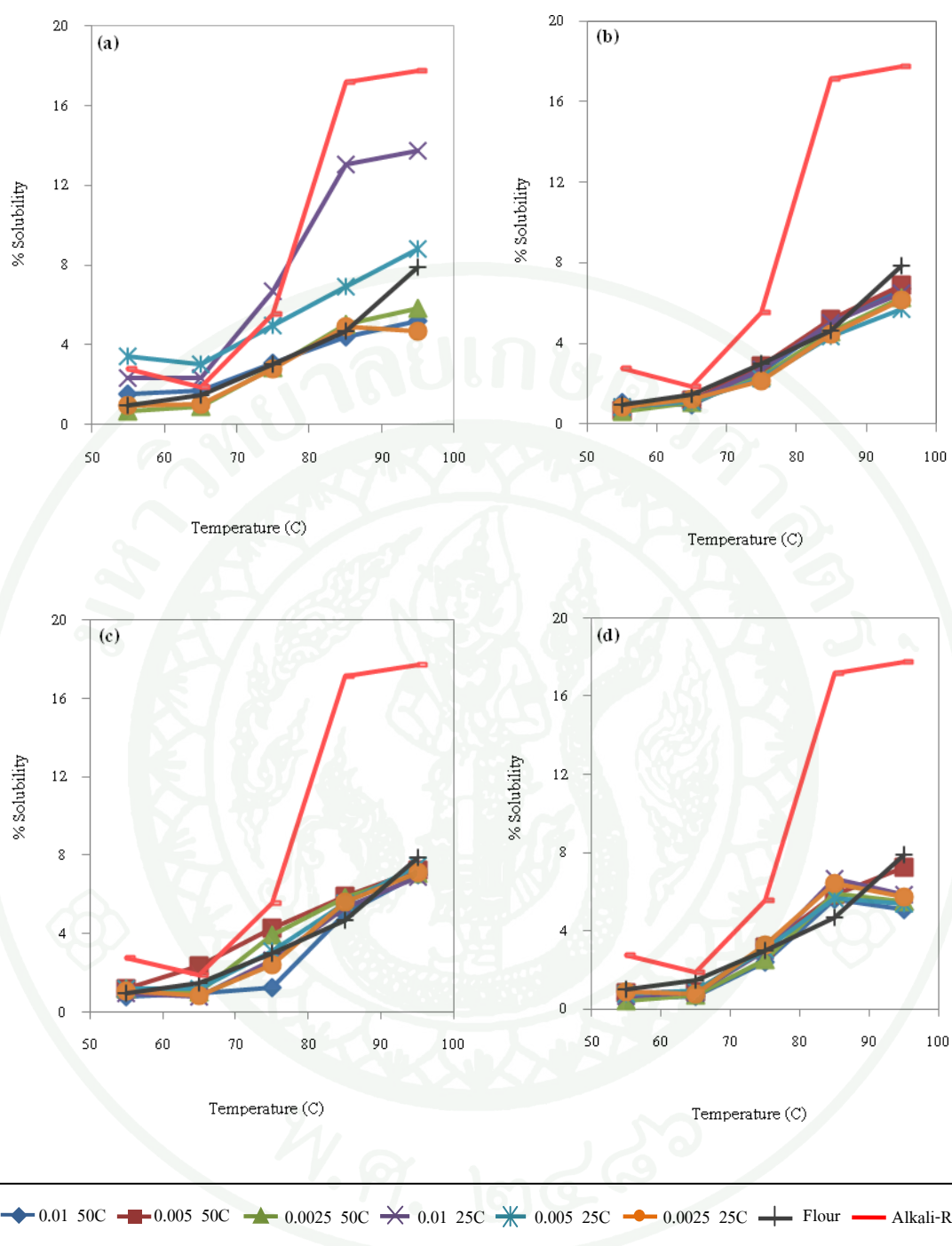
เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ พบว่าที่อุณหภูมิเท่ากัน การเพิ่มความเข้มข้นเอนไซม์ เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยแป้ง พบว่าแป้งที่ผ่านการย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีค่ากำลังการพองตัวมากกว่าแป้งที่ผ่านย่อยที่ 25 องศาเซลเซียสในทุกระดับความเข้มข้น



ภาพที่ 21 กราฟแสดงกำลังการพองตัวของแป้งข้าว แป้งข้าวที่ผ่านการแช่ด่าง (Alkali-RF) และแป้งข้าวที่ผ่านการแช่ด้วยเอนไซม์ (Protease-RF): Protin NY100 (a), Collupulin (b), GA (c) และ Subtilisin A (d) ที่อุณหภูมิ 55, 65, 75, 85 และ 95 องศาเซลเซียส

3.2 การละลาย

ค่าร้อยละการละลายที่อุณหภูมิ 55, 65, 75, 85 และ 95 องศาเซลเซียสของแป้งข้าว ทั้ง 3 ชนิด คือ native, Protease-RF และ Alkali-RF แสดงในภาพที่ 22 จากผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นเอนไซม์มีอิทธิพลต่อค่าร้อยละการละลายของ Protease-RF โดยการใช้เอนไซม์ Protin NY100 ทำให้ค่าร้อยละการละลายมากที่สุด ส่วนการใช้เอนไซม์ Subtilisin A ทำให้ค่าร้อยละการละลายต่ำที่สุด เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นเอนไซม์จะพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นเอนไซม์มีแนวโน้มทำให้แป้งข้าวที่ผ่านการย่อยมีค่าร้อยละการละลายเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับกำลังการพองตัวที่กล่าวมาแล้วเบื้องต้น เนื่องจากการที่ค่ากำลังการพองตัวสูงขึ้นจึงมีผลทำให้โมเลกุลเอมิโลส หลุดออกมาจากเม็ดสตาร์ชได้มากขึ้น (Oates, 1997) เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบค่าร้อยละการละลายของ Protease-RF กับ Alkali-RF จะพบว่าการแช่ต่างทำให้แป้งข้าวมีค่าร้อยละการละลายสูงกว่าการใช้เอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ที่ทุกอุณหภูมิ ซึ่งน่าจะเป็นผลมากจากการที่ Alkali-RF มีค่ากำลังการพองตัวสูงกว่า เมื่อมีความสามารถในการพองตัวมากกว่าจึงทำให้โมเลกุลของเอมิโลสหลุดออกมาจากเม็ดสตาร์ชได้มากขึ้น ค่าร้อยละการละลายจึงมากขึ้นเช่นกัน จากภาพที่ 22 ช่วงแรกที่อุณหภูมิ 55-65 องศาเซลเซียส ค่าร้อยละการละลายมีการเปลี่ยนแปลงไม่มาก เส้นกราฟคงที่ แต่เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ค่าร้อยละการละลายของแป้งข้าวจะเพิ่มสูงขึ้นจนถึงอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 22 กราฟแสดงร้อยละการละลายของแป้งข้าว แป้งข้าวที่ผ่านการแช่ด่าง (Alkali-RF) และ แป้งข้าวที่ผ่านการแช่ด้วยเอนไซม์ (Protease-RF): Protin NY100 (a), Collupulin (b), GA (c) และ Subtilisin A (d) ที่อุณหภูมิ 55, 65, 75, 85 และ 95 องศาเซลเซียส

4. คุณสมบัติทางวิทยากระแส (rheological properties)

สมบัติทางด้านวิทยากระแส ได้แก่ ค่า storage modulus (G') เป็นค่าแสดงปริมาณความยืดหยุ่นของส่วนที่มีแสดงลักษณะของของแข็ง หรือความสามารถในการกักเก็บแรงและคืนรูปของโครงสร้างเมื่อได้รับแรง ซึ่งโครงสร้างที่มีการคืนรูปได้ดีจะเป็นโครงสร้างที่มีความแข็งแรงสูง ส่วนค่า loss modulus (G'') เป็นค่าที่แสดงปริมาณความหนืดของส่วนที่มีลักษณะของของเหลว หรือความสามารถในการดูดซับแรงและความต้านทานต่อการไหลของโครงสร้างเมื่อได้รับแรง จากการทดลองเป็นการศึกษาด้วยวิธี temperature sweep ซึ่งเป็นการศึกษาคุณสมบัติของสารละลายน้ำแป้งเมื่อมีการให้ความร้อน (จาก 25-95 องศาเซลเซียส) และทำให้เย็น (จาก 95-25 องศาเซลเซียส) ได้ผลดังตารางที่ 9

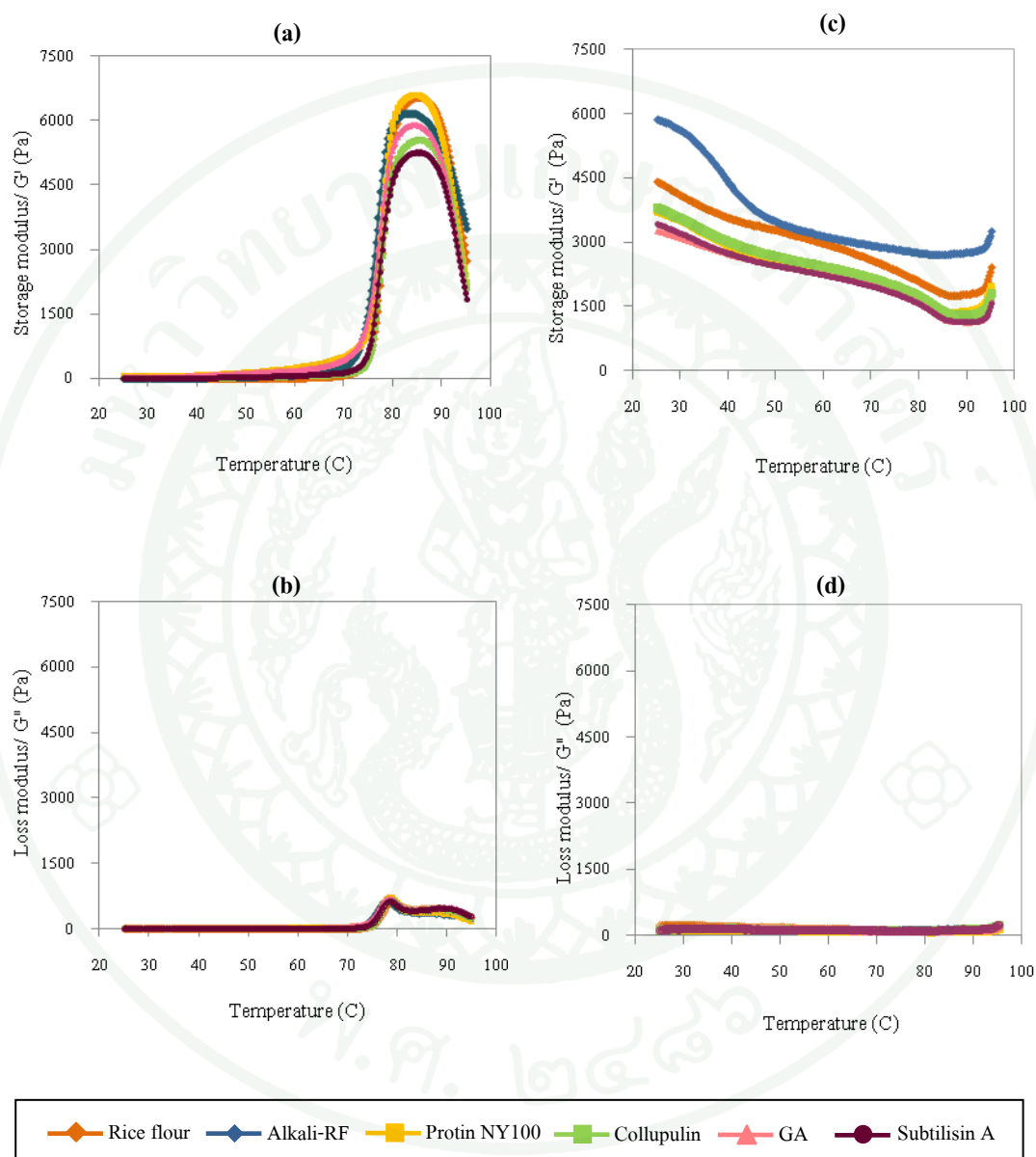
ในช่วงแรกของการเพิ่มอุณหภูมิ ค่า G' มีค่าค่อนข้างคงที่ เส้นกราฟระหว่างค่า G' กับอุณหภูมิจึงมีลักษณะเป็นเส้นตรง เมื่อค่อยๆเพิ่มอุณหภูมิจนถึงช่วงประมาณ 60-70 องศาเซลเซียส ค่า G' จะสูงขึ้นสังเกตได้จากความชันของกราฟจะเพิ่มขึ้น แสดงว่าความยืดหยุ่นของสารละลายน้ำแป้งเพิ่มขึ้นจากเดิม สารละลายน้ำแป้งเริ่มมีลักษณะใกล้เคียงของแข็ง ซึ่งให้เห็นว่าเมื่อดสตาร์ชเริ่มเกิดการเจลาติไนเซชัน โดยค่า G' จะเพิ่มขึ้นต่อไปจนมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิประมาณ 85 องศาเซลเซียส แล้วค่อยๆลดลงเมื่อเพิ่มอุณหภูมิต่อไป ดังแสดงในภาพที่ 23 ค่า G' ของแป้งข้าวทั้งสามชนิด คือ แป้งข้าว Alkali-RF และ Protease-RF ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียสแสดงในตารางที่ 9 ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ส่วนที่แสดงสมบัติเป็นของแข็งภายในโครงสร้างสารละลายน้ำแป้งมีความยืดหยุ่นไม่แตกต่างกัน Chiotelli *et al.* (2002) อธิบายการเพิ่มขึ้นของค่า G' ในขณะที่ให้ความร้อนว่าเกิดจากการเพิ่มปริมาตรของเม็ดสตาร์ชจึงทำให้ตัวอย่างมีความแข็งเพิ่มขึ้น ผลจากการพองตัวของเม็ดแป้งทำให้เกิดการสูญเสียความเป็นระเบียบของโครงสร้างผลึกตามมา น้ำจึงเข้าจับกับเม็ดแป้งได้สะดวกขึ้น เกิดเป็นช่องว่างอันเนื่องมาจากการพองตัวของเม็ดแป้ง ส่งผลให้ส่วนที่มีลักษณะของของแข็งเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าค่า loss modulus (G'') มีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกันกับค่า G' คือ มีค่าคงที่ในช่วงแรกและจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิประมาณ 75 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 23) และเมื่อให้ความร้อนต่อไปอีกค่า G'' จะลดลง ซึ่งสามารถอธิบายด้วยเหตุผลเดียวกับค่า G' โดยค่า G'' ของแป้งข้าว Alkali-RF และ Protease-RF ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียสแสดงในตารางที่ 9 ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อได้รับความร้อนต่อไปการพองตัวจะไม่เพิ่มขึ้น แต่จะเกิดการเคลื่อนที่ของเม็ดแป้งที่พองตัวและโมเลกุลของแอมิโลสที่ละลายออกมา พันธะไฮโดรเจนในโครงสร้างเกิดการแตกหัก ความแข็งแรงของโครงสร้างจึงลดลง ทำให้ค่า storage modulus (G') และ loss modulus (G'') ลดลงด้วย (Eliasson and

Bohlin, 1982) การทำให้เพสต์ (paste) เย็นลง ค่า storage modulus (G') และ loss modulus (G'') ก็จะเพิ่มขึ้น เนื่องจากแอมิโลสที่ละลายออกมาจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างสามมิติล้อมรอบเม็ดแป้งที่พองตัวไว้นั้นเกิดเป็นเจล หรืออาจอธิบายว่าการลดลงของค่า G' ว่าขณะที่เกิดการพองตัวโครงสร้างผลึกจะเกิดการเปลี่ยนแปลงสูญเสียความเป็นผลึก เมื่อให้ความร้อนต่อไปจนถึงจุดที่ G' มีค่าสูงสุดพลังงานจะไปทำลายโครงสร้างผลึกส่วนที่เหลือในเม็ดแป้ง ทำให้เกลียวคู่ของแอมิโลเพกตินเกิดการคลายตัวจึงสูญเสียความเป็นระเบียบของโครงสร้างในระดับโมเลกุล ซึ่งเป็นสาเหตุให้ G' มีค่าลดลง (Waigh *et al.*, 2000)

เมื่อลดอุณหภูมิลงจาก 95 เป็น 25 องศาเซลเซียส พบว่าค่า G' มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากแอมิโลสที่หลุดออกมาจากเม็ดสตาร์ชในระหว่างที่เกิดการพองตัวในช่วงที่มีการให้ความร้อนโดยโมเลกุลแอมิโลสจะจัดเรียงตัวล้อมรอบเม็ดสตาร์ชที่พองตัวเกิดเป็น โครงร่างสามมิติของเจลแป้งที่มีความแข็งแรง จะเห็นได้จากค่า G' ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะเพิ่มสูงขึ้นและมีค่ามากกว่า ค่า G' ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส จากตารางที่ 9 ค่า G' ของ Protease-RF ต่ำกว่า Alkali-RF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่าเจลจากแป้ง Protease-RF มีความยืดหยุ่นต่ำกว่าหรือมีความสามารถในการคืนตัวต่ำกว่า แต่อย่างไรก็ตามการใช้เอนไซม์ Protin NY100 และ Collupulin มีผลทำให้ค่า G' และ G'' ของ Protease-RF มีค่าใกล้เคียงกับ Alkali-RF มากที่สุด โดยที่อุณหภูมิ 85 และ 95 องศาเซลเซียส การใช้ Collupulin มีค่า G' ไม่แตกต่างจาก Alkali-RF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

การศึกษาคณสมบัติทางด้านวิทยากระแสนเป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและพฤติกรรมของวัสดุวิสโคอีลาสติก ซึ่งการศึกษาแบบ Oscillatory เป็นการให้แรงสั่นต่อโครงสร้างของวัสดุโดยการวิเคราะห์ในช่วงที่วัสดุมีความยืดหยุ่นและมีความสามารถในการคืนตัว (Linear viscoelastic range) กลับสู่สภาวะเดิมเมื่อมีการถอนแรงออก ทำให้วิธีนี้สามารถอธิบายลักษณะการเกิดเจลในเซชันสตาร์ชและการเกิดของเจลแป้งได้ชัดเจน ซึ่งจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Temperature sweep จะเห็นว่าการเปลี่ยนแปลงค่า storage modulus และ loss modulus ของเจลแป้งข้าวซึ่งเป็นวัสดุวิสโคอีลาสติกคือมีลักษณะกึ่งของแข็ง มีพฤติกรรมเป็นของแข็งที่มีความยืดหยุ่นสามารถกลับคืนรูปร่างเดิมได้เมื่อมีแรงกระทำ โดยการใช้เอนไซม์โปรติเอสและการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ซึ่งเป็นวิธีการทางการค้าให้ผลในทิศทางเดียวกัน ดังนั้นการที่แป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Protin NY และ Collupulin มีค่า storage modulus และ loss modulus ใกล้เคียงกับ Alkali-RF และการที่เอนไซม์ทั้งสองชนิดจัดอยู่ในกลุ่มนิวทรัลโปรติเอสทำงานได้ดีที่สภาวะเป็นกลาง (pH 7.0) ทำให้มีการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เพื่อปรับสภาวะในปริมาณต่ำกว่าเอนไซม์ใน

กลุ่มอัลคาไลน์โปรตีเอส ดังนั้นจึงเหมาะสมที่จะเลือกเอนไซม์ Protin NY และ Collupulin นำมาใช้ในการสกัดสารเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของแป้งข้าวให้เหมาะแก่การทำผลิตภัณฑ์ต่างๆต่อไป



ภาพที่ 23 ค่า storage modulus และ ค่า loss modulus (G'') ของ แป้งข้าวที่ผ่านการแช่ต่าง (Alkali-RF) และแป้งข้าวที่ผ่านการแช่ด้วยเอนไซม์ (Protease-RF) ความเข้มข้นร้อยละ 0.01, 50 องศาเซลเซียส ขณะให้ความร้อน (a, b) และทำให้เย็น(c, d)

ตารางที่ 9 คุณสมบัติด้านวิทยาการระเหยของแป้งข้าว (native), Alkali-RF และProtease-RF

ตัวอย่าง	85 (องศาเซลเซียส)			95 (องศาเซลเซียส)			25 (องศาเซลเซียส)		
	G'	G''	$\tan\delta$	G'	G''	$\tan\delta$	G'	G''	$\tan\delta$
- Rice flour	6540.0	454.0	0.072	2745.0	258.0	0.099	4420.0	248.5	0.057
- Alkali-RF	5757.5 ^b	356.0 ^b	0.339 ^a	3500.0 ^a	228.5 ^b	0.067 ^d	5888.3 ^a	126.7 ^b	0.116 ^a
- Protease-RF									
Protin NY100	7120.0 ^a	423.5 ^a	0.060 ^a	2485.0 ^b	202.0 ^c	0.082 ^c	3968.9 ^b	122.5 ^b	0.031 ^a
Collupulin	5545.0 ^b	448.0 ^a	0.081 ^a	2115.0 ^{ab}	263.0 ^a	0.125 ^b	3805.0 ^{bc}	138.0 ^{ab}	0.036 ^a
GA	5890.0 ^b	448.0 ^a	0.076 ^a	1880.0 ^b	286.0 ^a	0.153 ^a	3270.0 ^c	161.5 ^a	0.050 ^a
Subtilisin A	5260.0 ^b	439.0 ^a	0.084 ^a	1840.0 ^b	284.5 ^a	0.155 ^a	3430.0 ^{ab}	139.0 ^{ab}	0.041 ^a

หมายเหตุ 1) ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

2) * ค่าสถิติ F มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

5. สมบัติด้านเนื้อสัมผัส (Textural properties)

เจลแป้งข้าวเจ้าที่เตรียมได้ มีลักษณะขาวขุ่น ทึบแสง (ภาพที่ 24) การวิเคราะห์ค่าเนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวเจ้าด้วยวิธีการวัดค่าเค้าโครงคุณลักษณะเนื้อสัมผัส (texture profile analysis) บันทึกค่าต่างๆ ได้แก่ ความแข็ง (Hardness) ความยืดหยุ่น (Springiness) ความเหนียวเป็นยาง (Gumminess) การเกาะติด (Adhesiveness) การทนต่อการเคี้ยว (Chewiness) ได้ผลแสดงในตารางที่ 10-13



ภาพที่ 24 ลักษณะรูปร่างของเจลแป้งข้าวเจ้าสำหรับการวัดค่าเนื้อสัมผัส

เอนไซม์ Protin NY100: ความเข้มข้นเอนไซม์และอุณหภูมิในการย่อยไม่มีอิทธิพลต่อค่าเนื้อสัมผัส แต่อิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นและอุณหภูมิมีผลต่อค่าเนื้อสัมผัส โดยทำให้ค่า springiness และ adhesiveness แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้น พบว่าการย่อยแป้งข้าวที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส การเพิ่มความเข้มข้นเอนไซม์ทำให้ค่าเนื้อสัมผัสลดลง และในทางกลับกันการย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส การเพิ่มความเข้มข้นเอนไซม์ทำให้ค่าเนื้อสัมผัสเพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิในการย่อย พบว่าที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.0025 และ 0.005 การย่อยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำให้ค่าเนื้อสัมผัสของ Protease-RF สูงกว่าที่ 50 องศาเซลเซียส แต่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.01 การย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ทำให้ค่าเนื้อสัมผัสของ Protease-RF สูงกว่าที่ 25 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 10 ค่าเนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Protin NY100

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	อุณหภูมิ (°ซ)	ค่าเนื้อสัมผัส				
			Hardness	Springiness	Gumminess	Adhesiveness	Chewiness
Rice flour			0.94 ± 0.14	5.43 ± 0.91	0.78 ± 0.05	0.000003 ± 0.000006	5.43 ± 0.91
Alkali-RF			1.17 ± 0.69 ^{ab}	7.03 ± 2.32 ^{ab}	0.58 ± 0.37 ^a	0.00092 ± 0.00029 ^b	4.63 ± 3.80 ^{ab}
Protin NY100	0.0025	25	1.72 ± 0.65 ^a	9.22 ± 2.06 ^a	0.89 ± 0.50 ^a	0.00234 ± 0.00144 ^a	8.81 ± 5.88 ^a
		50	0.75 ± 0.46 ^b	7.26 ± 2.14 ^{ab}	0.44 ± 0.26 ^a	0.00082 ± 0.00038 ^b	3.57 ± 2.51 ^{ab}
	0.005	25	1.04 ± 0.95 ^{ab}	3.22 ± 3.22 ^{ab}	0.42 ± 0.42 ^a	0.00154 ± 0.00044 ^{ab}	3.75 ± 4.83 ^{ab}
		50	0.86 ± 0.69 ^{ab}	2.91 ± 2.91 ^{ab}	0.48 ± 0.43 ^a	0.00174 ± 0.00066 ^{ab}	4.21 ± 4.50 ^{ab}
	0.01	25	0.73 ± 0.30 ^b	3.95 ± 1.44 ^b	0.50 ± 0.26 ^a	0.00093 ± 0.00043 ^b	1.75 ± 1.04 ^b
		50	1.08 ± 0.60 ^{ab}	8.84 ± 2.86 ^a	0.90 ± 0.38 ^a	0.00094 ± 0.00103 ^b	7.81 ± 4.76 ^a
ปัจจัย			F-ANOVA				
ความเข้มข้นเอนไซม์ (A)			0.95	1.92	1.51	2.69	0.83
อุณหภูมิในการย่อย (B)			1.53	1.43	0.00	2.59	0.09
Interaction (AxB)			3.23	5.87 [*]	3.68 [*]	3.92 [*]	5.32 [*]

หมายเหตุ 1) ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวดังแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

2) * ค่าสถิติ F มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 11 ค่าเนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Collupulin

ชนิดเอนไซม์	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	อุณหภูมิ (°ซ)	ค่าเนื้อสัมผัส				
			Hardness	Springiness	Gumminess	Adhesiveness	Chewiness
Rice flour			0.94 ± 0.14	5.43 ± 0.91	0.78 ± 0.05	0.000003 ± 0.000006	5.43 ± 0.91
Alkali-RF			1.17 ± 0.69 ^{abc}	7.03 ± 2.32 ^a	0.58 ± 0.37 ^{bcd}	0.00092 ± 0.00029 ^b	4.63 ± 3.80 ^{bc}
Collupulin	0.0025	25	1.66 ± 0.62 ^{ab}	7.86 ± 2.44 ^a	0.94 ± 0.43 ^{abc}	0.00174 ± 0.00064 ^{ab}	8.27 ± 5.63 ^{abc}
		50	1.41 ± 0.86 ^{abc}	8.69 ± 3.52 ^a	1.06 ± 0.67 ^{ab}	0.00210 ± 0.00065 ^a	10.76 ± 8.47 ^{ab}
	0.005	25	0.75 ± 0.70 ^c	2.24 ± 2.49 ^b	0.31 ± 0.28 ^d	0.00187 ± 0.00093 ^{ab}	1.08 ± 1.81 ^c
		50	0.91 ± 0.56 ^{bc}	6.81 ± 3.63 ^a	0.45 ± 0.38 ^{cd}	0.00139 ± 0.00020 ^{ab}	3.85 ± 4.49 ^{bc}
	0.01	25	1.98 ± 0.52 ^a	8.96 ± 2.62 ^a	1.39 ± 0.35 ^a	0.00118 ± 0.00102 ^{ab}	12.97 ± 5.55 ^a
		50	1.46 ± 0.50 ^{abc}	8.58 ± 2.23 ^a	1.07 ± 0.20 ^{ab}	0.00091 ± 0.00109 ^b	9.56 ± 4.01 ^{ab}
ปัจจัย			F-ANOVA				
ความเข้มข้นเอนไซม์ (A)			6.54 [*]	7.83 [*]	13.70 [*]	3.64 [*]	9.00 [*]
อุณหภูมิในการย่อย (B)			0.91	3.05	0.02	0.23	0.12
Interaction (AxB)			0.87	2.41	1.17	0.85	1.26

หมายเหตุ 1) ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

2) * ค่าสถิติ F มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 12 ค่าเนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ GA

ชนิดเอนไซม์	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	อุณหภูมิ (°ซ)	ค่าเนื้อสัมผัส				
			Hardness	Springiness	Gumminess	Adhesiveness	Chewiness
Rice flour			0.94 ± 0.14	5.43 ± 0.91	0.78 ± 0.05	0.000003 ± 0.000006	5.43 ± 0.91
Alkali-RF			1.17 ± 0.69 ^{ab}	7.03 ± 2.32 ^a	0.58 ± 0.37 ^{ab}	0.00092 ± 0.00029 ^{ab}	4.63 ± 3.80 ^{ab}
GA	0.0025	25	1.41 ± 0.48 ^a	7.80 ± 2.31 ^a	0.85 ± 0.28 ^a	0.00117 ± 0.00067 ^{ab}	7.21 ± 4.39 ^{ab}
		50	1.13 ± 0.55 ^{ab}	8.35 ± 3.42 ^a	0.78 ± 0.51 ^a	0.00194 ± 0.00070 ^a	7.76 ± 6.29 ^a
	0.005	25	1.16 ± 0.83 ^{ab}	5.92 ± 4.69 ^{ab}	0.59 ± 0.55 ^{ab}	0.00172 ± 0.00091 ^a	5.56 ± 6.61 ^{ab}
		50	0.48 ± 0.24 ^b	2.59 ± 1.49 ^b	0.19 ± 0.10 ^b	0.00137 ± 0.00029 ^{ab}	0.76 ± 0.65 ^b
	0.01	25	1.53 ± 0.82 ^a	6.50 ± 2.12 ^a	0.88 ± 0.53 ^a	0.00048 ± 0.00055 ^b	6.36 ± 3.78 ^{ab}
		50	1.57 ± 0.50 ^a	8.68 ± 2.66 ^a	1.11 ± 0.28 ^a	0.00124 ± 0.00116 ^{ab}	9.89 ± 4.80 ^a
ปัจจัย			F-ANOVA				
ความเข้มข้นเอนไซม์ (A)			4.54*	5.89*	7.11*	3.29	3.75*
อุณหภูมิในการย่อย (B)			2.32	0.04	0.39	2.36	0.02
Interaction (AxB)			1.07	2.74	1.74	2.16	2.29

หมายเหตุ 1) ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

2) * ค่าสถิติ F มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 13 ค่าเนื้อสัมผัสของเจลแป้งข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ Subtilisin A

ชนิดเอนไซม์	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	อุณหภูมิ (°ซ)	ค่าเนื้อสัมผัส				
			Hardness	Springiness	Gumminess	Adhesiveness	Chewiness
Rice flour			0.94 ± 0.14	5.43 ± 0.91	0.78 ± 0.05	0.000003 ± 0.000006	5.43 ± 0.91
Alkali-RF			1.17 ± 0.69 ^{ab}	7.03 ± 2.32 ^a	0.58 ± 0.37 ^{ab}	0.00092 ± 0.00029 ^b	4.63 ± 3.80 ^{ab}
Subtilisin A	0.0025	25	0.95 ± 0.60 ^b	5.83 ± 3.85 ^a	0.54 ± 0.44 ^{ab}	0.00120 ± 0.00067 ^b	3.91 ± 4.99 ^{ab}
		50	0.89 ± 0.45 ^b	5.26 ± 3.35 ^a	0.46 ± 0.22 ^b	0.00121 ± 0.00064 ^b	2.49 ± 1.76 ^b
	0.005	25	1.76 ± 0.36 ^a	6.01 ± 4.45 ^a	0.72 ± 0.41 ^{ab}	0.00154 ± 0.00096 ^{ab}	5.84 ± 6.35 ^{ab}
		50	1.68 ± 0.73 ^{ab}	8.48 ± 2.06 ^a	0.65 ± 0.50 ^{ab}	0.00267 ± 0.00084 ^a	9.78 ± 3.10 ^a
	0.01	25	1.48 ± 0.60 ^{ab}	8.00 ± 2.72 ^a	1.12 ± 0.50 ^a	0.00091 ± 0.00127 ^b	9.38 ± 6.03 ^a
		50	1.29 ± 0.50 ^{ab}	8.63 ± 2.20 ^a	1.11 ± 0.41 ^a	0.00116 ± 0.00139 ^b	9.91 ± 5.04 ^a
ปัจจัย			F-ANOVA				
ความเข้มข้นเอนไซม์ (A)			6.26*	2.25	6.99*	3.94*	5.68*
อุณหภูมิในการย่อย (B)			0.36	0.61	0.17	1.92	0.40
Interaction (AxB)			0.40	0.68	0.04	1.01	0.95

หมายเหตุ 1) ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

2) * ค่าสถิติ F มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เอนไซม์ Collupulin: พบว่าการย่อยแป้งข้าวที่อุณหภูมิ 25 และ 50 องศาเซลเซียส การเพิ่มความเข้มข้นเอนไซม์จากร้อยละ 0.0025 เป็น 0.005 ทำให้ค่าเนื้อสัมผัสของ Protease-RF ลดลง แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็นร้อยละ 0.01 กลับทำให้ค่าเนื้อสัมผัสเพิ่มขึ้น นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบค่าเนื้อสัมผัสระหว่าง Protease-RF และ Alkali-RF การที่ค่า springiness ไม่แตกต่างกันแสดงให้เห็นว่าเจลแป้งข้าวทั้งสองชนิดมีความสามารถในการคืนตัวใกล้เคียงกัน

เอนไซม์ GA: ค่าเนื้อสัมผัสของ Protease-RF ให้ผลเช่นเดียวกับเอนไซม์ Collupulin ซึ่งพบว่าความเข้มข้นเอนไซม์มีอิทธิพลต่อค่าเนื้อสัมผัส จากตารางที่ 12 การเพิ่มความเข้มข้นเอนไซม์จากร้อยละ 0.0025 เป็น 0.005 ทำให้ค่าเนื้อสัมผัสของ Protease-RF ลดลง แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็นร้อยละ 0.01 กลับทำให้ค่าเนื้อสัมผัสเพิ่มขึ้น โดยการใช้เอนไซม์ collupulin ความเข้มข้นร้อยละ 0.005 ย่อยแป้งข้าวที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส Protease-RF ที่ได้จะมีคุณสมบัติใกล้เคียง Alkali-RF มากที่สุด

เอนไซม์ Subtilisin A: พบว่าความเข้มข้นเอนไซม์มีอิทธิพลต่อค่าเนื้อสัมผัส (ตารางที่ 13) การเพิ่มความเข้มข้นเอนไซม์ทำให้ค่า springiness, gumminess, chewiness เพิ่มขึ้น นอกจากนี้การเพิ่มความเข้มข้นเอนไซม์จากร้อยละ 0.0025 เป็น 0.005 ทำให้ค่า hardness และ adhesiveness เพิ่มขึ้น

จากในภาพรวมความเข้มข้นเอนไซม์มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าเนื้อสัมผัสมากที่สุด การเพิ่มความเข้มข้นทำให้ค่าเนื้อสัมผัสมีแนวโน้มลดลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในทิศทางตรงข้าม โดยการเพิ่มความเข้มข้นเอนไซม์ทำให้ปริมาณโปรตีนลดลง นอกจากนี้เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิในการย่อย พบว่าที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน การย่อยที่ 50 องศาเซลเซียสทำให้แป้งข้าวมีค่าเนื้อสัมผัสมากกว่าที่ 25 องศาเซลเซียส การสกัดโปรตีนโดยใช้เอนไซม์และสารละลายต่างถึงแม้จะมีปริมาณโปรตีนแตกต่างกัน แต่ค่าเนื้อสัมผัสที่ได้ใกล้เคียงกัน ($p \leq 0.05$)

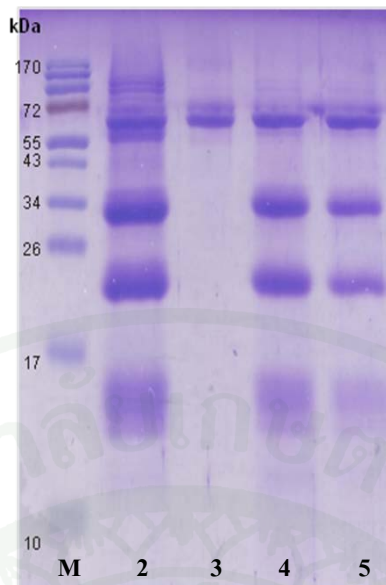
6. การแยกโปรตีนในข้าว (Protein characterization)

การตรวจสอบชนิดของโปรตีนที่พบในแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 โดยใช้เทคนิคการแยกตามความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลด้วยกระแสไฟฟ้า (Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis; SDS-PAGE) เพื่อเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลโดยประมาณของโปรตีนในแป้งข้าวปกติ Protease-RF และ Alkali-RF จากภาพที่ 25 เลนที่ 2 แสดงขนาดโปรตีนที่พบในแป้งข้าวปกติ

(Native) โปรตีนที่พบมีน้ำหนักโมเลกุล 10-17, 17-26, 34-43, 55-72 และ 95-130 กิโลดาลตัน เลนที่ 3 แสดงขนาดของโปรตีนที่พบใน Alkali-RF พบแถบโปรตีนซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 55-72 กิโลดาลตันเท่านั้น ส่วนเลนที่ 4 และ 5 แสดงขนาดของโปรตีนที่พบในแป้งข้าวเจ้าที่ถูกย่อยด้วย เอนไซม์ Protin NY100 และ Subtilisin A (ความเข้มข้นร้อยละ 0.01) ตามลำดับ โดยโปรตีนที่พบใน Protease-RF ส่วนใหญ่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับโปรตีนที่ปรากฏในแป้งข้าว (native) แต่แถบโปรตีนที่พบมีสีจางลง จึงเป็นไปได้ว่าปริมาณโปรตีนลดน้อยลงเนื่องจากถูกย่อยด้วยเอนไซม์ โปรตีเอสและถูกแยกออกไปในขั้นตอนการล้างระหว่างการสกัดโปรตีน นอกจากนี้ยังพบว่าแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 55-72 กิโลดาลตัน และ 95-130 กิโลดาลตันบางแถบหายไป

เมื่อเปรียบเทียบโปรตีนที่พบในแป้งข้าว (native) กับ Protease-RF พบว่าการใช้เอนไซม์ โปรตีเอส (Protin NY100 และ Subtilisin A) สกัดโปรตีนจากแป้งข้าว ทำให้โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 95-130 กิโลดาลตันหายไปเกือบหมด ดังแสดงในเลนที่ 4 และ 5 ส่วนโปรตีนน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 10-17, 17-26, 34-43 และ 55-72 กิโลดาลตัน ที่พบเช่นเดียวกับโปรตีนในแป้งข้าว (native) จะมีแถบสีจางกว่าซึ่งบ่งบอกว่ามีโปรตีนขนาดดังกล่าวในปริมาณน้อยกว่า เนื่องจากเอนไซม์โปรตีเอสย่อยโปรตีนในข้าวบางส่วนออกมาและถูกแยกออกไปในขั้นตอนการล้างระหว่างการสกัดโปรตีน Kumagai *et al.* (2006) พบว่าในส่วนเอนโดสเปิร์มของข้าวมีโปรตีนสะสม 2 ชนิด คือ โปรตีนบอดี I (โพรลามิน) และ โปรตีนบอดี II (กลูเตลิน) โพรลามินเป็นโปรตีนที่ละลายได้ในแอลกอฮอล์ สารละลายต่างหรือกรด การแยกโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่าโพรลามินมีน้ำหนักโมเลกุล 10, 13 และ 16 กิโลดาลตัน ส่วนกลูเตลินเป็นโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายกรด และต่าง จำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม คือ acid subunits มีน้ำหนักโมเลกุล 37-39 กิโลดาลตัน และ basic subunits มีน้ำหนักโมเลกุล 22-23 กิโลดาลตัน ตามลำดับ

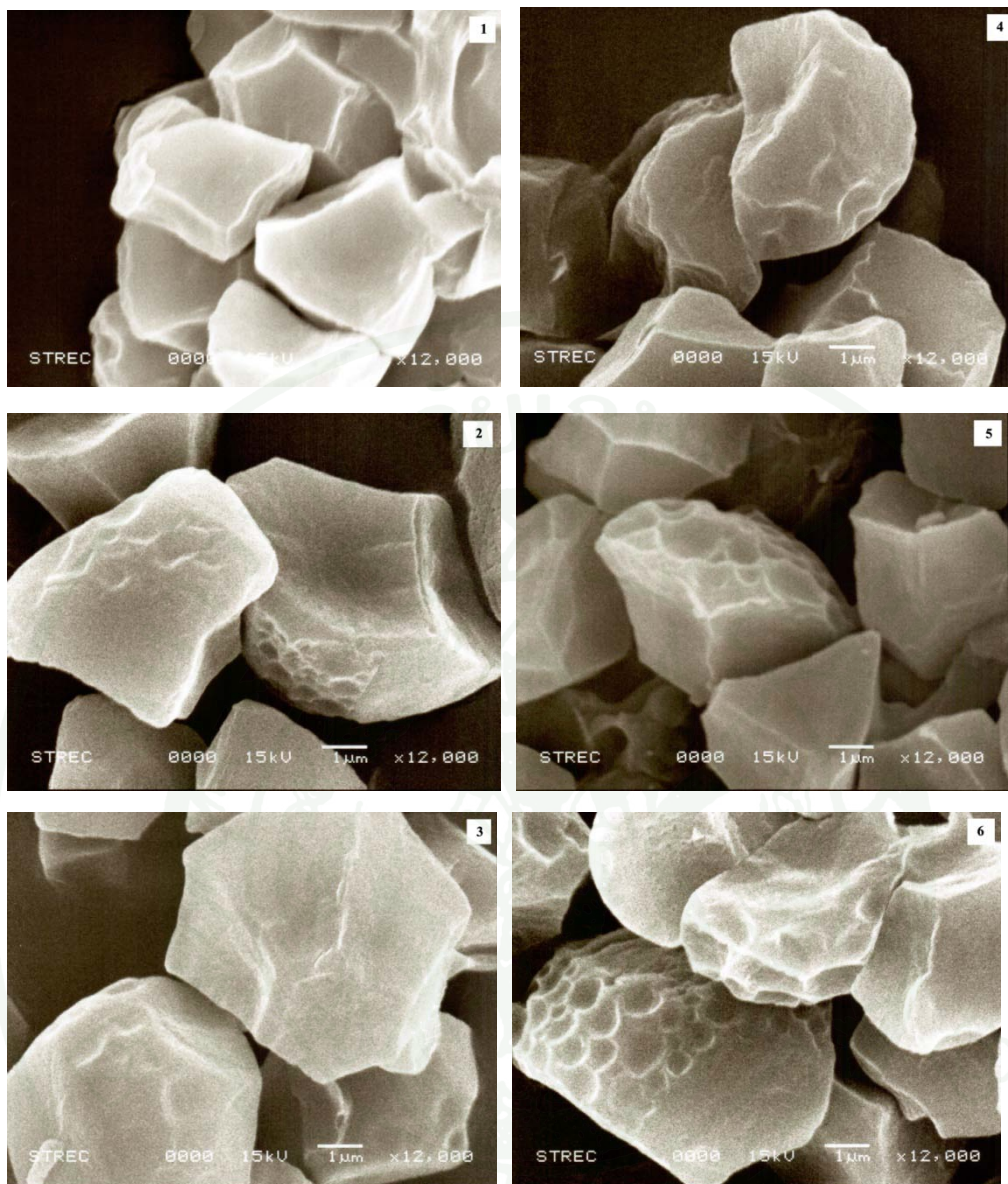
เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบโปรตีนที่พบใน Protease-RF และ Alkali-RF พบว่ามีแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันปรากฏอยู่ ได้แก่ โปรตีนน้ำหนักโมเลกุล 55-72 กิโลดาลตัน โดยงานวิจัยของ Sarker *et al.* (1986) พบโปรตีนในข้าวที่มีน้ำหนักโมเลกุล 57 กิโลดาลตัน เป็นโปรตีนตั้งต้นที่จะผ่านกระบวนการแยกเป็นหน่วยย่อยของโปรตีนกลูเตลิน คือ มีขนาด 37- และ 22- กิโลดาลตัน นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Hamaker *et al.* (1991) พบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 60 กิโลดาลตัน หรือเรียกว่า granule-bound starch synthase (GBSS) พบโปรตีนชนิดนี้อยู่ภายในเม็ดสตาร์ช ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทในการสังเคราะห์แป้งโดยสามารถสกัดโปรตีนชนิดนี้ออกได้ด้วยสารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (SDS) และ reducing agent เนื่องจากโปรตีนดังกล่าวจับตัวกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (Hamaker *et al.*, 1991; Sano, 1984)



ภาพที่ 25 โปรตีนที่พบในแป้งข้าวพันธุ์ชยันต 1: (M) แถบโปรตีนมาตรฐาน, (2) แป้งข้าวปกติ, (3) Alkali-RF และ Protease-RF (4) Protin NY100, (5) Subtilisin A

7. ขนาด และรูปร่างของเม็ดสตาร์ช (Morphology)

การตรวจสอบขนาด รูปร่าง และลักษณะเม็ดสตาร์ช โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่กำลังขยาย 12,000 เท่า พบว่าเม็ดสตาร์ชแป้งข้าวชยันต 1 ที่ผ่านและไม่ผ่านการสกัดโปรตีน มีขนาดประมาณ 3-5 ไมโครเมตร โดยเม็ดสตาร์ชของแป้งข้าวปกติ (native) มีรูปร่างหลายเหลี่ยม ผิวหน้าเรียบ ส่วนแป้งที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์โปรตีเอส พบว่าเม็ดสตาร์ชมีความเป็นเหลี่ยมลดลง และมีรอยหลุมที่ผิวของเม็ดสตาร์ชมากกว่าเม็ดสตาร์ชจากแป้งข้าวปกติ เนื่องจากสารละลายต่างที่ใช้ในการปรับสภาพการทำงานของเอนไซม์น่าจะมีผลทำลายโครงสร้างที่พื้นผิวของเม็ดสตาร์ช ซึ่งลักษณะคล้ายกับเม็ดสตาร์ชของแป้งข้าวที่ผ่านการแช่สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ พบว่าเม็ดสตาร์ชที่มีความเป็นเหลี่ยมลดลงมีรอยหลุมที่ผิวเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 26) งานวิจัยของ Li *et al.* (2008) ซึ่งศึกษาการสกัดสตาร์ชจากแป้งข้าวโดยใช้เอนไซม์โปรตีเอส (Protease N) พบว่าเม็ดสตาร์ชข้าวมีขนาดต่ำกว่า 10 ไมโครเมตร ส่วนมากมีรูปร่างหลายเหลี่ยม ไม่มีรอยเสียหายบริเวณพื้นผิวของเม็ดสตาร์ช และมีเม็ดสตาร์ชบางส่วนที่มีลักษณะผิดปกติ คือ พบว่าบริเวณพื้นผิวเม็ดสตาร์ชเป็นหลุมเล็กน้อย เนื่องจากการที่โปรตีนบอดีถูกแยกออกไประหว่างกระบวนการสกัดสตาร์ช



ภาพที่ 26 เม็ดสตาร์ชของแป้งข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 แป้งข้าวปกติ (1), Protease-RF: Protin NY100 (2); Collupulin (3); GA (4); Subtilisin A (5) และ Alkali-RF (6) จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่มีกำลังขยาย 12,000 เท่า

8. ผลกระทบเส้นก๋วยเตี๋ยว

การศึกษาการปรับปรุงคุณภาพเส้นก๋วยเตี๋ยว โดยการนำ Protease-RF และ Alkali-RF มาทำเป็นผลิตภัณฑ์ก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กแบบอบแห้ง พบว่า Protease-RF ใช้เวลาในการนึ่งแผ่นแป้งนานกว่า Alkali-RF เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนคงเหลือมากกว่า โดยโปรตีนมีบทบาทในการยับยั้งการพองตัวของเม็ดสตาร์ช (Hamaker, 1991) จึงทำให้เม็ดสตาร์ชพองตัวและใช้เวลาในการเกิดเจลลาติในช้นานกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าแผ่นแป้งที่รีโทรเกรดเมื่อเย็นลงมีลักษณะต่างกัน คือ สีของแผ่นแป้งที่ผลิตจาก Protease-RF จะมีสีขาว ทึบแสง คล้ายกับเส้นก๋วยเตี๋ยวที่ผลิตจากแป้งข้าวปกติ ในขณะที่แผ่นแป้งของ Alkali-RF จะมีความโปร่งใสมากกว่า เมื่อพิจารณาค่าเนื้อสัมผัสของเส้นก๋วยเตี๋ยว ได้แก่ ค่าแรงสูงสุดที่ใช้ในการตัด (cutting force ; นิวตัน) คือ ความแน่นเนื้อของเส้นก๋วยเตี๋ยว (firmness) งานที่ใช้ในการตัด (cutting area; นิวตัน/วินาที) คือ งานที่ใช้ในการเคี้ยว และแรงด้านการดึง (tensile strength; นิวตัน) ซึ่งแสดงถึงความยืดหยุ่นของเส้นก๋วยเตี๋ยว แสดงดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ค่าเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์เส้นก๋วยเตี๋ยวจากแป้งข้าวที่ผ่านการสกัดโปรตีน

ตัวอย่าง	Cutting force (นิวตัน)	Cutting area (นิวตัน/วินาที)	Tensile strength (นิวตัน)
Flour (native)	0.39 ± 0.06^a	0.59 ± 0.16^{ab}	0.11 ± 0.02^b
Alkali-RF	0.30 ± 0.03^b	0.48 ± 0.13^b	0.16 ± 0.04^a
Protease-RF			
- Protin NY100	0.32 ± 0.02^b	0.65 ± 0.12^a	0.11 ± 0.01^b
- Collupulin	0.33 ± 0.09^b	0.56 ± 0.16^{ab}	0.10 ± 0.02^b

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากงานวิจัยนี้ พบว่าการใช้เอนไซม์โปรตีเอสนั้นสามารถกำจัดโปรตีนในแป้งข้าวออกไปบางส่วน มีผลทำให้ค่าเนื้อสัมผัสของเส้นก๋วยเตี๋ยวเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งข้าวปกติ คือ มีค่าความแน่นเนื้อต่ำลง แต่มีค่าความยืดหยุ่นไม่แตกต่างกัน และพบว่า Protease-RF และ Alkali-RF มีค่าความแน่นเนื้อไม่แตกต่างกัน แต่มีค่าความยืดหยุ่นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) นั่นคือ เส้นก๋วยเตี๋ยวที่ทำจากแป้งข้าวที่ผ่านการสกัดโปรตีนออกจะมีลักษณะเนื้อสัมผัสนุ่มกว่าแป้งข้าวปกติ (ค่า cutting force ลดลง) และมีความยืดหยุ่นมากขึ้น (ค่า tensile strength

เพิ่มขึ้น) ซึ่งจากตารางที่ 14 Alkali-RF มีค่าความแน่นเนื้อต่ำที่สุด (0.3 นิวตัน) และมีค่าความยืดหยุ่นมากที่สุด (0.16 นิวตัน)



สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. เอนไซม์โปรตีเอสสามารถสกัดโปรตีนในแป้งข้าว โดยให้ปริมาณโปรตีนคงเหลือมากกว่าการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยการเพิ่มความเข้มข้นเอนไซม์ทำให้ปริมาณโปรตีนคงเหลือมีแนวโน้มลดลง จากการทดลองพบว่าการใช้เอนไซม์ GA และ Subtilisin A ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.005 ทำการย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีผลทำให้ปริมาณโปรตีนคงเหลือต่ำที่สุด
2. การวิเคราะห์สมบัติด้านความเหนียว พบว่า Protease-RF มีอุณหภูมิที่เริ่มเกิดความเหนียวสูงกว่า แต่มีค่าความเหนียวลดลงต่ำกว่า Alkali-RF ซึ่งเป็นผลจากการที่ปริมาณโปรตีนคงเหลือแตกต่างกัน แต่พบว่าเจลแข็งจาก Protease-RF และ Alkali-RF มีค่าเนื้อสัมผัสใกล้เคียงกัน
3. การเปลี่ยนแปลงสมบัติทางวิทยากระแสของสารละลายแป้ง พบว่าการสกัดโปรตีนออกทำให้เจลแข็งข้าวมีความยืดหยุ่นมากขึ้น (ค่า G' มากกว่า G'') มีพฤติกรรมเป็นของแข็ง โดย Alkali-RF มีความยืดหยุ่นมากกว่า Protease-RF อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)
4. การแยกโปรตีนด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่าการใช้เอนไซม์โปรตีเอสทั้งชนิดนิวทรัลและอัลคาไลน์สามารถสกัดโปรตีนในแป้งข้าวออกไปบางส่วน โดยโปรตีนที่เหลือส่วนใหญ่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับโปรตีนที่พบในแป้งข้าว (native) แต่การใช้สารละลายต่างนั้นสามารถสกัดโปรตีนออกไปเกือบทั้งหมด
5. เมื่อนำแป้งข้าวที่ผ่านการสกัดโปรตีนไปทำผลิตภัณฑ์ก๋วยเตี๋ยวเส้นเล็กอบแห้ง พบว่า Protease-RF และ Alkali-RF มีค่าเนื้อสัมผัสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$) ได้แก่ ค่าความแน่นเนื้อของเส้นก๋วยเตี๋ยว (firmness) งานที่ใช้ในการตัด (cutting area) และแรงด้านการดึง (tensile strength) โดยการสกัดโปรตีนออกจะทำให้เส้นก๋วยเตี๋ยวเนื้อสัมผัสนุ่มกว่าแป้งข้าวปกติ และมีความยืดหยุ่นมากขึ้น
6. การใช้เอนไซม์โปรตีเอสสกัดโปรตีนในแป้งข้าวจะช่วยลดการใช้สารเคมีในการสกัดสตาร์ชได้และลดปัญหาน้ำเสียในโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งจากงานวิจัยพบว่าการสกัดโปรตีนด้วย

เอนไซม์โปรตีเอสนั้นใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพียงเล็กน้อย เพื่อปรับสภาพของน้ำแป้งให้เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ แต่การสกัดโปรตีนด้วยการแช่ค้างจะใช้สารเคมีปริมาณมากกว่า

ข้อเสนอแนะ

การใช้เอนไซม์นิวทริลและอัลคาไลน์โปรตีเอสมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของแป้งข้าวไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงควรเลือกใช้เอนไซม์ชนิดนิวทริลเพื่อลดการใช้สารเคมีในการปรับสภาพของเอนไซม์ และควรเลือกสภาวะที่ใช้ในการย่อยให้เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ เนื่องจากจะมีกิจกรรมเอนไซม์ดีกว่า ทำให้สามารถสกัดโปรตีนออกจากแป้งข้าวได้มากกว่า

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ. 2546. เทคโนโลยีของแป้ง. พิมพ์ครั้งที่ 3.

สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

งามชื่น คงเสรี. 2541. ข้าวที่เหมาะสมสำหรับการแปรรูปกล้วยเดี่ยวและการตรวจสอบคุณภาพ, น. 14-32. ใน เอกสารประกอบการบรรยาย โครงการฝึกอบรม เรื่อง การพัฒนาและยกระดับอุตสาหกรรมกล้วยเดี่ยวและขนมจีนโดยใช้เทคโนโลยีสะอาด ณ โรงแรมมารวยการ์เด็น ถ. พหลโยธิน กรุงเทพฯ วันที่ 26-28 มีนาคม 2541. สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย และโครงการส่งเสริมการใช้เทคโนโลยีสะอาดในอุตสาหกรรมไทย.

ณรงค์ นิยมวิทย์. 2538. ธรรมชาติและพืชหัว. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธงชัย สุวรรณสิขณน์. 2544 การวัดค่าเนื้อสัมผัส. เอกสารประกอบการสอนวิชาการวัดค่าปัจจัยคุณภาพ ทางเคมีและกายภาพ ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 78 น.

ปิติพร ฤทธิเรืองเดช. 2546. คุณภาพทางกายภาพและทางเคมีของแป้งทำขนมมอและการนำไปใช้ประโยชน์ในขนมชั้น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิภา สุโรจนะเมธากุล. 2541. คุณสมบัติของข้าวและการเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการผลิตกล้วยเดี่ยวและเส้นหมี่. น. 33-51. ใน รายงานการสัมมนาเรื่องการพัฒนาเพื่อยกระดับอุตสาหกรรมกล้วยเดี่ยวและขนมจีนโดยใช้เทคโนโลยีที่สะอาด. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, กรุงเทพฯ.

ศูนย์สารสนเทศสถาบันอาหาร. 2547. ผลิตภัณฑ์แปรรูปข้าว. สถิติการนำเข้า-ส่งออก.

แหล่งที่มา: http://www.nfi.or.th/stat/%5Csummaryreport%5Csummary_special.asp

?repnumber=special&flag_imex=E&startdate=01/01/2003&stopdate=12/31/2003&subhamonizegroupselect=0000000020 ผลิตภัณฑ์แปรรูปข้าว, 9 ธันวาคม 2547.

สุนทรีย์ เกตุคง. 2544. ข้าวผลิตภัณฑ์จากคนไทยเลี้ยงคนไทยและพลโลก. วารสารสถาบัน
อาหาร 3 (17): 26–31.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2533. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม
ก๋วยเตี๋ยว. มอก.959-2533.

AACC. 2000. **Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists**. 10th ed.
American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota.

Bourne, M.C. 1982. **Food Texture and Viscosity: Concept and measurement**. New York.
Academic Press.

Bruice, P.Y. 2004. **Organic Chemistry**. (powerpoint presentation). Case Western Reserve
University, Cleveland, OH.

Bul  n, A., P. Colonna, V. Planchot and S. Ball. 1998. Starch granules: structure and
biosynthesis. **Int. J. Biol Macromolecules** 23: 85-112.

Cham, S. and P. Suwannaporn, 2010. Effect of hydrothermal treatment of rice flour on various
rice noodles quality. **J. Cereal Sci.** 51: 284-291.

Champagne, E.T. 1996. Rice starch composition and characteristics. **Cereal Food World** 41
(11): 833-838.

Chaplin, M. 2006. **Starch**. Water structure and behavior. Available Source:
www.lsbu.ac.uk/water/images/granul.gif, November 27, 2006.

Chiotelli, E., G. Pilosio and M.L. Meste. 2002. Effect of sodium chloride on the gelatinization
of starch: a multimeasurement study. **Biopolymers** 63: 41-58.

- Collado, L.S. and H. Corke. 1999. Heat-moisture treatment effects on sweet potato starches differing in amylose content. **Food Chem.** 65: 339-346.
- Curá, J.A., P.E. Jansson and C.R. Krisman. 1995. Amylose is not strictly linear. **Starch/Stärke** 47: 207-209.
- 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.
- Fugino, Y.O. 1978. Rice lipid. **Cereal Chem.** 55: 559.
- Furukawa, S., T. Mizuma, Y. Kiyokawa, T. Masumura, K. Tanaka and Y. Wakai. 2003. Distribution of storage proteins in low-glutelin rice seed determined using a fluorescent antibody. **J. Biosci. Bioeng.** 96: 467-473.
- Godet, M.C., V. Tran and M.M. Delagw. 1993. Molecular modelling of the specific interactions in amylose complexation by fatty acids. **Int. J. Biol. Macromolecules** 15: 11-16.
- Hamaker, B.R. and V.K. Griffin. 1993. Effect of disulfide bond-containing protein on rice starch gelatinisation and pasting. **Cereal Chem.** 70: 377-380.
- _____ and _____. 1990. Changing the viscoelastic properties of cooked rice through protein disruption. **Cereal Chem.** 67: 261-264.
- _____, _____ and K.A.K. Moldenhauer. 1991. Potential influence of a starch granule-associated protein on cooked rice stickiness. **J. Food Sci.** 56: 1327-1346.

- Han, X.Z. and B.R. Hamaker. 2002. Partial leaching of granule-associated proteins from rice starch during alkaline extraction and subsequent gelatinization. **Starch-Stärke** 54: 454-460.
- _____ and _____. 2001. Amylopectin fine structure and rice starch paste breakdown. **J. Cereal Sci.** 34: 279-284.
- Henry, R.J. and P.S. Keltlewell. 1996. **Cereal Grain Quality**. Chapman & Hall, London.
- Howell, N.K. 1996. Chemical and enzymatic modifications, pp. 235-280. *In* S. Nakai and H.W. Modler, eds. **Food Proteins Properties and Characterization**. Wiley-VCH, Inc., Canada.
- Hsu, C.L., W. Chen, Y.M. Weng and C.Y. Tseng. 2003. Chemical composition, physical properties, and antioxidant activities of yam flours as affected by different drying methods. **Food Chem.** 83: 85-92.
- Jobling, S. 2004. Improving starch for food and industrial applications. **Curr. Opin. Plant Biol.** 7: 210-218
- Juliano B.O. 1994. Polysaccharides, proteins, and lipids of rice, pp. 98-141. *In* **Rice: Chemistry and Technology**. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota.
- Juliano, B.O. 1992. Structure, chemistry, and function of the rice grain and its fraction. **Cereal Food World** 37: 772-779.
- Juliano, B.O. 1984. Rice starch: Production, properties and uses, pp. 507-528. *In* R.L. Whistler, J.N. Bemiller, and E.F. Paschall, eds. **Starch Chemistry and Technology**, 2nd ed. Academic Press, Orlando, FL.

- Juliano, B.O. 1972. The rice caryopsis and its composition, pp. 16-76. *In* D.F. Houston, ed. **Rice Chemistry and Technology**. American Association of Cereal Chemists, New York, USA.
- Klont, R. 2000. Innovation with enzymes. **The World of Food Ingredients**. 1: 37-44.
- Kruger, L.H. and R. Murray. 1976. Starch texture, pp. 427-444. *In* J.M. Deman, P.W. Voisey, V.F. Raspar and D.W. Stanley, eds. **Rheology and texture in food quality**. AVI publishing Co., Inc., Westport, CT.
- Kumagai, T., H. Kawamura, T. Fuse, T. Watanabe, Y. Saito, T. Masumura, R. Watanabe and M. Kadowaki. (2006). Production of rice protein by alkaline extraction improves its digestibility. **J. Nutr. Sci. Vitaminol**. 52: 467-472.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature** 227: 680-685.
- Li, Y., C.F. Shoemaker, X. Shen, J. Ma, A.M. Ibáñez-Carranza and F. Zhong. 2008. The isolation of rice starch with food grade proteases combined with other treatment. **Food Sci. Technol. Int**. 14: 215-224.
- Lim, S.T., J.H. Lee, D.H. Shin and H.S. Lim. 1999. Comparison of Protein Extraction Solutions for Rice Starch Isolation and Effects of Residual Protein Content on Starch Pasting Properties. **Starch/Stärke** 51: 120-125.
- Lumdubwong N. and P.A. Seib. 2000. Rice starch isolation by alkaline protease digestion of wet-milled rice flour. **J. Cereal Sci**. 31: 63-74.
- Mahmond, M.I. 1994. Physicochemical and functional properties of protein hydrolysates in nutritional products. **Food Technol**. 58: 89-95.

Morrison, W.R. 1988. Lipids. *In* V. Pomeranz, ed. **Wheat: Chemistry and Technology**.

American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Minnesota.

Morris, V.J. 1998. Gelation of polysaccharides, pp. 143-226. *In* S.E. Hill, D.A. Ledward and J.R. Mitchell, eds. **Functional Properties of Food Macromolecules**. Aspen Publishers, Inc., Great Britain.

Noosuk, P. 2003. **The Assessment of the Relationship Between Structure and Functional Properties of Rice Starch**. Ph.D. Thesis, Chulalongkorn University.

Oates, C.G. 1997. Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis. **Trends Food Sci. Tech.** 8: 375-382.

_____. 1996. Physical modification of starch. *In* **Advanced Post Academic Course on Tapioca Starch Technology**. Jan. 22-26 & Feb. 19-23, 1996. AIT Center, Bangkok.

Phillips, O.G. and P.A. Williams. 2000. **Handbook of hydrocolloids**. Woodhead Publishing Limited, New York.

Qi, X., R.F. Taster, C.E. Snape and R. Ansell. 2003. Molecular basis of the gelatinization and swelling characteristics of waxy rice starches grown in the same location during the same season. **J. Cereal Sci.** 37: 363-376.

Rao, M.A. and J.F. Steffe. 1992. **Viscoelastic properties of foods**. Elsevier Science Publisher Ltd., England.

Rapaille, A. and J. Vanhemelrijck. 1997. Modified starches, pp. 199-229. *In* A. Imeson, ed. **Thickening and Gelling Agents for Food**. Chapman & Hall, London.

- Robin, J.P., C. Mercier, R. Charbonniere, and J.A. Guilbot. 1974. Lintnerized starches, gel filtration and enzymatic studies of insoluble residues from prolonged acid treatment of potato starch. **Cereal Chem.** 51: 389-406.
- Sajilata, M.G., R.S. Singhal and R. Kulkarni. 2006. Resistant starch-A review. **Compr. Rev. Food Sci. F.** 5: 1-16.
- Sander, J.P.M. 1996. Starch Processing Technologies, pp. T-02-1-T-02-13. *In* **Advanced Post-Academic Course on Tapioca Starch Technology (1)**. 22-26 January 1996. AIT & KU, Bangkok.
- Sarker, S.C., M. Ogawa, M. Takahashi and K. Asada. 1986. The processing of a 57-kDa precursor peptide to subunits of rice glutelin. **Plant Cell Physiol.** 27 (8): 1579-1586.
- Schofield, J.D. and P. Greenwell. 1987. Wheat starch granule proteins and their technological significance, pp. 407-420. *In* I. D. Morton, ed. **Cereals in an European Context**. Ellis Horwood Ltd., England.
- Singh, N., J. Singh, L. Kaur, N.S. Sodhi and B.S. Gill. 2003. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chem.** 81: 219-231.
- Singh, J. and N. Singh. 2001. Studies on the morphological, thermal and rheological properties of starch separated from some Indian potato cultivars. **Food Chem.** 75: 67-77.
- Singh, V., H. Okadome, H. Toyoshima, S. Isobe and K. Ohtsubo. 2000. Thermal and physicochemical properties of rice grain, flour and starch. **J. Agr. Food Chem.** 48: 2639-2647.

Smith, R.J. 1979. **Food Carbohydrate**. The AVI publishing Co., Westport, Connecticut.

Sodhi, S.N. and N. Singh. 2003. Morphological, thermal and rheological properties of starches separated from rice cultivars grown in India. **Food Chem.** 80: 99-108

Sooksomboon, A. 2007. **Effect of dry- and wet-milling processes on rice flour, rice starch and rice noodle properties**. Ph.D. Thesis, Kasetsart University.

Steffè, J.F. 1996. **Rheological Method in Food Process Engineering**. East Lansing, Freeman Press.

Swinkels, J.J.M. 1985. Source of starch, its chemistry and physics, pp. 15-45. In G.M.A. van Beynum and J.A. Roles, Eds. **Starch Conversion Technology**. Marcel Dekker, inc., New York.

Tester, R.F., J. Karkalas and X. Qi. 2004. Starch-composition, fine structure and architecture. **J. Cereal Sci.** 39: 151-165.

_____. 1997. Starch: the polysaccharide fractions, pp. 163-147. In P. J. Frazies, A. M. Donald and P. Richmond, eds. **Starch Structure and Functionality**. The Royal Society of Chemistry, U.K. **Carbohydrate Polymers** 42: 287-299.

_____. and W.R. Morrison. 1990a. Swelling and gelatinization of cereal starches I effects of amylopectin, amylose and lipids. **Cereal Chem.** 67: 551-557.

_____ and _____. 1990b. Swelling and gelatinization of cereal starches II waxy rice starches. **Cereal Chem.** 67: 558-563.

Vandeputte, G.E., V. Derycke, J. Geeroms and J.A. Delcour. 2003b. Rice starch II structural aspects provide insight into swelling and pasting properties. **J. Cereal Sci.** 38: 53-59.

_____, _____, _____ and _____. 2003c. Rice starch III structural aspects provide insight in amylopectin retrogradation properties and gel texture. **J. Cereal Sci.** 37: 1-8.

Waigh, T.A., M.J. Gidley, B.U. Komanshet and A.M. Donald. 2000. The phase transformations in starch during gelatinization: a liquid crystalline approach. **Carbohydr. Res.** 328: 165-176.

Wang, L. and Y.J. Wang. 2004. Application of high-intensity ultrasound and surfactants in rice starch isolation. **Cereal Chem.** 81(1): 140-144.

_____ and _____. 2001. Structures and physicochemical properties of acid-thinned corn, potato and rice starches. **Starch/Stärke** 53: 570-576.

Wang, Y.J. and L. Wang. 2002. Structures of flour waxy rice starches in relation to thermal, pasting and textural properties. **Cereal Chem.** 79: 252-256.

_____, V.D. Truong, and L. Wang. 2003. Structures and rheological properties of corn starch as affected by acid hydrolysis. **Carbohydrate Polymers** 52: 327-333.

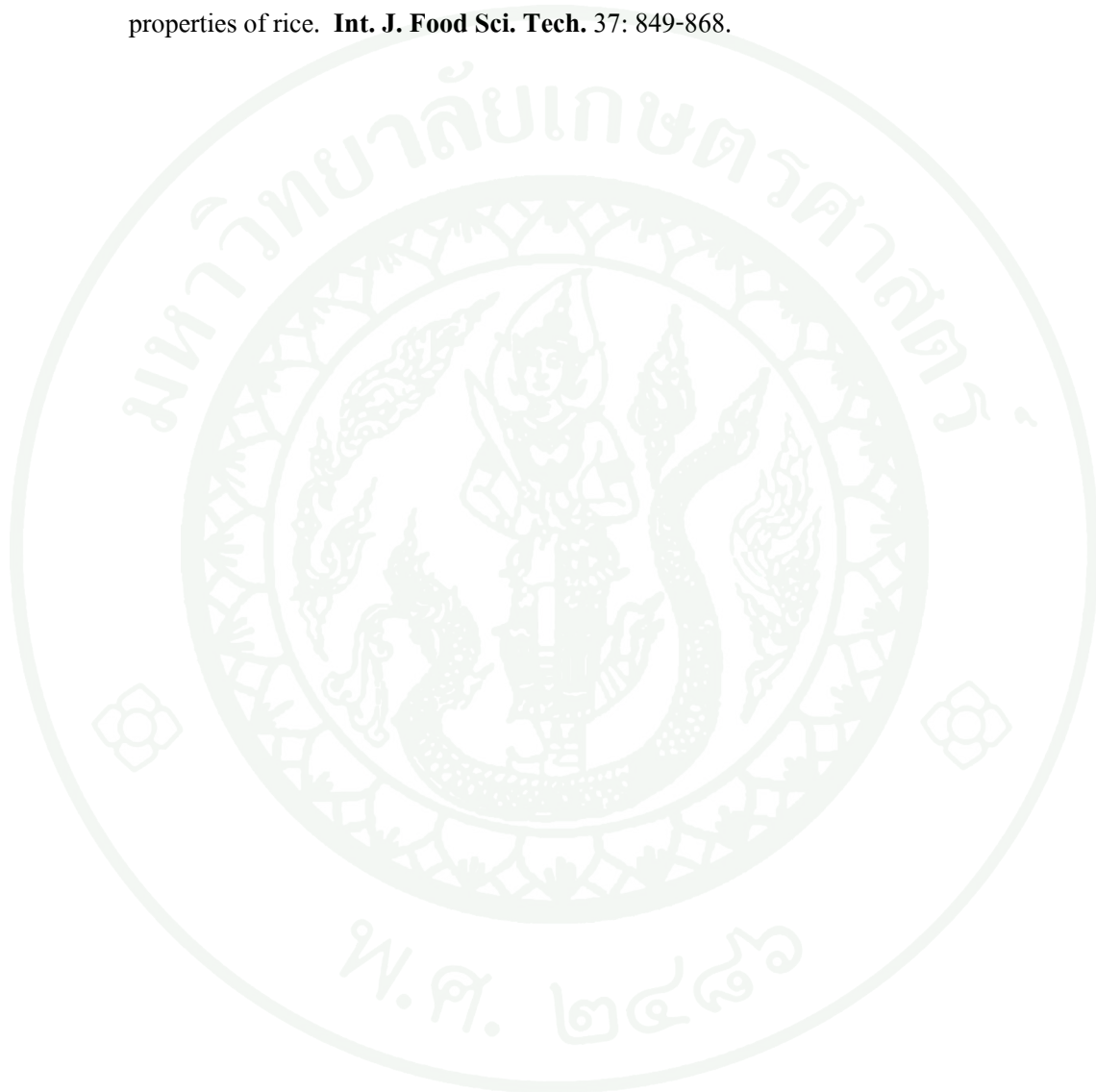
Whistler, R.L. and J.N. Bemiller. 1999. **Carbohydrate Chemistry for Food Scientists.** American Association of Cereal Chemists, Inc., U.S.A.

_____ and J.R. Deniel. 1984. Molecular structure of starch, pp. 153-178. In R. L. Whistler, J.N. BeMiller, and E.F. Paschall, eds. **Starch: Chemistry and Technology.** Academic Press, Inc., Florida.

Wurzburg, O.B. 1986. **Modified starch: Properties and uses.** CRC Press, Inc., Florida.

Yuan, R.C., D.B. Thompson and C.D. Boyer. 1993. Fine structure of amylopectin in relation to gelatinization and retrogradation behavior of maize starches from three *wx*-containing genotypes in two inbred lines. **Cereal Chem.** 70: 81-89.

Zhou, Z., K. Robards, S. Helliwell and C. Blanchard. 2002. Review composition and functional properties of rice. **Int. J. Food Sci. Tech.** 37: 849-868.







ก1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

1.1 เครื่องมือ

1.1.1 ถ้วยอะลูมิเนียม (aluminium dish) พร้อมด้วยฝาปิด

1.1.2 ตู้อบไฟฟ้าที่ปรับและควบคุมอุณหภูมิได้

1.1.3 เครื่องเคเตอร์ที่มีสารดูดความชื้น

1.2 วิธีวิเคราะห์

ตามวิธีของ AACC Method 44-15A (AACC, 2000) อบจานอะลูมิเนียมพร้อมด้วยฝาปิดในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นานประมาณ 1 ชั่วโมง นำออกมาใส่ในเคสิเคเตอร์ ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ชั่งตัวอย่างแบ่งในจานอะลูมิเนียมให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 5 กรัม อบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นานประมาณ 1 ชั่วโมง นำออกมาใส่ในโถควบคุมความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็นในอุณหภูมิห้อง แล้วนำไปชั่งอบซ้ำจนครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักต่างกันไม่เกิน 2 มิลลิกรัม จดน้ำหนักที่น้อยที่สุดถือเป็นน้ำหนักของจานอะลูมิเนียมและตัวอย่างหลังจากอบแห้งแล้ว

1.3 วิธีคำนวณ

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

เมื่อ W = น้ำหนักของจานอะลูมิเนียม เป็นกรัม

W_1 = น้ำหนักของจานอะลูมิเนียมและตัวอย่างและตัวอย่างก่อนอบ เป็นกรัม

W_2 = น้ำหนักของจานอะลูมิเนียมและตัวอย่างหลังอบแห้ง เป็นกรัม

ก2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

2.1 เครื่องมือ

- 2.1.1 เครื่องย่อย (2006 digester exhaust system)
- 2.1.2 เครื่องกลั่นไนโตรเจน (Soxtec system HT2 1045 extraction unit)
- 2.1.3 ขวดแก้วเซดาห์ล (Kjeldahl flask)
- 2.1.4 บิวเรต
- 2.1.5 ตู้อบยาควัน

2.2 สารเคมี

- 2.2.1 กรดซัลฟิวริกเข้มข้นที่มีความถ่วงที่มีความถ่วงจำเพาะ 1.84
- 2.2.2 สารละลายกรดบอริก ร้อยละ 4 ของน้ำหนัก
- 2.2.3 สารละลายมาตรฐานไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล
- 2.2.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 40 ของน้ำหนัก
- 2.2.5 ตัวเร่งปฏิกิริยา ประกอบด้วย 3.5 กรัม โพแทสเซียมซัลเฟต (K_2PO_4) + 0.4 กรัม คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$)

2.3 วิธีวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.5 กรัม ใส่ลงในขวดแก้ว ระวังอย่าให้ติดข้างขวด ใส่ตัวเร่งปฏิกิริยา 1 ช้อน เติมกรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตรแล้วเขย่าเบาๆ วางบนขวดเครื่องย่อยในตู้ดูดควัน ต้มที่อุณหภูมิ 420 องศาเซลเซียส นานประมาณ 30 นาที จนกระทั่งได้สารละลายใส ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำไปเข้าเครื่องนี้ต่อท่อให้ปลายจุ่มในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุกรดบอริก 4 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 25 มิลลิลิตร เพื่อเก็บของแอมโมเนีย กลั่นประมาณ 5 นาที แล้วนำไปไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐานไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งเปลี่ยนเป็นสีชมพู แล้วนำไปคำนวณหาร้อยละไนโตรเจน

2.4 วิธีคำนวณ

$$\text{ปริมาณโปรตีน} = \frac{(S - B) \times N \times 1.401 \times 5.27 \times 100}{\text{ร้อยละของน้ำหนักแห้ง } W (100 - M)}$$

เมื่อ S = ปริมาตรไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไตเตรตสารตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรไฮโดรคลอริก ที่ใช้ในการไตเตรตเบลงค์ (Blank)

N = นอร์มัลลิตีของสารละลายมาตรฐานไฮโดรคลอริก

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

M = ร้อยละความชื้น

ก3. ตรวจสอบขนาด และรูปร่างของเม็ดสตาร์ช

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

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

3.1.2 แท่ง aluminium stub ที่ติดกาวสองหน้าชนิดบาง

3.1.3 เครื่องเคลือบทอง (Ion-coater IB-2)

3.2 วิธีการวิเคราะห์

3.2.1 นำตัวอย่างมาอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส และเก็บไว้ในเดซิเคเตอร์ ก่อนวิเคราะห์ให้วางกระจายบนเทปกาวสองหน้าที่ติดอยู่บนแท่ง aluminium stub

3.2.2 นำแท่ง aluminium stub ที่ติดตัวอย่างแล้ว เข้าเครื่องเคลือบทอง เพื่อช่วยนำประจุอิเล็กตรอน

3.2.3 วางแท่ง aluminium stub ที่ผ่านการเคลือบทองแล้ว ใส่ในช่องสำหรับใส่แท่ง aluminium stub ภายในตัวกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

3.2.4 ตรวจสอบลักษณะรูปร่างของตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน โดยควบคุมสภาวะการทดลองที่ค่าอัตราเร่งของความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 15 กิโลโวลต์

3.2.5 คัดเลือกบริเวณที่ต้องการบันทึกภาพ ปรับโฟกัสให้ชัดแล้วสั่งพิมพ์ภาพ

3.3 สถานที่วิเคราะห์

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก4. การวิเคราะห์สมบัติของก้วยเดี่ยวแรงสูงสุด และพื้นที่ใต้กราฟ (ดัดแปลงจาก AACC, 2000)

4.1 เครื่องมือ และอุปกรณ์

4.1.1 เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture Analyser) รุ่น TA-XT2

4.1.2 หัววัด Light Knight Blade, A/LKB-F พร้อมแท่นวางตัวอย่าง

4.2 วิธีการวิเคราะห์

4.2.1 วางเส้นก้วยเดี่ยวที่ถูกตัดให้ยาว 5 เซนติเมตร ลงบนแท่นวางตัวอย่าง

4.2.2 ให้หัววัดตัดลงบนตัวอย่างด้วยแรงคงที่ 10 นิวตัน เป็นระยะทาง 60% ของความหนาของตัวอย่าง ใช้สภาวะในการวิเคราะห์ดังนี้

Mode	: Measure Force in Compression
Option	: Return to Start
Pre – Test Speed	: 0.5 mm/s
Test Speed	: 0.2 mm/s
Post – Test Speed	: 10.0 mm/s
% Strain	: 60 %
Trigger Type	: Auto (10 g)
Data Acquisition Rate	: 400 pps

4.2.3 อ่านค่าที่ได้จากกราฟ ดังนี้

4.2.3.1 แรงสูงสุด (maximum cutting force) เป็นค่าสูงสุดที่วัดได้จากการตัดตัวอย่างของหัววัดด้วยอัตราเร็ว 0.2 มิลลิเมตร/วินาที มีหน่วยเป็น นิวตัน

4.2.3.2 งานที่ใช้ในการตัด (total work to cut) เป็นค่าที่คำนวณจากแรงกด

และเวลาในการตัดตัวอย่าง ซึ่งเป็นพื้นที่ใต้กราฟ มีหน่วยเป็น นิวตัน.วินาที

ก5. การวิเคราะห์สมบัติของก้วยเดี่ยวแรงด้านการดึง

5.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1.1 เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture Analyser) รุ่น TA-XT2

2.1.2 หัววัด Spaghetti tensile grips, A/SPR

5.2 วิธีการวิเคราะห์

5.2.1 พันเส้นก้วยเดี่ยวที่ลวกสุกแล้วเข้ากับแขนของหัววัดทั้งแขนบน และล่าง

5.2.2 ให้หัววัดดึงตัวอย่างด้วยแรงคงที่ เป็นระยะทาง 100 มิลลิเมตร ใช้สภาวะในการวิเคราะห์ดังนี้

Mode	: Measure Force in Tension
Option	: Return to Start
Pre – Test Speed	: 3.0 mm/s
Test Speed	: 3.0 mm/s
Post – Test Speed	: 5.0 mm/s
Distance	: 100 mm
Trigger Type	: Auto (5 g)
Data Acquisition Rate	: 200 pps

5.2.3 อ่านค่าที่ได้จากกราฟ ดังนี้

แรงสูงสุด (mean peak force) เป็นค่าสูงสุดที่วัดได้จากการดึงตัวอย่างของหัววัด ด้วยอัตราเร็ว 3.0 มิลลิเมตร/วินาที มีหน่วยเป็นก เป็นแรงด้านการดึงเส้นก้วยเดี่ยว ซึ่งสามารถ บ่งบอกถึงความยืดหยุ่น (elasticity หรือ tensile strength) ของก้วยเดี่ยว



ข. การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์โปรตีเอส

1. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

1.1 สารละลาย 0.1 N NaOH เตรียมโดยละลาย NaOH 0.4 กรัมในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

1.2 สารละลาย 0.1 N HCl เตรียมโดยผสม conc. HCl (ร้อยละ 37) จำนวน 1.17 มิลลิลิตรกับน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

1.3 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

1.4 สารละลายเคซีน (casein) 1 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยละลายเคซีน 1.0 กรัมในสารละลาย 0.1N NaOH จำนวน 20 มิลลิลิตร นำไปแช่ในอ่างน้ำอุ่นพร้อมคนเบาๆ เพื่อให้เคซีนละลายจนหมด ปล่อยให้สารละลายเคซีนเย็นที่อุณหภูมิห้อง ปรับ pH ให้เท่ากับ 7.0 ด้วยสารละลาย 0.1 N HCl และ 0.1 N NaOH จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7.0 จำนวน 50 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

1.5 สารละลาย Trichloroacetic acid 5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยละลาย Trichloroacetic acid จำนวน 5 กรัมในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

1.6 สารละลาย Sodium carbonate (Na_2CO_3) 7.5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยละลาย Na_2CO_3 จำนวน 7.5 กรัมในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

1.7 สารละลาย Folin reagent เตรียมโดยผสม Folin-Ciocalteu กับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 3 แล้วนำไปใช้ทันที

2. การสร้างกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์กิจกรรมโปรตีเอส

2.1 เตรียมสารละลาย L-tyrosine เข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยละลาย L-tyrosine จำนวน 0.1 กรัมในน้ำกลั่น (ให้ความร้อนและกวนผสมตลอดเวลา) ปล่อยให้สารละลายไทโรซีนเย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

2.2 สารละลาย L-tyrosine เข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร ผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน ดังตาราง

ตารางผนวกที่ ข1 อัตราส่วนของสารละลาย L-tyrosine เข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตรผสมกับ น้ำกลั่น

หลอด ที่	ปริมาณสารละลาย L-tyrosine (มิลลิลิตร)	ปริมาณน้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของสารละลาย L-tyrosine (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
1	0	1.0	0
2	0.2	0.8	20
3	0.4	0.6	40
4	0.6	0.4	60
5	0.8	0.2	80
6	1.0	0	100

2.3 เติมสารละลาย Na_2CO_3 7.5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด แล้วเขย่าให้เข้ากัน

2.4 เติมสารละลาย Folin reagent จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด ตั้งทิ้งไว้ให้แต่ละหลอดทำปฏิกิริยาให้ครบ 30 นาที

2.5 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรทันที บันทึกค่าการดูดกลืนแสง

2.6 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาวาดกราฟมาตรฐาน ให้แกน x คือ ความเข้มข้นของสารละลาย L-tyrosine แกน y คือ ค่าการดูดกลืนแสง

2.7 จากกราฟมาตรฐานสามารถสร้างสมการหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลาย L-tyrosine เมื่อทำการวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเอนไซม์ที่ชั่วโมงต่างๆ จึงทราบค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรตีเอส

3. การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์โปรตีเอส

3.1 นำสารละลายเคซีนที่เตรียมได้ใส่ในหลอดทดลอง หลอดละ 1 มิลลิลิตร แล้วแช่ในอ่างน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

3.2 เติมสารละลายเอนไซม์ (ความเข้มข้นที่เหมาะสม) 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองแต่ละหลอดจากข้อ 3.1 ส่วนหลอดควบคุมให้เติมสารละลาย TCA 5 เปอร์เซ็นต์ ก่อนเติมสารละลายเคซีน นำหลอดทดลองไปแช่ในอ่างน้ำอุ่นให้แต่ละหลอดทำปฏิกิริยาครบ 30 นาที

3.3 ทำการหยุดปฏิกิริยาโดยเติมสารละลาย TCA 5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 6 มิลลิลิตรลงในแต่ละหลอด ตามลำดับ ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำมากรองตะกอนออกโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1

3.4 ดูดส่วนใสที่กรองได้อย่างละ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด

3.5 เติมสารละลาย Na_2CO_3 7.5 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด แล้วเขย่าให้เข้ากัน

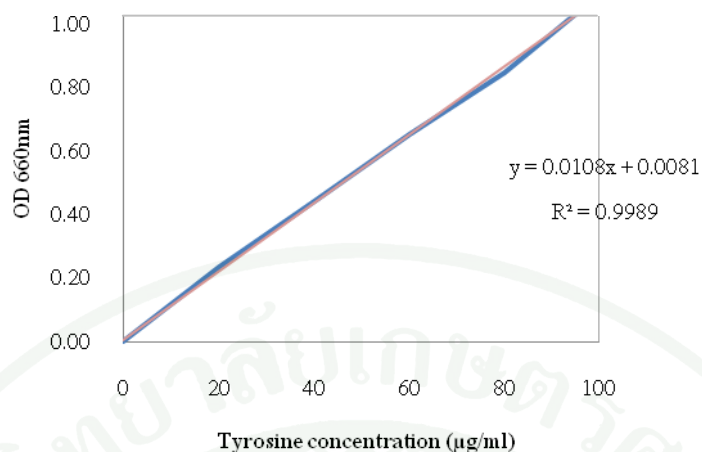
3.6 เติมสารละลาย Folin reagent จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด ตั้งทิ้งไว้ให้แต่ละหลอดทำปฏิกิริยาให้ครบ 30 นาที

3.7 เมื่อครบ 30 นาทีนำหลอดควบคุมไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรทันที ตามด้วยหลอดทดลองอื่นๆตามลำดับ บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ได้

ค่ากิจกรรมโปรตีเอสกำหนดให้ 1 ยูนิตของกิจกรรมโปรตีเอส หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยเคซีนให้ได้สาร L-tyrosine ซึ่งอยู่ในอัตราเท่ากับ L-tyrosine 1 ไมโครกรัมในเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

4. ผลการทดลอง

จากการทำกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์กิจกรรมโปรตีเอส โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย L-tyrosine ที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำมาเขียนกราฟพบว่าได้กราฟเส้นตรงดังแสดงในภาพผนวกที่ 1



ภาพผนวกที่ ข1 กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมโปรติเอส

ตารางผนวกที่ ข2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเอนไซม์โปรติเอส

หลอดที่	ชนิดเอนไซม์	ค่าการดูดกลืนแสง (นาโนเมตร)
1	Protin NY 100 ; Amano	0.319
2	Thermoase ; Amano	0.289
3	Subtilisin A ; Sigma	0.715
4	Collopulin ; Siamvictory	0.741

$$\text{กิจกรรมเอนไซม์อิสระ (ยูนิต)} = \frac{A_{660}}{\text{Slope}} \times \frac{1}{30} \times 8.0$$

โดย A_{660} = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร

ความชันของกราฟมาตรฐาน L-tyrosine = 0.01

สารละลายเอนไซม์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา = 1 มิลลิลิตร

เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา = 30 นาที

ปริมาตรรวมในการทำปฏิกิริยา = 1+1+6 = 8 มิลลิลิตร

ตารางผนวกที่ ข3 ค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสแต่ละชนิด

ชนิดเอนไซม์	กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิต/มิลลิลิตร)	กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิต/กรัม)
Protin NY ; Amano	8.3	41500
Thermoase ; Amano	7.5	3750
P5380 ; Sigma	18.8	1,880,000
Collopulin ; Siamvictory	19.5	19,500

จากตารางค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสที่คำนวณได้มีหน่วยยูนิตต่อมิลลิลิตร ซึ่งเมื่อนำมาคำนวณเทียบจากสารละลายเอนไซม์ที่เตรียมเริ่มต้นตามสมการด้านล่างจะทราบค่ากิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิต/กรัม) ของเอนไซม์แต่ละชนิดดังแสดงในตารางผนวกที่ 3

$$\text{กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิต/กรัม)} = \frac{\text{กิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิต/มิลลิลิตร)} \times \text{ปริมาตร (มิลลิลิตร)}}{\text{น้ำหนักเอนไซม์ (กรัม)}}$$

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ – นามสกุล	นางสาวสุชัญญา ดอกละมุด
วัน เดือน ปี ที่เกิด	21 สิงหาคม 2525
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (พัฒนาผลิตภัณฑ์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภายใต้การเชื่อมโยงภาคการผลิตกับงานวิจัย (MAG-Window I) ประจำปี 2551